

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2011.01060

氮硫肥配施对小麦籽粒谷蛋白大聚合物含量及粒度分布的影响

蔡铁 王振林* 尹燕萍 李勇 陈晓光 王平 陈二影 郭俊祥
倪英丽 杨卫兵

作物生物学国家重点实验室 / 山东农业大学, 山东泰安 271018

摘要: 以优质小麦品种山农 15 为材料, 研究了氮硫肥配施对小麦籽粒谷蛋白大聚合物(GMP)含量、高分子量谷蛋白亚基(HMW-GS)含量、低分子量谷蛋白亚基(LMW-GS)含量和谷蛋白大聚合物(GMP)粒度分布的调控效应。结果表明, 在一定范围内, 增施氮肥可提高籽粒 GMP 含量、HMW-GS 含量和 LMW-GS 含量。增施硫肥对籽粒 GMP 含量无显著影响, 但降低了 HMW-GS 含量和 D 区 LMW-GS 含量, 提高了 B 区和 C 区 LMW-GS 含量。增施氮肥和硫肥均降低小粒径($d < 12 \mu\text{m}$) GMP 颗粒体积和表面积百分比, 提高大粒径($d \geq 12 \mu\text{m}$) GMP 颗粒体积百分比和表面积百分比, 但对 GMP 颗粒数目百分比无显著影响。相关性分析显示, C 区 LMW-GS 含量与小粒径 GMP 颗粒体积百分比和表面积百分比均呈显著负相关。说明增施氮肥能改变籽粒 GMP 的绝对含量, 增施硫肥却改变籽粒 GMP 亚基的相对含量。增施氮肥和硫肥对大粒径 GMP 颗粒的体积及表面积分布均有正向效应; LMW-GS, 特别是 C 区 LMW-GS 在大粒径 GMP 颗粒形成中起重要作用。

关键词: 小麦; 氮肥; 硫肥; HMW-GS; LMW-GS; 谷蛋白大聚合物(GMP)粒度分布

Combined Effects of Nitrogen and Sulphur Fertilization on Content and Size Distribution of Glutenin Macropolymer in Wheat Grain

CAI Tie, WANG Zhen-Lin*, YIN Yan-Ping, LI Yong, CHEN Xiao-Guang, WANG Ping, CHEN Er-Ying, GUO Jun-Xiang, NI Ying-Li, and YANG Wei-Bing

National Key Laboratory of Crop Biology / Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China

Abstract: The content and size distribution of glutenin macropolymer (GMP) play key roles in grain quality of wheat (*Triticum aestivum* L.). The aims of this study were to analyse the relationship between the content and size distribution of GMP and evaluate combined effects of nitrogen and sulphur fertilization on the content and size distribution of GMP in wheat grain. In the study, Shannong 15 was used in a field experiment with three nitrogen (N) application levels (120, 240, and 360 kg ha⁻¹) and three sulphur (S) application levels (0, 60, and 90 kg ha⁻¹). HMW-GS and LMW-GS were firstly separated using the sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE), and each of the subunits was then extracted before quantitative measurement by colorimetric analysis. The result showed that, in certain ranges, contents of GMP, HMW-GS, and LMW-GS were significantly increased with more application of nitrogen fertilizers. The increasing application of sulphur showed no significant effect on GMP content, but reduced contents of HMW-GS and D-LMW-GS and promoted contents of B-LMW-GS and C-LMW-GS. The content of small GMP particle (diameter less than 12 μm) was significantly reduced with the increase of nitrogen and sulphur fertilization, and the content of large GMP particle (diameter no less than 12 μm), tended to increase with the increase of nitrogen application and sulphur application. However, the distribution of GMP particle number was not affected by the nitrogen and sulphur treatments. According to correlation analysis, C-LMW-GS content was negatively correlated with the content of small GMP particle. These results suggested that increasing nitrogen application had the effect on the absolute content of GMP, while increasing sulphur application affected relative content of GMP. Nitrogen and sulphur fertilization have positive modulation on the content of large GMP particle, and C-LMW-GS plays an important role in the development of large GMP particle.

本研究由国家自然科学基金项目(30871477), 国家重点基础研究发展计划(973 计划)项目(2009CB118602)和国家公益性行业(农业)科研专项(200803037)资助。

* 通讯作者(Corresponding author): 王振林, E-mail: zlwang@sdau.edu.cn, zlwangsd@sina.com, Tel: 0538-8241359

第一作者联系方式: E-mail: sdauct@126.com

Received(收稿日期): 2010-11-15; Accepted(接受日期): 2011-03-08.

Keywords: Wheat; Nitrogen fertilizer; Sulphur fertilizer; HMW-GS; LMW-GS; Glutenin macropolymer size distribution

麦谷蛋白是小麦贮藏蛋白的主要成分之一,以聚合体蛋白形式存在,其中不溶于 SDS 且分子量较大的聚合体称为谷蛋白大聚合体(glutenin macropolymer, GMP)。GMP 在面团形成过程中发挥重要作用^[1-2],与面团和面时间、面团形成时间、面团稳定时间和面团最大抗拉伸阻力等面团流变学特性指标呈显著正相关^[3],决定着面粉的烘焙品质^[4]。GMP 由高、低分子量谷蛋白亚基(HMW-GS 和 LMW-GS)组成,其中 HMW-GS 主要影响面筋强度^[5],LMW-GS 主要与面团的延展性相关^[2,6]。谷蛋白大聚合体在小麦胚乳中以球形颗粒结构存在^[7-9],谷蛋白聚合体的粒度分布影响面粉烘焙性状^[10],从而决定小麦品质^[11]。

