

# 东北春麦区小麦品种(系)低分子量麦谷蛋白基因 *Glu-A3d* 和 *Glu-B3g* 的分子检测

杨雪峰,宋维富,张延滨,宋庆杰,张春利,辛文利,肖志敏  
(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:** *Glu-A3* 位点的 *Glu-A3d* 基因和 *Glu-B3* 位点的 *Glu-B3g* 基因是优质低分子量麦谷蛋白亚基(LMW-GS)。为明确 2 个优质基因在东北春麦区小麦品种(系)中的分布情况,从而为强筋小麦育种和品质改良提供有用信息,利用 *Glu-A3d* 和 *Glu-B3g* 基因特异性 STS 标记检测了 127 份小麦品种(系)。结果表明:2 个品种携带 *Glu-A3d* 基因,62 个品种(系)携带优质基因 *Glu-B3g* 基因,占 48.8%。  
**关键词:** 小麦; *Glu-A3d* 基因; *Glu-B3g* 基因; 分子标记辅助选择  
**中图分类号:** S512.1<sup>+</sup>2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-2767(2016)12-0013-05 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2016.12.0013

小麦贮藏蛋白中的麦谷蛋白和醇溶蛋白是形成面筋的主要成分,也是决定小麦加工品质的主要物质<sup>[1]</sup>。麦谷蛋白是通过二硫键连接起来的复合结构多肽链,而醇溶蛋白是单一的多肽链(单体蛋白)。因此一般认为麦谷蛋白决定小麦面筋的强度和弹性,醇溶蛋白决定面筋的延伸性<sup>[2-3]</sup>。麦谷蛋白形成的谷蛋白聚合体是形成面团的必要物质,所以与面团特性有关的加工品质主要受麦谷蛋白影响<sup>[4-5]</sup>。根据麦谷蛋白在十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)迁移率,将其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-

收稿日期:2016-11-08  
**基金项目:** 国家现代农业产业技术体系建设专项资助项目(No. CARS-3-1-6);黑龙江省博士后基金资助项目(No. LBH-Z14185);黑龙江省农业科学院引进博士科研启动金资助项目(No. 201507-18);2013 年度黑龙江省农业科学院重点基金资助项目(ZD011)  
**第一作者简介:** 杨雪峰(1980-),男,黑龙江省鸡东县人,硕士,助理研究员,从事小麦遗传育种研究。E-mail: yodghyxf@126.com。  
**通讯作者:** 宋维富(1982-),黑龙江省甘南县人,男,博士,助理研究员,从事小麦品质遗传育种研究。E-mail: songweiful121@126.com。

- [3] 杨琼芬,卢丽丽,潘哲超,等.马铃薯叶片愈伤组织再生体系的建立[J].西南农业学报,2012(3): 1001-1004.

[4] 鲍红春,李小雷,王建平,等.马铃薯品种陇薯 5 号茎段再生体系的建立[J].内蒙古农业科技,2014(2): 31-32.

[5] 李文霞,宁海龙,张永根,等.二倍体马铃薯花药培养再生体
- 系的优化[J].中国蔬菜,2012(04X):68-74.

[6] 李晶.马铃薯再生体系的建立及遗传转化的研究[D].哈尔滨:东北农业大学,2003.

[7] 柳容.马铃薯的再生及其再生植株遗传稳定性研究[D].长沙:湖南农业大学,2007.

## Establishment of the Regeneration System of Potato Variety Yanshu 4

KANG Zhe-xiu, WU Jing-ji, LANG Xian-bo, XU Zhen-yu, XUAN Chun-ji, NAN Zhe-you  
(Yanbian Academy of Agricultural Sciences, Longjing, Jilin 133400)

**Abstract:** To establish the highly efficient and stable in vitro regeneration system of potato, the stem regeneration system of the aseptic Yanshu 4 seedlings was screened and the hormone proportion of culture medium was optimized. The results showed that the optimum culture medium for the callus induction of explants from stem segments of Yanshu 4 was MS+6-BA3.0 mg·L<sup>-1</sup>+NAA1.0 mg·L<sup>-1</sup> and the best culture medium for differentiation of multiple buds inducted by stem segment callus was MS + 6-BA2.0 mg·L<sup>-1</sup>+NAA 0.20 mg·L<sup>-1</sup>+GA<sub>3</sub> 1.0 mg·L<sup>-1</sup>.  
**Keywords:** potato; Yanshu 4; stem segment; callus induction; plant regeneration

