

# 利用高代回交重组自交系群体定位玉米部分农艺性状的 QTL

李文振 冯晓敏 严金波 韩超逸 宋辉 岳兵

华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室, 武汉 430070

**摘要** 以 141 份玉米高代回交重组自交系群体(RIL)及受体亲本黄早四于 2011 年在黄冈市农业科学院试验基地、2011 和 2012 年在武汉市华中农业大学校内试验基地进行田间试验,对穗长、穗粗、株高、穗位高、吐丝期、散粉期、雄穗分枝数等 7 个农艺性状进行 QTL 分析。结果表明:7 个农艺性状共检测到 18 个主效 QTL,单个 QTL 的贡献为 9.79%~37.35%,其中 4 个 QTL 在多个环境下同时检测到,5 个 QTL 与前人的报道结果一致。

**关键词** 玉米;农艺性状;QTL

**中图分类号** S 513 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2015)04-0008-05

玉米是重要的经济作物,也是遗传学研究中的重要模式植物。株高、生育期等农艺性状与玉米的产量和适应性有关。例如,穗长、穗粗与玉米的穗部产量直接相关,穗位高与玉米的抗倒伏性密切相关,而生育期与适应性有关,这些农艺性状可作为产量和适应性的间接指标加以利用。因此,研究这些性状的遗传规律,对于提高玉米的稳产性和适应性具有重要的意义。

截至目前,对于玉米产量和产量相关性状,国内外已有了较为深入的研究,定位了大量的 QTL 位点<sup>[1-2]</sup>。对于株高、穗位高、吐丝/散粉期等农艺性状在玉米<sup>[3-5]</sup>、水稻<sup>[6]</sup>和番茄<sup>[7]</sup>中也有一些报道,但直接应用于作物尤其是玉米遗传改良上的 QTL 位点不是很多,因而进一步发掘和鉴定控制这些性状的 QTL,对于实现这些性状 QTL 的图位克隆以及遗传改良应用具有一定的理论意义和应用价值。

在玉米上一一般利用 F<sub>2,3</sub>、RIL 等群体对农艺性状进行定位分析,而利用高代回交 RIL 群体进行基因定位还未见报道。高代回交 RIL 群体与一般的 RIL 群体相比,由于经过多次回交,各系之间的遗传差异相对较少,QTL 之间的互作少,因此,检测 QTL 的位置和效应更为准确,并且也容易检测到新的位点。本研究以玉米骨干自交系黄早四和热带材

料 CML343 构建的高代回交 RIL 群体为材料,对穗长、穗粗、株高、穗位高、吐丝/散粉期、雄穗分枝数 7 个农艺性状进行 QTL 位点分析,并与前人的报道进行比较,以进一步验证前人的结果并发掘控制这些性状新的 QTL 位点。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

利用我国玉米骨干自交系之一黄早四作为受体亲本,从国际玉米小麦研究中心引进的材料 CML343 为供体亲本,经杂交、2 代回交以及 6~7 代连续自交构建得到 141 份高代回交重组自交系群体(RIL),该群体及受体亲本为本研究的试验材料。

### 1.2 田间试验与表型考察

141 份高代回交重组自交系群体及受体亲本黄早四于 2011 年在黄冈市农业科学院试验基地(2011HG)、2011(2011WH)和 2012(2012WH)年在武汉市华中农业大学校内试验基地进行田间试验。采用完全随机区组设计,2 次重复,单行区,行长 2.5 m,行距 60 cm,株距 25 cm,每行 10 株,常规大田管理。散粉期、吐丝期以小区 50%的植株散粉、吐丝为标准,每 2 d 记载 1 次,并换算为从播种到散粉/吐丝的天数,d;收获前在小区中选择生长正常的

收稿日期:2014-06-17

基金项目:国家自然科学基金项目(J1103510)

李文振,硕士研究生,研究方向:玉米分子遗传学. E-mail: wenzhenli1789@yeah.net

通信作者:岳兵,博士,副教授,研究方向:玉米分子遗传学. E-mail: yuebing@mail.hzau.edu.cn

连续5个单株测量株高、穗位高、雄穗分枝数;成熟后各小区收获5个果穗考察穗长和穗粗。

### 1.3 DNA提取及分子标记检测

在苗期进行田间取样,采用CTAB法提取玉米叶片DNA,将DNA质量浓度调至10~50 ng/ $\mu$ L。

从MaizeGDB(<http://www.maizegdb.org>)公布的IBM2 2008 Neighbors图谱上挑选出能均匀覆盖玉米全基因组的201对具有多态性的SSR标记对群体进行基因型分析。

