

野生大麦与青稞高分子量谷蛋白亚基遗传变异研究*

张梅妞,张怀刚*,蔡联炳,陈志国

(中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810001)

摘要: 通过 SDS-PAGE 方法对 33 份青稞 I 组和 5 份野生大麦 H 组染色体编码的高分子量谷蛋白亚基 (HMW-GS) 的多态性进行了研究。结果表明 I 组和 H 组染色体编码的 HMW-GS 亚基之间存在带型差异, I 组高分子量谷蛋白亚基存在两种带型, 一种接近 7 亚基上部, 一种接近 7 亚基下部, H 组内部只有一种带型, 靠近 10 亚基。因此, 要改进青稞的面筋品质现状, 应在青稞中引入新的优质 HMW-GS 亚基的变异类型。

关键词: 青稞; 野生大麦; 高分子量谷蛋白亚基; 遗传变异; 品质

中图分类号: S512.3

文献标识码: A

文章编号: 1004-1389(2007)01-0107-04

Genetic Variation of High-molecular-weight Glutenin Subunits in Wild Barley and Highland Barley

ZHANG Mei-niu, ZHANG Huai-gang*, CAI Lian-bing and CHEN Zhi-guo

(Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China)

Abstract: Variation in the electrophoretic banding patterns of high-molecular-weight glutenin subunits (HMW-GS) of 33 highland barley varieties and 5 wild barley entries were examined by sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE). The results indicated that the variation of HMW-GS was different between wild barley and highland barley. Two types of HMW-GS were identified in highland barley. One banding is close to the upside of 7 glutenin subunit in wheat and the other is below the 7 glutenin subunit. There was only one type of HMW-GS found in 5 wild barley entries similar to the 10 band in wheat. So we should introduce new and good types of HMW-GS to improve highland barley gluten.

Key words: Highland barley; Wild barley; HMW-GS; Genetic variation; Quality

栽培裸大麦(青稞)是我国青藏高原的一种重要粮食作物。青稞为禾本科大麦属作物,具耐寒、耐旱和早熟的特性,适宜生长在寒冷、干旱、无霜期短的青藏高原。青稞营养丰富,属于“三高二低富硒”粮食,“三高”指的是高蛋白、高纤维和高维生素,“二低”指的是低脂肪和低热量,“富硒”指的是硒含量适中。青稞的蛋白质含量变异范围大,富含赖氨酸和可溶性纤维,能直接或间接的抑制人体血清胆固醇的积累,适量食用有利于身体健康。随着人们饮食观念的转变,大力提倡绿色健

康食品,青稞食品也越来越受到人们的青睐,但由于青稞面筋含量低,从而限制了青稞面粉的应用^[1,2]。如果能提高面筋含量与质量,将青稞加工成口感好易吸收的食品,其利用空间将会大大拓宽。高分子量谷蛋白亚基(HMW-GS)在小麦面筋形成和食品加工中起着重要作用^[3,4]。研究发现青稞含有4种主要蛋白组分,并且含量比例与小麦的蛋白质组成基本相符^[5],而关于青稞和野生大麦的HMW-GS组成未见报道过。因此,进一步了解青稞及其近缘种野生大麦的HMW-

* 收稿日期:2006-03-31 修回日期:2006-09-04

基金项目:中国科学院“西部之光”联合学者计划项目;中国科学院西北高原生物研究所知识创新工程领域项目(CXL Y-2002-6)资助。

作者简介:张梅妞(1974—),女,硕士,助理研究员,主要从事小麦品质遗传研究。

* 通讯作者:张怀刚,电话:0971-6143630; E-mail: hgzhang@nwipb.ac.cn

GS的组成特征,将会为改良青稞面粉的品质,综合利用青稞面粉提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

青稞材料来自青海、西藏、四川等地区,共33份(表1),2005年两行区种于西宁市西北高原生

物所内试验地。野生大麦5份来自中国科学院西北高原生物研究所,其中小药大麦 *H. roshevitzii* 和布顿大麦 *H. bogdanii* 为2002年野外采集,短芒大麦 *H. brevisubulatum*、平展大麦 *H. depressum* 和硕穗大麦 *H. procerum* 为1993年野外采集。为了便于与普通小麦 HMW-GS 比较,以中国春和稳定品系作参照。

