

玉米茎秆相关性状多效性 QTL 检测及相应 R 程序包编制

李俊辉¹ 胡海晓² 孟玉杰¹ 程 鲲¹ 李国梁¹ 刘文欣^{1*} 陈绍江^{1*}

(1. 中国农业大学 国家玉米改良中心,北京 100193;

2. 霍恩海姆大学 植物育种和种子科学及群体遗传学研究所,斯图加特 70599, 德国)

摘 要 利用回归分析、似然比检验、排列检验、参数自助检验和交叉验证等统计分析方法,构建了多系杂交群体多性状 QTL 定位模型,并编制了配套的 R 语言程序包,该套模型和 R 程序包同样适用于两系杂交群体 QTL 检测和多效性 QTL 分析。基于本研究的模型和 R 程序包,以玉米自交系 B73 和高油突变体 Ce03005 为亲本产生的 216 个 RIL 群体为研究材料,对玉米茎秆相关性状进行多效性 QTL 检测分析,结果表明:Bin5.03 区域内调控最大折断力矩 M_F 和节间直径 d 的 QTL, Bin6.01 区域内调控单位体积中性洗涤剂纤维 NDF 和节间含水量 W_{wc} 的 QTL, Bin8.03 区域内影响节间干重 W_D 和 M_F 的 QTL 均为多效性 QTL;在 5 号染色体上,调控 d 和 NDF 的 QTL 与调控 M_F 和 NDF 的 QTL 均为连锁的 QTL。本研究不仅为玉米茎秆性状的遗传改良提供了参考,也为其他作物遗传育种研究过程中多效性 QTL 检测提供了软件分析平台。

关键词 玉米;茎秆;紧密连锁 QTL;多性状;多效性 QTL

中图分类号 O 212.4; S 513

文章编号 1007-4333(2016)06-0009-10

文献标志码 A

Pleiotropic QTL detection for stalk traits in maize and related R package programming

LI Jun-hui¹, HU Hai-xiao², MENG Yu-jie¹, Cheng Kun¹, LI Guo-liang¹,
LIU Wen-xin^{1*}, CHEN Shao-jiang^{1*}

(1. National Maize Improvement Center of China, China Agricultural University, Beijing 100193, China;

2. Institute of Plant Breeding, Seed Science, and Population Genetics, University of Hohenheim, Stuttgart 70599, Germany)

Abstract Determination of pleiotropism with QTL linkage benefits multiple traits improvement in plant breeding. A prototype of pleiotropic QTL detection for multiple-line crossed population was built basing on regression analysis, approximate likelihood ratio test, permutation test and parametric bootstrap. And the prototype is also suitable to biparental population. The prototype was used to map and determinate pleiotropic QTL with linked QTL for multiple traits of maize stalk in a RIL population constructed from inbred line B73 and Ce03005. All genotypes were evaluated at two locations in two years totally four macro environments for phenotypic traits. The results are shown as follows: There is one pleiotropic QTL on chromosome 5 controlling traits of moment of maximum bending force (M_F) and internode diameter (d); QTLs affecting neutral detergent fiber of unit volume (NDF) and internode water content (W_{wc}) at bin6.01 and QTLs affecting Internode dry weight (W_D) and M_F at bin8.03 are also pleiotropic QTLs; However, on chromosome 5, QTLs controlling traits of d and NDF, and QTLs for traits of M_F and NDF are linked QTLs but not pleiotropic QTLs. The QTLs determination is valuable to maize breeding and the analysis prototype is useful to other crop species.

Keywords maize; stalk; linked QTL; multiple traits; pleiotropic QTL

收稿日期: 2015-09-21

基金项目: 国家玉米产业技术体系(CARS-02-09); 教育部留学回国人员启动项目

第一作者: 李俊辉, 硕士, 主要从事生物统计及数量遗传学研究, E-mail: junhuili@cau.edu.cn

通讯作者: 刘文欣, 副教授, 主要从事生物统计及数量遗传学研究, E-mail: wenxinliu@cau.edu.cn

陈绍江, 教授, 主要从事玉米遗传育种研究, E-mail: chen368@126.com

玉米是重要的粮饲兼用作物,在保障我国乃至世界食品安全中起着重要的作用。玉米茎秆不仅是青贮玉米发酵的重要部分,更是制约玉米的籽粒产量的重要因素。全球每年玉米的产量损失约5%~20%是由茎秆倒伏造成的^[1],因此玉米抗倒性是实现高产稳产的关键要素,提高玉米茎秆抗倒性是机械化生产趋势下玉米育种的重要课题。玉米茎秆抗倒性评价主要以评估茎秆强度来实现,具体的指标有:茎皮抗穿刺强度、茎秆抗压强度以及茎秆抗弯曲强度;最大折断力、最大折断力矩和弯曲最大正应力是茎秆抗弯曲强度的主要力学指标^[2]。姚启伦^[3]和李得孝等^[4]对茎皮穿刺强度和形态学性状作了相关性分析,结果发现茎皮穿刺强度与茎秆形态学性状之间具有显著的相关性。QTL检测分析是探究复杂性状变异基础的一种手段^[5-8],Flint-Garcia等^[1]以4个F_{2:3}玉米群体为研究材料,对穗下节茎皮穿刺强度进行了QTL分析,结果在四个群体中位于3号染色体的2个标记之间检测到有重叠置信区间的QTL。Hu等^[9-10]研究表明调控节间直径、鲜重及干重的QTL与影响茎皮穿刺强度有关的QTL具有相同的侧翼标记,且置信区间发生了重叠。这些置信区间重叠的QTL可能是多效性QTL,也可能是紧密连锁的QTL;QTL多效性是指单个QTL位点能够调控多个表型性状的现象;QTL紧密连锁是指不同QTL总是连锁在一起调控不同性状表型的现象^[11-14]。Falconer^[15]认为多效性造成了性状之间的遗传相关,而Mather等^[16]却认为紧密连锁是遗传相关的主要原因。Balestre等^[17]利用Bayesian多区间定位方法对果穗粗、果穗长、穗行数,行粒数进行多效性QTL检测,结果发现大部分QTL都具有多效性。