GS)。其中,低分子量谷蛋白约占种子贮藏总蛋白的1/3,占麦谷蛋白的60%,是组成麦谷蛋白大聚体的主要成分,对加工品质有重要影响<sup>[6]</sup>。近些年,随着麦谷蛋白亚基与小麦加工品质关系研究的不断深入,LMW-GS在小麦品质改良中的作用越来越受到育种家们的重视<sup>[1]</sup>。对优质LMW-GS的准确鉴定及明确其在主要小麦品种(系)中的分布情况,有利于育种家在育种进程中进行后代决选和亲本选配。

麦谷蛋白鉴定的传统方法主要是SDS-PAGE,但是由于编码LMW-GS基因数目较多、分子量与醇溶蛋白相近且在遗传上与醇溶蛋白紧密连锁、在SDS-PAGE电泳图谱上与大量的醇溶蛋白相互重叠,区分难度较大<sup>[7]</sup>。随着分子生物技术手段不断发展及研究分析方法的不断改进,高效液相色谱技术(High performance liquid chromatography, HPLC),双向电泳(Two-dimensional gel electrophoresis, 2-DE)、基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱技术(Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, MALDI-TOF-MS)和分子标记辅助选择体系也应用到LMW-GS的鉴定<sup>[8-9]</sup>。LMW-GS的分子标记辅助选择体系和其它方法相比,对技术要求较低,结果比较可靠<sup>[8-9]</sup>。部分已开发的低分子量麦谷蛋白基因特异性分子标记能够准确区分各个LMW-GS,并被广泛应用<sup>[7]</sup>。

LMW-GS与小麦品质之间具有密切关系,不同亚基的影响也不尽相同<sup>[1]</sup>。利用澳大利亚小麦品种Aroona的LMW-GS近等基因系研究结果表明:Glu-A3位点的*Glu-A3d*亚基和Glu-B3位点的*Glu-B3g*亚基的各个品质指标明显优于同位点其它亚基,而Glu-D3位点各个亚基间差异不显著<sup>[10]</sup>。但是,优质亚基*Glu-A3d*和*Glu-B3g*在东北春麦区主要品种(系)中的分布情况尚未明确。本研究利用王林海等<sup>[8]</sup>开发的*Glu-A3d*和*Glu-B3g*基因特异性STS标记对127份东北春麦区小麦品种(系)进行分子检测,明确2个优质低分子量麦谷蛋白基因*Glu-A3d*和*Glu-B3g*的分布情况,以为小麦品质改良提供有用信息。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

127份供试材料中黑龙江省农业科学院作物育种所小麦室71份,黑龙江省农业科学院作物育种所辐麦室9份,黑龙江省农业科学院克山分院

小麦室47份(见表1)。*Glu-A3d*对照品种为克旱19(*Glu-A3*位点经中国农业科学院作物科学研究所夏先春博士课题组鉴定),*Glu-B3g*对照为加拿大小麦品种Glenlea(*Glu-A3g*; *Glu-B3g*; *Glu-D3c*)。

### 1.2 方法

1.2.1 小麦基因组的提取 采用CTAB法提取小麦籽粒基因组DNA。每份材料分别提取2粒种子的DNA,利用紫外分光光度计检测DNA浓度,稀释至终浓度 $100\text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ 。

1.2.2 STS标记检测 引物由上海生工生物工程股份有限公司合成。*Glu-A3d*的引物LA3F序列为:5'-TTCAGATGCAGCCAAACAA-3';引物SA4R:5'-TGGGGTTGGGAGACACATA-3';*Glu-B3g*的引物SB7F序列为:5'-CCAA-GAAATACTAGTTAACACTAGTC-3';引物SB7R:5'-GTTGGGGTTGGGAAACA-3'<sup>[1]</sup>。

