

基于 SRAP 的小麦籽粒性状 QTL 定位

李清峰,马守才,王志军,史秀秀,毕晓静,陈晓文,张改生

(西北农林科技大学,国家杨凌农业生物技术育种中心,国家小麦改良中心杨凌分中心,
小麦育种教育部工程研究中心,陕西省作物杂种优势研究与利用重点实验室,陕西 杨凌 712100)

摘要:籽粒大小和形态性状影响到小麦的产量和磨粉品质。为了鉴定小麦籽粒性状相关的数量性状位点(QTL),以大粒品种西农817为母本和小粒品种中国春为父本及其 F_2 群体为试验材料,分析籽粒长度、宽度、厚度及千粒质量的性状表现,并利用SRAP结合锚定标记SSR构建的遗传图谱,对这4个性状进行QTL定位分析。共检测到50个影响籽粒长度、宽度、厚度及千粒质量的QTLs,这些QTL分布在1A、2A、2D、3B、4B、4D、5D、6A、6D、7A染色体和5个连锁群。在检测到的QTLs中,与籽粒长度、宽度、厚度和千粒质量相关的QTL分别为16、13、10和11个。

关键词:小麦籽粒性状;SRAP和SSR;QTL定位

中图分类号:S512.03 文献标识码:A 文章编号:1000-7091(2012)05-0072-08

Locating the Quantitative Trait Loci (QTL) of Wheat Yield-related Traits Based on SRAP Markers

LI Qing-feng, MA Shou-cai, WANG Zhi-jun, SHI Xiu-xiu, BI Xiao-jing,
CHEN Xiao-wen, ZHANG Gai-sheng

(Northwest A&F University, National Yangling Agricultural Biotechnology and Breeding Center, Yangling Branch of State Wheat Improvement Center, Wheat Breeding Engineering Research Center, Ministry of Education, Key Laboratory of Crop Heterosis of Shaanxi Province, Yangling 712100, China)

Abstract: Grain size and morphology influence the yield and milling quality of bread wheat. The objective of this study was to identify quantitative trait loci (QTL) controlling kernel traits in wheat. Using a F_2 population derived from Chinese winter wheat varieties Xinong 817 and China spring, four agronomic traits of grain length (GL), grain width (GW), grain thickness (GT) and 1000-grain weight (TGW) were evaluated. Based on F_2 population, a genetic map comprising SRAP markers and SSR anchor markers was generated. According to the genetic map and phenotypic data, quantitative trait loci (QTL) were located for these agronomic traits using the inclusive composite interval mapping (ICIM) method. A total of 50 QTLs involving 1A, 2A, 2D, 3B, 4B, 4D, 5D, 6A, 6D and 7A wheat chromosomes and 5 linkage groups were identified for these four traits. Among them, 16, 13, 10 and 11 QTLs for GL, GW, GT and TGW were identified respectively. In addition, 15 genomic regions with plenty of QTLs were detected on 1A, 2D, 4D, 5D, 6A, 7A and 4 linkage groups in this study.

Key words: Wheat yield-related traits; SRAP and SSR; Quantitative trait loci

小麦(*Triticum aestivum* L.)是我国的主要粮食作物,随着我国耕地面积的不断减少和人口的增加,对小麦的需求不断增加,提高小麦单产迫在眉睫。小麦籽粒大小是籽粒质量高低的重要决定因子,籽粒的长度、宽度、厚度和千粒质量等参数是构成小麦

产量要素的重要指标,因此,研究籽粒相关性状的遗传特性对小麦产量提高和品质改良具有重要意义。国内外学者在不同遗传背景及环境下对小麦籽粒相关性状的QTL进行了一些研究,Kumar等^[1]利用重组自交系群体,在1A、2B和7A上检测到12个千粒

收稿日期:2012-07-17

基金项目:“863”计划子课题(2009AA101102);陕西省自然科学基金项目(2012JM3003)

作者简介:李清峰(1984-),男,安徽界首人,硕士,主要从事小麦杂种优势利用研究。

通讯作者:马守才(1968-),男,陕西大荔人,副教授,博士,硕士研究生导师,主要从事小麦杂种优势利用与种子工程研究。

质量 QTL 位点,可解释表型变异 9.06% ~ 19.85%。王瑞霞等^[2]在 4 个不同的环境中检测到与籽粒长度、宽度、厚度、体积和千粒质量相关的 QTL 以及在 1A、1B、2A、2D、3A、3B、5A、5B、5D、6A、6D、7B 和 7D 染色体上发现了 18 个 QTL 富集区。Kuchel 等^[3]利用 Trident/Molineux 的 DH 群体,在 18 个环境中定位了 5 个籽粒产量 QTL,位于 1B、2D、3D、4A 和 4D 染色体上。Kumar 等^[4]利用 2 个作图群体 (WL711/PHI32 和 Opata 85/W7984) 及 2 种复合区间作图法 (CIM 和 MCIM) 定位了籽粒产量及相关性状的 QTL,其中 6 个 QTL 在各环境中稳定表达,表现为一因多效的特性。李学军等^[5]把位于水稻第 3 染色体上控制籽粒大小的 GW3-1 和 IND109 定位到了小麦 4A 和 5B 染色体的长臂端。周森平等^[6]利用重组自交系群体,检测到 5 个与千粒质量相关的 QTL,分别位于 2A、2B、3B、4D 和 7A 染色体上,单个 QTL 可解释 9.6% ~ 25.7% 的表型变异。Campbell 等^[7]、Varshney 等^[8]、Ammiraju 等^[9]和 Brescaglio 等^[10]报道了控制小麦籽粒大小及千粒质量的 QTL 主要涉及 1A、1B、1D、2A、2B、2D、3B、4B、5A、6B 和 7B 染色体。SRAP (Sequence-related amplified polymorphism) 是一种主要针对开放阅读框架进行扩增的新型 DNA 分子标记,该标记具备了 RFLP、RAPD、SSR 和 AFLP 等分子标记的优点,又克服了它们的缺点,已在许多植物研究中得到应用,如遗传图谱构建^[11-12]、遗传多样性分析^[13-14]、QTL 定位^[15-16]等,但尚未见 SRAP 标记技术在小麦籽粒性状 QTL 定位方面的应用。

