



郭世华
编著

分子标记 与小麦品质改良

Fenzi Biaoji Yu
Xiaomai Pinzhi Gailiang

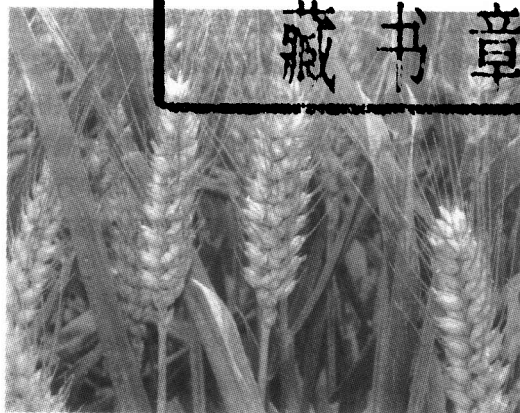
中国农业出版社



分子标记与小麦品质改良

郭世华 编著

江苏工业学院图书馆
藏书章



中国农业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

分子标记与小麦品质改良/郭世华编著. —北京: 中国农业出版社, 2006. 4

ISBN 7 - 109 - 10821 - X

I. 分... II. 郭... III. 小麦—品种—改良—研究
IV. S512.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2006) 第 026670 号

中国农业出版社出版

(北京市朝阳区农展馆北路 2 号)

(邮政编码 100026)

出版人: 傅玉祥

责任编辑 李欣芳 黄光立

中国农业出版社印刷厂印刷 新华书店北京发行所发行

2006 年 6 月第 1 版 2006 年 6 月北京第 1 次印刷

开本: 850mm×1168mm 1/32 印张: 12.625

字数: 320 千字 印数: 1~1 000 册

定价: 28.00 元

(凡本版图书出现印刷、装订错误, 请向出版社发行部调换)

内 容 提 要

该书较为系统地介绍了小麦主要品质性状的遗传、生化标记、分子标记及其在品质改良中的应用,概述了小麦常用育种方法、遗传标记与分子标记辅助育种及基因芯片的应用,总结和介绍了小麦籽粒硬度、贮藏蛋白、淀粉特性与 Waxy 蛋白、面筋含量、烘焙品质性状、PPO 和戊聚糖等主要目标性状的研究方法、成果与进展。对于农学、种子科学与工程及相关专业的大学本科生和研究生而言,能够系统地了解小麦品质遗传育种的研究现状,对于专项研究人员来讲,也能了解到有关研究领域的最新进展与发展方向。该书也可作为高等院校从事植物遗传育种和作物品质分子育种方向硕士、博士研究生的教材以及科研工作者的参考书。

作者简介

郭世华：男，汉族，1963年11月生，内蒙古清水河县人，博士，作物遗传育种学科副教授，硕士研究生导师，内蒙古农业大学植物遗传育种重点实验室主任。1988年7月毕业于原内蒙古农牧学院农学系农学专业，获农学学士学位，1998年7月获内蒙古农业大学作物遗传育种专业硕士学位，2003年6月获山东农业大学作物遗传育种专业博士学位，导师王洪刚教授；2001年6月至2003年6月在中国农科院作物科学研究所小麦品质实验室、农业部作物遗传育种重点开放实验室和中日农业技术研究发展中心完成博士学位论文，导师何中虎研究员。博士论文《中国小麦籽粒硬度生化 and 分子标记的研究》从性状—蛋白质—DNA首次对我国小麦籽粒硬度进行了系统的研究，对“农大3213”标记、测序出 *Pinb-D1p* 等位基因。在小麦品质性状的生化与分子标记及其辅助育种方面积累了一定的资料 and 基础。

目前讲授《作物育种学》、《种子学》本科课程，讲授《作物遗传育种研究法》、《作物遗传育种研究进展》和《植物分子育种》专题等硕士研究生学位课，指导硕士研究生7人，主要从事春小麦籽粒硬度、贮藏蛋白、Waxy蛋白等主要品质性状的生化标记与分子标记辅助育种研究。2001年以来作为第三完成人参加国家自然科学基金和天津市自然科学基金项目，其中天津市自然科学基金“北方冬麦区小麦硬度研究”于2005年7月26日获天津市科学技术成果。2004年以来，主持国家

