

## 4个春性基因型小麦品种与‘京841’杂交F<sub>1</sub>代的表型分析

闫延涛<sup>1</sup>, 李永春<sup>1</sup>, 孟凡荣<sup>2</sup>, 李金花<sup>1</sup>, 尹钧<sup>1,\*</sup>

河南农业大学<sup>1</sup>国家小麦工程技术研究中心, <sup>2</sup>生命科学学院, 郑州450002

**摘要:** 选用4个具有不同显性春化基因型的小麦品种与冬性小麦品种‘京841’进行杂交实验, 通过显性春化基因特异性PCR分析技术鉴定杂交F<sub>1</sub>代植株, 并分析4个杂交组合的正反交F<sub>1</sub>代植株表型特性。结果显示, 各显性春化基因已经导入到各杂交F<sub>1</sub>代植株中, 且其苗穗期受显性春化基因的控制而有效缩短; 3个杂交组合的F<sub>1</sub>代穗粒数在正反交之间存在显著差异, 推测穗粒数受细胞质遗传因素的影响较大, 其中以‘新春2号’和‘豫麦18’分别为母本和父本与‘京841’杂交后F<sub>1</sub>代的穗粒数表现出较强的杂种优势, 4个杂交组合的F<sub>1</sub>代千粒重均表现出较强的杂种优势。

**关键词:** 小麦; 春化; 杂交; 表现型

## Phenotype Analysis of F<sub>1</sub> Generation Derived from Wheat (*Triticum aestivum* L.) Crosses between Four Cultivars with Differently Dominant Vernalization Genes and ‘Jing 841’

YAN Yan-Tao<sup>1</sup>, LI Yong-Chun<sup>1</sup>, MENG Fan-Rong<sup>2</sup>, LI Jin-Hua<sup>1</sup>, YIN Jun<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>National Engineering Research Center for Wheat, <sup>2</sup>College of Life Sciences, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China

**Abstract:** Four spring cultivars with differently dominant vernalization genes were used to hybridize with a winter wheat cultivar ‘Jing 841’. The F<sub>1</sub> generation plants were identified by using PCR amplification specific to the dominant *VRN1* genes, and some phenotypes of F<sub>1</sub> generation plants were also analyzed. The results showed that the dominant allelic *VRN1* genes were successfully introduced into the F<sub>1</sub> plants and their seedling-heading periods were generally shorted due to the introduction of these dominant allelic sites. In three of four cross combinations, prominent differences of grains per spike were found between reciprocal crosses, which might be due to the cytoplasmic inheritance, and among them, the strong heterosis was observed in two crosses (‘Xinchun 2’ and ‘Yumai 18’ was used as the mother and father, respectively). In the four combinations, the character of thousand-grain weight all showed strong heterosis.

**Key words:** wheat; vernalization; hybridization; phenotype

小麦的春化特性是小麦品种的重要性状之一, 直接决定着小麦品种的种植范围和栽培措施, 忽略小麦品种的春化特性进行引种、用种, 往往会带来小麦贪青晚熟或造成冻害, 给小麦生产造成巨大经济损失(苗果园等 1993; 袁秀云等 2009)。因此, 针对小麦品种春化特性的遗传改良已成为小麦育种的重要方向之一。近年来, 关于春化分子调控机理方面的研究取得了较大进展(Yan 等 2003; 袁秀云等 2008b), 特别是分离克隆了决定小麦春化特性的关键基因 *VRN1*, 并对普通小麦中 *VRN-A1*、*VRN-B1* 和 *VRN-D1* 这3个等位基因的序列特性及表达进行了系统分析(Li 和 Dubcovsky 2008; 袁秀云等 2008a)。研究发现, *VRN1* 基因的3个等位基因中, 只要其中

一个为显性, 则小麦品种表现为春性; 而只有当3个等位基因均为隐性时才表现为冬性(Loukoianov 等 2005; Trevaskis 等 2007), 通过对春化基因 *VRN1* 的显隐性的序列特征分析已开发了检测该基因等位差异的PCR分子标记(Yan 等 2004; Fu 等 2005), 并应用于普通小麦的春化基因组成特性分析中(张晓科等 2006; Iqbal 等 2007; Zhang 等 2008)。通过具有不同春化特性的品种间杂交是进行小麦发育特性

