

小麦 RIL 群体中 GMP 含量的动态累积和净遗传增量的变化规律

李卫华^{1,2} 许琦¹ 尤明山¹ 徐杰¹ 常成¹ 刘伟² 刘丽² 李保云^{1,*}
刘广田¹

(¹ 中国农业大学/农业部作物基因组学与遗传改良重点开放实验室/北京市作物遗传改良重点实验室,北京 100094;² 石河子大学,新疆石河子 832003)

摘要:以普通小麦京 771 和 Pm97034 及其 175 个重组自交系 RIL(F_2) 后代群体为材料,研究了籽粒灌浆期(花后 12 d、17 d、22 d、27 d 和 32 d)GMP 含量的动态累积规律和各个时期 GMP 的净遗传效应。结果表明,多数 RIL 后代家系 GMP 含量的变化趋势与两亲的变化趋势相一致,呈现“低-高-低-高-高”的规律,即籽粒灌浆初期 GMP 的累积量较低,后逐渐升高,但在花后 22 d 左右又开始下降,出现一个明显的低谷期,然后逐渐上升,成熟期达到最高。不同亚基组合对 GMP 含量累积的影响不尽相同,(1,17+18,5+10)、(N,17+18,5+10)、(1,14+15,5+10)和(N,14+15,5+10)组合的后代家系虽然在整个籽粒灌浆期 GMP 含量的累积变化各不相同,但均于花后 27 d 到 32 d 迅速上升,籽粒成熟期达到最高。若从 GMP 最后的累积量看,这 4 个组合是利于 GMP 含量累积的组合,而 5+10 亚基较其他亚基对 GMP 的累积更为有利。不同发育阶段 GMP 含量条件遗传分析表明,控制 GMP 性状的基因在整个籽粒灌浆期都有表达,大多数后代家系该基因表达在花后 17 d 左右最为活跃,花后 22 d 左右为低谷期,各阶段基因净表达量的变化与 GMP 观测值的变化基本一致。

关键词: 普通小麦;GMP 含量;净遗传增量

中图分类号: S512

Dynamic Changes of GMP Content and Net Genetic Variation in Wheat RIL Population

Li Wei-Hua^{1,2}, XU Qi¹, YOU Ming-Shan¹, XU Jie¹, CHANG Cheng¹, LIU Wei², LIU Li², LI Bao-Yun^{1,*} and LIU Guang-Tian¹

(¹ China Agricultural University/Key Laboratory of Crop Genomics & Genetic Improvement, Ministry of Agriculture/Beijing Key Laboratory of Crop Genetic Improvement, Beijing 100094; ² Shihezi University, Shihezi 832003, Xinjiang, China)

Abstract: The experiment was conducted using 175 recombinant inbred lines (RILs) derived from a cross between common wheat Jing 771 and Pm97034. The results indicated that the GMP content in most RILs was accumulated at low level in early stage of grain filling, then ascended gradually, but descended at about 22 days after anthesis, then ascended continually up to maturity, which was the same as that in their parents. The effects of different subunit combinations on the dynamic changes of GMP content were different. The GMP content in the RILs with (1,17+18,5+10), (N,17+18,5+10), (1,14+15,5+10), (N,14+15,5+10) subunit combinations were quickly accumulated from 27 days to 32 days after anthesis, and up to the highest value at maturity. The four subunits combinations especially the 5+10 subunits were favorable to GMP accumulation. The results of conditional genetic variance components showed that the GMP quantitative genes were expressed from filling to mature, and most active at 17 days after anthesis, while inactive at about 22 days after flowering. The dynamic changes of the GMP net genetic variation were similar to that of GMP content accumulation.

Key words: Common wheat; GMP content; Net genetic variation

基金项目: 国家自然科学基金(30270823, 30471076)和国家高技术研究发展计划(863 计划)(2002AA207003, 2003AA207080)资助。

作者简介: 李卫华(1968-),女,副教授,在读博士生,从事小麦品质遗传改良。E-mail:liweihua1199@tom.com

* 通讯作者(Corresponding author):李保云,从事小麦品质遗传改良研究。E-mail:libaoyun0065@sina.com

Received(收稿日期):2005-03-25; Accepted(接受日期):2005-09-15.

