

小麦 SSR 和 SNP 标记在 Taichung29×白芒麦重组自交系群体中的偏分离分析

郭继元^{1,2} 王凤涛¹ 蔺瑞明^{1*} 冯 晶^{1*} 张忠军² 徐世昌¹

(1. 中国农业科学院植物保护研究所, 植物病虫害生物学国家重点实验室, 北京 100193;

2. 中国农业大学植物保护学院, 北京 100193)

摘要: 为明确小麦 SSR 和 SNP 标记在 Taichung29×白芒麦重组自交系群体中的偏分离现象及产生原因,提高遗传图谱构建的质量,以我国小麦农家品种白芒麦与感病品种 Taichung29 杂交构建的包含 181 个 F₈ 代重组自交系 (recombinant inbred line, RIL) 为试验材料,利用筛选得到的 110 个 SSR 标记和 6 859 个 SNPs 多态性标记进行偏分离分析。结果显示,共有 1 069 个标记位点表现出偏分离,占标记总数的 15.3%。其中,683 个标记偏向于白芒麦,占偏分离标记数的 63.9%;386 个标记偏向于 Taichung29,占偏分离标记数的 36.1%。偏分离位点在染色体上分布大多数是成簇出现,有 76.3% 的偏分离标记形成偏分离热点区域 (segregation distortion region, SDR),共检测到了 74 个 SDR,分布在 15 条染色体上,其中 B 染色体组包含最多的 SDR,偏分离方向为白芒麦。抗病亲本白芒麦和感病亲本 Taichung29 的基因型在 RIL 群体中分布比例为 1.03:1.00,接近 1:1 的理论比例,标记在 RIL 群体整体分离比基本平衡,显示出偏分离主要是由遗传因素引起。

关键词: RIL 群体; 分子标记; 偏分离; SNP

Genetic analysis of segregation distortion of SNP and SSR markers in wheat RIL population from the Taichung29×Baimangmai

Guo Jiyuan^{1,2} Wang Fengtao¹ Lin Ruiming^{1*} Feng Jing^{1*} Zhang Zhongjun² Xu Shichang¹

(1. State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China; 2. College of Plant Protection, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract: The analyses of segregation distortion phenomenon and reasons in the Taichung29 × baimangmai recombinant inbred wheat lines by using SSR and SNP markers are helpful for improving the quality of the genetic map. By using a population consisting of 181 F₈ recombinant inbred lines (RIL) derived from a common wheat variety Taichung29 crossed by a landrace Baimangmai, segregation distortion analysis was performed with the 110 SSRs and 6859 SNPs polymorphic markers developed for the population. The results showed that a total of 1 069 marker loci showed segregation distortion, accounting for 15.3% of the total marker number of the wheat genetic maps, of which 683 markers (63.9% of the segregation distortion total markers) distributed on wheat genomes distorted to parent Baimangmai, and 386 markers (36.1% of the segregation distortion total ones) distorted to parent Taichung29. Meanwhile, segregation distortion regions usually distributed as clusters. Among the segregation distortion markers,

基金项目: 国家自然科学基金(31871949), 国家重点研发计划-粮丰工程(2016YFD0300705)

* 通信作者 (Authors for correspondence), E-mail: rmlin@ippcaas.cn, fengjingqht@163.com

收稿日期: 2017-03-03

76.3% formed segregation distortion regions (SDRs), and a total of 74 SDRs were detected, scattering on 15 chromosomes. Most SDRs lay on genome B, genetically distorted to parent Baimangmai. The distribution proportion of the resistant parent baimangmai and susceptible parent Taichung29 genotypes in RIL population was 1.03:1.00, close to the theoretical ratio of 1:1, and the overall separation ratio was basically balanced, showing that segregation was mainly caused by genetic factors.

Key words: RIL population; molecular marker; segregation distortion; SNP

偏分离是指从分离群体中观察到的基因型比例偏离理论的孟德尔分离比的现象(Lu et al., 2002)。偏分离可以增加种群中杂合等位基因的频率,被认为是生物进化的一种重要动力,因而受到广泛的关注(刘海燕等, 2009)。随着限制性片段长度多态性(restriction fragment length polymorphism, RFLP)、随机扩增多态性DNA(random amplified polymorphism DNA, RAPD)、扩增片段长度多态性(amplified fragment length polymorphism, AFLP)、序列标记位点(sequence tagged sites, STS)、多态性芯片技术(diversity arrays technology, DArT)、简单重复序列(simple sequence repeat, SSR)和单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)等分子标记的开发与应用,为遗传研究提供了强有力的工具,也促进了遗传中关于偏分离现象的研究。目前在大麦(Konishi et al., 1992)、大豆(刘峰等, 2000)、玉米(Lu et al., 2002; 张帆等, 2006)、水稻(彭勇等, 2006)、小麦(王慧兰等, 2014)等多种作物上报道了大量偏分离现象。研究表明,偏分离的比例因物种、遗传群体的类型、杂交配组方式的不同而异,而且,存在一些偏分离热点区域,这些热点区域与特定基因相关。在小麦中,分子标记偏分离现象目前多数是关于SSR分子标记的偏分离现象的报道(彭勇等, 2006; 王慧兰等, 2014; 赵朋等, 2014)。

