

## 钾对小麦旗叶蛋白水解酶活性和籽粒品质的影响

王旭东 于振文\* 王东

(山东农业大学 农业部小麦栽培生理与遗传改良重点开放实验室, 山东泰安 271018)

**摘要** 利用强筋冬小麦品种烟农 15 研究了钾素对小麦旗叶蛋白质含量和籽粒品质及有关酶活性的影响。结果表明, 钾素有利于提高灌浆前期和中期小麦旗叶中可溶性蛋白质和游离氨基酸的含量, 增强内肽酶和羧肽酶的活性, 促进籽粒中游离氨基酸转化为蛋白质, 提高籽粒中清蛋白、球蛋白、醇溶蛋白和谷蛋白的含量, 改善籽粒营养品质和加工品质; 同时, 提高了籽粒产量。文中还讨论了提高蛋白质各组分的措施及与营养品质和加工品质的关系和高产高效的施钾量。

**关键词** 小麦; 钾素; 酶活性; 品质; 产量  
**中图分类号**: S512 **文献标识码**: A

## Effect of Potassium on Flag Leaf Proteinases Activity and Kernel Quality in Wheat

WANG Xu-Dong YU Zhen-Wen WANG Dong

(Shandong Agriculture University, Key Laboratory of Wheat Cultivation Physiology & Genetic Improvement, Ministry of Agriculture of the People's Republic of China, Taian, Shandong 271018, China)

**Abstract** The effect of potassium on flag leaf protein content and kernel quality as well as enzyme activity in wheat was investigated using wheat cultivar Yannong 15 with strong gluten potential. Result suggested that potassium can increase soluble protein and free amino acid content, enhance the activities of endopeptidases and carboxypeptidase in wheat flag leaf during the early and medium stage of kernel filling, accelerate the translation of free amino acid to protein in kernel. Potassium also increased the contents of albumin, globulin, gliadin and glutenin in kernel, improved nutrition and process qualities, increased kernel yield. The improvement of protein components, the relationship between nutrition quality and process quality and the optimum amount of applied potassium were also discussed.

**Key words** Wheat; Potassium; Enzyme activity; Quality; Yield

研究证明, 小麦籽粒积累的氮素有 2/3 来自开花前营养器官贮存氮素的再分配<sup>[1-3]</sup>, 而叶片特别是旗叶是积累与贮存氮素的主要营养器官, 对籽粒蛋白质的贡献最大<sup>[1]</sup>。所以, 增加小麦开花前旗叶的蛋白质含量, 促进开花后旗叶中贮存氮素向籽粒中运转, 是改善小麦籽粒品质的一个途径。已有研究表明, 供钾充足可以促进小麦开花后植株对氮素的吸收<sup>[4]</sup>, 但是, 钾对小麦旗叶蛋白质含量和籽粒

品质及有关酶活性关系的研究尚少见报道。目前, 由于有机肥缺乏和生产者无施用钾肥的习惯, 占我国小麦种植面积 53% 的北方冬麦区和黄淮冬麦区麦田土壤钾素含量日益下降, 成为限制产量和降低品质的重要因素之一。从为生产服务的角度出发, 我们进行本文研究, 期望能为制定小麦优质高产栽培技术提供理论依据。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (39970425)

作者简介: 王旭东 (1976-), 女, 山东邹平人, 在读博士生, 研究方向为作物优质高产生理。  
Received on (收稿日期): 2001-09-13, Accepted on (接受日期): 2002-01-31

\* 通讯作者

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

试验于 1998~1999 年在山东农业大学试验农场进行。试验地 0~20 cm 土层土壤有机质 14.4 g/kg, 水解氮 103.17  $\mu\text{g/g}$ , 速效磷 45.16  $\mu\text{g/g}$ , 速效钾 78.17  $\mu\text{g/g}$ 。供试品种为强筋冬小麦品种烟农 15。设置 4 个钾素水平处理, 每  $\text{hm}^2$  施  $\text{K}_2\text{O}$  为 0 kg、112.5 kg、168.75 kg、225 kg, 分别为处理 1(对照)、2、3、4, 以  $\text{K}_0$ 、 $\text{K}_1$ 、 $\text{K}_2$ 、 $\text{K}_3$  表示。钾肥为  $\text{KCl}$ , 作基肥一次性施入。每  $\text{hm}^2$  施氮素 120 kg、 $\text{P}_2\text{O}_5$  172.5 kg 作基肥, 于雌雄蕊原基分化期(拔节期)结合浇水每  $\text{hm}^2$  施氮素 120 kg, 不施有机肥以消除其中钾的影响。小区面积 2m  $\times$  6m, 随机区组排列, 3 次重复。1998 年 10 月 11 日播种, 基本苗每  $\text{m}^2$  120 株, 其它管理措施同丰产田。开花期选择同日开花的单茎挂牌标记, 以供取样。

