

# 克旱 9 号和新克旱 9 号小麦品种间 SDS—PAGE 和 A—PAGE 差异的研究<sup>\*</sup>

张延滨, 辛文利, 孙连发, 张春利, 赵海滨, 宋庆杰, 肖志敏, 祁适雨  
(黑龙江省农科院育种所, 哈尔滨 150086)

**摘要:** 利用 SDS—PAGE 和 A—PAGE 分析了小麦品种克旱 9 号和新克旱 9 号的电泳图谱, 指出了这两个外形极为相似的姊妹系的特征谱带。讨论了中间类型产生的原因。

**关键词:** 小麦; 电泳; 姊妹系

中图分类号: S 512.103 文献标识码: A 文章编号: 1002—2767(2003)01—0005—03

## The Differences of SDS—PAGE and A—PAGE Electrophoregrams of Kehan 9 and Xinkehan 9

ZHANG Yan-bin, XIN Wen-li, SUN Lian-fa, ZHANG Chun-li, ZHAO Hai-bin,  
SONG Qing-jie, XIAO Zhi-min, QI Shi-yu

(Crop Breeding Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Science, Harbin 150086)

**Abstract:** Both differences of Kehan 9 and Xinkehan 9 from wheat breeding institute of Heilongjiang academy of agricultural science were analyzed by SDS—PAGE and A—PAGE. The individual characteristic band in electrophoregram of sister lines of Kehan 9 and Xinkehan 9 that both were similar in morphologic were determined. The reason of occurrence middle types were discussed.

**Key words:** wheat (*Triticum aestivum* L.); electrophoresis; sister lines

小麦品种特性虽受环境条件的影响, 主要还是由品种的基因型决定的。品种的基因型决定着品种的反应规范。随着品种数量的增加, 尤其是一些亲缘关系较近的品种, 仅仅利用肉眼观察植株和子粒的形状与特征作为鉴别品种的手段已不能满足育种和生产的需要。

克旱 9 号和新克旱 9 号为黑龙江省播种面积最大的姊妹系, 新克旱 9 号 1992 年播种面积达 67.3 万  $\text{hm}^2$ , 而且是各育种单位重要的高产、抗逆及抗病的亲本材料和育种及产量鉴定的对照品种。两者在黑龙江省北部地区开花期和熟期可差 4~5 d, 但在南部地区差异不明显, 1996 年哈尔滨地区开花期只差一天。由于在一些地区区分这两个品种有一定的

困难, 导致一些育种单位种植的新克旱 9 号实际上是克旱 9 号。如何准确、方便地分辨这两个品种及其它中间类型和相近品种, 对于更好的利用这两个优良品种资源, 保护品种的知识产权都有重要意义。

国外发达国家一般在品种审定上, 除形态特征外, 还利用常规电泳、核酸电泳、高效液相色谱和免疫反应等手段来鉴定小麦品种<sup>[1,2]</sup>。其中十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS—PAGE)和酸性聚丙烯酰胺凝胶电泳(A—PAGE)由于方法简便, 一次可分析大量样品, 谱带不受环境条件的影响被广泛地应用于小麦的品种注册登记和鉴定。本文利用 SDS—PAGE 和 A—PAGE 分析了来自克山小麦所的克旱 9 号和新克旱 9 号之间的差异, 并讨论了各

<sup>\*</sup> 收稿日期: 2002—12—03

基金项目: 黑龙江省科学技术计划项目。

第一作者简介: 张延滨(1957—), 男, 江苏省仪征人, 研究员, 硕士, 从事小麦品质育种研究。

中间类型的归属和产生的原因。

## 1 材料和方法

### 1.1 供试材料和对照品种

供试材料为黑龙江省农业科学院克山小麦所提供的克旱9号和新克旱9号株系。每份材料取50克用西德BRABENDER公司的SEDIMAT试验磨粉机磨粉,用100目网筛过筛以去掉麸皮。电泳对照材料为加拿大小麦Marquis和Neepawa。

### 1.2 仪器

电泳仪和电泳槽为北京六一仪器厂DYY—III 8A型稳压稳流电泳仪和DYY—II B0型垂直板式电泳槽;离心机为上海安亭科学仪器厂TGL—16B型;酸度计为上海雷磁仪器厂PHS—25型数字式酸度计。

### 1.3 SDS—PAGE

十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS—PAGE)采用10.45%的分离胶,交联度(C)为2.6%;浓缩胶(T)为3%。亚基编号和评分参照Payne等<sup>[3,4]</sup>。

### 1.4 A—PAGE

按张延滨等人的方法(1997)<sup>[5]</sup>。谱带迁移率按Sapirstein and Bushuk(1985)<sup>[6]</sup>的迁移率命名。

