

## 小麦体细胞无性系 *Glu - 1* 基因突变体的遗传分析

张怀刚<sup>1, 2</sup> 陈集贤<sup>1</sup> 胡 含<sup>2</sup>

(1. 中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810001)

(2. 中国科学院遗传研究所, 北京 100101)

**摘要** 对 *Glu - 1* 基因的 *Glu - A1* 和 *Glu - B1* 位点都发生突变的 1 个小麦体细胞无性系后代的高分子量谷蛋白亚基组成进行的分析结果, 进一步证实了体细胞无性系发生了基因突变, 且发现同源染色体的等位基因易发生相同突变, 突变体多是纯合基因型。认为这是体细胞无性系变异稳定快的遗传根源。

**关键词** 小麦, 体细胞无性系变异, 基因突变, 遗传分析

## Genetic Analysis of a *Glu - 1* Somaclonal Mutant in Wheat

Zhang Huaigang<sup>1, 2</sup> Chen Jixian<sup>1</sup> Hu Han<sup>2</sup>

(1. Northwest Plateau Institute of Biology, The Chinese Academy of Sciences, Xining 810001)

(2. Institute of Genetics, The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101)

**Abstract** Evidence for specific gene mutation has been obtained in our previous research by analysing high - molecular - weight glutenin subunits (HMW - GS) controlled by *Glu - 1* gene in wheat somaclones. On the basis of the result, the present study detected in the offspring of a HMW - GS somaclone the mutants at both *Glu - A1* and *Glu - B1* loci. The occurrence of gene mutation in wheat somaclones was further proved. The results showed that a allele on homologous chromosomes often mutated identically. Genotype of this kind mutation might be pure. This is considered to be the genetic reason for quickly stabilizing of somaclonal variation.

**Key words** Wheat, Somaclonal variation, Gene mutation, Genetic analysis

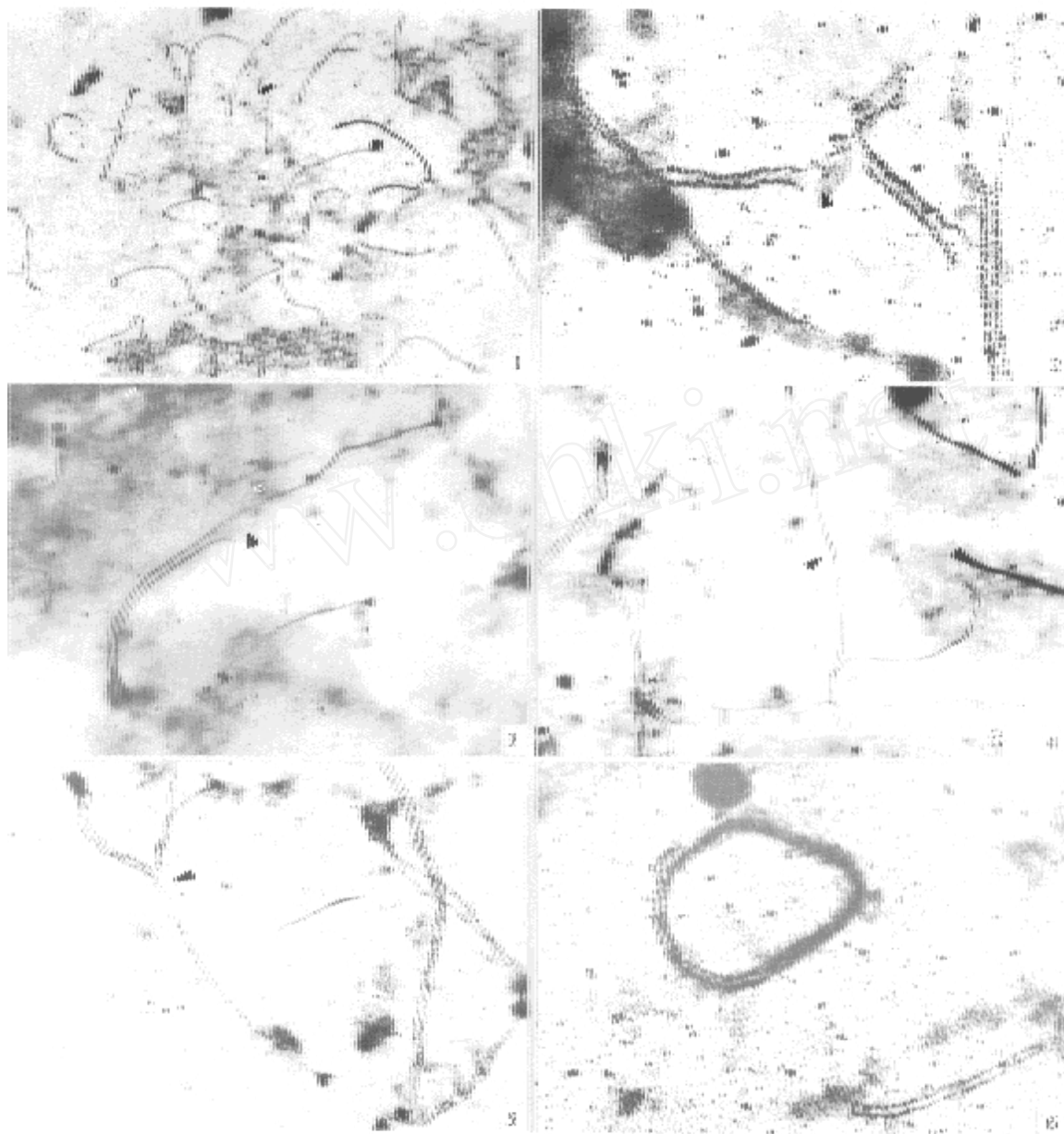
*Glu - 1* 基因控制小麦高分子量谷蛋白亚基 (High - molecular - weight glutenin subunits, HMW - GS), 位于第 1 组部分同源染色体的 *Glu - A1*、*Glu - B1* 和 *Glu - D1* 3 个位点。*Glu - 1* 各等位基因控制的 HMW - GS 谱带都清楚, 我们用它作标记基因, 检测了小麦体细胞无性系的 HMW - GS 变化, 共获得了 4 个 HMW - GS 突变体, 为小麦体细胞无性系变异提供了特定基因突变的证据<sup>[2]</sup>。本研究的目的在于观察 *Glu - 1* 基因突变得到的 HMW - GS 突变体的遗传表现, 分析突变基因的传递规律, 进一步证实来自未添加诱变剂的离体培养的小麦体细胞无性系发生了基因突变, 并探讨体细胞无性系变异稳定快的遗传根源。

