

大麦发芽过程中内源激素的变化

张笑¹ 孙丽华³ 王琦¹ 王晓丹² 董亮² 赵长新²

(1.大连甘井子区疾病预防控制中心,辽宁 大连 116034;2.大连工业大学生物工程学院辽宁省发酵工程重点实验室,辽宁 大连 116034;3.辽宁经济干部管理学院生物工程系,辽宁 沈阳 110000)

摘要: 选用进口大麦 Gairdner 和国产大麦甘啤二号为原料,分析比较了发芽过程中赤霉素、生长素和脱落酸等内源激素含量的变化规律。研究结果表明,3种激素在两种大麦发芽过程中均呈现出随发芽时间上下波动的趋势,且两种大麦在发芽过程中各激素含量的变化规律基本一致。同时,赤霉素均有刺激并诱导其他两种内源激素的作用。

关键词: 大麦; 发芽; 内源激素

中图分类号:TS262.5;TS261.4 文献标识码:A 文章编号:1001-9286(2011)11-0056-03

Study on the Change of Endogenous Hormone Content in Barley Malting Process

ZHANG Xiao¹, SUN Lihua³, WANG Qi¹, WANG Xiaodan², DONG Liang² and ZHAO Changxin²

(1.Ganjingzi District Center for Disease Control and Prevention of Dalian, Dalian, Liaoning 116031; 2. School of Biotechnology, Key Lab of Fermentation Engineering of Dalian Polytechnic University, Dalian, Liaoning 116034; 3.Liaoning Economic Management Cadre Institute, Shenyang, Liaoning 110000, China)

Abstract: The change rules of GA₃, IAA and ABA content of two kinds of barley including imported Gairdner and domestic Ganpi No.2 in malting process was analyzed. The results showed that the curve of GA₃, IAA and ABA content of both two kinds of barley during malting process waved with the malting time, and the change rules of their endogenous hormone were almost the same. Meanwhile, it was found that GA₃ plays an important role to stimulate the secretion of IAA and ABA in the process of malting.

Key words: barley; malting; hormone

植物激素在植物体内作为执行细胞通讯的化学信息,在代谢、生长、形态构成等植物生理活动的各个方面均起着十分重要的作用。如在许多高等植物体内已确认的赤霉素同分异构体多达 84 种,其最为显著的特征是能够促进植物细胞纵向膨大生长。同时,还对花芽分化、植物开花以及喜光种子的暗发芽等也起到促进作用^[1]。生长激素在植物体内是由色氨酸生成,其对植物茎叶的伸长、根系的形成具有促进作用。脱落酸属抑制生长型激素,并对其他生长促进型激素产生阻碍作用,冬季幼芽的休眠是靠脱落酸维持和控制的。当日照缩短,气温降低时,植物即产生该物质,可促进叶片等器官的衰老和脱落,使幼芽进入休眠状态。此外,根据叶片中的水分,还可以关闭其气孔^[2]。脱落酸对种子基因表达的调控等诸多方面均具有重要的调节功能^[3-5]。总之,植物激素并非是由其中某一类型单独发挥作用,大多是在多种类激素相互协调、相互影响和相互对立的条件下促进植物成长的。

本文以进口大麦和国产大麦为研究对象,检测并分

析了两种大麦在发芽过程中赤霉素、生长素和脱落酸等内源激素含量的变化。同时,通过比较两种大麦发芽过程中 3 种内源激素含量的变化规律,以期找出国产大麦和进口大麦在啤酒酿造性能差异上的本质,同时也为制订更加合理的制麦工艺提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

大麦:大麦 Gairdner 和甘啤二号,由大连中粮麦芽有限公司提供。

实验仪器:NN-K580MFS 台式微波炉(上海松下微波炉有限公司);TOLEDO-AB104 电子天平(METTLER 公司);B-22M 超高速冷冻离心机(Thermo IEC 公司);TGL-16G 台式离心机(上海安亭科学仪器厂);Jasco LC-2000 型高效液相色谱仪(日本分光公司);Unic-7200 紫外分光光度计(上海尤尼柯仪器有限公司);KQ-500DB 型数控超声波清洗器(昆山市超声波仪器有限公司)。

