

薛明云, 陈杰, 陈伟, 等. 普通小麦 Soru #1 × Naxos 群体代谢物的 QTL 定位[J]. 华中农业大学学报, 2021, 40(3): 126-132.

DOI: 10.13300/j.cnki.hnlkxb.2021.03.014

普通小麦 Soru#1 × Naxos 群体代谢物的 QTL 定位

薛明云¹, 陈杰², 陈伟², 吴纪中³, 兰彩霞¹, 李东芹²

1. 华中农业大学植物科学技术学院, 武汉 430070; 2. 华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室, 武汉 430070;

3. 江苏省农业科学院种质资源与生物技术研究所, 南京 210014

摘要 以 Soru #1 × Naxos 构建的 RIL 群体为材料, 对成熟籽粒进行代谢组学测定。结果显示: 所检测到的 478 种已知代谢物含量具有较高遗传力和不同程度的含量变异, 这些代谢物中处于同一代谢通路的结构相似的物质具有相似的含量分布规律。对这些代谢物含量数据进行 QTL 定位, 共获得 236 种代谢物对应的 385 个 mQTL 位点, 其中 5 个位点为被 5 种以上代谢物共定位的热点区域, 分别位于 5A(2 个热点区域)、5B(1 个)、6A(1 个)和 6B(1 个)染色体。这些热点中有 3 个由 Naxos 提供, 2 个由 Soru #1 提供。

关键词 小麦; 代谢组学; mRIL 群体; QTL 定位; 籽粒代谢谱; 候选基因鉴定

中图分类号 S 512.1 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2021)03-0126-07

代谢物在植物正常生长发育以及适应不同环境条件过程中扮演着不可或缺的角色^[1-2]。与此同时, 这些代谢物也是人类所需营养元素的重要组成部分^[2-4]。例如, 具有不同化学修饰类别的黄酮类物质与水稻或者拟南芥在地球不同纬度分布状况相关联^[5-6], 而人类饮食结构中的这类黄酮代谢物具有良好的抗炎等生物活性^[7-8]。由于代谢物种类数量庞大^[9-10]且变异丰富^[11], 通过结合代谢组学检测手段与不同的遗传学设计, 能够帮助我们更系统地研究代谢物在植物体内的含量变化及其可能的生物学意义。该研究思路已经成功应用于水稻、番茄和玉米等多种作物的代谢组学研究中^[12-14], 相关研究结果有助于解析代谢物与植物响应逆境^[6, 15]或者与食物口感风味^[16-17]等之间的关联。例如, 代谢组学已经成功用于解析番茄风味和果皮颜色的遗传基础和代谢机制^[14], 为番茄果色和风味育种提供了理论指导。玉米中的 mQTL 分析^[13]则有助于帮助我们全面了解玉米初生代谢物调控网络。

然而, 与其他作物相比, 这种将代谢物与数量性状位点(quantitative trait loci)相结合(mQTL)或者与全基因组关联分析(genome-wide association study)相结合(mGWAS)的方法在小麦研究中仅有少量报道。在这些研究中, 早期的 mQTL 研究由于

没有参考基因组信息, 未能提供任何候选基因^[18-19]; 随着小麦基因组测序工作的进行, 之后的小麦 mGWAS 结果能够提供可能的候选基因信息^[20], 但是未进行后续验证。目前, 在小麦中已经能够使用酶活功能验证等方式对小麦 mGWAS 位点候选基因的功能进行初步验证^[21], 还能尝试探讨这些代谢物与小麦农艺性状之间的可能关联^[22]。与水稻、玉米等作物相比, 小麦代谢组学相关研究, 尤其是将代谢组学测定方法与遗传学设计相结合的研究方式现在还处于起步阶段, 需要进一步研究, 一方面促进对控制小麦不同代谢物的潜在遗传基础的了解, 另一方面则有助于揭示复杂农艺性状背后的分子机制, 从而为小麦遗传改良提供理论基础和分子资源。

本研究使用由双亲 Soru #1 和 Naxos 构建的重组自交系(RIL)群体材料。由于双亲的抗性差异, 前人已利用该 RIL 群体进行了小麦赤霉病和条锈病等的 QTL 定位研究, 获得了潜在抗性数量性状位点^[23-24]。然而, 目前还没有针对该群体代谢组学的研究报道。通过对其进行代谢组学检测, 能够了解群体中不同材料的籽粒代谢谱。与此同时, 结合代谢谱信息和对应材料基因型信息进行 mQTL 定位, 能够获得可能调控不同代谢物含量的数量性

