植物营养与肥料学报 2010,16(3):732-743
Plant Nutrition and Fertilizer Science

作物氮、磷、钾利用相关性状的 QTL 定位研究进展

林海建,张志明,张永中,高世斌,潘光堂*
(四川农业大学玉米研究所,教育部作物基因资源与遗传改良重点实验室,四川雅安 625014)

摘要:选择和培育养分高效的作物品种,结合合理的耕作方式是解决土壤养分缺乏、肥料资源短缺和农业生态恶化等问题的有效途径。作物养分吸收利用等相关性状受微效多基因控制,易于产生基因与基因,基因与环境的互作,难以通过传统的育种手段提高作物养分的吸收和利用效率。然而,数量性状座位(Quantitative Traits Loci, QTL)的定位分析为作物的养分效率的数量性状遗传学研究和高效品种的选育提供了有效的手段和途径。本文主要对近年来国内外利用分子标记对作物养分吸收利用相关性状进行 QTL 定位的研究结果进行综述。

关键词:氮;磷;钾;作物;养分效率;QTL 分析
中图分类号:S311　　**文献标识码**:A　　**文章编号**:1008-505X(2010)03-0732-12

Advancement of QTL analysis for traits associated to N, P and K utilization

LIN Hai-jian, ZHANG Zhi-ming, ZHANG Yong-zhong, GAO Shi-bin, PAN Guang-tang*
(*Corn Institute, Sichuan Agriculture University/Key Lab of Crop Genetic Resources and Improvement, Ministry of Education, Yaan 625014, China*)

Abstract: Nitrogen(N), Phosphorus(P) and Potassium(K) are the three main nutrition elements and play an important role in the process of crop growth. But nutrition deficiency in soil is becoming a global problem caused significant reduction in crop yields. To this effect, excessive fertilizer was applied as insurance so that nutrients will not limit yields in the past few years, however, these high fertilizer application rates are not necessarily sound from an environmental perspective. Take a long-term consideration, the cultivation of high nutrition efficiency crop varieties, combined with the reasonable cultivated practices is one of the most efficient and economical approach to solve these problems. Analysis of QTL for crop nutrition absorption and utilization will facilitate crop breeding of high nutrition efficiency utilization. The research progress of QTL analysis for traits associated to N, P and K utilization mainly in rice, maize and wheat was reviewed.

Key words: nitrogen; phosphrus; potassium; crop; nutrition efficiency; QTL analysis

氮(N)、磷(P)和钾(K)在植物的生长发育过程中具有重要的作用,任何一种元素的缺乏将对植物的正常生长造成严重的影响[1-2]。但是,土壤中这些元素的缺乏已成为一个全球性问题,影响着全球作物产量的提高,通过施肥的方式能够在短时间内解决土壤养分不足的问题。但是,矿产资源的严重缺乏和施用化肥带来的农业生态环境的恶化却是不争的事实[3]。植物吸收养分最直接和最主要的器官是根系。研究表明,大量基因控制着植物根系养分的吸收和利用以及在感应养分不足时根系的适应性变化等过程[4-6]。植物养分吸收利用有关的大多数性状均属于数量性状,受微效多基因控制。然而,随着分子生物学技术的发展与高密度遗传连锁图谱的构建,为将多个 QTL 分解为成单个可操纵的 Mendel 因子提供了强有力的手段和途径。目前,国内外已在水稻、玉米、小麦和大豆等作物的 N、P 和 K 养分吸收利用相关性状上进行了 QTL 分析。虽然大多数研究结果只是对控制这些性状的 QTL 有一个初步的认识,但是,这些研究结果必将为将来进行 QTL 的精细定位及作图位克隆打下基础;也为今后育种专家进行分子标记辅助育种,结合传统和现代的育种方法来提高作物养分吸收利用效率奠定了重要的

收稿日期:2009-04-10　　**接受日期**:2009-08-28
基金项目:国家"863"计划(2007AA10Z172);国家自然科学基金(30700506);国家科技支撑计划(2006BAD01A03)资助。
作者简介:林海建(1981—),男,四川广汉人,博士研究生,主要从事玉米逆境分子生物学与遗传育种研究。E-mail: linhj521@yahoo.com.cn
* 通讯作者 Tel: 0835-2882714, E-mail: pangt1956@yahoo.com.cn

基础,为由“高投入,高产出”的传统农业向“低投入,稳产出、环境友好”的现代农业和谐转变提供有效保证。

1　用于作物养分利用相关性状 QTL 定位的群体与方法

作图群体是进行 QTL 定位的基础。根据群体内个体间遗传差异可将群体划分为初级作图群体和高级作图群体。初级作图群体又分为临时性分离群体和永久性群体。分离群体主要有 F2、F3 和 BC (Back Cross, BC)群体等,其特点是后代中含有杂合基因型,会发生分离,这类作图群体在目前作物养分吸收利用相关性状的 QTL 定位中较为普遍[7-8]; 而永久性群体表现在系间存在基因型差异,但系内基因型相同,这类群体主要以重组自交系群体(Recombinant inbred lines, RIL)和单倍体加倍群体(Double haploid, DH)为代表,也是目前作物养分吸收利用相关性状 QTL 定位中应用得较多的作图群体[9-10]。高级作图群体指以近等基因系为代表的作图群体。其特点在于群体个体间遗传背景相似,仅带有少数供体片段,如导入系(Introgression lines, ILs)和替换系(Substitution lines, SLs)的差异,主要通过回交或 MAS 构建形成,在 QTL 精细定位中应用得较多[11-12]。目前,在作物养分吸收利用相关性状的 QTL 精细定位的研究已有报道。

