DOI: 10.3724/SP.J.1006.2012.00454

小麦 *Wx* 基因近等基因系的创制及其对直链淀粉含量、面条感官品质的影响

于春花^{1,2,**} 别同德^{2,**} 王 成¹ 张 晓² 吴荣林² 程晓明² 王灿国²
赵 芸² 程顺和^{2,*}

¹北京农业信息技术研究中心 / 国家农业信息化工程技术研究中心, 北京 100097; ²江苏里下河地区农业科学研究所 / 国家小麦改良中心扬州分中心, 江苏扬州 225007

摘 要: 为明确不同 *Wx* 基因对小麦直链淀粉含量的影响以及筛选面条品质优异的基因型, 以糯小麦品系 Caiwx (aabbdd) 为 3 个 *Wx* 基因隐性突变供体亲本, 以扬麦 01-2 (AABBDD) 为轮回亲本, 利用连续回交结合花粉碘染、STS 标记和同工酶标记检测方法, 创制了 8 种 *Wx* 基因纯合基因型的近等基因系, 其基因型分别为 AABBDD、AABBdd、AAbbDD、AAbbdd、aaBBDD、aaBBdd、aabbDD 和 aabbdd。利用这些基因型探讨了不同 *Wx* 基因对直链淀粉含量及面条感官品质的影响。结果表明, 各系的直链淀粉含量为 0.9%~24.8%, 系间差异显著; 糯小麦型(aabbdd)直链淀粉含量最低, 双缺失型和单缺失型其次, 双缺失型中 aaBBdd 型含量最高, 单缺失型中 AAbbDD 型含量最低, 表明 *Wx-B1* 对直链淀粉的合成作用最大。糯小麦型面条的色泽、表观、软硬度、黏性、韧性得分以及总分显著低于其他类型及轮回亲本扬麦 01-2; 单缺失型面条的色泽、表观得分、总分显著高于轮回亲本扬麦 01-2, 其中 aaBBDD 型面条品质表现突出, 与市售优质面条粉“雪花粉”制作的面条得分相当, 而其他 7 种基因型及轮回亲本扬麦 01-2 的面条评分均显著低于雪花粉。说明可以通过遗传操作 *Wx* 基因培育优质面条小麦品种。

关键词: *Wx* 基因; STS 标记; 近等基因系; 直链淀粉含量; 面条品质

Development of Near-isogenic Lines with Different Wheat *Wx* Genes and Their Effects on Amylose Content and Noodle Quality

YU Chun-Hua^{1,2,**}, BIE Tong-De^{2,**}, WANG Cheng¹, ZHANG Xiao², WU Rong-Lin², CHENG Xiao-Ming², WANG Can-Guo², ZHAO Yun², and CHENG Shun-He^{2,*}

¹ Beijing Research Center for Information Technology in Agriculture / National Engineering Research Center for Information Technology in Agriculture, Beijing 100097, China; ² Yangzhou Academy of Agricultural Sciences / Yangzhou Branch of National Wheat Improvement Center, Yangzhou 225007, China

Abstract: Granule bound starch synthase (GBSS), controlled by *Wx* gene, is a key enzyme for amylose synthesis. Wheat has three homologous *Wx* genes located on 7BS, 4AL, and 7DS. The purpose of this study was to understand the effects of wheat *Wx* genes on amylose content and noodle sensory quality. A waxy wheat line, Caiwx (aabbdd), was used as a donor parent for *Wx* null alleles, and a high yield cultivar, Yangmai 01-2 (AABBDD), was used as a recurrent parent. A BC₉F₂ population was constructed through successive backcrossing assisted by pollen staining with I₂-KI solution. Eight homozygous near isogenic lines (NILs) with different *Wx* gene combinations (AABBDD, AABBdd, AAbbDD, AAbbdd, aaBBDD, aaBBdd, aabbDD, and aabbdd) were then identified by STS markers of *Wx* genes and GBSS isoenzyme markers in the BC₉F₄ generation. The amylose contents and noodle sensory quality of these NILs were evaluated. The amylose contents of the NILs ranged from 0.9% to 24.8% with significant difference among lines. There was a regularly descending trend of amylose content in genotypes as normal wheat (AABBDD) > single null allele genotypes (aaBBDD, AAbbDD, and AABBdd) > double-null-allele genotypes (aabbDD, aaBBdd, and AAbbdd).

本研究由江苏省自然科学基金项目(BK2009175), 国家现代农业产业技术体系建设项目(nycytx03)和北京市科技计划项目(D101105046310002)资助。

* 通讯作者(Corresponding author): 程顺和, E-mail: yzcsh1939@126.com

第一作者联系方式: E-mail: yuch@nercita.org.cn ** 同等贡献(Contributed equally to the work)

Received(收稿日期): 2011-08-02; Accepted(接受日期): 2011-12-15; Published online(网络出版日期): 2012-01-04.

