

影响水稻株高和剑叶宽主效 QTL 对人工选择的响应

王 韵^{1,2} 程立锐² 郑天清² 孙 勇² 周 政² 杨 静² 徐正进¹ 徐建龙^{2,*}
黎志康^{2,3}

(¹沈阳农业大学 农业部作物生理生态遗传育种重点开放实验室, 辽宁 沈阳 110161; ²中国农业科学院 作物科学研究所/农作物基因资源与遗传改良国家重大科学工程, 北京 100081; ³International Rice Research Institute, DAPO Box 7777, Metro Manila, Philippines; * 通讯联系人, E-mail: xujl@caas.net.cn)

Response of Main Effect QTL for Plant Height and Flag Leaf Width to Artificial Selection in Rice

WANG Yun^{1,2}, CHENG Lirui², ZHENG Tianqing², SUN Yong², ZHOU Zheng², YANG Jing², XU Zhengjin¹, XU Jianlong^{2,*}, LI Zhikang^{2,3}

(¹Key Laboratory of Crop Physiology, Ecology, Genetics and Breeding, Ministry of Agriculture; Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China; ²Institute of Crop Sciences/National Key Facility for Crop Gene Resources and Genetic Improvement, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China; ³International Rice Research Institute, DAPO Box 7777, Metro Manila, Philippines; * Corresponding author, E-mail: xujl@caas.net.cn)

Abstract: Artificial selection is a key procedure for animal and plant breeding. To detect response of main effect QTL (M-QTL) in mapping populations to artificial selection, stably expressed M-QTL was identified from backcross inbred lines in Teqing background (TQ-BIL) in Beijing and Hainan. Deviation of the alleles at the stably expressed M-QTLs in the extreme populations selected from TQ-BILs and Lemont/Teqing recombinant inbred lines (RILs) based on different selection intensities (5%, 10% and 20%) was detected, to analyze response of M-QTL of different traits to different selection intensities and effect of different genetic structures on selection response of M-QTL. The results indicated that the deviation of all alleles at M-QTLs identified from TQ-BILs resulted in increase of donor's alleles in the extreme populations, and the directions of allele deviation and trait selection with allele deviation were consistent with that of additive effect of gene. However, donor's alleles at M-QTLs were distorted to either increase or decrease in extreme populations selected from RILs. The deviation of alleles at M-QTLs for the two traits in the two kinds of populations was tightly associated with selection intensity. Some false positive and overlooked M-QTLs were found by comparison of M-QTL mapping results and their responses to selection in the populations with different genetic structures. Importance of confirmation was emphasized for the M-QTL identified from mapping populations. Considering characters of selective responses of different M-QTLs for different traits in different populations, utilization and caution of different M-QTLs in backcross breeding based on traditional phenotyping selection and marker assisted selection were discussed.

Key words: quantitative trait locus; artificial selection; allele deviation; plant height; flag leaf; rice

摘 要: 利用粳稻 Lemont 导入籼稻特青背景构建的高代回交导入系和重组自交系群体, 在北京和海南两地检测影响株高和剑叶宽的稳定表达的主效 QTL, 分析这些主效 QTL 在导入系和重组自交系群体的不同选择强度(5%、10% 和 20%) 的极端群体中的等位基因偏离, 研究不同性状的主效 QTL 对不同选择强度的响应及不同遗传结构群体对主效 QTL 人工选择响应的影响。结果表明, 导入系的选择群体中所有主效 QTL 等位基因的偏离方向都使得供体等位基因频率增加, 等位基因产生偏离的性状选择方向及供体等位基因的偏离方向与基因的加性效应方向完全一致, 而重组自交系的选择群体中主效 QTL 等位基因的偏离既有供体等位基因增加的, 也有等位基因降低的, 两种群体中不同性状的主效 QTL 等位基因偏离与选择强度密切相关。通过比较不同群体结构的主效 QTL 定位及对选择响应的异同, 发现一些假阳性 QTL 和在随机作图群体中漏检的 QTL, 强调作图群体 QTL 定位结果验证的重要性。鉴于不同群体、不同性状和不同主效 QTL 的选择响应特点, 对不同主效 QTL 在基于常规表型选择和分子标记辅助选择回交育种中的利用价值及注意事项进行了探讨。

关键词: 数量性状基因座; 人工选择; 等位基因偏离; 株高; 剑叶; 水稻

中图分类号: Q943.2; S511.03

文献标识码: A

文章编号: 1001-7216(2009)04-0363-08

作物新品种培育是一个创造遗传变异并选择和固定有利目标性状变异的过程, 其成功与否在很大程度上取决于对这种有利遗传变异定向选择的效率。在选择压力下, 不论是短期选择^[1], 还是长期选择^[2], 与目标选择性状相关的等位基因位点的频

率将发生变化, 导致有利等位基因频率上升, 不利等

收稿日期: 2009-02-10; 修改稿收到日期: 2009-03-03。

基金项目: 农业部 948 计划资助项目(2006-G51)。

第一作者简介: 王 韵(1981-), 女, 博士研究生。

位基因频率下降^[34]。基于此原理,从一个大的随机群体中取两尾分布的个体组成一个极端选择群体进行质量性状基因^[5-6]或数量性状基因座 (quantitative trait locus, QTL)^[7-9]的定位,不仅能减小表型测量的误差,降低表型和标记基因型检测的工作量,而且能获得原始群体 90% 以上的 QTL 定位信息^[9]。目前已有大量通过人工选择方法定位主效 QTL 的报道^[10-13],而且认为利用高代回交育种体系结合较高强度的人工选择,能明显提高主效 QTL 定位的精度^[14]。

