

# 几种小麦雄性不育系及其保持系、恢复系的种子 高分子量谷蛋白亚基比较研究

牛国阳<sup>1,2</sup>, 陈庆富<sup>1\*</sup>, 王 燕<sup>1</sup>

(1.贵州师范大学生命科学学院植物遗传育种研究所, 贵州 贵阳 550001; 2.咸阳职业技术学院生物科技系, 陕西 咸阳 712046)

**摘 要:** 为了阐明同核不同细胞质的小麦雄性不育系及其保持系、恢复系之间在种子高分子量谷蛋白亚基异同, 通过SDS-聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)对T型、Q型、AL型三种小麦雄性不育系及其保持系、恢复系共42个小麦种质系的高分子量谷蛋白亚基(HMW-GS)进行分析。研究结果显示, 保持系绵阳92-8与其三个不育系(TA92-8、QA92-8、AL92-8)在Glu-A1和Glu-B1位点上没有明显差异, 但是在Glu-D1位点彼此有显著差异。T型、Q型、AL型不育胞质彼此有一定的差异, 不育系与其核供体保持系之间是否有差异, 主要取决于特定核质互作关系。恢复系和保持系在谷蛋白亚基组成上也存在一定的差异, 主要表现在Glu-A1位点恢复系多数无带, 保持系一般有谱带2\*; 在Glu-B1位点, 恢复系谱带6、8频率高, 谱带7频率低, 而保持系相反, 即谱带6、8频率低, 谱带7频率高。此外, 在本研究供试材料中保持系有较多的优质亚基组合, 而恢复系有较少的优质亚基组合, 这说明本研究中的恢复系品质不够优良, 在以后的改良中需要加强品质选育工作。本研究为T型、Q型、AL型不育系的区分提供了一个有效的方法, 对小麦胞质雄性不育性的遗传与生理机制研究有一定的意义。

**关键词:** 普通小麦; 胞质雄性不育系; HMW-GS; SDS-PAGE

中图分类号: S188<sup>+.3</sup>

文献标志码: A

文章编号: 94047-(2012)03-

小麦是世界上的重要的粮食作物之一, 蛋白质含量较丰富, 其中把溶于稀酸或稀碱的称为谷蛋白<sup>[1-2]</sup>, 其中高分子量谷蛋白(HMW)和低分子量谷蛋白(LMW)分别占胚乳蛋白的10%和30%<sup>[3-4]</sup>。长期以来国内外多数报道都是在碱性条件下(Tris-glycine缓冲系统, pH8.3), 采用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)方法对麦类种子高分量谷蛋白进行蛋白亚基组成分析和品种鉴定等的研究<sup>[5-8]</sup>。自从1962年Wilson & Ross首次育成T型胞质(T. Timopheevii细胞质)不育系并完成“三系”(不育系、保持系和恢复系的简称)配套以后。五十年来, 尽管人们发现了多种不育系, 如T型、K型(具有Aegilops kotschyii细胞质)、V型(具有

Ae.ventricosa细胞质)、A1型(普通小麦细胞质)、Q型(具有燕麦细胞质)等多种不同胞质不育系, 并较全面地研究了其恢复性、恢复源、杂种优势等<sup>[9-14]</sup>。由于以前的相关研究主要为小麦种子蛋白亚基与品质具有密切的关系<sup>[15-19]</sup>, 而关于小麦T型、Q型、AL型系列胞质不育系具有种子不饱满、易穗发芽等的缺点, 是否与种子高分子量谷蛋白亚基表达和积累有关, 以及相同细胞质的小麦雄性不育系及其保持系、恢复系之间在种子高分子量谷蛋白亚基上是否存在差异等未见报道。本文从SDS-PAGE方面, 对小麦不育系、保持系、恢复系种子的谷蛋白质亚基的差异进行研究, 对这个问题进行研究以便为杂种小麦生产和种质资源的利用奠

