

小麦种质资源鉴定、优异基因发掘及 创新利用研究概述

胡琳, 许为钢, 张磊, 董海滨, 王根松, 咎香存, 张建周,

李正玲, 齐学礼, 李春鑫, 赵明忠

(河南省农业科学院 小麦研究中心, 河南 郑州 450002)

摘要: 详尽介绍了近年来河南省农业科学院小麦研究中心, 在小麦种质资源的引进、保存及重要性状筛选鉴定, 河南省地方品种身份证构建及亲缘关系分析, 河南省小麦主栽品种抗病基因分子标记鉴定, 小麦高分子量和低分子量麦谷蛋白亚基品质效应的评价, 小麦品质特性的分类及相对重要性分析, 小麦优异基因的发掘与分子作图, 优异基因分子聚合等方面所取得的研究成果和利用情况。

关键词: 小麦; 种质资源; 优异基因

中图分类号: S512.1 文献标识码: A 文章编号: 1004-3268(2009)09-0022-04

Identification, Exploration, Innovation and Utilization of Elite Germplasm and Gene Resources in Wheat

HU Lin, XU Wei-gang, ZHANG Lei, DONG Hai-bin, WANG Gen-song, ZAN Xiang-cun,

ZHANG Jian-zhou, LI Zheng-ling, QI Xue-li, LI Chun-xin, ZHAO Ming-zhong

(Wheat Research Center, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: The paper introduced the major progress of wheat germplasm resource research in Wheat Research Center, Henan Academy of Agricultural Sciences, including the collection and conservation of wheat germplasm resources, the identification of important agricultural traits, the molecular identification card construction and genetic relationship analysis of landraces, the molecular identification of resistance genes in Henan major cultivars, the quality effect evaluation of wheat high and low molecular weight subunits, the classification and relative importance analysis of wheat quality properties, and the exploration, molecular mapping and molecular pyramiding of elite genes.

Key words: Wheat; Germplasm resources; Elite genes

种质资源是基因的载体, 是小麦新品种选育的重要亲本来源, 也是开展基础生物学研究的材料基础。国内外小麦品种演变历程中的每一次重大突破, 均与关键种质资源中优异基因的发掘和利用有关。例如, 小麦 *Rht1*、*Rht2*、*Rht8*、*Rht9* 等矮秆基因的发掘与利用导致了小麦第 1 次“绿色革命”的诞生^[1,2], 携带 *Pm8*、*Yr9*、*Lr36* 等抗病基因, 且丰产性和适应性优良的 1B/1R 小麦—黑麦易位系, 被认为是外源基因在小麦遗传改良中应用最为成功的典例。我国 20 世纪 80 年代以后的小麦品种中 38% 都含有 1B/1R 血

缘^[3]。20 世纪 90 年代初期, 美国利用从我国引进的赤霉病优异抗源苏麦 3 号, 使得其小麦生产每年减少损失 20 亿美元。

在当今小麦品种遗传背景日益狭窄的情况下, 育种家手中可利用的亲本材料已捉襟见肘, 严重限制了品种选育水平的进一步提高。因此, 开展优异种质资源的收集与发掘, 特别是利用分子生物学手段挖掘在重要性状方面表现优异的基因资源, 并进行创新与育种利用, 是持续提高小麦遗传改良研究水平的重要途径。笔者就近年来上述研究进展进行了概述。

收稿日期: 2009-06-09

作者简介: 胡琳(1961-), 女, 重庆人, 研究员, 博士, 主要从事小麦遗传育种工作。

1 小麦种质资源的引进、保存及重要性状筛选鉴定

经过几代研究人员的努力,河南省农业科学院小麦研究中心种质资源库现有小麦种质资源数量居省级农科院前列,目前保存小麦种质资源2426份,其中,河南省地方品种资源1053份,河南省改良品种资源835份,国外引进种质资源182份,遗传资源材料75份,黄淮麦区建国以来大面积推广品种281份^[4],上述种质资源中蕴藏着优质、抗病、抗逆、密穗、多穗、大穗、大粒等优异性状基因。本课题组通过病圃鉴定、品质分析、分子标记鉴定、田间农艺性状鉴定等技术手段,自“九五”以来逐渐开展了对上述材料的研究利用工作,筛选出若干在重要性状方面表现突出的优异种质资源,并利用有限回交和分子标记辅助选择技术将上述优异基因导入河南省大面积推广应用品种和苗头新品种(系)中,获得了若干表现优异的小麦育种亲本材料。现代分子生物学和若干检测技术的发展为进一步发掘重要的基因资源及利用价值的评价提供全新的技术手段。通过持续开展小麦种质资源的引进及鉴定工作将为小麦育种工作提供重要的理论、技术与材料支撑。

