

文章编号: 1005-0906(2007)02-0049-04

玉米耐旱 QTL 定位研究进展

郝转芳, 李新海, 张世煌

(中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081)

摘要: 干旱是影响玉米产量的最重要的非生物胁迫因子之一。近年来, 随着分子标记技术和数量性状统计分析方法的改进, 对调控耐旱等复杂数量性状的位点进行作图和定位方面的研究很多。本文综述了玉米在耐旱 QTL (Quantitative trait locus) 定位研究领域所采用的耐旱鉴定指标以及耐旱相关性状的 QTL 定位研究进展, 并对目前在 QTL 定位研究中存在的问题及发展前景进行了探讨。

关键词: 玉米; 耐旱性; QTL**中图分类号:** S513.035.3; Q78**文献标识码:** A

Advances of QTL Mapping for Drought-Tolerance on Maize (*Zea mays* L.)

HAO Zhuan-fang, LI Xin-hai, ZHANG Shi-huang

(Institute of Crop Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: Drought stress is the first constraint affecting maize (*Zea mays* L.) production remarkably in the world. In the past decades, with the development of molecular marker technology and quantitative statistical methods, a large number of papers had reported much about mapping and location of complex quantitative traits, such as drought tolerance. The evaluation standards for drought-tolerance of germplasm and QTL (Quantitative trait loci) mapping on maize chromosomes were summarized. Furthermore, problems and prospects of QTL mapping were discussed in this review. It would benefit researches involving in QTL mapping and breeding for drought tolerance in maize.

Key words: Maize (*Zea mays* L.); Drought-tolerance; Quantitative trait loci (QTL)

玉米是主要粮食和重要的饲料及工业原料作物之一。在过去的一个多世纪里, 尽管推广杂交种、合理密植和增施化肥等先进技术使世界玉米产量取得了突飞猛进的增长, 但在多数干旱和半干旱地区, 杂交种的产量优势没有充分发挥出来, 而且在干旱年份还造成严重减产。随着全球气候变暖, 干旱已成为发展玉米生产的第一限制因素。

1975 年 CIMMYT 启动了玉米耐旱育种项目, 采用全同胞轮回选择方法, 通过在干旱和灌溉两种环境下对“Tuxpeño Sequía”群体进行 8 轮耐旱性选择和改良, 取得了很大进展, 已经广泛地用于种质改

良。但是在大多数情况下, 干旱胁迫会降低产量的遗传力, 受环境变异等因素的影响, 传统育种方法只能做到有限的遗传改良, 而且育种周期长, 资源消耗量大, 提供的信息有限。目前, 分子标记技术的出现和不断完善使利用作图群体建立高密度的遗传连锁图谱成为现实, 结合表型变异, 了解控制耐旱相关性状的基因所在的染色体位置即数量性状位点 (quantitative trait loci, QTL)。本文就耐旱鉴定标准、耐旱相关性状的 QTL 定位以及耐旱 QTL 研究中存在的问题及展望进行初步探讨。

1 玉米耐旱性鉴定标准

近些年来, 分子生物技术与传统育种实践相结合, 在玉米耐旱性研究领域取得了前所未有的进展。但是, 育种家迫切需要的耐旱性鉴定标准体系一直是耐旱遗传改良的关键因素。目前, 玉米耐旱鉴定主要从形态学 (如雌雄开花间隔天数、持绿度、结穗率等)、生理生化 (如 ABA、脯氨酸、自由基等) 和子粒产量等几个方面进行。

收稿日期: 2006-03-20; **修回日期:** 2006-12-12**基金项目:** 国家自然科学基金 (30600394) 和农业部“948”项目 (2006-G3)**作者简介:** 郝转芳 (1978-), 女, 山西晋城人, 博士, 助研, 从事玉米耐旱分子生物学研究。Tel: 010-68918596

E-mail: haozhuanfang@yahoo.com.cn

张世煌为本文通讯作者。Tel: 010-68918596

E-mail: zhangshh@mail.caas.net.cn

1.1 形态学指标

形态结构与植株的水分吸收和散失有密切关系,良好的形态结构是玉米耐旱机制之一。根系发达、叶型紧凑、植株较矮、雄穗较小和开花至抽丝间隔短等被认为是耐旱株型。这些形态学性状容易观察,性状进行调查与鉴定是玉米常规育种的基本环节。

