

doi: 10.16104/j.issn.1673-1891.2022.03.001

## 皖草 2 号 RIL 群体 5 个农艺性状的 QTL 定位

李杰勤, 涂文森, 戴玲, 刘言龙, 王丽华

(安徽科技学院农学院, 安徽 凤阳 233100)

**摘要:**皖草 2 号是我国育成的第 1 个高粱和苏丹草的杂交品种, 具有产量高、品质优、适应性强的特点。以皖草 2 号重组自交系(RIL)群体为材料, 对其株高(PH)、茎粗(SD)、分蘖数(TN)、单株鲜质量(FW)和单株干质量(DW) 5 个农艺性状进行了遗传分析; 利用 SSR 分子标记, 构建了皖草 2 号 RIL 群体的遗传图谱, 并对株高、茎粗、分蘖数、单株鲜质量和干质量 5 个农艺性状进行 QTL 定位。结果表明: (1) RIL 群体的平均株高、茎粗、分蘖数、单株鲜质量和单株干质量都位于 2 个亲本之间; 除分蘖数外, 其他 4 个性状呈正态分布。(2) 利用 147 个 SSR 标记构建了 10 个连锁群的遗传图谱, 总遗传距离为 1 030.4 cM, 标记间的平均距离为 7.14 cM; 进一步利用遗传图谱定位了控制 5 个农艺性状的 QTL 位点共 22 个, 其中 PH 位点 1 个、SD 位点 2 个、TN 位点 6 个、FW 位点 7 个、DW 位点 6 个, 在这 22 个 QTL 位点中, qFW-6 位点贡献率最小, 为 3.61%; qDW-8 位点贡献率最大, 为 34.24%。研究结果可为饲用高粱与苏丹草杂交的分子标记辅助育种提供一定的理论参考。

**关键词:**皖草 2 号; RIL 群体; 农艺性状; 遗传图谱; QTL 定位

中图分类号: S544<sup>+</sup>.9 文献标志码: A 文章编号: 1673-1891(2022)03-0001-06

## QTL Mapping for Five Agronomic Traits in the RIL Population of Wancao No.2

LI Jieqin, TU Wenmiao, DAI Ling, LIU Yanlong, WANG Lihua

(School of Agriculture, Anhui Science and Technology University, Bengbu, Anhui 233000, China)

**Abstract:** Wancao No.2 is the first hybrid variety of sorghum and Sudan grass in China. It's characteristic of high yield, good quality and strong adaptability. In the study, genetic analysis was conducted on the five agronomic traits of plant height (PH), stem diameter (SD), tiller number (TN), fresh weight per plant (FW) and dry weight (DW) of Wancao No. 2 in the recombinant inbred line (RIL) population. SSR molecular markers were used to construct the genetic map of RIL population of Wancao No.2. QTL mapping was carried out for five agronomic traits including PH, SD, TN, FW and DW. The results showed that: (1) the average value PH, SD, TN, FW and DW of RIL population were between their two parents, and the other four agronomic traits showed normal distribution except TN. (2) The genetic map of 10 linkage groups was constructed using 147 SSR markers. The total genetic distance was 1 030.4 cM. The average distance between markers was 7.14 cM. A total of 22 QTLs controlling the five agronomic traits were further mapped by genetic map, including 1 PH locus, 2 SD loci, 6 TN loci, 7 FW loci and 6 DW loci. Among these 22 QTLs, qFW-6 had the smallest phenotypic variation explanation of 3.61% and qDW-8 had the largest phenotypic variation explanation of 34.24%. This study provided a theoretical reference for molecular marker-assisted breeding of the hybrids between forage sorghum and Sudan grass.

