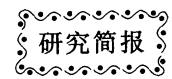


DOI: 10.3724/SP.J.1006.2014.02198



小麦面粉色泽(白度)与 DArT 标记的关联分析

于海霞¹ 肖 静² 田纪春^{1,*}

¹山东农业大学 / 作物生物学国家重点实验室 / 山东省作物生物学重点实验室, 山东泰安 271018; ²山东省泰安市岱岳区农业局, 山东泰安 271018

摘 要: 面粉色泽(白度)是评价小麦加工品质的重要指标之一。在4个环境中检测了109份矮孟牛姊妹系及其衍生系的面粉色泽(白度)参数, 并利用混合线性模型分析其与覆盖小麦基因组的971个 DArT (Diversity Array Technology)标记的关联性。结果显示, 17个 DArT 标记与面粉色泽显著关联, 4个标记与白度显著关联($P \leq 0.001$)。标记 wPt-1196和 wPt-669693在多个环境中与色泽 a^* 和 b^* 关联, 且效应值较大。该研究结果为小麦面粉色泽的分子标记辅助选择育种提供了参考信息。

关键词: 小麦; 面粉色泽(白度); 矮孟牛; 关联分析; DArT 标记

Genome-wide Association Analysis of Flour Color (Whiteness) Using DArT Markers in Common Wheat

YU Hai-Xia¹, XIAO Jing², and TIAN Ji-Chun^{1,*}

¹Shandong Agricultural University / State Key Laboratory of Crop Biology / Shandong Key Laboratory of Crop Biology, Tai'an 271018, China; ²Daiyue District Agriculture Bureau of Tai'an City, Shandong Province, Tai'an 271018, China

Abstract: Flour color (whiteness) is an important index to evaluate wheat quality. Parameters for flour color (L^* , a^* , and b^*) and whiteness of 109 lines derived from wheat variety Aimengniu were evaluated in four environments, and association analysis was carried out using 971 DArT (Diversity Array Technology) markers under the mixed linear model. Twenty-seven DArT markers were found to be associated with flour color ($P \leq 0.001$), while seven markers with whiteness. Markers wPt-1196 and wPt-669693 were associated with color a^* and b^* in multi-environments, and the percentages of phenotypic variation explained were high. These results provide important information for marker-assisted selection of wheat flour color (whiteness).

Keywords: Wheat; Flour color (whiteness); Aimengniu; Association analysis; DArT markers

面粉色泽(白度)是小麦面粉品质的重要指标之一, 在很大程度上反映面粉的质量和制粉精度, 也是面粉分级的重要指标。在我国, 面粉等级标准对色泽(R457白度)的要求是一级大于76, 二级大于75, 三级大于72^[1]。馒头、面条等中国传统食品大多都需要较高的白度。

面粉色泽主要受遗传因素影响。Parker等^[2]用重组自交系, 将控制面粉黄色度(flour b^*)基因位点定位在3A和7A, 分别解释13%和60%的表型变异, 确定遗传力为0.68, 表明面粉色泽的表达主要受遗传控制。Ma等^[3]在第1同源群和7B染色体上检测到亮度和黄色度(L^* 和 b^*)的QTL。Kuchel等^[4]在7B染色体上检测到一个主效QTL, 解释48%~60%的表型变异。Zhang等^[5]将控制黄色度 b^* 的8个QTL定位于1DS、2DL、3A、4D、5D、6AL、6D和

7AL。McCartney等^[6]将控制黄碱面条亮度(noodle L^*)和黄色度(noodle b^*)基因分别定位在5B、5D和7AL上。张晓和田纪春^[7]检测到控制面粉色泽的18个加性位点, 分布在19条染色体上, 其中一个主效QTL与位点Xbarc 372(0.1 cM)邻近, 对红色度 a^* 的贡献率高达25.64%。Zhang等^[8]在1A染色体上检测到关于色泽的QTL, 解释1.5%~4.1%的变异。大多数研究集中于色泽 L^* 和 b^* , 而对同样重要的 a^* 则研究较少。

基于连锁不平衡(linkage disequilibrium, LD)的关联分析通过检测标记-性状关联已成为QTL分析的一个重要手段。近年来, 该技术已在小麦产量、品质、抗病性等遗传学研究上广泛采用^[9-12], 但是品质特性研究多集中于高分子量麦谷蛋白, 而对面粉色泽和白度关注较少, 尤其

本研究由国家自然科学基金项目(30971764)和国家转基因生物新品种培育重大专项(2008ZX08002-003)资助。

* 通讯作者(Corresponding author): 田纪春, E-mail: jctian@sdaa.edu.cn

第一作者联系方式: Email: yuhaixia66@126.com

Received(收稿日期): 2014-03-26; Accepted(接受日期): 2014-09-16; Published online(网络出版日期): 2014-10-16.