## 2 结果和讨论

### 2.1 克旱9号和新克旱9号电泳图谱的特征谱带

克旱9号和新克旱9号出自同一杂交组合,克旱9号是F<sub>5</sub>代出圃的材料,原代号79—369,1983年推广,颖口较松;新克旱9号是在F<sub>6</sub>代中选出的材料,原代号80—179,颖口适中。从选育的过程,形态学和二者命名的角度来看,两者是遗传差异较小的姊妹系。图1和图2分别是克旱9号和新克旱9号的SDS—PAGE图谱和A—PAGE图谱。从SDS—PAGE和A—PAGE的电泳结果来看,两者是遗传差异较大的两个姊妹系。在SDS—PAGE图谱中两者虽然有相同的HMW麦谷蛋白亚基(1,7+9,2+12, Glu—1评分为7分),但在SDS—PAGE图谱的中段克旱9号与新克旱9号有较大差异,其中克旱9号有一条新克旱9号没有的迁移率较慢、颜色很深的电泳谱带(见图1),可以作为在SDS—PAGE中区分二者的标记。

在A—PAGE图谱中除 $\beta$ 端的差异较小外, $\omega$ 、

$\gamma$ 、 $\alpha$ 段均有明显的差异,且与对照品种的参考谱带保持相应稳定。新克旱9号在 $\omega$ 段有5条谱带的迁移率和谱带的染色强度都与Neepawa小麦的相同,其中相对迁移率为R31.5, R37.5和R38.5三条谱带染色很深;在 $\gamma$ 段有2条相对迁移率和染色强度与Neepawa小麦R45.5和R47.5相同的染色很深的谱带。克旱9号具有Marquis小麦 $\gamma$ 段的R44.5和R46.0二条染色很深的谱带,而 $\alpha$ 端与Marquis小麦的电泳谱带相同。这些谱带可以分别作为各自的特征谱带,用于区分克旱9号和新克旱9号及分属于克旱9号和新克旱9号的变异类型。

### 2.2 克旱9号和新克旱9号的中间类型及产生原因

我们在分析新克旱9号原原种推广初期的A—PAGE时,曾经发现在A—PAGE图谱中有多种类型,其中有些类型的谱带介于克旱9号和新克旱9号之间(祁适雨,傅宾孝等,未发表)。我们推测其成因是材料在出圃时部分基因位点尚未纯合,加上克旱9号和新克旱9号及其它姊妹系间天然杂交所至。因为克旱9号和新克旱9号常有不育小花出现,天然杂交率较高;并且克旱9号和新克旱9号的指纹图谱虽有较大的差异,但其外部形态的差异很小,不易区分,各姊妹系间的杂交、混杂等也不易被发现;这些原因导致在以后的种植和生产过程中出现各种中间类型和混杂类型。因此利用电泳等手段对决选品系进行遗传分析是常规育种工作中一个重要的辅助手段。目前黑龙江省农业科学院克山小麦所的克旱9号和新克旱9号经过多年的选择已变成单一类型,可以作为标准品种。

### 2.3 电泳图谱在品种注册登记中的作用

随着市场经济的发展,品种在注册登记时利用电泳图谱进行生化指纹登记在我国也将开始进行。近年来以克旱9号和新克旱9号为亲本的杂交组合选育出的形态与特性酷似克旱9号和新克旱9号的品种很多,这些品种在进行电泳分析时应以克旱9号和新克旱9号为对照品种。生化指纹不仅对于品种的鉴定具有重要的意义,而且对于一个品种有几个外形相同而电泳图谱不同的生物型<sup>[1,7]</sup>的认定也有很重要的作用,但品种的鉴定也不能仅仅依赖于品种的SDS—PAGE图谱和A—PAGE图谱,在实际工作中应注意利用多种分析手段。



图 1 新克早 9 号和克早 9 的 SDS—PAGE  
1= 新克早 9 号 2= 克早 9 号



图 2 新克早 9 号和克早 9 的 A—PAGE

1= Neepawa 2, 3= 新克早 9 号, 4, 5= 克早 9 号, 6= Marquis.

参考文献:

[1] Ng P K W, Scanlon M G and Bushuk W. A catalog of biochemical fingerprints of registered canadian wheat cultivars by electrophoresis and high—performance liquid chromatography[ M]. Publication no. of the Food Science Department, University of Manitoba, 1988. 139.

[2] Wrigley C W, Tomlinson J D and Skerritt J H et al. Efficient identification of wheat varieties by established and novel procedures [ J]. Cereal Foods World 1989, 34(8): 629-632.

[3] Payne P I, and Lawrence G J. 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[ J]. Cereal Res. Com., 1983, 11: 29-35.

[4] Payne P I, Nightingale M A, & Krattiger A F et al. The relationship between HMW glutenin subunit composition and the bread—making quality of British—grown wheat varieties[ J]. Sci. Food Agric., 1987, 40(1): 51-65.

[5] 张延滨, 祁适雨, 肖志敏, 等. 不连续麦醇溶蛋白酸性聚丙烯酰胺凝胶电泳(A—PAGE)的研究[ J]. 哈尔滨师范大学自然科学学报, 1997, (6): 70-73.

[6] Sapirstein H D and Bushuk W. Computer—aided analysis of gliadin electrophoregrams. I. Improvement of precision of relative mobility determination by using a three reference band standardization[ J]. Cereal Chemistry, 1985, 62(5): 372-377.

[7] 张延滨, 祁适雨, 王世恩, 等. 同形小种的发现和利用 I. 5+10 亚基的龙麦 15 生物型的起源和利用[ J]. 植物研究 1996, 16 (1): 118-121.

欢迎订阅

欢迎投稿