

袁 谦,张 锋,张中州,等. 国审小麦品种漯麦 18 重要功能基因的 KASP 标记检测[J]. 江苏农业科学,2021,49(24):56-59.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2021.24.009

国审小麦品种漯麦 18 重要功能基因的 KASP 标记检测

袁 谦,张 锋,张中州,甄士聪,望俊森,赵永涛,鲁进恒,范志业

(漯河市农业科学院,河南漯河 462300)

摘要:为了深入了解漯麦 18 重要性状的分子机制,采用竞争性等位基因特异性 PCR(KASP)标记检测的方法对其重要功能基因进行检测,并分析了漯麦 18 含有的重要功能基因。结果表明,漯麦 18 含有 1 个矮秆基因型 *Rht-D1b*、2 个光周期不敏感早开花等位基因型 *Ppd-A1a* 和 *Ppd-B1a*,具有较广的适应性;漯麦 18 籽粒较大,商品性好,品质优良,聚合了 10 个高粒质量微效基因,同时高分子量麦谷蛋白亚基基因 *Glu-A1* 和 *Glu-D1* 等位基因型为 1 和 5+10,含有 1 个籽粒硬度基因 *Pinb-D1b*;漯麦 18 抗逆性强,聚合了抗穗发芽主效基因 *Vp-B1*、*PHS_646* 和微效基因 *TaSdr-B1*,同时抗旱能力突出,具有 *1-feh-w3*、*CWI-4A* 和 *CWI-5D* 等 3 个微效基因。以上信息为深入认识漯麦 18 的特征性状的分子机制提供了理论支持,对品种的进一步应用和未来小麦遗传改良具有较强的实用价值。

关键词:漯麦 18;适应性;粒质量;抗逆性;品质;KASP 标记检测

中图分类号: S512.103 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2021)24-0056-04

漯麦 18 是漯河市农业科学院为了拓宽小麦遗传基础,聚合多生态区小麦优良性状选育而成的小麦新品种^[1]。采用阶梯杂交的方法聚合法国抗源材料 Fr81-3 的抗性,绵阳 84-27 的早熟性、大穗大粒等特点和宝丰 7228 的冠层结构优良、灌浆速度快等特点创制了小麦新种质 4336^[2-3]。漯麦 18 以 4336 为母本、周麦 16 为父本进一步拓宽广适性遗传基础,将共同优点进一步巩固和提高,具有根系

活力强、冬季抗寒性好、耐后期高温干旱、灌浆速度快、高产稳产等特点^[4]。

竞争性等位基因特异性 PCR(kompetitive allele specific PCR,简称 KASP)标记检测,即竞争性等位基因特异性 PCR 技术,是一种单核苷酸多态性(SNP)检测方法,具有高通量、低成本、准确性高等优点^[5],目前已经逐渐被应用于小麦功能基因检测、解析品种特性以及分子标记辅助育种工作。杨子博等采用 KASP 标记检测技术对江苏淮北地区近年来育成品种的硬度基因型进行了检测分析,明确了该地区小麦品种籽粒性状的基因型,为品种的品质改良提供了参考^[6];权有娟等采用 KASP 标记检

收稿日期:2021-04-04

基金项目:河南省现代农业产业技术体系专项(编号:z2010-01-06)。

作者简介:袁 谦(1987—),男,河南开封人,硕士,助理研究员,主要从事小麦育种研究。E-mail:524341502@qq.com。

通信作者:赵永涛,硕士,副研究员,主要从事小麦育种研究。

E-mail:zhaoyt81@163.com。

[20] Cui Y M, Lu S, Li Z, et al. CYCLIC NUCLEOTIDE - GATED ION CHANNELS 14 and 16 promote tolerance to heat and chilling in rice [J]. Plant Physiology, 2020, 183(4): 1794-1808.

[21] Nawaz Z, Kakar K U, Ullah R, et al. Genome - wide identification, evolution and expression analysis of cyclic nucleotide - gated channels in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) [J]. Genomics, 2019, 111(2): 142-158.