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1809.S.20141016.1535.007.html>

是使用 DArT 标记(Diversity Arrays Technology, <http://www.diversityarrays.com/>)^[13]的研究还未见报道。本研究通过关联分析对小麦面粉色泽(白度)进行 QTL 定位, 希望找到与之紧密连锁的 DArT 标记, 为分子标记辅助选择和分子设计育种提供参考。

1 材料与方法

1.1 植物材料

选用矮孟牛姊妹系及其亲本和衍生系 109 份材料, 大部分来源于中国。使用 DArT 标记进行全基因组扫描, 标记的 PIC 平均值为 0.408。使用 STRUCTUE 2.0 软件评估群体结构, 可分为 4 个子群体。整个群体 LD 的延伸距离为 23.6 cM^[14]。

1.2 表型性状测定方法

分别在山东泰安的山东农业大学农场(2008—2010 连续 3 年)和安徽宿州紫芦湖农场(2010 年) 4 个田间条件下种植, 采用完全随机区组设计, 2 次重复, 行长 2 m, 行距 0.25 m。按当地小麦产量品种比较试验的要求进行田间管理。成熟期小区混收。

收获后室温储藏 3 个月, 用布勒实验磨(model-MLU 300 m/s Buhler, Uzwil, 瑞士)制粉。采用 WSB-IV 型智能白度测定仪测定面粉白度。用美能达 CR-310 型色差计(日本)测定面粉色泽(L*、a*、b*值), 以 L*、a*和 b*色空间

表示。L*为亮度(0 表示黑色, 100 表示白色), a*表示红-绿方向, b*表示黄-蓝方向。每样品重复 5 次, 每个环境下的观测值为样品平均值。

1.3 数据处理和关联分析

使用 SAS 8.0 (SAS Institute Inc., Cary, NC, 美国)进行方差分析(ANOVA)和相关性分析, 用 4 个环境的面粉色泽(白度)平均值作相关分析。使用 TASSEL 2.0.1 (<http://www.maizegenetics.net/>)计算 DArT 标记间的连锁不平衡(r^2), 排除稀有等位基因($f < 0.10$)后进行 1000 次排列计算。用 Structure 2.0 计算群体结构数据, 由 TASSEL 2.0.1 计算 Kinship 矩阵, 应用 mixed linear model 进行标记和性状之间的关联分析。当标记的 $P \leq 0.001$ 时认为与性状存在关联。

2 结果与分析

2.1 面粉色泽(白度)的表型变异及参数之间的相关性

分别对 4 个环境下材料的面粉色泽和白度参数考察, 显示这个群体的表型具有丰富的多样性, 在不同材料中变异幅度较大, 但在不同环境间差异较小, 尤其是 2010 年 2 个地点间差异更小。群体结构对面粉白度、a*和 b*变异的解释率分别为 12.9%、21.2%和 14.6%, 而 L*受遗传因素影响较小, 表型变异解释率仅为 7.3%(表 1)。除白度和色泽 a*正相关外, 参数之间存在不同程度的负相关, 尤其是 b*与 a*和 L*有显著负相关(表 2)。

表 1 面粉色泽和白度的表型变异
Table 1 Phenotypic performance for flour color and whiteness

参数 Parameter	环境 Environment	最小值 Minimum	最大值 Maximum	平均值 Mean	遗传方差 V_G	误差方差 V_E	R^2
L*	E1	87.9	93.1	91.3	0.6	0.3	12.9
	E2	82.1	93.7	91.9	1.1	0.3	4.6
	E3	91.2	94.1	92.9	0.5	0.1	3.6
	E4	91.2	94.4	93.2	0.5	0.2	8.1
a*	E1	-1.8	-0.1	-0.9	0.2	0.1	26.5
	E2	-2.1	-0.6	-1.3	0.2	0.1	17.0
	E3	-2.7	-1.0	-1.8	0.3	0.1	10.2
	E4	-2.6	-1.1	-1.7	0.3	0.1	31.2
b*	E1	6.3	10.5	8.3	0.7	0.2	10.2
	E2	5.4	11.5	8.6	1.0	0.4	11.2
	E3	6.2	13.1	9.3	1.3	0.3	20.1
	E4	5.8	13.3	9.0	1.4	0.3	16.9
白度 Whiteness	E2	67.9	82.3	75.9	2.5	0.4	9.6
	E3	71.0	82.3	76.8	2.3	0.3	12.1
	E4	70.9	84.8	77.9	2.7	0.4	16.9

R^2 : 解释表型变异的比例。E1: 泰安-2008; E2: 泰安-2009; E3: 泰安-2010; E4: 宿州-2010。E1 环境下白度数据缺失。
 R^2 : percentage of phenotypic variation explained. E1: Tai'an-2008; E2: Tai'an-2009; E3: Tai'an-2010; E4: Suzhou-2010. Whiteness data in E1 are missing.

