

小麦花培品质育种各世代品质参数分析

张立平, 苏青, 刘建平, 单福华, 赵昌平

(北京市农林科学院北京杂交小麦工程技术研究中心, 北京 100097)

摘要:通过对冬小麦花培 1 代至花培 5 代的品质测试, 研究了花培品质育种的品质测试的世代程序和有效性。结果表明, 品质性状在花培早代已趋于稳定, 高分子量谷蛋白亚基组成从 H_1 起就稳定遗传, 115 对 H_1 与 H_2 材料和 62 对 H_2 与 H_3 材料的籽粒蛋白质含量、硬度和沉降值具有高度相关性, 且籽粒蛋白质含量和 SDS 沉降值 H_2 与 H_3 世代间差异不显著。对中选的京单 00-594 的 H_4 和 H_5 世代进一步品质测定结果表明, 通过花培早代选出的优质材料是可靠的, 其优质性状能稳定遗传。研究提出了花培品质育种各世代品质测试的程序, 证明了花药培养结合早代品质测试, 是一条快速、有效的小麦品质育种途径。

关键词: 冬小麦; 花药培养; 品质测试

中图分类号: S512.1; S336 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2007)06-0069-04

Analysis of Quality Characteristics of Wheat Double Haploid Lines Generated Via Anther Culture

ZHANG Li-ping, SU Qing, LIU Jian-ping, SHAN Fu-hua, ZHAO Chang-ping

(Beijing Research Center for Hybrid Wheat, Beijing Academy of Agriculture and Forestry
Sciences, Beijing 100097, China)

Abstract: In this paper, we systematically tested the quality characteristics of wheat double haploid (DH) lines from the first generation (H_1) to H_5 , with the aim to breed elite winter wheat lines with superior grain quality trait. We found that the composition of high molecular weight glutenin subunits did not change from H_1 to H_5 . By contrast, seed protein content varied significantly between H_1 to H_2 . Additional analysis revealed the existence of high correlation between the test results of H_2 and H_3 generations with respect to seed protein content, grain hardness and SDS sedimentation volume of dough. Through early tests of quality characteristics, a DH line (Jingdan 00-594) showing superior grain quality trait was developed. Its grain and dough properties became stable in as early as H_4 and H_5 generations. Based on our data, an effective protocol for the early and efficient selection of the DH lines with elite grain quality trait is proposed and discussed.

Key words: Winter wheat; Anther culture; Quality test

高产优质是我国小麦育种及生产的长期目标。建国后, 我国小麦经过 5 次品种的更新换代, 为我国小麦生产和粮食安全作出了巨大贡献, 但在产量水平提高的同时, 小麦品质性状并没有得到很好的改良, 无法满足我国人民生活水平提高后对小麦品质的需求, 因此小麦品质快速改良迫在眉睫。

20 世纪 70 年代后期, 人们将细胞工程技术应用于农作物育种实践, 并逐步形成了包含多种新型育种方法在内的植物细胞工程育种技术体系, 其中

加倍单倍体以花药培养技术为主, 在小麦育种中成效最为显著^[1]。我国学者从 20 世纪 70 年代利用该技术首次获得小麦花粉植株以来, 迄今已取得了巨大的成就^[2, 3]。1984 年北京市植物细胞工程实验室育成的“京花 1 号”是世界上第一个大面积种植的冬小麦花培品种, 是小麦育种技术上的一次重大突破, 使我国在这一领域的研究和应用跃居国际领先水平^[4]。在此基础上, 我国育成及大面积应用的花培小麦品种近 20 个, 花培品种推广种植已达几千万

收稿日期: 2007-05-09

基金项目: 北京市自然科学基金项目(5041001); 北京市农业育种基础研究创新平台项目(YZPT01); 北京市农林科学院青年科研基金项目; 国家科技支撑计划(2006BAD01A02)

作者简介: 张立平(1969-), 女, 山西大同人, 博士, 副研究员, 主要从事小麦品质和雄性不育遗传研究

通讯作者: 刘建平(1950-), 男, 上海人, 研究员, 主要从事小麦花药培养育种研究。

亩,对小麦生产的发展起了积极的促进作用。花培育种已成为生物技术在农作物育种中应用最广泛、最有效的方法之一,与常规育种技术的有效集成在作物遗传改良上具有巨大的应用潜力^[5,6]。

