

研究
简报

用 A-PAGE 鉴定谷子遗传多样性

杨天育^{1,2} 沈裕琥² 黄相国² 何继红¹ 吴国忠¹

(¹ 甘肃省农业科学院粮食作物研究所, 甘肃兰州 730070; ² 中国科学院西北高原生物研究所, 青海西宁 810001)

Identification of Genetic Diversity in the Foxtail Millet (*Setaria italic L. Beauv.*) by A-PAGE

YANG Tian-Yu^{1,2}, SHEN Yu-Hu², HUANG Xiang-Guo², HE Ji-Hong¹, WU Guo-Zhong¹

(¹ Crop Research Institute, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou 730070, Gansu; ² Northwest Plateau Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, Qinghai, China)

蛋白质是结构基因编码的产物,其组成不因环境条件的改变而改变,可以作为对其编码的结构基因的标记。大量研究表明,禾谷类作物种子贮藏蛋白具有相当大的多态性,不同品种贮藏蛋白的电泳谱带存在较大差异,因此提供了一种表征基因型差异的有效而简便的方法^[1-3]。

谷子种子的主要贮藏蛋白是醇溶蛋白,占种子总蛋白的 45%~60%^[4]。在研究材料很少的情况下,碱性检测条件下谷子醇溶蛋白十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)检测出的遗传差异很小或几乎没有^[5,6]。近年来,禾谷类作物种子醇溶蛋白以酸性聚丙烯酰胺凝胶电泳(A-PAGE)研究遗传差异取得了理想结果^[2,7],但对谷子醇溶蛋白遗传差异的研究很少报道。本研究对 71 份谷子材料醇溶蛋白的遗传差异进行了在酸性条件下的电泳检测,以期从蛋白质水平上为谷子品种间遗传变异的研究提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

来自国家“九五”攻关“粟类优异种质的评价与利用研究”项目试验材料共 71 份,见表 1。

1.2 实验方法

采用 A-PAGE,用 25%二氯乙醇提取谷子种子醇溶蛋白,电泳分离胶浓度 15%,浓缩胶浓度 6.72%。电极缓冲液、凝胶配方及测定方法参见颜启传、朗明林等^[8,9]。

1.3 醇溶蛋白电泳数据统计分析方法

参考对照品种标准电泳图谱,按同一迁移率电泳条带的有无记录谱带,有记为 1,无记为 0。记录的电泳图谱形成醇溶蛋白原始数据矩阵,计算遗传相似系数(Genetic Similarity,

GS)和遗传距离(Genetic Distance, GD),用 UPGMA 法(Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Average)进行聚类分析,统计数据在 NTSYS 软件下完成。

2 结果与分析

2.1 谷子醇溶蛋白表型分析

从电泳结果看(见图 1),71 个谷子参试品种的醇溶蛋白共分离出 10 条带,A-PAGE 要比 SDS-PAGE 多 2~3 条。分离出的 10 条带中 3 条为公共带,7 条带具有多态性。绝大部分品种有 8~9 条带(52.11%的参试材料有 9 条带,35.21%的参试材料有 8 条带),少数材料只有 6、7、10 条带(2.82%的材料有 10 条带,8.45%的材料有 7 条带,1.41%的材料只有 6 条带)。

从电泳谱带的数量和位置的差异分析醇溶蛋白 A-PAGE 酶谱类型发现,71 个谷子品种共有 22 种谱带表型。其中,除 11 个品种(占 15.49%的参试材料)外,其余品种(占参试材料的 84.51%)均不具有区别于其他品种的特征带型,或 2 个品种,或 3、4、6、7、9、10、12 个品种具有相同的谱带表型。这说明谷子品种间作为主要贮藏蛋白的醇溶蛋白虽存在一定的差异,但其组成并不具有高度的异质性和复杂性,其遗传差异较小。

分析 71 个谷子品种 A-PAGE 谱带表型的地区差异发现,来自不同生态类型区谷子品种间的醇溶蛋白差异较大。黄土高原区材料的醇溶蛋白电泳谱带表型最多,比华北平原、内蒙古高原和东北平原 3 个谷子生态区品种醇溶蛋白的电泳谱带表型多 3~6 类,占了 22 种谱带表型的 59.09%,东北平原区材料醇溶蛋白的电泳谱带表型最少,只占了 22 种谱

基金项目: 甘肃省自然科学基金项目(ZS011-A25-038-N),甘肃省科技攻关项目(GS012-A41-036-01)。

作者简介: 杨天育(1968-),男,甘肃渭源人,副研究员,硕士。研究方向:谷子遗传育种与栽培。

Received (收稿日期): 2003-09-11, Accepted (接受日期): 2004-05-29.

