

利用 RIL 群体分析 HMW-GS 对小麦品质性状的量化效应

孙海艳^{1,3} 李斯深^{1,*} 姜鸿明² 范玉顶¹ 李瑞军¹ 赵倩^{2*}

(¹ 山东农业大学农学院, 山东泰安 271018; ² 山东省烟台市农业科学院, 山东烟台 264000; ³ 青岛市种子站, 山东青岛 266071)

摘要 利用重组自交系群体——RIL-8 群体的 131 个系及其亲本为材料, 分析了高分子量麦谷蛋白亚基及亚基组合对 10 个小麦品质性状的量化效应及其差异。结果表明, RIL-8 群体 *GlurA1*、*GlurB1*、*GlurD1* 位点编码的亚基分别为 1、N、7+9、7+8 和 5+10、2+12, 主要存在 7 种亚基组合类型。同一位点不同亚基对面粉吸水率、Zeleny 沉淀值、面团形成时间、稳定时间、公差指数、断裂时间等共 6 个性状均有不同程度的显著影响; 而对蛋白质含量、湿面筋含量、干面筋含量、GMP 含量等 4 个性状无显著影响。7 种不同位点亚基组合对干面筋含量、蛋白质含量没有显著影响, 对湿面筋含量、GMP 含量、Zeleny 沉淀值、面粉吸水率、面团形成时间、稳定时间、公差指数、断裂时间等 8 个性状均有显著影响。表明同一位点不同亚基、不同位点亚基组合对品质性质均具有重要作用。

关键词 小麦; 重组自交系; 高分子量麦谷蛋白亚基; 品质性状

中图分类号: S512

Quantitative Effects of High Molecular Weight Glutenin Subunits (HMW-GS) on Wheat Quality Traits Using the Population of Recombinant Inbred Lines (RIL)

SUN Hai-Yan^{1,3}, LI Si-Shen^{1,*}, JIANG Hong-Ming², FAN Yu-Ding¹, LI Rui-Jun¹, ZHAO Qian²

(¹ College of Agronomy, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, Shandong; ² Yantai Academy of Agricultural Science, Yantai 264000, Shandong; ³ Qingdao Seed Station, Qingdao 266071, Shandong, China)

Abstract The quantitative effects of high molecular weight glutenin subunits (HMW-GS) on 10 wheat quality traits were analyzed using a population of recombinant inbred lines (RIL), RIL-8, which included 131 lines obtained from a cross between Chuan 35050 and Shannong 483. The results showed that the HMW-GS of RIL-8 at *GlurA1*, *GlurB1* and *GlurD1* loci were 1, N; 7+8, 7+9 and 5+10, 2+12, respectively. The effects were significant differences between different subunits at same loci for water absorption, zeleny sedimentation value, dough development time, dough stability time, mixing tolerance index and breakdown time. On the contrary, no significant differences were detected for wet and dry gluten content, protein content and glutenin macropolymer (GMP) content. The influences of 7 different subunit combinations at different loci of RIL-8 were significant differences for water absorption, wet glutenin content, GMP content, zeleny sedimentation value, protein content, dry gluten content, dough development time, dough stability time, mixing tolerance index and breakdown time, but were not significant difference for dry gluten content and protein content. These indicated that the different subunits at same loci and different subunit combinations at different loci have important effects to wheat quality traits.

Key words Common wheat; Recombinant inbred lines; High molecular weight glutenin subunits; Quality traits

高分子量麦谷蛋白亚基 (High Molecular Weight Glutenin Subunit, HMW-GS) 是小麦储藏蛋白的组成

部分, 对面筋的结构和功能起重要作用。前人研究表明^[1,2], HMW-GS 由染色体 1A、1B 和 1D 长臂上的

*基金项目: 山东省科技厅的资助项目。

作者简介: 孙海艳 (1976-), 女, 山东农业大学硕士研究生。*通讯作者: 李斯深 (1963-), 男, 教授, 博士, 主要从事小麦遗传育种和分子生物学研究。E-mail: ssls@sdau.edu.cn

Received (收稿日期): 2002-09-23, Accepted (接受日期): 2003-03-25.

