

# 高粱 $F_6$ 代群体分蘖数的 QTL 定位

董 维<sup>1</sup>, 苏 舒<sup>1</sup>, 游录鹏<sup>1</sup>, 黄守程<sup>1</sup>, 戚金亮<sup>1</sup>, 陆桂华<sup>1</sup>, 黄应华<sup>2</sup>, 杨永华<sup>1\*</sup>

(1. 南京大学生命科学院, 医药生物技术国家重点实验室, 南京大学-南京林业大学植物分子生物学联合研究所, 江苏 南京 210093; 2. USDA-ARS Plant Science Research Laboratory and Oklahoma State University, Stillwater, Oklahoma 74075, USA)

**摘要:**分蘖数是高粱重要的农艺性状之一。笔者通过微卫星重复序列 (simple sequence repeat, SSR) 分子标记, 以 T70 × P607 杂交得到的  $F_6$  代重组自交系 (recombinant inbred lines, RIL) 群体构建遗传连锁图, 运用复合区间作图法 (composite interval mapping, CIM), 对分蘖数进行数量性状基因座 (quantitative trait locus, QTL) 分析, 在第 1、2、4、5 和 6 号染色体上检测到 7 个与分蘖数相关的 QTL, 解释性状表型变异在 1% ~ 13% 之间, 所得到的 QTL 全为超显性。

**关键词:**高粱; 分蘖数; 微卫星重复序列; 数量性状基因座

中图分类号: S514; S503

文献标志码: A

文章编号: 1000-2006(2013)02-0055-04

## QTLs analysis of tillers number in $F_6$ sorghum population

DONG Wei<sup>1</sup>, SU Shu<sup>1</sup>, YOU Lupeng<sup>1</sup>, HUANG Shoucheng<sup>1</sup>, QI Jinliang<sup>1</sup>,  
LU Guihua<sup>1</sup>, HUANG Yinghua<sup>2</sup>, YANG Yonghua<sup>1\*</sup>

(1. State Key Laboratory of Pharmaceutical Biotechnology, School of Life Science, NJU-NJFU Plant Molecular Biology Institute, Nanjing University, Nanjing 210093, China; 2. USDA-ARS Plant Science Research Laboratory and Oklahoma State University, Stillwater, Oklahoma 74075, USA)

**Abstract:** The number of tillers in sorghum is an important agriculture trait. In this study, the  $F_6$  recombinant inbred lines (RIL) population derived from the hybridization of sorghum lines T70 × P607 was used to construct genetic linkage map by simple sequence repeat (SSR) markers. Seven quantitative trait locus (QTLs) for tillers number were located on chr01, chr02, chr04, chr05 and chr06 by using composite interval mapping (CIM) approach. Contribution ratio of QTLs for tillers number of sorghum was 1% - 13%. The genetic modes of actions of all QTLs detected were over dominant.

**Key words:** sorghum; number of tillers; SSR; QTL

高粱是世界上第五大谷类作物, 仅次于小麦、大麦、玉米、水稻。高粱抗旱性强, 适应性广, 广泛种植于干旱、半干旱地区, 是全球农业生态系统中重要的粮食、饲料和生物质能源作物<sup>[1]</sup>。分蘖是一种重要的农艺性状, 对提高小麦、水稻等分蘖作物的产量发挥着非常重要的作用<sup>[2]</sup>。在不同的品种和种植条件下, 高粱分蘖数变化范围在 0 ~ 4 个之间<sup>[3]</sup>, 70% ~ 80% 的植物叶片总面积<sup>[4]</sup>和籽粒总产量<sup>[5]</sup>与有效分蘖数相关。研究表明, 分蘖数表现出数量性状的遗传特点, 受到多个数量基因位

点和环境因子的共同作用<sup>[5]</sup>。因此可利用分子遗传图谱定位控制高粱分蘖数性状的基因。Hart 等<sup>[6]</sup>对 BTx623 × IS3620C 的  $F_6$  代群体的研究发现 7 个 QTL 影响高粱分蘖数, 分布在第 1、6 和 8 号染色体上, 检测到的 QTL 主要介于 Xtxp61 - Xisu165, Xisu138 - Xcdo2442 区间, 可以解释表型变异的 11.7% ~ 48.9%。Feltus 等<sup>[7]</sup>利用 BTx 623 × IS3620C 的  $F_6$  代作为构图群体, 共检测到 9 个控制高粱分蘖数的 QTL, 且多数集中于第 1 号和第 6 号染色体上, 并存在重叠, 第 5、7 和 9 号染色

