

專 題 討 論

影響小麥開花期基因的釐定及其 遺傳分析

時間：92年3月06日上午10點10分

地點：農藝系112室

主講人：李佳育

指導老師：林順福助理教授

一. 小麥的種類及生育特性

麥是世界上最重要的糧食作物之一，無論栽培面積或是產量均居於穀類作物之首，小麥屬 (Triticum)，是禾本科長日照的作物。小麥可以利用其染色體數目的不同而為三大群，包括染色體數 $2n=14$ 的一粒系小麥 (二倍體)，染色體數 $2n=28$ 的二粒系小麥 (四倍體)， $2n=42$ 的普通小麥 (六倍體)，而且染色體的倍數愈高結粒數就愈多。在栽培時可分為一年生春小麥及越年生冬小麥，春小麥春播性較高，耐寒力弱。冬小麥秋播性高耐寒力較強，生育期間需要經過冬季低溫的刺激才能正常抽穗。冬小麥的催芽種子於低溫處理後，就可以在春天播種、萌芽、生長與結實，此種方法稱作春化處理 (Vernalization)。一般春播性越高的品種，春化處理的效果就愈小，而秋播性的品種，則處理的效果相對就愈大。基因是小麥調控生理生長與對環境適應性和控制春化反應的基本條件，它可以決定開花時間，影響穀粒的產量。

二. 小麥的栽培及生產

小麥的基因型與環境可以決定產量的表現，一般由 $P = G + E + GE$ 模式表示， P 代表產量表現型，由基因值 (G)、環境值 (E) 及基因型與環境間之交感效應 (GE) 累加而成。小麥產量是由單位面積穗數、每穗粒數及千粒數等因素所構成，這三項因素並非固定不變而是有相互的影響，它們之間的變動不僅受品種特性控制，而且受田間環境、肥力及栽培技術影響。

小麥在台灣的生产概況：台灣在 1960 年代開始進口小麥，導致栽培面積急速下降，而後政府在 1965 年起開始保證收購，除 1976 - 1977 年略低外種植面積大致維持在 1000 公頃左右，這些小麥大部分是由菸酒公賣局所收購。

現今小麥的世界生產概況：在 2001 年 - 2002 年，世界小麥產量估計為 5.69 億噸，比上年度減少了 1.6 %。世界小麥主要的出

口國家【美國】其 2001 年小麥的產量大約為 5283 萬噸，比 2000 年產量下降了 12.7 %。隨著世界小麥庫存量繼續減少，小麥的消費量不斷上升，世界小麥庫存量和消費量之間的比例將是近 30 年來的最低水平。2000 年末，世界小麥庫存量達到 1.56 億噸，而到了 2001 年 - 2002 年度末，世界小麥的存量約 1.40 億噸。

三. 影響開花時間之遺傳分子分析

小麥開花的時間因品種及包括溫度、溼度及日照等氣候因子而有不同。有數個遺傳因子可以影響小麥開花時間，包括了與春化作用有關的 *Vrn* 基因和影響抽穗的 *QEet.ocs - 5A.2* 基因。不同的小麥植株品系，會因為在不同環境的處理條件下和透過正反交處理方式以及基因間上位現象的交互作用，而有不同的開花時間。觀察它們之間與開花時間的影響並且透過這些因素來釐定基因的位置。

在六倍體小麥裡將具有春天生長習性型 (TDB) 顯性 *Vrn-B1* 同結合對偶基因，和冬季生長習性 (TDC) 隱性 *vrn-B1* 同結合對偶基因的品系，進行正反雜交，發現產生的後代植株在開花時間上有明顯的差異。TDB 植株平均的開花天數在 60 ± 1.9 天，然而在種植後 100 天發現到 TDC 植株並沒有有開花的現象。在 180 株 F_2 後代中，偵測到沒有開花現象的 58 株 F_2 後代，其基因為隱性同結合型 (*vrn - B1 : vrn - B1*)。在所觀察的 59 - 81 天內 (Table 1)， F_2 後代的平均開花天數大約在 68.5 ± 4.6 天。正反交叉所得到 TDB/TDC 和 TDC/TDB 的 F_2 後代族群中，其基因型的分離率為 19:44:28 和 15:44:30。TDB/TDC (mean = 67.2 ± 3.7) 和 TDC/TDB (mean = 70.0 ± 5.0) 正反交族群中，在開花的時間上有明顯的差異 (Table 2)。而將 TDB 植株分別種植在兩個不同的生長室中，發現植株的開花時間並沒有的明顯差異，由此可知造成正反交在開花時間上的差異，是母系效應而非環境因子所造成。TDC/TDB (*Vrn-B1*) 同結合型對偶基因，後代植株開花時間在 59-75 天 (mean = 63.6 ± 3.6)，

