

小麦穗部性状近等基因系的创制 及穗粒数候选基因分析

陈旺^{1,2}, 王殿¹, 宋波¹, 刘易科², 朱展望², 卫波³, 宁强²

(¹青岛农业大学农学院, 山东青岛 266109; ²湖北省农业科学院粮食作物研究所/农业农村部作物分子育种重点实验室/

粮食作物种质创新与遗传改良湖北省重点实验室, 武汉 430064; ³北京大学现代农业研究院/

小麦育种全国重点实验室/潍坊现代农业山东省实验室, 山东潍坊 261325)

摘要: 为创制具有育种利用价值的遗传材料, 定位影响小麦穗粒数的候选区间, 以八倍体小偃麦与普通小麦品种衡观35和科农199杂交构建的近等基因系作为研究材料, 对株高、有效分蘖数、穗长、小穗数、每穗粒数、单株产量、千粒重7个性状进行表型鉴定。利用660K SNP芯片对表型差异显著的近等基因系进行全基因组扫描, 分析两对近等基因系间的多态性SNPs位点及一致性的物理区间。结合候选区间的基因功能注释和基因表达分析, 预测影响小麦穗粒数的重要候选基因。结果表明, N81和N82、N86和N87是两对在小麦穗部性状具有显著差异的近等基因系, 其遗传相似度分别为98.02%和98.78%。通过660K SNP芯片分析, 确定两对近等基因系分别在1B染色体上662~669 Mb、3B染色体上19~25 Mb和5B染色体上541~548 Mb的物理区间存在明显的遗传多态性, 表明这些物理区间可能是影响小麦穗部相关性状的候选区间。通过整合前人研究的QTL定位区间、基因功能注释、基因表达分析和同源基因功能分析, 筛选出3个可能影响小麦穗粒数的重要候选基因, 分别是1B染色体上编码苹果酸脱氢酶的 *TraesCS1B02G443200*, 3B染色体上编码AP2/ERF转录因子的 *TraesCS3B02G042400*, 5B染色体上编码C2H2类型锌指蛋白 *TraesCS5B02G366500*。本研究结果为挖掘小麦穗粒数基因提供理论参考。

关键词: 小麦; 660K SNP芯片; 近等基因系; 穗部相关性状; 候选基因

Creation of Near-Isogenic Lines and Analysis of Candidate Genes for Grain Number Per Spike in Wheat

CHEN Wang^{1,2}, WANG Dian¹, SONG Bo¹, LIU Yike², ZHU Zhanwang², WEI Bo³, NING Qiang²

(¹College of Agronomy, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, Shandong; ²Institute of Food Crops, Hubei Academy of

Agricultural Sciences/Key Laboratory of Crop Molecular Breeding, Ministry of Agriculture and Rural Affairs/Hubei Key

Laboratory of Food Crop Germplasm and Genetic Improvement, Wuhan 430064; ³Peking University Institute of

Advanced Agricultural Sciences/National Key Laboratory of Wheat Improvement/Shandong Laboratory of

Advanced Agricultural Sciences in Weifang, Weifang 261325, Shandong)

Abstract: To develop novel genetic materials with breeding potential and identify genetic intervals regulating grain number per spike in wheat, we conducted a comprehensive study using near-isogenic lines (NILs) through crossing the octoploid *Thinopyrum ponticum* derived wheat cultivars Hengguan 35 and Kenong 199. Seven yield-related traits, including plant height, effective tiller number, spike length, spikelet number per spike, grain number per spike, grain yield per plant and thousand grain weight, were systematically evaluated. Genome-wide scanning was performed using the 660K SNP array to identify polymorphic loci and conserved

收稿日期: 2024-08-22 网络出版日期: 2025-01-24

URL: <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20240822001>

第一作者研究方向为小麦遗传育种, E-mail: cwangcw@163.com

通信作者: 宁强, 研究方向为小麦产量性状遗传改良, E-mail: ningqiang_404@163.com

卫波, 研究方向为小麦产量性状遗传改良, E-mail: bo.wei@pku-iaas.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金(32072061, 32272173, 31571750)

Foundation project: National Natural Science Foundation of China(32072061, 32272173, 31571750)

physical intervals between two pairs of NILs. Candidate genes were predicted through integrated analysis of gene annotation and expression profiles within the candidate regions. The results indicated that NIL pairs N81/N82 and N86/N87 exhibited significant differences in spike-related traits while maintaining genetic similarities of 98.02% and 98.78%, respectively. SNP polymorphism analysis identified three conserved genomic regions associated with spike architecture, 662-669 Mb on chromosome 1B, 19-25 Mb on chromosome 3B, and 541-548 Mb on chromosome 5B. Through integration of QTL mapping data, gene functional annotation, expression analysis, and orthologous gene comparison, we identified three putative candidate genes regulating grain number per spike: *TraesCS1B02G443200*, encoding malate dehydrogenase on chromosome 1B, *TraesCS3B02G042400*, encoding an AP2/ERF transcription factor on chromosome 3B, and *TraesCS5B02G366500*, encoding a C2H2-type zinc finger protein on chromosome 5B. These findings provide a theoretical reference for identifying genes regulating grain number per spike in wheat.

Key words: wheat; 660K SNP array; near-isogenic lines; spike related traits; candidate genes

小麦(*Triticum aestivum* L.)是世界上重要的粮食作物之一,维持其稳产、增产对确保粮食生产安全至关重要^[1-2]。小麦籽粒产量主要取决于单位面积穗数、穗粒数和千粒重,是小麦产量构成的三要素^[3],挖掘影响小麦穗发育和穗粒数等性状的关键基因,对小麦穗型的分子设计与精准改良、突破产量瓶颈具有重要意义。迄今为止,通过全基因组关联分析(GWAS, genome-wide association study)、基于双亲遗传群体连锁分析,鉴定到一些与产量相关的 QTL/基因^[4-8]。目前,已经克隆了 *FT1/2*^[9-10]、*TaCOL-B5*^[11]、*TaMOC1*^[12]、*GNI1*^[13]、*AP2L5*^[14]、*DUO-B1*^[15]、*TaDEP1*^[16]、*TaCKX1/2*^[17]、*TaSus1-A1*^[18]等产量相关基因。*FT1*和*FT2*的功能缺失延长了小穗形成和发育的时间,进而增加每穗小穗数^[9-10]。过表达*TaCOL-B5*基因显著增加穗长和小穗数,提高小麦籽粒产量^[11]。*TaMOC1*等位基因变异与小穗数显著相关^[12]。通过RNAi技术沉默*GNI-A1*基因的表达可提高小麦的小花育性,增加穗粒数^[13]。*AP2L5*功能突变导致小穗数显著减少^[14]。*DUO1*编码AP2/ERF转录因子,基因敲除*DUO-B1*显著增加小花育性、小穗数和单位面积产量^[15]。*TaDEP1*的下调表达能够增加小麦的穗长、减少小穗数^[16]。沉默*TaCKX1*显著增加每穗粒数和千粒重,而沉默*TaCKX2*导致每穗粒数略微减少^[17]。蔗糖合酶基因*TaSus1-A1*的突变体使得穗长、小穗数和穗粒数显著降低^[18]。

小麦产量相关性状是由多基因控制的复杂性状,目前已克隆的基因资源较少,因此,创制产量相关性状差异显著的近等基因系,挖掘和利用更多与产量性状相关的优异基因,对小麦高产育种至关重要。本研究利用八倍体小偃麦与普通小麦作为亲本杂交构建的高世代家系,筛选出两对穗部性

状显著差异的近等基因系,进一步利用660K SNP芯片基因型数据,分析和挖掘与小麦穗部性状密切相关的候选区段,为小麦产量的遗传改良提供重要的基因资源和优异种质。

1 材料与方法

1.1 试验材料

2份小偃麦材料均由中国科学院遗传与发育生物学研究所李振声院士课题组提供。以小偃麦材料小偃78829(NPFP/多年生2号)和小偃693(小偃2号/临7小麦/长穗偃麦草)为供体,分别与2个普通小麦品种衡观35和科农199杂交,连续自交8代(F_8)形成株系。对来自同一穗行的株系进行两年产量相关性状的表型鉴定,筛选出两对在穗部相关性状存在显著差异的近等基因系N81和N82、N86和N87。

