

从 CMMYT 引进的人工合成六倍体小麦 高分子量谷蛋白亚基组成分析

张义荣 倪中福 梁荣奇 李继刚 李保云 刘广田

(中国农业大学作物学院)

摘要 采用 SDS-PAGE 方法, 鉴定分析了从 CMMYT 引进的 58 份人工合成六倍体小麦高分子量谷蛋白亚基(HMW-GS)组成。在 Glu-A1, Glu-B1 和 Glu-D1 3 个位点上共检测到 22 种不同的亚基类型; 其中 Glu-D1 位点上的变异类型最为丰富, 存在 2+ T1+ T2, 5+ 12 和 5+ 10 等 13 种不同的亚基类型; 特别是发现含有比 5+ 10 亚基更优质的 1 5+ 10 和 5+ 12 亚基。遗传分析结果表明, 人工合成六倍体小麦 HMW-GS 能在与普通小麦的杂交后代中稳定表达, 并且在 F₁ 代籽粒中呈共显性和偏母遗传现象。本文对利用人工合成六倍体小麦改良我国普通小麦品质的策略进行了分析和讨论。

关键词 粗山羊草; 人工合成六倍体小麦; 高分子量谷蛋白亚基(HMW-GS)

中图分类号 S512

Compositions of High Molecular Weight Gluten in Subunits in Synthesized Hexaploid Wheat Introduced from CMMYT

Zhang Yirong Ni Zhongfu Liang Rongqi Li Jigang Li Baoyun Liu Guangtian

(College of Crop Science, CAU)

Abstract The compositions of high molecular weight glutenin subunits (HMW-GS) in 58 synthesized hexaploid wheat from CMMYT were analyzed using SDS-PAGE method. There were 22 different HMW-GS types. Thirteen allelic variations were detected at Glu-D1 locus, in which subunits 1 5+ 10 and 5+ 12 that were important to quality breeding compared to subunits 5+ 10 were identified. All HMW-GS of synthesized hexaploid wheat can be transmitted to the hybrid F₁ of synthesized hexaploid wheat and common wheat, and the HMW-GS constitution can inherit consistently with codominant type. A significant effect of female tendency was observed in reciprocal F₁ hybrids. The strategy of using synthesized hexaploid wheat to improve China's wheat quality was also discussed.

Key words *Triticum tauschii*; synthesized hexaploid wheat; HMW-GS

大量研究证明, 小麦胚乳高分子量谷蛋白亚基(HMW-GS)的数目和组成与烘烤品质关系密切^[1-3]。我国小麦品种与国外品种相比烘烤品质较差, 其重要原因之一是含 5+ 10 等优质亚基的品种频率低, 遗传基础比较狭窄^[4,5]。因此, 研究和转育 5+ 10 等优质亚基基因, 便成为我国小麦品质改良的突破口。

收稿日期: 2001-01-02

国家自然科学基金重点资助项目(39930110)和北京市自然科学基金资助项目(6990001)

张义荣, 北京圆明园西路 2 号中国农业大学(西校区), 100094

节节麦(*Ae. tauschii*, $2n=14$, DD)是普通小麦(*Triticum aestivum*, $2n=42$, AABBDD)D染色体组的供体。通过分析节节麦的HMW-GS组成,发现其Glu-D1位点上遗传变异类型丰富,并且许多等位基因变异是普通小麦所没有的,如T1、T2和1.5亚基等^[6-8]。国际玉米小麦改良中心(CMMYT)研究发现,粗山羊草中存在2个比公认的5+10亚基更优良的1.5+10和5+12亚基。另外,对粗山羊草与硬粒小麦杂交合成的六倍体小麦HMW-GS组成分析发现,粗山羊草的基因能在合成六倍体中正常表达^[7]。因此,研究和利用节节麦优质亚基对于改良普通小麦品质具有重要意义。为系统评价节节麦的HMW-GS对烘烤品质影响,CMMYT从90年代初开始合成硬粒小麦-节节麦双二倍体^[7]。本研究鉴定分析了从CMMYT引进的58份人工合成六倍体小麦HMW-GS组成,并对其与普通小麦杂交后代HMW-GS的表达进行了探讨,为利用这些材料改良我国小麦品质提供依据。

