

高温对早籼稻花后剑叶氮代谢关键酶活性及籽粒蛋白质含量的影响

郝小花, 肖辉海*, 王文龙, 王云, 李丽

(湖南文理学院 生命科学学院, 湖南 常德 415000)

摘要: 为探讨高温对不同类型早籼稻开花后剑叶中氮代谢关键酶活性及籽粒蛋白质含量的影响,利用人工气候室在籽粒灌浆成熟期进行高温(日均温 31.5 °C)和适温(日均温 23.5 °C)处理,对 2 个早籼稻品种(湘早籼 24 和株两优 611)灌浆成熟期籽粒中蛋白质含量及剑叶中 GS 和 GOGAT 活性的动态变化进行了分析。结果表明:供试 2 个品种在高温下花后剑叶中 GS 和 GOGAT 活性先升后降,均在开花后 10 d 出现峰值;适温下花后剑叶中 GS 和 GOGAT 活性呈缓慢下降趋势;花后饲用稻湘早籼 24 号各时期剑叶中 GS 和 GOGAT 活性均比食用稻株两优 611 的高。高温条件下湘早籼 24 号花后 22 d,1 g 干重籽粒中的蛋白质含量比适温条件下的增加 4.75 mg,株两优 611 增加 1.88 mg。说明籽粒成熟期高温有助于提高早籼稻剑叶中 GS 和 GOGAT 活性及籽粒中蛋白质含量,更有利于高蛋白饲用稻剑叶 GS 和 GOGAT 活性及籽粒中蛋白质含量的提高。

关键词: 水稻; 温度; 可溶性蛋白质; 谷氨酰胺合成酶; 谷氨酸合成酶

中图分类号: S511 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2011)03-0398-05

Effects of high temperature on key enzymes activity of nitrogen metabolism in flag leaf and protein content in grain after flowering of early-indica rice

HAO Xiao-Hua, XIAO Hui-Hai*, WANG Wen-Long, WANG Yun, LI Li

(Department of Biology, Hunan University of Arts and Science, Changde 415000, China)

Abstract: Estigate the effects of high temperature on key enzymes(GS and GOGAT)activity of nitrogen metabolism in flag leaf and protein content after flowering in two different early indica rice,high temperature(31.5 °C)and optimal temperature(23.5 °C)are treated to two different type early indica rice(Xiangzaoxian 24 and Zhuliangyou 611). The results showed that the GS and GOGAT activity were highest on 10 d under high temperature treatment and were slowly decreased under optimal temperature treatment. Activity of two kinds of key enzyme in Xiangzaoxian 24 were both higher than that in Zhuliangyou 611. Compared to optimal temperature treatment in Xiangzaoxian 24 under high temperature,the protein content was 4.75 mg higher on 22 d and 1.88mg higher for Zhuliangyou 611. These results suggest that high temperature can help to improve two early indica rice(espacial the Xiangzaoxian 24)the GS and GOGAT activity in flag leaf and grain protein content.

Key words: rice; temperature; soluble protein; Glutamine synthetase(GS); Glutamate synthase(GOGAT)

收稿日期: 2010-10-17 修回日期: 2011-01-10

基金项目: 湖南省教育厅重点项目(09A066); 湖南省自然科学基金(07JJ6032); 湖南文理学院基金(JJYB0915)[Supported by Key Item of Education Department of Hunan Province(09A066); Natural Science Foundation of Hunan Province(07JJ6032); General Project of Hunan University of Arts and Science(JJYB0915)]

