

小麦籽粒植酸和无机磷含量的变异及其与千粒重、容重的相关性

张小华 段晓亮 侯春雨 张婷 许兰杰 吕延华 梁荣奇* 尤明山

(中国农业大学 农学与生物技术学院/农业生物技术国家重点实验室/北京市作物遗传改良重点实验室/
农业部作物基因组与遗传改良重点实验室,北京 100193)

摘要 为了解小麦品种(系)籽粒植酸和无机磷含量的变异及其与千粒重、容重的相关性,进而为小麦营养品质分析、小麦种质资源筛选和品质育种提供参考,本研究利用三氯化铁比色法和钼蓝比色法分别测定 92 份小麦品种(系)全麦粉的植酸和无机磷含量,并考察了其千粒重和容重的相关性。结果表明:1)籽粒无机磷含量为 0.42~1.60 $\mu\text{g}/\text{mg}$,平均值为 0.84 $\mu\text{g}/\text{mg}$,变异系数是 0.24,变异范围较大;2)籽粒植酸含量为 17.54~28.71 $\mu\text{g}/\text{mg}$,平均值为 23.27 $\mu\text{g}/\text{mg}$,变异系数是 0.09,变异范围较小;3)小麦籽粒植酸含量与其容重显著负相关(相关系数 r 为 -0.209 2),与其千粒重的相关系数较小、没有达到显著水平;小麦籽粒的无机磷含量与其容重显著负相关($r = -0.231 5$),与其千粒重显著正相关($r = 0.255 4$)。植酸含量与无机磷含量极显著正相关($r = 0.479 6$);4)品种(系)间的总磷含量近似值为 5.54~9.69 $\mu\text{g}/\text{mg}$,不能用无机磷含量间接反映不同品种(系)间的植酸含量。

关键词 小麦;植酸含量;无机磷含量;相关性

中图分类号 S 512

文章编号 1007-4333(2014)05-0008-05

文献标志码 A

Variation of phytic acid and inorganic P contents in wheat grain and their relationship with test weight and 1 000-kernel weight

ZHANG Xiao-hua, DUAN Xiao-liang, HOU Chun-yu, ZHANG Ting, XU Lan-jie,
LÜ Yan-hua, LIANG Rong-qi*, YOU Ming-shan

(College of Agronomy and Biotechnology/State Key Laboratory for Agrobiotechnology/
Beijing Key Laboratory of Crop Genetic Improvement/Key Laboratory of Crop Genomics
and Genetic Improvement of Ministry of Agriculture, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract In order to investigate the distribution of phytic acid content and inorganic P content in wheat grain and their relationship with test weight (TW) and 1000-kernel weight (TKW), and then obtain ahint for new cultivars improvement, the grain whole-mills of 92 common wheat cultivars/lines were determined with ferric chloride precipitation and phosphomolybdenum yellow spectrophotometry simultaneously. The results showed that the inorganic P content ranged from 0.42 $\mu\text{g}/\text{mg}$ to 1.60 $\mu\text{g}/\text{mg}$ (mean 0.84 $\mu\text{g}/\text{mg}$) with variation coefficient 0.24, while the phytic acid content ranged from 17.54 $\mu\text{g}/\text{mg}$ to 28.71 $\mu\text{g}/\text{mg}$ (mean 23.27 $\mu\text{g}/\text{mg}$) with variation coefficient 0.09. The phytic acid content correlated significantly with TW ($r = -0.209 2$), but not with TKW. The inorganic P content correlated significantly with TW ($r = -0.231 5$) and TKW ($r = 0.255 4$). The phytic acid content correlated significantly with the inorganic P content ($r = 0.479 6$). The phytic acid contents could not be indirectly determined by the inorganic P contents as the total P contents ranged from 5.54 - 9.69 $\mu\text{g}/\text{mg}$ among different cultivars/lines.