谷蛋白大聚合物(GMP)的含量及其粒度分布与小麦加工品质密切相关。谷蛋白聚合体的粒度分布反映了品种间的遗传差异,不受环境影响,但谷蛋白聚合物含量受 *Glu-1* 位点变异和环境的影响^[1-2]。谷蛋白聚合物对面筋和面包烘烤品质的作用主要是由 GMP 引起的,GMP 的含量反映了谷蛋白的粒度分布情况,与小麦的烘烤品质性状密切相关。国际上的相关研究表明,GMP 与小麦品质关系比高分子量谷蛋白亚基与小麦品质的关系更为密切^[3-5],它能更好地解释面团特性和面包体积的变异^[6-7]。GMP 的含量高,面筋强度增大,弹性增强^[5],面包的烘烤品质变好。一些具有 5 + 10 亚基的品种品质较好在于其 GMP 的含量明显高于具有 2 + 12 亚基的品种^[8-9]。因此,谷蛋白亚基含量和组成都是通过改变 GMP 的含量和分子大小的分布来影响面筋的黏弹性和品质的,传统意义上的优质亚基(或亚基对)为形成较多的 GMP 提供了遗传基础^[10]。有关 GMP 与品质性状间的相关,前人已做了大量研究^[11-13],但对 GMP 在籽粒灌浆期的动态累积规律研究甚少。邓志英等^[14]选用 12 个含有不同高分子量谷蛋白亚基(HMW-GS)的小麦品种(或品系)研究了小麦谷蛋白大聚合体的动态变化,认为在花后 28 d 之前,小麦籽粒 GMP 含量在较低水平上维持着相对恒定的积累速率,从花后 28 d 之后开始快速积累;不同亚基对 GMP 的积累有不同的影响,5 + 10 亚基对 GMP 的积累比 2 + 12 亚基具有更为有利的影响。由于其选用的品种数少,且来源不同,遗传背景不清楚,因此对 GMP 发育动态规律的研究还有待进一步深入。

现代发育遗传学已探明在生物的不同发育阶段,基因是按一定的时空秩序有选择地表达的。朱军^[15]提出的发育数量遗传分析新方法可有效估算不同发育时期的条件遗传方差分量和净遗传效应,已被用于分析棉花单株开花数和单株成铃数^[16]、水稻株高^[17]及小鼠体重和尾长^[18]在不同发育时期的动态变化。本文旨在揭示 GMP 在小麦籽粒灌浆期的动态累积规律和控制 GMP 性状的基因表达及不同发育阶段的净遗传效应,为指导育种和栽培实践提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与种植

供试材料为普通春小麦京 771 和 Pm97034 及其重组自交系后代群体(RILs)。两亲本在分子量谷

蛋白亚基组成和许多品质性状上均存在明显差异。京 771 的 HMW-GS 组成为(1, 17 + 18, 5 + 10), Pm97034 的 HMW-GS 组成为(Null, 14 + 15, 2 + 12),京 771 在 Zeleny 沉淀值、GMP 含量、干湿面筋含量、面筋指数及面粉膨胀势等品质指标上优于 Pm97034。

2004 年春,供试品种种植于石河子大学农学院试验站,随机区组设计,2 次重复,3 行区,行长 1.5 m,小区面积 0.9 m²。生育期间记载抽穗期、开花期,并于花后 12 d 开始取样,每隔 5 d 取 1 次,共取 5 次。每次取样后立即放入 40℃ 烘箱烘 48 h,保存备用。

1.2 制粉

用谷物近红外分析仪(Perten 6200 型 NIR 仪)测定群体内各家系的种子含水量和籽粒硬度,根据种子含水量和籽粒硬度及种子重量,加入适量水,在室温下放置 12 h,调节种子含水量到 14%。用 BRABENDER 公司的实验磨进行磨粉,并过 100 目筛。

