

基于 PCR 标记的陕西省部分地方小麦品种(系)糯蛋白基因的多样性分析

杨松杰^{1,2} 张 晶³ 张晓科³

(1. 安康学院 农学与生命科学院 陕西 安康 725000; 2. 陕西省富硒食品工程实验室 陕西 安康 725000;

3. 西北农林科技大学 农学院 陕西 杨凌 712100)

摘要:利用 3 个优化的 STS 标记对陕西省 1960 年以来引进和自育的 99 份小麦品种(系)的 Waxy 蛋白基因的变异情况进行了鉴定。结果表明, Wx-A1 位点的标记在 Wx-A1a 和 Wx-A1b 基因型内分别扩增出 336 bp 和 317 bp 特异片段; Wx-B1a 基因型内扩增出 425 bp 特异产物, Wx-B1b 基因型内不扩增出此产物; Wx-D1a 和 Wx-D1b 基因型内分别扩增出 867 bp 和 279 bp 特异产物。检测出除陕糯 1 号基因型为 Wx-A1b + Wx-B1b + Wx-D1b 外, Wx-B1b 基因缺失突变材料 12 份, 无 Wx-A1b 基因和 Wx-D1b 基因缺失突变材料。这 3 个标记可以用于分子标记辅助育种, 并提供了部分品种的缺失类型。

关键词:普通小麦; 地方品种; Waxy 蛋白基因; PCR 标记; 多样性

中图分类号: Q78 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2011)06-0067-06

A PCR-Based Diversity Analysis of Waxy Genes in Shaanxi Wheat Cultivars and Lines

YANG Song-jie^{1,2} ZHANG Jing³ ZHANG Xiao-ke³

(1. College of Agriculture and Life Sciences, Ankang University, Ankang 725000, China;

2. Selenium-enriched Food Engineering Key Lab of Shaanxi, Ankang 725000, China;

3. College of Agronomy, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling 712100, China)

Abstract: Three optimized STS markers were used to analyze 99 wheat cultivars in Shaanxi from 1960 with different types of Waxy proteins. The results indicated that the marker on Wx-A1 locus amplified 336 bp and 317 bp special fragments associated to Wx-A1a and Wx-A1b genotypes; the marker on Wx-B1 amplified 425 bp special fragment associated to Wx-B1a and null special fragment associated to Wx-B1b genotype and the marker on Wx-D1 amplified 867 bp and 279 bp special fragments associated to Wx-D1a and Wx-D1b genotypes, respectively. Except for the cultivar Shaannuo 1 with the genotype of Wx-A1b + Wx-B1b + Wx-D1b, 12 cultivars were identified to null Wx-B1 mutants and no cultivars were detected for null Wx-A1 mutants and null Wx-D1 mutants. The three optimized STS markers were demonstrated to be useful tools to identify wheat cultivars with mutant and normal alleles of the Waxy genes in marker-assisted selection of wheat breeding programs and the genotypes of Waxy genes of some materials were released in this paper.

Key words: Bread wheat (*Triticum aestivum* L.); Landrace; Waxy protein gene; Molecular marker; Diversity

直链淀粉含量和糊化特性是影响小麦面条品质的重要因素^[1,2]。颗粒结合型淀粉合成酶(Granule-bound starch synthase, GBSS)或 Waxy 蛋白与直链淀粉的合成密切相关。普通小麦籽粒胚乳中

含有分子量分别为 62.8、56.7、58.7 kDa 的 3 种 Waxy 蛋白亚基, 即 Wx-A1、Wx-B1 和 Wx-D1, 分别由位于小麦染色体 7AS、4AL 和 7DS 上的 Wx-7A、Wx-4A 和 Wx-7D 基因所编码^[3,4]。不同 Waxy 蛋白

收稿日期: 2011-06-25

基金项目: 陕西省教育厅项目(2008JK212); 安康学院科技创新团队项目(2008AKXY006)

