

玉米和水稻全基因组控制重组频率 QTL 的遗传定位分析

李林¹, 李青¹, 王立博¹, 张祖新², 李建生¹, 严建兵^{1,3}

(¹ 中国农业国家玉米改良中心, 北京 100193, 中国; ² 河北农业大学农学院, 河北保定 071001, 中国;

³ 国际小麦玉米改良中心 (CIMMYT), Apdo. Postal 6-641, 06600, Mexico, D.F, 墨西哥)

摘要: 【目的】尝试利用分子标记和 QTL 定位技术直接定位影响重组频率的 QTL, 探索物种遗传变异难易的分子基础。【方法】分别借助 3 张玉米和 3 张水稻分子标记连锁图, 以所有染色体上标记的交换次数为性状进行分析。【结果】分别定位了 7 个和 11 个影响玉米和水稻重组频率的 QTL。以玉米和水稻高密度分子标记连锁图 IBM302 和 Genetic98 每条染色体上标记的交换次数为性状, 分别在玉米和水稻上定位了 12 个和 57 个 QTL。【结论】影响重组频率的基因真实存在。培育高重组频率材料将有助于加速基因的定位和克隆、比较图位克隆基因和遗传育种进程。

关键词: 数量性状基因座; 重组频率; 分子育种; 图位克隆

Genetic Analysis of QTL Affecting Recombination Frequency in Whole Genome of Maize and Rice

LI Lin¹, LI Qing¹, WANG Li-bo¹, ZHANG Zu-xin^{1,2}, LI Jian-sheng¹, YAN Jian-bing^{1,3}

(¹ National Maize Improvement Center of China, China Agricultural University, Beijing 100193, China; ² Department of Agronomics, Hebei Agricultural University, Baoding 071001, Hebei, China; ³ International Maize and Wheat Improvement Center (CIMMYT), Apdo. Postal 6-641, 06600 Mexico, D.F, Mexico)

Abstract: 【Objective】 Recombination plays an important role in species evolution as well as plant and animal breeding. Here, the number of crossover breakpoints was used as a trait to map the QTL controlling recombination of genomes. 【Method】 Total number of crossover breakpoints across all chromosomes (NCAC) was used as the trait. 【Result】 Seven and eleven QTL were detected in 3 maize and 3 rice genetic populations, respectively. Meanwhile, 12 and 57 more QTL were detected in the maize IBM302 and rice Genetic98 population, respectively, when using the number of crossover breakpoints per chromosome (NCPC) as the trait. The number of QTL detected is strongly correlated with the resolution of the genetic linkage map. 【Conclusion】 These results not only have provided evidences for the true existence of genes controlling recombination frequency, but also facilitate our further research on map-based gene cloning and molecular breeding.

Key words: quantitative trait loci; recombination frequency; molecular breeding; map-based gene cloning

0 引言

【研究意义】染色体在减数分裂时两个位点间的互换称之为重组。重组频率是遗传连锁的度量单位, 常用厘摩 (Centimorgan, cM) 来描述。重组是动植物进化的动力, 也是植物和动物育种和基因定位克隆等研究的基础。重组发生的频率不仅在不同物种间有

显著差别, 即使在同一物种内, 不同染色体部位也不尽相同。寻找影响重组高频率发生的基因或 QTL 可以有助于了解这种现象的分子机制, 对动植物遗传育种和进一步的分子生物学研究也具有积极的意义。【前人研究进展】20 世纪 60 年代, Nelson^[1]在研究玉米 *wx* 基因时就发现, 两个 *wx* 突变体的杂交 F₁ 后代出现 *Wx* 的频率显著高于理论值, 作者分析认为这可能是由

收稿日期: 2008-09-23; 接受日期: 2008-11-18

基金项目: 国家自然科学基金 (30500322)、国家高技术研究发展计划 (2006AA10Z183, 2006AA10A107)

作者简介: 李林 (1981—), 男, 重庆潼南人, 博士研究生, 研究方向为玉米功能基因组学。Tel: 010-62732444; E-mail: caulilin@163.com。通信作者严建兵 (1976—), 男, 湖北崇阳人, 博士, 研究方向为植物分子生物学。E-mail: yjianbing@cau.edu.cn

wx 基因内的不同位点重组重建了 Wx 基因的功能。迄今对发生这种现象的分子机制还不了解,但这些单个基因的研究证明在基因组中确实存在诱使发生重组的基因。基因组研究的快速发展为在更大范围内研究这种现象提供了可能。Cheng 等^[2]利用水稻高精度的物理图谱并借助 FISH 技术,发现水稻第 10 染色体短臂的重组频率要低于长臂,在着丝粒区域其重组几乎被抑制,但被抑制的范围要小于小麦和大麦。Wu 等^[3]进一步分析了水稻的其它 6 条染色体,结果表明不同染色体上重组频率有显著差异,6 条染色体的着丝粒区域的重组完全被抑制,其比例占到 6 条染色体总长度的 11.4%。这种基于全基因组物理图谱和 FISH 杂交等技术的研究,有助于了解这一复杂的生物学现象,但若单纯为这一目的,却显得过于费时费力。过去 20 年来,分子标记技术快速发展,建立了各类分离群体(如 F₂, BC, RIL, DH 等),并在此基础上构建了几乎所有重要物种的高密度分子标记连锁图。这些信息为在全基因组范围了解重组频率分布提供了可能。组成群体的单株一般都是由特定两个亲本不断杂交和自交发展而来,其染色体片段会发生重组,根据分子标记基因型可以计算每个单株在重组过程中染色体发生断点的次数,理论上这种交换次数的多少反应了重组频率的高低,并可作为一个性状直接进行 QTL 分析而检测影响重组发生的染色体热点区域。从而比较研究不同物种或同一物种不同群体间控制重组频率的遗传学和分子机制。Dole 和 Weber 首次通过统计分析方