1.3 GMP 含量的提取和测定

参考刘丽等^[19]的方法,略作改进。称 0.1 g 的面粉,加 50% 正丙醇 0.8 mL,于室温提取 30 min 并间隔振荡;3 500 × g 离心 3 min,弃上清液,重复提取 2 次。将 50PI (50% 正丙醇不溶性蛋白)沉淀用含 1% DTT 的 50% 正丙醇 0.8 mL 于 60℃ 水浴震荡提取 1 h,11 200 × g 离心 10 min,重复提取 2 次,合并上清液为 50PDS (50% 正丙醇-1% DTT 可溶性蛋白)。取 5 μL 样品上清液(50PDS)加 250 μL 考马斯亮蓝 G-250 试剂,在 ZS-3 全自动板式酶标仪上于 595 nm 波长进行考马斯亮蓝比色,测定吸收值。

1.4 HMW-GS 的测定

HMW-GS 的提取和电泳参考孙辉等^[20]的方法,并用 SDS-PAGE 不连续凝胶电泳系统^[21]。

1.5 数据处理和统计分析

数据整理和相关折线图、柱状图在 EXCEL 中进行绘制。运用浙江大学朱军等的 QGA-Station 软件对 RIL 群体数据进行条件方差分析和净遗传增量的计算^[15]。

根据朱军提出的数量性状发育遗传的遗传模型和统计分析方法,采用 Step 型条件估算($t-1$)→ t 时刻的条件遗传方差,用 Jackknife 数值抽样技术计算方差和协方差分量及标准误。

2 结果与分析

2.1 GMP 含量在 RIL 群体中的动态变化规律

调查了京 771 和 Pm97034 及其 RIL 后代 175 个家系从籽粒灌浆至成熟阶段 GMP 含量的动态变化(图 1)。两亲的 GMP 含量的动态变化趋势基本一致,在整个籽粒灌浆期呈现出“低—高—低—高—高”的变化规律,即籽粒灌浆初期 GMP 的累积量较低,后逐渐升高,但在花后 20 d 左右又开始下降,出现一个明显的低谷期,尔后呈逐渐上升趋势,在成熟期达到最高。在 175 个 RIL 后代家系中,60.0% 其 GMP 变化趋势与两亲一致(图 1,SS1022 家系代表的动态累积趋势,“亲本型”)。说明 RIL 的多数后代家系和两亲有着相似的遗传组成,GMP 的粒度大小和分布与两亲相似。

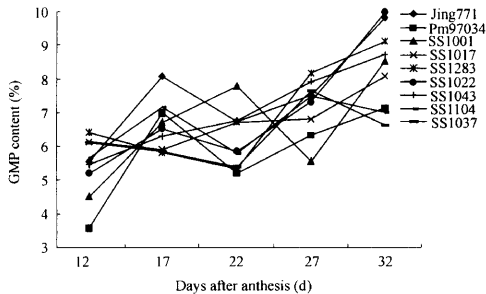


图 1 RIL 群体的亲本及部分后代家系 GMP 含量的动态变化
Fig.1 Dynamic changes of GMP content in RIL population

除此之外,还有部分后代家系 GMP 含量的变化趋势不同于两亲,呈现累积的多样性。图 1 列出了几种主要的变化趋势。其中,11.43% 的后代家系 GMP 含量在籽粒灌浆前期和中期一直呈上升趋势,而中后期,即花后 27 d 左右,有所下降,成熟期又开始上升(图 1,SS1001);14.24% 的后代家系 GMP 含量在整个籽粒灌浆期浮动较大,有的初期含量较低,后波动上升,呈“M”型变化曲线(图 1,SS1104);有的初期含量较高,后波动上升,呈“W”型变化曲线(图 1,SS1017)。4.55% 的后代家系在籽粒灌浆初期 GMP 的累积量较高,随着籽粒灌浆的进行,逐渐下降,到花后 22 d,到达波谷,后又逐渐上升,至后期达最大值(图 1,SS1283);4.0% 的后代家系在籽粒灌浆初期和中后期 GMP 的累积趋势同 SS1283,但后期逐渐下降(图 1,SS1037);还有 6.27% 的后代家系 GMP 含量的累积不同于以上几种方式,籽粒灌浆初期含

