

小麦株高的 QTL 分析

王竹林¹, 王 辉¹, 孙道杰¹, 何中虎², 夏先春², 刘曙东¹

(1 西北农林科技大学 农学院, 陕西 杨凌 712100; 2 中国农业科学院 作物科学研究所/国家小麦改良中心, 北京 100081)

【摘 要】 【目的】研究控制小麦株高的数量性状位点(QTL)。【方法】利用 SSR 和 AFLP 分子标记构建连锁图谱, 在 3 种不同试验环境(2003~2004 年北京、2004~2005 年北京和河南安阳)下分析百农 64×京双 16 组合的 218 个 F_{2,3} 株系群体的株高。【结果】构建了由 158 个分子标记(100 个 SSR 标记和 58 个 AFLP 标记)位点组成的遗传连锁图谱, 覆盖了除 1D 连锁群外小麦全基因组的 3 114 cM; 检测到 3 个控制株高的 QTL, 分别位于 2B、4D 和 6A 染色体上, 贡献率分别为 7.3%~11.5%, 7.4%~12.9% 和 5.7%~11.3%。【结论】3 个株高 QTL 位点在不同环境下表现稳定, 其紧密连锁的分子标记可用于矮秆、半矮秆小麦的标记辅助育种。

【关键词】 普通小麦; 株高; 数量性状位点(QTL); SSR 标记; AFLP 标记

【中图分类号】 S512.103.53; Q78 【文献标识码】 A 【文章编号】 1671-9387(2008)12-0059-05

QTL mapping for plant height of wheat using a F_{2,3} population

WANG Zhu-lin¹, WANG Hui¹, SUN Dao-jie¹, HE Zhong-hu²,
XIA Xian-chun², LIU Shu-dong¹

(1 College of Agronomy, Northwest A&F University, Yangling Shaanxi 712100, China; 2 Institute of Crop Science/National Wheat Improvement Center, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: 【Objective】 The research was done in order to study QTLs controlling plant height in wheat. 【Method】 A population with 218 F_{2,3} lines derived from the cross between Bainong 64 and Jing-shuang 16 was detected using SSR and AFLP markers in three environments, i. e. Beijing (2003—2004), Beijing and Anyang (2004—2005). 【Result】 The results showed that a linkage map with 100 SSR and 58 AFLP markers, covering 3 114 cM of the wheat genome except chromosome 1D, was constructed. Three QTLs for plant height were found on chromosomes 2B, 4D and 6A, which accounted for 7.3%—11.5%, 7.4%—12.9% and 5.7%—11.3% of phenotypic variance respectively. 【Conclusion】 These QTLs showed stable effects across three environments, and thus their closely linked molecular markers could be useful in marker-assisted-selection programs for breeding dwarf and semi-dwarf wheat cultivars.

Key words: common wheat (*Triticum aestivum* L.); plant height; quantitative trait locus (QTL); SSR marker; AFLP marker

小麦(*Triticum aestivum* L.)是我国的主要粮食作物, 株高是影响小麦高产、稳产的重要性状, 降低株高和提高抗倒伏性一直是重要的育种目标。20 世纪 60~80 年代, 矮秆和半矮秆小麦品种的推广,

对全世界小麦产量的提高起到了关键作用。截止目前, 已正式命名的 *Rht* 主效矮秆基因 21 个^[1]。自 Sears 首先利用小麦非整倍体将生产育种中应用最广泛的 *Rht-B1b*、*Rht-B1c*、*Rht-D1b*、*Rht8* 和 *Rht9*

* [收稿日期] 2007-12-26

[基金项目] 国家“863”计划项目(2006AA100102); 西北农林科技大学博士科研启动项目(01140501)

[作者简介] 王竹林(1965—), 女, 湖北老河口人, 副教授, 博士, 主要从事小麦遗传育种研究。

[通讯作者] 刘曙东(1958—), 男, 湖北建始人, 教授, 主要从事小麦遗传育种研究。E-mail: lishud325@163.com

等基因初步定位在 4B、4B、4D、2B 和 7D 染色体上以来,现已有 13 个主效矮秆基因被定位在不同的染色体上^[2]。小麦矮秆基因可分为赤霉素反应敏感型和不敏感型两种,其中 *Rht-B1b*、*Rht-B1c*、*Rht-B1d*、*Rht-B1e*、*Rht-D1b*、*Rht-D1c*、*Rht-D1d* 和 *Rht-B1f* 属于外源赤霉素反应不敏感型,其位于小麦第四同源群 4B 和 4D 染色体上,其他主效矮秆基因对外源赤霉素反应敏感^[3]。

