HMW-GS 分子标记多重 PCR 体系的 建立及新疆春小麦的检测

王晓龙¹,王 亮^{2,3},尉 倩¹,穆培源^{2,3},范锋贵¹,徐红军^{2,3},梁 强¹,任万杰¹,张晓科^{1,3}

(1. 西北农林科技大学农学院/国家小麦改良中心杨凌分中心,陕西杨凌 712100; 2. 新疆农垦科学院作物研究所,新疆石河子 832000; 3. 谷物品质与遗传改良兵团重点实验室,新疆石河子 832000)

摘 要: 为给新疆优质春小麦品种选育提供参考依据,利用小麦优质高分子量谷蛋白亚基(HMW-GS)基因的特异性标记,基于 17 份已知 HMW-GS 组成的品种(系),构建了 3 套多重 PCR,体系 \blacksquare 可用于同时检测AxNull和Dx5基因,体系 \blacksquare 可同时检测 Ax2 "和 By8基因,体系 \blacksquare 可同时检测 Bx14 和 Dx5基因;用 3 套多重 PCR 体系分别检测 17 份小麦品种,其结果与 SDS-PAGE 检测结果完全一致,表明建立的 3 套多重 PCR 体系 稳定可靠,可用于小麦品种优质 HMW-GS 基因聚合育种。利用此体系对 85 份新疆春小麦品种进行分析表明,AxNull和Ax1的频率均为 24.7%,Ax2 "为 50.6%,By8为 48.2%,Bx14(+By15)为 0%,Dx5(+Dy10)为 34.1%。

关键词:小麦;高分子量谷蛋白亚基;多重 PCR

中图分类号:S512.1;S331

文献标识码:A

文章编号:1009-1041(2011)01-0041-06

Establishment of Multiplex PCR based on Molecular Markers for HMW-GS and Identification of Xinjiang Spring Wheat

WANG Xiao-long¹, WANG Liang^{2,3}, WEI Qian¹, MU Pei-yuan^{2,3}, FAN Feng-gui¹, XU Hong-jun^{2,3}, LIANG Qiang¹, REN Wan-jie¹, ZHANG Xiao-ke^{1,3}

(1. College of Agronomy, Northwest A & F University/Yangling Sub-Center of National Wheat Improvement Center, Yangling, Shaanxi 712100, China; 2. Institute of Crop Science, Xinjiang Academy of Agri-Reclamation Sciences, Shihezi, Xinjiang 832000, China; 3. Key Lab of Xinjiang Prouction and Construction Corps for Cereal Quality Research and Genetic Improvement, Shihezi, Xinjiang 832000, China)

Abstract: High-molecular-weight glutenin subunits (HMW-GS) are highly correlated with the processing quality of common wheat, therefore, the establishment and use of their multiplex PCR systems are of great importance in selection of quality characteristic of wheat. According to the genes coding for good quality HMW-GS, three types of multiplex PCR were established and validated on 17 Chinese wheat cultivars and advanced lines with known HMW-GS composition. The first multiplex PCR was used to simultaneously detect genes AxNull and Dx5, the second one was to detect the genes $Ax2^*$ and By8, and the third one was to detect Bx14 and Dx5. Those multiplex PCR were used to detect HMW-GS genes from Xinjiang spring wheat cultivars. The frequencies of genes AxNull, Ax1, $Ax2^*$, By8 and Dx5 (+Dy10) in 85 Xinjiang spring wheat cultivars were 24.7%, 24.7%, 50.6%, 48.2%

^{*} 收稿日期:2010-07-23 修回日期:2010-08-29

基金项目:新疆兵团科技支疆计划项目(2008ZJ10);兵团农业科技攻关计划项目(2009GG05);农业部"948"项目(2006-G2);国家 小麦产业技术体系建设专项(nycytx-03);西北农林科技大学唐仲英育种基金项目。

作者简介:王晓龙(1984-),男,硕士研究生,主要从事小麦遗传育种研究。E-mail;jiasi. 20323@yahoo. com. cn

通讯作者:穆培源(1968-),男,副研究员,主要从事小麦育种和品质研究。E-mail: mupy@sohu.com

张晓科(1965-),男,博士,教授,博士生导师,主要从事小麦品质和适应性研究。E-mail: zhangxk@tom.com.

and 34.1%, respectively. In addition, the gene Bx14(+By15) was not detected in this study. The results are very important in understanding the genetic basis of HMW composition and promotion of high quality wheat cultivars in Xinjiang region.