收稿日期: 2012-02-08

修回日期: 2012-04-16

基金项目: 教育部创新团队项目 (IRT020)

第一作者: 董维, 硕士生。\* 通信作者: 杨永华, 教授。E-mail: yangyh@nju.edu.cn。

引文格式: 董维, 苏舒, 游录鹏, 等. 高粱  $F_6$  代群体分蘖数的 QTL 定位[J]. 南京林业大学学报: 自然科学版, 2013, 37(2): 55-58.

体上各检测到1个QTL, LOD值介于2.9~6.6之间, 贡献率最高达11.9%。Shehzad等<sup>[8]</sup>通过对来自亚洲和非洲27个国家的代表性高粱品种多样性研究发现: 位于第1号染色体Xtxp37标记附近存在1个影响分蘖数的QTL, 第2号染色体上Xtxp8, Xtxp84, Xtxp100标记附近发现4个分蘖数QTL, 第7、10号染色体上各存在1个分蘖数QTL。Shiringani等<sup>[9]</sup>利用甜高粱SS79和粒用高粱M71杂交得到的F<sub>6</sub>代重组自交系群体为定位群体, 检测到6个重要的影响高粱分蘖数的QTL, 分别位于第1、2、5、6、10号染色体, 贡献率为6.7%~15.7%, 其中3个QTL增效等位基因均来自SS79。对于高粱分蘖数进一步的遗传研究应立足于更多样化的遗传背景和种植环境。笔者利用SSR分子标记, 以分蘖数存在明显差异的亲本T70和P607构建的重组自交系为群体, 检测控制高粱分蘖数性状的QTL及遗传效应, 旨在为高粱性状改良和分子标记辅助选择育种提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料及其性状测定

实验于2009年6月在江苏省农业科学院试验田种植F<sub>6</sub>代RIL群体及亲本。以籽粒产量高、品质优良、分蘖的品种T70为母本, 美国当地野生不分蘖品种P607为父本, 杂交得到F<sub>1</sub>代后再自交得到F<sub>2</sub>代, 通过单粒传种法构建重组自交系, 得到218个单株组成的高粱F<sub>6</sub>代RIL作图群体。亲本及F<sub>6</sub>群体种子均由Oklahoma State University的黄应华教授提供。每个株系待抽穗后测定分蘖数(number of basal tillers per plant, TINB)。

### 1.2 SSR连锁图谱构建方法

采用Saghai-Marouf等<sup>[10]</sup>提出的CTAB法稍加改良提取亲本及F<sub>6</sub>代单株幼叶的DNA, 用于SSR标记分析的引物序列均来自<http://www.gramene.org/>, 其来源为高粱和玉米, 由南京金斯瑞生物科技有限公司合成。利用不同的SSR引物对两亲本进行多态性筛选, 将筛选出的有差异的引物对作图群体进行基因型检测并记录带型数据。利用作图软件MAPMAKER/EXP3.0<sup>[11]</sup>构建分子标记连锁图谱。首先根据已公布的高粱遗传图谱定义10个连锁群, 分别对应10条染色体; 各选2~5个高信息量标记锚定到各连锁群上, 再以LOD=5.0, 重组率0.4, 用Kosambi作图函数来进行标记连锁分析; 采用绘图软件MapDraw<sup>[12]</sup>构建连锁图。

### 1.3 性状QTL分析

利用WinQTLCart 2.5软件的复合区间作图法(composite interval mapping, CIM)<sup>[13]</sup>定位QTLs, 以LOD=2.5为阈值, 在 $\alpha=0.05$ 水平上, 采用1000次排列检测, 对分蘖数性状进行全基因组扫描。确定QTL的数目、所在连锁图上的标记区间、基因的加性效应、显性效应和基因对性状表型变异方差的贡献率。基因的遗传作用方式按文献[14]中的标准判定,  $D_{DR}$ (即dominant ratio的简写形式)=显性效应值/加性效应值,  $D_{DR}=0\sim0.20$ 为加性方式, 记为A(additive),  $D_{DR}=0.21\sim0.80$ 为部分显性, 记为PD(partial dominance);  $D_{DR}=0.81\sim1.20$ 为显性方式, 记为D(dominance);  $D_{DR}>1.20$ 时为超显性方式, 记为OD(over dominance)。

