

194份小麦品种(系)抗穗发芽相关性状的分子鉴定分析

于仕佳,李楠楠,李韵唱,王丽娜,邹少奎,张倩,吕永军,李顺成,杜晓宇,韩玉林*

周口市农业科学院,河南周口466001

摘要: 穗发芽会导致小麦产量降低和品质劣化,严重危害小麦生产,明确种植小麦品种的穗发芽抗性,筛选聚合抗穗发芽基因的小麦品种推广种植,是减少小麦穗发芽危害最为经济的手段之一。本研究以194份黄淮海区小麦品种(系)为研究对象,利用籽粒发芽法检测供试小麦的发芽指数(Germination Index, GI),明确供试小麦的穗发芽抗性。研究表明供试小麦的GI值在5%~86%之间呈连续变异,说明不同小麦品种(系)的穗发芽抗性之间存在显著差异,其中高抗穗发芽品种(系)1个、中抗穗发芽品种(系)23个、中感穗发芽品种(系)97个、高感的品种(系)73个,感穗发芽材料有170个,占比为87.63%。同时,利用分子标记,对前人报道中与穗发芽抗性相关的基因 *TaVp-1*、*TaPM19-A1*、*TaDFR*、*TaQSD1*、*TaMKK3-A*、*TaMFT-3A* 等进行检测。结果表明,抗穗发芽基因 *TaDFR*、*TaQSD1* 对供试小麦品种的穗发芽抗性具有显著影响,结合穗发芽抗性进行筛选,共得到郑麦113、21P85、中育149、驻麦1011、中品麦121、豫州紫麦6号、豫州紫麦7号、嘉麦17、兴兰麦99等9份种质资源同时含有 *QSD1* 和 *DFR-B* 且穗发芽抗性达到中抗及以上。本研究明确了194份小麦品种(系)的穗发芽抗性及其抗穗发芽基因的分布,筛选出具有抗穗发芽基因的优异种质资源,为小麦抗穗发芽遗传改良提供理论参考和优异种质。

关键词: 小麦; 穗发芽; 发芽指数; 分子标记

中图法分类号: S512.1+2

文献标识码: A

文章编号: 1000-2324(2025)05-0865-09

Molecular Identification Analysis of Pre-harvest Sprouting Resistance Traits in 194 Wheat Varieties (Lines)

YU Shi-jia, LI Nan-nan, LI Yun-chang, WANG Li-na, ZOU Shao-kui, ZHANG Qian, LV Yong-jun, LI Shun-cheng, DU Xiao-yu, HAN Yu-lin*

Zhoukou Academy of Agricultural Sciences, Zhoukou 466001, China

Abstract: Pre-harvest sprouting (PHS) can lead to reduced wheat yield and deteriorated grain quality, posing a serious threat to wheat production. Identifying the PHS resistance of planted wheat varieties and promoting the cultivation of those varieties pyramided with PHS-resistant genes is one of the most economical approaches to mitigate the damage caused by pre-harvest sprouting. This study evaluates 194 wheat varieties (lines) from the Huanghuai Wheat Region, using the seed germination method to determine their germination index (GI), thereby clarifying their PHS resistance. Results show continuous variation in GI values (5%–86%) among the tested materials, indicating significant differences in PHS resistance. Among them, there is 1 variety (line) with high PHS resistance, 23 with moderate PHS resistance, 97 with moderate PHS susceptibility, and 73 with high PHS susceptibility. The PHS-susceptible materials amount to 170, accounting for 87.63%. Additionally, molecular markers are used to detect previously reported PHS-related genes (*TaVp-1*, *TaPM19-A1*, *TaDFR*, *TaQSD1*, *TaMKK3-A*, *TaMFT-3A*, etc.). The results show that *TaDFR* and *TaQSD1* significantly influence PHS resistance of the tested wheat varieties (lines). By screening based on PHS resistance, a total of 9 germplasm resources are identified: Zhengmai 113, 21P85, Zhongyu 149, Zhumai 1011, Zhongpinmai 121, Yuzhouzimai 6, Yuzhouzimai 7, Jiamai 17, and Xinglanmai 99. These materials contain both *QSD1* and *DFR-B* genes and exhibit moderate or higher PHS resistance. This study clarifies the PHS resistance and the distribution of PHS resistance genes among the 194 wheat varieties (lines), and screens out excellent germplasm resources carrying PHS resistance genes, providing theoretical references and superior germplasm for the genetic improvement of wheat PHS resistance.

Keywords: Wheat; pre-harvest spouting; average germination index; molecular marker

收稿日期: 2025-03-20

修回日期: 2025-08-19

基金项目: 河南省科技研发联合基金(产业类)项目(225101610048); 国家小麦产业技术体系(CARS-03); 河南省现代农业产业技术体系建设专项(HARS-22-1-Z7)

第1作者简介: 于仕佳(1989-),女,硕士,助理研究员,研究方向:小麦遗传育种。E-mail: 277966274@qq.com

*通讯作者: Author for correspondence. E-mail: hanyulin2005@126.com

小麦(*Triticum aestivum* L.)是世界上种植和消费最广泛的作物之一,为全球数百万人提供主食,在全球农业和粮食安全中具有极其重要的地位^[1]。穗发芽(Pre-harvest sprouting, PHS)指小麦在收获前遭遇阴雨连绵或高湿度环境时,种子在未收获的穗子上萌发,造成产量降低和品质劣化的自然灾害^[2,3]。小麦穗发芽受多种因素的影响,包括水分、温度等环境因素,以及种子休眠性、激素、淀粉酶活性、穗部结构、籽粒颜色以及颖壳和种皮中的发芽抑制因子^[4-7]等遗传因素。在这些因素中,种子休眠性被认为是影响穗发芽抗性的最重要因素之一^[8]。种子休眠是一种复杂的数量性状,是影响小麦穗发芽抗性水平的主要遗传性因素,且休眠的长短与穗发芽抗性呈正相关^[9,10]。前人报道中,和穗发芽抗性相关及种子休眠相关的基因有 *TaVp-1*、*TaPM19-A1*、*TaQsd1*、*TaPHS1/TaMFT-3A*、*TaMKK3A*、*TaDFR*。