而異結合基因型 ($Vrn-B1 : vrn-B1$) 後代植株的開花時間在 67 和 81 天 ($mean = 72.2 \pm 3.2$; Table 2)。可以知道異結合基因型中 $vrn - B1$ 基因的存在會延遲開花的時間，此現象代表了 $Vrn - B1$ 對偶基因的作用為不完全顯性。正反交 (TDB/TDC vs. TDC/TDB) 和顯性 ($Vrn - B1 : vrn - B1$ vs. $Vrn - B1 : Vrn - B1$) 的作用都會顯著影響開花的時間 (Table 3)。但是兩者的交感效應卻不顯著，這代表了兩者因子的表現是各別獨立的。 Vrn 基因的組合特异性，可以改變小麥植株的生理生長速率，所以育種家藉由組合 Vrn 基因座的對偶基因，可以有效地操控小麥在特殊環境下生長的理想成熟期。

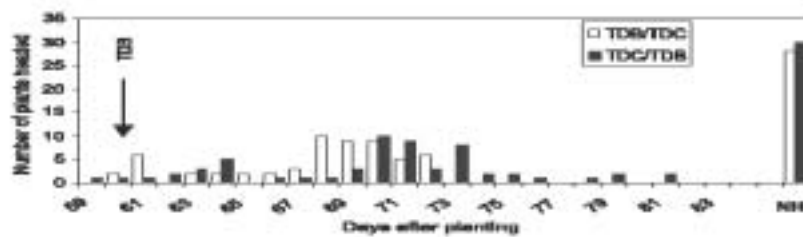


Fig. 1: Frequency distribution of days to heading among F_2 progeny from reciprocal crosses of near-isogenic lines for spring ($Vrn-B1$: TDB) and winter ($vrn-B1$: TDC) alleles at vernalization response locus $Vrn-B1$. Numbers of segregants that had not headed (NH) after 100 days also are included. Mean number of days to heading for the spring parent is indicated by the black arrow.

(Table 1)

| Population ^a | Genotype at $Vrn-B1$ locus | n | Days to heading | | |
|-------------------------|----------------------------|----|-----------------|-----|-------|
| | | | Mean | SD | Range |
| TDB/TDC | $Vrn-B1 : Vrn-B1$ | 19 | 62.3 | 3.9 | 58-68 |
| | $vrn-B1 : vrn-B1$ | 44 | 69.3 | 3.8 | 65-72 |
| | Population total | 63 | 65.8 | 3.7 | 65-72 |
| TDC/TDB | $Vrn-B1 : Vrn-B1$ | 15 | 63.8 | 3.6 | 58-70 |
| | $vrn-B1 : vrn-B1$ | 44 | 71.7 | 3.7 | 65-81 |
| | Population total | 59 | 69.8 | 3.0 | 68-81 |
| Control | $Vrn-B1 : Vrn-B1$ | 34 | 63.8 | 3.0 | 58-70 |
| | $vrn-B1 : vrn-B1$ | 40 | 70.8 | 2.9 | 65-81 |
| | Total | 74 | 67.3 | 3.0 | 58-81 |
| TDB (spring parent) | $Vrn-B1 : Vrn-B1$ | 10 | 60.3 | 2.1 | 58-68 |
| | Control mean I | 10 | 60.8 | 3.8 | 58-81 |
| | Total | 20 | 60.5 | 3.0 | 58-81 |

Table 2: Days to heading for each genotype class present among F_2 progeny within outcross mapping populations generated by near-isogenic wheat lines for spring (TDB, $Vrn-B1$) and winter (TDC, $vrn-B1$) growth habit alleles, and data combined over populations. Heading data for spring parents (TDB) controls are listed separately for each growth habit^b used for mapping population evaluation.