Key words: Wheat; High-molecular-weight glutenin subunit; Multiplex PCR

谷蛋白是小麦胚乳中重要的贮藏蛋白,是由高分子量谷蛋白亚基(HMW-GS)和低分子量谷蛋白亚基(LMW-GS)形成的蛋白聚合体。研究表明,HMW-GS 只占小麦贮藏蛋白的 10%左右,却对面粉的加工品质具有至关重要的作用。因此,亚基组成已成为当今小麦品质育种考虑的首要问题[1]。HMW-GS由位于第一同源群染色体长臂的 Glu-A1、Glu-B1和 Glu-D1位点(统称Glu-1位点)控制的基因编码[2]。Payne 等的研究表明,不同 HMW-GS 对小麦加工品质有不同贡献[3-4],按位点贡献大小排序,Glu-D1 > Glu-B1 > Glu-A1。就单个亚基而言,对加工品质贡献最大的为 Glu-D1位点的 5+10 亚基,其次为 Glu-B1位点的 17+18、14+15 和 7+8 等亚基,Glu-A1位点的 17+18、14+15 和 7+8 等亚基,Glu-A1位点 1 和 2* 亚基对小麦品质也有较大贡献[5-6]。

SDS-PAGE 是鉴定 HMW-GS 的传统方法。 该方法能一次检测出待测材料的所有亚基,但也 有结果 读取 困难和检测效率低等缺陷。随着 PCR 技术的发展和大量 HMW-GS 基因的克隆, 基于基因序列的 PCR 检测方法根据已知 HMW-GS基因的序列设计引物,利用 PCR 和凝胶电泳 技术可快速鉴定编码不同 HMW-GS 的基因。但 由于常规的 PCR 方法一般一次只能检测单一或 少数几个基因,成本较高,限制了其在育种实践中 的广泛应用。多重 PCR 的应用可以解决上述问 题。国内外已报道了数套有关 HMW-GS 检测的 多重 PCR 体系[7-9]。本研究采用 HMW-GS 基因 AxNull、Ax2*、By8、Bx14和 Dx5的特异性标记, 利用一批已知 HMW-GS 组成的小麦品种(系), 通过对体系不断调整优化,建立了稳定可靠的多 重 PCR 体系,并利用该体系对 85 份新疆春小麦 品种(系)的相关 HMW-GS 基因进行检测,以期 为新疆优质春小麦品种选育提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料及其 DNA 提取

为了创建AxNull与 Dx5 (下文简称为体系 I)、Ax2*与 By8 (体系 I)、Bx14与 Dx5 (体系

Ⅲ)3 套多重 PCR 体系,选用 17 个亚基组成已知的小麦品种(系)(表 1)。这些材料的Glu-1位点亚基变异类型比较齐全,可满足多重 PCR 体系创建和验证的需要。选取新疆地区 85 份春小麦品种,利用创建的 3 套多重 PCR 体系对其相应位点基因进行检测。

采用 CTAB 法^[7] 提取供试材料 DNA,每个材料提取 3 批 DNA 用于相关基因的 PCR 检测。

表 1 17 个小麦品种(系)的 HMW-GS 组成^[10-11]
Table 1 HMW-GS composition of 17 wheat cultivars (lines) used in this study

cultivals (lines) asca in this staay						
品种	位点 locus					
Cultivar	Glu-A1	Glu-B1	Glu-D1			
中国春 Chinese Spring	Null	7+8	2+12			
中优 9701 Zhongyou 9701	Null	7+8	5 + 10			
小偃 54 Xiaoyan 54	1	14 + 15	2 + 12			
糞 5066 Ji 5066	1	17 + 18	2 + 12			
沧核 030 Canghe 030	Null	14 + 15	5 + 10			
豫麦 50 Yumai 50	2 *	7 + 9	2 + 12			
皖麦 23 Wanmai 23	1	20	5 + 10			
农大 99-5099 Nongda 99-5099	Null	7* + 8	2 + 12			
鲁麦 23 Lumai 23	1	14 + 15	2 + 12			
小偃 22 Xiaoyan 22	Null	7 + 9	2 + 12			
西农 8925-13 Xinong 8925-13	2 *	14 + 15	2 + 12			
绵阳 98-17 Mianyang 98-17	Null	17 + 18	5+10			
鄂 91727 E 91727	1	14 + 15	2 + 12			
陕 229 Shaan 229	1	14 + 15	5 + 10			
CA9550	2 *	7 ± 8 *	2 + 12			
郑麦 992 Zhengmai 992	Null	17 + 18	2 + 12			
蚂蚱麦 Mazhamai	2 *	7 + 8	2 + 12			

