

小麦胚乳醇溶蛋白组分的遗传研究

晏月明^① 刘广田

(中国农业大学植物科技学院)

S. Prodanovic D. Zoric G. Surlan-Momirovic

(南斯拉夫贝尔格莱德大学农学院)

N. Mladenov

(南斯拉夫大田与蔬菜作物研究所)

摘要 用酸性聚丙烯酰胺凝胶电泳(A-PAGE,pH3.1)研究了4对醇溶蛋白群(Block)和19个组分在杂种后代的遗传特点。用已知醇溶蛋白Block(等位基因)组成的标准品种鉴定了2个亲本Sana和Francuska 4对Block,即A1m和A1f,B1e和B1b,A2f和A2l,D2m和D2g,它们分别由同源群1和6组染色体短臂上的Gli-1和Gli-2位点编码。正反交F₁和F₂世代群体的遗传分析显示,每对醇溶蛋白Block呈共显性遗传,由一个等位位点支配,并观察到明显的基因剂量效应。19个不同醇溶蛋白组分的遗传分析表明,16个组分由显性单基因控制,3个组分则受控于两对等位基因。

关键词 醇溶蛋白;电泳(A-PAGE);共显性;基因剂量效应;小麦

分类号 S512.103.2

Inheritance of Gliadin Components in the Wheat Endosperm

Yan Yueming Liu Guangtian

(College of Plant Science and Technology, CAU)

S. Prodanovic D. Zoric G. Surlan-Momirovic

(Faculty of Agriculture, University of Belgrade)

N. Mladenov

(Institute of Field and Vegetable Crops)

Abstract Inheritance of four pairs of gliadin blocks and 19 bands in the F₁ and F₂ generations from reciprocal crosses was studied by using acid polyacrylamide gel electrophoresis (A-PAGE). The gliadin block compositions in the two parents at four loci (Gli-A1, Gli-B1, Gli-A2 and Gli-D2) were identified on the basis of known standard cultivars. They are A1m and B1e, A2f and D2m in Sana and A1f and B1b, A2l and D2g in Francuska. Genetic analysis showed that blocks of gliadin components are inherited codominantly and each pair of blocks are controlled by allelic loci. The evident gene dosage effects of gliadin blocks were observed in the triploid endosperm from F₁, F₂ generations of reciprocal crosses. Segregation of gliadin components in the F₂ generation showed that, among 19 bands investigated, 16 bands appeared to be controlled by one dominant gene, while 3 others were coded by two pairs of alleles.

Key words gliadin; A-PAGE; codominance; gene dosage effects; wheat

小麦醇溶蛋白是胚乳中的主要贮藏蛋白,约占种子总蛋白的45%左右。醇溶蛋白在组成上以单体存在,具有高度的异质性和复杂性^[1]。在酸性电泳条件下,一个品种可分离出15~30

收稿日期:1997-03-13

①晏月明,北京西三环北路105号首都师范大学,100037

个左右的组分(带),在双向电泳下,有的品种可分离出多达50个左右的组分^[2]。根据电泳谱上不同带的位置,醇溶蛋白可分为 α , β , γ 和 ω 四种^[3]。不同的试验分析发现,某些醇溶蛋白带紧密连锁,总是一起遗传,这些一起遗传的组分被称为醇溶蛋白群(Block)^[4]。目前至少已鉴定出100个以上的不同Block(等位基因)^[5]。通过对‘中国春’等非整倍体材料的分析,已确定醇溶蛋白由第1,6同源群染色体短臂上的Gli-1,Gli-2位座编码^[6]。

大量研究表明,某些醇溶蛋白Block和组分与小麦品质、抗病性、抗逆性或其他农艺性状关系密切^[4,7]。因此,弄清醇溶蛋白的遗传特点对小麦品质改良具有重要意义。目前,虽然对醇溶蛋白控制基因进行了染色体定位,但对不同组分在杂种后代的遗传规律还不太清楚,迄今报道的结果存在较大差异^[8~13]。特别是对一些利用标准品种鉴定出来的Block的遗传模式还缺乏系统研究。我国在这方面还未开展深入研究。本文拟通过正反交组合 F_1 , F_2 世代的分析,探讨醇溶蛋白Block和不同组分的遗传模式,为加快小麦品质改良奠定理论基础。

