

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2009.01038

利用永久F₂群体定位小麦株高的QTL

王 岩 李卓坤 田纪春*

山东农业大学 / 国家作物生物学重点实验室小麦品质育种室, 山东泰安 271018

摘 要: 为研究小麦株高的遗传机制, 利用DH群体构建了一套包含 168 个杂交组合的小麦永久F₂群体, 并于 2007 年种植于山东泰安和山东聊城。构建了一套覆盖小麦 21 条染色体的遗传连锁图谱, 并利用该图谱的 324 个SSR标记对小麦株高进行QTL定位研究, 使用基于混合线性模型的QTLNetwork 2.0 软件进行QTL分析。在永久F₂群体中定位了 7 个株高QTL, 包括 4 个加性QTL, 1 个显性QTL, 1 对上位性QTL, 共解释株高变异的 20%, 其中位于 4D染色体的 *qPh4D*, 具有最大的遗传效应, 贡献率为 7.5%; 位于 2D 染色体显性效应位点 *qPh2D*, 可解释 1.6% 的表型变异; 位于 5B~6D染色体上位效应位点, 可解释 1.7% 的表型变异。还发现加性效应、显性效应和上位效应对小麦株高的遗传起重要作用, 并且基因与环境具有互作效应。

关键词: 小麦; 永久F₂群体; 株高; 数量性状位点

Detection of Quantitative Trait Loci for Plant Height Using an Immortalized F₂ Population in Wheat

WANG Yan, LI Zhuo-Kun, and TIAN Ji-Chun *

Group of Quality Wheat Breeding of Key Laboratory of Crop Biology / Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China

Abstract: To study the genetic mechanism of wheat plant height, a set of doubled haploid (DH) lines were used to construct an immortalized F₂ (IF₂) population comprising 168 different crosses. The IF₂ population was evaluated for plant height in 2007 cropping seasons in Tai'an and Liaocheng, Shandong province. Linkage map was constructed with 324 SSR markers covering the whole wheat genome, including 284 SSR, 37 ESTs loci, 1 ISSR loci and 2 HMW-GS loci, was constructed. This linkage map covered a total length of 2 485.7 cM with an average distance of 7.67 cM between adjacent markers. QTL analyses were performed using the software QTLNetwork version 2.0 based on the mixed linear model at $P < 0.05$. Four additive QTLs, 1 dominance QTL and pair of epistatic QTLs were detected, the total QTL effects detected for the plant height explained 20% of the phenotypic variation. One QTL *qPh4D* for plant height was identified on chromosome 4D, was identified on chromosome 2D, explaining 7.5% of the phenotypic variances. Dominance effect loci *qPh2D* was identified on chromosome 2D, explaining 1.6% of the phenotypic variances; epistatic effects of loci was identified on chromosome 5B–6D, explaining 1.7% of the phenotypic variances. The results indicate additive effects, dominance effects and epistatic effects are important in genetics of wheat for plant height, which are also subjected to environmental modifications.

Keywords: Common wheat; Immortalized F₂ population; Plant height; QTL

小麦的株高和株型决定种植密度和抗倒性, 对小麦产量影响很大, 因此育种家对株高性状的关注仅次于产量及抗性指标。株高受主效基因和微效基因的共同控制, 表现为典型的数量性状遗传, 而

且度量比较简单, 容易获得准确的观测值, 因此许多学者利用不同的遗传分离群体对株高的遗传机制进行了大量的分析, 定位了许多与株高相关的QTL。随着分子数量遗传的迅速发展, 更多影响小

本研究由国家重点基础研究发展计划(973 计划)项目(2009CB118301)和国家高技术研究发展计划(863 计划)项目(2006AA1021E9)资助。

* 通讯作者(Corresponding author): 田纪春, E-mail: jctian@sdau.edu.cn; Tel: 0538-8242040

第一作者联系方式: E-mail: shenbaise610@163.com

Received(收稿日期): 2008-11-27; Accepted(接受日期): 2009-02-17.

