

高丹草营养品质性状的 QTL 定位及候选基因筛选

王慧婷, 徐文锋, 田振平, 张霞, 樊荣, 皇馨悦, 于卓, 于肖夏

(内蒙古农业大学农学院, 呼和浩特 010019)

摘要: 品质性状是衡量牧草优劣的重要指标, 在牧草的定向改良和品种选育有着举足轻重的地位。优质牧草可有效改善牲畜饲喂效率, 促进畜牧业的可持续发展。本研究以 150 个高丹草 F₂ 群体及其亲本为材料, 在 4 个不同环境情况下, 基于前期构建的高丹草高密度遗传连锁图谱, 采用区间作图法对其 P、WSC、NDF、ADF 和 K 五个品质性状做 QTL 定位分析, 并在置信区间内筛选与其相关的候选基因。结果显示, 以 LOD_≥3 为阈值, 共定位到 198 个 QTLs, 其中, 有 16 个 QTLs 在多个环境下被重复检测到, 主要分布在 LG3、4、6、7 和 8 连锁群上, 单个贡献率为 10%~13.7%, 包含 7 个主效位点(PVE>10%), 与 WSC 含量相关的 1 个, 与 ADF 和 K 含量相关的各 3 个; 通过基因预测和功能注释筛选出 13 个与高丹草品质性状相关的候选基因, 这为今后深入开展高丹草分子育种及功能基因研究提供了理论依据和新思路。

关键词: 高丹草; 品质性状; QTL 定位; 候选基因

QTL Mapping and Screening of Candidate Gene for Nutritional Quality Traits in Sorghum Sudangrass Hybrid

WANG Huiting, XU Wenfeng, TIAN Zhenpin, ZHANG Xia, FAN Rong, HUANG Xinyue, YU Zhuo,
YU Xiaoxia

(Agriculture College, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010019)

Abstract: Quality trait is an important index to measure the forage quality, which plays an important role in the directional improvement and variety breeding of forage. High-quality forage grass can effectively improve the feeding efficiency of livestock and promote the sustainable development of animal husbandry. In this study, using 150 F₂ individuals of Sorghum sudangrass hybrid and their parents as materials. the QTL analysis was performed on five nutritional quality traits WSC, NDF, ADF, P and K by interval mapping methods in four different environments based on the previous constructed high density genetic linkage map of Sorghum sudangrass hybrid. and the candidate genes related to these traits were also screened within the confidence interval. The results showed that a total of 198 QTLs were detected with the threshold of LOD_≥3 of which 16 QTLs were repeatedly detected in different environments, The 16 stable QTLs mainly distributed on LG3, 4, 6, 7 and 8, with a single contribution rate from 10% to 13.7%, of which seven were major QTLs (PVE > 10%), including one QTL related to WSC content, three related to ADF content and three for

收稿日期: 2024-10-29

网络出版日期:

URL:

第一作者研究方向为饲用作物遗传育种, E-mail: wht9724@163.com

通信作者: 于肖夏, 研究方向为马铃薯与饲用作物遗传育种, E-mail: yuxiaoxia1985@sina.com

基金项目: 国家自然科学基金项目(32060389); 国家自然科学基金项目(31772664)

Foundation projects: National Natural Science Foundation of China (32060389); National Natural Science Foundation of China (31772664)

K content. In addition, 13 candidate genes related to quality traits of Sorghum sudangrass hybrid were screened by gene prediction and functional annotation. It will provided theoretical basis and new ideas for further molecular breeding and functional gene research of Sorghum sudangrass hybrid.

Keywords :Sorghum sudangrass hybrid; quality traits; QTL mapping; candidate genes

高丹草 (*Sorghum bicolor*×*sudanense*) 是经高粱和苏丹草种间杂交获得的一年生禾本科牧草^[1-2], 广泛分布于中国、美国、澳大利亚及朝鲜等地区^[3], 同时具备双亲的优点, 具有分蘖多、产草量高、含糖量高、适口性好、抗逆性强、营养价值丰富等特点^[4,5], 高丹草作为我国目前“粮改饲”的主要牧草之一, 对我国牧草的经济改善、退化土壤的修复和畜牧业的持续性发展起到不可或缺的作用^[6]。

牧草营养品质是评价其质量的重要指标, 主要通过牲畜对牧草的消化率、自身所含化学成分以及饲喂效果等方面来综合体现。优质牧草的有效应用, 可以提高土地利用率, 解决冬季饲料短缺问题, 进一步促进畜牧业的可持续发展。营养品质性状包含可溶性碳水化合物 (WSC, Water Soluble Carbohydrate)、粗蛋白 (CP, Crude Protein)、酸性洗涤纤维 (ADF, Acid Detergent Fiber)、中性洗涤纤维 (NDF, Neutral Detergent Fiber)、以及包含磷 (P, Phosphorus) 和钾 (K, Kalium) 在内的大量微量元素。WSC 主要提高牧草对其它营养物质的利用, 如蛋白质等的吸收效率, 提高适口性^[7]。NDF 和 ADF 主要通过调控牲畜的消化率, 影响其采食率和乳脂率^[8-10]。K 和 P 主要参与植物生长发育及生理代谢机制。

目前对于牧草的 QTL 定位研究及候选基因挖掘的报道, 多集中于产量^[11-12]、抗性^[13]等。例如, 李珍^[14]对 300 个新麦草的分蘖和种子产量相关性状做全基因组关联分析, 并挖掘相关基因, 结果显示, 在与分蘖相关的 11 个新 SNP 位点下, 与其合成相关的候选基因有 42 个; 与种子产量相关的 19 个新 SNP 位点下发现 91 个与其合成相关的候选基因。樊紫薇^[15]基于前期发现的两芒山羊草中 2Mb 染色体上抗白粉病基因 Pm2Mb, 将其精细定位于分子标记 U5139 和 U2852 之间, 相对小麦 2D 染色体 2.07 Mb 物理区间, 并结合转录组测序结果, 共筛选出 10 个与之较为密切的候选基因。Burrell^[16]利用 117 个高粱 RIL 群体构建一张连锁图谱, 对炭疽病进行 QTL 定位分析, 结果显示, 5 号染色体上存在控制炭疽病的位点, 且其位点下的基因多发生氨基酸变化, 为后续炭疽病研究奠定基础。在高丹草中的相关研究较少, 卢倩倩^[17]对 F₂ 群体的粗蛋白、淀粉、粗纤维等 5 个营养品质进行定位分析, 结果显示, 共有 15 个稳定 QTL 位点, 包含 5 个主效位点, 与转录组数据比对后发现, 主效位点下与粗蛋白合成相关候选基因有 2 个。吴国芳^[18]以 130 个高丹草 F₃ 重组株作为精细定位群体, 对低氢氰酸位点 PA7-1 和 PA7-2 精细定位, 并将相关 SSR 位点回收、测序后与高粱参考基因组比对, 同时进行 PCR 验证, 结果发现两个位点下共有 3 个与其相关的候选基因, 此研究为后续开展氢氰酸试验提供了有力的数据支持。