QTL多效性和QTL紧密连锁对玉米茎秆相关性状研究起着重要的作用,多效性QTL和连锁QTL的鉴别有助于更好的理解不同性状遗传相关性的本质。多效性QTL定位的方法主要有基于极大似然法的多性状QTL检测^[18]、基于最小二乘法的多性状QTL检测^[19]和基于贝叶斯统计推断的多性状QTL定位^[20]。本研究拟利用线性回归分析、似然比检验、排列检测、参数自助检验和交叉验证等统计分析方法,通过构建多系杂交群体的多性状QTL定位模型并开发配套的R程序包,对玉米自交系群体茎秆性状多效性QTL进行检测分析,旨在为玉米茎秆性状的改良、培育抗倒伏玉米品种提供一定的理论依据,同时也为作物多性状改良提供

一个数量遗传分析的软件平台。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

本研究所用的遗传材料是以普通自交系B73为母本,高油突变体Ce03005为父本杂交而构建的具有216个株系的重组自交群体^[9]。

1.2 试验方法

1.2.1 田间试验设计

2009年(F₉)和2010年(F₁₀)连续2年在山西省农业科学院谷子研究所和中国农业大学曲周试验站种植,共获得4个宏环境数据。每个地点均采用随机区组设计,设置两次重复。

1.2.2 表型和分子数据收集

本研究对Hu等^[10]的数据进行再分析。表型数据主要包括地上第四节茎秆节间长(Internode length, L)、节间直径(Internode diameter, d)、最大折断力(Maximum bending force, F)、最大折断力矩(Moment of maximum bending force, M_F)、单位体积中性洗涤纤维含量(Neutral detergent fiber of unit volume, NDF)、节间干重(Internode dry weight, W_D)和节间含水量(Internode water content, W_{wc})7个表型性状。具体的表型和分子数据的收集过程参考Hu等^[10]的描述。

1.3 统计分析

1.3.1 表型数据分析

RIL群体各个性状表型值可按以下线性模型进行分解,

$$Y_{ijk} = \mu + G_i + E_j + G \times E_{ij} + R_k(E) + \epsilon_{ijk}$$

$$i = 1, 2, \dots, n \quad j = 1, 2, \dots, l \quad k = 1, 2, \dots, r$$

式中: n 为RIL群体株系的数目; l 为环境数; r 为试验区组个数; Y_{ijk} 为在 j 个环境中第 k 个重复下第 i 个个体的表型值; G_i 为第 i 个基因型的遗传效应值; E_j 为第 j 个环境的效应值; $G \times E_{ij}$ 为第 i 个基因型与第 j 个环境互作的效应值; $R_k(E)$ 为每个环境下的区组效应值; ϵ_{ijk} 为随机误差,服从正态分布。利用SAS中PROC GLM过程进行方差分析,将每个自交系基因型作为固定效应,以LSMEANS获得各基因型的最佳线性无偏估计BLUE(Best linear unbiased estimate);通过PROC VARCOMP过程并采用限制性极大似然方法(Restricted maximum likelihood)对基因型方差成分 σ_G^2 、基因型与环境互

作的方差成分 $\sigma_{G \times E}^2$ 和误差方差 σ_e^2 进行估计,通过 PROC CORR 过程并采用 Pearson 法计算性状之间相关系数^[21]。遗传力 h^2 的计算公式如下^[22]：

$$h^2 = \sigma_G^2 / (\sigma_G^2 + \sigma_{G \times E}^2 / l + \sigma_e^2 / rl)$$

1.3.2 QTL 检测分析

利用复合区间作图法,以 2 cM 遗传距离为步长,计算每个个体的 QTL 条件概率^[23-26]。单个性状 QTL 检测分析的统计模型如下^[27]：

$$y = JM + X_q B_q + \sum_{c=1}^m X_c B_c + e \quad (1)$$

式中： y 是 $n \times 1$ 维基因型值(即前面获得的表型数据 BLUE 值)列向量； n 为样本容量；来自 p 个群体； J 是 $n \times p$ 维 0~1 矩阵,元素 0 表示个体 i 不属于该群体,元素 1 表示个体 i 属于该群体； M 是 $p \times 1$ 列向量,表示表型数据的群体平均值； X_q (X_c) 是 $n \times p$ 维矩阵,表示位点 q (控制遗传背景效应标记 c) 的所有个体的基因型； B_q (B_c) 是 $p \times 1$ 列向量,表示位点 q (控制遗传背景效应标记 c) 的 QTL 效应值； e 是误差项,服从正态分布。

