

向日葵 RIL 群体产量相关性状 QTL 定位及 候选基因筛选

苏飞燕, 侯建华, 伊六喜, 石慧敏, 王雅茹, 甄子龙, 王艳霞, 王靖林

(内蒙古农业大学农学院, 呼和浩特 010019)

摘要: 为深入分析向日葵产量相关性状的分子遗传机制, 挖掘有效的分子标记和基因, 本研究在前期构建的 SNP 分子标记高密度连锁图谱基础上, 结合 2019 年和 2020 年两个环境下的表型数据, 利用 RQTL 软件对以 K55 × K58 组合衍生的 150 个向日葵重组自交系 (RIL) 群体的产量相关性状进行 QTL 定位和候选基因筛选。结果表明, 两个环境下共检测到株高、茎粗、叶片数、单盘粒数、单盘粒重、单盘空粒数、百粒重 7 个性状的 9 个 QTL ($LOD \geq 2$), 其中, 茎粗和百粒重在两年环境下均检测到 QTL 位点, 分别为 Qsd17、Qsd9、Qhgw8 和 Qhgw5, 检测到 1 个同时控制单盘粒数和茎粗的一因多效位点 (Qsd17、Qngp17), 这些 QTL 位点分布在 4、5、8、9、13、14、16 和 17 号染色体上, 表型变异贡献率为 0.265%~13.075%, 其中 17 号染色体上分布的 QTL 位点最多 (2 个), 且有 2 个表型贡献率超过 10% 的主效位点 (Qngp17、Qhgw8)。在这些重要的 QTL 区域注释到 14 个候选基因, 相关基因参与碳水化合物过程与细胞壁 / 膜 / 包膜生物发生过程, 具有 NAD (P) H 脱氢酶 (醌)、E3 泛素蛋白连接酶、SAUR 家族蛋白、MADS-box 转录因子、myb 原癌基因蛋白等功能。本研究旨在为向日葵高产育种提供有价值的基础分子信息。

关键词: 向日葵; 产量; 相关分析; QTL 定位; 基因筛选

QTL Mapping and Candidate Gene Analysis of Yield-related Traits in Sunflower RIL Population

SU Fei-yan, HOU Jian-hua, YI Liu-xi, SHI Hui-min, WANG Ya-ru, ZHEN Zi-long,

WANG Yan-xia, WANG Jing-lin

(Agricultural College, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010019)

Abstract: In order to understand the molecular genetic mechanism of yield-related traits and identify markers/genes in sunflower, QTL mapping and candidate gene identification of yield-related traits were performed using 150 individuals derived from recombinant inbred line (RIL) population of K55 × K58 combination. The phenotype data at two environmental conditions in 2019 and 2020 were produced, and the high-density linkage map of SNP molecular markers were deployed. The results showed that nine QTL ($LOD \geq 2$) for 7 traits including plant height, stem thickness, number of leaves, number of grains particles, grain weight, number of empty grains particles, and 100-seed weight were detected, in which QTL loci at stem diameter (Qsd17, Qsd9) and 100-grain weight (Qhgw8 and Qhgw5) were detected at two environmental conditions. A multi-genic effect site (Qsd17, Qngp17) controlling the number of grains and stem thickness was detected. These QTL loci were found on chromosomes 4, 5, 8, 9, 13, 14, 16 and 17, and the contribution rate of phenotypic variation was 0.265%-13.075%. There were two main effect loci (Qngp17 and Qhgw8) with phenotypic contribution over 10% on chromosome 17. Fourteen candidate genes were annotated in QTL loci with stable or main effect (PVE>10%),

收稿日期: 2022-02-26 修回日期: 2022-03-21 网络出版日期: 2022-04-11

URL: <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20220226001>

第一作者研究方向为寒旱地区特色油料作物抗性和品质改良, E-mail: 1455171460@qq.com

通信作者: 侯建华, 研究方向为寒旱地区特色油料作物抗性和品质改良, E-mail: houjh68@163.com

基金项目: 内蒙古农业大学动植物品种培育专项 (YZGC2017004); 国家自然科学基金 (31760396)

Foundation projects: Special Program for Animal and Plant Variety Cultivation of Inner Mongolia Agricultural University (YZGC2017004);
National Natural Science Foundation of China (31760396)

These genes are involved in carbohydrate processes and cell wall/membrane/envelope biogenesis, and annotated such as NAD(P)H dehydrogenase(quinone), E3 ubiquitin protein ligase, SAUR family proteins, MADS-box transcription factors, myb proto-oncogene protein. Collectively, these results might provide theoretical basis for sunflower high-yield breeding.

Key words: sunflower; yield; correlation analysis; QTL mapping; gene screening

向日葵(*Helianthus annuus* L.)为菊科(Compositae)向日葵属(*Helianthus*)一年生草本植物,全世界种植向日葵的地区主要分布在俄罗斯、乌克兰、阿根廷、罗马尼亚、中国等国家^[1]。我国向日葵主要分布在东北、西北和华北地区,其中,内蒙古是我国最大的向日葵主产区,栽培面积和产量均占全国向日葵总播种面积和总产的 50% 以上^[2](可查阅最新 FOA 数据或农业年鉴数据)。在全球范围内,向日葵是仅次于棕榈、大豆和油菜籽的第四大最重要的油料作物^[3],提高产量是向日葵育种的主要目标之一^[4]。产量及其组成性状均属于数量性状,易受环境影响,分子标记辅助选择(MAS)可以显著提高选择的准确性和效率。利用分子标记技术进行 QTL 定位,挖掘与产量相关 QTL 及其紧密连锁的主效基因,有助于为分子标记辅助选择育种提供理论信息支撑。

目前,应用 QTL 技术已在水稻^[5]、大豆^[6]、绿豆^[7]和油菜^[8]等作物中定位出大量产量性状基因,提高了育种的准确性。Kang 等^[9]利用水稻重组自交系群体(RILs)在 4 种环境下定位了决定粒长、粒宽和长宽比的 QTL,共检测到 91 个 QTL 位点,其表型变异解释率在 3.67%~11.93% 之间。Zhang 等^[10]以陆地棉重组自交系群体为试验材料,定位到 18 个多环境稳定存在的单铃质量 QTL 位点,注释到 344 个基因。Yang 等^[11]通过甘蓝型油菜 RIL 群体定位一个位于 A9 连锁群一因多效的 QTL,该 QTL 同时控制千粒重和角果长,分别解释千粒重 28.2% 和角果长 53.4% 的表型方差。向日葵中,马宇等^[12]对向日葵 6 个重要产量相关性状进行 QTL 定位分析,结果表明,干旱和浇水条件下共检测到 40 个 QTL 位点,两种水分条件下重复检测到 10 个 QTL 位点;吕品等^[13]利用 45 个选择导入系方差分析检测到 154 个 QTL,其中 2 种水分条件下稳定表达的 9 个,包括武川影响百粒重的 4 个、呼和浩特影响单株产量的 2 个及影响单株实粒数的 3 个。Bert 等^[14]以向日葵 RIL 株系为材料,在不同水分处理下检测到一些与产量相关性状的 QTLs,表型贡献率为 4%~40%。Kiani 等^[15]对向日葵株高、植株倒伏、含油量等性状进行了 QTL 定位,发现了同时控制

产量和含油量的 QTL。Haddadi 等^[16]在向日葵重组自交系群体中的每个产量相关性状上均发现了 3~6 个 QTL。由此可知,前人对向日葵产量相关性状进行了 QTL 定位研究,但对候选基因挖掘较少。

为了进一步探索向日葵产量相关性状的分子遗传机制,课题组前期已构建好向日葵高密度遗传图谱,在此基础上,对油用向日葵株高、盘径、茎粗、叶片数、单盘粒数、单盘粒重、单盘空粒数、百粒重、结实率 9 个产量相关性状进行 QTL 定位,挖掘产量相关性状紧密连锁的 QTL 位点和主效基因,并进行基因注释及候选基因筛选,以期对向日葵分子设计育种研究提供基础^[17]。