本研究选取散穗高粱、红壳苏丹草以及由二者构成的 F₂ 代群体作为材料, 依据前期构建的遗传连锁图谱, 针对高丹草的 5 个品质性状进行 QTL 定位研究, 同时, 在其主效 QTL 位点下筛选相关候选基因, 旨在

为今后高丹草品质性状的关键基因克隆、QTL 精细定位和分子标记辅助育种提供依据。

1 试验材料及方法

1.1 试验材料

本试验材料为散穗高粱和红壳苏丹草以及二者杂交生成的 F₂ 分离群体，散穗高粱性状表现为茎粗，叶宽，抗逆性强，红壳苏丹草性状表现为分蘖多，营养价值丰富，F₂ 分离群体共包含 150 个株系，将其编号为 1-150 号，均由内蒙古农业大学农学院提供。在 2021 和 2022 年，将群体及其双亲同时种植于内蒙古农业大学教学农场（H）和通辽科尔沁试验基地(T)，分别记为：2021-H、2021-T、2022-H 和 2022-T。每个株系种植 20 棵单株，设置株距 20 cm，行距 45 cm，田间正常管理，注意病虫害防治和水肥管理。

1.2 营养品质性状的测定

待高丹草植株长至拔节期，选取长势一致，无病虫害的单株，每个株系选择三棵单株，剪取其地上部分，烘干结束后打成粉末状进行品质性状测定。用近红外品质分析仪对各单株的 P、WSC、ADF、NDF 和 K 含量进行测定。

1.3 各性状的 QTL 定位分析

本试验所使用的高密度遗传连锁图谱是课题组前期卢倩倩构建的^[17]，图谱共有 SNP 标记 5656 个，分布在 10 个连锁群上，总长 2192.84 cM，平均图距为 0.39 cM (<0.5 cM)。采用 Excel 对 5 个品质性状的表型数值做统计分析，并借助 R 语言完成不同环境下相关性分析和正态性检验图表的绘制。利用软件 Map QTL 6.0，以 LOD 值≥3 作为阈值，结合区间作图法定位性状，将在两个及以上环境下检测到的 QTL 位点定义为稳定位点，在此条件下表型贡献率大于 10%的 QTL 位点视为主效位点。

QTL 的命名方式：Q+被测性状的英文缩写-所在连锁群号-QTL 数，如“Qadf-4-1”代表酸性洗涤纤维在第 4 条连锁群上的第一个 QTL 位点。

1.4 候选基因的初步筛选

根据得到的定位结果，确定定位区间，将区间内的基因与高粱参考基因组 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCF_000003195.3/) 比对，根据注释结果，结合已知基因功能，筛选出与品质性状相关的候选基因。

2 结果与分析

2.1 各性状测定结果

为进一步明确各品质性状在高丹草中的变化关系，对不同环境下的 5 个品质性状做相关性分析，结果如图 1 所示，各品质性状的相关系数在 0.0084~0.96 之间。其中，WSC 含量与 ADF 含量、NDF 含量与 P 含量在多数环境下均呈极显著负相关，相关系数范围为 0.22~0.81，仅在 2022-T 环境下 WSC 含量和 ADF 含量

为负相关；不同环境中，ADF 含量与 P 含量呈显著正相关，与 K 含量呈负相关；不同环境中，P 含量和 NDF 含量表现为显著正相关，相关系数介于 0.2~0.32 之间；值得注意的是，NDF 含量与 ADF 含量在 4 个环境中均表现为极显著正相关，且相关系数在 0.63~0.96 之间，表明两者的变化关系极为密切，在后续育种研究中可协同考虑。