1.2 试验设计

试验于2017-2018年、2018-2019年两个生长季在河北省石家庄市赵县实验基地进行。两对近等基因系均播种2行,行长2 m、行距25 cm,20株/行,株距10 cm,设置2次重复。试验田按常规农田管理方法对病虫害防治、田间杂草、水肥资源等进行管理。小麦成熟后,在不同近等基因系长势均匀一致区域连续取10株进行农艺性状考察。鉴定表型包括株高、有效分蘖数、穗长、小穗数、穗粒数、单株产量和千粒重。

1.3 基因型分析

在小麦苗期,取N81和N82、N86和N87两对近等基因系的幼嫩叶片置于EP管中,送样至北京康普森生物科技有限公司(<https://www.kangpusenny.com/breeding/121.html>),利用该公司开发的小麦

660K SNP 芯片对近等基因系进行全基因组扫描,最终获得 461658 个高质量 SNPs 位点,用于后续试验数据分析。

1.4 统计分析

采用人工读数统计的方法对株高、有效分蘖数、穗长、小穗数、穗粒数等产量相关性状进行统计,用 Excel 2010 对表型数据进行计算和显著性分析。通过 Shell 脚本对 660K SNP 芯片基因型数据进行分析,得到每对近等基因系间各条染色体上的多态性 SNPs,并在差异多态性 SNPs 密度相似区域进行相关基因分析。

1.5 候选基因的预测与分析

基于小麦中国春的基因组信息(IWGSC RefSeq v1.1),对近等基因系间多态性 SNPs 重叠区间进行基因分析。利用小麦穗发育关键时期[茎尖分生组织顶端过渡阶段(W1.5)、早期二棱期(W2)、二棱期(W2.5)、护颖原基期(W3)、颖片原基期(W3.25)、

小花原基期(W3.5)和晚期小穗期(W4)]的基因表达量 TPM (Transcripts per million) (<http://39.98.48.156:8800/#/>)^[19],筛选可能影响小麦穗部相关性状的候选基因。

利用小麦WheatOmics网站(<http://202.194.139.32>)对基因进行功能注释。

2 结果与分析

2.1 近等基因系的遗传背景分析

利用 660K SNP 基因芯片对穗部性状显著差异的两对近等基因系 N81 和 N82、N86 和 N87 进行全基因组扫描,筛选获得的 461658 个高质量 SNPs 位点中,N81 和 N82 之间的多态性 SNPs 共 9128 个(占比为 1.98%),N86 和 N87 之间的多态性 SNPs 共 5638 个(占比为 1.22%)。由表 1 可知,N81 和 N82 的遗传相似度为 98.02%,N86 和 N87 的遗传相似度为 98.78%。

表 1 N81 和 N82、N86 和 N87 遗传背景检测结果

Table 1 Genetic background analysis for N81 and N82, N86 and N87

近等基因系	有效检测位点	杂合点	纯合度(%)	差异位点数	遗传背景相似度(%)
Near-isogenic lines	Effective detection site	Heterozygous site	Homozygosity	Difference site	Genetic similarity
N81	461658	22881	95.04	9128	98.02
N82	461658	26656	94.23		
N86	461658	25293	94.52	5638	98.78
N87	461658	26822	94.19		

2.2 近等基因系产量相关性状的表型分析

2017-2018 年和 2018-2019 年对两对近等基因系(N81 和 N82、N86 和 N87)进行产量相关性状表型考察,结果显示,在 2017-2018 年度与 2018-2019 年度,N81 的株高、有效分蘖数和单株产量均显著高于 N82;在 2018-2019 年度,N81 的穗长和每穗粒数均显著高于 N82(表 2 和图 1, $P<0.01$)。综合两年均值分析,与 N82 比较,N81 株高平均增加 7.76%,有效分蘖数平均增加 21.04%,穗长平均增加 8.50%,每穗粒数平均增加 11.24%,单株产量平均增加 42.95%(图 1)。

在 2017-2018 年度与 2018-2019 年度,N86 的株高、穗长、每穗粒数和单株产量均显著高于 N87;在 2018-2019 年度,N86 的小穗数显著高于 N87(表 2 和图 2, $P<0.01$)。综合两年均值分析,与 N87 比较,N86 株高平均增加 5.73%,穗长平均增加 9.16%,小穗数平均增加 3.53%,每穗粒数平均增加 20.62%,单株产量平均增加 31.15%(图 2)。以上结果表明,两对近等基因系在株高、穗长、每穗粒数和单株产量上均有

显著差异,N81 显著优于 N82,N86 显著优于 N87。

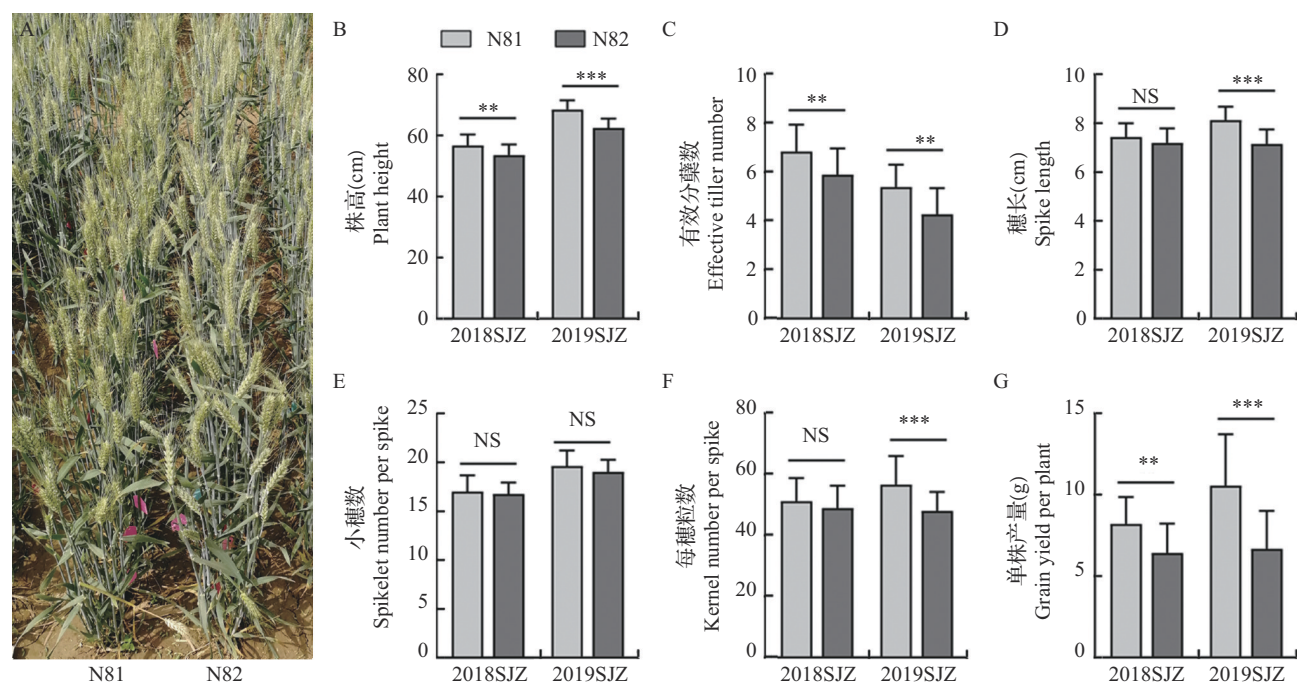
2.3 近等基因系间多态性 SNPs 在染色体上的分布

基于小麦 660K SNP 芯片对两对近等基因系 N81 和 N82、N86 和 N87 进行基因型分析,得到近等基因系间每条染色体上多态性 SNPs 的分布。在 N81 和 N82 中,多态性 SNPs 在 5B 染色体上分布数量最多,共有 2917 个,占已知多态性 SNPs 总数的 34.44%;其次是在 3B 染色体上,共有 1248 个,占已知多态性 SNPs 总数的 14.73%;1B 染色体上共有 777 个,占已知多态性 SNPs 总数的 9.18%(图 3A)。近等基因系 N86 和 N87 的多态性 SNPs 在 1B 染色体上分布数量最多,共有 1273 个,占已知多态性 SNPs 总数的 23.75%;其次是在 3B 染色体上,共有 1200 个,占已知多态性 SNPs 总数的 22.39%;5B 染色体上共有 1198 个,占已知多态性 SNPs 总数的 22.35%(图 4A)。以上结果表明,两对近等基因系均在 1B、3B、5B 染色体上的多态性 SNPs 分布数量较多,推测近等基因系间表型差异的遗传位点可能位于 1B、3B、5B 染色体上。