^a TDB/TDC and TDC/TDB progeny were included in growth means I and II, respectively.

^b NH plants were not headed as of 100 days after planting.

(Table 2)

Table 3: Analysis of variance for reciprocal (TDB/TDC vs. TDC/TDB) and dominance (F₁-B1 : F₁-B1 vs. F₁-B1 : r₁-B1) effects, and their interaction, on days to heading among F₂ progeny of near-isogenic line-derived reciprocal mapping populations (CV = 3.9%)

| Source | df | Mean square | F value | P |
|------------------------|-----|-------------|-----------|--------|
| Reciprocal effects (R) | 1 | 111.77 | 15.74*** | 0.001 |
| Dominance effects (D) | 1 | 1484.11 | 208.04*** | 0.001 |
| R × D | 1 | 15.88 | 2.24 | 0.1374 |
| Error | 118 | 7.1 | | |

*** Significant at P = 0.001.

(Table 3)

四. 環境因子對小麥抽穗期的影響

由小麥 CS(Cappelle - Desprez's 5A)和 CS(Triticum spelta 5A) 兩品種雜交產生的近同源 SCR_s 品系，再與親本個別雜交後，分別產生 SCR - 121、SCR - 24、SCR - 94；與 SCR - 4、SCR - 53 品系。在小麥 5A 染色體圖譜中已經知道有三個可加速早抽穗的基因 (*QEet.ocs - 5A.2* ; *Vrn - A1* ; *QEet.ocs - 5A.1*)，由小麥染色體 5A 圖譜中與所釐定出的 SCR_s 近同源品系基因 (Fig 1) 發現 SCR - 4、SCR - 53 有兩個早抽穗基因 (*Vrn - A1* ; *QEet.ocs - 5A.1*)，而帶有 *QEet.ocs - 5A.2* 基因的 SCR - 24、SCR - 94、SCR - 121 品系，在短日照且未經春化處理的環境下，可以加速抽穗的作用 (Table 4 , 5)。CS (Cappelle - Desprez's 5A) 因為沒有這三個基因，所以在四個不同的環境條件下會比較晚抽穗；同樣地，CS(Triticum spelta 5A) 因為具有這三個基因所以比其它品系早抽穗 (Table 4)。

| Line | Long day | | Short day | |
|----------------------------|--------------|--------------|---------------|-------------|
| | Unvernalized | Vernalized | Unvernalized | Vernalized |
| CS(Cappelle-Desprez' 5A) | 61.5 ± 1.7 | 42.5 ± 0.6 | 86.3 ± 1.5 | 70.7 ± 2.1 |
| SCR-121 | 58.7 ± 1.2** | 40.3 ± 0.8** | 78.8 ± 1.5*** | 67.0 ± 1.7* |
| CS(Triticum spelta 5A) | 41.3 ± 2.2 | 36.0 ± 0.0 | 63.3 ± 2.2 | 61.0 ± 0.8 |
| SCR-53 | 41.0 ± 1.7 | 35.8 ± 0.8 | 70.0 ± 0.0*** | 61.3 ± 1.6 |
| SCR-4 | 40.7 ± 1.8 | 36.4 ± 0.9 | 69.5 ± 0.5*** | 60.0 ± 1.6 |