作者简介: 杨松杰(1964-), 男, 河北深州人, 副教授, 博士, 主要从事现代遗传与生物工程教学与研究工作。

亚基对直链淀粉合成的影响程度不同^[5], *Wx-B1* 缺失对直链淀粉含量影响最明显^[6,7]。缺失一个或两个 *Wx* 蛋白亚基 称为部分糯小麦; 3 种 *Wx* 蛋白亚基全部缺失 小麦籽粒直链淀粉含量极低甚至其值为 0, 称为全糯小麦。普通小麦中 *Wx-B1* 缺失型最常见, *Wx-D1* 缺失型罕见。Nakamura 等在 Kanto 107(关东 107) 小麦和白火麦杂交后代中选育出了世界上第一个直链淀粉含量为 0.6% ~0.7% 的糯小麦^[8]。

分子标记可显著提高育种的准确性和效率。以往多用 2D-SDS-PAGE 来区分 Waxy 蛋白亚基^[9], 但操作繁琐、难度大、效率低; Zhao 和 Sharp^[4] 提出了 1D-SDS-PAGE 区分 Waxy 蛋白亚基的方法, 大大简化了电泳操作, 但由于 *Wx-B1*、*Wx-D1* 亚基蛋白分子量、等电点相近, 分离效果不佳。目前已有一些关于 *Wx* 基因分子标记的报道。根据 *Wx* 基因的已知序列 相继开发出了 *Wx-7A*、*Wx-4A* 和 *Wx-7D* 位点的 SSR 标记^[10-12] 和 STS 标记^[13-17]。

小麦是陕西省第一大粮食作物, 常年播种面积保持在 120 万 hm^2 ^[18]。陕西省自 1953 年开展小麦种质资源研究与利用工作以来, 先后经 50 年代和 70 年代末两次大规模的征集、整理和研究, 现保存资源材料 6 872 份, 其中本省地方品种 130 份, 育成品种 335 份, 外省品种 122 份, 国外引进 3 924 份, 稀有种 92 份^[19,20], 为陕西省和国家的小麦生产做出了巨大贡献。到目前为止还未见到有学者对陕西省历年来代表性栽培小麦品种(系) 进行糯蛋白基因方面的研究。本研究选用 1960 年以来自育和引

进的小麦品种(系) 99 份进行小麦糯蛋白基因的多样性分子检测, 旨在为糯蛋白基因的鉴定筛选提供快速高效的分子标记辅助选择方法, 从而提高我省小麦淀粉品质评价和糯小麦的选育效率。

1 材料和方法

1.1 供试材料

陕西省 1960 年以来自育和引进的小麦品种(系) 99 份, 代表了陕西省关中平原地区汾渭河谷副区(关中灌区) 和陕西省南部汉中、安康、商洛三地区陕南鄂西丘陵副区(陕南麦区) 种植小麦引种、育种和生产的历史与现状。

以中国春、白火麦、关东 107 作为小麦品种(系) 基因型检测的对照品种。中国春和白火麦是地方品种。中国春为野生型, 基因型为 *Wx-A1a* + *Wx-B1a* + *Wx-D1a*, 含有 *Wx-A1*、*Wx-B1* 和 *Wx-D1* 3 个 Waxy 蛋白亚基; 白火麦基因型为 *Wx-A1a* + *Wx-B1b* + *Wx-D1a*, 属于 *Wx-D1* 蛋白亚基缺失类型; 关东 107 是日本引进品种, 基因型为 *Wx-A1b* + *Wx-B1b* + *Wx-D1a*, 属于 *Wx-A1* 和 *Wx-B1* 蛋白亚基缺失类型。

