

CIMMYT 普通冬小麦新品系高分子量谷蛋白亚基组成分析

王亮¹,穆培源¹,刘丽²,韩新年¹,桑伟¹,
徐红军¹,何中虎²,夏先春²

(1. 新疆农垦科学院作物科学研究所,新疆 石河子 832000; 2. 中国农业科学院作物科学研究所/国家小麦改良中心,北京 100081)

摘要: 为了给新疆冬小麦品质改良筛选亲本材料,采用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)方法对墨西哥国际玉米小麦改良中心(CIMMYT)提供的186份普通冬小麦新品系的高分子量谷蛋白亚基(HMW-GS)组成及分布特点进行了分析。结果表明,在参试材料中共检测到13种不同的亚基类型,其中,Glu-A1位点上有1、null和2^{*}共3个等位变异类型,以2^{*}亚基为主要类型,占61.8%;Glu-B1位点上有7、6+8、7+8、7+9、17+18、13+16、6.1+22共7个等位变异类型和4个混合亚基类型,以7、6+8、7+8和7+9亚基为主,分别占17.7%、14.5%、24.2%和35.0%;Glu-D1位点上有5+10、2+12和4+12共3个等位变异类型,以2+12和5+10亚基为主,分别占46.8%和44.1%。共检测出39种亚基组合类型,无占明显优势的组合类型,相对而言,2^{*}/7+9/5+10和2^{*}/6+8/2+12两个组合类型的比例稍高一点(分别为12.4%和11.8%)。研究还发现,来自同一组合的材料由于选择的微小差异会导致在谷蛋白亚基组成上表现出很大的差异,因此,在小麦品质育种和品质改良中不应简单地等同对待,而要作详细的生化和加工品质分析。

关键词: CIMMYT; 普通冬小麦; HMW-GS组成

中图分类号: S512.1; S331

文献标识码: A

文章编号: 1009-1041(2007)02-0241-04

Analysis on the Compositions of HMW-GS of the New Winter Common Wheat (*Triticum aestivum* L.) Lines from CIMMYT

WANG Liang¹, MU Pei-yuan¹, LIU Li², HAN Xin-nian¹, SANG Wei¹,
XU Hong-jun¹, HE Zhong-hu², XIA Xian-chun²

(1. Institute of Crop Science, Xinjiang Academy of Agri-Reclamation Sciences, Shihezi, Xinjiang 832000; 2. Institute of Crop Science/National Wheat Improvement Center, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081)

Abstract: In order to select breeding material to improve wheat quality, the HMW-GS compositions of 186 new lines from breeding station of CIMMYT in Mexico were fractionated by SDS-PAGE, and the compositions and distribution characters of HMW-GS were analyzed. The results showed that a total of 13 subunit types were examined on Glu-1 loci. Three types were detected on Glu-A1, which were 1, null and 2^{*}, and 2^{*} subunit was the major types with frequency of 61.8%; seven types were detected on Glu-B1, which were 7, 6+8, 7+8, 7+9, 17+18, 13+16, 6.1+22, and subunits 7, 6+8, 7+8, 7+9 were the major types with frequencies of 17.7%, 14.5%, 24.2% and 35.0%, respectively; three types were detected on Glu-D1, which were subunit 2+12, 5+10, 4+12, and their frequencies were 46.8%, 44.1% and 9.1%, respectively. Furthermore, 39 subunit combinations were detected, and 2^{*}/7+9/5+10 and 2^{*}/6+8/2+12 were the major combination types. It was also observed in our studies that HMW-GS compositions may be of great differences between lines from the same crosses,

收稿日期:2006-09-14 修回日期:2006-10-20

基金项目:国家自然科学基金项目(30560078);新疆兵团博士资金项目(05JC-02);新疆兵团科技攻关计划项目(2006GG04);新疆农垦科学院青年基金项目(01-3)。

作者简介:王亮(1982-),男,研究实习生,主要从事小麦育种和品质分子生物学研究。

通讯作者:穆培源(1968-),男,副研究员,主要从事小麦育种和品质研究。

夏先春(1963-),男,研究员,主要从事小麦分子标记研究。

which could cause great differences on processing quality.