小麦品质性状的遗传大多属于多基因控制^[7],在常规育种过程中,品质性状要比质量性状(如抗病性等)的改良需要更长的年限。而且由于杂交早代种子量小和杂合程度高,使得一些品质测试(如面团质量)在杂交早代无法进行,一般要在 F₅ 后才能测定。一些微量测试项目(如蛋白含量、SDS 沉降值等)也需在杂交早代年年选择,追踪测试。国内外对小麦加工品质的早代选择和遗传已进行了研究^[8-12],认为沉降值等面筋强度的遗传力较高,早代选择有效^[13,14],蛋白质含量的早代选择效果则较差^[15],硬度的遗传力较高,早代选择有效^[16]。尽管花培育种具有快速有效、选择难度小等优点,但是关于花培小麦早代品质的研究并进行品质育种的报道极少。

籽粒硬度、蛋白质含量和面筋质量是小麦品质分类的基本指标,本研究采用花药培养和品质早代测试相结合,对花培各世代的籽粒硬度、蛋白质含量、SDS 沉降值等进行了分析,建立花培后代品质测试的程序。

1 材料和方法

1.1 试验材料

适宜北部冬麦区杂交育种的冬小麦亲本和它们的 F₁、以及它们的花培后代从 H₁ 到 H₅,H₁ 和 H₂ 是 115 个样品(来自 62 个组合),H₃ 是 62 个样品(来自 54 个组合),H₄ 和 H₅ 为京单 00-594。

1.2 试验方法

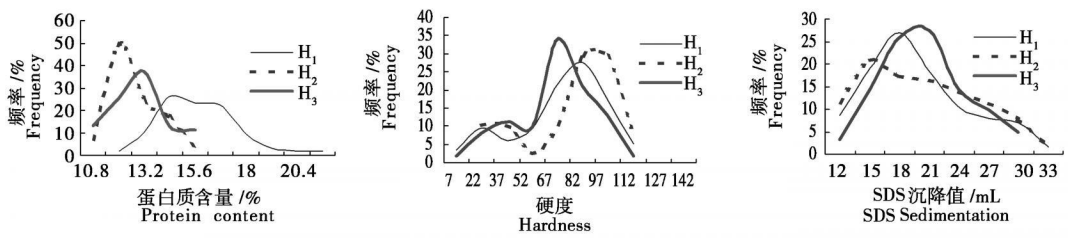


图 1 蛋白质含量、硬度、沉降值在 H₁ - H₃ 群体样品的分布

Fig. 1 The frequency distribution of protein content, harness, SDS sedimentation value in H₁, H₂ and H₃ populations

H₁ - H₃ 的品质测试结果和世代间的相关分析见表 1。结果表明,籽粒蛋白质含量的 H₁ 的平均值与 H₂ 和 H₃ 有较大的差异,其他参数在各世代的平均数比较接近。蛋白质含量在 H₁ 的变幅明显比 H₂ 和 H₃ 偏大,变异系数偏高。籽粒蛋白质含量、硬度和 SDS 沉降值在 H₁ 和 H₂ 及 H₂ 和 H₃ 均极显著正相关,相关系数分别达到 0.34, 0.87, 0.83 和 0.49, 0.85 和 0.90,其中蛋白质含量比其他 2 个性状世代间的

1.2.1 花培方法 对杂交 F₁ 花培采用三步法。去分化阶段使用 W14 培养基, 30℃ 暗培养。分化阶段使用大量元素减半 MS 培养基, 26℃ 光培养。壮苗阶段使用添加多效唑 MS 培养基, 26℃ 光培养。4℃ 冷库越冬, 移栽成活后染色体自然加倍。

1.2.2 测试方法 用美国产的近红外仪(型号 Dickey-john®, Instalab 600)测定籽粒蛋白质含量、硬度;按 AACCI 和国际法测定湿面筋含量、SDS 沉降值(2 g 面粉)、Zeleny 沉降值、粉质仪吸水率、形成时间、稳定时间、评价值、RVA 仪的淀粉高峰黏度,高分子量谷蛋白亚基的测定采用 SDS-PAGE 法。所有测试重复 2 次,所有数据均为二次重复的平均值。

1.2.3 统计与分析 用 SAS(Statistical Analysis System)统计软件计算平均数、变幅、标准差、变异系数,并进行相关分析和方差分析。

