

# 苦荞杂交后代优良株系筛选研究

李春花<sup>1</sup>, 大泽良<sup>2</sup>, 小林喜和<sup>2</sup>, 原尚资<sup>2</sup>, 卢文洁<sup>1</sup>, 王艳青<sup>1</sup>, 王莉花<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>云南省农业科学院生物技术与种质资源研究所/云南省农业生物技术重点实验室/

农业部西南作物基因资源与种质创制重点实验室, 昆明 650223;

<sup>2</sup>筑波大学大学院生命环境科学研究科, 日本筑波 3058572)

**摘要:**对来源不同的9个苦荞品种的花期、株高、一级分枝数等9个农艺性状进行了Tukey的多重比较和主成分分析,筛选出性状间有显著差异的6个品种,进行了不完全双列杂交。根据对不完全双列杂交亲本间差异的分析结果,从中筛选出株高、一级分枝数等6个性状有显著遗传性差异的2个品种,测定其分离后代( $F_2$ 和 $F_3$ )各农艺性状的遗传模式和遗传相关。在北陆4号和石荞的 $F_4$ 中发现了12个优良单株(早熟、矮秆、高产),并根据苦荞各农艺性状的遗传特性,讨论了筛选优良株系的选拔方法。结果表明,利用杂交育种法筛选优良株系时,首先利用SSD法繁殖至 $F_4$ ,再利用系统育种法来选拔最为有效。

**关键词:**苦荞;农艺性状;双列杂交;筛选方法;优良株系

## Study on Selecting Method for Excellent Offspring Lines of Tartary Buckwheat

LI Chun-hua<sup>1</sup>, Ryo Ohsawa<sup>2</sup>, Kiwa Kobayashi<sup>2</sup>, Takashi Hara<sup>2</sup>, LU Wen-jie<sup>1</sup>, WANG Yan-qing<sup>1</sup>, WANG Li-hua<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Biotechnology and Germplasm Resources Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences/  
Yunnan Provincial Key Lab of Agricultural Biotechnology/Key Lab of Southwestern Crop Gene  
Resources and Germplasm Innovation, Ministry of Agriculture, Kunming 650223;

<sup>2</sup>Graduate School of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba, Tsukuba Japan 3058572)

**Abstract:** Nine agronomic traits including days to flowering, plant height, and first branch number, were used to evaluate nine tartary buckwheat (*Pagopyrum tataricum* (L.) Gaerth) varieties from different sources using multiple comparison Tukey and principal component analysis. Among them, six lines with large variation were selected and conducted diallel crosses. According to the results of diallel analyses, two varieties showing widest pairwise differences in plant height, first branch number, etc, were selected. Finally, six most varied agronomic traits were selected to evaluate the segregating individuals from the cross between the two selected varieties. The mode of inheritance and genetic correlation of each agronomic trait were estimated. From the  $F_4$  generation of Hokuriku No. 4 and Ishisoba, we identified twelve excellent plants (days to flowering early, short plant height and high yield), and based on the genetic information of these agronomic traits of tartary buckwheat, selecting strategy for excellent offspring lines was discussed on traits by using hybrid breeding method. The most effective strategy was comprised by SSD method in promoting of segregating population to  $F_4$  generation, and pedigree breeding method afterwards.

**Key words:** tartary buckwheat; agronomic traits; diallel crosses; selecting method; excellent offspring

苦荞 (*Pagopyrum tataricum* (L.) Gaerth) 属蓼科 (Polygonaceae) 荞麦属 (*Fagopyrum* Gaerth), 是荞

收稿日期:2014-03-21 修回日期:2014-05-24 网络出版日期:2014-12-11

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20141211.2202.007.html>

基金项目:国家燕麦荞麦产业技术体系(CARS-08-C-2);云南省社会发展科技计划(2012CH009)

