

基于四交群体的玉米叶夹角和叶向值 QTL 定位分析

张姿丽¹ 刘鹏飞^{1,2} 蒋锋¹ 陈青春¹ 张媛¹ 王晓明^{1,2*} 王汉宁^{2*}

(1. 仲恺农业工程学院 作物研究所, 广州 510225; 2. 甘肃农业大学 农学院, 兰州 730070)

摘要 选育耐密紧凑株型是增加玉米单位面积产量的重要途径之一,而叶夹角和叶向值是衡量株型的重要参数。本研究选用叶夹角和叶向值存在差异的玉米自交系郑 58、PH6WC、87-1 和自 330 构建 1 个四交(郑 58/豫 87-1//PH6WC/自 330)组合,以 228 个四交 F₁ 单株为作图群体,构建了 1 张含 225 个 SSR 位点,全长 1 387.2 cM 的玉米分子标记遗传连锁图谱,标记间平均间距为 6.19 cM。基于四交群体应用区间作图法检测 4 个环境下的 QTL,共检测到 13 个叶夹角相关 QTL,分别位于第 1、2、3、4、5、7 和 10 染色体上,单个 QTL 可解释 5.1%~20.0% 的表型变异;检测到 15 个叶向值相关 QTL,分别位于第 1、2、4、5、7、8 和 9 染色体上,单个 QTL 可解释 5.4%~20.1% 的表型变异。其中 *qLA-E2-2* 和 *qLA-E4-2* 落在同一标记区间 umc1692-umc2297(bin 5.03),分别解释 16.6% 和 13.2% 的表型变异;*qLO-E1-1*、*qLO-E3-2* 和 *qLA-E4-1* 落在同一标记区间 umc1568-bnlgl1953(bin 1.02),分别解释 10.1%、19.9% 和 12.3% 的表型变异;*qLO-E2-1* 和 *qLO-E3-1* 落在同一标记区间 phi056-phi427913(bin 1.01),分别解释 13.8% 和 10.0% 的表型变异。这些多个环境共同检测到的 QTL 将为玉米耐密理想株型育种中叶夹角叶向值的分子标记辅助选择提供有益信息,加速耐密株型玉米品种的选育。

关键词 玉米;叶夹角;叶向值;四交群体;QTL

中图分类号 S 513

文章编号 1007-4333(2014)04-0007-10

文献标志码 A

QTL mapping for leaf angle and leaf orientation in maize using a four-way cross population

ZHANG Zi-li¹, LIU Peng-fei^{1,2}, JIANG Feng¹, CHEN Qing-chun¹, ZHANG Yuan¹,
WANG Xiao-ming^{1,2*}, WANG Han-ning^{2*}

(1. Crop Research Institute, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China;

2. College of Agronomy, Gansu Agriculture University, Lanzhou 730070, China)

Abstract Selecting more compact plants for higher density planting is an important way to increase yield per unit area of maize (*Zea mays* L.), and leaf angle and leaf orientation are very important traits affecting maize plant type. In this study, a four-way cross population was constructed with four inbred lines (Zheng58, PH6WC, Yu87-1, Zi330) which were significantly different in leaf angle and leaf orientation. A genetic linkage map containing 225 simple sequence repeat (SSR) markers was constructed based on a mapping population consisting of the 228 F₁ individuals from the four-way cross, and spanned a total of 1 387.2 cM with an average interval of 6.19 cM. Quantitative trait loci (QTLs) for leaf angle and leaf orientation were identified in whole genome with interval mapping in four environments. 13 QTLs of 28 total QTLs were identified for leaf angle on chromosomes 1, 2, 3, 4, 5, 7 and 10, and the phenotypic variance explained by each QTL ranged from 5.1% to 20.0%. The other 15 QTLs were identified association with leaf orientation on chromosomes 1, 2, 4, 5, 7, 8 and 9 accounting for 5.4% to 20.1% of the phenotypic variance. *qLA-E2-2* and *qLA-E4-2* were found in the same marker interval umc1692-umc2297 (bin 5.03), and phenotypic variations explained were

收稿日期: 2013-11-25

基金项目: 公益性行业(农业)科技项目(201303008); 广东省科技计划项目(2012B020301006)

第一作者: 张姿丽, 讲师, 博士, 主要从事玉米遗传育种研究, E-mail: lily0501@gmail.com

通讯作者: 王晓明, 教授, 主要从事玉米栽培和遗传育种研究, E-mail: wxm1724@sina.com

王汉宁, 教授, 主要从事玉米栽培和遗传育种研究, E-mail: wanghn@gsau.edu.cn

16.6% and 13.2%, respectively. *qLO-E1-1*, *qLO-E3-2* and *qLA-E4-1* were found in the same marker interval *umc1568-bnlg1953* (bin 1.02), and phenotypic variation explained were 10.1%, 19.9% and 12.3%, respectively; *qLO-E2-1* and *qLO-E3-1* were found in the same marker interval *phi056-phi427913* (bin 1.01), and phenotypic variation explained were 13.8% and 10.0%, respectively. These QTLs detected under multiple environments provide useful information for marker-assisted selection of leaf angle and leaf orientation in maize compact breeding, and thus have the potential to accelerate the breeding of compact variety in maize.

