

一组高分子量麦谷蛋白近等基因系研究

温之雨¹, 王秀琴², 张光荣³, 耿生¹, 张艳敏¹

(1. 河北省农科院遗传生理研究所, 河北 石家庄 050051; 2. 河北藁城市农业技术推广中心, 河北 藁城 052160; 3. 河北涿鹿县农业技术推广中心, 河北 涿鹿 075600)

摘要: 在小麦无性系变异的研究中, 发现了一份冀 92-3235HMW-GS 的 2+12 亚基缺失的材料, 通过进一步选择, 选育成了稳定遗传的 7 份材料, 其在农艺性状上与对照冀 92-3235 基本相同, SDS-PAGE 电泳图谱仅在 Glu-D1 位点上有差异, 醇溶蛋白电泳显示也完全相同, 品质分析结果表明它们的面粉品质发生了很大变化, 其湿面筋无法检出、沉降值显著下降, 从而说明 2+12 亚基对小麦品质有较大影响。

关键词: 小麦; HMW-GS; 近等基因; 面粉品质

中图分类号: S512.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2003) 院庆专辑-0043-03

Study on a Set of Near-isogenic Lines with Different HMW Glutenin Subunits at Gene Loci Glu-D1

WEN Zhi-yu¹, WANG Xiu-qin², ZHANG Guang-rong³,
DING Zhan-sheng¹, ZHANG Yan-min¹

(1. Institute of Genetics and Physiology, Hebei Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Shijiazhuang 050051, China; 2. Gaocheng Extension Center of Agricultural Technology, Gaocheng 052160, China; 3. Zhuolu Extension Center of Agricultural Technology, Zhuolu 075600, China)

Abstract: In the process of study on wheat asexual stains, a material without HMW-GS 2+12 subunit, Ji 92-3235 was found. By further selection, seven stable materials in heredity characteristics were obtained. Between the seven materials and the contrast, Ji 92-3235, but there were less difference in agriculture traits and gliadin typing in electrophoresis, but there were obvious difference on the Glu-D1 in SDS-PAGE and flour quality analysis, the subside value in the seven materials is lower, and the wet gluten could not be determined. From the results, we can see the HMW-GS have important effect on the wheat quality.

Key words: Wheat; HMW-GS; Near-isogenic line; Flour quality

用近等基因系研究各亚基对品质的影响可解决遗传背景差异的问题, 具有准确、全面的优点。近等基因系是指除所研究的性状有遗传差异外, 其他基因即遗传背景是相同的。近等基因系间只含有一个 HMW 麦谷蛋白亚基差异, 可排除其他亚基的干扰, 即遗传背景的干扰, 使单个基因效应得以充分表露, 进而了解单个亚基对品质的影响^[1]。

作者在进行小麦无性系变异的研究中发现了一

些高分子量和低分子量麦谷蛋白及醇溶蛋白变异的材料, 进一步研究发现了冀 92-3235HMW-GS 的 2+12 亚基缺失材料, 变异材料与原品种在形态学、农艺性状都基本相同, 两者的麦醇溶蛋白图谱也完全相同, 只是其 SDS-PAGE 电泳图谱存在 2+12 有无的差异, 为 HMW 麦谷蛋白亚基近等基因系的创造提供了一个很好的方法。本研究利用这组材料在面粉品质方面进行了分析研究, 讨论了小麦高分

收稿日期: 2003-07-20

基金项目: 国家 863 计划(2001AA212121-3)

作者简介: 温之雨(1969-), 男, 河北宁晋人, 助理研究员, 主要从事小麦生物技术、工程育种研究工作。

子量(HMW)麦谷蛋白亚基对加工品质的影响。

1 材料和方法

1.1 材料

冀92- 3235 及其 7 个变异株系由河北省遗传育种实验室提供。

1.2 方法

1.2.1 田间试验 冀 92- 3235 的 7 个变异株系排列种植,冀 92- 3235 作为对照放在中间,每个材料种植 5 行,行长 2 m,行距 0.3 m,株距 0.067 m,两次重复。生育期去杂两次,籽粒全部收获。对收获的子粒均进行 SDS- PAGE 和 A- PAGE 电泳分析以保证其纯度。

1.2.2 电泳方法 SDS- PAGE 采用不连续分离系统。分离胶溶液为:(丙烯酰胺 12 %,N- N 甲叉双丙烯酰胺 0.12 %,SDS 0.1 %,Tris- HCl 0.375 mol/ L, pH 8.8)加入 10 %的过硫酸胺和 TEMED。浓缩胶溶液为:(丙烯酰胺 3.6 %,N- N 甲叉双丙烯酰胺 0.1 %,SDS 0.1 %,Tris- HCl 0.187 mol/ L, pH 6.8)加入 10 %过硫酸胺和 TEMED。电极缓冲液为:0.025 mol/ L Tris,0.19 mol/ L 甘氨酸,0.1 %SDS。染色液:25%乙醇,10% 冰乙酸,0.35% 考马斯亮蓝 R250。染色 20 h,用蒸馏水脱色。染色过浓可在 8% 冰乙酸溶液中褪色。

