

贵州栽培大麦不同种植环境籽粒多组分 营养物质质量分数分析^①

张俊英¹, 严俊², 阮景军¹, 薛文韬¹, 赵钢², 程剑平¹

1. 贵州大学 麦作研究中心, 贵阳 550025; 2. 成都大学 药学与生物工程学院, 成都 610106

摘要: 为了发掘可改良贵州栽培大麦营养物质质量分数的基因资源, 以 67 份贵州地方栽培大麦为研究材料, 分别种植于安徽省来安县汪庄、安徽省来安县广大圩和四川省崇州市羊马镇 3 个环境中, 采用紫外分光光度法测定该群体籽粒总类黄酮、总酚、植酸、无机磷、氨基酸和可溶性蛋白质 6 个营养性状质量分数。结果发现: 不同种植环境对大麦籽粒营养成分质量分数影响程度不同。网络相关性分析表明, 大麦籽粒营养性状之间均呈正相关性, 安徽环境条件下总酚仅与黄酮、可溶性蛋白质有显著相关性, 四川环境条件下各营养成分间相关性复杂。因此, 大麦总酚与其他指标间的相关性可能受环境因素影响较大, 可为改良贵州栽培大麦提供一定的理论依据。

关键词: 栽培大麦; 籽粒多组分营养; 网络相关性

中图分类号: S512.3

文献标志码: A

文章编号: 1000-5471(2017)04-0061-07

大麦是当今世界最重要的谷类作物之一, 是我国第四大粮食作物, 仅次于玉米、小麦和水稻^[1]。常用作饲料、粮食、啤酒工业的主要原料, 并制作成保健食品^[2]。研究发现大麦籽粒中含有丰富的生物类黄酮、多酚等活性功能成分, 具有降血脂、降血糖、增强人体免疫力的功能, 可辅助治疗中风、高血压、高血脂、糖尿病和冠心病等疾病^[3]。由于人体必需的尤其是蛋白质和其他营养物质摄入不足而引起的营养缺乏病也称为“隐性饥饿”^[4]。目前, 欠发达国家和地区由于饮食单一, “隐性饥饿”现象普遍存在^[5]。针对“隐性饥饿”现象的营养强化措施已经在全世界 40 多个国家和地区展开, 所有栽培技术中对籽粒质量、麦芽品质和产量等最为重要的影响因素是肥料^[6]。但肥料的不合理使用、利用率低以及环境污染是其主要缺点^[7]。利用转基因技术能够提高营养元素的质量分数, 但该技术在这个世界上存在巨大争议。因此, 提高谷物中的蛋白质和微量营养物质质量分数的最经济、安全和有效的途径就是运用传统的育种手段^[8]。

地方品种是非常重要的种质资源, 收集、保存和研究地方品种对选育新品种和挖掘优良基因有极其重要的意义^[9]。大麦在贵州的栽培历史非常悠久^[10], 大麦跟小麦相比具有早熟、耐旱、耐寒、耐瘠和抗病等, 能适应复杂生态环境, 因此曾在贵州作物栽培中占有一定地位。近年来, 贵州大麦的生产仅在不适合两熟季节栽培的高寒山区及坡旁瘠地少量种植^[11], 贵州大麦种质资源濒临失传的危险, 因此, 应加紧对贵州大麦种植资源的研究和利用。本文利用贵州栽培大麦群体, 进行籽粒的总类黄酮(TFC)、总酚(TP)、可溶性蛋白质(TSP)、植酸(PHY)、无机磷(P)和氨基酸(NH₂) 6 个籽粒营养性状的测定, 为贵州大麦种植资源