Key words wheat; phytic acid content; inorganic P content; correlation

植酸(Phytic acid, PA)又称肌醇-6-磷酸(Myoinositol 1,2,3,4,5,6 hexakisphosphate 或 InsP_6),

是维生素族的 1 种肌醇六磷酸,是植物种子中磷的主要存储形式,其含磷量占种子全磷的 60%~

收稿日期:2013-09-18

基金项目:农业部现代农业产业技术体系(201402910110429)

第一作者:张小华,硕士研究生,E-mail:zhangxh0315@cau.edu.cn

通讯作者:梁荣奇,副教授,博士,主要从事小麦遗传育种研究,E-mail:liangrq@cau.edu.cn

80%,占肌醇多磷酸的95%以上,而其余肌醇多磷酸的磷量往往不到全磷的5%,另外无机磷含量占全磷的2%~8%。细胞磷(包括DNA、RNA、自由核苷酸、磷脂和糖脂等)所含磷占种子全磷量的10%~20%^[1]。小麦种子植酸主要分布在糊粉层,84%~88%的植酸存在于麸皮中,胚芽部分约占10%,而胚乳中几乎没有,约占2%左右^[2]。研究表明,禾谷类作物用作粮食和饲料时,非反刍动物(包括人)不能消化吸收植酸和植酸盐。在消化道中,植酸易于与Fe和Zn等矿质元素形成不能被人和反刍动物吸收的复合物,也可以与蛋白质结合形成植酸-蛋白质二元复合物或植酸-金属阳离子-蛋白质三元复合物,而且植酸还会抑制 α -淀粉酶和磷脂酶的活性,所以植酸是不可忽视的抗营养因子。土壤中缺乏分解植酸及植酸盐的微生物,有机肥中的植酸还会造成土壤、水系磷污染。

植酸含量多采用三氯化铁比色法,其原理是利用植酸对铁离子强烈的螯合作用,通过显色反应的OD值来测定出植酸含量。李春喜等^[3]采用 FeCl_3 -磺基水杨酸测定了18个品种籽粒的植酸含量,其平均含量是10.55 mg/g,百农64(11.98 mg/g)含量最高,豫麦34(9.36 mg/g)含量最低,不同品种间籽粒植酸含量差异极显著,说明不同品种间存在广泛的遗传变异。吴澎等^[4]对我国137份微核心种质资源小麦材料的全麦粉中的植酸含量进行测定,结果表明植酸平均含量为21.04 $\mu\text{g}/\text{mg}$,并按植酸含量其分为高、中、低含量3类品种,各占供试品种的3.45%、89.3%及7.25%。

无机磷含量测定多采用钼蓝比色法,其原理如下:磷在一定酸度下,磷酸与钼酸铵作用生成磷钼酸铵,对苯二酚、亚硫酸钠可将磷钼酸铵还原成蓝色的钼蓝,使溶液呈蓝色,蓝色的深浅与磷的含量成正比,可用分光光度计测定,从而间接反应出植酸含量。李丽等^[5]对磷钼黄比色法测定小麦麸中植酸含量的测试条件进行研究,结果表明该方法检测植酸磷含量的线性范围为0~16 $\mu\text{g}/\text{mL}$,相关系数为0.999 4,相对标准偏差为0.22%~1.32%,样品加标回收率为95.3%~103%。Guttieri等^[6]利用钼蓝显色法从EMS诱变后代中筛选出了低植酸的小麦突变株系,低植酸特性改变了麦粒中的总磷量分布,增加中央胚乳磷含量的同时减少了麸皮中磷的含量,突变型麸皮中的无机磷比野生型增加了4倍。杨宋蕊^[7]利用钼蓝显色法筛选出2个EMS诱变小

麦籽粒高无机磷突变体HIP-y1和HIPh1。秦丽燕等^[8]利用钼蓝比色法测定了570份普通小麦品种(系)和近缘种杂交后代株系,以及4个普通小麦杂交组合后代株系的籽粒无机磷含量,结果发现,这570份材料的籽粒无机磷含量主要分布在0.46~0.93 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 之间,低无机磷(低于0.15 $\mu\text{g}/\text{mg}$)和高无机磷(高于0.93 $\mu\text{g}/\text{mg}$)的材料都比较少,分别只占材料总数的3.16%和1.23%。4个杂交组合群体无机磷含量的平均值分别为0.65、0.59、0.45和0.58 $\mu\text{g}/\text{mg}$,与其亲本材料含量相仿。