2 河南省地方品种身份证构建及亲缘关系分析

采用酸性聚丙烯酰胺凝胶电泳对库存的1048份河南省地方品种进行了醇溶蛋白位点特异性检测,34.9%的品种内个体间醇溶蛋白构成表现异质性,说明河南省小麦地方品种是由具不同遗传构成的个体所组成的异质遗传平衡群体。建立了1048份中国小麦地方品种A-PAGE标准醇溶蛋白指纹图谱及其数据库,不同材料之间带型的差异可通过数据库中的谱带比较模式图直观反映^[5]。从35对引物中筛选出9对(分布在7对同源群上)多态性高、带型清晰的Xg-wm型引物对661份材料进行SSR电泳分析,9对引物共产生247个多态性位点,表明河南省小麦地方品种蕴含着丰富的种质资源遗传多样性,有利于优异基因的研究和发掘。从醇溶蛋白水平和DNA水平解决了小麦地方品种间存在同名异种、同种异名的现象^[9]。同时在醇溶蛋白和SSR分析结果中分别出现了分布频率很低的稀有带和多态性位点,其真正的生物学意义,有待进一步挖掘,这也表明这些小麦地方品种具有丰富的遗传多样性,对未来小麦改良仍然具有重要的利用价值。

3 河南省小麦主栽品种抗病基因分子标记鉴定

小麦白粉病和条锈病是河南省及黄淮麦区小麦

生产的主要病害,其病原菌群体大,生理小种变异快,易造成抗性品种丧失抗病性。摸清河南省小麦品种白粉病和条锈病抗性基因分布规律及其利用价值,将有助于为河南省小麦抗病育种提供明确的方向,同时有利于品种的合理布局和轮换,防止抗病基因单一化。我们对河南省50年来大面积推广的43个小麦品种进行白粉病和条锈病田间分小种接种鉴定,同时利用与抗病基因紧密连锁的分子标记对这些品种含有的抗病基因进行了分子鉴定^[6]。

白粉病的抗性鉴定结果表明,2000年以前绝大部分主推品种对白粉病高感,2000年以后的品种大部分表现中感和中抗,仅新麦18、周麦16和周麦22表现高抗。在这些品种中,抗病基因*Pm2*、*Pm4*、*Pm8*、*Pm24*和*PmHnk*均有分布,其中含有*Pm4*和*Pm8*抗性基因的品种较多,*Pm2*、*Pm24*和*PmHnk*基因仅在少数品种中出现,*Pm6*、*Pm13*、*Pm21*和*Pm30*基因未被应用。研究结果还表明,抗性基因*Pm13*、*Pm21*、*Pm30*、*Pm33*和*PmHnk*对目前河南省大部分白粉病病原菌表现免疫或高抗,*Pm2*、*Pm4*、*Pm6*、*Pm8*和*Pm24*等抗性基因在单基因的条件下均不抗白粉病,但2个以上基因的聚合体仍对白粉病有一定的抗性^[9]。

条锈病抗性鉴定结果表明,绝大部分品种对目前生产上致病力最强的生理小种条中32、Hy-8、水源4号、水源14号表现高感,少数材料对部分供试菌种表现高抗,仅新麦18、新麦19和周麦22对所有供试菌种表现高抗或免疫,成株期抗锈品种数量明显多于苗期。分子标记鉴定结果表明,大部分小麦品种含有条锈病抗性基因,抗性基因以*Yr1*、*Yr2*、*Yr5*、*Yr9*和*YrZH84*为主,少数品种含有条锈病抗性基因*Yr7*和*Yr26*。目前,除抗性基因*Yr10*、*Yr15*、*Yr26*和*YrZH84*对供试优势生理小种具有较好抗性外,其他抗性基因均已丧失抗性。此外,还发现新麦18、新麦19和周麦22中含有对所有供试菌系表现高抗或免疫的未知新抗性基因。

