

小麦地方品种 W_x 基因构成分析

王子宁 郭北海 张艳敏 温之雨 李洪杰 石云素

(河北省农林科学院粮油作物研究所, 石家庄 050031)

摘 要 用 SDS-PAGE 电泳技术, 从 900 份小麦 (*T. aestivum*) 地方品种中鉴定出了普通小麦 W_x-7D 基因缺失材料一份, W_x-4A 基因缺失材料六份, 含三个基因的材料为 893 份。出现频率为正常类型 $> W_x-4A > W_x-7D > W_x-7A$ 。 W_x-7D 缺失基因的发现, 再次证明我国小麦资源是一特殊类群; 这些材料的发现, 为我国开展面条品质育种研究打下了坚实的材料基础, 在小麦淀粉遗传控制研究和品质育种方面具有深远的理论研究和应用价值, 并在小麦支链淀粉的开发和利用方面有广阔的前景。

关键词 普通小麦 地方品种 W_x 基因 构成

中图分类号 S512.102.4 文献标识码 A 文章编号 1000-7091(1999)03-0005-05

$Waxy$ 蛋白是禾谷类胚乳淀粉颗粒中的一种蛋白, 也叫淀粉粒合成酶, 该酶的表达与否控制直链淀粉的合成, 其基因位点为 W_x , 在玉米^[1]、水稻^[2]、高粱、谷类和小麦均已发现。在小麦上, $Waxy$ 蛋白的编码基因分别位于 4A、7A 和 7D 染色体上, 已发现小麦胚乳中直链淀粉和支链淀粉的含量与这三个基因的表达有关, 基因缺失时会导致低含量淀粉合成酶, 使直链淀粉含量降低, 支链淀粉含量增加, 从而改变了小麦的淀粉构成、面粉品质、面条加工及食用品质。

为了进行上述研究工作, 各国争先进行小麦材料筛选。日本从 80 年代末就开始了小麦的淀粉构成和面条品质关系的研究, 并开始进行育种工作^[3~5], 从各种来源的材料中筛选到了 $Waxy-4A$ 和 7A 基因缺失材料, 并从一个 1937 年从中国“引进”的地方品种“白火麦”筛选到了 $Waxy-7D$ 基因缺失材料, 这是目前唯一的一个 $Waxy-7D$ 缺失材料^[5]。澳大利亚^[6]也进行了筛选工作, 但只筛选到了 $Waxy-4A$ 和 7A 缺失材料。

我国开展此项工作较晚, 品种资源中 W_x 基因构成情况不清楚, 但由于具有材料优势, 有可能筛选到 $Waxy-7D$ 新材料或新的 W_x 基因, 打破国外的封锁, 顺利开展小麦面条品种育种工作, 本研究正是在此情况下进行的。

1 材料和方法

1.1 实验材料

试验所采用的品种为河北省的地方品种及引进地方品种, 共 900 份。所采用的对照品种有: 中国春、中国春缺体、Gabo、Norin 67、Halbert、Sturdy、Kanto 107、Gamaya、Satanta 及荷兰小麦。

1998-03-09 收稿。

作者简介: 王子宁, 男, 1964 年生, 副研究员, 农学学士, 主要从事小麦生物技术及育种研究工作。

1.2 试验方法

实验采用文献[2]的 SDS-PAGE 方法并进行了改进。主要步骤如下。样品制备: 取不带胚乳的半粒种子, 用钳子夹碎并放入 1.5 mL 离心管中, 加入 1 mL 蒸馏水, 4℃过夜, 去除种皮并悬浮, 16 000 r/min 离心 5 min, 去上清, 淀粉沉淀用提取液(70 mM 的 Tris-HCl pH6.8, 含 5% SDS 和 2% 2-ME) 悬浮漂洗并离心去上清, 重复 3 次; 用蒸馏水悬浮洗涤沉淀并离心去上清, 重复 3 次, 70% 乙醇悬浮洗涤沉淀并离心, 丙酮洗涤沉淀并离心, 去上清, 自然风干淀粉。每半粒淀粉样品用 200 μ L 提取液提取 2 h, 浮水浴 5 min, 冷却样品, 16 000 r/min 离心 10 min, 取 30 μ L 上清液加样。

电泳: 电泳采用双胶垂直板不连续 SDS-PAGE 系统^[7], 电泳槽为 Protean \oplus , 电泳仪为 MULTIPHOR \oplus XL, 均由 Pharmacia 公司生产。凝胶大小为 20 cm \times 18 cm \times 0.7 cm, 初始电压为 120 V, 分离电压为 300 V, 电泳约进行 7 h。