法验证了通过利用重组近交系进行重组频率 QTL 定位的可行性^[4]。Esch 等^[5]利用在玉米,小麦,拟南芥和小鼠分子标记连锁图将重组频率作为一个数量性状进行了遗传学定位分析,找到了一批影响重组频率的 QTL。【本研究切入点】水稻和玉米是世界上最重要的两种禾本科作物,同时也常作为遗传研究的模式植物。经过几十年的积累,各类分子标记,高密度分子标记连锁图,物理图谱,以及各种序列信息非常丰富。同时玉米和水稻在进化上亲缘关系比较近,大约在 5 000 万年前由同一物种分化而来^[6],分子标记和序列水平的比较研究都显示其不仅基因的数量、位置具有很高的保守性^[7-9],同时控制相同或相近性状的 QTL 也具有保守性^[10-11]。【拟解决的关键问题】本研究收集了 3 张玉米和 3 张水稻分子标记连锁图的数据,以期通过定位重组频率的 QTL,并通过比较图谱分析两物种中重组频率 QTL 的异同,探讨控制玉米和水稻重组频率的分子机制,为遗传和育种研究提供有益信息。

1 材料与方法

1.1 分子标记连锁图收集

本研究分别用到 3 张玉米和 3 张水稻分子标记连锁图谱,其中玉米的 Z3/87-1 和 B73/By804 图谱由中国农业大学国家玉米改良中心构建, B73/Mo17 (IBM302) 来自于 Maizemap, 3 张水稻遗传连锁图谱来自于 RGP 网站。

详细信息见表 1。

表 1 本研究所用到的玉米和水稻群体及连锁图信息

Table 1 Genetic linkage maps used in this study

物种	群体名称	群体类型	群体大小	标记数目	染色体总长	标记间平均间距	来源
Species	Population name	Population type	Population size	Marker number	Genome coordinate (cM)	Mean dist. of markers (cM)	Sources
玉米	Z3/87-1	RIL	294	263	2370.8	9.0	Tang et al, 2007 ^[12]
Maize	B73/By804	RIL	245	243	1644.9	6.8	Chander et al, 2008 ^[13]
	B73/Mo17 (IBM302)	RIL	302	1338	6242.7	4.7	www.maizemap.org
水稻	AsoIR24	RIL	71	375	1460.3	3.9	http://rgp.dna.affrc.go.jp/Publicdata.html
Rice	Genetic98	F ₂	186	2275	1521.9	0.7	http://rgp.dna.affrc.go.jp/Publicdata.html
	Akihikari/Koshihikari	DH	212	169	1179.8	7.0	http://rgp.dna.affrc.go.jp/Publicdata.html

1.2 数据分析

1.2.1 表型数据分析 本文中采用如下 3 种衡量重组的表型参数,综合获取重组表型数据:一是直接对全基因组所有标记进行交换次数的评估;二是对每条

染色体所有标记进行相应的交换次数的统计;还有一种就是利用单位物理或遗传距离内标记之间的交换次数来进行性状表型值的评估。本研究对获取的所有连锁图谱进行了基于所有标记的表型数据挖掘,同时对

于高密度的 IBM302 及 Genetic98 遗传连锁图谱,既进行了针对每条染色体所有标记的表型统计,又进行了随机挑选间隔 (10±2) cM 的骨干核心标记进行重组次数进一步计数,以此作为表型值进行分析,骨干标记挑选具体步骤为:(1)随机选取一个起始标记(遗传距离具有相对性,所以任意的起始位点都可以);

(2)以 10 cM 为间隔,以起始标记位置加上 10,查找是否存在一个标记,它的位置减去上一个核心标记加上 10 的位置的绝对值小于或等于 2,如果这样的标记不止一个,就取这个绝对值最小的,如果没有这样的标记,就将上一个核心标记位置加 10 乘以 n (n 取 1, 2, 3...),再重复寻找下一个核心标记,直到找到为止;(3)反复试验不同起始标记的选择,再重复(1)与(2),直到找到的每一个连锁群核心标记数最多为止,并以此挑选的标记为最终的骨干标记。

本研究以各个群体中标记的交换次数为衡量重组频率的性状。具体交换计数如下:首先,将各个遗传连锁图谱基因型数据按照各个连锁群,依遗传图距递增顺序排列基因型带型数据。然后,以各个连锁群为单位,进行交换次数的统计。在 DH 或 RIL 群体中某

一家系某一连锁群中标记基因型带型每变化一次该家系重组交换的次数自动增加一次;如果带型缺失,则忽略不记。在 F₂ 等分离群体中,某一家系某一连锁群中标记基因型带型每向某一亲本带型变化一次,该家系重组交换的次数自动增加一次;如果向杂合带型变化一次,则重组次数增加 0.5 次;如果带型缺失,则忽略不记。如此计算得到每个遗传连锁群在群体构建过程中发生的重组次数,最后,将各个连锁群的重组次数累加作为该家系的总的重组次数,并利用 SAS 进行正态分布检验和基本统计分析。具体计算方法如表 2 和表 3 所示, M1~M8 为依次分布于某一遗传连锁群上的遗传标记,在 DH 或者 RIL 群体中编号为 1 的单株在构建过程中发生重组次数根据遗传标记 M1~M8 基因带型的变化计算, M1 基因型为某一亲本基因型, M2 为另一亲本基因型,说明在此位点发生了一次交换,重组次数为 1,而在 M3 染色体区域又回复到前一亲本基因型,表明又发生了一次交换,重组次数计为 2;在 M4 与 M5 又出现了一次基因型的变化,重组次数再加 1, M6 与 M7 的变化再次增加一次重组次数,最后 M7~M8 也发生了一次基因型的变化使得

表 2 DH 或 RIL 群体的重组频率计算方法

Table 2 Method of calculating the number of crossovers in DH or RIL population

标记 Marker name	群体单株编号 Individuals in the population						
	1	2	3	4	5	...	n
M1	1	1	0	1	1	...	1
M2	2	2	1	2	2	...	2
M3	1	1	1	1	1	...	2
M4	1	2	2	2	2	...	2
M5	2	2	2	2	2	...	2
M6	2	1	2	2	2	...	1
M7	1	0	1	2	1	...	1
M8	2	2	2	0	2	...	2
交换次数 Number of crossovers	5	5	3	3	5	...	3