收稿日期: 2020-11-16

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项(2662019PY008); 国家自然科学基金青年科学基金项目(32001541)

薛明云, E-mail: 616079434@qq.com

通信作者: 李东芹, E-mail: ldq@mail.hzau.edu.cn

状位点,为候选基因克隆和功能验证等后续研究提供基础数据。另外,还可以将代谢物 QTL 和抗病 QTL 信息进行联合分析,挖掘可能同时影响特定代谢物含量与病害抗性的位点,从而为小麦抗病育种研究提供新的视角。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究使用由 Soru # 1 和 Naxos 杂交所形成的含有 119 个株系的 $F_2:9$ 代 RIL 群体,其中 Soru # 1 为国际玉米小麦改良中心(CIMMYT)育种的 1 个六倍体人工小麦品系^[23],系谱为 SABUF/5/BCN/4/RABI//GS/CRA/3/AE.SQUARROSA (190)。Naxos 为德国小麦品种,系谱为 Tordo/St.Mir808-Bastion//Miranet。该群体成熟籽粒由江苏省农业科学院吴纪中研究员团队提供。对大田收获的成熟籽粒随机取 5 粒进行研磨,即为 1 个生物学重复。

1.2 代谢物提取与检测

晒干后的种子使用植物组织研磨仪(Qiagen, Germany)于 29 Hz 研磨 1 min 后,按照 1 000 μ L/0.1 g 粉末的比例加入 70% 甲醇用于提取小麦籽粒代谢物。代谢物提取过程在冰上进行,提取液(70% 甲醇,预先加入阿昔洛韦至终质量浓度 0.1 mg/L 作为内标)与粉末充分混合后,每 10 min 涡旋混匀 1 次,涡旋 3 次后将混合溶液于 4 °C 过夜浸提,于 10 000 r/min 离心 5 min 后,取上清经 0.22 μ m 孔径滤膜(上海安谱)过滤后,即为代谢物样品。代谢物检测按照参考文献^[25]方法使用 LC-ESI-MS/MS 系统进行。对于检测到的代谢物信号,使用步进多反应监测(sMRM)对每种代谢物在不同小麦籽粒样品中的相对含量进行定量检测^[26]。每个

sMRM 检测窗口为 90 s,检测时长 1 s,使用 Analyst 1.5 软件进行数据分析。由于代谢物在不同生物学样品之间的含量变异远远大于技术重复之间的变异^[21],本次代谢物检测未进行技术重复。

1.3 统计分析

广义遗传力 $H^2 = V_G / (V_G + V_E)$,其中 V_G 和 V_E 分别为基因型变异和环境变异^[27]。使用 IciMapping 软件利用群体基因型数据^[23]构建遗传图谱,结合代谢组数据进行 mQTL 定位并计算每个位点的加性效应值。取 LOD 值大于 2.5 的位点为显著 mQTL 位点。热图使用 R 软件包绘制,网络图使用 Cytoscape 软件获得。

2 结果与分析

2.1 群体代谢谱检测结果

在群体样品中共检测到 478 种已知代谢物,其中 154 种物质通过与标准品比对鉴定得到。所检测到的物质主要包含氨基酸及其衍生物(Ami, 50 种)、黄酮类物质(Fla, 72 种)、脂质(Lip, 44 种)、核苷酸及其衍生物(Nuc, 32 种)、有机酸(Org, 12 种)、酚胺(Phe, 29 种)、植物激素及其衍生物(Phy, 73 种)、多酚(Pol, 43 种)、糖类(Sug, 16 种)、维生素及其衍生物(Vit, 24 种)以及其他代谢物(Oth, 83 种),见图 1A。这些代谢物中广义遗传力介于 0.4~0.9 范围内的代谢物数量占比 88.28%(图 1B)。同时,有 349 种代谢物含量的变异系数为 0.2~0.9,且有 114 种代谢物含量的变异系数大于 0.9(图 1C)。对这些代谢物含量分布规律分析显示,结构或者类别相似的部分代谢物被聚类在一起(图 2A),例如包含吡啶环结构的一些代谢物在群体材料中具有类似的分布规律(图 2B)。