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1809.S.20120104.1648.001.html>

> waxy wheat (aabbdd). Genotype aaBBdd had the highest amylose content in the double-null-allele group, and genotype AAbbDD had the lowest amylose content in the single-null-allele group. This indicated that *Wx-B1* allele plays the most important role in amylose synthesis. It was also found that the amylose content reduction did not follow a directly linear relationship when the null allele number increased. Thus, we inferred that there exists gene interaction among different *Wx* alleles. The result of noodle sensory quality evaluation showed that there were significant differences among the eight NILs. All the noodle sensory scores of waxy wheat (aabbdd) on color, appearance, firmness, stickiness, as well as the total score, were the lowest among the eight NILs. The single null genotypes performed better noodle sensory quality than the other genotypes and the recurrent parent Yangmai 01-2. In the single-null-allele group, the aaBBDD genotype showed the best noodle sensory quality (scored 87.4). Noodles made of flour of aaBBDD genotype were as good as those made of Xuehua flour, a kind of high-quality flour for noodle-making. However, the other seven genotypes and Yangmai 01-2 had significantly lower noodle scores than Xuehua flour. Therefore, it is feasible to develop wheat cultivars with high noodle quality through genetic manipulation on *Wx* gene.

Keywords: *Wx* gene; STS marker; Near isogenic lines; Amylose content; Noodle quality

小麦淀粉由 20%~30% 的直链淀粉和 70%~80% 的支链淀粉组成, 合成直链淀粉的关键酶是颗粒结合型淀粉酶(granule bound starch synthase, GBSS), 又称 *Wx* 蛋白。*Wx* 蛋白包含 3 个亚基, 分别由位于染色体臂 7AS、4AL 和 7DS 的 *Wx-A1a* (简称为 A)、*Wx-B1a* (简称为 B) 和 *Wx-D1a* (简称为 D) 基因编码^[1-3], 其编码蛋白分子量分别为 60.1、59.0 和 59.2 kD^[4]。3 个 *Wx* 基因的突变组合共有 8 种纯合基因型, 分别是 AABBDD、AABBdd、AAbbDD、AAbbdd、aaBBDD、aaBBdd、aabbDD 和 aabbdd。Murai 等^[5]和 Vrinten 等^[6]报道了普通小麦 *Wx* 基因以及突变等位基因的序列, 这促进了 *Wx* 基因分子标记的开发。Shariflou 等^[7]、Briney 等^[8]、Satio 等^[9]先后报道了许多用于检测 *Wx* 基因的分子标记, 但部分引物的检测效果不理想; 宋建民等^[10]、刘迎春等^[11]开发的 *Wx-B1* 引物、MAG264 引物, 则表现了良好的稳定性。针对 *Wx* 蛋白的检测, Nakamura 等^[12]发现由于 *Wx-B1* 和 *Wx-D1* 蛋白的分子量相近, 利用单向 SDS-PAGE 技术的分离效果不好; 王子宁等^[13]和潘志芬等^[14]对 *Wx* 蛋白的提取和单向 SDS-PAGE 电泳技术进行了优化, 不仅操作简便, 而且应用效果良好。

Wx 基因控制直链淀粉的合成, 其突变会导致直链淀粉含量的降低, 其中 *Wx-B1* 基因突变的降低效应最大^[15-17]。直链淀粉含量是影响面条品质的重要因素, 低直链淀粉面粉制作的面条具有较好的食用品质, 而添加一定比例的糯小麦面粉, 可提高面条的品质^[18-19], 在一定程度上延长鲜湿面条的货架期^[20]。峰值黏度、稀懈值和面粉膨胀体积是衡量淀粉品质和面条品质的重要指标^[21], *Wx* 基因的突变可以降低直链淀粉含量、提高膨胀体积、峰值黏度^[22], 进而影响面条的品质。

目前, 很多研究以不同品种为对象研究 *Wx* 基

因对直链淀粉合成的影响, 这在一定程度上较难消除遗传背景的干扰。对面条品质影响的研究大多集中在以糯小麦粉为配粉, 而很少利用近等基因系研究 *Wx* 基因对终端产品(如面条)品质的影响。本研究在创制小麦 *Wx* 基因 8 种纯合基因型近等基因系的基础上, 研究不同 *Wx* 基因对小麦直链淀粉合成效应以及面条品质的影响, 为优质面条专用小麦的培育提供有益的参考。

1 材料与方法

1.1 近等基因系的创制及田间种植

糯小麦品系 Caiwx(由江苏省农业科学院粮食作物研究所蔡士宾研究员提供)作为 *Wx-A1b*、*Wx-B1b* 和 *Wx-D1b* 的供体亲本, 其基因型为 aabbdd。扬麦 01-2 (由江苏里下河地区农业科学研究所小麦育种研究室提供)作为轮回亲本, 其基因型为 AABBDD。

