

# 龙麦 20 小麦品种 17+18 与 7+8 亚基近等基因系间品质差异的初步研究

高丹丹<sup>1</sup>, 张延滨<sup>2</sup>, 赵海滨<sup>2</sup>, 宋庆杰<sup>2</sup>, 张春利<sup>2</sup>, 于海洋<sup>2</sup>, 辛文利<sup>2</sup>, 肖志敏<sup>2</sup>

(1. 哈尔滨师范大学生命与环境科学学院, 哈尔滨 150025; 2. 黑龙江省农业科学院作物育种研究所, 哈尔滨 150086)

**摘要:** 为了解小麦 Glu-B1 位点 HMW-GS 17+18 与 7+8 的遗传差异, 利用生化标记和连续 6 次选择性回交的方法将 17+18 亚基转移到黑龙江省小麦品种龙麦 20 中, 获得了龙麦 20 的 Glu-B1 位点 HMW-GS17+18 与 7+8 的近等基因系(NILs)。2006 年将 NILs 种植在黑龙江省农业科学院育种研究所的试验田, 田间设计采用双列对比排列, 4 次重复。近等基因系品质分析结果表明, 17+18 亚基类型与 7+8 亚基类型相比, 面筋指数、沉降值、形成时间、稳定时间和断裂时间等重要的品质参数均有一定程度的提高。在 5+10 亚基遗传背景下, Glu-B1 位点 17+18 亚基对面筋强度仍有一定影响, 因此在选育强筋小麦时, 17+18 应作为优质亚基予以考虑。

**关键词:** 小麦; 麦谷蛋白; 近等基因系; 品质

中图分类号: S511      文献标识码: A      文章编号: 1002-2767(2008)02-0004-03

## Study on the Quality Difference of NILs with HMW-GS 17+18 and 7+8 in Longmai 20

GAO Dan-dan<sup>1</sup>, ZHANG Yan-bin<sup>2</sup>, ZHAO Hai-bin<sup>2</sup>, SONG Qing-jie<sup>2</sup>,  
ZHANG Chun-li<sup>2</sup>, YU Hai-yang<sup>2</sup>, XIN Wen-li<sup>2</sup>, XIAO Zhi-min<sup>2</sup>

(1. College of Life and Environment Science, Harbin Normal University, Harbin 150025; 2. Crop Breeding Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086)

**Abstract:** In order to determine the genetic differences between high molecular weigh glutenin subunits (HMW-GS) 17+18 and 7+8, HMW-GS 17+18 was introduced into Longmai 20 by 6 consecutive backcrosses with biochemical marker assisted selection. The near isogenic lines (NILs) of HMW-GS 17+18 and 7+8 were obtained and grown in the experimental field of Crop Breeding Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences in 2006. The field experiments were designed using the method of two line-contrast arrangement with four replicates. The result of the NILs showed as below, as compared to NILs with subunit 7+8 the NILs with subunit 17+18 were higher in gluten index, Zeleny sedimentation, development time, stability, breakdown time, respectively. The impact of the HMW-GS 17+18 on gluten strength was positive in NILs containing HMW-GS 5+10 suggesting that HMW-GS 17+18 could be a good subunit for breeding strong gluten wheat.

**Key words:** Wheat, Gluten, Near-Isogenic Lines (NILs), Quality

小麦储藏蛋白占籽粒重量的 8%~20%, 主要由麦谷蛋白和麦醇溶蛋白组成, 前者主要影响面团的强度, 后者主要影响面团的延伸性。根据 SDS-PAGE 的迁移率不同, 麦谷蛋白可以分为高分子量

麦谷蛋白亚基(HMW-GS)和低分子量麦谷蛋白亚基(LMW-GS)。编码高分子量麦谷蛋白亚基的基因位于 1A、1B 和 1D 染色体长臂的近着丝点处, 三个基因位点分别称为 *Glu-A1*、*Glu-B1* 和 *Glu-D1*<sup>[1]</sup>。HMW-GS、LMW-GS、醇溶蛋白和蛋白质含量都影响小麦的加工品质。Payne 等人根据单个亚基或亚基对与 SDS 沉降值的关系提出了 HMW-GS 的品质评分, 称为 *Glu-1* 品质评分<sup>[2]</sup>。对于面包烘烤品质而言, 这一 *Glu-1* 品质评分中最优亚基构成类型应该具有 *Glu-A1* 位点控制的 1 或 2\* 亚基, *Glu-B1* 位点控制的 7+8 或 17+18 亚基, 以及 *Glu-*

