

渭北旱塬冬小麦籽粒 PPO 活性和 YP 含量基因型的分子检测*

叶 石, 张影全, 张晓科, 任万杰, 王成社

(西北农林科技大学 农学院, 国家小麦改良中心杨凌分中心, 陕西杨凌 712100)

摘 要: 籽粒多酚氧化酶(PPO)活性和黄色素(YP)含量是影响小麦面粉白度的 2 个重要因素。为了解渭北旱塬冬小麦控制 PPO 活性(*Ppo-A1* 和 *Ppo-D1*)和 YP 含量(*Psy-A1* 和 *Psy-B1*)基因位点的等位变异组成和分布,本研究利用其功能标记 *PPO16*、*PPO18*、*PPO29*、*YP7A*、*YP7A-2*、*YP7B-1* 和 *YP7B-2*,对 46 份渭北旱塬小麦品种的 4 个位点等位变异进行检测与分析。结果表明,渭北旱塬小麦品种在控制 PPO 活性 *Ppo-A1* 位点存在 2 种等位变异,即 *Ppo-A1a* 和 *Ppo-A1b*,分别占 48.3%和 54.3%;在 *Ppo-D1* 位点也存在 2 种等位变异,即 *Ppo-D1a* 和 *Ppo-D1b*,分别占 54.3%和 48.3%。2 个位点存在 4 种等位变异组合类型,即 *Ppo-A1b/Ppo-D1a*(最低 PPO 活性)、*Ppo-A1a/Ppo-D1b*(最高 PPO 活性)、*Ppo-A1b/Ppo-D1b*(较低 PPO 活性)、*Ppo-A1a/Ppo-D1a*(较高 PPO 活性),分别占 34.8%、28.2%、17.4%、9.6%。在控制 YP 含量 *Psy-A1* 位点存在 2 种等位变异,即 *Psy-A1a* 和 *Psy-A1b*,分别占 56.5%和 43.5%,没有发现含 *Psy-A1c* 等位变异品种;在 *Psy-B1* 位点,存在 3 种等位变异,其中以 *Psy-B1a* 为主(52.2%),*Psy-B1b* 次之(41.3%),*Psy-B1c* 较少(6.5%)。控制 YP 含量 2 个主效位点存在 6 种不同变异组合类型,以 *Psy-A1a/Psy-B1a*(较高 YP 含量)比例最高(39.1%),*Psy-A1b/Psy-B1b*(最低 YP 含量)(28.3%)次之,其次为 *Psy-A1a/Psy-B1b*(中等 YP 含量)(13%)和 *Psy-A1b/Psy-B1a*(较低 YP 含量)(13%),以 *Psy-A1a/Psy-B1c*(最高 YP 含量)(4.3%)和 *Psy-A1b/Psy-B1c*(2.1%)比例最低。总体来看,渭北旱塬地区小麦含低 PPO 活性的基因等位变异组合所占比例较高,较高 YP 含量的等位变异组合所占的比例较高。

关键词: 渭北旱塬;小麦;*Ppo-A1*;*Ppo-D1*;*Psy-A1*;*Psy-B1*

中图分类号:S512.1⁺¹

文献标识码:A

文章编号:1004-1389(2010)08-0044-06

Detection of Allelic Variations of PPO Activity and Psy Gene for Yellow Pigment Content in Weibei Dry Highland Winter Wheat

YE Shi, ZHANG Yingquan, ZHANG Xiaoke, Ren Wanjie and WANG Chengshe

(College of Agronomy, Northwest A&F University, National Wheat Improvement Center, Yangling Branch, Yangling Shaanxi 712100, China)

Abstract: The PPO (polyphenoloxidases) activity and yellow pigment (YP) content are two important factors influencing wheat flour whiteness. In order to investigate the distribution of allelic variations of genes *Ppo-A1*, *Ppo-D1*, *Psy-A1* and *Psy-B1* in Weibei Dry Highland winter wheat, functional molecular markers *PPO16*, *PPO18*, *PPO29*, *YP7A*, *YP7A-2*, *YP7B-1* and *YP7B-2* were used to detect 46 wheat cultivars released. The results showed that two allelic variations at *Ppo-A1* locus were found in Weibei Dry Highland wheat cultivars, *Ppo-A1a* and *Ppo-A1b* alleles, respectively. The frequencies of alleles *Ppo-A1a* and *Ppo-A1b* were 45.8% and 54.3%, respectively. *Ppo-D1a* and *Ppo-D1b* at *Ppo-D1* locus were 54.3% and 45.8%, respectively. The frequencies of allelic combinations of PPO genes for *Ppo-A1b/Ppo-D1a* (the lowest PPO activity), *Ppo-A1a/Ppo-D1b* (the highest PPO activity), *Ppo-*