1 材料与方法

1.1 材料

以水、旱两种水分条件下单株产量差异显著的油用向日葵 K58(抗旱性强)为父本与 K55(抗旱性弱)为母本杂交获得 F₁,单粒传法选育得到重组自交系群体(RILs)150 个株系。

1.2 试验设计

试验于 2020 年和 2021 年在呼和浩特市内蒙古农业大学新区农场基地(45°5'N, 110°E, 海拔 1063 m)进行,土壤为沙壤, pH 值为 7.8~8.2,灌溉条件良好,肥力适中。5 月下旬进行播种,试验区出苗较全、长势正常,生育期间进行常规田间管理。田间试验采用随机区组设计,每株系种植 4 行,行长 3 m,每行种植 9 株,株距 0.3 m,3 次重复。

1.3 产量性状的测定

收获前进行田间调查,每株系选取 5 株调查其株高、茎粗、叶片数和盘径。成熟后每小区随机选取 5 株收获,风干后进行室内考种,考察单盘粒数、单盘粒重、单盘空粒数、百粒重和结实率,结实率 = 单株实粒数 / (单株实粒数 + 空粒数) × 100%^[15],以 5 株平均值代表该株系性状值。调查方法参照《向日葵种质资源描述规范和数据标准》^[18]。

1.4 数据统计分析

采用 Excel 2019 和 SPSS 21.0 软件对产量相关性状进行表型统计分析。广义遗传力计算公式:

$H^2 = \text{基因型方差} / \text{表型方差} \times 100\%$ [19]。

1.5 各产量性状的 QTL 定位

课题组前期已构建好高密度分子标记连锁图谱(以 K55 × K58 组合衍生的 F₇ 重组自交系为材料,利用 SSR、SNP 标记构建了一张包含 17 个连锁群,图谱覆盖基因组长度为 2425.05 cM,平均图距为 0.49 cM 的高密度遗传连锁图谱^[20]),通过复合区间作图法(CIM, composite interval mapping)定位性状,用 PT 检验 1000 次进行设定阈值,首先考虑 0.99 置信度对应的 LOD 阈值,若没有定位区间则考虑 0.95 置信度对应的 LOD 阈值;若没有定位区间则考虑 0.90 置信度的阈值。若仍没有结果则不考虑 PT 检验的结果,手动降低阈值到 3.0;若 3.0 没有区间则降到 2.5 或 2.0,检测到各性状的 QTL 命名规则:Q+ 性状的英文缩写 + 连锁群位置。

1.6 基因功能注释

基因功能注释主要依据的是序列比对的方式,将需要注释的基因序列和对应的功能数据库进行 BLAST 比对,通过比对到的数据库的蛋白信息来对目标序列进行注释。比对所使用的数据库包括 BLASTX 程序(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>),E 值 $\leq 10^{-5}$ 至 Nr 数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>),Swiss-Port 蛋白质数据库(<http://www.expasy.ch/sprot>),COG 数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>),Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes(KEGG)数据库(<http://www.genome.jp/kegg/>)和 Gene ontology(GO)数据库(<http://www.geneontology.org>)。然后可以根据最佳比对结果获得功能注释^[21]。

2 结果与分析

2.1 RIL 群体产量相关性状的表型统计分析

对向日葵 RIL 群体的 9 个产量相关性状进行统计分析(表 1),两年中的 RIL 群体与两个亲本(K55 和 K58)在盘径、单盘粒数和单盘空粒数均表现出超亲优势,且各个株系之间的变异丰富,变异系数为 14.90%~86.58%,变异幅度较大,其中单盘粒数、单盘空粒数、单盘粒重和百粒重的变异系数较大,株高、盘径、茎粗、叶片数、结实率的变异系数较小,说明单盘粒数、单盘空粒数、单盘粒重和百粒重的离散程度较大,稳定性较差,不同品系在这些性状上遗传差异较大,通过改良品系或者改善栽培措施能够使这些性状获得提高。而株高、盘径、茎粗、叶片数、结实率的离散程度较小,稳定性较好,选择范围不大。广义遗传力(H^2)的大小区间为 20.42%~92.50%,各性状的广义遗传力从大到小依次为单盘粒数、叶片数、株高、茎粗、百粒重、盘径、结实率、单盘粒重和单盘空粒数,说明单盘粒数受环境影响最小,单盘空粒数受环境影响最大。分析结果表明,RIL 群体中研究的 9 个产量相关性状种质间表型差异较大且峰度和偏度的绝对值绝大多数小于 1,各产量性状在后代中存在分离现象,易受环境影响,呈近似正态分布(图 1、图 2),具有典型数量性状特点,适合对各产量相关性状进行 QTL 定位分析。对亲本的各农艺性状进行方差分析,结果表明,除茎粗和单盘空粒数外,两亲本间株高、盘径、叶片数、单盘粒数、单盘空粒数、单盘粒重、百粒重和结实率均存在显著差异,说明该亲本适合做 QTL 定位。

表 1 向日葵产量相关性状的表型分析

Table 1 Phenotypic analysis of sunflower yield related traits

性状 Trait	年份 Year	亲本 Parent		RIL 群体 RIL population							广义遗传力 (%) Broad-sense heritability
		K55	K58	最小值 Min.	最大值 Max.	平均值 Mean	标准差 SD	变异系数 (%) CV	偏度 Skewness	峰度 Kurtosis	
株高(cm)	2020	186.67a	153.67b	84.00	202.67	136.06	23.06	16.95	-1.435	1.614	54.79
PH	2021	186.67a	153.67b	78.67	200.33	128.99	21.42	16.60	0.417	0.805	
盘径(cm)	2020	9.00a	16.67b	8.67	29.00	18.00	3.96	22.02	-0.893	0.429	31.80
DS	2021	9.00a	16.67b	6.67	19.33	12.73	2.92	22.91	-0.022	-0.692	
茎粗(cm)	2020	1.70a	3.10a	0.89	3.05	2.00	0.40	20.00	-1.309	1.400	49.27
SD	2021	1.70a	3.10a	1.10	2.89	1.77	0.37	20.76	0.825	0.609	
叶片数	2020	12.66a	22.00b	12.33	29.00	19.80	3.62	18.28	-1.356	1.650	74.51
NB	2021	12.66a	22.00b	10.67	30.67	19.14	3.81	19.91	0.514	0.402	

表 1(续)

性状 Trait	年份 Year	亲本 Parent		RIL 群体 RIL population							广义遗传力 (%) Broad-sense heritability
		K55	K58	最小值 Min.	最大值 Max.	平均值 Mean	标准差 SD	变异系数 (%) CV.	偏度 Skewness	峰度 Kurtosis	
单盘粒数	2020	677.67a	498.33b	97.00	995.00	497.52	229.47	46.12	0.208	−0.66	92.50
NGP	2021	677.67a	498.33b	85.50	1247.00	586.67	263.73	44.95	0.219	−0.728	
单盘空粒数	2020	44.33a	16.00a	3.00	634.00	251.22	129.01	51.35	0.435	−0.048	20.42
NEP	2021	44.33a	16.00a	10.00	364.00	81.48	61.23	75.15	1.765	4.352	
单盘粒重(g)	2020	42.60a	22.20b	2.43	221.45	24.00	20.78	86.58	4.663	35.711	25.89
GW	2021	42.20a	22.20b	1.46	59.67	20.19	12.04	59.64	0.878	0.619	
百粒重(g)	2020	6.48a	3.22b	1.47	11.16	4.45	1.47	33.12	0.047	0.759	41.46
HGW	2021	6.48a	3.22b	1.06	9.23	3.49	1.23	35.28	1.003	2.500	
结实率(%)	2020	92.52a	97.05b	15.69	98.39	64.61	15.83	28.68	−0.739	−0.672	28.50
SSR	2021	92.52a	97.05b	24.95	98.73	85.71	12.77	14.90	−2.312	6.629	

a、b 表示在 $P<0.05$ 水平上显著相关
a、b indicates significance correlation at $P<0.05$ level; PH: Plant height; DS: Disk diameter; SD: Stem diameter; NB: Number of blade; NGP: Number of grains particles; NEP: Number of empty particles; GW: Grain weight; HGW: Hundred grain weight; SSR: Seed setting rate; the same as below