### 1.2 测定方法

1.2.1 可溶性蛋白质含量的测定 按 Bradford<sup>[5]</sup>的方法。

1.2.2 叶片内肽酶和羧肽酶活性的测定 参照 Vernon<sup>[6]</sup>和吴光南<sup>[7]</sup>的方法。

酶液的提取 1g 叶片加 5 mL pH 7.5、50 mmol/L 的 Tris-HCl 缓冲液(含 4 mmol/L DTT, 1 mmol/L EDTA, 1% PVP)和少量石英砂冰浴中研磨, 然后 15000  $\times$  g 离心 30 min(4 $^\circ\text{C}$ ), 所用离心机为美国 Beckman 公司产 Avanti30 高速冷冻离心机, 下同。上清液用于酶活力测定。

内肽酶活性的测定 酶反应体系由以下组分组成, 100 mmol/L 醋酸缓冲液(pH = 4.8) 0.4 mL, pH = 4.8 的醋酸缓冲液溶解的 0.05 mol/L 牛血红蛋白 0.2 mL, 酶液 0.4 mL。混合反应液于 38 $^\circ\text{C}$  保温 1 小时, 然后加 1 mL 10% 的三氯乙酸终止反应(对照管则在反应前加入三氯乙酸), 4 $^\circ\text{C}$  静止 30 min, 4000  $\times$  g 离心 10 min, 上清液用于茚三酮反应, 用日本产 UV-160A 分光光度计在 570 nm 下测吸光率。

羧肽酶活性的测定 以马脲酰-L-苯丙氨酸代替牛血红蛋白作基质(马脲酰-L-苯丙氨酸同样用缓冲液配制, 浓度为 0.3%, 用量为 0.2 mL), 其余均同内肽酶测定。

1.2.3 游离氨基酸的测定 用茚三酮法<sup>[8]</sup>。

1.2.4 籽粒蛋白质含量的测定 用国标

GB 2905-82 半微量凯氏法<sup>[8]</sup>, 氮的含量测出后, 乘以 5.7 即为蛋白质含量。

1.2.5 蛋白质组分的测定 参照何照范的方法<sup>[8]</sup>。称取样品 0.5g 置于研钵中, 按照清蛋白、球蛋白、醇溶蛋白和谷蛋白的顺序提取。清蛋白的提取: 加 2 mL 蒸馏水充分研磨后移入离心管, 振荡 30 min, 3000  $\times$  g 离心 15 min 取上清液。连续提取 3 次后, 并入 50 mL 容量瓶待测。球蛋白、醇溶蛋白和谷蛋白的提取液分别为 10% 的 NaCl、70% 的乙醇和 0.2% 的 NaOH, 提取过程同清蛋白。在各提取液中取适量用半微量凯氏法测定蛋白质含量。

1.2.6 沉降值 用中国农业大学产 BAU-A 型沉降值仪, 依据国标 GB/T 14608-93 进行测定。

1.2.7 湿面筋含量 用瑞典产 Z200 型洗涤仪依据国标 GB/T 14608-93 进行测定。

1.2.8 面团稳定时间 用德国 Brabender 公司生产的粉质仪(型号为 810106002)作面团粉质图, 然后计算面团稳定时间。

1.2.9 农艺性状调查 收获时调查产量构成因素并实收计产。

## 2 结果与讨论

### 2.1 旗叶可溶性蛋白质和游离氨基酸的变化

从图 1 可以看出, 小麦旗叶中可溶性蛋白质含量自挑旗期开始持续下降, 花后 14 天之前各施钾处理旗叶中可溶性蛋白质含量显著高于对照(LSD,  $P = 0.05$ ), 以处理 2 可溶性蛋白质含量最高, 开花 14 天之后分解速率加快, 说明其向籽粒大量转移, 处理之间差异变小。