**Keywords:** Wancao No.2; RIL population; agronomic trait; genetic map; QTL mapping

### 0 引言

高粱[*Sorghum bicolor* (L.) Moench]不仅是一

种粮食作物, 也是一种重要的饲料作物, 因其具有抗旱、耐涝、耐盐碱和适应性强等特性, 在世界各地广为栽培<sup>[1]</sup>。苏丹草[*Sorghum sudanense* (Piper)

收稿日期: 2022-06-10

基金项目: 国家自然科学基金项目(31971993); 安徽省教育厅自然科学重大项目(KJ2021ZD0108); 安徽省重点研究与开发计划项目(202004b11020003)。

作者简介: 李杰勤(1980—), 男, 四川屏山人, 教授, 博士, 研究方向: 饲草遗传育种。

Stapf.]原产于非洲苏丹,起初是田间一种普通的杂草,后传入美国后成为夏季重要牧草,最后传向世界各地,成为目前世界各国栽培最普遍的一种一年生禾本科饲草<sup>[2]</sup>。高粱与苏丹草的杂交种结合了双亲的优点,表现出极强的超亲优势<sup>[3]</sup>,相关研究表明,高粱与苏丹草的杂交种在株高、单株鲜质量和单株干质量方面的杂种优势分别为25.63%、31.19%和28.15%<sup>[4]</sup>。皖草2号是高粱不育系Tx623A与苏丹草S722的杂交种,它是我国育成的第1个高丹草品种(高粱苏丹草杂交种),具有生长速度快、产草量高、刈割后植株再生力强、品质优等特点,主要用于饲用<sup>[5]</sup>。

作物许多重要的性状,如株高、产量、抗病性等性状受多基因控制,因此鉴定和克隆控制重要经济及产量性状的基因或数量性状位点(quantitative trait locus, QTL)一直是育种家和分子生物学家关注的重点<sup>[6]</sup>。为了鉴定控制数量性状的QTL位点,研究者利用不同的群体类型构建了多个作物的遗传图谱并对其重要农艺性状进行了QTL定位。如, Barmukh等<sup>[7]</sup>构建了鹰嘴豆ICC4958和DCP92-3杂交种的重组自交系(recombinant inbred lines, RIL)群体的遗传图谱,鉴定出控制株高、产量、主要分枝数等性状的16个QTLs; Li等<sup>[8]</sup>使用Wheat 55K SNP基因分型的2个RIL群体来检测控制小麦穗间延伸长度的QTL,共检测到30个控制穗间延伸长度的QTLs; Abdelraheem等<sup>[9]</sup>采用11种高地棉互交衍生550个品系的多亲本重组自交系群体(multiparent advanced generation inter-cross, MAGIC)鉴定了育苗阶段的耐旱性和耐盐性共43个QTLs,其中控制耐旱性的QTLs有20个,耐盐性的QTLs有23个。目前,还没有对皖草2号RIL群体农艺性状的QTLs定位研究。

本研究利用147个SSR分子标记构建了皖草2号重组自交系(RIL)群体的遗传图谱。同时,对皖草2号RIL群体的株高(plant height, PH)、分蘖数(tiller number, TN)、茎粗(Stem diameter, SD)、单株鲜质量(fresh weight per plant, FW)和单株干质量(dry weight per plant, DW)进行了QTL定位,以期为饲用高粱、高粱与苏丹草杂交种等的分子标记辅助育种奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

皖草2号的母本高粱Tx623A(不育系)和父本苏丹草S722(恢复系),皖草2号的RIL群体。

## 1.2 研究方法

### 1.2.1 亲本和RIL群体的种植

RIL群体植株及其父母本都种植在安徽科技学院种植园,种植密度为50 cm×25 cm,每行10株。从播种到收割都采用相同的农艺措施。

### 1.2.2 RIL群体农艺性状测定

分别选取了亲本各10株和102个RIL群体株系(每个株系3株)测定了5个农艺性状,分别是株高、茎粗、分蘖数、单株鲜质量和单株干质量。株高为植株基部到穗顶端的距离;茎粗为植株中部节的中部的直径;分蘖数为除去主茎以后的分蘖个数;单株鲜质量为植株地上部位的鲜质量;单株干质量是将植株121℃杀青1 h, 8再0℃连续烘72 h后的质量。

