

辐射诱变改良小麦品质特性的研究

王峰¹, 王敏^{1*}, 张从宇²

(1. 安徽农业大学农学院 安徽作物生物学省级实验室, 合肥 230036; 2. 安徽科技学院植物科学学院, 凤阳 233100)

摘要: 用 ⁶⁰Co- γ 射线辐射小麦品种河科 2 号的干种子, 对 M₄ 代 234 个株系的蛋白质含量、湿面筋含量、沉降值、硬度的变异进行了分析。以超过群体均值 $\pm 2 \times$ 标准差为选择标准, 筛选出 6 个蛋白质和湿面筋含量正向变异株系和 3 个负向变异株系。在 M₅ 代对它们的粉质参数进行了测定, 并利用 SDS - PAGE 对其高分子量麦谷蛋白亚基(HMW-GS)进行了鉴定。结果表明, 株系 242 的粉质图谱与粉质参数显著改变, 株系 240、108 的 HMW-GS 组成也存在明显差异。亲本的 HMW-GS 组成为 2+7+8+9+12, 株系 240、108 的 HMW-GS 组成为 2+7+8+12, 说明在麦谷蛋白位点上发生了变异。

关键词: 小麦; ⁶⁰Co- γ 射线; 品质性状; 粉质参数; HMW-GS

中图分类号: S512.1

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2013)04-0575-05

Improvement of quality characters in wheat by radiation-induced mutation

WANG Feng¹, WANG Min¹, ZHANG Cong-yu²

(1. School of Agronomy, Anhui Agricultural University, Anhui Provincial Key Laboratory of Crop Biology, Hefei 230036;

2. School of Plant Science, Anhui Science and Technology University, Fengyang 233100)

Abstract: Dry seeds of wheat HEKE2 were radiated by ⁶⁰Co γ -ray with the dose of 300 Gy, and the genetic variation of protein content, gluten content, zeleny and hardness of 234 lines were analyzed in M₄ population. The contents of protein and gluten in 6 positive and 3 negative mutant lines were identified based on the selection criterion of over mean $\pm 2s$. Further, their quality traits and farinogram parameters were detected, and high molecular weight glutenins (HMW-GS) were identified by SDS - PAGE in M₅ generation. The result showed that the farinograph map and farinogram parameters of the mutant line 242 changed significantly, and HMW-GS composition of the parent was 2+7+8+9+12, while it was 2+7+8+9 for the mutant line 108 and 240. The obvious change of HMW-GS composition suggests that mutations of glutenin locus may be occurred in the mutant lines.

Key words: wheat; ⁶⁰Co- γ ray; quantity character; farinogram; HMW-GS

随着人民膳食结构的改变及市场需求的变化, 小麦品种改良从最初追求高产逐步转向高产与优质相结合, 因此小麦品质特性的改良已成为育种家和小麦加工行业特别关注的问题。随着小麦品质改良工作的深入, 加工品质改良已成为小麦育种的重要内容^[1]。粉质仪测定的粉质参数是评价小麦品种质量、原粮质量、指导小麦制粉和食品制作的重要性状, 也是评价优质小麦品种、优质小麦、面粉筋力的重要依据^[2]。高分子量谷蛋白亚基(HMW-GS)对

小麦的烘烤品质有重要的影响^[3-4]。我国小麦品质育种已取得很大进步, 但与加拿大、美国等国家比较, 品质质量仍有较大的差距, 面筋筋力普遍偏弱, 出现弱筋不弱、强筋不强的现象, 导致品质性状之间不协调, 尤其是专用粉生产较国外落后^[5-7]。优质小麦品种的选育主要采用系统选择和品种间杂交等方法, 育种手段比较单一, 可供利用的小麦优质种质资源范围狭窄, 因此引入优良种质和新的育种方法对提高育种效率、保持遗传多样性至关重要^[8]。

收稿日期: 2012-12-25

基金项目: 安徽作物生物学省级实验室项目(10111406024), 安徽省自然科学基金(1208085MC57)和安徽省教育厅自然科学重点项目(KJ2012Z067)共同资助。