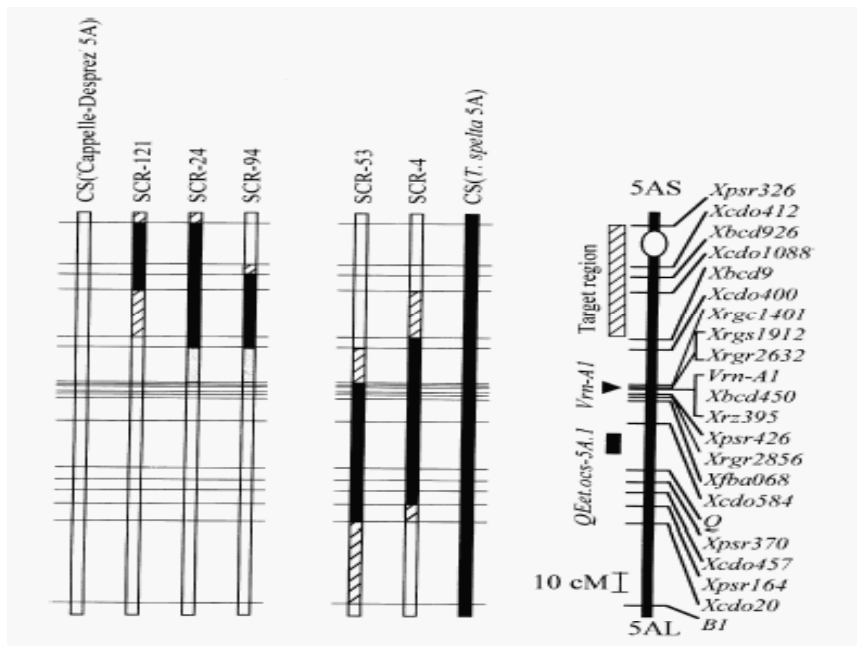
*, **, *** Significant from each parental control at P = 0.05, P = 0.01 and P = 0.001, respectively.

(Table 4)

| Line | Days to ear emergence |
|---------------------------|-----------------------|
| CS('Cappelle-Desprez' 5A) | 108.1 ± 5.9 |
| SCR-24 | 97.5 ± 4.3*** |
| SCR-94 | 98.0 ± 2.5*** |

*** Significant from CS(Cappelle-Desprez 5A) at P = 0.001.

(Table 5)



Wheat chromosome 5A map (Kato et al.1998,1999a,b) and graphical genotypes of five SCRs, CS(Capple - Desprez 's 5A) and CS(Triticum spelta 5A). SCR-4,SCR-53 and SCR-121 were used in the first and third experiments and SCR-24 and SCR-94 were in the second experiment. The open bars represent the ' Capple - Desprez 's' segments, the solid bars represent the 'Triticum spelta' segments, and the hatched bars represent the uncertain location of crossovers

(Fig 1)

五. 影響小麥開花期基因間之相互作用

在二倍體小麥 (Triticum monococcum) 中 , 已經有兩個和春化作用有關的基因 (*Vrn - A^{m1}* 、 *Vrn - A^{m2}*) 位置被 Xwg644、Xbcd402 標誌基因釐定出來。帶有 *Vrn - A^{m1}*、*vrn - A^{m2}* 基因的小麥是屬於春季生長習性 , *vrn - A^{m1}*、*Vrn - A^{m2}* 基因的小麥是屬於冬季生長習性。而帶有顯性同結合型、異結合型與隱性同結合型基

因的植株，均有不同的開花時間。(Fig 2)

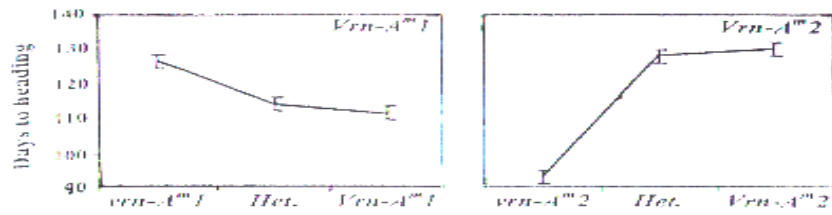


Figure Main effects of *Vrn-A^{m1}* and *Vrn-A^{m2}* on flowering time. Bars represent one standard error of the mean. Genotypes at the *Vrn-A^{m1}* and *Vrn-A^{m2}* loci were inferred from RFLP loci *Xug6-44* (completely linked to *Vrn-A^{m1}*) and *Xbcd402* (completely linked to *Vrn-A^{m2}*).

