



分子植物育种
Molecular Plant Breeding
ISSN 1672-416X, CN 46-1068/S

《分子植物育种》网络首发论文

题目： 基于相对迁移率的节节麦高分子量谷蛋白亚基组成分析
作者： 李响，叶发慧，刘瑞娟，曹东，张波，张怀刚，陈文杰，刘宝龙
网络首发日期： 2019-12-27
引用格式： 李响，叶发慧，刘瑞娟，曹东，张波，张怀刚，陈文杰，刘宝龙. 基于相对迁移率的节节麦高分子量谷蛋白亚基组成分析. 分子植物育种.
<http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20191226.1740.016.html>



网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

研究报告

Research Report

基于相对迁移率的节节麦高分子量谷蛋白亚基组成分析

李响^{1,2,3} 叶发慧^{1,2,3} 刘瑞娟^{1,3} 曹东^{1,3} 张波^{1,3} 张怀刚^{1,2,3} 陈文杰^{1,3*} 刘宝龙^{1,3*}

1 中国科学院高原生物适应与进化重点实验室, 中国科学院西北高原生物研究所, 中国科学院种子创新研究院, 西宁, 810008;

2 中国科学院大学, 北京, 100049; 3 青海省作物分子育种重点实验室, 西宁, 810008

*通信作者, wjchen@nwipb.cas.cn; blliu@nwipb.cas.cn

摘要 高分子量谷蛋白亚基(HMW-GS)是影响小麦烘烤品质的重要因素。新的 HMW-GS 变异类型的发现和利用, 有助于优质小麦品种的培育。然而, 目前 HMW-GS 新变异类型众多、对照标准材料多样, 导致传统数字命名系统分辨率严重降低。本研究通过利用 HMW-GS 的条带与中国春 1Dx2 条带的迁移率比值作为相对迁移率来表示亚基类型, 进而提高 HMW-GS 的分辨率, 并且不需要除中国春以外的其它对照材料。在 158 份节节麦中, 成功检测到了 64 种亚基类型和 127 种亚基组合。对这些亚基组合进行聚类分析, 结果显示在遗传相似系数(GS)为 0.003 的水平上可将其划分为 9 个类群。上述结果表明, 本研究采用的基于相对迁移率的亚基表示方法, 能有效区分 SDS-PAGE 胶上距离较近的蛋白条带, 可为麦类作物 HMW-GS 变异类型的发掘提供新的手段。

关键词 高分子量谷蛋白亚基, 聚丙烯酰胺凝胶电泳, 相对迁移率, 节节麦

Composition Analysis of High Molecular Weight Gluten in Subunits Based on Relative Migration Rate

Li Xiang^{1,2,3} Ye Fahui^{1,2,3} Liu Ruijuan^{1,3} Cao Dong^{1,3} Zhang Bo^{1,3} Zhang Huaigang^{1,2,3}

Chen Wenjie^{1,3*} Liu Baolong^{1,3*}

1 Key Laboratory of Adaptation and Evolution of Plateau Biota, Northwest Institute of Plateau Biology,

Innovation Academy for Seed Design, Chinese Academy of Sciences, Xining, 810008; 2 University of Chinese

Academy of Sciences, Beijing, 100049; 3 Key laboratory of crop molecular breeding, Qinghai Province, Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining, 810008

* Corresponding author, wjchen@nwipb.cas.cn; blliu@nwipb.cas.cn

Abstract High molecular weight glutenin subunit (HMW-GS) is an important factor affecting the baking quality of wheat. The discovery and use of new variants of HMW-GS conduce to cultivate breed new high quality novel wheat varieties with high qualities. However, the large number of new variants of HMW-GS and the diversity of standard reference materials have led to a serious reduction in the resolution of traditional digital naming systems. In this study, the position of each protein band was determined by using the ratio of the migration to the Chinese Spring 1Dx2 band as the relative migration rate, so as to improve the resolution of HMW-GS, and other control materials other than Chinese Spring were not required. A total of 64 subunit types and 127 subunit compositions were detected in 158 *A. tauschii*. Cluster analysis of these subunit combinations showed that they could be classified into 9 groups at the level of genetic similarity coefficient (GS) of 0.003. The above results indicated that the relative migration rate used in this study could effectively distinguish the relatively close protein bands on SDS-PAGE gel, and did not require reference materials other than Chinese Spring, which could provide a new method for the discovery of novel variants of HMW-GS in wheat crop.

Keywords High molecular weight glutenin subunits, SDS-PAGE, Relative migration rate, *Aegilops tauschii*

优质是小麦育种和生产的重要目标，进一步提高小麦品质潜力，协同改良品质和产量是高产优质小麦育种的重要课题(何中虎等, 2006)。小麦籽粒中富含的蛋白质对其面粉加工品质有重要影响，其中，占小麦总蛋白含量 86%的贮藏蛋白是小麦面筋蛋白的主要组成成分。依据贮藏蛋白在乙醇溶液中的溶解性分为可溶性的麦醇溶蛋白和不溶性的麦谷蛋白(Ma et al., 2005; Wieser, 2007)。小麦籽粒中麦谷蛋白的数量和质量是决定小麦面粉和面加工特性的主要因素(Wrigley, 1996)。依据聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)中迁移率的差异，麦谷蛋白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) (Wieser, 2007)。

高分子量谷蛋白亚基约占小麦籽粒蛋白的 10%，分子量为 60~100 kD，并直接影响面粉的烘烤品质(Shewry et al., 1992)。对我国小麦育成品种和地方品种进行 HMW-GS 组成分析后，发现中国在小麦品质育种中使用的优质 HMW-GS 较少，这也是中国小麦烘烤品质较差的部分原因(赵和等, 1994; 裴玉贺, 2010)。

