麦类作物学报 2020,40(7):771－779
Journal of Triticeae Crops doi:10.7606/j.issn.1009-1041.2020.07.01

网络出版时间:2020-07-03
网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1359.S.20200703.0941.006.html

小麦穗粒数 QTL 整合与元分析

左煜昕[1,2],马靖福[1,2],刘 媛[2],张沛沛[1],栗孟飞[1,2],
程宏波[2],陈思瑾[2],幸 华[2],杨德龙[1,2]

(1.甘肃省干旱生境作物学重点实验室,甘肃兰州 730070;2.甘肃农业大学生命科学技术学院,甘肃兰州 730070)

摘 要:小麦穗粒数是由多基因控制的复杂数量性状。为发掘控制小麦穗粒数(KNS)的真实主效数量性状位点(quantitative trait loci, QTL),本研究利用生物信息学手段,借助小麦高密度分子标记遗传图谱,对来自不同遗传作图群体的控制小麦穗粒数的 163 个 QTL 位点进行图谱整合、映射和元分析。结果表明,目标性状 QTL 在小麦 21 条染色体上不均匀分布,在 2B 染色体上最多,在 7D 染色体上最少;建立控制小麦 KNS 的 QTL 一致性图谱,最终获得 35 个一致性 QTL(meta quantitative trait loci, MQTL)位点及其紧密连锁的候选分子标记,置信区间最小可达到 0.55 cM。

关键词:小麦;穗粒数;元分析;一致性 QTL

中图分类号:S512.1;S330 **文献标识码**:A **文章编号**:1009-1041(2020)07-0771-09

Mapping and Meta-Analysis of QTLs for the Kernel Number Per Spike in Wheat(*Triticum aestivum* L.)

ZUO Yuxin[1,2], MA Jingfu[1,2], LIU Yuan[2], ZHANG Peipei[1], LI Mengfei[1,2], CHENG Hongbo[2], CHEN Sijin[2], XING Hua[2], YANG Delong[1,2]

(1. Key Lab of Aridland Crop Science of Gansu Province, Gansu Agricultural University, Lanzhou, Gansu 730070, China;
2. College of Life Science and Technology, Gansu Agricultural University, Lanzhou, Gansu 730070, China)

Abstract: The kernel number per spike (KNS) of wheat is a complex quantitative trait controlled by multiple genes. In order to find out the major quantitative trait loci (QTLs) that control KNS in wheat, this study used bioinformatics to integrate, map and meta-analyze 163 QTL loci controlling KNS from different genetic mapping populations based on a high-density genetic map. The results showed that the QTLs of the target trait were distributed unevenly on 21 chromosomes of wheat, most on 2B and least on 7D. A consensus genetic map for QTL controlling KNS was established. Consequently, 35 meta QTLs (MQTL) and their closely linked molecular markers were obtained, with the minimum confidence interval of 0.55 cM.

Key words: Wheat; Kernel number per spike; Meta-analysis; Consensus QTL

穗粒数(kernel number per spike,KNS)作为小麦产量三大因素之一,是品种选育时重点考察的重要指标[1-2]。水分是影响小麦产量及稳定性的重要非生物胁迫因子,在干旱条件下,小麦穗粒数与干旱胁迫程度呈显著负相关。随着干旱胁迫的季节性频发,以及农业用水资源的日益匮乏,干旱胁迫作为主要限制因素之一,直接影响作物生长发育进程,造成穗粒数减少,最终导致减产[3]。因此,通过遗传学等方法提高穗粒数对小麦增产意义重大。

收稿日期:2019-03-27 修回日期:2019-12-16
基金项目:国家自然科学基金项目(31760385,31460348);甘肃省现代农业产业技术体系项目(GARS-01-04)
第一作者 E-mail:zuoyx0028@163.com
通讯作者:杨德龙(E-mail:yangdl@gsau.edu.cn)

研究表明，小麦穗粒数是由微效多基因控制的复杂数量性状，遗传基础复杂，易受环境因素的影响[4]。近年来，随着 DNA 分子标记技术的快速发展，小麦穗粒数的分子数量遗传研究取得了较大进展。目前，研究者利用不同遗传背景材料和遗传图谱，对小麦穗粒数进行了数量性状位点（quantitative trait loci，QTL）定位和遗传分析。周森平等[5]利用小麦重组近交系（recombinant inbred lines，RILs）群体，在 1B、1D、2A、2B、3B、4A、5D、6B 和 7A 等 9 条染色体上检测到 11 个控制穗粒数的 QTL 位点。吴秋红等[6]利用小麦 RIL 群体定位了 8 个控制穗粒数的 QTL，位于 1A、3A、3D、4A 和 5B 等 5 条染色体上，可解释 4.06%～11.17%的表型变异。Lee 等[7]利用小麦双单倍体群体（double haploid lines，DH）在 2A、3A 和 4A 染色体上定位了 3 个控制穗粒数的主效 QTL。张坤普等[8]利用小麦 DH 群体在 2D、4D 和 5D 染色体上检测到与穗粒数紧密连锁的 QTL 位点。然而，由于作图群体材料遗传背景、标记类型、遗传图谱及环境条件的不同，导致小麦穗粒数定位的 QTL 数目、位置和遗传效应差异较大，难以获得真实、稳定的 QTL 位点和热点区段，无法直接应用于小麦育种实践[9]。