1.2 生理生化指标

渗透调节是植物适应干旱胁迫的重要生理反应,其主要功能在于维持植物细胞正常的膨压,继而影响其它生理生化过程。在干旱胁迫下,大多数植物积累一些低分子量的生物可溶性物质和特定蛋白,亦称为渗透调节物质(Osmoprotectant),包括无机离子、糖类、脯氨酸和生物碱等。植物通过渗透调节实现耐旱性有一定的局限性。若干旱胁迫很严重时,通过渗透调节途径就无法维持植物细胞的膨压。

1.3 子粒产量指标

一般来讲,大幅度提高子粒产量是育种家不断追求的目标。但子粒产量是取决于很多因素的复杂性状,如生长势、水分和营养供给、化学能的转化及遗传改良等。研究发现,随着产量下降,环境方差所占的比例增加,产量的遗传力也随之降低,在干旱条件下对单株产量进行直接选择的效果不大。相比之下,在干旱和低氮胁迫下遗传力较高和变异丰富的次级性状对于提高选择效率则非常有用。Edmeades针对旱地玉米改良,提出了一套简单、快速和经济有效的耐旱性鉴定方法,即在干旱胁迫下,只需测量产量、雌雄开花间隔天数(ASI)和一些相关的次级性状就可以进行耐旱鉴定。

2 玉米耐旱相关性状的 QTL 定位及遗传分析

分子生物学的迅速发展大大加速了玉米耐旱机理的研究进程。在上个世纪 20 年代初,Sax 就试图把 QTL 分析应用到育种研究。然而,由于当时缺乏有效的标记,QTL 分析没有得到普及。直到 50 年后出现第一代基于核酸分子杂交技术的分子标记(限制性片断长度多态性,RFLP),QTL 分析原理才逐渐被遗传和育种学家接受。在玉米上,Helentjaris 等(1986)利用 RFLP 标记构建了第一张连锁图谱,后来又出现了以聚合酶链式反应(PCR)为基础的第二代分子标记,如简单序列重复(SSR),大大地缩短了构建图谱所花费的时间。20 世纪 90 年代中期扩增片段长度多态性(AFLP)标记又进一步提高了图谱的饱

和度。在构建饱和遗传图谱的基础上,人们就可以对大量复杂数量性状的 QTL 进行定位与研究。

2.1 干旱胁迫下玉米开花期 QTL

ASI 在玉米耐旱性鉴定与遗传改良上是一项重要指标。在干旱胁迫下,Ribaut(1996)以 AC7643(耐旱)和 AC7729/TZSRW(不耐旱)杂交产生的 234 个 F_2 家系,采用 RFLP 标记的遗传连锁图,在第 1、2、4、5、8、9 和 10 染色体上鉴定了 7 个抽雄、吐丝期 QTL,累计可解释表型方差的 48%。其中有 4 个 QTL 同时控制抽雄和吐丝期。在第 1、2、5、6、8 和 10 染色体上鉴定了控制 ASI 的 QTL,可解释表型方差的 47%。Agrama 和 Moussa(1996)用 SD34 $\times$ SD35 的 120 个 F_2 家系,在第 1、3 和 6 染色体上发现了 3 个控制 ASI 的 QTL。综合有关开花期 QTL 研究,抽雄期 QTL 趋向分布于第 1、3、4、8 和 9 染色体,而控制吐丝期的 QTL 更倾向于分布在第 1、8 和第 9 染色体。大多数作图群体都在第 6 染色体上发现控制 ASI 的 QTL。Beavis 等(1994)用 B73 $\times$ Mo17 的 F_2 群体在 1、2 和 9 染色体上定位了 4 个控制 ASI 的 QTL。Veldboom 和 Lee(1996)就株高与开花期对玉米作耐旱研究,在 1、2、6、7、8 和 10 染色体上定位了 10 个控制 ASI 的 QTL。

