

普通小麦谷蛋白亚基与烘烤品质的关系

孙辉 李保云 王岳光 张树榛 刘广田

(中国农业大学作物学院)

摘要 用统计分析的方法研究了小麦谷蛋白亚基的不同等位基因变异对烘烤品质性状的影响。结果表明: *Glu-A 1b* 和 *Glu-D 1d* 大多与优良的烘烤品质相关, 而 *Glu-A 1c* 和 *Glu-D 1a* 则与较差的烘烤品质有关; 高、低分子量谷蛋白亚基的相对含量及比例对品质也有一定的影响。其中 A 组亚基的相对含量与大多数品质性状呈正相关, 与软化度呈负相关, C 组亚基则相反, B 组亚基与所有品质性状的相关性不显著。

关键词 谷蛋白亚基; 烘烤品质; 小麦

分类号 S330

Correlation between Gluten in Subunits and Bread-Making Quality Characteristics of Common Wheat

Sun Hui LiBaoyun Wang Yueguang Zhang Shuzhen Liu Guangtian

(College of Crop Sciences, CAU)

Abstract The correlation between glutenin subunits and bread-making quality of common wheat was studied in this paper. The results showed that the presence of *Glu-A 1b* and *Glu-D 1d*, the alleles at *Glu-1* gene loci, were associated with good quality while their allelic variations, *Glu-A 1c* and *Glu-D 1a* were associated with poor quality. The relative content of high molecular weight glutenin subunits (i.e. group A) improved bread-making quality and that of group C of low molecular weight glutenin subunits have negative effect on baking quality.

Key words glutenin subunit; bread-making quality; wheat

面筋蛋白约占小麦籽粒粗蛋白含量 85%, 是面粉烘烤品质的决定因素^[1], 主要由醇溶蛋白和谷蛋白组成, 分别决定面团的延展性与弹性。谷蛋白分子量较大, 是由若干亚基通过分子间二硫键及其他非共价作用力连结形成的异质聚合物^[2], 可以分为 2 个类群: 高分子量谷蛋白亚基(HMW-GS)和低分子量谷蛋白亚基(LMW-GS)。在电泳图谱上, HMW-GS 又称 A 组亚基, LMW-GS 则可分为 B 组和 C 组亚基, HMW-GS 含量较低, 只占面筋蛋白的 10% 左右, 但对面筋特性起着重要作用。HMW-GS 是由染色体 1A, 1B, 1D 长臂上的位点控制, 总称为 *Glu-1* 位点, 分别用 *Glu-A 1*, *Glu-B 1*, *Glu-D 1* 表示。其中, 每个位点都有两个相距很近紧密连锁的基因, 分别控制分子量较高的 x-型亚基和分子量较低的 y-型亚基^[3, 4]。在各位点均有不同数量的等位基因变异, 编码不同类型的亚基。谷蛋白亚基的类型与面粉的烘烤品质有一定的相关

收稿日期: 1999-09-23

国家自然科学基金资助项目 39370440

孙辉, 现工作单位国家粮食储备局科学研究院, 100037

刘广田, 北京圆明园西路 2 号中国农业大学(西校区), 100094

性,某些亚基甚至可以做为优良烘烤品质的标志^[5-7]。此外,亚基的相对含量和比例也能够影响面粉的烘烤品质性状^[8,9]。本研究用改良的单向一步 SDS-PA GE 方法分离高、低分子量谷蛋白亚基,并用统计分析的方法系统地研究了不同亚基类型或亚基组合以及各类亚基的相对含量和比例对各烘烤品质性状的影响。

1 材料与方 法

供试的 152 份小麦样品取自北京,山东,山西,河北,河南,新疆,黑龙江,陕西等地近年育成的小麦品种。

高、低分子量谷蛋白亚基的分离采用 SDS-PA GE 方法^[10],主要步骤如下:先用 50% 的异丙醇对样品进行预处理,去除醇溶蛋白;再用样品提取液(50% 异丙醇,0.08 mol·L⁻¹ Tris-HCl pH 8.5,0.3% DTT)60~65℃ 水浴 30 min 提取谷蛋白,并用 1.4% 的乙烯基吡啶进行烷化处理,加入丙酮沉淀谷蛋白并将其溶于样品缓冲溶液中(Tris-HCl 0.062 5 mol·L⁻¹,pH 6.8,β-巯基乙醇 5%,SDS 2%,丙三醇 10%,溴酚蓝 0.002%,即可用于上样。

