

甜荞种质资源创新方法的研究

南成虎, 穆志新, 张 晋, 刘思辰, 田 翔, 康国帅

(山西农业科学院农作物品种资源研究所/农业部黄土高原作物基因资源与种质创制重点实验室, 太原 030031)

摘要:甜荞是异花授粉作物,自然界中的甜荞种质资源多存在生物学混杂现象。每份甜荞种质资源可以分化出若干份新的遗传资源类型,其遗传背景复杂。简化甜荞种质资源的遗传背景,准确描述新品种的亲子代关系和遗传背景一直是世界荞麦工作者面对的技术难题。甜荞种质资源的繁育需要采取隔离措施,实施过程中需要考虑甜荞花粉粒大小、甜荞授粉机制、访问昆虫种类以及种子量多少等。为解决上述问题,本研究建立了以隔离杂交圃、隔离单繁圃、隔离扩繁圃、隔离比较圃和田间试验圃的荞麦繁育新方法——“五圃法”,以期开发出不同类型的新的荞麦资源,在育种中可针对性的配制强优势组合,为新品种选育提供种质材料。

关键词:甜荞;种质资源;创新;五圃法

Study on the Methods of Germplasm Resources Innovation in the Common Buckwheat

NAN Cheng-hu, MU Zhi-xin, ZHANG Jin, LIU Si-chen, TIAN Xiang, KANG Guo-shuai

(Institute of Crop Germplasm Resources, Academy of Shanxi Agricultural Sciences/Key Laboratory of Crop Gene Resources and Germplasm Enhancement on Loess Plateau, Ministry of Agriculture Taiyuan 030031)

Abstract: Common buckwheat is a cross-pollination crop. The germplasm resources of the common buckwheat is in a biological mixing state in nature and each of common buckwheat could be divided into several new genetic germplasm resources. This problem could reduce the effectiveness of breeding and scientific evaluation of the germplasm resources. Simplifying the genetic background of common buckwheat germplasm resources, and accurately describing the parent offspring relationship and genetic background are difficult technical issues facing the buckwheat germplasm researchers around the world. Breeding of germplasm resources requires quarantine measures in the trial fields, which needs to consider the size of pollen, mechanisms of buckwheat pollination, species of visiting insects, and amounts of seeds to produce etc. Here in this study, we developed a new method called “Five Nurseries” which includes quarantined hybrid nursery, quarantined individual breeding nursery, quarantined propagation nursery, quarantined control nursery, and field trial nursery. The purpose of this study is to explore the new buckwheat germplasm resources. The results of this study will allow us to select the best generation lines for crossing and provide the best germplasm resources of new buckwheat varieties.

Key words: buckwheat; germplasm resources; innovation; five nurseries

甜荞 (*Fagopyrum esculentum* moench) 是异花授粉作物^[1], 种植于农田的甜荞依赖虫媒和风媒来实现授粉结实, 因此在无隔离条件下种植甜荞种质资源极容易造成生物学混杂。从各地征集的甜荞种质

资源, 虽然在地域上长期保持隔离种植状态, 但由于引种等诸方面原因极易造成机械混杂, 很难保持其纯性。通过隔离套罩种植, 自然收集的一份甜荞种质资源可以分化出若干份新的甜荞遗传资源和类

收稿日期: 2015-09-15 修回日期: 2015-11-15 网络出版日期: 2016-06-08

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20160608.1426.008.html>

基金项目: 山西省科技攻关项目(041007-2)

第一作者研究方向为甜荞育种和荞麦种质资源。E-mail: nch_234@sina.com

型。众所周知,甜荞理论上存在 3 种花型。即长花柱花(T, Thrum)、短花柱花(P, Pin)和等花柱花(Homostyle),它们在群体中的占比分别是 49%、49% 和 2%^[2-3]。农业生产实践中,田间状态下很难找到等花柱花类型。荞麦的结实主要是长花柱花和短花柱花的互相授粉来实现结实^[4-7],即 $T \times P$ 、 $P \times T$ 。