1.2 小麦基因组总 DNA 提取

每个品种(系) 选取有代表性的种子 3 粒, 按 Lagudah 等^[21] 方法分别提取小麦基因组总 DNA。

1.3 *Wx* 蛋白基因的 PCR 检测

本研究涉及 3 个基因的标记, 其引物序列和 PCR 预期扩增条带的大小列于表 1。

表 1 试验用引物序列

Tab. 1 Primer sequences in this experiment

标记 Marker	引物序列(5'-3') Primer sequence(5'-3')	目标基因及片段大小 /bp Allele and fragment size	参考文献 Reference
<i>Wx-A1</i>	Forward: CCAAGCAAAGCAGGAAACC	<i>Wx-A1a</i> 对应 336 bp	刘迎春等 ^[8]
	Reverse: TACCTCGGAGATGACGCTGG	<i>Wx-A1b</i> 对应 317 bp	
<i>Wx-B1</i>	Forward: CTGGCCTGCTACCTCAAGAGCAACT	<i>Wx-B1a</i> 对应 425 bp	Nakamura 等 ^[16]
	Reverse: CTGACGTCCATGCCGTTGACGA	<i>Wx-B1b</i> 对应 泳带空缺	
<i>Wx-D1</i>	Forward: ACAGGATCTCTCCTGGAAG	<i>Wx-D1a</i> 对应 867 bp	Shariflou 等 ^[12]
	Reverse: GCAAGGAAAATAGTGAAGC	<i>Wx-D1b</i> 对应 279 bp	

刘迎春等^[8] 设计的引物对用于检测 *Wx-A1* 位点的基因型。25 μL PCR 反应体系中含有 2 \times *Taq* MasterMix(北京康为世纪生物科技有限公司, 含 1.5 U *Taq* DNA Polymerase、2 \times *Taq* PCR Buffer、3 mmol/L MgCl_2 和 400 $\mu\text{mol/L}$ dNTP mix, 下同) 12.5 μL , 每条引物 10 pmol, 模板 DNA 100 ~ 120 ng。PCR 反应程序为: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 1 min 65 $^{\circ}\text{C}$ 退火 1 min 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 2 min 36 个循环; 最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min。2% 琼脂糖凝胶在 160 V

电压下电泳 2 h 分离 PCR 产物, EB 染色后照相分析结果。

Nakamura 等^[16] 设计的引物对用于检测 *Wx-B1* 位点的基因型。50 μL PCR 反应体系中含有 2 \times *Taq* MasterMix 25 μL , 每条引物 20 pmol, 模板 DNA 100 ~ 120 ng。PCR 反应程序为: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s 66.5 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 2 min, 32 个循环; 最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 7 min。2% 琼脂糖凝胶在 160 V 电压下电泳 2 h 分离 PCR 产物, EB 染色后

照相分析结果。

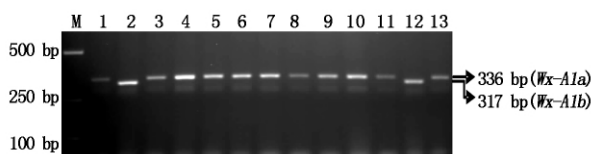
Shariflou 等^[15]设计的引物对用于检测 *Wx-D1* 位点的基因型。25 μ L PCR 反应体系中含有 2 \times *Taq* MasterMix 12.5 μ L, 每条引物 10 pmol, 模板 DNA 100 ~ 120 ng。PCR 反应程序为: 95 $^{\circ}$ C 预变性 3 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 65 ~ 56 $^{\circ}$ C 退火 1 min, 72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min, 10 个循环; 再 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 55 $^{\circ}$ C 退火 1 min, 72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min, 25 个循环; 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min。1.5% 琼脂糖凝胶在 160 V 电压下电泳 1 h 分离 PCR 产物, EB 染色后照相分析结果。

