

小麦族四个属模式种的醇溶蛋白分析

杨瑞武¹, 周永红², 郑有良², 胡超¹

(1. 四川农业大学基础部, 四川雅安 625014; 2. 四川农业大学小麦研究所, 四川都江堰 611830)

摘要: 利用酸性聚丙烯酰胺凝胶电泳(APAGE)对小麦族披碱草属、鹅观草属、狷草属和仲彬草属4个属的模式种进行了醇溶蛋白电泳分析, 结果表明: (1) 4个模式种具有明显的醇溶蛋白遗传多样性, 其种间醇溶蛋白多态性高达92.3%; (2) *Elymus sibiricus* 和 *Hystrix patula* 具有相似的醇溶蛋白带型, 而 *Roegneria caucasica* 和 *Kengyilia gobicola* 的带型基本相似, 其醇溶蛋白图谱能够反映一定的系统关系; (3) 不同收集地的 *E. sibiricus* 材料间也存在明显的醇溶蛋白遗传差异, 新疆的 *E. sibiricus* 具有较丰富的醇溶蛋白带纹, 而甘肃的 *E. sibiricus* 的醇溶蛋白带纹较少。

关键词: 小麦族; 披碱草属; 鹅观草属; 狷草属; 仲彬草属; 模式种; 醇溶蛋白

中图分类号: Q945 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2001)03-0239-04

Gliadin analysis of type species of four genera in Triticeae

YANG Rui-wu¹, ZHOU Yong-hong², ZHENG You-liang², HU Chao¹

(1. Department of Basic Sciences, Sichuan Agricultural University, Yaan 625014, China;

2. Triticeae Research Institute, Sichuan Agricultural University, Dujiangyan 611830, China)

Abstract: The gliadin patterns of type species of four genera in Triticeae were analyzed by using acid polyacrylamide gel electrophoresis(APAGE). The results show as follows: (1) All the four type species have significant gliadin polymorphism, among which gliadin polymorphism amounts to 92.3%; (2) *Elymus sibiricus* and *Hystrix patula*, *Roegneria caucasica* and *Kengyilia gobicola* have similar patterns respectively, and their gliadin maps indicates affinity between them to a certain degree; (3) There exists distinct difference in gliadin among the different accessions in *E. sibiricus*. In this paper, *E. sibiricus* from Xinjiang is rich in gliadin patterns, while that from Gansu is poor in gliadin patterns.

Key words: Triticeae; *Elymus*; *Roegneria*; *Hystrix*; *Kengyilia*; type species; gliadin

在现代麦类作物育种中, 小麦族近缘野生种已成为改良麦类作物抗病、抗虫、抗逆、籽粒品质等的重要基因资源。作为丰富麦类作物遗传多样性的基因资源库, 小麦族植物具有重要的经济价值和广泛的应用前景。小麦族模式种是借以建立小麦族各属的模式植物, 对模式种的研究, 不仅能更好地认识小麦族属间

系统学关系, 也能为利用小麦族资源进行麦类作物育种积累资料。

麦醇溶蛋白是麦类植物种子胚乳中的主要贮藏蛋白, 在成熟种子中, 醇溶蛋白约占总蛋白含量的40%。醇溶蛋白在结构上为单亚基, 经过酸性聚丙烯酰胺凝胶电泳(acid polyacrylamide gel electropho-

收稿日期: 2000-04-25

作者简介: 杨瑞武(1969-), 男, 重庆垫江人, 硕士, 讲师, 从事植物学教学和小麦族生物系统学研究。

resis, 简称 APAGE)后,其电泳谱带按其分子量的大小和迁移率的不同,分为 α 、 β 、 γ 、 ω 四个区。醇溶蛋白在小麦品种间存在明显的差异,其电泳图谱的带纹多少及组合方式完全受基因型控制,几乎不受环境的影响,因而被称为品种的指纹(finger print)^[1]。近年来,醇溶蛋白电泳技术已广泛应用于品种鉴定^[1~2]、种子纯度检验^[3]、品种间遗传差异分析^[4]等方面。醇溶蛋白在麦类近缘属植物的种间、种内不同来源材料间也存在着明显差异,醇溶蛋白酸性聚丙烯酰胺凝胶电泳技术已成为种质资源遗传分析的有效手段,可应用于种质资源鉴定,也可用于研究某些小麦近缘种属的起源和演化^[5]。

