

# 新疆小麦籽粒过氧化物酶(POD)活性检测 及其基因等位变异检测

王丽丽, 战帅帅, 谢磊, 王继庆, 哈尼开·马坎, 任毅, 时佳, 耿洪伟

(新疆农业大学农学院/新疆农业大学生物技术重点实验室, 乌鲁木齐 830052)

**摘要:**【目的】研究新疆小麦品种(系)过氧化物酶活性高低并分析相关基因变异类型和分布,为新疆小麦育种和品质的遗传改良奠定基础。【方法】分别利用 *TaPod-A1* 和 *TaPod-D1* 基因位点的显性互补功能标记 *TaPod-3A1/TaPod-3A2* 和 *TaPod-7D1/TaPod-7D6* 对 113 份新疆小麦品种(系)进行分子标记检测,结合新疆小麦材料 POD 活性的测定结果,分析 POD 活性相关基因不同等位变异对小麦籽粒 POD 活性的影响,验证 *TaPod-A1* 和 *TaPod-D1* 基因位点功能标记有效性的同时,对新疆小麦材料 POD 相关基因的等位变异分布频率进行分析。【结果】新疆小麦品种(系)中,在 *TaPod-A1* 位点,具有 *TaPod-A1b* 基因型的小麦品种(系)POD 活性( $2\,595.3\text{ U}/(\text{g}\cdot\text{min})$ )极显著( $P<0.01$ )高于具有 *TaPod-A1a* 基因型的材料( $2\,346.0\text{ U}/(\text{g}\cdot\text{min})$ ),2 种基因型的分布频率分别为 36.3% 和 63.7%;在 *TaPod-D1* 位点,具有 *TaPod-D1b* 基因型的小麦品种(系)POD 活性( $2\,503.9\text{ U}/(\text{g}\cdot\text{min})$ )显著( $P<0.05$ )高于具有 *TaPod-D1a* 基因型的材料( $2\,376.9\text{ U}/(\text{g}\cdot\text{min})$ ),2 种基因型的分布频率分别为 46.9% 和 53.1%。在 113 份新疆小麦材料中,共检测到 *TaPod-A1a/TaPod-D1a*、*TaPod-A1a/TaPod-D1b*、*TaPod-A1b/TaPod-D1a* 和 *TaPod-A1b/TaPod-D1b* 4 种变异组合类型,在新疆小麦中的分布频率分别为 31.9%、31.9%、21.2% 和 15.0%。*TaPod-A1b/TaPod-D1b* ( $2\,706.2\text{ U}/(\text{g}\cdot\text{min})$ )类型的 POD 活性显著( $P<0.05$ )高于 *TaPod-A1a/TaPod-D1a* ( $2\,283.6\text{ U}/(\text{g}\cdot\text{min})$ )。【结论】新疆小麦品种(系)以 *TaPod-A1a*(低 POD 活性)和 *TaPod-D1a*(低 POD 活性)等位变异类型为主;*TaPod-A1* 和 *TaPod-D1* 的功能标记均能较好的区分小麦籽粒 POD 活性的高低,将 2 个位点特异性标记结合起来使用,有效地筛选出高 POD 活性的材料,提高新疆小麦品种(系)优异等位变异的频率,促进新疆小麦品质的遗传改良。

**关键词:** 小麦;过氧化物酶;功能标记;标记组合;等位变异

**中图分类号:** S512.1

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1001-4330(2020)10-1765-10

## 0 引言

【研究意义】小麦是最重要的粮食作物之一<sup>[1-3]</sup>。品质已成为我国小麦主要育种目标,同时影响我国小麦产业竞争力<sup>[4]</sup>。面粉和面制品的颜色对小麦磨粉品质有重要影响<sup>[5]</sup>。面粉中蛋白质含量、氧化酶类活性以及色素类物质的积累对面粉及其制品的颜色有显著影响<sup>[6-8]</sup>。过氧化物酶(POD, Peroxidase)是由多基因家族基因

编码的蛋白<sup>[2]</sup>,广泛存在于所有生物体中,能氧化各种氢供体,如酚类物质、胺、抗坏血酸、吲哚和某些无机离子<sup>[9]</sup>。小麦籽粒中的 POD 活性对面粉色泽具有褐变和漂白的双重作用,是影响面包、馒头、面条白度的重要因素,POD 活性高的小麦品种(系)面粉白度更高<sup>[10]</sup>。小麦籽粒过氧化物酶(POD, Peroxidase)活性对小麦加工品质和面粉色泽具有重要影响。研究小麦籽粒 POD,对小麦面粉颜色及加工品质的改良具有重要意义。【前

收稿日期(Received):2020-01-04

基金项目:新疆自治区天山雪松计划项目(2018XS04);自治区高校科研计划自然科学重点项目(XJEDU2020J010)