[22] Guo J, Islam M A, Lin H C, et al. Genome - wide identification of cyclic nucleotide - gated ion channel gene family in wheat and functional analyses of *TaCNGC14* and *TaCNGC16* [J]. Front Plant Sci, 2018, 9: 18.

[23] Zhang T Z, Hu Y, Jiang W K, et al. Sequencing of allotetraploid cotton (*Gossypium hirsutum* L. acc. TM - 1) provides a resource for fiber improvement [J]. Nature Biotechnology, 2015, 33(5):

531-537.

[24] Khaldi N, Shields D C. Shift in the isoelectric - point of milk proteins as a consequence of adaptive divergence between the milks of mammalian species [J]. Biol Direct, 2011, 6: 40.

[25] Mäser P, Thomine S, Schroeder J I, et al. Phylogenetic relationships within cation transporter families of *Arabidopsis* [J]. Plant Physiology, 2001, 126(4): 1646-1667.

[26] Chauve C, Doyon J P, El - Mabrouk N. Gene family evolution by duplication, speciation, and loss [J]. Journal of Computational Biology, 2008, 15(8): 1043-1062.

[27] Fu Y P, Duan X Y, Tang C L, et al. TaADF7, an actin - depolymerizing factor, contributes to wheat resistance against *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* [J]. Plant J, 2014, 78(1): 16-30.

测技术明确了青海和西藏小麦品种的光周期基因分布^[7];伍玲等采用 KASP 标记检测技术明确了长江上游麦区品种的品质现状,指导了下一步的品质育种工作^[8];王君婵等采用 KASP 标记检测技术解析了扬麦系列品种的反应性、综合抗性和品质等重要性状的基因组成^[9];王志伟等采用 KASP 标记检测技术对云南小麦品种的抗病性、抗逆性、产量等相关目标基因进行了筛选,为云南小麦遗传育种提供了种质和检测方法^[10-12]。前人的研究都是对目标基因型在多个品种间的分布进行研究,但是对单个品种的多个目标基因型检测分析研究还比较少。本研究通过对小麦新品种漯麦 18 的适应性、籽粒性状、抗逆性和品质多个重要性状的基因进行 KASP 标记检测,明确其含有的优良基因,以期为进一步应用和改良提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试材料

漯麦 18 是漯河市农业科学院选育的弱春性中大穗型中晚熟小麦品种,以创新种质 4336 为母本、广适丰产品种周麦 16 为父本组配,用系谱法选育而成,具有高产、稳产、落黄好、根系发达、抗旱、抗倒性好等优点,2012 年通过国家农作物品种审定委员会审定。

1.2 试验方法

1.2.1 试验种子制备 漯麦 18 于 2017 年 10 月在漯河市农业科学院试验基地种植 3 行区,行长 2 m,行距 0.25 m,每行播种 20 粒种子,2018 年 6 月初收获种子备用。

1.2.2 基因组 DNA 提取 挑选饱满度好、无破损的当季收获的小麦种子 30 粒,在铺有吸水滤纸的培养皿中保湿培养、催芽,取萌芽 7 d 后的幼苗叶片,采用十六烷基三甲基氯化铵(CTAB)法提取总 DNA 备用。

1.2.3 KASP 标记检测 KASP 标记检测工作于 2018 年 12 月委托中国农业科学院作物科学研究所何中虎老师课题组进行。试验对 11 个适应性相关基因(表 1)、16 个籽粒性状相关基因(表 2)、10 个抗逆性相关基因(表 3)和 5 个品质相关基因(表 4)进行检测。KASP 标记检测参考 Rasheed 等所用的方法^[13-14]。

2 结果与分析

2.1 适应性相关基因的 KASP 标记检测

适应性相关基因检测结果(表 1)表明,漯麦 18

的株高基因型为 *Rht - B1a*、*Rht - D1b*,含有 1 个矮秆基因型 *Rht - D1b*;具有 2 个光周期不敏感早开花等位基因型为 *Ppd - A1a*、*Ppd - B1a*,增强了其适应性;2 个冬性等位基因型 *vrn - A1*、*vrn - B3* (CS),2 个春性等位基因型 *Vrn - D1*、*Vrn - B1a*,2 个长春化等位基因 *2147 - type*、*Jagger*。