QTL 定位的方法主要基于性状—QTL 的回归分析,若某数量性状的表型值与被检 QTL 的基因型值回归关系表现显著,则确定该 QTL 的存在。以该分析方法为基础,发展出了区间作图法(Interval mapping, IM)、复合区间作图法(Composite interval mapping, CIM)和混合线性模型的复合区间作图法(Mixed composite interval mapping,MCIM)。其中复合区间作图法在作物养分吸收利用相关性状 QTL 定位中应用得较多[13-15],常用的作图软件主要是 Windows QTL Cartographer V 2.0、Mapmaker/QTL 和 QTLmapper 等。构建遗传连锁图谱是进行 QTL 定位的关键,而目前常用的构建图谱所采用的分子标记主要是限制性长度多态性(Restriction fragment length polymorphism,RFLP)、扩增片段长度多态性(Amplified fragment length polymorphism,AFLP)、随机扩增多态性 DNA(Random amplified polymorphic DNA,RAPD)和简单序列重复标记(Short sequence repeat,SSR)。近年来,酶切扩增多态性序列(Cleaved amplified polymorphic sequences, CAPS)、单核苷酸多态性(Single nucleotide polymorphisms,SNP)和 InDel 插入缺失也被用于高密度遗传图谱的构建。

2　作物氮素吸收利用相关性状的 QTL 定位

氮作为植物生长的三大营养元素之一对作物的生长、发育等过程具有重要的作用。国内外在作物氮素吸收利用相关性状的 QTL 定位进行了大量研究,取得了一些重要的研究结果。在水稻上,不仅有针对不同供氮水平下部分农艺经济性状的研究,同时一些与氮代谢和碳代谢有关的酶活性也纳入了 QTL 研究的范围,并得到了一些重要的研究结果。在玉米上,最值得提及的是几个重要 QTL 的发现,这些 QTL 所在的区域直接指向几个编码谷氨酸合成酶(GS)的基因。这些研究结果不仅说明控制作物氮素吸收利用相关 QTL 是真实存在的,同时也为今后利用这些研究结果改良作物氮素吸收利用特性打下基础。作物氮素吸收利用相关性状的 QTL 定位情况见表 1。

2.1　水稻氮素吸收利用相关性状的 QTL 定位

在水稻上,Lian 等[16]在两种供氮水平下检测到多个对根重 (Root weight, RW)和冠重 (Shoot weight, SW 等性状起作用的 QTL), 并发现 QTL 之间的双基因互作效应还对性状起重要作用。表明 QTL 互作效应不同氮素水平下控制这些性状的重要性; 也说明了 QTL 与 QTL 之间的互作效应是不能被忽略的。Cho 等[17]对两种供氮水平下子粒含氮量、茎秆含氮量和叶片含氮量等 7 个性状进行了 QTL 分析,分别检测到 21 个 S-QTL(Single QTL)和 58 对 E-QTL (Epistatic QTL)对这些性状起作用。表明与水稻氮利用相关性状明显由这些遗传因子所决定,S-QTL 和 E-QTL 在通过 MAS 选择高氮利用效率基因型上都是有用的。

与氮素吸收利用有关的酶活性也成为 QTL 研究的热点。Ishimaru 等[18]在正常供氮条件下分析了 1,5-二磷酸核酮糖羧化酶(Rubisco)、可溶性蛋白含量与叶片含氮量的遗传关系,发现控制 Rubisco 活性和可溶性蛋白含量的 QTL 在叶片不同发育时期存在着相关性。但并没有发现控制叶片含氮量的 QTL 与控制 Rubisco 和可溶性蛋白含量的 QTL 之间的关系。在处理前期,将 1 个控制 Rubisco 活性的 QTL 定位到了第 8 染色体并与一个控制可溶性蛋白含量的 QTL 相关; 在抽穗后 25 d,又检测到 1 个控制 Rubisco 活性的 QTL 并与第 9 染色体上同时与 1 个控制可

表1 作物氮吸收利用相关性状的QTL定位情况

Table 1 Current status of QTL analysis of characters related to nitrogen acquisition and utilization in crops