10  $\mu$ L PCR体系为:10  $\times$  Buffer 1  $\mu$ L, 25 mmol/ $\mu$ L MgCl<sub>2</sub> 0.75  $\mu$ L, 10 mmol/L dNTP 0.25  $\mu$ L, 5 pmol/ $\mu$ L SSR引物 1.2  $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O 3.74  $\mu$ L, 20 ng/ $\mu$ L DNA 3  $\mu$ L, Taq pol 0.12  $\mu$ L(扩增前加入10  $\mu$ L矿物油)。在PTC-100(MJ Research, INC Massachusetts) PCR仪上进行扩增,扩增程序为:94  $^{\circ}$ C 5 min; 94  $^{\circ}$ C 45 s, 58  $^{\circ}$ C 45 s, 72  $^{\circ}$ C 45 s, 32个循环; 72  $^{\circ}$ C 5 min。扩增产物用6%聚丙烯酰胺凝胶电泳进行电泳,银染显色。

### 1.4 数据分析

采用Microsoft Excel 2010与SPSS 19.0对各性状进行统计分析及相关性分析;采用DPS统计软件对各性状做两因素方差分析。利用Windows QTL IciMapping v3.2软件(<http://www.isbreeding.net>),采用完备区间作图法(inclusive composite interval mapping)对RIL群体的7个农艺性状进行QTL分析(1 000次permutation确定LOD阈值)。

## 2 结果与分析

### 2.1 各农艺性状的表现

亲本黄早四及群体各性状的表现见表1。亲本黄早四在黄冈试验点出苗不佳,没有纳入分析。武汉试验点2012年各性状均低于2011年的结果,这与2012年武汉试验点后期遭遇轻度干旱有关。

RIL群体中各性状表型值有较大的变异范围,均符合或接近正态分布(表1),说明这些农艺性状由多基因控制。

方差分析表明,所有性状在基因型间均具有极显著差异( $P < 0.001$ ),而环境间的差异均不显著;基因型 $\times$ 环境互作性状中除吐丝期( $P = 0.003$ )和散粉期( $P = 0.005$ )外,其余性状均未检测到显著互作。

### 2.2 相关性分析

穗位高和株高、吐丝期与散粉期之间存在极显

表1 RIL群体及亲本黄早四农艺性状的田间表现<sup>1)</sup>

Table 1 Performance of the seven agronomical traits in the RIL population and Huangzao 4

性状 Traits	黄早四 Huangzao 4		RIL 群体 RIL population			
	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD	Range	Skew	Kurt	
PH/cm		170.8 $\pm$ 17.7	127.0~212.5	-0.18	-0.06	
	172.3 $\pm$ 0.4	172.8 $\pm$ 15.9	136.8~212.8	-0.09	-0.42	
	164.8 $\pm$ 4.0	176.8 $\pm$ 16.9	130.6~221.1	-0.09	-0.01	
EH/cm		69.7 $\pm$ 13.5	37.5~117.5	0.41	0.89	
	66.5 $\pm$ 0.4	67.7 $\pm$ 11.7	45.4~106.8	0.35	-0.14	
	62.1 $\pm$ 3.6	65.2 $\pm$ 11.7	37.5~104.5	0.20	0.23	
PD/d		81.7 $\pm$ 2.9	73.0~89.0	0.20	0.31	
	85.0 $\pm$ 0.0	82.5 $\pm$ 4.6	72.0~96.0	-0.09	-0.47	
	76.5 $\pm$ 0.7	81.3 $\pm$ 3.1	75.0~89.0	0.26	-0.48	
SD/d		82.0 $\pm$ 3.3	73.0~91.0	0.40	0.48	
	85.5 $\pm$ 0.7	83.1 $\pm$ 4.9	72.0~96.0	-0.01	-0.03	
	76.0 $\pm$ 0.0	81.5 $\pm$ 3.2	75.0~89.0	0.26	-0.36	
TBN		11.0 $\pm$ 4.1	5.0~23.3	0.90	0.14	
	11.7 $\pm$ 0.7	11.4 $\pm$ 3.7	3.5~21.6	0.53	-0.18	
	9.9 $\pm$ 0.4	9.3 $\pm$ 3.1	2.9~18.0	0.47	-0.15	
ED/cm		3.9 $\pm$ 0.4	2.9~4.9	0.00	0.54	
	4.0 $\pm$ 0.2	3.5 $\pm$ 0.3	2.6~4.7	0.47	1.42	
	3.7 $\pm$ 0.0	3.4 $\pm$ 0.3	1.8~4.4	-0.93	4.96	
EL/cm		12.3 $\pm$ 1.8	7.5~18.9	0.54	2.00	
	12.6 $\pm$ 0.0	11.0 $\pm$ 1.6	6.8~15.0	0.02	0.44	
	10.5 $\pm$ 0.2	11.8 $\pm$ 1.6	7.0~15.3	-0.36	0.34	