将糯小麦品系 Caiwx 与扬麦 01-2 连续杂交、回交。取杂交或回交 F_1 植株开花期的新鲜花粉置于载玻片上, 用 0.067% I_2 -0.67% KI 染色, 在显微镜下观察, 选择出现 1/8 糯性花粉(红棕色)的植株进行下一次回交, 回交 9 次后再自交。用刀片横切 BC_9F_2 代种子籽粒尾部 1/4 (留有胚部分), 以 0.2% I_2 -2% KI 溶液染色观察, 籽粒为红棕色即为全糯粒; 2007 年 9 月盆栽 F_2 种子, 每盆 6 粒, 每株挂牌取样进行分子标记检测, 选出 *Wx-A1*、*Wx-D1* 位点纯合的目标单株; 2008 年 2 月底收获目标单株, 于大棚中加代种植, 单行区, 每行 40 株, 选 10 株挂牌取样跟踪检测, 选出 3 个位点纯合的目标材料; 2008 年 8 月单独收获目标材料的 10 株挂牌单株, 其余混收; 2008 年 11 月将目标材料(F_4 代)种植 3 行区, 每行 40 株, 随机取 10 株挂牌用于分子标记检测, 进一步验证, 选出 8 种纯合基因型近等基因系, 同时选取每种基因型 F_4 代种子 10 粒用于同工酶标记检测。

2009 年 10 月 26 日在江苏里下河地区农业科学研究所湾头基地播种选出的近等基因系, 随机区组设计, 2 个重复, 小区面积为 6.67 m², 2010 年 5 月收获种子。

1.2 分子标记和同工酶检测

采用酚 - 氯仿法提取小麦基因组 DNA, 用 Wx 位点特异引物(表 1)检测。反应体系为 25.0 μL, 含 10 × PCR buffer 2.5 μL, 25.0 mmol Mg²⁺ 1.5 μL, 2.5 mmol dNTP 2.0 μL, 上游引物 1.0 μL, 下游引物 1.0 μL, 超纯水 15.8 μL, 5 U μL⁻¹ Taq 酶 0.2 μL。PCR 反应条件为 94 °C 预变性 5 min; 94 °C 变性 1 min, 55 °C 或 52 °C 退火 50 s, 72 °C 延伸 1 min, 共 35 个循环; 最后 72 °C 延伸 5 min。取 12 μL 扩增产物在 3.0% 琼脂

糖凝胶上电泳分离, 缓冲体系为 1 × TAE 溶液, 120 V 电泳 1.0~1.5 h, 用凝胶成像系统观察并拍照。

参照王子宁等^[13]的方法提取 Wx 蛋白、电泳、银染, 调整分离胶浓度为 18%, 浓缩胶为 4%。先用 150 V 电泳至指示剂进入分离胶, 再调至 170 V 电泳 16~20 h。

1.3 籽粒直链淀粉含量测定

田间收获的近等基因系籽粒在安全水分下放置 1 个月后, 每个材料取 3.0 kg 籽粒根据籽粒水分含量, 加水调至 14% 湿基, 并视其硬度作适当调整, 室温下润麦 24 h 后用 Buhler 实验磨制粉, 出粉率 70% 左右。参照《谷物品质测试理论与方法》^[23], 采用双波长法测定面粉中直链淀粉含量。

表 1 Wx 基因引物序列及扩增片段长度
Table 1 Sequence and fragment length of primers for Wx gene

引物 Primer	等位基因 Allele	序列 Sequence (5'-3')	退火温度 Annealing temperature (°C)	预期扩增产物 Length of target fragment (bp)	参考文献 Reference
P1	Wx-A1	F: CCAAAGCAAAGCAGGAAACC R: TACCTCGGAGATGACGCTGG	55	336 (Wx-A1a), 317 (Wx-A1b)	Liu et al. ^[11]
P2	Wx-B1	F: GCTACCTCAAGAGCAACT R: TTGAGCTGCGCGAAGTCGTC	52	187 (Wx-B1a), null (Wx-B1b)	Song et al. ^[10]
P3	Wx-D1	F: ACAGGATCTCTCCTGGAAG R: GCAAGGAAAATAGTGAAGC	55	840 (Wx-D1a), 260 (Wx-D1b)	Shariflou et al. ^[7]

1.4 面条制作与评价

参照张艳等^[24]的方法制作面条, 以市售优质面条面粉“河套雪花粉”[内蒙古恒丰食品工业(集团)股份有限公司生产]作对照。

以 6 个材料为一组, 其中包括雪花粉及 5 个材料的面条, 6 人品尝, 取平均分。参照谷物测试中心面条评价标准, 略有改动, 即色泽 20 分, 表观 10 分, 软硬度 10 分, 黏性 15 分, 韧性 15 分, 光滑性 20 分, 食味 10 分。

