

47 份外引小麦种质资源 *Waxy* 和 *HMW-GS* 分子检测与品质性状分析

胡喜贵^{1,2}, 吴晓军^{1,2}, 张海惠³, 王玉泉^{1,2}, 张 然¹, 赵 玮¹, 茹振钢^{1,2}

(¹ 河南科技学院小麦中心, 新乡 453003; ² 现代生物育种河南省协同创新中心, 新乡 453003; ³ 河南科技学院新科学院, 新乡 453003)

摘要: 为有效利用外引小麦种质资源, 本研究对收集的 47 份外引小麦种质材料进行 *Waxy* 和 *HMW-GS* 等位基因的分子检测, 并分析了其直链淀粉、支链淀粉、湿面筋等品质参数。结果表明, 在 *Wx-A1* 位点存在 3 种类型: *Wx-A1a*、*Wx-A1g* 和 *Wx-A1b*, 39 份材料 (82.98%) 为 *Wx-A1a* 类型; *Wx-B1* 位点 3 种类型: *Wx-B1a*、*Wx-B1e* 和 *Wx-B1b*, 37 份材料 (78.72%) 为 *Wx-B1a* 类型; *Wx-D1* 位点 2 种类型: *Wx-D1a* 和 *Wx-D1b*, 46 份材料具有 *Wx-D1a* 类型; 共鉴定出 8 种 *Wx-1* 位点等位基因组合, 31 份材料 (65.96%) 为 *Wx-A1a/B1a/D1a*。在 *Glu-A1* 位点, 含有等位基因 *Ax2**、*Null* 和 *Ax1* 类型的材料分别为 18 份、18 份和 11 份; 在 *Glu-D1* 位点, 含有等位基因 *Dx2* 和 *Dx5* 类型的材料分别为 23 份 (48.94%) 和 21 份 (44.68%), 含有等位基因 *Dy12* 和 *Dy10* 类型的材料分别为 22 份 (46.81%) 和 20 份 (42.55%), 具有 *Dy10+Dy12* 类型材料 2 份; 共鉴定出 19 种 *Glu-A1/D1* 等位基因组合, 7 份材料含有 *Null/Dx5+Dy12*。含有 *Wx-A1a/B1a/D1a* 材料的直链淀粉含量相对较高, 支链淀粉含量相对较低; 含有优质等位基因 *Ax1* 或 *Ax2** 兼 *Dx5+Dy10* 材料的湿面筋含量相对较高。总体上这些外引种质资源 *Waxy* 和 *HMW-GS* 等位基因类型丰富, 可为种质资源合理利用和现代普通小麦品质改良提供参考依据。

关键词: 小麦; *Waxy*; *HMW-GS*; 品质

Molecular Detection and Quality Properties Analysis of *Waxy* and *HMW-GS* in 47 Introduced Wheat Germplasms

HU Xi-gui^{1,2}, WU Xiao-jun^{1,2}, ZHANG Hai-hui³, WANG Yu-quan^{1,2},
ZHANG Ran¹, ZHAO Wei¹, RU Zhen-gang^{1,2}

(¹ Center of Wheat Research, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang 453003;

² Collaborative Innovation Center of Modern Biological Breeding, Xinxiang 453003;

³ Xinke College, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang 453003)

Abstract: In order to effectively utilize wheat germplasm introduced from abroad, *Waxy* and *HMW-GS* alleles were detected in 47 introduced wheat materials, and the quality parameters of amylose, amylopectin and wet gluten were analyzed. The results showed that there were three types of *Wx-A1a*, *Wx-A1g* and *Wx-A1b* at the *Wx-A1* locus, and 39 materials (82.98%) were mainly of *Wx-A1a* type. *Wx-B1a*, *Wx-B1e* and *Wx-B1b* were located in the *Wx-B1* locus, and 37 materials (78.72%) were mainly of *Wx-B1a* type. *Wx-D1a* and *Wx-D1b* were discovered at *Wx-D1* locus, and 46 materials were of *Wx-D1a* type. A total of 8 *Wx-1* allele combinations were identified, and 31 materials (65.96%) were mainly of *Wx-A1a/B1a/D1a* combination. The results also showed that the *Glu-A1* alleles *Ax2**, *Null* and *Ax1* were distributed in 18, 18 and 11 materials, respectively. At the *Glu-D1* locus, it was found that 23 (48.94%) and 21 (44.68%) materials contained *Dx2*

收稿日期: 2020-09-13 修回日期: 2020-10-29 网络出版日期: 2020-12-22

URL: <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20200913001>

第一作者研究方向为小麦品质育种, E-mail: xiguihu@126.com

通信作者: 茹振钢, 研究方向为小麦遗传育种, E-mail: rzgh58@163.com

基金项目: 河南省科技攻关项目 (202102110161); 河南省高校重点科研项目 (21A210007)

Foundation projects: The Key Projects of Science and Technology of Henan Province (202102110161), The Key Scientific Research Projects of Colleges and Universities in Henan Province (21A210007)

and *Dx5*, respectively; 22 (46.81%) and 20 (42.55%) materials contained *Dy12* and *Dy10*, respectively; 2 materials possessed heterozygous *Dy10+Dy12* type. A total of 19 kinds of *Glu-A1/D1* allele combinations were identified, and *Null/Dx5+Dy12* allele combinations were displayed in 7 materials. The quality analysis showed that the materials with *Wx-A1a/B1a/D1a* had relatively high amylose and low amylopectin contents, and the materials with *Ax1* or *Ax2** and *Dx5+Dy10* possessed relatively high wet gluten content. Those results suggested that the introduced wheat germplasms were rich in *Waxy* and *HMW-GS* alleles, which would provide reference for rational utilization of germplasm resources and quality improvement of modern common wheat.

