

94份小麦种质 *Puroindoline* 和 HMW-GS 分子检测与品质分析

张 晓¹, 江 伟¹, 高德荣¹, 郭延玲², 刘大同¹, 蒋正宁¹, 李 曼¹, 刘 健¹, 袁 博¹, 陆成彬¹
(¹江苏里下河地区农业科学研究所/农业农村部长江中下游小麦生物学与遗传育种重点实验室, 扬州 225007;

²玉米生物育种全国重点实验室, 沈阳 110164)

摘要: 籽粒硬度和高分子量谷蛋白亚基(HMW-GS)对小麦品质起决定作用, 为发掘和利用硬度 *Puroindoline* 基因和 HMW-GS 优异等位变异, 提升长江中下游麦区中强筋小麦品质, 对长江中下游麦区推广品种以及其他麦区优质推广品种和地方品种共计 94 份材料进行分子检测和品质分析。结果表明, 硬度变幅 7.21~72.91, 软质类型 42 份、占 44.68%, 硬质类型 42 份、占 44.68%, 混合类型 10 份、占 10.64%。硬度突变基因型共有 5 种, 包括 *Pina-D1b/Pinb-D1a*、*Pina-D1r/Pinb-D1a*、*Pina-D1s/Pinb-D1a*、*Pina-D1a/Pinb-D1b* 和 *Pina-D1a/Pinb-D1p*, 数量分别为 8 份、3 份、1 份、29 份和 9 份, 籽粒硬度表现依次为 *Pina-D1r/Pinb-D1a* > *Pina-D1s/Pinb-D1a* > *Pina-D1b/Pinb-D1a* > *Pina-D1a/Pinb-D1p* > *Pina-D1a/Pinb-D1b*。HMW-GS 分析表明, *Glu-A1* 位点 1 和 Null 亚基材料比例分别为 53.33% 和 45.56%, 此外有 ¹G^{330E} 亚基材料 1 份; *Glu-B1* 位点 7+8 和 7+9 亚基材料比例分别为 47.78% 和 46.67%, 此外有 14+15 亚基材料 3 份、⁷OE+⁸ 亚基材料 1 份、6+8 亚基材料 1 份; *Glu-D1* 位点 2+12 和 5+10 亚基材料比例分别为 61.11% 和 38.89%。在微量 SDS 沉淀值上, *Glu-A1* 位点的 1 和 Null 亚基、*Glu-B1* 位点的 7+8 和 7+9 亚基无显著差异, *Glu-D1* 位点 5+10 亚基极显著大于 2+12 亚基。硬度和 SDS 沉淀值呈极显著正相关, 硬度对 SDS 沉淀值影响大于 HMW-GS。本研究对小麦种质 *Pin* 和 HMW-GS 基因型和品质进行了分析, 为小麦品质遗传改良尤其是中强筋小麦品质改良提供了参考。

关键词: 小麦; 硬度; *Puroindoline*; HMW-GS; 分子检测; 品质分析

Molecular Detection of *Puroindoline* and HMW-GS and Quality Traits Analysis in 94 Wheat Germplasms

ZHANG Xiao¹, JIANG Wei¹, GAO Derong¹, GUO Yanling², LIU Datong¹, JIANG Zhengning¹,
LI Man¹, LIU Jian¹, YUAN Bo¹, LU Chengbin¹

(¹Institute of Agricultural Sciences for Lixiahe region in Jiangsu /Key Laboratory of Wheat Biology and Genetic Improvement for Low & Middle Yangtze Valley, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Yangzhou 225007;

²National Key Laboratory of Maize Biological Breeding, Shenyang 110164)

Abstract: Grain hardness and HMW-GS play a key role in wheat quality. In order to explore and utilize favorable allelic variants of wheat hardness *Puroindoline* gene and HMW-GS to improve the quality of medium-strong gluten, molecular detection of both genes and quality traits were analyzed in 94 wheat germplasms which mainly include varieties in the Low and Middle Yangtze River Valley Wheat Zone, as well as high quality wheat varieties or landraces in other wheat zones. The results showed that the grain hardness was ranged from 7.21 to 72.91. There were 42 soft wheat accounting for 44.68%, 42 hard wheat accounting for 44.68%, and 10 mixed wheat accounting for 10.64%. Five alleles at the *Puroindoline* locus were detected, including *Pina-D1b/Pinb-D1a*,

收稿日期: 2023-09-05 修回日期: 2023-11-20 网络出版日期: 2023-12-12

URL: <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20230905002>

第一作者研究方向为作物遗传育种, E-mail: zhangxiao820218@163.com

通信作者: 陆成彬, 研究方向为作物遗传育种, E-mail: lucb123@126.com

基金项目: 江苏省农业科技自主创新资金(CX(21)3102); 国家自然科学基金项目(32071999); 扬州市重点研发计划(YZ2022049)

Foundation projects: Independent Innovation of Agricultural Science and Technology of Jiangsu Province (CX(21)3102); National Natural Science Foundation of China(32071999); Key Research and Development Program of Yangzhou City(YZ2022049)

Pina-D1r/Pinb-D1a, *Pina-D1s/Pinb-D1a*, *Pina-D1a/Pinb-D1b* and *Pina-D1a/Pinb-D1p*, with quantity of 8, 3, 1, 29 and 9 respectively. The hardness of different *Puroindoline* alleles ranked in the order: *Pina-D1r/Pinb-D1a* > *Pina-D1s/Pinb-D1a* > *Pina-D1b/Pinb-D1a* > *Pina-D1a/Pinb-D1p* > *Pina-D1a/Pinb-D1b*. HMW-GS subunits 1 and Null accounted for 53.33% and 45.56% respectively at *Glu-A1* locus and one with 1^{G330E}. 7+8 and 7+9 subunits accounted for 47.78% and 46.67% respectively at *Glu-B1* locus. Furthermore, there were three wheat varieties carrying 14+15 subunits, one carrying 7^{OE}+8* and one carrying 6+8 at *Glu-B1* locus. 2+12 and 5+10 subunits accounted for 61.11% and 38.89% respectively. For SDS sedimentation value, there were no significant difference between 1 and Null subunits at *Glu-A1* locus and 7+8 and 7+9 at *Glu-B1* locus. The SDS sedimentation value of 5+10 subunits was higher than 2+12 subunits at *Glu-D1* locus. A significant positive correlation between hardness and SDS sedimentation value was detected. The SDS sedimentation value was contributed by grain hardness, greater than that of HMW-GS. The genotypes of *Puroindoline* and HMW-GS and phenotypes of wheat germplasm were analyzed in this study, which provided a reference for the genetic improvement of wheat quality, especially for medium-strong gluten wheat.

Key words: wheat; kernel hardness; *Puroindoline*; HMW-GS; molecular detection; quality analysis

籽粒硬度是小麦分类和市场分级的重要性状之一,严重影响润麦加水量、出粉率、破损淀粉含量和面粉颗粒度,决定磨粉品质和食品加工品质。硬质麦面粉颗粒度大、破损淀粉含量高,具有较强吸水能力,适合制作面包和优质面条等食品^[1-2]。籽粒硬度主要由位于5D染色体短臂的主效基因 *Puroindoline a* (*Pina*)和 *Puroindoline b* (*Pinb*)控制,野生基因型 *Pina-D1a/Pinb-D1a* 形成软质胚乳, *Pina* 或 *Pinb* 发生基因突变均会导致小麦胚乳变硬^[1-2]。目前已报道25种 *Pina* 及33种 *Pinb* 基因等位变异类型^[3-4], *Pina* 变异类型包括 *Pina-D1b*^[5]、*Pina-D1r*、*Pina-D1s*^[6]、*Pina-D1m*^[7]、*Pina-D1u*^[2]等; *Pinb* 变异类型包括 *Pinb-D1b*^[8]、*Pinb-D1p*^[9]、*Pinb-D1c*^[10]、*Pinb-D1e*、*Pinb-D1f*、*Pinb-D1g*^[11]等。 *Pinb-D1b* 较为常见,占我国硬质麦类型80%以上^[1-2]。

高分子量麦谷蛋白亚基(HMW-GS, high-molecular-weight glutenin subunit)解释45%~70%小麦品质的变异^[12-14]。HMW-GS由染色体1A、1B和1D长臂位点 *Glu-A1*、*Glu-B1* 和 *Glu-D1* 控制^[15-17]。每个位点有两个紧密连锁基因,分别控制X型和Y型亚基。理论上,每个小麦品种存在6个HMW-GSs,但因为1Ay亚基及某些位点沉默,通常表达3~5个HMW-GSs^[15-17]。目前普通小麦中 *Glu-1* 位点发现、克隆的亚基有20多个^[18]。 *Glu-A1* 位点常见的有1、2*和Null亚基; *Glu-B1* 位点有7、7+8、7+9、6+8、20、13+16、13+19、14+15、17+18、21和22等亚基,其中7+8、7+9、17+18、20、13+16等较为常见; *Glu-D1* 位点有2+12、3+12、4+12、5+10、2+10、2.2+12和2+11亚基,还发现了一些特殊结构的HMW-GSs,如1Bx7^{OE}、

1Dx2.2*、1S1x2.3*+1S1y16*等。一般对面团强度有正向效应的优质HMW-GSs有1Ax1、1Ax1^{G330E}、1Ax2*、1Bx7^{OE}+1By8、1Bx13+1By16、1Bx14+1By15、1Bx17+1By18、1Dx5+1Dy10、1S1x2.3*+1S1y16^[19-21]。