小麦旗叶中游离氨基酸总量变化趋势呈马鞍状。各施钾处理, 在开花 7 天之前, 旗叶中游离氨基酸总量显著高于对照(LSD,  $P = 0.05$ ), 之后随着向籽粒的运转, 含量低于对照, 说明钾促进了旗叶中可溶性蛋白质降解为游离氨基酸, 并促进其向籽粒的运转。

Barnes(1993)指出<sup>[9]</sup>, 小麦籽粒中含氮量受到叶片中氮的输出比例的限制, 而不是籽粒内部机制的限制。张国平则认为, 高钾处理的植株茎内含氮量低的主要原因是钾促进了氮的转运<sup>[10]</sup>。而本试验中施钾提高了旗叶中可溶性蛋白质的含量, 并促进其输出, 对提高籽粒蛋白质含量是有利的。钾素在植株体内主要以离子态存在, 是许多酶的活化剂, 特别是能够促进植株对氮的吸收和同化, 这是钾素

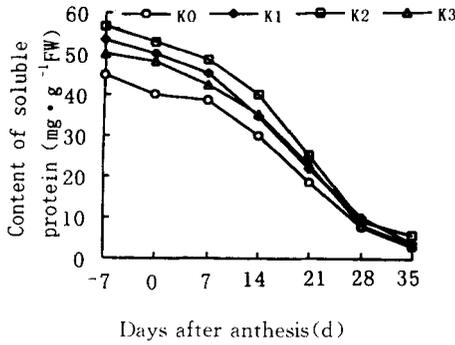


图1 旗叶可溶性蛋白质含量的变化  
Fig 1 Changes of soluble protein content in flag leaf

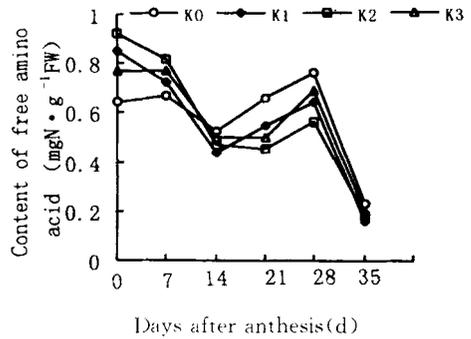


图2 旗叶游离氨基酸含量的变化  
Fig 2 Changes of free amino acid content in flag leaf

能够提高小麦旗叶中可溶性蛋白质含量的主要原因之一。

### 2.2 旗叶内肽酶和羧肽酶活性的变化

内肽酶和羧肽酶是植物叶片中的蛋白水解酶<sup>[11]</sup>。内肽酶一方面能促进正常细胞中蛋白质的转移及增强酶原活力,另一方面在组织衰老期间促进蛋白质降解,其降解产物是籽粒氮素的重要来源<sup>[12]</sup>;羧肽酶则是将短肽从C端水解下氨基酸残基的蛋白水解酶。叶片中氮的调运主要受能够水解蛋白质和释放氨基酸的蛋白水解酶的作用<sup>[1]</sup>。

图3表示,旗叶中内肽酶活性自开花期上升,花后28天达到峰值后迅速下降。各施钾处理,开花期旗叶内肽酶活性低于对照(LSD,  $P = 0.05$ ,下同),开花7天之后高于对照,有利于蛋白质降解。

与内肽酶活性变化趋势不同,图4旗叶羧肽酶活性自挑旗至开花期略有上升,之后缓慢下降,花后21天之后速降。施钾显著提高了羧肽酶活性,有利于促进旗叶中由内肽酶水解形成的短肽进一步降解为游离氨基酸。