小麦籽粒中 GMP 的含量和谷蛋白聚合体的粒度分布受遗传控制,栽培环境对其又有显著影响^[12]。Gupta 等^[3]认为 GMP 含量主要受两个因素制约,一是 HMW-GS 和 LMW-GS 的表达量及二者的相对比例,二是各亚基的分子量大小及其结构。Weegels 等^[13]发现,当 HMW-GS 的相对含量增加时,谷蛋白聚合体的分布向较大方向偏移,GMP 含量提高。Popineau 等^[14]研究表明,以 2+12 亚基替换 5+10 亚基虽不影响总谷蛋白含量和各亚基含量,但降低了 GMP 含量。Zhu 等^[15-16]报道,施氮能改变谷蛋白亚基间的比例,有利于 HMW-GS 的积累,增加 GMP 的含量。GMP 由 HMW-GS 和 LMW-GS 通过二硫键连接并聚合而成,二硫键是一类在蛋白质多肽链的两个半胱氨酸之间形成的共价键。Byers 等^[17]研究表明,施硫可提高籽粒中半胱氨酸的含量;Wrigley 等^[18-19]发现硫缺乏导致小麦贫硫蛋白 HMW-GS 成比例增加,同时富硫蛋白 LMW-GS 成比例减少;Zhao 等^[20]报道施硫不直接影响籽粒蛋白质的浓度,而趋向于增加聚合体蛋白质的比例。但施硫如何影响谷蛋白大聚合体及其亚基,目前尚不清楚。梁荣奇等^[21]认为仅靠蛋白质组份含量和 HMW-GS 组成进行品质评价并不全面,结合谷蛋白聚合体的含量和粒度分布进行评价才能更加准确可靠。GMP 是小麦籽粒中最重要的谷蛋白聚合体,因而研究 GMP 的含量和粒度分布及栽培调控效显得尤为必要。已有学者从土壤质地、施肥及外施激素等方面开展了籽粒 GMP 含量及粒度分布的研究^[22-24],但在氮硫配施条件下 GMP 含量和粒度分布的变化以及 GMP 及

其亚基含量与 GMP 粒度分布的关系,迄今了解尚少。为此,本试验以优质小麦品种山农 15 为材料,研究了氮硫配施对小麦籽粒 GMP 含量、HMW-GS 含量、LMW-GS 含量和 GMP 粒度分布的影响及籽粒 HMW-GS 含量、LMW-GS 含量与 GMP 粒度分布的关系,以期阐明氮硫配施对小麦品质形成的调控效应与机制,为小麦优质栽培提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验设计

选用优质小麦品种山农 15,于 2008—2010 年生长季种植于山东农业大学泰安实验农场。实验地耕层(0~20 cm)土壤含有机质 12.3 g kg⁻¹、全氮 0.91 g kg⁻¹、碱解氮 87.2 mg kg⁻¹、速效磷 18.6 mg kg⁻¹、速效钾 57.5 mg kg⁻¹、有效硫 18.91 mg kg⁻¹。前茬玉米秸秆全部粉碎还田。两年播种期均为 10 月 10 日。基本苗为每公顷 180 万株,行距 0.25 m,小区面积为 3 m×3 m=9 m²,3 次重复。收获期分别为 2009 年 6 月 7 日和 2010 年 6 月 10 日。2 年试验小麦植株开花到成熟的时间均为 35 d。从播种出苗到成熟收获,小麦植株生育正常。

采用二因素随机区组设计,主区为氮肥处理,设 120(N120)、240(N240)和 360 kg hm⁻² (N360) 3 个纯氮施用量水平;副区为硫肥处理,设 0(S0)、60(S60)和 90 kg hm⁻² (S90) 3 个纯硫施用量水平。所有处理均施磷肥(以 P₂O₅ 计) 75 kg hm⁻² 和钾肥(以 K₂O 计) 120 kg hm⁻²。氮、磷、钾、硫肥分别为尿素、磷酸二铵、氯化钾和硫磺粉,磷、钾、硫肥全部底施,氮肥 50%底施,50%拔节期(雌雄蕊原基分化期)结合浇水追施。其他管理措施同一般大田。

在小麦成熟期,每小区随机选取 1 m² 收获所有穗,剥取籽粒,70℃烘干至恒重,磨粉,用于室内分析。

1.2 GMP 测定方法

采用 Weegels 等^[25]和孙辉等^[10]的方法测定 GMP 含量,稍作改进。0.05 g 全麦粉加 1.5% SDS 提取液 1 mL,常温下 15 500×g 离心 15 min,弃上清液,用双缩脲法测定残余物中氮含量作为 GMP 的近似值。

参照梁荣奇等^[21]的方法提取 HMW-GS 和 LMW-GS。沉淀(GMP)中加入 200 μL 样品缓冲液(含 62.5 mmol L⁻¹ Tris-HCl, pH 6.8, 20%丙三醇, 5% SDS, 1%DTT), 60℃水浴振荡 1 h, 10 000×g 离心 10 min,

上清液用于 SDS-PAGE 电泳(DYY-22A 型电泳装置, 北京六一仪器厂生产)。分离胶浓度 10%, 浓缩胶浓度 4%, 胶厚 1 mm, 20 个上样孔, 每个样品点样 15 μ L, 每板电流 15 mA。电泳结束后, 用 0.05%考马斯亮蓝 R250 染色 24 h, 然后用蒸馏水脱色 2 d。

采取切胶比色法^[16]进行 HMW-GS 和 LMW-GS 定量。将脱过色的胶放入白瓷盘中, 在日光灯下用刀片从凝胶上切下染上色的蛋白质条带, 置玻璃试管中, 加入 1 mL 含有 3% SDS 的 50%异丙醇, 用封口膜封口, 37℃水浴中静置 24 h 提取 HMW-GS 和 LMW-GS, 于 595 nm 下测定提取液吸光值。用不同点样量的标准蛋白(116 kD)做标准曲线, 计算各样品 HMW-GS 和 LMW-GS 含量, 以各次电泳结果的平均值作为该样品 HMW-GS 和 LMW-GS 含量。