2.2 面粉色泽与白度的关联分析

利用各环境的数据独立寻找遗传关联, 在 $P \leq 0.001$ 水平上确定了 34 个标记-性状关联(marker-trait association, MTA), 包括 20 个分子标记, 分布在 1A、1B、3B、5A、6A、6B、6D、7A 和 7B 染色体上, 对表型变异的解释率(R^2)为 6.8%~18.1%。有 8 个标记关联 2 个性状, 其他 12 个标记关联单个性状; 除 3 个标记在 3 个环境、1 个标记在 2 个环境中被重复检测到外, 其他均在单一环境下被检测到(表 3)。

表 2 面粉色泽与白度参数之间的相关性系数
Table 2 Pairwise correlation between flour color and whiteness

参数 Parameter	白度 Whiteness	L*	a*
L*	-0.037		
a*	0.038	-0.023	
b*	-0.038	-0.230*	-0.590**

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$.

表 3 与面粉色泽(白度)关联标记的染色体定位及其对表型变异的解释
Table 3 Chromosomal location and phenotypic variation explained of marker loci associated with flour color (whiteness)

染色体 Chr.	DArT 标记 DArT marker	位置 Position (cM)	白度 Whiteness		L*		a*		b*	
			R^2 (%)	Env.	R^2 (%)	Env.	R^2 (%)	Env.	R^2 (%)	Env.
1A	wPt-9317	12.4					7.4*	E4		
	wPt-731090	34.7	9.7*	E2					8.5*	E4
			9.2*	E3						
			8.8*	E4						
1B	wPt-3579	—			9.4*	E1	8.4*	E1		
	wPt-730156	15.9			10.2*	E1				
	wPt-2315	46.8					6.8*	E1		
3B	wPt-11295	—							9.3*	E1
5A	wPt-7061	—			8.6*	E1				
6A	wPt-1695	66.1	9.0*	E2						
6B	wPt-6039	—							11.0*	E1
	wPt-6594	—			10.1*	E1			7.9*	E1
	wPt-730273	288.7			13.7**	E1				
	wPt-1437	—			8.8*	E1				
	wPt-3207	—	9.2	E2						
6D	wPt-666615	139.1	10.9*	E2						
			9.5*	E3						
7A	wPt-1958	—							13.3**	E1
	wPt-0745	—							7.7*	E1
	wPt-5533	221.8			8.5*	E1			11.5*	E1
7B	wPt-1196	68.0					11.7**	E1	11.9*	E4
							13.0**	E2		
							18.1**	E4		
							8.5*	E1	9.9*	E4
							12.1**	E2		
							13.8**	E4		
							8.8*	E1	8.6*	E1
	wPt-3710	—								

R^2 : 解释表型变异的比例; Env: 环境; —: 遗传距离未知; E1: 泰安-2008; E2: 泰安-2009; E3: 泰安-2010; E4: 宿州-2010。*和**分别表示 $0.0001 < P \leq 0.001$ 和 $P \leq 0.0001$ 水平显著关联。

R^2 : Percentage of phenotypic variation explained; Env: Environment; —: Genetic distance unknown; E1: Tai'an-2008; E2: Tai'an-2009; E3: Tai'an-2010; E4: Suzhou-2010. * and ** indicate significant association at $0.0001 < P \leq 0.001$ and $P \leq 0.0001$, respectively.

与面粉白度显著关联的标记共 4 个, 其中位于 1A 的 wPt-731090 在 3 个环境中被检测到, 位于 6D 的 wPt-666615 在 2 个环境中被检测到。

