

谷子 SSR 分子图谱构建及主要农艺性状 QTL 定位

王晓宇¹, 刁现民², 王节之¹, 王春芳³, 王根全¹, 郝晓芬¹, 梁增浩⁴, 王雪梅⁵, 赵芳芳⁴

(¹山西省农业科学院谷子研究所, 长治 046011; ²中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081; ³河北民族师范学院, 承德 067000;

⁴山西农业大学研究生学院, 太谷 030801; ⁵山东省农业科学院作物研究所, 济南 250100)

摘要:本研究对谷子株高等主要农艺性状进行了数量性状位点 QTL 分析。以表型差异较大的沈 3/晋谷 20F₂ 作图群体为材料, 观测其株高、穗长等性状, 选用 SSR 作分子标记, 利用完备区间作图法 (BASTEN C J) 进行 QTL 分析。结果显示, 表型数据在作图群体中呈现连续分布, 表现为多基因控制的数量性状, 被整合的 54 个 SSR 标记构建 10 个连锁群, LOD 阈值设置为 2.0, 检测到与株高相关的主效 QTL 2 个, 联合贡献率 45.9637%, 穗长主效 QTL 1 个, 贡献率 14.9647%, 与穗重、粒重相关的主效 QTL 为同一位点, 贡献率分别为 11.9601% 和 10.1879%。有 6 组 QTL 位点之间存在基因互作效应, 大小范围为 -0.4986 ~ 16.6407, 对性状的贡献率在 2.2716% ~ 6.7478% 之间。谷子表型控制复杂, 相关 QTL 的检测受环境影响较大, 不同连锁群 QTL 间互作明显。

关键词: 谷子; F₂ 群体; SSR; 遗传连锁图; 数量性状座位

Construction of Genetic Map and QTL Analysis of Some Main Agronomic Traits in Millet

WANG Xiao-yu¹, DIAO Xian-min², WANG Jie-zhi¹, WANG Chun-fang³, WANG Gen-quan¹, HAO Xiao-fen¹,
LIANG Zeng-hao⁴, WANG Xue-mei⁵, ZHAO Fang-fang⁴

(¹Institute of Millet Sciences, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Changzhi 046011; ²Institute of Crop Sciences,

Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081; ³Hebei Normal University for Nationalities,

Chengde 067000; ⁴College of Graduate, Agricultural University of Shanxi, Taigu 030801;

⁵Institute of Crop Sciences, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan 250100)

Abstract: Objective of the study is about to detect quantitative trait loci (QTLs) for such as plant height and panicle length of millet. F₂ population derived from crosses of the millet cultivars Shen3 × Jingu20 respectively was used for OTL analysis. Data of trait about plant height, panicle length and others was collected and recorded. By analysis, it said the traits recorded are all quantitative traits. Using SSR as molecular markers, 54 markers were divided into 10 linkage group. The presence of two main-effect OTLs which are related with plant height was declared by Complete interval mapping (BASTEN C J) using OTL IciMapping 3.0.1.21, and the total effect was 45.9637%. One main-effect OTL which is related with panicle height was detected, and its individual effect is 14.9647%. It said that the main-effect OTL about panicle weight and the one about grain weigh was the same locus, and the effects of them were 11.9601% and 10.1879%. Gene-interaction analysis indicated that there were gene-interactions between 6 OTL pairs with additive effects ranging from -0.4986 to 16.6407. and individual effects from 2.2716% to 6.7478%. Detection of OTLs for traits of millet is sensitive to environment. OTLs of all traits spread a-

收稿日期: 2013-01-09 修回日期: 2013-04-30 网络出版日期: 2013-08-09

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20130809.1120.003.html>

基金项目: 国家科技支撑计划 (2011BDA06B02-1)

第一作者研究方向为谷子遗传育种。E-mail: wangxiaoyu67@126.com

通信作者: 刁现民, 研究方向为谷子遗传育种与功能基因组。E-mail: xmdiao@yahoo.com.cn

王节之, 研究方向为谷子遗传育种。E-mail: sxczwjz@163.com

round chromosomes, and gene-interaction occurs frequently.

Key words: Millet; F_2 population; SSR; molecular genetic map; quantitative trait loci (QTL)

谷子 (*Setaria italica*) 是禾本科狗尾草属的一个二倍体 ($2n = 18$) 栽培种, 自花授粉植物, 是世界上最古老的农作物之一^[1]。它具有抗旱、耐贫瘠、营养丰富等优点, 在我国北方粮食作物生产中占很重要的地位, 对于抗旱节水农业的发展有重要的意义。而且谷子的品种资源和野生资源丰富多样, 基因组相对较小 (约 470 MB), 适合于遗传分析和基因组研究, 正在发展成为禾本科功能基因组研究一个新的模式作物^[2]。

谷子株高、穗长、单株穗重、单穗粒重等大多数重要农艺性状的变异呈连续状态, 是典型的数量性状。与质量性状不同, 数量性状受多基因控制, 遗传基础复杂, 且易受环境影响, 表现型与基因型之间没有明确的对应关系。目前相关研究主要是通过杂交构建遗传标记群体, 建立标记和性状的遗传连锁图谱, 对相关数量性状基因座 (QTL) 进行定位。这些群体包括临时群体 (F_2 和 BC_1) 和永久群体 (RIL 等), 用于构建连锁图谱的分子标记包括 RFLP^[3]、RAPD^[4-5] 和 SSR^[6-8]、 AFLP^[9-10] 等, 其中 SSR 标记是常用的

标记。

近年来, 前人已利用 EST 文库法^[11-14]、富集文库法^[15-16]、锚定 PCR 法^[17] 开发了一批谷子 SSR 标记, 利用这些 SSR 标记, 杨坤^[18] 构建了首个谷子 SSR 分子标记连锁图谱, 由 46 个位点组成, 总长度为 916 cM, 分布在 10 个连锁群上。

