

小麦花药培养后代和杂交后代中高分子量 麦谷蛋白亚基变异分析

韩晓峰^{1,2}, 叶兴国¹, 刘晓蕾^{1,3}, 魏亦勤⁴, 杜丽璞¹, 王 轲², 余茂云¹, 樊 明⁴, 晏月明²

(¹中国农业科学院作物科学研究所/国家基因资源与基因改良重大科学工程/农业部作物遗传育种重点实验室, 北京 100081;

²首都师范大学生命科学学院, 北京 100048; ³北方民族大学生命科学学院, 银川 750021;

⁴宁夏农林科学院农作物研究所, 永宁 750105)

摘要:通过对 Alondra、Orofen 等 5 个小麦品种进行花药培养, 同时以新春 9 号、京 771、CB037 等 9 个高分子量麦谷蛋白亚基组成不同的小麦品种相互间配制 24 个正、反交组合, 分析小麦加倍单倍体无性系和品种间杂交后代中高分子量麦谷蛋白亚基变异, 探讨利用花药培养和杂交手段改良 HMW-GS 组成的可能性。SDS-PAGE 电泳分析发现, 小麦加倍单倍体无性系中 HMW-GS 发生了频繁变异, Alondra 加倍单倍体中变异率最高 (61.8%), Verry 加倍单倍体次之 (16.7%), 均出现了原始材料中所不具备的亚基类型; HMW-GS 在部分 F₁ 杂种中呈现不完全共显性、亚基表达沉默和正、反交亚基表达不一致现象, 新春 4 号/CB037、京 771/新春 4 号 2 个组合中出现了双亲所不含有的亚基; 通过连续自交和对新出现亚基的跟踪选择, 获得了表达新亚基的高代株系。研究结果对于改良小麦加工品质, 加深了解小麦 HMW-GS 编码基因的遗传特性、结构特性等具有一定理论意义和实践价值。

关键词:小麦; 高分子量麦谷蛋白亚基; 花药培养; 无性系变异; SDS-PAGE

Composition Variation of High Molecular Weight Glutenin Subunits in the Doubling Haploids from Anther Culture and the Crossing Hybrids in Wheat

HAN Xiao-feng^{1,2}, YE Xing-guo¹, LIU Xiao-lei^{1,3}, WEI Yi-qin⁴, DU Li-pu¹,

WANG Ke², SHE Mao-yun¹, FAN Ming⁴, YAN Yue-ming²

(¹Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081; ²College of Life Sciences, Capital Normal

University, Beijing 100048; ³College of Life Sciences and Biology Engineering, North University for Ethnicity, Yinchuan,

Ningxia 750021; ⁴Crop Research Institute, Ningxia Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Yongning 750105)

Abstract: High molecular weight glutenin subunits (HMW-GS) in the doubling haploids from five stable cultivars and in the twenty-four crossing hybrids between nine different varieties in common wheat were analyzed by SDS-PAGE to explore the possibility of improving the subunit compositions by anther culture and commercial crossing. The results showed that frequent variation of HMW-GS happened in the doubled haploids with a rate up to 61.8% in the genotypes tested, and several subunits might be new ones which are not present in the corresponding wild types, but need to be identified further. In most F₁ hybrids, the expression of all HMW-GS appeared to be codominant, but the expression of one or two HMW-GSs was found to be suppressed in a few F₁ crosses. Cytoplasm of female parents was found to have some effect on the expression of very few subunit in a few crosses. At the same time, 2-3 possible new subunits that did not exist in the parents were observed in the two crosses, Ningchun4/CB037 and Jing771/Ningchun4. By continuous self-crossing and tracing of the new subunits, stable lines expressing the putative

收稿日期: 2010-05-14 修回日期: 2010-07-28

基金项目: 国家自然科学基金 (30830072); 宁夏农业厅重点合作项目资助

作者简介: 韩晓峰, 硕士。E-mail: yinzi816@163.com

通讯作者: 晏月明, 博士, 教授。E-mail: yanym@hotmail.com; 叶兴国, 博士, 研究员。E-mail: yexg@mail.caas.net.cn

new subunits were obtained from the two crosses mentioned above. The present study is theoretical and practical valuable for the improvement of wheat quality and the further understanding of the genetic and structural features of HMW-GS encoding genes.

Key words: *Triticum aestivum*; High molecular weight glutenin subunits; Anther culture; Somatic variation; SDS-PAGE

麦谷蛋白 (Glutenin) 是小麦储藏蛋白的主要组成成分, 包括高分子量麦谷蛋白亚基 (high molecular weight glutenin subunits, HMW-GS) 和低分子量麦谷蛋白亚基 (low molecular weight glutenin subunits, LMW-GS) 2 类, 约占子粒蛋白的 35% ~ 45%^[1-3]。高分子量麦谷蛋白亚基由 *Glu-A1*、*Glu-B1*、*Glu-D1* 3 个位点编码, 分别位于 1AL、1BL、1DL 染色体上^[4-7]; 低分子量麦谷蛋白亚基由 *Glu-A3*、*Glu-B3*、*Glu-D3* 3 个位点编码, 分别位于 1AS、1BS、1DS 染色体上^[6-8]。高分子量麦谷蛋白亚基等位基因变异主要影响面筋强度, 后者关系到面包和面条的加工品质及商业价值^[9-13]。研究表明, HMW-GS 由复等位基因控制, 每个染色体上的 2 个基因紧密连锁, 如同一个孟德尔遗传单位^[4, 13]。常规杂交能使 HMW-GS 编码基因聚合在同一基因组中, HMW-GS 基因在 F_1 代表达存在剂量效应, 即双亲的全部亚基呈共显性遗传, 在 F_2 代的遗传符合孟德尔独立分配及自由组合规律, 并带有母性遗传现象^[15-16]。并且, *Glu-1* 位点的复等位基因在 F_1 代子粒中两两共同存在时, 无正反交区别, 也无显隐性可言^[17]。