作者简介: 郝小花(1980-),女,河南郑州人,硕士,讲师,从事植物生理与分子生物学研究,(E-mail)yybxiaohua@163.com。

* 通讯作者: 肖辉海,博士,教授,从事植物发育与分子生物学研究,(E-mail)xhh-07@126.com。

稻米蛋白质含量的高低是水稻品种选育的关键指标,也是鉴定米质优劣的主要衡量标准。通常认为,稻米蛋白质积累主要靠氮素在灌浆成熟期以氨基酸、酰胺形式从稻株叶片输送到发育中的籽粒,并在籽粒中合成蛋白质,与叶片和籽粒中氮代谢密切相关。小麦中旗叶是小麦体内氮贮存与同化的主要营养器官,对籽粒产量与品质的贡献最大(李泽松等,2000)。优质强筋小麦旗叶在花后能够维持较高的NR(硝酸还原酶)、GS(谷氨酰胺合成酶)酶活性,利于氮的吸收和转移;而弱筋小麦在籽粒形成期旗叶中酶活性较低,籽粒氮素代谢相对较弱,在灌浆前、中期适当高温使NR、GS活性显著提高,植株体内氮同化能力增强,促进了氨基酸的合成和转化,但生育后期高温胁迫不利于植株体内的氮代谢(赵春等,2006)。GS、GOGAT(谷氨酸合成酶)是氮素同化过程中的关键酶,在无机氮转化为有机氮的过程中起关键作用(Lam等,1996;莫良玉等,2001)。水稻在抽穗过程中,适温下剑叶中的Pro、可溶性糖和可溶性蛋白质含量降低幅度较小,而高温下,其剑叶中的Pro、可溶性蛋白质和可溶性糖含量降低较为明显,且随着胁迫温度的加剧和胁迫时间的延长降低幅度就越大(谢晓金等,2009)。而在水稻中关于温度对剑叶氮代谢关键酶活性及籽粒品质影响的研究不多。由于田间试验条件下所涉及的气候因素较多,因而很难通过田间试验来揭示出单一温度因子对早籼稻叶片、品质影响的酶学生理特征。

本文利用人工气候室控温条件,以湖南目前主栽的2个不同品质类型的早籼稻品种为材料,在开花后(即籽粒灌浆期)设置不同温度条件,研究早籼稻开花后籽粒蛋白质含量,以及剑叶中与氮代谢密切相关的谷氨酰胺合成酶、谷氨酸合成酶活性在不同温度条件下的变化动态,旨在阐明水稻剑叶中氮代谢关键酶活性对籽粒蛋白质含量的影响,以及高温影响不同品质类型早籼稻品种籽粒蛋白质形成的生理机制,为进一步开展不同品质类型早籼稻品种优质高产栽培技术与品种改良研究提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 材料

水稻(*Oryza sativa*)品种为优质食用稻株两优611(蛋白质含量10.5%),高蛋白饲用稻湘早籼24号(蛋白质含量12.36%),均由湖南亚华种业科学

研究院提供。

1.2 方法

1.2.1 材料培养及试验设计 水稻种子用1.0%次氯酸钠消毒15 min后用蒸馏水冲洗3次,再用蒸馏水浸种24 h后于28℃下催芽2 d,2008年5月24日播种于湖南文理学院实验田,6月21日插秧,插植密度为16.5 cm×20 cm,每蔸插2苗,水肥、防治病虫害按常规管理。植株在田间自然条件下生长至孕穗,各品种选取发育进程与长势基本一致的稻株60株,带泥移入钵钵,各品种移栽20盆,钵的规格为直径20 cm、高20 cm,每盆3株,在钵钵中培育至开花前2 d(即首次取样前8 d)将材料分成两组,一组放入人工气候室的高温(昼/夜温度为34℃/29℃,即日均温度31.5℃)条件下,另一组放入人工气候室的适温(昼/夜温度为25℃/22℃,即日均温度23.5℃)条件下,各处理每天光照13 h,光照时间为5:30~18:30,光照强度为25 000~30 000 lx,相对湿度为75%~80%。钵钵中的稻株开花时,选同日开花且发育良好的单穗进行挂牌标记,自开花后第7天起取第一次样,以后每隔3 d取样,最后一次取为开花后第22天(此时籽粒已基本成熟)。每次于上午9:00~9:30取标记样,籽粒选取灌浆基本一致的穗中部籽粒,其中一部分剑叶迅速用液氮冷冻处理后保存于-80℃超低温冰箱中,用于酶活性测定,其余的剑叶和籽粒置80℃烘箱中烘干至恒重,计算干重,并供作蛋白质含量的测定。

