

Genetic Analysis of Segregation Distortion of Molecular Markers in Maize F₂ Population

YAN Jian-Bing¹, TANG Hua¹, HUANG Yi-Qin¹, ZHENG Yong-Lian¹, LI Jian-Sheng^{1,2,①}

(1. National Key Lab of Crop Genetic Improvement, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;

2. National Maize Improvement Center of China, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

Abstract: A genetic linkage map of maize was constructed using 150 SSR and 24 RFLP markers with F₂ population from an elite hybrid (Zong3 × 87-1). Among 174 markers covering whole maize 10 chromosomes 49 markers (28.1%) showed the genetic distortion ($P < 0.05$). Of the total segregation distortion markers 11 markers (22.5%) deviated toward male parent Zong3 while 12 markers (24.5%) deviated toward female parent 87-1, besides 25 markers (51.0%) distorted to heterozygote. Only one marker distorted to both parents. Totally 14 segregation distortion regions (SDRs) were detected among 9 different chromosomes. Four of them were located in near regions where gametophyte genes were mapped indicating that segregation distortion may be caused by gametophyte genes partially. Two segregation distortion regions SDR6-1 and SDR7-1 detected in this study seemed to be new segregation distortion regions. In this paper reasons for segregation distortion and effects of segregation distortion on genetic mapping and QTL analysis were discussed. Regarding to QTL analysis with single locus, segregation distortion would not affect QTL mapping, but regarding to analysis of digenic interactions for epistasis, the fewer distortion markers and larger size population would be needed.

Key words: maize; segregation distortion; molecular markers

玉米 F₂ 群体分子标记偏分离的遗传分析

严建兵¹, 汤 华¹, 黄益勤¹, 郑用琰¹, 李建生^{1,2,①}

(1. 华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室, 武汉 430070;

2. 中国农业大学国家玉米改良中心, 北京 100094)

摘要: 以优良玉米杂交组合(综3 × 87-1)的 F₂ 群体为材料, 构建了包含 150 个 SSR 标记和 24 个 RFLP 标记的玉米分子标记连锁图。通过对 174 个分子标记的分析, 发现有 49 个分子标记表现偏分离 ($P < 0.05$), 占总标记数的 28.2%。这些偏分离标记有 11 个偏向父本综3, 占 22.5%; 12 个偏向母本 87-1, 占 24.5%; 25 个偏向杂合体, 占 51.0%。还有 1 个标记同时偏向双亲。同时在 9 条不同的染色体上发现 14 个偏分离的热点区域, 其中 4 个与已经定位的配子体基因的位置相近, 由此表明配子体基因是导致偏分离的部分原因。所发现的 SDR6-1 和 SDR7-2 似乎是两个新的偏分离热点区域。进一步讨论了引起偏分离的原因, 以及偏分离标记对 QTL 定位的影响。对于单位点的 QTL 分析而言, 偏分离标记一般不会影响 QTL 定位的位置和效应, 对于两位点的上位性分析而言, 则要求较少的偏分离标记和较大的群体。

关键词: 玉米; 偏分离; 分子标记

中图分类号: Q943; S513

文献标识码: A

文章编号: 0379-417X(2003)10-0913-06

收稿日期 2002-12-23; 修回日期 2003-05-18

基金项目 国家自然科学基金重大项目(39893350)和国家重大基础研究项目(2001CB108801)资助 [This work was supported by NNSF of China (39893350) and National Basic Research Project (2001CB108801)]