表1 33份青稞供试材料

Table 1 33 barley varieties (lines) used in this experiment

编号 No	品种(系) Variety (line)	产地 Production area	来源 Source	编号 No	品种(系) Variety (line)	产地 Production area	来源 Source
1	95H2-29-5-4-6	青海海北州	海北州农科所	18	91-88-5-4-1	青海海北州	海北州农科所
2	95H2-29-7-2-3	青海海北州	海北州农科所	19	昆仑1号	青海西宁	青海省农科院
3	88凡34-31	青海海北州	海北州农科所	20	昆仑164	青海西宁	青海省农科院
4	91-13-15-53A	青海海北州	海北州农科所	21	北青2号	青海海北州	青海省农科院
5	95H1-29-5-6-6	青海海北州	海北州农科所	22	北青3号	青海海北州	青海省农科院
6	88凡45-1	青海海北州	海北州农科所	23	B YD-V3	青海西宁	青海省农科院
7	91凡21	青海海北州	海北州农科所	24	福8-4	青海西宁	青海省农科院
8	98006(兰)	青海海北州	海北州农科所	25	2003-1	西藏林芝地区	西北高原生物所
9	911-71	青海海北州	海北州农科所	26	2003-2	西藏尼木县	西北高原生物所
10	95H-29-7-2-5	青海海北州	海北州农科所	27	2003-3	西藏拉萨市	西北高原生物所
11	91-41	青海海北州	海北州农科所	28	2003-4	西藏日喀则	西北高原生物所
12	92予28	青海海北州	海北州农科所	29	2003-5	西藏山南地区	西北高原生物所
13	93H2-28-2	青海海北州	海北州农科所	30	2002-39	四川阿坝州	阿坝州农科所
14	94H2-23	青海海北州	海北州农科所	31	2002-43	四川阿坝州	阿坝州农科所
15	89003黄A	青海海北州	海北州农科所	32	2002-41	四川阿坝州	阿坝州农科所
16	92-32	青海海北州	海北州农科所	33	江孜嘎拉兰	四川阿坝州	阿坝州农科所
17	88凡34-2	青海海北州	海北州农科所				

1.2 试验方法

HMW-GS的多态性检测用十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)法^[6,7]。样品的提取,根据种子的大小,青稞和小麦种子一般取1/3左右,野生大麦种子取2~3个,粉碎后装入Enphendrof管中,加入120 μL样品提取液(双蒸水4.0 mL,0.5 mol/L Tris-HCl(pH=6.8)1.0 mL,10% SDS(w/v)1.6 mL,丙三醇0.8 mL,-巯基乙醇0.4 mL,0.05%(w/v)溴酚蓝0.2 mL),室温浸提1 h,并不时震荡,然后在100℃水浴保温浸提4 min,冷却后在15 000 r/min,4℃离心15 min,放冰箱中备用。点样前再离心5 min;每个样品加15 μL于样品槽孔内,用10%的分离胶和3.5%的浓缩胶电泳,对照中国春,4℃碱性条件下恒流电泳,用20 mA电流/胶;固定、染色和脱色,染色液(按冰醋酸:甲醇:水为1:4:5比例配制,考马斯亮蓝R250浓度为1%);照相。电泳仪为北京六一仪器厂生产的DYY-III6B型电泳仪。

