

郭 瑞, 姚维成, 陈 琛, 等. 镇麦品种相关品质性状基因的分子标记检测分析[J]. 江苏农业学报, 2023, 39(1): 1-14.  
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2023.01.001

## 镇麦品种相关品质性状基因的分子标记检测分析

郭 瑞<sup>1,2</sup>, 姚维成<sup>1</sup>, 陈 琛<sup>1,2</sup>, 曲朝喜<sup>1</sup>, 温明星<sup>1,2</sup>, 刘家俊<sup>1</sup>, 邓 焱<sup>1</sup>, 申雪懿<sup>1</sup>, 李东升<sup>1,2</sup>

(1. 江苏丘陵地区镇江农业科学研究所, 江苏 句容 212400; 2. 江苏省作物基因组学和分子育种重点实验室/扬州大学农学院, 江苏 扬州 225009)

**摘要:** 为了阐明镇麦品种相关品质基因分布特点, 以 11 份镇麦品种为试验材料, 分别利用单粒谷物特性测定系统测定籽粒硬度指数, 采用分子标记和琼脂糖凝胶电泳分离技术检测籽粒硬度基因、高/低分子量麦谷蛋白亚基(HMW-GS/LMW-GS)、*Wx* 基因以及面粉色泽相关基因等分布特点, 并结合十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)技术明确镇麦材料的 HMW-GS 类型。结果表明, 硬度指数大于 60 的镇麦品种有 9 份, 均可检测到硬度基因突变。HMW-GS 分布特点为: 镇麦 168 等 8 份材料的组合均为 1/7+9/5+10, 镇麦 11 号为 1/7+8/2+12, 镇麦 17 和镇麦 19 为 Null/7+8/2+12。LMW-GS 有 *Glu-A3c*、*Glu-A3d*、*Glu-B3b*、*Glu-B3f* 和 *Glu-B3g* 5 种基因型, 其中镇麦 168、镇麦 13 和镇麦 17 为 *Glu-A3c/Glu-B3g*, 镇麦 11 号为 *Glu-A3d/Glu-B3g*, 镇麦 19 为 *Glu-A3c/Glu-B3b*, 其余 6 份镇麦品种均为 *Glu-A3c/Glu-B3f*。*Wx* 基因的检测结果表明, 镇麦品种中未检测到 *Wx* 基因突变, 均为野生型。面粉色泽及相关基因检测结果为: 镇麦材料的面粉白度为 74.47~78.70, 其中镇麦 168 的白度最小; 镇麦 168 等 8 份材料的基因型为 *Ppo-A1b/Ppo-B1a/Ppo-D1b/TaLox-B1b*, 镇麦 11 号和镇麦 19 为 *Ppo-A1a/Ppo-B1a/Ppo-D1a/TaLox-B1b*, 镇麦 17 为 *Ppo-A1a/Ppo-B1a/Ppo-D1a/b/TaLox-B1b*; 镇麦 168、镇麦 12 号和镇麦 16 为 *Psy-A1b/Psy-B1d/Psy-D1a*, 镇麦 11 号和镇麦 13 为 *Psy-A1b/Psy-B1b/Psy-D1a*, 其余 6 份镇麦品种为 *Psy-A1b/Psy-B1a/Psy-D1a*。

**关键词:** 小麦; 品质; 基因; 分子标记

中图分类号: S512.1<sup>+</sup>10.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-4440(2023)01-0001-14

## Analysis of molecular markers detection for genes related to quality traits in Zhenmai wheat cultivars

GUO Rui<sup>1,2</sup>, YAO Wei-cheng<sup>1</sup>, CHEN Chen<sup>1,2</sup>, QU Chao-xi<sup>1</sup>, WEN Ming-xing<sup>1,2</sup>, LIU Jia-jun<sup>1</sup>, DENG Yao<sup>1</sup>, SHEN Xue-yi<sup>1</sup>, LI Dong-sheng<sup>1,2</sup>

(1. Zhenjiang Institute of Agricultural Sciences in the Hilly Area of Jiangsu Province, Jurong 212400, China; 2. Jiangsu Key Laboratory of Crop Genomics and Molecular Breeding/ College of Agriculture, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

**Abstract:** This study was designed to elucidate the distribution characteristics of quality-related genes in Zhenmai

收稿日期: 2022-04-24

基金项目: 镇江市农业科学院青年基金项目(QNJJ2019001); 镇江市重点研发计划——现代农业项目(NY2021005); 江苏省作物基因组学和分子育种重点实验室开放课题(PL202008); 江苏省重点研发项目(BE2021375)

作者简介: 郭 瑞(1990-), 女, 江苏徐州人, 硕士研究生, 研究方向为小麦遗传育种。(Tel) 0511-80978066; (E-mail) grui66@yeah.net

通讯作者: 李东升, (E-mail) lds0538@163.com

wheat varieties. Eleven wheat varieties of Zhenmai were used as the tested materials. Grain hardness was measured by single kernel characterization system. The distribution characteristics of hardness gene, high molecular weight glutenin subunit (HMW-GS) gene, low molecular weight glutenin subunit (LMW-GS) gene, *Wx* gene, and flour color related genes in Zhenmai varieties were detected by molecular markers and agarose gel electrophoresis technology, and HMW-GS was determined by sodium dodecyl sul-

phate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE). The results showed that nine Zhenmai wheat varieties were hard wheats, and the hardness gene mutation could be detected. Distribution characteristics of HMW-GS were analyzed, and it was found that the subunit combinations of eight wheat varieties including Zhenmai 168 were 1/7+9/5+10, the subunit combination of Zhenmai 11 was 1/7+8/2+12, the subunit combinations of Zhenmai 17 and Zhenmai 19 were Null/7+8/2+12. For LMW-GS compositions, there were five genotypes, *Glu-A3c*, *Glu-A3d*, *Glu-B3b*, *Glu-B3f* and *Glu-B3g*. LMW-GS compositions of Zhenmai 168, Zhenmai 13 and Zhenmai 17 were *Glu-A3c/Glu-B3g*, Zhenmai 11 and Zhenmai 19 were *Glu-A3d/Glu-B3g* and *Glu-A3c/Glu-B3b*, respectively, other six wheat varieties were *Glu-A3c/Glu-B3f*. The detecting results of *Wx* gene indicated that there was no *Wx* gene mutation in Zhenmai varieties. The flour whiteness of Zhenmai wheat varieties was 74.47–78.70, and the whiteness of Zhenmai 168 was the lowest. Genotypes of eight Zhenmai wheat varieties including Zhenmai 168 were *Ppo-A1b/Ppo-B1a/Ppo-D1b/TaLox-B1b*, Zhenmai 11 and Zhenmai 19 were *Ppo-A1a/Ppo-B1a/Ppo-D1a/TaLox-B1b*, Zhenmai 17 was *Ppo-A1a/Ppo-B1a/Ppo-D1a/b/TaLox-B1b*. *Psy* gene compositions of Zhenmai 168, Zhenmai 12 and Zhenmai 16 were *Psy-A1b/Psy-B1d/Psy-D1a*, Zhenmai 11 and Zhenmai 13 were *Psy-A1b/Psy-B1b/Psy-D1a*, other six Zhenmai wheat varieties were *Psy-A1b/Psy-B1a/Psy-D1a*.

**Key words:** wheat; quality; gene; molecular markers

镇麦品种因优质红皮中强筋方面的优势,近年来备受关注,并被广泛用作亲本资源。镇麦 168 是江苏省淮南麦区首个红皮中强筋小麦品种,且后续镇麦品种多以优质中强筋、强筋品种为主,为江苏省淮南麦区开展中强筋、强筋小麦新品种选育奠定了坚实基础。前人对镇麦相关品种的选育和生理特性进行了研究,并形成了相应的栽培技术规程,但对镇麦品质特性的研究相对较少,因此研究其品质遗传规律将为小麦育种及生产应用等方面提供理论支撑,非常必要。

目前,影响小麦品质的硬度、高分子量谷蛋白亚基、低分子量谷蛋白亚基、*Wx* 基因、多酚氧化酶和黄色素等相关品质性状的功能性分子标记已得到广泛应用。籽粒硬度是小麦品质分类的重要依据,主要由 *Pina*、*Pinb* 基因控制<sup>[1]</sup>, *Pina-D1b*、*Pinb-D1b*<sup>[2-3]</sup> 基因的功能标记已在小麦辅助筛选中广泛应用。麦谷蛋白是影响小麦面粉加工品质的重要因素,其构成亚基根据分子量大小可分为高分子量麦谷蛋白亚基(HMW-GS)和低分子量麦谷蛋白亚基(LMW-GS)。其中, HMW-GS 在改进小麦的面筋品质中有重要作用<sup>[4]</sup>,而 LMW-GS 影响面团的强度和延伸性,其等位变异对小麦面筋品质和籽粒蛋白组分含量均有显著影响<sup>[5]</sup>。目前 HMW-GS 主要有 Ax1、Null、Ax2\*、Bx7、Bx7<sup>OE</sup>、By8、By9、By17、Dx2、Dy12、Dx5 和 Dy10 等类型,优质的 LMW-GS 基因包括 *Glu-A3d*、*Glu-B3b*、*Glu-B3g* 等<sup>[6-12]</sup>。编码直链淀粉合成的关键基因 *Waxy*,其等位基因类型决定了直链淀粉的含量,进而影响小麦的品质。普通小麦含有 3 种类型的 *Wx* 基因,即 *Wx-A1*、*Wx-B1* 和 *Wx-D1*<sup>[13-15]</sup>,其中任一基因功能异常,尤其是 *Wx-B1*,都会影响直链淀粉

