植物营养与肥料学报 2001,7(3):285～292
Plant Nutrition and Fertilizer Science

小麦磷素利用效率的基因位点及其交互作用

曹卫东[1], 贾继增[2], 金继运[1]
(1 中国农业科学院土壤肥料研究所,北京 100081;2 中国农业科学院
作物品种资源研究所,北京 100081)

摘要:利用小麦 W7984 和 Opata85 作亲本,通过一粒传而获得 F_7 重组近交系(RIL)群体。对该群体的 114 个株系分别在正常供磷和低磷胁迫下探讨小麦地上部磷素利用效率(SPUE)和全株磷素利用效率(WPUE);并根据该群体而构建的遗传图谱包括覆盖整个染色体组的 918 个 RFLP 标记,研究 2 种供磷情况下小麦磷素利用效率的基因位点及基因间互作。结果表明,正常供磷,有 2 个与 SPUE 有关的 QTL,分别位于染色体 1B 和 5A 上,变异解释率分别为 6.55% 和 11.61%;与 WPUE 有关的 QTL 有位于染色体 2B、5A 和 7A 上的 3 个;SPUE 和 WPUE 还分别受一对互作位点的影响。在磷胁迫下,有 3 个 QTL 与 SPUE 有关,分别位于染色体 2D、3B 和 6D 上,变异解释率分别为 14.2%、7.73% 和 6.58%;与 WPUE 相关的 2 个 QTL 分别位于染色体 2D、7A 上,变异解释率分别为 18.01% 和 10.73%;SPUE 受上位效应的影响。7A 染色体对于小麦的磷素利用效率有着重要的作用,位于该染色体上的片段 Xfba354-Xfba69 在 2 种供磷情况下都显著影响 WPUE,同时此片段在正常供磷下还与其它基因互作而影响 WPUE。此外,5A 染色体在正常供磷、2D 染色体在低磷胁迫下分别对磷素利用效率(PUE)有较强的作用。

关键词:小麦;磷素利用效率;RFLP 标记;数量性状基因位点;上位效应
中图分类号:S512.1;Q756　　**文献标识码**:A　　**文章编号**:1008-505X(2001)03-0285-08

磷资源不足是目前许多地区限制作物增产的重要因素。养分利用效率(NUE)是指作物组织内所吸收的单位养分量所产生的地上部干物质量[1]或全株干物质量[2]。养分利用效率高的基因型能以较低的养分浓度维持正常的生长发育,产生一定的生物量[1]。因此,提高作物的磷素利用效率,将在很大程度上缓解磷资源不足的矛盾。近年来,改良作物的营养遗传性状使其能更好地吸收利用营养物质被认为是提高肥料利用率的有效方法。尤其是随着分子生物学的迅速发展,寻找、利用及培育高效吸收利用营养元素的作物品种更被认为是行之有效的途径[3]。

作为主要的粮食作物,提高小麦的磷素利用效率意义重大。小麦不同基因型在磷吸收利用上的差异已早有认识[4],但对其遗传背景了解不多。迄今为止,在基因水平上研究小麦有关磷营养还少见报道。为此,应用 RFLP 分子标记,利用一个小麦 F_7 重组近交系(recombinant inbred line, RIL)群体,对正常供磷和低磷胁迫下小麦磷素利用效率的数量性状位点进行定位和互作分析,以增加对小麦磷素吸收利用的遗传背景的了解。