作物 Crop	群体类型及大小 Population and size	定位性状 Trait	QTL数量 QTL No.		染色体/连锁群 Chromosome/ Linkage group		变异 Variance (%)		合并变异 Combined effect (%)		参考文献 Ref.
			LN	SN	LN	SN	LN	SN	LN	SN	
水稻 Rice	BILsF7, 98	蛋白含量 Protein cont.		8		1,3,4,6,8,9					[18]
		Rubisco 含量 Rubisco cont.		3		9,12					
	DHLs,123 BILs F6, 98	株高 Plant height	6	2	1,2,3,4,5,6	1, 8	10-28	11,24		35	[53]
		GS1 蛋白含量 Prot.Cont.		7		2,4,8,11		4.4-6.3	21.8		[19]
		NADH-GOGAT 含量 Cont.		6		1,2,4,7		4.4-7.7	19.4		
	RIL,239	根干重 Root dry wt.	7	5	3,4,5,9,12	2,5,7,11,12			30.6	11.4	[16]
		茎叶干重 Shoot dry wt.	8	6	1,2,3,4,5,6,12	1,5,6,11			31.9	21.9	
	RIL,166	子粒氮浓度 NCG	1	3	8	8,9,10	32.1	7.5-10.2	31.2	27.9	[17]
		茎秆氮浓度 NCS	1	1	10	9	13.1	11.1	13.1	11.1	
		茎叶总氮量 TNCS	1	1	10	1b	14.1	19.7	14.1	19.7	
		收获指数 Harvest index	2		5b,7b		8.7-23.1		31.8		
		子粒产量 Grain yield	2		2b, 9		6.9-12.9		19.8		
		茎秆产量 Shoot yield	4	3	5a,5b,7b,12b	1b, 8, 8	8.4-9.9	8.4-23.8	37	44.3	
		氮利用效率 NUE	1		9		15.3		15.3		
	DH,107	穗长 Ear length	5	2			13.7-19.2	17,25	78.2	42	[55]
	F3,137	铵态氮吸收能力 Absorption ability of NH_4^+		2		2, 5		15,14		56	[54]
		硝态氮吸收能力 Absorption Ability of NO_3^-		2		5,6		15,14		29	[8]
		氮利用效率 NUE		1		12		18		18	
玉米 Maize	RIL,99	子粒产量 Kernel yield	2	5	3,5	1,1,3,4,5			23	40	[22]
		单株穗数 Ear No. per plant	1	6	3	1,1,1,3,6,8			7	40	
		千粒重 1000-seed wt.	4	5	1,4,4,5	1,2,4,4,5			39	48	
		子粒含N量 Kernel N cont.		2		1,1				13	
		子粒N代谢效率 NME	3	1	1,9,9	3			25	23	
		叶片含N量 Leaf N cont.		5		2,2,5,5,5				28	[21]
		叶片NR活性 NR activity of leaf		5		1,4,5				36	
		叶片GS活性 GS activities of leaf		6		1,1,1,5,5,9				52	
		总氮的转运 TNT		4		1,1,1,2		10.1-16.4		65.9	[9]
		叶片中氮的转运 TLN		4		1,1,2,4		9.3-13.8		52.8	
		茎秆中氮的转运 TSN	1	3	1	4,4,6	9.7	9.2-11.8	9.7	31.3	
		子粒吸氮量 KAN		1		1		10.9		10.9	
	F2;3,203	叶绿素含量 Chl. cont	9	14			10.3-19.77	7.3-16.18			[23]
小麦 Wheat	DHLs, 120	成熟期地上部N累积量(大田)Shoot N accum. at MS (Field)	9	8	2B, 2D, 4A, 4B, 6A,6B,7D	1B,2D, 3B,5A, 5A7B,	5.2-21.9	6.4-15.9			[28]
		地上部干重 Shoot dry wt		4		1B,2B,5D,7B		7.9-10.7		37	
		根系干重 Root dry wt		5		1B,2D,3A, 6A,6A		8.6-19.6		50.6	
		分蘖数 Tiller No.		4		1B,3A, 3D,6A		6.7-12.9		43.1	
		地上部N累计量(水培) N content of Shoot (Hydroponical culture)		4		1A,1B, 5D,7A		4.3-12.6		33.2	

续表 1

作物 Crop	群体类型及大小 Population and size	定位性状 Trait	QTL 数量 QTL No.		染色体/连锁群 Chromosome/ Linkage group		变异 Variance (%)		合并变异 Combined effect (%)		参考文献 Ref.
			LN	SN	LN	SN	LN	SN	LN	SN	
大麦 Barley		开花期叶片含氮量 Leaf N content at FS		2		5,6		13, 8.9		11.9	[13]
		灌浆期叶片含氮量 Leaf N content at GFS		6		3,3,5,6, 6,7,7		9.3-19.2		43.3	
		成熟期叶片含氮量 Leaf N content at MS		8		3,3,4,5, 6,6,7,7		8.1-14.6		29.1	
		开花期叶片硝态氮含量 Leaf NO_3^- content at FS		6		1,3,3,4,6,7		7.8-12.1		34.9	
		灌浆期叶片硝态氮含量 Leaf NO_3^- content at GFS		1		6	16.2		16.2		
		开花期叶片铵态氮含量 Leaf NH_4^+ content at FS		1		2		13.8		13.8	
		灌浆期叶片铵态氮含量 Leaf NH_4^+ content at GFS		8		3,3,3,3, 4,6,6,7		8.1-16.3		37.7	
油菜 Rape	DHLs, 142	果荚长 Pod length		3		4,8,15		8.8-11.9		27.6	[30]
		每荚粒数 Seeds No. per pod	2	2	15,18	15,18	9.6,10.1	8.7,11.4	19.7	20.1	
		子粒千粒重 1000-seed wt	4	3	3,3,5,12	3,3,5	6.3-16.8	7.8-25.2	49.2	40	

注(Note): LN—低 N 水平 Low N; SN—正常水平 Sufficient N; NCG— N concentration of grain; NCS—N concentration of shoot; TNS—Total N of shoot; NUE—N use efficiency; MS—Mature stage; FS—Flowering stage; GFS—Grain filling stage; NME—N metabolism efficiency; TTN—Transportion of total N; TLN—Transportion of leaf N; TSN—Transportion of shoot N.

溶性蛋白含量有关的 QTL 紧密连锁。该研究表明,Rubisco 活性和叶片总氮含量可能受不同的遗传机制控制,而第 8 和第 9 染色体上在不同时期发现的控制 Rubisco 活性与可溶蛋白含量的 QTL 区域,有可能是一因多效的结果。谷氨酸和谷氨酰氨合成酶是氮代谢过程中重要的两个酶类,但调控其活性的分子机制并不十分清楚。Obara 等[19]对谷氨酸合成酶(GS)和谷氨酰氨合成酶(NADH-dependent glutamin synthase, NADH-GOGAT)含量进行了 QTL 分析,分别检测到 7 个控制 GS1 含量和 6 个控制 NADH-GOGAT 含量的 QTL。进一步分析发现,5 个控制 GS1 蛋白含量的 QTL 所在染色体区域与通过用生化标记检测到的 QTL 区域部分重叠;同时还将一个与 C122 标记连锁的控制 NADH-GOGAT 含量的 QTL 定位到了编码 NADH-GOGAT 结构基因附近。随后,Yamaya 等[20]对控制 NADH-GOGAT 含量相关 QTL 作进一步分析,得到了与 Obara 等[19]相似的研究结果。