作者简介: 严建兵(1976-)男, 汉, 湖北崇阳人, 博士研究生, 研究方向 植物分子生物学

① 通讯作者。E-mail: lij@s163bj.com; Tel: 86-10-62892422

遗传偏分离是自然界非常普遍的现象,并被认为是生物进化的动力之一。产生偏分离的原因可能与配子体或孢子体的选择有关^[1]。近年来,RFLP、SSR、RAPD、AFLP等各种分子标记已被广泛的应用于构建不同作物的遗传图谱,如玉米^[2~5]、水稻^[6]、高粱^[7]、大豆^[8,9]等。在这些研究中,分子标记偏分离的现象均被观察到。同时发现,在分子标记连锁图上存在偏分离的热点区域。在这些区域可能有与偏分离相关的特定基因。然而,对于不同作物的不同群体,偏分离的热点区域是否是共同的,还有待于对不同作物更多群体的深入分析,此外,分子标记的偏分离是否会影响到基因的定位和遗传分析的结果也是普遍关注的问题。因此,偏分离的遗传分析已成为分子标记作图领域的热点课题之一。本研究的目的在于,分析玉米(综3×87-1) F_2 群体分子标记的分离比例,借助于分子标记连锁图谱,检测玉米分子标记偏分离的热点区域,寻找可能与偏分离相关的基因,为利用分子标记定位玉米重要农艺性状和产量性状的QTL提供有益的信息。

1 材料和方法

1.1 供试材料

选用优良玉米杂交组合(综3×87-1)为基础材料。经 F_1 自交得到266个 F_2 单株。在幼苗期采集 F_2 单株的叶片用于抽取DNA。

1.2 分子标记连锁图构建

参照Saghai等^[10]的方法提取亲本和群体总DNA。从公开发表的玉米分子标记图谱中挑选能均匀覆盖全基因组的479个分子标记,其中SSR标记375个,RFLP标记104个,进行亲本多态性检测。SSR和RFLP分析分别参照Senior等^[11]和Gardiner等^[2]的方法进行。用Mapmaker version 3.0^[12]构建分子标记连锁图($LOD > 3.0$)。

1.3 偏分离的统计分析

借助RFLP和SSR标记划分 F_2 群体的基因型,将实际观察值逐一按孟德尔分离的理论比率(1:2:1)进行 χ^2 测验,推断是否存在偏分离,并对照亲本基因型,确定偏分离的方向。

2 结果分析

2.1 群体基因型组成

利用174个共显性标记(150个SSR和24个RFLP)构建了覆盖玉米10条染色体的分子标记连锁图,总长度为2531.6 cM,平均间距14.5 cM。基于双亲分子标记的基因型,对 F_2 266个单株的基因型分析表明(图1):个体基因型组成来源于母本综3的纯合染色体片段在11.0%~42.8%之间,平均是24.5%;个体基因型组成来源于父本87-1的纯合染色体片段在10.6%~40.0%之间,平均为23.7%;双亲杂合的片段在36.0%~64.6%之间,平均为51.9%。 χ^2 测验结果表明($P = 0.9269$):在整个群体中,基于分子标记的分析,双亲染色体同源片段分离符合1:2:1的理论分离比例。

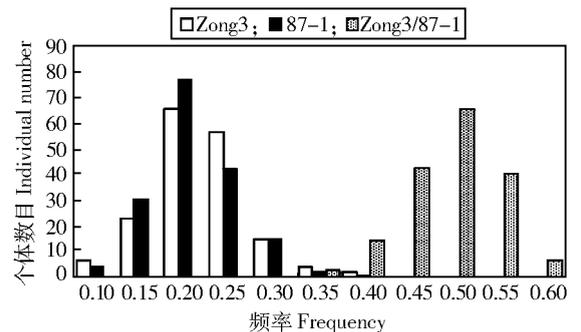


图1 群体基因型组成比例

Fig. 1 Histogram for genotypic percentage in population

2.2 标记偏分离的频率

在统计的174个分子标记中,当 $P < 0.05$ 时,共有49个标记表现偏分离,频率为28.1%,当 $P < 0.01$ 时,有25个标记表现偏分离,频率为14.4%(表1)。在所有49个偏分离标记中,11个(22.5%)偏向综3,12个(24.5%)偏向87-1,25个(51.0%)偏向杂合体,还有1个同时偏向双亲。从表1还可以看出,偏分离标记几乎分布于所有10条染色体上。本研究所检测到的偏分离显著高于Gardiner等^[2]利用“永久 F_2 群体”观察到的10.8%的比例。但与Austin和Lee^[4]在玉米 $F_{6,7}$ RIL群体中观察到的29%的频率相当。