① 收稿日期: 2016-03-25

基金项目: 国家科技部国际科技合作专项(2013DFA32200); 贵州省国际科技合作计划项目[黔科合外 G 字(2012)7011]。

作者简介: 张俊英(1990-), 女, 山东聊城人, 硕士研究生, 主要从事大麦遗传育种的研究。

通信作者: 程剑平, 教授, 博士研究生导师。

改良提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 试验材料

参试的大麦材料为地方栽培品种,由贵州遵义医学院提供.该群体共 67 个基因型,分别采自于贵州省遵义(18)、安顺(9)、毕节(22)和凯里(18)4 个地区,其起源地分布如表 1 所示.该栽培的 67 个基因型于 2013 年 10 月种植于 3 个环境:安徽省滁州来安县广大乡汪庄、安徽省滁州来安县广大圩和四川省崇州市羊马镇,3 个环境的生态地理数据如表 2 所示.3 个环境采用相同的田间设计方法,采用沟施播种,沟长 1.0 m,沟间距为 0.5 m,每沟播种 30 粒种子,采用完全随机区组设计,设 3 个重复,适时进行田间管理.于 2014 年 6 月收获,每沟所有麦穗放在同一纸袋内.将收获的大麦脱粒后烘干,研磨过筛后待测.所测指标根据化学极性的不同分为两组:一组为总类黄酮、总酚、植酸和无机磷;另一组为氨基酸和可溶性蛋白质.两组指标均采用一次称样分布提取法进行提取并测定,每个指标重复 3 次.

表 1 供试大麦的产地与棱形

资源产地	棱 型		
	二棱	四棱	六棱
贵州遵义		ZY001,ZY-002	ZY-035, ZY-037, ZY-039, ZY-041 ~ 046, ZY-048~051,ZY-053~055
贵州安顺			ZY-005, ZY-057 ~ 059, ZY-061, ZY-063 ~ 065, ZY-068
贵州毕节	ZY-026	ZY-007,ZY-015,ZY-016, ZY-027,ZY-032,ZY-033	ZY-003, ZY-008, ZY-010, ZY-012 ~ 014, ZY-020~025,ZY-029,ZY-031,ZY-072
贵州凯里			ZY-074, ZY-076 ~ 077, ZY-079, ZY-080 ~ 082, ZY-084 ~ 085, ZY-087, ZY-091, ZY-098 ~ 099, ZY-101,ZY-121~124

表 2 3 个环境生态地理数据

	安徽广大圩	安徽汪庄	四川羊马镇
经度/°	118.66	118.49	103.75
纬度/°	32.66	32.21	30.67
海拔/m	26	26	530
年平均温度/°C	16.1	16.1	15.9
降水量/(mm·年 ⁻¹)	1 036.8	1 036.8	1 010

1.2 多组分营养物质的测定

1.2.1 籽粒总类黄酮、总酚、植酸和无机磷质量分数的测定

称取 50 mg 样品,加入 1.6 mL 50%甲醇溶液.用超声波仪超声 1 h 后,取出离心管,摇匀样品后,放入水浴锅内 65 °C 水浴 30 min,放置在摇床上震荡 30 min,然后 10 000 r 离心 10 min,4 °C 下放置 48 h,上清液待测,同时进行籽粒总类黄酮和总酚质量分数的测定.总类黄酮和总酚质量分数的测定分别参照 Jia 等^[12]和 Ainsworth 等^[13]采用紫外分光光度法.

将提取黄酮、总酚后的底物,用真空浓缩仪(Eppendorf, Concentrator Plus)浓缩 8 h 后至无水,先加入 200 μ L 的 HCl(0.5 mol/L)溶液至无水底物完全吸涨后用搅拌器捣匀,再加入 1.4 mL HCl(0.5 mol/L)溶液用摇床震荡 30 min,然后 10 000 r 离心 10 min,4 °C 放置,上清液待测.植酸和无机磷质量分数的测定参照 Costa-bauza 等^[14]和 Ficco 等^[15]采用紫外分光光度法.

1.2.2 氨基酸和可溶性蛋白质的测定

称取 30 mg 样品(过 40 目筛),先加入 200 μ L 的 NaOH(0.1 mol/L)溶液浸泡至完全吸涨,再用搅拌机捣匀,再加入 1.4 mL NaOH(0.1 mol/L)溶液水浴 1 h. 每 20 min 取出摇晃 1 次,然后 10 000 r 离心 10 min,上清液待测. 氨基酸和可溶性蛋白质质量分数的测定参照 Freedman 等^[16]和 Bradford^[17]采用紫外分光光度法.

