

朱雪成,刘 静,马红勃,等. 黄淮南片麦区部分小麦品系 *Vrn1* 基因检测及其效应分析[J]. 江苏农业科学,2022,50(18):69-74.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2022.18.011

黄淮南片麦区部分小麦品系 *Vrn1* 基因检测及其效应分析

朱雪成,刘 静,马红勃,王 静,刘立伟,冯国华,刘东涛

(江苏徐淮地区徐州农业科学研究所,江苏徐州 221131)

摘要:为明确小麦春化基因 *Vrn1* 在黄淮南片麦区的分布情况及该基因对小麦幼苗习性、冬季抗寒性、生育期等性状的影响,利用 STS 分子标记对黄淮麦区 136 份小麦新品系的 *Vrn-A1*、*Vrn-B1*、*Vrn-D1* 这 3 个春化基因位点的等位变异进行了检测,比较了不同春化基因类型小麦品种在抗寒性、抽穗期以及成熟期的差异。结果表明,供试材料春化基因型主要分为 2 种:*vrn-A1/vrn-B1/vrn-D1* (占 77.2%) 和 *vrn-A1/vrn-B1/Vrn-D1b* (占 22.8%),在 *Vrn-A1* 和 *Vrn-B1* 位点上未发现显性等位变异。不同春化基因型的品种抽穗期差异显著,携带 *Vrn-D1b* 基因的品种比春化基因全为隐性的品种平均早抽穗 1.09 d;显性等位变异 *Vrn-D1b* 对小麦冬季抗寒性没有显著影响。抽穗期与成熟期呈极显著正相关,相关系数 0.32;抽穗期与小麦冬季冻害显著负相关,抽穗期越早冻害越严重;显性春化基因 *Vrn-D1b* 的利用可以在不影响小麦越冬期抗寒性的同时缩短苗穗期。

关键词:小麦;春化基因;生育期;冬季抗寒性

中图分类号:S512.103.2

文献标志码:A

文章编号:1002-1302(2022)18-0069-06

小麦是世界主要粮食作物之一,因具有极强的适应性而在全球广泛分布。从极地附近的北欧地区到赤道附近的北非,从盆地吐鲁番到“世界屋脊”青藏高原都有小麦的身影。小麦极强的适应性主要得益于其长期演化出的不同生态发育类型^[1]。

小麦的生态发育类型主要受其本身的春化特性和光周期特性影响。春化特性是指小麦在营养生长时期需要经历一定时间和一定范围的低温,才能够进入生殖生长阶段,进而抽穗开花并且灌浆成熟的特性。根据其对低温范围和低温时间要求的不同,一般将小麦品种划分为春性、半冬性、冬性、强冬性 4 类^[2]。春性品种对春化要求最低,不需要低温阶段即可抽穗开花;而强冬性品种一般需要 0~3℃ 下 40~50 d 的低温才能够通过春化阶段,否则不能抽穗开花^[3-4]。目前报道控制小麦春化特性的基因包括 *Vrn1*、*Vrn3*、*Vrn4* 这 3 个开花促进因子,和 1 个开花抑制因子 *Vrn2*。作为开花抑制因子,

Vrn2 发生突变时小麦表现为早花和春性,但是由于 *Vrn2* 基因包含 2 个功能冗余的 *ZCCT* 基因,因此只有在小麦 3 个位点同时突变时该基因才会失去功能,目前在自然界中尚未发现该类型小麦^[5-6]。*Vrn3* 的显性等位变异 *Vrn-B3* 是在启动子上插入了一个逆转座子,该突变可以降低小麦春化需求,但是仅在极少数品种中出现这类变异^[7]。*Vrn4* 基因位于小麦 5D 染色体的短臂上,且十分靠近着丝粒^[8],该基因受春化作用调节小麦的生殖生长,其功能与下文中的 *Vrn-B1*、*Vrn-D1* 基因相似且弱于 *Vrn-A1*,关于 *Vrn4* 的研究有待进一步深入^[9]。