1 材料与方法

供试材料为以下正反交组合的亲本及 F_1 , F_2 世代种子:Sana \times Francuska和Francuska \times Sana。

胚乳醇溶蛋白的分离与表征参照Metakovsky和Novselskaya(1991)^[14]方法并作一些修改。单粒种子粉碎后用150 μ L 70%乙醇在室温条件下提取2h,离心后上清液倒入另一小管中,加入等体积(约100 μ L)含有80%甘油和甲基绿的乳酸铝缓冲液,摇匀后即可用于电泳。凝胶液配方为:1500mL含丙烯酰胺120g,N'-N甲叉双丙烯酰胺6g,抗坏血酸1.5g,硫酸亚铁0.01g,乳酸铝2.5g,乳酸4.5mL,甘油150mL(调至pH3.1)。电极缓冲液组成为:1.5g乳酸铝,3mL乳酸稀释至1L(调pH3.1)。

电泳槽采用国产DYY-III 28A垂直槽,样品用量20 μ L,在550V条件下(温度不超过25 $^{\circ}$ C)电泳约2h。然后凝胶用10%三氯乙酸(TCA)固定30min,再用含有0.04%考马斯亮蓝R250的10%TCA染色液染色24h,清洗退色后对凝胶进行鉴定、统计或照相。

利用Metakovsky(1991)^[5]的醇溶蛋白Block最新命名和一套已知Block组成的标准品种(Bezostaya 1,Marquis,Maris Freeman,Lutescens 62,Chinese Spring,Kremena,Longbow,Ghurka等)鉴定亲本及杂种后代醇溶蛋白Block组成。不同醇溶蛋白组分(带)根据其相对迁移率及相对染色强度确定^[15]。根据杂种世代的分离比例分析不同醇溶蛋白Block和组分的遗传模式。

2 结果与分析

2.1 亲本电泳谱的确定及醇溶蛋白Block的鉴定

2个亲本Sana和Francuska醇溶蛋白电泳图谱及Block组成见图1。

在醇溶蛋白6个控制位点中,鉴定了4个位点控制的Block,即Gli-A1,Gli-B1,Gli-A2和Gli-D2。由于Gli-D1和Gli-B2两个位点Block难以分辨(主要是带的重叠使Block不能进行准确鉴定),故未作遗传分析。根据鉴定结果(图1),在Gli-1位点,Sana含有Block A1m和B1e,而Francuska含有A1f和B1b。在Gli-2位点,Sana具有Block A2f和D2m,Francuska有A2l和D2g。

图1同时确定了2个亲本醇溶蛋白电泳图谱,根据带的相对迁移位置和相对染色强度,可

发现 2 个亲本间的差异。Sana 和 Francuska 分别分离出 24 和 25 条带, 其中 19 条带在双亲间存在差异(Sana 有 10 条, Francuska 有 9 条)。在 α 区域有 86, 88, 90, 92, 95 和 98 共 6 条带。在 β 区域有 75 一条带。在 γ 区域有 47, 48, 52, 53, 55 和 57 共 6 条带。在 ω 区域有 16, 20, 24, 25, 26 和 32 共 6 条带(图 1)。