量较低,随着籽粒灌浆的进行呈持续上升趋势(图 1,SS1043)。

孙辉等^[2]发现 GMP 含量受 *Glu-1* 位点等位基因变异、亚基相对含量和环境因素等的综合影响。本研究两个亲本在 *Glu-1* 位点上的等位基因完全不同,其 RIL 后代家系有多种不同的亚基组合类型,对 GMP 的累积有一定的影响。同时,在种植中发现 RIL 后代家系的开花期相差较大,虽然都是以花后 12 d 为标准开始取样,但开花较晚的家系由于籽粒灌浆期温度的升高,籽粒灌浆进程缩短,会影响到 GMP 的累积量。因此为进一步了解不同亚基组合及 *Glu-1* 位点的影响,选择了开花期相近,亚基组合相同的后代家系进行 GMP 含量累积规律的探讨。

2.2 不同亚基组合对 GMP 含量累积的影响

两亲本在 *Glu-1* 位点上的等位基因完全不同。京 771 的 HMW-GS 组成为(1, 17 + 18, 5 + 10), Pm97034 为(Null, 14 + 15, 2 + 12),后代有 8 种不同的亚基组合类型,即(1, 17 + 18, 5 + 10)、(N, 17 + 18, 5 + 10)、(1, 14 + 15, 2 + 12)、(N, 14 + 15, 2 + 12)、(1, 17 + 18, 2 + 12)、(N, 17 + 18, 2 + 12)、(1, 14 + 15, 5 + 10)和(N, 14 + 15, 5 + 10)。选择开花期相近,亚基组合相同的后代家系,绘出了 GMP 含量在各时期的累积变化趋势(图 2)。

从图 2 可以看出,虽然各亚基组合间 GMP 含量的累积趋势大体接近,但不同亚基组合又有其积累特点。(1, 17 + 18, 5 + 10)组合(图 2-A)在花后 22 d 和 27 d 左右出现一个低谷期,后逐渐上升,成熟期达到最高;(1, 14 + 15, 2 + 12)组合(图 2-B)花后 22 ~ 27 d GMP 的累积较快,到花后 32 d 部分家系累积较迅速,部分家系累积较慢,甚至出现较上一时期略有降低的现象;(1, 14 + 15, 2 + 12)组合(图 2-C)籽粒灌浆期 GMP 的累积较为平和,花后 17 d 和 27 d 是两次快速累积时期,花后 22 d 是低谷期;(N, 17 + 18, 2 + 12)组合(图 2-E)籽粒灌浆初期 GMP 含量较低且非常接近,花后 17 d 迅速达到峰值后开始下降,花后 22 d 降到低谷,后缓慢上升;(1, 14 + 15, 5 + 10)组合(图 2-F)GMP 含量的积累趋势与(N, 17 + 18, 2 + 12)相似,但 27 d 后家系间渐趋一致;(N, 14 + 15, 5 + 10)组合(图 2-G)各时期家系间 GMP 含量较接近,尤其是花后 22 d 和 32 d;(1, 17 + 18, 2 + 12)组合(图 2-H)花后 17 d 前各家系 GMP 含量接近,动态趋势一致,花后 22 d 以后差异较大,到籽粒灌浆后期变化趋势不尽一致。