PCR体系为 $20\text{ }\mu\text{L}$ ,含 $10\times\text{PCR buffer}$   $2.5\text{ }\mu\text{L}$ ,  $\text{dNTP}200\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ,每条引物 $1\text{ }\mu\text{L}$ ( $10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ),*Taq* DNA聚合酶(*TaKaRa*)  $1\text{ U}$ ,模板DNA  $50\text{ ng}$ 。*Glu-A3d*基因STS标记的PCR程序为 $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预变性 $5\text{ min}$ , $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ 变性 $35\text{ s}$ , $58\text{ }^{\circ}\text{C}$ 退火 $50\text{ s}$ , $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸 $1\text{ min}$ ,35个循环; $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸 $10\text{ min}$ 。*Glu-B3g*基因STS标记的PCR程序为 $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预变性 $5\text{ min}$ , $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ 变性 $35\text{ s}$ , $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 退火 $50\text{ s}$ , $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸 $1\text{ min}$ ,35个循环; $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸 $10\text{ min}$ 。PCR扩增产物以1.5%琼脂糖凝胶电泳分离检测,缓冲液体系为 $1\times\text{TAE}$ 溶液, $180\text{ V}$ 电压电泳 $30\text{ min}$ ,溴化乙锭染色后,用凝胶成像系统扫描成像并存入计算机。

## 2 结果与分析

### 2.1 *Glu-A3d* 基因检测结果

由图1A可见,*Glu-A3d*基因特异的STS标记在对照品种克旱19中扩增出 $967\text{ bp}$ 片段,在检测的126个小麦品种(系)(见表1)中,只有克旱9号扩增出相应的PCR产物,其它品种(系)中,没有扩增出特异性条带。

### 2.2 *Glu-B3g* 基因检测结果

由图1B可见,*Glu-B3g*基因特异的STS标记在对照品种Glenlea中扩增出 $853\text{ bp}$ 片段,在检测的127个小麦品种(系)(见表1)中,有62份材料扩增出相应的PCR产物,占48.8%。而其它品种(系)中,没有扩增出特异性条带。

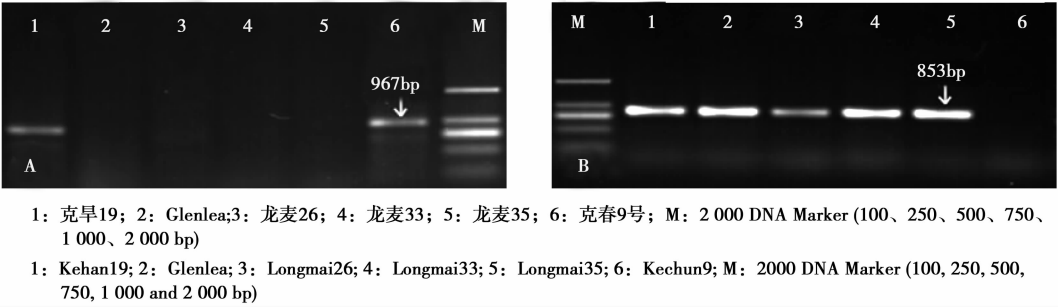


图 1 小麦品种低分子量谷蛋白亚基 *Glu-A3d* 和 *Glu-B3g* 基因的分子检测

Fig. 1 Polymorphic test of PCR fragments amplified with *Glu-A3d* and *Glu-B3g* in wheat varieties

表 1 普通小麦品种(系)*Glu-A3d* 和 *Glu-B3g* 基因分子标记检测结果

Table 1 PCR analyses of*Glu-A3d* and *Glu-B3g* in wheat varieties and advanced lines

