

小麦高密度遗传图谱构建及抗旱相关生理性状的遗传解析

李 龙, 彭 智, 毛新国, 王景一, 昌小平, 柳玉平, 景蕊莲

(中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081)

摘要:生理调控是小麦应对干旱胁迫的主要途径,解析小麦抗旱相关生理性状的遗传基础,发掘利用分子标记将为小麦抗旱性的高效改良提供有力支撑。本研究以加倍单倍体(DH)群体(早选10号×鲁麦14)的150个株系为材料,利用小麦660K SNP芯片及SSR标记构建高密度遗传图谱,解析不同水分环境下孕穗期及灌浆中期小麦冠层温度(CT)、叶绿素含量(SPAD value)和植被覆盖指数(NDVI)的遗传基础。遗传图谱覆盖小麦21条染色体,分为30个连锁群,总长度4082.44 cM,标记间平均距离为2.20 cM。共检测到抗旱相关生理性状QTL 86个,分布于除3D以外的20条染色体上。冠层温度、叶绿素含量和植被覆盖指数的QTL数目分别为30、40和34个;17个QTL具有一因多效性,其中4个QTL与冠层温度和植被覆盖指数相关,8个QTL与冠层温度和叶绿素含量相关,7个QTL与叶绿素含量和植被覆盖指数相关,位于4D染色体的QPT52与3种性状均相关。本研究为小麦抗旱基因挖掘及分子育种提供了参考信息和技术支撑。

关键词:普通小麦;660K SNP芯片;遗传解析;抗旱性;生理性状

Genetic Map Construction and Genetic Dissection of Drought-Tolerant Related Physiological Traits in Wheat

LI Long, PENG Zhi, MAO Xin-guo, WANG Jing-yi,

CHANG Xiao-ping, LIU Yu-ping, JING Rui-lian

(Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081)

Abstract: Physiological regulation is an essential way against drought stress in common wheat; dissecting the genetic basis of drought-tolerant related physiological traits, and developing molecular markers can provide strong support for efficient improvement of drought tolerance in wheat. In this study, 150 doubled haploid (DH) lines derived from a cross of Hanxuan 10 × Lumai 14 were genotyped by Wheat 660K SNP Array and SSR (simple sequence repeat) markers for constructing a high density genetic map. The genetic basis of canopy temperature (CT), chlorophyll content (SPAD value) and normalized difference vegetation index (NDVI) under different water regimes at booting and mid-grain fill stages were dissected. A genetic map covering 21 chromosomes was constructed, which included 30 linkage groups and spanned 4082.44 cM, with an average interval distance of 2.20 cM. Eighty-six QTL were identified on all chromosomes except for 3D. The numbers of QTL for CT, SPAD value and NDVI are 30, 40 and 34, respectively. Seventeen QTL showed pleiotropic effects, among which, four were related to CT and NDVI, eight for CT and SPAD value, seven for SPAD value and NDVI. QPT52 located on chromosome 4D was related to all three physiological traits. The present study provided reference information and technical supports for drought-tolerant gene discovery and molecular breeding in wheat.

Key words: common wheat; 660K SNP array; genetic dissection; drought tolerance; physiological trait

收稿日期: 2018-02-07 修回日期: 2018-03-01 网络出版日期: 2018-04-17

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20180417.1415.036.html>

基金项目: 国家转基因生物新品种培育重大专项(2016ZX08010005); 中国农业科学院科技创新工程协同创新任务(CAAS-XTCX2016019)

第一作者研究方向为小麦抗旱生物学。E-mail: llsg66@126.com

通信作者: 景蕊莲, 研究方向为作物抗逆生物学。E-mail: jingruilian@caas.cn

小麦是我国的主要粮食作物,干旱缺水严重制约小麦生产的发展,为减轻干旱胁迫对其产量和品质的影响,需投入大量农业用水^[1]。因此,培育抗旱节水小麦品种是保障我国粮食安全和水资源安全的战略措施。生理调控是小麦应对干旱胁迫的主要途径,抗旱相关生理性状的应用有助于育种家由“经验选择”转变为高效定向的“精准选择”,从而提高抗旱育种效率^[2]。冠层温度、植被覆盖指数和叶绿素含量是小麦重要抗旱相关生理性状。其中,冠层温度反映了植物体整体的水分状况,是气孔导度、维管束强度及根系深度等多种性状共同调节的结果^[3-6],M. Van Ginkel 等^[7]通过冠层温度辅助选择,有效提高了小麦育种效率。植被覆盖指数和叶绿素含量分别从群体和组织水平反映了植株的持绿性,干旱胁迫下的功能性持绿有利于作物延长干物质积累时间,从而提高产量^[8-9]。然而,以上性状易受环境影响,测定过程技术要求高,例如,冠层温度测定时由于红外线投射角度的不同可能会造成 1℃ 以上的偏差,植被覆盖指数受种植密度影响较大,从而限制了生理性状在小麦抗旱性改良中的应用^[10]。