1 材料和方法

1.1 供试材料

供试材料为来自CMMYT的58份人工合成六倍体小麦(表1)。

1.2 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)方法

样品的提取:选取1粒种子,砸碎后置于1.5 mL离心管中,加入1 mL 50%异丙醇,60~65℃水浴30 min(其间搅动2次), 10^4 r·min⁻¹离心3 min,弃上清液。重复2次上述流程后加入160 μL提取液B₁(50%异丙醇+0.3% DTT),混匀,60~65℃水浴30 min,加入160 μL提取液B₂(50%异丙醇+1.4% 4-乙烯基吡啶)混匀,60~65℃水浴烷化处理60 min, 10^4 r·min⁻¹离心10 min,取上清液150 μL,加入600 μL丙酮,45℃水浴30 min, 10^4 r·min⁻¹离心10 min,弃上清液,加入100 μL样品提取液[0.062 5 mol·L⁻¹ Tris-HCl, pH 6.8, 5% β-巯基乙醇, 20% SDS, 10% 丙三醇, 0.002% 溴酚蓝], 40℃水浴溶解1 h即可。

凝胶配制:参考哈密斯等^[1]的方法配制缓冲液,采用SDS不连续缓冲系统,分离胶浓度为10% (pH 8.5),浓缩胶的浓度为2.5% (pH 6.8),交联度为2.6%,胶厚0.75 cm。

电泳条件:电极缓冲液为0.025 mol·L⁻¹ Tris-HCl, 0.192 mol·L⁻¹ 甘氨酸, 0.001% SDS, pH 8.3, 每板15 mA 稳流电泳过夜。

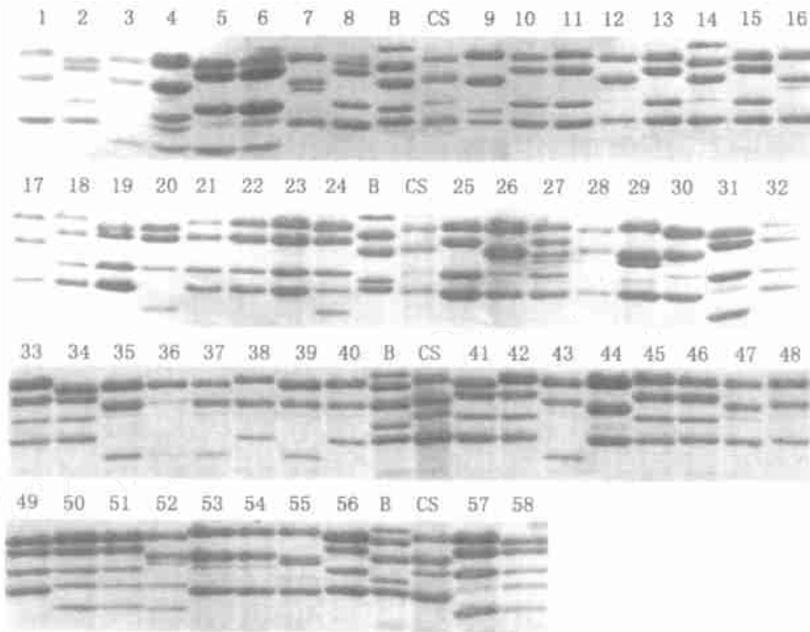
染色、脱色和保存:凝胶用含有12.5% 三氯乙酸, 0.05% 考马斯亮蓝的染色液染色过夜,用蒸馏水脱色。

2 结果与分析

2.1 人工合成六倍体小麦高分子量谷蛋白亚基组成

以中国春(null, 7+8, 2+12)和荔垦2号(1, 7+9, 5+10)为对照材料,对58份人工合成六倍体小麦的高分子量谷蛋白亚基进行鉴定分析(图1),结果分别列于表1, 2, 3。

由表1和表2可以看出,58份人工合成六倍体小麦在3个位点上一共鉴定出22种不同的高分子量谷蛋白亚基类型,其中Glu-A1, Glu-B1和Glu-D1位点上的变异形式分别有3, 6和13种。



1~58为材料编号；对照品种:CS(中国春)和B(基基2号)

图1 人工合成六倍体小麦高分子量谷蛋白亚基组成

由表2可知,在Glu-A1位点上的3种变异类型(null, 1和2^{*})中,以亚基缺失类型(null)为主,出现频率达96.55%。1和2^{*}亚基为稀有亚基。在Glu-B1位点上检测到6+8, 6+9, 7+8, 7+9, 13+14和17+18共6种类型,其中以6+8和7+8亚基出现频率较高,分别为43.10%和34.48%。上述9种亚基类型同样存在于普通小麦中,未发现特有亚基。