TaVp-1 基因位于小麦 3B 染色体上,开发了序列标签位点(Sequence-Tagged Site, STS)标记,分别命名为 *Vp-1Bb* 和 *Vp-1Bc*,它们在第 3 个内含子区插入 193 bp 和缺失 83 bp 的片段,这些插入和缺失影响了 *TaVp-1* 在小麦成熟期的表达水平与休眠^[11-16,29]。*TaMKK3-A* 位于小麦 4A 染色体上,过表达导致休眠解除,促进种子萌发^[17],开发了酶切扩增多态性序列(Cleaved Amplified Polymorphic Sequences, CAPS)标记,命名为 *TaMKK3-A-CAPS*,该 CAPS 标记与 *Hpy166II* 限制位点的存在/缺失有关^[18]。*TaPHS1/TaMFT-3A* 位于 3A 染色体-222bp 的 SNP,该基因的启动子区域表达上调,导致休眠增加,特别是在灌浆期间经历低温时^[19],位于第三个内含子(+646/+666)开始的另外两个 SNP 突变,这些突变引入了一个过早停止密码子,导致穗发芽易感性^[20]。在 3B 染色体上发现了一个新的 *TaDFR* 等位基因,命名为 *TaDFR-Bb*。与 *TaDFR-Ba/c* 相比,大多数抗穗发芽红粒小麦品种和高代品系在 *TaDFR-Bb* 的启动子区发现了一个 8 bp 的插入片段(CTCTAGGA),说明该片段的插入提高了小麦的抗穗发芽特性同时延长了休眠^[21,22]。*TaQsd1* 是大麦中 *Qsd1* 的同源基因,编码一种丙氨酸转氨酶,负调控种子的休眠^[23,24]。*TaPM19-A1* 编码脱落酸诱导的小麦质膜 19(AWPM19)蛋白家族,在休眠系中高表达,该基因位于启动子区域发现了 18 bp 的缺失,

由此开发出了两种分子标记:*TaPM19-A1a* 和 *TaPM19-A1b*,产物大小分别为 117 bp 和 99 bp^[25]。这些分子标记都与抗穗发芽性状和休眠相关。

黄淮海区是中国小麦的主产区,但由于气候的变化致使小麦收获季节阴雨天气的增加,导致穗发芽时有发生,严重影响了小麦的产量和品质。据国家统计局(<https://www.stats.gov.cn/>)数据表明,2023 年全国小麦产量为 13 453 万 t,比 2022 年减少 122.6 万 t,产量下降主要是受 2023 年麦收期间严重的“烂场雨”天气影响,给小麦种植户造成严重的经济损失,严重威胁我国粮食安全^[10]。本研究以 194 份黄淮海区小麦品种(系)为研究材料,利用籽粒发芽法鉴定供试材料的发芽指数,同时对前人报道中与穗发芽抗性相关的基因 *TaVp-1*、*TaPM19-A1*、*TaDFR*、*TaQSD1*、*TaMKK3-A*、*TaMFT-3A* 等进行检测。本研究明确 194 份供试小麦的穗发芽抗性及其报道抗穗发芽基因在供试材料中的分布,筛选具有抗穗发芽基因的优异种质资源,为我国小麦抗穗发芽遗传改良提供理论基础和优异种质资源。

1 材料与方法

1.1 植物材料

194 份小麦品种(系),如附表 1 所示。按种皮颜色划分成白粒 179 份、彩粒 15 份(红粒 1 份、黑粒 9 份、紫麦 3 份、绿麦 1 份、蓝麦 1 份)。于 2023-2024 年种植在周口市农业科学院试验田(河南周口,北纬 33°38'24",东经 114°40'54"),种植小区采取随机区组,每份种质资源种植两行,行长 2 m,行距 0.2 m,采用常规大田管理,生理成熟期收获。

1.2 穗发芽表型鉴定

籽粒发芽指数(Germination Index, GI)参照马文洁^[5]的方法,将穗发芽抗性分为 4 个等级:GI≤10% 属于高抗穗发芽(High resistance, HR),10%<GI≤30% 属于中抗穗发芽(Middle resistance, MR),30%<GI≤60% 属于中感穗发芽(Susceptibility resistance, S),GI>60% (High susceptibility resistance, HS) 属于高感穗发芽(HS)。每种供试材料随机取出 100 粒,3 次重复。将种子浸泡在 15% 的 NaClO 溶液中 20 min,随后用超纯水清洗 2~3 遍,放在装有灭菌滤纸的方形培养皿中,加入 20 mL 超纯水,27 °C 置于光

表1 小麦抗穗发芽相关基因的分子标记信息

基因名称 Gene	引物序列(5'-3') Primer Sequence(5'-3')	等位基因 Allele	片段长度/bp Length	参考文献 References
<i>TaVp1B3</i>	F: TGCTCCTTCCCAATTGG	<i>TaVp-1Ba</i>	652	[27]
	R: ACCCTCCTGCAGCTCATTG	<i>TaVp-1Bb</i>	854	
		<i>TaVp-1Bc</i>	569	
<i>TaPM19-A</i>	F: GAAACAGCTACCGTGTAAGC	<i>TaPM19-A1a</i>	117	[26]
	R: TGGTGAAGTGGAGTGTAGTGG	<i>TaPM19-A1b</i>	99	
<i>TaDFR</i>	F: TCGCGTCTGGCGGGGTACGT	<i>TaDFR-Ba</i>	526	[24]
	R: ACGTCGAGAGAGAGAGGGAGGGG	<i>TaDFR-Bb</i>	432+102	
<i>TaQsd1</i>	F: GTTTGACCGTACAAGTTTCC	<i>TaQsd1-5Ba</i>	250+59	[28]
	R: AGACAGCAATGCCTCCC	<i>TaQsd1-5Bb</i>	309	
<i>TaMKK3-A</i>	F: CACCAAAGAATAGAAATGCTCTCT	<i>TaMKK3-Aa</i>	887	[18]
	R: AGGAGTAGTTCTCATTGCGG	<i>TaMKK3-Ac</i>	605+282	
<i>TaMFT-3A</i>	F: GTAGCGGGTAAAATCTGCAT	<i>TaMFT-3Aa</i>	800	[20]
	R: GGGACGTACGAGGGTGTAGA	<i>TaMFT-3Ab</i>	400	