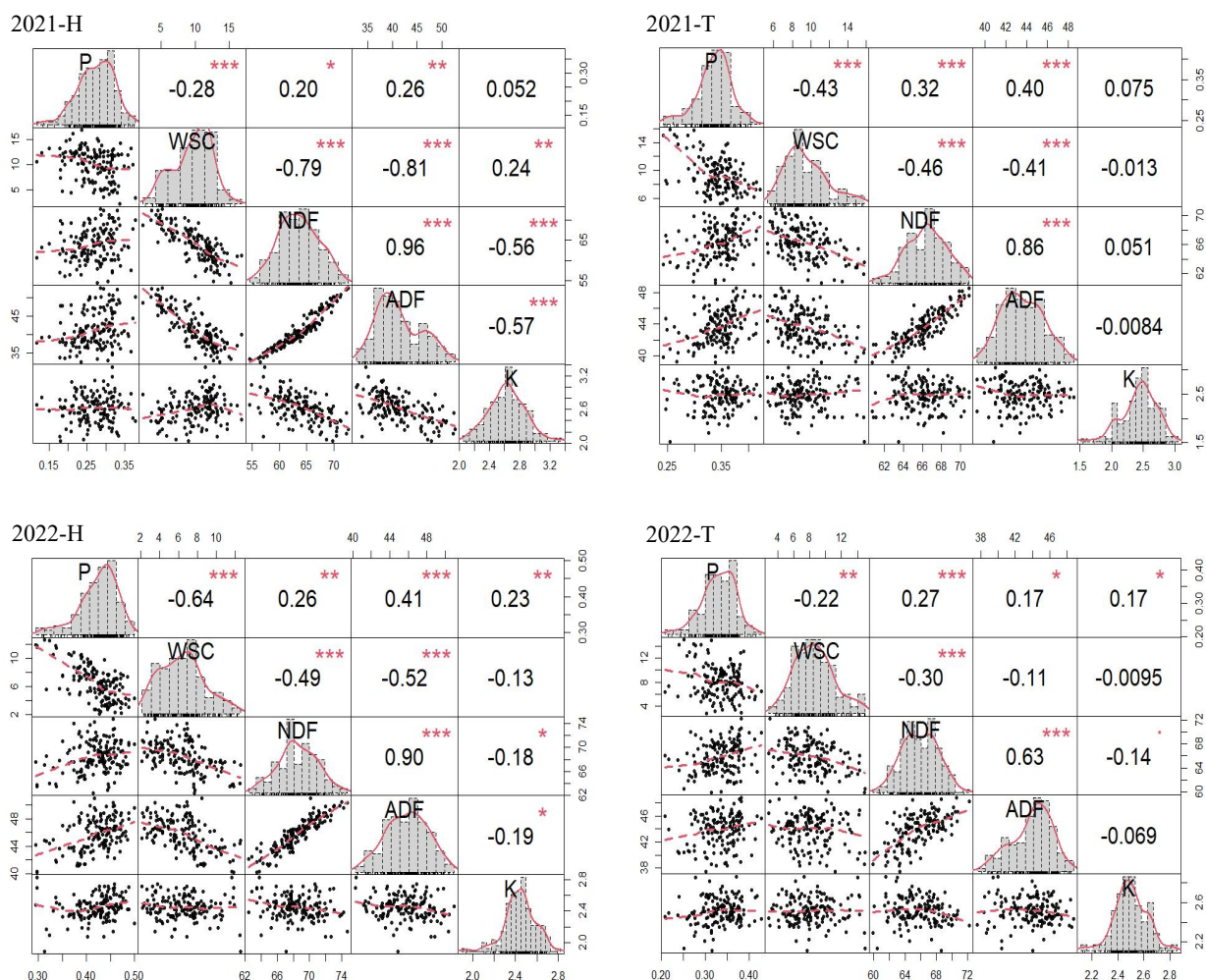


图 1 高丹草 5 个品质性状的相关性分析

Fig.1 Correlation analysis of five quality traits of Sorghum sudangrass hybrid

对高丹草 F₂ 分离群体及亲本的 5 个营养品质性状进行统计分析（图 1 和表 1），结果显示，在 4 个不同环境下，各个性状的表型数值呈现正态分布曲线，变异系数范围介于 3.37%~37.81% 之间，说明各性状间的遗传变异丰富，且偏度和峰度绝对值均小于 1，符合数量性状遗传特点。研究结果表明，获得的表型数值满足后续 QTL 定位的需求。

表 1 不同环境下高丹草品质性状的表型分析

Table.1 Phenotypic analysis of quality traits of Sorghum sudangrass hybrid in different environments

性状 Traits	环境 Environments	亲本 Parents		F ₂ 群体 F ₂ population						
		散穗高粱 Scattered ear sorghm	红壳苏丹草 Red hull sudangrass	最大值 Max	最小值 Min	均值 Mean	标准差 SD	偏度 Skewness	峰度 Kurtosis	变异系数 CV (%)
		磷含量(%) P content	2021-H	0.30	0.25	0.38	0.12	0.27	0.05	-0.39
	2021-T	0.37	0.41	0.42	0.24	0.35	0.03	-0.64	0.75	8.57
	2022-H	0.43	0.45	0.50	0.29	0.42	0.04	-0.88	0.76	9.52
	2022-T	0.38	0.41	0.43	0.21	0.33	0.04	-0.49	0.32	12.12
可溶性碳水化 合物含量(%) WSC content	2021-H	13.34	11.55	16.82	2.35	10.03	3.03	-0.44	-0.54	30.21
	2021-T	14.01	9.87	15.80	5.34	9.30	2.31	0.76	0.23	24.84
	2022-H	7.43	6.31	12.62	2.15	6.48	2.45	0.36	-0.39	37.81
	2022-T	5.14	7.38	14.99	2.85	8.13	2.64	0.42	-0.09	32.47
中性洗涤 纤维含量(%) NDF content	2021-H	62.16	57.08	72.57	54.59	63.94	3.96	0.04	-0.55	6.19
	2021-T	66.78	63.14	70.91	60.73	66.20	2.23	-0.10	-0.39	3.37
	2022-H	65.34	66.98	74.67	62.47	68.46	2.53	-0.02	-0.31	3.70
	2022-T	68.14	65.51	72.21	59.90	65.84	2.56	-0.01	-0.58	3.89
酸性洗涤 纤维含量(%) ADF content	2021-H	37.76	33.73	52.62	32.66	41.42	4.80	0.51	-0.63	11.59
	2021-T	42.48	40.67	48.53	39.18	43.69	2.08	0.16	-0.62	4.76
	2022-H	43.12	45.34	50.93	40.26	45.77	2.33	-0.12	-0.54	5.09
	2022-T	45.18	45.94	48.76	37.53	43.89	2.44	-0.49	-0.35	5.56
钾含量(%) K content	2021-H	2.38	2.61	3.35	2.04	2.62	0.24	0.02	-0.03	9.16
	2021-T	2.29	2.43	3.05	1.52	2.47	0.28	-0.53	0.26	11.34
	2022-H	2.33	2.23	2.82	1.90	2.45	0.15	-0.35	0.94	6.12
	2022-T	2.38	2.85	2.86	2.11	2.51	0.13	-0.09	0.60	5.18

双因素方差分析表明，年度和材料对品质性状 P 含量、WSC 含量、NDF 含量、ADF 含量和 K 含量均有极显著影响 (P<0.01)；年度和材料的交互效应对品质性状 WSC 含量、NDF 含量、ADF 含量和 K 含量表现为极显著影响，对 P 含量无显著影响（表 2）

表 2 年度和材料对品质性状影响的双因素方差分析

Table 2 Two-way ANOVA of the effects of year and material on quality traits

性状 Traits	处理 Treatments	平方和 Sum of squares	自由度 Degree of freedom	均方 Mean square	F	P
磷含量 P content	年度	1.144	1	1.144	568.733	0.000
	材料	1.119	151	0.007	3.681	0.000
	年度×材料	0.116	151	0.001	0.382	1.000

表 2(续)

性状 Traits	处理 Treatments	平方和 Sum of squares	自由度 Degree of freedom	均方 Mean square	F	P
可溶性碳水	年度	1324.212	1	1324.212	549.914	0.000
化合物含量	材料	3710.689	151	24.574	10.205	0.000
WSC content	年度×材料	686.605	151	4.547	1.888	0.000
中性洗涤	年度	998.238	1	998.238	269.445	0.000
纤维含量	材料	4498.743	151	29.793	8.042	0.000
NDF content	年度×材料	1017.303	151	6.737	1.818	0.000
酸性洗涤	年度	1245.170	1	1245.170	326.226	0.000
纤维含量	材料	3946.779	151	26.138	6.848	0.000
ADF content	年度×材料	2374.859	151	15.728	4.121	0.000
钾含量	年度	0.989	1	0.989	45.776	0.000
K content	材料	17.608	151	0.117	5.400	0.000
	年度×材料	5.399	151	0.036	1.656	0.000

注: P>0.05 表示不显著, P<0.05 表示显著, P<0.01 表示极显著。

Note: P>0.05 means not significant, P<0.05 means significant, P<0.01 means extremely significant.