水稻的绝大多数育种目标性状属多基因控制的数量性状。迄今利用分子标记技术定位了众多性状,如产量^[15-16]、产量相关性状^[17-19]、株高^[20-21]等 QTL。这些研究对理解水稻复杂性状的遗传机理起了相当大的作用。然而,目前基于 QTL 定位信息的复杂性状分子标记辅助改良进展缓慢。造成这一局面的原因很多,其中定位 QTL 的真实性及其是否对育种群体的选择有响应是决定标记辅助选择育种成败的关键因素。虽然有少数定位的主效 QTL 得到了验证^[22-25],但至今绝大多数定位的主效 QTL 在育种过程中对人工选择的响应情况知之甚少。

本研究利用粳稻 Lemont 导入籼稻特青背景的高代回交导入系群体,检测在北京和海南两个不同环境下影响株高和剑叶宽的稳定表达的主效 QTL,分析这些主效 QTL 在不同选择强度的极端选择群体中的频率变化,同时分析相同亲本来源但具有不同群体结构的重组自交系选择群体对这些主效 QTL 位点等位基因频率变化的影响。研究结果将为基于主效 QTL 的品种改良提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以美国南部的优质粳稻品种 Lemont 和我国高产的籼稻品种特青配制杂种 F_1 , F_1 植株与特青回交,形成特青背景的回交 $BC_1 F_1$ 群体,在回交后代随机选株与特青进行 2~4 次不等的连续回交并经自交多代稳定,最后获得了特青背景的近等基因的导入系 (TQ BIL) 254 份,包括 133 份 $BC_2 F_5$ 、96 份 $BC_3 F_4$ 和 25 份 $BC_4 F_3$ ^[26],用作本研究材料。研究材料还包括由相同亲本 Lemont 和特青培育的 294 份 F_{13} 重组自交系 (RIL)^[27]。

1.2 田间性状考查

特青背景的导入系群体分别于 2006 年 11 月和

2007 年 5 月播种于中国农业科学院作物科学研究所海南基地和北京昌平试验农场,重组自交系群体只于 2007 年在北京种植。所有株系采用随机区组排列,3 次重复,单本插,每行 12 株,行株距 25 cm × 20 cm,田间管理同一般大田。齐穗期每株系取中间 8 株,每株随机测量 3 个分蘖的剑叶宽,同时测量这 8 个植株的株高。

1.3 遗传连锁图构建

以筛选出在双亲间有多态性的 151 个 SSR 标记和 3 个形态标记包括 *gl1* (光叶)、*C* (紫稃尖) 和 *Ph* (酚反应) 鉴定导入系的标记基因型。采用 MapManager QTX 18 作图软件^[28]对 133 份 $BC_2 F_5$ 株系构建遗传连锁图^[26],该连锁图的总图距为 1559.1 cM,相邻标记间的平均距离为 10.9 cM。重组自交系群体的连锁图由分布于 12 条染色体的 164 个标记 (40 个 RFLP, 100 个 SSR, 21 个 RAPD 和上述 3 个形态学标记) 构成,总图距为 1921 cM,相邻标记间的平均距离为 11.7 cM^[27]。

1.4 人工选择

对北京和海南种植的 TQ BIL 和北京种植的 RIL,分别按 5%、10% 和 20% 的强度选择每个群体的剑叶宽和株高,每个群体每一性状形成的两个极端群体,用于检测稳定表达的主效 QTL 的等位基因频率变化。

1.5 数据分析

1.5.1 主效 QTL 定位

采用 SAS 单向方差分析程序^[29],检测影响 TQ BIL 和 RIL 的株高和剑叶宽的主效 QTL,以显著水平 $P < 0.001$ 作为入选主效 QTL 的概率值。当 1 个 QTL 与两个或两个以上标记连锁时,只列出 F 测验值最高的标记^[26]。对 RIL 采用单向方差定位到的主效 QTL,进一步采用 QTL Mapper 1.0^[31] 软件验证。

1.5.2 等位基因频率的检测

为最大限度地减小环境因素对性状表达和 QTL 检测的影响,从 TQ BIL 在北京和海南两个环境下各性状同时入选的相同极端株系用于各性状主效 QTL 等位基因频率的检测。用于等位基因频率检测的主效 QTL 仅局限于 TQ BIL 在两个环境中被共同检测到的主效 QTL。进一步检测这些主效 QTL 在 RIL 中的表达,分析在 RIL 中同样表达的主效 QTL 在 RIL 两个极端选择群体中等位基因的偏分离情况。

采用两尾 Z 测验^[32],检测极端选择群体中与

主效 QTL 显著关联标记的等位基因频率与原始随机群体频率的偏离情况 ,即基于原始群体中与主效 QTL 显著关联的标记的供体等位基因频率 ,来检测该标记在极端选择群体中的等位基因频率的偏离。Z 测验差异达到显著的标记将被认为该标记关联的主效 QTL 对选择有响应 ,即该主效 QTL 对极端株系的表型有贡献。

