

# 小麦幼胚无性系麦谷蛋白亚基变异研究

张艳敏, 郭北海, 温之雨, 蒋春志, 李 辉

(河北省农林科学院粮油作物研究所, 河北 石家庄 050031)

**摘要:** 对通过辐射诱变获得的 323 个无性系进行了 SDS-PAGE 电泳分析, 结果表明, 小麦储藏蛋白变异几率随愈伤辐射剂量的增强而增加, 但是随辐射剂量的增加, 愈伤存活率、绿苗再生率也随之剧烈降低。同时分析了麦谷蛋白变异类型及其与植株形态变异的关系, 提出了小麦幼胚愈伤组织辐射诱变的适宜剂量。

**关键词:** 小麦; 无性系变异; 麦谷蛋白亚基;  $\gamma$  辐射; 突变体

中图分类号: S512.101 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2002)02-0011-05

体细胞无性系变异在作物品种改良中具有十分重要的作用。小麦体细胞无性系在形态特征、穗部性状、产量构成因子等性状以及在容重、粒重、蛋白质含量、面团形成时间、SDS 沉淀值等品质性状方面的变异都有许多报道<sup>[1~3]</sup>, 且获得了高蛋白质含量、高沉淀值的小麦体细胞无性系<sup>[4~5]</sup>。有学者从生化标记和分子水平上的变异等方面进行了研究, 应用较多的是麦醇溶蛋白和麦谷蛋白的电泳分析<sup>[6]</sup>, 根据 HMW-GS 和 Gli 突变体的遗传表现, 分析突变基因的传递规律。本研究对近几年获得的小麦幼胚无性系的高分子量麦谷蛋白亚基进行了电泳分析, 旨在了解各种诱变措施对 HMW-GS 变异的影响, 为选择有效的诱变方法和诱变剂量提供依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

用于子粒蛋白质电泳分析的材料, 为通过辐射诱变处理获得的幼胚无性系 R1, 来源于 10 个不同的基因型, 共计 323 份, 每一份取 5 粒分别电泳。

### 1.2 电泳方法

麦谷蛋白的分离采用的是不连续缓冲系统 SDS-PAGE 垂直板电泳, 浓缩胶缓冲液为 0.125 mol/L Tris-HCl, pH 6.8, 分离胶为 0.375 mol/L Tris-HCl, pH 8.8, 电极液为 0.025 mol/L Tris-HCl, 0.192 mol/L 甘氨酸, pH 8.3。浓缩胶浓度为 4%, 分离胶浓度为 10%~12%。电泳仪为 BIO-RAD 公司生产的 MINI-PROTEIN II, 电泳采用稳压方式。电泳完毕后, 胶板经固定、染色、脱色后扫描进微机。

麦谷蛋白的提取: 取 1 粒种子研碎入 1.5 mL 离心管中, 加 0.8 mL 蛋白提取液(2%SDS, 20%甘油, 5%巯基乙醇和 62.5 mmol/L Tris-HCl, pH 6.8)。提取 3 h 后沸水浴 3 min 使蛋白变性, 冷却离心, 取上清液备用。

2 结果与分析

2.1 辐射剂量与麦谷蛋白亚基变异的关系

供试验的 10 个不同基因型 323 份无性系材料中，来源于经过 2 000 rad  $\gamma$  射线辐射诱变处理的 8 个基因型、58 份无性系中，有 2 个无性系的高分子量麦谷蛋白亚基发生变异，分别来自 2 个不同的基因型(冀麦 42 号和冀 3235)，占无性系总数的 3.45%，12 份低分子量区域发生变异，占 20.69%；来源于 1 000 rad  $\gamma$  射线辐射诱变处理的 2 个基因型、265 个无性系中，有 4 个无性系的高分子量麦谷蛋白亚基发生变异，占 1.51%，19 个无性系发生低分子量区域变异，占 7.17%，见表 1。由分析可见，无论是高分子量麦谷蛋白亚基，还是低分子量谷蛋白(醇溶蛋白)，其发生变异的几率都随着愈伤辐射剂量的增加而增加。但是随辐射剂量的增加，愈伤存活率、绿苗再生率也随之剧烈降低。

表 1 幼胚无性系 SDS PAGE 电泳分析结果

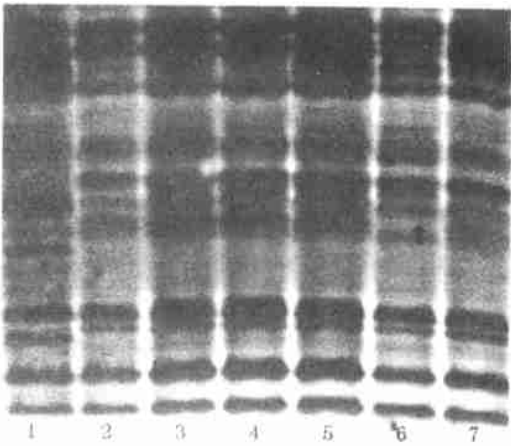
基因型	亚基构成	份数	辐射剂量 (rad)	变 异 情 况
4071	7+9, 2+12	2	2 000	无变异
冀麦 26/ 冀麦 30	7+9, 2+12	2	2 000	无变异
石 9306	7+9, 2+12	1	2 000	低分子量区域变异
冀麦 42	1, 7+9, 5+10	1	2 000	Glu-1D, Glu-1A 变异, 低分子量同时变异
花 521	7+9, 2+12	12	2 000	3 份低分子量变异
冀 3235	7+9, 2+12	16	2 000	1 份缺 1D, 7 份低分子量变异
冀麦 38	7+9, 2+12	10	2 000	1 份低分子量变异
96 观 472	7+9, 2+12	14	2 000	无变异
冀 885-443	7+9, 2+12	106	1 000	11 份低分子量变异, 2 份高分子量变异
石 4185	1, 7+9, 2+12	159	1 000	2 份高低分子量同时变异, 8 份低分子量变异

