

HMW-GS 标记辅助选育优质小麦新品系

*

高居荣, 封德顺, 李兴锋, 王洪刚

(山东农业大学农学院, 国家小麦改良中心山东(泰安)分中心, 作物生物学国家重点实验室, 山东泰安 271018)

摘要: 为加速优质小麦育种进程, 将聚合杂交、HMW-GS 辅助选择与常规育种程序结合, 在小麦品种烟农 19、济麦 20、郑优 6 号、百农 66 不同杂交组合 F_2 代进行 HMW-GS 标记辅助选择, 经连续多代鉴定筛选, 选育出 14 个含优质 HMW-GS 或 HMW-GS 组合的小麦新品系。鉴定结果表明, 14 个新品系的蛋白质含量、沉降值、湿面筋含量、面筋指数、吸水率和面团稳定时间等主要品质指标较好, 多个测试指标优于其亲本之一或双亲, 其中新品系 6245 的上述品质指标均表现超双亲的特点; 多数材料株高适中, 对条锈病、白粉病、叶锈病等小麦主要病害具有较好的田间抗性, 综合农艺性状较好, 具有利用价值。证明利用 HMW-GS 辅助选择进行优质小麦新品系的选育是有效的。

关键词: 小麦; 高分子量谷蛋白亚基; 品质性状; 辅助选择

中图分类号: S512.1; S330

文献标识码: A

文章编号: 1009-1041(2011)01-0025-05

Breeding New Wheat Lines with HMW-GS Markers Assisted Selection

GAO Ju-rong, FENG De-shun, LI Xing-feng, WANG Hong-gang

(College of Agronomy, Taian Subcentre of National Wheat Improvement Centre, State Key Laboratory of Crop Biology, Shandong Agricultural University, Taian, Shandong 271018, China)

Abstract: To speed up the process of high-quality wheat breeding, HMW-GS marker-assisted selection were adopted in separate generation (F_2) of different crosses with Yanyou 361, Jimai 20, Zhengyou 6 and Bainong 66. Fourteen high-quality HMW-GS lines were selected after continuous selection for a few generations. The agronomic and yield traits of selected lines were evaluated and showed that, all the selected 14 wheat lines had excellent combination of HMW-GS, and the value of main quality characters, such as protein content, sedimentation value, wet gluten content, gluten index, water absorption and dough stability time, were high. Most traits of these lines were better than that of one or all of their parents, especially the quality traits above of new line 6245 were better than that of both parents. Most materials selected had proper height, excellent agronomic traits and resistances to the major diseases of wheat in field, such as stripe rust, powdery mildew and leaf rust, etc., which could be used in breeding. It was suggested that HMW-GS markers assisted selection was effective for selecting new high-quality wheat lines.

Key words: Wheat; HMW-GS; Marker assisted selection; Quality trait

国内外大量研究表明, 小麦高分子量谷蛋白亚基(HMW-GS)及亚基组合与小麦籽粒的加工品质密切相关^[1-4], 以 HMW-GS 为标记辅助选择优质小麦新品种可提高选择效果。毛沛^[5]等研

究发现, HMW-GS 对烘烤品质的效应在 *Glu-A1* 位点上, $2^* > 1 > \text{Null}$, *Glu-B1* 位点上, $7 > 7+8 > 7+9$, *Glu-D1* 位点上, $5+10 > 4+12 > 2+12$, 具有(1, 7+9, 5+10) HMW-GS 组合的小麦品种