1.3 统计分析

本论文中所有数据采用 Excel 录入并进行平均数和标准误的计算,用 Sigmaplot 12.0 软件绘制柱状图;用 R 2.11 构建大麦籽粒营养相关性状间的皮尔森相关性矩阵(Pearson correlation matrix),并由 Cytoscape 2.7.0 对相关性矩阵进行相关性网络分析(correlation-based network analysis, CNA).

2 结果与分析

2.1 大麦籽粒营养性状的表性差异

由表 3 可知,本研究中所测大麦群体籽粒总类黄酮和总酚质量分数相对较低,属于微量营养;植酸、氨基酸、无机磷和可溶性蛋白质质量分数相对较高,属于常量营养. 由所得数据可知,同一大麦群体种植于不同环境各营养成分差异具有统计学意义. 相比安徽两个环境而言,四川环境总酚和可溶性蛋白质质量分数较高,其他 4 个指标均比较小,这一结果表明,大麦籽粒营养成分质量分数的不同可能是由土壤和气候引起的.

另外,安徽两个环境中微量成分总类黄酮和总酚质量分数差异较小,而常量营养成分中,可溶性蛋白质质量分数仅为植酸质量分数的 0.8%,说明与常量营养物质相比,贵州遵义大麦可能在微量营养物质上存在保守性,而常量营养物质中的植酸则为相对较高的营养物质. 四川环境微量营养成分质量分数差异相对较大,且可溶性蛋白质质量分数较高,说明不同种植环境影响贵州栽培大麦营养成分的质量分数.

表 3 3 个环境大麦籽粒营养性状质量分数的平均值及范围

参数	总类黄酮 /(mg · kg ⁻¹)	总酚 /(mg · kg ⁻¹)	无机磷 /(g · kg ⁻¹)	氨基酸 /(g · kg ⁻¹)	植酸 /(g · kg ⁻¹)	可溶性 蛋白质/%
安徽汪庄	490.1	848.2	2.1	2.8	14.7	12.5
均值	安徽广大圩 671.8	1 241.3	1.3	3.0	14.5	10.5
	四川羊马镇 367.5	1 254.0	0.9	2.4	11.5	14.1
范围	安徽汪庄 317.9~773.7	517.3~1 218.4	0.9~4.1	2.3~4.0	9.5~23.3	9.8~14.6
	安徽广大圩 338.6~1 088.5	641.1~2 028.1	0.2~3.1	2.5~3.6	7.6~21.2	7.9~14.2
	四川羊马镇 225.4~625.6	699.2~4 181.2	0.1~3.9	1.3~4.0	7.4~17.6	9.6~43.3
变异 系数	安徽汪庄 10.1	10.8	29.3	13.7	9.5	11.6
	安徽广大圩 12.1	11.4	13.9	16.4	14.5	11.9
	四川羊马镇 14.4	13.2	12.3	9.1	9.1	9.5

