

普通小麦籽粒*Tamyb10*基因等位变异的分子检测

陈杰¹, 陈锋¹, 詹克慧¹, 刘宝龙², 崔党群¹

(1. 河南农业大学农学院/河南省粮食作物生理生态与遗传改良国家重点实验室培育基地, 河南郑州 450002;

2. 中国科学院西北高原生物研究所, 青海西宁 810008)

摘要: 小麦*Tamyb10*基因决定着种皮颜色, 同时对穗发芽也具有一定影响。为了明确小麦种质的*Tamyb10*基因等位变异情况, 以122份普通小麦品种(系)为材料, 开发了能够直接检测B组染色体上*Tamyb10*基因等位变异的共显性标记, 并利用该标记及先前已报道的*Tamyb10*基因功能标记分别对参试小麦品种中3A、3B和3D染色体上*Tamyb10*基因位点上的等位变异类型进行了检测。结果发现, 参试材料中上述每一位点均发现有2种等位变异类型, 共有8种基因型组合。其中, 拥有*Tamyb10-A1a/Tamyb10-B1a/Tamyb10-D1a*基因型组合的小麦种皮表现为白色, 共有51份, 占供试材料总数的41.8%, 其余基因型组合种皮均表现红色, 分别为*Tamyb10-A1b/Tamyb10-B1a/Tamyb10-D1a*、*Tamyb10-A1a/Tamyb10-B1b/Tamyb10-D1a*、*Tamyb10-A1a/Tamyb10-B1a/Tamyb10-D1b*、*Tamyb10-A1b/Tamyb10-B1b/Tamyb10-D1a*、*Tamyb10-A1b/Tamyb10-B1a/Tamyb10-D1b*、*Tamyb10-A1a/Tamyb10-B1b/Tamyb10-D1b*和*Tamyb10-A1b/Tamyb10-B1b/Tamyb10-D1b*, 这些基因型材料共有71份, 占供试材料总数的58.2%。说明当*Tamyb10*基因在三个位点均为野生型时, 种皮颜色为白色; 而当任何一个位点发生突变时种皮颜色均表现为红色。

关键词: 普通小麦; *Tamyb10*基因; 种皮颜色; 功能标记

中图分类号: S512.1; S330

文献标识码: A

文章编号: 1009-1041(2013)02-0224-06

Allelic Variations of *Tamyb10* Gene Controlling Grain Color of Bread Wheat (*Triticum aestivum* L.)

CHEN Jie¹, CHEN Feng¹, ZHAN Ke-hui¹, LIU Bao-long², CUI Dang-qun¹

(1. College of Agronomy / Key Laboratory of Physiological Ecology and Genetic Improvement of Food Crops in Henan Province, Henan Agricultural University, Zhengzhou, Henan 450002, China; 2. The Northwest Institute of Plateau Biology, the Chinese Academy of Sciences, Xining, Qinghai 810008, China)

Abstract: The *Tamyb10* genes play an important role for controlling the grain color and also have some influence on preharvest sprouting in bread wheat. In this study, the codominant marker T3B-2 was developed for detection of *Tamyb10-B1* allele in bread wheat. The new marker T3B-2 and the *Tamyb10* functional markers reported previously were used to identify allelic variation on the *Tamyb10-A1*, *Tamyb10-B1* and *Tamyb10-D1* loci in bread wheat varieties or advanced lines surveyed, respectively. The results showed that there were two haplotypes on each *Tamyb10* locus and eight allelic combinations of *Tamyb10* were totally found in bread wheat surveyed. Of them, *Tamyb10-A1a/Tamyb10-B1a/Tamyb10-D1a* possessing 41.8% of the total number of cultivars surveyed show the

收稿日期: 2012-10-25

修回日期: 2013-01-06

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(973计划)项目(2009CB118301); 国家科技支撑计划项目(2011BAD07B01); 河南省高校青年骨干教师资助计划项目(2011GGJS-044)。

