DOI: 10.3724/SP.J.1006.2010.00276

不同水稻品种支链淀粉结构的差异及其与淀粉理化特性的关系

贺晓鹏¹ 朱昌兰^{1,*} 刘玲珑² 王方^{1,**} 傅军如¹ 江玲² 张文伟²
刘宜柏¹ 万建民^{2,*}

¹ 江西农业大学作物生理生态与遗传育种教育部重点实验室 / 农业部双季稻生理生态与栽培重点开放实验室, 江西南昌 330045; ² 南京农业大学作物遗传与种质创新国家重点实验室, 江苏南京 210095

摘要: 利用改进的基于 DNA 测序仪的荧光糖电泳法对我国不同品质类型水稻品种和部分外引水稻品种的支链淀粉链长分布特征进行了测定, 在尽量排除直链淀粉含量(amylose content, AC)对淀粉理化特性影响的基础上, 分析了支链淀粉结构与稻米淀粉理化特性的相关性。结果表明, 根据 $\Sigma DP_{11}/\Sigma DP_{24}$ 的链长比值, 可将 50 个供试品种的支链淀粉分为 I 型和 II 型两种结构类型, I 型支链淀粉的链长比值小于 0.22, II 型支链淀粉的链长比值大于 0.26。15 个粳稻品种的支链淀粉结构属 II 型, 35 个籼稻品种中有 15 个品种的支链淀粉结构属 I 型, 20 个品种属 II 型。相关分析结果表明, $\Sigma DP_{6\sim 11}$ 和链长比值与起始成糊温度(pasting temperature, PT)和相对结晶度(relative crystallinity, RC)呈极显著负相关; $\Sigma DP_{28\sim 34}$ 与 PT 呈极显著负相关, 与 RC 的相关性不显著; $\Sigma DP_{13\sim 24}$ 和 $\Sigma DP_{39\sim 49}$ 与 PT 呈极显著正相关, 与 RC 呈显著正相关。在糯稻、低 AC 和高 AC 品种中, $\Sigma DP_{6\sim 11}$ 、 $\Sigma DP_{13\sim 24}$ 和链长比值与 PT 的相关性在全部品种中的相关性一致, 与 RC 的相关性也与全部品种中的相关性基本一致。 $\Sigma DP_{28\sim 34}$ 与 PT 在低 AC 品种中, $\Sigma DP_{39\sim 49}$ 与 PT 在糯稻和高 AC 品种中、与 RC 在高 AC 品种中的相关性也与全部品种中的相关性具有一致性。不同链长范围的支链数量比例与 GC (gel consistency)和 RVA 谱特征值的相关性基本不显著。可见支链淀粉不同链长范围的支链数量比例主要与淀粉的 PT 和 RC 相关, 而与淀粉的 GC 和 RVA 谱特征值关系不密切。

关键词: 水稻; 支链淀粉; 链长分布; 相对结晶度; 起始成糊温度; RVA 谱特征值

Difference of Amylopectin Structure among Various Rice Genotypes Differing in Grain Qualities and Its Relation to Starch Physicochemical Properties

HE Xiao-Peng¹, ZHU Chang-Lan^{1,*}, LIU Ling-Long², WANG Fang¹, FU Jun-Ru¹, JIANG Ling², ZHANG Wen-Wei², LIU Yi-Bai¹, and WAN Jian-Min^{2,*}

¹ Key Laboratory of Crop Physiology, Ecology and Genetic Breeding, Ministry of Education, Jiangxi Agricultural University / Key Laboratory of Crop Physiology, Ecology and Cultivation of Double Cropping Rice, Ministry of Agriculture, Nanchang 330045, China; ² State Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China

Abstract: As the main constituent of rice starch, amylopectin and its structure is one of the major determinants for the development of starch granule structures and starch physicochemical properties. Understanding amylopectin chain length distribution properties in different rice varieties, and clarifying the correlations between the amylopectin structure and rice starch physicochemical properties, may provide theoretical basis for revealing the mechanism of rice quality development and guide rice quality improvement. In this study, the amylopectin structure of some rice varieties in China and some introduced rice varieties with different qualities were characterized by improved fluorophore-assisted carbohydrate electrophoresis (FACE) method based on DNA sequencer. On the basis of eliminating the impact of amylose content (AC), the correlations between amylopectin structure and rice starch physical chemistry properties were analyzed. The results indicated that amylopectin structure in 50 rice varieties could be classified into I-type and II-type, according to the chain ratio of $\Sigma DP_{11}/\Sigma DP_{24}$. The chain ratio of the I-type amylopectin is less than 0.22, whereas the II-type is higher than 0.26. Amylopectin of all the 15 japonica varieties belonged to II-type. Among the 35 indica varieties, for amylopectin structure, 15 belonged to I-type and 20 belonged to II-type. The $\Sigma DP_{6\sim 11}$ and chain ratio had

本研究由国家自然科学基金项目(30560074)和江西省主要学科学术和技术带头人培养计划(2008DD00800)资助。

* 通讯作者(Corresponding authors): 万建民, E-mail: wanjm@njau.edu.cn; Tel: 025-84396516; 朱昌兰, E-mail: zhuchanglan@163.com

第一作者联系方式: E-mail: hxpeng@163.com; Tel: 0791-3813142 ** 现在江西省宜春市农业科学研究所工作

Received(收稿日期): 2009-11-04; Accepted(接受日期): 2009-11-17.

very significantly negative correlations ($P < 0.01$) with pasting temperature (PT) and relative crystallinity (RC). The ΣDP_{28-34} had very significantly negative correlation with PT, but did not have significantly correlation with RC. The ΣDP_{13-24} and ΣDP_{39-49} had very significantly positive correlations with PT and significantly positive correlations ($P < 0.05$) with RC. In glutinous rice, low AC and high AC varieties, the correlations of ΣDP_{6-11} , ΣDP_{28-34} , the chain ratio of $\Sigma DP_{\leq 11} / \Sigma DP_{\leq 24}$ with PT and RC were essentially consistent with those in all varieties. The correlations between ΣDP_{28-34} and PT in low AC, between ΣDP_{39-49} and PT in glutinous rice and high AC varieties, between ΣDP_{39-49} and RC in high AC varieties were also consistent with those in all varieties. The proportion of chain amounts in amylopectin with different chain length ranges was not significantly correlated with GC and RVA profile properties. Therefore, the proportion of chain amounts in amylopectin with different chain length ranges has relation to rice starch PT and RC, but not close relation to GC and RVA profile characteristics in most cases. The short chain amounts of DP₆₋₁₁ have a function of decreasing rice starch PT and RC, the intermediate chain amounts of DP₁₃₋₂₄ have a function of increasing rice starch PT and RC, the longer chain amounts of DP₂₈₋₃₄ have a function of decreasing rice starch PT and the long chain amounts of DP₃₉₋₄₉ have a function of increasing rice starch PT and RC.