表 1 标记偏分离 χ^2 测验的结果Table 1 Chi-square test for segregation distortion of markers in F₂ population

| 标 记 Markers | 染色体 Chr. | 基因型 Genotype in F ₂ population | | | χ^2 | 偏离方向 Direction of skewed |
|----------------|-------------|-------------------------------------------|-----|-----|----------|-----------------------------|
| | | A/A | B/B | A/B | | |
| bnlg2180 | 1 | 62 | 86 | 108 | 10.75** | 87-1 |
| bnlg1811 | 1 | 47 | 84 | 126 | 10.75** | 87-1 |
| umc1035 | 1 | 30 | 86 | 141 | 26.83** | 87-1 |
| bnlg1556 | 1 | 54 | 85 | 126 | 7.89* | 87-1 |
| umc128 | 1 | 29 | 102 | 124 | 41.98** | 87-1 |
| bnlg1643 | 1 | 18 | 34 | 41 | 6.8* | 87-1 |
| umc1158 | 3 | 46 | 77 | 131 | 7.81* | 87-1 |
| bnlg2291 | 4 | 47 | 79 | 133 | 8.09* | 87-1 |
| umc108 | 5 | 48 | 81 | 136 | 8.4* | 87-1 |
| bnlg1617 | 6 | 61 | 97 | 89 | 29.76** | 87-1 |
| npi285 | 10 | 88 | 26 | 113 | 33.87** | 87-1 |
| umc1169 | 1 | 47 | 74 | 143 | 7.35* | Heterozygote |
| umc1122 | 1 | 29 | 84 | 150 | 28.2** | Heterozygote |
| umc2032 | 2 | 46 | 75 | 143 | 8.2* | Heterozygote |
| nc003 | 2 | 60 | 45 | 157 | 12.03** | Heterozygote |
| csu29 | 3 | 56 | 39 | 132 | 8.57* | Heterozygote |
| umc2127 | 3 | 60 | 52 | 152 | 6.54* | Heterozygote |
| bnlg1035 | 3 | 57 | 44 | 152 | 11.61** | Heterozygote |
| bnlg1047 | 3 | 56 | 45 | 162 | 15.06** | Heterozygote |
| bnlg1350 | 3 | 65 | 47 | 152 | 8.51* | Heterozygote |
| bnlg1621 | 4 | 46 | 69 | 142 | 6.95* | Heterozygote |
| umc1317 | 4 | 39 | 62 | 161 | 17.77** | Heterozygote |
| bnlg1217 | 4 | 47 | 73 | 141 | 6.87* | Heterozygote |
| bnlg1755 | 4 | 38 | 72 | 148 | 14.55** | Heterozygote |
| bnlg1023 | 4 | 32 | 61 | 162 | 25.26** | Heterozygote |
| bnl17.7 | 5 | 55 | 44 | 139 | 7.39* | Heterozygote |
| umc2373 | 5 | 45 | 72 | 139 | 7.58* | Heterozygote |
| bnlg398 | 7 | 59 | 23 | 128 | 22.41** | Heterozygote |
| bnlg2233 | 7 | 80 | 28 | 157 | 29.46** | Heterozygote |
| umc1034 | 8 | 56 | 56 | 152 | 6.06* | Heterozygote |
| umc12 | 8 | 56 | 38 | 131 | 8.96* | Heterozygote |
| umc1033 | 9 | 38 | 62 | 164 | 19.87** | Heterozygote |
| phi065 | 9 | 44 | 57 | 147 | 9.96** | Heterozygote |
| bnlg127 | 9 | 41 | 71 | 146 | 11.45** | Heterozygote |
| bnlg102 | 9 | 47 | 59 | 147 | 7.78* | Heterozygote |
| csu28 | 9 | 52 | 39 | 171 | 23.2** | Heterozygote |
| bnlg1014 | 1 | 58 | 30 | 99 | 9.03* | Zong3 |
| bnlg1083 | 1 | 80 | 42 | 113 | 12.63** | Zong3 |
| umc66 | 4 | 54 | 28 | 90 | 8.23* | Zong3 |
| umc1692 | 5 | 91 | 50 | 117 | 15.26** | Zong3 |
| umc85 | 6 | 84 | 51 | 106 | 14.12** | Zong3 |
| phi077 | 6 | 95 | 55 | 109 | 23.35** | Zong3 |
| umc21 | 6 | 78 | 46 | 119 | 8.53* | Zong3 |
| bnlg1364 | 7 | 78 | 50 | 135 | 6.14* | Zong3 |
| mme0171 | 7 | 112 | 37 | 113 | 47.88** | Zong3 |
| umc1291 | 10 | 109 | 51 | 103 | 37.93** | Zong3 |
| bnlg1451 | 10 | 85 | 51 | 130 | 8.82** | Zong3 |
| csu48 | 10 | 45 | 72 | 124 | 6.25* | Zong3 |
| bnlg2077 | 2 | 42 | 41 | 50 | 8.2* | Zong3 87-1 |