采用 SDS 不连续缓冲系统,浓缩胶丙烯酰胺的浓度为 2.5%,分离胶为 11%,交联度为 2.6%。北京六一仪器厂双垂直板电泳槽,胶厚 0.75 cm,20 孔,每孔上样 7~10 μL,每板 15 mA 稳流电泳过夜。染色液为 12.5% 的三氯乙酸,0.05% 考马斯亮蓝 R250,染色约 12 h,蒸馏水脱色。约 24 h 后凝胶可照相或制干胶长期保存。

谷蛋白亚基的定量采用双波长 TLC CS-910 扫描仪,参比波长为 450 nm,样品波长为 580 nm,以各扫描峰的相对面积作为对应亚基的相对含量,并分别计算出高、低分子量谷蛋白亚基各组的含量和比例及部分 HMW-GS 的含量。

烘烤品质性状的测定:粗蛋白含量(湿基, $w(H_2O) = 14\%$)采用凯氏定氮法测定,所用仪器为 Ktecator 公司生产的 Kzelte System 1026 型定氮仪;SDS-沉降值根据 Axford (1979)提出的方法^[11]测定;用 Branbender 公司生产的粉质仪做面团粉质图,分析面团的流变学特性,包括吸水率,面团形成时间和稳定时间及软化度等;利用美国 National 公司烘烤设备进行烘烤试验,用排粒法测定面包体积。

谷蛋白大聚合物(GMP)含量的测定参照文献^[12]稍做改变。在 0.05 g 小麦面粉中加入 1 mL 1.5% 的 SDS 提取液,常温下 15 500 g 离心 15 min,弃上清,采用双缩脲法测定残余物中氮的含量作为 GMP 的近似含量,每个样品作 2 次重复,取平均值。

2 结果与讨论

2.1 高分子量谷蛋白亚基的类型与其他品质性状的关系

由高分子量谷蛋白亚基各位点的主要等位基因变异类型的烘烤品质性状(表 1)可以看出,*Glu-1* 位点同一位点不同等位基因的烘烤品质性状变异程度有所不同,如 *Glu-A 1b* 粗蛋白含量的变异较大,而 *Glu-A 1a* 和 *Glu-A 1c* 则相对较小,*Glu-D 1a* 与 *Glu-D 1d* 相比,变异程度要小得多;不同的品质性状变异程度有差异,如吸水率在各位点的变异程度都很低,而软化度都很高(表 1)。为了进一步比较各位点等位基因的变异对烘烤品质的影响,进行了平均数的差异显著性测验(表 2)。