分子标记能够为不同生理性状建立“分子指纹”,具有环境稳定性、操作简便性、评价客观性等优点,为生理育种提供了新的思路,目前已经在多种作物的分子改良中得到应用。例如,S. Dixit 等^[11]利用抗旱相关数量性状位点 *qDTY* 辅助选择,进一步提高了水稻主栽品种 Sabitri 的抗旱性;F. Bankole 等^[12]研究表明分子标记聚合育种能有效提高旱地玉米产量。相比而言,小麦庞大的基因组及复杂的遗传结构限制了抗旱相关生理性状的遗传解析,现有分子标记的数量及精度不能满足育种需求^[13]。因此,利用高密度遗传图谱进一步发掘分子标记仍是目前小麦抗旱性研究的重要内容之一。基于此,本研究将新开发的小麦 660K SNP 芯片数据与前期已经作图的 SSR 标记进行整合,构建高密度遗传图谱,进一步剖析不同水分环境下小麦冠层温度、叶绿素含量和植被覆盖指数的遗传基础,以期推进小麦抗旱相关生理性状的应用进程,为抗旱育种提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以小麦早选 10 号(母本)和鲁麦 14(父本)为亲本的 DH 群体为材料,该群体有 150 个株系。早选 10 号是山西省农业科学院培育的旱地品种,具有较

强的抗旱、抗寒及耐瘠性,至今在晋中和陕北的山旱地仍有零星种植;鲁麦 14 是由山东省烟台市农业科学研究所选育的品种,具有丰产性好、分蘖能力强及成穗率高等优点,曾在鲁、苏北、晋南、皖北及冀中南的水肥地大面积推广种植,1993-1995 年累计种植面积达 395.2 万 hm^2 ^[14]。

1.2 试验方法

1.2.1 基因型鉴定 本研究所用 224 个 SSR 标记由 Z. Hao 等^[15]作图。SNP 标记使用小麦 660K SNP 芯片进行检测,该芯片由中国农业科学院作物科学研究所与 Affymetrix 公司合作研发,含有 630518 个 SNP 标记,标记物理位置来源于中国春基因组测序结果 (IWGSC WGA v0.4)^[16]。

1.2.2 表型鉴定 试验于 2014-2016 年在中国农业科学院作物科学研究所昌平和顺义试验基地进行。设置旱地及水地两种处理,旱地为雨养条件,两个小麦生长季的降水量分别为 161 mm 和 173 mm,水地于越冬前、孕穗期及开花期灌溉,每次的灌溉量为 $750 \text{ m}^3/\text{hm}^2$ 。每个株系播种 4 行,行长 2 m,行距 20 cm,每行播种 40 粒。测定生理指标包括冠层温度、叶绿素含量及植被覆盖指数。选择晴朗无风的天气,采用 Optris LS 双功能便携式红外测温仪测定冠层温度,测定过程中避免红外线投射到裸露地面。采用 SPAD-502 叶绿素仪测定旗叶中段的叶绿素含量,避开中部叶脉。采用 GreenSeeker 505 在晴朗无风的天气测定植被覆盖指数,测定时始终保持探头在植株顶端上方 60 cm 处。上述性状的具体操作规程及注意事项参考《生理育种 II:小麦田间表型鉴定指南》^[17]。由于本研究测定环境及性状较多,表型变量的名称统一由性状[冠层温度(CT)、叶绿素含量(SPAD value)及植被覆盖指数(NDVI)]、收获年份[2015 年和 2016 年]、地点[昌平(C)和顺义(S)]、水分条件[旱地(D)和水地(W)]及生育期[孕穗期(B)和灌浆中期(G)]组合而成,例如,CT_15SD_B 意为 2015 年顺义旱地孕穗期冠层温度。

1.2.3 数据分析 利用 Microsoft Excel 2007 进行基本统计分析,利用 SPSS 19.0 进行相关性分析及差异显著性检验,广义遗传力通过以下公式进行计算:

$$H^2 = \frac{\sigma_G^2}{\left(\sigma_G^2 + \frac{\sigma_{GE}^2}{r} + \frac{\sigma_e^2}{re}\right)}$$

式中 σ_G^2 为基因型方差, σ_{GE}^2 为基因型与环境互作方差, σ_e^2 为随机误差方差, r 为重复数, e 为环境数。

利用 IciMapping 4.1 软件对相同遗传位置标记进行整合,在保留全部 SSR 标记的前提下获取骨干标记(Bin marker);利用 JoinMap 4.0 构建遗传图谱,构建过程包括两个步骤:(1)分群,将 LOD 值设置为 10;(2)排序,采用最大似然法分别对每个连锁群进行排序,采用 Kosambi 函数将遗传距离定义为 cM,其他参数均采用默认设置。基于完备区间作图法,利用 IciMapping 4.1 软件进行 QTL 检测,LOD 阈值设置为 2.5^[18],并将置信区间存在重合的 QTL 整合。