麦株高的主效基因和数量性状位点(quantitative trait locus, QTL)得以发现和定位。迄今已发现 20 多个小麦株高相关的基因^[1-4]。Huang等^[5]利用PRINZ和W-7984 杂交得到的BC₂F₃群体, 在 4 个不同的环境中检测到 5 个不同的小麦株高QTL, 单个QTL可以解释 9.4%~29.5%的表型变异。刘冬成等^[6]应用矮秆小麦ND3338 和F390 杂交得到的F_{2,3}群体, 在 5 条染色体上发现 7 个影响株高的QTL, 每个环境下检测出的QTL可以解释 64.8%~75.0%的表型变异。Cadalen等^[7-8]利用Courtot与中国春杂交产生的DH群体, 除了检测到Courtot所含的*Rht-B1b*和*Rht-D1b*矮秆基因外, 还检测到控制株高的另外 3 个QTL和 1 个互作位点, 这些QTL可以分别解释 11.9%~19.1%的表型变异。张坤普等^[9]利用花培 3 号和豫麦 57 杂交得到的DH群体对小麦株高进行分析, 在 3 个环境中检测到分布于 4 条染色体上的 4 个加性QTL, 单个QTL可以解释 2.84%~20.22%的表型变异, 全部QTL可以解释 46.70%的表型变异; 同时还发现 5 个上位性QTL, 位于 6 条不同染色体上, 全部上位性位点可解释 19.89%的表型变异。Keller等^[10]利用普通小麦Forno和斯卑尔脱小麦Oberkulmer的重组自交系群体, 在 3 个环境中检测到分布于 9 条染色体上的 11 个QTL, 单个QTL可以解释 7.9%~31.4%的表型变异, 全部QTL可以解释 72.6%的表型变异。Borner等^[11]利用小麦Opata85 和合成小麦W7984 的重组自交系群体, 在 3 个地点连续 4 年的 8 份资料中检测到 4 个控制株高的主效QTL。Shah等^[12]和Araki等^[13]为了减少遗传背景的干扰, 分别以单个染色体重组代换系为材料, 在 3A和 4A染色体上均发现 2 个与小麦株高有关的QTL。Kato等^[14]将*T. spelta*和Cappelle-Desprez的 5A染色体导入中国春中制成一套重组自交系群体对小麦株高进行分析, 发现 3 个QTL。

前人进行有关株高遗传及QTL定位研究用的材料均为基因型纯合的永久性群体或F₂分离群体, 永久性群体无法检测显性及其相关的上位性效应。F₂群体虽然可以用来估计加性效应、显性效应和上位性效应, 但同一基因型仅有一个单株, 且不能进行地点间和年份间的重复, 因而限制了它在数量性状研究中的应用。用永久F₂ (immortalized F₂, IF₂)群体则可有效解决这些问题^[15]。永久F₂群体的每一个杂交组合均由永久遗传群体(RILs或DH群体)中的两个稳定株系杂交而成, 与F₂群体具有相同的遗传结构,

因此可根据试验需要重复配制每种基因型, 使群体的遗传结构得以长期保持, 而且可以组配出足量的种子满足多年多点试验需要, 以取得准确的表型观测值^[16-18]。

本研究采用含有 324 个SSR标记构建的遗传图谱^[9], 混合线性模型^[19]的QTLNetwork 2.0^[20]软件, 以及一套永久F₂群体对株高进行QTL定位和分析, 旨在为研究小麦株高QTL及其遗传效应提供参考, 对小麦株高的分子标记辅助选择育种有很大的应用价值和理论意义。

1 材料与方法

1.1 IF₂群体的构建

1.1.1 基础群体 花培 3 号和豫麦 57 杂交F₁通过花药培养, 经染色体加倍获得 168 个双单倍体(doubled-haploid, DH)群体。花培 3 号和豫麦 57 分别于 2006 年和 2004 年通过河南省农作物品种审定委员会^[21]和国家审定^[22], 在黄淮海区推广面积已达 133 万公顷, 在农艺性状和品质性状方面有较大差异^[21-22]。