小麦株高通常表现为数量性状特征,除受主效矮秆基因控制外,还受株高数量性状位点(Quantitative trait locus, QTL)的影响。Cadalen 等^[4]检测到 Courtot 除含有主效矮秆基因 *Rht-B1b* 和 *Rht-D1b* 外,还含有控制株高的 3 个 QTL 和 1 个互作位点,这些 QTL 可解释 11.9%~19.1% 的表型变异。Keller 等^[5]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 个抗倒伏 QTL,单个 QTL 可解释 7.9%~31.4% 的表型变异,全部 QTL 可解释 72.6% 的表型变异。刘冬成等^[6]发现 7 个影响株高的 QTL,分别位于染色体 1B、4B(2 个)、6A(2 个)、6D 和 7A 上,每个 QTL 能解释 5.2%~50.1% 的表型变异。周森平等^[7]利用重组自交系检测到 4 个影响小麦株高的 QTL,分别位于 1D、2B、4A 和 4D 染色体上,单个 QTL 能够解释 10.3%~33.8% 的表型变异,降低株高的效应为 3.2%~7.4%。株高 QTL 的基因位点很多,且各位点存在大量等位变异,当选用不同遗传材料进行 QTL 分析时,可能会发现不同的基因;株高性状受基因型、环境以及基因型与环境互作的影响较大,各个位点受环境影响的程度是一个未知领域^[4];同时一些影响株高性状的其他基因位点与该基因的多效性也处于研究阶段^[8]。因此,关于小麦株高的 QTL 定位还需要进一步深入研究。试验利用百农 64×京双 16 组合的 $F_{2,3}$ 株系群体,定位株高的数量性状位点(QTL),以期丰富小麦株高遗传基础理论。

1 材料与方法

1.1 植物材料

百农 64×京双 16 组合的 218 个 $F_{2,3}$ 株系群体。百农 64 是上世纪 90 年代后期河南省的主栽品种,株型好,综合抗性好,株高 72 cm 左右;京双 16 是上世纪 90 年代末北京市大面积种植的小麦品种,株高 90 cm 左右。在百农 64×京双 16 F_2 群体中,随机选取 218 个单株自交,获得 $F_{2,3}$ 株系群体。

1.2 田间试验

2003~2004 年度将 218 个 $F_{2,3}$ 株系及亲本种植在北京中国农业科学院作物科学研究所试验地,采用随机区组设计,3 次重复,单行区,行长 1.5 m,每行点播 90 粒,行距 0.2 m,成熟时按行收获。2004~2005 年度将上述 218 个 $F_{2,3}$ 株系及亲本同时种植在北京中国农业科学院作物科学研究所和河南安阳白壁中国农业科学院棉花研究所试验地,试验方法同上。按常规方法进行田间管理。收获前从每行随机选取 10 株测量株高,以每个株系 3 次重复的平均值作为该株系的表型值。

1.3 遗传图谱的构建

选用 Röder 等^[9]发表的 239 对 Xgwm 引物,SSR 协作组的 536 对 WMC 引物(<http://wheat.pw.usda.gov/ggpages/SSR/WMC>), Pestsova 等^[10]发表的 38 对 Xgdm 引物, DuPw 公司发表的 206 对 SSR 引物以及 Cornell 大学发表的 78 对 Barley SSR 引物(<http://wheat.pw.usda.gov>),共计 1097 对 SSR 引物;3 个选择性碱基的 P 引物和 M 引物各 9 个,随机组成 12 对 AFLP 引物组合,进行分子标记分析。

利用 MAPMAKER/EXP 3.0b 软件^[11]进行连锁分析,绘制遗传连锁图谱。LOD 阈值为 3.0,最大遗传距离为 50.0 cM。根据已知的 SSR 标记构建每条染色体的框架,用 sequence、compare 和 map 命令确定这些标记在连锁图上的位置,然后用 links、try 和 map 命令将其余标记定位到相应染色体的位置上,最后用 ripple 命令检测。采用 Kosambi 函数将标记间的重组率转换为遗传图距(cM)。

