

小麦品种耐寒性与春化 *VRN-1* 等位基因的关系研究

孙果忠,李海霞,雷秀玉,朱东旭,王海波
(河北省农林科学院遗传生理研究所植物转基因中心,石家庄 050051)

摘要:以来自 11 个省份的 134 个小麦品种为试验材料,于 2009–2010 年在石家庄种植,调查冻害情况;并利用分子标记鉴定 *VRN-1* 等位基因组成,以明确小麦品种春化 *VRN-1* 等位基因组成与耐寒性的关系。结果表明:小麦品种的耐寒性与其 *VRN-1* 等位基因组成、地理来源和耐旱性等因素有密切关系。当地理来源相同时,品种的耐寒性一般随着 *VRN-1* 等位基因控制的春化效应的增强而减弱;当 *VRN-1* 等位基因组成相同时,品种的耐寒性一般随着地理来源的纬度降低而减弱。本研究结果为小麦品种的耐寒性改良提供了重要参考。

关键词:小麦;春化;*VRN-1* 等位基因;耐寒性

Relationship Analysis between Cold Hardiness and Vernalization *VRN-1* Alleles in Wheat Varieties

SUN Guo-zhong, LI Hai-xia, LEI Xiu-yu, ZHU Dong-xu, WANG Hai-bo
(Research Center of Plant Genetic Transformation, Institute of Genetics and Physiology,
Hebei Academy of Agricultural and Forestry Science, Shijiazhuang 050051)

Abstract: In order to clarify the effects of *VRN-1* vernalization genes on cold hardiness of wheat, the freeze injury of 134 wheat cultivars collected from 11 main producing provinces was investigated in shijiazhuang during the period of 2009–2010. The *VRN-1* alleles composition was identified using the sequence-specific markers which made its relationship with cold hardiness definite. The results indicated that the cold hardiness of cultivars was closely related to composition of *VRN-1* alleles, geographic origin, and drought tolerance. As in the same geographical origin, the cold hardiness of cultivars was generally weakened with the enhancement of vernalization effects controlled by *VRN-1* alleles. Besides, cold hardiness of cultivars with same *VRN-1* alleles were always weakened with the lower latitude of geographical origin. These results should be helpful to cold hardiness improvement of wheat cultivars.

Key words: Wheat; vernalization; *VRN-1* alleles; cold hardiness

小麦冬季冻害、早春冻害(倒春寒)和低温冷害已成为威胁我国小麦生产安全的主要自然灾害。冬季冻害是小麦进入冬季后至越冬期间由于骤然降温引起的,其发生与品种、气候、地力基础和栽培方式等多种因素有关。其中,品种耐寒能力的强弱是决定冬季冻害发生程度的主要内在因素^[1]。

小麦耐寒性主要受春化基因与耐寒基因协同控制。在小麦中定位的与耐寒性相关的 *FR-1* 基因位点 *Fr-A1*、*Fr-B1* 和 *Fr-D1*, 分别位于 5AL、5BL 和

5DL 上^[2]。小麦的春化反应主要由 *VRN-1* 春化基因位点决定,包含 3 个显性等位基因 *Vrn-A1*、*Vrn-B1* 和 *Vrn-D1*, 分别位于小麦的 5AL、5BL 和 5DL 染色体上^[3-4]。尽管 *FR-1* 与 *VRN-1* 在遗传上属于不同的基因,但二者在染色体上的定位一致。由于 *VRN-1* 位点的变异足以决定小麦的耐低温特性,*FR-1* 基因是否存在尚未有定论^[5]。

在调控耐寒基因的表达上,*VRN-1* 和 *FR-1* 也被证明存在协同关系。*VRN-1* 对于冷驯化的级联反应

收稿日期:2012-04-23 修回日期:2012-06-03 网络出版日期:2013-01-30

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20130130.1648.024.html>

基金项目:河北省财政专项(2009055001);国家“973”计划项目(2009CB118300)

作者简介:孙果忠,博士,副研究员,研究方向:小麦遗传育种。E-mail: sungz2001@yahoo.com.cn

通信作者:王海波,博士,研究员,研究方向:生物技术。E-mail: nkywanghb@yahoo.com.cn

的启动是必需的; *Fr-A1* 可能和 *vrn-A1* 协同调控 *CBF* 转录因子介导的冷害相关基因 *Cor/Lea* 的表达^[6]。 *VRN-1* 基因的表达与 *Cor/Lea* 基因的表达呈负相关。在秋季, 小麦 *VRN-1* 基因表达下调, *Cor/Lea* 基因表达上调, 植株抗冻性增强; 在春季, *VRN-1* 基因表达上调, *Cor/Lea* 基因表达下调, 植株抗冻性减弱^[7]。转录组学的研究表明, 小麦的耐寒性与 *VRN-1* 基因控制的发育状态有密切关系, 处于生殖生长阶段的小麦植株耐寒性降低^[8-9]。因此, 明确小麦品种的春化 *VRN-1* 等位基因组成对预测其耐寒性具有重要参考价值。

小麦春化 *VRN-1* 基因的编码区在冬、春性小麦品种间无差异, 而在其启动子或第 1 内含子区域存在较大差异, 这些差异是导致小麦不同春化特性的主要内因^[10-12]。基于序列多态性开发的分子标记可用来检测品种的 *VRN-1* 等位基因组成^[11,13-14]。

表 1 本研究所用的 134 份小麦品种(系)

