

几种小麦雄性不育系及其保持系、恢复系的酯酶同工酶比较

牛国阳^{1,2}, 陈庆富¹

(1. 贵州师范大学生命科学学院, 贵州贵阳 550001; 2. 咸阳职业技术学院生物科技系, 陕西咸阳 712000)

摘要: 为了阐明同核不同细胞质的小麦雄性不育系、保持系、恢复系之间酯酶同工酶的同异, 通过聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)对 T 型、Q 型、AL 型三种小麦雄性不育系及其保持系、恢复系等合计 35 个材料的孕穗期旗叶和幼小穗中的酯酶同工酶进行了研究。结果表明, 保持系与恢复系在旗叶和幼小穗的酯酶同工酶上未发现明显差异。但不同不育系(TA92-8、QA92-8、AL92-8)之间以及与其同核保持系(绵阳 92-8)之间存在差异。其中, Q 型不育系在旗叶和幼小穗酯酶同工酶上与同核保持系一致, 但 T 型、AL 型不育系比其保持系多 2 条旗叶期酯酶同工酶谱带(EST_{a-8,9})。上述结果说明, 不育系与保持系之间的谱带差异可能与特定核质互作有关。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。

关键词: 普通小麦; 胞质雄性不育系; 旗叶; 幼小穗; 酯酶同工酶

中图分类号: S512.1; S312

文献标识码: A

文章编号: 1009-1041(2012)04-0660-06

A Comparative Study of Esterase Isozyme in Flag Leaves and Young Spikelets among Some Common Wheat CMS Lines and Their Maintainers and Restorers

NIU Guo-yang^{1,2}, CHEN Qing-fu¹

(1. College of Life Sciences, Guizhou Normal University, Guiyang, Guizhou 550001, China;

2. Department of Biological Science & Technology, Xianyang Vocational Technical College, Xianyang, Shaanxi 712000, China)

Abstract: In order to study the differences of esterase spectrum among different cytoplasmic male sterile lines with the same nuclear and among A-lines, B-lines and R-lines, the esterase isozymes (EST) in flag leaf and young spikelet of T-, Q-, AL-type male-sterile lines with same nuclear and their B-lines, and R-lines etc totally 35 common wheat lines were studied by means of PAGE analysis. The results indicated that there are no obviously differences of the esterase isozyme in the flag leaf and young spikelets between B-lines and R-lines. There are, however, some differences among T, Q, AL-type sterile lines and between sterile lines (QA92-8, TA92-8, and AL92-8) and their B-line (Mianyang 92-8). Among them, Q-type sterile line has similar EST isozyme spectrum in flag leaves and young spikelets to its maintainer, and T-type and AL-type sterile lines have two additive bands (EST_{a-8,9}) in flag leaves more than their maintainer, indicating special nuclear-cytoplasm interaction of the different sterile lines and an identification method for different cytoplasm sterile lines.

Key words: Common wheat; Cytoplasm male sterile lines; Flag leaf; Young spikelet; Esterase isozyme

自 1962 年 Wilson & Ross 首次育成 T 型细胞质(*Triticum 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,四十多年来,人们发现了多种小麦细胞质不育系,如 T 型(具有 *T. timopheevii* 胞质)^[1-2]、K 型(具有 *Aegilops kotschyi* 胞质)^[3-4]、V 型(具有

* 收稿日期: 2012-01-21 修回日期: 2012-03-05

基金项目: 教育部新世纪人才支持计划项目(NCET-04-0913); 贵州省小麦“十一五”重大科技攻关项目(030507)。

作者简介: 牛国阳(1979-), 男, 硕士, 助教, 从事小麦遗传育种研究。E-mail: niugy@163.com

通讯作者: 陈庆富(1966-), 男, 教授, 博士生导师, 从事荞麦、小麦遗传育种研究。E-mail: cqf1966@163.com

Ae. ventricosa 胞质)^[4-5]、AL型(具有 *Aegilops tauschii* 胞质)^[6]、Q型(具有燕麦胞质)^[7-8]等多种胞质不育系,并研究了其恢复性、生理特征、杂种优势等^[9-11]问题。但是,关于不同小麦胞质不育系在同工酶等特征上的差异较少见研究报道,现有的少量的研究主要是针对 T、K、V型小麦不育系的幼胚、幼苗、雄蕊、花粉粒、雌蕊等部位的 EST、POD、POX、SOD、ATP 酶、吲哚乙酸酶等进行的^[12-15],且一般是不同保持系的不育系之间的比较,由于不育系的保持系不同,因此可比性较差。