作者简介:王丽丽(1994-),女,新疆阿拉尔人,硕士研究生,研究方向为小麦分子育种,(E-mail)129913424@qq.com

通信作者:耿洪伟(1978-),男,重庆合川人,教授,博士,博士生导师,研究方向为小麦分子育种,(E-mail)hw-geng@163.com

人研究进展】POD 活性受遗传因子、生态环境和栽培措施等影响,但主要受遗传控制<sup>[11,12]</sup>。在禾本科作物中,普通小麦 POD 活性是燕麦、水稻和玉米的 3~7 倍<sup>[13]</sup>,且显著高于( $P < 0.05$ )硬粒小麦<sup>[14-15]</sup>。在普通小麦的不同品种(系)间 POD 活性也可相差 3~10 倍<sup>[16-17]</sup>。通过遗传途径培育高 POD 活性品种(系)是可行的<sup>[18]</sup>。Rebordinos 等<sup>[19]</sup>利用同源线性定位研究表明,普通小麦 POD 活性基因位于第 3 和第 7 同源染色体组上,尤其是第 3 同源染色体。Brenchley 等<sup>[20]</sup>研究表明,POD 基因类型多,分布广,在 A、B、D 组中都有分布,Sareini 等(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/AF525425>)克隆了普通小麦籽粒中的 Class III 型 POD 活性基因(WP1)的全长序列(AF525425)。魏景欣<sup>[3]</sup>选用豆麦/石 4185 RIL 群体结合 90K 的 iSelect 基因芯片进行 POD 活性基因定位,发现 *QPod.caas-3AL*、*QPod.caas-4BS* 和 *QPod.caas-5AS* 3 个主效位点,基于效应值大的 *QPod.caas-3AL* 位点进行同源克隆,克隆了 3A 染色体 POD 基因 *TaPod-A1* 基因组 DNA (gDNA) 全长编码序列并且开发了一对显性互补功能标记 POD-3A1/POD-3A2。时佳等<sup>[18]</sup>选用黄淮麦区材料 151 份与北部冬麦区 82 份品种(系)结合 90K iSelect 芯片对小麦品种(系)籽粒 POD 活性基因进行 GWAS,发现 2A、2D、5A、6A、7B 和 7D 等多个稳定遗传的位点,基于效应值大的 7D 位点进行同源克隆,克隆了 7D 染色体 *TaPod-D1* 基因 gDNA 全长编码序列并且开发了一对显性互补功能标记利用 POD-7D1/POD-7D6。耿洪伟等<sup>[8]</sup>利用 *TaPod-A1* 位点功能标记 POD-3A1/POD-3A2 对 129 份新疆小麦品种(系)标记检测发现,新疆小麦品种(系)以含有低 POD 活性相关的 *TaPod-A1a* (的等位变异类型为主。谢磊等<sup>[21]</sup>利用 *TaPod-D1* 位点的功能标记 POD-7D1/POD-7D6 对 98 份新疆冬小麦品种(系)进行分子检测显示,新疆冬小麦品种(系)以含有低 POD 活性相关的 *TaPod-A1a* 的等位变异类型为主。【本研究切入点】虽然前人已有对新疆小麦 POD 活性相关基因等位变异分布情况的报道,但尚未有新疆小麦 POD 活性及新疆春小麦 *TaPod-D1* 基因的等位变异分布情况的报道。研究新疆小麦品种(系)过氧化物酶活性高低并

分析相关基因变异类型和分布。【拟解决的关键问题】对 113 份新疆小麦品种(系)进行 POD 活性检测,结合 POD-3A1/POD-3A2 和 POD-7D1/POD-7D6 分子标记结果,研究新疆小麦品种(系) *TaPod-A1* 和 *TaPod-D1* 基因的等位变异分布频率及其与 POD 活性之间的关系,验证分子标记 POD-3A1/POD-3A2 和 POD-7D1/POD-7D6 的有效性,为利用分子标记选择高 POD 活性小麦品种(系)和改良新疆小麦面粉品质奠定理论和材料基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

选用 113 份新疆小麦品种(系)为供试材料,其中 89 份新疆冬小麦品种(系)和 24 份新疆春小麦品种(系);冬小麦品种(系)包括 16 份地方品种(系)、34 份引进品种(系)和 39 份自育品种(系),春小麦品种(系)包括 4 份早期品种(系)(2000 年前审定)和 20 份近期品种(系)(2000 年后审定)。所有冬小麦材料均于 2016~2017 和 2017~2018 年 2 个年度播种于新疆农科院玛纳斯试验站,随机区组设计,2 m 行长,每行 120 粒,行距 20 cm,每个品种(系)种植 3 行,2 次重复。田间管理与当地大田生产一致,成熟收获后,人工脱粒。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 POD 活性检测

称取 15 g 去杂去劣的小麦籽粒采用配备 0.8 mm 筛子的旋风磨(瑞典 Laboratory Mill 120)研磨成全麦粉放置于 4℃ 待测。采用魏景欣等<sup>[3]</sup>方法,测定 POD 活性,2 次重复,若 2 次检测的结果相差超过 10%,需重复检测。单位 POD 活性(U)被定义为每克全麦粉每分钟反应产物在 470 nm 处的吸光度增加 0.01。

#### 1.2.2 POD 活性分子标记检测

耿洪伟等<sup>[8]</sup>已对新疆冬小麦品种(系)进行 *TaPod-A1* 和 *TaPod-D1* 位点的等位变异检测,谢磊等<sup>[21]</sup>也对新疆春小麦品种(系)进行了 *TaPod-D1* 位点的等位变异检测,研究采用耿洪伟等<sup>[22]</sup>的方法,取 3 粒有代表性的种子提取基因组 DNA,随后利用时佳等<sup>[18]</sup>开发的功能标记 POD-7D1/POD-7D6 检测 24 份新疆春小麦品种

(系),根据每个小麦品种(系)DNA 标记结果判断其基因型。表 1

表 1 用于检测 POD 活性基因的分子标记及其引物序列

Table 1 Molecular markers and their primer sequences for detecting POD active genes				
标记名称 Marker name	引物序列(5'-3') Primer sequence(5'-3')	产物大小 Product size(bp)	等位变异 Allele	参考文献 Reference
POD-7D1	F:GCTTCGTCCAGGACGCGTT	540	TaPod-D1a	时佳,等 <sup>[18]</sup> . 2017
	R:CGAGGAATGGGGGTTGATG			
POD-7D6	F:TGGGCATGGGGCTTCTGCA	640	TaPod-D1b	时佳,等 <sup>[18]</sup> . 2017
	R:GCGAGGAATGGGGGTTGATG			

1.3 数据处理

用 Excel 进行数据统计和相关性分析,采用 IBM SPSS statistics 21 对数据进行 *t* 检验及单因素方差分析。

2 结果与分析

2.1 不同类型小麦的 POD 活性

研究表明,新疆小麦品种(系)的 POD 活性分布范围很广(730~4 600 U/(g·min)),最高、最低 POD 活性相差 6 倍,其 POD 平均活性为 2 436.