SNP是由单个核苷酸碱基的缺失、插入、转换和颠换等变异所引起的多态性,其分布广泛,数量巨大,结合生物芯片技术可应用于高通量检测,是近年来新兴的分子标记类型,具有广泛应用前景。自从Lander (1996)第一次正式提出SNP为新一代分子标记后,动植物SNP研究和开发受到广泛关注(Hoskins et al., 2001; Ching et al., 2002; Rafalski, 2002)。小麦SNP标记的开发应用起步较晚,但近年来对小麦SNP标记的开发利用研究工作进展迅速。目前已经开发了小麦9K SNP iSelect Assay (Cavanagh et al., 2013)、小麦90K SNP iSelect Assay (Wang et al., 2014)、小麦660K Assay、小麦820K As-

say (Allen et al., 2017)等多款小麦基因芯片。赵朋等(2014)以普通小麦品种宁7840和Clark杂交得到的重组自交系群体为试验材料,利用小麦9K SNP iSelect Assay和SSR分子标记构建遗传图谱并进行了偏分离分析。但利用小麦90K iSelect SNP芯片技术分析偏分离现象鲜有报道。本研究利用小麦SSR和90K基因芯片技术对以我国小麦农家品种白芒麦与Taichung29杂交构建的RIL群体181个株系进行了高密度遗传连锁图谱的构建,在获得的6969个标记中发现偏分离现象,检测出偏分离标记的热点区域,并对偏分离现象及产生原因进行了分析,以期探讨小麦偏分离规律,并为减少偏分离对抗病性QTL定位的影响研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试小麦:供试小麦为我国普通小麦农家品种白芒麦和引自荷兰原产于我国台湾省的春小麦品种Taichung29,以上材料均由中国农业科学院植物保护研究所麦类真菌病害研究组提供。2006年起在中国农业科学院植物保护研究所廊坊中试基地,采用常规杂交法和单粒传法相结合,以Taichung29为母本与白芒麦杂交和连续自交至F₈代,获得包含181个株系的重组自交系。

试剂:十六烷基三甲基溴化铵(hexadecyl trimethyl ammonium bromide, CTAB)、Tris-HCl、NaCl、 β -巯基乙醇、AgNO₃,生工生物工程(上海)股份有限公司;DP320新型植物基因组提取试剂盒,天根生化科技(北京)有限公司;SSR引物,北京三博远志生物技术有限责任公司;dNTPs Taq DNA聚合酶、PCR缓冲液,宝生物工程(大连)有限公司。

仪器:T100型PCR仪,美国Bio-Rad公司;DYY-12型电泳仪、DYCZ-24A型电泳槽,北京六一仪器厂;Phantom 9900XL型扫描仪,上海中晶科技有限公司;NanoDrop 2000C超微量分光光度计,赛默飞世尔科技(中国)有限公司。

1.2 方法

1.2.1 SSR 标记筛选与 RIL 群体基因型分析

RIL 群体各株系及双亲基因组 DNA 的提取采用略加改进的 CTAB 法 (Rogers & Bendich, 1985)。将提取纯化后的 DNA 加入 100 μL ddH₂O, 用超微量分光光度计在其核酸模式下测定 OD₂₆₀ 和 OD₂₈₀ 的值, 用浓度 (T) 计算公式计算出 DNA 的浓度, $T = \text{OD}_{260} \times 50 \text{ ng}/\mu\text{L}$, 并用 ddH₂O 将浓度调整至 50 ng/ μL , 于 -20℃ 以下保存备用。引物序列信息从 Grain-Gene 2.0 (<http://wheat.pw.usda.gov/GG2/index.shtml>) 获得, 由北京三博远志生物技术有限责任公司合成。随机选用 1 536 对小麦 SSR 引物对双亲进行多态性分析, SSR 引物包括: wms 引物 112 对、gpw 引物 486 对、gwm 引物 105 对、barc 引物 318 对、wmc 引物 311 对、cfd 引物 133 对、cfa 引物 49 对、psp 引物 22 对。15 μL PCR 反应体系: ddH₂O 9.45 μL 、10×Buffer (Mg²⁺) 1.5 μL 、10 mmol/L dNTPs 1.2 μL 、10 ng/ μL Left Primer 0.6 μL 、10 ng/ μL Right Primer 0.6 μL 、50 ng/ μL Template DNA 1.5 μL 、5 U/ μL *Taq* DNA Polymerase 0.15 μL 。PCR 扩增程序: 预变性 94℃ 5 min; 95℃ 变性 1 min、50℃ 至 65℃ (与不同引物的退火温度相对应) 退火 40 s、72℃ 延伸 1 min, 36 个循环; 72℃ 延伸 10 min, 4℃ 保存。扩增完成后于 -20℃ 以下保存备用。利用 6% 变性聚丙烯酰胺凝胶进行电泳分析, 1% 硝酸银溶液银染。

1.2.2 SNP 基因型分析

采用 DP320 新型植物基因组 DNA 提取试剂盒提取双亲及 RIL 群体 181 个株系的基因组 DNA。利用小麦 90 K iSelect SNP 芯片, 对双亲及包含 181 个株系的 RIL 群体样品进行基因分型检测, 由北京博奥晶典生物技术有限公司完成。每个 SNP 标记基因集群按照适用于多倍型物种的 genomes studio 1.0 (Illumina; <http://www.illumina.com>) 操作手册进行分析。