目前报道侧重于小麦籽粒植酸含量或无机磷含量的研究。本研究采用三氯化铁比色法和钼蓝比色法同时对92份小麦品种(系)全麦粉的植酸和无机磷含量进行测定和分析,同时考查它们与千粒重和容重的相关性,旨在分析小麦籽粒植酸含量和无机磷含量的分布以及两者之间的关系,从而为小麦营养品质分析、小麦种质资源筛选和品质育种提供参考。

1 材料与方 法

1.1 材 料

92份小麦品种或品系于2010/2011年度种植于中国农业大学上庄实验站试验田。试验采用随机区组设计,每小区4行,行长2 m,行距25 cm,3次重复。待植株成熟后,收获各个小区的小麦籽粒。各品种(系)籽粒于2011年夏收获后,及时晾晒,在室内进行考种。达到安全含水量后后熟3个月,手工磨制全麦粉,每份约5 g。

1.2 精密仪器和药品规格

本研究室内使用仪器为“航天二院”生产的航天之星ZS-3板式酶标仪。所用药品纯度均为分析纯。

1.3 方 法

1.3.1 无机磷含量的测定

小麦籽粒全麦粉的无机磷含量测定采用钼蓝比色法,具体参照Dorsch等^[9]的方法进行,略有修改,具体操作如下:准确称取90 mg全麦粉置于2 mL离心管中,加入900 μL 10.4 mol/L的盐酸,漩涡震荡30 min后,置于4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱过夜提取。次日,漩涡震荡30 s后,6 000 r/min离心2 min,上清即为无机磷提取液。取10 μL 提取液于96孔酶标板中(同时将磷标准样品作为对照),加100 μL 水和100 μL 显色液,其他样品均加入90 μL 蒸馏水和100 μL 显色液,室温下反应1 h后,放入酶标仪中在410 nm

波长下测定 OD 值。显色液由 3 mol/L 硫酸、25% 钼酸铵、10% 抗坏血酸、蒸馏水按 1 : 1 : 1 : 2 配置而成。磷标准样品用磷酸氢二钾配制,含磷量分别是 0、0.50、0.46、0.93 和 1.39 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 。每个样品重复测定 3 次,取其平均值。

1.3.2 植酸含量的测定

小麦籽粒全麦粉的植酸含量测定采用三氯化铁比色法,具体参照傅启高等^[10]的方法进行,略有修改,具体操作如下:称取样品 2.0 g,加入 40 mL 1.2% HCl · 10% Na₂SO₄ 溶液于室温下搅拌浸提 2 h,8 000 r/min 离心 15 min,取上清液于 4 °C 冰箱中备用。取 0.1 g/L 植酸标准液分别 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.4 mL 于 10 mL 玻璃试管中,加蒸馏水 3.0、2.8、2.6、2.4、2.2、2.0、1.6 mL 配成标准曲线,摇匀;取植酸提取液 2 mL,加入 15% TCA 2 mL,于 10 mL 硬质玻璃试管中混匀,4 °C 冰箱中静置 2 h 后,8 000 r/min 离心 15 min。吸取上清液 2 mL,用 0.75 mol/L NaOH 调节 pH 为 6.0~6.5,加蒸馏水至 30 mL,混匀,分别取上述标准溶液和待测溶液 150 μL 于酶标板中,加入 50 μL 0.3% 磺基水杨酸 · 0.03% FeCl₃ · 6H₂O,混匀后放入酶标仪在 500 nm 处测定 OD 值。

1.3 统计方法

使用 Excel 软件分析各品种(系)植酸含量以及无机磷含量的极大值、极小值和平均值。并通过 Excel 图表软件绘制品种(系)间籽粒植酸、无机磷含量、容重及千粒重的频率分析柱状图。