位点控制,分别用 *GluA1*、*GluB1*、*GluD1* 表示,总称为 *Glu-1* 位点。每个位点都有两个紧密连锁的基因,分别控制分子量较高的 x 型亚基和分子量较低的 y 型亚基。从理论上讲,在 SDS-PAGE 电泳图谱上,普通小麦应有 6 条谱带,由于 HMW-GS 部分基因处于沉默或不表达状态,所以不同品种一般含有 3~5 条带,其中受 1D 位点控制的有 2 条,受 1B 位点控制的有 2 条或 1 条,受 1A 位点控制的有 1 条或没有。各位点存在大量的变异,这些位点的变异以及不同亚基组合都会导致小麦加工品质的差异^[3~6]。

自从 Payne 等^[7]首次报道了 HMW-GS 和沉降值的关系以后,国内外对 HMW-GS 与小麦品质性状的关系进行了大量的研究^[4,5,8~13],但不同学者由于选用的材料不同,得出的结论不尽一致^[8,14],大部分学者是采用不同品种或仅以测定少数品质指标如沉降值等为依据来分析各个亚基与小麦品质的相关性。由于不同品种存在大量编码不同亚基的等位基因,这样无法排除遗传背景的干扰及其他亚基的影响,评价具有一定的片面性,也不能进行亚基对品质指标影响的量化分析。

重组自交系 (Recombinant Inbred Lines, RIL) 群体是由 2 个亲本杂交不施加选择而产生的,遗传背景清楚。以 RIL 群体为实验材料,由于其亲本在相同位点上仅存在 1 对等位基因差异,因而可以在很大程度上消除遗传背景的干扰,能够较为准确地反映高分子量麦谷蛋白亚基及其亚基组合对小麦品质的影响,并且可以进行量化分析。因此,本文采用重组自交系群体,分析 HMW-GS 对小麦品质性状的效应,进而为小麦品质改良提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

材料为稳定的 F_8 代重组自交系群体——RIL-8, RIL-8 群体共有 131 个系,其亲本组合为“川 35050 / 山农 483”。2001—2002 年度,将 RIL-8 群体的 131 个系及其亲本在山东泰安(黄淮冬麦区)和烟台(北方冬麦区)两地种植。收获后两地种子等量混合,测定品质性状。

1.2 品质性状测定方法

用 Brabender Quadrumat Junior Laboratory Mill 根据 AACC26-21 方法进行磨粉。蛋白质含量按 AACC39-10 近红外反射法 (NIR) 方法测定。麦谷蛋

白大聚合物 (GMP) 含量参照 Weegels^[6] 提出的方法,并稍加改进。干、湿面筋含量按 GB/714607-93/GB/714606-93 方法进行测定。Zeleny 沉降值按 AACC56-61 方法测定。粉质仪参数利用 Brebender 公司生产的 810104 型粉质仪按 AACC54-21 方法进行测定。

1.3 电泳分析

HMW-GS 电泳采用 SDS-PAGE,按 Singh and Shepherd^[15]的方法进行。根据 Payne and Lawrence^[16]的方法命名亚基。

1.4 统计分析方法

根据 *GluA1*、*GluB1*、*GluD1* 位点的等位基因控制的 HMW-GS 类型将 RIL 群体不同的系分组,按组求品质性状的平均数,该平均数即为不同亚基对品质性状的效应值,用相同位点不同亚基的平均数之差来表示该位点不同的亚基对品质性状效应值的差异大小,采用 *t* 检验检测效应值差异的显著性。同时,按不同位点的亚基组合类型进行分组,求组内平均数,用 LSD 法比较不同亚基组合对品质性状的效应值差异。采用 SAS 统计软件进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 RIL 群体的 HMW-GS 类型

根据 SDS-PAGE 电泳结果,亲本川 35050 和山农 483 的 HMW-GS 类型分别为 1、7+9、5+10 和 N、7+8、2+12。因此, RIL-8 群体在 *GluA1*、*GluB1*、*GluD1* 位点的亚基差别为 1、N、7+9、7+8 和 5+10、2+12。群体中不同位点的 HMW-GS 组合方式主要有 7 种类型(表 1):(1, 7+8, 2+12)、(N, 7+8, 2+12)、(1, 7+9, 2+12)、(1, 7+8, 5+10)、(1, 7+9, 5+10)、(N, 7+9, 2+12)、(N, 7+8, 5+10)。

