

# 小麦品种面粉色泽相关 *PPO* 基因的多态性分析

王欣<sup>1</sup>, 窦秉德<sup>1</sup>, 叶建<sup>1</sup>, 董红梅<sup>1</sup>, 孙美娟<sup>1</sup>, 马跃<sup>1</sup>, 冯雪娇<sup>1</sup>, 朱晓滨<sup>1</sup>,  
童婷<sup>1</sup>, 张瑞越<sup>1</sup>, 顾正中<sup>2</sup>, 高爱农<sup>3</sup>

<sup>1</sup>淮阴师范学院植物生物技术研究所/江苏省环洪泽湖生态农业生物技术重点实验室, 淮安 223300;

<sup>2</sup>江苏省农业科学院徐淮地区淮阴农科所, 淮安 223300; <sup>3</sup>中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081)

**摘要:**以 261 个小麦品种(系)组成原始群体, 利用其多态性分子标记信息, 通过模拟核心种质抽提的方法精选了 100 个品种(系), 对入选种质进行了群体遗传结构分析, 并对属于 3 个亚群 100 个品种(系)的 *PPO* 基因的等位变异进行了检测, 分析发现 100 个小麦品种(系)中 *Ppo-A1a*、*Ppo-A1b*、*Ppo-D1a* 和 *Ppo-D1b* 的基因频率分别为 43%、57%、72%、28%, 为小麦 *PPO* 活性的分子标记辅助选择(MAS)提供了基础资料。

**关键词:**小麦; 面粉色泽; *PPO* 基因; 多态性分析

## Polymorphism Analysis of *PPO* Genes Related to Flour Color of Wheat

WANG Xin<sup>1</sup>, DOU Bing-de<sup>1</sup>, YE Jian<sup>1</sup>, DONG Hong-mei<sup>1</sup>, SUN Mei-juan<sup>1</sup>, MA Yue<sup>1</sup>, FENG Xue-jiao<sup>1</sup>,  
ZHU Xiao-Bin<sup>1</sup>, TONG Ting<sup>1</sup>, ZHANG Rui-yue<sup>1</sup>, GU Zheng-zhong<sup>2</sup>, GAO Ai-nong<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Jiangsu Key Laboratory for Eco-Agricultural Biotechnology around Hongze Lake/Institute of Plant Biotechnology,

Huaiyin Normal University, Huaian 223300; <sup>2</sup>Huaiyin Institute of Agricultural Sciences, Huaian 223300;

<sup>3</sup>Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081)

**Abstract:** To obtain desirable hybrid parents for improving the quality of wheat flour color, 261 wheat cultivar lines from our country's gene pool were selected as a original population and their genetic polymorphism were analyzed based on molecular markers in wheat genome. A proposed core germplasm group of wheat lines was constructed which included 100 cultivar lines, the proposed core germplasm group was divided into three sub-groups by population genetic structure analysis. The allele diversity at two *PPO* gene loci were checked in 100 lines of the proposed core germplasm group, the results showed that the frequencies of *Ppo-A1a*, *Ppo-A1b*, *Ppo-D1a* and *Ppo-D1b* were 43%, 57%, 72%, and 28% in the 100 cultivars lines respectively. The data has supplied a basic information for improvement of wheat *PPO* activity in the marker-assisted selection.

**Key words:** Wheat; Flour color; *PPO* genes; Polymorphism analysis

色泽是面制食品特别是中国传统面制食品面条、馒头和水饺加工品质的一个重要指标;在很大程度反映了面粉的质量和制粉精度,因此也是面粉分级的重要指标。面粉色泽(白度)属于数量性状,由多个基因控制,具有很高的遗传力,同时也受不良子粒(虫害、霉变、穗发芽、未充分成熟)含量、面粉颗粒度、破损淀粉含量、面粉中的色素、氧化酶类、面粉水分含量、出粉率及制粉工艺水平等诸多因素的

影响。

在面制食品的加工制作和储藏过程中经常会出现颜色加深的现象即褐变。小麦中的多酚氧化酶(*PPO*)是导致酶促褐变的主要原因,但关于 *PPO* 的具体生理功能问题,至今尚未有一个十分明确的认识。

植物多酚氧化酶是一类多基因家族表达的产物,是含 Cu 元素的膜结合蛋白,具有基团专一性,

收稿日期:2010-08-19 修回日期:2011-05-04

基金项目:江苏省大学生创新实践项目(2008);国家自然科学基金(30771380)

作者简介:王欣,在读硕士。E-mail:wangxin@126.com

通讯作者:窦秉德,博士,副教授。E-mail:doubd@163.com

高爱农,副研究员。E-mail:gaoainong@caas.net.cn

主要与植物色素的生成及其产品的色变有关。多酚氧化酶最早发现于 1895 年,1937 年 Kubowitz 在 Warburg 实验室中第一次分离出多酚氧化酶<sup>[1]</sup>。多酚氧化酶是一种由核基因编码的质体酶,普遍存在于植物、真菌、昆虫的质体中,即主要存在于叶绿体、黄色体和白色体等的内膜上。植物多酚氧化酶广泛存在于植物体的各种器官和组织中。各种器官和组织中 PPO 分布是不均匀的,具有时间和空间特异性,幼嫩部位的 PPO 活性较高,成熟或衰老部位活性较低<sup>[2-3]</sup>。另外,环境胁迫、化学药品也能诱导 PPO 的表达,植株组织受到机械损伤或病虫害的侵染,该部位的 PPO 活性也将上升<sup>[4-6]</sup>。虽然几乎所有的质体中都包含 PPO,但在某些组织中很难检测到 PPO 的活性,如 C<sub>4</sub>植物的维管束鞘细胞和保卫细胞的质体<sup>[1]</sup>。20 世纪 60 年代以来,研究者们曾从不同的植物中分离出 PPO,其中以茶叶、葡萄、荔枝及番茄等中的 PPO 含量较为丰富,而小麦等禾谷类作物中 PPO 不是太丰富。对于小麦,早在 1907 年 Bertrand 等从小麦麸皮中发现多酚氧化酶<sup>[7]</sup>(酪氨酸酶, Tyrosinase)的存在。且从植株幼苗到成熟子粒都含有 PPO,但是其活性和种类有差异,子粒中的 PPO 主要存在于麸皮中。