作者简介: 陈杰(1987-), 男, 硕士研究生, 主要从事小麦遗传育种研究。E-mail: 465460728@qq.com

通讯作者: 陈锋(1978-), 男, 教授, 主要从事小麦遗传育种研究。E-mail: chf0088@sina.com.cn

詹克慧(1964-), 男, 教授, 主要从事小麦遗传育种研究。E-mail: kh486@163.com

white grain color and remaining seven allelic combinations accounting for 58.2% show red grain color, i. e. *Tamyb10-A1b /Tamyb10-B1a /Tamyb10-D1a*, *Tamyb10-A1a /Tamyb10-B1b /Tamyb10-D1a*, *Tamyb10-A1a /Tamyb10-B1a /Tamyb10-D1b*, *Tamyb10-A1b /Tamyb10-B1b /Tamyb10-D1a*, *Tamyb10-A1b /Tamyb10-B1a /Tamyb10-D1b*, *Tamyb10-A1a /Tamyb10-B1b /Tamyb10-D1b* and *Tamyb10-A1b /Tamyb10-B1b /Tamyb10-D1b*. It suggests that cultivars with wild-type *Tamyb10* at three loci show white grain color and cultivars with at least one mutant of *Tamyb10* at three loci show red grain color. This study could provide useful information for screening relatively superior germplasms.

Key words: Bread wheat; *Tamyb10* gene; Grain color; Functional marker

种皮颜色是影响面粉色泽的重要因素之一,根据种皮颜色小麦可以分为白麦和红麦。白麦皮薄,种皮色浅,胚乳色泽洁白,麦皮混入面粉内对比不明显,因此加工出的面粉色泽相对较好。红麦种皮呈棕红色,种皮混入面粉内对比很明显,影响面粉色泽。Park等^[1]认为在同样出粉率的情况下,红皮小麦的面粉色泽明显比白皮小麦要差。万富世等^[2]指出,籽粒颜色对面粉白度有一定影响,当生产低精度面粉时,红白皮小麦面粉白度无差异,而当生产高精度面粉时,红皮小麦较白皮小麦面粉白度差。宗学风等^[3]研究表明,小麦籽粒颜色与其抗氧化活性之间存在着非常密切关系,红粒小麦的抗活性氧活力显著高于白粒小麦。小麦籽粒的颜色还是影响穗发芽的重要因素之一,一般情况下红粒小麦比白粒小麦具有更强的穗发芽抗性^[4-6]。

小麦籽粒颜色主要受位于3A、3B和3D染色体长臂上的*Tamyb10*基因控制,该基因具有一因多效的功能,与小麦的穗发芽抗性也具有密切关系^[4-8]。小麦籽粒的红色素是多酚化合物即红粉或原花色素,它是通过类黄酮生物合成途径合成的^[9]。Himi等^[10-11]检测了发育小麦籽粒类黄酮途径中的4个基因的表达(即查耳酮合成酶、查耳酮同功酶、黄烷酮3-羟化酶和黄烷酮醇4-还原酶),发现与红粒小麦相比白粒小麦中这几个基因的表达显著降低。进一步研究结果表明,位于3号染色体上的*Tamyb10*基因是类黄酮合成基因的转录活化剂^[12]。之后,他们分别从小麦3A、3B和3D染色体长臂上克隆出了*Tamyb10-A1*, *Tamyb10-B1*和*Tamyb10-D1*基因,并发现该基因主要在发育中的种子中表达。

目前国内尽管已经报道了小麦种子表皮颜色与其他性状的关系,但关于控制种皮颜色的基因及其等位变异研究仍未见报道。本研究以122份小麦品种(系)为材料,开发了共显性分子标记,并

结合已知标记对*Tamyb10*基因型进行了鉴定,旨在为我国以籽粒颜色为目标性状的种质资源改良提供参考信息。

1 材料与方法

1.1 供试材料

选用河南农业大学小麦遗传育种研究室收集的122份小麦品种(系)(表1)为参试材料,其中61份为春麦,61份为冬麦。这些材料能够初步反映我国冬春麦区小麦种质资源的变异情况。试验材料分别于2010—2011和2011—2012年度种植于河南农业大学科教示范试验园区。每小区长2 m,划分为12行,行间距为23 cm。每个品种(系)种植2行(每小区种植6个材料),田间管理按当地试验田进行,抽穗后去杂,适时收获,自然干燥。所有供试材料均无倒伏和穗发芽现象出现。