* 在 $P = 0.05$ 的概率水平; ** 在 $P = 0.01$ 的概率水平。

* at 0.05 significant level; ** at 0.01 significant level.

2.3 偏分离的热点区域

对图2的进一步分析发现,许多偏分离标记以成簇的形式分布在染色体的特定区段,形成偏分离的热点区域(SDR, Segregation Distortion Regions)。在这些区域,大部分临近的偏分离标记朝同一个方向发生偏分离。本研究共检测到14个偏分离热点区域,分别命名为SDR1-1, SDR1-2, SDR2, SDR3-1, SDR3-2, SDR4-1, SDR4-2, SDR5, SDR6-1, SDR6-2, SDR7-1, SDR7-2, SDR9和SDR10。在这些热点区域,

SDR1-1和SDR1-2偏向父本——87-1,而SDR6-1, SDR6-2, SDR7-1和SDR10偏向母本——综3。其他8个SDR偏向杂合体。在玉米中,已经定位了5个直接影响花粉竞争能力的配子体基因^[13],分别是 $ga1(4.02)$, $ga2(5.05)$, $ga7(3.09)$, $ga8(9.02)$, $ga10(5.00 \sim 5.09)$ 。值得注意的是本研究所发现的SDR4-1, SDR5-1, SDR3-2, SDR9的位置分别与已定位的配子体基因非常相近。虽然在 $ga10$ 所在区域没有发现相应的SDR,但在其附近仍发现了一个偏分离标记 $umc108$ 。因此,有理由认为,这些区域标记