表 1 *Glu-1* 位点主要等位基因变异类型的烘烤品质性状

品质性状	项 目	<i>Glu-A 1</i>			<i>Glu-B 1</i>			<i>Glu-D 1</i>	
		a (1)	b (2*)	c (null)	b (7+ 8)	c (7+ 9)	i (17+ 18)	a (2+ 12)	d (5+ 10)
粗蛋白含量	<i>n</i>	67	61	24	80	44	17	66	86
	$\bar{X}, w / \%$	14.52	15.01	13.34	14.74	14.39	14.58	13.95	14.98
	<i>CV, \varphi</i> / %	17.15	58.29	17.09	41.68	15.57	13.51	16.27	38.65
湿面筋含量	<i>n</i>	41	51	16	56	32	13	44	63
	$\bar{X}, w / \%$	37.82	39.25	36.00	37.39	38.97	41.59	37.19	38.98
	<i>CV, \varphi</i> / %	18.19	12.74	14.81	18.80	13.16	18.39	14.28	18.75
干面筋含量	<i>n</i>	41	51	16	56	32	13	44	63
	$\bar{X}, w / \%$	12.97	13.69	12.01	13.09	13.06	14.15	12.52	13.64
	<i>CV, \varphi</i> / %	17.89	12.05	15.57	19.56	13.55	18.52	14.46	18.48
GMP 含量	<i>n</i>	67	61	24	80	44	17	66	86
	$\bar{X}, w / \%$	3.54	3.79	3.24	3.67	3.47	3.67	3.43	3.71
	<i>CV, \varphi</i> / %	22.3	28.0	29.3	28.07	21.33	14.71	24.49	24.26
沉降值	<i>n</i>	67	61	24	80	44	17	66	86
	$\bar{X}, V / \text{mL}$	41.20	40.94	32.46	41.70	36.58	42.56	35.78	42.79
	<i>CV, \varphi</i> / %	27.16	26.73	37.83	33.03	24.96	19.87	33.40	26.50
吸水率	<i>n</i>	67	61	24	80	44	17	66	86
	$\bar{X}, w / \%$	62.51	61.65	61.47	61.79	62.10	63.97	62.17	61.94
	<i>CV, \varphi</i> / %	6.24	5.19	7.42	6.87	5.75	4.92	6.00	6.52
形成时间	<i>n</i>	67	61	24	80	44	17	66	86
	$\bar{X}, t / \text{min}$	5.80	6.32	4.68	6.01	6.00	6.01	5.45	6.14
	<i>CV, \varphi</i> / %	65.17	59.34	134.61	83.06	102.5	45.76	114.86	63.52
稳定时间	<i>n</i>	67	61	24	80	44	17	66	86
	$\bar{X}, t / \text{min}$	8.91	11.16	6.53	11.61	7.10	9.64	7.43	6.14
	<i>CV, \varphi</i> / %	63.52	64.25	126.95	67.00	55.91	56.95	89.23	63.52
软化度	<i>n</i>	41	51	15	56	32	13	44	63
	$\bar{X} (\text{BU})$	67.66	34.41	98.01	44.71	72.84	50.54	67.48	46.08
	<i>CV, \varphi</i> / %	78.94	136.44	57.48	109.19	68.01	92.32	79.99	102.62
面包体积	<i>n</i>	41	51	15	56	32	13	44	63
	$\bar{X}, V / \text{mL}$	614.4	642.3	585.5	604.0	642.5	662.61	604.5	638.4
	<i>CV, \varphi</i> / %	17.46	5.09	12.23	15.89	14.42	10.78	16.09	13.96

表 2 *Glu-1* 位点各等位基因变异的烘烤品质性状的差异显著性测验

品质性状	<i>Glu-A 1</i>			<i>Glu-B 1</i>			<i>Glu-D 1</i>	
	c (null)	a (1)	b (2 [*])	c (7+ 9)	b (7+ 8)	i (17+ 18)	a (2+ 12)	d (5+ 10)
粗蛋白含量 _w /%	13.34 aA	14.52 bA	15.01 bA	14.39 a	14.74 a	14.58 a	13.95 a	14.98 a
湿面筋含量 _w /%	36.00 aA	37.82 abA	32.95 bA	38.97 abA	37.39 aA	41.59 bA	37.19 a	38.98 a
干面筋含量 _w /%	12.01 aA	12.79 abAB	13.69 bB	13.06 a	13.09 a	14.15 a	12.52 aA	13.64 bB
沉降值 _V /mL	32.46 aA	41.20 bB	40.94 bB	36.58 aA	41.70 bB	42.56 bB	35.78 aA	42.79 bB
吸水率 _w /%	61.47 a	62.51 a	61.65 a	62.10 aA	61.79 aA	63.97 bA	62.17 a	61.94 a
形成时间 _t /min	4.68 a	5.80 a	5.73 a	5.18 a	6.08 a	6.01 a	4.87 aA	6.18 bA
稳定时间 _t /min	8.20 aA	8.91 abAB	11.16 bB	7.10 aA	9.64 abA	11.61 bA	7.43 aA	11.01 bB
软化度(BU)	98.01 aA	67.66 aA	34.41 bB	72.84 aA	44.71 bB	50.54 bB	67.48 aA	46.08 bA
面包体积 _V /mL	585.5 aA	614.4 abAB	642.3 bB	642.5 bAB	604.0 aA	662.6 bB	604.5 aA	638.4 bA