本文采用 APAGE 技术对小麦族披碱草属(*Elymus* L.)、鹅观草属(*Roegneria* C. Koch)、狷草属(*Hystrix* Moench)和仲彬草属(*Kengyilia* Yen et Yang)4个属的模式种的醇溶蛋白进行分析,旨在分析它们的种间及种内不同来源材料间的醇溶蛋白遗传多样性,为探讨小麦族植物的种间(内)、属间关系以及利用小麦族资源进行麦类作物育种提供醇溶蛋白方面的资料。

表 1 实验所用材料

Table 1 Experimental materials in this study

序号 No.	材料 Materials	种类 Species	染色体数目 Chromosome no.	染色体组 Genomes	编号 Accession	来源 Origin
0	中国春	<i>T. aestivum</i> cv. Chinese Spring	42	ABD	—	四川农业大学小麦研究所 Triticeae Research Institute, Sichuan Agricultural University
1	老芒麦	<i>E. sibiricus</i>	28	StH	Y0480	新疆和静 Xinjiang Hejing
2	老芒麦	<i>E. sibiricus</i>	28	StH	Y005	新疆乌鲁木齐 Xinjiang Wulumuqi
3	老芒麦	<i>E. sibiricus</i>	28	StH	Y1690	新疆清河 Xinjiang Qinghe
4	老芒麦	<i>E. sibiricus</i>	28	StH	Y2242	四川康定 Sichuan Kangding
5	老芒麦	<i>E. sibiricus</i>	28	StH	Y2906	甘肃夏河 Gansu Xiahe
6	高加索鹅观草	<i>R. caucasica</i>	28	StY	Cs-31-5	前苏联 USSR
7	戈壁仲彬草	<i>K. gobicola</i>	42	StYP	Y0664	新疆塔什库尔干 Xinjiang Tashikuergan
8	戈壁仲彬草	<i>K. gobicola</i>	42	StYP	Y0630	新疆叶城 Xinjiang Yecheng
9	—	<i>H. patula</i>	28	StH	Per451	加拿大 Canada

1.2.2 APAGE 采用连续分离系统。取 40 mL 凝胶溶液(丙烯酰胺 10%, N-N 甲叉双丙烯酰胺 0.4%, 尿素 6%, 抗坏血酸 0.1%, 硫酸亚铁 0.004%), 按照 1 mL : 1 μ L 的比例加入 10% 过硫酸胺和 TEMED, 迅速摇匀, 灌胶, 插好样品梳, 让其在 5~10 min 内完全聚合。小心拔出样品梳, 用电极缓冲液(每 1 000 mL 含冰醋酸 4 mL, 甘氨酸 0.4 g) 冲洗加样孔。每个样品上样量为 10 μ L。在电极缓冲液中, 恒压 500 V 恒温 10~15 $^{\circ}$ C, 电泳时间为甲基绿前沿指示剂迁移至板底所需时间的 3 倍。每块凝胶吸取 1% 考马斯亮蓝 R250 5 mL, 再加 10% 三氟乙酸 200 mL 染色过夜。7% 醋酸中保存, 统计, 拍照。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

供试材料为小麦族 4 个多年生属的模式种, 其中披碱草属的模式种(*Elymus sibiricus*)5 份; 仲彬草属的模式种(*Kengyilia gobicola*)2 份; 鹅观草属的模式种(*Roegneria caucasica*)和狷草属的模式种(*Hystrix patula*)各 1 份。醇溶蛋白标准材料为中国春(*T. aestivum* L. cv. Chinese Spring)。所有供试材料见表 1。