## 2 结果与分析

### 2.1 亲本及群体分蘖数的分析

母本T70分蘖数为2, 父本P607不分蘖, F<sub>6</sub>群体单株分蘖数范围为0~4, 平均分蘖数为1, 标准差为0.93, 偏度1.534, 峰度1.406。子代群体分蘖数表现出单向超亲分离。F<sub>6</sub>群体单株分蘖数表现为连续分布(图1), 表明其后代的分离由多基因控制, 符合QTL作图要求。

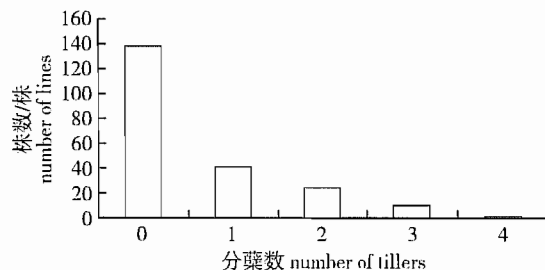


图1 亲本和F<sub>6</sub>群体分蘖数频率分布

Fig. 1 The frequency distribution of the tiller number of the parents and F<sub>6</sub> populations

### 2.2 SSR连锁图谱的构建

从197对SSR引物中共筛选到亲本间表现为共显性差异的引物81对, 利用MAPMAKER/EXP3.0作图软件, 根据F<sub>6</sub>代218个单株的标记带型, 进行遗传连锁分析, 构建了包含10个连锁群的遗传连锁图(图2)。图2共整合了65对SSR引物, 最长连锁群为97.6 cM, 最短为4.4 cM, 覆盖高粱基因组312.1 cM, 标记间平均距离为4.8 cM。

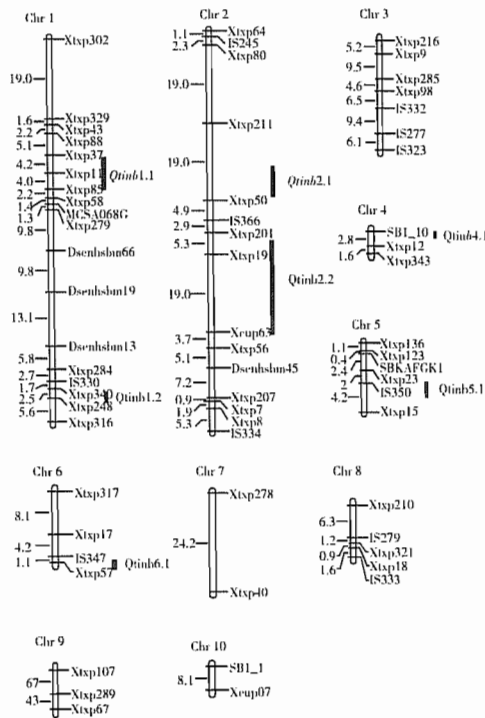


图2 分蘖数 QTLs 在染色体上的分布情况

Fig. 2 Distribution of QTLs for tillers number on the chromosomes

### 2.3 分蘖数的 QTL 分析

利用软件 WinQTLCart 2.5 的复合区间作图法 (CIM model6) 定位 QTLs, 以 LOD = 2.5 为阈值, 对分蘖数进行全基因组 QTLs 扫描, 共检测到 7 个分蘖数 QTLs, 分布于第 1、2、4、5、6 号染色体上 (表 1 和图 2)。第 1 号染色体上检测到 2 个 QTL, 其中 *Qtinb* 1.1 位于 Xtxp37 和 Xtxp58 之间, LOD 值为 17.29, 贡献率高达 0.13, *Qtinb* 1.2 位于第 1 号染色体 Xtxp340 和 Xtxp248 之间, LOD 值为 14.23, 贡献率为 0.01; 第 2 号染色体上检测到 2 个 QTL, 为 *Qtinb* 2.1 和 *Qtinb* 2.2, LOD 值分别为 18.01 和 18.12, 贡献率分别为 0.02 和 0.06; *Qtinb* 4.1 位于第 4 号染色体 SB1\_10 与 Xtxp12 之间, LOD 值为 15.23, 贡献率高达 0.09; 第 1、2、4 号染色体上检测到 5 个 QTL, T70 的等位基因减少性状的表型值; 第 5 号染色体上的 *Qtinb* 5.1 位于 Xtxp23 和 Xtxp15 间, 靠近 IS350, LOD 值高达 18.66, 贡献率为 0.01; 第 6 号染色体上的 *Qtinb* 6.1 位于 IS347 和 Xtxp57 间, 贡献率为 0.01。第 5、6 号染色体上的 QTL, 其加性效应表现一致, 均为正值, 说明分蘖数的增效等位基因均来自母本 T70, 所检测到的 7 个 QTL 作用方式均为超显性效应。