5 U/(g·min),不同年份间 POD 活性相关系数为 0.6( $P<0.01$ )。新疆春小麦的 POD 活性(2 507.8 U/(g·min))高于新疆冬小麦的 POD 平均活性(2 417.2 U/(g·min))。在新疆冬小麦中,POD 活性表现为引进品种(系)(活性为 2 501.7 U/(g·min))>地方品种(系)(2 473.9 U/(g·min))>自育品种(系)(2 320.3 U/(g·min));在新疆春小麦中,POD 活性表现为近期品种(系)(2 524.0 U/(g·min))>早期品种(系)(2 426.9 U/(g·min))。表 2

表 2 不同类型新疆小麦品种(系)的 POD 活性

Table 2 POD activity of different types of Xinjiang wheat varieties (lines)								
品种(系) Varieties	全部品种 (系) All varieties	冬小麦 Winter wheat			总计 Total	春小麦 Spring wheat		
		引进品种 (系) Introduced varieties	地方品种 (系) Landraces	自育品种 (系) Breeding varieties		近期品种 (系) Landraces	早期品种 (系) Landraces	总计 Total
品种(系)数 No. of varieties	113	34	16	39	89	20	4	24
频率 Frequency(%)	100	38.2	18	43.8	78.8	83.3	16.7	21.2
POD 活性 POD activity (U/(g·min))	2 436.5	2 501.7	2 473.9	2 320.3	2 417.2	2 524	2 426.9	2 507.8
标准差 Sd	584.9	579.2	420.5	578.1	558.8	699.7	516.1	671.2
变化范围 Range	730.0~ 4 600.0	1 500.0~ 4 600.0	1 760.0~ 3 420.0	730.0~ 3 900	730.0~ 4 600.0	1 200.0~ 4 570.0	1 600.0~ 3 310.0	1 200.0~ 4 570.0

2.2 2 个基因位点不同等位变异的 POD 活性

研究表明,在 TaPod-A1 位点,具有 TaPod-A1b 等位变异类型品种(系)的 POD 活性(2 595.3 U/(g·min))极显著( $P<0.01$ )高于具有 TaPod-A1a 等位变异类型品种(系)(2 346.0 U/(g·min)),TaPod-A1b 为优异等位变异,在新疆冬小麦引进品种(系)和新疆春小麦早期品种

(系)中 2 个等位变异类型的材料间 POD 活性均具有极显著差异( $P<0.01$ );在 TaPod-D1 位点,具有 TaPod-D1b 等位变异类型品种(系)的 POD 活性(2 503.9 U/(g·min))显著( $P<0.05$ )高于具有 TaPod-D1a 等位变异类型品种(系)(2 376.9 U/(g·min)),在新疆冬小麦品种(系)中 2 个等位变异类型的材料间 POD 活性具有显著

差异 ( $P < 0.05$ )。TaPod - A1 位点检测与魏景欣<sup>[3]</sup>一致,可用于新疆小麦 POD 活性的辅助选

择,而 TaPod - D1 位点的检测结果显示 TaPod - D1b 为优异等位变异。表 3

表 3 不同类型小麦材料不同等位变异的 POD 活性

Table 3 POD activity of different allelic variations of different types of wheat material

等位变异 Gene type	全部品种 (系) All varieties	冬小麦 Winter wheat				春小麦 Spring wheat		
		引进品种 (系) Introduced varieties	地方品种 (系) Landraces	自育品种 (系) Breeding varieties	总计 Total	早期品种 (系) Landraces	近期品种 (系) Landraces	总计 Total
TaPod - A1b	2 595.3 <sup>A</sup>	2 722.3 <sup>A</sup>	2 852.5	2 365.0	2 613.2 <sup>A</sup>	2 238.3 <sup>A</sup>	2 641.1 <sup>a</sup>	2 570.0
TaPod - A1a	2 346.0 <sup>B</sup>	2 327.6 <sup>B</sup>	2 448.7	2 302.8	2 344.8 <sup>B</sup>	2 992.5 <sup>B</sup>	2 250.8 <sup>b</sup>	2 356.8
TaPod - D1b	2 503.9 <sup>a</sup>	2 585.1	2 537.0	2 418.9	2 500.7 <sup>a</sup>	0.0	2 543.8	2 543.8
TaPod - D1a	2 376.9 <sup>b</sup>	2 418.2	2 368.8	2 192.8	2 315.0 <sup>b</sup>	2 426.9	2 519.1	2 500.6
TaPod - A1b/TaPod - D1b	2 706.2 <sup>a</sup>	2 914.1 <sup>a</sup>	0.0	2 503.5 <sup>a</sup>	2 756.3 <sup>a</sup>	0.0	2 543.8 <sup>a</sup>	2 543.8
TaPod - A1b/TaPod - D1a	2 516.8 <sup>ab</sup>	2 634.4 <sup>ab</sup>	2 852.0 <sup>a</sup>	2 249.6 <sup>ab</sup>	2 444.3 <sup>ab</sup>	2 238.3 <sup>B</sup>	2 680.0 <sup>a</sup>	2 578.1
TaPod - A1a/TaPod - D1b	2 408.4 <sup>b</sup>	2 292.8 <sup>b</sup>	2 537.0 <sup>a</sup>	2 394.0 <sup>a</sup>	2 408.4 <sup>b</sup>	0.0	0.0	0.0
TaPod - A1a/TaPod - D1a	2 283.6 <sup>b</sup>	2 351.7 <sup>b</sup>	2 272.0 <sup>b</sup>	2 161.8 <sup>b</sup>	2 265.9 <sup>b</sup>	2 992.5 <sup>A</sup>	2 250.8 <sup>b</sup>	2 356.8

注:不同字母表示差异显著

Note: Different letters means the difference is significant

### 2.3 TaPod - A1 和 TaPod - D1 位点等位变异组合与 POD 活性的关系

在检测的 113 份新疆小麦材料中, TaPod - A1 和 TaPod - D1 基因位点共存在 TaPod - A1a/TaPod - D1a、TaPod - A1a/TaPod - D1b、TaPod - A1b/TaPod - D1a 和 TaPod - A1b/TaPod - D1b 四种等位变异组合类型。不同组合类型的总体分布比例表现不同。研究表明, 2 个高 POD 活性等位变异组合 TaPod - A1b/TaPod - D1b (活性为