本研究以小粒小麦中国春与本研究组育成的大粒小麦西农 817 通过杂交构建的 F_2 群体为材料,利用 SRAP 分子标记并以 SSR 标记为锚定标记,对粒长、粒厚、粒宽和千粒质量等籽粒性状进行遗传分析和 QTL 定位,为进一步的精细定位和克隆籽粒性状基因及借助分子标记辅助选择累加籽粒性状有利基因、培育小麦新品种提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

使用西农 817 和中国春杂交组合的 F_2 群体作为试验材料。小粒品种中国春,千粒质量为 28.34 g; 大粒品种西农 817 为本研究组选育,千粒质量为 57.62 g。

1.2 田间种植与性状考察

2010 年 10 月在西北农林科技大学农作一站种植亲本材料,行长 1 m,行距 25 cm,株距 3 cm; F_2 采

取行长 2 m,行距 25 cm,株距 9 cm 点播。田间管理与一般大田相同。成熟后对亲本选择有代表性的 10 株,对 F_2 的每一株都进行考种,考种项目包括株高、穗长、穗径、分蘖数、小穗数、穗粒数、粒宽、粒长、粒厚以及千粒质量。

1.3 DNA 的提取、SRAP 和 SSR 标记检测

取 F_2 每个单株和 2 个亲本叶片,于液氮中速冻后研磨成粉末,采用 CTAB 法^[17]提取小麦基因组 DNA。所用 SRAP 引物来源于 Li 和 Quiros 等^[18]以及刘雅辉^[19],正向引物有 8 条,反向引物有 16 条,组合成 128 对 SRAP 引物。SSR 引物作为位点锚定,来源于与籽粒性状 QTL 定位相关的引物^[20-22],并从 <http://wheat.pw.usda.gov> 网站中查询引物序列,然后由上海生工合成。

SRAP 和 SSR 扩增反应体系相同: 扩增反应液 20 μ L,其中,10 \times PCR 缓冲液 2.0 μ L, dNTP 0.2 mmol/L, Mg^{2+} 2.5 mmol/L, SSR 引物 0.25 μ mol/L, Taq 酶 1.25 U,模板 DNA 50 ng。SRAP 和 SSR 扩增程序不同,SRAP 扩增程序如下: 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 1 min, 37 $^{\circ}$ C 复性 1 min, 72 $^{\circ}$ C 延伸 2 min, 5 个循环; 94 $^{\circ}$ C 变性 1 min, 50 $^{\circ}$ C 复性 1 min, 72 $^{\circ}$ C 延伸 2 min, 30 个循环; 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min, 4 $^{\circ}$ C 保存。扩增反应后在 6% 的聚丙烯酰胺凝胶上电泳, 80 W, 2 h。然后进行银染,显色,照相。SSR 的扩增反应程序: 94 $^{\circ}$ C 变性 2 min 后; 95 $^{\circ}$ C 1 min,退火温度 50 $^{\circ}$ C, 73 $^{\circ}$ C 1 min,循环 35 次; 73 $^{\circ}$ C 延伸 5 min, 4 $^{\circ}$ C 保存。SSR 扩增反应后在 6% 的聚丙烯酰胺凝胶上电泳, 80 W, 1.5 h。然后进行银染,显色,照相^[23]。

1.4 数据分析

利用统计分析软件 DPS V7.05 对 F_2 群体的株高、穗长、分蘖数、小穗数、穗粒数、粒宽、粒长、粒厚以及千粒质量等性状进行相关分析,并对 F_2 群体的千粒质量、粒长、粒宽和粒厚等性状进行表型分析。采用 QTL IciMapping 软件^[24]进行遗传作图和 QTL 定位,采用 Kosambi 函数将重组值转换成遗传图距 (cM),应用完备区间作图法 (ICIM) 以 LOD = 3.0 为阈值,检测 QTL,估算 QTL 的加性效应和可解释表型变异量。

2 结果与分析

2.1 群体及亲本籽粒相关性状的表型变异

F_2 群体和亲本籽粒性状的表现如表 1 所示。从表 1 可以看出,双亲性状差异明显,母本西农 817 表型值明显高于父本中国春。从表 1 还可以看出,千粒质量和粒宽的表型变异比较大,粒长和粒厚相对

较小。从分离群体的分布范围来看,千粒质量、粒长表现出数量性状的遗传特点。表现超低亲分离,粒宽、粒厚表现双向超亲分离,表

表 1 F_2 群体的籽粒形状及大小等性状表型Tab.1 Performance of F_2 for grain length (GL) grain width(GW) grain thickness (GT) and 1000-grain weight (TGW)

| 性状 Trait | 亲本(Parents) | | F_2 群体(The populations of F_2) | | | | | |
|-------------|--------------|--------|--------------------------------------|-----------|------------|-----------------|----------------|---------------|
| | 中国春 | 西农 817 | 均值 Mean | 标准差 SD | 变异系数 CV | 偏斜度 Skewness | 峰度 Kurtosis | 变化范围 Range |
| 千粒质量/g TGW | 28.34 | 57.62 | 39.83 | 8.35 | 0.21 | -0.90 | 0.64 | 12.29 ~ 55.59 |
| 粒长/mm GL | 6.38 | 8.76 | 7.40 | 0.56 | 0.08 | -3.45 | 24.95 | 3.20 ~ 8.50 |
| 粒宽/mm GW | 3.13 | 3.61 | 3.34 | 0.35 | 0.11 | -1.36 | 3.19 | 2.00 ~ 4.00 |
| 粒厚/mm GT | 2.69 | 3.04 | 2.90 | 0.20 | 0.07 | -0.93 | 1.77 | 2.20 ~ 3.40 |