1.2.3 标记的偏分离分析

采用软件 QTL IciMapping 4.1 (http://www.isbreeding.net/download_software_ICIM.aspx) 的 MAP 和 SDL 功能模块, 参考 SSR (Somers et al., 2004) 和 SNP 标记 (Wang et al., 2014) 公共图谱中 SSR 和 SNP 标记染色体信息, 对 SSR 和 SNP 标记基因型进行遗传图谱构建和偏分离分析。与抗病亲本白芒麦带型相同的赋值为“AA”, 与感病亲本 Taichung29 带型相同的赋值“BB”, 杂合带型用“AB”, 缺失用“-1”表

示。将亲本标记基因型在 RIL 家系中的分布数据按孟德尔理论分离比例 (1:1) 进行 χ^2 测验, 以此推断被检测标记位点是否存在偏分离, 并对照亲本基因型确定偏分离的方向。以相邻 3 个或 3 个以上连续的偏分离标记, 且其偏分离方向一致, 其所在染色体区间为一个偏分离区域 (segregation distortion region, SDR)。

2 结果与分析

2.1 SSR 和 SNP 标记基因型在 RIL 群体的分布

筛选到的 120 对在双亲之间有多态性的小麦 SSR 引物, 并对 RIL 群体进行基因型分析; 利用小麦 90 K iSelect SNP 芯片共获得 10 445 个多态性 SNPs 标记。利用软件 QTL IciMapping 4.1 最终将 6 969 个 (包括 110 个 SSR 标记) 多态性标记成功构建了覆盖除小麦 4D 和 5D 染色体之外的 19 条染色体的 37 个连锁群, 染色体总长 3 312.45 cM, 平均遗传距离 0.47 cM。将抗病亲本白芒麦基因型定义为 AA, 感病亲本 Taichung29 基因型定义为 BB, 对标记位点的基因型在 RIL 群体中的分布进行统计分析。结果显示, 来源于抗病亲本白芒麦基因型 AA 占 49.2%, 来源于感病亲本 Taichung29 基因型 BB 占 47.5%, 缺失率为 3.3%, 抗病亲本白芒麦和感病亲本 Taichung29 的基因型在 RIL 群体中分布比例为 1.03:1.00, 接近 1:1 的理论比例。位于 A、B 和 D 三个染色体组的标记数分别为 2 406、4 056 和 508 个, 亲本基因型在 3 个染色体组的分布比例为 0.94:1.00 至 1.07:1.00。第 1 至第 7 同源群上的标记数分别为 101 311、107 933、115 037、47 080、77 408、83 673 和 91 313 个, 标记在同源群的分离比例为 0.93:1.00 至 1.12:1.00, 均接近于 1:1 的理论比例 (表 1)。可见, 双亲标记基因型在重组自交系群体中的分布未出现偏分离, 双亲对子代的贡献率基本平衡。

2.2 标记的偏分离分析

对遗传图谱中的 110 个 SSR 标记和 6 859 个 SNPs 标记的基因型在 RIL 群体的分布频率进行 χ^2 测验。结果表明, 在 $P=0.05$ 水平上共检测到 1 069 个标记位点表现出偏分离现象, 占总标记的 15.3%。其中, 386 个标记偏向于感病亲本 Taichung29, 占偏分离标记数的 36.1%; 683 个标记偏向于抗病亲本白芒麦, 占 63.9%。偏分离标记在 A、B 和 D 染色体组中分布不同, A 染色体组包含 190 个偏分离标记, 相对占 A 染色体组总标记数的 7.9%; B 染色体组包含 833 个偏分离标记, 相对占比为 20.5%; D 染色体组

包含 46 个偏分离标记,相对占比 9.1%,显示出 B 染色体组在相对比例和绝对比例均含有较高的偏分离标记。偏分离方向分布不同,A 染色体组偏向感病亲本的有 116 个标记,偏向抗病亲本的有 74 个标记;B 染色体组偏向感病亲本的有 249 个标记,

偏向抗病亲本的有 584 个标记;D 染色体组偏向感病亲本的有 21 个标记,偏向抗病亲本的有 25 个标记,其中 2B 染色体上包含最多偏分离标记,达 302 个(表 2)。

表 1 RIL 群体中标记基因型分离比例

Table 1 Distribution of marker genotypes in RIL population

染色体 Chromosome	标记数 Number of markers	AA 基因型数 Number of AA genotype	BB 基因型数 Number of BB genotype	缺失数 Number of missing	基因型分离比例 Segregation ratio of genotype
A 染色体组 A chromosome group	2 406	212 024	211 008	14 860	1.00:1.00
B 染色体组 B chromosome group	4 055	368 690	346 099	23 021	1.07:1.00
D 染色体组 D chromosome group	508	43 016	45 719	3 721	0.94:1.00
同源群 1 Group 1	1 083	101 311	90 314	5 481	1.12:1.00
同源群 2 Group 2	1 216	107 908	106 873	6 531	1.00:1.00
同源群 3 Group 3	1 312	115 037	114 133	9 613	1.00:1.00
同源群 4 Group 4	477	47 080	36 501	3 233	1.30:1.00
同源群 5 Group 5	907	77 408	82 919	4 746	0.93:1.00
同源群 6 Group 6	957	83 673	84 418	5 901	1.00:1.00
同源群 7 Group 7	1 017	91 313	87 668	6 097	1.00:1.00
合计 Total	6 969	623 730	602 826	41 721	1.03:1.00

表 2 RIL 群体遗传图谱中偏分离标记的偏向亲本的方向及染色体分布

Table 2 The direction of parent and distribution of segregation distortion markers in RIL population genetic map