小麦中 HMW-GS 编码基因位于 1A、1B 和 1D 染色体的长臂上，分别称为 *Glu-A1*、*Glu-B1* 和 *Glu-D1* (Lawrence and Shepherd, 1981)，且每个位点含有两个编码不同类型的紧密连锁的 HMW-GS 基因-X 型和 Y 型(Liu et al., 2009)。在小麦遗传育种中，围绕高分子量谷蛋白亚基的鉴定、等位变异以及在小麦近缘种中鉴定新亚基开展了一系列的工作。Payne 等利用 SDS-PAGE 的方法对 300 多份普通小麦进行了 HMW-GS 的组成分析,共发现了 19 个 *Glu-1* 等位变异(Payne and Lawrence, 1983)。随后在‘中国春’中进行了 HMW-GS 的 SDS-PAGE 鉴定，首次建立了通用的小麦高分子量谷蛋白亚基标准图谱(Payne et al., 1987)。在国内，利用 SDS-PAGE 方法对西南麦区、西北麦区、黄淮海麦区及长江中下游麦区等地的春冬小麦及地方品种进行了 HMW-GS 的组成分析(丛花等, 2016; 相吉山和马晓岗, 2008; 刘悦等, 2006; 颀孙湘溪等, 2016; 王丽等, 2012; 杨丹等, 2015; 赵佳佳等, 2018)。上述研究普遍采用 Payne 等提出的亚基数字命名系统，以中国春和其它材料为对照，根据 HMW-GS 在电泳中迁移率的不同，以若干快捷方便的亚基数字来表示不同的亚基类型及组合(Payne et al., 1981)。但是，在利用亚基数字来表示蛋白条带的前提是要与已知的带条进行有效对比，操作时在每次试验中必须加入多个对照样品。但是，随着亚基类型数量的报道大幅度增加，我们很难获得含所有已知亚基的对照材料，导致传统数字命名系统分辨率严重降低。

前人研究表明，硬粒小麦、乌拉尔图小麦、节节麦、高大山羊草、黑麦和冰草等小麦野生近缘物种中 HMW-GS 的遗传变异丰富(Shuanghe et al., 2014; Shunli et al., 2013; Bustos et al., 2001; Wang et al., 2012; Zhu et al., 2015; Xu et al., 2009; Yan et al., 2003)。从小麦近缘野生种中鉴定、发掘和克隆新的 HMW-GS 基因并将其应用于小麦品质育种中，对改良小麦品质具有重要的理论和实践意义。节节麦(*Aegilops tataschii* Coss.) 是普通小麦 D 基因组的供体。其 HMW-GS 变异丰富分析，其中有很多小麦中不具备的新亚基类型和亚基组合，是改良普通小麦的潜在基因资源(赵昕鹏等, 2019)。目前从节节麦中发现的 HMW-GS 亚基类型多达

14 种以上，其中有不少是普通小麦所不具备的新亚基类型和亚基组合，为小麦烘烤品质的改良提供了较丰富的遗传资源(Yan et al., 2003; 王亚娟等, 2007; Chen et al., 2012)。

本研究以采自 15 个国家和地区的 158 份节节麦为研究对象，以中国春为对照，根据各样品 HMW-GS 条带 SDS-PAGE 的相对迁移率对其 HMW-GS 的亚基类型、组成及分布进行分析。旨在鉴定和筛选节节麦中新的 HMW-GS 基因资源，为将其导入普通小麦中，改良普通小麦的面粉加工品质奠定基础。

1 结果与分析

1.1 158 份节节麦 HMW-GS 亚基类型遗传多样性

与先前研究中采用亚基数字表示 HMW-GS 条带不同，本研究通过利用节节麦 X 和 Y 亚基条带迁移率与中国春第一条带(1Dx2)迁移率的比值作为相对迁移率，确定节节麦每条带的相对位置。部分节节麦材料的 SDS-PAGE 电泳条带(图 1)。

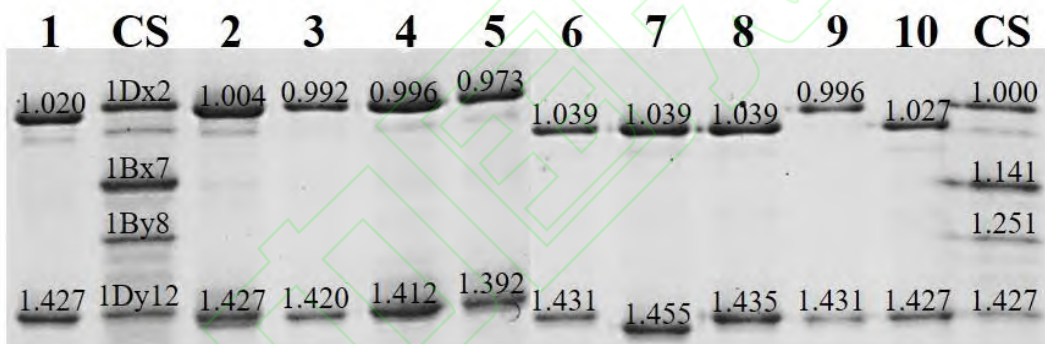


图 1 部分节节麦 HMW-GS 的 SDS-PAGE 电泳

注: CS:中国春; 1: PI511363; 2: PI511367; 3: PI560756; 4: PI554318; 5: PI554315; 6: Clae16; 7: PI499264; 8: PI603253; 9: PI511375; 10: PI603223

Figure 1 SDS-PAGE of HMW-GS of the *Aegilops tauschii*

Note: CS: Chinese spring; 1: PI511363; 2: PI511367; 3: PI560756; 4: PI554318; 5: PI554315; 6: Clae16; 7: PI499264; 8: PI603253; 9: PI511375; 10: PI603223

结果显示，在 158 份节节麦中 X 和 Y 亚基类型分别有 28 和 36 种。X 亚基 28 种：相对迁移率为 0.996 和 1.008 的类型各自在不同的 15 份节节麦材料中检测到，分别占 X 亚基全部类型的 9.49%，遗传多样性

指数为 0.2235；其次是相对迁移率为 1.02、0.992、0.988 和 1.004 的类型，分别在 13、12、11 和 11 份节节麦材料中检测到，占全部 X 亚基类型的 8.23%、7.59%、6.96%和 6.96%，遗传多样性指数分别为 0.2055、0.1957、0.1855 和 0.1855；其余相对迁移率类型分别在 1-10 份不等节节麦材料中检测到(表 1)。

表 1 158 份节节麦 X 型高分子量麦谷蛋白亚基(HMW-GS)类型及多样性

Table1 The types and their diversity of HMW-GS from 158 *Aegilops tauschii* of X-type

谱带 编号	X 型亚基相 对迁移率	材料数目	频率(%)	多样性指数	材料名称			
Band No.	Relative mobility of X-type	No. of the accessions	Percentage (%)	Diversity index (H)	Name			
1	0.937	1	0.63	0.0319	PI486273			
2	0.941	1	0.63	0.0319	CIae20			
3	0.945	1	0.63	0.0319	PI428564			
4	0.949	4	2.53	0.093	PI560536	CIae12	PI554322	As2403
5	0.957	4	2.53	0.093	PI554323	PI560533	PI603255	PI486271
6	0.965	3	1.9	0.0753	PI486272	PI603224	CIae26	
7	0.969	3	1.9	0.0753	PI486274	PI603227	PI268210	
8	0.973	7	4.43	0.1381	PI603242	PI431602	PI554306	CIae13 PI317394
					CIae11	PI554315		
9	0.976	2	1.27	0.0555	CIae68	PI603229		
10	0.98	7	4.43	0.1381	CIae10	PI603240	PI369627	PI511381 PI486266
					PI603250	PI511382		
11	0.984	5	3.16	0.1092	PI554314	PI486265	CIae8	CIae24 PI603225