带表型的 31.82%。比较而言,黄土高原区谷子材料的醇溶蛋白具有较高的遗传多态性,谷子醇溶蛋白的这种地区差异

与谷子酯酶同工酶地区差异的研究结果一致^[10,11],在蛋白水平上表明,黄土高原确有可能是谷子的起源中心。

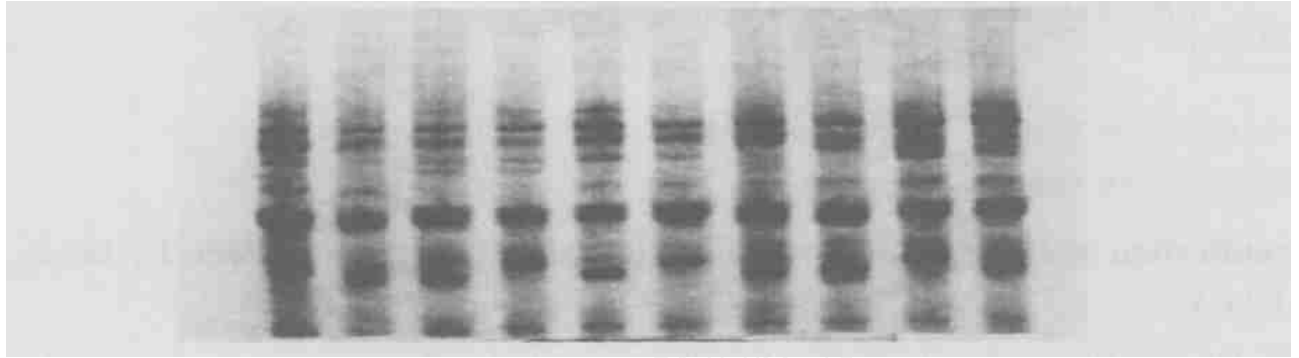


图 1 部分品种的 A-PAGE 检测结果

Fig. 1 Identification of some detected cultivars by A-PAGE

从左到右品种依次为:7971-1,8066-2-2,8601-1-4,8524-1-9-9,90-575,83-458,74H34-6-1,呼早谷 26-1,呼内 4,陇谷 5号(CK)。

Lanes from the left to the right are 7971-1, 8066-2-2, 8601-1-4, 8524-1-9-9, 90-575, 83-458, 74H34-6-1, Huzaogu 26-1, Hunei 4 and Longgu 5(CK).