1.2 方法

本实验采用 ISTA(1986)颁布的酸性聚丙烯酰胺凝胶电泳(acid polyacrylamide gel electrophoresis, 简称 APAGE)(pH3.1)标准程序(稍加改进)电泳分析醇溶蛋白^[6]。电泳仪器为北京六一仪器厂的 DYY II-28B 型电泳槽。

1.2.1 样品提取 每份材料取 10 粒种子称重, 用钳夹碎后放入 1.5 mL 离心管中, 按 1 mg 加 5 μ L 的比例加入样品提取液(25% 2-氯乙醇、0.05% 甲基绿), 振荡器上振荡混匀, 室温浸提过夜。使用前 10 000 r/min 离心 10 min。取上清液点样。

2 结果与分析

以中国春作为醇溶蛋白标准, 所有材料在同一条件下进行电泳, 结果如图 1 所示。

2.1 种间醇溶蛋白多态性分析

披碱草属、鹅观草属、狷草属和仲彬草属 4 个属的模式种具有明显的醇溶蛋白多样性, 9 份材料共产生 39 条迁移率不同的醇溶蛋白带纹, 每个材料可分离出 7~18 条带纹, 其中仅 1 条(2.56%)带纹为 9 个材料的共同带, 此共同带位于 ω 区(图 1), 38 条(97.44%)为多态性带。不计同种的不同居群间的差异, 也仅有 3 条(7.69%)带纹为 4 个模式种所共有,



图1 小麦族4个模式种的醇溶蛋白APAGE电泳图谱

Fig. 1 Patterns of gliadins of type species of four genera in Triticeae after APAGE

(材料编号见表1 The materials order was in the same order listed in Table 1)

这3条共同带分别位于 β 区和 ω 区,其中 β 区有2条, ω 区1条(图1),36条(92.31%)为4个模式种的种间醇溶蛋白多态性带。表明小麦族模式种的种间醇溶蛋白多态性高,其醇溶蛋白遗传差异较大。

2.2 种内醇溶蛋白多态性分析

2份同来自新疆的 *K. gobicola* 的醇溶蛋白差异较小,在2份 *K. gobicola* 共产生的21条迁移率不同的醇溶蛋白带纹中,有14条(66.67%)共同带,仅7条(33.33%)为多态性带。5份来源不同的 *E. sibiricus* 共产生27条迁移率不同的醇溶蛋白带纹,每份 *E. sibiricus* 可分离出7~14条带纹,在27条迁移率不同的带纹中,有24条(88.89%)为5份 *E. sibiricus* 的多态性带。从带纹的多少来看,*E. sibiricus* 的带纹多少与材料来源地点有关,本研究的5份 *E. sibiricus* 的醇溶蛋白电泳结果表明,来源于新疆的材料比来源于四川、甘肃的材料带纹多。可见小麦族模式种的种内不同收集地材料间也存在明显的醇溶蛋白遗传差异。

2.3 种间和种内的醇溶蛋白带型差异比较

不同物种的醇溶蛋白带型差异较大,同一物种的不同来源材料具有基本相似的醇溶蛋白带型,表明小麦族植物的醇溶蛋白差异和形态差异一样,也是种间差异大于种内差异。4个模式种的醇溶蛋白电泳图谱

带型明显可以分为2类:(1)*E. sibiricus* 和 *H. patula* 的醇溶蛋白带纹较少,主要分布于 α 、 β 、 ω 区,在 γ 区几乎没有带纹分布;(2)*R. caucasica* 和 *K. gobicola* 的醇溶蛋白带纹较多,4个区域均有带纹分布。

2份 *K. gobicola* 和5份 *E. sibiricus* 虽然具有各自物种基本相似的醇溶蛋白带型,但种内不同来源材料的醇溶蛋白带型也有明显的区别,不存在完全一致的醇溶蛋白图谱。