1.2 多重 PCR 体系引物及其扩增条件

在本文中,多重 PCR 体系共涉及 5 个基因的特异性分子标记,引物序列及其预期扩增特异条带的大小列于表 2。

3 个多重 PCR 均选取 $20~\mu$ L 反应体系,模板 DNA 用量为 $100\sim200~ng$,混合酶 (MasterMix) (北京康为世纪生物科技有限公司)加入量均为 $10~\mu$ L。PCR 扩增在 PTC-200 型 PCR 仪上进行,用 $1\times$ TAE 的琼脂糖凝胶进行电泳,电泳结束经溴化乙锭染色后在凝胶成像系统下观察照相。每套体系具体 PCR 扩增及电泳条件见表 3。

丰	2	标记	ᆲᄴ	후제	ᄶ甘	щ	뚀ᆂ	ı١
ℴ	4	ᅑᅚᄰ	51 777	IF 게	ᄱᄑ	\vdash	ᅜᄉ	/IN

Table 2 Sequences and expected amplification fragment sizes of the primers used in this study

多重 PCR 体系 Multiplex PCR	基因 Gene	序列 Sequence(5′-3′)	扩增片段大小 Size of product (bp)	参考文献 Reference
Ι	AxNull	ACGTTCCCCTACAGGTACTA	920	Lafiandra et al. [12]
		TATCACTGGCTAGCCGACAA		
	Dx5	GCCTAGCAACCTTCACAATC	450	Anderson et al. [13]
		GAAACCTGCTGCGGACAAG		
${ m I\hspace{1em}I}$	Ax2*	ATGACTAAGCGGTTGGTTCTT	1319	Ma et al. $[7]$
		ACCTTGCTCCCCTTGTCTTT		
	By8	TTAGCGCTAAGTGCCGTCT	527	Lei et al. [14]
		TTGTCCTATTTGCTGCCCTT		
Ш	Dx5	GCCTAGCAACCTTCACAATC	450	Anderson et al. [13]
		GAAACCTGCTGCGGACAAG		
	Bx14	TAAGCGCCTGGTCCTCTTTGCG	1256	Li et al. [15]
		CTTGTTGTGCTTGTCCTGAT		

表 3 多重 PCR 反应和电泳条件

Table 3 Conditions for three multiplex PCR programs

多重 PCR 体系 Multiplex PCR	I	II	Ш
基因 Gene	AxNull Dx5	Ax2 *By8	Bx14 Dx5
PCR 体系 PCR components			
混合酶 MasterMix /μL	10	10	10
每种 dNTP 浓度 Concentration of each of dNTPs $/(\mu ext{mol} \cdot ext{L}^{-1})$	200	200	200
引物浓度 Concentration of PCR primers for each gene $/(\mu ext{mol} \cdot extsf{L}^{-1})$	0.6/0.5	0.5/0.5	0.5/0.5
PCR 扩增条件 PCR amplification conditions			
预变性 Predenaturation	94 °C,5min	95°C,5 min	95 ℃,5 min
变性 Denaturation	94 °C,30 s	94°C,30 s	94°C,30 s
退火 Annealing	62 °C,30 s	60°C,45 s	62℃,45s
延伸 Extention	72 °C,2 min	72°C,2 min	72 °C,1 min 30 s
循环次数 Cycles	35	35	38
最后延伸 Final extention	72 °C,10 min	72 °C,10 min	72 °C,10 min
凝胶电泳条件 Electrophoretic conditions			
琼脂糖 Agarose / %	2	2	2
电压 Voltage /V	160	160	160
时间 Time /h	1	1	1