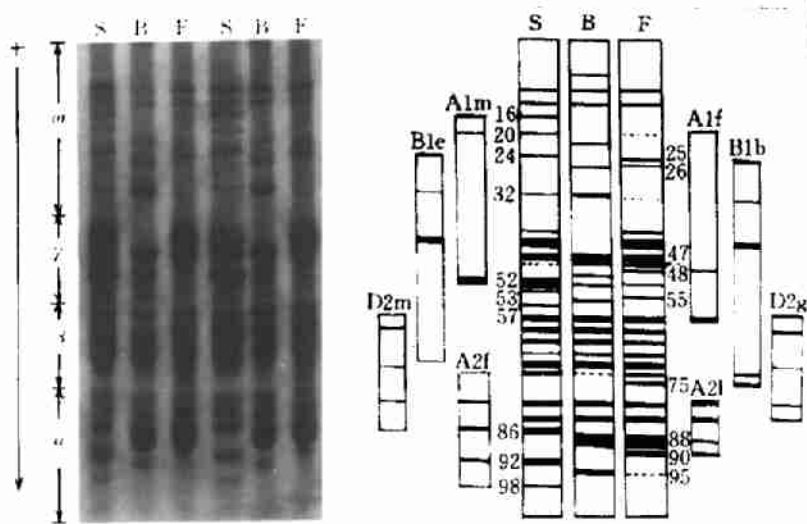


图 1 Sana 和 Francuska 醇溶蛋白 A-PAGE 图谱及 Block 组成

2.2 F_1 的遗传

对正反交组合 F_1 种子及亲本进行的电泳分析显示, 双亲中所有的醇溶蛋白 Block 和单个组分均在 F_1 代中出现, 说明醇溶蛋白呈共显性遗传。在杂种一代未发现新的醇溶蛋白带。从正反交组合 F_1 不同蛋白带的相对染色强度看, 可以发现明显的基因剂量效应。由于小麦胚乳组织是三倍体(由母本的两个极核与父本的一个精核融合发育而成), 其胚乳细胞含有三套染色体或 63 条染色体。在 Sana 与 Francuska 的杂交组合中, 假设以 S 代表来自 Sana 的醇溶蛋白, 而 F 代表来自 Francuska 的蛋白, 它们各自受一人地因剂量控制, 则 2 个亲本胚乳分别含有相同的 SSS 和 FFF。正交组合 Sana \times Francuska F_1 胚乳基因型为 SSF, 反交组合为 FFS。因此, 从电泳谱上可观察到醇溶蛋白的剂量效应, 即来自母本的 Block 或蛋白带染色较深, 而父本的蛋白带则相对染色较浅。

2.3 F_2 的遗传

为了确定 4 对醇溶蛋白 Block 在 F_2 代的遗传行为, 对 Sana \times Francuska 和 Francuska \times Sana 正反交组合分别分析了 145 和 127 粒 F_2 种子。根据 F_2 世代的调查结果, 获得了各对 Block 的分离比例, 其观察值与 χ^2 检验结果列于表 1。

由于存在不同 Block 部分组分间的重叠, 要鉴定一个 Block 的所有组分是很困难的。但是, 一个 Block 可通过某个非重叠带来鉴定。例如, Gli-Alm 可通过醇溶蛋白带 52(或 16 或 20)来鉴定, Gli-A1f 可用 48 来鉴定。

在正反交 F_2 群体, 每对 Block 的分离共观察到 4 种类型, 即来自 Sana 的 Block, 2 种含有 2 个亲本的 Block, 但表达程度不一样(杂合型)和来自 Francuska 的 Block。这 4 种基因型正好与理论上的期望值符合。在 Sana \times Francuska 组合中假设 F_1 胚乳基因型为 SSF, F_2 胚乳则应有 4 种类型, 即 SSS, SSF, FFS 和 FFF。在 SSF 中, 来自 Sana 的 Block 比 Francuska 的 Block

染色较明显,而在FFS中则正好相反。通过对 F_2 种子电泳分析,观察到了每对Block的基因剂量效应。根据分析结果(表1),上述4种类型的比例符合理论上期望的1:1:1:1或1(母本型):2(杂合型):1(父本型),说明每对Block适合一对基因和共显性遗传模式,它们受同一位点的不同等位基因支配。

表1 Sana(S)×Francuska(F)和Francuska×Sana
组合 F_2 代具有不同醇溶蛋白Block的籽粒数及 χ^2 检验结果

控制基因 所在染色体	Block	籽粒数		χ^2 值(1:2:1)		$P>$	
		S×F	F×S	S×F	F×S	S×F	F×S
1A	A1m	36	35				
	A1m+A1f	68	62	0.69	0.43	0.70	0.80
	A1f	41	30				
	B1e	34	33				
1B	B1e+B1b	69	65	1.22	0.37	0.50	0.80
	B1b	42	29				
	A2f	40	35				
6A	A2f+A2l	75	61	1.55	0.45	0.50	0.80
	A2l	30	31				
	D2m	35	30				
6D	D2m+D2g	72	64	0.13	0.10	0.90	0.90
	D2g	38	33				