1.5 统计分析

采用 SPSS 16.0 软件进行方差分析, 采用 Duncan

氏法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 Wx 位点分子标记检测

2.1.1 Wx-A1 位点 Wx-A1 位点纯合显性基因型时, 扩增出一条 336 bp 的条带; 纯合隐性基因型, 扩增出一条 317 bp 的条带; 杂合基因型同时出现这 2 条带(图 1)。F₂ 代植株出现分离, 检测 103 株 F₂ 单株, 其中显性纯合型 24 株, 杂合型 51 株, 隐性纯合型 26 株, 2 株未扩出条带; 经卡方检验, 符合 1 : 2 : 1 的分离比($\chi^2 = 0.13$, $\chi^2_{0.05,1} = 3.84$)。

图 1 BC₉F₂ 代部分单株 Wx-A1 位点分子标记扩增图谱
Fig. 1 Amplification profile of partial BC₉F₂ individuals on locus Wx-A1
M: φX174-Hae III digest; 1: 扬麦 01-2; 2: Caiwx; 3~12: BC₉F₂ 代单株。
M: φX174-Hae III digest; 1: Yangmai 01-2; 2: Caiwx; 3~12: Individuals from BC₉F₂ generation.

2.1.2 *Wx-B1* 位点 *Wx-B1* 位点具有显性基因, 扩增出 259、217 和 187 bp 3 条带; 纯合隐性基因型, 仅扩增出前 2 条带; 其中 187 bp 条带为特异性条带, 而 259 bp 和 217 bp 条带可检验 PCR 是否成功(图 2)。

在检测的 103 株 F_2 单株中, 出现 77 株具显性基因, 26 株纯合隐性, 符合 3 : 1 的分离比($\chi^2=3.03$, $\chi^2_{0.05,1}=3.84$), 其中具有显性基因的单株的基因型通过 $BC_9F_{2:3}$ 单株的检测结果(图 3)进行推定。

图 2 BC_9F_2 代部分材料 *Wx-B1* 位点分子标记扩增图谱

Fig. 2 Amplification profile of partial BC_9F_2 individuals on locus *Wx-B1*

M: ϕ X174-*Hae* III digest; 1: 扬麦 01-2; 2: Caiwx; 3~10: BC_9F_2 代部分植株。

M: ϕ X174-*Hae* III digest; 1: Yangmai 01-2; 2: Caiwx; 3~10: Individuals from BC_9F_2 generation.

图 3 部分 $BC_9F_{2:3}$ 单株 *Wx-B1* 位点分子标记扩增图谱

Fig. 3 Amplification profile of $BC_9F_{2:3}$ individuals on locus *Wx-B1*

A: BC_9F_2 代纯合显性单株; B: BC_9F_2 代杂合显性单株; M: ϕ X174-*Hae* III digest; 1~10: $BC_9F_{2:3}$ 代单株。

A: Dominant homozygotes of BC_9F_2 generation; B: Dominant heterozygotes of BC_9F_2 generation; M: ϕ X174-*Hae* III digest; 1~10: $BC_9F_{2:3}$ individuals.

2.1.3 *Wx-D1* 位点 *Wx-D1b* 相对于野生型 *Wx-D1a* 缺失 588 bp 的片段。*Wx-D1* 位点纯合显性基因型, 扩增出一条 840 bp 的条带; 纯合隐性基因型, 扩增出一条 260 bp 的条带; 杂合基因型同时出

现 840 bp 和 260 bp 的条带(图 4)。*Wx-D1* 位点在后代中分离比例有所偏差, 可能与 *Wx-D1b* 容易形成优势扩增有关, 这与杂合型中 840 bp 条带较暗相符(图 4)。

图 4 BC_9F_2 代部分材料 *Wx-D1* 位点分子标记扩增图谱

Fig. 4 Amplification profile of partial BC_9F_2 individuals on locus *Wx-D1*

M: ϕ X174-*Hae* III digest; 1: 扬麦 01-2; 2: Caiwx; 3~13: BC_9F_2 代单株。

M: ϕ X174-*Hae* III digest; 1: Yangmai 01-2; 2: Caiwx; 3~13: Individuals from BC_9F_2 generation.

2.2 同工酶标记检测

利用优化的 SDS-PAGE 电泳方法可有效分离 *Wx-B1* 蛋白和 *Wx-D1* 蛋白, 鉴别出 *Wx* 位点 8 种基因型(图 5)。同工酶标记检测结果与分子标记结果基本一致, 表明利用分子标记和同工酶标记创制 *Wx* 基因近等基因系是可行的, 可以提高基因型鉴定的

准确性。

2.3 直链淀粉含量

8 种基因型直链淀粉含量在 0.9%~24.8%之间。近等基因系间的直链淀粉含量存在显著差异, 糯小麦的直链淀粉含量小于 1%, 显著低于其他基因型。部分糯小麦的直链淀粉含量显著低于亲本扬麦 01-2,

其中双缺失型含量均小于 20%，显著低于单缺失型。双缺失型中 AAbbdd 最低，直链淀粉含量比亲本下降 8%~9%，其次为 aabbDD 型、aaBBdd 型，三者差异显著。单缺失型中 AAbbDD 最低，为 21%左右；单独缺失 *Wx-A1* 或 *Wx-D1* 含量相近(图 6)。上

