

# 龙麦 19 Glu-D1 位点近等基因系 5+10 供体 品种醇溶蛋白块鉴定

姜焕焕<sup>1,2</sup>, 张延滨<sup>1,2</sup>, 李集临<sup>1</sup>, 任梓源<sup>1,2</sup>, 丁琦<sup>1,2</sup>, 赵海滨<sup>2</sup>, 宋庆杰<sup>2</sup>

(1. 哈尔滨师范大学 生命科学与技术学院, 黑龙江 哈尔滨 150025; 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:**利用酸性聚丙烯酰胺凝胶电泳(A-PAGE),按国际通用醇溶蛋白块的命名方法分析了 5+10 亚基龙麦 19 小麦品种中来源于 5+10 亚基供体 Marquis 的 3 条醇溶蛋白谱带。结果表明:这 3 条醇溶蛋白谱带是由 *Gli-1* 位点 *Gli-A1m* 基因编码的醇溶蛋白块。

**关键词:**小麦;品质;A-PAGE;醇溶蛋白块;*Gli-A1m*

**中图分类号:**S512.1

**文献标识码:**A

**文章编号:**1002-2767(2011)05-0001-03

小麦的加工品质主要是由小麦胚乳贮藏蛋白决定,小麦胚乳贮藏蛋白主要由麦谷蛋白和醇溶蛋白组成,大量的研究表明其对小麦烘烤品质具有重要作用<sup>[1-4]</sup>。小麦醇溶蛋白约占小麦面粉的 4%~5%,醇溶蛋白经单向酸性聚丙烯酰胺凝胶电泳(A-PAGE)后,按迁移率不同可分为  $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$  和  $\omega$  四种,一个品种可分离出 15~30 个组分,而在双向电泳下可分离出多达 50 个左右的组分<sup>[2-4]</sup>。近年来的研究表明醇溶蛋白多数组分受 1 对等位基因控制,少数由 2 对等位基因支配。一些醇溶蛋白组分(可多达 9 个)表现共同遗传的特点,杂交世代的分离像一个孟德尔性状,由共显性等位基因控制,称为醇溶蛋白遗传块(gliadin block)<sup>[5-7]</sup>。

龙麦 19(L-19)是黑龙江省农业科学院作物育种研究所于 1994 年审定推广的黑龙江省小麦品种,高分子量麦谷蛋白亚基(HMW-GS)组成为 2\*, 7+9, 2+12。2000 年利用生化标记和 6 次连续的选择性回交方法将加拿大小麦品种 Marquis 的 5+10 亚基转入到 L-19,得到 2 个品系 L-19-D613 和 L-19-D626, HMW-GS 亚基组成均为 2\*, 7+9, 5+10。吕晓波<sup>[8]</sup>研究发现,亲本 L-19 与 L-19-D613 的醇溶蛋白谱带相同,而 L-19-

D626 带型发生变化,新增 3 条来自 5+10 亚基供体 Marquis 醇溶蛋白谱带,认为 L-19-D613 和 L-19-D626 是一对醇溶蛋白近等基因系,同时发现这 3 条 Marquis 的醇溶蛋白谱带对多项小麦品质指标有显著的负向影响。任梓源等<sup>[9]</sup>在后来的研究中进一步证实该醇溶蛋白块对小麦多项加工品质具有负向的遗传学效应。但没能确定编码该醇溶蛋白块的基因,在很大程度上限制了该研究结果在小麦育种中的推广应用。

因此,按国际通用醇溶蛋白块的 A-PAGE 命名方法<sup>[10]</sup>,确定 L-19-D626 的醇溶蛋白块的命名,将更加有利于小麦醇溶蛋白生化标记在小麦品质育种中的应用。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试材料为龙麦 19(L-19)小麦品种及龙麦 19 回交 6 代的 5+10 亚基品系 L-19-D613(2\*, 7+9, 5+10)和 L-19-D626(2\*, 7+9, 5+10),及 L-19 和 L-19-D626 杂交 1 代( $F_1$ )籽粒( $F_2$ )。电泳对照品种为 Marquis。

### 1.2 电泳分析方法

电泳仪为北京六一仪器厂 DYY-III 6C 型电泳仪;电泳槽为北京六一仪器厂 DYCZ-28B 型单板夹芯式垂直槽。醇溶蛋白的 A-PAGE 方法采用张延滨等<sup>[11]</sup>的方法进行,分离胶和浓缩胶的浓度(T)均改为 6%。