2 结果与分析

2.1 DH 群体及亲本的表型分析

不同水分条件下两亲本的冠层温度、叶绿素含量和植被覆盖指数具有较大差异(表 1)。旱地

条件下,早选 10 号的冠层温度、叶绿素含量在孕穗期和灌浆中期均显著、极显著低于鲁麦 14,植被覆盖指数差异不显著;水地条件下,早选 10 号的冠层温度在灌浆中期极显著小于鲁麦 14,而在孕穗期差异不显著,叶绿素含量在两个生育期均极显著小于鲁麦 14,植被覆盖指数仍差异不显著。进一步比较两亲本各项生理指标在不同水分条件下的变化,结果表明,早选 10 号和鲁麦 14 在干旱胁迫下,冠层温度均升高,而早选 10 号升高幅度较小;早选 10 号的叶绿素含量有小幅增加,鲁麦 14 则略为下降;此外,双亲的植被覆盖指数均下降,早选 10 号下降幅度较小(图 1)。由此可见,在干旱胁迫条件下,早选 10 号能够保持较低的冠层温度,良好的持绿性以及植被覆盖度,有利于光合作用及新陈代谢的正常运行。

表 1 DH 群体及其亲本抗旱相关生理性状统计分析

Table 1 Statistical analysis of physiological traits of DH lines and their parents

处理 Treatment	生育期 Growth stage	性状 Trait	亲本 Parent		平均值 Mean	DH 群体 DH line		
			早选 10 号 Hanxuan 10	鲁麦 14 Lumai 14		范围 Range	变异系数 (%) CV	广义遗传力 (%) H^2
旱地 Drought stress	孕穗期	冠层温度(°C) CT	22.40 ± 0.40	23.70 ± 0.60 *	23.90	21.20 ~ 26.40	4.1	67.1
	Booting stage	叶绿素含量 SPAD value	52.80 ± 3.30	58.20 ± 2.60 **	56.50	48.80 ~ 70.90	6.2	73.1
		植被覆盖指数 NDVI	0.67 ± 0.10	0.64 ± 0.05	0.53	0.31 ~ 0.77	17.7	81.3
	灌浆中期	冠层温度(°C) CT	25.30 ± 0.60	27.10 ± 0.50 **	27.40	25.20 ~ 29.20	2.6	63.5
	Mid-grain fill stage	叶绿素含量 SPAD value	52.40 ± 4.30	58.60 ± 2.70 *	58.40	51.20 ~ 67.10	5.0	69.2
		植被覆盖指数 NDVI	0.52 ± 0.06	0.56 ± 0.11	0.64	0.43 ~ 0.78	9.6	76.8
水地 Well-watered	孕穗期	冠层温度(°C) CT	21.10 ± 0.50	21.80 ± 0.60	23.00	20.40 ~ 24.90	4.3	71.2
	Booting stage	叶绿素含量 SPAD value	50.70 ± 3.90	61.90 ± 4.80 **	56.30	47.60 ~ 64.00	6.2	64.1
		植被覆盖指数 NDVI	0.72 ± 0.04	0.65 ± 0.03	0.63	0.44 ~ 0.86	14.8	77.3
	灌浆中期	冠层温度(°C) CT	25.10 ± 0.80	26.80 ± 0.70 **	25.20	23.30 ~ 27.10	3.1	66.2
	Mid-grain filling stage	叶绿素含量 SPAD value	52.20 ± 4.90	62.20 ± 5.10 **	57.80	50.20 ~ 67.30	5.6	70.7
		植被覆盖指数 NDVI	0.59 ± 0.19	0.66 ± 0.06	0.76	0.46 ~ 0.89	11.2	76.1

* 和 ** 分别表示在 0.05 和 0.01 水平上差异显著

*, ** indicated significant at 0.05 and 0.01 level, respectively

DH 群体各性状均呈连续分布且范围较广,冠层温度和植被覆盖指数在不同水分条件下的分布存在分离现象,进一步说明本研究干旱胁迫效果显著,使得群体冠层温度整体升高,植被覆盖度下降(图 1)。此外,不同性状离散程度存在较大差异,其中 NDVI 变异系数最大,范围为 9.6% ~

17.7%,冠层温度变异系数最小,为 2.6% ~ 4.3%;各性状广义遗传力较高(63.5% ~ 81.3%)(表 1),说明表型差异主要是由遗传基础决定的,且存在明显的超亲分离,说明相关等位基因广泛分离,因此,该群体适宜于对目标性状进行遗传学研究。