2 结果与分析

2.1 地方小麦品种(系) Waxy 蛋白基因突变类型分析

利用刘迎春等^[8]设计的引物对用于检测 *Wx-A1* 位点的基因型, 在 *Wx-A1a* 和 *Wx-A1b* 基因型内分别扩增出 336 bp 和 317 bp 特异片段; 利用 Nakamura 等^[16]设计的引物对用于检测 *Wx-B1* 位点的基因型, 在 *Wx-B1a* 基因型内扩增出 425 bp 特异产物, 而在 *Wx-B1b* 基因型内不扩增出此产物; 利用 Shariflou 等^[15]设计的引物对用于检测 *Wx-D1* 位点的基因型, 在 *Wx-D1a* 和 *Wx-D1b* 基因型内分别扩增出 867 bp 和 279 bp 特异产物。

中国春和白火麦是地方品种。中国春为野生型, 基因型为 *Wx-A1a* + *Wx-B1a* + *Wx-D1a*, 含有 *Wx-A1*、*Wx-B1* 和 *Wx-D1* 3 个 Waxy 蛋白亚基; 白火麦的基因型为 *Wx-A1a* + *Wx-B1b* + *Wx-D1a*, 属于 *Wx-D1* 蛋白亚基缺失类型; 关东 107 是日本引进品种, 基因型为 *Wx-A1b* + *Wx-B1b* + *Wx-D1a*, 属于 *Wx-A1* 和 *Wx-B1* 蛋白亚基缺失类型。以上述品种为对照, 可准确检测出小麦材料的糯蛋白基因型, 即 Waxy 蛋白亚基的组成。对照品种及部分小麦材料的电泳检测结果见图 1 ~ 3。部分小麦品种(系)的 *Wx* 基因型 Waxy 分析结果列于表 2。

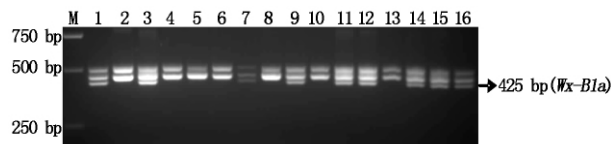


M. DL2000; 1. 中国春; 2. 陕糯 1 号; 3. 白火麦; 4. 陕麦 159; 5. 陕 512; 6. 碧蚂 1 号; 7. 绵阳 31; 8. 绵阳 35; 9. 西农 65; 10. 西农 979; 11. 小偃 22; 12. 关东 107; 13. 周麦 19。

M. DL2000 Marker; 1. Chinese Spring; 2. Shaannuo 1; 3. Baihuomai; 4. Shaanmai 159; 5. Shaan 512; 6. Bima 1; 7. Mianyang 31; 8. Mianyang 35; 9. Xinong 65; 10. Xinong 979; 11. Xiaoyan 22; 12. Knoto 107; 13. Zhoumai 19。

图 1 *Wx-A1* 基因特异引物对 PCR 扩增产物电泳图谱

Fig. 1 Profiles of PCR products amplified with *Wx-A1* specific primers pairs

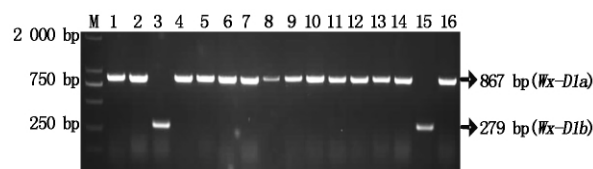


M. DL2000; 1. 中国春; 2. 关东 107; 3. 白火麦; 4. 小偃 597; 5. 汉麦 5 号; 6. 绵阳 33; 7. 西农 958; 8. 豫麦 47; 9. 西农 979; 10. 陕糯 1 号; 11. 小偃 22; 12. 偃麦 5 号; 13. 内 2938; 14. 鄂麦 14; 15. 碧蚂 1 号; 16. 陕优 225。

M. DL2000 Marker; 1. Chinese Spring; 2. Knoto 107; 3. Baihuomai; 4. Xiaoyan 597; 5. Hanmai 5; 6. Mianyang 33; 7. Xinong 958; 8. Yumai 47; 9. Xinong 979; 10. Shaannuo 1; 11. Xiaoyan 22; 12. Yanmai 5; 13. Nei 2938; 14. Emai 14; 15. Bima 1; 16. Shaanyou 225。