元分析（meta-analysis）是一种可以合并不同研究数据进行统计分析且可以对实际数据进行全面检验的方法。其中用于 QTL 元分析的 BioMercator 4.2 软件，可将与目标性状相关的所有 QTL 位点映射整合在一张遗传图谱上，通过比对分析，挖掘出一致性真实 QTL 位点，并能进一步缩小置信区间，获得与目标性状紧密连锁的分子标记。目前，该方法已广泛应用于各种作物不同性状的整合定位研究[10]。李雪华等[11]对干旱胁迫下与玉米生理性状和农艺性状相关的 181 个 QTL 整合元分析后，从中发掘出 15 个通用抗旱“一致性”QTL（meta quantitative trait loci，MQTL）。Goudemand 等[12]利用 7 个 DH 群体对小麦叶枯病抗性相关的 QTL 进行定位和元分析，最终得到 115 个抗病 QTL 和 27 个 MQTL，并发现其中 14 个 MQTL 与株高和早熟性密切相关。胡雅君等[13]通过收集涉及小麦籽粒可溶性碳水化合物含量的 168 个 QTL，构建一致性图谱，最终获得 16 个 MQTL。但迄今为止，有关小麦穗部相关性状的 QTL 整合和元分析研究相对较少，尤其是关于小麦穗粒数的 QTL 元分析研究未见报道。为此，本研究利用生物信息学方法，将已报道的控制小麦穗粒数的 QTL 位点及其数目进行收集整理，以小麦高密度遗传图谱作为参考图谱，利用 BioMercator 4.2 软件将 QTL 映射至该参考图谱上，构建小麦穗粒数 QTL 一致性图谱，通过元分析发掘 MQTL 和候选标记，为深入理解小麦穗部性状的遗传机制和精细定位提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材 料

以美国农业部小麦公共数据库（http://wheat.pw.usda.gov/）和已发表文献中控制小麦穗粒数的 QTL 信息[5-8,14-26]为研究对象。

1.2 试验方法

1.2.1 小麦穗粒数 QTL 数据收集整合

对已报道的控制小麦穗粒数 QTL 定位信息进行收集，将收集到的每个 QTL 数据按照 BioMercator 4.2 软件（http://www.mybiosoftware.com/biomercator-2-1-genetic-maps-qtl-integration.html）的要求进行整理，包括 QTL 名称、染色体位置、置信区间、连锁系数、贡献率、临近标记、LOD 值和群体大小等，其中，QTL 位置（置信区间和 QTL 最大可能位置）和遗传贡献率是影响 QTL 元分析的两个重要参数，缺一不可。

1.2.2 小麦穗粒数 QTL 信息映射

根据收集到的小麦穗粒数性状的 QTL 信息确定其所涉及的染色体，以 Wheat composite 2004（https://wheat.pw.usda.gov/cgi-bin/GG3/report.cgi?class=mapdata;query=;name=Wheat,+Composite,+2004）高密度遗传图谱作为参考图谱，将目标 QTL 的最大可能位置和置信区间两端坐标按比例标注到参考图谱上，对比原始图谱（即所收集的遗传图谱）与参考图谱。为了获得精确的映射结果，把不能直接映射到参考图谱上的标记，可先映射到 Somers 等[27]绘制的小麦整合图谱（即中介图谱）上，再利用图谱上的公共标记 QTL 映射到参考图谱上，并将原始图谱与参考图谱上相关标记载入 BioMercator 4.2 软件中，建立图谱信息库。基于图谱间的共有分子标记，利用齐序函数将目标 QTL 的最大可能位置和置信区间两端坐标按比例标注到参考图谱上，即映射，并将原始图谱及参考图谱间有争议的标记剔除。

1.2.3　小麦穗粒数 QTL 元分析

利用 BioMercator 4.2 软件对小麦穗粒数 QTL 进行元分析,将位于同一连锁群相同位点附近的 N 个独立存在的与目标性状相关的 QTL 进行运算,对独立来源的同一性状且位于同一座位或有重叠座位的 QTL 计算出一个 MQTL,该 QTL 会给出 5 个模型(即模型 1、2、3、4 和 N),其中赤池信息量准则(akaike-type criteria values, AIC)值最小的模型为最优模型,即真实 QTL 模型,并通过高斯定理最大似然比估算该 QTL 存在的位置和置信区间。如果 AIC 值最小的为 N 模型,则表明用于分析的连锁群过大,需要分为两段来进行元分析。如果整理数据时某一 QTL 置信区间未知,可通过 Darvasi 等[28]应用的公式推断 95%的置信区间:

$$C.I=530/(N\times R^2) \quad (1)$$

$$C.I=163/(N\times R^2) \quad (2)$$

其中 $C.I$ 指 QTL 95%的置信区间,N 代表作图群体的大小,R^2 代表该 QTL 的遗传贡献率,公式(1)适用于 F_2 群体和 BC 群体,公式(2)适用于 RIL、DH 及 NIL 群体。若已知置信区间,也可应用该公式估算未知 QTL 的遗传贡献率。

1.2.4　基于小麦穗粒数 MQTL 范围内候选基因发掘

利用生物信息学手段进行目标性状 QTL 的整合,获得穗粒数 MQTL 区域,针对这些区域内的 EST 或 DNA 序列搜索候选基因。该法的原理为:物种内及物种间的序列同源性,基因的功能和序列是密切相关的,当序列的相似性超过一定的范围时,它们可能执行相同的功能,通过将未知功能序列和已知功能序列的对比,如果它们相似性较高,就可以推断出序列的相应功能。

在参考图谱 Wheat composite 2004 上,由元分析所得的小麦穗粒数 MQTL 区域(meta-C.I)由两端标记界定。对 MQTL 区间及其邻近区域的穗粒数相关基因位点进行整理,根据 MQTL 区间的基因位点名称,在 GrainGenes(https://wheat.pw.usda.gov/)网站,下载目标性状“一致性”区段内的相关基因序列和各种标记的原始序列,从而确定 MQTL 在染色体物理图谱上的位置。利用小麦基因组数据库(http://202.194.139.32/)中 JBrowse 工具检索 MQTL 内的基因信息,并获得该区间内所有基因的功能注释信息。最后在 NCBI 网站上下载这些基因的序列,并利用其在线工具 BLAST 分析比对相关基因序列,进而预测目标性状候选基因。

2　结果与分析

2.1　小麦穗粒数 QTL 信息的收集整合结果

从小麦公共数据库和已发表文献中收集到来源于花培 3×豫麦 57、Keumkang×Olgeuru、小麦-冰草衍生系 3228×京 4839、川麦 42×川农 16、洛旱 2×潍麦 8、潍麦 8×烟农 19、潍麦 8×济麦 20、望水白×Alondra、兰考 906×小偃 21、G1816×Langdon、西农 817×中国春、燕达 1817×北农 6、扬麦 17×宁麦 18、糯麦 1×藁城 8901、TP×Ta13 等 18 个作图群体,共涉及小麦穗粒数的 163 个 QTL(表 1)。利用 BioMercator 4.2 软件中的 QTL projection 功能将收集到的数据映射至 Wheat composite 2004 小麦参考图谱上。LOD 值在 2.01～41.13 之间,各位点的遗传贡献率在 2.20%～32.75%之间。

