

# 波斯小麦醇溶蛋白遗传多样性分析

庄萍萍, 马昭才, 张志清, 魏育明, 郑有良\*

(四川农业大学 小麦研究所, 四川 都江堰 611830)

**摘要:** 应用 APAGE 技术对来源于 16 个国家(地区)96 份波斯小麦材料进行醇溶蛋白遗传多样性分析, 结果表明, 波斯小麦具有丰富的醇溶蛋白等位变异, 共分离出 55 条迁移率不同的带纹。每份材料可电泳出 13~26 条, 平均 18.6 条, 带纹多态性为 100%。96 份材料共出现了 75 种电泳图谱类型, 其中 31 份材料共同拥有 10 种图谱, 剩余的 65 份材料的电泳图谱各不相同。供试材料间 GS 值变异范围为 0.176~1.000, 平均值为 0.538。聚类分析表明, 在 GS 值 0.538 水平上供试材料可聚为五大类群, 且遗传聚类关系与材料的地理来源有一定的相关性。

**关键词:** 波斯小麦; 醇溶蛋白; 遗传多样性; 聚类分析

中图分类号: Q943.2 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2007)02-0231-05

## Genetic diversity of gliadin in *Triticum carthlicum*

ZHUANG Ping-Ping, MA Zhao-Cai, ZHANG Zhi-Qing,

WEI Yu-Ming, ZHENG You-Liang\*

(*Triticaceae Research Institute, Sichuan Agricultural University, Dujiangyan 611830, China*)

**Abstract:** Genetic variations of gliadins among 96 *Triticum carthlicum* accessions from 16 countries were evaluated by APAGE. Higher genetic variability was observed. A total of 55 polymorphism bands were separated, and 75 gliadin patterns were found, among which 31 accessions shared 10 gliadin patterns and 65 accessions had unique gliadin patterns. The mean genetic similarity (GS) was 0.538, ranging from 0.176 to 1.000. All accessions were clustered into 5 groups. The clustering analysis suggested that the genetic relationship among *T. carthlicum* accessions based on the gliadins were associated with its geographical distribution.

**Key words:** *Triticum carthlicum*; gliadin; genetic diversity; clustering analysis

波斯小麦 (*Triticum carthlicum* Nevski) 是小麦属 (*Triticum*) 二粒系中一个重要裸粒栽培种 ( $2n=2x=28, AABB$ ), 有 20 个变种, 起源于亚美尼亚, 主要分布于前苏联外高加索、达格斯坦地区、格鲁吉亚和土耳其东北部 (董玉琛等, 2000)。波斯小麦具有高抗白粉病、散黑穗病、秆锈病, 抗低温、抗穗发芽、分蘖能力强、结实性好、蛋白质含量较高等优良性状 (Belay 等, 1994; Raut 等, 1984; Gol'-denberg 等, 1984), 是普通小麦遗传改良的重要基因资源, 如

利用其作为桥梁材料还成功地将山羊草属等物种的高蛋白含量和抗病、抗逆等基因转入普通小麦中 (Kihara 等, 1949; 翁跃进等, 1995; 李锁平等, 1999; Nsarellah 等, 2003; 许树军等, 1989; 张学勇等, 1995)。目前, 仅有利用醇溶蛋白对波斯小麦与一些物种间的起源与进化关系进行了探讨 (Metakovsky 等, 1989; Metakovskii 等, 1990; Waines, 1971), 对波斯小麦在生物化学与分子生物学方面的研究还很少, 且波斯小麦贮藏蛋白的遗传变异程度在国内外

收稿日期: 2005-05-23 修回日期: 2006-01-15

基金项目: 高等学校全国优秀博士学位论文专项基金(200357); 高等学校博士学科点专项科研基金(20040626004) [Supported by Foundation for the Author of National Excellent Doctoral Dissertation of China(200357); Research Fund for the Doctoral Program of Higher Education of China(20040626004)]