1.2 PCR扩增和电泳分析

参试材料基因组DNA提取方法中,从叶片中提取参照Lagudah等^[13],从种子中提取则参照Chen等^[14]方法进行,并稍作修改。

特异引物的目的片段扩增在PCR扩增仪MJ Research PTC-200 PCR或ABI 9700上进行。PCR反应体系为25 μ L,分别包括1 \times PCR缓冲液(10 mmol \cdot L⁻¹ Tris-HCl, pH 9.0, 50 mmol \cdot L⁻¹ KCl, 1.0% Triton X-100), 1.5 mmol \cdot L⁻¹ MgCl₂, 0.3 mmol \cdot L⁻¹ dNTP, 上、下游引物各10 pmol \cdot L⁻¹, 0.5 U *Taq* 酶, 模板DNA 100 ng。扩增程序为94 $^{\circ}$ C预变性5 min; 94 $^{\circ}$ C变性30 s, 61或64 $^{\circ}$ C退火30 s(详见表2), 72 $^{\circ}$ C延伸1 min, 循环35次; 最后72 $^{\circ}$ C延伸7 min。

PCR扩增产物在含有溴化乙锭(EB)的2%琼脂糖凝胶上进行电泳分离检测,缓冲液体系为1 \times TBE的溶液,180 V电压电泳30 min,在Alpha Imager HP凝胶成像系统上扫描成像并存入计算机。

表 1 参试小麦品种(系)的种皮颜色表现型和基因型

Table 1 Phenotypes and genotypes on grain color of bread wheat cultivars surveyed