2.2　玉米氮素吸收利用相关性状的 QTL 定位

关于玉米氮素吸收利用相关性状的 QTL 定位始于 2000 年。Bertin & Gallais[21]利用 RIL 群体通过两年的田间试验,在两种供氮水平下对玉米单株产量(GY)及产量构成因子、子粒含氮量(GNY)和产量氮代谢效率(GME)进行了 QTL 分析并得到多个控制这些性状的 QTL。随后,Hirel 等[22]同样利用该群体在正常供氮水平下对叶片含氮量、谷氨酸合成酶和硝酸还原酶活性(NR)进行了 QTL 分析,得到了一些与叶片含氮量有关的 QTLs。其中 1 个 QTL 与 Bertin & Gallais[21]在高氮水平下检测到的 1 个控制千粒种(TKW)的 QTL 位于同一区域;而另 1 个 QTL 则与两种供氮水平下同时被检测到的 1 个控制 GY 和 TKW 的 QTL 存在重要的相关性。该研究还发现了 2 个控制着叶片 NADH-硝酸还原酶活性(NADH-NR)的主效 QTL,其中 1 个 QTL 与 Bertin & Gallais[21]在两种供氮水平下同时检测得到的 1 个控制 GY 的 QTL 呈负相关,这与 NADH-NR 活性与 GY 和 TKW 负相关的结果是一致的。另外,该研究还发现了 6

个控制着谷氨酸合成酶活性的 QTL,其中 3 个 QTL 定位的区域直接指向于 3 个 GS 基因,*gln1*、*gln2* 和 *gln4* 所在的染色体区域。这些结果表明,控制作物氮素利用相关性状的 QTL 是真实存在的;作物产量的获得与氮素的密切关系可以从控制产量性状的 QTL 与某些控制氮素代谢过程的酶活性的 QTL 之间的关系中得到解释。虽然大多数研究同样属于初步定位,但是,这些研究结果为今后对某些 QTL 的精细定位和图位克隆打下了基础,也是由 QTL 向 QTN 转变的必要准备。

在国内,主要研究集中在不同供氮水平下玉米主要农艺经济和生理性状,而根系性状、氮的吸收转运和同化等与氮吸收利用有关的性状则研究得较少。刘宗华等[23]利用 $F_{2:3}$群体在两种供氮水平下对不同发育时期叶片叶绿素含量进行了 QTL 检测,分别在不同时期检测表型贡献率不一的 QTL,其中两个 QTL 在整个玉米生育期间均能被检测到,推测这两个 QTL 是玉米生长发育所必需,其他的 QTL 均存在时空表达特性。其他一些农艺经济性状,如产量、株型等也进行了不同供氮水平下 QTL 定位的研究[24-27]。

2.3 麦类作物氮素吸收利用相关性状的 QTL 定位

在麦类作物上,An 等[28]分别采用大田和营养液培养的方式,在两种供氮水平下对小麦冠氮累计量及构成因子,苗期茎叶干重(Shoot dry weight, SDW)、根系干重(Root dry weight, RDW)、分蘖数(Tiller number, TN)和植株总氮吸收量(Total plant N uptake, NUP)进行了 QTL 分析。发现 1 个控制 SDW、4 个控制 RDW、2 个控制 TN 的 QTL 与大田环境下被检测得到的 1 个控制 NUP 是相关的。表明大田栽培下的某些特征与水培处理下的某些特征如分蘖数、根系性状等可能由相似的遗传因子控制。氮的储存与分配在植物营养生长和生殖生长过程中发挥着重要的作用[29]。Mickelson[13]对大麦发育过程中氮素的储存与再利用等相关性状进行了 QTL 分析,分别得到多个控制着开花期、灌浆期和成熟期叶片的含氮量的 QTLs;其中,1 和 6 个 QTL 分别控制着灌浆期和开花期硝态氮含量(NO_3^-);8 和 1 个 QTL 分别控制着灌浆期和开花期氨态氮含量(α-NH_2)。进一步分析发现,控制产量的 QTL 和成熟期叶片含氮量的 QTL 在第 3 和 5 染色体上发生部分重叠。染色体 1、3、4、6 和 7 的部分标记之间的区域被发现与硝态氮积累有关。

2.4 油菜在不同氮素水平下相关性状的 QTL 定位

Gul[30]利用甘蓝型油菜 DHLs 系在两种供氮水平下对果荚长度(Pod length, PL)、每荚种子数(Number of seed per pod, NSP)和千粒重(Thousand seed weight, TSW)进行了 QTL 检测。在低氮水平下,检测到 2 控制 NSP 的 QTL,合并变异为 20%;4 个控制 TSW 的 QTL,合并变异为 49%;未检测到与 PL 相关的 QTL。在正常供氮水平下,检测到 3 个控制 PL 的 QTL,解释了表型变异的 27%;3 个控制 TSW 的 QTL,解释了表型变异的 39%,但未检测到控制 NSP 的 QTL。

3 作物磷的吸收与利用相关性状的 QTL 定位

土壤有效磷的缺乏已经成为一个全球性的问题[3]。由于土壤中磷的不可移动性,使得作物往往采用通过根系性状的适应性改变来响应环境中有效磷的缺乏。大量的研究也从根系性状出发,研究控制这些性状的 QTL 在低磷胁迫响应过程中的作用。另外,一些与磷的释放、吸收等相关性状也进行了 QTL 分析。作物磷的吸收与利用相关性状的 QTL 定位情况见表 2。

3.1 水稻磷素吸收利用相关性状的 QTL 定位

Wissuwa[31]在低磷胁迫下对控制水稻磷的吸收(P-uptake,PU)和利用效率(P-use efficiency,PUE)、干物质重(Dry weight,DW)和分蘖数(Tiller number,TN)进行了 QTL 分析。分别检测多个控制这些性状的 QTL。其中 1 个位于 12 号染色体控制 PUE 的主效 QTL 与 2 个控制 PU 的 QTL 存在着相关性,1 个控制 TN 的 QTL 与一个控制 PU 和 DW 的主效 QTL 紧密连锁;研究还发现,2 个控制 TN 的 QTL 与 Ray 等[32]在非低磷环境下检测到的 2 个控制 TN 的 QTL 所在的区域重合,表明这 2 个控制 TN 的 QTL 可能与水稻耐磷饥饿耐受性关系不大。在与 Wissuwa 等[31]同一期发表的刊物上,Ni 等[33]采用水稻 RIL 群体,以相对分蘖能力(Relative tiller ability, RTA)、相对茎叶干重(Relative shoot dry weight, RSDW)和相对根干重(Relative root dry weight, RRDW)进行水稻耐低磷评价,并进行了 QTL 检测,得到一些控制这些性状的 QTL。值得注意的是,在控制 3 个性状的 QTL 中,有 2 个 QTL 均位于染色 1 和 12 的相同标记之间,推测可能是 2 个相同的 QTL;在控制 RTA 和 RSDW 性状的 QTL 中,有 3 个 QTL 均位于染色体 1,6 和 12 相同标记之间,推测可能是 3 个相同的 QTL。由此表明,

