

# 小麦胚乳贮藏蛋白亚基变异的研究进展

封德顺, 王洪刚, 田纪春

( 山东农业大学 农学院, 山东 泰安 271018)

**摘要:** 综述了组织培养、化学试剂处理、辐射、外源 DNA 导入以及转入目的基因等的情况下导致的小麦胚乳贮藏蛋白的各种变异, 讨论了可能的变异机理, 并对胚乳贮藏蛋白的变异在科学研究和育种上的应用作了展望。

**关键词:** 胚乳贮藏蛋白; 变异; 无性系

中图分类号: S512.01 文献标识码: A 文章编号: 1000- 7091(2008) 增刊- 0023- 03

## Progress of the Study on the Variation of Wheat Endosperm Store Protein

FENG De-shun, WANG Hong-gang, TIAN Ji-chun

( College of Agronomy, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China)

**Abstract:** This paper summarized the different variation of wheat endosperm store protein in tissue culture, chemical reagent treatment, radialization, exogenous DNA introduction and transgene etc., discussed the potential variation mechanism, and prospected the applying of the wheat endosperm store protein variation in scientific research and breeding.

**Key words:** Endosperm store protein; Variation; Somaclone

小麦是世界上最重要的粮食作物之一, 不断提高其产量和品质是科研人员育种的目标。小麦胚乳贮藏蛋白约占小麦种子蛋白的 85%, 主要影响小麦的加工品质。小麦贮藏蛋白质分为麦谷蛋白和醇溶蛋白两种, 它们是小麦面筋的主要成分。一般认为谷蛋白特别是高分子质量麦谷蛋白亚基(HMW-GS)影响面团的弹性, 而醇溶蛋白(Gli)决定面团的粘性。含不同胚乳贮藏蛋白亚基的小麦品种, 其加工品质也有明显的不同。在小麦遗传研究过程中, 人们发现许多外部条件可导致小麦胚乳贮藏蛋白的变化。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>[1]</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。小麦变异体后代麦谷蛋白和醇溶蛋白电泳谱带的变化, 大体可分为 3 种类型: 增加新谱带; 亲本原有特异性谱带消失; 原有谱带染色强度改变<sup>[2]</sup>。无论高分子量麦谷蛋白亚基<sup>[1]</sup>还是醇溶蛋白亚基<sup>[3]</sup>都能发生可遗传的变异。这种变异可由多种因素引起。

## 1 小麦胚乳贮藏蛋白亚基的变异

### 1.1 单细胞、花粉、幼胚、幼穗培养再生植株产生的无性系变异

植物细胞具有全能性, 因而利用它的组织和细胞在人工培养基上离体培养, 就能产生无性系, 获得再生。此技术不但能用于无性系繁殖, 而且在培养过程中可以诱导出可遗传的变异, 即无性系变异<sup>[4]</sup>。在用不同的外植体(如用未成熟花进行的胚胎发生过程或用未成熟胚进行的形态建成过程等)、不同的再生方式进行多种禾谷类作物的培养中, 都发现了这一现象<sup>[5]</sup>。无性系变异既可以是单基因也可能是多边的可遗传的性状<sup>[6]</sup>。这种可遗传的变异可作为一种有效的方式用于提高形态或农艺性状上的多样性<sup>[7]</sup>, 提高对生物或非生物胁迫的抗性<sup>[8]</sup>。通过无性系变异已经获得了高蛋白质含量、高沉淀值的小麦体细胞无性系<sup>[9]</sup>。胡尚连等<sup>[10]</sup>将春小麦 NE7742 (亚基组成为 1, 7+ 8, 2+ 12) 经单细胞培养后获得体细胞无性系后代, 除了一部分后代的高分子量麦谷蛋白亚基组成与亲本相同外, 还出现了 3 种新的亚

收稿日期: 2007- 11- 18

基金项目: 中国博士后科学基金项目(20070411101); 山东省博士后创新项目专项资金(200701001)

作者简介: 封德顺(1970- ), 男, 山东诸城人, 博士, 副教授, 主要从事利用生物技术进行小麦遗传改良研究。

基组合, ①Null, 7+ 9, 2+ 12; ②Null, 7, 2+ 12; ③Null, 7+ 8, 2+ 12。并且亚基表达的强度比亲本低。张怀刚等<sup>[11]</sup>用小麦幼胚或幼穗做外植体进行组培均获得了再生植株。通过 SDS-PAGE 法分析了再生植株种子的高分子量麦谷蛋白亚基。组织培养获得的后代中, HMW-GS 组合由亲本的 1, 7+ 8, 2+ 12 变异为 Null, 7, 2+ 12 组合或 Null, 7+ 8, 2+ 12 组合, 变异的频率约为 4.5% ~ 20%。