2.2 相关分析

各性状间的相关关系见表 2,从表 2 可以看出,粒长、粒宽、粒厚、千粒质量相互间均呈极显著相关;其中千粒质量与粒宽、粒厚,以及粒宽与粒厚的相关关系较高,相关系数分别达到 $r = 0.79, 0.75, 0.77$ ($P < 0.01$),粒长与粒宽、粒厚、千粒质量的相关系

数较低,但也达到极显著相关,相关系数分别为 $r = 0.43, 0.30, 0.37$ ($P < 0.01$)。另外,其他农艺性状也对籽粒性状有影响,如千粒质量和株高、分蘖数、穗粒数呈极显著相关;粒长与分蘖数、小穗数、穗粒数呈显著相关;粒宽与穗粒数呈显著相关。

表 2 各性状间的表型相关分析

Tab.2 The Pearson correlation coefficients of traits

| 性状 Trait | 粒长 GL | 粒宽 GW | 粒厚 GT | 千粒质量 TGW | 株高 PH | 穗长 SL | 分蘖数 FTN | 小穗数 SNPS | 穗粒数 KNPS |
|-------------|----------|----------|----------|-------------|----------|----------|------------|-------------|-------------|
| 粒长 GL | 1 | | | | | | | | |
| 粒宽 GW | 0.43** | 1 | | | | | | | |
| 粒厚 GT | 0.30** | 0.77** | 1 | | | | | | |
| 千粒质量 TGW | 0.37** | 0.79** | 0.75** | 1 | | | | | |
| 株高 PH | 0.00 | 0.11 | 0.10 | 0.24** | 1 | | | | |
| 穗长 SL | 0.16 | 0.05 | 0.03 | 0.12 | 0.21* | 1 | | | |
| 分蘖数 FTN | 0.19* | 0.16 | 0.09 | 0.23** | 0.34** | 0.01 | 1 | | |
| 小穗数 SNPS | 0.19* | 0.13 | 0.09 | 0.20* | 0.29** | 0.13 | 0.39** | 1 | |
| 穗粒数 KNPS | 0.18* | 0.21* | 0.15 | 0.28** | 0.32** | 0.14 | 0.50** | 0.84** | 1 |

注: * . 表示相关显著; ** . 表示相关极显著。

Note: * . Mean correlation significant at 0.05 levels; ** . Mean correlation significant at 0.01 levels.

2.3 SRAP 的多态性及遗传图谱的构建

用 128 对 SRAP 引物和 33 对 SSR 引物检测亲本中国春和西农 817 之间的多态性,其中,有 35 对 SRAP 引物在两亲本间有多态性,多态性频率为 27.34%;扩增出 89 条带,其中,64 条具有多态性。有 21 对 SSR 引物在两亲本间有多态性,扩增出 25 条多态性条带。利用 QTL Ici mapping 3.2 软件,计算 56 对标记的 89 个位点的连锁关系,把 89 个标记位点定位到 19 个连锁群,参照 Somers 等^[25]小麦连锁图谱和 SSR 锚定标记,这些连锁群分布于 12 条染色体和 5 个未确定染色体的连锁群上(图 1)。

2.4 籽粒相关性状 QTL 定位及效应分析

利用完备区间作图法(ICIM)对 F_2 群体的千粒质量、粒长、粒宽、粒厚进行了 QTL 定位分析,结果见表 3 和图 1。在 F_2 群体共检测到 50 个和籽粒性

状有关的 QTL。其中,11 个千粒质量 QTL,16 个籽粒长度 QTL,13 个籽粒宽度 QTL,10 个籽粒厚度 QTL。50 个 QTL 分布在 21 条染色体的 10 条染色体和 5 个连锁群上,LOD 值为 3.003 5 ~ 5.130 2,表型变异率为 2.9315% ~ 39.6979%。

11 个千粒质量 QTL 分别定位于染色体 1A (1 个)、2D(1 个)、4D(1 个)、6A(2 个)、7A(2 个)和 LG13(1 个)、LG14(1 个)、LG15(1 个)、LG17(1 个)连锁群上。qTGW4Da 的遗传贡献最大,可解释 39.6979% 的表型变异;其次为 qTGWlg13、qTGW7Ab、qTGWlg17、qTGW1A,分别解释 21.5363%, 19.1309%, 17.0275%, 12.2873% 的表型变异。qTGW4D、qTGW7Ab、qTGWlg17、qTGW6Aa 和 qTGWlg14 的增效等位基因均来源于大粒亲本西农 817。