组织培养过程中由于培养基中化学成分的作用, 可诱发培养物中激活子、解离子的活性, 从而产生基因变异, 以及染色体结构变异^[18]。胡含等^[19]发现小麦花粉植株在形态上及染色体数目上存在变异, 初步解释了小麦花粉无性系变异具有普遍性的原因。本课题组 20 世纪 90 年代利用花药培养技术对几个定型品种进行了无性系诱导, 发现了加倍单倍体在株高、穗长、粒重等农艺性状上存在变异^[20]。

目前, 还没有在小麦杂交后代中发现超越双亲 HMW-GS 亚基组成及正、反杂交组合中 HMW-GS 亚基组成不同的现象, 也没有关于花药培养后代中 HMW-GS 亚基组成发生变异的报道。为此, 本研究对 Alondra、Orofen、Verry 等小麦品种进行花药培养, 培育出足够数量的加倍单倍体, 采用 SDS-PAGE 对加倍单倍体进行电泳分析; 利用新春 9 号、京 771、CB037、中国春、宁春 4 号、Bobwhite、扬麦 12 号、京冬 8 号等 HMW-GS 亚基组成不同的小麦品种相互

间配制正交和反交组合, 利用 SDS-PAGE 对杂交当代子粒及后代子粒 HMW-GS 亚基组成进行电泳分析; 发现 HMW-GS 亚基组成在加倍单倍体后代和自交后代中均存在变异, 而且在一些正、反杂交组合中存在差异, 这对于小麦品质性状的基础理论研究和育种实践具有一定意义。

1 材料与方法

1.1 小麦材料

小麦材料 Verry、Alondra、Orofen 和百农 3217 (BN3217) 由国家农作物种质资源保存中心提供, 京 771 (J771)、中国春 (CS)、中优 9507 (ZY9507)、新春 9 号 (XC9)、CB037、宁春 4 号 (NC4)、Bobwhite、扬麦 12 (YM12)、WM151A、石 4185 (S4185) 和京冬 8 号 (JD8) 由本课题组收集保存。其中, Verry、Alondra、Orofen、新春 9 号和百农 3217 用于花药培养, 获得加倍单倍体群体; 京 771、CS、新春 9 号、CB037、宁春 4 号、Bobwhite、扬麦 12、京冬 8 号和石 4185 用于配制杂交组合, 相互间共制了 24 个正、反交组合; 京 771、CS 和中优 9507 作为高分子量麦谷蛋白亚基分析的标准对照品种。

1.2 花药培养

孕穗期取小孢子发育处于单核靠边期的小麦幼穗, 置于 4℃ 冰箱中处理 3d^[21], 接种前用 75% 乙醇表面擦拭消毒, 无菌条件下取出花药接种在 W14 附加 2.0mg/L 2,4-D、10% 蔗糖和 8g/L 琼脂 (pH6.0) 固体培养基上, 28℃、黑暗条件下培养 30 ~ 40d 诱导愈伤组织。将直径 1mm 左右的愈伤组织转移到 1/2MS 附加 1.0mg/LKT、0.5mg/L NAA、2% 蔗糖、8g/L 琼脂培养基 (pH6.0) 上, 25℃、63 μ mol/m²·s 光照条件下培养 20 ~ 30d 分化植株。将再生芽进一步转移到 1/2 MS 附加 0.5mg/L IAA、1.0mg/L 多效唑、2% 蔗糖、8g/L 琼脂培养基 (pH6.0) 上壮苗和生根。移栽前用清水将根系上的培养基清洗干净, 将根系健壮的绿苗移入温室^[20]。

1.3 麦谷蛋白提取

单粒风干种子在 -80℃ 液态氮中充分研碎, 加入 1ml 70% 乙醇, 涡旋振荡 30min, 12000rpm 离心

10min, 弃上清液后干燥; 加入 1ml 55% 异丙醇, 混匀并涡旋, 65℃ 水浴 30min, 12000rpm 离心 10min, 充分干燥; 加入 120 μ l 溶液 B (50% 异丙醇 + 0.2M Tris-HCl pH8.0, 新鲜加入二硫苏糖醇 DTT 达 1%), 混匀涡旋, 放入 65℃ 水浴 30min; 加入 100 μ l 溶液 B (50% 异丙醇 + 0.2M Tris-HCl, pH8.0, 加入 4-乙烯吡啶达 1.4%, 涡旋混匀; 65℃ 水浴 30min, 12000rpm 离心 10min; 上清液转入新离心管, 12000rpm 离心 10min, 吸取 100 μ l 上清液转入新离心管, 加入等体积的 Glu-buffer (20% SDS, 0.02% 溴酚兰, 0.08M Tris-HCl pH8.0, 40% 甘油), 65℃ 水浴 30min, 12000rpm 离心 10min^[22]。

1.4 SDS-PAGE

先配制 12% 的分离胶, 凝聚 1h 后灌入 10% 的浓缩胶, 插入梳子后再凝聚 1h 以上用做电泳。上样量为 6~10 μ l/孔, 稳流 15mA/gel 20min 后, 稳流 20mA/gel, 电泳 2.5~4h 后将胶放入 SDS 染色液 (0.1% 考马斯亮蓝 R-250, 45% 乙醇, 10% 冰乙酸) 中, 过夜染色。倒掉染色液, 加入 SDS 脱色液 (10% 乙醇, 10% 冰乙酸), 在摇床上脱色 2~3 次, 在胶片观察灯上看到清晰的蛋白条带时用凝胶扫描仪 (清华紫光 e100) 扫描保存^[23]。

1.5 主要农艺性状调查

加倍单倍体和对照品种于 2009 年 2 月种植在宁夏农林科学院农作物研究所试验基地, 生育期间调查出苗期、抽穗期和成熟期, 收获前每个材料随即取 10 株调查株高、穗粒数, 脱粒后测定千粒重、粒色等主要农艺性状。