收稿日期: 2012-09-8 修回日期: 2012-00-00

资助项目: 教育部新世纪人才支持计划(NCET-04-0913), 贵州省11.5重大科技攻关项目(030507)。

作者简介: 牛国阳(1979-), 男, 汉族, 陕西武功人, 硕士, 助教, 从事小麦生物技术遗传育种研究。E-mail: niugy@163.com; Tel: 15991092991。\*, 通讯作者(Corresponding author): 陈庆富(1966-), 男, 贵州贵阳人, 博士, 博导, 教授, 从事荞麦、小麦等植物遗传育种研究。地址: 贵阳市宝山北路116号, 贵州师范大学生命科学学院植物遗传育种研究所。

定一定的基础。

本实验所用的4个不育系、15个恢复系、23个恢复系小麦品种见表1，每个品种取4粒种子，共168个样品。所有实验材料由贵州师范大学植物遗传育种研究所提供。所有实验也均在该研究所完成。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

表1 实验材料及特点

序号	品种	特点	序号	品种	特点
1	绵阳92-8	保持系	22	白兔3-6	保持系
2	TA92-8	T型不育系	23	旱丰2号	保持系
3	QA92-8	Q型不育系	24	山农45	保持系
4	AL92-8	AL型(节型)	25	鲁麦23	保持系
5	QA1104	Q型不育系	26	济麦20	保持系
6	QB1104	保持系	27	农大04-01	保持系
7	R720	恢复系	28	新麦9号	保持系
8	R15119	恢复系	29	丰优 94-206	保持系
9	R3	恢复系	30	郑麦 9023-7	保持系
10	R650	恢复系	31	开麦79	保持系
11	R714-1	恢复系	32	鲁淄9808-59	保持系
12	R686	恢复系	33	豫麦49	保持系
13	R729-1	恢复系	34	安麦96-8	保持系
14	R660	恢复系	35	毕麦15号	保持系
15	R665-1	恢复系	36	毕麦5号	保持系
16	R716	恢复系	37	综矮抗2号	保持系
17	R720-1	恢复系	38	成都光头	保持系
18	R670-6	恢复系	39	绵阳26	保持系
19	R668	恢复系	40	青1028	保持系
20	R666	恢复系	41	川麦25	保持系
21	R673	恢复系	42	徐州25	保持系

### 1.2 方法

高分子量谷蛋白SDS-PAGE电泳方法参考栗站稳等<sup>[20]</sup>的方法进行，按PIP法<sup>[21]</sup>进行读带。以中国春(Null, 7+8, 2+12)作为读带对照品种。通过软件SPSS 6.0计算出谷蛋白各亚基的平均分子量，见表2所示。

1.2.1 样品制备 取1粒小麦种子，敲碎至粉末状，置1.5mL离心管中，分别加入0.3ml 70%乙醇和50%异丙醇除去醇溶蛋白，振荡，超声15分钟，60~65℃水浴30min（期间搅动2次），重复2次上述流程后，加入0.4mL种子蛋白提取液（将2.0g SDS，5.0mL β-巯基乙醇，10mL甘油，

0.002g溴酚兰，0.8g Tris溶于小于100mL的蒸馏水中，用HCL调pH值至6.8，并定容至100mL），震荡混匀，超声15分钟，60摄氏度水浴30分钟，4℃备用。第二天再于水浴锅60℃15min，于冰冻离心机4℃13000rpm离心15min。取上清液，转入新的离心管内，水浴60℃30min，进样，电泳。

1.2.2 电泳及染色 采用下层胶（T=13%）、中层胶（T=7%）、上层胶（T=4.3%）的三层胶电泳方法，用微量进样器吸取谷蛋白上清液30 μL加入点样孔，设置最大电泳电压300V，电流恒流25mA，电泳15hrs左右，待溴酚蓝完全跑到电泳槽下端为止。电泳结束以后，凝胶剥离后在染色液（称取

