科学通报
第40卷 第21期 CHINESE SCIENCE BULLETIN 1995年11月

# 小麦体细胞无性系HMW-GS变异及其变异体的研究*

张怀刚 陈集贤 赵绪兰
(中国科学院西北高原生物研究所,西宁 810001)
胡 含
(植物细胞与染色体工程国家重点实验室, 北京 100101)

**关键词** 小麦 体细胞无性系变异 HMW-GS变异体

关于小麦体细胞无性系变异前人已做了大量的研究,观察到了形态学[1]、细胞学[1,2]和生化特性变异[3]. 对醇溶蛋白和谷蛋白变异的分析,获得了基因突变的证据[3~5], 但不知突变基因的位点. 本研究的目的在于分析体细胞无性系的高分子量谷蛋白亚基(high-molecular-weight glutenin subunits, HMW-GS)的变化,获取特定基因(Glu-1)突变的证据,并研究HMW-GS变异体农艺性状和产量性状的表现.

## 1 材料与方法

以目前推广的春小麦品种"高原602"和"甘81529"的幼胚和幼穗为外植体,在MS上分别离体培养60, 90 d左右进行分化,再生株栽于温室,开花前套袋自交,成熟后以单株按穗收获,随机取一些再生株,每株取1~2穗,每穗取2~10粒电泳. 电泳用的供体品种的种子也采自温室. SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-Polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)及HMW-GS编号参照Lawrence[6]的介绍. HMW-GS变异株和供体品种各取3穗在大田种成穗行(93AFD20为1行), 每穗行取10株观察农艺性状和产量性状.

## 2 结果与分析

### 2.1 供体品种HMW-GS组成及其稳定性

"高原602"的HMW-GS组成为: 1, 7+8, 2+12; 从其混合样品中随机电泳23粒种子,未发现变异. "甘81529"的HMW-GS组成为: N, 7+8, 2+12;从其混合样品中随机电泳21粒,也未发现变异. 这说明两个供体品种的HMW-GS组成是稳定的.

### 2.2 再生株HMW-GS组成

用于电泳的再生株共47株, 54穗,每穗取2~10粒种子用于电泳. 结果发现4株(4穗)的HMW-GS与供体品种不同,其变异频率为0.0%~20.0%(以株为单位计)或

1995-01-11收稿, 1995-04-28收修改稿
* 植物细胞与染色体工程国家重点实验室资助项目

© 1994-2009 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

0.0%～14.3%(以穗为单位计)(表 1).

4 个变异株中，2 株是“高原 602”幼穗再生株，1 株是“高原 602”幼胚再生株，另 1 株是“甘 81529”幼穗再生株．4 个变异株的 HMW-GS 组成见表 2，变异株 93AFD20, AFD110 和 AED8(1) 在 Glu-Al 位点的亚基由供体品种的亚基 1 变为 N(缺失)；变异株 93AFD20 在 Glu-B1 位点的亚基也由供体品种的亚基对 7+8 变为亚基 7；变异株 EFD21 在 Glu-A1 位点的亚基由供体品种的 N(缺失)变为亚基 1；未观察到 Glu-D1 位点上的亚基变化．所以，突变发生在 Glu-A1 和 Glu-B1 位点(图 1)．

表 1　HMW-GS 变异体频率

| 材料[a] | 电泳株数 | 电泳穗数 | 变异株数 | 变异穗数 | 变异体频率 株/% | 变异体频率 穗/% |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AFD | 10 | 14 | 2 | 2 | 20.0 | 14.3 |
| EFD | 22 | 23 | 1 | 1 | 4.5 | 4.3 |
| AED | 10 | 12 | 1 | 1 | 10.0 | 8.3 |
| EED | 5 | 5 | 0 | 0 | 0.0 | 0.0 |
| 总和 | 47 | 54 | 4 | 4 | | |

a) AFD 为“高原 602”幼穗再生株，EFD 为“甘 81529”幼穗再生株，AED 为“高原 602”幼胚再生株，EED 为“甘 81529”幼胚再生株

表 2　变异株 HMW-GS 组成

| 变异株 | 染色体 1A | 染色体 1B | 染色体 1D |
|---|---|---|---|
| 93AFD20 | N | 7 | 2+12 |
| AFD110 | N | 7+8 | 2+12 |
| AED8(1) | N | 7+8 | 2+12 |
| 高原 602(供体) | 1 | 7+8 | 2+12 |
| EFD21 | 1 | 7+8 | 2+12 |
| 甘 81529(供体) | N | 7+8 | 2+12 |