基于此,本研究拟对同核不同胞质的几种小麦雄性不育系及其保持系、恢复系之间植株孕

穗期旗叶和幼小穗的酯酶(EST)同工酶进行比较研究,以便为小麦胞质雄性不育机理研究奠定一定的基础。

1 材料与方法

1.1 材料

实验材料主要为4个小麦不育系、17个保持系、8个恢复系、6个杂交组合,他们之间的关系及有关信息见表1。所有材料均由贵州师范大学生命科学学院植物遗传育种研究所陈庆富教授提供,所有实验也均在该研究所完成。

表1 供试小麦材料及其旗叶、幼小穗酯酶谱

Table 1 Wheat materials and their esterase isozyme in flag leaves and young spikelets

代号	材料名称	特点	旗叶酯酶谱(ESTa)编号	幼小穗酯酶谱(ESTb)编号
B0	绵阳 92-8	保持系	1~2, 4~6, 10~11	1~5, 7~10, 12~16
Q0	QA92-8	Q型不育系	1~2, 4~6, 10~11	1~5, 7~10, 12~16
A0	AL92-8	AL型不育系	1~2, 4~6, 8~11	1~5, 7~10, 12~16
T0	TA92-8	T型不育系	1~2, 4~6, 8~11	1~5, 7~10, 12~16
Q1	QA1104	Q型不育系	1~2, 4~6, 8~11	1~5, 7~10, 13~16
B1	QB1104	Q型保持系	1~2, 4~11	1~5, 7~10, 13~16
B2	白免 3-5	Q型保持系	1~2, 4~6, 8~11	1~5, 7~12, 14~16
B3	白免 3-6	Q型保持系	1~2, 4~6, 8~11	1~5, 7~10, 12~16
B4	白免 3-7	Q型保持系	1~2, 4~6, 8~11	1~5, 7~12, 14~16
BR1	白免 3-5×R3-37	正常可育	1~2, 4~6, 8, 10~11	1~5, 7~10, 13~16
BR2	白免 3-6×R3-37	正常可育	1~2, 4~6, 8, 10~11	1~5, 7~10, 13~16
BR3	白免 3-7×R3-37	正常可育	1~2, 4~6, 9~11	1~5, 7~10, 13~16
RB1	R3-37×白免 3-5	高度不育	1~2, 4~6, 8/9~11	1~5, 7~10, 13~16
RB2	R3-37×白免 3-6	高度不育	1~2, 4~6, 8, 10~11	1~5, 7~10, 13~16
RB3	R3-37×白免 3-7	高度不育	1~2, 4~6, 10~11	1~5, 7~10, 13~16
R1	R3-37	特殊恢复系	2, 4~6, 9~11	1~5, 7~10, 13~16
R2	R650	恢复系	1~3, 4~6, 8~11	1~5, 7~10, 13~16
R3	R3	恢复系	1~2, 4~6, 8~11	1~5, 7~10, 13~16
R4	R729	恢复系	1~6, 8~11	1~5, 7~10, 12, 14~16
R5	R676	恢复系	1~2, 4~6, 8~11	1~6, 9~16
R6	R716	恢复系	1~2, 4~6, 9~11	1~5, 7~10, 12, 14~16
R7	省6号铜麦	恢复系	1~3, 4~6, 8~11	1~7, 9~16
R8	毕2000-2	恢复系	1~2, 4~6, 8~11	1~10, 12~16
B5	贵农15号	保持系	1~2, 4~6, 8~11	1, 3~5, 7~10, 12, 14~16
B6	贵农16号	保持系	1~2, 4~6, 8~11	1, 3~5, 7~10, 12, 14~16
B7	97-79	保持系	1~6, 8~11	/
B8	98-268	保持系	1~6, 8~11	1, 3~5, 8~10, 13~16
B9	硬葡-10	保持系	1~2, 4~6, 8~11	1~5, 7~10, 12~16
B10	安麦96-8	保持系	1~11	1~7, 9~16
B11	郑麦9023-7	保持系	1~2, 4~11	1~16
B12	徐州25	保持系	1~2, 4~11	1~5, 7~10, 12~16
B13	豫麦57	保持系	1~2, 4~11	1~5, 7~10, 12~16
B14	绵99-3	保持系	1~2, 4~6, 8~11	1~10, 12~16
B15	贵农084号	保持系	1~2, 4~11	1~5, 7~10, 12~16
B16	丰优94-206	保持系	1~6, 8~11	/