Key words: wheat; *Waxy*; *HMW-GS*; quality property

淀粉 (starch) 是小麦籽粒的主要成分, 约占成熟籽粒中干物质的 65%~70%, 可分为: 直链淀粉 (amylose) 和支链淀粉 (amylopectin)。颗粒结合淀粉合成酶 (GBSSI, granule-bound starch synthases), 又称为蜡质蛋白 (waxy proteins), 是负责贮藏组织中直链淀粉合成的关键酶, 其编码基因称为糯基因 (*Waxy*)^[1]。普通小麦 (*Triticum aestivum* L., AABBDD, 2n=6x=42) 有 3 种 *Waxy* (*Wx*) 蛋白的编码基因: *Wx-A1*, *Wx-B1* 和 *Wx-D1*, 分别位于 7AS, 4AL 和 7DS 上^[2]。已有研究表明, 小麦 *Wx* 基因 1 或 2 个失去功能, 对籽粒的直链淀粉含量具有明显降低的影响^[3-6]。

麦谷蛋白 (glutenin) 是小麦籽粒胚乳中主要的储藏蛋白之一, 约占胚乳总蛋白的 40% 以上, 可分为: 低分子量麦谷蛋白亚基 (LMW-GS) 和高分子量麦谷蛋白亚基 (HMW-GS)。编码 HMW-GS 的基因位于普通小麦第一同源群 (1A、1B 和 1D) 的长臂上, 统称为 *Glu-1* 位点^[7]。每个 *Glu-1* 位点包括 2 个紧密连锁的基因, 分别编码 x- 型和 y- 型亚基。普通小麦理论上拥有 6 个 HMW-GS 等位基因: *Glu-1Ax*, *Glu-1Ay*, *Glu-1Bx*, *Glu-1By*, *Glu-1Dx*, *Glu-1Dy*, 因基因沉默导致普通小麦一般含有 3~5 个 HMW-GS 亚基^[8]。大量研究证实, HMW-GS 亚基组成和数量决定着小麦加工品质^[9-11]。

目前, 分子标记已广泛应用于作物遗传资源及育种研究, 被公认为是一种经济的、高效的方法^[12]。对小麦 *Waxy* 和 *HMW-GS* 等位基因多态性的分子标记不断开发, 鉴定小麦基因型变得越来越准确, 同时扩大具有经济价值等位基因的供体来源^[13-15]。Vafin 等^[16]对收集于俄罗斯鞑靼斯坦农业科学研究所的 70 份小麦进行 *Waxy* 和 *HMW-GS* 等位基因筛选与鉴定, 证实了分子标记是评价其等位基因多态性的有效方法。本研究对 47 份外引小麦种质资源材料进行 *Waxy* 和 *HMW-GS* 等位基因及品质性状

分析, 以期筛选出含有优异基因及优异基因组合的材料, 进而为现代普通小麦品质改良提供重要的基因资源。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本试验选用 47 份外引小麦种质资源材料, 其中来源于澳大利亚 11 份; 智利 10 份; 墨西哥 7 份; 美国 5 份; 法国 4 份; 加拿大和日本各 2 份; 其他各国均 1 份 (表 1)。以中国春小麦 (CS, Chinese Spring), 新麦 26 (强筋品种) 分别作为分子检测和品质分析对照材料。

1.2 DNA 提取和 PCR 扩增

按照 Yan 等^[17] 2 × CTAB 方法, 从 47 份外引小麦种质材料的幼嫩叶片中提取其基因组 DNA。根据前人^[14, 16] 研究报道 7 对 *Waxy* 和 *HMW-GS* 基因的标记引物 (表 2), 其中: 引物 4F+4R 和 4F-c+4R 用于鉴定 *Waxy* 基因等位变异 (*Wx-A1*, *Wx-B1* 和 *Wx-D1*); 引物 4F-c+*Wx-B2R* 辅助鉴定 *Wx-B1* 位点变异; 引物 UMN25F+UMN25R 和 UMN26F+UMN26R 用于鉴定 *Glu-D1* 位点变异; 引物 Axnull-F+Axnull-F 和 UMN19F+UMN19R 用于鉴定 *Glu-A1* 位点变异。

PCR 扩增条件 (表 2), 其反应体系 20 μl, 由 50~100 ng 基因组 DNA、10 μl 2 × Taq Master Mix (北京康为世纪生物科技有限公司), 1 mol/L 引物组成。3 对 UMM 引物 PCR 扩增产物经限制性内切酶 *HaeIII* (New England Biolabs) 酶切 37 °C, 3 h。

1.3 电泳分析

PCR 扩增产物在 8% 聚丙烯酰胺凝胶上电泳分离, 100 bp DNA 分子量标准 (天根生化科技有限公司) 作为标记, 电泳后进行银染显色, 拍照, 条带统计。

表 1 供试 47 份外引小麦种质材料及其来源

Table 1 Sources of 47 wheat germplasms used in this study

种质材料 Germplasms	数量 No.	来源 Source	种质材料 Germplasms	数量 No.	来源 Source
澳阿优 1 号 Aoayou 1	11	澳大利亚	09 智引 3 号 09 Zhiyin 3		
KPL-1			CIKO		
阿大学 AGT-② Adaxue AGT-2			非黑土地 24 Feiheitudi 24	1	俄罗斯
鸟麦 Niaomai			Glenlea	2	加拿大
KPL-6			野猫 Yemao		
KPL-7			爱丁堡 -B Edinburgh-B	1	英国
KPL-11			NSR-5	1	前南斯拉夫
Rudu			Manital	4	法国
RACA17-5			Salmone		
Brennan			财富麦 Bermude		
KPL-5			FK		
Madsen	5	美国	Ciava	1	意大利
荒漠 2016 Huangmo 2016			Opata	7	墨西哥
OK.95571			Attila		
美国 -2 America-2			RL6077		
Jaggar-1			Pavon		
攀道拉 Pandaola	10	智利	Pastor		
智矮早 Zhiaizao			墨特大 Moteda		
硬质博莱特 Yingzhibolaite			墨 S139 MoS139		
CL0401			萨尔斯堡 Salzburg	1	奥地利
CL0438			Kanto 107	2	日本
CL0442			Norin 61		
09 智引 1 号 09 Zhiyin 1			山前麦 Shanqianmai	1	前苏联
09 智引 2 号 09 Zhiyin 2					

表 2 *Waxy* 和 *HMW-GS* 等位基因分子标记及 PCR 扩增Table 2 Molecular markers of *Waxy* and *HMW-GS* alleles and PCR amplifications