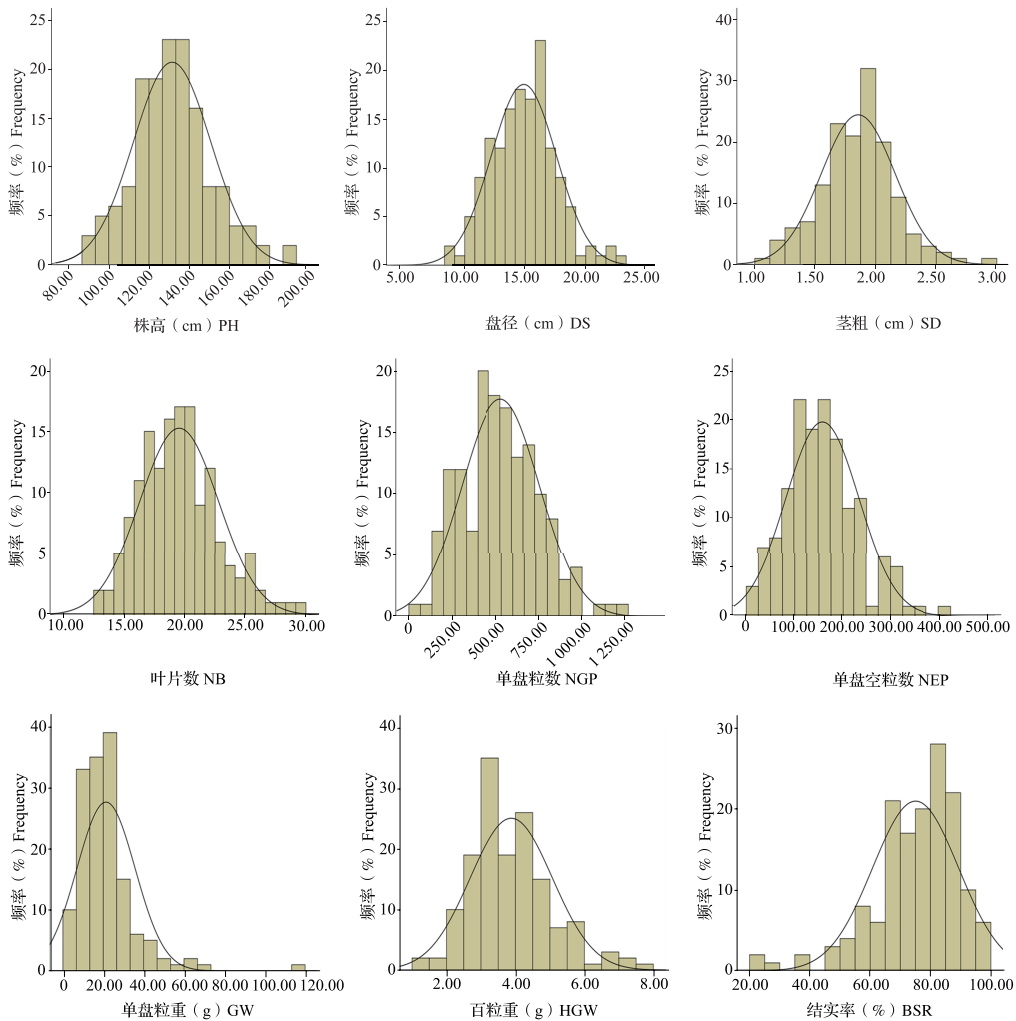


图 1 2021 年自交系各性状的正态分布图
Fig.1 Normal distribution diagram of each trait of inbred line in 2021

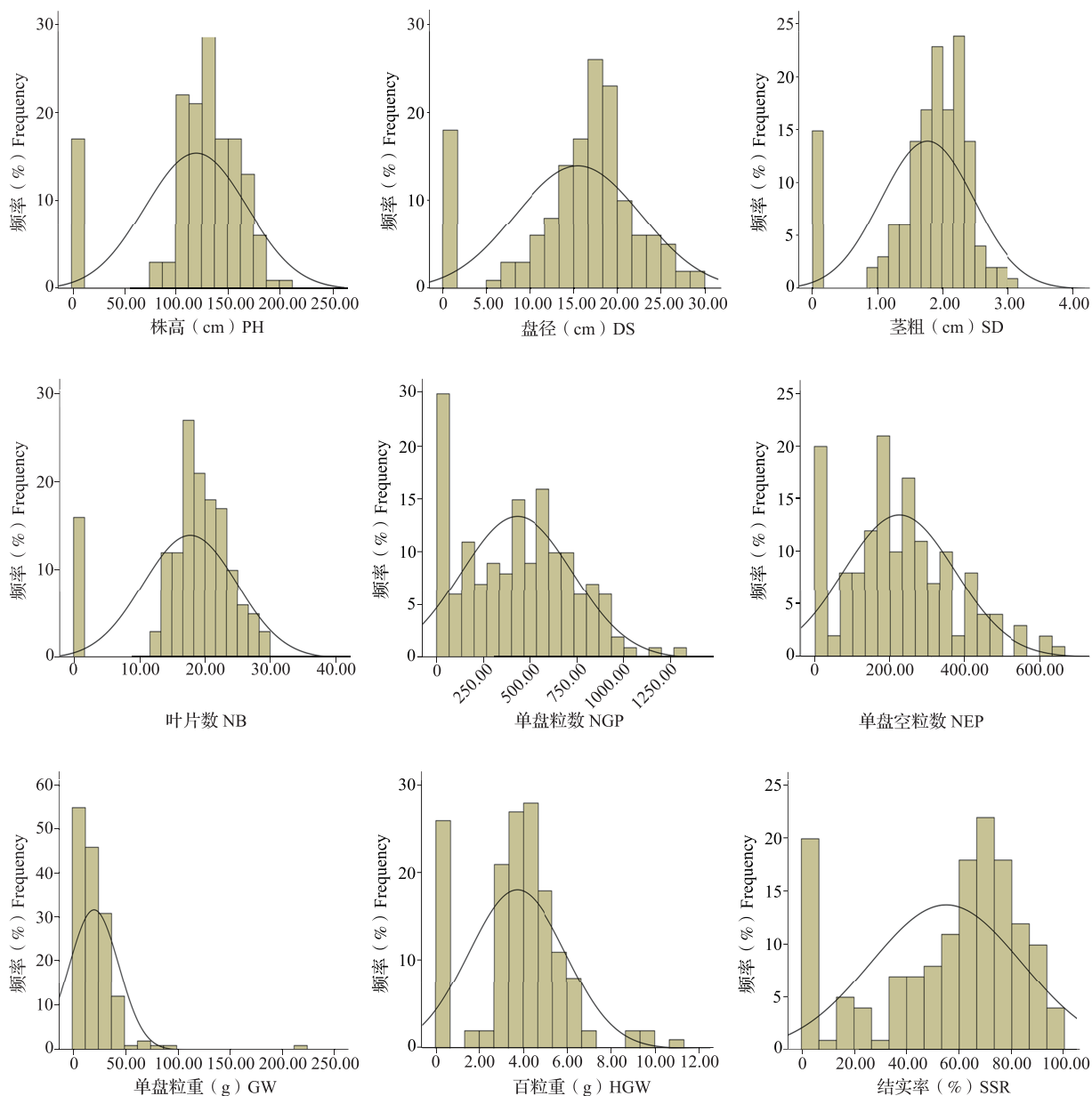


图 2 2020 年自交系各性状的正态分布图

Fig.2 Normal distribution diagram of each trait of inbred line in 2020

2.2 RIL 群体产量相关性状的相关分析

对向日葵自交系材料 9 个产量相关性状之间的相关性进行分析,以 RIL 群体各性状两年测得数据的均值为例,由表 2 可知,单盘粒数与株高、盘径、茎粗、叶片数、单盘粒重和结实率均呈极显著正相关,相关系数介于 0.270~0.721 之间;单盘粒重与株高、盘径、茎粗、叶片数、百粒重和结实率均呈极显著正相关,相关系数介于 0.224~0.524 之间;除此之外,各性状之间也有一定的相关性,株高与盘径、茎粗、叶片数、百粒重和结实率均呈极显著正相关,相关系数介于 0.278~0.603 之间;盘径与茎粗、叶片数和百粒重均呈极显著正相关,相关系数介于 0.252~0.542