在预备试验中, 我们以中国春(null, 7+8, 2+12)、Marquis (1, 7+9, 5+10)和济南 17 (1, 7+8, 4+12) 为对照, 确定山农 15 的 HMW-GS 类型为(1, 7+8, 4+12)。

参照 Don 等^[26]的方法提取 GMP 凝胶。称取 1.4 g 样品, 放入 50 mL 离心管, 加 1.5% SDS 溶液 28 mL, 混匀, 80 000 \times g 离心 30 min。取上层蛋白质凝胶 1 g 放入 10 mL 离心管, 加 1.5% SDS 溶液 5 mL, 混匀。

用 LS 13320 激光衍射粒度分析仪(Beckman Coulter, 美国)分析 GMP 粒度。

1.3 统计分析

2 年试验结果趋势一致, GMP 含量采用 2 年数据, GMP 亚基采用 2008—2009 年度数据, GMP 粒度分布为两年数据的平均值(对两年的试验结果进行方差分析, $F=3.20$, $P>0.05$, 数据一致性较好, 故将 2 年数据合并分析)。采用 Microsoft Excel 2003 和 DPS (Data Processing System)软件进行数据处理和统计分析。贡献率(%) = $SS_{\text{变因}} \times 100\% / (SS_{\text{总}} - SS_{\text{误差}} - SS_{\text{区组}})$ ^[27], 方差分析用随机区组试验设计分析方法, 用 Duncan's 新复极差(SSR)法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 氮硫肥配施对 GMP 及其亚基含量和粒度分布的贡献率

方差分析表明, 施氮对 GMP 含量、HMW-GS 含量、LMW-GS 含量、GMP 粒度分布的影响均达极显著水平; 施硫对 HMW-GS 含量、LMW-GS 含量、GMP 粒度分布的影响均达显著水平; 硫肥和氮肥互作对 HMW-GS 含量、LMW-GS 含量的影响达极显著水平(表 1)。

表 1 氮硫肥配施对小麦籽粒 GMP 及其亚基含量和 GMP 粒度分布的影响

Table 1 Effect of nitrogen (N) and sulphur (S) combination on contents of GMP and its subunits and distribution of GMP size in wheat

变因 Factor	GMP 含量 GMP content		HMW-GS 含量 HMW-GS content		LMW-GS 含量 LMW-GS content		粒度分布 Size distribution	
	F 值	贡献率	F 值	贡献率	F 值	贡献率	F 值	贡献率
	F-value	Contribution (%)	F-value	Contribution (%)	F-value	Contribution (%)	F-value	Contribution (%)
N	80.60**	95.48	386.01**	74.49	484.19**	69.27	37.86**	80.49
S	1.82	2.15	27.52*	5.29	23.33*	3.34	7.17*	15.25
N \times S	3.11	2.37	52.21**	20.13	95.71**	27.39	1.07	4.25

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

3 种变因中, 对 GMP 及其亚基含量的贡献率由大到小依次是施氮量、氮硫互作和施硫量, 而对 GMP 粒度分布的影响因素由大到小依次是施氮量、施硫量和氮硫互作(表 1)。说明施氮量是小麦籽粒 GMP、HMW-GS 和 LMW-GS 含量及 GMP 粒度分布的主要调控因素, 除施硫量对 GMP 粒度分布的直接调控效应较大外, 硫肥的效应主要通过和氮肥的互作来表现。

2.2 氮硫肥不同配施用量对 GMP 含量的影响

GMP 含量随施氮量的增加而提高, 中氮(N240)和高氮处理(N360)比低氮处理(N120)显著提高山农 15 的 GMP 含量, 但中氮(N240)与高氮处理(N360)

的 GMP 含量无显著性差异(图 1)。表明适量施氮可以明显提高 GMP 含量, 过量施氮对提高 GMP 含量无显著效果。在不同氮水平下施硫, 对 GMP 含量的影响规律性不明显, 且处理间差异不显著; 又结合表 1 中 F 值, 得出硫肥及氮硫互作对 GMP 含量均无显著影响。

2.3 氮硫肥不同配施用量对 HMW-GS 含量的影响

从表 2 中 P 值可以看出, 氮、硫对总 HMW-GS 和不同位点亚基含量的影响基本相同, 氮、氮硫互作对各位点亚基和总 HMW-GS 含量有显著影响, 硫仅对 7 亚基无显著性影响。总 HMW-GS 含量随施氮

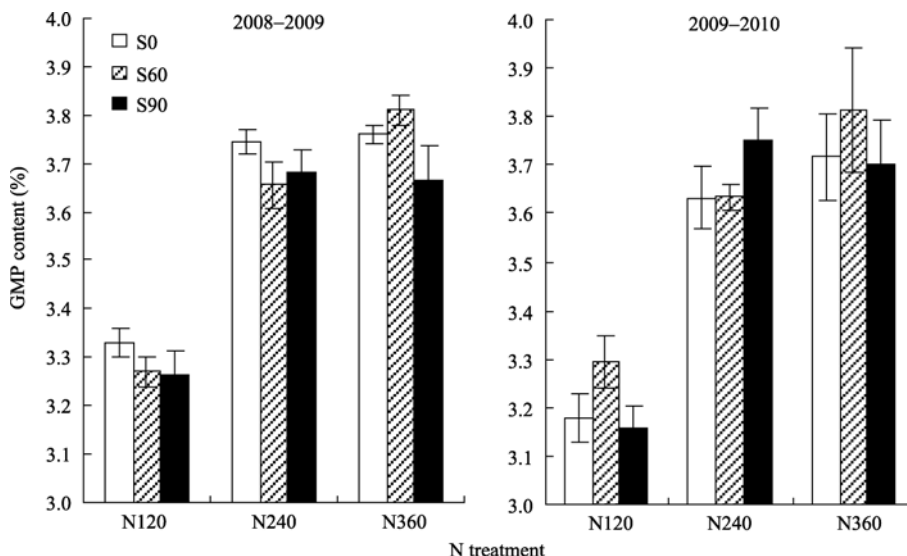


图 1 氮素和硫素对小麦籽粒 GMP 含量的影响

Fig. 1 Effects of nitrogen and sulphur treatments on GMP content in wheat grains
数据为 3 次重复的平均值±标准误。Data are means ± SE of three replicates.