表 3 F₂ 分离群体的重组频率计算方法

Table 3 Method of calculating the number of crossovers in F₂ population

标记 Marker name	群体单株编号 Individuals in the population						
	1	2	3	4	5	...	n
M1	1	3	0	1	1	...	1
M2	2	2	1	2	2	...	2
M3	3	1	1	1	1	...	2
M4	1	2	2	2	3	...	2
M5	3	2	2	3	3	...	3
M6	2	1	2	2	3	...	1
M7	1	0	1	2	1	...	1
M8	2	2	3	0	2	...	2
交换次数 Number of crossovers	5	4.5	2.5	4	4	...	3

重组次数最终计为 5, 其它皆可以此类推。

1.2.2 QTL 定位分析 利用 QTL Cartographer 软件自带的复合区间作图法^[14], 进行单位点 QTL 检测, 采用标准模型 6, 背景控制为 10 个标记, 窗口为 5.0 cM, 采用正向回归模型, 在 $P=0.05$ 水平进行 1 000 次模拟测验, 超过给定 LOD 阈值则认为该区域存在一个真实 QTL, QTL 的 LOD 峰值分别向两边降低一个 LOD 值所在的区域为 QTL 的置信区间, 如果两个紧密连锁 QTL 的置信区间互不重叠, 则认为是两个独立的 QTL, 否则被当作一个 QTL, 本研究利用 QTL Cartographer 软件自身自带 QTL 自动识别程序将检测到的 QTL 输出。B73/Mo17 (IBM302) 和 Genetic98 具有高密度分子标记, 分别把各条染色体的标记交换次数和所有染色体的交换次数的总和分别当作性状进行 QTL 定位分析, 同时随机挑选间隔 (10±2) cM 的骨干标记进行交换次数计数, 把所有染色体的重组次数进行总和进行定位分析, 其它遗传连锁图谱遗传标记相对较少, 只把染色体所有标记的交换次数的总和当作性状进行 QTL 定位分析。

1.2.3 QTL 比较分析 利用 QTL-Finder 软件将水稻和玉米各个遗传连锁图谱的总重组频率 QTL 定位结果分别整合到水稻和玉米的标准图谱。再根据水稻和玉米全基因组水平微共线性比较图谱, 利用 QTL-Finder 软件进行全基因组扫描, 比较重组 QTL 在两个物种中的保守关系。依据如下原则: 玉米 QTL 最高 LOD 值所在的染色体位点正负 20.0 cM 的区域中至少含有 2 个基因序列与水稻某一 QTL 最高 LOD 值所在位点正负 10.0 cM (约为 1.6 Mb) 范围内具有微共线性关系, 则认为这两个重组 QTL 在玉米和水稻中是同源 QTL。

2 结果与分析

2.1 表型数据分析

AsoIR24, Akihikari/Koshihikari, B73/By804 和 Z3/87-1 群体其标记平均交换次数分别为 22.7, 15.0, 28.2, 41.4, 而 Genetic98 和 IBM302 连锁图由于具有较高的标记密度, 因而具有较大的交换次数, 在包含所有标记时分别为 333.1 和 107.8 (表 4), 当进行单位距离挑选骨干标记进行计数时分别为 32.2 和 25.7。SAS 统计分析结果如表 4 所示, 本研究中所用到的 3 个玉米和 3 个水稻群体重组频率表型的偏度与峰度都小于 1, 且正态性检验都达到了显著水平, 符合正态分布, 属于典型的数量性状。

2.2 QTL 分析

利用 QTL Cartographer 分别对 6 个群体所有标记交换计数而来的表型数据与基因型进行 1 000 次模拟测验, 在 $P=0.05$ 水平, 分别确定 QTL 存在的阈值。以总的交换次数为性状, 在玉米的 3 个群体中各定位到 2 个影响重组频率的 QTL, 总计 6 个, 分布于第 1、3、7 和 9 号染色体上, 这些 QTL 解释的表型变异介于 4.8%~9.8%之间。在这 3 个群体中没有定位到相同的 QTL (表 5)。在水稻 3 个群体中共定位到 7 个重组频率 QTL, 分别位于 1、2、6 和 7 号水稻染色体上, 解释表型变异方差介于 13.2%~20.0%之间。其中, 在 AsoIR24 群体中定位 3 个重组频率 QTL; 在 Genetic98 和 Akihikari/Koshihikari 群体中各检测到 2 个 QTL。其中 *qRRB6-8* 具有较高的 LOD 值 (10.2), 能解释 13.3%的表型变异 (表 5)。

在玉米和水稻高密度连锁图 IBM302 和 Genetic98 中, 各条染色体重组频率 QTL 定位显示, 在 IBM302

表 4 玉米、水稻各个群体的重组次数的特征数

Table 4 Statistic summary of NCAC in eight populations

	AsoIR24	Akihikari/ Koshihikari	Genetic98 全部标记 Genetic98 with all markers	Genetic98 核心标记 Genetic98 with core markers	B73/By804	Z3/87-1	IBM302 全部标记 IBM302 with all markers	IBM302 核心标记 IBM302 with core markers
交换次数变化范围 Range of NCAC	13.0~33.0	6.0~25.0	300~362	23.0~43.5	14.0~43.0	22.0~71.0	65.0~150.0	11.0~42.0
平均交换次数 Mean of NCAC	22.7	15.0	333.1	32.2	28.2	41.4	107.8	25.7
偏度 Skewness	-0.2	0.1	-0.1	-0.1	0.2	0.8	0.6	0.7
峰度 Kurtosis	-0.2	-0.0	0.3	0.2	-0.3	0.8	-0.1	0.8
标准误 Standard error of mean	0.5	0.4	0.8	0.3	0.4	0.5	0.9	0.3
标准差 Standard deviation	4.6	3.8	11.1	3.5	6.1	8.8	22.2	9.1

