

陕西关中不同时期小麦品种高分子量 麦谷蛋白亚基变异分析*

李学军, 王 辉, 于新智, 闵东红, 孙道杰, 冯 毅

(西北农林科技大学 农学院, 陕西 杨陵 712100)

[摘 要] 用 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳分析了陕西关中地区不同历史时期主要推广小麦品种的高分子量麦谷蛋白亚基组成, 并计算了其品质得分。结果表明, 陕西关中地区主要推广小麦品种的高分子量麦谷蛋白亚基构成欠佳, 亚基类型贫乏。主要原因在于 5+ 10 亚基很少, 2+ 12 亚基多; 1 亚基较多, 2* 亚基没有, N 类型多等。陕西关中 80 年代至今推广的小偃 6 号及用其作亲本选育的个别品种含有 14+ 15 亚基, 这些品种的品质都很好。最后讨论了冬小麦品质育种的策略和方法。

[关键词] 小麦品种; 麦谷蛋白亚基; 变异分析

[中图分类号] S512.103.3

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2003)04-0041-04

小麦的蛋白质主要由麦谷蛋白和醇溶蛋白组成, 二者是影响加工品质的主要因素, 也是组成面筋的主要成分, 前者赋予面团强度和弹性, 后者决定面团的延伸性。小麦谷蛋白只占面筋蛋白的 35% 左右, 但对面粉的烘烤品质起着重要作用^[1]。利用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)技术, 根据分子量不同将谷蛋白亚基分离为高分子量麦谷蛋白亚基(HMW-GS)和低分子量麦谷蛋白亚基(LMW-GS)。国内外大量研究证实^[2-4], 高分子量麦谷蛋白亚基与小麦品种的烘烤品质密切相关。HMW 谷蛋白亚基由复等位基因控制, 通常每个染色体上两个基因连锁遗传。控制所有 HMW 谷蛋白亚基的基因位于部分同源群 1A, 1B 与 1D 的长臂上, 统称为 Glu-1 位点。关于 HMW 谷蛋白单个亚基等位基因对品质的效应多数研究结果基本一致^[5,6]。目前, 培育具有最优高分子量麦谷蛋白亚基组成的新品种是小麦品质改良的重要途径。本研究分析了陕西关中地区主要推广小麦品种的高分子量麦谷蛋白亚基构成, 以期小麦育种者提供优质小麦资源材料和利用 HMW-GS 测定技术改进常规育种方法, 并讨论了现阶段品质育种应采取的策略和方法。

1 材料和方法

1.1 供试材料

供试材料为陕西关中地区不同历史时期主要推广小麦品种: 碧蚂 1 号、碧蚂 4 号、西农 6028、丰产 3 号、矮丰 3 号、矮丰 4 号、西农 65、西农 85、小偃 6 号、陕 229、西农 84G6、西农 1376、西农 8727、西农 88、西农 881、西农 2611、西农 2208、陕 160、陕 253 和小偃 22, 以中国春为对照。

1.2 方 法

1.2.1 样品提取 每品种取 1 粒种子于 1.5 mL 离心管中, 用圆头镊子研碎, 每样品加体积分数 50% 异丙醇 500 μ L, 搅拌均匀, 60 $^{\circ}$ C 提取 25 min, 在室温下连续提取 2 h, 8 000 r/min 离心 5 min, 倒掉上清液; 然后加体积分数 50% 异丙醇 500 μ L, 搅拌均匀, 60 $^{\circ}$ C 提取 25 min, 在室温下连续提 2 h, 8 000 r/min 离心 5 min, 除去醇溶蛋白; 再用 400 μ L 样品提取液(62.5 mmol/L Tris-HCl, pH 6.8; 体积分数 10% 丙三醇, 质量分数 2% SDS; 体积分数 5% β -巯基乙醇和体积分数 0.002% 溴酚蓝溶液)60 $^{\circ}$ C 提取 2 h, 8 000 r/min 离心 5 min, 上清液备用。