甜荞在繁育过程中,如果处置不当,连续多年种植容易造成种质资源混为一体,散失大部分资源的植物学特征和生物学特性^[8-13]。传统的荞麦育种方法以连续多代选择为主,所选择的甜荞品种稳定时间长,且亲子代关系不明确。围绕创新甜荞资源和建立新的育种体系标准,本研究在严格隔离条件下,建立起以隔离杂交圃、隔离单繁圃、隔离扩繁圃、隔离比较圃和田间试验圃的“五圃法”。设立五圃的主要目的是:(1)实现自然杂交,减除人工杂交的成本和不确定性;(2)产生足够量的种子,用于相关试验研究和育种工作;(3)淘汰和剔除资源中所混杂的异交授粉依然不结实的群体,不育系类型;(4)科学评判每份资源的利用价值;(5)建立世代遗传关系明确的育种体系,为快速育种提供理论方法和依据。

1 材料与方法

1.1 材料

选择本所现有 584 份甜荞资源中的 F_{453} 、 F_{485} 、 F_{519} 等 20 份甜荞种质资源材料进行试验。隔离网罩材料为 1000 筛目的尼龙网。

1.2 方法

采用隔离套罩方法,建立隔离杂交圃、隔离单繁圃、隔离扩繁圃和隔离比较圃。其中隔离杂交圃用塑料钵进行花型配对隔离种植。隔离单繁圃、隔离扩繁圃和隔离比较圃在田间套罩隔离种植。而田间试验圃在自然条件下分小区进行种植。

1.2.1 隔离网罩的选择 甜荞的花粉粒大小为 $20 \sim 50 \mu\text{m}$ ^[4],700 筛目、800 筛目、1000 筛目尼龙网的孔径分别为 $20 \mu\text{m}$ 、 $18 \mu\text{m}$ 和 $13 \mu\text{m}$ 。因此选择 1000 筛目的尼龙网罩可以完全阻隔外缘甜荞花粉的进入。

1.2.2 五圃的建立和种植 (1)隔离杂交圃。用 1000 筛目的尼龙网做成 $50 \text{ cm} \times 50 \text{ cm} \times 170 \text{ cm}$ 规格的隔离网罩。对 20 份甜荞资源分别进行单株花型配对,套罩隔离盆栽种植。目的是防止材料间的花粉传播,保持每份供试材料的纯度。盆栽同一

品种(系)种质资源 2 盆,为确保每盆种植材料存在 T、P 2 种花型且可以选择出健苗,要求每盆种植 5 ~ 6 株。在荞麦初花期第 1 朵荞麦花开,立即用 10 倍以上放大镜鉴别荞麦的花型,1 盆保留 T 花型(长花柱花)植株 1 苗,另外 1 盆保留 P 花型(短花柱花)的植株 1 苗。标注花型挂牌后摘除花朵,防止非种内荞麦花粉授粉而影响纯度。将这 2 盆甜荞套罩隔离,进行自然杂交。隔离杂交圃产生的后代统一以 $T \times P \rightarrow F_{tpn}$ 、 $P \times T \rightarrow F_{ptn}$ ($n = 001, 002, 003, \dots, n$ 单位甜荞种质资源编号)来进行杂交标注。每个隔离杂交圃内收获的 2 份材料,产种量相对少,一般可收获 20 粒左右的种子。它们分别来源于隔离种植的两单株。并记载和调查每份材料的农艺性状和产量性状。设 3 次重复,共需 60 个隔离网罩。

(2)隔离单繁圃。用 1000 筛目的尼龙网做成 $100 \text{ cm} \times 100 \text{ cm} \times 170 \text{ cm}$ 规格的隔离网罩。将隔离杂交圃收获的材料 F_{tp453} 、 F_{tp485} 、 F_{tp474} 、…… F_{tp519} 和 F_{pt453} 、 F_{pt485} 、 F_{pt474} …… F_{pt519} 各 20 份 3 次重复,共 120 份材料种植于隔离单繁圃中进行扩繁,并记载和调查每份材料的农艺性状和产量性状。

