

科 研 报 告

# 利用花粉管通道法向小麦中导入麦谷蛋白 高分子量优质亚基基因的研究初报<sup>\*</sup>

唐凤兰<sup>1</sup>, 张晓东<sup>2</sup>, 王广金<sup>1</sup>, 李忠杰<sup>1</sup>, 张宏纪<sup>1</sup>, 孙 岩<sup>1</sup>

(1. 黑龙江省农科院作物育种所, 哈尔滨 150086; 2. 北京市农林科学院细胞工程实验室, 北京 100081)

**摘要:** 通过花粉管通道法向小麦中导入高分子麦谷蛋白(HMW-GS)优质亚基基因, 在 D<sub>1</sub> 代用半粒法进行谷蛋白电泳检测, 获得 3 粒种子含 5+10 亚基, 余下的半粒播入花盆中, 三株都已成活。后代变异很小, 除芒型变化外, 其他性状几乎没有变化, 这说明花粉管通道法导入 HMW-GS 基因, 在改善小麦品质的同时, 能最大限度的保留受体优异的农艺性状。

**关键词:** 小麦; 花粉管通道; 基因导入; 高分子量麦谷蛋白亚基(HMW-GS)

中图分类号: S 512.103.5 文献标识码: A 文章编号: 1002-2767(2002)03-0001-02

## The Preliminary Report on the Research of Introducing HMW and High Quality Gluten Subunit Gene into Wheat Through Pollen Tube Pathway

TANG Feng-lan<sup>1</sup>, ZHANG Xiao-dong<sup>2</sup>, WANG Guang-jin<sup>1</sup>, LI Zhong-jie<sup>1</sup>, ZHANG Hong-ji<sup>1</sup>, SUN Yan<sup>1</sup>

(1. Crop Breeding Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086;

2. Beijing Agricultural Sciences, Beijing, 100081)

**Abstract:** HMW and high quality gluten subunit gene was introduced into wheat through pollen tube pathway and determined with half-grain method by electrophoresis at the first generation. The result showed there were three grains with 5+10 gene. The other half-grain was sown into small-pot, now these plants are all living. There was no variation of agronomic traits except awn type. This showed that when wheat quality was improved by method of pollen tube pathway the parent's agronomic traits was retained.

**Key words:** wheat; pollen tube pathway; gene introduction; HMW-GS

小麦是黑龙江省主要粮食作物之一, 其产量和品质直接关系到农业生产、制粉及相关企业的发展。小麦的面筋质量主要取决于麦谷蛋白和醇溶蛋白的组分, 尤其是它的高分子麦谷蛋白亚基(HMW-GS)组合。Payne 等(1987)<sup>[4]</sup>根据不同品种的烘焙特性与其 HMW-GS 组合的相互关系, 给予各亚基适当的品质评分, 其中 1D5+10 得分最高, 此外, 赵友梅(1990)<sup>[1]</sup>、傅宾孝(1989)<sup>[2]</sup>、王金水(1994)<sup>[3]</sup>等人的研究也证实了 Glu-1D5+10 优质亚基在决定面筋质量上具有很重要的作用。我国目前生产上应用的

小麦品种普遍缺少 1Dx5 和 1Dy10 基因<sup>[5]</sup>。所以增加麦谷蛋白的数量和改善麦谷蛋白 HMW-GS 组成, 是我国当前小麦品种品质改良的主要途径。本试验采用花粉管通道法, 将控制 HMW 谷蛋白亚基 5 与 10 基因和编码除草剂 PPT 的重组质粒 PBPC30 导入普通小麦, 为我国小麦品质改良探索一条新途径。

### 1 材料和方法

1.1 选取纯系小麦品系 91B569(HMW-GS 组合为 1.7+8、2+12)和 92K809(HMW-GS 组合为 1.7+

\* 收稿日期: 2002-01-03

基金项目: 黑龙江省自然科学基金资助项目部分内容。

作者简介: 唐凤兰(1963-)女, 辽宁省宽甸县人, 副研究员, 从事小麦育种及生物技术研究。

9、2+12)进行盆栽,常规管理,抽穗期用 500Rad Co60  $\gamma$  射线照射,诱导 DNA 的无规则合成,开花 30~45min 后剪去柱头,用滴入法导入重组质粒 PBPC30(北京细胞工程实验室提供),对照滴入缓冲溶液。调查结实率和子粒发育情况。

1.2 将所获得的种子用半粒法进行麦谷蛋白电泳分析(采用 SDS—PAGE 系统),根据电泳图谱选择含有 5、10 亚基的种子。

2 结果与分析

2.1 导入后代的结实和变异 通过花粉管通道导入控制 HMW—GS5+10 的基因后,当代结实率见表 1。

表 1 当代结实率

品系和处理	导入小花数	结实数	结实率(%)
91B569	90	31	34.4
791B569	143	31	21.7
92K809	306	81	26.5
792K809	362	64	17.7

