

# 相同 HMW-GS 组成春小麦相关亚基形成和积累规律的研究

杨先卿<sup>1</sup>, 孙 岩<sup>2</sup>, 刘东军<sup>2</sup>, 郭怡璠<sup>2</sup>, 杨淑萍<sup>2</sup>, 张宏纪<sup>2</sup>

(1. 友谊农场, 黑龙江 友谊 155800; 2. 黑龙江省农业科学院 作物育种研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086)

**摘要:** 选用 Glu-D<sub>1</sub> 位点组成相同的春小麦品种, 在相同的 HMW-GS 遗传背景下研究相关亚基形成和积累规律。结果表明: 在籽粒灌浆过程中, HMW-GS 的积累基本以龙麦 26、龙辐麦 12 较高, 龙辐 98N2 和龙-4081 较低。而且前二者的优质亚基 Glu-D<sub>1</sub> 5+10 积累量高, 所占比值也高。而龙辐 98N2 不但积累水平低, 其所占比值也较低。龙-4081 的 Glu-D<sub>1</sub> 5+10 在 HMW-GS 总量中所占比值较高, 但其积累量最低。

**关键词:** 春小麦; 相同 HMW-GS; 积累规律

**中图分类号:** S512

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1002-2767(2010)06-0016-05

小麦的烘烤品质主要取决于麦谷蛋白和麦醇溶蛋白的数量与性能, 麦谷蛋白赋予面团以弹性, 麦醇溶蛋白赋予面团以延展性, 这 2 种物理特性的恰当组合对发酵过程中产生的 CO<sub>2</sub> 圈团形成具有轻微空隙的面包屑状结构至关重要。面包的制作品质差通常与低弹性的谷蛋白有关, 提高谷蛋白的弹性可明显改善小麦的加工品质, 其中高分子量麦谷蛋白亚基(HMW-GS) 在决定谷蛋白弹性方面起着关键作用, 特别是某些 HMW-GS 的存在与缺失对品质的影响尤为明显<sup>[1-2]</sup>。因此, 各国的学者对其进行了大量的研究, 并针对不同品质指标的检测制定了许多评分系统<sup>[1,3-4]</sup>, 以此来预测小麦品质。一般都赋予 Glu-D<sub>1</sub> 5+10 最高的评分, 把它作为小麦优质育种的重要选择标记。因此, 国内外很多著名的优质强筋小麦品种都具有 Glu-D<sub>1</sub> 5+10 组成, 但是, 一些研究又表明<sup>[5-6]</sup>, 在 Glu-D<sub>1</sub> 5+10 亚基存在条件下, 使用这些评分系统来预测小麦品质时并不成功, 而且在实际小麦品种品质改良过程中也发现, 一些小麦育种后代品系的 HMW-GS 评分很高, 但检测时的品质表现并不理想, 即使有些小麦

品种(系)含有这种优质亚基, 且 HMW-GS 组成相同, 其品质指标表现仍有差别<sup>[7]</sup>。因此, 为了探讨在优质亚基 Glu-D<sub>1</sub> 5+10 存在条件下小麦品质差异形成的原因, 选用了 HMW-GS 组成相同的 4 个强筋小麦品种(系), 在相同的 HMW-GS 遗传背景下, 结合不同的施肥水平, 分析了 HMW-GS 的形成和积累特性, 以期对小麦品质差异形成的原因进行阐明, 进而为品质育种和优质栽培提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

试验选取 4 个强筋春小麦品种(系)龙辐麦 12、龙辐 98N2、龙麦 26 和龙-4081 为材料, 其 HMW-GS 组成相同, 都为 Glu-A<sub>1</sub> 2\*、Glu-B<sub>1</sub> 7+9、Glu-D<sub>1</sub> 5+10。