2 结果与分析

2.1 多重 PCR 体系的创建

以亚基组成已知的 17 个小麦品种(系)为 DNA 摸板,利用 5 个基因的特异引物,分别做梯度 PCR,明确每对引物出现清晰特异扩增条带的退火温度范围;筛选出具有相同退火温度且扩增条带差异较大的引物,组合成多重 PCR,进行下步已知亚基组成材料的多重 PCR 检测;通过对引物组合不断进行 PCR 扩增和电泳分析,最终建立多重 PCR 体系。在体系调试和优化中,主要调整引物浓度相对比例和延伸时间。实验中先加入等

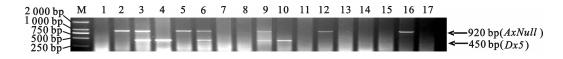
浓度的引物量,根据扩增结果再进行调整,增大弱扩增的引物用量,减小强扩增的引物用量;在优化延伸时间时,弱扩增适当延长。现将3套多重PCR体系扩增结果分述如下。

2.1.1 AxNull与 Dx5 多重 PCR 体系

按照上述方法,以亚基组成已知的 17 个小麦品种(系) DNA 为模板,利用AxNull与 Dx5基因标记对其相应位点基因进行 PCR 扩增和电泳,根据扩增结果对多重 PCR 的反应条件逐步调整优化,最终创建了可同时检测AxNull与 Dx5基因的多重 PCR 体系 I。在 Glu-A1位点不表达HMW-GS的材料(含AxNull基因)中,PCR 扩增

条带为 920 bp;在 Glu-Dl位点表达 5(+10)亚基的材料(含 Dx5基因)中,PCR 扩增条带为 450 bp。图 1 为利用体系 I 对 17 个已知品种(系)的检测结果,其中,豫麦 50 等 8 份材料不含有 Null和 5 亚基,多重 PCR 检测后没有特异扩增条带出现;农大 99-5009 等 4 份品种(系)仅有 Null 亚

基,扩增出了 920 bp 的条带;陕 229 和皖麦 23 仅有 5 亚基,只扩增出 1 条 450 bp 的条带;绵阳 98-17、中优 9701 和沧核 030 同时携带 Null 和 5 亚基,同时扩增出了 920 bp 和 450 bp 两条特异条带。该体系的检测结果与 SDS-PAGE 结果完全相同。



M: DNA 分子量标准 DL2000;1:豫麦 50;2:农大 99-5009;3:绵阳 98-17;4:陕 229;5:中国春;6:中优 9701;7:小偃 54;8:冀 5066;9:沧核 030;10:皖麦 23;11:鲁麦 23;12:小偃 22;13:西农 8925-13;14:鄂 91727;15:CA9550;16:郑麦 992;17:蚂蚱麦

M.DNA marker DL2000;1:Yumai 50;2:Nongda 99-5009;3:Mianyang 98-17;4:Shaan 229; 5:Chinese spring;6:Zhongyou 9701;7: Xiaoyan 54;8:Ji 5066;9:Canghe 030;10:Wanmai 23;11:Lumai 23;12:Xiaoyan 22;13:Xinong8925-13;14:E 91727;15:CA 9550;16: Zhengmai 992;17:Mazhamai

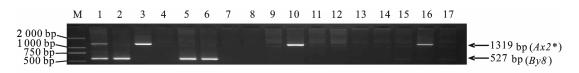
图 1 AxNull与 Dx5基因标记的多重 PCR 琼脂糖凝胶电泳图

Fig. 1 Multiplex PCR specific for genes AxNull and Dx5

2.1.2 Ax2*与By8多重 PCR 体系

图 2 为利用 Ax2*与 By8多重 PCR 体系 II 检测 17 个已知品种(系)的结果。在 Glu-A1位点表达 2* 亚基的材料(含 Ax2*基因)中,PCR 扩增条带为 1 319 bp;在 Glu-B1位点表达 8 亚基的材料(含 By8基因)中,PCR 扩增条带为 527 bp。陕 229 等 10 份品种(系)不含 2* 和 8 亚基,检测后