本研究的主要目的是利用 SSR 标记对沈 3 × 晋谷 20 F_2 群体的株高及其他几个主要农艺性状基因进行发掘, 建立谷子 SSR 标记遗传连锁图谱, 定位与株高及其他农艺性状相关的 QTLs, 为谷子功能基因组的深入研究和育种技术水平的提高提供一些参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 亲本选配和群体构建 选取在株高、穗长、单株穗重、单穗粒重、分蘖数等农艺性状差异显著的沈 3 和晋谷 20 作为母本和父本, 同时考虑两亲本间的遗传差异, 保证群体分子标记多态性丰富, 尽可能获得多个性状的标记 (表 1)。

表 1 沈 3 和晋谷 20 同一生长期表型值的统计特征

Table 1 Comparison of agronomic traits between Shen 3 and Jingu 20

亲本 Parent	株高 (cm) PH	穗长 (cm) PL	单穗粒重 (g) GW	分蘖数 TN	叶鞘色 LSC	谷色 GC	抽穗期 (月·日) HS	主茎色 SC
沈 3 (分蘖)	77.15aA	16.10aA	19.60aA	3.80aA	绿	黄	7.29-8.4	绿
晋谷 20	138.85bB	19.45bB	13.60bA	1.00bB	紫	白	8.3-8.9	红

a, b 表示 0.05 显著水平; A, B 表示 0.01 显著水平

a, b With a significance level of 0.05, A, B With a significance level of 0.01, PH: Plant height, PL: Panicle length, GW: Grain weight, TN: Tiller number, LSC: Leaf sheath color, GC: Grain color, HS: Heading stage, SC: Stem color, The same as below

2007 年夏季在山西省农业科学院谷子研究所配制杂交组合, 2008 年夏季种植 F_1 单株自交, 根据亲本在叶鞘色、主茎色、分蘖数、株高、穗长、抽穗期、谷色等表型上的差异, 对 F_1 进行初步的形态鉴定, 进一步分子鉴定得到 F_1 杂交种, 于 2009 年种植 F_2 , 6 个穗行共获取 417 个单株, 随机记取 101 个单株构建 F_2 标记群体, 取叶片 -80 °C 冻存, 2010 年种植 F_2 家系。

1.1.2 引物来源 共 3 个来源: (1) 贾小平开发的 SSR 引物^[11-14]; (2) 李琳开发的 SSR 引物^[15-16]; (3)

根据谷子基因组设计的 SSR 引物。试验所用引物, 由上海宝生物工程公司合成。

1.2 试验方法

1.2.1 田间农艺性状调查 对群体单株的株高、穗长、单株穗重、单穗粒重、分蘖数等多个性状进行详细调查, 应用软件 STATISTICA 6.0 对采集数据进行多态性检测。

1.2.2 DNA 提取 抽穗期后在 F_2 群体中随机抽取 101 个单株和 2 个亲本的叶片, 采用 CTAB 法^[19] 进行 DNA 提取。

1.2.3 PCR 扩增 PCR 体系 (20.0 μL): 2.0 μL 10 \times PCR Buffer (Mg²⁺ plus), 2.0 μL dNTP (2.5 mmol/L), 上下游引物各 1 μL (0.4 mmol/L), 0.2 μL *Taq* 酶 (5 U/ μL) 和 2.0 μL DNA 模板 (0.5 ng/ μL), H₂O 11.8 μL 。

PCR 程序: 94.0 $^{\circ}\text{C}$ 预热 5 min; 94.0 $^{\circ}\text{C}$ 50 s, 54 ~ 60 $^{\circ}\text{C}$ 40 s, 72.0 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 30 个循环; 72.0 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min; 10 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

1.2.4 扩增产物检测 采用 4% 琼脂糖凝胶 (AG) 电泳检测。仪器 DYCP-31DN 型琼脂糖水平电泳仪、DYY-12C 型电脑三恒多用电泳仪电源, 胶型 120 mm \times 120 mm, 90 W 恒功率下电泳 1.5 h。

部分扩增产物采用分辨率较高的 6% 的变性聚丙烯酰胺凝胶 (PAGE) 电泳进行检测。仪器 BIO RAD Power pac 2900 型电泳仪, 胶型 38 cm \times 30 cm \times 0.4 cm, 60 W 恒功率下电泳 2.0 h。

1.2.5 SSR 标记分析 据扩增产物电泳迁移率的不同以及作图软件分析的要求记录结果。共显性标记, 母本沈 3 带型记为 1, 父本晋谷 20 带型记为 2, 杂合带型记为 3。显性标记, 父本无带母本有带 1 示 ♀ , 4 示 ♂ 及杂合; 父本有带母本无带母本 5 示 ♀ 及杂合, 2 示 ♂ 。缺失或模糊不清的条带记为 \。对分离带型进行卡方检验。

1.2.6 遗传图谱的构建及 QTL 定位 应用 QTL IciMapping 3.0.1.21 (<http://www.isbreeding.net/>) 的完备区间作图法 (BASTEN C J) 对所考察的性状进行全基因组扫描, 完成遗传连锁图谱的构建, 同时基于其双亲衍生群体 QTL 作图的 BIP 功能进行 QTL 分析, 其中将 LOD 值低于 2.0 的 QTL 忽略, 以增加 QTL 检测的准确性与可靠性, 确定各性状 QTLs 的数目及其在连锁群上的标记区间。LOD = 5.0 为阈值, 分析谷子 QTL 位点间的互作效应。