2.2 干旱胁迫下玉米结穗率 QTL

结穗率是玉米子粒产量的重要构成因素,与玉米在干旱胁迫下仍保持高产有很大的关系。Veldboom 等(1994)与 Lee(1996)利用 Mo17 $\times$ H99 组合的 150 个 F_{23} 构建的 RFLP 遗传图谱,对子粒产量及产量构成因素在胁迫环境下进行 QTL 分析。其中单株穗数的 QTL 被分别定位在第 1、3、4、6 和 8 染色体。李新海等(2003)在干旱条件下于第 2 和 5 染色体上各检测到 1 个控制 ASI 的 QTL,仅能解释 13.6% 的表型变异,而在第 3、7、10 染色体上共检测到 4 个影响结穗率的 QTL,可解释 60.4% 的表型变异。1996 年,Austin 和 Lee 以及 Agrama 和 Moussa 也对胁迫环境下的单株穗数进行 QTL 定位,在第 1、3、5、6 和 8 染色体上发现相关 QTL。他们的研究表明,单株穗数与子粒产量高度相关,可以作为干旱胁迫下玉米产量的辅助性状对耐旱性进行选择。

2.3 干旱胁迫下玉米子粒产量 QTL

Ribaut 等(1997)研究了 3 种水分处理下(正常灌溉、中度胁迫、严重胁迫)的子粒产量及穗数、子粒数、百粒重的 QTL。结果在不同环境下对每个性状检测到 1~7 个 QTL,位于第 1、2、4、6、7、8 和 10 染色体。此外,还发现 4 个重叠 QTL 区域共同控制产量

与 ASI,其中有 3 个 QTL 共同增加产量与减小 ASI,且等位基因的来源一致,这为在干旱胁迫下通过间接选择 ASI 来提高产量提供了遗传学证据。Agrama 和 Moussa(1996)在 SD34 × SD35 中发现 5 个与产量相关的 QTL,位于第 1、3、5 和 8 染色体,能解释表型变异的 50%。Austin 和 Lee 以 Mo17 × H99 为作图群体在干旱条件下发现 5 个与产量相关的 QTL,位于第 1、3、5、6 和 8 染色体。Davis(1999)比较分析了 Mo17 × H99 组合的 F₂₃ 和 F₆₇ 在胁迫(低温,湿润)和非胁迫两种环境下检测到产量及穗粗、穗长、单株穗数、粒重等产量相关性状的 QTL,有 59 个 QTL 至少在一种环境下被检测到,其中仅有 10 个 QTL 在两种环境下能同时被检测到。用环境平均值可检测到 32 个 QTL,但有 8 个 QTL 却不能在单个环境中被检测出,这说明 QTL 与环境之间存在明显互作,且对 QTL 检测有不可忽视的影响。

从以上分析可以看出,在玉米的每条染色体均发现有与耐旱性相关的 QTL,而且一些染色体区段对开花期、结穗率和产量性状有同样的效应,其中在 1、5、7、8、9 染色体上耐旱相关 QTL 分布较多。另外,每个染色体上也有 QTL 密集区段。本实验室采用生物信息学方法在 10 个定位群体中发现了与 9 个农艺及生理性状有关的 181 个 QTL,借助高密度玉米分子标记连锁图谱 IBM 构建了全长 3582.1cM 的玉米耐旱相关性状的 QTL 比较图谱,发掘出 15 个“通用耐旱 QTL”及其连锁标记。另外,利用一个相对饱和的遗传图谱,也在 3 个环境两种水分处理下用两种作图方法找到了 65 个耐旱相关的 QTL,分布在除第 7 和第 10 以外的其他染色体上。其中在第 1 (1.03Bin) 和第 9 (9.04 ~ 9.05Bin) 染色体上的两个 QTL 与前人的研究高度重叠,且解释的表型变异率非常高。因此,这些研究所得出的耐旱 QTL 密集区段对于将来分析玉米耐旱机制和分子育种可能有重要意义。

3 玉米耐旱相关 QTL 研究的薄弱环节及研究展望

到目前为止,在 GREMENE 网站注册了 9 871 个 QTL,其中 1 681 个涉及到玉米,而涉及到耐逆性状的 QTL 只有 757 个。与耐旱性有关的 QTL 数目之所以少,主要是因为耐旱性是一个很难准确测量的数量性状,检测出一个真正的耐旱 QTL 需要多年多点的重复实验。样本之间的变异也增加了研究难度。已有研究证实,玉米中小于 500 个家系的样本容