绵阳 92-8、QA92-8、TA92-8、AL92-8 具有相同的细胞核,但胞质不同,绵阳 92-8 是这三个不育系的同核保持系;QA1104、QB1104 具有相同细胞核,QB1104 是 QA1104 的同核保持系。R3-37 是一个特殊恢复系,具有 Q 型胞质且正常可育(含有恢复基因),与特定保持系白免 3 系列杂交后杂种为完全不育,但该杂种与其他恢复系杂交后代表现为育性高度恢复。不同于一般的恢复系,因此在后面的分析中用 R* 表示;其他材料为 Q、T、AL 型三类不育系的异核保持系或异核恢复系。

1.2 方法

样品制备:于小麦孕穗期取旗叶和幼小穗,按以下方法制备 EST 同工酶电泳样品:提取液为加有 1%PVP 和 1% 2-巯基乙醇的双蒸水。先称 0.4 g 石英砂和 0.65 mL 提取液于研钵中,置于 4℃ 下冷冻 20 min 左右。取小麦孕穗期旗叶(或幼小穗),用自来水和双蒸水冲洗,然后用滤纸吸干水份,称取 0.5 g,置于已冰冷的研钵中研碎至糊状,置于 1.5 mL 离心管中,于冷冻离心机 4℃ 下 13 000 r·min⁻¹ 离心 15 min,吸取上清液在 4℃ 下 13 000 r·min⁻¹ 离心 15 min,吸取上清液置 -24℃ 下保存备用。

电泳方法:参考张以忠和陈庆富^[16]的方法进行。分离胶的主要参数是 T=8.5%,C=2.6%。电泳条件为 4℃ 下,上槽接负极,下槽接正极。稳压 200V,电泳 20 h。加样时,样品与 40% 蔗糖(1:1)混合加样,每个样品 80 μL。

染色:将电泳完毕并经双蒸水冲洗 3 次的凝胶放入 pH 6.0 的磷酸盐缓冲液中 37℃ 下保温 60 min。再换上染色液(配方为:10 mL 0.2 mol·L⁻¹ Na₂HPO₄+50 mL 0.2 mol·L⁻¹ NaH₂PO₄+40 mL 双蒸水+坚牢蓝 RR 盐 200 mg,在磁力搅拌器上充分搅拌溶解并过滤待用),37℃ 下保温 60 min,倒出染色液,自来水冲洗,用数码相机拍照后放入 7% 的乙酸中保存或制成干胶。制作同工酶模式图,比较分析材料间的谱带差异。

2 结果与分析

2.1 孕穗期旗叶酯酶(ESTa)的同工酶比较

35 个试验材料的孕穗期旗叶酯酶同工酶电泳分析结果见表 1,电泳及其模式图见图 1。所有供试材料旗叶酯酶同工酶(ESTa)电泳共发现谱带 11 条,不同品种(系)间彼此有一定差异,主要变异谱带为 ESTa-3、7、8、9。

2.1.1 保持系绵阳 92-8 及三个同核不育系的比较

保持系绵阳 92-8 有 7 个谱带(ESTa-1、2、4~6、10、11),与其 Q 型不育系(QA92-8)的酶谱相同。T 型和 AL 型不育系(TA92-8 和 AL92-8)具有其核供体绵阳 92-8 的所有谱带,此外还具有另外 2 条谱带(ESTa-8、9)。

2.1.2 保持系 QB1104 及其同核 Q 型不育系的谱带组成

保持系 QB1104 具有 9 个谱带(ESTa-1、2、4~6、8~11),其 Q 型不育系(QA1104)也具有所

有这些谱带,但另多了 1 条谱带即 ESTa-7。说明在 QB1104 核背景下,不育系由于核质互作可多产生一条谱带。

2.1.3 白免 3 系列、R3-37 及其杂种的谱带组成

白免 3 系列(白免 3-5、白免 3-6、白免 3-7)有相同的 9 个谱带(ESTa-1、2、4~6、8~11)。特殊恢复系 R3-37(R*,具有 Q 型细胞质和恢复基因,做母本时与特定保持系白免 3 系列杂交后杂种为完全不育,但反交结实正常,不同于一般的恢复系)具有 7 个谱带(ESTa-2、4~6、9~11)。他们的正反交组合杂种,尽管育性分别为正常可育和高度不育,但是均表现出相似的谱带组成(ESTa-1、2、4~6、8~11),说明旗叶酯酶同工酶谱带与 R3-37/白免 3 的雄性育性无相关性。