收稿日期:2000-03-20
作者简介:曹卫东(1968—),男,安徽贵池人,博士,主要从事植物营养方面的研究。
本研究在农业部植物营养学重点开放实验室完成。

1 材料与方法

1.1 遗传群体和RFLP图谱构建

将小麦近缘物种节节麦[*Triticum taushii*(*coss*.) Schmal,普通小麦DD基因组的供体]CIGM86.940与硬粒小麦[Triticum durum,普通小麦AABB基因组的供体]Altar84杂交,经人工培育而获得可育的六倍体小麦W7984;然后以W7984为父本,以Opata85(墨西哥当地栽培种春小麦)作母本杂交,通过一粒传而获得F_7重组近交系群体。该群体由150个株系组成。根据随机选择的其中114个株系而构建的遗传图谱包括覆盖整个染色体的938个RFLP标记,由此而构建的RFLP图谱已报道[5~9]。本研究根据已经发表的分子标记在F_7群体中的分离数据,经MAPMAKER version 3.0b程序运算,构建了覆盖整个染色体的含918个标记位点的连锁图谱,连锁距离用Kosambi公式计算。所得图谱标记连锁序与文献报道相似。

1.2 磷素利用效率的测定

培养试验于1999年4~5月在中国农业科学院土壤肥料研究所温室中进行。二亲本和114个F_2株系的种子经6%H_2O_2消毒,播种于石英砂上。出苗后7d选择生长一致的幼苗移入营养液中培养。每3株为一穴,每株系3穴,亲本各种植9穴。根据预备试验,正常供磷(P)水平为0.25mmol/L,低磷胁迫水平为0.025mmol/L。每7d更换一次营养液,培养期间不间断通气。4周后分别收获地上部、地下部,烘干,采用硫酸-双氧水消化和钼蓝比色法测定含磷量,并由此计算得出地上部磷素利用效率(SPUE)和全株磷素利用效率(WPUE)。SPUE=地上部干物质产量/小麦吸磷量;WPUE=全株干物质产量/小麦吸磷量。3穴的平均值用于结果分析。

1.3 数量性状基因位点(QTL)的定位和互作分析

QTL定位及相关分析采用QTLMaper软件[10,11]进行分析。该软件基于混合线性模型的复合区间作图方法,可以分析多环境的遗传实验资料并直接分析上位效应。以$P<0.005$和$LOD>2.0$作为QTL上位互作的入选标准。

2 结果与分析

2.1 磷利用效率(PUE)在亲本和RIL群体中的表现

表1 不同供磷情况下PUE在亲本和W7984/Opata85重组近交系中的平均值

Table 1 Means of PUE in parents and the W7984/Opata85 population at different P levels

供磷水平 P level	磷效率 PUE	亲本 Parents		重组近交系群体 RI population	
		W7984	Opata85	平均值 Average	分布范围 Distribution range
0.25mmol/L	SPUE	126.2	120.1	129.7	75.73~191.95
	WPUE	162.6	153.9	165.4	106.70~233.70
0.025mmol/L	SPUE	508.6	497.8	507.6	373.91~678.76
	WPUE	748.0	712.9	739.8	628.60~927.60

对2亲本和114个F_7株系的地上部磷素利用效率(SPUE)和全株磷素利用效率(WPUE)分析结果(表1)表明,无论是正常供磷还是磷胁迫下,小麦PUE在群体中均为连续的正态分布,并且表现出明显的超亲分离,呈现出多基因控制的数量性状的特点。表1看

出，在正常供磷和低磷胁迫时，PUE 虽然在亲本间没有明显的差异，但均表现出 W7984 高于 Opata85 的趋势。

2.2 QTL 定位及效应分析

表 2、图 1 为检测到的与 PUE 有关的 QTL。从中看出，在正常供磷的情况下，对于 SPUE 共有 2 个有关的 QTL，分别位于染色体 1B 上的 Xmwg837.2-Xbcd12 和 5A 上的 Xcdo785-Xpsr128 片段间。其中*qSPUO1B* 的效应来自 Opata85，变异解释率是 6.55%；*qSPUO5A* 的效应由 W7984 提供，变异解释率是 11.61%。对于 WPUE，有 3 个位点与之相关，分别位于染色体 2B、5A 和 7A 上，各位点所在的片段分别是 Xrz444-Xfba106、Xmwg624-Xfbb2 和 Xfba354-Xfba69，其中*qWPUO2B* 和*qWPUO5A* 的效应来自 W7984，*qWPUO7A* 的效应由 Opata85 提供。

