

网络出版时间:2015-03-12 14:17

DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2015.04.031

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20150312.1417.031.html>

高丹草 10 个重要性状的 QTL 定位分析

房永雨,于肖夏,于卓,石悦,谢锐

(内蒙古农业大学 农学院,内蒙古 呼和浩特 010019)

[摘要] 【目的】确定高丹草茎叶比、分蘖数等 9 个重要农艺性状及氢氰酸含量的 QTL 位点,为深入开展高丹草分子标记辅助育种等研究提供依据。【方法】以散穗高粱、红壳苏丹草及高丹草 F_2 群体为材料,在已构建的高丹草高密度分子连锁遗传图谱上,采用多 MQM 模型法对氢氰酸含量、株高、茎粗、叶片数、叶长、叶宽、茎叶比、穗长、单株干质量、分蘖数 10 个性状进行 QTL 定位分析。【结果】高丹草 F_2 群体的 10 个性状测量值呈正态分布,均可用于 QTL 分析;控制 10 个性状的 QTL 有 24 个,分布在除连锁群 LG IX 外的其余 9 个连锁群上,遗传贡献率变幅为 6.1%~43.6%。在 24 个 QTL 中,控制氢氰酸含量的 QTL 有 2 个,控制叶片数、分蘖数和单株干质量的 QTL 各有 1 个,控制茎粗、叶长、叶宽、穗长、茎叶比的 QTL 各有 3 个,控制株高的 QTL 有 4 个。【结论】在已构建的高丹草高密度分子连锁遗传图谱上,定位出氢氰酸含量及株高、茎粗等 10 个性状的 24 个 QTL。

[关键词] 高丹草;杂种 F_2 群体;重要性状;QTL 定位

[中图分类号] S544⁺.9

[文献标志码] A

[文章编号] 1671-9387(2015)04-0026-09

QTL mapping analysis of 10 important traits in Sorghum-Sudangrass hybrid

FANG Yong-yu, YU Xiao-xia, YU Zhuo, SHI Yue, XIE Rui

(Agronomy College, Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot, Inner Mongolia 010019, China)

Abstract: 【Objective】 This study identified the QTLs of important agronomic traits of Sorghum-Sudangrass such as hydrocyanic acid content, stem-leaf ratio and tiller number to provide the basis for the further study of molecular assisted breeding of Sorghum-Sudangrass. 【Method】 Sorghum bicolor, Sorghum sudanense and Sorghum-Sudangrass hybrid F_2 population were selected as materials. Based on the constructed high density genetic linkage map of Sorghum-Sudangrass, the QTLs of 10 main traits including hydrocyanic acid content, plant height, stem diameter, leaf number, leaf length, leaf width, stem-leaf ratio, spikelet length, dry weight per plant, and tiller number were identified and analyzed using MQM QTL models. 【Result】 The measurements of 10 traits of Sorghum-Sudangrass hybrid F_2 population showed a normal distribution, indicating that they could be used for QTL analysis. A total of 24 QTLs were identified and they distributed on 9 linkage groups except LG IX, with the contributions of 6.1% to 43.6%. Of all the 24 QTLs, the numbers of QTLs controlling hydrocyanic acid content, leaf number, tiller number and dry weight per plant, stem diameter, leaf length, leaf width, panicle length and stem-leaf ratio, and plant height were 2, 1, 1, 1, 3, 3, 3, 3, 3, and 4, respectively. 【Conclusion】 A total of 24 QTLs were located for 10 important traits of Sorghum-Sudangrass on the constructed high-density molecular genetic maps.

Key words: sorghum-sudangrass hybrid; hybrid F_2 population; important traits; QTL location

[收稿日期] 2014-11-06

[基金项目] 国家“973”计划项目(2014CB138703);国家自然科学基金面上项目(31472141)

[作者简介] 房永雨(1984—),男,河北沧州人,在读博士,主要从事饲用作物遗传育种研究。E-mail:1984fyy@163.com

[通信作者] 于卓(1958—),男,内蒙古呼和浩特人,教授,博士,博士生导师,主要从事饲用作物及马铃薯遗传育种研究。E-mail:yuzhuo58@sina.com

高丹草是由高粱(*Sorghum bicolor*, $2n=2x=20$)与苏丹草(*Sorghum sudanense*, $2n=2x=20$)种间杂交育成的,兼具高粱的抗寒、抗旱、耐倒伏、产量高及苏丹草的分蘖性强、营养价值高、氰化物含量低、适口性好、抗病性强等特性,是重要的青饲及青贮用 1 年生优良饲用作物,在我国北方地区年可刈割 2~3 次,在长江以南地区年可刈割 5~6 次,在农区及半农半牧区养殖业中应用前景广阔^[1-3]。但高丹草的不足是茎叶鲜草含有氢氰酸,家畜采食过量易引起中毒^[4-5]。国内外学者在高丹草生态生物学特性、遗传多样性分析与种质和品质评价、杂交育种与杂种优势利用、栽培技术等方面已进行了较深入的研究^[6-9],但在高丹草高密度分子遗传连锁图谱构建、氢氰酸含量及重要农艺性状的 QTL 定位方面研究报道甚少,迄今仅见逯晓萍^[10-11]以雄性不育系高粱 314A×棕壳苏丹草杂种 F_{2:3}家系为作图群体,构建了一幅含 166 个分子标记的二倍体高丹草遗传连锁图谱,该图谱覆盖的基因组长度为 836 cM,标记间平均间距为 5.03 cM。

近几年来,本课题组通过选用抗寒抗旱、耐倒伏、产量高的二倍体散穗高粱($2n=2x=20$)与分蘖性强、营养价值高、适口性好的红壳苏丹草($2n=2x=20$)相组配,进行种间远缘杂交,成功获得杂种 F₁ 及其自交 F₂ 作图群体^[12-15]。本试验在前期构建的含 284 个 AFLP 标记(标记间平均间距为 3.41 cM)的高丹草高密度分子遗传图谱^[16]基础上,通过测定茎叶氢氰酸含量、株高、分蘖数、茎叶比、单株干

质量等 10 个性状,确定控制这些重要性状的 QTL 位点,以期为进一步开展高丹草重要性状基因图位克隆、基因精细定位、功能分析和分子标记辅助育种等研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试材料为母本散穗高粱和父本红壳苏丹草及其杂交后代高丹草 F₂ 分离群体,均种植在内蒙古农业大学农作物试验场。试验地位于内蒙古农业大学东 2.5 km 处,地理位置 111°42'E,45°57'N,海拔 1 063 m,年降水量 400 mm 左右,无霜期 145 d,土壤为砂壤质地暗栗钙土,pH 7.8~8.2,试验地肥力中等,具有灌溉条件^[17]。