* 收稿日期:2010-04-20 修回日期:2010-05-10

基金项目:引进国际先进农业科学技术计划(948 计划)(2006-G2);西北农林科技大学唐仲英育种基金和小麦产业技术体系建设专项(nycytx-03)。

第一作者:叶 石,男,硕士研究生,主要从事小麦品质分子遗传研究。E-mail:dgjj@163.com

通讯作者:张晓科,男,博士,教授,主要从事小麦适应性和品质研究。E-mail:zhangxk@tom.com

Ala/Ppo-D1a (higher PPO activity) and *Ppo-A1b/Ppo-D1b* (lower PPO activity) at *Ppo-A1* and *Ppo-D1* loci were 34.8%, 28.2%, 19.6% and 17.4%, respectively. Two allelic variations at *Psy-A1* locus were found in Weibei Dry Highland wheat cultivars, *Psy-A1a* and *Psy-A1b* alleles, respectively. The frequencies of alleles *Psy-A1a* and *Psy-A1b* were 56.5% and 43.5%, respectively, and *Psy-A1c* allele was absent in Weibei Dry Highland wheat. Three alleles *Psy-B1a*, *Psy-B1b* and *Psy-B1c* at *Psy-B1* locus were found in Dry Highland wheat cultivars. The frequencies of alleles *Psy-B1a*, *Psy-B1b* and *Psy-B1c* were 52.2%, 41.3% and 7.4%, respectively. Mean frequencies among allelic combinations in Weibei Dry Highland wheat were also different. The frequencies of allelic combinations *Psy-A1b/Psy-B1b*, *Psy-A1a/Psy-B1b*, *Psy-A1a/Psy-B1a*, *Psy-A1b/Psy-B1a*, *Psy-A1b/Psy-B1c* and *Psy-A1a/Psy-B1c* were 39.1%, 28.3%, 13%, 13%, 4.3% and 2.1%, respectively. Generally, the number of cultivars with the lowest PPO activity was slightly lower, and the number of cultivars with higher YP content in Dry Highland was slightly more.

Key words: Weibei Dry Highland; wheat; *Ppo-A1*; *Ppo-D1*; *Psy-A1*; *Psy-B1*

渭北旱塬分布在黄土高原的中南部,是陕西冬小麦主产区之一。面粉及其制品的色泽是小麦品质改良的重要内容。影响色泽的因素很多,除加工因素外,多酚氧化酶(polyphenol-oxidases, PPO)活性、面粉黄色素(yellow pigment, YP)含量、籽粒硬度、蛋白质含量和脂肪氧化酶(lipoxygenase, LOX)活性等都与磨粉品质及面条、馒头等食品的颜色密切相关^[1]。PPO 活性高低可以解释面条(团)颜色褐变变异的 50%~70%,是引起面条(团)颜色变褐的主要原因^[2]。普通小麦籽粒 YP 对蒸煮面食品的色泽和营养品质等均具有显著影响,是造成面粉白度下降的重要因素^[3]。研究表明,不同小麦品种间 PPO 活性可相差 2~14 倍^[4],PPO 活性主要受基因控制^[5],控制 PPO 活性的主效基因位于第 2 同源群的 2A 和 2D 染色体上^[3,6]。Sun 等^[4]根据小麦 PPO 基因序列设计了位于 2A 染色体上的功能标记 PPO18,能检测控制高、低 PPO 活性的 2 个等位 *Ppo-A1a* 和 *Ppo-A1b*。He 等^[7]利用小麦 PPO 基因序列开发了位于 2D 染色体上的互补显性标记 *PPO16* 和 *PPO29*,以区分等位变异等位基因 *Ppo-D1a* 和 *Ppo-D1b*,其中等位变异 *Ppo-A1a* 与高 PPO 活性相关,*Ppo-A1b* 与低 PPO 活性有关,*Ppo-D1a* 与中等低 PPO 活性有关,*Ppo-D1b* 与中等高 PPO 活性有关。

环境对 YP 含量有一定的影响,但基因型的影响更大。许多研究表明,第 7 同源群 7A 和 7B 染色体上的基因对籽粒 YP 含量起着重要作用^[8-9]。He 等^[10-11]根据普通小麦 7A 染色体上八氢番茄红素合成酶基因 *Psy-A1* 位点的序列差