染色体组 Genome	染色体 Chromosome	偏分离标记数 Number of distorted markers	偏向母本的标记数 Number of markers skew to female parent	偏向父本的标记数 Number of markers skew to male parent
A	1A	5	2	3
	2A	6	2	4
	3A	37	27	10
	4A	11	3	8
	5A	63	58	5
	6A	57	14	43
	7A	11	10	1
	总计 Total	190	116	74
B	1B	121	2	119
	2B	302	139	163
	3B	25	20	5
	4B	186	1	185
	5B	35	21	14
	6B	63	54	9
	7B	101	12	89
	总计 Total	833	249	584
D	1D	11	0	11
	2D	9	9	0
	3D	11	7	4
	6D	15	5	10
	7D	0	0	0
	总计 Total	46	21	25

2.3 偏分离热点区域

对偏分离标记在遗传图谱中的分布分析发现, 偏分离标记在遗传图谱中分布极不均匀, 表现为成簇分布, 且偏分离方向往往一致。按照连锁图谱中连续出现3个以上偏分离标记且方向一致为一个偏分离热点区域, 共检测到74个偏分离热点区域, 分

布在3A、5A、6A、7A、1B、2B、3B、4B、5B、6B、7B、1D、2D、3D和6D等15条染色体上。2B和7B染色体上分布的热点区域最多, 分别包含有19个和9个。其中, 包含偏分离标记数最多的热点区域位于2B染色体, 包含131个标记, 偏向感病亲本 Taichung29, 长度15.21 cM(表3)。

表3 偏分离热点区域在遗传连锁图谱中染色体的分布
Table 3 Distribution of segregation distortion regions in the genetic linkage map

偏分离区域 Segregation distortion region	染色体 Chromo- some	标记区间 Marker interval	偏分离标记 数 Number of distorted markers	遗传距离 Genetic distance (cM)	偏分离方向 Direction of skew
SDR-3A.1	3A	Tdurum_contig67686_1149-Excalibur_c90478_62	7	0.29	Taichung29
SDR-3A.2	3A	BS00093252_51-wsnp_Ra_c5454_9660102	6	0.29	Taichung29
SDR-3A.3	3A	I2V2423-BS00003956_51	3	0.28	Taichung29
SDR-3A.4	3A	BS00062974_51-BS00049420_51	4	0.00	白芒麦 Baimangmai
SDR-5A.1	5A	wsnp_Ex_c19647_28632659-RAC875_c24056_1171	4	9.22	白芒麦 Baimangmai
SDR-5A.2	5A	RAC875_c3838_1378-Kukri_c10033_724	11	1.15	Taichung29
SDR-5A.3	5A	RAC875_c30566_230-RAC875_c9984_1003	9	1.49	Taichung29
SDR-5A.4	5A	BobWhite_c658_377-BS00059098_51	3	0.00	Taichung29
SDR-6A.1	6A	tplb0038e08_924-RAC875_c57219_632	3	0.00	Taichung29
SDR-6A.2	6A	BS00075803_51-Kukri_c37301_385	4	1.82	白芒麦 Baimangmai
SDR-6A.3	6A	Kukri_c26073_303-wsnp_Ex_c28973_38050204	6	0.00	白芒麦 Baimangmai
SDR-6A.4	6A	Excalibur_c15109_942-tplb0038e08_1052	4	0.28	白芒麦 Baimangmai
SDR-6A.5	6A	BS00086174_51-BS00011962_51	5	0.00	白芒麦 Baimangmai
SDR-6A.6	6A	wsnp_Ex_c7546_12900094-Kukri_c41157_315	7	0.00	白芒麦 Baimangmai
SDR-7A.1	7A	BS00065529_51-BS00009995_51	5	1.14	Taichung29
SDR-1B.1	1B	GENE-0063_68-D_contig12192_450	24	8.06	白芒麦 Baimangmai
SDR-1B.2	1B	BS00035268_51-Kukri_c39223_831	32	8.00	白芒麦 Baimangmai
SDR-1B.3	1B	Excalibur_rep_c68706_1084-Ex_c4206_502	14	2.03	白芒麦 Baimangmai
SDR-1B.4	1B	Excalibur_c37496_271-BS00067525_51	14	1.15	白芒麦 Baimangmai
SDR-1B.5	1B	Excalibur_c35316_388-BobWhite_c5793_372	9	0.00	白芒麦 Baimangmai
SDR-1B.6	1B	Excalibur_c43567_633-Kukri_c8390_547	4	0.00	白芒麦 Baimangmai
SDR-1B.7	1B	Excalibur_c24303_268-RFL_Contig5496_401	3	24.69	白芒麦 Baimangmai
SDR-1B.8	1B	Excalibur_c21451_352-RAC875_c7674_634	3	0.00	白芒麦 Baimangmai
SDR-2B.1	2B	Xwmc764-2B-BobWhite_c25359_132	131	15.21	Taichung29
SDR-2B.2	2B	wsnp_Ex_c9345_15516291-Tdurum_contig27907_216	8	2.63	白芒麦 Baimangmai
SDR-2B.3	2B	wsnp_Ra_c16333_24961476-Excalibur_c60964_203	3	0.85	白芒麦 Baimangmai
SDR-2B.4	2B	RAC875_c28145_553-Excalibur_c6735_154	4	0.00	白芒麦 Baimangmai
SDR-2B.5	2B	Tdurum_contig28113_390-Kukri_c411_1530	29	1.69	白芒麦 Baimangmai
SDR-2B.6	2B	BobWhite_c17614_194-BobWhite_c7050_792	20	0.28	白芒麦 Baimangmai
SDR-2B.7	2B	RAC875_c16752_283-BS00086228_51	9	0.00	白芒麦 Baimangmai
SDR-2B.8	2B	I0V283-BS00076000_51	3	0.00	白芒麦 Baimangmai
SDR-2B.9	2B	Ku_c48694_1284-Tdurum_contig9212_230	9	2.65	白芒麦 Baimangmai
SDR-2B.10	2B	Excalibur_c9752_73-Kukri_c97623_95	11	0.28	白芒麦 Baimangmai
SDR-2B.11	2B	Ex_c10478_746-RAC875_c173_905	6	0.00	白芒麦 Baimangmai
SDR-2B.12	2B	RAC875_c9840_364-BobWhite_c18494_381	3	0.00	白芒麦 Baimangmai
SDR-2B.13	2B	GENE-1252_145-Jagger_rep_c10364_92	6	3.00	白芒麦 Baimangmai