表 1 区间作图检测到的影响分蘖数的 QTL

Table 1 QTL detected for number of tillers by interval mapping

QTL	染色体 chromosome	置信区间 confidence interval	峰值位置 position	临近标记 contiguous marker	LOD	加性效应 additive	显性效应 dominance	贡献率 contribution ratio	遗传作用方式 genetic mode of action
<i>Qtinb</i> 1.1	chr01	28.5 ~ 36.7	32.4	Xtxp11	17.29	-0.09	+2.17	0.13	OD
<i>Qtinb</i> 1.2	chr01	89.5 ~ 91.7	91.2	Xtxp248	14.23	-0.11	+2.12	0.01	OD
<i>Qtinb</i> 2.1	chr02	38.2 ~ 41.4	40.3	Xtxp50	18.01	-0.14	+2.05	0.02	OD
<i>Qtinb</i> 2.2	chr02	46.6 ~ 76.8	47.1	Xtxp201	18.12	-0.26	+2.12	0.06	OD
<i>Qtinb</i> 4.1	chr04	0.2 ~ 1.5	0.8	SB1_10	15.23	-0.01	-0.25	0.09	OD
<i>Qtinb</i> 5.1	chr05	5.4 ~ 7.2	6.6	IS350	18.66	+0.08	+1.64	0.01	OD
<i>Qtinb</i> 6.1	chr06	12.3 ~ 13.2	12.8	IS347	8.41	+0.05	+2.29	0.01	OD

注: + 为 T70 等位基因的加性效应增加性状表型值; - 为 T70 等位基因的加性效应减少性状表型值; OD 为超显性。

## 3 讨论

研究利用 T70 × P607 的 F<sub>6</sub> 代 RIL 群体得到了 7 个控制高粱分蘖数的 QTLs。构建图谱所涉及的 SSR 标记主要选择了 Menz 等<sup>[15]</sup> 和 Li 等<sup>[16]</sup> 报道的高密度高粱图谱, 以便于将得到的连锁图谱和 QTL 与前人的研究结果进行比较。构建得到的连锁图谱除极少数标记顺序与已公布的图谱序列有差异外, 标记位置基本吻合。其差异可能是使用不同的遗传群体及群体所在环境的差异所致。81 对

有多态性差异的 SSR 标记中, 有 16 对未能连锁到图谱中, 其原因可能是因为检测到的有多态性差异的标记较少, 且在染色体上位置较为分散, 在构建连锁群时, 这批标记未能在阈值范围内 (LOD = 5.0, 重组率 = 0.4) 检测到与之连锁的标记。可以通过不断增加标记数目, 从而有效减少未连锁的标记数, 使标记密度和图谱精度不断提高。

标记研究仅检测到 7 个 QTLs, 数量同样较少。可能因为研究图谱标记较少, 未能完全覆盖整个高粱基因组, 在一定程度上影响了 QTL 检测的完整

性。所检测到的 QTL 中,位于第 1 号染色体上的位点 *Qtinb1.1* 与 Hart 等<sup>[6]</sup>检测的 *QTinb. txs - A1* 和 Feltus 等<sup>[7]</sup>检测到的 *QTinb - A* 位点位于相同的染色体区间,皆临近标记 Xtxp58,且贡献率相近。第 5 号染色体上的位点 *Qtinb5.1* 与 Shiringan 等<sup>[9]</sup>在第 5 号染色体上发现的分蘖数 QTL 位于相近的染色体区段。根据 Tanksley 等<sup>[17]</sup>的研究,尽管在不同的环境和品种中,这两个分蘖数 QTL 仍然能在相同或相近的染色体区间被检测到,即稳定性较高,说明极有可能是控制高粱分蘖数的主效 QTL,因此可作为分子标记辅助选择育种的重要目标。其余 5 个 QTL 位点在以前的研究中还未见报道,推测是因品种差异而产生的控制高粱分蘖数的新 QTL 位点。