合成,改变糊化温度和膨胀特性<sup>[16-17]</sup>。面粉及面制品的色泽主要与色素含量相关,是由多酚氧化酶(*PPO*)、脂肪氧化酶(*LOX*)等对色素类物质的氧化降解,以及八氢番茄红素合酶(*PSY*)等对色素类物质的合成积累来调控<sup>[18-20]</sup>。*PPO* 是导致面制品褐变的主要因素,其蛋白质活性主要由不同基因型决定<sup>[21]</sup>, *PPO18*<sup>[22]</sup>、*F-8*<sup>[23]</sup>、*STS01*<sup>[24]</sup>、*PPO16* 和 *PPO29*<sup>[25]</sup> 等功能标记可用来鉴定各染色体上的控制高/低 *PPO* 活性的等位基因。*LOX* 可以促进多聚不饱和脂肪酸释放出高活性氧自由基,氧化类胡萝卜素等色素类物质,从而对面粉颜色起到漂白作用<sup>[26-27]</sup>,可有效检测 *TaLox-B1* 基因的显性标记有 *LOX16* 和 *LOX18*<sup>[28]</sup>。黄色素含量与面制品的外观品质显著相关,用于鉴别控制高/低黄色素含量的等位基因的标记主要有 *YP7A*、*YP7B* 和 *YP7D*<sup>[29-30]</sup>。

镇麦品种品质优良,但其相关品质的遗传特性尚不清楚,相关品质性状基因的研究尚处于起步阶段。本研究拟对镇麦 168 及镇麦 9 号等镇麦品种的品质相关性状进行功能标记检测,明确其品质遗传特性,筛选优质亲本资源,探索镇麦品种优异品质形成机理,以期作为优质中强筋、强筋小麦品种的选育提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验材料包括镇麦 168、镇麦 9 号、镇麦 10 号、镇麦 11 号、镇麦 12 号、镇麦 13、镇麦 15、镇麦 16、镇麦 17、镇麦 18 和镇麦 19(表 1),对照材料为扬麦 158 和扬麦 20,共计 13 份原种材料,其中镇麦相关材料均由江苏丘陵地区镇江农业科学研究所选育,

对照品种来源于江苏里下河农业科学研究所。2018–2021 年连续 3 年统一种植在江苏丘陵地区镇江农业科学研究所农业科技创新中心小麦展示示范基地,成熟期按小区收获、脱粒,并进行品质分析。

## 1.2 硬度测定

采用单粒谷物特性测定仪(Perten 公司产品,SKCS 4100 型)测定籽粒硬度指数,测定方法按 GB/T 2304–2007 执行,测定前确保每个样本的纯度。

## 1.3 白度测定

利用智能白度测定仪(杭州天成光电有限公司产品,WGB-2000L 型)分析小麦面粉白度,每个样品设 3 个重复。

## 1.4 分子标记鉴定

小麦籽粒 DNA 的提取采用十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)法。PCR 反应体系:2×Taq Mix 7.5 μl,10 μmol/L 的引物各 0.5 μl,模板 DNA 为 1.0 μl,加 ddH<sub>2</sub>O 补足至 15.0 μl。扩增程序:94 ℃ 预变性 3 min;94 ℃ 变性 30 s,53~62 ℃ 退火 30 s,72 ℃ 延伸 30 s(延伸时间根据产物大小按 1 kb/min 调整),扩增 30~35 个循环,72 ℃ 延伸 10 min,16 ℃ 保温。

PCR 反应产物在 1%~3% 的经溴化乙锭(EB)

染色的琼脂糖凝胶中进行电泳,利用凝胶成像仪拍照观察。引物序列见表 2。

表 1 相关镇麦品种系谱表

Table 1 Pedigree of Zhenmai series wheat varieties

品种	组合	品质类型
镇麦 168	苏麦 6 号/97G59	强筋
镇麦 9 号	苏麦 6 号/97G59	中强筋
镇麦 10 号	苏麦 6 号/97G59	中强筋
镇麦 11 号	扬麦 15 号/镇麦 5 号	中筋
镇麦 12 号	镇麦 168 系选	强筋
镇麦 13	(宁 04126/镇 09196)F <sub>1</sub> //宁 04126	中强筋
镇麦 15	宁 04126/(扬麦 158/ok94p549-2e) <sup>2</sup>	中强筋
镇麦 16	苏 9356/豫麦 29I 系	中强筋
镇麦 17	镇 06178/宁麦 11	中筋
镇麦 18	镇麦 168/扬麦 11	强筋
镇麦 19	镇 9759/豫麦 29I 系	中筋

## 1.5 SDS-PAGE 蛋白质电泳

选取无病小麦种子,按照张平平等<sup>[31]</sup>的方法进行蛋白质提取及 SDS-PAGE 电泳检测,对试验材料的 HMW-GS 进行分析。

表 2 分子标记 PCR 扩增引物序列

Table 2 PCR amplification primers of molecular markers used in the study

标记名称	引物序列 (5'→3')	等位变异类型	退火温度 (℃)	扩增片段 (bp)	参考文献
<i>Pina-D1a</i>	TCACCACTAATAGCCAATAGTG ATGAAGGCCCTCTTCTCA	<i>Pina-D1a</i>	60	447	[3]
<i>A-Null</i>	ACAACCGCACACAGAAATCG CAATGGGCGCCACTATAACA	<i>Pina-D1b</i>	60	326	[3]
<i>Gly</i>	ATGAAGACCTTATTCTCCTA CTCATGCTCACAGCCGC	<i>Pinb-D1a</i>	60	250	[1]
<i>ser</i>	ATGAAGACCTTATTCTCCTA CTCATGCTCACAGCCGC	<i>Pinb-D1b</i>	60	250	[1]
<i>Ax2*</i>	ATGACTAAGCGTTTGTTCTT ACCTTGCTCCCTTGCTTT	<i>Ax2*</i>	58	1 319	[32]
<i>Pina-N1</i>	AATACCACATGGTTCTAGATACTG GCAATACAAAGACCTCTAGATT	<i>Pina-D1b</i>	58	776	[33]
<i>Pina-N2</i>	TCAACATTCGTGCATCATCA CTTCATTTCGTACAGATTCCAT	<i>Pina-D1r</i>	58	436	[34]
<i>Pina-N3</i>	CATCTATTTCATCCACCTGC CACTATATTGCCGGGATTTT	<i>Pina-D1s</i>	58	440	[35]
<i>Pina-D1</i>	CATCTATTTCATCCACCTGC GTGACAGTTTATTAGCTAGTC	<i>Pina-D1</i>	60	524	[36]
<i>Pinb-D1</i>	GAGCCTCAACCCATCTATTTCATC CAAGGTGATTTTATTCATAG	<i>Pinb-D1</i>	54	597	[36]
<i>bx7</i>	CACTGAGATGGCTAAGCGCC GCCTTGGACGGCACACAGG	<i>Bx7</i>	62	231	[37]

续表2 Continued2

标记名称	引物序列 (5'→3')	等位变异类型	退火温度 (°C)	扩增片段 (bp)	参考文献
<i>TaBAC1215C06-F517/R964</i>	ACGTGTCCAAGCTTTGGTTC GATTGGTGGGTGGATACAGG	<i>Bx7<sup>OE</sup></i>	58	447	[10]
<i>TaBAC1215C06-F24671/R25515</i>	CCACTTCCAAGGTGGGACTA TGCCAACACAAAAGAAGCTG	<i>Bx7<sup>OE</sup></i>	58	844	[10]
<i>ZSB<sub>y</sub>8F5/R5</i>	TTAGCGCTAAGTGCCGTCT TTGTCCTATTTGCTGCCCTT	<i>By8</i>	64	527	[8]
<i>ZSB<sub>y</sub>9aF1/R3</i>	TTCTCTGCATCAGTCAGGA AGAGAAGCTGTGTAATGCC	<i>By9</i>	59	662	[8]
<i>UMN19</i>	CGAGACAATATGAGCAGCAAG CTGCCATGGAGAAGTTGGA	<i>Ax2</i> * <i>Ax1</i> 或 <i>Null</i>	58	344 362	[38]
<i>UMN25</i>	GGGACAATACGAGCAGCAAA CTTGTTCCGCTTGTGCCA	<i>Dx2</i> <i>Dx5</i>	58	299 281	[38]
<i>UMN26</i>	CGCAAGACAATATGAGCAAACT TTGCCCTTTGCTCTGTGTC	<i>Dy10</i> <i>Dy12</i>	58	397 415	[38]
<i>LA1F/SA1R</i>	AAACAGAATTATTAAGCCGG GGTTGTTGTTGTCAGCA	<i>Glu-A3a</i>	60	529	[11]
<i>LA3F/SA2R</i>	TTCAGATGCAGCCAAACAA GCTGTGCTTGGATGATACTCTA	<i>Glu-A3b</i>	60	894	[11]
<i>LA1F/SA3R</i>	AAACAGAATTATTAAGCCGG GTGGCTGTTGTGAAAACGA	<i>Glu-A3a/c</i>	60	573	[11]
<i>LA3F/SA4R</i>	TTCAGATGCAGCCAAACAA TGGGGTTGGGAGACACATA	<i>Glu-A3d</i>	60	967	[11]
<i>LA1F/SA5R</i>	AAACAGAATTATTAAGCCGG GGCACAGACGAGGAAGGTT	<i>Glu-A3e</i>	60	158	[11]
<i>LA1F/SA6R</i>	AAACAGAATTATTAAGCCGG GCTGCTGCTGCTGTGTA	<i>Glu-A3f</i>	60	552	[11]
<i>LA1F/SA7R</i>	AAACAGAATTATTAAGCCGG AAACAACGGTGATCCAACAA	<i>Glu-A3g</i>	60	1 345	[11]
<i>SB1F/SB1R</i>	CACAAGCATCAAAACCAAGA TGGCACACTAGTGCTGCTC	<i>Glu-B3a</i>	55	1 095	[12]
<i>SB2F/SB2R</i>	ATCAGGTGTAAGAGTGATAG TGCTACATCGACATATCCA	<i>Glu-B3b</i>	56	1 570	[12]
<i>SB3F/SB3R</i>	CAAATGTTGCAGCAGAGA CATATCCATCGACTAAACAAA	<i>Glu-B3c</i>	56	472	[12]
<i>SB4F/SB4R</i>	CACCATGAAGACCTTCCTCA GTTGTTGCAGTAGAACTGGA	<i>Glu-B3d</i>	58	662	[12]
<i>SB5F/SB5R</i>	GACCTTCCTCATCTTCGCA GCAAGACTTTGTGGCATT	<i>Glu-B3e</i>	58	669	[12]
<i>SB6F/SB6R</i>	TATAGCTAGTGCAACCTACCAT CAACTACTCTGCCACAACG	<i>Glu-B3f/g</i>	52	812	[12]
<i>SB7F/SB7R</i>	CCAAGAAATACTAGTTAACTAGTC GTTGGGGTTGGGAAACA	<i>Glu-B3g</i>	60	853	[12]
<i>SB8F/SB8R</i>	CCACCACAACAAACATTAA GTGCTGGTTCTATACAACGA	<i>Glu-B3h</i>	60	1 022	[12]
<i>SB9F/SB9R</i>	TATAGCTAGTGCAACCTACCAT TGCTTGTGCGGTATAATT	<i>Glu-B3i</i>	58	621	[12]
<i>SB10F/SB10R</i>	GCATCAACAACAAATAGTACTAGAA GGCGGGTCACACATGACA	<i>Glu-B3b/e/f</i>	60	750	[12]
<i>MAG264</i>	CCAAAGCAAAGCAGGAAACC TACCTCGGAGATGACGCTGG	<i>Wx-A1a</i> <i>Wx-A1b</i>	55	336 317	[13]

