

小麦子粒硬度与 *Puroindoline* 基因关系研究进展

权文利^{1,2} 刘永安³ 陈志国¹

(¹ 中国科学院西北高原生物研究所, 810008, 青海西宁; ² 中国科学院大学, 100049, 北京; ³ 温州农业科学院, 325006, 浙江温州)

摘要 子粒硬度是决定小麦市场分类及其最终质量的重要特征之一。根据硬度的不同, 可以将小麦分为三个硬度等级: 软麦、混合麦、硬麦。不同硬度等级的小麦具有不同的使用价值。*Puroindoline* 基因是控制小麦子粒硬度的主要遗传因子。着重阐述了小麦子粒硬度的分子遗传基础, 使人们更好地了解 *Puroindoline* 基因突变对子粒硬度的影响, 为今后小麦的育种工作提供更好的科学依据。

关键词 小麦; 子粒硬度; *Puroindoline* 基因

小麦是世界上一半人口的主要粮食作物。子粒硬度是决定小麦质量的重要因素之一, 对小麦的磨粉、烘烤以及最终产品的质量具有很大的影响。根据子粒硬度, 小麦一般被分为硬质小麦和软质小麦。硬质小麦含有较高的面团伸缩性, 面粉颗粒度大、破损淀粉含量高, 具有较强的吸水能力, 适合制作面包和优质面条等食品; 而软质小麦面粉颗粒度较小、破损淀粉含量低, 吸水能力较弱, 适合于制作饼干、酥饼或蛋糕等甜点类食品^[1]。

子粒硬度是由位于 5D 染色体短臂末端上的 *Ha* 位点控制的^[2-3]。该位点大约有 82 000bp^[4], 主要由 *Pina*、*Pinb* 结构基因及 *Gsp-1* 基因组成。Friabilin 蛋白的发现使人们第一次开始对子粒结构的分子遗传基础进行研究。Friabilin 是大小为 15kDa 的蛋白质复合体, 主要由 *Pina-D1* (*Pina*) 和 *Pinb-D1* (*Pinb*) 基因所编码的 PINA 和 PINB 两种蛋白组成。当 *Pina* 和 *Pinb* 均为野生型 (*Pina-D1 a*/*Pinb-D1 a*) 时, 小麦表现为软质胚乳结构; 当两者中的任何一个发生缺失或突变, 胚乳结构则由软质变为硬质。

作者简介: 权文利, 在读硕士, 从事小麦遗传育种研究

陈志国为通信作者, 研究员, 从事小麦遗传育种和栽培研究

基金项目: 国家农业科技技术成果转化资金项目 (2011GB24910002);

中国科学院科技支新项目 (2010 年度); 国家水利部“948”

“植物节水体系研究技术引进”项目 (201223)

收稿日期: 2012-09-29; 修回日期: 2012-11-28

Pina 和 *Pinb* 基因存在于六倍体小麦及其二倍体祖先的 D-基因组中。而在四倍体硬质小麦 (*Durum wheat*) 中 *Pina* 和 *Pinb* 基因发生缺失, 这也是四倍体硬质小麦 (*Durum wheat*) 具有非常硬的胚乳结构的原因。然而, 在提莫菲维小麦 (*Triticum timophevi*, AAGG) 和茹科夫斯基小麦 (*Triticum zhukovskyi*, A^mA^mAAGG) 中却存在着特殊情况。前者的 *Puroindoline* 基因位于 A 染色体上, 后者的 *Puroindoline* 基因在 A 染色体上被删除, 但在 A^m 染色体上仍有保留。近几年, 随着对小麦子粒结构的分子遗传基础更深入的研究, 人们发现 *Ha* 位点并不能够充分解释普通小麦子粒结构的所有突变类型^[2,5-7], 还存在其他因素对子粒硬度产生一定的影响。*Pinb-2* 基因和其他微效数量性状位点的相继发现证实了这一观点的正确性。2008 年, 根据 Wilkinson 等^[8] 的报道, 在面包小麦中有 3 个在 cDNA 水平上与 *Pinb* 具有 70% 相似度的基因, 被分别命名为 *Pinb-A1*、*Pinb-A2*、*Pinb-A3*。这 3 个基因分别定位在普通小麦 7A 染色体长臂上的 *Pinb-2* 位点上。随后, 在普通小麦和四倍体硬质小麦中研究发现了两个新的类似于 *Pinb* 的基因^[9-10]。这 5 个 *Pinb* 类似基因重新被命名为 *Pinb-2v1*、*Pinb-2v2*、*Pinb-2v3*、*Pinb-2v4* 和 *Pinb-2v5*^[11]。2011 年在四倍体硬质小麦中, 人们鉴定了两个 *Pinb-2v3* 的等位基因, 分别命名为 *Pinb-2v3a*、*Pinb-2v3b*^[10]。根据在普通小麦和四倍体硬质小麦中非整倍体 *Pinb-2* 突变体的物理图谱表明, *Pinb-2v1* 位于 7DL 上, *Pinb-2v2* 位于 7BL 上, *Pinb-2v3* 位于 7B 上, *Pinb-2v4* 位于 7AL 上^[9-10]。由于 *Pinb-2v5* 缺乏突变体特异的启动子, 其位置还不能被确定^[8]。