在Glu-D1位点上共有13种不同的亚基类型,并且各亚基出现的频率差异很大,为1.72%~17.24%,其中2+10亚基出现的频率最高(17.24%),2+12亚基(15.52%),2+T1T2居第3(12.10%)。与前人对节节麦(DD染色体组)的研究结果相比^[6-8],除1.5+T2亚基外,节节麦中发现的其余13种亚基类型在本研究所用材料中都存在。另外,本实验分析出的13种亚基除2+12和5+10常见于普通小麦,5+12仅存在于意大利个别小麦品种外,其余10种为节节麦所特有的,这表明所引进的58份人工合成六倍体小麦在Glu-D1位点上的HMW-GS变异类型相当丰富。需特别提出的是,58份材料中有4份携带有1.5+10亚基和1份携带有5+12亚基,这2种亚基类型比目前公认的5+10亚基更优质^[7]。

由表3可知,58份人工合成六倍体小麦的高分子量谷蛋白亚基组成类型共有33种,且出现频率都较低,没有优势组成类型,这进一步表明所引进的材料具有较强的代表性。

2.2 人工合成六倍体小麦HMW-GS亚基的遗传

由图2可以看出,在人工合成六倍体小麦与普通小麦杂交F₁代籽粒中,双亲HMW-GS均得到表达,呈共显性遗传,异质位点呈混合型,同质位点呈单一型。另外, HMW-GS等位基因在表达时存在剂量效应,呈混和型的异质位点每1个等位基因表达量比同质位点弱,但总的表达量是一致的。从图2我们还可以看出,正反交时表达模式也有一定的变化,这是由于HMW-GS存在于胚乳中,胚乳是三倍体,是由2个极核和1个精子结合发育而成,在F₁代母

本所具有的编码 HMW -GS 基因数目是父本相关基因的 2 倍, 父母本遗传物质比例不同所造成的基因剂量效应, 从表达量上来看, 混合型中母本的表达量高与父本, 出现偏母遗传现象。

表 1 58 份六倍体小麦合成种的编号、名称及高分子量谷蛋白亚基组成

编号	名称	染色体			编号	名称	染色体		
		1A	1B	1D			1A	1B	1D
1	合成种 6	Null	7+ 8	2 1+ 10	30	合成种 4	Null	7+ 8	2+ 12
2	合成种 14	Null	6+ 8	5+ 10	31	合成种 9	Null	6+ 8	3+ T1T2
3	合成种 16	Null	7+ 8	2+ T2	32	合成种 10	Null	7+ 8	2 1+ 10 5
4	合成种 21	Null	7+ 9	2+ T1T2	33	合成种 11	Null	6+ 8	2 1+ 10
5	合成种 28	Null	6+ 8	3+ T1T2	34	合成种 12	Null	6+ 8	5+ 12
6	合成种 32	Null	6+ 8	2+ T1T2	35	合成种 15	Null	7+ 8	3+ T2
7	合成种 33	Null	13+ 19	2+ 12	36	合成种 17	Null	7+ 8	3+ T2
8	合成种 42	2*	6+ 8	3+ 10 5	37	合成种 18	Null	7+ 8	3+ T2
9	合成种 43	Null	7+ 9	1 5+ 12	38	合成种 19	Null	7+ 8	1 5+ 10
10	合成种 44	Null	6+ 8	2+ 12	39	合成种 20	Null	7+ 8	3+ T2
11	合成种 45	Null	6+ 8	2 1+ 10 5	40	合成种 22	Null	7+ 8	2+ 12
12	合成种 46	Null	17+ 18	2+ 12	41	合成种 23	Null	6+ 9	5+ 10
13	合成种 47	Null	6+ 8	2+ 12	42	合成种 24	Null	6+ 9	2+ 12
14	合成种 48	1	7+ 8	5+ 10	43	合成种 25	Null	7+ 8	3+ T2
15	合成种 49	Null	7+ 8	3+ 10	44	合成种 29	Null	17+ 18	3+ 10 5
16	合成种 50	Null	17+ 18	2+ 12	45	合成种 30	Null	6+ 9	2 1+ 10
17	合成种 52	Null	7+ 8	2 1+ 10	46	合成种 35	Null	6+ 9	2 1+ 10
18	合成种 53	Null	6+ 8	2 1+ 10	47	合成种 73	Null	7+ 8	1 5+ 10
19	合成种 55	Null	6+ 8	5+ 10	48	合成种 74	Null	7+ 8	1 5+ 10
20	合成种 57	Null	6+ 8	3+ T2	49	合成种 75	Null	6+ 8	3+ 10 5
21	合成种 60	Null	6+ 8	2 1+ 10	50	合成种 77	Null	6+ 8	2+ T1T2
22	合成种 70	Null	6+ 8	1 5+ 12	51	合成种 78	Null	6+ 8	2+ T1T2
23	合成种 80	Null	6+ 8	1 5+ 12	52	合成种 84	Null	17+ 18	2+ T1T2
24	合成种 81	Null	6+ 8	2+ T1T2	53	合成种 85	Null	7+ 8	1 5+ 12
25	合成种 83	Null	6+ 8	1 5+ 10	54	合成种 83	Null	7+ 8	1 5+ 12
26	合成种 87	Null	7+ 8	2 1+ 10	55	合成种 94	Null	17+ 18	1 5+ 12
27	合成种 88	Null	6+ 8	2 1+ 10	56	合成种 40	Null	6+ 8	3+ 10
28	合成种 90	Null	7+ 8	2+ 12	57	合成种 79	Null	6+ 8	2+ T1T2
29	合成种 2	Null	13+ 14	2 1+ 10	58	合成种 86	Null	6+ 8	3+ T1T2