1.2.2 粗酶液的提取 分别取开花后7、10、13、16、19、25 d的剑叶(约5片),称量。置于预冷的研钵中,加入少许无菌石英砂,研磨成细粉状后加入适量的100 mmol·L⁻¹、pH7.6的Tris-HCl缓冲液(含1 mmol·L⁻¹MgCl₂、1 mmol·L⁻¹EDTA和10 mmol·L⁻¹β-巯基乙醇)继续研磨成匀浆,匀浆液在13 000 r/min下离心25 min(4℃),取上清液用于酶活性测定(张志良等,2002)。

1.2.3 谷氨酰胺合成酶(GS)活性测定 参照王小纯等(2005)的方法测定GS活性,反应液组成如下:0.6 mL咪唑一盐酸缓冲液(0.25 mol·L⁻¹,pH7.0),0.4 mL谷氨酸钠溶液(0.3 mol·L⁻¹,pH7.0),0.4 mL ATP-Na溶液(30 mmol·L⁻¹,pH7.0),0.2 mL MgSO₄溶液(0.5 mol·L⁻¹),酶粗液1.2 mL。反应液在25℃水浴中保温5 min后,加入0.2 mL羟胺试剂开始反应,15 min后立即加入0.8 mL酸性FeCl₃试剂终止反应。混合液在4 000 r/min离心15 min,

测定上清液在 540 nm 处的光密度。一个 GS 活性单位定义为该反应条件下,在 15 min 反应时间内催化形成 $1 \mu\text{mol}$ γ -谷氨酰异羟肟酸需要的酶量,总活性为:每克鲜样酶粗液在每分钟的反应时间内催化形成 γ -谷氨酰异羟肟酸的 μmol 数。

1.2.4 谷氨酸合酶(GOGAT)活性测定 参照王小纯等(2005)的方法测定 GOGAT 活性,反应混合液包括 0.4 mL 20 mmol/L 的 L-谷氨酰胺,0.5 mL 20 mmol/L 的 α -酮戊二酸,0.1 mL 10 mmol/L 的 KCl,0.2 mL 3 mmol/L NADH 和 0.3 mL 酶液,总体积 3.0 mL,不足部分用 25 mmol/L 的 Tris-HCl 缓冲液(pH7.6)补足(1.5 mL)。反应启动后,用 752 紫外可见分光光度计于 340 nm 处每 30 s 测定 1 个消光值,连续测定 11 次,取光密度稳定减小的一段来衡量酶活性。一个 GOGAT 活性单位定义为在该反应条件下,每分钟反应混合液减少 $1 \mu\text{mol}$ NADH 为一个酶活性单位。

1.2.5 蛋白质含量测定 籽粒和剑叶烘干制粉后,用 5% 的三氯乙酸在 90 °C 水浴中沉淀蛋白质,然后

用半微量凯氏定氮法测定蛋白氮含量,而后乘以蛋白质换算系数即为蛋白质含量(黄英金等,2002),换算系数为 5.95。

2 结果与分析

2.1 高温对不同用途早稻剑叶 GS 和 GOGAT 活性的影响

由图 1 和图 2 可知,在高温和适温条件下,高蛋白饲用稻湘早籼 24 号和优质食用稻株两优 611 灌浆成熟期剑叶中 GS 和 GOGAT 的活性变化趋势基本一致,表现为适温条件下 GS 和 GOGAT 活性呈缓慢下降的趋势;高温条件下 GS 和 GOGAT 活性随灌浆进程逐渐增加,开花后 10 d 达到峰值,然后又逐渐下降,呈单峰曲线变化。花后高蛋白饲用稻湘早籼 24 号各时期剑叶中 GS 和 GOGAT 活性均比优质食用稻株两优 611 的高。以上结果表明,与优质食用稻株两优 611 相比较,高蛋白饲用稻湘早籼 24 号花后剑叶具有更强的氮素同化能力。