1.1.2 IF₂群体的构建 2006 年秋将基础群体种植在山东农业大学教学基地, 2007 年 5 月根据Hua等^[23]的永久F₂组配方案, 将 168 个DH系随机分成两组, 每组包含 84 个DH系, 从两组 DH系中各随机选择 1 个DH系组配成一个杂交组合, 然后再从剩余的DH系中各选出 1 个DH系进行组配, 依次类推。通过一轮杂交可组配 84 个杂交组合, 经两轮杂交, 获得包含 168 个杂交组合的一套IF₂群体。

1.2 IF₂群体的田间试验

2007 年 10 月将IF₂群体种植在山东农业大学教学基地(山东泰安)和山东省聊城市农业科学研究院(山东聊城)。采用完全随机区组设计, 2 次重复, 3 行区种植, 行长 2 m, 行距 0.25 m, 株距 0.19 cm。按当地小麦产量比较试验方案进行田间管理, 生长期没有发生倒伏和其他病害。

定义株高是指植株分蘖节到主茎穗顶部的高度(不包括麦芒)。2008 年小麦开花后, 在每小区中间行从第 3 株开始连续调查 10 株, 取平均值。

1.3 遗传图谱的构建

用MAPMAKER/EXP3.0b软件^[24]分析、计算 324 个标记的连锁关系, 将 324 个标记, 包括 284 个SSR标记、37 个EST标记、1 个ISSR标记和 2 个HMW-GS(高分子量谷蛋白亚基)标记位点定位在小麦的 21

条染色体上。图谱全长 2 485.70 cM, 平均两个标记间的遗传距离是 7.67 cM, 形成 24 个连锁群, 分布在小麦的 21 条染色体上。A 基因组有 105 位点, B 基因组有 125 个位点, D 基因组有 94 个位点。单个连锁群平均长度 103.57 cM, 2D 连锁群最长为 173.50 cM, 5A-2 连锁群最短为 13.60 cM。每个连锁群包括 3(5A-2)~28(1B) 个位点, 平均每个连锁群为 13.50 个位点。

1.4 数据统计和 QTL 分析

利用 SPSS 软件对小麦株高的表型数据进行统计分析。采用 324 个 SSR 标记构建遗传图谱, 利用基于混合线性模型的 QTLNetwork 2.0 软件进行 QTL 分析。以 $P=0.005$ 为统计检测阈值, 当软件运

行结束得出结果后, 如果一个标记区间标记的 P 值小于统计检测阈值时, 认为该标记处存在 1 个与性状有关的 QTL。

2 结果与分析

2.1 IF₂ 群体小麦株高的表现型分析

图 1 和表 1 为 IF₂ 群体在两个地点的株高表型值, 其中在泰安种植的 IF₂ 群体的株高最大值为 102.2 cm, 最小值为 33.7 cm, 平均 68.6 cm, 在聊城种植的 IF₂ 群体的株高最大值为 100 cm, 最小值为 30 cm, 平均 63.82 cm (表 1)。群体中偏斜度值与峰度值的绝对值都小于 1.0, 符合正态分布 (表 1 和图 1), 表现出典型的数量性状的遗传特点^[25]。

表 1 两个试验环境下永久 F₂ 群体的株高 (2008 年)

Table 1 Measurements of plant height in the immortalized F₂ population in two environments in 2008

环境 Environment	平均值 Mean (cm)	最大值 Max (cm)	最小值 Min (cm)	标准差 SD (cm)	偏斜度 Skewness	峰度 Kurtosis
山东泰安 Tai'an, Shandong	68.64	102.2	33.7	14.4	-0.189	-0.616
山东聊城 Liaocheng, Shandong	63.82	100.0	30.0	13.2	-0.128	-0.474

