

小麦远缘杂交后代的高分子量谷蛋白 亚基变异机制探讨

耿惠敏¹, 李勇慧¹, 刘雪琴¹, 押辉远¹, 李锁平²

(1. 洛阳师范学院 生命科学系, 河南 洛阳 471022; 2. 河南大学 生命科学学院, 河南 开封 475001)

摘要: 以普通小麦川农19(N, 7+8, 2+12)和1BL/1RS易位系小麦川农18(1, 7+9, 2+12)F₁为试材, 用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)法鉴定分析了杂交后代的高分子量谷蛋白亚基组成, 发现其中1粒产生了2个亲本中都没有的高分子量谷蛋白亚基, 其高分子量谷蛋白亚基组成为(1, x+7+8+9, 2+12)。变异的亚基在SDS-PAGE电泳图谱上位于1Dx5和1Bx7亚基之间, 迁移率与1Bx6相似。统计变异株F₂代HMW-GS的遗传规律, 结果表明, *Glu-A1*位点上的亚基分离正常; 而*Glu-B1*位点上亚基的分离以及*Glu-A1*与*Glu-B1*位点之间的组合都不符合孟德尔遗传规律; 变异亚基与1By8亚基呈现共显性。最后对变异产生的机制进行了探讨。

关键词: 小麦; 杂交后代; 高分子量谷蛋白亚基; 变异

中图分类号: S512.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-3268(2010)02-0009-04

Variation Mechanism of HMW-GS in Progenies of Wheat Distant Hybridization

GENG Hui-min¹, LI Yong-hui¹, LIU Xue-qin¹, YA Hui-yuan¹, LI Suo-ping²

(1. College of Life Science, Luoyang Normal University, Luoyang 471022, China;

2. College of Life Science, Henan University, Kaifeng 475001, China)

Abstract: The compositions of high-molecular-weight glutenin subunits (HMW-GS) of F₁ grains derived from wheat Chuannong 19 (N, 7+8, 2+12) × Chuannong 18 (1, 7+9, 2+12) were analyzed by sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE), and a HMW-GS variant was detected in one of the grains tested. The HMW-GS patterns of the variant seed were (1, x+7+8+9, 2+12). SDS-PAGE analysis showed that the band of variant subunit was similar to 1Bx6, which located between 1Dx5 and 1Bx7. The HMW-GS subunits encoded by *Glu-B1* and the combination of *Glu-A1* and *Glu-B1* loci deviated the Mendel's segregation ratios in F₂ progenies. Furthermore, the variant subunit and the 1By8 were codominant. The forming mechanism of the variant HMW-GS was discussed at last.

Key words: Wheat; Hybridization progeny; HMW-GS; Variation

小麦麦谷蛋白约占籽粒总蛋白的10%, 面筋蛋白的35%^[1], 对小麦的加工品质有重要作用。根据

麦谷蛋白的SDS-PAGE电泳迁移率, 麦谷蛋白可被分为A、B和C 3个区, A区为高分子量谷蛋白

收稿日期: 2009-08-11

基金项目: 国家自然科学基金项目(30800204)

