

# 东北春麦区小麦品种(系)Bx7 亚基超量表达基因( $Bx7^{OE}$ )的分子检测

宋维富,杨雪峰,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:**高分子量谷蛋白亚基 Bx7 的超量表达可显著提高 HMW-GS 和不溶性谷蛋白大聚体的含量,使面团强度明显增强。为明确  $Bx7^{OE}$  基因在东北春麦区小麦品种(系)中的分布情况,利用 2 个  $Bx7^{OE}$  基因 STS 标记检测 127 份东北春麦区小麦品种(系)。结果表明:仅通过选择性回交转  $Bx7^{OE}$  基因的克丰 6 号( $7^{OE}+8^*$ )和龙麦 20( $7^{OE}+8^*$ )携带  $Bx7^{OE}$  基因。

**关键词:**小麦; $Bx7^{OE}$  基因;STS 标记;分子标记辅助选择

**中图分类号:**S512.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2017)07-0001-04 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2017.07.0001

高分子量麦谷蛋白亚基(High molecular weigh glutenin subunit, HMW-GS)与小麦的加工品质密切相关<sup>[1]</sup>。改进 HMW-GS 组成和提高 HMW-GS 的含量仍然是近年来小麦加工品质改良的重要途径<sup>[2-3]</sup>。继优质亚基 5+10 之后加拿大西部超强筋小麦(Canada Western Extra Strong Wheat)品种 Glenlea 的 7+8 亚基吸引了人们很大的关注,因为 7+8 亚基中的 7 亚基是超量表达的亚基。 $Bx7^{OE}$  亚基可以显著提高 HMW-GS 和不溶性谷蛋白大聚体的含量,使面团强度明显增强,使小麦具有非常好的面筋强度和延展性, $Bx7^{OE}$  亚基已成为超强筋小麦育种的重要资源。

HMW-GS 鉴定的传统方法主要是十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE),但是由于 Bx7 亚基与  $Bx7^{OE}$  亚基分子量差异小,在 SDS-PAGE 电泳图谱上不能将两个亚基进行区分<sup>[4]</sup>。Ragupathy 等<sup>[5]</sup>根据  $Bx7^{OE}$  基因的特异结构开发了两个 STS 标记,能准确鉴定  $Bx7^{OE}$  基因的存在。任妍<sup>[4]</sup>等利用这两个 STS 标记检测了中国和 CIMMYT 麦品种(系),结果表

明,在 163 份材料中不仅两个 STS 标记的结果一致,而且均与反相高效液相色谱(RP-HPLC)的检测结果完全一致,表明  $Bx7^{OE}$  基因位点的 STS 标记是可用于小麦品种(系) $Bx7^{OE}$  基因检测的可靠标记。

为明确  $Bx7^{OE}$  基因在东北春麦区小麦品种(系)中的分布情况,本研究利用 Ragupathy 等开发的两个 STS 标记对 127 份东北春麦区小麦品种(系)进行分子检测,以期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)。对照为加拿大小麦品种 Glenlea。

### 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 利用 Ragupathy 等<sup>[5]</sup>开发的两个显性 STS 标记检测  $Bx7^{OE}$  基因。引物由上海生工生物工程股份有限公司合成。标记 1(重复片段与逆转座子左边结合引物):TaBAC1215C06-F517;5'-ACGTGTCCAAGCTT TGGTTC-3', TaBAC1215C06-R964; 5'-GATT-GGTGGGTGGATACAGG-3';标记 2(重复片段

收稿日期:2017-05-05

**基金项目:**国家现代农业产业技术体系建设专项资助项目(CARS-3-1-6);国家重点研发计划资助项目(2016 YFD0101802);2013 年度黑龙江省农业科学院重点基金资助项目(No. ZD011);黑龙江省农业科学院引进博士科研启动基金资助项目(No. 201507-18)