收稿 2010-02-09 修定 2010-06-28

资助 国家自然科学基金(30671261)。

\* 通讯作者(E-mail: junyin57@yahoo.com.cn; Tel: 0371-63558203)。

遗传改良的重要途径,然而关于不同春化特性小麦品种间的杂交育种及分子标记辅助选择方面的研究较少,系统分析不同春化类型品种间杂交后对后代农艺性状的影响及遗传规律对于开展春化特性的遗传改良实践具有重要参考价值。本文选用含有不同显性春化基因 *VRN1* 的4个品种‘辽春15’、‘新春2号’、‘郑麦9023’和‘豫麦18’与冬性小麦品种‘京841’进行杂交实验和春化基因型的分子鉴定,并分析冬春性品种间杂交 $F_1$ 代的综合性状表现,以期为进一步开展针对小麦发育特性的遗传改良积累重要资料。

### 材料与方法

选用4个春性小麦(*Triticum aestivum* L.)品种‘辽春15’、‘新春2号’、‘郑麦9023’和‘豫麦18’(其中春化基因*VRN1*的显隐性等位组成为*Vrn-A1/Vrn-B1/Vrn-D1*、*Vrn-A1/vrn-B1/vrn-D1*、*vrn-A1/Vrn-B1/vrn-D1*和*vrn-A1/vrn-B1/Vrn-D1*)和冬性小麦品种‘京841’(春化基因*VRN1*在A、B、D基因组中均为隐性,即*vrn-A1/vrn-B1/vrn-D1*)在河南农业大学农场实验田进行正反交试验。

剪取 $F_1$ 代小麦三叶期叶片,采用CTAB法(王

国英1997)提取基因组DNA用于PCR鉴定。春化基因*VRN1*显性位点特异性引物参照Yan等(2004)和Fu等(2005)的方法合成,引物序列为:VRN1AF, 5'-GAAAGGAAAAATTCTGCTCG-3'; VRN1R, 5'-TGCACCTTCCC(C/G)CGCCCCAT-3'; Intr1/BF, 5'-CAAGTGG AACGGTTAGGACA-3'; Intr1/B/R3, 5'-CTCATGCCAAAAATTGAAGATGA-3'; Intr1/D/F, 5'-GTTGTCTGCCTCATCAAATCC-3'; Intr1/D/R4, 5'-GGTCACTGGTGGTCTGTGC-3'。试验中所用品种的春化特性、基因型及特异性引物扩增信息见表1。PCR反应体系为20  $\mu$ L, 含10 $\times$ 缓冲液2  $\mu$ L、Taq DNA聚合酶1 U、4种dNTP各150  $\mu$ mol $\cdot$ L $^{-1}$ 、每条引物0.5  $\mu$ mol $\cdot$ L $^{-1}$ 、模板DNA 40~60 ng。PCR反应程序为:94  $^{\circ}$ C变性6 min; 94  $^{\circ}$ C变性30 s, 55~61  $^{\circ}$ C退火30 s, 72  $^{\circ}$ C延伸50 s, 35个循环; 72  $^{\circ}$ C后延伸5 min。所用PCR试剂DNA聚合酶购自TaKaRa公司。

为了分析小麦A、B和D基因组的显性春化基因*VRN1*等位基因效应,选用4个不同基因型春性小麦品种‘辽春15’、‘新春2号’、‘郑麦9023’和‘豫麦18’分别与冬性小麦品种‘京841’进行正反交试验,杂交组合及其编号见表2。

表1 用于分析普通小麦中*VRN1*基因等位类型的PCR引物

Table 1 PCR primers for determining the allelic types of *VRN1* gene in common wheat

| 品种       | 等位类型                        | PCR产物/bp          |                          |                           |
|----------|-----------------------------|-------------------|--------------------------|---------------------------|
|          |                             | 引物 VRN1AF 和 VRN1R | 引物 Intr1/BF 和 Intr1/B/R3 | 引物 Intr1/D/F 和 Intr1/D/R4 |
| ‘辽春15’   | <i>Vrn-A1/Vrn-B1/Vrn-D1</i> | 650 和 750         | 709                      | 1 671                     |
| ‘新春2号’   | <i>Vrn-A1/vrn-B1/vrn-D1</i> | 650 和 750         | —                        | —                         |
| ‘郑麦9023’ | <i>vrn-A1/Vrn-B1/vrn-D1</i> | 500               | 709                      | —                         |
| ‘豫麦18’   | <i>vrn-A1/vrn-B1/Vrn-D1</i> | 500               | —                        | 1 671                     |
| ‘京841’   | <i>vrn-A1/vrn-B1/vrn-D1</i> | 500               | —                        | —                         |