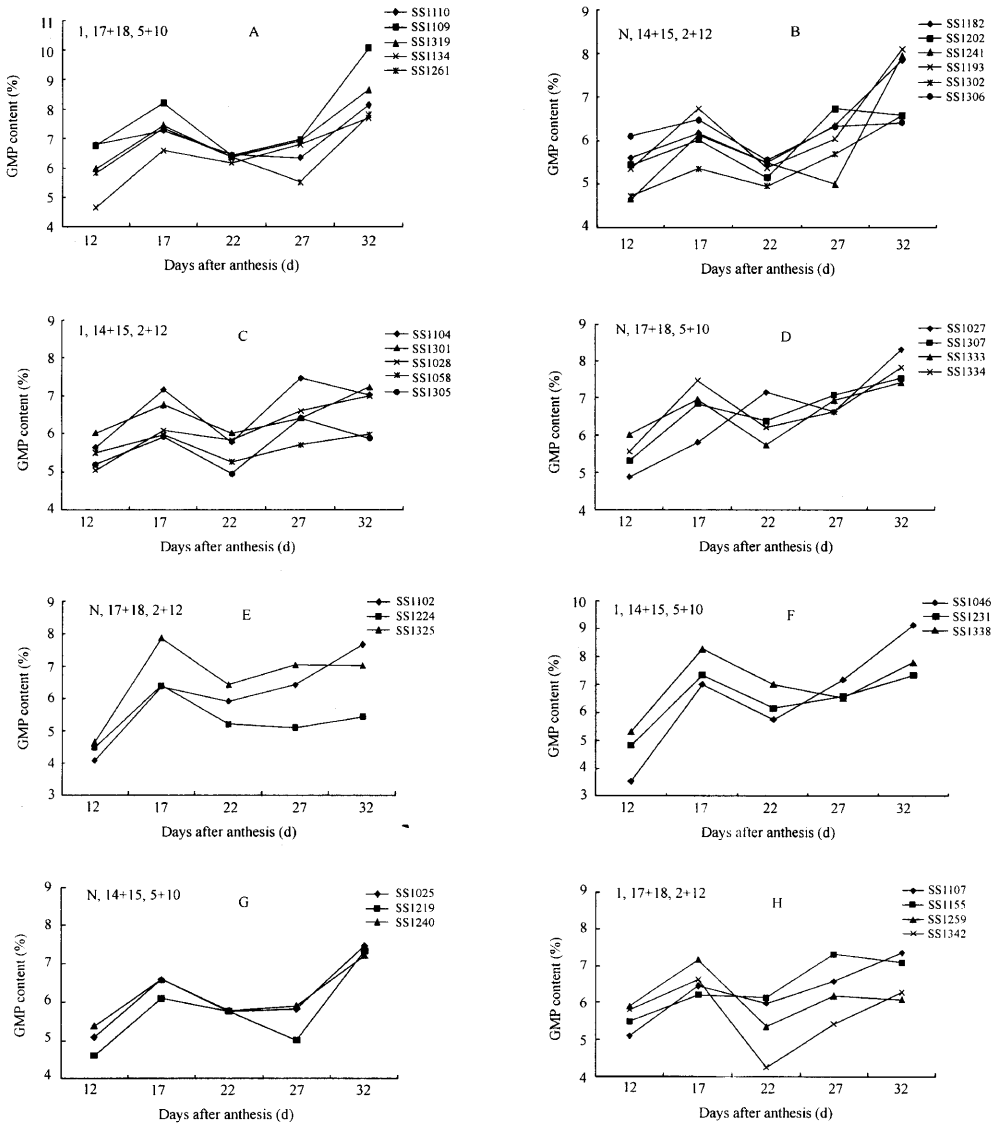


图 2 不同亚基组合 (A-H) 后代家系 GMP 含量的累积变化趋势
Fig.2 Dynamic changes of GMP content among different subunit combinations (A-H)

2.3 GMP 净遗传增量的变化规律

上述不同发育时期 GMP 含量 (表现型值) 实际上是从 GMP 发育起始点到各发育时刻的基因累加表达量大小的估计值, 反映了不同发育时期遗传效应实际累计值的特征。由于发育过程中基因的表达

具有连续性, 特定发育时刻的表现型值与特定发育阶段表现型增量以及前一时刻的表现型值存在相关, 因而对它们的遗传分析不能判断该发育阶段的基因表达, 也无法估计由新基因表达产生的净遗传效应。采用条件遗传方差分析方法能够得到某一性状在一个

