

小麦淀粉品质改良途径及糯性小麦 种质创新研究^{*}

赵海滨¹, 李集临², 徐香玲², 张春利¹, 宋庆杰¹, 张延滨¹,
辛文利¹, 肖志敏¹, 孙连发¹, 郭文义³

(1. 黑龙江省农科院作物育种研究所, 哈尔滨 150086; 2. 哈尔滨师范大学, 哈尔滨 150080; 3. 沈阳军区空军后勤部空一军副食品生产基地, 克山 161621)

摘要: 利用生化标记和选择性回交等手段进行糯质目的基因定向导入与跟踪, 采用组培和小麦×玉米杂交诱导单倍体等生物技术, 建立糯性小麦高效选择体系, 创造糯性小麦新种质和面条麦品种, 评价糯性小麦新种质在面条麦育种中的利用价值。

关键词: 小麦; 糯性; 单倍体; 种质

中图分类号: S 512.103.3 文献标识码: A 文章编号: 1002-2767(2005)03-0001-03

Study on the Improvement of Wheat Starch Quality and the Innovation of Waxy Wheat Germplasm

ZHAO Hai bin¹, LI Ji lin², XU Xiang ling², ZHANG Chun li¹, SONG Qing jie¹,
ZHANG Yan bie¹, XIN Wen li¹, XIAO Zhi min¹, SUN Lian fa¹, GUO Wen yi³

(1. The Crop Breeding Research Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086; 2. Harbin Normal University, Harbin 150080; 3. The First Air Force Non-Staple Foodstuff Production Base, Logistics Department of Air Force of Military District of Shenyang, Keshan 161621)

Abstract: In this study, biochemical marker and selective backcross were employed to trace and introduce target gene of waxy wheat. Meanwhile, we use the methodology of anther culture and haploid production. Via wheat×maize to establish high-efficient selection system of waxy wheat, and create new germplasm of waxy wheat and noodle wheat varieties. We realized that it is important for noodle wheat breeding to evaluate new germplasm of waxy wheat.

Key words: wheat, waxy, haploid, germplasm

淀粉是小麦子粒的重要组成部分, 其构成对于小麦面粉制品, 尤其是面条制品品质有着重要影响。淀粉有直链和支链之分, 如果小麦子粒淀粉中不含直链淀粉或直链淀粉含量很低(低于1%), 则称为全糯质小麦。普通六倍体小麦有3个糯质基因

(Waxy gene)位点与淀粉合成有关, 分别称为Wx-A1、Wx-B1和Wx-D1, 其控制基因分别位于7AS、4AL和7DS上, 这3个基因分别编码60kD左右的淀粉粒结构淀粉合成酶, 即Wx蛋白。当3种Wx蛋白全部缺失时, 其胚乳直链淀粉含量几乎为

* 收稿日期: 2005-04-03

基金项目: 黑龙江省农科院项目

第一作者简介: 赵海滨(1974-), 男, 黑龙江饶河县人, 在读硕士, 农艺师, 主要从事小麦育种研究。Tel: 0451-86668739; E-mail: hbzhao0617@sina.com

0, 就得到了自然界中不存在的糯性小麦。

日本 Nakamura 等用部分糯质突变体关东 107 (缺失 $W_x - A1$ 和 $W_x - B1$) 作母本, 分别与 Aldura (硬粒小麦)、白火麦(中国小麦地方品种, 缺失 $W_x - D1$) 杂交, 碘液检测 F_2 远胚端半子粒、MS 培养基培养至 3 叶期移栽温室, 最后用 2D - SDS - PAGE 鉴定, 1995 年首次获得人工合成的六倍体全糯质小麦^[1]。六倍体糯质小麦的遗传是由三对隐性基因控制的, 只有三个基因位点全是隐性时, 才表现为全糯质。随后, 日本的 Hoshion 等^[2] 利用部分糯质小麦杂种 F_1 代与玉米杂交获得全糯质小麦; 加拿大的 Zhao 等^[3] 利用部分糯质小麦间杂交获得了全糯质小麦; 我国的刘广田和陈新民^[4] 利用部分糯质突变体小麦间杂交也获得了全糯质小麦。Yasun^[5] 等用 EMS 诱变处理小麦品种关东 107, 获得了 2 个全糯质突变体。但到目前为止, 还未有一个商业化糯质小麦品种问世。

六倍体糯质小麦的遗传是由三对隐性基因控制的, 只有三个基因位点全是隐性时, 才表现为全糯质。常规育种方法获得糯性小麦周期长, 效率低, 用玉米诱导小麦单倍体和花药培养技术可以大大提高育种效率。由于玉米诱导小麦单倍体技术实用、后代纯化快而得以迅速应用^[4, 6]。本研究以不同 W_x 蛋白缺失类型冬小麦品种为糯质目的基因供体, 与我省不同遗传背景的主栽品种进行杂交, 可填补我省面条麦育种空白和拓宽我国面条小麦基因库。利用生化标记和选择性回交及子粒胚乳染色标记辅助选择等手段进行 W_x 糯质目的基因定向导入与跟踪, 并结合花培和小麦与玉米杂交诱导单倍体等先进生物技术创造面条小麦新种质, 建立我国面条麦高效育种技术新体系。