**第一作者简介:**宋维富(1982-),男,黑龙江省甘南县人,博士,助理研究员,从事小麦品质遗传育种研究。E-mail: songweifu1121@126.com。

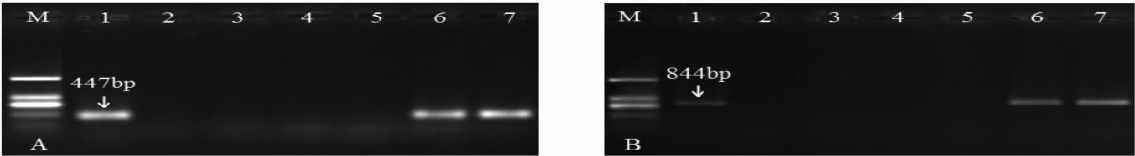
与逆转座子右边结合引物): TaBAC1215C06-F24671: 5'-CCACTTCCAAGGTGGGACTA-3', TaBAC1215C06-R25515: 5'-TGCCAACACAAAAGAAGCTG-3'。

PCR 体系为 20  $\mu$ L,含 10 $\times$ PCRbuffer 2.5  $\mu$ L, dNTP(A、T、C、G)各 200  $\mu$ mol $\cdot$ L<sup>-1</sup>, 每条引物 1  $\mu$ L(10  $\mu$ mol $\cdot$ L<sup>-1</sup>), TaqDNA 聚合酶(TaKaRa) 1 U,模板 DNA 50 ng。PCR 程序为 94  $^{\circ}$ C 预变性 5 min,94  $^{\circ}$ C 变性 35 s,60  $^{\circ}$ C 退火 50 s,72  $^{\circ}$ C 延伸 1 min,35 个循环;72  $^{\circ}$ C 延伸 10 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 $\times$ TAE 溶液,180 V 电压电泳 30 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

标记 1 和标记 2 分别在含有 Bx7<sup>OE</sup> 基因的材料中扩增出 447 bp 和 844 bp 的特异性片段,在不含有Bx7<sup>OE</sup>基因的材料中无特异性片段成功。由图 1 看出,2 个标记均在对照品种 Glenlea 中扩增出特异性片段;而在检测的小麦品种(系)中,2 个标记仅克丰 6 号(7<sup>OE</sup>+8<sup>\*</sup>)和龙麦 20(7<sup>OE</sup>+8<sup>\*</sup>)扩增出特异性片段,其它小麦品种(系),包括目前东北春麦区的主栽品种龙麦 26、龙麦 30、龙麦 33 和龙麦 35 中均无特异性片段。



1:Glenlea;2:龙麦 26;3:龙麦 30;4:龙麦 33;5:龙麦 35;6:克丰 6 号(7<sup>OE</sup>+8<sup>\*</sup>);7:龙麦 20(7<sup>OE</sup>+8<sup>\*</sup>);M:2000 DNA Marker(100、250、500、750、1 000 和 2 000 bp)

1:Glenlea; 2:Longmai26; 3:Longmai30; 4:Longmai33; 5:Longmai35; 6:Kefeng6(7<sup>OE</sup>+8<sup>\*</sup>); 7:Longmai20(7<sup>OE</sup>+8<sup>\*</sup>); M:2000 DNA Marker (100,250,500,750,1000 and 2000 bp)

图 1 小麦品种 Bx7 亚基超量表达基因的分子检测

Fig. 1 Polymorphic test of PCR fragments amplified withBx7<sup>OE</sup> in wheat varieties

表 1 普通小麦品种(系)Bx7<sup>OE</sup> 基因分子标记检测结果  
Table 1 PCR analysis of Bx7<sup>OE</sup> gene in wheat varieties(lines)

编号 Code	品种(系) Varieties(lines)	STS 标记 STS Marker		编号 Code	品种(系) Varieties(lines)	STS 标记 STS Marker	
		标记 1	标记 2			标记 1	标记 2
		Marker 1	Marker 2			Marker 1	Marker 2
1	Glenlea	+	+	65	龙 13-3417	-	-
2	龙麦 10 号	-	-	66	龙 13-3478	-	-
3	龙麦 26	-	-	67	龙 13-3639	-	-
4	龙麦 30	-	-	68	龙 13-3837	-	-
5	龙麦 31	-	-	69	龙 13-5355-2	-	-
6	龙麦 33	-	-	70	龙 13H3209-2	-	-
7	龙麦 35	-	-	71	龙 13H5442-1	-	-
8	龙麦 36	-	-	72	龙 13H5470-2	-	-
9	龙麦 37	-	-	73	龙辐麦 12	-	-
10	龙麦 39	-	-	74	龙辐麦 18	-	-
11	小冰 33(5+10)	-	-	75	龙辐麦 19	-	-
12	克丰 6 号(5+10)	-	-	76	龙辐麦 20	-	-
13	克丰 6 号(7 <sup>OE</sup> +8 <sup>*</sup> )	+	+	77	龙辐 05-431	-	-
14	龙麦 20(7 <sup>OE</sup> +8 <sup>*</sup> )	+	+	78	龙辐 11-243	-	-
15	龙 94-4081	-	-	79	龙辐 13-217	-	-
16	龙 00-0657	-	-	80	龙辐 13-456	-	-
17	龙 02-2523	-	-	81	龙辐 12-244	-	-
18	龙 02MF <sub>2</sub> -2064-1	-	-	82	克涝 2 号	-	-

