

# 基于玉米 $BC_2F_2$ 群体的穗部性状 QTL 分析

胡利宗<sup>1</sup>, 刘均革<sup>2</sup>, 郭晋杰<sup>1</sup>, 赵永锋<sup>1</sup>, 祝丽英<sup>1</sup>, 宋占权<sup>3</sup>, 陈景堂<sup>1</sup>

(1. 河北农业大学, 河北 保定 071001; 2. 天津静海良种场, 天津 301600; 3. 保定学院, 河北 保定 071051)

**摘要:**以农系 110 为受体、农系 531 为供体材料,采用回交法构建了样本容量为 95 株的  $BC_2F_2$  回交群体,选取 126 个均匀分布在 10 条染色体上的多态性 SSR 标记进行 6 个穗部性状 QTL 分析。结果表明,受体农系 110 的穗长、穗粗、穗行数、行粒数、百粒重和穗粒重 6 个穗部性状表型值分别增加了 9.4%、9.6%、4.1%、2.7%、0.35% 和 4.4%;构建一张含 126 个 SSR 标记的玉米分子标记连锁遗传图谱,总长度为 2 317.4 cM,平均区间长 18.4 cM;采用复合区间作图法,定位了 19 个与玉米穗部性状有关的 QTL,其中穗长 QTL 4 个,穗粗 QTL 2 个,行粒数 QTL 1 个,穗行数 QTL 3 个,百粒重 QTL 4 个,穗粒重 QTL 5 个。

**关键词:**玉米;数量性状位点;穗部性状;作图群体

中图分类号:S513.03 文献标识码:A 文章编号:1000-7091(2010)04-0073-05

## QTL Analysis of Ear Traits Based on $BC_2F_2$ Population in Maize (*Zea mays* L.)

HU Li-zong<sup>1</sup>, LIU Jun-ge<sup>2</sup>, GUO Jin-jie<sup>1</sup>, ZHAO Yong-feng<sup>1</sup>,  
ZHU Li-ying<sup>1</sup>, SONG Zhan-quan<sup>3</sup>, CHEN Jing-tang<sup>1</sup>

(1. College of Agronomy, Hebei Agricultural University, Baoding 071001, China; 2. Jinghai Seed Base, Tianjin 301600, China; 3. Baoding College, Baoding 071051, China)

**Abstract:** The mapping population derived from a cross of Nongxi 110 as receptor and Nongxi 531 as donor, including 95  $BC_2F_2$  individuals, was developed by back cross breeding program in maize (*Zea mays* L.). The 126 polymorphic SSR primer pairs between parents, uniformly covering the whole genome, were used for genotyping of 95  $BC_2F_2$  individuals. The correlation and QTL analysis for ear traits were performed in this mapping population. The correlative result indicated that there is a significant positive correlation between ear length, ear row number of grain, row kernel number and ear weight, a significant positive correlation between ear length and row kernel number, but a significant negative correlation between ear length and ear diameter. According to CIM mapping method, the total 19 QTL for 6 ear traits were identified and located on in the chromosomes which included 4 QTL for ear length, 2 QTL for ear diameter, 1 QTL for row kernel number, 3 QTL for ear row number, 4 QTL for hundred kernel weight, 5 QTL for ear kernel weight.

**Key words:** Maize; Quantitative trait loci (QTL); Ear trait; Mapping population

借助分子标记和遗传连锁图谱定位了许多控制玉米穗部性状的 QTL,这些 QTL 分布于玉米的多条染色体上,而且在不同群体间检测到一些共同的 QTL,为玉米育种提供了可供利用的基因资源<sup>[1-4]</sup>,但是这些研究多数是利用初级作图群体进行的,而利用高级作图群体对玉米穗部性状遗传的研究报道相对较少<sup>[5,6]</sup>。本研究利用国家审定玉米杂交品种农单 5 号的双亲为试验材料,通过回交育种程序与

SSR 分子标记相结合,构建了一套  $BC_2F_2$  回交群体,通过对穗长、穗粗、穗行数、行粒数、百粒重和穗粒重 6 个穗部性状进行 QTL 分析,以期对玉米新品种的选育提供理论根据和材料。

## 1 材料和方法

### 1.1 供试材料

以 2001 年国家审定的玉米杂交种农单 5 号的

收稿日期:2010-07-02

基金项目:河北省“十一五”科技支撑计划(20061148001);河北省自然科学基金项目资助(C2006000441);河北省教育厅自然科学基金项目(Z2008115)

