

小麦地方品种SDS—PAGE分析

王子宁 郭北海

(河北省农林科学院粮油作物研究所, 石家庄 050031)

摘 要 用十二烷基硫酸钠—聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS—PAGE), 分析了河北省611份小麦地方品种的麦谷蛋白高分子量(HMW)亚基构成, 并依据SDS—PAGE图谱对地方品种的同名异种作了鉴别分析。结果表明, 河北省地方品种的麦谷蛋白HMW亚基分布是很单一的, 且类型较少, 以Glu-A1c(频率97.1%)、Glu-B1b(80.7%)和Glu-D1a(90.5%)为其优势等位基因, 表明地方品种烘烤品质一般较差; 同时又具有很特殊的亚基类型: 有两个频率较高的异常类型, 其等位基因可能是最近公布的Glu-B1aj(只编码8亚基)和Glu-D1k(只编码2亚基), 说明我国古老地方品种是一特殊小麦群体类型。同名品种中具有相同SDS—PAGE图谱的品种认为是同一基因型, 具有很高的遗传相似性。虽然其中有少数其它基因型, 我们认为它们是种植过程中自然变异的结果。

关键词 小麦 地方品种 麦谷蛋白 高分子量 亚基 同名异种

十二烷基硫酸钠—聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS—PAGE)技术最早是由Shapiro等[8]提出并用来分离蛋白质亚基的。随后 Bietz 和 Wall 首先用这一技术来分析小麦谷蛋白, 解决了淀粉凝胶电泳无法分离高分子量蛋白亚基的难题。从此小麦籽粒贮藏蛋白亚基构成、遗传控制研究及其在育种中的应用都取得很大进展。目前SDS—PAGE技术在小麦遗传育种中的应用主要有两个方面。一是用于高分子量(HMW)麦谷蛋白亚基的研究[2, 6]。这方面国外进展很快, 很多HMW亚基和烘烤品质的关系已弄清, 并且在品质育种中加以应用; 国内在80年代中后期才开始这方面的研究, 起步较晚。二是利用SDS—PAGE图谱进行品种鉴别[9]、种质多样性等研究[5]。

小麦是最重要的粮食作物之一, 长期的种植历史使我国有着丰富的小麦品种类型, 特别是地方品种更为我国所特有。但迄今用现代技术来研究我国地方品种所具有的特性以及众多的同名品种与遗传多样性关系还很少, 对地方品种的认识也很肤浅。本文旨在利用SDS—PAGE技术来研究地方品种的麦谷蛋白HMW亚基的构成特点, 并对地方品种遗传多样性和同名异种问题进行分析, 进而明确其遗传多样性。

材料和方法

试验采用河北省已编入全国种质资源目录的地方品种611份 (*T. aestivum* $2n=6x=$

42)。每品种取二粒风干种子,称重研碎,放入5 ml小试管,按1 ml/40 mg加入提取液。提取液含有2%(W/V)SDS、10%(W/V)甘油、5%(V/V)巯基乙醇和0.475 M Tris(Tris-ECI缓冲液, pH6.8)。提取蛋白3小时后,沸水浴3分钟,冷却离心取其上清液。

SDS—PAGE 参照 Laemmli [4]提出的电泳系统。丙烯酰胺的含量在分离胶(长16cm,宽12.5cm)中为10%(W/V),在成层胶中为3%(W/V)。电泳装置为北京六一仪器厂生产的DYY-IV型电泳仪和电泳槽。每次同时装2块凝胶,每块胶加17个样本和一个对照品种。在180伏恒定电压下电泳持续8小时。电泳结束后,凝胶用固定液(含有50%(V/V)甲醇和10%(V/V)冰醋酸)固定至少1小时,然后水洗1小时,用0.02%(W/V)考马斯亮兰R染色液(含有25%甲醇和10%(V/V)三氯乙酸)染色2~3天。