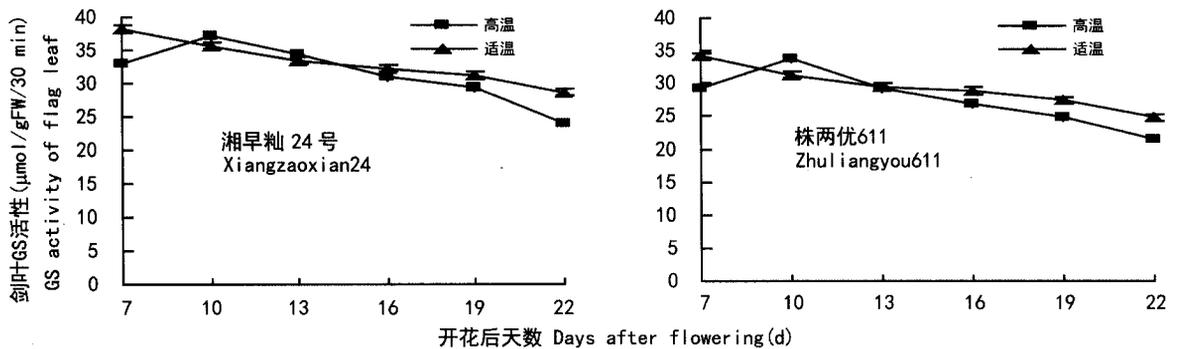


图 1 不同温度条件下剑叶 GS 活性的动态变化

Fig. 1 Dynamic changes of GS activity of developing flag leaf under different temperature conditions

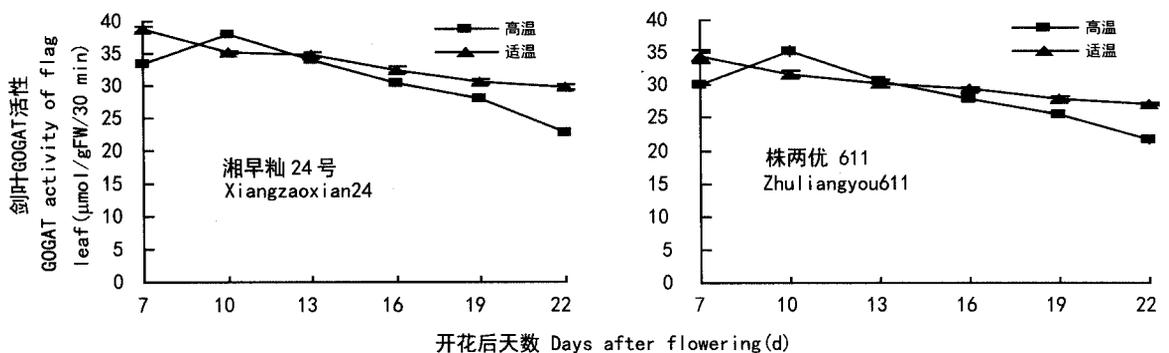


图 2 不同温度条件下剑叶 GOGAT 活性的动态变化

Fig. 2 Dynamic changes of GOGAT activity of developing flag leaf under different temperature conditions

2.2 高温对不同用途早籼稻剑叶和籽粒可溶性蛋白质含量的影响

图 3 和图 4 结果显示,在高温和适温条件下,高蛋白饲用稻湘早籼 24 号和优质食用稻株两优 611 灌浆成熟期剑叶和籽粒中可溶性蛋白质含量均呈下降趋势,籽粒中可溶性蛋白质含量的平均水平低于叶片。高温条件下灌浆成熟期剑叶中可溶性蛋白质含量下降速率较适温条件下快,平均含量都比适温条件下低(图 3),可能是高温促进叶中可溶性蛋白向籽粒运输的结果。与叶相反,高温条件下灌浆成

熟期籽粒可溶性蛋白质含量下降速率较适温条件下慢,平均含量都比适温条件下高(图 4),高温有助于早籼稻籽粒可溶性蛋白质的积累。品种类型之间,高蛋白饲用稻湘早籼 24 号在灌浆各时期都表现出饲用稻的优势,其剑叶和籽粒中可溶性蛋白质含量都比优质食用稻株两优 611 的高,且开花后 22 d 籽粒中可溶性蛋白质含量在高温和适温条件下的差值是 $4.75 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,而优质食用稻株两优 611 的差值为 $1.88 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,说明高温更有利于高蛋白饲用稻湘早籼 24 号籽粒可溶性蛋白质含量的提高。