在正反交 F_2 世代,还对亲本间表现不同的19条带的分离特点进行了分析,以确定单个醇溶蛋白组分的遗传模式。根据不同带在电泳谱上的出现和不出现,可获得各个组分的分离比例,然后检验其对不同遗传模式的适合性。首先,有必要分析一下1对基因和2对基因遗传模式 F_2 理论上的分离比例。如果某条带受一个显性基因控制,则 F_2 期望比例为3(出现):1(不出现)。如果有2对独立基因控制1条带的合成,则期望比率为15:1。如果1个组分的合成需要2个显性基因同时存在(互补作用),则期望比率为9:7。

19条醇溶蛋白带在正反交 F_2 代的分离比例及其检验结果列于表2,3。一个典型的分离图谱见图2。Sana×Francuska组合 F_2 世代分析结果显示(图2),16条带的分离适合3:1理论期望值,表明它们的合成受1个显性基因支配。其余3条带分别由2对等位基因控制。其中25和95符合9:7的理论值,说明它们的控制基因有互补作用。57符合15:1的分离比率,因而受2个独立基因控制。

反交组合 F_2 的分析结果列于表3。19条带的遗传模式与正交 F_2 世代的结果基本一致。只有95一条带对三种理论分布值均不符合,这可能是观察误差造成的。因为95这条带在电泳谱上是一条弱带,染色较浅,在鉴定时容易出现误差,加上基因剂量效应的影响,在有的籽粒中有可能有这条带存在。但由于染色很浅难以观察到,因此,实际观察到的比值(有:无)较低,对3种基因模式都不适合。

从 F_2 代19条带的分离可以发现某些蛋白带总是一起出现,表现连锁遗传特点。例如16,

20 和 52, 这 3 条带实际上是 Block A1m。其他一些带的连锁也代表了某个 Block, 如 25, 75 (B1b), 24, 32 (B1e), 86, 92, 98 (A2f), 88, 90 (A2l) 等。这些结果也进一步证明了 Block 的存在, 即某些醇溶蛋白带总是连锁在一起遗传, 每组带就好比一个孟德尔遗传单位。国际上将这种一起遗传的醇溶蛋白群叫做一个 Block^[4,5]。

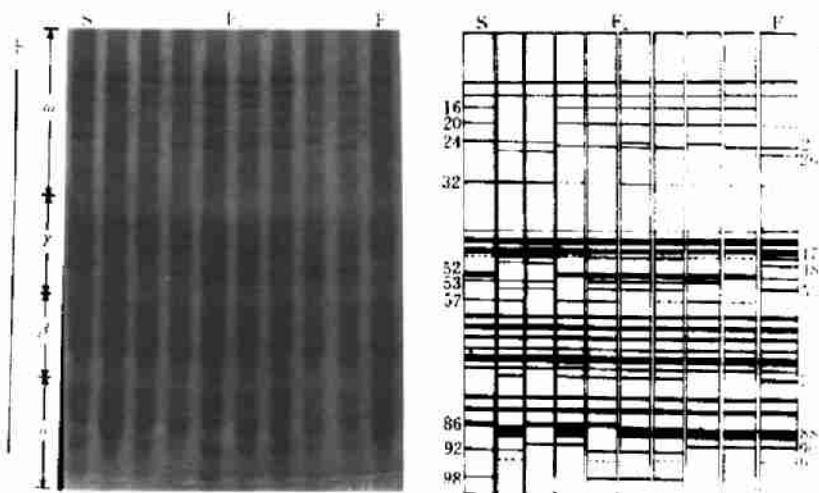


图 2 Sana 和 Francuska 组合 F_2 代 19 个醇溶蛋白带分离 A-PAGE 图谱

3 讨论

由于醇溶蛋白在组成上和遗传上的高度异质性和复杂性以及对小麦品质的重要作用, 长期以来受到国内外学者的广泛关注。Sozinov 等^[16,17]首先注意到电泳谱上的醇溶蛋白群。后来又总是一起遗传的 1 组醇溶蛋白组份称为 Block, 并揭示了 6 个 Block 控制位点的复等位性^[4]。随后一些学者通过杂交、品种生物型以及近亲品种分析, 发现了许多不同的醇溶蛋白等位基因^[2,4]。迄今已有 111 个醇溶蛋白 Block (等位基因) 被确定并作了统一命名^[5]。然而这些 Block 仅仅是通过少数品种和杂交组合的分析来确定的。在 111 个 Block 中有 11 个 (如 Gli-D2m 等) 还没有通过杂种后代分析来证实^[5]。目前, 对小麦品种醇溶蛋白等位基因组成分析主要根据已知 Block 组成的标准品种来鉴定^[18]。因此有必要通过杂交分析来验证这种方法的可靠性。