收稿日期: 2008-01-04  
基金项目: 黑龙江省科学技术计划项目(GA06B102-48)  
第一作者简介: 高丹丹(1982-), 女, 黑龙江省绥化市人, 硕士, 从事遗传学研究。Tel: 15945074349; E-mail: gaodandan2008@126.com。  
通讯作者: 张延滨(1957-), 男, 硕士, 研究员, 主要从事小麦品质及育种研究。Tel: 0451-86668739; E-mail: ybzhang@mail.hrb.hl.cninfo.net。

D1 位点控制的 5+10 亚基。但 7+8 和 17+18 亚基对烘烤品质的影响哪个更强, 不同的研究者得出的结论不尽相同<sup>[3-6]</sup>。

小麦的加工品质由很多基因控制, 且受环境条件的影响。用一般的分析材料无法消除遗传背景对分析结果的干扰, 要精确分析某一亚基的遗传效应需要生物型(biotype)或近等基因系(NILs)这样的遗传分析材料才能完成<sup>[7-9]</sup>。了解 7+8 与 17+18 亚基间确切的遗传效应将有助于育种者在育种过程中更加有效地利用这些亚基, 为小麦品质育种过程中的亲本选配和决选品系的品质预测等提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料及田间试验设计

本试验所用的龙麦 20 17+18 亚基和 7+8 亚基近等基因系是由 HMW-GS 组成为 1, 7+8, 2+12 的龙麦 20 为受体品种和回交亲本, 以 HMW-GS 组成为 1, 17+18, 5+10 的墨西哥国际玉米小麦改良中心小麦品系 PSN/BOW 为 17+18 和 5+10 亚基的供体, 利用生化标记和连续 6 次选择性回交, 然后自交形成 HMW-GS, 其组成分别为 1, 17+18, 5+10 和 1, 7+8, 5+10 的姊妹系(见图 1)。SDS-PAGE 分析表明, NILs 间除 *Glu-B1* 位点的亚基不同外, 其余谱带均相同。A-PAGE 分析表明, 醇溶蛋白的谱带类型完全相同。春季播种, 种植在黑龙江省农业科学院育种研究所实验地, 田间设计采用双列对比排列, 4 次重复, 共 4 个区组 8 个小区, 每列 4 个小区, 列间距 0.2 m, 每一区组都由一对 7+8 和 17+18 近等基因系的小区组成。相邻小区种植的近等基因系均为不同亚基类型。同一区组内不同列的 2 个相邻小区内种植的近等基因系为一成对数据, 按播种机施肥方向相邻种植, 以尽可能减少亚基间在施肥量上的差异(由播种机同一施肥孔施肥)。每 2 行为一个小区, 行长 3 m, 行间距 0.3 m, 株距 5 cm, 区组间相距 0.4 m。秋季施氮 71.5、磷 60.0、钾 32.6 kg·hm<sup>-2</sup>。

### 1.2 电泳方法

十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分析采用 DYY-IIIB0 型双板夹芯式垂直槽, 按张延滨等的方法<sup>[10]</sup>进行, 分离胶浓度(C)改为 12%, 交联度(T)为 1.4%; 浓缩胶 C=3%, T=2.6%。HMW 麦谷蛋白亚基的编号采用 Payne 和 Lawrence 的命名方法<sup>[2]</sup>。酸性-聚丙烯酰胺凝胶电泳(A-PAGE)分析采用 DYY-IIIB28B 型夹芯式垂直槽, 按张延滨等的方法<sup>[11]</sup>进行, 分离胶和浓缩胶浓度均改为 6%。