## 1 材 料 和 方 法

### 1.1 试验材料

本试验选用在 *Glu - A1* 和 *Glu - B1* 位点都发生突变的 R<sub>1</sub> 植株 93AFD20 的后代为材料, 它是由春小麦品种高原 602 的幼穗外植体在未添加诱变剂的 MS 培养基上离体培养而来的。培养的起始材料是连续套袋自交两

植物细胞与染色体工程国家重点实验室和青海省科委资助项目。



1. 小鼠次级精母细胞联会复合体正常核型 (  $\times 4\ 000$  ); 2. 小鼠次级精母细胞联会复合体断裂 (  $\times 15\ 000$  ); 3. 小鼠次级精母细胞联会复合体侧向成分断裂 (  $\times 10\ 000$  ); 4. 小鼠次级精母细胞联会复合体不联会 (  $\times 10\ 000$  ); 5. 小鼠次级精母细胞联会复合体异源联会 (  $\times 12\ 000$  ); 6. 小鼠次级精母细胞联会复合体圆环 (  $\times 15\ 000$  )。

次的高原 602 幼穗, 取过幼穗的植株再套袋自交, 混收其种子, 并与再生株同季种于温室, 且套袋自交作对照, 随机电泳其混合样品 23 粒种子, 其 HMW - GS 组成都为: 1、7+8、2+12, 未发现变异, 说明幼穗培养的起始材料是纯合的。而从其 10 株  $R_1$  再生株中却发现 2 株发生了变异, 本研究用的 93AFD20 为其中 1 个变异株, 其籽粒的 HMW - GS 组成为: N、7、2+12<sup>[2]</sup>。把 93AFD20 电泳后带胚的 8 个半粒种子种于花盆中, 其中 5 粒出苗长成  $R_2$  植株, 套袋自交。因 6 月下旬种于西宁室内花盆中, 植株生育前期温度较高, 不利于幼穗的分化发育, 故穗小粒少。5 株分别结实 2、3、1、2、7 粒, 共收获 15 粒种子, 其中 14 粒用于电泳。

