

## 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

袁秀云<sup>1,2</sup>, 李永春<sup>1</sup>, 孟凡荣<sup>3</sup>, 闫延涛<sup>1</sup>, 尹钧<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>河南农业大学, 国家小麦工程技术研究中心, 郑州 450002; <sup>2</sup>郑州师范高等专科学校, 郑州 450044; <sup>3</sup>河南农业大学生命科学学院, 郑州 450002

**摘要:** 采用序列特异性PCR扩增技术, 分析9个春化特性不同品种小麦春化基因 *VRN1* 在 A、B 和 D 基因组中等位基因的显隐性组成特性的结果表明: 小麦品种‘辽春 15’中春化基因 *VRN1* 的 A、B 和 D 等位基因均为显性; 小麦品种‘新春 2 号’只在 A 基因组中为显性; 小麦品种‘豫麦 18’的 D 基因组中为显性; ‘郑麦 9023’和‘新冬 18’两个品种的 B 基因组中为显性; ‘周麦 18’、‘豫麦 49-198’、‘京 841’和‘肥麦’4 个品种的 A、B 和 D 等位基因均为隐性。

**关键词:** 普通小麦; 春化基因 *VRN1*; 等位基因组成

## Composition and Characteristic of the *VRN1* Gene in Nine Wheat (*Triticum aestivum* L.) Cultivars with Different Vernalization Traits

YUAN Xiu-Yun<sup>1,2</sup>, LI Yong-Chun<sup>1</sup>, MENG Fan-Rong<sup>3</sup>, YAN Yan-Tao<sup>1</sup>, YIN Jun<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>National Engineering Research Center for Wheat, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China; <sup>2</sup>Zhengzhou Normal College, Zhengzhou 450044, China; <sup>3</sup>College of Life Science, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China

**Abstract:** The allelic composition and characteristic of the vernalization gene *VRN1* in A, B and D genomes of 9 Chinese wheat (*Triticum aestivum*) cultivars with different vernalization traits were analyzed using the sequence-specific PCR amplification. The results showed that the *VRN1* alleles were all dominant in the A, B and D genomes of ‘Liaochun 15’; the *VRN1* genes were dominant in A genome of ‘Xinchun 2’, in B genome of ‘Zhengmai 9023’ and ‘Xindong 18’, and in D genome of ‘Yumai 18’, respectively; the *VRN1* alleles were all recessive in A, B and D genomes of ‘Zhoumai 18’, ‘Yumai 49-198’, ‘Jing 841’ and ‘Feimai’.

**Key words:** common wheat; vernalization gene *VRN1*; allelic composition

春化作用特性是小麦品种的重要性状, 直接影响着小麦品种的种植范围和利用效率。小麦的春化作用主要受春化基因 *VRN1* 调控, 此基因编码蛋白为 MADS 转录因子 (Trevakis 等 2003; Yan 等 2003; 汤青林等 2007), 可以促进小麦开花。在六倍体普通小麦中有 3 个等位基因, 分别位于 5A、5B 和 5D 染色体的长臂上, 分别命名为 *VRN-A1*、*VRN-B1* 和 *VRN-D1* (Law 等 1976; Nelson 等 1995; Barrett 等 2002; Iwaki 等 2002; McIntosh 等 2003)。普通小麦的 *VRN-A1*、*VRN-B1* 和 *VRN-D1* 三个等位基因中任何一个为显性时, 小麦的发育特性都为春性, 即不需要春化作用(或仅需短暂的春化作用)就能开花; 当 3 个等位基因全部为隐性时, 小麦的发育特性为冬性, 必须经过低温春化过程才能开花 (Pugsley 1971)。

已有研究表明, 冬性小麦与春性小麦间春化基因 *VRN-A1* 的编码区没有差异, 而在该基因的启动子区或其第一内含子中存在较大差异, 这些差异是

导致小麦春化特性不同的内因之一 (Yan 等 2004b; Fu 等 2005)。在春性小麦中, *VRN-A1* 基因的启动子区有 2 种等位类型, 包括 *Vrn-A1a* (存在插入变异) 和 *Vrn-A1b* (存在约 20 bp 的缺失); 但在冬性小麦的春化基因 *Vrn-B1* 和 *Vrn-D1* 启动子区域之间不存在差异。在春性品种中, 显性 *Vrn1* 基因的第一内含子往往有大片段的缺失, 这也是决定品种春化特性的重要调控区域, 其等位类型分别为 *Vrn-A1c*、*Vrn-B1* 和 *Vrn-D1* (Fu 等 2005)。本文采用序列特异性 PCR 扩增技术, 分析了我国具有不同春化类型的 9 个小麦品种中春化基因 *VRN1* 的显、隐性组成和特性, 以期为进一步深入探讨春化作用分子调控机制积累基础资料。