2 706.2 U/(g · min)) 显著高于由 2 个低 POD 活性的等位变异组合 TaPod - A1a/TaPod - D1a (2 283.6 U/(g · min)), 由一个高 POD 活性和一个低 POD 活性等位变异组合的 TaPod - A1a/TaPod - D1b (2 408.4 U/(g · min)) 和 TaPod - A1b/TaPod - D1a (2 516.8 U/(g · min)) POD 活性无显著差异。将 2 个功能标记组合使用, 可以提高优异等位基因的选择效率。表 4

表 4 2 个基因不同等位变异的 POD 活性

Table 4 POD activity of different allelic variants of two genes

等位变异组合 Allelic combination	品种(系)数 No. of varieties	频率 Frequency (%)	POD 活性 POD activity (U/(g · min))	标准差 Sd	标准误 Sx	变化范围 Range
TaPod - A1b	41	36.3	2 595.3 <sup>A</sup>	685.2	53.5	1 200.0 ~ 4 600.0
TaPod - A1a	72	63.7	2 346.0 <sup>B</sup>	498.4	29.4	730.0 ~ 3 500.0
TaPod - D1b	53	46.9	2 503.9 <sup>a</sup>	580.8	39.9	730.0 ~ 4 600.0
TaPod - D1a	60	53.1	2 376.9 <sup>b</sup>	583.2	37.6	970.0 ~ 4 570.0
TaPod - A1b/TaPod - D1b	17	15.0	2 706.2 <sup>a</sup>	724.5	87.9	1 450.0 ~ 4 600.0
TaPod - A1b/TaPod - D1a	24	21.2	2 516.8 <sup>ab</sup>	648.3	66.2	1 200.0 ~ 4 570.0
TaPod - A1a/TaPod - D1b	36	31.9	2 408.4 <sup>b</sup>	472.5	39.4	730.0 ~ 3 500.0
TaPod - A1a/TaPod - D1a	36	31.9	2 283.6 <sup>b</sup>	517.1	43.1	970.0 ~ 3 310.0

注:不同字母表示差异显著

Note: Different letters means the difference is significant



2.4 不同类型春小麦品种(系)中 TaPod - A1 和 TaPod - D1 位点等位变异的分布频率

研究表明,在 TaPod - A1 位点,新疆春小麦品种(系)中具有 TaPod - A1b 变异类型的材料有 17 份(占 70.8%),为优势等位变异,其中早期品种(系)和近期品种(系) TaPod - A1b 分布频率分别为 75.0% 和 70.0%,在 TaPod - D1 位点,具有 TaPod - D1a 在新疆春小麦品种(系)资源中有 20 份(83.3%),为优势等位变异,其中早期品种(系)和近期品种(系) TaPod - D1a 分布频率分别

为 100.0% 和 80.0%,无论是从新疆春小麦品种(系)的总体还是从早期或近期来看,均表现出 TaPod - A1b 和 TaPod - D1a 为优势等位变异。在 24 份新疆春小麦材料中共有 TaPod - A1a/TaPod - D1a、TaPod - A1b/TaPod - D1a 和 TaPod - A1b/TaPod - D1b3 种等位变异,TaPod - A1b/TaPod - D1a 在 24 份新疆小麦品种(系)、早期品种(系)或近期品种(系)分布频率分别为 54.2%、75.0% 和 50.0%,均表现为优势等位变异。表 5

表 5 不同类型新疆春小麦材料不同等位变异的频率  
Table 5 Frequency of different allelic variation of different types of spring wheat materials

等位变异 Gene type	总计 Total		早期品种(系) Landraces		近期品种(系) Landraces	
	品种(系)数 Numbers	频率 (%)	品种(系)数 Numbers	频率 Frequency (%)	品种(系)数 Numbers	频率 (%)
TaPod - A1a	7	29.2	1	25.0	6	30.0
TaPod - A1b	17	70.8	3	75.0	14	70.0
TaPod - D1a	20	83.3	4	100.0	16	80.0
TaPod - D1b	4	16.7	0	0.0	4	20.0
TaPod - A1a/TaPod - D1a	7	29.2	1	25.0	6	30.0
TaPod - A1a/TaPod - D1b	0	0.0	0	0.0	0	0.0
TaPod - A1b/TaPod - D1a	13	54.2	3	75.0	10	50.0
TaPod - A1b/TaPod - D1b	4	16.7	0	0.0	4	20.0

3 讨论

3.1 POD 活性的测定

研究表明,新疆推广种植的小麦品种(系) POD 活性高,品种(系)间活性变异范围大,其 POD 活性总体要高于全国 3 个主产麦区(北部冬麦区、黄淮麦区和长江流域与西南麦区)推广的品种(系)<sup>[3]</sup>。从不同生产麦区来看,新疆小麦籽粒 POD 活性最低略高于中国北部冬麦区小麦品种(系)(729.36 U/(g·min))的活性,最高是长江流域与西南麦区的小麦品种(系)(653.38 U/(g·min))的 7 倍。主要是由气候条件的差异造成的,新疆的干旱半干旱地区,年降雨量平均为 117.8 mm,是我国典型的干旱少雨地区,还有诸如盐渍化和高温等非生物逆境胁迫,更易引起品种(系)的 POD 活性增高<sup>[23-26]</sup>。相比于其他麦区,新疆小麦品种(系)与中国北部冬麦区的小麦品种(系)籽粒 POD 活性最为接近,这主要是由于