Key words maize; leaf angle; leaf orientation; four-way cross population; QTL

高产是玉米育种的首要目标。玉米产量的90%以上来自光合产物的转换,增加种植密度、改善株型和优化穗部性状是提高玉米产量的主要途径。其中,株型选择在玉米育种中具有重要意义,理想的株型可以提高玉米种植密度和群体的光合面积和光合效率,是保障获得高产和优质的关键条件^[1]。叶夹角和叶向值是株型的重要因素。叶夹角决定个体受光姿态和群体透光性,直接影响群体中光的合理分布、冠层截光能力和群体光能利用率,进而影响产量。叶向值是影响叶片直立上冲的主要因素,是玉米株型紧凑程度的综合体现^[2],穗位以下叶片平展,可以增加冠层的截光能力,提高光能利用率^[3],增加光合产物,提高产量。

农作物的产量、株型相关性状如叶夹角和叶向值等是数量性状,一般采用QTL定位方法研究其遗传规律。玉米中已有大量叶夹角和叶向值相关的研究。Mickelson等^[4]利用B73和Mo17构建的重组自交系群体,采用复合区间作图法,在2个环境下共检测到10个控制叶夹角的QTL,第7染色体上检测到1个主效QTL位点,可解释27.7%的表型变异。于永涛等^[5]以2个双亲本构建的 $F_{2,3}$ 家系为作图群体,检测到9个控制叶夹角的QTL。路明等^[6]以掖478和丹340构建的 F_2 为作图群体,采用复合区间作图法,检测到6个控制叶夹角的QTL,其中在第1、3染色体上各存在1个效应较大的QTL,分别解释表型变异的10.8%和11.2%;检测到8个控制叶向值QTL,其中在第2、3染色体检测到2个主效QTL位点,分别解释10.9%和13.6%表型变异。徐德林等^[7]及孙海艳等^[8]均采用双亲本的 F_2 为作图群体分别检测到2个和1叶向值QTL。Ku等^[9]利用豫82、沈137构建 F_2 群体,用3个环境鉴定的表型均值进行QTL定位分析,检测到3个叶夹角相关QTL,5个叶向值相关QTL,分别在第1、5染色体检测到2个主效QTL,并将3个环境下的QTL整合成mQTL^[10]。刘鹏飞等^[11]以甜玉米

为材料,在 F_2 、 $F_{2,3}$ 家系中共检测到26个QTL,其中14个与叶夹角相关,12个与叶向值相关。祝丽英^[12]利用导入系群体,在第1、3、10染色体上检测到5个叶夹角相关QTL。但上述研究均以双亲本构建作图群体进行叶夹角和叶向值QTL定位研究,以变异更为丰富的四交群体和其他高级群体研究的较少。基于四交群体,李贤唐^[13]在2个环境下检测到24个叶夹角相关QTL。比较前人的研究结果,不同群体定位到的叶夹角和叶向值QTL位点的数量和位置不相同,而用变异更为丰富的群体检测出的QTL位点更为丰富。

双亲本构建作图群体,如 F_2 、重组自交系(RI)、导入系等群体(IL),利用的是双亲的遗传多态信息,而育种实践中经常用到的四交群体却很少用于遗传作图。但事实上,四交群体则可体现更多亲本之间的遗传差异,具有更丰富的遗传变异,能提高分子标记遗传图谱的标记覆盖率,有利于QTL的检出^[14]。Maliepaard等^[15]提出了利用异交物种的全同胞家系进行QTL定位的作图方法,并首次应用在苹果上。1996年,Xu^[16]首次提出了利用自交物种的四交群体进行QTL定位的方法,并分析了四交群体中QTL加性效应和显性效应的模型。但四交群体在玉米主要农艺性状QTL定位的应用较少^[13]。

本研究拟选用我国玉米育种中的优良自交系郑58、PH6WC、豫87-1和自330构建1个四交(郑58/豫87-1//PH6WC/自330)作图群体,并构建其遗传连锁图,对叶夹角和叶向值进行QTL定位,旨在验证利用四交群体构建遗传图谱的效率与可行性,为玉米高产育种及耐密育种奠定基础,为分子标记辅助选择(MAS)提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

选用4个优良自交系郑58、PH6WC、豫87-1和自330作为亲本,其中自交系郑58和PH6WC叶夹角小、叶向值大,而豫87-1、自330叶夹角大、叶向

值小^[17]。作图群体为由4个亲本自交系构建1个四交作图群体郑58/豫87-1//PH6WC/自330。

2010年秋季在广州番禺仲恺农业工程学院教学科研基地种植自交系郑58、PH6WC及豫87-1、自330,并配制2个单交组合郑58/豫87-1和PH6WC/自330;2011年春季种植2个单交组合构建四交群体,杂交方式为郑58/豫87-1//PH6WC/自330,2011年秋季种植259个单株(四交F₁),自交得到228个果穗(四交F₂)。2012年春和2012年冬分别在仲恺农业工程学院番禺钟村教学科研基地和三亚按照41 666株/hm²(低密度)和83 333株/hm²(高密度)2个密度种植228个四交F₂株行,单行区,行长4 m,2次重复,顺序排列。苗期采集四交F₁单株幼嫩叶片提取DNA,用于基因型鉴定及分子标记遗传连锁图谱构建。叶夹角和叶向值的测定计算参照刘鹏飞等^[11]的方法。在广州和三亚2个试验点及高低2种密度下共4种环境,分别用E1、E2、E3和E4表示广州低密度、高密度和三亚低密度、高密度4种环境。

1.2 DNA提取和标记分析

DNA提取采用改良CTAB法^[18]。选用分布于玉米10个连锁群上的458对SSR引物进行扩增,SSR引物序列来源于MaizeGDB(www.maizegdb.org),由上海Sangon公司合成。PCR反应体系、电泳及银染程序与蒋锋等^[19]方法相同。