2 结果与分析

2.1 不同选择强度下 TQ BIL 和 RIL 极端选择群体的表型变异

双亲株高和剑叶宽在北京和海南两个环境下均存在显著差异 ,特青的株高平均比 Lemont 高出 9.4 cm ,剑叶平均宽 0.48 cm(表 1)。对株高和剑叶宽度进行不同强度(5%、10% 和 20%)的选择 ,TQ BIL 在两个环境下不同选择强度的正向选择群体的平均株高和平均剑叶宽均显著大于轮回亲本和原始群体 ,负向选择则相反 ,均显著小于轮回亲本和原始

群体(表 1)。RIL 在北京不同选择强度的正负向选择群体的株高和剑叶宽的表现与导入系的情况相类似(表 1)。从不同选择强度的极端群体的性状平均值来看 ,TQ BIL 和 RIL 在这两个性状上均出现超亲分离。

连续回交后代的绝大多数株系的性状均回归到轮回亲本水平 ,由于株高和剑叶宽对不同选择压的负向选择群体的均值比较接近轮回亲本 ,因此 ,负向选择在不同选择强度下株高性状在两个环境中表现一致的株系数多于正向选择群体的株系数 ,剑叶宽也有类似的情况(表 1)。在不同选择强度下从两个环境中筛选出表现一致的株系 ,这些株系的株高和剑叶宽在两个环境下稳定表达 ,能较好地消除环境效应 ,将用于主效 QTL 等位基因频率的检测。

2.2 影响株高和剑叶宽的稳定表达的主效 QTL

TQ BIL 在北京和海南两个不同环境下 ,检测到影响株高和剑叶宽的共同主效 QTL 分别为 8 个和 10 个(表 2)。8 个影响株高的主效 QTL 分别位

表 1 特青背景导入系和 Lemont/特青重组自交系群体中不同选择强度入选株系在北京和海南的株高及剑叶宽的表现

Table 1 Performance of plant height and flag leaf width of the extreme lines under different selection intensities from 294 Lemont/Teqing RILs and 254 TQ BILs in Beijing (BJ) and Hainan (HN) environments . cm

选择方向 ¹⁾ Direction of selection ¹⁾	特青背景导入系 ²⁾ TQ BIL ²⁾					重组自交系
	北京 BJ (2006)	海南 HN (2007)	一致株系 Consistent lines		RIL	
			株数 <i>n</i>	北京 BJ (2006)	海南 HN (2007)	北京 BJ (2007)
株高 Plant height (PH)						
Lemont	89.1 ± 1.56 f	90.2 ± 1.84 c				92.8 ± 2.04 d
特青 Teqing	102.3 ± 2.34 c	95.8 ± 2.25 b				104.5 ± 3.38 c
原始群体 Original population	104.0 ± 4.00 c	95.9 ± 4.80 b				108.0 ± 11.84 c
P20%	109.5 ± 2.34 b	101.6 ± 1.74 a	21	109.8 ± 2.14 a	101.7 ± 1.54 a	124.4 ± 9.02 b
P10%	111.0 ± 2.47 ab	102.9 ± 1.18 a	7	111.3 ± 2.60 a	102.6 ± 0.88 a	128.9 ± 10.93 ab
P5%	112.4 ± 2.71 a	103.9 ± 1.28 a	1	112.7 ± NA a	104.0 ± NA a	133.4 ± 14.28 a
N20%	98.7 ± 3.58 d	88.9 ± 4.94 cd	30	97.9 ± 4.05 b	87.8 ± 5.79 b	92.1 ± 5.54 d
N10%	96.5 ± 3.88 d	85.9 ± 5.51 d	14	95.1 ± 4.56 b	83.7 ± 6.51 b	87.9 ± 4.95 de
N5%	93.9 ± 3.95 e	82.6 ± 5.93 e	7	92.6 ± 4.86 b	81.0 ± 6.68 b	84.1 ± 4.05 e
剑叶宽 Flag leaf width (FLW)						
Lemont	2.18 ± 0.09 a	2.20 ± 0.07 a				2.19 ± 0.09 c
特青 Teqing	1.75 ± 0.05 d	1.67 ± 0.15 d				1.75 ± 0.06 e
原始群体 Original population	1.75 ± 0.14 d	1.68 ± 0.15 d				1.91 ± 0.26 d
P20%	1.97 ± 0.16 c	1.88 ± 0.13 c	25	2.02 ± 0.16 b	1.91 ± 0.15 b	2.27 ± 0.13 bc
P10%	2.07 ± 0.14 b	1.96 ± 0.14 bc	13	2.16 ± 0.14 a	2.01 ± 0.18 ab	2.36 ± 0.12 ab
P5%	2.18 ± 0.11 a	2.04 ± 0.16 b	5	2.22 ± 0.16 a	2.02 ± 0.16 a	2.44 ± 0.13 a
N20%	1.60 ± 0.05 e	1.49 ± 0.07 e	32	1.57 ± 0.07 c	1.50 ± 0.05 c	1.55 ± 0.08 f
N10%	1.57 ± 0.06 e	1.44 ± 0.07 e	19	1.52 ± 0.06 c	1.45 ± 0.04 c	1.49 ± 0.06 f
N5%	1.53 ± 0.05 e	1.40 ± 0.07 e	8	1.54 ± 0.03 c	1.41 ± 0.04 c	1.44 ± 0.05 f

¹⁾ P 和 N 分别表示正向和负向选择。²⁾ NA 表示无法估算标准差。同一个性状 ,同一列数据后跟相同小写字母者表示在 0.05 水平上差异不显著。

¹⁾ P, Positive selection; N, Negative selection. ²⁾ NA, Not available. The common lowercase letters within a column indicated no significant difference at the 0.05 level.