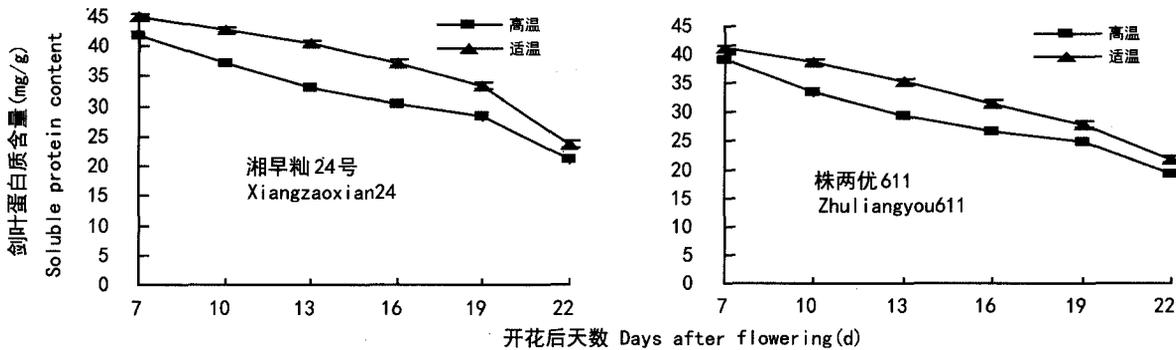


图 3 不同温度条件下剑叶可溶性蛋白质含量的动态变化

Fig. 3 Dynamic changes of soluble protein content of developing flag leaf under different temperature conditions

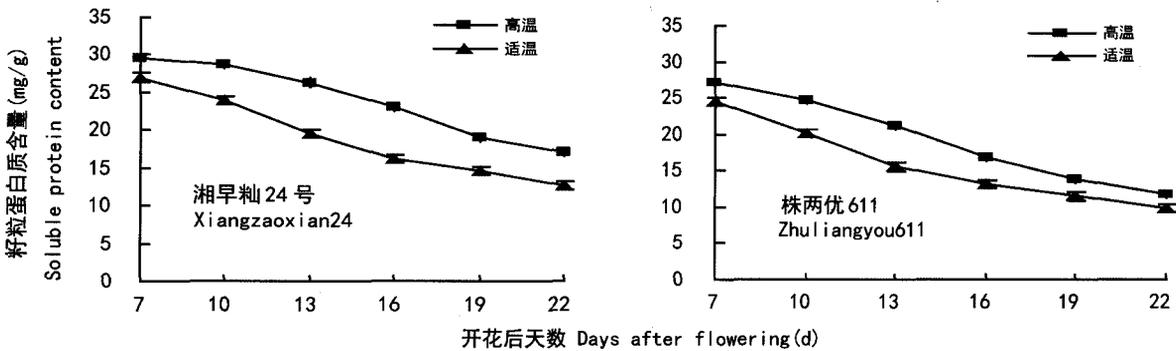


图 4 不同温度条件下籽粒可溶性蛋白质含量的动态变化

Fig. 4 Dynamic changes of soluble protein content of developing rice grains under different temperature conditions

2.3 氮代谢关键酶活性与可溶性蛋白质含量的相关性分析

由表 1 可知,高温和适温条件下,饲用稻湘早籼 24 号和食用稻株两优 611 籽粒中可溶性蛋白质含量与其剑叶中 GS 和 GOGAT 活性之间呈极显著正相关;而剑叶中可溶性蛋白质含量与剑叶中 GS 和 GOGAT 活性之间在高温条件下呈显著的正相关,而在适温条件下则呈极显著的正相关。饲用稻湘早籼 24 号高温条件下剑叶和籽粒中可溶性蛋白质含