表 1 适应性相关基因的 KASP 标记检测结果

性状	基因	等位基因型	漯麦 18 基因型
株高	<i>Rht - B1</i>	<i>Rht - B1a</i> :高秆 <i>Rht - B1b</i> 、 <i>Rht - B1a</i> + 160 bp、 <i>Rht - B1a</i> + 197 bp:矮秆	<i>Rht - B1a</i>
	<i>Rht - D1</i>	<i>Rht - D1a</i> :高秆 <i>Rht - D1b</i> :矮秆	<i>Rht - D1b</i>
	<i>Ppd - A1</i>	<i>Ppd - A1a</i> :光周期不敏感早开花 <i>Ppd - A1b</i> :光周期敏感晚开花	<i>Ppd - A1a</i>
	<i>Ppd - B1</i>	<i>Ppd - B1a</i> :光周期不敏感早开花 <i>Ppd - B1b</i> :光周期敏感晚开花	<i>Ppd - B1a</i>
光周期	<i>Ppd - D1</i>	<i>Ppd - D1a</i> :光周期不敏感早开花 <i>Ppd - D1b</i> :光周期敏感晚开花	<i>Ppd - D1b</i>
	<i>Vrn - A1</i>	<i>vrn - A1</i> :冬性 <i>Vrn - A1</i> :春性	<i>vrn - A1</i>
	<i>Vrn - B1</i>	<i>vrn - B1</i> :冬性 <i>Vrn - B1a</i> 、 <i>Vrn - B1b</i> 、 <i>Vrn - B1c</i> :春性	<i>Vrn - B1a</i>
	<i>Vrn - D1</i>	<i>vrn - D1</i> :冬性 <i>Vrn - D1</i> :春性	<i>Vrn - D1</i>
春化	<i>Vrn - B3</i>	<i>vrn - B3</i> (CS):冬性 <i>Vrn - B3</i> (Hope):春性	<i>vrn - B3</i> (CS)
	<i>Vrn - A1</i>	<i>2147 - type</i> :长春化 <i>Jagger - type</i> :短春化	<i>2147 - type</i>
	<i>Vrn - D3</i>	<i>Jagger</i> :长春化 <i>2174</i> :短春化	<i>Jagger</i>

2.2 籽粒性状相关基因的 KASP 标记检测

籽粒性状相关基因检测结果(表 2)表明,漯麦 18 聚合了 10 个高粒质量微效基因,等位基因型分别为 *TaGS2 - A1b*、*TaGS - D1a*、*TaCKX - D1a*、*TaTGW6 - A1a*、*Hap - 6A - A*、*TaTGW - 7Aa*、*Hap - T*、*Hap - 2*、*TaGS5 - A1b*、*Hap - 6B - 1*。

2.3 抗逆性相关基因的 KASP 标记检测

抗逆性相关基因检测结果(表 3)表明,漯麦 18 具有一定的抗穗发芽能力,聚合了主效基因 *Vp - B1*、*PHS_646* 和微效基因 *TaSdr - B1*,等位基因型分别为 *Vp - B1c*、*RioBlanceo type* 和 *TaSdr - B1b*。漯麦 18 抗旱能力突出,聚合了 *1 - feh - w3*、*CWI - 4A* 和 *CWI - 5D* 等 3 个微效基因,等位基因型分别为 *Westonia type*、*Hap - 4A - C*、*Hap - 5D - C*。