引物名称及序列 Name and sequence of oligonucleotide primers	等位基因 Alleles	PCR 扩增体系 Regime of PCR amplifications
4F: 5'-AAGAGCAACTACCACT-3'	<i>Wx-A1</i> ,	× 1: 94 °C -4 min; × 40: 94 °C -30 s, 58 °C -
4R: 5'-TCGTACCCGTCGATGAAGTCGA-3'	<i>Wx-B1</i> , <i>Wx-D1</i>	30 s, 72 °C -30 s; × 1: 72 °C -7 min
4F-c: 5'-CCCCAAGAGCAACTACCACT-3'	<i>Wx-A1</i> ,	× 1: 94 °C -4 min; × 40: 94 °C -30 s, 64 °C -
4R: 5'-TCGTACCCGTCGATGAAGTCGA-3'	<i>Wx-B1</i> , <i>Wx-D1</i>	30 s, 72 °C -30 s; × 1: 72 °C -7 min
4F-c: 5'-CCCCAAGAGCAACTACCACT-3'	<i>Wx-B1</i> (<i>B1b</i>)	× 1: 94 °C -4 min; × 40: 94 °C -15 s, 65 °C -
Wx-B2R: 5'-CGTTGACGATGCCGGTGTTG-3'		15 s, 72 °C -15 s; × 1: 72 °C -7 min
Axnull-F: 5'-ACGTTCCCTACAGGTACTA-3'	<i>Glu-A1</i> (<i>Axnull</i>)	× 1: 94 °C -4 min; × 40: 94 °C -1 min, 58 °C -
Axnull-R: 5'-TATCACTGGCTAGCCGACAA-3'		1 min, 72 °C -1 min; × 1: 72 °C -7 min
UMN19F: 5'-CGAGACAATATGAGCAGCAAG-3'	<i>Glu-A1</i> (<i>Ax1/Axnull</i> , <i>Ax2*</i>)	× 1: 94 °C -4 min; × 40: 94 °C -30 s, 60 °C -
UMN19R: 5'-CTGCCATGGAGAAGTTGGA-3'		30 s, 72 °C -30 s; × 1: 72 °C -5 min
UMN25F: 5'-GGGACAATACGAGCAGCAAA-3'	<i>Glu-D1</i> (<i>Dx2</i> , <i>Dx5</i>)	× 1: 94 °C -4 min; × 40: 94 °C -30 s, 60 °C -
UMN25R: 5'-CTTGTTCCGGTTGTTGCCA-3'		30 s, 72 °C -30 s; × 1: 72 °C -5 min
UMN26F: 5'-CGCAAGACAATATGAGCAAACT-3'	<i>Glu-D1</i> (<i>Dy10</i> , <i>Dy12</i>)	× 1: 94 °C -4 min; × 40: 94 °C -30 s, 60 °C -
UMN26R: 5'-TTGCCTTTGTCCTGTGTGC-3'		30 s, 72 °C -30 s; × 1: 72 °C -7 min

1.4 品质性状分析

采用 XDS 型近红外分析仪器(福斯分析仪器公司)进行小麦种质材料的湿面筋含量、总淀粉含量测定;直链淀粉含量利用双波长法进行测定;支链淀粉含量为总淀粉含量与直链淀粉含量的差值。

2 结果与分析

2.1 47 份外引小麦种质材料 *Waxy* 等位基因分析

47 份外引小麦种质材料进行 *Waxy* 等位基因检测(表 3、图 1):在 *Wx-A1* 位点,39 份材料(82.98%)为 *Wx-A1a* 类型,如 09 智引 2 号,CL0401,萨尔斯堡(4F+4R 和 4F-c+4R 分别扩增 257bp 和 262bp);7 份材料(14.89%)为 *Wx-A1g* 类型,如 KPL-6(4F+4R 和 4F-c+4R 分别扩增 257 bp 和 0 bp);仅 1 份材料

(2.13%)携带 *Wx-A1b* 类型,如 Knato107(4F+4R 和 4F-c+4R 扩增均无条带)。在 *Wx-B1* 位点上,37 份材料(78.72%)为 *Wx-B1a* 类型,如 KPL-6、CL0401、萨尔斯堡(4F+4R、4F-c+4R 和 4F-c+Wx-B2R 分别扩增 227 bp、232 bp 和 402 bp);7 份材料(14.89%)具有 *Wx-B1e* 类型,如墨 S139(4F+4R、4F-c+4R 和 4F-c+Wx-B2R 分别扩增 227 bp、232 bp 和 436 bp);3 份材料(6.38%)具有 *Wx-B1b* 类型,如 Knato107,09 智引 2 号(4F+4R、4F-c+4R 和 4F-c+Wx-B2R 扩增均无条带)。在 *Wx-D1* 位点上,46 份均具有 *Wx-D1a* 类型,如 Knato107,09 智引 2 号,KPL-6 和 CL0401(4F+4R 和 4F-c+4R 分别扩增 299 bp 和 304 bp),仅 1 个材料携带等位基因型 *Wx-D1b*,如萨尔斯堡(4F+4R 和 4F-c+4R 扩增均无条带)。