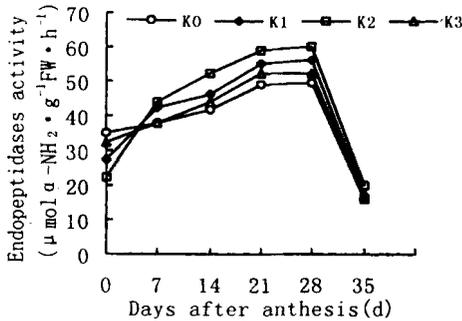


图3 旗叶内肽酶活性的变化  
Fig 3 Changes of endopeptidases activity in flag leaf

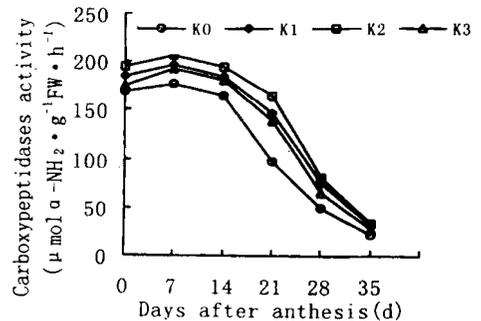


图4 旗叶羧肽酶活性的变化  
Fig 4 Changes of carboxypeptidases activity in flag leaf

### 2.3 籽粒游离氨基酸和蛋白质含量的变化

从图5可以看出,在开花后7天,施钾处理的籽粒游离氨基酸含量极显著高于对照(LSD,  $P = 0.01$ ),之后随着游离氨基酸转化为蛋白质的速率加快(图6),施钾处理与对照的差异变小,但是施钾处理籽粒蛋白质含量却显著高于对照。

### 2.4 籽粒蛋白质各组分含量的变化

从表1可以看出,籽粒中清蛋白和球蛋白的含量在开花后7天最高,之后逐渐下降,说明这两种蛋白质的合成期在开花后7天之内,施钾处理的籽粒清蛋白和球蛋白的含量高于对照。醇溶蛋白和谷蛋白的合成晚于清蛋白和球蛋白,醇溶蛋白在开花

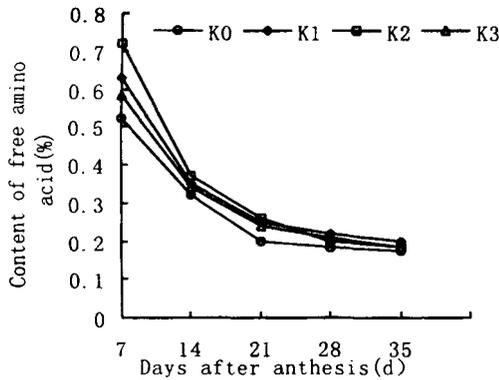


图5 籽粒游离氨基酸总量的变化

Fig 5 Changes of total free amino acid content in grains

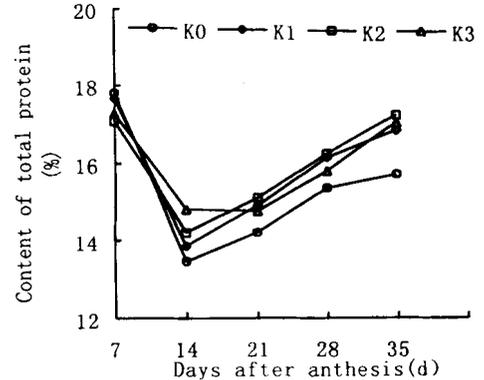


图6 籽粒蛋白质总量的变化

Fig 6 Changes of total protein content in grains

表1 籽粒蛋白质各组分含量的变化

Table 1 Changes of protein component content in kernel (%)

蛋白质组分 Protein component	处理 Treatment	开花后天数 Days after anthesis				
		7	14	21	28	35
清蛋白 Albumin	K0	7.82 c	5.82 a	3.81 b	2.78 a	2.04 b
	K1	8.02 b	4.98 b	3.98 a	2.76 a	2.12 ab
	K2	8.25 a	4.62 c	4.07 a	2.85 a	2.25 a
	K3	8.13 b	4.56 c	4.01 a	2.75 a	2.15 ab
球蛋白 Globulin	K0	5.75 b	4.18 c	2.79 a	1.68 c	0.90 b
	K1	5.92 a	4.37 a	2.92 a	1.78 b	0.98 a
	K2	5.95 a	4.37 a	2.95 a	1.85 a	1.03 a
	K3	5.88 ab	4.28 b	2.83 a	1.75 b	0.93 b
醇溶蛋白 Gliadin	K0	-	1.78 a	2.35 c	3.85 c	5.05 c
	K1	-	1.85 a	2.87 a	4.14 a	5.87 a
	K2	-	1.92 a	2.56 b	4.02 b	5.45 b
	K3	-	1.88 a	2.62 b	4.15 a	5.66 b
谷蛋白 Glutenin	K0	1.65 a	3.87 c	5.52 b	6.31 c	6.92 c
	K1	1.69 a	4.23 a	5.62 b	6.47 b	7.23 b
	K2	1.72 a	4.17 a	5.85 a	6.58 a	7.88 a
	K3	1.66 a	4.02 b	5.75 a	6.54 a	7.25 b