Keywords: Rice; Amylopectin; Chain length distribution; Relative crystallinity; Pasting temperature; RVA profile properties

支链淀粉作为稻米淀粉最主要的组分, 是淀粉粒各级结构形成和稻米淀粉理化特性的主要决定因素, 也是造成直链淀粉含量相同或相近的水稻品种间食味品质差异的重要原因^[1-8]。了解不同品质类型水稻品种的支链淀粉结构, 明确支链淀粉结构与淀粉理化特性的关系, 对于揭示稻米食味品质形成的机理、指导稻米品质改良具有重要意义。目前关于稻米支链淀粉结构及其对淀粉理化特性影响的研究因采用的测定方法不同, 结论也不尽相同。Han等^[2]、蔡一霞等^[3]利用凝胶层析法将稻米支链淀粉分支分成FrI [平均DP (degree of polymerization) >100]、FrII (平均DP 44~47)和FrIII (平均DP 10~17) 3个片段范围。Han等^[2]认为FrI的比例与崩解值极显著负相关, FrIII则与崩解值呈极显著正相关; 蔡一霞等^[3]也认为FrIII的重量比率与最高黏度和崩解值呈极显著正相关, 而Fr(I+II)与最高黏度和崩解值极显著负相关, 并认为支链淀粉长分支链比率高, 则其硬性和凝聚性大、松弛性和黏附性小, 米饭的口感表现硬, 咀嚼有渣感。Nakamura等^[4]利用基于毛细管电泳的荧光糖电泳 (fluorophore-assisted carbohydrate electrophoresis, FACE) 法将支链淀粉结构分为长链型(L型)和短链型(S型)两种类型, L型支链淀粉的ACR($\Sigma DP_{10} / \Sigma DP_{24}$)小于0.20, S型支链淀粉的ACR大于0.24, 并认为支链淀粉的ACR与糊化起始温度(T_0)呈负相关。Vandeputte等^[5-7]利用高效阴离子交换色谱-脉冲安倍检测 (high performance anion exchange chromatography with pulsed amperometric detection, HAPED-PAD)法测定了不同水稻品种的支链淀粉结构, 并认为DP₆₋₉的短链与稻米淀粉的糊化起始温度(T_0)、最高温度(T_p)、终结温度(T_c)及起始成糊温度(PT)呈负相关, 而DP₁₂₋₂₂则表现正相关; DP₆₋₉和DP₁₂₋₂₂的支链数量还与淀粉的膨胀、回生特性有

关。另外, 目前国内关于不同水稻品种支链淀粉链长和链长分布特征的研究很少, 且主要采用凝胶层析法^[3,9], 而该法只能对不同聚合度范围的脱分支支链进行简单的分离检测, 不适于支链淀粉精细结构的比较。本文在国内首次利用改进的基于DNA测序仪的FACE法测定支链淀粉链长和链长分布特征, 并在对不同品质类型水稻品种按AC分组以尽量排除AC对淀粉理化特性影响的基础上, 通过相关分析探求支链淀粉结构对稻米淀粉理化特性的影响, 以揭示我国不同品质类型水稻品种和部分外引品种的支链淀粉链长和链长分布特征及其与淀粉理化特性的关系, 为探索稻米食味品质形成的机理和指导我国稻米品质改良提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

选用不同品质类型的粳、籼稻品种共50个(表1), 其中粳稻品种35个(含粳糯品种5个), 籼稻品种15个(含籼糯品种4个), 分别来自江西农业大学农学院、南京农业大学水稻研究所和江西省农业科学院水稻研究所。2007年在南京市江苏省农业科学院试验田内, 分5月18日、5月28日和6月10日3期播种。扬辐糯4号、培矮64、IR24、古426、9311、赣晚粳30、毫皮、毫木细、毫安闷、毫屁、IR64、IR72、川恢838、明恢63、蓉恢906、古448、IR26、ISAKAWA、苏御糯、金陵香糯、惊人糯、Asominori、武育粳3号、W3668、南海102、日之光等26个品种为第1期, 国优5号、鸭血糯、花糯、桂朝2号、桂朝2号(F)、南京11、Langi、IR36、IR36(F)、Kasalath、Habataki、桂99、缅甸早谷、俄国早、黄壳糯、Millin、日本晴、越光、Sasanishiki、千重浪2号、沈农265等21个品种为第2期, 矮血糯、R402、146B为第3期。每个品种

栽4行, 每行15株, 株行距20.0 cm × 16.7 cm。田间土壤肥力中等, 按常规田间肥水管理, 全生育期严格控制病虫害, 于8月22~28日抽穗, 9月30日统一收获。将种子晒干并在室温下保存3个月后, 脱壳, 碾成精米, 用粉碎机磨成过0.180 mm孔径的精米粉待测定。

1.2 支链淀粉链长及链长分布的测定

利用基于DNA测序仪的荧光糖电泳法^[10-12]并加以改进后进行支链淀粉链长和链长分布的测定。

1.2.1 支链淀粉的分离与纯化 参照蔡一霞等^[3]的方法。

1.2.2 支链淀粉的脱分支 5 mg 纯支链淀粉加200 μL 蒸馏水, 置沸水浴加热搅拌 10 min 溶解, 再加 850 μL 0.05 mol L⁻¹ NaAc 缓冲液(pH 3.75), 于沸水浴加热搅拌 10 min, 冷至室温后加入异淀粉酶 100 μL (1 U mL⁻¹), 在 37℃ 条件下振荡反应 24 h 后, 置沸水浴中加热灭活异淀粉酶。