在单个性状 QTL 定位完成后,对具有相同侧翼标记或重叠置信区间的 QTL 进行多效性和紧密连锁鉴别分析,模型如下：

$$Y = JM + X_p B_p + \sum_{pc=1}^m X_{pc} B_{pc} + e \quad (2)$$

式中： Y 是 $n \times t$ 维表型值矩阵, t 为多效性 QTL 检测的性状个数； e 是 $n \times t$ 维矩阵,是所有个体所有性状的剩余误差,其服从多元正态分布；其余参数与模型(1)相同。模型(1)和模型(2)包含 X_q 和 X_p 项为完整模型(Full model),不包含 X_q 和 X_p 项为备比模型(Reduced model)。当模型(2) X_p 是调控 t 个性状的列向量时,模型(2)为多效性 QTL 模型,当 X_p 是调控 t 个性状 QTL 矩阵时,模型(2)为连锁 QTL 模型。

本研究 QTL 检测按如下步骤进行：1) 通过逐步回归分析^[21,28],选取对因变量显著的标记为背景控制。2) 以步长 2 cM 进行全基因组扫描,根据表 1 中统计测验,以备比模型为备比量计算似然比常用对数 LOD (Logarithm of odds) 值和似然比 LR (Likelihood ratio) 值,其中 $LOD = (n/2) \cdot \lg(RSS_r / RSS_f)$ ^[29], $LR = -[\nu_r - 0.5(t - \nu_r + 1)] \cdot \ln[|RSS_f| / |RSS_r|]$ ^[19], 式中 n 为样本容量, ν_r 和 ν_f 分别为回归模型的剩余自由度和检测自由度, RSS_r 和 RSS_f 分别是备比模型和完整模型的剩余平方和(矩阵)。3) 根据全回归分析,计算所有 QTL 的效应^[27],QTL 置信区间是通过峰值位点下降 1 个 LOD 值来确定^[30]。阈值是通过 1 000 次排列检验和参数自助检验(显著水平为 0.1)确定^[30]。

表 1 QTL 检测的统计假设测验^[19]

Table 1 Statistical hypothesis testing for QTL mapping

统计测验项目 Test item	无效假设 Null hypothesis	备择假设 Alternative hypothesis	重抽样方法 Resampling methods
单性状 QTL Single trait QTL	检测位点不是 QTL No QTL in given position	检测位点是 QTL QTL in given position	排列检验 Permutation test
多效性 QTL Pleiotropic QTL	检测位点不是 QTL No QTL in given position	检测位点调控多个性状 QTL in given position affecting multiple trait	排列检验 Permutation test
连锁与多效性 QTL Linked and pleiotropic QTL	检测位点是单个多效 QTL Single pleiotropic QTL in given position	检测位点是连锁的 QTL,每个位点只调控一个性状 Linked-QTL in given position, each affecting a single trait	参数自助法 Parametric bootstrap

1.3.3 交叉验证分析

本研究采用 5 分交叉验证 (Five-fold cross validation)^[31]考察定位检测结果的稳定性和可靠性,即通过从原始样本中随机抽取 80% 的样本组成新样本,然后对新样本进行多效性 QTL 和连锁 QTL 鉴别检测分析,重复取样 1 000 次,统计不同

结果出现的频率^[10,27,32-34]。

2 结果与分析

2.1 群体内各个性状遗传力分析

4 个环境下玉米 RIL 群体 7 个茎秆性状方差分析、方差成分及遗传力估计如表 2 所示。

表2 茎秆性状方差分析及方差成分和遗传力的估计值

Table 2 Analysis of variance and estimation of variable component and heritability of stalk

性状 Trait	概率值 P value	基因型方差 成分 σ_G^2	基因型与环境 互作方差 $\sigma_{G \times E}^2$	误差方差 σ_e^2	遗传力 h^2
最大折断力 F/N	<0.001	1 664.60	999.90	3 307.90	0.81
最大折断力矩 $M_F/(N \cdot m)$	<0.001	1.06	0.74	2.26	0.79
节间直径 d/mm	<0.001	0.02	0.01	0.03	0.84
节间长 L/cm	<0.001	1.77	1.26	2.79	0.80
节间干重 W_D/g	<0.001	1.36	1.37	2.74	0.75
节间含水量 $W_{wc}/\%$	<0.001	3.98	3.08	6.58	0.79
单位体积中性洗涤纤维 NDF/(g/dm ³)	<0.001	1.62	1.08	4.92	0.65

方差分析表明,RIL 群体所有 7 个表型的基因型效应差异显著。7 个表型性状的遗传力最小为 0.65(NDF),最大为 0.84(d),所有性状均具有中等以上的遗传力,这表明本研究中所用群体的基因型个体遗传特性稳定(F_9, F_{10}),在所选择的性状上具