亚基组合类型中,(1, 7+8, 2+12)与(N, 7+8, 2+12)仅在 1A 位点存在差异,而其他位点完全相同;同样,(1, 7+9, 2+12)与(1, 7+8, 2+12)、(1, 7+8, 2+12)与(1, 7+8, 5+10)分别在 1B 和 1D 位点存在差异(表 1)。因此用其进行相同位点不同亚基对品质性状效应值的估算。

2.2 同一位点不同亚基对小麦品质性状的效应

同一位点不同亚基对小麦品质性状的效应值列入表 2(参见表 2)。

由表 2 可知, *Glu-1* 的 3 个位点不同亚基在蛋白质含量、湿面筋含量、干面筋含量和 GMP 含量等 4 个性状上差异均没有达到显著水平。

对于 Zeleny 沉淀值, *GluD1* 位点 5+10 亚基的

表 1 RIL-8 亚基组合和不同位点亚基的类型

Table 1 The types of subunit combinations at different loci and different subunits at same loci for RIL-8

亚基组合 Subunit combinations	系的数目 Numbers of lines	位点 Site	亚基 Subunits	系的数目 Numbers of lines
1, 7+8, 2+12	21		1, 7+8, 2+12	21
1, 7+8, 5+10	16	<i>GluA1</i>	N, 7+8, 2+12	23
1, 7+9, 2+12	34		1, 7+9, 2+12	34
1, 7+9, 5+10	8	<i>GluB1</i>	1, 7+8, 2+12	21
N, 7+8, 2+12	23		1, 7+8, 2+12	21
N, 7+8, 5+10	12	<i>GluD1</i>	1, 7+8, 5+10	16
N, 7+9, 2+12	7			

效应值比 2+12 亚基高 3.00 mL, 达 0.05 显著水平。*GluA1* 位点 1 亚基比 N 亚基高 2.06, 接近于 0.05 显著水平。

粉质仪参数的效应值受 *Glu-1* 等位变异影响较大。在 *GluA1* 位点, 1 亚基对面团形成时间、面团稳定时间和断裂时间的效应值显著高于 N 亚基, 其差值分别为 0.60、1.02、1.24。而 1 亚基公差指数的效应值显著低于 N 亚基, 其差值为 17.91; 在 *GluB1* 位点, 7+8 亚基公差指数的效应值显著低于 7+9 亚

基, 其差值为 14.95。7+8 和 7+9 亚基对其余参数的效应值差异均不显著; 在 *GluD1* 位点, 5+10 亚基对面团形成时间、面团稳定时间和断裂时间的效应值都显著高于 2+12 亚基, 其差值分别为 1.54、1.63、2.13。而 5+10 亚基的面粉吸水率效应值显著低于 2+12 亚基, 其差值为 0.91。5+10 和 2+12 亚基对公差指数效应值差异不显著。

不同位点亚基差异对面团形成时间、面团稳定时间、断裂时间的效应值差异大小(绝对值, 下同)均为: $[(5+10) - (2+12)] > (1-N) > [(7+9) - (7+8)]$; 而对公差指数的效应值差异大小为: $(1-N) > [(7+9) - (7+8)] > [(5+10) - (2+12)]$ 。

综上所述, 不同亚基对有关蛋白质含量性状没有影响, 而对有关加工品质性状影响显著。5+10 亚基和 1 亚基相对于 2+12 亚基和 N 亚基具有增加 Zeleny 沉淀值、延长面团形成时间、面团稳定时间和断裂时间的作用, 进而改善面粉加工品质, 是优质亚基, 尤以 5+10 为好; 7+8 亚基和 7+9 亚基只对公差指数有明显影响, 对加工品质的作用较小。

2.3 不同位点亚基组合对小麦品质的效应

各个亚基组合对小麦品质的效应及其差异分析列入表 3。由表 3 可见:

表 2 *Glu-1* 位点不同等位基因对面粉理化特性的效应Table 2 The effects of different alleles at *Glu-1* loci for traits of flour physicochemical property