图 2 *Wx-B1* 基因特异引物对 PCR 扩增产物电泳图谱

Fig. 2 Profiles of PCR products amplified with *Wx-B1* specific primers pairs



M. DL2000; 1. 中国春; 2. 关东 107; 3. 白火麦; 4. 周麦 18; 5. 绵阳 28; 6. 绵阳 33; 7. 西农 383; 8. 豫麦 34; 9. 鄂麦 14; 10. 陕 512; 11. 碧蚂 1 号; 12. 济南 17; 13. 内 2938; 14. 小偃 22; 15. 陕糯 1 号; 16. 西农 979。

M. DL2000 Marker; 1. Chinese Spring; 2. Knoto 107; 3. Baihuomai; 4. Zhoumai 18; 5. Mianyang 28; 6. Mianyang 33; 7. Xinong 383; 8. Yumai 34; 9. Emai 14; 10. Shaan 512; 11. Bima 1; 12. Jinan 17; 13. Nei 2938; 14. Xiaoyan 22; 15. Shaannuo 1; 16. Xinong 979。

图 3 *Wx-D1* 基因特异引物对 PCR 扩增产物电泳图谱

Fig. 3 Profiles of PCR products amplified with *Wx-D1* specific primers pairs

2.2 小麦检测材料 Waxy 蛋白基因类型分析

对 99 份地方品种检测后发现(表 2 部分)全部材料均无双突变体。除陕糯 1 号基因型(小麦著名育种专家、西北农林科技大学研究员宁锐 2003 年选育出陕西第一个糯小麦新品系—陕糯一号, 填补了陕西小麦育种领域的一个空白)为 *Wx-A1b* + *Wx-B1b* + *Wx-D1b*, 属于 3 种 *Wx* 蛋白亚基全部缺失(全糯小麦)以外, 所发现的其他 12 份突变体均属单一位点突变, 全部为 *Wx-B1* 缺失突变体, 占检测全部材料的 12.25%; 没有检测到 *Wx-A1* 和 *Wx-D1* 缺失突变体。从材料来源看, 陕西省两个小麦主产区渭河谷副区(关中灌区)和陕南鄂西丘陵副区(陕南麦区)种植的小麦品种以自育和引种国内黄淮冬麦区与西南冬麦区的品种为主。自育材料中, 20127、90183、汉麦 5 号、小偃 597 为 *Wx-B1* 缺失突变体; 引进材料中, 川农 16、川麦 107、绵阳 19、绵阳 31、绵阳 33、绵阳 940112、内 2938、豫麦 47 为 *Wx-B1* 缺失突变体, 其中又以西南冬麦区四川省小麦育种单位培育出来的品种为主。

表 2 陕西省部分地方小麦品种(系)的 Waxy 蛋白基因型

Tab. 2 Waxy protein genotype of provincial wheat cultivars and lines in Shaanxi province

