

蜡质小麦研究进展及其育种途径分析

王子宁¹, 郭北海¹, 张艳敏¹, 温之雨¹, 樊爱革²

(1 河北省农林科学院粮油作物研究所, 河北 石家庄 050031; 2 河北省城乡建设学校, 河北 石家庄 050031)

摘要: 围绕影响小麦品质的蜡质基因, 展开分析了国内外小麦蜡质基因突变体筛选、蜡质基因对淀粉合成的影响、电泳检测技术的发展、蜡质基因的分子遗传研究和蜡质小麦的培育等方面的研究近况, 并对培育蜡质小麦的物理诱变、化学诱变、常规育种、单倍体育种、反义基因转移等 5 种途径的 7 种方法进行了逐一分析和列表类比。

关键词: 蜡质小麦; 育种; 途径

中图分类号: S512.103 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2001)02-0053-05

越来越多的研究表明, 小麦子粒中蛋白质构成影响小麦的烘烤品质, 而占子粒中 65% ~ 70% 的淀粉的品质影响小麦的食用品质和加工品质^[1], 这对面条尤为重要。要求我们在进行小麦品质育种时, 既要考虑小麦的烘烤品质, 这些方面过去已经有过许多研究, 又要考虑淀粉对品质的影响, 包括淀粉含量、淀粉类型、淀粉构成以及影响和控制这些因素的遗传机理^[1, 2], 从遗传上和分子遗传上而非简单的化学分析上解决问题, 以便于针对性很强地培育新品种, 为农业生产服务。

蜡质基因(Wx gene)影响小麦淀粉的性质及品质, 从而影响小麦的各种品质, 这一观点已被大家普遍接受, 但进行材料研究是基础。培育新品种需要有亲本材料为基础, 这些材料的蜡质基因构成要清楚。国外英国、日本、澳大利亚等国开展蜡质小麦分子遗传、品种资源研究、材料创新的淀粉遗传研究比国内早, 也获得了重要的研究结果。我国虽起步较晚, 但由于我国小麦资源的遗传多样性和地理起源的特殊性, 使我们不难从中筛选到所需的蜡质基因材料和可能的新基因^[3-5]。为我们进行蜡质小麦研究和育种打下了较坚实的基础。

1 国内外研究现状

1.1 材料筛选

日本开展此项工作最早, Nacamura 等^[6-8]从日本和中国等地的材料中, 筛选到了缺失 2 个基因(7A 和 4A 控制)的“关东 107”和缺失一个基因(7D 控制)的“白火麦”和其他一些品种。并用上述 2 个品种培育出了六倍体糯性小麦。Yamamuri 利用四倍体的二粒小麦、野生二粒和硬粒小麦, 筛选到了 Wx-A1(a, b, d, e)和 Wx-B1(a, d)多态性基因。Kiribuchi 用低直链淀粉含量的 Saikai 168 和 Tanikei A6099 杂交, 用玉米花粉诱导 F₁ 产生单倍体, 从双单倍体后代中筛选到了缺失蜡质基因的六倍体蜡质小麦。其原理并未搞清楚, 因为 2 个亲

本均具有 W_x-7D 基因, 而后代中却没有。

澳大利亚 Zhao X C 从当地小麦中筛选到 Gabo 等 18 份缺失 W_x-B1 基因的材料, 未找到其他基因缺失材料, 并开始了蜡质小麦的杂交选育。美国 and 加拿大对美、加一些小麦栽培种和资源进行了蜡质基因突变体的筛选, 证明多数当地小麦不缺失蜡质基因, 只有“Prelude”和“Reward”缺失 W_x-B1 基因, 其可能的用途是改良当地的春小麦品质。

