

小麦微核心种质 *Glu-A3* 位点等位基因的鉴定 及其与品质关系的研究

许凌凌

(芜湖职业技术学院 生物工程学院,安徽 芜湖 241002)

摘要:低分子量麦谷蛋白亚基约占小麦谷蛋白的 80%,对小麦品质影响很大,为明确各亚基与品质的关系,促进小麦育种工作,采用 PCR 方法检测 190 个中国小麦微核心种质 *Glu-A3* 位点等位基因。结果表明:共检测到 *Glu-A3a*~*Glu-A3g* 7 种基因类型,且以等位亚基 c 为主。SDS 沉降值测定显示,c 亚基对品质作用较小,但所占比例最大。由此可见,我国小麦种质资源以劣质亚基为主,引进优质亚基可成为我国小麦品质改良的重要途径。

关键词:麦谷蛋白;微核心种质;*Glu-A3* 等位基因;品质测定

中图分类号:S512.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2016)07-0012-03 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2016.07.0012

麦谷蛋白在 SDS-PAGE 电泳图谱中可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)。目前,关于 HMW-GS 各亚基的命名以及与品质的关系已研究的较为透彻。LMW-GS 约占麦谷蛋白的 80%,由 *Glu-A3*、*Glu-B3* 和 *Glu-D3* 位点基因控制^[1]。LMW-GS 变异广泛,且与醇溶蛋白的分子量相近,因此根据 SDS-PAGE 图谱迁移率大小不同而建立起来的 HMW-GS 命名系统无法用于 LMW-GS 亚基的命名,从而也导致 LMW-GS 亚基与小麦品质的关系尚无统一定论^[2]。SDS 沉降值作为衡量面筋质量的指标,可用于评价小麦品种的品质状况。本研究采用 PCR 方法检测 190 个中国小麦微核心种质 *Glu-A3* 位点等位基因类型,了解我国小麦品种等位亚基组成情况,并分析各亚基对 SDS 沉降值的影响,明确各亚基与品质的关系,以为小麦育种工作提供参考资料。

1 材料与方法

1.1 材料

采用中国小麦微核心种质 190 个。

收稿日期:2016-06-12

基金项目:安徽省教育厅 2015 年度高校自然科学研究重点资助项目(KJ2015A432);芜湖职业技术学院 2016 年度校级质量工程校企合作实践教育基地资助项目;芜湖职业技术学院 2015 年度校级科学研究资助项目(Wzyzr201505)

作者简介:许凌凌(1982-),女,安徽省当涂县人,硕士,讲师,从事生物技术及应用研究。E-mail: xulingling188@126.com。

1.2 方法

1.2.1 样品 DNA 提取 取单粒种子磨粉后倒入 1.5 mL 离心管中,按李倩^[3]的方法提取样品 DNA。用琼脂糖电泳检测 DNA 质量,用分光光度计检测 DNA 浓度。

1.2.2 PCR 检测 采用 Wang 等^[4]的方法。*Glu-A3* 位点各等位基因的特异引物见表 1。PCR 扩增条件为 95 °C 变性 3 min,95 °C 30 s,63 °C 30 s,72 °C 1 min,15 个循环;95 °C 30 s,59 °C 30 s,72 °C 1 min,20 个循环;72 °C 延伸 8 min。产物用 1.2% 琼脂糖凝胶电泳分离。

1.2.3 SDS 沉降值测定 采用王美芳等^[5]的方法。称取全麦粉 3.00 g,倒入已有 50 mL 去离子水的 100 mL 具塞量筒中,在沉降值测定仪上振荡 5 min,加入 2% SDS-乳酸 50 mL,再振荡 5 min,静置 5 min 后记录沉淀的体积。

2 结果与分析

2.1 PCR 产物分析

PCR 产物经电泳分离显示,*Glu-A3a*~*Glu-A3g* 7 个等位基因的引物特异性均较强,都能检测出相应的目标条带(见图 1)。说明 PCR 方法用于检测 *Glu-A3* 等位基因的变异情况切实可行。

2.2 *Glu-A3* 位点各等位亚基分布

190 个品种经检测,*Glu-A3* 位点以等位亚基 c 为主,占总品种数的近一半(45.26%)。其次为亚基 a,占 26.32%。之后依次为 d、e、b 和 g 亚

