

普通小麦籽粒黄色素含量的 QTL 分析

张立平¹ 阎俊^{1,2} 夏先春¹ 何中虎^{1,3,*} Mark W Sutherland⁴

(¹ 中国农业科学院作物科学研究所/国家小麦改良中心,北京 100081; ² 中国农业科学院棉花研究所,河南安阳 455112; ³ CIMMYT 中国办事处,北京 100081; ⁴ 澳大利亚南昆士兰大学,Toowoomba 4350)

摘要: 小麦面粉黄色度 b^* 值是反映面粉颜色的重要指标,主要与籽粒黄色素含量有关。利用 122 对 SSR 引物、4 对贮藏蛋白 STS 引物和 10 对 AFLP 引物组合,分析了中优 9507 × CA9632 的 71 个 DH 系,构建了由 173 个位点组成的遗传连锁图,在小麦 21 个连锁群上覆盖 2 881 cM。将该群体种植 2 年共计 5 个地点,测定籽粒黄色素和面粉黄色度 b^* 值含量。采用复合区间作图法(CIM)进行了籽粒黄色素含量和面粉黄色度 QTL 分析。结果表明,面粉黄色度 b^* 值的 QTL 位于染色体 1DS、2DL、3A、4D、5D、6AL、6D 和 7AL 上,其中 7AL 的 QTL 效应最大,贡献率为 12.9%~37.6%;籽粒黄色素含量的 QTL 位于染色体 2DL、3DL、4A、5A 和 7AL,其中 7AL 的 QTL 效应最大,贡献率为 12.1%~33.9%。面粉黄色度 b^* 值与籽粒黄色素含量共同的 QTL 位于 7AL,与 Xgwm264b 紧密连锁,遗传距离分别为 0~3.9 cM 和 0~0.9 cM。

关键词: 普通小麦;面粉黄色度 b^* 值;籽粒黄色素含量;分子标记;QTL 分析
中图分类号: S512

QTL Mapping for Kernel Yellow Pigment Content in Common Wheat

ZHANG Li-Ping¹, YAN Jun^{1,2}, XIA Xian-Chun¹, HE Zhong-Hu^{1,3,*} and Mark W Sutherland⁴

(¹ Institute of Crop Sciences / National Wheat Improvement Center, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081; ² Cotton Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Anyang 455112, Henan; ³ CIMMYT China Office, Beijing 100081, China; ⁴ University of South Queensland, Toowoomba, QLD 4350, Australia)

Abstract: Flour yellowness b^* is a major criterion to estimate flour colour, which is basically determined by yellow pigment content in wheat grains. A doubled haploid (DH) population with 71 lines derived from a cross between Zhongyou 9507 with lower flour yellowness b^* and CA9632 with higher flour yellowness b^* , was sown for two years in 5 locations. A total of 173 loci including 122 SSR, 4 STS of storage protein genes and 10 AFLP markers were used to construct a linkage map, covering 2 881 cM of whole genome at 21 linkage groups. With the method of composite interval mapping (CIM), 8 putative major QTL of yellowness b^* were detected on chromosomes 1DS, 2DL, 3A, 4D, 5D, 6AL, 6D and 7AL (Table 2), and 5 putative QTL of yellow pigment content were detected on chromosome 2DL, 3DL, 4A, 5A and 7AL (Table 3), respectively. The QTL on 7AL was common for yellowness b^* and yellow pigment content, accounting for 12.9%~37.6% and 12.1%~33.9% of the phenotypic variance across different environments, respectively, which was closely linked to Xgwm264b. The genetic distance between Xgwm264b and the QTL of flour yellowness b^* and grain yellow pigment on chromosome 7AL were 0~3.9 cM and 0~0.9 cM, respectively. It can be used as a molecular marker in wheat breeding program.

Key words: Common wheat (*Triticum aestivum* L.); Flour yellowness b^* ; Kernel yellow pigment; Molecular marker; Quantitative trait loci (QTL)

小麦籽粒黄色素是造成面粉白度下降的重要因素。不同食品对面粉颜色的要求不同,日本和东南亚等地消费的加碱黄面条要求面粉黄色素含量较高,其他食品如面包、馒头和普通面条等要求面粉白度较高。黄色素的主要成分是叶黄素、酯类、胡萝卜

素、含量极微的红-紫-棕色的花色素类色素和黄酮类化合物^[1]。

虽然环境对黄色素含量有一定影响^[2],但基因型是主要影响因素,其遗传力为 0.68,品种间黄色素含量可相差 3~4 倍^[3,4]。我国普通冬小麦品种

基金项目:农业部“948 计划”重大国际合作项目(2003-Q01)和国家“973 计划”(2002CB111300)资助。

作者简介:张立平(1969-),女,山西大同人,博士,在北京市农林科学院杂交小麦中心工作。

* 通讯作者(Corresponding author):何中虎。Tel:010-68918547; E-mail: zhhe@public3.bta.net.cn

Received(收稿日期):2004-12-31; Accepted(接受日期):2005-04-02.