编号 Code	品种(系) Cultivar(line)	低分子量麦谷蛋白亚基 LMW-GS		编号 Code	品种(系) Cultivar(line)	低分子量麦谷蛋白亚基 LMW-GS	
		<i>Glu-A3d</i>	<i>Glu-B3g</i>			<i>Glu-A3d</i>	<i>Glu-B3g</i>
1	克旱 19	+	+	65	龙 13-3410	-	-
2	Glenlea	-	+	66	龙 13-3417	-	+
3	龙麦 10 号	-	-	67	龙 13-3478	-	+
4	龙麦 26	-	+	68	龙 13-3639	-	-
5	龙麦 30	-	-	69	龙 13-3837	-	-
6	龙麦 31	-	+	70	龙 13-5355-2	-	-
7	龙麦 33	-	+	71	龙 13H3209-2	-	+
8	龙麦 35	-	+	72	龙 13H5442-1	-	-
9	龙麦 36	-	+	73	龙 13H5470-2	-	+
10	龙麦 37	-	-	74	龙辐麦 12	-	-
11	龙麦 39	-	+	75	龙辐麦 18	-	+
12	小冰 33(5+10)	-	+	76	龙辐麦 19	-	-
13	克丰 6 号(5+10)	-	-	77	龙辐麦 20	-	+
14	克丰 6 号(7+8*)	-	-	78	龙辐 05-431	-	+
15	龙麦 20(7+8*)	-	-	79	龙辐 11-243	-	-
16	龙 94-4081	-	+	80	龙辐 13-217	-	+
17	龙 00-0657	-	+	81	龙辐 13-456	-	-
18	龙 02-2523	-	-	82	龙辐 12-244	-	+
19	龙 02MF <sub>2</sub> -2064-1	-	-	83	克涝 2 号	-	-
20	龙 02MF <sub>2</sub> -2308-1	-	-	84	克涝 3 号	-	-
21	龙 03-3651	-	+	85	克涝 4 号	-	+
22	龙 03-3718-1	-	+	86	克涝 5 号	-	+
23	龙 03M8059-3	-	-	87	克涝 6 号	-	+
24	龙 06-7767	-	-	88	克丰 1 号	-	+
25	龙 07-7721	-	+	89	克丰 2 号	-	+
26	龙 07-7852	-	-	90	克丰 3 号	-	-
27	龙 08-8222	-	+	91	克丰 4 号	-	-

续表 1 Continuing Table 1

编号 Code	品种(系) Cultivar(line)	低分子量麦谷蛋白亚基 LMW-GS		编号 Code	品种(系) Cultivar(line)	低分子量麦谷蛋白亚基 LMW-GS	
		<i>Glu-A3d</i>	<i>Glu-B3g</i>			<i>Glu-A3d</i>	<i>Glu-B3g</i>
28	龙 09-9109	-	+	92	克丰 5 号	-	-
29	龙 09-9194	-	+	93	克丰 6 号	-	-
30	龙 09-9702	-	+	94	克丰 7 号	-	-
31	龙 09-9738	-	-	95	克丰 8 号	-	+
32	龙 09-9933	-	-	96	克丰 9 号	-	-
33	龙 10-0015	-	+	97	克丰 10 号	-	+
34	龙 10-0455	-	+	98	克丰 11	-	-
35	龙 10-0518	-	+	99	克丰 12	-	-
36	龙 10-0553	-	+	100	克丰 13	-	-
37	龙 10-0629	-	+	101	克早 1 号	-	-
38	龙 10-0632	-	+	102	克早 2 号	-	-
39	龙 10-0718	-	+	103	克早 5 号	-	-
40	龙 10-0760	-	+	104	克早 7 号	-	-
41	龙 10-0854	-	+	105	克早 8 号	-	+
42	龙 10F <sub>5</sub> -5017-2	-	-	106	克早 9 号	-	-
43	龙 10F <sub>5</sub> -5027	-	-	107	新克早 9 号	-	-
44	龙 11-1017	-	+	108	克早 10 号	-	-
45	龙 11H1027	-	+	109	克早 11	-	+
46	龙 11H1262-2	-	+	110	克早 12	-	+
47	龙 11H1290-2	-	-	111	克早 13	-	-
48	龙 11H1314-1	-	-	112	克早 14	-	-
49	龙 12-2026	-	-	113	克早 15	-	-
50	龙 12-2191	-	-	114	克早 16	-	-
51	龙 12-2213	-	+	115	克早 17	-	+
52	龙 12-2242	-	+	116	克早 18	-	+
53	龙 12-2283	-	+	117	克早 20	-	-
54	龙 12-2289	-	-	118	克早 21	-	-
55	龙 12-2444	-	-	119	克春 1 号	-	-
56	龙 12-2644	-	-	120	克春 2 号	-	-
57	龙 12-2812	-	-	121	克春 3 号	-	-
58	龙 12-2927	-	+	122	克春 4 号	-	+
59	龙 12-2976	-	+	123	克春 5 号	-	-
60	龙 12H2293-1	-	-	124	克春 6 号	-	+
61	龙 12H5468-2	-	-	125	克春 7 号	-	+
62	龙 13-3065	-	-	126	克春 8 号	-	+
63	龙 13-3329	-	+	127	克春 9 号	+	+
64	龙 13-3369	-	+	128	克春 10 号	-	-

“+”表示扩增出特异条带;“-”表示未扩增出特异条带。  
“+” mean amplified specific PCR fragments;“-” mean no amplified specific PCR fragments.