亚基的命名采用Payne和Lawrence[6]推荐的命名法。本研究所用的对照品种为冀麦7号(具有亚基1, 7+9, 2+12)。

结果与分析

一、小麦地方品种HMW亚基的构成特点

在所研究的611份地方品种中,所有亚基均能识别的共有591份,其它20份品种具有某种特殊及无法确定的亚基,其研究仍在进行。

表1所列是河北省611份小麦地方品种麦谷蛋白HMW亚基构成情况。目前世界上发现的麦谷蛋白HMW亚基编码基因在Glu-A1位点有17个等位基因(a、b、...q)、Glu-B1位点有36个(a、b、...z、aa、ab、...aj)、Glu-D1位点有15个(a、b、...o)。但本研究从地方品种中发现的等位基因明显少于这个数,Glu-A1位点只有3个等位基因(即等位基因a、b、c),且以Glu-A1c等位基因(不编码任何亚基)的频率最高(97.1%),占绝大部分;Glu-B1位点有7个(即等位基因a、b、c、d、e、f、g),其中等位基因Glu-B1b(编码7+8亚基)的频率最高(80.7%),其次为Glu-B1a(编码7亚基)和Glu-B1d(编码6+8亚基),分别占9.8%和4.8%;在Glu-D1位点发现4个等位基因(即等位基因a、c、d、e),以等位基因Glu-D1a为主(占90.5%),其它几个等位基因出现的频率很小。从上述分析可以看出,Glu-A1c、Glu-B1b和Glu-D1a是河北小麦地方品种麦谷蛋白HMW亚基的优势等位基因。其地理分布既包括北部晚熟冬麦区,又包括黄淮冬麦区,即两个麦区的品种间无差异。这一结果表明河北地方品种的麦谷蛋白HMW亚基是很单一的。

另外,本研究还从河北地方品种中发现了两个异常等位基因,可能是Glu-B1aj和Glu-D1k。中国春有4个HMW亚基,2+12由1D染色体上的Glu-D1a编码,7+8由1B上的Glu-B1b编码。但是白麦(献县)仅有8亚基(Glu-B1aj编码)。含有这种亚基的品种共有4个。紫茎白只有3个HMW亚基,其中7+8由Glu-B1b编码,而另外1个亚基2则由Glu-D1k编码。迄今为止,1D染色体上发现的等位基因均编码一对亚基,编码单个亚基的等位基因还未见报道。Glu-D1k在河北地方品种中出现频率较高,为7.4%,仅次于Glu-D1a,居第二位。这一结果表明,河北地方品种的HMW亚基类型少,分布集中,同时又具有自己很特殊的亚基。

表1 河北省小麦地方品种麦谷蛋白HMW亚基构成

位 点	等位基因	材料数	频率 (%)
Glu-A ₁	a	10	1.6
	b	8	1.3
	c	593	97.1
Glu-B ₁	a	60	9.8
	b	493	80.7
	c	8	1.3
	d	29	4.8
	e	2	0.3
	f	1	0.2
	g	2	0.3
	aj?	4	0.7
	其它	12	1.9
Glu-D ₁	a	553	90.5
	c	2	0.3
	d	5	0.8
	e	2	0.3
	k?	45	7.4
	其他	4	0.7

份品种, 19种名称有 2 份品种, 最多的一种名称(大白苓)有35个同名品种。可见同名同种和同名异种的问题相当严重, 给进一步整理利用这些资源材料带来一定困难。表 2 所列的是同名品种超过15份的 9 种名称的 SDS-PAGE 图谱分析结果。从表 2 中可以看出, 同一名称中 SDS-PAGE 图谱的类型远远少于其品种数, 最多也只相当于品种数的 43.8%, 一般为品种数的 25~40%。在没有更多的证据之前, 我们可以认为, 具有相同 SDS-PAGE 图谱的品种应为同一基因型。例如称为白葫芦头的品种共有 15 个, 但 SDS-PAGE 图谱类型仅有 4 种 (图 2), 即仅有 4 种基因型, 而且这 4 种基因型相比较只是 1、2 二条带间存在差异。因此, 同名品种间遗传相似性是很高的 (农艺性状的比较结果亦如此)。今后对地方品种的利用, 应充分考虑这点。