本研究利用标准品种鉴定了 Sana 和 Francuska 4 个位点 4 对 Block, 并通过正反交 F_1 和 F_2 世代遗传分析证实了 Gli-D2m 等 Block 的存在, 它们在杂种世代中呈共显性遗传, 每对 Block 由同一位点的不同等位基因控制。

关于单个醇溶蛋白带的遗传, 至今报道的结果不甚一致。有的研究显示绝大多数组份受单基因控制^[9,12,13]。从本研究看, 19 个组份有 16 个由 1 个显性基因支配, 3 个组份由 2 个基因控制。这个结果与上述报道相符。但 Baker 和 Bushuk (1978)^[11]、Branlard (1983)^[10]的分析结果表明, 约有一半的醇溶蛋白组份由 2 个基因控制。这可能与所用的醇溶蛋白分离方法有关。

由于某些醇溶蛋白 Block 或组份与小麦品质、抗病性、抗逆性或重要农艺性状关系密切^[4,7], 这就可以将这些蛋白作为可靠的选择标记, 加快品种改良。根据醇溶蛋白的遗传特地

点,可在杂种早期世代对籽粒进行 A-PAGE 分析,鉴定、筛选有关的醇溶蛋白 Block 或组分,这样可以对后代群体进行定向选择,加速新品种选育。从本研究结果看,利用乳酸铝缓冲系统的 A-PAGE 方法分离醇溶蛋白可获得较好的分辨率,而且可以在较短时间内通过半粒分析对杂种后代群体进行大量筛选。因此,将 A-PAGE 方法用于小麦早期世代选择将是可行的。

表 2 2 套组合 F₂ 世代 19 个醇溶蛋白组分的分离以及基因模型的 χ^2 检验

醇溶蛋白带	籽粒数		比率 (有:无)	χ^2		
	有	无		3:1	9:7	15:1
Sana × Francuska 组合						
16	104	41	2.54	0.76**	18.45*	120.10*
20	104	41	2.54	0.76**	18.45*	120.10*
24	103	42	2.45	1.21**	12.89*	129.00*
25	111	34	3.27	0.19**	24.23*	74.04*
26	84	61	1.38	22.53*	0.17**	320.32*
32	103	42	2.45	1.21**	12.89*	129.00*
47	114	31	3.68	1.01**	29.43*	57.34*
48	109	36	3.03	0.02**	21.10*	85.45*
52	104	41	2.54	0.76**	18.45*	120.10*
53	110	35	3.14	0.06**	22.67*	80.08*
55	119	26	4.58	3.87**	39.29*	33.78*
57	131	14	9.36	18.21*	68.50*	2.87**
75	111	34	3.27	0.19**	24.23*	74.04*
86	115	30	3.83	1.44**	47.15*	51.63*
88	105	40	2.63	0.59**	15.40*	113.85*
90	105	40	2.63	0.59**	15.40*	113.85*
92	115	30	3.83	1.44**	47.1*	51.63*
95	86	59	1.46	19.04*	0.55**	296.16*
98	115	30	3.83	1.44**	47.15*	51.63*
Francuska × Sana 组合						
16	97	30	3.23	0.13**	20.97*	64.57*
20	97	30	3.23	0.13**	20.97*	64.57*
24	98	29	3.38	0.32**	22.64*	72.15*
25	94	33	2.85	0.07**	9.19*	83.38*
26	75	52	1.44	17.23*	0.41**	260.80*
32	98	29	3.38	0.32**	22.64*	72.15*
47	100	27	3.70	0.95**	26.10*	48.80*
48	92	35	2.63	0.15**	13.57*	97.26*
52	97	30	3.23	0.13**	20.97*	64.57*
53	90	37	2.43	1.16**	11.07*	112.20*
55	102	25	4.08	1.92**	29.88*	39.11*
57	116	11	10.55	18.08*	63.54*	1.26**
75	94	33	2.85	0.07**	9.19*	83.38*
86	96	31	3.10	0.03**	19.36*	70.58*
88	92	35	2.63	0.15**	13.57*	97.26*
90	92	35	2.63	0.15**	13.57*	97.26*
92	96	31	3.10	0.03**	19.36*	70.58*
95	58	71	0.82	56.99*	6.82*	527.40*
98	96	31	3.10	0.03**	19.36*	70.58*