照培养箱中培养, 12 h 光照, 12 h 黑暗。参照 MK.W^[25]的方法, 每天观察生长情况, 并记录发芽数, 7 d 后结束观察。计算籽粒发芽指数(GI)值, 取平均值。 $GI = [7 \times n_1 + 6 \times n_2 + 5 \times n_3 + 4 \times n_4 + 3 \times n_5 + 2 \times n_6 + 1 \times n_7] / (7 \times N) \times 100\%$, 其中 N 代表籽粒总数; $n_1 \sim n_7$ 分别代表第1天到第7天的籽粒发芽数。

1.3 抗穗发芽分子标记检测

待幼苗长到两叶一心期, 采用叶片提取基因组DNA, 每份材料0.05~0.1 g 使用天隆的全自动核酸提取仪(NP968系列)。参照 Shorinola 等^[18]、Liu 等^[20]、Bi 等^[24]、Barrero 等^[26]、Yang 等^[27]、未文新^[28]设计的引物基因序列, 包括 *TaVp1B3*、*TaPM19-A1*、*TaDFR-B*、*TaQsd1*、*TaMKK3-A*、*TaMFT-3A*, 引物序列和反应条件详情见表1。PCR反应体系25 uL, 包括模板1 uL(100 ng/uL), TaqDNA聚合酶12.5 uL(5 U/uL), 上下游引物各0.5 uL(10 umol/L), ddH₂O 10.5 uL。PCR反应程序: 94 °C预变性3 min; 94 °C变性1 min, 引物对应退火温度, 退火30 s, 72 °C延伸30~90 s, 36个循环; 72 °C延伸10 min。取5 uL PCR产物用1.2%琼脂糖凝胶电泳进行检测, 电泳缓冲液为1×TAE。120 V 电泳检测25 min左右, 然后用BioRAD凝胶电泳成像系统拍照并保存图片。

1.4 数据统计分析

采用 EXCEL 进行数据统计, IBM SPSS Statistics 27 进行独立样本 T 检验, 利用 GraphPad Prism 9.5 进行饼状图的绘制。

2 结果与分析

2.1 供试小麦种质资源的抗穗发芽表型分析

对供试的194份小麦品种(系)的GI进行统计分析, 结果表明, 供试材料的GI变异范围为5%~86%, 说明不同小麦品种(系)的穗发芽抗性之间存在显著差异。其中, 高抗穗发芽(HR)(GI≤10%)有1份, 占比0.52%; 中抗穗发芽(MR)(10%<GI≤30%)有23份, 占比11.85%; 中感穗发芽(S)(30%<GI≤60%)有97份, 占比50.00%; 高感(S)(GI>60%)有73份, 占比37.63%。分析供试材料的穗发芽抗性发现, 抗穗发芽小麦仅有24份, 占比12.37%, 而感穗发芽小麦共有170份, 占比87.63%。郑麦113达到高抗穗发芽级别, 豫农951、豫信17、新麦94、豫同128、豫农947、漯丰2001、21P85、中育149、驻麦1011、新科麦190、温麦41、中品麦121、丰蓝麦1号、名黑3号、豫州紫麦6号、豫州紫麦7号、新平2号、山农糯麦2号、存麦55、周黑麦1号、嘉麦17、兴兰麦99、豫农358等23份材料达到中抗穗发芽等级。以上研究表明供试的194份材料以中感和高感穗发芽的品种为主, 中抗及高抗穗发芽的品种仅有24份。

此外, 根据籽粒颜色进行分析, 彩色小麦共15份, 平均GI为26.00%, 远低于白粒小麦品种的GI值(53.91%), 说明在黄淮麦区的品种选育过程中, 人们为了追求一致发芽率和面粉白度, 而忽略了对小麦穗发芽抗性的关注。

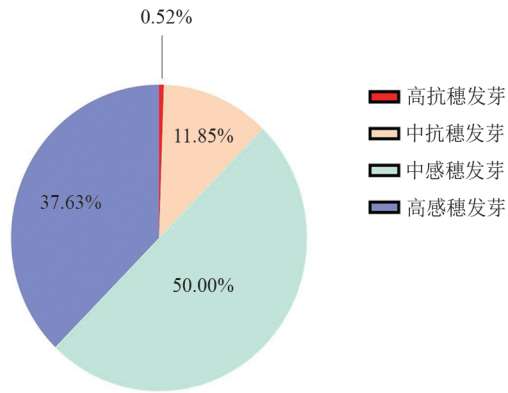


图 1 供试小麦穗发芽抗性比例分布
Fig. 1 Proportion distribution of pre-harvest sprouting resistance in the tested Wheat Varieties (Lines)

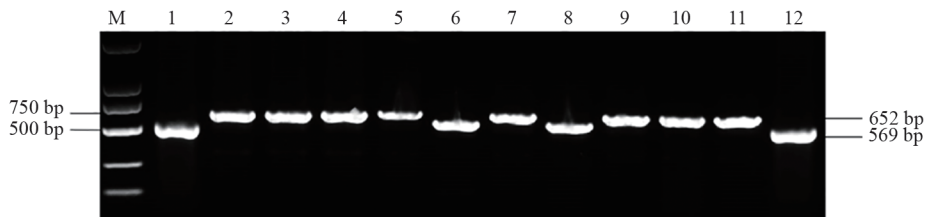


图 2 STS 标记 *TaVp1B3* 在部分供试材料中的检测结果

Fig. 2 Results of PCR amplification about STS-tagged *TaVp1B3* detection in some tested wheat varieties

注: 1:百农 5866;2:周麦 36 号;3:存麦 509;4:存麦 532;5:艾麦 285-2;6:郑麦 113;7:新麦 94;8:中麦 173;9:郑麦 208;10:百农 627;11:安工紫 16;12:温麦 39。

Note: 1: Bainong 5866; 2: Zhoumai 36; 3: Cunmai 509; 4: Cunmai 532; 5: Aimai 285-2; 6: Zhengmai 113; 7: Xinmai 94; 8: Zhongmai 173; 9: Zhengmai 208; 10: Bainong 627; 11: Angongzi16; 12: Wenmai 39.