Table 1 Wheat varieties(Lines) used in this study

| 来源 | 品种(系) | 系谱 | 来源 | 品种(系) | 系谱 |
|---------|-------------------|---|---------|-------------------|--|
| Origins | Cultivars(Lines) | Pedigree | Origins | Cultivars(Lines) | Pedigree |
| 北京 | 中麦 9 号 | 泗阳 936/(1523 × 1542)83 鉴 25 | | 衡 05 观 33 | 衡 97-4167/衡 96-4067 |
| | 中麦 11 | Ymh/Tob/Mcd/3/Lira | | 衡 4338 | 4-106/BAU3338 |
| | 中麦 12 | 京 411/烟中 144 | | 衡 05-6607 | 邯 6172/衡穗 28 |
| | 中麦 175 | BPM27/京 411 | | 衡 4399 | 邯 6172/衡穗 28 |
| | 中麦 155 | 济南 19/鲁麦 21 | | 藁城 8901 | 7297/幸福麦//临漳麦 |
| | 中麦 306 | 济麦 19/丰优 3 号 | | 藁优 2018 | 9411/98172 |
| | 京冬 8 号 | [(阿夫乐尔/5238-016)F ₁ /红良 4 号] F ₄ /(有芒红 7 号/洛夫林 10 号)F ₇ | | 邢麦 6 号 | 冀麦 36/邯 6172 |
| | 京冬 17 | 京冬 8 号/RHT3//931 | | 邢麦 9 号 | 周麦 13/石 4185 |
| | 京 411 | 丰抗 2 号/长丰 1 号 | | 邢台 456 | 黑小麦/PH8516 |
| | 京 9428 | 京 411/德国一吨半 | | 石新 616 | 石新 733/9831 |
| | 石 7012 | 不详 | | 石新 811 | 石新 733/9731 |
| | 石 4185 | Tal 材料/植/8094/豫麦 2/3 冀麦 26 轮选 | | 石新 828 | (422 × 石新 63) × 612 |
| | 冀麦 38 | 植 4001/石 4212 - 1 | | 科农 199 | 石 4185/科农 9204 |
| | 石家庄 8 号 | 石 91-5065/冀麦 38 | | 沧 6002 | 临汾 6154/冀麦 32 |
| 河北 | 石麦 15 | 冀麦 38/92R137//冀麦 384 | 河南 | 师栾 02 - 1 | 9411/9430 |
| | 石麦 18 | 92 鉴 3/T447 F ₂ /冀麦 38//石 41853 | | 河农 58-3 | 河农 822/藁 8901 |
| | 石 B05-7388 | 冀 935-352/济南 17 | | 金麦 6 号 | 不详 |
| | 石 B05-6678 | 石 4185/(烟辐 188/临 8014)F ₂ | | 豫麦 47 | 豫麦 2 号 × 百泉 3199F ₁ |
| | 邯 4564 | 邯 88-6012/石 5144 | | 豫麦 50 | 抗白粉病材料轮选后代 |
| | 邯 6172 | 4032/中引 1 号 | | 郑麦 366 | 豫麦 47/PH82-2-2 |
| | 邯 4589 | 邯 86-4032/85 中 47 | | 郑麦 004 | 豫麦 13/90M434//石 89-6021(冀麦 38) |
| | 邯 7086 | 邯 93-4572 × 太 9115-3 | | 郑麦 98 | 综抗矮、宝丰 7228、豫麦 49 等轮选 |
| | 邯 02-4080 | 邯 98-4282/绵 95-145 | | 郑麦 9023 | {(小偃 6 号 × 西农 65) × [83(2)3-3 × 84(14)43]} F ₃ × 陕 213 |
| | 冀 5265 | 冀 5006/9204 | | 郑麦 7698 | 郑麦 9405/4B269//周麦 16 |
| | 冀麦 585 | 太谷核轮回群体选择 | | 豫同 213 | 豫同 213-0-2 诱变后代 |
| | 金禾 9123 | 石 4185/92R137//石 41855 | | 豫麦 62 | 周 842A/SW73295(美) |

品种耐寒性的强弱, 主要反映了其对外界环境温度骤然波动的敏感性, 在波动小的年份不易准确判断, 常规鉴定品种耐寒性, 容易受环境因素影响。近年来, 我国小麦生产上频繁发生的冻害与连年暖冬天气降低了区试中耐寒性鉴定的准确性, 使得春化品种生产面积扩大有一定关系。本研究采用基于基因序列的特异标记, 分析品种的 *VRN-1* 等位基因组成, 探讨春化 *VRN-1* 等位基因组成与耐寒性的关系, 为小麦品种的遗传改良提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料种植

供试材料为来源于小麦主产区的 134 份小麦品种(系)(表 1)。2009 年 10 月 8 日种植在河北省农林科学院遗传生理研究所试验田, 每个材料种植 1 行, 行长 2 m, 行距 25 cm, 每行点播 50 粒。

表 1(续)