4 小麦高分子量麦谷蛋白和低分子量麦谷蛋白亚基品质效应的研究

对小麦高分子量麦谷蛋白亚基组成进行优化是小麦品质遗传改良的重要途径,本课题组以33个小麦品种为材料,对8种高分子量麦谷蛋白亚基及其13种聚合方式的品质效应进行了研究。结果表明,对于Glu-A1位点,1亚基和缺失亚基(N)对面筋数量和强度的效应相似。对于Glu-B1位点,对面筋数

量的正向效应为 $14+15>7+8>7+9$, 对面筋强度的正向效应为 $7+8>14+15>7+9$ 。对于 Glu-D1 位点, 对面筋数量的正向效应为 $2+12>5+10>4+12$, 对面筋强度的正向效应为 $5+10>2+12>4+12$ 。综合各个亚基的品质效应, 提出了包含 8 种高分子量麦谷蛋白亚基的评分体系。对高分子量麦谷蛋白亚基聚合方式的研究结果表明, 不同位点优异高分子量麦谷蛋白亚基的品质效应具有累加作用, 根据研究结果提出了高面筋数量型品种和强筋型品种的高分子量麦谷蛋白亚基的优化聚合方式^[7]。

低分子量麦谷蛋白亚基是小麦麦谷蛋白亚基的重要组成部分, 低分子量麦谷蛋白亚基组成的优化对小麦品质改良的效应尚未得到广泛的应用。课题组以 35 个小麦品种为材料, 对 17 种低分子量麦谷蛋白亚基的品质效应进行了研究。结果表明, 对于 Glu-A 3 位点, 对面筋数量的正向效应为 $A3c, A3b, A3d, A3e>A3a$, 对面筋强度的正向效应为 $A3c>A3b, A3d>A3a, A3e$ 。对于 Glu-B3 位点, 对面筋数量的正向效应为 $B3i, B3d>B3f>B3e, B3h>B3g>B3j$, 对面筋强度的正向效应为 $B3d>B3h>B3j, B3e>B3i, B3f>B3g$ 。对于 Glu-D3 位点, 对面筋数量的正向效应为 $D3e>D3c>D3d>D3b, D3a$, 对面筋强度的正向效应为 $D3a>D3c, D3e>D3b, D3d$ 。综合各个亚基的品质效应, 基于上述研究结果提出了包含 17 种小麦低分子量麦谷蛋白亚基的评分体系。

课题组关于高分子量和低分子量麦谷蛋白亚基品质效应的研究结果在品种品质类型与麦谷蛋白亚基的对应分析中得到了验证, 上述研究结果已在小麦品质遗传改良工作得到应用。

5 小麦品质特性的分类及相对重要性分析

对小麦品质特性进行分类和相对重要性分析有利于制定合理的优质育种策略及方法, 课题组结合育种工作的需要, 以品质特性各异的 35 个小麦品种为材料, 对 15 个小麦品质特性进行了分类及相对重要性分析。结果表明, 在关于 15 个品质特性的 105 个线性相关系数中, 达到极显著水平和显著水平的分别为 88 个和 6 个, 说明绝大多数品质特性之间存在着程度不等的线性相关。采用因子分析方法将 15 个品质特性分为了 4 类: ①蛋白质及面筋数量类, 包括蛋白质含量、湿面筋含量和干面筋含量; ②面筋质量特性和面包特性类, 包括面筋指数、形成时间、稳定时间、和面时间、8min 尾高、8min 尾宽、

面包体积、面包纹理和面包评分; ③耐揉指数和弱化度; ④衰落值。对面包烘焙特性的逐步回归表明, 干面筋含量、面筋指数、形成时间和耐揉指数为小麦品质特性的重要选择性状。35 个品种的聚类分析结果支持了本研究关于小麦品质特性相对重要性的分析结论^[8], 该研究结果对小麦品质育种高代选择策略的制定具有理论指导意义。