表 2 小麦种质资源的发芽指数分析
Table 2 Germination index analysis of wheat

抗性等级	平均发芽指数	供试材料数	所占比例/%
Resistance level	Average germination index	Number of test materials	Percentage
高抗穗发芽(HR)	0.05	1	0.52
中抗穗发芽(MR)	0.21±0.06	23	11.85
中感穗发芽(S)	0.47±0.09	97	50.00
高感穗发芽(HS)	0.68±0.06	73	37.63

2.2.2 *TaPM19-A1* 在供试小麦中的分布情况
利用 STS 标记检测 194 份供试小麦, 结果表明, 抗穗发芽基因型 *TaPM19-A1a*(117 bp) 共有 37 份, 占比 19.07%, GI 均值 56.30%; 感穗发芽基因型 *TaPM19-A1b*(99 bp) 共有 157 份, 占比 80.92%, GI 均值 51.01%。统计分析表明具有抗穗发芽基因型 *TaPM19-A1a* 和感穗发芽基因型 *TaPM19-A1b* 的小麦穗发芽抗性之间没有显著差异, 说明抗穗发芽基因 *TaPM19-A1* 对供试的 194 份小麦穗发芽抗性没有显著影响(图 3, 表 3)。

2.2.3 *TaDFR-B* 在供试小麦中的分布情况
利用 CAPS 标记 *TaDFR-B* 在 194 份供试材料中扩

2.2 抗穗发芽基因的分布

2.2.1 *TaVp1-B* 在供试小麦中的分布情况
利用 STS 标记检测 194 份供试小麦, 结果表明, 具有抗穗发芽基因型 *TaVp1-B3c*(569 bp) 的材料有 66 份, 占供试品种的 34.02%, 这些小麦的平均 GI 为 52.00%, 供试品种中没有发现 *TaVp1-B3b*(854 bp) 基因型; 感穗发芽基因型 *TaVp1-B3a*(652 bp) 有 128 份, 占供试品种的 65.98%, 这些小麦的平均 GI 为 52.95%。统计分析表明具有抗穗发芽基因型 *TaVp1-B3c* 和感穗发芽基因型 *TaVp1-B3a* 的小麦穗发芽抗性之间没有显著差异, 说明抗穗发芽基因 *TaVp1-B* 对供试的 194 份小麦穗发芽抗性没有显著影响(图 2, 表 3)。

增多两种不同片段, 分别是 *TaDFR-Ba/c*(534 bp), 和 *TaDFR-Bb*(526 bp)。在 *TaDFR-Bb* 的启动子区发现了一个 8 bp 的插入片段(CTCTAGGA), 通过限制性内切酶 *Hinf I* 酶切后形成了 432 bp 和 102 bp 两种条带。 *TaDFR-Ba/c* 不能通过限制性内切酶 *Hinf I* 酶切开。结果表明: 在供试材料中, 可以扩增出 *TaDFR-Ba/c* 的材料有 46 份, 占总材料的 23.71%, GI 均值 56.70%; 含有 *TaDFR-Bb*(526 bp) 的材料有 148 份, 占总材料的 76.29%, GI 均值 50.56%。统计分析表明具有抗穗发芽基因型 *TaDFR-Bb* 和感穗发芽基因型 *TaDFR-Ba/c* 之间有显著差异($P=0.045<0.05$), 说

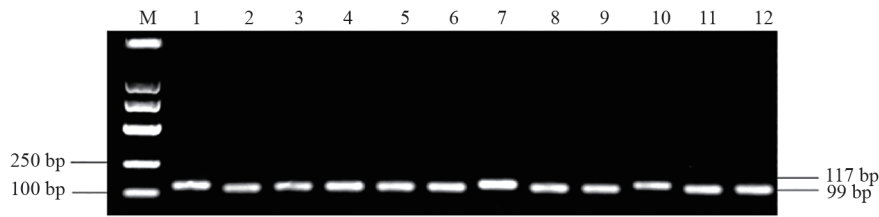


图3 STS 标记 *TaPM19-A1* 在部分供试材料中的检测结果

Fig. 3 Results of PCR amplification about STS-tagged *TaPM19-A1* Detection in some tested wheat varieties

注:1:郑科 11;2:存麦 113;3:艾麦 32-2;4:存麦 170;5:郑麦 136;6:郑麦 835;7:中品麦 121;8:郑麦 113;9:豫信 17;10:宝科 19;11:中育 149;12:驻麦 1011。

Note: 1: Zhengke 11; 2: Cunmai 113; 3: Aimai 32-2; 4: Cunmai 170; 5: Zhengmai 136; 6: Zhengmai 835; 7: Zhongpinmai 121; 8: Zhengmai 113; 9: Yuxin 17; 10: Baoke 19; 11: Zhongyue 149; 12: Zhumai 1011.