第一作者主要从事作物遗传育种研究。E-mail:lichunhua2007@hotmail.com

通信作者:王莉花,主要从事荞麦新品种选育和病虫害防控等研究。E-mail:wanglihua70@hotmail.com

麦属 2 个栽培种之一。主要种植在中国西南、华北、西北等生态条件脆弱、自然灾害频发的高寒山区和丘陵地区,特别是云南、贵州和四川,并已成为这些地区的主要粮食作物。

随着社会的发展和科学技术的进步,苦荞以其独特的营养、保健和药用价值逐渐被人们认可,商品价值得到肯定,市场对苦荞的需求越来越大,高产优质苦荞新品种的推广应用成为苦荞生产的核心问题。目前苦荞的主要育种目标是高产优质,育种方法以系统选育和诱变育种等方法为主。杂交育种是种质创新和新品种选育的重要途径,在水稻、小麦、玉米等作物中被普遍利用,但尚未在苦荞育种中充分应用。近年来仅有 Y. Wang 等<sup>[1]</sup>、I. N. Fesenko<sup>[2]</sup>、Y. Mukasa 等<sup>[3]</sup>、李春花等<sup>[4]</sup>、C. H. Li 等<sup>[5]</sup>、王安虎<sup>[6-7]</sup>、杜晓磊等<sup>[8]</sup>利用杂交育种法对部分性状进行了遗传特性初步探讨,但有关利用杂交育种法筛选苦荞优良株系的研究至今未见报道。

对杂交育种来说,杂交亲本的选配与杂交后代中优良株系的选拔方法很重要<sup>[9]</sup>。因此,本研究阐述了杂交亲本选配原则并结合苦荞各性状遗传特性<sup>[4-5]</sup>,提出利用杂交育种法筛选苦荞优良株系的方法,为苦荞的遗传改良奠定基础。

## 1 杂交亲本的选配

### 1.1 材料

试材为来自 4 个国家的 9 个苦荞品种(表 1)。

表 1 供试品种的名称及来源

Table 1 Name and origin of varieties tested in the study

编号	品种名称	来源
No.	Varieties name	Origin
1	CV. PONTIVY	法国
2	TITE PHEPHAR100	尼泊尔
3	TITE PHEPHAR103	尼泊尔
4	鞑靼种	前苏联
5	石荞	日本
6	北系 1 号	日本
7	北系 2 号	日本
8	北陆 4 号	日本
9	北陆 5 号	日本

### 1.2 方法

试验在日本筑波大学试验地进行。海拔 18 m, 140°5'E、36°7'N,地势平坦,肥力中等,灌溉方便,土质黄壤。采用随机区组排列,3 次重复,小区面积 3 m<sup>2</sup>,行长 2 m,行距 0.5 m,播种量 50 粒/行,

条播,播种时施肥 N:P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>:K<sub>2</sub>O = 15:8:8。每小区随机取样 10 株,每个品种共取 30 株。

测定的主要农艺性状包括开花日数、株高、一级分枝数、二级分枝数、主茎节数、花序数、千粒重、株粒数、株粒重等 9 个性状,并依据《平成 14 年度种苗特性分类调查报告书》<sup>[10]</sup>进行单株调查。开花日数以播种至初花的天数计算。当植株 70%~80%的种子达到成熟色(褐色)时依次进行收获,同时测定株高、一级分枝数、二级分枝数、主茎节数及花序数。收获后,风干 2 周,测定千粒重、株粒数及株粒重。

采用 JMP ver. 5.0.1(SAS Institute Inc. 2000)统计软件进行 Tukey 的多重比较和主成分分析。

### 1.3 结果与分析

对 9 个品种的 9 个农艺性状进行 Tukey 多重比较(表 2),结果表明,在 9 个性状中 9 个品种间均差异显著,其中石荞的全部性状均比其他品种小,可以作为早熟、矮秆品种的杂交亲本。

利用主成分分析对 9 个品种的 9 个农艺性状进行性状间差异分析表明(图 1),9 个品种在散布图中分布广泛。第 1 主成分(PC1)的株粒数、千粒重、株粒重中,石荞的表型值最小,北系 1 号、北系 2 号、北陆 5 号的表型值较大。在第 2 主成分(PC2)的花序数、二级分枝数中,CV. PONTIVY 的表型值最小,TITE PHEPHAR100 和 TITE PHEPHAR103 的表型值较大。在第 3 主成分(PC3)的开花日数、株高、主茎节数、一级分枝数中,北陆 4 号和石荞的表型值较小,CV. PONTIVE 的表型值最大。这表明在 9 个性状中 9 个品种间存在着较大的品种间差异。