### 1.2 试验设计

试验采取小区种植, 在黑龙江省农业科学院作物育种研究所试验地进行, 随机区组, 设低、中、高 3 个肥力水平, 分别为不施肥(T1)、施肥 300 kg·hm<sup>-2</sup>(T2)、600 kg·hm<sup>-2</sup>(T3), 施肥时保持氮素与磷素比例为 1.1:1.0, 3 次重复, 小区面积为 3.6 m<sup>2</sup>(1.2 m×3.0 m), 种子、肥料分施, 播种时肥料一次全部施入。4 月 6 日播种, 保苗 600 万株·hm<sup>-2</sup>。前茬大豆, 土壤基础肥力为: 有机质 3.06%, 全氮 0.13%, 全磷 0.04%, 缓效钾 938.40 mg·kg<sup>-1</sup>, 碱解氮 161.41 mg·kg<sup>-1</sup>, 速效磷 29.73 mg·kg<sup>-1</sup>, 速效钾 140.60 mg·kg<sup>-1</sup>, pH 6.87。

### 1.3 方法

1.3.1 取样方法 小麦开花后挂牌标记, 之后每

收稿日期: 2010-03-12

基金项目: 国家高技术研究发展计划资助项目(2007AA100102-2); 黑龙江省科技攻关计划资助项目(GA09B101-4-3, GB07B104)

第一作者简介: 杨先卿(1965-), 男, 黑龙江省友谊县人, 推广硕士, 农艺师, 从事作物栽培研究与生产管理工作。E-mail: fumai@163.com。

通讯作者: 张宏纪(1969-), 男, 黑龙江省抚远县人, 博士, 研究员。从事小麦诱变与生物技术育种研究。E-mail: fumai@163.com。

隔 5 d 开始剪穗取样,直至籽粒成熟。样品经 105℃杀青 30 min,65℃烘干至恒重以备亚基积累动态测定。

1.3.2 麦谷蛋白测定 (1)麦谷蛋白提取:参照 Gupta R B 方法略有改动<sup>[8]</sup>,称取 20 mg 籽粒磨碎样品,用 50%的正丙醇转移单体蛋白,重复 2 次,离心 2 min(12 000 r·min<sup>-1</sup>),弃上清液,离心物中加入 0.1 mL 含有 1% DTT 的 50%正丙醇(0.08 mol·L<sup>-1</sup> Tris-HCl、pH 8.0),65℃振荡提取 30 min,离心 2 min 后,取上清液加入 0.1 mL 含有 1.4%的 4-乙烯吡啶的 50%正丙醇(0.08 mol·L<sup>-1</sup> Tris-HCl, pH 8.0)烷基化 15 min,离心 2 min(12 000 r·min<sup>-1</sup>),取上清液加入 0.1 mL 的样品缓冲液(2% SDS、40%甘油、0.02%溴酚兰、0.08 mol·L<sup>-1</sup> Tris-HCl、pH 8.0)孵育 15 min,取上清液 10~20 μL 点样电泳分析。以标准分子量蛋白为对照(购自哈尔滨天像人生物公司);(2)麦谷蛋白分离:参照 NG. P K 方法略有改动,进行 SDS-PAGE 不连续系统分离小麦 HMW-GS<sup>[9]</sup>。分离胶缓冲液为 0.375 mol·L<sup>-1</sup> Tris-HCl, pH 8.5, SDS 0.1%,浓缩胶缓冲液为 0.125 mol·L<sup>-1</sup> Tris-HCl, pH 6.8, SDS 0.1%。电极缓冲液为 0.025 mol·L<sup>-1</sup> Tris-HCl, 0.192 mol·L<sup>-1</sup> 甘氨酸, SDS 0.1%, pH 8.3。分离胶浓度 10%,交联度 2.6%。采用 BIO-RAD PAC 3000 电泳仪和北京六一厂的 DYY-30 型垂直电泳槽进行电泳。电泳后,分离胶用 0.1%(W/V)的考马斯亮蓝 G250 染色液室温染色 1 h,再用 20%甲醇-冰乙酸脱色 4 h,采用 BIO-RAD 凝胶成像和分析系统进行凝胶定量分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同品种(系)高分子量麦谷蛋白亚基的形成与累积动态比较