### 1.2.3 DNA提取和SSR标记分析

利用十二烷基硫酸钠(SDS)法提取了亲本和RIL群体植株叶片<sup>[10]</sup>。PCR反应体系为10.0 μL: DNA 2.0 μL, 2 μmol/L引物1.5 μL, 10×buffer(含Mg<sup>2+</sup>) 1 μL, 1 μmol/L dNTPs 1.0 μL, 1 μmol/min Taq酶0.5 μL, ddH<sub>2</sub>O补足至10.0 μL。将混合好的PCR反应体系进行扩增,94℃预变性5 min, 94℃变性30 s, 55℃退火30 s, 72℃延伸1 min, 35个循环, 72℃进行最终延伸7 min, 最后4℃保持5 min。PCR产物使用质量分数为8%的聚丙烯酰胺凝胶进行电泳检测。

### 1.2.4 构建连锁遗传图谱和QTL定位

将RIL群体中SSR标记的结果转化为0、1数据,其中与母本相同的带型为0,与父本相同的带型为1。将SSR标记分型的结果输入Joinmap 4.0软件构建遗传连锁图谱<sup>[11]</sup>。第1步:建立数据文件,将Loc文件转到Joinmap状态下;第2步:利用LOD Groupings命令分组,LOD值默认为2~10;第3步:使用Great Groups for Mapping命令作图,通过Kosambi计算基因图谱的距离厘摩尔(cM)。使用IciMapping4.0软件对5个农艺性状进行定位QTL位点<sup>[12]</sup>,并分析QTL位点的加性效应和贡献率。

## 2 结果与分析

### 2.1 RIL群体5个农艺性状表型和相关系数分析

对亲本和RIL群体的5个农艺性状表型进行比较分析(表1),S722的平均株高、分蘖数、单株鲜质量和单株干质量都显著大于Tx623A,但茎粗则显著小于Tx623A。RIL群体的平均株高、茎粗、分蘖数、单株鲜质量和单株干质量都位于2个亲本之间。

进一步比较株高、茎粗、分蘖数、单株鲜质量和单株干质量, RIL 群体中的偏度和峰度值可以看出, 株高、茎粗、单株鲜质量和单株干质量的绝对值都在 1

左右, 呈正态分布。分蘖数的偏度和峰度值较大, 这说明这个性状呈偏态分布。

表 1 皖草 2 号亲本和 RIL 群体的农艺性状

性状	RIL 群体			父母本	
	平均值	偏度	峰度	Tx623A	S722
株高/cm	126.98 ±44.62	-0.07	-0.76	98.90 ±27.5	191.50±17.14
茎粗/mm	18.64 ±5.65	0.49	0.27	19.01 ±5.16	13.16±2.46
分蘖数	1.41 ±0.80	2.87	5.44	1.80 ±0.42	6.60±3.89
单株鲜质量/kg	0.28 ±0.20	1.28	1.55	0.23 ±0.14	0.57±0.43
单株干质量/kg	0.08 ±0.06	1.11	0.83	0.06 ±0.04	0.15±0.12