续表2 Continued2

标记名称	引物序列 (5'→3')	等位变异类型	退火温度 (°C)	扩增片段 (bp)	参考文献
<i>BDFL/BRC1</i>	CTGGCCTGCTACCTCAAGAGCAACT GGTTGCGGTTGGGGTCGATGAC	<i>Wx-B1a</i>	55	778	[14]
<i>BFC/BRC2</i>	CGTAGTAAGGTGCAAAAAAGTGCCACG ACAGCCTTATTGTACCAAGACCCATGTGTG	<i>Wx-B1b</i>	55	668	[14]
<i>Wx-D1</i>	ACAGGATCTCTCCTGGAAG GCAAGGAAAATAGTGAAGC	<i>Wx-D1a</i> <i>Wx-D1b</i>	55	840 260	[15]
<i>PPO18</i>	AACTGCTGGCTCTTCTTCCCA AAGAAGTTGCCCATGTCCGC	<i>Ppo-A1a</i> <i>Ppo-A1b</i>	52	685 876	[22]
<i>F-8</i>	ACCTTGACTCCAGTGGGACC CCGAGTAGAAGTTGCCCAT	<i>Ppo-B1a</i> <i>Ppo-B1b</i>	58	400/600 400	[39]
<i>PPO16</i>	TGCTGACCGACCTTGACTCC CTCGTCACCGTCACCCGTAT	<i>Ppo-D1a</i>	60	713	[40]
<i>PPO29</i>	TGAAGCTGCCGGTCATCTAC AAGTTGCCCATGTCTCGCC	<i>Ppo-D1b</i>	60	490	[6]
<i>STS01</i>	CGCCGACCATTTCAACAA AGAAGGACCACAAGCCGTAG	<i>Ppo-D1a</i>	60	560	[24]
<i>LOX16</i>	CCATGACCTGATCCTTCCCTT GCGCGGATAGGGGTGGT	<i>TaLox-B1a</i>	60	489	[28]
<i>LOX18</i>	ACGATGTGAGTTGTGACTTGTGA GCGCGGATAGGGGTGTC	<i>TaLox-B1b</i>	60	791	[28]
<i>YP7A-1</i>	GGACCTTGCTGATGACCGAG TGACGGTCTGAAGTGAGAATGA	<i>Psy-A1a/c</i> <i>Psy-A1b</i>	60	194 231	[29]
<i>YP7A-2</i>	GCCAGCCCTTCAAGGACATG CAGATGTCGCCCACTGCCA	<i>Psy-A1a/b</i> <i>Psy-A1c</i>	60	1 686 1 001	[30]
<i>YP7B-1</i>	GCCACAACCTGAATGTGAAAC ACTTCTTCCATTTGAACCCC	<i>Psy-B1a</i> <i>Psy-B1b</i>	60	151 156	[30]
<i>YP7B-2</i>	GCCACCCACTGATTACCACTA CCAAGGTGAGGGTCTTCAAC	<i>Psy-B1c</i>	60	428	[30]
<i>YP7B-3</i>	GAGTAAGCCACCCACTGATT TCGCTGAGGAATGTACTGAC	<i>Psy-B1d</i>	62	884	[30]
<i>YP7B-4</i>	AGGTACCAGCCAGCCATA CTCGTCAAAGTTCTGTGATCC	<i>Psy-B1e</i>	58	717	[30]
<i>YP7D-1</i>	TCCGACACCATCACCAAGTTCC CGTTGTAGGTTTGTGGGAGT	<i>Psy-D1a</i> <i>Psy-D1g</i>	58	1 074 1 093	[41]
<i>YP7D-2</i>	ACTCCACAAACCTACAACG ACGCTCATCAACCCACG	<i>Psy-D1a</i> <i>Psy-D1g</i>	58	967 1 046	[41]

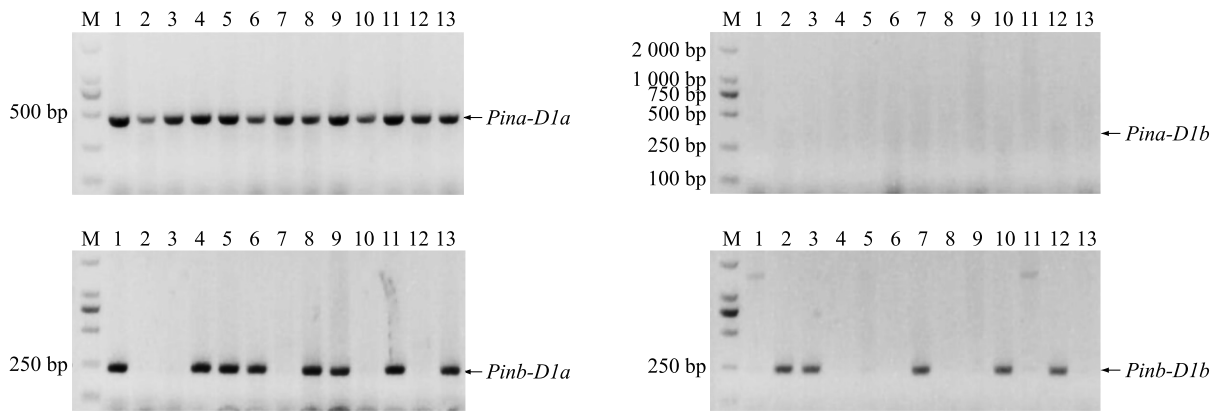
## 2 结果与分析

### 2.1 小麦籽粒硬度指数及硬度基因分子标记检测

利用单粒谷物特性测定系统 (SKCS) 法测定籽粒硬度, 硬度指数 $\geq 60$ 的为硬质麦, 40~60 的为混合麦,  $<40$  的为软质麦<sup>[42]</sup>。硬度指数和分子标记检测结果表明, 镇麦品种中硬度指数 $>60$  的硬质麦有 9 份, 硬度指数 $<60$  的混合麦有 2 份。镇麦品种及对照品种扬麦 158 和扬麦 20 的等位变异类型均为 *Pina-D1a* 类型, 镇麦 9 号、镇麦 10 号、镇麦 15、镇麦

18 和扬麦 158 为 *Pinb-D1b* 类型, 镇麦 168、镇麦 12 号、镇麦 13 和镇麦 16 为 *Pinb-D1p* 类型, 且硬度指数大于 60, 其余材料为 *Pinb-D1a* 类型 (图 1、表 3)。利用 *Pina-N1*、*Pina-N2* 和 *Pina-N3* 标记引物对 *Pina-D1a* 类型的材料进行扩增, 结果表明无 *Pina-D1b*、*Pina-D1c*、*Pina-D1l*、*Pina-D1r* 和 *Pina-D1s* 等变异类型。*Pinb-D1* 的扩增产物测序比对结果进一步验证了镇麦 9 号等材料为 *Pinb-D1b* 类型, 而镇麦 168、镇麦 12 号、镇麦 13 和镇麦 16 的扩增产物序列缺失单碱基 G, 为 *Pinb-D1p* 类型。





M:DL2 000 DNA marker;1:镇麦 168;2:镇麦 9 号;3:镇麦 10 号;4:镇麦 11 号;5:镇麦 12 号;6:镇麦 13;7:镇麦 15;8:镇麦 16;9:镇麦 17;10:镇麦 18;11:镇麦 19;12:扬麦 158;13:扬麦 20。

图 1 利用 *Pina-D1* 和 *Pinb-D1* 分子标记检测试验材料中硬度基因的等位变异

Fig.1 Identification of hardness gene allelic variation by molecular markers of *Pina-D1* and *Pinb-D1* in tested materials