于第 2~5、10~12 染色体,所有降低株高的等位基因均来自 Lemont,加性效应变幅为 1.15~2.92 cm。检测到影响剑叶宽的 10 个主效 QTL,分别位于第 2~4、6、8~12 染色体,所有增加剑叶宽的等位基因均来自 Lemont,加性效应变幅为 0.04~0.11

cm。

采用单向方差分析并经区间作图验证和比较作图后,发现 RIL 中检测到 3 个主效 QTL (*QPh2b*, *QPh4* 和 *QPh5*) 与 TQ BIL 中的 3 个主效 QTL 位于同一染色体区域,这 3 个降低株高的等位基因同

表 2 特青背景导入系群体在北京和海南检测到影响剑叶宽和株高的相同主效 QTL 及其在两个极端选择群体中的频率偏离

Table 2 Stably expressed main effect QTL (M QTL) for plant height (PH) and flag leaf width (FLW) detected in Beijing (BJ) and Hainan (HN) and their allelic deviations in the two extremely selected populations under different selection intensities in TQ BILs.

性状与环境 Trait and environment	QTL	染色体 Chromosome	标记区间 ¹⁾ Marker interval ¹⁾	F 值 F value	加性效应 ²⁾ <i>a</i> ²⁾	Z 测验 ³⁾ Z test ³⁾					
						正向选择 Positive selection			负向选择 Negative selection		
						5%	10%	20%	5%	10%	20%
株高 PH											
北京 BJ	<i>QPh2a</i>	2	<u>RM211</u> - RM423	10.6	-1.67						3.72***
海南 HN				8.6	-1.35						
北京 BJ	<i>QPh2b</i>	2	<u>RM112</u> - RM208	24.1	-2.73				3.56***	2.16*	2.88**
海南 HN				7.7	-1.89						
北京 BJ	<i>QPh3</i>	3	<u>RM156</u> - RM135	20.4	-2.92				3.56***	3.60***	2.88**
海南 HN				9.4	-2.50						
北京 BJ	<i>QPh4</i>	4	<u>RM470</u> - RM303	11.3	-1.15				3.05**	3.57***	3.71***
海南 HN				8.5	-1.20						
北京 BJ	<i>QPh5</i>	5	<u>gl1</u> - RM163	10.6	-1.73				4.86***	2.21*	4.21***
海南 HN				11.9	-2.16						
北京 BJ	<i>QPh10</i>	10	<u>RM216</u> - RM311	22.1	-2.73				2.60**	2.00*	2.89**
海南 HN				7.3	-1.22						
北京 BJ	<i>QPh11</i>	11	RM254 - <u>RM123</u>	17.7	-1.58				4.86***	2.75**	3.62***
海南 HN				8.8	-1.36						
北京 BJ	<i>QPh12</i>	12	<u>RM277</u> - RM463	22.4	-2.31				2.40*	2.02*	2.01*
海南 HN				15.5	-2.53						
剑叶宽 FLW											
北京 BJ	<i>QFlw2</i>	2	<u>RM29</u> - RM341	34.0	0.08						
海南 HN				12.5	0.05						
北京 BJ	<i>QFlw3a</i>	3	<u>RM282</u> - RM156	11.9	0.08						
海南 HN				27.1	0.11						
北京 BJ	<i>QFlw3b</i>	3	RM85 - <u>RM227</u>	21.2	0.05	4.19***	3.35***	3.75***			
海南 HN				16.2	0.05						
北京 BJ	<i>QFlw4</i>	4	<u>RM303</u> - RM255	18.3	0.09		3.92***	3.28***			
海南 HN				17.1	0.09						
北京 BJ	<i>QFlw6</i>	6	<u>RM190</u> - RM204	12.8	0.06	4.85***	4.70***	3.97***			
海南 HN				13.0	0.06						
北京 BJ	<i>QFlw8</i>	8	<u>RM408</u> - RM38	22.5	0.09	6.08***	5.46***	3.55***			
海南 HN				10.5	0.06						
北京 BJ	<i>QFlw9</i>	9	<u>RM189</u> - RM215	16.9	0.05	3.89***	2.42*	2.99**			
海南 HN				12.2	0.04						
北京 BJ	<i>QFlw10</i>	10	RM271 - <u>RM258</u>	10.3	0.06	3.40***	3.38***	4.01***			
海南 HN				21.4	0.09						
北京 BJ	<i>QFlw11</i>	11	RM254 - <u>RM123</u>	17.9	0.06	4.32***	4.56***	4.20***			
海南 HN				23.9	0.06						
北京 BJ	<i>QFlw12</i>	12	RM101 - <u>RM277</u>	14.2	0.07	3.85***	3.03**	2.31*			
海南 HN				19.1	0.08						