1.2.3 脱分支淀粉的荧光标记反应 在 1 μL 脱分支支链淀粉溶液中相继加入 1 μL 0.1 mol L⁻¹ 8-氨基苣 -1,3,6- 三磺酸三钠盐 (8-aminopyrene-1,3,6-trisulfonic acid trisodium salt, APTS) 和 2 μL 1 mol L⁻¹ 硼氢氰化钠, 密闭、振荡后离心, 用铝箔包裹后在 37℃ 条件下温育 24 h。加 21 μL 淀粉缓冲液(6 mol L⁻¹ 尿素, 0.04 mol L⁻¹ 硼酸, 0.04 mol L⁻¹ Tris base, pH 8.6)稀释后, 置-80℃冰箱保存备用。

1.2.4 基于 DNA 测序仪的荧光糖电泳 吸取 1 μL 稀释液, 用含 2.0% 葡聚糖蓝的淀粉缓冲液稀释 10 倍左右, 以 APTS 标记的麦芽七糖作标样, 在 ABI PRISM 377 DNA 测序仪上进行电泳。电泳胶为 7.5% 聚丙烯酰胺变性胶 (丙烯酰胺 甲叉双丙烯酰胺为 37.5 : 1, 含 8.9 mol L⁻¹ 尿素), 缓冲液为 1×TBE 缓冲液, 电压 3 000 V, 电泳 6 h。每样品重复 3 次以上。

1.2.5 数据分析 电泳结束后, 利用软件 Genscan 3.1.2 收集、导出数据, 并用 Microsoft Excel 进行分析。

1.3 直链淀粉含量(amylose content, AC)和胶稠度(gel consistency, GC)的测定

按国标GB/T 17891-1999和GB/T 15683-1995测定AC, 利用过0.180 mm孔径的精米粉按国标GB/T 17891-1999测定GC。

1.4 相对结晶度(relative crystallinity, RC)的测定

采用日本理学DMax-B型X射线衍射仪, 参照

Fujita等^[13]的方法测定精米粉的淀粉晶体特性。测定采用Cu靶, 石墨单色器, 加速电压30 kV, 电流20 mA, 步长0.02°/2θ, 扫描速度4° min⁻¹, 扫描范围3°~40°, 不设重复。参照Cheetham等^[14]、张本山等^[15]的方法, 采用Origin7.0软件分析结果。

$$RC(\%) = Ic/(Ia + Ic) \times 100$$

其中, Ia是X射线衍射图谱中非结晶区的面积, Ic是结晶区的面积。计算时2θ取6°~34°。

1.5 淀粉黏滞特性的测定

采用德国Brabender仪器公司生产的Micro-Visco-Amylo-Graph黏度速测仪, 参照美国谷物化学家协会AACC 61-01和61-02操作规程^[16]和万向元等^[17]的方法测定淀粉黏滞特性。黏度仪自动读出起始糊温度 (pasting temperature, PT) 和RVA谱特征值的一级参数最高黏度(peak viscosity, PKV)、热浆黏度(hot paste viscosity, HPV)、冷胶黏度(cool paste viscosity, CPV)、二级参数崩解值(breakdown viscosity, BDV)和回复值(consistency viscosity, CSV), 计算出二级参数消减值(setback viscosity, SBV=CPV-PKV)^[16,18]。米粉样品量为10.00 g, 每个样品测定2次, 取平均值为性状表型值。

1.6 数据分析

利用DPS软件进行数据相关分析。

2 结果与分析

2.1 不同类型水稻品种的支链淀粉结构、直链淀粉含量和淀粉理化特性

2.1.1 支链淀粉结构 水稻脱分支支链中DP6是最短的支链; 另外, DP 50 的支链在所有品种中都可获得较好的数据精度(相对标准偏差 RSD<20%), 因此在转换后的链长和链长分布中仅包括 DP6~50 的数据。图1是籼稻品种Langi和古426(这两个品种DP 11的短链数量占支链总量的比例在50个品种中分别为最低和最高)、籼稻品种南京11和粳稻品种日本晴支链淀粉链长分布的比较(A)和差异(B)。由图1-B可见, 古426比Langi、日本晴比南京11有更多的DP 11的短链, 更少的12~24的中等长度链, 而两者DP 25的较长支链数量相差不大。

表1列出了50个水稻品种DP 11的短链与簇内链(DP 24)的链长比值。50个品种中链长比值最低的是籼稻Langi, 为0.1949; 最高的是籼稻古426, 为0.2967。按链长比值分布范围, 将50个品种的支链淀

图1 古426和Langi (左)、南京11和日本晴(右)支链淀粉链长分布的比较(A)及差异(B)

Fig. 1 Comparison (A) and difference (B) in amylopectin chain length distribution between Gu426 and Langi (left), Nanjing 11, and Nipponbare (right)

粉结构分为两种类型(分别命名为I型和II型支链淀粉)。I型包括15个籼稻品种(桂朝2号、南京11、IR36、毫木细、Kasalath、IR64、明恢63、R402等),链长比值范围为0.1949~0.2183; II型包括20个籼稻(培矮64、IR24、9311、赣晚粳30、毫皮、Habataki、桂99等)和15个粳稻品种,链长比值范围为0.2629~0.2967。

2.1.2 直链淀粉含量和淀粉理化特性 由表1可见,除糯稻外,30个籼稻的AC变幅为12.1%~26.7%,涵盖了低(9%~20%, 15个)、中(20%~25%, 3个)和高(>25%, 12个)3种AC类型,11个粳稻的AC变幅为13.0%~17.0%,均为低AC类型。参试品种按AC高低可分为3组,第一组为糯稻品种,共9个;第二组为低AC品种,共25个,包括11个低AC粳稻和15个低AC籼稻中的14个(不包括古448),AC变幅12.1%~17.0%;第三组为高AC品种,包括12个高AC籼稻品种,AC变幅25.2%~26.7%。

供试品种淀粉颗粒的RC变幅为21.5%~33.4%,GC变幅为26.0~102.5 mm,PT变幅为64.5~81.2℃,6个RVA谱特征值PKV、HPV、CPV、BDV、CSV和SBV的变幅分别为335~907BU、257~701BU、348~1308BU、8~448BU、87~598BU和-183~471BU。