6 小麦优异基因的发掘与分子作图

通过对大量小麦种质资源连续多年的白粉病接种试验, 发现小麦品种周麦 22 对河南省当前白粉病菌流行生理小种表现近免疫。将周麦 22 与中国春杂交、自交、测交, 利用分子标记对双亲及抗感池筛选多态性, 并结合中国春缺四体材料进行染色体定位, 表明其抗病性受位于染色体 3BL 的一对显性核基因控制, 分小种接种鉴定结果表明, 该基因对不同优势生理小种的反应型不同于目前 3B 上唯一发现的白粉病抗性基因 *Pm13*, 为白粉病抗性新基因, 暂命名为 *PmHnk*。筛选到与其连锁的微卫星标记, 在遗传图谱上的顺序为 *Xgwm108*、*PmHnk*、*Xwmc291*、*Xgwm299*、*Xwmc687*、*Xwmc326*、*BE423472*、*Xbarc77*、*Xbarc84*, 其中 *Xwmc291* 为 *PmHnk* 距离最近的标记, 与目的基因图距 3.8cM。

另外, 针对白粉病近免疫的奥地利黑麦与普通小麦高代品系 97(54)0-3, 新麦 19 的白粉病抗性和条锈病抗性, R93127 的矮秆特性, 兰考 906 和郑麦 9405 的耐光抑制特性^[9], 已经配置杂交组合并获得各自的 F_2 群体, 正在开展分子标记多态性筛选工作。

7 优异基因分子聚合

分子标记育种由于可从 DNA 水平上直接对目标基因进行选择, 不受环境和生长季节限制, 准确率高, 极大地提高了选择的效率^[10]。随着小麦分子遗传图谱构建、基因组测序工作和重要性状分子标记开发的日益完善, 使得分子聚合育种已逐渐成为小麦遗传育种研究的一项现代核心技术, 可对后代育种材料基因型进行直接选择, 提高育种效率, 缩短育种年限^[10]。

利用小麦高低分子量麦谷蛋白亚基基因、白粉病和条锈病抗性基因特异性分子标记, 结合常规育种技术开展了分子标记聚合育种研究工作, 获得一批聚合多个抗病基因、抗病基因和优质基因聚合的小麦新品种(品系), 所采用的分子标记主要包括麦谷蛋白亚基分子标记 1BX7、1BY9、1BX14、1DX5 和

GluB3d、GluB3h, 白粉病抗性基因分子标记 *Pm2*、*Pm4*、*Pm6*、*Pm8*、*Pm13*、*Pm21*、*Pm24*、*Pm30* 和 *PmHnK*, 条锈病抗性基因分子标记 *Yr5*、*Yr10*、*Yr15* 和 *YrZH84*。与中国农业科学院作物科学所和中国农业大学采用回交育种及分子标记技术相结合, 将分别含有 *Pm12*、*Pm13*、*Pm21*、*Pm30* 和 *Pm33* 的种质材料作为白粉病抗性基因的供体, 以郑麦 9023 为轮回亲本, 经 4~5 次回交, 结合白粉病抗性基因分子标记选择和品质特性等农艺性状的鉴定选择, 获得了分别含有白粉病不同抗性基因的郑麦 9023 近等基因系, 育成郑麦 9023 抗白粉病的多系品种, 为郑麦 9023 在生产上的持续应用奠定了基础。同时采用相同方法获得了分别含有 *Pm2* + *Pm4* 和 *Pm30* 白粉病抗性基因的 2 个郑麦 98 近等基因系。以郑麦 9405(具有 1BX14+1BY15、1DX5+1DY10 优质强筋高分子麦谷蛋白亚基, 含有抗白粉病基因 *Pm4* 和 *Pm8*)与豫麦 47 号(具有 1AX1、1BX7 超量表达+1BY8 优质强筋高分子麦谷蛋白亚基, 白粉病抗性基因为 *Pm4*)组配杂交组合, 对分离后代采用分子标记选择方法, 获得一批不同高分子麦谷蛋白亚基组成、高抗白粉病(*Pm4* + *Pm8*)的小麦新品系, 其中具有优质强筋高分子麦谷蛋白亚基的结合方式有: (1)1AX1、1BX14+1BY15、1DX5+1DY10; (2)1BX7 超量表达+1BY8、1DX5+1DY10; (3)1AX1、1BX7 超量表达+1BY8、1DX5+1DY10。以郑麦 9405(具有 1BX14+1BY15、1DX5+1DY10 和 GluB3d 优质谷蛋白亚基, 含有抗白粉病基因 *Pm4* 和 *Pm8*)与周麦 16(条锈病抗性基因为 *YrZH84*)配置杂交组合, 获得一批兼具优质、高抗白粉病和条锈病特性的小麦新品系。