### 1.2 用化学试剂处理种子引起的变异。

Svec 等<sup>[12]</sup>用化学试剂 N-nitroso-N-ethylurea 处理小麦栽培种 Vigna 的种子, 获得了一个变异株系 NT-10, 除了形态和生理发生了变异外, 在高分子量麦谷蛋白亚基的组成上也发生了变化。它的 Glu-1B 位点表达的 HMW-GS 由原来的 1Bx7+ 1By9 亚基对突变为单个亚基 1Bx6。

### 1.3 辐射诱变引起胚乳贮藏蛋白的无性系变异

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。张艳敏等<sup>[13]</sup>通过对辐射诱变幼胚获得的 323 个无性系进行了 SDS-PAGE 电泳分析, 结果表明冀麦 42 号(亚基组合为 1, 7+ 9, 5+ 10)的 1 个无性系突变为 Null, 7+ 9, 5+ 10; 冀 3235(亚基组合为 Null, 7+ 9, 2+ 12)的一个无性系仅有 2+ 12 亚基表达; 而冀 885-443 的(亚基组合为 Null, 7+ 9, 2+ 12)2 个无性系突变为 Null, 7, 2。而且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。

### 1.4 外源 DNA 导入小麦引起的胚乳贮藏蛋白变异

在小麦分子育种工作中, 常采取将某一物种如大豆、高粱、玉米等的总基因组 DNA 导入的方法。王亚馥等<sup>[14]</sup>应用授粉的花粉管通道将 C<sub>4</sub> 作物高粱 DNA 和抗逆性强的长穗偃麦草 DNA 导入小麦, 得到了胚乳贮藏蛋白组成发生了明显变化的变异系。大量蛋白组分的变异是小麦系谱中原有组分的增减变化, 并推测外源 DNA 导入后可能修饰调节基因, 激活或抑制原结构基因的表达, 导致某些蛋白质组分的增加, 另一些组分丢失。高等植物基因组中存在大量高度重复和中度重复序列, 而这些又为调节基因序列, 外源 DNA 导入后, 重组插入高度或中度重复序列应该更容易些, 从而改变调节基因的功能。当然也有可能外源 DNA 的导入使单一序列的结构基因发生突变, 导致结构基因失活或突变, 致使某蛋白组分丢失或转录产物缩短、加长, 亦或是蛋白质一级结构的变化, 导致蛋白质带电荷发生变化或二级

结构折叠变化等, 从而这类蛋白质电泳迁移率发生改变。王晓娟等<sup>[15]</sup>将种子贮藏蛋白中没有 5+ 10 亚基的高粱的总 DNA 通过花粉管通道法导入小麦甘麦 9 号, 并获得了稳定遗传的变异后代。在后代的麦谷蛋白亚基组成中, 由亲本的 2+ 12 突变为 5+ 10, 说明花粉管通道法和其他各种外源基因导入法一样, 也会引起很复杂的受体遗传特性的变化。除了花粉管通道法外, 用对称或不对称体细胞融合方法, 也可以将外源的总 DNA 或部分 DNA 片段导入小麦细胞中, 并发生重组或共存。夏光敏等<sup>[16]</sup>将普通小麦济南 177 与经紫外线照射的高冰草原生质体在聚乙二醇诱导下融合, 获得了再生植株。取杂种子房诱导产生愈伤组织并再生植株, 并能稳定遗传。对 F<sub>5</sub>-F<sub>5</sub> 175 个杂种再生株系的种子进行胚乳贮藏蛋白分析, 发现许多后代株系无论在高、低分子量麦谷蛋白还是醇溶蛋白方面, 都表现出与亲本小麦不同的特征<sup>[17]</sup>。其中高分子量麦谷蛋白的变异率为 39.7%。出现了许多亲本小麦济南 177(亚基组合为 1Dx2+ 1Dy12, 1Bx7+ 1By9)所没有的高分子量麦谷蛋白亚基, 如 1Ax1, 1Ax2\*, 1Bx13, 1By16, 1By8, 1Dx5 等或亚基组合如 1Bx13+ 1By16, 1Bx7+ 1By8, 1Dx5+ 1Dy12 等。杂种的醇溶蛋白组成至少有 12 种类型, 出现了 A1m, B1a, B1d, B1e, B1l, D1b, D1g, D1l 等 8 种新类型。杂种株系的 SDS 沉降值表现出较大的差异, 其中一些杂种的 SDS 沉降值明显高于亲本普通小麦。