表2 小麦正反交组合及其编号

Table 2 The combinations and numbers of the wheat crosses

| 品种(基因型)             | ‘辽春15’(ABD) | ‘新春2号’(Abd) | ‘郑麦9023’(aBd) | ‘豫麦18’(abD) |
|---------------------|-------------|-------------|---------------|-------------|
| ‘京841’(abd)为母本的正交组合 | 1           | 3           | 5             | 7           |
| ‘京841’(abd)为父本的反交组合 | 2           | 4           | 6             | 8           |

表中基因型用字母表示,其中A、B、D代表普通小麦3个基因组中的春化基因*VRN1*位点,大写字母表示该位点为显性,小写字母表示该位点为隐性。

## 结果与讨论

### 1 杂交 F<sub>1</sub> 代小麦植株的分子鉴定

为了证实在杂交F<sub>1</sub>代小麦中, 显性的春化基因 *VRN1* 位点成功地导入到‘京841’小麦的隐性背景 (*vrn-A1/vrn-B1/vrn-D1*) 中, 用显性基因的特异性引物(表1)进行了F<sub>1</sub>代植株的分子鉴定。特异性引物 VRN1AF 和 VRN1R 对4个杂交组合(表2)的8类F<sub>1</sub>代植株进行的PCR分析显示, 在杂交组合1~4(表2)的F<sub>1</sub>代植株中均能扩增到约为650、750和500 bp的3条带, 说明在这些植株中已成功将显性的春化基因 *Vrn-A1* 导入; 而在其他杂交组合F<sub>1</sub>代植株中仅能扩增到约500 bp的1条带, 表明其春化基因 *VRN1* 在A基因组中为隐性(*vrn-A1*), 这和预期的结果一致(图1-A)。用引物 Intr1/BF 和 Intr1/B/R3 对8个杂交组合F<sub>1</sub>代植株进行的PCR分析显示, 在杂交组合1、2、5和6(表2)的F<sub>1</sub>代植株中均能扩增到约709 bp的1条带, 说明已成功将显性的春化基因 *Vrn-B1* 导入, 而在其他杂交组合F<sub>1</sub>代植株中没有扩增产物(图1-B)。用 Intr1/D/F 和 Intr1/D/R4 对F<sub>1</sub>代植株的检测显示, 杂交组合1、2、7和8(表2)的F<sub>1</sub>代植株中均能扩增到约1671 bp的1条带, 说明已成功将显性的春化基因 *Vrn-D1* 导入F<sub>1</sub>代植株中(图1-C)。上述针对春化基因 *VRN1* 的特异性PCR鉴定结果和前人报道的结果一致(Zhang等2008), 可见, 在小麦发育特性改良过程中可以利用春化基因的组成特性进行分子标记辅助选择。

### 2 杂交亲本及 F<sub>1</sub> 代植株的苗穗期分析

苗穗期(即出苗期至抽穗期经历的天数)是衡量小麦春化特性的重要指标。对杂交F<sub>1</sub>代植株的苗穗期进行分析的结果(表3)显示: 在温室种植条件下, 4个含有显性春化基因的亲本材料(‘辽春15’、‘新春2号’、‘郑麦9023’和‘豫麦18’)的苗穗期均在60 d以内, 其中‘辽春15’的苗穗期最短(44 d), 这与其中含有3个春化基因 *VRN1* 的显性位点有关, 而‘新春2号’、‘郑麦9023’和‘豫麦18’的苗穗期依次逐渐增长, 这可能与3个品种中分别在A、B和D基因组中含有显性春化基因 *VRN1* 位点有关(Trevaskis等2007; 袁秀云等2008a); 冬性小麦品种‘京841’的苗穗期为141 d, 这和其中含有3个隐性的春化基因 *VRN1* 位点的基因型相吻合; 在田间