无特异条带出现;农大 99-5009、中国春和中优 9701 只含 8 亚基,无 2* 亚基,只扩增出 1 条 527 bp 的条带;西农 8925-13、豫麦 50 和 CA9550 只 含 2* 亚基,不含 8 亚基,只扩增出 1 条 1319 bp 的条带;蚂蚱麦同时含 2* 和 8 亚基,同时扩增出 了 527 bp 和 1 319 bp 两条特异条带。该体系检测的结果,与 SDS-PAGE 结果完全相同。



M:DNA 分子量标准 DL 2000;1:蚂蚱麦;2:农大 99-5009;3:西农 8925-13;4:陕 229;5:中国春;6:中优 9701;7:小偃 54;8:冀 5066;9:沧核 030;10:豫麦 50;11:皖麦 23;12:鲁麦 23;13:小偃 22;14:绵阳 98-17;15:鄂 91727;16:CA9550;17:郑麦 992

M;DNA marker DL 2000;1;Mazhamai;2;Nongda 99-5009;3;Xinong 8925-13;4;Shaan 229; 5;Chinise spring;6;Zhongyou 9701;7;Xiaoyan 54;8;Ji 5066;9;Canghe 030;10;Yumai 50; 11;Wanmai 23;12;Lumai 23;13;Xiaoyan 22;14;Mianyang 98-17;15;E 91727;16;CA 9550;17;Zhengmai 992

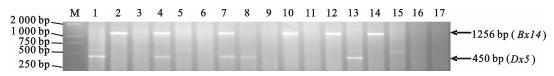
图 2 Ax2*与By8基因标记的多重 PCR 琼脂糖凝胶电泳图

Fig. 2 Multiplex PCR specific for genes Ax2 * and By8

2.1.3 Bx14与 Dx5 多重 PCR 体系

Bx14与Dx5多重 PCR 体系 III 经调整优化后检测结果稳定,图 3 为利用已建立的稳定体系对 17 个已知品种(系)的检验结果。在 Glu-Bl位点表达 14 亚基的材料(含 Bx14基因)中,PCR 扩增条带为 1 256 bp,在 Glu-Dl位点表达 5(+10)亚基的材料(含 Dx5基因)中,PCR 扩增条带为 450 bp。在图 3 中,豫麦 50 等 8 份品种(系)不含 5 和

14 亚基,未扩增出对应特异条带;中优 9701、皖麦23 和绵阳 98-17 只含 5 亚基,不含 14 亚基,检测后扩增出了 1 条 450 bp 条带;小偃 54 等 4 份品种只含 14 亚基,不含 5 亚基,扩增出了 1 条 1 256 bp条带;陕 229 和沧核 030 同时含 5 和 14 亚基,同时扩增出了 450 bp 和 1 256 bp 两条特异条带。该体系的检测结果与 SDS-PAGE 结果完全相同。



M:DNA 分子量标准 DL 2000;1:中优 9701;2:小偃 54;3:豫麦 50;4:陕 229;5:中国春;6:冀 5066;7:沧核 030;8:皖麦 23;9:农大 99-5009;10:鲁麦 23;11:小偃 22;12:西农 8925-13;13;绵阳 98-17;14;鄂 91727;15:CA9550;16:郑麦 992;17:蚂蚱麦

M;DNA marker DL 2000;1;Zhongyou 9701;2;Xiaoyan 54;3;Yumai 50;4;Shaan 229;5;Chinese spring;6;Ji 5066;7;Canghe 030;8; Wanmai 23;9;Nongda 99-5099;10;Lumai 23;11;Xiaoyan 22;12;Xinong 8925-13;13;Mianyang 98-17;14;E 91727;15;CA 9550;16; Zhengmai 992;17;Mazhamai

图 3 Bx14与 Dx5基因标记的多重 PCR 琼脂糖凝胶电泳图

Fig. 3 Multiplex PCR specific for genes Bx14 and Dx5

2.2 利用多重 PCR 体系检测新疆春小麦品种 HMW-GS 基因

利用已建立的 3 个多重 PCR 体系,对新疆地区 85 份春小麦品种Glu-I 位点的基因进行检测,在 Glu-AI 位点上有 21 份品种含AxNull 基因,占 24.7%;43 份品种有 Ax2*基因,占 50.6%。该结果说明 Glu-AI 位点1 亚基也占 24.7%。体系 II 检测结果表明,41 份材料携带 By8 基因,频率为 48.2%。在 Glu-BI 位点未检测到 BxI4 基因,即在已检测材料中不存在亚基 14(+15)。体系 I和 III 检测结果都表明,有 29 个品种携带 Dx5 基因,即 Glu-DI 位点优质亚基 5(+10) 出现的频率为 34.1%。