作者简介: 王峰, 男, 硕士研究生。E-mail: lde_0216@126.com

* 通信作者: 王敏, 女, 教授。E-mail: wangmin@ahau.edu.cn。

辐射诱变为培育小麦新品种和创新种质提供了新途径^[9]。许多研究表明, ⁶⁰Co- γ 射线辐射对提高小麦的蛋白质含量、赖氨酸含量等效果明显^[9-10]。迄今为止, 对利用 ⁶⁰Co- γ 射线辐射诱导小麦粉质性状和麦谷蛋白亚基变异的研究鲜见报道。本研究采用 ⁶⁰Co- γ 射线辐射普通小麦品种河科 2 号的干种子, 对诱变后代变异株系的蛋白质含量、湿面筋含量、沉降值和硬度 4 个品质性状进行变异分析, 对 M₅ 代变异株系进行粉质参数测定, 应用 SDS-PAGE 电泳检测高分子量麦谷蛋白亚基, 以探讨 ⁶⁰Co- γ 辐射对小麦品质性状的诱变效果, 为小麦品质改良探索新途径。

1 材料与方法

1.1 供试材料及诱变处理

供试小麦品种为河科 2 号。2007 年在安徽省农科院原子能研究所, 用剂量为 300 Gy 的 ⁶⁰Co- γ 射线 10 min 急照射处理干种子。

1.2 诱变后代的种植与鉴定

2007 年 10 月播种辐射处理的干种子。收获 M₁ 代植株的主穗, 种子混合保存。M₂ 代混合群体播种, 单株脱粒保存。M₃ 代种植株系, 根据田间性状表现选择 234 个株系, 构成 M₄ 代群体。测定 M₄ 代株系的品质性状, 以超过均值 $\pm 2 \times$ 标准差筛选出 9 个品质变异株系。种植 9 个 M₅ 代品质变异株系和亲本, 随机区组设计, 2 次重复, 每份材料 4 行, 行长 2.0 m, 行距 25 cm, 株距 5 cm。

1.3 品质性状测定

用瑞典波通 DA7200 近红外品质分析仪测定小麦籽粒蛋白质含量、湿面筋含量、沉降值和硬度, 等指标。用德国 Brabender 公司生产的 880110 型实验磨粉和 810108 型粉质仪测定吸水率、面团形成时间、稳定性、软化度和评价值等 5 项粉质指标, 并绘制粉质图。

1.4 高分子量麦谷蛋白的提取和电泳分析

每份材料取 1 粒种子研碎, 置于 1.5 mL 离心管中, 每样品加 50% (V/V) 异丙醇 500 μ L 搅拌均匀, 60 $^{\circ}$ C 提取 30 min, 间歇震动。10 000 r \cdot min⁻¹ 转离心 1 min, 弃上清液, 留沉淀, 重复 2 次, 除去醇溶蛋白。然后加 400 μ L 样品提取液 (62.5 mmol \cdot L⁻¹ Tris-HCl, pH 6.8; 10% 丙三醇, 2% SDS; 5% β -巯基乙醇和 0.002% 溴酚蓝溶液), 60 $^{\circ}$ C 提取 2 h, 10 000 r \cdot min⁻¹ 离心 10 min, 取上清备用。SDS-PAGE 电泳浓缩胶缓冲液为 0.5 mol \cdot L⁻¹ 的 Tris-HCl 溶液, pH 6.8, 分离胶缓冲液为 3.0 mol \cdot L⁻¹ 的 Tris-HCl 溶液,

pH 8.5, 电极缓冲液为 25 mol \cdot L⁻¹ Tris, 192 mmol \cdot L⁻¹ 甘氨酸, 0.1% SDS, pH 8.3。选用垂直板胶电泳槽, 分离胶含 30% 丙烯酰胺、0.8% 双丙烯酰胺。用北京六一 DYCZ-24EN 中号双垂直电泳仪, 以稳流 26 mA 电流电泳 8~10 h。电泳结束后将胶板于 12% 的三氯乙酸溶液中固定 10 min, 再放入含 0.1% 考马斯亮兰、7% 乙酸和 40% 甲醇的染色液中染色 4 h 以上, 然后在含 7% 乙酸、40% 甲醇水溶液的脱色液中脱色至背景无色, 采用凝胶成像系统 (BIO-RAD Gel Doc EQ) 照像^[11]。

以中国春 (null, 7+8, 2+12)、豫麦 34 (1, 7+8, 5+10)、皖麦 38 (1, 7+8, 2+12) 的 HMW-GS 组成为对照, 对变异株系的进行判读。亚基命名按照 Payne 命名系统^[4]命名。