续表 1 Continuing Table 1

编号 Code	品种(系) Varieties(lines)	STS 标记 STS Marker		编号 Code	品种(系) Varieties(lines)	STS 标记 STS Marker	
		标记 1 Marker 1	标记 2 Marker 2			标记 1 Marker 1	标记 2 Marker 2
19	龙 02MF <sub>2</sub> -2308-1	-	-	83	克涝 3 号	-	-
20	龙 03-3651	-	-	84	克涝 4 号	-	-
21	龙 03-3718-1	-	-	85	克涝 5 号	-	-
22	龙 03M8059-3	-	-	86	克涝 6 号	-	-
23	龙 06-7767	-	-	87	克丰 1 号	-	-
24	龙 07-7721	-	-	88	克丰 2 号	-	-
25	龙 07-7852	-	-	89	克丰 3 号	-	-
26	龙 08-8222	-	-	90	克丰 4 号	-	-
27	龙 09-9109	-	-	91	克丰 5 号	-	-
28	龙 09-9194	-	-	92	克丰 6 号	-	-
29	龙 09-9702	-	-	93	克丰 7 号	-	-
30	龙 09-9738	-	-	94	克丰 8 号	-	-
31	龙 09-9933	-	-	95	克丰 9 号	-	-
32	龙 10-0015	-	-	96	克丰 10 号	-	-
33	龙 10-0455	-	-	97	克丰 11	-	-
34	龙 10-0518	-	-	98	克丰 12	-	-
35	龙 10-0553	-	-	99	克丰 13	-	-
36	龙 10-0629	-	-	100	克旱 1 号	-	-
37	龙 10-0632	-	-	101	克旱 2 号	-	-
38	龙 10-0718	-	-	102	克旱 5 号	-	-
39	龙 10-0760	-	-	103	克旱 7 号	-	-
40	龙 10-0854	-	-	104	克旱 8 号	-	-
41	龙 10F <sub>5</sub> -5017-2	-	-	105	克旱 9 号	-	-
42	龙 10F <sub>5</sub> -5027	-	-	106	新克旱 9 号	-	-
43	龙 11-1017	-	-	107	克旱 10 号	-	-
44	龙 11H1027	-	-	108	克旱 11	-	-
45	龙 11H1262-2	-	-	109	克旱 12	-	-
46	龙 11H1290-2	-	-	110	克旱 13	-	-
47	龙 11H1314-1	-	-	111	克旱 14	-	-
48	龙 12-2026	-	-	112	克旱 15	-	-
49	龙 12-2191	-	-	113	克旱 16	-	-
50	龙 12-2213	-	-	114	克旱 17	-	-
51	龙 12-2242	-	-	115	克旱 18	-	-
52	龙 12-2283	-	-	116	克旱 19	-	-
53	龙 12-2289	-	-	117	克旱 20	-	-
54	龙 12-2444	-	-	118	克旱 21	-	-
55	龙 12-2644	-	-	119	克春 1 号	-	-
56	龙 12-2812	-	-	120	克春 2 号	-	-
57	龙 12-2927	-	-	121	克春 3 号	-	-
58	龙 12-2976	-	-	122	克春 4 号	-	-
59	龙 12H2293-1	-	-	123	克春 5 号	-	-
60	龙 12H5468-2	-	-	124	克春 6 号	-	-
61	龙 13-3065	-	-	125	克春 7 号	-	-
62	龙 13-3329	-	-	126	克春 8 号	-	-
63	龙 13-3369	-	-	127	克春 9 号	-	-
64	龙 13-3410	-	-	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