2.2 5 个品质相关性状的 QTL 分析

利用前期构建的遗传连锁图谱, 对4个不同环境下的高丹草品质相关性状的QTLs进行检测, 结果共有198个位点被发现, 其中, WSC含量有48个QTLs, NDF含量有23个QTLs, ADF含量有62个QTLs, 磷含量有16个QTLs, 以及钾含量有49个QTLs, 共检测到16个稳定的QTL位点, 分布在3、4、6、7和8号连锁群上, LOD值变幅为3.10~4.79之间, 解释了8.8%~13.7%的表型贡献率, 其中单个环境中贡献率>10%的主效位点有7个(表3, 图2)。

表 3 品质相关性状的 QTL 定位

Table.3 QTL mapping results of quality-related traits

性状 Traits	QTL	连锁群 Linkage group	QTL位置 QTL position (cM)	标记 Marker	环境 Environment	LOD值 LOD value	贡献率 PVE (%)
磷含量 P content	<i>Qp-3-5</i>	LG3	170.22	mk1468-mk1471	2021-T	3.77	10.9
					2022-T	3.25	9.5
	<i>Qp-3-6</i>	LG3	171.22	mk1471-mk1472	2021-H	3.25	9.5
					2021-T	3.94	11.4
					2022-T	3.70	10.7
	<i>Qp-3-7</i>	LG3	171.57	mk1472	2021-H	3.20	9.5
					2021-T	3.72	10.8
					2022-T	3.57	10.4

表 3(续)

性状 Traits	QTL	连锁群 Linkage group	QTL位置 QTL position (cM)	标记 Marker	环境 Environment	LOD值 LOD value	贡献率 PVE (%)			
可溶性碳水 化合物含量 WSC content	<i>Qwsc-3-1</i>	LG3	106.76	mk1371-mk1372	2021-T	4.45	12.8			
					2022-H	4.10	11.8			
					2022-T	3.28	9.6			
	<i>Qwsc-3-2</i>	LG3	107.76	mk1371-mk1372	2021-T	4.79	13.7			
					2022-H	4.40	12.6			
					2022-T	3.53	10.3			
	<i>Qwsc-3-3</i>	LG3	108.76	mk1371-mk1372	2021-T	4.21	12.1			
					2022-H	3.88	11.2			
					2022-T	3.10	9.1			
<i>Qwsc-3-4</i>	LG3	109.40	mk1372- mk1375	2021-T	3.65	10.6				
				2022-H	3.37	9.8				
中性洗涤 纤维含量 NDF content	<i>Qndf-6-1</i>	LG6	17.65	mk2816	2021-H	3.26	9.5			
					2021-T	3.59	10.4			
<i>Qndf-7-3</i>	LG7	177.62	mk3625	2021-H	3.59	10.4				
				2021-T	3.68	10.7				
				2022-T	3.19	9.3				
酸性洗涤 纤维含量 ADF content	<i>Qadf-4-1</i>	LG4	73.03	mk1753	2021-H	3.86	11.2			
					2021-T	3.44	10.0			
<i>Qadf-6-2</i>	LG6	17.65	mk2819	2021-H	3.01	8.8				
				2021-T	3.72	10.8				
				<i>Qadf-7-1</i>	LG7	161.22	mk3568-mk3572	2021-H	3.50	10.2
								2021-T	3.58	10.4
				<i>Qadf-7-2</i>	LG7	161.89	mk3576	2021-H	3.53	10.3
2022-H	4.26	12.3								
钾含量 K content	<i>Qk-6-3</i>	LG6	131.31	mk3042	2022-H	4.07	11.8			
					2022-T	3.77	10.9			
	<i>Qk-6-4</i>	LG6	134.98	mk3043- mk3044	2022-H	4.36	12.5			
					2022-T	4.11	11.9			
<i>Qk-8-1</i>	LG8	234.43	mk4483	2021-H	3.88	11.2				
				2022-H	3.64	10.6				