2.2 支链淀粉结构与淀粉理化特性间的相关分析

不同水稻品种在DP6~50链长区间的各支链数

量比例与GC(图2-A)及6个RVA谱特征值(图2-A示出SBV)的相关性均不显著,而与PT(图2-A)及非糯品种的RC(图2-B)间却表现出一定程度的相关性。具体讲,DP6~11的支链数量比例与PT及非糯品种的RC间呈极显著负相关;DP13~24与PT及非糯品种的RC间呈极显著正相关;DP28~36与PT及非糯品种的RC间呈负相关,其中DP28、DP30~34与PT的相关性达极显著或显著水平,DP30与非糯品种的RC的相关性达显著水平;DP38~50与PT及非糯品种的RC间为正相关,其中DP40~49与PT的相关性达显著或极显著水平,DP39~43与非糯品种的RC间的相关性达显著或极显著水平。

将DP6~11、DP13~24、DP28~34、DP39~49链长范围的支链数量比例分别相加(分别表示为 $\Sigma DP6\sim11$ 、 $\Sigma DP13\sim24$ 、 $\Sigma DP28\sim34$ 和 $\Sigma DP39\sim49$),并对其在全部品种及糯稻、低AC、高AC品种中与淀粉理化特性的相关性进行分析(表2)表明,在全部品种中, $\Sigma DP6\sim11$ 与PT和RC呈极显著负相关; $\Sigma DP28\sim34$ 与PT呈极显著负相关,与RC的相关性不显著; $\Sigma DP13\sim24$ 和 $\Sigma DP39\sim49$ 与PT呈极显著正相关,与RC呈显著正相关。在糯稻、低AC和高AC品种中, $\Sigma DP6\sim11$ 和 $\Sigma DP13\sim24$ 与PT的相关性与在全部品种中的相关性一致,与RC的相关性也与全部品种中的相关性基本一致。 $\Sigma DP28\sim34$ 与PT在低AC品种中,

表1 参试水稻品种的支链淀粉结构、直链淀粉含量和淀粉理化特性
Table 1 The amylopectin structure, amylose content and starch physicochemical properties of the tested rice varieties

品种 Variety	类型 ^b Type ^b	链长比值 amylopectin chain ratio ($\sum DP \leq 11 / \sum DP \leq 24$)	AC (%)	RC (%)	GC (mm)	PT (°C)	PKV (BU)	HPV (BU)	CPV (BU)	BDV (BU)	CSV (BU)	SBV (BU)
扬辐糯 4 号 Yangfunuo 4	I, G	0.2025	3.2	32.8	86.5	74.9	795	486	649	311	161	-146
矮血糯 Aixuenuo	I, G	0.1985	4.3	30.7	80.0	78.8	524	331	440	197	106	-84
国优 5 号 Guoyou 5	I, G	0.2701	3.5	29.8	87.5	68.5	713	401	530	314	124	-183
鸭血糯 Yaxuenuo	I, G	0.2732	2.5	30.0	94.0	66.9	810	493	639	317	143	-171
花糯 Huanuo	I, G	0.2793	2.0	29.8	102.5	65.1	619	382	512	237	125	-107
桂朝 2 号 Guichao 2	I	0.2091	26.1	25.9	27.0	74.7	798	524	1069	281	536	271
桂朝 2 号(F) Guichao 2 (F) ^a	I	0.2804	25.7	22.3	26.0	69.9	803	588	1183	216	586	380
南京 11 Nanjing 11	I	0.2023	25.7	25.4	28.0	77.2	823	546	1088	280	533	265
Langi	I	0.1949	12.2	28.0	53.0	81.2	789	467	805	331	336	16
IR36	I	0.2181	25.9	25.4	28.0	77.4	713	482	984	235	494	271
IR36(F) ^a	I	0.2774	25.8	21.7	27.0	72.7	695	636	1140	59	497	445
培矮 64 Pei'ai 64	I	0.2809	25.3	23.3	31.0	70.5	335	325	671	8	339	336
IR24	I	0.2670	16.4	25.1	42.0	69.9	706	430	804	291	373	98
古 426 Gu 426	I	0.2967	21.7	23.1	33.0	67.8	548	425	863	123	433	315
9311	I	0.2736	16.7	24.6	63.0	69.8	688	420	805	279	382	117
赣晚粳 30 Ganwanxian 30	I	0.2814	14.1	25.0	69.0	70.1	720	431	764	295	330	44
毫皮 Haopi	I	0.2790	15.0	24.4	51.5	67.8	690	337	649	354	308	-41
毫木细 Haomuxi	I	0.2141	12.5	26.0	62.0	77.2	655	356	644	305	286	-11
Kasalath	I	0.2080	25.9	28.8	46.5	77.6	433	323	663	110	334	230
Habataki	I	0.2778	16.3	—	76.5	71.1	692	367	660	328	289	-32
毫安闷 Hao'anmen	I	0.2817	13.4	—	55.0	70.7	722	515	908	220	389	186
毫屁 Haopi	I	0.2775	12.1	—	60.0	71.4	691	411	681	286	265	-10
IR64	I	0.1986	13.6	29.5	81.0	80.1	721	417	763	307	343	42
IR72	I	0.2132	21.1	27.4	39.0	75.6	613	360	715	263	350	102
川恢 838 Chuanhui 838	I	0.2629	14.3	24.7	64.0	71.4	735	447	777	292	326	42
明恢 63 Minghui 63	I	0.1983	14.2	33.4	52.5	78.6	704	421	754	289	330	50
蓉恢 906 Ronghui 906	I	0.2672	25.4	22.4	27.0	69.3	837	701	1308	140	598	471
桂 99 Gui 99	I	0.2631	15.7	24.5	58.5	71.4	641	401	739	246	336	98
R402	I	0.2003	26.0	26.3	47.0	79.0	536	429	827	113	393	291
古 448 Gu 448	I	0.2889	19.4	21.5	34.0	68.2	510	370	767	142	391	257
IR26	I	0.2712	15.6	24.0	64.0	70.7	690	425	788	274	360	98
缅甸早谷 Miandianzaogu	I	0.2012	26.7	27.4	30.5	76.9	472	351	718	129	362	246
俄国早 Eguozao	I	0.1986	25.3	26.2	32.5	78.1	645	503	976	151	466	331
ISAKAWA	I	0.2709	25.2	22.3	27.5	69.2	641	592	1086	48	486	445
146B	I	0.2183	21.1	24.9	27.5	77.5	525	426	847	99	416	322
黄壳糯 Huangkenuo	J, G	0.2719	3.5	30.9	84.0	67.0	456	291	397	166	104	-59
苏御糯 Suyunuo	J, G	0.2750	1.9	29.3	95.5	64.5	401	257	348	146	89	-53
金陵香糯 Jinlingxiangnuo	J, G	0.2819	1.0	30.3	102.0	64.9	425	258	348	172	87	-77
惊人糯 Octorokimochi	J, G	0.2736	2.3	30.9	95.0	64.9	771	465	612	308	143	-159
Millin	J	0.2657	13.0	25.1	43.0	73.5	766	422	727	359	301	-39
Asominori	J	0.2767	16.8	23.0	75.0	68.3	681	378	733	308	352	52
日本晴 Nipponbare	J	0.2737	16.6	24.9	63.0	71.6	717	381	729	342	344	12
武育粳 3 号 Wuyujing 3	J	0.2784	17.0	28.4	73.0	69.8	645	392	756	256	361	111
越光 Koshihikari	J	0.2720	14.5	25.4	71.0	70.2	812	406	713	407	303	-99
W3668	J	0.2760	14.6	25.9	68.0	69.7	644	359	655	292	293	11
南海 102 Nanhai 102	J	0.2720	17.0	24.9	57.5	69.7	708	371	696	341	321	-12
日之光 Rizhiguang	J	0.2785	15.8	26.1	83.0	67.6	665	365	703	303	335	38
Sasanishiki	J	0.2805	15.8	—	57.0	72.0	907	463	812	448	345	-95
千重浪 2 号 Qianchonglang 2	J	0.2681	15.8	25.8	44.0	71.8	667	387	726	287	336	59
沈农 265 Shennong 265	J	0.2715	15.9	23.1	49.0	69.9	705	374	700	342	323	-5