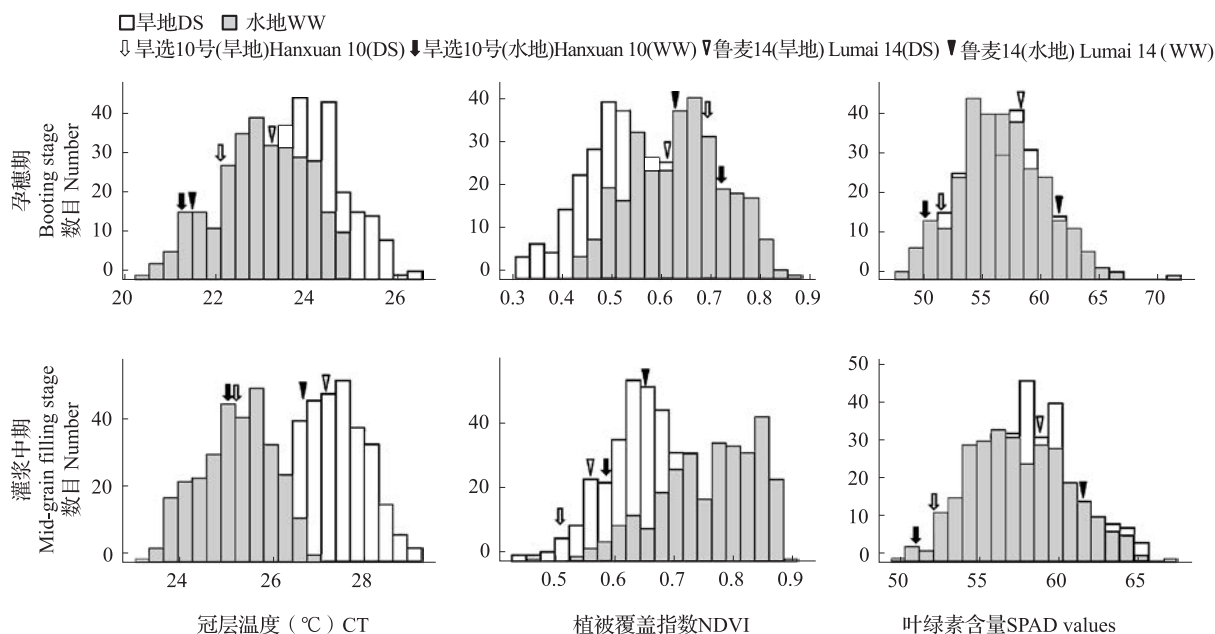


图1 DH 群体抗旱相关生理性状的频率分布

Fig. 1 Frequency distribution of drought-tolerant related physiological traits in DH lines

2.2 遗传图谱构建

通过多态性筛选,去除杂合基因型以及缺失率大于20%的标记,最终保留114545个SNP标记,对基因型一致的标记进行整合,浓缩为1630个骨干SNP标记。结合224个SSR标记,最终利用1854个骨干标记构建遗传连锁图谱。图谱共包括30个连锁群,覆盖小麦21条染色体,其中2A、2B、3A和3B染色体各包含两个连锁群,5A包含3个连锁群,6D包含4个连锁群。图谱总长度为4082.44 cM,标记间平均距离为2.20 cM(表2)。

A染色体组多态性标记最多,包含有769个骨干标记,占总数的41.5%,连锁群长度最长(1447.85 cM),标记间平均距离最小(1.96 cM);B染色体组有665个骨干标记,占标记总数的35.9%,全长最短(1239.93 cM),标记间平均距离为2.26 cM;D染色体组骨干标记数最少(420个),占标记总数的22.6%,全长为1394.66 cM,标记间平均距离最大(3.22 cM)。进一步分析不同染色体组的标记情况,A染色体组中3A和7A包含的骨干标记最多,分别为130个和129个,染色体连锁群最长,分别为299.08 cM和229.34 cM;而骨干标记数最少的为4A染色体,仅含有77个骨干标记,总长度为158.68 cM,标记间平均距离为2.06 cM;B染色体组中3B上的骨干标记数目最多,为154个,总长度也最大,为246.37 cM,

标记间平均距离为2.90 cM,2B染色体骨干标记最少(64个),总长度最小(120.77 cM),标记间平均距离为2.20 cM;6D是所有染色体中骨干标记最少的染色体,仅有49个,总长度为166.90 cM,标记间平均距离为3.00 cM。

卡方检验显示,用于遗传作图的1854个骨干标记多数在群体中符合1:1的分离比,有387个骨干标记在0.01水平上显著偏分离,占标记总数的20.9%,其中359个偏向父本鲁麦14,占总分离位点的92.8%;仅有28个偏向母本旱选10号,占偏分离位点总数的7.2%。此外,偏分离标记在小麦不同亚基因组上的分布存在差异,其中B基因组的偏分离位点最多(170个),占总偏分离位点的43.9%,A和D基因组上偏分离位点数目分别为165(42.6%)和52个(13.5%)(表2)。由于图谱中的大部分SNP均具有中国春参考基因组的物理位置信息,因此,为了进一步验证遗传图谱的质量,针对每一条连锁群分析了SNP遗传位置与物理位置的相关性,结果表明除了1B、2B和5A上的SNP位点相关系数(0.593、0.615和0.590)较低外,其余连锁群的相关系数均大于0.800,各连锁群的平均相关系数为0.872(表2),说明本研究构建的遗传连锁图谱上标记的相对位置与中国春参考基因组的相对物理位置具有高度一致性。