表 2 籽粒性状相关基因的 KASP 标记检测结果

性状	基因	等位基因型	漂麦 18 基因型
粒质量	<i>TaGS2 - A1</i>	<i>TaGS2 - A1b</i> ; 高千粒质量	<i>TaGS2 - A1b</i>
		<i>Low TGW</i> ; 低千粒质量	
	<i>TaGS - D1</i>	<i>TaGS - D1a</i> ; 高千粒质量	<i>TaGS - D1a</i>
		<i>TaGD - D1b</i> ; 低千粒质量	
	<i>TaCwi - A1</i>	<i>TaCwi - A1a</i> ; 高千粒质量	<i>TaCwi - A1b</i>
		<i>TaCwi - A1b</i> ; 低千粒质量	
	<i>TaCKX - D1</i>	<i>TaCKX - D1a</i> ; 高千粒质量	<i>TaCKX - D1a</i>
		<i>TaCKX - D1b</i> ; 低千粒质量	
	<i>TaTGW6</i>	<i>TaTGW6 - A1a</i> ; 高粒质量	<i>TaTGW6 - A1a</i>
		<i>TaTGW6 - A1b</i> ; 低粒质量	
<i>Sus2 - 2A</i>		<i>Hap - A</i> ; 高千粒质量	<i>Hap - G</i>
		<i>Hap - G</i> ; 低千粒质量	
	<i>TaGS1a</i>	<i>Hap - I</i> ; 低粒质量	<i>Hap - I</i>
		<i>Hap - II</i> ; 高粒质量	
	<i>GW2</i>	<i>Hap - 6A - G</i> ; 低粒质量	<i>Hap - 6A - A</i>
		<i>Hap - 6A - A</i> ; 高粒质量	
<i>TaTGW - 7A</i>		<i>TaTGW - 7Aa</i> ; 高粒质量	<i>TaTGW - 7Aa</i>
		<i>TaTGW - 7Ab</i> ; 低粒质量	
	<i>Tabas1</i>	<i>Tabas1 - B1a</i> ; 高粒质量	<i>Tabas1 - B1b</i>
		<i>Tabas1 - B1b</i> ; 低粒质量	
<i>TaTPP - 6AL1</i>		<i>TPP - 6AL1a</i> ; 高粒质量	<i>TPP - 6AL1b</i>
		<i>TPP - 6AL1b</i> ; 低粒质量	
<i>TaSus2 - 2B</i>		<i>Hap - H</i> ; 高千粒质量	<i>Hap - L</i>
		<i>Hap - L</i> ; 低千粒质量	
<i>Sus1 - 7B</i>		<i>Hap - T</i> ; 高千粒质量	<i>Hap - T</i>
		<i>Hap - C</i> ; 低千粒质量	
<i>TaSus - 7A</i>		<i>Hap - 1</i> ; <i>Hap - 2</i> ; 高粒质量	<i>Hap - 2</i>
		<i>Hap - 3</i> ; <i>Hap - 4</i> ; <i>Hap - 5</i> ; 低粒质量	
<i>TaGS5 - A1</i>		<i>TaGS5 - A1a</i> ; 小籽粒	<i>TaGS5 - A1b</i>
		<i>TaGS5 - A1b</i> ; 大籽粒	
<i>TaGW2 - 6B</i>		<i>Hap - 6B - 1</i> ; <i>Hap - 6B - 2</i> ; <i>Hap - 6B - 1</i>	
		<i>Hap - 6B - 3</i> ; 高千粒质量	
		<i>Hap - 6B - 4</i> ; 低千粒质量	

2.4 品质相关基因的 KASP 标记检测

品质相关基因检测结果(表 4)表明,漂麦 18 聚合 2 个高分子量麦谷蛋白亚基基因 *Glu - A1* 和 *Glu - D1*,等位基因型为 1 和 5 + 10。漂麦 18 籽粒商品性好,白粒、半角质,含有一个硬质等位基因型 *Pinb - D1b* 和软质等位基因型 *Pina - D1a* 和 *Pinb - B2a*。