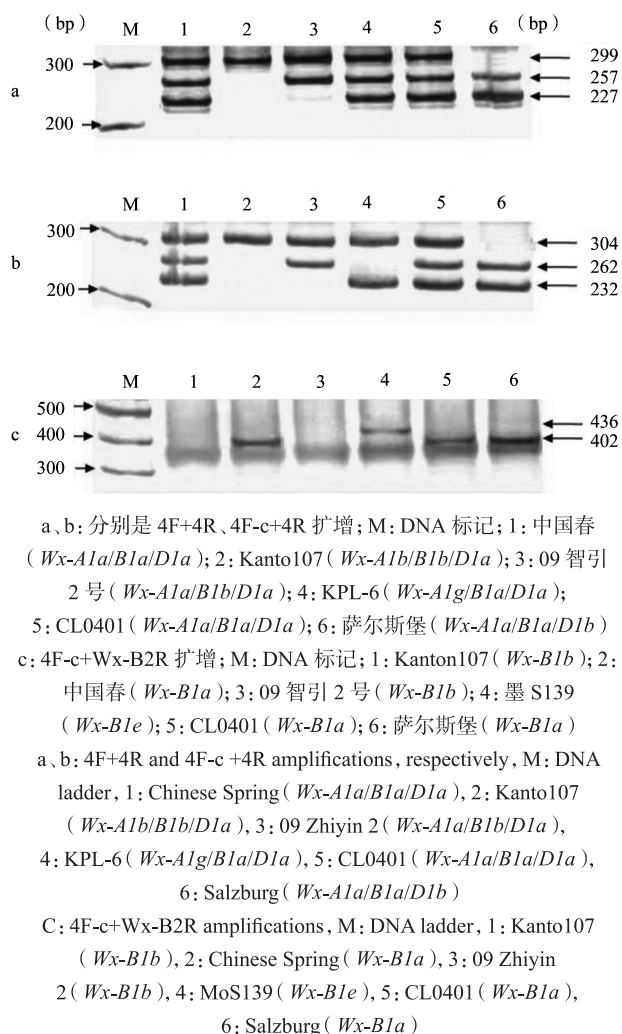
表 3 47 份外引小麦种质材料的 *Waxy* 基因分子遗传评价

Table 3 Molecular genetic assessment of 47 wheat germplasms by *Waxy* genes

序号 No.	种质材料 Germplasm	<i>Wx-A1</i>			<i>Wx-B1</i>			<i>Wx-D1</i>		序号 No.	种质材料 Germplasm	<i>Wx-A1</i>			<i>Wx-B1</i>			<i>Wx-D1</i>	
		a	b	g	a	b	e	a	b			a	b	g	a	b	e	a	b
1	澳阿优 1 号	+	-	-	+	-	-	+	-	25	09 智引 3 号	+	-	-	+	-	-	+	-
2	KPL-1	-	-	+	-	+	-	+	-	26	墨特大	-	-	+	-	-	+	+	-
3	阿大学 AGT-②	+	-	-	+	-	-	+	-	27	墨 S139	+	-	-	-	-	+	+	-
4	鸟麦	+	-	-	-	-	+	+	-	28	萨尔斯堡	+	-	-	+	-	-	-	+
5	攀道拉	+	-	-	+	-	-	+	-	29	爱丁堡 B	+	-	-	+	-	-	+	-
6	智矮早	+	-	-	+	-	-	+	-	30	非黑土地 24	+	-	-	+	-	-	+	-
7	硬质博莱特	+	-	-	+	-	-	+	-	31	OK.95571	+	-	-	-	-	+	+	-
8	CL0401	+	-	-	+	-	-	+	-	32	美国 -2	+	-	-	+	-	-	+	-
9	CL0438	+	-	-	+	-	-	+	-	33	野猫	+	-	-	+	-	-	+	-
10	CL0442	+	-	-	+	-	-	+	-	34	NSR-5	+	-	-	+	-	-	+	-
11	09 智引 1 号	+	-	-	+	-	-	+	-	35	Jaggar-1	+	-	-	+	-	-	+	-
12	Kanto 107	-	+	-	-	+	-	+	-	36	财富麦	+	-	-	+	-	-	+	-
13	Manital	+	-	-	+	-	-	+	-	37	CIKO	+	-	-	+	-	-	+	-
14	Opata	+	-	-	+	-	-	+	-	38	山前麦	-	-	+	+	-	-	+	-
15	Glenlea	+	-	-	+	-	-	+	-	39	FK	-	-	+	+	-	-	+	-
16	Madsen	-	-	+	+	-	-	+	-	40	Ciava	+	-	-	+	-	-	+	-
17	Attila	+	-	-	+	-	-	+	-	41	KPL-6	-	-	+	+	-	-	+	-
18	Salmon	+	-	-	+	-	-	+	-	42	KPL-7	-	-	+	+	-	-	+	-
19	RL6077	+	-	-	+	-	-	+	-	43	KPL-11	+	-	-	+	-	-	+	-
20	Pavon	+	-	-	-	-	+	+	-	44	Rudu	+	-	-	+	-	-	+	-
21	Pastor	+	-	-	-	-	+	+	-	45	RACA17-5	+	-	-	-	-	+	+	-
22	Norin 61	+	-	-	+	-	-	+	-	46	Brennan	+	-	-	+	-	-	+	-
23	荒漠 2016	+	-	-	+	-	-	+	-	47	KPL-5	+	-	-	+	-	-	+	-
24	09 智引 2 号	+	-	-	-	+	-	+	-	CK	中国春	+	-	-	+	-	-	+	-

+: 表示具有等位基因; -: 表示缺失等位基因; a、b、e、g: *Wx-A1/B1/D1* 等位基因型

+: Presence of corresponding allele, -: Absence of corresponding allele, a, b, e, g: The allele types of *Wx-A1/B1/D1*

图 1 *Waxy* 基因分子标记鉴定电泳图Fig.1 Electrophoretogram of molecular markers of *Waxy* genes

对 47 份外引小麦种质材料 *Wx-I* 位点等位基因组合,共鉴定出 8 种(表 3、图 1)。其中,31 份材料(65.96%)具有 *Wx-A1a/B1a/D1a*,如澳阿优 1 号、CL0401 等;6 份材料(12.77%)具有 *Wx-A1a/B1e/D1a*,如鸟麦、Pavon、Pastor、墨 S139、OK.95571 和 RACA17-5;5 份材料(10.64%)为 *Wx-A1g/B1a/D1a*,如 Madsen、山前麦、FK、KPL-6 和 KPL-7。其余 5 份材料:墨特大、萨尔斯堡、KPL-1、09 智引 2 号、Kanto 107 分别具有 *Wx-A1g/B1e/D1a*、*Wx-A1a/B1a/D1b*、*Wx-A1g/B1b/D1a*、*Wx-A1a/B1b/D1a*、*Wx-A1b/B1b/D1a*。

2.2 47 份外引小麦种质材料 *HMW-GS* 等位基因分析

47 份外引小麦种质材料进行 *HMW-GS* 等位基因检测(表 4、图 2):在 *Glu-A1* 位点,18 份材料(38.30%)含有等位基因 *Ax2** 类型,如攀道拉、

09 智引 1 号(UMN19 扩增酶切 172bp 和 153bp);29 份材料含有等位基因 *Ax1* 或 *Null* 类型(UMN19 扩增酶切 172bp 和 171bp),其中,18 份材料含有等位基因 *Null* 类型,如澳阿优 1 号、鸟麦(*Axnull-F* 和 *Axnull-R* 扩增 920bp),11 份材料含有等位基因 *Ax1*,如 KPL-1、阿大学 AGT-②、智矮早(*Axnull-F* 和 *Axnull-R* 扩增无条带)。