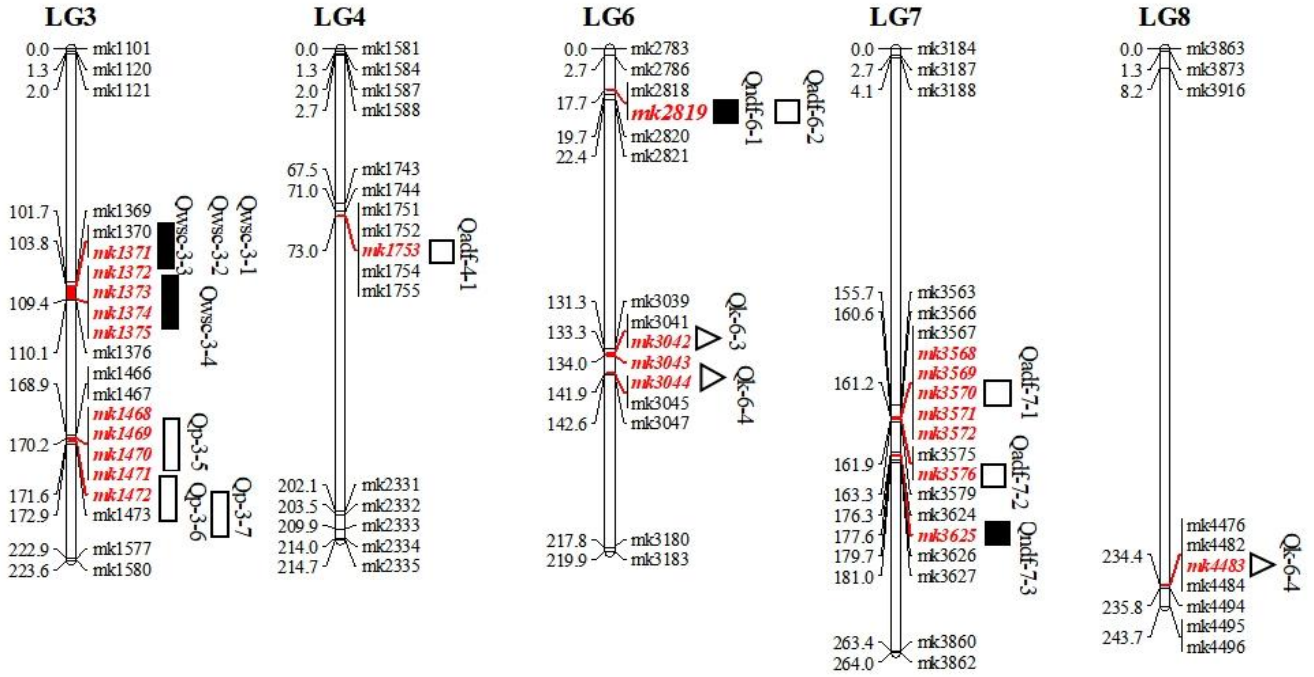


图2 各性状稳定 QTLs 的分布情况
Fig.2 Distribution of stable QTLs for each trait

2.2.1 P含量 调控P含量的稳定QTLs共有3个，Qp-3-5、Qp-3-6和Qp-3-7，3个位点均被检测到位于LG3上，LOD值在3.2~3.94之间，单个表型贡献率在9.5%~11.4%之间，是控制高丹草P合成的稳定QTLs，其中，Qp-3-6和Qp-3-7均可在三个环境条件下被检测到，是受环境影响较小的P含量相关位点，而Qp-3-5在两个环境被检测到，对表型的贡献率分别为10.9%和9.5%。

2.2.2 WSC含量 调控高丹草WSC含量的稳定QTLs共有4个，均分布于LG3上，除Qwsc-3-4外，其余位点在三个环境（2021-T、2022-H、2022-T）中均被检测到，其中Qwsc-3-2的表型贡献率均在10%以上，是控制高丹草WSC含量的主效QTLs，

2.2.3 NDF含量 控制NDF含量的QTLs位点有2个（Qndf-6-1和Qndf-7-1），Qndf-6-1在2021-H、2021-T、2022-T三个环境下均被检测到，单个表型贡献率分别为9.3%、10.3%和10.7%，表明该位点受环境因素影响较小，是稳定的QTL位点。

2.2.4 ADF含量 调控高丹草ADF含量的稳定QTLs共有4个，主要分布在连锁群LG4（Qadf-4-1）、LG6（Qadf-6-2）和LG7（Qadf-7-1、Qadf-7-2）上，除Qadf-6-2外，其余3个位点的单个表型贡献率均在10%以上，LOD值范围在3.44~4.26之间，是控制高丹草ADF合成的主效QTLs。

2.2.5 K 含量 调控 K 含量的稳定 QTLs 共有 3 个 (Qk-6-3、Qk-6-4 和 Qk-8-1)，分布于连锁群 LG6 和 LG8 上，单个表型贡献率均在 10%以上，是控制高丹草 K 合成的主效 QTLs，其中 Qk-8-1 在两个环境 (2021-H、2022-H) 中检测出，单个表型贡献率为 11.2%和 10.6%，而在环境 2022-H 和 2022-T 中同时检测到 Qk-6-3 和 Qk-6-4，LOD 值范围在 3.77~4.36 之间，单个环境中贡献率>10%，因此，三者均为高丹草 K 含量相关的主效 QTLs。

2.3 候选基因的筛选

根据高丹草 5 个营养品质性状的定位结果，明确与其相关的主效 QTLs，将主效位点区间与高粱参考基因组比对，结合前人研究已明确的基因功能注释，结果共筛选出 13 个与品质性状相关的候选基因 (表 4)，其中 Qwsc-3-2 内筛选到 7 个候选基因，除基因 LOC8079789 和 LOC8056099 外，其余 5 个基因均直接参与植物体内的糖酵解途径，影响 WSC 含量；Qadf-4-1 筛选到 1 个候选基因，编码苯丙氨酸解氨酶；Qadf-7-1 中筛选到 2 个候选基因，分别编码丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶和转录因子 bHLH1，bHLH1 主要参与细胞发育和调控植物激素等重要生物学过程；Qk-6-4 筛选到 3 个候选基因，基因 LOC8072046 和 LOC8075232 均为钾转运体，主要通过调节植物体内的 K⁺影响作物品质。

表 4 品质相关性状 QTL 位点内的候选基因

Table. 4 Candidate genes within QTL loci for quality-related traits

性状 Character	连锁群 Linkage group	QTL名称 QTL name	标记区间 Marker interval	候选基因 Candidate gene	功能注释 Function description
可溶性碳水化合物含量 WSC content	LG3	<i>Qwsc-3-2</i>	mk1371-mk1372	LOC8058267	葡萄糖-6-磷酸1-差向异构酶
				LOC8069810	己糖激酶-2
				LOC8062161	6-磷酸果糖激酶6
				LOC8062170	己糖激酶-6
				LOC8079789	磷酸蔗糖合酶
				LOC8056099	果糖激酶-1
				LOC8081321	己糖激酶-3
酸性洗涤纤维含量 ADF content	LG4	<i>Qadf-4-1</i>	mk1753	LOC8074774	苯丙氨酸解氨酶
	LG7			<i>Qadf-7-1</i>	mk3568-3572
钾含量 K content	LG6	<i>Qk-6-4</i>	mk3043-mk3044	LOC8064032	转录因子bHLH1
				LOC8072046	钾转运体1
				LOC8075232	钾转运体19
				LOC8075862	钾离子通道KOR2

3 讨论

3.1 影响 QTL 定位的因素

标记密度、类型及环境都会对 QTL 定位结果的准确性产生影响^[19-22]。研究表明，遗传图谱的标记密度低，定位区间较大，在一定程度上会影响 QTL 的检出效率，导致效应值小的 QTL 被遗漏。而多年多点的试验设计可以有效提高定位结果的精准性，降低环境的影响概率^[23]。本研究基于高丹草高密度遗传连锁图谱，通过 2 年 2 点试验设计，对 5 个品质性状做 QTL 定位分析，有效降低试验误差，确保结果准确性。研究共发现有 16 个稳定 QTLs 在 2 个及以上环境下被检测重复到，包含 7 个在不同环境下单个表型贡献率均大于 10%的主效 QTLs，这些主效 QTLs 表现出较强的稳定性，不易受环境因素影响，为后续目的性状的候选基因挖掘、QTL 的精细定位等研究提供数据支持。

暂未发现与前人研究结果完全一致的 QTL 位点，本研究在 7 号染色体上定位到了一个与 NDF 含量相关的 QTL 位点，Zheng^[24]等也在 7 号染色体上发现了与 NDF 相关的位点，Li 等^[25]在高丹草 6 号染色体上定位到了控制 ADF 含量和 DNF 含量的位点，本研究在 6 号染色体上检测到相同情况。两个品质性状虽然与先前研究定位到同一连锁群上，但具体物理位置却不相同，这可能是由于构成图谱的标记类型不同、环境不同导致的。