表 5 遗传群体总重组频率 QTL 定位结果

Table 5 Putative QTL result for NCAC

群体	QTL ^a	标记	置信区间 ^b	LOD	A ^c	D ^c	R ²	备注 ^d
Population		Flanking markers	Confidence interval					Note
B73/By804	<i>qMRB9-1</i>	bnlg1401-umc1037	25.6~25.8~30.1	2.9	2.1	-	5.7	×
	<i>qMRB9-2</i>	umc1258-umc1688	40.9~42.0~44.6	4.3	2.4	-	7.3	√
Z3/87-1	<i>qMRB1-1</i>	umc2112-umc2025	232.6~233.6~242.3	4.4	4.1	-	9.8	√
	<i>qMRB1-2</i>	ch2c03-umc1395	248.5~249.1~252.4	3.1	-3.2	-	4.5	×
IBM302 全部标记	<i>qMRB3-3</i>	mmc0312-umc1908	210.1~210.6~210.8	3.6	7.5	-	6.0	√
IBM302 with all markers	<i>qMRB7-1</i>	php20909b-phi069	501.3~504.9~515.3	3.6	7.0	-	5.2	√
IBM302 核心标记	<i>qMRB5-3</i>	rz567a-mmp169	451.8~452.5~456.8	3.68	-3.1	-	13.0	√
IBM302 with core markers								
AsoIR24	<i>qRRB1-1</i>	XNpb113-C86	16.9~19~27.3	3.8	2.1	-	19.0	×
	<i>qRRB1-2</i>	XNpb93-C3029C	27.3~30~38.1	3.3	2.0	-	18.0	×
	<i>qRRB2-1</i>	C978-Ky6	7.0~12.0~16.6	4.6	2.2	-	20.0	×
Akihikari/Koshihikari	<i>qRRB2-2</i>	C1221-G275	10~12.6~16.2	4.6	-1.6	4.1	14.5	×
	<i>qRRB7-1</i>	R2401-R1488	33.9~34.9~41.1	5.3	-1.1	-7.4	16.3	×
Genetic98 全部标记	<i>qRRB6-7</i>	B174-B204B	90.9~95.1~98.6	6.2	9.9	-3.1	13.2	√
Genetic98 with all markers	<i>qRRB6-8</i>	B174-B204B	98.6~101.6~104.4	10.2	10.2	-4.4	13.3	√
Genetic98 核心标记	<i>qRRB3-5</i>	C721-R1713	6.0~7.9~9.3	4.4	1.8	-0.6	10.0	√
Genetic98 with core markers	<i>qRRB5-7</i>	C597-S2136	3.0~9.5~14.3	10.3	3.0	-1.5	31.6	√
	<i>qRRB5-8</i>	C249-R569	40.4~40.4~43.9	6.2	-0.6	-1.5	1.2	√
	<i>qRRB6-7</i>	R2266-W475	85.4~86.7~88.3	3.2	1.5	-1.3	8.8	√

^a为 QTL 的名称, 采用如下编号方式: q=QTL, M=maize, RB=Recombination, 第一个数字代表 QTL 所在染色体, 第二个数字代表 QTL 的编号; ^b为定位 QTL 的置信区间, 依次为 QTL 的置信区间起点、最高 LOD 值位置和置信区间终点; ^c为检测 QTL 的加性效应值; ^d“√”表示在相应水稻染色体找到同源 QTL, “×”表示没有同源 QTL; “-”表示 QTL 的显性效应值

^a QTL was named in the following way, q=QTL, M=maize, RB=Recombination, the first number is the located chromosome of the QTL, the second number represents the serial number of the QTL in the chromosome; ^b The coordination of the QTL, the three number represents the beginning of the QTL confidence interval, the location with the highest LOD score and the end of the QTL confidence interval, respectively; ^c The additive effect of the QTL; ^d “√” means that a homologous QTL was detected in rice and maize syntenic region, “×” means no homologous QTL; “-” The dominant effect of the QTL

中, 总共检测到 12 个 QTL (表 6), 分别位于 1 号 (3 个)、3 号 (2 个)、5 号 (2 个)、8 号 (2 个) 和 9 号 (3 个) 染色体中, 解释的表型变异介于 5.2%~17.4% 之间。其中, 以第 1 和 5 号染色体标记的交换次数为性状检测到的 5 个重组频率 QTL 都位于自身染色体上; 而以第 2、3、6、8 和 10 号染色体标记交换次数为性状检测到的 QTL 分别位于第 1、9、5、3、1、3 和 8 号染色体上。另外, 以第 4、7 和 9 号染色体标记交换次数为性状没有检测到 QTL。在水稻 Genetic98 遗传连锁图中, 以单条染色体标记交换次数为性状共检测到 57 个 QTL, 解释的表型变异方差介于 3.1%~66.0% 之间, 单条染色体检测到的 QTL 数目在 2~8 个之间。每条染色体的重组 QTL 皆定位于该染色体自身上, 且都具有较高的 LOD 值。其中, 第 5 号染色

体重重组 QTLqRRB5-6 定位于第 5 号染色体的 B2H12—B344 之间, 具有 51.2 的 LOD 值, 能解释 66.0% 的表型变异 (表 7)。

单位物理或者遗传距离 (10cM) 随机挑选骨干标记进行总重组频率 QTL 定位结果与表 5 所示, 在连锁图谱 IBM302 中只检测到一个 QTL 位点, 其位于第 5 染色体的 rz567a—mmp169 之间, 能解释 13% 的表型变异。在水稻连锁图谱 Genetic98 中, 总计检测到 4 个控制重组频率的 QTL 位点, 它们分别位于第 3、5 和 6 号染色体中, 其中最大能解释 31.6% 的 QTL 位于第 5 号染色体的 C597—S2136 之间, LOD 为 10.3, 可能为一个控制重组的主效位点。其它 QTL 可解释表型变异在 1.2%~10% 之间。