2.1.4 三类不育系的异核恢复系和保持系的谱带比较

8 个恢复系具有 7~9 个谱带,合计具有 9 个不同谱带。其中谱带 ESTa-2、4~6、9~11 为共有谱带。16 个保持系具有 9~11 个谱带,合计有 11 个不同谱带。其中谱带 ESTa-1、2、4~6、8~11 为共有谱带。显然,恢复系与保持系之间未发现独特的差异。

综合上述结果可以发现,三类不育系的异核保持系与异核恢复系之间在旗叶酯酶同工酶谱带上无明显差异,但不育系与保持系之间因核供体不同在旗叶酯酶同工酶谱带上存在一定差异。

2.2 孕穗期幼小穗酯酶(ESTb)的同工酶比较

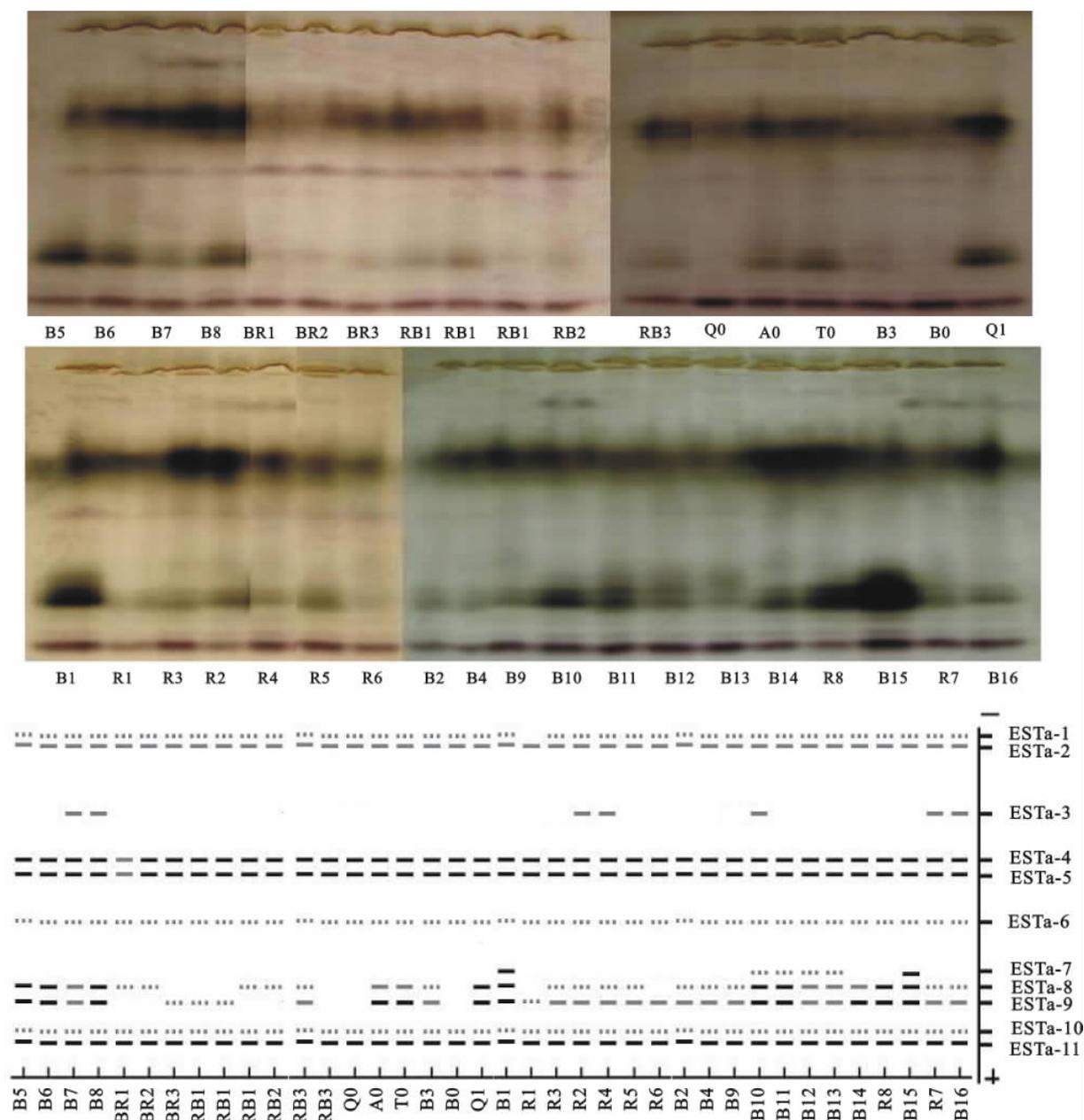
35 个试验材料的孕穗期幼小穗酯酶同工酶电泳分析结果见表 1,电泳及其模式图见图 2。所有供试材料幼小穗酯酶同工酶(ESTb)电泳共发现谱带 16 条,不同品种(系)彼此有一定差异,主要变异谱带为 ESTb-6~8、11~13。