表 2 氮素和硫素对小麦籽粒 HMW-GS 含量的影响

Table 2 Effects of nitrogen and sulphur treatments on HMW-GS content in wheat grains (%)

处理 Treatment	Glu-A1		Glu-B1			Glu-D1		总含量 Total content
	1 亚基 Subunit 1	7 亚基 Subunit 7	8 亚基 Subunit 8	4 亚基 Subunit 4	12 亚基 Subunit 12			
N120								
S0	0.107 b	0.128 ef	0.091 e	0.112 e	0.123 c	0.560 f		
S60	0.076 d	0.123 f	0.069 f	0.100 f	0.101 d	0.468 g		
S90	0.098 c	0.144 de	0.096 de	0.126 d	0.137 bc	0.601 e		
N240								
S0	0.121 a	0.196 a	0.137 a	0.159 a	0.149 ab	0.761 a		
S60	0.124 a	0.177 ab	0.129 ab	0.154 a	0.146 abc	0.730 b		
S90	0.122 a	0.164 bc	0.091 e	0.137 c	0.145 abc	0.659 d		
N360								
S0	0.111 b	0.155 cd	0.114 bc	0.157 a	0.165 a	0.701 c		
S60	0.119 a	0.180 ab	0.109 cd	0.152 ab	0.135 bc	0.695 c		
S90	0.097 c	0.161 bcd	0.107 cde	0.145 bc	0.128 bc	0.638 d		
P 值 P-value								
N	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0026	0.0001		
S	0.0085	0.7113	0.0111	0.0178	0.0289	0.0003		
N×S	0.0001	0.0049	0.0014	0.0002	0.0226	0.0001		

同一列中标以不同小写字母的数值差异达到 0.05 显著水平。

Values followed by different letters within columns are significantly different at the 0.05 probability level.

量增加呈现先升高后降低的趋势, 表现为 N240S0 > N360S0 > N120S0, 处理间达显著差异(图 2-A), 表明适量施氮促进总 HMW-GS 积累, 过量施氮不利于总 HMW-GS 积累。氮素对各位点亚基含量调控与对总 HMW-GS 含量调控作用相同, 也呈现先升高后降低的趋势(表 2)。

在低氮(N120)水平下施硫, 随着施硫量的增加, 总 HMW-GS 含量先降低后升高; 在中氮(N240)和高氮(N360)水平下, 总 HMW-GS 含量随施硫量的增加而降低, 处理间差异达显著水平。硫素对各位点亚基含量调控与对总 HMW-GS 含量调控作用基本一致(表 2), 说明增施硫肥不利于 HMW-GS 积累。

2.4 氮硫肥不同配施用量对 LMW-GS 含量的影响

B 区和 C 区 LMW-GS 含量随施氮量增加呈现先升高后降低的趋势, 表现为 N240S0 > N360S0 > N120S0, 处理间差异显著(图 2-B, C), 表明适量施氮促进 B 区、C 区 LMW-GS 积累, 过量施氮不利于 B 区、C 区 LMW-GS 积累。D 区 LMW-GS 含量随施氮量的增加而显著提高(图 2-D)。

在不同氮水平下施硫, B 区、C 区 LMW-GS 含量随施硫量的增加呈现升高的趋势, 与不施硫相比, 施硫处理显著降低了 D 区 LMW-GS 含量, 表明增施硫肥有利于 B 区、C 区 LMW-GS 积累, 但不利于 D 区 LMW-GS 积累。