有稳定的遗传变异。

2.2 性状间相关分析

利用表型性状的基因型效应 G 估计值(BLUE)计算全部 7 个茎秆性状之间的相关系数:

茎秆性状之间相关分析表明,7 个表型性状共

表3 玉米 RIL 群体中性状之间的相关系数

Table 3 Correlation coefficients of different traits in maize RIL population

性状 Trait	最大折断 力矩 M_F	节间 直径 d	节间长 L	节间 干重 W_D	节间含水量 W_{wc}	单位体积中性 洗涤纤维 NDF
最大折断力 F	0.85**	0.68**	-0.35**	0.31**	0.28**	-0.01
最大折断力矩 M_F		0.76**	0.16*	0.67**	0.18**	-0.10
节间直径 d			0.08	0.59**	0.33**	-0.38**
节间长 L				0.63**	-0.21**	-0.15*
节间干重 W_D					-0.33*	0.13
节间含水量 W_{wc}						-0.67**

注: * 和 ** 分别表示 0.05 和 0.01 水平上差异显著。

Note: * and ** represent significantly different at 0.05 and 0.01 level, respectively.

计 21 个相关系数,绝大多数性状之间存在显著或极显著相关。其中 F 与 M_F 和 d 的相关系数分别为 0.85 和 0.68, M_F 与 d 和 W_D 的相关系数分别为 0.76 和 0.67, L 与 W_D 的相关系数为 0.63, W_{wc} 与 NDF 的相关系数为 -0.67, 性状之间的显著相关可能是 QTL 的多效性或不同 QTL 的紧密连锁导致的,因此本研究需要对表 3 中的性状进行单个性状 QTL 定位,并在此基础上对置信区间重叠或侧翼标

记相同的 QTL 进行多效性 QTL 和紧密连锁 QTL 鉴别检测,从分子水平上解析性状相关产生的机理,为育种选择提供理论依据。

2.3 QTL 检测分析

2.3.1 单性状 QTL 检测分析

通过排列检验分析,7 个性状的 LOD 阈值均在 3 左右,因此,本研究中单个性状 QTL 检测的 LOD 阈值为 3.0,结果如表 4 所示。

表 4 茎秆抗弯强度性状及其相关性状 QTL 位点、效应及其解释的遗传变异

Table 4 Position, estimated effect of QTL, proportion of the genotypic variance (P_G) explained by QTL for stalk bending strength traits and related traits

性状 Trait	连锁群 Chromosome	染色体 区域 Bins	位置(区间) Position (Interval)	侧翼标记 Flanking markers	加性效应 Additive effect	似然比 常用对数 LOD	QTL 解释 的遗传 变异 $P_G/\%$
最大折断力 F	5	5.02	65.6(58.9,72.4)	umc2115,umc1447	-16.3	4.4	10.9
	10	10.04	56.1(50.2,60.8)	umc1697,phi084	13.9	4.9	11.6
最大折断力矩 M_F	5	5.03	83.0(72.4,93.7)	umc1447,umc1171	-0.42	4.3	11.3
	8	8.03	70.9(63.3,82.6)	phi100175,umc1562	0.36	3.7	8.4
节间直径 d	5	5.03	88.1(81.5,93.7)	umc1447,umc1171	-0.09	11.3	25.4
节间长 L	1	1.03	69.5(60.9,77.1)	umc1403,umc1169	0.52	3.7	10.6
	6	6.07	251.4(240.6,261.2)	phi299852,phi123	-0.54	3.4	9.8
节间干重 W_D	8	8.03	67.9(61.2,74.5)	phi100175,umc1562	0.49	4.5	12.1
节间含水量 W_{wc}	6	6.01	116.8(115.2,117.5)	bnlg1867,umc2056	-0.74	5.3	12.5
	7	7.04	175.2(170.6,175.2)	dupssr13,phi116	-0.71	5.3	11.4
单位体积中性	5	5.04	101.3(90.6,114.9)	umc1447,umc1332	0.51	4.9	14.2
洗涤纤维 NDF	6	6.01	116.8(115.2,118.9)	bnlg1867,umc2056	0.46	4.1	11.9

注： $P_G=R^2/h^2$ [35]。

茎秆相关性状 QTL 检测结果表明,7 个茎秆相关性状中共检测到 12 个 QTL,大部分 QTL 位于 5、6、8 号染色体上。QTL 所解释的遗传变异变化幅度为 8.4%~25.4%。茎秆抗弯力学性状中, F 和 M_F 均检测到 2 个 QTL,解释的总遗传变异分别为 23.5%和 19.7%。

2.3.2 多效性 QTL 检测分析

单个性状 QTL 检测结果表明上述 QTL 中 7 个 QTL 的置信区间重叠或侧翼标记相同, M_F 、 d 和 NDF 在 5 号染色体上具有重叠的置信区间, W_D 和 M_F 在 8 号染色体上置信区间发生了重叠。 W_{wc} 和 NDF 在 6 号染色体上侧翼标记相同。因此需要对上述置信区间发生了重叠的 QTL 或者具有相同侧翼标记的 QTL 进行多效性和紧密连锁的 QTL 检测鉴别。多效性 QTL 检测结果如表 5 所示。