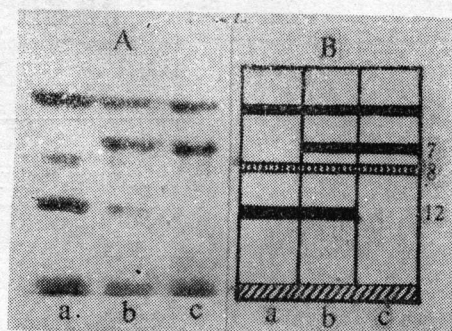


图1 A. Glu-B1aj和Glu-D1k的带谱 B. 模式图

a. 白麦 b. 中国春 c. 紫茎白

二、同名异种的鉴别分析

本研究所用的 611 份地方品种过去始终是把每一品种当作一个基因型。尽管很多品种之间具有极相似的农艺性状, 但没有更可靠的证据来证实这些是同一品种。SDS-PAGE 图谱为我们辨别同名同种或同名异种提供了新的可靠证据。

611 份地方品种中共有 149 种名称, 名称的种类远少于品种份数, 其中 68 种名称只有 1

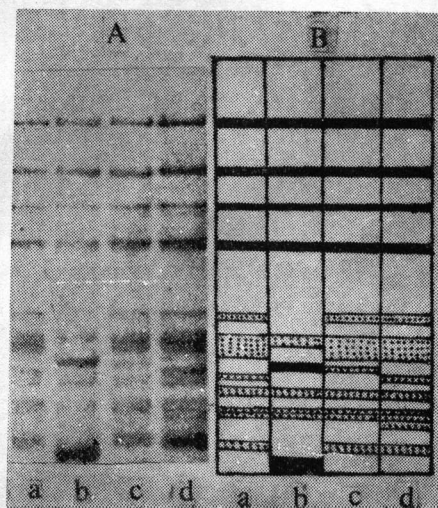


图2 白葫芦头的 SDS-PAGE 图谱

表2 同名称品种SDS-PAGE图谱分析结果

名 称	同 名 品种数	分 布 受 区	麦谷蛋白HMW 亚 基 种 类	SDS-PAGE 图 谱	
				种 类	相当于品种数(%)
大白苓	35	黄淮冬麦区	4	7	20.0
大白芒	33	黄淮、北部晚熟冬麦区	3	4	12.1
白 麦	22	黄淮冬麦区	4	3	36.4
小白芒	21	黄淮、北部晚熟冬麦区	2	9	42.9
小红芒	19	黄淮冬麦区	3	5	26.3
紫茎白	18	黄淮冬麦区	3	6	33.3
红茎白	16	北部晚熟、黄淮冬麦区	2	5	31.3
红葫芦头	16	黄淮冬麦区	4	7	43.8
白葫芦头	15	黄淮冬麦区	1	4	26.7

另外, 尽管同名品种之间存在不同的基因型, 但一般只有其中一、二种是主要的(图2的c、d)。其它基因型往往只是个别品种, 这些品种很可能是种植过程中自然变异的结果。

讨 论

1. 小麦地方品种对现代育成品种最主要的贡献是特有的适应性、多花多粒及早熟性。仅就这些性状而言, 地方品种很难说在现代育种中有什么利用价值。但对于品质和抗性, 地方品种的潜在价值是很宝贵的。