注: 为平均数; 差异显著性测验, 其中小写和大写英文字母分别表示 5% 和 1% 水平上的差异显著。

不同位点的等位基因变异对不同的烘烤品质性状的影响不同。*Glu-A 1* 位点的变异对吸水率和面团形成时间的影响较小, 而对其他性状的影响较大。*Glu-A 1c*(亚基 null)大多与较差的品质性状有关, 其粗蛋白含量和沉降值与 *Glu-A 1a*(亚基 1)和 *b*(亚基 2^{*})差异显著或极显著, 干、湿面筋含量、面团稳定时间、软化度及面包体积与 *Glu-A 1b*差异显著, 说明对于同一位点的等位基因变异来说, 基因表达与不表达或沉默的类型相比, 能够改善品质性状。这与前人的报道一致^[13]。*Glu-A 1b*(亚基 2^{*})的面团稳定时间和软化度与 *Glu-A 1a*(亚基 1)差异显著, 说明 *b* 有助于延长面团稳定时间, 降低软化度, 从而提高面团流变学特性; 在 *Glu-B 1* 位点, 由于受试验材料的限制, 只研究了 3 种等位基因的变异对烘烤品质性状的影响, 包括 *Glu-B 1b*(亚基 7+ 8)、*Glu-B 1c*(亚基 7+ 9)和 *Glu-B 1i*(亚基 17+ 18)。但仍然可以看出, *Glu-B 1* 位点等位基因的变异对粗蛋白含量、面团形成时间以及干面筋含量的变异影响较小, 各种变异类型的表现差异均不显著。*Glu-B 1c*的沉降值低, 软化度高, 与其他 2 种变异类型差异极显著。*Glu-B 1i*吸水率较高, 面团稳定时间较长, 干面筋含量也较高, 与其他 2 种变异类型或其中的 1 种差异显著。*Glu-B 1b*面包体积小, 与其他 2 种变异类型差异显著或极显著, 这可能由于其湿面筋含量较低所造成的; *Glu-D 1* 位点的 2 种变异类型 *a*(亚基 2+ 12)和 *d*(亚基 5+ 10)对粗蛋白含量、湿面筋含量和吸水率的影响差异不显著, 而其他性状的差异显著, 其中干面筋含量、软化度、面团稳定时间及沉降值的差异达到极显著水平。说明 *Glu-D 1d* 有助于提高品质的烘烤品质性状。此外还可以看出, *Glu-1* 位点各种等位基因的变异对不同的烘烤品质性状的作用并不完全一致, 这一点在 *Glu-B 1* 位点表现尤其突出, 说明单凭 *Glu-1* 位点等位基因的变异来预测烘烤品质是不全面的。因而在工业生产中仅仅以此来预测面粉质量是不够的, 但对作物品质育种尤其是在早代选择中, HMW-GS 与品质性状的相关性的大小对用电泳选择特定亚基作为育种目标来改良品质是足够的。

2.2 高、低分子量谷蛋白亚基的相对含量及比例与品质性状的关系

2.2.1 单个高分子量谷蛋白亚基的相对含量与品质的关系 分析部分单个 HMW-GS 与品

质性状的相关性(表3)可以看出,所研究的单个谷蛋白亚基在总的谷蛋白亚基中的相对含量与烘烤品质性状有一定的相关性。这种相关性受亚基和性状两方面的影响,其中吸水率与所有亚基相对含量的相关性均不显著,粗蛋白含量只与 $1B_{x17+1B_{y18}}$ 的相对含量呈极显著负相关,而受其他亚基的影响较小。对于亚基来说, $1A_{x1}$ 相对含量的提高能够改善面团的流变学特性,但对粗蛋白含量及最终烘烤品质没有太大的影响; $1B_{y8}$ 的相对含量与吸水率的相关性不显著,与软化度呈显著负相关,与其他品质性状都呈显著或极显著正相关,说明亚基 $1B_{y8}$ 相对含量的提高能改变面粉的粗蛋白含量,增强面筋强度,从而提高面粉的最终烘烤品质; $1B_{x17+1B_{y18}}$ 相对含量的提高能使粗蛋白含量下降,但对其他品质性状没有影响; $1D_{y12}$ 除了与 GMP 含量、沉降值和面包体积呈显著正相关以外,对软化度也有一定的负作用,说明该亚基相对含量的提高,能够在一定程度上改善烘烤品质; $1D_{x5}$ 和 $1D_{y10}$ 的相对含量与所有品质性状的相关性均不显著,说明这一对亚基对烘烤品质性状的影响只是由等位基因的变异造成的。