表 3 试验材料中硬度基因等位变异类型

Table 3 Distribution of allelic variations of hardness gene in tested materials

序号	品种	硬度指数	<i>Pina-D1</i>	<i>Pinb-D1</i>	序号	品种	硬度指数	<i>Pina-D1</i>	<i>Pinb-D1</i>
1	镇麦 168	68.53±0.11	a	p	8	镇麦 16	65.51±0.52	a	p
2	镇麦 9 号	60.39±0.18	a	b	9	镇麦 17	60.96±0.18	a	a
3	镇麦 10 号	65.09±0.22	a	b	10	镇麦 18	67.52±0.41	a	b
4	镇麦 11 号	58.65±0.38	a	a	11	镇麦 19	58.97±0.17	a	a
5	镇麦 12 号	67.01±0.09	a	p	12	扬麦 158	61.09±0.35	a	b
6	镇麦 13	60.54±0.40	a	p	13	扬麦 20	48.66±0.49	a	a
7	镇麦 15	67.18±0.40	a	b					

a、b、p 分别代表基因型 *Pina-D1a*、*Pinb-D1b*、*Pinb-D1p*。

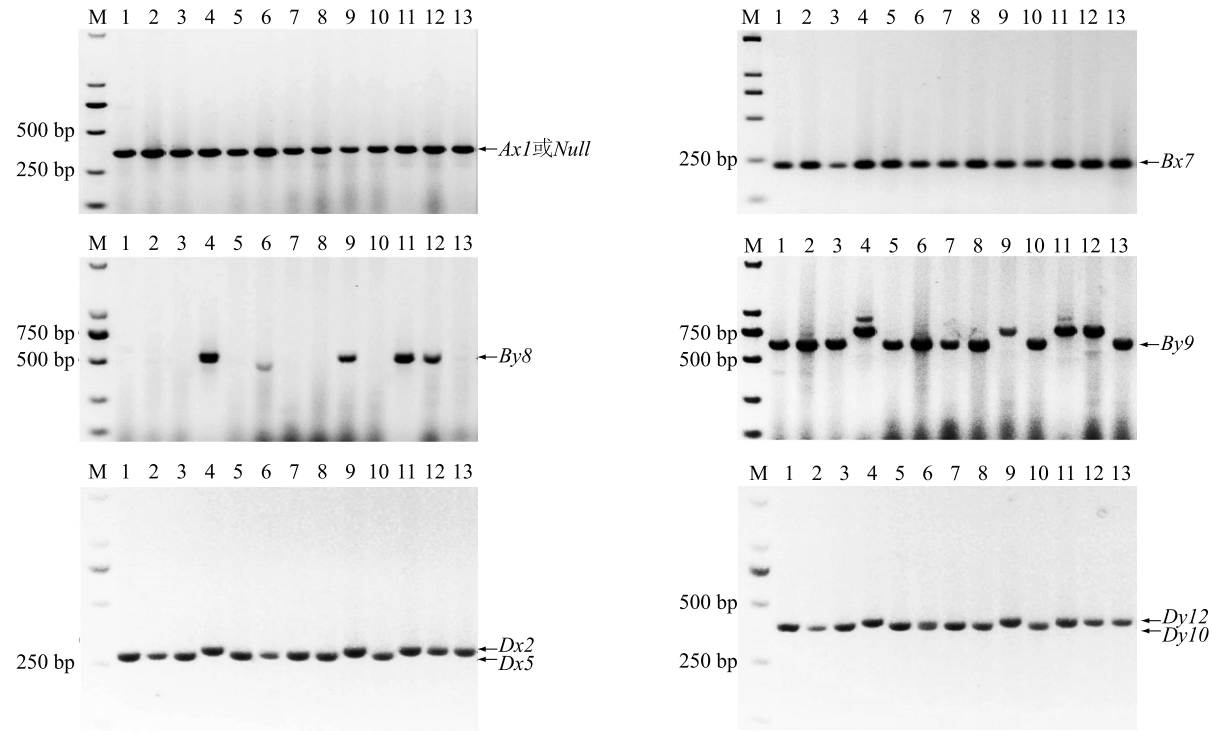
## 2.2 高/低相对分子质量麦谷蛋白亚基的分子标记检测

HMW-GS 的分子标记检测结果(图 2、表 4)表明,11 份镇麦品种在 *Glu-A1*、*Glu-B1* 和 *Glu-D1* 3 个位点上有 8 种亚基类型,分别为 1 或 Null、7、8、9、2、5、10 和 12。利用 *UMN19* 和 *Ax2\** 区分 *Glu-A1* 位点上的 *Ax2\** 与 *Ax1* 或 Null,试验材料均为 *Ax1* 或 Null 类型,无 *Ax2\** 类型。*Glu-B1* 位点利用 *bx7*、*TaBAC1215C06-F517/R964*、*TaBAC1215C06-F24671/R25515*、*ZSBy9a-F1/R3* 和 *ZSBy8F5/R5* 来区分鉴定,PCR 扩增结果表明,试验材料均为 *Bx7* 类型。镇麦 11 号、镇麦 17、镇麦 19 和扬麦 158 均有 *By8* 基因,而镇麦 168 等 9 份材料均含有 *By9* 基因。利用共显性标记 *UMN25* 和 *UMN26* 来区分 *Dx5*、*Dx2* 和 *Dy10*、*Dy12*,其试验材料检测结果为,镇麦 11 号、镇麦 17、镇麦 19、扬麦 158 和扬麦 20 为 2+12 等位变异类型,其余镇麦品种均为 5+10 等位变异类型。综上所述,试验材料 *Glu-A1* 位点

上的等位变异类型为 1 或 Null,*Glu-B1* 位点上的等位变异类型为 7+8 和 7+9,*Glu-D1* 位点上的等位变异类型为 2+12 和 5+10。进一步利用 SDS-PAGE 电泳来区分 *Glu-A1* 位点上的 1 和 Null(图 3),并且验证 *Glu-B1* 位点和 *Glu-D1* 位点的分子标记可用性。结合分子标记和蛋白质电泳结果,13 份材料中检测出 1/7+9/5+10、1/7+8/2+12、Null/7+8/2+12 和 Null/7+9/2+12 共 4 种 HMW-GS 组合,其中镇麦 168、镇麦 9 号、镇麦 10 号、镇麦 12 号、镇麦 13、镇麦 15、镇麦 16 和镇麦 18 均为 1/7+9/5+10,镇麦 11 号为 1/7+8/2+12,镇麦 17、镇麦 19 和扬麦 158 为 Null/7+8/2+12,扬麦 20 为 Null/7+9/2+12。

低相对分子质量麦谷蛋白 *Glu-A3* 位点的各个标记检测结果为:镇麦 11 号为 *Glu-A3d* 类型,其余 12 份材料均为 *Glu-A3c* 类型;*Glu-B3* 位点上,镇麦 19 为 *Glu-B3b*,其余材料均为 *Glu-B3f* 或 *Glu-B3g* 类型。进一步利用 *SB7F/SB7R* 标记扩增,结果表明镇

麦 168、镇麦 11 号、镇麦 13、镇麦 17、扬麦 158 和扬麦 20 为 *Glu-B3g* 类型,镇麦 9 号、镇麦 10 号、镇麦 12 号、镇麦 15、镇麦 16 和镇麦 18 为 *Glu-B3f* 类型 (图 4、表 4)。



M、1~13 见图 1 注。

图 2 利用高相对分子质量麦谷蛋白亚基 (HMW-GS) 的分子标记检测试验材料中 HMW-GS 各位点基因的等位变异

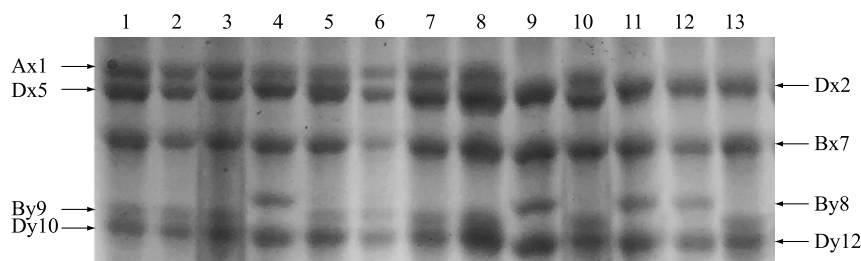
Fig.2 Identification of high molecular weight glutenin subunit (HMW-GS) genes allelic variation by HMW-GS specific markers in tested materials

表 4 试验材料中硬度、高/低相对分子质量麦谷蛋白亚基、Wx 基因等位变异类型

Table 4 Distribution of allelic variations of hardness, HMW-GS, low molecular weight glutenin subunit (LMW-GS) and Wx genes in tested materials

序号	品种	<i>Glu-A1</i>	<i>Glu-B1</i>	<i>Glu-D1</i>	<i>Glu-A3</i>	<i>Glu-B3</i>	<i>Wx-A1</i>	<i>Wx-B1</i>	<i>Wx-D1</i>
1	镇麦 168	1	7+9	5+10	c	g	a	a	a
2	镇麦 9 号	1	7+9	5+10	c	f	a	a	a
3	镇麦 10 号	1	7+9	5+10	c	f	a	a	a
4	镇麦 11 号	1	7+8	2+12	d	g	a	a	a
5	镇麦 12 号	1	7+9	5+10	c	f	a	a	a
6	镇麦 13	1	7+9	5+10	c	g	a	a	a
7	镇麦 15	1	7+9	5+10	c	f	a	a	a
8	镇麦 16	1	7+9	5+10	c	f	a	a	a
9	镇麦 17	Null	7+8	2+12	c	g	a	a	a
10	镇麦 18	1	7+9	5+10	c	f	a	a	a
11	镇麦 19	Null	7+8	2+12	c	b	a	a	a
12	扬麦 158	Null	7+8	2+12	c	g	a	a	a
13	扬麦 20	Null	7+9	2+12	c	g	a	a	a