2. 小麦品质育种主要包括两个方面: 一是营养品质; 二是烘烤品质。营养品质取决于蛋白质含量及各种氨基酸含量的高低; 而烘烤品质则主要取决于蛋白质的结构, 特别是麦谷蛋白HMW亚基的结构。已有的研究表明Glu-A1a、Glu-A1b、Glu-B1i、Glu-B1f、Glu-B1b和Glu-D1d与优良烘烤品质有着密切的关系[2, 7]。在本研究中, Glu-A1c、Glu-B1b和Glu-D1a为优势等位基因, 其出现频率分别为97.1%、80.7%和90.5%, 其它等位基因的频率很小。除Glu-B1b外, 和优良烘烤品质有密切关系的几个等位基因在河北地方品种中频率很低或根本没有, 这表明地方品种的烘烤品质一般较差。李宗智(1990)也曾报道河北地方品种烘烤品质不佳[1]。因此, 河北地方品种在烘烤品质育种中没有多少利用价值。但由于蛋白质含量较高[1], 仍可作为亲本来改善品种的营养品质。

3. 就麦谷蛋白HMW亚基来看, 河北地方品种的遗传基础是单纯的, 但也有自己特有的等位基因Glu-B1aj和Glu-D1k。特别是Glu-D1k出现的频率较高(7.4%), 在Glu-D1位点仅次于等位基因a而明显高于其它等位基因。这一结果说明我国古老的地方品种是一个特殊小麦群体类型。

4. 值得指出的是, SDS-PAGE主要是用来分离麦谷蛋白亚基的技术, 虽可利用其图谱来鉴别品种, 但不是鉴别品种最好的方法。不过这种方法可以有效稳定地分离麦谷蛋白HMW亚基, 而这些亚基和烘烤品质有密切关系。因此对品种资源研究来说, 采用这种一举两得的技术是可行的。

参 考 文 献

- 1 李宗智等.不同小麦品种品质特性及其相关性的初步研究.中国农业科学,1990, 23 (6): 35~41
- 2 赵友梅,王淑俭.高分子量麦谷蛋白亚基的SDS—PAGE图谱在小麦品质研究中的应用.作物学报. 1990, 16 (3) 208~218
- 3 Bietz J A, Wall J S. Wheat gluten subunits; molecular weights determined by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. Cereal Chem, 1972, (49): 416~430
- 4 Laemmli U K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature (Lond), 1970 (227): 630~685
- 5 Lawrence G J. The high-molecular-weight glutenin composition of Australian wheat cultivars. Aust J Agric Res, 1986, (37): 125~133
- 6 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 hexaploid wheat. Cereal Res Commu, 1983 (11): 29~35
- 7 Payne P I et al. Wheat storage protein genetics and their potential for manipulation plant breeding. Phil Trans R S (Lond), 1984, (B304): 359~371
- 8 Shaprio A L, Vinuela E et al. Molecular weight estimation of polypeptide chains by electrophoresis in SDS-polyacrylamide gels. Biochem Biophys Res Commu, 1967, (28): 815
- 9 Wrigley C W et al. Identification of cereal varieties by gel electrophoresis of the grain protein. Advances in Cereal Science and Technology, 1982, (5): 211~259

SDS—PAGE Analysis for Local Wheat Varieties in Hebei

Wang Zining Guo Beihai

(Cereal and Oil Crops Institute, Hebei Academy of Agricultural and
Forestry Sciences, Shijiazhuang 050031)

Abstract The high molecular weight(HMW) subunit composition of glutenin was analysed by SDS-PAGE in 611 local varieties of the common wheat (*T. aestivum* L.), and triticum varieties different to the local varieties were also analysed by their electrophoretograms. The results showed that there were only few simple composition types for HMW subunits. Glu-A1c, Glu-B1b and Glu-D1a, accounting for 97.1%, 80.7% and 90.5% respectively, were superabundant, and the varieties with these alleles were generally bad in baking quality. Some novel variants were found including Glu-B1aj (coding only subunit 8) and Glu-D1k (coding only subunit 2). This suggested that the local varieties belonged to a special wheat group. According to the electrophoretograms, the triticum varieties different to the local varieties were considered to belong to the same genotype and were highly similar in heredity.

Key words: *T. aestivum*; Local varieties; Variety identification