2 结果与分析

2.1 小麦籽粒无机磷含量的变异

采用钼蓝比色法对 92 份小麦品种(系)籽粒的无机磷含量进行了测定,结果(图 1)表明,在所测品种中无机磷含量为 0.42~1.60 $\mu\text{g}/\text{mg}$,平均值为 0.84 $\mu\text{g}/\text{mg}$,变异系数是 0.24。籽粒无机磷含量在 0.15~0.93 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 的材料占参试材料的 73.9%,籽粒无机磷含量高于 0.93 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 的材料占参试材料的 26.1%。说明无机磷含量在所测品种间变异范围较大,呈近正态分布。其中高无机磷材料(高于 0.93 $\mu\text{g}/\text{mg}$)分别是农大 5688、百农 64、晋麦 80 和宋 3744 等材料。

2.2 小麦籽粒植酸含量的变异

采用三氯化铁比色法对 92 份小麦品种的籽粒植酸含量进行了测定,结果(图 2)表明:在所测品种

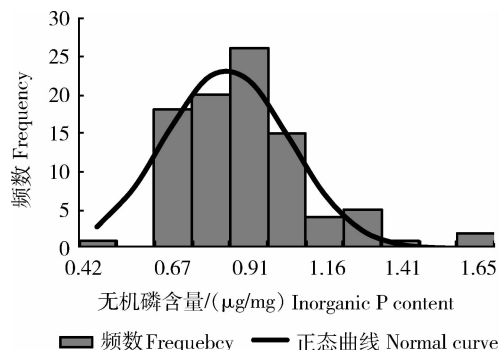


图 1 小麦品种籽粒无机磷含量测定

Fig. 1 Wheat grain inorganic P content

中植酸含量为 17.54~28.71 $\mu\text{g}/\text{mg}$,平均值为 23.27 $\mu\text{g}/\text{mg}$,变异系数是 0.09,变异范围较小,呈正态分布。籽粒植酸含量在 13~27 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 的中等植酸含量品种占参试材料的 95%,籽粒植酸含量高于 27 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 的高植酸材料占参试材料的 5%,分别是晋麦 80、农大 5225、百农 64、济麦 5319 和宋 3744。

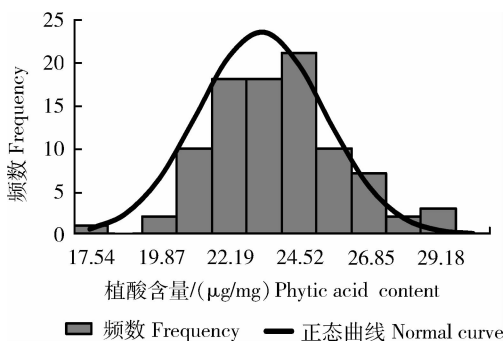


图 2 小麦籽粒植酸含量

Fig. 2 Wheat grain phytic acid content

2.3 小麦籽粒植酸含量、无机磷含量与容重、千粒重的相关性

对 92 份材料籽粒植酸含量、无机磷含量与千粒重、容重的相关性进行了分析,结果(表 1)表明:植酸含量与其容重显著负相关(相关系数 r 为 -0.209 2),而与其千粒重的相关系数较小、没有达到显著水平,说明容重会显著影响植酸含量,容重越低则植酸含量越高;而千粒重对植酸含量的影响很小。小麦籽粒的无机磷含量与其容重显著负相关($r = -0.231 5$),与其千粒重显著正相关($r = 0.255 4$),说明容重、千粒重会显著影响籽粒无机磷含量,容重越低(或千粒重越高)则无机磷含量越高。小麦籽粒植酸含量与间接法测定的小麦籽粒无机磷含量呈极显著正相关($r = 0.479 6$)。

表 1 小麦籽粒植酸含量、无机磷含量与容重、千粒重的相关系数

Table 1 Correlation coefficient among parameters tested with wheat grain phytic acid content, inorganic P content, TKW and TW

项目 Item	容重 Volume weight	千粒重 1 000-kernel weight	植酸含量 Phytic acid content	无机磷含量 Inorganic P content
容重 Volume weight	1.000 0			
千粒重 1 000-kernel weight	0.026 9	1.000 0		
植酸含量 Phytic acid content	-0.209 2*	0.154 8	1.000 0	
无机磷含量 Inorganic P content	-0.231 5*	0.255 4*	0.479 6**	1.000 0

注：* 和 ** 分别表示相关达 0.05 和 0.01 显著水平。

Note: * and ** show correlation significant at 0.05 and 0.01 levels, respectively.