(系)间籽粒黄色素含量存在很大差异,黄色素含量与面包和面条颜色密切相关,通过育种途径降低黄色素含量是我国小麦品质改良的重要目标之一^[5]。

Parker等^[4]与Mares和Campbell^[6]将控制面粉黄色度 b^* 值和籽粒黄色素含量的QTL定位于7AL、3AL和3B上,Marais^[7]在7DL上也发现了面粉黄色素基因。Knott^[8]发现高黄色素含量与 $Lr19$ 连锁, $Lr19$ 虽对抗锈和产量有较大正向贡献,但其高黄色素含量往往对面粉颜色不利,应在育种中注意选择(Ravi Singh,私人通讯)。Parker等^[9]将面粉黄色度 b^* 的主效QTL定位于7AL上,并由AFLP标记转化为SCAR标记,但Sharp等^[10]的研究却表明,该标记只对与定位亲本黄色度来源相同的品种(系)有效,而与其他许多品种的黄色度几乎没有关系,因而该标记不具有普遍性,无法用于我国的亲本基因型鉴定和后代筛选。

本文对中优9507和CA9632以及由它们构建的DH群体进行籽粒黄色素含量和面粉黄色度测试,利用已构建的分子标记连锁图谱进行这两个性状的QTL分析,为进一步利用分子标记辅助育种等手段选育面粉颜色优良的品种提供理论基础。

1 材料和方法

1.1 植物材料和田间试验

通过小麦×玉米杂交方法获得中优9507×CA9632的71个双单倍体(doubled-haploid, DH)系。中优9507面粉黄色度低,而CA9632面粉黄色度较高。亲本及DH系于2001-2002年度分别种植在中国农科院作物所(北京)、中国农科院棉花所(安阳)和山东农科院作物所(济南),2002-2003年度分别种植在中国农科院作物所(北京)和中国农科院棉花所(安阳),采用随机区组设计,2次重复,小区3行区,行长2m,每行播种80粒。田间管理按当地产量比较试验进行。

1.2 面粉白度及黄色素含量分析

用日本Minolta公司的CR-310白度仪测定面粉白度,采用 $L^* - a^* - b^*$ 读数系统记录, L^* 表示面粉的白度及亮度, a^* 表示面粉的红绿度, b^* 表示面粉的黄色度。参照AACC方法14-15,即用水饱和和正丁醇提取后,用紫外分光光度计测定籽粒的黄色素含量^[11]。面粉黄色度 b^* 值只有2001-2002年的3点数据。

1.3 统计分析

应用SAS软件对籽粒黄色素含量和面粉黄色度 b^* 进行统计分析,包括平均值、变异范围、变异系数和方差分析。

1.4 遗传图谱的构建

SSR标记:利用Röder等^[12]发表的239对Xgwm引物,SSR协作组的536对WMC引物,Pestsova等^[13]发表的38对Xgdm引物,Devos等^[14]发表的1对 $Glu-A3$ SSR引物和Lee等^[15]发表的1对 $Gli-B1$ SSR引物,共815对SSR引物,筛选出122对多态性引物,包括154个多态性位点。

AFLP引物:选用3个选择性碱基的P引物和M引物各9个,组成10对引物组合,每对引物获得的多态性位点2~10个,共42个多态性标记位点。

STS标记:5对贮藏蛋白的STS标记,有4对具有多态性即011A($Glu-A3$)、011B($Glu-B3$)、1Dx5和1Dy10/12(这2个位点合并作为 $Glu-D1$ 位点记录)。

应用MAPMAKER 3.0软件,将200个多态性标记(位点)中的143个SSR标记、4个贮藏蛋白基因STS标记和26个AFLP标记共173个位点绘在遗传连锁图上。采用Kosambi函数将标记之间的重组交换率转换为遗传图距单位(cM)。连锁图总长度为2881 cM,标记间的平均遗传距离为16.6 cM。