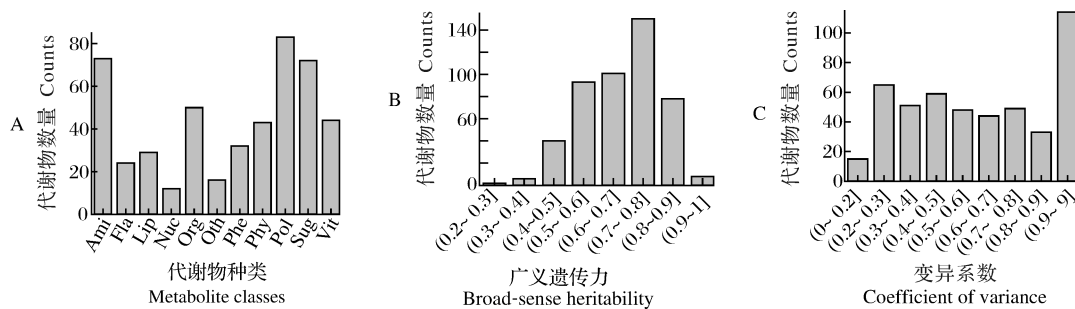
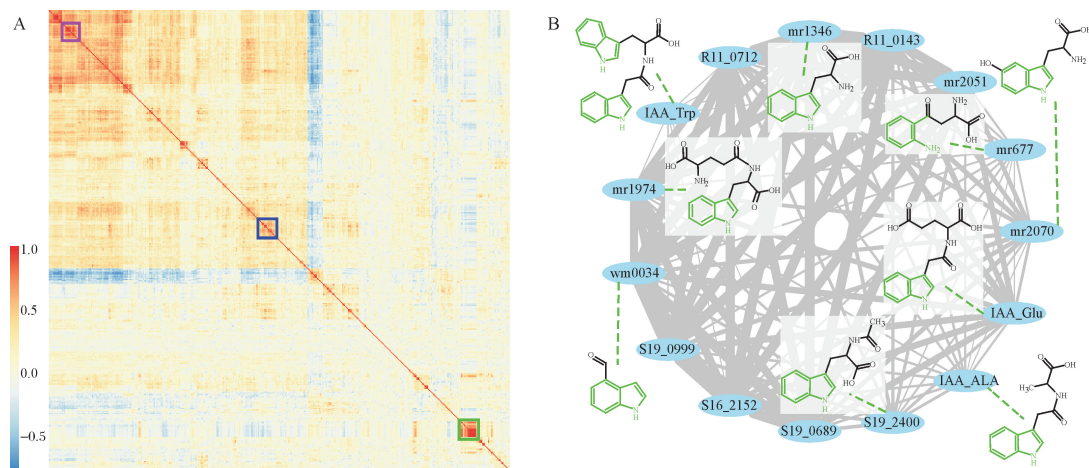


图1 代谢谱测定结果中代谢物种类(A)、广义遗传力(B)以及变异系数(C)分布信息

Fig.1 Distribution of metabolite classes (A), broad-sense heritability (B) and coefficient of variance (C) for each metabolite detected in the current study



A: 所有代谢物在小麦籽粒中分布规律的相关性热图, 其中紫色、蓝色和绿色矩形方框标识所对应的代谢物具有相似分布规律, 绿色方框内代谢物详情见图 B; B: 图 A 中绿色矩形方框对应的代谢物信息, 这些代谢物之间分布规律的相关系数用灰色连线表示, 连线越粗对应相关系数越高。这些高相关性代谢物中包含 9 种具有吲哚环结构(该结构骨架用绿色标识)的代谢物。A: Heatmap of correlation values regarding the similarities of metabolites distributed in wheat samples, within which the metabolites included in the colored (i.e., purple, blue and green) rectangles have similar distribution patterns. The more detailed information of metabolites involved in the green rectangle are shown in Fig. 1B; B: Detailed information of metabolites included in the green rectangle of Fig. 1A. The Pearson correlation values are indicated by the grey lines, where higher correlation values correspond to thicker lines. The indole skeletons were commonly found in nine of the metabolites, and the skeletons are indicated by green.

