

# 籼稻胚乳蛋白最高营养 pI 范围 IEF 组分 相对含量的亲子关系研究<sup>\*</sup>

李 毓<sup>1</sup> 刘奕田<sup>2</sup> 伍时照<sup>3</sup>

(1 福建农业大学遗传所, 福州 350002; 2 华南农业大学生物技术学院; 3 华南农业大学农学系)

**摘要** 选用广东地区 7 个早籼品种作亲本, 组配成 12 对正反交组合, 在对亲本及其子一代胚乳蛋白进行等电聚焦—聚丙烯酰胺凝胶电泳(IEF—PAGE)分离及扫描定量基础上, 确定最高营养 pI (等电点)范围蛋白组分之相对含量, 用统计学方法分析该相对含量的亲子关系。结果表明, 亲本与子代在胚乳蛋白最高营养 pI 范围组分含量上呈显著正相关, 且子代与母本的相关较父本密切。

**关键词** 籼稻; 胚乳蛋白; 亲子关系

**中图分类号** Q 348

籼稻是我国最重要粮食作物水稻的主要类型, 随着人民生活水平的提高其育种目标必然转向既重产量又重品质的方向。因此, 提高稻米蛋白质含量, 改进蛋白质的氨基酸组成比例使其更符合人体需要, 自然成为蛋白质品质育种的主要目标。虽然稻米蛋白质的营养价值高于小麦等大多数作物种子蛋白(中国农科院科技情报所, 1979; 水稻品质育种研究新进展), 但其营养水平与 FAO/WHO 提倡的标准仍差距较大, 如赖氨酸含量仅达标准的 69%, 而其它必需氨基酸有的又相对过量(FAO/WHO, 1973), 显示氨基酸的配比仍不大符合人体需要。因而, 提高籼稻米蛋白含量并改善其必需氨基酸配比乃属籼稻品质育种之首要。近年来, 国内学者以籼稻品种为材料, 运用等电聚焦电泳、IEF 组分扫描定量、电泳图谱微量蛋白氨基酸分析等方法, 并结合统计学分析, 对籼稻胚乳(稻米食用部分)蛋白营养品质进行了研究。结果表明, 典型籼稻胚乳蛋白主要在 pI 6.0 ~ 5.2 范围的 IEF 组分的营养价值最高(必需氨基酸配比最佳, 最符合人体需要)。该 pI 范围的 IEF 组分被称为最高营养 pI 范围组分(刘奕田等, 1994; 1995; 1996a; 1996b)。本研究在此基础上, 以较系统完整的正反交杂种为材料, 试图进一步探明亲本与子一代之间在最高营养 pI 范围内 IEF 组分相对含量之关系, 为籼稻蛋白品质育种的选材和稻米营养品质的鉴定提供新依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

供试品种有: 万籼香粘(A), 毅夫 718(B), 七丝早粘(C), 小粒粘(D), 七四香粘(E), 七粳早(F), 惠优粘(G) 7 个有遗传差异的早籼品种, 用这些品种组配成如下 12 对组合: 万籼香粘×七四香粘(A×E), 七四香粘×万籼香粘(E×A); 万籼香粘×惠优粘(A×G), 惠优粘×万籼香粘

1997—12—31 收稿 李 毓, 男, 29 岁, 助教, 硕士

<sup>\*</sup> 国家自然科学基金(39570436)资助项目

(G×A); 毅夫 718×七丝香粘(B×E), 七四香粘×毅夫 718 (E×B); 七丝早粘×小粒粘(C×D), 小粒粘×七丝早粘(D×C); 小粒粘×七粳早((D×F), 七粳早×小粒粘(F×D); 毅夫 718×惠优粘(B×G), 惠优粘×毅夫 718(G×B).

## 1.2 分析样本

1995 年晚季和 1996 年早季于华南农业大学实验农场在相同自然栽培条件下种植上述亲本材料, 抽穗后配制上述杂交组合. 成熟后, 亲本材料各取生长正常的 10 个单株, 每单株取其中 1 穗共 10 穗晒干混合脱粒随机取 100 粒种子. 2 种材料均置于-20℃冰箱保藏待测.

## 1.3 分析方法

1.3.1 胚乳蛋白的提取 参照文献(孙崇荣等, 1987).

1.3.2 聚丙烯酰胺凝胶等电聚焦电泳(IEF—PAGE) 主要方法原理参考文献(Chen, 1991)并作部分改进. 用双垂直板 IEF—PAGE(北京六一厂 DYY—II 型电泳槽、恒流恒流压电泳仪), 凝胶主要组分为  $\rho$  (聚丙烯胺)=60 g/L,  $\rho$  (两性载体电解质)=20 g/L(Ampholine, pH 3.5~10),  $\rho$  (Triton x-100)=30 g/L 和  $c$  (脲)=9.0 mol/L. 凝胶制妥后预电泳 1 h (150、250、350 V 各 20 min), 然后用  $c$  (脲)=8~9 mol/L 含  $\rho$  (Ampholine)=20 g/L 平衡 2 h 以上. 每加样并进样 30  $\mu$ L, 4℃低温下电泳约 17 h, 其中 200 V 30 min, 300 V 30 min, 450 V 12 h, 600 V 4 h. 调高压(600 V)时更换阴极电极液一半.