表 2 DH 群体遗传连锁图谱统计信息

Table 2 Statistical information of linkage map for DH population

染色体 Chr.	连锁群编号 Linkage group number	骨干标记数 Bin number	连锁群长度 (cM) Linkage group length	标记间平均距离 (cM) Average interval distance	相关系数 r^2	偏分离标记数(父本/母本) Distorted marker number(male/female)
1A	1	113	180.19	1.59	0.875	19/0
1B	2	117	139.92	1.20	0.593	29/5
1D	3	37	171.26	4.63	0.925	4/0
2A	4	106	162.08	1.53	0.874	30/3
2A	5	11	18.85	1.71	0.892	10/1
2B	6	52	88.32	1.70	0.615	6/1
2B	7	12	32.45	2.70	0.957	2/1
2D	8	86	246.66	2.87	0.920	10/3
3A	9	101	224.05	2.22	0.780	20/0
3A	10	29	75.03	2.59	0.960	5/0
3B	11	135	158.46	1.17	0.879	15/1
3B	12	19	87.91	4.63	0.957	15/1
3D	13	67	277.63	4.14	0.862	9/0
4A	14	77	158.68	2.06	0.856	10/2
4B	15	68	159.34	2.34	0.943	13/2
4D	16	50	104.13	2.08	0.896	6/0
5A	17	49	78.12	1.59	0.590	10/1
5A	18	30	68.12	2.27	0.994	2/1
5A	19	25	57.00	2.28	0.972	2/0
5B	20	104	229.62	2.21	0.808	16/3
5D	21	69	253.32	3.67	0.830	5/1
6A	22	99	196.39	1.98	0.830	37/0
6B	23	81	132.01	1.63	0.869	35/0
6D	24	13	15.96	1.23	0.970	6/0
6D	25	8	33.96	4.25	0.993	1/0
6D	26	19	110.38	5.81	0.885	1/0
6D	27	9	6.60	0.73	0.960	0/0
7A	28	129	229.34	1.78	0.872	12/0
7B	29	77	211.90	2.75	0.946	23/2
7D	30	62	174.76	2.82	0.869	6/0
Total/Mean	30	1854	4082.44	2.20	0.872	359/28

相关系数 r^2 为 SNP 标记的遗传位置与中国春参考基因组物理位置的皮尔逊相关系数

r^2 is Pearson's correlation coefficient of SNP between genetic position and physical position based on Chinese Spring reference genome

2.3 抗旱相关生理性状的连锁分析

利用高密度遗传图谱对抗旱相关生理性状进行连锁分析,两个生育时期、两种水分环境下共检测到 86 个 QTL,分布于 20 条染色体(除 3D 外),其中染色体 3A 及 3B 上的 QTL 数目较多,分别为 10 个和 9 个,占 QTL 总数的 11.6% 和 10.5% (图 2)。冠层温度、叶绿素含量和植被覆盖指数的 QTL 数目分别为 30、34 和 40 个,不同性状的 QTL 染色体分

布有偏好性。冠层温度 QTL 分布于 15 条染色体上(除 1D、3D、5B、6B、6D 和 7D 外),其中 3A 染色体上的 QTL 数量最多,占该性状 QTL 总数的 20.0%;叶绿素含量 QTL 分布于 19 条染色体上(除 3D 和 5D 外),其中 3B 染色体 QTL 数量最多(7 个),占该性状 QTL 总数的 17.5%,植被覆盖指数 QTL 分布于 18 条染色体(除 1D、2B 和 3D 外),且较为均匀。

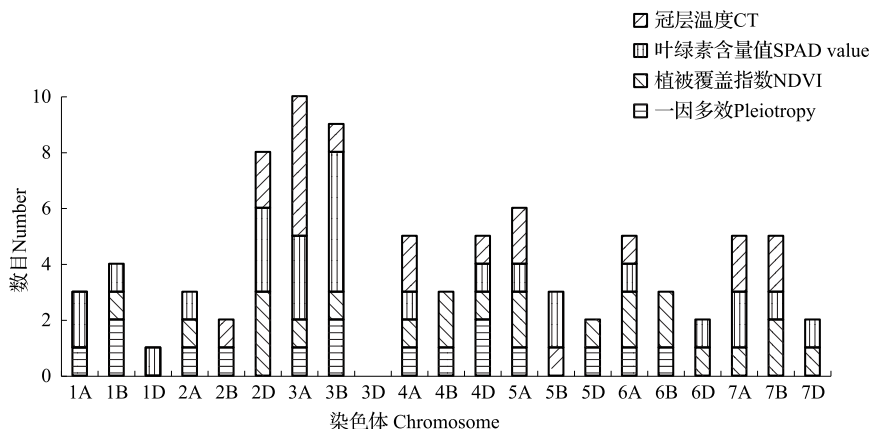
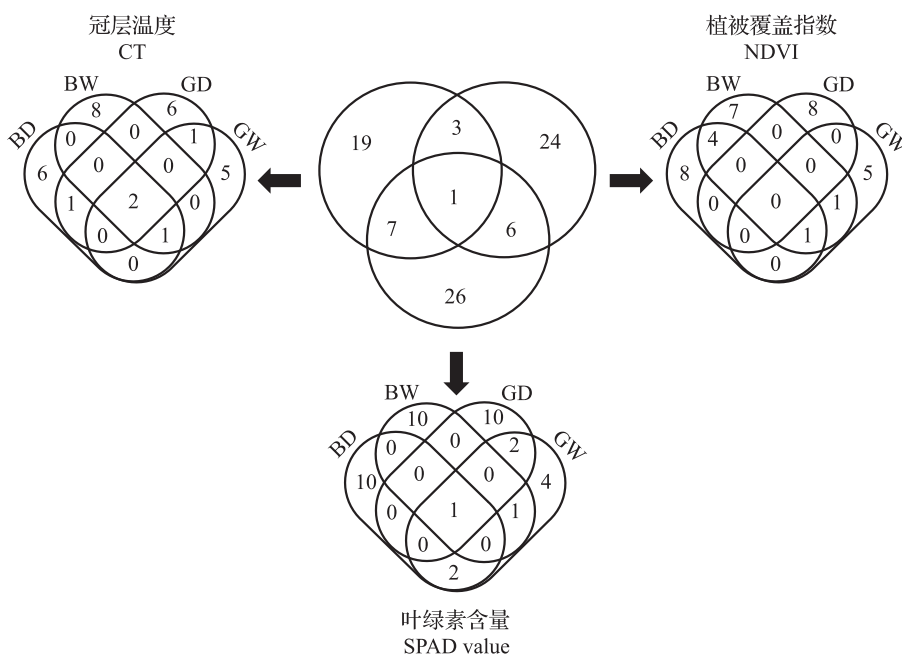