表2 近等基因系产量相关性状的统计分析
Table 2 Statistical analysis of yield-related traits in near-isogenic lines

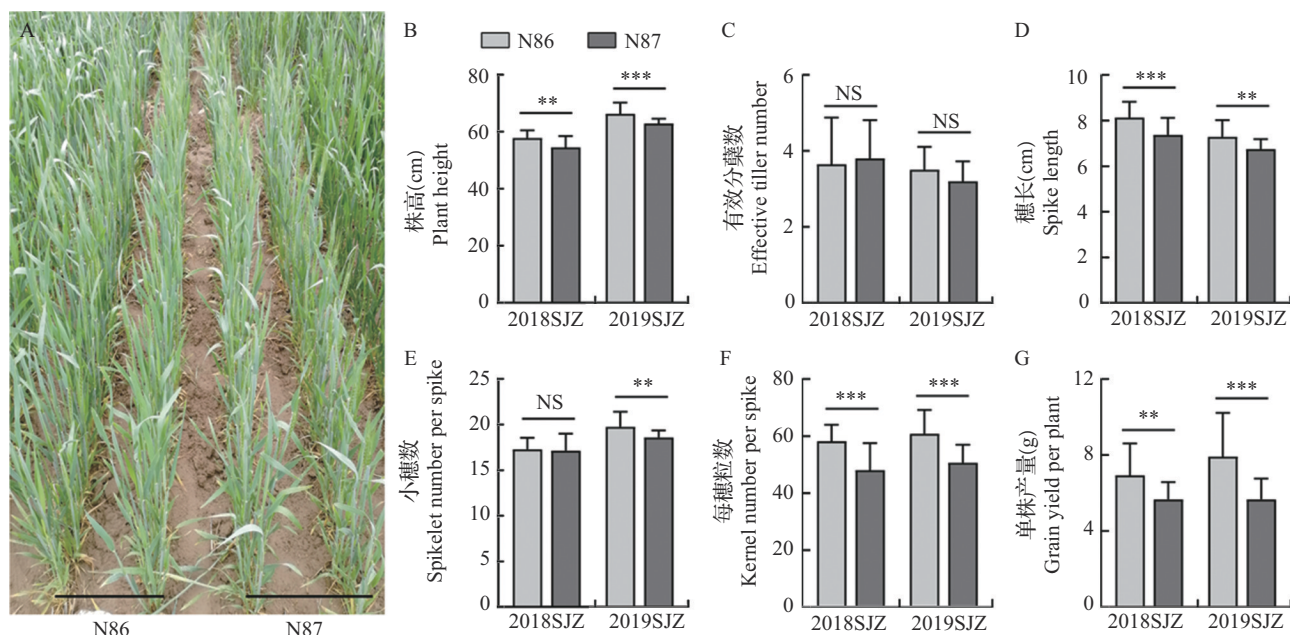
性状 Traits	环境 Environment	近等基因系 NILs		P 值 P-value	近等基因系 NILs		P 值 P-value
		N81	N82		N86	N87	
株高 (cm) Plant height	2018SJZ	56.77 ± 3.57	53.61 ± 3.46	5.47 × 10 ⁻³	57.80 ± 2.74	54.52 ± 3.93	2.04 × 10 ⁻³
	2019SJZ	68.53 ± 3.08	62.50 ± 3.13	2.60 × 10 ⁻⁷	66.33 ± 3.92	62.89 ± 1.73	4.72 × 10 ⁻⁴
有效分蘖数 Effective tiller number	2018SJZ	6.85 ± 1.09	5.90 ± 1.07	4.20 × 10 ⁻³	3.65 ± 1.23	3.80 ± 1.01	0.34
	2019SJZ	5.39 ± 0.92	4.28 ± 1.07	1.03 × 10 ⁻³	3.50 ± 0.61	3.20 ± 0.52	0.05
穗长 (cm) Spike length	2018SJZ	7.44 ± 0.57	7.20 ± 0.59	0.10	8.13 ± 0.69	7.36 ± 0.75	9.50 × 10 ⁻⁴
	2019SJZ	8.14 ± 0.54	7.15 ± 0.60	2.28 × 10 ⁻⁶	7.28 ± 0.73	6.75 ± 0.43	3.80 × 10 ⁻³
小穗数 Spikelet number per spike	2018SJZ	17.00 ± 1.65	16.75 ± 1.16	0.29	17.30 ± 1.26	17.15 ± 1.87	0.38
	2019SJZ	19.60 ± 1.60	19.00 ± 1.25	0.10	19.75 ± 1.68	18.60 ± 0.75	4.10 × 10 ⁻³
每穗粒数 Kernel number per spike	2018SJZ	51.20 ± 7.66	48.95 ± 7.39	0.18	58.30 ± 5.66	48.11 ± 9.41	1.01 × 10 ⁻⁴
	2019SJZ	56.65 ± 9.44	48.05 ± 6.27	9.89 × 10 ⁻⁴	60.80 ± 8.40	50.65 ± 6.34	5.51 × 10 ⁻⁵
单株产量 (g) Grain yield per plant	2018SJZ	8.21 ± 1.66	6.43 ± 1.81	1.57 × 10 ⁻³	6.93 ± 1.69	5.67 ± 0.92	5.32 × 10 ⁻³
	2019SJZ	10.57 ± 3.14	6.68 ± 2.43	4.93 × 10 ⁻⁵	7.92 ± 2.31	5.66 ± 1.10	2.17 × 10 ⁻⁴
千粒重 (g) Thousand grain weight	2018SJZ	42.91 ± 0.49	40.80 ± 0.49	0.09	43.75 ± 2.14	43.51 ± 4.00	0.41
	2019SJZ	/	/	/	/	/	/

/: 无数据; SJZ: 石家庄; 下同
/: No data; 2018: 2017-2018; 2019: 2018-2019; SJZ: Shijiazhuang; The same as below



A: 近等基因系 N81 和 N82 的植株; **: 在 $P < 0.01$ 水平差异显著; ***: $P < 0.001$ 水平差异显著; NS: 差异不显著; 下同
A: NILs N81 and N82 plants; **: Significant correlation at the $P < 0.01$ level; ***: Significant correlation at the $P < 0.001$ level;
NS: Not significance; The same as below

图1 近等基因系 N81 和 N82 产量相关性状的比较分析
Fig. 1 Comparisons analysis of yield-related traits of NILs N81 and N82