品种(系)	种皮颜色	<i>Tamyb10-A1</i>	<i>Tamyb10-B1</i>	<i>Tamyb10-D1</i>	品种(系)	种皮颜色	<i>Tamyb10-A1</i>	<i>Tamyb10-B1</i>	<i>Tamyb10-D1</i>
高原 932	红	b	a	a	京花 7 号	红	b	a	a
高原 314	白	a	a	a	泰山 24	白	a	a	a
高原 363	红	b	a	a	汶农 6 号	白	a	a	a
高原 584	红	b	a	a	济南 17	红	b	a	a
高原 448	红	b	a	a	山东优麦 3 号	白	a	a	a
青春 587	白	a	a	a	北农 66	白	a	a	a
青春 891	红	b	a	b	淄麦 12	红	b	a	a
青春 952	白	a	a	a	泰山 21	白	a	a	a
高原 506	白	a	a	a	烟农 23	红	b	a	a
高原 466	白	a	a	a	济麦 22	红	b	a	a
高原 465	白	a	a	a	临麦 4 号	白	a	a	a
高原 356	白	a	a	a	烟农 5158	红	b	a	a
高原 205	白	a	a	a	烟农 5286	红	b	a	a
高原 V028	红	a	b	a	薰优 9618	白	a	a	a
高原 175	白	a	a	a	晶白麦 1 号	白	a	a	a
高原 182	白	a	a	a	科农 1093	白	a	a	a
高原 913	白	a	a	a	科农 213	白	a	a	a
高原 158	白	a	a	a	河农 9206	白	a	a	a
互助红	红	a	b	a	洛旱 6 号	白	a	a	a
互麦 11	红	a	b	b	鹤麦 1 号	白	a	a	a
互麦 12	红	a	b	b	濮优 866	白	a	a	a
互麦 13	红	a	b	a	CA9722	红	b	a	a
互麦 14	红	b	a	a	保丰 104	红	b	a	b
互麦 15	红	b	b	a	藟冬 3097	红	b	a	b
民和 853	红	a	b	a	津强 5 号	红	b	a	a
民和 588	白	a	a	a	津引 159	红	b	a	a
民和 665	红	b	a	a	京 9428	红	a	a	b
乐麦 5 号	红	b	a	a	京冬 11 号	红	b	a	b
高原 602	红	b	a	b	京冬 17	白	a	a	a
青农 469	红	b	a	b	京冬 24 号	红	b	a	b
新哲 9 号	红	a	a	b	京花 9 号	红	a	a	b
青春 415	红	b	a	a	京垦 49	红	b	a	a
青春 570	白	a	a	a	京麦 9158	白	a	a	a
青春 37	白	a	a	a	京生麦 1 号	红	b	a	a
青春 38	红	b	a	b	农大 135	红	b	a	a
青春 39	红	b	b	a	农大 179	红	b	a	a
青春 533	红	b	a	a	农大 211	红	b	a	a
青春 944	红	b	a	b	农大 212	红	b	a	a
香农 3 号	红	a	b	a	农大 3214	白	a	a	a
柴春 018	红	b	a	b	农大 3251	红	b	a	a
柴春 044	红	a	b	b	农大 3432	白	a	a	a
柴春 236	红	a	a	b	农大 3488	白	a	a	a
柴春 901	白	a	a	a	农大多系 1 号	红	b	a	a
瀚海 304	红	a	a	b	石家庄 8 号	白	a	a	a
山阜 901	白	a	a	a	烟农 19	红	b	a	a
墨波	白	a	a	a	中麦 12	红	b	a	a
墨引 1 号	白	a	a	a	中麦 175	白	a	a	a
墨引 2 号	红	b	b	a	中麦 24	红	b	a	a
张春 811	红	b	a	b	中麦 533	红	b	a	a
通麦 1 号	红	b	b	a	中优 206	红	b	a	a
干春 20	白	a	a	a	中优 335	白	a	a	a
曹选 5 号	白	a	a	a	中优 9507	白	a	a	a
东春 1 号	红	a	a	b	济宁 13	白	a	a	a
兰天 3 号	红	b	b	a	济麦 19	白	a	a	a
源桌 3 号	白	a	a	a	莱州 95021	白	a	a	a
高原 671	红	b	a	a	潍麦 7 号	白	a	a	a
高原 142	白	a	a	a	邯 6172	白	a	a	a
高原 412	红	a	a	b	济麦 20	红	b	a	a
香农 524	红	b	b	b	汶农 5 号	白	a	a	a
宁春 26	红	a	a	b	济麦 21	红	b	a	a
阿勃	红	b	a	a	京冬 20	红	b	a	a

a 表示基因型为*Tamyb10-A1a* (CS type)、*Tamyb10-B1a* 或*Tamyb10-D1a*; b 表示基因型为*Tamyb10-A1b*、*Tamyb10-B1b*或*Tamyb10-D1b*。

1.3 标记的开发和引物的选择

*Tamyb10-A1*位点等位变异检测利用 Himi 等^[12]开发的功能性标记 T3A-1、T3A-2 和 T3A-3。其中, T3A-1 是一个显性标记,在具有 *Tamyb10-A1b* (GenBank 登录号为 AB599721) 类型等位基因的材料中可以扩增出 665 bp 的片段; T3A-2 也是一个显性标记,在具有 *Tamyb10-A1a* (CS type) (GenBank 登录号为 AB191458) 类型等位基因的材料中可以扩增出 536 bp 的片段; T3A-3 是一个共显性功能标记,它是用来检测具有 *Tamyb10-A1a* (No17 type) (GenBank 登录号为 AB612263) 类型的等位基因。与 *Tamyb10-A1a* (CS type) 不同的是, *Tamyb10-A1a* (No17 type) 类型材料中 *Tamyb10-A1* 基因第二内含子有一个 2.2 kb 的片段插入,因此利用 T3A-3 标记可以扩增出 2 750 bp 的片段,而在非 *Tamyb10-A1a* (No17 type) 等位基因型的材料中则可以扩增出 565 bp 的片段(图 1)。