2.2　小麦穗粒数 QTL 一致性图谱的构建

将原始图谱与参考图谱 Wheat composite 2004 上相关标记载入 BioMercator 4.2 软件,利用图谱映射程序构建小麦穗粒数 QTL 一致性图谱。结果(图 1)表明,控制小麦穗粒数的 QTL 覆盖了小麦 21 条染色体,各染色体上分布不均,在 7D 染色体上最少(2 个 QTL),2B 染色体上最多(17 个 QTL),其他染色体上分布 3～12 个。其中,在 QTL 一致性图谱的同一连锁群上有明显成簇分布现象,存在 QTL 富集区域。如在 2A、3A 和 7B 连锁群上各有 2 个 QTL 簇,在 2D、3D 和 6B 连锁群上各有 1 个 QTL 簇。这些 QTL 彼此间有区间的重叠,大都出现在一段区间内,如在 3A 连锁群的 80 cM 左右有 8 个 QTL,说明该区间很可能是控制目标性状的热点区域并存在更为真实重要的 QTL,含有大量控制小麦穗粒数的基因(图 1)。

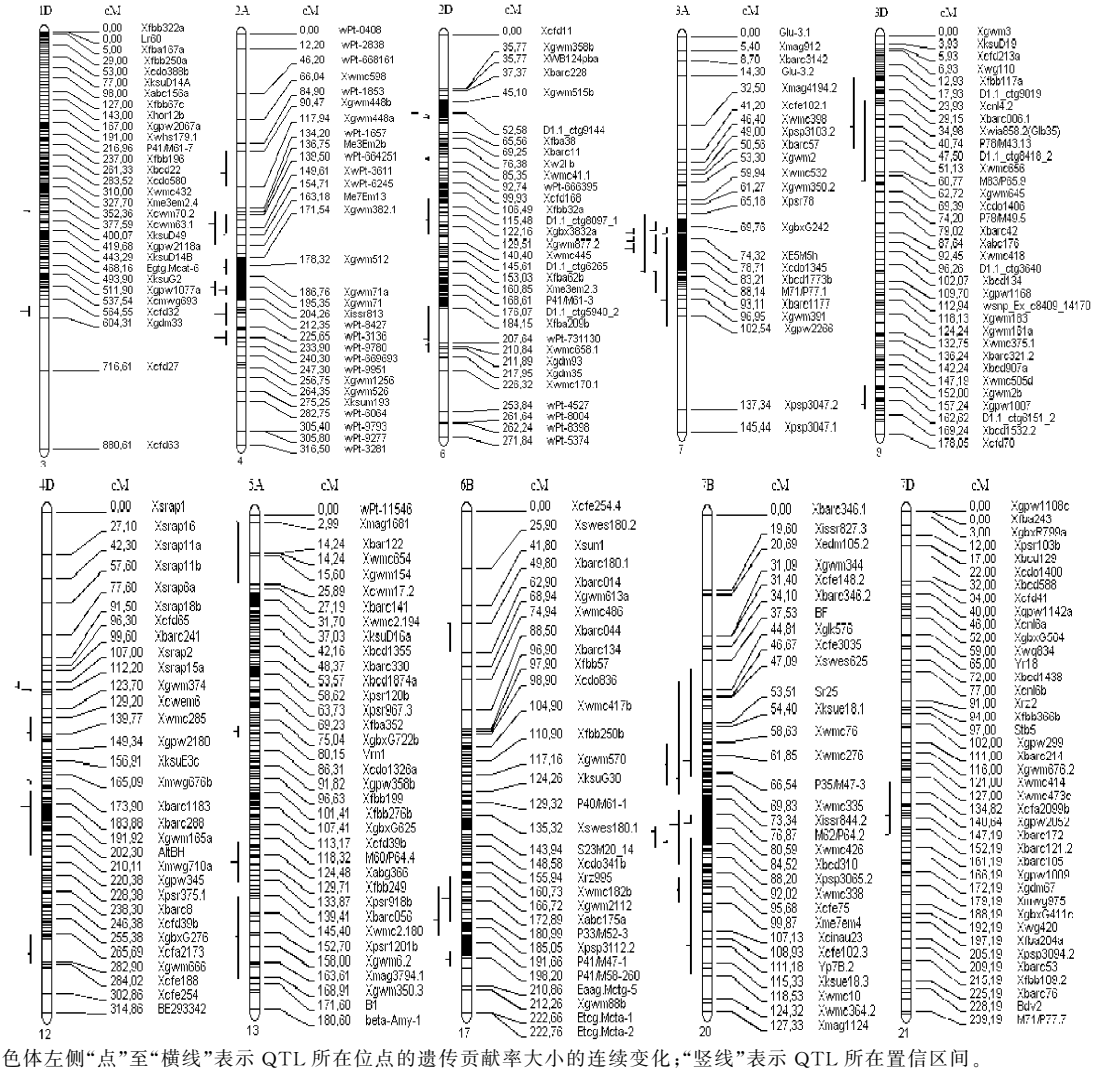
2.3　小麦穗粒数 QTL 元分析

结合小麦已定位的 QTL 信息,利用 BioMercator 4.2 软件中元分析程序分析各连锁群上的 QTL。由于分析模型不同,以每次分析中 AIC 值最小的区间为最优,确定 1 个真实 QTL,最终共得到 35 个控制小麦穗粒数的 MQTL(表 2),分别位于小麦的 1D(2 个)、2A(4 个)、2D(4 个)、3A(4 个)、3D(3 个)、4D(4 个)、5A(4 个)、6B(4 个)、7B(4 个)和 7D(2 个)染色体上,平均每条染色体上含有 3.4 个 MQTL。