表2 本实验中高分子量谷蛋白亚基平均分子量

位 点	亚基类型	平均分子量(kDa)	所有材料中的频率(%)	恢复系中的频率(%)	保持系中的频率(%)
Glu-A1	Null		66.7	90	46.7
	1	104.11	5.6	10	3.3
	2 <sup>*</sup>	101.28	27.8	0	50
	6	96.71	29.6	80	0
	7	92.91	64.8	25	93.3
	13	92.67	7.4	10	6.7
Glu-B1	14	91.25	3.7	0	6.7
	15	88.24	3.7	0	6.7
	16	87.33	3.7	0	6.7
	19	90.13	3.7	10	0
	8	86.20	57.4	85	43.3
	9	83.62	24.1	5	40
Glu-D1	2	100.49	68.5	85	60
	3	99.16	13.0	0	16.7
	5	98.86	18.5	15	23.3
	10	82.69	33.3	30	40
	12	81.55	66.7	70	60
	26	79.32	14.8	5	16.7

0.125g考马斯亮蓝R250, 加50%甲醇227mL, 冰乙酸23mL混匀)中染色约24小时, 然后放入脱色液(冰乙酸18.75mL, 甲醇12.5mL, 加蒸馏水定容至250mL)中脱色两次, 至背景清晰, 于胶片观察灯下照相保存。

## 2 结果与分析

所有实验的小麦种质(系)的高分子量谷蛋白亚基组成情况见表3、表4。其中亚基26为新命名亚基, 其平均分子量大约为79.32kDa, 其遗传可能受Glu-D1位点控制。本实验材料中一些优质亚基组合在保持系和恢复系中的频率见表5。部分高分子量谷蛋白电泳图及其模式图见图1, 图2。

表3 小麦三系高分子量谷蛋白亚基组成

序号	品种(系)	谷蛋白亚基组成			备注
		Glu-A1	Glu-B1	Glu-D1	
1	绵阳92-8	Null	7	5+10+26	保持系
2	TA92-8	Null	7	2+12+26	T型胞质
3	QA92-8	Null	7	3+12+26	Q型胞质
4	AL92-8	Null	7	3+12	AL型胞质
5	QA1104	Null	7+8	2+12	Q型胞质
6	QB1104	Null	7+8	2+12	保持系
7	R720	Null	6+8	2+12	恢复系
8	R15119-1	Null	7+8	5+10	恢复系
9	R15119-2	Null	13+19	5+10	恢复系
10	R15119-3	Null	6+7+8	2+12	恢复系
11	R3	Null	13+19	2+12	恢复系
12	R650	Null	6+8	2+12	恢复系
13	R714-1-1	Null	6+8	2+10	恢复系

14	R714-1-2	1	6+8	2+10	恢复系
15	R714-1-3	Null	6+7+8	2+12,	恢复系
16	R686	1	6+8	2+12	恢复系
17	R729-1	Null	6+8	2+12	恢复系
18	R660	Null	6+8	2+12	恢复系
19	R665-1	Null	6+8	2+12	恢复系
20	R716	Null	6+8	5+10	恢复系
21	R720-1	Null	6+8	2+12	恢复系
22	R670-6	Null	7+9	2+10+26	恢复系
23	R668	Null	6+8	2+12	恢复系
24	R666-1	Null	6+7+8	2+12	恢复系
25	R666-2	Null	6+8	2+12	恢复系
26	R673	Null	6+8	2+12	恢复系

