

麦醇溶蛋白在鉴定小麦体细胞无性系变异上的应用研究^{*}

孙 岩 唐凤兰 李忠杰 张月学
闫文义 王广金 孙德全

(黑龙江省农科院作物育种所)

摘要 离体诱变和组织培养,可以增大小麦体细胞无性系变异(简称 SC变异)的频率。用麦醇溶蛋白电泳分析方法(A-PAGE)测定其变异,方法简便,精确度高,可为体细胞无性系变异的选择提供依据。

关键词 离体诱变 组织培养 体细胞无性系变异 麦醇溶蛋白

中图分类号 S512.1035

用小麦未成熟胚作外植体进行离体培养,诱导和分化率较高,而且再生植株可产生许多可遗传的变异,即体细胞无性系变异(简称 SC变异)。把组织培养过程中产生的 SC变异作为变异源,进行新品种选育,已成为育种的一条重要途径。

麦醇溶蛋白是小麦胚乳中主要的储藏蛋白,约占面筋蛋白的 50% 左右,它易于提取、高度异质性、显性遗传、选择中性,而且组成不受环境条件的影响。麦醇溶蛋白电泳图谱是子粒基因型的函数,所呈现出的条带顺序、数量及其位置等,反映了品种的遗传特性。与其子粒中的蛋白质含量也无关,而且具有重复性、特异性和多态性,可构成品种的蛋白质指纹。在电泳测定中所需样品量又小,分辨力很高,特别适用于小麦品种鉴定。本文旨在探索将该方法应用于小麦体细胞无性系变异鉴定的可行性。

1 材料与方法

1.1 材料的获得

将 8份小麦品系的干种子分成两部分,一部分作为对照,另一部分用 100Gy 的 ⁶⁰Co γ 射线进行照射,然后播在试验地里。在小麦开花 2周左右,取对照和 M₁ 植株未成熟胚进行离体培养。诱导培养基为 MS+ 2mg/l2, 4- D+ KT0.5mg/l,蔗糖 30g/l,琼脂 8g/l, pH值 5.8。在室温 24 \pm 1 $^{\circ}$ C 下暗培养 20~ 30d,继代培养 2次后转入分化培养基。分化培养基除不加 2, 4- D 外,其它同诱导培养基。每天光照 16h,光照强度 20klx。当再生苗高 10cm 左右时,从三角瓶中移至塑料钵中低温炼苗 10天左右,然后移栽到大花盆内温室精心管理。待成熟后,以品系为单位,按不同处理将种子分别收获,脱粒备用。

1.2 酸性聚丙烯酰胺凝胶电泳测定麦醇溶蛋白

1.2.1 样品提取 每份样品各取 3粒种子,去胚,磨碎,加入 0.6ml 乙二醇充分混合后放入 1.5ml 离心管中,在室温下振荡提取半小时。在 8 000转/分下离心 10分钟,抽取上清液至另

—离心管中,每管加入含 0. 1% 甲基绿的 (85%) 甲酸液 20 μ l,振荡混匀,放入冰箱中备用.