* 收稿日期: 2010-08-15 修回日期: 2010-10-05

基金项目: 国家自然科学基金项目(30771349)。

作者简介: 高居荣(1964-), 女, 高级实验师, 硕士, 主要从事生物技术与作物遗传改良研究。E-mail: greeting@sdau.edu.cn。

通讯作者: 王洪刚(1955-), 男, 教授, 博士生导师, 主要从事生物技术与作物遗传改良研究。

品质性状较好。李宗智^[6]研究认为, HMW-GS 对面团强度的贡献在 *Glu-D1* 位点, $5+10 > 2+12 > 3+12 > 4+12$, 且 $5+10$ 与其它亚基之间的差异显著; 在 *Glu-B1* 位点, $17+18 > 13+16 > 7+9 > 7+8 > 6+8$; 在 *Glu-A1* 位点, $2^* > 1 > \text{Null}$ 。张延滨^[7]研究表明, $7+8^*$ 亚基对面筋强度有较大的正效应。李硕碧^[8]研究表明, $17+18$ 对面条品质有较好的影响。范玉顶^[9]研究发现, 具有 $(1, 17+18, 2+12)$ 亚基组合的小麦品种适于制作馒头。赵京岚^[10]研究认为, $(1, 14+15, 2+12)$ 是制作优质面条的理想亚基组合。尽管国内外对 HMW-GS 或亚基组合与小麦籽粒加工品质之间关系的研究较多, 但在小麦加工品质性状的遗传改良中将 HMW-GS 作为辅助选择标记与常规育种程序结合的研究较少。本研究在分析小麦亲本 HMW-GS 构成的基础上, 将聚合杂交与 HMW-GS 辅助选择相结合进行优良亚基聚合体的筛选, 以探讨加快优质小麦品种选育的有效方法。

1 材料与方 法

1.1 材 料

供试材料为: 含不同亚基组合的小麦品种烟农 19 $(1, 17+18, 5+10)$ 、济麦 20 $(1, 13+16, 5+10)$ 、郑优 6 号 $(N, 7+8, 5+10)$ 、百农 66 $(1, 14+15, 5+10)$, 利用这 4 个材料配制的杂交组合(烟农 19 / 济麦 20、济麦 20 / 郑优 6 号、济麦 20 / 百农 66 和百农 66 / 烟农 19) 的 $F_1 \sim F_6$ 代材料; 以中国春、马奎斯、Neepawa 为分析 HMW-GS 的对照。以上材料均由国家小麦改良中心泰安分中心种植保存或创制。

1.2 HMW-GS 的 SDS-PAGE 分析

高分子量谷蛋白提取及十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)参照封德顺^[11]的方法。亚基命名按 Payne 系统^[12]进行。

1.3 优质 HMW-GS 的聚合及聚合体的筛选

以综合农艺性状优良且含有不同优质 HMW-GS 的材料烟农 19、济麦 20、郑优 6 号和百农 66 为亲本, 播种于山东农业大学农学实验站小麦实验田。采用常规有性杂交方法进行杂交以获得不同类型的 HMW-GS 聚合体。

优质 HMW-GS 聚合体的筛选: 将获得的 F_1 杂交种子自交获得 F_2 种子。利用半粒法(用刀片将籽粒从中部横断, 有胚的半粒种子留用播种, 无

胚的半粒种子用于提取高分子量谷蛋白) 分析 F_2 的 HMW-GS 构成, 进行优质 HMW-GS 聚合体的鉴定筛选。 F_3 按株行播种, 此后各世代均按系谱法处理。筛选出的高代稳定品系再利用 SDS-PAGE 技术对其 HMW-GS 构成进行鉴定确认。

1.4 优质 HMW-GS 聚合体的抗病性及农艺性状鉴定

将鉴定筛选出的优质 HMW-GS 聚合体及其亲本播种于山东农业大学农学实验站地力均匀一致的小麦实验田。抗病性鉴定: 在田间种植辉县红作为感病对照和感染行, 主要调查条锈病、叶锈病和白粉病, 以上病害均按 0、1、2、3、4 五级标准记载, 其中 0 级为免疫(Immunity), 1 级为高抗病(HR), 2 级为中抗(MR), 3 级为中感(MS), 4 级为高感(HS)。其中条锈病鉴定是于小麦拔节期利用条中 29、31、32 和水源 11-14 号混合菌种在感染行内用注射器进行人工接种诱发感染, 在感染行材料充分发病后进行抗病性调查; 条锈病菌种由中国农科院植保所提供; 其他病害均在自然发病条件下调查。