Key words: CIMMYT; Winter common wheat (*Triticum aestivum* L.); HMW-GS compositions

虽然麦谷蛋白的数量与小麦加工品质有关^[2],但 Payne 等^[3-5]认为高分子量谷蛋白亚基(HMW-GS)的构成对加工品质的影响更大。HMW-GS 基因被定位在第一组同源群染色体的长臂上,由 Glu-A1、Glu-B1 和 Glu-D1 组成,统称为 Glu-1 位点^[6]。国内外研究证明,Glu-1 位点的 1、2^{*}、5+10、17+18、14+15 等亚基对面包烘烤品质有正向作用,这些亚基赋予面团很好的弹性和韧性^[7]。HMW-GS 组成已成为小麦品质育种中亲本选配和杂交后代选择的重要依据。

韩新年等^[8]分析了新疆近 50 年来推广面积较大的 34 个主栽小麦品种的 HMW-GS 组成后发现,Glu-1 位点上以亚基 null、7+8、2+12 为主要类型,在亚基组合中,以 null/7+8/2+12、null/7+9/2+12 及 null/6+8/2+12 为优势组合类型,说明新疆主栽小麦品种中优质亚基频率及优质亚基组合类型所占比例较低。CIMMYT 小麦在中国西部地区适应性较好,表现出早熟、矮秆、抗倒、抗锈、丰产和优质等特点。并且隋新霞等^[9]对 63 份 CIMMYT 小麦材料的 HMW-GS 组成进行的分析结果发现,Glu-A1 位点上以 2^{*}亚基为主(占 52.4%);Glu-B1 位点上以 7+9 为主(占 74.6%);Glu-D1 位点上 5+10 亚基的频率高达 77.8%;主要亚基组合为 2^{*}/7+9/5+10,占 39.7%。这些特点对新疆小麦育种有十分重要的利用价值,但该研究所用样本数较少,用于研究中国引进 CIMMYT 材料的 HMW-GS 组成不具有广泛代表性。

本研究通过国家小麦改良中心从 CIMMYT 引进 186 份普通冬小麦新品系,采用 SDS-PAGE 方法对其 HMW-GS 组成及分布特点进行了研究和分析,旨在为新疆优质冬小麦品种的选育和品质改良提供育种材料,促进新疆优质小麦育种工作。

1 材料与方法

1.1 材料

选用国家小麦改良中心提供的 186 份 CIMMYT 普通冬小麦新品系(选自第 4、第 5 轮干旱半干旱地区冬性半冬性小麦产量试验圃),于 2004 年在新疆农垦科学院农业试验站种植,采用顺序排列,2 行区,行长 2 m,行距 25 cm。播种后

田间管理同大田,小麦生长正常,及时收获。

1.2 方法

1.2.1 HMW-GS 的提取 旋风磨制全粉(0.5 mm 筛孔)后称取 40 mg 置于 1.5 mL 离心管中,加入 1 mL 的 50% 异丙醇,振荡 5 min,65℃ 水浴 20 min 后于 1 000 r/min 离心 5 min,弃上清液,在沉淀中加入 100 μL 提取液 B1 (Tris-HCl + 异丙醇 + DTT + SDS),65℃ 水浴 30 min 后振荡 5 min,1 000 r/min 离心 5 min,再加入 100 μL 提取液 B2 (Tris-HCl + 异丙醇 + 四乙吡啶 + SDS),65℃ 水浴 15 min 后振荡 5 min,5 000 r/min 离心 10 min,取 100 μL 上清液至新编号的离心管中,加入 100 μL 样品提取液 (SDS + Tris-HCl + 甘油 + 溴酚兰 + B-巯基乙醇, pH = 6.8),振荡 5 min,90℃ 水浴 5 min,5 000 r/min 离心 10 min,得到最终 HMW-GS 和 LMW-GS 样。

1.2.2 SDS-PAGE 分离蛋白 制胶、电泳、染色与脱色参考刘丽等的方法^[11],谷蛋白亚基编码采用 Payne^[4]的命名方法。选用 Pavon76 (2^{*}/17+18/5+10)、Opata85 (2^{*}/13+16/2+12)、Seri82 (1/7+9/5+10) 为电泳对照材料。

表 1 供试材料的 HMW-GS 亚基组成及其分布频率
Table 1 The composition and frequency of HMW-GS in Glu-1 loci of wheat lines tested