陈锋^[22]对中国主栽品种、地方品种和历史品种以及CIMMYT小麦品种(系)的籽粒硬度及其基因型进行了鉴定;张福彦^[23]对黄淮麦区的地方品种、当前主栽品种和小麦新品系进行了籽粒硬度及其基因型鉴定。研究人员对中国山东、新疆和陕西等多个省份农家品种、历史品种和主栽品种进行了籽粒硬度及基因型检测^[24-26],对中国黄淮麦区小麦核心种质、长江中下游麦区历年育成小麦品种、江苏淮北地区小麦品种资源等不同地区的材料进行了籽粒硬度及基因型检测^[27-29],对国内外小麦品种和种质资源的HMW-GS也进行了比较分析^[30-31]。近年利用高通量KASP标记对包含HMW-GS和硬度等品质性状相关基因进行了检测^[32-34]。以上不同时期研究结果表明我国北部冬麦区、黄淮麦区的小麦品种及种质资源以硬质类型为主,由北向南硬质麦比例降低,长江中下游麦区和西南麦区软质麦比例较高^[22,28];硬质麦类型中, *Pinb-D1b* 基因型所占比例最高,其次是 *Pina-D1b* 和 *Pinb-D1p*^[22-23,29];地方品种和历史品种等种质资源的硬度变异类型更为丰富^[24-25,27]。我国小麦品种HMW-GS在 *Glu-A1* 位点具有较高比例的优质亚基1和2*^[30],权威^[34]研究表明近年我国审定的530份小麦品种5+10亚基分布频率为29.20%, *Glu-D1* 位点优质亚基5+10比例有所上升,但仍相对较低。

长江中下游麦区是我国第二大麦区,以中、弱

筋小麦类型为主,同时红皮中强筋小麦也深受市场欢迎。该麦区 *Pin* 基因突变类型较少;小麦品种 HMW-GS 类型以 1AxNull、1Bx7+1By8、1Dx2+1Dy12 为主,优质 HMW-GS 比例非常少^[35]。当前长江中下游麦区推广的中强筋品种存在籽粒硬度低、筋力弱、品质稳定性差等缺点,急需聚合优异高硬度基因型和优质 HMW-GSs 进行面团强度和加工品质改良。尽管已有较多关于籽粒硬度基因变异和 HMW-GS 类型的研究报道,但多数研究仅检测 2 种或 3 种硬度变异类型,对硬度和 HMW-GS 类型同时研究的较少,且不同研究结果存在差异。因此本研究以长江中下游麦区推广品种为主、引进其他麦区携硬度突变基因或优质亚基的推广品种和地方品种,对 94 份种质开展 HMW-GS 和多种硬度突变类型基因型检测和品质性状研究,筛选优异等位变异组合,以期为长江中下游麦区中强筋小麦品质改良提供理论支撑。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

试验材料包括 48 份长江中下游麦区小麦推广品种以及 46 份其他麦区推广品种、地方品种,分别由中

国农业科学院作物科学研究所、河南农业大学、云南农业大学、江苏省农业科学院、四川省农业科学院、江苏徐淮地区淮阴农科所、咸阳市农业科学研究院、绵阳市农业科学研究院等单位提供;扬麦 23、扬麦 29 分别有两份,均由江苏里下河地区农业科学研究所育成并提供。2021-2022 年度种植于江苏里下河地区农业科学研究所试验基地(32°24' N, 119°26' E),前茬为水稻,土壤为沙壤土。3 行区,行长 1.33 m,行距 0.23 m,每行 40 粒。田间统一管理与大田生产一致,生长期没受到自然灾害,正常成熟,按小区收获脱粒,晾晒除杂后统一进行试验。

1.2 DNA 提取和电泳分析

取苗期叶片进行小麦基因组 DNA 提取。DNA 提取参照 Murray 等^[36]提取法。提取的 DNA 使用灭菌水溶解,去除 RNA,琼脂糖电泳检测 DNA 完整性,NanoDrop2000 微量紫外分光光度计检测 DNA 质量和浓度,浓度满足 50~100 ng/μL,OD_{260/280}=1.7~2.1,OD_{260/230}>1.5,无降解或少量降解的 DNA 进行下一步试验。

根据 Chen 等^[2]报道的特异性分子标记进行 PCR 扩增(表 1)。首先用 *Pina-D1* 和 *Pinb-D1* 引物进行 PCR 扩增获得 *Pina* 和 *Pinb* 全长,*Pina-D1* 位点发生

表 1 分子标记引物信息

Table 1 Primers information of molecular markers used in the study

标记名称 Marker name	引物序列(5'-3') Forward and reverse primers(5'-3')	扩增片段(bp) Fragment size	等位基因 Allele	参考文献 Reference
<i>Pina-D1</i>	F:CATCTATTCATCTCCACCTGC R:GTGACAGTTTATTAGCTAGTC	524	<i>Pina-D1</i>	[2]
<i>Pinb-D1</i>	F:GAGCCTCAACCCATCTATTCATC R:CAAGGGTGATTTTATTCATAG	597	<i>Pinb-D1</i>	[2]
<i>Pina-N1</i>	F:AATACCACATGGTTCTAGATACTG R:GCAATACAAAGGACCTCTAGATT	776	<i>Pina-D1b</i>	[2]
<i>Pina-N2</i>	F:TCAACATTCGTGCATCATCA R:CTTCATTCGTGAGAGTTCCAT	436	<i>Pina-D1r</i>	[2]
<i>Pina-N3</i>	F:CATCTATTCATCTCCACCTGC R:CACTATATTGCCGGGATTTT	440	<i>Pina-D1s</i>	[2]
<i>Pina-N4</i>	F:AGTGGTCTGATGGAAGCGT R:TGGAAAAAAGTGGTTGGGA	546	<i>Pina-D1u</i>	[2]
<i>BsrDI_Pina-D1n</i>	F:TCACCTGGCGTTGGTGGCAAT R:CGGCAGGTTCTTGGCTTCTTGAT	197	<i>Pina-D1n</i>	[2]
<i>Ball_Pina-D1l</i>	F:GAGTGTTGAGTCGGCTTGG R:GGCAGGTTCTTGGCTTCTTGAT	143	<i>Pina-D1l</i>	[2]

突变不能得到 *Pina-D1* 基因全长, *Pinb-D1* 位点无论野生基因型还是突变基因型均能扩增到 *Pinb-D1* 基因全长。对于只扩增到 *Pinb-D1* 基因全长而未得到 *Pina-D1* 基因全长的小麦种质, 分别利用表 1 中的功能标记 (*Pina-N1*、*Pina-N2*、*Pina-N3*、*Pina-N4*、*BsrDI_Pina-D1n*、*Ball_Pina-D1l*) 鉴定 *Pina-D1* 位点变异类型。对于同时得到两者全长的品种, 需要进行 *Pinb-D1b* 和 *Pinb-D1p* 基因型鉴定。首先对 *Pinb-D1* 的 PCR 扩增产物采用内切酶 *PfIMI* 酶切鉴定 *Pinb-D1p* 基因型, 酶切片段分别为 332 bp 和 256 bp^[37], 电泳谱带未被切开, 属于 *Pinb-D1p* 类型。PCR 反应体系为 10 μ L, 包括上下游引物 (10 μ mol/L) 各 0.2 μ L, 10 \times PCRBuffer (MgCl₂) 1.0 μ L, dNTP (2.5 mmol/L) 0.2 μ L, Taq 酶 (2.5 U/ μ L) 0.2 μ L, DNA (50 ng/ μ L) 1.0 μ L, ddH₂O 7.2 μ L。PCR 反应程序: 94 $^{\circ}$ C 预变性 3 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 58 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s, 共 33 个循环; 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min, 4 $^{\circ}$ C 保存。PCR 扩增在 Mastercycler nexus PCR 仪 (Eppendorf, 德国) 上完成。PCR 产物通过 4% 琼脂糖凝胶电泳或 6% 聚丙烯酰胺凝胶电泳进行检测, 凝胶成像仪拍照或银染读取基因型。

1.3 硬度基因 KASP 标记检测

参照 Rasheed 等^[21] 基因引物和方法进行籽粒硬度基因 (*Pinb-D1b*) KASP 标记基因型检测。 *Pinb-D1* 的碱基突变类型是 C (*Pinb-D1a*, 软质) / T (*Pinb-D1b*, 硬质), 特异性引物 1 序列是 5'-CTCATGCTCACAGCCGCC-3', 尾部添加能够与 FAM 荧光结合的特异性序列, 特异性引物 2 序列 5'-CCTCATGCTCACAGCCGCC-3', 尾部添加能够与 HEX 荧光结合的特异性序列, 共用引物是 5'-GTCACCTG GCCACAAAATG-3'。PCR 反应体系为 5 μ L, 包含 KASP Master mix 2.5 μ L、KASP Primer mix 0.07 μ L (由 6 μ L 特异引物 (100 μ mol/L)、15 μ L 共用引物 (100 μ mol/L)、23 μ L Tris-HCl (10 mmol/L) 混合制成) 和模板 DNA (50 ng/ μ L) 2.5 μ L。PCR 反应条件: 第一轮 94 $^{\circ}$ C 15 min; 94 $^{\circ}$ C 20 s, 61~55 $^{\circ}$ C 60 s, 每个循环降低 0.6 $^{\circ}$ C, 共进行 10 个循环; 第二轮 94 $^{\circ}$ C 20 s, 55 $^{\circ}$ C 60 s, 共进行 26 个循环。PCR 扩增在 qPCR 仪 7900 (Applied Biosystems, 美国) 上完成, 终点法收集荧光信号, 然后用 LGC 公司开发的 SNP viewer 2.0 软件读取检测数据。