其他农艺性状的调查按国家黄淮海冬麦区区域试验农艺性状调查标准进行。

1.5 品质性状的测定

收获的优质 HMW-GS 聚合体及其亲本成熟籽粒由农业部谷物品质监督检验测试中心(泰安) 进行品质性状测定。

籽粒硬度: 采用瑞士 Perten 公司生产的 SKCS-4100 型单粒谷物测定仪测定, 其硬度根据仪器设定的方法计算。

籽粒容重: 利用上海东方衡器厂生产 61-71 型容重器测定。

制粉: 利用德国 Brabender 公司生产 Senion 磨, 出粉率 70% 左右。

水分的测定: 按照 GB549-85 方法测定。

面粉蛋白质含量: 采用瑞士 Perten 公司生产的 Znframatin862 型近红外仪测定。

降落值: 利用 GB10361-89 进行测定。

粉质仪参数: 利用德国 Brabender 公司生产的 810104 型电子粉质仪, 按 AACC-54-21 方法测定, 按 50 g 揉面体, 结果由系统软件自动分析。

湿面筋含量及面筋指数: 利用瑞士 Perten 公司生产的 2200 型面筋洗涤仪, 湿面筋含量按 GB/T14607-93 进行测定, 面筋指数用 Perten Centrifuge 2015 离心机的面筋筛测定, 其算法

为:面筋筛上留存的面筋/(面筋筛上留存的面筋+过筛的面筋) $\times 100\%$ 。

Zeleny 沉淀值:按 GB/T14606-1995 测定,结果校正到 14% 水分含量。利用中国农业大学研制的沉降值仪振荡测定。

2 结果与分析

2.1 优质亚基聚合体的筛选

采用半粒法,经 SDS-PAGE 鉴定,在烟农 19 \times 济麦 20 的 F_2 籽粒中筛选出具有纯合亚基组合(1,17+18,5+10)的种子 179 粒,具有纯合亚基组合(1,13+16,5+10)的种子 133 粒;在济麦 20 \times 郑优 6 号的 F_2 籽粒中筛选出具有纯合亚基组合(1,13+16,5+10)的种子 122 粒,具有纯合亚基组合(N,7+8,5+10)的种子 102 粒,具有纯合亚基组合(N,13+16,5+10)的种子 76 粒,具有纯合亚基组合(1,7+8,5+10)的种子 52 粒;在济麦 20 \times 百农 66 的 F_2 籽粒中筛选出具有纯合亚基组合(1,13+16,5+10)的种子 194 粒,

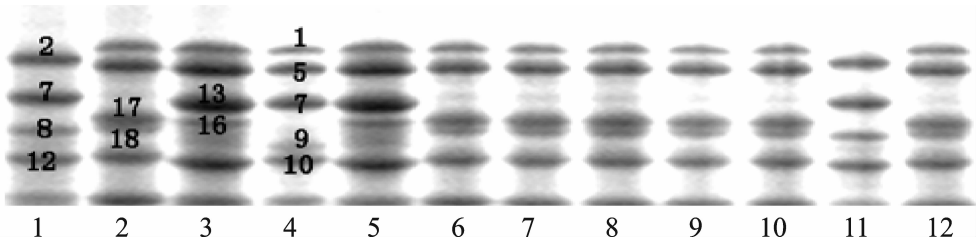
具有纯合亚基组合(1,14+15,5+10)的种子 132 粒;在百农 66 \times 烟农 19 的 F_2 籽粒中筛选出具有纯合亚基组合(1,14+15,5+10)的种子 193 粒,具有纯合亚基组合(1,17+18,5+10)的种子 124 粒。将筛选出的上述各类带胚的半粒种子,经催芽萌动后播种于山东农业大学农学实验站小麦实验田,进一步进行农艺性状的鉴定。

2.2 不同 HMW-GS 聚合体的主要品质性状特点

将上述 HMW-GS 聚合体经连续 4 代的田间鉴定选择,在对其农艺性状综合鉴定评价的基础上筛选出综合性状较好、性状稳定一致的 14 个品系用于品质性状的测定分析。

2.2.1 小麦新品系的 HMW-GS 构成

为进一步确认选育出的各小麦新品系的 HMW-GS 构成特点,在选出的 14 个品系中,分别随机取 3 粒种子,利用 SDS-PAGE 对其 HMW-GS 组成进行进一步鉴定确认,结果列于表 1,部分 HMW-GS 图谱见图 1。



1:中国春;2:烟农 19;3: 济麦 20;4: 马奎斯;5: 4047;6: 6245;7: 6246;8: 6247;9: 6248;10: 6260;11: 中国春;12: 烟农 19。

1: Chinese Spring; 2: Yangnong 19; 3: Jimai 20; 4: Marquis; 5: 4047; 6: 6245; 7: 6246; 8: 6247; 9: 6248; 10: 6260; 11: Chinese Spring; 12: Yannong 19.