小麦品种间 PPO 活性差异很大,主要受 PPO 基因的等位变异影响<sup>[8]</sup>,分子标记技术的发展为准确快速鉴定 PPO 基因提供了可能,了解现有品种和骨干亲本的 PPO 基因分布类型有助于小麦 PPO 活性的遗传改良。

PPO 活性主要受基因型影响<sup>[9]</sup>,虽然小麦第 3、第 5 同源群及 6B、7D 等染色体上存在一些 PPO 微效基因<sup>[10-12]</sup>,但控制 PPO 活性的主效基因位于第 2 同源群染色体上。Raman 等<sup>[13]</sup>研究表明控制 PPO 活性的第一主效基因位于 2AL 染色体上,能解释 82% 的表型变异。张立平等<sup>[14]</sup>研究发现控制 PPO 活性的主效基因位于 2AL 和 2DL 染色体上,分别解释 37.2% ~ 50.1% 和 25.1% ~ 29.1% 的表型变异。2BL 染色体上也存在 PPO 活性基因,但该基因受环境效应影响较大<sup>[12]</sup>。近年许多学者发现了一些与 PPO 主效基因紧密连锁的标记<sup>[13-15]</sup>,并证明了这些标记在品种 PPO 活性检测中的可行性<sup>[16]</sup>,但这些标记多为 RFLP 或 SSR 标记,与 PPO 基因间有一定距离,影响标记选择的准确性,且操作程序复杂,成本高,较难应用于分子辅助选择育种。Sun 等<sup>[17]</sup>根据小麦 PPO 基因序列设计了位于 2AL 染色体上的功能标记 PPO18,能检测控制高、低 PPO 活性的两个等位基因 *Ppo-Ala* 和

*Ppo-Alb*。He 等<sup>[18]</sup>利用小麦 PPO 基因序列开发了位于 2DL 染色体上等位基因 *Ppo-D1a* 和 *Ppo-D1b* 的互补显性标记 PPO16 和 PPO29。利用 PPO18、PPO16 和 PPO29 标记准确检测 2A 和 2D 染色体上 2 个 PPO 基因位点的等位变异,为深入了解中国小麦品种中 *Ppo-Ala*、*Ppo-Alb*、*Ppo-D1a* 和 *Ppo-D1b* 等位基因的分布提供了可能。

本试验以来自全国各麦区表现较好的小麦种质资源 261 个品种(系)组成的供试材料原始群体及其基于基因组多态性标记信息来精选的代表性种质为拟入选群体,并以该入选种质为目标群体,对其进行群体结构评估,以小麦多酚氧化酶活性的主效 QTL 所在 2A/2D 连锁群上的功能 STS 标记(PPO33、PPO29)分析拟入选种质群体 PPO 基因型多态性,预测群体种质的白度品质,为在育种中选配亲本积累资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

本试验选用来自全国各地区的 261 份(VL1 ~ VL261)小麦品种(系)作为供试材料(中国农科院原品资所、江苏省农科院徐淮地区淮阴农科所部分提供及本实验室收藏,含小麦雌性不育系 XND126)。2006-2007 生长季,种植于淮阴师范学院生物科技园。随机区组试验,常规田间管理。

### 1.2 DNA 提取

每个品种(系)选取有代表性的 3 个植株,每株取其倒 3 叶,根据 Lagudah 等<sup>[19]</sup>方法分别提取其叶片 DNA。

### 1.3 SSR 分析

基因组多态性检测的 SSR 标记引物来源:参考小麦资源网(<http://wheat.pw.usda.gov>)及 Röder 等<sup>[20]</sup>实验室发表的 SSR 标记(表 1)引物序列,上海生工合成。

PCR 反应在 10 $\mu$ l 的体系中进行,其中包含 10mmol/L Tris-HCl, pH8.3; 50mmol/L KCl; 2.0mmol/L MgCl<sub>2</sub>; 200 $\mu$ mol/L dNTPs; 50ng 引物; 50ng 模板 DNA 和 1U Taq 酶。

PCR 扩增程序为:94 $^{\circ}$ C 预变性 4min;然后 94 $^{\circ}$ C 变性 1min,50 ~ 60 $^{\circ}$ C 退火(因不同引物而异)1min,72 $^{\circ}$ C 延伸 2min,45 个循环;72 $^{\circ}$ C 延伸 10min;4 $^{\circ}$ C 保温。

### 1.4 STS 检测

PPO33 是位于小麦 2A 染色体上 *Ppo-Al* 基因的

共显性标记。PPO33 引物上游序列 5'-CCAGATA-CACAACTGCTGGC-3' 和下游序 5'-TGATCTTGAG-GTTCTCGTCCG-3'。