2.4 小麦籽粒植酸含量、无机磷含量和总磷含量近似值的分布趋势

根据苏琪等^[11]换算植酸磷的方法,用已测定的植酸含量,间接估算出植酸磷含量,并将植酸磷和无机磷相加得到总磷含量近似值。按照植酸磷含量从低到高的顺序绘制散点图,以分析三者材料间的分布趋势(图 3),结果表明:无机磷含量在材料间变化幅度比较大,植酸磷含量在材料间的变化幅度比较小;总磷含量近似值在不同材料间并非稳定不变(极大值为 9.69 $\mu\text{g}/\text{mg}$,极小值为 5.54 $\mu\text{g}/\text{mg}$,变异系数是 0.10),其变化幅度介于植酸磷和无机磷之间,且总磷含量主要取决于植酸磷含量。因而不同品种(系)间的植酸含量不能简单地用无机磷含量来反映。

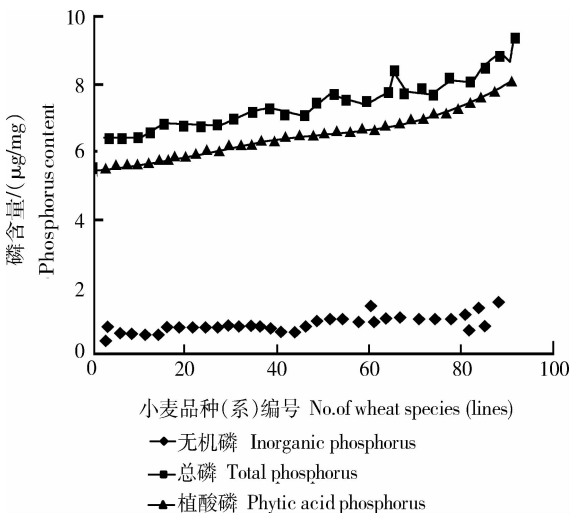


图 3 92 个小麦品种(系)的植酸、无机磷和总磷含量
Fig. 3 Phytic acid P, inorganic P and total P contents of 92 common wheat species/lines

3 讨论

常用的植酸测定方法有 2 种:间接测定法(测定无机磷含量)和直接测定法(测定植酸含量)^[12]。由于测定无机磷简单易行,目前大多数研究都用这种方法来间接测定植酸含量,也被广泛用来进行低植酸品种的筛选。因为植物的总磷量保持不变^[13-14],在总磷一定的情况下,植酸磷含量的降低通常伴随着无机磷含量的增加,所以植酸含量低的种子相对而言无机磷含量较高,反之,无机磷含量低的种子对应的植酸含量较高^[15-16]。但是由于种子大小,籽粒饱满度及种植地点和年份的差异,植物种子总磷的含量会有所差别,这种间接测定结果可信度就会降低。结合孙洁等^[15]测定玉米植酸含量时的研究结果和本研究结果,间接法测定无机磷含量数据和直接法测定植酸含量数据具有较显著差异,所以间接法所测结果不能用于实际数值,但是可供参考。在低植酸突变体筛选时,因为突变不会造成总磷含量和细胞磷的变化,所以无机磷的高低能够间接反映植酸含量的变化,然后用直接法进行进一步分析。

植酸是禾谷类作物中含磷最丰富的化合物,占种子全磷量的 75%,无机磷一般占全磷的 2%~8%^[17],所以理论上植酸含量高的品种(系)对应的总磷含量应该不低,无机磷含量也相对较高。本研究中直接法测定的植酸含量和间接法测定无机磷含量存在极显著的正相关关系,这之前李兴林^[18]的研究结果正好相反。可能因为所用材料不同导致,李兴林^[18]研究所用材料为市场所售特级面粉,而本研究所用材料为普通小麦品种(系)全麦粉,由于麸皮中存在大量植酸,所以在普通品种中筛选低植酸