由表 5 可知, M_F 和 NDF、 d 和 NDF 在第 5 号染色体上多效性 QTL 模型检测和每个性状 QTL 检测以及多效性 QTL 模型和连锁 QTL 模型的似

然比测验均显著,由表 1 可知,调控 M_F 和 NDF 的 QTL 及调控 d 和 NDF 的 QTL 均为紧密连锁的 QTL。

M_F 和 d 、NDF 和 W_{wc} 以及 W_D 和 M_F 的多效性 QTL 模型检测和单个性状 QTL 检测均显著,但多效性 QTL 模型和连锁 QTL 模型的似然比测验均不显著,由表 1 可知,在 5 号染色体上调控 M_F 和 d 的 QTL 和在 6 号染色体上控制 NDF 和 W_{wc} 的 QTL 以及在 8 号染色体上调控 W_D 和 M_F 的 QTL 均为多效性 QTL。图 1 为 M_F 和 d 性状在 5 号染色体上的联合检测分析,其中纵坐标的 LOD 值是通过 LR 值转化得到的。

2.4 结果验证与分析

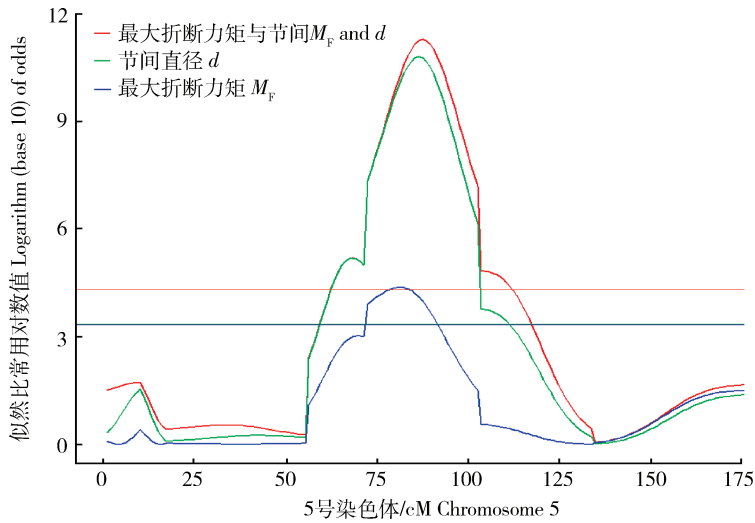
对性状 M_F 和 d 、 d 和 NDF、NDF 和 W_{wc} 、 W_D 和 M_F 分别进行 1 000 次多效性 QTL 和连锁 QTL 的交叉验证,分别统计每组性状中多效性 QTL、连锁 QTL 以及仅检测出其中一个 QTL 结果的频率,结果如表 6 所示。

表5 相同侧翼标记或置信区间重叠 QTL 的多效性检测
Table 5 Pleiotropic and linkage tests for multiple traits with co-located QTL from single QTL test

性状 T trait	置换测验 Permutation test			多性状测验 Multi-trait test			参数自助 法 PB		多效性与连锁模型 Pleiotropy VS Linkage	
	单性状似然 比常用对数 LOD	多性状似然 比常用对数 LOD	单性状似然 比常用对数 LOD	多性状似然 比常用对数 LOD	单性状 QTL 位置 Single trait QTL position	似然比值 LR	似然比值 LR	似然比值 LR	多效性 QTL 位置 Pleiotropic QTL position	
最大折断力矩 M_F	3.3	4.3	4.4*	11.2*	83.0 (72.4,93.7)	2.8	2.6	89.1 (82.5,95.7)		
节间直径 d	3.4		10.8*		88.1 (81.5,93.7)					
最大折断力矩 M_F	3.4	4.3	3.6*	7.6*	85.1 (73.4,95.7)	3.3	5.7*	—		
单位体积中性洗涤纤维 NDF	3.3		5.1*		108.3 (91.7,119.0)			—		
节间直径 d	3.4	4.4	10.8*	11.9*	88.1 (81.5,93.7)	2.6	4.0*	—		
单位体积中性洗涤纤维 NDF	3.3		5.1*		97.2 (87.6,104.8)			—		
单位体积中性洗涤纤维 NDF	3.4	4.3	3.8*	5.7*	116.8 (115.2,117.5)	2.2	0.0	116.8 (115.2,117.5)		
节间含水量 W_{wc}	3.4		5.4*		116.8 (115.2,117.5)					
节间干重 W_D	3.4	4.3	4.9*	5.2*	67.9 (60.2,73.5)	3.2	0.5	68.9 (61.2,74.5)		
最大折断力矩 M_F	3.5		4.0*		68.9 (61.2,74.5)					

注：* 表示在 0.1 水平差异显著。

Note: * is significantly different at 0.1 level.