1.2.2 SDS-PAGE 电泳 采用不连续分离系统。

* [收稿日期] 2002-09-23

[基金项目] 国家“863”计划项目(2001AA 241037); 农业部农业结构调整重大技术研究专项(2002-02-01A-1)

[作者简介] 李学军(1971-), 男, 陕西商州人, 助理研究员, 在读博士, 主要从事小麦遗传育种研究。

浓缩胶缓冲液为 1.0 mol/L 的 Tris-HCl 溶液, pH6.8; 分离胶缓冲液为 1.0 mol/L 的 Tris-HCl 溶液, pH8.8; 电极缓冲液为 25 mmol/L Tris, 192 mmol/L 甘氨酸, 质量分数 0.1% SDS, pH8.3。选用垂直板胶电泳槽, 分离胶中含质量分数 10% 丙烯酰胺, 质量分数 0.267% 双丙烯酰胺。样品以 20~25 mA 电泳 12~15 h。电泳完毕后把胶板放入含体积分数 12% 的三氯乙酸溶液中固定 10 min 后取出, 放入含质量分数 0.1% 考马斯亮兰、体积分数 7% 乙

酸和体积分数 40% 的甲醇水溶液中固定染色 4 h 以上, 此后以体积分数 7% 乙酸、体积分数 40% 的甲醇水溶液脱色直至背景无色。图谱采用美国 Upland 公司生产的 UVP GDS-8000 凝胶成像系统。
1.2.3 HMW 谷蛋白亚基的判读及品质评分 高分子量麦谷蛋白亚基的区分及编号参照 Payne 等^[7]的方法, 其品质得分计算参考 Payne 等^[5]的评分系统(表 1)。

表 1 高分子量麦谷蛋白亚基品质得分

Table 1 Quality score assigned to HMW Glutenin Subunits			
品质得分 Scores	染色体 Chromosome		
	1A	1B	1D
4	—	—	5+ 10
3	1, 2*	17+ 18, 7+ 8	—
2	—	7+ 9	2+ 12, 3+ 12
1	N	7, 6+ 8	4+ 12

2 结果与分析

2.1 HMW 谷蛋白亚基的等位变异及频率

用 SDS-PAGE 法分析的结果(图 1, 表 2)表明, 陕西关中地区小麦品种的高分子量麦谷蛋白亚基类型比较贫乏, 根据控制这些亚基的基因位点的不同将其分为 3 组, 并计算各等位变异类型在小麦品种

中出现的频率(表 3)。Glu-A1 位点具有 2 种类型(1, N), 分别占 45% 和 55%; Glu-B1 位点具有 3 种类型(7+ 8, 7+ 9, 14+ 15), 其中有 50% 品种含亚基 7+ 8, 另约 40% 的品种含亚基 7+ 9, 14+ 15 亚基出现频率最低, 只占 10%。Glu-D1 位点具有 2 种类型(2+ 12, 5+ 10), 其中绝大多数为 2+ 12(占 95%), 5+ 10 亚基出现频率最低, 仅占 5%。