长期以来, 许多学者对小麦子粒硬度的分子机理做了大量研究, 并提出了多种有关测定子粒硬度的方法和指标。这些方法和指标可从不同角度和程

度上反映小麦子粒硬度的大小。就目前国内外有关小麦子粒硬度的评价指标、分子遗传基础及存在的问题予以综述,以期为进一步深入开展小麦子粒硬度的研究提供参考。

1 小麦子粒硬度及其测定方法

1.1 子粒硬度及其形成

子粒硬度是小麦市场分类和分级的重要性状之一,影响小麦的出粉率、破损淀粉数量、面粉颗粒的大小以及润麦加水量,并最终影响磨粉品质和食品加工品质。

胚乳约占小麦子粒体积的 80%,其主要成分是淀粉颗粒和储藏蛋白。淀粉颗粒在造粉体内合成;种子储藏蛋白是在包埋膜蛋白体中沉淀而成。小麦胚乳细胞成熟期间,蛋白体融合形成连续的蛋白质基质,而淀粉颗粒由于被残留的造粉体膜所包围,则形成膜包被的淀粉颗粒^[12]。

Simmonds^[13]证明在不同的软质和硬质基因型的小麦中,无论是淀粉还是蛋白质在绝对硬度上都没有差别。通过对溶剂沉淀获得的淀粉颗粒进行扫描电镜观察,发现来源于硬质小麦的淀粉颗粒表面附着了大量的物质,而在软质小麦的淀粉颗粒表面则相对较少。因此,硬质小麦和软质小麦结构的不同很有可能源于胚乳中淀粉颗粒和蛋白质基质结合强度的不同^[14]。

1.2 测定方法

最初人们根据咬力大小来判断硬度大小。目前,根据压力、磨粉功耗、研磨时间和吸光度,主要通过玻璃质法、压力法、研磨法和近红外法来测定硬度。颗粒指数法、近红外光谱法、单子粒谷物特性测定法等应用方法最为广泛。

单子粒谷物特性测定系统(Single Kernel Characterization System, SKCS)由美国谷物市场研究室和瑞典波通(Perten)仪器公司建立,利用压力作用把子粒压碎,然后通过传感器感应力的大小确定样品的硬度大小。同时,该系统可测定子粒千粒重、直径、硬度指数和水分含量等指标。一般硬度指数小于 40 多为软质麦,大于 60 多为硬质麦,介于二者之间多为混合麦。此方法检测速度快、操作简单、数据可靠、重复性好,近年来已被广泛应用于小麦市场的

分级测定中,并成为测试硬度的重要仪器,但该仪器价格较高,且易受杂物及大颗粒影响而堵塞。

2 Puroindoline 基因与子粒硬度的关系

2.1 Friabilin 蛋白与 Puroindoline 蛋白

第一次研究子粒结构的分子基础来源于对 Friabilin 蛋白的发现。Friabilin 为 15kDa 的蛋白质,在软质小麦水洗淀粉的表面含量丰富;在硬质小麦的淀粉中相对较少;在四倍体硬质小麦中则不含有该蛋白^[15]。编码该蛋白质的基因位于 5D 染色体的短臂上^[16]。