1.2 氢氰酸含量及农艺性状检测

1.2.1 氢氰酸含量的测定 在株高 150 cm 左右时,取高丹草双亲和 F₂ 群体各单株材料部分叶片,剪碎,混匀,称取 1.0 g 用纱布包裹,蒸馏提取氰化物。取 10 mL 吸收液(体积分数 1.0% NaOH)于 100 mL 容量瓶内,用于吸收蒸馏液,当容量瓶中的蒸馏液接近 100 mL 刻度线时,移开容量瓶,待蒸馏液温度降至常温后,用双蒸水定容至 100 mL。用异烟酸-吡啶啉酮分光光度法^[18]测定鲜草氢氰酸含量,重复 3 次。

1.2.2 农艺性状的测定 对高丹草双亲(各 20 株)和高丹草 F₂ 分离群体中定株编号的 240 株单株(用于分子遗传图谱构建的单株)分别测定各性状指标,具体方法详见表 1。

表 1 农艺性状的观测
Table 1 Observation of agronomic traits

农艺性状 Agronomic traits	考察记载方法 Standard of the traits recording
单株干质量/g Dry weight per plant	阴干后单株称质量 Dry weigh of single plant after air-dried
株高/cm Plant height	单株最高穗尖到地面的高度 Maximum plant height from ground to ear tip
叶片数 Leaf number	抽穗后主茎叶片总数 Total number of main stem leaves after heading date
叶长/cm Leaf length	穗下倒数第 2 叶的叶长 Leaf length of the penultimate leaf under spike
叶宽/cm Leaf width	穗下倒数第 2 叶的叶宽 Leaf width of the penultimate leaf under spike
茎叶比 Stem-leaf ratio	阴干前单株的全部茎秆质量与全部叶片质量之比 Weigh rate per single plant of stem and leaves before air-dried
茎粗/cm Stem diameter	单株主茎的直径 Plant diameter of the main stem
分蘖数 Tiller number	单株有效茎数和无效茎数 The number of effective and invalid stems per plant
穗长/cm Panicle length	从穗尾到穗尖的长度 Maximum plant length from spike tail to ear tip

1.3 数据统计与分析

用 SPSS 17.0 软件对高丹草双亲和 F₂ 群体的氢氰酸含量及 9 个农艺性状进行差异显著性分析,对 F₂ 群体 10 个性状数据进行正态分布分析。

利用前期构建的高丹草高密度分子遗传连锁图谱^[16],使用 Map QTL 4.0 定位软件对高丹草的 10

个性状进行 QTL 分析。首先使用区间作图法(Interval mapping,IM)找到确定的 QTLs 及与其紧密连锁的标记,使用 Map QTL 4.0 中的 Automatic cofactor selection 对 IM 检测中与 QTLs 紧密连锁的标记进行选择,将在 $P<0.05$ 水平上显著的标记作为 cofactor,用于多 QTL 模型(Multiple QTL

model,MQM)作图;利用 Map QTL 4.0 中的 Per-
mutation Test 命令(1 000 次重复)估计每个连锁群
在 $P<0.05$ 水平下的 LOD(似然比值的常用对数,表
示该位点具有 QTL 的可能强度)阈值。IM 和 MQM
都以 5 cM 的距离扫描整个基因组。本研究确定
QTL 位置的 LOD 临界值为 2.5,用软件 Map Chart

2.2 绘制 QTL 图谱^[19-20]。

2 结果与分析

2.1 高丹草 2 个亲本的 10 个性状分析

对高丹草 2 个亲本的 10 个性状进行 t 检验,结
果见表 2。

表 2 高丹草 2 个亲本 10 个性状的分析

Table 2 Analysis of 10 traits between Sorghum-Sudangrass parental lines

性状 Trait	父本 Male parent				母本 Female parent				t 值 t -value
	最大值 Maximum	最小值 Minimum	平均值 Mean	极差 Kurtosis	最大值 Maximum	最小值 Minimum	平均值 Mean	极差 Kurtosis	
氢氰酸含量/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) CN ⁻ content	33.5	26.1	30.9±2.1	7.4	149.0	126.1	138.2±7.4	22.9	-62.4**
单株干质量/g Dry weight per plant	289.9	224.0	256.3±20.2	65.9	336.9	225.5	284.3±28.3	111.4	-3.6**
株高/cm Plant height	219.6	202.1	209.1±5.1	17.5	398.7	335.4	359.3±15.2	63.3	-41.9**
叶片数 Leaf number	11.0	7.0	8.9±1.2	4.0	12.0	8.0	11.2±1.4	4.0	-5.4**
叶长/cm Leaf length	89.5	64.7	74.8±6.9	24.8	76.7	53.4	65.2±5.1	23.3	5.0**
叶宽/cm Leaf width	5.2	3.2	4.0±0.8	2.0	7.9	5.1	6.5±1.2	2.8	-7.8**
茎叶比 Stem-leaf ratio	3.0	1.9	2.1±0.3	1.1	3.2	2.0	3.0±0.2	1.2	-6.9**
茎粗/cm Stem diameter	2.8	1.5	2.0±0.3	1.3	3.1	2.3	2.7±0.3	0.8	-7.4**
分蘖数 Tiller number	7.0	4.0	6.3±0.9	3.0	4.0	2.0	2.8±0.7	2.0	13.7**
穗长/cm Panicle length	28.5	21.1	23.5±1.8	7.4	36.1	31.0	33.6±2.4	5.1	-15.1**

注: * 和 ** 分别表示在 $P=5\%$ 和 $P=1\%$ 水平差异显著。
Note: * and ** show significant difference at $P=5\%$ and $P=1\%$ levels respectively.

