

小麦种子发育期麦谷蛋白的累积*

赵文明 朱新产 文树基 关秋农

(西北农业大学植物分子生物学研究室, 陕西杨陵)

摘 要 用SDS-PAGE分析表明, 小麦开花后7d出现LMW麦谷蛋白, 13d出现HMW麦谷蛋白, 花后28d是麦谷蛋白累积的高峰期, 36d麦谷蛋白积累量达最大值。麦谷蛋白直接决定小麦面筋的弹性和强度, 所以小麦最佳收获期应在开花36d以后。如果过早收获, 则会降低麦谷蛋白含量, 影响小麦的加工品质。

关键词 小麦, 谷粒, 蛋白/麦谷蛋白累积, 最佳收获期

中图分类号 Q946.102.4, S512.101

麦醇蛋白和麦谷蛋白合称小麦种子贮藏蛋白质, 贮藏蛋白质是小麦面筋的主要成分, 它存在于小麦种子的胚乳中^[1]。麦谷蛋白决定小麦面筋的弹性, 麦醇蛋白决定面筋的延展性^[2]。NG *et al.* 应用SDS聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 将麦谷蛋白分为两组: 高分子量 (HMW) 麦谷蛋白 (分子量: 95~140 KD) 和低分子量 (LMW) 麦谷蛋白 (分子量: 31~51 KD)^[3]。Greene 报道: 小麦开花后10~15d开始合成麦醇蛋白, 并持续到种子成熟^[4]。但是, 麦谷蛋白生物合成报道很少。本试验的目的是探讨小麦开花后麦谷蛋白的累积, 以便为小麦适时收获及评价小麦面粉加工品质提供参考。

1 材料与方 法

1.1 植物材料

小麦品种7852, 由陕西农科院作物所培育。它具有高产、抗倒伏、抗条锈病、落黄性好等优点。

1.2 化学试剂

丙烯酰胺、三羟甲基氨基甲烷和N, N, N', N'-四甲基乙二胺 (TEMED) 购自Merck公司, 甲叉双丙烯酰胺和 β -巯基乙醇购自Fluka公司, 过硫酸铵和SDS为Sigma公司产品, 其余为国产分析纯试剂。

1.3 方 法

采样 选择生长健壮、整齐的小麦单株, 从开花之日起统一挂牌作标记; 然后每隔3~4d采一次样, 直到小麦黄熟收获为止。每次采集穗中部的麦粒后立即将麦粒投入液氮中冰冻固定; 最后将麦粒冰冻真空干燥。干燥后的麦粒磨成细粉, 保存于0~4℃的冰箱中; 以备电泳分析。1987~1989年共重复采样3次。

文稿收到日期: 1990-10-23.

* 国家自然科学基金资助项目。

汪沛模教授参加部分研究。

单粒含水量与干重的测定 用称量法测定麦粒的鲜重与干重, 每次测定重复3次, 然后换算成单粒的干重和含水量。

全氮量和氨基酸的分析 用自动定氮仪测定小麦种子全氮量; 用氨基酸自动分析仪测定氨基酸含量。然后将测定数值换算成单粒含氮量和单粒氨基酸含量。

种子蛋白质的提取 称0.5 g上述干燥的小麦粉, 加6.0 mL正己烷脱脂。称取80 mg脱脂的小麦粉, 加1.0 mL样品提取缓冲液 (pH 6.8的0.221 mol·L⁻¹的三羟甲基氨基甲烷缓冲液, 内含3% SDS, 5% β-巯基乙醇和10%蔗糖)^[5], 在沸水浴中提取1 min, 离心 (8000 r/min) 3 min, 收集上清液供电泳分析。

SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳 吸取20 μL上述离心液作电泳分析。分离胶的浓度为10%, 浓缩胶的浓度为3%, 恒流 (25mA) 条件下电泳5~6 h。

电泳图谱扫描 用岛津ES-930型自动双波段扫描仪对电泳色谱带进行定量扫描分析。

2 试验结果

2.1 小麦开花后单粒干重和含水量的变化

由图1看出, 小麦开花后单粒干重随开花后日数增加而递增, 其变化呈S形曲线这与张晓龙的报道一致^[6]。小麦开花后单粒含水量随开花后日数增加而呈单峰曲线, 其变化与Rahman报道的一致^[7]。小麦开花后20d, 单粒含水量达到高峰, 这与小麦开花后第20天是籽粒灌浆的高峰期的报道相符^[8]。