收稿 2008-04-25 修定 2008-06-30

资助 国家自然科学基金(30671261)和国家“十一五”科技支撑计划重大项目(2006BAD02A07-4)。

\* 通讯作者(E-mail: xmzxyj@126.com; Tel: 0371-63558203)。

## 材料与方法

小麦(*Triticum aestivum* L.) 9个春化特性不同品种: ‘辽春15号’(强春性)、‘新春2号’(春性)、‘豫麦18’(弱春性)、‘郑麦9023’(弱春性)、‘周麦18’(半冬性)、‘豫麦49-198’(半冬性)、‘京841’(冬性)、‘新冬18’(冬性)、‘肥麦’(强冬性)。

小麦叶片中的基因组DNA的提取采用CTAB法(王国英1997)。序列特异性PCR扩增所用引物(表1)参考Yan等(2004a)和Fu等(2005)文中方法合成。PCR反应体系为20  $\mu$ L, 总体积中含2  $\mu$ L 10 $\times$

缓冲液、1.5  $\mu$ L (25 mmol·L<sup>-1</sup>) MgCl<sub>2</sub>、0.2  $\mu$ L (5 U) rTaq DNA聚合酶、1.6  $\mu$ L dNTP, 每条引物1  $\mu$ L, 40~60 ng 模板DNA。PCR反应程序为94 变性6 min; 94 变性30~45 s, 55~61 退火30 s~1 min; 72 延伸45 s~1 min 20 s, 35个循环; 72 终延伸5 min。所用PCR试剂DNA聚合酶购自Takara公司。PCR产物回收后连接到pBS-T载体(TianGen公司产品)中, 连接物经大肠杆菌转化后, 先进行酶切鉴定, 最终对带有预期插入片段的阳性重组质粒进行测序分析; DNA序列的分析采用DNAMAN和Primer Premier 进行。

表1 用于分析普通小麦中 *VRN-1* 基因等位类型的PCR引物(Yan等2004a; Fu等2005)

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

| 靶标序列                   | 名称         | 引物(5' 3')                | 等位类型    | 扩增产物 /bp | 退火温度 / |
|------------------------|------------|--------------------------|---------|----------|--------|
| <i>VRN-A1</i> 启动子插入或缺失 | VRN1AF     | GAAAGGAAAAATTCTGCTCG     | Vrn-A1a | 约650和750 | 55.0   |
|                        | VRN1R      | TGCACCTTCCC(C/G)CGCCCAT  | Vrn-A1b | 约480     |        |
|                        |            |                          | Vrn-A1  | 约500     |        |
| <i>VRN-A1</i> 第一内含子缺失  | Intr1/A/F2 | AGCCTCCACGGTTTGAAAGTAA   | Vrn-A1c | 1170     | 58.9   |
|                        | Intr1/A/R3 | AAGTAAGACAACACGAATGTGAGA |         |          |        |
| <i>VRN-A1</i> 第一内含子无缺失 | Intr1/C/F  | GCACTCCTAACCCTAACC       | vrn-A1  | 1068     | 56.0   |
|                        | Intr1/AB/R | TCATCCATCATCAAGGCAA      |         |          |        |
| <i>VRN-B1</i> 第一内含子缺失  | Intr1/BF   | CAAGTGAACGGTTAGGACA      | Vrn-B1  | 709      | 58.0   |
|                        | Intr1/B/R3 | CTCATGCCAAAAATTGAAGATGA  |         |          |        |
| <i>VRN-B1</i> 第一内含子无缺失 | Intr1/B/F  | CAAGTGAACGGTTAGGACA      | vrn-B1  | 1149     | 56.4   |
|                        | Intr1/B/R4 | CAAATGAAAAGGAATGAGAGCA   |         |          |        |
|                        |            |                          |         |          |        |
| <i>VRN-D1</i> 第一内含子缺失  | Intr1/D/F  | GTTGTCTGCCTCATCAAATCC    | Vrn-D1  | 1671     | 61.0   |
|                        | Intr1/D/R4 | GGTCACTGGTGGTCTGTGC      |         |          |        |
| <i>VRN-D1</i> 第一内含子无缺失 | Intr1/D/F  | GTTGTCTGCCTCATCAAATCC    | vrn-D1  | 997      | 61.0   |
|                        | Intr1/D/R4 | AAATGAAAAGGAACGAGAGCG    |         |          |        |