图 2 所测定的 478 种代谢物在 119 份小麦材料籽粒中的分布规律

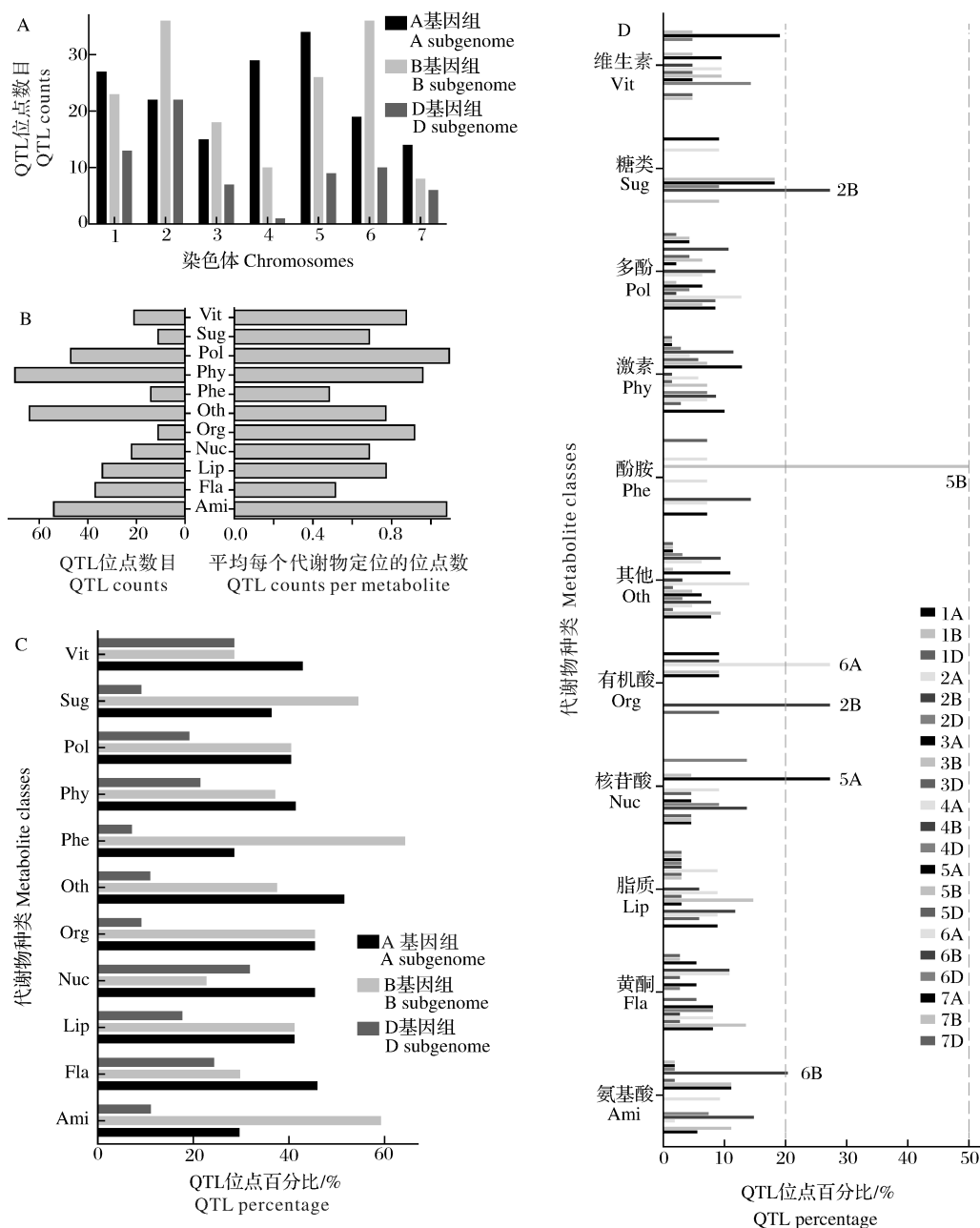
Fig.2 The distribution pattern of 478 metabolites in 119 wheat kernels

2.2 代谢物数量性状位点(mQTL)定位与分析

利用 IciMapping 软件对 RIL 群体的 SNP 基因型所构建的遗传连锁图谱^[24]和代谢物测定结果进行 QTL 分析, 对 236 个代谢物共定位到 385 个 mQTL 位点($\text{LOD} > 2.5$)。这些位点分布于小麦 21 条染色体上, 其中 2B 和 6B 染色体定位到的 mQTL 位点最多, 均为 36 个(图 3A)。分析不同类别代谢物的定位结果数量, 发现植物激素类物质(Phy)定位到的 QTL 位点数量更多, 共有 70 个 mQTL 位点(图 3B)。另外, 不同类别的代谢物的平均定位位点数差异不大, 而黄酮类(Fla)和酚胺类(Phe)代谢物最低, 平均近 2 个代谢物才能定位到 1 个位点(图 3B)。和其余类别代谢物相比, 本研究中所检测到的大量黄酮类(Fla)和酚胺类(Phe)代谢物均没有定位到有效的 QTL 位点。除了 2A 和 2D 染色体的 mQTL 数量相等(图 3A), mQTL 数目在小麦 3 个亚基因组的分布整体呈现 D 基因组上 mQTL 数量更少的染色体偏好性。对于维生素类代谢物, 在 B 基因组和 D 基因组所定位 mQTL 数量相等, 而核苷酸类物质在 D 基因组上的位点数甚