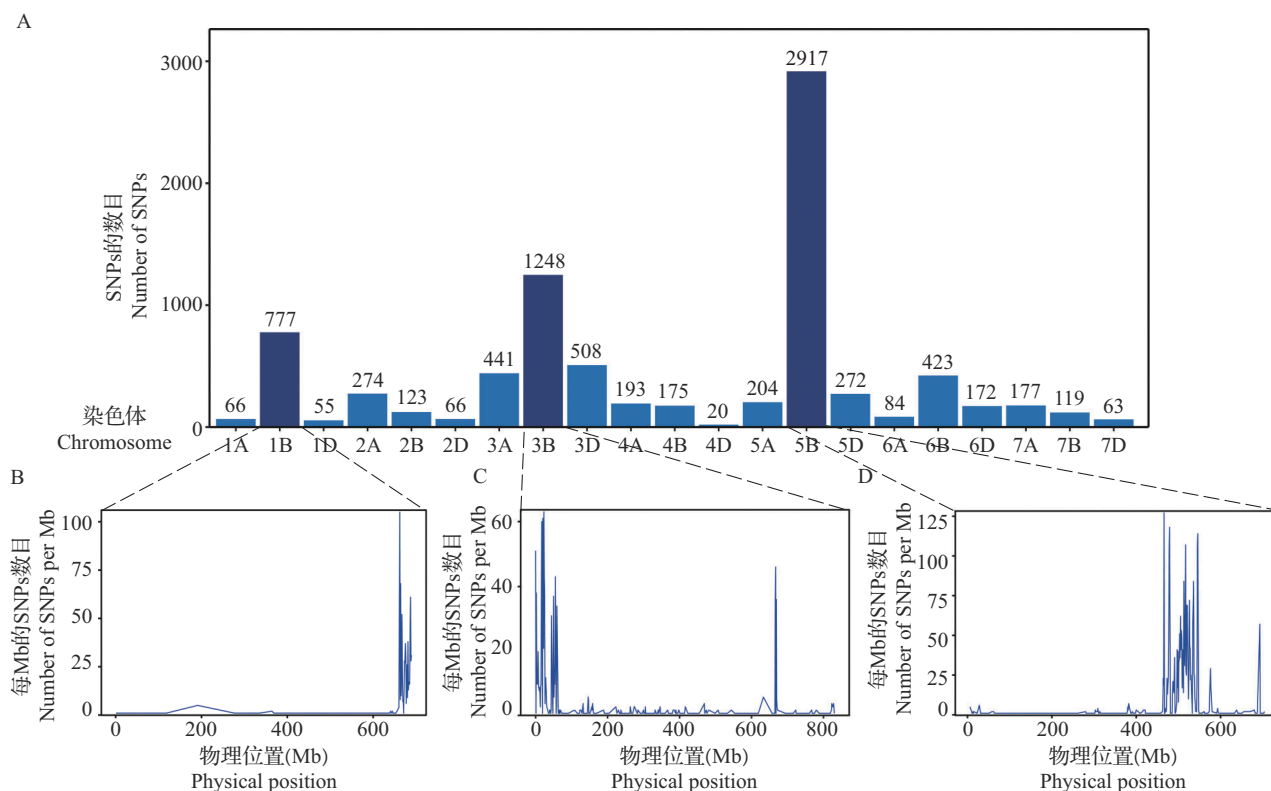


A: 近等基因系 N86 和 N87 的植株

A: NILs N86 and N87 plants

图2 近等基因系 N86 和 N87 产量相关性状的比较分析

Fig. 2 Comparisons analysis of yield-related traits of NILs N86 and N87



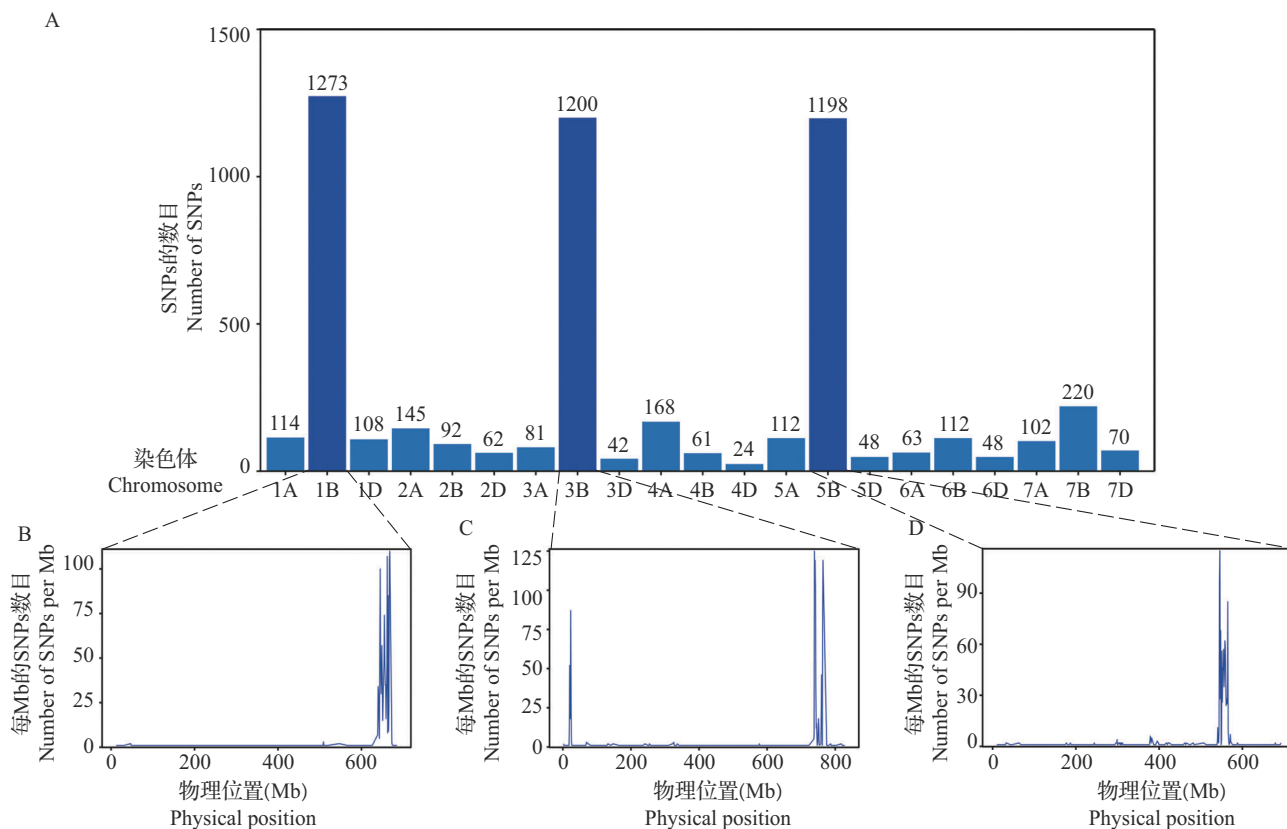
A: 近等基因系 N81 与 N82 多态性 SNPs 在每条染色体上的分布数量; B: 多态性 SNPs 在 1B 染色体上的位置密度分布; C: 多态性 SNPs 在 3B 染色体上的位置密度分布; D: 多态性 SNPs 在 5B 染色体上的位置密度分布

A: The number of polymorphic SNPs distribution of N81 and N82 on each chromosome; B: The distribution of polymorphic SNPs based on their physical locations on chromosome 1B; C: The distribution of polymorphic SNPs based on their physical locations on chromosome 3B;

D: The distribution of polymorphic SNPs based on their physical locations on chromosome 5B

图3 近等基因系 N81 和 N82 多态性 SNPs 在 1B、3B 和 5B 染色体上的分布

Fig. 3 Polymorphic SNPs distribution of N81 and N82 on chromosome 1B, 3B and 5B



A: 近等基因系 N86 与 N87 多态性 SNPs 在每条染色体上的分布数量; B: 多态性 SNPs 在 1B 染色体上的位置密度分布; C: 多态性 SNPs 在 3B 染色体上的位置密度分布; D: 多态性 SNPs 在 5B 染色体上的位置密度分布

A: The number of polymorphic SNPs distribution of N86 and N87 on each chromosome; B: The distribution of polymorphic SNPs based on their physical locations on chromosome 1B; C: The distribution of polymorphic SNPs based on their physical locations on chromosome 3B;

D: The distribution of polymorphic SNPs based on their physical locations on chromosome 5B