1) 3行的数据分别为2011年黄冈、2011年武汉和2012年武汉的结果,表内空白代表数据缺失。Data in the first, second and third row was collected from Huanggang in 2011, Wuhan in 2011, and Wuhan in 2012, respectively. The blanks in the table represent missing data. PH:株高 Plant height; EH:穗位高 Ear height; PD:散粉期 Date to pollen shedding; SD:吐丝期 Date to silk; TBN:雄穗分枝数 Tassel branch number; ED:穗粗 Ear diameter; EL:穗长 Ear length.

著的正相关关系,前者相关系数为0.77~0.89,而后者相关系数达到0.92~0.97。其他性状之间没有显著相关或者相关程度不高( $-0.14 < r < 0.20$ )。此外,同一性状在不同年份、不同地点间的相关分析表明所有的性状年份间和地点间存在显著的正相关( $0.21 < r < 0.81$ ),但ED、PD、SD年份和地点间的相关性相对较弱( $r < 0.38$ )(表2)。

### 2.3 QTL分析

采用完备区间作图法对RIL群体的7个农艺性状进行QTL分析,共检测到18个主效QTL,单个QTL解释的表型变异为9.79%~37.35%。穗长QTL检测到4个、穗粗QTL检测到2个,其中穗长QTL *qEL2*在武汉、黄冈重复检测到;2个穗粗QTL中的1个QTL位点由来自供体亲本CML343的等位基因起增效作用,而4个穗长QTL中的3个由受体

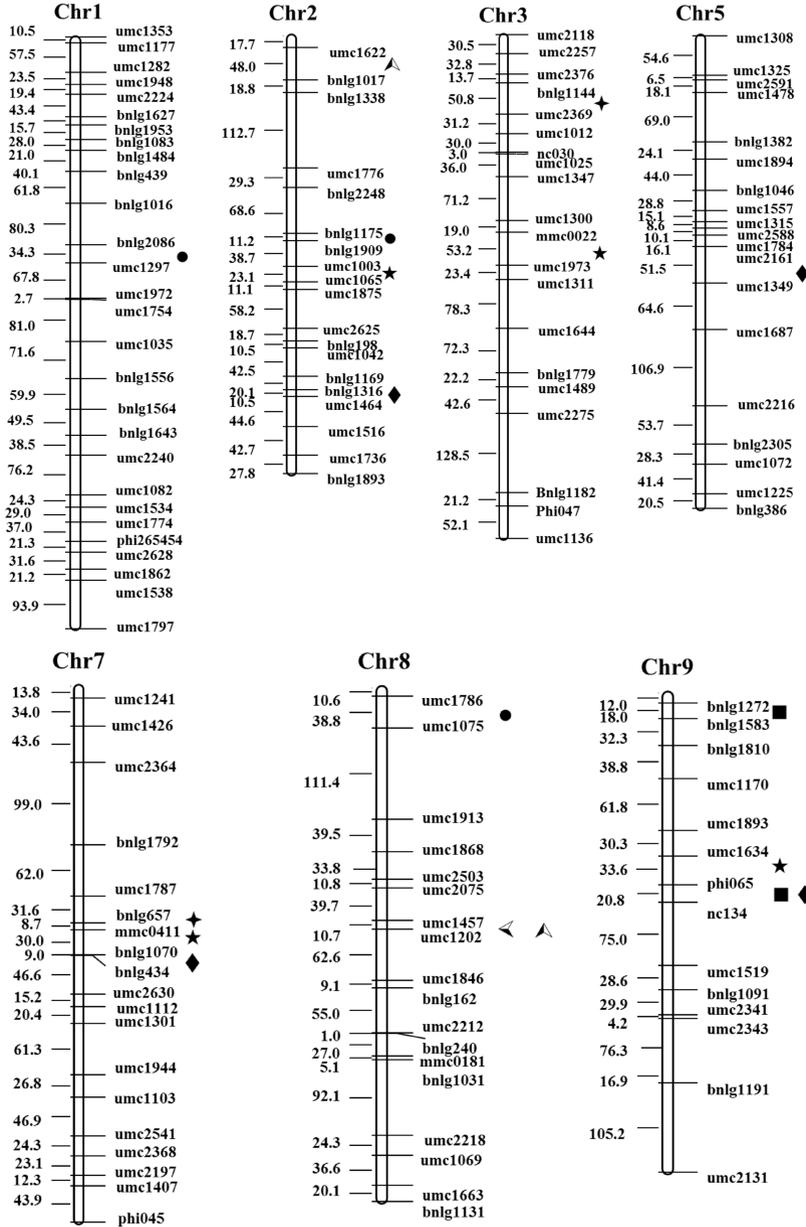
亲本黄早四的等位基因起增效作用(图 1、表 3)。另 的同一标记区间,但起增效作用的等位基因却来自不  
外,穗粗 QTL *qED9-2* 与穗长 QTL *qEL9* 位于 chr9 同亲本,这与二者相关性不显著的结果一致。