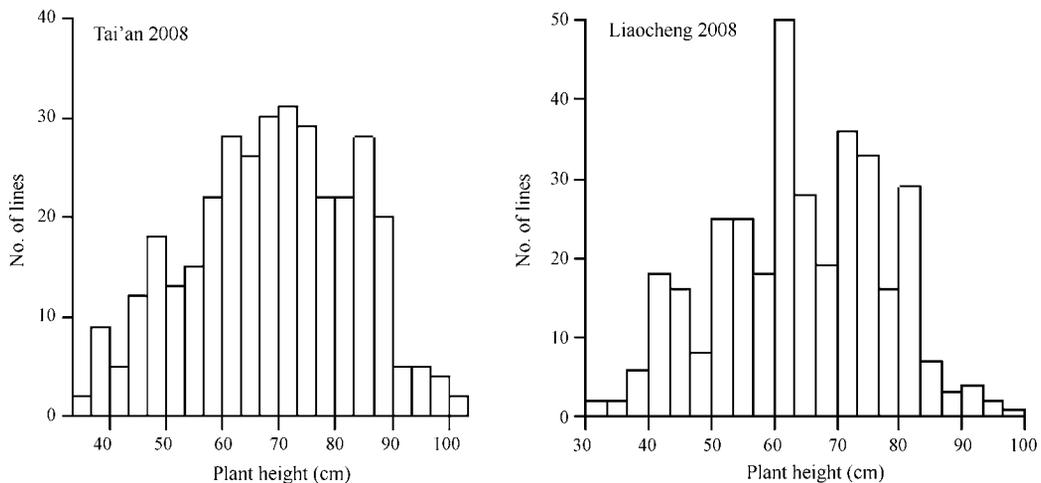


图 1 在 2 个环境中永久 F₂ 群体的株高分布

Fig. 1 Distribution of plant height of immortalized F₂ population in two environments

2.2 QTL 分析

在 IF₂ 群体中共定位了 7 个株高 QTL, 包括 4 个加性 QTL, 一个显性 QTL, 一对上位性 QTL。其中 1 个加性效应位点具有环境互作效应, 上位效应位点没有发现上位效应环境互作。

小麦株高的 4 个加性 QTL 位于 2D、3A、4B 和 4D 染色体 (表 2 和图 2), 其中位于 4D 染色体的 *qPh4D*, 具有最大的遗传效应, 贡献率为 7.5%, 在

各环境中稳定表达; 位于 3A 染色体的 *qPh3A* 可解释 4.5% 的表型变异; 位于 4B 染色体的 *qPh4B*, 贡献率为 3.0%, 并且具有环境互作效应; 位于 2D 染色体的 *qPh2D*, 贡献率为 1.6%。位于 2D 染色体显性效应位点 *qPh2D* (图 2), 可解释 1.6% 的表型变异。位于 5B~6D 染色体上位效应位点 (图 2), 可解释 1.7% 的表型变异, 没有检测到上位效应与环境的互作效应。

表 2 在两个环境中小麦株高的加性 QTL 及加性与环境互作效应

Table 2 Estimates of additive (A) and additive × environment (AE) interactions of QTLs for plant height based on the averaged phenotypic data from two environments

QTL	标记区间 ^a Flanking marker ^a	位置 ^b Site (cM) ^b	F 值 F-value	P	加性 Additive		加性 × 环境 1 A × E1		加性 × 环境 2 A × E2	
					效应 A	贡献率 H ² (%)	效应 AE ₁	贡献率 H ² (%)	效应 AE ₂	贡献率 H ² (%)
<i>qPh2D</i>	Xgwm296–Xwmc112	0.1	7.86	0.000	2.41	1.6	0.90		–0.89	
<i>qPh3A</i>	Xwmc264–Xcfa2193	143.9	11.99	0.000	3.98	4.5	–0.00		0.00	
<i>qPh4B</i>	Xwmc48–Xbarc1096	18.4	10.05	0.000	–3.25	3.0	–1.44	3.58	1.41	3.57
<i>qPh4D</i>	Xbarc334–Xwmc3316	4.1	17.00	0.000	5.14	7.5	0.49		–0.48	

^a检测到的QTL的F峰值所在的区间。^b检测到的QTL的F峰值距标记区间的左边标记位点的距离。当P<0.005时,视为存在1个QTL。环境1: 山东泰安 2008; 环境2: 山东聊城 2008。

^a Interval of F peak value for QTL. ^b Distance of F peak value for QTL to the left marker in “flanking markers”. QTL was confirmed if the phenotype was associated with a marker locus at P<0.005. E1: Tai’an, Shandong, 2008; E2: Liaocheng, Shandong, 2008.