从 9 个品种中选择开花日数、株高等性状品种间差异明显的 6 个品种(TITE PHEPHAR100、北系 1 号、北陆 4 号、石荞、北系 2 号、CV. PONTIVEY)为不完全双列杂交亲本,进行品种间的不完全双列杂交及不完全双列分析,结果表明北陆 4 号和石荞是适合分离世代遗传分析的亲本<sup>[4]</sup>。

## 2 苦荞优良株系(早熟、矮秆、高产)的筛选方法

为选育苦荞优良株系(早熟、矮秆、高产),C. H. Li 等<sup>[5]</sup>采用北陆 4 号(日本北陆农业实验场选育的高产品种<sup>[11]</sup>)作为母本,石荞(北海道的早熟、矮秆品种<sup>[12-13]</sup>)作为父本进行了杂交,并以北陆 4 号为对照品种,选出了 12 个优良单株(开花早 4~13 d,株高是对照品种的 59%~76%,株粒重是对照品种的 70%~100%)。

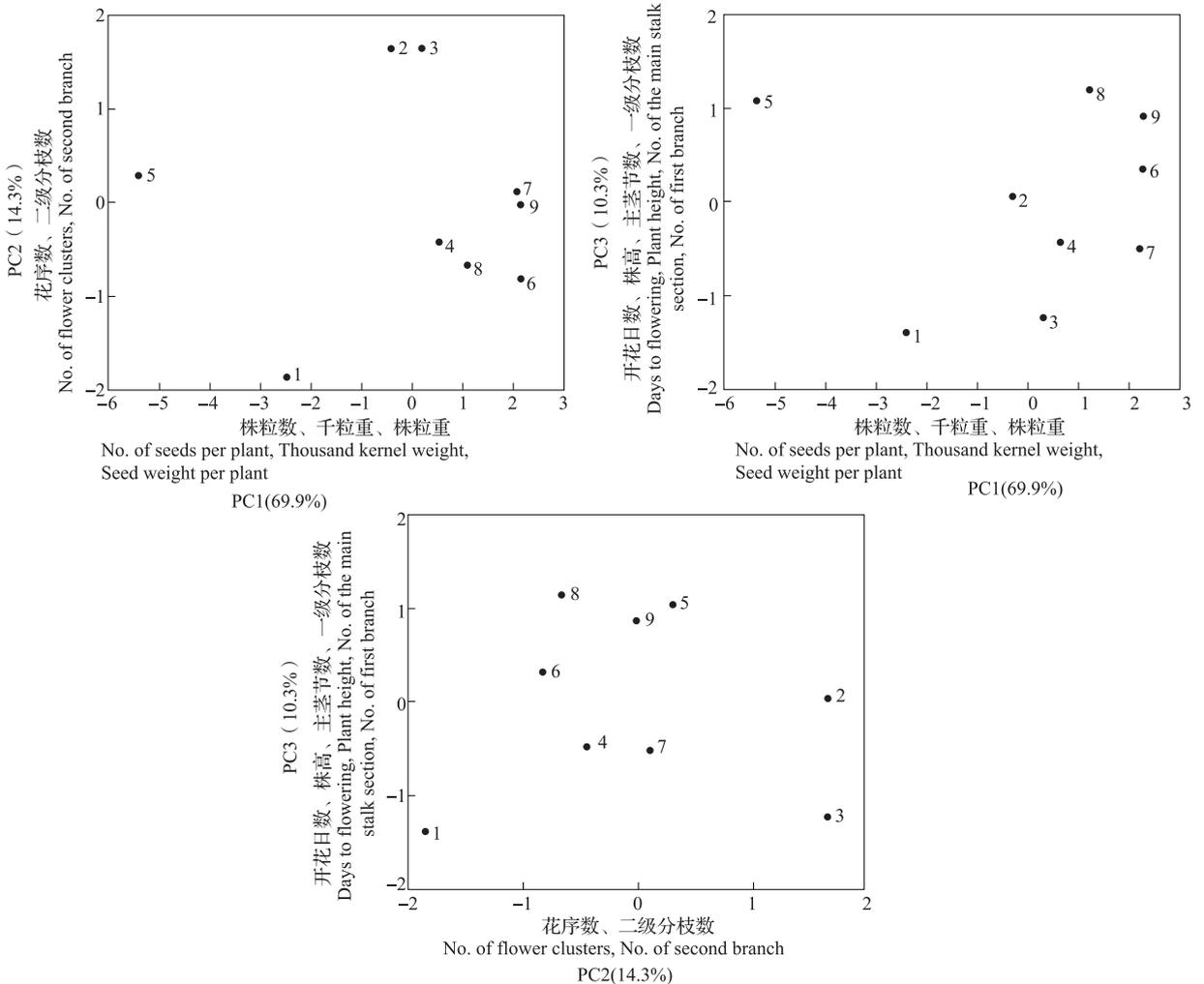
表 2 供试品种间 9 个农艺性状的比较

Table 2 Comparison of 9 agronomic traits among the varieties tested

品种 Varieties	开花日数(d) Days to flowering	株高(cm) Plant height	一级分枝数 No. of first branch	二级分枝数 No. of second branch	主茎节数 No. of the main stalk section	花序数 No. of flower clusters	株粒数 No. of seeds per plant	千粒重(g) Thousand kernel weight	株粒重(g) Seed weight per plant
CV. PONTIVY	32. 6d	73. 3d	7. 5de	13. 4b	15. 6cd	102. 3b	240. 3bc	13. 6c	3. 40cd
TYTE PHEPHIR100	34. 3bc	72. 3d	7. 4e	22. 5a	17. 7abc	164. 1a	318. 5abc	13. 4c	4. 52bcd
TYTE PHEPHIR103	35. 7a	91. 8c	8. 0cde	23. 1a	19. 4a	154. 9ab	326. 5abc	11. 7d	4. 03bcd
鞑靼种	34. 7abc	92. 5c	9. 4b	21. 8a	16. 9bcd	135. 5ab	346. 0ab	15. 1b	5. 53abc