图 4 近等基因系 N86 和 N87 的多态性 SNPs 在 1B、3B 和 5B 染色体上的分布

Fig. 4 Polymorphic SNPs distribution of N86 and N87 on chromosome 1B, 3B and 5B

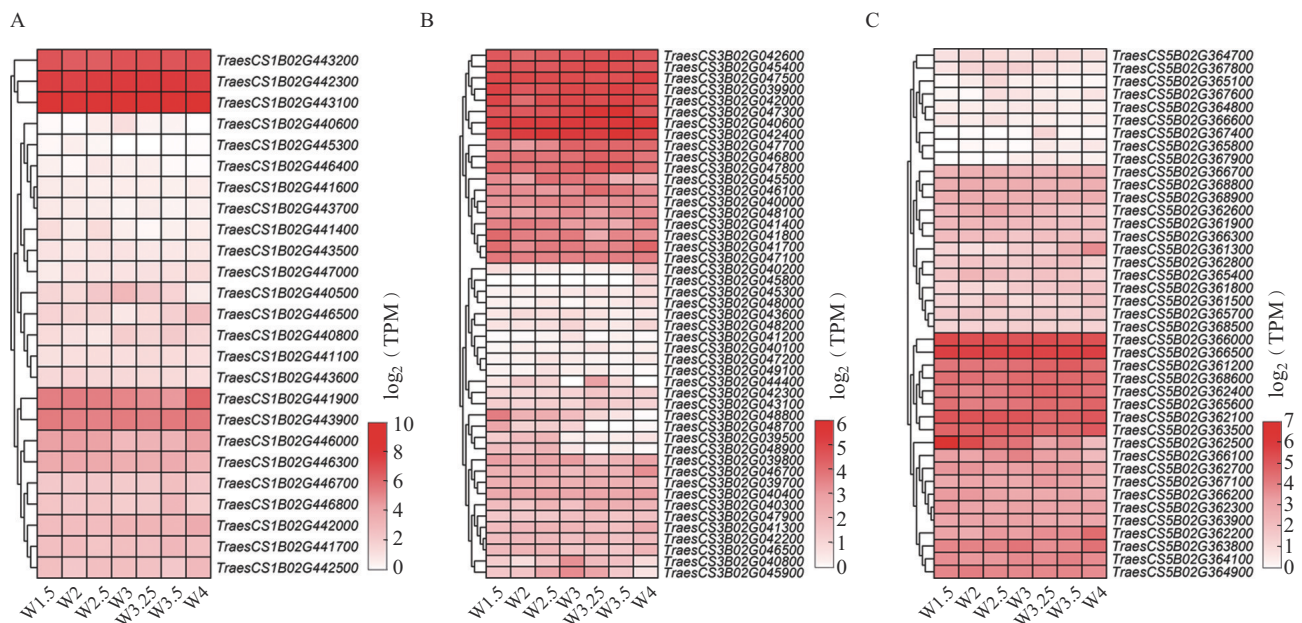
对 N81 和 N82、N86 和 N87 在 1B、3B、5B 染色体上多态性 SNPs 的物理位置进行分析,结果显示,两对近等基因系在相同染色体上多态性 SNPs 分布的物理位置相似。N81 和 N82 在 1B 染色体上 662~690 Mb 区间多态性 SNPs 的密度最高;N86 和 N87 在 1B 染色体上 640~669 Mb 区间多态性 SNPs 的密度最高;662~669 Mb 为两对近等基因系多态性 SNPs 在 1B 染色体上的重叠物理区间(图 3B、图 4B)。N81 和 N82 在 3B 染色体上 0~29 Mb、666~670 Mb 区间多态性 SNPs 的密度最高;N86 和 N87 在 3B 染色体上 19~25 Mb、738~765 Mb 区间多态性 SNPs 的密度最高;19~25 Mb 为两对近等基因系多态性 SNPs 在 3B 染色体上的重叠物理区间(图 3C、图 4C)。N81 和 N82 在 5B 染色体上 464~548 Mb 区间多态性 SNPs 的密度最高;N86 和 N87 在 5B 染色体上 541~566 Mb 区间多态性 SNPs 的密度最高;541~548 Mb 为两对近等基因系多态性 SNPs 在 5B 染色体上的重叠物理区间(图 3D、图 4D)。以上结果表明,两对近

等基因系在 1B、3B、5B 染色体上多态性 SNPs 的重叠区间可能是影响表型差异的候选区间。

2.4 候选基因的预测与分析

通过对候选区间内注释的功能基因进行表达分析,筛选出在 1B、3B 和 5B 染色体上分别有 25 个、47 个和 41 个高置信度基因有表达(TPM>0.5)。根据基因表达模式进行聚类分析(图 5),其中,1B 染色体上可以分为 3 类,第一类包含 3 个基因,在穗发育中表达量最高(TPM>100);第二类包含 9 个基因,在穗发育中表达量较高(TPM>5);第三类包含 13 个基因,在穗发育中表达量较低(TPM<5)。3B 染色体上可以分为 2 类,第一类包含 19 个基因,在穗发育中表达量较高(TPM>10);第二类包含 28 个基因,在穗发育中表达量较低(TPM<10)。5B 染色体上可以分为 2 类,第一类包含 19 个基因,在穗发育中表达量较高(TPM>7);第二类包含 22 个基因,在穗发育中表达量较低(TPM<7)。利用小麦 WheatOmics 网站对表达量较高的 50 个基因进行功能注释,其编码多种不

同的蛋白(表3)。如1B染色体上*TraesCS1B02G443200*编码苹果酸脱氢酶蛋白,其玉米中同源基因*EAD1*在调控花序发育和穗粒数形成中起关键作用^[20]。*TraesCS1B02G443100*编码GTP结合的核蛋白,其拟南芥中的同源基因*AtRAN3*调控细胞分裂和种子大小^[21-22]。3B染色体上*TraesCS3B02G042400*编码AP2/ERF转录因子,其拟南芥中的同源基因*AtRAP2.2*调控植物发育和胁迫响应^[23-24]。*TraesCS3B02G040600*编码植物特有的一类DNA结合储藏蛋白相关的转录调控因子,在拟南芥中该类蛋白在调控细胞分裂素应答中发挥重要作用^[25]。*TraesCS3B02G047300*编码己糖转运蛋白,在水稻中敲除糖转运蛋白*OsSTP15*能够增加水稻分蘖数,进而提高产量^[26]。5B染色体上*TraesCS5B02G366500*编码C2H2类型的锌指蛋白,其拟南芥中的同源基因*AtSUF4*调控根系发育和植物开花,影响拟南芥产量^[27-28]。*TraesCS5B02G363500*编码核糖体BOP1蛋白同源物,其拟南芥中的同源基因*AtBOP1*调控细胞分裂和增殖,参与细胞分裂素途径^[29]。*TraesCS5B02G368600*编码S-酰基转移酶,其拟南芥中的同源蛋白*AtPAT19*参与植物激素油菜素内酯信号通路^[30],而油菜素内酯是调节植物生长发育的重要激素信号。



A: 1B染色体上基因的表达; B: 3B染色体上基因的表达; C: 5B染色体上基因的表达。W1.5: 过渡顶端; W2: 早期二棱期; W2.5: 二棱期; W3: 颖原基期; W3.25: 外稃原基期; W3.5: 小花原基期; W4: 晚期小穗期; 基因表达数据来源于文献[19]

A: Expression of genes on chromosome 1B; B: Expression of genes on chromosome 3B; C: Expression of genes on chromosome 5B. W1.5: Transition apex; W2: Early double ridge stage; W2.5: Double ridge stage; W3: Glume primordium stage; W3.25: Lemma primordium stage; W3.5: Floret primordium stage; W4: Late terminal spikelet stage; Gene expression data were derived from reference [19]

图5 1B、3B和5B染色体上候选区间内功能基因在小穗发育时期的表达分析

Fig. 5 Gene expression analysis in candidate intervals on chromosomes 1B, 3B and 5B during spikelet development

表3 基因功能注释

Table 3 Gene functional annotation

基因编号 Gene ID	染色体 Chromosome	功能注释 Functional annotation	基因编号 Gene ID	染色体 Chromosome	功能注释 Functional annotation
<i>TraesCS1B02G443100</i>	1B	GTP结合的核蛋白	<i>TraesCS1B02G446300</i>	1B	固醇还原酶
<i>TraesCS1B02G443200</i>	1B	苹果酸脱氢酶	<i>TraesCS1B02G446700</i>	1B	β -半乳糖苷酶
<i>TraesCS1B02G442300</i>	1B	酮醇酸还原异构酶	<i>TraesCS1B02G446800</i>	1B	转录伸长因子1
<i>TraesCS1B02G441900</i>	1B	CTP合成酶	<i>TraesCS1B02G442000</i>	1B	核转录因子Y亚基B
<i>TraesCS1B02G443900</i>	1B	蛋白酶体亚基	<i>TraesCS1B02G442500</i>	1B	CHUP1蛋白
<i>TraesCS1B02G446000</i>	1B	DUF617结构域的蛋白	<i>TraesCS1B02G441700</i>	1B	跨膜蛋白