1.3 分子遗传图谱构建

在四交F₁分离群体中,标记的分离类型有1:1、1:2:1和1:1:1:1共3种情况。标记结果用不同小写字母表示,若第一个亲本的带型记作a,与之相同的带型均记作a;出现第二个不同带型时记作b,与之相同的带型均记作b;出现第三个不同带型记作c,依此类推。各种分离标记的类型可分为回交型(aa×ab,aa×ba,ab×aa,ab×bb)、F₂型(ab×ab,ab×ba)、三交型(ab×cc,aa×bc,ab×ac,ab×ca,ab×bc,ab×cb)、四交型(ab×cd)的4大类。每个标记按照Joinmap 3.0软件的要求记录^[20]。作为四交亲本的F₁的各个标记的单倍型由单交亲本确定。分离后代的标记带型中,纯合型带型以aa、bb、cc、dd记录,杂合型带型以ab、ac、ad、bc、bd记录。用Joinmap 3.0构建连锁图谱^[20],群体类型为CP(cross pollinators),即由2个异质F₁杂交形成的分离群体。作图函数为Kosambi函数,LOD值≥4.0,最大遗传距离为45 cM。

1.4 QTL分析

性状平均数、标准差、方差分析等采用SAS V 8.0(SAS Institute, version 8.0, 1999)统计分析。采用区间作图法用Map QTL 6.0软件^[21]对性状在每个环境下分别进行QTL定位,家系性状的平均值用于定位分析。以基因组5%显著水平和连锁群5%显著水平的LOD值作为检测QTL的阈值,每性状经过1 000次排列测验来确定LOD阈值。当各LOD值大于基因组5%显著水平阈值时,认为在该区域内存在1个显著QTL,当各LOD值大于连锁群5%显著水平阈值时,认为在该区域内存在1个可能的QTL。QTL位置在LOD值的峰值对应点,以峰值向下1个LOD值的区间作为该QTL的置信区间。QTL的加性效应、显性效应参照Xu^[16]的方法进行估计,即: $a_1 = (G_1G_3 + G_1G_4 - G_2G_3 - G_2G_4)/4$; $a_2 = (G_1G_3 + G_2G_3 - G_1G_4 - G_2G_4)/4$; $d = (G_1G_3 + G_2G_4 - G_1G_4 - G_2G_3)/4$; a_1 为第1个单交组合的加性效应, a_2 为第2个单交组合的加性效应, d 为总的显性效应, G_1G_3 、 G_1G_4 、 G_2G_3 、 G_2G_4 为4种QTL基因型的平均值。

QTL命名参考McCouch等^[22]的方法命名,按照QTLs+性状+环境+QTLs顺序号,其中QTLs以小写“q”开始,性状以英文缩写表示,如叶夹角和叶向值的QTLs分别以LA和LO表示,多个不同位点的QTLs则在其后加数字“1”、“2”、“3”等加以区别。

2 结果与分析

2.1 叶夹角和叶向值的表型变异

由表1可知,叶夹角在2个试验点在高密度下总平均值比低密度均有不同程度的上升,而叶向值在高密度下总平均值比低密度均有不同程度的下降;平均值、最大值、最小值和变异系数在不同密度处理下均表现出差异性,说明密度胁迫对叶夹角和叶向值都有一定的影响;其中,叶向值变异系数较大,表明家系间遗传变异较大。基于表型分布的2个参数峰度与偏度初步判断,在不同环境下,叶夹角和叶向值的偏度值和峰度值的绝对值都小于1.0,表明叶夹角和叶向值符合正态分布,表现出典型的数量性状遗传特点,符合QTL定位的基本要求,可以进行QTL检测。方差分析表明(表2),叶夹角在广州和三亚2个试验点间差异不显著($P=0.2195 > 0.05$),在高低2种密度下差异极显著($P=0.0008 < 0.001$);而叶向值在广州和三亚2个试验点间差异

显著($P=0.0169<0.05$),在高低2种密度下差异不显著($P=0.1249>0.05$)。说明叶夹角受密度影响更大,而叶向值在不同试验地点间差异显著,受

光照强度的影响较大,由于试验地点和密度2因素对叶夹角和叶向值的影响不同,因此有必要在4种环境下分别进行叶夹角和叶向值QTL检测。

表1 4种环境下叶夹角和叶向值的描述统计

Table 1 Statistics of leaf angle and leaf orientation in four environments

性状 Trait	环境 Environment	平均值 Mean	变化范围 Range	变异系数/% CV	峰度 Kurtosis	偏度 Skewness
叶夹角 LA	E1	32.56	18.10~47.70	18.68	-0.294	-0.121
	E2	31.38	20.10~48.10	18.22	0.053	0.367
	E3	33.19	21.10~51.90	17.71	0.454	0.672
	E4	31.93	18.20~46.30	17.80	-0.304	0.147
叶向值 LO	E1	30.40	13.78~53.66	31.35	-0.554	0.464
	E2	32.42	10.91~59.09	27.89	-0.180	0.137
	E3	30.18	10.82~55.44	30.92	-0.331	0.269
	E4	31.91	10.29~55.83	27.44	0.009	0.336

表2 4种环境下叶夹角和叶向值的方差分析

Table 2 ANOVA analyses in four environments for leaf angle and leaf orientation

性状 Traits	来源 Source	自由度 DF	平方和 Anova SS	均方 Mean Square	F值 F Value	Pr>F Pr>F
叶夹角 LA	地点 Location	1	51.063	51.063	1.51	0.2195
	密度 Density	1	385.060	385.060	11.38	0.0008**
叶向值 LO	地点 Location	1	402.750	402.750	5.73	0.0169*
	密度 Density	1	165.853	165.853	2.36	0.1249

注:“*”、“**”分别表示在0.05和0.01水平上差异显著。

Note:“*” and “**” mean significantly different at 0.05 and 0.01 probability level, respectively.

