

小麦新品系抗穗发芽特性研究

杨丽娟, 盛 坤, 董 昀, 王映红, 蒋志凯

(河南省新乡市农业科学院, 河南 新乡 453000)

摘要:为了筛选抗穗发芽品系,利用 *Vp-I* 基因的 STS 标记 *VpIB3* 检测了来自河南省新乡市的新麦系列小麦新品系 112 个,并于收获期进行了室内整穗发芽试验,结果表明,112 个小麦品系中 *Vp-1Ba* (感穗发芽)、*Vp-1Bb* (抗穗发芽)和 *Vp-1Bc* (抗穗发芽)基因型的频率分别为 60.71%、0.89% 和 38.39%,以 *Vp-1Ba* 基因型为主。*Vp-1Ba* 基因型品系穗发芽率(24.42%)极显著高于 *Vp-1Bc* 基因型品系(16.55%)。同一亲本组合选育出的品系的穗发芽率有很大差异,但 *Vp-I* 基因类型基本一致。同一 *Vp-I* 类型品系间的穗发芽率有很大差异,故在使用 *VpIB3* 标记时需要与整穗发芽法结合使用。

关键词:小麦;穗发芽;*Vp-I* 基因;*VpIB3* 标记

中图分类号:S512.01 文献标识码:A 文章编号:1000-7091(2015)04-0145-05

doi:10.7668/hbxb.2015.04.025

Allelic Variation of *Vp-I* Gene in New Wheat Lines

YANG Li-juan, SHENG Kun, DONG Yun, WANG Ying-hong, JIANG Zhi-kai

(Xinxiang Academy of Agricultural Sciences, Xinxiang 453000, China)

Abstract: In order to get wheat cultivars with resistance to pre-harvest sprouting (PHS) and provide theory evidence for anti-PHS breeding in Xinxiang region, a functional marker *VpIB3* was used to investigate 112 wheat cultivars bred by Xinxiang Academy of Agricultural Sciences. Germination percentages on ear of those cultivars were counted indoor at the same time. The results's indicated that the frequencies of cultivars with the genotype *Vp-1Ba* (susceptible to PHS), *Vp-1Bb* (resistant to PHS) and *Vp-1Bc* (resistant to PHS) were 60.71%, 0.89% and 38.39%, respectively. The genotype *Vp-1Ba* was the major genotype in those wheat cultivars. The germination percentages of cultivars with genotype *Vp-1Ba* (24.42%) and genotype *Vp-1Bc* (16.55%) was remarkable different. The germination percentages among cultivars from the same parental cross varied greatly, but genotypes of *Vp-I* were almost identical among cultivars from the same parental cross. Pre-harvest sprouting rate of cultivars with the same *Vp-I* genotype also varied greatly, therefore the application of *VpIB3* marker should be combined with the test of germination on ear.

Key words: Wheat; Pre-harvest sprouting; *Vp-I* gene; *VpIB3* marker

穗发芽是指小麦在收获前遇到阴雨或潮湿环境下的穗上发芽。穗发芽可引起籽粒内部发生一系列的生化反应,特别是一些碳水化合物降解酶、蛋白水解酶等酶活性升高,降解胚和胚乳中的贮藏物质,严重影响小麦产量和加工品质^[1]。全球小麦主产区均受穗发芽危害,因此,选育抗穗发芽品种是目前我国乃至世界小麦育种中亟待解决的关键问题之一。

小麦穗发芽是受多基因控制的性状,品种的形态特征及生理生化性状如种子休眠特性、种皮颜色、

α -淀粉酶活性、颖壳抑制物、穗部结构等,均对穗发芽有明显作用。不同小麦品种具有不同的穗发芽抗性机制^[2-6]。小麦穗发芽的鉴定方法有种子发芽、整穗发芽和 α -淀粉酶活性测定等。随着分子标记技术的迅速发展,目前已经开发出一些与穗发芽抗性相关的分子标记。鉴定和应用与穗发芽抗性相关的分子标记可以加速抗穗发芽品种的选育。Yang 等^[7]利用普通小麦 *VpI* 基因的保守序列设计了引物,根据 *VpI* 基因在穗发芽抗性与敏感性材料之间

收稿日期:2015-04-23

基金项目:现代农业产业技术体系建设专项(CARS-3-2-35);生物育种能力建设与产业化专项(发改办高技[2012]607号)