2.2.1 保持系绵阳 92-8 及其三个同核不育系之间的比较

保持系绵阳 92-8 有 14 个谱带(ESTb-1~5、7~10、12~16),与其 Q 型不育系(QA92-8)、T 型(TA92-8)和 AL 型不育系(AL92-8)谱带组成完全相同,没有差异。说明幼小穗酯酶同工酶与这三种细胞质没有关系。

2.2.2 保持系 QB1104 及其 Q 型不育系的谱带组成

保持系 QB1104 具有 13 个谱带(ESTb-1~5、7~10、13~16),与其 Q 型不育系(QA1104)酶带组成完全一致。



不同代号表示的材料名称见图 1。下同。

图 1 小麦旗叶酯酶同工酶电泳图及其模式图

Fig. 1 Electrophoresis and ideogram of esterase isozyme in wheat flag leaves

2.2.3 白免 3 系列、R3-37 及其杂种的谱带组成

白免 3 系列(白免 3-5、白免 3-6、白免 3-7)各自均有 14 个谱带,合计有 15 个不同谱带(ESTb-1~5、7~16),在谱带 ESTb-11、13 上有变异。特殊恢复系 R3-37(R*)具有 13 个谱带(ESTb-1~5、7~10、13~16),与白免 3 系列相似,但缺乏谱带 ESTb-11、12。它们的正反组合杂种,尽管雄性育性分别为正常可育和高度不育,但是均表现出相似的谱带组成,均与 R3-37 谱带一致,同样缺乏

谱带 ESTb-13。这说明幼小穗酯酶同工酶谱带与 R3-37/白免 3 的雄性育性无相关性。但是,这些正反交杂种均缺乏谱带 ESTb-11、12,说明该谱带可能是隐性遗传,或在杂种中其表达被抑制。

2.2.4 恢复系和保持系的谱带组成

8 个恢复系均具有 13~15 个谱带,合计具有 16 个不同谱带。其中谱带 ESTb-1~5、9~10、14~16 为共有谱带。15 个保持系具有 12~16 个谱带,合计有 16 个谱带。其中谱带 ESTb-1、3~5、9