异,开发了共显性标记 YP7A 和显性标记 YP7A-2,应用这 2 个标记能够准确快速区分 3 种等位变异类型 *Psy-A1a*、*Psy-A1b* 和 *Psy-A1c*。随后,He 等^[11]又开发的 4 种功能标记,即 YP7B-1、YP7B-2、YP7B-3 和 YP7B-4,可以区分 *Psy-B1* 位点等位变异 *Psy-B1a*、*Psy-B1b*、*Psy-B1c*、*Psy-B1d* 和 *Psy-B1e*。其中等位变异 *Psy-B1d* 在中国小麦内出现频率较低,*Psy-B1e* 只在 CIMMYT 春麦材料中存在;等位变异 *Psy-B1a* 与中等 YP 含量相关,等位变异 *Psy-B1b* 与低 YP 含量相关,等位变异 *Psy-B1c* 与高黄色素含量相关。

前人已利用分子标记对中国主要冬麦区^[7,12-13]、春麦区^[14-15]和冬春麦区^[16-17]推广的部分小麦品种控制 PPO 活性主效基因和 YP7A 组成进行了检测,结果表明上述 9 个标记检测的结果可靠,可用于小麦品种 *Ppo-A1*、*Ppo-D1*、*Psy-A1* 和 *Psy-B1* 位点基因等位变异的检测。小麦是渭北旱源重要的粮食作物,本研究利用 *PPO16*、*PPO18*、*PPO29*、和 YP7A、YP7A-2、YP7B-1 和 YP7B-2 标记对渭北旱源历史上和目前大面积推广的小麦品种进行分子检测,旨在明确控制 PPO 活性基因和 YP 含量基因的组成,为渭北旱源小麦品质育种提供依据。

1 材料与方 法

1.1 材料

选取陕西省渭北旱源历史上和目前推广的小麦品种 46 份,所选材料反映了渭北旱源小麦育种和生产的现状。

1.2 方法

1.2.1 供试引物 控制小麦 PPO 活性的 *Ppo-A1* 和 *Ppo-D1* 位点等位变异检测分别采用标记 *PPO18*、*PPO16* 和 *PPO29*。控制 YP 含量基因位点 *Psy-A1* 和 *Psy-B1* 位点等位变异检测利用

He 等^[17-18]开发的标记;其中 *Psy-A1* 位点的标记为 *YP7A* 和 *YP7A-2*; *Psy-B1* 位点的标记为 *YP7B-1* 和 *YP7B-2*。引物序列、PCR 扩增目标片段大小及对应等位变异汇总于表 1。所有引物均由上海生工合成。

表 1 PPO 活性和 YP 含量基因检测的引物序列、扩增片段及其与等位变异的关系

Table 1 Primer sequences, expected PCR band sizes, and their allelic variations for PPO and YP content genes on wheat chromosomes

标记 Marker	引物序列 Sequences of primers(5'-3')	基因型 Genotype	PCR 产物大小 bp Size of PCR fragments
<i>PPO18</i>	AACTGCTGGCTCTTCTTCCCA AAGAAGTTGCCCATGTCCGC	<i>Ppo-A1a/Ppo-A1b</i>	685/ 876
<i>PPO29</i>	TGAAGCTGCCGGTCATCTAC AAGTTGCCCATGTCTCGCC	<i>Ppo-D1b</i>	490
<i>PPO16</i>	TGCTGACCGACCTTGACTCC CTCGTACCGTCACCCGTAT	<i>Ppo-D1a</i>	713
<i>YP7A-1</i>	GGACCTTGCTGATGACCGAG TGACGGTCTGAAGTGAGAATGA	<i>Psy-A1a/Psy-A1b</i>	194/231
<i>YP7A-2</i>	GCCAGCCCTTCAAGGACATG CAGATGTGCCACACTGCCA	<i>Psy-A1a</i> or <i>Psy-A1b /Psy-A1c</i>	1 686/1 001
<i>YP7B-1</i>	GCCACAACCTGAATGTGAAAC ACTTCTTCCATTTGAACCC	<i>Psy-B1a/ Psy-B1b</i>	151 /156
<i>YP7B-2</i>	GCCACCCACTGATTACCACTA CCAAGGTGAGGGTCTTCAAC	<i>Psy-B1c</i>	428

1.2.2 DNA 提取 按照何心尧^[20]的方法提取小麦籽粒 DNA。为了增加检测结果的准确性,每种供试品种最少提取 2 份籽粒的 DNA,分别用于检测 *Ppo-A1*、*Ppo-D1*、*Psy-A1* 和 *Psy-B1* 位点的等位变异。