2 结果与分析

2.1 性状的统计与分析

2.1.1 作图群体表型变异分析 图 1~4, 均设 10 个组, 正态性检验表明, 株高、穗长、单株穗重、单穗粒重和分蘖数在 F₂ 群体中均有差异, 其中株高差异较大, 标准差 18.3827, 平均值 99.4554, 组中值变异幅度 45.4089 ~ 123.5914; 穗长均值 16.6238, 组中值变异幅度 7.6817 ~ 21.3187, 标准差为 3.0012; 单株穗重均值 10.4710, 组中值 1.1818 ~ 24.8187, 标准差 5.1573; 单穗粒重均值 8.2360,

组中值 0.9545 ~ 20.0460, 标准差 4.4471; 分蘖数均值 2.0000, 组中值 1.1817 ~ 4.8187, 标准差 1.1045, 其中组中值 1.1817 一组样本数为 41, 卡方值 223.5805, 表型偏向父本晋谷 20。株高、穗长、单株穗重和单穗粒重 4 个性状在 F₂ 群体中频次分布均呈现连续变异的正态分布, 说明这些性状都是由多基因控制的数量性状, 只有分蘖数表现异常。

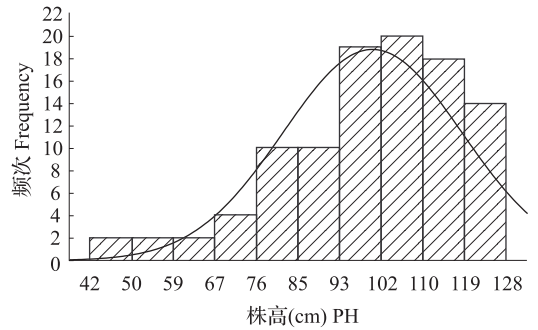


图 1 F₂ 群体株高频次分布

Fig. 1 Frequency distribution of PH in F₂ population (x, 99.4554, 18.3827)

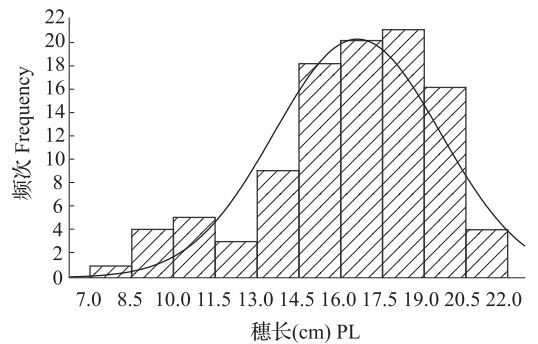


图 2 F₂ 群体穗长频次分布

Fig. 2 Frequency distribution of PL in F₂ population (x, 16.6238, 3.0012)

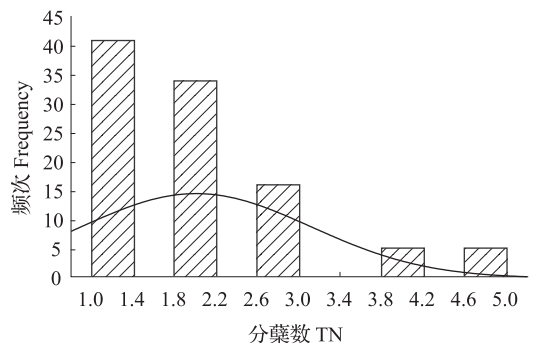


图 3 F₂ 群体分蘖数频次分布

Fig. 3 Frequency distribution of TN in F₂ population (x, 2.0000, 1.1045)

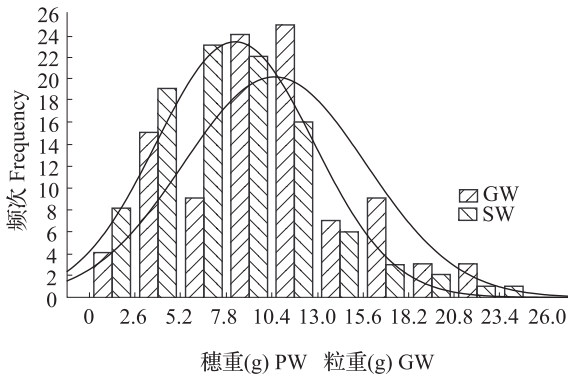


图4 F_2 群体穗重粒重频次分布

Fig.4 Frequency distribution of PW and GW in F_2 population ($x, 10.471, 5.1573, 8.236, 4.4474$)

2.1.2 不同农艺性状间相关分析 对 F_2 群体进行各性状的相关分析(表2)。 $|r| > 0.8$ 判定2个变量有很强的线性相关性^[20]。结果显示:株高、穗长、单株穗重、单穗粒重呈极显著正相关,其中株高、穗长2个变量之间以及单株穗重、单穗粒重2个变量之间有很强的相关性,单株穗重和单穗粒重之间的相关系数 $r = 0.99$ 。分蘖数与单株穗重及单穗粒重之间呈极显著正相关,分蘖数与穗长正相关,与株高呈一定的负相关,但不具有统计学意义。

表2 谷子 F_2 群体5个农艺性状间的相关分析

Table 2 Correlation among five agronomic traits of foxtail millet in F_2 population

	株高 PH	穗长 PL	穗重 PW	粒重 GW	分蘖数 TN
PH	1.00				
PL	0.61 **	1.00			
PW	0.47 **	0.52 **	1.00		
GW	0.50 **	0.51 **	0.99 **	1.00	
TN	-0.09	0.06	0.49 **	0.45 **	1.00