## 实验结果

### 1 *VRN-A1* 基因启动子和第一内含子片段的分析

采用引物VRN1AF和VRN1R对9个代表性品种小麦的基因组DNA进行的特异性扩增分析显示(图1): ‘辽春15’和‘新春2号’两个品种能够特异扩增到约为650和750 bp的两个片段, 推断这两个品种中 *VRN-A1* 基因的启动子区有插入变异, 基因型为 *Vrn-A1a*; 其余7个检测品种中, 均能特异扩增到约为500 bp的片段, 推断这些品种中 *VRN-A1* 基因的基因型为 *vrn-A1*。

采用引物Intr1/A/F2和Intr1/A/R3对9个代表性品种小麦进行的分析显示: 9个品种小麦都没有扩增到约1170 bp的片段。为了进一步验证 *VRN-*

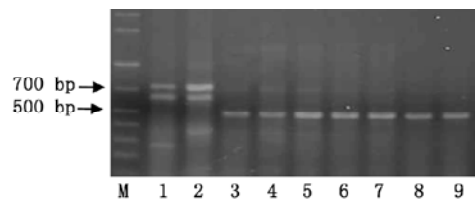


图1 *VRN-A1* 启动子区域的等位差异

Fig.1 The allelic difference in promoter region of *VRN-A1*  
1: ‘辽春15’; 2: ‘新春2号’; 3: ‘豫麦18’; 4: ‘郑麦9023’; 5: ‘周麦18’; 6: ‘豫麦49-198’; 7: ‘京841’; 8: ‘新冬18’; 9: ‘肥麦’; M: DNA marker.

*A1* 的第一内含子没有大片段的缺失, 采用Intr1/C/F和Intr1/AB/R这对引物对不同品种小麦进行分析, 预期能够产生1068 bp的片段。9个代表性品种小麦进行的分析显示: 所有材料均能特异扩增到预

期片段(图 2-a), 这进一步验证这 9 个品种小麦 *VRN1* 的第一内含子区域没有缺失, 推断这些材料中没有显性 *Vrn-A1c* 这一类型(图 2-b)。

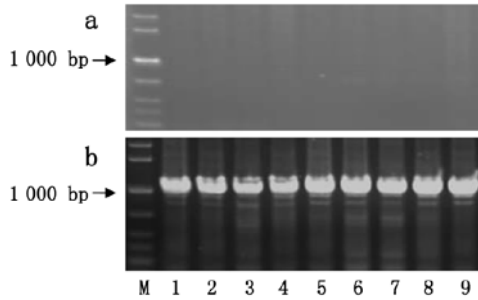


图 2 *VRN-A1* 第一内含子区域的等位差异

Fig.2 The allelic difference in the first intron region of *VRN-A1*  
a: 有大片段的缺失; b: 无大片段的缺失。1: ‘辽春 15’; 2: ‘新春 2 号’; 3: ‘豫麦 18’; 4: ‘郑麦 9023’; 5: ‘周麦 18’; 6: ‘豫麦 49-198’; 7: ‘京 841’; 8: ‘新冬 18’; 9: ‘肥麦’; M: DNA marker。

## 2 *VRN-B1* 基因第一内含子片段的缺失分析

Yan 等(2004a)认为, 在 B 和 D 基因组中, 冬性和春性小麦的 *VRN1* 基因启动子区序列无差异, 其差异在第一内含子(Fu 等 2005)。对春性品种来说, *VRN1* 基因的第一内含子区域往往有大片段的缺失, 其等位类型分别为 *Vrn-B1* 和 *Vrn-D1*。引物 Intr1/BF 和 Intr1/B/R3 即为针对 B 基因组 *VRN1* 第一内含子等位差异设计的特异性引物, 当其有大片段的缺失时, 可以扩增到 709 bp 的片段, 其基因型为 *Vrn-B1* (Fu 等 2005)。扩增分析 9 个品种小麦的基因组 DNA 特异性的结果显示, ‘辽春 15’、‘郑麦 9023’ 和 ‘新冬 18’ 有 709 bp 的扩增产物(图 3-a), 推断这 3 个品种的 *VRN-B1* 基因为显性 *Vrn-B1*, 其余为隐