至超过 B 基因组(图 3C)。此外, 各类代谢物均呈现 D 基因组定位结果更少的染色体偏好性(图 3C)。具体到每条染色体, 有 5 类代谢物(氨基酸、核苷酸、有机酸、酚胺和糖类)在单条染色体 mQTL 数占该类物质所有位点数的 20% 以上(图 3D), 其中酚胺类物质接近 50% 的 mQTL 位点均位于 5B 染色体(图 3D)。对定位到的所有 mQTL 位点进行汇总, 发现共有 5 个位点为 mQTL 热点区域, 这些位点均有不少于 5 个代谢物的定位结果(图 4)。在这些热点区域中, 共定位代谢物最多的位点为 6B 染色体短臂末端的 0.0 ~ 0.5 cM 区段(标记为 RAC875_c1305_120 和 RAC875_c44002_81), 共有 22 个代谢物共定位于该区段范围内。另外, 位于 5A 染色体的热点 2(BS00075308_51 和 Td_c94007_225)被 5 种核苷酸类物质共定位(图 4); 热点 1(wExc15046_23216392 和 IAAV4072)被 16 种代谢物共定位, 其中 1 个氨基酸类物质(S19_2400, N-Acetyl-tryptophan)的 LOD 值为 20.9(图 4A)。同时, 该定位热点共包含 5 个含有吲哚环结构的色氨酸类似物(S19_

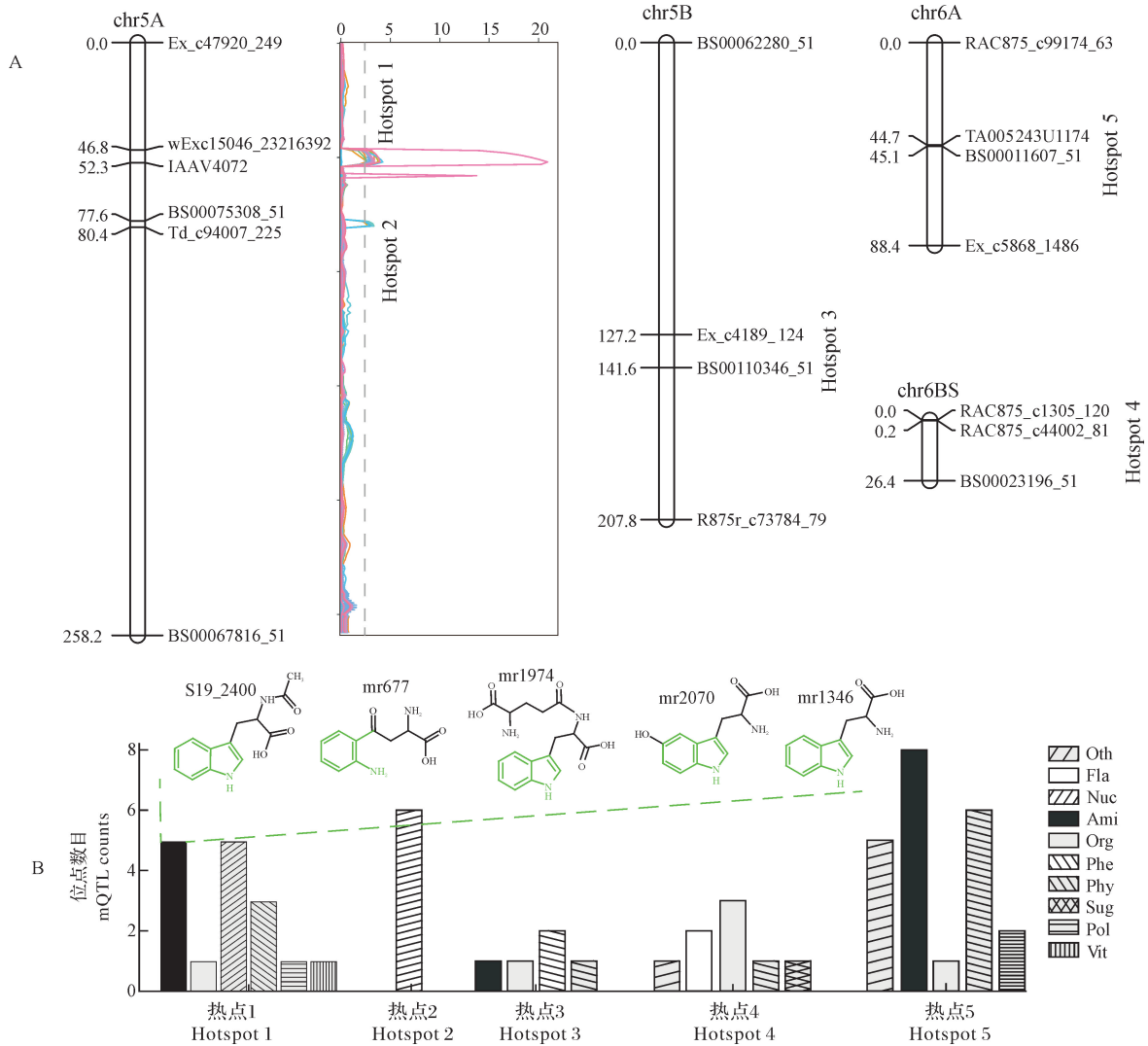
2400、mr677、mr1346、mr1974 和 mr2070, 图 4B), 这些物质在该小麦群体中具有相似的含量 (热点 1、3、4) 来源于亲本 Naxos, 2 个热点 (热点 2、5) 则来源于 Soru #1。