| 来源 品种(系) 系谱 | | | 来源 品种(系) 系谱 | | |
|-----------------------|-------------------|---|-----------------------|-------------------|---|
| Origins | Cultivars(Lines) | Pedigree | Origins | Cultivars(Lines) | Pedigree |
| 宁夏 | 周麦 18 | 内乡 185/周麦 9 号 | 安徽 | 汶农 14 号 | 84139//9215/876161 |
| | 周麦 20 | 周麦 13/新麦 9 号//温麦 6 号 | | 泽麦 2 号 | 徐 9935/烟优 361 |
| | 周麦 22 | 周麦 12/温麦 6 号//周麦 13 | | 皖麦 48 | 矮早 781/皖宿 8802 |
| | 周麦 24 | 周麦 16/陕优 225 | | 安农 91168 | 不详 |
| | 豫麦 66 | 小黑麦 MZAleond Beer/宝丰 7228 | | 农大 168 | 皖麦 19/郑 79201 |
| | 新麦 18 | (C6/新乡 3577)F ₃ d1s//新麦 9 号 | | 宿 553 | 烟 361/宿 1264 |
| | 新麦 23 | 新麦 9518E1/周 91099 | | 皖科 06290 | 宿 042/安农 0016 |
| | 洛早 2 号 | 78(111)矮/晋麦 33 | | 阜麦 8 号 | 小偃 9403/漯麦 4 号 |
| | 洛早 6 号 | 豫麦 49 号/山农 45 | 江苏 | 扬麦 11 | 扬 158/3/Y. C/鉴二//扬 85-85 |
| | 洛早 7 号 | 豫麦 41 号/山农 45 | | 扬麦 13 | 杨 88-84// (MarisDove/扬麦 3 号) |
| | 洛优 9909 | POBEDA 系选 | | 扬麦 15 | 扬 8940 × 川育 21526 |
| | 洛麦 29 | 洛麦 1 号/周麦 11 | | 扬麦 16 | 扬 91F138/扬 90-30 |
| | 豫麦 18 | 偃师 4 号/郑州 761 | | 扬麦 17 | 92F101/川育 21526 |
| | 偃展 4410 | 88(35)-14/矮早 781-4 | | 扬麦 18 | 4 × 宁麦 9 号/3/6 × 扬麦 158//88-128/南农 P045 |
| | 综抗 58 | 不详 | | 淮麦 25 | 矮败小麦冬春轮回选择群体 |
| | 矮抗 58 | 周麦 11/温麦 6 号/郑州 8960 | | 淮麦 28 | 周麦 13/新麦 9 号 |
| | 许科 1 号 | 97-042/漯麦 4 号 | | 宁 0569 | 宁 9312 * 3/扬 93-111 |
| | 兰考 8679 | 不详 | | 泗阳 05-629 | 泗麦 1108 × 淮麦 20 |
| 山东 | 郑育麦 9989 | 豫麦 18/内乡 184 | 陕西 | 保麦 0601 | 烟辐 188/徐州 24 |
| | 豫农 202 | 豫农 21/豫农 127 | | 徐州 21 | 濮农 3665/UP301 |
| | 天民 668 | R81//百农 64/小偃 135 | | 小偃 6 号 | St2422/464/小偃 96 F ₁ 红宝石激光处理 |
| | 开 020 | 矮开 79/开麦 14 | | 小偃 54 | 以小偃 6 号为基础材料系选 |
| | 洛新 988 | 百农 71-22/矮早 781//温 2540/洛夫林 10 | | 小偃 22 | (小偃 6 号 × 775-1) × 小偃 107 |
| | 平安 7 号 | 漯麦 4 号//990111/WS89-5422 | | 西农 1376 | 西农 84G6/比 16 |
| | 泛麦 065050 | 济麦 20/豫麦 34 | | 西农 979 | 西农 2611/(918 × 95 选 1)F ₁ |
| | 宁春 4 号 | 索诺拉 64/宏图 | | 西农 722 | 小偃 22/西农 2208 |
| | 济麦 19 | 鲁麦 13/临汾 5064 | | 陕 558 | 小偃 22/V9511 |
| | 济麦 20 | 鲁麦 14/鲁 884187 | 山西 | 陕麦 509 | vp145/86585 |
| 泰山 | 济麦 22 | 自育品系 935024/935106 | | 陕垦 6 号 | 兰考 906/小偃 22 |
| | 济南 35037 | 莱州 95021/运丰早 18 | | 晋麦 47 | 12057 × 旱 522/K37-20 |
| | 鲁原 502 | 9940168/济麦 19 | | 舜麦 1718 | 澳洲 Gabo 与国内多个品种随机杂交 |
| | 鲁麦 14 | C149/F ₄ 530 | | 晋麦 73 | 宛 7107 × 21/无芒中 4//2 * 丰抗 13 |
| | 烟农 19 | 烟 1933/陕 82-29 | | 临优 2069 | 临优 145/5445 |
| | 鲁麦 15 | Tal 扬麦 1 号 BI/矮孟牛 II //104-14 | | 临选 2035 | CIMMYT 资源 SD89119 变异单株系选 |
| | 山农 17 | L156/莱州 137 | | 尧麦 16 | 晋麦 54/北农 8 号 |
| | 山农 20 | PH82-2-2/954072 | 四川 | 川麦 42 | SynCD768/SW3243//川 6415 |
| | 良星 66 | 济 91102/济 935031 | | 川麦 47 | SynCD786/绵阳 26//绵阳 26 |
| | 良星 99 | 济 91102/鲁麦 14//PH85-16 | | 绵麦 37 | 96EW37/绵阳 90-100 |
| | 良星 619 | 济 91102/济 935031 | 黑龙江 | 克早 16 | 九三 79F ₅ -5416/克 80 原 229// |
| | 泰山 23 | 881414/876161 | | | 克 76-750/克 76F ₄ -779 |
| | 鲁麦 22 | 泰山 2 号变异株/烟农 15 号//京花 1 号 | | 克早 21 | 克 89F ₆ 南-2/克 89F ₁ -1237 |
| | 鲁麦 23 | 鲁麦 8 号/高赖小麦“大粒矮” | | | |

1.2 耐寒性调查与气候条件

2009 年 11 月初,石家庄地区突然降温,小麦较往年提前 15~20 d 进入越冬期,此后又出现特大降雪和连续低温等极端不利的气候条件,为鉴定小麦品种耐寒性提供了良好机遇。2010 年 3 月中旬,对试验田 134 份小麦品种进行了冻害调查。根据冻害的总体特征和越冬死株情况,把小麦的耐寒性分为 8 级,0:植株正常,无冻害;1:叶尖发黄干枯,植株无枯萎;1⁺:叶尖发黄干枯,少数植株叶片枯萎;2:多数植株叶片枯萎,但基部仍有绿色;2⁺:叶片全部枯萎,但无植株冻死;3:叶片全部枯萎,部分(小于 50%)植株冻死;3⁺:叶片全部枯萎,大部分(大于

50%)植株冻死;4:叶片全部枯萎,植株全部冻死。

1.3 *VRN-1* 等位基因检测

利用 CTAB 法提取幼苗叶片的 DNA^[15],每份材料最少提取 2 份 DNA 样品。根据文献[10-12]合成引物(表 2)。PCR 反应体系为 25 μL,总体积中含 10×buffer 2.5 μL,*Taq* DNA 聚合酶 1.25 U,4 种 dNTP 各 10 mmol/L,每条引物 2.5 μmol/L,模板 DNA 40~60 ng。PCR 反应程序为 94℃预变性 4 min,94℃变性 1 min,50~65℃退火 30 s,72℃延伸 1~2 min,33 个循环,72℃延伸 10 min。PCR 产物用 2% 或 4% 琼脂糖凝胶电泳检测,凝胶成像拍照,统计扩增结果。每个样品重复检测 2 次。