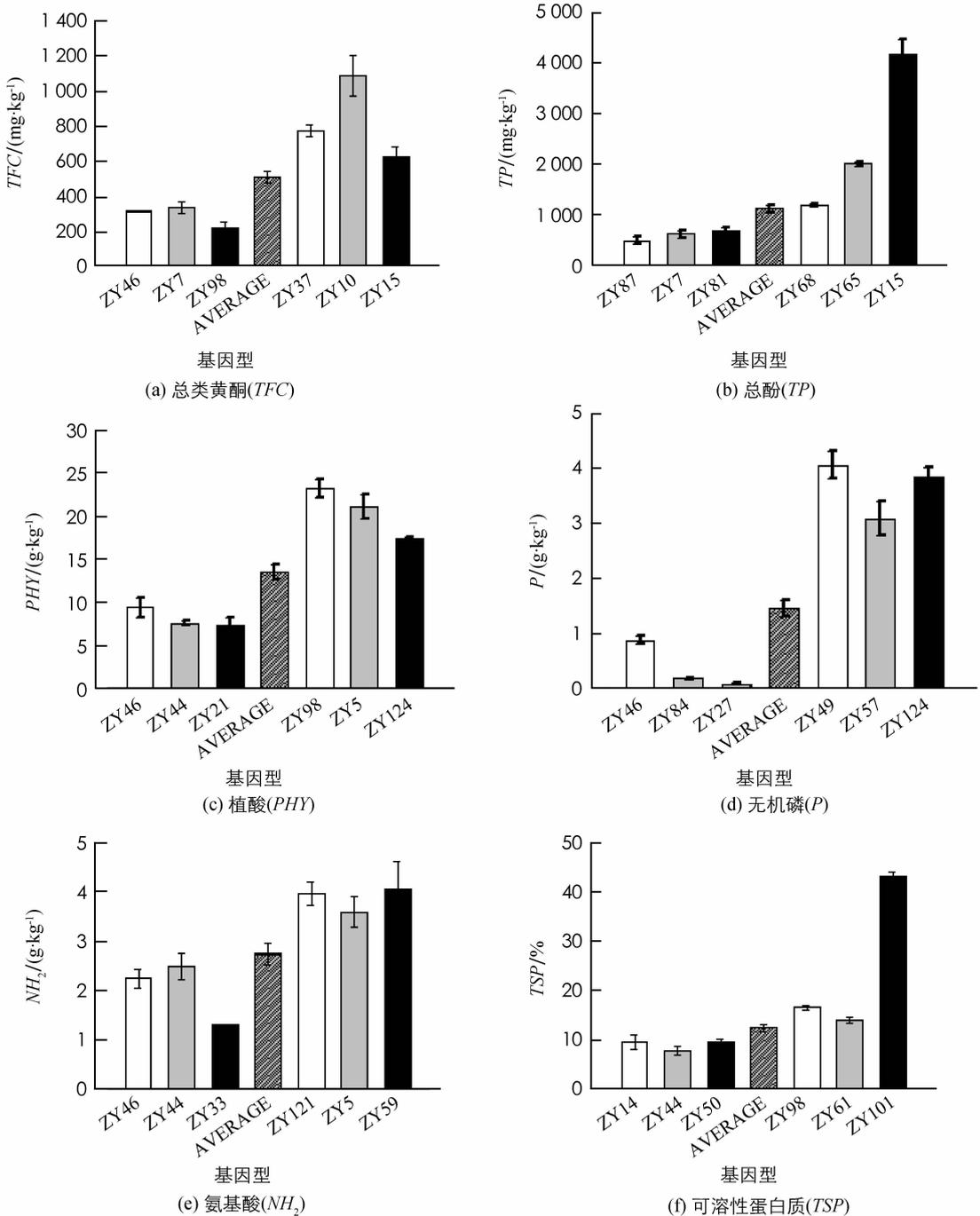
2.2 各营养性状比较分析

对所测大麦群体的 67 个基因型的各营养性状比较发现,各指标采用 67 个基因型 3 次重复平均值中的极大值、极小值和平均值作柱状图. 由图 1 可知,这 6 个指标中,氨基酸质量分数的最大值、最小值与平均值比较高低相差小,即氨基酸的质量分数差异较小;无机磷质量分数的最大值、最小值与平均值比较高低悬殊,且变异系数较大,表明无机磷质量分数差异明显. 安徽汪庄环境中的 ZY46 基因型的总类黄酮、植酸、无机磷和氨基酸质量分数均比较低,可能与土壤环境有关.