## 1.2 试验方法

用 SDS - 聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS - Polyacrylamide gel electrophoresis, SDS - PAGE) 检测供试种子的 HMW - GS 组成, 以供体品种高原 602 为对照。电泳方法参照 Lawrence 的介绍<sup>[7]</sup>, 具体操作见张怀刚的描述<sup>[5]</sup>。

## 2 结果 和 分 析

供体品种高原 602 的 HMW - GS 组成为: 1、7+8、2+12 (图 1)<sup>[2]</sup>; *Glu - 1* 基因突变体 93AFD20 的后代——5 个  $R_2$  植株的 14 粒种子 (单粒电泳), 其 HMW - GS 组成都为: N、7、2+12 (图 1、表 1), 与长出这 5 个  $R_2$  植株的种子的 HMW - GS 组成相同<sup>[2]</sup>, 且  $R_2$  株间及株内粒间无分离 (图 1)。这说明 *Glu - A1*、*Glu - B1* 位点的突变是稳定遗传的。

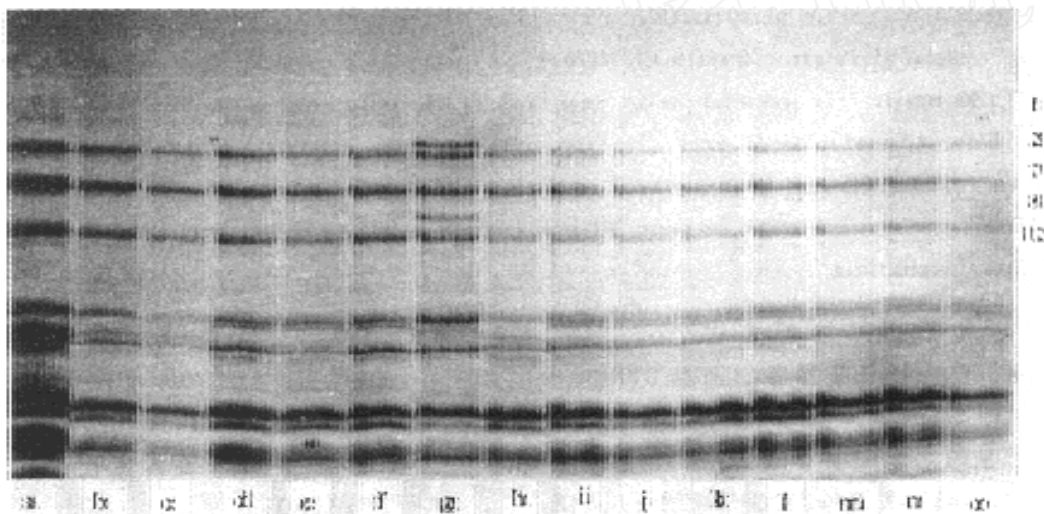
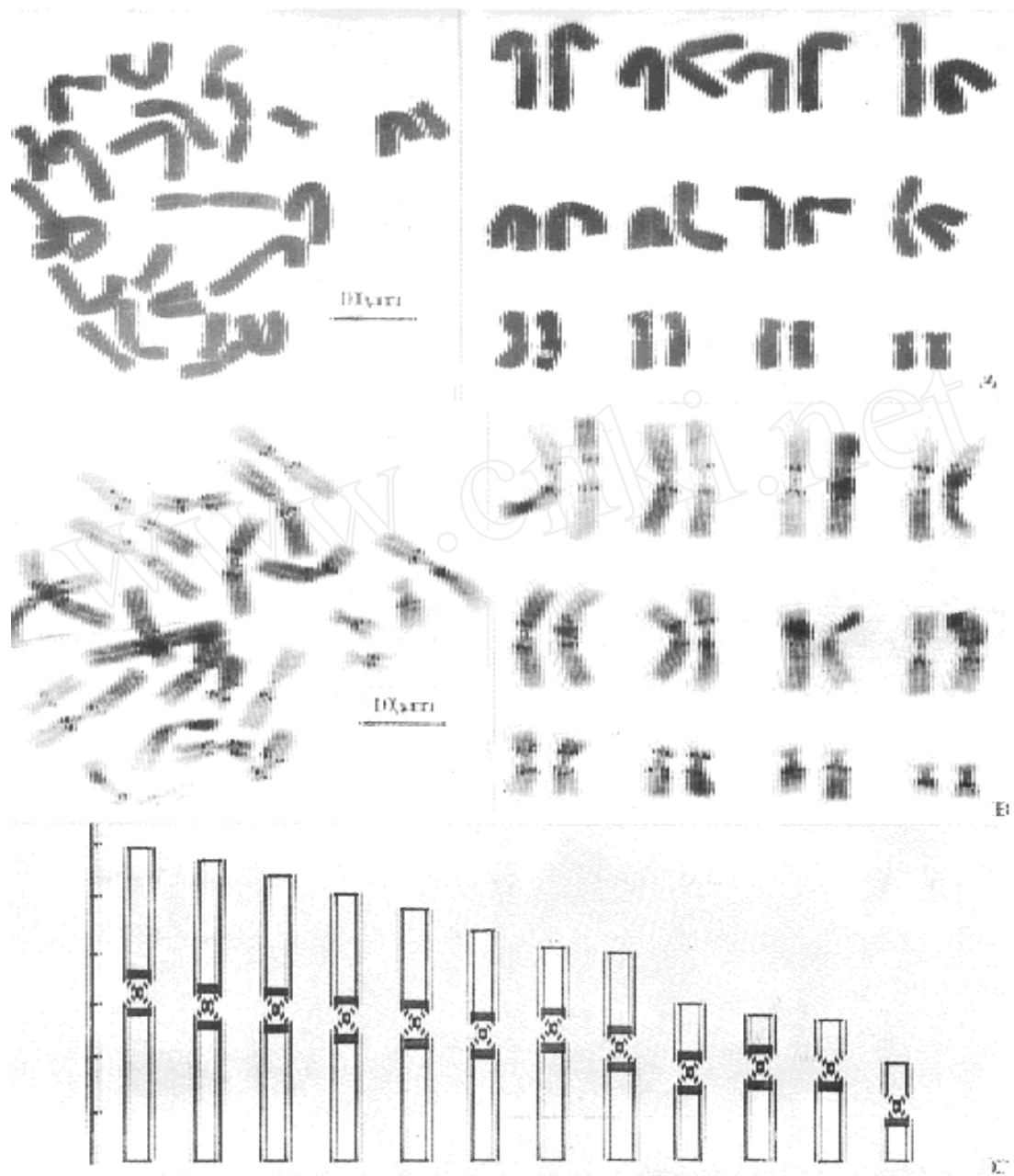