在 *Glu-D1x* 位点,23 份材料(48.94%)含有等位基因 *Dx2* 类型,如阿大学 AGT-②(UMN25 扩增酶切后 171bp+109bp);21 份材料(44.68%)含有等位基因 *Dx5* 类型,如鸟麦、攀道拉、智矮早、09 智引 1 号(UMN25 扩增酶切后 171bp+91bp);3 份材料含有未知类型,如澳阿优 1 号、KPL-1 和墨 S139。而 *Glu-D1y* 位点,22 份材料(46.81%)含有等位基因 *Dy12* 类型,如澳阿优 1 号、KPL-1、攀道拉、智矮早、09 智引 1 号(UMN26 扩增酶切后 241bp+174bp);20 份材料(42.55%)含有等位基因 *Dy10* 类型,如鸟麦(UMN26 扩增酶切后 223bp+174bp);3 份材料含有未知类型,如阿大学 AGT-②、09 智引 3 号和墨特大;2 份材料(野猫和 KLP-11)具有 *Dy10*+*Dy12* 杂合类型。

对 47 份外引小麦种质材料 *Glu-A1/D1* 位点等位基因组合,共鉴定出 19 种(表 4、6)。其中,含有 *Null/Dx5+Dy12* 的材料有 7 份;含有 *Ax2*/Dx5+Dy12*、*Ax2*/Dx2+Dy10* 和 *Null/Dx2+Dy10* 的材料各有 5 份;含有 *Ax2*/Dx5+Dy10* 的材料 4 份;含有 *Ax1/Dx2+Dy10* 和 *Ax2*/Dx2+Dy12* 的材料各有 3 份;含有 *Ax1/Dx2*、*Ax1/Dx2+Dy12* 和 *Ax1/Dx5+Dy10* 的材料各有 2 份;含有 *Ax1/Dy12*、*Ax1/Dx5+Dy12*、*Ax2*/Dy12*、*Null/Dy12*、*Null/Dx5+Dy10*、*Null/Dx2*、*Null/Dx2+Dy12*、*Null/Dx2+Dy10+Dy12*、*Null/Dx5+Dy10+Dy12* 材料各 1 份。

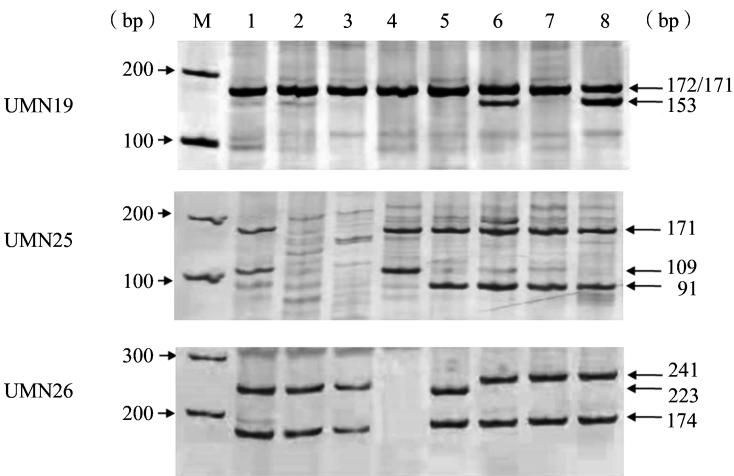
2.3 47 份外引小麦种质材料品质性状分析

47 份外引种质材料进行了直链淀粉、支链淀粉测定,其变异范围分别为 14.36%~23.59% 和 33.70%~49.39%(表 5)。其中,直链淀粉含量最高、最低材料分别为美国 -2、Kanto 107;支链淀粉含量最高、最低材料分别为 Kanto 107、Norin 61。按 *Wx-I* 等位基因组合,将 47 份外引种质材料分为 4 大类:直链淀粉含量排序为 *Wx-A1a/B1a/D1a*>*Wx-A1g/B1a/D1a*>*Wx-A1a/B1e/D1a*>其他类型(*Wx-A1g/B1e/D1a*; *Wx-A1a/B1a/D1b*; *Wx-A1g/B1b/D1a*; *Wx-A1a/B1b/D1a*; *Wx-A1b/B1b/D1a*);支链淀粉含量排序为其他类型>*Wx-A1a/B1e/D1a*>*Wx-A1g/B1a/D1a*>*Wx-A1a/B1a/D1a*。

表 4 47 份国外种质资源材料的 *HMW-GS* 基因分子遗传评价
Table 4 Molecular genetic assessment of 47 wheat germplasms by *HMW-GS* genes

序号 No.	种质材料 Germplasm	<i>Glu-A1</i>				<i>Glu-D1</i>			
		Null	<i>Ax1</i>	<i>Ax2*</i>	<i>Dx5</i>	<i>Dy10</i>	<i>Dx2</i>	<i>Dy12</i>	
1	澳阿优 1 号	+	-	-	-	-	-	+	
2	KPL-1	-	+	-	-	-	-	+	
3	阿大学 AGT- ②	-	+	-	-	-	+	-	
4		+	-	-	+	+	-	-	
5	攀道拉	-	+	+	+	-	-	+	
6	智矮早	-	+	-	+	-	-	+	
7	硬质博莱特	+	-	-	+	-	-	+	
8	CL0401	+	-	-	+	-	-	+	
9	CL0438	-	+	-	-	-	+	+	
10	CL0442	+	-	-	+	-	-	+	
11	09 智引 1 号	-	-	+	+	-	-	+	
12	Kanto 107	+	-	-	+	-	-	+	
13	Manital	-	-	+	-	-	+	+	
14	Opata	-	+	-	+	+	-	-	
15	Glenlea	-	-	+	+	+	-	-	
16	Madsen	-	-	+	+	-	-	+	
17	Atila	-	-	+	-	+	+	-	
18	Salmone	-	+	-	-	-	+	+	
19	RL6077	-	-	+	+	+	-	+	
20	Pavon	-	+	-	-	+	+	-	
21	Pastor	+	-	-	-	+	+	-	
22	Norin 61	-	-	+	+	-	-	+	
23	荒漠 2016	-	-	+	-	+	+	-	
24	09 智引 2 号	-	-	+	-	-	+	+	
25	09 智引 3 号	+	-	-	-	-	+	-	
26	墨特大	-	+	-	-	-	+	-	
27	墨 S139	-	-	+	-	-	-	+	
28	萨尔斯堡	-	-	+	+	+	-	-	
29	爱丁堡 B	-	+	-	-	+	+	-	
30	非黑土地 24	-	-	+	-	+	+	-	
31	OK.95571	-	-	+	-	+	+	-	
32	美国 -2	-	-	+	-	+	+	-	
33	野猫	+	-	-	-	+	+	+	
34	NSR-5	+	-	-	-	+	+	-	
35	Jaggat-1	-	+	-	-	+	+	-	
36	财富麦	+	-	-	-	+	+	-	
37	CIKO	-	-	+	-	-	+	+	
38	山前麦 2 号	-	+	-	+	+	-	-	
39	FK	-	-	+	+	+	-	-	
40	Ciava	+	-	-	+	+	+	-	
41	KPL-6	+	-	-	+	-	-	+	
42	KPL-7	+	-	-	-	-	+	+	
43	KPL-11	+	-	-	+	+	-	+	
44	Rudu	+	-	-	+	-	-	+	
45	RACA17-5	+	-	-	+	-	-	+	
46	Brennan	+	-	-	-	+	+	-	
47	KPL-5	-	-	+	+	-	-	+	
CK	中国春	+	-	-	-	-	+	-	