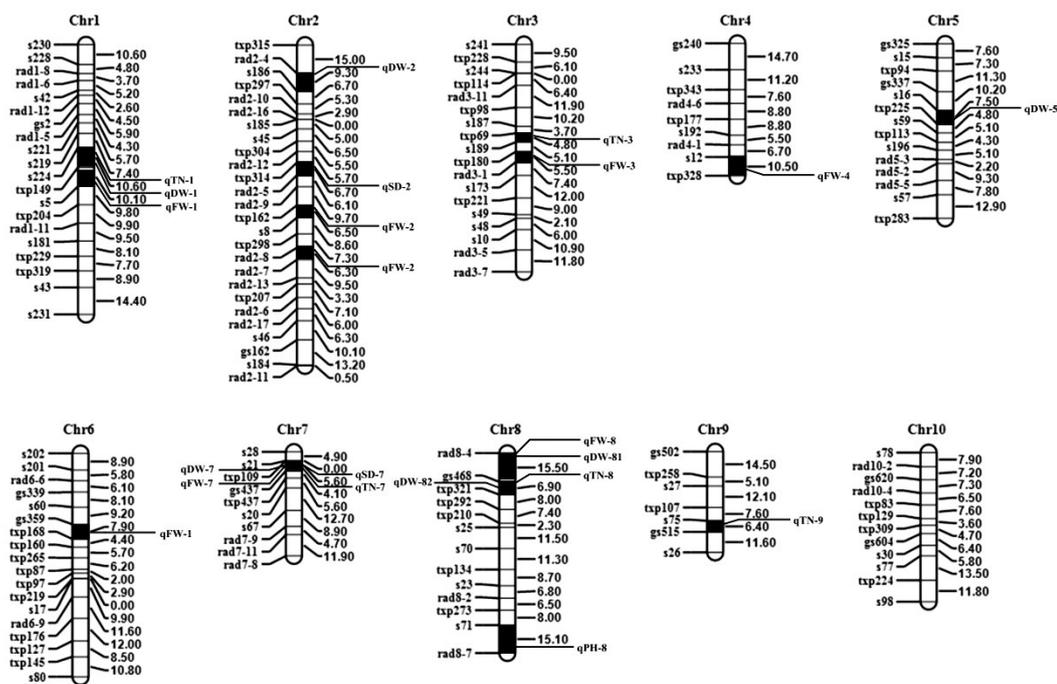
### 2.2 皖草 2 号 RIL 群体的分子遗传图谱

利用来源于 Txp 系列和本实验室设计的 850 个 SSR 引物对双亲进行多态性筛选, 结果表明, 154 个 SSR 标记具有多态性, 多态性比例为 18.11%。进一步利用这 154 个 SSR 标记对 RIL 群体进行遗传图谱构建, 最终 147 个 SSR 标记构建到遗传图谱上, 遗传图谱包含 10 个连锁群, 总遗传距离为 1 030.4 cM, 标记间的平均距离为 7.14 cM。在 10 个连锁群中, 在第 9 号染色体上标记数最少, 只有 7 个; 标记最多的是第 2 号染色体, 有 26 个。Chr2 连锁群的长度最长, 为 169.1 cM, 标记间的平均距离为 6.50 cM; 最小

的连锁群是 Chr9, 其长度为 57.3 cM, 标记之间的平均图谱距离为 8.19 cM(图 1、表 2)。

### 2.3 皖草 2 号 RIL 群体 5 个农艺性状的 QTL 分析

利用构建的遗传图谱对 5 个农艺性状进行了 QTL 定位, 共定位了控制这 5 个农艺性状的 QTL 位点 22 个。其中有 4 个 QTL 位点同时控制了多个农艺性状: 同时控制茎粗、分蘖数、单株鲜质量和单株干质量的位点在 7 号染色体(Chr7)上, 位于标记 s21 和 txp109 之间; 控制单株干质量的位点在 1 号染色体上, 位于标记 s224 和 txp149 之间; 控制分蘖数的位点在 8 号染色体上, 位于标记 gs468 和 txp32 之间



注: 株高(PH); 茎粗(SD); 分蘖数(TN); 单株干质量(DW); 单株鲜质量(FW)。

图 1 皖草 2 号 RIL 群体的遗传图谱和 QTL 定位图

表 2 皖草 2 号 10 个连锁群的特征

连锁群	连锁群标记数	图距/cM	平均图距/cM
Chr1	20	143.7	7.18
Chr2	26	169.1	6.50
Chr3	18	122.4	6.80
Chr4	9	73.8	8.20
Chr5	14	95.4	6.81
Chr6	18	120.0	6.67
Chr7	10	58.4	5.84
Chr8	13	108.0	8.30
Chr9	7	57.3	8.19
Chr10	12	82.3	6.90
总计	147	1 030.4	
平均	15	103.0	