2.5 氮硫肥不同配施用量对 GMP 粒度分布的影响

2.5.1 GMP 粒度分布特征 不同氮硫处理成熟

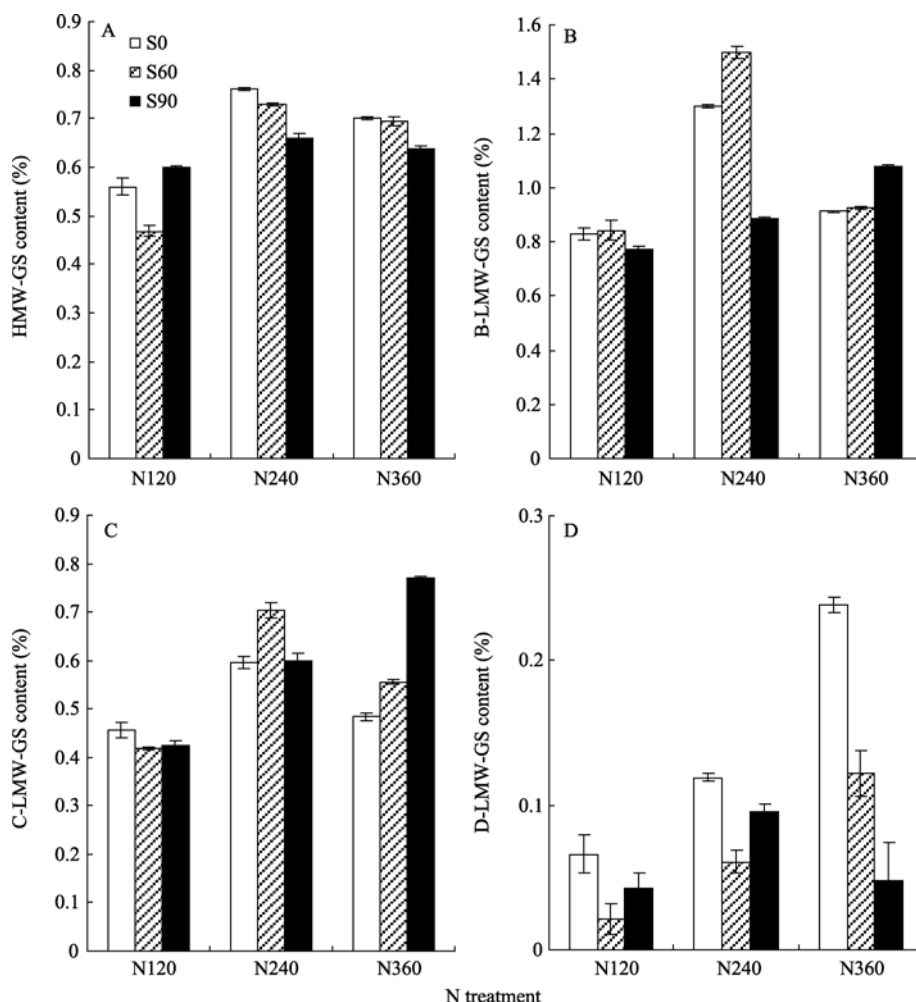


图 2 氮素和硫素对小麦籽粒 GMP 亚基含量的影响

Fig. 2 Effect of nitrogen and sulphur on GMP subunit content in wheat grains
数据为 3 次重复的平均值±标准误。Data are means ± SE of three replicates.

期小麦 GMP 粒度分布趋势类似(图 3), 粒径为 0.37~245 μm。GMP 颗粒的体积分布为双峰曲线, 第一个峰值出现在 4.5 μm 左右, 第二个峰值出现在 66~100 μm 之间, 且处理间差异较大; GMP 颗粒的表面积分分布亦呈双峰曲线, 峰值分别出现在 2.5 μm 左右和 60~100 μm 之间; GMP 颗粒的数目分布为单峰曲线, 峰值出现在 1 μm 左右。

2.5.2 氮硫肥不同配施用量对 GMP 颗粒体积分布的影响 小粒径($d < 12 \mu\text{m}$) GMP 颗粒体积百分比为 19.5%~36.9%, 大粒径($d \geq 12 \mu\text{m}$) GMP 颗粒体积百分比为 63.1%~80.5%。随施氮量的增加, 小粒径 GMP 颗粒的体积百分比显著降低, 而大粒径 GMP 颗粒的体积百分比增加, 处理间差异显著。在不同的氮肥水平下施硫, 随施硫量的增加小粒径 GMP 颗粒的体积百分比呈降低趋势, 而大粒径 GMP 颗粒的体积百分比表现为增加趋势(表 3)。

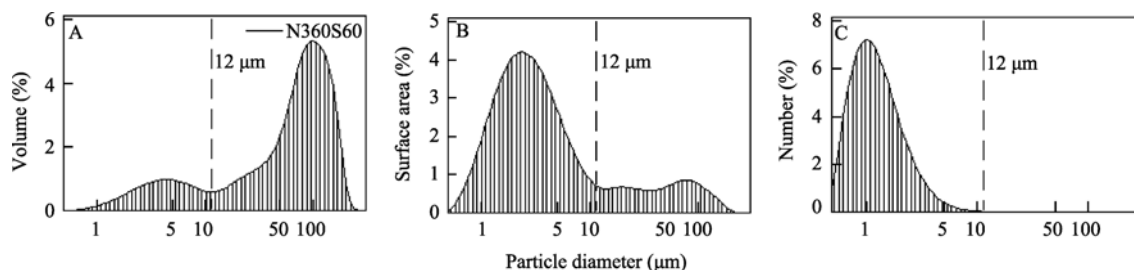


图 3 小麦 GMP 颗粒体积(A)、表面积(B)和数目百分比(C)的分布
Fig. 3 Distributions of GMP particles volume (A), surface area (B), and number (C) in wheat grain

表 3 氮素和硫素对谷蛋白大聚合体(GMP)粒度分布的影响
Table 3 Effects of nitrogen and sulphur on size distribution of GMP (%)

处理 Treatment	体积百分比 Volume		表面积百分比 Surface area		数目百分比 Number	
	$d < 12 \mu\text{m}$	$d \geq 12 \mu\text{m}$	$d < 12 \mu\text{m}$	$d \geq 12 \mu\text{m}$	$d < 12 \mu\text{m}$	$d \geq 12 \mu\text{m}$
N120						
S0	36.9 a	63.1 e	89.4 a	10.6 e	99.9 a	0.1 a
S60	36.3 a	63.7 e	88.9 a	11.1 e	99.9 a	0.1 a
S90	32.6 b	67.4 d	87.4 b	12.6 d	99.9 a	0.1 a
N240						
S0	30.3 bc	69.7 cd	86.7 bc	13.3 cd	99.9 a	0.1 a
S60	29.3 bcd	70.7 bcd	86.6 bcd	13.4 bcd	99.9 a	0.1 a
S90	27.8 cd	72.2 bc	85.9 cd	14.1 bc	99.9 a	0.1 a
N360						
S0	26.0 d	74.0 b	85.4 d	14.6 b	99.9 a	0.1 a
S60	20.2 e	79.8 a	82.1 e	17.9 a	99.9 a	0.1 a
S90	19.5 e	80.5 a	81.4 e	18.6 a	99.9 a	0.1 a

同一列中标以不同小写字母的数值差异达到 0.05 显著水平。

Values followed by different letters within columns are significantly different at the 0.05 probability level