2.2 分子标记连锁图谱构建

以郑58/豫87-1和PH6WC/自330的228个四交F₁单株为作图群体,选用均匀分布在玉米10条染色体上的458对SSR引物在亲本间进行多态性筛选,筛选出4个亲本间呈现多态的、带型清晰的且至少在2个亲本间具有多态性的引物(剔除aabb型)。经 χ^2 测验检测四交F₁分离群体等位基因频率后,筛选出231对基本符合所期望的1:1、1:2:1和1:1:1:1的各种分离比例的SSR引物。用该231对引物进行基因型分析和连锁图谱的构建。利用Joinmap 3.0作图软件,对231个SSR标记位点进行连锁分析,除去6个未连锁到连锁群的标记外,由225个SSR标记完成了连锁群图谱构建,共分为12个连锁群,其中4号和8号染色体由于控制标记间最大距离,划分为2个连锁群,整个连

锁图谱覆盖玉米的10条染色体,图谱总长度1387.2 cM,平均间距为6.19 cM(图1),10条染色体上标记的平均间距在4.05~9.29 cM之间。

2.3 叶夹角和叶向值QTL定位

2.3.1 叶夹角QTL定位

在广州和三亚2个试验点及高低2种密度4种环境下应用区间作图进行QTL定位分析,共检测到13个叶夹角相关QTL(表3,图1),分别位于第1、2、3、4、5、7和10染色体上,单个QTL可解释的表型变异为5.1%~20.0%。

在广州试验点2个密度条件下共检测到6个QTL。在低密度条件下,在第1染色体上检测到的 $qLA-E1-1$ (bnlg439-bnlg1803),贡献率为6.7%;第7染色体上检测到的 $qLA-E1-2$ (umc1841-bnlg1805),可解释20%的表型变异。在高密度条件

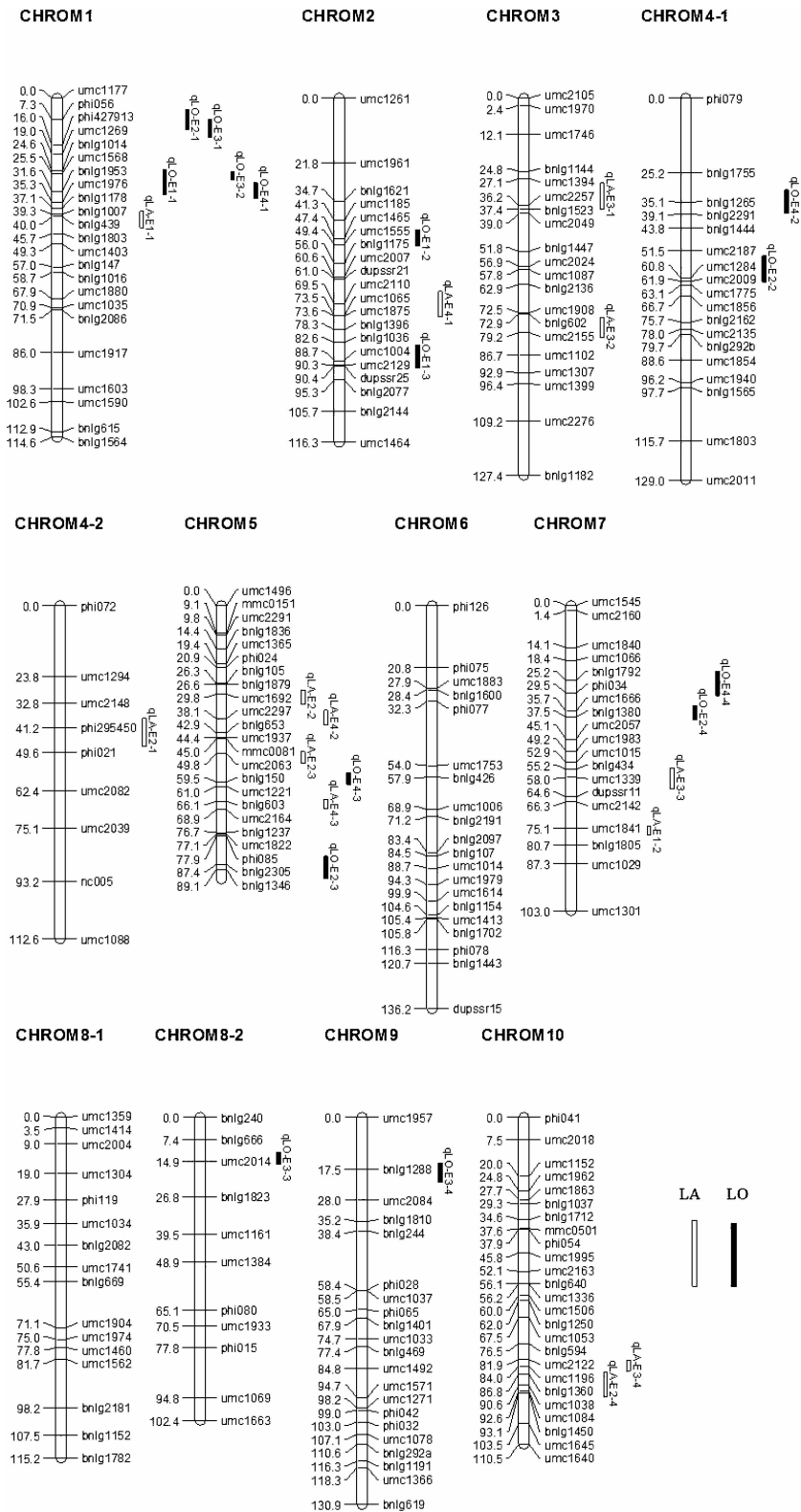


图 1 基于玉米四交群体(郑 58/豫 87-1//PH6WC/自 330)SSR 标记连锁遗传图谱及叶夹角和叶向值 QTL 分布

Fig. 1 SSR genetic linkage map and chromosome location of QTL clusters for leaf angle and leaf orientation in a four-way cross population(Zheng58/Yu87-1//PH6WC/Zi330)of maize

表 3 基于四交群体不同环境下检测的叶夹角 QTL

Table 3 QTLs detected for leaf angle in four environments based on four-way cross population