随着对 Friabilin 蛋白逐步深入的研究,发现 Friabilin 并不是单一的蛋白质,而是由两个蛋白多肽 PINA 和 PINB 按 1:1 的比例组成^[17-19],两者统称为 Puroindoline 蛋白。在普通小麦中, PINA 和 PINB 氨基酸序列具有约 60% 的同源性^[20],是一类脂膜蛋白,各自具有由 19 个氨基酸组成的特异信号肽序列,有麦类作物所特有的色氨酸区域,且都有由 10 个半胱氨酸残基组成的 5 个二硫键结构。在研究的所有氨基酸序列中, PINA 和 PINB 蛋白的色氨酸区域在结构和功能上发挥着重要作用,且高度保守^[21]。两蛋白质通过色氨酸区域的 α -螺旋形成膜固着环与淀粉表面的双分子极性脂紧密结合,削弱胚乳中蛋白质基质与淀粉颗粒的结合程度,从而使子粒结构变软。

PINA 和 PINB 蛋白的特性影响胚乳内蛋白质与淀粉颗粒的结合,在软质和硬质小麦子粒不同发育时期,其表达是有差异的。目前,人们对其研究的结果也不尽相同。但已有研究表明,子粒不同发育阶段,软、硬质小麦全子粒的 PINA 和 PINB 表达无明显差异,说明子粒中总的 Puroindoline 蛋白量与硬度无必然联系,而淀粉颗粒表面的 PINA 和 PINB 蛋白量差异十分明显,这表明此类型的蛋白是决定子粒硬度的直接因素。相比而言,软质小麦子粒中总的 Puroindoline 蛋白量要稍高于硬质小麦,但差别不大;而淀粉颗粒表面的 Puroindoline 蛋白量则显著高于硬质小麦^[22]。

2.2 Puroindoline 基因对子粒硬度的影响

遗传分析表明,编码 PINA 和 PINB 蛋白的 *Pina* 和 *Pinb* 基因位于小麦 5D 染色体短臂末端上,软质

对硬质为显性。两者均为有功能的野生型 (*Pina-D1a/Pinb-D1a*) 时, 子粒结构表现为软质; 当两者中的任何一个发生缺失、移码突变或碱基置换突变时, 子粒结构发生改变, 表现出硬质胚乳^[20]。目前, 通过大量试验研究已发现 4 种可以导致子粒结构变硬的突变类型: (1) *Pina* 缺失, *Pinb* 为野生型; (2) *Pina* 为野生型, *Pinb* 缺失; (3) *Pina* 为野生型, *Pinb* 发生突变; (4) *Pina* 发生突变, *Pinb* 为野生型^[23]。 *Pina* 和 *Pinb* 中不同的基因突变类型所导致的子粒结构变化程度也不同^[16, 24-26]。根据对子粒结构的分析表明, *Pina-D1b* 突变比 *Pinb-D1b* 突变所表现出的胚乳结构硬度更大^[27-29]。

发现最早的硬度突变是位于 PINB 多肽第 46 位甘氨酸向丝氨酸的转变 (*Pinb-D1b*) ; 第二个被发现的突变类型是 *Pina* 基因的“无效”突变 (null mutation, *Pina-D1b*) , 此突变不能编码出 PINA 蛋白。随后, 研究又发现了 5 个 *Pinb* 基因的突变类型: PINB 蛋白第 60 位亮氨酸突变为脯氨酸 (*Pinb-D1c*) , 第 44 位色氨酸突变为精氨酸 (*Pinb-D1d*) , 3 个终止密码子的突变^[30]。近几年来, 在普通小麦中, *Pina-D1k*、*Pina-D1l*、*Pina-D1r*、*Pina-D1m*、*Pina-D1n*、*Pinb-D1e*、*Pinb-D1f*、*Pinb-D1g*、*Pinb-D1h* (*t*)、*Pinb-D1p*、*Pinb-D1q*、*Pinb-D1r*、*Pinb-D1u*、*Pinb-D1x* 和 *Pinb-D1ab* 等多种等位基因相继被发现。在二倍体小麦中, 研究已发现的 *Pina* 等位基因有 *Pina-A¹a*、*Pinb-A¹b*、*Pinb-A¹c*、*Pina-A¹d* ; *Pinb* 等位基因有 *Pinb-A¹a*、*Pinb-A¹b*、*Pinb-A¹e*、*Pinb-A¹h* 及最新发现的 *Pinb-A¹i*、*Pinb-A¹j*、*Pinb-A¹k*。上述突变类型均可导致子粒结构由软变硬。