收稿日期:2011-07-15

作者简介:张笑(1980-),辽宁营口人,硕士研究生,工程师。

通讯作者:赵长新(1955-),教授,硕士生导师,研究方向:植物生理及酵母生理代谢机制,Email:zhaochangxin@126.com。

1.2 实验方法

1.2.1 麦芽及酶液的制备

大麦在暗室中发芽培养(16℃, 通风, 浸麦及喷淋用水 pH6.8), 当含水率达到 38% 时结束浸麦(约 24 h), 培养时间共计 120 h。期间保持适当湿度, 使种子含水率不低于 40%。原麦样品记为发芽 0 h, 每隔 24 h 取样, 用去离子水反复冲洗 3 遍, 用滤纸吸干表皮水分, 液氮研磨备用。

称取备用麦芽 10 g, 将其放入糖化杯内, 加纯净水 90 mL, 加 0.2 mol/L 的醋酸-醋酸钠缓冲液 10 mL。于 40℃ 水浴保温搅拌 1 h。过滤, 弃去最初的 20 mL 滤液。最后得到的滤液用来测定酶活力。在此过程中, 所有容器均用纯净水冲洗 3 遍。

1.2.2 HPLC 测量大麦内源激素含量

1.2.2.1 内源激素的提取

称取备用麦芽 2.0 g, 加入 80% 甲醇 20 mL 于 4℃ 分 2 次冷浸提取 24 h; 过滤, 滤渣用少许 80% 甲醇洗 3 次, 过滤, 合并全部洗涤液和浸提液, 用等体积(20 mL) 石油醚(沸程 30~60℃) 萃取脱色 2 次, 直至石油醚相无色, 合并水相。于 35~40℃ 下减压浓缩至原体积的 1/3。用 0.1 mmol/L HCl 酸化浓缩液为 pH2.8~3.0。用等体积(10 mL) 乙酸乙酯萃取 3 次(弃去水相), 于 40~42℃ 下将乙酸乙酯蒸干, 用流动相溶液定容至 10 mL; 再经过 0.45 μm 的超微滤膜过滤, 即可作为供试液。

1.2.2.2 色谱条件

色谱柱: Spherisorb C₁₈, ID₄×250 mm, 5 Lm; 预柱: C₁₈, ID₄×30 mm; 柱温: 40℃; 流动相: 乙腈-甲醇-0.6% 乙酸(5:50:45), 0.8 mL/min 恒流洗脱; 检测波长: UV-254 nm, 进样量 1 μL。

2 结果与讨论

2.1 大麦发芽过程中赤霉素含量的变化

对大麦发芽过程中赤霉素的含量变化进行分析, 结果见图 1。

由图 1 可知, GA₃ 在 Gairdner 与甘啤二号发芽过程中赤霉素的含量的变化规律基本相似, 其含量上下波动。Gairdner 中 GA₃ 含量前期波动较大, 后期逐渐减小。甘啤二号中的 GA₃ 变化与 Gairdner 相似, 但在发芽后期 GA₃ 的较高。

大麦中的 GA₃ 较低, 在大麦发芽 24 h, GA₃ 迅速增长。在种子发育早期, 赤霉素的作用一方面是诱导糊粉层中产生淀粉酶等水解酶, 来加速大麦胚乳的溶解; 另一方面是促进种子发育, 这种作用一般是通过促进生长素的合成而间接促进种子发育(如图 2), 生长素是种子发育

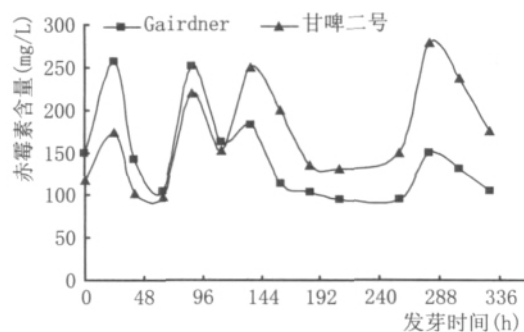


图 1 大麦发芽过程中赤霉素含量变化趋势

过程中重要的调节激素, 在种子发育早期可以使种子形成生长中心, 可调集大量营养向种子转移。Gairdner 中的 GA₃ 高于国内麦芽, 这也是 Gairdner 较早获得高酶活力, 进而制造高品质麦芽的原因之一。