之间;茎粗与百粒重呈极显著正相关,相关系数为 0.294。说明株高、盘径、茎粗、叶片数、单盘粒数、百粒重和结实率对选育油用向日葵高产品种尤为重要,但是不能只考虑单一的或少数几个性状,而是要兼顾多个性状及其互作效应。

2.3 RIL 群体产量相关性状的 QTL 定位

RIL 群体在两年环境下共检测到株高、茎粗、叶片数、单盘粒数、单盘粒重、单盘空粒数、百粒重 7 个性状的 9 个 QTL,分布在 4、5、8、9、13、14、16 和 17 号染色体上 ($\text{LOD} \geq 2$),可解释 0.265%~13.075% 的表型变异(表 3、图 3)。在检测获得的 9 个 QTL 中,2020 年检测到 5 个 QTL,2021 年检测获得 4 个 QTL;

表 2 向日葵产量相关性状的相关性分析

Table 2 Correlation coefficients of sunflower yield-related traits

性状 Trait	株高 PH	盘径 DS	茎粗 SD	叶片数 NB	单盘粒数 NGP	单盘空 粒数 NEP	单盘粒重 GW	百粒重 HGW	结实率 SSR
株高 PH	1								
盘径 DS	0.494**	1							
茎粗 SD	0.471**	0.542**	1						
叶片数 NB	0.603**	0.252**	0.174*	1					
单盘粒数 NGP	0.496**	0.502**	0.382**	0.270**	1				
单盘空粒数 NEP	-0.097	0.182*	0.007	0.053	-0.153	1			
单盘粒重 GW	0.409**	0.524**	0.375**	0.224**	0.721**	0.049	1		
百粒重 HGW	0.278**	0.536**	0.294**	0.154	0.098	0.247**	0.403**	1	
结实率 SSR	0.300**	0.198*	0.144	0.072	0.645**	-0.654**	0.415**	-0.067	1

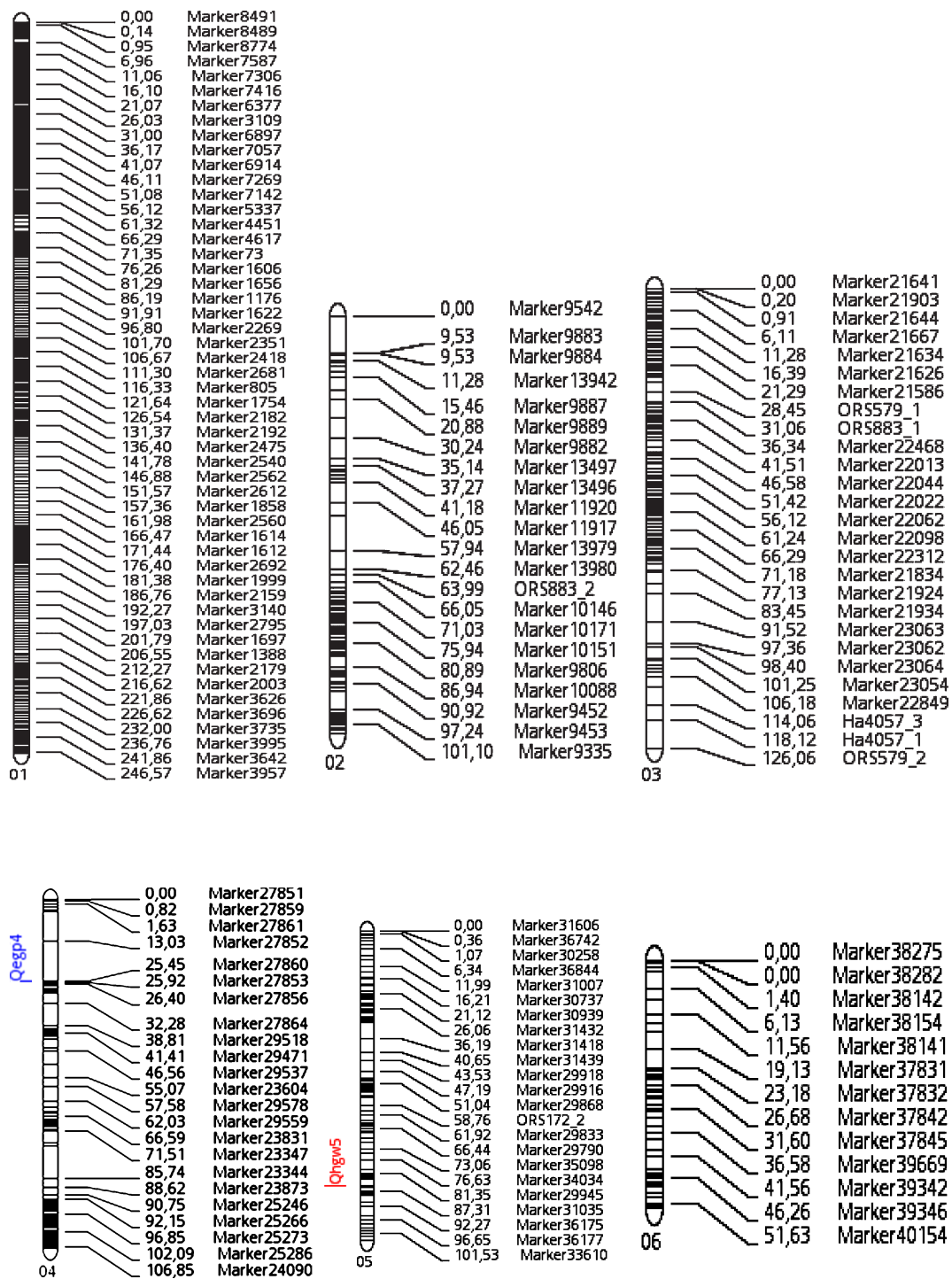
** : 在 0.01 水平 (双侧) 上显著相关, * : 在 0.05 水平 (双侧) 上显著相关
** : Correlation is significant at the 0.01 level, * : Correlation is significant at the 0.05 level

茎粗和百粒重这 2 个性状在连续 2 年中均被检测到 QTL 位点,分别为 Qsd17、Qsd9、Qhgw8 和 Qhgw5,其余各性状均检测到 1 个 QTL 位点。茎粗和单盘粒数的 QTL 均分布在 17 号染色体上,Qsd17、Qngp17 在同一年份下 17 号染色体 Marker125344~Marker128610 区间内被重复检测到,是稳定的 QTL 位点,在这个标记区间内可能存在一个或多个控制产量相关性状的基因。这些 QTL 位点大部分的效应值很小,只有 2 个 QTL 的遗传贡献率超过 10%,即 Qngp17、Qhgw8,贡献率分别为 13.075%、11.747%,为主效 QTL 位点。8 个性状的加性效应值绝大部分是正值,即增加性状的表型值的等位基因均是来自亲本 K55,此外,也存在少量来自亲本 K58 的具有负效应值的等位基因。两年环境下均未检测到盘径和结实率的 QTL 位点。