作者简介: 耿惠敏(1976-), 女, 河南洛阳人, 博士, 主要从事生物化学与分子生物学研究。E-mail: lyghm2009@yahoo.com.cn

亚基 (high molecular weight gluten subunits, HMW-GS), B 和 C 区为低分子量谷蛋白亚基 (low molecular gluten subunits, LMW-GS)。HMW-GS 与面包烘烤品质密切相关, 编码 HMW-GS 的基因被定位在第 1 部分同源群染色体的长臂上, 分别被命名为 *Glu-A1*、*Glu-B1* 和 *Glu-D1*, 统称为 *Glu-1* 位点。每个 *Glu-1* 位点都有 2 个相距很近、紧密连锁的基因, 分别控制 X 型亚基和 Y 型亚基^[2], X 型亚基略大于 Y 型亚基。从理论上讲, 普通小麦应该有 6 个高分子量谷蛋白亚基, 但是由于基因沉默效应, 普通小麦品种中通常有 3~5 个可以表达的高分子量谷蛋白亚基^[3,4], 每一个基因位点内的 X 和 Y 型亚基又有多种等位变异形式^[3,4], 已报道的 HMW-GS 亚基已超过 40 种^[5], 而且不断有新的亚基发现。目前, 在二倍体、四倍体小麦以及小麦近缘物种、人工合成小麦中又发现了更多的等位变异类型^[6-8]。由于普通小麦中高分子量谷蛋白亚基呈简单的孟德尔共显性遗传^[9], 很少有人关注普通小麦杂交后代的高分子量谷蛋白亚基的构成。为此, 进行了该项研究, 发现在普通小麦川农 19 和 1BL/1RS 易位系川农 18 F₁ 代出现了变异的高分子量谷蛋白亚基, 并对变异种子后代的遗传规律进行了分析, 最后对这种变异产生的机制进行了探讨, 以期探索小麦高分子量谷蛋白亚基变异的方法提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 供试材料

小麦川农 19 和川农 18, 均由四川农业大学植物遗传育种省级重点实验室选育, 在四川省大面积推广, 其高分子量谷蛋白亚基组成分别为 (N, 7+8, 2+12)、(1, 7+9, 2+12)。2005 年 4 月, 以川农 18 (为 1BL/1RS 易位系) 作父本, 与川农 19 套袋杂交获得 F₁ 代杂种, 2006 年 4 月将 F₁ 单粒播种自交获得 F₂ 代。小麦中国春、绵阳 11 和攀 86001-3 作为对照材料, 其高分子量谷蛋白亚基组成分别为 (N, 7+8, 2+12)、(1, 7+8, 5+10) 和 (2; 6+8, 5+10)。

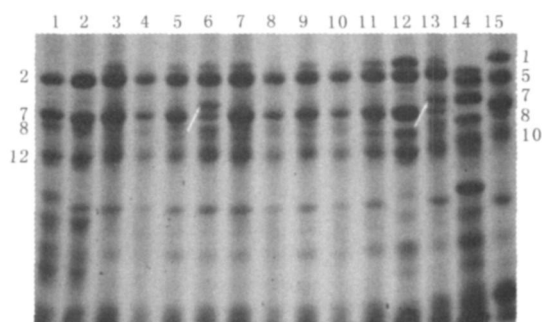
1.2 SDS-PAGE

种子总蛋白的提取及 SDS-PAGE 分析参照 Ng 等^[10] 的方法稍有改动, HMW-GS 编号参照 Payne 等提出的命名标准进行^[11]。半粒种子取样, F₁ 代远胚端提取高分子量谷蛋白, 胚端种植获得 F₂ 代。将 F₂ 代单株收获的每粒种子剖开, 远胚端一半用于提取高分子量谷蛋白, 胚端用于繁殖后代。

2 结果与分析

2.1 F₁ 代及 F₂ 代高分子量谷蛋白亚基组成分析

对 269 个 F₁ 籽粒全蛋白的 SDS-PAGE 分析表明, 对应于小麦高分子量谷蛋白区域, 除了 1 粒之外, 所有 F₁ 籽粒都能检测到 6 条带 (图 1), 亚基组成均为 (1, 7+8+9, 2+12), 符合高分子量谷蛋白亚基在 F₁ 代呈共显性的孟德尔遗传规律, 其中 146 号 (图 1 中泳道 6) 发生了变异, 有 7 个亚基, 组成为 (1, x+7+8+9, 2+12)。这个变异的亚基在 SDS-PAGE 电泳图谱上位于 1Dx5 和 1Bx7 之间, 且与 1Bx6 亚基具有相似的迁移率。这粒变异的种子已被证实确是 2 个亲本的后代^[12]。