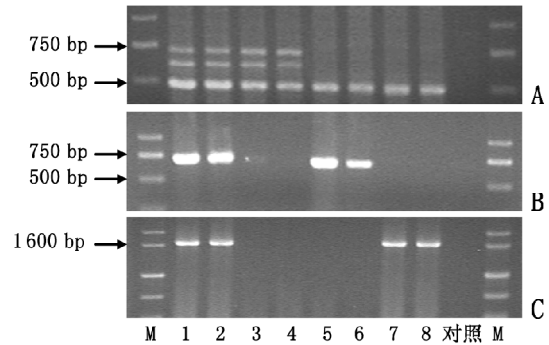


图1 杂交F<sub>1</sub>代植株中春化基因 *VRN1* 显性位点的PCR鉴定

Fig.1 PCR identification of dominant sites of the vernalization gene *VRN1* in cross F<sub>1</sub> plants

1、3、5、7: 分别以4个春性品种‘辽春15’、‘新春2号’、‘郑麦9023’和‘豫麦18’为父本与‘京841’进行的正交F<sub>1</sub>代植株; 2、4、6、8: 分别以4个春性品种‘辽春15’、‘新春2号’、‘郑麦9023’和‘豫麦18’为母本与‘京841’的反交F<sub>1</sub>代植株; 对照: 以水为模板; M: DNA marker。

表3 小麦杂交亲本及F<sub>1</sub>代的苗穗期

Table 3 The seedling-heading periods of the F<sub>1</sub> plants and their parents

| 亲本品种     | 苗穗期/d |      |                  |                  |
|----------|-------|------|------------------|------------------|
|          | 温室种植  | 田间种植 | 正交F <sub>1</sub> | 反交F <sub>1</sub> |
| ‘辽春15’   | 44    | 162  | 163              | 163              |
| ‘新春2号’   | 51    | 169  | 164              | 164              |
| ‘郑麦9023’ | 55    | 162  | 162              | 162              |
| ‘豫麦18’   | 59    | 163  | 163              | 163              |
| ‘京841’   | 141   | 168  | —                | —                |

种植条件下, 除‘新春2号’外3个含有显性 *VRN1* 基因的品种间苗穗期基本一致(在162 d左右), 冬性品种‘京841’的苗穗期为168 d, 冬春性品种间的苗穗期差异不大, 这主要是由于经过越冬期后, 冬性小麦已经通过了春化阶段, 所以其苗穗期和春性小麦间的差异就不那么显著了, 但是春性亲本的苗穗期仍然比‘京841’要短6 d左右。从杂交F<sub>1</sub>代的苗穗期来看, 杂交后的苗穗期和春性亲本的苗穗期相一致, 而且正反交F<sub>1</sub>植株之间没有差异, 说明春化基因 *VRN1* 的显性位点对苗穗期起着决定作用, 而且不受细胞质遗传因素的影响。值得注意的是, ‘新春2号’小麦在田间种植条件下其苗穗期却