A: mQTL 在不同染色体上的数量分布; B: 不同类别代谢物所定位 mQTL 数量信息; C: 不同类别代谢物在不同亚基因组上的 mQTL 分布; D: 不同类别代谢物在 21 条小麦染色体上的 mQTL 分布。A: Distribution of mQTL on different chromosomes; B: mQTL numbers from each metabolite category; C: Distribution of mQTL on the three sub-genomes; D: Distribution of mQTL on the 21 wheat chromosomes.

图 3 代谢物所定位的 mQTL 分布类型统计

Fig.3 Statistics on the mQTL distributions



5 个 mQTL 热点分布在 4 个连锁群上(A),每个热点均定位到不同类别的代谢物类型(B)。热点 1 中所定位到的氨基酸类物质为 5 种色氨酸类似物(B),其中 1 种物质(S19_2400)定位的 LOD 值为 20.9(A)。The five mQTL hotspots are distributed on four linkage groups (A),numerous metabolites classified into different categories were co-mapped on each of the hotspots (B). The amino acid derivatives mapped in hotspot 1 were five tryptophan-decorative metabolites (B),in which one (S19_2400) was mapped with LOD value of 20.9 (A).

图 4 mQTL 热点统计

Fig.4 Statistics on the mQTL hotspots

3 讨论

本研究通过对 Soru #1 与 Naxos 构建的高代 RIL 群体进行代谢组测定和定位,成功获得了大量的 mQTL 位点,这些信息将为未来解析该群体中代谢组差异的分子机制提供参考。同时,由于 2 个亲本在多种病虫害抗性上存在显著差异^[23-24],相关定位结果还能与抗性定位结果进行联合分析,以便挖掘小麦抗病与代谢物之间可能存在的关联。本研究通过分析代谢谱,发现处于相同通路、结构类似的代谢物可能具有相似的含量分布规律(图 2),该结果

与小麦中已有报道^[21]类似,相关结果有助于代谢物候选基因鉴定和通路解析。通过统计 mQTL 结果,发现代谢物定位结果的染色体偏好性(图 3),这种偏好性有可能是由于小麦 D 基因组遗传多样性相对于 A 或者 B 基因组更低^[28]所导致的。所获得的定位结果中还包含 5 个可能控制多种代谢物含量的热点区域(图 4),在这些热点区域内可能存在同时控制多个代谢物含量的候选基因^[25,29]。例如,位于 5A 染色体的热点 2 仅被 6 种核苷酸类物质共同定位(图 4),该区域内可能包含影响多种核苷酸代谢物的候选基因;与此同时,5A 染色体的热点 1 不仅