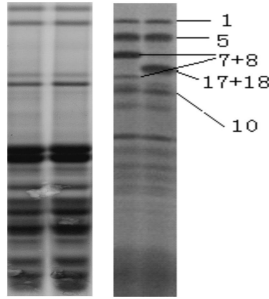


图 1 左图为龙麦 20 7+8 和 17+18 近等基因系醇溶蛋白 A—PAGE 图谱, 右图为近等基因系麦谷蛋白 SDS—PAGE 图谱

### 1.3 品质分析方法

制粉用 BRABENDER 公司的 JUNIOR 通用精密小型实验磨粉机(Quadrumat Junior), 按 AACC 26-20 方法制粉; 面粉蛋白含量用瑞典 Perten 公司的 DA 7200 型连续光谱固定光栅分析仪(DA 7200 Diode Array Analyzer), 湿面筋、干面筋和面筋指数用瑞典 Perten 公司的 Glutomatic 2200 面筋自动分析仪(Gultomatic System), 按 GB/T 14608-93 方法测定, Zeleny 沉降值用德国 BRABENDER 公司摇混器, 按 AACC 56-61 方法测定, 面团流变学参数用德国 BRABENDER 公司的微量粉质仪(Micro-Farinograph)按 GB/T 14614-93 方法测定。

### 1.4 统计分析

利用 Microsoft Excel 软件进行近等基因系间各成对数据 T 检验概率值的计算。

## 2 结果与分析

### 2.1 蛋白质含量、面筋的差异

前人研究表明, HMW-GS 多数亚基近等基因系间的蛋白质含量无显著差异<sup>[12-16]</sup>。但蛋白质含量不仅受品种的遗传基因控制, 受环境条件的影响也较大。本研究在 5+10 龙麦 20 小麦品种遗传背景下, 17+18 亚基 NILs 的面粉蛋白质含量虽然比 7+8 亚基 NILs 仅高 0.6%, 但统计学差异显著, 其原因有待于进一步研究。

干面筋含量是反映小麦品种面筋量的品质指标, 湿面筋是反映面筋质和量的指标, 在干面筋相同的情况下, 面筋较强的品系, 由于面筋向内的收缩力较大, 使面筋的持水能力下降, 湿面筋就变小。在干面筋不一致时用湿面筋与干面筋的比值(湿面筋/干面筋, 即单位干面筋产生的湿面筋)可以比较客观地反映出面筋持水力上的差别, 面筋越强, 比值越小。由表 1 看出, 17+18 亚基 NILs 比 7+8 亚基 NILs 在湿面筋/干面筋上降低 1.2%, 统计学分析差异显著。说明 17+18 亚基对提高面筋强度有一定的作用。从面筋指数这一重要指标上也可以得出一致的结论。

表 1 龙麦 20 近等基因系的品质分析				
项目	17+18 NILs	7+8 NILs	增加/%	P 值
面粉蛋白含量/%	14.3	14.2	0.6	0.047
湿面筋/%	32.5	33.7	-3.7	0.001
干面筋/%	11.3	11.6	-2.6	0.016
湿面筋/干面筋	2.87	2.91	-1.2	0.030
面筋指数/%	99.1	98.5	0.6	0.000
Zeleny 沉降值/mL	48.0	45.7	5.0	0.008
沉降值/干面筋	4.3	3.9	7.8	0.004
吸水率/%	65.6	67.3	-2.4	0.080
形成时间/min	20.5	15.4	33.3	0.107
稳定时间/min	29.1	26.5	9.9	0.084
断裂时间/min	32.4	31.1	4.0	0.361
软化度(FU)	30.0	20.0	50.0	0.353

注: 数据为 4 次重复的平均值, P 值为 17+18 亚基类型近等基因系与其相应的 7+8 亚基类型近等基因系间成对数据 T 检验的概率值。

2.2 沉降值的差异

沉降值是一个评价面筋蛋白数量和质量的指标, 沉降值的大小不仅与面筋蛋白的质量有关, 也与面筋蛋白的数量有关, 而 Zeleny 沉降值/干面筋则是评价面筋质量的指标, 用这一比值可以更加客观的反应出品种或品系间面筋质量上的差异。本研究显示在 5+10 龙麦 20 品种遗传背景下, 17+18 亚基近等基因系与 7+8 亚基近等基因系相比, Zeleny 沉降值提高了 5%(P=0.008), Zeleny 沉降值/干面筋提高了 7.8%(P=0.004)。