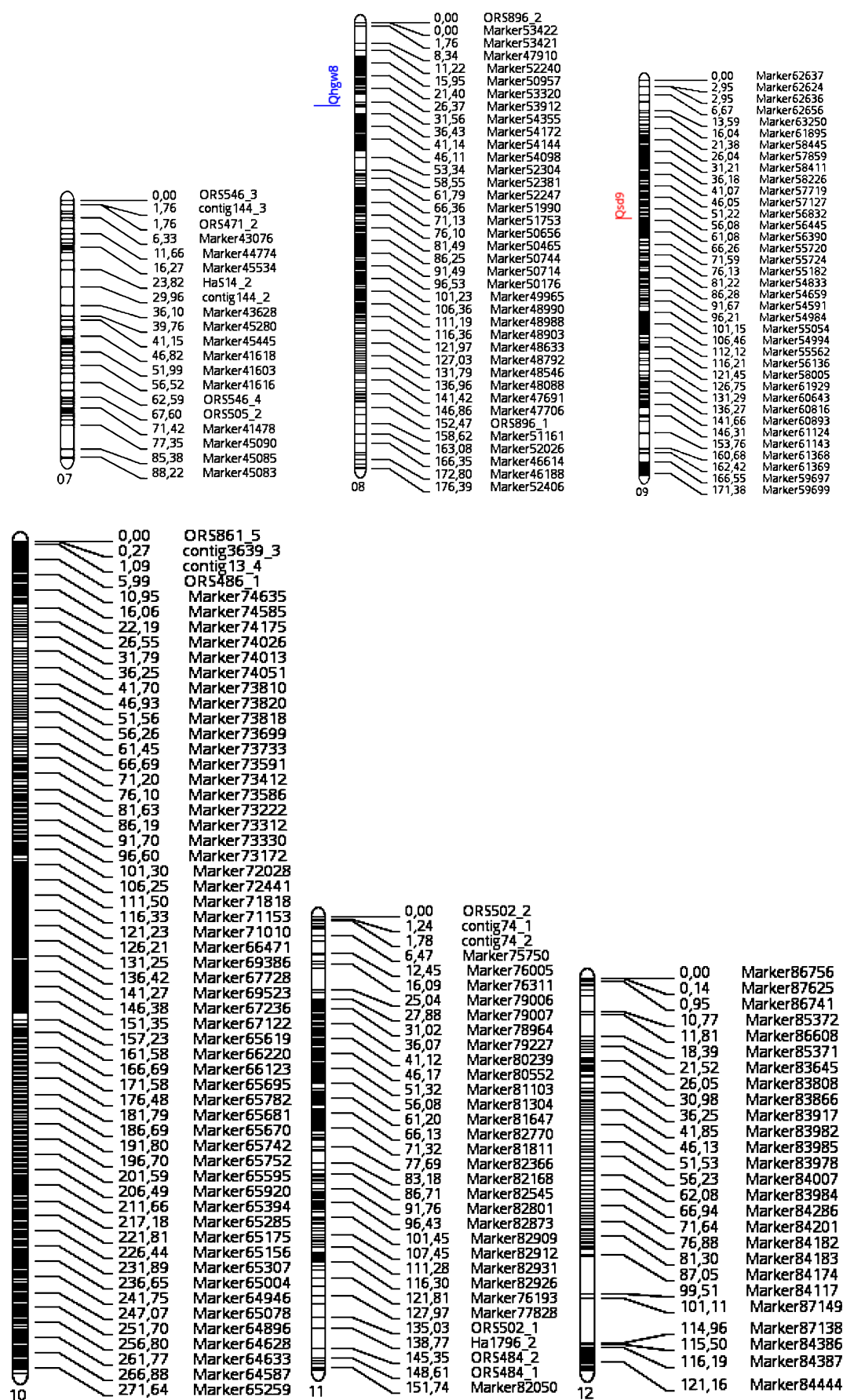
表 3 RIL 群体产量相关性状 QTL 定位结果

Table3 QTL mapping results for yield-related traits in RIL population

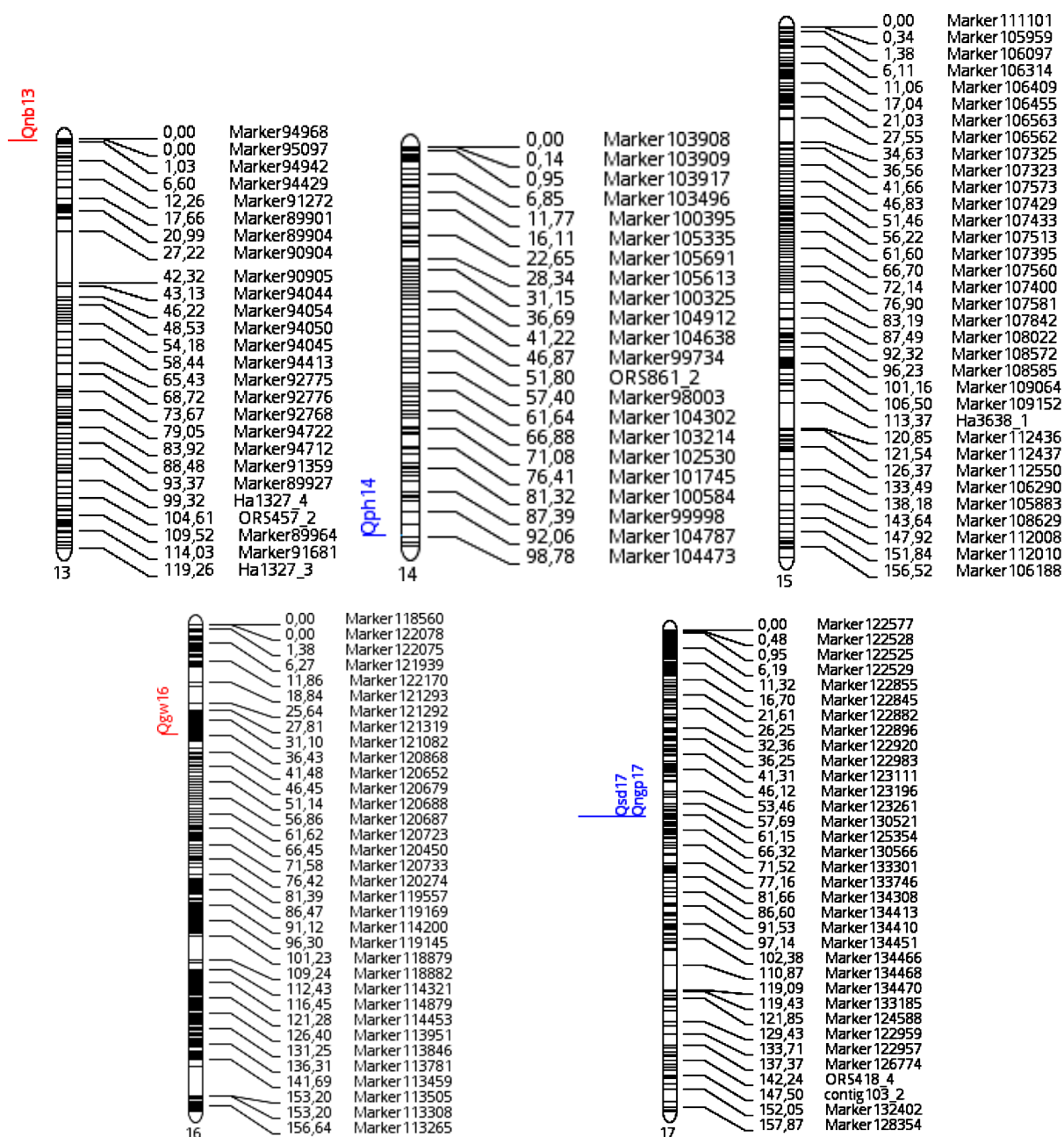
性状 Trait	QTL 名称 QTL name	年份 Year	连锁群 Linkage group	起始位置 (cM) Start	终止位置 (cM) End	标记区间 Mark interval	LOD	加性效应 Additive effect	贡献率 (%) Phenotypic variance expiained
株高 PH	Qph14	2020	14	98.782	98.782	Marker104460~Marker104472	2.5	-5.017	3.969
茎粗 SD	Qsd17	2020	17	62.179	62.179	Marker125344~Marker128610	2.5	0.124	8.747
	Qsd9	2021	9	60.401	60.810	Marker56138~Marker56176	3	0.019	0.265
叶片数 NB	Qnb13	2021	13	0.685	1.027	Marker94956~Marker96975	2	0.522	1.751
单盘粒数 NGP	Qngp17	2020	17	62.179	62.179	Marker125344~Marker128610	4.264	99.24	13.075
单盘空粒数 NEP	Qegp4	2020	4	25.448	25.925	Marker27853~Marker27860	2.5	-40.24	8.993
单盘粒重 GW	Qgw16	2021	16	35.953	36.567	Marker120869~Marker120959	4.207	-2.511	4.129
百粒重 HGW	Qhgw8	2020	8	33.072	33.072	Marker54433~Marker54436	4.734	0.537	11.747
	Qhgw5	2021	5	85.229	85.707	Marker29942~Marker31036	2.5	0.291	5.258