由表 2 可见,2 个亲本间的 10 个性状均达到了
极显著差异($P<0.01$),表明 2 个亲本间各性状表
现不同。

2.2 高丹草 F₂ 群体的性状分析

由表 2、表 3 和图 1 可见,在高丹草 F₂ 群体中,

10 个主要性状平均值均介于双亲平均值之间,分布
范围均在双亲范围之外,各性状测量值呈“钟状”连
续分布,偏度和峰度的绝对值都小于 1,这是由等效
多基因控制数量性状的典型分布,即呈正态分布,表
明这 10 个性状测量值均适用于 QTL 定位分析。

表 3 高丹草 F₂ 群体 10 个性状的测算结果

Table 3 Calculated results of 10 traits in Sorghum-Sudangrass hybrid F₂ populations

性状 Trait	最大值 Maximum	最小值 Minimum	均值 Mean	极差 Kurtosis	峰度 Kurtosis	偏度 Skewness
氢氰酸含量/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) CN ⁻ content	158.8	10.5	79.9±24.5	148.3	0.838	0.046
单株干质量/g Dry weight per plant	408.3	156.5	277.9±44.2	251.8	0.613	0.213
株高/cm Plant height	413.5	200.0	325.5±37.2	213.5	0.171	-0.422
叶片数 Leaf number	13.0	6.0	9.8±1.6	7.0	-0.363	0.256
叶长/cm Leaf length	90.8	52.1	69.9±6.8	38.7	-0.086	0.472
叶宽/cm Leaf width	8.1	2.9	5.5±1.1	5.2	-0.480	-0.212
茎叶比 Stem-leaf ratio	3.3	1.8	2.6±0.9	1.5	-0.063	-0.064
茎粗/cm Stem diameter	3.5	1.4	2.5±0.4	2.1	-0.304	0.131
分蘖数 Tiller number	8.0	1.0	4.1±1.6	7.0	-0.483	0.202
穗长/cm Panicle length	37.9	20.5	29.8±3.1	17.4	0.461	-0.173

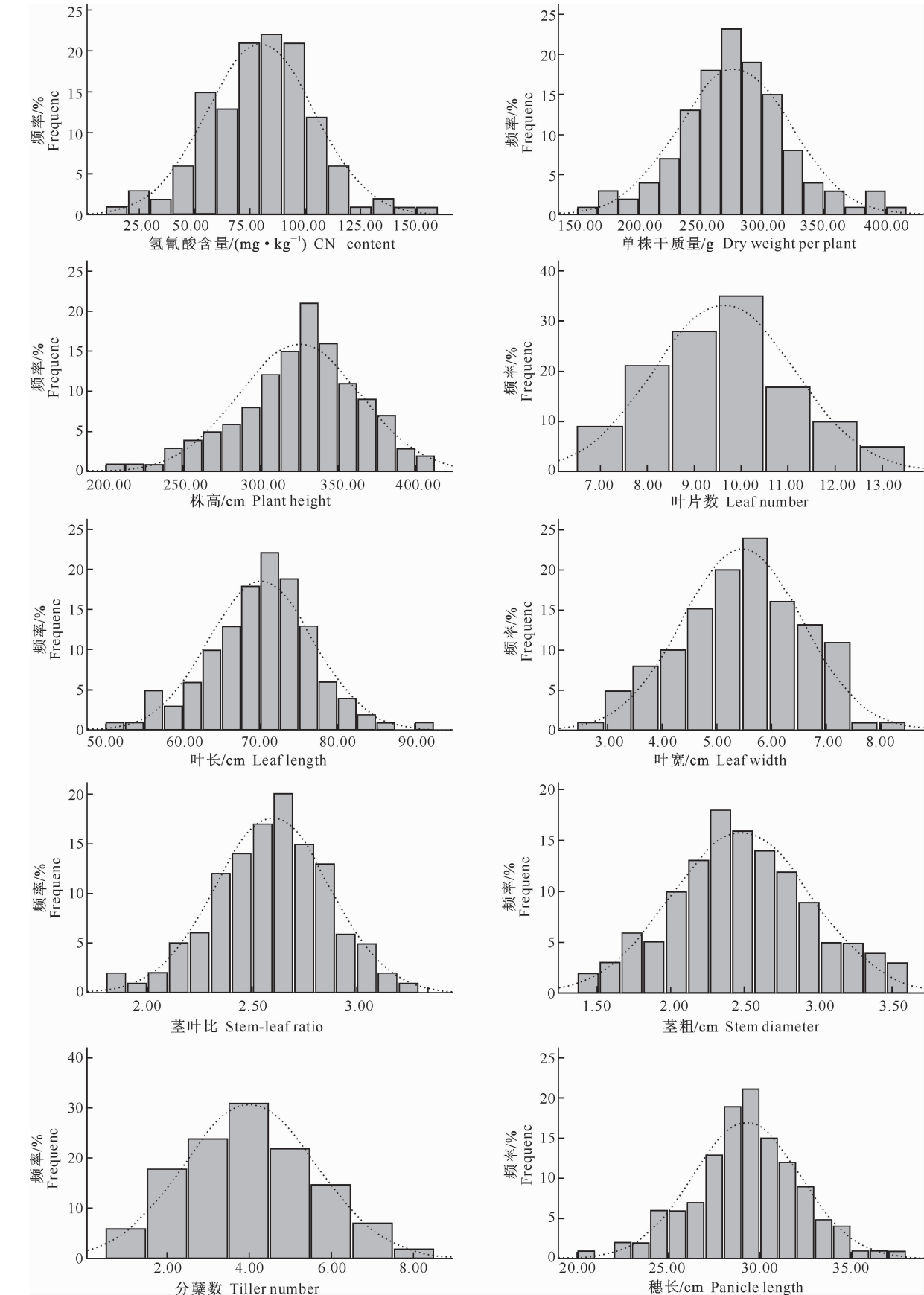


图 1 10 个性状在高丹草 F_2 群体中的分布情况

Fig. 1 Frequency distribution of 10 traits in Sorghum-sudangrass F_2 population

2.3 高丹草 10 个性状的 QTL 定位与分析

利用 Map QTL 4.0 定位软件,采用 MQM 作图法,以 LOD>2.5 作为 QTL 入选临界值,对高丹草氢氰酸含量等 10 个重要性状进行定位分析,结果(表 4、图 2)显示,控制 10 个性状的 QTL 有 24 个,

分布在除连锁群Ⅸ(LGⅨ)外的其余 9 个连锁群上,平均每个连锁群上有 2.7 个;在 9 个连锁群上的 QTL 分布不均匀,以连锁群 LGⅠ上最多,有 5 个 QTL;连锁群 LGⅥ上分布最少,只有 1 个 QTL。各性状 QTL 特征如下。

表 4 高丹草 F₂ 群体 10 个性状的 QTL 信息及其效应

Table 4 QTLs message controlling and their effect of 10 traits in Sorghum-sudangrass F₂ population