3.2 QTL 的“一因多效”

前人研究表明，在以往的 QTL 定位研究中，大多数结果都发现了“一因多效”现象^[26-28]，具体表现为：当不同性状的 QTL 位点定位在同一连锁群的同一点或相邻位点时，其性状的表型数值做相关性分析时会呈现出极高的相关系数。这一现象已在多种作物中被发现，Wang 等^[29]在对玉米 RIL 群体的茎秆品质 QTL 定位研究中，发现在茎秆中 ADF 和 DNF 含量成极显著正相关，且控制两者的 QTL 位点均定位在 2 号和 7 号染色体；张明飞^[30]研究发现马铃薯干物质含量和淀粉含量呈极显著正相关，相关系数为 0.928，且二者的 QTL 定位在同一连锁群上的同一位置。本研究结果同样证实了这一观点，2 个不同环境下，高丹草的 ADF 含量和 NDF 含量在 LG6 的 17.65 cM 处有一个共同的 QTL 位点，与 SNP 标记 mk2819 紧密连锁，两者相关系数分别为 0.86 和 0.96，表现出极显著正相关，该位点可作为后续高丹草育种研究中的重要 QTL，Li 等^[25]和石悦^[31]在高丹草的 QTL 定位研究中也得到了相似的结论。这一结论的提出，可实现在分子标记的辅助下，同时改良多个相关遗传性状，进而创制牧草新种质，满足当今畜牧业的需求^[32-33]。

3.3 候选基因在品质性状中的调控作用

提高牧草营养品质含量，可有效改善牲畜饲喂条件^[34]，缓解当前优质牧草紧张的局面。WSC 作为牧草的主要能量来源，由葡萄糖、果糖、蔗糖等物质组成，本研究筛选出 7 个与其合成相关的候选基因，分别以不同方式调控糖类的合成代谢，其中，基因 LOC8079789 编码磷酸蔗糖合酶，是植物蔗糖合成途径的关

键限速酶，主要参与光合产物的分配及细胞壁的合成^[35-36]。糖酵解是植物体内重要的呼吸代谢途径，是所有糖类合成代谢必经之路。LOC8058267、LOC8069810、LOC8062161、LOC8062170 和 LOC8081321 分别编码葡萄糖-6-磷酸 1-差向异构酶、己糖激酶-2、6-磷酸果糖激酶 6、己糖激酶-6、己糖激酶-3。先前研究发现以上基因主要参与植物体内糖酵解途径，作物体内的葡萄糖在经过以上一系列酶的催化反应后，最终生成的 ATP 作为供能物质参与植物生长发育^[37-39]；基因 LOC8074774 编码苯丙氨酸解氨酶，木质素是牧草 ADF 的重要成分，而苯丙氨酸解氨酶是苯丙烷代谢途径的限速酶，可通过调控苯丙烷代谢途径速率而影响木质素的合成。由此，我们推断基因 LOC8074774 可能会影响 ADF 的合成速率^[40-41]；基因 LOC8072046 和 LOC8075232 编码钾转运体 1 和钾转运体 19，研究发现，钾转运体不仅可作为膜蛋白参与钾转运和吸收，还通过自身表达调控植物的生长发育和抗逆性，从而影响作物的品质性状^[42]。当然，候选基因在高丹草营养品质中具体行使的功能需进一步研究。

4 结论

综上所述，利用课题组前期构建的遗传连锁图谱，在高丹草 F₂ 群体中共定位到 7 个与营养品质性状相关的主效 QTLs，主要分布在连锁群 LG3、LG4、LG6、LG7 和 LG8 上，表型贡献率范围介在 10%~13.7% 之间，LOD 值变幅在 3.44~4.79 之间，未发现与前人研究完全一致的 QTL 位点，本研究所检测到的 QTL 位点可能是控制高丹草品质性状合成的新位点；在 Qwsc-3-2、Qadf-4-1、Qadf-7-1 和 Qk-6-4 的 4 个主效 QTLs 置信区间内共筛选到 13 个与品质性状含量相关的候选基因，表明高丹草体内的营养物质的合成、代谢及利用效率受到了相关基因的调控，在后续的高丹草育种研究中可重点关注以上基因。

参考文献

- [1] 梁玉, 李金凤, 崔键, 李文平, 常雅军, 汪帆, 刘晓静, 姚东瑞. 炭化液对 NaCl 胁迫下高丹草种子萌发和幼苗生长的影响. 植物资源与环境学报, 2024, 33(03): 80-88+96
Liang Y, Li J F, Cui J, Li W P, Chang Y J, Wang F, Liu X J, Yao R D. Effects of carbonized solutions on seed germination and seedling growth of Sorghum bicolor sudanense under NaCl stress. Journal of Plant Resources and Environment, 2024, 33(03): 80-88+96
- [2] Lu X P, Yun J F, Gao C P, Surya A. Quantitative trait loci analysis of economically important traits in Sorghum bicolor × S. sudanense hybrid. Canadian Journal of Plant Science, 2011, 91(1): 81-90
- [3] Lu Q Q, Yu X X, Yu Z, Wang H T, Zhang X, Zhao Y Q. Construction of ultra-high-density genetic linkage map of a sorghum-sudangrass hybrid using whole genome resequencing. PloS One, 2022, 17 (11): e0278153
- [4] Kikindonov T Z, Kikindonov G. Initial development and growth of biomass and dry matter in sudan grass and sorghum × sudan grass hybrids. Discourse Journal of Agriculture and Food Sciences, 2014, 2(5): 149-151
- [5] 王慧婷. 高丹草重要营养品质性状的 QTL 定位及可溶性碳水化合物相关候选基因的挖掘. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2023

Wang H T. QTL mapping of important nutritional quality traits and mining of candidate genes related to soluble carbohydrates in *Sorghum-sudangrass*. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2023