作者简介:杨丽娟(1983-),女,河南新郑人,助理研究员,硕士,主要从事小麦遗传育种研究。

通讯作者:蒋志凯(1966-),男,河南辉县人,研究员,主要从事小麦遗传育种研究。

的差异设计了1个与穗发芽抗性相关的 STS 共显性标记 *Vp1B3*。经过验证发现, *Vp1B3* 标记更能有效地用于筛选穗发芽抗性品种^[8-9]。目前,分子标记辅助选择在小麦抗穗发芽育种中多用于在已有品种中筛选抗穗发芽基因资源,而直接用于品系鉴定的鲜有报道。因此,本研究收集河南省新乡市农业科学院育成系系共计 112 个,利用功能标记 *Vp1B3* 检测其 3B 染色体上 *VP-1* 基因的等位变异,以期深入了解新乡小麦品系中等位基因 *Vp-1Ba*、*Vp-1Bb* 和 *Vp-1Bc* 的分布特点,筛选出表现型和基因型同时表现出抗穗发芽特性的品系,为抗穗发芽品系的审定和推广应用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

参试材料共 112 份,这些材料包括了河南省新乡市农业科学院参加 2013 年国家小麦品种区域试验、河南省小麦品种预备试验的大部分品系。

1.2 基因组 DNA 提取

每品系收获晒干后选 2 粒有代表性的种子,用锤子砸碎后放入 1.5 mL 离心管中,用 CTAB 法从种子中提取基因组总 DNA^[10]。

1.3 PCR 扩增及琼脂糖凝胶电泳检测

利用杨燕等^[9]开发的 STS 共显性标记 *Vp1B3* 检测小麦品种 *Vp-1* 基因等位变异情况。*Vp1B3*-F 序列为 5'-TGCTCCTTTCCCAATTGG-3', *Vp1B3*-R 序列为 5'-ACCCTCCTGCAGCTCATTG-3'。PCR 反应体系 20 μ L: 20 mmol/L Tris-HCl (pH 值 8.4), 20 mmol/L KCl, 200 μ mol/L dNTPs, 1.5 mmol/L MgCl₂, 上、下游引物各 8 pmol, *Taq* DNA 聚合酶 1 U, 模板 DNA 50 ng。PCR 反应程序: 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 1 min, 61 $^{\circ}$ C 退火 1 min, 72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min, 35 个循环; 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min, 10 $^{\circ}$ C 保存。将 PCR 扩

增产物在 2.0% 的琼脂糖凝胶上进行电泳分离检测。

1.4 穗发芽指数测定

整穗发芽: 小麦完熟期取 5 个大小一致的主茎穗,捆成一束,1% 漂白粉溶液消毒 10 min 后用蒸馏水洗净,在水中浸泡 10 min 后垂直插入湿润的沙子中,每天 3 次定时用喷雾器喷水直至有水珠滴下,5 d 后统计每穗发芽率。每个品系 2 个重复。

1.5 数据处理

利用 Excel、SPSS 20 软件进行数据统计分析。

2 结果与分析

2.1 新麦系列小麦品系中 *Vp-1* 基因等位变异分布

利用 STS 标记 *Vp1B3* 检测新乡市农业科学院小麦品系 *Vp-1* 基因的等位变异情况,在 112 个品系中分别扩增出 652, 845, 569 bp 3 种多态性片段(图 1)。

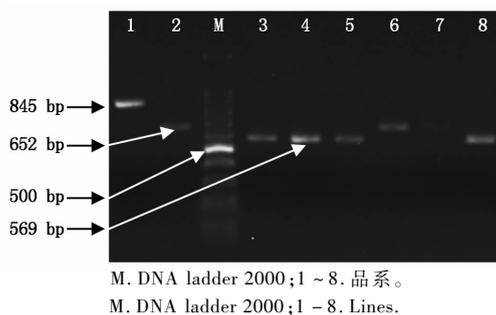


图 1 部分小麦品系的 *Vp1B3* 标记 PCR 扩增结果

Fig. 1 PCR amplification with *Vp1B3* marker in several wheat lines

从表 1 可以看出,68 个品系扩增出 652 bp 条带,属于 *Vp-1Ba* 基因型,为感穗发芽类型;仅有 1 个品系扩增出 845 bp 条带,属于 *Vp-1Bb* 基因型,为抗穗发芽类型;43 个品系扩增出 569 bp 条带,属于 *Vp-1Bc* 基因型,为抗穗发芽类型,3 种基因型出现的频率分别为 60.71%, 0.89%, 38.39%, 以感穗发芽类型出现的频率居多。