2.2 大麦发芽过程中生长素含量变化

对大麦发芽过程中生长素含量的变化趋势进行分析, 结果见图 2。

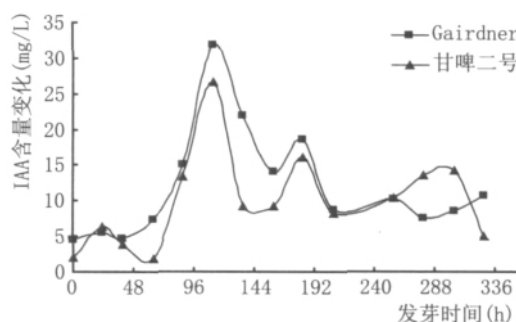


图 2 大麦发芽过程中生长素含量变化趋势

从图 2 可知, IAA 的含量在 Gairdner 与甘啤二号中同样呈现出上下波动的趋势。在浸麦及大麦发芽初期, IAA 含量较低; 在大麦开始发芽后, IAA 含量大幅度增加, 并于 120 h 时达到其最大值, Gairdner 与甘啤二号分别为 32.8 mg/L 和 26.5 mg/L; 在发芽 24 h 后, 由于赤霉素含量的增长, 促进了 IAA 含量的增加, 麦芽开始迅速生长。随后, 麦芽内部的 IAA 含量剧烈波动, 且随着胚乳的消耗殆尽而达到最小值, Gairdner 与甘啤二号分别为 11.6 mg/L 和 5.08 mg/L。

2.3 大麦发芽过程中脱落酸含量变化

大麦发芽过程中脱落酸含量的变化趋势见图 3。

由图 3 可知, 在大麦发芽过程中 ABA 的含量在原来大麦中最高, Gairdner 与甘啤二号分别为 0.72 mg/L 和 0.34 mg/L。发芽开始后, 其含量迅速降低, 并于 48 h 左右达到第一个极小值, 后又逐渐升高, 并于 120 h 时达到极大值, 后逐渐呈现出下降趋势, 一直到发芽结束。但总体上 Gairdner 的 ABA 含量在整个发芽过程中均高于甘啤二号。

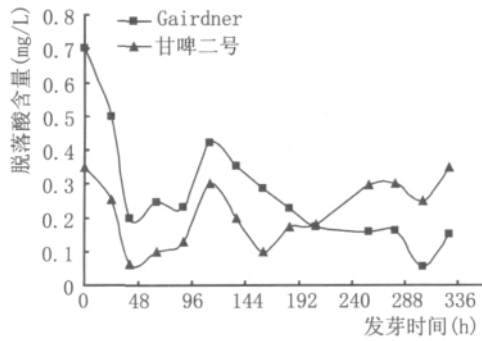


图3 大麦发芽过程中脱落酸含量变化趋势

ABA 含量在原大麦中较高,这是由于在大麦种子休眠过程中,为了适应低水分和低温等不利环境,生成大量的 ABA,使种子的气孔关闭来达到减少呼吸,降低大麦种子营养物质消耗的目的。当大麦开始发芽后,ABA 显著降低,这时主要是麦芽中赤霉素的生长,激活大麦糊粉层中酶原,而且赤霉素也促进了生长素的合成。综合以上因素,大麦发芽后其生命活动旺盛,导致 ABA 含量降低。在大麦发芽后期,其变化不稳定,其抑制效应与促进生长素的促进效应相结合,能更具体的解释大麦发芽的生理生态变化。