2.2 小麦开花后含氮量的变化

从图2看出, 相对含氮量和单粒绝对含氮量随开花后日数的增加, 其变化趋势不同: 小麦开花7d之内, 相对含氮量随开花后日数增加而急剧降低 (从3.4%降至2.2%); 而单粒绝对含氮量变化很小。开花7d以后至种子成熟, 相对含氮量变化很小, 基本保

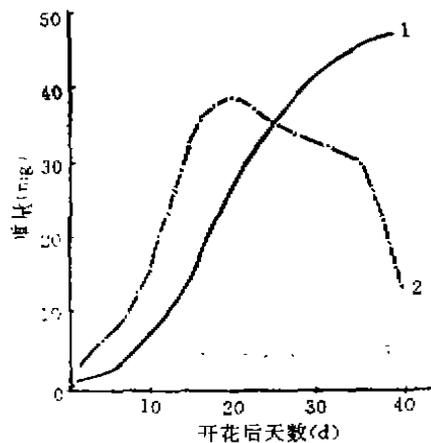


图1 小麦开花后单粒干重和含水量的变化

1. 干重 (mg/粒); 2. 水质 (mg/粒)

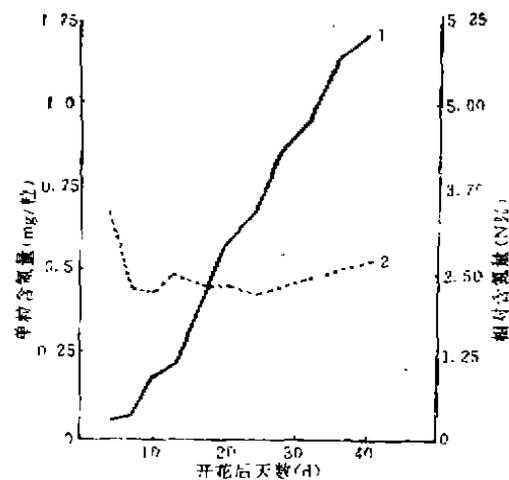


图2 小麦开花后含氮量的变化

1. 绝对含氮量 (N mg/粒); 2. 相对含氮量 (N%)

持在2.5%左右；但是单粒绝对含氮量却随开花后日数增加而呈直线上升。单粒绝对含氮量的变化与单粒干重的变化相一致。

2.3 小麦开花后氨基酸的变化

2.3.1 氨基酸成分的变化 图3展示出小麦开花后氨基酸成分的变化。单粒氨基酸总量随开花后日数增加而递增，这种变化与单粒绝对含氮量的增加相吻合；但是，从开花后第7天起，随开花后日数递增，不同类别氨基酸增加的幅度不同：非极性氨基酸（丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、蛋氨酸）和带负电荷的氨基酸（天门冬氨酸和谷氨酸）增加的幅度较大；极性氨基酸（甘氨酸、丝氨酸、苏氨酸、半胱氨酸、酪氨酸）和带正电荷的氨基酸（赖氨酸、精氨酸、组氨酸）增加的幅度较小。