¹⁾ 带下划线的标记更靠近 QTL。²⁾ 加性效应表示特青等位基因被 Lemont 供体等位基因替代后的效应。³⁾ Z 值表示在正向和负向不同选择强度 (5%、10% 和 20%) 下选择群体等位基因的偏离情况,正值表示选择群体的供体等位基因频率上升,负值表示选择群体的供体等位基因频率下降,*、** 和 *** 分别代表 Z 测验在 0.05、0.01 和 0.001 的水平显著。表 3 同。

¹⁾ Underlined markers were closer to the QTL.²⁾ *a* is the effect associated with the Teqing alleles substituted by Lemont alleles.³⁾ The Z values from the Z test for allelic frequency shifting in the sub populations as compared with the original one under different intensities (5%, 10% and 20%) for positive/negative selections. A positive Z value indicates a significant increasing of the donor allelic frequency in the selected population, and vice versa. The asterisks *, **, and *** indicate significance at $P < 0.05$, 0.01 and 0.001 , respectively. The same as in Table 3.

表 3 影响特青背景导入系群体剑叶宽和株高的稳定表达的主效 QTL 在 Lemont/特青重组自交系群体 (RIL) 中的表达及其在两个极端选择群体中的频率偏离

Table 3 Expression of the stably expressed main effect QTLs detected from TQ BILs for plant height (PH) and flag leaf width (FLW) in Lemont/Teqing RILs and their allelic deviation in the two extremely selected populations .

性状 Trait	QTL	染色体 Chromosome	标记区间 Marker interval	F 值 F value	加性效应 a	Z 测验 Z test					
						正向选择 Positive selection			负向选择 Negative selection		
						5%	10%	20%	5%	10%	20%
株高 PH	<i>QPh2b</i>	2	RG654 - <u>10100</u>	7.9	-2.05				2.34*	2.91**	2.72**
	<i>QPh4</i>	4	RM255 - <u>Ph</u>	8.1	-2.1		-2.01*	-1.99*	2.20*	1.94*	2.18*
	<i>QPh5</i>	5	<u>RM163</u> RM161	6.6	-1.9						2.82**
	<i>QPh10</i>	10	<u>RM216</u> RM311	0.93	0.71			2.12*			
	<i>QPh11</i>	11	<u>RM254</u> RM123	0.99	-0.75				2.05*	2.10*	2.40*
剑叶宽 FLW	<i>QFlw4</i>	4	<u>RM303</u> RM317	12.5	0.05						-1.93*
	<i>QFlw10</i>	10	RM271 - <u>M258</u>	1.63	-0.02					2.29*	2.11*
	<i>QFlw11</i>	11	<u>RM254</u> RM123	1.71	0.02	2.05*	2.10*	2.40*			

黑体字表示在 RIL 群体中不表达。

QTLs in bold type letter are unexpressed in RILs .

样来自亲本 Lemont ,加性效应变幅为 1.9 ~ 2.1 cm (表 3)。RIL 中的剑叶宽只在第 4 染色体上定位到 1 个与 TQ BIL 相同的主效 QTL (*QFlw4*) ,其增加剑叶宽的等位基因同样来自 Lemont。

2.3 双向极端选择群体中稳定表达主效 QTL 的等位基因频率检测

在 TQ BIL 中 ,供体等位基因导入频率相当低 ,所有等位基因显著偏离的方向都使得供体等位基因频率增加 (表 2)。然而在 RIL 随机群体中 ,等位基因显著偏离既有供体等位基因增加的 ,也有等位基因降低的 (表 3)。

在影响株高的主效 QTL 中 ,除 *QPh2a* 的等位基因仅在 20% 的选择强度下出现显著偏离外 ,TQ BIL 的其余 7 个稳定表达的株高主效 QTL 的等位基因均在不同选择强度的负向选择群体中出现显著偏离。在 10 个影响剑叶宽的主效 QTL 中 ,除 *QFlw2* 和 *QFlw3a* 对选择没有响应外 ,其余 8 个主效 QTL 的等位基因均在正向极端选择群体中出现显著偏离 (表 2)。一般地 ,随机选择强度的提高 ,影响株高和剑叶宽的多数主效 QTL 的等位基因偏离更加明显 ,而且等位基因产生偏离的性状选择方向及供体等位基因偏离方向与该等位基因的加性效应方向完全一致 (表 2)。

极端选择群体主效 QTL 等位基因偏离的方向和频率的增减与遗传结构有关 ,3 个影响株高稳定表达的主效 QTL 中 ,*QPh2b* 和 *QPh5* 的极端选择响应方向和等位基因偏离方向在 TQ BIL 与 RIL 之间完全一致 ,但 *QPh5* 在 RIL 中只在较低的选择

强度 (20%) 下检测到显著偏离 ,而 *QPh4* 由 TQ BIL 中的负向选择群体偏离转变成在 RIL 中为正负两向选择群体的偏离。影响剑叶宽的 *QFlw4* 在 TQ BIL 的正向选择群体中表现等位基因频率增加 ,而在 RIL 的负向选择群体中等位基因频率则降低 ,表明该位点在不同的遗传结构群体中对选择的响应方向是一致的。