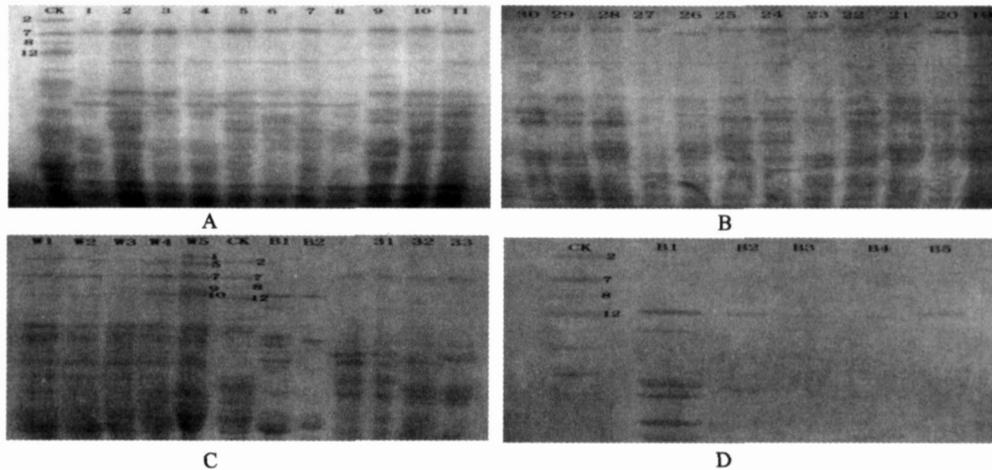
2 结果与分析

2.1 青稞I组染色体编码的HMW-GS亚基谱带组成分析

从图1-A,1-B电泳图谱上可以看出,33份青稞材料中仅出现了2种带型,每个材料仅含有一条HMW-GS谱带,除一份编号为26来自西藏尼木县的弱冬性青稞材料的带型略偏下外,其它32份材料带型基本一致,这说明青稞I组染色体编码的HMW-GS比较单一。在小麦品质研究中表明HMW-GS在小麦面筋形成中起着重要作用,高分子量谷蛋白带型及含量直接影响到小麦面筋的质量,目前国内外小麦品质育种中,引入新型优质HMW-GS已成为育种的重要目标。青稞是青藏高原的特有作物,青稞食品带有浓厚的民族文化气息,作为食品主要用于做糌粑,青稞产品的开发主要用于酿酒业和-葡聚糖的生产,青稞面粉食品加工品质的研究相对较少,对青稞蛋白质组分的研究也比较少而浅。本研究表明青稞含有高分子量谷蛋白亚基,但其带型比较单一,缺少遗传多样性,这条高分子量谷蛋白亚基谱带也是青稞

的特征性谱带,笔者认为青稞的高分子量谷蛋白特性有可能是导致青稞面筋少而差的一个主要因素。要改进青稞面筋含量和质量,提高其食品加工品质,应在青稞中发现和引进新的高分子量谷

蛋白亚基类型和外源基因,增加其高分子量谷蛋白质亚基的多样性,引入新的变异类型,对提高青稞面筋数量将会有一定的帮助。



CK:中国春; 1~33:材料编号(表1); B1~B5:依次为布顿大麦、小药大麦、硕穗大麦、平展大麦和短芒大麦; W1~W5:小麦品系。
CK: Chinese spring; 1~33: mean the material tested in the experiment described in Table 1; B1~5: H. bogdanii, H. roshevitz, H. procerum, H. depressum and H. brevisubulatum; W1~5: wheat advanced strains

图1 HMW-GS的SDS-PAGE电泳图谱

Fig. 1 SDS-PAGE analysis of HMW-GS banding patterns

2.2 青稞、野生大麦 I、H 组和小麦 A、B 和 D 组编码的 HMW-GS 亚基谱带比较

从图 1-C, 1-D 电泳图谱上可以看出,青稞 I 组染色体和野生大麦 H 组染色体编码的高分子量谷蛋白亚基带型存在较大差异,青稞 I 组染色体编码的谱带迁移率接近普通小麦的 7 亚基,带较宽,色淡,而野生大麦 H 组染色体编码的谱带迁移率接近普通小麦的 10 亚基,带型较深。从电泳结果看青稞的亚基带型较单一,野生大麦也仅一条 HMW-GS 亚基谱带,但此带与青稞的谱带存在大小差异,从而说明高分子量谷蛋白亚基在青稞和野生大麦间存在种间差异。10 亚基在普通小麦中表现为优质亚基,对强筋粉的形成有着重要作用。而野生大麦的高分子量谷蛋白亚基品质表现如何?是否有利于面筋的形成?这些需进一步深入研究。