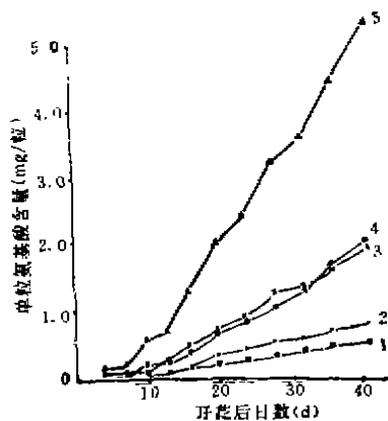


图3 小麦开花后单粒氨基酸成分的变化

1. 带正电荷的氨基酸；2. 极性氨基酸；3. 非极性氨基酸；
4. 带负电荷的氨基酸；5. 各种氨基酸含量之和

按 L.G.Scheve 法进行氨基酸分类

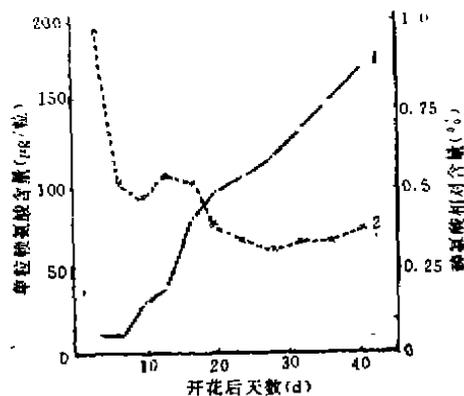


图4 小麦开花后籽粒赖氨酸含量的变化

1. 单粒赖氨酸含量 (μg/粒)；
2. 赖氨酸的相对含量 (%)

2.3.2 赖氨酸含量的变化 由图4可以看出：小麦开花后赖氨酸的变化与含氮量的变化（图2）趋势相符：开花7d内赖氨酸的相对含量变化很大，而赖氨酸绝对含量变化很小。开花7d以后至种子成熟，赖氨酸相对含量变化较小；而单粒赖氨酸绝对含量随开花后日数递增几乎呈直线上升。

2.4 小麦开花后麦谷蛋白的累积

图5和图6表明，小麦开花后第7天（7d）出现低分子量（LMW）麦谷蛋白（31~51 KD）；开花后第13天（13d）出现高分子量（HMW）麦谷蛋白（95~140 KD）；开花后28d是麦谷蛋白累积的高峰期；开花后36d麦谷蛋白累积数量达最大值。

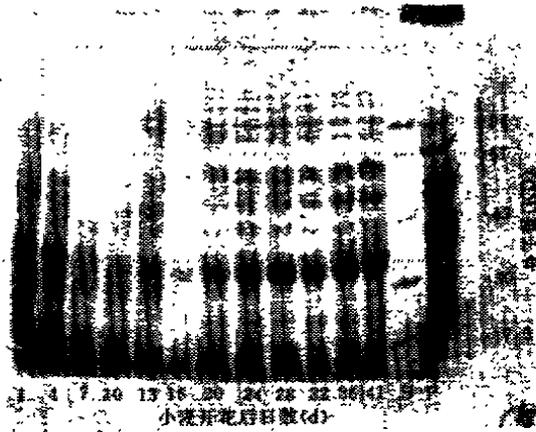


图5 小麦开花后种子贮藏蛋白质的SDS-PAGE
S. 标准分子量的蛋白质; P. 豌豆种子蛋白质(作对照)

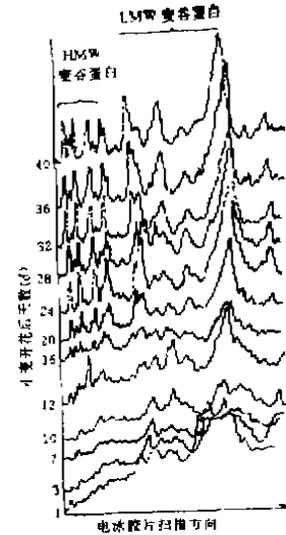


图6 小麦开花后不同日数种子贮藏蛋白质SDS-PAGE谱E带扫描图

3 讨论

3.1 小麦开花后氨基酸的代谢

本试验连续进行3年,测定结果相当接近。为排除气候等因素带来的微小差异,图1~4的数据采用3年测定结果的平均值。

小麦开花后,单粒干重、含氮量和氨基酸总量都随开花后日数递增而增加。但是,开花7d以后,不同类别氨基酸增加幅度不同:极性氨基酸随开花后日数递增而增加的幅度较小;非极性氨基酸增加的幅度较大。极性氨基酸中丝氨酸、半胱氨酸的羟基(-OH)与巯基(-SH)是一些酶分子中的活性基团。因此极性氨基酸随开花后日数递增而增加的幅度较小,这种变化与种子成熟时酶活性降低而进入休眠期的生理变化相吻合;非极性氨基酸的侧链基团是疏水的,这类氨基酸数量增加有利于蛋白质由溶胶脱水转变成凝胶的进程,这与种子成熟时的失水干燥过程相一致。