2 结果与分析

2.1 加倍单倍体植株获得

以 5 个小麦基因型 Verry、Alondra、Orofen、新春 9 号、百农 3217 为材料进行花药培养, 其中, 接种 Verry 花药 3882 枚, 诱导愈合伤组织 1054 块, 获得可育株 42 株, 出愈率为 27.2%, 加倍率 28.4%; 接种 Alondra 花药 924 枚, 诱导愈合伤组织 317 块, 获得可育株 40 株, 出愈率 34.3%, 加倍率为 35.1%; 接种 Orofen 花药 1860 枚, 诱导愈合伤组织 234 块, 获得可育株 29 株, 出愈率为 12.6%, 加倍率为 29.6%; 接种新春 9 号花药数 2540 枚, 诱导愈合伤组织 435 块, 获得可育株 21 株, 出愈率 17.1%, 加倍率 29.6%; 接种百农 3217 花药数 11081 枚, 诱导愈合伤组织 43 块, 获得可育株 2 株, 出愈率 0.4%, 加倍率 40.0% (表 1)。

表 1 不同小麦基因型花药培养获得加倍单倍体情况

Table 1 Callus induction and plantlet induction directly from wheat anthers in different media

基因型 Genotypes	花药 Anthers inoculated	愈伤组 织数(块) Callus No.	愈伤组 织诱导 率(%) Percentage of calli	不育 株(株) Sterile plants	可育 株(株) Fertile plants	加倍率 (%) Doubling frequency
Verry	3882	1054	27.2	106	42	28.4
Alondra	924	317	34.3	74	40	35.1
Orofen	1860	234	12.6	69	29	29.6
新春 9 号	2540	435	17.1	50	21	29.6
百农 3217	11081	43	0.4	3	2	40.0

2.2 加倍单倍体高分子量麦谷蛋白亚基变异分析

对 Alondra 花药培养获得的 40 个株系进行 SDS-PAGE 分析结果表明, 在其中的 21 个株系中高分子量麦谷蛋白亚基组成出现了变异 (图 1), 变异率为 52.5%。进一步以对照品种中优 9507 (HMW 亚基组成为: 1, 7 + 9, 5 + 10)、京 771 (HMW 亚基组成为: 1, 17 + 18, 5 + 10) 和中国春 (HMW 亚基组成为: Null, 7 + 8, 2 + 12) 为参照, 分析 Alondra 加倍单倍体高分子量麦谷蛋白亚基组成, 发现其变异主要分为 2 类, 第 1 类与中优 9507 类似, 亚基组成可能为 (1, 7 + 9, 5 + 10); 第 2 类与中国春类似, 亚基组成可能为 (Null, 7 + 8, 2 + 12)。这 2 类变异中也可能有新亚基, 需要进一步鉴定。

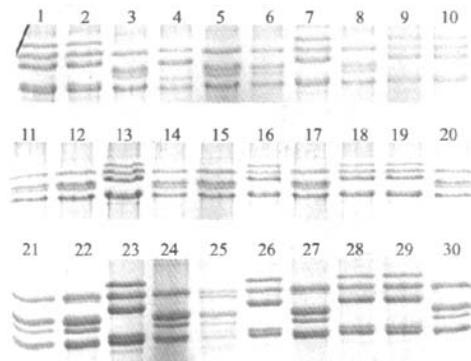


图 1 Alondra 加倍单倍体高分子量麦谷蛋白亚基组成分析

Fig. 1 HMW-GS composition analysis of the doubling haploids derived from Alondra

1-4, 6-10, 11, 13-20, 21-24, 26-30:

Alondra 加倍单倍体; 5, 12, 25: Alondra

对 Verry 花药培养获得的 42 个株系的 SDS-PAGE 分析结果表明,在其中的 7 个株系中高分子量麦谷蛋白亚基组成出现了变异(图 2),变异率为 16.7%。以标准品种中优 9507(1,7+9,5+10)、京 771(1,17+18,5+10)和中国春(Null,7+8,2+12)为参照辨别高分子量麦谷蛋白亚基组成。结果表

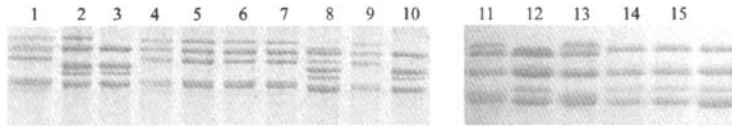


图 2 Verry 加倍单倍体高分子量麦谷蛋白亚基组成分析

Fig. 2 HMW-GS composition analysis of the doubling haploids derived from Verry

1,11:中优 9507;2:京 771;3,12:Verry;4-10,13-15:Verry 加倍单倍体;16:中国春

对百农 3217 花药培养获得的 2 个株系的 SDS-PAGE 分析结果表明,在这 2 个株系中高分子量麦谷蛋白亚基组成比百农 3217 多了一条带(图 3),与 1 号亚基类似,推测其亚基组成为(1,7+8,2+12),可能有新亚基出现。由于获得的加倍单倍体较少,变异情况有待进一步研究。

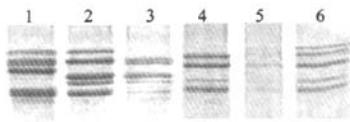


图 3 百农 3217 加倍单倍体高分子量麦谷蛋白亚基变异分析

Fig. 3 HMW-GS composition analysis of the doubling haploids derived from Beining 3217

1:中优 9507;2:京 771;3:Alondra;
4:百农 3217;5-6:百农 3217 加倍单倍体

同样,对新春 9 号 21 个加倍单倍体株系和 Orofen 29 个加倍单倍体株系子粒中的麦谷蛋白进行 SDS-PAGE 分析。结果表明,这 50 个加倍单倍体分别与对照品种新春 9 号和 Orofen 相比,高分子量麦谷蛋白亚基组成没有发生变异。

2.3 典型 HMW-GS 组成变异加倍单倍体主要农艺性状

加倍单倍体主要农艺性状调查结果显示, HMW-GS 组成发生变异的加倍单倍体在株高、生育期、子粒颜色等主要性状上与对照品种一致(表 2),穗粒数比相应对照略有减少,千粒重比相应对照略有提高。表明典型 HMW-GS 变异加倍单倍体的主要植物学性状与对照基本一致,在有关品质性状的 HMW 组成上发生了变异。

明,Verry 花培无性系高分子量麦谷蛋白亚基组成发生了稳定性变异,主要分为 2 类,第 1 类与中优 9507 类似,第 2 类属于一种新类型,亚基组成可能为(Null,7+18,5+10)。也可能出现了新亚基,有待进一步分析。