1.4 SDS-PAGE 分析

采用张延滨等^[38] 方法提取 HMW-GS, 十二烷基

硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE, sodium dodecyl sulfate - polyacrylamide gel electrophoresis) 分析 HMW-GS 组成。单粒种子研磨放入 1.5 mL 离心管, 加入 0.2 mL 提取缓冲液 (1 mol/L Tris-HCl (PH=6.8) 12.5 mL, 5 mL 巯基乙醇、2.0 g SDS、10 mL 乙二醇、0.01 g 溴芬蓝, 定容至 100 mL), 室温放置 3 h, 每 1 h 搅拌 1 次, 12,000 r/min 离心 5 min, 沸水浴 3 min, 取上清液。分离胶浓度 10.45%, 浓缩胶浓度 3%, HMW-GS 命名参照 Payne 等^[39] 标准, 冀城 8901 (1, 7+8, 5+10)、扬麦 16 (Null, 7+9, 2+12) 和中国春 (Null, 7+8, 2+12) 作为 HMW-GS 标准对照。

1.5 品质性状测定

按照 AACCS55-31 用瑞典波通仪器公司 (Pertent) 单粒谷物测定仪 (SKCS-4100) 测定籽粒硬度, 硬度指数是无量纲单位。选取 100 粒代表性种子进行测定分析, 显示每个样品平均值、标准差并绘图, 给出小于 33、34~46、47~59 和大于 60 四个硬度范围籽粒分布频率, 最终硬度级别根据平均硬度指数和 4 个硬度范围籽粒分布频率而定, 每份供试材料测试两次。微量 SDS 沉淀值参照本团队已发表文献方法^[40] 测定, 称取 1 g 全麦粉进行测定, 每个样品平行测定两次。

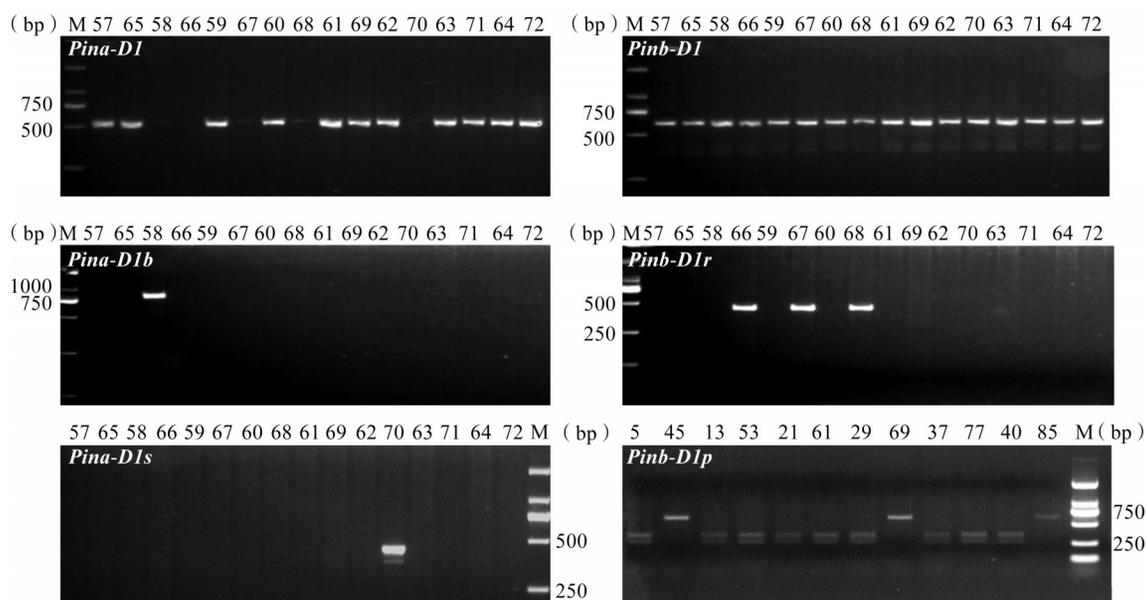
1.6 数据分析

采用 Microsoft Excel 2016、IBM SPSS Statistics 22 进行数据统计分析, 并利用 Originpro 进行作图。

2 结果与分析

2.1 籽粒硬度基因等位变异分析

首先利用 *Pina-D1* 和 *Pinb-D1* 引物进行 PCR 扩增获得 *Pina* 和 *Pinb* 全长, 其中南农 06Y86、云麦 42、云麦 80 等 12 份材料未扩增到 *Pina* 基因全长, 所有材料均扩增到 *Pinb* 基因全长 (图 1)。利用功能标记对 12 份材料进一步鉴定, 根据 Chen 等^[2] 开发的 STS 标记 *Pina-N1* 进行 PCR 扩增, 南农 06Y86、云麦 42、云麦 80、绵麦 827 等 8 份材料呈现 776 bp 条带, 即为 *Pina-D1b* 类型 (图 1, 表 2)。剩下的 4 份材料利用 STS 标记 *Pina-N2* 进行扩增, 三月黄、江东门和白火麦 3 份材料扩增出 436 bp 目的片段, 属于 *Pina-D1r* 类型; 利用 STS 标记 *Pina-N3* 进行扩增, 轴子麦扩增出 440 bp 目的片段, 属于 *Pina-D1s* 类型 (图 1, 表 2)。



5: 扬麦 5 号; 13: 扬麦 14; 21: 扬麦 22; 29: 扬麦 30; 37: 扬麦 38; 40: 科兴 626; 45: 镇麦 12; 53: 川麦 88; 57: 绵麦 902; 58: 绵麦 827; 59: 山农 28; 60: 山农 29; 61: 豫麦 18; 62: 偃展 4110; 63: 郑麦 9694; 64: 红和尚头; 65: 望水白; 66: 三月黄; 67: 江东门; 68: 白火麦; 69: 平原 50; 70: 轴子麦; 71: 和尚头; 72: 周 1550; 77: 铁壳麦 105; 85: 淮麦 16

5: Yangmai 5 hao; 13: Yangmai 14; 21: Yangmai 22; 29: Yangmai 30; 37: Yangmai 38; 40: Kexing 626; 45: Zhenmai 12; 53: Chuanmai 88; 57: Mianmai 902; 58: Mianmai 827; 59: Shannong 28; 60: Shannong 29; 61: Yumai 18; 62: Yanzhan 4110; 63: Zhenmai 9694; 64: Hongheshangtou; 65: Wangshuibai; 66: Sanyuehuang; 67: Jiangdongmen; 68: Baihuomai; 69: Pingyuan 50; 70: Youzimai; 71: Heshangtou; 72: Zhou 1550; 77: Tiekemai 105; 85: Huaimai 16

图 1 部分材料 *Pin-D1* 基因分子标记鉴定

Fig.1 Identification of *Puroindoline-D1* alleles by molecular markers in part tested materials

表 2 供试材料籽粒硬度、硬度基因型、HMW-GS 和沉淀值

Table 2 Hardness, *Puroindoline* genotypes, HMW-GS and sedimentation value in tested materials

编号 No.	名称 Name	来源 Origin	硬度 Hardness	硬度类型 Hardness type	<i>Pina-D1</i> 基因型 Genotype	<i>Pinb-D1</i> 基因型 Genotype	<i>Glu-A1</i>	<i>Glu-B1</i>	<i>Glu-D1</i>	SDS 沉淀值 (mL) SDS sedi- mentation value
1	扬麦 1 号	江苏	30.42	软质	<i>a</i>	<i>a</i>	1	7+8	2+12	6.00
2	扬麦 2 号	江苏	35.50	软质	<i>a</i>	<i>a</i>	Null	7+9	2+12	6.00
3	扬麦 3 号	江苏	15.59	软质	<i>a</i>	<i>a</i>	Null	7+8	2+12	8.00
4	扬麦 4 号	江苏	45.17	混合	<i>a</i>	<i>b</i>	Null	7+9	5+10	6.50
5	扬麦 5 号	江苏	23.66	软质	<i>a</i>	<i>a</i>	Null	7+9	5+10	5.75
6	扬麦 6 号	江苏	28.82	软质	<i>a</i>	<i>a</i>	1	7+8	2+12	6.25
7	扬麦 158	江苏	56.73	硬质	<i>a</i>	<i>b</i>	Null	7+8	2+12	7.50
8	扬麦 9 号	江苏	20.06	软质	<i>a</i>	<i>a</i>	Null	7+9	2+12	5.40
9	扬麦 10 号	江苏	50.64	硬质	<i>a</i>	<i>b</i>	Null	7+8	2+12	8.00
10	扬麦 11	江苏	29.52	软质	<i>a</i>	<i>a</i>	Null	7+8	2+12	7.25
11	扬麦 12	江苏	30.68	软质	<i>a</i>	<i>a</i>	Null	7+8	2+12	6.00
12	扬麦 13	江苏	21.09	软质	<i>a</i>	<i>a</i>	Null	7+8	2+12	5.50
13	扬麦 14	江苏	23.41	软质	<i>a</i>	<i>a</i>	1	7+8	2+12	6.50
14	扬麦 15	江苏	19.99	软质	<i>a</i>	<i>a</i>	1	7+8	2+12	5.25
15	扬麦 16	江苏	57.92	硬质	<i>a</i>	<i>b</i>	Null	7+9	2+12	6.50

表2(续)