表 2 用于检测小麦 *VRN-1* 基因等位类型的引物
Table 2 Primers for detecting the allelic types of *VRN-1* genes in wheat

| 目的基因 Target gene | 引物序列 Sequence of primer | 片段大小(bp) Product size | 退火温度(℃) Annealing temperature |
|---------------------|--|--------------------------|----------------------------------|
| <i>Vrn-A1</i> | 361S-F;5'-AAGCCCGTTATATCACCTTA-3' VA1-R;5'-GATGTGGCTCACCATCCACG-3' | 469 | 58 |
| <i>vrn-A1</i> | 361W-F;5'-AAGCCCGTTATATCACCTTT-3' VA1-R;5'-GATGTGGCTCACCATCCACG-3' | 469 | 58 |
| <i>Vrn-A1a</i> | VRN1AF;5'-GAAAGGAAAAATTCTGCTCG-3' | 965 & 876 | 50 |
| <i>Vrn-A1b</i> | VRN1-INT1R;5'-GCAGGAAATCGAAATCGAAG-3' | 714 | |
| <i>Vrn-A1c</i> | | 734 | |
| <i>vrn-A1</i> | | 734 | |
| <i>Vrn-A1c</i> | Intr1/A/F2;5'-AGCCTCCACGGTTTGAAAGTAA-3' Intr1/A/R3;5'-AAGTAAGACAACACGAATGTGAGA-3' | 1170 | 56 |
| <i>vrn-A1</i> | Intr1/C/F;5'-GCACTCCTAACCCACTAACC-3' Intr1/AB/R;5'-TCATCCATCATCAAGGCAAA-3' | 1068 | 58 |
| <i>Vrn-B1</i> | Intr1/B/F;5'-CAAGTGGAACGGTTAGGACA-3' Intr1/B/R3;5'-CTCATGCCAAAAATTGAAGATGA-3' | 709 | 63 |
| <i>vrn-B1</i> | Intr1/B/F;5'-CAAGTGGAACGGTTAGGACA-3' Intr1/B/R4;5'-CAAATGAAAAGGAATGAGAGCA-3' | 1149 | 58 |
| <i>Vrn-D1</i> | Intr1/D/F;5'-GTTGTCTGCCTCATCAAATCC-3' Intr1/D/R3;5'-GGTCACTGGTGGTCTGTGC-3' | 1671 | 65 |
| <i>vrn-D1</i> | Intr1/D/F;5'-GTTGTCTGCCTCATCAAATCC-3' Intr1/D/R4;5'-AAATGAAAAGGAACGAGAGCG-3' | 997 | 63 |

2 结果与分析

2.1 小麦品种的耐寒性差异

冻害调查表明,品种间耐寒性存在明显差异。耐寒性强的品种,如石麦 15 发育正常;耐寒性差的品种,如豫麦 50 全部冻死(图 1)。其中,冻害 4 级的小麦品种有 24 个,占 17.9%;3 和 3⁺级的品种有 64 个,占 47.8%;2 和 2⁺级的品种有 40 个,占 29.9%;1 和 1⁺级的品种有 6 个,占 4.5%(表 3)。供试材料中,近

70% 的品种表现出明显或严重的冻害。因此,在小麦品种选育过程中的耐寒性鉴定水平仍有待提高。

品种的耐寒性与地理来源、抗旱性和广适性等因素有密切关系。多数品种的耐寒性随着纬度的降低呈降低趋势。耐寒性强的品种主要来源于北京和河北;河南和山东小麦品种的耐寒性次之;安徽、江苏和四川的小麦品种耐寒性弱。但是一些低纬度地区来源的品种也表现出了较强的耐寒性,如兰考 8679、豫麦 18、周麦 18、洛旱 2 号和淮麦 25 等。抗

旱性好的品种大多表现出了很强的耐寒性,如中麦 11、沧 6002、石麦 15、洛早 6 号、洛早 7 号、洛早 2 号和晋麦 47 等均为国内抗旱性突出的品种。适应性广的品种由于自身调节力强,也表现出了很强的耐寒性,如豫麦 18、周麦 18、洛早 2 号和晋麦 47 等均是国家区试的对照品种。



图 1 小麦耐寒性等级及代表性品种

Fig.1 Grades of low-temperature tolerance and representative wheat cultivars

表 3 不同 *VRN-1* 等位基因组成小麦品种的耐寒性

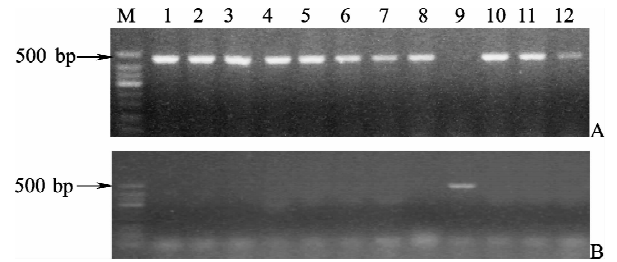
Table 3 Low-temperature tolerance of wheat cultivars differing in *VRN-1* alleles