1 材料与方 法

1.1 供试材料

W_x 蛋白缺失类型小麦供体为荷兰小麦(-A)、haitog(-B)、江苏白火麦(-D)和关东 107(-A-B)。

受体为龙麦 26、龙麦 19、龙麦 20、龙 94 - 4081、龙辐 10 号、新克旱 9 号、克丰 3 号和几份黑小麦材料。

1.2 试验方法

1.2.1 利用组培及小麦×玉米杂交产生单倍体的方法 在小麦开花前两天人工去雄、套袋隔离, 开花当天收集新鲜的玉米花粉给小麦授粉, 用注射器在穗基部距第一节上方大约 15 cm 处注射 100 mg/kg

的 2, 4 - D, 40 min 后向颖壳中滴注 100 mg/kg 的 2, 4 - D, 套袋保湿。杂交穗授粉 14 ~ 16 d 后, 将颖果从麦穗上剥下, 先经 70% 乙醇处理 30s, 然后用 0.1% 的升汞灭菌 15 min, 无菌水冲洗 3 次, 在超净工作台上将幼胚接种到 1/2MS 培养基上培养。当幼苗长到 10 cm 时移入装有草炭土的小盆。待幼苗长至 3 个叶片时, 用秋水碱进行加倍。

1.2.2 $Waxy$ 蛋白的电泳检测方法 将一粒种子用钳子夹碎, 放入 1.5 mL 的离心管中, 加入 1 mL 蒸馏水浸泡过夜; 用牙签将种皮和大部分贮藏蛋白挑出, 13 000 rpm 条件下离心 4 min, 弃上清; 加 1 mL 漂洗液, 在旋涡混匀器上充分搅拌, 13 000 rpm 条件下离心 4 min, 弃上清, 重复 3 ~ 4 次; 加 1 mL 蒸馏水, 在旋涡混匀器上充分搅拌, 13 000 rpm 条件下离心 4 min, 弃上清, 重复 1 ~ 2 次; 加 1 mL 丙酮, 在旋涡混匀器上充分搅拌, 13 000 rpm 条件下离心 4 min, 弃上清, 沉淀物在空气中干燥, 于 4℃ 保存。同时点上蛋白质 Marker; 电泳先用电压 130 v / 板电泳, 待指示剂进入分离胶, 电压调至 180 ~ 220 v / 板电泳 16 ~ 18 h, 卸胶染色, 银染^[7~9]。

2 结果与分析

2.1 杂交组合配制

2002 年糯性小麦亲本子粒较少, 以糯性小麦为母本, 用我省不同遗传背景的主栽品种为父本配制杂交组合。2003 年以我省小麦为母本, 以糯性小麦为父本配制杂交组合。2 年共配制杂交组合 68 个。

2.2 品系的获得

所获得的杂交种子种植于田间, 结合组培和小麦/玉米杂交诱导单倍体等生物技术, 获得糯性小麦纯合品系。2003 年获得组培品系 68 个, 利用小麦/玉米杂交诱导单倍体技术共获得 28 株单倍体苗, 13 个稳定株系。2004 年共获得 122 个单倍体苗和 62 个花培单株, 现已获得纯系 36 个。

3 糯性小麦的生化标记辅助选择体系

3.1 子粒剖面和花粉染色

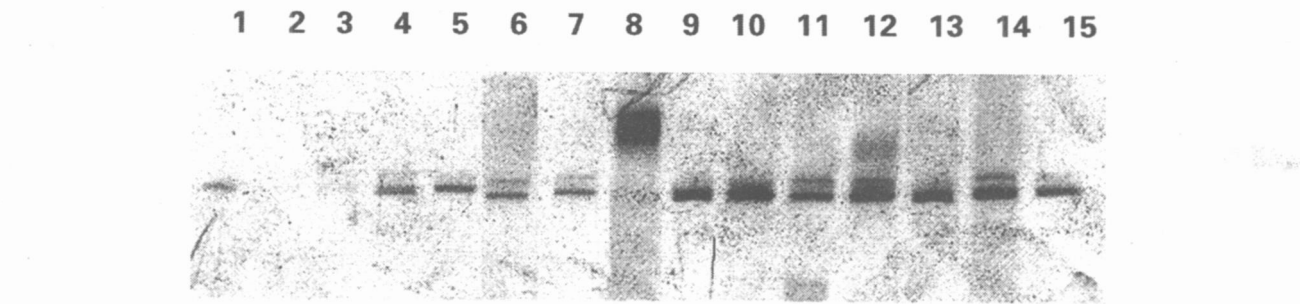
由于缺失单个 W_x 基因的小麦材料直链淀粉含量差异不明显, 采用子粒剖面和花粉染色的方法, 选择效果不理想, 所以该方法主要是用于(关东 107/江苏白火麦)杂交组合中糯性小麦子粒的筛选上。共筛选纯糯性子粒 8 粒, 现种植于温室中。