12	0.988	11	6.96	0.1855	PI560534	PI603228	PI560755	PI603239	PI511383
					PI574467	CIae5	PI511379	CIae25	CIae72
					PI603238				
13	0.992	12	7.59	0.1957	PI511368	CIae28	PI560535	PI554312	PI560754
					PI554320	PI574469	PI560756	PI554311	PI603237
					CIae21	PI542277			
14	0.996	15	9.49	0.2235	PI554310	CIae30	PI431601	PI554316	CIae14
					PI511366	PI511380	CIae19	PI276980	PI603244
					PI554318	PI511375	PI486277	PI603232	PI574466
15	1	10	6.33	0.1747	PI511369	PI603246	PI276975	CIae4	PI603220
					PI431598	CIae18	CIae27	CIae71	PI603254
16	1.004	11	6.96	0.1855	CIae15	PI603226	PI603231	CIae50	PI603252
					PI476874	PI486276	PI511365	PI511367	PI508262
					As60				
17	1.008	15	9.49	0.2235	PI603233	PI508260	PI574468	PI428563	PI554317
					PI554321	PI603222	PI560538	PI603236	PI220641
					PI603241	PI431603	PI603245	CIae51	PI499262
18	1.012	3	1.9	0.0753	PI511370	PI452131	PI560753		
19	1.016	6	3.8	0.1243	CIae1	CIae2	PI220331	PI210987	CIae3
					PI603221				
20	1.02	13	8.23	0.2055	PI486267	PI220642	PI511362	PI317392	PI511378

					PI554313	PI554319	PI431600	PI508264	PI220326
					CIae9	PI511363	PI574464		
21	1.024	3	1.9	0.0753	PI603249	CIae6	PI508263		
22	1.027	6	3.8	0.1243	PI554309	PI603243	CIae23	PI603223	CIae17
					PI603256				
23	1.031	4	2.53	0.093	PI603230	PI452130	PI317398	PI603251	
24	1.035	4	2.53	0.093	PI574465	PI349037	PI499263	PI486275	
25	1.039	3	1.9	0.0753	CIae16	PI499264	PI603253		
26	1.043	1	0.63	0.0319	PI276985				
27	1.051	2	1.27	0.0555	PI603234	PI431599			
28	1.055	1	0.63	0.0319	PI603235				
	合计 Total	158	99.98	0					

Y 亚基共有 36 种。相对迁移率为 1.427 类型占 Y 亚基总类型的 9.49%，遗传多样性指数为 0.2235；相对迁移率分别为 1.435、1.447、1.412 和 1.42 的类型，各在 14、13、11 和 11 份节节麦材料中检测到，遗传多样性指数分别为 0.2147、0.2055、0.1855、0.1855；其余相对迁移率类型分别在 1-9 份不等的节节麦材料中检测到(表 2)。

表 2 158 份节节麦 Y 型高分子量麦谷蛋白亚基(HMW-GS)类型及多样性

Table 2 The types and their diversity of HMW-GS from 158 *Aegilops tauschii* of Y-type

谱带	Y 型亚基相	材料数目	频率(%)	多样性指数	材料名称
编号	对迁移率				
Band	Relative mobility	No. of the	Percentage	Diversity	Name
No.	of Y-type	accessions	(%)	index (H)	

1	1.353	1	0.63	0.0319	PI603225					
2	1.365	1	0.63	0.0319	PI603229					
3	1.376	1	0.63	0.0319	PI603242					
4	1.38	1	0.63	0.0319	PI574465					
5	1.388	1	0.63	0.0319	PI317394					
6	1.392	3	1.9	0.0753	PI603240	PI554315	PI574464			
7	1.396	3	1.9	0.0753	PI603255	CIae20	PI542277			
8	1.4	1	0.63	0.0319	PI603232					
9	1.404	4	2.53	0.093	PI554310	CIae12	PI276975	PI431599		
10	1.408	8	5.06	0.151	CIae15	PI511368	PI431602	CIae13	PI603243	
					PI486266	PI486277	CIae17			
					CIae28	CIae10	PI603227	PI554312	PI574468	
11	1.412	11	6.96	0.1855	PI603228	CIae4	PI603239	PI476874	PI554318	
					CIae71					
					PI511369	CIae68	PI268210	PI554316	CIae14	
12	1.416	9	5.7	0.1633	PI511380	PI554311	PI603237	PI499262		
					PI603224	PI554314	PI369627	PI220642	PI603231	
13	1.42	11	6.96	0.1855	PI220331	PI560756	PI508262	CIae27	PI486273	
					As60					
					PI560535	PI486265	CIae50	PI452130	CIae23	
14	1.424	7	4.43	0.1381	PI603236	PI511383				

					PI560534	PI508260	PI560754	CIae1	PI554317
15	1.427	15	9.49	0.2235	PI554321	PI317392	CIae2	PI560755	PI508264
					PI574469	PI511363	PI511367	PI603223	CIae51
					PI560536	PI428564	PI603230	PI511366	PI574467
16	1.431	9	5.7	0.1633	CIae11	PI511381	CIae16	PI511375	
					CIae30	PI428563	PI603252	PI554320	PI511370
17	1.435	14	8.86	0.2147	PI603222	PI508263	PI220641	CIae8	CIae18
					PI511379	PI431603	PI603251	PI603253	
					PI511362	CIae6	PI603220	PI603241	PI499263
18	1.439	6	3.8	0.1243	PI603256				
19	1.443	5	3.16	0.1092	PI486274	PI317398	PI560538	CIae9	PI560753
					PI511378	PI554313	PI210987	CIae19	PI452131
20	1.447	13	8.23	0.2055	CIae3	PI603221	PI431598	PI603244	CIae5
					PI486276	PI603245	PI511365		
					PI554322	PI603234	PI554319	PI431600	PI220326
21	1.451	7	4.43	0.1381	PI276980	PI486275			
22	1.455	4	2.53	0.093	PI554323	PI486271	PI276985	PI499264	
23	1.459	4	2.53	0.093	PI486272	PI554306	PI603246	PI349037	
24	1.463	2	1.27	0.0555	PI560533	PI603249			
25	1.467	1	0.63	0.0319	PI603235				
26	1.475	1	0.63	0.0319	PI486267				