3.2 小麦开花后麦谷蛋白的累积

小麦开花7d后累积LMW麦谷蛋白,13d后累积HMW麦谷蛋白,这与7d后氨基酸成分的变化相适应。LMW麦谷蛋白基因位于染色体I的短臂上, HMW麦谷蛋白基因位于染色体I的长臂上^[9]。LMW麦谷蛋白的累积早于HMW麦谷蛋白,表明染色体I短臂上的基因比长臂上的基因优先转录表达。小麦开花后28d是麦谷蛋白累积的高峰期,此后累积速度下降,直至开花后36d麦谷蛋白累积量和种子干重达到最大值。这与前人的报道^[4,7,10-12]相一致。

3.3 小麦最佳收获期与小麦品质估价

早在60年代,著名植物生理学与生物化学家石声汉教授曾对小麦适期收获进行了研究,并提出小麦最佳收获期公式^[13]:

$$\text{收割日期} = D + mP - nS$$

D 为推算所得开花后的基本日数。

据本研究结果,小麦开花后36 d是麦谷蛋白累积的最大值,所以小麦收获的最佳时间是在开花36 d以后。麦谷蛋白直接决定小麦面筋的弹性和强度,如果过早收获,麦谷蛋白含量低,必然会影响小麦面粉的加工质量。因此,小麦开花后36 d就是石氏收割日期公式中的常数 D ,即 $D=36$ 。小麦开花后36 d,正是陕西关中平原收获小麦的6月上、中旬农忙季节。

参 考 文 献

- 1 赵文明. 小麦种子蛋白质结构与基因定位. 生命的化学, 1987, 7 (5): 8~9
- 2 赵文明. 小麦面筋蛋白质的种类及特性. 生命的化学, 1987, 7 (4): 37~39
- 3 NG W, Bushuk W. Glutenin of marque wheat as a referece for estimating molecular weight of glutenin subunits by Sodium Dodecyl Sulfate—Polyacrylamide Gel Electrophorsis. *Cereal Chem*, 1987, 64 (4): 324~327
- 4 Greene F. Expression of storage protein genes in developing wheat (*Triticum aestivum* L.) seeds. *Plant Physiol*, 1983 (71): 40~46
- 5 赵文明. 不同品种水稻种子贮藏蛋白质组成的差异. 实验生物学报, 1985, 18 (1): 110~122
- 6 张晓龙. 小麦品种籽粒灌浆研究. 作物学报, 1982, 8 (2): 87~93
- 7 Rahman S, Shewry P, Mifflin B. Differential protein accumulation during barley grain development. *J Experi Botany*, 1982, 33 (135): 717~728
- 8 单保山. 小麦不同品种灌浆特性的比较. 山东农业科学, 1987 (2): 10~13
- 9 Payne P, Holt L, Jarvis M *et al*. Two Dimensional fractionation of the endosperm proteins of bread wheat (*Triticum aestivum*), Biochemical and genetic studies. *Cereal Chem*, 1985, 62 (5): 319~326
- 10 Greene F, Anderson O, Litts J *et al*. Control of wheat protein biosynthesis. *Cereal Chem*, 1985, 62 (5): 398~406
- 11 Yamagata H, Sugimoto T, Tanaka K *et al*. Biosynthesis of storage proteins in developing rice seeds. *Plant Physiol*, 1982 (70): 1094~1100
- 12 Zhao W, Zhu X. Accumulation of the HMW glutenin during wheat grain development. *First APOCB Congress*, Shanghai, 1990
- 13 石声汉. 小麦分期收割试验. 西北农学院学报, 1980 (2): 83~88

Glutenin Accumulation During Wheat Grain Development

Zhao Wenming Zhu Xinchuan Wen Shuji Guan Qiulong

(Laboratory of Plant Molecular Biology, Northwest

Agricultural University, Yangling, Shaanxi)

Abstract SDS-PAGE analysis confirmed that LMW glutenin began to accumulate 7 days after flowering, HMW glutenin started to accumulate 13 days after flowering, the peak of glutenin accumulation was 28 days after flowering, but glutenin accumulation reached the maximum 36 days after flowering. Accordingly, glutenin of wheat grains can directly determine the elasticity and strength of gluten in wheat. Therefore, the optimum harvest date of winter wheat is 36 days after flowering. If harvested earlier, the glutenin contents in wheat can decrease, thus affecting the wheat processing quality.

Key words *Triticum aestivum*, grain, protein/glutenin accumulation, optimum harvest date