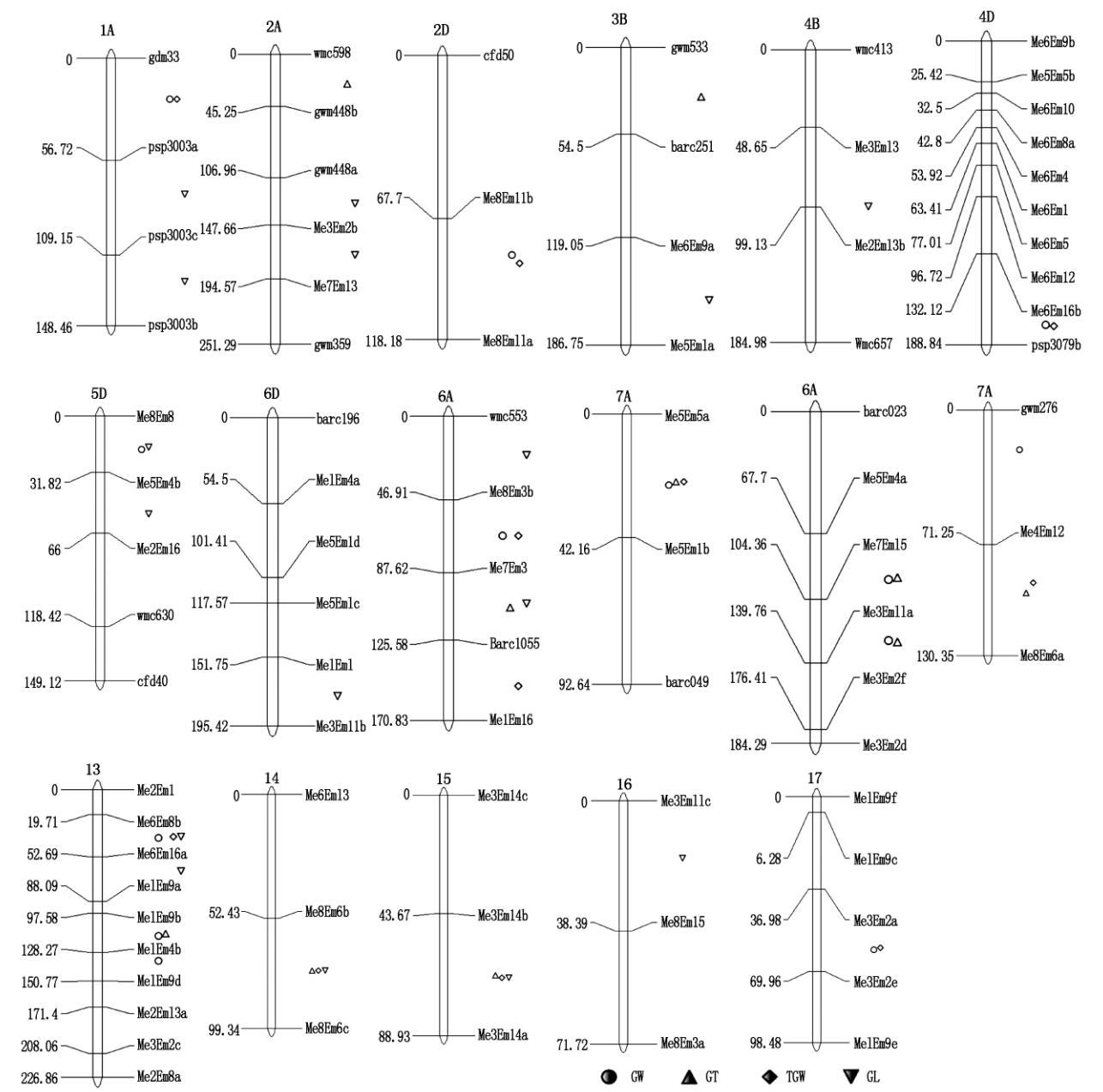


图1 小麦籽粒相关性状 QTL 位点

Fig.1 The positions of QTL about yield-related traits

表3 F₂ 籽粒性状的 QTL 参数

Tab.3 The parameters of QTLs affecting yield-related traits in F₂

| QTL 性状名称 QTL trait name | 染色体 Chromosome | 位置 Position | 标记区间 Flanking marker | 表型变异率/% PVE | LOD 值 LOD value | 加性效应 Additive effect | 显性效应 Dominance effect |
|-------------------------------|-------------------|----------------|-------------------------|----------------|--------------------|-------------------------|--------------------------|
| qGW1A | 1A | 26.0 | gdm33 ~ psp3003a | 17.278 0 | 3.257 1 | -0.822 2 | -9.869 0 |
| qGW2D | 2D | 88.0 | Me8Em11b ~ Me8Em11a | 5.905 3 | 3.151 7 | -1.960 4 | 4.372 8 |
| qGW4D | 4D | 155.0 | Me6Em16b ~ Psp3079b | 22.815 9 | 3.417 1 | 1.306 4 | -10.826 2 |
| qGW5D | 5D | 16.0 | Me8Em8 ~ Me5Em4b | 8.189 6 | 3.415 4 | -2.330 5 | 5.655 5 |
| qGW6Aa | 6A | 123.0 | Me7Em15 ~ Me3Em11a | 7.261 3 | 3.284 0 | 3.425 0 | 6.232 9 |
| qGW6Ab | 6A | 156.0 | Me3Em11a ~ Me3Em2f | 9.924 6 | 3.521 7 | 3.354 8 | 7.972 8 |
| qGW7Aa | 7A | 23.0 | gwm276 ~ Me4Em12 | 13.228 2 | 3.220 3 | -4.318 3 | 3.255 6 |
| qGWLg13a | 13 | 36.0 | Me6Em8b ~ Me6Em16a | 11.317 6 | 3.242 1 | -2.223 5 | -9.926 4 |
| qGWLg13b | 13 | 115.0 | Me1Em9b ~ Me1Em4b | 17.004 1 | 5.130 2 | -6.866 9 | -7.794 1 |
| qGWLg13c | 13 | 136.0 | Me1Em4b ~ Me1Em9d | 15.463 0 | 3.593 9 | -7.884 3 | -6.233 3 |
| qGWLg17 | 17 | 53.0 | Me3Em2a ~ Me3Em2e | 9.352 4 | 4.028 5 | 4.415 1 | 3.215 7 |