位点 Loci	亚基类型 Subunit types	品种份数 No. of varieties	频率 (%) Frequency
Glu-A1	1	24	12.90
	null	47	25.27
	2 [*]	115	61.83
Glu-B1	7	33	17.74
	6+8	27	14.52
	7+8	45	24.19
	7+9	65	34.95
	17+18	9	4.84
	13+16	1	0.54
	6.1+22	1	0.54
	7,17+18	1	0.54
	7+8,6+8	1	0.54
	7+8,7+9	1	0.54
7+9,17+18	2	1.07	
Glu-D1	5+10	82	44.09
	2+12	87	46.77
	4+12	17	9.14

2 结果与分析

2.1 供试材料的 HMW-GS 组成及等位变异

从表 1 可以看出,CIMMYT 普通冬小麦新

品系 HMW-GS 变异较为丰富,在参试材料中共检测到 13 种不同的亚基类型。Glu-A1 位点上有 3 种等位变异亚基, Glu-B1 位点上有 7 种, Glu-D1 位点上有 3 种。Glu-A1 位点上,亚基 1、null 和 2* 的频率分别为 12.90%、25.27% 和 61.83%。Glu-B1 位点上,亚基变异最为丰富,有些品系同时含有两种变异亚基,亚基 7+9 出现的频率最高(34.95%),其次为亚基 7+8 (24.19%)、亚基 7 (17.74%) 和亚基 6+8 (14.52%),其余亚基出现的频率较小,同时也检测出稀有亚基 6.1+22,其出现频率为 0.54%。Glu-D1 位点上,亚基 2+12 出现的频率最高,达 46.77%,其次为亚基 5+10(44.1%)。

2.2 供试材料的 HMW-GS 组合类型及分布

在供试材料中,共发现 39 种 HMW-GS 组合类型(表 2),其中亚基组合 2*/7+9/5+10 所占比例最大,占材料总数的 12.37%;其次为组合 2*/6+8/2+12,占 11.8%;组合 2*/7+8/2+12 和 2*/7+8/5+10 各占 9.7%;组合 null/7+9/5+10 占 7.0%;其余亚基组合所占比例皆小于 5.0%。

有研究结果^[12,13]表明,亚基 7+9 和 2+12 一般与较差的面包加工品质有关,而亚基 1、2*、7+8、17+18、13+16、14+15 和 5+10 与面包加工品质存在正相关,并且在这些优质亚基中以 5+10 亚基对面包的烘烤品质贡献最大。在本研究中,有 18 份品系含有优质亚基组合 2*/7+8/5+10 (其系谱分别为 FRTL//ASP/BLT, 8030VERSAILLES/EDCH//CD,494J6.1122, ID377/S-1004, FRTL/RECITAL 和 BORL95//1D13.1/MLT),所占比例较大,其余优质亚基组合所占比例较小,含有 2*/17+18/5+10(系谱为 TJB916.46/CB306//2*MHB/3/BUC/4/STAR)的材料为 3 份,含有 1/7+8/5+10(系谱为 LAB-RADOR)、1/17+18/5+10(组合为 RIALTO)和 2/13+16/5+10(系谱为 TX87V1235/KARL)的材料各 1 份,含有稀有亚基组合 2*/6.1+22/4+12 的材料为 1 份。

2.3 同一组合名称、不同选择系谱材料的 HMW-GS 组成

从表 3 中可以看出,来自同一组合的材料,由于系谱、选种历史的微小差异,而导致 HMW-GS 组成存在较大差异。因此在品质育种中应结合生化或分子标记辅助手段对杂交后代进行选择。

表 2 不同亚基组合类型及其分布频率
Table 2 The subunit combinations and frequencies in wheat lines tested