(Fig 2)

四個單一的 *Vrn - A^{m1}*、*Vrn - A^{m2}*、*vrn - A^{m1}*、*vrn - A^{m2}* 基因型分別再與兩組基因 (*Vrn - A^{m1} / vrn - A^{m1}* ; *Vrn - A^{m2} / vrn - A^{m2}*) 作比較，得到 A、B、C、D 四組的開花時間 (Fig 3) 在這四組開花時間中 A 組沒有顯著效應，其他三組均有顯著效應。這顯示了 (*Vrn - A^{m1}*、*vrn - A^{m2}*) 基因之間有上位現象的交互作用。

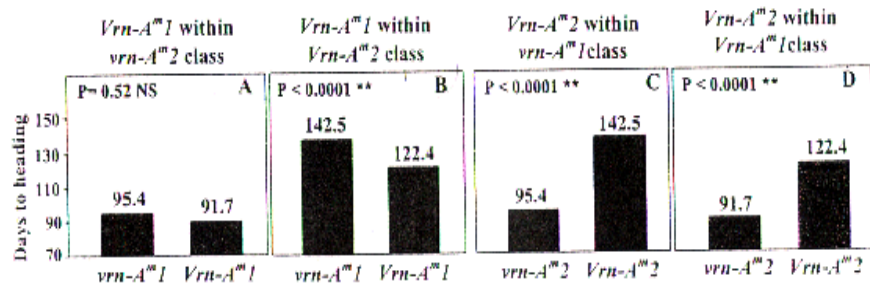


Figure Effect of *Vrn-A^{m1}* and *Vrn-A^{m2}* on flowering time when analyzed within each class of the other locus. Heterozygous and homozygous dominant classes were merged. *P* indicates the probability of significant differences in flowering time between the allelic classes determined by one-way ANOVAs.

(Fig 3)

六.小麥開花基因再染色體位置的釐定

在春化反應上已經有三對基因，*Vrn - A1*、*Vrn - B1*、*Vrn - D1* (過去以 *vrn1*、*vrn2*、*vrn3*、*vrn4* 表示) 被證實。過去十年，致力於釐定六倍體小麥遺傳連鎖圖譜的基因，但至今只釐定 *Vrn - A1*，*Vrn - D1* 兩個春化基因座在染色體上的位置，而與 *Vrn - B1* 基

因座相關的 DNA 標誌基因圖譜仍未建構完成。利用春小麥 (*Vrn* - B1, TDB) 和冬小麥 (*vrn* - B1, TDC) 的近同源品系雜交所得到的 F₂ 族群, 以 AFLP 與 SSR 標誌, 分析和 *Vrn* - B1 基因相連鎖的標誌基因。在 207 個 AFLP 引子對和 7 個篩選小麥的 SSR 標誌基因之中, 找到 9 個標誌基因 (Table 6), 而其中 3 個標誌基因 (Table 7), 有兩個 SSR 和一個 AFLP 標誌基因與小麥第五條染色體長臂末端的 *Vrn* - B1 基因相連鎖。緊靠著 *Vrn* - B1 的標誌基因是 SSR *Xgwm408* (2.5cM), 而距離最遠的是 SSR *Xgwm604* 在 17.2cM 的位置。當使用 TDB 為母本時, 圖譜全長為 20.6cM。而使用 TDC 為母本時, 圖譜全長為 14.0 cM, 兩者相比較下 TDB 比 TDC 短了 32% (Fig 4)。這反映了正反交作用在重組距離位置上的差異, 可知當產生圖譜族群時, 選擇親本的重要性。