在磷胁迫下，共有 3 个 QTL 影响 SPUE，分别位于染色体 2D、3B 和 6D 上，相应的片段分别是 Xfbb274-Xbcd611、Xfbb117-Xfbb156 和 XksuD27-Xfbb59，*qSPUP2D* 的效应来自 Opata85，变异解释率为 14.2%，*qSPUP3B* 和*qSPUP6D* 的效应则由 W7984 提供，变异解释率分别是 7.73% 和 6.58%。与 WPUE 相关的 2 个 QTL 分别位于染色体 2D、7A 上，变异解释率分别为 18.01% 和 10.73%，加性效应都来自 Opata85。

表 2　不同供磷情况下 PUE 在小麦 W7984/Opata85 重组近交系中的数量性状位点

Table 2　QTL for PUE of wheat within the W7984/Opata85 population at different P levels

供磷水平 P levels	PUE	QTL	染色体 Chrom	片段 Interval	LOD	加性效应 Additive effect	变异贡献 Variance explained
0.25 mmol/L	Shoot	*qSPUO1B*	1B	Xmwg837.2-Xbcd12	2.05	-5.4356*	6.55%
		qSPUO5A	5A	Xcdo785-Xpsr128	2.61	7.2357**	11.61%
	Whole	*qWPUO2B*	2B	Xrz444-Xfba106	2.44	6.8112*	7.80%
		qWPUO5A	5A	Xmwg624-Xfbb2	2.43	7.1181*	8.52%
		qWPUO7A	7A	Xfba354-Xfba69	3.35	-9.8150**	16.20%
0.025 mmol/L	Shoot	*qSPUP2D*	2D	Xfbb274-Xbcd611	2.87	-34.3126**	14.20%
		qSPUP3B	3B	Xfbb117-Xfbb156	2.79	25.3247**	7.73%
		qSPUP6D	6D	XksuD27-Xfbb59	2.25	23.3651*	6.58%
	Whole	*qWPUP2D*	2D	Xfbb274-Xbcd611	2.16	-25.1431*	18.01%
		qWPUP7A	7A	Xfba354-Xfba69	2.15	-19.4068*	10.73%

注：正数表示亲本 W7984 在此位点有正效应，负数表示亲本 Opata85 在此位点有正效应；* 和 ** 分别表示 P=0.005 和 P=0.001 的显著水平。

Note: Positive values imply that W7984 takes positive value for the additive effect, negative values mean that Opata85 takes the positive value for the additive effect; * and ** indicate significance levels of P=0.005 and P=0.001, respectively.

对与各 QTL 连锁的分子标记的不同基因型 PUE 的平均值比较表明（表 3），各标记之间的 PUE 存在明显差异。无论在正常供磷还是低磷胁迫，有关标记的效应来源与加性效应结果完全一致，进一步说明这些标记位点与各有关参数的分离密切相关。

表3 不同供磷情况下与有关QTL连锁的标记基因型PUE平均值比较

Table 3 Comparison for PUE between genotypic classes of markers linked to QTL at different P levels

供磷水平 P levels	PUE	标记 Marker	染色体 Chrom.	基因型 Genotpye Opata85	W7984	平均数差异 Difference	效应方向[1] Direction of effect
0.25 mmol/L	SPUE	Xmwg837.2	1B	134.7	123.2	-11.5	Opata85
		Xpsr128	5A	125.0	137.9	12.9	W7984
	WPUE	Xrz444	2B	161.0	168.6	7.5	W7984
		Xfbb2	5A	151.3	167.2	11.9	W7984
		Xfba354	7A	165.2	148.5	-16.7	Opata85
0.025 mmol/L	SPUE	Xfbb274	2D	524.0	472.6	-51.4	Opata85
		Xfbb117	3B	487.5	540.1	52.6	W7984
		Xfbb59	6D	479.8	536.3	56.5	W7984
	WPUE	Xfbb274	2D	759.50	716.64	-42.86	Opata85
		Xfba69	7A	761.27	726.40	-34.87	Opata85

注:效应方向指增加相应性状值的亲本等位基因. Direction of effect indicates the parental allele that increased the trait value.