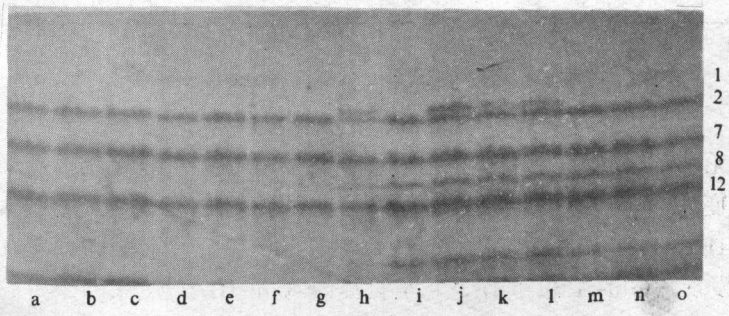


图 1　变异株 HMW-GS 的 SDS-PAGE 图谱

a～g 为变异株 93AFD20, N, 7+8, 2+12; h 为供体“高原 602”，1, 7+8, 2+12; i～o 为变异株 AFD110, N, 7+8, 2+12 或 1, 7+8, 2+12. 1, 2, 7, 8, 12 代表亚基带

## 2.3　变异株 HMW-GS 的分离

93AFD20 电泳 8 粒，均为变异体，其 HMW-GS 组成为：N, 7, 2+12，无分离现象(图 1)：AED8(1) 电泳 6 粒，均为 N, 7+8, 2+12，无分离现象．另外两个变异株表现出分离现象．AFD110 电泳 10 粒，7 粒为变异体，HMW-GS 为：N, 7+8, 2+12，另外 3 粒则与供体“高原 602”相同

表 3　变异株 HMW-GS 分离情况

| 变异株 | 电泳粒数 | 变异粒数 | HMW-GS 1A | HMW-GS 1B | HMW-GS 1D | 分离情况 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 93AFD20 | 8 | 8 | N | 7 | 2+12 | 无 |
| AFD110 | 10 | 7 | N | 7+8 | 2+12 | 有 |
| AED8(1) | 6 | 6 | N | 7+8 | 2+12 | 无 |
| EFD21 | 8 | 7 | 1 | 7+8 | 2+12 | 有 |

© 1994-2009 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

(1, 7+8, 2+12)(图1); EFD21电泳8粒, 7粒为变异体,HMW-GS为1, 7+8, 2+12,另1粒与供体"甘81529"相同(N, 7+8, 2+12)(表3). 变异体后代的HMW-GS稳定性正在鉴定中.

### 2.4 HMW-GS变异体的性状表现

HMW-GS变异株按穗种成穗行(R2),生长发育正常,未观察到诸如芒性等质量性状的变异,在农艺及产量性状上,株系内穗行间也无明显差异,但株系间以及与相应供体品种间有明显差异(表4). 93AFD20, AFD110和AED8(1)3个变异株系的株高显著降低,但产量性状却变差了; EFD21株高明显增高,其它性状都优于或显著优于供体品种. 总的来看,4个HMW-GS变异株后代在农艺和产量性状上发生不同程度的变异,且多向不利的方向变,但也获得了产量性状明显优于供体品种的变异株系(EFD21).