1.5 数据处理

用 Excel 和 DPS 统计分析软件进行数据处理和图表绘制。

2 结果与分析

2.1 M₄ 代品质性状变异分析

M₄ 代株系群体的蛋白质含量、湿面筋含量、沉降值和硬度的有关统计参数列于表 1。由表 1 可以看出, 4 个品质性状的群体均值略低于亲本, 但每个性状都有较大的变异幅度。蛋白质含量的变异幅度为 12.0%~16.6%, 极差为 4.6%; 湿面筋含量的变异幅度为 29.2%~41.1%, 极差为 11.9%; 沉降值的变异幅度为 35.0~58.3, 极差为 23.3; 硬度的变异幅度为 24.0~53.8, 极差为 29.8。依据变异系数, 4 个性状变异程度的大小依次为: 硬度>沉降值>湿面筋含量>蛋白质含量。

以超过均值 $\pm 2 \times$ 标准差为依据确定变异株行, M₄ 代蛋白质含量有 6 个株行发生正向变异, 有 3 个株行发生负向变异; 湿面筋含量有 7 个株行发生正向变异, 有 1 个株行发生负向变异; 沉降值有 2 个株行发生正向变异, 6 个株行发生负向变异; 硬度有 3 个株行发生正向变异, 有 5 个株行发生负向变异。根据强筋小麦国家标准 (GB/T 17892-1999) 对蛋白质含量 ($\geq 15\%$) 和湿面筋含量 ($\geq 35\%$) 的要求, 筛选出强筋小麦株系 6 个。低蛋白含量和低湿面筋含量的变异株系没有达到弱筋小麦国家标准。变异株系的品质性状列于表 2。

2.2 M₅ 变异株系粉质性状分析

对 M₅ 代变异株系进行粉质参数测定, 结果列于表 3。由表 3 可见, 变异株系与亲本相比, 吸水率、面团形成时间、稳定性、弱化度、评价值之间

都有一定差异。吸水率差异较大的变异株系有 68 和 132; 团形成时间差异较大的株系有 68 和 242; 稳定时间差异较大的株系有 242; 软化度差异较大的株系是 240 和 242; 评价值差异较大的株系是 242 (71), 接近亲本 (36) 的 2 倍。综合以上分析, 在

M₄ 代代筛选的 9 个品质变异株系中, 粉质性状明显发生变异的是株系 242。图 1 为亲本河科 2 号的粉质图谱, 图 2 为变异株系 242 的粉质图谱, 由粉质图可以明确看出两者的差异。

表 1 亲本和 M₄ 代群体品质性状统计参数
Table 1 Statistical parameters of quality characters of parent and M₄

项目 Item	蛋白质含量/% Content of protein	湿面筋含量/% Content of wet gluten	沉降值/mL Sedimentation	硬度 Hardness
亲本均值 Average value of parent	14.8	37.5	51.6	37.5
M ₄ 均值 Average value of M ₄	13.7	35.6	48.7	37.0
变幅 Variation range	12.0~16.6	29.2~41.1	35.0~58.3	24.0~53.8
标准差 SD	0.8	2.1	3.8	5.1
变异系数% CV	5.8	6.0	7.9	13.7
均值±2×标准差 Average±2×SD	12.1~15.3	31.4~39.9	41.0~56.4	26.8~47.1
正向变异率% Positive rate	2.56	2.99	0.85	1.28
负向变异率% Negative rate	1.28	0.42	2.56	2.14

表 2 M₄ 代变异株系的品质性状
Table 2 The quantity characters of mutant lines in M₄ generation

株系 Line	蛋白质含量/% Content of protein	湿面筋含量/% Content of wet gluten	沉降值/mL Sedimentation	硬度 Hardness
高蛋白与湿面筋含量株系 Lines with relatively high protein and gluten contents	41 15.3	39.5	54.7	36.7
	68 15.4	40.5	54.8	47.7
	132 15.6	38.2	54.5	33.5
	240 15.5	40.5	56.1	33.1
	242 16.6	41.1	58.3	29.3
	245 16.0	39.9	57.0	32.0
低蛋白质与湿面筋含量株系 Lines with relatively low protein and gluten contents	108 12.1	32.2	42.7	34.1
	195 12.0	31.7	41.1	36.1
	201 12.0	31.5	38.5	32.8

表 3 M₅ 代变异株系和亲本的粉质参数
Table 3 The farinograph parameters of mutant lines in M₅ and its parent