水稻的相对分蘖能力与相对干物质产量可能受相似的遗传因子控制,水稻的相对分蘖能力对水稻低磷耐性具有重要的作用。结合 Wissuwa 等[31]的研究发现,水稻第 6 和 12 染色上可能具有较多的控制水稻分蘖的 QTL 的存在。

低磷胁迫下根系的延长、酸性磷酸酶的分泌被认为是水稻耐低磷胁迫的适应性反应[34-35]。Shimizu 等[15]在低磷水平下对控制水稻根系延长的 QTL 进行了分析,得到了一个 QTL,与 Wissuwa 等[31]和 Ni 等[33]定位得到的控制分蘖能力和生物产量的 QTL 均位于同一染色体,但并不在同一区域。Hu 等[36]对两种供磷水平下对水稻酸性磷酸酶(Activity of acid phosphatase, AAP) 进行了 QTL 检测,分别检测到 1 个和 3 个控制 AAP 的 QTL。Wissuwa 等[31]还将一个位于第 12 染色,在 *Pup1* 等位基因区域的控制磷吸收效率的主效 QTL 定位到了 3 个 CM 之间的区域。综合以上水稻耐低磷性状 QTL 研究结果表明,水稻 1、6 和 12 染色体可能具有较多的水稻耐低磷 QTL 的存在。

3.2　玉米磷素吸收利用相关性状的 QTL 定位

玉米耐低磷相关性状的 QTL 定位研究开展得较早,取得了大量的研究结果。早在 1991 年,Reiter[37]等就以干物质重来评价玉米的耐低磷特性并进行了 QTL 分析,得到 5 个 RFLP 标记与目标性状紧密连锁。后来,直接与磷吸收利用有关的根系性状成为 QTL 分析的热点。Zhu 等利用模式组合 Mo17 × B73 的 RIL 群体先后对侧根长度 (Lateral root length, LRL)和数量(Lateral root number, LRN)[14]、种子根长度(Seminal root length)和数量(Seminal root number)[38]和根毛长度(Root hair length, RHL)[39]等性状进行了 QTL 分析。得到了许多控制这些性状的 QTL,但其表型贡献率大多低于 10%。其中,在两种供磷水平下均检测到的 1 个控制 LRN 的 QTL,均位于第 2 染色体标记 nc003 附近,推测可能是同一 QTL。进一步分析发现,1 个控制 LRL 的 QTL 所在的区域与 Reiter 等[37]所报道的 1 个控制玉米苗期干物质产量的 QTL 所在的区域重叠,也有可能是同一 QTL。

根系与真菌形成菌根是高等植物磷缺乏的自我拯救的适应性变化之一[40]。Kaeppler 等[41]利用玉米 RIL 群体,在不同供磷水平和有无菌根等处理下,对玉米苗期生长情况干物质产量进行了 QTL 定位。研究表明,在无菌根浸染下,3 个 QTL 控制着低磷条件下的干物质产量,同时还发现了 1 个控制菌根浸染的 QTL。Chen 等[42]对玉米磷效率和相关生物学性状进行了 QTL 定位研究,在两个地点、两种供磷水平和两种培养环境(大田和水培)下共检测到控制 9 个性状的 QTL 多达 75 个,但是绝大部分 QTL 能解释的表型变异较小,详见表 2。

3.3　小麦磷素吸收利用相关性状的 QTL 定位

到目前为止,对小麦磷吸收利用相关性状的 QTL 定位的报道并不多。Su 等[43]利用小麦 DHLs 群体对两种供磷水平下的根干重(RDW)、分蘖数(TN)、冠磷吸量(Shoot P-uptake, SPU) 和磷利用效率(P-utilization efficiency, PUE) 4 个性状进行了 2 个年份的 QTL 分析。研究共检测到 39 个 QTL,高磷和低磷下分别检测到 20 和 19 个 QTL,分布于 21 个染色体区域。值得关注的是,与标记 Xgwm251 (On chromosomes 4B), Xgwm271.2 (On chromosome 5A), and Xgwm121 (On chromosome 5D) 连锁的 3 个 QTL 簇(QTL cluster),在两个年份的低磷处理下均被发现与较高的 SPU、SDW 和 TN 有关,表明这 3 个位点可能在小麦耐低磷中具有的重要作用。其中有 2 个位点还与小麦的两个春化(Vernalization)基因 VRN-A1(On chromosome 5A)和 VRN-D1(On chromosome 5D)紧密连锁,因此小麦春化作用与低磷耐受性之间的关系还有待进一步研究。这些信息为今后 MAS 技术应用到小麦耐低磷育种奠定了一定的理论基础。