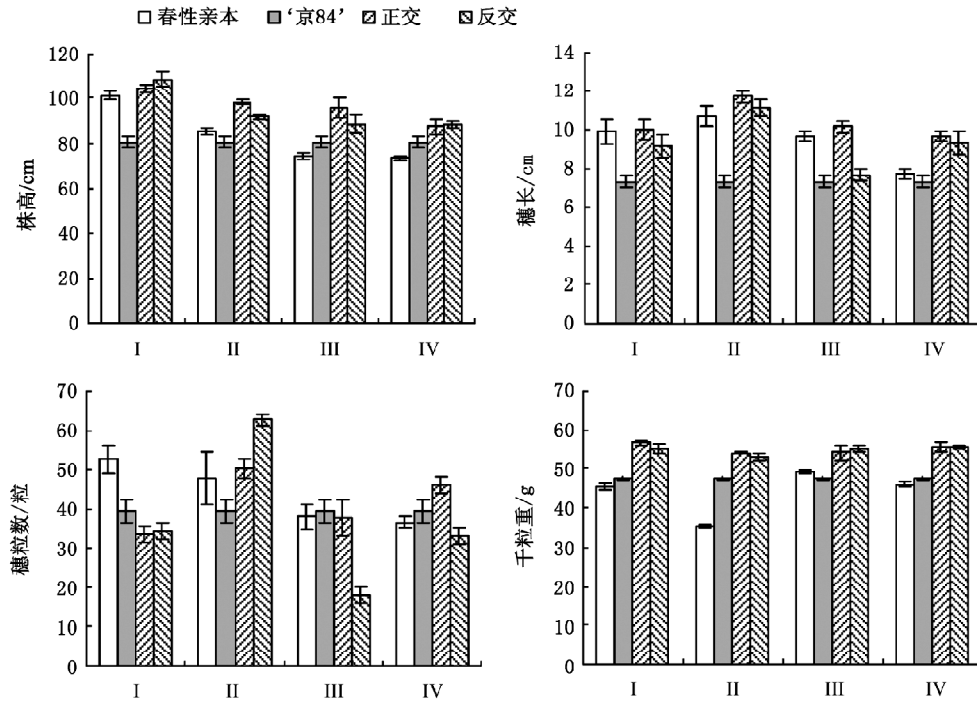


图2 杂交F<sub>1</sub>代及其亲本性状

Fig.2 The characters of F<sub>1</sub> plants and their parents

I~IV: 4个春性品种‘辽春15’、‘新春2号’、‘郑麦9023’和‘豫麦18’分别与‘京841’进行的杂交组合。

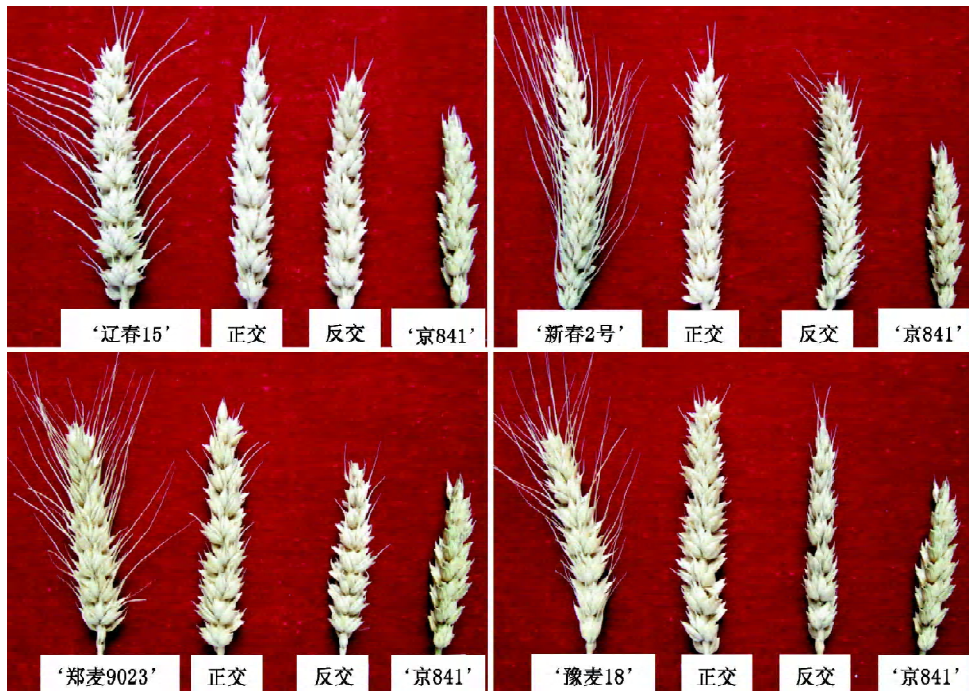


图3 杂交F<sub>1</sub>代及其亲本的穗形

Fig.3 The panicle shapes of F<sub>1</sub> plants and their parents

和冬性品种‘京841’非常接近, 而杂交F<sub>1</sub>代的苗穗期却又有所缩短, 这种现象可能和光周期反应有关 (Dubcovsky 等 2006)。

### 3 杂交F<sub>1</sub>代的其他表型分析

从株高来看, 各杂交组合的F<sub>1</sub>代的植株高度均高于亲本(图2), 而且以‘新春2号’为春性亲本的杂交组合(II)中正反交F<sub>1</sub>代植株高度存在显著差异(反交F<sub>1</sub>植株高度较低), 这可能是细胞质遗传因素的效应。从穗形来看, 春性亲本与‘京841’之间存在较大的差异, 而且在正反交F<sub>1</sub>代之间也存在显著差异(图3)。例如, 在杂交F<sub>1</sub>代中, 春性亲本的长芒特性消失, 推测麦穗的长芒特性受隐性基因调控, 进一步证实需要看其后代的分离情况。从穗长来看, 以‘豫麦18’为亲本的杂交组合(IV)的F<sub>1</sub>代杂种优势明显, 特别是其正交F<sub>1</sub>代的穗长和穗形比较理想(图3); 在以‘郑麦9023’为春性亲本的杂交组合(III)中, 正反交对F<sub>1</sub>代的穗长差异显著, 这可能与细胞质遗传因素有关(图2)。从穗粒数来看, 以‘新春2号’为亲本的反交F<sub>1</sub>和以‘豫麦18’为亲本的正交存在较强的杂种优势, 其余各组合的F<sub>1</sub>代的穗粒数表现较差, 特别是有3个杂交组合的F<sub>1</sub>代穗粒数在正反交之间存在显著差异(图2), 推测细胞质遗传因素对小麦穗粒数的影响比较大。从千粒重来看, 4个杂交组合均存在显著的杂种优势, 而且正反交之间差异不显著。