^a: 这两个品种主要农艺性状与桂朝 2 号和 IR36 相似, 但支链淀粉结构不同于这两个品种。 ^b: I: 籼, J: 粳, G: 糯。

AC: 直链淀粉含量; RC: 相对结晶度; GC: 胶稠度; PT: 起始成糊温度; PKV: 最高黏度; HPV: 热浆黏度; CPV: 冷胶黏度; BDV: 崩解值; CSV: 回复值; SBV: 消减值; —: 缺失数据。

^a: The agricultural traits of the two varieties are similar to Guichao 2 and IR36, respectively, but the structure of amylopectin are different from them. ^b: I: *indica*, J: *japonica*, G: glutinous.

AC: amylose content; RC: relative crystallinity; GC: gel consistency; PT: pasting temperature; PKV: peak viscosity; HPV: hot paste viscosity; CPV: cool paste viscosity; BDV: breakdown viscosity; CSV: consistency viscosity; SBV: setback viscosity; —: missing data.

图2 支链淀粉DP6~50的支链数量比例与淀粉理化特性间的相关性

Fig. 2 Correlations between the relative amount of chains with DP 6-50 and starch physicochemical properties

A: 与GC、PT和RVA谱特征值SBV的相关性; B: 与非糯品种RC的相关性。

A: correlations with GC, PT and RVA profile parameters of SBV. B: correlations with RC.

ΣDP_{39-49} 与PT在糯稻和高AC品种中、与RC在高AC品种中的相关性也与全部品种中的相关性具有一致性。除 ΣDP_{39-49} 与GC在低AC和高AC品种中分别呈显著负相关和极显著正相关, ΣDP_{6-11} 和 ΣDP_{13-24} 与消减值 (setback viscosity, SBV) 在高AC品种中分别呈极显著正相关和极显著负相关外, 不同链长范围的支链数量比例与GC和RVA谱特征值的相关性在全部及不同类型品种中的相关性均不显著。可见, 不同链长范围的支链数量比例主要与淀粉的PT和RC表现相关, 而与淀粉的GC和RVA谱特征值关系不密切。

进一步分析 $\Sigma DP_{11}/\Sigma DP_{24}$ 的链长比值与淀粉理化特性间的相关性可见(表2), 链长比值与PT、RC间的相关性和 ΣDP_{6-11} 与PT、RC间的相关性表现一致, 和 ΣDP_{13-24} 与PT、RC间的相关性相比则刚好相反。链长比值与PT在全部品种以及糯稻、低AC、高AC品种中表现一致, 均呈极显著负相关; 与RC在全部品种及低AC、高AC品种中呈极显著负相关, 在糯稻品种中呈显著负相关, 表现基本一致。

3 讨论

3.1 不同类型水稻品种的支链淀粉结构分析

Nakamura等^[4]利用基于毛细管电泳的APTS标记的荧光糖电泳法测定了129个不同类型水稻品种的支链淀粉结构。结果表明, 除品种Khauk Yoe外, 其他所有品种的支链淀粉结构可分为长链型(L型)和短链型(S型)两种类型。L型支链淀粉ACR ($\Sigma DP_{10}/\Sigma DP_{24}$)小于0.20, 而S型支链淀粉的ACR大于0.24。Nakamura等^[21]进一步研究表明, L型和S型支链

的差异与SSIIa基因密切相关。粳稻中SSIIa基因功能缺失, 使支链淀粉的短链增加, 因此粳稻多属于S型支链淀粉结构。可能由于测定方法不同的原因, 本研究按ACR虽也可将所有品种的支链淀粉结构分为两种类型, 但其分类值分别为小于0.14和大于0.18, 均低于上述分类值。另外, Umemoto等^[19-20]研究认为, 支链淀粉簇内DP 11的短链占簇内链(DP 24)总数的比例决定了其支链淀粉类型。因此, 本研究根据所测不同类型水稻品种链长和链长分布的实际差异, 将 $\Sigma DP_{11}/\Sigma DP_{24}$ 的链长比值作为分类依据, 并依此将50个供试品种的支链淀粉结构分为I型和II型两种类型。其中, I型的链长比值小于0.22, 对应于L型支链淀粉; II型的链长比值大于0.26, 对应于S型支链淀粉。所有15个粳稻品种的支链淀粉结构均属II型, 这与前人的研究结果基本一致^[23]。对于籼稻品种中既有I型, 也有II型, 可能与这些品种中SSIIa的功能多态性有关, 同时也不能排除其他遗传因子的作用, 这尚待通过对SSIIa及其他淀粉合成基因(如AGPase、SSS、SBE、DBE等)进行测序及功能分析来进一步鉴定。