由表 1 可见受体在经过  $\gamma$  射线照射后结实率都降低了。同时通过花粉管通道法导入控制 HMW—GS5+10 的基因后,当代所获得的种子都很瘦小,无法在当代用半粒法进行麦谷蛋白电泳分析,需播种等其结实后再测定。D<sub>0</sub> 代植株表现与亲本基本没有差异,D<sub>1</sub> 代 92K809 的个别单株出现了顶芒,顶芒率为 9.1%,其他性状都没有变异,在 D<sub>2</sub> 代对顶芒株又进行了调查(见表 2)。

表 2 92K809D<sub>2</sub> 代顶芒株分离情况

芒型	株数	变异率 (%)	平均株高 (cm)	平均穗长 (cm)
无芒	771	63.7	78.3	10.8
有芒	6	0.5	76.1	10.0
顶芒	18	14.7	78.5	10.7
短芒	254	20.1	79.0	11.1

调查结果表明,顶芒株又分离出有芒、无芒、顶芒和短芒,但其它性状变化不大,只有分离出的有芒株的株高和穗长比亲本稍有下降,但与亲本差异均不显著。说明利用花粉管导入控制 HMW—GS5+10 的基因,在改善其品质的同时,受体的其它性状变化不大。

2.2 HMW—GS 检测 对 1999 年基因导入所获得的种子 D<sub>1</sub> 代用半粒法测定了麦谷蛋白高分子亚基组成,发现有 3 粒种子中含有 1Dx5 亚基。2000 年在导入的 D<sub>1</sub> 代种子中又检测出 3 粒含有 1Dx5 和 1Dy10 亚基的种子(见图)。说明通过花粉管通道导入的控制 5+10 亚基的基因已在受体上得到了表达,我们再将这三粒种子(半粒)播入花盆中,现在这三株苗均已成活,DNA 分子检测工作正在进行。

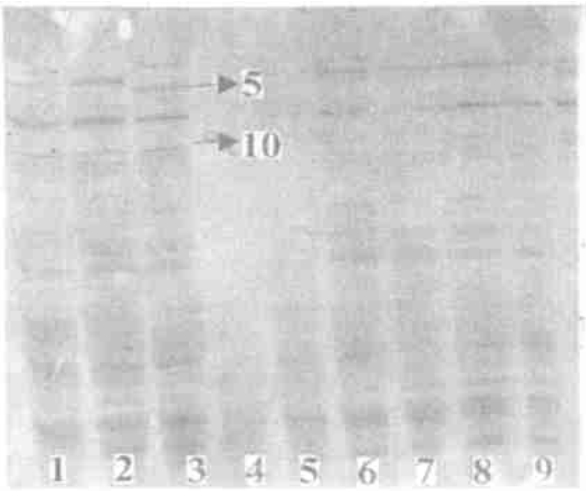


图 基因导入后代麦谷蛋白电泳图

1. 对照 92K809. 3. 导入 5+10 亚基的 92K809

3 讨论

通过花粉管通道法导入控制 HMW—GS5+10 的基因,在其后代中获得了含 5+10 亚基的种子,说明此方法与基因枪等方法一样,可以作为转基因的一种手段,此外其转基因后代除芒型分离外,其他性状几乎与亲本没有差异,说明用此方法在改善小麦品质的同时,能最大限度的保留亲本的优异农艺性状。

本试验首次通过花粉管通道法将小麦控制 HMW—GS 1Dx5 和 1Dy10 的基因导入农艺性状优良而品质较差的普通小麦品种 92K809 中,有可能改善该品种品质,这为我国小麦的品质改良探索了一条新途径,但本试验导入的小麦控制 HMW—GS 1Dx5 和 1Dy10 基因能否在后代中顺利表达,还有待进一步研究,其表达水平研究将在以后报道。可以预料若是导入的这两个基因能够在后代植株中顺利表达,一方面能够使 92K809 的品质得到改良,另一方面可用这些转化后代研究控制 HMW—GS 5+10 的基因对小麦品质的贡献以及转基因的遗传等。

参考文献:

[1] 赵友梅,王淑俭. HMW 麦谷蛋白亚基的图谱在小麦品质研究中的应用[J]. 作物学报, 1990, 16(3): 208-218.

[2] 傅宾孝,赵友梅. 小麦高分子量谷蛋白亚基与面粉品质[J]. 郑州粮食学院学报, 1989, (1): 1-15.

[3] 王金水,赵友梅. 小麦高分子麦谷蛋白与其加工品质的关系[J]. 郑州粮食学院学报 1994, 15(4): 61-66.

[4] Payne P. I. Genetics of wheat storage proteins and the effect of allelic variation on bread making quality, Ann Rev[J]. Plant physiol. 1987, 38: 141-153.

[5] 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的多样性及其 F<sub>1</sub> 的遗传行为[J]. 中国农业科学, 1988, 21(1): 56-60.