表 1 新麦系列小麦品系中 *Vp-1* 基因等位变异分布情况及穗发芽率

Tab. 1 Distribution of allelic variations at *Vp-1* locus in wheat lines from Xinxiang

基因型 Genotype	<i>Vp1B3</i> 标记产物条带大小/bp Band size of PCR amplification with <i>Vp1B3</i>	穗发芽类型 Type of sprouting	品系数/个 Amount of lines	频率/% Frequency	穗发芽率/% Pre-harvest sprouting rate
<i>Vp-1Ba</i>	652	感	68	60.71	24.42A
<i>Vp-1Bb</i>	845	抗	1	0.89	29.00
<i>Vp-1Bc</i>	569	抗	43	38.39	16.55B

注:不同大写字母表示差异达 1% 水平。

Note: Different big letter in the same column mean significant at 1% level.

2.2 新麦系列小麦品系 *Vp1B3* 标记扩增结果与表现型的相关性

从表 1 可以看出, *Vp-1Ba* 基因型的 68 个品系

平均穗发芽率为 24.42%, 经差异显著性检验,其极显著高于 *Vp-1Bc* 基因型的 43 个品系的平均穗发芽率。从表 2 可以看出,112 个小麦品系的穗发芽率

变幅为 1.09% ~ 81.35%, 穗发芽率低于 10% 的品系有 31 份, 其中 *Vp-1Bc* 基因型的 18 份, 占 58.06%, 其余的为 *Vp-1Ba* 基因型; 79, 75, 63, 35, 76, 87, 111, 104, 61 这 9 个品系穗发芽率不足 2%, 穗发芽抗性最强, 多数为 *Vp-1Bc* 基因型; 穗发芽率为 10% ~ 20% 的品系有 27 份, 其中 *Vp-1Ba* 基因型的 17 份, 占 62.96%; 穗发芽率为 20% ~ 30% 的品系有 22 份, 其中 *Vp-1Ba* 基因型的 15 份, 占 68.18%, *Vp-1Bb* 基因型的 1 份, 其余的为 *Vp-1Bc* 基

因型; 穗发芽率为 30% ~ 40% 的品系有 17 份, 其中 *Vp-1Ba* 基因型的 12 份, 占 70.59%; 穗发芽率为 40% ~ 50% 的品系有 10 份, 其中 *Vp-1Ba* 基因型 6 份; 穗发芽率高于 50% 的品系 5 份, 全部为 *Vp-1Ba* 基因型, 抗穗发芽能力最差。从图 2 可以看出, 以穗发芽率 10% 的梯度将 112 个品系进行分组, 随着穗发芽率的升高, *Vp-1Ba* 基因型所占比例增高, *Vp-1Bc* 基因型频率降低。

表 2 新麦系列小麦品系亲本组合、穗发芽率及基因型

Tab.2 Pre-harvest sprouting rate and parental varieties and the genotypes of wheat lines from Xinxiang