述结果表明缺失 *Wx-B1* 基因对直链淀粉含量的降低效应最大，*Wx-A1* 或 *Wx-D1* 在单独缺失时降低效应基本一致。*Wx* 基因的缺失导致直链淀粉含量的显著降低，其中 *Wx-B1* 缺失降低 3.6%，*Wx-A1* 或 *Wx-D1* 缺失降低 2.2%~2.3%。

图 5 BC₉F₄代 *Wx* 蛋白亚基 SDS-PAGE 电泳图谱
Fig. 5 SDS-PAGE of *Wx* protein of BC₉F₄ generation

M: 低分子量标准蛋白质; 1: 扬麦 01-2 (AABBDD); 2: Caiwx (aabbdd); 3~9: BC₉F₄ 代种子。
M: Low molecular weight protein marker; 1: Yangmai 01-2 (AABBDD); 2: Caiwx (aabbdd); 3~9: BC₉F₄ seeds.

图 6 8 种基因型及扬麦 01-2 直链淀粉含量
Fig. 6 Amylose content of eight genotypes and Yangmai 01-2
1: aabbdd; 2: aabbDD; 3: aaBBdd; 4: AAbbdd; 5: aaBBDD; 6: AAbbDD; 7: AABBdd; 8: AABBDD; 9: Yangmai 01-2. 柱形上数据为直链淀粉含量，数据后不同字母表示基因型间差异显著 ($P < 0.05$)。

1: aabbdd; 2: aabbDD; 3: aaBBdd; 4: AAbbdd; 5: aaBBDD; 6: AAbbDD; 7: AABBdd; 8: AABBDD; 9: Yangmai 01-2. Values above columns are amylose content of genotypes, and the following different letters indicated significant difference among genotypes at $P < 0.05$.

2.4 面条感官品质

雪花粉是目前市场上较好的面条专用粉，以其制作的面条在色泽、表观上显著优于 8 种基因型和扬麦 01-2，且总分最高。糯小麦型面条在色泽、表观、软硬度、黏性、韧性上的得分和总分显著低于其他类型，而光滑性、食味得分的差异未达显著水平，表明 *Wx* 基因的全部缺失不利于面条感官品质。与扬麦 01-2 相比，单缺失型制作的面条在色泽、表观、总分指标上得分有所提高，其中 aaBBDD 和 AABBdd 型的分数得到显著的提高，表明 *Wx* 基因的单缺失利于面条感官品质的改善。双缺失类型制作的面条在各个评价指标上与亲本扬麦 01-2 基本没有

显著的差异，其品质未得到显著的改善。除糯小麦外，其他基因型在黏性、韧性、光滑性和食味上无显著差异。在 8 种基因型中，aaBBDD 型的各项指标得分均最高，其面条总分达 87.4，显著高于轮回亲本扬麦 01-2，且与雪花粉面条总分无显著差异，表明具有较好的面条品质(表 2)。

3 讨论

3.1 遗传标记在筛选 *Wx* 基因缺失型中的应用

Wx 基因的筛选和鉴定主要有籽粒碘染、分子标记、同工酶标记 3 种方法。籽粒碘染方法简单快速有效，已应用在糯小麦育种上^[25]，其缺点是只能识别糯小麦类型(aabbdd)，无法鉴别 *Wx* 基因单缺失、双缺失类型。STS 标记能直接反应基因序列的变化情况，具有简单快速的特点，但会受到试验条件的影响，引起误判。*Wx* 蛋白作为 *Wx* 基因的表达产物，具有较高的准确性，小麦不同 *Wx* 蛋白的电泳分离需要复杂的电泳控制条件，用于大规模筛选时有一定难度。因此，在筛选不同 *Wx* 基因缺失型时，要充分考虑材料本身的特性、所处世代，以此来选择合适的遗传标记，以提高筛选的准确性和效率。本研究选用 STS 标记结合 GBSS(*Wx* 蛋白)同工酶标记来筛选近等基因系，*Wx-A1*、*Wx-D1* 位点的 STS 标记为共显性标记(图 1 和图 4)，在 BC₉F₂ 即可鉴定出 A、D 位点基因型；而 *Wx-B1* 位点标记为显性标记(图 2)，需要检测下一代(BC₉F_{2:3})才能获得 *Wx-B1* 位点基因型。分子标记筛选出的基因型结合 *Wx* 蛋白电泳的验证，可大大提高鉴定的准确性。

表 2 8 种基因型、扬麦 01-2 和雪花粉面条感官品质
Table 2 Noodle sensory quality of eight genotypes of NILs, Yangmai 01-2, and Xuehua flour