27	1.482	1	0.63	0.0319	PI554309	
28	1.537	1	0.63	0.0319	CIae26	
29	1.553	2	1.27	0.0555	PI603254	PI603238
30	1.557	1	0.63	0.0319	CIae24	
31	1.565	2	1.27	0.0555	PI603226	As2403
32	1.569	2	1.27	0.0555	PI431601	CIae25
33	1.573	3	1.9	0.0753	PI603250	PI511382 CIae72
34	1.58	1	0.63	0.0319	CIae21	
35	1.584	1	0.63	0.0319	PI574466	
36	1.592	1	0.63	0.0319	PI603233	
合计 Total		158	99.97	0		

1.2 158 份节节麦 HMW-GS 亚基组合遗传多样性

在 158 份节节麦中总共检测到了 127 种 HMW-GS 组合类型(表 3): 1.008+1.435 和 1.008+1.427 组合类型在 4 份材料中出现,发生频率为 2.53%,遗传多样性指数为 0.093;1.004+1.420、1.020+1.451、1.020+1.427、1.016+1.447 和 0.996+1.416 等 5 种组合类型在 3 份材料中出现,发生频率为 1.9%,遗传多样性指数为 0.0753; 1.000+1.412、0.988+1.427、0.988+1.412、0.980+1.573、0.992+1.416、0.992+1.412、0.992+1.427、1.004+1.447、1.016+1.427、1.020+1.447、0.996+1.447、0.996+1.431、0.973+1.408、1.027+1.408、0.957+1.455 等 15 种组合类型各自在 2 份材料中出现,发生频率为 1.27%,遗传多样性指数为 0.0555%; 其余 105 种亚基组合类型均仅在 1 份材料中出现,其发生频率为 0.63%,遗传多样性指数为 0.0319(表 3)。

表 3 在 158 份节节麦中的高分子量麦谷蛋白亚基组成类型及分布

Table3 Composition and diversity of 158 *Aegilops tauschii* accessions at Glu-1Ds

亚基组成类型	材料数目	频率(%)	多样性指数	材料	亚基组成类型	材料数目	频率(%)	多样性指数	材料
Composition of	No. of the	Percentage	Diversity	材料 Name	Composition of	No. of the	Percentage (%)	Diversity index(H)	Name
HMW-GS	accessions	(%)	Index (H)		HMW-GS	accessions			
1.008+1.435	4	2.53	0.0930	PI428563	1.008+1.427	4	2.53	0.0930	PI508260
				PI603222					PI554317
				PI220641					PI554321
				PI431603					CIae51
				PI603231					PI554319
1.004+1.420	3	1.90	0.0753	As60	1.020+1.451	3	1.90	0.0753	PI431600
				PI508262					PI220326
				PI317392					PI210987
1.020+1.427	3	1.90	0.0753	PI508264	1.016+1.447	3	1.90	0.0753	CIae3
				PI511363					PI603221

0.996+1.416	3	1.90	0.0753	PI554316	1.000+1.412	2	1.27	0.0555	CIae4
				CIae14					CIae71
				PI511380					
				PI560534					PI603228
0.988+1.427	2	1.27	0.0555	PI560755	0.988+1.412	2	1.27	0.0555	PI603239
				PI603250					PI554311
0.980+1.573	2	1.27	0.0555	PI511382	0.992+1.416	2	1.27	0.0555	PI603237
				CIae28					PI560754
0.992+1.412	2	1.27	0.0555	PI554312	0.992+1.427	2	1.27	0.0555	PI574469
				PI486276					CIae1
1.004+1.447	2	1.27	0.0555	PI511365	1.016+1.427	2	1.27	0.0555	CIae2
				PI511378					CIae19
1.020+1.447	2	1.27	0.0555	PI554313	0.996+1.447	2	1.27	0.0555	PI603244
				PI511366					PI431602
0.996+1.431	2	1.27	0.0555	PI511375	0.973+1.408	2	1.27	0.0555	CIae13

1.027+1.408	2	1.27	0.0555	PI603243	0.957+1.455	2	1.27	0.0555	PI554323
				CIae17					PI486271
1.000+1.416	1	0.63	0.0319	PI511369	1.000+1.435	1	0.63	0.0319	CIae18
1.000+1.459	1	0.63	0.0319	PI603246	1.000+1.404	1	0.63	0.0319	PI276975
1.000+1.553	1	0.63	0.0319	PI603254	1.000+1.447	1	0.63	0.0319	PI431598
1.000+1.420	1	0.63	0.0319	CIae27	1.000+1.439	1	0.63	0.0319	PI603220
0.988+1.447	1	0.63	0.0319	CIae5	0.988+1.424	1	0.63	0.0319	PI511383
0.988+1.569	1	0.63	0.0319	CIae25	0.988+1.553	1	0.63	0.0319	PI603238
0.988+1.573	1	0.63	0.0319	CIae72	0.980+1.412	1	0.63	0.0319	CIae10
0.996+1.412	1	0.63	0.0319	PI554318	1.008+1.412	1	0.63	0.0319	PI574468
0.969+1.412	1	0.63	0.0319	PI603227	0.980+1.392	1	0.63	0.0319	PI603240
1.024+1.463	1	0.63	0.0319	PI603249	0.976+1.416	1	0.63	0.0319	CIae6
1.024+1.435	1	0.63	0.0319	PI508263	0.996+1.435	1	0.63	0.0319	CIae30
1.039+1.435	1	0.63	0.0319	PI603253	0.988+1.435	1	0.63	0.0319	PI511379
0.984+1.435	1	0.63	0.0319	CIae8	1.012+1.435	1	0.63	0.0319	PI511370