检测: 蛋白染色采用银染^[2]方法。

2 结果与分析

2.1 小麦地方品种基因构成的特点

从电泳图谱可以看出, 小麦 Waxy 蛋白可分为三个亚基, 这三个亚基已由中国春缺体鉴定, 分别由 W_x-7A、W_x-7D 和 W_x-4A 三个基因编码, 基因存在时, 可从图谱上检测到该亚基, 基因缺失时, 电泳图谱上看不到该蛋白亚基(图 1)。

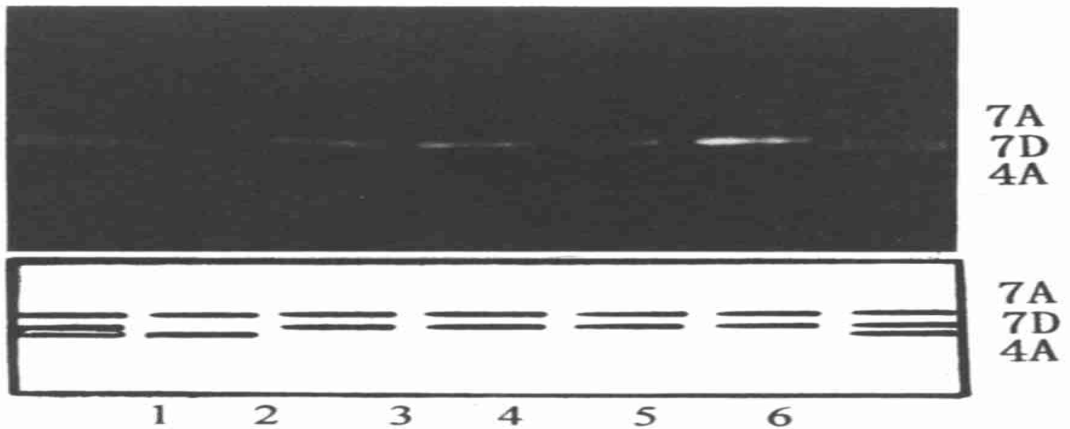


图 1 小麦 Waxy 蛋白 SDS-PAGE 电泳图谱

1 中国春 2 白芒白 3 红芒红 4 红蘗麦 5 大白皮 6 白葫芦头

在所分析的 900 份小麦地方品种中, 只发现一个品种缺失 W_x-7D 基因, 品种名称为“白芒白”, 其子粒为白色。在所检测的 10 份“白火麦”中, 本希望能发现 7D 缺失基因, 但只从中发现 2 份材料缺失 4A 基因; 从其它地方品种中发现 4 份 4A 基因缺失材料。这些缺失 4A 基因的材料均为红粒品种。其它 893 份材料均具有三个 W_{axy} 基因(表 1 和图 1)。

2.2 小麦 W_x 基因突变频率

由以上结果可以看出, Waxy 蛋白表现正常的品种为 893 份, 约占所分析的地方品种的 99. 22%; 4A 突变类型为 6 份, 占 0. 67%; 7D 突变体一份, 占所分析品种的 0. 11%。这一结果与 Zhao 等^[2]的结果具有共同的特点, 就是: Waxy 蛋白正常类型出现频率> 4A 突变频率> 7A 或 7D 的突变频率, 虽然从这些品种中未能发现 7A 突变体, 但却找到了稀有的、在国外品种中找不到的 7D 缺失品种, 这与我们以前对地方品种麦谷蛋白的分析结论^[8]相一致, 再次证明, 我国的地方品种具有自己独特的特点, 与国外材料相比, 含有许多新基因, 必须加以充分研究和利用。

2.3 小麦 Wx 缺失基因的地理分布

根据本文所研究的材料和以前日本人的结果, 现在世界上共发现两份材料具有 7D 缺失基因, 一份是“白芒白”, 在河北; 另一份是“白火麦”, 由于该品种是 1937 年, 日本人从中国“引进”, 年代久远, 当时的中国无人顾及这些, 所以其确切的地理来源不清楚; 但分析其来源可能是中国北方, 因为参考中国品种资源目录^[9], 可以查到白火麦都分布在中国北方(表 2), 在山西有 4 份, 河南有 4 份, 山东 2 份, 甘肃 1 份; 由于本研究时间的限制, 每个品种只分析了两粒种子, 这些白火麦中混杂子粒很多, 很有可能混有缺失 Wx-7D 的白火麦, 这一实验还在继续中。Wx-4A 缺失材料来源广泛, 2 份白火麦来自河南, 大白皮等 4 份均来自河北北部。由此看来, Wx-4A 缺失突变频率较高, 在各地材料中均可筛选到。

3 讨论

小麦 Waxy-7D 缺失材料的发现, 充分表现出我国小麦品种资源的独特优越性, 是国外资源所不能比的, 同时打破了国外在该研究领域对材料的垄断, 使我们能够用自己的材料进行育种和研究工作。