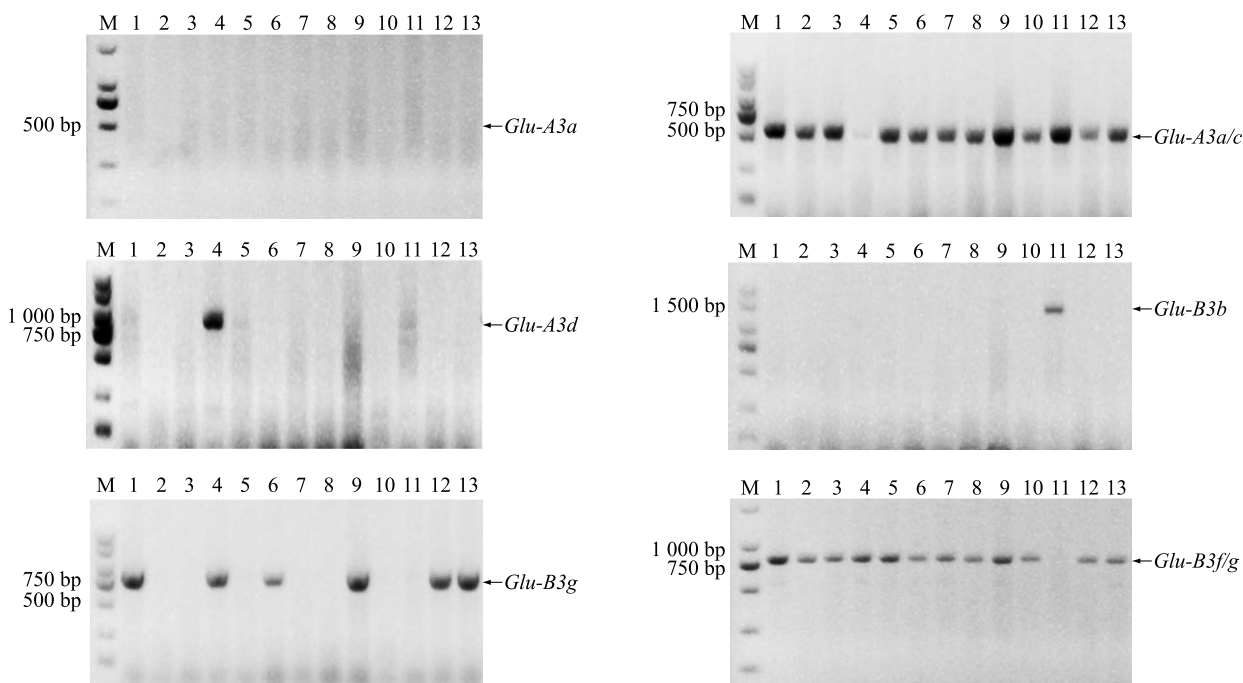
c、d、f、g 分别代表基因型 *Glu-A3c*、*Glu-A3d*、*Glu-B3f*、*Glu-B3g*; a 代表基因型 *Wx-A1a*、*Wx-B1a*、*Wx-D1a*。



1~13 见图 1 注。

图 3 高相对分子质量麦谷蛋白亚基的 SDS-PAGE 分离图谱

Fig.3 SDS-PAGE diagrams of high molecular weight glutenin subunit in tested materials



M、1~13 见图 1 注。

图 4 利用低相对分子质量麦谷蛋白亚基 (LMW-GS) 的分子标记检测试验材料中 *Glu-A3* 和 *Glu-B3* 基因等位变异

Fig.4 Identification of *Glu-A3* and *Glu-B3* genes allelic variation by LMW-GS specific markers in tested materials

### 2.3 *Wx* 基因分子标记检测

*MAG264*、*BDFL/BRC1* 和 *BFC/BRC2*、*Wx-D1* 分子标记可分别鉴定 *Wx-A1*、*Wx-B1* 和 *Wx-D1* 等位基因的分布特点。上述标记在 *Wx-A1*、*Wx-B1* 和 *Wx-D1* 位点上,在野生材料和突变材料中分别对应的目标条带大小为 336 bp 和 317 bp、778 bp 和 668 bp、840 bp 和 260 bp,2 种条带同时出现的为杂合型材料,对应的基因型分别为 *Wx-A1a* 和 *Wx-A1b*、*Wx-B1a* 和 *Wx-B1b*、*Wx-D1a* 和 *Wx-D1b*<sup>[13-15]</sup>。以上 3 个位点的分子标记检测结果表明,13 份试验材料均为 *Wx-A1a*、*Wx-B1a*、*Wx-D1a* 野生型,无突变型和杂合型(图 5、表 4)。

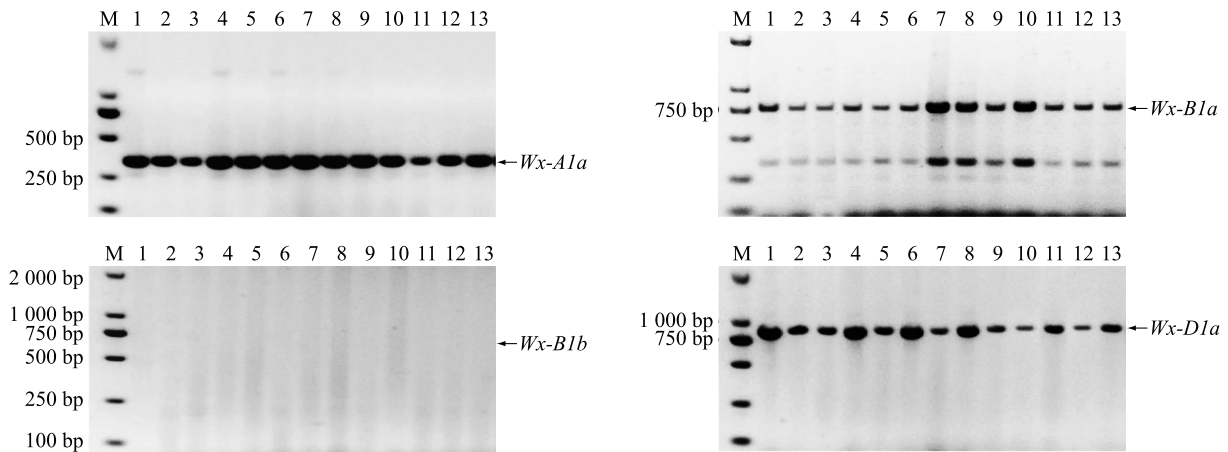
### 2.4 面粉色泽相关基因分子标记检测

共显性标记 *PPO18*,可用于区分控制高/低 *PPO* 活性的等位基因 *Ppo-A1a* 和 *Ppo-A1b*,其对应的目的片段大小分别为 685 bp 和 876 bp<sup>[22]</sup>。标记 *F-8* 可以区分 *Ppo-B1a* 和 *Ppo-B1b*,扩增出双条带 (400 bp 和 600 bp) 的与低 *PPO* 活性材料相关,而只扩增出单条带 (400 bp) 的与高 *PPO* 活性材料相关<sup>[35]</sup>。标记 *PPO16* 和 *PPO29* 分别能扩增出 713 bp 和 490 bp 的靶片段,分别对应的是 *Ppo-D1a* (低 *PPO* 活性) 和 *Ppo-D1b* (高 *PPO* 活性)<sup>[6, 36]</sup>。以上 4 个分子标记的检测结果(图 6、表 5)表明,*Ppo-A1* 位



点上,镇麦 11 号、镇麦 17 和镇麦 19 为 *Ppo-A1a*, 对照扬麦 158 和扬麦 20 均为 *Ppo-A1a*, 其余 8 份材料为 *Ppo-A1b*; *Ppo-B1* 位点上, 所有材料均为 *Ppo-B1a*; *Ppo-D1* 位点上, 镇麦 11 号、镇麦 19、扬麦 158 和扬麦 20 为 *Ppo-D1a*, 镇麦 17 为杂合型, 其余材料均为 *Ppo-D1b*。另外一个 *Ppo-D1* 的功能标记 *STS01*, 与低 *PPO* 活性密切相关<sup>[24]</sup>, 本研究在 *Ppo-D1* 位点

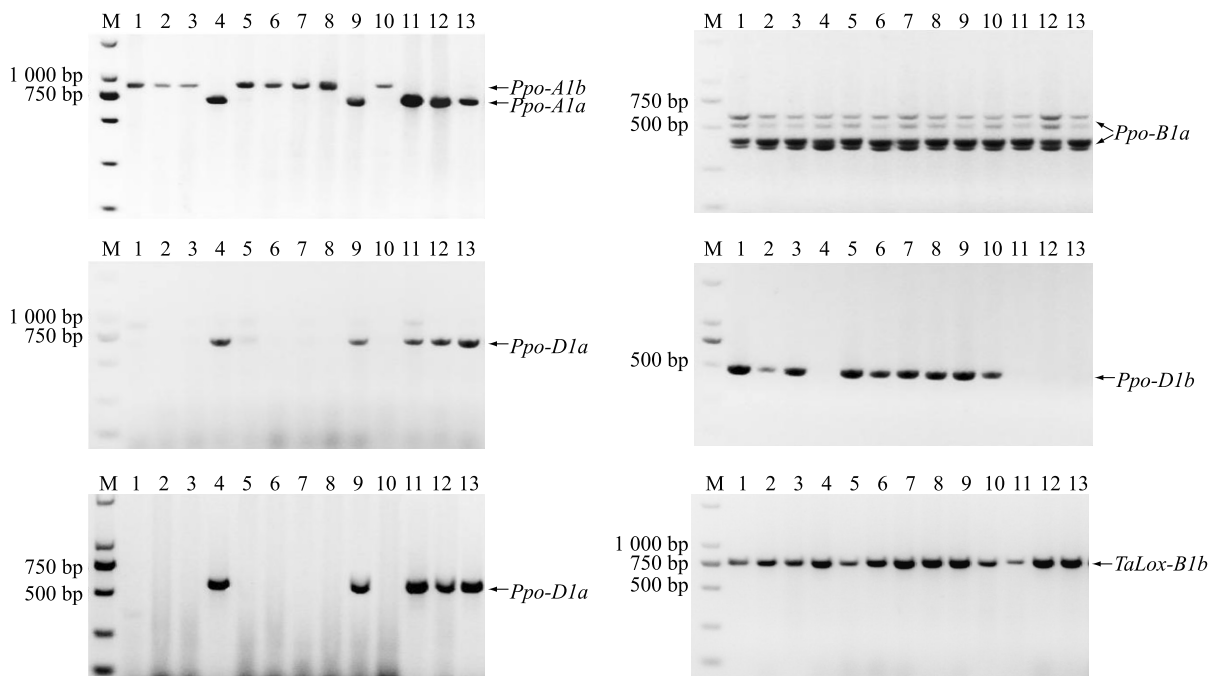
上表现为低 *PPO* 活性的材料有镇麦 11 号、镇麦 17、镇麦 19、扬麦 158 和扬麦 20, 这与 *PPO16* 的扩增结果一致。*LOX16* 和 *LOX18* 能有效地检测 *TaLox-B1* 基因, 在高/低 *LOX* 活性材料中能扩增出的靶片段大小分别为 489 bp 和 791 bp, 分别对应 *TaLox-B1a* 和 *TaLox-B1b*<sup>[28]</sup>, 标记检测结果(图 6)表明, 镇麦品种均为 *TaLox-B1b*, 无 *TaLox-B1a* 及杂合型。