与面粉色泽 L*显著关联的标记有 7 个, 在 1B 和 6B

染色体上均有多个标记位点(2 个和 3 个), 其中位于 6B 的 wPt-730273 的表型贡献率高达 13.7%。

检测到 6 个与面粉色泽 a*显著关联的标记位点, 其中位于 7B 的 wPt-1196 和 wPt-669693 都在 3 个环境下被重

复检测到($P \leq 0.0001$), 其表型贡献率平均值都超过 10%。

与面粉色泽 b^* 显著关联的标记位点最多, 共 10 个, 在 7A 和 7B 染色体上各有 3 个, 但所有标记仅在单一环境中被检测到。7A 上的 wPt-1958 具有最高的表型解释率 (13.3%); 7B 上 wPt-1196t 也是 a^* 的关联标记; 其余标记, 如 wPt-731090 (1A)、wPt-6594 (6B) 和 wPt-5533 (7A) 也与白度或 L^* 关联。7A 上遗传距离未知的 wPt-1958 与已定位标记 wPt-5533 (221.8 cM) 存在较强的 LD ($r^2 > 0.8$), 这 2 个标记均可视为在定位标记附近^[17]。

3 讨论

面粉色泽是小麦磨粉品质和商品品质的主要指标, 面粉白度直接影响中国馒头和面条的外观品质。早期已有许多面粉色泽的 QTL 研究, 本研究首次应用 DArT 标记和关联分析探究面粉色泽(白度)的遗传基础, 这将有助于分子标记辅助育种。我们发现关联标记大多集中在 1A、1B、6B、7A 和 7B 上, 与以往 QTL 定位结果吻合^[2-4,7,13]。

本研究结果进一步证实色泽 b^* 与 a^* 和 L^* 有显著负相关^[7]。目前发现的面粉白度、色泽 L^* 和 a^* 相关 QTL 较少, 所以研究 a^* 与 L^* 的遗传基础对获得理想的面粉色泽很重要。本研究得到了 a^* 和 L^* 的大量 MTA, 其中主效位点 wPt-1196 可解释色泽 a^* 变异的 18.1%, 且能在多个环境中被检测到, 是一个值得深入研究的位点。此外仅检测到 1 个与白度和 b^* 关联的位点, 还需进一步研究。

关联结果与材料群体结构和试验环境高度相关^[15], 使用具有较高遗传多样性的材料, 并在多个环境下重复检测, 可有效减少误差。Bordes 等^[13] 利用 803 个标记, 在来自世界各国的小麦群体中检测到与面粉色泽显著关联的位点, 其中 wPt-6447 为共同关联标记。本研究表明, 7B 上的 wPt-1196 和 wPt-669693 都在 3 个环境下与 a^* 和 b^* 显著关联, 且具有高的贡献率(18.1%), 可用于分子标记辅助选择育种。

关联分析主要用于确定控制复杂性状且效应值较小的 QTL^[16]。面粉色泽是受微效多基因控制的数量性状。Tsilo 等^[17] 在 6 条染色体(1A、1B、5A、5B、5D 和 7B)上发现了 QTL 簇, 单个标记的表型贡献率较小。本文确定的关联标记与以往研究相比, 大多位于相同染色体, 但位置不同。这可能与作图群体和试验环境、标记类型和数据、分析方法, 以及图谱基因组覆盖率和标记密度等有关。

小麦面粉色泽主要由胚乳颜色确定^[18], 色泽组分包括黄色素和棕色素等。黄色素是决定面粉颜色的主要组分, 同时具有一定的抗氧化功能, 对慢性病有一定的抵抗功效^[19-20]。加强对黄色素的研究有助于对面粉色泽的理解。另外, 谷物蛋白含量和硬度等同样影响面粉色泽。蛋白含量与色泽水平显著正相关^[21], 硬度通常与白度负相关^[22-23]。探讨相关性状的遗传基础可能有助于理解色泽的遗传机制。

面粉色泽(白度)的改良包括利用现有白度优良的品

种资源, 可采用传统杂交育种和现代生物技术相结合, 选育白度优良的材料。本研究中, 携带优异位点或优异等位变异的材料主要有矮丰 3 号、鲁麦 23、孟县 201 等^[14], 广大育种者在材料选择时可加以参考。