性状 Traits	位点 QTL	连锁群 Linkag Groups	LOD 值 LOD value	QTL 位置/cM Position of QTL	最近连锁 标记 Nearest marker	图距/cM Distance from the nearest marker	遗传贡 献率/% Genetic contribution	加性效应 (a) Additive effect	显性效应 (d) Dominant effect	显性度(d/a) Dominance degree	作用方式 Gene action
氢氰酸含量 CN— content	cn1	V	2.89	60.0	P8M61-366	0	7.4	−2.50	6.90	−2.76	OD
	cn2	Ⅶ	2.75	94.7	P2M65-120	0	8.6	−6.80	4.11	−0.60	PD
单株干质量 Dry weight per plant	dsp1	V	3.31	52.6	P28M50-800	0	9.7	8.50	10.71	1.26	OD
株高 Plant height	ph1	Ⅰ	3.09	30.5	P16M93-600	0	9.5	1.04	1.52	1.46	OD
	ph2	Ⅰ	3.90	72.3	P3M52-200	0	14.7	0.58	0.27	0.47	PD
	ph3	Ⅱ	2.53	103.0	P29M93-910	0	7.5	15.6	4.29	0.28	PD
	ph4	Ⅱ	4.78	101.1	P17M59-280	0	7.3	3.54	−1.56	−0.44	PD
叶片数 Leaf number	ln1	Ⅰ	3.12	66.1	P3M52-700	0	23.7	0.55	−0.05	−0.09	A
叶长 Leaf length	ll1	Ⅳ	3.28	60.6	P28M50-400	0	43.6	−12.18	10.01	−0.82	D
	ll2	Ⅳ	4.68	34.0	P23M53-760	0	5.6	4.85	24.39	5.03	OD
	ll3	Ⅹ	2.53	4.8	P8M61-300	0	15.2	5.66	9.51	1.68	OD
叶宽 Leaf width	lw1	Ⅶ	3.26	9.3	P46M104-100	0	11.6	0.21	−0.59	−2.81	OD
	lw2	Ⅶ	3.38	5.0	P46M104-100	4.7	17.2	0.23	−0.73	−3.17	OD
	lw3	Ⅹ	3.44	4.7	P8M61-300	0.1	18.9	−0.95	−1.70	1.79	OD
茎叶比 Stem/leaves	slrw1	Ⅰ	3.76	34.0	P39M91-105	0	18.1	0.81	1.14	1.41	OD
	slrw2	Ⅰ	4.60	95.4	P46M104-220	0	9.2	0.29	0.87	3.00	OD
	slrw3	Ⅳ	3.21	11.8	P46M94-300	0	6.7	0.47	0.28	0.60	D
茎粗 Stem diameter	sd1	Ⅲ	2.74	24.0	P13M53-230	0	9.5	0.10	0.20	2.00	OD
	sd2	Ⅲ	2.94	22.2	P13M53-230	1.8	16.0	0.11	0.29	2.64	OD
	sd3	Ⅵ	3.14	22.0	P9M63-610	0	6.1	−0.24	−0.48	2.00	OD
分蘖数 Tiller number	tn1	V	2.93	58.8	P16M99-690	0	11.8	1.36	2.54	1.87	OD
穗长 Panicle length	pl1	Ⅶ	2.98	10.5	P29M93-690	5.0	31.0	−5.25	−6.14	1.17	D
	pl2	Ⅶ	3.46	17.2	P28M50-250	1.7	25.3	4.92	−6.55	−1.33	OD
	pl3	Ⅶ	3.50	15.5	P28M50-250	0	9.4	5.01	−6.59	−1.32	OD

注:A. 加性(|d/a|=0~0.20);PD. 部分显性(|d/a|=0.20~0.80);D. 显性(|d/a|=0.81~1.20);OD. 超显性(|d/a|>1.20)。

Note: Dominance degree=d/a; The absolute value of dominance degree determines gene action; A. Additive (|d/a|=0~0.20); PD. Partly dominant (|d/a|=0.20~0.80); D. Dominant (|d/a|=0.81~1.20); OD. Overdominant (|d/a|>1.20)。

(1) 氢氰酸含量。2 个与氢氰酸含量相关的 QTL 位点为 cn1 和 cn2,它们均来自低值亲本红壳苏丹草。其中 cn1 位于连锁群 LG V 上的 60.0 cM 处,与标记 P8M61-366 共分离,距离控制分蘖数的 QTL 位点 tn1 位置为 1.8 cM。cn2 位于连锁群 LGⅦ上的 94.7 cM,与控制穗长的 pl1、pl2、pl3 距离较远。cn1 和 cn2 的 LOD 值分别为 2.89 和 2.75,作用方式分别为超显性和部分显性,其遗传贡献率分别为 7.4%和 8.6%。

(2) 单株干质量。与单株干质量有关的 QTL 位点为 dsp1,来自高值亲本散穗高粱,位于连锁群

LG V 上 52.6 cM 处,LOD 值为 3.31,与标记 P28M50-800 共分离,加性效应为 8.50,显性效应为 10.71,作用方式为超显性,遗传贡献率为 9.7%。

(3) 株高。与株高有关的 QTL 位点有 4 个(ph1、ph2、ph3 和 ph4)。其中位点 ph1 和 ph2 分别来自红壳苏丹草和散穗高粱,位于连锁群 LGⅠ上的 30.5 和 72.3 cM 处,相距 41.8 cM,LOD 值分别为 3.09 和 3.90;ph1 和 ph2 分别与标记 P16M93-600 和 P3M52-200 共分离,显性度分别为 1.46 和 0.47,表现为超显性和部分显性。位点 ph3 和 ph4 均来自高值亲本散穗高粱,分别位于连锁群 LGⅡ

上的 103.0 cM 和 101.1 cM 处,相距 2.9 cM, LOD 值分别为 2.53 和 4.78; ph3 和 ph4 分别与标记 P29M93-910 和 P17M59-280 共分离,作用方式均表现为部分显性。ph1、ph2、ph3 和 ph4 4 个与株高有关的 QTL 均为增效位点,其遗传贡献率分别为 9.5%, 14.7%, 7.5% 和 7.3%, 合计遗传贡献率为 39.0%。

(4) 叶片数。与叶片数有关的 QTL 位点为 ln1, 来自低值亲本苏丹草, 位于连锁群 LG I 上 66.1 cM 处, LOD 值为 3.31, 加性效应为 0.55, 显性效应为 -0.05, 作用方式表现为加性, 遗传贡献率较高 (23.7%)。位点 ln1 与标记 P3M52-700 共分离, 该位点介于控制株高的 QTL 位点 ph1 与 ph2 之间, 与 ph1、ph2 分别相距 35.6 和 6.2 cM。位点 ln1 和株高位点 ph1、ph2 分布在 P16M93-600 与 P3M52-200 标记间, 且与 ph1、ph2 距离较近, 控制叶片数和株高相关性状基因在连锁群 LG I 上成簇分布, 这可能引起基因连锁效应。