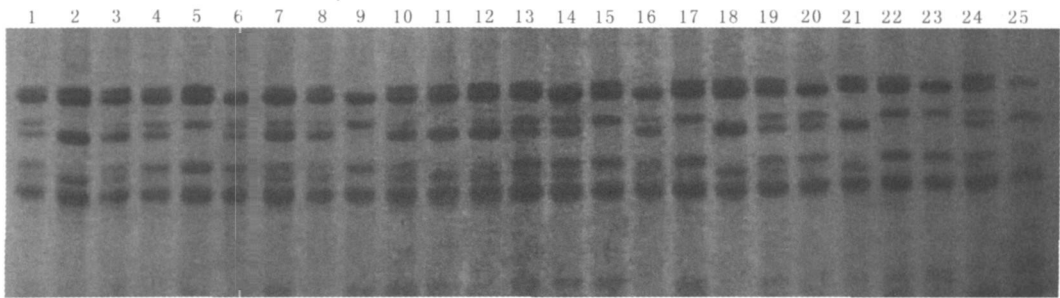
1. 中国春; 2. 川农 19; 3-11. F₁; 12. 川农 18; 13. F₁ 变异株; 14. 攀 86001-3; 15. 绵阳 11。泳道 6 和 13 为同一株。箭头示变异高分子量谷蛋白亚基。左、右两侧数字表示谷蛋白亚基

图 1 F₁ 代及其亲本 SDS-PAGE 检测结果

2.2 变异籽粒后代的 HMW-GS 组成分析

F₂ 代的 HMW-GS 组成有 6 种 (图 2)。由于父本和母本的 HMW-GS 差异在 *Glu-A1* 和 *Glu-B1* 位点上, 且当 *Glu-A1* 上具有 HMW-GS 谱带的品种与 *Glu-A1* 上为 N 的品种杂交, 杂种带型和具有 HMW-GS 带型的亲本相同, 都表现为 1, 因此, 可以将这 6 种亚基组成归为 3 类: 2 个位点均为纯合带型的有 2 种, 分别为 (N, x+8, 2+12)、(N, 7+9, 2+12); 2 个位点中有 1 个是杂种带型的有 3 种, 分别为 (1, x+8, 2+12)、(1, 7+9, 2+12) 和 (N, x+7+8+9, 2+12); 2 个位点都是杂合带型的有 1 种, 即 (1, x+7+8+9, 2+12)。各表型的理论比为 1:1:2:3:3:6^[9,13]。从 F₂ 代 HMW-GS 的组成不难发现, 变异的亚基与 1By8 亚基呈现共显性。

变异株 F₂ 代 HMW-GS 的遗传分析表明, 除 *Glu-A1* 分离未达到显著水平外, *Glu-B1* 的分离及其与 *Glu-A1* 的组合都达到极显著水平, 即 *Glu-B1* 位点基因分离及其与 *Glu-A1* 位点上基因组合不符合孟德尔遗传规律 (表 1)。



1—24. 变异粒的 F₂ 代; 25. 中国春

图2 变异粒 F₂ 代 SDS—PAGE 电泳图谱

表1 编码 *Glu—A1* 和 *Glu—B1* 位点等位基因的分离和组合

位点	亚基	株数	χ^2
<i>Glu—A1</i>	N	51	1.72
	1	123	
<i>Glu—B1</i>	x+8	29	13.49**
	7+9	31	
	x+7+8+9	108	
<i>Glu—A1</i> & <i>Glu—B1</i>	N, x+8	4	16.9**
	N, 7+9	13	
	1, x+8	25	
	1, 7+9	24	
	N, x+7+8+9	34	
	1, x+7+8+9	74	

注: **表示达 0.01 显著水平

3 结论与讨论

3.1 普通小麦杂交后代 HMW—GS 发生变异现象

关于普通小麦杂交后代 HMW—GS 发生变异现象已有报道。马啸等^[14] 对小麦—黑麦远缘杂交后代的高代株系高分子量谷蛋白亚基的组成进行分析发现, 在 66 个供试株系中有 9 个株系的 *Glu—1* 位点发生变异, 其中, 具有 1BL/1RS 易位的株系 *Glu—1* 位点变异占绝对优势, 且变异主要集中在 *Glu—A1* 和 *Glu—B1* 位点上。张素勤等^[15] 报道了由偏凸山羊草与硬粒小麦远缘杂交后代的一个普通小麦稳定株系 P7 HMW—GS (1, 13+19, 2+12) 和普通小麦郑 9023 HMW—GS (N, 7+8, 2+12) 杂交后, 在杂种后代中出现了双亲都没有的新带型。另有报道^[16], 郑麦 9023 和野二二燕 4F 杂交 F₂ 代中也出现了新的亚基及亚基组合。本试验中的父本川农 18 是一个 1BL/1RS 易位系小麦。这些研究结果表明, 当有外源染色体导入时, 原有的 HMW—GS 受到影响, 发生变异。这可能是由于外源染色体导入后激活了小麦或外源易位染色体自身携带的、通常处于沉默状态的转座子和逆转录转座子, 使其大量扩增和转座, 从而改变了编码 HMW—GS 的基因