M、1~13 见图 1 注。

图 5 *Wx-A1*、*Wx-B1* 和 *Wx-D1* 分子标记在试验材料中的扩增结果

Fig.5 PCR products amplified by specific marker for *Wx-A1*, *Wx-B1* and *Wx-D1* in tested materials



M、1~13 见图 1 注。

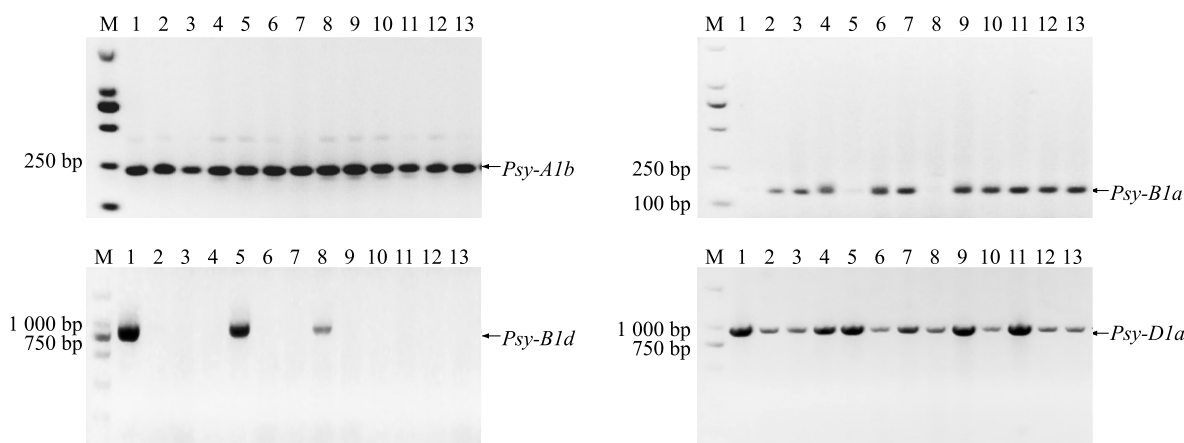
图 6 试验材料中 *Ppo-A1*、*Ppo-B1*、*Ppo-D1* 和 *TaLox-B1* 分子标记的扩增结果

Fig.6 PCR products amplified by molecular markers for *Ppo-A1*, *Ppo-B1*, *Ppo-D1* and *TaLox-B1* in tested materials

八氢番茄红素合酶(*PSY*)基因 *Psy-A1* 对应的标记为 *YP7A-1*、*YP7A-2*, *Psy-B1* 对应的标记为 *YP7B-1*、*YP7B-2*、*YP7B-3*、*YP7B-4*, *Psy-D1* 对应的标记为 *YP7D-1*、*YP7D-2*。其中 *YP7A-1* 在高、低黄色素含量的 *Psy-A1a/c* 和 *Psy-A1b* 上对应的目标片段大小分别为 194 bp 和 231 bp, *YP7A-2* 可进一步区分 *Psy-A1a/b* 和 *Psy-A1c*, 其目标片段分别为 1 686 bp 和 1 001 bp。 *YP7B-1*、*YP7B-2*、*YP7B-3*、*YP7B-4* 可分别用于区分 *Psy-B1a* 和 *Psy-B1b*、*Psy-B1c*、*Psy-B1d* 和 *Psy-B1e*, 扩增的片段分别为 151 bp/156 bp、428 bp、884 bp 和 717 bp。 *YP7D-1* 和 *YP7D-2* 可以用来区分 *Psy-D1a* 和 *Psy-D1g*, 扩增片段为 1 074 bp/1 093 bp 和 967 bp/1 064 bp<sup>[41]</sup>。本研究检测结果(图 7、表 5)表明, 13 份试验材料均为 *Psy-A1b* 类型, 镇麦 168、镇麦 12 号和镇麦 16 为 *Psy-B1d*, 镇麦 11

号和镇麦 13 为 *Psy-B1b*, 镇麦 9 号、镇麦 10 号、镇麦 15、镇麦 17、镇麦 18、镇麦 19、扬麦 158 和扬麦 20 为 *Psy-B1a*, *Psy-D1* 位点均为 *Psy-D1a*。

白度分析结果表明供试材料的白度值为 74.47~79.03(表 5), 其中 11 份镇麦材料中, 在 *Ppo-D1* 位点上含有低 *PPO* 活性的镇麦 11 号、镇麦 17 和镇麦 19 面粉白度显著高于镇麦 168 等 *Psy-B1d* 基因型的品种。虽然镇麦 13 和镇麦 18 在 *Ppo-D1* 位点上含有高 *PPO* 活性, 但其面粉白度为 77.90 和 78.20, 相对较高。对照品种扬麦 158 含有 *Ppo-D1a*, 但其面粉白度相对较小。因此, 面粉白度不仅与相关基因的基因型有关, 还受其他因素的影响, 面粉色泽相关基因类型及其他因素与面粉白度的相关性, 还需要进一步研究。



M、1~13 见图 1 注。

图 7 试验材料中 *Psy-A1*、*Psy-B1* 和 *Psy-D1* 分子标记的扩增结果

Fig.7 PCR products amplified by molecular markers for *Psy-A1*, *Psy-B1* and *Psy-D1* in tested materials

### 3 讨论

镇麦品种的亲本来源相对简单, 其中镇麦 168、镇麦 9 号和镇麦 10 号均来源于同一亲本组合, 镇麦 12 号来源于镇麦 168 系选株系, 镇麦 18 是以镇麦 168 为母本选育而来。籽粒硬度基因 *Pina* 或 *Pinb* 中有一个发生突变都会导致小麦籽粒硬度变硬, 影响小麦品质<sup>[1-3]</sup>。镇麦 9 号、镇麦 10 号、镇麦 15 和镇麦 18 中可检测到 *Pinb-D1b* 突变型, 结合硬度指数测定结果来看, 镇麦 168 等硬度指数大于 60 的品种虽未检测 *Pinb-D1b* 突变型, 但通过测序比对发现

其属于 *Pinb-D1p* 突变型。苏麦 6 号中可检测到 *Pinb-D1b*, 因此, 镇麦 9 号和镇麦 10 号的 *Pinb-D1* 基因型可能来源于苏麦 6 号, 在利用苏麦 6 号等材料构建的 DH 群体中, 需加强 *Pinb-D1b* 的筛选, 加强品质育种中硬度指数高、有硬度基因突变的材料利用。

HMW-GS 和 LMW-GS 在强筋小麦品种选育中能改进小麦面筋品质<sup>[43-44]</sup>。胡琳等<sup>[45]</sup>研究结果表明不同位点优异 HMW-GS 的品质效应可以累加, 对于强筋小麦选育而言, 1/7+8/5+10 组合的面筋指数、形成时间和面筋强度均处于较高水平, 此外,

表 5 试验材料中多酚氧化酶、脂肪氧化酶和黄色素含量基因等位变异类型

Table 5 Distribution of allelic variations of polyphenol oxidase, lipoxygenase and yellow pigment content genes in tested materials

序号	品种	白度	<i>Ppo-A1</i>	<i>Ppo-B1</i>	<i>Ppo-D1</i>	<i>TaLOX-B1</i>	<i>Psy-A1</i>	<i>Psy-B1</i>	<i>Psy-D1</i>
1	镇麦 168	74.47±0.15	b	a	b	b	b	d	a
2	镇麦 9 号	75.43±0.15	b	a	b	b	b	a	a
3	镇麦 10 号	75.13±0.21	b	a	b	b	b	a	a
4	镇麦 11 号	78.70±0.26	a	a	a	b	b	b	a
5	镇麦 12 号	75.83±0.06	b	a	b	b	b	d	a
6	镇麦 13	77.90±0.20	b	a	b	b	b	b	a
7	镇麦 15	75.83±0.15	b	a	b	b	b	a	a
8	镇麦 16	75.60±0.10	b	a	b	b	b	d	a
9	镇麦 17	78.23±0.25	a	a	a/b	b	b	a	a
10	镇麦 18	78.20±0.10	b	a	b	b	b	a	a
11	镇麦 19	78.53±0.21	a	a	a	b	b	a	a
12	扬麦 158	75.80±0.26	a	a	a	b	b	a	a
13	扬麦 20	79.03±0.15	a	a	a	b	b	a	a

a 代表基因型 *Ppo-A1a*、*Ppo-B1a*、*Ppo-D1a*、*Psy-A1a*、*Psy-B1a*、*Psy-D1a*; b 代表基因型 *Ppo-A1b*、*Ppo-D1b*、*LOX-B1b*、*Psy-A1b*、*Psy-B1b*; d 代表基因型 *Psy-B1d*。