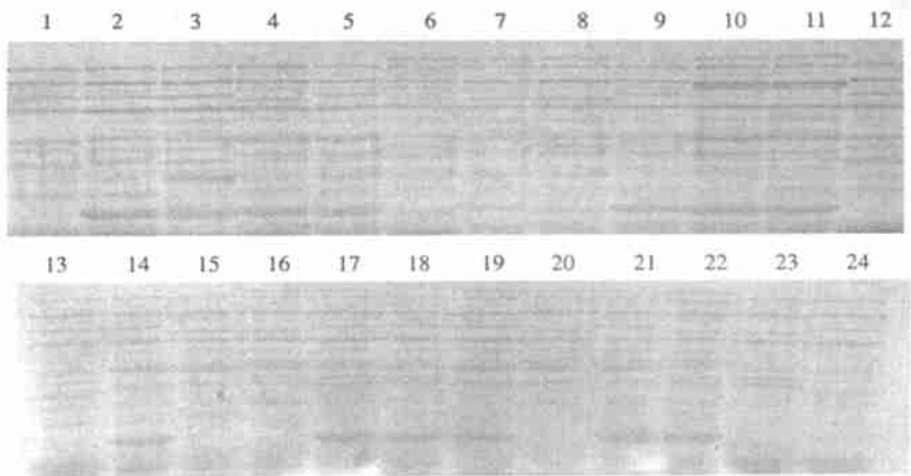


图 1 小麦高分子量麦谷蛋白亚基的 SDS-PAGE 电泳图谱

1, 12, 13, 24 中国春(CK); 2 碧蚂 1 号; 3 碧蚂 4 号; 4 西农 6028; 5 丰产 3 号; 6 矮丰 3 号; 7 矮丰 4 号; 8 西农 65; 9 西农 85; 10 小偃 6 号; 11 陕 229; 14 西农 84G6; 15 西农 1376; 16 西农 8727; 17 西农 88; 18 西农 881; 19 西农 2611; 20 西农 2208; 21 陕 160; 22 陕 253; 23 小偃 22
Fig. 1 Fractionation of protein extracts from varieties by SDS-PAGE variation of high molecular weight glutenin subunits
1, 12, 13, 24 Chinese springs (CK); 2 Bina 1; 3 Bina 4; Xinong 6028; 5 Fengchan 3; 6 Aifeng 3; 7 Aifeng 4; 8 Xinong 65; 9 Xinong 85; 10 Xiaoyan 6; 11 Shaan 229; 14 Xinong 84G6; 15 Xinong 1376; 16 Xinong 8727; 17 Xinong 88; 18 Xinong 881; 19 Xinong 2611; 20 Xinong 2208; 21 Shaan 160; 22 Shaan 253; 23 Xiaoyan 22

表 2 高分子量麦谷蛋白亚基的品种间变异及品质得分

Table 2 HMW glutenin subunits composition of the wheat varieties

序号 No	品种 Variety	染色体 Chromosome			Glu-1 得分 Scores	序号 No	品种 Variety	染色体 Chromosome			Glu-1 得分 Scores
		1A	1B	1D				1A	1B	1D	
1	碧码 1 号 Bima 1	N	7+ 8	2+ 12	6	11	西农 84G6 Xinong 84G6	N	7+ 8	2+ 12	5
2	碧码 4 号 Bima 4	N	7+ 8	2+ 12	6	12	西农 1376 Xinong 1376	N	7+ 9	2+ 12	5
3	西农 6028 Xinong 6028	N	7+ 8	2+ 12	6	13	西农 8727 Xinong 8727	1	7+ 9	2+ 12	7
4	丰产 3 号 Fengchan 3	N	7+ 8	2+ 12	6	14	西农 88 Xinong 88	1	7+ 8	2+ 12	8
5	矮丰 3 号 A ifeng 3	1	7+ 9	2+ 12	7	15	西农 881 Xinong 881	N	7+ 8	2+ 12	6
6	矮丰 4 号 A ifeng 4	1	7+ 9	2+ 12	7	16	西农 2611 Xinong 2611	1	7+ 8	2+ 12	8
7	西农 65 Xinong 65	1	7+ 9	2+ 12	7	17	西农 2208 Xinong 2208	1	7+ 9	2+ 12	7
8	西农 85 Xinong 85	N	7+ 9	2+ 12	5	18	陕 160 Shaan 160	1	7+ 8	2+ 12	8
9	小偃 6 号 Xiaoyan 6	1	14+ 15	2+ 12	?	19	陕 253 Shaan 253	1	7+ 9	5+ 10	9
10	陕 229 Shaan 229	1	14+ 15	2+ 12	?	20	小偃 22 Xiaoyan 22	N	7+ 9	2+ 12	5