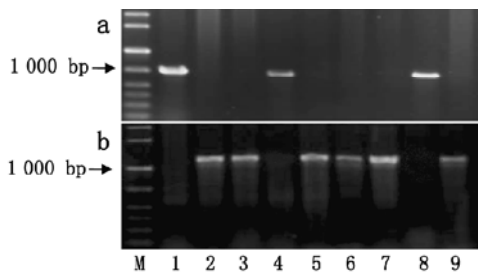


图 3 *VRN-B1* 第一内含子区域的等位差异

Fig.3 The allelic difference in the first intron region of *VRN-B1*  
a: 有大片段的缺失; b: 无大片段的缺失。1: ‘辽春 15’; 2: ‘新春 2 号’; 3: ‘豫麦 18’; 4: ‘郑麦 9023’; 5: ‘周麦 18’; 6: ‘豫麦 49-198’; 7: ‘京 841’; 8: ‘新冬 18’; 9: ‘肥麦’; M: DNA marker。

性 *vrn-B1* (表 2)。反过来也说明, 如果 *VRN-B1* 的第一内含子区域不存在大片段的缺失, 引物 Intr1/B/F 和 Intr1/B/R4 的特性扩增产物为 1149 bp。用这对特异引物对 9 个品种进行的 PCR 扩增显示, ‘新春 2 号’、‘豫麦 18’、‘周麦 18’、‘豫麦 49-198’、‘京 841’、‘肥麦’ 6 个品种都扩增到大约为 1149 bp 的片段(图 3-b), 而 ‘辽春 15’、‘郑麦 9023’ 和 ‘新冬 18’ 没有此条带。有趣的是, ‘新冬 18’ 为典型的冬性品种, 而分析结果则显示此品种的春化基因 *VRN1* 在 B 基因组中为显性(*Vrn-B1*)。

表 2 普通小麦 *VRN1* 的等位基因组成

Table 2 The allelic composition of vernalization gene *VRN1* in common wheat

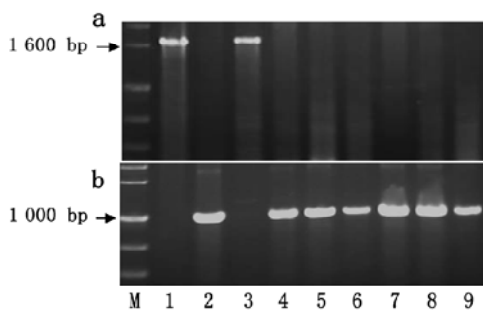
| 品种          | 基因组成                      | 春化发育特性 |
|-------------|---------------------------|--------|
| ‘辽春 15’     | <i>Vrn-A1Vrn-B1Vrn-D1</i> | 强春性    |
| ‘新春 2 号’    | <i>Vrn-A1vrn-B1vrn-D1</i> | 春性     |
| ‘豫麦 18’     | <i>vrn-A1vrn-B1Vrn-D1</i> | 弱春性    |
| ‘郑麦 9023’   | <i>vrn-A1Vrn-B1vrn-D1</i> | 弱春性    |
| ‘周麦 18’     | <i>vrn-A1vrn-B1vrn-D1</i> | 半冬性    |
| ‘豫麦 49-198’ | <i>vrn-A1vrn-B1vrn-D1</i> | 半冬性    |
| ‘京 841’     | <i>vrn-A1vrn-B1vrn-D1</i> | 冬性     |
| ‘新冬 18’     | <i>vrn-A1Vrn-B1vrn-D1</i> | 冬性     |
| ‘肥麦’        | <i>vrn-A1vrn-B1vrn-D1</i> | 强冬性    |

为了进一步分析该品种中对应序列的特性, 将来源于 ‘辽春 15’、‘郑麦 9023’ 和 ‘新冬 18’ 的扩增产物进行回收, 并连接到 pBS-T 载体中进行测序的结果显示, ‘新冬 18’ 基因组中, 第一内含子区域确实存在缺失, 与 ‘辽春 15’ 和 ‘郑麦 9023’ 相比, 该区域 3 个序列的同源性达 99.9%, 3 个序列之间只有 2 个位点有差异(图 4)。