9份材料的醇溶蛋白图谱均能很好地区分,说明醇溶蛋白图谱可以用于区分和鉴定小麦族植物的种间及种内不同来源材料。

3 讨论

小麦族披碱草属、鹅观草属、猬草属和仲彬草属4个属模式种的种间及种内不同来源间具有较高的醇溶蛋白多态性,其种间及种内的醇溶蛋白图谱差异明显,并且种间差异大于种内差异,这与形态学差异是一致的。从醇溶蛋白图谱的带型来看,同为StH染色体组的 *E. sibiricus* 和 *H. patula* 具有基本相似的醇溶蛋白带型,具有StY染色体组的 *R. caucasica* 和具有StYP染色体组的 *K. gobicola* 具有相似的带型,这与细胞学的结果相符合。由于 *H. patula* 的染色体组为StH,Dewey(1983)把以 *H. patula* 为模式种建立的猬草属 *Hystrix* 处理为披碱草属 *Elymus*^[7],而 *Hystrix* 具有颖强烈退化甚至缺失的显著特点,许多分类学家认为 *Hystrix* 应该独立成属^[8~10]。*E. sibiricus* 和 *H. patula* 具有基本相似的醇溶蛋白带型,但也存在明显的差异,表明 *Hystrix* 与 *Elymus* 之间具有较近的亲缘关系。以 *K. gobicola* 为模式种建立的仲彬草属 *Kengyilia*,含StYP染色体组,其形态介于鹅观草属 *Roegneria* 和冰草属 *Agropyron* 之间^[12~14]。与以梭罗草 *R. thoroldiana* (Oliv.) Keng 为模式建立的 *Roegneria* Sect. *Paragropyron* Keng 具有类同的特征^[15]。Love(1984)、Jensen(1990,1996)将该组植物放入 *Elymus* 中^[16~18],Yang et al. (1992)则把它们组合到 *Kengyilia* 中^[11]。从其模式种的醇溶蛋白图谱来看, *Kengyilia* 与 *Roegneria* 的亲缘关系较近,而与 *Elymus* 的亲缘关系较远。

E. sibiricus 作为 *Elymus* 的模式种,是一种优良的牧草,还对麦类作物的赤霉病和白粉病具有高抗的特性^[19,20]。*K. gobicola* 生长于沙漠戈壁环境中,具有极强的抗旱能力^[14]。这些优良性状对麦类作物育种

是十分有利的,它们是麦类作物遗传多样性的宝贵基因资源。本研究发现,*E. sibiricus* 具有丰富的醇溶蛋白遗传多样性,不同收集地材料的醇溶蛋白表现出较大的差异。从本研究的5份材料来看,新疆的*E. sibiricus* 具有较丰富的醇溶蛋白带纹,四川的次之,甘肃的*E. sibiricus* 的醇溶蛋白带纹最少。由于本研究的*E. sibiricus* 仅涉及5份材料,有关*E. sibiricus* 的种内醇溶蛋白遗传变异尚需收集更多的材料进行深入研究。

醇溶蛋白是种子发育特定时期的基因产物,其组成由遗传决定,几乎不受环境因子的影响,因此,醇溶蛋白组分上的差异可以反映出基因组的差异。张学勇等(1995)、兰秀锦等(1999)先后采用 APAGE 方法分析了来自不同国家和地区的节节麦的醇溶蛋白遗传多样性,结果表明麦醇溶蛋白的 APAGE 技术可以作为麦类植物资源鉴定的有效手段,也可以用来研究一些物种的起源和演化^[5,21]。虽然本研究所用的材料有限,但其醇溶蛋白电泳结果表明,小麦族披碱草属、鹅观草属、猬草属和仲彬草属4个属的模式种的种间及种内不同收集地材料间的醇溶蛋白图谱存在明显差异,由醇溶蛋白图谱所反映的种间关系与形态学及细胞学的结果相一致。所以,醇溶蛋白图谱差异可以作为评价小麦族植物种间、种内遗传差异及亲缘关系的一项指标而在小麦族植物的生物系统学关系研究和麦类作物育种中加以利用。

参考文献:

- [1] Draper S R. ISTA variety committee report of the working group for biochemical tests for cultivar identification 1983—1986[J]. *Seed Sci. & Technol.*, 1987, **15**: 431—434.
- [2] 颜启传,黄亚军,徐媛. 试用 ISTA 推荐的种子醇溶蛋白电泳方法鉴定大麦和小麦品种[J]. *作物学报*, 1992, **18**(1): 61—68.
- [3] Pogna N E, Borghi B, Mellini F, et al. Electrophoresis of gliadins for estimating the genetic purity in bread wheat seed production[J]. *Genet Agr.*, 1986, **40**(2): 201—212.
- [4] Cox T S, Lookhart G L, Walker D E, et al. Genetic relationships among hard red winter wheat cultivars as evaluated by pedigree analysis and gliadin polyacrylamide gel electrophoretic patterns [J]. *Crop Sci.*, 1985, **25**: 1058—1063.
- [5] 张学勇,杨欣明,董玉琛. 醇溶蛋白电泳在小麦种质资源遗传分析中的应用[J]. *中国农业科学*, 1995, **28**(4): 25—32.
- [6] Cooke R J. The classification of wheat cultivars using a standard reference electrophoresis method[J]. *Nat Agric Bot*, 1987, **17**: 273—281.
- [7] Dewey D R. Historical and current taxonomic perspectives of *Agropyron*, *Elymus*, and related genera [J]. *Crop Sci.*, 1983, **23**: 637—642.
- [8] 郭本兆. 中国植物志(第9卷3分册)[M]. 北京: 科学出版社, 1987.
- [9] Baden C, Frederiksen S, Seberg O. A taxonomic revision of the genus *Hystrix* (Triticeae, Poaceae)[J]. *Nord J Bot*, 1997, **17**: 449—467.
- [10] Moench C. Methodus Plantas Horti Botanici et Agri Marburgensis A Staminum Situ Describendi [M]. Margburgi Cattoyum, 1794.
- [11] Sakamoto S. Patterns of phylogenetic differentiation in the tribe Triticeae[J]. *Seiken Ziho*, 1973, **24**: 11—31.
- [12] 颜济,杨俊良. 耿氏草属 *Kengyilia*, 中国禾本科小麦族一新属[J]. *四川农业大学学报*, 1990, **8**(1): 75—76.
- [13] Yang J L, Yen C, Baum B R. *Kengyilia*: Synopsis and Key to species[J]. *Hereditas*, 1992, **116**: 25—28.
- [14] Yen C, Yang J L. *Kengyilia gobicola*, a new taxon from west China[J]. *Can J Bot*, 1990, **68**: 1894—1897.
- [15] 耿以礼. 中国高等植物图说——禾本科[M]. 北京: 科学出版社, 1959, 342—446.
- [16] Jensen K B. Cytology and taxonomy of *Elymus kengii*, *E. grandiglumis*, *E. alatavicus* and *E. batalini* (Triticeae; Poaceae)[J]. *Genome*, 1990, **33**: 668—673.
- [17] Jensen K B. Genome analysis of Eurasian *Elymus thoroildian*, *E. melantherus* and *E. kokonoricus* (Triticeae; Poaceae)[J]. *Inter J. Plant Sci.*, 1996, **157**: 136—141.
- [18] Love A. Conspectus of the Triticeae[J]. *Feddes Report*, 1984, **95**: 425—521.
- [19] 李隆业,杨家秀. 小麦野生近缘植物抗白粉性和抗锈性研究[J]. *西南农业大学学报*, 1992, **14**(6): 496—499.
- [20] Wan Y F, Yen C, Yang J L, et al. The diversity of resources resistance to scab in Triticeae (Poaceae)[J]. *Wheat Information Service*, 1997, **84**: 7—12.
- [21] 兰秀锦,魏育明,王志容,等. 中国节节麦与中东节节麦的醇溶蛋白遗传多样性比较研究[J]. *四川农业大学学报*, 1999, **17**(3): 245—248.