2.3 QTL的上位效应分析

大量事实证明,数量遗传中非等位基因间的互作效应(上位性效应)是不可忽略的遗传效应组成部分,因此本研究分析了不同位点间的上位效应,结果见表4。正常供磷时,分别有一对位点间互作与SPUE和WPUE有关。与SPUE有关的一对互作位点所在的片段分别是1B上的Xmwg837.2-Xbcd12和6A上的Xcdo1428-Xbcd758,互作贡献率为13.21%;参与影响WPUE的一对位点位于1D染色体上的Glu.D1-XksuG55和7A染色体上的Xfba354-Xfba69片段间,互作贡献率为18.03%。位于染色体1B上的Xmwg837.2-Xbcd12和7A上的Xfba354-Xfba69片段间的位点即具有显著的加性效应(表2),同时又具有显著的上位效应。在磷胁迫下,对于WPUE,没有检测到上位效应;对于SPUE,有一对位点间的上位效应与之相关,参与互作的一对位点所在的片段是3D上的Xfbb237-Xbcd22和5B上的Xmwg914-Xbcd307,互作贡献率达到38.94%。

表4 不同供磷情况下小麦PUE在W7984/Opata85群体中的互作位点及效应

Table 4 Digenic interactions and their effects for PUE of wheat within the W7984/Opata85 population at different P levels

供磷水平 P level	PUE	染色体1 Chrom.1	片段1 Interval 1	染色体2 Chrom.2	片段2 Interval 2	互作效应[1] Eps.eff.	互作贡献 Eps.cont.
0.25 mmol/L	SPUE	1B	Xmwg837.2-Xbcd12	6A	Xcdo1428-Xbcd758	-6.8046**	13.21%
	WPUE	1D	Glu.D1-XksuG55	7A	Xfba354-Xfba69	7.0811**	18.03%
0.025 mmol/L	SPUE	3D	Xfbb237-Xbcd22	5B	Xmwg914-Xbcd307	-40.1721**	38.94%
	WPUE						

1)正值时表示参与互作的两位点的基因型与亲本1或亲本2的基因型相同时产生正效应,而当此2位点的基因型为亲本1和亲本2的重组时为负效应,负值则相反;** 表示P=0.001水平显著。

1) Positive value indicates that the tow-locus genotypes being the same as those in P1 parent or P2 parent take the positive effects, while the two-locus genotypes of recombination between the P1 parent and P2 parent take the negative effects. The case of negative values is just the opposite; ** indicates the significance level of P=0.001; Eps.eff. = epistatic effect; Eps.cont. = epistatic contribution.

3 讨论

以前,有关小麦营养性状在基因水平上的遗传研究几乎空白。究其原因,一方面,小麦的基因组很大,不是有关研究的模式作物;另一方面,植物营养性状往往较为复杂;研究起来较为困难。近些年来发展起来的分子标记技术使得人们有可能将复杂的数量性状进行分解,和研究质量性状基因一样将控制数量性状的多个基因分别进行研究。同时,随着分子标记的出现,植物遗传作图得到了快速的发展。利用这些分子图谱可以方便地对感兴趣的农艺性状进行基因定位,估算出多基因的数目,确定该性状基因位点在染色体上的位置以及测定单个基因对该性状的相对贡献,从而为最终应用遗传工程方法操纵和改良这些基因提供分子生物学基础。

数量性状的表达是个体基因型和环境条件协同作用的结果,要精确定位数量性状基因位点,必需尽量排除环境的干扰。应该尽可能控制试验条件的一致性,对表型结果进行重复验证[12],同时需要借助大量的永久性群体如 RI、DH(双单倍体)等并通过合理的试验设计来剔除环境误差的影响[13]。