图 1 突变体后代 HMW - GS 图谱

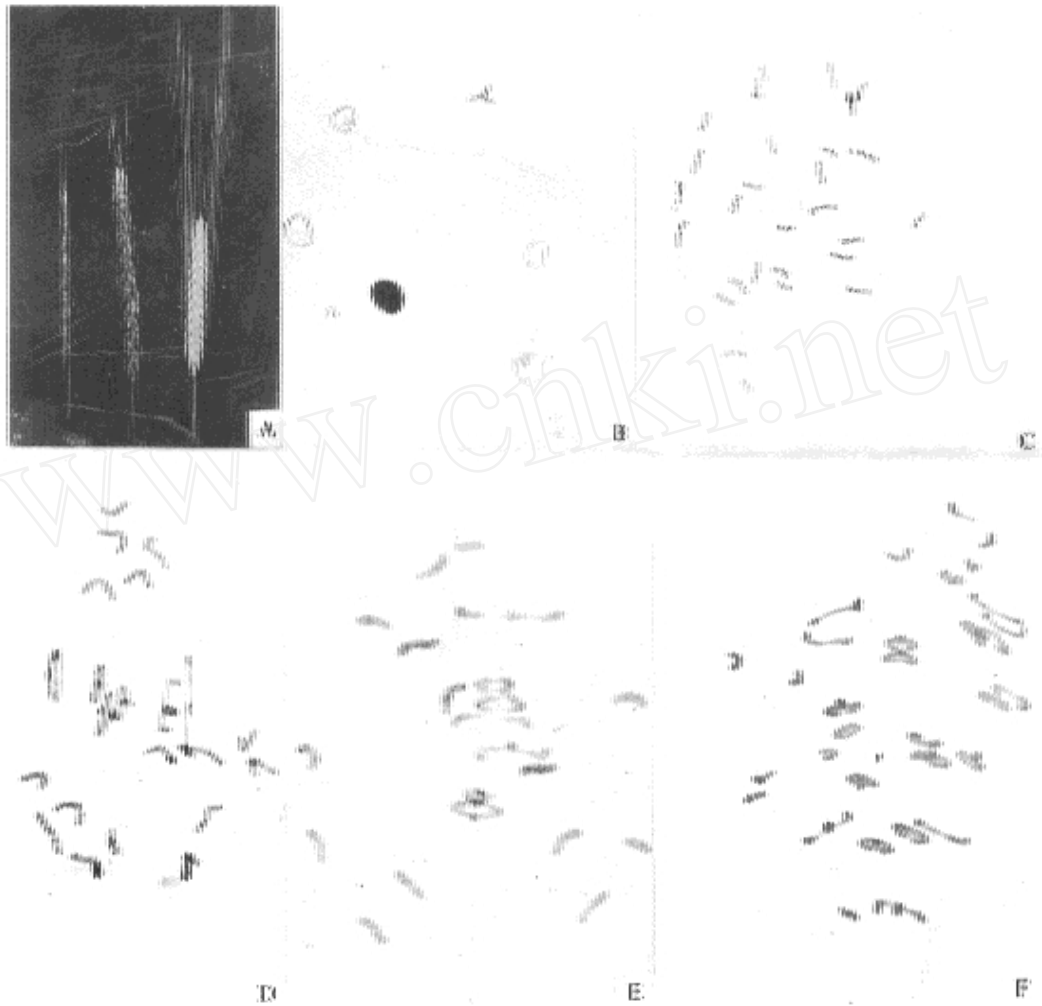
a~b. 93AFD20 - 1; c~e. 93AFD20 - 2; f. 93AFD20 - 3; g. 供体高原 602; h. 93AFD20 - 4; i~o. 93AFD20 - 5。