不同施肥条件下,4 个品种(系)籽粒灌浆过程中 HMW-GS 积累动态结果见图 1~图 6,4 个品种(系)开花后 5 d 都未形成 HMW-GS,在花后大约 10 d 开始有 HMW-GS 积累。供试品种(系)不同, HMW-GS 积累情况也不同。与其它 3 个品种(系)相比,龙辐麦 12 在花后大约 10 d 开始积累全部 HMW-GS,而其它供试品种(系)仅开始积累部分 HMW-GS。龙辐麦 12 在花后 HMW-GS 积累早,可能与其早熟性有关。

从整个籽粒灌浆过程 HMW-GS 的积累动态看, HMW-GS 一旦形成,其含量即开始稳步递增,并于成熟时达最大值。但是,亚基不同,其积累量也明显有差异。无论是哪个供试品种(系),其表现基本一致。一般以 Glu-B<sub>1</sub> 编码亚基的含量所占比例最大, Glu-D<sub>1</sub> 编码亚基所占比例次之,而 Glu-A<sub>1</sub> 编码的比例最低(见表 1)。前两者所占比例较大的原因可能与其亚基基因的成对表达积累有关,但就单个 HMW-GS 的积累而言, Glu-A<sub>1</sub>2\* 的积累量并非最低。从 4 个供试品种(系)的 5 个 HMW-GS 看,一般都以 Glu-B<sub>1</sub> 7 的积累量表现最高。

从图中也可看出,不同施肥水平对供试品种(系)籽粒灌浆过程 HMW-GS 的积累量有影响。开花 15 d 以后,在同一个品种上,随肥量增加,5 个 HMW-GS 的积累量呈增加趋势。在同一施肥水平上,比较单个及总 HMW-GS 的积累量动态可知(见图 1~图 6),龙麦 26,龙辐麦 12 籽粒灌浆过程中 HMW-GS 的总积累量较高,而龙辐 98N2 和龙-4081 稍低。这表明,虽然 4 个材料的 Glu-1 位点亚基组成相同,但是,在籽粒灌浆过程中, HMW-GS 积累并不相同。龙麦 26 籽粒灌浆前期的亚基积累稍低,但是,其 Glu-1Ax2\*、Glu-1Dx5、Glu-1Bx7、Glu-1By9、Glu-1Dy10 的最终积累量都较高;龙辐麦 12 在籽粒灌浆过程中,其 5 个亚基形成最早,并以较高的含量稳步积累,但其最终积累量却表现次之;龙辐 98N2 在籽粒灌浆过程中,除 Glu-1Dx5 的积累稍有特殊外,其余亚基的积累量都低于龙辐麦 12;对于龙-4081 而言,其 5 个 HMW-GS 的积累量都明显低于前三者,但与其它几个材料的总 HMW-GS 的积累量变化动态相一致。

### 2.2 成熟时不同 Glu-1 位点亚基积累量占 HMW-GS 总量比值的比较

考察成熟时不同施肥条件下不同 Glu-1 位点亚基的积累量占其总 HMW 麦谷蛋白的比例(见表 1)可以发现,品种不同其比例亦不相同,特别是在优质亚基 Glu-D<sub>1</sub>5+10 的积累量占其总 HMW 麦谷蛋白的比例上,龙-4081 最高,平均可达 42.08%,依次是龙麦 26,为 39.9%,龙辐麦 12,为 38.12%,龙辐 98N2,为 35.06%。这表明, Glu-1 位点上各 HMW-GS 在绝对含量较低时,其相对含量并不一定最低。