表3 部分单个HMW-GS与品质性状的简单相关系数

品质性状	品种数	$1A_{x1}$	$1B_{x7}$	$1B_{y8}$	$1B_{x17+1B_{y18}}$	$1D_{x2}$	$1D_{x5}$	$1D_{y10}$	$1D_{y12}$
粗蛋白含量	15	0.187	0.246	0.670**	-0.739*	-0.066	0.160	-0.035	0.567
GMP含量	26	0.378	0.472*	0.703**	-0.372	-0.037	0.298	-0.343	0.790**
沉淀值	19	0.416	0.393	0.559*	-0.358	-0.036	0.043	-0.107	0.760*
吸水率	7	0.104	0.199	0.181	-0.015	-0.097	0.349	0.139	-0.219
形成时间	10	0.304	0.311	0.665**	-0.075	-0.090	0.244	0.320	0.585
稳定时间	11	0.444	0.383	0.660**	-0.337	-0.186	-0.073	0.254	0.545
软化度	19	-0.542*	0.348	0.659*	0.174	0.100	0.013	-0.146	-0.602
面包体积	10	0.223	0.270	0.700**	-0.521	0.179	0.253	0.209	0.698*

注: * 为5%水平显著, ** 为1%水平显著。

2.2.2 谷蛋白亚基的相对含量和比例与品质的关系 统计了 SDS-PAGE 分离出的谷蛋白亚基3个组分占谷蛋白亚基的相对含量及比例与各烘烤品质性状的相关性(表4),可以看出,每一组的相对含量对不同品质性状的作用比较一致。其中A组的相对含量与大多数优良的烘烤品质性状相关,C组则与较差的品质性状有关,而B组的相对含量与大多数品质性状的相关性不显著,只与软化度呈极显著的负相关,说明B组相对含量的提高只能引起品种软化度的增大。除了粗蛋白含量和吸水率受A,C组相对含量的变异影响较小,相关性不显著以外,其他性状与A组的相对含量呈正相关,与C组的负相关也达到显著或极显著水平。因此可以说,提高A组或降低C组的相对含量虽然不会影响籽粒的总粗蛋白含量,但能够改善面团的流变学特性,从而提高面粉的烘烤品质。LMW-GS的总含量(即B+C)和品质性状的关系与C组亚基相似,除了与面团形成时间的负相关稍微减弱以外,与其他性状的相关性都有所增强。另外从表4还可以看出,A组亚基与B,C组亚基的比例以及A与(B+C)比例的提高即HMW-GS比例的提高也能够提高干、湿面筋的含量,改善面团流变学特性,从而使面粉的烘烤品质得到

改良。

表 4 各组谷蛋白亚基的相对含量及其比例与烘烤品质性状的简单相关系数

品质性状	品种数	A	B	C	B+C	A/C	A/B	A/(B+C)
粗蛋白含量	65	0.156	-0.052	-0.107	-0.155	0.200	0.123	0.162
湿面筋含量	39	0.425**	-0.216	-0.370*	-0.460**	0.485**	0.350*	0.452**
干面筋含量	39	0.428**	-0.261	-0.365*	-0.493**	0.497**	0.383*	0.474**
GM P 含量	65	0.242*	0.042	-0.352**	-0.423**	0.365**	0.117	0.257*
沉降值	65	0.332**	-0.042	-0.316*	-0.528**	0.418**	0.199	0.339**
吸水率	65	0.157	-0.042	-0.130	0.125	0.148	0.057	0.138
形成时间	65	0.380**	-0.103	-0.328**	-0.302*	0.396**	0.264*	0.367**
稳定时间	65	0.459**	-0.165	-0.416**	-0.420**	0.505**	0.336**	0.473**
软化度	39	-0.484**	0.418**	0.411**	0.656**	-0.486**	-0.486**	-0.542**
面包体积	39	0.474**	-0.275	-0.377*	-0.514**	0.502**	0.414**	0.491**