+: 具有等位基因; -: 缺失等位基因
+: Presence of corresponding allele, -: Absence of corresponding allele



UMN19、UMN25 和 UMN26 扩增; M: DNA 标记; 1: 中国春; 2: 澳阿优 1 号; 3: KPL-1; 4: 阿大学 AGT- ②; 5: 乌麦; 6: 攀道拉; 7: 智矮早; 8: 09 智引 1 号
UMN19, UMN25 and UMN26 amplifications, M: DNA ladder, 1: Chinese Spring, 2: Aoayou 1, 3: KPL-1, 4: Adaxue AGT-2, 5: Niaomai, 6: Pandaola, 7: Zhiaizao, 8: 09 Zhiyin 1

图 2 *HMW-GS* 基因分子标记的鉴定电泳图
Fig.2 Electrophoretogram of molecular markers of *HMW-GS* genes

表 5 *Waxy* 等位基因组合材料的直链淀粉与支链淀粉含量
Table 5 Amylose and amylopectin contents of wheat germplasms with *Waxy* alleles

<i>Wx-1</i> 等位基因组合 Alleles combination of <i>Wx-1</i>	数量 No.	直链淀粉 (%) Amylose				支链淀粉 (%) Amylopectin			
		变异范围 Range	均值 Mean	最小材料 Material with min. value	最大材料 Material with max. value	变异范围 Range	均值 Mean	最小材料 Material with min. value	最大材料 Material with max. value
<i>Wx-A1a/B1a/D1a</i>	31	18.13~23.59	20.11	RL6077	美国 -2	33.70~42.14	39.62	Norin 61	Brennan
<i>Wx-A1a/B1e/D1a</i>	6	17.84~19.03	18.55	Pastor	乌麦	41.25~45.20	43.44	OK.95571	乌麦
<i>Wx-A1g/B1a/D1a</i>	5	18.97~19.50	19.28	Madsen	山前麦	40.14~42.83	41.70	KPL-7	FK
其他类型	5	14.36~15.21	14.85	Kanto 107	墨特大	46.10~49.39	47.00	KPL-1	Kanto 107

47 份外引种质材料湿面筋含量测定变异范围为 30.07%~38.51%, 其中湿面筋含量最大材料为 KPL-11, 最低材料为澳阿优 1 号(表 6)。按 *HMW-GS* 等位基因组合来看, 含有优质等位基因 *Glu-A1*

Ax1 或 *Ax2** 兼 *Glu-D1 Dx5+Dy10* 的材料的湿面筋含量显著高于新麦 26 (33.16%), 如 Glenlea (*Ax2*/Dx5+Dy10*)、山前麦 2 号 (*Ax1/Dx5+Dy10*)。

表 6 *HMW-GS* 等位基因组合材料的湿面筋含量
Table 6 Wet gluten content of wheat germplasms with *HMW-GS* alleles

<i>HMW-GS</i> 等位基因组合 Alleles combination of <i>HMW-GS</i>	数量 No.	湿面筋 (%) Wet gluten	代表性材料 Representative material	<i>HMW-GS</i> 等位基因组合 Alleles combination of <i>HMW-GS</i>	数量 No.	湿面筋 (%) Wet gluten	代表性材料 Representative material
<i>Null/Dx5+Dy12</i>	7	33.40	CL0401	<i>Ax2*/Dx5+Dy10</i>	4	38.02	Glenlea
<i>Null/Dx2+Dy10</i>	5	31.15	Pastor	<i>Ax2*/Dx2+Dy12</i>	3	33.59	Manital
<i>Null/Dy12</i>	1	30.07	澳阿优 1 号	<i>Ax2*/Dy12</i>	1	31.55	墨 S139
<i>Null/Dx5+Dy10</i>	1	35.14	乌麦	<i>Ax1/Dx2+Dy10</i>	3	34.12	Pavon
<i>Null/Dx2</i>	1	33.58	09 智引 3 号	<i>Ax1/Dx2</i>	2	31.88	阿大学 AGT- ②
<i>Null/Dx2+Dy12</i>	1	35.32	KPL-7	<i>Ax1/Dx2+Dy12</i>	2	35.54	CL0438
<i>Null/Dx5+Dy10+Dy12</i>	1	38.51	KPL-11	<i>Ax1/Dx5+Dy10</i>	2	38.28	山前麦 2 号
<i>Null/Dx2+Dy10+Dy12</i>	1	37.98	野猫	<i>Ax1/Dy12</i>	1	32.15	KPL-1
<i>Ax2*/Dx5+Dy12</i>	5	33.33	攀道拉	<i>Ax1/Dx5+Dy12</i>	1	36.52	智矮早
<i>Ax2*/Dx2+Dy10</i>	5	36.60	荒漠 2016	<i>Ax1/Dx5+Dy10</i>	1	33.16	新麦 26 (CK)