—◆— 龙辐98N2    —■— 龙辐麦12    —▲— 龙麦26    —×— 龙-4081

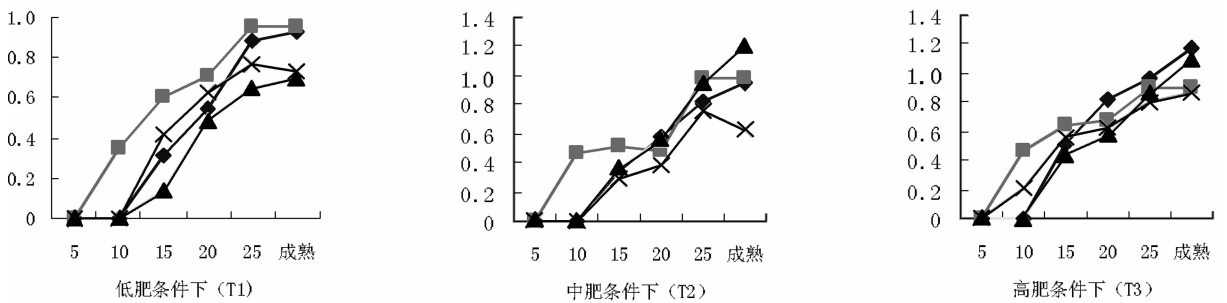


图 1 不同施肥条件下 Glu-1Ax2\* 的积累动态比较(纵轴:积累量/ $\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ ;横轴:天数/d)

—◆— 龙辐98N2    —■— 龙辐麦12    —▲— 龙麦26    —×— 龙-4081

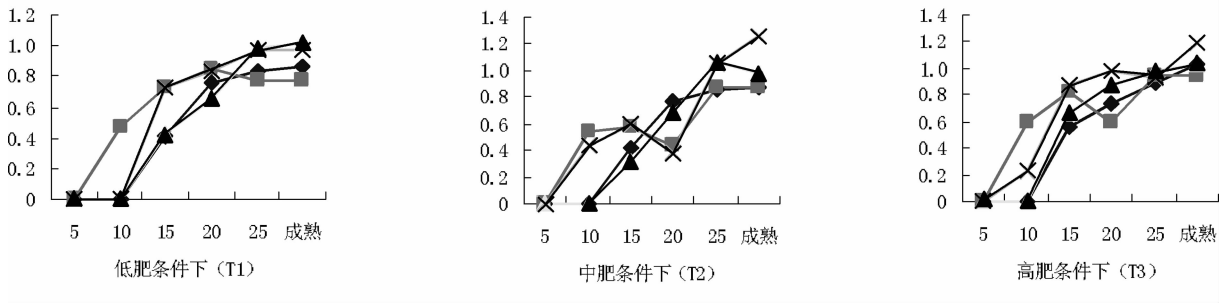


图 2 不同施肥条件下 Glu-1Dx5 的积累动态比较(纵轴:积累量/ $\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ ;横轴:天数/d)

—◆— 龙辐98N2    —■— 龙辐麦12    —▲— 龙麦26    —×— 龙-4081

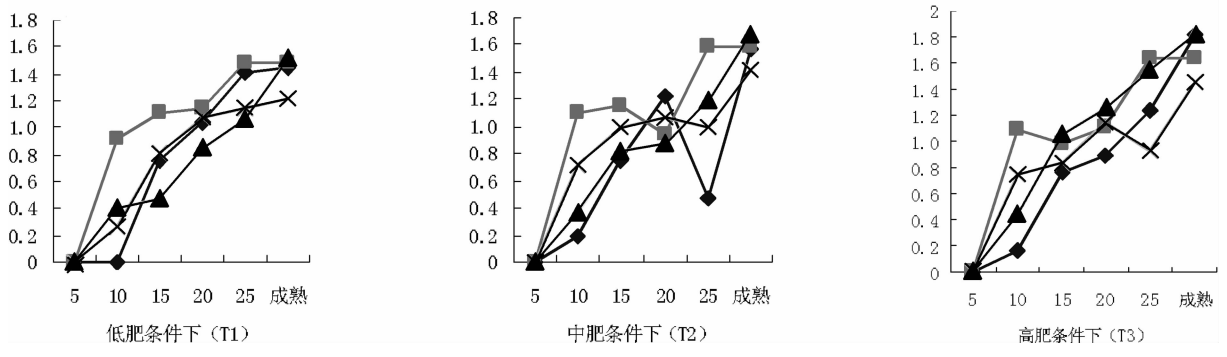


图 3 不同施肥条件下 Glu-1Bx7 的积累动态比较(纵轴:积累量/ $\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ ;横轴:天数/d)