注: 相同的字母代表处理间差异没有达到5%显著水平, 下同。

Note: Differences between means with same letters are not significant at 5% level, the same below.

后7天时检测不到, 花后14天开始增加。施钾处理增加了醇溶蛋白和谷蛋白的含量。研究表明, 栽培措施特别是增施氮肥主要增加了贮藏蛋白即醇溶蛋白和谷蛋白的含量, 对结构蛋白即清蛋白和球蛋白的影响很小<sup>[13, 14]</sup>。而本试验中K<sub>2</sub>处理与对照相比, 对清、球、醇溶和谷蛋白的增加幅度分别为10.42%、14.4%、17.92%和13.84%, 说明钾素能够协调提高4种蛋白质的含量, 使营养品质和加工品质均得到提高。

清蛋白和球蛋白富含赖氨酸, 醇溶蛋白和谷蛋白富含谷氨酰胺, 含赖氨酸较少。提高清蛋白和球蛋白在总蛋白中的比例, 有利于改善营养品质; 提高醇溶蛋白和谷蛋白的比例, 有利于改善加工品质<sup>[15]</sup>。刘广田(2000)指出, 我国小麦品质改良的方向, 不是提高籽粒蛋白质含量, 而是改善和提高小麦加工品质<sup>[16]</sup>。本文施钾处理提高了籽粒醇溶蛋白和谷蛋白的含量, 对于改善小麦的加工品质是有利的。如何利用栽培措施, 提高籽粒中清蛋白和球蛋白在总蛋白中所占的比例, 改善营养品质; 或者提高醇溶蛋白和谷蛋白在总蛋白中所占的比例, 改善加工品质, 以满足对小麦不同品质用途的需要, 是进一步研究的课题。

### 2.5 钾对籽粒品质、产量和钾素增产效率的影响

由表2可以看出, 施钾提高了小麦湿面筋含量、沉降值和面团稳定时间, 增加了籽粒产量。还可以看出, 施钾最多的K<sub>3</sub>处理品质与产量不是最优的, 钾素增产效率也不高, 说明施钾过多, 并不能协调优质、高产、高效的关系, 生产中应切实注意。

过去对于生产中小麦的施肥问题上, 只注重产量的提高, 因此存在着重氮轻钾倾向。而研究表明, 在高氮条件, 缺钾使蛋白质合成及含氮化合物的转运受阻, 氮代谢失调<sup>[10]</sup>。因此, 为了在提高产量的同时, 使蛋白质含量进一步提高, 必须提高钾肥的比例。在本试验地力条件下, 认为在氮肥总量为240 kg 纯氮/hm<sup>2</sup>前提下, 优质、高产、高效的施钾量为每hm<sup>2</sup>施168.75 kg左右K<sub>2</sub>O, 即适宜的NK比例为1.07左右。钾在植物体中是以离子态存在的, 了解钾素对小麦籽粒清蛋白、球蛋白、醇溶

表 2 不同施钾处理对小麦籽粒品质、产量和钾素增产率的影响

Table 2 Effects of different treatment on kernel quality, kernel yield, and yield increasing rate of potassium

处理 Treatment	湿面筋 Wet gluten (%)	沉降值 Sedimentation (mL)	面团稳定时间 Stability time (min)	籽粒产量 Kernel yield (kg/hm <sup>2</sup> )	钾素增产率 Yield increasing rate of potassium (kg/kg K <sub>2</sub> O)
K <sub>0</sub>	40.75 c	38.25 b	8.0 b	7322.40 c	-
K <sub>1</sub>	42.56 a	42.18 a	8.5 ab	7958.85 b	5.6 b
K <sub>2</sub>	42.38 a	43.65 a	9.0 a	8237.40 a	6.3 a
K <sub>3</sub>	41.93 b	41.74 a	8.1 b	8137.70 a	3.6 c