作者简介:胡利宗(1979-),男,河南洛阳人,硕士,主要从事玉米遗传育种研究。

通讯作者:陈景堂(1967-),男,河北平泉人,在读博士,教授,主要从事玉米遗传育种研究。

父本农系 110 为受体材料,以母本农系 531 为供体材料,于 2005 夏季组配杂交获得  $F_1$ ,2005 年冬季海南岛回交一次得  $BC_1F_1$ ,2006 年夏季于保定进行第二次回交得到  $BC_2F_1$ ,2006 年在海南岛自交获得 95 个  $BC_2F_2$  单株,作为作图群体被用于本研究。

## 1.2 穗部性状调查

两个亲本和  $BC_2F_2$  单株衍生的  $BC_2F_3$  家系,于 2007 年在河北农业大学作物育种中心,参考赵茂俊等<sup>[7]</sup>的方法进行田间试验,随机区组设计,双行区,3 次重复,行长 5 m,行距 0.6 m。成熟后,随机选择 8 株收获,晒干后进行室内考种。

## 1.3 SSR 标记检测

采用 Saghai-Maroo 等<sup>[8]</sup>提出的 CTAB 法提取基因组 DNA,用分光光度计检测 DNA 的浓度和质量,把 DNA 浓度调至 10 ng/ $\mu$ L 备用。PCR 扩增(PTC-200 PCR 仪)采用以下体系(总反应体积 10  $\mu$ L):10  $\times$  Buffer(含  $Mg^{2+}$ ) 1  $\mu$ L,10 mmol/L dNTP 0.35  $\mu$ L,2 U/ $\mu$ L Taq 酶 0.1  $\mu$ L,25 ng/ $\mu$ L SSR 引物 1.2  $\mu$ L,ddH<sub>2</sub>O 4.35  $\mu$ L,10 ng/ $\mu$ L DNA 3  $\mu$ L(扩增前加入一滴矿物油)。PCR 扩增程序为:94℃ 预变性 5 min;94℃ 变性 40 s,60℃ 退火 35 s,72℃ 延伸 45 s,35 个循环;72℃ 保温 10 min。扩增后的样品与 5  $\mu$ L Loading Buffer 混合,PCR 仪上 95℃ 变性 10 min,立即转移到冰上冷却。以 pBR322 片段为分子量标记,用 6% 聚丙烯酰胺变性凝胶电泳,使用六一公司的电泳设备,38 cm  $\times$  30 cm  $\times$  0.4 mm 测序胶板,恒定功率 80 W,电泳 50 min。

## 1.4 遗传连锁图的构建与 QTL 分析

表 1 亲本及  $BC_2F_2$  群体穗部性状表型值与变异

Tab.1 The phenotypic variation for ear traits of parents and  $BC_2F_2$  population.

性状 Trait	农系 110 Receptor	农系 531 Donor	BC <sub>2</sub> F <sub>3</sub> 导入系群体 IL Population				
			均值 Means	变异范围 Range	变异系数 / % CV	偏度 Skewness	峰度 Kurtosis
穗长 Ear length	15.8	12.8	17.3 $\pm$ 0.58	9.6 ~ 21.4	8.8	0.27	0.12
穗粗 Ear diameter	5.2	5.9	5.7 $\pm$ 0.82	4.2 ~ 6.4	6.89	0.08	0.26
穗行数 Ear row number	16.9	18.7	17.6 $\pm$ 0.64	14.0 ~ 20.0	9.75	-0.16	-0.17
行粒数 Row kenrel number	37.6	32.3	38.6 $\pm$ 1.24	26.0 ~ 45.0	8.28	0.48	-0.09
百粒重 Hundred kernel weight	30.5	32.6	30.6 $\pm$ 0.86	22.3 ~ 39.2	9.87	0.11	0.18
穗粒重 Ear kernel weight	62.7	59.7	65.4 $\pm$ 0.95	46.7 ~ 82.5	6.87	-0.15	-0.24

注:均值后为标准误。

Note: Standard error following mean.