注: * 为 5% 水平显著, ** 为 1% 水平显著。

3 结论

通过分析大量品种高、低分子量谷蛋白亚基的组成以及有关的品质性状,用统计分析的方法研究了不同的亚基或亚基组合对品质性状的影响,结果表明:谷蛋白亚基的含量和组成与烘烤品质都有一定的相关性。*Glu-A 1b* 和 *Glu-D 1d* 的存在与优良的烘烤品质相关,而 *Glu-A 1c* 和 *Glu-D 1a* 则与劣质有关;除了蛋白质含量和吸水率以外,其他品质性状都受到亚基相对含量的影响。A 组亚基(HMW -GS)的相对含量对品质性状有正效应,C 组亚基(LMW -GS-C)则有负效应,B 组亚基(LMW -GS-B)的影响不大。

参 考 文 献

- 1 Payne P I, Corfield K G. Subunit composition of wheat glutenin proteins isolated by gel filtration in a dissociating medium. *Planta*, 1979, 145: 83~ 88
- 2 Jackson E A, Holt L M, Payne P E. Characterization of high molecular weight gliadin and low-molecular-weight glutenin subunits of wheat endosperm by two-dimensional electrophoresis and the chromosomal location of their controlling genes. *Theor Appl Genet*, 1983, 66: 29~ 37
- 3 Payne P I, Law C N, Mudd E E. Control by homologous group 1 chromosomes of the high-molecular-weight subunits of glutenin, a major protein of wheat endosperm. *Theor Appl Genet*, 1980, 58: 113~ 120
- 4 Lawrence G J, Payne P I. Detection by gel electrophoresis of oligomers formed by the association of high-molecular-weight glutenin protein subunits of wheat endosperm. *J Experimental Botany*, 1983, 34: 254~ 267
- 5 Lorenzo A, Kronstad W E, Vieira L G E. Relationships between high molecular weight glutenin subunits

- and loaf volume in wheat as measured by the sodium dodecyl sulfate sedimentation test. *Crop Sci*, 1987, 27: 253~ 257
- 6 Lawrence G J, MacRitchie F, Wrigley C W. Dough and baking quality of wheat lines deficient in glutenin subunits controlled by the *Glu-A 1*, *Glu-B 1* and *Glu-D 1* loci. *J Cereal Sci*, 1988, 7: 109~ 112
 - 7 Payne P I. Genetics of wheat storage protein and the effect of allelic variation in bread making quality. *Ann Rev Plant Physiol*, 1987, 38: 141~ 153
 - 8 Huang D Y, Khan K. Quantitative determination of high molecular weight glutenin subunit of hard red spring wheat by SDS-PAGE: II. Quantitative effects of total amounts on bread making quality characteristics. *Cereal Chem*, 1997, 76: 781~ 785
 - 9 朱金宝. 普通小麦品质性状遗传、环境互作及其与高低分子量谷蛋白亚基的关系: [博士学位论文]. 北京农业大学, 1993
 - 10 孙辉, 李保云, 朱金宝等. 小麦高低分子量谷蛋白亚基单向一步分离法新探. *中国农业大学学报*, 1998, 3 (增刊): 19~ 23
 - 11 Axford D W E, McDermott E E, Redman D G. Note on the sodium dodecyl sulfate test of breadmaking quality: comparison with Pelschenke and Zeleny tests. *Cereal Chem*, 1979, 56: 582~ 584
 - 12 Weegels P L, Hamer R J, Schofield J D. Functional properties of wheat glutenin. *J Cereal Sci*, 1996, 23: 1~ 18
 - 13 Halford N G, Field J M, Blair H, et al. Analysis of HMW glutenin subunits encoded by chromosome 1A of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) indicates quantitative effects on grain quality. *Theor Appl Genet*, 1992, 83: 373~ 378