表4 其它保持系小麦品种的高分子量谷蛋白亚基组成

序 号	品 种	亚基组合类型			备注
		Glu-A1	Glu-B1	Glu-D1	
27	毕麦15号-1	2*	7+9	2+10	保持系
28	毕麦15号-2	Null	7+9	2+10	保持系
29	毕麦5号-1	2*	7+8	2+10	保持系
30	毕麦5号-2	Null	7+8	2+10	保持系
31	综矮抗2号-1	2*	7+9	2+12+26	保持系
32	综矮抗2号-2	Null	7+9	2+12+26	保持系
33	综矮抗2号-3	2*	7+8	5+10+26	保持系
34	成都光头	2*	7+8	3+12	保持系
35	绵阳26	Null	7+9	2+12	保持系
36	青1028	Null	7+8	2+12	保持系
37	川麦25	2*	7+8	3+12	保持系
38	徐州25-1	Null	7+9	5+10	保持系
39	徐州25-2	2*	7+9	5+10	保持系
40	白兔3-6	Null	7+8	2+12	保持系
41	旱丰2号	2*	7+9	3+12	保持系
42	山农45	2*	7+8	3+12	保持系
43	鲁麦23	2*	14+15	3+12	保持系
44	济麦20	2*	13+16	5+12	保持系
45	农大04-1	2*	7+8	5+10	保持系
46	农大04-2	Null	7+9	2+10	保持系
47	新麦9号	Null	7+8	2+10	保持系
48	丰优94206	Null	7+9	2+12	保持系
49	郑麦9023	Null	7+8	2+12	保持系
50	开麦79	2*	14+15	2+12	保持系
51	鲁淄9808-59-1	2*	7+8	2+12	保持系
52	鲁淄9808-59-2	2*	13+16	2+12	保持系
53	豫麦49	1	7+9	5+12	保持系
54	安麦96-8	Null	7+9	2+10+26	保持系

表5 优质亚基及组合在保持系和恢复系中的频率

位 点	Glu-A1		Glu-B1			Glu-D1
优质亚基	1	2*	7+8	14+15	13+16	5+10 和 5+10+26
在保持系中的频率	3.3%	46.9%	43.3%	6.7%	6.7%	13.3%
在恢复系中的频率	10%	0	5%	0	0	15%