~10、14~16 为共有谱带。显然,恢复系与保持系之间未发现独特的差异。

与保持系之间在幼小穗酯酶同工酶谱带上均无明显差异。

综合上述结果,保持系与恢复系之间、不育系

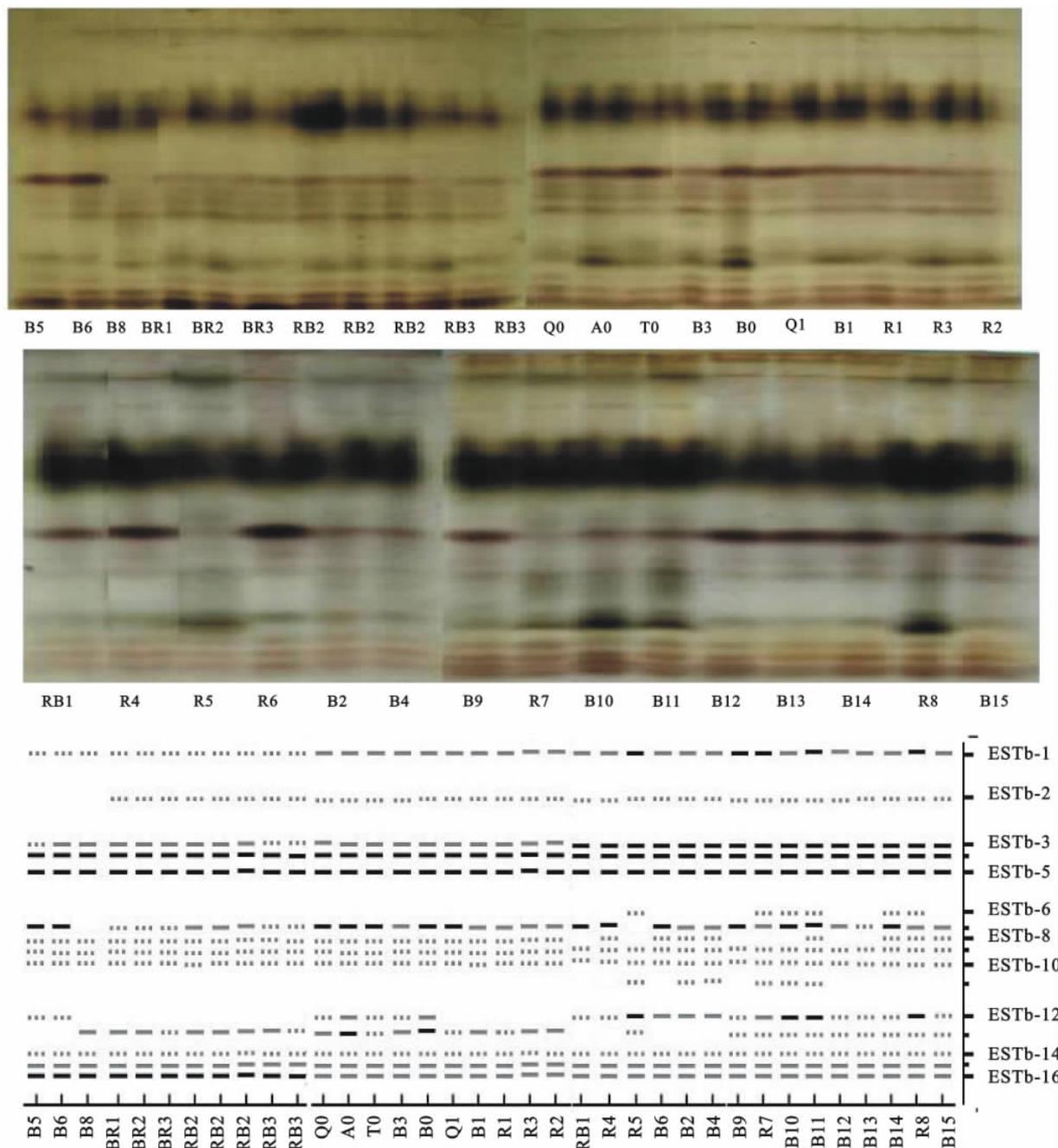


图 2 小麦幼小穗酯酶电泳图及其模式图

Fig. 2 Electrophoresis and ideogram of esterase isozyme in wheat young spikelets

3 讨论

关于小麦雄性不育性的生理基础研究,尤其是同功酶与雄性育性关系的报道较少。腾晓月等^[17]发现,T型雄性不育系及其保持系酯酶同工酶在苗期叶片中未发现显著差异,而在花药和种

子中存在差异。范平^[18]通过对T型、K型三系不同时期花药酯酶同工酶的比较,发现不同的胞质类型其酯酶同工酶谱带存在差异。由于很难获得相同细胞核而不同细胞质的材料,因此在相同核遗传背景下进行不同细胞质不育系比较研究的报道极少。

本研究对具有相同保持系、不同胞质的 T 型、Q 型、AL 型小麦不育系及其保持系、恢复系孕穗期旗叶和幼小穗的酯酶同工酶进行了比较,发现这三种不育系与其保持系之间在谱带组成上有一定的差异。相比之下,T 型和 AL 型较接近,但都与 Q 型之间有一定差异。值得注意的是,这些差异因核供体不同而会有不同的情况。由于保持系与不育系的细胞核相同,因此不育系与保持系之间的谱带差异可能与特定核质互作有关。这些结果对研究植物雄性不育性的生理基础有一定意义。陈庆富等^[19]研究发现,T 型、Q 型、AL 型不育系在恢保关系上非常接近,不容易区分。本研究结果为这三种不育系的区分提供了一个参考方法,即将不同保持系的不同胞质不育系通过回交转育形成相同保持系的同核不同质的不育系,再通过旗叶酯酶同工酶分析即可对胞质不育系是否相同进行鉴定。