3 结论与讨论

漂麦 18 株高适中,抗倒性好^[2],具有矮秆基因

Rht - D1b,是黄淮麦区小麦品种的主要矮秆基因型^[15]。光周期基因 *Ppd - A1*、*Ppd - B1* 和 *Ppd - D1* 所有 *a* 等位基因型均为不敏感型,抽穗开花较早,具有更广的适应性^[9],漂麦 18 具有 *Ppd - A1a* 和 *Ppd - B1a* 基因型,适应性较广。春化作用相关基因 *Vrn - A1*、*Vrn - B1* 和 *Vrn - D1* 为 3 个等位基因,任何一个为显性时即表现为春性,只有 3 个基因全为隐性时表现冬性^[16],漂麦 18 只有 *Vrn - D1* 表现为显性,属于长春化弱春性品种,这在今后的品种改良中具有较强的可塑性。小麦粒质量是受多基因控制的数量性状^[17],聚合多个有利基因能增加粒质量和籽粒大小^[9],漂麦 18 聚合了 10 个高粒质量或大籽粒微效基因,对产量三要素之一的千粒质量提高作用显著。小麦穗发芽抗性是多个主效基因和微效基因控制的复杂数量性状^[18],漂麦 18 聚合了主效基因 *Vp - B1*、*PHS_646* 和微效基因 *TaSdr - B1*,漂麦 18 是在黄淮麦区南部的漯河市选育,对于部分年份小麦成熟期遇雨能够很好地抵抗小麦穗发芽。同时漂麦 18 聚合了 *I - feh - w3*、*CWI - 4A* 和 *CWI - 5D* 等 3 个抗旱微效基因,这可能遗传自多生态遗传背景创新种质 4336,有待进一步研究。漂麦 18 是品质优良,属于中强筋小麦品种,携带优质高分子量麦谷蛋白亚基 1、2* 和 5 + 10,同时携带籽粒硬度基因型 *Pinb - D1b*,具有较好的商品性。漂麦 18 聚合多个小麦重要性状的优良基因,可作为丰富黄淮麦区遗传基础优异的亲本种质资源。

参考文献:

[1]张 锋,张中州,袁 谦,等. 国审小麦品种漂麦 18 的评价及生产应用[J]. 湖北农业科学,2019,58(22):41-42,45.
[2]张中州,薛国典,张 锋,等. 高产稳产广适弱春国审小麦新品种漂麦 18 的选育及应用[J]. 种子,2013,32(10):116-117.
[3]张 锋,薛国典,赵永涛,等. 国审小麦新品种漂麦 18 的选育[J]. 河南农业科学,2013,42(12):37-39.
[4]张中州,张 锋,赵永涛,等. 小麦品种漂麦 18 特性解析及育种启示[J]. 中国种业,2016(7):59-61.
[5]Semagn K, Babu R, Hearne S, et al. Single nucleotide polymorphism genotyping using kompetitive allele specific PCR (KASP): overview of the technology and its application in crop improvement [J]. Molecular Breeding, 2014, 33(1): 1-14.
[6]杨子博,顾正中,周羊梅,等. 江苏淮北地区小麦品种资源籽粒硬度基因等位变异的 KASP 检测[J]. 麦类作物学报, 2017, 37(2): 153-161.
[7]权有娟,袁飞敏,刘德梅,等. 利用 KASP 标记检测青海和西藏小麦品种中光周期基因分布[J]. 麦类作物学报, 2019, 39(10): 1165-1172.