(表 3)。在这 22 个 QTL 位点中, qTN-9 位点贡献率最小, 为 3.92%; qDW-8 位点贡献率最大, 为 34.24%。

### 2.3.1 株高、茎粗和分蘖数

定位控制株高的 QTL 位点只有 1 个, 位于 8 号染色体上的 qPH-8, 定位于 S71 和 RAD8-7 之间, 该位点表现出加性效应, QTL 位点的贡献率为 33.22%。

控制茎粗的 QTL 位点 6 个, 位于 2 号和 7 号连锁群, 其中 qSD-2 加性效应来自母本 Tx623A, 而 qSD-7 则来自父本 S722。

控制分蘖数的有 6 个 QTL 位点, 分别位于 1、2、3、7、8、9 号这 6 个连锁群, 所有 QTL 位点的加性效应都来自母本 Tx623A。这些 QTL 位点中, 贡献率最大的是 qTN-7, 为 5.75%; 最小的是 qTN-9 为 3.92%。

### 2.3.2 单株鲜质量和单株干质量

控制单株鲜质量的有 7 个 QTL 位点, 分别位于 1、2、3、4、6、7、8 号连锁群, 除 qFW-4 加性效应来自 S722 外, 其他位点都来自母本 Tx623A。其中贡献率最大的是 qFW-4 位点, 为 8.19%; 贡献率最小的是 qFW-6 位点, 为 3.61%。

控制单株干质量的有 6 个 QTL 位点, 分别 1、2、5、7、8 号连锁群, 其中第 8 连锁群定位了 2 个 QTL,

贡献率之和为 53.27%。另外, 这 2 个 QTL 位点共用一个标记 gs468。因此, 后期可以利用 gs468 对单株干质量性状进行分子标记辅助选择。

## 3 讨论与结论

SSR 标记是遗传连锁图谱构建、QTL 定位和比较基因组学研究中应用最广泛的标记类型<sup>[13]</sup>。由于其高度多态性、多等位共显性、在基因编码和非编码序列中全基因组均匀分布等特点, 通常比其他分子标记更受青睐<sup>[14]</sup>。Shehzad 等<sup>[15]</sup>使用了 107 份不同的高粱品种, 利用 151 个高粱 SSR 标记构建遗传图谱, 总长度为 1 359.3 cM, 相邻标记之间的平均距离为 8.2 cM, 共定位到 16 个 QTLs 位点; Ohyama 等<sup>[16]</sup>构建了 2 个番茄商业品种杂交的 F<sub>2</sub> 群体, 选择 262 个标记来构建连锁图谱, 图谱覆盖 1 283 cM 的总遗传距离, 标记之间的平均距离为 6.1 cM, 共定位到 13 个 QTLs 位点。本研究利用 147 个 SSR 标记构建高粱 Tx623A 和苏丹草 S722 杂交的 RIL 群体的遗传图谱, 图谱覆盖 1 030.4 cM 的总遗传距离, 标记间平均距离为 7.14 cM, 共定位到 22 个 QTLs 位点。在这 22 个 QTLs 位点中, qTN-8、qDW-81、qDW-82 和 qFW-8 都共用了 gs468 标记, 并且 qDW-81 和 qDW-82 都是位于 8 号染色体上控制 DW 的 QTL, 贡献率之和为 53.27%, 该标记对分子辅助育种具有重要意义。