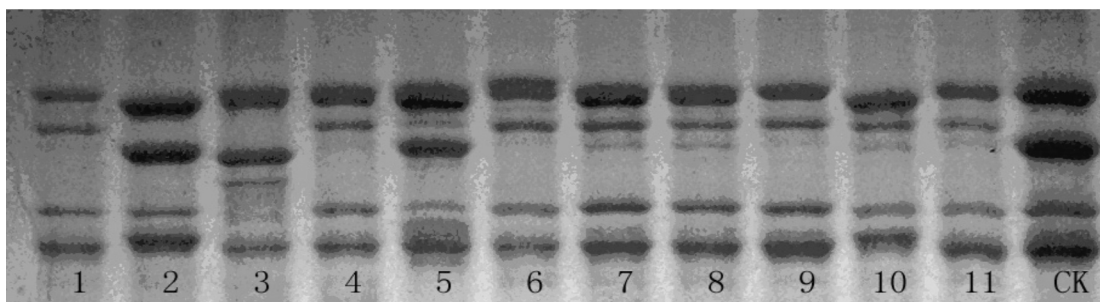


图1 高分子量谷蛋白电泳图

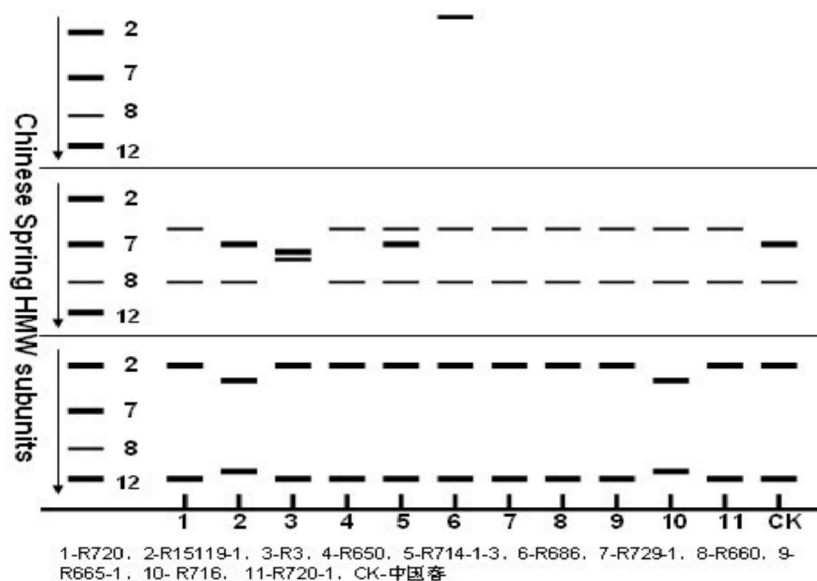


图2 高分子量谷蛋白亚基电泳模式图

### 2.1 不育系及其相应保持系的区别

从表3可以看出：保持系绵阳92-8与其三个不育系（TA92-8、QA92-8、AL92-8）在Glu-A1位点均无带，在Glu-B1位点也均有谱带7。但是它们在Glu-D1位点彼此有显著差异。绵阳92-8为5+10+26，其不育系TA92-8、QA92-8、AL92-8分别为2+12+26、3+12+26、3+12带型，它们彼此均有差异。三个不育系均具有谱带12，不同于保持系具有谱带10，这个谱带10可能与其雄性不育性有关。三个不育系在谱带2、3、5、26上不一样，

反映了不育系胞质来源的不同特点。另外一个不育系QA1104及其保持系QB1104在Glu-A1、Glu-B1、Glu-D1三个位点上均具有完全一致的谱带，即均具有Glu-A1位点无带、Glu-B1位点为7+8谱带、Glu-D1位点为2+12谱带。说明在该保持系核背景下，不育系与保持系在谷蛋白亚基上无差异。

上述两个方面的结果表明，T型、Q型、AL型不育系与保持系谷蛋白亚基组成是否有差异，取决于特定的保持系核背景。不同保持系核背景

下,这三种不育系与保持系在谷蛋白亚基组成上可能有差异,也可能没有差异。

## 2.2 恢复系与其它保持系的区别

表3结果显示,在20个恢复系中,绝大多数恢复系(占80%)在Glu-B1位点都含有谱带6,暗示该谱带可能与恢复性有关。在不具有6谱带的4个恢复系中,有2个品系在Glu-B1位点均具有13+19带型。在其它位点上恢复系谷蛋白亚基组成无显著特点。

表4结果显示,几乎所有保持系(占有保持系数目的86%)在Glu-B1位点均具有谱带7,与表9中的不育系和保持系一样,说明谱带7可能是保持系的基本谱带,与保持性能有关。在其他位点上保持系与不育系无明显差异。

表5结果显示,本实验供试的42个种质系中,在Glu-A1位点绝大多数(占66.7%)为无带,其次谱带2\*有较高频率(占27.8%)。在Glu-B1位点上,出现频率最高的谱带是7和8,分别占64.8%、57.4%,其次是谱带6和9,其频率分别为29.6%和24.1%,其它谱带频率均低于8%。在Glu-D1位点,以谱带2和12出现频率最高,其频率分别为68.5%、66.7%,大大超过其他谱带。在恢复系中,出现频率在50%以上的谱带为Glu-A1位点无带、Glu-B1位点谱带6、8、Glu-D1位点谱带2、12。在保持系中,出现频率在50%以上的谱带为Glu-A1位点谱带2\*、Glu-B1位点谱带7、Glu-D1位点谱带2、12。

因此,从谱带频率来看,恢复系和保持系的主要差异表现在Glu-A1和Glu-B1位点,即在Glu-A1位点恢复系多数无带,保持系一般有谱带2\*;在Glu-B1位点,恢复系谱带6、8频率高,谱带7频率低,而保持系相反,即谱带6、8频率低,谱带7频率高。

表5结果显示,保持系中有多种优质亚基(组合):Glu-A1位点的1、2\*,Glu-B1位点的7+8、14+15、13+16,Glu-D1位点的5+10和5+10+26。其中以2\*、7+8频率较高,达40%以上。恢复系中的优质亚基(组合)频率较小,主要Glu-A1位点的1、Glu-B1位点的7+8、Glu-D1位点的5+10和5+10+26。这说明实验材料中的恢复系品质不够优良。