- [6] 张睿, 王婧, 徐娅玲, 刘秋旭, 李祥艳, 聂刚, 朱永群. 20 份高丹草种质幼苗耐镉性综合评价. 草地学报, 2024, 32(04): 1153-1161
- Zhang R, Wang J, Xu Y L, Liu Q X, Li X Y, Nie G, Zhu Y Q. Comprehensive Evaluation of Cadmium Tolerance of 20 *Sorghum bicolor* × *S. Sudanense* Germplasm Resources in Seedling Stage. *Acta Agrestia Sinica*, 2024, 32(04): 1153-1161
- [7] 李佳奇, 于卓, 于肖夏, 张胜, 杨东升, 卢倩倩, 吴国芳, 牛亚青青. 冰草可溶性碳水化合物含量等重要品质性状的 QTL 定位. 麦类作物学报, 2020, 40(05): 568-576
- Li J Q, Yu Z, Yu X X, Zhang S, Yang D S, Lu Q Q, Wu G F, Niu Y Q Q. QTL Mapping for Important Quality Traits in Wheatgrass. *Journal of Wheat Crops*, 2020, 40(05): 568-57
- [8] Soufizadeh M. Indigestible neutral detergent fibers: Relationship between forage fragility and neutral detergent fibers digestibility in total mixed ration and some feedstuffs in dairy cattle. *Veterinary Research Forum*, 2018, 9(1): 49-57
- [9] Bender R W, Cook D E, Combs D K. Comparison of in situ versus in vitro methods of fiber digestion at 120 and 288 hours to quantify the indigestible neutral detergent fiber fraction of corn silage samples. *Journal of Dairy Science*, 2016, 99(7): 5394-5400
- [10] 马晓霞, 秘一先, 陈宏亮, 张龙, 闫雅, 屈海龙, 郎凤红. 14 个引进紫花苜蓿品种在宁夏引黄灌区的生产性能和营养价值综合分析. 草业科学, 2022, 39(2): 328-342
- Ma X X, Mi Y L, Cheng H L, Zhang L, Yan Y, Qu H L, Lang F H. Comprehensive analysis of production performance and nutritional value of 14 alfalfa varieties in the Ningxia Yellow River diversion irrigation area. *Lawn Science*, 2022, 39(2): 328-342
- [11] 常宇冬, 云岚, 高志琦, 李珍, 马迎梅, 韩峰. 基于新麦草 BC₁F₁ 群体的饲草产量相关性状 QTL 分析. 草地学报, 1-13. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3362.S.20240823.1145.004.html>
- Chang Y D, Yun L, Gao Z Q, Li Z, Ma Y M, Han F. QTL analysis of forage yield related traits based on *Psathyrostachys juncea* BC₁F₁ population. *Acta Agrestia Sinica*, 1-13. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3362.S.20240823.1145.004.html>
- [12] 杨静. 基于 QTL-mapping 和 RNA-Seq 进行冰草耐盐候选基因的筛选及分子标记开发. 秦皇岛: 河北科技师范学院, 2024
- Yang J. Screening of salt tolerance candidate genes and development of molecular markers in *Agropyron Gaertn.* based on QTL-mapping and RNA-Seq. Qinhuangdao coast: Hebei Normal University of Science and Technology, 2024
- [13] Mazzamuro V, Barbieri M, Garvin D F, Marcel T C, Niks R E, Francia E, Pasquariello M, Pecchioni N. QTLs for resistance to the leaf rust *Puccinia brachypodii* in the model grass *Brachypodium distachyon*, 2011
- [14] 李珍. 新麦草重要农艺性状的全基因组关联分析及候选基因挖掘. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2023
- Li Z. Genome-wide association analysis and candidate gene mining of important agronomic traits in *Psathyrostachys juncea*. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2023
- [15] 樊紫薇. 两芒山羊草抗白粉病新基因 Pm2Mb 的精细定位与候选基因发掘. 郑州: 河南农业大学, 2024

- Fan Z W. Fine mapping and candidate gene discovery of a new powdery mildew resistance gene Pm2Mb in *Aegilops tauschii*. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2024
- [16] Burrell A M, Sharma A, Patil N Y, Collins S D, Anderson W F, Rooney W L, Klein P E. Sequencing of an Anthracnose-Resistant Sorghum Genotype and Mapping of a Major QTL Reveal Strong Candidate Genes for Anthracnose Resistance. *Crop Science*, 2015, 55(2): 790-799
- [17] 卢倩倩. 高丹草超高密度遗传图谱构建及营养品质性状 QTL 定位与蛋白质相关候选基因挖掘. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2023
- Lu Q Q. Construction of ultra-high density genetic map of Sorghum-sudangrass, QTL mapping of nutritional quality traits and mining of protein-related candidate genes. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2023
- [18] 吴国芳. 高丹草低氢氰酸性状主效 QTL PA7-1 和 PA7-2 的精细定位及其候选基因分析. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2021
- Wu G F. Fine mapping and candidate gene analysis of major QTLs PA7-1 and PA7-2 for low hydrocyanic acid trait in Sorghum-sudangrass. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2021
- [19] Wang Z S. Mapping QTLs with epistatic effects and QTL \times environment interactions for plant height using a doubled haploid population in cultivated wheat. *Journal of Genetics and Genomics*, 2008, DOI:10.1016/S1673-8527(08)60017-X
- [20] 张凤琴, 于雪然, 李玲, 王蕊, 李培富, 马天利. 基于高密度遗传图谱对水稻抗性淀粉 QTL 定位及分析. *植物遗传资源学报*, 2023, 24(04): 1075-1084
- Zhang F Q, Yu X R, Li L, Wang R, Li P F, Ma T L. QTL mapping and analysis of resistant starch in rice based on high-density genetic map. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2023, 24(04): 1075-1084
- [21] Jiang C, Zeng Z B. Multiple trait analysis of genetic mapping for quantitative trait loci. *Genetics*, 1995, 140 (3): 1111-1127
- [22] 沈渊博, 王晶, 董文静, 王新宇, 梁燕. 番茄萼片形态性状的 QTL 初步定位. *植物遗传资源学报*, 2022, 23(05): 1334-1342
- Sheng Y B, Wang J, Dong W J, Wang X Y, Liang Y. Preliminary QTL mapping of tomato sepal morphological traits. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2022, 23(05): 1334-1342
- [23] Hou X B, Liu Y H, Xiao Q L, Wei B, Zhang X, Gu Y, Wang Y, Chen J, Hu Y, Liu H. Genetic analysis for canopy architecture in an F_{2:3} population derived from two-type foundation parents across multi-environments. *Euphytica*, 2015, 205(1): 421-440
- [24] Zheng J, Wang L H, Zhao W J, Jin P, Liu Y, Meng R R, Dai J C, Zhou L, Li J Q. QTL mapping of five forage quality traits in sorghum \times sudangrass. *Pakistan Journal of Botany*, 2021, 53(6): 2093-2098
- [25] Li J Q, Wang L H, Zhan Q W, Liu Y L, Zhang Q, Li J F, Fan F F. Mapping quantitative trait loci for five forage quality traits in a sorghum-sudangrass hybrid. *Genetics and Molecular Research*, 2015, 14(4): 13266-13273
- [26] Lu Q Q, Yu X X, Yu Z, Wang H T, Zhang X, Zhao Y Q. Quantitative trait locus mapping for important yield traits of a sorghum-sudangrass hybrid using a high-density single nucleotide polymorphism map. *Front Plant Sci*, 2022, 13, 1098605
- [27] 秦娜, 叶珍言, 朱灿灿, 付森杰, 代书桃, 宋迎辉, 景雅, 王春义, 李君霞. 谷子籽粒类黄酮含量和粒色的 QTL 定位. *作物学报*, 2024, 50(07): 1719-1727