目前研究最为深入的春化基因——*Vrn1* 基因,在六倍体普通小麦当中存在 3 个部分同源基因:*Vrn-A1*、*Vrn-B1*、*Vrn-D1*,分别被定位在 5A、5B、5D 染色体的长臂上^[10-11]。在 *Vrn-A1* 位点具有 *Vrn-A1a*、*Vrn-A1b*、*Vrn-A1c* 这 3 个显性等位变异。这 3 种显性等位变异分别在启动子和第一内含子区域发生了片段插入、序列复制、缺失以及碱基突变,导致 *Vrn1* 表达量上升,降低春化需求^[12-13]。*Vrn-B1* 基因目前已发现 3 种显性等位变异类型,分别是 *Vrn-B1a*、*Vrn-B1b*、*Vrn-B1c*。该位点的显性等位变异均是在第一内含子区域发生的缺失、碱基突变以及序列重复^[13-15]。*Vrn-D1* 位点存在 3 个显性等位变异:*Vrn-D1a*、*Vrn-D1b*、*Vrn-D1c*,

收稿日期:2021-11-03

基金项目:江苏省重点研发计划(编号:BE2021310);徐州市重点研发计划(编号:KC20036)。

作者简介:朱雪成(1993—),男,江苏淮安人,硕士,研究实习员,主要从事小麦遗传育种研究。E-mail:zhuxc.wheat@foxmail.com。

通信作者:刘东涛,博士,研究员,主要从事小麦遗传育种研究。E-mail:liudongtao317@163.com。

与隐性基因相比, *Vrn-D1a* 的第一内含子缺失了一段 4 235 bp 的序列; *Vrn-D1b* 在缺失相同片段的同时, 还在翻译起始位点上游 161 bp 处发生单碱基突变; *Vrn-D1c* 在启动子区域有 175 bp 碱基的插入^[16]。有学者认为, *Vrn1* 的 3 个部分同源基因当中至少有一个为显性时, 那么该小麦品种表现为春性性状; 当这 3 个等位基因全为隐性时, 小麦表现为冬性性状^[10]。但是春化特性并不是简单的质量性状, 而是存在中间过渡区域的数量性状。也有研究认为, 携带等位变异 *Vrn-D1a*、*Vrn-D1b* 品种分别表现为弱春性和半冬性^[15, 17]。赵虹等曾对黄淮南片麦区的部分小麦品种进行春化基因分子标记鉴定, 认为目前仅用春化基因来确定品种冬春性存在一定的不完善之处^[18]。除了生育期性状, 春化基因还对小麦农艺性状和产量具有一定影响^[19]。简俊涛等对我国 366 份小麦品种进行研究, 发现我国小麦春化基因的多样性主要在 *Vrn-D1* 位点上^[20]。

黄淮南片麦区作为我国重要的粮食产区, 地处南北方过渡地带, 属于大陆性季风气候, 近几十年来气候异常导致早期低温冻害、春季倒春寒、后期干热风等气象灾害频发, 小麦的安全生产受到严重威胁^[21]。近年来, 小麦审定品种急剧增加, 但这些新品种(系)的春化基因类型并不清楚。本研究利用分子标记鉴定了黄淮麦区部分品种的春化基因类型, 并分析了不同基因型品种的生育期以及冬季抗寒性特点, 以期高产稳产小麦新品种培育提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料和地点

试验材料为 2020—2021 年度参加国家黄淮南片水地组区试参试材料 82 份、国家黄淮南片冬水组中种联合体区试参试材料 12 份、江苏省淮北片小麦区试材料 27 份以及江苏省徐州农科所科企淮北小麦联合体参试材料 15 份, 共计 136 份小麦新品系。试验地点为江苏省徐州市, 采用随机区组设计, 重复 3 次, 小区面积 13.34 m², 机械条播。