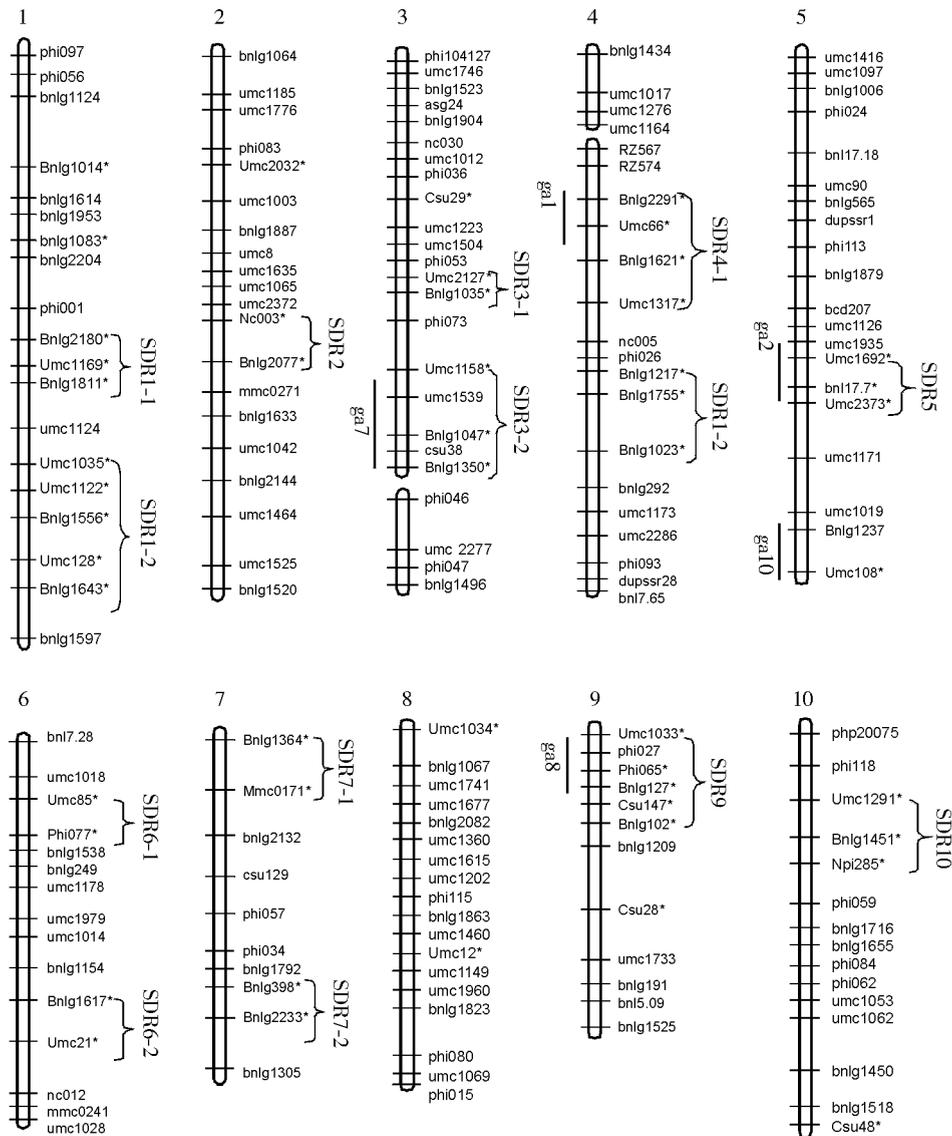


图2 偏分离标记在分子标记连锁图上的分布

* 表示偏分离标记, SDR 偏分离的热点区域, 字母后面的数字表示 SDR 所在的染色体及其编号。

Fig. 2 Distribution of segregation distortion regions in molecular linkage map

* represents a distortion marker, SDR means segregation distortion regions,

and numbers following SDR represent chromosome locations.

的偏分离可能是由配子体选择所致。Lu 等^[3]比较 4 个玉米群体分子标记偏分离的情况,同样发现偏分离的区域与配子体基因位点相关。本研究检测到的一些偏分离热点区域与前人的结果是相似的,比如 SDR4-1 在玉米 F₂ 群体^[2],在 F_{6:7} RI 群体^[4],F₂ Syn3 群体^[3]中都同时发现。又如标记 nc003 在 F_{6:7} RI 群体^[4],F₂ Syn3 群体^[3]都发现存在偏分离现象。而本研究发现的 SDR6-1 和 SDR7-2 似乎是两个新的偏分离热点区域。这些研究进一步证明偏分离标记在染色体上并不是随机分布,而是存在一定的热点区域。

3 讨论

3.1 偏分离产生的原因

在不同作物和同一作物不同群体中都发现了遗传标记的偏分离现象。一般认为偏分离是由于雄配子体选择引起的,在水稻中已经定位了 11 个导致偏分离的雄配子体基因^[14],玉米中也定位了 5 个配子体基因^[13]。本研究有 47% 的偏分离标记是偏向双亲,这种分离可能是因为某些配子体基因引起的,同时还发现了一些与之相关的偏分离热点区域。但值得注意的是还有高达 51.02% 的偏分离标记是偏向杂合,大大高于 Lu 等^[3]观察到的 9% 的频率,也高于 Doebley 等^[15]在玉米/大刍草 F₂ 群体中观察到的 33.3% 的频率,但与 Gardiner 等^[2]在 F₂ 群体中观察到的 56.5% 的频率相当。他们观察到两个偏向杂合体的热点区域分别位于第 3 染色体(3.04 ~ 3.05)和第 5 染色体(5.05 ~ 5.06),与本研究发现的 SDR3-1 和 SDR5 位置相同,偏离方向也一致。在 Doebley 等^[15]的研究中,第 9 染色体上部也发现了偏向杂合的标记,与本研究发现的 SDR9 位置一致。如此多的偏分离标记偏向杂合显然是无法用配子体基因来解释。有研究认为环境因素、非同源重组、基因转换、转座因子,甚至作图群体亲本某些位点的杂合等都是可能的原因^[16],其机制有待于进一步深入研究。