我国开展淀粉品质的研究并不晚, 但小麦蜡质基因的筛选只是最近几年的工作。中国农业大学刘广田教授 1997 年立题进行小麦蜡质基因与品质关系的研究, 并从中国地方品种“白火麦”中筛选 W_x-D1 缺失基因; 我们也进行了一些筛选工作, 从河北小麦地方品种和育成种中筛选和征集到蜡质基因缺失材料 20 份, 其中包括 W_x-D1 基因缺失材料, W_x-A1 和 $B1$ 缺失材料, W_x-A1 缺失, W_x-B1 多态性基因材料, 还有 2 份材料带有长穗偃麦草的蜡质基因^[2,3], 并开始了杂交育种工作, 为全面开展蜡质基因研究及材料创新打下了坚实的材料基础。我们将在工作中建立一套包括基因材料搜集、筛选、淀粉分析、遗传研究、杂交选育等 5 个环节构成的工作体系, 以我们所熟悉的电泳筛选技术、分子遗传研究技术、单倍体育种技术(包括玉米诱导小麦单倍体和花药培养技术)等作为保障, 以保障每年都要出一批新材料。使所育成的蜡质小麦是真正适合我国农业生产的优良品种。

1.2 淀粉及品质方面的研究

小麦蜡质基因 W_x-B1 为隐性时, 会导致低含量淀粉合成酶, 直链淀粉含量降低。改变了淀粉构成和面粉品质, 尤其是面条的加工品质和食用品质, 面团延展性增强, 支链淀粉含量高的品种更适合于制作面条。淀粉构成和成分间比例的变化, 影响面条的延展性。直/支链淀粉比例失调, 导致面条品质差, 韧性差, 发粘; 淀粉的理化特性(糊化特性、粘度特性等)、淀粉的遗传都与品质有关^[9]; 所以小麦品质育种, 在进行小麦蛋白质改良的同时, 对淀粉品质进行改良。Zhao X C 曾研究了 4A 缺失(null)材料面粉膨胀体积(flour swelling volume(FSV))与白面条品质的关系, 4A 缺失材料具有高的面粉膨胀体积, 适合于制作白面条; 其原因不仅是直链淀粉降低, 而且结构发生了变化。Denyer^[10]研究过子粒充实期蜡质蛋白累积规律; 国际上有关基因与淀粉关系的专门研究还未见更多报道; 目前我国小麦淀粉品质的研究多数还只停留在化学分析及生化水平上, 淀粉、品质及蜡质基因的相互关系及遗传研究更少。所以应把 W_x 基因和淀粉的遗传研究作为品质遗传研究的重点之一。最近我们选取了 30 份优质烘烤小麦, 对其蜡质蛋白缺失情况进行了分析, 发现其中约 1/3 的品种缺失 W_x-A1 , 这一结果确实说明了蜡质基因和品质有一定的相关性。

1.3 电泳技术的发展

Nacamura 用双向电泳技术将小麦 3 个蜡质蛋白分开, 但该方法的缺点是花钱多、费时间、不能一次跑多个样品。Zhao X C 经过改良和发展, 用单向 SDS-PAGE 技术将小麦 3 个蜡质蛋白分开, 分辨率较高, 其主要特点是可以在较短时间内, 快速、准确地、大量地筛选 W_x 基因缺失材料; 王子宁曾于 1994 年专门在澳大利亚学习 W_x 蛋白的 SDS-PAGE 技术及分子生物学技术, 改进了蛋白提取方法, 优化了电泳系统^[11], 能用 SDS-PAGE 技术准确快速地进行 W_x 蛋白多态性分析, 此方法已完全可以取代花钱多、费时间、效率低的双向电泳, 并已经在材料筛选和育种中应用, 其主要特点是可以将小麦的 3 个亚基及 1 个外源蛋白亚基清楚地分开, 此方法已在中国农业大学、河北师范大学等单位应用, 效果良好。

1.4 分子遗传研究

Chao Z Y 最早应用 RFLP 技术把 W_x 基因定位在小麦 4A、7A 和 7D 染色体上, Nakamura 进行了小麦缺体的蜡质蛋白研究。Ainsworth^[12] 等人搞出了小麦、大麦、玉米、水稻、番茄和豌豆 W_x 蛋白的全长 cDNA 克隆, 可以看出小麦与大麦和水稻的同源性最强。成熟的小麦蜡质蛋白分子量为 60 kDa, 具有 615 个氨基酸, 蛋白前体还包括一个 7kDa 的转录肽, 有 75 个氨基酸。与其他作物不同的是小麦 N 端有一个 11 个氨基酸的插入序列。日本最近发表了小麦 3 个蜡质基因的 DNA 序列, Nakamura 用气相测序仪测定了小麦 3 个 W_x 蛋白亚基及其他几种作物蜡质蛋白 N 端序列, W_x -B1 的 N 端第 5 个氨基酸与其他 2 个蛋白亚基不同; W_x -B1 与 W_x -D1 具有相同的分子量, 但等电点不同, 普通的电泳技术难以将它们二者分开, 这就是为什么 W_x 蛋白的 SDS-PAGE 较难掌握的根本原因。Zhao X C 正在进行 W_x 基因的标记工作。现河北师范大学正在进行反义基因的转移、表达及调控研究。这些为进一步揭示其分子遗传规律增添了新内容。