对于代谢物 S19_2400 有较大 LOD 值,还被另外 4 种包含吡啶环结构的代谢物共同定位。由于这些代谢物结构类似(图 1B)且处于色氨酸代谢途径,该染色区段可能存在候选基因,主要通过控制代谢物 S19_2400 的合成或者分解,影响多种与之结构相关、处于相同代谢通路的色氨酸类物质的相对含量。通过分析所获得 5 个 mQTL 热点的加性效应来源,发现 2 个亲本对其中不同热点均有贡献,表明合理利用不同亲本组合有助于更好地进行小麦代谢组学研究,以及针对这些热点区域的进一步研究有助于候选基因鉴定和解析该群体代谢组差异。

参考文献 References

- [1] SCHWAB W. Metabolome diversity: too few genes, too many metabolites[J]. *Phytochemistry*, 2003, 62: 837-849.
- [2] SAITO K, MATSUDA F. Metabolomics for functional genomics, systems biology, and biotechnology[J]. *Annual review of plant biology*, 2010, 61: 463-489.
- [3] KEURENTJES J J B. Genetical metabolomics: closing in on phenotypes[J]. *Current opinion in plant biology*, 2009, 12: 223-230.
- [4] DE LUCA V, SALIM V, ATSUMI S M, et al. Mining the biodiversity of plants: a revolution in the making[J]. *Science*, 2012, 336: 1658-1661.
- [5] TOHGE T, WENDENBURG R, ISHIHARA H, et al. Characterization of a recently evolved flavonol-phenylacyltransferase gene provides signatures of natural light selection in *Brassicaceae*[J/OL]. *Nature communications*, 2016, 7: 12399 [2020-11-16]. <https://www.nature.com/articles/ncomms12399>. DOI: 10.1038/ncomms12399.
- [6] PENG M, SHAHZAD R, GUL A, et al. Differentially evolved glucosyltransferases determine natural variation of rice flavone accumulation and UV-tolerance[J/OL]. *Nature communications*, 2017, 8: 1975 [2020-11-16]. <https://www.nature.com/articles/s41467-017-02168-x>. DOI: 10.1038/s41467-017-02168-x.
- [7] ZHOU J M, IBRAHIM R K. Tricin: a potential multifunctional nutraceutical[J]. *Phytochemistry reviews*, 2010, 9: 413-424.
- [8] MARTIN C, LI J. Medicine is not health care, food is health care: plant metabolic engineering, diet and human health[J]. *New phytologist*, 2017, 216: 699-719.
- [9] DIXON R A, STRACK D. Phytochemistry meets genome analysis, and beyond……[J]. *Phytochemistry*, 2003, 62: 815-816.
- [10] 施要强, 张海朋, 刘翠华, 等. 不同发育时期莽山野柑果皮中挥发性物质代谢谱的变化[J]. *华中农业大学学报*, 2020, 39(1): 34-43.
- [11] SHI Y Q, ZHANG H P, LIU C H, et al. Changes of volatile profile in Mangshanyegan fruit peels at different development stages[J]. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2020, 39(1): 34-43 (in Chinese with English abstract).
- [12] MOROHASHI K, CASAS M I, FERREYRA L F, et al. A genome-wide regulatory framework identifies maize pericarp color1 controlled genes[J]. *The plant cell*, 2012, 24: 2745-2764.
- [13] CHEN J, WANG J, CHEN W, et al. Metabolome analysis of multi-connected biparental chromosome segment substitution line populations[J]. *Plant physiology*, 2018, 178: 612-625.
- [14] WEN W, LI K, ALSEEKH S, et al. Genetic determinants of the network of primary metabolism and their relationships to plant performance in a maize recombinant inbred line population[J]. *The plant cell*, 2015, 27: 1839-1856.
- [15] ZHU G, WANG S, HUANG Z, et al. Rewiring of the fruit metabolome in tomato breeding[J]. *Cell*, 2018, 172: 249-261.
- [16] GLAUSER G, MARTI G, VILLARD N, et al. Induction and detoxification of maize 1,4-benzoxazin-3-ones by insect herbivores[J]. *Plant journal*, 2011, 68: 901-911.
- [17] TIEMAN D, ZHU G, RESENDE M F R, et al. A chemical genetic roadmap to improved tomato flavor[J]. *Science*, 2017, 355: 391-394.
- [18] SHARMA M, SANDHIR R, SINGH A, et al. Comparative analysis of phenolic compound characterization and their biosynthesis genes between two diverse bread wheat (*Triticum aestivum*) varieties differing for chapatti (unleavened flat bread) quality[J/OL]. *Frontiers in plant science*, 2016, 7: 1870 [2020-11-16]. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2016.01870/full>. DOI: 10.3389/fpls.2016.01870.
- [19] HILL C B, TAYLOR J D, EDWARDS J, et al. Whole-genome mapping of agronomic and metabolic traits to identify novel quantitative trait loci in bread wheat grown in a water-limited environment[J]. *Plant physiology*, 2013, 162: 1266-1281.
- [20] HILL C B, TAYLOR J D, EDWARDS J, et al. Detection of QTL for metabolic and agronomic traits in wheat with adjustments for variation at genetic loci that affect plant phenology[J]. *Plant science*, 2015, 233: 143-154.
- [21] MATROS A, LIU G, HARTMANN A, et al. Genome-metabolite associations revealed low heritability, high genetic complexity, and causal relations for leaf metabolites in winter wheat (*Triticum aestivum*) [J]. *Journal of experimental botany*, 2017, 68: 415-428.
- [22] CHEN J, HU X, SHI T, et al. Metabolite-based genome-wide association study enables dissection of the flavonoid decoration pathway of wheat kernels[J]. *Plant biotechnology journal*, 2020, 18: 1722-1735.
- [23] SHI T, ZHU A, JIA J, et al. Metabolomics analysis and metabolite-agronomic trait associations using kernels of wheat (*Triticum aestivum*) recombinant inbred lines[J]. *Plant journal*, 2020, 103: 279-292.
- [24] HE X, LILLEMO M, SHI J, et al. QTL characterization of fu-