3.4　大豆磷素吸收利用相关性状的 QTL 定位

Yan 等[44]利用大豆 RIL 群体定位得到了 19 个与根毛、有机酸分泌等性状有关的 QTL,分别分布于 8 个连锁群上。其中控制酸分泌有关性状的 QTL 有 9 个、根毛性状的有 8 个、磷吸收的有 2 个。Beebe 等[45]同样利用大豆 RIL 群体在大田两种磷水平和营养液低磷处理下对根系性状进行了 QTL 检测。结果发现,在大田低磷处理下共检测到 8 个 QTL 分别作用于磷积累、根长和比根长这 3 个性状,表型贡献的解释范围是 13.4%~25.0%,而在大田高磷水平下检测到 6 个 QTL 分别作用于以上 3 个性状,解释的表型变异范围是 12.4%~37.4%。在营养液低磷处理下,共检测到 12 个 QTL 控制着根长、主根长,根干重、主根干重和比根长等 5 个性状。表型变异的范围在 8%~25%之间。该研究还对控制各性状的 QTL 与控制种子大小的 QTL 之间的相关性进行了分析,以探讨种子大小与大豆耐低磷之间的关系。崔世友等[46]利用大豆 RIL 群体在两种供磷水平下定位了 7 个 QTL 与耐低磷有关,分别位于 5 个连锁群上,可解释所对应性状表型变异的 4.8%~17.0%;

其中 5 个 QTL 的增效基因来自亲本“波高”,2 个 QTL 的增效基因来自亲本“南农 94-15”。耿雷跃等[47]同样利用大豆 RIL 群体,在两种供磷水平下对茎干重、根干重、根冠比、磷利用效率和磷吸收效率等 5 个性状进行了 QTL 分析,结果在高磷和低磷条件下分别检测到 3 个和 12 个加性的 QTL,分别在 8 个连锁群上,可解释的表型变异是 4.0%~13.8%;另外,在高磷和低磷条件下,分别检测到 12 对和 7 对互作的 QTL,可解释 3.3%~19.9%的表型变异。以上的研究为利用 MAS 技术进行大豆磷高效育种奠定了一定的理论基础。

4　作物钾吸收利用相关性状的 QTL 定位

相对于 N 和 P,作物 K 吸收利用相关性状的 QTL 定位研究得相对较少。Koyama 等[48]等在水稻盐胁迫下发现了一个位于第 1 染色体上控制茎叶 K^+ 离子浓度的 QTL; Lin 等[49]检测到 1 个控制茎叶 K^+ 离子浓度的 QTL,2 个控制根系 K^+ 离子浓度的 QTL,1 个控制根系 K^+ 离子含量的 QTL,但没有发现控制茎叶 K^+ 离子含量的 QTL。进一步分析发现,1 个控制茎叶 K^+ 离子浓度的主效 QTL 与 Koyama 等[48]发现的 1 个同样控制 K^+ 离子浓度的 QTL 在同一区域,但其表型贡献率差异较大,且来自不同的定位群体,因此这 2 个 QTL 是否是同一 QTL 还有待研究。Shimizu 等[15]利用包含 94 个家系水稻 RIL 群体对茎叶中不同处理下,元素的积累情况及干物质重进行了 QTL 定位,发现在钾缺乏下,分别检测到 4 个控制茎叶干重的 QTL,2 个控制钾含量的 QTL,1 个控制铁(Fe)含量的 QTL,3 个控制磷(P)含量的 QTL,3 个控制镁(Mg)含量的 QTL; 此外,在磷缺乏环境下,检测到一个控制钾含量的 QTL。这些研究结果不仅说明植物在对某些元素吸收和利用方面存在着重要的联系,而且对今后研究控制元素吸收利用的 QTL 之间的相互作用也具有重要的意义。

5　问题及展望

目前,在作物养分吸收利用的遗传研究上已取得了重要的进展,但在广度和深度上仍然有限, 植物 N、P 和 K 营养的生理生化机制和耐性的分子机制仍然不十分清楚。由于作物养分效率的基因作用方式十分复杂,大量基因参与了其调控过程,涉及了养分的吸收、利用和转运等过程,因此许多性状都与植物养分吸收利用相关。从这些性状入手,对控制这些性状的基因数量和效应的阐明有助于我们理解植物养分 N、P 和 K 吸收利用的遗传分子机制; 而 QTL 分析正是阐明这些性状的重要工具。QTL 分析为分子标记辅助选择育种奠定了良好的基础,可以明确控制表型性状的基因组区域的位置、效应等特征,帮助了解基因对表型作用的分子机制。但其相关基因的克隆及转基因育种等后续研究还有大量的工作有待完成。

从目前的研究现状看,QTL 定位已经涉及到了水稻、玉米、小麦、油菜和大豆等重要的粮食和经济作物,特别是水稻上的研究更为全面和深入; 然而就定位准确度尚需要全面提高。QTL 与环境的互作往往导致对其鉴定的精度降低,也是进行后期须解决的问题。因此,重复性的多年多点的鉴定是必要的。但是以往的初级定位群体如 BC,F2;3 等群体不具备重复性鉴定的条件。值得庆幸的是,目前用于作物养分相关性状 QTL 定位的群体大多是永久性定位群体,可以解决重复性鉴定的问题。此外,不同的材料(包括作物种类、杂交组合和作图群体)、不同的鉴定指标、不同的筛选压力和不同的鉴定时期也会对 QTL 的重复性造成影响。QTL 与 QTL 之间、QTL 与环境间的互作也是作物养分相关性状的 QTL 定位研究中重要的组成部分。但是由于定位群体类型如 RIL 群体、DH 群体等不能对上位性效应进行有效地检测,因此有必要构建新的此次群体,如永久 F2 群体。另外,受统计方法、定位群体大小和性质、标记饱和程度等诸多因素的限制,目前要对 QTL 互作、上位性效应进行检测还是比较困难。