如何提高作物的磷素利用效率是植物营养学家多年来一直关注的问题。但此性状是比较复杂的遗传现象,大部分学者的研究都只停留在磷高效基因型的筛选、鉴定方法以及对表型的简单分析上。本研究将小麦的 PUE 深入到基因水平。结果看出,PUE 属于数量性状遗传,这与其它文献的报道是一致的[1,4]。通过基因定位分析,在正常供磷情况下,检测到了 2 个与 SPUE 有关的 QTL,分别位于染色体 1B 和 5A 上;对于 WPUE,有分别位于染色体 2B、5A 和 7A 上 3 个位点与之相关。在磷胁迫下,对于 SPUE,共检测到 3 个 QTL,分别位于染色体 2D、3B 和 6D 上;与 WPUE 相关的 2 个 QTL 分别位于染色体 2D、7A 上。

比较 2 种供磷条件下的 QTL 检测结果不难看出,7A 染色体上的 Xfba354-Xfba69 片段对于小麦 PUE 有密切的联系,此片段在 2 种环境中均显著影响 WPUE,并且有着较高的变异解释率。2D 染色体上的片段 Xfbb274-Xbcd611 在低磷胁迫下对于小麦 PUE 有重要的影响,其来自 Opata85 的等位基因可显著增加小麦的 PUE,对于 SPUE 和 WPUE 的变异贡献分别达到 14.20% 和 18.01%;同时,5A 染色体在磷素正常供应时与小麦的 PUE 密切相关,有关位点的效应来自 W7984。上位效应的检测表明,正常供应磷素时,SPUE 和 WPUE 分别受一对互作位点的影响,低磷胁迫下也有一对互作位点显著影响 SPUE。前人的研究同样表明,上位效应对于低磷胁迫下作物对磷的吸收利用有显著的影响[14,15]。参与互作的位点本身大都(4/6)没有显著的加性效应,但它们的互作贡献却相当显著,这些基因也许可以被称为修饰基因(modifying gene)(曹刚强等,2000,个人交流资料);另 2 个位点既有加性效应,也具有修饰作用。影响地上部和全株 PUE 的 QTL 及其上位效应的不同还表明,小麦的地上部和根部对磷的利用可能受不同的遗传机制控制,从而导致了 WPUE 与 SPUE 没有很好的一致性。Reiter 在玉米[16]和 Fawole 在大豆[17]中的研究同样证明,低磷胁迫下地上部、地下部的干物质量是受独立的遗传机制控制的。QTL 定位是分子标记辅助育种的基础,本研究结果为今后确定与小麦 PUE 有关的分子标记提供了参考,也为通过分子标记辅助育种来改良小麦品种提供了理论依据。

参 考 文 献:

[1] 严小龙．植物营养遗传学[M]．北京:中国农业出版社,1997.

[2] 吴平,等．应用分子标记研究水稻耐低钾胁迫数量性状位点[J]．植物营养与肥料学报，1997，3(3)：209-217.

[3] 张福锁．植物营养生态生理学和遗传学[M]．北京:中国科学技术出版社,1993.

[4] 王庆仁,李继云,李振声．植物高效利用土壤难溶态磷研究动态及展望[J]．植物营养与肥料学报，1998,4(2):107-116.

[5] Van Deynze A E,Dubcovsky J,Gill K S *et al*．Molecular-genetic maps for group 1 chromosomes of *Triticeae* species and their relation to chromosomes in rice and oat[J]．Genome,1995，38:45-59.

[6] Nelson J C, Van Deynze A E, Autrique E *et al*．Molecular mapping of wheat. Homoeologous Group 2[J].Genome, 1995, 38:516-524.

[7] Nelson J C, Van Deynze A E, Autrique E *et al*．Molecular mapping of wheat. Homoeologous Group 3[J]．Genome, 1995,38:525-533.