石芥	25. 8e	31. 6e	5. 1f	18. 2ab	10. 9e	130. 4ab	128. 2c	11. 0d	1. 53d
北系 1 号	34. 7abc	111. 1a	8. 8bc	24. 6a	18. 0ab	133. 0ab	485. 8a	16. 9a	8. 32a
北系 2 号	35. 3ab	104. 1ab	10. 7a	26. 7a	18. 6ab	140. 1ab	419. 4a	15. 0b	6. 40ab
北陆 4 号	34. 2c	92. 3c	8. 6bcd	22. 7a	14. 8d	145. 6ab	430. 3a	17. 3a	7. 68a
北陆 5 号	34. 3bc	97. 1bc	9. 0bc	23. 8a	18. 2ab	155. 8ab	474. 1a	17. 4a	8. 49a
平均值 Average values	33. 5	85. 1	8. 3	21. 9	16. 7	140. 2	352. 1	14. 6	5. 54

不同的英文字母品种间在 5% 水平上存在显著差异

Different letters indicate highly significant differences between different varieties at 5% level



1~9 同表 1 中的编号;1-9 represent numbers of table 1

图 1 基于主成分的品种间差异分析

Fig. 1 Differences among varieties based on the principal component analysis

在筛选 12 个优良单株<sup>[5]</sup>的基础上,本研究提出了苦荞优良株系的筛选方法(图 2)。首先,以目标性状遗传特性差异较大的 2 个材料作亲本进行杂交,获得 F<sub>1</sub> 种子。但 F<sub>1</sub> 种子的数量决定杂交后代的单株数,F<sub>1</sub> 至少需要 10~20 粒。确认在 F<sub>1</sub> 的单株中选择表型相似的单株,并分别收种。2 个亲本也分别收种,并与杂交后代同时种植。自花授粉作物一般在 F<sub>1</sub> 不发生基因分离,要在后代中得到优良单株,需要计算出 F<sub>2</sub> 至少要种植的单株数量。在不考虑基因重组的情况下,选拔的对象性状是 r 对染色体或各性状以独立基因组成时,要以 α 的概