| 等级 Grades | 等位基因 Alleles | 数量 Number | 品种名称 Name of varieties |
|----------------|-----------------------------|-----------|---|
| 1 | <i>vrn-A1/vrn-B1/vrn-D1</i> | 4 | 中麦 11、沧 6002、石麦 15、兰考 8679 |
| 1 ⁺ | <i>vrn-A1/vrn-B1/vrn-D1</i> | 2 | 冀麦 38、中麦 12 |
| 2 | <i>vrn-A1/vrn-B1/vrn-D1</i> | 12 | 藁城 8901、石新 616、石 B05-7388、邯 02-4080、中麦 175、京冬 8 号、京 411、中麦 155、京冬 17、鲁麦 14、豫麦 18、洛早 2 号 |
| | <i>vrn-A1/vrn-B1/Vrn-D1</i> | 5 | 科农 199、石新 828、衡 05 观 33、周麦 18、淮麦 25 |
| 2 ⁺ | <i>vrn-A1/vrn-B1/vrn-D1</i> | 18 | 藁优 2018、邢麦 6 号、石家庄 8 号、邯 4564、邯 6172、衡 4399、衡 05-6607、冀麦 585、中麦 9 号、烟农 19、山农 17、良星 66、良星 619、山农 20、济南 35037、新麦 18、豫麦 47、小偃 6 号 |
| | <i>vrn-A1/vrn-B1/Vrn-D1</i> | 1 | 京 9428 |
| | <i>Vrn-A1/vrn-B1/vrn-D1</i> | 4 | 洛早 7 号、洛早 6 号、泗阳 05-629、晋麦 47 ^b |
| 3 | <i>vrn-A1/vrn-B1/vrn-D1</i> | 19 | 邯 7086、邢台 456、鲁原 502、汶农 14、济麦 19、济麦 22、泽麦 2 号、郑麦 98、洛优 9909、矮抗 58 [*] 、豫同 213、驻 99021、郑麦 7698、小偃 54、小偃 22、临优 2069、舜麦 1718、宿 553、皖科 06290 |
| | <i>vrn-A1/vrn-B1/Vrn-D1</i> | 7 | 石 4185、金禾 9123、石新 811、石 B05-6678、周麦 24、扬麦 11、阜麦 8 号 |
| | <i>Vrn-A1/vrn-B1/vrn-D1</i> | 3 | 鲁麦 22、鲁麦 23、晋麦 73 |
| 3 ⁺ | <i>vrn-A1/vrn-B1/vrn-D1</i> | 6 | 师柴 02-1、河农 58-3、郑麦 366、临选 2035、保麦 0601、安农 91168 |
| | <i>vrn-A1/vrn-B1/Vrn-D1</i> | 20 | 石麦 18、冀 5265、邯 4589、邢麦 9 号、良星 99、济麦 20、泰山 23、豫麦 62、许科 1 号、郑麦 004、周麦 20、郑育麦 9989、偃展 4410、洛麦 29、泛麦 065050、陕垦 6 号、陕 558、尧麦 16、淮麦 28、川麦 42 |
| | <i>Vrn-A1/vrn-B1/vrn-D1</i> | 4 | 豫麦 66、综抗 58 ^b 、新麦 23、西农 979 |
| | <i>vrn-A1/Vrn-B1/vrn-D1</i> | 1 | 天民 668 |
| | <i>Vrn-A1/vrn-B1/Vrn-D1</i> | 2 | 石 7012、鲁麦 15 |
| | <i>vrn-A1/Vrn-B1/Vrn-D1</i> | 1 | 中麦 306 |
| | <i>Vrn-A1/Vrn-B1/Vrn-D1</i> | 1 | 衡 4338 |
| 4 | <i>vrn-A1/vrn-B1/vrn-D1</i> | 1 | 豫麦 50 |
| | <i>Vrn-A1/vrn-B1/vrn-D1</i> | 3 | 豫农 202、扬麦 15 ^b 、宁春 4 号 ^a |
| | <i>vrn-A1/vrn-B1/Vrn-D1</i> | 4 | 周 98165、开 020、洛新 988、绵麦 37 |
| | <i>vrn-A1/Vrn-B1/Vrn-D1</i> | 1 | 川麦 47 |
| | <i>Vrn-A1/vrn-B1/Vrn-D1</i> | 13 | 金麦 6 号、徐州 21、陕麦 509 ^b 、西农 722、西农 1376 ^b 、扬麦 17 ^b 、扬麦 16 ^b 、扬麦 18 ^b 、宁 0569 ^b 、扬麦 13、农大 168 ^b 、皖麦 48、克旱 16 ^a |
| | <i>Vrn-A1/Vrn-B1/vrn-D1</i> | 1 | 郑麦 9023 |
| | <i>Vrn-A1/Vrn-B1/Vrn-D1</i> | 1 | 克旱 21 ^a |

Vrn-A1 为 361S-F/VA1-R 引物检测结果,*vrn-A1* 为 361W-F/VA1-R 引物检测结果;*: *Vrn-A1* 和 *vrn-A1* 位点在矮抗 58 均能检测出;a:利用 VRN1AF/VRN1-INT1R 引物检测 *Vrn-A1* 位点单倍体为 *Vrn-A1a*;b:利用 VRN1AF/VRN1-INT1R 引物检测 *Vrn-A1* 位点单倍体为 *Vrn-A1b*
The *Vrn-A1* allele was detected by primers of 361S-F/VA1-R and *vrn-A1* allele was detected by primers of 361W-F/VA1-R. Both *Vrn-A1* and *vrn-A1* alleles can be detected in Aikang 58. a;The varieties with *Vrn-A1a* haplotype were detected by primers of VRN1AF/VRN1-INT1R. b: The varieties with *Vrn-A1b* haplotype were detected by primers of VRN1AF/VRN1-INT1R.

2.2 *VRN-1* 等位基因组成

利用 2 对互补标记 361S-F/VA1-R、361W-F/VA1-R 检测春化反应基因 *VrnA1* 位点。结果表明,除矮抗 58(表 3)利用 2 对标记均能扩增出目标带外,其他品种的扩增结果能很好的互补。2 对引物扩增的目标片段大小均为 469 bp(图 2A、2B),共有 31 个品种为 *Vrn-A1* 显性等位变异,占供试材料的 23.1%。