水平线表示相应阈值

Thresholds are indicated with horizontal lines

图 1 节间直径 d 和最大折断力矩 M_F 相同侧翼标记重叠 QTL 的多效性检测

Fig. 1 Pleiotropic and linkage test for trait d and M_F

表 6 多效性 QTL 和连锁 QTL 的交叉验证结果

Table 6 Results of five-fold cross validation for pleiotropic QTL and linked QTL

染色体 Chromosome	性状 Trait		总的显著 次数 Total	结果模型/% Resulting model			
	性状 1 Trait 1	性状 2 Trait 2		多效性 Pleiotropy	连锁 Linkage	单性状 1 Trait 1	单性状 2 Trait 2
	5	M_F		d	1 000	34.5	9.8
5	d	NDF	1 000	23.1	39.7	15.8	21.4
5	M_F	NDF	924	12.8	30.3	0.1	0.5
6	NDF	W_{wc}	908	32.4	0.0	0.1	61.5
8	W_D	M_F	900	30.1	0.4	60.1	9.3

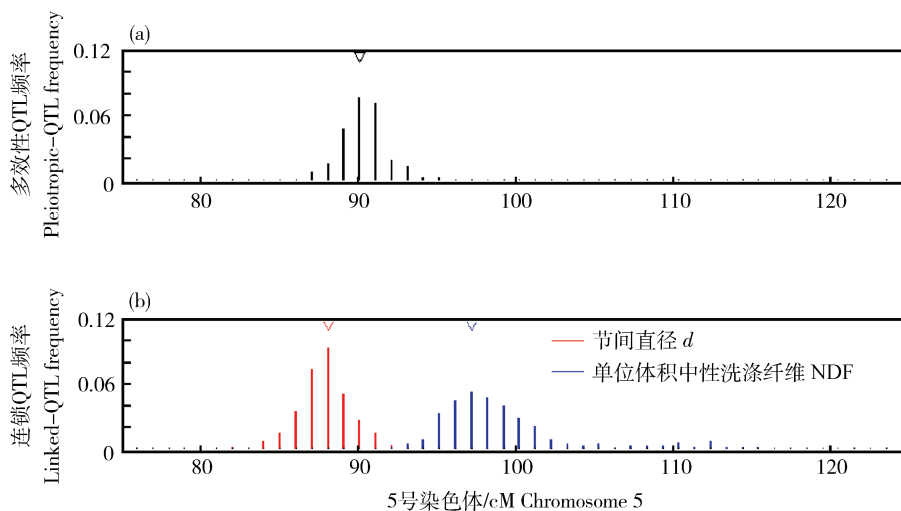
由表 6 可知,在 5 号染色体上, M_F 和 d 检测得到的多效性 QTL 的频率为 34.5%(图 2(a)),紧密连锁 QTL 的频率为 9.8%。在 6 号染色体上,NDF 和 W_{wc} 共得到 908 次显著性测验,其中多效性 QTL 的频率为 32.4%,紧密连锁 QTL 的频率为 0。在 8 号染色体上, W_D 和 M_F 共得到 900 次显著性测验,其中检测得到的多效性 QTL 的频率为 30.1%,紧密连锁 QTL 的频率为 0.4%。在 5 号染色体上,性状 d 和 NDF 在 1 000 次交叉验证中,检测多效性 QTL 频率为 23.1%,紧密连锁 QTL 的频率为 39.7%(图 2(b))。 M_F 和 NDF 共得到 924 次显著性测验,其中多效性 QTL 的频率为 12.8%,紧密连

锁 QTL 的频率为 30.3%。交叉验证结果对本研究所得到的结论具有较好的验证。

3 讨论

3.1 多系杂交群体多性状 QTL 定位模型

本研究在多系杂交群体 QTL 定位^[27]和多性状 QTL 定位^[19]的基础上提出了多系杂交群体多性状 QTL 定位模型,该模型同样适用于两系杂交群体的 QTL 定位和多效性 QTL 检测。相对于多性状 QTL 定位模型^[18-20],该模型由单个分离群体拓展到了多系杂交分离群体多效性 QTL 和连锁 QTL 鉴别分析。与 Haley 和 Knott 的多性状 QTL 定位^[19]



小三角表示全部数据定位得到的多效性或连锁 QTL 位点

The arrowheads indicate the detected pleiotropic or linked QTL with the full data

图2 性状 d 和 M_F 多效性 QTL (a) 及性状 d 和 NDF 连锁 QTL 在 5 号染色体上频率分布 (b)

Fig. 2 Frequency distribution for pleiotropic QTL (a) of d and M_F , linked QTL of d and NDF (b) in chromosome 5

不同的是,本研究先通过单性状 QTL 定位分析,然后对具有相同侧翼标记或置信区间重叠的 QTL 进行多效性 QTL 和连锁 QTL 检测,具有 QTL 置信区间重叠或侧翼标记相同的这些性状本身就是连锁的,因而没有进行 QTL 紧密连锁模型的检测,最终的检测结果只有多效性 QTL 和连锁 QTL 两种结果,这简化了分析流程和复杂度。通过 1 000 次交叉验证表明,玉米茎秆多效性 QTL 检测结果符合预期,该模型具有较大的应用性。今后我们将对所定位的多效性 QTL 在育种实践中进一步验证。另外,本研究只是在现有的双亲杂交后代 RIL 群体中使用了本套 R 程序包,今后将构建多系杂交分离群体来验证所编制的 R 程序包的适用性。