性状 Trait	<i>GluA1</i>				<i>GluB1</i>			<i>GluD1</i>	
	1	N	1-N	7+9	7+8	(7+9) - (7+8)	5+10	2+12	(5+10) - (2+12)
蛋白质含量 (%) Protein content	12.96	12.97	- 0.01	12.86	12.96	- 0.1	13.15	12.96	0.19
湿面筋含量 (%) Wet gluten content	35.84	35.70	0.14	36.10	35.84	0.26	33.71	35.84	- 2.13
干面筋含量 (%) Dry gluten content	11.20	11.32	- 0.12	11.33	11.20	0.13	11.00	11.20	- 0.20
GMP 含量 (%) GMP content	5.71	5.46	0.25	5.35	5.71	- 0.33	6.03	5.71	0.32
Zeleny 沉淀值 (mL) Zeleny sedimentation value	31.16	29.10	2.06	30.75	31.16	- 0.41	34.16	31.16	3.00 *
面粉吸水率 (%) Flour water absorption	61.64	61.33	0.31	61.94	61.64	0.30	60.73	61.64	- 0.91 *
面团形成时间 (min) Dough development time	3.97	3.37	0.60 ***	3.82	3.97	0.17	5.51	3.97	1.54 ***
面团稳定时间 (min) dough stability time	4.13	3.11	1.02 ***	3.51	4.13	- 0.62	5.76	4.13	1.63 ***
公差指数 (F.U.) Mixing tolerance index	63.05	80.96	- 17.91 **	78.20	63.05	14.95 *	53.94	63.05	- 9.11
断裂时间 (min) Breakdown time	6.59	5.35	1.24 ***	5.88	6.59	- 0.71	8.72	6.59	2.13 ***

注 (Note): *, $P=0.05$; **, $P=0.01$; ***, $P=0.001$.

表3 不同亚基组合对面粉理化特性的效应

Table 3 The effects of different subunit combinations for traits of flour physicochemical property

性状 Trait	亚基组合 Subunit combinations							
	1, 7+8, 2+12	N, 7+8, 2+12	1, 7+9, 2+12	1, 7+8, 5+10	1, 7+9, 5+10	N, 7+9, 2+12	N, 7+8, 5+10	
蛋白质含量(%) Protein content	12.96 a	12.97 a	12.84 a	13.15 a	12.59 a	12.76 a	13.01 a	
湿面筋含量(%) Wet gluten content	35.84 ab	35.70 ab	36.10 a	33.71 b	35.86 ab	35.32 ab	34.38 ab	
干面筋含量(%) Dry gluten content	11.20 a	11.32 a	11.33 a	11.00 a	11.48 a	11.33 a	11.12 a	
GMP含量(%) GMP content	5.71 ab	5.46 ab	5.35 b	6.03 a	5.68 ab	4.84 c	5.59 ab	
Zeleny 沉淀值(mL) Zeleny sedimentation value	31.16 bcd	29.10 d	30.75 cd	34.16 a	33.70 ab	25.00 e	32.33 abc	
面粉吸水率(%) Flour water absorption	61.64 ab	61.33 ab	61.94 a	60.73 b	61.73 ab	61.01 ab	61.18 ab	
面团形成时间(min) Dough development time	3.97 b	3.37 bc	3.82 bc	5.51 a	6.12 a	2.96 c	5.39 a	
面团稳定时间(min) Dough stability time	4.13 bc	3.11 d	3.51 cd	5.76 a	6.30 a	2.46 d	5.04 ab	
公差指数(F. U.) Mixing tolerance index	63.05 c	80.96 b	78.20 b	53.94 c	53.78 c	120.25 a	59.08 c	
断裂时间(min) Breakdown time	6.59 b	5.35 c	5.88 bc	8.72 a	9.38 a	4.34 c	8.22 a	

注:不同字母表示 $P=0.05$ 水平差异显著性。Notes: Different letters mean significant difference at $P=0.05$ level.