续表3 Continued

偏分离区域 Segregation distortion region	染色体 Chromo- some	标记区间 Marker interval	偏分离标记数 Number of distorted markers	遗传距离 Genetic distance (cM)	偏分离方向 Direction of skew
SDR-2B.14	2B	BobWhite_rep_c48906_121-Kukri_c97631_275	15	2.39	白芒麦 Baimangmai
SDR-2B.15	2B	Excalibur_rep_c86807_132-BS00068371_51	4	0.57	白芒麦 Baimangmai
SDR-2B.16	2B	BS00086322_51-gwm47-5A	15	6.33	白芒麦 Baimangmai
SDR-2B.17	2B	Tdurum_contig92425_1574-Kukri_c3501_1175	4	0.00	白芒麦 Baimangmai
SDR-2B.18	2B	GENE-1258_171-Kukri_c43178_438	4	1.69	白芒麦 Baimangmai
SDR-2B.19	2B	wsnp_JD_c7305_8404286-tplb0058o04_1071	3	6.06	白芒麦 Baimangmai
SDR-3B.1	3B	Kukri_c48010_129-wsnp_BE446462D-Ta_2_3	4	5.97	Taichung29
SDR-3B.2	3B	RFL_Contig3626_521-wsnp_JD_c222_352320	4	5.18	Taichung29
SDR-3B.3	3B	Tdurum_contig11297_571-RFL_Contig5043_785	3	3.77	Taichung29
SDR-3B.4	4B	BS00089651_51-GENE-4824_212	4	1.44	Taichung29
SDR-4B.1	4B	Tdurum_contig29247_404-wms692-4b	56	36.08	白芒麦 Baimangmai
SDR-4B.2	4B	gpw7390-4B-Ex_c22263_454	87	22.71	白芒麦 Baimangmai
SDR-4B.3	4B	BobWhite_rep_c60452_158-Tdurum_contig64772_417	21	14.28	白芒麦 Baimangmai
SDR-4B.4	4B	Excalibur_c60791_1196-CAP7_c10722_197	4	0.28	白芒麦 Baimangmai
SDR-4B.5	4B	Kukri_c23338_624-Excalibur_c7581_791	7	0.58	白芒麦 Baimangmai
SDR-4B.6	4B	Excalibur_c18318_701-RFL_Contig2277_1446	3	0.00	白芒麦 Baimangmai
SDR-5B.1	5B	wsnp_Ex_c16100_24532224-IACX2594	4	1.76	白芒麦 Baimangmai
SDR-5B.2	5B	wsnp_Ex_c24031_33277293-BS00024829_51	5	6.37	白芒麦 Baimangmai
SDR-5B.3	5B	GENE-2290_120-IACX7615	3	0.28	Taichung29
SDR-6B.1	6B	D_GA8KES401DIOBP_77-D_contig27481_125	3	12.75	Taichung29
SDR-6B.2	6B	Tdurum_contig58200_210-Ra_c3287_1629	4	2.91	白芒麦 Baimangmai
SDR-6B.3	6B	CAP7_c12046_93-Kukri_c64223_135	13	21.25	Taichung29
SDR-6B.4	6B	Kukri_c5716_1417-RFL_Contig2188_636	20	0.00	Taichung29
SDR-6B.5	6B	BS00110786_51-Excalibur_c5082_178	3	0.00	Taichung29
SDR-7B.1	7B	GENE-4442_121-BobWhite_c21838_152	5	0.00	白芒麦 Baimangmai
SDR-7B.2	7B	RAC875_c19552_137-Ex_c2857_1303	3	0.28	白芒麦 Baimangmai
SDR-7B.3	7B	wsnp_Ku_c34659_43981982-Kukri_c27122_654	4	0.00	白芒麦 Baimangmai
SDR-7B.4	7B	wsnp_Ku_c4067_7419106-BS00068071_51	5	0.00	白芒麦 Baimangmai
SDR-7B.5	7B	RAC875_rep_c83042_514-Ku_c68626_1232	3	0.29	白芒麦 Baimangmai
SDR-7B.6	7B	Tdurum_contig25631_143-BobWhite_c44558_325	3	0.00	白芒麦 Baimangmai
SDR-7B.7	7B	RAC875_c68089_294-Excalibur_rep_c111629_239	5	4.72	白芒麦 Baimangmai
SDR-7B.8	7B	Tdurum_contig93081_162-Kukri_rep_c110003_99	10	0.29	白芒麦 Baimangmai
SDR-7B.9	7B	BobWhite_rep_c52876_72-RAC875_c1265_1564	34	51.51	白芒麦 Baimangmai
SDR-1D.1	1D	GENE-0509_349-Ex_c15717_451	5	0.28	白芒麦 Baimangmai
SDR-2D.1	2D	RAC875_rep_c108908_72-wsnp_BG314532D-Ta_1_1	7	0.00	Taichung29
SDR-3D.1	3D	Excalibur_c11079_101-Excalibur_c57482_473	3	0.00	白芒麦 Baimangmai
SDR-3D.2	3D	Kukri_rep_c89183_256-Excalibur_c45695_153	3	0.00	Taichung29
SDR-6D.1	6D	BobWhite_c18136_441-Excalibur_c57482_473	7	0.28	白芒麦 Baimangmai