1/7+9/5+10、Null/7+8/2+12 等组合的面筋强度也较好。强筋小麦的面团弹性和延展性可以通过 LMW-G 的优异组合来改善和提高<sup>[5]</sup>,其中 *Glu-3* 位点的不同 LMW-GS 对面团弹性和加工品质影响最大的是 *Glu-B3*,其次是 *Glu-A3*<sup>[46]</sup>,而 *Glu-D3* 位点差异对小麦品质的影响不大。优质的 LMW-GS 主要有 *Glu-A3d*、*Glu-B3b*、*Glu-B3g* 和 *Glu-B3i*<sup>[47-48]</sup>,因此在优质小麦品质育种中,可以加强这些优质亚基的应用。本研究使用的镇麦品种中可以检测到部分优质的 HMW-GS 和 LMW-GS 的亚基,如 7+8、5+10、*Glu-A3d*、*Glu-B3b*,但没有检测到 1/7+8/5+10 优异组合,镇麦 168 等中强筋、强筋小麦品种的 HMW-GS 组合类型均为 1/7+9/5+10。而含 HMW-GS 和 LMW-GS 相对优质亚基的材料有镇麦 168 和镇麦 13(1/7+9/5+10, *Glu-A3c*/*Glu-B3g*),这可能是镇麦 168 和镇麦 13 在长江中下游麦区种植时品质稳定的原因。因此,后续小麦新品种选育中可以通过聚合 7+8 和 5+10 组合及优质的 LMW-GS 亚基,优化小麦品种的面筋特性。扬麦 158 和扬麦 20 的 HMW-GS 和 LMW-GS 检测结果及本研究中其他品质相关基因的检测结果均与已发表文章中的结果一致<sup>[49]</sup>。

镇麦品种中均未检测到 *Wx* 基因的突变型,想要选育出低直链淀粉含量面条专用小麦品种可通过

聚合 *Wx-B1* 突变基因降低面粉中的直链淀粉含量,降低面粉糊化温度,改善面条品质<sup>[50-52]</sup>。小麦籽粒中 *PSY*、*PPO*、*LOX* 等氧化酶降解色素类物质影响面粉色泽、磨粉品质等品质性状<sup>[53-55]</sup>。*PPO* 含量低,对面粉、面制品加工和保存过程中色泽褐变有重要作用<sup>[56]</sup>。镇麦 168 等 8 份镇麦品种在 *Ppo-A1*、*Ppo-B1* 位点均含有低 *PPO* 活性基因片段,而在 *Ppo-D1* 位点,这些材料则含有高 *PPO* 活性基因片段。镇麦 11 号、镇麦 17 和镇麦 19 在 *Ppo-A1* 位点则可以检测到高 *PPO* 活性基因片段,而在 *Ppo-D1* 位点则可以检测到低 *PPO* 活性基因片段。结合面粉白度分析结果,*Ppo-D1* 位点上的高 *PPO* 活性,可能是造成镇麦 168 等品种的面粉白度值偏小的主要原因。因此,在小麦品种选育过程中加强 *Ppo-A1* 和 *Ppo-D1* 位点上低 *PPO* 活性基因聚合,对面粉白度大的强筋小麦品种选育有重要作用。*LOX* 催化不饱和脂肪酸的氧化,通过氧化降解色素类物质来影响面粉及面制品颜色<sup>[57]</sup>。本研究中镇麦品种材料均为低 *LOX* 活性品种,其面粉白度小及面制品颜色偏深也可能与 *LOX* 活性低有直接关系。*PSY* 是影响黄色素合成的限速酶,抑制 *Psy* 基因的功能对改良面粉及面粉制品颜色具有推动作用<sup>[58]</sup>。镇麦品种在 *Psy-A1*/*D1* 位点上均为 *Psy-A1b*/*Psy-D1a* 基因型,为低黄色素含量的材料,而镇麦 168、镇麦 12 号和镇麦 16 在

*Psy-B1* 位点为高黄色素含量的基因型 *Psy-B1d*。我们在利用镇麦品种面粉制作面包、面条等面制品的时候也观察到镇麦 168、镇麦 12 号和镇麦 16 相应的面制品的颜色相对较深,而这 3 份材料的面粉白度值也较小。面粉色泽相关基因的基因型以及 *PPO* 和黄色素等的含量对面粉白度的影响,还需要进一步研究。

## 4 结论

在 11 份镇麦品种中,镇麦 9 号、镇麦 10 号、镇麦 15 和镇麦 18 均可检测到 *Pinb-D1b* 硬度突变基因,镇麦 168、镇麦 12 号、镇麦 13 和镇麦 16 均可检测到 *Pinb-D1p* 硬度突变基因,且上述材料的硬度指数均大于 60。HMW-GS 组合类型:镇麦 168 等 8 份中强筋、强筋小麦品种均为 1/7+9/5+10 组合,镇麦 11 号、镇麦 17 和镇麦 19 分别为 1/7+8/2+12、Null/7+8/2+12、Null/7+8/2+12 组合。LMW-GS 组合类型:镇麦 11 号的组合为 *Glu-A3d/Glu-B3g*,镇麦 19 为 *Glu-A3c/Glu-B3b*,镇麦 168、镇麦 13 和镇麦 17 为 *Glu-A3c/Glu-B3g*,其余镇麦品种均为 *Glu-A3c/Glu-B3f*。镇麦品种中未检测到 *Wx* 基因突变,均为野生型。面粉色泽相关基因分布特点:镇麦 168 等 8 份材料表现为 *Ppo-A1b/Ppo-B1a/Ppo-D1b/TaLox-B1b*,镇麦 11 号和镇麦 19 为 *Ppo-A1a/Ppo-B1a/Ppo-D1a/TaLox-B1b*,镇麦 17 为 *Ppo-A1a/Ppo-B1a/Ppo-D1a/b/TaLox-B1b*;镇麦 168、镇麦 12 号和镇麦 16 为 *Psy-A1b/Psy-B1d/Psy-D1a*,镇麦 11 号和镇麦 13 为 *Psy-A1b/Psy-B1b/Psy-D1a*,其余 6 份镇麦品种为 *Psy-A1b/Psy-B1a/Psy-D1a*。镇麦材料的面粉白度值为 74.47~78.70,整体偏小。镇麦品种品质优良,但 *Wx* 蛋白、面粉色泽相关的部分品质仍需进一步改良,对已存在的优异基因片段,在后续品种改良中要充分利用,硬度、色泽等相关性状需进一步加强研究。而在强筋小麦品质育种中,需注重 7+8、5+10 亚基和 *Pinb-D1b* 变异位点,以及低 *PPO* 和低黄色素含量基因等标记的筛选与聚合,优化镇麦品种品质特性。

## 参考文献:

- [1] GIROUX M J, MORRIS C F. A glycine to serine change in *puroindoline b* is associated with wheat grain hardness and low levels of starch-surface friabilin [J]. *Theoretical & Applied Genetics*, 1997, 95: 857-864.
- [2] CHEN F, ZHANG F, CHENG X Y, et al. Association of *puroindoline b-2* variants with grain traits, yield components and flag leaf size in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties of the Yellow and Huai Valleys of China [J]. *Journal of Cereal Science*, 2010, 52(2): 247-253.
- [3] MORRIS C F, BHAVE M. Reconciliation of D-genome puroindoline allele designations with current DNA sequence data [J]. *Journal of Cereal Science*, 2008, 48(2): 277-287.
- [4] SONG W F, REN Z Y, ZHANG Y B, et al. Effects of allelic variation in glutenin subunits and gliadins on baking-quality in near-isogenic lines of common wheat cv. Longmai 19 [J]. *Cereal Research Communications*, 2015, 43: 284-294.
- [5] VERAVERBEKE W S, DELCOUR J A. Wheat protein composition and properties of wheat glutenin in relation to breadmaking functionality [J]. *Critical Review in Food Technology*, 2002, 42(3): 179-208.
- [6] LIU S, CHAO S, ANDERSON J A. New DNA markers for high molecular weight glutenin subunits in wheat [J]. *Theoretical & Applied Genetics*, 2008, 118(1): 177-183.
- [7] D'OVIDIO R, ANDERSON O D. PCR analysis to distinguish between alleles of a member of a multigene family correlated with wheat bread-making quality [J]. *Theoretical & Applied Genetics* 1994, 88(6/7): 759-763.
- [8] LEI Z S, GALE K R, HE Z H, et al. Y-type gene specific markers for enhanced discrimination of high-molecular weight glutenin alleles at the *Glu-B1* locus in hexaploid wheat [J]. *Journal of Cereal Science*, 2006, 43(1): 94-101.
- [9] BUTOW B J, GALE K R, IKEA J, et al. Dissemination of the highly expressed Bx7 glutenin subunit (*Glu-B1a* allele) in wheat as revealed by novel PCR markers and RP-HPLC [J]. *Theoretical & Applied Genetics*, 2004, 109(7): 1525-1535.
- [10] RAGUPATHY R, NAEEM H A, REIMER E, et al. Evolutionary origin of the segmental duplication encompassing the wheat *GLU-B1* locus encoding the overexpressed Bx7 (Bx7OE) high molecular weight glutenin subunit [J]. *Theoretical & Applied Genetics*, 2008, 116(2): 283-296.
- [11] WANG L H, LI G Y, PENA R J, et al. Development of STS markers and establishment of multiplex PCR for *Glu-A3* alleles in common wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Journal of Cereal Science*, 2010, 51(3): 305-312.
- [12] WANG L H, ZHAO X L, HE Z H, et al. Characterization of low-molecular-weight glutenin subunit *Glu-B3* genes and development of STS markers in common wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Theoretical & Applied Genetics*, 2009, 118(3): 525-539.
- [13] 刘迎春,朱惠兰,程顺和,等. 小麦 *Wx-A1* 和 *Wx-D1* 位点的 PCR 分子标记 [J]. *麦类作物学报*, 2005, 25(1): 1-5.
- [14] SAITO M, VRINTEN P, ISHIKAWA G, et al. A novel codominant marker for selection of the null *Wx-B1* allele in wheat breeding programs [J]. *Molecular Breeding*, 2009, 23: 209-217.
- [15] NAKAMURA T, VRINTEN P, SAITO M, et al. Rapid classification of partial waxy wheats using PCR-based markers [J]. *Ge-*