#### 参考文献(References):

- [ 1 ] Doggett H. Sorghum[M]. New York:Scientific and Technical,1988.
- [ 2 ] Conway G, Toenniessen G. Feeding the world in the twenty-first century[J]. Nature,1999,402:55 - 58.
- [ 3 ] Hammer G L, Carberry P S, Muchow R C. Modelling genotypic and environmental control of leaf area dynamics in grain sorghum. I. whole plant level[J]. Field Crops Research,1993,33(3):293 - 310.
- [ 4 ] Hammer G L, Hill K, Schroder G N. Leaf area production and senescence of diverse grain sorghum hybrids[J]. Field Crops Research,1987,17(3):305 - 317.
- [ 5 ] Lafarge T A, Broad J, Hammer G L. Tillering in grain sorghum over a wide range of population densities: identification of a common hierarchy for tiller emergence, leaf area development and fertility[J]. Annals of Botany,2002,90(1):87 - 98.
- [ 6 ] Hart G E, Schertz K F, Peng Y, et al. Genetic mapping of *Sorghum bicolor* (L.) Moench QTLs that control variation in tillering and other morphological characters[J]. Theoretical and Applied Genetics,2001,103(8):1232 - 1242.
- [ 7 ] Feltus F, Hart G, Schertz K F, et al. Alignment of genetic maps and QTLs between inter-and intra-specific sorghum populations [J]. Theoretical and Applied Genetics,2006,112(7):1295 - 1305.
- [ 8 ] Shehzad T, Iwata H, Okuno K. Genome-wide association mapping of quantitative traits in sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) by using multiple models [J]. Breeding Science,2009,59(3):217 - 227.
- [ 9 ] Shiringani A L, Frisch M, Friedt W. Genetic mapping of QTLs for sugar-related traits in a RIL population of *Sorghum bicolor* L. Moench [J]. Theoretical and Applied Genetics,2010,121(2):323 - 336.
- [ 10 ] Saghai-Marooif M A, Soliman K M, Jorgensen R A, et al. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics [J]. Proceedings of the National Academy Science of the USA,1984,81(24):8014 - 8018.
- [ 11 ] Lander E S, Green P, Barlow A, et al. MAPMAKER: an interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations [J]. Genomics,1987,1(2):174 - 181.
- [ 12 ] 刘仁虎,孟金陵. MapDraw: 在 Excel 中绘制遗传连锁图的宏 [J]. 遗传,2003,25(3):317 - 321.
- [ 13 ] Liu R H, Meng J L. MapDraw: a microsoft excel macro for drawing genetic linkage maps based on given genetic linkage data [J]. Hereditas,2003,25(3):317 - 321.
- [ 14 ] Zeng Z B. Theoretical basis for separation of multiple linked gene effects in mapping quantitative trait loci [J]. Proceedings of the National Academy of Science of the USA,1993,90(23):10972 - 10976.
- [ 15 ] Edwards M D, Stuber C W, Wendel J F. Molecular marker-facilitated investigations of quantitative trait loci in maize: Factors influencing yield and its component traits [J]. Crop Science,1987,27(1):639 - 648.
- [ 16 ] Menz M A, Klein R R, Mullet J E, et al. A high-density genetic map of *Sorghum bicolor* (L.) Moench based on 2926 AFLP, RFLP and SSR markers [J]. Plant Molecular Biology,2002,48(5-6):483 - 499.
- [ 17 ] Li M L, Yuyama N, Hiratani, et al. In silico mapping of 1758 new SSR markers developed from public genomic sequences for sorghum [J]. Molecular Breeding,2009,24(1):41 - 47.
- [ 17 ] Tanksley S D, Ahn N, Causse M, et al. RFLP mapping of the rice genome [C]//Rice Genetic II. Los Banos:IRRI,1991.

(责任编辑 刘昌来)