名称 Cultivar	系谱 Pedigree	Waxy 基因变异类型 Genotypes of Waxy gene		
		Wx-A1	Wx-B1	Wx-D1
84 加(79)	80(974)/80 夏(107)	a	a	a
936098(济宁 13 号)	烟 1934/82 <4>046) F ₁ /(聊 83-1/2114) F ₁	a	a	a
D002	绵阳 29 号/川麦 25 号	a	a	a
Y9710(闫麦 9710)	阎麦 8911/小偃 8788	a	a	a
碧蚂 1 号	蚂蚱麦/碧玉麦(Quality)	a	a	a
碧蚂 4 号	蚂蚱麦/碧玉麦(Quality)	a	a	a
川麦 107	2469/80-28-7	a	b	a
川农 16	川育 12 × 87-429	a	b	a
鄂麦 14	繁 6/偃大 72-629	a	a	a
汉麦 5 号	86-133 选-10/191	a	b	a
济南 17	临汾 5064/鲁麦 13 号	a	a	a
绵阳 11	70-5858/繁 6	a	a	a
绵阳 19	绵阳 11 选系	a	b	a
绵阳 28	T79350-1-4-1-2/绵阳 11	a	a	a
绵阳 31	绵阳 90 -31 0/川植 89-0 76	a	b	a
绵阳 33	1294/绵阳 86-5	a	b	a
绵阳 35	05363-8-1/绵优 2 号	a	a	a
绵阳 37	96EW37/绵阳 90-100	a	a	a
绵阳 940112	绵阳 19 选系/803	a	b	a
内 2938(内麦 8 号)	绵阳 26 × 92R178 杂交选育	a	b	a
秦农 142	郑州 8329/植 87135-2-1-2-9	a	a	a
陕 229	高加索/6811-(2) -2-2//TB902/TO14R	a	a	a
陕 253	陕 213/陕 229	a	a	a
陕 354	陕 213/陕 167-6-4	a	a	a
陕 512	陕麦 150 /陕 354	a	a	a
陕 627	陕 213/陕 167	a	a	a
陕农 512	陕麦 150 /陕 354	a	a	a
陕农 7859	山前麦//阿玛/阿勃/3/西布来 81//丰产 3 号/西农 62(9) 2-1	a	a	a
陕麦 94	9229-2-2-3/中优 16	a	a	a
陕麦 139	小偃 22/6/[野生二粒小麦 AS846// (陕麦 8003/陕麦 8007) F ₄ /3/ 陕 229/4/矮早丰]F ₃ /5/N9134	a	a	a
陕麦 150	中 4/6811(2) /8435-1-1-8//小偃 6 号	a	a	a
陕麦 159	小偃 597/89605	a	a	a
陕农 87	(89A170-3/V8164-3-4//82(10) -2-2r/植 504-1-3-9)	a	a	a
陕农 981	陕优 225 天然变异株	a	a	a
陕优 225	小偃 6 号/NS2761	a	a	a
商麦 9215	商麦 9215/新洛八号	a	a	a
西农 383	89D-47 × (宝丰 7822 × 85160-6)	a	a	a
西农 958	西农 918/植 87-135	a	a	a
西农 979	西农 2611/918 × 95 选 1	a	a	a
西农 2611	西农 881/陕 229	a	a	a
西农 9718	西农 2611/9062	a	a	a
西农 9871	西农 2208/小偃 22	a	a	a
西农 9872	西农 2208/小偃 22	a	a	a
咸农 151	3311-8-9-10/泾麦 5 号	a	a	a
小偃 6 号	St2422/464/小偃 96	a	a	a
小偃 22 号	小偃 6 号/775-1//小偃 107	a	a	a

续表 2:

名称 Cultivar	系谱 Pedigree	Waxy 基因变异类型 Genotypes of Waxy gene		
		Wx-A1	Wx-B1	Wx-D1
小偃 54	小偃 6 号中系选而成	a	a	a
小偃 503(高优 503)	78506/84s504	a	a	a
小偃 504	83566/79104	a	a	a
小偃 597	小偃 693/矮丰 3 号	a	b	a
徐州 25	徐州 79904-13-2-2/百农 792	a	a	a
新洛 8 号	豫麦 49 号/豫麦 48 号	a	a	a
闫麦 8911	8222-6 系选	a	a	a
豫麦 34	矮丰 3 号//孟 201/牛朱特/3/豫麦 2 号	a	a	a
豫麦 47	豫麦 2 号/百泉 3199	a	b	a
郑麦 9023	西农 881/陕 213	a	a	a
周麦 18	周麦 11/周麦 9 号	a	a	a
周麦 19	内乡 185/周麦 9	a	a	a
中国春(CK)		a	a	a
白火麦(CK)		a	a	b
关东 107(CK)		b	b	a