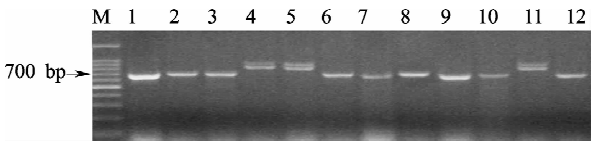
A:361W-F/VA1-R 引物扩增结果;B:361S-F/VA1-R 扩增结果
M:50 bp marker;1:石麦 15;2:金禾 9123;3:邯 7086;4:石新 828;
5:冀麦 38;6:中麦 9 号;7:中麦 12;8:京 9428;
9:石 7012;10:中麦 175;11:中麦 11;12:京冬 8 号
A:Detected by primers of 361W-F/VA1-R,
B:Detected by primers of 361S-F/VA1-R,M:50 bp marker,
1:Shimai 15,2:Jinhe 9123,3:Han 7086,4:Shixin 828,5:Jimai 38,
6:Zhongmai 9,7:Zhongmai 12,8:Jing 9428,9:Shi 7012,
10:Zhongmai 175,11:Zhongmai 11,12:Jingdong 8

图 2 *Vrn-A1* 基因位点的等位变异

Fig.2 Allelic variation at the *Vrn-A1* loci

比较了另外 3 对标记 VRN1AF/VRN1-INT1R、Intr1/A/F2-Intr1/A/R3、Intr1/C/F-Intr1/AB/R 对春化基因 *VrnA1* 位点的检测。克旱 16、克旱 21 和宁春 4 号 3 个品种扩增带型为 965 bp 和 876 bp,即 *Vrn-A1a* 类型;扬麦 15、西农 1376 等 10 个品种扩增带型为 714 bp,即 *Vrn-A1b* 类型;多数品种为 734 bp 片段,即 *Vrn-A1c* 类型或 *vrn-A1* 类型。利用 361S-F/VA1-R、361W-F/VA1-R 标记检测为 *VrnA1* 的品种,如石 7012、郑麦 9023 等,再利用 VRN1AF/VRN1-INT1R 检测为 734 bp,表明其可能为 *Vrn-A1c* 等位类型。但利用 Intr1/A/F2//Intr1/A/R3 检测上述品种均无扩增带,而用 Intr1/C/F//Intr1/AB/R 检测有 1068 bp 片段(图 4A、4B);表明这些品种为 *vrn-A1* 类型(图 3、图 4A、4B)。

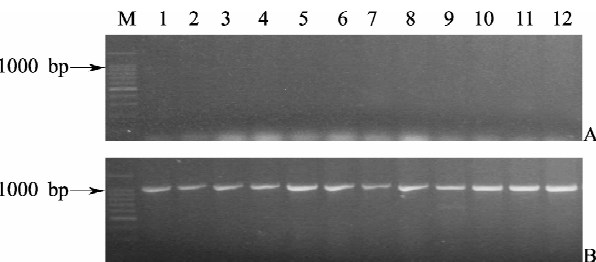
上述结果表明,在 *Vrn-A1a*、*Vrn-A1b* 类型的检测上,5 个标记的检测结果一致。但在对 *Vrn-A1c* 等位类型的检测上,361S-F/VA1-R、361W-F/VA1-R 检测结果与另外 3 对标记检测结果不一致。这些品种是否含新的 *Vrn-A1* 等位类型尚需进一步研究。



M:100 bp marker;1:西农 1376;2:临选 2035;3:晋麦 73;
4:克旱 16;5:克旱 21;6:衡 4338;7:晋麦 47;8:济南 17;
9:扬麦 15;10:邯 6172;11:宁春 4 号;12:冀麦 38
M:100 bp marker,1:Xinong 1376,2:Linxuan 2035,3:Jinmai 73,
4:Kehan 16,5:Kehan 21,6:Heng 4338,7:Jinmai 47,8:Jinan 17,
9:Yangmai 15,10:Han 6172,11:Ningchun 4,12:Jimai 38

图 3 *VRN1AF/VRN1-INT1R* 检测 *VrnA1* 位点等位变异

Fig.3 Allelic variation at the *Vrn-A1* loci detected by *VRN1AF/VRN1-INT1R*



A:Intr1/A/F2//Intr1/A/R3 扩增结果;
B:Intr1/C//F-Intr1/AB/R 扩增结果;
M:100 bp marker;1:石 4185;2:冀 5265;3:石 7012;
4:石麦 15;5:郑麦 9023;6:中麦 11;7:泰山 23;
8:鲁麦 23;9:周麦 18;10:济麦 20;11:邯 6172;12:京冬 8 号
A:Detected by primers of Intr1/A/F2//Intr1/A/R3,
B:Detected by primers of Intr1/C//F-Intr1/AB/R,M:100 bp marker,
1:Shi 4185,2:Ji 5265,3:Shi 7012,4:Shimai 15,5:Zhengmai 9023,
6:Zhongmai 11,7:Taishan 23,8:Lumai 23,9:Zhoumai 18,
10:Jimai 20,11:Han 6172,12:Jingdong 8

图 4 *Vrn-A1* 基因的等位变异

Fig.4 Allelic variation at the *Vrn-A1* loci

利用 2 对互补标记 Intr1/B/F//Intr1/B/R3、Intr1/B/F//Intr1/B/R4 检测春化反应基因 *VrnB1* 位点。Intr1/B/F//Intr1/B/R3 检测 *VrnB1*,可扩增出 709 bp 片段,Intr1/B/F//Intr1/B/R4 检测 *vrnB1*,可扩增出 1149 bp 片段(图 5A、5B)。结果表明,共有 6 个品种含 *VrnB1* 等位变异,占供试材料的 4.5%。

利用 2 对互补标记 Intr1/D/F//Intr1/D/R3、Intr1/D/F//Intr1/D/R4 检测春化反应基因 *VrnD1* 位点。Intr1/D/F//Intr1/D/R3 检测 *VrnD1*,可扩增出 1671 bp 片段,Intr1/D/F//Intr1/D/R4 检测 *vrnD1*,可扩增出 997 bp 片段(图 5C、5D)。结果表明,共有 56 个品种含 *VrnD1* 等位变异,占供试材料的 41.8%,*VrnD1* 在我国小麦品种中分布较为广泛。