1.4 统计分析和 QTL 分析

用 SAS 软件进行基本统计和方差分析。用 QTL Cartographer 2.0 软件进行 QTL 分析。

2 结果与分析

2.1 小麦株高遗传图谱的构建

在百农 64 与京双 16 之间表现出多态性的 SSR 和 AFLP 位点分别为 114 和 82 个,检测多态性位点在 $F_{2,3}$ 群体中的分离,最终将 100 个 SSR 标记和 58 个 AFLP 标记定位到除 1D 之外的 20 条小麦染色体上。采用 Kosambi 函数将标记之间的重组率转换为遗传图距(cM)。连锁图覆盖小麦基因组 3 114 cM,标记间平均间距为 19.7 cM。

2.2 小麦群体株高性状的表现

在 3 种不同试验环境下,百农 64 平均株高为

71.7 cm,京双 16 平均株高为 90.4 cm,双亲间相差 18.7 cm,差异达到极显著水平。F_{2,3} 株系群体株高分析结果表明,株系间存在较大差异,其变异系数为 9.9%~10.7%。多数株系株高小于均值,偏斜度均为负值(表 1);方差分析结果表明,环境、重复、基因

型及基因型与环境互作间的差异均达到极显著水平(表 2)。

从 F_{2,3} 群体株高分布图(图 1)及偏斜度(表 1)可以看出,群体株高的观测值基本符合正态分布,说明株高是由多基因控制的数量性状。

表 1 百农 64×京双 16 F_{2,3} 株系群体株高的统计参数

Table 1 Phenotypic values of height in Bainong 64×Jingshuan 16 F _{2,3} population					
地 点 Location	年份 Year	变幅/cm Range	均值/cm Mean	变异系数/% CV	偏斜度 Skewness
北京 Beijing	2004	57.0~102.3	81.9	9.9	-0.04
北京 Beijing	2005	63.3~105.0	84.8	10.1	-0.18
安阳 Anyang	2005	58.0~103.0	84.4	10.7	-0.42

表 2 百农 64×京双 16 F_{2,3} 株系群体株高的方差分析结果

Table 2 Analysis of variance for plant height in Bainong 64×Jingshuan 16 F _{2,3} population					
变异来源 Source	自由度 df	方差 MS	F 值 F value	P	
重复 Replicate	2	1 624.734 45	29.19	<0.000 1	
环境 Environment	2	587.500 51	10.55	<0.000 1	
基因型 Genotype	217	177.101 20	3.18	<0.000 1	
基因型×环境 Genotype×Environment	434	212.255 25	3.81	<0.000 1	
误差 Error	1 306	55.666 1			

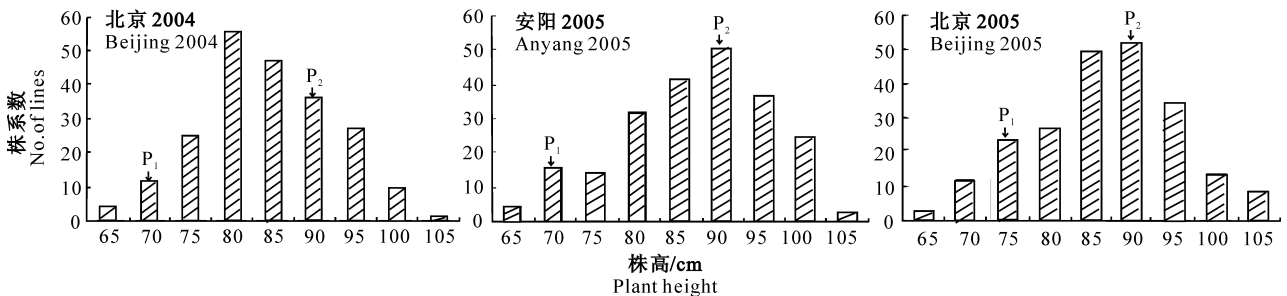


图 1 百农 64(P₁)×京双 16(P₂) F_{2,3} 群体株高的分布

Fig. 1 Distribution of plant height in Bainong 64(P₁)×Jingshuang 16(P₂) F_{2,3} population