作者简介: 庄萍萍(1980-), 女, 四川西昌人, 在读硕士, 主要从事小麦遗传育种研究, (E-mail) zhuangping9999@163.com。

\* 通讯作者 (Author for correspondence, E-mail: ylzheng@sicau.edu.cn)

尚未见报道。因此,对波斯小麦醇溶蛋白遗传多样性进行研究,有助于其特异基因资源的发掘与利用。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验材料

选用来自 16 个国家(地区)的 96 份波斯小麦材料(表 1)。对照为普通小麦中国春。

### 1.2 APAGE 分析

采用 ISTA 于 1986 年颁布的 APAGE(pH3.2)标准程序分析醇溶蛋白(魏育明等,2002;Cooke,1987)。

### 1.3 数据处理

按条带的有无对每个材料进行统计,条带存在时赋值为 1,否则赋值为 0。按 Nei's(1973)的方法计算材料间的遗传相似系数(GS), $GS = 2N_{ij} / (N_i + N_j)$ ,其中  $N_i$  为  $i$  号材料出现的条带数, $N_j$  为  $j$  号材料出现的条带数, $N_{ij}$  为  $i$  号材料和  $j$  号材料共有的条带数。利用 GS 值按不加权成对群算术平均法(UPGMA)进行遗传相似性聚类分析。统计分析在 NTSYSpc2.1 系统下进行。

## 2 结果与分析

### 2.1 多态性

APAGE 电泳分析表明,来源于不同地区的 96 份波斯小麦醇溶蛋白图谱表现出较大的遗传变异,共分离出 55 条迁移率不同的醇溶蛋白带纹。其中, $\omega$  区最多,分离出 20 条,占总带数的 36.4%; $\alpha$ 、 $\beta$  区最少,均只有 11 条,分别占总带数的 20%; $\gamma$  区 13 条,占总带数的 23.6%。从单份材料看,PI499972、PI470731 和 PI532509 等 3 份材料仅分离出 13 条(最少),而 PI272522 分离出 26 条(最多)。多数材料分离出 17~20 条,平均 18.6 条。供试材料的醇溶蛋白带纹多态性为 100%,表明波斯小麦的醇溶蛋白多态性极高,遗传差异很大。各条带出现的频率变异幅度为 1.04%~95.83%,最低出现了 1 次,最高出现了 92 次。96 份供试材料共出现 75 种电泳图谱(图 1 为部分材料的电泳图谱)。其中 31 份材料共同拥有 10 种图谱,剩余的 65 份材料均单独拥有一种特异图谱。从  $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 、 $\omega$  四个区来看, $\gamma$ 、 $\omega$  区完全一致,共有 75 种电泳图谱, $\alpha$ 、 $\beta$  区之间只存在很细微的差异,均只有 32 种电泳图谱,不如  $\omega$ 、 $\gamma$  两个区的变异丰富。

表 1 96 份波斯小麦地理来源

Table 1 Origin of 96 *T. carthlicum* accessions

来源 Origin	居群 Accession	数目 Number
土耳其 Turkey	PI182471, PI470729, PI470730, PI470731, PI470732, PI470733, PI470734, PI532475, PI532476, PI532477, PI532478, PI532479, PI532480, PI532481, PI532482, PI532483, PI532484, PI532485, PI532486, PI532487, PI532488, PI532489, PI532490, PI532491, PI532492, PI532493, PI532494, PI532495, PI532496, PI532497, PI532498, PI532499, PI532500, PI573178, PI573179, PI573180, PI573181, PI573182	38
格鲁吉亚 Georgia	PI61102, PI78812, PI94748, PI94749, PI94750, PI94751, PI94752, PI94753, PI94754, PI94755, PI115816, PI115817, PI251914, PI352278, PI352282, PI499972, PI585017, PI585018, PI78813	19
前苏联 Former Soviet Union	PI352279, PI352280, PI352281, PI532501, PI532511	5
英国 England	PI532513, PI532514, PI532515, PI532516, PI532517	5
伊朗 Iran	PI283887, PI283888, PI283889, PI283890	4
俄罗斯联邦 Russian Federation	CItr7665, CItr7692, PI341800, PI349041	4
加拿大 Canada	PI532505, PI532509, PI532518, PI5325010	4
阿尔巴尼亚 Albania	AS2265, AS2266, AS2267, AS2268	4
美国 United States	PI532502, PI532506, PI532507	3
波兰 Poland	PI286070, PI286071, PI532504	3
匈牙利 Hungary	PI272521, PI272522	2
伊拉克 Iraq	PI70738	1
中国 China	PI168672	1
西班牙 Spain	PI190949	1
亚美尼亚 Armenia	PI349040	1
埃塞俄比亚 Ethiopia	PI387696	1