表 3 穗发芽相关等位基因在不同供试品种中的分布情况

Table 3 Distribution of pre-harvest sprouting-related alleles in different wheat varieties

基因名称 Gene	等位基因 Allele	供试品种数 Number of species	所占比例/% Proportion	平均发芽指数/% Average germination index	抗性(是/否) Resistance (Yes/No)
<i>TaVp-1</i>	<i>TaVp-1B3a</i>	128	65.98	52.95	否
	<i>TaVp-1B3b</i>	-	-	-	是
	<i>TaVp-1B3c</i>	66	34.02	52.00	是
<i>TaPM19-A</i>	<i>TaPM19-A1a</i>	37	19.07	56.30	是
	<i>TaPM19-A1b</i>	157	80.93	51.01	否
<i>TaDFR</i>	<i>TaDFR-Ba/c</i>	46	23.71	56.70	否
	<i>TaDFR-Bb</i>	148	76.29	50.56	是
<i>TaQsd1</i>	<i>TaQsd1-5Ba</i>	44	22.68	41.78	是
	<i>TaQsd1-5Bb</i>	150	77.32	53.43	否
<i>TaMKK3-A</i>	<i>TaMKK3-Aa</i>	121	62.37	51.57	否
	<i>TaMKK3-Ac</i>	73	37.63	52.75	是
<i>TaMFT-3A</i>	<i>TaMFT-3Aa</i>	12	6.18	49.17	否
	<i>TaMFT-3Ab</i>	182	93.82	52.20	是

明抗穗发芽基因 *TaDFR-B* 对供试的 194 份小麦穗发芽抗性有显著影响。由此可以说明 CAPS 标

记 *DFR-B* 可以用于小麦抗穗发芽品种的筛选和选育(图 4,表 3)。

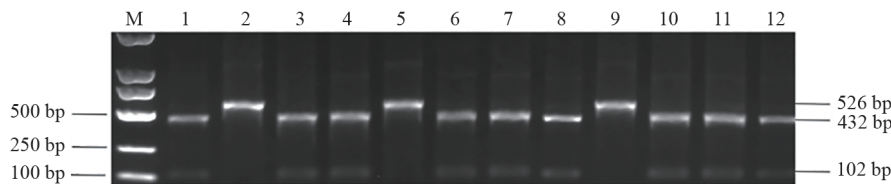


图 4 CAPS 标记 *TaDFR-B* 在部分供试材料中的检测结果

Fig. 4 Results of PCR amplification about CAPS-tagged *TaDFR-B* Detection in some tested wheat varieties

注:1:周麦 36 号;2:怀川 130;3:周麦 53 号;4:郑麦 2198;5:百农 627;6:豫农 358;7:中品麦 121;8:郑麦 113;9:泛育麦 36;10:宝科 19;11:驻麦 1011;12:温麦 41。

Note: 1: Zhoumai 36; 2: Huaichuan 130; 3: Zhoumai 53; 4: Zhengmai 2198; 5: Bainong 627; 6: Yunong 358; 7: Zhongpinmai 121; 8: Zhengmai 113; 9: Panyumai 36; 10: Baoke 19; 11: Zhumai 1011; 12: Wenmai 41.

2.2.4 *TaQSD1* 在供试小麦中的分布情况 通过 *TaQsd1-5B* 基因开发出了 CAPS 标记 *TaQSD1-5Ba* 和 *TaQSD1-5Bb*, 其中, 限制性内切酶 *Hha I* 酶可把 *TaQSD1-5Ba* 切成 250 bp 和 59 bp 两种条带。利用 CAPS 标记 *TaQSD1* 对 194 份小麦品种(系)进行分子检测, 发现含有 *TaQSD1-5Bb* 的材

料有 150 份, 占总材料的 77.32%, GI 均值 53.43%; 可以扩增出 *TaQSD1-5Ba* 的材料有 44 份, 占总材料的 22.68%, GI 均值 41.78% (见表 3)。统计分析发现抗穗发芽基因型 *TaQSD1-5Ba* (250 bp+59 bp) 和抗穗发芽基因型 *TaQSD1-5Bb* (309 bp) 的小麦穗发芽抗性之间有显著性差异 ($P=0.044 <$

0.05)。根据上述结果可知 CAPS 标记 *TaQSD1* 可用于穗发芽抗性品种的筛选(图 5,表 3)。

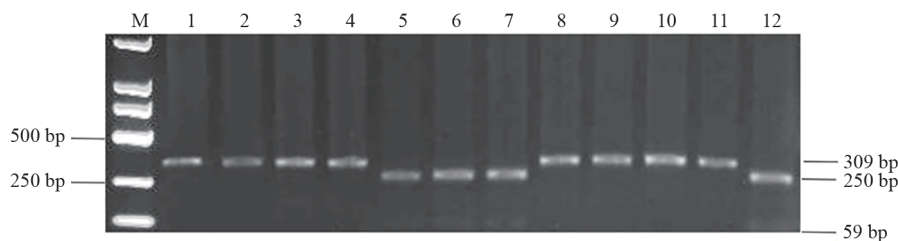


图 5 CAPS 标记 *TaQSD1-5B* 在部分供试材料中的检测结果

Fig. 5 Results of PCR amplification about CAPS-tagged *TaQSD1-5B* Detection in some tested wheat varieties

注:1:中农 256;2:泰禾麦 11 号;3:豫丰硕 008;4:豫粮 8 号;5:郑麦 206;6:正品 777;7:鹤麦 16;8:兰德麦 856;9:中迪麦 807;10:昌麦 28;11:漯丰 2105;12:天麦 256。

Note: 1: Zhongnong 256; 2: Taihemai 11; 3: Yu Fengshuo 008; 4: Yuliang 8; 5: Zhengmai 206; 6: Zhengpin 777; 7: Hemai 16; 8: Landemai 856; 9: Zhongdimai 807; 10: Changmai 28; 11: Luofeng 2105; 12: Tianmai 256.

2.2.5 *TaMKK3-A* 在在供试小麦中的分布情况 CAPS 标记与 *Hpy166* II 限制位点的存在/缺失有关。通过 *Hpy166* II 酶切后可以产生 605 bp 和 282 bp 的两种片段的是等位基因 *TaMKK3-Ac*, 不能切开的是等位基因 *TaMKK3-Aa*。利用 CAPS 标记 *TaMKK3-A* 对 194 份小麦种质资源进行基因型检测(图 6)。在供试材料中,可以扩增出 *TaMKK3-*

Aa (887 bp) 的材料有 121 份, 占总材料的 62.37%, GI 均值 51.57%; *TaMKK3-Ac* (605 bp+282 bp) 的材料有 73 份, 占总材料的 37.63%, GI 均值 52.75%(见表 3)。统计分析发现基因型 *TaMKK3-Aa* 和基因型 *TaMKK3-Ac* 在小麦穗发芽抗性方面没有显著性差异。说明抗穗发芽基因 *TaMKK3-A* 对供试的 194 份小麦穗发芽抗性没有显著影响(图 6,表 3)。