自然科学基金、教育部“春晖计划”项目、内蒙古自治区自然科学基金、内蒙古自治区“十一五”科技攻关项目、内蒙古自治区高等学校科学研究项目和内蒙古农业大学博士科研启动基金等科研项目。近五年在《中国农业科学》、《麦类作物学报》、《西北植物学报》、《西南农业学报》、《云南农业大学学报》、《山西农业大学学报》和《内蒙古农业大学学报》等刊物以第一作者公开发表学术论文 20 余篇。

前 言

我国是世界上最大的小麦生产和消费国，人均小麦需求量在 2005 年为 51.2kg，预计 2015 年和 2030 年将分别达到 56.8kg 和 108.3kg；随着农业结构政策的调整和加入 WTO，小麦种植面积自 1998 年以来，逐年有序调减，总产量亦逐年下降，但优质专用小麦需求量随着国民经济发展和人民生活水平的提高逐年增加。据农业部信息中心分析，近年国内市场年需面包粉专用小麦 360 万 t，饺子粉和方便面粉专用小麦 1 200 万 t，饼干和糕点用小麦 600 万 t。国家粮油信息中心对我国优质小麦需求进行综合平衡分析认为，目前一般意义的优质小麦生产量能够满足市场需求，高强筋小麦因品种资源和生产管理技术限制，还不能满足需要，弱筋小麦因适宜种植地域及土壤条件的限制，生产发展较慢、市场缺口较大；从供需总量看，全国真正优质强筋小麦生产不能完全满足食品加工的需求，还需靠进口、释放库存及其他方法解决。因此，高质量优质专用小麦的市场空间很大。

传统选育工作从分离后代通过表现型选择基因型，耗时费力，难度大，一些重要的品质性状无法进行表型观测，亦很难通过表现型选择理想的重组基因型；聚丙烯酰胺凝胶电泳（SDS-PAGE）被广泛用来鉴定与品质相关的蛋白亚基类型与组成，如小麦籽粒硬度 friabilin 蛋白表达水平、高分子量谷蛋白亚基及 Waxy 亚基类型，并研究其对面包品质的影响；然而一些亚基的电泳迁移率相近，较难区分，如高分子量谷蛋白 14+15 和 20 亚

基, 7、7*、8 和 8* 亚基; 毛细管电泳、双向电泳、高效液相色谱 (HPLC) 技术已用于小麦蛋白质组分的分离, 特别是分子标记技术具有不受组织、发育时期和环境影响, 能够检测植物个体 DNA 碱基序列等优点, 被广泛用于小麦品质、产量、抗逆等目标性状的遗传改良。利用分子标记辅助育种, 易于从分离后代中选择理想的重组基因型, 准确性高、效率高, 但分子标记与表型、个体水平和生化水平选择相结合建立综合标记辅助选择体系才会准确、高效。

该书是在前人研究成果、进展及作者近年从事小麦品质分子育种研究的基础上撰写而成。内蒙古农业大学农学院作物遗传育种学科硕士研究生岳淑芳、王秀娟、侯国峰和廉博参与了校对工作。

感谢我的两位导师——山东农业大学农学院院长王洪刚教授, 中国农业科学院作物科学研究所研究员兼国际玉米小麦改良中心中国办事处主任何中虎博士。他们不时地关心着本书的编写工作, 在酝酿阶段曾提出了一些很好的建议。