2.5.3 氮硫肥不同配施用量对 GMP 颗粒表面积分布的影响 小粒径和大粒径 GMP 颗粒表面积百分比分别为 81.4%~89.4%和 10.6%~18.6%。随施氮量的增加,小粒径 GMP 颗粒的表面积百分比显著降低,而大粒径 GMP 颗粒的表面积百分比增加,处理间差异显著。在不同的氮肥水平下施硫,随施硫量的增加,小粒径 GMP 颗粒的表面积百分比呈降低趋势,而大粒径 GMP 颗粒的表面积百分比表现为增加趋势(表 3)。

2.5.4 氮硫肥不同配施用量对 GMP 颗粒数目分布的影响 小粒径 GMP 颗粒数目百分比为 99.9%,大粒径 GMP 颗粒数目百分比为 0.1%(表 3),表明小麦籽粒中的 GMP 颗粒绝大多数为小颗粒。施氮和施硫对籽粒 GMP 颗粒数目分布无显著影响,表明 GMP 颗粒体积百分比和表面积百分比的变化,并不依赖于颗粒数目百分比,而是由单位颗粒体积和表面积的变化所引起的。

2.6 相关性分析

GMP 含量和 C 区 LMW-GS 含量与小粒径 GMP 颗粒体积百分比、表面积百分比呈显著负相关;HMW-GS 含量及 B 区和 D 区 LMW-GS 含量与小粒径 GMP 颗粒体积百分比、表面积百分比均呈不显著的负相关;GMP 及其亚基含量与小粒径 GMP 颗粒数目百分比均无相关性(表 4)。

表 4 GMP 含量及 GMP 亚基与 GMP($d < 12 \mu\text{m}$)粒度分布的相关系数

Table 4 Correlation coefficients of GMP content and GMP subunits content with GMP size distribution

GMP/GMP 亚基含量 Content of GMP/GMP subunit	体积百分比 Volume	表面积百分比 Surface area	数目百分比 Number
GMP	-0.73*	-0.69*	0
HMW-GS	-0.52	-0.46	0
B-LMW-GS	-0.20	-0.17	0
C-LMW-GS	-0.67*	-0.67*	0
D-LMW-GS	-0.29	-0.22	0

* $P < 0.05$

3 讨论

3.1 氮素和硫素内在关系及其互作效应

氮和硫同属于构成植物体有机物质主要组成成分的必要元素,植物体内氮同化途径与硫同化途径相似且相互协调,两途径之间有密切的交互作用^[28-29],氮、硫中的一种元素缺乏可抑制另一条途径^[30]。植株按照一定的比例吸收氮素和硫素合成蛋白质^[31],Wrigley等^[18]认为,籽粒蛋白质的合成受硫营养供应的影响;赵首萍等^[32]研究表明,氮的供应水平是硫能否提高籽粒蛋白质含量的限制因素。本试验表明施氮量是小麦籽粒 GMP 及其亚基含量和 GMP 粒度分布的主要调控因素,硫素主要通过与氮素互作来影响 HMW-GS 和 LMW-GS 含量。

3.2 氮硫对小麦 GMP 及其亚基含量和 GMP 粒度分布的调控效应

GMP 合成受遗传控制,但其积累则受环境条件的影响,增施氮肥可提高 GMP 含量,改变谷蛋白亚基间的比例^[33],岳鸿伟等^[16]研究表明,氮肥对 GMP 和 HMW-GS 积累的调控效应与氮肥施用量和小麦品种特性有关。此外,磷肥、不同土壤质地也可明显影响 GMP 和 HMW-GS 积累^[23-24]。在本研究中,适量施氮可提高 GMP 含量、HMW-GS 含量和 LMW-GS 含量,过量施氮对提高其含量无显著效果;在不同氮水平下施硫,对 GMP 含量的影响作用不同,且处理间差异不显著。

根据 SDS-PAGE 迁移率,谷蛋白分为 A、B、C 和 D 4 个区,其中 A 区为 HMW-GS,其余三区均 LMW-GS。B、C 区为富硫蛋白,具有含硫氨基酸(半胱氨酸和甲硫氨酸)残基,可形成二硫键,A、D 区为贫硫蛋白,很少或没有含硫氨基酸残基。Wrigley等^[18-19]证实硫缺乏导致小麦贫硫蛋白 HMW-GS 成比例增加,同时富硫蛋白 LMW-GS 成比例减少。本试验在高于土壤硫含量临界值(10 mg kg^{-1})的基础上增施硫肥, HMW-GS 含量和 D 区 LMW-GS 含量呈降低趋势, B 区和 C 区 LMW-GS 含量呈升高趋势,表明在不缺硫的情况下施硫对 HMW-GS 含量和 D 区 LMW-GS 含量积累不利,而有利于 B 区和 C 区 LMW-GS 含量的提高。Gupta 等^[34]认为环境因素对品质的作用可能通过影响 GMP 含量来实现,推断氮肥可能通过调节 GMP 含量而影响品质,硫肥通过调节 GMP 亚基的相对含量而影响品质。

目前,有关 GMP 粒度分布的报道相对较少,且粒度的划分也不尽相同^[7-8,23],鉴于小麦 GMP 体积

分布表现为双峰曲线的变化趋势,且两峰峰谷在 $12 \mu\text{m}$ 左右,本试验为便于说明问题,将 GMP 颗粒划分为小粒径($d < 12 \mu\text{m}$)颗粒和大粒径($d \geq 12 \mu\text{m}$)颗粒。本课题组通过研究土壤质地、氮肥、磷肥等对小麦籽粒 GMP 粒度大小变化的影响,认为谷蛋白大聚合体的粒度分布特征与小麦品质间关系密切^[23-24]。本研究表明,随施氮量和施硫量的增加,小粒径 GMP 颗粒体积百分比、表面积百分比随之降低,大粒径 GMP 颗粒体积百分比、表面积百分比随之增加,因此我们推断,GMP 对品质的影响体现在 GMP 数量和质量上。