(5) 叶长。与叶长有关的 QTL 位点为 ll1、ll2 和 ll3。ll1 和 ll2 来自高值亲本散穗高粱, 分别位于连锁群 LG IV 上的 60.6 和 34.0 cM 处, 相距 26.6 cM, LOD 值分别为 3.28 和 4.68, 分别与标记 P28M50-400 和 P23M53-760 共分离; 位点 ll3 来自低值亲本红壳苏丹草, 位于连锁群 LG X 上的 4.8 cM 处, LOD 值为 2.5, 与标记 P8M61-300 共分离。ll1 为减效位点, 且负效应值比较大, 为 -12.18; ll2 和 ll3 为增效位点。ll1、ll2 和 ll3 的遗传贡献率分别为 43.6%, 5.6% 和 15.2%。

(6) 叶宽。与叶宽有关的 QTL 位点为 lw1、lw2 和 lw3。lw1 和 lw2 位点均来自高值亲本散穗高粱, lw1 与标记 P46M104-100 共分离, lw2 与标记 P46M104-100 紧密连锁, 这 2 个位点分别在连锁群 LG VIII 上的 9.3 和 5.0 cM 处, 距离较近 (4.3 cM), 表现为一因多效, 其 LOD 值分别为 3.26 和 3.38。位点 lw3 来自低值亲本红壳苏丹草, 位于连锁群 LG X 上的 4.7 cM 处, 与控制叶长的 QTL 位点 ll3 仅有 0.1 cM 间距, 控制两者的微效基因几乎重叠。lw1 和 lw2 为增效位点, 作用方式为超显性, lw3 为减效位点, 作用方式为超显性, 其遗传贡献率分别为 11.6%, 17.2% 和 18.9%。

(7) 茎叶比。与茎叶比有关的 QTL 位点有 slrw1、slrw2 和 slrw3。slrw1 和 slrw2 来自低值亲本红壳苏丹草, 分别位于连锁群 LG I 上的 34.0 和 95.4 cM 处, 间距为 61.4 cM, LOD 值分别为 3.76

和 4.60, 分别与 P39M91-105 和 P46M104-220 标记共分离; slrw3 来自高值亲本散穗高粱, 位于连锁群 LG IV 上的 11.8 cM 上, LOD 值为 3.21, 与 P46M104-220 标记共分离。slrw1、slrw2 和 slrw3 都为增效位点, 前两者作用方式均为超显性, 后者为显性, 其遗传贡献率分别为 18.1%, 9.2% 和 6.7%。

(8) 茎粗。与茎粗有关的 QTL 位点有 sd1、sd2 和 sd3。其中 sd1 和 sd2 来自高值亲本散穗高粱, sd1 与标记 P13M53-230 共分离, sd2 与标记 P13M53-230 紧密连锁, 分别位于连锁群 LG III 上的 24.0 和 22.2 cM 处, 2 个位点相距 1.8 cM, 距离较近, 表现为一因多效, 其 LOD 值分别为 2.74 和 2.94; 位点 sd3 来自低值亲本红壳苏丹草, 位于连锁群 LG VI 上的 22.0 cM 处, LOD 值为 3.14, 与标记 P9M63-610 共分离。sd1 和 sd2 均为增效位点, sd3 为减效位点, 其作用方式均为超显性, 遗传贡献率分别为 9.5%, 16.0% 和 6.1%。

(9) 分蘖数。与分蘖数有关的 QTL 位点为 tn1, 来自高值亲本红壳苏丹草, 位于连锁群 LG V 上 58.8 cM 处, LOD 值为 2.93, 与标记 P16M99-690 共分离, 加性效应为 1.36, 显性效应为 2.54, 作用方式为超显性, 遗传贡献率为 11.8%。

(10) 穗长。与穗长有关的 QTL 位点为 pl1、pl2 和 pl3, 均来自高值亲本散穗高粱, 分别位于连锁群 LG VII 上 10.5, 17.2 和 15.5 cM 处, 介于标记 P29M93-690 与 P28M50-250 之间, 形成基因簇。pl1 与标记 P29M93-690 相距 5.0 cM, pl2 与标记 P28M50-250 相距 1.7 cM, pl3 与 P28M50-250 共分离, 其 LOD 值分别为 2.98, 3.46 和 3.50。pl1 为减效位点, pl2 和 pl3 为增效位点, 三者的作用方式分别为显性、超显性和超显性, 遗传贡献率分别为 31.0%, 25.3% 和 9.4%。

3 讨论

已有研究表明, QTL 存在不同大小、不同方向的互作是数量性状表达的主要原因, 例如在检测小麦籽粒产量及相关农艺性状和品质性状的 QTL 过程中发现, QTL 分布有区域化趋势, 表现出了一因多效或紧密连锁效应^[21]。在本研究也有相似结果, 例如控制叶宽和叶长的 QTL 均位于连锁群 LG X 上, 且位置仅相差 0.1 cM; 控制氢氰酸含量的 QTL 位点 cn1 和控制分蘖数的 QTL 位点 tn1 均位于连锁群 LG V 上, 位置相差 1.8 cM。这些区域化的 QTL 可为高丹草重要性状的分子标记辅助选育