续表 3

| QTL 性状名称 QTL trait name | 染色体 Chromosome | 位置 Position | 标记区间 Flanking marker | 表型变异率/% PVE | LOD 值 LOD value | 加性效应 Additive effect | 显性效应 Dominance effect |
|-------------------------------|-------------------|----------------|-------------------------|----------------|--------------------|-------------------------|--------------------------|
| qGW6Ac | 6A | 70.0 | Me8Em3b ~ Me7Em3 | 6.005 1 | 3.003 5 | 2.456 7 | 6.150 0 |
| qGW7Ab | 7A | 22.0 | Me5Em5a ~ Me5Em1b | 6.164 3 | 3.052 6 | 0.812 8 | -5.954 9 |
| qGT2A | 2A | 23.0 | wmc598 ~ gwm448b | 5.775 9 | 3.026 7 | 0.743 6 | 3.653 3 |
| qGT3B | 3B | 27.0 | gwm533 ~ barc251 | 13.545 2 | 3.077 9 | 0.303 1 | 5.814 0 |
| qGT6Aa | 6A | 122.0 | Me7Em15 ~ Me3Em11a | 13.790 1 | 3.086 7 | 0.958 7 | 7.248 2 |
| qGT6Ab | 6A | 157.0 | Me3Em11a ~ Me3Em2f | 14.421 5 | 3.400 9 | 1.164 6 | 7.208 7 |
| qGT7Aa | 7A | 100.0 | Me4Em12 ~ Me8Em6a | 10.857 8 | 4.071 1 | -2.887 9 | -0.721 3 |
| qGTlg13 | 13 | 113.0 | Me1Em9b ~ Me1Em4b | 23.473 6 | 4.216 5 | -1.781 2 | 7.617 0 |
| qGTlg14 | 14 | 76.0 | Me8Em6b ~ Me8Em6c | 12.844 1 | 3.285 1 | 0.023 7 | 5.887 2 |
| qGTlg15 | 15 | 66.0 | Me3Em14b ~ Me3Em14a | 17.020 1 | 3.371 3 | -0.128 0 | 6.909 0 |
| qGT6Ac | 6A | 107.0 | Me7Em3 ~ barc1055 | 10.339 1 | 3.046 7 | -0.894 8 | -6.074 4 |
| qGT7Ab | 7A | 21.0 | Me5Em5a ~ Me5Em1b | 9.546 6 | 3.318 8 | 0.492 8 | -5.030 3 |
| qTGW1A | 1A | 26.0 | gdm33 ~ psp3003a | 12.287 3 | 3.052 9 | -1.563 4 | -7.780 0 |
| qTGW2D | 2D | 91.0 | Me8Em11b ~ Me8Em11a | 6.650 6 | 3.012 3 | -0.919 5 | 5.721 1 |
| qTGW4D | 4D | 157.0 | Me6Em16b ~ psp3079b | 39.697 9 | 4.355 7 | 0.562 9 | -14.320 5 |
| qTGW7Aa | 7A | 95.0 | Me4Em12 ~ Me8Em6a | 8.728 9 | 3.025 6 | -3.391 7 | -3.697 8 |
| qTGWlg13 | 13 | 35.0 | Me6Em8b ~ Me6Em16a | 21.536 3 | 3.699 3 | -1.403 3 | -13.213 2 |
| qTGWlg14 | 14 | 76.0 | Me8Em6b ~ Me8Em6c | 9.882 6 | 3.240 4 | 0.594 8 | 7.521 4 |
| qTGWlg15 | 15 | 67.0 | Me3Em14b ~ Me3Em14a | 7.641 2 | 3.083 7 | -0.865 2 | 6.631 8 |
| qTGWlg17 | 17 | 52.0 | Me3Em2a ~ Me3Em2e | 17.027 5 | 4.461 7 | 5.264 6 | 7.735 7 |
| qTGW6Aa | 6A | 70.0 | Me8Em3b ~ Me7Em3 | 6.881 4 | 3.048 8 | 2.588 9 | 6.379 7 |
| qTGW6Ab | 6A | 150.0 | barc1055 ~ Me1Em16 | 9.990 9 | 3.009 6 | -1.261 5 | -8.036 4 |
| qTGW7Ab | 7A | 21.0 | Me5Em5a ~ Me5Em1b | 19.130 9 | 3.771 7 | 0.882 3 | -10.518 3 |
| qGL1Aa | 1A | 84.0 | psp3003a ~ psp3003c | 8.179 0 | 3.073 6 | 1.742 4 | -6.881 3 |
| qGL1Ab | 1A | 129.0 | psp3003c ~ psp3003b | 3.312 0 | 3.201 4 | 2.456 5 | -0.155 0 |
| qGL2Aa | 2A | 130.0 | gwm448a ~ Me3Em2b | 2.931 5 | 3.040 8 | -2.618 4 | 2.667 9 |
| qGL2Ab | 2A | 169.0 | Me3Em2b ~ Me7Em13 | 13.152 9 | 3.004 7 | -3.160 7 | 9.751 3 |
| qGL3B | 3B | 156.0 | Me6Em9a ~ Me5Em1a | 14.912 1 | 3.166 3 | 3.332 1 | -7.256 7 |
| qGL4B | 4B | 79.0 | Me3Em13 ~ Me2Em13b | 11.225 0 | 3.206 5 | -3.395 4 | -7.527 3 |
| qGL5Da | 5D | 15.0 | Me8Em8 ~ Me5Em4b | 4.889 5 | 3.390 8 | -2.903 8 | -0.640 2 |
| qGL5Db | 5D | 48.0 | Me5Em4b ~ Me2Em16 | 7.815 4 | 3.926 5 | -2.408 1 | -7.329 1 |
| qGL6D | 6D | 174.0 | Me1Em1 ~ Me3Em11b | 14.682 5 | 3.397 6 | -2.581 2 | -10.844 9 |
| qGLlg13a | 13 | 35.0 | Me6Em8b ~ Me6Em16a | 16.182 8 | 3.121 0 | -3.167 5 | -12.939 8 |
| qGLlg13b | 13 | 72.0 | Me6Em16a ~ Me1Em9a | 5.722 3 | 3.290 7 | 3.762 5 | 5.379 8 |
| qGLlg14 | 14 | 76.0 | Me8Em6b ~ Me8Em6c | 15.567 0 | 3.221 5 | 0.406 4 | 10.800 2 |
| qGLlg15 | 15 | 67.0 | Me3Em14b ~ Me3Em14a | 9.986 2 | 3.375 1 | -1.655 6 | 8.257 4 |
| qGLlg16 | 16 | 18.0 | Me3Em11c ~ Me8Em15 | 10.912 5 | 3.354 6 | -2.491 6 | -10.212 2 |
| qGL6Aa | 6A | 24.0 | wmc553 ~ Me8Em3b | 6.392 1 | 3.133 0 | -2.698 9 | 3.768 0 |
| qGL6Ab | 6A | 105.0 | Me7Em3 ~ barc1055 | 16.394 3 | 3.423 8 | 3.315 5 | 12.615 9 |