*Tamyb10-B1*位点目前发现有两种等位基因: *Tamyb10-B1b* (GenBank 登录号为 AB599722) 类型等位基因和 *Tamyb10-B1a* (GenBank 登录号为 AB191459) 类型等位基因,两者之间在第三外显子上存在一个 19 bp 的差异。由于 Himi 等^[12]开发的标记 T3B-1 目的片段较大,而两种基因型间差异较小,在琼脂糖凝胶上检测结果并不理想。因此,利用 Genbank 上公布的基因序列 AB 599722 和 AB191459,我们重新开发了一个共显性标记 T3B-2,利用这个标记在具有 *Tamyb10-B1b* 类型等位基因的材料中可以扩增出 183 bp 的片段,在具有 *Tamyb10-B1a* 类型等位基因的材料中可以扩增出 164 bp 的片段,并且在琼脂糖凝胶

电泳上很容易检测到二者之间的差异(图 2),同时,利用已经 T3B-1 标记鉴定出的材料对新开发的标记 T3B-2 进行验证,发现二者结果完全一致。

*Tamyb10-D1*位点等位变异检测利用 Himi 等^[12]开发的标记 T3D-1。T3D-1 是一个显性功能标记,在具有 *Tamyb10-D1b* (GenBank 登录号为 AB191460) 类型等位基因的材料中可以扩增出 1 353 bp 的片段,扩增不出任何带型的材料则认为是 *Tamyb10-D1a* 类型等位基因(图 3)。

引物设计采用 Primer Premier 5.0 软件,序列比对采用 DNAMAN version 6.0 进行。引物序列、退火温度、PCR 扩增片段大小及其目标等位变异见表 2。所有引物均由上海生工生物工程技术服务有限公司合成。

2 结果与分析

2.1 不同位点 *Tamyb10* 基因的等位变异

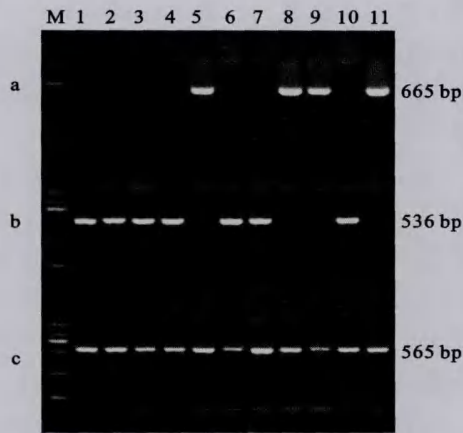
分别采用 T3A-1、T3A-2 和 T3A-3 标记对参试的 122 份小麦材料在 3A 染色体进行分子检测,部分材料的检测结果如图 1 所示。*Tamyb10-A1*位点检测结果(表 1)表明,所有参试材料中,有 54 份属于 *Tamyb10-A1b* 类型等位基因,68 份属于 *Tamyb10-A1a* (CS type) 类型等位基因,分别占样品总数的 44.3% 和 55.7%。在这批材料中没有发现 *Tamyb10-A1a* (No17 type) 类型的等位基因。

采用新开发的 T3B-2 标记对参试材料在 3B 染色体进行分子检测,部分材料的检测结果如图 2 所示。*Tamyb10-B1*位点检测结果(表 1)表明,所有参试材料中,有 14 份属于 *Tamyb10-B1b* 类型

表 2 鉴定不同位点 *Tamyb10* 基因所需引物一览表

Table 2 Primers for identification of different *Tamyb10* loci

标记	引物序列(5'-3')	退火温度/℃	扩增片段/bp	目标等位变异
T3A-1	F: CTATGTGGATGGCCTTGGAT R: CTACCAGCTCGTTTGGGAAG	64	665	<i>Tamyb10-A1b</i>
T3A-2	F: TTTCAATCGAGTGGGCATAA R: CCTGACGATGAGCTCCTCTT	61	536	<i>Tamyb10-A1a</i> (CS type)
T3A-3	F: TCCCTACATGGGAGACAGAGA R: TGTATCACATGCTGATCCTGA	61	2 750/565	<i>Tamyb10-A1a</i> (No17 type) / <i>Tamyb10-A1b</i> 或者 <i>Tamyb10-A1a</i> (CS type)
T3B-1	F: AGCAAGAGGAACCTGCAGTC R: GATGCCCTCCAGATCAAGGT	61	282/263	<i>Tamyb10-B1b</i> / <i>Tamyb10-A1a</i>
T3B-2	F: AGGAACCTGCAGTCTCACGG R: CTCGTGAACCCCTCTGCCT	61	183/164	<i>Tamyb10-B1b</i> / <i>Tamyb10-A1a</i>
T3D-1	F: TAGGCCAACACCTTCTAAACG R: AGGCACACCAGCTTATTTGG	64	1 353	<i>Tamyb10-D1b</i>