株系 Line	吸水率/% Absorption	面团形成时间/min Development time	稳定时间/min Stability Time/	软化度 Degree of softening	评价值 Evaluation value
高蛋白与湿面筋含量株系 Lines with relatively high protein and gluten contents	41 63.7	2.8	2.1	122	43
	68 66.2	3.2	1.9	145	47
	132 66.8	2.5	1.4	169	37
	240 64.0	2.7	2.1	85	55
	242 64.2	3.0	3.5	77	71
	245 63.9	2.7	1.6	115	36
低蛋白质与湿面筋含量株系 Lines with relatively low protein and gluten contents	108 63.7	2.8	1.9	121	44
	195 64.9	2.5	2.0	114	43
	201 63.3	2.5	1.5	127	38
亲本 Parent	62.5	2.4	1.5	117	36

2.3 M₅ 代变异株系高分子量麦谷蛋白亚基分析
由图 3 可看出, 河科 2 号的 HMW-GS 组成为

2+7+8+9+12 亚基。变异株系的 HMW-GS 大致可以分为 2 类: 第 1 类为 2+7+8+9+12 亚基, 与亲本的

条带类型一致;第2类为2+7+8+12亚基,与亲本有1个亚基的差别。株系41、68、132、242、245、195、201具有亲本的电泳条带,株系240、108为第2种变异类型。

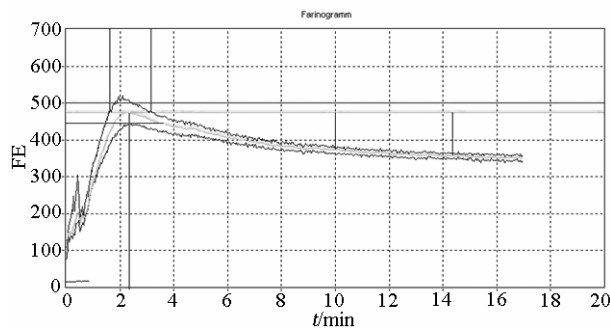


图1 亲本河科2号的粉质图谱
Figure 1 Farinograph map of parent Heke 2

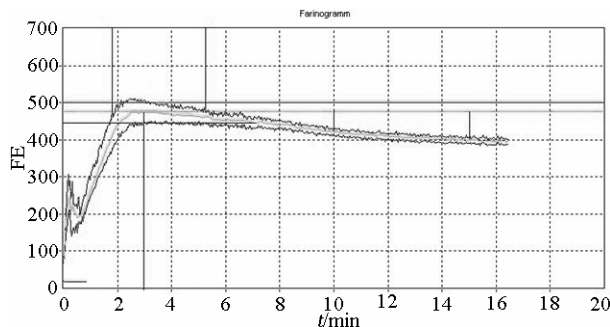
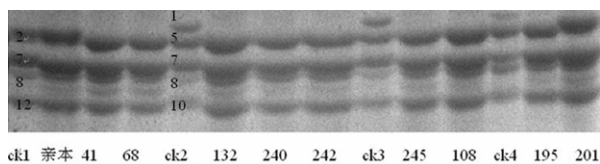


图2 变异株系242的粉质图谱
Figure 2 Farinograph map of mutant line 242



ck₁: 中国春; ck₂: 豫麦34; ck₃、ck₄: 皖麦38; 亲本: 河科2号; 其它泳道: 变异株系
ck₁: Chinese spring; ck₂: Yumai 34; ck₃, ck₄: Wanmai 38; parent: Heke 2, other lanes: mutant lines

图3 高分子量麦谷蛋白电泳图谱

Figure 3 Electrophoresis pattern of HMW-GS

3 讨论

⁶⁰Co- γ 射线辐射诱变可以使小麦的品质性状发生变异。在河科2号的诱变后代中出现了品质性状的分离,但是不同品质性状的诱变效果是不同的,其变异幅度硬度最大,沉降值次之,湿面筋含量和蛋白质含量又次之。孙继堂等采用⁶⁰Co- γ 射线诱变春小麦,发现M₂代蛋白质含量变幅大于亲本群体变幅,表明诱变可以使籽粒蛋白质含量发生变异,

M₂代开始筛选高蛋白质含量的单株,以后几代连续定向选择,在M₆代选出几个高蛋白质含量品系^[9]。本试验从M₃代开始筛选品质变异株系,发现筛选出的品质变异株系在M₄代的表现与M₃代的一致性较差^[12]。而M₄代筛选的蛋白质与湿面筋含量高、低两组株系,在M₅代的表现基本同M₄代,分析结果得出蛋白质含量、湿面筋含量、沉降值和硬度M₄与M₅世代间的相关系数分别为0.67、0.57、0.61和0.56,均为正相关。