普通小麦的 HMW-GS 谱带较多,种类也较复杂,许多研究认为小麦 HMW-GS 的带的多少、带型的种类和组成对小麦面筋强度和面粉的加工品质有着重要作用,其原因是谷蛋白亚基之间通过二硫键相互作用,构成谷蛋白聚合体,谷蛋白聚合体在面筋形成中起着重要作用^[8]。小麦高分子量谷蛋白亚基的合成受位于 A 组, B 组和 D 组第一部分同源群染色体长臂上的基因所控制,统称

Glu-1 位点。青稞的 HMW-GS 亚基谱带在普通小麦中未见报道过,无法确定其组成和命名。本实验研究结果发现青稞的 HMW-GS 亚基迁移率接近普通小麦的 7 亚基,普通小麦的 7 亚基是由位于 B 组染色体上基因表达而成的,目前发现该组染色体常见的高分子量谷蛋白变异类型有 7、7+8、7+9、6+8、17+18、14+15 和 20 等 7 种,其中 7+8 和 17+18 为优质变异类型;野生大麦的高分子量谷蛋白亚基迁移率接近普通小麦的 10 亚基,普通小麦的 10 亚基基因位于 D 组染色体上,目前 D 组变异类型常见的是两种 2+12 和 5+10,其中 5+10 为优质变异类型,也发现有 2+10、10 和 5+12 等稀有变异类型。虽然当前不清楚青稞和野生大麦中这些新的高分子量谷蛋白亚基变异类型的结构特点,但用来改良普通小麦的加工品质将是非常有潜力的。

3 讨论

小麦的籽粒面筋蛋白主要包括醇溶蛋白和谷蛋白,谷蛋白根据其分子量大小又可分为高分子量谷蛋白亚基(HMW-GS)和低分子量谷蛋白亚基(LMW-GS)两类。有关研究表明青稞蛋白质也象小麦蛋白质一样含有 4 种主要蛋白质,即青稞粉中并不缺少醇溶蛋白,只是其含量较小麦醇

溶蛋白少 5.72%, 而青稞谷蛋白含量却比小麦谷蛋白含量高的多^[5]。本研究发现青稞含有高分子量谷蛋白亚基, 但其种类和数量都比较单一, 目前我们推测青稞的麦谷蛋白高分子类型是导致其面筋差的一个主要因素, 关于青稞的低分子量谷蛋白和醇溶蛋白的含量和质量还有待进一步深入研究。最近许多学者试图利用青稞制作面条, 结果发现青稞粉不能像小麦一样形成面条, 因为青稞中缺少面筋蛋白, 所以要想改变青稞的面筋品质, 就要从其面筋蛋白质组成着手。目前已有报道把小麦的优质高分子量谷蛋白亚基基因 1DX5 + 1Dy10 通过转基因手段, 把该基因转入黑麦 R 组染色体中, 获得 LD10 和 LD5 + 10 新品系, 并且证明了对黑麦的蛋白质品质和烘烤品质都有明显的提高, 尤其 LD10 新品系烘烤效果更好^[9~11]。有目的地将小麦近缘物种中带有 HMW-GS 的染色体和具有优良加工特性的染色体片段引入青稞中, 增加青稞 HMW-GS 的多态性, 对改变青稞面筋质量和加工品质将会有一定的积极作用。

有研究表明, 大麦的第 5 染色体似乎和小麦的第一群染色体相似, 在它们的长臂上都有 HMW-GS 亚基的基因, 短臂上都有控制麦醇溶蛋白生成的基因^[12], 这个结论有待进一步验证。青稞面筋含量低, 蛋白质含量也普遍低于普通小麦, 西藏青稞的蛋白质含量为 7.68% ~ 17.52%, 平均 11.37%, 蛋白质含量变异范围较大^[13], 若能通过远源杂交和生物工程手段将此性状转移到普通小麦中去, 改良其蛋白质含量和面筋含量, 对改良小麦的饼干及糕点加工品质将具有重要的理论和实践意义。把控制蛋白质合成的外源基因转入小麦, 将会对小麦品质育种产生巨大的潜力, 这一点也越来越受到遗传育种工作者的重视。目前国内已有报道获得普通小麦-大麦异附加系和易位系含有大麦的 HMW-GS 亚基^[14]。