0.2 mmol/L dNTP, 1.5 mmol/L MgCl₂, 每条引物 5 pmol, *Taq* DNA 聚合酶 1 U, 模板 DNA 100 ng。PCR 反应程序为 95℃ 预变性 5 min; 95℃ 变性 30 s, 62℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 30 s~1.5 min, 35~40 个循环; 最后 72℃ 延伸 5 min, 4℃ 保存。

1.2.3 PCR 扩增和电泳鉴定 在标记 *PPO18* 的 20 μL PCR 反应体系中^[18], 含 20 mmol/L Tris-HCl (pH 8.4), 20 mmol/L KCl, 1.5 mmol/L MgCl₂, 200 μmol/L dNTPs, 每条引物 10 pmol, *Taq* 酶 1.5 U, 模板 DNA 50~100 ng。PCR 反应程序为 94℃ 预变性 5 min; 然后 94℃ 变性 1 min, 63℃ 退火 1 min, 72℃ 延伸 1 min, 共 36 个循环; 最后 72℃ 延伸 8 min, 4℃ 保存。

PCR 扩增产物经 10 g/L 琼脂糖凝胶电泳和 80 g/L 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳进行分离, 电泳完成后用溴化乙锭或硝酸银进行染色, 然后在 Gel Doc XR System 成像系统上用紫外灯或白炽灯扫描成像并存入计算机, 对结果进行记录分析。

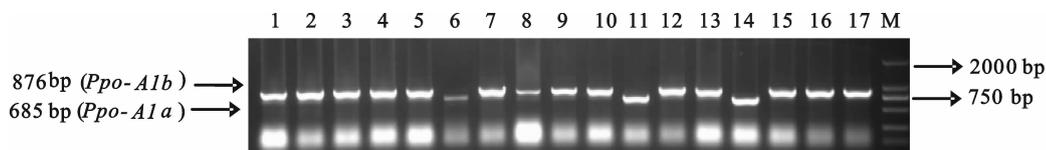
2 结果与分析

2.1 PPO 活性等位变异检测和分布

PPO16 及 *PPO29* 标记检测的 PCR 反应体系为模板 DNA 50 ng, *Taq* 酶 1 U, 上、下游引物 (5 μmol/L) 各 1.0 μL, dNTP (25 μmol/L) 0.2 μL, 10×PCR 缓冲液 2 μL, 用无菌蒸馏水补充反应体系至 20 μL。PCR 反应采用步降 (Touch down) 退火程序, 首先 95℃, 5 min; 然后 95℃ 30 s, 由 66℃ 开始, 每个循环的退火温度降低 0.3℃, 退火时间 30 s, 72℃ 1 min, 共 40 个循环; 最后 72℃ 延伸 5 min, 4℃ 保存。

2.1.1 *Ppo-A1* 位点等位变异检测 在检测 *Ppo-A1* 位点变异类型 *Ppo-A1a* 和 *Ppo-A1b* 时, 采用 Sun 等^[1]开发的 *PPO18* 标记。 *Ppo-A1a* 和 *Ppo-A1b* 等位变异类型分别扩增出 685 bp 和 876 bp 条带^[1]。利用 *PPO18* 标记检测的 46 份品种中, 宝麦 6 号等 21 份品种扩增出 685 bp 条带 (图 1), 说明这些品种携带 *Ppo-A1a* 等位基因 (占 45.8%); 长旱 58 等 25 份品种扩增出 876 bp 条带, 说明其携带 *Ppo-A1b* 等位基因 (占 54.3%)。

YP 含量基因 PCR 反应体系 20 μL, 含 20 mmol/L Tris-HCl (pH 8.4), 20 mmol/L KCl,



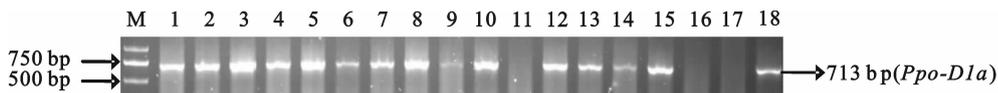
M. 标准分子量 Maker;DL2000;1. 碧蚂 4 号 Bima 4;2. 晋麦 50 Jinmai 50;3. 陕麦 150 Shaanmai 150;4. 晋麦 54 Jinmai 54;5. 晋麦 47 Jinmai 47;6. 普冰 143 Pubing 143;7. 铜麦 4 号 Tongmai 4;8. 秦麦 9 号 Qinmai 9;9. 长早 58 Changhan 58;10. 长武 134 Changwu 134;11. 延麦 3 号 Yanmai 3;12. 延 8918 Yan 8918;13. 武农 148 Wunong 148;14. 长武 112 Changwu 112;15. 晋麦 50 Jinmai 50;16. 丰产 3 号 Fengchan 3;17. 秦麦 1 号 Qinmai 1.