PPO29 是小麦 2D 染色体上 *Ppo-D1* 基因的显性标记。PPO29 的引物上游序列为 5'-TGAAGCT-GCCGGTCATCTAC-3' 和下游序列为 5'-AAGTTGC-CCATGTCCTCGCC-3', 上海生工合成。

PCR 反应在 10 $\mu$ L 的体系中进行, 其中包含 10mmol/L Tris-HCl, pH8.3; 50mmol/L KCl; 2.0mmol/L MgCl<sub>2</sub>; 200 $\mu$ mol/L dNTPs; 50ng 引物; 50ng 模板 DNA 和 1U Taq 酶。

PCR 扩增程序为: 以 94 $^{\circ}$ C 预变性 4min; 然后 94 $^{\circ}$ C 变性 1min, PPO33 66 $^{\circ}$ C 退火 1min, PPO29 68 $^{\circ}$ C 退火 1min, 72 $^{\circ}$ C 延伸 2min 进行 45 个循环; 之后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10min; 4 $^{\circ}$ C 保温。

以上 PCR 反应均在 Model My Gradient 上进行。均采用 8% (W/V) 的聚丙烯酰胺凝胶 (Acr; Bis = 39:1) 电泳和银染法显色检测 DNA 条带的多态性<sup>[21]</sup>。

### 1.5 标记带型统计

统计 SSR 标记和功能标记在 261 个普通小麦之间的带型差异。由于本实验室将以选育实用型小麦雌性不育系做为杂交制种时的授粉者为育种目

标, 故以其雌性不育系 XND126 为杂交育种时的基因供体, 以其标记带型为参照带型, 赋值为“0”; 其余种质每出现一种多态性带型分别赋值为“1”、赋值为“2”、赋值为“3”, 以此类推, 当出现第 M 种带型和第 N 种带型时, 记为 M/N。缺失数据用符号“?”代替, 形成等位变异矩阵。

将已有等位变异矩阵进行拆分, 如果某一 SSR 标记所在位点为纯合形式, 则转换成 MM; 如果某一 SSR 标记所在位点为杂合形式, 则转换成 MN, 由此以形成每一品种(系)为双行的等位变异矩阵。缺失数据用 -9 代替, 第一列为品种(系)编号, 第一行为 SSR 标记名称。将 Excel 表格转换成文本文档, 以备群体结构评估使用。

### 1.6 精选种质群体的构建

使用徐海明博士开发的 MCORE 软件, 采用遍布于全基因组中多态性较高、分布较均匀的 42 个 (均匀分布在 21 条连锁群上) SSR 标记 (表 1), 对 261 个小麦品种(系)组成的原始群体进行不加权类平均法的系统聚类分析。抽样方法为优先取样多次聚类随机取样法 Nei and Li 相似系数, 共构建 4 个核心子集, 各核心库的样品数分别为 160、140、120 和 100。

表 1 小麦基因组中用于多态性分析的 42 个 SSR 标记

Table 1 42 SSR markers for polymorphism analysis in wheat Genome

编号 No.	引物 Primers	连锁群 Linkage groups	编号 No.	引物 Primers	连锁群 Linkage groups
1	<i>Xbarc263</i>	1A	22	<i>Xwmc540</i>	3B 7B
2	<i>Xbarc158</i>	1A	23	<i>Xwmc418</i>	3B 3D
3	<i>Xwmc516</i>	4A	24	<i>Xwmc506</i>	7D
4	<i>Xbarc212</i>	2A	25	<i>Xgwm44</i>	4A 7D
5	<i>Xwmc532</i>	3A	26	<i>Xgwm3</i>	2D 3D
6	<i>Xgwm169</i>	6A	27	<i>Xwmc177</i>	2A
7	<i>Xwmc128</i>	1B	28	<i>Xcfd11</i>	2B 2D
8	<i>Xbarc81</i>	1B	29	<i>Xcfd65</i>	1A 1B 1D 2D
9	<i>Xgwm376</i>	3B	30	<i>Xcfd88</i>	4A
10	<i>Xbarc4</i>	5B	31	<i>Xgwm497</i>	1A 2A 3A 3D 5B
11	<i>Xcfd36</i>	2A 2D	32	<i>Xwmc415</i>	5A 5B
12	<i>Xcfd57</i>	5D	33	<i>Xgwm260</i>	7A
13	<i>Xcfd8</i>	5D	34	<i>Xwmc657</i>	4B
14	<i>Xbarc196</i>	6A	35	<i>Xcfd84</i>	4D
15	<i>Xbarc167</i>	2B	36	<i>Xgwm155</i>	3A
16	<i>Xgwm518</i>	6B	37	<i>Xwmc326</i>	3A 3B 5B
17	<i>Xbarc149</i>	1D	38	<i>Xgwm570</i>	6A
18	<i>Xwmc511</i>	4B	39	<i>Xgwm282</i>	7A
19	<i>Xgwm46</i>	7B	40	<i>Xgwm156</i>	1A
20	<i>Xwmc453</i>	2A 2D	41	<i>Xgwm608</i>	5B 6B 1D 2D 4D
21	<i>Xgwm644</i>	1B 3B 6B 7B	42	<i>Xgwm294</i>	2A

### 1.7 STS 标记检测精选种质群体基因型

PPO33 标记在 *Ppo-Ala* 基因型和 *Ppo-Alb* 基因型材料分别扩增出 290bp 和 481bp 两种多态性片段。PPO29 标记在 *Ppo-D1b* 基因型的材料中扩增 490bp 片段,在 *Ppo-D1a* 基因型的材料中无 PCR 产物。精选种质群体为 100 个品种(系)。