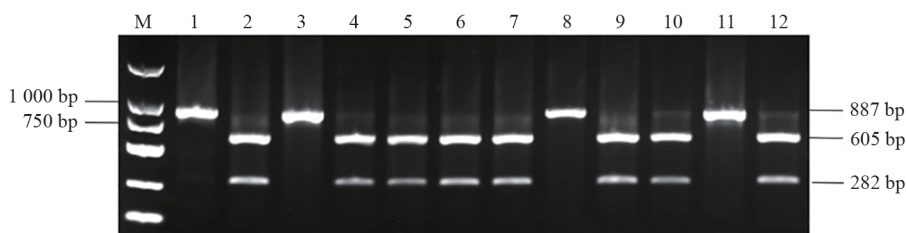


图 6 CAPS 标记 *TaMKK3A* 在部分供试材料中的检测结果

Fig. 6 Results of PCR amplification about CAPS-tagged *TaMKK3A* Detection in some tested wheat varieties

注:1:乐丰麦 1 号;2:名黑 4 号;3:牟农 981;4:豫州紫麦 6 号;5:豫州紫麦 7 号;6:豫黑麦 236;7:封麦 36;8:濮麦 185;9:嘉麦 17;10:开麦 206;11:农大 66;12:科林 180。

Note: 1: Lefengmai 1; 2: Minghei 4; 3: Mounong 981; 4: Yuzhouzimai 6; 5: Yuzhouzimai 7; 6: Yuhemai 236; 7: Fengmai 36; 8: Pumai 185; 9: Jiamai 17; 10: Kaimai 206; 11: Nongda 66; 12: Colin 180.

2.2.6 CAPS 标记 *TaMFT-3A* 小麦抗穗发芽抗性中的检测分析 CAPS 标记 *TaMFT-3A* 扩增出 800 bp 长度的片段, 通过限制性内切酶 *Cla* I 酶切后产生了 400 bp 的是等位基因 *TaMFT-3Ab*, 不能切开的是 *TaMFT-3Aa*。利用 CAPS 标记 *TaMFT-3A* 对 194 份小麦种质资源进行基因型检测, *TaMFT-3Aa* (800 bp) 的材料有 12 份, 占总材料的 6.19%, GI 均值 49.17%; 含有 *TaMFT-3Ab* (400 bp+400 bp) 的材料有 182 份, 占总材料的 93.81%, GI 均值 52.20%。统计分析表明具有抗穗发芽基因型 *TaMFT-3Ab* 和感穗发芽基因型 *TaMFT-3Aa* 的小麦穗发芽抗性之间没有显著差

异, 说明抗穗发芽基因 *TaMFT-3A* 对供试的 194 份小麦穗发芽抗性没有显著影响(图 7,表 3)。

3 讨论

在供试的 194 份小麦种质资源中白粒 179 份、彩粒 15 份(红粒 1 份、黑粒 7 份、紫麦 3 份、绿麦 1 份, 蓝麦 1 份)。中抗及以上抗性材料共 24 份, 占全部试验的 12.37%。其中红粒小麦材料 1 份, 占全部试验材料的 0.52%; 黑粒小麦材料 9 份, 占全部试验材料的 4.64%; 紫粒小麦材料 3 份, 占全部试验材料的 1.55%; 绿粒小麦材料 1 份, 占全部试验材料的 0.52%; 蓝粒小麦材料 1 份, 占全部试

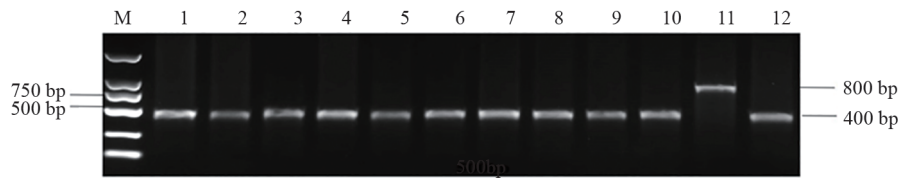


图7 CAPS标记 *TaMFT-3A* 在部分供试材料中的检测结果

Fig. 7 Results of PCR amplification about CAPS-tagged *TaMFT-3A* Detection in some tested wheat varieties

注:1:郑麦 938;2:漯麦 58;3:鹤麦 225;4:周麦 36号;5:周麦 53号;6:昌麦 27;7:郑麦 1862;8:百农 8399;9:天麦 195;10:淮核 21325;11:许麦 2016;12:存麦 32。

Note: 1: Zhengmai 938; 2: Luomai 58; 3: Hemai 225; 4: Zhoumai 36; 5: Zhoumai 53; 6: Changmai 27; 7: Zhengmai 1862; 8: Bainong 8399; 9: Tianmai 195; 10: Huaihe 21325; 11: Xumai 2016; 12: Cunmai 32.

验材料的0.52%;白粒小麦材料179份,占全部试验材料的92.27%。在179份白粒小麦材料中,豫农951、豫信17、新麦94、豫同128、豫农947、漯丰2001、21P85、中育149、驻麦1011、新科麦190、温麦41、中品麦121、嘉麦17、豫农358等14份材料表现出中抗穗发芽,占白粒小麦材料的9.50%;郑麦113表现出高抗穗发芽,占白粒供试品种的0.56%。在7份黑粒小麦材料中,名黑3号、新平2号、山农糯麦2号、周黑麦1号等4份材料达到中抗穗发芽,占黑粒小麦的57.14%;在3份紫粒小麦材料中,豫州紫麦6号、豫州紫麦7号表现出中抗穗发芽,占紫粒小麦的66.67%;在1份红粒小麦中兴兰麦99表现出中抗穗发芽;在1份蓝粒小麦中丰蓝麦1号表现出中抗穗发芽。该研究结果验证了我国白粒小麦抗穗发芽种质资源稀缺,彩色小麦穗发芽抗性要比白粒小麦表现更好。因此我国目前亟需要创制更多白粒抗穗发芽小麦品种,以应对穗发芽对白粒小麦产量和品质的影响。