—◆— 龙辐98N2    —■— 龙辐麦12    —▲— 龙麦26    —×— 龙-4081

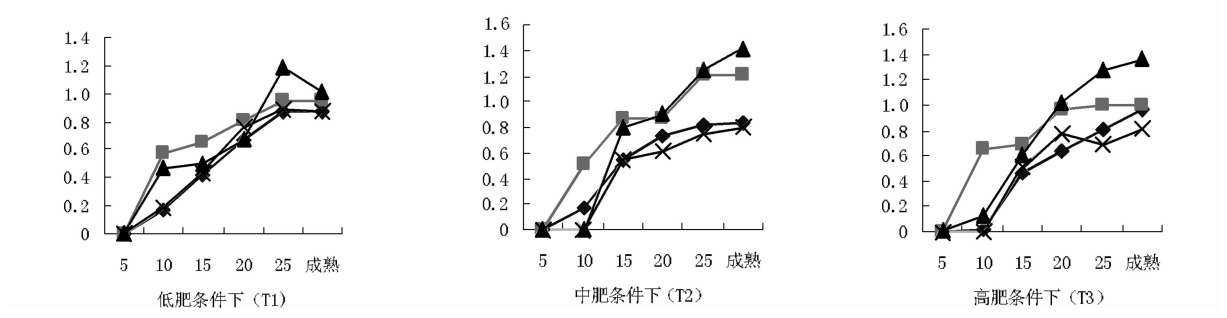


图 4 不同施肥条件下 Glu-1By9 的积累动态比较(纵轴:积累量/ $\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ ;横轴:天数/d)

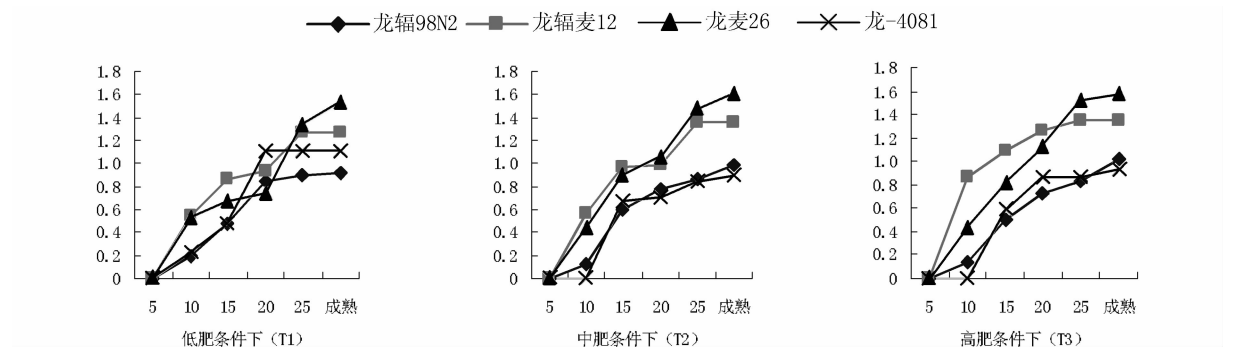


图 5 不同施肥条件下 Glu-1Dy10 的积累动态比较(纵轴:积累量/ $\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ ;横轴:天数/d)

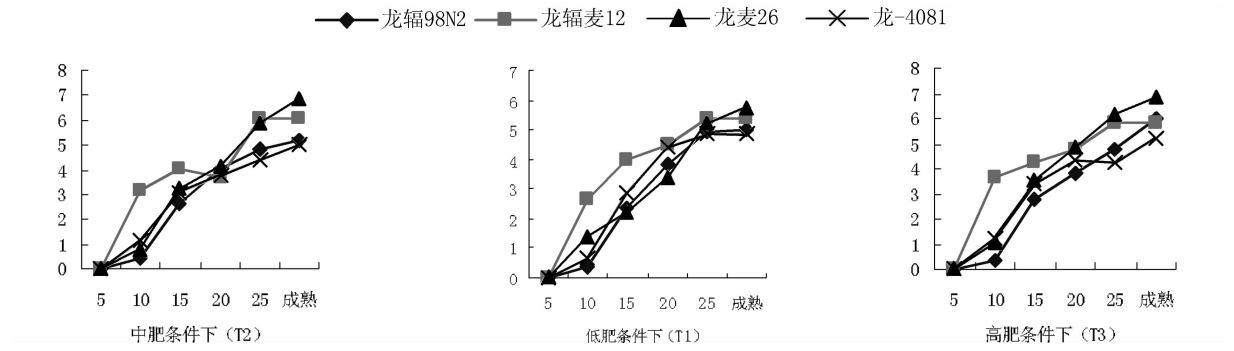


图 6 不同施肥条件下 HMW-GS 的积累总量比较(纵轴:积累量/ $\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ ;横轴:天数/d)