2.4 大麦发芽过程中促进生长物质与抑制生长物质的比例变化

对大麦发芽过程中促进生长发育与抑制生长发育物质的比值变化进行分析,结果见图 4。

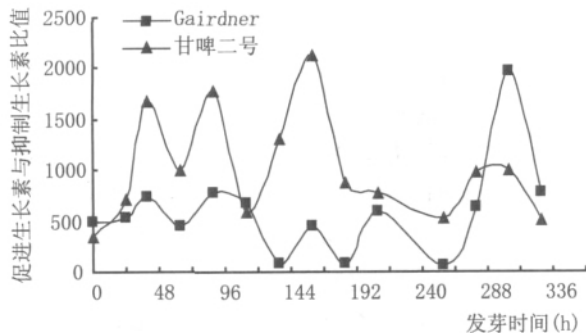


图4 大麦发芽过程中促进生长发育与抑制生长发育物质的比值变化

由图 4 可知,促进生长发育与抑制生长发育物质的变化波动是十分剧烈的。总体上来讲,Gairdner 与甘啤二号的变化规律相似,但甘啤二号中的比值除了在大麦发芽 312 h 处,其他均普遍高于 Gairdner 中两者的比值。

3 种激素并不是独立行使其生物学功能的,而是互相协调地调节植物细胞的分裂、伸长和分化等发育过程。GA 和 IAA 均能促进植物的生长,三者之间可以相互促进,均正向调节对方的生物合成和水平,而且相比之下

GA 的缺失对 IAA 的影响相对较小;IAA 和 ABA 在调节气孔开合中常表现出相互拮抗的关系,这种拮抗作用通过调节离子通道来调节离子的进出和胞质的 pH,进而影响保卫细胞的膨压来达到的;GA 和脱落酸之间也是相互协调起作用,GA 和脱落酸的拮抗效应是调节从胚胎发育到种子萌发的发育转变的重要因子,在糊粉层细胞中 GA 和 ABA 的综合效应对调节 α -淀粉酶表达的信号转导途径也具有重要作用。所以,激素对麦芽的信号调节作用是由促进激素与抑制激素的比例的综合效果决定的。

在浸麦的 24 h 内,大麦吸水,激素逐渐被释放到水环境中,游离态激素增大,而且促进生长素比抑制生长素增长快。24 h 后大麦开始发芽,激素大幅度增加,麦芽表现为生长旺盛状态,其促进生长发育与抑制生长发育物质也快速增加。其后,麦芽中的促进生长发育与抑制生长发育物质变化十分剧烈,麦芽中的生理生化变化也是十分复杂的。在大麦发芽 288 h 时,GA₃、IAA 和 ABA 均有小幅度增长,导致促进生长发育与抑制生长发育物质的加大,这可能与种子发芽后的植物生长有关。

3 结论

本文选用进口大麦 Gairdner 和国产大麦甘啤二号,分析比较了两种大麦发芽过程中赤霉素、生长素和脱落酸等内源激素含量的变化。研究发现,两种大麦在发芽过程中各激素含量的变化规律基本一致,3 种激素在两种大麦发芽过程中均呈现出随发芽时间上下波动的趋势。其中,IAA 的含量于 120 h 达到其最大值,Gairdner 与甘啤二号分别为 32.8 mg/L 和 26.5 mg/L;ABA 的含量在大麦发芽过程中为原大麦中最高,Gairdner 与甘啤二号分别为 0.72 mg/L 和 0.34 mg/L,赤霉素均有刺激并诱导其他 2 种内源激素的作用。

参考文献:

- [1] 郝建军,康宗利.植物生理学[M].北京:化学工业出版社,2005: 250-273.
- [2] 刘璞,陈珈.植物激素脱落酸的信号转导[J].植物生理学通讯, 2000,36(2):165-169.
- [3] Addicott F T,Carns H R.History and introduction[M].In: Addicott FT(ed). Abscisic Acid. New York: Prager Sci, 1983:1-21.
- [4] Davies W J,Zhang J.Root to shoot signals and regulation of growth than development of plant sindrying siol[J].AnnuRev Plant Physiol Plant Mol Biol,1991(42):55-76.
- [5] Giraudat J, Parey F, Bertauche N. et al. Current advances in Abscisic acid action and signalling[J]. Plant MolBiol,1994(26): 1557-1577.