图 2 QTL 在染色体上的分布

Fig. 2 The distribution of QTL on chromosomes

比较不同生育时期及水分条件下各生理性状的连锁分析结果,发现了表现稳定的 QTL(图 3)。对于冠层温度,在孕穗期旱地、孕穗期水地、灌浆中期旱地和灌浆中期水地 4 种环境下分别检测到 10、11、10 和 9 个 QTL,有 4 个 QTL 在不同生育期表现稳定,4 个 QTL 在不同水分条件下表现稳定,其中 *QPT76* 和 *QPT84* 在 4 种环境下均能够被检测出来,稳定性最高。对于叶绿素含量,在 4 种环境下分别检测到 13、12、13 和 10 个 QTL,有 4 个 QTL 在不同生育期表现稳定,5 个 QTL 在不同水分条件下表现稳定,其中 *QPT52* 能够在 4 种环境下均检测到,稳定性最高。对

于植被覆盖指数,在 4 种环境下分别检测到 13、13、8 和 7 个 QTL,其中有 2 个 QTL 在不同生育期被检测到,5 个 QTL 在不同水分条件下被检测到,未发现在 4 种环境条件下均检测到的 QTL,其中稳定性最高的 QTL 为 *QPT64*,能够在孕穗期旱地、孕穗期水地及灌浆中期水地 3 种环境下被检测到。此外,对不同性状的连锁分析结果进行比较,发现 17 个 QTL 表现出一因多效性,其中 4 个 QTL 与冠层温度和植被覆盖指数相关,8 个 QTL 与冠层温度和叶绿素含量相关,7 个 QTL 与植被覆盖指数和叶绿素含量相关,尤其是 *QPT52* 与 3 种性状均相关。



BD:拔节期旱地;BW:拔节期水地;GD:灌浆中期旱地;GW:灌浆中期水地

BD, GD: Booting and mid-grain filling stage under drought stress, BW, GW: Booting and mid-grain fill stage under well-watered condition

图 3 连锁分析 QTL 检测结果韦恩图

Fig. 3 The Venn diagrams of QTL detected by linkage mapping

3 讨论

随着分子生物学的快速发展,分子标记已经经历了3次更新换代,第一代是分辨率较低的分子标记,例如限制性片段长度多态性标记(RFLP)、随机扩增多态性DNA标记(RAPD)、扩增片段长度多态性标记(AFLP);第二代以微卫星标记(SSR)为代表;第三代为单核苷酸多态性标记(SNP),该标记具有位点丰富、功能基因预测性强、遗传稳定性高及高通量等优点,已经被广泛应用^[19-20]。DNA芯片技术是检测SNP位点的主要方法,目前已开发使用的小麦DNA芯片主要包括Illumina公司开发的iSelect 9K和90K芯片,提高了小麦遗传图谱的标记密度^[21-22],利用两种芯片的SNP标记,已构建了多个小麦高密度遗传图谱,提高了小麦功能标记开发的效率^[23-25]。然而,研究发现这些图谱中D基因组的标记数目普遍较少,且标记密度仍有较大的提升空间。基于此,本研究使用了中国农业科学院作物科学与 Affymetrix 公司最新合作开发的小麦660K SNP芯片(http://wheat.pw.usda.gov/ggpages/topics/Wheat660_SNP_array_developed_by_CAAS.pdf),该芯片具有4方面的优点:(1)每个SNP标记都具有基因组特异性,从而将六倍体基因型信息简化为二倍体;(2)高密度、低成本,是目前为止密度最高的小麦SNP芯片,降低了应用成本;(3)高效性,芯片上所有的SNP标记都经过了严格的测试和确认,尤其是D基因组增加了大量的标记,一定程度上克服了D基因组标记稀少的难题;(4)广适性,90%的标记在多数小麦品种中具有多态性。利用该芯片对DH群体进行扫描,得到多态性SNP总数高达114545个,但由于检测的群体亲本都为现代品种,而且群体数量较小,不同染色体存在大量非交换区段,因此,本研究通过对相同遗传位置标记的整合,最终得到的骨干SNP标记数目为1630个,结合前期已经作图的224个SSR标记,最终利用1854个骨干标记构建了总长度4082.44 cM的遗传图谱。此外,本研究所用的SNP具有中国春参考基因组的物理位置信息,通过对该图谱中SNP标记的遗传位置及中国春参考基因组的物理位置进行相关性分析,结果表明两者具有高度的一致性;而且该图谱中所含有的SSR标记已经用于小麦大量生理或产量性状的遗传作图,因此,利用该图谱定位的结果能够和以往研究结果进行对比,结合物理位置信息,有望提高基因挖掘的效率。