[8] Nelson J C, Sorrells M E, Van Deynze A E *et al*．Molecular mapping of wheat. Major genes and rearrangements in homoeologous groups 4, 5, and 7[J]．Genetics, 1995,141:721-731.

[9] Marino C L, Nelson J C, Lu Y H *et al*．Molecular genetic maps of the group 6 chromosomes of hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L. em. Thell)[J]．Genome, 1996, 39:359-366.

[10] 朱军．运用混合线性模型定位复杂数量性状基因的方法[J]．浙江大学学报(自然科学版),1999,3:327-335.

[11] Wang D L *et al*．Mapping QTLs with epistatic effects and QTL × environment interactions by mixed linear model approaches[J]．Theor. Appl. Genet., 1999,99:1255-1264.

[12] 倪俊健．应用分子标记研究水稻耐低磷胁迫数量性状位点[D]．博士论文．浙江大学，1998.

[13] 林鸿宣,郑康乐．RFLP 遗传标记与作物数量性状基因定位[J]．生物工程进展,1993,13(4):37-40.

[14] Fawole I,Gabelman W H,Gerloff G C. Heritability of efficiency in P utilization in beans (*Phaseolus nulgaris* L.) grown under phosphorous stress[J]．J. Am. Soc. Horti. Sci., 1982,107: 94-97.

[15] Whitaker G P, Gerloff G C,Gabelman W H,Lindgren D. Intraspecific differences in growth of beans at stress levels of phosphorous[J]．J. Am. Soc. Horti. Sci.,1976,101:98-100.

[16] Reiter R S,Coors J G, Sussman M R and Gabelman W H. Genetic analysis of tolerance to low phosphorus stress in maize using restriction fragment polymorphisms[J]．Theor.Appl. Genet.,1991,82:561-568.

[17] Fawole I, Gabelman W H, Gerloff G C. Genetic control of root development in beans (*Phaseolus nulgaris* L.) grown under phosphorous stress[J]．J.Am.Soc.Horti.Sci.,1982, 107: 98-100.

Identification and interaction analysis of QTL for phosphorus use efficiency in wheat

CAO Wei-dong[1], JIA Ji-zeng[2], JIN Ji-yun[1]

(*1 Soil and Fertilizer Inst., CAAS, Beijing 100081, China; 2 Inst. of Crop Germ. Resou., CAAS, Beijing 100081, China*)

Abstract: An F_7 recombinant inbred line (RIL) population consisting 114 lines, derived from 2 varieties, W7984 and Opata85, were used in a hydroponic experiment with phosphorus (P) sufficient(0.25mmol/L) and deficient(0.025mmol/L) treatments. After culture for 4 weeks, P concentration was measured in shoot and in root separately. P use efficiency (PUE) for shoot (SPUE), or whole plant (WPUE) was defined as shoot or whole plant biomass production per mg of absorbed P by the whole plant. 918 RFLP markers mapped on all genome were used for analysis of QTL for these parameters. The results showed that, under P sufficient conditions, 2 QTL were identified for SPUE on chromosome 1B and 5A, respectively; 3 QTL were detected on chromosome 2B, 5A and 7A, respectively, influencing WPUE. Under P deficient conditions, 3 QTL on chromosome 2D, 3B, and 6D were detected for SPUE, and 2 QTL on chromosome 2D and 7A for WPUE. Epistatic interaction analysis indicated that there were 1 digenic interactions influencing SPUE and WPUE under P sufficient environment, only 1 digenic interaction was found controlling WPUE at P deficient level. Among of the QTL detected, the locus on chromosome 7A influenced WPUE at both of the two P levels, and this interval also involved in the epistasis influencing WPUE under P sufficient environment, the genomic region containing this locus should be important for PUE in wheat. Additionally, the results indicated that chromosome 5A was important for PUE under P sufficient environment, while chromosome 2D was important at P deficient level. This research may be helpful to understand the genetic background in wheat for phosphorus utilization.

Key words: wheat; phosphorus use efficiency; RFLP marker; quantitative traits loci; epistatic interaction