M: DL2000; 1: 青春 952; 2: 高原 205; 3: 柴春 901; 4: 墨波; 5: 高原 448; 6: 高原 V028; 7: 柴春 236; 8: 青春 39; 9: 青春 38; 10: 柴春 044; 11: 香农 524。下同。

图 1 T3A-1(a)、T3A-2(b)和 T3A-3(c) 特异性标记的 PCR 扩增结果

Fig. 1 PCR amplification of allele-specific markers T3A-1(a), T3A-2(b) and T3A-3(c)

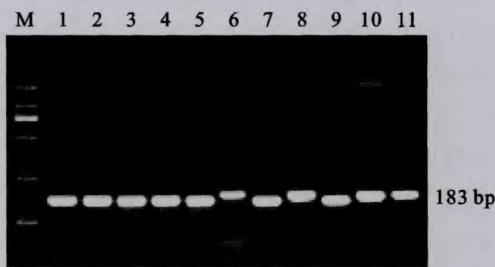


图 2 T3B-2 特异性标记的 PCR 扩增结果

Fig. 2 PCR amplification of allele-specific marker T3B-2

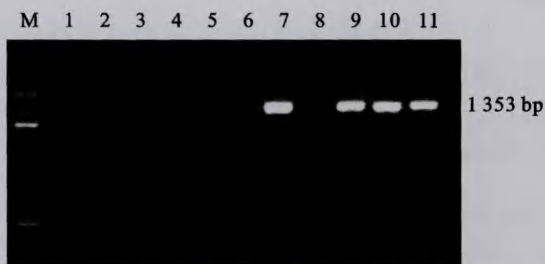


图 3 T3D-1 特异性标记的 PCR 扩增结果

Fig. 3 PCR products amplified by T3D-1 specific PCR marker

等位基因, 108 份属于 *Tamyb10-B1a* 类型等位基因, 分别占样品总数的 11.5% 和 88.5%。

采用 T3D-1 标记对 122 份参试材料在 3D 染色体进行分子检测, 部分材料的检测结果如图 3 所示。 *Tamyb10-D1* 位点检测结果(表 1)表明, 所有参试材料中, 有 33 份属于 *Tamyb10-D1b* 类型等位基因, 89 份属于 *Tamyb10-D1a* 类型等位基因, 分别占样品总数的 27% 和 73%。

2.2 *Tamyb10* 基因型组合及其与种皮颜色的关系

参试材料种皮颜色调查结果见表 1。由表 1 可以看出, 所有的白粒小麦 *Tamyb10-A1*、 *Tamyb10-B1* 和 *Tamyb10-D1* 位点均表现为野生型(即等位基因均为 a); 而当其中一个位点发生突变时, 其籽粒颜色均表现为红色。

在这 122 份参试材料中, 一共检测出 8 种基因型组合(表 3), 其中与白色籽粒相关的基因型组合 *Tamyb10-A1a/Tamyb10-B1a/Tamyb10-D1a* 数目最多, 占供试材料总数的 41.8%, 与红色籽粒相关的基因型组合 *Tamyb10-A1b/Tamyb10-B1b/Tamyb10-D1b* 最少, 仅占供试材料总数的 0.8%, 其他 6 种与红色籽粒相关的基因型组合分别占供试材料总数的 31.2%、4.9%、6.6%、4.1%、9%、1.6%。