1.2 春化基因的分子标记鉴定

采用改良 CTAB 法提取小麦基因组 DNA^[22], 取样时每份材料取 3 个不同单株上的叶片, 以保证结果的准确。

Vrn1 基因检测根据 Yan 等设计的春化基因 *Vrn-A1*、*Vrn-B1*、*Vrn-D1* 的 STS 特异性分子标记

引物^[12-13, 15], 详细信息见表 1。所有引物均由生物工程(上海)股份有限公司合成。PCR 反应体系为 10 μL, 包括模板 DNA 30~40 ng、10×buffer 1 μL、dNTPs 150 μmol/L、*Taq* DNA 聚合酶 1 U, 引物 VRN1AF/VRN1-INT1R 为每条 3 pmol, 其他引物为每条引物 5 pmol。取 3 μL 的 PCR 反应产物于 1.5% 的琼脂糖凝胶(含 goldview)中进行电泳分离检测, 电泳缓冲液为 1×TBE 溶液。120 V 电泳 30~40 min 后, 用 Bio-RAD 凝胶成像系统拍照成像并保存。

1.3 田间性状的记载和数据分析

幼苗习性: 在 12 月 20 日前后记载, 分匍匐、半匍匐、直立 3 种类型。

越冬期冻害: 越冬期在寒流过后 10 d 左右分 2 个阶段记载, 分 5 级。1 级: 无冻害; 2 级: 叶尖受冻发黄不超过 1/3; 3 级: 叶片冻死 1/3 至 1/2; 4 级: 叶片全枯; 5 级: 植株或大部分分蘖冻死。

抽穗期: 以 50% 以上植株的顶端第 1 小穗露出叶鞘的日期为准, 从播种到抽穗的日数为抽穗期。

成熟期: 75% 麦穗中部籽粒形态、大小及颜色接近本品种正常状态, 籽粒变硬(用指甲不易划破)的日期, 从播种到成熟的日数为成熟期。

数据分析采用 Excel 和 SPSS 20 软件, 进行独立样本 T 测验、方差分析及相关性分析, 差异显著水平为 5%。

2 结果与分析

2.1 *Vrn1* 基因等位变异的分子检测

供试材料分子标记检测结果详见表 2。在 *Vrn-A1* 位点上, 首先利用引物 VRN1AF/VRN1-INT1R 检测, 所有材料都扩增出了 734 bp 的条带, 并没有 965+876、714 bp 的条带产生(图 1-A)。说明这些材料的基因型可能是 *vrn-A1* 或 *Vrn-A1c*; 进一步检测结果中, 在引物 Intr1/A/F2、Intr1/A/R3 检测下没有条带产生(图 1-B), 在 Intr1/C/F、Intr1/AB/R 检测下都扩增出了 1 068 bp 的条带(图 1-C), 说明供试材料在 *Vrn-A1* 位点上均为隐性基因 *vrn-A1*。

检测 *Vrn-B1* 位点时, 在特异引物 Intr1/B/F 与 Intr1/B/R3 的扩增下所有材料没有条带产生(图 2-A); 在 Intr1/B/F 与 Intr1/B/R4 引物中都扩增出了 1 149 bp 的条带(图 2-B)。说明在该位点上供试材料均为隐性基因 *vrn-B1*。

表 1 春化基因位点 *Vrn-A1*、*Vrn-B1* 和 *Vrn-D1* 引物序列、扩增片段及其相关信息

等位基因		引物名称	序列(5'-3')	片段长度 (bp)	退火温度 (℃)	延伸时间 (s)
类别	名称					
<i>Vrn-A1</i>	<i>Vrn-A1a</i>	VRN1AF	GAAAGGAAAAATTCTGCTCG	965 + 876	50	60
	<i>Vrn-A1b</i>	VRN1-INT1R	GCAGGAAATCGAAATCGAAG	714		
	<i>Vrn-A1c</i>			734		
	<i>vrn-A1</i>			734		
	<i>Vrn-A1c</i>	Intr1/A/F2	AGCCTCCACGGTTTGAAAGTAA	1 170	56	65
		Intr1/A/R3	AAGTAAGACAACACGAATGTGAGA			
	<i>vrn-A1</i>	Intr1/C/F	GCACTCCTAACCCTAACC	1 068	58	65
		Intr1/AB/R	TCATCCATCATCAAGGCAAA			
<i>Vrn-B1</i>	<i>Vrn-B1a</i>	Intr1/B/F	CAAGTGGAACGGTTAGGACA	709	63	43
	<i>Vrn-B1b</i>	Intr1/B/R3	CTCATGCCAAAAATTGAAGATGA	673		
	<i>vrn-B1</i>	Intr1/B/F	CAAGTGGAACGGTTAGGACA	1 149	58	69
		Intr1/B/R4	CAAATGAAAAGGAATGAGAGCA			
<i>Vrn-D1</i>	<i>Vrn-D1</i>	Intr1/D/F	GTTGTCTGCCTCATCAAATCC	1 671	65	90
		Intr1/D/R3	GGTCACTGGTGGTCTGTGC			
	<i>vrn-D1</i>	Intr1/D/F	GTTGTCTGCCTCATCAAATCC	997	63	60
		Intr1/D/R4	AAATGAAAAGGAACGAGAGCG			
	<i>Vrn-D1a</i>	VRN1DF	CGACCCGGGCGGCACGACTG	612	65	60
		VRN1-SNP161CR	AGGATGCCAGGCCAAAACG			
	<i>Vrn-D1b</i>	VRN1DF	CGACCCGGGCGGCACGACTG	612	65	60
		VRN1-SNP161AR	AGGATGCCAGGCCAAAAC			