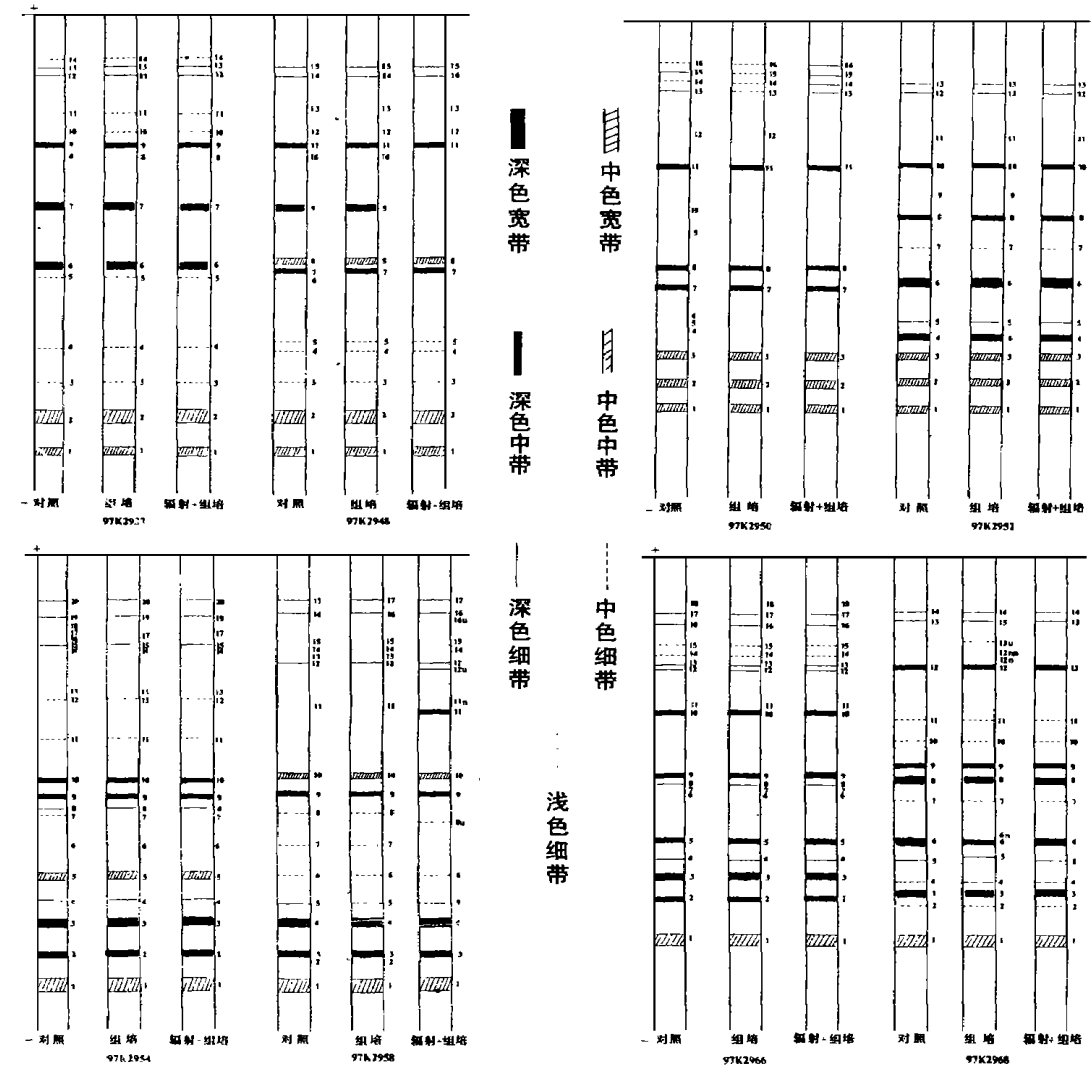


图 麦醇溶蛋白电泳图谱模式图

以上各组顺序均为:对照 组培 辐射+ 组培

1. 2. 2 凝胶和缓冲液制备 分离胶浓度 T= 8% ,交联度 C= 2% ,pH= 2,用 60 μ l 1. 2% 的 H₂O₂ 催化聚合 完全聚合需 10分钟左右 浓缩胶浓度 T= 6% ,交联度 C= 2% ,pH= 2,用 4 μ l H₂O₂催化聚合 完全聚合需 15分钟左右 正负极缓冲液分别为 0. 2% 和 0. 1% 的甲酸溶液

1. 2. 3 电泳 上样量为 20 μ l 电泳开始时,电压恒定为 200伏,待样品完全进入分离胶后,增大电压并恒定至 500伏. 用循环水冷却,保持 20 $^{\circ}$ C左右,整个电泳时间为 5小时.

1. 2. 4 染色与脱色 用含 0. 25g 考马斯亮兰 R- 250的 500ml12% 三氯乙酸 (TCA)溶液染色 24h,在 12% TCA溶液中脱色 48h后照像观察

2 结果与分析

2. 1 用 8份品系对照种子 组培 SC 种子和辐照加组培 SC 种子所做的麦醇溶蛋白电泳图谱形成模式图. 根据图中的谱带变化,可将 8份品系不同来源 SC 种子麦醇溶蛋白的变化分为五

类。第一类是对照组培 SC 和辐射加组培 SC 种子的麦醇溶蛋白电泳谱带完全相同,其中有 91K2932 和 97K2966 两个品系。第二类是组培 SC 和辐射加组培 SC 种子的麦醇溶蛋白电泳谱带数比其相应对照都有缺失,有的谱带强度还有变化,其中有 97K2948 97K2950 和 97K2954 三个品系。第三类是组培 SC 种子与其对照麦醇溶蛋白的电泳图谱完全相同,而辐射加组培 SC 与对照相比谱带缺失,如品系 97K2952。第四类是组培 SC 种子的麦醇溶蛋白电泳图谱与对照种子完全相同,而辐射加组培 SC 种子的麦醇溶蛋白电泳图谱与对照相比,有的谱带缺失,有的谱带增加,还有的强度发生了变化,如 97K2958。第五类是对照种子与辐射加组培 SC 种子麦醇溶蛋白的电泳图谱完全相同,但其组培 SC 种子的麦醇溶蛋白电泳图谱与其对照相比,有的谱带增加了,有的强度也发生了变化,如 97K2968。

2.2 从本试验的结果可以看出,供试的 8 份品系中有 6 份的组培 SC 种子和辐射加组培 SC 种子的麦醇溶蛋白电泳图谱与其对照相比,都发生了变化,说明体细胞无性系变异是普遍存在的。另外,还看出,辐射加组培 SC 种子的电泳图谱变化比组培 SC 种子的大,说明通过辐射处理可增大体细胞无性系变异的频率。

2.3 本试验中广泛存在的体细胞无性系变异,可能是由于外植体在离体培养过程中受到各种理化因素(如:激素、pH 值、温、光等)作用和电离辐射的作用引起的。电泳图谱中谱带的缺失、增加和强度变化,可以认为是在上述因素的作用下,控制该品系醇溶蛋白的有关基因发生了突变或者表达方式发生了变化。本试验结果表明体细胞无性系变异在 SC 代就能表现出来,而且可以通过麦醇溶蛋白电泳法进行测定。

参 考 文 献

- 高明尉等.诱变处理对小麦体细胞组织离体培养的效应.中国农业科学,1987,20(1): 25~ 31
- 傅宾孝等.小麦醇溶蛋白电泳分析的新方法.作物学报,Vol. 19, No2, Mar, 1993
- 滕晓月等.小麦品种的蛋白电泳鉴定.作物学报,Vol. 14, No. 4, Dec, 1988

Study on Identification of Wheat Somaclonal Variation by Gliadin Proteins

Sun Yan Tang Fenglan Li Zhongjie Zhang Yuexue
Yan Wenyi Wang Guangjin Sun Dequan

(Institute of Crops Breeding Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin)

Abstract The somaclonal variation can be increased by *in vitro* induced mutation and tissue culture, which can be identified by using the method of A-polyacrylamide gel electrophoresis to measure gliadin proteins. The method is accurate, simple and convenient for identifying wheat somaclonal variation.

Key words *In vitro* induced mutation, Tissue culture, Somaclonal variation, Gliadin proteins