表 3 小麦品种高分子量麦谷蛋白亚基的等位变异及频率

Table 3 Allelic variation and frequencies of HMW glutenin subunits

染色体 1A Chromosome 1A		染色体 1B Chromosome 1B		染色体 1D Chromosome 1D	
亚基 Subunit	频率/% Frequency	亚基 Subunit	频率/% Frequency	亚基 Subunit	频率/% Frequency
1	55	7+ 8	50	5+ 10	5
2*	0	7+ 9	40	2+ 12	95
N	45	14+ 15	10		

2.2 谷蛋白亚基品质评分

每个小麦品种一般含 3~ 5 个高分子量谷蛋白亚基,由表 1 可知,具 N, 7+ 8, 2+ 12 亚基及 1, 7+ 9, 2+ 12 亚基的品种数较多;N, 7+ 9, 2+ 12 亚基和 1, 7+ 8, 2+ 12 亚基类型次之;1, 14+ 15, 2+ 12 和 1, 7+ 9, 5+ 10 亚基类型最少。根据 Payne 等^[5]制定的高分子量麦谷蛋白亚基评分标准计算,多数品种 Glu-1 品质得分 5~ 8 分,平均为 6.7 分,其中,1A 得分 2.1, 1B 得分 2.5, 1D 得分 2.1 分。在 Payne 评

分中,1A, 1B, 1D 达到的最高分数分别为 3 分, 3 分和 4 分(表 4), 因此各位点分别尚差 0.9, 0.5 和 1.9 分。差分最多的是 1D, 其次是 1A, 最少的是 1B (表 4)。其原因主要是 1D 染色体控制的 5+ 10 亚基少, 2+ 12 亚基多;1A 上 N 亚基最多, 2* 亚基没有;1B 上多为 7+ 8, 7+ 9 亚基, 而优质亚基 17+ 18 没有。因此,从亚基组成情况来看,陕西省历年来推广品种的加工品质遗传基础较狭窄。这一点同李硕碧等^[8]的研究结果一致。

表 4 控制高分子量麦谷蛋白亚基的各基因位点的品质得分

Table 4 Quality scores of each loci controlled HMW glutenin subunits in Shaanxi-grown wheat varieties

基因位点 Gene loci	品种数 Variety number	品质得分 Quality scores		
		平均分 Average	最高分 Maximum	差分 Short
Glu-A1	20	2.1	3	0.9
Glu-B1	18	2.5	3	0.5
Glu-D1	20	2.1	4	1.9
Glu-1		6.7	10	3.3

3 讨 论

1) 国外研究表明,通过品质性状的间接选择使得优质亚基在种植品种中富集。Lukow 等^[2]对加拿大 70 个小麦推广品种的分析表明,96% 的小麦品种含 1 或 2* 亚基;80% 的品种含 5+ 10 亚基。Khan

等^[9]对美国 44 个硬质红粒春小麦品种的分析也说明,所有品种含 2* 亚基和 1 亚基;98% 的品种含 5+ 10 亚基。本研究结果表明,在陕西关中地区历年来大面积推广品种中, Glu-D1 中 5+ 10 亚基的频率低,只有 5%; Glu-A1 中 N 亚基的频率较高,约为 45%, 2* 亚基没有; Glu-B1 中 7+ 8 和 7+ 9 亚基的

频率较高,分别为 50% 和 40%,而 14+ 15 仅 10%,无 7, 20, 17+ 18 等亚基类型。从一定程度上反映了陕西省小麦加工品质的遗传基础。

2) 目前,用于小麦品质育种的辅助选择方法主要有分子遗传标记和室内电泳两种。由于小麦为六倍体作物,A,B,D 染色体具有较高的同源性,分子标记的选择具有较大的难度,尚不能在田间实际应用;电泳法结果准确、可靠,是目前鉴定蛋白质的常规方法,因此,改善陕西省小麦的品质水平重要的是应用杂交转育结合室内电泳检测将 2*, 17+ 18, 5+ 10 亚基导入到当前推广的或即将进入生产的品种或品系中。