3 讨论

王子宁等^[22]、姚大年等^[23]和王小兰等^[24]研究了中国小麦的 Waxy 蛋白分布,他们分别检测了 900 429 593 份小麦品种(系),绝大多数是地方品种,分别发现 6 16 16 份缺失 Wx-B1 的材料,缺失 Wx-A1 的材料 3 份,缺失 Wx-D1 的材料 3 份,缺失 Wx-A1 + Wx-B1 的材料 1 份。徐兆华等^[25]分析 306 份国内外育成品种,检测出 46 份 Wx-B1 缺失突变体,没有检测出 Wx-A1 和 Wx-D1 缺失突变体,Wx-B1 突变频率明显高于其他研究。杜小燕等^[26]应用分子标记技术检测了 1 739 份中国地方品种,筛选到 3 份 Wx-A1 缺失突变体,25 份 Wx-B1 缺失突变体,3 份 Wx-D1 缺失突变体。本试验 Wx-B1 突变频率最高,Wx-A1 和 Wx-D1 突变频率极低,与前人研究结果基本一致;并且表现出西南冬麦区品种(系) Wx-B1 蛋白亚基缺失比例远高于北部冬麦区、黄淮冬麦区和长江中下游冬麦区。

本试验中,出现了一例检测结果与其他研究者不一致的地方。在徐兆华等^[25]的检测中,除川麦 107、绵阳 940112、豫麦 47、对照品种中国春、白火麦、关东 107 等品种(系)的检测结果一致外,品种绵阳 11 出现了不同的检测结果。徐兆华研究中,绵阳 11 的基因型为 Wx-A1a + Wx-B1b + Wx-D1a,属于 Wx-B1 蛋白亚基缺失类型,但在本试验中绵阳 11 的基因型为 Wx-A1a + Wx-B1a + Wx-D1a,属于野生型。在与其他研究者出现交叉的品种中,检测结果相一致。如绵阳 940112、川麦 107、豫麦 47、周麦 18、对照品种中国春、白火麦、关东 107 等的研究结

果与卢龙斗等^[27]一致。说明在分子标记育种中,要多使用几种标记方法相互验证,才能保证小麦材料基因型的准确性。

本试验中,由于取样群体偏小,且部分材料的系谱没有收集到,而其他研究者的报道中看不到小麦检测结果的数据,因此,无法利用基因的遗传规律分析 Wx 基因的变异遗传关系为一缺憾。

参考文献:

[1] Boggini G ,Cattaneo M ,Paganori C *et al.* Genetic variation for Waxy proteins and starch properties in Italian wheat germplasm [J]. *Euphytica* 2001 ,199: 111 – 114.

[2] 杨松杰 杨武云. 人工合成六倍体小麦后代衍生群体 Waxy 蛋白亚基的分子标记 [J]. *中国农学通报* 2008 , 24(4) : 52 – 57.

[3] Ainsworth C ,C lark J ,Balsdon J. Expression ,organization and structure of the genes encoding the Waxy protein (granule-bound starch synthase) in wheat [J]. *Plant Molecular Biology* ,1993 22: 67 – 82.

[4] Yamamori M ,Nakamura T ,Endo T R *et al* Waxy protein deficiency and chromosomal loca-tion of coding genes in common wheat [J]. *Theoretical and Applied Genetics* , 1994 89: 179 – 184.

[5] 崔文礼 张平治 张文明,等. 小麦杂交组合 F-2 群体中总戊糖含量的分布 [J]. *安徽农业科学* 2009 3: 103 – 104.

[6] Yamamori M ,Quynh N T. Differential effects of Wx-A1 ,B1 and D1 protein deficiencies on apparent amylose content and starch pasting properties in common wheat [J]. *Theoretical and Applied Genetics* 2000 ,100: 32 – 38.