(3)隔离扩繁圃。用 1000 筛目的尼龙网做成 $200 \text{ cm} \times 200 \text{ cm} \times 170 \text{ cm}$ 规格的隔离网罩。对隔离单繁圃的 120 份种子继续进行群体扩繁。在保证种子纯度的前提下,繁殖出后续试验所需要的种子量。并进一步对农艺性状和产量性状进行记载和考种,通过试验数据分析确定 10 份农艺性状稳定且结实高的材料。

(4)隔离比较圃。用 1000 筛目的尼龙网做成 $400 \text{ cm} \times 500 \text{ cm} \times 170 \text{ cm}$ 规格的隔离网罩。对隔离扩繁圃选择出的 10 份高结实材料进行产量比较试验,试验设 3 次重复,用 30 个同规格的网罩分别种植 10 份材料并进一步对农艺性状和产量性状进行记载和考种。

(5)田间试验圃。把隔离比较圃所选择的优良材料和优势组合进行自然条件下的田间鉴定,进一步选择丰产性好、农艺性状佳的荞麦品种(系)。田间种植规格为 $2 \text{ m} \times 3 \text{ m}$ 的小区,便于统计和分析。从中选择适合生产所用的荞麦良种。田间试验圃主要针对所选择的高结实材料之间和其原品系亲本材料做田间评比试验。

1.3 调查内容和统计方法

试验以单株粒数、单株粒重、千粒重为主要产量性状调查内容,农艺性状的调查以株高、主茎分枝

为主。

1.4 隔离圃内的授粉方式

隔离杂交圃主要隔离虫媒传播,借助风媒来实现授粉结实。隔离单繁圃、隔离扩繁圃和隔离比较圃采用人工放蜂来辅助授粉,以扩大种量。田间试验圃依赖自然的虫媒和风媒来实现授粉结实。

2 结果与分析

利用套罩隔离,短期内可获得纯化的荞麦资源品系。最初在隔离杂交圃可以收获 20 粒左右的种子。接着在隔离单繁圃里产出 18 g 左右的种子。在隔离扩繁圃产生 400 g 左右的种子量。这些种子纯度高,农艺性状表现一致。该试验研究以隔离杂交圃的试验为主来说明甜荞资源的分化和资源混杂问题,探索荞麦资源创新的方法,逐步摸索选育荞麦新品种的体系和方法。

2.1 甜荞种质资源间授粉的差异性

通过对 20 份甜荞种质资源的隔离观察和记载发现,甜荞种质资源遗传背景复杂,绝大部分种质资源 T 型花和 P 型花植株完全双向授粉且正常结实。少部分资源除双向授粉外,部分个体间存在单向授粉或者互不授粉的现象。归纳总结起来甜荞种质资源中存在 3 种授粉模式。即完全双向授粉,双向授粉+单向授粉,双向授粉+互不授粉。

2.1.1 完全双向授粉的品种(系) 在完全依赖风媒进行传粉的隔离条件下,甜荞种质资源的 2 种花

型花都可以正常授粉结实,正反交结实后的单株粒数也比较接近,仅个别品种(系)株粒数存在明显差异。完全双向授粉模式的甜荞种质资源遗传相对比较稳定。多数种质资源的授粉符合这一模式。在所供试的 20 份材料中,具备这类授粉模式的甜荞资源约占总参试材料的 85%(表 1)。

2.1.2 双向授粉+单向授粉特点的品种(系) 少部分甜荞种质资源材料经过花型配对后,多数 T 花型和 P 花型之间互相传粉正常结实。个别单株间存在单向授粉结实的情况。而单向授粉表现在 P 型花花粉授到 T 型花植株可以结实;而 T 型花花粉授到 P 型花植株表现不结实,比如:F₄₅₃、F₄₈₇ 等。这类资源约占试验材料的 10%。这一结果也表明,这类资源存在雄性不育的遗传基因,且雄性不育只表现在 T 花型植株,这类资源的产量性状表现较差(表 2)。