注:“AS2265, AS2266, AS2267, AS2268”为四川农业大学小麦研究所提供;其余所有材料均为美国国家种质资源库提供。

Note: “AS2265, AS2266, AS2267, AS2268” were from Triticeae Research Institute, Sichuan Agricultural University; the other accessions were from American National Plant Germplasm System (NPGS).

### 2.2 遗传相似系数

供试材料醇溶蛋白遗传相似系数 GS 值变异范围在 0.176~1.000,平均值为 0.538,进一步说明材料具有丰富的醇溶蛋白遗传多样性。以 PI352278、PI352282 和 PI585017 等为代表的 31 份材料具有

10 种共有的醇溶蛋白图谱,利用醇溶蛋白电泳技术还不能对它们进行区分。相反,PI283887 与 PI387696 间遗传差异最大,GS 值最小,为 0.176。

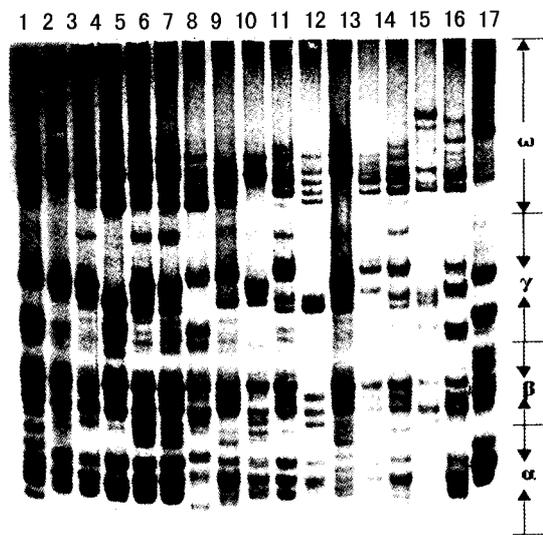


图 1 部分供试材料醇溶蛋白电泳图谱  
Fig. 1 APAGE patterns of some materials

1. PI61102; 2. PI78813; 3. PI499972; 4. CTr7665; 5. CTr7692; 6. PI352279;  
7. PI70738; 8. PI470733; 9. PI470734; 10. PI349040; 11. PI387696; 12.  
PI532502; 13. PI532506; 14. PI532505; 15. 中国春 (Chinese Spring).

### 2.3 聚类分析

供试材料醇溶蛋白遗传相似系数按 UPGMA 法进行遗传聚类(图 2)。所有材料在 GS 值 0.470 水平上全部聚为一类;在 GS 值 0.538 水平上可划分五类,第 I 类群包括来自格鲁吉亚的所有材料(19 个);第 II 类群包括了来自埃塞俄比亚、英国、阿尔巴尼亚、加拿大、美国、亚美尼亚的全部及波兰的大部分材料(20 个);第 III 类群包括来自俄罗斯、前苏联、中国、伊拉克的全部及土耳其的部分材料(共 18 个);来自土耳其的 PI182471 材料自成第 IV 类;第 V 类包括来自伊朗、匈牙利、西班牙的全部、土耳其的大部及波兰的一个材料(共 38 个)。可见,根据供试材料的遗传相似系数得出的聚类分析结果与其地理来源有一定相关性,具有相同地理来源的材料趋向于聚在一起。如来自格鲁吉亚的全部居群均聚在第 I 类群中;来自土耳其的 38 个材料有 30 个材料聚在一起。这些结果表明,醇溶蛋白的遗传聚类关系与材料所处的地理生态环境有一定的相关性。