小麦 Waxy 基因缺失, 会影响胚乳中直链淀粉的含量, 从而影响面条的加工品质和食品

表 1 部分小麦品种 Waxy 基因表现型

品种名称	Wx-7A	Wx-7D	Wx-4A	籽粒颜色
Gabo	✓	✓	✓	红
Norin 67	✓	✓	✓	白
Halbert	✓	✓	×	红
Sturdy	✓	✓	✓	红
Kanto 107	×	✓	×	红
Gamaya	✓	✓	×	红
Satanta	✓	✓	×	红
荷兰小麦	×	✓	×	红
中国春	✓	✓	✓	白
白芒白	✓	×	✓	白
白火麦	✓	✓	×	红
白火麦	✓	✓	×	红
大白皮	✓	✓	×	红
红蘼麦	✓	✓	×	红
红芒红	✓	✓	×	红
白葫芦头	✓	✓	✓	红

注:“✓”表示含有该基因,“×”表示基因缺失

表 2 小麦地方品种白火麦来源

品种名称	编 号	保存单位	来源产地
白火麦	ZM 1568	京 1233	山西解虞
白火麦	1569	1234	山西
白火麦	1600	1265	山西
白火麦	1643	1309	山西临猗
白火麦	2057	录 153	山东
白壳大白火麦	2130	京 1630	山东
白火麦	ZM 3349	京 2297	河南方城
白火麦	3411	京 2377	河南内乡
白火麦	ZM 5015	甘平 A 14	甘肃静宁
白火麦	1947	江苏	河南沁阳
白火麦	1948	江苏	河南

质。由于小麦与水稻、玉米不同,没有所有 W_{axy} 基因全部缺失的突变类型, W_{axy} -7D 缺失材料的发现,使得我们有可能创造出糯性的或不含直链淀粉的小麦新材料,这在小麦育种上应该说是一次革命。

W_{axy} -7D 缺失材料是一个白粒品种,在小麦面条品质育种、材料创新及近等基因系培育方面具有广泛的应用价值,在小麦糯性遗传和分子遗传方面具有深远的理论研究价值。在小麦支链淀粉的开发利用方面也有很重要的研究价值。

本研究所采用的 SDS-PAGE 凝胶电泳操作系统,具有简便快速准确的特点,易于操作,能够在短期内大量筛选小麦品种,这一完善的系统可应用于小麦育种过程中,进行 W_{axy} 基因的筛选和跟踪,为生物技术育种提供了一种良好的手段。

参 考 文 献

- 1 Echt C S, Schwartz C. Evidence for the inclusion of controlling elements within the structural gene at the waxy locus in maize. *Genetics*, 1981, 99: 275~ 284
- 2 Zhao X, Sharp P J. Wheat "waxy" proteins: SDS-PAGE separation and variation in Australian cultivars. In: *Proceeding of the 7th Wheat Breeding Society of Australian Assembly*, WBSA, Adelaide, 1994. 253~ 256
- 3 Oda N H, Seib P A. Noodles 1. Measuring the textural characteristics of cooked noodles. *Cereal Chem*, 1983, 60: 433~ 438
- 4 Toyodawa H, Rubenthaler C L. Japanese noodle quality. 1. Flour components. *Cereal Chemistry*, 1989, 66: 382~ 386
- 5 Nacamura T, Yamamori M. Decrease of Waxy(Wx) protein in two common wheat cultivars with low amylose content. *Plant Breeding*, 1993, 111: 99~ 105
- 6 Sano Y. Differential regulation of waxy gene expression in rice endosperm. *Theoretical and Applied Genetics*, 1984, 68: 467~ 473
- 7 Nacamura T, Yamamori M. Identification of three Wx proteins in wheat. *Biochemical Genetics*, 1993, 31: 75~ 86
- 8 王子宁, 郭北海 等. 小麦地方品种的 SDS-PAGE 分析. *华北农学报*, 1992, 7(4): 53~ 57
- 9 中国农科院品种资源所. 小麦品种资源目录. 北京: 科学技术出版社, 1976

Discovery and Analysis of Wheat Cultivar (*T. aestivum*) with Wx Genes

Wang Zining Guo Beihai Zhang Yanmin Wen Zhiyu Li Hongjie Shi Yunsu
(Cereal and Oil Crops Institute, Hebei Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Shijiazhuang 050031)

Abstract One Wx-7D (null) variety “Baimangbai” and six Wx-4A (null) varieties were successfully selected by 1-D SDS-PAGE from 900 landraces in Hebei. The frequency of normal type > Wx-4A (null) > Wx-7D (null) > Wx-7A (null). Wx-7D (null) is a very important gene. It again shows that the materials in China are a special group. These materials discovered here made a solid foundation of the research on noodle quality breeding in China. This variety will be valuable in the theory study and application in wheat starch genetics and quality breeding. It also has a very good future in the development and utilization of amylopectin.

Key words: Wheat; Landraces; Wx genes; Constitution