表 1 小麦穗粒数 QTL 数据整合

Table 1 Integration of QTL data for the kernel number per spike in wheat

QTL 数目 QTL number	研究群体 Study population	群体大小 Population size	群体类型 Population type	参考文献 Reference
7	花培 3×豫麦 57 Huapei 3×Yumai 57	168	DH	[14]
3	Keumkang×Olgeuru	122	DH	[7]
12	小麦-冰草衍生系 3228×京 4839 Wheat-*Agropyron cristatum* derivatives 3228×Jing 4839	237	F_2	[16]
17	川麦 42×川农 16 Chuanmai 42×Chuannong 16	127	RIL	[15]
16	洛旱 2×潍麦 8 Luohan 2×Weimai 8	302	RIL	[19]
9	花培 3×豫麦 57 Huapei 3×Yumai 57	168	DH	[20]
9	潍麦 8×烟农 19 Weimai 8×Yannong 19	229	RIL	[21]
16	潍麦 8×济麦 20 Weimai 8×Jimai 20	485	RIL	[21]
7	望水白×Alondra Wangshuibai×Alondra	104	RIL	[5]
6	兰考 906×小偃 21 Lankao 906×Xiaoyan 21	133	RIL	[24]
3	花培 3×豫麦 57 Huapei 3×Yumai 57	168	DH	[8]
3	G1816×Langdon	152	RIL	[23]
9	西农 817×中国春 Xinong 817×Chinese Spring	330	F_2	[25]
2	燕达 1817×北农 6 Yanda 1817×Beinong 6	269	RIL	[6]
5	扬麦 17×宁麦 18 Yangmai 17×Ningmai 18	310	F_2	[22]
13	糯麦 1×藁城 8901 Nuomai 1×Gaocheng 8901	256	RIL	[26]
5	TP×Ta13	99	RIL	[18]
25	花培 3×豫麦 57 Huapei 3×Yumai 57	168	DH	[17]



染色体左侧“点”至“横线”表示 QTL 所在位点的遗传贡献率大小的连续变化；“竖线”表示 QTL 所在置信区间。

The “dot” to “transverse line” on the left side of chromosome means the successive change in genetic contribution rate of QTL; “Vertical line” means the confidence interval of QTL.

图 1 小麦穗粒数 QTL 一致性图谱

Fig. 1 Consensus map of QTL for kernel number per spike in wheat

将 35 个控制小麦穗粒数的 MQTL 按照其所在染色体的位置依次排序为 MQTL1～MQTL35,其中有 7 个 MQTL 的置信区间小于 3 cM,分别是 MQTL7(0.55 cM)、MQTL8(2.70 cM)、MQTL11(1.67 cM)、MQTL12(2.10 cM)、MQTL18(1.62 cM)、MQTL31(2.32 cM)和 MQTL32(1.00 cM)。经元分析后,这些检测到的 MQTL 所存在的位置和置信区间均优化了原 QTL 的位置和效应,缩小了原置信区间,检测出更为精确的 MQTL,很大程度上减小了由于不同试验所得到的 QTL 位置差异而造成的误差,提高了 QTL 定位的准确度和有效性。其中,4 个 MQTL 均分布在 3A 染色体的相邻区域,并且其图距均小于 10 cM (1.67～7.55 cM);除此之外,MQTL27(162.20～182.60 cM)与 MQTL28(166.54～188.74 cM)的置信区间有很大的重合,这表明这些区段很可能对小麦穗粒数具有重要贡献。

表 2　小麦穗粒数 QTL 的元分析

Table 2　Meta-analysis of QTL for the kernel number per spike in wheat

QTL 编号 QTL Number	染色体 Chromosome	赤池信息量准则 Akaike information criterion	位置 Position/cM	置信区间 Confidence interval/cM	图距 Interval/cM	侧翼标记 Flanking marker
MQTL1	1D	10.47	380.28	377.58～382.18	4.60	Xcwm63.1～ww127.1
MQTL2	1D	10.47	591.91	579.61～604.31	24.70	Xgdm111～Xgdm33
MQTL3	2A	93.54	107.04	90.47～117.94	27.47	Xgwm448b～Xgwm448a
MQTL4	2A	93.54	152.98	146.33～159.63	13.30	wPt5498～Me7Em13
MQTL5	2A	93.54	193.65	190.86～196.45	5.59	Xbarc353.1～Xgwm10
MQTL6	2A	93.54	229.58	224.89～234.26	9.37	Xgwm558b～wPt9780
MQTL7	2D	59.92	53.90	53.63～54.18	0.55	QHd.ksu-2D～Xwmc431
MQTL8	2D	59.92	83.95	82.65～85.35	2.70	Xccfd168.2～Xwmc41.1
MQTL9	2D	59.92	124.89	110.69～135.29	24.60	Xrz444a～Xgwm349
MQTL10	2D	59.92	209.21	205.71～212.72	7.01	wPt731130～Xwmc658.1
MQTL11	3A	53.01	72.61	71.78～73.45	1.67	Xwmc11～Xswes107
MQTL12	3A	53.01	75.49	73.48～75.58	2.10	Xswes107～Xbcd1428
MQTL13	3A	53.01	78.35	76.64～80.05	3.41	Xgwm218～Xbarc51
MQTL14	3A	53.01	87.17	83.39～90.94	7.55	P78/M69.3～Xbcd1431.1
MQTL15	3D	22.94	40.94	18.84～51.14	32.30	Xgwm314～Xwmc656
MQTL16	3D	22.94	65.14	29.14～65.84	36.70	Xbarc006.1～Xmag500
MQTL17	3D	22.94	164.76	156.16～167.26	11.10	Xbarc342～Xgdm72
MQTL18	4D	40.61	112.08	111.27～112.89	1.62	Xsrap2～Xsrap15b
MQTL19	4D	40.61	139.19	129.19～145.09	15.90	Xcwem6～Xgwm154
MQTL20	4D	40.61	169.21	167.59～170.83	3.24	Xwmc48a～XksuH14a
MQTL21	4D	40.61	277.70	265.90～283.90	18.00	Xbarc359～Xcfe188
MQTL22	5A	29.35	2.99	2.99～25.89	22.90	Xmag1681～Xcwm17.2
MQTL23	5A	29.35	79.70	77.40～81.60	4.20	Xgwm186.1～XWB180e
MQTL24	5A	29.35	127.22	119.62～134.82	15.20	Xcdo457～Xcdo20a
MQTL25	5A	29.35	154.55	139.55～170.15	30.60	Xbarc056～Xgwm291
MQTL26	6B	29.26	50.00	49.80～62.90	13.10	Xbarc180.1～Xbarc014
MQTL27	6B	29.26	172.40	162.20～182.60	20.40	Xgwm508～XgbxG176
MQTL28	6B	29.26	181.74	166.54～188.74	22.20	Xgwm2112～Xgwm518b
MQTL29	6B	29.26	199.20	195.60～202.80	7.20	Xgwm88a～Xgwm626
MQTL30	7B	62.20	64.80	59.91～69.70	9.79	Xbarc50～Xwmc335
MQTL31	7B	62.20	79.79	78.63～80.95	2.32	Xwmc396～Xbarc90
MQTL32	7B	62.20	84.15	83.95～84.95	1.00	Xwmc488.1～Xsuss26.1
MQTL33	7B	62.20	97.14	93.89～100.38	6.49	P35/M52-4～Xcfe266.2
MQTL34	7D	10.84	146.09	130.09～147.19	17.10	Xcfd14～Xbarc172
MQTL35	7D	10.84	155.19	174.19～155.19	8.00	Xbarc172～Xbarc184