## 2.2 遗传连锁图谱的构建

从 <http://www.maizegdb.org> 中,参照 IBM2neighbors 图谱,选择均匀分布于玉米 10 条染色体上的 434 对 SSR 标记进行受体和供体之间的多态性检测,其中在作图群体中能稳定扩增多态性带并最终统计数据的有 134 对。应用 Mapmaker/exp version 3.0 b 在 LOD > 3.0 的条件下,构建一张

通过在农单 5 双亲中的多态性引物筛选,参照 IBM2neighbors 图谱<sup>[9]</sup>,利用软件 Mapmaker 对这些标记进行连锁分析,构建  $BC_2F_2$  群体的遗传连锁图谱。利用 WinQTLCart 2.5 软件中的复合区间作图法对目标性状进行 QTL 分析,在 0.05 显著水平上进行 500 次排列测验(Permutation test)给定每一性状的显著性阈值(LOD 值),超过给定 LOD 值即认为存在一个 QTL。

## 2 结果与分析

### 2.1 穗部性状分析

利用 SAS 软件对以农系 110 为轮回亲本和农系 531 为非轮回亲本构建的  $BC_2F_2$  回交群体以及双亲的 6 个穗部性状进行正态分析(表 1)。对于  $BC_2F_2$  群体而言,穗长变异范围为 9.6 ~ 21.4,平均值为 17.3,比农系 531 增加了 35.2%,比农系 110 增加了 9.4%。穗粗、穗行数、行粒数、百粒重和单穗粒重的变异范围分别为 4.2 ~ 6.4,14 ~ 20,26 ~ 45,22.3 ~ 39.2,46.7 ~ 82.5,与农系 531 相比,穗粗、穗行数和百粒重平均值分别下降了 3.3%,5.8% 和 6.7%,而行粒数和单穗粒重分别增加了 1.2% 和 19.5%;与农系 110 相比,穗粗、穗行数、行粒数、百粒重和单穗粒重平均值都呈增加态势,分别增加了 9.6%、4.1%、2.7%、0.35% 和 4.4%。进一步对  $BC_2F_{2:3}$  家系的穗长、穗粗、穗行数、行粒数、百粒重、穗粒重 6 个穗部性状进行方差分析,表明这些性状在家系内不同基因型间以及与双亲之间都存在显著差异,因此,这些性状适宜用作 QTL 分析。

含 126 个共显性 SSR 标记的玉米分子标记连锁遗传图谱,覆盖玉米 10 条染色体,总长度为 2 317.4 cm,平均区间长 18.4 cm。图谱存在间隙稍大的标记区间(大于 30 cm),大多数标记的位置与其在 IBM2005 上的位置一致,但是也存在较小差异,这些差异可能是由于材料的不同、环境影响或者基因型变异造成的。

2.3 玉米穗部性状的 QTL 分析

本研究采用复合区间作图法对穗长、穗粗、穗行数、行粒数、百粒重、穗粒重 6 个穗部性状进行 QTL 初步定位(表 2)。共检测到 19 个与穗部性状有关

的 QTL,其中控制穗长的 QTL 4 个,穗粗的 QTL 2 个,行粒数的 QTL 1 个,穗行数的 QTL 3 个,百粒重的 QTL 4 个,穗粒重的 QTL 5 个(图 1)。

表 2 玉米 BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub> 群体的穗部性状 QTL 及遗传效应

Tab. 2 The QTL for ear traits and genetic effect in maize BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub> population

QTL	临近区间 Marker interval	LOD	基因效应 Gene effect			解释变异 Explained variance	作用方式 Gene action
			加性( A)	显性( D)	互作( D/A)		
EL1a	Umc1566-bnlg1429	25.94	3.17	-0.14	0.04	A	23.50
EL1b	Umc1906-umc1603	16.67	4.18	-0.29	0.07	A	10.75
EL6a	mmp4-umc1257	4.32	-1.55	-0.27	0.17	A	1.32
EL8a	mmp120-bnlg1834	4.25	-2.30	-0.09	0.04	A	3.01
ED1a	umc1397-mmp151a	16.23	7.77	-2.49	0.32	PD	12.10
ED10a	bnlg1079-bnlg1712	18.06	7.78	-1.75	0.23	PD	12.46
ERN1a	mmp151a-umc2124a	15.27	-8.39	1.32	0.16	A	14.90
ERN3a	npi446-umc2158a	7.37	-5.91	0.57	0.10	A	7.72
ERN6a	umc1250-umc2005	7.28	-6.40	1.70	0.27	PD	8.99
RKN2a	umc1259-npi242a	8.15	-4.07	-0.76	0.19	A	4.01
HKW3a	umc2158-umc2117a	23.33	-6.72	-0.14	0.02	A	23.72
HKW4a	umc1953-mmp78	3.06	1.94	-0.36	0.18	A	2.24
HKW5a	ufg27-mmp130	26.07	-6.51	0.11	0.02	A	22.09
HKW7a	npi600-bnlg1247	4.25	-2.30	-0.09	0.04	A	3.01
EKW1a	mmp66-umc1397	3.48	-2.06	0.72	0.35	PD	2.59
EKW5a	umc1935-mmp108a	5.75	-3.30	1.92	0.58	PD	5.93
EKW6a	umc1105-umc1250	4.32	-1.55	-1.57	1.01	OD	1.37
EKW6b	csu481-umc1352a	16.67	4.38	-0.17	0.04	A	10.75
EKW8a	umc1457-umc1130	4.67	-4.60	2.62	0.57	PD	4.86