2 结果和分析

2.1 花培 1 代、2 代和 3 代的品质测定、相关和差异显著性分析

由于花培 1 代(H₁)种子量少,大多数研究单位不做品质测定。本研究对种子量较多的 H₁ 进行了品质分析,测试项目包括:高分子量谷蛋白亚基、籽粒蛋白质含量、硬度和 SDS 沉降值。高分子量谷蛋白亚基检测结果表明, H₁ 与花培 2 代(H₂) 完全相同,即麦谷蛋白亚基组成不会随环境和世代变化而变化(资料略),是稳定遗传的。H₁, H₂ 和花培 3 代(H₃) 的蛋白含量、硬度和 SDS 沉降值的频率分布见图 1。可以看出,除了籽粒蛋白质在 H₁ 的分布与 H₂ 和 H₃ 的数值存在较大差异外,硬度和 SDS 沉降值的数值分布在 3 个世代中差异不大。

相关系数明显偏低。方差分析表明(表 2 和表 3),硬度在 3 个世代间差异均极显著,蛋白质含量在 H₁, H₂ 间差异极显著,SDS 沉降值在 3 个世代间均无显著差异。硬度在世代间的相关性很高,但方差显著,说明硬度受环境的影响较大,SDS 沉降值受环境的影响较小,遗传稳定性很高,适于花培早代选择。

表 1 H₁, H₂ 和 H₃ 品质性状的表现

Tab. 1 Analysis of quality characteristics and correlation coefficients of H₁, H₂ and H₃

参数 Parameter	世代 Generation	样品数 Number of samples	平均数 Mean	标准差 Sd	变幅 Range	变异系数 CV/ %	相关系数 Correlation coefficient
蛋白质含量 Protein content	H ₁	115	15. 74	1. 86	11. 8~ 21. 8	11. 8	0. 34 ^{**} _(H₁- H₂)
	H ₂	115	12. 65	0. 92	10. 4~ 15. 1	7. 3	0. 49 ^{**} _(H₂- H₃)
	H ₃	62	13. 06	0. 91	10. 8~ 15. 6	7. 0	
硬度 Hardness	H ₁	115	70. 06	26. 60	9. 1~ 115. 1	38. 0	0. 87 ^{**} _(H₁- H₂)
	H ₂	115	76. 38	26. 80	19. 7~ 140. 0	35. 1	0. 85 ^{**} _(H₂- H₃)
	H ₃	62	65. 82	23. 97	12. 0~ 117. 1	36. 4	
SDS 沉降值 SDS sedimentation value	H ₁	115	19. 73	5. 14	11. 4~ 32. 4	26. 0	0. 83 ^{**} _(H₁- H₂)
	H ₂	115	20. 03	4. 86	11. 2~ 31. 3	24. 3	0. 90 ^{**} _(H₂- H₃)
	H ₃	62	20. 41	4. 24	11. 4~ 30. 8	20. 8	

注: * . P≤0. 05 水平的显著性, ** . P≤0. 01 水平的显著性, 表 2, 表 3 同
Note: * and** are significant at 5% and 1% probability levels respectively, the same as tab. 2, 3

表 2 H₁ 与 H₂ 的方差分析表

Tab. 2 Variance analysis between H₁ and H₂

参数 Parameter	变异来源 Source	自由度 <i>df</i>	均方 <i>ms</i>	F 值 F Value	P
蛋白质含量 Protein content	世代	1	550. 10	349. 18 ^{**}	0. 000 1
	基因型	114	2. 72	1. 73 ^{**}	0. 001 9
硬度 Hardness	世代	1	2 230. 80	23. 08 ^{**}	0. 000 1
	基因型	114	1 328. 79	13. 75 ^{**}	0. 000 1
SDS 沉降值 SDS sedimentation value	世代	1	4. 82	1. 18	0. 280 0
	基因型	114	46. 18	11. 29 ^{**}	0. 000 1

表 3 H₂ 与 H₃ 的方差分析表

Tab. 3 Variance analysis b etween H₂ and H₃

参数 Parameter	变异来源 Source	自由度 <i>df</i>	均方 <i>ms</i>	F 值 F Value	P
蛋白质含量 Protein content	世代	1	1. 72	2. 80	0. 099 7
	基因型	61	1. 71	2. 78 ^{**}	0. 001 9
硬度 Hardness	世代	1	3 970. 83	41. 50 ^{**}	0. 000 1
	基因型	61	1 131. 07	11. 82 ^{**}	0. 000 1
SDS 沉降值 SDS sedimentation value	世代	1	2. 97	1. 56	0. 217 1
	基因型	61	34. 93	18. 28 ^{**}	0. 000 1