3 讨论

本研究利用 Taichung29×白芒麦的 F₈ 代重组自交系群体, 采用小麦 90 K iSelect SNP 芯片和 SSR 分子标记技术, 应用 6 969 个(包括 110 个 SSR 标记)多态性标记构建了 37 个连锁群覆盖除 4D 和 5D 染色体外的小麦 19 条染色体。其中 6 969 个 SSR 和 SNP 标记中包含 A 基因组 2 406 个、B 基因组 4 055 个和 508 个标记。数据分析发现, 来自双亲同源片段在 RIL 群体中的分离比为 1.03:1.00, 接近 1:1 的理论比例, 双亲对子代的贡献率基本平衡, 群体未出现偏分离。为遗传研究和 QTL 分析奠定了基础。

偏分离是指实际观察到的基因型比例偏离理论的孟德尔分离比的现象。偏分离在动植物遗传中广泛存在, 被认为是生物进化的动力之一。本研究分别对遗传图谱中的 110 个 SSR 标记和 6 859 个 SNPs, 标记偏分离分析发现, 1 069 个标记位点表现出偏分离, 占总标记的 15.3%。其中, 683 个标记偏向于抗病亲本即父本白芒麦, 占偏分离标记数的 63.7%; 338 个标记偏向于感病亲本 Taichung29, 占 31.6%, 偏向父本的比例明显高于偏向母本的比例。B 染色体组包含 833 个偏分离标记, 占 B 基因组中标记数的比例为 20.5%, B 染色体组中存在最多的偏分离位点, 且 B 基因组发生偏分离的频率最高。A 染色体组和 D 染色体组中的偏分离标记数远小于 B 染色体组, A 和 D 染色体组标记发生偏分离频率也低于 B 染色体组。赵朋等(2014)利用 SNP 标记在重组自交系(RIL)群体中的偏分离分析发现, 有 86.8% 的偏分离标记偏向于父本; 偏分离标记在 B 染色体组最多而在 D 染色体组最少, 与本研究结果相类似。偏分离位点在染色体上分布大多数成簇存在, 往往形成偏分离热点区域(SDR)。1 069 个偏分离标记位点形成了 74 个 SDR, 有 76.3% 的偏分离标记形成 SDR。共检测到 74 个偏分离热点区域, 分布在 3A、5A、6A、7A、1B、2B、3B、4B、5B、6B、7B、1D、2D、3D 和 6D 等 15 条染色体上。其中 2B 和 7B 染色体上分布的热点区域最多, 分别包含有 19 和 9 个。赵朋等(2014)以重组自交系(RIL)为作图群体利用小麦 9K 基因芯片对偏分离热点区域进行检测, 共检测到 33 个 SDR, 分别位于 1A、1B、2A、2B、3A、4B、5A、6A、6B、7A、7B 和 7D 染色体上, 本研究与赵朋等(2014)研究均在 3A、5A、6A、7A、1B、2B、4B、6B 和

7B 小麦染色体上检测到偏分离热点区域。贾继增(1997)对 15 个小麦品种的 21 条染色体的遗传多样性分析发现, 在 A、B、D 三个染色体组中 B 组遗传多样性最高, D 组最为保守, 遗传多样性最低。B 染色体组含有丰富的抗病抗逆基因(安梅, 2012; 张维军等, 2015)。研究发现, 引起偏分离的原因多种多样, 配子育性、杂合致死、非同源重组、基因转换、转座因子等遗传因素以及环境条件(Jelena, 2008)均能对标记位点在群体中的分布产生影响。雌雄配子体生存能力选择(viability selection)也会影响到偏分离的发生, 在水稻研究中发现偏分离区域的连锁标记常常与配子体基因和杂种不育基因连锁(Nakagahara 1972; Xu et al., 1997; Yamagishi et al., 2010); Faris et al. (1998)以 2 个 D 组山羊草杂交的 F₂ 代群体为材料进行偏分离研究分析, 检测到 7 个偏分离热点区域分布在 1D、3D、4D、5D 和 7D 染色体上, 认为导致偏分离的主要原因是雄配子体选择, 说明偏分离与配子体育性相关。成簇分布的偏分离热点区域往往由于遗传搭车效应(genetic hitchhiking effect)造成的(曾云超等, 2007)。除了遗传因素外, 环境和人为干预也可能影响偏分离。如 RIL 群体建立过程中由于抽样波动常导致偏分离的出现, RIL 构建需经过多代自然选择和人工抽样, 加大群体中发生异常偏分离的可能性; 一些株系中控制某个性状的基因位点未纯合也可能造成偏分离。一些引物扩增位点在株系中缺失较多, 也可能导致某个亲本类型缺失太多, 而可能产生偏分离(彭勇等, 2006)。