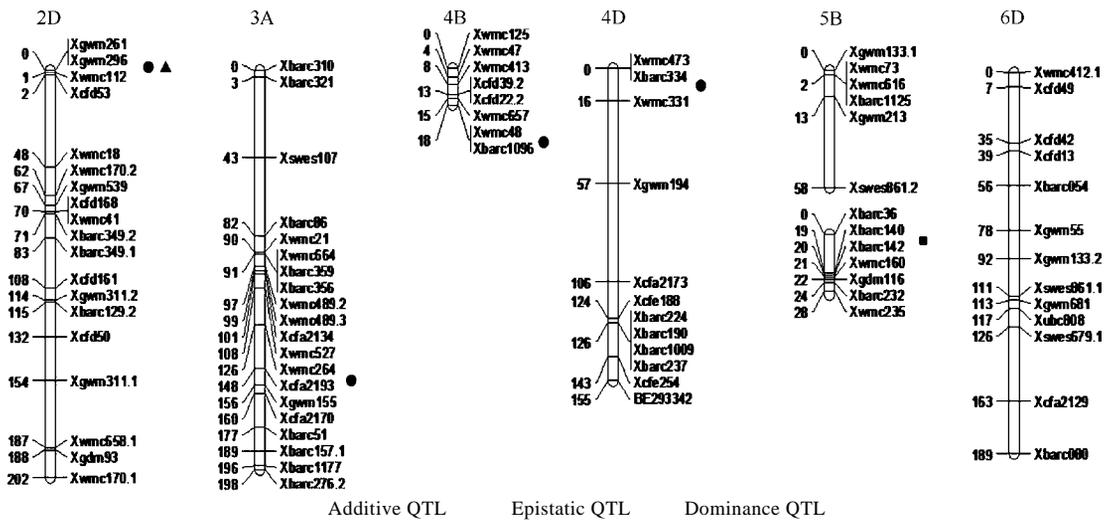


图 2 小麦株高的加性、显性和上位 QTL 在染色体上的位置

Fig. 2 Positions of additive, dominance, and epistatic QTLs for plant height
Abbreviations as in Table 2.

3 讨论

3.1 QTL 定位群体

作物性状QTL定位使用的遗传群体主要包括分离群体(如F₂及其衍生的F₃、F₄家系、回交群体等)和永久性群体(如重组近交系、双单倍体群体、回交近交系以及近等基因系等)两大类型。F₂分离群体提供的遗传信息最为丰富,可以估算加性效应及显性效应。但由于该类群体的不同个体基因型不同,有杂合体,也有纯合体,难以进行多年、多点重复试验,群体一经自交就会改变个体的遗传组成,无法永久使用;重组近交系等永久性群体具备遗传一致的后代,可以满足不同时间、地点的研究需要,适于进行重复试验,数据可以共享并不断积累,但这类群体受自身遗传组成和基因频率的影响,不能估算显性效应,除非群体足够大,否则它们提供的信息不如

F₂等群体。可见这两类群体均存在一定的优缺点,难以对数量性状的遗传机制进行全面的剖析。因此,如何将两者的优势结合起来是令人感兴趣的问题。最近Hua等^[15]提出利用RIL群体组配IF₂群体的思想,IF₂群体由永久群体中的每个纯合株系按一定组配方案两两杂交获得,既具有F₂群体信息量大、可以估计显性效应以及与显性有关的上位性效应的优点,又具有RILs或DH等永久群体可以组配出足量的种子满足多年多点试验需要,以取得准确的表型观测值,有利于鉴别紧密连锁的QTL标记的优点。

本研究室近几年用花培 3 号和豫麦 57 构建的DH群体进行了许多质量和品质性状的QTL定位,但DH群体是单倍体通过染色体加倍形成的,每个株系的形成只来自形成花粉时的一次减数分裂,故重组信息量相对较少。为了研究株高等性状的更多遗传信息,用该DH群体的 168 个株系相互杂交,构建

了IF₂群体,并借助分子标记对各个组合的F₁种子进行真假杂种鉴定,保证了本研究IF₂群体的质量和株高QTL定位的准确性。

3.2 株高 QTL

通常情况下,小麦株高的降低会引起单株产量下降,如何打破这种连锁关系,一直是育种工作者关注的问题,因此研究株高性状的遗传规律,对小麦协调矮秆和高产的矛盾具有重要的应用价值。