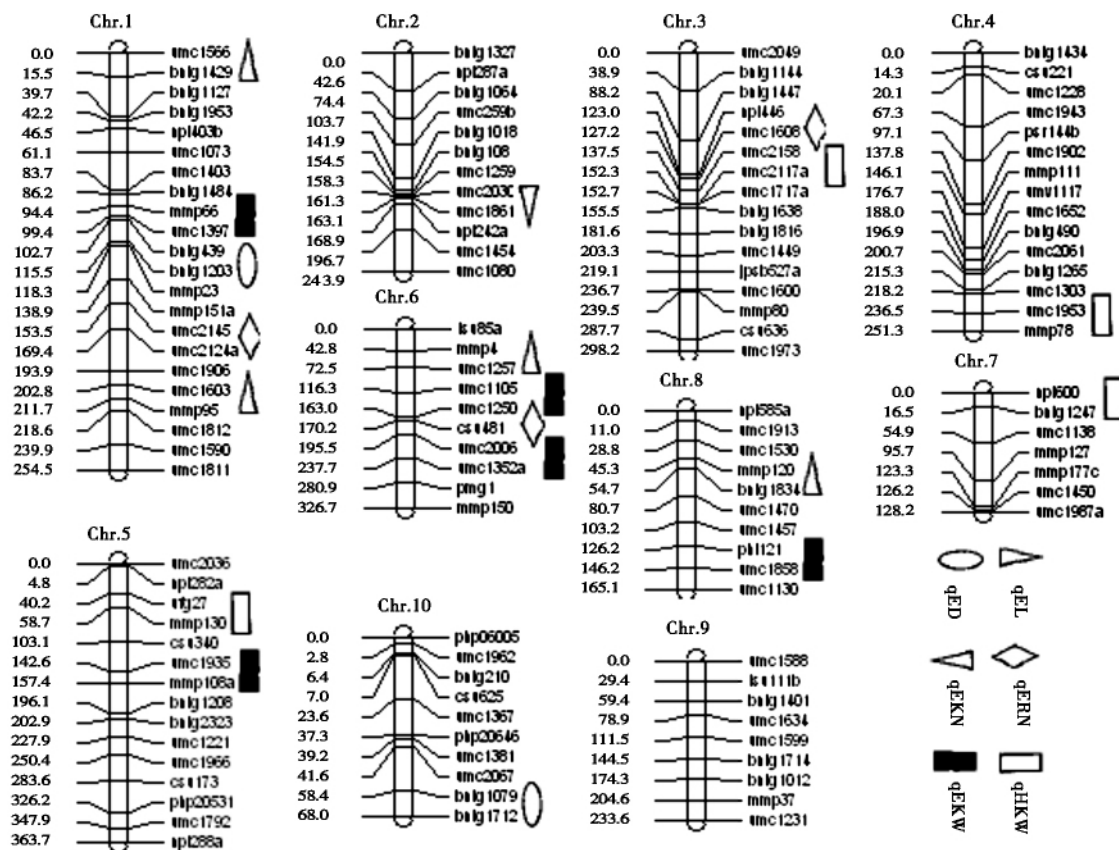
注: QTL 名称用性状的英文缩写加上所在染色体的编号表示;字母 a、b 表示位于同一染色体上不同的 QTL;A. 加性效应;PD. 部分显性效应;D. 显性效应;OD. 超显性效应;R<sup>2</sup>(%) . 贡献率。

Notes: QTLs were named after the abbreviation of the first letter of the name of the traits with a number indicating the located chromosomes. The following numbers a、b. Indicate the QTL for the same trait on same chromosome but different at different locus; A. Additive; PD. Partial dominance; D. Dominance; OD. Overdominance. R<sup>2</sup>(%) . Phenotypic variation.