2.3 小麦株高的 QTL 分析

小麦株高 QTL 分析表明,在 3 种环境下检测到

的相同 QTL 位点为 3 个,分别位于 2B、4D 和 6A 染色体上(表 3,图 2)。

表 3 复合区间作图法检测小麦株高 QTL 的结果

Table 3 QTLs of plant height based on composite interval analysis									
地点 Location	年份 Year	染色体 Chrom.	标记区间 Marker interval	LOD	加性效应 Addition	显性效应 Dominance	显性度 D/A	作用方式 Action	贡献率/% Var.
北京 Beijing	2004	2B	P3M3-3—HVM64	4.19	4.530 0	-4.42	0.96	D	11.5
		4D	Xgwm192—WMC473	3.53	-3.360 8	1.34	0.40	PD	9.0
		6A	Xgwm570—WMC201	4.91	-3.692 0	-5.95	1.61	D	9.2
北京 Beijing	2005	2B	P3M3-3—HVM64	3.17	5.027 3	-5.64	1.12	D	10.9
		4D	Xgwm192—WMC473	3.33	-2.997 2	1.61	0.54	PD	7.4
		6A	Xgwm570—WMC201	3.16	-3.013 7	-6.65	2.21	D	5.7
安阳 Anyang	2005	2B	P3M3-3—HVM64	3.17	4.2936	-4.62	1.08	D	7.3
		4D	Xgwm192—WMC473	6.60	-4.4848	1.92	0.43	PD	12.9
		6A	Xgwm570—WMC201	4.19	-4.7446	-6.07	1.28	D	11.3

注:PD. 部分显性(显性度为 0.21~0.80);D. 显性(显性度 0.80 以上)。

Note:PD. Partially dominant (dominant degree is 0.21-0.8);D. Dominant (over 0.80 in dominant degree).

图 2 表明,2B 染色体上检测到的 QTL 位于

P3M3-3 和 HVM64 之间,与最近标记 HVM64 的

距离为 2.5~4.5 cM,贡献率为 7.3%~11.5%。位于 4D 染色体的 QTL 距最近标记 WMC473 距离为 0.5~4.5 cM,贡献率为 7.4%~12.9%。6A 染色体上的 QTL 位于 Xgwm570 和 WMC201 之间,与

最近标记 Xgwm570 的距离为 9.9~11.9 cM,贡献率为 5.7%~11.3%。QTL 作用方式为部分显性或显性。在 3 种不同的试验环境下均检测出了相同的 QTL,表明这 3 个 QTL 受环境影响较小。