比较 IBM302 和 Genetic98 遗传图谱总的重组频率

表 6 玉米 IBM302 遗传连锁图谱各条染色体重组频率 QTL 定位结果

Table 6 Putative QTL for NCPC detected in maize IBM302 population

QTL ^a	性状 ^f Trait	标记 Flanking markers	置信区间 ^b Confidence interval	LOD	A ^c	R ²
<i>qMRB1-3</i>	Chr1	php20603-php20689	92.0~99.8~109.3	3.4	1.6	5.2
<i>qMRB1-4</i>	Chr2	php20603-php20689	91.2~99.8~109.4	4.9	2.4	7.5
<i>qMRB9-3</i>	Chr2	gta101c-bnlg1012	273.8~277.9~281.8	3.6	-2.3	6.9
<i>qMRB9-4</i>	Chr2	bnlg1012-ufg70	281.8~284~285.6	4.3	-2.3	6.5
<i>qMRB9-5</i>	Chr2	umc1492-umc1120	292~293.7~298.9	4.3	-2.2	6.5
<i>qMRB5-1</i>	Chr3	mmp170-umc1792	561.7~565.5~568.4	3.8	-1.2	5.8
<i>qMRB5-2</i>	Chr5	umc1355-mmp108a	245.2~248.9~249.8	4.9	-1.8	9.4
<i>qMRB3-1</i>	Chr6	mmc0312-umc1908	205.9~210.6~212.3	3.9	0.9	6.1
<i>qMRB1-5</i>	Chr8	bnlg1598-umc1123	483~487.3~491.6	4.9	1.1	7.7
<i>qMRB3-2</i>	Chr8	mmc0312-umc1908	208.8~210.6~211.6	4.4	1.0	6.5
<i>qMRB8-1</i>	Chr10	hda103-umc1316	337.1~338.9~339.6	4.6	1.0	6.9
<i>qMRB8-2</i>	Chr10	bnl12.30a-umc1149	346.2~348.8~358.4	5.0	1.6	17.4

^a, ^b, ^c 参见表 5 说明; ^f 用某条染色体的交换次数来进行 QTL 定位, 以该染色体号来代表这个性状名称

^a, ^b, ^c; see legends in table 5; ^f The number of crossovers of the given chromosome was regarded as the trait for QTL mapping

与各染色体重组频率定位结果发现, 在 IBM302 群体中利用全基因组总重组频率和以各染色体重组频率为表型分别进行定位分析发现它们有共同的影响重组频率的 QTL 位点, 如影响总重组频率的 QTL 位点 mmc0312 - umc1908 区域同时也控制着第 6 号、第 8 号染色体重组频率。同理, 在水稻中笔者也发现了这样的现象, 控制水稻总重组频率的 QTL 位点 *qRRB6-7* 和 *qRRB6-8* 在以第 6 号染色体的重组频率为表型进行 QTL 定位中被检测到。但笔者也发现在以总重组频率进行遗传定位分析挖掘到的 QTL 位点远远少于以各染色体重组频率为表型时所检测到 QTL 数目, 也说明了以各条染色体的重组频率进行 QTL 挖掘具有更强的剖析能力。

进一步分析比较利用所有标记进行表型统计与随机挑选相隔 (10±2) cM 骨干标记进行遗传定位结果, 可以发现在玉米中并没有共同 QTL 位点在两种方案中都检测到, 但是利用间隔骨干标记检测到的位点 *qMRB5-3* 位于利用所有标记进行的第 3 号染色体重组频率 QTL 位点 *qMRB5-1* 上游 50cM 左右; 在水稻中比较发现除了 *qRRB6-7* 与第 6 号染色体重组频率 QTL 定位位置一样外, 其它都位于所有标记计数定位的 QTL 附近, 如 *qRRB3-5* 位于 *qRRB3-1* 与 *qRRB3-2* 之间, *qRRB5-7* 定位到 *qRRB5-1* 上游, 而 *qRRB5-8* 也位于 *qRRB5-2* 与 *qRRB5-3* 之间。

所有重组 QTL 位点利用其两端共同的标记被整合于玉米和水稻标准图谱, 在 IBM2 FPC0507 中, 19 个玉米重组 QTL 分别分布于 1、3、5、7、8、9 号染色体中, 且具有相对比较高的聚集染色体区域, 其中在 1.02Bin 中有两个重组 QTL, 在第 9 号染色体的 9.03 - 9.05Bin 之间集中分布了 5 个重组 QTL。Gramene_IRGSP_Assm_2005 中, 66 个重组 QTL 分布于所有水稻 12 条染色体中, 与玉米相似, 水稻也具有重组 QTL 聚集区域。其中, 在第 2 号染色体的 C559 和 R1792 标记区间共聚集了 5 个重组 QTL; 3 个重组 QTL 集中分布于 R15559 和 L655 标记区间之中。

3 讨论

3.1 重组频率 QTL 真实存在

许多研究表明, 遗传距离和物理距离存在较大差异。如 Dunham 等^[15]将人类 22 号染色体的物理距离与遗传距离进行了对比, 发现该染色体不同区域的重组率差异很大; 水稻中不同染色体区域每厘摩的物理距离在几十 kb 到上千 kb 不等, 平均为 244 kb^[16], 这些结果都说明基因组中可能存在重组热点。但这些研究结果都是借助于全基因组的高精度遗传图谱和物理图谱比较得出。这里, 笔者利用 QTL 定位的办法, 把不同单株标记带型的变化次数作为反应重组频率的参数, 借助分子标记连锁图定位了一批影响重组