QTL 定位的最终目的,一方面是寻找与之紧密连锁的分子标记,进行 MAS 育种; 另一方面则是对其进行精细定位,将 QTL 转变为某个基因或核苷酸序列(QTN),借助基因工程等手段对现有资源进行遗传改良。但是,除极少数几个克隆的 QTL 外,目前关于作物养分利用相关性状的 QTL 定位多为初步定位,目标 QTL 离基因的位置还存在一段距离,难以进行图位克隆。对 QTL 进行精细定位目前有 3 种方法,即发展新的统计方法、增加重组的机会和利用次级分离群体。而后者是 QTL 精细定位的主要手段之一。利用次级分离群体的技术关键在于构建单 QTL 的近等基因系或染色体单片段的代换系; 获得目标区间与目标基因紧密连锁的分子标记。这就必须对目标区间的 DNA 序列有所了解,如 EST 序列等,以便设计新的 SSR 标记。因此,作物全基因组序列的测定对 QTL 定位具有重要的推动作用,在这

一点上水稻具有明显的优势。

最后,QTL定位是基于统计学建立起来的一种方法,因此它的发展必然受到新的统计学方法的影响。随着统计学、生物信息学、代谢组学和功能基因组学等学科的融合与发展,将会为QTLs的深入研究提供新的途径和方法。我们深信,随着高通量测序技术的发展,许多物种的的基因组信息将一一被破解,到那时,利用QTL的精细定位、图位克隆,分子标记辅助选择等方法来应用于农业生产将变得越来越普遍。

参考文献:

[1] Nouri M, Stephen C M, Tom G, Max D C. Hybrid and nitrogen influence on pearl millet production in Nebraska: yield, growth, and nitrogen uptake, and nitrogen use efficiency [J]. Agron J., 1999, 91: 737-743.

[2] Sanchez P A, Salinas J G. Low input technology for managing oxisols and ultisols in tropical America [J]. Adv. Agron., 1981, 34: 279-406.

[3] Raghothama K G. Phosphate acquisition [J]. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.,1999, 50: 665-693.

[4] Bi Y M, Wang R L, Zhu T, Rothstein S J. Global transcription profiling reveals differential responses to chronic nitrogen stress and putative nitrogen regulatory components in *Arabidopsis* [J]. BMC Genomics., 2007, 8: 281.

[5] Jiang C F, Gao X H, Liao L L, Nicholas P H *et al*. Phosphate starvation root architecture and anthocyanin accumulation responses are modulated by the gibberellin-DELLA signaling pathway in *Arabidopsis* [J]. Plant physiol., 2007, 145: 1460-1470.

[6] Armengaud P, Breitling R, Amtmann A. The potassium dependent transcriptome of arabidopsis reveals a prominent role of jasmonic acid in nutrient signaling [J]. Plant Physiol., 2004, 136: 2556-2576.

[7] Price A H, Tomos A D. Genetic dissection of root growth in rice (*Oryza sativa* L.). Mapping quantitative trait loci using molecular markers [J]. Theor. Appl. Genet., l997, 95: 143-152.

[8] 方萍,陶勤南,吴平. 水稻吸氮能力与氮素利用率的QTLs及其基因效应分析[J]. 植物营养与肥料学报,2001,7(2): 159-165.
Fang P, Tao Q N, Wu P. QTLs underlying rice root to uptake NH_4-N and NO_3^--N and rice N use efficiency at seedling stage [J]. Plant Nutr. Fert. Sci.,2001, 7(2): 159-165.

[9] Gallais A, Hirel B. An approach to the genetics of nitrogen use efficiency in maize [J]. J. Exper Bot., 2004, 55(396): 295-306.

[10] Quarrie S A, Steed A, Calestani C *et al*. A high-density genetic map of hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) from the cross Chinese Spring SQ1 and its use to compare QTLs for grain yield across a range of environments [J]. Theor Appl Genet., 2005, 110: 865-880.

[11] Wan X Y, Wan J M, Jiang L *et al*. QTL analysis for rice grain length and fine mapping of an identified QTL with stable and major effects [J]. Theor. Appl. Genet., 2006, 112: 1258-1270.

[12] Dilbirligi M, Erayman M, Campbell B T *et al*. High-density mapping and comparative analysis of analysis of agronomically important traits on wheat chromosome 3A [J]. Genomics, 2006, 88(1): 74-87.

[13] Suzanne M, Deven S, Fletcher D *et al*. Mapping of QTL associated with nitrogen storage and remobilization in barley (*Hordeum vulgare* L.) leaves [J]. J. Exper. Bot., 2003, 54(383): 801-812.

[14] Zhu J M, Kaeppler S M, Lynch J P. Mapping of QTL controlling root hair length in maize (*Zea mays* L.) under phosphorus deficiency [J]. Plant Soil, 2005, 270: 299-310.

[15] Shimizu A, Guerta C Q, Gregorio G B *et al*. QTLs for nutritional contents of rice seedlings (*Oryza sativa* L.) in solution cultures and its implication to tolerance to iron-toxicity [J]. Plant Soil, 2005, 275: 57-66.

[16] Lian X M, Xing Y Z, Yan H *et al*. QTLs for low nitrogen tolerance at seedling stage identified using a recombinant inbred line population derived from an elite rice hybrid [J]. Theor. Appl. Genet., 2005, 112: 85-96.

[17] Cho Y I, Jiang W Z, Chin J H *et al*. Identification of QTLs associated with physiological nitrogen use efficiency in rice [J]. Mol. Cells, 2007, 23(1): 72-79.

[18] Ishimaru K, Kobabash N, Ono K *et al*. Are contens of Rubisco, soluble protein and nitrogen in flag leaves of rice controlled by the same genetics? [J]. J. Exper. Boty., 2001, 52(362): 1827-1833.

[19] M Obara, Kajiura M, Fukuka Y *et al*. Mapping of QTLs associated with cytosolic glutaming synthetase and NADH-glutamate synthase in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. J. Exper. Bot., 2001, 52(359): 1209-1217.

[20] Yamaya T, Obara M, Nakajima H *et al*. Genetic manipulation and quantitative-trait loci mapping for nitrogen recycling in rice [J]. J. Exper. Bot., 2002, 53(370): 917-925,

[21] Bertin P, Gallais A. Physiological and genetic basis of nitrogen use efficiency in maize: I. Agrophysiological results [J]. Maydica., 2000, 45: 53-66.