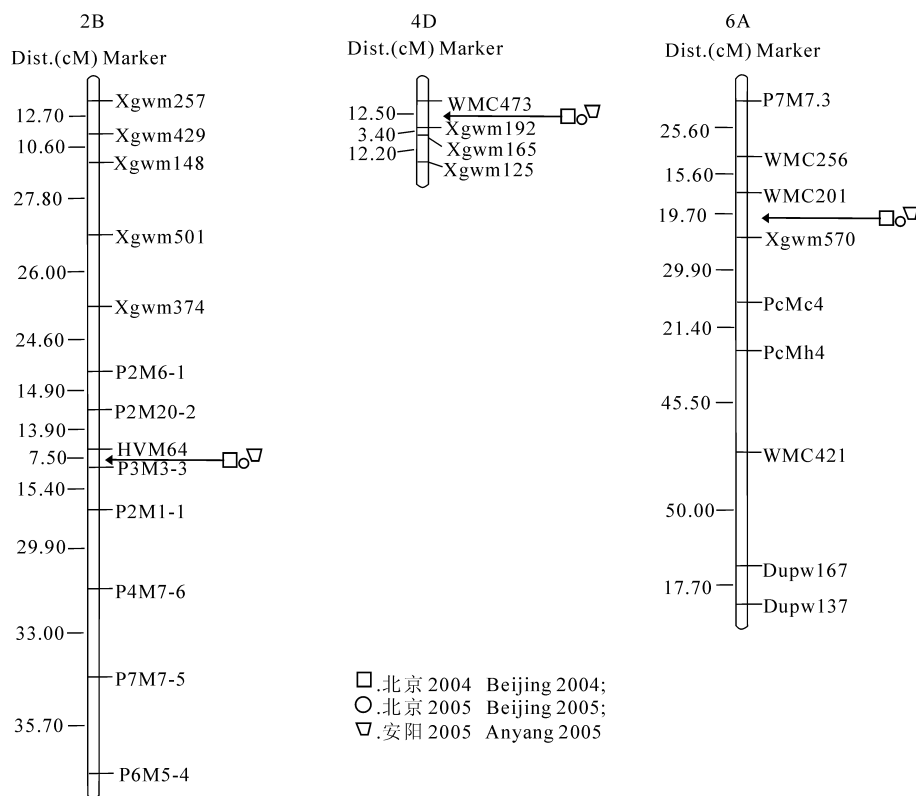


图 2 小麦株高的 QTL 位置

Fig. 2 Position of QTLs conferring plant height

3 结论与讨论

本研究对小麦株高进行 QTL 分析,不同环境下检测到 3 个相同 QTL,分别位于 2B(P3M3-3—HVM64)、4D(Xgwm192—WMC473)和 6A(Xgwm570—WMC201)染色体上,且 3 个 QTL 受环境影响小,表达稳定。本研究在 4D 上发现的株高 QTL 在 WMC473 和 Xgwm192 之间。周森平等^[7]和 Sourdille 等^[12]的研究结果证实,*Rht-D1b* 基因位于 4D 染色体的 Xgwm608 至 Xfba211 之间,而 WMC473 与 Xgwm608 位置接近,所以位于 4D 染色体上的 QTL 可能就是 *Rht-D1b*。刘冬成等^[6]发现 7 个影响株高的 QTL,分别位于染色体 1B、4B(2 个)、6A(2 个)、6D 和 7A 上。本研究在 6A 染色体上检测到的位点接近刘冬成在 6A 染色体上所检测到的 QTL 位点,位于标记 Xgwm570 附近。上述两个 QTL 位点,是不同研究者用不同材料在不同环境中发现的控制株高的 QTL 位点,表明位于 4D 和

6A 染色体上控制株高的数量性状位点稳定可信,可用于小麦株高的遗传改良及矮秆、半矮秆小麦的标记辅助育种。周森平等^[7]利用重组自交系检测到 4 个影响小麦株高的 QTL,分别位于 1D、2B(*Etcg. Magc9*—Xgwm526)、4A 和 4D 染色体上。本研究在 2B 染色体上发现 1 个 QTL 位点,但与周森平等^[7]在 2B 染色体上发现的 QTL 位点距离较远,可能是一个新的控制株高的 QTL 位点

前人研究结果表明^[13],小麦中 21 条染色体中的大部分都与株高的遗传变异有关。张坤普等^[14]检测到 9 个与小麦株高有关的 QTL,分布在 3A、4B、4D、5A、6A、7B 和 7D 染色体上。本试验中只检测到 3 个与小麦株高变异有关的 QTL,说明仍有部分 QTL 未能检测出。其原因可能有以下几个方面:首先构建的小麦遗传连锁图不够充分饱和,导致部分染色体的 QTL 未能检出,特别是本研究未能构建出 1D 染色体的连锁图,而周森平等^[7]就在 1D 染色体上检测出了小麦株高的 QTL;其次是亲本之

间的遗传差异不足够大,双亲株高表现不是极端类型;最后试验误差也可能使一部分 QTL,特别是微效 QTL 未能检出。

株高是小麦的一个重要农艺性状,虽然已发现并定位了 13 个 *Rht* 主效基因^[2],但大多数品种的株高受多基因控制,表现为典型的数量性状遗传特征,容易受环境条件的影响。因此,采用传统方法根据表现型进行选择,其可靠性较差。分子选择可直接选择基因型,其选择效果和可靠性大为提高。分子选择的基础是找到与控制性状 QTL 紧密连锁的分子标记。已有的小麦株高 QTL 研究报道,不同的研究者或者采用不同的试验材料检测出的 QTL 数目和位置都不尽相同,与分子标记间的连锁程度也不够紧密,尚难直接应用于分子选择。因而,小麦株高的 QTL 分析仍是一个重要的研究课题,有待深入探讨。