### 3 结论与讨论

LMW-GS 的组成显著影响小麦品质<sup>[1]</sup>。对低分子量麦谷蛋白基因的准确鉴定,有利于发挥优质 LMW-GS 在品质改良中的作用。本研究中选用的 2 个优质亚基的 STS 特异性标记能够准确鉴定 *Glu-A3d* 和 *Glu-B3g* 基因。表明这 2 个标记的实用性较好,适合在育种中应用。

研究表明:*Glu-A3* 位点的 *Glu-A3d* 亚基和 *Glu-B3* 位点的 *Glu-B3g* 亚基各个品质指标明显优于同位点其它亚基,是优质的 LMW-GS<sup>[10]</sup>。本研究检测的 127 份东北春麦区小麦品种(系)中,携带优质基因 *Glu-A3d* 的有 2 个品种,而携带优质基因 *Glu-B3g* 品种(系)有 62 个,占 48.8%。因此应在今后小麦育种中加快利用这两个基因,发挥优质 LMW-GS 在小麦改良中的作用。

#### 参考文献:

[1] 王林海. 普通小麦及其近缘种低分子量麦谷蛋白基因克隆与 STS 标记开发[D]. 北京:中国农业科学院,2009.

[2] Payne P I. Genetics of wheat storage proteins and the effect of allelic variation on bread-making quality [J]. Annual Review of Plant Physiology,1987,38:141-153.

[3] Gianibelli M C,Larroque O R,MacRitchie F,et al. Biochemical, genetic,and molecular characterization of wheat endosperm proteins[EB/OL]. American Association of Cereal Chemists,Publica-

tion No. C-2001-0926-01O,2001,1-20.

[4] Shewry P R,Halford N G,Belton P S,et al. The structure and properties of gluten: An elastic protein from wheat grain [J]. Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series Biological Sciences, 2002, 357 (1418): 133-142.

[5] Anjum F M,Rafiq K M,Din A,et al. Wheat gluten:high molecular weight glutenin subunits-structure,genetics, and relation dough elasticity [J]. Journal of food science,2007, 72(3):56-63.

[6] Bietz J A,Wall J S. Isolation and characterization of gliadin-like subunits from glutenins[J]. Cereal Chemistry, 1973, 50: 537-547.

[7] 宋维富,赵海滨,张延滨,等. 龙麦 19 *Gli-A1/GluA3* 位点近等基因系低分子麦谷蛋白亚基(LGW-GS)鉴定 [J]. 黑龙江农业科学,2012(2):1-5.

[8] Wang L H,Li G Y,Peña 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,2010,51:305-312.

[9] Liu L,Mlkeda T,Branlard G,et al. Comparison of low molecular weight glutenin subunits identified by SDS-PAGE, 2-DE,MALDI-TOF-MS and PCR in common wheat [J]. BMC Plant Biology,2010,10(124):2-24.

[10] Zhang X F,Jin H,Zhang Y,et al. Composition and functional analysis of low-molecular-weight glutenin alleles with Aroona near-isogenic lines of bread wheat [J]. BMC Plant Biology,2012,12:243.

## Characterization of *Glu-A3d* and *Glu-B3g* Gene of Wheat Varieties (Lines) in the Northeast Spring Wheat Region by STS Markers

YANG Xue-feng, SONG Wei-fu, ZHANG Yan-bin, SONG Qing-jie, ZHANG Chun-li, XIN Wen-li, XIAO Zhi-min

(Crop Breeding Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086)

**Abstract:** *Glu-A3d* and *Glu-B3g* of *Glu-A3* and *Glu-B3* locus are high quality gene for improving bread-making quality. In order to identify the wheat varieties (lines) carrying *Glu-A3d* and *Glu-B3g* gene in the northeast spring wheat region, to provide useful information for breeding programmer to improve bread-making quality and develop new varieties, 127 wheat varieties (lines) were examined. The results showed that 2 varieties carried the *Glu-A3d* gene, and 62 varieties (lines) carried *Glu-B3g* gene, with a frequency of 48.8%.

**Keywords:** wheat; *Glu-A3d*; *Glu-B3g*; marker-assisted selection