2.3 粉质仪参数的变化

粉质仪的各项品质指标是从多个角度评价小麦面团流变学特性的重要数据。由表 1 看出, 含有 17+18 亚基的 NILs 比含有 7+8 亚基的 NILs 吸水率降低 2.4%, 但差异不显著(P=0.080)。与 5+10 亚基和 2+12 亚基间近等基因系间的差异相似<sup>[15]</sup>。在其它粉质指标上, 含有 17+18 亚基的 NILs 与 7+8 亚基的 NILs 相比, 形成时间提高 33.3%, 稳定时间提高 9.9%, 断裂时间提高 40%, 但统计学上差异均不显著。软化度是面团形成时间末端曲线中心和这点后 12 min 曲线中心之间下降的距离。在进行软化度比较时, 其前提条件是比较品种或品系间的形成时间必须相同或相近, 软化度越低表明其面筋耐搅拌的能力越强。本试验中 17+18 亚基类型的形成时间比 7+8 亚基类型长 5.1 min, 因此在软化度上可比性不大。在这种情况下应以断裂时间取代软化度表示粉质曲线衰减的程度。

3 讨论

小麦加工品质改良仍是当前我国小麦育种的主要工作。我国多数小麦品种 *Glu-B1* 位点亚基为 7+9 或 7+8 亚基, 含有 17+18 亚基的小麦品种较少<sup>[17-19]</sup>, 是否需要在小麦育种过程中引入 17+18 亚基对于育种者来说是急需了解的问题。有研究表明, 17+18 亚基对小麦品质的改良作用建立在优质基因背景及较高的蛋白质含量水平的基础上, 随着蛋白含量增加, 17+18 与 7+8 的品质差异随之增大<sup>[9]</sup>。有研究表明, 随着蛋白含量增加, 2+12 与 5+10 的品质差异也随之增大<sup>[20]</sup>。从本试验的初步研究结果来看, 在 5+10 龙麦 20 小麦品种遗传背景下, 当面粉蛋白含量为 14%时, 17+18 亚基与 7+8 亚基相比, 面筋指数、沉降值、形成时间、稳定时间和断裂时间等重要的品质参数均有所提高, 但与 null 与 1 亚基、7 与 7+8 亚基和 2+12 与 5+10 亚基间的遗传差异相比还有一定的差距<sup>[13-15,21-22]</sup>。考虑到黑龙江省含有 17+18 亚基的小麦品系较少, 利用黑龙江省小麦品种(系)中出现频率较高的 7+8 亚基品种, 可使亲本圃中有一个较大的品种资源选择范围, 以及在育种过程中如果对 7+8/17+18 一类杂合亚基进行选择, 不仅需要增加电泳分析工作, 而且要减少 1/2 入选群体的数量。因此在中强筋小麦育种计划过程中, 可根据需要引入 17+18 亚基以期获得更优质的强筋小麦品种。

参考文献:

[ 1 ] Payne P I. Genetics of wheat storage proteins and the effect of allelic variation on bread-making quality[ J ] . Annu. Rev. Plant Physiol. 1987, 38: 141-153.

[ 2 ] Payne P I, 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 Com. 1983, 11: 29-35.

[ 3 ] Payne P I, Nightingale M A, Krattiger A F, et al. The relationship between HMW glutenin subunit composition and the bread-making quality of British-grown wheat varieties[ J ] . J. Sci. Food Agric. 1987, 40: 51-65.

[ 4 ] 宋建民, 吴祥云, 刘建军, 等. 小麦品质的麦谷蛋白亚基评定标准研究[ J ] . 作物学报, 2003, 29(6): 829-834.

[ 5 ] 赵和, 卢少源, 李宗智. 小麦高分子量麦谷蛋白亚基遗传变异及其与品质和其它农艺性状关系的研究[ J ] . 作物学报, 1994, 20(1): 67-75.

[ 6 ] 马传喜, 徐风, 谭蕴之. 在一对面包小麦杂交后代中 *Glu-B1* 控制的麦谷蛋白亚基 17+18 亚基对烘烤品质的影响[ J ] . 作物学报, 1995, 21(1): 90-94.