2.1.3 双向授粉+互不授粉的品种(系) 试验发现,极少数甜荞种质资源,除正常双向授粉结实外,部分单株间的 T 花型植株和 P 花型植株之间完全不亲和,互相之间不能正常授粉结实,如:F₃₃₉。这类资源约占试验材料的 5%。预见这类资源群体中存在不育基因或者花粉败育现象,需要进一步的研究和挖掘。同时这类种质资源的产量性状表现极差,单株粒数很少,完全影响到单株粒重等产量性状指标(表 3)。

表 1 完全双向授粉特点的品种(系)的单株粒数统计

Table 1 The average value of grains per plant which exist two flower types pollination character

品种(系) Variety(Line)	F ₂₆₈	F ₂₈₃	F ₃₀₅	F ₃₁₁	F ₃₄₉	F ₃₅₁	F ₃₆₅	F ₄₀₂	F ₄₂₉	F ₄₃₁	F ₄₄₈	F ₄₇₄	F ₄₈₅	F ₅₁₆	F ₅₁₉	F ₅₂₁	F ₅₃₈
T→P	17.7	28	9.3	37.3	19	27	9.7	10.7	15.3	6	21.3	21	31	8	37	51	6.7
P→T	23.3	24.7	8.7	67.3	40.3	27	11	1.7	11.7	8.3	19.7	10.7	29.7	14.7	13.3	20.3	10

表 2 单向授粉特点的品种(系)的单株粒数统计

Table 2 The average value of grains per plant which exist single flower type pollination character

品种 (系) Variety (Line)	F ₄₅₃				F ₄₈₇			
	I	II	III	平均值 (Mean)	I	II	III	平均值 (Mean)
T→P	0	18	23	13.7	20	0	24	14.7
P→T	44	52	61	52.3	48	21	35	34.7

表 3 互不授粉特点的品种(系)的单株粒数统计

Table 3 The average value of grains per plant which exist two flower types non pollination character

品种 (系) Variety (Line)	F ₃₃₉			
	I	II	III	平均值 (Mean)
T→P	0	4	7	3.7
P→T	0	6	4	3.3

2.2 甜荞遗传资源分化类型

从隔离单繁圃到隔离扩繁圃的隔离实施过程中,通过对农艺性状的观察和记载,发现甜荞种质资源会分化出很多类型,如裸荞、易脱壳荞麦、多花簇荞麦、矮化荞麦等新类型^[5-7]。这和甜荞资源本身与杂合体状态有关。通过五圃法的隔离种植,这些新资源的遗传背景被简化,可以为荞麦育种工作者提供不同类型的专用品种和生产用种。

2.3 甜荞强优势组合的配制

通过隔离措施,对隔离杂交圃的种子进行连续繁育产生出足够量的新种质资源材料,分别将它们标记为 F_{tp0001} 、 F_{tp0002} 、 F_{tp0003} 、 \dots 、 F_{tp0345} 、 \dots 、 F_{tpn} 和 F_{pt0001} 、 F_{pt0002} 、 F_{pt0003} 、 \dots 、 F_{pt0345} 、 \dots 、 F_{ptn} 。(标记中的 n 是指单位种子编号)。同时根据田间记载和室内考种,对创新种质进行比较分析,找出具

备各种优良性状的材料进行强优势组合配制,如: $F_{tp0003} \times F_{tp0412}$ 、 $F_{pt0003} \times F_{pt0412}$ 、 $F_{tp003} \times F_{pt0412}$ 、 $F_{pt003} \times F_{tp0412}$ 等。同时利用同心圆种植设计方式,中间大量种植某一品种并鉴别和保留 T、P 花型之一,周围种植另外花型的不同材料 20~30 份以上。通过 1 次隔离种植,可产生出 20~30 份杂交组合(图 1)。这种方法既加快了育种杂交过程,缩短了工作时间,又可保障种质的纯度。需要指出的是 $T \times T$ 和 $P \times P$ 之间表现自交不亲和^[3]。同心圆杂交设计方案不会造成种子混杂问题。通过该方法选育的荞麦品种,亲子关系明确,后代的表现稳定。通过五圃法的实践,结合混合选择方法,本课题组成功选育出品甜荞 1 号品种,且系列新品种在不断研发中。