表 2 同一性状不同地点、年份间的相关系数<sup>1)</sup>

Table 2 Correlation coefficients of the traits under different locations or years

	穗粗 ED	穗长 EL	穗位高 EH	株高 PH	雄穗分枝数 TBN	散粉期 PD	吐丝期 SD
地点 Locations	0.21 *	0.47 **	0.73 **	0.77 **	0.81 **	0.33 **	0.32 **
年份 Years	0.21 *	0.67 **	0.65 **	0.67 **	0.66 **	0.37 **	0.38 **

1) \*\* 表示在 0.01 水平上显著相关; \* 表示 0.05 水平上显著相关。 \*\* and \* represent that the coefficient significant at the level of  $P < 0.01$  or  $P < 0.05$ , respectively.



穗长 Ear length; ■穗粗 Ear diameter; ●雄穗分枝数 Tassel branch number; ○穗位高 Ear height; △株高 Plant height; △吐丝期 Date to silk; ★散粉期 Date to pollen shedding.

图 1 农艺性状 QTL 在玉米连锁图上的分布

Fig.1 Distribution of quantitative trait locus (QTL) for the seven agronomical traits on the maize linkage map (IBM2008 Neighbors)

控制株高的 QTL 共检测到 2 个,其中 1 个 QTL 在两地重复检测到,增效等位基因来自黄早四。穗位高检测到 4 个 QTL,位于 chr3 上的 *qEH3* 在 3 个环境中均检测到,来自供体亲本 CML343 的等位基因起增效作用。此外,控制株高的 *qPH7* 与控制玉米穗位高的 *qEH7* 毗邻,说明 *mmc0411* 位点附近区域对玉米的株高及穗位高均有重要作用(图 1、表 3)。

散粉期检测到 1 个 QTL,吐丝期检测到 2 个 QTL,其中控制散粉期的 *qPD8* 与控制吐丝期的 *qSD8* 处于同一标记区间 *umc1457~umc1202*,来自黄早四的等位基因同时缩短吐丝和散粉期(图 1、表 3)。