以及更有效地进行多优性状的聚合育种提供可能。

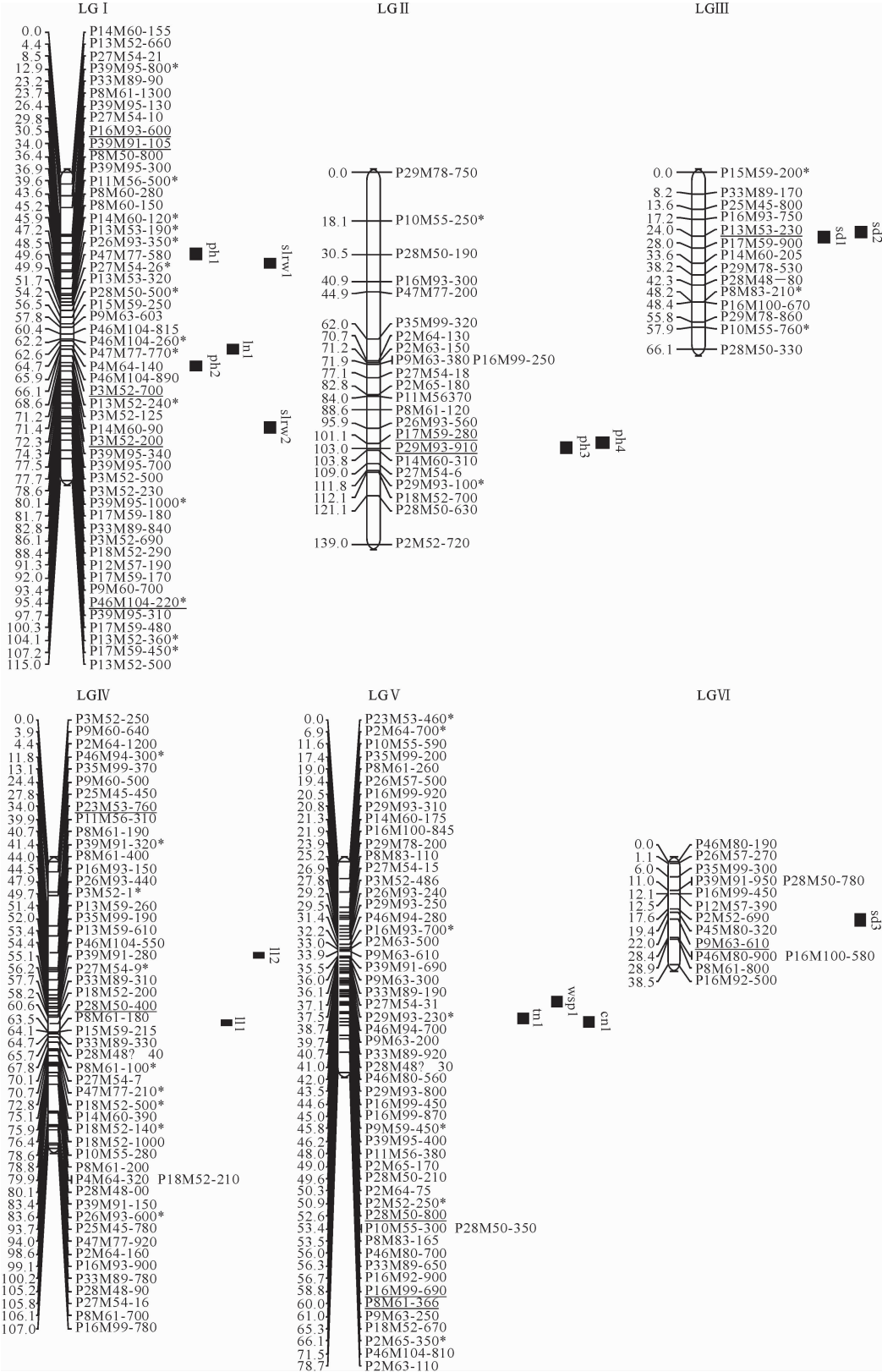
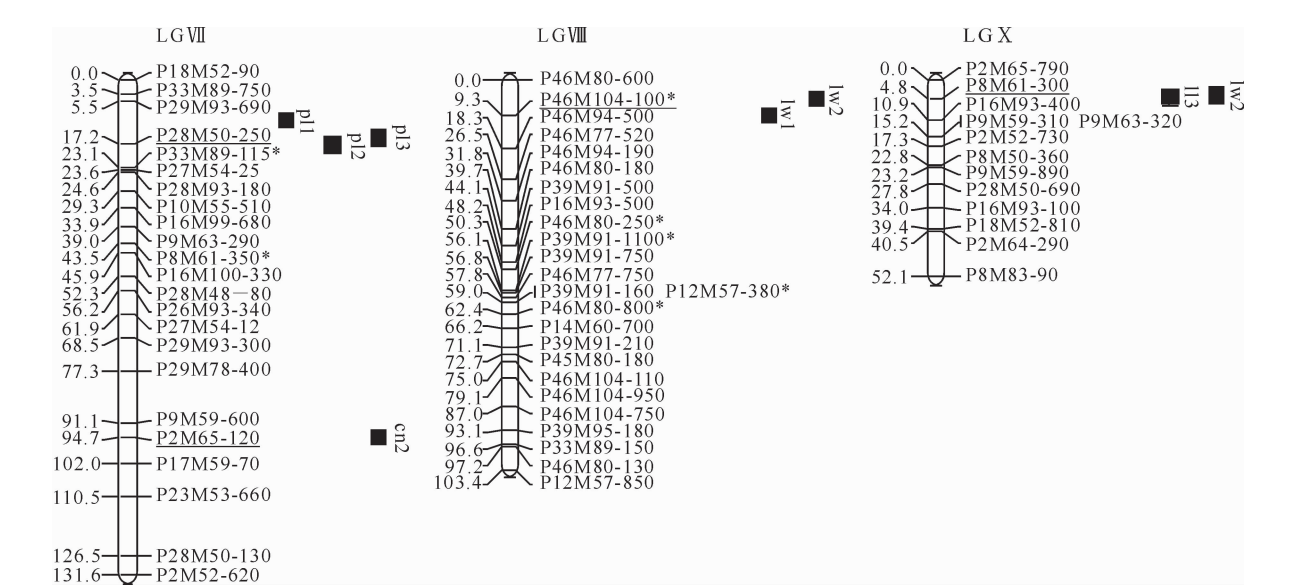


图 2 高丹草 F₂ 群体 10 个性状 QTL 在遗传图谱上的分布

——. 与对应的 QTL 共分离的分子标记; *. 偏分离分子标记

Fig. 2 QTLs distribution of 10 traits in the genetic map in Sorghum-sudangrass F₂ population
——. Altogether separation molecular markers of the corresponding QTL; *. Segregation distortion molecular marker



续图 2 高丹草 F₂ 群体 10 个性状 QTL 在遗传图谱上的分布
——. 与对应的 QTL 的共分离分子标记; *. 偏分离分子标记

Continued Fig. 2 QTLs distribution of 10 traits in the genetic map in Sorghum-sudangrass F₂ population
——. Altogether separation molecular markers of the corresponding QTL; *. Segregation distortion molecular marker