环境 Environment	QTL	染色体 Chromosome bin	标记区间 Flanking markers	位置 Position	LOD	G ₁ G ₃	G ₁ G ₄	G ₂ G ₃	G ₂ G ₄	贡献率 R ² / % Contribution rate	第一加性 效应 a ₁ The first additive effect	第二加性 效应 a ₂ The second additive effect	显性效应 d Dominant effect
E1	<i>qLA-E1-1</i>	1.03	bnlg439-bnlg1803	41.04	5.37	32.55	29.27	33.77	29.70	6.7	-0.41	1.84	-0.20
	<i>qLA-E1-2</i>	7.03	umc1841-bnlg1805	76.13	9.79	30.71	28.25	35.08	31.37	20.0	-1.87	1.54	-0.31
E2	<i>qLA-E2-1</i>	4.02-4.03	phi295450-phi021	46.16	3.13	30.54	34.58	32.76	34.02	7.5	-0.42	-1.33	-0.70
	<i>qLA-E2-2</i>	5.03	umc1692-umc2297	31.79	6.20	30.98	29.18	34.59	35.24	16.6	-2.42	0.29	0.61
	<i>qLA-E2-3</i>	5.05	umc2063-bnlg150	50.84	7.70	28.72	32.20	35.67	34.23	9.3	-2.25	-0.51	-1.23
	<i>qLA-E2-4</i>	10.07	bnlg1360-umc1038	89.81	3.60	31.64	33.19	30.73	35.00	7.1	-0.23	-1.46	0.68
E3	<i>qLA-E3-1</i>	3.01-3.02	umc1394-umc2257	36.15	3.41	32.59	33.19	29.47	31.96	6.7	1.09	-0.77	0.47
	<i>qLA-E3-2</i>	3.05	bnlg602-umc2155	78.90	4.43	29.84	31.09	33.04	33.58	9.1	-1.42	-0.45	-0.18
	<i>qLA-E3-3</i>	7.03	umc1339-dupssr11	59.05	4.18	29.40	31.92	30.42	34.82	16.6	-0.98	-1.73	0.47
	<i>qLA-E3-4</i>	10.07	umc1196-bnlg1360	85.00	8.25	29.78	33.64	29.52	34.35	5.6	-0.11	-2.17	0.24
E4	<i>qLA-E4-1</i>	2.05	dupssr21-umc2110	67.00	3.46	30.99	30.43	38.10	33.97	5.1	-2.66	1.17	-0.89
	<i>qLA-E4-2</i>	5.03	umc1692-umc2297	37.79	5.92	32.25	36.34	31.77	31.25	13.2	1.39	-0.89	-1.15
	<i>qLA-E4-3</i>	5.05-5.06	bnlg603-umc2164	67.07	9.75	31.57	27.66	38.24	34.87	9.4	-3.47	1.82	0.14

下,在第4染色体上检测到的 *qLA-E2-1* (ϕ i295450- ϕ i021),贡献率为7.5%;第5染色体上检测到的 *qLA-E2-2* (umc1692-umc2297) 和 *qLA-E2-3* (umc2063-bnlg150) 2个QTL,可解释的表型变异分别为16.6%和9.3%;在第10染色体上检测到的 *qLA-E2-4* (bnlg1360-umc1038),贡献率为7.1%。

在三亚试验点2个密度条件下共检测到7个QTL。在低密度条件下在第3染色体上检测到的 *qLA-E3-1* (umc1394-umc2257) 和 *qLA-E3-2* (bnlg602-umc2155),分别解释的表型变异为6.7%和9.1%;第7染色体上检测到的 *qLA-E3-3* (umc1339-dupssr11),解释表型变异16.6%,2个增效位点来自于郑58和PH6WC;第10染色体上检测到的 *qLA-E3-4* (umc1196-bnlg1360),解释表型变异5.6%。在高密度条件下,第2染色体上检测到的 *qLA-E4-1* (dupssr21-umc2110),解释表型变异5.1%;第5染色体上检测到的 *qLA-E4-2* (umc1692-umc2297)和 *qLA-E4-3* (bnlg603-umc2164),分别解释表型变异13.2%和9.4%。

qLA-E2-2 和 *qLA-E4-2* 落在同一标记区间 umc1692-umc2297(bin 5.03),分别解释16.6%和13.2%的表型变异;*qLA-E2-4* 和 *qLA-E3-4* 均临近标记 bnlg1360(bin 10.07);*qLA-E1-2* 和 *qLA-E3-3* 同在第7染色体 bin 7.03 区域。

2.3.2 叶向值 QTL 定位

在广州和三亚2个试验点及高低2种密度4个环境下应用区间作图的方法进行QTL定位分析,共检测到15个叶向值QTL(表4,图1),分别位于第1、2、4、5、7、8和9染色体上,单个QTL可解释的表型变异为5.4%~20.1%。

在广州试验点2个密度条件下共检测到7个QTL。在低密度条件下,在第1染色体上检测到的 *qLO-E1-1* (umc1568-bnlg1953),贡献率为10.1%;第2染色体上检测到的 *qLO-E1-2* (umc1185-umc1465) 和 *qLO-E1-3* (bnlg1036-umc1004),可解释的表型变异分别为8.9%和5.4%;在高密度条件下,第1染色体上检测到的 *qLO-E2-1* (ϕ i056- ϕ i427913),贡献率为13.8%;第4染色体上检测到的 *qLO-E2-2* (umc2187-umc1284),贡献率为7.2%;第5染色体上检测到的 *qLO-E2-3* (bnlg2305-bnlg1346),贡献率为7.9%;第7染色体上检测到的 *qLO-E2-4* (umc1840-umc1066)贡献率为20.1%。