综上所述, 课题组在继承科研前辈小麦种质资源研究的基础上, 融入分子生物学技术, 在重要性状基因资源挖掘、创新与利用等方面取得了一些研究

成果。下一步工作重点将是在继续做好优异种质资源收集、整理、保存的基础上, 进一步加大优异基因资源挖掘、分子标记开发、遗传作图与分子聚合, 优异基因的遗传转化等方面的研究力度, 以创造具有突破性的优异种质资源为主要研究目标, 为小麦育种研究提供重要的技术与材料支撑。

参考文献

- [1] 万平, 王刚, 刘大钧. 麦类作物矮秆基因遗传学和分子遗传学研究利用进展[J]. 麦类作物, 1998, 18(6): 9-11.
- [2] Gale M D, Law C N. Notes and comments the chromosomal location of a major dwarfing gene from Norin 10 in new British semi-dwarf wheat [J]. Heredity, 1975, 35(3): 417-421.
- [3] 周阳 何中虎 张改生, 等. 1BL/1RS 易位系在我国小麦育种中的应用[J]. 作物学报, 2004, 30(6): 531-535.
- [4] 黄惠, 王根松, 樊文祺. 河南省及黄淮麦区小麦种质资源目录[M]. 郑州: 黄河水利出版社, 2003.
- [5] 李正玲, 许为钢, 张清珍, 等. 河南省地方小麦品种醇溶蛋白的遗传多样性分析[J]. 麦类作物学报, 2008, 28(4): 582-587.
- [6] 桑大军, 许为钢, 胡琳, 等. 河南省小麦品种白粉病抗病基因的分子标记及分子标记辅助育种[J]. 华北农学报, 2006, 21(1): 86-91.
- [7] 胡琳 盖钧镒 许为钢, 等. 小麦不同高分子量谷蛋白亚基对面筋数量和质量的影响[J]. 麦类作物学报, 2006, 26(6): 50-55.
- [8] 胡琳 盖钧镒 许为钢, 等. 小麦品质特性的分类及相对重要性分析[J]. 麦类作物学报, 2006, 26(5): 60-64.
- [9] 齐学礼, 胡琳, 董海滨, 等. 强光高温同时作用下不同小麦品种的光合特性[J]. 作物学报, 2008, 34(12): 2196-2201.
- [10] 方宣钧, 吴为人, 唐纪良. 作物 DNA 标记辅助育种[M]. 北京: 科学出版社, 2002.

(上接第 21 页)

- 2004(1): 152-154.
- [10] 季书勤 赵淑章, 王绍中, 等. 温麦 6 号小麦 9000kg/hm² 若干群体质量指标研究初报[J]. 作物学报, 1998(6): 23-25
 - [11] 王绍中, 季书勤, 张德奇. 河南省小麦栽培技术的演变与发展[J]. 河南农业科学, 2007(10): 5-9.
 - [12] 田云峰, 王绍中, 季书勤, 等. 关于超级小麦若干问题的探讨[J]. 河南农业科学, 2006(10): 5-7.
 - [13] 王绍中, 阴世杰, 李卫东, 等. 河南省土壤磷的状况和

- 合理施用磷肥研究[J]. 中国农业科学, 1984, 18(4): 26-29.
- [14] 季书勤, 赵淑章. 小麦前氮后移的施肥效应与有效使用条件[J]. 作物学报, 1998, 23(6): 36-39.
 - [15] 金先春, 古贺义昭. 河南省黄河沿岸稻麦高产高效技术研究(JICA 项目)[M]. 郑州: 黄河水利出版社, 1997.
 - [16] 王绍中, 李向东, 张德奇. 河南小麦持续发展的战略思考[J]. 河南农业科学, 2008(10): 5-8.