1.3.3 胚乳蛋白聚焦组分等电点分布范围的确定 用美国 Sigma 公司的 pI 标准蛋白绘制工作曲线, 确定电泳图谱等电点(pI)范围. 本研究将整列 IEF—PAGE 谱带划分为一个 pI 范围, 即 pI 8.6~8.0, pI 8.0~7.2(pI 7.2~6.8 反复试验证明不出现 IEF 组分), pI 6.8~6.0, pI 6.0~5.2, pI 5.2~4.0; 其中 pI 6.0~5.2 左右证明是最高营养 pI 范围(刘奕田等, 1994; 1995; 1996a; 1996b). 之所以将胚乳全蛋白的 IEF—PAGE 图谱划分为 5 个 pI 范围仍基于我们反复多次试验结果而确定, 国内外迄今罕见有文献可参照. 划分 pI 范围的原则是: IEF 组分自然分布的 pI 范围及每个 pI 范围内组分相对量相差不太悬殊. 若划分的 pI 范围数太少, 则每个 pI 范围内组分太多, 稀释情况复杂, 不利于后期分离. 若划分的 pI 范围数太多, 则每个 pI 范围内组分太少, 稀释情况复杂, 不利于后期分离. 若划分的 pI 范围数太少, 则每个 pI 范围内组分太多, 稀释情况复杂, 不利于后期分离. 若划分的 pI 范围数太多, 则每个 pI 范围内组分太少, 稀释情况复杂, 不利于后期分离.

量太大.

1.3.4 IEF—PAGE 图谱扫描定量 将所有材料按杂交组合排在一起(两侧为亲本, 中间为杂种 F<sub>1</sub> 代)电泳, 电泳图谱用日本岛津 CS—930 型双波长箔层层析自动扫描仪扫描定量.

1.3.5 数据处理 对胚乳蛋白最高营养 pI 范围 IEF(等电聚焦)组分的相对含量(占整个 pI 范围 IEF 组分的质量百分数)数据用 SAS 软件作统计分析.

## 2 结果与分析

### 2.1 扫描定量结果

以  $X_1$ 、 $X_2$  和  $Y$  分别代表母体、父本和子一代(F<sub>1</sub>)胚乳蛋白最高营养 pI 范围 IEF 组分含量百分数, 结果列于表 1.

### 2.2 相关分析

对表 1 数据作复相关、偏相关分析, 结果列入表 2~3.

表 1  籼稻杂交亲本与其 F<sub>1</sub> 代胚乳蛋白中最高营养 pI 范围组分的含量比率(%)

组合名称代号	X <sub>1</sub>		X <sub>2</sub>		Y	
	早季	晚季	早季	晚季	早季	晚季
C×D	36.9	32.2	25.3	26.2	31.2	24.7
D×F	25.3	26.2	34.5	20.5	29.2	27.3
B×G	30.9	28.6	36.3	33.9	33.7	31.7
B×E	30.9	28.6	22.8	23.4	31.3	24.8
A×E	28.9	12.1	23.8	14.2	22.7	12.8
A×G	28.1	12.1	32.6	26.1	29.4	22.3
D×C	25.3	26.2	36.9	32.2	32.4	24.6
F×D	34.5	20.5	25.3	26.2	28.7	25.2
G×B	36.3	33.9	30.9	28.6	33.9	31.7
E×B	22.8	23.4	30.9	28.6	25.4	20.7
E×A	23.8	14.2	28.1	12.1	27.4	18.5
G×A	32.6	26.1	28.1	12.1	31.4	24.6

表 2  3 个变量分别与其中任意两个 其它变量的复相关系数 <sup>1)</sup>			
种植季节	X <sub>1</sub> 对其它	X <sub>2</sub> 对其它	Y 对其它
早季	0.8121 **	0.79074 *	0.82284 **
晚季	0.78209 *	0.60061	0.82527 **

表 3  3 个变量两两间的偏相关系数			
种植季节	变量	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>
早季	X <sub>2</sub>	-0.74326 **	
	Y	0.78378 **	0.75015 **
晚季	X <sub>2</sub>	0.00208	
	Y	0.70789 *	0.42275