1.5 QTL分析

应用QTL Cartographer 2.0软件的复合区间作图法(CIM)分别进行3个地点面粉黄色度 b^* 值和籽粒黄色素含量(同一地点2年的数据以平均值计算)的QTL分析, LOD 的阈值为2.5。

2 结果与分析

2.1 简单统计量和变异分布

方差分析表明,面粉黄色度 b^* 值和籽粒黄色素含量在基因型和环境间差异达1%显著水平, b^* 值的基因型和环境互作也达1%显著水平(详细结果略)。

从表1可以看出,面粉黄色度值在不同地点的平均值和变异系数差异不大,分别为9.85~10.00和14.6%~15.8%。籽粒黄色素含量在不同地点的平均值差异也不明显,为2.73~3.10,但变异系数在年度间差异较大,2001-2002年度与2002-2003年度的变异系数分别为15.6%~17.8%和22.9%~23.8%。

表1 颜色相关性状的简单统计量

Table 1 Mean, range and coefficient of variation for yellow pigment and flour yellowness b*

年度 Year	地点/性状 Location/trait	样品数 No. of samples	平均值 Mean	范围 Range	变异系数 CV (%)
2001 - 2002	Beijing/flour b* value	71	9.85	6.13-13.88	15.7
	Anyang/flour b* value	70	10.47	6.60-13.70	14.6
	Jinan/flour b* value	61	10.00	5.94-14.11	15.8
	Beijing/kernel yellow pigment content	71	2.73	1.81-4.15	17.8
	Anyang/kernel yellow pigment content	71	2.59	1.54-3.59	15.6
	Jinan/kernel yellow pigment content	61	2.68	1.69-3.63	17.6
2002 - 2003	Beijing/kernel yellow pigment content	68	2.97	1.55-4.53	23.8
	Anyang/kernel yellow pigment content	70	3.10	1.64-4.60	22.9

2.2 面粉黄色度 b* 值的 QTL 分析

面粉黄色度 b* 值的 QTL 位于 1DS、2DL、3A、4D、5D、6AL、6D 和 7AL 上(表 2, 图 1)。其中 7AL 上的 QTL 位于 WMC36b-Xgwm264b 之间, 与 Xgwm264b 的遗传距离为 0 ~ 3.9 cM, 贡献率为 12.9% ~ 37.6%; 4D 上的 QTL 位于 WMC473-Xgdm125 之间, 与 WMC473 的遗传距离为 2.0 ~ 5.0 cM, 贡献率为 18.7% ~ 22.8%。在 6AL 和 2DL 上检测到 2 个地点

共同的 QTL, 标记区间为 WMC312a ~ Xgwm169 和 WMC200a ~ WMC132c, 贡献率分别为 9.6% ~ 13.3% 和 8.4% ~ 12.9%。这 4 个 QTL 都来源于高 b* 值亲本 CA9632。按 3 个试验点平均值计算, 检测到位于 7AL、4D、6A 和 4A 上的 QTL, 其贡献率分别为 17.5%、15.1%、12.6% 和 6.5%; 由于位于 4A 上 QTL 只在北京一个地点出现, 且贡献率较小, 不列为有效 QTL。

表2 复合区间作图法检测到的面粉黄色度 b* 的 QTL

Table 2 QTL of flour yellowness b* based on composite interval mapping analysis

地点 Location	染色体 Chr.	位置 Pos. (cM)	区间及标记 Marker interval	LOD 值 LOD score	加性效应 Additive	贡献率 Var. (%)	
北京 Beijing	4A	0.1	WMC132e-WMC297	3.4	-0.43	7.3	
	4D	51.5	WMC473-Xgwm125	7.6	-0.84	22.8	
	6AL	105.4	WMC312a-Xgwm169	4.4	-0.51	9.6	
	7AL	159.6	WMC36b-Xgwm264b	6.4	-0.65	15.6	
安阳 Anyang	2DL	168.0	WMC200a-WMC132c	2.6	-0.55	8.4	
	4D	49.5	WMC473-Xgdm125	8.1	-0.77	21.1	
	6DS	14.0	Xgdm132a-P42/M45i	2.7	-0.87	27.0	
	7AL	160.5	WMC36b-Xgwm264b	9.1	-0.93	37.6	
济南 Jinan	1DS	0.1	Xgdm33b-WMC336b	3.4	-0.45	6.4	
	2DL	168.0	WMC200a-WMC132c	6.4	-0.71	12.9	
Jinan	3AS	34.0	P32/M35b-WMC410	4.5	0.57	10.7	
	4D	48.5	WMC473-Xgdm125	7.4	-0.76	18.7	
	5DS	0.1	Xgwm190-Xgwm68	3.7	-0.42	5.7	
	6AL	108.4	WMC312a-Xgwm169	5.3	-0.61	13.3	
	7AL	156.6	WMC36b-Xgwm264b	5.5	-0.62	12.9	
	平均值 Mean	4A	0.1	WMC132e-WMC297	2.7	-0.40	6.5
	4D	47.5	WMC473-Xgwm125	5.4	-0.64	15.1	
6AL	108.4	WMC312a-Xgwm169	4.6	-0.57	12.6		
7AL	158.6	WMC36b-Xgwm264b	6.3	-0.67	17.5		