3.2 标记密度对定位功效的影响

本研究 RIL 群体共有 216 个个体和 129 个 SSR 标记,在标记密度较为稀疏的条件下,QTL 检测功效较低。本研究通过逐步回归分析选择背景控制的标记,QTL 定位检测是通过单个因变量对多个自变量的逐步回归分析,而多效性 QTL 和紧密连锁 QTL 鉴别分析的背景控制是通过多个因变量对多个自变量的逐步回归分析。在标记密度较为稀疏的条件下,多个因变量对多个自变量逐步回归分析相对于单个因变量对多个自变量逐步回归分析得到的显著标记个数对定位结果有相应的影响,如表 4

中,NDF 在 5 号染色体上最显著位点是在 101.3 cM 处,而表 5 中,其显著位点分别为 97.2 cM 和 108.3 cM。建议在多效性 QTL 和紧密连锁 QTL 鉴别分析中,尽可能增加标记密度,从而增加检测的统计功效。

3.3 茎秆抗弯力学性状、形态学性状和成分性状在育种选择中的策略

最大折断力和最大折断力矩是茎秆抗弯曲强度的主要力学指标。最大折断力矩 $M_F = (F \cdot L) / 4$ (L 为基部第四节间长)。本研究表明,最大折断力矩 M_F 与节间直径 d 和节间干重 W_D 具有极显著正相关,并且该相关关系得到 QTL 分析结果支持,多效性 QTL 和连锁 QTL 鉴别检测分析表明, M_F 与 d 在 5 号染色体上检测到了多效性 QTL,该多效性 QTL 对 M_F 和 d 的加性效应分别为 -0.43 、 -0.09 ,解释的遗传变异分别为 10.62% 和 24.47%。 M_F 和 W_D 可能受 Bin8.03 区域内多效性 QTL 调控,该多效性 QTL 对 M_F 和 W_D 的加性效应分别为 0.36 和 0.49,所解释的遗传变异分别为 10.11% 和 12.15%。因最大折断力和最大折断力矩的测量和计算较为繁琐,在玉米育种实践中,要选择较大折断力矩的育种材料,可以通过间接选择节间直径长且节间干重相对较重的玉米材料来简化选择过程。

玉米属于纤维类植物,在生物质能源育种方面,

玉米茎秆可以作为工业原料。性状间相关分析结果表明, d 和 NDF 极显著负相关。多效性 QTL 和紧密连锁 QTL 鉴别分析表明,在 5 号染色体上调控 d 和 NDF 的 QTL 为紧密连锁的 QTL,调控 d 性状 QTL 的加性效应为 -0.09 ,解释的遗传变异为 25.4%,调控 NDF 性状 QTL 的加性效应为 0.46,解释的遗传变异为 11.9%。该多效性 QTL 可能是 d 与 NDF 间负相关的主要原因。该 QTL 是本套分离群体独有的还是在大多数自交系中普遍存在的需要进一步研究,因为这关系到 d 与 NDF 间负相关能否被打破。