1) 3 个变量指 X<sub>1</sub>、X<sub>2</sub> 和 Y

从表 2 复相关分析结果来看, F<sub>1</sub> 代胚乳蛋白最高营养 pI 范围组分含量(Y)与双亲该 pI 范围含量(X<sub>1</sub>、X<sub>2</sub>)总体上的相关是极显著的, 即子一代的含量与双亲的含量有极密切的联系, 双亲含量高时子一代含量就高. 表 3 的偏相关分析表明, 早季双亲与子代相关均达极显著水平, 晚季仅母本与子代的相关达显著水平, 且无论早季或晚季总是母本(X<sub>1</sub>)与子代(Y)的相关系数大于父本(X<sub>2</sub>), 说明母本与子代的相关较父本密切, 该组分含量的遗传或受细胞质的影响或与三倍体胚乳组织 3n 染色体组成中 2n 来自母本有关. 另外, 在表 3 中, 早季 X<sub>1</sub> 与 X<sub>2</sub> 呈负相关, 这可能是因为最高营养组分含量属于数量性状(尚待研究), 受微效多基因控制, 而这些微效基因散布于不同材料之中, 总数有限, 当一种亲本含量较多时, 另一亲本则相对较少, 反之亦然, 因而呈现负相关; 但晚季 X<sub>1</sub> 与 X<sub>2</sub> 几乎无相关或表现一定程度的正相关, 又说明相关的性质与程度与环境条件等有很大的关系.

3  讨论

胚乳蛋白最高营养 pI 范围组分相对含量子代与亲本有密切的关系, 且母本比父本关系密切. 因此在籼稻米蛋白质营养品质育种中, 应该注意选用胚乳蛋白 pI 6.0~5.2 范围组分相对含量高的材料作亲本, 并且注意尽可能用该组分含量相对较高的材料作母本, 以提高后代的营养水平. 通过 IEP-PAGE, 胚乳蛋白被分离为 pI 8.6~4.0 的各种 IEF 组分, 已证明分布

于 pI 6.0 ~ 5.2 范围内的组分是营养价值最高的蛋白质,其氨基酸的配比最接近 FO/WHO 的标准模式。利用此电泳技术,并结合扫描定量的方法,可以确定每一种材料胚乳蛋白最高营养 pI 范围组分的相对含量。因此,在稻米蛋白质品质育种中,采用 IEF—PAGE 分离胚乳蛋白结合扫描定量确定材料最高营养组分相对含量的方法对亲本选配有一定的参考应用价值。另外,在籼稻米营养品质的检测鉴定上这也是一种有意义的新方法。

#### 参 考 文 献

- 孙崇荣,李育庆,汪景长,等. 1987. 水稻种子蛋白组分的双向电泳分析. 作物学报, 13(1): 63~68
- 刘奕田,赖 军,陈由慈. 1994. 优质高蛋白稻米胚乳蛋白高营养组分的研究. 华南农业大学学报, 15(2): 106~111
- 刘奕田,伍时照. 1995. 理想蛋白质在若干优质高产稻米胚乳蛋白质 IEF 组分中的分布. 中国粮油学报, 10(4): 4~17
- 刘奕田,伍时照,刘新茂,等. 1996a. 华南几个优质高产水稻品种胚乳蛋白 IEF 组分中理想蛋白分布的比较. 华南农业大学学报, 17(1): 78~84
- 刘奕田,伍时照. 1996b. 几个籼稻良种胚乳蛋白高营养组分的生化研究. 作物学报, 22(4): 448~457
- Chen S H, 1991. Comparative study of pollen proteins of rice by isoelectric focusing and high—performance liquid chromatography. Cereal Chem, 68: 91~94
- FAO/WHO. 1973. Energy and protein requirements. Tech. Rep. Ser. (522)

## STUDY ON THE RELATIONSHIP BETWEEN PARENTS AND THEIR NEXT GENERATION IN THE RELATIVE CONTENT OF THE pI RANGE IEF COMPONENTS OF THE HIGHEST NUTRITION OF INDICA RICE ENDOSPERM PROTEINS

Li Yu<sup>1</sup> Liu Yitian<sup>2</sup> Wu Shizhao<sup>3</sup>

(1 Institute of Genetics and Crop Breeding, Fujian Agric. Univ., Fuzhou, 350002;

2 College of Biotechnology, South China Agric. Univ., 3 Dept. of Agronomy, South China Agric. Univ.)

#### Abstract

Seven early indica rice varieeties cultivated in Guangdong were selected as parents, making twelve pairs of reciprocal combinations, to determine the relative content of the pI (isoelectric point) range protein components of the highest nutrition based on the isoelectrofocusing—polyacrylamide gel electrophoresis (IEF—PAGE) separation and the quantity fixed according to the scan, in an attempt to find out the parent—descendant (F<sub>1</sub>) relationship in the relative content by statistics. The result indicated that there was a significantly positive correlation between parents and their next generation which was more closely related to the female parent than to the male parent. The result with the study method has important significance in the nutrition quality breeding of rice proteins.

**Key words** indica rice; endosperm proteins; parent—descendant relationship

[责任编辑 李 玲]