3.2 支链淀粉结构与淀粉理化特性的关系

关于稻米支链淀粉结构与淀粉理化特性的关系, 不同研究者的研究结论不尽相同。Han等^[2]利用凝胶层析法研究认为FrI的比例与崩解值极显著负相关, FrIII则与崩解值呈极显著正相关; 蔡一霞等^[3]则认为Fr(I+II)与最高黏度和崩解值极显著负相关, 而FrIII的重量比率与最高黏度和崩解值呈极显著正相关。Nakamura等^[4]利用基于毛细管电泳的FACE法研究认为, ACR ($\Sigma DP_{10}/\Sigma DP_{24}$)与糊化起始温度(T_0)呈负相关。Vandeputte等^[6]利用HAPED-PAD法研究

表2 支链淀粉结构与淀粉理化特性间的相关性

Table 2 Correlations between amylopectin structure and starch physical chemistry properties

		RC	GC	PT	PKV	HPV	CPV	BDV	CSV	SBV
ΣDP6–11	All	−0.4133 ^{**} (46)	0.2268(50)	−0.8870 ^{**} (50)	0.0217(50)	−0.0693(50)	−0.1075(50)	0.0852(50)	−0.1185(50)	−0.1361(50)
	G	−0.6716 [*] (9)	0.6401(9)	−0.9708 ^{**} (9)	−0.2104(9)	−0.2490(9)	−0.2623(9)	−0.1637(9)	−0.3207(9)	0.0672(9)
	L-AC	−0.7203 ^{**} (21)	0.0925(25)	−0.9426 ^{**} (25)	−0.0716(25)	−0.1557(25)	−0.0586(25)	0.0417(25)	0.0770(25)	0.0086(25)
	H-AC	−0.9011 ^{**} (12)	−0.4929(12)	−0.9288 ^{**} (12)	0.0930(12)	0.4447(12)	0.3953(12)	−0.4703(12)	0.3075(12)	0.8064 ^{**} (12)
ΣDP13–24	All	0.3738 [*] (46)	−0.2395(50)	0.8949 ^{**} (50)	−0.0008(50)	0.0781(50)	0.1441(50)	−0.0670(50)	0.1700(50)	0.1626(50)
	G	0.6679 [*] (9)	−0.5956(9)	0.9431 ^{**} (9)	0.1030(9)	0.1487(9)	0.1648(9)	0.0498(9)	0.2382(9)	0.0546(9)
	L-AC	0.7168 ^{**} (21)	0.0239(25)	0.9194 ^{**} (25)	0.0451(25)	0.1157(25)	0.0409(25)	−0.0474(25)	−0.0592(25)	−0.0018(25)
	H-AC	0.8843 ^{**} (12)	0.4110(12)	0.9188 ^{**} (12)	−0.0466(12)	−0.4220(12)	−0.3649(12)	0.5242(12)	−0.2690(12)	−0.8219 ^{**} (12)
ΣDP28–34	All	0.0029(46)	0.1657(50)	−0.4180 ^{**} (50)	−0.0567(50)	−0.0826(50)	−0.2051(50)	0.0055(50)	−0.2631(50)	−0.1908(50)
	G	−0.3231(9)	0.0640(9)	−0.3786(9)	0.2911(9)	0.2137(9)	0.1965(9)	0.3797(9)	0.1086(9)	−0.4914(9)
	L-AC	−0.3573(21)	−0.2979(25)	−0.4553 [*] (25)	0.0188(25)	0.0809(25)	0.0469(25)	−0.0176(25)	−0.0195(25)	0.0269(25)
	H-AC	0.0604(12)	0.5623(12)	0.0415(12)	−0.2201(12)	−0.0939(12)	−0.1321(12)	−0.2782(12)	−0.1727(12)	0.1040(12)
ΣDP39–49	All	0.3353 [*] (46)	−0.0955(50)	0.4888 ^{**} (50)	−0.1526(50)	−0.0555(50)	−0.1031(50)	−0.1385(50)	−0.1234(50)	−0.0085(50)
	G	0.4259(9)	−0.5979(9)	0.8322 ^{**} (9)	0.5404(9)	0.5647(9)	0.5602(9)	0.4989(9)	0.5339(9)	−0.4444(9)
	L-AC	0.1876(21)	−0.4766 [*] (25)	0.3275(25)	0.1265(25)	0.1551(25)	0.0826(25)	0.0451(25)	−0.0363(25)	−0.0346(25)
	H-AC	0.7341 ^{**} (12)	0.7495 ^{**} (12)	0.7402 ^{**} (12)	−0.3292(12)	−0.4695(12)	−0.4768(12)	0.0603(12)	−0.4571(12)	−0.5437(12)
链长比值	All	−0.4029 ^{**} (46)	0.2320(50)	−0.8921 ^{**} (50)	0.0172(50)	−0.0735(50)	−0.1200(50)	0.0834(50)	−0.1352(50)	−0.1470(50)
Amylopectin chain ratio (ΣDP≤11/ΣDP≤24)	G	−0.6801 [*] (9)	0.6993 [*] (9)	−0.9669 ^{**} (9)	−0.1890(9)	−0.2335(9)	−0.2473(9)	−0.1346(9)	−0.3116(9)	0.0323(9)
	L-AC	−0.7236 ^{**} (21)	0.0547(25)	−0.9399 ^{**} (25)	−0.0645(25)	−0.1426(25)	−0.0528(25)	0.0416(25)	0.0711(25)	0.0077(25)
	H-AC	−0.8993 ^{**} (12)	−0.4740(12)	−0.9275 ^{**} (12)	0.0821(12)	0.4404(12)	0.3889(12)	−0.4843(12)	0.2988(12)	0.8118 ^{**} (12)

^{*}, ^{**} 分别为达显著($P<0.05$)和极显著水平($P<0.01$), 括号内为样品数。RC: 相对结晶度; GC: 胶稠度; PT: 起始成糊温度; PKV: 最高黏度; HPV: 热浆黏度; CPV: 冷胶黏度; BDV: 崩解值; CSV: 回复值; SBV: 消减值。All: 所有品种; G: 糯稻品种; L-AC: 低直链淀粉含量品种; H-AC: 高直链淀粉含量品种。

^{*}, ^{**}: significance at $P<0.05$ and $P<0.01$, respectively. Values in parentheses indicate the number of varieties used for statistical analysis. RC: relative crystallinity; GC: gel consistency; PT: pasting temperature; PKV: peak viscosity; HPV: hot paste viscosity; CPV: cool paste viscosity; BDV: breakdown viscosity; CSV: consistency viscosity; SBV: setback viscosity. All: all rice varieties; G: glutinous rice varieties; L-AC: low amylose content rice varieties; H-AC: high amylose content rice varieties.