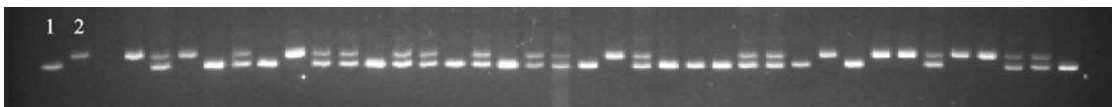
** 在 0.01 水平上显著相关; * 在 0.05 水平上显著相关

** Correlation is significant at the 0.01 level, * Correlation is significant at the 0.05 level

2.2 谷子遗传连锁图谱的构建以及主要农艺性状的 QTL 定位

2.2.1 SSR 标记多态性分析以及扩增产物在 F_2 群体中的分离 试验共用 1650 对引物(Jia192 对, Li387 对, 美国引物 1048 对, 印度引物 23 对)进行亲本间多态性检测,筛选出在双亲间表现多态性的 SSR 引物 60 对(3.636%),其中 59 对群体检测结果可以准确统计,共显性标记 58 对,显性标记 1 对,11 对引物检测结果出现偏分离(18.64%),3 对偏向母本沈 3,6 对偏向父本晋谷 20,2 对偏向杂合体。

图5为引物 p41 扩增产物在 4% 琼脂糖凝胶中的电泳结果,该标记在群体中分离明显,目的片段差异较大;图6为引物 b255 扩增产物在 6% 变性聚丙烯酰胺凝胶中的电泳结果,2 个标记在群体中均表现为共显性。

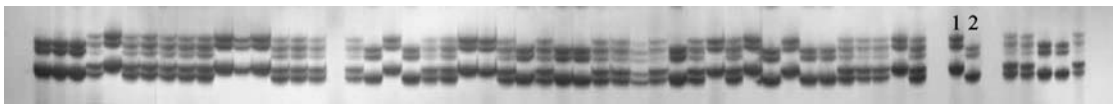


4% 琼脂糖凝胶电泳进行检测,1 为母本沈 3,2 为晋谷 20,其余泳道为 F_2 单株

Test by 4% agarose gel electrophoresis, the 1 is Shen 3, the 2 is Jingu 20, others are F_2 individuals

图5 标记 p41 在谷子(沈 3 × 晋谷 20) F_2 群体中扩增结果电泳图

Fig.5 Amplification and electrophoresis segregation result of marker p41 in F_2 population



6% 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳进行检测,1 为母本沈 3,2 为晋谷 20,其余泳道为 F_2 单株

Test by 6% denatured polyacrylamide gel electrophoresis, the 1 is Shen 3, the 2 is Jingu 20, others are F_2 individuals

图6 标记 b255 在谷子(沈 3 × 晋谷 20) F_2 群体中扩增结果电泳图

Fig.6 Amplification and electrophoresis segregation result of marker b255 in F_2 population

2.2.2 主效 QTL 分析 对 59 个 SSR 标记进行连锁分析后共出现 10 个连锁群,有 5 个标记没有被整合,最终构建了一张含有 54 个 SSR 标记的谷子遗传连锁图,覆盖总长度 421.6 cM。在 F_2 群体中共检测到 5 个 QTL 位点,2 个与株高相关,其余 3 个分别与穗长、单株穗重、单穗粒重相关。检测到的 2 个株

高 QTL 均位于第 9 连锁群,穗长 QTL 位于第 2 连锁群,穗重 QTL 和粒重 QTL 位于第 7 连锁群(图 7 ~ 11)。其中一个株高 QTL 处于 p67 和 p56 之间,距离左标记 p67 和右标记 p56 分别为 12.0 cM 和 18.3 cM, LOD 值 2.3884, 加性效应 15.6200, 贡献率 33.2241%;另一个处于 p56 和 b169 之间,距离左标

记 p56 和右标记 b169 分别为 12.7 cM 和 9.2 cM, LOD 值 2.6529, 加性效应 8.1205, 贡献率 12.6996%。穗长 QTL 位点处于 b142 和 b192 之间, 距离左标记 b142 和右标记 b192 分别为 12.8 cM 和 3.8 cM, LOD 值 2.8790, 加性效应 -1.5045, 贡献率 14.9647%。计算结果显示, 单株穗重 QTL 与单穗粒重 QTL 为同一位点, 该位点处于 b255 与 b147 之间, 距离左标记 b255 和右标记 b147 分别为 0.2 cM 和 2.3 cM, 对单株穗重和单穗粒重贡献率分别为 11.9601% 和 10.1879%, LOD 值 2.4716 和 2.0580, 加性效应 2.5361 和 2.0108(表 3)。