有研究表明, PINB 蛋白第 46 位甘氨酸突变为丝氨酸的硬质小麦 (*Pina-D1a*、*Pinb-D1b*) 子粒硬度可以通过野生型 *Pinb-D1a* 的转化得到恢复。转 *Pinb* 基因水稻试验也说明 *Pina* 和 *Pinb* 野生型等位基因的表达可使转基因水稻胚乳结构变得更软, 直接证明了 Puroindoline 蛋白与子粒硬度的因果关系^[31]。

2.2.1 *Pina* 基因的研究 为研究 *Pina* 基因对子粒硬度的作用, 通过 PCR 方法测定 *Pina* 基因的表达水平, 其结果表明: 软质品种 (*Pina-D1a/Pinb-D1a*) 中, *Pina* 基因表达量很高; 硬质品种中, *Pina-D1a/*

Pinb-D1b 基因型品种的表达量相对较低, 而在 *Pina-D1b/Pinb-D1a* 基因型品种则不表达 PINA 蛋白。通过流量曲线方法可以测量子粒中总的 Puroindoline 蛋白量及与淀粉颗粒表面结合的 Puroindoline 蛋白量, 结果表明: 软质小麦含有很高的 Puroindoline 蛋白量, 且主要与淀粉颗粒相结合; *Pina-D1b/Pinb-D1a* 基因型硬质小麦品种 Puroindoline 含量很低, 且没有 Puroindoline 蛋白与淀粉颗粒相结合; *Pina-D1a/Pinb-D1b* 基因型硬质小麦品种在总 Puroindoline 蛋白量和与淀粉颗粒结合的含量之间的关系是高度异质的。综上所述, *Pina* 表达量的多少控制着总的 Puroindoline 蛋白量及其与淀粉颗粒的结合量^[32]。

相关研究表明, *Pina* 转基因的过量表达很有可能共抑制了内源 *Pina* 基因的表达, 从而使子粒结构变硬。SKCS 测定的子粒硬度和扫描电镜分析结果进一步证实在转 *Pina* 基因品系中子粒结构改变的发生^[33]。

2.2.2 *Pinb* 基因的研究 通过 PCR 方法可以分析 *Pinb* 等位基因的状况。方差分量模型的构建可以将 *Pinb-D1a* 等位基因突变与其他影响子粒硬度的遗传因子所产生的效应区分开来。这一模型分析结果表明, *Pinb-D1a* 等位基因突变体只能解释软质小麦和硬质小麦杂交所产生的 F₂ 代中 75% ~ 93% 的硬度遗传突变, 说明一定还存在其他遗传因子对子粒硬度有影响^[34]。为此, 许多学者进行了大量相关研究, 2008 年 Wilkinson 等^[8] 发现 *Pinb-2* 基因, 并表明 *Pinb-2* 突变可能与子粒硬度有轻微的关系。之后, 大量研究发现, 在软质小麦中 *Pinb-2* 突变对子粒结构的影响比硬质小麦的大。虽然在 *Pinb-2v2* 和 *Pinb-2v3* 两种软质小麦中, *Pinb-2* 突变对子粒硬度有微效作用, 但更深入的研究表明 *Pinb-2* 突变对小麦子粒硬度的影响并不明显^[35]。在这一点上, *Pinb-2* 突变对于调控小麦子粒硬度的作用仍然有待研究。