表 2 部分 HMW-GS 组成变异加倍单倍体农艺性状

Table 2 Main agronomic characteristics of some haploids with variation in HMW-GS composition

材料编号 Material name or ID	株高 (cm) Plant height	生育 期(d) Growth period	穗粒数 Grains per spike	穗粒 重(g) Grain weight per spike	千粒 重(g) 1000 grains weight	子粒 颜色 Grain color
Verry(CK)	94	101	43.7	2.4	40.1	红
1043-Ve-3	95	101	39.5	2.3	48.6	红
1048-Ve-8	93	101	43.5	2.0	39.6	红
1055-Ve-35	90	101	42.8	2.6	41.0	红
Alondra(CK)	98	101	42.1	2.7	43.2	红
1098-Al-7	97	101	39.4	2.6	47.6	红
1110-Al-31	98	101	36.0	2.7	48.2	红
1122-Al-38	98	101	36.3	2.7	46.3	红

2.4 不同杂交组合中高分子量麦谷蛋白亚基表达和变异

分别用京 771、CS、新春 9 号、CB037、宁春 4 号、Bobwhite、扬麦 12、京冬 8 号和 WM151A 等品种配制正、反杂交组合,对 F_1 杂种子粒中的高分子量麦谷蛋白进行 SDS-PAGE 分析(图 4)。结果表明,新春 9 号/Bobwhite 组合和 Bobwhite/新春 9 号组合中含有双亲所有亚基(1+2*,7+9,5+10),表现为共显性表达,正、反杂交组合中亚基相同。宁春 4 号/京冬 8 号组合中含有双亲的所有 9 个亚基(1,7+9+17+18,2+12+5+10),表现为共表达。宁春 4 号/WM151A 组合中含有双亲宁春 4 号和 WM151A 中

全部 7 个亚基(1,7+9,17+18,5+10),所有亚基表现为共表达。宁春 4 号/新春 9 号组合中含有双亲的 7 个亚基(1,7+9+17+18,5+10),表现为共表达。京 771/CS 组合中含有双亲的 8 个亚基(1,7+8+17+18,2+5+10),CS 最小亚基(12)被抑制,其他亚基表现为共表达。京 771/新春 9 号组合和新春 9 号/京 771 组合中只含有京 771 的 5 个亚基(1,17+18,5+10),新春 9 号中的 2 个亚基(7+

9)被抑制,正、反杂交组合中亚基表现相同。CS/宁春 4 号组合和宁春 4 号/CS 组合含有双亲的 8 个亚基(1,7+8+17+18,2+12+5+10),CS 最小亚基(12)被抑制,其他亚基表现为共表达,正、反杂交组合中亚基表达相同。CS/新春 9 号组合和新春 9 号/CS 组合中含有双亲的 7 个亚基(1,7+8+19,2+5+10),CS 最小亚基(12)被抑制,其他亚基表现为共表达,正、反杂交组合中亚基表达相同。

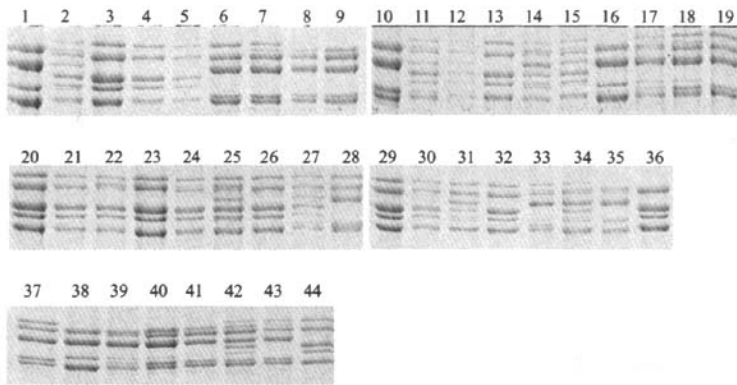


图 4 部分 F₁ 杂种及亲本高分子量麦谷蛋白亚基 SDS-PAGE 分析

Fig. 4 HMW-GS composition analysis of some F₁ crossing hybrids and their parents

1,16,38:CS; 2:J771/CS; 3,20,29:J771;4:J771/XC9; 5:XC9/J771;6,19:XC9;7:XC9/Bobwhite;8:Bobwhite/XC9; 9,41:Bobwhite; 10:JD8; 11:NC4/JD8; 12:NC4/XC9; 13,26,32,44:NC4; 14:CS/NC4; 15:NC4/CS; 17:CS/XC9; 18:XC9/CS;21:J771/CB037;22:CB037/J771; 23:CB037; 24:NC4/CB037; 25:CB037/NC4; 27:NC/WM151A; 28:WM151A;30:J771/NC4;31:NC4/J771; 33:NC4/YM12; 34:YM12/NC4; 35:YM12; 36:Verry; 37:S4185; 39:CS/Bobwhite; 40:Bobwhite/CS; 42:Bobwhite/NC4; 43:NC4/Bobwhite

CS/Bobwhite 正交组合中表达了双亲的 6 个亚基(7+8,2+12+5+10),亚基 2^{*} 被抑制,Bobwhite/CS 反交组合中表达了双亲的 6 个亚基(2^{*},7+8,12+5+10),2 亚基被抑制。Bobwhite/宁春 4 号正交组合中表达了双亲的 7 个亚基(1+2^{*},7+17+18,5+10),而宁春 4 号/Bobwhite 反交组合中表达了双亲的 5 个亚基(1+2^{*},7,5+10),来源于宁春 4 号的亚基(17+18)被抑制。京 771/CB037 正交组合中含有双亲的 5 个亚基(1,17+18,5+10),来源于 CB037 的(2+12)亚基被抑制,其他亚基表现为共表达,CB037/京 771 反交组合中含有双亲的 6 个亚基(1,17+18,2+5+10),来源于 CB037 的 2 亚基被抑制,其他亚基表现为共表达,说明京 771 细胞质对 12 亚基的表达有影响。

宁春 4 号/CB037 正交组合中含有双亲的 6 个亚基(1,17+18,2+5+10),来源于 CB037 的 12 亚基被抑制,CB037/宁春 4 号反交组合中含有双亲的 6 个亚基(1,17+18,2+5+10),来源于 CB037 的