本研究通过利用IF₂群体在 2 个试验环境下种植的资料进行QTL分析,共检测到 7 个与株高相关的QTL,分别位于 2D、3A、4B、4D、5B和 6D。*qPh4B*位于 4B染色体上,Borner等^[11]在相似的位置发现了同样的 1 个QTL,并确定为矮秆基因*Rht1*的位点。*qPh4D*位于 4D染色体上,与Cadalen等^[7]的研究结果一致,相当于*Rht2*基因。位于 3A染色体上的*qPh3A*,与本课题组利用其他作图群体定位的QTL位置相符^[9]。

使用IF₂群体检测出影响小麦株高的 1 个显性效应位点,位于 2D染色体(图 2),可解释 1.6%的表型变异,该位点未见报道。小麦株高的 1 对上位效应位点位于 5B~6D染色体(图 2),可解释 1.7%的表型变异,没有检测到上位效应与环境的互作效应。Snape等^[3]和Sears^[1]研究表明,小麦 21 条染色体中的大部分都与株高的遗传变异有关,而本试验中只检测到 7 个与小麦株高有关的QTL,所能解释的株高变异只有 20%,说明仍有部分QTL未被检出。

本研究与前人结果存在差异,其原因可能是试验材料和环境的差异,QTL分析软件的差异,以及目前的图谱还不完善。为了取得更好的结果,可采用更多的分子标记位点,例如SNP和ISSR等,进一步完善该遗传图谱。试验中检测到的与小麦株高性状紧密连锁的分子标记,可用于分子标记辅助选择育种的研究。

4 结论

采用 324 个SSR标记构建遗传图谱,基于混合线性模型的QTLNetwork 2.0 软件,对一套IF₂群体的株高性状进行QTL分析。检测到 4 个加性效应位点,1 个显性效应位点和 1 对上位效应位点,解释株高变异的 20%。其中,位于 4D染色体的*qPh4D*,具有最大的遗传效应,贡献率为 7.5%,在各环境中稳定表达。

References

- [1] Sears E R. The aneuploids of common wheat. *Univ Missouri Res Bull*, 1954, 572: 1–58
- [2] Kuspira J, Unrau J. Genetic analyses of certain characters in common wheat using whole chromosome substitution lines. *Can J Plant Sci*, 1957, 37: 300–326
- [3] Snape J W, Law C N, Worland A J. Whole chromosome analysis of height in wheat. *Heredity*, 1977, 38: 25–36
- [4] McIntosh R A, Hart G E, Devos K M, Gale M D, Rogers W J. Catalogue of gene symbols for wheat. In: Proceedings of the 9th international wheat genetics symposium. Saskatoon, Canada: University Extension Press, 1998. pp 77–78
- [5] Huang X Q, Coster H, Ganai M W, Roder M S. Advanced backcross QTL analysis for the identification of quantitative trait loci alleles from wild relatives of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet*, 2003, 106: 1379–1389
- [6] Liu D C, Gao M Q, Guan R X, Li R Z, Cao S H, Guo X L, Zhang A M. Mapping quantitative trait loci for plant height in wheat (*Triticum aestivum* L.) using a F_{2,3} population. *Acta Genet Sin*, 2002, 29: 706–711
- [7] Cadalen T, Sourdil P, Charvet G, Tixier M H, Gay G, Boeuf C, Bernard S, Leroy P, Bernard M. Molecular markers linked to genes affecting plant height in wheat using a double haploid population. *Theor Appl Genet*, 1998, 96: 933–940
- [8] Sourdil P, Cadalen T, Guyomarc H H, Snape J W, Perretant M R, Charvet G, Boeuf C, Bernard S, Bernard M. An update of the Courtot × Chinese Spring intervarietal molecular marker linkage map for the QTL detection of agronomic traits in wheat. *Theor Appl Genet*, 2003, 106: 530–538
- [9] Zhang K P, Tian J C, Zhao L, Wang S S. Mapping QTLs with epistatic effects and QTL × environment interactions for plant height using a doubled haploid population in cultivated wheat. *J Genet Genomics*, 2008, 35: 119–127
- [10] Keller M, Karutz C H, Schmid J E, Stamp P, Winzeler M, Keller B, Messmer M M. Quantitative trait loci for lodging resistance in a segregating wheat × spelt population. *Theor Appl Genet*, 1999, 98: 1171–1182
- [11] Borner A, Schumann E, Furste A, Coster H, Leithold B, Röder M S, Weber W E. Mapping of quantitative trait loci determining agronomic important characters in hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet*, 2002, 105: 921–936
- [12] Shah M M, Gill K S, Baenziger P S, Yen Y, Kaeppler S M, Ariyaratne H M. Molecular mapping of loci for agronomic traits on chromosome 3A of bread wheat. *Crop Sci*, 1999, 39: 1728–1732
- [13] Araki E, Miura H, Sawada S. Identification of genetic loci affecting amylose content and agronomic traits on chromosome 4A of wheat. *Theor Appl Genet*, 1999, 98: 977–984
- [14] Kato K, Miura H, Sawada S. QTL mapping of genes controlling ear emergence time and plant height on chromosome 5A of wheat.