## 3 讨论

关于普通小麦不育系、保持系和恢复系种子蛋白亚基组成差异的报道很少。腾晓月<sup>[22]</sup>报导分析了T型细胞质雄性不育系及其保持系的不同发育时期可溶性蛋白的组分,发现两系之间在种子和花药之间有明显差异,而在苗期叶片未发现显著差异。沈银柱<sup>[23]</sup>报导不同细胞质来源的雄性不育系,其萌动胚及幼芽可溶性蛋白也有明显差异。范宝莉<sup>[24]</sup>报导在T型小麦雄性不育拔节期、孕穗期叶片里,有一个33KD蛋白组分存在,而在保持系中没有发现此蛋白组分。但是对相同保持系的多种不育系进行的种子蛋白亚基研究尚未见报道。本研究首次以相同保持系(绵阳92-8)的、分别具有T型、Q型、AL型不同胞质的不育系(TA92-8、QA92-8、AL92-8)为材料,研究了这三种不育系及其保持系在种子高分子量谷蛋白亚基组成上的差异。结果显示,保持系绵阳92-8与其三个不育系(TA92-8、QA92-8、AL92-8)在Glu-A1和Glu-B1位点上没有明显差异,但是在Glu-D1位点彼此均有差异。三个不育系均具有谱带12,不具有保持系中的谱带10,这个谱带10可能与其雄性不育性有关。但是,另外一个不育系QA1104及其保持系QB1104具有完全一致的谱带。这些结果说明T型、Q型、AL型不育胞质彼此有一定的差异。在不同保持系核背景下,由于核质互作关系改变,不育系与保持系在谷蛋白亚基组成上可能有差异、也可能没有差异。同时也表明,当核供体改变后,核质互作关系可能发生变化,导致种子蛋白亚基组成在不育系与保持系之间、以及相同保持系的不育系之间的差异发生改变。也就是说,不育系与其核供体保持系之间是否有差异,主要取决于特定核质互作关系。这些结果与沈银柱<sup>[23]</sup>报道是一致的。与腾晓月<sup>[22]</sup>的报道是存在差异的,腾晓月是在不同时期对T型不育系及保持系的可溶性蛋白组分研究,发现不育系在花药和种子中有特异性蛋白存在,而在苗期时未发现,这表明雄性不育基因的表达具有时空性。

对15个恢复系和23个保持系也进行了谷蛋白亚基分析。结果显示,恢复系和保持系有一定的差异,同时,保持系中有多种优质亚基(组

合), Glu-A1位点的1、2\*, Glu-B1位点的7+8、14+15、13+16, Glu-D1位点的5+10和5+10+26。其中以2\*、7+8频率较高,达40%以上。恢复系中的优质亚基(组合)频率较小,主要Glu-A1位点的1、Glu-B1位点的7+8、Glu-D1位点的5+10和5+10+26。这说明本研究中的恢复系品质不够优良,在以后的改良中需要引进优质亚基<sup>[25]</sup>,加强品质选育工作。