家族中的 DNA 高度重复序列的拷贝数, 进而改变了编码 HMW—GS 的等位基因, 最终使其转录产物高分子量谷蛋白亚基发生变化。当然, 并不是所有的含有外源染色体的小麦作为亲本进行杂交都能引起 HMW—GS 变异, 这些报道只是少数。还有报道^[17, 18], 普通小麦之间的杂交也会引起 F₁ 籽粒亚基出现缺失或表达沉默, 分析可能是等位亚基之间的互作引起的, 或者是由于母本效应。所以引起 HMW—GS 变异的机制比较复杂, 还需要更多更深入地研究。但是这种现象是获得 HMW—GS 等位变异的一种新途径, 较之远缘杂交和转基因更加便捷, 值得重视。

3.2 变异株后代的 HMW—GS 遗传紊乱

对变异株后代的 HMW—GS 的带型进行分析表明, 其遗传行为不符合孟德尔遗传规律, 这可能是受到 1BL/1RS 染色体在 F₂ 代的不完全传递引起的^[12]; 且变异的亚基与 1B_y8 亚基共连锁, 说明变异源于母本川农 19 的 1B_x7 亚基。所以可以初步得出结论, 在利用远缘杂交得到的小麦进行品质育种时最好作为父本与普通小麦进行杂交, 获得 HMW—GS 变异的几率更大些。当然, 本研究只是一个初步的结果, 变异所产生的高分子量谷蛋白亚基是否是一新的亚基, 以及它对小麦品质的影响都在进一步的研究中。

参考文献:

[1] Sugiyama T, Rafalski A, Peterson D, et al. A wheat HMW glutenin subunits gene reveals a highly repeated structure[J]. Nucleic Acids Res, 1985, 13: 8729-8737.

[2] Payne P I. Genetics of wheat storage protein and the effect of allelic variation on breadmaking quality[J]. Ann New York Acad Sci, 1987, 38: 141-153.

[3] Payne P I, Law C N, Nudd 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.