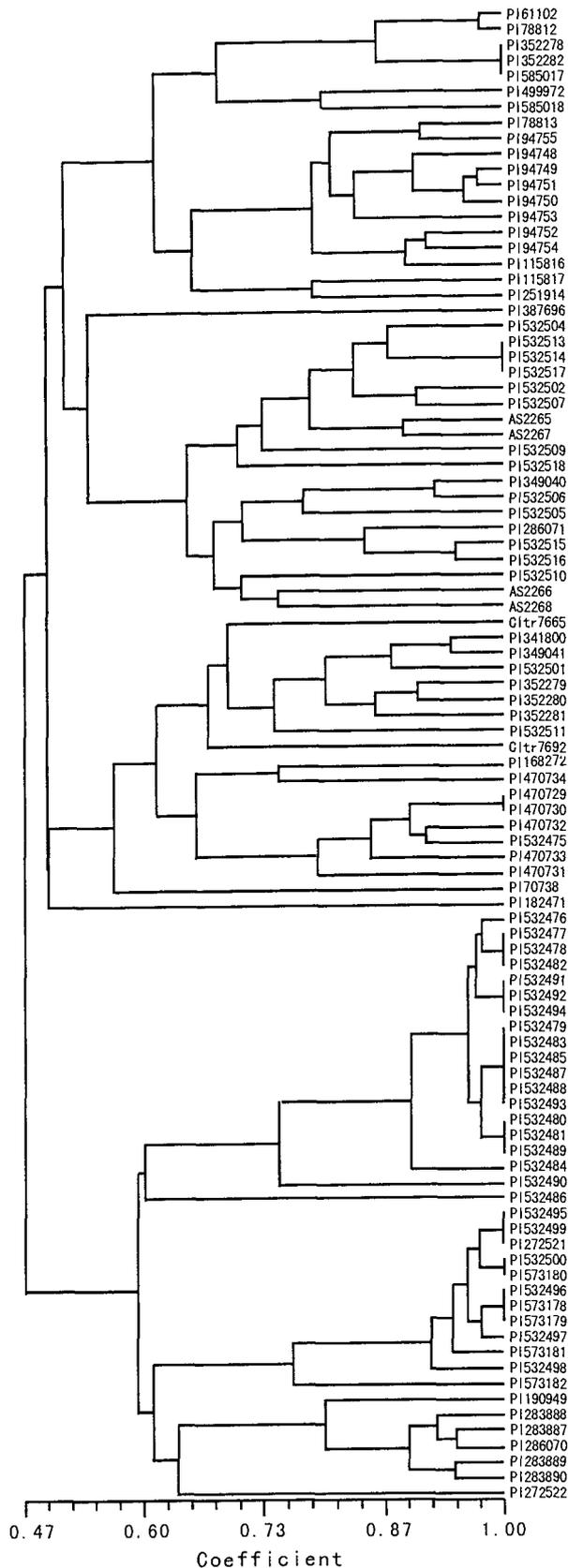


图 2 波斯小麦醇溶蛋白遗传相似系数聚类图  
Fig. 2 Clustering analysis based on the genetic similarity coefficient of gliadin in *T. carthlicum*