3 讨论

淀粉是小麦籽粒和面粉的主要成分,由直链淀粉和支链淀粉组成,以半结晶颗粒的形式沉积在胚乳中,其大小分布呈双峰状。直链淀粉是由颗粒结合淀粉合酶(GBSSI)合成,该基因定位于普通小麦 7A(*Wx-A1*)、4A(*Wx-B1*)和 7D(*Wx-D1*)^[2]。将 *Wx-A1*、*Wx-B1*、*Wx-D1* 的野生型(*Wx* 功能型)和 *Null* 型(*Wx* 失活型)等位基因组合,分成 8 个组合类型:野生型、糯小麦和 6 个部分糯小麦^[18-19]。Vafin 等^[16]对收集于俄罗斯鞑靼斯坦农业科学研究所的 70 份小麦 *Waxy* 分析,揭示 65.7% 材料具有传统野生型 *Wx-A1a/B1a/D1a*, 2.9% (2 份)材料具有罕见野生型 *Wx-A1g/B1a/D1a*。本研究从 47 份外引小麦种质材料中鉴定出 8 种 *Wx-1* 位点等位基因组合, 65.96% 材料以传统野生型 *Wx-A1a/B1a/D1a* 为主;同时,发现了罕见野生型 *Wx-A1a/B1e/D1a* (6 份)、*Wx-A1g/B1a/D1a* (5 份)、*Wx-A1g/B1e/D1a* (1 份) (表 3)。糯小麦粉的淀粉性质及其潜在的最终用途已被广泛研究,部分糯小麦(缺乏 1 种或 2 种 *Wx* 蛋白)也引起了小麦育种者和面粉企业的兴趣。3 个 *Wx* 基因对直链淀粉含量及积累速率的影响依次为 *Wx-B1* > *Wx-A1* > *Wx-D1*, *Wx* 蛋白缺失可使直链淀粉含量降低,膨胀势增加,进而改善面条品质^[20]。Kanto 107 小麦缺少 *Wx-A1* 和 *Wx-B1* 蛋白导致直链淀粉水平降低,但对面条品质却有显著影响^[21]。现在 Kanto 107 小麦被作为 *Wx-A1* 和 *Wx-B1* 双突变的亲本源,广泛应用于日本小麦育种中。澳大利亚标准白级(ASW)小麦因缺乏 *Wx-B1* 蛋白(*Wx-B1b*)与乌冬面条淀粉品质存在密切关联,这使得筛选缺乏 *Wx-B1* 蛋白种质材料作为澳大利亚小麦育种目标之一^[21]。本研究鉴定出 2 份材料(KPL-1 和 09 智引 2 号)含有 *Wx-B1b* 型,也印证了 Kanto 107 是双突变类型 *Wx-A1b/B1b/D1a*, *Wx* 缺失型材料具有较低直链淀粉含量(表 3、5)^[3, 20]。

HMW-GS 虽在小麦贮藏蛋白中所占比例不大(约占 10% 左右),但由于赋予了小麦面筋弹性,在很大程度上决定着小麦的加工品质^[22]。已有研究证明,小麦 HMW-GS *Ax2**、*Dx5*+*Dy10* 可提高面粉烘烤品质,而 *Null*、*Dx2*+*Dy12* 则降低其品质^[23]。越来越多育种工作者关注种质材料的 HMW-GS 类型, Dai 等^[24]对 300 份新疆地方品种和现代品种分析,发现 26 种 *Glu-A1/B1/D1* 的 HMW-GS 组合; Vafin 等^[16]对收集于俄罗斯鞑靼斯坦农业科学研

究所的 70 份小麦 HMW-GS 分析,鉴定出 *Glu-A1/D1* 位点等位基因组合 5 种, 47.1% 材料含有 *Ax2**/*Dx5*+*Dy10*。本研究利用分子标记对 47 份外引小麦种质材料分析,发现 18 份材料(38.30%)含有等位基因 *Ax2** 类型; 21 份材料(44.68%)含有等位基因 *Dx5* 类型; 20 份材料(42.55%)含有等位基因 *Dy10* 类型;鉴定出 *Glu-A1/D1* 位点等位基因组合 19 种,其中含有 *Ax2*/Dx5*+*Dy10* 组合材料 4 份,具有较高湿面筋含量,如 Glenlea(表 4、6)。相比 Vafin 等^[16]研究结果,本研究鉴定 *Glu-A1/D1* 位点等位基因组合类型丰富,这主要归因于材料来源广泛。

目前,采用电泳技术对小麦 *Waxy* 和 HMW-GS 分析较多,如单向 SDS-PAGE 方法被认为比较直观,但小麦 *Waxy* 蛋白提取过程复杂,所用试剂不易购买或价格太贵^[25-26];麦谷蛋白提取简单, HMW-GS 靠电泳迁移率区别不同类型,但有时鉴定准确度不够^[27]。双向电泳 IEF/SDS-PAGE 操作复杂、费时费力,分辨率不高,每次分析的样品少,效率低^[3]。本研究采用分子标记方法对 47 份外引小麦种质材料进行鉴定与分析,该研究结果进一步证实了分子标记评价 *Waxy* 和 HMW-GS 等位基因多态性是有效的、准确的方法^[12, 16]。

参考文献

- [1] Yamamori M, Nakamura T, Nagamine T. Polymorphism of two waxy proteins in the emmer group of tetraploid wheat, *Triticum dicoccoides*, *T. dicoccum*, and *T. durum*. Plant Breeding, 1995, 114 (3): 215-218
- [2] Nakamura T, Yamamori M, Hirano H, Hidaka S. Identification of three wx proteins in wheat (*Triticum aestivum* L.). Biochemical Genetics, 1993, 31 (1/2): 75-86
- [3] Nakamura T, Yamamori M, Hirano H, Hidaka S. Decrease of waxy (wx) protein in two common wheat cultivars with low amylose content. Plant Breeding, 1993, 111 (2): 99-105
- [4] Vrinten P, Nakamura T, Yamamori M. Molecular characterization of waxy mutations in wheat. Molecular and General Genetics, 1999, 261 (3): 463-471
- [5] Wickramasinghe H A M, Miura H. Gene dosage effect of the wheat *Wx* alleles and their interaction on amylose synthesis in the endosperm. Euphytica, 2003, 132 (3): 303-310
- [6] Jaksics E, Paszerbovics B, Egri B, Rakszegi M, Tremmel-Bede K, Vida G, Gergely S, Németh R, Tömösközi S. Complex rheological characterization of normal, waxy and high-amylose wheat lines. Journal of Cereal Science, 2020, 93: 102982
- [7] Payne P I, Lawrence G J. Catalogue of alleles for the complex gene loci, *Glu-A1*, *Glu-B1* and *Glu-D1* which code for the high-molecular-weight subunit of glutenin in hexaploid wheat. Cereal Research Communications, 1983, 11: 29-35
- [8] Shewry P R, Halford N G, Tatham A S. High molecular weight subunits of wheat glutenin. Journal of Cereal Science, 1992, 15