编号 No.	名称 Name	来源 Origin	硬度 Hardness	硬度类型 Hardness type	<i>Pina-D1</i> 基因型 Genotype	<i>Pinb-D1</i> 基因型 Genotype	<i>Glu-A1</i>	<i>Glu-B1</i>	<i>Glu-D1</i>	SDS 沉淀值 (mL) SDS sedi- mentation value
16	扬麦17	江苏	44.06	混合	<i>a</i>	<i>b</i>	1	7+8	2+12	6.50
17	扬麦18	江苏	24.20	软质	<i>a</i>	<i>a</i>	1	7+8	2+12	4.50
18	扬麦19	江苏	22.51	软质	<i>a</i>	<i>a</i>	Null	7+9	2+12	4.50
19	扬麦20	江苏	32.82	软质	<i>a</i>	<i>a</i>	Null	7+9	2+12	4.75
20	扬麦21	江苏	19.65	软质	<i>a</i>	<i>a</i>	1	7+8	2+12	6.50
21	扬麦22	江苏	29.93	软质	<i>a</i>	<i>a</i>	Null	7+9	2+12	4.75
22	扬麦23	江苏	53.33	硬质	<i>a</i>	<i>b</i>	Null	7+9	2+12	8.00
23	扬麦24	江苏	37.53	软质	<i>a</i>	<i>a</i>	1	7+8	2+12	5.50
24	扬麦25	江苏	28.58	软质	<i>a</i>	<i>a</i>	1	7+8	2+12	5.75
25	扬麦26	江苏	33.31	软质	<i>a</i>	<i>a</i>	Null	7+9	2+12	5.50
26	扬麦27	江苏	32.12	软质	<i>a</i>	<i>a</i>	Null	7+9	2+12	5.00
27	扬麦28	江苏	48.70	混合	<i>a</i>	<i>b</i>	1	7+9	2+12	7.50
28	扬麦29	江苏	56.72	硬质	<i>a</i>	<i>b</i>	1	7+9	5+10	9.00
29	扬麦30	江苏	28.68	软质	<i>a</i>	<i>a</i>	1	7+8	2+12	6.00
30	扬麦31	江苏	23.98	软质	<i>a</i>	<i>a</i>	Null	7+8	2+12	6.00
31	扬麦32	江苏	22.12	软质	<i>a</i>	<i>a</i>	1	7+8	2+12	5.50
32	扬麦33	江苏	26.58	软质	<i>a</i>	<i>a</i>	1	7+8	5+10	5.00
33	扬麦34	江苏	17.84	软质	<i>a</i>	<i>a</i>	1	7+8	2+12	6.00
34	扬麦35	江苏	49.87	硬质	<i>a</i>	<i>b</i>	1	7+9	2+12	7.50
35	扬麦36	江苏	18.82	软质	<i>a</i>	<i>a</i>	1	7+9	5+10	8.50
36	扬麦37	江苏	52.99	硬质	<i>a</i>	<i>b</i>	1	7+9	2+12	6.50
37	扬麦38	江苏	17.74	软质	<i>a</i>	<i>a</i>	Null	7+9	5+10	5.75
38	扬麦39	江苏	45.46	混合	<i>a</i>	<i>b</i>	1	7+9	5+10	8.75
39	扬糯麦1号	江苏	34.00	软质	<i>a</i>	<i>a</i>	1	7+9	2+12	5.25
40	科兴626	北京	55.73	硬质	<i>a</i>	<i>b</i>	1	7+8	5+10	9.10
41	南农06Y86	江苏	61.20	硬质	<i>b</i>	<i>a</i>	Null	7+8	5+10	8.00
42	镇麦9号	江苏	62.62	硬质	<i>a</i>	<i>b</i>	1	7+9	5+10	10.00
43	镇麦10号	江苏	69.83	硬质	<i>a</i>	<i>b</i>	1	7+9	5+10	8.25
44	镇麦168	江苏	57.60	硬质	<i>a</i>	<i>p</i>	1	7+9	5+10	9.50
45	镇麦12	江苏	59.22	硬质	<i>a</i>	<i>p</i>	1	7+9	5+10	8.25
46	农麦88	江苏	60.27	硬质	<i>a</i>	<i>b</i>	1	7+9	5+10	9.00
47	扬麦29	江苏	55.64	硬质	<i>a</i>	<i>b</i>	1	7+9	5+10	9.00
48	明麦133	江苏	53.28	硬质	<i>a</i>	<i>p</i>	Null	7+8	5+10	8.90
49	扬麦23	江苏	50.88	硬质	<i>a</i>	<i>b</i>	Null	7+9	2+12	7.75
50	龙麦26(7 ^{OE} +8*)	黑龙江	59.70	硬质	<i>a</i>	<i>b</i>	Null	7 ^{OE} +8*	5+10	11.00
51	云麦42	云南	63.41	硬质	<i>b</i>	<i>a</i>	/	/	/	8.00
52	云麦80	云南	57.55	硬质	<i>b</i>	<i>a</i>	1	7+8	5+10	12.00

表 2 (续)

编号 No.	名称 Name	来源 Origin	硬度 Hardness	硬度类型 Hardness type	<i>Pina-D1</i> 基因型 Genotype	<i>Pinb-D1</i> 基因型 Genotype	<i>Glu-A1</i>	<i>Glu-B1</i>	<i>Glu-D1</i>	SDS 沉淀值 (mL) SDS sedi- mentation value
53	川麦 88	四川	28.75	软质	<i>a</i>	<i>a</i>	1	7+8	5+10	6.50
54	川麦 93	四川	19.46	软质	<i>a</i>	<i>a</i>	1	7+8	2+12	6.50
55	川麦 104	四川	31.67	软质	<i>a</i>	<i>a</i>	1	6+8	5+10	7.50
56	绵麦 907	四川	35.53	软质	<i>a</i>	<i>b</i>	1	7+8	2+12	7.50
57	绵麦 902	四川	14.06	软质	<i>a</i>	<i>a</i>	1	7+9	5+10	5.50
58	绵麦 827	四川	37.28	混合	<i>b</i>	<i>a</i>	/	/	/	7.25
59	山农 28	山东	54.96	硬质	<i>a</i>	<i>b</i>	/	/	/	9.00
60	山农 29	山东	46.39	混合	<i>a</i>	<i>b</i>	/	/	/	8.40
61	豫麦 18	河南	21.23	软质	<i>a</i>	<i>a</i>	Null	14+15	5+10	7.00
62	偃展 4110	河南	14.98	软质	<i>a</i>	<i>a</i>	Null	14+15	5+10	6.75
63	郑麦 9694	河南	40.41	软质	<i>a</i>	<i>b</i>	Null	14+15	5+10	5.75
64	红和尚头		8.80	软质	<i>a</i>	<i>a</i>	Null	7+9	2+12	11.75
65	望水白		35.35	软质	<i>a</i>	<i>a</i>	Null	7+8	2+12	9.25
66	三月黄		68.66	硬质	<i>r</i>	<i>a</i>	Null	7+8	2+12	9.00
67	江东门		65.87	硬质	<i>r</i>	<i>a</i>	Null	7+8	2+12	9.50
68	白火麦		55.56	硬质	<i>r</i>	<i>a</i>	Null	7+8	2+12	9.25
69	平原 50		63.83	硬质	<i>a</i>	<i>p</i>	Null	7+8	2+12	8.00
70	蚰子麦		61.80	硬质	<i>s</i>	<i>a</i>	Null	7+8	2+12	6.75
71	和尚头		7.21	软质	<i>a</i>	<i>a</i>	Null	7+8	2+12	5.00
72	周 1550	河南	44.80	混合	<i>a</i>	<i>b</i>	1	7+9	5+10	9.25
73	周 4013	河南	43.31	混合	<i>a</i>	<i>b</i>	1	7+9	5+10	8.25
74	洛旱 2 号	河南	48.73	混合	<i>a</i>	<i>p</i>	1	7+8	2+12	7.75
75	铁壳麦 103	云南	56.02	硬质	<i>a</i>	<i>a</i>	Null	7+8	2+12	8.35
76	铁壳麦 104	云南	63.47	硬质	<i>a</i>	<i>a</i>	Null	7+8	2+12	5.25
77	铁壳麦 105	云南	56.48	硬质	<i>a</i>	<i>a</i>	Null	7+8	2+12	5.75
78	铁壳麦 106	云南	58.10	硬质	<i>a</i>	<i>a</i>	Null	7+8	2+12	6.25
79	铁壳麦 107	云南	64.30	硬质	<i>a</i>	<i>a</i>	Null	7+8	2+12	8.25
80	科兴 3302	北京	61.04	硬质	<i>a</i>	<i>b</i>	1 ^{G330E}	7+8	5+10	9.75
81	淮核 12013	江苏	62.91	硬质	<i>a</i>	<i>b</i>	1	7+9	5+10	5.50
82	淮核 0838	江苏	65.39	硬质	<i>b</i>	<i>a</i>	1	7+9	2+12	8.70
83	淮核 00134	江苏	62.89	硬质	<i>a</i>	<i>p</i>	1	7+9	5+10	8.25
84	淮核 0779	江苏	66.60	硬质	<i>b</i>	<i>a</i>	1	7+9	2+12	9.00
85	淮麦 16	江苏	37.16	软质	<i>a</i>	<i>p</i>	Null	7+9	2+12	6.00
86	中麦 175	北京	18.01	软质	<i>a</i>	<i>a</i>	Null	7+9	2+12	7.50
87	中麦 578	北京	46.07	混合	<i>a</i>	<i>b</i>	1	7+8	5+10	11.00
88	中麦 895	北京	52.73	硬质	<i>a</i>	<i>b</i>	1	7+9	2+12	10.00