*Ppo-Ala*:多酚氧化酶高活性

*Ppo-Alb*:多酚氧化酶低活性

*Ppo-D1a*:多酚氧化酶低活性

*Ppo-D1b*:多酚氧化酶高活性

表 2 原始种质群体 MCORE 软件的分析结果

Table 2 The clustering results of the original population analysis by software MCORE

群体 Populations	多态位点百分率 Percentage of polymorphic loci	多样性指数均值 Average of diversity index	平均杂合度均值 Average of heterozygosity	平均有效等位基因数 Average effective allele number
总群体	0.8608	0.3527	0.2278	12.1674
Core_160	0.8608	0.3528	0.2282	10.9525
Core_140	0.8608	0.3570	0.2312	9.9773
Core_120	0.8608	0.3606	0.2339	9.3198
Core_100	0.8544	0.3611	0.2344	8.8449

根据分析结果多样性指数均值的数据(0.3527~0.3611),当入选种质多样性指数均值最大即精选种质为 100 时较合适(Core\_100 品种(系)及编号详见表 3),因此我们使用 Core\_100 作为精选种质。

### 2.2 群体结构分析

利用 STRUCTURE<sup>[22]</sup> 软件和全基因组中多态性较高、分布较均匀的 42 个 SSR 标记(表 1)对精选种质组成的群体进行群体评估,获得材料相应的 Q 值(第 i 材料其基因组变异源于第 K 亚群的概率)。分析的大致原理是,首先假定样本存在 K 个等位变异频率特征类型数(即服从 Hardy-Weinberg 平衡的亚群,这里 K 可以是未知的),每一类群 SSR 标记由一套等位变异频率表征,将样本中各材料归到(或然率用 Bayesian 方法估计)第 K 个亚群,使得该亚群群内位点频率都遵循同一个 Hardy-Weinberg 平衡。具体分析过程是,先设定群体数目(K)为 2~7,并假定位点都是独立的,进行群体结构分析,并参照 TASSEL<sup>[23]</sup> 软件进化(cladogram)分析结果,选取一个合适的 K 值,依 Q-matrix 大小将精选种质分为 3 个亚群,其中亚群 1 为 16 个品种(系),亚群 2 为 32 个品种(系),亚群 3 为 52 个品种(群)(图 1,表 3)。

### 2.3 PPO 活性基因多态性检测

3 个亚群种质 STS 检测结果为:PPO33 标记扩增出 290bp 片段记为 a(*Ppo-Ala* 基因型),扩增出 481bp 片段记为 b(*Ppo-Alb* 基因型)。

## 2 结果与分析

### 2.1 精选种质的抽取

根据该试验中的育种规模,为了在减少工作量的同时,能够保证亲本材料的多态性,更有效地选择杂交亲本,从原始种质群体中抽取代表性的种质。表 2 显示用 MCORE 软件对基因组中 42 个 SSR 分子标记出现的 158 个等位变异系统聚类分析得到的原始群体与 4 个核心子集的各项数据。

481bp 片段记为 b(*Ppo-Alb* 基因型)。43 份种质扩增出 290bp,基因型为 a,57 份扩增出 481bp,基因型为 b,其中为杂合子即扩增出 290bp 片段和 481bp 片段两片段的有 14 份,基因型为 ab。

PPO29 标记扩增出 490bp 的片段记为 +(*Ppo-D1b* 基因型),无产物的记为 -(*Ppo-D1a* 基因型)。28 份扩增出产物,72 份无产物。

a/+ 基因型频率为 13%,a/- 基因型频率为 30%,b/+ 基因型频率为 8%,b/- 基因型频率为 35%,a,b/+ 基因型频率为 6%,a,b/- 基因型频率为 8%(表 3)。

## 3 讨论

PPO 基因的多态性标记的研究,为亲本选配及杂交后代的标记辅助选择奠定了基础。子粒 PPO 活性是影响鲜面条贮存中色泽稳定性重要因素。PPO 基因的功能标记 PPO29 和 PPO33 的检测方法简单、结果可靠,能准确地鉴定 *Ppo-Al* 和 *Ppo-D1* 的等位基因变异,有效地反映 PPO 活性值,在品质育种中可直接利用此标记进行标记辅助选择。*Ppo-Al* 基因对 PPO 活性影响最大,为第一主效基因<sup>[13-14]</sup>。Sun 等<sup>[17]</sup> 研究发现等位基因 *Ppo-Alb* 第一内含子区存在 191bp 序列的插入,可能导致其前体 mRNA 非正常剪切,*Ppo-Alb* 基因非正常表达,而产生