表 1 不同品种(系)成熟时不同 Glu-1 位点亚基积累量占 HMW-GS 总量比值的比较

处理	龙辐 98N2			龙辐麦 12		
	2*	7+9	5+10	2*	7+9	5+10
T1	0.1846±0.0120	0.4609±0.0060	0.3545±0.0030	0.1759±0.0060	0.4478±0.0150	0.3763±0.0210
T2	0.1836±0.0060	0.4616±0.0230	0.3549±0.0110	0.1632±0.0110	0.4637±0.0190	0.3731±0.0080
T3	0.1947±0.0070	0.4630±0.0140	0.3423±0.0080	0.1538±0.0090	0.4520±0.0050	0.3942±0.0130
处理	龙麦 26			龙-4081		
	2*	7+9	5+10	2*	7+9	5+10
T1	0.1202±0.0350	0.4377±0.0080	0.4421±0.0110	0.1496±0.0380	0.4242±0.0080	0.4262±0.0210
T2	0.1761±0.0060	0.4486±0.0240	0.3756±0.0260	0.1264±0.0130	0.4424±0.0150	0.4312±0.0180
T3	0.1597±0.0170	0.4606±0.0231	0.3797±0.0230	0.1654±0.0240	0.4297±0.0060	0.4049±0.0260

3 结论与讨论

小麦的高分子量麦谷蛋白亚基( HMW-GS)对面包的烘培品质的提高起着关键作用,特别是 Glu-D<sub>1</sub>5+10 亚基的存在与否<sup>[1]</sup>。因此,近年来通过定向回交转育、转基因等方法改良小麦品种所选中的 HMW-GS 目标主要是 Glu-D<sub>1</sub>5+10,而且,也取得了良好的育种效果<sup>[10-11]</sup>。但是通过一些文献报道和在实际小麦品种品质改良过程中发现,一些小麦品种或育种后代品系的 HMW-GS 评分很高,但检测时的品质表现并不理想,其品质指标表现仍有较大差别<sup>[5]</sup>。该研究组曾通过不同肥力水平下对 4 个强筋小麦进行了品质测定和农

艺性状分析发现,虽然供试材料有相同的 HMW-GS 组成,且都含有优质亚基 Glu-D<sub>1</sub>5+10,就蛋白质和湿面筋含量(反映蛋白质数量)而言,其含量高低顺序是龙辐麦 12>龙麦 26>龙-4081>龙辐 98N2;而沉降值(反映蛋白质的数量与质量)的顺序为龙-4081>龙麦 26>龙辐麦 12>龙辐 98N2<sup>[7]</sup>。

为考察在优质亚基 Glu-D<sub>1</sub>5+10 背景下小麦品质差异形成原因,在上述研究基础上对 HMW-GS 积累动态进行了检测,结果表明(见图 1~图 6),在籽粒灌浆过程中, HMW-GS 的积累一般都以龙麦 26、龙辐麦 12 较高,而龙辐 98N2 和龙-



4081 较低。前 2 个供试品种(系)优质亚基 Glu-1D<sub>1</sub> 5+10 的累积量高,其所占比例也较高,而龙辐 98N2 不但其积累水平低,其所占的比例也较低。虽然龙-4081 的 Glu-D<sub>1</sub> 5+10 所占比例最高,但其最终积累量却较低。这可能是其品质差异的原因之一。Mimouni B<sup>[12]</sup>, Wim S<sup>[13]</sup> 等一致认为,麦谷蛋白亚基中 HMW-G 在面筋中的作用占主导地位,其组成与含量对小麦品质具有突出作用,不同品种小麦品质变异的 30%~60% 可由 HMW-G 的差异来解释。因此,在试验中 HMW-G 含量,特别是优质亚基 Glu-D<sub>1</sub> 5+10 的含量及其所占比例的不同,可以说明 4 个品种(系)品质差异的部分原因。而且在分析麦谷蛋白 HMW-G 平均含量与 LMW-GS 平均含量的比值时发现(测定结果另文报道),4 个品种的顺序为:龙辐麦 12(0.94)>龙麦 26(0.85)>龙辐 98N2(0.59)>龙-4081(0.51)。因此推测,LMW-GS 含量较高, HMW-GS/LMW-GS 值较低可能是龙-4081 具有较高沉降值,而实际品质不突出的原因之一。