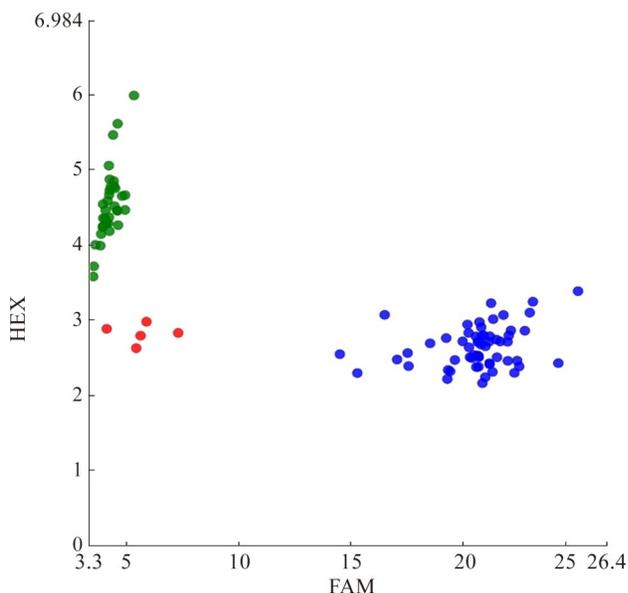
表2(续)

编号 No.	名称 Name	来源 Origin	硬度 Hardness	硬度类型 Hardness type	<i>Pina-D1</i> 基因型 Genotype	<i>Pinb-D1</i> 基因型 Genotype	<i>Glu-A1</i>	<i>Glu-B1</i>	<i>Glu-D1</i>	SDS沉淀值 (mL) SDS sedi- mentation value
89	郑麦379	河南	64.18	硬质	<i>b</i>	<i>a</i>	1	7+9	5+10	8.25
90	淮核12248	江苏	63.79	硬质	<i>a</i>	<i>p</i>	1	7+9	5+10	8.25
91	淮核00130	江苏	58.08	硬质	<i>a</i>	<i>p</i>	1	7+9	5+10	7.50
92	新麦21	河南	33.33	软质	<i>a</i>	<i>a</i>	1	7+9	5+10	7.50
93	陕229	陕西	67.24	硬质	<i>a</i>	<i>b</i>	1	7+8	2+12	8.50
94	陕253	陕西	72.91	硬质	<i>b</i>	<i>a</i>	1	7+9	5+10	7.75

/: 未检测; 64~71号材料是地方品种或历史品种, 由江苏省农科院小麦种质创新团队提供

/: Undetected; Materials 64 to 71 are landraces or historical cultivars, which provided by the wheat Gemplasm Innovation Team of Jiangsu Academy of Agricultural Sciences

采用限制性内切酶鉴定*Pinb-D1p*类型, 对*Pinb-D1*的PCR扩增产物采用内切酶*Pf1MI*进行酶切, 镇麦12、平原50、淮麦16等9份材料电泳谱带没有被切开, 属于*Pinb-D1p*类型; 剩余材料均被内切酶*Pf1MI*所切开, 酶切片段分别为332 bp和256 bp, 属于*Pinb-D1a*或*Pinb-D1b*类型(图1, 表2)。利用KASP标记检测了*Pinb-D1*位点等位变异*Pinb-D1b*, 29份小麦材料检测到*Pinb-D1b*基因, 占比为30.85%(图2, 表2)。



绿色为*Pinb-D1b*等位基因, 蓝色为*Pinb-D1a*等位基因,
红色为杂合型

Materials colored green have the *Pinb-D1b* allele; Materials colored blue have the *Pinb-D1a* allele; Materials colored red have the heterozygous genotype

图2 供试材料*Pinb-D1b*硬度基因KASP标记检测结果
Fig.2 Detection for *Pinb-D1b* of tested materials
by KASP marker

2.2 籽粒硬度分析

SKCS单粒谷物测定仪测试结果见表2。供试的94份材料籽粒硬度变幅为7.21~72.91, 其中软质类型42份, 占44.68%; 硬质类型42份, 占44.68%; 混合类型10份, 占10.64%。硬度基因为野生基因型(*Pina-D1a/Pinb-D1a*)的材料有44份, 其中5份为铁壳麦, 由于铁壳麦基因组和普通小麦有差异, 利用现有标记难以筛选, 虽为硬质也未筛选出突变类型, 有待进一步研究; 其他39份硬度基因为野生基因型的材料, 均表现为软质, 硬度变异范围7.21~37.53, 平均值为24.67。硬度基因突变材料有50份, 包含5种硬度突变类型, 分别为*Pina-D1r/Pinb-D1a*、*Pina-D1s/Pinb-D1a*、*Pina-D1b/Pinb-D1a*、*Pina-D1a/Pinb-D1p*和*Pina-D1a/Pinb-D1b*, 硬度基因发生突变籽粒为硬质, 其中37份为硬质、10份为混合型, 籽粒硬质表型与硬度突变基因型一致, 另外3份硬度突变基因型材料籽粒为软质, 需进一步分析表型和基因型不一致的原因。*Pina-D1b/Pinb-D1a*基因型材料8份, 硬度变异范围37.28~72.91, 平均值为61.07; *Pina-D1r/Pinb-D1a*基因型材料3份, 硬度变异范围55.56~68.66, 平均值为63.36; *Pina-D1s/Pinb-D1a*基因型材料1份, 硬度为61.80; *Pina-D1a/Pinb-D1b*基因型材料29份, 硬度变异范围35.53~69.83, 平均值为52.82; *Pina-D1a/Pinb-D1p*基因型材料9份, 硬度变异范围37.16~63.83, 平均值为56.06。5种硬度突变类型材料, 平均籽粒硬度依次为*Pina-D1r/Pinb-D1a* > *Pina-D1s/Pinb-D1a* > *Pina-D1b/Pinb-D1a* > *Pina-D1a/Pinb-D1p* > *Pina-D1a/Pinb-D1b*(图3)。

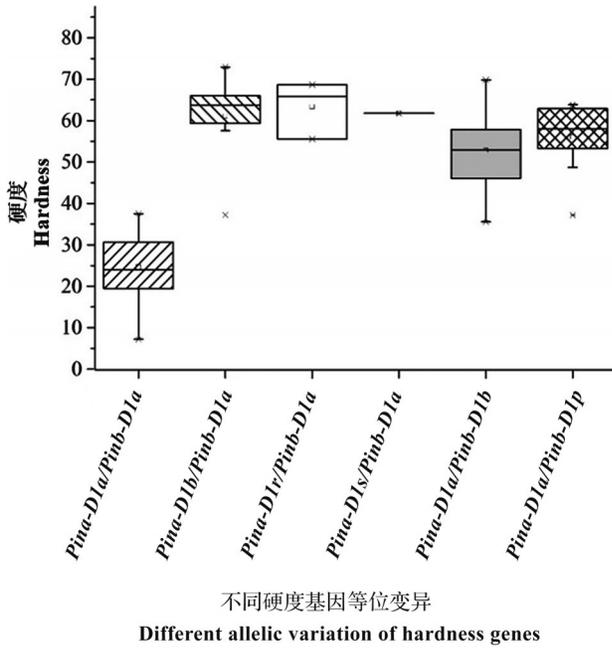
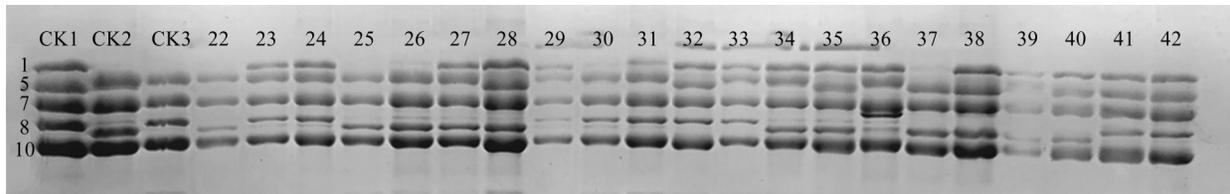