从表 2 和表 3 可知 ,最佳选择强度因不同性状、不同主效 QTL 和不同的遗传结构群体而异 ,如 TQ BIL 影响株高的主效 QTL 中 ,*QPh2b*、*QPh5*、*QPh11* 和 *QPh12* 的最佳选择强度为 5% ,*QPh3* 为 10% ,而 *QPh4* 和 *QPh10* 则为 20% ;影响剑叶宽的多数主效 QTL 的最佳选择强度为 5%。同样的主效 QTL 在 RIL 中的情况不完全相同 ,如 *QPh2b* 和 *QPh5* 的最佳选择强度分别为 10% 和 20% ,*QPh4* 在正向和负向选择群体中的最佳选择强度分别为 10% 和 5%。

3 讨论

为确保 QTL 定位及其对人工选择响应分析的可靠性 ,本研究选择了两个遗传力较高的株高和剑叶宽性状 ,选择 TQ BIL 在北京和海南两个完全不同的环境中定位到影响这两个性状的相同主效 QTL 进行人工选择响应分析 ,以尽可能降低 QTL 定位本身的误差对后续分析的干扰。通过主效 QTL 对人工选择群体的响应分析 ,对不同群体定位到的主效 QTL 进行验证 ,所获得的研究结果对进一步认识主效 QTL 在常规表型选择和分子标记辅

助选择中的作用与效果具有一定的参考价值。

3.1 不同群体定位的主效 QTL 及其对人工选择的响应

本研究定位到影响株高的全部 8 个主效 QTL 和 80% 的影响剑叶宽的主效 QTL 在不同选择强度的极端群体中均发生等位基因的显著偏离,说明这些位点对选择具有响应。在导入系群体中,主效 QTL 对正向或负向选择的响应取决于供体和轮回亲本性状的高低,如果供体性状大于轮回亲本,如剑叶宽度,在导入系群体中正向选择的效果较好,定位到的主效 QTL 在正向选择群体中产生响应,在负向选择群体中就没有响应,相反,如果供体性状小于轮回亲本如株高,在导入系群体中负向选择的效果较好,定位到的主效 QTL 仅在负向选择群体中产生响应(表 2)。因此,发生等位基因响应的性状选择方向及供体等位基因偏离方向与基因的加性效应方向完全一致。影响导入系群体的株高和剑叶宽的主效 QTL 在重组自交系群体中分别定位到 3 个和 1 个,这些主效 QTL 产生响应的选择强度不同于导入系群体,而且 *QPh4* 在正向和负向两个极端选择群体中均产生响应(表 3)。因此,主效 QTL 的选择响应的表现因不同遗传结构的群体、不同的性状和不同的主效 QTL 而异。

TQ BIL 中定位到影响剑叶宽的 2 个主效 QTL (*QFlw2* 和 *QFlw3a*)对人工选择没有任何响应,可能是虚假的主效 QTL,这类“影子”QTL 在以往 QTL 作图群体中会经常碰到^[33-34],被称为统计学上的第一类错误。该类错误通常是由于界定 QTL 的临界值偏低引起,因而这部分 QTL 没有实际育种应用价值。另外,在 TQ BIL 中影响株高的 *QPh10* 和 *QPh11* 和影响剑叶宽的 *QFlw10* 和 *QFlw11*,虽然没有在 RIL 中被定位到,但这 4 个主效 QTL 在 RIL 的两个极端选择群体中均有响应(表 3)表明这 4 个主效 QTL 在 RIL 中确实存在而且在极端选择群体中起作用。这 4 个主效 QTL 在 RIL 随机群体中被漏检,可能是由于这些位点在随机群体中存在正向和负向效应相互抵消的现象^[35],导致这些位点的两个亲本基因型的性状均值差异的显著性降低造成的。这种统计学上的第二类错误主要是由于 QTL 阈值界定过高造成的。在 QTL 定位时,为防止犯统计学上的第一类和第二类错误,需要针对每一性状表型值和基因型值进行 1000 次随机排列优化,以决定每个性状 QTL 取舍的最佳经验临界值^[36]。上述不同群体结构的主效 QTL 定

位结果及其对选择响应的特点在常规表型选择和基于主效 QTL 的标记辅助品种改良实践中应引起足够的重视。

3.2 对数量性状常规表型选择和分子标记辅助选择育种的启示

基于 DNA 水平的数量性状遗传分析迄今获得了很大的成功^[37-38],数以千计影响主要农作物各种重要性状的 QTL 被定位,但至今只有很少的 QTL 连锁标记在植物育种计划中得到真正的应用^[39-40]。其主要原因在于利用这些标记预测理想表现型的可靠性还不够高,这一现象在许多情况下归咎于 QTL 定位的精度太低以及缺乏对定位结果的进一步验证^[39-41]。鉴于 QTL 定位受 QTL 本身的遗传特性如单个 QTL 的效应大小、环境效应、定位群体大小和实验误差等因素影响,因此,QTL 定位结果在育种应用之前采用独立试验进行验证是非常必要的^[42]。QTL 验证可以在初步定位群体中选择携有目标 QTL 的后代分离群体或将目标 QTL 通过标记辅助选择培育目标 QTL 的近等基因系进行验证,也可以采用本研究的方法来分析目标 QTL 连锁标记对目标性状的两个极端群体的选择响应进行验证。总之,只有经过表型效应验证的 QTL 才能用作目标性状的标记辅助改良育种和 QTL 的克隆。