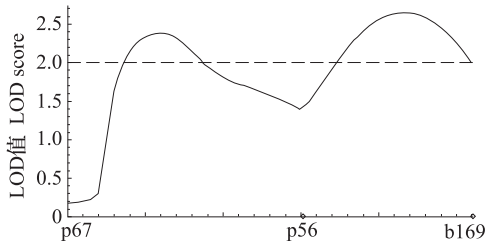


图 7 谷子株高 QTL 在第 9 连锁群上的 LOD 值
Fig. 7 LOD score of PH QTL in LOG 9 of millet

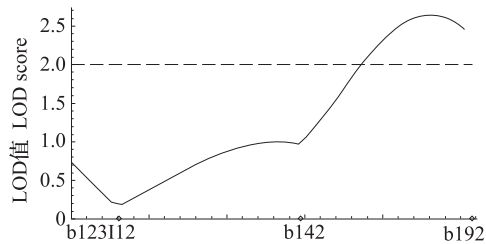


图 8 谷子穗长 QTL 在第 2 连锁群上的 LOD 值
Fig. 8 LOD score of PL QTL in LOG 2 of millet

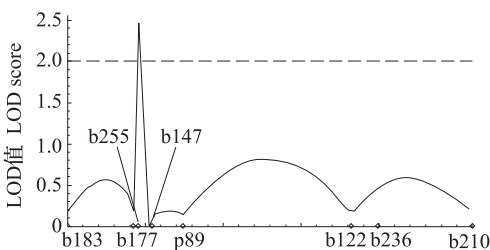


图 9 谷子穗重 QTL 在第 7 连锁群上的 LOD 值
Fig. 9 LOD score of PW QTL in LOG 7 of millet

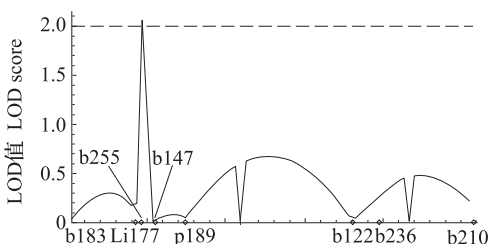


图 10 谷子粒重 QTL 在第 7 连锁群上的 LOD 值
Fig. 10 LOD score of GW QTL in LOG 7 of millet

表 3 谷子主要农艺性状的 QTL 定位

Table 3 QTL mapping of some main agronomic traits of millet

QTL 名称 ^[20] QTL name	标记 区间 Chr-Ini	QTL 位置 QTL Site (cM)	加性 效应 Add	LOD 值 LOD score	贡献率 (%) PVE
<i>qPH-LG9-1</i>	p67-p56	12.0000	15.6200	2.3884	33.2241
<i>qPH-LG9-2</i>	p56-b169	43.0000	8.1205	2.6529	12.6996
<i>qPL-LG2-1</i>	b142-b192	35.0000	-1.5045	2.8790	14.9647
<i>qPW-LG7-1</i>	b255-b147	13.0000	2.5361	2.4716	11.9601
<i>qGW-LG7-1</i>	b255-b147	13.0000	2.0108	2.0580	10.1879

PVE: QTL 解释的表型变异率; 加性效应正值表示加性效应来自沈 3, 负值表示加性效应来自晋谷 20, 下同

PVE: Phenotypic variation. A positive additive effect shows that the parent presenting the increasing effects was Shen3, while the negative effect was due to Jingu20, The same as below

2.2.3 QTL 位点间的基因互作分析 分析沈 3 × 晋谷 20 构建的 F₂ 群体分子数据共检测到 6 组标记区间存在基因互作效应。其中, 与单株穗重、株高、单穗粒重相关的各一组, 与分蘖数相关的 3 组(表 4)。第 3 连锁群 b129-p68(距离左右标记分别为 12.8 cM、4 cM) 与第 7 连锁群 b122-b236(距离左右标记分别为 3.5 cM、1.4 cM) 之间存在互作, 与谷子单株穗重、单穗粒重相关。对于单株穗重, 2QTL 互作效应 3.3934, 互作 LOD 值 5.0115, 贡献率 2.2716%。对于单穗粒重, 2QTL 互作效应 3.8604, 互作 LOD 值 6.3524, 贡献率 3.0495%。第 3 连锁群 b129-p68(距离左右标记分别为 12.8 cM、4 cM) 与第 5 连锁群 b246-U423(距离左右标记分别为 14.5 cM、22.8 cM) 之间互作效应与谷子分蘖数相关, 互作效应值 -0.1546, 互作 LOD 值为 5.1833, 贡献率 5.7801%。与分蘖数相关的 QTL 互作还来自第 5 连锁群 b246-U423(距离左右标记分别为 14.5 cM、22.8 cM) 与第 7 连锁群 b122-b236(距离左右标记分别为 3.5 cM、1.4 cM) 之间和第 5 连锁群 b246-U423(距离左右标记分别为 14.5 cM、22.8 cM) 与第 9 连锁群 p56-b169(距离左右标记分别为 4.7 cM、17.2 cM) 之间, 前者互作效应 -0.4986, 互作 LOD 值 5.1696, 贡献率 6.3970%。后者互作效应 0.6934, 互作 LOD 值 6.2022, 贡献率达 6.7478%。第 4 连锁群 p14-b185(距离左右标记分别为 10.0 cM、18.1 cM) 与第 9 连锁群 p56-b169(距离左右标记分别为 19.7 cM、2.2 cM) 之间互作效应与谷子分蘖数相关, 互作效应值 16.6407, 互作 LOD 值 5.0526, 贡献率 3.5456%。