3.2 偏分离标记对 QTL 定位的影响

构建分子标记连锁图的一个重要目的是进行 QTL 定位。目前 QTL 定位常用到的分析方法有单标记分析法^[17],区间作图法^[18],复合区间作图

法^[19]。它们都是基于单位点标记基因型与性状的关联程度来确定特定位置是否存在 QTL。从统计分析的角度上讲,偏分离标记一般不会影响单位点 QTL 定位的准确性。Lu 等^[3]认为如果偏分离是因为单个基因导致的,比如配子体基因,则对 QTL 定位的位置不会产生影响。而如果偏分离是因为两个或者以上的基因引起的,情况则比较复杂。

对于偏分离标记是否影响 QTL 的遗传效应,则需要具体分析。以 F₂ 群体为例,共显性标记存在 3 种基因型, A/A, A/B 和 B/B,某种基因型的估计值等于该基因型所有单株表型的平均值。该估计值的可靠程度依赖于特定基因型单株数目的多少。以本研究中偏分离最为严重的标记 bnlg2233 为例,其父本纯合基因型单株数目在 F₂ 群体中为 10.6% × 266 = 29 株,就统计学的观点而言,这个数字仍认为是一个较大群体,利用其表型的均值进行单位点的 QTL 分析,偏分离标记不会对 QTL 效应产生影响。因此,偏分离标记是否影响 QTL 定位的效应取决于标记的偏分离程度和定位群体的大小。

目前在上位性遗传效应的分析中,通常利用双向方差法^[20]。该方法基本点是检验两个标记之间所涉及到的 9 种基因型互作,即 AABB, AABb, AAbb, AaBB, AaBb, Aabb, aaBB, aaBb 和 aabb。在这种情况下,偏分离标记很容易影响某种基因型性状的表型值。因此,在进行这类分析时,一般会给特定基因型的观察值一个限定值,这个限定值过高,常常会低估上位性 QTL 数目,过低则会导致结果的不准确。因此,在利用双向方差法进行标记之间的互作分析时,偏分离标记越少越好,同时要求有足够大群体。

参考文献(References):

- [1] Lyttle T W. Segregation distorters. *Annu Rev Genet*, 1991, 25: 511 ~ 557.
- [2] Gardiner J M, Coe E H, Melia-Hancock S, Hoisington D A, Chao S. Development of a core RFLP map in maize using an immortalized F₂ population. *Genetics*, 1993, 134: 917 ~ 930.
- [3] Lu H, Romero-Severson J, Bernardo R. Chromosomal regions associated with segregation distortion in maize. *Theor Appl Genet*, 2002, 105: 622 ~ 628.
- [4] 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. *Theor Appl Genet*, 1996, 92: 817 ~ 826.
- [5] Senior L, Chin E, Lee M, Smith J S C, Stuber C W. Simple sequence repeat markers developed from maize sequences found in the GEN-