H₂ 是小麦花培育种农艺性状选择的关键世代,也是品质性状测定的重要世代。H₂ 要进行籽粒蛋白质含量、硬度和 SDS 沉降值的测定。如果 H₁ 未测高分子量谷蛋白亚基组成, H₂ 要补测。由于 H₂ 要提供较多种子参加下年度产量鉴定试验, 需种量较大的一些测定尚不能进行。对 62 个材料 H₂ 和 H₃ (54 个组合) 进行的相关分析和方差分析结果表明(表 1), 上述 3 个品质性状在两世代间表现高度相关, 籽粒蛋白质含量和沉降值世代间差异不显著, 表明 H₂ 代测定的品质性状已稳定遗传了。

2.2 花培 3 代和花培 4 代的品质比较

H₃ 在田间进行产量鉴定试验, 由于 H₃ 有足够的种子, 可测定容重、湿面筋含量、Zeleny 沉降值、粉质仪面团流变学特性、拉伸仪面团延展性、RVA 淀粉峰值黏度等指标。H₄ 在田间参加品种产量比较试验, 品质测定重复 H₃ 的测定项目, 有条件的可进

行食品加工测定。以京单 00-594 为例(表 4), H₃ 和 H₄ 大多数品质性状在世代间是稳定的。

表 4 京单 00-594 在 H₃ 和 H₄ 品质测试结果

Tab. 4 Quality parameters of Jingdan 00-594 in H₃ and H₄

年份 Year	H ₃	H ₄
水分/ % Moisture content	11. 6	11. 2
蛋白/ % Protein content	15. 0	14. 7
灰分/ % Ash	1. 28	1. 26
硬度 Hardness	66. 4	72. 2
湿面筋/ % Wet gluten content	32. 2	32. 5
SDS 沉降值/ mL SDS sedimentation value	21. 3	22. 2
Zeleny 沉降值/ mL Zeleny sedimentation value	32. 1	30. 9
面团形成时间/ min Development time	10. 5	11
面团稳定时间/ min Stability time	17. 3	14. 5
峰值黏度/ RVU Peak viscosity	199. 8	221. 2
容重/ (g/ L) Unit weight	828	807

2.3 花培 5 代的品质测定

H₅ 时, 田间试验已进入区域试验阶段。我们选

出的京单 00-594 参加了国家区试和北京市区试,并由农业部谷物品质检验测试中心做品质的全套测定和相关食品加工,测试结果见表 5。品质测试的大部分指标与本单位 H₃ 和 H₄ 测定的结果吻合,表明花培早代的品质性状就已经稳定遗传,根据早代测试结果选择优质品种是有效可靠的。

表 5 京单 00-594 在 H₅ 的品质测试结果

Tab.5 Quality Parameters of Jingdan 00-594 in H ₅		
品质参数	Quality Parameter	数值 Value
蛋白/ %	Protein content	17.34
湿面筋/ %	Wet gluten content	34.2
Zeleny 沉降值/ mL	Zeleny sedimentation value	39.7
吸水率/ %	Water absorption	58.6
面团形成时间/ min	Development time	11.4
面团稳定时间/ min	Stability time	16.6
拉伸面积/ cm ²	Extension area	102
延伸性/ mm	Extensibility	136
最大抗延阻力	Resistance (EU)	586
面包体积/ mL	Volume	765
面包评分	Score	76.2
容重/ (g/L)	Unit weight	795

3 讨论

本研究中,籽粒蛋白质含量虽然在 H₁-H₃ 3 个世代中极显著正相关,但 H₁ 与其他两世代间的数值范围差异显著。主要原因是 H₁ 的种植环境与 H₂ 有很大不同。H₁ 是移栽成活的,在肥水栽培管理方面明显不同于 H₂,栽培方式的不同导致了品质性状的变化。因此说明,蛋白质含量在 H₁ 遗传稳定较小。总体上,品质性状在花培早代的遗传稳定性 SDS 沉降值> 硬度> 籽粒蛋白质含量。