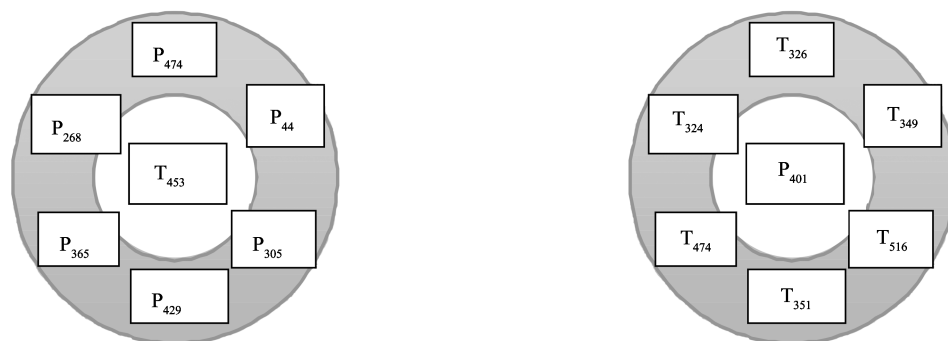


图 1 同心圆设计的杂交图示

Fig. 1 The graphic expression of hybrids by designing in concentric circles

2.4 甜荞育种体系建设

多年来甜荞品种选育一直依赖传统的单株选择、混合选择、人工杂交等方法^[1,14-17]。这些方法在品种选育过程中起到了很重要的作用。从高度杂合状态中选择出遗传稳定的甜荞品种,工作时间长且亲子关系不明确。通过“五圃法”,本研究建立起以 T 花型和 P 花型分别为母本的系列杂交材料。对这些材料统一标注和编号,结合农艺性状和产量性状的记载和调查,建立新的数据库。依据数据分析结果,本研究选择性地开展强优势组合的配置,从而达到选育高产品种的目的。同时,“五圃法”的实施使种间杂交和种内杂交得以完善和合理。

3 讨论

3.1 种质资源的工作内涵包括收集、整理、保护和利用

广泛的收集遗传资源类型,建立基因库和完整

可靠的数据资料以达到保护资源、利用资源的目的。和传统方法作比较,五圃法在纯化资源和创新资源上更有利用价值。

3.2 在隔离条件下,甜荞的授粉途径仅依赖风媒,从中发现了不同甜荞种质资源的授粉差异

通过花型配对隔离试验研究,能很好地认识甜荞种质资源授粉特点、结实能力以及花粉粒活力方面的差异,为选择育种材料提供了理论依据。

3.3 由于甜荞种质遗传背景复杂^[18-25],通过五圃法可分化出不同资源类型和新品系

利用这些新资源类型,未来既可以针对性地选择出不同用途的品种,借助于各种杂交方法,配制出强优势组合材料,同时这些纯化的资源材料为进一步开展分子生物学研究提供了可靠的试材。

3.4 在资源创新过程中,发现部分资源个体存在雄性不育基因和不育基因

从理论上进一步揭示出甜荞种质资源的差异和

多样性。同时也说明今后需要加强对荞麦花粉粒活力以及其授粉机理的深入研究。甜荞要实现高产,需要在遗传上剔除影响结实不良基因,保留花粉活力强的优良基因。

3.5 在甜荞的繁育方法中,隔离网室和隔离罩的方法已经被利用

但是利用隔离网罩来进行种内、种间杂交的方法未见报道。五圃法结合传统育种方法可以加快荞麦育种的进程,在理论上可以帮助育种工作者准确认识甜荞资源材料,在实践中选育出新的品种和新的材料,更好地为农业生产服务。