3 讨论

3.1 多重 PCR 方法检测 HMW-GS 的优势

现阶段对小麦 HMW-GS 的检测方法主要有 SDS-PAGE 法和分子标记检测法。传统的 SDS-PAGE 检测法存在一定局限性,主要体现在检测 结果的相对不可靠性和检测周期过长。首先,利 用 SDS-PAGE 法分离蛋白亚基,很难将相对迁移 率相近的亚基分开,因此在读取电泳结果时常出 现一定偏差,比如很难将亚基(对)7+8、7*+8与 7+8*区分开,有时1、2与2*,8、9与10也会出 现误读的情况;其次,传统的 SDS-PAGE 法检测 HMW-GS 程序繁琐,费工费时,而且只能在小麦 收获后从籽粒中才能提取蛋白进行检测,使该方 法在小麦育种中的应用受到限制。利用 PCR 技 术对小麦 HMW-GS 基因进行快捷检测可解决 SDS-PAGE 法的不足,而多重 PCR 可以同时检 测多个基因位点,不仅提高了检测效率,而且克服 了单一 PCR 成本高的弊端,适合在小麦分子标记 辅助选择中应用。

3.2 创建的多重 PCR 体系的实用性和稳定性

本研究创建的 3 套多重 PCR 体系涵盖了 Glu-A1、Glu-B1和 Glu-D1三个位点。在普通小 麦 Glu-A1位点中,一般存在 3 个编码 HMW-GS 的基因,即 $Ax2^*$ 、Ax1 和AxNull,利用体系 I 和 Π 通过 Ax2*和AxNull的检测,也可推断出检测 品种是否含有Ax1基因,结合这两套体系可以直 接检测出 Glu-A1位点 3 种常表达亚基的基因型。 通过体系 Ⅱ 和 Ⅲ 直接检测 Glu-B1 位点的 By8 和 Bx14基因,可以检测到此位点上对小麦加工品质 贡献较大且在我国小麦品种中出现频率较高的7 +8 和 14+15 亚基(对)。同样,利用体系Ⅰ或Ⅲ 检测 Glu-D1位点 Dx5基因,可确定待测材料是否 携带对小麦品质贡献最大的5+10亚基(对)。利 用创建的多重 PCR 体系对 17 份亚基组成已知的 小麦品种的检测,其结果与已知亚基组成一致,由 此证明 3 套多重 PCR 体系可对小麦 HMW-GS 进行快速检测,且结果稳定可靠。

3.3 新疆小麦品种亚基的分布特点及对品质育种的要求

对新疆春小麦品种的 HMW-GS 检测结果显示,85 个品种中,Glu-A1 位点以 2* 亚基为主(50.6%),1 和 Null 的出现频率均为 24.7%,该位点优质亚基 1 和 2* 的总频率为 75.3%,明显高于新疆冬小麦(54.2%)[11] 和国内其他地区育成品种(30.6%~42.6%)[16];亚基 8 在 Glu-B1 位点的出现频率为 48.2%,低于新疆冬小麦(58.2%)[11],与国内育成品种(42.0%~56.4%)[16] 相当。在 85 个品种中未发现 14+15 亚基的出现。在 Glu-D1 位点,5+10 亚基出现的频率为 34.1%,高于新疆冬小麦(27.1%)[11]和国内其他地区育成品种(15.7%~18.6%)[11,16]。

总体来看,新疆春小麦品种 Glu-A1 和 Glu-

D1位点优质亚基的频率明显高于新疆冬小麦和 国内其他地区育成品种[11,16-18],但新疆春小麦品 种的加工品质却比冬小麦品种的差,其差异可能 源于 Glu-B1上 HMW-GS 种类和频率的差异。 根据本研究结果,新疆春小麦品种(系) Glu-B1位 点亚基以(6或7+)8为主,亚基组成类型比较单 一,因此在今后新疆小麦品质育种中应增加 Glu-B1位点其他优质亚基的类型及其频率。同时,在 已检测的春小麦品种中,3个位点同时出现本研 究所测优质亚基组合类型的频率仅为 2.4%。此 外,LMW-GS的差异和生长环境的不同对冬春小 麦品质也有一定的影响,进一步研究新疆小麦品 种 LMW-GS 基因的组成,或可揭示新疆春小麦 品质劣于冬小麦的原因。在未来新疆春小麦的品 质育种中,应当注重改良现有育成品种的亚基组 成,使各位点的优质亚基尽可能聚合到同一品种 中, 选育出品质优良的小麦新品种。