(图3)



(图 3)



两年的 QTL 分别用蓝色 (2020) 和红色 (2021) 表示; 数字代表连锁群

The QTLs of the two years are represented by blue (2020) and red (2021) respectively; Numbers represent linkage groups

图 3 两年条件下产量相关性状 QTL 遗传连锁分布图

Fig.3 Genetic linkage map of QTL for yield-related traits under two-year conditions

2.4 产量性状相关的候选基因

基于向日葵参考基因组注释信息 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=txid4232> [Organism: exp]), 本研究将检测到的 Qsd17、Qngp17、Qgw16 和 Qhgw5 等 4 个稳定或主效 QTL 进行基因信息注释, 共注释到 14 个可能与向日葵产量相关的候选基因, 其中, Qsd17 和 Qngp17 内注释到 8 个候选基因, 包括 *rna55361*、*rna55616*、*rna55157*、*rna55650*、*rna55072*、*rna55421*、*rna55252* 和 *rna55595*, 将

这些候选基因通过 COG、GO、KEGG、Swiss-prot 和 Nr 数据库进行基因注释和功能分析发现, 这些基因被注释为 SAUR 家族蛋白、氨基酸转运与代谢、细胞壁/膜/包膜生物发生、水通道蛋白、NAD(P)H 脱氢酶(醌)、乙烯响应转录因子、丙酮酸脱氢酶、核苷酸转运和代谢。在 Qgw16 注释到 1 个候选基因 *rna52718*, 被注释为参与氨基酸转运和代谢; 在 Qhgw5 注释到 5 个候选基因, 包括 *rna13119*、*rna13113*、*rna13297*、*rna13094*

和 *rna13337*, 这些基因被注释为丝氨酸 / 苏氨酸蛋白激酶、E3 泛素蛋白连接酶、MADS-box 转录因子、myb 原癌基因蛋白, 参与碳水化合物运输和代谢、细胞壁 / 膜 / 包膜生物发生过程 (表 4)。其他 QTL 区间上未注释到与产量性状相关的基因。

表 4 产量相关性状的 QTL 定位的候选基因
Table 4 Candidate genes for QTL mapping of yield-related traits

QTL	染色体 Chromosome	物理位置 Physical position	基因 ID Gene ID	基因功能 Gene function	数据库 Database
Qsd17/Qngp17	17	62.179	<i>rna55361</i>	SAUR 家族蛋白	KEGG
			<i>rna55616</i>	氨基酸转运与代谢	COG
			<i>rna55157</i>	细胞壁 / 膜 / 包膜生物发生	COG
			<i>rna55650</i>	水通道蛋白	KEGG
			<i>rna55072</i>	NAD(P)H 脱氢酶 (醌)	KEGG
			<i>rna55421</i>	乙烯响应转录因子	Nr
			<i>rna55252</i>	丙酮酸脱氢酶	KEGG
			<i>rna55595</i>	核苷酸转运和代谢	COG
Qgw16	16	35.953~36.567	<i>rna52718</i>	氨基酸转运和代谢	COG
Qhgw5	5	85.229~85.707	<i>rna13119</i>	碳水化合物运输和代谢	COG
			<i>rna13113</i>	丝氨酸 / 苏氨酸蛋白激酶	Nr
			<i>rna13297</i>	E3 泛素蛋白连接酶	KEGG
			<i>rna13094</i>	MADS-box 转录因子	KEGG
			<i>rna13337</i>	myb 原癌基因蛋白	KEGG

3 讨论

本研究对向日葵自交系材料 9 个产量相关性状之间的相关性进行分析, 结果表明结实率与株高、单盘粒数、单盘粒重均呈极显著正相关; 单盘粒数与株高、盘径、茎粗、叶片数、单盘粒重、结实率均呈极显著正相关, 这与石慧敏等^[22]、梁春波^[23]、刘文杰等^[24]的研究结果基本一致。

QTL 定位是分析表型与分布于连锁群 (染色体) 上的 DNA 标记与数量性状的连锁关系, 并加以确定 QTL 的位点, 估计其遗传效应, 记录真实的表型数据和构建出高密度的遗传图谱是准确进行 QTL 定位的基础^[25], RIL 是永久性分离群体, 故常作为 QTL 定位群体^[26]。前人对向日葵数量性状 QTL 定位研究较少, 本研究利用重组自交系遗传群体进行 QTL 定位, 增加了 QTL 定位的可信度^[6], 共定位到 7 个产量相关性状的 9 个 QTL 位点, 只有 2 个 QTL 位点与前人的研究具有较高的一致性, 在两年环境下分别在 9 号和 17 号染色体上检测到了茎粗 QTL 位点 (Qsd17、Qsd9), 解释了 0.265%~8.747% 的表型变异。Burke 等^[27]利用向

日葵 F₃ 群体在第 1、3、6、7、11 和 17 号染色体上均检测到了茎粗的 QTL 位点, 解释了 3.9%~13.4% 的表型变异。张永虎^[2]在浇水条件下在第 9 和第 12 连锁群上检测到了茎粗的 QTL, 干旱胁迫条件下在第 9 连锁群上也检测到了茎粗的 QTL, 表型贡献率为 6.9%~11.9%, 尚未定位到与前人研究一致的其他产量性状的 QTL。两年环境条件下的 QTL 比较分析: 在所有 QTL 中, 只有茎粗和百粒重两个性状在两年下均检测到了 QTL 位点, 分别为 Qsd17、Qsd9、Qhgw8 和 Qhgw5, 这可能是由于环境变化对这两个性状的影响不大。两年环境条件下未检测到位点一致的 QTL, 检测到了同一年份条件下同一位点不同性状的 QTL: 茎粗 QTL 位点 Qsd17 (贡献率为 8.747%), 位于 17 号染色体 Marker125344~Marker128610 内, 该区间内还检测到单盘粒数的 QTL 位点 Qngp17, 贡献率为 13.075%, 这个区间是影响向日葵产量的重要染色体区段, 此种效应被称为一因多效现象。茎粗与单盘粒数有一个共同的 QTL 位点, 从性状之间的相关性可以发现, 茎粗与单盘粒数呈极显著正相关, 相关系数为 0.382, 由此可以看出相关性较高的性状之

间,推测一种可能是存在共同的染色体调控位点,同时调控多个性状的表型;另一种可能是定位在相同的区间,QTL 位点之间紧密连锁。本研究定位到的 QTL 可解释 0.265%~13.075% 的表型变异,据研究表明,QTL 的遗传贡献率超过 10% 则可能存在主效基因^[28],因此在本研究中存在主效基因和微效基因,表明向日葵产量相关性状是由主效位点和多个微效位点共同调控的数量性状。本研究使用的遗传连锁图谱有 17 个连锁群,检测到的 QTL 分布在 9 个连锁群上,在其他连锁群上未检测到 QTL^[2]。