1.031+1.435	1	0.63	0.0319	PI603251	1.008+1.592	1	0.63	0.0319	PI603233
1.008+1.447	1	0.63	0.0319	PI603245	1.008+1.439	1	0.63	0.0319	PI603241
1.008+1.424	1	0.63	0.0319	PI603236	0.969+1.443	1	0.63	0.0319	PI486274
1.012+1.443	1	0.63	0.0319	PI560753	1.008+1.443	1	0.63	0.0319	PI560538
1.031+1.443	1	0.63	0.0319	PI317398	0.992+1.408	1	0.63	0.0319	PI511368
0.992+1.420	1	0.63	0.0319	PI560756	0.992+1.580	1	0.63	0.0319	CIae21
0.992+1.424	1	0.63	0.0319	PI560535	0.992+1.435	1	0.63	0.0319	PI554320
0.941+1.396	1	0.63	0.0319	CIae20	0.992+1.396	1	0.63	0.0319	PI542277
0.965+1.459	1	0.63	0.0319	PI486272	0.965+1.420	1	0.63	0.0319	PI603224
0.965+1.537	1	0.63	0.0319	CIae26	0.984+1.420	1	0.63	0.0319	PI554314
0.937+1.420	1	0.63	0.0319	PI486273	1.016+1.420	1	0.63	0.0319	PI220331
0.980+1.420	1	0.63	0.0319	PI369627	1.004+1.408	1	0.63	0.0319	CIae15
1.004+1.427	1	0.63	0.0319	PI511367	1.004+1.412	1	0.63	0.0319	PI476874
1.004+1.565	1	0.63	0.0319	PI603226	1.004+1.424	1	0.63	0.0319	CIae50
1.004+1.435	1	0.63	0.0319	PI603252	1.020+1.475	1	0.63	0.0319	PI486267

1.020+1.443	1	0.63	0.0319	CIae9	1.020+1.420	1	0.63	0.0319	PI220642
1.020+1.392	1	0.63	0.0319	PI574464	1.020+1.439	1	0.63	0.0319	PI511362
1.012+1.447	1	0.63	0.0319	PI452131	0.984+1.424	1	0.63	0.0319	PI486265
0.984+1.557	1	0.63	0.0319	CIae24	0.984+1.353	1	0.63	0.0319	PI603225
1.031+1.424	1	0.63	0.0319	PI452130	0.949+1.431	1	0.63	0.0319	PI560536
0.945+1.431	1	0.63	0.0319	PI428564	1.031+1.431	1	0.63	0.0319	PI603230
0.988+1.431	1	0.63	0.0319	PI574467	0.973+1.431	1	0.63	0.0319	CIae11
0.980+1.431	1	0.63	0.0319	PI511381	1.039+1.431	1	0.63	0.0319	CIae16
1.039+1.455	1	0.63	0.0319	PI499264	0.996+1.404	1	0.63	0.0319	PI554310
1.051+1.404	1	0.63	0.0319	PI431599	0.949+1.404	1	0.63	0.0319	CIae12
0.949+1.451	1	0.63	0.0319	PI554322	1.051+1.451	1	0.63	0.0319	PI603234
0.949+1.565	1	0.63	0.0319	As2403	0.976+1.416	1	0.63	0.0319	CIae68
1.008+1.416	1	0.63	0.0319	PI499262	0.969+1.416	1	0.63	0.0319	PI268210
0.996+1.569	1	0.63	0.0319	PI431601	0.996+1.451	1	0.63	0.0319	PI276980
0.996+1.400	1	0.63	0.0319	PI603232	0.996+1.584	1	0.63	0.0319	PI574466

0.973+1.376	1	0.63	0.0319	PI603242	0.973+1.392	1	0.63	0.0319	PI554315
0.973+1.459	1	0.63	0.0319	PI554306	0.973+1.388	1	0.63	0.0319	PI317394
0.996+1.408	1	0.63	0.0319	PI486277	0.980+1.408	1	0.63	0.0319	PI486266
1.027+1.482	1	0.63	0.0319	PI554309	1.027+1.427	1	0.63	0.0319	PI603223
1.027+1.424	1	0.63	0.0319	CIae23	1.027+1.439	1	0.63	0.0319	PI603256
1.035+1.380	1	0.63	0.0319	PI574465	1.035+1.451	1	0.63	0.0319	PI486275
1.035+1.439	1	0.63	0.0319	PI499263	1.035+1.459	1	0.63	0.0319	PI349037
0.957+1.463	1	0.63	0.0319	PI560533	0.957+1.396	1	0.63	0.0319	PI603255
1.043+1.455	1	0.63	0.0319	PI276985	0.976+1.365	1	0.63	0.0319	PI603229
1.055+1.467	1	0.63	0.0319	PI603235					

1.3 158 份节节麦 HMW-GS 亚基组合的聚类分析

158 份节节麦间遗传相似系数(GS)的变异范围为 0-1, 平均值为 0.0609。GS 值次数分析表明, 共 4 种: 0、0.3333333、0.5 和 1, 分别有 11364、25、1130 和 201 个, 占比 89.34%、0.2%、8.88%和 1.58%。聚类分析结果(图 2), 158 份节节麦在 GS 等于 0.003 的水平上可划分为 9 个类群。

第 I 类包含 64 份材料, 苏联、亚美尼亚、格鲁吉亚、印度、葡萄牙均 1 份, 土库曼斯坦、中国、西亚均 2 份, 未知来源的 5 份, 阿富汗 5 份, 阿塞拜疆 7 份, 土耳其 15 份, 伊朗 21 份。

第 II 类共 39 份材料, 西亚 1 份, 阿塞拜疆、达吉斯坦, 俄罗斯联邦、未知来源的均 2 份, 中国 3 份, 巴基斯坦 4 份, 土耳其 7 份, 伊朗、阿富汗均为 9 份。

第 III 类有 4 份, 伊朗、土耳其、土库曼斯坦和中国各 1 份。

第 IV 类共 26 份, 达吉斯坦, 俄罗斯联邦、苏联、格鲁吉亚、阿富汗、中国、法国各 1 份, 未知来源的 2 份, 土耳其 5 份, 阿塞拜疆 6 份, 伊朗 7 份。