- Theor Appl Genet*, 1999, 98: 472–477
- [15] Hua J P, Xing Y Z, Xu C G, Sun X L, Yu S B, Zhang Q F. Genetic dissection of an elite rice hybrid revealed that heterozygotes are not always advantageous for performance. *Genetics*, 2002, 162: 1885–1895
- [16] Tang J-H(汤继华), Yan J-B(严建兵), Ma X-Q(马西青), Teng W-T(滕文涛), Meng Y-J(孟义江), Dai J-R(戴景瑞), Li J-S(李建生). Genetic dissection for grain yield and its components using an immortalized F₂ population in maize. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2007, 33(8): 1299–1303 (in Chinese with English abstract)
- [17] Chen W, Zhang Y, Liu X P, Chen B Y, Tu J X, Fu T D. Detection of QTL for six yield-related traits in oilseed rape (*Brassica napus*) using DH and immortalized F₂ populations. *Theor Appl Genet*, 115: 849–858
- [18] Ma Z Q, Zhao D M, Zhang C Q, Zhang Z Z, Xue S L, Lin F, Kong Z X, Tian D G, Luo Q Y. Molecular genetic analysis of five spike-related traits in wheat using RIL and immortalized F₂ populations. *Mol Gen Genet*, 277: 31–42
- [19] Wang D L, Zhu J, Li Z K, Paterson A H. Mapping QTLs with epistatic effects and QTL × environment interactions by mixed linear model approaches. *Theor Appl Genet*, 1999, 99: 1255–1264
- [20] Yang J, Zhu J. Predicting superior genotypes in multiple environments based on QTL effects. *Theor Appl Genet*, 2005, 110: 1268–1274
- [21] Hai Y(海燕), Kang M-H(康明辉). Breeding of a new wheat variety Huapei 3 with high yield and early maturing. *Henan Agric Sci* (河南农业科学), 2007, (5): 36–37 (in Chinese)
- [22] Guo C-Q(郭春强), Bai Z-A(柏志安), Liao P-A(廖平安), Jin W-K(靳文奎). New high quality and yield wheat variety Yumai 57. *China Seed Ind* (中国种业), 2004, (4): 54 (in Chinese)
- [23] Hua J P, Xing Y Z, Wu W R, Xu C G, Sun X L, Yu S B, Zhang Q F. Single-locus heterotic effects and dominance by dominance interaction can adequately explain the genetic basis of heterosis in an elite hybrid. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100: 2574–2579
- [24] Lincoln S, Daly M, Lander E. Mapping genetic mapping with MAPMAKER/EXP3.0b. Cambridge, MA: Whitehead Institute Technical Report, 1992
- [25] Cao G, Zhu J, He C, Gao Y, Yan J, Wu P. Impact of epistasis and QTL × environment interaction on the developmental behavior of plant height in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor Appl Genet*, 2001, 103: 153–160