QTL 定位是挖掘数量性状关键基因经典方法,育种家在棉花^[29]、水稻、大豆^[30]等作物上都发现了与产量性状相关的候选基因。Ma 等^[29]在棉花株高相关 QTL 位点内得到了一个 *GhPIN3* 基因。Lu 等^[30]利用栽培大豆和野生大豆构建的重组自交系群体进行全基因组重测序及 QTL 定位,从野生大豆中克隆了 1 个控制大豆百粒重的基因 *PP2C-1*。前人在向日葵上很少获得与产量性状相关的候选基因,本研究共获得 9 个 QTL 位点,基于参考基因组注释信息,在 Qsd17、Qngp17、Qgw16 和 Qhgw5 等 4 个稳定或主效 QTL 区间共注释到 SAUR 家族蛋白、氨基酸转运与代谢、细胞壁/膜/包膜生物发生、E3 泛素蛋白连接酶、水通道蛋白、myb 原癌基因蛋白、NAD(P)H 脱氢酶(醌)、乙烯响应转录因子、MADS-box 转录因子、丙酮酸脱氢酶、核苷酸转运和代谢等功能的基因,其中基因 *rna13297* 在数据库 KEGG 注释为 E3 泛素蛋白连接酶,通过调节蛋白的泛素化过程参与细胞内的多种生理过程,从而提高作物的产量,这一研究结果与 Song 等^[31]的研究相一致,表明 *GW2* 编码一种先前未知的具有 E3 泛素连接酶活性的环状蛋白,已知其在泛素-蛋白酶体途径的降解中起作用,GW2 功能的丧失增加了细胞数量,导致更大(更宽)的小穗壳,并加速了籽粒灌浆速率,导致籽粒宽度、重量和产量增加。GW2 的功能特性提供了对种子发育机制的深入了解,是提高作物产量的潜在工具;基因 *rna55361* 通过 KEGG 功能注释为 SAUR 家族蛋白,前人研究表明 SAUR 的转录本主要存在于干细胞以及根茎的中柱细胞中,可能作为信号分子,通过某种未知的途径在维持生长素水平、调控生长素转运以及细胞扩增方面起到重要的作用,主要参与调节生长素的合成和运输,从而影响细胞的膨大^[32],加快作物茎秆和根生长;基因 *rna13113* 通过 Nr 注释为丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,是生物酶中的一个大家族,参与蛋白质

的磷酸化作用,蛋白激酶的磷酸化过程被证实涉及多种信号传导途径,包括光照、激素、高盐、干旱等分子应答^[33]。Peng^[34]发现 *Zm STKR* 基因通过图位克隆定位于玉米第 6 号染色体上,该基因编码一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶类受体蛋白,可控制玉米的行粒数和穗粒数,从而影响玉米的产量。在一定情况下可预测本研究定位到的候选基因对向日葵产量的提高有一定的作用,然而这些候选基因的具体功能有待进一步验证^[35]。

4 结论

结合本实验室前期所构建的向日葵高密度遗传连锁图谱与表型数据,对向日葵 9 个重要产量相关性状进行 QTL 定位分析,两年环境下共检测到 7 个性状的 9 个 QTL 位点,其中,株高检测到 1 个 QTL 位点;茎粗检测到 2 个 QTL 位点;叶片数检测到 1 个 QTL 位点;单盘粒数检测到 1 个 QTL 位点;单盘空粒数检测到 1 个 QTL 位点;单盘粒重检测到 1 个 QTL 位点;百粒重检测到 2 个 QTL 位点。本研究共定位到 2 个遗传贡献率超过 10% 的主效 QTL,为 Qngp17(13.075%)和 Qhgw8(11.747%)。在 Qsd17、Qngp17、Qgw16 和 Qhgw5 等 4 个稳定或主效 QTL 区间内,通过对 14 个与产量性状相关的候选基因 GO、KEGG、Swiss-Port、Nr 和 COG 功能注释分析发现,这些候选基因在氨基酸转运和代谢、碳水化合物代谢和细胞壁/膜/包膜生物发生等方面发挥作用,且基因 *rna55361*、*rna13297*、*rna13113* 与前人研究相一致,控制作物的籽实重量、茎粗和单盘粒数 3 个性状,这 3 个基因可作为后期产量相关基因克隆和功能验证的研究重点。

参考文献

- [1] 廖伯寿,殷艳,马霓.中国油料作物产业发展回顾与展望,农学报,2018,8(1):107-112
Liao B S, Yin Y, Ma N. Review and future prospects of oil crops industry development in China. Journal of Agriculture, 2018, 8(1): 107-112
- [2] 张永虎.向日葵高密度遗传连锁图谱构建及抗旱相关农艺性状 QTL 定位.呼和浩特:内蒙古农业大学,2014
Zhang Y H. Construction of high-density genetic linkage map of sunflower and mapping of QTL for drought resistance-related agronomic traits. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2014
- [3] Li W H, Zeng Y L, Yin F L, Wei R, Mao X F. Genome-wide identification and comprehensive analysis of the NAC transcription factor family in sunflower during salt and drought stress. Nature, 2021, 11: 1-12
- [4] 兴旺.干旱胁迫下梗稻产量及相关性状的 QTL 定位及互作