六倍体合成种与普通小麦杂交 F₂ 代种子 HMW -GS 电泳结果分析表明, F₂ 中亲本 1、混合型及亲本分离比例为 2= 1 2 1(数据未列), 并且同一位点编码 x-型亚基与 y-型亚基 2 个基因连锁, 如同单基因的分离与组合, 属孟德尔简单质量性状遗传。同一位点不同等位基因间未发现重组类型。

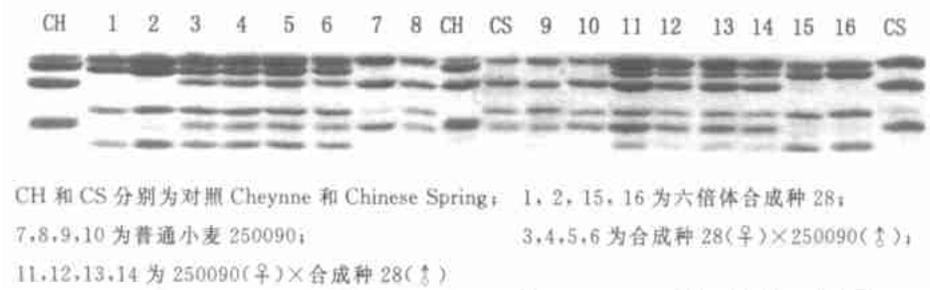
图2 人工合成六倍体小麦与普通小麦杂交 F_1 代及其亲本HMW-GS图谱

表2 人工合成六倍体小麦HMW-GS在不同位点上的变异类型及其频率

染色体 IA			染色体 IB			染色体 ID		
亚基	材料数目	比例/%	亚基	材料数目	比例/%	亚基	材料数目	比例/%
Null	56	96.55	6+ 8	25	43.10	2 1+ 10	10	17.24
1	1	1.72	6+ 9	4	6.90	2 1+ 10 5	2	3.45
2*	1	1.72	7+ 8	20	34.48	1 5+ 10	4	6.90
			7+ 9	2	3.45	1 5+ 12	6	10.34
			13+ 14	2	3.45	2+ 12	9	15.52
			17+ 18	5	8.62	2+ T2	1	1.72
						2+ T1T2	7	12.10
						3+ 10	2	3.45
						3+ 10 5	3	5.17
						3+ T2	6	10.34
						3+ T1T2	3	5.17
						5+ 10	4	6.90
						5+ 12	1	1.72

表3 人工合成六倍体小麦HMW-GS的组成类型及材料数目

HMW-GS 组成类型	材料数目	HMW-GS 组成类型	材料数目	HMW-GS 组成类型	材料数目
1, 7+ 8, 5+ 10	1	Null, 7+ 9, 1 5+ 12	1	Null, 6+ 8, 1 5+ 12	2
2*, 6+ 8, 3+ 10 5	1	Null, 6+ 8, 5+ 10	2	Null, 6+ 8, 1 5+ 10	1
Null, 7+ 8, 2 1+ 10	3	Null, 6+ 8, 3+ T1T2	3	Null, 6+ 8, 5+ 12	1
Null, 7+ 8, 2+ T2	1	Null, 17+ 18, 2+ 12	2	Null, 6+ 8, 3+ 10	1
Null, 7+ 8, 3+ 10	1	Null, 17+ 18, 3+ 10 5	1	Null, 6+ 8, 3+ 10 5	1
Null, 7+ 8, 2+ 12	3	Null, 17+ 18, 2+ T1T2	1	Null, 6+ 9, 2 1+ 10	2
Null, 7+ 8, 3+ T2	5	Null, 6+ 8, 2+ T1T2	5	Null, 6+ 9, 5+ 10	1
Null, 7+ 8, 1 5+ 10	3	Null, 6+ 8, 2+ 12	2	Null, 6+ 9, 2+ 12	1
Null, 7+ 8, 1 5+ 12	2	Null, 6+ 8, 2 1+ 10 5	1	Null, 13+ 14, 2+ 12	1
Null, 7+ 8, 2 1+ 10 5	1	Null, 6+ 8, 2 1+ 10	4	Null, 13+ 14, 2 1+ 10	1
Null, 7+ 9, 2+ T1T2	1	Null, 6+ 8, 3+ T2	1	Null, 17+ 18, 1 5+ 12	1