Table 4: Observed segregation ratios, and probability values (P) for goodness of fit to expected ratios, for polymorphic genetic markers among F₂ progeny within reciprocal mapping populations segregating for *Vrn-B1* alleles

| Marker | Linked | Segregation pattern ¹ | TDB × TDC Observed ratio | P | TDC × TDB Observed ratio | P |
|------------------------|--------|----------------------------------|-----------------------------|-------|-----------------------------|-------|
| <i>gwm408</i> | Yes | Codominant | 16 : 45 : 28 | 0.331 | 16 : 44 : 29 | 0.148 |
| <i>gwm604</i> | Yes | Codominant | 29 : 54 : 17 | 0.185 | 15 : 47 : 29 | 0.103 |
| <i>Pa-acc Map-acc</i> | Yes | Dominant | 64 : 24 | 0.557 | 58 : 28 | 0.105 |
| <i>Pa-acc Map-acc</i> | No | Dominant | 71 : 19 | 0.383 | 46 : 38 | 0.363 |
| <i>Pa-acc Map-acc</i> | No | Dominant | 65 : 25 | 0.539 | 47 : 22 | 0.952 |
| <i>Pa-acc Map-acc</i> | No | Dominant | 65 : 24 | 0.636 | 39 : 29 | 0.086 |
| <i>Pa-acc Map-acc</i> | No | Dominant | 72 : 18 | 0.273 | 45 : 21 | 0.733 |
| <i>Eco-acc Map-acc</i> | No | Dominant | 75 : 16 | 0.182 | 41 : 21 | 0.452 |
| <i>Eco-acc Map-acc</i> | No | Dominant | 69 : 21 | 0.705 | 31 : 38 | 0.298 |

¹ Expected segregation ratios for codominant and dominant markers are 1 : 2 : 1 and 3 : 1, respectively.

(Table 6)

| Marker | Fragment size (bp) | Linkage distance (cM) ¹ | <i>Vrn-B1</i> linkage phase |
|-----------------------|--------------------|------------------------------------|-----------------------------|
| <i>gwm408</i> | 178 | 2.5 | Coupling |
| | 172 | | Repulsion |
| <i>gwm604</i> | 115 | 17.2 | Coupling |
| | 127 | | Repulsion |
| <i>Pa-acc Map-acc</i> | 146 | 7 | Coupling |

Table 5: Estimated fragment size, linkage distance between each marker and the trait, and linkage phase for DNA markers associated with the *Vrn-B1* locus

¹ Linkage distance (cM) between the marker and *Vrn-B1* was determined using data combined over reciprocal populations.

(Table 7)

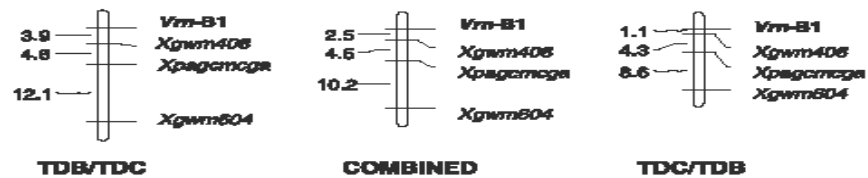


Fig. 2: Genetic linkage maps depicting a segment of wheat chromosome arm 5BL, defining the location of the *Vrn-B1* locus. Maps TDB/TDC and TDC/TDB were created using data from F_2 progeny ($n = 91$ and $n = 89$, respectively) of reciprocal cross-hybridizations between near-isogenic lines TDB carrying the spring growth habit allele (*Vrn-B1*) and TDC carrying the winter growth habit (*vrn-B1*) allele. Data were combined over populations to construct the centre map. The top of each linkage group is proximal to the centromere; distances are in centimorgans

(Fig 4)

七. 結論

將春化反應對偶基因轉入到一小麥品系已經被廣泛的使用於選拔策略上，這些策略可以增強小麥的產量，並且有效的幫助農藝作物在育種上的發展。了解遺傳及環境因子對開花/抽穗之影響，有助於調控小麥生育期及提高產量。

參考期刊

- Kato, K., H. Miura, and S. sawada. 1999a. Detection of earliness *per se* quantitative trait locus in the proximal region of wheat chromosome 5AL.
- Tranquilli, G ., and J. Dubcovsky, 2000. Epistatic interaction Between vernalization Genes *Vrn-A^{m1}* and *Vrn-A^{m2}* in Diploid Wheat.
- B. Barrett, M. Bayram and K. Kidwell, 2002. Identifying AFLP and microsatellite marker for vernalization response gene *Vrn-B1* in hexaploid wheat using reciprocal mapping population.