LOD 值反映了位点间存在连锁的概率大小, LOD 临界值的大小直接关系到 QTL 的可信度(即确定 2 个位点间是否真实存在连锁),一般要求 $LOD>3.0$,而在 $LOD<2.0$ 时,则认为 2 位点间不存在连锁^[22],Lander 等^[23]认为,用 $2<LOD<3$ 在全基因组来检测 QTL 可以保证错误率小于 5%;较大的作图群体和较饱和的遗传图谱可以适当降低 LOD 临界值。本试验将检测到 QTL 位点的 LOD 临界值确定为 2.5,符合 Lander 提出的 LOD 临界值标准,确保了各性状 QTL 定位结果的可靠性。

分子标记育种要求分子标记与目标基因或 QTL 间的距离应尽量小,一般认为作物标记间平均间距小于 5 cM 为高密度图谱^[24]。通过构建高密度的分子连锁遗传图谱,可对 QTL 和其他基因进行更为精细的定位,高密度区域检测到的主效 QTL 将为克隆该性状基因提供较大的可能,可应用于品种改良和分子标记辅助选择育种实践^[25-26]。本试验对高丹草的氢氰酸含量、株高、分蘖数、茎叶比等 10 个重要性状 QTL 进行了定位分析,共检测出 24 个 QTL 位点,绝大部分位点与标记共分离,其他没有定位在标记上的位点与其最近标记的距离均小于 5 cM,表明所检测出的 QTL 位点与分子标记是紧密连锁的,这有助于进一步开展高丹草目标性状的分子标记辅助育种研究。

4 结 论

在已构建的高丹草高密度分子连锁遗传图谱

上,定位了氢氰酸含量、株高、茎粗、叶片数、叶长、叶宽、茎叶比、穗长、单株干质量、分蘖数等 10 个性状的 24 个 QTL,它们分布在除连锁群 LGIX 外的其余 9 个连锁群上,其遗传贡献率变化幅度为 6.1%~43.6%。在这 24 个 QTL 中,控制氢氰酸含量的 QTL 有 2 个,控制叶片数、分蘖数和单株干质量的 QTL 各有 1 个,控制茎粗、叶长、叶宽、穗长、茎叶比的 QTL 各有 3 个,控制株高的 QTL 有 4 个。

[参考文献]

[1] 詹秋文,钱章强. 高粱与苏丹草杂种优势利用的研究 [J]. 作物学报,2004,30(1):73-77.
Zhan Q W, Qian Z Q. Heterosis utilization of hybrid between Sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] and Sudan grass [*Sorghum sudanense* (Piper) Stapf] [J]. Acta Agronomica Sinica, 2004, 30(1): 73-77. (in Chinese)

[2] 于 卓,山田敏彦. 高丹草品种主要农艺性状的比较研究 [J]. 中国草地学报,2006,28(6):1-6.
Yu Z, Yamada Toshihiko. Comparative research on main characteristics of pacetter varieties [J]. Chinese Journal of Grassland, 2006, 28(6): 1-6. (in Chinese)

[3] 李 源,谢 楠,赵海明,等. 高丹草营养生长与饲用品质变化规律分析 [J]. 草地学报,2011,19(5):813-820.
Li Y, Xie N, Zhao H M, et al. Analysis on change pattern of the vegetative growth and forage quality of *Sorghum bicolor* × *S. sudanense* [J]. Acta Agrestia Sinica, 2011, 19(5): 813-820. (in Chinese)

[4] 房永雨,于肖夏,于 卓,等. 低氰含量高丹草新品系主要农艺特性及染色体构型分析 [J]. 草业学报,2012,21(2):162-170.
Fang Y Y, Yu X X, Yu Z, et al. Analysis of agronomic charac-