大量研究表明, 在所有 *Pinb* 基因突变体中, *Pinb-D1b* 是导致硬质结构的主要突变类型。 *Pinb* 等位基因可作为一种分子技术手段来改变小麦子粒硬度, 有利于今后培育出硬度适中的小麦品种。

虽然 *Pin* 基因的任一缺失或突变可以导致子粒

结构发生改变,但不同的突变类型对硬度的影响大小也不同。Lillemo 等^[14]比较了各个突变因子对硬度影响的大小,其 SKCS 硬度值分别为软麦 45、*Pina-D1b* 75、*Pinb-D1b* 68、*Pinb-D1c* 72,但如果依次作为判断各个突变位点对硬度影响大小的理由仍不够充分,需进一步更深入的研究。因为对于一些 *Pina* 和 *Pinb* 基因型相同的品种来说,其子粒硬度有时也存在差异。这说明除基因外,还存在某些其他物理化学因素对子粒硬度产生一定的影响,如子粒中水溶性戊聚糖、淀粉表面的极性脂等^[22]。

研究还发现子粒硬度与 *Puroindoline* 基因的拷贝数直接相关。以中国春为例,通过 SKCS 分析表明,每增加 1 份 *Pina* 和 *Pinb* 基因的拷贝数,其硬度值由原来的 71 降为 61。这说明,增加 *Puroindoline* 有功能的基因拷贝数会降低小麦的子粒硬度。

3 对于 *Puroindoline* 蛋白影响胚乳结构方式的研究

人们对于 *Puroindoline* 蛋白影响小麦胚乳结构的方式还不是很清楚。但根据早期报道的 *Puroindoline* 蛋白与脂质转移蛋白结构的相似性以及富含色氨酸区域与淀粉颗粒表面的结合表明,*Puroindoline* 蛋白与极性脂之间存在相互作用。*Puroindoline* 蛋白的脂质结合能力也已被大量试验所证实。Dubreil 等^[36]的进一步研究表明,*PINA* 蛋白可紧密结合磷脂和糖脂,而 *PINB* 蛋白仅结合带有负电荷的磷脂,与糖脂共同形成松弛的脂蛋白。

在子粒干燥过程中,*Puroindoline* 蛋白可能通过稳定淀粉体脂质双层膜的作用来决定子粒的硬度。对不同发育阶段的小麦子粒进行风干,未成熟的硬质小麦子粒将变为软质胚乳;相反,如果相同发育阶段的子粒在室温或 40℃ 条件下慢慢的干燥得到的仍是硬质胚乳^[32]。

在小麦子粒成熟过程中,发育中的淀粉颗粒由淀粉体膜包被。如果 *Puroindoline* 蛋白具有稳定淀粉体膜效应这一假说成立的话,可以解释硬质和软质小麦中,淀粉颗粒与蛋白质基质之间结合强度的不同。在软质小麦胚乳脱水过程中,*Puroindoline* 蛋白可以阻止淀粉体膜的完全瓦解,能够使淀粉颗粒与蛋白质基质通过一薄层的膜残余物分隔开。然

而,在硬质小麦子粒成熟过程中,突变的 *Puroindoline* 蛋白将不能够稳定该膜,导致淀粉颗粒与蛋白质基质更直接密切的结合。

PINA 和 *PINB* 蛋白在色氨酸区域含有不同数量的色氨酸,结合脂质的方式也有所不同,所以它们可能在稳定淀粉体膜中扮演着各自不同的角色。只有野生型的 *PINA* 和 *PINB* 共同发挥作用时,子粒才表现出软质结构。