References

- [1] 徐兆飞, 张惠叶, 张定一. 小麦品质及其改良. 北京: 气象出版社, 2000
Xu Z F, Zhang H Y, Zhang D Y. Wheat Quality and Its Improvement. Beijing: China Meteorological Press, 2000 (in Chinese)
- [2] Parker G D, Chalmers J K, Rathjen A J, Langridge P. Mapping loci associated with flour color in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet*, 1998, 97: 238–245
- [3] Ma W, Daggard G, Sutherland M, Brennan P. Molecular markers for quality attributes in wheat. In: Proc 9th Assembly Wheat Breeding Society, Australia, 1999. pp 115–117
- [4] Kuchel H, Langridge P, Mosionek L, Williams K, Jefferies S P. The genetic control of milling yield, dough rheology and baking quality of wheat. *Theor Appl Genet*, 2006, 112: 1487–1495
- [5] Zhang Y, He Z H, Zhang A M, Ginkel M, Ye G Y. Pattern analysis on grain yield performance of Chinese and CIMMYT spring wheat cultivars sown in China and CIMMYT. *Euphytica*, 2006, 147: 409–420
- [6] McCartney C A, Somers D J, Lukow O, Ames N, Noll J, Cloutier S, Humphreys D G, McCallum B D. QTL analysis of quality traits in the spring wheat cross RL4452 \times “AC Domain” *Plant Breed*, 2006, 125: 565–575
- [7] 张晓, 田纪春. 若干高白度小麦的色泽优势及形成因素分析. 中国农业科学, 2008, 41: 347–353
Zhang X, Tian J C. The color advantage of Chinese wheat with high whiteness and analysis of factors affecting color formation. *Sci Agric Sin*, 2008, 41: 347–353 (in Chinese with English abstract)
- [8] Zhang L Y, Marchand S, Tinker N A, Belzile F. Population structure and linkage disequilibrium in barley assessed by DArT markers. *Theor Appl Genet*, 2009, 119: 43–52
- [9] Thornsberry J M, Goodman M M, Doebley J, Kresovich S, Nielsen D, Buckler E S. Dwarf 8 polymorphisms associate with variation in flowering time. *Nat Genet*, 2001, 28: 286–289
- [10] Ravel C, Praud S, Murigneux A, Linossier L, Darderet M, Balfourier F, Dufourier F, Dufour P, Brunet D, Charmet G. Identification of *Glu-B1-1* as a candidate gene for the quantity of high molecular-weight glutenin in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) by means of an association study. *Theor Appl Genet*, 2006, 112: 738–743
- [11] Tommasini L, Schnurbusch T, Fossati D, Mascher F, Keller B. Association mapping of *Stagonospora nodorum* blotch resistance in modern European winter wheat varieties. *Theor Appl Genet*, 2007, 115: 697–708
- [12] Yao J, Wang L, Liu L, Zhao C, Zheng Y. Association mapping of agronomic traits on chromosome 2A of wheat. *Genetica*, 2009, 137: 67–75
- [13] Bordes J, Ravel C, Le Gouis J, Lapiere A, Charmet G, Balfourier F. Use of a global wheat core collection for association analysis of flour and dough quality traits. *J Cereal Sci*, 2001, 54: 137–147
- [14] 于海霞, 田纪春. 小麦淀粉糊化特性与 DArT 标记的关联分析. 作物学报, 2012, 38: 1997–2006

- Yu H X, Tian J C. Association between starch pasting properties and DArT markers in common wheat. *Acta Agron Sin*, 2012, 38: 1997–2006 (in Chinese with English abstract)
- [15] Camus-Kulandaivelu L, Veyricras J B, Madur D, Combes V, Fourman M, Barraud S, Dubreuil P, Gouesnard B, Manicacci D, Charcosset A. Maize adaptation to temperate climate: relationship with population structure and polymorphism in the *Dwarf8* gene. *Genetics*, 2006, 172: 2449–2463
- [16] Risch N, Merikangas K. The future of genetic studies of complex human disease. *Science*, 1996, 273: 1516–1517
- [17] Tsilo T J, Hareland G A, Chao S, Anderson J A. Genetic mapping and QTL analysis of flour color and milling yield related traits using recombinant inbred lines in hard red spring wheat. *Crop Sci*, 2011, 51: 237–246
- [18] Yasunaga T, Uemura M. Evaluation of color characteristics of obtained from various types and varieties of wheat. *Cereal Chem*, 1962, 39: 171–183
- [19] Oliver J R, Blaeney A B, Allen H M. Measurement of flour color in color space parameters. *Cereal Chem*, 1992, 69: 546–551
- [20] Meydani M. Antioxidants in the prevention of chronic diseases. *Nutr Clin Care*, 2002, 5: 47–49
- [21] Miskelly D M. Flour components affecting paste and noodle colour. *J Sci Food Agric*, 1984, 35: 463–471
- [22] Oh N H, Seib P A, Ward A B, Noodle I V. Influence of flour protein, extraction rate, particle size, and starch damage on the quality characteristics of dry noodle. *Cereal Chem*, 1985, 62: 441–446
- [23] 周艳华, 何中虎. 小麦品种磨粉品质研究概况. *麦类作物学报*, 2001, 21(4): 91–95
- Zhou Y H, He Z H. Review on wheat milling quality. *J Triticeae Crops*, 2001, 21(4): 91–95 (in Chinese with English abstract)