北部冬麦区与新疆纬度相近,寒、旱等自然条件也更为相近<sup>[27-28]</sup>。从新疆不同类型小麦的 POD 活性来看,新疆春小麦 POD 平均活性(2 507.8 U/(g·min))高于新疆冬小麦的 POD 平均活性(2 417.2 U/(g·min))。相吉山等<sup>[29]</sup>和桑伟等<sup>[30]</sup>通过对新疆小麦品种(系)资源籽粒性状和磨粉品质的研究,发现新疆春小麦品种(系)的蛋白质含量往往比冬小麦高,作为籽粒蛋白质组成部分的 POD 含量也相应提高<sup>[31]</sup>,从而导致春小麦 POD 活性的偏高<sup>[32]</sup>,因此,新疆春小麦品种(系)有助于高 POD 活性品种(系)的遗传改良。在新疆冬小麦品种(系)中,引进品种(系)POD 活性显著高于自育品种(系)和地方品种(系),因此,引进品种(系)是新疆小麦面粉品质遗传改良的重要途径,在新疆小麦育种工作中应通过积极引进外地品种(系),来改善新疆小麦的面粉品质。在新疆春小麦中,近期品种(系)POD 活性高于早期品种(系),除了消费者对小麦品质越来越

高的关注和需求之外<sup>[33]</sup>,也源于新疆小麦育种近年来比较注重对面粉色泽的选择<sup>[34-35]</sup>,使有利于提高小麦面粉白度的高 POD 活性基因得以在近期品种(系)中被保留。

### 3.2 POD 活性相关基因 *TaPod - A1* 和 *TaPod - D1* 分子检测结果

新疆小麦品种(系)在 *TaPod - A1* 和 *TaPod - D1* 2 基因位点,均以含有低 POD 活性相关的 *TaPod - A1a* (63.7%) 和 *TaPod - D1a* (53.1%) 的等位变异类型为主,这 2 种等位变异类型在均高于新疆小麦品种(系)中的分布频率高于全国冬小麦品种(系)。而与高 POD 活性相关的优异等位变异组合 *TaPod - A1b/TaPod - D1b* 在新疆冬、春小麦品种(系)中分布频率均较低,分别只有 14.6% 和 15.0%。赵广才等<sup>[36]</sup>研究表明,我国小麦品质研究起步较晚,前期更多的关注于产量性状,忽视了品质的遗传改良,而品质与产量存在一定负相关<sup>[37]</sup>,在进行高产选择的同时,不经意间使非优异等位变异类型在选育过程中得到了积累。优异等位变异组合 *TaPod - A1b/TaPod - D1b* 在新疆冬小麦材料分布频率大小为引进品种(系) > 自育品种(系) > 地方品种(系),而在新疆春小麦材料中的分布频率为近期品种(系) > 早期品种(系)。表明新疆地方品种(系)对新疆小麦的早期育种工作有较大影响,外来种质的引入使得小麦优异等位变异频率得到提升;与此同时,近期品种和自育品种多为以地方品种或自育品种(系)和外引品种为亲本所育,外来种质的引入有力地推进了小麦品质的遗传改良。因此,在今后育种工作中,应积极引进国内外优质品质(系),采用优异等位变异类型品种(系)为亲本,对于提高新疆小麦品种(系)优异等位变异的频率,进而加快新疆小麦品质的遗传改良是可行的。

### 3.3 POD 活性相关分子标记的实用性

功能标记以其准确、高效、简单的特点而大规模应用于作物育种<sup>[38]</sup>,功能标记的开发及应用逐渐称为小麦分子育种的重要研究内容<sup>[39]</sup>。魏景欣等<sup>[3]</sup>和时佳等<sup>[18]</sup>研究表明,*TaPod - D1b* 和 *TaPod - A1a* 基因型与低 POD 活性相关,*TaPod - D1a* 和 *TaPod - A1b* 基因型与高 POD 活性相关。研究用 *TaPod - A1* 和 *TaPod - D1* 小麦 POD 活性基因的功能标记对新疆小麦品种(系)进行检测,

发现 *TaPod - A1* 等位变异和 *TaPod - D1* 均与 POD 活性呈极显著正相关,其中具有 *TaPod - A1b* 等位变异材料的 POD 活性显著高于具有 *TaPod - A1a* 等位变异的材料,具有 *TaPod - D1b* 等位变异材料的 POD 活性显著高于具有 *TaPod - D1a* 等位变异的材料。时佳等<sup>[18]</sup>利用 *TaPod - 7D1* 和 *TaPod - 7D6* 标记对 243 份中国小麦材料进行了检测,结合 POD 活性表型数据分析,却发现具 *TaPod - D1a* 等位变异的材料具有更高的 POD 活性,研究结果与其研究结果不一致,主要原因是 POD 的活性受遗传因子、生态环境和栽培措施等影响<sup>[15]</sup>,李凤梅等<sup>[40]</sup>研究表明,微效基因以及环境和其他植物生长调节剂影响甜瓜性型;曹雪莲等<sup>[41]</sup>发现基因间的互作及其与环境的互作对于小麦的抗穗发芽的影响较大;时佳等<sup>[42]</sup>通过产量功能标记检测时,也发现同一功能标记会因为环境及材料不同等原因,造成同一功能标记在不同研究中出现没有显著差异甚至结果相反的现象。因此,在今后的工作中可通过扩大样本量、提高样本的遗传多样性,对 *TaPod - D1* 位点不同等位变异与 POD 活性相关性进行深入研究,将基于 *TaPod - D1* 基因开发的功能标记应用育种实践。

## 4 结 论

在新疆小麦品种(系)材料中,以 2 个低 POD 活性等位变异类型 *TaPod - A1a* 和 *TaPod - D1a* 为主,且 2 个高 POD 活性等位变异类型 *TaPod - A1b/TaPod - D1b* 所占比例较少。*TaPod - A1* 的功能标记 POD - 3A1 和 POD - 3A2 能较好的区分小麦籽粒 POD 活性的高低,可用于 POD 活性的分子标记辅助选择。*TaPod - D1* 功能标记 POD - 7D1 和 POD - 7D6 标记结果与 POD 活性测定结果相对于前人 *TaPod - D1a* 为高 POD 活性等位变异的结论不一致,该标记仍需扩大材料做进一步验证。将 2 个功能标记组合使用,能更有效地筛选出高 POD 活性材料。

### 参考文献 (References)

- [1] 刘志勇,王道文,张爱民,等. 小麦育种行业创新现状与发展趋势[J]. 植物遗传资源学报, 2018, 19(3): 430-434.  
LIU Zhiyong, WANG Daowen, ZHANG Aiming, et al. Innovation status and development trend of wheat breeding[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2018, 19(3): 430-434.
- [2] 单丽伟,唐如春,刘三阳,等. 小麦种子过氧化物酶 WP1 基