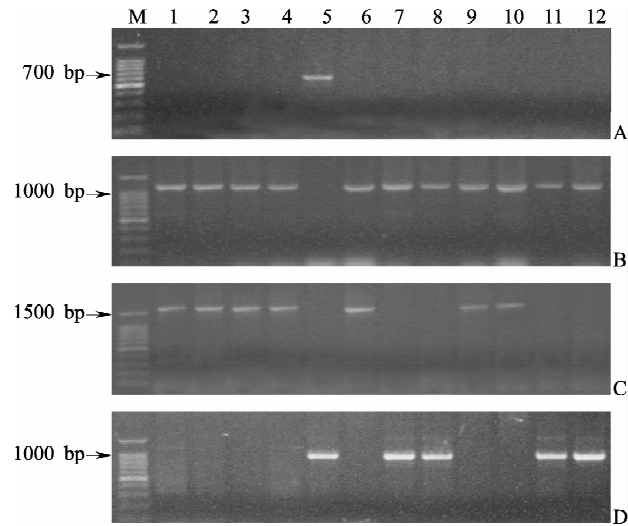


图 A 至 D 的检测标记依次为 Intr1/B/F//Intr1/B/R3、
Intr1/B/F//Intr1/B/R4、Intr1/D/F//Intr1/D/R3、Intr1/D/F//Intr1/D/R4;
M:100 bp marker;1:西农 1376;2:皖麦 48;3:石 7012;
4:石 4185;5:郑麦 9023;6:金禾 9123;7:鲁麦 22,
8:鲁麦 23;9:周麦 18;10:济麦 20;11:邯 6172;12:京冬 8 号
The results form Fig. A to Fig. D were detected by primers of Intr1/B/
F//Intr1/B/R3, Intr1/B/F//Intr1/B/R4, Intr1/D/F//Intr1/D/R3, and
Intr1/D/F//Intr1/D/R4. M:100 bp marker, 1: Xinong 1376, 2: Wanmai 48,
3: Shi 7012, 4: Shi 4185, 5: Zhengmai 9023, 6: Jinhe 9123, 7: Lumai 22,
8: Lumai 23, 9: Zhoumai 18, 10: Jimai 20, 11: Han 6172, 12: Jingdong 8

图 5 *Vrn-B1* 和 *Vrn-D1* 基因的等位变异
Fig.5 Allelic variation at the *Vrn-B1* and *Vrn-D1* locis

2.3 *VRN-I* 等位基因组成与耐寒性的关系

研究表明,品种 *VRN-I* 等位基因组成与耐寒性有密切关系。4 级的 24 个品种中,除豫麦 50 外,其他 23 个品种均携带至少 1 个 *VRN-I* 显性等位基因。3⁺级的 35 个品种中,有 29 个品种至少携带 1 个 *VRN-I* 显性等位基因。1 和 1⁺ 级的品种均不含 *VRN-I* 显性等位基因。

地理来源相同的品种,其耐寒性一般随着 *VRN-I* 显性等位基因控制的春化效应的增强而降低,并且具有累加效应。含有 *Vrn-A1*、*Vrn-B1* 的品种耐寒性要低于含 *Vrn-D1* 的品种,包含 2 个 *VRN-I* 显性等位基因组成的品种耐寒性都很差,大多处于 3⁺ 和 4 级水平。因此,对于容易发生冬季冻害的黄淮北及北部冬麦区的品种应尽量避免携带 *Vrn-A1*、*Vrn-B1* 基因。

当 *VRN-I* 等位基因组成相同时,品种的耐寒性主要受地理来源和栽培环境影响。基因型相同品种的耐寒性,一般随着地理来源的纬度降低而呈降低趋势。一些来源于低纬度的品种,如豫麦 50、郑麦 366、临选 2035、保麦 0601 等,尽管无 *VRN-I* 显性等

位基因,但耐寒性仍然很差。具有抗旱、耐瘠薄等抗逆性突出特点的品种,尽管含有 *VRN-I* 显性等位基因,却仍然表现出了很强的耐寒性,如含 *Vrn-A1* 基因的洛早 6 号、洛早 7 号、晋麦 47,以及含 *Vrn-D1* 基因的科农 199、石新 828、衡 05 观 33、淮麦 25 等。上述结果表明,品种的耐寒性除与 *VRN-I* 等位基因组成有关外,还与品种选育过程中的生态环境和栽培条件有密切关系。因此,在进行品种耐寒性改良时,可以从 *VRN-I* 等位基因组成、生态环境和栽培条件等因素加以考虑。

3 讨论

3.1 春化基因 *VRN-I* 的等位变异与小麦耐寒性有密切关系

本研究表明,来源于同一生态区的品种,其耐寒性一般随着 *VRN-I* 显性等位基因控制的春化效应的增强而降低。前人利用冬、春小麦杂交,近等基因系^[16]和突变体^[5]的研究也表明,*VRN-I* 位点的变异是决定小麦对低温耐受性的主要因素之一。小麦的耐寒性与春化基因调控的发育状态有关。当植株由营养生长阶段进入生殖生长阶段时,其抗寒性会显著降低^[9,17-18]。含有 *VRN-I* 显性等位基因且春化需求少的小麦品种,在秋季播期较早的情况下,有可能在冬前进入生殖生长阶段,从而面临冬季冻害的威胁。小麦的耐寒性一般随着低温的诱导逐渐增强。但是当气温骤然降低时,幼苗往往得不到耐寒性驯化,从而导致冻害的发生。近年来,我国主要麦区发生的小麦冬季冻害多与气温的骤然降低有关。因此,对于容易发生冬季冻害的麦区,应尽量避免种植携带 *VRN-I* 显性等位基因的品种。

3.2 影响小麦耐寒性的因素及遗传改良策略

小麦的耐寒性是一个复杂的性状。除与春化基因有关外,还受品种的抗逆性(抗旱、耐瘠薄)、幼苗直立性、分蘖节入土深度^[19]等因素有关;在品种改良过程中,后代的选择环境也起着重要作用^[20]。因此,一些品种尽管 *VRN-I* 等位基因的组成相同,但耐寒性仍然表现出了很大差异。在育种过程中应准确评价不同品种耐寒性的遗传和生理差异,明确不同品种耐寒性的遗传组分,有针对性地遗传改良。本研究鉴定了一些耐寒性突出的品种,如中麦 11、中麦 12、中麦 175、京冬 8 号、石麦 15、沧 6002、洛早 6 号、洛早 7 号、洛早 2 号、晋麦 47、豫麦 18、兰考 8679 等,可作为耐寒性品种改良的亲本。