2.4 小麦穗粒数 MQTL 范围内候选基因预测

根据 QTL 一致性区间内的 SSR 标记所在参考基因组中的位置，利用小麦基因组数据库所提供的基因注释结果和基因预测，对小麦穗粒数定位区域进行了候选基因的预测。由于较小的 QTL 置信区间有利于提高 QTL 定位的准确度和有效性，根据“一致性”QTL 区间两端标记在小麦物理图谱中的位置，将小麦穗粒数定位结果中图距较小较精确的 MQTL 位点进行物理图谱定位，统计 MQTL 区间内所包含的基因个数。结果发现，在 2D 染色体上，与小麦穗粒数性状紧密连锁的两个分子标记在 Xcfd168.2～Xwmc41.1 之间（即 MQTL8），其遗传距离为 82.65～85.35 cM（≈2.57 Mb）范围内，共包含 112 个基因，单位长度内基因个数为 43.6 个。

由表 3 可以看出，本研究共发现了 4 个与目标性状相关的候选基因，这些基因座位涉及信号传导、渗透调节和糖代谢等多种生理生化途径。*YUC* 基因家族编码类黄素单氧化酶，是 IAA 生物合成途径中催化色胺的 N-氧化反应的限速酶，对生长素的合成起重要调控作用；*SUS* 蔗糖合酶基因作为籽粒中糖积累转运的重要代谢基因，对籽粒产量有重要影响；ERF 家族转录因子是植物中重要的一类转录因子，广泛参与植物各类生理过程。对目标性状 MQTL8 的置信区间进行候选基因筛选，获得 *CKX* 基因家族成员。研究表明，CKX 作为降解细胞分裂素（cytokinins）的一种黄素酶，广泛分布于植物各个部位，CKX 对植物配子发育和作物产量的形成具有显著的影响。以上候选基因均为与小麦产量可能相关的基因，在一定程度上对改善产量发挥重要作用，然而具体功能有待进一步的试验验证。

表 3 小麦穗粒数 MQTL 内相关候选基因信息

Table 3 Candidate genes within MQTLs related to the kernel number per spike in wheat

相关基因 Related gene	序列号 Gene ID	注释信息 Annotation information	物理位置 Physical position/bp
CKX3	TraesCS2D01G587100LC.1	细胞分裂素脱氢酶 Cytokinin dehydrogenase	577 710 696～577 711 070
	TraesCS2D01G474400.1	光系统 II 反应中心蛋白 Photosystem II reaction center protein K	577 468 393～577 471 509
	TraesCS2D01G475100.1	糖基转移酶 Glycosyltransferase	577 607 990～577 609 390
	TraesCS2D01G586300LC.1	RNA 指导的 DNA 聚合酶（逆转录酶） RNA-directed DNA polymerase(Reverse transcriptase)	577 576 620～577 577 448
	TraesCS2D01G587400LC.1	转座子 TNT 1-94 的逆转录病毒相关多蛋白 Retrovirus-related Pol polyprotein from transposon TNT 1-94	577 793 489～577 795 576
	TraesCS2D01G587500LC.1	DNA 结合域蛋白 Myb/SANT-like DNA-binding domain protein	577 817 911～577 818 228
	TraesCS2D01G588100LC.1	能量偶联因子转运蛋白 ATP 结合蛋白 Energy-coupling factor transporter ATP-binding protein EcfA1	578 191 581～578 191 799
	TraesCS2D01G588200LC.1	锌指家族蛋白质 Zinc finger family protein	578 205 875～578 238 071
YUC10	TraesCS2D01G475700.1	含有蛋白质的 F-box 结构域 F-box domain containing protein	578 312 720～578 320 832
	TraesCS2D01G588500.1	类黄素单加氧酶 Flavinmonooxygenase-like protein	578 565 559～578 566 083
	TraesCS2D01G475800.1	酪氨酸脱羧酶 Tyrosine decarboxylase	578 332 873～578 334 363
	TraesCS2D01G588400LC.1	Gag-pol 多蛋白 Gag-pol polyprotein	578 563 544～578 565 493
	TraesCS2D01G475900.1	RING / U-box 超家族蛋白 RING/U-box superfamily protein	578 582 590～578 583 090
	TraesCS2D01G476000.1	26S 蛋白酶调节亚基 26S protease regulatory subunit	578 600 023～578 603 687
	TraesCS2D01G588600LC.1	丝氨酸/苏氨酸蛋白磷酸酶同工酶 Serine/threonine protein phosphatase 7 long form isogeny	578 674 488～578 676 010
	TraesCS2D01G476100.1	含有五肽重复的蛋白质 Pentatricopeptide repeat-containing protein	578 697 057～578 699 111
	TraesCS2D01G476200.1	过氧化物酶 Peroxidase	578 699 311～578 702 655
	TraesCS2D01G476300.1	富含羟脯氨酸的糖蛋白家族 Late embryogenesis abundant(LEA) hydroxyproline-rich glycoprotein family	578 703 645～578 704 289
SUS	TraesCS2D01G588700LC.1	23S rRNA 甲基转移酶 23S rRNA(uracil(747)-C(5))-methyltransferase RlmC	578 711 288～578 711 416
	TraesCS2D01G474300.1	受体激酶 Receptor-kinase	577 444 509～577 457 323
	TraesCS2D01G474600.1	rRNA N-糖苷酶 rRNA N-glycosidase	577 547 526～577 548 245
ERF5	TraesCS2D01G475000.1	丝氨酸羟甲基转移酶 Serine hydroxymethyltransferase	577 601 745～577 602 492
	TraesCS2D01G474900.1	APO 蛋白 APO protein	577 597 719～577 599 350
	TraesCS2D01G586400LC.1	富含亮氨酸的重复受体激酶蛋白 Leucine-rich repeat receptor kinase-like protein	577 616 806～577 617 250
	TraesCS2D01G586600LC.1	50S 核糖体蛋白 50S ribosomal protein L9	577 680 980～577 681 183