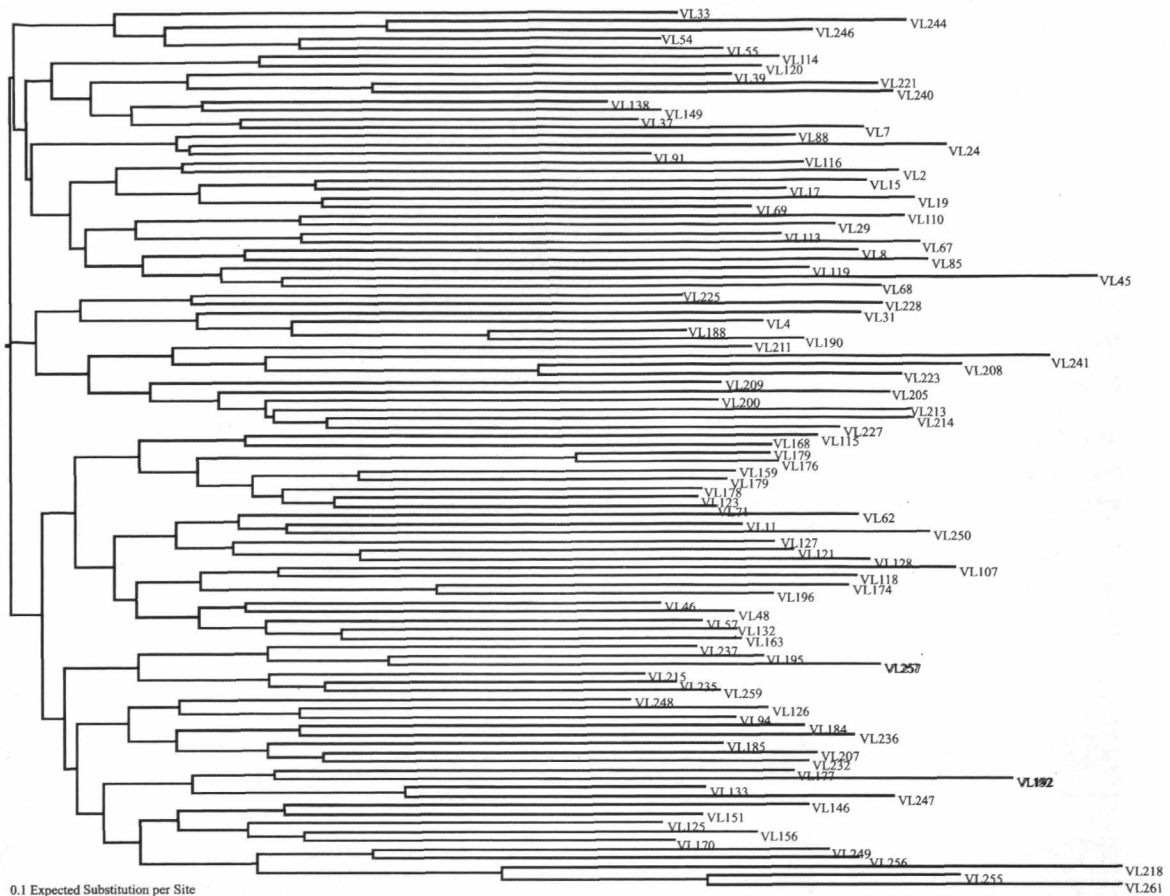


图1 小麦研究试材中精选种质群体的结构分层

Fig. 1 The population structure hierarchy in a proposed core germplasm group of wheat variety lines

表3 供试精选种质的三个亚群及其 PPO 基因型

Table 3 Core germplasm collection to be the three subgroups and their genotype

编号 No.	亚群体 1 Subgroup1	基因型 Genotype	编号 No.	亚群体 2 Subgroup2	基因型 Genotype	编号 No.	亚群体 2 Subgroup2	基因型 Genotype
VL225	鲁麦 15	b/-	VL91	R96	a/-	VL23	陕 998	a, b/+
VL228	京 3 晚	a/-	VL116	B92108	a/+	VL244	烟 2801	b/+
VL31	中科 876	b/-	VL2	阜 949	b/-	VL246	周麦 11	a/-
VL4	莱州 187	b/-	VL15	驻 96031	b/-	VL54	周麦 13	b/-
VL188	莱州 1704	a, b/+	VL17	驻 95031	b/-	VL55	周 91177	a/-
VL190	莱州 817	b/-	VL19	WK1 号	a/-	VL114	988044	a/+
VL211	张春 811	a/+	VL69	WK43	b/-	VL120	临汾 127	b/-
VL241	奇 9	a/-	VL110	绵阳 99-324	b/-	VL39	FB5030	a, b/-
VL208	张春 3	a, b/+	VL29	新产 9535	a, b/-	VL221	野猫	a/-
VL223	冬晚 4	b/+	VL113	N73-3	a/-	VL240	辽春 10	b/-
VL209	巴春 10	a/+	VL67	渝青 5 号	a/-	VL136	陕 89150	a, b/+
VL205	陕 280	a/-	VL8	阜 947	a/-	VL149	皖 85247	a/-
VL220	烟优 76	b/-	VL85	中原 98-68	b/-	VL37	B99187	a, b/-
VL213	京 2	b/+	VL119	宁 98036	a/-	VL7	宿 042-6	b/-
VL214	PAN555	a/+	VL45	亚农 8925-13	b/-	VL88	郑 004	b/-
VL227	冬晚 13	a, b/-	VL68	G3725	b/-	VL24	安农 92484	a, b/-