图 3 不同硬度基因等位变异类型籽粒硬度表现
Fig.3 Hardness of different *Puroindoline* genotypes

2.3 HMW-GS 和 SDS 沉淀值分析

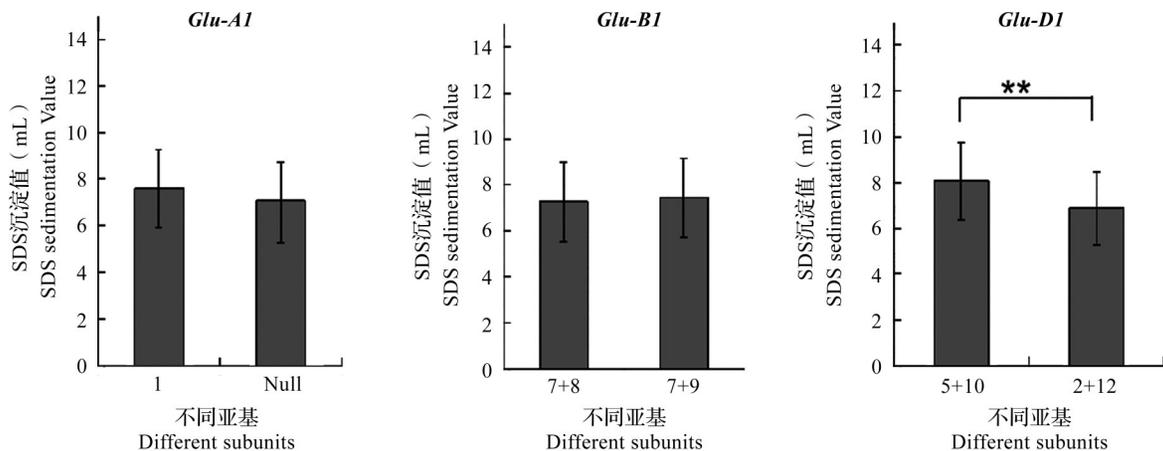
在 94 份供试材料中, 有 4 份材料未能确定亚基

类型, 其余 90 份材料, *Glu-A1* 位点, 表达 1 亚基的材料 48 份, 占检测出亚基材料的 53.33%, Null 材料 41 份, 占 45.56%, 1 份材料为 1^{G330E} 亚基; *Glu-B1* 位点, 表达 7+8 亚基的材料 43 份, 占 47.78%, 7+9 亚基材料 42 份, 占 46.67%, 3 份材料为 14+15 亚基, 1 份材料为 7^{OE}+8^{*} 亚基, 1 份材料为 6+8 亚基; *Glu-D1* 位点, 表达 2+12 亚基的材料 55 份, 占 61.11%, 5+10 亚基材料 35 份, 占 38.89% (图 4)。少数亚基在鉴定结果中占比较少, 难以客观反映品质情况, 因此选择比例较高的亚基类型 (*Glu-A1* 位点 1 和 Null 亚基、*Glu-B1* 位点 7+8 与 7+9 亚基、*Glu-D1* 位点 5+10 与 2+12 亚基) 进行微量 SDS 沉淀值分析, 结果表明 *Glu-A1* 位点 1 亚基与 Null 材料间 SDS 沉淀值无显著差异, *Glu-B1* 位点 7+8 与 7+9 亚基材料间无显著差异, *Glu-D1* 位点 5+10 亚基材料微量 SDS 沉淀值极显著大于 2+12 亚基材料 (图 5)。将软质材料和硬质材料分开, 对不同亚基的 SDS 沉淀值进行分析, 1 亚基与 Null 材料及 7+8 与 7+9 亚基仍无显著差异, 5+10 亚基 SDS 沉淀值依然显著大于 2+12 亚基 (数据未展示)。



CK1: 藁城 8901 (1, 7+8, 5+10); CK2: 扬麦 16 (Null, 7+9, 2+12); CK3: 中国春 (Null, 7+8, 2+12); 编号同表 2
CK1: Gaocheng 8901 (1, 7+8, 5+10); CK2: Yangmai 16 (Null, 7+9, 2+12); CK3: Chinese spring (Null, 7+8, 2+12); No. is same as table 2

图 4 部分品种 HMW-GS 的 SDS-PAGE 电泳图谱
Fig.4 SDS-PAGE profile of HMW-GS of part test materials



**表示 0.01 水平显著差异, 下同
**indicates significant difference at 0.01 level, the same as below

图 5 *Glu-1* 位点不同亚基 SDS 沉淀值
Fig.5 SDS sedimentation value of *Glu-1* different glutenin subunit

2.4 硬度基因 *Pin* 和 HMW-GS 等位变异组合

籽粒硬度和 SDS 沉淀值呈极显著正相关, 相关系数为 0.51 ($R^2=0.2573$)。 *Pin* 基因突变材料 SDS 沉淀值(平均 8.31 mL) 高于野生型材料(平均 6.24 mL) (图 6)。 HMW-GS 的 *Glu-A1*、 *Glu-B1* 位点内不同亚基 SDS 沉淀值无显著差异, *Glu-D1* 位点 5+10 亚基材料显著优于 2+12 亚基材料(图 5)。 因此, 对不同 *Pin* 基因和 *Glu-D1* 位点等位变异组合分析, 除 5 份云南铁壳麦材料和 4 份未确定 HMW-GS 组成的材料外, *Pin* 野生基因型/2+12、 *Pin* 野生基因型/5+10、 *Pin* 突变基因型/2+12、 *Pin* 突变基因型/5+10 亚基组合材料分别有 29 份、 10 份、 21 份和 25 份(表 3)。 在微量 SDS 沉淀值上, *Pin* 突变基因型/5+10 (平均 8.67 mL) > *Pin* 突变基因型/2+12 (平均 7.89 mL) > *Pin* 野生基因型/5+10 (平均 6.58 mL) > *Pin* 野生基因型/2+12 (平均 6.13 mL), 进一步表明硬度对 SDS 沉淀值影响大于 HMW-GS。 *Pin* 突变基因型/5+10 亚基组合硬度和 SDS 沉淀值最高, 以镇麦 9 号、 科兴 3302、 农麦 88、 龙麦 26 ($7^{OE}+8^*$) 和云麦 80

为代表。 *Pin* 野生基因型/2+12 组合 SDS 沉淀值最低, 以扬麦 13、 扬麦 15、 扬麦 19、 扬麦 34 和川麦 93 为代表。

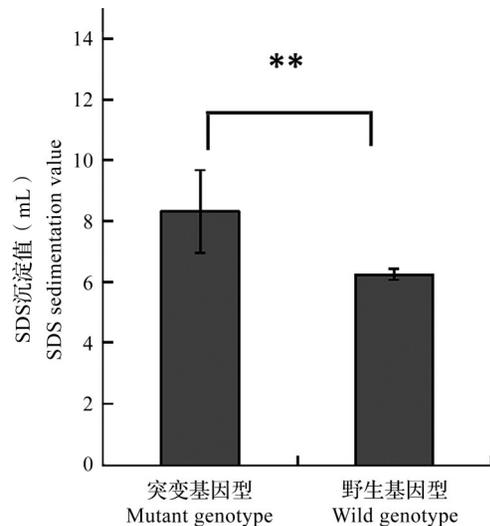


图 6 硬度基因突变基因型和野生基因型沉淀值

Fig.6 SDS sedimentation value of *Pin* mutant and wild genotype

表 3 不同硬度基因和 *Glu-D1* 位点不同 HMW-GSs 组合的品质表现

Table 3 Quality trait of different combination type with different hardness and HMW-GSs of *Glu-D1* locus

组合类型 Combination type	数量 No.	硬度 Hardness		SDS 沉淀值(mL) SDS sedimentation value	
		变幅 Range	平均值 Mean	变幅 Range	平均值 Mean
<i>Pin</i> 野生基因型/2+12 <i>Pin</i> wild genotype /2+12	29	7.21~37.53	25.21	4.50~11.75	6.13
<i>Pin</i> 野生基因型/5+10 <i>Pin</i> wild genotype /5+10	10	14.06~33.33	23.08	5.00~8.50	6.58
<i>Pin</i> 突变基因型/2+12 <i>Pin</i> mutant genotype /2+12	21	35.53~68.66	54.96	6.00~10.00	7.89
<i>Pin</i> 突变基因型/5+10 <i>Pin</i> mutant genotype /5+10	25	40.41~72.91	56.82	5.50~12.00	8.67

3 讨论

刘红美等^[27]报道白火麦的硬度基因型为 *Pinb-D1p*、 蚰子麦为 *Pinb-D1p*、 平原 50 为 *Pina-D1r*、 红和尚头为 *Pina-D1r*、 和尚头为 *Pina-D1r*、 望水白为 *Pina-D1r*、 江东门为 *Pina-D1r*。 张福彦^[23]报道陕 229 的硬度基因型为 *Pina-D1b*、 江东门为 *Pina-D1s*。 陈锋^[22]报道蚰子麦的硬度基因型为 *Pinb-D1p*、 陕 229 为 *Pinb-D1b*。 本研究鉴定白火麦的硬度基因型为 *Pina-D1r/Pinb-D1a*、 蚰子麦为 *Pina-D1s/Pinb-D1a*、 平原 50 为 *Pina-D1a/Pinb-D1p*、 红和尚头为 *Pina-D1a/Pinb-D1a*、 和尚头为 *Pina-D1a/Pinb-D1a*、 望水白为 *Pina-D1a/Pinb-D1a*、 陕 229 为 *Pina-D1a/Pinb-D1b*、 江东门为 *Pina-D1r/Pinb-D1a*、 与以前的报道不同。 存在差异的材料多为地方品种, 可能与来源不

同有关。 在供试的 94 份材料中有 50 份发生了硬度基因突变, 共包括 5 种突变类型, 分别为 *Pina-D1b/Pinb-D1a* (8 份)、 *Pina-D1r/Pinb-D1a* (3 份)、 *Pina-D1s/Pinb-D1a* (1 份)、 *Pina-D1a/Pinb-D1b* (29 份) 和 *Pina-D1a/Pinb-D1p* (9 份), 籽粒硬度依次为 *Pina-D1r/Pinb-D1a* > *Pina-D1s/Pinb-D1a* > *Pina-D1b/Pinb-D1a* > *Pina-D1a/Pinb-D1p* > *Pina-D1a/Pinb-D1b*。 不同硬度变异类型分布情况与已往研究结果一致, *Pinb-D1b* 类型在硬质麦中占主导地位。 多项研究均表明, *Pina-D1b* 硬度和吸水率显著高于 *Pinb-D1b* 类型, 但 *Pinb-D1b* 基因型磨粉品质、 馒头和面条以及面包加工品质优于 *Pina-D1b* 类型^[41-43]。 Ma 等^[44]采用 7 个近等基因系 (*Pinb-D1a~g*) 对不同硬度类型小麦品质性状分析, *Pinb-D1d* 类型磨粉品质较好, 而 *Pinb-D1e* 和 *Pinb-D1g* 面条加工品质相对较好。