A-PAGE 采用中科院植物所李辉博士提供的方法;Glu- 1 位点编码的麦谷蛋白亚基的名称参考 Payne 等^[2]的标准。

1.2.3 品质分析方法 籽粒的粗蛋白含量、面粉的湿面筋含量、沉降值等特性的测定均采用国家标准。

2 结果与分析

2.1 材料的获得

1997 年 5 月中旬选取开花后 14~ 16 d 的冀 92- 3235 麦穗,剥出麦粒,用 70 %的酒精消毒 30 s,再在 0.1 %氯化汞溶液中浸泡 15~ 20 min,再用无菌水冲洗 4~ 5 次,然后,剥出幼胚,放入诱导培养基中进行培养,每 20 d 继代 1 次,继代 3 次后,进行辐射处理,剂量为 2000 rad,速率为 41.6 rad· min⁻¹,然后再培养 15~ 20 d,再转到分化培养基分化出苗,出苗后再转到壮苗培养基,长出根后,放入冷藏箱进行越冬保苗。10 月中旬开始练苗,11 月上旬移植田中,搭塑料棚越冬,后代按小麦常规育种方法种植和

选择。经电泳分析其后代的麦谷蛋白亚基组成,发现了 1 个株系没有 2+ 12 蛋白带,而其低分子量部分没有变异,醇溶蛋白电泳显示也没有变异,其后代经 4 次选择,选出稳定的株系 7 个。

7 个变异株系的农艺性状(表 1)变化不大,其株高为 75.3±1.7 cm、穗粒数为 38.5±1.5 粒、千粒重为 45.17±1.37 g,差异均不显著,对照分别为 75.5 cm、38.5 粒和 45.2 g,二者之间基本一致,抽穗期、开花期、粒色差异也基本一致,表明 7 个变异株系的变异可能只发生在 Glu- D1 位点上,而其他性状或基因没有发生变异,这还有待进一步研究。

表 1 冀 92- 3235HMW 近等基因的农艺性状

株系号	抽穗期	开花期	株高 (cm)	壳	穗粒数 (个)	粒色	千粒重 (g)
冀 92- 3235Q- 1	04- 27	05- 02	76.2	白	39.6	白	46.2
冀 92- 3235Q- 2	04- 26	05- 02	74.5	白	38.8	白	45.5
冀 92- 3235Q- 3	04- 27	05- 02	75.6	白	39.2	白	44.7
冀 92- 3235Q- 4	04- 28	05- 03	73.8	白	36.8	白	43.8
冀 92- 3235Q- 5	04- 27	05- 02	76.5	白	38.7	白	45.6
冀 92- 3235Q- 6	04- 26	05- 02	75.4	白	38.1	白	46.3
冀 92- 3235Q- 7	04- 27	05- 03	74.5	白	37.2	白	44.1
平均			75.3		38.3		45.2
冀 92- 3235(ck)	04- 27	05- 02	75.5	白	38.5	白	45.2

2.2 蛋白质含量

蛋白质含量与质量对小麦的营养品质和加工品质都有较大的影响,不同基因型间质量上的差异是由遗传因素决定的,不同基因型间数量上的差异是由遗传因素和环境条件共同决定,在小麦子粒蛋白质含量相近的情况下进行品质比较可以排除蛋白质数量上的影响。本试验选择的试验地地力均匀、平坦,管理措施相同,气候影响一致,可以排除环境条件的影响。冀 92- 3235 近等基因的蛋白质分析表明,蛋白质含量差异不显著,表明 HMW 麦谷蛋白亚基对蛋白质含量没有影响。7 个株系的蛋白质含量平均为 16.16 % 与对照 15.59 % 仅差 0.57,非常接近,蛋白质含量差异不显著,因此其加工品质间的差异是由 2+ 12 亚基的缺失造成的(表 2)。

表 2 冀 92- 3235HMW 近等基因系的品质参数

株系号	亚基组成	蛋白质含量 (%)	湿面筋 (%)	沉降值 (mL)
冀 92- 3235Q- 1	7+ 9	16.17	—	13.7
冀 92- 3235Q- 2	7+ 9	16.08	—	13.7
冀 92- 3235Q- 3	7+ 9	16.49	—	14.0
冀 92- 3235Q- 4	7+ 9	16.23	—	15.4
冀 92- 3235Q- 5	7+ 9	16.53	—	12.5
冀 92- 3235Q- 6	7+ 9	16.02	—	11.1
冀 92- 3235Q- 7	7+ 9	15.57	—	14.3
平均	—	16.16	—	13.5
冀 92- 3235(ck)	7+ 9, 2+ 12	15.59	31.6	30.4