在三亚试验点共检测到8个QTL。在低密度

条件下在第一染色体上检测到的 *qLO-E3-1* (ϕ i056- ϕ i427913)和 *qLO-E3-2* (umc1568-bnlg1953),分别解释表型变异10%和19.9%;第8染色体上检测到的 *qLO-E3-3* (bnlg666-umc2014),解释表型变异9.6%;第9染色体上检测到的 *qLO-E3-4* (umc1957-bnlg1288),解释表型变异11.2%;在高密度条件下,第1染色体上检测到的 *qLO-E4-1* (umc1568-bnlg1953),表型贡献率为12.3%;第4染色体上检测到的 *qLO-E4-2* (bnlg1755-bnlg1265),解释表型变异8.0%;第5染色体上检测到的 *qLO-E4-3* (bnlg2063-bnlg150),解释表型变异7.8%;第7染色体上检测到的 *qLO-E4-4* (bnlg1066-bnlg1792),解释表型变异16.4%。

qLO-E1-1、*qLO-E3-2* 和 *qLA-E4-1* 落在同一标记区间 umc1568-bnlg1953(bin 1.02),分别解释表型变异10.1%、19.9%和12.3%;*qLO-E2-1* 和 *qLO-E3-1* 在同一标记区间 ϕ i056- ϕ i427913(bin 1.01),分别解释表型变异13.8%和10.0%;*qLO-E2-4* (bin 7.01-7.02) 和 *qLO-E4-4* (7.02)均临近标记 umc1066。

3 讨论

株型是影响玉米产量的重要农艺性状,叶夹角和叶向值是构成玉米理想株型的重要参数,与玉米产量、耐密性、抗倒伏性及生态适应性密切相关^[1-3]。研究控制叶夹角和叶向值性状的基因位点,可以为QTL精细定位和分子标记辅助选择提供依据。本研究基于四交群体利用区间作图法共定位到25个与叶夹角和叶向值相关QTL。

3.1 QTL 定位结果比较

在玉米株型相关性状QTL研究方面,叶夹角的定位前人研究较多,而叶向值偏少。本研究基于4个亲本构建的四交群体,在4种环境下运用区间作图法对叶夹角和叶向值进行QTL定位,共定位到25个QTL,其中13个与叶夹角相关,单个QTL可解释的表型变异为5.1%~20.0%;另外15个与叶向值相关,单个QTL可解释的表型变异为5.4%~20.1%。其中在bin 5.03区检测到与叶夹角相关稳定QTL与李贤唐^[13]四交群体中检测到的qLA5在相近区间。本研究在bin 1.01,bin 1.02及bin 7.02区域检测到稳定的叶向值QTL,刘鹏飞等^[11]利用甜玉米在bin 1.01也定位到叶向值QTL。结果说明QTL是真实存在的,并且可以稳定表达。

表4 基于四交群体不同环境下检测的叶向值 QTL

Table 4 QTLs detected for leaf orientation in four environments based on four-way cross population

环境 Environment	QTL	染色体 bin Chromosome bin	标记区间 Flanking markers	位置 Position	LOD	G_1G_3	G_1G_4	G_2G_3	G_2G_4	贡献率 $R^2/\%$ Contribution rate	第一加性 效应 a_1 The first additive effect	第二加性 效应 a_2 The second additive effect	显性效应 d Dominant effect
E1	<i>qLOE1-1</i>	1.02	umc1568-bnlg1953	29.54	3.65	34.62	35.58	30.49	28.45	10.1	2.82	0.27	-0.75
	<i>qLOE1-2</i>	2.03-2.04	umc185-umc1465	46.31	5.61	37.00	32.82	32.71	27.13	8.9	2.50	2.44	-0.35
	<i>qLOE1-3</i>	2.07	bnlg1036-umc1004	86.57	3.84	36.50	30.21	27.17	33.63	5.4	1.48	-0.04	3.19
E2	<i>qLOE2-1</i>	1.01	phi056-phi427913	8.28	4.35	34.15	29.03	34.41	33.31	13.8	-1.14	1.56	1.01
	<i>qLOE2-2</i>	4.08-4.09	umc2187-umc1284	59.46	3.36	32.09	34.32	35.27	30.27	7.2	0.22	0.69	-1.81
	<i>qLOE2-3</i>	5.07-5.08	bnlg2305-bnlg1346	88.43	3.90	32.45	29.88	33.86	34.22	7.9	-1.44	0.55	0.73
	<i>qLOE2-4</i>	7.01-7.02	umc1840-umc1066	34.46	6.31	34.91	35.68	29.69	30.15	20.1	2.69	-0.31	-0.08
E3	<i>qLOE3-1</i>	1.01	phi056-phi427913	8.28	5.02	27.91	27.11	37.18	28.28	10.0	-2.61	2.43	-2.03
	<i>qLOE3-2</i>	1.02	umc1568-bnlg1953	26.54	10.33	35.16	28.19	36.51	28.46	19.9	-0.41	3.76	-0.27
	<i>qLOE3-3</i>	8.06-8.07	bnlg666-umc2014	14.38	7.69	35.52	21.96	32.96	32.48	9.6	-1.99	3.51	3.27
	<i>qLOE3-4</i>	9.00-9.01	umc1957-bnlg1288	17.00	4.65	34.65	29.68	34.07	31.66	11.2	-0.35	1.85	0.64
E4	<i>qLOE4-1</i>	1.02	umc1568-bnlg1953	31.54	5.69	31.35	27.48	34.57	26.95	12.3	-0.67	2.87	-0.94
	<i>qLOE4-2</i>	4.06	bnlg1755-bnlg1265	34.16	3.82	33.32	30.34	26.30	31.39	8.0	1.49	-0.53	2.02
	<i>qLOE4-3</i>	5.05	bnlg2063-bnlg150	58.84	7.62	33.17	32.65	30.12	24.25	7.8	2.86	1.60	-1.34
	<i>qLOE4-4</i>	7.02	umc1066-bnlg1792	23.38	3.66	29.35	40.75	30.36	24.80	16.4	3.74	-1.46	-4.24