第 V 类有 14 份, 阿塞拜疆、阿富汗、西亚各为 1 份, 土库曼斯坦 2 份, 伊朗 4 份, 土耳其 5 份。

第 VI 类共 4 份, 土耳其、未知来源的各 1 份, 阿塞拜疆 2 份。

第 VII 类群共 5 份, 伊朗、亚美尼亚各 1 份, 土耳其 3 份。

第 VIII 类和第 IX 类均为 1 份, 都来自阿塞拜疆。

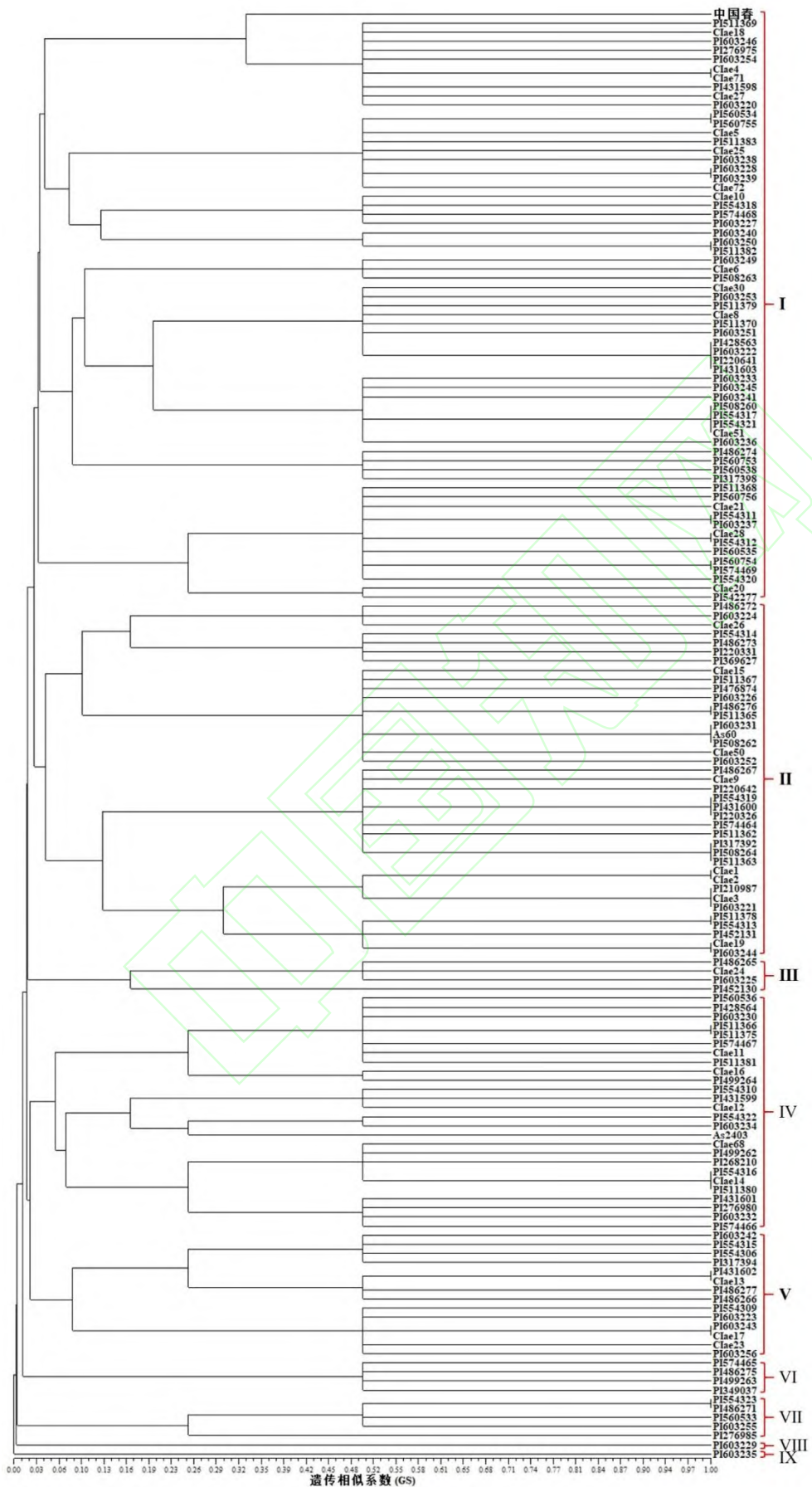


图 2 158 份节节麦材料的聚类

Figure 2 Cluster maps of 158 *Aegilops tauschii* accessions

2 讨论

本研究通过用节节麦 HMW-GS 条带的迁移率与中国春 1Dx2 亚基条带的迁移率的比值作为相对迁移率来确定目标 HMW-GS 条带的位置，从 158 份节节麦中检测到了 64 种 HMW-GS 类型和 127 种亚基组成。与前人基于 SDS-PAGE 技术鉴定麦类作物 HMW-GS 的研究中普遍采用 Payne 等(1981)提出的亚基数字命名目标 HMW-GS 条带相比较，本研究仅需中国春这一个对照材料，就能区分所有的 HMW-GS 条带，可有效解决由于 HMW-GS 变异类型众多、对照标准材料多样导致的传统数字命名系统分辨率降低的问题。本研究通过使用统一的样品面粉克数、蛋白提取液体积、SDS-PAGE 胶配方组成、样品梳规格及插入的深度、上样量大小、电泳缓冲液现配现用、一致的电泳时间、同样的染、脱色液配方和染、脱色时间，来保证实验的精度和可重复性。并利用天能 GIS 软件对凝胶上的蛋白谱带进行自动识别和迁移率计算。以此保障更高的分辨精度能够有效地区分 SDS-PAGE 胶上距离较近的蛋白条带，为麦类作物 HMW-GS 新的变异类型的发掘提供了更加快速准确的鉴定方法。

本研究从 158 份节节麦中发现了 28 种 X 型和 36 种 Y 型 HMW-GS 类型，其在 SDS-PAGE 上的相对迁移率变化范围分别为 0.937-1.055(差值为 0.118)和 1.353-1.592(差值为 0.239)。这一结果表明节节麦 Glu-1Dy 亚基多态性明显高于 Glu-1Dx 亚基。这与 Chen 等(2012)对节节麦高分子量谷蛋白 1Dx 基因和 1Dy 基因进行的核苷酸多态性分析结果一致。同时，我们也发现了一些含有特殊亚基的材料，如本研究中 Glu-1Dx 亚基相对迁移率最大(PI603235)和最小(PI486273)的材料和 Glu-1Dy 亚基相对迁移率最大(PI603233)和最小(PI603225)的材料等。我们可以利用这些节节麦资源改良普通小麦，丰富普通小麦遗传多样性。

前人普遍认为节节麦的分布中心位于里海南部的伊朗地区，分别向东扩散至我国和向西扩散至叙利亚(Nakai, 1978)。所以，往往更重视伊朗等分布中心区的节节麦资源收集与评价，以期获得更多丰富的遗传变异。在本研究的 43 份节节麦的材料来源自伊朗，在聚类分析中被划分到第 I、II、III、IV 和 VII 这 5 大

类中。其次是来自土耳其的 37 份材料，被划分到 I、II、III、IV、V、VI 和 VII 这 7 大类中。值得注意的是，来自阿塞拜疆的 20 份节节麦材料，被划分到 I、II、IV、V、VI、VIII 和 IX 这 7 类中。以上聚类分析均显示出了较高的遗传多样性。提示我们在今后节节麦资源收集和遗传多样性评估时，应多关注位于里海西部的阿塞拜疆、亚美尼亚和格鲁吉亚等外高加索地区。