本研究还对 T 型、AL 型、Q 型三种小麦不育系的 17 个保持系和 8 个恢复系旗叶和幼小穗中的酯酶同工酶进行了比较。结果显示,保持系和恢复系之间没有明显的差异,说明旗叶和幼小穗的酯酶同工酶可能与育性恢复没有直接的联系。

Chen^[20]发现一个特殊的同质恢复系 R3-37 (Q 型胞质,育性正常,R*)做母本,与白免 3 号杂交所得杂种表现高度不育,但是该杂种与其他恢复系的杂交后代育性表现高度稳定恢复,由此提出 A/R*//R 的杂交小麦制种模式。本研究发现 R3-37 与白免 3 号的正反交杂交组合 F₁ 代育性表现与 Chen^[20]和陈庆富等^[19]的报道一致。本研究还发现该组合正反杂交种均不表现亲本白免 3 号的幼小穗 ESTb-11、12 酶谱,暗示该谱带可能是隐性遗传或者其表达被抑制。

参考文献:

[1] 杨春玲,郭瑞林,关立,等. 我国小麦杂种优势利用现状及存在的问题[J]. 河南农业科学,2002(9):14-15.

- [2] 姚景珍,张建诚,王秋叶. CHA 杂种小麦国内外研究进展与现状[J]. 现代农业科技,2006(3):56-58.
- [3] 杨天章,刘庆法. K 型小麦雄性不育应用问题的研究 II. 恢复性和杂化优势问题[J]. 陕西农业科学,1990(3):2-4.
- [4] 高庆荣,刘保申,孙兰珍. K、V、A 型杂种小麦细胞质效应的比较研究[J]. 麦类作物学报,1994,18(4):1-3,9.
- [5] 于天峰. V 型小麦雄性不育育性恢复与保持的研究[J]. 黑龙江农业科学,1999(3):1-3.
- [6] 王士杰,茹振钢. AL 型三系的选育及其利用价值[J]. 河南农业科学,1991(2):1-4.
- [7] 张庆勤. 黔型小麦雄性不育系和保持系[J]. 种子,1988(4):1-3.
- [8] 陈庆富,张庆勤. 黔型小麦雄性不育系及恢复系的改良[J]. 种子,1994(1):3-5.
- [9] 牛国阳,陈庆富. 小麦杂种优势利用的现状与展望[J]. 种子,2008,27(3):44-47.
- [10] 牛娜,张改生,张瑜,等. 粘类非 1BL/1RS 小麦 CMS 基因定向选择及其育性特性的研究[J]. 西北植物学报,2008,28(6):1075-1081.
- [11] 马翎健,何蓓如. 杂交小麦亲本选配研究进展[J]. 麦类作物(已更名为麦类作物学报),1999,19(6):23-26.
- [12] 曲志才,栗翼玖. 普通小麦 T 型和 V 型雄性不育系同工酶的比较研究[J]. 遗传,1994,16(6):20-23.
- [13] 李玉红,郭蔼光,陈鹏,等. V 型杂种小麦及亲本三系幼苗同工酶研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2002,30(6):118-120.
- [14] 王永军. 小麦遗传型与生理型雄性不育机理的比较研究[D]. 陕西杨凌:西北农林科技大学,2005.
- [15] 吴世文,高庆荣,孙哲,等. 腺苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶活性对小麦 K、V、T 型不育系育性及籽粒形成的影响[J]. 作物学报,2010,36(6):995-1002.
- [16] 张以忠,陈庆富. 荞麦属植物三叶期幼叶酯酶同工酶研究[J]. 武汉植物研究,2008,26(4):428-432.
- [17] 腾晓月,刘传亮. 小麦 T 型雄性不育系及其保持系酯酶同工酶比较研究[J]. 中国农业大学学报,1996,1(3):46-51.
- [18] 范平. 普通小麦 T 型和 K 型胞质雄性不育系败育过程细胞学观察和同工酶检测[J]. 华北农学报,1996,11(1):2-10.
- [19] 陈庆富,覃亚,谭武芳,等. 几种小麦雄性不育系育性恢复性的比较研究[J]. 广西植物,2005,25(1):62-65.
- [20] Chen Q F. Improving male fertility restoration of common wheat for *Triticum timopheevii* cytoplasm[J]. Plant Breeding,2003,122(5):401-404.