本研究叶夹角相关 QTL *qLA-E2-2* 和 *qLA-E4-2* 落在同一标记区间 umc1692-umc2297 (bin 5.03), 并且解释的表型变异较高, 分别为 16.6% 和 13.2%, 与叶夹角的方差分析在地点上不存在明显差异, 而在密度间存在明显差异相一致。并且 Ku 等^[9]、Mickelson 等^[4] 和路明等^[6] 研究中都发现在附近区域检测到叶夹角相关 QTL, 推测此处存在一个主效 QTL, 有必要继续深入研究。*qLO-E1-1*、*qLO-E3-2* 和 *qLA-E4-1* 落在 1 号染色体的同一标记区间 umc1568-bnlg1953 (bin 1.02), 分别解释表型变异 10.1%、19.9% 和 12.3%; Ku 等^[9] 利用 $F_{2,3}$ 群体在相同标记区间 bin 1.02 也定位到一个叶向值与叶夹角复合 QTL, 并认为该区域存在一个真实 QTL, 继而进行了 QTL 整合, 奠定了精细定位的基础^[10]。*qLO-E2-1* 和 *qLO-E3-1* 在同一标记区间 phi056-phi427913 (bin 1.01), 分别解释表型变异 13.8% 和 10.0%。分析可知, 研究中多个环境同时检测到的 QTL, 解释的遗传变异都大于 10%, 为主

效 QTL, 对分子标记辅助选择和基因聚合均具有重要意义。本研究中叶夹角和叶向值在广州和三亚 2 个试验点检测到的大多数 QTL 的位置和效应尽管不太一致, 但 4 个 QTL (表 5) 能在 2 种环境下同时稳定表达, 1 个 QTL (表 5) 在 3 种环境同时稳定表达, 四交群体中稳定 QTL 的检出效率较高。不同地点、不同环境或不同处理对玉米相关性状的 QTL 定位研究表明^[23-24], 绝大部分位点在 2 种环境下都不一致, 认为不同环境、处理条件下目标性状具有不同的遗传基础、可以稳定表达的 QTL 较少, 且多数表现为主效 QTL 与环境之间存在复杂的互作。据此推测本试验中 QTL 不完全一致的原因, 可能主要是 2 个地点的环境 (土壤、气候、光温、水分) 差异、栽培管理措施不同及试验误差等引起 QTL 表达水平差异引起的。事实上, 数量性状基因的表达受遗传背景和环境影响, 不同群体、不同环境下对目标性状 QTL 定位结果不尽相同, 差异是客观存在的。

表 5 不同环境下检测到的稳定性 QTL

Table 5 Stable QTLs detected under different environments

性状 Traits	QTL	染色体 Chromo- some bin	标记区间 Marker interval	位置 Position	LOD	贡献率 R^2 Contribution rate	第一加性 效应 a_1 The first additive effect	第二加性 效应 a_2 The second additive effect	环境 Environ- ment
叶夹角 LA	<i>qLA-E2-2</i>	5.03	umc1692-umc2297	31.79	6.20	16.6	-2.42	0.29	E2
	<i>qLA-E4-2</i>	5.03	umc1692-umc2297	37.79	5.92	13.2	1.40	-0.89	E4
	<i>qLA-E2-4</i>	10.07	bnlg1360-umc1038	89.81	3.60	7.1	-0.23	-1.46	E2
	<i>qLA-E3-4</i>	10.07	umc1196-bnlg1360	85.00	8.25	5.6	-0.11	-2.17	E3
叶向值 LO	<i>qLO-E2-1</i>	1.01	phi056-phi427913	8.28	4.35	13.8	-1.14	1.56	E2
	<i>qLO-E3-1</i>	1.01	phi056-phi427913	8.28	5.02	10.0	-2.61	2.43	E3
	<i>qLO-E1-1</i>	1.02	umc1568-bnlg1953	29.54	3.65	10.1	2.82	0.27	E1
	<i>qLO-E3-2</i>	1.02	umc1568-bnlg1953	26.54	10.33	19.9	-0.41	3.76	E3
	<i>qLO-E4-1</i>	1.02	umc1568-bnlg1953	31.54	5.69	12.3	-0.67	2.87	E4
	<i>qLO-E2-4</i>	7.01- 7.02	umc1840-umc1066	34.46	6.31	20.1	2.69	-0.31	E2
	<i>qLO-E4-4</i>	7.02	umc1066-bnlg1792	23.38	3.66	16.4	3.74	-1.46	E4

3.2 QTL 的特殊分布

大量研究表明^[25-27], 很多数量性状位点 QTL 在染色体上的分布并不均匀, 更不是随机分布的, 会出现 QTL 富集成簇现象。如本研究中, 第 1 染色体的 bnlg1014-umc1403 区间内有与 LA 和 LO 相关的 QTL, 其余染色体也有类似的 QTL 富集成簇现象。对于 QTL 富集现象最具说服力的解释是一

因多效或是控制不同性状的基因间存在紧密连锁^[25], 本研究中涉及的富集的 QTL 所控制的性状间确实存在着密切关系, 表明这些性状间的表型相关可能源于控制这些数量性状 QTL 位点之间的相关。利用这些同时控制着不同的相关性状、位于染色体相同标记区间内成簇分布的 QTL 进行 MAS 可以起到“一选多效”的效果, 提高 MAS 的效率, 在