#### 参考文献:

- [1] Payne P I, Corfield K G, Holt L M, 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.
- [2] Shewry P R, Napier J A, Tatham A S. Seed storage proteins: structures and biosynthesis [J]. The Plant Cell, 1995, 7:945-956.
- [3] 赵友梅,王淑俭. 高分子量麦谷蛋白亚基的 SDS-PAGE 图谱在小麦品质研究中的作用[J]. 作物学报, 1999, 16(3): 208-217.
- [4] 毛沛,李宗智,卢少源. 小麦高分子量麦谷蛋白亚基对烘烤品质的效应分析[J]. 华北农学报, 1995, 10(增刊):55-59.
- [5] Johansson E, Svensson G, Tsegaye S. Genotype and environment effects on bread making quality of Swedish-grown wheat cultivars containing high-molecular weight glutenin subunits 2+12 or 5+10[J]. Journal of Soil and Plant Science, 1999, 49(4):225-233.
- [6] 陆燕,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.
- [7] 张宏纪. 相同 HMW-GS 组分春小麦产量与品质特性的研究[J]. 黑龙江农业科学, 2008(1):27-30.
- [8] Gupta R B, Shepherd K W. Two-step one-dimensional SDS-PAGE analysis of LMW subunits of glutenin[J]. Theor. Appl. Gent, 1990, 80:65-74.
- [9] NG P K, Bushuk W. Glutenin of marquis wheat as a reference for estimating molecular weights of glutenin subunits by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis[J]. Cereal chemistry, 1987, 64(4):324-327.
- [10] 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.
- [11] 张晓东,梁荣奇,陈绪清,等. 优质 HMW 谷蛋白亚基转基因小麦的获得及其遗传稳定性和品质性状分析[J]. 科学通报, 2003, 48(5):474-479.
- [12] Mimouni B, Azanza J L, Raymond J, et al. Wheat flour proteins: Isolation and functionality of gliadin and HMW-glutenin enriched fractions[J]. Sci. Food Agric., 1998, 78: 423-428.
- [13] Veraverbeke W S, Verbruggen I M, Delcour J A. Effects of Increased High Molecular Weight Glutenin Subunits Content of Flour on Dough Mixing Behavior and Bread-making [J]. J. Agric. Food Chem., 1998, 46(12): 4830-4835.

## Study on the Formation and Accumulation of HMW-GS in Spring Wheat with the Same HMW-GS

YANG Xian-qing<sup>1</sup>, SUN Yan<sup>2</sup>, LIU Dong-jun<sup>2</sup>, GUO Yi-fan<sup>2</sup>, YANG Shu-ping<sup>2</sup>, ZHANG Hong-ji<sup>2</sup>

(1. Youyi farm, Youyi, Heilongjiang 155800; 2. Crop Breeding Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086)

**Abstract:** Some wheat varieties with the same HMW-GS background were employed to investigate its accumulation in the process of grain filling. The results indicated that the Longmai 26 and Longfumai 12 showed higher accumulation of HMW-GS compared with Long-4081 and Longfu 98N2. The accumulative quantity and proportion of Glu-D<sub>1</sub> 5+10 in Longmai 26 and Longfumai 12 were higher than those of Longfu 98N2. The Glu-D<sub>1</sub> 5+10 accumulation quantity in Long-4081 was the lowest among the four varieties although its 5+10 proportion was the highest that may be one of the reason caused quality difference.

**Key words:** spring wheat; same HMW-GS; accumulation