- (2); 105-120
- [9] Payne P I, Nightingale M A, Krattiger A F, Holt L M. The relationship between HMW glutenin subunit composition and the bread-making quality of British-grown wheat varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1987, 40(1): 51-65
 - [10] Gupta G B, Macritchie F. Allelic variation at glutenin subunit and gliadin loci, *Glu-1*, *Glu-3* and *Gli-1*, of common wheats. II. Biochemical basis of the allelic effects on dough properties. *Journal of Cereal Science*, 1994, 19(1): 19-29
 - [11] Popineau Y, Cornet M, Lefebvre J, Marchylo B. Influence of high Mr glutenin subunits on glutenin polymers and rheological properties of glutes and gluten subfractions of near-isogenic lines of wheat sicco. *Journal of Cereal Science*, 1994, 19(3): 231-241
 - [12] 贾继增. 分子标记种质资源鉴定和分子标记育种. *中国农业科学*, 1996, 29(4): 1-10
Jia J Z. Molecular germplasm diagnostics and molecular marker-assisted breeding. *Scientia Agricultura Sinica*, 1996, 29(4): 1-10
 - [13] Liu S, Chao S, Anderson J A. New DNA markers for high molecular weight glutenin subunits in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 2008, 118(1): 177-183
 - [14] Vafin R, Abdulina I R, Rzhanova I V, Garaeva A L, Tyulkin S V, Askhadullin D F, Vasilova N Z, Zaynullin L I, Alimova F K, Shagalieva G I. Molecular approaches for identification of *Triticum aestivum* L. genotypes by allelic variants of *Waxy*-genes and HMW glutenin subunits. *Modern Problems of Science and Education*, 2015, 2(1): 13
 - [15] Morris C F, Kiszonas A M, Beecher B S, Peden G L. Registration of six partial waxy near-isogenic hexaploid wheat genetic stock lines lacking one or two granule bound starch synthase I genes. *Journal of Plant Registrations*, 2020, 14(2): 217-220
 - [16] Vafin R, Rzhanova I, Askhadullin D, Askhadullin D, Vasilova N. Screening of the genotypes of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) by the allelic variants of *Waxy* genes and HMW glutenin subunits. *Acta Agrobotanica*, 2018, 71(4): 1746
 - [17] Yan Z H, Wan Y F, Liu K F, Zheng Y L, Wang D W. Identification of a novel HMW glutenin subunit and comparison of its amino acid sequence with those of homologous subunits. *Chinese Science Bulletin*, 2002, 47(3): 222-226
 - [18] Yamamori M, Quynh N T. Differential effects of Wx-A1, -B1 and -D1 protein deficiencies on apparent amylase content and starch pasting properties in common wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 2000, 100(1): 32-38
 - [19] Nakamura T, Vrinten P, Saito M, Konda M. Rapid classification of partial waxy wheats using PCR-based markers. *Gemome*, 2002, 45(6): 1150-1156
 - [20] 覃鹏, 孔治有, 段修安. *Wx* 基因对小麦淀粉生物合成和积累的影响. *中国粮油学报*, 2015, 30(7): 7-11
Qin P, Kong Z Y, Duan X A. Effect of *Wx* gene on starch biosynthesis and accumulation of wheat. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2015, 30(7): 7-11
 - [21] Zhao X C, Batey I L, Sharp P J, Crosbie G, Barclay I, Wilson R, Morell M K, Appels R. A single genetic locus associated with starch granule properties and noodle quality in wheat. *Journal of Cereal Science*, 1998, 27(1): 7-13
 - [22] Payne P I, Harris P A, Law C N, Holt L M, Blackman J A. The high-molecular-weight subunits of glutenin: structure genetics and relationship to bread-making quality. *Annales De Technologie Agricole*, 1980, 29(2): 309-320
 - [23] Lawrence G J, MacRitchie F, Wrigley C W. Dough and baking quality of wheat line deficient in glutenin subunits controlled by the *Glu-A1*, *Glu-B1* and *Glu-D1* loci. *Journal of Cereal Science*, 1988, 7(2): 109-112
 - [24] Dai S F, Xu D Y, Yan Y L, Wen Z J, Zhang J B, Chen H X, Lu Z F, Li H Y, Cong H, Wei Y M, Zheng Y L, Yan Z H. Characterization of high- and low-molecular-weight glutenin subunits from Chinese Xinjiang wheat landraces and historical varieties. *Journal of Food Science and Technology*, 2020, 57(10): 3823-3835
 - [25] 王子宁, 郭北海, 李洪杰, 张艳敏, 温之雨. 多倍体麦类作物 Wx 蛋白检测的 SDS-PAGE 方法. *遗传*, 2000, 22(3): 169-171
Wang Z N, Guo B H, Li H J, Zhang Y M, Wen Z Y. SDS-PAGE for the detection of Wx protein in polyploid wheats. *Hereditas*, 2000, 22(3): 169-171
 - [26] Zhao X C, Sharp P J. An improved 1-D SDS-PAGE method for the identification of three bread wheat Waxy proteins. *Journal of Cereal Science*, 1996, 23(2): 191-193
 - [27] 贾琳琳, 王永霞, 靳晓杰. 基于 SDS-PAGE 与荧光标记检测技术的黄淮麦区小麦品种(系) HMW-GS 组成分析. *河南农业科学*, 2019, 48(11): 18-26
Jia L L, Wang Y X, Jin X J. HMW-GS composition analysis of wheat varieties (lines) in Huanghuai Region based on SDS-PAGE and fluorescence markers. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 2019, 48(11): 18-26