3　讨 论

3.1　图谱的选择

元分析中最重要的就是分子标记遗传参考图谱的选择。在小麦相关性状元分析的过程中最常用的是以 11 张标准图谱整合的 Wheat composite 2004,该图谱共涉及 3 741 个标记,所包含的分子标记主要是以简单重复序列(SSR)、扩增片段长度多态性(AFLP)和限制性内切酶片段长度多态性(RFLP)组合构建,总长 3 236 cM。该图谱与已完成和正在绘制的 QTL 定位图谱间存在较多共同标记,但是研究发现,某些研究中原始图谱的标记仍与参考图谱中标记一致性较差,个别目标性状 QTL 不能直接映射到该参考图谱上,因此,本研究使用 Somers 等[27]绘制的小麦整合图谱作为中介图谱,该图谱与 Wheat composite 2004 参考图谱存在许多共同标记,并且标记覆盖面较广,提高了目标性状图谱与参考图谱间的映射,缩短了两标记之间的距离,为精细定位提供良好的基础,保证了 QTL 的整合分析。

3.2　元分析应用

近年来,利用元分析方法对玉米、大豆等作物相关性状 QTL 的遗传改良取得了一定进展。方永丰等[29]整合了 173 个与玉米持绿性相关的 QTL,发掘出 5 个持绿 MQTL 区间,并在 MQTL 区域内发掘出 8 个持绿相关候选基因;王晓丽等[30]构建了含 221 个玉米产量及构成因子 QTL 的整合图谱,并在玉米 6 号染色体上确定了一个与穗数、粒重和单位籽粒产量均相关的 MQTL。吴 琼等[31]通过对来自 10 个不同群体的与大豆生育期有关的 98 个 QTL 进行元分析,最终获得了 9 个 MQTL 及其连锁标记。当大量控制目标性状的基因或 QTL 被整合到一致性图谱上后,控制相同和不同的目标性状的 QTL 分布特征更加明显。但是利用元分析手段对小麦数量性状进行 QTL 整合研究的报道较少,尤其是小麦穗粒数的元分析研究还相对滞后。随着小麦全基因组信息的完善以及物理图谱的成功构建,对于 QTL 热点区域和被前人反复证实的小麦目标性状 QTL 的核心染色体区段,将是发掘小麦关键基因的重点研究部位,可为小麦克隆及分子改良育种提供大量侯选基因。

本研究整合了近年发表的 163 个控制小麦穗粒数的 QTL,构建了小麦穗粒数 QTL 一致性图谱,具有簇集分布的特征,并通过元分析,得到了 35 个 MQTL 及其紧密连锁标记,其置信区间最小可缩小到 0.55 cM,明显减小了 QTL 的误差,使结果更准确可靠。其中,本研究在 3A 染色体上 P78/M69.3 ～ Xbcd1431.1 区间内获得的 MQTL 与叶亚琼等[32]在该区域发现的控制株高的 MQTL 享有相同的标记区间。Tuberosa 等[33]认为,这种现象可能与“一因多效”或者控制不同性状的基因紧密连锁有关,这可为图谱构建以及寻找和定位同源基因提供切入点。本研究所发掘的 MQTL 是由不同作图群体材料整合的,后续可以利用分子标记辅助选择技术(marker assisted selection, MAS),对后代进行基因型预测,进而提高 MAS 的实际效率。

3.3　相关基因发掘

随着小麦全基因组测序的完成,各种生物信息的迅速增长,对未能精细定位的基因提供了越来越多的研究策略和思路。在 MQTL 区域内可以获得许多 DNA 序列,这些序列具有较完整的基因结构,从而可以对相关基因进行预测。同时也可以通过对蛋白序列的同源比对,以此来确定基因的功能[34]。

通过在 QTL 置信区间进行候选基因预测,可以在一定程度上验证 QTL 定位的准确性。在本研究中,充分利用不同的研究成果以及公共信息资源,对不同时期、不同环境条件和不同研究群体下定位的小麦穗粒数 QTL 进行整合优化,得到了 MQTL。利用两端标记在物理图谱中的位置,初步预测 MQTL 区域内的相关基因。最终,在 1 个 MQTL 区间(MQTL8)内初步确定 4 个与产量性状相关的候选基因,这些基因座位涉及信号传导、渗透调节和糖代谢等多种生理生化途径。其中,通过对候选基因序列同源比对,发现 TraesCS2D01G587100LC.1 基因与 *TaCKX* 基因[35]的序列同源性较高(91%),因此我们推断该基因也与小麦籽粒发育可能紧密相关。研究表明,小麦 CKX 是由一系列同工酶组成的[35],具有调控小麦不同时期生长发育的功能,*TaCKX* 与水稻、玉米和大麦等作物 *CKX* 基因具有较高的同源性。目前已知 *TaCKX* 基因与许多产量性状关系密切,最新研究表明该基因的等位变异与叶绿素含量也紧密相关[36]。因此,在后续研究中,可以对该基因进行本体分析、转录调控分析以及代谢途径分析,进一步为精细定位和图位克隆

奠定基础。试验证明，利用元分析手段可获得较小置信区间的 MQTL，然后映射到物理图谱上，可以将目的基因锁定在一个较小的范围内。再针对目标区段构建回交群体，根据基因的保守性进行目标基因的发掘，通过这种方法可以提高基因克隆的效率。

参考文献：

[1]SHI W P，HAO C Y，ZHANG Y，*et al*. A combined association mapping and linkage analysis of kernel number per spike in common wheat（*Triticum aestivum* L.）[J]. *Frontiers in Plant Science*，2017，8(18)：1412.