### 1.3 醇溶蛋白块(Block)鉴定方法

醇溶蛋白块的确定是通过 L-19 和 L-19-D626 杂交 1 代( $F_1$ )籽粒( $F_2$ )的 A-PAGE 图谱中

收稿日期:2011-03-25

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30871525);黑龙江省科学技术计划资助项目(GA09B101-4-10)

第一作者简介:姜焕焕(1984-),女,山东省齐河县人,在读硕士,从事小麦品质及遗传研究。

通讯作者:张延滨(1957-),男,江苏省仪征市人,硕士,研究员,从事小麦品质遗传及育种研究。E-mail: yanbin\_zhang@163.com。

来源于 Marquis 的 3 条醇溶蛋白谱带是否分离及分离比来确定。

醇溶蛋白块命名按照 Metakovsky<sup>[10]</sup> 醇溶蛋白块命名方法。已知蛋白块组成的品种 Marquis 作为对照品种确定 L-19 小麦品种的醇溶蛋白块。

## 2 结果与分析

### 2.1 醇溶蛋白块的确定

醇溶蛋白组分如果表现共同遗传的特点, 杂交世代的分离像一个孟德尔性状, 就表明这些蛋白组分是属于一个醇溶蛋白块。162 个 L-19 和 L-19-D626 杂交 1 代 ( $F_1$ ) 籽粒 ( $F_2$ ) 的 A-PAGE 图谱分析发现, 在所有籽粒中, 来源于 Marquis 的 3 条醇溶蛋白谱带都表现共同遗传的特点, 杂交世代的分离像一个孟德尔性状。其中 115 个籽粒具有 Marquis 的 3 条醇溶蛋白谱带, 卡方检验  $P > 0.2$ , 符合一对基因 3:1 的分离比。因此这 3 条来源于 Marquis 的醇溶蛋白谱带属于一个蛋白块。

### 2.2 醇溶蛋白块命名

L-19, Marquis, L-19-D613, L-19-D626 小麦品种(系)醇溶蛋白 A-PAGE 图谱见图 1。L-19-D613 与其亲本 L-19 带型一致, 而 L-19-D626 则比其姊妹系 L-19-D613 多出 3 条迁移率与其 5+10 亚基供体 Marquis 相同的谱带(见图 1), 分别是  $\omega$  区的 2 条(谱带从上到下的第 3 和 4 条)和  $\gamma$  区的 1 条染色很深的谱带。因此可以确定这 3 条谱带来自其 5+10 亚基的供体亲本 Marquis。通过与 Sapirstein and Bushuk<sup>[12]</sup> 的电泳系统相比较, 认为这 3 条谱带的迁移率可能是 Sapirstein and Bushuk 电泳系统中 Marquis 的 Rm 20, Rm 22.8 和 Rm 50 谱带。按照 Metakovsky<sup>[10]</sup> 醇溶蛋白块命名方法, 根据这 3 条谱带的位置, 认为该醇溶蛋白块应该是由 *Gli-1* 位点的 *Gli-A1m* 基因编码的醇溶蛋白块。

L-19-D613 因为不具有 *Gli-A1m* 基因编码的醇溶蛋白块, 因此应该拥有一个 *Gli-A1m* 的等位基因。从图 1 的电泳谱带上来看, L-19-D626 与其姊妹系 L-19-D613 相比, 虽然具有 L-19-D613 所没有的 5+10 亚基供体亲本 Marquis 的 *Gli-A1m* 基因编码的醇溶蛋白块, 但从图 1 可看出它缺失了 Rm 50 上部(迁移率较慢)的一条谱带(见图 1d), Rm 50 下部(迁移率较快)的一条谱带(见图 1e), 这 2 条染色较浅的谱带应该是 L-19-D613

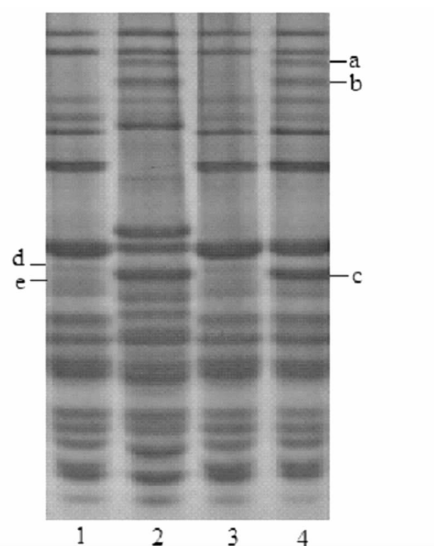


图 1 L-19-D613 和 L-19-D626 NILs A-PAGE 图谱  
1、2、3、4 分别为 L-19、Marquis、L-19-D613、L-19-D626; a、b、c 为 *Gli-A1m* 基因编码的醇溶蛋白块; d、e 为 L-19-D613 的 *Gli-A1* 位点等位基因编码的醇溶蛋白块。