续表

编号 No.	亚群体 3 Subgroup3	基因型 Genotype	编号 No.	亚群体 3 Subgroup3	基因型 Genotype	编号 No.	亚群体 3 Subgroup3	基因型 Genotype
VL115	淮 90150	a/+	VL118	PH6911	a/+	VL236	531-548	b/-
VL168	B950784	a,b/+	VL174	F-10 系	a/-	VL185	烟 103	a/+
VL129	鲁农 954072	a,b/-	VL196	郑州 982	a/-	VL207	中优 16	b/+
VL176	新麦 9 号 162	a/-	VL46	亚农 1163-20	b/-	VL232	冬早 3	b/-
VL159	丰优 5 号	a/+	VL48	山农 1023	b/-	VL122	CN8084	b/-
VL179	温优 1 号	a/+	VL57	山农 60182	b/-	VL192	莱州 0254-3	b/-
VL178	山农 229	b/-	VL132	陕 451	a/+	VL133	泰安 1741	a/-
VL123	山东优麦 3	a/-	VL163	皖麦 18	a/-	VL247	山农 951741	b/+
VL71	徐州 01011	a/-	VL237	京 971	a/-	VL145	鲁麦 884186	a,b/-
VL62	阜阳 9318	a/-	VL195	皖麦 38 优	b/-	VL151	山农 D9401	a,b/+
VL11	驻 96001	b/-	VL257	新春 2	b/-	VL125	皖协 1012	a/-
VL250	冬早 10	a/-	VL215	宁作 18	b/-	VL156	豫麦 47	a,b/-
VL127	泰农 142	a/-	VL235	1997-11-1	b/-	VL70	徐州 01050	a/-
VL121	亚农 957	a/+	VL259	*97-11-2	b/+	VL249	中优 9802	a/-
VL128	徐州 1954	a/-	VL248	渝 9631-4-5	b/+	VL256	农大 123	b/+
VL107	淄麦 12	b/-	VL126	淄麦 19	a/-	VL218	甘西 117	b/-
			VL94	H3938	a/+	VL255	31-Jan	b/-
			VL184	宿 9707	a/-	VL261	XND126	b/-

低 PPO 活性。Ppo-D1 的两个等位变异 *Ppo-D1a* 和 *Ppo-D1b* 的基因序列差异较大,可能受小麦进化过程中 D 基因组来源不同的影响,基因表达蛋白的构型差异,而引起 PPO 活性差异<sup>[18]</sup>。

Udall<sup>[11]</sup> 和 Demeke 等<sup>[12]</sup> 认为除了 2A 和 2D 染色体上 PPO 活性基因之外,第三、第五同源染色体组和 2B、6B、7D 等染色体也存在一些微效基因。葛秀秀等<sup>[9]</sup> 认为 PPO 活性的主基因遗传力为 88.8%,环境对 PPO 活性的影响为 11.2%。除此之外,穗发芽、机械损伤、子粒大小、子粒完熟程度都影响 PPO 活性<sup>[24,25]</sup>。

本研究通过 STS 分子标记检测表明,100 种小麦品种(系)中的基因频率与肖永贵等<sup>[26]</sup> 研究的 311 份中国冬小麦品种中多酚氧化酶活性基因等位变异 *Ppo-A1a/Ppo-D1a*、*Ppo-A1b/Ppo-D1a*、*Ppo-A1a/Ppo-D1b* 和 *Ppo-A1b/Ppo-D1b* 两个基因组合类型的分布频率较为近似。两个低 PPO 活性等位基因 (*Ppo-A1b* 和 *Ppo-D1a*) 的组合更能有效地降低 PPO 活性,其比例为 35%。所以认为:该基因型(组合)多态性的检测,不仅为亲本选配提供了参照,也为杂交后代的标记辅助选择提供了依据。

种质资源是育种工作的基础。郝晨阳等<sup>[27]</sup> 通过表型和基因型结合的方法,构建了中国小麦各级核心种质,为研究小麦重要育种性状的遗传多样性

及基因分布提供了基础依据。本研究从实验室收集的部分来自全国各麦区的代表性品种,通过小麦基因组中多态性标记的分析抽提了一个“精选种质”,并对该“精选种质”的 PPO 基因的多态性频率进行了分析,获得了与肖永贵等<sup>[26]</sup> 较为一致的结果,再次说明了中国小麦 PPO 活性剂面粉品质的改良具有广泛的种质资源基础。

种质群体遗传结构的分析,可以获得一些有用的生物学信息。有研究表明,玉米自交系组成的种质群体,以遍布其基因组的 SSR(SNP) 标记,对种质群体的遗传结构进行了分析,发现通过标记分群的结果与通过系谱法所分的杂种优势群有很高的一致性<sup>[28]</sup>。本试验中所获得的小麦精选种质的群体结构(种质分群)信息,为探讨小麦杂种优势的大小与种质的亲缘关系提供了基本资料。

致谢:夏先春博士在分析 PPO 基因多态性方面提供了帮助,徐海明博士在数据分析方面提供了帮助。特此致谢!

#### 参考文献

- [1] 谢春艳,宾金华,陈兆平. 多酚氧化酶及其生理功能[J]. 生物学通报,1999,34(6):11-13
- [2] 杨朝柱,马传喜,华为. 多酚氧化酶在小麦植株体内的分布[J]. 安徽农业大学学报,2002,29(4):366-368
- [3] 吴元立,易干军,周碧容,等. 荔枝与龙眼种质资源研究进展[J]. 植物遗传资源学报,2007,8(4):498-502
- [4] Baik K, Czuch J,owska Z, Pomeranz Y. Comparison of polyphe-