雄穗分枝数共检测到 3 个 QTL,其中有 1 个 QTL 在 2 个环境中重复检测到,其增效作用的等位基因来自黄早四(图 1、表 3)。

表 3 7 个农艺性状的 QTL 定位分析

Table 3 QTL for the seven agronomical traits

性状 Traits	位点 QTL	染色体 Chr	标记区间 Flanking marker	2011HG			2011WH			2012WH		
				LOD <sup>1)</sup>	PVE/% <sup>2)</sup>	Add <sup>3)</sup>	LOD	PVE/%	Add	LOD	PVE/%	Add
穗粗 ED	<i>qED9-1</i>	9	<i>bnlg1272~bnlg1583</i>				4.40	17.10	1.33			
	<i>qED9-2</i>	9	<i>phi065~nc134</i>	3.67	27.96	-2.33						
	<i>qEL2</i>	2	<i>umc1464~umc1516</i>	4.11	26.40	1.10	3.24	14.59	0.67			
	<i>qEL5</i>	5	<i>umc2161~umc1349</i>	5.36	37.35	-1.54						
穗长 EL	<i>qEL7</i>	7	<i>bnlg1070~bnlg434</i>							3.45	9.79	0.59
	<i>qEL9</i>	9	<i>phi065~nc134</i>							7.64	25.58	0.98
	<i>qEH2</i>	2	<i>umc1003~umc1065</i>							3.82	13.52	-4.69
穗位高 EH	<i>qEH3</i>	3	<i>mmc0022~umc1973</i>	3.93	35.47	-8.92	6.79	35.42	-7.51	3.13	11.50	-4.06
	<i>qEH7</i>	7	<i>mmc0411~bnlg1070</i>				7.44	24.27	6.44			
	<i>qEH9</i>	9	<i>umc1634~phi065</i>				4.33	14.85	5.91			
株高 PH	<i>qPH3</i>	3	<i>bnlg1144~umc2369</i>				3.88	16.18	-7.26			
	<i>qPH7</i>	7	<i>bnlg657~mmc0411</i>	3.28	18.87	8.13	6.44	26.78	9.11			
散粉期 PD	<i>qPD8</i>	8	<i>umc1457~umc1202</i>				5.36	18.34	-2.06			
吐丝期 SD	<i>qSD2</i>	2	<i>umc1622~bnlg1017</i>				3.21	22.20	2.92			
	<i>qSD8</i>	8	<i>umc1457~umc1202</i>				3.89	12.58	-1.82			
	<i>qTBN1</i>	1	<i>bnlg2086~umc1297</i>				6.80	22.83	-2.44			
雄穗分枝数 TBN	<i>qTBN2</i>	2	<i>bnlg1175~bnlg1909</i>	10.35	21.52	-2.34						
	<i>qTBN8</i>	8	<i>umc1786~umc1075</i>				4.46	19.75	1.70	5.20	16.98	1.29

1)LOD:LOD 值 Likelihood of odd; 2)PVE:贡献率 Variation explained; 3)Add 为加性效应,正值表示该位点来自受体亲本的等位基因起增效作用 Add represents additive effect,the positive values mean allele from the recurrent parent had positive effect.

### 3 讨论

本研究采用完备区间作图法,通过 1 000 次排列测验确定 LOD 阈值,共定位到 18 个 QTL,除穗粗、吐丝期和散粉期 3 个性状外,其他 4 个性状各有 1 个 QTL 位点在多个环境下同时检测到,这与相关分析的结果基本相符(表 2)。各环境条件下同时检测到的 QTL 数量较少,说明环境的影响较大(如 2012 年在武汉的试验后期遭受轻度干旱);另外,可能是 LOD 阈值较高所致。QTL 定位的数目和位置不同的检测方法有差异与其检测原理有关。单标记法(single marker approach,SMA)是根据单因素方差分析来检测各个标记位点不同基因型间的目标性状差异是否显著,以此来判断标记与性状关联的方法。完备区间作图法是复合区间作图法的一种,首先对所有标记做逐步回归挑出重要的标记并估计其效应,再利用逐步回归得到的线性模型校正表型数

据,它能有效地控制背景遗传变异对定位的影响<sup>[8]</sup>,因而使用完备区间作图法检测到的 QTL 明显少于单标记法。

Tuberosa 等<sup>[9]</sup>认为,QTL 分析可为阐明性状间的相关性提供有用信息。本研究 QTL 定位的结果发现:穗位高与株高 QTL 中有 1 个 QTL 位于 chr7 的相同位置;控制散粉期的 *qPD8* 与吐丝期 *qSD8* 也位于 chr8 相同区域。本研究结果也说明不同性状 QTL 共定位与表型值相关分析的结果一致,控制株高和穗位高的 *qPH7* 和 *qEH7*,散粉和吐丝的 *qPD8* 和 *qSD8* 应该为相同的基因,这 2 个 QTL 位点具有一因多效性。

本研究中定位的 *qPH3* 介于 *bnlg1144~umc2369* 之间,这与 Bai 等<sup>[10]</sup>的定位及 Teng 等<sup>[5]</sup>克隆的株高主效 QTL *qPH3.1* 可能位于同一位点。定位到的控制穗位高的 *qEH2*、*qEH3* 与 Beavis 等<sup>[11]</sup>检测到的位点也一致;控制穗长的 QTL