4 存在问题与展望

小麦是一种世界性粮食作物。小麦子粒硬度是各国区分小麦类别和贸易等级的重要依据之一,也是小麦品质优劣、贸易价格和决定最终用途的重要指标。研究有关小麦子粒硬度的生化机理对小麦在农业生产和加工利用方面具有重要意义。小麦子粒硬度具有较高的遗传性,其硬度差异与出粉率、角质率、蛋白质含量、湿面筋含量及面团特性呈显著或极显著相关。Simmonds 等^[13]提出硬度与淀粉颗粒表面和蛋白质基质间粘合性有关的假设,认为硬麦淀粉颗粒与蛋白结合程度比软麦紧密。但 Stenvert 等^[37]认为粘合理论不成立,因为蛋白质基质整体上不连续,胚乳结构强度也就不同。近年来,许多学者将研究重点转移到淀粉颗粒表面微量蛋白上。Greenwell 等^[38]发现 15kDa 蛋白复合体-Friabillin,这种蛋白在软麦中含量很高,在硬麦中含量却很少,该蛋白的存在可能会破坏淀粉与蛋白紧密的结合。虽然,目前通过基因工程研究,人们对小麦硬度的分子机理已有突破性认识,但对于 *Pina* 和 *Pinb* 中的哪一个可能对硬度的影响起着决定性作用还不清楚,所以 *Puroindoline* 蛋白决定子粒结构的分子遗传基础还有待于进一步研究。有相关研究表明,除 *Puroindoline* 基因作为主效基因外,还存在其他一些微效数量性状控制位点以及 *Gsp-1* 和 *Pinb-2* 基因对子粒结构的影响,但其影响的大小和生化机理仍需更深入的研究。

现今,我国小麦产量虽大,但多为适合制作传统馒头的中筋小麦,用于制作面包或优质面条的优良小麦品种还很稀缺。弄清楚控制小麦子粒硬度的生化机理,可通过基因突变技术更大范围地改变小麦的子粒硬度,从而培育出硬度适中、高蛋白、优质强