表 1 谷子参试材料名称、编号及来源

Table 1 Name, number and origin of testing materials of foxtail millet

编号 No.	品种名称 Cultivar	来源 Origin	编号 No.	品种名称 Cultivar	来源 Origin	编号 No.	品种名称 Cultivar	来源 Origin
1	长 3-16 Chang3-16	吉林 Jilin	25	郑 474 紫 Zheng 474Zi	Henan	49	二不黄 Erbuhuang	山西 Shanxi
2	吉 181 Ji181	Jilin	26	麦茬谷 Maichagu	Henan	50	晋汾 31 Jinfen 31	Shanxi
3	吉 1009 Ji1009	Jilin	27	郑 737(9) Zheng 737(9)	Henan	51	白沙粘 Baishazhan	甘肃 Gansu
4	吉 193 Ji193	Jilin	28	济中矮 15 Jizhong 'ai 15	山东 Shandong	52	竹叶青 Zhuyeqing	Gansu
5	87106 吉 87106ji	Jilin	29	济优米 12 Jiyoumi 12	Shandong	53	等身齐 Dengshenqi	Gansu
6	9037 铁 9037Tie	辽宁 Liaoning	30	90-575	内蒙古 Inner Mongolia	54	黄蜡头 Huanglatou	Gansu
7	8905 铁 8905Tie	Liaoning	31	83-458	Inner Mongolia	55	小白良谷 Xiaobailianggu	Gansu
8	95-9 铁 95-9Tie	Liaoning	32	呼早内谷 4 Huzaoneigu 4	Inner Mongolia	56	镇原谷子 Zhenyuanguzi	Gansu
9	91-117 铁 91-117Tie	Liaoning	33	呼早内谷 2 Huzaoneigu 2	Inner Mongolia	57	大白谷 Dabaigu	Gansu
10	01 龙 01Long	黑龙江 Heilongjiang	34	呼早谷 26-1 Huzaogu 26-1	Inner Mongolia	58	什社黄毛谷 Shishehuangmaogu	Gansu
11	93199 龙辐 93199Longfu	Heilongjiang	35	美国黄 Meiguohuang	河北 Hebei	59	陇谷 3 号 Longgu 3	Gansu
12	94015 龙辐 94015Longfu	Heilongjiang	36	坝谷 232 Bagu 232	Hebei	60	陇谷 6 号 Longgu 6	Gansu
13	54009 龙杂 54009Longza	Heilongjiang	37	坝谷 239 Bagu 239	Hebei	61	陇谷 5 号 Longgu 5	Gansu
14	55057 龙杂 55057Longza	Heilongjiang	38	坝谷 245 Bagu 245	Hebei	62	陇谷 8 号 Longgu 8	Gansu
15	红苗滑皮 Hongmiaohuapi	中国农业 科学院 CAAS	39	坝谷 257 Bagu 257	Hebei	63	小白良 Xiaobailiang	Gansu
16	齐头白 Qitoubai	CAAS	40	坝谷 261 Bagu 261	Hebei	64	74H30-2-2-1	Gansu
17	莠子苗谷 Youzimiaogu	CAAS	41	冀张 1 号 Jizhang 1	Hebei	65	74H34-6-1	Gansu
18	1489-6	CAAS	42	大同 15 Datong 15	山西 Shanxi	66	7910-4-6-9	Gansu
19	宽京早 3-1-2 Kuanjingzao3-1-2	CAAS	43	狼尾巴酒谷 Langweibajiugu	陕西 Shaanxi	67	748-1-2-3-6-3	Gansu
20	予 1 × 日 60 日矮 Yu1 × Ri60Riai	CAAS	44	同川谷 Tongchuangu	Shaanxi	68	7971-1	Gansu
21	予 1 × 日 60 日 Yu1 × Ri60Ri	CAAS	45	干捞饭 Ganlaofan	Shaanxi	69	8066-2-2	Gansu
22	1112-4-3-2	CAAS	46	孟县黄谷 Yuxianhuanggu	山西 Shanxi	70	8601-1-4	Gansu
23	跑死马 Paosima	河南 Henan	47	二白谷 Erbaigu	Shanxi	71	8524-1-9-9	Gansu
24	郑 474 紫 Zheng 474Zi	Henan	48	山东红 Shandonghong	Shanxi			

2.2 谷子醇溶蛋白聚类分析

从基于 71 个谷子品种醇溶蛋白 A-PAGE 电泳数据的遗

传聚类分析可见,当遗传距离(GD)取值 0.7 时,参试材料分成 2 个大类。 大类有 32 份材料,绝大部分是黄土高原区

与内蒙古高原区的材料,占 32 份材料的 90.62%。当遗传距离(GD)取值 0.75 时,大类又分成 2 个亚类,第一亚类包括 17 份材料,黄土高原区的材料占了 58.82%,内蒙古高原、华北平原和东北平原区的材料则分别占 23.53%、11.76% 和 5.88%;第二亚类包括 15 份材料,为黄土高原区和内蒙古高原区的材料,无华北平原和东北平原区的材料。

大类包括 39 份材料,表现比较复杂,但以东北平原区和华北平原区的材料为主,占 39 份材料的 66.67%。在遗传距离(GD)取值 0.75 时,大类也分成了 2 个亚类,第一亚类包括 15 份材料,以东北平原区的材料为主,占 46.67%;第二亚类包括 24 份材料,以华北平原区的材料为主,占 37.50%。

聚类分析结果表明,相同生态类型的材料基本上聚为一类,说明谷子醇溶蛋白类型和生态类型有很大的一致性。在 2 个大类的 4 个亚类中都有黄土高原区和内蒙古高原区的材料,而东北平原和华北平原区的材料只聚在 3 个亚类中,这也说明黄土高原区和内蒙古高原区的材料具有更广泛的变异。

3 讨论

传统的基因型差异鉴定的方法是依形态学性状的表型差异衡量的,由于很多形态性状为多基因控制的数量性状,易受环境影响,因此可靠性并不高。与形态学研究相比,种子贮藏蛋白组成由遗传基因控制,具有品种的稳定性,不因环境和栽培条件的不同而改变。因此,蛋白质电泳技术在品种鉴别上应用很广泛,许多作物都曾利用这种方法进行品种鉴别^[2,12,13]。