序号 Number	位点 Locus			品种份数 No. of varieties	频率 (%) Frequency
	Glu-A1	Glu-B1	Glu-D1		
1	1	7+9	5+10	7	3.76
2	1	7+8	2+12	2	1.07
3	1	7	5+10	1	0.54
4	1	6+8	2+12	1	0.54
5	1	7+8	5+10	1	0.54
6	1	7	2+12	2	1.07
7	1	7+9	2+12	7	3.76
8	1	7+9	4+12	1	0.54
9	1	17+18	5+10	1	0.54
10	1	7,17+18	2+12	1	0.54
11	null	7+9	2+12	6	3.23
12	null	7+9	5+10	13	6.99
13	null	7+8	2+12	2	1.07
14	null	7+8	5+10	1	0.54
15	null	7	5+10	9	4.84
16	null	6+8	5+10	1	0.54
17	null	6+8	4+12	2	1.07
18	null	17+18	2+12	4	2.15
19	null	17+18	4+12	1	0.54
20	null	7	2+12	8	4.30
21	2*	7	5+10	2	1.07
22	2*	7	2+12	6	3.23
23	2*	7	4+12	5	2.69
24	2*	7+8	4+12	4	2.15
25	2*	7+8	2+12	18	9.68
26	2*	7+8	5+10	17	9.14
27	2*	6+8	5+10	1	0.54
28	2*	6+8	2+12	22	11.83
29	2*	7+8,6+8	5+10	1	0.54
30	2*	7+9	5+10	23	12.37
31	2*	7+9	4+12	2	1.07
32	2*	7+9	2+12	6	3.23
33	2*	7+9,7+8	2+12	1	0.54
34	2*	17+18	5+10	2	1.07
35	2*	17+18	2+12	1	0.54
36	2*	13+16	5+10	1	0.54
37	2*	7+9,17+18	5+10	1	0.54
38	2*	7+9,17+18	4+12	1	0.54
39	2*	6.1+22	4+12	1	0.54

3 讨论

本试验表明,在 186 份 CIMMYT 普通冬小麦品系中,除了对面包品质具有重要贡献的 2* 亚基和 5+10 亚基出现频率较高外,其它优质 HMW-GS 出现的频率较低;亚基组合类型比较分散,无明显占优势的组合类型,相对而言,2*/7+9/5+10 组合的比例稍高一点(占总材料数的 12.4%),这与隋新霞等^[9]的研究结果一致,说明 CIMMYT 普通冬小麦 HMW-GS 组合类型具有较高的遗传多样性,变异较为丰富,其优质亚基和亚基组合类型偏少可能与其所服务的区域的育种目标有关系。同时,在 Glu-B1 位点发现一个特殊稀有亚基 6.1+22,检测到 5 份材料在该位点出现混合亚基类型(7/17+18,7+8/6+8,7+8/7+9,7+9/17+18)。张学勇^[14]等对中国小麦大面积推广品种及骨干亲本的 HMW-GS 组成分析时

表3 同一组合名称、不同选择系谱材料的 HMW-GS 的分布
Table 3 The distribution of HMW-GS in lines of different pedigree from the same crosses

组合名称 Cross	系谱、选种历史 Pedigree	位点 Locus		
		Glur-A ₁	Glur-B ₁	Glur-D ₁
OK81306/ STAR	CMSW92WM00167S-17WM-05WM-015WM-010WM-1WM-0WM	null	7+9	2+12
	CMSW92WM00167S-17WM-05WM-015WM-010WM-2WM-0WM	2*	7+8	4+12
FR TL// ASP/BL T	CMSW93WM00069S-5WM-015WM-010WM-010WM-9WM-0WM	2*	7+8	2+12
	CMSW93WM00069S-5WM-015WM-010WM-010WM-12WM-0WM	2*	7+8	5+10
	CMSW93WM00069S-9WM-015WM-010WM-010WM-8WM-0WM	null	7+9	5+10
FR TL// AGR I/ NAC	CMSW93WM00071S-9WM-015WM-010WM-010WM-11WM-0WM	2*	7+8	5+10
	CMSW93WM00071S-33WM-015WM-010WM-010WM-25WM-0WM	2*	7	5+10
CBRD// ASP/BL T	CMSW93WM00125S-2WM-015WM-010WM-010WM-15WM-0WM	null	7+9	2+12
	CMSW93WM00125S-2WM-015WM-010WM-010WM-22WM-0WM	2*	7+8	5+10
SW89-5124// AGR I/ NAC	CMSW93WM00199S-4WM-015WM-010WM-010WM-15WM-0WM	1	7	5+10
	CMSW93WM00199S-4WM-015WM-010WM-010WM-21WM-0WM	2*	7	2+12
TJB916. 46/ CB306// 2* MHB/ 3/ BUC/ 4/ STAR	CMSW94WM00350S-010WM-010WM-1WM-0WM	2*	7+9,7+8	2+12
	CMSW94WM00350S-010WM-010WM-2WM-0WM	2*	6+8	2+12
RMN// F12. 71/JUP/3/ VPM/ MOS 83. 11. 4. 8// PEW	CMSW94WM00350S-010WM-010WM-37WM-0WM	2*	17+18	5+10
	WHQ932048-2902OSU-010WM-010WM-010WM-2WM-0WM	null	7	5+10
	WHQ932048-29025OSU-010WM-010WM-010WM-6WM-0WM	2*	7	2+12

