

冬小麦醇溶蛋白图谱与田间生物性状的相关性研究

张玉凤¹, 刘自成^{2,3}, 周 锋^{2,3}

(1. 陇南市武都区东江镇政府, 甘肃 陇南 746005; 2. 陇东学院农林科技学院, 甘肃 庆阳 745000; 3. 甘肃省旱地冬小麦种质创新与应用工程研究中心, 甘肃 庆阳 745000)

摘要: 以冬小麦新品系陇育 0914 的 126 个株行系为试验材料, 进行田间生物性状鉴定, 再用聚丙烯酰胺电泳凝胶(A-PAGE)技术对陇育 0914 醇溶蛋白进行分析。结果发现, 醇溶蛋白 A-PAGE 图谱的变异与田间生物性状的穗色、株高和蜡质层有关, 而田间生物性状的叶耳色、护颖、颖肩和颖嘴的变异在图谱上并没有明显变化。

关键词: 冬小麦; 醇溶蛋白; A-PAGE; 生物性状

中图分类号: S512.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1463(2020)09-0027-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1463.2020.09.008

Correlation Between Glycosylin Map and Field Biological Characters of Winter Wheat

ZHANG Yufeng¹, LIU Zicheng^{2,3}, ZHOU Feng^{2,3}

(1. Dongjiang Town Government, Wudu District, Longnan Gansu 746005, China; 2. College of Agriculture and Forestry Science and Technology, Longdong University, Qingyang Gansu 745000, China; 3. Gansu Aridland Research Center of Winter Wheat Germplasm Innovation and Application Engineering, Qingyang Gansu 745000, China)

Abstract: In this study, 126 lines of the new winter wheat strains of 0914 were used as experimental materials for field biological characteristics identification, and then polyacrylamide electrophoresis gel (A-PAGE) was used for analysis of 0914 gliadin. The results showed that the anomaly of the electrophoretogram by A-PAGE is connected with the color of ear, plant height and wax coat observed by the identification of the biological character, however, the anomaly of the electrophoretogram has been found no correlation with the color of auricle, empty glume, glume shoulder and mouth of glume.

Key words: Winter wheat; Prolamin; A-PAGE; Biological character

小麦醇溶蛋白是小麦种子中的主要贮藏蛋白之一, 约占小麦胚乳贮藏蛋白总量

收稿日期: 2020-06-22

基金项目: 甘肃省旱地冬小麦种质创新与应用工程研究中心“甘发改高技[2017]1162号”项目。

作者简介: 张玉凤(1969—), 女, 甘肃陇南人, 农艺师, 主要从事农业技术推广工作。联系电话: (0)13993959229。Email: 1419231092@qq.com。

通信作者: 刘自成(1968—), 男, 甘肃镇原人, 教授, 硕士, 主要从事作物遗传育种与推广工作。联系电话: (0)15095587788。Email: nxlzch@163.com。

[21] 高 岐, 赵旭光, 谭煜媚. 分光光度法测定-超声波提取植物韭菜中叶绿素含量的研究[J]. 食品工业科技, 2007(8): 166-167.

[22] 林惠鸿, 韦娇媚, 朱积余, 等. 水分胁迫下柚木叶绿素荧光动力学特性[J]. 广西林业科学, 2015, 44(3): 239-243.

[23] 马惠萍. 高温胁迫对辣椒幼苗生长的影响研究[J]. 甘肃农业科技, 2007(1): 18-19.

[24] 王兰兰. 弱光处理对辣椒植株形态及生理指标的影响 [J]. 甘肃农业科技, 2004(5): 30-32.