3.2 糯性小麦种质的生化标记

对所获得的稳定小麦株系进行 W_x 蛋白单向 SDS - PAGE 聚丙烯酰胺凝胶电泳分析, 在 117 份

材料中共筛选出各种 W_x 蛋白缺失类型小麦株系 64 份(见图), W_x 蛋白缺失类型小麦品系占 52%, 二者比例约为 1 : 1; 在以荷兰小麦、江苏白火麦、 Haitog 为母本与龙麦 26、龙辐麦 10 号、新克旱 9 号

配制的杂交组合 F₂ 单株中, 经过 W_x 蛋白单向 SDS - PAGE 聚丙烯酰胺凝胶电泳分析, 56 个单株中有 16 个单株是 W_x 蛋白缺失类型的, 接近 1/4 的比例, 表明 W_{axy} 蛋白的遗传符合孟德尔分离规律。



1. Kanto107(缺失 W_x - A1 和 W_x - B1); 2. 04 - 1340(全糯性); 3. 1365 - 1(全糯性); 4. 04 - 7277 - 1; 5. 03W9(缺失 W_x - B1); 6. 03 - W23(缺失 W_x - D1); 7. 龙麦 26(缺失 W_x - B1); 8. 低分子量蛋白 Marker; 9. 03W8(缺失 W_x - A1); 10. 龙麦 30; 11. 04 - W6 - 2(缺失 W_x - B1); 12. 03W36; 13. 04 - 7275 - 1(缺失 W_x - A1); 14. 04 - 7271 - 2; 15. 03W1 - 1(缺失 W_x - A1 和 W_x - B1)

图 部分小麦品系 Waxy 蛋白亚基的生化标记

4 讨论

4.1 利用单倍体加倍技术在一个世代就可得到纯合重组体, 这对于缩短育种年限, 加快育种进程, 提高选择效率以及遗传研究均具有重要作用。本研究在杂种 F₁ 代结合组培和小麦/玉米杂交诱导单倍体等生物技术, 获得了糯性小麦株系。

4.2 对所获得的稳定小麦株系进行即 W_x 蛋白单向 SDS - PAGE 聚丙烯酰胺凝胶电泳分析, 在 117 份材料中共筛选出各种 W_x 蛋白缺失类型小麦株系 64 份, W_x 蛋白缺失类型小麦品系占 52%, 二者比例约为 1:1; 在以荷兰小麦、江苏白火麦、Haitog 为母本与龙麦 26、龙辐麦 10 号、新克旱 9 号配制的杂交组合 F₂ 单株中, 经过 W_x 蛋白单向 SDS - PAGE 聚丙烯酰胺凝胶电泳分析, 56 个单株中有 16 个单株是 W_x 蛋白缺失类型的, 接近 1/4 的比例, 表明 W_{axy} 蛋白的遗传符合孟德尔分离规律。这对杂种后代的选择具有重要指导意义。

4.3 采用子粒剖面和花粉染色的方法应用于(关东 107/江苏白火麦) 杂交组合中全糯性小麦材料的筛选上, 选择效果较为理想。说明对缺失 2 个以上的 W_{axy} 基因材料的选择, 染色法较为适用。

参考文献:

[1] Nakamura T, Yamamori M, Hirano H, et al.. Decrease of waxy protein in two common wheat cultivars with low amylose content[J]. Plant Breeding, 1993, 111: 99-105.

[2] Hoshino T, Ito S, Hatta K, et al. Development of waxy common wheat by haploid breeding[J]. Breeding Science, 1996, 46: 185-188.

[3] Zhao XC, Sharp PJ. Production of all eight genotypes of null alleles at “waxy” loci in bread wheat[J]. Plant Breeding, 1998, 117: 488-490.

[4] 陈新民. 糯小麦(Waxy Wheat)研究进展[J]. 麦类作物学报, 2000, 20(3): 82-85.

[5] Yasui T, T Sasaki, J Matsuki, et al.. Waxy endosperm mutants of bread wheat (Triticum aestivum L.) and their starch properties[J]. Breeding Science, 1997, 47: 161-163.

[6] 王子宁, 张艳敏, 郭北海, 等. 利用单倍体育种技术快速培育糯性小麦新品系[J]. 华北农学报, 2001, 16(1): 1-6.

[7] 姚大年, 王新望, 刘志勇, 等. 小麦品种 Waxy 蛋白的鉴定和筛选[J]. 农业生物技术学报, 1999, 7(1): 1-9.

[8] 梁荣奇, 张义荣, 姚大年, 等. 小麦淀粉品质改良的综合标记辅助选择体系的建立[J]. 中国农业科学, 2002, 35(3): 245-249.

[9] 王子宁, 郭北海, 李洪杰, 等. 多倍体麦类作物 Wx 蛋白检测的 SDS - PA 方法[J]. 遗传, 2000, 22(3): 169-171.