特定时期内基因表达的净遗传效应条件方差,可以有效地解释不同发育时期中遗传效应的动态变化,进而明确该性状发育过程中有关基因表达情况。

条件遗传方差分析表明,175 个 RIL 后代家系在各时期均有净遗传效应条件方差,控制 GMP 含量的基因在整个籽粒灌浆时期都有表达,不存在时、空中的间断。图 3 绘出了亲本及几个有代表性后代家系的表现型值和净遗传增量在各测定时期的变化。可以看出,各阶段基因净表达量的变化与 GMP 观测值的变化基本一致,大多数后代家系 GMP 含量的净遗传增量均在籽粒灌浆初期较低,花后 17 d 较高,

而在花后 22 d 左右又开始下降,出现一个明显的低谷,尔后逐渐上升。这种变化暗示了各个时期控制 GMP 表达的基因数量和效应的差异,大多数后代家系在花后 17 d 基因表达量较高,花后 22 d 左右是基因表达相对较弱的一个时期,随灌浆的进行基因表达逐渐加强,到籽粒灌浆后期仍有较高水平的表达(图 3-B, C),这也是 GMP 在籽粒灌浆后期仍有较高累积量的根本原因所在。虽然有部分家系控制 GMP 含量的基因在籽粒灌浆后期的表达水平下降,但由于前一时期的基因表达效应的影响,实际测得的 GMP 累计量仍然是比较高的(图 3-A, D, E, F)。