表 7 水稻 Genetic98 遗传连锁图谱各条染色体重组频率 QTL 定位结果

Table 7 Putative QTL for NCPC detected in rice Genetic98 population

QTL ^a	性状 ^f Trait	标记 Flanking markers	置信区间 ^b Confidence interval	LOD	A ^c	D ^c	R ²
<i>qRRB1-3</i>	Chr1	C113-R2151S	47.4~49.2~50.3	32.9	3.6	-0.9	44.0
<i>qRRB1-4</i>	Chr1	R3072-M163	93.5~96.3~97.8	7.5	-1.6	-0.3	6.4
<i>qRRB1-5</i>	Chr1	G302-R1485	102.8~103.6~104.4	3.7	-1.7	-0.4	3.5
<i>qRRB1-6</i>	Chr1	S12805-C727	144.8~145.3~147.1	8.8	2.3	-0.1	8.5
<i>qRRB2-3</i>	Chr2	S10889-R1738	11.5~13.5~15	41.2	2.9	0.4	59.1
<i>qRRB2-4</i>	Chr2	S1511-G1327	19.3~20.8~20.9	51.0	3.1	0.3	65.3
<i>qRRB2-5</i>	Chr2	T82-R2344	24.9~26.3~27.2	11.6	1.7	0.2	9.0
<i>qRRB2-6</i>	Chr2	C1408-S1911	124.4~125~127.1	5.2	-1.0	0.6	3.2
<i>qRRB2-7</i>	Chr2	G275-C348	140.4~141.5~143.7	4.5	0.7	0.2	3.1
<i>qRRB2-8</i>	Chr2	S824-C1137	145.4~147.3~148.4	5.8	0.9	0.0	3.9
<i>qRRB2-9</i>	Chr2	G7013-G7016	151.4~152.3~153.1	8.1	1.1	-0.1	5.2
<i>qRRB3-1</i>	Chr3	R1468-C721	2.5~4.5~6.1	42.7	3.3	-0.1	59.9
<i>qRRB3-2</i>	Chr3	S2514-S13946	13.7~15.2~15.9	8.2	1.8	-0.1	5.8
<i>qRRB3-3</i>	Chr3	C161-S13802	41.3~42.2~43.3	24.9	-2.6	-0.8	21.7
<i>qRRB3-4</i>	Chr3	S11493-Y3870R	66.3~68.8~74.2	13.3	1.9	0.8	9.8
<i>qRRB4-1</i>	Chr4	P85-C9	3.1~4.8~6.6	6.5	0.9	0.4	10.0
<i>qRRB4-2</i>	Chr4	C708-C820	14~15.4~20.2	11.3	1.2	0.7	16.5
<i>qRRB4-3</i>	Chr4	P28-P158	23.4~25.7~27.8	4.7	0.8	0.4	7.9
<i>qRRB4-4</i>	Chr4	P160-C891	49.5~53.1~56.1	8.1	1.4	-0.5	11.4
<i>qRRB4-5</i>	Chr4	R2406-R2921	62.2~62.7~64.7	6.2	1.2	-0.3	8.9
<i>qRRB5-1</i>	Chr5	R1674-R476	18.1~20.4~21.1	5.2	-0.6	-0.5	3.7
<i>qRRB5-2</i>	Chr5	R2752-S12447	24.8~27.5~34.7	7.6	-0.8	-0.6	5.2
<i>qRRB5-3</i>	Chr5	S2351-R413	52.6~52.6~53.4	13.2	1.7	0.0	10.3
<i>qRRB5-4</i>	Chr5	S2467-R3313	61.4~63~64.9	14.7	1.7	0.0	11.3
<i>qRRB5-5</i>	Chr5	V163-R188	70.8~71.1~72.5	11.5	1.5	0.0	9.2
<i>qRRB5-6</i>	Chr5	B2H12-C1018	98.8~99.9~106.7	51.2	-3.9	0.0	66.0
<i>qRRB6-1</i>	Chr6	M160-Y2587L	28.8~32.7~36.7	5.4	-1.1	-0.4	3.4
<i>qRRB6-2</i>	Chr6	P59-G122	77.4~78.8~80.2	5.4	2.5	-0.7	3.4
<i>qRRB6-3</i>	Chr6	R2266-W475	85.4~86.7~88.3	26.7	4.2	-0.3	22.1
<i>qRRB6-4</i>	Chr6	C882-R276	99.3~101.4~101.5	10.2	3.2	-0.6	8.1
<i>qRRB6-5</i>	Chr6	C259-C962	107.9~109.3~112	12.3	2.7	-0.1	8.5
<i>qRRB6-6</i>	Chr6	R1479-R1888	118.2~118.8~119.5	7.6	1.6	0.2	5.6
<i>qRRB7-2</i>	Chr7	T94-R565	14.7~20.1~22.7	12.5	1.5	0.3	4.7
<i>qRRB7-3</i>	Chr7	L538T7-V177	30.7~30.8~33.5	14.0	1.7	0.1	5.7
<i>qRRB7-4</i>	Chr7	C1464-R1788	50.1~50.4~50.7	19.5	2.4	0.0	9.3
<i>qRRB7-5</i>	Chr7	R646-G20	56.3~58.9~62.6	19.1	2.7	-0.1	7.6
<i>qRRB7-6</i>	Chr7	S1001-S14048	66.0~68.0~68.0	32.2	3.1	-0.2	22.1
<i>qRRB7-7</i>	Chr7	V93-P82	77.7~78.2~79.2	22.3	2.0	-0.2	8.6
<i>qRRB8-1</i>	Chr8	T78-G278	3.0~5.4~9.2	18.4	-1.7	0.1	14.2
<i>qRRB8-2</i>	Chr8	V48-C770	12.6~13.2~13.4	14.9	-1.4	0.1	11.0
<i>qRRB8-3</i>	Chr8	G1010-R1813	42.8~44.2~46.2	10.6	1.3	-0.2	7.1
<i>qRRB8-4</i>	Chr8	R80-R2201	48.3~49.6~52.8	9.8	1.4	-0.3	6.4
<i>qRRB8-5</i>	Chr8	L363-S2014	65.8~68.5~70.5	9.0	1.8	-0.3	5.7
<i>qRRB8-6</i>	Chr8	S10631-S10622	76.6~76.7~76.8	24.1	2.3	-0.6	21.4
<i>qRRB8-7</i>	Chr8	S11102-M235	83.8~86.7~88	7.4	1.6	-0.5	4.6
<i>qRRB8-8</i>	Chr8	T95-R1963	113.9~117.5~118	11.9	-1.3	0.0	7.8
<i>qRRB9-1</i>	Chr9	S877-S13769	0~0~0.7	18.9	-1.5	0.6	31.1
<i>qRRB9-2</i>	Chr9	C442-G1085	78.9~81.4~83.3	10.0	-1.5	0.0	14.6
<i>qRRB10-1</i>	Chr10	G1128-C489	15.1~15.4~16.3	33.9	-2.4	-1.9	53.7
<i>qRRB11-1</i>	Chr11	C104-T28	3~4~6.1	15.4	1.7	0.1	8.1
<i>qRRB11-2</i>	Chr11	R2918-C794	9.1~12.2~16.2	12.2	1.8	-0.1	7.1
<i>qRRB11-3</i>	Chr11	F5003-S2137	40.2~42.7~44.4	38.0	3.2	0.4	28.7
<i>qRRB11-4</i>	Chr11	C481S-S12886	113.3~115.2~115.6	50.8	4.0	0.1	43.8
<i>qRRB12-1</i>	Chr12	C732-S790	6.1~7.9~11.6	5.4	-0.7	-0.1	7.9
<i>qRRB12-2</i>	Chr12	S10637-C1336	11.6~13.4~17.4	4.9	-0.7	-0.1	7.2
<i>qRRB12-3</i>	Chr12	R643-R1709	89~89.9~91.8	15.5	2.4	-0.4	29.6
<i>qRRB12-4</i>	Chr12	L405-S11076	108~108.8~109.3	11.2	-1.5	-0.2	20.2