率得到优良纯系,当 F<sub>2</sub> 种植的单株 n 满足  $(1 - 0.75^r)^n < 1 - \alpha$  时,需要种植  $n \geq \log(1 - \alpha) / \log(1 - 0.75^r)$  的单株。另外,利用基因重组选育优良单株时,F<sub>2</sub> 必须存在杂合型的染色体,则需要种植单株数为  $n \geq \log(1 - \alpha) / \log(1 - 0.5^r)$ <sup>[14]</sup>。根据上述计算,假如苦荞的开花日数、株高、株粒重分别受 1 个基因位点的控制,每个基因位点有 1 对等位基因时,在 F<sub>2</sub> 中需要以 95% 的概率得 20 株优良单株,则各性状受独立基因的影响或影响各性状的基因连锁时,需要种植的单株分别为 180 株和 300 株。

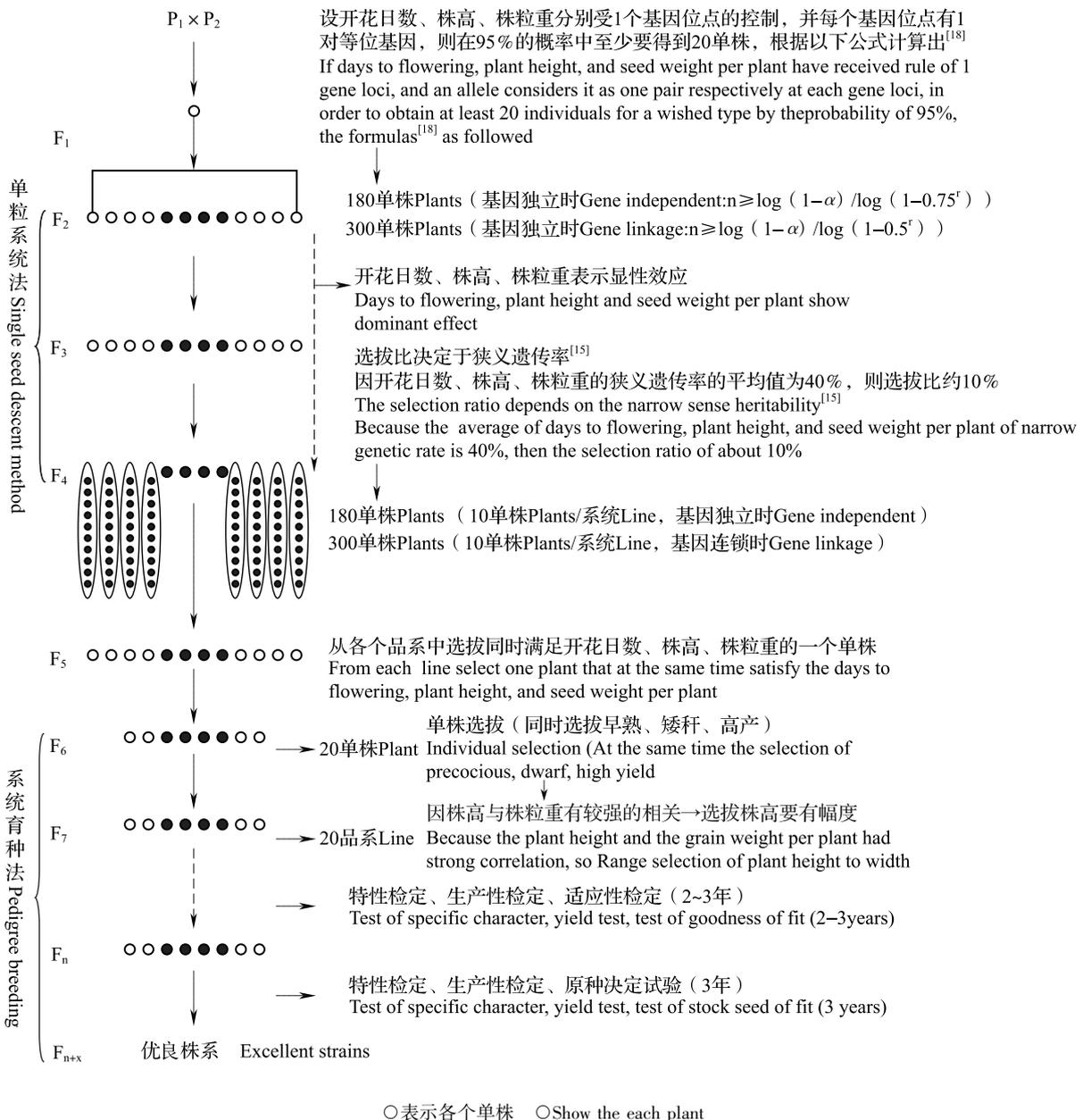


图 2 早熟、矮秆、高产株系的选拔顺序

Fig. 2 Selection order of early maturing, dwarf, and high yield

在各性状的选拔中,松尾孝嶺<sup>[15]</sup>报道了株粒数等产量相关性状由作物生育的最终阶段决定,是由生育过程各阶段表达的多个性状所构成的复合性状,因此遗传模式复杂、遗传率小,这些性状在杂交后代中不适合早期世代的选拔,而适合于各个性状稳定的后期世代中选拔。C. H. Li 等<sup>[5]</sup>研究表明开花日数、株高、株粒重容易受环境影响,适合后期世代选拔。在繁殖后代的方法中,N. I. Haddad 等<sup>[16]</sup>提出了利用 SSD 法繁殖到 F<sub>4</sub>之后筛选出的株高、成熟期和产量的遗传成分比利用集团育种法繁殖后代高,并且 SSD 法可以有效地降低成本。因此,本研究采用 SSD 法繁殖到 F<sub>4</sub>之后开始进行单株选拔。