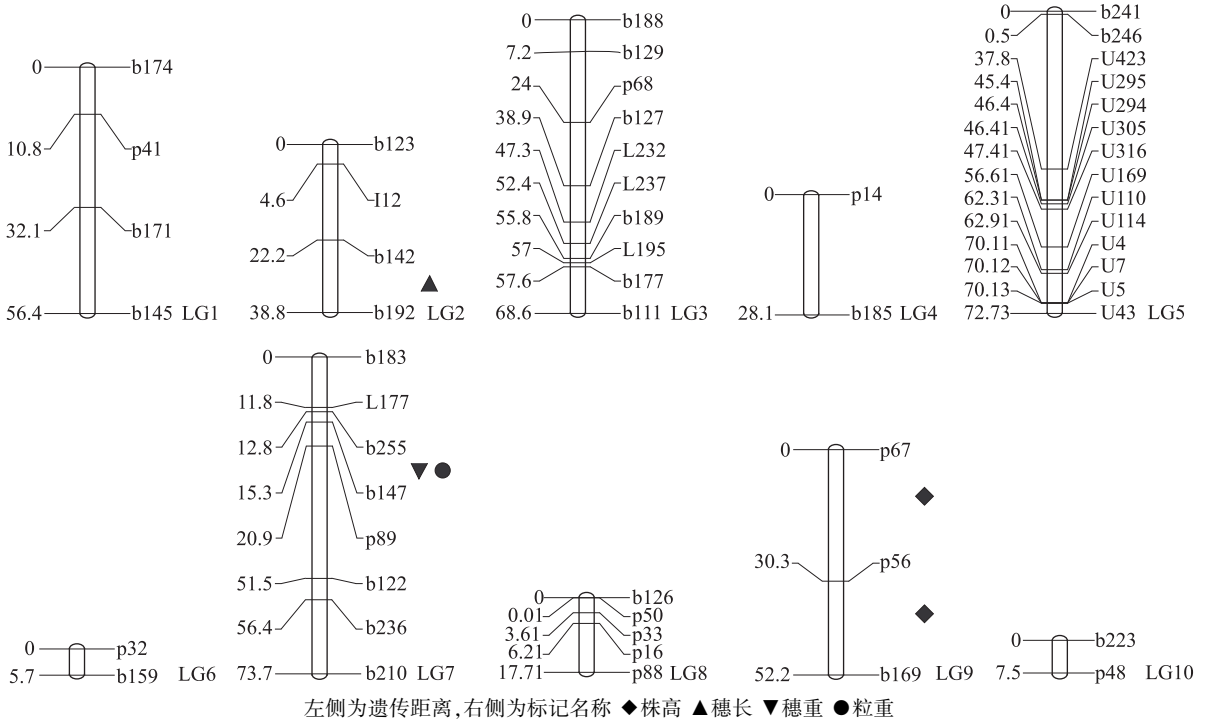


图 11 谷子主要农艺性状 QTL 位点在遗传图谱上的分布

Fig. 11 QTL location of some main agronomic traits in the millet linkage map

表 4 谷子主要 QTL 间的互作分析

Table 4 Interaction analysis of the QTLs of millet

QTL 名称 QTL name	标记区间 Chr-Ini	位置 (cM) Site	加性效应 Add1	QTL 名称 QTL name	标记区间 Chr-Ini	位置 (cM) Site	加性效应 Add2	互作效应 Add by Add	LOD 值 LOD score	贡献率 (%) PVE
<i>qPW-LG3</i>	b129-p68	20.0000	0.0947	<i>qPW-LG7</i>	b122-b236	55.0000	2.6045	3.3934	5.0115	2.2716
<i>qPH-LG4</i>	p14-b185	10.0000	-1.3032	<i>qPH-LG9</i>	p56-b169	50.0000	12.6476	16.6407	5.0526	3.5456
<i>qGW-LG3</i>	b129-p68	20.0000	-0.0482	<i>qGW-LG7</i>	b122-b236	55.0000	2.4889	3.8604	6.3524	3.0495
<i>qTN-LG3</i>	b188-b129	5.0000	0.4405	<i>qTN-LG5</i>	b246-U423	15.0000	-0.6423	-0.1546	5.1833	5.7801
<i>qTN-LG5</i>	b246-U423	20.0000	-0.5856	<i>qTN-LG7</i>	b122-b236	55.0000	0.5864	-0.4986	5.1696	6.3970
<i>qTN-LG5</i>	b246-U423	20.0000	-0.7525	<i>qTN-LG9</i>	p56-b169	35.0000	-1.1637	0.6934	6.2022	6.7478

互作效应正值表示亲本型效应大于重组型效应,负值表示重组型效应大于亲本型效应

A positive interactive effect shows that the effects was from the parent,while the negative effect was due to the recombinant

3 讨论

3.1 关于作图群体选择

试验选择 F_2 群体作为构建遗传图谱的群体。该群体构建容易是其最大的优点,但 F_2 群体存在杂合基因型,试验共整合 54 个 SSR 标记,其中 53 个选用共显性标记,能够识别纯合基因型和杂合基因型,防止了遗传信息的丢失,弥补了 F_2 群体的不足之处。但是谷子表型受环境因素影响较大,试验采用 F_2 群体单株数据难免存在系统误差和随机误差,无法完全体现群体基因型,影响试验准确性。所以有

必要选择 3 个以上地势、气候等环境因子差异较大小区种植 F_2 家系,每家系随机抽取 10 个单株进行数据采集,取各组表型数据均值作分析。

3.2 关于引物筛选

禾本科中,谷子与其他作物相比,所含有的重复序列是最少的,变异程度也低,限制了谷子的多态性^[18,22]。谷子基因组中,大部分序列都含有长的重复的 DNA 序列,这些序列以极低的倒置频率维持谷子基因组大小。在这些序列中,DNA 重复序列也不像其他作物那样以极快的速度发生碱基删除、替代等基因突变,而使其基因组相对保守^[18,23-24]。所以,

1650 对引物用来检测亲本只有 59 对表现多态性, 试验检测亲本共用美国引物 1048 对, 仅 12 对表现多态性, 从试验构建的谷子遗传连锁图谱发现这 12 对引物全部集中在第 5 连锁群, 长度 34.93 cM。这可能和引物设计有关, 美国引物是测序之后根据碱基序列设计的。从结果看, 试验选用引物应该来自同一片段, 并未覆盖谷子整个基因组, 对于 QTL 初步定位是不可取的。