谷子醇溶蛋白是种子主要的贮藏蛋白,A-PAGE 虽比 SDS-PAGE 多 2~3 条,但谷子醇溶蛋白的遗传多态性低,并不适用于谷子基因型的鉴定,因为适用于品种鉴定的种子贮藏蛋白必须容易检测得到且要具有丰富的多态性。与其他禾谷类作物一样,谷子种子贮藏蛋白也有清蛋白、球蛋白、谷蛋白和醇溶蛋白 4 种,究竟哪一种更适合用于品种基因型鉴定,尚需进一步研究探讨。

References

- [1] Metakovsky E V, Branlard G. Genetic diversity of French wheat germplasm base on gliadin alleles. *Theoretical Applied Genetics*, 1998, **96**: 209 - 218
- [2] Zhang X-Y(张学勇), Yang X-M(杨欣明), Dong Y-C(董玉琛). Genetic analysis of wheat germplasm by acid polyacrylamide gel electrophoresis of gliadins. *Scientia Agricultura Sinica* (中国农业科学), 1995, **28**(4): 25 - 32 (in Chinese with English abstract)
- [3] Liu H(刘华), Jia J-Z(贾继增). Fingerprint application in crop variety identification. *Crop Genetic Resource* (作物品种资源), 1997, **2**: 45 - 48 (in Chinese)
- [4] Naren A, Ponnappa, Virupaksha Tumkur K - and -setarias: Methionine-Rich proteins of Italian millet [*Setaria italica* (L.) Beauv.]. *Cereal Chemistry*, 1990, **67**(1): 33 - 34
- [5] Vicent Monteiro P, Virupaksha Tumkur K, Rao D. Rajagopol. Proteins of Italian millet: amino acid composition, solubility fractionation and electrophoresis of protein fraction. *J Sci Food Agric*, 1982, **33**: 535 - 542
- [6] Kumar K K, Parameswaran K Parvathy. Characterization of storage protein from selection varieties of foxtail millet [*Setaria italica* (L.) Beauv.]. *J Sci Food Agric*, 1998, **77**: 535 - 542
- [7] Liu H(刘华), Wang Y-S(王宇生), Zhang H(张辉), Cao Y-S(曹永生), Zhou R-H(周荣华), Jia J-Z(贾继增). Preliminary construction and application of gliadin fingerprints database of Chinese wheat germplasm. *Acta Agronomica Sinica* (作物学报), 1999, **25**(6): 674 - 682 (in Chinese with English abstract)
- [8] Yan Q-C(颜启传), Huang Y-J(黄亚军), Xu Y(徐媛). Cultivar identification of barley and wheat with standard reference method from international seed testing association (ISTA). *Acta Agronomica Sinica* (作物学报), 1992, **18**(1): 61 - 68 (in Chinese with English abstract)
- [9] Lang M-L(郎明林), Lu S-Y(卢少源), Zhao J-F(赵家发), Zhang R-Z(张荣芝), Yang X-J(杨学举). The improved A-PAGE molecular marker technology studied for mapping gliadin "fingerprint" of wheat variety in China. *Journal of Agricultural University of Hebei* (河北农业大学学报), 1998, **4**(21): 1 - 5 (in Chinese with English abstract)
- [10] Liu R-T(刘润堂), Gao P-P(高平平), Wen Q-F(温琪芬). A study on esterase isoenzymes of foxtail millet germplasm and their related species. *Acta Agronomica Sinica* (华北农学报), 1989, **4**(3): 36 - 41 (in Chinese with English abstract)
- [11] Gao M-J(高明君), Chen J-J(陈家驹). Isozymic studies on the region of cultivated foxtail millet. *Acta Agronomica Sinica* (作物学报), 1988, **14**(2): 131 - 136 (in Chinese with English abstract)
- [12] Cross J W, Adams W R. Difference in the embryo-specific globulins among maize in bred lines and their hybrids. *Crop Science*, 1983, **23**: 1 160 - 1 162
- [13] Gebre H, Khan K, Foster A E. Barley cultivar identification by polyacrylamide gel electrophoresis of hordein protein: catalog of cultivars. *Crop Science*, 1986, **26**: 454 - 460