表 2 供试材料及其 *Vrn1* 基因的等位变异

基因型	品种
<i>vrn-A1/vrnB1/Vrn-D1b</i>	漯麦 68、丰工 38、涡麦 169、中育 1686、淮麦 701、徐麦 15019、许科 10 号、漯麦 66、郑麦 172、郑麦 20、科林 201、郑麦 181、中金 795、皖科 421、民研 186、瑞华麦 511、宁洪 17219、淮麦 13794、徐麦 17223、佳麦 1902、淮麦 20、江麦 16164、沔和麦 693、宁连 18266、徐麦 17281、宁 16023、徐麦 16196、宁洪 17432、连麦 1936、扬 1952S、宁中 173
<i>vrn-A1/vrnB1/vrn-D1</i>	泛麦 26、富麦 701、郑麦 158、泛育麦 20、淮核 16132、天益科麦 10、周麦 49 号、郑麦 163、轮选 125、轮选 69、咸麦 519、存麦 29、周麦 18、周麦 36 号、华麦 15080、保丰 1707、瑞华 556、保麦 1633、陕禾 1028、西农 1125、淮核 16174、西农 172、富麦 916、泛麦 27、慈丰 3468、职院 171、郑研麦 182、郑大 181、安科 1605、百农 5819、德研 1658、中麦 698、郑研麦 176、轮选 124、新农 9799、西农 161、郑麦 23、郑育 11、联邦 2 号、泉麦 39、冠麦 12、安科 1704、普冰 03、泛麦 23、平安 918、商麦 189、顺麦 13 号、科麦 1609、安农 859、西农 609、安科 1703、保丰 1803、平安 12 号、冠麦 10 号、驻麦 586、西农 9112、轮选 147、柳麦 521、永丰 206、西农 1366、许科 108、华成 7119、现麦 686、高 160、阜麦 1008、涡麦 179、农友 18、连农 1801、保麦 1902、徐麦 17252、瑞华 533、连麦 1913、黄淮 168、淮麦 10772、泰麦 1805、江麦 181、淮麦 35、华麦 28122、淮麦 13692、连麦 1824、农麦 186、华麦 2892、宁洪 17452、泗麦 1911、华麦 29Q04、南淮麦 191、神州麦 1069、农麦 909、徐麦 15184、郑麦 9134、秦农 33、周麦 42 号、中种麦 24、百农 9558、郑麦 1833、郑麦 182、天麦 186、中种麦 27、存麦 30、连 1738、连麦 1825、宁洪 17237、宁 S153、旗麦 19、山农 7506

而在 *Vrn-D1* 位点上有漯麦 68 等 31 份材料在引物 Intr1/D/F 与 Intr1/D/R3 的检测下扩增出了 1 671 bp 大小的条带(图 3-A),其余材料没有条带;在引物 Intr1/D/F 与 Intr1/D/R4 的检测下,这 31 份材料没有条带产生,泛麦 26 等 105 份材料扩增出 997 bp 大小的条带(图 3-B);2 对引物结果互补。说明泛麦 26 等 105 份材料携带在 *Vrn-D1* 位点上为隐性基因,占比 77.2%;而漯麦 68 等 31 份材料