基,分别占 12.11%、6.31%、5.26%和 3.16%。f 最少,为 1.58%(见表 2)。

表 1 *Glu-A3* 位点各等位基因特异引物
Table 1 *Glu-A3* alleles specific primers

| 引物名称 Primers | 序列(5'-3') Sequence | 退火温度/℃ Annealing temperature | 目标片段/bp Target segment | 等位基因 Alleles |
|-----------------|---|---------------------------------|---------------------------|------------------|
| gluA3a | GTACGCTTTTGTAGCTTGTGC TGGTGGTTGTTGTTGTTGCTACA | 59 | 596 | <i>Glu-A3a</i> |
| gluA3b | TTCAGATGCAGCCAAACAA GCTGTGCTTGGATGATACTCTA | 58 | 894 | <i>Glu-A3b</i> |
| gluA3ac | AAACAGAATTATTAAAGCCGG GTGGCTGTTGTGAAAACGA | 57 | 573 | <i>Glu-A3a,c</i> |
| gluA3d | TTCAGATGCAGCCAAACAA TGGGGTTGGGAGACACATA | 58 | 967 | <i>Glu-A3d</i> |
| gluA3e | CAATGAAAACCTTCCTCGTCTG GATGCCAACGCCTAATGGCACAC | 59 | 1151 | <i>Glu-A3e</i> |
| gluA3f | AAACAGAATTATTAAAGCCGG GCTGCTGCTGCTGTGTAAA | 58 | 552 | <i>Glu-A3f</i> |
| gluA3g | AAACAGAATTATTAAAGCCGG AAACAACGGTGATCCAATAA | 57 | 1345 | <i>Glu-A3g</i> |

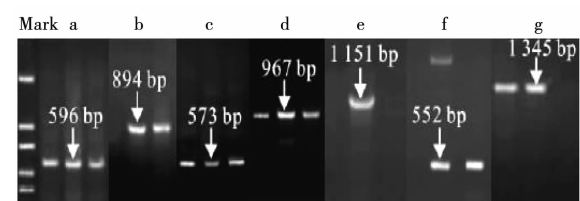


图 1 *Glu-A3* 位点各等位基因检测图

Fig. 1 *Glu-A3* alleles detection

表 2 *Glu-A3* 位点等位亚基类型及比例
Table 2 *Glu-A3* loci allelic subunits type and proportion

| 等位亚基类型 Allelic subunits type | 品种数 Species number | 比例/% Proportion |
|---------------------------------|-----------------------|--------------------|
| a | 50 | 26.32 |
| b | 10 | 5.26 |
| c | 86 | 45.26 |
| d | 23 | 12.11 |
| e | 12 | 6.31 |
| f | 3 | 1.58 |
| g | 6 | 3.16 |

2.3 *Glu-A3* 位点等位亚基对 SDS 沉降值的影响

按 *Glu-A3* 位点亚基类型将 190 个品种分为 7 组,用柱形图表示 7 组亚基 SDS 沉降值的平均值。由图 2 可知,含 d 亚基的品种沉降值最高,为

36.5 mL。其次是 f 亚基,为 34.1 mL。c 和 e 亚基最低,分别为 28.3 和 27.8 mL。7 种亚基沉降值顺序为 d>f>a>b>g>c>e。

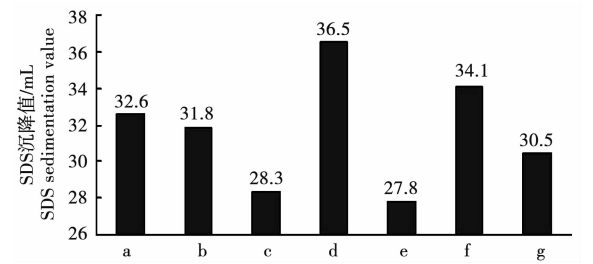


图 2 *Glu-A3* 位点各等位亚基 SDS 沉降值

Fig. 2 SDS Sedimentation value of *Glu-A3* loci allelic subunits

3 结论与讨论

LMW-GS 是麦谷蛋白的重要组成部分,对小麦品质影响很大。然而由于 LMW-GS 亚基与醇溶蛋白分子量相近,在 SDS-PAGE 图谱中迁移率差别小,且变异广泛,因此 LMW-GS 亚基的分离鉴定较难。本研究采取 PCR 方法检测小麦微核心种质 LMW-GS 亚基 *Glu-A3* 位点等位基因,仅鉴定 PCR 产物有无即可判断基因类型,简便准确。我国小麦种质 *Glu-A3* 位点 7 种等位基因都有,变异类型丰富,与孙学永^[6]用 PCR 检测 200 个小麦微核心种质的结果一致,他除检测到 a~g

基因外,还发现有 3 个未扩增出任何产物的未知基因,说明 PCR 方法不仅可检测等位基因类型,还可用于发现新的未知基因。SDS 沉降值测定显示含 d 亚基的品种沉降值最高,c 和 e 亚基最低。而我国小麦种质以对品质贡献较小的 c 基因为主,对品质作用最大的 d 亚基较少。由此可见,我国小麦 *Glu-A3* 位点以劣质亚基为主,引进优质亚基可成为我国小麦品质改良的可行途径。同时,研究中还需开发 *Glu-B3* 和 *Glu-D3* 位点引物,这样可全面鉴定我国小麦 LMW-GS 亚基类型,为小麦品质改良工作提供依据。

参考文献:

[1] 李黎,李锁平,李玉阁. 豫麦 50 低分子量麦谷蛋白亚基基因的克隆与序列分析[J]. 麦类作物学报, 2015, 35(9):

1215-1221.