- sarium head blight resistance in CIMMYT bread wheat line Soru # 1[J/OL]. PLoS One, 2016, 11: e0158052 [2020-11-16]. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0158052>. DOI: 10.1371/journal.pone.0158052.
- [24] ZHANG R, SINGH R P, LILLEMO M, et al. Two main stripe rust resistance genes identified in synthetic-derived wheat line Soru # 1[J]. Phytopathology, 2019, 109: 120-126.
- [25] CHEN W, GONG L, GUO Z, et al. A novel integrated method for large-scale detection, identification, and quantification of widely targeted metabolites: application in the study of rice metabolomics[J]. Molecular plant, 2013, 6: 1769-1780.
- [26] CHEN W, GAO Y, XIE W, et al. Genome-wide association analyses provide genetic and biochemical insights into natural variation in rice metabolism[J]. Nature genetics, 2014, 46: 714-721.
- [27] VISSCHER P M, HILL W G, WRAY N R. Heritability in the genomics era-concepts and misconceptions[J]. Nature reviews genetics, 2008, 9: 255-266.
- [28] ZHOU Y, ZHAO X, LI Y, et al. *Triticum* population sequencing provides insights into wheat adaptation[J]. Nature genetics, 2020, 52: 1412-1422.
- [29] GONG L, CHEN W, GAO Y, et al. Genetic analysis of the metabolome exemplified using a rice population[J]. PNAS, 2013, 110: 20320-20325.

Mapping the QTLs of metabolites in RIL population of common wheat Soru # 1 × Naxos

XUE Mingyun¹, CHEN Jie², CHEN Wei², WU Jizhong³, LAN Caixia¹, LI Dongqin²

1. College of Plant Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;

2. Key Laboratory of Crop Genetics and Improvement, Wuhan 430070, China;

3. Institute of Germplasm Resources and Biotechnology, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China

Abstract The contents of metabolites in the mature kernels of each line from the RIL population constructed by crossing the common wheat Soru # 1 with Naxos were determined. The results showed that the contents of 478 known metabolites detected had high broad-sense heritability and varying degrees of content variation. Among these metabolites, the structurally similar metabolite involved in the same metabolic pathway had the similar rule of content distribution. The QTL mapping of contents of metabolites detected resulted in a total of 385 mQTL loci corresponding to 236 metabolites. Five of them are hotspots co-mapped by more than five metabolites, located on the chromosome 5A with 2 hotspots, 5B with 1 hotspot, 6A with 1 hotspot, and 6B with 1 hotspot, respectively. Three of these hotspots are from Naxos and two are from Soru # 1.

Keywords wheat; metabolomics; RIL population; QTL mapping; kernel metabolic spectrum; candidate genes identification

(责任编辑:张志钰)