本研究的 *TaVp1B3*、*TaPM19-A1*、*TaQSD1*、*TaMKK3-A*、*TaMFT-3A* 等5个穗发芽抗性基因均与籽粒休眠相关,并结合GI对194份小麦种质资源进行了综合鉴定。研究结果表明 *TaQsd1-5B* 与GI有显著性差异。*TaQsd1-5Ba* 与抗穗发芽相关,*TaQsd1-5Bb* 与感穗发芽相关。本研究 *TaQSD1* 的两种等位基因在194份小麦种质资源中与GI有显著性差异,而龚承儒等^[30]在小麦穗发芽试验中检测到了CAPS标记 *TaQsd1-5Ba* (抗穗发芽)与 *TaQsd1-5Bb* 的相对穗发芽率无显著性差异。与本研究结论相反,可能是由于研究的籽粒发芽活力和相对穗发芽率不同造成的。本研究发现 *TaVp1-B* 的两种等位基因 *TaVp-1Ba* 和 *TaVp-1Bc* 之间的籽粒发芽指数无显著性相关,与

杨燕等^[31]、孙忠果等^[32]和李亚青等^[33]研究的STS标记 *TaVp1B3* 与穗发芽抗性无显著性相关结果一致。朱雪成等^[34]利用 *TaVp1B3* 标记对44份小麦品种进行检测,结果表明两种等位基因之间没有显著性差异。本研究验证了 *TaPM19-A1* 的两种等位基因的平均GI没有显著性差异,而曹雪莲等^[35]测定了540份小麦平均GI值以验证了分子标记 *TaPM19-A1* 的有效性,其结果显示 *TaPM19-A1a* 与抗穗发芽基因相关。两者研究结果不同可能是由于所选择种质资源的不同造成的。本研究采用CAPS标记对 *TaMKK-3A* 和 *TaMFT-3A* 对小麦种质资源进行检测,发现两种等位基因间的GI没有显著性相关,这与朱雪成等^[25]研究的小麦抗穗发芽分子标记 *TaMKK3A* 的两种等位基因显著相关的结果相反,进一步验证了样本选择的不同造成了不同的差异。

TaDFR 基因是类黄酮合成途径中控制籽粒颜色生成的一个关键基因^[23,24]。王根平等^[36]分析了不同穗发芽抗性红粒小麦中 *TaDFR* 基因的等位变异类型,发现 *TaDFR-A* 和 *TaDFR-D* 没有功能性差异或等位变异,而 *TaDFR-B* 存在3种等位变异,与 *TaDFR-Ba* 相比, *TaDFR-Bb* 在启动子区域有8 bp的插入, *TaDFR-Bc* 存在1个SNP差异位点。在本研究的194份小麦材料中,启动子区域有8 bp插入的含有 *TaDFR-Bb* 的品种具有较高的穗发芽抗性。*TaDFR-Bb* 与抗穗发芽性状相关, *TaDFR-Ba/c* 与感穗发芽相关。Bi等^[24]研究了120个小麦品种的 *TaDFR-B* 的等位基因型,发现基因型 *TaDFR-Bb* 与穗发芽的抗性有显著性相关,与本研究结果一致。王瑜等^[6]对181份白粒小麦进行穗发芽抗性综合筛选,发现 *TaDFR-B* 的两种等位基因 *TaDFR-Ba* 和 *TaDFR-Bb* 在两个自然群体中没有差异,与本研究结果不一致可能与基因的等位

变异和环境因素的交互作用有关。综上所述,研究小麦品种(系)的穗发芽抗性及抗穗发芽基因的分布,为小麦抗穗发芽遗传改良提供理论参考和优异种质。

4 结论

本研究明确了 194 份小麦品种的穗发芽抗性分布,其中,高抗穗发芽的 1 份,中抗 23 份,中感 97 份,高感 73 份。检测了抗穗发芽基因 *TaVp1B3*、*TaPM19-A1*、*TaDFR*、*TaQSD1*、*TaMKK3-A*、*TaMFT-3A* 等在供试小麦中的分布,验证了基因 *TaDFR* 和 *TaQSD1* 对供试小麦中穗发芽抗性的影响,筛选出聚合了抗穗发芽基因的优异种质 9 份。