材料的时候不能用无机磷作为筛选指标。

影响植酸含量差异的原因包括不同品种的遗传基因、种植地区、年份、耕作条件不同以及测定方法差异。本研究中间接法和直接法测定结果的差异说明,在普通品种而不是突变群体中筛选低植酸材料时,应该避免用间接测定无机磷方法作为筛选低植酸品种(系)的标准,因为普通品种总磷含量差异非常大,无机磷不能间接反映植酸含量高低。而直接法所得结果相对于间接法来说,更加真实可靠,可以用于接下来的遗传、分离规律和相关基因检测方面的研究。

参 考 文 献

- [1] Raboy V. Progress in breeding low phytate crops[J]. The Journal of Nutrition, 2002, 132(3): 503S-505S
- [2] O'Dell B L, De Boland A R, Koirtyohann S R. Distribution of phytate and nutritionally important elements among the morphological components of cereal grains[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1972, 20(3): 718-723
- [3] 李春喜, 马守臣, 田继峰, 等. 不同品种小麦籽粒中植酸及其相关性状的相关和通径分析[J]. 河南农业科学, 2004(7): 20-23
- [4] 吴澎, 陈建省, 田纪春. 137个微核心种质资源植酸含量的聚类分析[J]. 中国粮油学报, 2010, 25(10): 19-23
- [5] 李丽, 吴波, 李庆龙. 磷钼黄比色法测定小麦麸中的植酸[J]. 粮食与饲料工业, 2008(4): 11-12
- [6] Guttieri M, Bowen D, Dorsch J A, et al. Identification and characterization of a low phytic acid wheat[J]. Crop Science, 2004, 44(2): 418-424
- [7] 杨宋蕊. 利用诱变技术创制小麦高无机磷突变体的研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2007
- [8] 秦丽燕, 赵琰, 杨伟, 等. 普通小麦品种(系)以及杂交组合后代株系籽粒无机磷含量的分布[J]. 麦类作物学报, 2010, 30(6): 1038-1042
- [9] Dorsch J A, Cook A, Young K A, et al. Seed phosphorus and inositol phosphate phenotype of barley low phytic acid genotypes[J]. Phytochemistry, 2003, 62(5): 691-706
- [10] 傅启高, 李慧荃. 三氯化铁比色法测定植酸含量的研究[J]. 营养学报, 1997, 19(2): 216-220
- [11] 苏琪, 陆肇海, 段玉琴. 植物饲料中植酸磷的含量及测定[J]. 饲料研究, 1983(04): 11-13
- [12] 金瑛, 黄静, 梁建芬, 等. 植酸的测定方法[J]. 国外医学: 卫生学分册, 2005, 32(3): 137-140
- [13] 王雪艳, 王忠华, 梅淑芳, 等. 高无机磷低植酸含量玉米突变体筛选初报[J]. 核农学报, 2006, 20(1): 15-18
- [14] 袁凤杰, 舒庆尧, 朱丹华. 大豆低植酸育种研究进展[J]. 中国农学通报, 2006, 22(6): 173-176
- [15] 孙洁, 李新新, 王忠华. 玉米低植酸突变体的间接测定筛选法[J]. 江苏农业学报, 2007, 23(2): 151-153
- [16] 王玉华, 任学良, 刘庆龙, 等. 水稻高无机磷突变体的筛选和培育技术研究[J]. 中国水稻科学, 2005, 19(1): 47-51
- [17] Ravindran V, Ravindran G, Sivalogan S. Total and phytate phosphorus contents of various foods and feedstuffs of plant origin[J]. Food Chemistry, 1994, 50(2): 133-136
- [18] 李兴林. 面粉和面条的植酸含量同无机磷含量分布值的相关性分析[J]. 粮食加工, 2007, 32(6): 83-85

责任编辑: 袁文业