2.3 籽粒多组分营养性状的相关性网络分析

图 2a,图 2b 和图 2c 分别代表安徽汪庄、安徽广大圩和四川养马镇环境中大麦籽粒各组分营养成分的

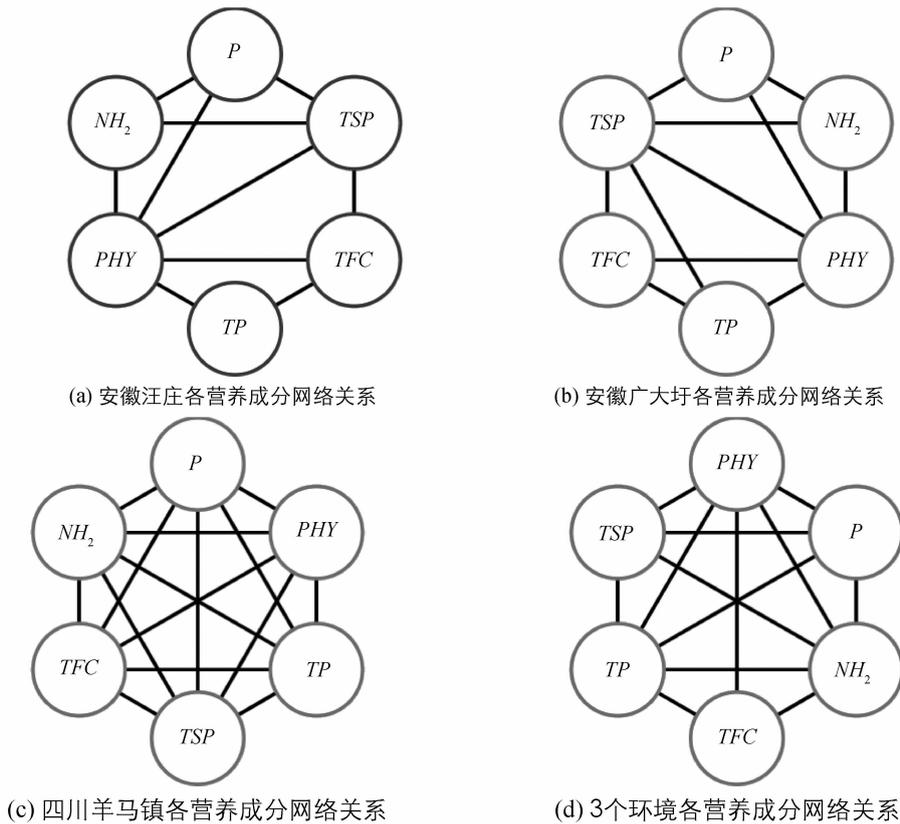
网络相关性, 图 2d 表示 3 个环境中所有数据的相关性分析. 以上相关性网络均显示 6 种营养性状之间的相关性均呈正相关. 其中, 四川养马镇种植的大麦籽粒多组分营养性状之间相关性较复杂, 每个指标与其他指标均呈显著相关性; 安徽汪庄环境的总酚只与总类黄酮和植酸有相关性. 3 个环境中植酸、可溶性蛋白质都与其他营养性状有相关性. 安徽两个环境中营养性状相关性差异无统计学意义, 以上结果证明不同种植环境中相关性网络会发生改变.



注: 图中 Y 轴数值为群体的平均值±标准差;

柱状图白色代表安徽汪庄, 灰色代表安徽广大圩, 黑色代表四川养马, 斜格代表 3 个环境的平均值.

图 1 3 个环境中大麦籽粒各营养性状的质量分数



所有相关性均达到显著水平($P < 0.05$)。圆形代表营养性状, 点与点之间的连线代表性状之间的相关性。

TSP 为可溶性蛋白质, PHY 为植酸, TFC 为总类黄酮, TP 为总酚, NH_2 为氨基, P 为无机磷

图 2 大麦籽粒多组分营养性状间的网络关系

3 结论与讨论

本文采用紫外分光光度法对种植于不同环境的贵州地方栽培大麦进行 6 种籽粒营养组分的分析测定, 结果表明, 这 6 种营养组分质量分数水平不等, 分为常量营养物质与微量营养物质, 所测结果与前人研究结果^[18-20]基本一致。其中, 遵义大麦籽粒中总酚、可溶性蛋白质、氨基和无机磷质量分数均在正常范围内, 而总类黄酮、植酸的质量分数较高, 大量研究表明, 大麦及其他食物中所含黄酮类化合物对于人体来说具有广泛的生理活性; 而对于植物体来说, 黄酮类化合物对植物的生长、发育、开花和结果及其抗菌防病等方面都有十分重要的影响。大麦及其籽粒中黄酮类化合物质量分数越高, 大麦籽粒的发芽率及大麦株高、实粒数、千粒质量、有效穗和穗长也就越高, 并且不同棱型大麦黄酮类化合物质量分数也不一样。植酸是植物种子发育过程中积累起来的一种天然组分, 是植物体内磷和肌醇的主要储存形式, 大多与蛋白质结合成圆球状晶体, 通常存在于成熟的豆类 and 禾谷类等作物种子中。不同基因型或不同环境都会影响大麦籽粒植酸质量分数。本研究通过 3 个环境相比, 发现不同环境下总类黄酮和植酸质量分数差异无统计学意义, 说明总类黄酮和植酸质量分数高可能与品种有关。