- 因的原核表达、纯化及多克隆抗体制备[J]. 生物工程学报, 2011, 27(1): 26–30.
- SHAN Liwei, TANG Ruchun, LIU Sanyang, et al. Prokaryotic expression and purification of wheat seed peroxidase WPI gene and preparation of polyclonal[J]. *Chinese Journal of*, 2011, 27(1): 26–30.
- [3] 魏景欣. 小麦籽粒过氧化物酶活性 QTL 分析及相关基因克隆和功能标记开发[D]. 北京: 中国农业科学院, 2015.
- WEI Jingxin. *QTL analysis of wheat grain peroxidase activity and related gene cloning and development of functional* [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences. 2015.
- [4] 王瑞, 张永科, 郭勇, 等. 小麦不同阶段产品品质性状的变异及其关系[J]. 麦类作物学报, 2018, 38(8), 900–905.
- WANG Rui, ZHANG Yongke, GUO Yong, et al. Variation of wheat quality traits at different stages and their[J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2018, 38(8): 900–905.
- [5] 何中虎, 晏月明, 庄巧生, 等. 中国小麦品种品质评价体系建立与分子改良技术研究[J]. 中国农业科学, 2006, 47(6), 1091–1101.
- HE Zhonghu, YAN Yueming, ZHUANG Qiaosheng, et al. Establishment of quality evaluation system and molecular improvement technology of wheat varieties (lines) [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2006, 47(6): 1091–1101.
- [6] 张福彦, 陈锋, 程仲杰, 等. 小麦 *TaLx-B* 等位变异对脂肪氧化酶活性和面粉色泽的影响[J]. 中国农业科学, 2017, 50(8): 1370–1377.
- ZHANG Fuyan, CHEN Feng, CHENG Zhongjie, et al. Effect of alleles of *TaLx-B* in wheat on lipoxygenase activity and flourishness[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2017, 50(8): 1370–1377.
- [7] 胡瑞波, 田纪春, 邓志英, 等. 中国白盐面条色泽影响因素的研究[J]. 作物学报, 2006, 88(9): 1338–1343.
- HU Ruibo, TIAN Jichun, DENG Zhiying, et al. Study on the influencing factors of Chinese white salt noodle [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2006, 88(9): 1338–1343.
- [8] 耿洪伟, 白璐, 于月华, 等. 新疆小麦过氧化物酶活性基因 *TaPod-A1* 等位变异检测及其分布规律[J]. 新疆农业大学学报, 2015, 38(3): 193–199.
- GENG Hongwei, Bai Lu, Yu Yuehua, et al. Detection and distribution of *TaPod-A1* alleles in Xinjiang wheat peroxidase activity gene [J]. *Journal of Xinjiang Agricultural University* 2015, 38(3): 193–199.
- [9] 廖金花. 小麦种子过氧化物酶活性分析[J]. 中国农学通报, 2015, 31(21): 123–129.
- LIAO Jinhua. Analysis of wheat seed peroxidase [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2015, 31(21): 123–129.
- [10] Gelinas P, Poitras E, Mckinnon C, &Morin A. Oxido-reductases and Lipases as Dough-bleaching [J]. *Cereal Chemistry*, 1998, (6): 810–814.
- [11] Yong, Z., Zhonghu, H., Youye, G., &Aimin, Z. Effect of environment and genotype on bread-making quality of spring-sown spring wheat cultivars in [J]. *Euphytica*, 2004, 139(1): 75–83.
- [12] Souza E. J., Martin J. M., Guttieri M. J., Brien K. M., Habernicht D. K., Lanning S. P., McLean R., Carlson G. R., &Talbert L. E. Influence of Genotype, Environment, and Nitrogen Management on spring Wheat [J]. *Crop sci*, 2004, 44(2): 425–432.
- [13] Maksimov I. V., Cherepanova E. A., Kuzmina O. I., Yarullina L. G., &Akhunov A. A. Molecular peculiarities of the chitin-binding peroxidases of plants[J]. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2010, 36(3): 293–300.
- [14] Žilic S., Dodig D., Šukalovi V. H., Maksimovi M., Saratli G., &Škrbi B. Bread and durum wheat compared for antioxidants contents, and lip oxygenase and peroxidase [J]. *International Journal of Food science & Technology*, 2010, 45(7): 1360–1367.
- [15] McDonald C. E. Lipoxygenase and lutein bleaching activity of durum wheat semolina[J]. *Cereal Chemistry*, 1979, 56(2): 84–89.
- [16] Honold G R, &Stahmann M A. The oxidation-reduction enzymes of wheat. IV. Qualitative and quantitative investigations of the [J]. *Cereal Chem*, 1968, 45(2): 99–106.
- [17] Hemalatha M. S., Manu B. T., Bhagwat S. G., Leelavathi K. &Prasada J. S. Protein characteristics and peroxidase activities of different Indian wheat varieties and their relationship to chapati-making quality [J]. *European Food Research and Technology*, 2007, 225(3): 463–471.
- [18] 时佳, 翟胜男, 刘金栋, 等. 普通小麦籽粒过氧化物酶活性全基因组关联分析[J]. 中国农业科学, 2017, 50(21): 4212–4227.
- SHI Jia, ZHAI Shengnan, LIU Jindong, et al. Genome-wide association analysis of peroxidase activity in *Triticum aestivum* L [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2017, 50(21): 4212–4227.
- [19] Rebordinos L, &Vega M P. The inheritance of seed peroxidases of wheat and rye; further data[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1987, 74(6): 767–772.
- [20] Brenchley R., Spannagl M., &Pfeifer M. Analysis of the breadwheat genome using whole-genome shotgun [J]. *Nature*, 2012, 491(7426): 705–710.
- [21] 谢磊, 战帅帅, 王丽丽, 等. 新疆冬小麦过氧化物酶基因 *TaPod-D1* 和 *TaPod-A1* 的等位变异及分布[J]. 麦类作物学报, 2019, 39(3): 262–267.
- XIE Lei, ZHAN Shuaishuai, WANG Lili, et al. Allelic variation and distribution of peroxidase genes *TaPod-D1* and *TaPod-A1* in Xinjiang winter [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2019, 39(3): 262–267.
- [22] 耿洪伟. 小麦脂肪氧化酶(LOX)活性 QTL 定位与功能标记