图 1 PPO18 标记检测小麦品种 *Ppo-A1* 位点的等位变异图谱

Fig. 1 PCR amplification patters of wheat cultivars at *Ppo-A1* locus using *PPO18* marker

2.1.2 *Ppo-D1* 位点等位变异检测 小麦 *Ppo-D1* 位点存在 2 种等位变异类型,即 *Ppo-D1a* 和 *Ppo-D1b*。利用 He 等^[7]开发的 *PPO29* 标记进行 PCR 检测,*Ppo-D1a* 不产生扩增产物,而 *Ppo-D1b* 产生 490 bp 的特异条带。*PPO16* 标记进行 PCR 测,*Ppo-D1a* 基因型的材料中扩增出 713 bp 的特异条带,*Ppo-D1b* 不产生扩增产物;即这 2 个标记在品种检测中互补出现,可以相互验证。

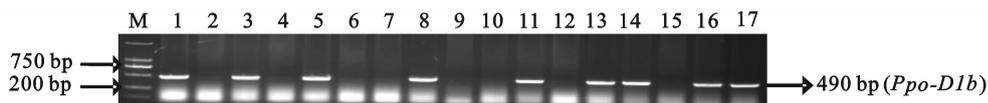
利用 *PPO29* 标记检测的 46 品种中,长早 58 等 21 份品种扩增出 490 bp 的特异条带,说明携带含 *Ppo-D1b* 等位基因(占 45.7%);在 *PPO16* 标记的 46 份品种中,晋麦 47 等 25 份品种扩增出 713 bp 的特异条带,说明携带 *Ppo-D1a* 等位基因(占 54.3%)(图 2 和 3)。总体来讲,等位基因 *Ppo-D1b* 在渭北旱塬小麦品种中的比率低于 *Ppo-D1a* 等位基因。



M. 标准分子量 DL2000;1. 晋麦 47 Jinmai 47;2. 晋麦 54 Jinmai 54;3. 长 6354 Chang 6354;4. 长武 134 Changwu 134;5. 长武 521 Changwu 521;6. 武农 148 Wunong 148;7. 长 6359 Chang 6359;8. 小偃 22 Xiaoyan 22;9. 秦农 142 Qinnong 142;10. 延麦 3 号 Yanmai 3;11. 长早 58 Changhan 58;12. 陕早 8675 Shaanhan 8675;13. 延 8918 Yan 8918;14. 晋麦 50 Jinmai 50;15. 晋 170 Jin 170;16. 宝麦 6 号 Baomai 6;17. 普冰 143 Pubing 143;18. 西农 6028 Xinong 6028.

图 2 PPO16 标记检测小麦品种 *Ppo-D1* 位点的等位变异图谱

Fig. 2 PCR amplification patters of wheat cultivars at *Ppo-D1* locus using *PPO16* Marker



M. 标准分子量 DL2000;1. 长早 58 Changhan 58;2. 晋麦 47 Jinmai 47;3. 铜麦 4 号 Tongmai 4;4. 晋麦 54 Jinmai 54;5. 普冰 143 Pubing 143;6. 长 6354 Chang 6354;7. 长武 134 Changwu 134;8. 陕早 8675 Shaanhan 8675;9. 武农 148 Wunong 148;10. 小偃 22 Xiaoyan 22;11. 宝麦 6 号 Baomai 6;12. 秦农 142 Qinmai 142;13. 秦麦 11 矮 Qinmai 11ai;14. 陕优 225 Shanyou 225;15. 延麦 3 号 Yanmai 3;16. 西农 2208 Xinong 2208;17. 陕 229 Shaan 229.