另外,开花日数、株高、株粒重的狭义遗传力的平均值为 40%<sup>[5]</sup>,则这些性状的选择比约为 10%<sup>[17]</sup>。所以在 F<sub>4</sub>,各性状受独立基因的影响时,需要种植 180 品系各 10 个单株;影响各性状的基因连锁时,需要种植 300 品系各 10 个单株,并在 F<sub>5</sub>的各品系中选拔 1 株同时满足开花日数、株高、株粒重标准的单株。这样,在 F<sub>5</sub>可以得到 20 株优良单株。并且在 F<sub>6</sub>中进行单株选拔时,由于株高与产量有正相关性<sup>[5]</sup>,所以对株高在 60~100 cm 的幅度进行选拔。之后,根据系统育种法对被选拔的单株作为品系进行纯度测试,确定稳定性。确认稳定的优良品系,再进行产量鉴定试验及各种特性鉴定试验,表现优异的品系,即可成为新育成的品种。

### 3 讨论

增加苦荞单产对于社会需要与可持续发展具有重要的战略意义。良种是一种最为经济有效的增产因素,而良种的获得与作物育种方法是密不可分。随着人类文明的不断进步,作物育种经历了一个漫长的发展过程,从最初的系统选育,到后来的杂交育种、杂交优势育种、诱变育种、分子标记辅助育种、转基因育种等。从 20 世纪 60 年代起,我国进入了现代多样化育种阶段,方法的创新呈现出快速发展态势,现在基本形成了以杂交育种方法为主,多种育种方法并存的局面。但是对苦荞来说,由于花器官较小,花粉量较少,且基本属于闭花自交型,杂交育种尚未在苦荞育种中充分应用,目前为止也未育成杂交新品种。

我国苦荞是重要的出口产品,改变苦荞的商品质量也是适应市场的需要。苦荞育种要着眼于苦荞的株高,提高抗倒伏性;改善脱粒性、千粒重,提高子粒产量;改善脱壳难度及高黄酮品种,提高产品加工质量<sup>[18]</sup>。本研究结果表明,利用杂交育种法选育新