12 亚基同样被抑制,但出现了 1 个与 7 亚基大小相似的新带,其他亚基表现为共表达。京 771 和宁春 4 号高分子量麦谷蛋白亚基组成完全相同,京 771/宁春 4 号正交组合中表达了双亲的 5 个亚基(1,17+18,5+10),而宁春 4 号/京 771 反交组合中除了表达双亲的 5 个亚基(1,17+18,5+10)外,出现了 2 个新带,一条带的大小与 7 亚基类似,另一条带的大小与 8 亚基类似。宁春 4 号/扬麦 12 正交组合中表达了双亲的 7 个亚基(1,8+18,2+12+5+10),亚基(7+17)被抑制,扬麦 12/宁春 4 号反交组合中表达了双亲的 8 个亚基(1,7+8+17+18,2+5+12),10 亚基被抑制。

2.5 典型杂交组合后代中 HMW-GS 新亚基跟踪选择和纯合

利用 SDS-PAGE 从宁春 4 号/CB037 组合、京 771/宁春 4 号组合的 F₂ 子粒中选择含有 HMW-GS 新亚基的单株进行自交,F₃ 代继续选择含有新亚基的单株自交,发现目标选择亚基在 F₄ 子粒中已基本

纯合(图5)。宁春4号/CB037组合的纯合株系中含有与7亚基大小相似的新带,京771/宁春4号组合的纯合株系中含有与7亚基大小相似新带的同时,17亚基被抑制。

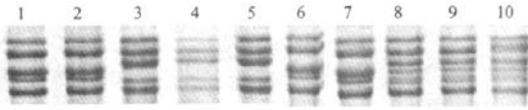


图5 宁春4号/CB037组合、京771/宁春4号组合的纯合株系HMW-GS组成鉴定

Fig. 5 Identification of HMW-GS constitution in the stable lines from the crosses of Ningchun4/CB037 and Jing771/Ningchun4

1:CB037;2:宁春4号;3-5:宁春4号/CB037组合 F_1 代纯合株系;6:宁春4号;7:京771;8-10:京771/宁春4号组合 F_1 代纯合株系

3 讨论

3.1 组织培养与性状变异

研究表明,在组织培养过程中多倍体物种比低倍性物种具有更高的变异性^[24]。黑麦草的组织培养过程中已发现许多表型及染色体结构变化^[25]。而引起组织培养过程中这些变化的主要原因有点突变、染色体重排及重组、DNA甲基化、基因拷贝数的变化及转座子元件的插入等^[24]。Phillips等^[26]认为由于组织培养过程能够打破正常的细胞分裂,从而导致染色体断裂进而引起一系列染色体结构异常,如缺失、重复、倒位及易位^[27]。此外,组织培养过程能够活化一些转座子,如水稻转座子*Tos17*,随着组织培养时间的延长,转座子的拷贝数也增加至5~30个,进而诱发染色体结构变异^[28]。Banks等^[29]利用中间偃麦草与小麦杂交,并结合组织培养将中间偃麦草抗黄矮病基因转入小麦,在1200个后代群体中发现8株稳定抗病。

离体花药由于染色体和基因组的单倍行,培养过程中可能更容易发生染色体断裂和重融,导致DNA序列的重组或丢失^[30]。本研究在Alondra、Orofen、Verry、新春9号和百农3217的134个花药培养加倍单倍体群体中,30个加倍单倍体的高分子量麦谷蛋白亚基组成发生了变异,变异率为22.4%。Alondra和百农3217加倍单倍体高分子量麦谷蛋白亚基发生了频繁变异,Alondra加倍单倍体中HMW-GS变异率达61.8%,Verry加倍单倍体次之,Orofen和新春9号加倍单倍体中没有发现变异。

小麦花药无性系中高分子量麦谷蛋白亚基发生变异可能起因于有丝分裂异常,产生了染色体结构变异或HMW-GS编码基因DNA序列的丢失。认为花药培养非常容易诱发HMW-GS组成变异,可以用来改良优良小麦品质。

3.2 HMW亚基组成和表达在杂交组合中的变异

以前的研究认为,HMW-GS在 F_1 杂种中呈共显性表达,细胞质对HMW-GS表达几乎不影响^[14-16]。本研究结果表明,HMW-GS的确在大多数 F_1 杂种中共表达。但在宁春4号/扬麦12正交 F_1 中表达了双亲中的7个亚基,(7+17)亚基没有表达,在扬麦12/宁春4号反交 F_1 中表达了双亲中的8个亚基,10亚基被抑制;在京771/CB037正交 F_1 中表达了双亲中的5个亚基,来源于CB037的(2+12)亚基被抑制,在CB037/京771反交 F_1 中表达了双亲CB037和京771中的6个亚基,来源于CB037的2亚基被抑制,表明高分子量麦谷蛋白亚基并非在所有 F_1 组合中呈共显性,细胞质可能对HMW-GS表达有影响。在CB037/宁春4号和宁春4号/京771组合中分别出现了1个双亲所没有的新亚基。这种杂交后代中HMW-GS表达被抑制和出现新亚基现象,可能是减数分裂过程中现了HMW-GS编码基因部分DNA序列的丢失和基因内部重组,也可能是基因结构的变异。

HMW-GS编码基因是一个多基因家族,存在较多等位基因和复等位基因,相互间序列保守,含有较多DNA重复序列,在结构上非常容易发生变异,如黑麦基因组异染色质区域的重复序列增强黑麦组织培养过程中染色体的不稳定性^[31]。此外,在编码区氨基酸的突变和缺失会导致新的HMW-GS存在^[32]。Zhang等^[33]报道在利用从小麦中克隆的HMW-GS基因构建表达载体的过程中,HMW-GS基因也会发生序列丢失现象。Yan等^[34]借助普通SDS-PAGE、A-PAGE及CE相结合技术对198个粗山羊草(*Aegilops tauschii*)品种HMW-GS研究表明许多等位变异的存在,其中包括一些新的x-及y-型亚基以及许多新的亚基组合。而这些新出现的高分子量亚基被认为可能是由普通六倍体小麦内几种HMW-GS编码基因之间稀有的不均等交换产生^[35]。本研究发现,在小麦品种间杂交后代中HMW-GS的遗传和表达并不一定呈完全共显性,在一些组合中个别亚基的表达被抑制,甚至出现双亲所没有的新亚基。HMW-GS表达在一些正、反交组合中结果不完全一致,也存在细胞质效应。品种间杂交后代中