2.3 籽粒黄色素含量的 QTL 分析

籽粒黄色素含量主效 QTL 位于 7AL、3DL 和 2DL(表 3, 图 2)。其中 7AL 上的 QTL 效应最大, 与面粉黄色度 b* 值 7AL 上 QTL 的定位区间相同, 位于 WMC36b ~ Xgwm264b 之间, 与 Xgwm264b 的遗传距离为 0 ~ 0.9 cM, 贡献率为 12.1% ~ 33.9%。3DL 上的 QTL 效应次之, 位于 P38/M46b ~ Xgwm645 之间, 与 Xgwm645 的遗传距离为 2.2 ~ 3.0 cM, 贡献率为 9.8% ~ 15.8%。2DL 上的 QTL 位于 WMC36a ~ WMC41 之间, 与 WMC36a 的遗传距离为 0 ~ 3.6 cM,

贡献率为 6.6% ~ 9.0%。按 3 个试验点平均值计算, 检测出位于 7AL、5A 和 2DL 上的 QTL, 贡献率分别为 38.6%、14.1% 和 12.9%, 由于 5A 上的 QTL 只在北京点检测到, 所以不作为主效 QTL。

虽然在北京和济南均检测到 4A 上位于 WMC132e ~ WMC297 区间的 QTL, 但 2 个 QTL 的位置距离较远, 相差 21.0 cM, 距 WMC297 的遗传距离分别为 14.3 cM 和 35.3 cM, 因此不作为主效 QTL。除了位于 2DL 上的 QTL 来源于母本中优 9507 外, 其余 QTL 都来源于籽粒黄色素含量高的父本 CA9632。