检测到 4 个与穗长有关的 QTL,EL1a、EL1b、EL6a 和 EL8a 分别位于第 1、6 和 8 染色体上的 Umc1566-bnlg1429、Umc1906-umc1603、mmp4-umc1257 和 mmp120-bnlg1834 区段内,其中第一条染色体上 2 个 QTL、第六和八条染色体上各 1 个 QTL,单个 QTL 所解释的穗长表型变异在 1.32% ~ 23.5%。检测到 1 个与行粒数有关的 QTL,RKN1a 位于第 2 条染色体上的 umc1259-npi242a 区段内,可以解释行粒数表型变异 4.0%。检测到穗粗的 QTL 有 2 个,ED1a 和 ED10a 分别位于第 1 和 10 条染色体上的 umc1397-mmp151a 和 bnlg1079-bnlg1712 区段内,它们分别解释穗粗变异的 12.1% 和 12.6%。检测到 3 个与穗行数相关的 QTL,ERN1a、ERN3a 和 ERN6a 位于第 1、3 和 6 条染色体上,并且分别处于 mmp151a-umc2124a、npi446-umc2158a 和 umc1250-umc2005 区段内,可以解释穗行数变异的 14.9%、7.72% 和 8.99%。检测到 4 个与百粒重有关的 QTL,HKW3a、HKW4a、HKW5a 和 HKW7a 位于第 3、4、5 和 7 条染色体上,分别定位在 umc2158-umc2117a、umc1953-mmp78、ufg27-mmp130 和 npi600-bnlg1247 区间内,分别解释百粒重变异的 23.42%、

2.24%、22.09% 和 3.01%。检测出 5 个与穗粒重有关的 QTL,EKW1a、EKW5a、EKW6a、EKW6b 和 EKW8a 位于第 1、5、6 和 8 条染色体上,其中有 2 个 QTL 位于第 6 条染色体上,定位于 umc1105-umc1250 和 csu481-umc1352a 区段内,可以解释穗粒重变异的 1.32% 和 10.75%。

从作用方式来看,除第五条染色体上的 EKW5a 外,QTL 的加性效应绝对值均大于显性效应绝对值,12 个 QTL 表现加性效应,其中最大贡献率为 23.72%,最小贡献率为 1.32%,平均贡献率 10.59%;6 个 QTL 表现部分显性效应,其中最大贡献率为 12.46%,最小贡献率为 2.59%,平均贡献率 7.82%;1 个 QTL 为超显性效应,贡献率 1.37%。结合穗部性状来看,穗长和百粒重的 QTL 表现为加性效应;穗粗 QTL 表现为部分显性效应;而其余穗部性状遗传效应较为复杂,行粒数主要表现为加性效应,也有部分显性效应起作用;遗传效应最为复杂的是单穗粒重,加性效应、部分显性效应和超显性效应为该穗部性状的遗传共同起作用。

图1 玉米  $BC_2F_2$  群体中穗部性状 QTL 在染色体上的位置Fig.1 Diagram of QTLs for ear traits in the maize  $BC_2F_2$  population

### 3 讨论

比较基因组学显示,从宏观和微观两个层次上,相近物种具有广泛的共线性<sup>[10-12]</sup>。因此,在同一物种不同作图群体中定位的 QTL 应该有位置重叠现象,即控制玉米穗部性状的基因或者 QTLs 在基因组中可能占有相对固定的位置,同时在不同群体间此类基因或 QTL 在结构、序列和表达模式上具有不同程度的相似性。基于上述考虑,查询玉米数据库 maizegdb 结果表明,本研究结果与前人研究结果具有一定程度的一致性。如本研究定位百粒重 3 个 QTL 即 HKW4a、HKW5a 和 HKW7a 分别与 Abler<sup>[13]</sup>、Austin<sup>[14]</sup> 和 Veldboom<sup>[15]</sup> 等定位的 qgrwt19、qgrwt15、q300K30、qearl25、qearl26 位于染色体的相同 bin 区域。此外穗长和穗粗的 2 个 QTL 也与前人的有较高一致性,几乎共同定位于小于 20 cM 区段内。