回交是转移种质资源有利基因改良轮回亲本不良性状的有效手段。从本研究结果来看,针对不同性状的常规表型选择必须采取不同的选择强度,并非高的选择压如 5% 就是最好的,因为过高的选择压很可能会失去较多效应相对较小的 QTL。与重组自交系等随机群体相比,优良品种背景的回交导入系群体由于减少了遗传背景对 QTL 定位的干扰,使得主效 QTL 定位效率得到提高^[43]。目前基于分子标记辅助选择的回交育种被认为是一种高效的品种改良策略,它能够把种质资源中重要性状 QTL 位点的有利等位基因导入并积累到具有优良遗传背景的待改良品种中去,加速种质资源有利基因的发掘和新品种的培育进程^[44-45]。为提高常规表型选择和分子标记辅助选择的效果,积累更多的有关对选择有响应的主效 QTL 信息是必要的,只有针对表型有响应的主效 QTL 实施标记辅助选择,才有可能收到目标性状改良的预期效果。

本研究对定位主效 QTL 的人工选择响应分析作出尝试,也是对定位主效 QTL 进行验证的过程。应当指出,本研究是基于主效 QTL 初步定位结果

的选择响应研究,由于某些主效 QTL 的连锁标记可能与 QTL 基因座位还有较大的距离,导致连锁标记与 QTL 之间可能发生重组,可能会给利用连锁标记对选择响应的分析带来某些偏差。因此,有必要在主效 QTL 精细定位到一定程度的基础上,利用不同遗传结构的定位群体在相同环境和多年的试验数据对不同性状主效 QTL 的人工选择响应特点进行更详尽分析。

参考文献:

- [1] Steele K A, Edwards G, Zhu J, et al. Marker evaluated selection in rice: Shifts in allele frequency among bulks selected in contrasting agricultural environments identify genomic regions of importance to rice adaptation and breeding. *Theor Appl Genet*, 2004, 109: 1247-1260.
- [2] Stuber C W, Moll R H, Goodman M M, et al. Allozyme frequency changes associated with selection for increased grain yield in maize (*Zea mays* L.). *Genetics*, 1980, 95: 225-236.
- [3] Luo Z W, Tao S H, Zeng Z B. Inferring linkage disequilibrium between a polymorphic marker locus and a trait locus in natural populations. *Genetics*, 2000, 156: 457-467.
- [4] Li Z K, Fu B Y, Gao Y M, et al. Genome wide introgression lines and a forward genetics strategy for functional genomic research of complex phenotypes in rice. *Plant Mol Biol*, 2005, 59: 33-52.
- [5] Michelmore R W, Paran I, Kesseli R V. Identification of markers linked to disease resistance genes by bulked segregant analysis: A rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, 88: 9828-9832.
- [6] Zhang Q, Shen B Z, Dai X K, et al. Using bulked extremes and recessive class to map genes for photoperiod sensitive genic male sterility in rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 91: 8675-8679.
- [7] Lebowita R J, Soller M, Beckmann S. Trait based analyses for the detection of linkage between marker loci and quantitative trait loci in crosses between inbred lines. *Theor Appl Genet*, 1987, 73: 556-562.
- [8] Lander E S, Botstein D. Mapping Mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics*, 1989, 121: 185-199.
- [9] Darvasi A, Soller M. Selective DNA pooling for determination of linkage between a molecular marker and a quantitative trait locus. *Genetics*, 1994, 138: 1365-1373.
- [10] Foolad M R, Jones R A. Mapping salt tolerance genes in tomato (*Lycopersicon esculentum*) using trait based marker analysis. *Theor Appl Genet*, 1993, 87: 184-192.
- [11] Zhang L P, Lin G Y, Nie Liu D, et al. Mapping QTLs conferring early blight (*Alternaria solani*) resistance in a *Lycopersicon esculentum* × *L. hirsutum* cross by selective genotyping. *Mol Breeding*, 2003, 12: 3-19.
- [12] Wingbermuehle W J, Gustus C, Smith K P. Exploiting selective genotyping to study genetic diversity of resistance to *Fusarium* head blight in barley. *Theor Appl Genet*, 2004, 109: 1160-1168.
- [13] Coque M, Gallais A. Genomic regions involved in response to grain yield selection at high and low nitrogen fertilization in maize. *Theor Appl Genet*, 2006, 112: 1205-1220.
- [14] Luo Z W, Wu C I, Kearsy M J. Precision and high resolution mapping of quantitative trait loci by use of recurrent selection, backcross or intercross schemes. *Genetics*, 2002, 161: 915-929.
- [15] Li J X, Yu S B, Xu C G, et al. Analyzing quantitative trait loci for yield using a vegetatively replicated F₂ population from a cross between the parents of an elite rice hybrid. *Theor Appl Genet*, 2000, 101: 248-254.
- [16] Xiao J, Li J, Grandillo S, et al. Identification of trait improving quantitative trait loci alleles from a wild rice relative, *Oryza rufipogon*. *Genetics*, 1998, 150: 899-909.
- [17] Septiningsih E M, Prasetyono J, Lubis E, et al. Identification of quantitative trait loci for yield and yield components in an advanced backcross population derived from the *Oryza sativa* variety IR64 and the wild relative *O. rufipogon*. *Theor Appl Genet*, 2003, 107: 1419-1432.
- [18] Zhuang J Y, Lin H X, Qian G R, et al. Analysis of QTL × environment interaction for yield components and plant height in rice. *Theor Appl Genet*, 1997, 95: 799-808.
- [19] Moncada P, Martínez C P, Borrero J, et al. Quantitative trait loci for yield and yield components in an *Oryza sativa* × *Oryza rufipogon* BC₂F₂ population evaluated in an upland environment. *Theor Appl Genet*, 2001, 102: 41-52.
- [20] Li Z, Pinson S R M, Stansel J W, et al. Identification of quantitative trait loci (QTLs) for heading date and plant height in cultivated rice (*Oryza sativa* L.). *Theor Appl Genet*, 1995, 91: 374-381.
- [21] Yan J, Zhu J, He C, et al. Molecular dissection of developmental behavior of plant height in rice (*Oryza sativa* L.). *Genetics*, 1998, 150: 1257-1265.
- [22] Li Z, Jakkula L, Hussey R S, et al. SSR mapping and confirmation of the QTL from PI96354 conditioning soybean resistance to southern root knot nematode. *Theor Appl Genet*, 2001, 103: 1167-1173.
- [23] Fasoula V A, Harris D K, Bailey M A, et al. Identification, mapping, and confirmation of a soybean gene for bud blight resistance. *Crop Sci*, 2003, 43: 1754-1759.
- [24] Wissuwa M, Ae N. Further characterization of two QTLs that increase phosphorus uptake of rice (*Oryza sativa* L.) under phosphorus deficiency. *Plant Soil*, 2001, 237: 275-286.
- [25] Glover K D, Wang D, Arelli P R, et al. Near isogenic lines confirm a soybean cyst nematode resistance gene from PI 88788 on linkage group J. *Crop Sci*, 2004, 44: 936-941.
- [26] Xu J L, Lafitte H R, Gao Y M, et al. QTLs for drought