认为, DP6~9和DP12~22的支链数量与PT分别呈负相关和正相关, 而与淀粉RVA谱的最高黏度、崩解值、消减值和最终黏度相关性不显著。本研究利用改进的基于DNA测序仪的FACE法研究发现, 不同链长范围的支链数量比例主要与淀粉的PT和RC表现相关, 而与淀粉的GC和RVA谱特征值关系不密切。其中 $\Sigma DP6\sim 11$ 和 $\Sigma DP13\sim 24$ 与PT分别呈极显著负相关和极显著正相关, 基于 $\Sigma DP11/\Sigma DP24$ 的链长比值与PT呈极显著负相关, 这些结果与Vandeputte等^[6]、Nakamura等^[4]的研究结果基本一致。此外, 本研究还表明, $\Sigma DP6\sim 11$ 、 $\Sigma DP13\sim 24$ 和基于 $\Sigma DP11/\Sigma DP24$ 的链长比值与RC的相关性和PT基本一致, DP28~34的较长支链在全品种中与PT呈极显著负相关, DP39~49的长支链与PT和RC在全品种中分别呈极显著和显著正相关。

Vandeputte等^[22]认为, 淀粉的结晶特性由结晶片中同一簇内相邻的A和B链间形成的双螺旋结构所决定。而双螺旋结构的形成及规则排列对A和B链的长度有严格要求, 因而支链淀粉链长和链长分布的不同造成了淀粉结晶特性的差异, 进而使淀粉具有不同的理化和功能特性。Gidley等^[23]认为麦芽寡糖要形成双螺旋结构至少需10个葡萄糖单位。Jane等^[24]研究发现结晶片层主要由DP15~20的支链组成, 而DP18~21的支链能够跨越完全的结晶片层。由于B₁链的平均内链长(average internal chain length, ICL)约3.2 DP^[25], 因此, DP12~24的中等长度链有利于结晶片层的形成, 而DP6~11的短链则导致结晶度的降低。Patindol等^[26]研究发现支链淀粉DP>37的长链可以提高糊化温度(gelatinization temperature, GT), 并认为这些长链可能通过形成较长的双螺旋结构而导致糊化时需要较高的温度来解离。Vandeputte等^[22]认为这种观点是不成立的, 因为按Hizukuri^[27]的簇状模型, 这些长链在支链淀粉中的作用是负责簇间的连接, 它们的分支特性会阻止这些长且不间断的双螺旋结构的形成。作者认为, 支链淀粉中起簇连接作用的长支链(B₂~B₄链)可能通过其未分支部分的外部链参与双螺旋结构的形成, 进而影响支链淀粉的结晶和理化特性。因为根据Yao等^[25]的研究, 玉米中B₂链的ICL为26.5DP, 若水稻中B₂链的ICL也为这一数值, 则本研究中DP39~49的B₂支链其外链长(exterior chain length, ECL)为12.5~22.5DP, 可以参与并有利于双螺旋结构的形成, 从而提高淀粉的RC。本研究中DP28~34的B₂支链虽与RC的相关性不

显著, 但由于其ECL为1.5~7.5DP, 不利于双螺旋结构的形成, 进而对淀粉理化特性产生相应影响, $\Sigma DP28\sim 34$ 在全部和低AC品种中与PT的极显著和显著负相关性证明了这一点。

3.3 支链淀粉结构与稻米品质改良

稻米品质改良是水稻育种的重要目标之一, 其中蒸煮食味品质的改良是稻米品质改良的首要目标。AC、GC、糊化温度(GT)是稻米蒸煮食味品质的三大评价指标, 优质食味品质的水稻一般具有中等AC、软GC和低GT(食用一级籼稻品种要求AC为17.0%~22.0%、GC 70 mm、碱消值 6.0级, 粳稻品种要求AC为15.0%~18.0%、GC 80 mm、碱消值 7级)。GC主要由AC决定, 中等偏低的AC水稻品种一般具有偏软的GC^[28]。本研究表明, 支链淀粉结构与PT关系密切, 具I型支链淀粉结构的水稻品种PT较高, 具II型支链淀粉结构的品种PT较低, 公认的优质品种如赣晚粳30和越光均具有II型支链淀粉结构。DP6~11的短链和DP28~34的较长链降低淀粉PT, 而DP13~24的中等长度链和DP39~49的长链则提高淀粉的PT。虽然PT与GT不同, 但基本可以反映淀粉GT的高低。因此, 在支链淀粉结构的改良上, 为达到降低GT的目标, 应提高DP6~11的短链和DP28~34的较长链的相对数量, 降低DP13~24的中等长度链和DP39~49的长链的相对数量。

4 结论

根据 $\Sigma DP11/\Sigma DP24$ 的链长比值可将50个不同类型水稻品种的支链淀粉结构分为I型和II型, I型支链淀粉的链长比值小于0.22, II型支链淀粉的链长比值大于0.26。支链淀粉结构主要与淀粉的PT和RC表现相关, 而与淀粉GC和RVA谱特征值关系不密切。DP6~11的短链降低稻米淀粉的PT和RC, DP13~24的中等长度链提高稻米淀粉的PT和RC, DP28~34的较长链降低稻米淀粉的PT, DP39~49的长链提高稻米淀粉的PT和RC。

References

- [1] Nakamura Y. Towards a better understanding of the metabolic system for amylopectin biosynthesis in plants: Rice endosperm as a model tissue. *Plant Cell Physiol*, 2002, 43: 718-725
- [2] Han X Z, Hamaker B R. Amylopectin fine structure and rice starch paste breakdown. *J Cereal Sci*, 2001, 34: 279-284
- [3] Cai Y-X(蔡一霞), Wang W(王维), Zhu Z-W(朱智伟), Zhang Z-J(张祖建), Yang J-C(杨建昌), Zhu Q-S(朱庆森). The physiochemical characteristics of amylopectin and their relationships to