量与其剑叶中 GS 和 GOGAT 活性之间相关系数的绝对值均比食用稻株两优 611 的高,高温更有利于提高饲用稻籽粒成熟期剑叶和籽粒中氮代谢水平。

3 讨论

籽粒蛋白质含量与开花后叶片中 GS 活性和籽粒中 GOGAT 活性呈现显著或极显著正相关,而与叶片中 GOGAT 活性相关性不显著(王小纯等,

2005)。本研究表明,花后早期高温提高剑叶中 GS 和 GOGAT 活性,同时使籽粒中可溶性蛋白的含量增加,二者具有显著的正相关性。灌浆后期高温使剑叶中 GS 和 GOGAT 活性下降快,活性明显低于

适温下,一方面可能与高温加速叶片的衰老有关;另一方面,与籽粒形成后,进入灌浆盛期,碳水化合物快速积累,籽粒氮素代谢相对减弱有关。

水稻蛋白质含量因品种不同而异。水稻在灌浆

表 1 水稻花后剑叶中谷氨酸合成酶(GOGAT)和谷氨酰胺合成酶(GS)活性与籽粒和剑叶中可溶性蛋白质含量间相关系数

Table 1 Correlation coefficients of the activities of the GOGAT and GS in flag leaf and grain with the soluble protein content after flowering

| 品种 Cultivar | | 高温 High temperature | | 适温 Suitable temperature | |
|-------------|------------|---------------------|---------|-------------------------|---------|
| | | GOGAT 活性 | GS 活性 | GOGAT 活性 | GS 活性 |
| 株两优 611 | 籽粒可溶性蛋白质含量 | 0.862** | 0.871** | 0.990** | 0.971** |
| | 剑叶可溶性蛋白质含量 | 0.765* | 0.777* | 0.929** | 0.969** |
| 湘早籼 24 号 | 籽粒可溶性蛋白质含量 | 0.920** | 0.895** | 0.972** | 0.983** |
| | 剑叶可溶性蛋白质含量 | 0.833* | 0.813* | 0.875** | 0.925** |

注:*,** 分别表示 5% 和 1% 的显著水平。 Note: *,** denote 5% and 1% significant level.

成熟期籽粒中可溶性蛋白质含量呈下降趋势,高温处理下籽粒蛋白质平均含量均普遍高于适温处理(张磊等,2002)。本研究结果与张磊等的研究结果基本一致。在高温和适温条件下,饲用稻湘早籼 24 号在灌浆各时期籽粒中可溶性蛋白质含量均比优质食用稻株两优 611 高且下降速率慢,剑叶中 GS 和 GOGAT 活性也明显高于优质食用稻,说明饲用稻品种比食用稻品种具有更强的氮素还原、同化和转移能力,高温更有利于增加饲用稻品种籽粒中蛋白质的积累,进而提高饲用稻稻米的品质。高蛋白基因型水稻品种功能叶的谷氨酰胺合成酶活性明显高于低蛋白基因型品种(朱红梅等,2001)。蛋白质含量高的水稻品种超丰早 1 号具有成熟后期叶片和籽粒谷氨酰胺合成酶活性高的特性,从而促进籽粒蛋白质含量和产量增加(唐湘如等,1999)。因此,蛋白质含量不同的早籼稻品种灌浆成熟期籽粒氮代谢机理可能有差异,对此有待于深入研究。

参考文献:

- 张志良. 2002. 植物生理学实验指导[M]. 北京:高等教育出版社:175-179
- Huang YJ(黄英金), Qi YX(漆映雪), Liu YB(刘宜柏), et al. 2002. Effect of climatic factors on the contents of protein and four protein fractions in early hsien rice during the milking and mature period(灌浆成熟期气候因素对早籼稻米蛋白质及其 4 种组分含量的影响)[J]. *Agric Meteorol* (中国农业气象), **23**(2):9-12
- Lam HM, Coschigano KT, Oliveiva IC. 1996. The molecular genetics of nitrogen assimilation into amino acids in higher plant [J]. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Bio*, **47**:569-593
- Li ZS(李泽松), Lin QH(林清华), Zhang CF(张楚富), et al.