研究认为,Bx7 亚基超量表达可以显著提高 HMW-GS 和不溶性谷蛋白大聚体的含量,与优良烘烤品质密切相关<sup>[6]</sup>。加拿大和澳大利亚等国已将  $Bx7^{OE}$  基因列为改良小麦加工品质的重要育种目标<sup>[4]</sup>。任妍<sup>[4]</sup>等检测了 163 份中国和 CIM-MYT 小麦品种(系)发现仅 6.7% 小麦品种(系)携带  $Bx7^{OE}$  基因。本研究中只有通过选择性回交转  $Bx7^{OE}$  基因的克丰 6 号( $7^{OE} + 8^*$ )和龙麦 20( $7^{OE} + 8^*$ )携带  $Bx7^{OE}$  基因,东北春麦区其它小麦品种(系)均不携带  $Bx7^{OE}$  基因。为提高我国小麦品种品质应加强利用  $Bx7^{OE}$  基因,发挥其在水麦加工品质改良中的作用。

在育种过程中,可靠的分子标记是分子辅助选择育种的前提。对目的基因的准确鉴定有利于优异基因的选择及聚合。本研究中选用检测  $Bx7^{OE}$  基因的 2 个特异性 STS 标记能够准确鉴定  $Bx7^{OE}$  基因,且两个标记的结果完全一致。表明这 2 个标记可以应用到分子辅助选择育种进程中。

### 参考文献:

- [1] Zhang L L,Zhang Y B,LI J L,et al. Quality differences between NILs of wheat variety Long 97-586 possessing HMW-GS 7+8 and 7[J]. Science China Series C-Life Sciences,2010,53(2): 286-291.
- [2] 金慧,何中虎,李根英,等. 利用 Aroona 近等基因系研究高分子量麦谷蛋白亚基对面包加工品质的影响[J]. 中国农业科学,2013,46(6):1095-1103.
- [3] Zhang P P,Jondiko T O,Tilley M,et al. Effect of high molecular weight glutenin subunit composition in common wheat on dough properties and steamed bread quality[J]. Journal of Food Agricultural,2014,94(13):2801-2806.
- [4] 任妍,梁丹,张平平,等. 中国和 CIMMYT 小麦品种 Bx7 亚基超量表达基因( $Bx7^{OE}$ )的分子检测[J]. 作物学报,2009,35(3): 403-411.
- [5] Ragupathy R,Naem H A,Reimer E,et al. Evolutionary origin of the segmental duplication encompassing the wheat Glu-B1 encoding the overexpressed Bx7( $Bx7^{OE}$ )high molecular weight glutenin subunit[J]. Theor Appl Genet,2007,116(2): 283-296.
- [6] Marchylo B A,Lukow O M,Kruger J E. Quantitative variation in high molecular weight glutenin subunit 7 in some Canadian wheats [J]. Journal of Cereal Science, 1992, 15 (1):29-37.

## Detection of Overexpressed Bx7 Gene ( $Bx7^{OE}$ ) of Wheat Varieties(Lines) in the Northeast Spring Wheat Region by STS Markers

SONG Wei-fu, YANG Xue-feng, 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:** Due to the over-expression of the high molecular weight glutenin subunit (HMW-GS) Bx7, the content of HMW-GS and insolubility glutenin macro-polymer (GMP) were increased. And the gluten strength also was increased significantly. In order to identify the wheat varieties (lines) carrying  $Bx7^{OE}$  gene in the northeast spring wheat region, 127 wheat varieties (lines) were examined by two STS markers. The results showed that only the Kefeng 6 and Longmai20 transferred the  $Bx7^{OE}$  gene by five consecutive backcrosses with biochemical marker assisted selection carried the  $Bx7^{OE}$  gene.

**Keywords:** wheat;  $Bx7^{OE}$  gene; STS marker; marker-assisted selection

## 致 读 者

为适应我国信息化建设,扩大本刊及作者知识信息交流渠道,本刊现被《中国学术期刊网络出版总库》及 CNKI 等系列数据库收录,其作者文章著作权使用费与本刊稿酬一次性给付。如作者不同意文章被收录,请在来稿时声明,本刊将做适当处理。

《黑龙江农业科学》编辑部