品系代号 Lines No.	亲本组合 Parents	穗发芽率/% Pre-harvest sprouting rate	基因型 Genotype	品系代号 Lines No.	亲本组合 Parents	穗发芽率/% Pre-harvest sprouting rate	基因型 Genotype
112	华培 6 号/周麦 22	81.35	a	20	洛麦 21/周麦 22	19.15	a
81	郑麦 366/藁优 9415	68.91	a	5	邯 6172//周麦 18/矮抗 58	18.96	a
15	周麦 22/04 中 70	58.11	a	99	新麦 16/周麦 16	18.88	c
48	周麦 22/04 中 70	56.02	a	57	洛麦 21/矮抗 58	18.39	a
14	周麦 22/04 中 70	50.98	a	68	偃展 4110/宿 9908//矮抗 58	17.74	c
34	新麦 18/周麦 19	48.70	a	45	010137/矮抗 58	17.22	a
38	周 9823/矮抗 58	47.83	a	37	周麦 9823/矮抗 58	16.99	a
6	周麦 18/矮抗 58	46.02	a	88	010137.17.2.1/周麦 18	16.63	c
85	郑麦 9023/矮抗 58//周麦 18	45.33	c	86	新麦 16//00 中 13/矮抗 58	16.43	c
102	新麦 16/周麦 16	43.53	c	59	周麦 22/新麦 16	15.58	c
1	邯 6172/矮抗 58	43.50	a	7	新麦 20/矮抗 58	15.52	a
84	郑麦 9023/矮抗 58//周麦 18	42.74	c	51	新麦 0208/济麦 20	15.28	a
2	矮抗 58/周麦 16//洛麦 21	41.89	c	69	漯麦 9908/周麦 18	14.41	a
91	010137/矮抗 58	41.47	a	28	新麦 18/周麦 22	14.31	a
26	濮麦 9 号/周麦 22	40.67	a	77	(偃展 4110/新 9518 早) F4 //周麦 18	14.01	c
12	新麦 18/矮抗 58	39.88	a	10	新麦 16/周麦 16	13.95	c
55	矮抗 58/周麦 16//洛麦 21	39.69	c	108	周麦 18/矮抗 58	13.24	a
72	新 9408E1/04 中 70	39.49	a	44	新麦 16/矮抗 58	12.87	a
109	周麦 18/矮抗 58	38.78	a	67	周麦 12/矮抗 58	12.53	a
47	010137/周麦 22	37.44	a	98	新麦 16/矮抗 58	11.83	c
19	洛麦 21/周麦 22	36.84	a	13	周麦 22/04 中 70	11.76	a
24	新麦 9 号/周麦 22	36.01	a	30	周麦 9823/洛麦 21//矮抗 58	11.56	a
16	周麦 22/04 中 70	34.69	a	82	新麦 9817//周麦 18/矮抗 58	11.40	c
8	新麦 16/周麦 16	34.57	c	100	新麦 16/周麦 16	10.56	c
9	新麦 16/周麦 16	32.70	c	49	周麦 22/04 中 70	10.29	a
32	新麦 18/矮抗 58	32.46	a	92	010137/矮抗 58	9.59	a
23	矮抗 58/周麦 22	32.38	a	31	新麦 18/矮抗 58	9.32	a
33	新麦 18/矮抗 58	31.83	a	106	新麦 16/周麦 16	8.17	c
89	010137.17.2.1/周麦 18	31.11	c	83	偃展 4110/新麦 11//郑麦 366/新麦 16	7.64	c
73	泛麦 5 号/周麦 98165	30.66	a	29	新麦 19/西农 979	7.06	c
54	矮抗 58/周麦 16//洛麦 21	30.50	c	80	新麦 16/矮抗 58	6.75	c
25	濮麦 9 号/周麦 22	30.10	a	22	矮抗 58/周麦 22	6.56	a
95	02025.22-1/矮抗 58	29.37	a	41	新麦 11/矮抗 58	6.54	c
107	周麦 18/矮抗 58	29.36	a	62	邯 6172//周麦 18/矮抗 58	6.23	a
70	漯麦 9908/周麦 18	29.06	a	105	新麦 16/周麦 16	5.98	c
39	周麦 9823/矮抗 58	29.04	a	101	新麦 16/周麦 16	5.61	c
53	矮抗 58/周麦 16//洛麦 21	29.04	c	66	周麦 12/矮抗 58	5.52	a

续表 2:

品系代号 Lines No.	亲本组合 Parents	穗发芽率/% Pre-harvest sprouting rate	基因型 Genotype	品系代号 LinesNo.	亲本组合 Parents	穗发芽率/% Pre-harvest sprouting rate	基因型 Genotype
50	新麦 0208/济麦 20	29.00	b	43	新麦 16/矮抗 58	5.04	a
27	新麦 18/周麦 22	28.96	a	96	06017.5.1	4.94	c
60	新麦 20/矮抗 58	28.45	c	65	内乡 188/矮抗 58	4.50	a
74	(偃展 4110/新 9518 早)F4//矮抗 58	28.32	a	42	濮麦 9 号/矮抗 58	4.45	a
90	010137.17.2.1/周麦 18	28.30	c	97	新麦 16/矮抗 58	4.36	c
46	010137/矮抗 58	27.52	a	103	新麦 16/周麦 16	4.34	c
94	02025.22-1/矮抗 58	27.05	a	64	内乡 188/矮抗 58	3.27	a
36	周麦 9823/矮抗 58	25.61	a	56	洛麦 21/矮抗 58	2.56	a
18	洛麦 21/周麦 22	25.50	a	71	新 9408E1/安 0240	2.40	c
93	周麦 11/矮抗 58	24.37	a	58	矮抗 58/荔高 6 号	2.35	c
3	9817.0.21.3.4/皖 9908//矮抗 58	22.71	a	35	新麦 19/矮抗 58	1.75	c
78	(9408E1/白硬冬 2 号)F4//周麦 18	21.05	a	76	(偃展 4110/新 9518 早)F4//周麦 18	1.73	c
17	洛麦 21/矮抗 58	20.96	a	87	豫麦 34/兰考矮早 8//04063.0.48	1.63	c
11	04057/新麦 16	20.52	c	79	郑麦 366/西农 979	1.60	a
4	2012 代 31 矮抗 58/开麦 18	20.47	a	111	新麦 11/周麦 18	1.55	c
52	矮抗 58/周麦 16//洛麦 21	20.43	c	104	新麦 16/周麦 16	1.51	c
21	洛麦 21/周麦 22	20.08	c	61	矮抗 58/新麦 9 号	1.44	c
110	华培 6 号/矮抗 58	19.21	a	75	(偃展 4110/新 9518 早)F4//矮抗 58	1.34	a
40	周麦 9823/矮抗 58	19.20	a	63	邯 6172//周麦 18/矮抗 58	1.09	a

注:a,b,c 分别代表 *Vp-1Ba*、*Vp-1Bb*、*Vp-1Bc* 基因型。

Note:The letter a,b and c stand for *Vp-1Ba*,*Vp-1Bb* and *Vp-1Bc* genotypes especially.

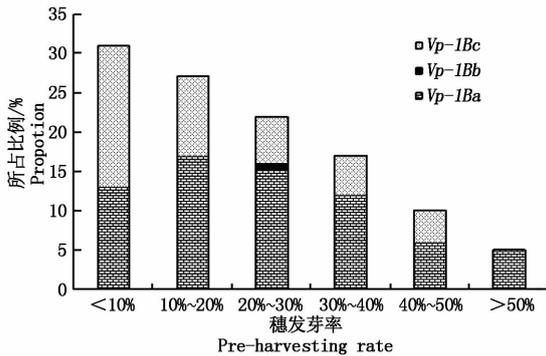


图 2 新麦系列小麦品系穗发芽率及 3 种 *Vp-1* 基因型频率

Fig.2 Pre-harvesting rate and frequencies of three kinds of *Vp-1* genotypes of wheat lines from Xinxiang

2.3 小麦不同亲本组合对后代穗发芽抗性的影响

由表 2 可知,测试的 112 个新麦品系来自 56 个组合,1 个组合选育出的品系最多达到 11 个。对不同品系的亲本组合进行分析发现,矮抗 58、新麦 16、新麦 18、周麦 16、周麦 22、周麦 9823 等品种为河南省新乡市农业科学院 2013 年小麦新品系的骨干亲本。其中,以矮抗 58 作为亲本之一的品系为 61 个,占全部品系的 54.46%,穗发芽率变幅为 1.09% ~ 47.83%;以新麦 16 为亲本之一的品系为 19 个,穗发芽率变幅为 1.51% ~ 43.53%。同一组合选育出品系的穗发芽率也有很大差异,例如 010137/矮抗

58 组合选育的 4 个品系穗发芽率变幅为 9.59% ~ 41.47%;新麦 16/周麦 16 组合选育的 11 个品系穗发芽率变幅为 1.51% ~ 43.53%;新麦 18/矮抗 58 组合选育的 4 个品系穗发芽率变幅为 9.32% ~ 39.88%;周麦 22/04 中 70 组合选育的 6 个品系穗发芽率变幅为 10.29% ~ 58.11%。同一组合选育出的品系其 *Vp-1* 基因等位变异类型基本是一致的,例如新麦 18/矮抗 58、周麦 22/04 中 70、周麦 9823/矮抗 58 等组合全部表现为 *Vp-1Ba* 型,新麦 16/周麦 16、矮抗 58/周麦 16//洛麦 21、(偃展 4110/新 9518 早)F4//周麦 18 等组合全部表现为 *Vp-1Bc* 型。但也有极少数组合选育出的品系基因型表现不同,例如洛麦 21/周麦 22 组合选育的 4 个品系有 1 个为 *Vp-1Bc* 型、3 个为 *Vp-1Ba* 型,新麦 16/矮抗 58 组合选育的 5 个品系有 3 个为 *Vp-1Bc* 型、2 个为 *Vp-1Ba* 型,新麦 0208/济麦 20 组合选育的 2 个品系分别为 *Vp-1Ba* 型和 *Vp-1Bb* 型。