- pasting properties of rice flour in different varieties. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 2006, 39(6): 1122–1129 (in Chinese with English abstract)
- [4] Nakamura Y, Sakurai A, Inaba Y, Kimura K, Iwasawa N, Nagamine T. The fine structure of amylopectin in endosperm from Asian cultivated rice can be largely classified into two classes. *Starch/Stärke*, 2002, 54: 117–131
- [5] Vandeputte G E, Vermeylen R, Geeroms J, Delcour J A. Rice starches. I. Structural aspects provide insight into provide insight into swelling and pasting properties. *J Cereal Sci*, 2003, 38: 43–52
- [6] Vandeputte G E, Derycke V, Geeroms J, Delcour J A. Rice starches: II. Structural aspects provide insight into swelling and pasting properties. *J Cereal Sci*, 2003, 38: 53–59
- [7] Vandeputte G E, Vermeylen R, Geeroms J, Delcour J A. Rice starches: III. Structural aspects provide insight in amylopectin retrogradation properties and gel texture. *J Cereal Sci*, 2003, 38: 61–68
- [8] Zhu C-L(朱昌兰), Shen W-B(沈文飏), Zhai H-Q(翟虎渠), Wan J-M(万建民). Advances in researches of the application of low-amylose content rice gene for breeding. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 2004, 37(2): 157–162 (in Chinese with English abstract)
- [9] Zhong L-J(钟连进), Cheng F-M(程方民), Zhang G-P(张国平), Sun Z-X(孙宗修). Differences in starch chain length distribution and structure characteristics of early-*indica* rice under different temperature treatments during grain-filling. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 2005, 38(2): 272–276 (in Chinese with English abstract)
- [10] O'Shea M G, Morell M K. High resolution slab gel electrophoresis of 8-amino-1,3,6-pyrenetrisulfonic acid (APTS) tagged oligosaccharides using a DNA sequencer. *Electrophoresis*, 1996, 17: 681–688
- [11] O'Shea M G, Samuel M S, Konik C M, Morell M K. Fluorophore-assisted carbohydrate electrophoresis (FACE) of oligosaccharides: Efficiency of labeling and high-resolution separation. *Carbohydr Res*, 1998, 307: 1–12
- [12] Yao Y, Guiltinan M J, Thompson D B. High-performance size-exclusion chromatography (HPSEC) and fluorophore-assisted carbohydrate electrophoresis (FACE) to describe the chain-length distribution of debranched starch. *Carbohydr Res*, 2005, 340: 701–710
- [13] Fujita S, Yamamoto H, Sugimoto Y, Morita N, Yamamori M. Thermal and crystalline properties of waxy wheat (*Triticum aestivum* L.) starch. *J Cereal Sci*, 1998, 27: 1–5
- [14] Cheetham N W H, Tao L. Variation in crystalline type with amylose content in maize starch granules: An X-ray powder diffraction study. *Carbohydr Polymer*, 1998, 36: 277–284
- [15] Zhang B-S(张本山), Zhang Y-Q(张友全), Yang L-S(杨连生), Yu S-J(于淑娟). A method of determining crystallinity of starch in multi-crystal system. *J South China Univ Technol* (Nat Sci Edn)(华南理工大学学报·自然科学版), 2001, 29(5): 55–58 (in Chinese with English abstract)
- [16] American Association of Cereal Chemists. Approved methods for the AACC, 10th edn. Method 61-01 (amylograph method for milled rice) and Method 61-02 (determination of the pasting properties of rice with rapid visco analyzer). The Association, St. Paul, 2000
- [17] Wan X-Y(万向元), Chen L-M(陈亮明), Wang H-L(王海莲), Xiao Y-H(肖应辉), Bi J-C(毕京翠), Liu X(刘喜), Zhai H-Q(翟虎渠), Wan J-M(万建民). Stability analysis for the RVA profile properties of rice starch. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2004, 30(12): 1185–1191 (in Chinese with English abstract)
- [18] Bao J S, Xia Y W. Genetic control of the paste viscosity characteristics in *indica* rice (*Oryza sativa* L.). *Theor Appl Genet*, 1999, 98: 1120–1124
- [19] Umemoto T, Nakamura Y, Satoh H, Terashima K. Differences in amylopectin structure between two rice varieties in relation to the effects of temperature during grain-filling. *Starch/Stärke*, 1999, 51: 58–62
- [20] Umemoto T, Yano M, Shomura A, Nakamura Y. Mapping of a gene responsible for the difference in amylopectin structure between *japonica*-type and *indica*-type rice varieties. *Theor Appl Genet*, 2002, 104: 1–8
- [21] Nakamura Y, Francisco P B Jr, Hosaka Y, Sato A, Sawada T, Kubo A, Fujita N. Essential amino acids of starch synthase IIa differentiate amylopectin structure and starch quality between *japonica* and *indica* rice varieties. *Plant Mol Biol*, 2005, 58: 213–227
- [22] Vandeputte G E, Delcour J A. From sucrose to starch granule to starch physical behaviour: A focus on rice starch. *Carbohydrate Polymers*, 2004, 58: 245–266
- [23] Gidley M J, Bulpin P V. Crystallisation of maltooligosaccharides as models of the crystalline forms of starch: Minimum chain length requirement for the formation of double helices. *Carbohydr Res*, 1987, 161: 291–300
- [24] Jane J, Chen Y Y, Lee L F, McPherson A E, Wong K S, Radosavljevic M, Kasemsuwan T. Effects of amylopectin branch chain length and amylose content on the gelatinization and pasting properties of starch. *Cereal Chem*, 1999, 76: 629–637
- [25] Yao Y, Thompson D P, Guiltinan M J. Maize starch-branching enzyme isoforms and amylopectin structure. In the absence of starch-branching enzyme IIb, the further absence of starch-branching enzyme Ia leads to increased branching. *Plant Physiol*, 2004, 136: 3515–3523
- [26] Patindol J, Wang Y J. Fine structures of starches from long grain cultivars with different functionality. *Cereal Chem*, 2002, 79: 465–469
- [27] Hizukuri S. Polymodal distribution of chain lengths of amylopectins, and its significance. *Carbohydr Res*, 1986, 147: 342–347
- [28] Liu Y-B(刘宜柏), Huang Y-J(黄英金). The study on the relativity of flavor quality of rice. *Acta Agric Univ Jiangxiensis* (江西农业大学学报), 1989, 11(4): 1–5 (in Chinese with English abstract)