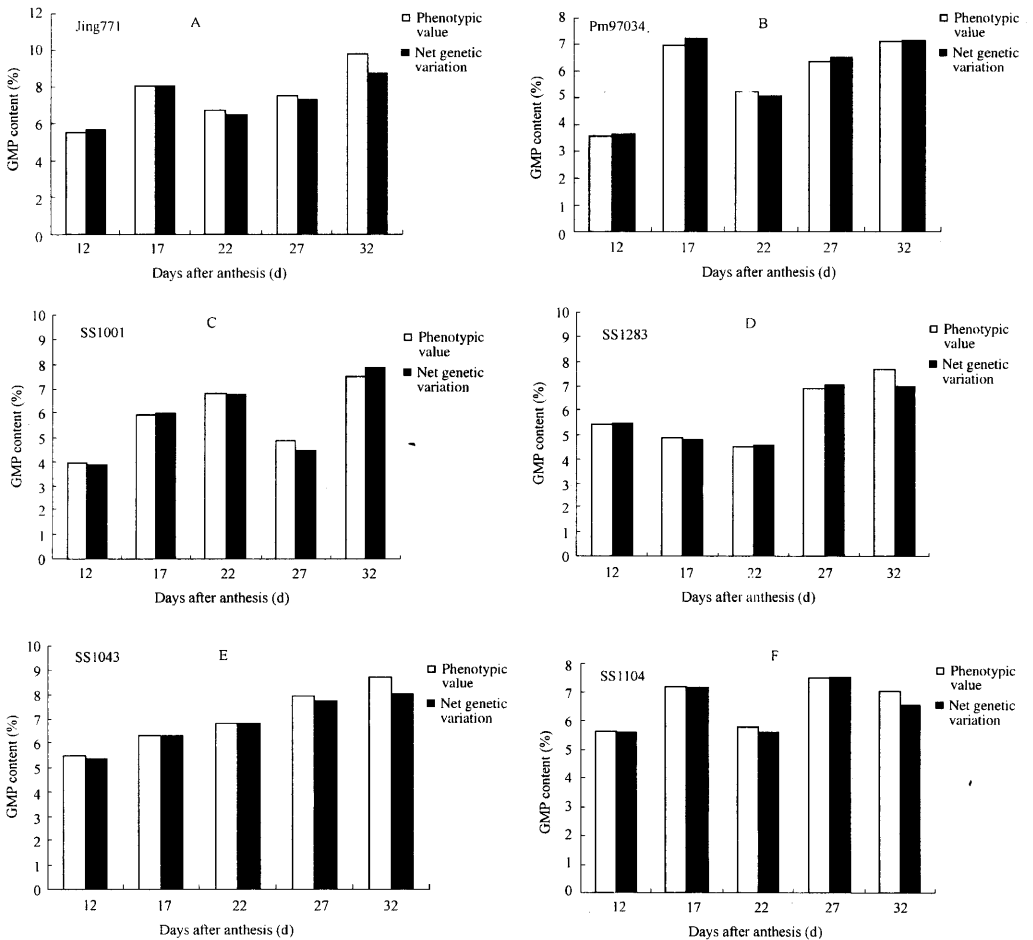


图 3 重组自交系的亲本及部分后代家系 GMP 净遗传增量的动态变化

Fig. 3 Dynamic changes of net genetic variation of GMP content in the parents and some lines of RIL population

3 讨论

本研究选择花后 12 d 开始取样,一方面是由于此时是小麦由籽粒形成至灌浆的转折点,另一方面有研究表明 GMP 在花后 12 d 左右才开始形成^[22]。但从本研究结果来看,花后 12 d 有的 RIL 家系已有较高 GMP 表达量,可能 GMP 的形成是在花后 12 d 之前,且控制 GMP 形成的基因在前期有较高的表达活性。

利用重组自交系群体作为试验材料研究 GMP 含量的动态累积规律,尚属首次。重组自交系群体可以在很大程度上消除遗传背景的干扰,能较为准确地反映后代家系间品质性状的关系。研究表明,多数 RIL 后代家系 GMP 含量的变化趋势与两亲的变化趋势相一致,但有部分后代家系呈现不同于亲本的多样性变化。大多数后代家系在籽粒成熟期 GMP 累积量达到最大值,可能与控制 GMP 性状的基因在籽粒灌浆后期仍有较高水平的表达有关。而大多数后代家系在花后 20 d 左右 GMP 的累积量下降,出现一个明显的低谷期,可能与此阶段淀粉的大量积累有关,它对 GMP 的累积有一定的“稀释”效应。

已有研究报道表明不同 HMW-GS 组合对 GMP 动态积累的影响不同,含有 5 + 10 等优质亚基组合的小麦品种在整个籽粒灌浆期保持较高水平的持续稳定的积累,并且在成熟期积累速率还有所加快^[13]。本研究发现,不同亚基组合对 GMP 含量累积的影响不尽相同,(1, 17 + 18, 5 + 10)、(N, 17 + 18, 5 + 10)、(1, 14 + 15, 5 + 10)和(N, 14 + 15, 5 + 10)组合虽然在整个籽粒灌浆期 GMP 含量的累积变化各不相同,但均在花后 27 d 到 32 d 累积量迅速上升,籽粒成熟期达到最高。若从最后累积量看,这 4 个组合可以认为是利于 GMP 含量累积的组合。其 *Glud-1* 位点上亚基均为 5 + 10,因此可以认为 5 + 10 亚基较其他亚基对 GMP 的累积更为有利。

条件遗传方差分析表明,控制 GMP 含量的基因在整个籽粒灌浆时期都有表达,不存在时、空上的间断。各阶段基因净表达量的变化与 GMP 观测值的变化基本一致,这种变化暗示了各个时期控制 GMP 表达的基因数量和效应存在差异,进一步的研究正在进行中。

致谢:感谢中国农业科学院作物科学研究所陈孝研究员提供的重组自交系群体。

References

[1] Lindsay M P, Skerritt J H. Immuno cytochemical localization of gluten proteins uncovers structural organization of glutenin macropolymer. *J Cereal Chem*, 2000, 77(3): 360-369