[参考文献]

[1] 杨松杰,张晓科,何中虎,等. 用 STS 标记检测矮秆基因 *Rht-B1b* 和 *Rht-D1b* 在中国小麦中的分布 [J]. 中国农业科学, 2006,39(8):1680-1687.
Yang S J,Zhang X K,He Z H, et al. Distribution of dwarfing genes *Rht-B1b* and *Rht-D1b* in Chinese bread wheats detected by STS marker [J]. Scientia Agriculture Sinica, 2006, 39 (8): 1680-1687. (in Chinese)

[2] 孙永堂,李新华,张爱民,等. 小麦矮源的利用和矮秆基因的研究进展 [J]. 核农学报, 2001(3):431-436.
Sun Y T,Li X H,Zhang A M, et al. Utilization of dwarfing resources and development of dwarfing genes study in wheat [J]. Acta Agriculture Nucleatae Sinica, 2001(3):431-436. (in Chinese)

[3] Li X P,Liu Y P,Lan S Q, et al. The value of different GA insensitive *Rht* dwarfing genes in winter wheat breeding [J]. Scientia Agriculture Sinica, 2004,37(5):392-394.

[4] Cadalen T P,Sourdill G,Charmet M H, et al. Molecular markers linked to Genes affecting plant height in wheat using a doubled-haploid population [J]. Theor Appl Genet, 1998, 96: 933-940.

[5] Keller M,Karutz J E,Schmid P, et al. Quantitative trait loci for

lodging resistance in a segregating wheat $\times$ spelt population [J]. Theor Appl Genet, 1999,98:1171-1182

[6] 刘冬成,高睦枪,关荣霞,等. 小麦株高性状的 QTL 分析 [J]. 遗传学报, 2002,29(8):706-711.
Liu D C,Gao M Q,Guan R X, et al. Mapping quantitative trait loci for plant height in wheat (*Triticum aestivum* L.) using a F_{2,3} population [J]. Acta Genetica Sinica, 2002, 29 (8): 706-711. (in Chinese)

[7] 周森平,黄益洪,任丽娟,等. 利用重组自交系检测小麦株高的 QTL [J]. 江苏农业学报, 2004,20(4):201-206.
Zhou M P,Huang Y H,Ren L J, et al. Detection of QTLs for plant height in wheat using RILs [J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 2004,20(4):201-206. (in Chinese).

[8] Korzun V,Röder M S,Ganal M W, et al. Genetic analysis of the dwarfing gene (*Rht8*) in wheat. Part I. Molecular mapping of Rht8 on the short arm of chromosome 2D of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. Theor Appl Genet, 1998, 96:1104-1109.

[9] Röder M S,Korzun V,Wendehake K, et al. A microsatellite map of wheat [J]. Genetics, 1998,149:2007-2023.

[10] Pestsova E,Ganal M W,Röder M S. Isolation and mapping of microsatellite markers specific for the D genome of bread wheat [J]. Genome, 2000,43:689-697.

[11] Lander E S,Green P,Abrahamson J, et al. Mapmaker; an interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations [J]. Genomics, 1987,1:174-181.

[12] Sourdille P,Cadalen T,Guyomarch H, et al. An update of the Courtot $\times$ Chinese Sping intervarietal molecular marker linkage map for the QTL detection of agronomic traits in wheat [J]. Theor Appl Genet, 2003,106:530-538.

[13] Ellis M H,Rebetzke G J, Azanza, et al. Molecular mapping of gibberellin responsive dwarfing genes in bread wheat [J]. Theor Appl Genet, 2005,111:423-430.

[14] 张坤普,田纪春,赵 亮,等. 利用 DH 群体进行小麦株高的加性效应、上位性效应及环境互作效应的 QTL 分子标记定位 [J]. 遗传学报, 2008,35(2):119-127.
Zhang K P,Tian J C,Zhao L, et al. Mapping QTLs with epistatic effects and QTL $\times$ environment interaction for plant height using a doubled haploid population in cultivated wheat [J]. Acta Genetica Sinica, 2008,35(2):119-127. (in Chinese)