- 开发[D]. 乌鲁木齐:新疆农业大学, 2010.
- GENG Hongwei. *QTL Mapping and Functional Marker Development of Wheat Lipoxigenase (LOX)* [D]. Urumqi: Xinjiang Agricultural University.
- [23] 孙静, 王宪泽. 盐胁迫对小麦过氧化物酶同工酶基因表达的影响[J]. 麦类作物学报, 2006, 26(1): 42-44, 61.
- SUN Jing, WANG Xianze. The effect of salt stress on the gene expression of peroxidase isoenzyme in [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2006, 26(1): 42-44, 61.
- [24] 张仲明, 杨素铀, 王秀春. 小麦、玉米幼苗在水分胁迫下过氧化物酶的变化[J]. 西北师范大学学报(自然科学版), 1985, 44(4): 34-37.
- ZHANG Zhongming, YANG Suyou, WANG Xiuchun. Changes of peroxidase in wheat and Maize Seedlings under water [J]. *Journal of Northwest Normal Natural Science*, 1985, 44(4): 34-37.
- [25] 李世清, 邵明安, 李紫燕, 等. 小麦籽粒灌浆特征及影响因素的研究进展[J]. 西北植物学报, 2003, 24(11): 2030-2038.
- LI Shiqing, SHAO Mingan, LI Ziyun, et al. Research progress of grain filling characteristics and influencing factors in wheat [J]. *Acta Botanica Boreali - Occidentalia Sinica*, 2003, 24(11): 2030-2038.
- [26] 黄静, 张运, 汪明秀, 等. 近 17 年新疆干旱时空分布特征及影响因素分析[J/OL]. 生态学报, 2020, 40(3): 1-12 [2019-12-10]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2031.Q.20191120.0937.062.html>.
- HUANG Jing, ZHANG Yun, WANG Mingxiu, et al. Analysis on the spatial and temporal distribution characteristics and influencing factors of drought in Xinjiang in the past 17 [J/OL]. *Acta Ecologica Sinica*, 2020, 40(3): 1-12.
- [27] 曾占奎, 王征宏, 王黎明, 等. 北部冬麦区小麦新品种(系)的节水生理特性与综合评判[J]. 干旱地区农业研究, 2019, 37(5): 137-143.
- ZENG Zhankui, WANG Zhenghong, WANG Liming, et al. Water saving physiological characteristics and comprehensive evaluation of new wheat varieties (lines) in northern winter wheat region [J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2019, 37(5): 137-143.
- [28] 孟自力, 闫向泉, 朱倩, 等. 小麦栽培的特点及不同冬麦区存在的问题[J]. 现代农业科技, 2018, 47(4): 44-45.
- MENG Zili, YAN Xiangquan, ZHU Qian, et al. Characteristics of wheat cultivation and problems in Different Winter Wheat [J]. *Modern Agricultural Science and Technology*, 2018, 47(4): 44-45.
- [29] 相吉山, 穆培源, 桑伟, 等. 新疆小麦品种资源籽粒性状和磨粉品质分析及评价[J]. 新疆农业科学, 2013, 50(6): 1032-1039.
- XIANG Jishan, MU Peiyuan, SANG Wei, et al. Analysis and e-valuation of grain characters and milling quality of Wheat Varieties (lines) resources in [J]. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 2013, 50(6): 1032-1039.
- [30] 桑伟, 穆培源, 徐红军, 等. 新疆小麦品种籽粒性状、磨粉品质及其关系的研究[J]. 麦类作物学报, 2010, 30(1): 50-55, 95.
- SANG Wei, MU Peiyuan, XU Hongjun, et al. A study on the grain characters, milling quality and their relationship of Xinjiang Wheat Varieties (lines) [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2010, 30(1): 50-55, 95.
- [31] 陈钰, 郭爱华, 姚月俊, 等. 低温胁迫下杏花器官内 POD、相对电导率和可溶性蛋白含量的变化[J]. 山西农业科学, 2007, 47(3): 30-32.
- CHEN Yu, GUO Aihua, YAO Yuejun, et al. Changes of POD, relative conductivity and soluble protein content in apricot flower organs under low temperature [J]. *Journal of Shanxi Agricultural Sciences*, 2007, 47(3): 30-32.
- [32] 张顺琴, 王素芳, 陈梦玫, 等.  $\text{Cu}^{2+}$  对泥蚶血红蛋白(Tg-Hb II)的过氧化物酶活性与结构的影响[J]. 海洋学报, 2018, 40(1): 106-114.
- ZHANG Shunqing, WANG Sufang, CHEN Mengmei, et al. Effect of  $\text{Cu}^{2+}$  on peroxidase activity and structure of haemoglobin (TG HB II) in clam [J]. *Acta Oceanologica Sinica*, 2018, 40(1): 106-114.
- [33] 王一杰, 辛岭, 胡志全, 等. 我国小麦生产、消费和贸易的现状分析[J]. 中国农业资源与区划, 2018, 39(5): 36-45.
- WANG Yijie, XIN Ling, HU Zhiqian, et al. An analysis of the current situation of wheat production, consumption and trade in [J]. *Chinese Journal of Agricultural Resources and Regional Planning*, 2018, 39(5): 36-45.
- [34] 张晓, 高德荣, 李曼, 等. 小麦面粉和鲜面色泽及  $P_{sy}-A1$  与  $P_{po}-A1$  等位变异检测[J]. 麦类作物学报, 2019, 39(4): 415-422.
- ZHANG Xiao, GAO Derong, LI Man, et al. Detection of wheat flour and fresh dough color and allelic variation of  $P_{sy}-A1$  and  $P_{po}-A1$  [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2019, 39(4): 415-422.
- [35] 相吉山, 穆培源, 桑伟, 等. 新疆小麦品种资源脂肪氧化酶活性基因  $TaLox-B1$  的分布特征研究[J]. 麦类作物学报, 2013, 33(2): 279-285.
- XIANG Jishan, MU Peiyuan, SANG Wei, et al. Distribution of lipoxigenase activity gene  $TaLox-B1$  in Xinjiang [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2013, 33(2): 279-285.
- [36] 赵广才, 常旭虹, 王德梅, 等. 小麦生产概况及其发展[J]. 作物杂志, 2018, 34(4): 1-7.
- ZHAO Guangcai, CHANG Xuhong, WANG Demei, et al. General situation and development of wheat [J]. *Crops*, 2018, 34(4): 1-7.
- [37] 蒋进, 蒋云, 王淑荣, 四川省近年育成小麦品种农艺性状