表3 (续)

基因编号 Gene ID	染色体 Chormosome	功能注释 Functional annotation	基因编号 Gene ID	染色体 Chormosome	功能注释 Functional annotation
<i>TraesCS3B02G042400</i>	3B	AP2/ERF 转录因子	<i>TraesCS5B02G366000</i>	5B	跨膜蛋白
<i>TraesCS3B02G042600</i>	3B	信号肽酶亚基家族蛋白	<i>TraesCS5B02G366500</i>	5B	锌指蛋白
<i>TraesCS3B02G045400</i>	3B	醛糖还原酶	<i>TraesCS5B02G361200</i>	5B	BTB/POZ 结构域家族蛋白
<i>TraesCS3B02G047500</i>	3B	RuvB-like 解旋酶	<i>TraesCS5B02G368600</i>	5B	S-酰基转移酶
<i>TraesCS3B02G039900</i>	3B	跨膜蛋白 214	<i>TraesCS5B02G362400</i>	5B	低温和盐响应蛋白
<i>TraesCS3B02G042000</i>	3B	染色质重塑蛋白	<i>TraesCS5B02G365600</i>	5B	微管相关蛋白
<i>TraesCS3B02G047300</i>	3B	己糖转运蛋白	<i>TraesCS5B02G362100</i>	5B	跨膜蛋白
<i>TraesCS3B02G040600</i>	3B	DNA 结合储藏蛋白相关转录 调控因子	<i>TraesCS5B02G363500</i>	5B	核糖体 BOP1 蛋白 同源物
<i>TraesCS3B02G047700</i>	3B	类棉纤维蛋白	<i>TraesCS5B02G362500</i>	5B	低温和盐响应蛋白
<i>TraesCS3B02G046800</i>	3B	真核翻译起始因子	<i>TraesCS5B02G366100</i>	5B	CASP-like 蛋白质
<i>TraesCS3B02G047800</i>	3B	己糖转运蛋白	<i>TraesCS5B02G362700</i>	5B	环核苷酸门控通道
<i>TraesCS3B02G045500</i>	3B	钙结合家族蛋白	<i>TraesCS5B02G367100</i>	5B	染色体结构域解旋酶-DNA 结合 家族蛋白
<i>TraesCS3B02G046100</i>	3B	脂肪酸羟化酶	<i>TraesCS5B02G366200</i>	5B	DNA 损伤蛋白的介体
<i>TraesCS3B02G040000</i>	3B	C2 结构域蛋白	<i>TraesCS5B02G362300</i>	5B	磷酸酶 2C 家族蛋白
<i>TraesCS3B02G041400</i>	3B	抗病蛋白(NBS-LRR 类)家族	<i>TraesCS5B02G363900</i>	5B	鸟嘌呤核苷酸交换家族蛋白
<i>TraesCS3B02G048100</i>	3B	RNA 聚合酶 II 转录亚基的 介体	<i>TraesCS5B02G362200</i>	5B	蓝铜蛋白
<i>TraesCS3B02G041700</i>	3B	糖基水解酶	<i>TraesCS5B02G363800</i>	5B	NADPH-细胞色素 P450 还原酶
<i>TraesCS3B02G041800</i>	3B	翻译起始因子	<i>TraesCS5B02G364100</i>	5B	RNA 聚合酶 II 转录亚基的介体
<i>TraesCS3B02G047100</i>	3B	羧酰基谷胱甘肽水解酶	<i>TraesCS5B02G364900</i>	5B	PHD 蛋白

3 讨论

3.1 与前人研究候选区间的比较分析

本研究筛选出小麦穗部相关性状显著差异的两对近等基因系 N81 和 N82、N86 和 N87。基于 660K SNP 芯片对近等基因系间的多态性 SNPs 进行基因型分析,通过比对其物理位置,确定了 N81 和 N82、N86 和 N87 两对近等基因系多态性 SNPs 共同在 1B、3B 和 5B 染色体上 662~669 Mb、19~25 Mb 和 541~548 Mb 的物理区间存在重叠,推测这些物理位置可能是影响近等基因系间穗部相关性状表型差异的候选区间。近年来,研究人员利用不同的作图群体,以及全基因组关联分析和连锁分析等方法,鉴定到多个影响小麦产量性状的 QTL^[4-8, 31-35]。通过将前人研究中鉴定到的产量相关性状的 QTL 位点进行整合,发现本研究在 1B、3B 和 5B 染色体上 662~669 Mb、19~25 Mb 和 541~548 Mb 的物理区间分别与前人定位中的 6 个、17 个和 6 个位点存在高

度一致(图 6)。此外,两对近等基因系的其他染色体上也存在多态性的 SNPs 位点,这些位点可能是新的遗传位点。Hao 等^[4]利用全基因组关联分析在 1B (665.3~667.3 Mb)和 3B (20.4~22.4 Mb)染色体上分别检测到 1 个与每穗粒数显著关联的 SNP 位点,其物理区间与本研究在 1B 和 3B 染色体上的位置重叠。Pang 等^[5]利用全基因组关联分析在 3B (22.7~24.7 Mb)染色体上检测到 1 个与小穗数显著关联的 SNP 位点,其物理区间与本研究在 3B 染色体上的位置重叠。Liu 等^[33]和 Li 等^[34]利用连锁分析分别在 5B (544.8~546.9 Mb)和 5B (539.6~541.9 Mb)染色体上定位到 1 个与小穗密度和穗长相关的 QTL,其物理区间与本研究在 5B 染色体上的位置重叠。以上结果证实了这些高度一致性物理区间对小麦穗粒数具有重要贡献,也证明了本研究创制的近等基因系是重要的遗传资源,可以进行后续基因的定位和克隆,为小麦高产遗传育种提供指导。

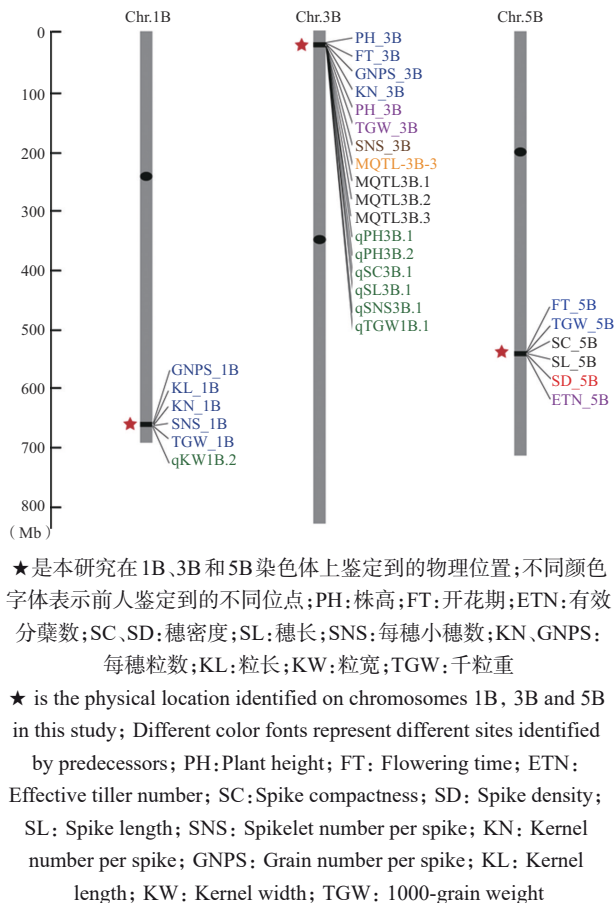


图6 1B、3B和5B染色体上候选区间与
前人研究定位的比对

Fig. 6 Comparison of candidate regions on chromosomes 1B, 3B and 5B with previous mapping studies