基因定位和 QTL 作图均是基于遗传图谱信息进行的, 偏分离标记对遗传图谱构建和 QTL 定位均可能产生影响。偏分离可能影响标记之间的重组率, 也可能影响标记之间顺序(Lorieux et al., 1995)。Cloutier et al. (1997)对油菜偏分离研究认为, 少量的且显著的偏分离标记会对重组率的估计偏低。李慧慧等(2010)通过统计模拟分析认为, 偏分离标记与 QTL 不连锁, 则偏分离对 QTL 不产生影响, 当偏分离标记与 QTL 紧密连锁时, 对 QTL 定位可能产生影响, 遗传距离越近影响越大。一般来说, 偏分离标记对 QTL 定位的影响取决于标记的偏分离程度、遗传群体大小、群体类型和 QTL 的效应大小, 常表现为群体越大影响越小, QTL 效应越小受影响越大。针对偏分离产生的原因和可能对 QTL 的影响, 一般采取以下措施, 重组自交系群体构建采用单粒传法以

减少不同配子和合子生活力不同产生的偏分离(王健康等,2014),允许条件下群体尽可能的大等。为减少偏分离对图谱构建的影响,在图谱构建过程中一般先构建非偏分离标记,之后将偏分离标记添加到图谱中,必要时可以参考公共图谱信息来判断图谱构建的质量,或者应用同一亲本的不同群体构建不同连锁图谱进行比较作图也可减少偏分离对图谱质量的影响。本研究一方面为克服农家品种在长期种植过程中因混杂或基因突变、重组等使其混杂退化或种性纯度降低,在构建遗传群体之前首先穗选并自交2代,以控制目标性状的基因位点未纯合可能造成的偏分离;另一方面,通过采用单粒传法以有效减少不同配子和合子生活力不同产生的偏分离。

参 考 文 献 (References)

- Allen AM, Winfield MO, BurrIDGE AJ, Downie RC, Benbow HR, Barker GL, Wilkinson PA, Coghill J, Waterfall C, Davassi A, et al. 2017. Characterization of a wheat breeders' array suitable for high-throughput SNP genotyping of global accessions of hexaploid bread wheat (*Triticum aestivum*). *Plant Biotechnology Journal*, 15(3): 390–401
- An M. 2012. Construction of molecular genetic linkage map and QTL mapping analysis of flag leaf traits associated with drought tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). Master Thesis. Lanzhou: Gansu Agricultural University (in Chinese) [安梅. 2012. 小麦分子遗传连锁图谱构建及旗叶相关抗旱性状QTL定位分析. 硕士学位论文. 兰州: 甘肃农业大学]
- Cavanagh CR, Chao S, Wang S, Huang BE, Stephen S, Kiani S, Forrest K, Saintenac C, Brownquedira GL, Akhunova A. 2013. Genome-wide comparative diversity uncovers multiple targets of selection for improvement in hexaploid wheat landraces and cultivars. *Proceedings of the National Academy of Science*, 110(20): 8057
- Ching A, Caldwell KS, Jung M, Dolan M, Smith OS, Tingey S, Morgante M, Rafalski AJ. 2002. SNP frequency, haplotype structure and linkage disequilibrium in elite maize inbred lines. *BMC Genetics*, 3(1): 1–14
- Cloutier S, Cappadocia M, Landry BS. 1997. Analysis of RFLP mapping inaccuracy in *Brassica napus* L. *Theoretical and Applied Genetics*, 95(1): 83–91
- Faris JD, Laddomada B, Gill BS. 1998. Molecular mapping of segregation distortion loci in *Aegilops tauschii*. *Genetics*, 149: 319–327
- Hoskins RA, Phan AC, Naeemuddin M, Mapa FA, Ruddy DA, Ryan JJ, Young LM, Wells T, Kopczynski C, Ellis MC. 2001. Single nucleotide polymorphism markers for genetic mapping in *Drosophila melanogaster*. *Genome Research*, 11(6): 1100–1113
- Jelena VE. 2008. An impact of environment on segregation ratio of qualitative traits in maize. *Genetika*, 40(2): 145–156
- Jia JZ. 1997. Advances in molecular markers of Wheat. *Biotechnology Bulletin*, (2): 1–5 (in Chinese) [贾继增. 1997. 小麦分子标记研究进展. *生物技术通报*, (2): 1–5]
- Konishi T, Yano Y, Abe K. 1992. Geographic distribution of alleles at the Ga2 locus for segregation distortion in barley. *Theoretical & Applied Genetics*, 85(4): 419–422
- Lander ES. 1996. The new genomics: global views of biology. *Science*, 274(5287): 536–539
- Li HH, Zhang LY, Wang JK. 2010. Analysis and answers to frequently asked questions in quantitative trait locus mapping. *Acta Agronomica Sinica*, 36(6): 918–931 (in Chinese) [李慧慧, 张鲁燕, 王健康. 2010. 数量性状基因定位研究中若干常见问题的分析与解答. *作物学报*, 36(6): 918–931]
- Liu F, Wu XL, Chen SY. 2000. Segregation distortion of molecular markers in recombinant inbred population in soybean. *Journal of Genetics and Genomics*, 27(10): 883–887 (in Chinese) [刘峰, 吴晓雷, 陈受宜. 2000. 大豆分子标记在RIL群体中的偏分离分析. *Journal of Genetics and Genomics*, 27(10): 883–887]
- Liu HY, Cui JT, Gao YM. 2009. Progress of segregation distortion. *Journal of Plant Genetic Resources*, 10(4): 613–617 (in Chinese) [刘海燕, 崔金腾, 高用明. 2009. 遗传群体偏分离研究进展. *植物遗传资源学报*, 10(4): 613–617]
- Lorieux M, Goffinet B, Perrier X, de León DG, Lanaud C. 1995. Maximum-likelihood models for mapping genetic markers showing segregation distortion. 1. backcross populations. *Theoretical and Applied Genetics*, 90(1): 73–80
- Lu H, Romero-Severson J, Bernardo R. 2002. Chromosomal regions associated with segregation distortion in maize. *Theoretical & Applied Genetics*, 105(4): 622–628
- Nakagahara M. 1972. Genetic mechanism on the distorted segregation of marker genes belonging to the eleventh linkage group in cultivated rice. *Japanese Journal of Breeding*, 22(4): 232–238
- Peng Y, Liang YS, Wang SQ, Wu FQ, Li SC, Deng QM, Li P. 2006. Analysis of segregation distortion of SSR markers in RI population of rice. *Molecular Plant Breeding*, 4(6): 786–790 (in Chinese) [彭勇, 梁永书, 王世全, 吴发强, 李双成, 邓其明, 李平. 2006. 水稻SSR标记在RI群体的偏分离分析. *分子植物育种*, 4(6): 786–790]
- Rafalski JA. 2002. Novel genetic mapping tools in plants: SNPs and LD-based approaches. *Plant Science*, 162(3): 329–333
- Rogers SO, Bendich AJ. 1985. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues. *Plant Molecular Biology*, 5(2): 69–76
- Somers DJ, Isaac P, Edwards K. 2004. A high-density microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical & Applied Genetics*, 109(6): 1105–1114
- Wang HL, Liu HX, Wang N, Zhao P, Li CL, Wang ZH. 2014. Genetic