表 3 参试材料 *Tamyb10* 基因型的分布

Table 3 Frequency of *Tamyb10* allelic combination in bread wheat surveyed

基因型组合	种皮颜色	样品数	频率 / %
<i>Tamyb10-A1a/Tamyb10-B1a/Tamyb10-D1a</i>	白	51	41.8
<i>Tamyb10-A1b/Tamyb10-B1a/Tamyb10-D1a</i>	红	38	31.2
<i>Tamyb10-A1a/Tamyb10-B1b/Tamyb10-D1a</i>	红	6	4.9
<i>Tamyb10-A1a/Tamyb10-B1a/Tamyb10-D1b</i>	红	8	6.6
<i>Tamyb10-A1b/Tamyb10-B1b/Tamyb10-D1a</i>	红	5	4.1
<i>Tamyb10-A1b/Tamyb10-B1a/Tamyb10-D1b</i>	红	11	9.0
<i>Tamyb10-A1a/Tamyb10-B1b/Tamyb10-D1b</i>	红	2	1.6
<i>Tamyb10-A1b/Tamyb10-B1b/Tamyb10-D1b</i>	红	1	0.8

3 讨论

基因功能性标记可大大提高分子标记选择辅助育种的效率和准确度, 其开发与应用是小麦分子育种的重要方向^[15]。本研究选用的功能标记 T3A-1、T3A-2、T3A-3 和 T3D-1 稳定性好, 扩增条带清晰, 能够准确鉴定出 *Tamyb10-A1* 和 *Tamyb10-D1* 位点的等位变异类型。另外, 本实验中设计的用于鉴定 *Tamyb10-B1* 位点等位变异的标记 T3B-2, 扩增出的目的片段较小, 在琼脂糖上很容易区分出 *Tamyb10-B1a* 和 *Tamyb10-B1b* 两种等位变异。所以, 本研究所用的标记可以直接用于 *Tamyb10* 基因的标记辅助选择。

到目前为止, *Tamyb10-D1* 基因上的隐性等位基因 *Tamyb10-D1a* 的序列还没有被克隆出来, 这可能是由于该类型品种的 *Tamyb10-D1* 位点有一个较大的插入或缺失所致, 也可能是用于克隆这个等位基因的引物位点存在着较大差异^[15]。根

据本实验室的结果,笔者更倾向于后者。普通小麦是异源六倍体(AABBDD),基因组庞大、重复序列多^[16-18]。3A和3B染色体上的等位基因对*Tamyb10-D1a*等位基因的克隆造成一定的干扰,所以还需要提高用于克隆的引物的特异性。克隆出*Tamyb10-D1*基因上的隐性等位基因*Tamyb10-D1a*的序列,并且设计相应的功能标记,将是下一步研究*Tamyb10*基因的重点之一。

目前,关于小麦种皮颜色的表型测定主要通过目测方法。肉眼目测法是对种皮外观颜色直接进行评定,这种方法容易操作,可以直接用于田间选择。但是肉眼目测法不能对种皮颜色的深浅程度进行较为精确的量化,存在着诸多局限性。因此,进一步利用或开发一些能够精确测量小麦种皮颜色的仪器或设备非常必要,如利用改进后的比色计或色差仪进行种皮颜色的量化测定,则能够对不同等位基因的效应大小进行分析。

小麦种皮颜色除对面粉颜色产生重要影响外,与穗发芽和种子休眠也密切相关^[5-6,10]。种皮的颜色是通过类黄酮生物合成途径合成的,白粒小麦在这个途径中的表达下降了,因而红粒小麦总体表现出比白粒小麦更高的穗发芽抗性^[9-11]。在*Tamyb10-A1*、*Tamyb10-B1*和*Tamyb10-D1*位点上,三个隐形等位基因*Tamyb10-A1a*(55.7%)、*Tamyb10-B1a*(88.5%)和*Tamyb10-D1a*(73.0%) 在参试材料中的分布频率都分别高于三个显性等位基因*Tamyb10-A1b*(44.3%)、*Tamyb10-B1b*(11.5%)和*Tamyb10-D1b*(27.0%)的分布频率,这就导致与白色籽粒相关的基因型组合*Tamyb10-A1a/Tamyb10-B1a/Tamyb10-D1a*(41.8%)在参试材料中的分布频率明显高于其它7种与红色籽粒相关的基因型组合。为了提高小麦穗发芽抗性,在今后的育种工作中应考虑*Tamyb10-A1a*、*Tamyb10-B1a*和*Tamyb10-D1a*等位基因的影响,优先选择上述三个位点发生突变材料,以利于选育有较高穗发芽抗性的品种。另外,本研究中尽管白粒小麦基因型组合只有一种,而红粒小麦基因型组合有7种,但7种红粒小麦基因型组合所表现出的种皮颜色深度不同,同时其穗发芽抗性可能也有一定差异。因此,本研究所鉴定出来的具有不同基因型的小麦材料能够为以籽粒颜色为目标性状的种质资源改良提供一定信息。