图 1 (烟农 19 \times 济麦 20) F_2 籽粒的 HMW-GS 图谱

Fig. 1 SDS-PAGE electropherogram of HMW-GS in F_2 seeds of Yannong 19 \times Jimai 20

由表 1 和图 1 可见,由烟农 19 \times 济麦 20 杂交后代选育的 5 个品系 6245、6246、6247、6248 和 6260 的 HMW-GS 组成均为(1,17+18,5+10);从济麦 20 \times 郑优 6 号杂种后代选育的 3 个品系 6249、6250、6251 的 HMW-GS 组成分别是(N,13+16,5+10)、(N,7+8,5+10)和(1,7+8,5+10);从济麦 20 \times 百农 66 杂种后代选育的 3 个品系 6253、6254、6236 的 HMW-GS 组成分别是(1,13+16,5+10)、(1,14+15,5+10)和(1,13+16,5+10);在百农 66 \times 烟农 19 杂种后代选育的 3 个品系 6256、6257、6258 的 HMW-GS 组成分别是(1,14+15,5+10)、(1,14+15,5+10)和(1,17+18,5+10)。

上述 14 个小麦品系的 HMW-GS 组成分别与其对应的 F_2 籽粒相同,这说明在杂种早代对其 HMW-GS 组成进行选择是可靠的。

2.2.2 小麦新品系的主要品质性状特点

表 1 结果表明,14 个小麦新品系的蛋白质含量、沉降值、湿面筋含量、面筋指数、吸水率和面团稳定时间等主要品质性状值较高,它们的多个品质指标优于其亲本之一或双亲。例如,烟农 19 \times 济麦 20 杂交后代选育的新品系 6245 其蛋白质含量为 15.96%,沉降值 47.10 mL,湿面筋含量 37.50%,面筋指数 88.00,吸水率 66.50%,面团稳定时间 10.08 min;而其亲本烟农 19 和济麦 20 的蛋白质含量分别为 13.12%和 13.31%,沉降值

分别为 42.20 mL 和 45.60 mL, 湿面筋含量分别为 34.20% 和 32.10%, 面筋指数分别为 70.00 和 75.00, 吸水率分别为 60.50% 和 60.00%, 面团稳定时间分别为 9.50 min 和 9.80 min。与其双亲相比较, 新品系 6245 的上述品质指标均表现超双

亲的特点。从表 1 结果还可以看出, 来自同一杂交组合后代的不同小麦品系, 不仅 HMW-GS 组合不同时其品质指标差异明显, 而且 HMW-GS 组合相同时其品质指标也存在较大差异。