表 1 突变体后代 HMW - GS 组成

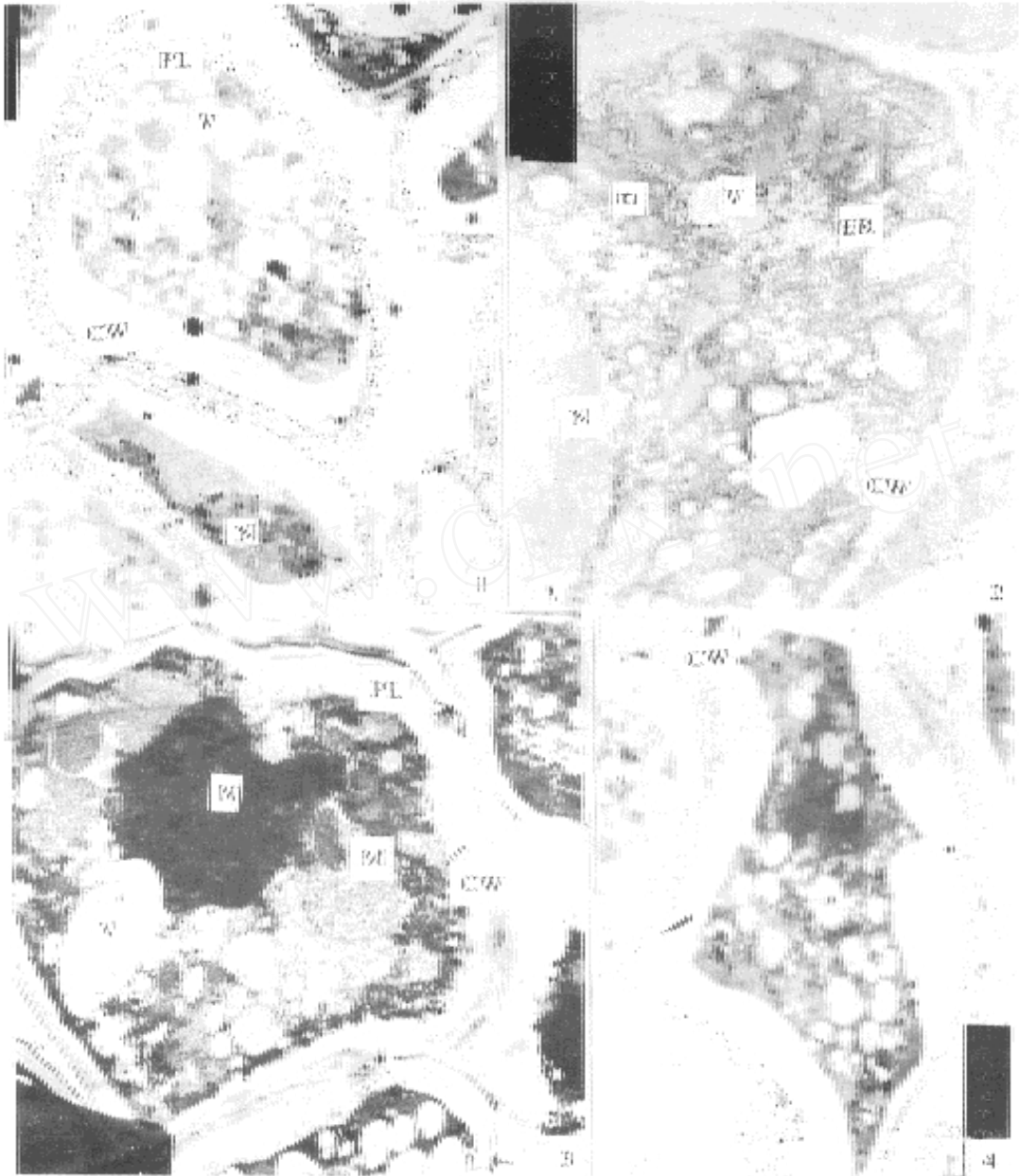
$R_2$ 株号	电泳粒数	染色体 1A	染色体 1B	染色体 1D
93AFD20 - 1	2	N	7	2+12
93AFD20 - 2	3	N	7	2+12
93AFD20 - 3	1	N	7	2+12
93AFD20 - 4	1	N	7	2+12
93AFD20 - 5	7	N	7	2+12