粉质参数是面团流变学特性的一个重要指标,属数量性状,表现为连续变异,基因型和环境对其均有影响。我国小麦的蛋白质含量虽不低于国外小麦,但面筋强度低,面团流变学特性普遍较差,使得小麦加工品质不佳^[13]。研究表明不同区域种植的小麦其粉质参数差异也有较大差异^[14]。本研究分析诱变后代M₅代株系的粉质参数发现,在M₄代筛选的9个品质变异株系中,株系242的粉质性状与亲本河科2号有明显差异,说明⁶⁰Co- γ 射线辐射可以获得面团流变学特性变异的材料。

国内外的研究表明, HMW-GS 对小麦加工品质有重要影响,其组成是由遗传因素决定,不受环境的影响,且与蛋白质含量及大部分农艺性状无显著的关系,因此可通过选择和转育优质亚基来改良小麦品质^[15]。近些年来,航天诱变、离子束注入等技术用于诱导 HMW-GS 突变体,利用 PEG 法、花粉管通道、基因枪和农杆菌介导把已分离纯化出的小麦麦谷蛋白基因、麦醇溶蛋白基因等小麦优质基因导入小麦栽培品种,培育优质小麦新品种。李鹏等报道小麦品种白硬冬2号航天搭载,在92株SP₂代中发现了2个高分子量麦谷蛋白亚基突变体^[16]。本研究利用蛋白质电泳技术对⁶⁰Co- γ 射线辐射后代的变异株系进行分析,获得2个 HMW-GS 变异株系。

参考文献:

- [1] 何中虎, 晏月明, 庄巧生, 等. 中国小麦品种品质评价体系建立与分子改良技术研究[J]. 中国农业科学, 2006, 39(6): 1091-1101.
- [2] 魏益民, 张波, 关二旗, 等. 面团流变学特性检测仪器比对试验分析[J]. 中国农业科学, 2010, 43(20): 4265-4270.
- [3] 刘广田, 李保云. 小麦品质性状的遗传及其遗传改良[J]. 农业生物技术学报, 2000, 8(4): 307-314.
- [4] Payne P I, Holt L M, Lawrence G J. Detection of a novel high molecular weight subunit of glutenin in some Japanese hexaploid wheats[J]. Journal of Cereal Science, 1983, 1(1): 3-8.

- [5] 杨学举, 荣广哲, 卢桂芬. 优质小麦重要性状的相关分析[J]. 麦类作物学报, 2001, 21(2): 35-37.
- [6] 张彩英, 常文锁, 孙惠贤. 我国北方冬小麦主要推广品种品质性状研究[J]. 西北植物学报, 2000, 22(5): 1176-1184.
- [7] 王晓燕, 李宗智, 张彩荣. 全国小麦品种品质检测报告[J]. 河北农业大学学报, 1995, 18(1): 1-9.
- [8] 施万喜. 我国小麦品质现状与品质改良对策[J]. 种子, 2006, 25(10): 62-64.
- [9] 孙继堂, 司爱香, 尚勋武, 等. 辐射诱变选育春小麦高蛋白质种质资源[J]. 西北农业学报, 1996, 5(3): 27-30.
- [10] 李秀贞, 吕善勇, 潘波, 等. 辐射对麦类作物蛋白质含量的影响[J]. 核农学通报, 1994, 15(2): 53-55.
- [11] 冯毅, 闵东红, 孙道杰. 黄淮麦区部分推广小麦品种高分子量麦谷蛋白亚基组成分析[J]. 麦类作物学报, 2006, 26(2): 68-71.
- [12] 来德娥, 赵平, 王敏, 等. ^{60}Co - γ 射线诱变小麦品质突变体的筛选及分子标记检测[J]. 种子, 2012, 31(5): 5-10.
- [13] Zhang Y, Zhang Y, He Z H, et al. Milling quality and protein properties of autumn-sown Chinese winter wheats evaluated through multi-location trials[J]. Euphytica, 2005, 143: 209-222.
- [14] 马传喜. 安徽省小麦品质区划的初步研究[J]. 安徽农学通报, 2001, 7(5): 25-27.
- [15] 阎旭东, 卢少源. 普通小麦醇溶蛋白组分的分布及其与 HMW 一麦谷蛋白亚基对品质的组合效应[J]. 作物学报, 1997, 23(1): 70-75.
- [16] 李鹏, 孙明柱, 张锋, 等. 小麦高分子量麦谷蛋白亚基突变体的筛选与鉴定[J]. 核农学报, 2009, 23(6): 935-938.