[2] 李式昭,郑建敏,伍玲,等. 四川小麦品种高、低分子量麦谷蛋白基因和 1B/1R 易位的分子标记鉴定[J]. 麦类作物学报, 2014, 34(12):1619-1626.

[3] 李倩. 野生二粒小麦低分子量谷蛋白基因的克隆与序列分析[D]. 开封:河南大学, 2014.

[4] Wang L H, Li G Y, Pena R J, et al. Development of STS markers and establishment of multiplex PCR for *Glu-A3* alleles in common wheat (*Triticum aestivum* L.)[J]. Journal of Cereal Science, 2010, 51(3):305-312.

[5] 王美芳,赵石磊, 雷振生,等. 小麦蛋白淀粉品质指标与面包品质关系的研究[J]. 核农学报, 2013, 27(6):792-799.

[6] 孙学永,马传喜,司红起,等. 中国小麦微核心种质低分子量麦谷蛋白 *Glu-A3* 位点等位基因的 PCR 检测[J]. 分子植物育种, 2006, 4(4):477-482.

Identification of *Glu-A3* Locus Alleles of Wheat Mini Core Germplasms and the Relations with Quality

XU Ling-ling

(Biological Engineering Department, Wuhu Vocational Technical College, Wuhu, Anhui 241002)

Abstract: About 80% glutenins are made up of low molecular weight glutenin subunits, and they play a very important role in wheat quality. In order to clear the relation between the subunits and quality and promote the wheat breeding work, 190 wheat mini core germplasms were detected by using PCR. The data showed there were 7 alleles at *Glu-A3* locus included the highest c subunit. SDS sedimentation value indicated that c subunit which was smaller effect on wheat quality had the biggest proportion. The wheat germplasm resources in our country were still inferior. The introduction of high quality subunits would become an important way of improving wheat quality for China.

Keywords: glutenins; mini core germplasms; *Glu-A3* alleles; quality test

《黑龙江农业科学》理事会

| | | | | |
|-------------------|---------|------------------|------|-----|
| 理事长单位 | 代表 | 内蒙古丰垦种业有限公司 | 董事长 | 徐万陶 |
| 黑龙江省农业科学院 | 院长 李文华 | 理事单位 | | 代表 |
| 副理事长单位 | 代表 | 黑龙江生物科技职业学院 | 院长 | 李承林 |
| 黑龙江省农业科学院佳木斯水稻研究所 | 所长 潘国君 | 宁安县农业委员会 | 主任 | 曾令鑫 |
| 黑龙江省农业科学院五常水稻研究所 | 所长 张广柱 | 农垦科研育种中心哈尔滨科研所 | 所长 | 姚希勤 |
| 黑龙江省农业科学院克山分院 | 院长 邵立刚 | 黑龙江农业职业技术学院 | 院长 | 李东阳 |
| 黑龙江省农业科学院黑河分院 | 院长 魏新民 | 黑龙江职业学院 | 院长 | 赵继会 |
| 黑龙江省农业科学院绥化分院 | 院长 陈维元 | 鹤岗市农业科学研究所 | 所长 | 姜洪伟 |
| 黑龙江农业经济职业学院 | 院长 孙绍年 | 伊春市农业技术推广广中心 | 主任 | 张含生 |
| 中储粮北方农业开发有限责任公司 | 总经理 戴传雄 | 甘南县向日葵研究所 | 所长 | 孙为民 |
| 黑龙江省农垦总局 | 副局长 徐学阳 | 萝北县农业科学研究所 | 所长 | 张海军 |
| 常务理事单位 | 代表 | 齐齐哈尔市自新种业有限公司 | 总经理 | 陈自新 |
| 勃利县广视种业有限公司 | 总经理 邓宗环 | 黑龙江省农垦科学院水稻研究所 | 所长 | 解保胜 |
| 黑龙江垦丰种业有限公司 | 总经理 刘显辉 | 黑龙江八一农垦大学农学院 | 院长 | 杨克军 |
| 黑龙江农业经济职业技术学院 | 副院长 张季中 | 绥化市北林区农业技术推广中心 | 主任 | 张树春 |
| | | 黑龙江省齐齐哈尔农业机械化学学校 | 校长助理 | 张北成 |