- Qing N, Yan Z Y, Zhu C C, Fu S J, Dai S T, Song Y H, Jing Y, Wang C Y, Li J X. QTL mapping for flavonoid content and grain color in foxtail millet. *Journal of Crop Science*, 2024, 50(07): 1719-1727
- [28] Prathepha P. Genetic differentiation in weedy (*O. sativa* f. *spontanea*) and wild rice (*O. rufipogon*) revealed by DNA sequence in the QTL SD7-1/Rc locus. *Australian journal of crop science*, 2022, 16(6): 863-869.5
- [29] Wang Q, Li K, Hu X J, Shi H M, Liu Z F, Wu Y J, Wang H W, Huang C L. Genetic analysis and QTL mapping of stalk cell wall components and digestibility in maize recombinant inbred lines from B73×By804. *The Crop Journal*, 2020, 8(1): 132-139
- [30] 张明飞. 四倍体马铃薯高密度分子遗传连锁图谱构建及淀粉含量等重要性状的 QTL 定位. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2020
- Zhang M F. Construction of high-density molecular genetic linkage map of tetraploid potato and QTL mapping of important traits such as starch content. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2020
- [31] 石悦. 高丹草高密度遗传连锁图谱构建及氢氰酸含量等性状的 QTL 定位. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2018
- Shi Y. Construction of high-density genetic linkage map and QTL mapping of hydrocyanic acid content and other traits in Sorghum-Sudangrass. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2018
- [32] Ookawa T, Hobo T, Yano M, Murata K, Ando T, Miural H, Asano K, Ochiai Y, Ikeda M, Nishitani R. New approach for rice improvement using a pleiotropic QTL gene for lodging resistance and yield. *NAT COMMUN*, 2010, 2010,1 AR 132(-):- . DOI:10.1038/ncomms1132
- [33] 袁绍文, 孙文强, 王电文, 余四斌, 何菡子. 穗颈维管性状与产量相关性状的遗传分析. *植物遗传资源学报*, 2021, 22(1): 183-193
- Yuan S W, Sun W Q, Wang D W, Yu S B, He H Z. Genetic analysis of panicle neck vascular traits and yield-related traits. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2021, 22(1): 183-193
- [34] Birnin-Yauri H B, Umar S. Determination of yield and nutrient quality of herbage in Giron Masa grazing reserve, Kebbi State. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science*, 2014, 7(2): 60-64
- [35] 张莉, 荐红举, 杨博, 张翱翔, 张超, 杨鸿, 张立源, 刘列钊, 徐新福, 卢坤, 李加纳. 甘蓝型油菜蔗糖磷酸合酶(SPS)基因家族成员鉴定及表达分析. *作物学报*, 2018, 44(02): 197-207
- Zhang L, Ju J H, Yang B, Zhang Y X, Zhang C, Yang H, Zhang L Y, Liu L Z, Xu X F, Lu K, Li J N. Identification and expression analysis of sucrose phosphate synthase(SPS) gene family members in *Brassica napus*. *Journal of Crop Science*, 2018, 44(02): 197-207
- [36] Liao G, Li Y, Wang H, Liu Q, Zhong M, Jia D, Huang C, Xu X. Genome-wide identification and expression profiling analysis of sucrose synthase (SUS) and sucrose phosphate synthase (SPS) genes family in *Actinidia chinensis* and *A. eriantha*. *BMC Plant Biology*, 2022, 22(1): 1-15.
- [37] Granot D, Kelly G, Stein O, David-Schwartz. Substantial roles of hexokinase and fructokinase in the effects of sugars on plant physiology and development. *Journal of Experimental Botany*, 2014, 65(3): 809-819
- [38] 王丽华, 李改玲, 李晶, 左师宇, 曹鑫波, 佟昊阳, 魏湜. 外源糖对盐胁迫下小黑麦幼苗糖代谢的影响. *麦类作物学报*, 2017, 37(4): 548-553
- Wang L H, Li L L, Li J, Zuo S Y, Cao X B, Tong H Y, Wei S. Effects of exogenous sugar on sugar metabolism of triticale seedlings under salt stress. *Journal of Wheat Crops*, 2017, 37(4): 548-553

- [39] 朱俊杰, 张鑫悦, 纪坤, 潘梦影, 徐秋月, 石慧玥, 张龙, 李玉玲, 董永彬. 玉米胚发育过程蛋白组分析. 植物遗传资源学报, 2024, 25(01): 129-142
- Zhu J J, Zhang X Y, Ji K, Pan M Y, Xu Q Y, Shi H Y, Zhang L, Li L Y, Dong Y B. Proteome analysis of maize embryo development process. Journal of Plant Genetic Resources, 2024, 25(01): 129-142
- [40] 张振洲, 吴征江, 李春阳, 蒋朝, 武文莉, 刘慧霞. 土壤水分和植株密度互作对紫花苜蓿营养品质的影响. 草业科学, 1-12.
- <http://kns.cnki.net/kcms/detail/62.1069.S.20240624.1058.002.html>
- Zhang Z Z, Wu Z J, Li C Y, Jiang C, Wu Wen L, Liu H X. Effects of interaction between soil moisture and plant density on nutritional quality of alfalfa. lawn science, 1-12. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/62.1069.S.20240624.1058.002.html>
- [41] Mu D, Chen L, Wang H, Hu Z, Chen S, Chen S, Cai N, Xu Y, Tang J. The Identification of Phenylalanine Ammonia-Lyase(PAL)Genes from Pinus yunnanensis and an Analysis of Enzyme Activity in vitro. Phyton-International Journal of Experimental Botany, 2024, 93(3): 503-516
- [42] 蔡露. 烟草钾转运体 NtKT4 的克隆及功能分析. 雅安: 四川农业大学, 2019
- Cai L. Cloning and functional analysis of tobacco potassium transporter NtKT4. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2019