图 3 PPO29 标记检测小麦品种 *Ppo-D1* 位点的等位变异图谱

Fig. 3 PCR amplification patters of wheat cultivars at *Ppo-D1* locus using *PPO29* Maker

2.1.3 PPO 活性基因组成分布 在检测的 46 份渭北旱塬品种中,控制 PPO 活性大小的 2 个主效位点 *Ppo-A1* 和 *Ppo-D1* 存在 4 种不同的等位变异组合的类型,不同组合类型的总体分布比例表现不同。*Ppo-A1b/Ppo-D1a* 组合类型有 16 份品种比例最高(占 34.8%);其次为 *Ppo-A1a/Ppo-D1b* 组合类型,有 13 份品种(占 28.2%);

Ppo-A1a/Ppo-D1a 组合类型有 9 份品种(占 19.6%);以 *Ppo-A1b/Ppo-D1b* 组合类型,含 8 份品种(占 17.4%)。

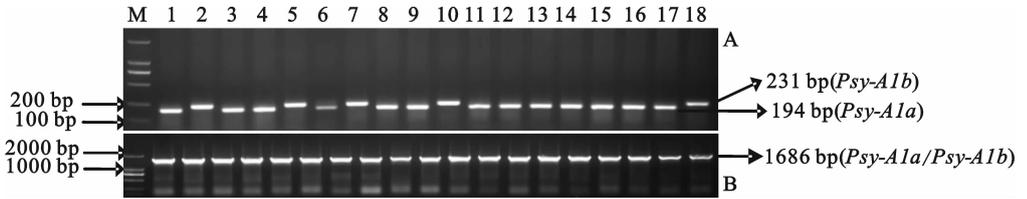
2.2 YP 含量等位变异检测和分布

2.2.1 *Psy-A1* 位点等位变异检测 *YP7A* 是一个共显性的功能标记,该标记在具有等位基因 *Psy-A1a* 的品种中可以扩增出 194 bp 的片段,与

高 YP 含量相关;而在具有等位基因 *Psy-A1b* 的品种中扩增出 231 bp 的片段,与低 YP 含量相关。利用共显性标记 *YP7A* 检测了 46 份品种中(图 4A),长旱 58 等 26 份品种扩增出了 194 bp 的片段,推测其携带 *Psy-A1a* 基因,其频率为 56.5%;晋麦 47 等 20 份品种扩增出了 231 bp 的片段,推测其携带 *Psy-A1b* 基因,其频率为 43.5%。

应用标记 *YP7A* 对 *Psy-A1c* 的品种进行扩

增时,同样可以扩增出 194 bp 的片段,无法区分 *Psy-A1a* 和 *Psy-A1c* 的品种,需要用分子标记 *YP7A-2* 区分 *Psy-A1a* 与 *Psy-A1c* 类型。*YP7A-2* 标记在 *Psy-A1c* 的品种中扩增出 1 001 bp 的片段,而在等位变异 *Psy-A1a* 和 *Psy-A1c* 的品种中可以扩增出 1 686 bp 的片段。本研究利用共显性标记 *YP7A-2* 检测结果显示,46 份品种都扩增出了 1686 bp 的片段(图 4B),说明检测品种内不含等位变异 *Psy-A1c*。



M. 标准分子量 DL2000;1. 长旱 58 Changhan 58;2. 晋麦 47 Jinmai 47;3. 长武 134 Changwu 134;4. 铜麦 4 号 Tongmai 4;5. 晋麦 54 Jinmai 54;6. 普冰 143 Pubing 143;7. 宝麦 6 号 Baomai 6;8. 秦农 142 Qinnong 142;9. 延麦 3 号 Yanmai 3;10. 西农 2208 Xinong 2208;11. 普冰 134 Pubing 134;12. 延 8918 Yan 8918;13. 陕麦 7859 Shaanmai 7859;14. 晋麦 50 Jinmai 50;15. 晋 170 Jin 170;16. 长 6878 Chang 6878;17. 洛麦 8918 Luomai 8918;18. 陕早 8675 Shaanhan 8675.

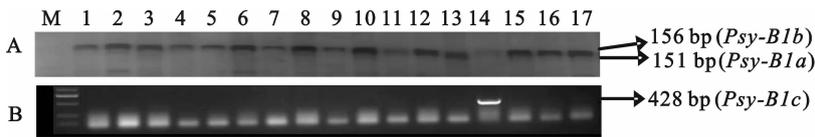
图 4 *YP7A*(A)和*YP7A-2*(B)标记检测小麦品种*Psy-A1*位点的等位变异图谱

Fig. 4 PCR amplification patterns of wheat cultivars at *Psy-A1* locus

2.2.2 *Psy-B1* 位点等位变异检测 在普通小麦中, *Psy-B1* 位点的 3 种等位变异类型 *Psy-B1a*、*Psy-B1b* 和 *Psy-B1c* 需要利用功能标记 *YP7B-1* 和 *YP7B-2* 对其进行区分^[20]。其中 *YP7B-1* 为共显性标记,利用其进行检测时,等位变异 *Psy-B1a* 扩增出现 151 bp 的片段,等位变异 *Psy-B1b* 扩增出现 156 bp 的片段;利用 *YP7B-2* 进行检测时,等位变异 *Psy-B1c* 扩增出现 428 bp 大小的片段。