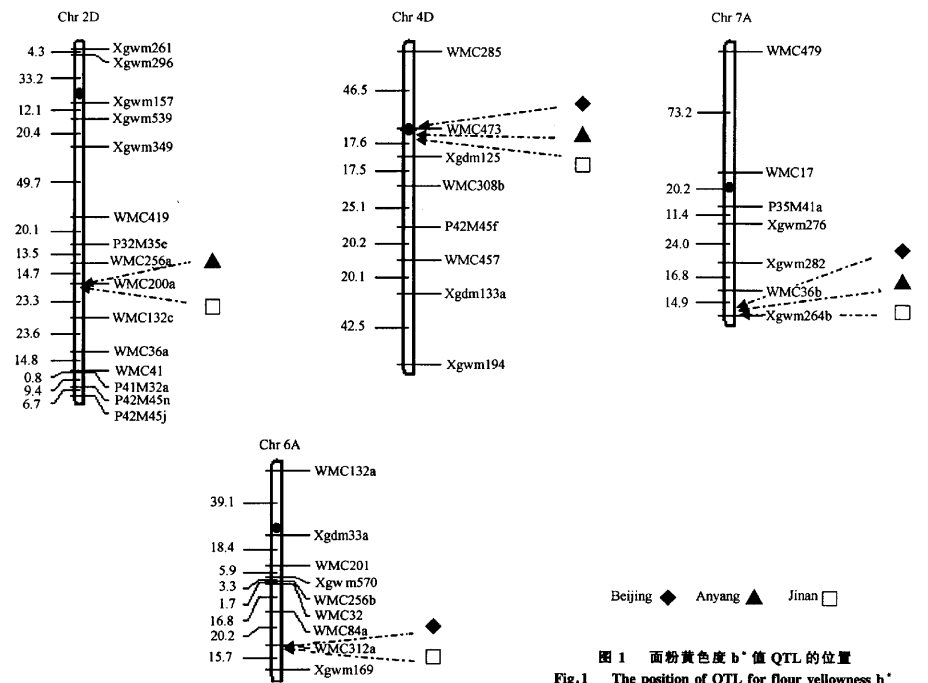


图1 面粉黄色度 b^* 值 QTL 的位置
Fig.1 The position of QTL for flour yellowness b^*

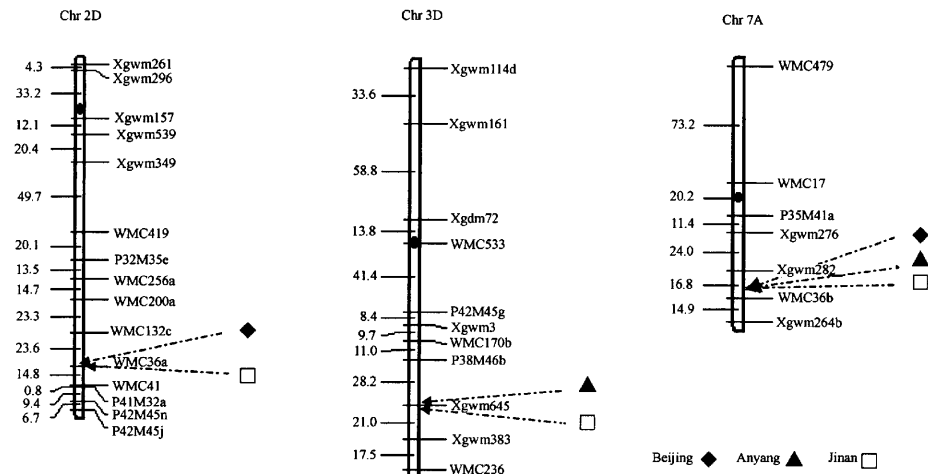


图2 籽粒黄色素含量 QTL 的位置
Fig.2 The position of QTL for grain yellow pigment content

表 3 复合区间作图法检测到籽粒黄色素含量的 QTL

Table 3 QTL of kernel yellow pigment content based on composite interval mapping analysis

地点 Location	染色体 Chr.	位置 Pos. (cM)	区间及标记 Marker interval	LOD 值 LOD score	加性效应 Additive	贡献率 Var. (%)
北京 Beijing	2DL	211.3	WMC132e-WMC36a	6.1	-0.02	9.0
	4A	25.0	WMC132e-WMC297	3.3	-0.40	6.5
	5AL	108.4	WMC327b-Xgwm126	6.5	-0.29	26.1
	7AL	159.6	WMC36b-Xgwm264b	7.3	-0.27	23.7
安阳 Anyang	3DL	115.5	Xgwm645-Xgwm383	2.7	-0.20	15.8
7AL	159.6	WMC36b-Xgwm264b	5.4	-0.19	12.1	
济南 Jinan	2DL	214.9	WMC36a-WMC41	2.6	0.16	6.6
	3DL	110.3	P38/M46b-Xgwm645	2.8	-0.18	9.8
	4A	46.0	WMC132e-WMC297	3.4	-0.19	13.9
	7AL	160.5	WMC36b-Xgwm264b	9.5	-0.30	33.9
平均 Mean	2DL	214.9	WMC36a-WMC41	5.1	0.20	12.9
5AL	108.4	WMC327b-Xgwm126	4.1	-0.18	14.1	
7AL	159.6	WMC36b-Xgwm264b	11.8	-0.29	38.6	

3 讨论

澳大利亚于 1996 年启动了国家小麦分子标记项目(NWMMP)^[16],利用 3 个组合的 DH 群体对面粉颜色相关性状进行了 QTL 研究,每个组合的结果不尽相同,面粉黄色度 b^* 值和黄色素相关的 QTL 分别涉及染色体 2DS、3AS、3BL、4BS、5BL、7AL、7BL 和 3BL、7AL,位于 3BL 和 7AL 的 QTL 为二者共有,其中 7AL 上的 QTL 解释了面粉颜色 41% 的表型变异,效应最突出。本研究也表明,效应最大的 QTL 位于 7AL,面粉黄色度 b^* 值比黄色素含量涉及的 QTL 数目多。但其他效应较小的 QTL 与本研究有较大差异,可能与所用材料的遗传背景有关。NWMMP 得到的 QTL 的分子标记为 RFLP 和 AFLP 标记,不能直接用于标记辅助育种,本研究 QTL 的分子标记大多数为 SSR 标记,可直接用于标记选择。