** $P < 0.01$; * $P > 0.05$

参 考 文 献

- 1 Payne P I, Holt L M, Jackson E A, et al. Wheat storage proteins: their genetics and potential for manipulation by plant breeding. *Philos Trans R Soc, London Ser B*, 1984,304:359~379
- 2 Metakovsky E V, Novoselskaya A Y, Kopus M M, et al. Blocks of gliadin components in winter wheat detected by one-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis. *Theor Appl Genet*, 1984,67:559~568
- 3 Jones R W, Taylor N W, Senti F R. Electrophoresis and fractionation of wheat gluten, *Archives of Biochem. Biophysics*, 1959,84:363~376
- 4 Sozinov A A, Poperelya F A. Genetic classification of prolamines and its use for plant breeding. *Ann Technol Agric*, 1960,29:229~245
- 5 Metakovsky E V. Gliadin allele identification in common wheat: I. Catalogue of gliadin alleles in common wheat. *J Genet & Breed*, 1991,45:325~344
- 6 Payne P I. Genetics of wheat storage proteins and the effect of allelic variation on bread-making quality. *Ann Rev Plant Physiol*, 1987,38:141~153
- 7 Wrigley C W, Robinson P J, Williams W T. Association between individual gliadin proteins and quality, agronomic and morphological attributes of wheat cultivars. *Aust J Agric Res*, 1982,33:409~418
- 8 Metakovsky E V, Akhmedov M G, Sozinov A V. Genetic analysis of gliadin coding genes reveals gene clusters as well as single remote genes. *Theor Appl Genet*, 1986,73:278~285
- 9 Jovanovic S, Yan Y, Prodanovic S, et al. Genetic models of wheat gliadin components in the F₂ generation of Skopjanka × Agrounija cross. *Genetika*, 1995,27:151~158
- 10 Branlard G. Study of genetic determination of 20 gliadin bands. *Theor Appl Genet*, 1983,64:155~162
- 11 Baker R J, Bushuk W. Inheritance of differences in gliadin electrophoregrams in the progeny of Newpawa and Pitic 62. *Can J Plant Sci*, 1978,58:325~329
- 12 Vapa L J. The inheritance of gliadins in wheat mutant and Lr lines. *Genetika*, 1985,17:91~96
- 13 Mecham D K, Kasarda D D, Qualset C O. Genetic aspects of wheat gliadin proteins. *Biochem Genet*, 1978,16:831~853
- 14 Metakovsky E V, Novoselskaya A Y. Gliadin allele identification in common wheat: I. Methodological aspects of the analysis of gliadin pattern by one-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis. *J Genet Breed*, 1991,45:317~324
- 15 Bushuk W, Zillamn R R. Wheat cultivar identification by gliadin electrophoregrams: I. Apparatus, method and nomenclature. *Can J Plant Sci*, 1978,58:505~515
- 16 Sozinov A A, Poperelya F A, Parenhev M G. On the inheritance of some alcohol-soluble protein fractions in hybrids of wheat. *Nauchno-Tekhnich. Bulletin VSGI*, 1970,13:4~38
- 17 Sozinov A A, Poperelya F A, Staskanova A I. Hybridological analysis as a method for investigation of genetic regularities in gliadin biosynthesis. *Nauchrote khnich Bulletin VSGI*, 1975,24:10~14
- 18 Metakovsky E V, Knezevic D, Javornik B. Gliadin allele composition of Yugoslav winter wheat cultivars. *Euphytica*, 1991,54:285~295