感谢内蒙古农业大学原作物遗传育种教研室主任、原内蒙古遗传学会副理事长兼秘书长张先炼教授对全书的修改和校对。

感谢内蒙古农业大学农学院的领导, 特别是于卓教授在本专著构想、编著等方面的关心与支持, 以及作物遗传育种学科各位同仁的帮助。

本书的出版得益于中国农业出版社的大力配合, 谨此致谢。

由于作者水平有限, 加之时间仓促, 书中可能有错漏或值得探讨之处, 恳请专家、学者和广大读者批评与赐教。

郭世华

2006 年 3 月于呼和浩特



前言

第一章 常用育种改良法	1
第一节 小麦育种目标	1
第二节 小麦杂交育种	11
第三节 小麦杂种优势利用	42
第四节 小麦超高产育种与超级小麦	62
第五节 小麦育种新技术	77
第六节 小麦品质改良的途径和方法	103
第二章 遗传标记与分子标记辅助育种	112
第一节 遗传标记	112
第二节 DNA 标记技术	122
第三节 质量性状的分子标记	141
第四节 分子标记辅助选择	149
第五节 分子标记的其他应用	181
第六节 基因芯片技术和应用	185
第三章 小麦籽粒硬度及生化与分子标记	196
第一节 小麦籽粒硬度及其测定方法	196
第二节 小麦籽粒硬度遗传及分子基础	201
第三节 中国小麦籽粒硬度及其单籽粒频率分布	214
第四节 小麦籽粒硬度生化标记研究	221

第五节 小麦籽粒硬度 STS 分子标记研究	231
第六节 籽粒硬度在不同环境下的变异分析	243
第四章 小麦贮藏蛋白与分子标记	255
第一节 小麦种子蛋白质组分及高、低分子量 谷蛋白亚基	255
第二节 小麦贮藏蛋白的遗传	270
第三节 高、低分子量亚基与小麦加工品质的关系	280
第四节 HMW-GS 和 LMW-GS 的电泳分析	299
第五节 小麦蛋白质品质的衡量标准	303
第六节 面团流变学特性	310
第五章 小麦淀粉特性与糯蛋白	325
第一节 小麦淀粉特性及其对面条品质的影响	325
第二节 淀粉糊化特性与面条品质的关系	335
第三节 淀粉合成的生理生化基础	339
第四节 Waxy 蛋白研究进展	343
第五节 糯小麦及其特性	350
第六节 Waxy 蛋白的生化标记与分子标记	352
第六章 其他品质性状的遗传及其标记辅助选择	362
第一节 小麦蛋白质含量、面筋含量与强度的遗传	362
第二节 加工品质的遗传	372
第三节 部分品质性状的分子标记	375
第四节 戊聚糖在小麦品质改良中的利用	381
展望	386
主要参考文献	388

第一章 常用育种改良法

第一节 小麦育种目标

育种目标是对所要育成品种的要求，指在一定生态、生产条件下，对所育成品种若干性状的要求指标，是育种工作的依据和指南，决定育种工作成败的首要关键。小麦育种包括亲本的选配、变异的创造、变异的选择与稳定、品系比较和品种审定推广等环节，这些环节的工作都要围绕育种目标。育种目标代表一定地区和时期对小麦品种的要求，只有对当地自然栽培条件和现有品种特性充分调研的基础上，才能制定出明确、完善的育种目标和育种方案。

一、制定育种目标的一般原则

(一) 考虑自然环境、国民经济需求和生产发展前景

品种通过自然选择和人工选择而成，在自然环境中进行生产，所以育成的品种必须能够充分利用当地的自然优势，并满足当地栽培条件的需求。例如北方广大麦区，在小麦灌浆成熟期，常遇到干热风，使小麦青干枯死，粒重下降减产，因此选用抗干热风 and 早熟品种是当地重要的育种目标。在北方冬麦区的一些地方，由于冬季严寒，品种具有一定的抗寒性才能安全越冬，所以抗寒性就成了当地重要的也是基本的育种目标。对于西北地区的旱地来说，耐旱性就是基本的育种目标。

育成一个常规品种需 8~10 年时间，要在充分估计当前需要

的基础上，认真研究将来的社会进步与生产发展与国际市场接轨的要求，否则使育成品种落后于形势，难以推广或由于所订目标太高，脱离实际而难以实现。近年来，随着人民食物结构的变化和面粉加工的需求，强筋、中筋和弱筋并重的优质、专用小麦品种选育成为当前的主要育种目标。因此，育种目标要随着生态环境和社会发展的需求而发展。我国地域广阔，农业生产条件有较大差异，既要选育高产、优质、早熟、抗病的高产品种，也要选育抗旱、耐瘠，对增施肥水反应敏感的旱作节水型品种。