[2]茹振钢，冯素伟，李 淦. 黄淮麦区小麦品种的高产潜力与实现途径[J]. 中国农业科学，2015，48(17)：3388.
RU Z G，FENG S W，LI J. High-yield potential and effective ways of wheat in Yellow & Huai River Valley facultative winter wheat region [J]. *Scientia Agricultura Sinica*，2015，48(17)：3388.

[3]丛建鸥，李 宁，许映军，等. 干旱胁迫下冬小麦产量结构与生长、生理、光谱指标的关系[J]. 中国生态农业学报，2010，18(1)：67.
CONG J O，LI N，XU Y J，*et al*. Relationship between indices of growth，physiology and reflectivity and yield of winter wheat under water stress [J]. *Chinese Journal of Eco-agriculture*，2010，18(1)：67

[4]MCCARTNEY C A，SOMERS D J，HUMPHREYS D G，*et al*. Mapping quantitative trait loci controlling agronomic traits in the spring wheat cross RL4452 × 'AC Domain' [J]. *Genome*，2005，48(5)：871.

[5]周淼平，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)：39.
ZHOU M P，REN L J，ZHANG X，*et al*. Analysis of QTLs for yield traits of wheat [J]. *Journal of Triticeae Crops*，2006，26(4)：39.

[6]吴秋红，陈娇娇，陈永兴，等. 燕大 1817/北农 6 号重组自交系群体穗部性状的 QTL 定位[J]. 作物学报，2015，41(3)：353.
WU Q H，CHEN J J，CHEN Y X，*et al*. Mapping quantitative trait loci related to spike traits using a RILs population of Yanda 1817 × Beinong 6 in wheat（*Triticum aestivum* L.）[J]. *Acta Agronomica Sinica*，2015，41(3)：353.

[7]LEE H S，JUNG J U，KANG C S，*et al*. Mapping of QTL for yield and its related traits in a doubled haploid population of Korean wheat [J]. *Plant Biotechnology Reports*，2014，8(6)：450.

[8]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)：273.
ZHANG K P，XU X B，TIAN J C，*et al*. QTL mapping for grain yield and spike related traits in common wheat [J]. *Acta Agronomica Sinica*，2009，35(2)：273.

[9]YANG D L，JING R L，CHANG X P，*et al*. Identification of quantitative trait loci and environmental interactions for accumulation and remobilization of water-soluble carbohydrates in wheat（*Triticum aestivum* L.）stems [J]. *Genetics*，2007，176(1)：573.

[10]MARCEL T C，VARSHNEY R K，BARBIERI M，*et al*. A high-density consensus map of barley to compare the distribution of QTLs for partial resistance to *Pucciniahordei* and of defence gene homologues [J]. *Theoretical and Applied Genetics*，2007，114(3)：489.

[11]李雪华，李新海，郝转芳，等. 干旱条件下玉米耐旱相关性状的 QTL 一致性图谱构建[J]. 中国农业科学，2005，38(5)：883.
LI X H，LI X H，HAO Z F，*et al*. Consensus map of the QTL relevant to drought tolerance of maize under drought conditions [J]. *Scientia Agricultura Sinica*，2005，38(5)：883.

[12]GOUDEMAND E，LAURENT V，DUCHALAIS L，*et al*. Association mapping and meta-analysis：Two complementary approaches for the detection of reliable in *Septoria tritici* blotch quantitative resistance in bread wheat（*Triticum aestivum* L.）[J]. *Molecular Breeding*，2013，32(3)：564.

[13]胡雅君，栗孟飞，杨德龙，等. 小麦籽粒 WSC 含量 QTL 的整合与元分析[J]. 麦类作物学报，2016，36(8)：989.
HU Y J，LI M F，YANG D L，*et al*. Intergration and meta-analysis of qyantitative trait loci for water-soluble carbohydrate content in wheat grain [J]. *Journal of Triticeae Crops*，2016，36(8)：989.

[14]DENG Z Y，CUI Y，HAN Q D，*et al*. Discovery of consistent QTLs of wheat spike-related traits under nitrogen treatment at different development stages [J]. *Frontiers in Plant Science*，2017，8(15)：2128.

[15]TANG Y L，LI J，WU Y Q，*et al*. Identification of QTLs for yield-related traits in the recombinant inbred line population derived from the cross between a synthetic hexaploid wheat-derived variety Chuanmai 42 and a Chinese elite variety Chuannong 16 [J]. *Agricultural Sciences in China*，2011，10(11)：1670.

[16]WANG J S，LIU W H，WANG H，*et al*. QTL mapping of yield-related traits in the wheat germplasm 3228 [J]. *Euphytica*，2011，177(2)：285.

[17]YUAN Q Q，DENG Z Y，PENG T，*et al*. QTL-based analysis of heterosis for number of grains per spike in wheat using DH and immortalized F_2 populations [J]. *Euphytica*，2012，188(3)：390.

[18]杨 睿，刘联正，李 华，等. 波兰小麦×普通小麦品系中 13 重组自交系(RIL)群体穗部性状的 QTL 分析[J]. 农业生物技术学报，2012，20(5)：510.
YANG R，LIU L Z，LI H，*et al*. QTL analysis of spike traits in an recombinant inbred lines（RILs）population derived from the cross of *Triticum polonicum* × *T. aestivum* Line Zhong 13 [J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*，2012，20(5)：510.