参考文献

- [1] 林汝法. 中国荞麦[M]. 北京:中国农业出版社,1994:106-137
- [2] Campbell C. Buckwheat crop improvement [J]. *Fagopyrum*, 2003,20:1-6
- [3] Namai H, Takeyama A. Effects of the number of compatible pollen grains deposited on a stigma lobe of each flower to seed set percentage, seed weight and seed yield in common buckwheat [C]// Taiyuan: Proceedings of The 5th international symposium on buckwheat, 1992:149-156
- [4] Fesenco etc. Way of buckwheat self-pollination[C]// Taiyuan: Proceedings of The 5th international symposium on buckwheat, 1992:234-235
- [5] Takashi Nagatomo studies on Heterostyly and seed setting of buckwheat[C]//Taiyuan: Proceedings of The 5th international symposium on buckwheat,1992:240-250
- [6] 南成虎,师颖,曹丽萍. 甜荞育种趋势与动态 [J]. 山西农业科学,2009,37(8):79-81
- [7] Adhikari K N, Campbell C G. In vitro germination and viability of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* moench) pollen [J]. *Euphytica*,102:87-89
- [8] 韩占山,张志清. 山旱地甜荞高产栽培技术 [J]. 农业科技通讯,1990(6):22-24
- [9] 尹万利,雷绪劳,王敬昌,等. 甜荞的食用价值与高产栽培技术措施[J]. 陕西农业科学,2009(3):207-209
- [10] 王纯喜,杨华. 甜荞新品种平荞5号特征特性及栽培技术要点 [J]. 杂粮作物,2009,29(6):400
- [11] 王贵平,孟德. 发展内蒙古杂粮产业的思考 [J]. 内蒙古农业科技,2004(S1):1-5
- [12] 赵彦垠,王琦,王红,等. 华池县发展甜荞生产的优势及建议 [J]. 甘肃农业科技,2007(3):41-42
- [13] 南成虎,穆志新,张晋. 加拿大甜荞产业化发展概况 [J]. 山西农业科学,2015(1):124-126
- [14] Hirose T, Ujihara A, Kitabayashi H, et al. Pollen tube behavior as related to self-incompatibility interspecific crosses of *Fagopyrum* [J]. *Breeding Sci*,1995,45:65-70
- [15] Woo S H, Wang Y J, Campbell C. Interspecific hybrids with *Fagopyrum cymosum* in the genus *Fagopyrum* [J]. *Fagopyrum*, 1993,13:35-39
- [16] Wang Y J, Campbell C. Interspecific hybridization in buckwheat among *Fagopyrum esculentum*, *F. homotropicum* and *F. tataricum* [C]//Winnipeg:Proc 7th Intl symp Buckwheat,1998:1-13
- [17] Mineo Minami. Morphology and inheritance of dwarfism in common buckwheat line G410 and it's stability under different growth conditions [J]. *Breeding Sci*,1999,49:27-32
- [18] Chen Q F. Wide hybridization among *Fagopyrum* (polygonaceae) species native to china [C]// Winnipeg:poc 7th Intl symp buckwheat,1998:1-17
- [19] Nomura Y, Hatahita M, Inoue M. Production of self-compatible common buckwheat by ion exposure [J]. *Fagopyrum*, 2002, 19:6-8
- [20] 赵刚,唐宇,王安虎. 中国甜荞的育种现状与展望 [J]. 种子世界,2002(7):3-4
- [21] 李银枝. 平鲁红山甜荞产业化发展的思考 [J]. 科学之友, 2012(8):155-157
- [22] 靳建刚. 右玉甜荞产业化现状及发展对策 [J]. 内蒙古农业科技,2006(7):99-100
- [23] 陶纯洁,袁鹏,王辛,等. 荞麦产品开发利用与发展的研究 [J]. 粮食与食品工业,2014(1):52-54
- [24] 邓天凤. 西德县甜荞产业发展的对策分析 [J]. 西昌农业科技,2003(3):67-68
- [25] 刘荣. 江苏省甜荞产业化发展现状和对策 [J]. 现代农业科技,2012(6):389-390