### 3 讨论

醇溶蛋白是小麦种子的主要贮藏蛋白之一,控制醇溶蛋白的基因位于第1和第6部分同源群染色体短臂上(魏育明等,2001)。醇溶蛋白组成含量与其谷蛋白的互作对品质有重要影响(Dachkevitch等,1993)。普通小麦醇溶蛋白虽然具有丰富的遗传多样性,但数十年间普通小麦醇溶蛋白并无多大变化(Metakovsky,1998),说明在育种中可供利用的基因资源越来越少,需要寻找一些稀有基因,因而在利用醇溶蛋白进行亲本间遗传差异大小的判别时,不仅需要考虑带多少的差异,而且应尽可能地寻找并利用一些具有特殊带纹的遗传资源(兰秀锦等,2000)。四倍体小麦有野生二粒小麦、栽培二粒小麦、波斯小麦、圆锥小麦、东方小麦、硬粒小麦、波兰小麦、埃塞俄比亚小麦等不同物种或亚种,是普通小麦遗传改良的重要基因资源库。目前,与六倍体小麦相比,对四倍体小麦醇溶蛋白遗传变异的研究相对较少。李桂江等(2004)对野生二粒小麦醇溶蛋白遗传多样性进行分析,发现其具有丰富的遗传多样性且与材料的来源地有关;杨瑞武等(2000,2001)对波兰小麦进行了醇溶蛋白遗传差异研究,结果表明波兰小麦具有明显的遗传多样性,但其遗传聚类与收集地关系不大。张冬芬(2004)对圆锥小麦、波斯小麦、硬粒小麦、波兰小麦、东方小麦等四倍体小麦醇溶蛋白遗传多样性进行研究,发现圆锥小麦具更丰富的遗传变异。本研究利用APAGE技术系统分析了波斯小麦的96份材料,选材分布较为广泛,其中包括起源于地亞美尼亚及其主要分布区——格鲁吉亚、土耳其、达格斯坦(俄罗斯)、前苏联等,还有北美洲的美国、加拿大等,因而研究结果具有较好的代表性。供试材料醇溶蛋白遗传相似系数GS值最大为1.000,最小仅为0.176,其遗传差异很大。GS变异范围的大小能间接地反映来源于不同地区材料间的遗传差异,这与侯永翠等(2004)的观点一致。另外,PI283887(来自伊朗)与PI387696(来自埃塞俄比亚)的两个材料间遗传差异最大,GS值最小,为0.176,有必要对这两份材料进行更深入的研究。同时,波斯小麦醇溶蛋白多态性极高,有较丰富的遗传多样性,还发现有特殊带纹的材料,如PI272522、PI499972、PI470731、PI532509等。

波斯小麦材料间醇溶蛋白位点不但存在丰富的

变异类型,而且其遗传关系与其地理分布还有一定相关性,同一地区收集的材料间可能存在重复。张学勇等(1995)利用醇溶蛋白电泳技术对小麦种质资源进行分析也发现材料间可能存在重复性。如来自格鲁吉亚的PI352278、PI352282和PI585017材料,来自土耳其的PI532479,PI532483,PI532485,PI532487,PI532488和PI532493等10组组内材料间带谱完全相同。利用醇溶蛋白带型的差异可区分绝大多数波斯小麦材料,但由于醇溶蛋白反映的遗传变异仅限于第1和第6同源群的相应位点。因此,仅利用醇溶蛋白还不能区分全部的波斯小麦,必须结合其它手段,如农艺性状考察、细胞学相关技术、高分子量谷蛋白组成分析、SNP、EST-SSR、AFLP、VNTR等技术方可做到更好地区分与鉴定。