可能为 *Vrn-D1a* 或 *Vrn-D1b*。利用另 2 对引物进一步检测,显示漯麦 68 等 31 份材料在引物 VRN1DF/VRN1-SNP161CR 的扩增下没有条带产生(图 3-C),而在 VRN1DF/VRN1-SNP161AR 引物下都扩增出 612 bp(图 3-D)的条带;说明全部携带显性等位基因 *Vrn-D1b*,占比 22.8%。

2.2 春化基因对小麦生育期的效应

由表 3 可知 *Vrn-D1b* 和 *vrn-D1* 基因型小麦

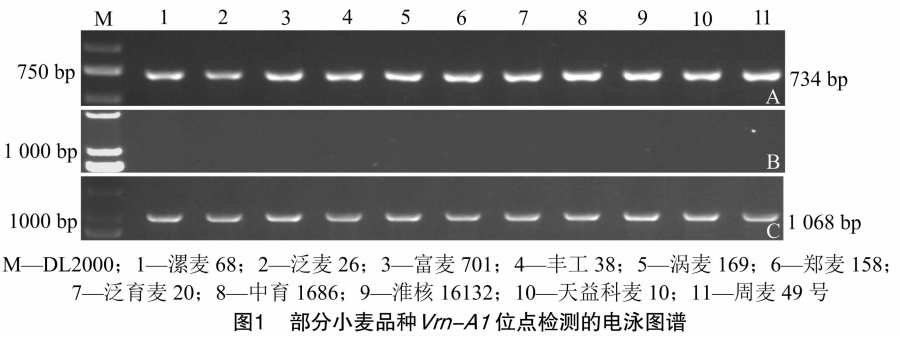


图1 部分小麦品种 *Vm-A1* 位点检测的电泳图谱

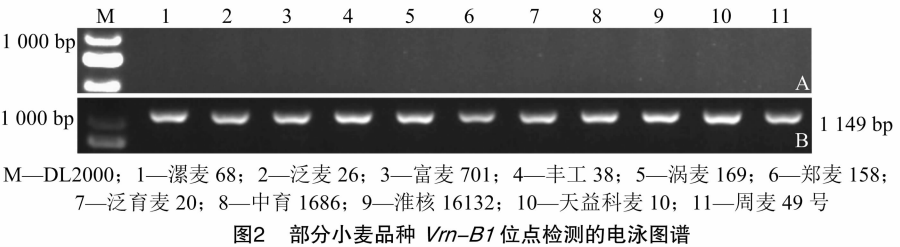


图2 部分小麦品种 *Vm-B1* 位点检测的电泳图谱

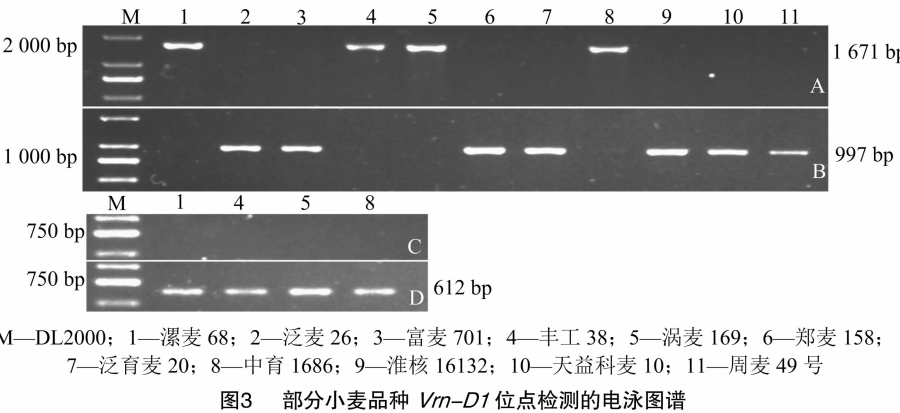


图3 部分小麦品种 *Vm-D1* 位点检测的电泳图谱

品种在抽穗期上存在显著差异,携带 *Vrn-D1b* 的材料平均抽穗期 182.77 d,比携带隐性基因的材料早抽穗 1.09 d。携带 *Vrn-D1b* 基因的小麦成熟期平