3) 低分子量麦谷蛋白亚基和醇溶蛋白组分对小麦加工品质也有一定影响。有些品种虽然含有 5+ 10 等优良亚基,其 Glu-1 的评分较高,但却是品质较差的普通小麦。所以通过上述遗传转化得到优质亚基的品种就不一定是优质小麦品种。因此以几个遗传来源不同的高产小麦品种为遗传背景,利用 SDS-PAGE 检测技术,通过回交分别转育出几套不同蛋白亚基的近等基因系群,利用该基因系群,在同一遗传背景条件下分析蛋白亚基及其组合的品质效应,及在不同遗传背景条件下分析蛋白亚基品质效应与遗传基础的关系,从而为通过蛋白亚基遗传转化改进小麦品质及品质育种提供理论依据和方法。

[参考文献]

- [1] Payne P I, Nightingale M A, Krattiger A F, et al. The relationship between HMW glutenin subunit composition and the bread-making quality of British-grown wheat varieties[J]. J Sci Food Agric, 1987, 40: 51- 65
- [2] Lukow O M, Payne P I, Tkachuk R. The HMW glutenin subunit composition of Canadian wheat cultivars and their association with bread-making quality[J]. J Sci Food Agric, 1989, 46(4): 451- 460
- [3] Roger W J, Payne P I, Harinder. The HMW glutenin subunit and gliadin Compositions of German-grown wheat varieties and their relationship with bread-making quality[J]. Plant Breeding, 1989, 103: 89- 100
- [4] 马传喜, 吴兆苏. 小麦胚乳蛋白质组成及高分子量麦谷蛋白亚基与烘烤品质的关系[J]. 作物学报, 1993, 19(16): 562- 566
- [5] Payne P I, Lawrence G J, Mudd E E. Control by homologous group 1 chromosomes of the high-molecular-weight subunits of glutenin, a major protein of wheat endosperm[J]. Theor Appl Genet, 1980, 58: 113- 120
- [6] 毛沛. 小麦高分子量谷蛋白亚基组成及其与面包烘烤品质的关系[D]. 河北保定: 河北农业大学, 1992
- [7] Payne P I, Lawrence G J. Catalogue of alleles for the complex gene loci, Glu-A1, Glu-B1, and Glu-D1 which code for high-molecular-weight subunits of glutenin in hexaploid wheat[J]. Cereal Research Communications, 1983, 11: 29- 35
- [8] 李硕碧, 单明珠, 李必运. 陕西省小麦品种资源高分子量谷蛋白亚基组成研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2002, 30(4): 1- 5
- [9] Khan K, Tammimga G, Lukow O M. The effect of wheat flour proteins on mixing and baking correlations with protein fractions and high molecular weight glutenin subunit composition by Gel Electrophoresis[J]. Cereal Chem, 1989, 66(5): 391- 396

Variation of high molecular weight glutenin subunits in wheat cultivars in grown at Shannxi different periods

LI Xue-jun, WANG Hui, YU Xin-zhi, M IN Dong-hong, SUN Dao-jie, FENG Yi

(College of Agronomy, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: The grain proteins of 20 wheat cultivars grown in Shaanxi at different periods were fractionated by SDS polyacrylamide gel electrophoresis to determine their high molecular weight glutenin subunit composition. Using the method described by Payne (1987), the quality scores of each of the subunits were summed to create a Glu-1 quality score for each cultivar. The results indicated that Shaanxi-grown wheats have rather low Glu-1 quality scores. It was the most important reason that the frequency of subunits 5+ 10 was very low. The results were discussed in relation to future strategies for improving bread-making quality of Shaanxi wheat cultivars.

Key words: wheat; glutenin subunit; variation analysis