- [2] Sun H(孙辉), Yao D-N(姚大年), Li B-Y(李保云), Liu G-T(刘广田), Zhang S-Z(张树臻). Correlation between content of glutenin macropolymer (GMP) in wheat and baking quality. *J Chin Cereals Oils Assoc* (中国粮油学报), 1998, 13(6): 13-16 (in Chinese)
- [3] Kurowska E, Bushuk W. Solubility of flour and gluten protein in a solvent of acetic acid, urea, and cetyltrimethylammonium bromide, and its relationship to dough strength. *Cereal Chem*, 1998, 65:156-158
- [4] Gupta R B, Khan K, MacRitchie F. Biochemical basis of flour properties in bread wheats: I. Effects of variation in the quality and size distribution of polymeric protein. *J Cereal Sci*, 1993, 18:23-41
- [5] Weegel P L, Haner R J, Schofield J D. Functional properties of wheat glutenin. *J Cereal Sci*, 1996, 23:1-18
- [6] MacRitchie F, Cros D L, Wrigley C W. Flour polypeptides related to wheat quality. *Adv Cereal Sci Technol*, 1990, 10:79-145
- [7] Khattar B S, Bell A E, Schofield J D. The dynamic rheological properties of gluteins and gluten subfractions from wheats of good and poor bread-making quality. *J Cereal Sci*, 1995, 22:29-44
- [8] Moonen J H E. Use of the SDS-sedimentation test and SDS-polyacrylamide gel electrophoresis for screening breeders samples of wheat for bread-making quality. *Euphytica*, 2001, 31:667-690
- [9] Popineau Y, Cornec M, Lefebvre J, Marchylo B. Influence of high M, glutenin subunits on glutenin polymers and rheological properties of near-isogenic lines of siccio. *J Cereal Sci*, 1994, 19: 231-241
- [10] Sudesh J, Kavid Schofield J, Amalia. Effect of glutenin subfractions on bread-making quality of wheat. *Int J Food Sci & Tech*, 2001, 36:573-584
- [11] Lu Y, Ma C X. Study on high molecular glutenin subunits changes and processing quality. *J Triticeae Crops* (麦类作物学报), 2000, 20(4): 32-36
- [12] Lafferty J, Lelley T. Introduction of high-molecular-weight glutenin subunit 5 + 10 for the improvement of the bread-making quality of hexaploid Triticale. *Plant Breed*, 2001, 120:33-37
- [13] Nakamura H. The relationship between high-molecular-weight glutenin subunit composition and the quality of Japanese hexaploid wheat lines. *J Agric Food Chem*, 2000, 48:2648-2652
- [14] Deng Z-Y(邓志英), Tian J-C(田纪春), Liu X-P(刘现鹏). Accumulation regularity of protein components in wheat cultivars with different HMW-GS. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2004, 30(5):481-486 (in Chinese with English abstract)
- [15] Zhu J. Analysis of conditional genetic effects and variance components in developmental genetics. *Genetics*, 1995, 141:1633-1639
- [16] Chen Q(陈青), Zhu J(朱军), Wu J-X(吴吉祥). Developmental genetic analysis of boll number and seed cotton yield per plant at different fruiting stages in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *J Zhejiang Agric Univ* (江苏农业大学学报), 1999, 25(2):155-160 (in Chinese with English abstract)
- [17] Yan J, Zhu J, He C, Benmoussa M, Wu P. Molecular dissection of developmental behavior of plant height in rice (*Oryza sativa* L.). *Genetics*, 1998, 150:1257-1265
- [18] Atchley W R, Zhu J. Developmental quantitative genetics, conditional epigenetic variability and growth in mice. *Genetics*, 1997, 147:765-776
- [19] Liu L(刘丽), Zhou Y(周阳), He Z-H(何中虎), Yan J(阎俊), Zhang Y(张艳), Peña R J. Effect of allelic variation at *Glw-1* and *Glw-3* loci on processing quality in common wheat. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2004, 30(11): 1086-1092 (in Chinese with English abstract)
- [20] Sun H(孙辉), Li B-Y(李保云), Zhu J-B(朱金宝). A simple SDS-PAGE procedure for separation of high and low molecular weight glutenin subunits. *J China Agric Univ* (中国农业大学学报), 1998, 3: 19-23 (in Chinese with English abstract)
- [21] Laemmli V K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 1970, 227: 680-685
- [22] Du J-Z(杜金哲), Hu S-L(胡尚连), Li W-X(李文雄), Liu J-H(刘锦红). The relationship between formation time and accumulation intensity of HMW-GS and its quality of spring wheat with different quality. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2003, 29(1): 111-118 (in Chinese with English abstract)