参考文献:

- [1] 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.
- [2] 万富世, 王光瑞, 李宗智. 我国小麦品质现状及其改良目标初探[J]. 中国农业科学, 1989, 22(3): 14-21.
- [3] 宗学凤, 张建奎, 李帮秀, 等. 小麦籽粒颜色与抗氧化作用[J]. 作物学报, 2006, 32(2): 237-242.
- [4] Flintham J E. Different genetic components control coat-imposed and embryo-imposed dormancy in wheat[J]. Seed Science Research, 2000, 10: 43-50.
- [5] Warner R L, Kudrna D A, Spaeth S C, et al. Dormancy in white-grain mutants of Chinese Spring wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. Seed Science Research, 2000, 10: 51-60.
- [6] Himi E, Mares D J, Yanagisawa A, et al. Effect of grain colour gene (R) on grain dormancy and sensitivity of the embryo to abscisic acid (ABA) in wheat[J]. Journal of Experimental Botany, 2002, 53: 1569-1574.
- [7] McIntosh R A, Hart G E, Devos K M, et al. Catalogue of gene symbols for wheat[C]//In: Proceedings of the ninth international wheat genetics symposium, University of Saskatchewan Extension Press, Canada, 1998.
- [8] Derera N F, Bhatt G M, McMaster G J. On the problem of pre-harvest sprouting of wheat[J]. Euphytica, 1977, 26: 299-308.
- [9] Himi E, Nisar A, Noda K. Colour genes (R and Rc) for grain and coleoptile upregulate flavonoid biosynthesis genes in wheat[J]. Genome, 2005, 48(4): 747-754.
- [10] Himi E, Noda K. Isolation and location of three homoeologous dihydroflavonol-4-reductase (DFR) genes of wheat and their tissue-dependent expression[J]. Journal of Experimental Botany, 2004, 55: 365-375.
- [11] Himi E, Noda K. Red grain colour gene (R) of wheat is a mybtype transcription factor[J]. Euphytica, 2005, 143: 239-242.
- [12] Himi E, Maekawa M, Miura H, et al. Development of PCR markers for *Tamyb10* related to R-1, red grain color gene in wheat[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2011, 122: 1561-1576.
- [13] 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.
- [14] Chen F, Xu H X, Zhang F Y, et al. Physical mapping of puroindoline b-2 genes and molecular characterization of a novel variant in durum wheat (*Triticum turgidum* L.) [J]. Molecular Breeding, 2011, 28: 153-161.
- [15] Bagge M, Xia X C, Lobberstedt T. Functional marker in wheat[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2007, 10: 211-216.
- [16] Arumuganathan K, Earle E D. Nuclear DNA content of some important plant species[J]. Plant Molecular Biology Report, 1991, 9: 208-218.
- [17] Yahiaoui N, Srichumpa P, Dudler R, et al. Genome analysis at different ploidy levels allows cloning of the powdery mildew resistance gene *Pm3b* from hexaploid wheat[J]. Plant Journal, 2004, 37: 528-538.
- [18] Flavell R B, Bennett M D, Smit h J B, et al. Genome size and proportion of repeated nucleotide sequence DNA in plant[J]. Biochemical Genetics, 1974, 12: 257-269.