筋的小麦品种,将有利于烘焙和面食行业的更好发展。

参考文献

- [1] Morris C F, Rose S P. Wheat/Henry R J, Kettlewell P S. Cereal Grain Quality. London: Chapman and Hall Ltd, 1996: 3 - 54.
- [2] Law C N, Young C F, Brown J W S, et al. The study of grain protein control in wheat using whole chromosome substitution lines. Seed protein improvement by nuclear techniques. International Atomic Energy Agency, Vienna, 1978: 483 - 502.
- [3] Matern P J, Morris R, Schmidt J W, et al. Location of genes for kernel properties in the wheat cultivar "Cheyenne" using chromosome substitution lines. Proceedings of the 4th International Wheat Genetics Symposium. Columbia: University of Missouri, 1973: 3 - 707.
- [4] Chantret N, Salse J, Sabot F, et al. Molecular basis of evolutionary events that shaped the Hardness locus in diploid and polyploid wheat species (*Triticum* and *Aegilops*). Plant Cell, 2005, 17(4): 1033 - 1045.
- [5] Galande A A, Tiwari R, Ammiraju J S S, et al. Genetic analysis of kernel hardness in bread wheat using PCR - based markers. Theoretical and Applied Genetics, 2001, 103(4): 601 - 606.
- [6] Sourdil P, Perretant M R, Charmet G, et al. Linkage between RFLP markers and genes affecting kernel hardness in wheat. Theoretical and Applied Genetics, 1996, 93(4): 580 - 586.
- [7] Turner A S, Bradburne R P, Fish L, et al. New quantitative trait loci influencing grain texture and protein content in bread wheat. Journal of Cereal Science, 2004, 40(1): 51 - 60.
- [8] Wilkinson M, Wan Y F, Tosi P, et al. Identification and genetic mapping of variant forms of puroindoline b expressed in developing wheat grain. Journal of Cereal Science, 2008, 48(3): 722 - 728.
- [9] Chen F, Beecher B S, Morris C F. Physical mapping and a new variant of puroindoline b - 2 genes in wheat. Theoretical and Applied Genetics, 2010, 120(4): 745 - 751.
- [10] 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.). Molecular Breeding, 2011, 28(2): 153 - 161.
- [11] Chen F, Shang X L, Morris C F, et al. Molecular characterization and diversity of puroindoline b - 2 variants in cultivated and wild diploid wheat. Genetic Resources and Crop Evolution, 2012.
- [12] 陈锋, 李根英, 耿洪伟, 等. 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.
- [13] Simmonds D H. Chemical basis of hardness and vitreosity in the wheat kernel. Bakers Digest, 1974, 48: 16 - 29.
- [14] 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.
- [15] Greenwell P, Schofield J D. A starch granule protein associated with endosperm softness in wheat. Cereal Chemistry, 1986, 63: 379 - 380.
- [16] Morris C F. Puroindolines; the molecular genetic basis of wheat grain hardness. Plant Molecular Biology, 2002, 48(5 - 6): 633 - 647.
- [17] Morris C F, Greenblatt G A, Bettge A D, et al. Isolation and characterization of multiple forms of friabilin. Journal of Cereal Science, 1994, 20(2): 167 - 174.
- [18] Rahman S, Jolly C J, Skerritt J H, et al. Cloning of a wheat 15 - kDa grain softness protein (GSP). GSP is a mixture of puroindoline - like polypeptides. European Journal of Biochemistry, 1994, 23(3): 917 - 925.
- [19] Oda S. Two - dimensional electrophoretic analysis of friabilin. Cereal Chemistry, 1994, 71(4): 394 - 395.
- [20] Gautier M F, Aleman M E, Guirao A, et al. *Triticum aestivum* puroindolines, two basic cystine - rich seed proteins; cDNA sequence analysis and developmental gene expression. Plant Molecular Biology, 1994, 25(1): 43 - 57.
- [21] Guzmán C, Caballero L, Martín M A, et al. Molecular characterization and diversity of the *Pina* and *Pinb* genes in cultivated and wild diploid wheat. Molecular Breeding, 2012, 30(1): 69 - 78.
- [22] 常成, 张海洋, 李保云, 等. 小麦籽粒发育时期 Puroindolines 蛋白与硬度的关系. 麦类作物学报, 2007, 27(4): 630 - 633.
- [23] Chen F, Zhang F Y, Xia X C, et al. Distribution of puroindoline alleles in bread wheat cultivars of the Yellow and Huai valley of China and discovery of a novel puroindoline allele without PINA protein. Molecular Breeding, 2012, 29(2): 371 - 378.
- [24] Morris C F, Bhavé M. Reconciliation of D - genome puroindoline allele designations with current DNA sequence data. Journal of Cereal Science, 2008, 48(2): 277 - 287.
- [25] Behave M, Morris C F. Molecular genetics of puroindolines and related genes; allelic diversity in wheat and other grasses. Plant Molecular Biology, 2008, 66(3): 205 - 219.
- [26] Behave M, Morris C F. Molecular genetics of puroindolines and related genes; regulation of expression, membrane binding properties and applications. Plant Molecular Biology, 2008, 66(3): 221 - 231.
- [27] 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.
- [28] Giroux M, Talbert L, Habernicht D, et al. Association of puroindoline sequence type and grain hardness in hard red spring wheat. Crop Science, 2000, 40(2): 370 - 374.
- [29] Martin M, Froberg R C, Morris C F, et al. Milling and bread baking traits associated with puroindoline sequence type in hard red spring wheat. Crop Science, 2001, 41(1): 228 - 234.
- [30] Morris C F, Lillemo M, Simeone M C, et al. Prevalence of puroindoline grain hardness genotypes among historically significant North American spring and winter wheats. Crop Science, 2001, 41(1): 218 - 228.
- [31] Krishnamurthy K, Giroux M J. Expression of wheat puroindoline genes in transgenic rice enhances grain softness. Nature Biotechnology, 2001, 19: 162 - 166.
- [32] Bechtel D B, Wilson J D, Martin C R. Determining endosperm texture of developing hard and soft red winter wheats by different methods using the single-kernel wheat characterization system. Cereal Chemistry, 1996, 73(5): 567 - 570.
- [33] Xia L Q, Geng H W, Chen X M, et al. Silencing of puroindoline a alters the kernel texture in transgenic bread wheat. Journal of Cereal Science, 2008, 47(2): 331 - 338.
- [34] Lillemo M, Ringlund K. Impact of puroindoline b alleles on the genetic variation for hardness in soft x hard wheat crosses. Plant Breeding, 2002, 121(3): 210 - 217.
- [35] Chen F, Zhang F Y, Cheng X Y, et al. Association of Puroindoline b - B2 variants with grain traits, yield components and flag leaf size in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties of the Yellow and Huai Valleys of China. Journal of Cereal Science, 2010, 52(2): 247 - 253.
- [36] Dubreil L, Gaborit T, Bouchet B, et al. Spatial and temporal distribution of the major isoforms of puroindolines (puroindoline - a and puroindoline - b) and nonspecific lipid transfer protein (ns-LTP1e₁) of *Triticum aestivum* seeds. Relationships with their in vitro antifungal properties. Plant Science, 1998, 138(2): 121 - 135.
- [37] Stenvert N L, Kingswood K. The influence of the physical structure of the protein matrix on wheat hardness. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1977, 28(1): 11 - 19.
- [38] Greenwell P, Schofield J D. A starch granule protein associated with endosperm softness in wheat. Cereal Chemistry, 1986, 63: 379 - 380.