的 *Gli-A1* 位点等位基因编码的蛋白块。由于在 Metakovsky<sup>[10]</sup> 醇溶蛋白块命名中并没有与之相对应的蛋白块, 因此目前还无法确定这一蛋白块的编码基因。

## 3 结论与讨论

由于麦醇溶蛋白在组成上和遗传上具有高度的异质性和稳定性(即某一谱带的出现与否不受环境条件影响), 因此小麦的醇溶蛋白被广泛用于小麦的品种鉴定和遗传分析及遗传效应的研究<sup>[3,13-15]</sup>。但由于影响醇溶蛋白电泳迁移率的因素非常复杂, 甚至同一谱带的迁移率用同一方法在同一实验室中也很难取得一致的重复性, 为此不同的研究者采用了很多方法。Bushuk 和 Zillman 在 1978 年<sup>[16]</sup> 选用单条 Marquis 的 Rm 50 带为标准参照谱带来修正其它谱带的迁移率不够理想, Sapirstein 和 Bushuk 在 1985 年<sup>[12]</sup> 选用 Marquis 的 Rm 24, Rm 50, Rm 79 三条参照谱带并结合计算机数据化处理系统来提高 Rm 测定的准确性。但由于不同的方法在设备和药品购买, 试验成本、实验室条件要求、不同区段谱带的分辨率及重复性等方面存在的问题, 以谱带迁移率来分析醇溶蛋白种类的电泳方法至今也未能统一<sup>[12,17-20]</sup>, 这在很大程度上限制了醇溶蛋白研究的发展和利用。Sozinov 等<sup>[5-6]</sup> 最早发现了电泳图

谱上总是一起遗传的醇溶蛋白群,后来将其命名为蛋白块。Metakovsky<sup>[10]</sup>采用醇溶蛋白块命名法,鉴定了 111 醇溶蛋白等位基因,并作了统一命名。Metakovsky 等<sup>[21]</sup>在原基础上,从法国小麦中鉴定出 6 个新的等位基因,Metakovsky 等<sup>[22]</sup>2000 年在西班牙小麦中鉴定了 13 个新的等位基因。由于可以利用标准品种的多条连锁醇溶蛋白谱带(蛋白块)作参考,小麦醇溶蛋白谱带鉴定的准确性及实用性都得到了很大提高,逐渐成为国内外醇溶蛋白命名及鉴定的主流方法。该研究利用此方法鉴定了 L-19-D626 中来自其 5+10 亚基供体 Marquis 的 *Gli-A1m* 基因编码的醇溶蛋白块。

*Gli-A1m* 基因的分布具有明显的地域性。在我国 *Gli-A1m* 基因出现的频率较低,只有 5.40%~9.23%<sup>[23-25]</sup>,但 73% 的加拿大小麦中含有 *Gli-A1m* 基因<sup>[26]</sup>。通过对小麦品种 L-19 醇溶蛋白近等基因系 L-19-D613 和 L-19-D626 的研究表明,*Gli-A1m* 蛋白块和小麦烘烤品质的下降显著相关<sup>[8-9]</sup>,可以作为生化标记用于小麦品质育种工作。