- analysis of segregation of SNP and SSR markers in wheat RIL population from the cross Heyne×Lakin. *Journal of Triticease Crops*, 34(9): 1205–1209 (in Chinese) [王慧兰, 刘红侠, 王娜, 赵朋, 李春莲, 王中华. 2014. SNP 和 SSR 标记在小麦 Heyne×Lakin 重组自交系群体中的偏分离分析. *麦类作物学报*, 34(9): 1205–1209]
- Wang JK, Li HH, Zhang LY. 2014. Genetic mapping and breeding design. Beijing: Science Press, pp. 258–266 (in Chinese) [王建康, 李慧慧, 张鲁燕. 2014. 基因定位与育种设计. 北京: 科学出版社, pp. 258–266]
- Wang S, Wong D, Forrest K, Allen A, Chao S, Huang BE, Maccaferri M, Salvi S, Milner SG, Cattivelli L, et al. 2014. Characterization of polyploid wheat genomic diversity using a high-density 90000 single nucleotide polymorphism array. *Plant Biotechnology Journal*, 12(6): 787–796
- Xu Y, Zhu L, Xiao J, Huang N, McCouch SR. 1997. Chromosomal regions associated with segregation distortion of molecular markers in F_2 , backcross, doubled haploid, and recombinant inbred populations in rice (*Oryza sativa* L.). *Molecular & General Genetics*: Mgg, 253(5): 535
- Yamagishi M, Takeuchi Y, Tanaka I, Kono I, Murai K, Yano M. 2010. Segregation distortion in F_2 , and doubled haploid populations of temperate japonica, rice. *Journal of Genetics*, 89(2): 237–241
- Zeng YC, Li J, Yang YM, Liao J, Peng ZS, Tang YL, Yang WY. 2007. Segregation distortion in the recombinant inbred lines of Chuanyu12×Syn780 by SSR markers. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 20(2): 230–233 (in Chinese) [曾云超, 李俊, 杨玉敏, 廖杰, 彭正松, 汤永禄, 杨武云. 2007. 利用 SSR 标记分析川育 12×人工合成小麦 Syn780 重组自交系群体中的偏分离现象. *西南农业学报*, 20(2): 230–233]
- Zhang F, Wan XQ, Pan GT. 2006. Genetic analysis of segregation distortion of molecular markers in maize F_2 population. *Acta Agonomica Sinica*, 32(9): 1391–1396 (in English) [张帆, 万雪琴, 潘光堂. 2006. 玉米 F_2 群体分子标记偏分离的遗传分析. *作物学报*, 32(9): 1391–1396]
- Zhang WJ, Yuan HM, Chen DS, Wang XL, Kang L, He JS. 2015. Advances in studies on physiological and biochemical indexes and QTL for drought resistance in wheat. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 33(6): 139–148 (in Chinese) [张维军, 袁汉民, 陈东升, 王小亮, 亢玲, 何进尚. 2015. 小麦抗旱性生理生化机制及 QTL 研究进展. *干旱地区农业研究*, 33(6): 139–148]
- Zhao P, Li TT, Zhang YY, Wang N, Li CL, Wang ZH. 2014. Detection of wheat chromosome segregation distortion region using SNP markers and RIL population of Ning 7840/Clark. *Journal of Triticease Crops*, 34(11): 1453–1458 (in Chinese) [赵朋, 李婷婷, 张芸芸, 王娜, 李春莲, 王中华. 2014. 利用 SNP 标记和宁 7840×Clark 重组自交系(RIL)群体检测小麦染色体偏分离区域. *麦类作物学报*, 34(11): 1453–1458]

(责任编辑:高 峰)