A. 肠上皮细胞 ( ) 有丝分裂中期分裂相及核型; B. 精巢细胞有丝分裂中期 C 带分裂相及 C 带核型;  
C. 尾斑瘰螈的染色体模式图。



A. 杂种胚再生植株及其亲本穗形，左：节节麦 85A - 34，中：85A - 34 × 大麦 H<sub>2</sub>，右大麦 H<sub>2</sub>；B. 1K - I 溶液染色以后的双二倍体植株的花粉粒；C. 愈伤组织细胞染色体数目 (2n=28)；D、E. 双二倍体 (2n=28) 染色体构型；D. 16+6；E. 14+7；F. 再生八倍体 (2n=56) 染色体构型，8+22+1。



1. 云杉成龄针叶叶肉细胞中 ATP 酶活性定位，细胞壁表面及膜上有大量 ATP 酶定位颗粒，在细胞质、核及液泡上亦有酶活性（ $\times 4700$ ）；2. ATP 酶在成龄针叶的对照细胞中基本没有酶活性反应，可见细胞器，如线粒体、内质网、液泡等（ $\times 7000$ ）；3. 幼龄针叶维管组织细胞，磷酸铅沉淀颗粒分布于质膜及胞质中（ $\times 4800$ ）；4. 云杉针叶韧皮组织薄壁细胞。示 ATP 酶定位于质膜细胞壁及液泡等处（ $\times 3700$ ）。CW. 细胞壁；ER. 肉质网；M. 线粒体；N. 细胞核；V. 液泡；PL. 质膜。

HMW - GS 是受 3N 胚乳的基因型控制的。假设在 *Glu-1* 位点, 控制亚基 1 的为等位基因 *a*, 控制 N (缺失) 的为等位基因 *b*, 在 *Glu-1B1* 位点, 控制亚基对 7+8 的为等位基因 *c*, 控制亚基 7 的为等位基因 *d*。供体品种 *Glu-1A1* 和 *Glu-1B1* 控制的 HMW - GS 为: 1、7+8, 3N 胚乳基因型为 *aaacc*, 幼穗外植体为 2N, 基因型为 *aacc*。如果幼穗在离体培养过程中只有 1 条 1A 在 *Glu-1A1* 位点由等位基因 *a* 突变为 *gb*, 1 条 1B 在 *Glu-1B1* 位点由等位基因 *c* 突变为 *gd*, 则  $R_1$  再生株 93AFD20 基因型应为 *gabcd*, 其自交种子的 3N 胚乳和 2N 胚应有多种基因型, 加之不同 HMW - GS 的双亲杂交, 杂种  $F_1$  具有共显性<sup>[1]</sup>, 即同源染色体上的等位基因能同时表达, 那么  $R_1$  自交种子的 HMW - GS 组成应表现出多种类型, 有的与供体相同, 有的则为变异类型, 其后代  $R_2$  植株所结种子也表现出分离现象。而实际上,  $R_1$  植株自交种子的 HMW - GS 组成只有一种类型 (N、7), 且为变异类型<sup>[2]</sup>, 其 3N 胚乳的基因型应为 *gbbddd*, 相应的胚基因型应为 *gbbdd*。 $R_2$  植株自交种子的 HMW - GS 组成与  $R_1$  植株自交种子的相同, 且无分离 (图 1、表 1), 进一步证实了上述结论。不言而喻,  $R_1$  植株的基因型为 *gbbdd*。也就是说, 基因型 *aacc* 的幼穗外植体, 在离体培养过程中两条 1A 同源染色体在 *Glu-1A1* 位点都由等位基因 *a* 突变为 *gb*, 两条 1B 同源染色体在 *Glu-1B1* 位点都由等位基因 *c* 突变为 *gd*。