### 1.5 转基因引起的胚乳贮藏蛋白变异

目前转基因技术用于小麦的遗传改良越来越受到重视。但目前在小麦的转基因过程中多以通过组织培养诱导的愈伤组织作为受体。需要经过愈伤组织诱导、基因转移、再生植株、抗生素或除草剂筛选等过程, 每个环节都需要添加一些外源的化学物质, 都有可能产生不可预测的变异。汪越胜等<sup>[18]</sup>和李三和等<sup>[19]</sup>分析了通过基因枪法将小麦高分子量麦谷蛋白亚基 1Dx5 基因的转基因小麦后代的麦谷蛋白亚基组成, 发现转基因单株后代中存在多种内源 HMW-GS 组成发生变异的个体, 并认为这可能是由于转基因材料在有性生殖过程中多拷贝外源基因引起的变异。

## 2 胚乳贮藏蛋白无性系变异的可能机理

虽然目前尚未见到分子生物学证据来说明体细胞无性系变异如何发生在组织培养过程中, 如何存在于外植体的组织内, 但是无性系变异在染色体结构和数目上的异常、以及细胞核、细胞质基因的突变

已被试验所证实。小麦体细胞无性系变异的机理到目前为止还不十分清楚。根据玉米上的研究结果,许多学者试图用转座子学说解释体细胞无性系变异现象。其主要论点是,在组织培养过程中,细胞分裂速度比异染色质复制快,结果引起在细胞分裂后期形成染色体桥及断裂,在断裂部位 DNA 修复过程中,属于异染色质一部分的转座基因发生二甲基化而被激活,发生转座并引起一系列的结构基因活化、失活和位置变化,造成无性系变异<sup>[20]</sup>。

Payne<sup>[21]</sup> 及以后的研究者利用 SDS-PAGE 技术已经发现和定位了高分子量麦谷蛋白亚基 20 多个: Glr A1 有 3 个(N, 1 和 2\*), Glr B1 有 11 个(7, 7+ 8, 7+ 9, 6+ 8, 20, 13+ 16, 13+ 19, 14+ 15, 17+ 18, 21 和 22), Glr D1 有 6 个(2+ 12, 3+ 12, 4+ 12, 5+ 10, 2+ 10 和 2.2+ 10)。在小麦的近缘物种中也已经鉴定出了许多不同于小麦的高分子量麦谷蛋白亚基<sup>[22, 23]</sup>。不同的亚基之间的差异主要在于中部重复序列的六肽、九肽重复次数的多少。笔者对不同亚基编码序列中部重复区进行对比分析,发现不同编码序列间发生重复序列缺失(或添加)的位点一般是“CCAGG”,而且在所有的高分子量麦谷蛋白亚基的编码序列中,存在着大量的“CCAGG”区域。已知该序列在大肠杆菌中是 Dcm 甲基化酶的识别位点,在植物中是否同样存在类似的甲基化酶,有待于研究。在无性系变异过程中或自然界自发突变过程中,不同亚基之间的转变是否是由于同一基因序列在发生甲基化修饰后的回复突变中造成的,有待于分子生物学上的证据。

### 3 问题与展望

随着分子生物学的发展,必将在无性系变异的基础理论研究方面有所突破。尽管体细胞无性系变异的机理目前还不十分清楚,但无性系变异作为一个重要的遗传变异来源是毫无疑问的。小麦体细胞无性系变异产生了许多亲本所没有的类型用这些突变的无性系可以探讨每个亚基与品质的关系,即对品质的贡献率。另外也可在小麦品质的基础研究上发挥重要作用,同时也可能从中选出品质优良的新品系。

#### 参考文献:

[1] 张怀刚,陈集贤,胡 含. 小麦体细胞无性系 *Glu21* 基因突变体的遗传分析[J]. 遗传, 1997, 19(1): 23– 25.  
[2] 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.