[ 7 ] Sontag-Strohm T, Payne P I, Salovaara H. Effect of allelic variation of glutenin subunits and gliadins on baking quality in the progeny of two biotypes of bread wheat cv. Ulla[ J ] . Journal of Cereal Science 1996, 24(2): 115-124.

(下转第 10 页)

[ 7 ] 张建铭, 谈锋. 植物体细胞胚的高频率诱导[ J ]. 生物技术通报, 1996(4): 8-11.

[ 8 ] 郑回勇, 郑金贵, 许明, 等. 胡萝卜再生体系及高效遗传转化体系的建立[ J ]. 广西农业科学, 2002(5): 237-241.

[ 9 ] 石琰, 沙广利, 黄粤. 胡萝卜高效再生和遗传转化体系的建立[ J ]. 青岛科技大学学报, 2005, 26(3): 197-204.

[ 10 ] 刘华英, 萧浪涛, 何长征. 植物体细胞胚发生与内源激素的关系研究进展[ J ]. 湖南农业大学学报( 自然科学版 ), 2002, 28(4): 349-354.

[ 11 ] Arnholdt-Schmitt B. Physiological aspects of genome variability in tissue culture. Growth phase-dependent quantitative variability of repetitive BstNI fragments of primary cultures of *Daucus carota* L[ J ]. Theor Appl Genet, 1995, 91(5): 816.

[ 12 ] Kamada H, Harada H. Studies on the organogenesis in carrot-tissue culture. I . Effects of growth regulators on somatic embryogenesis and root formation[ J ]. Z. Pflanzphysiol 1979, 91: 255-266.

[ 13 ] Dusits D, Bogre L, Gyorgye Y. Molecular and cellular approaches to the plant embryo development from somatic cells in vitro[ J ]. J Cell Sci, 1991, 99: 473-482.

[ 14 ] 杨艳梅, 刘玲, 巩振, 等. 胡萝卜高效再生体系的建立[ J ]. 华北农学报, 2004, 19(1): 10-12.

[ 15 ] Michalczuk L, Cooke T J, Conen J D. Auxin levels at different stages of carrot somatic embryogenesis [ J ]. Phytochemistry, 1992, 31: 1097-1103.

[ 16 ] Komamine A, Kawahara M, Matsumoto M, et al. Mechanisms of somatic embryogenesis in cell culture : physiology, biochemistry and molecular analysis [ J ]. In vitro Cell Dev Biol, 1992, 28(1) : 11.

[ 17 ] Kamada H H H. Changes in the endogenous level and effects of ABA during somatic embryogenesis of *Daucus carota* L[ J ]. Plants and Cell Physiol, 1981, 22(8): 142-143.

[ 18 ] 黄绍兴, 王慧中, 黄美娟. 蔗糖浓度对胡萝卜体细胞胚生长与发育的研究[ J ]. 科技通报, 1995, 11(2): 111-113.

[ 19 ] 胡适宜. 被子植物胚胎学[ M ]. 北京: 高等教育出版社, 1982: 237-247.

[ 20 ] Dougall D k, Verma D C. Growth and embryo formation in wild carrot suspension culture with ammonium as a sole nitrogen source[ J ]. In Vitro, 1978, 14: 180-182.

[ 21 ] Motoike S Y, Skirvin R M , Norton M A, et al. Somatic embryogenesis and long term maintenance of embryogenic lines from foxgrape[ J ]. Plant Cell Tiss Org Cult, 2001, 66: 121-131.

[ 22 ] Tremblay L, Tremblay F M. Effect of gelling agents, ammoniumnitrate and light on the development of *Picea mariana* (Mill) B. S. P. (black spruce) and *Picea rubens* Sarg. (red spruce) somatic embryos[ J ]. Plant Sci., 1991, 77: 233-242.

[ 23 ] 崔凯荣, 陈克明, 王晓哲, 等. 植物体细胞胚发生研究的某些现状[ J ]. 植物学通报, 1993, 10(3): 14-20.