生理调节是小麦抵御干旱的根本途径之一,因此,依据重要生理性状设计品种蓝图进行直接选择,比传统育种的经验选择更为高效,有利于推进小麦抗旱育种的进程^[2]。然而,由于生理性状检测需要在严格控制的环境条件下进行,可操作性限制较大,因此,在小麦抗旱性改良中的应用进展十分缓慢。分子标记能够从基因层面确定抗旱相关生理性状,通过便捷的鉴定技术从复杂的水分环境中筛选理想株系,有望提高生理指标在小麦抗旱育种中的应用水平,拉近理论与实践的距离,因此,挖掘抗旱相关生理性状的分子标记是目前小麦抗旱性研究的重要内容之一^[26-27]。本研究通过连锁分析共检测到86个抗旱相关生理性状QTL,其中17个QTL表现出一因多效性,而其中最为突出的是QPT52,因其与3种生理性状均相关而且在4种环境下表现稳定。此外,通过不同遗传图谱共有的SSR标记与前人定位结果进行对比,发现本研究所检测到的部分位点在前人研究中已有报道。例如,本研究中与冠层温度相关的位点QPT19、QPT58及QPT84,在前人研究与气孔导度、气孔密度、叶绿素含量、茎壁面积及芒的脱落相关^[28-32],普遍认为较大的茎壁面积有利于水分运输,芒的有无以及气孔开度则与蒸腾作用密切相关,这些因素可能共同作用于小麦植株的水分循环,进而影响到小麦冠层温度及持绿性,因此这些位点所含有的基因可能与茎壁、芒及气孔直接相关,而与冠层温度和叶绿素含量间接相关。此外,本研究中与植被覆盖指数相关的位点QPT1和QPT39,曾被报道与旗叶长度及宽度相关,叶片的形态是决定覆盖指数的关键因素^[33],因此这些位点可能蕴含着调控叶片形态的关键基因;另外,本研究中与叶绿素含量相关的标记QPT20和QPT70同样被报道与叶绿素含量或荧光参数相关^[29,34]。以上信息不仅有助于预测候选基因的功能,为基因克隆和分子机理研究提供理论指引,也进一步验证了利用SNP芯片检测到的标记位点在不同遗传背景群体中的稳定性,肯定了其在生理育种中的应用潜力。综上所述,本研究通过连锁分析发现了大量抗旱生理相关遗传位点,其中不乏兼具一因多效性及稳定性的重要位点,且大部分尚未报道。因此,本研究为今后小麦抗旱基因挖掘及遗传育种提供了丰富的基础信息和数据支持,具有指导意义。

参考文献

- [1] Piao S, Ciais P, Huang Y, et al. The impacts of climate change on water resources and agriculture in China [J]. Nature, 2010, 467:

- 43-51
- [2] Reynolds M P, Trethowan R T, Ginkel M V, et al. Application of physiology in wheat breeding [M]. Mexico City: CIMMYT, 2001, 3-6
- [3] Pinto R S, Reynolds M P. Common genetic basis for canopy temperature depression under heat and drought stress associated with optimized root distribution in bread wheat [J]. *Theor Appl Genet*, 2015, 128, 575-585
- [4] Huntingford C, Atkin O K, Martinez-de la Torre A, et al. Implications of improved representations of plant respiration in a changing climate [J]. *Nat Commun*, 2017, 8, 1602
- [5] Pauli D, White J W, Andrade-Sanchez P, et al. Investigation of the influence of leaf thickness on canopy reflectance and physiological traits in upland and pima cotton populations [J]. *Front Plant Sci*, 2017, 8, 1405
- [6] Wasson A P, Richards R A, Chatrath R, et al. Traits and selection strategies to improve root systems and water uptake in water-limited wheat crops [J]. *J Exp Bot*, 2012, 63, 3485-3498
- [7] Van Ginkel M, Reynolds M, Trethowan R, et al. Complementing the breeders eye with canopy temperature measurements. International symposium on wheat yield potential; challenges to international wheat breeding [M]. Mexico City: CIMMYT, 2006, 23-25
- [8] Biswal A K, Kohli A. Cereal flag leaf adaptations for grain yield under drought; knowledge status and gaps [J]. *Mol Breeding*, 2013, 31, 749-766
- [9] Farooq M, Hussain M, Siddique K H M. Drought stress in wheat during flowering and grain-filling periods [J]. *Crit Rev Plant Sci*, 2014, 33, 331-349
- [10] Pask A, Pietragalla J, Mullan D, et al. Physiological breeding II: a field guide to wheat phenotyping [M]. Mexico City: CIMMYT, 2011, 10-41
- [11] Dixit S, Yadaw R B, Mishra K K, et al. Marker-assisted breeding to develop the drought-tolerant version of Sabitri, a popular variety from Nepal [J]. *Euphytica*, 2017, 213, 184
- [12] Bankole F, Menkir A, Olayo G, et al. Genetic gains in yield and yield related traits under drought stress and favorable environments in a maize population improved using marker assisted recurrent selection [J]. *Front Plant Sci*, 2017, 8, 808
- [13] 陈建省, 陈广凤, 李青芳, 等. 利用基因芯片技术进行小麦遗传图谱构建及粒重 QTL 分析 [J]. *中国农业科学*, 2014, 47 (24): 4769-4779
- [14] 景蕊莲, 昌小平, 贾继增, 等. 用花药培养创建小麦加倍单倍体作图群体 [J]. *生物技术*, 1999, 9(3): 6-10
- [15] Hao Z, Chang X, Guo X, et al. QTL mapping for drought tolerance at stages of germination and seedling in wheat (*Triticum aestivum* L.) using a DH population [J]. *Agr Sci China*, 2003, 2, 943-949
- [16] Zhou S H, Zhang J P, Che Y H, et al. Construction of *Agropyron* Gaertn. genetic linkage maps using a wheat 660K SNP array reveals a homoeologous relationship with the wheat genome [J]. *Plant Biotechnol J*, DOI:10. 1111/pbi. 12831
- [17] Pask A, Pietragalla J, Mullan D, 等. 生理育种 II: 小麦田间表型鉴定指南 [M]. 景蕊莲, 曹新有, 任勇, 等译. 北京: 科学出版社, 2017, 11-17
- [18] Liu X, Li R, Chang X, et al. Mapping QTLs for seedling root traits in a doubled haploid wheat population under different water regimes [J]. *Euphytica*, 2013, 189, 51-66
- [19] 马静, 安永平, 王兴盛, 等. 宁夏水稻品种微卫星标记数据库的建立 [J]. *植物遗传资源学报*, 2016, 17(2): 226-232
- [20] 田再民, 张立平, 王丽辉, 等. 小麦“BS20 × Fu3”DH 群体 SSR 遗传图谱的构建及不育基因的 QTL 定位 [J]. *植物遗传资源学报*, 2015, 16(4): 857-867
- [21] Wang S, Wong D, Forrest K, et al. Characterization of polyploid wheat genomic diversity using a high-density 90 000 single nucleotide polymorphism array [J]. *Plant Biotechnol J*, 2014, 12: 787-796
- [22] Cavanagh C R, Chao S, Wang S, et al. Genome-wide comparative diversity uncovers multiple targets of selection for improvement in hexaploid wheat landraces and cultivars [J]. *P NATL Acad Sci*, 2013, 110, 8057-8062
- [23] Liu N, Bai G, Lin M, et al. Genome-wide Association Analysis of Powdery Mildew Resistance in US Winter Wheat [J]. *Sci Rep*, 2017, 7, 11743
- [24] Naruoka Y, Garland-Campbell K A, Carter A H. Genome-wide association mapping for stripe rust (*Puccinia striiformis* F. sp. *tritici*) in US Pacific Northwest winter wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Theor Appl Genet*, 2015, 128, 1083-1101
- [25] Sun C, Zhang F, Yan X, et al. Genome-wide association study for 13 agronomic traits reveals distribution of superior alleles in bread wheat from the Yellow and Huai Valley of China [J]. *Plant Biotechnol J*, 2017, 15, 953-969
- [26] Kumar A, Dixit S, Ram T, et al. Breeding high-yielding drought-tolerant rice; genetic variations and conventional and molecular approaches [J]. *J Exp Bot*, 2014, 65, 6265-6278
- [27] Xu Y, Li Z K, Thomson M J. Molecular breeding in plants: moving into the mainstream [J]. *Mol Breeding*, 2012, 29, 831-832
- [28] Wang S G, Jia S S, Sun D Z, et al. Genetic basis of traits related to stomatal conductance in wheat cultivars in response to drought stress [J]. *Photosynthetica*, 2015, 53, 299-305
- [29] Yang D, Li M, Liu Y, et al. Identification of quantitative trait loci and water environmental interactions for developmental behaviors of leaf greenness in wheat [J]. *Front Plant Sci*, 2016, 7, 273
- [30] Wang S G, Jia S S, Sun D Z, et al. Mapping QTLs for stomatal density and size under drought stress in wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *J Integr Agr*, 2016, 15, 1955-1967
- [31] Wu Q, Chen Y, Fu L, et al. QTL mapping of flag leaf traits in common wheat using an integrated high-density SSR and SNP genetic linkage map [J]. *Euphytica*, 2016, 208, 337-351
- [32] 桑云, 赵亮, 张坤普, 等. 小麦 DH 群体穗下节间直径、茎壁厚及茎壁面积的 QTL 定位 [J]. *作物学报*, 2010, 36(1): 61-67
- [33] Yang D, Liu Y, Cheng H, et al. Genetic dissection of flag leaf morphology in wheat (*Triticum aestivum* L.) under diverse water regimes [J]. *BMC Genet*, 2016, 17, 94
- [34] Czychylo-Mysza I, Tyrka M, Marcinska I, et al. Quantitative trait loci for leaf chlorophyll fluorescence parameters, chlorophyll and carotenoid contents in relation to biomass and yield in bread wheat and their chromosome deletion bin assignments [J]. *Mol Breeding*, 2013, 32, 189-210