(二) 根据农业生产实际与现有品种的主要性状制定育种目标

根据当地自然与栽培条件，分析现有品种的特征、特性，分析限制生产发展的主要问题，明确亟待改良的主要目标性状，选育能克服现有品种缺点，发挥其优点的新品种。根据亲本的性状（或基因）组成和亲子关系，预测在现有的育种材料和技术条件下可能达到什么目标、难以达到什么目标。亲子间的关系是复杂的，两个较好的亲本杂交，其后代还达不到高亲的水平，来自父母本基因的作用决不是简单的累加，存在着复杂的互作关系。好品种不等于好亲本，父母本的遗传物质如何重组取舍才能整体协调，一般只能通过大量的筛选而定。优良品种如不加改进几年后由于生物学混杂、抗病性丧失等因素，会使生产大幅度倒退；其次，随着主要目标的实现，一些次要目标又会上升为主要的，在制定目标时哪些性状易于实现改良，改良多少比较现实，都要具体分析循序渐进，统筹兼顾，协调改良。

(三) 育种目标要具体，可操作性强

将育种目标落实到具体的性状，同时考虑不同生态区之间的差异。例如内蒙古春小麦分为水地小麦和旱地小麦，水地小麦种植于河套地区、土默川、西辽河及赤峰、通辽一些井灌区，小麦生育后期遇干热风，收获期遇雨，抗干热风、耐青枯、抗倒伏、抗锈病为这些地区定性的育种目标，定量的指标有理想株高80~

85cm, 红粒, 千粒重 40g, 沉淀值 $>35\text{ml}$, 蛋白质含量 $>14\%$, 生育期 $\leq 100\text{d}$ 等; 阴山高寒丘陵旱薄地区的目标为抗春旱, 抗风沙, 耐瘠薄, 即根系发达, 根量多, 须根数目多, 株高 $>100\text{cm}$, 穗下节长, 叶片狭长, 黄绿, 被有绒毛; 大兴安岭旱肥地区的共同特点是前旱、前寒、后涝、后寒, 要求生育前期耐旱寒, 中期、后期喜肥、耐湿、抗穗发芽、抗丛矮病。

(四) 着眼于世界小麦经济和科技发展的大局

全球经济的一体化, 使小麦育种和小麦生产进入了经济全球化。国际大环境对制定本地区的育种目标必将有所影响。例如, 我国的小麦生产成本一直较高, 比较效益较低, 必须改变只讲高产, 不顾投入和成本的做法。由于中、高秆品种可以在减少肥水投入的条件下形成相对较高的产量取得价格优势, 中、高秆品种在某些地方比那些特别矮秆、耐肥的品种更具应用价值。

此外, 育种工作要将生物技术及其研究成果纳入自己的育种目标。通过分子标记辅助育种和转基因技术提升常规育种, 如将转基因创造的中间材料和 DNA 标记技术一同应用于杂交育种, 以扩大基因来源或提高选择效率, 但是外源基因片段进入受体细胞后能否摆脱不利的基因和基因互作, 是表达还是沉默, 能否稳定地遗传等, 都应予以考虑。

二、小麦的主要育种目标

随着社会进步和农业生产的不断发展, 人类对小麦品种的要求愈来愈高、愈来愈全面。高产、优质、稳产、多抗和适应性强是现代农业对小麦品种的普遍要求。不同生产条件下, 对不同性状要求的侧重点因地、因时而异。因此, 从小麦育种工作之始, 就要通过广泛调研, 制定出有针对性的、切实可行的育种目标。