参考文献

- [1] Yao Y, Guo W, Gou J, et al. Wheat2035: Integrating panomics and advanced biotechnology for future wheat design [J]. *Mol Plant*, 2025, 18(2): 272-297.
- [2] Matilla AJ. Current insights into weak seed dormancy and pre-harvest sprouting in crop species [J]. *Plant Science*, 2024, 13(18): 2559-2582.
- [3] Vetch JM, Stougaard RN, Martin JM, et al. Revealing the genetic mechanisms of pre-harvest sprouting in hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Plant Science*, 2019, 28(1): 180-185.
- [4] Adkins SW, Bellairs SM, Loch DS. Seed dormancy mechanisms in warm season grass species [J]. *Euphytica*, 2002, 11(26): 13-20.
- [5] 马文洁,张传量,宋晓朋,等.不同麦区小麦品种穗发芽抗性及其与穗部性状的相关性[J]. *麦类作物学报*, 2016, 36(10): 1269-1274.
- [6] 王瑜,王晓丽,孙晓燕,等.分子标记 *Tamyb10D* 和 *TaDFR-B* 的有效性验证及对小麦抗穗发芽基因型的筛选[J]. *华北农学报*, 2016, 31(01): 63-70.
- [7] Torada A, Ikeguchi S, Koike M. Mapping and validation of PCR-based markers associated with a major QTL for seed dormancy in wheat [J]. *Euphytica*, 2005, 143(3): 251-255.
- [8] Liu S, Sehgal SK, Lin M, et al. Independent missplicing mutations in *TaPHS1* causing loss of preharvest sprouting (PHS) resistance during wheat domestication [J]. *New Phytol*, 2015, 208(3): 928-935.
- [9] Liu S, Li L, Wang W, et al. TaSRO1 interacts with *TaVPI* to modulate seed dormancy and pre-harvest sprouting resistance in wheat [J]. *Plant Biol*, 2024, 66(1): 36-53.
- [10] Wang D, Xie J, Wang J, et al. Unraveling allelic impacts on pre-harvest sprouting resistance in *TaVPI-B* of Chinese wheat accessions using pan-genome [J]. *Plants (Basel)*, 2025, 14(4): 504-516.
- [11] Liu S, Li L, Wang W, et al. TaSRO1 interacts with *TaVPI* to modulate seed dormancy and pre-harvest sprouting resistance in wheat [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2024, 66(1): 36-53.
- [12] Footitt S, Walley PG, Lynn JR, et al. Trait analysis reveals *DOG1* determines initial depth of seed dormancy, but not changes during dormancy cycling that result in seedling emergence timing [J]. *New Phytologist*, 2020, 225(5): 2035-2047.
- [13] 黄义文,代旭冉,刘宏伟,等.小麦抗穗发芽基因挖掘及分子育种进展[J]. *麦类作物学报*, 2021, 41(02): 147-156.
- [14] Yang Y, Ma YZ, Xu ZS, et al. Isolation and characterization of *Viviparous-1* genes in wheat cultivars with distinct ABA sensitivity and pre-harvest sprouting tolerance [J]. *Exp Bot*, 2007, 58(11): 2863-2871.
- [15] Yang Y, Zhao XL, Xia LQ, et al. Development and validation of a *Viviparous-1* STS marker for pre-harvest sprouting tolerance in Chinese wheats [J]. *Theor Appl Genet*, 2007, 115(7): 971-980.
- [16] Yang Y, Zhang CL, Liu SX, et al. Characterization of the rich haplotypes of *Viviparous-1A* in Chinese wheats and development of a novel sequence-tagged site marker for pre-harvest sprouting resistance [J]. *Mol Breeding*, 2014, 33: 75-88.
- [17] Torada A, Koike M, Ogawa T, et al. A causal gene for seed dormancy on wheat chromosome 4A encodes a MAP kinase [J]. *Current Biology*, 2016, 26(6): 782-787.
- [18] Shorinola O, Balcárková B. Haplotype analysis of the pre-harvest sprouting resistance locus *Phs-A1* reveals a causal role of *TaMKK3-A* in global germplasm [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 13(8): 1555-1569.
- [19] Nakamura S, Abe F, Kawahigashi H, et al. A wheat homolog of mother of *FT* and *TFL1* acts in the regulation of germination [J]. *Plant Cell*, 2011, 23(9): 3215-3229.
- [20] Liu S, Sehgal SK, Lin M, et al. Independent missplicing mutations in *TaPHS1* causing loss of preharvest sprouting (PHS) resistance during wheat domestication [J]. *New Phytologist*, 2015, 208(3): 928-935.
- [21] Abe F, Haque E, Hisano H, et al. Genome-Edited

- triple-recessive mutation alters seed dormancy in wheat [J]. *Cell Reports*, 2019,28(5):1362-1369.
- [22] Wei W, Min X, Shan S, et al. Isolation and characterization of *TaQsd1* genes for period of dormancy in common wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Molecular Breeding*, 2019,150(39):1-15.
- [23] Polashock JJ, Griesbach RJ, Sullivan RF, et al. Cloning of a cDNA encoding the cranberry dihydroflavonol-4-reductase (*DFR*) and expression in transgenic tobacco [J]. *Plant Science*, 2002,163(2):241-251.
- [24] Bi HH, Sun YW, Xiao YG, et al. Characterization of *DFR* allelic variations and their associations with pre-harvest sprouting resistance in a set of red-grained Chinese wheat germplasm [J]. *Euphytica*, 2014,195(14):197-207.
- [25] Mk W. Enhancement of ABA responsiveness in wheat embryos by high temperature [J]. *Plant, Cell and Environment*, 1988,11(8):769-775.
- [26] Barrero JM, Cavanagh C, Verbyla KL, et al. Transcriptomic analysis of wheat near-isogenic lines identifies *PM19-A1* and *A2* as candidates for a major dormancy QTL [J]. *Genome Biology*, 2015, 16(1): 93-111.
- [27] Yang Y, Zhao XL, Xia LQ, et al. Development and validation of a *Viviparous-1* STS marker for pre-harvest sprouting tolerance in Chinese wheats [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2007,115(7):971-980.
- [28] 未文新. 小麦种子休眠位点鉴定及 *TaQsd1* 基因克隆和功能标记开发[D]. 合肥:安徽农业大学,2019: 21-23.
- [29] Nakamura S, Lynch TJ, Finkelstein RR. Physical interactions between ABA response loci of *Arabidopsis* [J]. *Plant Journal*, 2001,26(6):627-635.
- [30] 龚承儒,袁雨豪,刘振,等. 小麦种质资源穗发芽抗性鉴定和分子标记分析[J]. *植物遗传资源学报*, 2024,25(09): 1493-1503.
- [31] 杨燕,张春利,陈新民,等. 红粒春小麦穗发芽抗性鉴定及相关分子标记的有效性验证[J]. *麦类作物学报*,2011,31(01):54-59.
- [32] 孙果忠,游光霞,孙京燕,等. 我国小麦主推品种穗发芽抗性鉴定及相关分子标记的评价[J]. *华北农学报*,2010,25(04):6-11.
- [33] 李亚青,张楠,彭义峰,等. 穗发芽抗性相关分子标记在优质小麦中的有效性验证[J]. *河南农业科学*, 2021,50(10):18-26.
- [34] 朱雪成,马红勃,张娜,等. 江苏淮北地区小麦穗发芽抗性鉴定及其等位基因检测[J]. *麦类作物学报*, 2024,44(06):687-693.
- [35] 曹雪连,张衡,姜昊,等. 分子标记 *PM19-A1* 对1015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):1283-1290.
- [36] 王根平,毕惠惠,孙永伟,等. 红粒小麦 *Tamyb10* 单倍型检测及其与穗发芽抗性的关系[J]. *作物学报*, 2014,40(06): 984-993.