基因型 Genotype	色泽 Color	表观 Appearance	软硬 Firmness	黏性 Stickiness	韧性 Elasticity	光滑性 Smoothness	食味 Taste	总分 Total score
aabbdd	15.0 f	6.7 d	6.9 c	12.5 c	11.7 c	16.4 b	7.9	76.9 d
aabbDD	16.1 e	7.4 c	7.9 ab	13.6 b	13.3 ab	17.0 ab	7.6	82.9 c
aaBBdd	17.1 cd	7.9 bc	7.4 bc	13.4 b	13.4 ab	17.1 a	7.6	83.9 c
AAbbdd	16.7 de	7.6 c	7.9 ab	13.5 b	13.2 b	16.9 ab	7.5	83.3 c
aaBBDD	17.9 b	8.4 a	8.0 ab	13.9 ab	14.0 a	17.6 a	7.6	87.4 ab
AAbbdd	16.7 de	7.7 bc	7.8 ab	13.7 ab	13.9 ab	17.0 ab	7.6	84.4 c
AABBdd	17.7 bc	8.2 ab	8.0 ab	13.9 ab	13.9 ab	17.2 a	7.4	86.3 b
AABBDD	16.8 d	7.6 c	7.6 ab	13.9 ab	13.7 ab	16.9 ab	7.4	83.9 c
扬麦 01-2 Yangmai 01-2	17.0 d	7.7 bc	7.7 ab	13.7 ab	13.6 ab	16.9 ab	7.4	84.0 c
雪花粉 Xuehua flour	19.1 a	8.5 a	8.2 a	14.2 a	13.6 ab	17.2 a	7.3	88.2 a

数字后不同字母表示显著差异($P<0.05$)。Values followed by different letters are significantly different at $P < 0.05$.

3.2 *Wx* 基因对直链淀粉含量、面条品质的影响

普通小麦直链淀粉的合成受 3 对 *Wx* 基因控制, 不同的基因效应有差异。Wickramasinghe 和 Miura^[15] 利用中国春近等基因系以及杂交获得的群体研究认为, 直链淀粉含量与任何一个 3 份剂量的 *Wx* 基因都呈正向线性相关, 其中 *Wx-B1a* 的效应最大, 影响直链淀粉含量的因素包括基因效应、基因剂量效应以及基因间的互作。本研究以扬麦 01-2 近等基因系为材料测定直链淀粉含量, 部分糯小麦、全糯小麦的直链淀粉含量显著低于扬麦 01-2 (图 6), *Wx* 基因的缺失显著降低直链淀粉含量, 其中 *Wx-B1* 基因对直链淀粉的合成效应最大, 这与宋建民等^[26]、王亮等^[27]、Araki 等^[16]的结果一致。本研究结果显示, 缺失 1 个 *Wx* 基因时直链淀粉含量降低 2.2%~3.6%; 缺失 2 个 *Wx* 基因降低 5.6%~8.5%; 在 *Wx* 基因全部缺失时, 直链淀粉含量仅为 0.9% (图 6), 表明 *Wx* 基因对直链淀粉的降低效应并不是简单线性关系, 不同 *Wx* 基因间存在互作。

面条是中国居民的传统食品, 其品质受许多因素的影响, 直链淀粉含量是主要因素之一^[28]。降低直链淀粉含量, 可提高面粉的膨胀能力, 降低凝胶硬度, 有利于白盐面条的软质结构^[29]。面筋强度是影响面条品质的另一重要因素, 主要由麦谷蛋白亚基决定^[30], 本研究中所用的一套近等基因系, 经麦谷蛋白亚基检测, 在亚基组成上无差异, 这与近等基因系间(除糯小麦)在面条黏性、韧性无显著差异的研究结果相符(表 2), 说明造成面条品质差异的本质原因是 *Wx* 基因组成的差异。全糯小麦制作的面条品质显著低于其他基因型和亲本(表 2), 说明全糯小麦粉不适合单独制作普通面条。全糯面条煮熟后

的色泽灰暗, 这已被证明与面条吸水后 PPO 活性增强有关(另文发表)。全糯面条的面条质地, 如黏性、韧性显著低于亲本及其他基因型, 表明其面筋强度很低, 推测 *Wx* 基因全部缺失, 不仅影响直链淀粉含量, 还影响蛋白质的数量和质量, 其机制有待深入研究。单缺失型小麦制作的面条品质优于其他基因型及其轮回亲本, 尤其是色泽、表观评分较高(表 2), 而双缺失型面条得分与亲本无显著差异(表 2), 说明直链淀粉含量只有在一定范围内的降低才利于面条品质的提高, 单缺失型小麦可能是培育优质面条小麦的首选材料。陈东升等^[31]利用同一组合的 8 种不同 *Wx* 蛋白缺失类型原始面粉的淀粉和谷朊粉重组制作面条, 认为 *Wx-B1* 缺失和 *Wx-D1* 缺失类型的面条品质最优。刘建军等^[21]对 185 个国内外品种研究表明 *Wx-B1* 缺失具有较好的面条品质, 可作为品种选育的指标。在本研究中, aaBBDD、AABBdd 型制作的面条品质较好(表 2), 具有较好的面条表观和质地, 总评分均显著高于轮回亲本, 尤其是 aaBBDD 型, 总分与优质面条专用粉雪花粉制作的面条相当, 这与前人结论略有不同, 推测 *Wx* 基因型与遗传背景间存在互作关系, 不同研究材料、不同研究方法也可能导致差异。