- avoidance and tolerance identified in a set of random introgression lines of rice. *Theor Appl Genet*, 2005, 111: 1642-1650.
- [27] Xu J L, Yu S B, Luo L J, et al. Molecular dissection of the primary sink size in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Breeding*, 2004, 123(1): 43-50.
- [28] Manly K F, Olson J M. Overview of QTL mapping software and introduction to Map Manager QT. *Mammalian Genome*, 1999, 10: 327-334.
- [29] SAS Institute. SAS/STAT User's Guide. Cary NC, USA: SAS Institute, 1996: 25-36.
- [30] Peleman J D, van der Voort J R. Breeding by design. *Trends Plant Sci*, 2003, 8: 330-334.
- [31] Wang D L, Zhu J, Li Z K, et al. Mapping QTLs with epistatic effects and QTL x environment interactions by mixed linear model approaches. *Theor Appl Genet*, 1999, 99: 1255-1264.
- [32] Larsen R J, Marx M L. Introduction to Mathematical Statistics and Its Applications. Englewood Cliffs, New Jersey: Prentice Hall, Inc., 1981: 335.
- [33] Martinez O, Curnow R N. Estimating the locations and the sizes of the effects of quantitative trait loci using flanking markers. *Theor Appl Genet*, 1992, 85: 480-488.
- [34] Wright F A, Kong A. Linkage mapping in experimental crosses: The robustness of single gene models. *Genetics*, 1997, 146: 417-425.
- [35] Tanksley S D. Mapping polygenes. *Annu Rev Genet*, 1993, 27: 205-233.
- [36] Churchill G A, Doerge R W. Empirical threshold values for quantitative trait mapping. *Genetics*, 1994, 138: 963-971.
- [37] Paterson A H, Lander E S, Hewitt J D, et al. Resolution of quantitative traits into Mendelian factors, using a complete linkage map of resistance fragment length polymorphisms. *Nature*, 1988, 335: 721-726.
- [38] Ashikari M, Matsuoka M. Identification, isolation and pyramiding of quantitative trait loci for rice breeding. *Trends Plant Sci*, 2006, 11: 344-350.
- [39] Young N D. A cautiously optimistic vision for marker assisted breeding. *Mol Breeding*, 1999, 5: 505-510.
- [40] Xu Y B, Crouch J H. Marker assisted selection in plant breeding: From publications to practice. *Crop Sci*, 2008, 48: 391-407.
- [41] Sharp P J, Johnston S, Brown G, et al. Validation of molecular markers for wheat breeding. *Aust J Agric Res*, 2001, 52: 1357-1366.
- [42] Lander E S, Kruglyak L. Genetic dissection of complex traits: Guidelines for interpreting and reporting linkage results. *Nat Genet*, 1995, 11: 241-247.
- [43] 谢学文, 许美容, 藏金萍, 等. 水稻抗纹枯病 QTL 表达的遗传背景及环境效应. *作物学报*, 2008, 34(11): 1885-1893.
- [44] Tanksley S D, Nelson J C. Advanced backcross QTL analysis: A method for the simultaneous discovery and transfer of valuable QTLs from unadapted germplasm into elite breeding lines. *Theor Appl Genet*, 1996, 92: 191-203.
- [45] 黎志康. 我国水稻分子育种计划的策略. *分子植物育种*, 2005, 3(5): 603-608.