^{a, b, c, e} 见表 5; ^f 用某条染色体的交换次数来进行 QTL 定位, 以该染色体号来代表这个性状名称

^{a, b, c, e}, see legends in table 6; ^f The number of crossovers of the given chromosome was regarded as the trait for QTL mapping

频率的 QTL, 为寻找重组热点区域提供了新的思路。本研究分别利用了 3 张玉米和 3 张水稻的分子标记图谱, 用两种方法对表型进行评估: 1) 所有染色体的标记的交换次数的总和作为性状。在玉米的 3 张不同来源的分子标记连锁图中共定位到 7 个 QTL; 在水稻的 3 张不同来源的分子标记连锁图中共定位到 11 个 QTL。单个 QTL 解释的表型变异在 1.2% 到 31.6% 之间。2) 考虑到玉米和水稻都用到了一个高密度的分子标记连锁图, 分别是包含 1 338 个标记的玉米 IBM302 图谱, 和 2275 个标记的水稻 Genetic98 图谱, 对这 2 张图谱分别以各条染色体交换次数为单位进行 QTL 定位, 分别定位到 12 和 57 个 QTL, 并且发现一些 QTL 集中分布的区域。这些 QTL 大部分位于自身染色体, 但也有一部分分布在其它染色体上, 这暗示着在这些位点可能存在上位效应。少数 QTL 具有较大的贡献率, 贡献率超过 15% 的 QTL 有 19 个, 而 QTLqRRB5-6 更能解释 66.2% 的表型变异。标记密度显然是影响检测能力的一个重要原因, 在水稻高密度图谱中, 单株标记的平均交换次数达到 333.1, 而玉米 IBM302 群体只有 107.8。同时考虑到基因连锁不平衡的衰退在玉米中比较快, 平均为 1 kb 左右^[17], 而水稻中相对比较慢, 超过 100 kb^[18], 这两点结合起来能部分解释为什么在水稻中能检测到更多的影响重组频率的 QTL。

3.2 重组频率 QTL 定位的意义以及可能的应用

寻找目标重组单株是基因精细定位和克隆的基础, 通常需要发展数以千计或万计的分离群体。如: 水稻落粒 QTL-*sh4* 的图位克隆利用了大约 12 000 个 F₂ 单株^[19]; 精细定位和克隆影响玉米子粒果壳进化的 QTL-*tg1*, 也用到了 3 106 个 F₂ 单株^[20]。最近, Dinka^[21] 统计分析了水稻中 41 个被图位克隆的基因 (QTL) 的情况, 数据显示, 克隆水稻这些基因用到的群体从 208 到 30 000 个不等, 平均为 4 884 个。这些基因所在的染色体区域的重组频率大不相同, 如 Liu 等人^[22] 在克隆水稻白叶枯病基因 *Pi36(t)* 时只对 580 个分离后代进行分析就获得了成功, 而 Zhang 等^[23] 在克隆水稻基因 *chl9* 时, 尽管发展了超过 10 000 个单株的群体, 并对其中的 2 458 个后代进行了基因型分析, 但仍然只能把目标基因限定在 1 500 kb 以内。前者的目标基因区域是一个重组热点区域, 每厘摩的物理距离只有 28.2 kb, 而后者恰恰相反, 每厘摩的物理距离高达 14 718 kb。笔者进一步比较了这 41 个基因的染色体位置与目前定位 QTL 的关系: 23 个基因分布于

定位 QTL 区域附近, 与克隆基因紧密连锁的 2 个分子标记的平均 R 值 (物理距离和遗传距离的比值)^[21] 为 280 kb/cM; 18 个基因分布于定位 QTL 位点之外, 平均 R 值为 1 337 kb/cM。t 测验分析这两组数据差异达到极显著水平; 但这两组被克隆基因所用的群体大小, 却没有显著差异, Dinka 等^[21] 也重新评估了这些基因克隆所需要的理论分离后代数目, 有相当一部分使用的群体数目超过理论需要值, 这也说明研究人员在发展群体时大都根据自己的经验和承受能力而不是根据实际情况来估计需要的群体数目 (数据未给出)。

这些结果不但侧面证明了笔者所定位的重组 QTL 客观存在, 更提示了在进行基因或 QTL 的精细定位和克隆时可以充分利用这些重组 QTL 的信息, 评估难易并计算所需分离群体的理论值。同时, 在发展群体时, 如果能够有目的地导入一些增加重组频率的 QTL 或基因, 理论上有助于利用较小的群体找到目标重组单株。同时, 还可以通过分子标记辅助选择的办法集中几个效应值大的重组频率 QTL 到一个特定材料中, 作为进一步发展近等基因系或全基因组渗透系群体的受体亲本, 将有助于找到更为丰富的重组后代。重组也是所有育种工作的基础, 这个策略也可以运用到育种过程中, 提高选择过程的重组频率, 利用同样大小的群体, 可以获得更多的重组事件, 从而加速育种进程。

4 结论

本研究以标记基因型的变化对重组进行统计描述, 利用 QTL 定位技术对水稻和玉米重组的遗传基础进行剖分, 分别定位了 7 个和 11 个影响玉米和水稻全基因组总重组频率的 QTL, 在玉米和水稻高密度连锁图 IBM302 和 Genetic98 中, 分别定位了 12 和 54 个影响各条染色体重组频率 QTL, 证实了重组 QTL 的真实存在, 为进一步利用重组进行育种与基因克隆等研究提供了理论支持。

致谢: 本研究所用到的数据大部分从网上直接下载; Zong3/87-1 和 B73/By804 重组自交系的标记数据主要由汤继华博士, 马西青, 郭玉秋, 腾文涛博士, 张俊博士, 丁俊强博士, 刘亚博士, 杨小红老师等完成, 特别致谢。

References

- [1] Nelson O E. The waxy locus in maize. I. Intralocus frequency estimates by pollen and by conventional analyses. *Genetics*, 1962,