应加强对 HMW-GS 组成的鉴定和选择,定向培育优质小麦新品种。

小麦花药培养和杂交重组诱发了 HMW-GS 组成变异,其原因有待探讨,新亚基有待进一步鉴定。花药培养和品种间杂交诱发 HMW-GS 组成变异现象可以用来获得新亚基编码基因,在改良小麦 HMW-GS 亚基组成方面具有一定潜力。

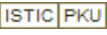
参考文献

- [1] Kolster P, Krecching C F, van Gelder W M. Quantification of individual high molecular weight subunits of wheat glutenin SDS-PAGE and scanning densitometry [J]. *Journal of Cereal Sciences*, 1991, 15:49-61
- [2] Shewry P R, Haldord N J, Tatham A S. High molecular weight subunits of wheat glutenin [J]. *Journal of Cereal Sciences*, 1992, 15:105-120
- [3] 李保云,王岳光,刘凤鸣,等.小麦高分子量谷蛋白亚基与小麦品质性状关系的研究[J].*作物学报*,2000,26:322-326
- [4] Payne P I, Law C N, Mudd E E. Control by homoeologous group 1 chromosomes of the high molecular weight subunits of glutenin, a major protein of wheat endosperm [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1980, 58:113-120
- [5] Payne P I, Lawrence G J. Catalogue of alleles for the complex gene loci, Glu-A1, Glu-B1 and Glu-D1 which code for high molecular weight subunits of glutenin in hexaploid wheat [J]. *Cereal Research Communications*, 1983, 11:29-35
- [6] Payne P I. Genetics of wheat storage protein and the effect of allelic variation on breadmaking quality [J]. *Plant Physiology*, 1987, 38:141-153
- [7] Nagamine T, Kai Y, Takayama T, et al. Allelic variations of glutenin subunit loci *Glu-1* and *Glu-3* in southern Japanese wheat and their effects on dough and gluten properties [J]. *Journal of Cereal Sciences*, 2000, 32:129-135
- [8] Gupta R B, Shepherd K W. Two-step one-dimensional SDS-PAGE analysis of LMW subunits of glutenin 1. Variation and genetic control of the subunits in hexaploid wheat [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1990, 80:65-74
- [9] Shewry P R, Haldord N J, Tatham A S. High molecular weight subunits of wheat glutenin [J]. *Journal of Cereal Sciences*, 1992, 15:105-120
- [10] Kolster P, Vereiken J M. Evaluating HMW glutenin subunits to improve breadmaking quality of wheat [J]. *Cereal Food World*, 1993, 38:76-82
- [11] Huang D Y, Khan K. Quantitative determination of high molecular weight glutenin subunit of hard red spring wheat by SDS-PAGE, quantitative effects of total amounts on breadmaking quality characteristics [J]. *Cereal Chem*, 1997, 76:781-785
- [12] Herbert W, Gerhard Z. Importance of amounts and proportions of high molecular weight subunits of glutenin for wheat quality [J]. *European Food Research Technology*, 2000, 210:324-330
- [13] 朱金宝,刘广田,张树樵,等.小麦子粒高、低分子量谷蛋白亚基及其与品质关系的研究[J].*中国农业科学*,1996,29:34-39
- [14] Bouilouf T, Bouriquet R. Inheritance of glutenin subunits in F_1 seed of reciprocal crosses between European hexaploid wheat cultivars [J]. *Theor Appl Genet*, 1983, 64:103-107
- [15] 刘广田,许明辉.普通小麦胚乳谷蛋白亚基的遗传研究:高分子量谷蛋白亚基变异的多样性及其在 F_1 的遗传行为 [J]. *中国农业科学*, 1988, 21:56-60
- [16] 孙辉,刘广田,李保云,等.小麦高分子量谷蛋白亚基的遗传规律研究 [J]. *中国农业大学学报*, 2000, 5:58-62
- [17] 刘广田,李保云.小麦品质性状的遗传及其遗传改良 [J]. *农业生物技术学报*, 2008, 8:307-314
- [18] Karp A, Maddock S E. Chromosome variation in wheat plants regenerated from cultured immature embryos [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1984, 67:249-255
- [19] 胡含,鄒子英,贾双娥.小麦花粉愈伤组织植株体细胞的染色体的变异 [J]. *遗传学报*, 1978, 5:23-30
- [20] 叶兴阔,徐惠君,赵乐莲,等.组织培养途径改良小麦定型品种的研究 [J]. *作物学报*, 1998, 3:310-314
- [21] 裴翠娟,胡含,刘成华.影响小麦花培诱导因素的研究 [J]. *作物学报*, 1988, 14:36-38
- [22] 段淑娥,赵文明.小麦谷蛋白亚基的快速提取分离及 SDS-PAGE 分析 [J]. *陕西师范大学学报(自然科学版)*, 2004, 32:77-79
- [23] Yan Y, Hsam S L, Yu J, et al. HMW and LMW glutenin alleles among putative tetraploid and hexaploid *T. spelta* progenitors [J]. *Theor Appl Genet*, 2003, 107:1321-1330
- [24] Creissen S S, Karp A. Karyotypic changes in potato plants regenerated from protoplasts [J]. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 1985, 4:171-182
- [25] Ahloowalia B S. Spectrum of variation in somaclones of triploid ryegrass [J]. *Crop Sci*, 1983, 23:1141-1147
- [26] Phillips R L, Kaeppler S M, Olthof P. Genetic instability of plant tissue cultures: breakdown of normal controls [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 91:5222-5226
- [27] Duncan R R. Tissue culture-induced variation and crop improvement [J]. *Adv Agron*, 1997, 58:201-240
- [28] Hirochika H, Sugimoto K, Otsuki Y, et al. Retrotransposons of rice involved in mutations induced by tissue culture [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93:7783-7788
- [29] Banks P M, Larkin P J, Bariana H S, et al. The use of cell culture for sub-chromosomal introgressions of barley yellow dwarf virus resistance from *Thinopyrum intermedium* to wheat [J]. *Genome*, 1995, 38:395-405
- [30] 胡含,张相歧,张文俊,等.小麦花粉无性系变异与配子类型的表达和重组 [J]. *自然科学进展*, 2000, 1:8-15
- [31] Gupta P K. Chromosomal basis of somaclonal variation in plants. In: Jain S M, Brar D S, Ahloowalia B S (Eds.). *Somaclonal variation and induced mutations in crop improvement*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 1998:149-168
- [32] Gianibelli M C, Gupta R B, Lafiandra D, et al. Polymorphism of high Mr glutenin subunits in *Triticum tauschii*: characterization by chromatography and electrophoresis methods [J]. *J. Cereal Sci*, 2001, 33:39-52
- [33] Zhang Y Z, Li X H, Wang A L, et al. Novel x-type high-molecular-weight glutenin genes from *Aegilops tauschii* and their implications on the wheat origin and evolution mechanism of Glu-D1-1 proteins [J]. *Genetics*, 2008, 178:23-33
- [34] Yan Y M, Hsam S L K, Yu J Z, et al. Allelic variation of the HMW glutenin subunits in *Aegilops tauschii* accessions detected by sodium dodecyl sulphate (SDS-PAGE), acid polyacrylamide gel (A-PAGE) and capillary electrophoresis [J]. *Euphytica*, 2003, 130:377-385
- [35] Payne P I, Holt L M, Lawrence G J. Detection of a novel high-molecular-weight subunit of glutenin in some Japanese hexaploid wheats [J]. *J. Cereal Sci*, 1983, 1:3-8