均值为 234.32 d,平均比春化基因全为隐性的材料早成熟 0.22 d,2 种基因型间在成熟期上差异并不显著。

表3 春化基因 *Vrn-D1* 对小麦生育期的影响

分类	生育期(d)		<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
	<i>Vrn-D1b</i> (<i>n</i> = 31)	<i>vrn-D1</i> (<i>n</i> = 105)		
抽穗期	182.77 ± 1.91	183.86 ± 2.23	-2.46	0.015
成熟期	234.32 ± 1.64	234.54 ± 1.74	-0.63	0.531

注:生育期数据为平均值 ± 标准差。*P* > 0.05 表示差异不显著,0.05 > *P* > 0.01 表示差异显著,*P* < 0.01 表示差异极显著。

2.3 春化基因型、苗期习性与冬季冻害程度的关系

根据苗期习性将供试材料分为匍匐、半匍匐、直立 3 类。如图 4 所示,基因型 *Vrn-D1b* 中的匍匐、半匍匐、直立的品种分别占 3.23%、67.74%、29.03%;在基因型 *vrn-D1* 中该比例分别为 7.62%、62.86%、29.52%;2 种基因型中各苗期习性品种占比十分接近。可见显性基因 *Vrn-D1b* 对

小麦苗期习性并无显著影响。

由表 4 可知,携带春化基因 *Vrn-D1b* 的材料与春化基因全为隐性的材料之间冻害程度差异不显著。匍匐、半匍匐的品種的平均冻害程度分别为 1.89、2.06,但是两者差异不显著;而苗期习性为直立的材料平均冻害程度为 2.60,与以上 2 类差异达到显著水平。可见苗期习性为匍匐、半匍匐的小麦

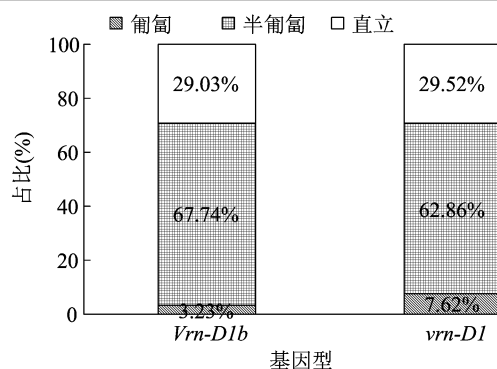


图4 不同苗期习性品种占比

表 4 不同春化基因型、苗期习性品种的冬季冻害差异性分析

项目	类型	冻害程度 (平均值 ± 标准差)
基因型	<i>Vrn - D1b</i> (<i>n</i> = 31)	2.23 ± 0.50a
	<i>vrn - D1</i> (<i>n</i> = 105)	2.20 ± 0.47a
苗期习性	匍匐 (<i>n</i> = 9)	1.89 ± 0.33a
	半匍匐 (<i>n</i> = 87)	2.06 ± 0.35a
	直立 (<i>n</i> = 40)	2.60 ± 0.50b

注:平均值后的不同字母表示在 0.05 水平上差异显著。

品种抗寒性较强,苗期直立的材料抗寒性较弱;显性等位变异 *Vrn - D1b* 对小麦的抗寒性没有显著影响。

2.4 小麦生育期与冬季抗寒性的相关性分析

由表 5 可知,小麦抽穗期与成熟期呈极显著正相关,相关系数为 0.32,说明抽穗越早的品种其成熟期也越早;抽穗期与越冬期冻害呈显著负相关,相关系数为 -0.19,即抽穗越早的品种越冬期冻害严重,冬季抗寒性差。

表 5 小麦生育期与冻害的相关性

项目	相关系数		
	抽穗期	成熟期	冻害
抽穗期	1.00	0.32 **	-0.19 *
成熟期		1.00	-0.09
冻害			1.00

注: * 表示显著相关 ($P < 0.05$); ** 表示极显著相关 ($P < 0.01$)。

3 讨论与结论

3.1 *Vrn - D1* 的分布频率

李哲等曾对来自我国小麦主产区的 276 份品种进行春化基因检测,发现显性基因 *Vrn - A1* 主要分布在东北北部春麦区和西北春麦区,显性基因 *Vrn - B1* 主要分布在东北春麦区、西北春麦区和西