(本文责编: 杨 杰)

的 50%~60%^[1], 为单肽链, 分子量较小, 通过分子内二硫键、氢键和疏水作用形成球状结构, 无分子间二硫键, 它赋予面团筋延展性^[2]。高分子量麦谷蛋白决定着面团的弹性和强度, 醇溶蛋白的组成和含量决定面团的黏着性和延伸性^[3-4]。国内外许多学者对大麦和小麦的醇溶蛋白进行了遗传表达和品种鉴定研究, 认为醇溶蛋白作为一种种子贮藏蛋白, 其变异几乎不受环境的影响, 是由遗传因素决定的, 因而醇溶蛋白的聚丙烯酰胺凝胶电泳图谱可作为品种的生化指纹, 用于鉴定品种的真实性和纯度, 用种子醇溶蛋白电泳技术区分和鉴定小麦品种已经被很多国家和地区接受^[5-8]。小麦醇溶蛋白有数十条电泳带纹, 可划分为 α 、 β 、 γ 、 ω 区^[9]。酸性聚丙烯酰胺凝胶电泳 (Acid polyacrylamide gel electrophoresis, A-PAGE) 是目前国际上绘制小麦醇溶蛋白“指纹图谱”的常用方法^[10], 具有分辨率高, 重复性强等特点。

我们采用观测田间生物性状和实验室酸性聚丙烯酰胺电泳凝胶法 (Acid polyacrylamide gel electrophoresis, A-PAGE) 对冬小麦 0914 的 126 个株行系进行了对比, 以期找到更快更准确的纯度检验方法, 为小麦品种的纯度检验提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试材料 指示冬小麦材料为陇东学院培育的高代稳定品系陇育 0914, 试验以在陇东学院冬小麦试验农场播种的 126 个陇育 0914 的株行系作为试验材料。试验行长 2 m, 行距 0.2 m。2018 年 9 月播种, 2019 年在每个生育阶段对各性状进行田间检验, 成熟时从每个株行系中选取 1~2 株作为试验材料进行室内 A-PAGE 鉴定。

1.1.2 仪器 电泳仪、摇床、离心机。

1.1.3 试剂 凝胶缓冲溶液: 冰醋酸、甘氨酸。凝胶溶液: 丙烯酰胺、N-N 甲叉双丙烯酰胺、尿素、抗坏血酸、硫酸亚铁。H₂O₂ 溶液: 30% 的 H₂O₂ 溶液。电极缓冲液: 冰醋酸、甘氨酸。染色液: 10% 三氯乙酸、考马斯亮蓝 R250。

1.2 试验方法

1.2.1 蛋白提取 每株材料取单粒种子磨成粉末状待用。将获得的单粒样品置于 1.5 mL 离心管中, 加入 1.0 mL 蛋白提取液, 置于 37 °C 的摇床中震荡 1 h。

1.2.2 样品离心 将样品置于 4 °C、1.2 万 rpm 的离心机中离心 15 min, 取上清液。

1.2.3 样品获取 取 60 μ L 相同浓度的样品按质量比 4:1 加入样品缓冲液。将样品充分涡旋混匀并煮沸 3~5 min 待用。

1.2.4 PAGE 凝胶电泳 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳采用不连续垂直凝胶电泳, 凝胶厚度 1 mm, 浓缩胶浓度 5%, 分离胶浓度 12.5%。组装凝胶模具, 按说明书组装好灌胶模具, 封底时加入混合均匀的 7 mL 凝胶溶液和 1 滴 0.6% H₂O₂ 的混合液, 等待 10 min 后再加入混合均匀的 8 mL 凝胶溶液和 1 滴 0.6% H₂O₂ 的混合液, 插入样品梳, 10 min 后完全聚合。每个样品上样量为 10 μ L。加入电极缓冲液, 恒压 500V 恒温 10~15 °C, 电泳时间为甲基绿前沿指示剂前一直底板所需时间的 3 倍。放置于染色液中过夜。在 7% 乙酸溶液中保存、拍照。

2 结果与分析

2.1 田间生物性状

在田间生物性状鉴定的 126 个株行系中, 叶耳颜色变异的有 2 种, 其中红色 26 个株行系, 占 20.63%; 白色 100 个株行系, 占 79.37%。护颖形状变异的有 4 种, 其中长圆形 19 个株行系, 占 15.08%; 长方形 2 个株行系, 占 1.59%; 椭圆形 98 个株行系,