尽管已经发现并定位了许多玉米穗部性状的 QTL,但是能够精细定位于相同的位置的 QTL 则非常少<sup>[16,17]</sup>。本研究与前人定位的穗部性状 QTL 对比,结果也显示出这一特点,这可能有以下原因:一是,本研究所构建的遗传连锁图只包含了 126 的 SSR 标记,标记数目相对较少,标记间的遗传距离相对较大,可能有共同的 QTL 未被检测出来;二是,数

量性状受环境条件影响较大,导致检测到的穗部性状 QTL 有假阴性或假阳性存在;三是作图群体样本不够大,或者 QTL 在不同作图群体中的不稳定性 and 差异性,导致 QTL 分析结果不同。

### 参考文献:

- [1] Austin D F, Lee M. Comparative mapping in  $F_{2:3}$  and  $F_{6:7}$  generations of quantitative trait loci for grain yield and yield components in maize [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1996, 92: 817 - 826.
- [2] Ajmone M P, Gorni C, Chitto A, et al. Identification of QTLs for grain yield and grain-related traits of maize (*Zea mays* L.) using an AFLP map, different testers and cofactor analysis [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2001, 102: 230 - 243.
- [3] David F A, Michael L, Lance R V, et al. Genetic mapping in maize with hybrid progeny across testers and generations: grain yield and grain moisture [J]. Crop Science, 2000, 40: 30 - 39.
- [4] Terry G B, Torbert R R. Quantitative trait loci for flowering, plant and ear height, and kernel traits in maize [J]. Crop Science, 1995, 35: 1542 - 1549.
- [5] 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.
- [6] 严建兵, 汤 华, 黄宜勤, 等. 玉米产量及构成因子主效和上位性 QTL 的全基因组扫描分析 [J]. 科学通报, 2006, 51(12): 1413 – 1421.
- [7] 张志明, 赵茂俊, 荣廷昭, 等. 玉米 SSR 连锁图谱构建与株高及穗位高 QTL 定位 [J]. 作物学报, 2007, 33(2): 341 – 344.
- [8] Saghai-Maroo 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 of Sciences, USA, 1984, 81: 8014 – 8018.
- [9] Lee M, Sharopova N, Beavis W D, *et al.* Expanding the genetic map of maize with the inter mated B73 Mo17 (IBM) population [J]. Plant Molecular Biology, 2002, 48: 453 – 461.
- [10] Chengzhi Liang, Pankaj Jaiswal, Claire Hebbard, *et al.* Gramene: a growing plant comparative genomics resource [J]. Nucleic Acids Research, 2008, 36: 947 – 953.
- [11] Olga N, Dani levskaya, Xin Meng, *et al.* A genomic and expression compendium of the expanded PEBP gene family from maize [J]. Plant Physiology, 2008, 146: 250 – 264.
- [12] Srinivasl G, Satishl K, Murali Mohanl S, *et al.* Development of genic-microsatellite markers for sorghum stay-green QTL using a comparative genomic approach with rice [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2008, 117: 283 – 296.
- [13] Abler B S, Edwards M, Stuber C W. Isoenzymatic identification of quantitative trait loci in crosses of elite maize inbreds [J]. Crop Science, 1991, 31(2): 267 – 274.
- [14] Austin D, Lee M. Comparative mapping in F<sub>2:3</sub> and F<sub>6:7</sub> generations of quantitative trait loci for grain yield and yield components in maize [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1996, 92(7): 817 – 826.
- [15] Veldboom L, Lee M. Molecular-marker-facilitated studies of morphological traits in maize. 2: Determination of QTLs for grain yield and yield components [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1994, 89(4): 451 – 458.
- [16] Schaeffer M, Byrne P, Coe, *et al.* Consensus quantitative trait maps in maize: a database strategy [J]. Maydica, 2006, 51(2): 357 – 367.
- [17] Wang Yi, Zhang Zhengfeng, Zheng Yonglian. The comparative analysis based on maize integrated QTL map and meta-analysis of plant height QTLs [J]. Chinese Science Bulletin, 2006, 51(18): 2219 – 2230.