所检测到的 16 个与籽粒长度相关的 QTL 分别位于染色体 1A (2 个)、2A (2 个)、3B (1 个)、4B (1 个)、5D (2 个)、6A (2 个)、6D (1 个) 和 LG13 (2 个)、LG14 (1 个)、LG15 (1 个)、LG16 (1 个) 连锁群上。qGL6Ab 的遗传贡献最大,可解释 16.3943% 的表型变异;其次为 qGLlg13a、qGLlg14、qGL3B、qGL6D、qGL2Ab 和 qGL4B、qGLlg16,分别解释 16.1828%、15.5670%、14.9121%、14.6825%、13.1529%、

11.2250%、10.9125% 的表型变异。1A 染色体上的 2 个 QTL、qGL3B、qGL6Ab 和 qGLlg13b、qGLlg14 位点的增效等位基因均来源于大粒亲本西农 817。

13 个粒宽 QTL 分别定位在染色体 1A (1 个)、2D (1 个)、4D (1 个)、5D (1 个)、6A (3 个)、7A (2 个) 和 LG13 (3 个)、LG17 (1 个) 连锁群上。6A 染色体定位了 3 个粒宽 QTL。加性效应为 2.4567 ~ 3.4250,表型变异率为 6.0051% ~ 9.9246%,其增

效等位基因均来源于大粒亲本西农 817。LG13 连锁群定位了 3 个粒宽 QTL。加性效应为 $-2.2235\% \sim -7.8843\%$, 表型变异率在 $11.3176\% \sim 17.0041\%$ 之间。4D 染色体定位的粒宽 QTL 遗传贡献最大, 加性效应为 1.3064 , 表型变异率在 22.8159% , 增效等位基因来源于大粒亲本西农 817。其次为 qGW1A、qGWlg13b、qGWlg13c、qGW7Aa、qGWlg13a, 分别解释 17.2780% , 17.0041% , 15.4630% , 13.2282% , 11.3176% 的表型变异。qGW7Ab、qGWlg17 位点的增效等位基因也来源于大粒亲本西农 817, 可解释 6.1643% 、 9.3524% 的表型变异。

10 个籽粒厚度 QTL 分别位于染色体 2A (1 个)、3B (1 个)、6A (3 个)、7A (2 个) 和 LG13 (1 个)、LG14 (1 个)、LG15 (1 个) 连锁群上。qGTlg13 的遗传贡献最大, 可解释 23.4736% 的表型变异; 其次为 qGTlg15、qGT6Ab、qGT6Aa、qGT3B、qGTlg14、qGT7Aa、qGT6Ac 分别解释 17.0201% , 14.4215% , 13.7901% , 13.5452% , 12.8441% , 10.8578% , 10.3391% 的表型变异。qGT2A、qGT3B、qGT6Aa、qGT6Ab 和 qGTlg14 位点的增效等位基因均来源于大粒亲本西农 817。

3 讨论

3.1 SRAP 标记用于遗传图谱构建和籽粒性状 QTL 定位的有效性

目前, 应用于小麦分子遗传连锁图谱构建的分子标记主要有 RFLP 和 SSR 等标记。RFLP 标记具有共显性、重复性和稳定性好等优点, 但试验操作过程比较复杂, 对 DNA 质量要求高, 用量大, 不适宜于对大群体进行遗传分析; SSR 标记是一种图谱构建的理想标记, 但该类标记开发成本比较高, 在基因组内的分布不是随机的, 大部分位于非表达区。与之相反, SRAP 标记主要是针对基因编码区开发的, 它通过独特设计的引物对 ORFs (Open-reading frames) 进行扩增。并且其上下游引物可随意组合而大大降低了引物成本, 具有经济、简便、稳定、多态性好的特点。因此, 该标记反映的信息与表型变异以及表型演化史较其他标记可能更为一致^[19]。基于 SRAP 标记的连锁图谱构建以及重要农艺性状 QTL 定位也可能更为可靠。

本研究利用 128 对 SRAP 引物组合对亲本西农 817 和中国春进行多态性筛选, 结果有 27.34% 的引物能够在二者之间检测出多态性, 每组合的多态性条带数平均 1.83 个, 说明 SRAP 标记在小麦品种中具有相对较高的多态性。在所定位的 50 个籽粒性

状相关 QTL, 其中 44 个 QTL 的标记区间涉及 SRAP 标记, 表明针对基因编码区扩增的 SRAP 标记在对于农艺性状 QTL 定位效果上比其他标记更为有效。