表 3 抗逆性相关基因的 KASP 标记检测结果

性状	基因	等位基因型	漂麦 18 基因型
抗穗发芽	<i>Vp - B1</i>	<i>Vp - B1a</i> : 感穗发芽 <i>Vp - B1c</i> : 抗穗发芽	<i>Vp - B1c</i>
	<i>TaPHS1 - prom</i>	<i>RioBlanceo type</i> : 抗穗发芽 <i>NW97S186 type</i> : 感穗发芽	<i>NW97S186 type</i>
	<i>PHS_646</i>	<i>RioBlanceo type</i> : 抗穗发芽 <i>NW97S186 type</i> : 感穗发芽	<i>RioBlanceo type</i>
	<i>TaSdr - B1</i>	<i>TaSdr - B1a</i> : 感穗发芽 <i>TaSdr - B1b</i> : 抗穗发芽	<i>TaSdr - B1b</i>
	<i>TaSdr - A1</i>	<i>TaSdr - A1a</i> : 抗穗发芽 <i>TaSdr - A1b</i> : 感穗发芽	<i>TaSdr - A1b</i>
抗旱	<i>I - feh - w3</i>	<i>Westonia type</i> : 抗旱 <i>Kauztype</i> : 不抗旱	<i>Westonia type</i>
	<i>CWI - 4A</i>	<i>Hap - 4A - C</i> : 抗旱 <i>Hap - 4A - T</i> : 不抗旱	<i>Hap - 4A - C</i>
	<i>CWI - 5D</i>	<i>Hap - 5D - C</i> : 抗旱 <i>Hap - 5D - G</i> : 不抗旱	<i>Hap - 5D - C</i>
	<i>TaMoc - A1</i>	<i>Hap - H</i> : 抗旱 <i>Hap - L</i> : 不抗旱	<i>Hap - L</i>
	<i>TaDreb</i>	<i>TaDREB - B1a</i> : 耐旱 <i>TaDREB - B1b</i> : 水分敏感	<i>TaDREB - B1b</i>

表 4 品质相关基因的 KASP 标记检测结果

性状	基因	等位基因型	漂麦 18 基因型
品质	<i>Glu - A1</i>	null: 弱筋 1、2*: 强筋	1
	<i>Glu - D1</i>	2 + 12: 弱筋 5 + 10: 强筋	5 + 10
籽粒硬度	<i>Pinb - D1</i>	<i>Pinb - D1a</i> : 软质 <i>Pinb - D1b</i> : 硬质	<i>Pinb - D1b</i>
	<i>Pina - D1</i>	<i>Pina - D1a</i> : 软质 <i>Pina - D1b</i> : 硬质	<i>Pina - D1a</i>
	<i>Pinb2</i>	<i>Pinb - B2a</i> : 软质 <i>Pinb - B2b</i> : 硬质	<i>Pinb - B2a</i>

[8]伍玲,董亚超,戴常军,等. 长江上游小麦新品种(系)品质分析[J]. 麦类作物学报,2020,40(4):444-454.

[9]王君婵,吴旭江,胡文静,等. 扬麦系列品种(系)重要性状功能基因的 KASP 检测[J]. 江苏农业学报,2019,35(6):1271-1283.

[10]王志伟,王志龙,乔祥梅,等. 云南小麦品种(系)锈病和赤霉病抗性功能基因的 KASP 标记检测[J]. 作物杂志,2020(1):187-193.

[11]王志伟,乔祥梅,王志龙,等. 云南小麦品种(系)抗逆性相关基

因的 KASP 标记检测[J]. 西南农业学报,2020,33(8):1601-1607.

[12]王志伟,王志龙,乔祥梅,等. 云南小麦品种(系)株高和粒重相关功能基因的 KASP 标记检测[J]. 种子,2020,39(3):1-6.

[13]Rasheed A,Wen W E,Gao F M,et al. Development and validation of KASP assays for genes underpinning key economic traits in bread wheat[J]. Theoretical and Applied Genetics,2016,129(10):1843-1860.

[14]Khalid M,Afzal F,Gul A,et al. Molecular characterization of 87 functional genes in wheat diversity panel and their association with phenotypes under well-watered and water-limited conditions[J]. Frontiers in Plant Science,2019,10:717.

[15]邹景伟,贾万利,李立鑫,等. 120 份小麦品种(系)重要性状功能基因的 KASP 检测[J]. 分子植物育种,2019,17(12):3945-3959.

[16]姜莹,黄林周,胡银岗. 中国小麦地方品种春化基因的分布及其与冬春性的关系[J]. 中国农业科学,2010,43(13):2619-2632.

[17]张福彦,范家霖,陈晓杰,等. 小麦粒重相关基因的遗传定位和分子标记辅助育种进展[J]. 植物遗传资源学报,2020,21(3):507-516.

[18]罗永露,隋建枢,谢才江,等. 西南地区 87 份小麦品种(系)穗发芽抗性的分子鉴定及筛选[J]. 种子,2020,39(1):49-53.