到目前为止,绝大多数优质小麦品种都是经过杂交选育的常规方法育成的。对常规小麦品质育种早代品质测试已有现成的方法和程序^[17]。由于杂交早代分离,从 F₂-F₄ 一般仅测定籽粒蛋白质含量、硬度和沉降值,且每代都需追踪选择。而对更多品质性状的测试,要在 F₅ 以后进行。对面团粉质仪测定、拉伸仪测定和食品加工都要在 F_{6,7} 后进行。因此常规小麦品质育种虽然有效,但存在耗时长、工作量大且繁杂的不足。

本研究建立了花培后代品质测试的程序,并快速育成了优质高产冬小麦花培新品系京单 00-594(已完成国家区试,正在报审),证明了花药培养结合早代品质测试,是一条快速、有效的小麦品质育种途径。前人在花培早代通常只是进行田间表型鉴定和筛选, H₃ 以后或在品种产量鉴定时才进行品质的检测。本研究在 H₁-H₅ 的品质分析表明,花培后代的早代品

质检测结果可靠,在世代的传递过程中稳定遗传。H₂ 可进行常规 F₅ 的测定项目, H₃ 就可进行常规测产阶段(F₇) 的测试项目,因此提出花培品质育种各世代品质测试的程序: H₁ 只测定高分子量谷蛋白亚基组成, H₂ 测定蛋白含量、硬度和沉降值, H₃ 如种子量足够,就可进行粉质仪、拉伸仪等测定。 H₄ 重复 1 次测定,并可开展烘烤和蒸煮试验。 H₅ 参加区试,由国家品质检测中心作全面测试。这样,育成一个优质品系的年限可比常规品质育种缩短 3~4 个世代,体现出花培品质育种的快速、简便和可靠的优势。

参考文献:

[1] 刘录祥,郑企成.农作物细胞工程育种:现状与未来[M] // 陆维忠,郑企成.植物细胞工程与分子育种技术研究.北京:中国农业出版社,2003:14-19.

[2] 宋振能.我国花药培养和单倍体育种的成就[J].中国科学院院刊,1988(3):268-270.

[3] 郑企成,白新盛,刘录祥.浅谈我国农作物细胞工程育种[J].农业生物技术学报,2000,8(增刊):74-77.

[4] 胡道芬,袁振东,汤云莲,等.植物细胞工程-冬小麦花培新品种京花 1 号的育成[J].中国科学(B 辑),1986,16(3):283-292.

[5] 刘鸿艳,郑成木.花药培养育种研究进展[J].热带农业科学,2001,1(89):61-64.

[6] 隋新霞,樊庆琦,李根英,等.小麦花药培养研究进展[J].麦类作物学报,2005,25(4):127-131.

[7] 刘广田,李保云.小麦品质遗传改良的目标和方法[M].北京:中国农业大学出版社,2003:163-164.

[8] Konzak C F. Genetic control of the content, amino acid composition, and processing properties of proteins in wheat[J]. Adv Genet, 1977, 19: 407-582.

[9] Pearsen D C, Rosielle A A, Boyd W J R. Heritabilities of five wheat quality traits for early generation selection[J]. Aus J Exp Agric Anim Husbandry, 1981, 21: 512-515.

[10] Nyquist W E. Estimation of heritability and predication of selection response in plant populations[J]. Critical Rev Plant Sci, 1991, 10: 235-322.

[11] 唐朝辉,刘广田.普通小麦品质性状早代选择的效果[J].华北农学报,1998,13(1):40-45.

[12] 唐朝辉,董民堂,梁晋兰,等.普通小麦 F₁ 子粒品质性状遗传研究[J].华北农学报,1997,12(专刊):29-32.

[13] O' Brien L, Ronalds J A. Heritabilities of small-scale and standard measures of wheat quality for early generation selection[J]. Aust J Agric Res, 1987, 38: 801-808.

[14] 张勇,张立平,阎俊,等.普通小麦面筋强度早代选择研究[J].作物学报,2006,32(11):1663-1670.

[15] O' Brien L, Ronalds J A. The effect on yield distribution of early generation selection for quality[J]. Aust J Agric Res, 1986, 37: 211-218.

[16] 周艳华,何中虎,阎俊,等.中国小麦硬度分布及遗传分析[J].中国农业科学,2002,35(10):1177-1185.

[17] 林作楫.食品加工与小麦品质改良[M].北京:中国农业出版社,1993:394-397.