### 参 考 文 献

- [1] 董超华,徐如宏,张庆勤.小麦醇溶蛋白和谷蛋白研究进展[J].山地农业生物学报,2003,22(2):164-168.
- [2] 段淑娥.小麦麦谷蛋白亚基及其基因的研究进展[J].西安文理大学学报(自然科学版),2007,10(3):69-75.
- [3] 雷东锋,马建岗,赵文明.小麦种子贮藏蛋白质研究进展[J].西北植物学报,2001,21(3):584-593.
- [4] 晏月明,刘广田,S. Prodanovic.小麦谷蛋白亚基的凝胶电泳分离及其品种鉴定[J].中国粮油学报,1998,13(6):1-5.
- [5] TENG Xiaoyue,TAO Longxing,SUN Leixin. Identification of Wheat Proteins by Electrophoresis. Acta Agronomica Sinica,1988,14:322-328 (Ch).
- [6] Shewry P R, Audrey J F, Pickering R A, et al. The Genetic Analysis of Barley Storage Proteins[J]. Heredity,1980,44:383-389.
- [7] 魏乐,刘琦,刘宝龙,等.无芒春小麦高分子量麦谷蛋白亚基组成分析[J].西北农业学报,2011,20(6):84-89.
- [8] 傅晓艺,贾丹,李孟军,等.澳大利亚小麦品种高分子量谷蛋白亚基组成分析[J].安徽农业科学,2011,39(28):17209-17210,17264.
- [9] 黄铁城.杂种小麦研究[M].北京:北京农业大学出版社,1990.
- [10] 赵寅槐.春×冬小麦F1的杂种优势及其双亲性状的相关性[J].江苏农业科学,1983(1):13-17.
- [11] Chen Q.F. Improving male fertility restoration of common wheat for Tritium timopheevii cytoplasm [J]. Plant Breeding,2003,122(5):401-404.
- [12] Chen, Q.F. and Q.Q. Zhang. Improvement of Q-type cytoplasmic male-sterile lines and their restorers. Seeds,1994,1:3-5.
- [13] Chen, Q.F., Y.H. Zhou, Z.S. Peng, and H.R. Jiang. Studies on the distribution of hybrid chlorosis Ch1 gene and the T-type cytoplasm fertility restoring genes in Chinese endemic wheats. Guihaia,1998,18(4):325-330.
- [14] Murai K. Comparison of two fertility restoration systems against photoperiod-sensitive cytoplasmic male sterility in wheat[J]. Plant Breeding,2002,121(4):363-365.
- [15] 雷振生,刘丽,王美芳,等. HMW-GS和LMW-GS组成对小麦加工品质的影响[J].作物学报,2009,35(2):203-210.
- [16] 聂莉,芦静,吴新元,等.新疆小麦高分子量谷蛋白亚基对其加工品质的影响[J].新疆农业科学,2010,47(3):443-448.
- [17] Payne P I, C N Law, E E Mudd. Control by Homologous group I chromosomes of the high-molecular-weight subunits of glutenin, a major protein of wheat endosperm[J]. Theor. Appl. Genet. 1980,58:113-120.
- [18] Payne P I, K G Corfield, L M Holt, et al. Correlations between the inheritance of certain high-molecular-weight subunits of glutenin and bread-making quality in progenies of six crosses of bread wheat[J]. J. Sci. Food Agric. 1981,32:51-60.
- [19] Payne P I. Genetics of wheat storage proteins and the effect of allelic variation on bread making quality[J]. Ann. Rev. Plant Physiol. 1987,38:141-153.
- [20] 栗站稳,阎旭东. 适于我国分析小麦高分子量谷蛋白亚基的SDS-PAGE方法[J].河北农业大学学报,1994,17(1):7-10.
- [21] Payne P I, G J Lawrence. Catalogue of alleles for the complex gene loci, GLU-A1, GLU-B1, GLU-D1 which code for high-molecular-weight subunit of glutenin in hexaploid wheat [J]. Cereals Res Commun, 1983,11(1):29-35.
- [22] 腾晓月,陈雪晖.小麦T型细胞质雄性不育系和保持系蛋白质比较研究[J].作物学报,1996,22(3):264-270.
- [23] 沈银柱,刘植义,黄占景,等.小麦不同细胞质雄性不育系及其保持系萌动胚及幼芽可溶性蛋白等电聚焦电泳分析[J].植物学报,1994,36(4):283-288.
- [24] 范宝莉,王振英,陈宏,等.小麦T型细胞质在雄性不育系、保持系蛋白质双向电泳比较研究[J].实验生物学报,2004,37(1):45-49.
- [25] 郭庆瑞,郭风琴.春小麦麦谷蛋白优质亚基的引进与应用研究[J].内蒙古农业科技,2011(3):64-67.

[责任编辑、校对:牛国阳]

(下转第40页)