在本研究确定的 22 个 QTLs 中, 仅定位到一个与株高有关的 QTL (qPH-8), 该位点位于 8 号染色体的 8 ~ 15.1 Mb, 与之前报道的位于 8 号染色体的 8 ~ 56 Mb 的 QHGHT8.2 相比精度更高<sup>[17]</sup>。Phuong 等<sup>[18]</sup>利用 IS2449/IS1488 群体也在高粱 8 号染色体上定位到一个控制株高的 QTL (QHGHT8.3), 该位点片段为 53, 884, 235-56, 649, 242<sup>[18]</sup>。株高作为重要的农艺性状, 主要受植物激素的调控, 如细胞分裂素、赤霉素和生长素等<sup>[19]</sup>。针对本研究定位到的控制株高的唯一一个主效位点 qPH-8, LOC8084231 (CPK29) 和 LOC8082819 (MADS-box transcription factor 33) 也是位于高粱的 8 号染色体上的基因。在拟南芥中, PIN 介导生长素极性运输参与植物的关键发育过程, 钙依赖性蛋白激酶 29 (CPK29) 的丢失会损害细胞内 PIN 的运输和极性, 导致 PIN 介导的生长素重新分配和生物学过程中的存在缺陷, 如侧根形成、下胚轴重取向和生殖发育等<sup>[20]</sup>。MADS-box 是植物花发育和器官分化过程中具有必需功能的转录因子大基因家族, Heuer 等<sup>[21]</sup>从玉米的 cDNA 库中克隆了 ZmMADS3 基因。在营养组织中, Zm-

表3 皖草2号RIL群体的QTL定位

性状	连锁群	QTL 位点	左标记	右标记	LOD	贡献率/%	加性效应
株高	8	qPH-8	s71	rad8-7	2.70	33.22	11.55
茎粗	2	qSD-2	txp314	rad2-5	2.51	32.66	8.42
	7	qSD-7	txp109	gs437	2.61	32.09	-8.91
分蘖数	1	qTN-1	s224	txp149	13.40	5.74	2.34
	2	qTN-2	rad2-8	rad2-7	3.62	3.65	2.25
	3	qTN-3	txp69	s189	5.70	4.54	2.92
	7	qTN-7	txp109	gs437	13.61	5.75	2.29
	8	qTN-8	gs468	txp321	12.80	5.47	2.32
	9	qTN-9	s75	gs515	4.77	3.92	2.23
	单株鲜质量	1	qFW-1	txp149	s5	3.46	4.78
2		qFW-2	txp162	s8	2.64	4.51	0.55
3		qFW-3	txp180	rad3-1	3.39	5.49	0.46
4		qFW-4	s12	txp328	3.98	8.19	-0.28
6		qFW-6	gs359	txp168	2.56	3.61	0.59
7		qFW-7	txp109	gs437	4.63	6.35	0.36
8		qFW-8	rad8-4	gs468	3.27	7.10	0.31
单株干质量		1	qDW-1	s224	txp149	3.31	32.33
	2	qDW-2	s186	txp297	3.36	28.74	-0.12
	5	qDW-5	s16	txp225	2.69	24.53	0.08
	7	qDW-7	txp109	gs437	3.46	26.09	0.09
	8	qDW-81	rad8-4	gs468	3.75	34.24	0.09
	8	qDW-82	gs468	txp321	2.87	19.03	0.12

注:正向加性效应来自母本Tx623A;负向加性效应来自父本S722。

MADS3在茎节中表达,在最上部的节中表现出表达量最高的梯度,并且异位表达的ZmMADS3的转基因玉米植株由于节数减少,株高降低。因此,根据定位结果及相关基因分析,初步确定LOC8084231和LOC8082819为候选基因。

本研究采用皖草2号RIL群体和遗传图谱定位了PH、SD、TN、FW和DW的QTL,不仅准确地证实了前人的研究结果,而且为它们的位置提供了新的数据,这些结果为饲用高粱的产量性状基因克隆和分子标记辅助育种提供了依据。