目前, 国内外对于大麦籽粒 γ -氨基丁酸的研究还相对较少, 其报道主要集中在小麦、水稻、玉米等作物上^[21]。据研究显示, 大麦中的 γ -氨基丁酸(即本试验所测氨基)质量分数在大麦籽粒中和大麦发芽时的变化具有显著差异性^[22], 从测得的数据可知, 氨基酸质量分数更加稳定, 且质量分数相对较高, 说明氨基酸质量分数在大麦籽粒储藏营养物质中具有保守性, 并且是较高的营养物质之一。本试验所测氨基酸质量分数实际上是大麦籽粒中氨基酸的质量分数, 由于其氨基酸质量分数较高, 在实际生产中对大麦各品种不同营养成分进行筛选时, 还需做进一步研究, 应综合考虑大麦不同基因型的品种以及对品种筛选的处理条件。

本试验通过相关性网络分析发现, 大麦籽粒各营养成分间均呈正相关性, 不同种植环境的大麦种子营养成分间的网络关系差异有统计学意义, 而四川环境中大麦籽粒多组分营养性状之间相关性较复杂, 每个指标与其他指标均呈显著相关性. 各环境籽粒营养形状之间相关性复杂程度不同, 其原因有待进一步研究.

不同种植环境对栽培大麦籽粒营养组分有不同程度的影响. 其中, 无机磷在不同环境中存在较大差异, 总酚和总类黄酮并未受到环境的显著影响, 该类化合物属于抗氧化物, 主要合成于种子发育后期, 其合成代谢途径具有保守性. 而其他营养指标, 安徽和四川环境间差异有统计学意义, 可能是由气候或土壤因素而导致的.

参考文献:

- [1] 陈明贤, 张国平. 大麦的利用现状及前景探讨 [J]. 大麦与谷类科学, 2010(3): 11—14.
- [2] 谢志新, 丁守仁. 大麦品质育种研究与进展(2) [J]. 大麦科学, 1996(2): 4—8.
- [3] 谭茂玲, 廖爽, 万燕, 等. 干旱胁迫对苦荞麦农艺性状、产量和品质的影响 [J]. 西南师范大学学报(自然科学版), 2015, 40(10): 88—93.
- [4] 凡迪, 薛文韬, 严俊, 等. 四倍体小麦籽粒多组分营养物质含量的 QTL 定位及相关性分析 [J]. 麦类作物学报, 2014, 34(12): 1611—1618.
- [5] KENNEDY G, NANTEL G, SHETTY P. The scourge of “hidden hunger”: Global Dimensions of Micronutrient Deficiencies [J]. Food Nutrition and Agriculture, 2003, 32: 8—16.
- [6] 潘永东, 王效宗, 包奇军, 等. 氮素肥料对啤酒大麦产量和麦芽品质的影响 [J]. 农业现代化研究, 2007, 28(4): 480—482.
- [7] 惠富平, 过慈明. 近代中国关于化肥利弊的争论 [J]. 南京农业大学学报(社会科学版), 2015, 15(1): 114—122, 127.
- [8] 许云峰, 许红星, 安调过, 等. 野生二粒小麦及其后代富含微量营养元素种质资源的筛选鉴定 [J]. 中国生态农业学报, 2011, 19(5): 1205—1209.
- [9] 雷天刚, 何永睿, 彭爱红, 等. 贵州部分柑橘地方品种遗传背景的 SSR 分析 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2015, 37(11): 30—35.
- [10] 舒世德. 贵州大麦地方品种的品质特点及其与生态条件的关系 [J]. 贵州农业科学, 1994(3): 48—51.
- [11] 英敏, 刘贵林. 贵州饲料大麦生产现状与开发利用展望 [J]. 贵州畜牧兽医, 2003, 27(2): 14.
- [12] JIA Z, TANG M, WU J. The Determination of Flavonoid Contents in Mulberry and Their Scavenging Effects on Superoxide Radicals [J]. Food Chemistry, 1999, 64(4): 555—559.
- [13] AINSWORTH E A, GILLESPIE K M. Estimation of Total Phenolic Content and Other Oxidation Substrates in Plant Tissues Using Folin-Ciocalteu Reagent [J]. Nature Protocol, 2007, 2(4): 875—877.
- [14] COSTA-BAUZA A, GRASES F, GOMILA I, et al. A Simple and Rapid Colorimetric Method for Determination of Phytate in Urine [J]. Urological Research, 2012, 40(6): 663—669.
- [15] FICCO D B M, RIEFOLO C, NICASTRO G, et al. Phytate and Mineral Elements Concentration in a Collection of Italian Durum Wheat Cultivars [J]. Field Crops Research, 2009, 111(3): 235—242.
- [16] FREEDMAN R B, RADDI G K. The Reaction of 2, 4, 6-Trinitrobenzenesulphonic Acid With Amino Acids, Peptides and Proteins [J]. Biochem J, 1968, 108(3): 383—391.
- [17] BRADFORD M M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein Dye Binding [J]. Analytical Biochemistry, 1976, 72(1): 248—254.
- [18] YANG T, ZENG Y W, PU X Y, et al. Correlation Analysis of Functional Components of Barley Grain [M]. Springer Netherlands: Advance in Barley Sciences, 2012: 199—207.
- [19] DAI F, WANG J, ZHANG S, et al. Genotypic and Environmental Variation in Phytic Acid Content and Its Relation to Protein Content and Malt Quality in Barley [J]. Food Chemistry, 2007, 105(2): 606—611.

- [20] 王祥军, 齐军仓, 王 仙, 等. 不同类型大麦品种籽粒中酚酸类化合物含量的差异 [J]. 麦类作物学报, 2010, 30(5): 847—852.
- [21] 赵大伟, 普晓英, 曾亚文, 等. 大麦籽粒 γ -氨基丁酸含量的测定分析 [J]. 麦类作物学报, 2009, 29(1): 69—72.
- [22] 赵春艳, 曾亚文, 普晓英, 等. 不同大麦品种(系)营养成分成分差异比较 [J]. 西南农业学报, 2010, 23(3): 613—618.

Multi-Component Nutrient Content Analysis of Guizhou Barley Grain Cultivated in Different Environmental

ZHANG Jun-ying¹, YAN Jun², RUAN Jing-Jun¹,
XUE Wen-tao¹, ZHAO Gang², CHENG Jian-ping¹

1. Institute of Triticeae Crops, Guizhou University, Guiyang 550025, China;

2. School of Pharmacy and Bioengineering, Chengdu University, Chengdu 610106, China

Abstract: In order to find genetic resources for improving nutrition content in Guizhou cultivated barley, a population consisting of 67 Guizhou local cultivated barley were planted in three environment: Wang Zhuang and Guang Daxu in Anhui province, Yangma Town in Sichuan province, and total flavonoids (TFC), total phenol (TP), phytic acid (PHY), inorganic phosphorus (P), amino acids (NH₂) and soluble protein (TSP) was determined by UV spectrophotometry method. The results show that influence degree of barley grain nutrients content is different in different planting environment. Network correlation analysis shows that there is a positively correlation between the barley grains nutritional properties. Total phenols only were significantly correlated with total flavonoids and soluble protein in Anhui Province environmental. There is a complex relationship among various nourishment compositions in complex Sichuan environmental. As a result, the correlation between total phenol and other nutrient contents of barley grain may be affected by environmental factors. This study provides a theoretical basis for the improvement of Guizhou cultivated barley.

Key words: cultivated barley; grain multicomponent nutrition; correlation network analysis

责任编辑 周仁惠