## 3 *VRN-D1* 基因第一内含子片段的缺失分析

在以引物 Intr1/D/F 和 Intr1/D/R3 为针对 D 基因组 *VRN1* 基因第一内含子等位差异设计中, 当特异扩增产物是 1670 bp 时, 说明 *VRN-D1* 的第一内含子区域有大片段的缺失, 基因型是 *Vrn-D1*。当 *VRN-D1* 的第一内含子区域没有大片段的缺失时, Intr1/D/F 和 Intr1/D/R4 作为隐性的特异引物标记, 可以特性产生 997 bp 的产物(Fu 等 2005)。用 Intr1/D/F 和 Intr1/D/R3 对 9 个代表性品种小麦进行分析的结果显示: ‘辽春 15’ 和 ‘豫麦 18’ 有 1670 bp 的片段(图 5-a), 其余没有此片段; 引物 Intr1/D/F 和

|          |                                                                                  |     |
|----------|----------------------------------------------------------------------------------|-----|
| ‘辽春15’   | CAAGTGGAAACGGTTAGGACAGTAATCTCTTGATATTTTTATCTGGCTGGGGATATTTACGTAAAAAAATATATGGGGTT | 80  |
| ‘郑麦9023’ | -----                                                                            | 80  |
| ‘新冬18’   | -----                                                                            | 80  |
| ‘辽春15’   | AAAGTGACATCGCAATTTAGCATGCTACCTCATCTTCTCATTAGAATCTTACTAGACGCTACAATACCTTGTGTCTGG   | 160 |
| ‘郑麦9023’ | -----                                                                            | 160 |
| ‘新冬18’   | -----                                                                            | 160 |
| ‘辽春15’   | CTCATCAAATCTGTGCTTGTGCTTGAACAAATGAACCTCGTCATCTCGGTTATTTCCAGAATTTGTTCCACAGGCTTT   | 240 |
| ‘郑麦9023’ | -----                                                                            | 240 |
| ‘新冬18’   | -----                                                                            | 240 |
| ‘辽春15’   | CCTATCATTGCTATTGCTAGTCCGGC ATGCGGCCATTTTGTGCTCCGGCCAGACTACCCACATTAGTGCCTCCCG     | 320 |
| ‘郑麦9023’ | -----                                                                            | 320 |
| ‘新冬18’   | -----                                                                            | 320 |
| ‘辽春15’   | CCTCCCAAGTGCCCTCCCTAGTGGTGTCTGGGGGGCCCTGTAAGGCGCGGTACCCCTGCTCTCTCGCTTCAATCCTAT   | 400 |
| ‘郑麦9023’ | -----                                                                            | 400 |
| ‘新冬18’   | -----                                                                            | 400 |
| ‘辽春15’   | GTTGACGCCTTTTATTCCAATCTCACATGCTCCAATCGAAGGGGAGCCTTGGCGCAGTGGTAAAGTGTGCCTTGTG     | 480 |
| ‘郑麦9023’ | -----                                                                            | 480 |
| ‘新冬18’   | -----                                                                            | 480 |
| ‘辽春15’   | ACCATGAGGTCACGGGTTCAAGTCTGGAACAGCCTCTTACAGAAATGTAGGG AAGGCTGCGTACTATAGACCCAAAG   | 560 |
| ‘郑麦9023’ | -----                                                                            | 559 |
| ‘新冬18’   | -----                                                                            | 560 |
| ‘辽春15’   | TGGTCCGACCCCTCCCCGACCTGCGCAAGCGGGAGCTACATCCACCACCCCTTGTGTTTCATGGCGCATCCGGGGGA    | 640 |
| ‘郑麦9023’ | -----                                                                            | 639 |
| ‘新冬18’   | -----                                                                            | 640 |
| ‘辽春15’   | GCTCTCTCTCATCTTCAATTTTGGCATGAG                                                   | 673 |
| ‘郑麦9023’ | -----                                                                            | 672 |
| ‘新冬18’   | -----                                                                            | 673 |

图4 三个小麦品种中 *VRN-B1* 第一内含子部分序列比对Fig.4 The alignment of partial sequences in the first intron of *VRN-B1* in three wheat cultivars图5 *VRN-D1* 第一内含子区域的等位差异Fig.5 The allelic difference in the first intron region of *VRN-D1*

a: 有大片段的缺失; b: 无大片段的缺失。1: ‘辽春15’; 2: ‘新春2号’; 3: ‘豫麦18’; 4: ‘郑麦9023’; 5: ‘周麦18’; 6: ‘豫麦49-198’; 7: ‘京841’; 8: ‘新冬18’; 9: ‘肥麦’; M: DNA marker。

Intr1/D/R4 的特异扩增结果显示: ‘新春2号’、‘郑麦9023’、‘周麦18’、‘豫麦49-198’、‘京841’、‘新冬18’和‘肥麦’均有近1000 bp的片段(图5-b),