2000. Effect of different nitrogen sources on ammonia-assimilating enzymes of the roots in rice seedlings(不同氮源对水稻幼苗根氨同化酶的影响)[J]. *J Wuhan Univ: Nat Sci Edi* (武汉大学学报·自然科学版), **46**(6):729-732

- Mo LY(莫良玉), Wu LH(吴良欢), Tao LN(陶勤南), et al. 2001. Research advances on GS/GOGAT cycle in higher plants (高等植物 GS/GOGAT 循环研究进展)[J]. *Plant Nut Fert Sci* (植物营养与肥料学报), **7**(2):223-231
- Tang XR(唐湘如), Guan CY(官春云), Yu TQ(余铁桥), et al. 1999. Studies on matter metabolism of yield and quality of different genotypic rice(不同基因型水稻产量和品质的物质代谢研究)[J]. *J Hunan Agric Univ* (湖南农业大学学报), **25**(4):279-282
- Wang XC(王小纯), Xiong SP(熊淑萍), Ma XM(马新明), et al. 2005. Effects of different nitrogen forms on key enzyme activity involved in nitrogen metabolism and grain protein content in speciality wheat cultivars(不同形态氮素对专用型小麦花后氮代谢关键酶活性及籽粒蛋白质含量的影响)[J]. *Acta Ecol Sin* (生态学报), **25**(4):802-807
- Wang YF(王月福), Yu ZW(于振文), Li SX(李尚霞), et al. 2002. Effect of nitrogen nutrition on the change of key enzyme activity during the nitrogen metabolism and kernel protein content in winter wheat(氮素营养水平对冬小麦氮代谢关键酶活性变化和籽粒蛋白质含量的影响)[J]. *Acta Agron Sin* (作物学报), **28**(6):743-748
- Xie XJ(谢晓金), Li CB(李秉柏), Cheng GF(程高峰), et al. 2009. Effects of high temperature on physiological characteristics in flag leaves of different rice(高温对不同水稻品种剑叶生理特性的影响)[J]. *Res Agric Modern* (农业现代化研究), **4**(30):483-486
- Zhang L(张磊), Wu DY(吴冬云), Zhu BY(朱碧岩), et al. 2002. Effects of temperature and light on the dynamic change in soluble protein and sugar in rice leaves and grains during the milk-filling stage(灌浆期不同温光对水稻叶、籽粒可溶性蛋白质及可溶性糖动态变化的影响)[J]. *J South China Normal Univ*: (下转第 413 页 Continue on page 413)