2.2 麦谷蛋白亚基的变异类型

2.2.1 低分子量区域变异，高分子量区域不变 这种变异类型出现的几率最大，占总变异率的 81.6%，常常表现为变异株系较供体亲本在低分子量区域多或少 1~2 条带(图 1)。

2.2.2 高低分子量区域同时发生变异 检测的 323 个无性系中，共有 4 个高低分子量同时发生变异，涉及到 3 个基因型(冀麦 42 号、冀 885-443、石 4185)。

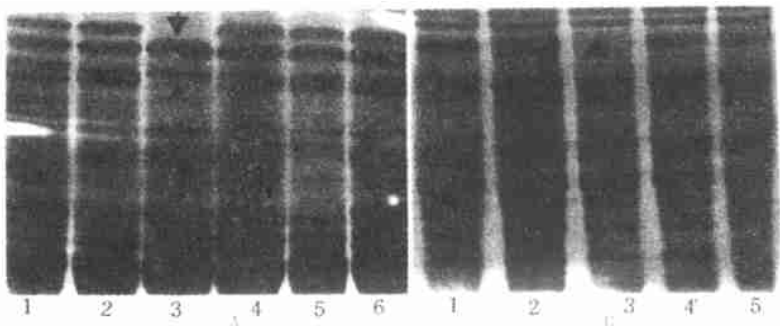
2.2.3 高分子量麦谷蛋白亚基发生变异 这种变异发生频率较低，有下列几种变异方式：一是编码高分子量麦谷蛋白亚基的Glu-1A、Glu-1B、Glu-1D 3 个基因位点中的 1 个或 2 个位点发生变异，如冀麦 42 号供体亲



泳道 1 为冀 885-443 对照，2~6 为其无性系，7 为中国春。箭头示低分子量区域缺少一条带

图 1 IE247 (冀 885-443) 无性系麦谷蛋白 SDS PAGE 分析结果

本上述三个基因位点编码的蛋白亚基分别为 1, 7+9, 5+10, 而变异株系为 N, 7+9, 2+12, 也就是说有两个位点发生了变异, 即 Glu-1A、Glu-1D; 二是 3 个基因位点中的 1 个位点缺失(或不表达), 如冀 3235 的 16 个无性系 R1 中检测到 1 个株系没有 2+12 蛋白带, 而其他带, 包括低分子量部分与供体相同(图 2-A), 其遗传分析另文发表; 三是高分子量麦谷蛋白只表达 X 型, 不表达 Y 型, 如 247R-10 (冀 885-443)Glu-1B 为 7, Glu-1D 为 2, 缺少相应的 9 和 12 带(图 2-B)。



A 泳道 1 为中国春; 2 为冀 3235 对照; 3~6 为无性系, 箭头示缺失的 2+12 带;  
B 泳道 1 为冀 885-443 对照; 2~5 为无性系, 箭头示 247R-10 缺失的 Glu-1By 和 Glu-1Dy 型亚基

图 2 幼胚无性系麦谷蛋白亚基 SDS PAGE 电泳分析结果

2.3 麦谷蛋白变异与植株形态性状变异的关系

R1 种植在大棚内, 其生长环境与田间有很大差距, 而且由于培养基成分和辐射诱变造成的生理伤害效应还没有消失, 不能反映真实的诱变效果。R2 种植在田间, 非遗传的变异消失, 田间长相的差异基本可反映变异情况。通过几年的观察, 发现辐射诱变的剂量越大, R2 植株形态的变化就越大, 2 000 rad 辐射处理的 R2 每一株系间均有明显差异, 与 1 000 rad 辐射处理相比, 诱变效果显著的多。在株高、株型、穗型、叶型、粒重、生育期等方面都有变异。一般来讲, 麦谷蛋白亚基构成的变异越大, 植株形态性状的变化越大, 而仅仅低分子量区域变异的株系其形态性状的变化就较小, 如, 冀麦 42 号无性系, 其高分子量麦谷蛋白亚基的 Glu-1A、Glu-1B、Glu-1D 3 个基因位点中 Glu-1A、Glu-1D 2 个位点发生变异, 同时伴随低分子量区域变异, R2 株高田间发生重大分离, 从中选出系列株高变异系, 达到了研究的最终目的。IE280R-8、IE280R-10 也是高低分子量同时发生变异的两个株系, 其株型与供体石 4185 相比较松散, 单位面积穗数较少, 但是蛋白质含量显著提高, 分别达到 19.15%和 18.11%。但是也有例外, 如冀 3235 中检测到的 Glu-1D 缺失(不表达)的株系, 其 R2、R3 田间长相与供体没有区别, 尽管 R3 Glu-1D 性状还在分离。