而‘辽春15’和‘豫麦18’则没有此条带,由此推断‘辽春15’和‘豫麦18’基因型为显性 *Vrn-D1*, 其余的为隐性 *vrn-D1*。

此外,为了进一步分析这一品种中对应序列的特性,将来源于‘辽春15’和‘豫麦18’扩增产物进行了回收,并连接到pBS-T载体中进行了测序的结果显示,这两条序列的同源性达99.52%,有8个位点的差异(图6)。

## 讨 论

一般来说,中国小麦分布在10个不同的生态区域,不同麦区种植的小麦品种都有各自特定的春化发育特性,其春化基因 *VRN1* 的显隐性组成是决定特定发育特性的主要内因。从本文结果来看(表2),品种‘辽春15’是强春性的,其春麦特性表现最为突出,其 *VRN-1* 基因的3个位点均为显性,很适

|        |                                                                                   |       |
|--------|-----------------------------------------------------------------------------------|-------|
| ‘辽春15’ | GTTGTCTGCCTCATCAAAATCCGTGCTTGTGCTTGAACAAATGAACCTCGTCATCTCGGTTATTTCCAGGATTTTGTTC   | 80    |
| ‘豫麦18’ | -----                                                                             | 80    |
| ‘辽春15’ | ACAGGCTTTGCTATCATTGGAATTGCTAGCTCCGCCTAGGCACCATCTTTCCGCCTTAGGCAAATGAAGACGCCTTACA   | 160   |
| ‘豫麦18’ | -----                                                                             | 160   |
| ‘辽春15’ | CAGGCTAGGCGTTCAGGCGGAAACAGAGCTTTGGGTGGGAAGAAAAGGGCGGAAACCGAGTCTGGGCGCCAACAGTTA    | 240   |
| ‘豫麦18’ | -----                                                                             | 240   |
| ‘辽春15’ | CTAGCAGGGGAGAGAGAGCTCTAACAGTTTCTGTTTTCCACTCCACCTCTGGTTGTTGGATCTGAGCTTCTCCCC       | 320   |
| ‘豫麦18’ | -----                                                                             | 320   |
| ‘辽春15’ | TCCTCTCCGACAGATCCTTCTCTCCACGGTTTCTCTTCCAGGACAGTAGACAGCAGCAAGCAACCAACCTCTCCT       | 400   |
| ‘豫麦18’ | -----                                                                             | 400   |
| ‘辽春15’ | GTAGTTGCCTACCAGATTCTACTCAATTCTACTTCTAGAACTCTCTAAGGCATCACCTTGCCTAATGCCTTAGCGCTTA   | 480   |
| ‘豫麦18’ | -----                                                                             | 480   |
| ‘辽春15’ | GGCAGTGAGGCACCCCTCCCCAGCGCTTGCCTCGCCTTACCACCTTTAAAACATTGCCCTACACCTGCATAGGAGTGC    | 560   |
| ‘豫麦18’ | -----                                                                             | 560   |
| ‘辽春15’ | GAACAACATAGAGAAGTACGTTCAAGGTGGCAAAGAAGGCCCAACCGCAGCAGTGAGTGAATCATGGGATCGGGCATAT   | 640   |
| ‘豫麦18’ | -----                                                                             | 639   |
| ‘辽春15’ | GAGGACCTCTACCAGCGCTGAGGGTTCGGGAAGGAAGGCCAAGGGACATCTATGAGACGGCCAAGATCTGAGGGAAGAA   | 720   |
| ‘豫麦18’ | -----                                                                             | 719   |