[7] Miura H ,Wickramasinghe M H A ,Subasinghe R M *et al.*

- Development of near isogenic lines of wheat carrying different null *Wx* alleles and their starch properties [J]. *Euphytica* 2002 ,123: 353 – 359.
- [8] 刘迎春,朱惠兰,程顺和,等. 小麦 *Wx-A1* 和 *Wx-D1* 位点的 PCR 分子标记[J]. 麦类作物学报 2005 25(1) : 1 – 5.
- [9] Zhao X C, Sharp P J. An improved 1D-SDS-PAGE method for the identification of three bread wheat Waxy proteins [J]. *Journal of Cereal Science* ,1996 23: 191 – 193.
- [10] Murai J, Moriyama Y, Taira T. Phylogenetic analysis based on the nucleotide sequences of the waxy genes in polyploid wheats and related diploid species [J]. Ninth International Wheat Genetics Symposium ,1998 2: 95 – 97.
- [11] Shariflou M R, Sharp P J. A polymorphic microsatellite in the 3' end of waxy genes of wheat, *Triticum aestivum* [J]. *Plant Breeding* ,1999 ,118: 275 – 277.
- [12] Shariflou M R, Hassani M E, Good G, et al. Tightly linked DNA markers for the waxy loci in bread wheat [C]//10th Int. Wheat Genet Symp, 2003 ,2: 831 – 834.
- [13] Briney A, Wilson R, Potter R H, et al. A PCR-based marker for selection of starch and potential noodle quality in wheat [J]. *Molecular Breeding* ,1998 4: 427 – 433.
- [14] 姚大年,王新望,刘志勇,等. 小麦品种 Waxy 蛋白的鉴定和筛选[J]. 农业生物技术学报 1999 7(1) : 1 – 9.
- [15] 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 [J]. *Plant Breeding* 2001 , 120: 121 – 124.
- [16] Nakamura T, Vrinten P, Konda M. Rapid classification of partial waxy wheats using PCR-based markers [J]. *Genome* 2002 45(6) : 1150 – 1156.
- [17] 宋建民,李保云,尤明山,等. 小麦淀粉粒束缚淀粉合成酶基因多态性的分子鉴定[J]. 遗传学报 2004 31(1) : 81 – 86.
- [18] 温彩虹,李 酶. 陕西小麦良种繁育体系建设的思考[J]. 陕西农业科学 2007(1) : 18 – 19.
- [19] 杨松杰,张影全,王 茹,等. 陕西省地方小麦品种黄色素含量基因的遗传分析[J]. 华北农学报 2010 25(4) : 83 – 87.
- [20] 杨松杰,屈国胜,杨武云. 人工六倍体小麦后代衍生群体遗传多样性研究[J]. 华北农学报 2008 23(5) : 80 – 88.
- [21] 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.
- [22] 王子宁,郭北海,张艳敏,等. 小麦地方品种 *Wx* 基因构成分析[J]. 华北农学报 1999 14(3) : 5 – 9.
- [23] 姚大年,李保云,朱金宝,等. 小麦品质主要淀粉性状及面条品质预测指标的研究[J]. 中国农业科学, 1999 32(6) : 84 – 88.
- [24] 王小兰,沈银柱,黄占景,等. 缺失蜡质蛋白类型小麦在我国北方冬麦区的分布[J]. 作物学报 2001 27(1) : 127 – 129.
- [25] 徐兆华,夏兰芹,陈新民,等. 中国冬小麦品种 Waxy 蛋白分析及分子标记研究[J]. 中国农业科学 2005 , 38(8) : 1514 – 1521.
- [26] 杜小燕,郝晨阳,张学勇,等. 我国部分小麦地方品种 Waxy 基因多样性研究[J]. 作物学报 2007 33(3) : 503 – 506.
- [27] 卢龙斗,侯彩玲,陈 龙,等. 小麦糯性基因的多重 PCR 分子鉴定[J]. 遗传 2009 31(8) : 844 – 848.