3.3 主效 QTL 分析

为了确定 2 对基因之间存在连锁, 一般要求似然比大于 1000:1, 即 $\text{LOD} > 3$; 而要否定连锁的存在要求似然比小于 100:1, 即 $\text{LOD} < 2$, 但在 QTL 定位中, 常将最小 LOD 值定为 2^[18,25]。本试验选取 LOD 值 2.0 作为 QTL 可能存在的临界值。在数量性状改良工作中, 微效 QTL 的积累有助于对重要农艺性状的选择, 用较低临界值作为检测具有较小效应的 QTL 的方法也是可取的^[18,25]。数据分析显示, 在第 7 连锁群 b255-b147 之间检测到 1 个 QTL, 该位点与谷子单株穗重、单穗粒重均相关, 距离左右标记仅为 0.2 cM 和 2.3 cM, 与标记紧密连锁, 加性效应均显示正值, 增效等位基因来自于母本沈 3, 可以推断谷子单株穗重与单穗粒重之间存在高度正相关, 这从表型数据相关性分析也得到证明。但不排除存在另一种情况, 与谷子单株穗重、单穗粒重相关的 QTL 紧密连锁, 这有待精细定位, 进行进一步检测。与株高相关的 QTL 共检测到 2 个, *qPH-LG9-1* 与 *qPH-LG9-2*, 增效等位基因均来自于母本沈 3, 两者联合贡献率达到 45.9637%, 分别位于第 9 连锁群 p67-p56 之间和 p56-b169 之间, 所以 p56 是个非常重要的标记, 左右与 2 个株高 QTL 紧密连锁。

3.4 不同 QTL 之间互作效应分析

试验将 LOD 值低于 5.0 的 QTL 忽略, 以增加互作 QTL 检测的准确性与可靠性。分析显示, 第 3 连锁群 b129-p68 与第 7 连锁群 b122-b236 之间的互作对谷子单株穗重、单穗粒重均有影响, 在被整合的 54 个标记中这 2 个标记区间左右标记距离仅为 16.8 cM、4.9 cM, 标记与目的 QTL 连锁, 互作效应均显示正值, 可以推断这对谷子单株穗重、单穗粒重正相关是有贡献的。同时, 第 7 连锁群 b122-b236 与第 5 连锁群 b246-U423 之间互作效应值 -0.4986, 即重组型效应大于亲本型效应。与分蘖数相关的基因互作共检测出 3 组, 其中第 5 连锁群标记区间 b246-U423 均参与, 另外 2 组互作分别存在于 b246-U423 与第 3 连锁群 b188-b129(左右标记距离 7.2 cM) 之

间和 b246-U423 与第 9 连锁群 p56-b169(左右标记距离 21.9 cM) 之间, 但是与两者形成互作的位点不同, QTL 位置显示分别为 15.0000 cM 和 20.0000 cM, 互作效应分别为 -1.1546、0.6934。与谷子分蘖数相关的互作效应贡献率依次达到 5.7801%、6.3970% 和 6.7478%。尽管 b246-U423 参与了谷子单株穗重、单株粒重和分蘖数 QTL 的表达, 但是互作效应值不一, 而且与表型数据相关性分析结果没有必然联系, 说明谷子分蘖数基因遗传控制非常复杂, 而本试验所定位的 QTL 数目较少, 难以完整解释各表型采集数据之间的联系以及它们的遗传规律。标记区间 p59-b169 同时与第 4 连锁群 p14-b185 存在互作效应, 该互作与谷子株高相关, 效应值 16.6407, 而 p59-b169 对谷子株高的加性效应显示 12.6476, 远大于其他位点, 主效 QTL 分析可知 p56 和 b169 之间存在 1 个与株高表达相关的位点, 参与互作的位点可能为该主效 QTL 或者试验未发掘的其他与株高相关的主效 QTL, 也就是说主效 QTL 在谷子株高表达中与其他 QTL 形成互作, 并且增强了控制。

3.5 谷子遗传连锁图谱分析

遗传图谱应用价值的大小, 取决于标记的数量、图谱饱和度及标记在图谱上分布的均匀程度。一个基本的连锁框架图要求标记间的平均距离在 10 ~ 20 cM^[18,25]。另外, 何小红等^[26]认为在 QTL 位置和效应估计上, 只要标记间距不过大(如 50 cM), 一般来说, 一旦 QTL 能被检测到, 则其位置和效应的估计也较准确, 其位置估计值的 95% 置信区间绝大多数在 20 cM。本研究所构建的连锁图谱标记区间平均长度为 7.807 cM, 能够满足 QTL 初步定位的要求。本试验检测到的主效 QTL 所在标记区间 p67-p56 遗传距离为 30.3 cM, p56-b169 为 21.9 cM, b142-b192 为 16.6 cM, b255-b147 仅 2.5 cM, 检测到的 6 组互作 QTL 所在标记区间遗传距离从 4.9 cM 到 37.3 cM 不等, 均符合以上标准。由于数量性状存在基因与环境间的互作^[27-29], 所以已检测到的 QTL 还需要进一步验证, 而且检测到的 QTL 数量较少, 随着标记数目的增加, 图谱的加密, 可对其他 QTL 进行进一步发掘以及对已定位的基因进行更精确的定位。本试验所构建的连锁图只能作为框架图谱使用, 谨希望为谷子高密图谱构建以及功能基因定位积累一些基础和依据。

致谢: 试验选题及完成过程中得到了中国农业科学院作物科学研究所刁现民老师课题组的悉心指导和帮助, 借此机会致以诚挚谢意!