各亚基组合对蛋白质含量和干面筋含量的效应值无显著差异。对湿面筋含量, (1, 7+8, 5+10) 亚基组合显著低于 (1, 7+9, 2+12)。其余亚基组合则差异不显著。从 GMP 含量来看, (1, 7+8, 5+10) 亚基组合的 GMP 含量效应值最高, (1, 7+9, 2+12) 次之, (N, 7+9, 2+12) 最低, 三者差异显著。

各亚基组合间 Zeleny 沉降值的效应值差异较大。(1, 7+8, 5+10) 亚基组合最高, (N, 7+8, 2+12) 较低, (N, 7+9, 2+12) 最低, 三者间差异显著。(1, 7+8, 2+12)、(N, 7+8, 2+12) 和 (1, 7+9, 2+12) 亚基组合间差异不显著, (N, 7+8, 5+10)、(1, 7+8, 5+10) 和 (1, 7+9, 5+10) 间差异也不显著, 且后者(含 5+10 的亚基组合)对 Zeleny 沉降值的贡献显著大于前者(含 2+12 的亚基组合)。

对面粉吸水率, (1, 7+9, 2+12) 亚基组合效应值显著高于 (1, 7+8, 5+10), 其余亚基组合吸水率效应差异不显著。对面团形成时间, (1, 7+8, 5+10)、(1, 7+9, 5+10)、(N, 7+8, 5+10) 亚基组合间效应无显著差异, 且较高; (1, 7+8, 2+12) 较低, (N, 7+9, 2+12) 最低, 上述 3 组之间差异显著。(1, 7+8, 5+10)、(1, 7+9, 5+10) 亚基组合面团稳定时间效应值显著高于 (1, 7+8, 2+12)、(N, 7+8, 2

+12)、(1, 7+9, 2+12) 和 (N, 7+9, 2+12)。对于公差指数, (N, 7+9, 2+12) 亚基组合较高, (N, 7+8, 2+12)、(1, 7+9, 2+12) 次之, (1, 7+8, 2+12)、(1, 7+8, 5+10)、(1, 7+9, 5+10)、(N, 7+8, 5+10) 最低, 上述 2 组间差异显著。对于断裂时间, (1, 7+8, 5+10)、(1, 7+9, 5+10)、(N, 7+8, 5+10) 亚基组合的效应值最高, (1, 7+8, 2+12) 次之, (N, 7+8, 2+12)、(N, 7+9, 2+12) 最低, 上述 3 组间差异显著。

此外, (1, 7+8, 5+10)、(1, 7+9, 5+10)、(N, 7+8, 5+10) 亚基组合的面团形成时间、面团稳定时间和断裂时间效应值均较高, 其公差指数则较低。(N, 7+9, 2+12) 和 (N, 7+8, 2+12) 则具有与其相反的趋势。这进一步表明了 5+10 亚基对粉质仪参数的重要作用。

3 讨论

本文利用 RIL 群体研究了 HMW-GS 对 10 个品质性状的影响。由于 RIL 群体的遗传背景清楚, 同一位点仅涉及 2 个等位基因(2 种亚基或亚基组合)差异, 因此可以分析同一位点不同亚基间的效应值差异, 实现了不同亚基对品质性状的作用大小的量

化分析。

本文结果表明,同一位点不同亚基对品质性状具有明显的影响。同一位点不同亚基对面粉理化特性影响较小,在湿面筋含量、干面筋含量、GMP 含量、蛋白质含量等性状上相差不显著;但 *GlurD1* 位点编码的 5 + 10 和 2 + 12 亚基在面粉吸水率和 Zele-ny 沉降值效应存在明显差异。同一位点不同亚基对面团流变学特性指标上影响较大,在面团形成时间、稳定时间、公差指数和断裂时间等性状均有 2 个位点差异达显著或极显著水平;从 *GlurA1*、*GlurB1*、*GlurD1* 等 3 个不同位点来看,以 5 + 10 和 2 + 12 亚基对品质性状的影响最明显,其次是 1 和 N 亚基,7 + 9 和 7 + 8 最小。RIL-8 群体的 7 种不同位点的亚基组合,在干面筋含量、蛋白质含量上没有显著差异,其他 8 个性状包括面粉理化特性和面团流变学特性均有显著差异。这表明同一位点不同亚基和不同位点亚基组合对品质性状具有重要作用。与前人的 HMW-GS 和品质性状间相关分析结果相比,其趋势基本一致^[8,17~19]。