3 讨论

研究证明, 小麦 1D 染色体控制的亚基对烘烤品质的影响大于 1A, 而 1B 的影响最小^[9], 而我们前文对普通小麦、斯卑尔脱小麦和密穗小麦等具有 AABBDD 染色体组的六倍体小麦 HMW -GS 组成分析发现, 上述 3 个物种在 Glu-D1 位点上的变异类型相当有限, 并且优质亚基的出现频率较低^[10,11]。因此, 研究和利用节节麦中的优质亚基对于小麦品质育种工作尤其重要, 其中最主要的途径之一是利用合成硬粒小麦-节节麦双二倍体的桥梁种法^[8]。本研究发现, 从 CMM YT 引进的 58 份人工合成六倍体小麦中存在比 5+ 10 更优质的亚基, 如 1. 5+ 10 和 5+ 12 亚基。遗传分析结果表明, 人工合成六倍体小麦 HMW -GS 受遗传控制, 能在与普通小麦的杂交后代中稳定表达。另外, 我们的田间杂交实验结果表明, 人工合成六倍体小麦与普通小麦杂交结实正常, 杂交后代育性正常。因此, 我们可以通过连续回交并结合 SDS-PAGE 鉴定, 将人工合成六倍体小麦的优质 HMW -GS 转育到普通小麦中, 突破我国缺乏优质亚基的局限, 进而育成高产优质新品种。

参 考 文 献

- 1 孙辉 小麦谷蛋白亚基与烘烤品质的关系及 Glu-D1 位点基因多态性分析: [学位论文] 北京: 中国农业大学, 1998
- 2 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(HMW -GS, LMW -GS)的关系: [学位论文], 北京: 中国农业大学, 1994
- 3 Payne P I, Law C N, Mudd E E, et al Control by homologous group 1 chromosome of the high molecular weight subunits of glutenin: a major protein of wheat endosperm. *Theor Appl Genet*, 1980, 58: 113 ~ 120
- 4 Nakamura H. Allelic variation at high molecular weight glutenin subunit loci, Glu-A1, Glu-B1 and Glu-D1, in Japanese and Chinese hexaploid wheat *Euphytica*, 2000, 112: 187~ 193
- 5 He Zhonghu, Pena R I, Rajaram S High molecular weight glutenin subunit composition of Chinese bread wheat *Euphytica*, 1992, 64: 11~ 20
- 6 Lagudah E S, Halbran G M. Phylogenetic relationship of *Triticum tauschii*, the D genome donor to hexaploid wheat: I. Variation in HMW subunits of glutenin and gliadins *Theor Appl Genet*, 1988, 75: 592~ 598
- 7 Pena R J, Zarco-Hernandez, Mujeeb-kazi A. Glutenin subunit composition and the breeding making quality characteristics of synthetic hexaploid wheat derived from *Triticum turgidum* × *Triticum tauschii* (cross). *schmal crosses J Cereal Sci*, 1995, 21: 15~ 23
- 8 杨武云, 胡晓蓉, 余毅 从 CMM YT 引进节节麦种质的高分子量谷蛋白亚基组成分析. 第四届全国青年作物遗传育种学术会文集. 重庆: 四川科学技术出版社, 1997
- 9 李保云 小麦高分子量谷蛋白亚基的遗传规律及其与小麦品质性状关系的研究: [学位论文], 北京: 中国农业大学, 1997
- 10 倪中福, 孙其信, 张义荣, 刘广田 斯卑尔脱小麦高分子量谷蛋白亚基组成分析. *农业生物技术学报*, 2001(待发表)
- 11 倪中福, 孙其信, 张义荣, 刘广田 密穗小麦高分子量谷蛋白亚基组成分析. *中国农业大学学报*, 2001, 6 (3): 32~ 37