综合上述结果, 春冬性小麦品种间杂交F<sub>1</sub>代千粒重方面存在显著的杂种优势, 特别是以‘新春2号’和‘豫麦18’分别为母本和父本与‘京841’杂交后, F<sub>1</sub>代的穗粒数杂种优势较强, 在发育特性改良和产量提高方面具有较大的育种应用潜力。

### 参考文献

苗果园, 张云亭, 侯跃生, 尹钧, 王士英(1993). 温光互作对不同生态型小麦品种发育效应的研究. I. 品种最长、最短苗穗期及温光敏感性分析. 作物学报, 19 (6): 489~496

- 王国英主编(1997). 基因工程实验技术. 北京: 中国农业科技出版社, 43~46
- 袁秀云, 李永春, 孟凡荣, 闫延涛, 尹钧(2008a). 九个春化作用特性不同的小麦品种中 *VRN1* 基因的组成和特性分析. 植物生理学通讯, 44 (4): 699~704
- 袁秀云, 李永春, 孟凡荣, 闫延涛, 尹钧(2009). 郑麦9023 春化基因 *VRN-1* 的组成及表达. 作物学报, 35 (5): 848~854
- 袁秀云, 李永春, 闫延涛, 李磊, 尹钧(2008b). 小麦春化发育的分子调控机理研究进展. 西北植物学报, 28 (7): 1486~1490
- 张晓科, 夏先春, 何中虎, 周阳(2006). 用 STS 标记检测春化基因 *Vrn-A1* 在中国小麦中的分布. 作物学报, 32 (7): 1038~1043
- Dubcovsky J, Loukoianov A, Fu D, Valarik M, Sanchez A, Yan L (2006). Effect of photoperiod on the regulation of wheat vernalization genes *VRN1* and *VRN2*. *Plant Mol Biol*, 60 (4): 469~480
- Fu D, Szucs P, Yan L, Helguera M, Skinner JS, von Zitzewitz J, Hayes PM, Dubcovsky J (2005). Large deletions within the first intron in *VRN-1* are associated with spring growth habit in barley and wheat. *Mol Gen Genomics*, 273 (1): 54~65
- Iqbal M, Navabi A, Yang RC, Salmon DF, Spaner D (2007). Molecular characterization of vernalization response genes in Canadian spring wheat. *Genome*, 50 (5): 511~516
- Li C, Dubcovsky J (2008). Wheat FT protein regulates *VRN1* transcription through interactions with *FDL2*. *Plant J*, 55 (4): 543~554
- Loukoianov A, Yan L, Blechl A, Sanchez A, Dubcovsky J (2005). Regulation of *VRN-1* vernalization genes in normal and transgenic polyploid wheat. *Plant Physiol*, 138 (4): 2364~2373
- Trevaskis B, Hemming MN, Dennis ES, Peacock WJ (2007). The molecular basis of vernalization-induced flowering in cereals. *Trends Plant Sci*, 12 (8): 352~357
- Yan L, Helguera M, Kato K, Fukuyama S, Sherman J, Dubcovsky J (2004). Allelic variation at the *VRN-1* promoter region in polyploid wheat. *Theor Appl Genet*, 109 (8): 1677~1686
- Yan L, Loukoianov A, Tranquilli G, Helguera M, Fahima T, Dubcovsky J (2003). Positional cloning of the wheat vernalization gene *VRN1*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 100 (10): 6263~6268
- Zhang XK, Xiao YG, Zhang Y, Xia XC, Dubcovsky J, He ZH (2008). 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. *Crop Sci*, 48 (2): 458~470