- BANK database map construction. *Crop Sci* ,1996 36 :1676 ~ 1683.
- [6] Xu Y ,Zhu L ,Xiao J ,Huang N ,McCouch S R. Chromosomal regions associated with segregation distortion of molecular markers in F_2 , backcross ,doubled-haploid ,and recombinant inbred populations in rice (*Oryza sativa* L.). *Mol Gen Genet* ,1997 253 535 ~ 545.
- [7] Pereira M G ,Lee M ,Bramel-Cox P ,Woodman W ,Doebley J ,Whitkus R. Construction of an RFLP map in sorghum and comparative mapping in maize. *Genome* ,1994 37 236 ~ 243.
- [8] Zhang D S ,Chen S Y ,Hui D W ,Zhuang B C. Segregation distortion of RFLP markers in F_2 population of cultivated/semi-wild soybean and the causal analysis. *Acta Genetica Sinica* ,1997 24(4) 362 ~ 367.
张德水 陈受宜 惠东威 庄炳昌. 栽培大豆与半野生大豆杂种 F_2 群体中 RFLP 标记的偏分离及其形成原因的分析. 遗传学报 ,1997 24(4) 362 ~ 367.
- [9] Liu F ,Wu X L ,Chen S Y. Segregation distortion of molecular markers in recombinant inbred populations in soybean (*G. max*). *Acta Genetica Sinica* 2000 27(10) 883 ~ 887.
刘峰 吴晓雷 陈受宜. 大豆分子标记在 RIL 群体中的偏分离分析. 遗传学报 2000 27(10) 883 ~ 887.
- [10] Saghai Maroof M A ,Soliman K M ,Jorgensen R A ,Allard R W. Ribosomal DNA spacer length polymorphisms in barley :Mendelian inheritance ,chromosomal location and population and population dynamics. *Proc Natl Acad Sci USA* ,1984 81 8014 ~ 8018.
- [11] Senior ,Lynn M ,Manfred H. Mapping maize microsatellites and polymerase chain reaction confirmation of the targeted repeats using a CT primer. *Genome* ,1993 36 884 ~ 889.
- [12] Lincoln S , Daly M , Lander E. Mapping genetic mapping with MAPMAKER/EXP3.0. Cambridge :MA :Whitehead institute Technical Report ,1992.
- [13] Coe E H ,Polacco M. Gene list and working maps. *Maize Genetics Cooperation Newsletter* ,1995 694 :157 ~ 191.
- [14] Kinshita T. Report of the committee on gene symbolization ,nomenclature and linkage group. *Rice Genet Newsl* ,1993 8 7 ~ 39.
- [15] Doebley J ,Stec A. Inheritance of the morphological differences between maize and teosinte :comparison of results for two F_2 populations. *Genetics* ,1993 134 559 ~ 570.
- [16] Knox M R ,Ellis T H N. Excess Heterozygosity Contributes to Genetic Map Expansion in Pea Recombinant Inbred Populations. *Genetics* ,2002 162 861 ~ 873.
- [17] Edwards M D ,Stuber C W ,Wendel J F. Molecular-marker-facilitated investigations of quantitative-trait loci in maize. I. Numbers ,genomic distribution and types of gene action. *Genetics* ,1987 116 :113 ~ 125.
- [18] Lander E S ,Botstein S. Mapping Mendelian factors underlying quantitative traits using TFLP linkage maps. *Genetics* ,1989 121 :185 ~ 199.
- [19] Zeng Z B. Precision mapping of quantitative trait loci. *Genetics* ,1994 136 :1457 ~ 1468.
- [20] Yu S B ,Li J X ,Xu C G ,Tan Y F ,Gao Y J ,Li X H ,Zhang Q ,Saghai Maroof M A. Importance of epistasis as the genetic basis of heterosis in an elite rice hybrid. *Proc Natl Acad Sci USA* ,1997 94 :9226 ~ 9231.

(责任编辑 周素)

欢迎订阅 2004 年《果树学报》

《果树学报》是由中国农业科学院郑州果树研究所主办的我国果树专业学术性期刊,着重选发密切结合我国果树科研、教学、生产实际,反映学科学术水平和发展动向的优秀稿件,及时报道重大科研成果、阶段性成果和科研进展情况。栏目设置有专家论坛、研究报告、专论与综述、研究简报及科技简讯,内容包括生物技术、品种与种质资源、生理与栽培、土壤与肥料、植物保护、贮藏加工等,读者对象为本学科的科研人员、大专院校师生、各级管理干部及具有一定文化程度的果树栽培者。

《果树学报》为双月刊,国际标准开本,88页,单月10日出版,铜版纸印刷,每期定价8.00元,全年6期48.00元。挂号每期另加2.00元。全国各地邮局(所)均可订阅,漏订者可直接寄款至本刊编辑部订购。国内代号36-93,国外代号:BM1107。欢迎投稿,欢迎刊登广告。

地址:河南郑州航海东路南中国农科院郑州果树所《果树学报》编辑部

邮编:450009 电话:0371-6815740 传真:0371-6723741 E-mail:chinagsxb@163.com