王亮等^[25]研究表明 *Pina-D1b*、*Pinb-D1b*、*Pinb-D1p* 3 种基因型籽粒硬度无显著差异。刘红美等^[27]报道拥有 PIN-null 类型的小麦品种 SKCS 籽粒硬度显著高于 *Pinb-D1b* 和 *Pinb-D1p* 类型品种, 而后两者 SKCS 籽粒硬度无显著差异。

研究结果表明 *Glu-1* 三个位点品质效应为 *Glu-D1* > *Glu-B1* > *Glu-A1*^[45]。*Glu-A1* 位点的 1 或 2^{*} 亚基, *Glu-B1* 位点的 7+8、17+18、13+16、14+15、7^{OE} 亚基, *Glu-D1* 位点的 5+10 亚基对面筋强度和面包烘烤品质具有正向作用^[20, 46]。本研究结果表明 *Glu-A1* 位点的 1 亚基与 Null 亚基、*Glu-B1* 位点的 7+8 亚基与 7+9 亚基沉淀值相当, 但 *Glu-D1* 位点的 5+10 亚基沉淀值显著高于 2+12 亚基。刘会云等^[19]报道 *Glu-B1* 位点 7+8 与 7+9 品质效应相当; *Glu-D1* 基因位点具有上位效应, 只有与 *Glu-D1* 基因位点 5+10 亚基同时存在时, *Glu-A1* 基因位点 1 亚基才优于 Null。不同研究结果有所差异, 这可能是由于贮藏蛋白是一个由大基因家族编码的产物, 不仅考虑单个 HMW-GS 品质效应, 还要考虑不同亚基组合、亚基表达量以及 LMW-GS、醇溶蛋白组成和含量等。另外, 小麦品种携带 1B/1R 易位系, 面团粘性增加、面筋质量差, 加工品质变劣。

硬度和 HMW-GS 是影响小麦品质的重要因素, 本研究不同 *Pin* 基因和 *Glu-D1* 位点等位变异组合沉淀值依次为 *Pin* 突变基因型/5+10 > *Pin* 突变基因型/2+12 > *Pin* 野生基因型/5+10 > *Pin* 野生基因型/2+12, 表明硬度对 SDS 沉淀值影响大于 HMW-GS 组成。25 份 *Pin* 突变基因型/5+10 亚基组合材料可以用来进行中强筋小麦品质改良, 以镇麦 9 号、科兴 3302、农麦 88、龙麦 26 (7^{OE}+8^{*}) 和云麦 80 为代表, 同时科兴 3302 的 *Glu-A1* 位点携带优质亚基 1^{G330E}, 龙麦 26 (7^{OE}+8^{*}) 的 *Glu-B1* 位点携带优质亚基 7^{OE}。29 份 *Pin* 野生基因型/2+12 亚基组合材料可以用来进行弱筋小麦品质改良, 以扬麦 13、扬麦 15、扬麦 19、扬麦 34 和川麦 93 为代表。*Pin* 突变基因型/2+12 亚基组合和 *Pin* 野生基因型/5+10 亚基组合材料, 需进一步研究籽粒硬度和面筋强弱协调性及其加工适用性。通过聚合高硬度突变基因和优质谷蛋白亚基、选择非 1B/1R 易位类型, 注重面团强度和延展性协同改良, 培育优质中强筋和强筋小麦。目前有关不同硬度基因变异类型和不同 HMW-GS 组合品质效应的研究报道较少, 需继续研究不同硬度和 HMW-GS 变异类型及组合对磨粉品质和加工品质的影响, 为培育优质专用小麦品种提供理论依据。

参考文献

- [1] 陈锋, 李根英, 耿洪伟, 夏兰芹, 夏先春, 何中虎. 小麦籽粒硬度及其分子遗传基础研究回顾与展望. 中国农业科学, 2005, 38(6): 1088-1094
Chen F, Li G Y, Geng H W, Xia L Q, Xia X C, He Z H. Review and prospect of wheat kernel hardness and its molecular genetics basis. Scientia Agricultura Sinica, 2005, 38(6): 1088-1094
- [2] Chen F, Li H H, Cui D Q. Discovery, distribution and diversity of *Puroindoline-D1* genes in bread wheat from five countries (*Triticum aestivum* L.). BMC Plant Biology, 2013, 13: 125
- [3] Ma X, Sajjad M, Wang J, Yang W, Sun J, Li X, Zhang A, Liu D. Diversity, distribution of *Puroindoline* genes and their effect on kernel hardness in a diverse panel of Chinese wheat germplasm. BMC Plant Biology, 2017, 17(1): 158
- [4] Li X Y, Li Y, Zhang M Y, Yu X F, Hu R, Chang J L, Yang G X, Wang Y S, He G Y. Diversity of *Puroindoline* genes and their association with kernel hardness in Chinese wheat cultivars and landraces. Molecular Breeding, 2019, 39(4): 61
- [5] Morris C F. *Puroindolines*: The molecular genetic basis of wheat grain hardness. Plant Molecular Biology, 2002, 48(5-6): 633-647
- [6] Ikeda T M, Cong H, Suzuki T, Takata K. Identification of new *Pina* null mutations among Asian common wheat cultivars. Journal of Cereal Science, 2010, 51(3): 235-237
- [7] Chen F, He Z H, Xia X C, Xia L Q, Zhang X Y, Lillemo M, Morris C F. Molecular and biochemical characterization of *puroindoline a* and *b* alleles in Chinese landraces and historical cultivars. Theoretical and Applied Genetics, 2006, 112(3): 400-409
- [8] 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. Theoretical and Applied Genetics, 1997, 95(5-6): 857-864
- [9] Xia L Q, Chen F, He Z H, Chen X M, Morris C F. Occurrence of *puroindoline* alleles in Chinese winter wheats. Cereal Chemistry, 2005, 82(1): 38-43
- [10] Lillemo M, Morris C F. A leucine to proline mutation in *puroindoline b* is frequently present in hard wheats from Northern Europe. Theoretical and Applied Genetics, 2000, 100(7): 1100-1107
- [11] Morris C F, Lillemo M, Simeone M C, Giroux M J, Kidwell K K. Prevalence of *puroindoline* grain hardness genotypes among historically significant North American spring and winter wheats. Crop Science, 2001, 41(1): 218-228
- [12] Branlard G, Dardevet M. Diversity of grain protein and bread wheat quality: II. Correlation between high molecular weight subunits of glutenin and flour quality characteristics. Journal of Cereal Science, 1985, 3(4): 345-354
- [13] Weegels P L, Hamer R J, Schofield J D. Functional properties of wheat glutenin. Journal of Cereal Science, 1996, 23(1):