[19]王 霖，孙雷明，黄 玲，等. 不同灌溉模式下小麦穗粒数 QTL

定位分析[J]. 麦类作物学报,2018,38(9):35.
WANG L,SUN L M,HUANG L,*et al*. QTL mapping for kernel number per spike in wheat under different irrigation modes [J]. *Journal of Triticeae Crops*,2018,38(9):35.

[20]张 晗,孙加梅,韩瑞玺,等. 基于小麦产量三要素的产量条件 QTL 分析[J]. 麦类作物学报,2019,39(1):44.
ZHANG H,SUN J M,HAN R X,*et al*. Conditional QTL analysis of three yield components in wheat(*Triticum aestivum* L.) [J]. *Journal of Triticeae Crops*,2019,39(1):44.

[21]丁安明,李 君,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):1516.
DING A M,LI J,CUI F,*et al*. QTL mapping for yield related traits using two associated RIL populations of wheat [J]. *Acta Agronomica Sinica*,2011,37(9):1516.

[22]梁秀梅,胡文静,李东升,等. 扬麦 17/宁麦 18 的 F_2 群体穗部性状 QTL 定位[J]. 麦类作物学报,2018,247(5):9.
LIANG X M,HU W J,LI D S,*et al*. QTL mapping for spike traits in wheat(*Triticum aestivum* L.) using the F_2 population of Yangmai 17/Ningmai 18 [J]. *Journal of Triticeae Crops*,2018,247(5):9.

[23]严 俊,张玲玲,万 兵,等. 硬粒小麦与野生二粒小麦重组自交系群体穗部性状的 QTL 定位[J]. 四川农业大学学报,2011,29(2):150.
YAN J,ZHANG L L,WAN B,*et al*. QTL mapping of spike traits in population of recombinant inbred lines between durun wheat×wild emmer wheat [J]. *Journal of Sichuan Agricultural University*,2011,29(2):150.

[24]付金梅. 普通小麦旗叶及穗部相关性状的 QTL 定位[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2017:26.
FU J M. QTL mapping for flag leaf and spike related trasits in wheat(*Triticum aestivum* L.)[D]. Yangling:Northwest A&F University,2017:26.

[25]毕晓静. 小麦重要农艺性状的遗传分析与 QTL 定位[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2013:33-48.
BI X J. Genetic analysis and QTL of agronomic traits in wheat [D]. Yangling:Northwest A&F University,2013:33-48.

[26]郑菲菲. 小麦"糯麦 1 号×藁城 8901"RIL 群体跗图谱构建和主要农艺及品质性状的 QTL 定位[D]. 泰安:山东农业大学,2012:34.
ZHENG F F. Genetic linkage map construction and QTL mapping for main agronomic and quality traits in a recombinant inbred population derived from Nuomai 1×Gaocheng 8901 [D]. Tai'an:Shandong Agricultural University,2012:34.

[27]SOMERS D J,FEDAK G,SAVARD M. Molecular mapping of novel genes controlling Fusarium head blight resistance and deoxynivalenol accumulation in spring wheat [J]. *Genome*,2003,46(4):559.

[28]DARVASI A,SOLLER M. A simple method to calculate resolving power and confidence interval of QTL map location [J]. *Behavior Genetics*,1997,27(2):126.

[29]方永丰,李永生,白江平,等. 玉米持绿相关 QTL 整合图谱构建及一致性 QTL 区域内候选基因发掘[J]. 草业学报,2012(4):175.
FANG Y F,LI Y S,BAI J P,*et al*. Construction of integration QTL map and identification of candidate genes for staygreen in maize [J]. *Acta Prataculturae Sinica*,2012(4):175.

[30]王晓丽,李新海,王振华. 玉米产量因子 QTL 整合图谱构建与"一致性"QTL 确定[J]. 核农学报,2008,22(6):756.
WANG X L,LI X T,WANG Z H,*et al*. Construction of integration map and consensus QTL identification for grain yield components in maize [J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*,2008,22(6):756.

[31]吴 琼,齐照明,刘春燕,等. 基于元分析的大豆生育期 QTL 的整合[J]. 作物学报,2009,35(8):1418.
WU Q,QI Z M,LIU C Y,*et al*. An integrated QTL map of growth stage in soybean:Constructed through meta-analysis [J]. *Acta Agronomica Sinica*,2009,35(8):1418.

[32]叶亚琼,栗孟飞,刘 媛,等. 小麦株高 QTL 定位及其水分环境互作遗传分析[J]. 华北农学报,2015,30(5):83.
YE Y Q,LI M F,LIU Y,*et al*. QTL mapping and QTL× environmental interactions for plant height in wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*,2015,30(5):83.

[33]TUBEROSA R. Mapping QTLs regulating morpho-physiological traits and yield:Case studies,shortcomings and perspectives in drought-stressed maize [J]. *Annals of Botany*,2002,89(7):951.

[34]江培顺,张焕欣,吕香玲,等. 玉米产量相关性状 Meta-QTL 及候选基因分析[J]. 作物学报,2013,39(6):969.
JIANG P S,ZHANG H X,LÜ X L,*et al*. Analysis of meta-QTL and candidate genes related to yield components in maize [J]. *The Crop Journal*,2013,39(6):969.

[35]张 磊,张宝石,周荣华,等. 小麦细胞分裂素氧化/脱氢酶基因(*TaCKX5*)的克隆及其染色体定位[J]. 中国农业科学,2008,41(3):637.
ZHANG L,ZHANG B S,ZHOU R H,*et al*. Isolation and chromosomal localization of cytokinin oxidase/dehydrogenase gene(*TaCKX5*) in wheat [J]. *Scientia Agricultura Sinica*,2008,41(3):637.

[36]OGONOWSKA H, BARCHACKA K, GASPARIS S,*et al*. Specificity of expression of *TaCKX* family genes in developing plants of wheat and their co-operation within and among organs [J]. *Plos One*,2019,14(4):e0214239.