致谢

感谢中国农业科学院作物科学研究所李洪杰研究员、张学勇研究员、李秀全副研究员,安徽农业大学常成副教授、西北农林科技大学阎东红副教授、河南农科院胡琳研究员、山西农科院张定一研究员、河北农科院李杏普研究员、赵和研究员为本研究提供试验材料。

参考文献

[1] 农业部小麦专家指导组. 小麦高产创建示范技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2008

[2] Galiba G, Quarrie S A, Sutka J, et al. RFLP mapping of the vernalization (*Vrn1*) and frost resistance (*Fr1*) genes on chromosome 5A of wheat[J]. TAG, 1995, 90: 1174-1179

[3] Pugsley A T. Additional genes inhibiting winter habit in wheat[J]. Euphytica, 1972, 21: 547-552

[4] Worland T, Snape J W. Genetic basis of worldwide wheat varietal improvement[M]//Bonjean A P, Angus W J. The world wheat book: a history of wheat breeding. Paris: Lavoisier Publishing, 2001: 59-100

[5] Dhillon T, Pearce S P, Stockinger E J, et al. Regulation of freezing tolerance and flowering in temperate cereals: The *VRN-1* connection[J]. Plant Physiol, 2010, 153: 1846-1858

[6] Kobayashi F, Takumi S, Kume S, et al. Regulation by *Vrn-1*/*Fr-1* chromosomal intervals of CBF-mediated *Cor/Lea* gene expression and freezing tolerance in common wheat[J]. J Exp Bot, 2005, 56: 887-895

[7] Galiba G, Vagujfalvi A, Li C X, et al. Regulatory genes involved in the determination of frost tolerance in temperate cereals[J]. Plant Sci, 2009, 176: 12-19

[8] Winfield M O, Lu C, Wilson I D, et al. Plant responses to cold: Transcriptome analysis of wheat[J]. Plant Biotechnol J, 2010, 8 (7): 749-971

[9] Laudencia-Chingcuanco D, Ganeshan S, You F, et al. Genome-wide gene expression analysis supports a developmental model of low temperature tolerance gene regulation in wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. BMC Genomics, 2011, 12: 299

[10] 王国英. 基因工程实验技术[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1997: 43-46

[11] Yan L, Helguera M, Kato K, et al. Allelic variation at the *VRN-1* promoter region in polyploid wheat [J]. TAG, 2004, 109: 1677-1686

[12] Fu D, Szűcs P, Yan L, et al. Large deletions within the *VRN-1* first intron are associated with spring growth habit in barley and wheat [J]. Mol Genet Genomics, 2005, 273: 54-65

[13] Yan L, Fu D, Li C, et al. The wheat and barley vernalization gene *VRN3* is an orthologue of FT[J]. PNAS, 2006, 103: 19581-19586

[14] Zhang X K, Xiao Y G, Zhang Y, et al. Allelic variation at the vernalization genes *Vrn-A1*, *Vrn-B1*, *Vrn-D1*, and *Vrn-B3* in Chinese wheat cultivars and their association with growth habit[J]. Crop Sci, 2008, 48: 458-470

[15] 孙果忠, 游光霞, 武淑祯, 等. 小麦春化基因的遗传效应研究[J]. 华北农学报, 2011, 26(6): 1-5

[16] Limin A E, Fowler D B. Developmental traits affecting low-temperature tolerance response in near-isogenic lines for the vernalization locus *Vrn-A1* in wheat (*Triticum aestivum* L. em Thell) [J]. Ann Bot, 2002, 89: 579-585

[17] Limin A E, Fowler D B. Low-temperature tolerance genetic potential in wheat (*Triticum aestivum* L.): Response to photoperiod, vernalization, and plant development[J]. Planta, 2006, 224: 360-366

[18] Trevaskis B, Hemming M N, Dennis E S, et al. The molecular basis of vernalization-induced flowering in cereals[J]. Trends Plant Sci, 2007, 12: 352-357

[19] 赵玉田, 梁博文. 冬小麦抗冻性鉴定的方法指标及筛选[J]. 中国农业科学, 1987, 20(6): 74-80

[20] 李亚非, 王连敏, 曹桂兰, 等. 不同低温胁迫下粳稻耐冷种质的孕穗期耐冷性比较[J]. 植物遗传资源学报, 2010, 11(6): 691-697

第四届全国植物生物技术及其产业化大会

为了交流我国近年来在植物组织培养和生物技术改良等方面的研究成果,促进技术创新和产学研结合,中国植物生理学会植物组织培养与生物技术专业委员会决定举办“第四届全国植物生物技术及其产业化大会”。

1 会议主题:植物生物技术及产业化

中心议题:(1)植物细胞工程及产业化;(2)作物基因工程育种及产业化;(3)花卉、果蔬、林草、中药材的生物技术改良;(4)经济植物重要功能基因发掘;(5)植物生物技术及生物安全

2 主办单位:中国植物生理与分子生物学学会植物生物技术专业委员会,国际植物生物技术协会中国分会

3 论文摘要:每篇摘要字数控制在1100字以内,一般不超过1页A4纸。投稿邮箱:bsyc@mail.kib.ac.cn, www151519190@163.com;联系人:姚春娜(0871-65223388, 18208736395), 张悦(15925127008)

4 部分大会邀请发言人:许智宏院士 陈晓亚院士 赵进东院士 朱健康院士 朱有勇院士 何祖华研究员 张克勤教授 朱祯研究员 卢宝荣教授 种康研究员 储成才研究员 夏光敏教授 黄兴奇研究员 李德铎研究员

时间:2013年5月5-7日 地点:云南昆明 详细情况见会议网址: <http://zwsf.csp.escience.cn>