品种,首先要选配好杂交亲本后,根据育种目标和目标性状的遗传特性<sup>[4-5]</sup>,按照图 2 所示的选拔方法能达到目标。

本研究针对苦荞杂交后代优良株系筛选研究,证实了杂交育种在苦荞育种中的可行性,并且 F. L. Li 等<sup>[19]</sup>提出的株高小于 100 cm、生育期短、产量高的理想性状也可通过杂交育种实现。随着杂交育种方法在苦荞育种中的应用,我国苦荞育种将会有长足的进步,并在今后的分子标记辅助育种、转基因育种等奠定了基础。

### 参考文献

- [1] Wang Y, Campbell C G. Tartary buckwheat breeding (*Fagopyrum tataricum* L. Gaertn.) through hybridization with its rice-tartary type [J]. *Euphytica*, 2007, 156: 399-405
- [2] Fesenko I N. Non-Shattering accessions of *Fagopyrum tataricum* Gaertn. Carry recessive alleles at two loci affecting development of functional abscission layer [J]. *Fagopyrum*, 2007, 23: 7-10
- [3] Mukasa Y, Suzuki T, Honda Y. Suitability of rice-tartary buckwheat for crossbreeding and for utilization of rutin [J]. *Jpn Agr Res Quart*, 2009, 43 (3): 199-206
- [4] 李春花,小林喜和,尚原資,等. ダツタンソバの農業形質に関する片側ダイアレル分析 [J]. *育种学研究*, 2011, 13: 42-48
- [5] Li C H, Kobayashi K, Yoshida Y, et al. Genetic analyses of agronomic traits in Tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn.) [J]. *Breed Sci*, 2012, 62: 303-309
- [6] 王安虎. 苦荞杂交方法及 F<sub>1</sub> 代植物学性状表型研究 [J]. *西南大学学报: 自然科学版*, 2011, 33 (10): 1-6
- [7] 王安虎. 苦荞杂交 F<sub>2</sub> 代的植物学性状表型研究 [J]. *西南大学学报: 自然科学版*, 2012, 34 (6): 12-17
- [8] 杜晓磊,张宗文,吴斌,等. 苦荞 SSR 分子遗传图谱的构建及分析 [J]. *中国农学通报*, 2013, 29 (21): 61-65
- [9] 藤宏 卷, 鶴飼保雄, 山元皓二, 等. 植物育种学: 下 [M]. 東京: 培風館出版, 1992: 3-39
- [10] そば種苗特性分類調査委員会. 平成 14 年度種苗特性分類調査報告書そば(見直し) [M]. 長野: そば種苗特性分類調査委員会(長野県中信農業実験場), 2003: 1-49
- [11] 伊藤誠治. ソバ新品種「とよむすめ」の育成とダツタンソバの紹介 [J]. *北陸作物学会報*, 2004, 40: 146-149
- [12] Honda Y, Mukasa Y, Suzuki T, et al. Stone buckwheat, genetic resource of tartary buckwheat in Japan [C] // Proceedings of 9th International Symposium on Buckwheat, Prague, 2004: 185-189
- [13] 本田 裕, 六笠裕治, 鈴木達郎, 等. ダツタンソバ品種「北海 T8 号」の育成とその特性 [J]. *北海道農研研報*, 2010, 192: 1-13
- [14] 井山審也. 選抜における集団の大きさ [J]. *育种学雑誌別冊*, 1972, 22 (2): 186-187
- [15] 松尾孝嶺. 育种学 [M]. 東京: 養賢堂出版, 1981: 311-320
- [16] Haddad N I, Muehlbauer F J. Comparison of random bulk population and single-seed-descent methods for lentil breeding [J]. *Euphytica*, 1981, 30: 643-651
- [17] 鶴飼保雄. 量的形質の遺伝解析 [M]. 東京: 医学出版, 2002: 85-123
- [18] 柴岩, 李瑞国, 高冬丽. 苦荞育种思路和策略 [C] // 苦荞产业经济国际论坛论文集. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2006
- [19] Li F L, Li W L, Cao J X. Discussion of breeding objectives and methods on Tartary buckwheat [J]. *Buckwheat Trend*, 1999, 1: 12-14