参考文献:

- [1]李硕碧,高 翔. 小麦高分子量谷蛋白亚基与加工品质[M]. 北京:农业出版社,2001;18-31.
- [2] Payne P I, Lawrence G J. Catalogue of alleles for the complex gene loci, Glu-A1, Glu-B1, and Glu-D1 which code for high molecular weight subunits of glutenin in hexaploid wheat[J]. Cereal Research Communications, 1983, 11:29-35.
- [3] Payne P I. Genetics of wheat storage protein and the effect of allelic variation on bread-making quality[J]. Annual Review of Plant Physiology, 1987, 38:141-153.
- [4] Payne P I, Corfield K G, Blackman J A. Correlation between the inheritance of certain high-molecular-weight subunits of glutenin and bread-making quality in progenies of six crosses of bread wheat [J]. Journal of Science of Food and Agriculture, 1981, 32:51-60.
- [5]牟秋焕,吴科,钱兆国,等. 小麦面筋指数与 HMW-GS 和面包 烘烤品质间的关系研究[J]. 山东农业科学,2009,7:18-22.
- [6]裴玉贺,孙辉,宋希云,等.小麦高分子量谷蛋白亚基功能的

- 体外鉴定[J]. 作物学报,2008,11:1910-1914.
- [7]Ma W,Zhang W,Gale K R, Multiplex-PCR typing of high molecular weight glutenin alleles in wheat[J]. Euphytica, 2003, 134(1):51-60.
- [8] Markoulatos P, Siafakas N, Moncany M. Multiplex polymerase chain reaction: apractical approach [J]. Journal of Clinical Laboratory Analysis, 2002, 16(1): 47-51.
- [9] 郑 寒,陈 静,任 妍,等.小麦优质谷蛋白亚基分子标记多重 PCR 体系的建立与应用[J].作物学报,2009,35(10):1831-1835.
- [10]刘 丽. 蛋白质组技术在小麦谷蛋白分离与鉴定中的应用 [D]. 北京:中国农业科学院,2008:72-79.
- [11]王 亮,穆培源,徐红军,等.新疆小麦品种高分子谷蛋白亚 基组成分析[J].麦类作物学报,2008,28(3):430-435.
- [12] Lafiandra G F, Tucci A, Pavoni T, et al. PCR analysis of x-and y-type genes present at the complex Glu-A1 locus in durum and bread wheat [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1997,94:235-240.
- [13] Anderson D D. Greene F C. The characterization and comparative analysis of high-molecular-weight glutenin genes from genomes A and B of a hexaploid bread-wheat[J]. Theoretical and Applied Genetics. 1989, 77:689-700.
- [14] Lei Z S, Gale K R, He Z H, et al. Y-type gene specific markers for enhanced discrimination of high-molecular weight glutenin alleles at the Glu-Bl locus in hexaploid wheat [J]. Journal of Cereal Science, 2006, 43; 94-101.
- [15] Li W, Wan Y, Liu Z, et al. Molecular characterization of HMW glutenin subunit allele IBx14: further insights into the evolution of Glu-Bl-1 alleles in wheat and related species [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2004, 109: 1093-1104.
- [16]张学勇,庞斌双,游光霞,等.中国小麦品种资源 *Glu-1* 位点组成概况及遗传多样性分析[J].中国农业科学,2002,35(11): 1302-1310.
- [17]毛 沛,李宗智,卢少源. 小麦遗传资源 HMW 麦谷蛋白亚基组成及其与面包烘烤品质关系的研究[J]. 中国农业科学, 1995,28(增刊):22-27.
- [18]王子霞,张跃强,樊哲儒,等. 小麦新品种高分子量麦谷蛋白亚基的组成研究[J]. 新疆农业科学,2008,45(3):414-417.