3 材料与amp;方法

3.1 试验材料

供试材料为 158 份来自世界不同地区的节节麦。其中，来自伊朗的材料最多，为 43 份；其次分别为来自土耳其、阿塞拜疆、阿富汗、中国、土库曼斯坦、俄罗斯和巴基斯坦的 37、20、16、7、6、5 和 4 份节节麦材料。来自格鲁吉亚和亚美尼亚的材料各 2 份，法国、葡萄牙和印度的材料各 1 份。此外，有 4 份材料仅确定来自西亚，还有 9 份来源未知。

3.2 试验方法

节节麦高分子量谷蛋白的提取及十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分析参照王亚娟等(2007)并略有改动。参照 Bushuk 等利用迁移率分辨蛋白质的方法(Bushuk and Zillman, 1978)，通过用与中国春 1Dx2 条带的迁移率的比值作为相对迁移率来确定每条蛋白条带的位置。利用 SHANNON 等提出的方法计算各材料的遗传多样性指数(Shannon and Weaver, 1949)。Shannon-weaver 遗传多样性指数(Shannon-weaver index of genetic diversity)公式 $H' = -\sum P_i \ln P_i$ (P_i 为第 i 种性状的频率， \ln 是自然对数)。采用多样性指数比较各材料高分子量谷蛋白亚基遗传多样性，用 Excel 软件分析处理所有数据。利用天能 GIS 软件对凝胶上的蛋白谱带进行迁移率计算。以“0-1”法进行转换，有带记为 1，无带记为 0，然后利用 NTsys-pc2.10 软件进行聚类分析。

作者贡献

李响和叶发慧是本研究的实验设计和实验研究的执行人；李响和刘瑞娟完成数据分析，论文初稿的写作；刘瑞娟、曹东和张波参与实验设计，试验结果分析；刘宝龙和陈文杰是项目的构思者及负责人，张怀

刚指导实验设计、数据分析、论文写作与修改。全体作者都阅读并同意最终的文本。

致谢

本研究由青海省应用基础研究项目(2018-ZJ-701)、中国科学院战略性先导科技专项(XDA24030102)、国家重点研发计划项目(2016YFD0100500)和中国科学院青年创新促进会共同资助。

参考文献

- Bushuk W., and Zillman R.R., 1978, WHEAT CULTIVAR IDENTIFICATION BY GLIADIN ELECTROPHOREGRAMS. 1. APPARATUS, METHOD AND NOMENCLATURE, Canadian Journal of Plant Science, 58(2): 505-515
- Bustos, A. D., Rubio P., and Jouve N., 2001, Characterisation of two gene subunits on the 1R chromosome of rye as orthologs of each of the Glu-1 genes of hexaploid wheat, Theoretical & Applied Genetics, 103(5): 733-742
- Cao S. H., Li Z. X., Gong C. Y., Xu H., Yang R., Hao S. T., Wang X. P., Wang D. W., and Zhang X. Q., 2014, Identification and characterization of high-molecular-weight glutenin subunits from *Agropyron* intermedium, PLoS One, 9: e87477
- Chen W. J., Fan X., Zhang B., Liu B. L., Yan Z. H., Zhang L. Q., Yuan Z. W., Zheng Y. L., Zhang H. G., and Liu D. C., 2012, Novel and ancient HMW glutenin genes from *Aegilops tauschii* and their phylogenetic positions, Genetic Resources and Crop Evolution, 59(8): 1649-1657
- Cong H., Wang H.F., Qi X.S., Gao X.L., Zhang J.B., Yan Y.L., Zhang Y.F., and Lu Z.F., 2016, Analysis of genetic diversity of HMW-GS in wheat landraces from Northwest China, Xinjiang Nongye Kexue (Xinjiang Agricultural Science), 53(8):1373-1382
(丛花, 王宏飞, 祁旭升, 高小丽, 张金波, 严勇亮, 章艳凤, 路子峰, 2016, 西北地区小麦地方品种高分子量谷蛋白亚基组成分析, 新疆农业科学, 53(8): 1373-82)
- He Z. H., Yan Y. M., Zhuang Q. S., Zhang Y., Xia X.C., Zhang Y., Wng D. S., Xia L. Q., Hu Y. K., Cai M. H., Chen X.M., Yan J., Zhou Y., 2006, Establishment of quality evaluation system and utilization of molecular methods for the improvement of Chinese wheat quality, Zhongguo Nongye Kexue (Scientia Agricultura Sinica), 39(6): 1091-1101 (何中虎, 晏月明, 庄巧生, 张艳, 夏先春, 张勇, 王德森, 夏兰芹, 胡英考, 蔡民华, 陈新民, 阎俊, 周阳, 2006, 中国小麦品种品质评价体系建立与分子改良

技术研究, 中国农业科学, 39(6): 1091-1101)

- Liu Y. , Yang Z. J., LI G. R., Liu M. J., Huang J., Ren Z. L., 2006, Diversity of HMW-GS in Wheat Landraces Native to Southern Sichuan and Chongqing, *Mailei Zuowu Xuebao (Journal of Triticeae Crops)*, 26(4): 47- 50 (刘悦, 杨足君, 李光蓉, 刘明镜, 黄健, 任正隆, 2006, 四川南部和重庆地区小麦地方品种的高分子量谷蛋白亚基组成分析, *麦类作物学报*, 26(4): 47-50)
- Ma W., Appels R., Bekes F., Larroque O., Morell M. K., and Gale K. R., 2005, Genetic characterisation of dough rheological properties in a wheat doubled haploid population: additive genetic effects and epistatic interactions, *Theoretical & Applied Genetics*, 111(3): 410-22
- Payne P. I., and Lawrence G. J., 1983, Catalogue of alleles for the complex gene loci, Glu-A1, Glu-B1, and Glu-D1 which code for high-molecular-weight subunits of glutenin in hexaploid wheat, *Cereal Research Communications*, 11(1): 29-35
- Payne P. I., Kathryn G. C., Linda M. H., and Blackman J. A., 1981, Correlations between the inheritance of certain high - molecular weight subunits of glutenin and bread - making quality in progenies of six crosses of bread wheat, *Journal of the Science of Food & Agriculture*, 32(1): 51-60
- Payne P. I., Seekings J. A., Worland A. J., Jarvis M. G., and Holt L. M., 1987, Allelic variation of glutenin subunits and gliadins and its effect on breadmaking quality in wheat: Analysis of F 5 progeny from Chinese Spring × Chinese Spring (Hope 1A), *Journal of Cereal Science*, 6(2): 103-118
- Pei Y.H., Pan Q.M., Song L., and Song X., 2010, Relationship between Glutenin Macropolymer and High Molecular Weight Glutenin Subunit in Wheat, *Mailei Zuowu Xuebao (Journal of Triticeae Crops)*, 30(1): 61-65 (裴玉贺, 潘启苗, 宋琳,等, 2010, 小麦谷蛋白大聚合体与 HMW-GS 的关系, *麦类作物学报*, 30(1): 61-65)
- Shannon C., and Weaver W., eds., 1949, *The Mathematical Theory of Communication*. University of Illinois Press, Urbana, Chicago , USA , pp.3-14
- Shewry P.R., Halford N.G., and Tatham A.S., 1992, High molecular weight subunits of wheat glutenin, *Journal of Cereal Science*, 15(2): 105-120