#### 参考文献:

- [1] XU J, WANG W, ZHAO Y. Phenolic compounds in whole grain sorghum and their health benefits[J]. Foods, 2021, 10(8): 1921.
- [2] 李祥艳,林超文,许文志,等. 苏丹草标准化栽培技术[J]. 农业技术与装备, 2021(1): 159-160.
- [3] 钱章强,路桂珍. 介绍“皖草2号”高粱——苏丹草杂交种[J]. 农村养殖技术, 2000(12): 25.
- [4] HAN P, LU X, MI F, et al. Proteomic analysis of heterosis in the leaves of sorghum - sudangrass hybrids[J]. Acta Biochimica et Biophysica Sinica, 2016, 48(2): 161-173.
- [5] 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(1): 73-77.
- [6] WU P Y, YANG M H, KAO C H. A statistical framework for QTL hotspot detection[J]. G3, 2021, 11(4): jkab056.
- [7] BARMUKH R, SOREN K R, MADUGULA P, et al. Construction of a high-density genetic map and QTL analysis for

- yield, yield components and agronomic traits in chickpea (*Cicer arietinum* L.)[J]. PLoS One, 2021, 16(5): e0251669.
- [8] LI C, TANG H, LUO W, et al. A novel, validated, and plant height-independent QTL for spike extension length is associated with yield-related traits in wheat[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2020, 133(12): 3381-3393.
- [9] ABDELRAHEEM A, THYSSEN G N, FANG D D, et al. GWAS reveals consistent QTL for drought and salt tolerance in a MAGIC population of 550 lines derived from intermating of 11 Upland cotton (*Gossypium hirsutum*) parents[J]. Molecular Genetics and Genomics, 2021, 296(1): 119 - 129.
- [10] 郑卓,李健,圣忠华,等.高粱总DNA不同提取方法的比较[J].安徽农业科学,2007(36):11758-11759.
- [11] Van OOIJEN J W. JoinMap4, Software for the calculation of genetic linkage maps in experimental populations[J]. Kyazma BV, Wageningen, 2006, 33:101371.
- [12] MENG L, LI H, ZHANG L, et al. QTL IciMapping: integrated software for genetic linkage map construction and quantitative trait locus mapping in biparental populations[J]. The Crop Journal, 2015, 3(3): 269-283.
- [13] XU X, LU L, ZHU B, et al. QTL mapping of cucumber fruit flesh thickness by SLAF-seq[J]. Scientific Reports, 2015, 5(1): 15829.
- [14] GUPTA N, ZARGAR S M, SINGH R, et al. Marker association study of yield attributing traits in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.)[J]. Molecular Biology Reports, 2020, 47(9): 6769-6783.
- [15] SHEHZAD T, OKUNO K. Genetic analysis of QTLs controlling allelopathic characteristics in sorghum[J]. Plos One, 2020, 15(7): e0235896.
- [16] OHYAMA A, SHIRASAWA K, MATSUNAGA H, et al. Bayesian QTL mapping using genome-wide SSR markers and segregating population derived from a cross of two commercial F1 hybrids of tomato[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2017, 130(8): 1601-1616.
- [17] SHIRINGANI A L, FRISCH M, FRIEDT W. Genetic mapping of QTLs for sugar-related traits in a RIL population of *Sorghum bicolor* L. Moench[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2010, 121(2): 323-336.
- [18] PHUONG N, STÜTZEL H, UPTMOOR R. Quantitative trait loci associated to agronomic traits and yield components in a *Sorghum bicolor* L. Moench RIL population cultivated under pre-flowering drought and well-watered conditions[J]. Agriculture Sciences, 2013, 4(12): 781-791.
- [19] DEFEZ R, ANDREOZZI A, ROMANO S, et al. Bacterial IAA-delivery into medicago root nodules triggers a balanced stimulation of c and n metabolism leading to a biomass increase[J]. Microorganisms, 2019, 7(10): 403.
- [20] LEE H, GANGULY A, BAIK S, et al. Calcium-dependent protein kinase 29 modulates PIN-FORMED polarity and Arabidopsis development via its own phosphorylation code[J]. The Plant Cell, 2021, 33(11): 3513 - 3531.
- [21] HEUER S, HANSEN S, BANTIN J, et al. The maize MADS box gene ZmMADS3 affects node number and spikelet development and is co-expressed with zmmads1 during flower development, in egg cells, and early embryogenesis[J]. Plant Physiology, 2001, 127(1):33-45.