2 蜡质小麦育种

Nakamura 利用关东 107 和白火麦杂交, 采用 I_2 -KI 染色方法从 F_2 中筛选出糯性突变体, 这些突变体表现为蜡质蛋白和直链淀粉的降低。这也是对小麦淀粉进行修饰的第 1 个例子。Yasui 用 0.5% 的甲基磺酸乙酯(EMS) 处理关东 107 的种子 4 h, 最终从 M_4 种子中筛选出 2 个突变系, 其直链淀粉含量为 0.9%, 不含蜡质蛋白, 除了抽穗期和千粒重之外, 其他农艺性状和亲本关东 107 相似。说明 EMS 处理具有一个蜡质蛋白基因的种子时, 诱导产生蜡质小麦是有效的。日本已决定在 2000 年以后大力推广优良蜡质小麦。

Otobe^[13] 从 Tanikei A6099 等 5 个品种和一个低直链淀粉含量品种杂种 F_1 的 DH 系中, 筛选出 5 个蜡质突变体, 缺乏蜡质蛋白, 其支链淀粉含量为 0.4% ~ 0.6%, 兰色值小于 0.1, 其最高面团延展性比糯性玉米的还高。这是产生蜡质小麦又一有效方法。

3 育种途径探讨

常规杂交结合基因跟踪的方法: 首先通过 SDS-PAGE 方法筛选出不同类型的蜡质基因突变体, 选择合适的亲本, 主要是具有 W_x -A、B、D 缺失的不同类型的材料, 进行常规有性杂交, 对 F_2 群体进行筛选, 选出 W_x 基因全为隐性的植株, 经连续 4~5 代跟踪选拔, 可选出纯合的蜡质小麦; 如果结合回交技术, 可以同时选出蜡质小麦近等基因系。这一方法的优点是可以配制大量组合, 缺点是田间和室内工作量。

常规育种与单倍体育种相结合的方法: 选择合适的亲本配制 F_1 , 进行 F_1 的花药培养或用玉米花粉诱导 F_1 产生单倍体, 单倍体经纯化后, 可以从后代中筛选出 3 个基因均为隐性的蜡质小麦。此方法的优点是, 选育代数少, 小麦后代纯化快, 电泳筛选工作量小; 缺点是花药培育或玉米花粉诱导小麦单倍体的工作量很大。

化学诱导方法: 用甲基磺酸乙酯(EMS) 诱导产生蜡质小麦。亲本必须是缺失 2 个蜡质基因的材料, 用 0.5% 的 EMS 浸泡种子 4 h, 可以自 M_2 ~ M_4 连续进行电泳筛选, 得到稳定

的不含蜡质蛋白的品系；优点是处理样本量大，纯化快，技术简单而稳定，花费时间少，节约财力物力。

基因导入方法：通过基因枪法或小麦花粉管导入方法，导入反义蜡质基因，抑制正常蜡质基因的表达，这一方法在水稻上已应用成功。首先用反义基因构建质粒，并导入载体大肠杆菌进行扩增繁殖，再提取质粒，用基因枪法或农杆菌法将该基因导入胚性愈伤组织，或用花粉管导入法将该基因导入小麦；鉴定反义基因不同时期的表达，并筛选出蜡质小麦。

综上所述，培育蜡质小麦有多种有效方法，但其中的关键是亲本的选择或选配以及简单、实用和高效的检测方法的应用，才有可能培育出高产优质适应性广的蜡质小麦。培育蜡质小麦几种主要方法和过程见表 1:

表 1 蜡质小麦选育方法和主要步骤

小麦亲本选择 (品质优良、农艺性状好、蜡质基因缺失)						
EMS 处理	种子 辐射处理	基因型 间杂交	基因型 间杂交	基因型 间杂交	选择 外植体	基因型 间杂交
M ₁ 电泳检测并筛选目的突变体	M ₁ 电泳检测并筛选目的突变体	F ₁ 自交	F ₁ 花药培养	玉米花粉诱导 F ₁	外植体培养	F ₁ 自花授粉
M ₂ 电泳筛选目的突变体	M ₂ 电泳筛选目的突变体	F ₂ 电泳筛选 W _x 隐性突变体	单倍体加倍, 得到稳定的 DH 系	单倍体加倍, 得到稳定的 DH 系	基因导入反义基因 (基因枪法)	反义基因花粉管导入
M ₃ 检测其稳定性	M ₃ 检测其稳定性	F ₃ ~ F ₆ 连续筛选目的突变体	电泳筛选 W _x 隐性突变体	电泳筛选 W _x 隐性突变体	基因表达及检测	基因表达及检测
产生稳定的蜡质小麦	产生稳定的蜡质小麦	稳定蜡质小麦	产生稳定的蜡质小麦	产生稳定的蜡质小麦	电泳筛选得到蜡质小麦	电泳筛选得到蜡质小麦

参考文献:

[1] 刘广田. 小麦品质研究进展[J]. 小麦研究, 1997, 18(1) : 1- 5.

[2] 黄东印, 林作楫. 冬小麦品质性状与面条品质性状关系的初步研究[J]. 华北农学报, 1990, 5(1) : 40- 45.

[3] 王子宁, 郭北海. 小麦地方品种的 SDS—PAGE 分析[J]. 华北农学报, 1992, 7(4) : 45- 49.

[4] 王子宁, 郭北海. 小麦 wax_y-D1 基因缺失材料的发现及分析[J]. 作物学报, 2000, 26(3) : 1~ 4.

[5] 王子宁, 郭北海. 小麦地方品种的 W_x 蛋白分析及品种筛选[J]. 华北农学报, 1999, 14(3) : 5- 9.

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

[7] Miura H, Tanii S, Nakamura T, *et al.* Genetic control of amylose content in wheat endosperm starch and differential effects of three W_x genes[J], Theor Appl Genet, 1994, 89: 276- 280.

[8] Nacamura T, Yamamori M. Production of waxy wheats[J]. Mol Gen Genet, 1995, 248: 253- 259.

[9] 王宪泽, 张 玲. 小麦品质性状与面条煮食品质的关系[J]. 麦类作物, 1997, 17(4) : 17- 19.

- [10] Crosbie G B. The relationship between starch swelling properties, paste viscosity and boiled noodle quality in wheat flours[J]. Journal of Cereal Science, 1991, 13: 145– 150.
- [11] 王子宁, 郭北海. 多倍体麦类作物 Wx 蛋白检测的 SDS—PAGE 方法[J]. 遗传, 2000, 22(3): 35– 38.
- [12] Ainsworth C, Clarke J R. Expression, organization and structure of the genes encoding the waxy protein (granule-bound starch sythase) in wheat[J]. Plant molecular biology, 1993, 22: 67– 82.
- [13] Otake C, Nagamine T. Production of Haploid wheats with waxy endosperm character[J]. Cereal Chemistry, 1997, 74(1): 72– 74.

A Review on Waxy Wheat Research and Its Breeding Method

WANG Zi-ning¹, GUO Bei-hai¹, ZHANG Yan-min¹, WEN Zhi-yu¹, FAN Ai-ge²

(1 Institute of Cereal and Oil Crops, Hebei Academy of Agricultural and Forestry Sciences,

Shijiazhuang 050031, China; 2 Hebei Rural and Urban Construction School, Shijiazhuang 050031, China)

Abstract: This paper has reviewed the studies on waxy wheat in different countries, including mutant gene selection, and starch property development of detection technique of waxy proteins, the molecular biology study and waxy wheat breeding ect. Seven methods for waxy wheat were listed and analyzed in seven selection methods from physical induction, chemical induction, conventional wheat breeding, haploid preeding and anti-sense gene transformation.

Key words: Waxy wheat; Breeding; Methods