(一) 提高增产潜力, 实现超高产

随着我国人口增长土壤植被的破坏和水土流失, 提高作物产

量是当前和今后的一项长期工程。CIMMYT 科学家 R. A. Fischer 认为,应用生理学知识设计有效的方法对亲本和后代进行选择,可提高小麦高产育种效率(何中虎等,1998)。围绕高产可以有多个育种目标,超高产小麦品种产量结构的理想模式应建立在一定穗数的基础上,着重提高每穗粒数和千粒重来主攻穗粒重,从增粒、增重两方面来提高“库容”,增加单株生产力,每穗粒数的增加靠增加有效小穗数比增加小穗粒数较有利,因为在穗粒数的构成因素中,每穗小穗数起的作用最大。所以选择时要选多花多实小穗之间通过降低穗数,提高穗粒数、千粒重,提高单穗重,进一步达到超高产水平(郭秀焕,2004),在选择上注重几项主要指标:①多花多实、多粒兼大粒,穗粒数 50 粒以上,千粒重 50g 以上,穗粒重 3g 左右,做到库多容大,因每穗粒数与千粒重是构成穗子大小(库容量)的主要指标。②茎秆粗壮,秆壁厚,茎秆基部节间短,稍有弯曲,株高 70~80cm,抗倒伏能力强。③株型较松散,有利于叶片扩展。叶片是进行光合作用的主要器官,特别是旗叶和倒二叶较大、宽、厚,上、下节间长短比例构成合理,旗叶长度一般不超过 20cm,茎叶的夹角以 $15^{\circ}\sim 35^{\circ}$ 为宜。

超高产基因型冠层结构的主要形态性状表现为(傅兆麟等,2004):平均株高(冠层高度)显著降低,平均穗长、最大叶面积指数、上部三叶叶面积指数、单位面积有效茎数、单茎干物质重和单位面积干物质重都显著增加。超高产基因型冠层高度的降低对增强抗倒性是有益的,而决定生产能力的穗长、最大叶面积指数、上部三叶叶面积指数、单位面积有效茎数、单茎干物质重、单位面积干物质重显著增加,对提高群体的生产能力是有益的。这样的冠层结构,可能就是超高产基因型具有超高产能力的基础。

超高产基因型冠层结构的光合性能表现:超高产基因型与非超高产基因型相比,自灌浆中期至灌浆结束,绿叶面积指数一直

维持较高水平，且达到显著水平；冠层透光率在抽穗期叶面积指数较大时较高，而在中后期叶面积指数较小时又较低，其差异也达到显著水平。SOD 酶活性高 5.6%~16.0%；MDA 含量从抽穗一直到灌浆后期保持较低水平；上三叶光合速率平均高 15.6%。与非超高产基因型相比，超高产基因型的冠层高度显著降低，而产量却显著提高，产量提高的原因是单位冠层空间生产能力的大幅度提高，超高产基因型比非超高产基因型冠层单位空间的生物产量和籽粒产量分别提高 13.6%和 25.1%。由此看出，冠层单位空间生产能力大小是影响产量的重要指标。因此，把冠层单位空间生产能力大小作为衡量基因型冠层结构合理与否是很有意义的。

但是值得提出的是，不能无休止地将矮化作为育种目标，过度矮化对高产是无益的（赵倩等，1999）。在市场经济条件下，高产必须与肥水等人力、物力投入相挂钩，一味靠大的投入才能获得高产的品种因经济上不合算而不可能受到农民的欢迎，也就没有推广的前途。育种实践表明（王辉等，2001），首先，利用 F_2 优株或 F_3 优系（即 F_2 或 F_3 的优性基因结合体）进行集优交配，会显著提高复交的应用效果。利用 F_2 或 F_3 的优性基因结合体杂交，亲本有较高的杂合性，既保持了复交杂种后代遗传变异类型的多样性特点，又提高了后代群体优性基因的频率，可以有效地控制变异方向，还可以缩小杂交规模，能有效控制后代群体规模。同时，杂种后代目标性状相对集中，便于集中选择目标，提高选择的可靠性，因而会显著提高复合杂交的育种效果。如果在复交后代配合利用单倍体育种技术，则会更进一步提高其育种效果。其次，组建超高产大穗材料杂交抗源群。大穗材料，是超高产育种值得重视的问题。由于大穗材料需要改良的农艺性状和病害类型多，逐个改良历时甚长，而利用聚合杂交、轮回选择的方法人工创建大穗材料杂交抗源群，可以对其进行有效的性状改良。第一步，用不同类型大穗材料分别与农艺性状较好的不同抗