3 结论与讨论

本研究中利用功能标记 *Vp1B3* 检测了 112 个新乡市农业科学院选育的小麦品系穗发芽相关基因 *Vp-1* 的等位基因变异分布情况并对材料进行了发芽率试验,结果表明,小麦品系以感穗发芽基因型 *Vp-1Ba* 为主,频率高达 60.71%;*Vp-1Bc* 型相对较

少,为 38.39%;*Vp-1Bb* 型仅有一个品系,这与王亮等^[11]利用 *Vp-B3* 检测 252 个新疆小麦品种的结果类似。另外,*Vp-1Ba* 型与 *Vp-1Bc* 型品系的穗发芽率有极显著差异,说明 *Vp1B3* 标记可以用于辅助选择抗穗发芽品系。但同时也需要注意,同一类型 *Vp-1* 的等位基因的品系间穗发芽率变幅较大,所以在使用该标记时需要与整穗发芽法相结合,结果更为可靠。

选育和种植抗穗发芽的品种是在全球气候变化条件下抵抗成熟期降水的有效手段,本研究中基因型检测结果与整穗发芽试验检测的发芽率均表明试验材料的穗发芽抗性有待提高。形成这一现象的原因可能一方面由于河南省新乡市农业科学院在选育小麦品系时所使用的亲本材料主要来源于现有品种导致了遗传基础狭窄、变异不丰富;另一方面可能是由于现有小麦品种审定标准中的小麦抗逆性鉴定项目不涉及穗发芽抗性,所以在育种中对穗发芽抗性的选择压力小。在今后的小麦育种工作中,一方面应结合使用已开发的类似 *Vp1B3* 这样有效的分子标记对育种材料的穗发芽抗性进行筛选,提高选择效率,加快育种进程;另一方面,也需要开发出与目标性状关系更为密切的分子标记应用于辅助选择。

参考文献:

[1] Humphreys D G, Noll J. Methods for characterization of preharvest sprouting resistance in a wheat breeding pro-

- gram[J]. *Euphytica*, 2002, 126: 61 - 65.
- [2] 张海峰, 卢荣禾. 小麦穗发芽抗性机理与遗传研究[J]. *作物学报*, 1993, 19(6): 523 - 530.
- [3] 沈正兴, 俞世蓉, 吴兆苏. 小麦品种抗穗发芽性研究[J]. *中国农业科学*, 1991, 24(5): 44 - 50.
- [4] Derera N F. Pre-harvest, field sprouting in cereals [M]. Boca Raton, USA: CRC Press Inc, 1989: 85 - 110.
- [5] Gale M D, Flintham J E, Devos K M. Cereal comparative genetics and pre-harvest sprouting [J]. *Euphytica*, 2002, 126: 21 - 25.
- [6] 何震天, 陈秀兰, 韩月澎. 白皮小麦抗穗发芽研究[J]. *麦类作物学报*, 2000, 20(2): 84 - 87.
- [7] Yang Y, Zhao X L, Xia L Q, 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: 971 - 980.
- [8] 杨燕, 赵献林, 张勇, 等. 四个小麦抗穗发芽分子抗性标记有效性的验证与评价[J]. *作物学报*, 2008, 34(1): 17 - 24.
- [9] 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(1): 54 - 59.
- [10] Gale K R, Ma W, Zhang W, et al. Australian wheat breeding assembly [M]. Mildura: Wheat Breeding Society of Australia, 2001: 26 - 31.
- [11] 王亮, 穆培源, 徐红军, 等. 新疆小麦品种穗发芽 *Vp-1* 基因等位变异的分布[J]. *麦类作物学报*, 2009, 29(4): 571 - 574.