表 1 14 个小麦新品系及其亲本的籽粒品质性状

Table 1 The quality traits of 14 new wheat lines and their parents

亲本和组合 Parents and combinations	品系 Lines	亚基组合 Subunit combinations	沉淀值 SV /mL	降落值 FN	湿面筋 WG /%	面筋 指数 GI	蛋白质 PC /%	硬度 HD	容重 TW	吸水率 WA /%	形成 时间 DT /min	稳定 时间 ST /min
烟农 19 Yannong19		1,17+18,5+10	42.20	457.10	34.20	70.00	13.12	98.00	720	60.50	5.80	9.50
济麦 20 Jimai 20		1,13+16,5+10	45.60	387.50	32.10	75.00	13.31	78.50	728	60.00	8.05	9.80
郑优 6 Zhengyou 6		N,7 + 8,5+10	41.20	435.60	36.86	51.00	13.10	35.54	702	63.90	3.40	8.30
百农 66 Baiong 66		1,14+15,5+10	43.30	428.20	39.41	50.00	15.00	25.68	705	62.10	5.00	7.25
烟农 19×济麦 20	6245	1,17+18,5+10	47.10	481.50	37.50	88.00	15.96	88.21	720	66.50	6.04	10.08
Yannong 19×Jimai 20	6246	1,17+18,5+10	38.30	396.30	36.90	58.00	14.13	83.67	710	62.40	5.80	8.73
	6247	1,17+18,5+10	35.30	372.60	37.20	48.00	14.20	94.25	727	66.40	7.26	11.32
	6248	1,17+18,5+10	38.30	395.40	31.80	59.00	13.14	89.15	710	62.20	6.25	9.17
	6260	1,17+18,5+10	46.20	461.80	35.73	78.00	15.50	72.81	772	61.10	5.26	10.57
济麦 20×郑优 6 号	6249	N,13+16,5+10	32.30	333.80	35.60	56.00	13.18	99.88	690	64.70	6.25	9.66
Jimai 20×Zhengyou 6	6250	N,7 + 8,5+10	30.40	310.50	34.70	44.00	12.78	57.33	680	59.60	4.70	6.20
	6251	1,7 + 8,5+10	37.50	381.30	31.80	73.00	13.96	66.29	790	60.20	4.80	6.90
济麦 20 × 百农 66	6253	1,13+16,5+10	33.40	326.20	40.40	44.00	14.18	97.89	790	63.63	6.78	10.21
Jimai 20×Bainong 66	6254	1,14+15,5+10	34.50	361.80	36.70	37.00	15.38	88.21	759	70.00	5.51	9.28
	6236	1,13+16,5+10	33.80	357.10	36.10	46.00	13.58	59.13	717	61.00	4.74	6.43
百农 66×烟农 19	6256	1,14+15,5+10	27.70	296.20	39.90	53.00	13.09	94.42	750	67.00	6.46	9.90
Bainong 66 × Yannong 19	6257	1,14+15,5+10	45.30	473.90	39.80	64.00	15.22	88.98	707	68.90	5.30	10.80
	6258	1,17+18,5+10	33.30	363.80	29.81	55.00	13.60	57.47	735	60.40	5.28	7.70

表 2 14 个小麦新品系及其亲本的主要农艺性状

Table 2 Main agronomic characteristic of 14 new wheat lines and their parents

材料 Materials	株高 Plant height /cm	穗长 Spike length /cm	穗数 Spikes per plant	小穗数 Spikelets per spike	粒数 Grains number	千粒重 1000-grain weight /g	条锈病抗性 Yellow rust resistance	叶锈病抗性 Leaf rust resistance	白粉病抗性 Powdery mildew resistance
烟农 19 Yannong 19	75.60	9.34	5	18	44	49	2	2	3
济麦 20 Jimai 20	72.25	8.10	5	16	35	42	2	2	2
郑优 6 Zhengyou 6	73.00	10.00	4	20	42	42	3	2	4
百农 66 Bainong 66	74.00	8.00	4	20	46	41	1	1	2
6245	77.20	7.75	8	16	38	43	2	4	3
6246	76.35	7.76	8	16	34	52	1	3	1
6247	77.90	7.53	7	15	35	56	3	2	2
6248	77.70	6.80	5	15	28	54	0	1	0
6260	74.20	7.82	6	16	33	49	0	1	0
6249	89.70	8.85	6	18	48	54	1	3	4
6250	78.40	8.01	5	18	37	48	3	2	2
6251	75.15	7.74	6	16	34	46	0	1	2
6253	67.90	6.48	5	14	34	44	0	1	1
6254	72.78	7.66	5	13	33	43	0	2	1
6255	78.10	8.15	4	16	34	43	1	2	1
6256	70.20	7.17	5	16	42	48	0	2	1
6257	73.80	8.35	5	18	43	54	1	2	1
6258	74.75	8.26	5	18	44	49	0	2	1