2.3 面粉品质

冀 92-3235 的湿面筋含量为 31.6%, 而冀 92-3235 的 7 个变异株系的湿面筋都无法检出, 而两者绝大部分性状都基本相同, LMW 麦谷蛋白亚基图谱和醇溶蛋白图谱也都完全相同, 只是在 HMW 麦谷蛋白亚基组成上存在差异, 对照冀 92-3235 含有 2+12 亚基, 而其他 7 个变异株系都不含有 2+12 亚基, 这说明 2+12 亚基对小麦的面筋的形成和含量有较大影响。

沉降值与面团品质和烘烤品质呈显著正相关, 沉降值越大表明面筋质量越好。沉降值分析结果表明, 对照冀 92-3235 的沉降值为 30.4 mL; 7 个变异株系的平均沉降值为 13.53 mL, 变异幅度在 11.1~15.4 之间, 变异株系间差异不大, 但平均却比对照低 16.87 mL, 降低了 50% 以上。7 个变异株系与对照只是存在 2+12 亚基的差异, 这表明 2+12 亚基对沉降值有着显著影响, 而沉降值与小麦的面团品质、烘烤品质有较强的正相关性, 这表明 2+12 亚基对面团品质和烘烤品质也有较强的影响。大多数人都认为 2+12 与弱面筋相关联, 而从试验结果来看, 2+12 可能与强面筋有关联。

3 讨论

小麦加工品质是由很多基因控制的^[3,4], 利用品种或品系进行的相关分析无法准确地区别遗传背景与单个麦谷蛋白亚基对加工品质和农艺形状地影响, 因而在利用 HMW 麦谷蛋白亚基评分解释不同小麦品种的品质变异时, 不同的人或不同来源地材料得出的结论不一致, 出现上述差异的主要原因是试验所用材料的不同, 因为大部分研究人员都是利用含有一个特定 HMW 麦谷蛋白亚基的品种群体和含有其等位变异的亚基群体间加工品质的差异作为两个亚基的遗传差异。

近等基因系(near-isogenic line)是指除研究的性状有遗传差异外, 其他基因即遗传背景均是相同的。利用近等基因可以排除其他 HMW 麦谷蛋白亚基对分析结果的影响, 排除 LMW 麦谷蛋白亚基和醇溶蛋白对加工品质的影响, 排除由蛋白质含量

所引起的加工品质差异, 可以较为准确评价各亚基与小麦加工品质间的关系。对 HMW 麦谷蛋白亚基近等基因系的研究, 国内外报道得很少。Panye 等分析了近等基因系 Sicco 的面团流变学和烘烤品质, 肯定了 5+10 的作用^[5]。

获得近等基因系的方法主要有两种, 一种是自然形成的, 一种是用连续的选择性回交方法形成的。自然形成的近等基因系较少。利用辐射、化学、物理的方法诱导小麦产生无性系变异, 易发生麦谷蛋白和醇溶蛋白的突变^[6,7]。本研究利用小麦无性系变异的研究中发现的一株冀 92-3235 HMW-GS 的 2+12 亚基缺失材料, 经选择后形成了一组 HMW 麦谷蛋白亚基近等基因系, 为 HMW 麦谷蛋白亚基近等基因系的创造提供了一个很好的方法。

参考文献:

- [1] Sontag-Strohm T, Payne P I, Salovaara H. Effect of allelic variation of glutenin Subunits and gliadins on baking quality in the progeny of two biotypes of bread wheat cv. Ulla[J]. J Cereal Sci., 1996, 24(2): 115-124.
- [2] Payne P I, Lawrence G J. Catalogue of alleles for the complex gene loci, Glu-A1, Glu-B1, Glu-D1, which code for high-molecular-weight subunits of glutenin in hexaploid wheat[J]. Cere Res commun., 1983, 11: 29-35.
- [3] Anderson W K, Grosbie G B, Lambe W J. Production practices in Western Australia for wheat suitable for white, salted noodles[J]. Australian Journal of Agricultural Research, 1997, 48(1): 49-58.
- [4] Luo C, Branlard G, Griffin W B, et al. The effect of nitrogen and sulphur fertilization and their interaction with genotype on wheat glutenins and quality parameters[J]. Journal of Cereal Science, 2000, (31): 185-194.
- [5] Payne P I, Holt L M. Seed proteins of wheat[J]. Annual Report of the Plant Breeding Institute, 1987, 104-105.
- [6] 张艳敏, 郭北海, 温之雨, 等. 小麦幼胚无形系麦谷蛋白亚基变异研究[J]. 华北农学报, 2002, 17(2): 11-15.
- [7] 胡尚连, 李文雄, 曾寒冰. 小麦未成熟胚离体培养的研究—再生植株后代籽粒醇溶蛋白和谷蛋白亚基及蛋白质含量变化[J]. 作物学报, 1998, 24(2): 204-212.