### 参考文献:

- 董玉琛,郑殿升. 2000. 中国小麦遗传资源[M]. 北京:中国农业出版社:34-47
- Belay G, Merker A, Tesemma T. 1994. Cytogenetic studies in Ethiopian landraces of tetraploid wheat (*Triticum turgidum* L.) I. Spike morphology vs ploidy level and karyomorphology[J]. *Hereditas Landskrona*, **121**:1, 45-52
- Cooke RJ. 1987. The classification of wheat cultivars using a standard reference electrophoresis method[J]. *J Nature Agric Bot*, **17**:273-281
- Dachkevitch T, Tedaelli R, Biancardi AM, et al. 1993. Genetics of gliadins coded by group 1 chromosomes in the high quality bread wheat cultivar Neepawa[J]. *Theoretical Appl Genet*, **86**: 389-399
- Gol'denberg ZV. 1984. Content of protein and tryptophan in some species of wheat and rye and in wheat-rye amphidiploids [J]. *Bull Acad Sci Georgian SSR*, **114**(2):373-376
- Hou YC(侯永翠), Zheng YL(郑有良), Wei YM(魏育明). 2004. Analysis of genetic diversity of hordein in wild relatives of barley from Qingzang Plateau(青藏高原近缘野生大麦醇溶蛋白遗传多样性分析)[J]. *Southwest China J Agric Sci*(西南农业学报), **17**(5):545-547
- Kihara HF, Lilienfeld. 1949. Proc. 8th[J]. *Int Congr Genet* (Hereditas Suppl. Vol. ): 307-319
- Lan XJ(兰秀锦), Wei YM(魏育明), Liu DC(刘登才), et al. 2000. Gliadin analysis of advanced wheat lines bred in Sichuan, China(四川小麦优良新品系醇溶蛋白分析)[J]. *J Sichuan Agric Univ*(四川农业大学学报), **18**(1):21-24
- Li GJ(李桂江), Wu BH(伍碧华), Hou YC(侯永翠), et al. 2004. Genetic variability of gliadin in *Triticum dicoccoides*(野生二粒小麦醇溶蛋白遗传多样性分析)[J]. *J Triticeae Crops* (麦类作物学报), **24**(3):29-33