南冬麦区;而显性基因 *Vrn - D1* 的分布非常广泛,在长江中下游冬麦区、西南冬麦区、东北春麦区、西北春麦区和黄淮冬麦区都有分布^[23]。这与本研究中黄淮麦区小麦的显性春化基因都集中在 *Vrn - D1* 位点上的结果相一致。郭宪瑞等曾对黄淮麦区小麦品种中 *Vrn - D1a*、*Vrn - D1b* 这 2 种显性等位变异进行检测,在他们的结果中,*Vrn - D1a* 在黄淮麦区品种中的分布频率分别为 11.5% 和 19.7%^[24-25]。而本次试验的供试材料中并未出现显性等位变异 *Vrn - D1a*。考虑到前者的试验材料选育时间的分布较为广泛,甚至包含一些年代久远的地方品种,而本研究的试验材料均为近 2 年参加大区试验的新品种(系),猜测可能的原因是 *Vrn - D1a* 基因的春性效应较强,已经不适应如今黄淮麦区的气候变化或栽培措施,导致其在育种过程中正被逐渐淘汰。

3.2 春化基因与抗寒性

黄淮麦区的品种主要是春化基因全为隐性的冬性品种和携带显性春化基因 *Vrn - D1* 的弱春/半冬性品种^[25]。近年来黄淮麦区冬季低温冻害和春季倒春寒频繁发生,严重威胁粮食生产安全^[18],因此提高主栽品种的抗寒性愈发重要。游光霞等认为 *Vrn1* 基因全为隐性的品种冬季抗寒性较好,在育种过程中也有很多育种家根据冬春性来判断品种的抗寒性^[26]。而新的研究表明小麦的冬春性和抗寒性属于 2 种特性,受 2 种基因控制,只是由于基因连锁的原因,大多数春性品种抗寒性较差^[27]。本研究结果显示,显性等位变异 *Vrn - Db* 对小麦越冬期抗寒性并无显著影响。有部分品系(现麦 686、郑研麦 176、轮选 124 等) *Vrn1* 的 3 个位点全为隐性,根据洛阳农林科学院国家小麦冬春性鉴定结果显示也均为冬性,抽穗期较均值迟 2 d 以上,但这些品种在苗期表现为直立,冻害也达到 3 级,说明依据冬春性来判断小麦抗寒性的方法有待商榷。小麦的抗寒性除了抗冬季低温还包括抗春季倒春寒,本年度春季未发生明显的倒春寒现象,所以供试材料的抗倒春寒能力并未体现出差异。在以后的研究中将结合生理生化指标进行田间直接鉴定或者人工气候室模拟鉴定,对小麦倒春寒抗性进一步研究^[28]。

参考文献:

- [1]尹 钧. 小麦温光发育研究进展 I. 春化和光周期发育规律[J]. 麦类作物学报,2016,36(6):681-688.
- [2]陈满霞,蒋玉蓉,於金生. 小麦春化作用研究进展[J]. 江苏农业科学,2019,47(24):6-12.