4 结论

构建了小麦 8 种纯合 *Wx* 基因型近等基因系。3 种 *Wx* 基因的缺失均可显著降低直链淀粉含量, 其中 *Wx-B1* 缺失的降低效应最大, *Wx-A1* 缺失和 *Wx-D1* 缺失降低效应相当。*Wx* 基因的缺失可在一定程度上提高面条的感官品质, 尤其是单缺失基因型可显著提高面条品质, 其中 aaBBDD 基因型与雪花

粉相当。通过小麦 3 对 *Wx* 基因的遗传操作培育优质面条小麦是可行的。

References

- [1] Clark J R, Robertson M, Ainsworth C C. Nucleotide sequence of a wheat (*Triticum aestivum* L.) cDNA clone encoding the waxy protein. *Plant Mol Biol*, 1991, 16: 1099–1100
- [2] Nakamura T, Yamamori M, Hidaka S. Variation of starch granule proteins and chromosome mapping of their coding genes in common wheat. *Theor Appl Genet*, 1996, 93: 275–281
- [3] Rahman S, Li Z, Batey I, Cochrane M P, Appels R, Morell M. Genetic alteration of starch functionality in wheat. *J Cereal Sci*, 2000, 31: 91–110
- [4] Zhao X C, Sharp P J. An improved 1D-SDS-PAGE method for the identification of three bread wheat “waxy” proteins. *J Cereal Sci*, 1996, 23: 1191–1193
- [5] Murai J, Taira T, Ohta D. Isolation and characterization of three waxy genes encoding the granule-bound starch synthase in hexaploid wheat. *Gene*, 1999, 234: 71–79
- [6] Vrinten P, Nakamura T. Molecular characterization of waxy mutations in wheat. *Mol Gen Genet*, 1999, 261: 463–471
- [7] Shariflou M R, Hassani M M, Sharp P J. A PCR-based DNA marker for detection of mutant and normal alleles of the *Wx-D1* gene of wheat. *Plant Breed*, 2001, 120: 121–124
- [8] Briney A, Wilson R, Robert H P, Barclay I, Crosbie G, Appels R, Mike G K J. A PCR-based marker for selection of starch and potential noodle quality in wheat. *Mol Breed*, 1998, 4: 427–433
- [9] Saito M, Vrinten P, Ishikawa G, Graybosch R, Nakamura T. A novel codominant marker for selection of the null *Wx-B1* allele in wheat breeding programs. *Mol Breed*, 2009, 23: 209–217
- [10] Song J-M(宋建民), Li B-Y(李保云), You M-S(尤明山), Liang R-Q(梁荣奇), Chang C(常成), Liu S-B(刘守斌), Tang Z-H(唐朝晖), Liu G-T(刘广田). Molecular identification of wheat granule bound starch synthase gene polymorphism. *Acta Genet Sin* (遗传学报), 2004, 31(1): 81–86 (in Chinese with English abstract)
- [11] Liu Y-C(刘迎春), Zhu H-L(朱惠兰), Cheng S-H(程顺和), Ma Z-Q(马正强). PCR-based molecular markers for *Wx-A1* and *Wx-D1* genes of wheat. *J Triticeae Crops* (麦类作物学报), 2005, 25(1): 1–5 (in Chinese with English abstract)
- [12] Nakamura T, Yamamori M, Hirano H, Hidaka S. Identification of three *Wx* protein in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Biochem Genet*, 1993, 31: 75–86
- [13] Wang Z-N(王子宁), Guo B-H(郭北海), Li H-J(李洪杰), Zhang Y-M(张艳敏), Wen Z-Y(温之雨). SDS-PAGE for the detection of *Wx* protein in polyploid wheats. *Hereditas* (遗传), 2000, 22(3): 169–171 (in Chinese with English abstract)
- [14] Pan Z-F(潘志芬), Deng G-B(邓光兵), Wang T(王涛), Yu M-Q(余懋群). An improved 1D-SDS-PAGE method for identification of wheat waxy protein. *Chin J Appl Environ Biol* (应用环境生物学报), 2000, 6(5): 487–489 (in Chinese with English abstract)
- [15] Wickramasinghe H A M, Miura H. Gene dosage effect of the wheat *Wx* alleles and their interaction on amylose synthesis in the endosperm. *Euphytica*, 2003, 132: 303–310
- [16] Araki E, Miura H, Sawada S. Identification of genetic loci affecting amylose content and agronomic traits on chromosome 4A of wheat. *Theor Appl Genet*, 1999, 98: 977–984
- [17] Zhai H-M(翟红梅), Tian J-C(田纪春). Development of wheat mutants carrying different null *Wx* alleles and their starch properties. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2007, 33(7): 1059–1066 (in Chinese with English abstract)
- [18] Zhang Y(张艳), Yan J(阎俊), Chen X-M(陈新民), He Z-H(何中虎). Effect of blending Waxy wheat flour with common wheat on protein and starch properties and Chinese fresh noodle quality. *J Triticeae Crop* (麦类作物学报), 2007, 27(5): 803–808 (in Chinese with English abstract)
- [19] Qin P(覃鹏), Ma C-X(马传喜), Wu R-L(吴荣林), Cheng S-H(程顺和). Effect of waxy wheat flour blending on quality of dry white Chinese noodle. *J Chin Cereal Oils Assoc* (中国粮油学报), 2008, 23(3): 17–23 (in Chinese with English abstract)
- [20] Song J-M(宋建民), Liu A-F(刘爱峰), You M-S(尤明山), Li B-Y(李保云), Wu X-Y(吴祥云), Zhao Z-D(赵振东), Liu G-T(刘广田). Effects of waxy flour blending on starch pasting properties and noodle quality of nonwaxy flour. *Sci Agri Sin* (中国农业科学), 2004, 37(12): 1838–1842 (in Chinese with English abstract)
- [21] Liu J-J(刘建军), He Z-H(何中虎), Yang J(杨金), Xu Z-H(徐兆华), Liu A-F(刘爱峰), Zhao Z-D(赵振东). Variation of starch properties in wheat cultivars and their relationship with dry white Chinese noodle quality. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 2003, 36(1): 7–12 (in Chinese with English abstract)
- [22] Miura H, Wickramasinghe M H A, Subasinghe R M, Araki E, Komae K. Development of near-isogenic lines of wheat carrying different null *Wx* alleles and their starch properties. *Euphytica*, 2002, 123: 353–359
- [23] Tian J-C(田纪春). Theory and Method for Cereal Quality Test