在所检测的 46 份小麦品种中,利用功能标记

YP7B-1 进行检测时(图 5A),矮丰 1 号等 24 份品种扩增出 151 bp 大小的片段,说明其携带 *Psy-B1a* 等位基因,频率为 52.2%;秦农 161 等 19 份品种扩增出 156 bp 大小的片段,说明其携带其 *Psy-B1b* 等位基因,频率为 41.3%。将剩余的品种用功能标记 *YP7B-2* 进行检测时(图 5B),普冰 143 等 3 份品种均扩增出现 428 bp 大小的片段,其频率为 6.5%,推测其等位变异类型为 *Psy-B1c*。



M. 标准分子量 DL2000;1. 长 6359 Chang 6359;2. 长旱 58 Changhan 58;3. 洛 9709 Luo 9709;4. 晋太 170 Jintai 170;5. 长 6878 Chang 6878;6. 延麦 3 号 Yanmai 3;7. 矮丰 1 号 Aifeng 1;8. 宝麦 6 号 Baomai 6;9. 延 8918 Yan 8918;10. 晋麦 54 Jinmai 54;11. 长武 134 Changwu 134;12. 洛麦 8918 Luomai 8918;13. 阎麦 8918 Yanmai 8918;14. 普冰 143 Pubing 143;15. 洛早 8675 Luohan 8675;16. 长武 112 Changwu 112;17. 洛早 6 号 Luohan 6.

图 5 *YP7B-1*(A)和*YP7B-2*(B)标记检测*Psy-B1*位点的等位变异图谱

Fig. 5 PCR amplification patterns of some Shaanxi wheat cultivars at *Psy-B1* locus using *YP7B-1* (A) and *YP7B-2* (B) makers

2.2.3 YP 含量基因组成分布 检测的 46 份品种中,控制 YP 含量的 2 个主效位点 *Psy-A1* 和 *Psy-B1* 存在 6 种不同的等位变异组合类型,不同组合类型的总体分布比例表现不同。*Psy-A1a*/*Psy-B1a* 组合类型所占的比例最高(占 39.1%);

其次是 *Psy-A1b*/*Psy-B1b* 组合类型(占 28.3%);组合 *Psy-A1a*/*Psy-B1b* 和组合 *Psy-A1b*/*Psy-B1a* 所占比例相同(占 13%);组合 *Psy-A1a*/*Psy-B1c* 占 4.3%;组合 *Psy-A1b*/*Psy-B1c* 所占的比例最低(占 2.1%)。

3 讨论

王亮等^[16]对新疆 252 份小麦品种研究结果表明,新疆小麦 PPO 活性中等偏高的材料最多, *Ppo-A1a/Ppo-D1a* (较高 PPO 活性) 的基因组合频率为 59.1%。张春利等^[14]对黑龙江 88 份小麦品种研究结果表明,黑龙江低 PPO 活性的两种等位变异类型 *Ppo-A1b* 和 *Ppo-D1a* 品种出现的频率均较高,低 PPO 活性含量基因组合的 *Ppo-A1b/Ppo-D1a* 比例较高(28.8%)。本研究结果表明,渭北旱塬小麦低 PPO 活性含量基因组合的 *Ppo-A1b/Ppo-D1a* 比例较高,品种比例超过三分之一。渭北旱塬低 PPO 活性含量如武农 148 和秦麦等 16 份材料,在组配时应重点将这些材料作为杂交亲本考虑,以培育低 PPO 活性的品种。