分析

作者: 韩晓峰, 叶兴国, 刘晓蕾, 魏亦勤, 杜丽璞, 王轲, 余茂云, 樊明, 晏月明,
HAN Xiao-feng, YE Xing-guo, LIU Xiao-lei, WEI Yi-qin, DU Li-pu, WANG Ke,
SHE Mao-yun, FAN Ming, YAN Yue-ming

作者单位: 韩晓峰, HAN Xiao-feng(中国农业科学院作物科学研究所/国家基因资源与基因改良重大科学工程/农业部作物遗传育种重点实验室, 北京100081; 首都师范大学生命科学学院, 北京100048), 叶兴国, 杜丽璞, 余茂云, YE Xing-guo, DU Li-pu, SHE Mao-yun(中国农业科学院作物科学研究所/国家基因资源与基因改良重大科学工程/农业部作物遗传育种重点实验室, 北京, 100081), 刘晓蕾, LIU Xiao-lei(中国农业科学院作物科学研究所/国家基因资源与基因改良重大科学工程/农业部作物遗传育种重点实验室, 北京100081; 北方民族大学生命科学与生物工程学院, 银川750021), 魏亦勤, 樊明, WEI Yi-qin, FAN Ming(宁夏农林科学院农作物研究所, 永宁, 750105), 王轲, 晏月明, WANG Ke, YAN Yue-ming(首都师范大学生命科学学院, 北京, 100048)

刊名: 植物遗传资源学报 

英文刊名: JOURNAL OF PLANT GENETIC RESOURCES

年, 卷(期): 2010, 11(6)

参考文献(35条)

1. [Payne P I Genetics of wheat storage protein and the effect of allelic variation on breadmaking quality](#)[外文期刊] 1987
2. [Payne P I; Lawrence c J Catalogue of alleles for the complex gene loci, Glu-AI, Glu-BI and Glu-DI which code for high molecular weight subunits of glutenin in hexaploid wheat](#) 1983
3. [Payne P I; Law C N; Mudd E E Control by homoeologous group 1 chromosomes of the high molecular weight subunits of glutenin, a major protein of wheat endosperm](#)[外文期刊] 1980
4. 段淑娥; 赵文明 小麦谷蛋白亚基的快速提取分离及SDSPAGE分析 2004
5. 裴翠娟; 胡含; 刘成华 影响小麦花药诱导因素的研究 1988
6. 叶兴国; 徐惠君; 赵乐莲 组织培养途径改良小麦定型品种的研究 1998
7. [Huang D Y; Khan K Quantitative determination of high molecular weight glutenin subunit of hard red spring wheat by SDS-PAGE, quantitative effects of total amounts on breadmaking quality characteristics](#) 1997
8. [Kolster P; Vereijken J M Evaluating HMW glutenin subunits to improve breadmaking quality of wheat](#) 1993
9. [Kolster P; Krechting C F; van Gelder W M Quantification of individual high molecular weight subunits of wheat glutenin SDS-PAGE and scanning densitometry](#) 1991
10. [Payne P I; Holt L M; Lawrence G J Detection of a novel high-molecular-weight subunit of glutenin in some Japanese hexaploid wheats](#)[外文期刊] 1983
11. [Yon Y M; Hsam S L K; Yu J z Allelic variation of the HMW glutenin subunits in Aegilops tauschii accessions detected by sodium dodecyl sulphate\(SDS-PAGE\), acid polyacrylamide gel\(A-PAGE\) and capillary electrophoresis](#) 2003
12. [Zhang Y z; Li x H; Wang A L Novel x-type high-molecular-weight glutenin genes from Aegilops tauschii and their implications on the wheat origin and evolution mechanism of Glu-D1-1 proteins](#) 2008
13. [Shewry P R; Haltord N J; Tatham A S High molecular weight subunits of wheat glutenin](#) 1992