- [4] Payne P L, Holt L M, Worland A J *et al.* Structural and genetical studies on the high-molecular-weight subunits genes on the long arms of the homoeologous group 1 chromosomes[J]. *Theor Appl Genet*, 1982, 63: 129-138.
- [5] Rakszegi M, Kárpáti M, Lásztity R *et al.* Study of the LMW gluten subunits of some old Hungarian wheat cultivates[J]. *Cereal Res Comm*, 1999, 27: 293-299.
- [6] 颜泽洪, 代寿芬, 魏育明, 等. 带芒草属物种新型高分子量谷蛋白亚基的鉴定[J]. *广西植物*, 2005, 25(4): 372-374.
- [7] 庄萍萍, 郭志富, 颜泽洪, 等. 波斯小麦高分子量谷蛋白亚基组成分析[J]. *西南农业学报*, 2006, 19(1): 5-9.
- [8] 陈国跃, 李立会. 人工合成六倍体小麦的高分子量谷蛋白亚基组成分析[J]. *麦类作物学报*, 2005, 25(1): 94-97.
- [9] 李保云, 刘桂芳, 王岳光, 等. 小麦高分子量谷蛋白亚基的遗传规律研究[J]. *中国农业大学学报*, 2000, 5(1): 58-62.
- [10] Ng P K W, Bushuk W. Glutenin of Marquis wheat as a reference for estimating molecular weight of glutenin subunits by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis[J]. *Cereal Chem*, 1987, 64(4): 324-327.
- [11] Payne P L, 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 Res Comm*, 1983, 11: 29-35.
- [12] 耿惠敏, 张怀琼, 任正隆. 1BL/1RS 易位系对小麦高分子量谷蛋白亚基遗传的影响初析[J]. *作物学报*, 2008, 34(1): 167-170.
- [13] 杨学举, 卢少源, 张荣芝, 等. 小麦高分子量麦谷蛋白亚基在杂种后代的品质差异[J]. *河北农业大学学报*, 1999, 22(2): 1-4.
- [14] 马啸, 任正隆, 晏本菊, 等. 小麦—黑麦远缘杂交后代高分子量麦谷蛋白亚基变异分析[J]. *种子*, 2005, 24(10): 4-7.
- [15] 张素勤, 郑竹, 李鹏, 等. 小麦杂交后代的高分子量麦谷蛋白亚基组成分析[J]. *种子*, 2008, 27(7): 23-25.
- [16] 张素勤, 李鹏, 耿广东, 等. 小麦远缘杂交后代的高分子量麦谷蛋白亚基组成分析[J]. *西北农业学报*, 2008, 17(4): 62-65.
- [17] 高翔, 董剑, 张改生, 等. 小麦 F₁ 籽粒高分子量谷蛋白亚基的遗传表现[J]. *麦类作物学报*, 2007, 27(6): 1000-1004.
- [18] 潘栋梁, 张改生, 牛娜, 等. 杂交小麦 F₁ 与 F₂ 品质组配规律及高分子量谷蛋白亚基组成规律的研究初报[J]. *麦类作物学报*, 2008, 28(5): 994-998.

(上接第 8 页)

参考文献:

- [1] 万富世, 王光瑞, 李宗智. 我国小麦品质现状及其改良目标初探[J]. *中国农业科学*, 1989, 22(3): 14-21.
- [2] Yasunaga T, Uemura M. Evaluation of color characteristics of obtained from various types and varieties of wheat[J]. *Cereal Chemistry*, 1962, 39(3): 171-183.
- [3] Wang C, Kovacs M I P, Fowler D B *et al.* Effects of protein content and composition on white noodle making quality: color [J]. *Cereal Chemistry*, 2004, 81: 777-784.
- [4] Harcher D W, Symons S J, Andemon M J. Assessment of oriental noodle appearance as a function of flour refinement and noodle type by image analysis[J]. *Cereal Chemistry*, 2000, 77(2): 181-186.
- [5] Oh N H, Seib P A, Ward A B *et al.* Noodles. IV. Influence of flour protein, extraction rate, particle size and starch damage on the quality characteristics of dry noodles[J]. *Cereal Chemistry*, 1985, 62(6): 441-446.
- [6] 杨朝柱, 张磊, 司红起, 等. 小麦面粉白度研究进展[J]. *麦类作物学报*, 2002, 22(3): 74-77.
- [7] 刘建军, 何中虎, 赵振东, 等. 小麦面条加工品质研究进展[J]. *麦类作物学报*, 2001, 21(2): 81-84.
- [8] Miskelly D M. Flour components affecting paste and noodle color[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1984, 2: 463-471.
- [9] 胡新中, 张国权, 张正茂, 等. 小麦面粉、面条色泽与蛋白质组分的关系[J]. *作物学报*, 2005, 31(4): 515-518.
- [10] 马冬云, 朱云集, 郭天财, 等. 基因型和环境及其互作对河南省小麦品质的影响及品质性状稳定性分析[J]. *麦类作物学报*, 2002, 22(4): 13-18.
- [11] 王晨阳, 郭天财, 朱云集, 等. 不同环境条件下小麦主要品质性状的聚类分析[J]. *河南农业科学*, 2003(12): 9-12.
- [12] 赵虹, 王西成, 李铁庄, 等. 河南省小麦品种的品质性状分析[J]. *华北农学报*, 2000, 15(3): 126-131.
- [13] 杨学举, 周进宝, 万永红. 优质小麦的环境变异研究[J]. *麦类作物学报*, 2000, 20(3): 21-24.