3.2 小麦穗部相关性状的候选基因

小麦幼穗的发育经历生长锥伸长期、单棱期、二棱期、小花原基分化期、雌雄蕊原基分化期等关键时期。其中,单棱期和二棱期的持续时长和分化速率决定小穗原基的数目;小花原基分化期是决定小花数目的关键时期;而雌雄蕊分化期决定了小花的育性。小麦的每个小穗能产生多到8个以上的小花原基,但最后只有3~4个能够发育生成籽粒。因此,小穗的早期发育和小花育性对于穗粒数的形成较为关键,影响小麦的最终产量。

本研究对1B、3B和5B染色体上的一致性物理区间进行候选基因挖掘,根据基因的功能注释、基因表达分析及同源基因功能分析,分别在1B、3B和5B染色体上筛选出25个、47个和41个高置信度基因。其中,1B染色体上 *TraesCS1B02G443200* 编码苹果酸脱氢酶,其在植物生长发育、逆境响应过程中起着重要作用,并且该基因在小麦穗发育的多个时期表达量较高(TPM>110)。Pei等^[20]研究表明苹

果酸在调控玉米幼穗发育和籽粒产量中起关键作用,外源喷施苹果酸可显著增加玉米穗粒数。因此,推测 *TraesCS1B02G443200* 可能是影响小穗发育和穗粒数的重要候选基因。3B染色体上 *TraesCS3B02G042400* 编码 AP2/ERF 转录因子,该基因在小麦穗发育的多个时期表达量较高(TPM>40),其家族基因 *DUO-B1* 通过调控小麦小穗结构,负调控每穗粒数且不影响其他农艺性状^[15]。结合前人研究发现 *TraesCS3B02G042400* 基因位于影响小麦穗粒数的候选区间^[4-6](图6),推测该基因可能是调控穗粒数的候选基因。5B染色体上 *TraesCS5B02G366500* 编码 C2H2 类型的锌指蛋白,该基因在小麦穗发育的多个时期表达量较高(TPM>50),并且该基因位于影响穗长、小穗密度相关的候选区间^[33-34](图6)。Shang等^[36]发现拟南芥 C2H2 锌指蛋白 *KNU* 可以适时终止花分生组织的增殖,促进干细胞分化,为后续植物种子的形成营造条件;Zhuang等^[37]研究表明水稻 C2H2 锌指蛋白 *NSG1* 在维持小穗发育方面起着关键作用,推测 *TraesCS5B02G366500* 基因可能是影响小穗发育和穗粒数的候选基因。以上结果显示,3个候选基因在小麦穗发育过程中持续性表达,可能参与穗粒数的形成,可作为重要候选基因进一步研究。

4 结论

本研究创制了两对穗部性状显著差异的近等基因系(N81和N82、N86和N87)。利用660K SNP基因芯片,确定了两对近等基因系在1B、3B和5B染色体上存在的一致性物理区间,并鉴定出 *TraesCS1B02G443200*、*TraesCS3B02G042400* 和 *TraesCS5B02G366500* 可能是调控小麦穗粒数的重要候选基因。

参考文献

- [1] Xiao J, Liu B, Yao Y, Guo Z, Jia H, Kong L, Zhang A, Ma W, Ni Z, Xu S, Lu F, Jiao Y, Yang W, Lin X, Sun S, Lu Z, Gao L, Zhao G, Cao S, Chen Q, Zhang K, Wang M, Wang M, Hu Z, Guo W, Li G, Ma X, Li J, Han F, Fu X, Ma Z, Wang D, Zhang X, Ling H Q, Xia G, Tong Y, Liu Z, He Z, Jia J, Chong K. Wheat genomic study for genetic improvement of traits in China. *Science China Life Sciences*, 2022, 65(9): 1718-1775
- [2] Shewry P R, Hey S J. The contribution of wheat to human diet and health. *Food and Energy Security*, 2015, 4(3): 178-202
- [3] Luo X, Yang Y, Lin X, Xiao J. Deciphering spike architecture formation towards yield improvement in wheat. *Journal of*

- Genetics and Genomics, 2023, 50(11): 835-845
- [4] Hao C, Jiao C, Hou J, Li T, Liu H, Wang Y, Zheng J, Liu H, Bi Z, Xu F, Zhao J, Ma L, Wang Y, Majeed U, Liu X, Appels R, Maccaferri M, Tuberosa R, Lu H, Zhang X. Resequencing of 145 landmark cultivars reveals asymmetric sub-genome selection and strong founder genotype effects on wheat breeding in China. *Molecular Plant*, 2020, 13(12): 1733-1751
- [5] Pang Y, Liu C, Wang D, St Amand P, Bernardo A, Li W, He F, Li L, Wang L, Yuan X, Dong L, Su Y, Zhang H, Zhao M, Liang Y, Jia H, Shen X, Lu Y, Jiang H, Wu Y, Li A, Wang H, Kong L, Bai G, Liu S. High-resolution genome-wide association study identifies genomic regions and candidate genes for important agronomic traits in wheat. *Molecular Plant*, 2020, 13(9): 1311-1327
- [6] Li A, Hao C, Wang Z, Geng S, Jia M, Wang F, Han X, Kong X, Yin L, Tao S, Deng Z, Liao R, Sun G, Wang K, Ye X, Jiao C, Lu H, Zhou Y, Liu D, Fu X, Zhang X, Mao L. Wheat breeding history reveals synergistic selection of pleiotropic genomic sites for plant architecture and grain yield. *Molecular Plant*, 2022, 15(3): 504-519
- [7] 姚琦馥, 周界光, 王健, 陈黄鑫, 杨瑶瑶, 刘倩, 闫磊, 王瑛, 周景忠, 崔凤娟, 蒋云, 马建. 小麦穗长QTL鉴定及其遗传分析. *中国农业科学*, 2023, 56(24): 4814-4825
- Yao Q F, Zhou J G, Wang J, Chen H X, Yang Y Y, Liu Q, Yan L, Wang Y, Zhou J Z, Cui F J, Jiang Y, Ma J. Identification and genetic analysis of QTL for wheat spike length. *Scientia Agricultura Sinica*, 2023, 56(24): 4814-4825
- [8] 马艳明, 冯智宇, 王威, 张胜军, 郭营, 倪中福, 刘杰. 新疆冬小麦品种农艺及产量性状遗传多样性分析. *作物学报*, 2020, 46(12): 1997-2007
- Ma Y M, Feng Z Y, Wang W, Zhang S J, Guo Y, Ni Z F, Liu J. Analysis of genetic diversity of agronomic and yield traits in winter wheat varieties in Xinjiang. *Acta Agronomica Sinica*, 2020, 46(12): 1997-2007
- [9] Finnegan E J, Ford B, Wallace X, Pettolino F, Griffin P T, Schmitz R J, Zhang P, Barrero J M, Hayden M J, Boden S A, Cavanagh C A, Swain S M, Trevaskis B. Zebularine treatment is associated with deletion of *FT-B1* leading to an increase in spikelet number in bread wheat. *Plant Cell and Environment*, 2018, 41(6): 1346-1360
- [10] Shaw L M, Lyu B, Turner R, Li C, Chen F, Han X, Fu D, Dubcovsky J. *FLOWERING LOCUS T2* regulates spike development and fertility in temperate cereals. *Journal of Experimental Botany*, 2019, 70(1): 193-204
- [11] Zhang X, Jia H, Li T, Wu J, Nagarajan R, Lei L, Powers C, Kan C C, Hua W, Liu Z, Chen C, Carver B F, Yan L. *TaCol-B5* modifies spike architecture and enhances grain yield in wheat. *Science*, 2022, 376(6589): 180-183
- [12] Zhang B, Liu X, Xu W, Chang J, Li A, Mao X, Zhang X, Jing R. Novel function of a putative *MOC1* ortholog associated with spikelet number per spike in common wheat. *Scientific Reports*, 2015, 5: 12211
- [13] Sakuma S, Golan G, Guo Z, Ogawa T, Tagiri A, Sugimoto K, Bernhardt N, Brassac J, Mascher M, Hensel G, Ohnishi S, Jinno H, Yamashita Y, Ayalon I, Peleg Z, Schnurbusch T, Komatsuda T. Unleashing floret fertility in wheat through the mutation of a homeobox gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2019, 116(11): 5182-5187
- [14] Debernardi J M, Greenwood J R, Jean Finnegan E, Jernstedt J, Dubcovsky J. *APETALA 2*-like genes *AP2L2* and *Q* specify lemma identity and axillary floral meristem development in wheat. *Plant Journal*, 2020, 101(1): 171-187
- [15] Wang Y, Du F, Wang J, Wang K, Tian C, Qi X, Lu F, Liu X, Ye X, Jiao Y. Improving bread wheat yield through modulating an unselected AP2/ERF gene. *Nature Plants*, 2023, 9(2): 372
- [16] Huang X, Qian Q, Liu Z, Sun H, He S, Luo D, Xia G, Chu C, Li J, Fu X. Natural variation at the *DEP1* locus enhances grain yield in rice. *Nature Genetics*, 2009, 41(4): 494-497
- [17] Jablonski B, Bajguz A, Bocian J, Orczyk W, Nadolska-Orczyk A. Genotype-dependent effect of silencing of *TaCKX1* and *TaCKX2* on phytohormone crosstalk and yield-related traits in wheat. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(21): 11494
- [18] Shen L, Zhang L, Yin C, Xu X, Liu Y, Shen K, Wu H, Sun Z, Wang K, He Z. The wheat sucrose synthase gene *TaSus1* is a determinant of grain number per spike. *The Crop Journal*, 2024, 12(1): 295-300
- [19] Lin X, Xu Y, Wang D, Yang Y, Zhang X, Bie X, Gui L, Chen Z, Ding Y, Mao L, Zhang X, Lu F, Zhang X, Uauy C, Fu X, Xiao J. Systematic identification of wheat spike developmental regulators by integrated multi-omics, transcriptional network, GWAS, and genetic analyses. *Molecular Plant*, 2024, 17(3): 438-459
- [20] Pei Y, Deng Y, Zhang H, Zhang Z, Liu J, Chen Z, Cai D, Li K, Du Y, Zang J, Xin P, Chu J, Chen Y, Zhao L, Liu J, Chen H. *EAR APICAL DEGENERATION1* regulates maize ear development by maintaining malate supply for apical inflorescence. *Plant Cell*, 2022, 34(6): 2222-2241
- [21] Yano A, Kodama Y, Koike A, Shinya T, Kim H J, Matsumoto M, Ogita S, Wada Y, Ohad N, Sano H. Interaction between methyl CpG-binding protein and ran GTPase during cell division in tobacco cultured cells. *Annals of Botany*, 2006, 98(6): 1179-1187
- [22] Zhang B, Li C, Li Y, Yu H. Mobile TERMINAL FLOWER1 determines seed size in *Arabidopsis*. *Nature Plants*, 2020, 6(9): 1146-1157
- [23] Smit M E, McGregor S R, Sun H, Gough C, Bågman A M, Soyars C L, Kroon J T, Gaudinier A, Williams C J, Yang X, Nimchuk Z L, Weijers D, Turner S R, Brady S M, Etchells J P. A PXY-mediated transcriptional network integrates signaling mechanisms to control vascular development in *Arabidopsis*.