- nol oxidase activities in heats and flours from Australian and U. S. cultivars[J]. J Cereal Sci, 1994, 19:291-296
- [5] 杨杰, 赵娇, 赵福昌, 等. 日本对虾中多酚氧化酶同工酶及分子量测定[J]. 中国公共卫生, 1999, 15(6):548
- [6] 郑校先, 戚晓玉, 周培根, 等. 乌贼墨中多酚氧化酶的分离及纯化[J]. 上海水产大学学报, 2001, 10:154-157
- [7] Bertrand C, Muttermilch W. On the presence of a tyrosinase in the wheat bran. Comptes Rendus Hebdomadaires des Seances de l' Academie des Sciences, 1907, 144:1285
- [8] 葛秀秀, 张立平, 何中虎, 等. 冬小麦 PPO 活性的主基因 + 多基因混合遗传分析[J]. 作物学报, 2004, 30(1):18-20
- [9] 葛秀秀, 何中虎, 杨金, 等. 我国冬小麦品种多酚氧化酶活性的遗传变异及其与品质性状的相关分析[J]. 作物学报, 2003, 29(3):481-485
- [10] Jimenez M, Dubcovsky J. Chromosome location of genes affecting polyphenol oxidase activity in seeds of common and durum wheat [J]. Plant Breeding, 1999, 118:395-398
- [11] Udall J. Important alleles for noodle quality in winter wheat as identified by molecular markers [M]. M. S. Thesis, University of Idaho, Moscow, ID, 1997
- [12] Demeke T, Morris C F, Campbell K C, et al. Wheat polyphenol oxidase: distribution and genetic mapping in three inbred line populations[J]. Crop Sci, 2001, 41:1750-1757
- [13] 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]. Func Integr Geno, 2005, 5:185-200
- [14] 张立平, 葛秀秀, 何中虎, 等. 普通小麦多酚氧化酶活性的 QTL 分析[J]. 作物学报, 2005, 31(1):7-10
- [15] Mares D J, Campbell A W. Mapping components of flour and noodle color in Australian wheat [J]. Aus J Agric Res, 2001, 52:1297-1309
- [16] 孙道杰, 张立平, 夏先春, 等. 小麦多酚氧化酶(PPO)活性的 SSR 标记筛选与验证[J]. 中国农业科学, 2005, 38(7):1295-1299
- [17] 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, 16:209-218
- [18] 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]. Theor Appl Gene, 2007, 115:47-58
- [19] Lagudah E S, Appels R, McNeil D. The Nor-D3 locus of *Triticum tauschii*: natural variation and genetic linkage to markers in chromosome 5 [J]. Genome, 1991, 34:387-395
- [20] Rüder M S, Korzun V, Wendehake K. A microsatellite map of wheat [J]. Genetics, 1998, 149:2007-2023
- [21] Xu S B, Tao Y F, Yang Z Q, et al. A simple and rapid methods used for silver staining and gel preservation [J]. Hereditas, 2002, 24:335-336
- [22] Pritchard J K, Stephens M, Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data [J]. Genetics, 2000, 155:945-959
- [23] Edward Bucker Lad Diversity Research [EB/OL]. [2007-09-08]. <http://www.maizegenetics.net/bioinformatics>
- [24] McCaig T N, Fenn D Y K, Knox R E, et al. Measuring polyphenol oxidase activity in a wheat breeding program [J]. Canadian J Plant Sci, 1999, 79:507-514
- [25] Taneja S R., Abrol Y P, Sachar R C. Modulation of o-diphenolase and monophenolase enzymes during wheat grain development [J]. Cereal Chem, 1974, 51:457-465
- [26] 肖永贵, 何心尧, 刘建军, 等. 中国冬小麦品种多酚氧化酶活性基因等位变异检测及其分布规律研究[J]. 中国农业科学, 2008, 41(4):954-960
- [27] 郝晨阳, 董玉琛, 王兰芬, 等. 我国普通小麦核心种质的构建及遗传多样性分析[J]. 科学通报, 2008, 53(8):908-915
- [28] Delphine V I, Albrecht E M, Claude L, et al. Population structure and genetic diversity in a commercial maize breeding program assessed with SSR and SNP markers [J]. Theor Appl Genet, 2010, 120:1289-1299

~~~~~

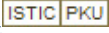
(上接第 593 页)

- [10] Jana Stránská, Martina Tylichová, David Kopečný, et al. Biochemical characterization of pea ornithine- $\delta$ -aminotransferase: Substrate specificity and inhibition by di- and polyamines [J]. Biochimie, 2010, 3:1-9
- [11] Nataraj Sekhar P, Naga Amrutha R, Shubbhada Sangam, et al. Biochemical characterization, homology modeling and docking studies of ornithine  $\delta$ -aminotransferase—an important enzyme in proline biosynthesis of plants [J]. J Mole Graphi Mod, 2007, 26(4):709-719
- [12] Tamura K, Dudley J, Nei M, et al. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0 [J]. Molec Biolo Evolu, 2007, 24:1596-1599.
- [13] 王俊, 丛丽娟, 郑洪坤. 常用生物数据分析软件[M]. 北京: 科学出版社, 2008:249-250
- [14] Nielsen R. Molecular signatures of natural selection [J]. Annu Rev Genet, 2005, 39:197-218
- [15] Inana G, Totsuka S, Redmond M, et al. Molecular cloning of human ornithine aminotransferase mRNA [J]. Proc Natl Acad Sci USA. 1986, 83(5):1203-1207