- nome, 2002, 45(6): 1150-1156.
- [16] 周森平,任丽娟,蔡士宾,等. 小麦糯质基因的分子标记辅助选择[J]. 麦类作物学报, 2006, 26(5): 10-15.
- [17] 陈东升, KIRIBUCHI-OTOBE C, 徐兆华, 等. Waxy 蛋白缺失对小麦淀粉特性和中国鲜面条品质的影响[J]. 中国农业科学, 2005, 38(5): 865-873.
- [18] LINTIG J V, WELSCH R, BONK M, et al. Light-dependent regulation of carotenoid biosynthesis occurs at the level of phytoene synthase expression and is mediated by phytochrome in *Sinapis alba* and *Arabidopsis thaliana* seedlings [J]. The Plant Journal, 1997, 12(3): 625-634.
- [19] ZILIC S, DODIG D, SUKALOVIC H T, et al. Bread and durum wheat compared for antioxidants contents, and lipoxygenase and peroxidase activities[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2010, 45(7): 1360-1367.
- [20] 张福彦,陈 锋,张建伟,等. 逆境胁迫下小麦脂肪氧化酶基因表达的 qRT-PCR 分析[J]. 麦类作物学报, 2016, 36(9): 1153-1158.
- [21] RAMAN R, RAMAN H, JOHNSTONE K, et al. Genetic and in silico comparative mapping of the polyphenol oxidase gene in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. Functional & Integrative Genomics, 2005, 5(4): 185-200.
- [22] SUN D J, HE Z H, XIA X C, et al. A novel STS marker for polyphenol oxidase activity in bread wheat[J]. Molecular Breeding, 2005, 16(3): 209-218.
- [23] SI H Q, ZHOU Z L, WANG X B, et al. A novel molecular marker for the polyphenol oxidase gene located on chromosome 2B in common wheat[J]. Molecular Breeding, 2012, 30(3): 1371-1378.
- [24] 王晓波,马传喜,何克勤,等. 小麦 2D 染色体上多酚氧化酶 (*PPO*) 基因 STS 标记的开发与应用[J]. 中国农业科学, 2008, 41(6): 1583-1590.
- [25] HE X Y, HE Z H, ZHANG L P, et al. Allelic variation of polyphenol oxidase (*PPO*) genes located on chromosomes 2A and 2D and development of functional markers for the *PPO* genes in common wheat[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2007, 115(1): 47-58.
- [26] SERPEN A, GKEMEN V. Effects of  $\beta$ -carotene on soybean lipoxygenase activity: kinetic studies[J]. European Food Research & Technology, 2007, 224(6): 743-748.
- [27] MERCIER M, GELINAS P. Effect of lipid oxidation on dough bleaching[J]. Cereal Chemistry, 2001, 78(1): 36-38.
- [28] GENG H W, XIA X C, ZHANG L P, et al. Development of functional markers for a lipoxygenase gene *TaLx-B1* on chromosome 4BS in common wheat[J]. Crop Science, 2012, 52(2): 568-576.
- [29] HE X Y, ZHANG Y L, HE Z H, et al. Characterization of phytoene synthase 1 gene (*Psy1*) located on common wheat chromosome 7A and development of a functional marker[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2008, 116(2): 213-221.
- [30] HE X Y, HE Z H, MA W, et al. Allelic variants of phytoene synthase 1 (*Psy1*) genes in Chinese and CIMMYT wheat cultivars and development of functional markers for flour colour[J]. Molecular Breeding, 2009, 23(4): 553-563.
- [31] 张平平,周森平,马鸿翔. 小麦种子高分子量谷蛋白亚基的高通量检测方法[J]. 分子植物育种, 2015, 13(11): 2593-2598.
- [32] MA W, ZHANG W, GALE K R. Multiplex-PCR typing of high molecular weight glutenin alleles in wheat[J]. Euphytica, 2003, 134(1): 51-60.
- [33] CHEN F, ZHANG F Y, MORRIS C, et al. Molecular characterization of the *Puroindoline a-D1b* allele and development of an STS marker in wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. Journal of Cereal Science, 2010, 52(1): 80-82.
- [34] CHEN F, ZHANG F Y, XIA X C, et al. Distribution of puroindoline alleles in bread wheat cultivars of the Yellow and Huai Valley of China and discovery of a novel puroindoline a allele without PINA protein[J]. Molecular Breeding, 2012, 29(2): 371-378.
- [35] CHEN F, LI H H, CUI D C. Discovery, distribution and diversity of *Puroindoline-D1* genes in bread wheat from five countries (*Triticum aestivum* L.) [J]. BMC Plant Biology, 2013, 13: 125.
- [36] CHEN F, HE Z H, XIA X C, et al. Molecular and biochemical characterization of puroindoline a and b alleles in Chinese landraces and historical cultivars[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2006, 112: 400-409.
- [37] SCHWARZ G, FELSENSTEIN F G, WENZEL G. Development and validation of a PCR-based marker assay for negative selection of the HMW glutenin allele *Glu-B1-Id (Bx-6)* in wheat[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2004, 109(5): 1064-1069.
- [38] LIU S, CHAO S, ANDERSON J A. New DNA markers for high molecular weight glutenin subunits in wheat[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2008, 118(1): 177-183.
- [39] SI H Q, ZHOU Z L, WANG X B, et al. A novel molecular marker for the polyphenol oxidase gene located on chromosome 2B in common wheat[J]. Molecular Breeding, 2012, 30(3): 1371-1378.
- [40] HE X Y, HE Z H, ZHANG L P, et al. Allelic variation of polyphenol oxidase (*PPO*) genes located on chromosomes 2A and 2D and development of functional markers for the *PPO* genes in common wheat[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2007, 115(1): 47-58.
- [41] WANG J W, HE X Y, HE Z H, et al. Cloning and phylogenetic analysis of phytoene synthase 1 (*Psy1*) genes in common wheat and related species[J]. Hereditas, 2010, 146(5): 208-256.
- [42] 周艳华,何中虎,阎 俊,等. 中国小麦硬度分布及遗传分析[J]. 中国农业科学, 2002, 35(10): 1177-1185.
- [43] SONG W F, REN Z Y, ZHANG Y B, et al. Effects of allelic variation in glutenin subunits and gliadins on baking-quality in near-isogenic lines of common wheat cv. Longmai 19[J]. Cereal Research Communication, 2015, 1(1): 1-11.
- [44] HE Z H, LIU L, XIA X C, et al. Composition of HMW and LMW glutenin subunits and their effects on dough properties, Pan bread, and noodle quality of Chinese bread wheats [J]. Cereal Chemistry, 2005, 82(4): 345-350.



- [45] 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, 2007, 26(6): 57-58.
- [46] 王林海. 普通小麦及其近缘种低分子量麦谷蛋白基因克隆与 STS 标记开发[D]. 北京: 中国农业科学院, 2009.
- [47] ZHANG X F, JIN H, ZHANG Y, et al. Composition and functional analysis of low-molecular-weight glutenin alleles with Aroona near-isogenic lines of bread wheat[J]. BMC Plant Biology, 2012, 12(1): 229-243.
- [48] 周阳, 刘建军, 何中虎, 等. *Glu-1* 和 *Glu-3* 等位变异及 1BL/1RS 易位与面包和面条品质关系的研究[J]. 中国农业科学, 2004, 37(9): 1265-1273.
- [49] 张晓, 张伯桥, 江伟, 等. 扬麦系列品种品质性状相关基因的分子检测[J]. 中国农业科学, 2015, 48(19): 3779-3793.
- [50] WICKRAMASINGHE H A M, MIURA H. Gene dosage effect of the wheat *Wx* alleles and their interaction on amylose synthesis in the endosperm[J]. Euphytica, 2003, 132(3): 303-310.
- [51] 翟红梅, 田纪春. 小麦 *Wx* 基因突变体的建立及其淀粉特性的研究[J]. 作物学报, 2007, 33(7): 1059-1066.
- [52] MIURA H, WICKRAMASINGHE M H A, SUBASINGHE R M, et al. Development of near-isogenic lines of wheat carrying different null *Wx* alleles and their starch properties[J]. Euphytica, 2002, 123(3): 353-359.
- [53] CRAWFORD A C, STEFANOVA K, LAMBE W, et al. Functional relationships of *phytoene synthase 1* alleles on chromosome 7A controlling flour colour variation in selected Australian wheat genotypes[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2011, 123(1): 95-108.
- [54] CHANG C, ZHANG H P, XU J, et al. Variation in two *PPO* genes associated with polyphenol oxidase activity in seeds of common wheat[J]. Euphytica, 2007, 154(1/2): 181-193.
- [55] WANG X M, LU Z X. Research advance on lipoxygenase application in the agri-food[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2013, 27(1): 1547-1552.
- [56] ANDERSON J V, MORRIS C F. An improved whole-seed assay for screening wheat germplasm for polyphenol oxidase activity[J]. Crop Science, 2001, 41(6): 1697-1705.
- [57] MARES D J. Mapping components of flour and noodle colour in Australian wheat[J]. Australian Journal of Agricultural Research, 2001, 52(12): 1297-1309.
- [58] 孙建喜. 小麦籽粒多酚氧化酶活性和黄色素含量性状的基因检测[D]. 郑州: 河南农业大学, 2014.

(责任编辑: 张震林)