2.3 14 个小麦新品系的主要农艺性状特点

表 2 结果表明, 14 个小麦新品系的株高除

6249 为 89.7 cm 以外, 其他材料的株高均在 75 cm 左右, 比较适中; 多数材料对条锈病、叶锈病和

白粉病的田间抗性较好;多数材料的穗数、穗粒数、千粒重等产量性状协调较好,具有利用价值。

3 讨论

在传统育种中,后代选择的依据通常是表现型而不是基因型,可靠性较差,选择效率较低。HMW-GS 具有多态性较高,表现共显性、能够鉴别出纯合基因型和杂合基因型,对农艺性状影响小,经济方便、容易观察记载等特点,因此在小麦品质性状遗传改良中 HMW-GS 可作为一种遗传标记用于辅助选择^[13]。本研究将聚合杂交、HMW-GS 辅助选择与常规育种程序紧密结合起来,在不同聚合杂种后代鉴定选育出 14 个稳定的小麦新品系,分析结果表明,它们含有优质 HMW-GS 或优质 HMW-GS 组合,且与其对应的初选 F₂ 籽粒相同,说明利用 HMW-GS 辅助选择是可靠的。主要品质指标测定结果表明,小麦新品系综合品质指标较好,它们的多个品质测试指标优于其亲本之一或双亲,说明利用 HMW-GS 辅助选择进行优质 HMW-GS 聚合体或优质小麦新品系的选育是有效的。主要农艺性状的鉴定结果表明,14 个新品系的主要农艺性状也较优良,如 6248 和 6260 对条锈病免疫,高抗叶锈病,千粒重较高,分别为 54 g 和 49 g;6257 对所调查的多种小麦病害具有较好的抗性。

本研究利用来自同一杂交组合的稳定品系,比较了 HMW-GS 构成与小麦主要品质性状的关系,可以在很大程度上消除遗传背景的干扰,能够较为准确地反映高分子量麦谷蛋白亚基及亚基组合对小麦品质性状的影响。但是,在研究中发现,从同一杂种后代选育的小麦品系,不仅在 HMW-GS 组合不同时其品质指标差异明显,而且在 HMW-GS 组合相同时其品质指标也存在较大差异。这说明不同的亚基或亚基组合对小麦品质性状具有不同的影响,同时除 HMW-GS 外,其他遗传因素对小麦品质性状也存在明显的效应。因此,在小麦品质性状的遗传改良过程中,既要重视优

质亚基的类型、数量和组合方式的选择,也要注意其他遗传因素的影响。本研究选育的 14 个小麦新品系在山东农业大学实验站小麦实验田已进行两年试验鉴定,其品质性状基本稳定,但尚需要异地在多个生态环境下鉴定其品质和产量性状,以进一步明确它们的应用价值。

参考文献:

- [1] Trethowan R M, Pena R J, Ginke I M. Penalties associated with use of indirect tests for grain quality on yield and bread-making quality of wheat[J]. *Plant Breeding*, 2001, 120: 509-512.
- [2] Anjum F M, Khan M R, Din A, *et al.* Wheat gluten; high molecular weight glutenin subunits-structure, genetics, and relation to dough elasticity[J]. *Journal of Food Science*, 2007, 72 (3): 56-63.
- [3] 雷振生, 刘丽, 王美芳, 等. HMW-GS-LMW-GS 组成对小麦加工品质的影响[J]. *作物学报*, 2009(2): 203-210.
- [4] 张华文. HMW-GS 的遗传规律及其对面包烘烤品质的影响[D]. 泰安: 山东农业大学硕士论文, 2005: 9-10.
- [5] 毛沛, 李宗智, 卢少源. 小麦遗传质源 HMW 麦谷蛋白亚基组成及其与面包烘烤品质关系的研究[J]. *中国农业科学*, 1995, 28(增刊): 22-27.
- [6] 李宗智. 冬小麦若干品质性状及相关研究[J]. *作物学报*, 1990, 16(1): 8-17.
- [7] 张延滨, 赵海滨, 宋庆杰, 等. 龙麦 20 小麦品种 7+8* 亚基和 17+18 亚基近等基因系间的品质差异[J]. *中国农业科学*, 2008, 41(5): 1536-1541.
- [8] 李硕碧, 单明珠, 王怡, 等. 鲜湿面条专用小麦品种品质的评价[J]. *作物学报*, 2001, 27(3): 334-338.
- [9] 范玉顶, 李斯深, 孙海燕, 等. HMW-GS 与北方手工馒头加工品质关系的研究[J]. *作物学报*, 2005, 31(1): 97-101.
- [10] 赵京岚, 李斯深, 范玉顶, 等. 小麦品种蛋白质性状与中国干面条品质关系的研究[J]. *西北植物学报*, 2005, (1): 144-149.
- [11] 封德顺. 体细胞杂种小麦与供体高冰草的高分子量麦谷蛋白亚基及其基因分析[D]. 泰安: 山东大学博士论文, 2004: 23-26.
- [12] 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.
- [13] 张天真, 万建民, 孙其信, 等. 作物育种学总论[M]. 北京: 中国农业出版社, 2007: 277-297.