源材料（抗不同病害、或抗不同生理小种、或具有多抗性）杂交，将同一抗源与不同类型大穗杂交的杂交种子合并归为一类，有几个抗源材料就形成几个 F_1 类群，再进行不同抗源 F_1 类群间的杂交，如此逐步聚合，直到形成不同类型大穗与不同抗源聚合为一体的杂交群，以该杂交群作为创建大穗材料多抗源杂交抗源群的基础材料。第二步，在基础材料的后代分离群体中，选择抗病性较好的大穗单株，进行株间杂交，杂交种子混合种植，形成第一轮改良群体。第三步，在第一轮改良群体的后代分离群体中，选择抗病性好的大穗单株，再进行株间杂交，杂交种子混合种植，形成第二轮改良群体。如此进行，直至形成较为理想的改良群体为止（一般到第三轮或第四轮改良群体即可），该改良群体在后代分离纯合过程中淘汰劣株（穗小、抗性差、农艺性状差），混收混种，即形成大穗材料多抗源杂交抗源群。

（二）提高品种的稳产性

新品种一经审定推广，会在较大地区连续种植多年。因此，作物育种工作既要求具有高产潜力，又要求在大面积推广过程中保持持续均衡增产。品种的稳产性反映了其抵抗外界胁迫而保持产量相对稳定的能力。影响品种稳产性的主要因素大体分为生物胁迫和非生物胁迫两大类。从育种角度而言，生物胁迫主要指为害小麦的病虫草害（如条、叶锈和白粉病等，虫害有蚜虫和吸浆虫等）；非生物胁迫主要有干旱、盐碱、冻害、干热风 and 梅雨等自然灾害。其中条、叶锈病经多年的育种工作，大田生产已基本得到控制。随着近年来生产上种植密度和肥水投入加大，白粉病有越演越烈的趋势。另外伴随气候变暖和湿度变化的异常，在南方易发生的赤霉病有时也在北方发生，品种改良由于缺少抗源存在一定困难。随着北方水资源的缺乏，节水型品种的选育将成为有前途的育种方向。维持抗寒能力对于北部冬麦区小麦的大面积安全生产是必须的，冻害亦为重要的育种目标。抗干热风和抗穗发芽在品种间的遗传变异很大（蒋国梁等，1992），通过品种改良

可得到解决。

生物技术手段(如远缘杂交、分子标记、转基因技术)已普遍应用于小麦抗性育种,与控制其他农艺性状的一些基因相比,要注意监控外源导入抗虫、抗病、抗除草剂等基因的安全性。为了确保对人、畜和环境的安全,转基因品种须经过成熟的实验才能推广应用。

(三) 小麦品质改良

长期以来,我国小麦生产只注重产量,而忽视品质,随着近年来小麦产量的逐年提高,小麦品质问题越来越受到大家重视。同时,随着我国农业产业结构调整步伐的加快,发展优质专用小麦已成为大家关心的问题。但目前粮食生产及流通领域有一种看法,认为白皮小麦是优质小麦,而还有一部分人认为角质含量高的才是优质小麦。那么,到底什么类型的小麦才是优质小麦?这个问题首先从小麦品质说起。

1. 什么是小麦品质

(1) 小麦的营养构成及特点 小麦通常含有 70% 的碳水化合物, 9%~14% 的蛋白质, 2% 的脂肪, 1.8% 的矿物质及 12% 的食用纤维。小麦籽粒含有 81%~84% 的胚乳, 6%~7% 的糊粉层, 7%~8% 的表皮层及 3% 的胚芽。小麦表皮的主要成分是纤维素、半纤维素及木质素。小麦胚芽含有 30% 的蛋白, 32% 的脂肪, 并有相当数量的糖, 它含有小麦总量 60% 以上的维生素 B_1 , 20%~25% 的维生素 B_2 、维生素 B_6 及维生素 E, 10%~25% 的矿物质也存在于胚芽中。

(2) 我国小麦的品质特征 小麦品质包括物理品质、营养品质、制粉品质、食品加工品质及储藏品质。我国小麦品种特征是种皮坚硬, 面粉有黏性。其优点是蛋白质含量普遍高, 磨粉品质好, 但不足之处是烘烤面包品质差, 烘烤蛋糕品质差。造成这种现象的主要原因是选育品种时长期忽视烘烤面包品质。小麦蛋白质的营养价值受基因型、气候、雨量、土壤施肥状况及产量高