#### 参考文献:

- [1] 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(1): 51-65.
- [2] Payne P I. Genetics of wheat storage proteins and the effect of allelic variation on bread-making quality[J]. Ann. Rev. Plant Physiol., 1987, 38: 141-153.
- [3] 晏月明, 刘广田, Prodanovic S, 等. 小麦醇溶蛋白的遗传与品质改良[J]. 麦类作物, 1998, 18(1): 1-4.
- [4] Gianibelli M C, Larroque O R, MacRitchie F, et al. Biochemical, genetic, and molecular characterization of wheat endosperm proteins[J/OL]. American Association of Cereal Chemists. Publication no. C-2001-0926-010. <http://www.aacnet.org/cerealchemistry/freetarticle/gianibelli.pdf>.
- [5] Sozinov A A, Poperelya F A, Parfentiev M G. Inheritance of some fractions of alcohol-soluble protein in wheat crosses[J]. Nauchno-Tekhnich. Bulletin VSGI, 1970, 13: 4-38.
- [6] Sozinov A A, Poperelya F A, Staskanova A I. Hybridological analysis as a method for investigation of genetic regularities in gliadin biosynthesis[J]. Nauchno-Tekhnich. Bulletin VS-GI, 1975, 24: 10-14.
- [7] Metakovsky E V, Novoselskaya A Yu, Kopus M M, et al. Blocks of gliadin components in winter wheat detected by one-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis[J]. Theor. Appl. Genet., 1984, 67: 559-568.
- [8] 吕晓波. 小麦近等基因系 HMW-GS 2+12 和 5+10 对蛋白组分和品质的效应[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2004.
- [9] 任梓源. 生产密度下 5+10 亚基在小麦品种中的遗传效应及 Mx 醇溶蛋白块对小麦品质的影响[D]. 哈尔滨: 哈尔滨师范大学, 2009.
- [10] Metakovsky E V. Gliadin allele identification in common wheat II. Catalogue of gliadin alleles in common wheat[J]. J. Genet. and Breed., 1991, 45: 325-344.
- [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(A-PAGE)的研究[J]. 哈尔滨师范大学自然科学学报, 1997, 13(6): 70-73.
- [12] Sapirstein H D, Bushuk W. Computer-aided analysis of gliadin electrophoregrams improvement of precision of relative mobility determination by using a three-reference band standardization[J]. Cereal Chem., 1985, 62: 372-377.
- [13] 颜启传, 黄亚军, 徐媛. 我国适用的小麦和大麦种子醇溶蛋白聚丙烯酰胺凝胶电泳鉴定品种的标准方法[J]. 种子, 1989(6): 55-57.
- [14] 焦明大, 韩方普, 何孟元, 等. 八倍体小冰麦及其亲本种子醇溶蛋白和高分子量麦谷蛋白亚基的研究[J]. 植物学报, 1999, 41(4): 405-408.
- [15] 白云凤, 侯秀英, 孙善澄, 等. 黑粒小麦醇溶蛋白指纹图谱及其遗传分析[J]. 麦类作物学报, 2002, 22(2): 22-25.
- [16] Bushuk W, Zillman R R. Wheat cultivar identification by gliadin electrophoregrams. I. Apparatus, method and nomenclature[J]. Can. J. Plant Sci., 1978, 58: 505-515.
- [17] 傅宾孝, 于光华, 王乐凯. 小麦醇溶蛋白电泳分析的新方法[J]. 作物学报, 1993, 19(2): 185-187.
- [18] 阎旭东, 卢少源, 李宗智. 适用于我国小麦醇溶蛋白分析的 APACE 方法[J]. 河北农业大学学报, 1994, 17(1): 7-10.
- [19] 孙新立, 张来群, 孙海虹, 等. 小麦醇溶蛋白酸性电泳条件的探索[J]. 作物学报, 1999, 25(1): 126-129.
- [20] 马守才, 张改生, 刘宏伟, 等. 多种小麦蛋白质酸性聚丙烯酰胺凝胶电泳方法研究[J]. 麦类作物学报, 2000, 20(4): 55-58.
- [21] Metakovsky E V, Branlard G. Genetic diversity of French common wheat germplasm based on gliadin alleles[J]. Theor. Appl. Genet., 1998, 96: 209-218.
- [22] Metakovsky E V, Gómez M, Vázquez J F, et al. High genetic diversity of Spanish common wheats as judged from gliadin alleles[J]. Plant Breeding, 2000, 119: 37-42.
- [23] 晏月明, 茹岩岩, 余建中, 等. 中国小麦品种醇溶蛋白 *Gli-1* 和 *Gli-2* 编码位点等位基因组成分析[J]. 农业生物技术学报, 2000, 8(1): 23-27.
- [24] 代寿芬, 郑有良, 颜泽洪. 西藏小麦醇溶蛋白 *Gli-1* 和 *Gli-2* 位点等位基因组成分析[J]. 四川农业大学学报, 2004, 22(2): 107-111.
- [25] 高艾英, 吴长艾, 朱树生, 等. 山东省普通小麦醇溶蛋白 *Gli-1* 和 *Gli-2* 位点等位基因的遗传变异[J]. 作物学报, 2005, 31(11): 1461-1465.
- [26] Metakovsky E V, Ng P K W, Chernakov V M, et al. Gliadin alleles in Canadian western red spring wheat cultivars: use of two different procedures of acid polyacrylamide gel electrophoresis for gliadin separation[J]. Genome, 1993, 36: 743-749.