青稞和野大麦都属于禾本科大麦属植物^[15], 其高分子量谷蛋白亚基的多态性存在于它们之间, 而青稞材料内高分子量谷蛋白亚基几乎不存在多态性, 几个野生大麦材料间其带型较接近, 野生大麦 H 组染色体表达的高分子量谷蛋白亚基较接近 D 组染色体表达的高分子量谷蛋白亚基 10。栽培青稞 I 组染色体表达的高分子量谷蛋白亚基较接近 B 组染色体表达的高分子量谷蛋白亚基 7, 有关 I 组和 H 组编码的高分子量谷蛋白

亚基对面粉品质的影响及其基因序列有待进一步研究, 有关小麦族 A、B、D、H、I 组染色体亲缘关系远近也有待进一步研究, 这些结果将会对改良青稞面筋品质育种有着重要的意义。

参考文献:

- [1] 臧靖巍, 阚健全, 陈宗道, 等. 青稞的成分研究及其应用现状[J]. 中国食品添加剂, 2004, (4): 43 ~ 46.
- [2] 楼惠新. 青藏高原青稞发展与对策[J]. 柴达木开发研究, 2000, (2): 28 ~ 31.
- [3] 李学军, 王辉, 李立群, 等. 高分子量麦谷蛋白亚基的品质效应研究进展[J]. 干旱地区农业研究, 2003, 21(3): 175 ~ 177.
- [4] 宋健民, 刘爱峰, 吴祥云, 等. 高分子量谷蛋白亚基组成及其含量与小麦品质关系研究[J]. 中国农业科学, 2003, 36(2): 128 ~ 133.
- [5] 臧靖巍. 青稞淀粉和蛋白质的化学组成及其工艺性质研究[D]. 重庆: 西南农业大学硕士论文, 2005, 45.
- [6] Lawrence GJ. The high-molecular-weight glutenin composition of Australian wheat cultivars [J]. Agric. Res. 1986, 37: 125 ~ 133.
- [7] 张怀刚, 陈集贤, 赵绪兰, 等. 小麦体细胞无性系 HMW-GS 变异及其变异体研究[J]. 科学通报, 1995, 40(21): 1990 ~ 1993.
- [8] 张立平, 何中虎, 刘建平, 等. 分子生物学技术在普通小麦谷蛋白研究中的应用[J]. 麦类作物学报, 2004, 24(2): 121 ~ 126.
- [9] Popelka J C, Altpeter F. Interactions between genotypes and culture media components for improved in vitro response of rye (*Secale cereale* L.) inbred lines [J]. Plant Cell Rep., 2001, 20: 575 ~ 582.
- [10] Popelka J C, Altpeter T. Evaluation of rye (*Secale cereale* L.) inbred lines and their crosses for tissue culture response and stable genetic transformation of homozygous rye inbred line L22 by biolistic gene transfer [J]. Theor. Appl. Genet., 2003, 107: 583 ~ 590.
- [11] Herbert Wieser, Werner Seilmeier, Rolf Kieffer, et al. Flour Protein Composition and Functional Properties of Transgenic Rye Lines Expressing HMW Subunit Genes of Wheat [J]. Cereal Chem., 2005, 82(5): 594 ~ 600.
- [12] 张正斌. 小麦遗传学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001. 230.
- [13] 洛桑旦达, 强小林. 青稞特有营养成分分析与开发利用现状调查研究报告[J]. 青藏科技, 2001, 100(8): 55 ~ 64.
- [14] 陈新宏, 刘淑会, 赵继新, 等. 普通小麦-大麦异附加系的分子生物学技术鉴定[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2003, 31(6): 5 ~ 8.
- [15] 董玉琛, 郑殿升. 中国小麦遗传资源 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2000, 170 ~ 173.