表4 HMW-GS变异株系与供体品种在农艺和产量性状上的表现[a)]

| 株 系 | 株高/cm | 穗长/cm | 有效分蘖 | 主穗粒重/g | 主穗粒数 | 单株粒重/g | 单株粒数 | 千粒重/g |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 93AFD20 | 88.9** | 10.92** | 3.8 | 2.83* | 57.8** | 10.26* | 244.0 | 42.71 |
| 高原602(供体) | 96.1 | 12.05 | 3.9 | 3.48 | 77.7 | 14.34 | 335.6 | 41.95 |
| AFD110 | 91.6** | 10.25** | 5.8** | 2.66* | 67.6** | 14.72 | 381.4 | 37.94* |
| EFD21 | 105.0** | 11.34 | 5.4 | 2.68** | 67.6** | 14.54** | 358.4* | 40.16** |
| 甘81592(供体) | 90.6 | 11.03 | 4.4 | 2.02 | 59.2 | 9.75 | 286.6 | 32.47 |
| AED8(1) | 89.8** | 12.42 | 3.9** | 2.53** | 69.6 | 10.04 | 266.5 | 37.15** |
| 高原602(供体) | 94.8 | 12.16 | 2.5 | 3.28 | 71.8 | 10.39 | 231.2 | 43.75 |

a) 表中*为5%水平上显著, **为1%水平上显著

## 3 讨论

小麦体细胞无性系变异中,籽粒醇溶蛋白变异的存在是无可置疑的[3~5],而且也发现了低分子量谷蛋白的变异[5]. 可以推断,在基因水平上发生了突变,但基因位点尚未得知. 位于第1组染色体(1A, 1B, 1D)上的HMW-GS基因(Glu-1)有3个基因位点(Glu-Al, Glu-B1, Glu-D1). 业已发现, Glu-Al位点有3个等位基因,Glu-B1位点有11个等位基因, Glu-D1位点有6个等位基因. 这种广泛可变性提供了利用HMW-GS作为基因突变标记的可能,而且各等位基因控制的亚基或亚基对都已鉴定清楚,从HMW-GS变化可知发生突变的基因位点及等位基因. 因此,本研究电泳了小麦再生株种子的HMW谷蛋白,获得了HMW-GS变异体,取得了特定基因突变的证据. 本研究发现的突变发生在Glu-A1和Glu-B1上,在Glu-D1位点上未发现突变.

HMW-GS与品质有密切关系. HMW-GS或亚基对对品质的贡献大小目前是通过选用大量具有不同亚基组成的品种统计而得的,品种间其它性状的差异也可能干扰这种关系. 鉴于HMW-GS有较高的变异频率,可用离体培养将一个品种诱导出一系列亚基变异体,这些变异体仅在HMW-GS上有差异,在其它性状上基本保持原品种特性,利用这些无性系探讨各亚基(或亚基对)与品质的关系,将获得更可靠的结果.

体细胞无性系变异被认为是遗传变异的来源途径之一. 浙江农业大学高明尉教授等将体细胞离体培养与人工诱变相结合,使体细胞无性系变异在育种上应用取得了突破性进展,育成了世界上第一个早熟、高产、抗病的小麦新品种"核组8号". 本研究在未添加诱变剂的离体培

© 1994-2009 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

养下，获得了4个HMW-GS变异株，并从中得到1个产量性状明显优于供体品种的株系．这说明离体培养不仅能创造变异，而且能创造出优于供体的变异体．

**致谢**　感谢中国科学院遗传研究所702组王二明及全体同志对第一作者的支持和帮助．

## 参　考　文　献

1 叶新荣，余毓君．小麦再生植株的变异研究，II．再生植株当代(R1代)的细胞学和形态学变异．遗传学报，1989，16(2)：105～110

2 吴鹤鸣，陆维忠，周　楠．小麦体细胞再生株(R1)的染色体变异分析．植物学报，1992，34(3)：226～232

3 Larkin D J, Rvan S A, Brettel R I S *et al*. Heritable somaclonal variation in wheat. Theor Appl Genet, 1984, 67: 443～455

4 Cooper D B, Sears R G, Lookhart G L *et al*. Heritable somaclonal variation of gliadin proteins of wheat plants derived from immature embryo callus culture. Theor Appl Genet, 1986, 71: 784～790

5 桑建利，王玉秀，朱至清．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

6 Lawrence G J. The hgih-molecular-weight glutenin subunit composition of australian wheat cultivars. Aust J Agric Res, 1986, 37: 125～133

© 1994-2009 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net