3.3 小麦 GMP 粒度分布与 HMW-GS 和 LMW-GS 含量的关系

GMP 由 HMW-GS 和 LMW-GS 通过二硫键连接并聚合而成。本研究结果显示,随氮水平的提高, HMW-GS 含量、LMW-GS 含量、大粒径 GMP 颗粒体积百分比和表面积百分比随之提高,同时在不同的氮水平下施硫, HMW-GS 含量和 D 区 LMW-GS 含量下降, B 区和 C 区 LMW-GS 含量增加,大粒径 GMP 颗粒体积百分比和表面积百分比提高。HMW-GS 含量与小粒径 GMP 颗粒体积百分比呈负相关,但未达到显著水平($r = -0.52, P > 0.05$),这与我们分析 HMW-GS 含量在不同磷肥施用水平下以及不同土壤质地上与 GMP 粒度分布时获得的结果^[23-24]不同,这可能是由施硫降低 HMW-GS 含量所引起。同时施硫降低了 HMW-GS 含量,但大粒径 GMP 颗粒体积百分比却呈升高趋势,这可能是施硫提高了 B 区和 C 区 LMW-GS 含量,更多的 LMW-GS 与 HMW-GS 连接并聚合,从而提高了大粒径 GMP 颗粒体积百分比。同时, B 区和 D 区 LMW-GS 与小粒径 GMP 颗粒体积百分比呈不显著的负相关, C 区 LMW-GS 含量与小粒径 GMP 颗粒体积百分比呈显著负相关($r = -0.67, P < 0.05$),说明 LMW-GS 在 GMP 颗粒体积百分比和表面积百分比的变化中起重要作用。但关于 HMW-GS 和 LMW-GS 连接聚合方式、在 GMP 颗粒形成中的作用以及对 GMP 颗粒特性的影响尚不清楚,有待进一步研究。

4 结论

适量施氮(240 kg hm^{-2})有利于小麦籽粒 HMW-GS、LMW-GS 和 GMP 的积累,增施硫肥($0\sim 90 \text{ kg hm}^{-2}$)对籽粒 GMP 含量无显著影响,但降低了 HMW-GS 含量和 D 区 LMW-GS 含量,提高了

B 区和 C 区 LMW-GS 含量, 说明增施氮肥能改变籽粒 GMP 的绝对含量, 增施硫肥却改变 GMP 亚基的相对含量。增施氮肥和硫肥对小粒径($d < 12 \mu\text{m}$) GMP 颗粒体积及表面积分布均有一定的负向效应, 对其数目分布无显著影响。GMP 颗粒体积百分比、表面积百分比的变化不仅依赖于 HMW-GS, 还依赖于 LMW-GS, 并且 C 区 LMW-GS 的作用更为显著。

References

- [1] Don C, Lichtendonk W J, Plijter J J, Hamer R J. Understanding the link between GMP and dough: from glutenin particle in flour towards developed dough. *J Cereal Sci*, 2003, 38: 157–165
- [2] Cornish G B, Bekes F, Allen H M, Allen H M, Martin D J. Flour proteins linked to quality traits in an Australian doubled haploid wheat population. *Aust J Agric Res*, 2001, 52: 1339–1348
- [3] Gupta R B, Khan K, MacRitchie F. Biochemical basis of flour properties in bread wheat: effects of variation in the quantity and size distribution of polymeric protein. *J Cereal Sci*, 1993, 18: 23–41
- [4] Steffolani M E, Perez G T, Ribotta P D, Puppo M C, Leon A E. Effect of transglutaminase on properties of glutenin macropolymer and dough rheology. *J Cereal Sci*, 2008, 85: 39–43
- [5] Nagamine T, Kai Y, Takayama T, Yanagisawa T, Taya S. Allelic variation at the *Glu-1* and *Glu-3* loci in southern Japanese wheats, and its effects on gluten properties. *J Cereal Sci*, 2000, 32: 129–135
- [6] Metakovsky E V, Wrigley C W, Bekes F, Gupta R B, Metakovskii E V. Gluten polypeptides as useful genetic markers of dough quality in Australian wheat. *Aust J Agric Res*, 1990, 41: 289–306
- [7] Don C, Lichtendonk W, Plijter J J, Hamer R J. Glutenin macropolymer: a gel formed by gluten in particles. *J Cereal Sci*, 2003, 37: 1–7
- [8] Don C, Lookhart G, Naeem H, MacRitchie F, Hamer R J. Heat stress and genotype affect the gluten in particles of the gluten in macropolymer-gel fraction. *J Cereal Sci*, 2005, 42: 69–80
- [9] Don C, Mann G, Bekes F, Hamer R J. HMW-GS affects the properties of glutenin particles in GMP and thus flour quality. *J Cereal Sci*, 2006, 44: 127–130
- [10] Sun H(孙辉), Yao D-N(姚大年), Li B-Y(李保云), Liu G-T(刘广田), Zhang S-Z(张树榛). Correlation between content of glutenin macropolymer (GMP) in wheat and baking quality. *Chin Cereals Oils Assoc* (中国粮油学报), 1998, 13(6): 13–16 (in Chinese with English abstract)
- [11] Zhu J, Khan K. Characterization of glutenin protein fractions from sequential extraction of hard red spring wheats of different bread-making quality. *Cereal Chem*, 2004, 81: 681–685
- [12] Sun H(孙辉), Yao D-N(姚大年), Li B-Y(李保云), Liu G-T(刘广田), Zhang S-Z(张树榛). Effects of genetic and environmental factors on the content of glutenin macropolymer. *J Triticeae Crops* (麦类作物学报), 2000, 20(2): 23–27 (in Chinese with English abstract)
- [13] Weegels P L, Hamer R J, Scholfield J D. Functional properties of wheat glutenin. *J Cereal Sci*, 1996, 23: 1–18
- [14] Popineau Y, Cornec M, Lefebvre J, Marchylo B. Influence of high molecular glutenin subunits on glutenin polymers and rheological properties of near-isogenic lines of wheat Sicco. *J Cereal Sci*, 1994, 19: 231–241
- [15] Zhu J B, Khan K, Huang S, O'Brien L. Allelic variation at *Glu-D1* locus for high molecular weight (HMW) glutenin subunits: quantification by multistacking SDS-PAGE of wheat grown under nitrogen fertilization. *Cereal Chem*, 1999, 76: 915–919
- [16] Yue H-W(岳鸿伟), Qin X-D(秦晓东), Dai T-B(戴廷波), Jing Q(荆奇), Cao W-X(曹卫星), Jiang D(姜东). Effects of nitrogen rate on accumulations of HMW-GS and GMP in wheat grain. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2006, 32(10): 1678–1683 (in Chinese with English abstract)
- [17] Byers M, Bolton J. Effects of nitrogen and sulphur fertilizers on the yield N and S content and amino acid composition of the grain of spring wheat. *J Sci Food Agric*, 1979, 30: 251–263
- [18] Wrigley C W, Du Cros D L, Archer M J, Downie P G, Roxburgh C M. The sulfur content of wheat endosperm proteins and its relevance to grain quality. *Aust J Plant Physiol*, 1980, 7: 755–766
- [19] Wrigley C W, Du Cros D L, Fullington J G, Kasarda D D. Changes in polypeptide composition and grain quality due to sulfur deficiency in wheat. *J Cereal Sci*, 1984, 2: 15–24
- [20] Zhao F J, Salmon S E, Withers P J A, Monaghan J M, Evans E J, Shewry P R, McGrath S P. Variation in the breadmaking quality and rheological properties of wheat in relation to sulphur nutrition under field conditions. *J Cereal Sci*, 1999, 30: 19–31
- [21] Liang R-Q(梁荣奇), Zhang Y-R(张义荣), You M-S(尤明山), Mao S-F(毛善锋), Song J-M(宋建民), Liu G-T(刘广田). Multi-stacking SDS-PAGE for wheat glutenin polymer and its relation to bread-making quality. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2002, 28(5): 609–614 (in Chinese with English abstract)
- [22] Cui Z-Q(崔志青), He D-X(贺德先), Cai T(蔡铁), Wang C-Y(王成雨), Wang G-C(王广昌), Meng F-Y(孟范玉), Han Z-J(韩占江), Li N-N(李娜娜), Wang Z-L(王振林). Effects of spraying ABA on glutenin fraction content and GMP size distribution in wheat grain. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 2010, 43(12): 2595–2602 (in Chinese with English abstract)
- [23] Liang T-B(梁太波), Yin Y-P(尹燕萍), Cai R-G(蔡瑞国), Yan S-H(闫素辉), Li W-Y(李文阳), Geng Q-H(耿庆辉), Wang P(王