### 3 讨 论

本研究进一步证实小麦体细胞无性系发生了基因突变。通过研究小麦体细胞无性系的籽粒醇溶蛋白和谷蛋白的变化, 得出了体细胞无性系发生了基因突变的结论<sup>[4,6]</sup>。我们用控制 HMW - GS 的 *Glu-1* 基因为标记, 检测小麦体细胞无性系  $R_1$  植株自交种子的 HMW - GS 组成, 获得了特定基因 (*Glu-1*) 突变的证据<sup>[2]</sup>。本研究对其中一个在 *Glu-1A1* 和 *Glu-1B1* 两个位点发生突变的突变体作了进一步观察与检测, 发现其变异可以稳定遗传。这一结果进一步证实, 由未添加诱变剂的离体培养而来的小麦体细胞无性系的确发生了基因突变。

体细胞无性系变异稳定快, 可能是同源染色体易发生相同等位基因突变所致。所谓相同等位基因突变, 系指同源染色体在某一位点同时由一个等位基因突变为另一相同等位基因。这种突变的结果是, 突变体的基因型仍是纯合的, 后代稳定。前人从形态学观察发现, 体细胞无性系变异具有稳定快的特点<sup>[5]</sup>, 但未获得充分的遗传学证据来解释它。本研究用的 HMW - GS 突变体是由幼穗外植体离体培养而来的<sup>[2]</sup>, 外植体的两条 1A 同源染色体在 *Glu-1A1* 位点都由等位基因 *a* 突变为 *gb*, 两条 1B 同源染色体在 *Glu-1B1* 位点都由等位基因 *c* 突变为 *gd*,  $R_1$  植株是纯合基因型。虽然  $R_1$  植株自交种子的 HMW - GS 组成为变异类型, 但其胚乳和胚基因型仍是纯合的, 其后代表现为稳定遗传, 即通过检测  $R_2$  植株自交种子的 HMW - GS 组成便可得出该变异已达到稳定的结论。可见, 该无性系变异稳定是很快的。再有, 93AFD20 突变体在 *Glu-1A1* 和 *Glu-1B1* 两个位点发生了突变, 这两个位点所在的 1A 和 1B 两对同源染色体发生的都是相同等位基因突变。这似乎意味着体细胞无性系基因突变在同源染色体间多为相同等位基因突变, 这种高频率的相同等位基因突变可能是多数体细胞无性系变异稳定快的遗传根源。

### 参 考 文 献

- 1 刘广田, 许明辉等. 普通小麦胚乳谷蛋白亚基的遗传研究. 中国农业科学, 1988, 21 (1): 56~60
- 2 张怀刚, 陈集贤等. 小麦体细胞无性系 HMW - GS 变异及其变异体的研究. 科学通报, 1995, 40 (21): 1990
- 3 张怀刚, 陈集贤等. 小麦体细胞无性系变异与遗传学研究. 博士论文, 中国科学院遗传研究所, 1996, 32~34
- 4 桑建利, 王玉秀等. 小麦体细胞无性系种子醇溶蛋白和谷蛋白的变异. 植物学报, 1992, 34 (11): 845~849
- 5 滕世云等. 植物体细胞无性系变异与育种 (陈英主编). 南京: 江苏科学技术出版社, 1991, 95~101
- 6 Larkin PJ, et al. Heritable somaclonal variation in wheat. Theor. Appl. Genet., 1984, 67: 443~455
- 7 Lawrence GJ. The high - molecular - weight glutenin composition of Australian wheat cultivars. Aust. J. Agric. Res., 1986, 37: 125~133

1996 - 03 - 27 收稿, 1996 - 07 - 16 修回.