也检测到尚处于分离的未纯合类型。另外在后代群体选择中,即使父母本相同的组合,由于选择系谱的微小差异,Glur-A₁、Glur-B₁、Glur-D₁位点上亚基存在较大差异。因此在品质育种中应结合生化或分子标记辅助手段对杂交后代进行选择。

LMW-GS在麦谷蛋白中占有很大比例(约75%)^[15],其对面粉加工品质也有不可忽视的作用。因此,本研究中所发现的具有优质HMW-GS的CIMMYT小麦材料能否在品质改良中运用,还要进一步考察其LMW-GS组成及其综合品质状况。

参考文献:

- [1] Blackman J A, Payne P I. Grain quality. In: Lupton F G H. Wheat Breeding-its Scientific Basis. Chapman and Hall, London, 1987:455-485.
- [2] Khan K, Tanminga G, Lukow O. 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 Chemistry, 1989, 66:391-396.
- [3] Payne P I, Corfield K G, Blackman J A. Correlation between the inheritance of certain high-molecular-weight subunits of glutenin and bread-making quality in progenies of six crosses of bread wheat[J]. Journal of Science of Food and Agriculture, 1981, 32:51-60.
- [4] Payne P I, Lawrence G J. Catalogue of alleles for the complex gene loci, Glur-A₁, Glur-B₁, and Glur-D₁ which code for high-molecular-weight subunits of glutenin in hexaploid wheat[J]. Cereal Research Communication, 1983, 11(1):29-35.
- [5] Payne P I, Nightingale M A, Kattiger A E. The relationship between HMW glutenin subunit composition and the bread-

making quality of British-grown wheat varieties[J]. Sci. Food Agric., 1987, 40:51-65.

- [6] Payne P I. Genetics of wheat storage protein and the effect of allelic variation on breadmaking quality[J]. Annual Review of Plant Physiology, 1987, 38:141-153.
- [7] Trethowen R M, Pena R J, Ginkel M. Penalties associated with use of indirect tests for grain quality on yield and bread making quality of wheat[J]. Plant Breeding, 2001, 120:509-512.
- [8] 韩新年, 郑有良, 魏育明, 等. 新疆主栽小麦 HMW 谷蛋白亚基遗传变异研究[J]. 西北农业学报, 2003, 12(1):12-14.
- [9] 隋新霞, 樊庆琦, 谢振义, 等. 部分 CIMMYT 小麦种质材料的高分子量谷蛋白亚基分析[J]. 麦类作物学报, 2006, 26(4):56-58.
- [10] 刘丽, 周阳, 何中虎, 等. 高、低分子量麦谷蛋白亚基等位变异对小麦加工品质性状的影响[J]. 中国农业科学, 2004, 37(1):8-14.
- [11] 张学勇, 庞斌双, 游光霞, 等. 中国小麦品种资源 Glur-1 位点组成概况及遗传多样性分析[J]. 中国农业科学, 2002, 35(11):1302-1310.
- [12] 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[J]. 作物学报, 1990, 16(3):208-218.
- [13] 马传喜, 徐风, 吴兆苏. 高分子量麦谷蛋白亚基与面包小麦品种烘烤品质的关系[J]. 作物学报, 1993, 19(6):562-566.
- [14] 张学勇, 董玉琛, 游光霞, 等. 中国小麦大面积推广品种及骨干亲本的高分子量谷蛋白亚基组成分析[J]. 中国农业科学, 2001, 34(4):355-362.
- [15] Gupta G B, MacRitchie F. Allelic variation at glutenin subunit and gliadin loci. Glur-1, Glur-3 and Gli-1 of common wheats. Biochemical basis of the allelic effects on dough properties [J]. Journal of Cereal Science, 1994, 19:19-29.