- [3] 崔继林. 植物阶段发育理论在小麦生产实践中的应用[J]. 生物学通报, 1955(6): 20–22.
- [4] 黄季芳, 以凡. 关于中国秋播小麦的阶段发育和胜利百号甘薯品种变异的研究[J]. 科学通报, 1957, 2(S1): 95.
- [5] Yan L L, Loukouianov A, Blechl A, et al. The wheat *VRN2* gene is a flowering repressor down-regulated by vernalization[J]. Science, 2004, 303(5664): 1640–1644.
- [6] Fjellheim S, Boden S, Trevaskis B. The role of seasonal flowering responses in adaptation of grasses to temperate climates[J]. Frontiers in Plant Science, 2014, 5: 431.
- [7] 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 Science, 2008, 48(2): 458–470.
- [8] Yoshida T, Nishida H, Zhu J, et al. *Vrn - D4* is a vernalization gene located on the centromeric region of chromosome 5D in hexaploid wheat[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2010, 120(3): 543–552.
- [9] Kippes N, Debernardi J M, Vasquez - Gross H A, et al. Identification of the *VERNALIZATION 4* gene reveals the origin of spring growth habit in ancient wheats from South Asia[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2015, 112(39): E5401–E5410.
- [10] Pugsley A T. A genetic analysis of the spring - winter habit of growth in wheat[J]. Australian Journal of Agricultural Research, 1971, 22(1): 21.
- [11] Law C N, Worland A J, Giorgi B. The genetic control of ear - emergence time by chromosomes 5A and 5D of wheat[J]. Heredity, 1976, 36(1): 49–58.
- [12] Yan L, Helguera M, Kato K, et al. Allelic variation at the *VRN - 1* promoter region in polyploid wheat[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2004, 109(8): 1677–1686.
- [13] Fu D L, Szucs P, Yan L L, et al. Large deletions within the first intron in *VRN - 1* are associated with spring growth habit in barley and wheat[J]. Molecular Genetics and Genomics, 2005, 273(1): 54–65.
- [14] Santra D K, Santra M, Allan R E, et al. Genetic and molecular characterization of vernalization genes *vrn - A1*, *vrn - B1*, and *vrn - D1* in spring wheat germplasm from the Pacific northwest region of the USA[J]. Plant Breeding, 2009, 128(6): 576–584.
- [15] Zhang J, Wang Y Y, Wu S W, et al. A single nucleotide polymorphism at the *Vrn - D1* promoter region in common wheat is associated with vernalization response[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2012, 125(8): 1697–1704.
- [16] Zhang X F, Gao M X, Wang S S, et al. Allelic variation at the vernalization and photoperiod sensitivity loci in Chinese winter wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.) [J]. Frontiers in Plant Science, 2015, 6: 470.
- [17] 朱雪成, 刘健, 程晓明, 等. 江苏小麦品种春化和光周期基因的组成分析[J]. 扬州大学学报(农业与生命科学版), 2019, 40(2): 9–17.
- [18] 赵虹, 胡卫国, 詹克慧, 等. 黄淮南片冬麦区主导品种春化基因及冬春性分析[J]. 西北植物学报, 2010, 30(3): 495–504.
- [19] Iqbal M, Navabi A, Salmon D F, et al. Genetic analysis of flowering and maturity time in high latitude spring wheat[J]. Euphytica, 2007, 154(1/2): 207–218.
- [20] 简俊涛, 田芳慧, 张兆萍, 等. 366 份小麦品种春化光周期基因型组成及其与生殖物候稳定性的关系[J]. 麦类作物学报, 2014, 34(7): 892–898.
- [21] 赵虹, 王西成, 胡卫国, 等. 黄淮南片麦区小麦倒春寒冻害成因及预防措施[J]. 河南农业科学, 2014, 43(8): 34–38.
- [22] 张晓祥, 王玲, 寿路路. 改良 CTAB 方法快速提取小麦基因组 DNA(英文)[J]. 农业科学与技术(英文版), 2013, 14(7): 946–949.
- [23] 李哲, 杨杰, 李瑞博, 等. 中国小麦主产区品种主要春化基因的组成与分布[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2018, 46(9): 35–40.
- [24] 郭宪瑞. 春化基因 *Vrn - D1b* 在中国小麦品种中的分布及其低温处理效应[D]. 北京: 中国农业科学院, 2015.
- [25] 郭总总, 王翔, 卫丽, 等. 黄淮麦区小麦春化基因组成的多态性分布研究[J]. 河南农业大学学报, 2014, 48(3): 255–262.
- [26] 游光霞, 孙果忠, 张秀英, 等. 中国黄淮海地区小麦品种抗寒性及其与 *VRN1* 基因型的关系[J]. 作物学报, 2015, 41(4): 557–564.
- [27] 曹新有, 刘建军, 程敦公, 等. 小麦品种冬春性、抗寒性与广适性的关系[J]. 麦类作物学报, 2012, 32(6): 1210–1214.
- [28] 刘方方, 万映秀, 曹文昕, 等. 小麦倒春寒抗性鉴定研究进展[J]. 植物遗传资源学报, 2021, 22(5): 1193–1199.