- Grant NM, Miller RE, Walting JR. 2008. Synchronicity of thermogenic activity, alternative pathway respiratory flux, AOX protein content, and carbohydrates in receptacle tissues of sacred lotus airing floral development[J]. *J Exp Bot*, **59**:705-714
- Heinrich B. 1993. The hot-blooded insects strategies and mechanisms of thermoregulation[M]. Cambridge MA: Harvard University Press:130-145
- Isabelle Barrisault, Marc Gibernau, Denis Barabe. 2009. Flowering period, thermogenesis and pattern of visiting insects in *Arisaema triphyllum* (Araceae) in Quebec[J]. *Botany*, **87**:324-329
- Ivancic A. 2008. Thermogenesis and flowering biology of *Colocasia gigantea* Araceae[J]. *J Plant Res*, **121**:73-82
- Jewell J, Mckee J, Richards AJ. 1994. The keel colour polymorphism in *Lotus corniculatus*[J]. *New Phytol*, **128**:363-368
- Kudo G. 1995. Ecological significance of flower heliotropism in the spring ephemeral *Adoni ramosa* Ranunculaceae[J]. *Oikos*, **72**:14-20
- Kumano-Nomura Y, Yamaoka R. 2009. Beetle visitations and associations with quantitative variation of attractants in floral odors of *Homalomena prorepens* (Araceae)[J]. *J Plant Res*, **122**:183-192
- Luo SX, Chaw SM, Zhang DX, et al. 2010. Flower heating following anthesis and the evolution of gall midge pollination in schisandraceae[J]. *Am J Bot*, **97**:1 220-1 228
- Miller GA. 1986. Pubescence, floral temperature and fecundity in species of *Puya* (Bromeliaceae) in the Ecuadorian andes[J]. *Oecologia*, **70**:155-160
- Miller RE, Walting JR, Robinson SA. 2009. Functional transition in the floral receptacle of the sacred lotus (*Nelumbo nucifera*): from thermogenesis to photosynthesis [J]. *Funct Plant Bio*, **36**:471-480
- Rebecca EM, Jennifer RW, Sharon AR. 2009. Functional transition in the floral receptacle of the sacred lotus (*Nelumbo nucifera*): from thermogenesis to photosynthesis [J]. *Funct Plant Bio*, **36**:471-480
- Seymour RS. 1997. Plants that warm themselves[J]. *Sci Am*, **276**:90-95
- Seymour RS, Schultze-Motel P. 1997. Heat-producing flowers[J]. *Endeavour*, **21**:125-129
- Seymour RS, Bartholomew GA, Barnhart MC. 1983. Respiration and heat production by the inflorescence of *Philodendron selloum* Koch[J]. *Planta*, **157**:336-343
- Seymour RS, Schultze-Motel P. 1996. Thermoregulating lotus flowers[J]. *Nature*, **383**:305
- Seymour RS, Schultze-Motel P. 1999. Respiration, temperature regulation and energetics of thermogenic inflorescences of dragon lily *Dracunculus vulgaris* (Araceae)[J]. *Proc R Soc Lond B Bilo Sci*, **266**:1 975-1 983
- Seymour RS, P Schultze-Motel, I Lamprecht. 1998. Heat production by sacred lotus flowers depends on ambient temperature, not light cycle[J]. *J Exp Bot*, **49**:1 213-1 217
- Seymour RS, White CR, Gibernau M. 2003. Heat reward for insect pollinators[J]. *Nature*, **426**:243-244
- Skubata H, Williamson PS, Schneider EL, et al. 1990. Cyanide-insensitive respiration in thermogenic flowers of *Victoria* and *Nelumbo*[J]. *J Exp Bot*, **41**:1 335-1 339
- Skubata H, Nelson TA, Meeuse BJD, et al. 1991. Heat production in the voodoo lily (*Sauromatum guttatum*) as monitored by infrared thermography[J]. *Plant Phy*, **95**:1 084-1 088
- Tang W. 1987. Heat production in cycad cones[J]. *Bot Gaz*, **148**:165-174
- Thien LB, Azuma H, Kawano S. 2000. New perspectives on the pollination biology of basal angiosperms[J]. *Int J Plant Sci*, **161**:225-235
- Thien LB, Bernhardt P, Devall MS, et al. 2009. Pollination biology of basal angiosperms (ANITA grade)[J]. *Am J Bot*, **96**:166-182
- Vanlerberghe GC, McIntosh L. 1997. Alternative oxidase: from gene to function[J]. *An R Plant Phy Plant Mol Bio*, **48**:703-734
- Walting JR, Robinson SA, Seymour RS. 2006. Contribution of the alternative pathway to respiration during thermogenesis in flowers of Sacred Lotus[J]. *Plant Phy*, **140**:1 367-1 373

(上接第 402 页 Continue from page 402)

- Nat Sci Edi* (华南师范大学学报·自然科学版), **2**:98-101
- Zhao C(赵春), Jiao NY(焦念元), Ning T(宁堂), et al. 2006. Enzyme activities in nitrogen metabolism of winter wheat and its grain quality under different environmental conditions(不同环境条件下小麦氮代谢关键酶活性及籽粒品质)[J]. *Chin J Appl Ecol* (应用生态学报), **10**(17):1 866-1 870
- Zhu HM(朱红梅), Rong XM(荣湘民), Liu Q(刘强), et al.

2001. Differences in contents of grain protein of different genotype rice varieties [J]. differences in contents of grain protein between two varieties of early convention rice(不同基因型水稻籽粒蛋白质含量差异的研究[J]. 两个常规早稻品种籽粒蛋白质含量差异)[J]. *J Hunan Agric Univ; Nat Sci Edi* (湖南农业大学学报·自然科学版), **27**(1):13-16