- teristics and chromosome configuration of new strains of sorghum-sudangrass of low hydrocyanic acid content [J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2012, 21(2): 162-170. (in Chinese)
- [5] 周亚星, 于卓, 马艳红, 等. 散穗高粱与四种苏丹草杂种 F₁ 代的生育及细胞遗传学分析 [J]. *中国草地学报*, 2010, 32(4): 24-30.
- Zhou Y X, Yu Z, Ma Y H, et al. Analysis on growth, development and cytology of hybrid F₁ between loose spike sorghum and four kinds of sudangrass [J]. *Chinese Journal of Grassland*, 2010, 32(4): 24-30. (in Chinese)
- [6] 高聚林, 赵涛, 王志刚, 等. 高丹草水分利用效率与叶片生理特性的关系 [J]. *作物学报*, 2007, 33(3): 455-460.
- Gao J L, Zhao T, Wang Z G, et al. The relationships of water use efficiency with leaf physiological characteristics in gaodan grass [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2007, 33(3): 455-460. (in Chinese)
- [7] 赵晖, 吕金印, 张素娜, 等. Cr⁶⁺ 胁迫对高丹草幼苗根质膜氧化及 ATPase 活性的影响 [J]. *西北农林科技大学学报: 自然科学版*, 2009, 37(10): 167-172.
- Zhao H, Lü J Y, Zhang S N, et al. Effects of Cr⁶⁺ on lipid peroxidation and ATPase activity of sorghum hybrid sudangrass (*Sorghum bicolor* × *S. sudanense*) roots [J]. *Journal of Northwest Agricultural and Forestry University: Nat Sci Ed*, 2009, 37(10): 167-172. (in Chinese)
- [8] 于卓, 赵晓杰, 赵娜, 等. 蒙农青饲 2 号高丹草选育 [J]. *草地学报*, 2004, 12(3): 176-182.
- Yu Z, Zhao X J, Zhao N, et al. Breeding of *Sorghum bicolor* × *Sorghum sudanense* cv. Mengnong Qingsi No. 2 [J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2004, 12(3): 176-182. (in Chinese)
- [9] Dann H M, Grant R J, Cotanch K W, et al. Comparison of brown midrib sorghum-sudangrass with corn silage on lactational performance and nutrient digestibility in Holstein dairy cows [J]. *Journal Dairy Science*, 2008, 91(2): 663-672.
- [10] 逯晓萍. 高丹草遗传图谱构建及重要农艺性状的基因定位研究 [D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2005.
- Lu X P. Genetic mapping and gene localization of main agronomic characters of *Sorghum* × *Sudan* grass [D]. Hohht: Inner Mongolia Agricultural University, 2005. (in Chinese)
- [11] Lu X P, Yun J F, Gao C P, et al. Quantitative trait loci analysis of economically important traits in *Sorghum bicolor* × *S. sudanense* hybrid [J]. *Canadian Journal of Plant Science*, 2011, 91(1): 81-90.
- [12] 李晓宇, 于卓, 马艳红, 等. 高粱雄不育系与四种苏丹草杂种 F₁ 农艺性状及细胞遗传学研究 [J]. *草地学报*, 2011, 19(2): 317-324.
- Li X Y, Yu Z, Ma Y H, et al. Agronomic traits and cytogenetics of hybrid F₁ generated from male sterile line of sorghum and four kinds of sorghum sudanense [J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2011, 19(2): 317-324. (in Chinese)
- [13] 周亚星, 于卓, 房永雨, 等. 超低氢氰酸高丹草新品系选育及 ISSR 分子标记验证 [J]. *中国草地学报*, 2012, 34(3): 6-11.
- Zhou Y X, Yu Z, Fang Y Y, et al. Breeding of new strains of sorghum-sudangrass of super-low hydrocyanic acid content and ISSR molecular marker verification [J]. *Chinese Journal of Grassland*, 2012, 34(3): 6-11. (in Chinese)
- [14] 于卓, 秦永梅, 赵晓杰, 等. 优质饲用作物新品种: 蒙农青饲 1 号高丹草选育 [J]. *中国草地*, 2004, 26(2): 1-9.
- Yu Z, Qin Y M, Zhao X J, et al. Breeding of forage crop *Sorghum bicolor* × *Sorghum sudanense* cv. Mengnong Qingsi No. 1 [J]. *Grassland of China*, 2004, 26(2): 1-9. (in Chinese)
- [15] 李长青, 于卓, 马艳红, 等. 高粱 11A 与 3 种苏丹草杂交新品系的 AFLP 分析 [J]. *中国草地学报*, 2009, 31(2): 34-40.
- Li C Q, Yu Z, Ma Y H, et al. AFLP analysis on new hybrid lines between 11A of sorghum and 3 kinds of sudangrass [J]. *Chinese Journal of Grassland*, 2009, 31(2): 34-40. (in Chinese)
- [16] 房永雨. 高丹草 AFLP 分子遗传图谱构建及染色体加倍研究 [D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2014.
- Fang Y Y. Study on construction of AFLP molecular genetic maps and chromosome redouble in *Sorghum-Sudangrass* [D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2014. (in Chinese)
- [17] 纪明妹. 超低氢氰酸高丹草新品系主要农艺特性及 SSR 分析 [D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2011.
- Ji M M. Analysis on main agronomic characters and SSR of new strains of *Sorghum-Sudangrass* of super-low HCN content [D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2011. (in Chinese)
- [18] 汪建飞, 段立珍, 罗自琴. 杂交苏丹草中 CN⁻ 含量的测定 [J]. *草业学报*, 2002, 11(1): 43-46.
- Wang J F, Duan L Z, Luo Z Q. Determination of CN⁻ content in hybrid Sudangrass [J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2002, 11(1): 43-46. (in Chinese)
- [19] Voorrips R E. Map Chart: Software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs [J]. *Journal of Heredity*, 2006, 93(1): 77-78.
- [20] 李小雷, 于肖夏, 于卓. 冰草 10 个主要农艺性状的 QTL 定位研究 [J]. *麦类作物学报*, 2013, 33(1): 44-50.
- Li X L, Yu X X, Yu Z. Studies on quantitative trait loci of ten main agronomic traits of wheatgrass [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2013, 33(1): 44-50. (in Chinese)
- [21] 张坤普. 小麦分子遗传图谱的构建及数量性状基因定位 [D]. 山东泰安: 山东农业大学, 2008.
- Zhang K P. Construction of wheat (*Triticum aestivum* L.) genetic map and QTL analysis [D]. Tai'an, Shandong: Shandong Agricultural University, 2008. (in Chinese)
- [22] 孙正海, 萧凤回, 曾亚文, 等. 梗稻糙米钙含量 QTL 分析 [J]. *西北植物学报*, 2010, 30(3): 481-486.
- Sun Z H, Xiao F H, Zeng Y W, et al. QTL analysis of calcium content in brown rice Japonica [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2010, 30(3): 481-486. (in Chinese)
- [23] Lander E S, Botstein D. Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps [J]. *Genetics Society of America*, 1989, 121(1): 185-199.

on in-vivo haploid induction rates [J]. J Crop Sci, 2011, 51 (4):149-150.

[16] Eder J, Chalyk S T. *In-vivo* haploid induction in maize [J]. Theor Appl Genet, 2002, 104:703-708.

[17] Seaney R R. Monoploids in maize [J]. Maize Genet Coop News Lett, 1954, 28:22.

[18] 慈佳宾. 玉米单倍体诱导和加倍技术及 DH 系的遗传研究 [D]. 长春:吉林农业大学, 2012.

Ci J B. Study on haploid inducing and doubling method and ge-

netic analysis DH lines [D]. Changchun:Jilin Agricultural U-

niversity, 2012. (in Chinese)

[19] Sarkar K R, Prasanna B M, Gayen P. Distribution of haploids on the ear [J]. Maize Genet Coop News Lett, 1995, 69:107.

[20] Chalyk S T. Creating new haploid-inducing lines of maize [J]. Maize Genet Coop News Lett, 1999, 73:53-54.

[21] Rotarenco V A, Mihailov M E. The influence of ear age on the frequency of maternal haploids produced by a haploid-inducing lines [J]. Maize Genet Coop News Lett, 2007, 81:9-10.

(上接第 34 页)

[24] 于肖夏. 甘薯高密度分子连锁图谱的构建和干物质含量的 QTL 定位 [D]. 北京:中国农业大学, 2013.

Yu X X. Development of a high-density genetic linkage map and mapping of QTLs for dry-matter content in sweetpotato, *Ipomoea batatas* (L.) Lam. [D]. Beijing:China Agricultural University, 2013. (in Chinese)

[25] 孙文英. 梨(*Pyrus* L.) 遗传连锁图谱构建及其农艺性状的基因定位研究 [D]. 河北保定:河北农业大学, 2008.

Sun W Y. Genetic linkage map construction and gene localiza-

tion of agronomic traits in pear (*Pyrus* L.) [D]. Baoding, Hebei: Agricultural University of Hebei, 2008. (in Chinese)

[26] 王竹林, 刘曙东, 刘惠远, 等. ‘百农 64’×‘京双 16’小麦遗传连锁图谱构建 [J]. 西北植物学报, 2006, 26(5):886-892.

Wang Z L, Liu S D, Liu H Y, et al. Genetic linkage map in ‘Bainong 64’×‘Jingshuang 16’ of wheat [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2006, 26(5): 886-892. (in Chinese)