| ‘辽春15’ | GACGAGGGATGTCAAACAAGTCAAAATGCATCAAGGATAGAGCAGATCAACTCCTAGTGAAGGACAAGGAGTTCAAGCATA | 800   |
| ‘豫麦18’ | -----                                                                             | 799   |
| ‘辽春15’ | GATGGCGGGAGTACTCCGACAAGCTATTCAATGGAGAGAATGAGAGCTCTAGCATTGAGCTCTACGACTCCTTTGATGAT  | 880   |
| ‘豫麦18’ | -----                                                                             | 879   |
| ‘辽春15’ | GCCCCGAGACATTGTATGTGATGAATCTAGGATGTTGTGTGGCCACCCAAGAAAGGATAGAGTCTGAAATGATGATATA   | 960   |
| ‘豫麦18’ | -----                                                                             | 959   |
| ‘辽春15’ | CATGTAGAGTTGGGTAGCATCGATTGAAGGGAAGCTTGTGCAACGCTCTAAGATGGCTTGGATATATACAAAGTAGGCCT  | 1 040 |
| ‘豫麦18’ | -----                                                                             | 1 039 |
| ‘辽春15’ | CTAGAAACTTTGTCATAGCAGACAGTTAAAACATGCTAATGATGTAACAGAGGTTGGTGTAGTCCAAACTTGACATGG    | 1 120 |
| ‘豫麦18’ | -----                                                                             | 1 119 |
| ‘辽春15’ | GAGGAGTCCCTAAAGAGAGATCGGAAGACTGAAGTATCACAAAGAAGTGTGATGGACAGGGTGCATGGAAGTTAGCTA    | 1 200 |
| ‘豫麦18’ | -----                                                                             | 1 199 |
| ‘辽春15’ | TCCACACGCCAAAACCATAGTTGGTTTCGAGATTACGGGTTTCAGCTCTACCTACCCAACTTATTTGGGACTAAAG      | 1 280 |
| ‘豫麦18’ | -----                                                                             | 1 278 |
| ‘辽春15’ | GCTTGTGTGTGTGTGTATCTCTGCTTGGTCTTAGCAATTTAACATGTGCATGTTTTTCTTGAAGGCAAAATTTG        | 1 360 |
| ‘豫麦18’ | -----                                                                             | 1 358 |
| ‘辽春15’ | AATGCCAAGTTTCCCTGAAGTTGTACATTGTACAAATTAAGTGTCTACAAATGATGTCCTTACTCCATGGCACATCAGT   | 1 440 |
| ‘豫麦18’ | -----                                                                             | 1 438 |
| ‘辽春15’ | TTTCCCGTCGTATGATGATGCAACAATGAGGCTTTCATGGCTCCTGTCGCATATCTTTTTAGCTCGCTCCATACACGA    | 1 520 |
| ‘豫麦18’ | -----                                                                             | 1 518 |
| ‘辽春15’ | TCTTGTGGCTCCATATTTGGAGGTTCCGGAGGTTCCAGTATGGAGCTCGCCCCAAAACCAACCGCCAACGTTGGGTGAA   | 1 600 |
| ‘豫麦18’ | -----                                                                             | 1 598 |
| ‘辽春15’ | GTTTTAAGCTTCTTCTGCCGCTCCCGTCGGATTTGAAGCAGCTCGGCCTCGCACAGACCACAGTGACC              | 1 671 |
| ‘豫麦18’ | -----                                                                             | 1 669 |