- (谷物品质测试理论与方法). Beijing: Science Press, 2006. pp 191–193 (in Chinese)
- [24] Zhang Y(张艳), Yan J(阎俊), Yoshida H, Wang D-S(王德森), Chen D-S(陈东升), Nagamine T, Liu J-J(刘建军), He Z-H(何中虎). Standardization of laboratory processing of Chinese white salted noodle and its sensory evaluation system. *J Triticeae Crop* (麦类作物学报), 2007, 27(1): 158–165 (in Chinese with English abstract)
- [25] Yu C-H(于春花), Ma D-G(马德高), Cheng S-H(程顺和), Bie T-D(别同德), Zhang X-X(张晓祥), Wu R-L(吴荣林). Study on breeding *Wx* wheat lines with pollen endosperm staining with I_2 -KI solution. *J Triticeae Crop* (麦类作物学报), 2010, 30(5): 835–841 (in Chinese with English abstract)
- [26] Song J-M(宋建民), Liu A-F(刘爱峰), Cheng D-G(程敦公), Dai S(戴双), Li H-S(李豪圣), Liu J-J(刘建军), Zhao Z-D(赵振东). Effect of different *Wx* protein combinations on wheat starch biosynthesis in developing endosperm. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 2009, 42(3): 765–771 (in Chinese with English abstract)
- [27] Wang L(王亮), Mu P-Y(穆培源), Xu H-J(徐红军), Zhuang L(庄丽), Sang W(桑伟), Nie Y-B(聂迎彬), Cui F-J(崔凤娟), Zou B(邹波). Characterization of *Wx* genes and starch pasting properties of Xinjiang winter and spring wheat cultivars. *J Triticeae Crop* (麦类作物学报), 2010, 36(6): 1017–1022 (in Chinese with English abstract)
- [28] Wang X-Z(王宪泽), Li H(李菡), Yu Z-W(于振文), Zhang J-D(张杰道). The path analysis of wheat grain in quality traits affecting noodle quality. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2002, 28(2): 240–244 (in Chinese with English abstract)
- [29] Baik B K, Lee M R. Effects of starch amylose content of wheat on textural properties of white salted noodles. *Cereal Chem*, 2003, 80: 304–309
- [30] Lei Z-S(雷振生), Liu L(刘丽), Wang M-F(王美芳), Yan J(阎俊), Zhang Y(张艳), He Z-H(何中虎). Effect of HMW and LMW glutenin subunits on processing quality in common wheat. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2009, 35(2): 203–210 (in Chinese with English abstract)
- [31] Chen D-S(陈东升), Kiribuchi-Otobe C, Xu Z-H(徐兆华), Chen X-M(陈新民), Zhou Y(周阳), He Z-H(何中虎), Yoshida H, Zhang Y(张艳), Wang D-S(王德森). Effect of *Wx*-A1, *Wx*-B1 and *Wx*-D1 protein on starch properties and Chinese fresh noodle quality. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 2005, 38(5): 865–873 (in Chinese with English abstract)