占 77.78%；卵圆形 7 个株行系，占 5.56%。颖肩形状变异的有 4 种，方肩 17 个株行系，占 13.49%；丘肩有 4 个株行系，占 3.17%；无肩有 35 个株行系，占 27.78%；斜肩有 70 个株行系，占 55.56%。颖尖形状的变异有 4 种，钝形有 13 个株行系，占 10.32%；鸟喙形有 6 个株行系，占 3.96%；锐形有 107 个株行系，占 84.92%。有蜡质层的有 118 个株行系，占 93.65%；无蜡质层有 8 个株行系，占 6.36%。将株高高于或低于平均值 10 cm 以上的植株定义为变异株行系，平均值为 103.12 cm，株高偏低的有 2 个株行系，占 1.58%。穗色变异的有 3 种，红色 4 个株行系，占 17%；黄色 113 个株行系，占 89.68%；绿色 9 个株行系，占 7.14%。

2.2 生物性状和电泳结果比较

比较田间生物性状鉴定与醇溶蛋白 A-PAGE 电泳结果，发现田间生物性状鉴定中出现性状变异的小麦在电泳过程中有很大的概率会产生不一样的图谱。第 8、10、105、107 株行系田间生物性状检测无变异(表 1)；醇溶蛋白 A-PAGE 电泳的图谱如图 1 所示，从左到右第 1、3、4、6 分别为第 8、10、105、107 株行系的图谱显示没有变异。表 1 中的第 9、106 株行系的田间生物性状检测的株高、抽穗期的穗色及蜡质层发生变异；图 1 中的第 2、5 分别为 9、106

株行系的小麦图谱，其性状显示株高偏低、穗色为绿色，其图谱也与田间观察未变异小麦的图谱有所不同，它们的图谱异常是由于穗色和株高的变异造成的。统计发现，肉眼观察的小麦变异率与电泳图谱间的变异率较为接近，因此在醇溶蛋白 A-PAGE 图谱的变异研究中，穗色、株高和蜡质层变异则小麦的图谱也会有明显不同，具有高度的相关性。尤其是株高和穗色。只要穗色、株高或蜡质层中任何一项发生变异，其醇溶蛋白 A-PAGE 图谱便会发生变异。

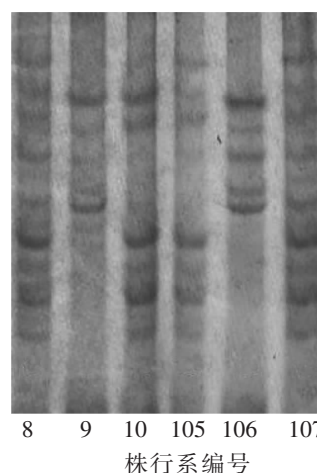


图 1 田间生物性状检测小麦的叶耳颜色、护颖、颖肩和颖嘴的变异在图谱上并没有明确显示，如第 72~78 行(表 2、图 2)。第 72、74 行的叶耳颜色有变化，而图谱没有异常。

3 结论与讨论

表 1 电泳图谱和田间生物性状比较

株行系编号	样品编号	叶耳色	护颖	颖肩	颖嘴	蜡质层	株高/cm	穗色	条带变异
8	0914-8	白	椭圆形	无肩	锐形	有	102	黄色	无
10	0914-10	白	椭圆形	丘肩	锐形	有	105	黄色	无
107	0914-107	白	椭圆形	斜肩	锐形	有	102	黄色	无
105	0914-105	白	椭圆形	无肩	锐形	有	105	黄色	无
9	0914-9	白	长圆形	无肩	锐形	无	74	绿色	变异
106	0914-106	白	长方形	方肩	锐形	无	85	绿色	变异