14. [Gupta R B;Shepherd K W Two-step one-dimensional SDS-PAGE analysis of LMW subunits of glutenin 1 Variation and genetic control of the subunits in hexaploid wheat 1990](#)
15. [Nagamine T;Kai Y;Takayama T Allelic variations of glutenin subunit loci Glu-1 and Glu-3 in southern Japanese wheat and their effects on dough and gluten properties 2000](#)
16. [李保云;王岳光;刘凤鸣 小麦高分子量谷蛋白亚基与小麦品质性状关系的研究 2000](#)
17. [Shewry P R;Hahord N J;Tatham A S High molecular weight subunits of wheat glutenin 1992](#)
18. [Gianibelli M C;Gupta R B;Lafiandra D Polymorphism of high Mr glutenin subunits in Triticum tauschii:characterization by chromatography and electrophoresis methods\[外文期刊\] 2001\(1\)](#)
19. [Gupm P K Chromosomal basis of somaclonal variation in plants 1998](#)
20. [胡含;张相歧;张文俊 小麦花粉无性系变异与配子类型的表达和重组\[期刊论文\]-自然科学进展 2000\(1\)](#)
21. [Banks P M;Larkin P J;Bafiana H S The use of cell culture for sub-chromosomal introgressions of harley yellow dwarf virus resistance from Thinopyrum intermedium to wheat J 1995](#)
22. [Hirochika H;Sugimoto K;Otsuki Y Retrotransposons of rice involved in mutations induced by tissue culture\[外文期刊\] 1996\(15\)](#)
23. [Duncan R R Tissue culture-induced variation and crop improvement 1997](#)
24. [Phillips R L;Kaeppler S M;Olhoft P Genetic instability of plant tissue cultures:breakdown of normal controls 1994](#)
25. [Ahloowalia B S Spectrum of variation in somaclones of triploid ryegrass\[外文期刊\] 1983](#)
26. [Creissen S S;Karp A Karyotypic changes in potato plants regenerated from protoplasts\[外文期刊\] 1985](#)
27. [Yan Y;Hsam S L;Yu J HMW and LMW glutenin alleles among putative tetraploid and hexaploid T. spelta progenitors\[外文期刊\] 2003\(7\)](#)
28. [胡含;郗子英;贾双娥 小麦花粉愈伤组织植株体细胞的染色体的变异 1978](#)
29. [Karp A;Maddock S E Chromosome variation in wheat plants regenerated from cultured immature embryos\[外文期刊\] 1984](#)
30. [刘广田;李保云 小麦品质性状的遗传及其遗传改良 2008](#)
31. [孙辉;刘广田;李保云 小麦高分子量谷蛋白亚基的遗传规律研究 2000](#)
32. [刘广田;许明辉 普通小麦胚乳谷蛋白亚基的遗传研究:高分子量谷蛋白亚基变异的多样性及其在F1的遗传行为 1988](#)
33. [Bouff T;Bouriquet R Inheritance of glutenin subunits in F1 seed of reciprocal crosses between European hexaploid wheat cultivars 1983](#)
34. [朱金宝;刘广田;张树棒 小麦子粒高、低分子量谷蛋白亚基及其与品质关系的研究 1996](#)
35. [Herbert W;Gerhard z Importance of amounts and proportions of high molecular weight subunits of glutenin for wheat quality 2000](#)

本文读者也读过(10条)

1. [姜秀芳, 郑继周, 邓春霞, 韩玉林, 王凤真. Jiang XiuFang, Zheng Jizhou, Deng Cunxia, Han Yulin, Wang Fengzhen 小麦花培材料的筛选和利用\[期刊论文\]-中国农学通报2005, 21\(2\)](#)

2. [李景琦, 王成社, 邹淑芳](#) 小麦花药培养中白苗的发生和调控措施[期刊论文]-[西安联合大学学报](#)2002, 5(2)
3. [宣朴, 郭元林, 岳春芳, 尹春蓉](#) 低温对小麦花培育愈伤组织绿苗分化率的影响[期刊论文]-[西南农业学报](#)2004, 17(2)
4. [韩晓峰, 陶丽莉, 殷桂香, 刘晓蕾, 杜丽璞, 魏亦勤, 晏月明, 叶兴国, HAN Xiao-Fen, TAO Li-Li, YIN Gui-Xiang, LIU Xiao-Lei, DU Li-Pu, WEI Yi-Qin, YAN Yue-Ming, YE Xing-Guo](#) 基因型和环境条件对小麦花药培养效果的影响[期刊论文]-[作物学报](#)2010, 36(7)
5. [赵永英, 海燕, 康明辉, 黄冰艳, 张丹, 相志国](#) 小麦花药培养材料加倍特性研究[期刊论文]-[河南农业科学](#)2010(1)
6. [杨凤萍, 梁荣奇, 陈绪清, 韩立新, 张晓东, YANG Feng-ping, LIANG Rong-qi, CHEN Xu-qing, HAN Li-xin, ZHANG Xiao-dong](#) 利用SDS-PAGE鉴定转基因小麦HMW-GS的表达类型和后代遗传[期刊论文]-[华北农学报](#)2005, 20(2)
7. [王付欣, 陈耀锋, 王惠萍, 任慧丽, 韩德俊, 李春莲, WANG Fu-xin, CHEN Yao-feng, WANG Hui-Ping, REN Hui-li, HAN De-jun, LI Chun-Lian](#) 小麦花药培养中的密度效应研究[期刊论文]-[西北农林科技大学学报\(自然科学版\)](#)2001, 29(1)
8. [王成社, 李景琦, 邹淑芳, 严文献, 杨进荣, 刘俊, 黄小刚](#) 小麦花培育种效率与从不同杂种世代取材的关系[期刊论文]-[遗传学报](#)2002, 29(10)
9. [高翔, 董剑, 张改生, 全胜利, 雷玲, 魏建军, GAO Xiang, DONG Jian, ZHANG Gai-sheng, TONG Sheng-li, LEI Ling, WEI Jian-jun](#) 小麦F1籽粒高分子量谷蛋白亚基的遗传表现[期刊论文]-[麦类作物学报](#)2007, 27(6)
10. [海燕, 康明辉, 赵永英, 何宁, 张丹, HAI Yan, KANG Ming-hui, ZHAO Yong-ying, HE Ning, ZHANG Dan](#) 培养基在小麦花药脱分化培养中的应用研究[期刊论文]-[河南农业科学](#)2010(9)

引证文献(1条)

1. [任贤, 赵海霞, 王洋, 赵星星](#) 春小麦HMW-GS动态积累与肥力水平关系分析[期刊论文]-[广东农业科学](#) 2011(12)

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zwyczyxb201006003.aspx