References

- [1] Anderson O D, Greene F G. The characterization and comparative analysis of high molecular weight glutenin genes from genomes A and B of a hexaploid bread wheat. *Theor Appl Genet*, 1989, **77**: 689—700
- [2] Payne P I, Holt L M, Worland A G. Structure and genetical studies on the high molecular weight subunits of glutenin. *Theor Appl Genet*, 1982, **63**: 129—138
- [3] Alvarez J B, Martin A, Martin L M. Allelic variation of the D prolamin subunits encoded at the Hth genome in a collection of primary hexaploid tritordeums. *Theor Appl Genet*, 1999, **99**: 296—299
- [4] Bronneke V, Zimmermann G, Killermann B. Effect of high molecular weight glutenins and D-zone gliadins on bread-making quality in German wheat varieties. *Cereal Research Communications*, 2000, **28** (1—2): 187—194
- [5] Wieser H, Zimmermann G. Importance of amounts and proportions of high molecular weight subunits of glutenin for wheat quality. *Eur Food Res Technol*, 2000, **210**: 324—330
- [6] Weegels P L, van de Pijpekamp A M, Gaveland A, Hamer R J, Schofield J D. Depolymerisation and repolymerisation of wheat glutenin during dough processing. Relationship between glutenin macropolymer content and quality parameters. *J Cereal Sci*, 1996, **23**: 103—111
- [7] Payne P I, Colfield K G. Subunit composition of wheat glutenin proteins isolated by gel filtration in a dissociating medium. *Planta*, 1979, **145** (1): 83—88
- [8] Li B-Y (李保云), Wang Y-G (王岳光), Liu F-M (刘凤鸣), Sun H (孙辉), Liu G-T (刘广田). Relationships between high molecular weight glutenin subunits (HMW-GS) and quality traits in wheat. *Acta Agronomica Sinica* (作物学报), 2000, **26** (3): 322—326
- [9] Brites C, Carrillo T M. Influence of high molecular weight and low molecular weight glutenin subunits controlled by *Glur1* and *Glur3* loci on durum wheat quality. *Cereal Chemistry*, 2001, **78** (1): 59—63
- [10] Hliiger L A, Suatez E Y, Afiandra D L. Relationships between wheat high molecular weight quality subunits compositions, 1RS translocations and SDS sedimentation volume. *J Genet & Breed*, 1998, **52**: 271—279
- [11] Cornish GB, Bekes F, Allen H M, Martin D J. Flour proteins linked to quality traits in an Australian doubled haploid wheat population. *Australian Journal of Agricultural Research*, 2001, **52**: 11—12, 1339—1348
- [12] Altenbach S B, Kothari K M, Lieu D. Environmental conditions during wheat grain development alter temporal regulation of major gluten protein genes. *Cereal Chemistry*, 2002, **79** (2): 279—285
- [13] Uthayakumaran S, Beasley H L, Stoddard F L, Keentok M, Phan Thien N, Tanner R I, Bekes F. Synergistic and additive effects of three high molecular weight glutenin subunit loci. Effects on wheat dough rheology. *Cereal Chemistry*, 2002, **79** (2): 294—300
- [14] Zhao Y-M (赵友梅), Wang S-J (王淑俭). The application of HMW glutenin subunits in the study of wheat baking quality property. *Acta Agronomica Sinica* (作物学报), 1990, **16** (3): 208—218
- [15] Singh N K, Shepherd K W. A simplified SDS-PAGE procedure for separation LMW subunits of glutenin. *J Cereal Sci*, 1991, **14**: 203—208
- [16] Payne P L, Lawrence. Catalogue of alleles for the complex gene loci, *GlurA1*, *GlurB1* and *GlurD1*, which code for high-molecular-weight subunits of glutenin in hexaploid wheat. *Cereal Research Communications*, 1983, **11** (1): 29—35
- [17] Luo C, Griffin W B, Branlard G, McNeil D L. Comparison of low and high molecular-weight wheat glutenin allele effects on flour quality. *Theor Appl Genet*, 2001, **102** (6/7): 1088—1098
- [18] Lafferty J, Lelley T. Introduction of high molecular weight glutenin subunits 5 + 10 for the improvement of the bread-making quality of hexaploid triticales. *Plant Breed*, 2001, **120** (1): 33—37
- [19] Bustos A, Rubio P, Jouve N. Molecular characterization of the inactive allele of the gene *GlurA1* and the development of a set of AS-PCR markers for HMW glutenins of wheat. *Theor Appl Genet*, 2000, **100** (7): 1085—1094