- 平), Wu Y-H(邬云海), Li Y(李勇), Wang Z-L(王振林). HMW-GS accumulation and GMP size distribution in grains of Shannong 12 grown in different soil conditions. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2008, 34(12): 2160–2167 (in Chinese with English abstract)
- [24] Ni Y-L(倪英丽), Wang Z-L(王振林), Li W-Y(李文阳), Yan S-H(闫素辉), Yin Y-P(尹燕桦), Li Y(李勇), Wang P(王平), Chen X-G(陈晓光). Effects of phosphorus fertilizer on accumulation of high molecular weight glutenin subunits and glutenin macropolymer size distribution in wheat grain. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2010, 36(6): 1055–1060 (in Chinese with English abstract)
- [25] Weegels P L, van de Pijpekamp A M, Graveland A, Hamer R J, Schofield J D. Depolymerisation and repolymerisation of wheat glutenin during dough processing: I. Relationships between glutenin macropolymer content and quality parameters. *J Cereal Sci*, 1996, 23: 103–111
- [26] Don C, Lichtendonk W J, Plijter J J, Vliet T, Hamer R J. The effect of mixing on glutenin particle properties: aggregation factors that affect gluten function in dough. *J Cereal Sci*, 2005, 41: 69–83
- [27] Zhu Y-J(朱云集), Shen X-S(沈学善), Li G-Q(李国强), Qu H-J(屈会娟), Guo T-C(郭天财), Dai T-B(戴廷波), Cao W-X(曹卫星). Effect of the combined application of sulfur and nitrogen fertilizers on yield and starch quality traits of soft-gluten wheat cultivar Yumai 50. *J Triticeae Crops* (麦类作物学报), 2007, 27(2): 271–275 (in Chinese with English abstract)
- [28] Leustek T, Martin M N, Bick J A, Davies J D. Pathways and regulation of sulfur metabolism revealed through molecular and genetic studies. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 2000, 51: 141–165
- [29] Leustek T, Saito K. Sulfate transport and assimilation in plants. *Plant Physiol*, 1999, 120: 637–644
- [30] Koprivova A, Suter M, Opden Camp R, Brunold C, Kopriva S. Regulation of sulfate assimilation by nitrogen in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2000, 122: 737–746
- [31] Stewart B A, Porter L K. Nitrogen sulfur relationships in wheat, corn and beans. *Agron J*, 1969, 61: 267–271
- [32] Zhao S-P(赵首萍), Hu S-L(胡尚连), Li W-X(李文雄), Du J-Z(杜金哲). Effects of sulphur on grain protein content and storage protein content in spring wheat with different quality. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2003, 29(6): 847–852 (in Chinese with English abstract)
- [33] Zhu J B, Khan K. Characterization of nonnumeric and glutenin polymeric proteins of hard red spring wheats during grain development by multitasking SDS-PAGE and capillary zone electrophoresis. *Cereal Chem*, 1999, 76: 261–269
- [34] Gupta R B, Batey I L, Mac Ritchie F. Relationship between protein composition and functional properties of wheat flour. *Cereal Chem*, 1992, 69: 125–131