- 研究. 哈尔滨: 东北农业大学, 2014
- Xing W. QTL mapping and interaction study on yield and related traits of *japonica* rice under drought stress. Harbin: Northeast Agricultural University, 2014
- [5] 曹应江, 游书梅, 蒋开锋, 张涛, 杨莉, 杨乾华, 秦俭, 郑家奎. 水稻产量性状一般配合力 QTL 定位. 核农学报, 2020, 34(9): 1921-1932
- Cao Y J, You S M, Jiang K F, Zhang T, Yang L, Yang Q H, Qin J, Zheng J K. QTL mapping of general combining ability for yield-associated traits in rice. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2020, 34(9): 1921-1932
- [6] 韩英鹏, 栗春霞, 赵雪, 于宽伟, 罗政辉. 大豆产量相关性状 QTL 定位. 东北农业大学学报, 2020, 51(11): 1-10
- Han Y P, Li C X, Zhao X, Yu K W, Luo Z H. QTL mapping of yield related traits in soybean. Journal of Northeast Agricultural University, 2020, 51(11): 1-10
- [7] 陈吉宝. 绿豆产量性状的 QTL 定位. 中国农业科技导报, 2020, 22(10): 38-48
- Chen J B. QTL mapping of yield-associated trait in mung bean. Journal of Agricultural Science and Technology, 2020, 22(10): 38-48
- [8] Zhang L W, Yang G S, Liu P W, Hong D F, Li S P, He Q B. Genetic and correlation analysis of silique-traits in *Brassica napus* L. by quantitative trait locus mapping. Theoretical and Applied Genetics, 2011, 122(1): 21-31
- [9] Kang Y W, Zhang M, Zhang Y, Wu W X, Xue P, Zhan X D, Cao L Y, Cheng S H, Zhang Y X. Genetic mapping of grain shape associated QTL utilizing recombinant inbred sister lines in high yielding rice (*Oryza sativa* L.). Genes, 2021, 4(12): 705
- [10] Zhang Z, Shang H L, Shi Y Z, Huang L, Li G W, Ge Q, Gong J W, Liu A Y, Chen T T, Wang D, Wang Y L, Koffi K P, Jamshed M, Li W J, Lu Q W, Deng X Y, Tan Y N, Song W W, Cai J, Li P T, Harunor R, Gong W H, Yuan Y L. Construction of a high-density genetic map by specific locus amplified fragment sequencing (SLAF-seq) and its application to quantitative trait loci (QTL) analysis for boll weight in upland cotton (*Gossypium hirsutum*). BMC Plant Biology, 2016, 16(1): 79
- [11] Yang P, Shu C, Chen L, Xu J S, Wu J S, Liu K D. Identification of a major QTL for silique length and seed weight in oilseed rape (*Brassica napus* L.). Theoretical and Applied Genetics, 2012, 125(2): 285-296
- [12] 马宇, 吕品, 侯建华. 水旱两种条件下向日葵产量相关 QTL 定位. 中国油料作物学报, 2017, 39(5): 606-614
- Ma Y, Lü P, Hou J H. QTL mapping for yield-related traits in sunflower under irrigation and drought stress. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2017, 39(5): 606-614
- [13] 吕品, 于海峰, 侯建华. 利用抗旱选择导入系定位向日葵产量性状 QTL. 作物学报, 2018, 44(3): 385-396
- Lü P, Yu H F, Hou J H. QTL mapping of yield traits using drought tolerance selected backcrossing introgression lines in sunflower. Acta Agronomica Sinica, 2018, 44(3): 385-396
- [14] Bert P F, Jouan I, Tourvieilled L D, Serre F, Philippon J, Nicolas P, Vear F. Comparative genetic analysis of quantitative traits in sunflower (*Helianthus annuus* L.). 2. Characterisation of QTL involved in developmental and agronomic traits. Theoretical and Applied Genetics, 2003, 107(1): 181-189
- [15] Kiani S P, Maury P, Nouri L, Ykhlef N, Griep P, Sarrafi A. QTL analysis of yield-related traits in sunflower under different water treatments. Plant Breeding, 2009, 128(4): 363-373
- [16] Haddadi P, Yazdi-samadi B, Naghavi M R, Kalantari A, Maury P, Sarrafi A. QTL analysis of agronomic traits in recombinant inbred lines of sunflower under partial irrigation. Plant Biotechnology Reports, 2011, 5(2): 135-146
- [17] 贾晓昀, 朱继杰, 赵红霞, 王士杰, 李妙, 王国印. 棉花产量相关性状 QTL 定位及候选基因筛选. 华北农学报, 2021, 36(2): 54-61
- Jia X Y, Zhu J J, Zhao H X, Wang S J, Li M, Wang G Y. QTL analysis and candidate gene annotation for cotton yield related traits. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2021, 36(2): 54-61
- [18] 严兴初. 向日葵种质资源描述规范和数据标准. 北京: 中国农业出版社, 2006
- Yan X C. Description specification and data standard of sunflower germplasm resources. Beijing: China Agricultural Press, 2006
- [19] 王姣, 邵贵芳, 赵凯, 莫云容, 邓明华. 辣椒 6 个植物学性状广义遗传力分析. 辣椒杂志, 2017, 15(2): 25-28, 48
- Wang J, Shao G F, Zhao K, Mo Y R, Deng M H. General heritability of 6 botanical characters in hot pepper. Journal of China Capsicum, 2017, 15(2): 25-28, 48
- [20] Lü P, Hou J H, Yu H F, Shi H M. High-density genetic linkage map construction in sunflower (*Helianthus annuus* L.) using SNP and SSR markers. Current Bioinformatics, 2020, 15: 1-9
- [21] 乔文青, 严根土, 石建斌, 王宁, 张亚林, 许庆华, 周红, 黄群. 陆地棉低世代群体纤维品质 QTL 定位及候选基因功能注释. 棉花学报, 2019, 31(4): 282-296
- Qiao W Q, Yan G T, Shi J B, Wang N, Zhang Y L, Xu Q H, Zhou H, Huang Q. QTL mapping of fiber quality in low-generation upland cotton populations and functional annotation of candidate genes. Cotton Science, 2019, 31(4): 282-296
- [22] 石慧敏, 甄子龙, 侯建华. 79 份油用向日葵自交系的鉴定与评价. 分子植物育种, 2020, 18(16): 5530-5536
- Shi H M, Zhen Z L, Hou J H. Identification and evaluation of 79 oil sunflower inbred lines. Molecular Plant Breeding, 2020, 18(16): 5530-5536
- [23] 梁春波. 油用向日葵杂交组合子实含油率与农艺性状的相关及通径分析. 安徽农业科学, 2018, 46(33): 19-20, 24
- Liang C B. Correlation and path analysis between agronomic traits and oil content of seed in oil-type sunflower hybrids. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2018, 46(33): 19-20, 24
- [24] 刘文杰, 段维, 王波. 51 份外引向日葵种质资源农艺性状的相关分析及聚类分析. 新疆农垦科技, 2019, 42(7): 9-12
- Liu W J, Duan W, Wang B. Correlation analysis and cluster analysis of agronomic traits of 51 sunflower germplasm resources imported from abroad. Xinjiang Farm Research of Science and Technology, 2019, 42(7): 9-12
- [25] 胡文静, 裔新, 高德荣, 朱冬梅, 陆成彬, 程顺和, 张勇. 小麦品种扬麦 13 粒重 QTL 定位. 植物遗传资源学报, 2021, 22(3): 782-788
- Hu W J, Yi X, Gao D R, Zhu D M, Lu C B, Cheng S H, Zhang Y. Genetic mapping of the quantitative trait locus contributes to the grain weight in cultivar Yangmai13. Journal of Plant Genetic

- Resources, 2021, 22(3): 782-788
- [26] Mc Couch S R, Cho Y G, Yano M, Paul E, Blinstrub M, Morishima H, McCouch S. Report on QTL nomenclature. Rice Genetics Newsletter, 1997, 14: 11-13
- [27] Burke J M, Tang S, Knapp S J, Rieseberg L H. Genetic analysis of sunflower domestication. Genetics, 2002, 161: 1257-1267
- [28] 李维国, 冯素萍, 侯本军, 于飞, 王静毅, 武耀廷. 橡胶树与胶乳产量相关性状 QTL 定位. 植物遗传资源学报, 2014, 15(5): 1060-1066
Li W G, Feng S P, Hou B J, Yu F, Wang J Y, Wu Y T. QTL mapping for some traits related to latex yield of *hevea brasiliensis*. Journal of Plant Genetic Resources, 2014, 15(5): 1060-1066
- [29] Ma J J, Pei W F, Ma Q F, Geng Y H, Liu G Y, Liu J, Cui Y P, Zhang X, Wu M, Li X L, Li D, Zang X S, Song J K, Tang S R, Zhang J F, Yu S X, Yu J W. QTL analysis and candidate gene identification for plant height in cotton based on an inter specific backcross in bred line population of *Gossypium hirsutum* × *Gossypium barbadense*. Theoretical and Applied Genetics, 2019, 132(9): 2663-2676
- [30] Lu X, Xiong Q, Cheng T, Li Q T, Liu X L, Bi Y D, Li W, Zhang W K, Ma B, Lai Y C, Du W G, Man W Q, Chen S Y, Zhang J S. A PP2C-1 allele underlying a quantitative trait locus enhances soybean 100-seed weight. Molecular Plant, 2017, 10: 670-684
- [31] Song X J, Huang W, Shi M, Zhu M Z, Lin H X. A QTL for rice grain width and weight encodes a previously unknown RING-type E3 ubiquitin ligase. Nature Genetics, 2007, 39(5): 623-630
- [32] 朱宇斌, 孔莹莹, 王君晖. 植物生长素响应基因 SAUR 的研究进展. 生命科学, 2014, 26(4): 407-413
Zhu Y B, Kong Y Y, Wang J H. Research advances in auxin-responsive SAUR genes. Chinese Bulletin of Life Sciences, 2014, 26(4): 407-413
- [33] 马璐琳, 段青, 杜文文, 张艺萍, 崔光芬, 贾文杰, 吴学尉, 王祥宁, 王继华. 泸定百合丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶基因 (LsS/TK) 的克隆与表达分析. 分子植物育种, 2020, 18(18): 5925-5932
Ma L L, Duan Q, Du W W, Zhang Y P, Cui G F, Jia W J, Wu X W, Wang X N, Wang J H. Cloning and expression analysis of a serine/threonine protein kinase gene (LsS/TK) in *lilium sargentiae*. Molecular Plant Breeding, 2020, 18(18): 5925-5932
- [34] Peng W. Improving rice yield and quality by QTL pyramiding. Molecular Breeding, 2012, 29(4): 903-913
- [35] 贾龙, 王洁, 王素华, 陈红霖, 程须珍, 杜吉到, 王丽侠. 绿豆 11 个农艺性状相关基因的 QTL 定位. 植物遗传资源学报, 2022, 23(2): 442-449
Jia L, Wang J, Wang S H, Chen H L, Cheng X Z, Du J D, Wang L X. Identification of QTL associating with eleven agronomic traits in mungbean (*Vigna radiata* L.). Journal of Plant Genetic Resources, 2022, 23(2): 442-449