表 2 叶耳颜色变化小麦与正常小麦图谱对比

株行系编号	样品编号	叶耳色	护颖	颖肩	颖嘴	蜡质层	株高/cm	穗色	条带变异
72	0914-72	红	长圆形	斜肩	锐形	有	107	黄色	无
73	0914-73	白	椭圆形	无肩	锐形	有	102	黄色	无
74	0914-74	红	椭圆形	斜肩	锐形	有	104	黄色	无
75	0914-75	白	椭圆形	无肩	锐形	有	102	黄色	无
76	0914-76	白	椭圆形	无肩	锐形	有	99	黄色	无
77	0914-77	白	椭圆形	斜肩	锐形	有	97	黄色	无
78	0914-78	白	椭圆形	斜肩	锐形	有	102	黄色	无

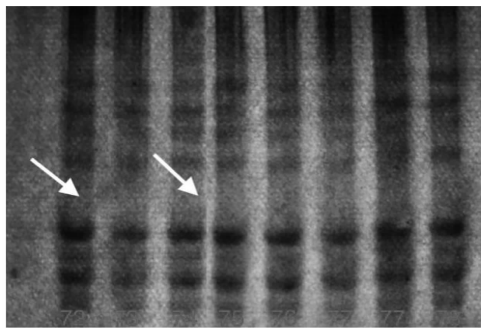


图 2 生物性状的变化未引起 A-PAGE 电泳图谱变化(以第 72-78 行为例)

通过生物性状和凝胶电泳纯度鉴定发现,小麦的株高、抽穗期的穗色及蜡质层的有无可引起电泳图谱发生变化,而作为小麦品种纯度鉴定重要生物性状的叶耳的颜色的变异在电泳图谱中没有显示出来,因此小麦的株高、抽穗期的穗色及蜡质层的有无可作为品种纯度鉴定的生物性状^[11-12],而叶耳的性状变异不会反映在 APAGE 电泳图谱中,这还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 郑竹,李鹏,张素勤.一粒葡 8-5-2 和 P5 小麦杂交后代种子贮藏蛋白分析[J].安徽农业科学,2009(1):107-108.
- [2] 马永强,韩春然,石忠志.小麦醇溶蛋白的研究进展[J].食品科学,2006(12):796-800.
- [3] 吴春太,徐如宏,张庆勤.节燕 98-1 98-2 98-3 的高分子量谷蛋白亚基的比较研究[J].

西南农业大学学报(自然科学版),2004(3):59-63.

- [4] 张素勤,李鹏,耿广东.小麦远缘杂交后代的高分子量麦谷蛋白亚基组成分析[J].安徽农业科学,2008(12):116-117;139.
- [5] 丁虹.小麦醇溶蛋白的研究[J].遗传,1988(6):41-43.
- [6] 刘华,王宇生,张辉.小麦种质资源醇溶蛋白指纹图谱数据库的初步建立及应用[J].作物学报,1999(6):20-28.
- [7] 肖大海,杨海鹏.我国燕麦遗传资源的收集与鉴定概况[J].作物品种资源,1992(3):9-10;22.
- [8] 张健全,王彦荣.苏丹草品种纯度鉴定技术的研究——过氧化物酶同工酶标记[J].草业学报,2002,11(2):95-99.
- [9] 杨海峰,李小燕,徐向阳,等.小麦醇溶蛋白组分的遗传研究[J].作物学报,2009,29(6):976-981.
- [10] 郎明林,卢少源,赵家发,等.适合我国小麦醇溶蛋白“指纹图谱”绘制的改良 A-PAGE 分子标记技术[J].河北农业大学学报,1998(4):1-5.
- [11] 张守润.利用幼苗及籽粒形态鉴定玉米品种真实性和纯度的研究[J].甘肃农业科技,2010(5):11-14.
- [12] 张守润.等电聚焦电泳法在 3 种蔬菜种子真实性及纯度鉴定中的应用[J].甘肃农业科技,2010(7):22-24.

(本文责编:郑立龙)