图6 两个小麦品种中 *VRN-D1* 第一内含子部分序列比对Fig.6 The alignment of partial sequences in the first intron of *VRN-D1* in two wheat cultivars

用于东北春麦区; 春性小麦‘新春2号’的春性次于‘辽春15’, 其春性由 *Vrn-A1* 决定, 在 B 基因组和 D 基因组上为隐性; ‘豫麦18’和‘郑麦9023’为黄淮麦区的主栽品种, 为弱春性, 分别由显性基因 *Vrn-*

*D1* 和 *Vrn-B1* 决定。‘豫麦49-198’、‘京841’和‘肥麦’的 *VRN-1* 在 A、B、D 基因组全部为隐性, 从这3个品种的基因组成来说, 属于冬性品系小麦, 但‘豫麦49-198’的发育特性是半冬性, 说明其发育

特性的遗传控制可能还有促使其早花的相关基因参与; ‘新冬 18’ 为冬性小麦, 分布于新疆地区, 但是用序列特异性扩增分析表明, 此品种的 *VRN-1* 在 B 基因组中的基因型为显性位点(*Vrn-B1*)。

植物春化发育过程涉及到多个与春化相关基因的表达调控和相互作用(李昱等 2007)。Dubcovsky 等(2006)和 Yan 等(2004a)认为, 小麦 *VRN1* 的第一内含子区域或启动子区是控制春化特性的调控区域, 是开花抑制子的识别位点。 *VRN2* 是一个开花抑制因子, 编码一个含锌指结构域的蛋白, 定位于 5A 染色体的上游, 其主要的功能是抑制 *VRN1* 的表达(Yan 等 2004b)。在 *VRN1* 及其他春化基因的作用模式研究中, 初步推断开花抑制子(例如 *VRN2*)可以直接或间接地作用于这些区域抑制开花(Yan 等 2004b)。春性小麦由于这些区域发生了突变, 其识别位点受到破坏, 故抑制因子的抑制作用不能发挥; 而冬性小麦在不进行春化时, 由于具备识别位点, 因而开花推迟。 *VRN1* 能以春化处理方法诱导表达, 而 *VRN2* 则可受春化处理和被短日照所抑制, 低温春化后, *VRN2* 的抑制作用被解除, 而 *VRN1* 则可受诱导表达而促进开花(Yan 等 2004b)。由于显性 *Vrn-A1*、 *Vrn-B1* 和 *Vrn-D1* 对低温春化的敏感性不同, 常表现为 *Vrn-A1*>*Vrn-B1*>*Vrn-D1* 的趋势, 携带不同显性 *VRN1* 基因的小麦对低温春化的要求是不同的(Loukoianov 等 2005)。本文结果表明, 在 9 个品种小麦中, 除了 ‘新冬 18’ 以外, 其余品种的 *VRN1* 基因显隐性组成特性与其对应的春化发育特性基本上是符合的。而在冬性小麦品种 ‘新冬 18’ 中, 在 B 基因组中 *VRN-1* 的第一内含子区域有大片段缺失, 基因型为春性的显性位点(*Vrn-B1*), 这与其实地春化发育特性不一致。可见, 在小麦春化发育的分子调控网络中还存在其他的尚不知道的成员和复杂的调控机制, 所以小麦春化基因的组成及调控机制尚待进一步研究。

### 参考文献

李昱, 罗志鹏, 赵淑清(2007). 拟南芥开花时间调控的整合途径. 植物生理学通讯, 43 (5): 799~804  
 汤青林, 王小佳, 宋明, 李成琼, 张洪(2007). 与拟南芥春化作用相关的基因及其春化记忆模型. 植物生理学通讯, 43 (5): 805~810

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  
 Barrett B, Bayram M, Kidwell K (2002). Identifying AFLP and microsatellite markers for vernalization response gene *Vrn-B1* in hexaploid wheat using reciprocal mapping populations. *Plant Breed*, 121: 400~406  
 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: 469~480  
 Fu D, Szucs P, Yan L, Helguera M, Skinner JS, Zitzewitz JV, 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 Genet Genomics*, 273: 54~65  
 Iwaki K, Nishida J, Yanagisawa T, Yoshida H, Kato K (2002). Genetic analysis of *Vrn-B1* for vernalization requirement by using linked dCAPS markers in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet*, 104: 571~576  
 Law CN, Worland AJ, Giorgi B (1976). The genetic control of ear emergence time by chromosomes 5A and 5D of wheat. *Heredity*, 36: 49~58  
 Loukoianov A, Yan L, Blech A, Sanchez A, Dubcovsky J (2005). Regulation of *VRN-1* vernalization genes in normal and transgenic polyploid wheat. *Plant Physiol*, 138: 2364~2373  
 McIntosh RA, Yamazaki Y, Devos KM, Dubcovsky J, Rogers WJ, Appels R (2003). Catalogue of gene symbols for wheat. In: Pogna NE, Romano M, Pogna E, Galterio G (eds). Proceedings of the 10th International Wheat Genetics Symposium. Instituto Sperimentale per la Cerealicoltura, Rome, 4: 1~34  
 Nelson JC, Sorrells ME, Van Deynze AE, Lu YH, Atkinson M, Bernard M, Leroy P, Faris JD, Anderson JA (1995). Molecular mapping of wheat: major genes and rearrangements in homoeologous groups 4, 5, and 7. *Genetics*, 141: 721~731  
 Pugsley AT (1971). A genetic analysis of the spring-winter habit of growth in wheat. *Aust J Agr Res*, 22: 21~31  
 Trevakis B, Bagnall DJ, Ellis MH, Peacock WJ, Dennis ES (2003). MADS box genes control vernalization-induced flowering in cereals. *Proc Nat Acad Sci USA*, 100 (22): 13099~13104  
 Yan L, Helguera M, Kato K, Fukuyama S, Sherman J, Dubcovsky J (2004a). Allelic variation at the *VRN-1* promoter region in polyploid wheat. *Theor Appl Genet*, 109: 1677~1686  
 Yan L, Loukoianov A, Blechl A, Tranquilli G, Ramakrishna W, SanMiguel P, Bennetzen JL, Echenique V, Dubcovsky J (2004b). The wheat *VRN2* gene is a flowering repressor down-regulated by vernalization. *Science*, 303: 1640~1644  
 Yan L, Loukoianov A, Tranquilli G, Helguera M, Fahima T, Dubcovsky J (2003). Positional cloning of the wheat vernalization gene *VRN1*. *Proc Nat Acad Sci USA*, 100 (10): 6263~6268