[ 24 ] 张姝如, 刘志萍, 韩杰, 等. 用重金属离子诱导胡萝卜体细胞胚发生[ J ]. 内蒙古农业科技, 1999(6): 15-16.

[ 25 ] Bronwyn R, Framo Huixia Shou, et al. Agrobacterium tumefaciens-mediated transformation of maize embryos using a standard binary vector system[ J ]. Plant Physiol, 2002, 129: 13-22.

(上接第 6 页)

[ 8 ] Redaelli R, Pogna N E, Ng P K W. Effects of prolamins encoded by chromosomes 1B and 1D on the rheological properties of dough in near-isogenic lines of bread wheat[ J ]. Cereal Chemistry, 1997, 74(2): 102-107.

[ 9 ] Popineau Y, Cornec M, Lefebvre J, et al. Influence of high Mr glutenin subunits on glutenin polymers and rheological properties of gluteins and gluten subfractions of near-isogenic lines of wheat Sicco[ J ]. Journal of Cereal Science, 1994, 19(3): 231-241.

[ 10 ] 张延滨, 祁适雨, 肖志敏, 等. 适用于我国小麦品质育种的 SDS-PAGE 方法[ J ]. 哈尔滨师范大学自然科学学报, 1997(5): 60-63.

[ 11 ] 张延滨, 祁适雨, 肖志敏, 等. 不连续麦醇溶蛋白酸性聚丙烯酰胺凝胶电泳(APAGE)的研究[ J ]. 哈尔滨师范大学自然科学学报, 1997(6): 70-73.

[ 12 ] Jones S S, Cadle M M. Effect of variation at Glu-D1 on club wheat end-use quality[ J ]. Plant Breeding, 1997, 116(1): 69-72.

[ 13 ] 张延滨, 辛文利, 孙连发, 等. 小麦 2+12 和 5+10 亚基近等基因系间面粉品质差异的研究[ J ]. 作物学报, 2003, 29(1): 93-96.

[ 14 ] Zhang Yan-bin, Sun Lian-fa, Xin Wen-li, et al. Effect of HMW-GS 5+10 on quality parameters in four leading wheat cultivars[ J ]. Agricultural Science in China, 2003, 2(5): 483-488.

[ 15 ] Lü X B, Zhang Y B, Song Q J, et al. Qualitative difference between HMW-GS 5+10 and 2+12 NILs of four spring wheat cultivars with high-quality genetic background[ J ]. Agricultural Science in China, 2004, 3(8): 568-574.

[ 16 ] 张延滨, 辛文利, 孙连发, 等. 17+18 亚基对黑龙江省小麦品种烘烤品质影响的初步研究[ J ]. 麦类作物学报, 2004, 24(1): 40-43.

[ 17 ] 陆艳, 马传喜. 小麦品种麦谷蛋白亚基的遗传变异分析[ J ]. 安徽农业大学学报, 2000, 27(2): 126-130.

[ 18 ] 毛沛, 李宗智, 卢少源. 小麦遗传资源 HMW 麦谷蛋白亚基组成及其与面包烘烤品质关系的研究[ J ]. 中国农业科学, 1995, 28(增刊): 22-27.

[ 19 ] 张延滨. 黑龙江省主要小麦品种及品系的 HMW 麦谷蛋白亚基分析[ J ]. 哈尔滨师范大学自然科学学报, 1999, 15(3): 93-97.

[ 20 ] Kolster P, van Eeuwijk F A, van Gelder W M J. Additive and epistatic effects of allelic variation at the high molecular weight glutenin subunit loci in determining the bread-making quality of breeding lines of wheat[ J ]. Euphytica, 1991, 55: 277-285.

[ 21 ] 张莉丽, 张延滨, 宋庆杰, 等. 龙辐麦 3 号小麦品种 HMW-GS Null 和 1 近等基因系间品质差异的研究[ J ]. 中国农业科学, 2007, 40(9): 1864-1870.

[ 22 ] 张莉丽. 小麦 Glu-A1 位点 HMW-GS Null 与 1 和 2\*, Glu-B1 位点 HMW-GS 7 与 7+8 近等基因系间品质差异的初步研究[ J ]. 黑龙江农业科学, 2006(3): 8-10.