- 47(6): 737-742.
- [2] Cheng Z, Presting G G, Buell C R, Wing R A, Jiang J. High-resolution pachytene chromosome mapping of bacterial artificial chromosomes anchored by genetic markers reveals the centromere location and the distribution of genetic recombination along chromosome 10 of rice. *Genetics*, 2001, 157(4): 1749-1757.
- [3] Wu J, Mizuno H, Hayashi-Tsugane M, Ito Y, Chiden Y, Fujisawa M, Katagiri S, Saji S, Yoshiki S, Karasawa W, Yoshihara R, Hayashi A, Kobayashi H, Ito K, Hamada M, Okamoto M, Ikeno M, Ichikawa Y, Katayose Y, Yano M, Matsumoto T, Sasaki T. Physical maps and recombination frequency of six rice chromosomes. *Plant Journal*, 2003, 36(5): 720-730.
- [4] Dole J, Weber D F. Detection of quantitative trait loci influencing recombination using recombinant inbred lines. *Genetics*, 2007, 177: 2309-2319.
- [5] Esch E, Szymaniak J M, Yates H, Pawlowski W P, Euckler E S. Using crossover breakpoints in recombinant inbred lines to identify quantitative trait loci controlling the global recombination frequency. *Genetics*, 2007, 177: 1851-1858.
- [6] Lai J S, Ma J X, Swigonová Z, Ramakrishna W, Linton E, Llacá V, Tanyolac B, Park Y J, Jeong O Y, Bennetzen J L, Messing J. Gene loss and movement in the maize genome. *Genome Research*, 2004, 14: 1924-1931.
- [7] Ahn S N, Tanksley S D. Comparative linkage maps of the rice and maize genomes. *The Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1993, 90(17): 7980-7984.
- [8] Wilson W A, Harrington S E, Woodman W L, Lee M, Sorrells M E, McCouch S R. Inferences on the genome structure of progenitor maize through comparative analysis of rice, maize and the domesticated panicoids. *Genetics*, 1999, 153(1): 453-473.
- [9] Salse J, Piegú B, Cooke R, Delseny M. New in silico insight into the synteny between rice (*Oryza sativa* L.) and maize (*Zea mays* L.) highlights reshuffling and identifies new duplications in the rice genome. *Plant Journal*, 2004, 38(3): 396-409.
- [10] 严建兵, 汤 华, 黄益勤, 郑用珪, 李建生. 玉米和水稻重要性状 QTL 的比较研究. *遗传学报*, 2004, 31(12): 1401-1407.
Yan J B, Tang H, Huang Y Q, Zheng Y L, Li J S. Comparative analyses of QTL for important agronomic traits between maize and rice. *Acta Genetica Sinica*, 2004, 31(12): 1401-1407. (in Chinese)
- [11] Chardon F, Virlon B, Moreau L, Falque M, Joets J, Decousset L, Murigneux A, Charcosset A. Genetic architecture of flowering time in maize as inferred from quantitative trait loci meta-analysis and synteny conservation with the rice genome. *Genetics*, 2004, 168(4): 2169-2185.
- [12] Tang J H, Teng W T, Yan J B, Ma X Q, Meng Y J, Li J S. Genetic analysis of plant height using a set of recombinant inbred line populations in maize. *Euphytica*, 2007, 155: 117-124.
- [13] Chander S, Guo Y Q, Yang X H, Zhang J, Lu X Q, Yan J B, Song T M, Rocheford T R, Li J S. Using molecular markers to identify two major loci controlling carotenoid contents in maize grain. *Theoretical and Applied Genetics*, 2008, 116: 223-233.
- [14] Zeng Z B. Precision mapping of quantitative trait loci. *Genetics*, 1994, 136(4): 1457-1468.
- [15] Dunham I, Shimizu N, Roe B A, Chissoe S, Hunt A R, Collins J E, Bruskiewich R, Beare D M, Clamp M, Smink L J, Ainscough R, Almeida J P, Babbage A, Bagguley C, Bailey J, Barlow K, Bates K N, Beasley O, Bird C P, Blakey S, Bridgeman A M, Buck D, Burgess J, Burrill W D, O'Brien K P. The DNA sequence of human chromosome 22. *Nature*, 1999, 402(6761): 489-495.
- [16] Chen M S, Presting G, Barbazuk B, et al. An integrated physical and genetic map of the rice genome. *Plant Cell*, 2002, 14: 537-545.
- [17] Remington D L, Thornsberry J M, Matsuoka Y, Wilson L M, Whitt S R, Doebley J, Kresovich S, Goodman M M, Buckler E S. Structure of linkage disequilibrium and phenotypic associations in the maize genome. *The Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2001, 98: 11479-11484.
- [18] Garris A J, McCouch S R, Kresovich S K. Population structure and its effect on haplotype diversity and linkage disequilibrium surrounding the xa5 locus of rice (*Oryza sativa* L.). *Genetics*, 2003, 165: 759-769.
- [19] Li C, Zhou A, Sang T. Rice domestication by reducing shattering. *Science*, 2006, 311 (5769): 1936-1939.
- [20] Wang H, Nussbaum-Wagler T, Li B, Zhao Q, Vigouroux Y, Faller M, Bomblies K, Lukens L, Doebley J F. The origin of the naked grains of maize. *Nature*, 2005, 436(7051): 714-719.
- [21] Dinka S J, Campbell M A, Demers T, Raizada M N. Predicting the size of the progeny mapping population required to positionally clone a gene. *Genetics*, 2007, 176: 2035-2054.
- [22] Liu X Q, Wang L, Chen S, Lin F, Pan Q H. Genetic and physical mapping of Pi36(t), a novel rice blast resistance gene located on rice chromosome 8. *Molecular Genetics and Genomics*, 2005, 274(4): 394-401.
- [23] Zhang H, Li J, Yoo J H, Yoo S C, Cho S H, Koh H J, Seo H S, Paek N C. Rice Chlorina-1 and Chlorina-9 encode ChlD and ChII subunits of Mg-chelatase, a key enzyme for chlorophyll synthesis and chloroplast development. *Plant Molecular Biology*, 2006, 62(3): 325-337.