- Li SP(李锁平), Meng ZJ(孟兆江). 1999. The advances in alien chromosomal segments and its resistance genes transfer in wheat (外源染色体片段及其抗性基因导入小麦的研究进展)[J]. *J Wuhan Bot Res*(武汉植物学研究), 25—30
- Metakovskii EV, Kudryavtsev AM, Yakobashvili ZA, et al. 1990. Study of the phylogenetic associations of polyploidy wheats by comparing allelic variants of gliadin component blocks in electrophoretic patterns[J]. *Genetika Moskva*, 26(2): 272—282
- Metakovskiy EV. 1998. Genetic diversity of French common wheat germplasm based on gliadin alleles[J]. *Theoretical Appl Genet*, 96: 209—218
- Metakovskiy EV, Kudryavtsev AM, Iakobashvili ZA, et al. 1989. Analysis of phylogenetic relations of durum, carthlicum and common wheats by means of comparison of alleles of gliadin-coding loci[J]. *Theoretical Appl Genet*, 77(6): 881—887
- Nei M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations [J]. *Proceedings Nat Academy Sci USA*, 70: 3 321—3 323
- Nsarellah N, Amri A, Nachit M, et al. 2003. New durum wheat with Hessian fly resistance from *T. araraticum* and *T. carthlicum* in Morocco[J]. *Plant Breeding*, 122(5): 435—437
- Raut VM, Patil VP, Deodikar GB. 1984. Genetic studies in tetraploid wheats. VII. Inheritance of seedling resistance against stem rust races[J]. *Biovigyanam*, 10(2): 101—106
- Waines JG. 1971. What do we not know about wheat evolution? Yakubtsiner M. Is *T. carthlicum* the product of *T. durum* × *T. aestivum*[J]. *Acta Agron Acad Sci Hungaricae*, 20(1—2): 204—207
- Wei YM, Zheng YL, Liu DC, et al. 2002. HMW-glutenin and Gliadin variation in Tibetan weedrace, Xinjiang rice wheat and Yunnan hulled wheat[J]. *Genet Res Crop Evolution*, 49: 327—330
- Wei YM, Zheng YL, Zhou YH, et al. 2001. Genetic diversity of Gli-1 and Gli-2 alleles among Chinese endemic wheats[J]. *Acta Bot Sin*, 43(8): 834—839
- Weng YJ(翁跃进), Dong YS(董玉琛). 1995. Development of *Aegilops comosa* addition lines in common wheat (*Triticum aestivum* L.)]. Effect of wheat anther culture to development of *Aegilops comosa* addition lines in common wheat(普通小麦—顶芒山羊草异源附加系的创建和鉴定 1. 小麦花药培养对创建普通小麦—顶芒山羊草异源附加系的作用)[J]. *Acta Agron Sin*(作物学报), 21(1): 39—44
- Xu SJ(许树军), Dong YC(董玉琛). 1989. Cytogenetical research of the F1 amphidiploid of *T. carthlicum* × *Aegilops tauschii*(波斯小麦 × 节节麦杂种 F1 直接形成双二倍体的细胞遗传学研究)[J]. *Acta Agron Sin*(作物学报), 15(3): 251—257
- Yang RW(杨瑞武), Zhou YH(周永红), Zheng YL(郑有良), et al. 2000. Genetic differences and the relationship of gliadin between *T. polonicum* and *T. petropavlovskiyi*(波兰小麦醇溶蛋白遗传差异及其与新疆稻麦的关系)[J]. *J Triticeae Crops*(麦类作物学报), 20(4): 1—5
- Yang RW(杨瑞武), Zhou YH(周永红), Zheng YL(郑有良), et al. 2001. (波兰小麦醇溶蛋白遗传差异及其与新疆稻麦的关系)[J]. *Guihaia*(广西植物), 21(3): 239—242
- Zhang XY(张学勇), Yang XM(杨欣明), Dong YC(董玉琛). 1995. Genetic analysis of wheat germplasm by acid polyacrylamide Gel Electrophoresis of gliadin(醇溶蛋白电泳在小麦种质资源遗传分析中的应用)[J]. *Sci Agric Sin*(中国农业科学), 28(4): 25—32
- Zhang DF(张冬芬). 2004. Genetic diversity study about storage proteins and SSR marker of tetraploid wheat(四倍体小麦种子贮藏蛋白和 SSR 标记遗传多样性研究)[J]. A Dissertation Presented to Agronomy College of Sichuan Agriculture University in Partial Fulfillment of the Requirement for the Degree of Master of Philosophy(四川农业大学硕士学位论文)

( 上接第 230 页 Continue from page 230 )

- Nishiyama T, Kato M. 1999. Molecular phylogenetic analysis among bryophytes and tracheophytes based on combined data of plastid coded genes and the 18S rRNA gene [J]. *Mol Biol Evol*, 16: 1 027—1 036
- Nishiyama T, Wolf PG, Kugita M, et al. 2004. Chloroplast phylogeny indicates that bryophytes are monophyletic [J]. *Mol Biol Evol*, 21: 1 813—1 819
- Ohyama K, Fukuzawa H, Konchi T, et al. 1986. Chloroplast gene organization deduced from complete nucleotide sequence of liverwort *Marchantia polymorpha* chloroplast DNA [J]. *Nature*, 322: 572—574
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. 1989. Molecular cloning: A Laboratory Manual[M]. 2nd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press
- Shinozaki K, Ohme M, Tanaka M, et al. 1986. The complete nucleotide sequence of the tobacco chloroplast genome: its gene organization and expression [J]. *EMBO J*, 5: 2 043—2 049
- Wang TY, Yuan BM, Chai YR, et al. 2005. Isolation and characterization of matrix attachment region from *Dunaliella salina*[J]. *Guihaia*, 25(2): 145—148(in Chinese)
- Wu SP, Cheng MC, Grace Chen SC. 1999. Characterization of a spinach chloroplast sequence-specific DNA-binding factor for photosystem I psaA operon promoter [J]. *Physiol Plant*, 106: 98