本研究中 7AL 的 QTL 对面粉黄色度 b^* 值的效应并不十分突出,4D 的 QTL 的效应较大。黄色素含量与黄色度 b^* 值共有的 QTL 只有 1 个,出现这种情况的原因可能与用籽粒全麦粉测定黄色素含量有关。由于种皮中含较多色素,而用 Junior 磨磨粉的出粉率较低,只有 50% ~ 60%,所以存在于胚乳中的色素对面粉色泽起主要作用,因而造成籽粒黄色素含量与面粉黄色度的 QTL 存在一定差异。籽粒黄色素含量与面粉黄色度 b^* 值的 QTL 不尽相同,还说明这 2 个指标对面粉黄色度的度量不完全重复。黄色素的种类包括叶黄素、胡萝卜素等,因而在籽粒黄色素含量的 QTL 的研究中,不同的 QTL 可能与不同的色素位点有关,还需进一步深入研究。

本研究检测出与黄色素含量和面粉黄色度 b^* 相关的主效 QTL,位于 7AL,效应在大多数地点为最

大,而且标记区间基本一致。该 QTL 与 SSR 标记 Xgwm264b 紧密连锁,因此可应用这个标记进行辅助育种,为杂种后代选择服务。

References

- [1] Belitz H D, Grosch W. Food Chemistry. Berlin: Springer Verlag, 1987
- [2] Miskelly D M. Flour components affecting paste and noodle colour. *J Sci Food Agric*, 1984, 35: 463-471
- [3] Baik B K, Czuchajowska Z, Pomeranz Y. Discoloration of dough for oriental noodle. *Cereal Chem*, 1995, 72: 198-205
- [4] Parker G D, Chalmers K J, Rathjen A J, Langridge P. Mapping loci associated with flour colour in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet*, 1998, 97: 238-245
- [5] Yang J(杨金), Zhang Y(张艳), He Z-H(何中虎), Yan J(阎俊), Wang D-S(王德森), Liu J-J(刘建军), Wang M-F(王美芳). Association between wheat quality traits and performance of pan bread and dry white Chinese noodle. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2004, 30: 739-744(in Chinese with English abstract)
- [6] Mares D J, Campbell A W. Mapping components of flour and noodle colour in Australian wheat. *Aus J Agric Res*, 2001, 52: 1297-1309
- [7] Marais G F. Gamma irradiation induced deletions in an alien chromosome segment of the wheat 'India' and their use in gene mapping. *Genome*, 1992, 35: 225-229
- [8] Knott D R. The genetic nature of mutations of a gene for yellow pigment linked to *Lr19* in 'Agatha' wheat. *Can J Genet Cytol*, 1984, 26: 392-393
- [9] Parker G D, Langridge P. Development of a STS marker linked to a major locus controlling flour colour in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Mol Breed*, 2000, 6: 169-174
- [10] Sharp P J, Johnston S, Brown G, McIntosh R A, Pallotta M, Carter M, Bariana H S, Khattar S, Lagudah E S, Singh R P, Khairallah M, Potter R, Jones M C K. Validation of molecular markers for wheat breeding. *Aus J Agric Res*, 2001, 52: 1357-1366
- [11] AACCC. Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists, 9th ed. MN, St. Paul, USA, 1995
- [12] Röder M S, Korzun V, Wendehake K, Plaschke J, Tixier M H, Leroy P, Ganal M W. A microsatellite map of wheat. *Genetics*, 1998, 149: 2007-2023
- [13] Pestsova E, Ganal M W, Röder M S. Isolation and mapping of microsatellite markers specific for the D genome of bread wheat. *Genome*, 2000, 43: 689-697
- [14] Devos K M, Bryan G J, Collins A J, Stephenson P, Gale M D. Application of two microsatellite sequences in wheat storage proteins as molecular markers. *Theor Appl Genet* 1995, 90: 247-252
- [15] Lee S J, Penner G A, Devos K M. Characterization of loci containing microsatellite sequences among Canadian wheat cultivars. *Genome*, 1995, 38: 1037-1040
- [16] Marshall D R, Langridge P, Appels R. Wheat breeding in the new century—Preface. *Aus J Agric Res*, 2001, 52: 1-4