- 和品质性状分析[J]. 麦类作物学报, 2019, 39(6): 682 – 691.
- JIANG Jin, JIANG Yun, WANG Shurong. Analysis of agronomic and quality characters of wheat varieties bred in Sichuan Province in recent [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2019, 39(6): 682 – 691.
- [38] 马传喜, 姚大年, 阮龙, 等. 小麦品种产量和品质性状相关性的研究[J]. 安徽农业科学, 1997, 37(2): 4 – 5, 22.
- MA Chuanxi, YAO Danian, RUAN Long, et al. Study on the correlation between yield and quality characters of wheat varieties (lines) [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 1997, 37(2): 4 – 5, 22.
- [39] Bagge M, Xia X C, & Lübberstedt T. Functional markers in [J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2007, 10: 211 – 216.
- [40] 李凤梅, 张洪亮, 崔健, 等. 甜瓜单性花相关基因 *CmACs* – 7 的分子标记开发与应用[J]. 分子植物育种, 2018, 16(14): 4715 – 4720.
- LI Fengmei, ZHANG Hongliang, CUI Jian, et al. Development and application of molecular markers of *CmACs* – 7 gene related to unisexual flowers in [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2018, 16(14): 4715 – 4720.
- [41] 曹雪连, 张衡, 姜昊, 等. 分子标记 PM19 – A1 对 1 015 份小麦抗穗发芽基因型的筛选及其有效性验证[J]. 麦类作物学报, 2016, 36(10): 1 283 – 1 290.
- CAO Xuelian, ZHANG Heng, JIANG Hao, et al. Screening and validation of molecular marker PM19 – A1 for 1015 wheat spike resistance germination [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2016, 36(10): 1283 – 1290.
- [42] 时佳, 白璐, 任毅, 等. 新疆小麦 *TaGW2* – 6A、*TaCwi* – A1、*Tasus2* – 2B 等位变异对粒重的影响及应用[J]. 分子植物育种, 2018, 16(3): 848 – 858.
- SHI Jia, BAI Lu, REN Yi, et al. The effect of *TaGW2* – 6A/*TaCwi* – A1/*Tasus2* – 2B allelic variation on grain weight of Xinjiang wheat and its [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2018, 16(3): 848 – 858.

## Detection of Peroxidase Activity in Xinjiang Wheat Cultivars and Allelic Detection of Related Genes

WANG Lili, ZHAN Shuaishuai, XIE Lei, WANG Jiqing, Hanikai Makan, REN Yi

SHI Jia, GENG Hongwei

(Key Laboratory of Biotechnology of Xinjiang Agricultural University College of Agronomy, Urumqi, 830052, China)

**Abstract:** **[Objective]** Peroxidase (POD, Peroxidase) activity in wheat grains has an important effect on wheat processing quality and flour color. To understand the peroxidase activity of Xinjiang wheat varieties (lines) and determine the variation types and distribution of related genes, so as to lay a foundation for wheat quality inheritance and improvement in Xinjiang. **[Method]** In this study, 113 Xinjiang wheat cultivars were genotyped by *TaPod*-3A1/*TaPod*-3A2 and *TaPod*-7D1/*TaPod*-7D6, combined with the results of measuring the POD activity of Xinjiang wheat cultivars the effects of different allelic variation of POD activity-related genes on POD activity of wheat cultivars the validity of the functional markers of *TaPod*-A1 and *TaPod*-D1 genes and the frequency of allelic variation of POD related genes in Xinjiang wheat cultivars. **[Result]** In Xinjiang wheat cultivars, the POD activity of *TaPod*-A1b(2,595.3 U/(g·min)) was significantly higher ( $P < 0.01$ ) than that of *TaPod*-A1a(2,346.0 U/(g·min)) at *TaPod*-A1 loci and the distribution frequencies of the two genotypes were 36.3% and 63.7%; the POD activity of *TaPod*-D1b(2,503.9 U/(g·min)) was significantly higher ( $P < 0.05$ ) than *TaPod*-D1a genotype(2,376.9 U/(g·min)) at *TaPod*-D1 loci and the distribution frequencies of the two genotypes were 46.9% and 53.1%. **[Conclusion]** According to the results of this, *TaPod*-A1a (low POD activity) and *TaPod*-D1a (low POD activity) the main allelic types; markers of *TaPod*-A1 and *TaPod*-D1 can distinguish the POD activity of wheat seeds well. The combination of two site-specific markers can screen out materials with high POD activity more it can more effectively screen materials with high POD activity, increase the frequency of excellent allelic variation of Xinjiang wheat varieties (lines), and promote genetic improvement of Xinjiang wheat quality.

**Key words:** wheat; peroxidase; function marker; marker combination; allelic variation

---

**Fund project:** This study was supported by grants from the Xinjiang Uygur autonomous regional "Tianshan Xuesong" project (2018XS04); Xinjiang Uygur autonomous regional educational committee project (XJEDU2020I010)

**Correspondence author:** GENG Hongwei (1978-), Male, Hechuan District, Chongqing, professor, doctor, doctor tutee, Research area: Wheat molecular breeding, (E-mail) hw-geng@163.com