量就很难检测到微效应的 QTL。

基于耐旱 QTL 分析的低通量检测能力,它就不可能提供一个完整的分子检测来解释耐旱遗传机制。例如,在玉米连锁图上一个 15cM 的间隔就可能包含 400 个基因。QTL 图谱只是以概率标准说明在基因组的哪些区段可能存在着影响某数量性状的位点。至于其遗传意义,即这些 QTL 包含有哪些基因、以何种方式影响有关的数量性状仍然是“黑箱”,有待于进一步证实。尽管如此,并没有阻碍 QTL 分析在现代分子遗传和育种领域的发展速度。现在已从不同作物的 QTL 作图研究中获取大量信息,鉴定出一些可能是编码功能蛋白的干旱诱导表达基因。通过图位克隆技术,在拟南芥、水稻和西红柿中克隆了几个重要 QTL。这些研究表明,尽管难度很大,但是随着比较基因作图和作图群体的发展和完善,精细作图以及克隆新的 QTL 已是完全可以实现的。新的遗传材料和大量序列信息的共享技术平台的出现也为研究耐旱调控的遗传基础提供了前所未有的机遇。其中,关联性作图就是建立在连锁不平衡基础之上对传统 QTL 作图方法的一个补充,它利用现有的自然群体重组对发掘的候选基因进行检测,分析等位基因功能多样性,可以检测到微效的 QTL,并且在玉米上定位到几千个碱基水平。尽管这些方法在植物中还处在发展初期,但是在逐步了解植物脱水反应错综复杂的遗传与代谢网络的过程中,对调控重要农艺性状的 QTL 候选基因克隆方面提供了大量有用的信息。

分子标记辅助选择 (Marker Assisted Selection, MAS)是借助与目标基因紧密连锁的分子标记,鉴定标记基因型,从分离群体中筛选出含有目标基因的个体,从而加速育种进程。CML247 是一个优良的热带自交系,在水分充足的情况下产量较高,但是在干旱胁迫下却表现极差,主要原因是雌雄开花不协调。为了提高 CML247 在干旱胁迫下的产量,用 AC7643 作为供体,杂交后获得 F₂ 群体,进行遗传分析,找到与干旱相关的 QTL,其中有 5 个 QTL 确定被回交转入到受体中去。经过两轮回交和两轮自交以后,选择 70 个材料与 CIMMYT 的 2 个测验种杂交,对测验种进行田间评估,结果即使是在异常高温、严重水分胁迫的情况下,70 个中选材料的测交产量明显高于对照(CML247 与同样的 2 个测验种杂交),而且在水分正常的情况下,来源于 MAS 的杂交种也没有减产。目前,MAS 技术已经在玉米育种上得到广泛应用,借助 MAS 经过多次回交和杂交可以把不同的有利

基因聚合到同一个遗传背景,达到培育优质、高产和抗逆新品种的目的。

参考文献:

- [1] Edmeades G O, Bolaños J, Chapman S C, Lafitte H R, Bänziger M. Selection improves drought tolerance in tropical maize populations: I gains in biomass, grain yield, and harvest index[J]. *Crop Science*, 1999, 39: 1306–1315.
- [2] Bruce W B, Edmeades G O, Barker T C. Molecular and physiological approaches to maize improvement for drought tolerance[J]. *Journal of Experimental Botany*. 2002, 53(336): 13–25.
- [3] Blum A. Towards standard assays of drought resistance in crop plants. In: Ribaut JM and Poland D eds. *Molecular approaches for the genetic improvement of cereals for stable production in water-limited environments*[M]. A Strategic Planning Workshop held at CIMMYT. El Batán. Mexico. 1999.
- [4] McCue K F, Hanson A D. Drought and salt tolerance: towards understanding and application[J]. *Trends in Biotechnology*. 1990, 8: 358–362.
- [5] Bänziger M, Lafitte H R. Breeding tropical maize for low N environments. II. The values of secondary traits for improving selection gains under low N[J]. *Crop Science*. 1997, 37: 1110–1117.
- [6] Tuberosa R, Salvi S, Sanguineti M C, Landi P, Maccaferri M, Conti S. Mapping QTLs regulating morpho-physiological traits and yield: case studies, shortcomings and perspectives in drought-stressed maize[J]. *Annals of Botany*. 2002, 89: 941–963.
- [7] Sax K. The association of size differences with seed-coat pattern and pigmentation in *Phaseolus vulgaris*[J]. *Genetics*, 1923, 8: 552–560.
- [8] Helentjaris T, Slocum M, Whright S, Schaefer A, Nienhuis J. Construction of genetic linkage maps in maize and tomato using restriction fragment length polymorphisms[J]. *Theoretical and Applied Genetics*. 1986, 72: 761–769.
- [9] Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijmans M, van de Lee T, Hornes M, Frijters A. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*[J]. 1995, 23: 4407–4414.
- [10] Ribaut J M, Jiang C, González-de-león D, Edmeades G O. Identification of QTL under drought conditions in tropical maize. I Flowering parameters and the anthesis-silking interval[J]. *Theoretical and Applied Genetics*. 1996, 92: 905–914.
- [11] Agrama H A S, Moussa M E. Mapping QTLs in breeding for drought tolerance in maize (*Zea mays* L.)[J]. *Euphytica*. 1996, 91: 89–97.
- [12] Beavis W D, Smith O S, Grant D, Fincher R R. Identification of quantitative trait loci using a small sample of topcrossed and F₄ progeny from maize[J]. *Crop Science*. 1994, 34(4): 882–896.
- [13] Veldboom L R, Lee M, Woodman W L. Molecular-marker-facilitated studies in an elite maize population. I. Linkage analysis and determination of QTL for morphological traits[J]. *Theoretical and Applied Genetics*. 1994, 88:7–16.
- [14] Veldboom L R, Lee M. Genetic mapping of quantitative trait loci in maize in stress and nonstress environments. 2. Plant height and flowering[J]. *Crop Science*, 1996, 36(5):1320–1327.
- [15] Li X H, Liu X D, Li M S, Zhang S H. Identification of quantitative trait loci for anthesis-silking interval and yield components under drought stress in maize[J]. *Acta Botanica Sinica*. 2003, 45: 852–857.
- [16] Austin D F, Lee M. Comparative mapping in F-2:3 and F-6:7 generations of quantitative trait loci for grain yield and yield components in maize[J]. *Theoretical and Applied Genetics*. 1996, 92(7): 817–826.
- [17] Ribaut J M, Jiang C, González-de-león D, Edmeades G O, Hoisington D. Identification of QTL under drought conditions in tropical maize. II Yield components and marker-assisted selection[J]. *Theoretical and Applied Genetics*. 1997, 94: 887–896.
- [18] Davis G L, McMullen M D, Baysdorfer C, Musket T, Grant D, Staebell M, Xu G, Polacco M. A maize map standard with sequenced core markers, grass genome reference points and 932 expressed sequence tagged sites(ESTs) in a 1736-locus map[J]. *Genetics*. 1999, 152: 1137–1172.
- [19] 李雪华, 李新海, 郝转芳, 等. Consensus map of the QTL relevant to drought tolerance of maize under drought conditions[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2005, 38(5): 882–890.
- [20] Melchinger A E, Utz H F, Schon C C. Quantitative trait locus (QTL) mapping using different testers and independent population samples in maize reveals low power of QTL detection and large bias in estimates of QTL effects[J]. *Genetics*. 1998, 149: 383–403.
- [21] Neill S J, Burnett E C. Regulation of gene expression during water deficit stress[J]. *Plant Growth Regulation*. 1999, 29: 23–33.
- [22] Paran I, Zamir D. Quantitative traits in plants: beyond the QTL[J]. *Trends in Genetics*. 2003, 19(6): 303–306.
- [23] Salvi S, Tuberosa R. To clone or not to clone plant QTLs: present and future challenges[J]. *Trends in Plant Sciences*. 2005, 10(6): 297–304.
- [24] Flint-Garcia S A, Thuiller A C, Yu J M, Pressoir G, Romero S M, Goodman M M, Buckler E S. Maize association population: a high-resolution platform for quantitative trait locus dissection[J]. *The Plant Journal*. 2005, 44: 1054–1064.

(责任编辑:朴红梅)