参考文献

- [1] 王永芳,李伟,智慧,等.基于谷子测序开发的SSR标记多态性检测[J].河北农业科学,2010,14(11):73-76
- [2] Li P, Brutnell T P. *Setaria viridis* and *Setaria italica*, model genetic systems for the Panicoid grasses [J]. *Exp Bot*, 2011, 62(9):3031-3037
- [3] Botstein D, White R L, Skolnick M, et al. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms [J]. *Am J Hum Genet*, 1980, 32(3):314-331
- [4] Williams J G, Kubelik A R, Livak K J, et al. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers [J]. *Nucleic Acids Res*, 1990, 18(22):6531-6535
- [5] Welsh J, McClelland M. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers [J]. *Nucleic Acids Res*, 1990, 18(24):7213-7218
- [6] Hamada H, Kakunaga T. Potential Z-DNA forming sequences are highly dispersed in the human genome [J]. *Nature*, 1982, 298(5872):396-398
- [7] Morgante M, Hanafey M, Powell W. Microsatellites are preferentially associated with nonrepetitive DNA in plant genomes [J]. *Nat Genet*, 2002, 30(2):194-200
- [8] Valdes A M, Slatkin M, Freimer N B. Allele frequencies at microsatellite loci: the stepwise mutation model revisited [J]. *Genetics*, 1993, 133(3):737-749
- [9] Zabeau M, Vos P. Selective restriction fragment amplification: A general method for DNA fingerprinting; European Patent Application, EP0534858 [P]. 1992-09-24
- [10] Vos P, Hogers R, Bleeker M, et al. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting [J]. *Nucleic Acids Res*, 1995, 23(21):4407-4414
- [11] Jia X P, Zhang Z B, Liu Y H, et al. Development and genetic mapping of SSR markers in foxtail millet (*Setaria italica* (L.) P. Beauv.) [J]. *Theor Appl Genet*, 2009, 118:821-829
- [12] Jia X P, Shi Y S, Song Y C, et al. Development of EST-SSR in foxtail millet (*Setaria italica*) [J]. *Genet Resour Crop Evol*, 2007, 54:233-236
- [13] 贾小平,谭贤杰,李永祥,等.用SSR标记研究谷子品种的遗传多样性[J].江西农业大学学报,2009,31(4):633-638
- [14] 贾小平,王天宇,黎裕,等.用SAM法分离谷子SSR位点的研究[J].河南农业科学,2009,8:17-21
- [15] 李琳.富集文库法开发谷子的微卫星分子标记[D].石家庄:河北师范大学,2008
- [16] Li L, Yang K, Ma L H, et al. Microsatellite marker development of foxtail millet by enriched libraries and phylogenetic analysis of some *Setaria* species [C]//Guangzhou: Plant Genomics in China IX, 2008:44
- [17] 马丽华.应用锚定PCR开发谷子微卫星标记[D].石家庄:河北师范大学,2008
- [18] 杨坤.谷子SSR标记连锁图谱构建及几个主要性状QTL分析[D].石家庄:河北师范大学,2008
- [19] Weising K, Nybom H, Pfenninger M, et al. DNA fingerprinting in plants and fungi [M]. Japan: CRC Press Inc, 1994:51-55
- [20] 百度百科.相关系数[EB/OL].(2012-11-02)[2012-12-25].<http://baike.baidu.com/view/172091.htm>
- [21] McCouch S R, Cho Y G, Yano M, et al. Report on QTL nomenclature [J]. *Rice Genet*, 1997, 14:11-13
- [22] Lakshmi S, Ranjekar P K. Novel molecular features of millet genomes [J]. *Indian J Biochem Biophys*, 1984, 21:299-303
- [23] Flavell R. The Molecular characterization and organization of plant chromosomal DNA sequences [J]. *Annu Rev Plant Physiol*, 1980, 31:569-596
- [24] Lakshmi S, Gupta V S, Ranjekar P K. DNA sequence organization in the genomes of three related millet plant species [J]. *Plant Mole Biol*, 1986, 6(6):375-388
- [25] 方宣钧,吴为人,唐纪良.作物DNA标记辅助育种[M].北京:科学出版社,2001:21-26
- [26] 何小红,徐辰武,蒯建敏,等.数量性状基因作图精度的主要影响因素[J].作物学报,2001,27(4):469-475
- [27] 宋彦霞,景蕊莲,霍纳新,等.普通小麦(*T. aestivum* L.)不同作图群体抽穗期QTL分析[J].中国农业科学,2006,39(11):2186-2193
- [28] 袁文娟,覃鸿妮,王旭,等.玉米雄穗颜色的QTL分析[J].植物遗传资源学报,2013,14(2):289-297
- [29] 周蓉,陈海峰,王贤智,等.不同发育阶段大豆株高和茎粗QTL的动态分析[J].植物遗传资源学报,2010,11(3):349-359

欢迎订阅 2014 年《新疆农业科学》

《新疆农业科学》是由新疆农科院、新疆农业大学、新疆农学会主办的国内外公开发行的综合性农业学术期刊,是中国科技核心期刊、中国农业核心期刊、中文核心期刊和 RCCSE 中国核心学术期刊。本刊被美国《化学文摘》(CA)、俄罗斯《文摘杂志》、英国《国际农业与生命科学研究中心》(CABI)、美国《剑桥科学文摘:自然科学》(CSA: Nat. Sci.) 中国科技论文引证报告 CJCR、《中国学术期刊文摘》和中国科学引文数据库 CSCD 等国内外著名数据库及检索刊物收录。

刊物重点报道农业的科技成果与先进技术。主要刊登作物育种与栽培、植物保护、土壤肥料、园艺特产、林业、农田水利、畜牧兽医水产、农业机械、生物技术、生命科学、资源环境等科技论文与研究报告。

月刊,2014年200页/期,定价:16元/册,全年192元,ISSN 1001-4330, CN 65-1097/S, 邮发代号:58-18, 订阅:全国各地邮局、所。国外发行:中国国际图书贸易总公司,代号:BM3342。

地址:(830091)乌鲁木齐市南昌路403号新疆农科院《新疆农业科学》编辑部

电话/传真:(0991)4502046

E-mail:xjnykx-h@xaas.ac.cn

网址:<http://www.xjnx.cbpt.cnki.net>

<http://www.periodicals.net.cn>

<http://www.chinajournal.net.cn>