玉米氮素利用生理及分子机制研究进展

王大铭¹ 丛媛媛² 陈亮¹

(¹ 吉林省农业科学院农业生物技术研究所, 130033, 吉林长春; ² 吉林省农业科学院农业经济与信息服务中心, 130033, 吉林长春)

摘要 氮是玉米生长必需的营养元素, 对产量和品质的影响极大。当前我国玉米种植过程中有一半以上的氮肥损失于环境。要实现农业的可持续发展, 必须提高氮素利用效率。根据当前国内外玉米氮素高效利用的研究现状, 从氮素利用效率的含义、影响氮素利用效率的生理及分子机制、氮素高效利用候选基因的发掘及应用三个方面进行了阐述, 并对该领域今后的重点研究方向进行了展望, 为玉米氮素高效利用的遗传育种工作提供理论参考。

关键词 玉米; 氮素利用效率; 生理及分子机制

氮素是玉米生长发育过程中最重要的营养元

作者简介: 王大铭, 实习研究员, 从事玉米氮素高效利用转基因研究

陈亮为通信作者, 助理研究员, 从事玉米转基因研究

基金项目: 吉林省农业科学院博士启动基金项目; 国家自然科学基金项目(31201215); 转基因重大专项“养分高效利用转基因玉米新品种培育”(2013ZX08003-005)

收稿日期: 2012-08-15; 修回日期: 2012-09-24

素之一。近几十年来, 玉米产量的迅速增加, 除了归功于育种学、栽培学的发展, 很大程度上是依赖氮肥的大量施用。氮肥的大量施入不但严重影响生态环境, 而且增加生产成本。一直以来玉米氮素利用效率都很低, 仅有 30%~40%^[1], 因此提高氮素利用效率、选育氮素高效利用品种, 是实现我国农业可持续发展的重要途径^[2]。本文就近年来氮素利用调控机制的研究进展加以探讨, 期为玉米氮素高效利用的研究和遗传改良工作提供参考。

1 氮素利用效率的含义

由于研究目标不同, 人们赋予氮素利用效率不同的含义, 并从不同角度对玉米氮素利用效率进行评价和分析。当子粒产量作为主要考察性状时, 氮素利用效率定义为土壤中单位数量有效氮所产生的子粒产量, 即氮素吸收效率(植株地上部吸收氮总量与土壤总氮量的比值)与同化效率(子

Research Progress on Effects of Puroindoline Genes on Wheat Grain Hardness

Quan Wenli^{1,2}, Liu Yong'an³, Chen Zhiguo¹

(¹ Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810008, Qinghai; ² University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049; ³ Wenzhou Academy of Agricultural Sciences, Wenzhou 325006, Zhejiang, China)

Abstract Grain hardness is one of the important characteristics of market classification and end-use quality of common wheat. According to grain hardness, wheat is separated into three classes: soft wheat, mixed wheat, and hard wheat. Wheat with different hardness has different use value. Grain hardness is mainly controlled by *Puroindoline* genes. This paper pays more attention to the molecular genetic basis of wheat grain hardness, which makes people better understand the impact of *puroindoline* genes on grain hardness. This can offer better scientific foundation for wheat breeding programs in future.

Key words Wheat; Grain hardness; *Puroindoline* genes