3 讨论

小麦体细胞无性系后代麦谷蛋白和醇溶蛋白电泳谱带的变化, 大体可分为三种类型: 1) 增加新谱带; 2) 亲本原有特异性谱带消失; 3) 原有谱带染色强度改变<sup>[7, 9, 10]</sup>。本研究也发现了同样的现象, 但发现的 Glu-1D 缺失(不表达)和分子量相对较高的 Glu-1Bx、Glu-1Dx 正

常表达,而分子量相对较低的 Glu-1By、Glu-1Dy 缺失或不表达现象未见相关报道。

张怀刚等<sup>[6]</sup>对体细胞无性系 Glu-1 基因突变体的遗传分析表明,同源染色体的等位基因易发生相同突变,突变体多是纯和基因型,认为这是体细胞无性系变异稳定快的遗传根源。本研究中对每一材料,除个别株系因为种子量少不能满足要求外,均为每株取 5 粒分别电泳,没有发现 5 粒种子电泳结果不一致的情况。这进一步印证了张怀刚的研究结果。

众多研究表明,体细胞无性系变异是普遍存在的,而且通过辐射处理可以增大体细胞无性系变异的频率。孙岩等<sup>[8]</sup>用 A-PAGE 方法鉴定小麦体细胞无性系,通过比较组培 SC1 和辐射加组培 SC1 种子的麦醇溶蛋白电泳图谱发现,辐射加组培 SC1 种子的电泳图谱变化较大。高明尉等<sup>[1]</sup>对小麦种子、5 d 龄幼胚、未成熟胚来源的愈伤组织等进行不同剂量的辐射处理,发现对愈伤组织进行辐射处理的诱变效果最好,但照射量不宜降到 500 ~ 1 000 rad。本研究中 1 000 rad 和 2 000 rad 辐射处理相比,无论从形态性状还是储藏蛋白电泳图谱的变化后者都较前者明显增大,但其愈伤存活率和绿苗再生率也明显降低,从育种工作中选择品种需要一定群体的角度,应该利用能产生一定变异又可获得一定选择群体的较低辐射剂量。

#### 参考文献:

- [1] 高明尉,成雄鹰,梁竹青,等.小麦体细胞组织离体诱变效应研究[J].作物学报,1994,20(1):18—25
- [2] 梁竹青,高明尉,成雄鹰,等.普通小麦体细胞无性系 R2 代变异发生特点[J].作物学报,1995,21(1):49—56
- [3] 叶兴国,徐惠君,赵乐莲,等.组织培养途径改良定型小麦品种的研究[J].作物学报,1998,24(3):314
- [4] 王培,范光年,方仁,等.幼穗无性系变异在小麦育种上的应用[J].作物学报,1992,18(5):391—396
- [5] 张怀刚,陈集贤,胡含.小麦体细胞无性系 SDS 沉淀值的变异与遗传[J].西北农业学报,1998,7(2):1—5.
- [6] 张怀刚,陈集贤,胡含.小麦体细胞无性系 Glu-1 基因突变体的遗传分析[J].遗传,1997,19(1):23—25.
- [7] 胡尚连,李文雄,曾寒冰.小麦未成熟胚离体培养的研究——再生植株后代子粒醇溶蛋白和谷蛋白亚基及蛋白质含量变化[J].作物学报,1998,24(2):204—212.
- [8] 孙岩,唐凤兰,李忠杰,等.麦醇溶蛋白在鉴定小麦体细胞无性系变异上的应用研究[J].黑龙江农业科学,1999,(2):5—7.
- [9] Cooper D B, Sears R G. Heritable somaclonal variation of gliadin proteins of wheat plant derived from immature embryo callus culture[J]. Theor Appl Genet, 1986, 71: 784—790.
- [10] Larkin P J, Rvan S A. Heritable somaclonal variation in wheat[J]. Theor Appl Genet, 1984, 67: 443—455.

# Glutenin Variation in Seed of Somaclones Derived from Immature Embryo of Wheat

ZHANG Yan-min, GUO Bei-hai, WEN Zhi-yu, JIANG Chun-zhi, LI Hui

(Cereal and Oil Crops Institute, Hebei Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Shijiazhuang 050031, China)

**Abstract:** Glutenin of 323 somaclones seeds derived from immature embryo of wheat was investigated using SDS-PAGE. The results showed that significant changes of bands in glutenin were found, compared with the donor plants. The variations of bands including both high and low molecular weights. The losses of specific protein band of Glu-1D and that of Glu-1By and 1Dy were firstly reported in this paper. The influences of irradiation intensity on glutenin and phenotype variation were also discussed and proper irradiation intensity was recommended.

**Key words:** Wheat; Somaclonal variation; Glutenin subunits; Gamma irradiation; Mutant