3.2 QTL 定位结果的比较

籽粒性状是复杂的数量性状, 受多基因控制。在本研究中共检测到 50 个 QTL, 主要分布在 1A、2A、2D、3B、4B、4D、5D、6A、6D、7D 染色体和 LG13、LG14、LG15、LG16、LG17 连锁群上, 许多研究也在其相同或相近的位置定位到了与籽粒性状相关的 QTL。例如, Giura^[26] 和 Campbell 等^[7] 在 1A 染色体的 bed 1407 附近、王瑞霞等^[2] 在 Xgwm357 附近发现的影响粒宽 QTL, 位于本研究 qGW1A、qTGW1A 所处标记区间附近; 丁安明等^[27] 在 1A 染色体与 Xwmc333 连锁的粒宽 QTL; Varshney 等^[8] 定位的与 Xwmc333 连锁的千粒质量 QTL, 位于本研究 qGW1A、qTGW1A 所处标记区间内。廖政祥等^[20] 所定位的籽粒宽度 QTL 与本研究 qGW1A、qTGW1A 所处位置相同。qGW1A、qTGW1A 分别可解释表型变异的 17.2780% , 12.2873% , 是稳定的主效 QTL。qGL1Aa、qGL1Ab 也位于该区间邻近。

Campbell 等^[7] 在 2A 染色体发现的籽粒宽度 QTL、王瑞霞等^[2] 在 wmc598 附近发现的影响粒宽 QTL, 丁安明等^[27] 在 Xpsp3088 ~ Xcfa2263 区间定位的粒宽 QTL, 与本研究 qGT2A 所处位置相近。qGL2Aa 可以解释表型变异的 5.7759% , 王瑞霞等^[2] 定位的与 gwm359 标记连锁的千粒质量 QTL 也位于附近。2A 染色体上的 qGL2Ab 可解释表型变异为 13.1529% , 是主效基因控制的 QTL。但在该染色体上本研究未定位到粒宽 QTL。Zhang 等^[28] 在该位点附近定位了涉及产量和产量相关性状的主效 MQTL8 (gwm636 ~ gwm296)。

qGT3B 位于 3B 染色体的 barc251 ~ gwm533 标记区间, 可解释表型变异为 13.54527% , 受主效基因控制。在该区间张坤普^[21] 检测到千粒质量 QTL。Zhang 等^[28] 在 gwm533 ~ ksuG53 区间定位了涉及产量和产量相关性状的主效 MQTL24。在水稻染色体 1S 的直向同源区域, Ashikari 等^[29] 发现控制穗粒数的基因 (Gn1a)。Gn1a 编码细胞分裂素氧化酶/脱氢酶 (OsCKX2), 控制着花序分裂组织中细胞分裂素的积累。qGL3B 可解释表型变异的 14.91% , 增效等位基因来源于大粒亲本西农 817, 但由于缺乏有效的锚定 SSR 标记, 尚不能确定其是否是一个新位点。

位于 6A 染色体上的 qTGW6Aa、qGL6Aa、qGL6Ab、qGW6Ac、qGT6Ac 位点, 在该区间张坤普^[21] 检测到千粒质量和粒径的主效 QTL, 也与 Huang 等^[30] 定位

的 QT_{gw. crc-6A} (遗传贡献率为 13.9%) 位置相同, 可用于分子标记辅助选择。

另外, 在 5 个连锁群上, 也存在一些增效等位基因来源于大粒亲本西农 817 的遗传贡献率较大的 QTL, 如 qTGWlg17 (遗传贡献率为 17.03%)、qGLlg14 (遗传贡献率为 15.57%)、qGTlg14 (遗传贡献率为 12.84%) 等, 由于本研究缺乏足够多的锚定 SSR 标记, 无法确定其所在染色体以及是否为新 QTL, 需要今后进一步增加 SSR 标记加以确定。

3.3 QTL 富集区的比较

千粒质量是籽粒大小和饱满度的综合体现, 和籽粒长度、宽度、厚度有着密切的关系, 本研究结果也显示, 千粒质量和这些籽粒大小相关性状间均具有显著的相关关系, 相关系数分别为 0.37、0.79 和 0.75。正如所期望的, 在所检测到的 11 个控制千粒质量 QTL 中, 有多个 QTL 位点同时控制着一个或一个以上籽粒大小相关性状。例如, 1A 染色体上标记区间 gdm33 ~ psp3003a 的 QTL, 在千粒质量、粒宽中均能检测到, 遗传效应方向相同(负向加性效应)。7A 染色体上区间为 Me5Em5a ~ Me5Em1b 的 QTL, 在千粒质量、粒宽和粒厚上都检测到, 遗传效应方向相同(正向加性效应), 增效等位基因来源于大粒亲本西农 817。qTGWlg13 可同时影响千粒质量、粒宽和粒长。qTGW4D 同时影响千粒质量、粒宽, 遗传贡献率较大(39.6979%、22.8159%), 且遗传效应方向相同(正向加性效应), 增效等位基因来源于大粒亲本西农 817。Huang 等^[30]在 4D 染色体的标记 Xcfd71a 附近定位了 1 个千粒质量主效 QTL, 丁安明等^[27]定位于 Xcfd71 附近的多效 QTL, 它们是否为同一 QTL 还需进一步研究。这些 QTL 均能稳定的遗传, 可作为主效基因, 与这些 QTL 紧密连锁的分子标记, 为利用分子标记辅助选择途径同时聚合控制不同籽粒性状的有益等位基因育种提供了可能。

参考文献:

[1] Neeraj Kumar, Pawan L, Kulwal Anupama *et al.* QTL analysis for grain weight in common wheat [J]. *Euphytica*, 2006, 151: 135–144.
[2] 王瑞霞, 张秀英, 伍玲, 等. 不同生态环境下冬小麦籽粒大小相关性状的 QTL 分析 [J]. *中国农业科学*, 2009, 42(2): 398–407.
[3] Kuchel H, Williams K, Langridge P *et al.* Genetic dissection of grain yield in bread wheat: II QTL-by-environment interaction [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2007, 115: 1015–1027.
[4] Kumar K, Kulwal P L, Balyan H S *et al.* QTL mapping for

yield and yield contributing traits in two mapping populations of bread wheat [J]. *Mol Breed*, 2007, 19: 167–177.
[5] 李学军, 李立群, 王辉, 等. GW3-1 和 JND109 标记对普通小麦粒重的 QTL 定位分析 [J]. *西北植物学报*, 2008, 28(6): 1106–1111.
[6] 周森平, 任丽娟, 张旭, 等. 小麦产量性状的 QTL 分析 [J]. *麦类作物学报*, 2006, 26(4): 35–40.
[7] Campbell K G, Bergman C J, Gualberto D G *et al.* Quantitative trait loci associated with kernel traits in a soft × hard wheat cross [J]. *Crop Science*, 1999, 39: 1184–1195.
[8] Varshney R K, Prasad M, Roy J K *et al.* Identification of eight chromosomes and a microsatellite marker on 1AS associated with QTL for grain weight in bread wheat [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2000, 100: 1290–1294.
[9] Ammiraju J S, Dholakia B B, Santra D K *et al.* Identification of inter simple sequence repeat (ISSR) markers associated with seed size in wheat [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2001, 102: 726–732.
[10] Breseghello F, Sorrells M E. QTL analysis of kernel size and shape in two hexaploid wheat mapping populations [J]. *Field Crops Research*, 2007, 101: 172–179.
[11] Gao L, Liu N, Huang B *et al.* Phylogenetic analysis and genetic mapping of Chinese *Hedychium* using SRAP markers [J]. *Scientia Horticulturae*, 2008, 117: 369–377.
[12] 林忠旭, 张献龙, 聂以春, 等. 棉花 SRAP 遗传连锁图构建 [J]. *科学学报*, 2003, 48(15): 1676–1679.
[13] Ferrol M, Nuez F. Genetic diversity of a germplasm collection of *Cucurbita pepo* using SARP and AFLP markers [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2003, 107: 271–282.
[14] 杨平, 刘仙俊, 刘新春, 等. 利用 SRAP 标记研究四川高原青稞育成品种的遗传多样性 [J]. *遗传*, 2008, 30(1): 115–122.
[15] 吴为人, 卢泳全. 应用 SRAP 技术从大米草根中分离盐胁迫应答基因(英文) [J]. *浙江大学学报: 农业与生命科学版*, 2006, 32(5): 511–514.
[16] 潘俊松, 王刚, 李效尊, 等. 黄瓜 SRAP 遗传连锁图的构建及始花节位的基因定位 [J]. *自然科学进展*, 2005, 15(2): 167–172.
[17] Lefort F, Douglas G C. An efficient micro-method of DNA isolation from mature leaves of four hardwood tree species *Acer*, *Fraxinus*, *Prunus*, and *Quercus* [J]. *Ann For Sci*, 1999, 56: 259–263.
[18] Li G, Quiros C F. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP): a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in *Brassica* [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2001, 103: 455–461.
[19] 刘雅辉, 闫红飞, 杨文香, 等. 小麦抗叶锈病基因 Lr19 的 SRAP 标记 [J]. *华北农学报*, 2007, 22(4): 193–

- 196.
- [20] 廖祥政,王 瑾,周荣华,等. 发掘人工合成小麦中千粒重 QTL 的有利等位基因[J]. 作物学报,2008,34(11):1877-1884.
- [21] 张坤普,徐宪斌,田纪春. 小麦籽粒产量及穗部相关性状的 QTL 定位[J]. 作物学报,2009,35(2):270-278.
- [22] 严 俊,张玲玲,王兴梅,等. 四倍体小麦产量相关性状的 QTL 的定位与分析[J]. 山东农业大学学报:自然科学版,2011,42(2):163-171.
- [23] Yuanxiu Wang,Xiaoyan Sun,Biyue Tan *et al.* A genetic linkage map of *Populus adenopoda* Maxim. \times *P. alba* L. hybrid based on SSR and SRAP markers[J]. *Euphytica*,2010,173:193-205.
- [24] Luyan Zhang,Shiquan Wang,Huihui Li *et al.* Effects of missing marker and segregation distortion on QTL mapping in F_2 populations[J]. *Theoretical and Applied Genetics*,2010,121:1071-1082.
- [25] Somers D,Isaac P,Edwards K. A high-density microsatellite consensus map for bread wheat [J]. *Theoretical and Applied Genetics*,2004,109(6):1105-1114.
- [26] Giura A,Saulescu N N. Chromosomal location of genes controlling grain size in a large grained selection of wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Euphytica*,1996,89:77-80.
- [27] 丁安明,李 军,崔 法,等. 利用小麦关联 RIL 群体定位产量相关性状 QTL [J]. 作物学报,2011,37(9):1511-1524.
- [28] Zhang L Y,Liu D C,Guo X L *et al.* Genomic distribution of quantitative trait loci for yield and yield-related traits in common wheat J. *Integr[J]. Plant Biol*,2010,52(11):996-1007.
- [29] Ashikari M,Sakakibara H,Lin S *et al.* Cytokinin oxidase regulates rice grain production [J]. *Science*,2005,309:741-745.
- [30] Huang X Q,Cloutier S,Lycar L *et al.* Molecular detection of QTLs for agronomic and quality traits in a doubled haploid population derived from two Canadian wheats (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Theoretical and Applied Genetics*,2006,113:753-766.