- Plant Cell, 2020, 32(2): 319-335
- [24] Papdi C, Pérez-Salamó I, Joseph M P, Giuntoli B, Bögre L, Koncz C, Szabados L. The low oxygen, oxidative and osmotic stress responses synergistically act through the ethylene response factor VII genes *RAP2.12*, *RAP2.2* and *RAP2.3*. Plant Journal, 2015, 82(5): 772-784
- [25] Chevalier F, Perazza D, Laporte F, Le Hénanff G, Hornitschek P, Bonneville J M, Herzog M, Vachon G. GeBP and GeBP-like proteins are noncanonical leucine-zipper transcription factors that regulate cytokinin response in *Arabidopsis*. Plant Physiology, 2008, 146(3): 1142-1154
- [26] Li M, Li H, Zhu Q, Liu D, Li Z, Chen H, Luo J, Gong P, Ismail A M, Zhang Z. Knockout of the sugar transporter *OsSTP15* enhances grain yield by improving tiller number due to increased sugar content in the shoot base of rice (*Oryza sativa* L.). New Phytologist, 2024, 241(3): 1250-1265
- [27] Huang C, Wang D, Yang Y, Yang H, Zhang B, Li H, Zhang H, Li Y, Yuan W. *SUPPRESSOR OF FRIGIDA 4* cooperates with the histone methylation reader EBS to positively regulate root development. Plant Physiology, 2024, 196(4): 2199-2212
- [28] Kim S, Choi K, Park C, Hwang H J, Lee I. *SUPPRESSOR OF FRIGIDA4*, encoding a C2H2-Type zinc finger protein, represses flowering by transcriptional activation of *Arabidopsis* *FLOWERING LOCUS C*. Plant Cell, 2006, 18(11): 2985-2998
- [29] Ahn C S, Cho H K, Lee D H, Sim H J, Kim S G, Pai H S. Functional characterization of the ribosome biogenesis factors PES, BOP1, and WDR12 (PeBoW), and mechanisms of defective cell growth and proliferation caused by PeBoW deficiency in *Arabidopsis*. Journal of Experimental Botany, 2016, 67(17): 5217-5232
- [30] Liu F, Qu P Y, Li J P, Yang L N, Geng Y J, Lu J Y, Zhang Y, Li S. *Arabidopsis* protein S-acyl transferases positively mediate BR signaling through S-acylation of BSK1. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2024, 121(7): e2322375121
- [31] Yang Y, Amo A, Wei D, Chai Y, Zheng J, Qiao P, Cui C, Lu S, Chen L, Hu Y G. Large-scale integration of meta-QTL and genome-wide association study discovers the genomic regions and candidate genes for yield and yield-related traits in bread wheat. Theoretical and Applied Genetics, 2021, 134(9): 3083-3109
- [32] Saini D K, Srivastava P, Pal N, Gupta P K. Meta-QTLs, ortho-meta-QTLs and candidate genes for grain yield and associated traits in wheat (*Triticum aestivum* L.). Theoretical and Applied Genetics, 2022, 135(3): 1049-1081
- [33] Liu H, Ma J, Tu Y, Zhu J, Ding P, Liu J, Li T, Zou Y, Habib A, Mu Y. Several stably expressed QTL for spike density of common wheat (*Triticum aestivum* L.) in multiple environments. Plant Breeding, 2020, 139(2): 284-294
- [34] Li T, Deng G, Su Y, Yang Z, Tang Y, Wang J, Qiu X, Pu X, Li J, Liu Z, Zhang H, Liang J, Yang W, Yu M, Wei Y, Long H. Identification and validation of two major QTLs for spike compactness and length in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) showing pleiotropic effects on yield-related traits. Theoretical and Applied Genetics, 2021, 134(11): 3625-3641
- [35] Ai G, He C, Bi S, Zhou Z, Liu A, Hu X, Liu Y, Jin L, Zhou J, Zhang H, Du D, Chen H, Gong X, Saeed S, Su H, Lan C, Chen W, Li Q, Mao H, Li L, Liu H, Chen D, Kaufmann K, Alazab K F, Yan W. Dissecting the molecular basis of spike traits by integrating gene regulatory networks and genetic variation in wheat. Plant Communications, 2024, 5(5): 100879
- [36] Shang E, Wang X, Li T, Guo F, Ito T, Sun B. Robust control of floral meristem determinacy by position-specific multifunctions of KNUCKLES. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2021, 118(36): e2102826118
- [37] Zhuang H, Wang H L, Zhang T, Zeng X Q, Chen H, Wang Z W, Zhang J, Zheng H, Tang J, Ling Y H, Yang Z L, He G H, Li Y F. *NONSTOP GLUMES1* encodes a C2H2 zinc finger protein that regulates spikelet development in rice. Plant Cell, 2020, 32(2): 392-413