*qEL2*、*qEL7* 分别与 Li 等<sup>[12]</sup>检测到的 *qxEL-2-1*、*qxEL-7-1* 处于相同的区域内。玉米等农作物许多重要的农艺性状都受数量性状位点控制,遗传特性比较复杂<sup>[13]</sup>。这些在多个环境、多个群体中均检测到的 QTL 可在作物遗传改良中加以应用。本研究用高代回交 RIL 群体检测到的与前人研究结果一致的 5 个 QTL 位点可以在分子标记辅助选择育种中直接加以利用。此外,新检测到的 13 个 QTL 位点有待于在更多环境和多种群体中进一步研究。

### 参 考 文 献

- [1] VELDBOOM L R, LEE M. Genetic mapping of quantitative trait loci in maize in stress and non-stress environments. I. Grain yield and yield components[J]. *Crop Sci*, 1996, 36(5): 1310-1319.
- [2] 江培顺,张焕欣,吕香玲,等.玉米产量相关性状 Meta-QTL 及候选基因分析[J].作物学报,2013,39(6):969-978.
- [3] 单娟,崔良国,韩志景,等.基于温热 BC1 群体的农艺性状 QTL 定位[J].玉米科学,2013,21(3):24-29.
- [4] 贾波,蒋思霞,邓德祥,等.玉米农艺性状 QTL 定位分析[J].玉米科学,2011,19(3):31-34.
- [5] TENG F, ZHAI L, LIU R, et al. *ZmGA3ox2*, a candidate gene for a major QTL, *qPH3.1*, for plant height in maize[J]. *The Plant J*, 2013, 73:405-416.
- [6] YAMAMOTO T, LILL H X, SASAKI T, et al. Identification of heading date quantitative trait locus *Hd6* and characterization of its epistatic interactions with *Hd2* in rice using advanced backcross progeny[J]. *Genetics*, 2000, 154:885-891.
- [7] FRARY A, FULTON T M, ZAMIR D, et al. Advanced backcross QTL analysis of a *Lycopersicon esculentum* × *L. pennellii* cross and identification of possible orthologs in the Solanaceae[J]. *Theor Appl Genet*, 2004, 108:485-496.
- [8] LI H, YE G, WANG J. A modified algorithm for the improvement of composite interval mapping[J]. *Genetics*, 2007, 175:361-374.
- [9] TUBEROSA R, SALVI S, SANGUINETI M, et al. Mapping QTLs regulating morpho-physiological traits and yield: case studies, shortcomings and perspectives in drought-stressed maize[J]. *Ann Bot*, 2002, 89:941-963.
- [10] BAI W, ZHANG H, ZHANG Z, et al. The evidence for non-additive effect as the main genetic component of plant height and ear height in maize using introgression line populations[J]. *Plant Breeding*, 2010, 129:376-384.
- [11] BEAVIS W D, SMITH O S, GRANT D, et al. Identification of quantitative trait loci using a small sample of topcrossed and F<sub>4</sub> progeny from maize[J]. *Crop Sci*, 1994, 34:882-896.
- [12] LI J, ZHANG Z, LI Y, et al. QTL consistency and meta-analysis for grain yield components in three generations in maize[J]. *Theor Appl Genet*, 2011, 122:771-782.
- [13] 姬东华,薛亚东,郑用琰,等.玉米初级作图群体的籽粒性状遗传效应分析[J].华中农业大学学报,2013,32(4):1-5.

## Mapping QTLs of some agronomic traits in maize with a population of advanced backcrossing RILs

LI Wen-zhen FENG Xiao-min YAN Jin-bo HAN Chao-yi SONG Hui YUE Bing

National Key Laboratory of Crop Genetic Improvement, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

**Abstract** Plant height, ear height, ear length, ear diameter, tassel branch number, date to silk and date to pollen shedding are important agronomical traits in maize. In this study, a population of 141 RIL lines was used to map quantitative trait locus (QTL) of seven agronomic traits under three different environments. A total of 18 QTLs associated with the seven traits were detected. Individual locus explained 9.79% to 37.35% of phenotypic variance. Four of them were detected under more than one environment, and 5 QTLs were the same as those reported previously. It will provide basis for improving these agronomic traits in maize.

**Key words** maize (*Zea mays* L.); agronomic trait; quantitative trait locus (QTL)