\*: 钾素增产率 = [(施钾处理产量 - 对照产量) / 施 K<sub>2</sub>O 数量] × 100%

\*: Yield increasing rate of potassium = [(yield with potassium - control yield) / applied K<sub>2</sub>O amount] × 100%

## 蛋白和谷蛋白的调节机制, 对改善小麦品质有重要意义。

### References

- [1] Dalling M J, Boland G, Wilson J H. Relation between acid proteinase activity and redistribution of nitrogen during grain development. *Aust Plant Physiol*, 1976, 3: 721~ 730
- [2] Zhang Q-J (张庆江), Zhang L-Y (张立言), Bi H-W (毕桓武). The Absorption, accumulation and translocation of nitrogen and their relationships to grain protein content in spring wheat variety. *Acta Agronomica Sinica* (作物学报), 1997, 23(6): 712~ 718
- [3] Zhang Q-J (张庆江), Zhang L-Y (张立言), Bi H-W (毕桓武). Accumulation and distribution of carbohydrate and nitrogen and their relationships to grain protein in wheat. *Acta Agronomica Sinica* (华北农学报), 1996, 11(3): 57~ 62
- [4] Yu Z-W (于振文), Zhang W (张炜), Yu S-L (余松烈). The effect of potassium nutrition on absorption and distribution of nutrient, yield formation and grain quality in winter wheat. *Acta Agronomica Sinica* (作物学报), 1996, 22(4): 441~ 447
- [5] Bradford, M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein using the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*, 1976, 72: 248~ 254
- [6] Vernon A W. Ribulose biphosphate carboxylase and protolytic activity in wheat leaves from anthesis through senescence. *Plant Physiol*, 1979, 64: 884~ 887
- [7] Wu G-N (吴光南), Liu B-R (刘宝仁), Zhang J-Y (张金瑜). Proteinase in rice leaves—some chemical and physical properties and activities in relation to senescence. *Jiangsu Journal of Agricultural Science* (江苏农业学报), 1985, 1(1): 1~ 10
- [8] He Z-F (何照范). *A Analysis Technique for Grain Quality of Cereals and Oils* (粮油籽粒品质及其分析技术). Beijing: Agricultural Publishing House, 1985. 31~ 41, 57~ 59
- [9] Barneix A J, Guzman M R. Leaf regulation of the nitrogen concentration in the grain of wheat. *Plant J Exp Bot*, 1993, 44(287): 1607~ 1612
- [10] Zhang G-P (张国平). Effect of potassium on nitrogen metabolism and grain yield in winter wheat. *Acta Agronomica Sinica* (浙江农业大学学报), 1985, 11(4): 463~ 472
- [11] Barrett A J. The many forms and functions of cellular proteinase. *Fed Proc*, 1980, 39: 9~ 14
- [12] Fernando Domínguez, Francisco J Cejudo. Characterization of the endoproteases appearing during wheat grain filling. *Plant Physiol*, 1996, 112: 1211~ 1217
- [13] Zhang B-J (张保军), Mu W-H (穆婉红), Yang D-M (杨冬梅) et al. Effect of nitrogen application amount on grain protein content and protein fractin of different gene-type wheat. *Acta Agronomica Sinica* (西北农业大学学报), 2000, 28(6): 61~ 64
- [14] Yang G-H (杨根海), Zhang Q-G (张起刚), Chen Y-L (陈佑良) et al. Studies on wheat quality using nitrogen-15. II. Influence of late-stage application of N-fertilizer on grain quality and protein fractins contents of winter wheat. *Acta Agronomica Sinica* (北京农业大学学报), 1986, 12(4): 395~ 399
- [15] Yang X-J (杨学举), Lu S-Y (卢少源), Zhang R-Z (张荣芝). Relationships between protein groups and bread-baking quality characters of wheat. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association* (中国粮油学报), 1999, 14(1): 1~ 5
- [16] Liu G-T (刘广田), Li B-Y (李保云). The inheritance and improvement of quality traits in common wheat. *Journal of Agricultural Biotechnology* (农业生物技术学报), 2000, 8(4): 307~ 314