[3] Cooper D B, Sears R G, Lookhart G L, *et al.* Heritable somaclonal variation of gliadinproteins of wheat plants derived from immature embryo callus culture[J]. Theor Appl Genet, 1986, 71: 784– 790.  
[4] Larkin P, Scowcroft W. Somaclonal variation – a novel source of variability from cell cultures for plant improvement [J]. Theor Appl Genet, 1981, 60: 197– 214.  
[5] Adkins S, Kunanuvatchidach R, Godwin I. Somaclonal variation in rice drought tolerance and other agronomic characters [J]. Aust J of Bot, 1995, 43: 201– 209.  
[6] Galiba G, Kertesz Z, Sutka J, *et al.* Differences in somaclonal variation in three winter wheat varieties[J]. Cereal Res Comm, 1985, 13: 345– 350.  
[7] Symillides Y, Henry Y, De Buyser J. Analysis of Chinese Spring regenerants obtained from short and long term wheat somatic embryogenesis[J]. Euphytica, 1995, 82: 263– 268.  
[8] Bozorgipour R, Snape J. An assessment of somaclonal variation as a breeding tool for generating herbicide tolerance genotypes in wheat [J]. Euphytica, 1997, 94: 335– 340.  
[9] 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.  
[10] 胡尚连,李文雄,曾寒冰,等. 小麦单细胞培养的研究—再生植株后代籽粒高分子量谷蛋白亚基组成及强度[J]. 东北农业大学学报, 2002, 33(3): 209– 212.  
[11] 张怀刚,陈集贤,赵绪兰,等. 小麦体细胞无性系 HMW – GS 变异及其变异体的研究[J]. 科学通报, 1995, 40: 1990– 1993.  
[12] Svec M, Gregova E, Miklovicova M, *et al.* Short communication changes in expression of HMW glutenins of wheat (*Triticum aestivum* L.) induced by nitrosoethylurea [J]. Plant Breeding, 1999, 118(3): 272.  
[13] 张艳敏,郭北海,温之雨,等. 小麦幼胚无性系麦谷蛋白亚基变异研究[J]. 华北农学报, 2002, 17(2): 11– 15.  
[14] 王亚馥,陈克明,焦成瑾,等. 外源 DNA 导入小麦后的变异系生物学特性及胚乳蛋白的研究[J]. 作物学报, 1995, 21: 404– 411.  
[15] 王晓娟,李兴林,王亚馥. 高粱总 DNA 导入春小麦稳定后代高分子量麦谷蛋白亚基的变化[J]. 西北植物学报, 2001, 20: 979– 983.  
[16] 夏光敏,向凤宁,周爱芬,等. 小麦与高冰草属间体细胞杂交获可育杂种植株[J]. 植物学报, 1999, 41(4): 349– 352.  
[17] 赵同金,权太勇,夏光敏,等. 小麦与高冰草体细胞杂种 F5 胚乳贮藏蛋白和 SDS 沉降值分析[J]. 山东大学学报(理学版), 2003, 38(3): 112– 116.  
[18] 汪越胜,柯 涛,李三和,等. 转基因小麦后代 HMW-GS 组成的变异研究[J]. 作物学报, 2005, 31(4): 529– 531.  
[19] 李三和,李 举,王娜丽,等. 外源 *1Dx5* 基因导致小麦高分子量麦谷蛋白亚基表达变异[J]. 生物技术通讯, 2007, 18(2): 217– 219.  
[20] 张怀刚,陈集贤,胡 含. 小麦体细胞无性系变异研究进展[J]. 青海农林科技, 1995(2): 1– 4.  
[21] Payne P I. Catalogue of alleles for the complex genes loci Glr A1, Glr B1 and Glr D1 which code for high molecular weight subunits of glutenin in hexaploid wheat [J]. Cereal Res Commun, 1983, 11(1): 29– 35.  
[22] Feng D S, Chen F G, Zhao S Y, *et al.* Study on High Molecular Weight glutenin subunit genes in decaploid *Aegilops elongatum* [J]. Acta Botanica Sinica, 2004, 46(4): 489– 496.  
[23] Wan Y F, Wang D W, Shewry P R, *et al.* Isolation and characterization of five novel high molecular weight subunit of glutenin genes from *Triticum timopheevi* and *Aegilops cylindrical* [J]. Theor Appl Genet, 2002, 104: 828– 839.