张春利等^[15]利用分子标记 YP7A 对 95 份黑龙省小麦品种进行检测,等位变异 *Psy-A1a* 和 *Psy-A1b* 分布频率分别为 41.1% 和 58.9%。王亮等^[17]利用标记 YP7A 对新疆 247 份小麦品种检测, *Psy-A1a* 和 *Psy-A1b* 基因型的频率分别为 91.9% 和 8.1%,以高 YP 含量 *Psy-A1a* 基因型为主。何心尧^[11]对 215 份中国冬麦材料不同 *Psy-A1/Psy-B1* 基因型组合的统计分析,6 种组合比例大小顺序为 *Psy-A1a/Psy-B1a* > *Psy-A1a/Psy-B1b* > *Psy-A1b/Psy-B1b* > *Psy-A1b/Psy-B1a* > *Psy-A1a/Psy-B1c* > *Psy-A1b/Psy-B1c*。本研究检测的渭北旱塬小麦结果表明,变异类型为 *Psy-A1a* (56.5%) 和 *Psy-A1a/Psy-B1a* (39.1%) 组合类型的品种的比例都相对较高,说明渭北旱塬小麦中高 YP 含量的品种数量较多,这不利于加工白亮的面条和馒头等传统食品。陕西渭北旱塬地区属温带大陆性季风气候,昼夜温差大,光照充足,降雨量较少。在该地区,品种抗(耐)旱是小麦育种的首选目标,育种过程中往往忽视品种加工品质选择,特别是黄色素含量选择,造成该地区推广品种较高 YP 含量基因型的品种数量较多。在本研究中,从该地区推广的小麦品种中已筛选出了一些低 YP 含量的小麦品种,如晋麦 16、晋麦 47 等都可以作为以后育种的优质亲本,选育抗(耐)旱优质小麦新品种。

利用这些标记 *PPO16*、*PPO18*、*PPO29*、和 *YP7A*、*YP7A-2*、*YP7B-1* 和 *YP7B-2* 标记鉴定 *Ppo-A1*、*Ppo-D1*、*Psy-A1*、*Psy-B1* 位点的等位变异时,PCR 扩增出的条带清晰,稳定性好,结果可

靠,等位基因类型能有效反映籽粒 PPO 活性值,可以作为小麦进行黄色素含量分子标记辅助选择的有效工具。

参考文献:

- [1] 孙道杰. 小麦籽粒 PPO 活性分子标记及面粉黄色素相关基因研究 [D]. 陕西杨凌:西北农林科技大学,2005.
- [2] Kruger J E, Hatcher D W, DePauw R. A whole seed assay for polyphenol oxidase in Canadian prairie spring wheats and its usefulness as a measure of noodle darkening [J]. *Cereal Chemistry*, 1994, 71: 324-326.
- [3] 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.
- [4] Park W J, Shelton D R, Peterson C J, et al. Variation in polyphenol oxidase activity and quality characteristics among hard white wheat and hard red winter wheat samples [J]. *Cereal Chemistry*, 1997, 74: 7-11.
- [5] Windes JM, Souza E. Heritability of tyrosinase activity in soft white spring wheat [J]. *Agronomy Abstracts*, 1995: 93.
- [6] Raman R, Raman H, Johnstone K, Lisle C, et al. Genetic and in silicon comparative mapping of the polyphenol oxidase gene in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Functional and Integrative Genomics*, 2005, 5: 185-200.
- [7] 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: 47-58.
- [8] Clarke F R, Clarke J M, Mc Caig T N, et al. Inheritance of yellow pigment concentration in seven durum wheat crosses [J]. *Canadian Journal of Plant Science*, 2006, 86: 133-141.
- [9] Parker G D, Chalmers K J, Rat hjen A J, et al. Mapping loci associated with flour color in wheat [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1998, 97: 238-245.
- [10] 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: 213-221.
- [11] 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: 553-563.
- [12] 杨芳萍, 何心尧, 何中虎, 等. 中国小麦品种黄色素含量基因等位变异分子检测及其分布规律研究 [J]. *中国农业科学*, 2008, 41(10): 2923-2930.
- [13] 肖永贵, 何心尧, 刘建军, 等. 中国冬小麦品种中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.
- [14] 张春利, 何心尧, 宋庆杰, 等. 多酚氧化酶活性基因在黑龙江小麦品种中的分布 [J]. *麦类作物学报*, 2008, 28(5): 759-765.
- [15] 张春利, 邵立刚, 王 岩, 等. 黄色素含量基因在黑龙省小麦品种中的分布 [J]. *黑龙江农业科学*, 2008 (6): 124.
- [16] 王 亮, 穆培源, 徐红军, 等. 新疆小麦品种中多酚氧化酶 (PPO) 等位变异的分布 [J]. *麦类作物学报*, 2008, 28 (5): 766-771.
- [17] 王 亮, 穆培源, 徐红军, 等. 新疆小麦品种黄色素含量基因 (*Psy-A1*) 等位变异的分子检测 [J]. *麦类作物学报*, 2009, 29(4): 782-786
- [18] 何心尧. 普通小麦及其近缘种籽粒多酚氧化酶活性与黄色素含量相关基因的克隆与功能标记开发 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2008.