- 1-17
- [14] Shewry P R, Halford N G. Cereal seed storage proteins: Structures, properties and role in grain utilization. *Journal of Experimental Botany*, 2002, 53(370): 947-958
- [15] Payne P I. Genetics of wheat storage proteins and the effect of allelic variation of bread-making quality. *Annual Review of Plant Physiology*, 1987, 38(1): 141-153
- [16] Shewry P R, Tatham A S. The prolamin storage proteins of cereal seeds: Structure and evolution. *Biochemical Journal*, 1990, 267(1): 1-12
- [17] 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
- [18] Du X Y, Hu J M, Ma X, He J F, Hou W Q, Guo J, Bo C Y, Wang H W, Li A F, Kong L R. Molecular characterization and marker development for high molecular weight glutenin subunit 1Dy12** from Yunnan hulled wheat. *Molecular Breeding*, 2019, 39(4): 1-9
- [19] 刘会云, 刘畅, 王坤杨, 杜丽璞, 王轲, 余茂云, 叶兴国. 小麦高分子量麦谷蛋白亚基鉴定及其品质效应研究进展. *植物遗传资源学报*, 2016, 17(4): 701-709
Liu H Y, Liu C, Wang K Y, Du L P, Wang K, She M Y, Ye X G. Review on the identification and bread-making quality of high molecular weight glutenin subunits in wheat. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2016, 17(4): 701-709
- [20] 温亮, 龙小玲, 周正富, 雷振生. 小麦高分子量麦谷蛋白亚基基因功能标记研究进展. *分子植物育种*, 2020, 18(17): 5813-5819
Wen L, Long X L, Zhou Z F, Lei Z S. Review on functional markers for HMW-GS genes in wheat. *Molecular Plant Breeding*, 2020, 18(17): 5813-5819
- [21] Rasheed A, Jin H, Xiao Y G, Zhang Y, Hao Y F, Zhang Y, Hickey L T, Morgounov A I, Xia X C, He Z H. Allelic effects and variations for key bread-making quality genes in bread wheat using high-throughput molecular markers. *Journal of Cereal Science*, 2019, 39(4): 1-9
- [22] 陈锋. 中国和CIMMYT普通小麦*puroindoline*基因分子基础研究及其对加工品质的影响. 北京: 中国农业科学院, 2006
Chen F. Molecular characterization of *puroindoline* alleles in Chinese and CIMMYT common wheats and their effect on processing quality. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2006
- [23] 张福彦. 小麦籽粒硬度相关基因分子鉴定及PINA蛋白缺失分子机制研究. 郑州: 河南农业大学, 2011
Zhang F Y. Molecular identification of hardness-related genes and analysis of molecular mechanism of PINA null in bread wheat. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2011
- [24] 李根英, 夏先春, 何中虎, 孙其信, 黄承彦. 山东小麦籽粒硬度演变规律研究. *作物学报*, 2007, 33(8): 1372-1374
Li G Y, Xia X C, He Z H, Sun Q X, Huang C Y. Distribution of grain hardness and *puroindoline* alleles in landraces, historical and current wheats in Shandong province. *Acta Agronomica Sinica*, 2007, 33(8): 1372-1374
- [25] 王亮, 穆培源, 桑伟, 徐红军, 庄丽, 邹波. 新疆小麦品种籽粒硬度及*puroindoline*基因等位变异的分子检测. *麦类作物学报*, 2010, 30(1): 17-22
Wang L, Mu P Y, Sang W, Xu H J, Zhuang L, Zou B. Kernel hardness and allelic variations of *puroindoline* genes in Xinjiang wheat cultivars. *Journal of Triticeae Crops*, 2010, 30(1): 17-22
- [26] 张晶, 张晓科, 王可珍, 梁强, 付晓洁, 冯毅, 王瑞. 陕西小麦籽粒硬度及其基因型分析. *麦类作物学报*, 2011, 31(4): 666-671
Zhang J, Zhang X K, Wang K Z, Liang Q, Fu X J, Feng Y, Wang R. Distribution of grain hardness in Shanxi wheats and *puroindoline* genotypes of hard wheats. *Journal of Triticeae Crops*, 2011, 31(4): 666-671
- [27] 刘红美, 祝梓博, 田秋珍, 王永彦, 张灵然, 董中东, 赵磊, 崔党群, 陈锋. 中国黄淮麦区小麦籽粒硬度*Puroindoline*基因等位变异检测. *分子植物育种*, 2016, 14(10): 2700-2715
Liu H M, Zhu Z B, Tian Q Z, Wang Y Y, Zhang L R, Dong Z D, Zhao L, Cui D Q, Chen F. Detection of allelic variation of *Puroindoline* genes in collections of bread wheat from yellow and Huai wheat region. *Molecular Plant Breeding*, 2016, 14(10): 2700-2715
- [28] 王化敦, 高春蕾, 张鹏, 张瑜, 张平平, 马鸿翔. 长江中下游麦区小麦品种籽粒硬度及*puroindoline*基因等位变异的分子检测. *麦类作物学报*, 2017, 37(4): 438-444
Wang H D, Gao C L, Zhang P, Zhang Y, Zhang P P, Ma H X. Allelic variation of *puroindoline* alleles in bread wheats from lower-middle reaches of the Yangtze river. *Journal of Triticeae Crops*, 2017, 37(4): 438-444
- [29] 杨子博, 顾正中, 周羊梅, 王安邦, 高平中, 熊正海, 刘畅, 蒋学祥, 沈业松. 江苏淮东北地区小麦品种资源籽粒硬度基因等位变异的KASP检测. *麦类作物学报*, 2017, 37(2): 153-161
Yang Z B, Gu Z Z, Zhou Y M, Wang A B, Gao P Z, Xiong Z H, Liu C, Jiang X X, Shen Y S. Detection of allelic variation for grain hardness in Huaibei region of Jiangsu province by KASP markers. *Journal of Triticeae Crops*, 2017, 37(2): 153-161
- [30] 郭嫔, 赵惠贤, 张敏娟, 崔巍, 王爱娜, 郭嵩光. 国内外部分小麦品种HMW-GS组成的比较分析. *麦类作物学报*, 2007, 27(4): 649-653
Guo P, Zhao H X, Zhang M J, Cui W, Wang A N, Guo A G. Comparative analysis on the composition of high molecular weight glutenin subunits (HMW-GS) in some wheat cultivars from China and overseas. *Journal of Triticeae Crops*, 2007, 27(4): 649-653
- [31] 张玲丽, 李秀全, 杨欣明, 李洪杰, 王辉, 李立会. 小麦优良种质资源高分子量麦谷蛋白亚基组成分析. *中国农业科学*, 2006, 39(12): 2406-2414
Zhang L L, Li X Q, Yang X M, Li H J, Wang H, Li L H. High - Molecular - Weight glutenin subunit composition of

- Chinese wheat germplasm. *Scientia Agricultura Sinica*, 2006, 39(12): 2406-2414
- [32] 伍玲,董亚超,戴常军,李式昭,朱华忠. 长江上游小麦新品种(系)品质分析. *麦类作物学报*, 2020, 40(4): 444-454
Wu L, Dong Y C, Dai C J, Li S Z, Zhu H Z. Quality analysis of new wheat cultivars(lines) in the Upper Reaches of Yangtze River. *Journal of Triticeae Crops*, 2020, 40(4): 444-454
- [33] 单子龙, 班进福, 赵彦坤, 曹巧, 田国英, 何明琦, 高振贤. 河北省小麦品质相关基因的 KASP 标记检测. *作物杂志*, 2020, 197(4): 64-71
Shan Z L, Ban J F, Zhao Y K, Cao Q, Tian G Y, He M Q, Gao Z X. Detection of quality-related genes in the wheat varieties authorized in Hebei province by KASP markers. *Crops*, 2020, 197(4): 64-71
- [34] 权威, 马锦绣, 华正蓉, 左静红, 王伟伟, 王俊稳, 张立平, 庞斌双, 赵昌平. 我国部分审定小麦品种的品质性状及基因型分析. *植物遗传资源学报*, 2023, 24(3): 701-718
Quan W, Ma J X, Hua Z R, Zuo J H, Wang W W, Wang J W, Zhang L P, Pang B S, Zhao C P. Quality analysis in a collection of wheat varieties approved in China. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2023, 24(3): 701-718
- [35] 张晓, 张伯桥, 江伟, 吕国锋, 张晓祥, 李曼, 高德荣. 扬麦系列品种品质性状相关基因的分子检测. *中国农业科学*, 2015, 48(19): 3779-3793
Zhang X, Zhang B Q, Jiang W, Lv G F, Zhang X X, Li M, Gao D R. Molecular detection for quality traits-related genes in Yangmai series wheat cultivars. *Scientia Agricultura Sinica*, 2015, 48(19): 3779-3793
- [36] Murray M G, Thompson C L, Wendel J F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Research*, 1980, 8(19): 4321-4326
- [37] Li G, He Z, Lillemo M, Sun Q, Xia X. Molecular characterization of allelic variations at Pina and Pinb loci in Shandong wheat landraces, historical and current cultivars. *Journal of Cereal Science*, 2008, 47(3): 510-517
- [38] 张延滨, 祁适雨, 肖志敏, 辛文利, 高智, 韩方普. 适用于我国小麦品质育种的 SDS-PAGE 方法. *哈尔滨师范大学自然科学学报*, 1997, 13(5): 60-63
Zhang Y B, Qi S Y, Xiao Z M, Xin W L, Gao Z, Han F P. A practical SDS-PAGE method of HMW subunits of wheat gluten for quality breeding of wheat in China. *Natural Sciences Journal of Harbin Normal University*, 1997, 13(5): 60-63
- [39] Payne P I, Lawrence G J. Catalogue of alleles for the complex gene loci, Glu-A1, Glu-B1, and Glu-D1 which code for high-molecular-weight subunits of glutenin in hexaploid wheat. *Cereal Research Communications*, 1983, 11(1): 29-35
- [40] 张晓, 李曼, 江伟, 朱冬梅, 高德荣. 小麦三个品质性状微量检测方法的应用与评价. *麦类作物学报*, 2014, 34(12): 1651-1655
Zhang X, Li M, Jiang W, Zhu D M, Gao D R. Application and evaluation of three micro detection methods for process quality in wheat breeding. *Journal of Triticeae Crops*, 2014, 34(12): 1651-1655
- [41] Martin J M, Froberg R C, Morris C F, Talbert L E, Giroux M J. Milling and bread baking traits associated with puroindoline sequence type in hard red spring wheat. *Crop Science*, 2001, 41(1): 228-234
- [42] Cane K, Spackman M, Eagles H A. *Puroindoline* genes and their effects on grain quality traits in southern Australian wheat cultivars. *Australian Journal of Agricultural Research*, 2004, 55(1): 89-95
- [43] 陈锋, 董中东, 程西永, 詹克慧, 许海霞, 崔党群. 小麦 *puroindoline* 及其相关基因分子遗传基础研究进展. *中国农业科学*, 2010, 43(6): 1108-1116
Chen F, Dong Z D, Cheng X Y, Zhan K H, Xu H X, Cui D Q. Advances in research of molecular genetics of *Puroindoline* and its related genes in wheat. *Scientia Agricultura Sinica*, 2010, 43(6): 1108-1116
- [44] Ma D, Zhang Y, Xia X C, Morris C F, He Z H. Milling and Chinese raw white noodle qualities of common wheat near-isogenic lines differing in puroindoline b alleles. *Journal of Cereal Science*, 2009, 50(1): 126-130
- [45] Yang Y S, Li S M, Zhang K P, Dong Z Y, Li Y W, An X L, Chen J, Chen Q F, Jiao Z, Liu X, Qin H J, Wang D W. Efficient isolation of ion beam-induced mutants for homoeologous loci in common wheat and comparison of the contributions of Glu-1 loci to gluten functionality. *Theoretical and Applied Genetics*, 2014, 127(2): 359-372
- [46] 何中虎, 晏月明, 庄巧生, 张艳, 夏先春, 张勇, 王德森, 夏兰芹, 胡英考, 蔡民华, 陈新民, 阎俊, 周阳. 中国小麦品种品质评价体系建立与分子改良技术研究. *中国农业科学*, 2006, 39(6): 1091-1101
He Z H, Yan Y M, Zhuang Q S, Zhang Y, Xia X C, Zhang Y, Wang D S, Xia L Q, Hu Y K, Cai M H, Chen X M, Yan J, Zhou Y. Establishment of quality evaluation system and utilization of molecular methods for the improvement of Chinese wheat quality. *Scientia Agricultura Sinica*, 2006, 39(6): 1091-1101