# 日本优异种质资源藤系 138 的利用与评价

孙淑红

(黑龙江省农业科学院 佳木斯水稻研究所, 黑龙江 佳木斯 154026)

**摘要:**为积极鉴定、评价优异种质资源,丰富水稻品种遗传背景,抵御水稻遗传单一性的潜在危险,扩大遗传距离,提高水稻品种的杂种优势,分析了藤系 138 种质资源的评价与利用情况。结果表明:优良的父母本是构建藤系 138 丰产、多抗和超亲的遗传基础,具有熟期适宜、产量高、抗稻瘟病强、抗寒性强、耐盐性强、抗倒伏等特点,在黑龙江省累计推广面积达 22.71 万  $\text{hm}^2$ ,并且在省外也有一定的种植面积。藤系 138 不仅可直接应用于生产中,而且作为亲本直接或间接选育水稻新品种 20 个,产生了巨大的经济效益和社会效益,为黑龙江省的水稻发展做出一定贡献。

**关键词:**藤系 138;优异种质;利用;评价

**中图分类号:**S511

**文献标识码:**A

**文章编号:**1002-2767(2011)05-0004-03

水稻种质资源,也称之为遗传资源或基因资源,是指能从亲代传递给子代基因的载体,是培育新品种的原始材料,这些基因的载体可以是群体或个体,也可以是部分器官、组织、细胞,甚至 DNA 片段。种质资源一般分为地方品种、选育品种、引进品种、特殊遗传材料以及野生近缘种几大类。近十几年来,我国水稻产量在一个“平台”上徘徊,这种缓慢的育种进程不是由于种质资源的缺乏,而是大量的基因资源没有得到充分的研究和利用。目前应用于水稻育种程序中的水稻资源不到全部资源的 5%。想要打破此局面,必须对

优异种质资源进行鉴定、评价,以期丰富水稻品种遗传背景,抵御水稻遗传单一性的潜在危险性,扩大遗传距离,提高水稻品种的杂种优势。

水稻优良种质是育成新品种的关键,如何筛选、创新并利用优良的种质资源是当前育种工作的重要研究内容之一。通过多年的育种实践经验,初步筛选出配合力高、遗传力强的优良亲本材料藤系 138,这一材料在 20 世纪 90 年代是黑龙江省生产中的主栽品种。同时以这份材料为直接或间接亲本,育成了黑龙江省主推品种绥粳 3 号、垦稻 8 号、垦稻 12、龙粳 21 和龙粳 26 等,这些品种对黑龙江省水稻的发展起到重要的作用。

## 1 藤系 138 的引进与评价

### 1.1 藤系 138 的引进

藤系 138 是日本以秋光为母本、藤系 117 为

收稿日期:2011-01-11

基金项目:黑龙江省科技厅资助项目(GB06B102-3)

作者简介:孙淑红(1970-),女,黑龙江集贤县人,硕士,副研究员,从事水稻育种研究。E-mail:sdsssh@163.com。

## Identification of Gliadin Block from Donor Variety of HMW-GS 5+10 in NILs of Longmai 19 at Glu-D1 Loci

JIANG Huan-huan<sup>1</sup>, ZHANG Yan-bin<sup>1,2</sup>, LI Ji-lin<sup>1</sup>, REN Zi-yuan<sup>1,2</sup>,  
DING Qi<sup>1,2</sup>, ZHAO Hai-bin<sup>2</sup>, SONG Qing-jie<sup>2</sup>

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

**Abstract:** Acid polyacrylamide gel electrophoresis (A-PAGE) was employed to analyze three gliadin bands donated by Canadian wheat cultivar Marquis in Longmai 19 with HMW-GS 5+10 on the basis of International nomenclature for the gliadin blocks. The result indicated that the three gliadin bands was a gliadin block coded by *Gli-A1m* gene.

**Key words:** wheat; quality; A-PAGE; gliadin block; *Gli-A1m*

(该文作者还有:于海洋、张春利、辛文利、肖志敏,单位为黑龙江省农业科学院作物育种研究所)