- [16] Rafael A Cañas, David P Villalobos, Sara M Díaz-Moreno, et al. Molecular and Functional Analyses Support a Role of Ornithine-Aminotransferase in the Provision of Glutamate for Glutamine Biosynthesis during Pine Germination [J]. Plant Physi, 2008, 148:77-88
- [17] Patrick A, Laurent T, Nathalie B, et al. Transcriptional regulation of proline biosynthesis in *Medicago truncatula* reveals developmental and environmental specific features [J]. Physi Planta, 2002, 120(3):442
- [18] 吴杨, 贺俐, 李伟, 等. 斑茅  $\delta$ -OAT 基因克隆及其序列分析[J]. 植物研究, 2009, 29(5):577-584

# 小麦品种面粉色泽相关PPO基因的多态性分析

作者: [王欣](#), [窦秉德](#), [叶建](#), [董红梅](#), [孙美娟](#), [马跃](#), [冯雪娇](#), [朱晓滨](#), [童婷](#), [张瑞越](#), [顾正中](#), [高爱农](#), [WANG Xin](#), [DOU Bing-de](#), [YE Jian](#), [DONG Hong-mei](#), [SUN Mei-juan](#), [MA Yue](#), [FENG Xue-jiao](#), [ZHU Xiao-Bin](#), [TONG Ting](#), [ZHANG Rui-yue](#), [GU Zheng-zhong](#), [GAO Ai-nong](#)

作者单位: [王欣, 窦秉德, 叶建, 董红梅, 孙美娟, 马跃, 冯雪娇, 朱晓滨, 童婷, 张瑞越, WANG Xin, DOU Bing-de, YE Jian, DONG Hong-mei, SUN Mei-juan, MA Yue, FENG Xue-jiao, ZHU Xiao-Bin, TONG Ting, ZHANG Rui-yue \(淮阴师范学院植物生物技术研究所/江苏省环洪泽湖生态农业生物技术重点实验室, 淮安, 223300\)](#), [顾正中, GU Zheng-zhong \(江苏省农业科学院徐淮地区淮阴农科所, 淮安, 223300\)](#), [高爱农, GAO Ai-nong \(中国农业科学院作物科学研究所, 北京, 100081\)](#)

刊名: [植物遗传资源学报](#) 

英文刊名: [Journal of Plant Genetic Resources](#)

年, 卷(期): 2011, 12(4)

## 参考文献(28条)

1. [Taneja S R Abrol Y P, Sachar R C Modulation of o-diphenolase and monophenolase enzymes during wheat grain development 1974](#)
2. [Delphine V l;Albrecht E M;Claude L Population structure and genetic diversity in a commercial maize breeding program assessed with SSR and SNP markers 2010](#)
3. [郝晨阳;董玉琛;王兰芬 我国普通小麦核心种质的构建及遗传多样性分析 2008\(08\)](#)
4. [肖永贵;何心尧;刘建军 中国冬小麦品种多酚氧化酶活性基因等位变异检测及其分布规律研究 2008\(04\)](#)
5. [McCaig T N;Fenn D Y K;Knox R E Measuring polyphenol oxidase activity in a wheat breeding program\[外文期刊\] 1999](#)
6. [Edward Bucker Lad Diversity Research 2007](#)
7. [Pritchard J K;Stephens M;Donnelly P Inference of population structure using multilocus genotype data 2000](#)
8. [Xu S B;Tao Y F;Yang Z Q A simple and rapid methods used for silver staining and gel preservation 2002](#)
9. [R\(o\)der M S;Korzun V;Wendehake K A microsatellite map of wheat 1998](#)
10. [Lagudah E S;Appels R;McNeil D The Nor-D3 locus of Triticum tauschii:natural variation and genetic linkage to markers in chromosome 5 1991](#)
11. [He X Y;He Z H;Zhang L P 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\[外文期刊\] 2007](#)
12. [Sun D J;He Z H;Xia X C A novel STS marker for polyphenol oxidase activity in bread wheat\[外文期刊\] 2005](#)
13. [孙道杰;张立平;夏先春 小麦多酚氧化酶\(PPO\)活性的SSR标记筛选与验证 2005\(07\)](#)
14. [Mares D J;Campbell A W Mapping components of flour and noodle color in Australian wheat 2001](#)
15. [张立平;葛秀秀;何中虎 普通小麦多酚氧化酶活性的QTL分析 2005\(01\)](#)
16. [Raman R;Raman H;Johnstone K Genetic and in silico comparative mapping of the polyphenol oxidase gene in bread wheat\(Triticum aestivum L.\) 2005](#)
17. [Demeke T;Morris C F;Campbell K G Wheat polyphenol oxidase:distribution and genetic mapping in three inbred line populations\[外文期刊\] 2001](#)
18. [Udall J Important alleles for noodle quality in winter wheat as identified by molecular markers 1997](#)
19. [Jimenez M;Dubovosky J Chromosome location of genes affecting polyphenol oxidase activity in seeds of common and durum wheat\[外文期刊\] 1999](#)
20. [葛秀秀;何中虎;杨金 我国冬小麦品种多酚氧化酶活性的遗传变异及其与品质性状的相关分析 2003\(03\)](#)
21. [葛秀秀;张立平;何中虎 冬小麦PPO活性的主基因+多基因混合遗传分析 2004\(01\)](#)
22. [Bertrand G;Muttermilch W On the presence of a tyrosinase in the wheat bran 1907](#)
23. [郑校先;戚晓玉;周培根 乌贼墨中多酚氧化酶的分离及纯化 2001](#)
24. [杨杰;赵娇;赵福昌 日本对虾中多酚氧化酶同工酶及分子量测定 1999\(06\)](#)
25. [Baikb K;Czuch J owska Z;Pomeranz Y Comparison of polyphenol oxidase activities in heats and flours from](#)



Australian and U.S. cultivars 1994

26. 吴元立;易干军;周碧容 荔枝与龙眼种质资源研究进展 2007(04)
27. 杨朝柱;马传喜;华为 多酚氧化酶在小麦植株体内的分布 2002(04)
28. 谢春艳;宾金华;陈兆平 多酚氧化酶及其生理功能 1999(06)

本文链接: [http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical\\_zwyczyxb201104018.aspx](http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zwyczyxb201104018.aspx)