参 考 文 献

- [1] Flint-Garcia S A, Jampatong C, Darrah L L, McMullen M D. Quantitative trait locus analysis of stalk strength in four maize populations[J]. *Crop Science*, 2003, 43(1): 13-22
- [2] 胡海晓. 玉米重组自交系群体 BEHO 茎秆强度 QTL 分析: [D] 北京: 中国农业大学, 2011
Hu H X. QTL analysis of stalk strength in maize RIL population BEHO[D]. Beijing: China Agricultural University, 2011 (in Chinese)
- [3] 姚启伦. 玉米抗茎倒折性状遗传的研究[J]. 西南农业大学学报, 2003, 25(2): 123-126
Yao Q L. Studies of the inheritance of stalk breaking resistance traits in maize [J]. *Journal of Southwest Agricultural University*, 2003, 25(2): 123-126 (in Chinese)
- [4] 李得孝, 员海燕, 周联东. 玉米抗倒伏性指标及其模拟研究[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2004, 32(5): 53-56
Li D X, Yuan H Y, Zhou L D. Selection and estimation of indices of stem lodging resistance in corn [J]. *Journal of Northwest A&F Agriculture University: Natural Science Edition*, 2004, 32(5): 53-56 (in Chinese)
- [5] 刘庆昌. 遗传学[M]. 2 版. 北京: 科学出版社, 2009
Liu Q C. *Genetics* [M]. 2nd ed. Beijing: Science Press, 2009 (in Chinese)
- [6] 翟虎渠, 王建康. 应用数量遗传[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2007
Zhai H Q, Wang J K. *Applied Quantitative Genetics* [M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2007 (in Chinese)
- [7] Falconer D S, Mackay T F C, Frankham R. *Introduction to Quantitative Genetics* [M]. 4th ed. San Francisco: Benjamin Cummings, 1996
- [8] Kearsley M J. The principles of QTL analysis (a minimal mathematics approach)[J]. *Journal of Experimental Botany*, 1998, 49(327): 1619-1623
- [9] Hu H X, Meng Y J, Wang H W, Liu H, Chen S J. Identifying quantitative trait loci and determining closely related stalk traits for rind penetrometer resistance in a high-oil maize population[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2012, 124(8): 1439-1447
- [10] Hu H X, Liu W X, Fu Z Y, Homann L, Technow F, Wang H W, Song C L, Li S T, Melchinger A E, Chen S J. QTL mapping of stalk bending strength in a recombinant inbred line maize population[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2013, 126(9): 2257-2266
- [11] Stearns F W. One hundred years of pleiotropy: A retrospective [J]. *Genetics*, 2010, 186(3): 767-773
- [12] Williams G C. Pleiotropy, natural selection, and the evolution of senescence[J]. *Evolution*, 1957, 11(4): 398-411
- [13] Wagner G P, Kenney-Hunt J P, Pavlicev M, Peck J R, Waxman D, Cheverud J M. Pleiotropic scaling of gene effects and the 'cost of complexity' [J]. *Nature*, 2008, 452(7186): 470-472
- [14] Halberg R B, Chen X D, Amos-Landgraf J M, White A, Rasmussen K, Clipson L, Pasch C, Sullivan R, Pitot H C, Dove W F. The pleiotropic phenotype of Apc mutations in the mouse: Allele specificity and effects of the genetic background [J]. *Genetics*, 2008, 180(1): 601-609
- [15] Falconer D S. *Introduction to Quantitative Genetics* [M]. New York: The Ronald Press, 1960
- [16] Mather K, Jinks J L. *Biometrical Genetics* [M]. 2nd ed. London: Chapman and Hall, 1971
- [17] Balestre M, Von Pinho R G, de Souza Junior C L, de Sousa Bueno Filho J S. Bayesian mapping of multiple traits in maize: The importance of pleiotropic effects in studying the inheritance of quantitative traits[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2012, 125(3): 479-493
- [18] Jiang C, Zeng Z B. Multiple trait analysis of genetic mapping for quantitative trait loci[J]. *Genetics*, 1995, 140(3): 1111-1127
- [19] Knott S A, Haley C S. Multitrait least squares for quantitative trait loci detection[J]. *Genetics*, 2000(156): 899-911
- [20] Banerjee S, Yandell B S, Yi N. Bayesian quantitative trait loci mapping for multiple traits[J]. *Genetics*, 2008, 179(4): 2275-2289
- [21] SAS Institute Inc. *SAS User's Guide (version 9.3)* [M]. Cary N C, USA: SAS Institute Inc, 2011
- [22] Hallauer A R, Carena M J, Miranda Filho J B. *Quantitative Genetics in Maize Breeding* [M]. New York: Springer, 2010
- [23] Haley C S, Knott S A. A simple regression method for mapping quantitative trait loci in line crosses using flanking markers [J]. *Heredity* 1992, 69(4): 315-324
- [24] Jansen R C, Stam P. High resolution of quantitative traits into multiple loci via interval mapping[J]. *Genetics*, 1994, 136(4): 1447-1455
- [25] Zeng Z B. Precision mapping of quantitative trait loci [J]. *Genetics*, 1994, 136(4): 1457-1468
- [26] Martinez O, Curnow R N. Missing markers when estimating quantitative trait loci using regression mapping[J]. *Heredity*,

- 1994,73(2):198-206
- [27] Steinhoff J, Liu W, Maurer H P, Würschum T, Friedrich H L C, Ranc N, Reif J C. Multiple-line cross quantitative trait locus mapping in European elite maize[J]. *Crop Science*, 2011, 51(6):2505
- [28] Al-Subaihi A A. Variable selection in multivariable regression using SAS/IML[J]. *Journal of Statistical Software*, 2002, 7(12):1-20
- [29] Broman K W, Sen S. *A Guide to QTL Mapping with R/qlt* [M]. New York:Springer, 2009
- [30] Doerge R W, Churchill G A. Permutation tests for multiple loci affecting a quantitative character[J]. *Genetics*, 1996, 142(1):285-294
- [31] Utz H F, Melchinger A E, Schon C C. Bias and sampling error of the estimated proportion of genotypic variance explained by quantitative trait loci determined from experimental data in maize using cross validation and validation with independent samples[J]. *Genetics*, 2000, 154(3):1839-1849
- [32] Liu W X, Reif J C, Ranc N, Porta G D, Würschum T. Comparison of biometrical approaches for QTL detection in multiple segregating families[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2012, 125(5):987-998
- [33] Würschum T, Liu W X, Gowda M, Maurer H P, Schechert A, Reif J C. Comparison of biometrical models for joint linkage association mapping[J]. *Heredity*, 2012, 108(3):332-340
- [34] Liu W X, Maurer H P, Li G L, Tucker R M, Gowda M, Weissmann E A, Hahn V, Würschum T. Genetic architecture of winter hardiness and frost tolerance in triticale[J]. *PLoS ONE*, 2014, 9(6):1-7
- [35] Steinhoff J, Liu W X, Reif J C, Porta G D, Ranc N, Würschum T. Detection of QTL for flowering time in multiple families of elite maize[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2012, 125(7):1539-1551

责任编辑:杨爱东