- Wang K., An X.L., Pan L.P., Dong K., Gao L.Y., Wang S.L., Xie Z.Z., Zhang Z., Appels R., Ma W., and Yan Y.M., 2012, Molecular characterization of HMW-GS 1Dx3(t) and 1Dx4(t) genes from *Aegilops tauschii* and their potential value for wheat quality improvement, *Hereditas*, 149(1): 41-49
- Wang L., Wang Z. Y., Niu J. S., Ma W. B., Lü G. Z., 2012, HMW-GS composition analysis of some wheat breeding parents in Henan wheat zone, *Henan Nongye Daxue Xuebao (Journal of Henan Agricultural University)*, 46(2): 115-120 (王丽, 王正阳, 牛吉山, 马文斌, 吕桂珍, 2012, 河南部分小麦育种亲本的高分子量麦谷蛋白亚基组成分析, *河南农业大学学报*, 46(2): 115-20)
- Wang S.L., Yu Z.T, Cao M., Shen X.X., Li N., Li X.H., Ma W.J., Weißgerber H., Zeller F., Hsam S., and Yan Y.M., 2013, Molecular mechanisms of HMW glutenin subunits from 1S(l) genome of *Aegilops longissima* positively affecting wheat breadmaking quality, *PLoS One*, 8: e58947
- Wang Y.J., Wang Y.Y., ZHANG D.H., Chen X.Y., and Ji W.Q., 2007, Genetic Diversity of agronomic traits and high molecular weight glutenin subunits in *Aegilops squarrosa*, *Xibei Zhiwu Xuebao (Acta Bot.Boreal.-Occident Sinica)*, 27(10): 1967-72 (王亚娟, 王耀勇, 张德华, 陈雪燕, 万全, 2007, 节节麦农艺性状及高分子量谷蛋白亚基遗传多样性研究, *西北植物学报*, 27(10): 1967-1972)
- Wieser H., 2007, Chemistry of gluten proteins, *Food Microbiology*, 24(2): 115-119
- Wrigley C.W., 1996, Giant proteins with flour power, *Nature*, 381: 738-39
- Xiang J.S., and Ma X.G., 2008, Analysis on the high molecular weight glutenin subunits (HMW-GS) of main wheat cultivars in Qinghai Province, *Mailei Zuowu Xuebao (Journal of Triticeae Crops)*, 28(2): 238-242 (相吉山, 马晓岗, 2008, 青海省小麦主栽品种高分子量谷蛋白亚基组成分析, *麦类作物学报*, 28(2): 238-242)
- Xu L.L., Wei L., Wei Y.M., and Zheng Y.L., 2009, Genetic diversity of HMW glutenin subunits in diploid, tetraploid and hexaploid *Triticum* species, *Genetic Resources & Crop Evolution*, 56(3): 377-391
- Yan Y. M., Hsam S.L.k., Yu J.Z., Jiang Y., and Zeller F.J., 2003, Allelic variation of the HMW glutenin subunits in *Aegilops tauschii* accessions detected by sodium dodecyl sulphate (SDS-PAGE), acid polyacrylamide gel (A-PAGE) and capillary electrophoresis,

Euphytica, 130(3): 377-385

- Yang D., Yao J.B., Yang X.M., Zhou M.P., and Ma H.X., 2015, Composition of HMW-GS in wheat germplasm from the middle and low reaches of Yangtze River, *Huabei Nongxuebao (Acta Agriculturae Boreali-Sinica)*, 30(s1): 103-106 (杨丹, 姚金保, 杨学明, 周淼平, 马鸿翔, 2015, 长江中下游麦区小麦种质高分子量谷蛋白亚基组成分析, *华北农学报*, 30(s1): 103-106)
- Zhao H., Lu S.Y., and Li Z.Z., 1994, Studies on inheritance and variation of HMW glutenin subunits and their correlation with quality and other agronomic characters in wheat, *Zuowu Xuebao (Acta Agronomica Sinica)*, 20(1): 67-75 (赵和, 卢少源, 李宗智, 1994, 小麦高分子量麦谷蛋白亚基遗传变异及其与品质和其它农艺性状关系的研究, *作物学报*, 20(1): 67-75)
- Zhao J.J., Qiao L., Zheng X.W., Li X.H., Cao Y., Ma X.F., Yang B., Ji H.T., Qiao L.Y., Zheng J., and Zhang J.C., 2018, Variation of quality-related traits and HMW-GS of wheat varieties in Shanxi Province, *Zhiwu Yichuan Ziyuan Xuebao (Journal of Plant Genetic Resources)*, 19(6): 112-123 (赵佳佳, 乔玲, 李晓华, 曹勇, 马小飞, 杨斌, 姬虎太, 乔麟轶, 郑军, 张建诚, 2018, 山西小麦育成品种品质性状及 HMW-GS 组成演变分析, *植物遗传资源学报*, 19(6): 112-123)
- Zhu G.R., Wang S.L., Zhen S.M., Shen X.X., Prodanovic S., and Yan Y.M., 2015, Molecular characterization and phylogenetic analysis of unusual x-type HMW glutenin subunits from 1sl genome of *Aegilops longissima*, *Genetika*, 47(1): 185-203
- Zhuansun X.X., Bao X.T., Zheng W.Y., Zhang W.M., Guo W.S., and Yao D.N., 2016, Study on the composition and distribution of the HMW-GS and GMP content of the wheat varieties from wheat industrial and technological system in Anhui Province, *Mailei Zuowu Xuebao (Journal of Triticeae Crops)*, 36(12): 1570-1577 (颀孙湘溪, 包晓婷, 郑文寅, 张文明, 郭文善, 姚大年, 2016, 安徽省小麦产业体系展示品种 HMW-GS 组分及 GMP 的研究, *麦类作物学报*, 36(12): 1570-1577)