育种实践中具有重要意义。

3.3 QTL在玉米株型遗传改良中的作用

能够解释表型变异10%以上的QTL为主效基因。若定位的QTL与邻近分子标记距离较近,且利用分子标记定位群体进行分子标记辅助选择,有利于提高选择效率^[28]。但是,在分子标记辅助选择中,由于存在基因型与环境互作,会导致在不同环境下检测到的QTL存在差异。所以,在实际的分子标记辅助选择过程中,于不同环境表现一致的基因型是育种家特别需要的基因型。因此,本试验中2个或3个环境下共同检测到的QTL,受环境影响较小,在辅助选择中具有重要应用价值。而其他在不同环境下检测到的QTL可能是基因型与环境互作的结果。利用本研究检测到的稳定的QTL及利用不同育种群体进行多年多点试验获得的表现较一致的QTL,进行精细定位,有利于利用分子标记辅助选择结合常规选择选育出耐密植理想株型的玉米新品种(系)。

参 考 文 献

- [1] 王元东,段民孝,邢锦丰,等.玉米理想株型育种的研究进展与展望[J].玉米科学,2008,16(3):47-50
- [2] Pepper G E, Pearce R B, Mock J J. Leaf orientation and yield of maize [J]. Crop Sci, 1977, 17: 883-886
- [3] 于洪飞,戴俊英,沈秀瑛,等.玉米理想株型育种生理形态研究概况[J].玉米科学,1995,3(1):12-17
- [4] Mickelson S M, Stuber C S, Senior L, et al. Quantitative trait loci controlling leaf and tassel traits in a B73 × Mo17 population of maize [J]. Crop Sci, 2002, 42: 1902-1909
- [5] 于永涛,张吉民,石云素,等.利用不同群体对玉米株高和叶夹角的QTL分析[J].玉米科学,2006,14(2):88-92
- [6] 路明,周芳,谢传晓,等.玉米杂交种掖单13号的SSR连锁图谱构建与叶夹角和叶向值的QTL定位与分析[J].遗传,2007,29(9):1131-1138
- [7] 徐德林,蔡一林,吕学高,等.玉米株型性状的QTL定位[J].玉米科学,2009,17(6):27-31
- [8] 孙海艳,蔡一林,王久光,等.玉米株型性状的QTL定位[J].西南大学学报:自然科学版,2010,32(12):14-18
- [9] Ku L X, Zhao W M, Zhang J, et al. Quantitative trait loci mapping of leaf angle and leaf orientation value in maize (*Zea mays* L)[J]. Theor Appl Genet, 2010, 121: 951-959
- [10] Ku L X, Zhang J, Guo S L, et al. Integrated multiple population analysis of leaf architecture traits in maize (*Zea mays* L) [J]. J Exp Bot, 2012, 63(1): 261-274
- [11] 刘鹏飞,蒋锋,王汉宁,等.玉米叶夹角和叶向值的QTL定位[J].核农学报,2012,26(2):231-237
- [12] 祝丽英.玉米株型、穗部性状QTL鉴定和不育系遗传分析[D].保定:河北农业大学,2012
- [13] 李贤唐.玉米四交群体株型及生育期相关性状的QTL分析[D].郑州:河南农业大学,2011
- [14] 秦鸿德,张天真.利用四交群体构建陆地棉栽培品种间的SSR标记遗传图谱[J].南京农业大学学报,2008,31(4):13-19
- [15] Maliepaard C, Vanooijen J W. QTL mapping in a full sib family of an outcrossing species [C]//VanOoijen J W, Jansen J. Biometrics in Plant Breeding: Applications of Molecular Markers. Wageningen, the Netherlands: CPRO-DLO, 1994: 140-146
- [16] Xu S. Mapping quantitative trait loci using four-waycrosses [J]. Genet Res, 1996, 68: 175-181
- [17] 刘鹏飞,张媛,蒋锋,等.玉米自交系的耐密性分析[J].湖北农业科学,2012,51(15):3171-3172,3229
- [18] Paterson A H, Brubakar C L, Wendel J F. A rapid method for extraction of cotton (*Gossypium* spp) genomic DNA suitable for RFLP or PCR analysis [J]. Plant Mol Rep, 1993, 11: 122-127
- [19] 蒋锋,刘鹏飞,王汉宁,等.玉米穗高系数的遗传分析与QTL定位研究[J].中国农业大学学报,2011,16(4):9-15
- [20] Van O J, Voorrips R E. JoinMap Version 3.0, Software for the calculation of genetic linkage maps [P]. Plant Research International, Netherlands, 2001
- [21] Zeng Z B. Precision mapping of quantitative trait loci [J]. Genetics, 1994, 136: 1457-1468
- [22] McCouch S R, Cho Y G, Yano P E, et al. Report on QTL nomenclature [J]. Rice Genet Newslett, 1997, 14: 11-13
- [23] 兰进好,李新海,高树仁,等.不同生态环境下玉米产量性状QTL分析[J].作物学报,2005,31(10):1253-1259
- [24] Messmer R, Fracheboud Y, Banziger M, et al. Drought stress and tropical maize: QTL-by-environment interactions and stability of QTLs across environments for yield components and secondary traits [J]. Theor Appl Genet, 2009, 119: 913-930
- [25] Tuberosa R, Saivi S, Sanguineti M, et al. Mapping QTL regulating morphophysiological traits and yield: Case studies, shortcomings and perspectives in drought-stressed maize [J]. Ann Bot, 2002, 89: 941-963
- [26] 汤华,严建兵,黄益勤,等.玉米5个农艺性状的QTL定位[J].遗传学报,2005,32(2):203-209
- [27] 谭巍巍,王阳,李永祥,等.不同环境下多个玉米穗部性状的QTL分析[J].中国农业科学,2011,44(2):233-244
- [28] Prasanna B M, Pixley K, Warburton M, et al. Molecular marker-assisted breeding options for maize improvement in Asia [J]. Molecular Breeding, 2010, 26(2): 339-356