[22] Hirel B, Bertin P, Quillere'I *et al*. Towards a better understanding of the genetic and physiological basis for nitrogen use efficiency in maize [J]. Plant Physiol., 2001, 125: 1258-1270.

[23] 刘宗华,谢惠玲,王春丽,等. 氮胁迫和非胁迫条件下玉米不同时期叶绿素含量的QTL分析[J]. 植物营养与肥料学报, 2008,14(5): 845-851.
Liu Z H, Xie H L, Wang C L *et al*. QTL analysis of chlorophyll content of maize under N-stress and no N-stress at different development stages [J]. Plant Nutr. Fert. Sci., 2008, 14(5): 845-851.

[24] 刘宗华,汤继华,王春丽,等. 氮胁迫与非胁迫条件下玉米不同时期株高的动态QTL定位[J]. 作物学报,2007,33(5): 782-789.
Liu Z H, Tang J X, Wang C L *et al*. QTL Analysis of plant height under N-stress and N-input at different stages in maize [J]. Acta Agron. Sin., 2007, 3(5): 782-789.

[25] 刘宗华,汤继华,卫晓轶,等. 氮胁迫和正常条件下玉米穗部性状的QTL分析[J]. 中国农业科学,2007,40(11): 2409-2417.
Liu Z H, Tang J X, Wei X Y *et al*. QTL mapping of eartraits under low and high nitrogen conditions in maize [J]. Sci. Agric. Sin., 2007, 40(11): 2409-2417.

[26] 郑祖平,黄玉碧,田孟良,谭振波. 不同供氮水平下玉米株型相关性状的QTLs定位和上位性效应分析[J]. 玉米科学, 2007,15(2): 14-18.
Zheng Z P, Huang Y B, Tian M L, Tan Z B. Mapping QTL and epistasis of plant type traits in maize under two nitrogen levels [J]. J. Maize Sci., 2007, 15(2): 14-18.

[27] 郑祖平,何川,李钟,黄玉碧. 两种供氮水平下玉米穗长QTL

定位分析[J]. 玉米科学,2005,13(4): 102-104,108.
Zheng Z P, He C, Li Z, Huang Y B. Detecting QTLs for maize ear length under two nitrogen levels [J]. J. Maize Sci., 2005, 13(4): 102-104, 108.

[28] An D G, Su J Y, Liu Q Y *et al*. Mapping QTLs for nitrogen uptake in relation to the early growth of wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. Plant Soil, 2006, 284: 73-84.

[29] Marschner H. Mineral nutrition of higher plants [M]. London: Academic Press, 1995.

[30] Gul M K. QTL mapping and analysis of QTL x nitrogen interactions for some yield components in *Brassica napus* L [J]. Turk J. Agric. For., 2003, 27 : 71-76.

[31] Wissuwa M, Yano M, Ae N. Mapping of QTLs for phosphorus-deficiency tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Theor. Appl. Genet., 1998, 97: 777-783.

[32] Ray J D, Yu L, McCouch S R, Champoux M C. Mapping quantitative trait loci associated with root penetration ability in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Theor. Appl. Genet., 1996, 92: 627-636.

[33] Ni J J, Wu P, Senadhira D, Huang N. Mapping QTLs for phosphorus deficiency tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Theor. Appl. Genet., 1998, 97: 1361-1369.

[34] He Y, Lian H, Yan X. Localized supply of phosphorus induces root morphological and architectural changes of rice in split and stratified soil cultures [J]. Plant Soil, 2003, 248: 247-256.

[35] Lim J H, Chung I M, Ryu S S *et al*. Differential responses of rice acid phosphatase activities and isoforms to phosphorus deprivation [J]. J. Biochem. Mol. Bio., 2003, 36(6): 597-602.

[36] Hu B, Wu P, Liao C Y *et al*. QTLs and epistasis underlying activity of acid phosphatase under phosphorus sufficient and deficient condition in rice (*Oryza* sativa L.) [J]. Plant Soil, 2001, 230: 99-105.

[37] Reiter R S, Coors J G, Sussman M R, Gabelman W H. Genetic analysis of tolerance to low-phosphorus stress in maize using restriction fragment length polymorphisms [J]. Theor. Appl. Genet., 1991, 82: 561-568.

[38] Zhu J M, Mickelson S M, Kaeppler S M, Lynch J P. Detection of quantitative trait loci for seminal root traits in maize (*Zea mays* L.) seedlings grown under differential phosphorus levels [J]. Theor. Appl. Genet., 2006, 113: 1-10.

[39] Zhu J M, Kaeppler S M, Lynch J P. Mapping of QTL controlling root hair length in maize (*Zea mays* L.) under phosphorus deficiency [J]. Plant Soil, 2005, 270: 299-310.

[40] Wilcox H E. Mycorrhizae[A]. Plant roots - The hidden half[M]. New York: Dekker, 1991. 731-755.

[41] Kaeppler S M, Parke J L, Mueller S M *et al*. Variation among maize inbred lines and detection of quantitative trait loci for growth at low phosphorus and responsiveness to arbuscular mycorrhizal fungi [J]. Crop Sci., 2000, 40: 358-364.

[42] Chen J Y, Xu L, Cai Y L, Xu J. QTL mapping of phosphorus efficiency and relative biologic characteristics in maize (*Zea mays* L.) at two sites [J]. Plant Soil., 2008, 313: 251-266.

[43] Su J Y, Xiao Y M, Li M *et al*. Mapping QTLs for phosphorus-deficiency tolerance at wheat seedling stage [J]. Plant Soil, 2006, 281: 25-36.

[44] Yan X L, Liao H, Beebe S E *et al*. QTL mapping of root hair and acid exudation traits and their relationship to phosphorus uptake in common bean [J]. Plant Soil, 2004, 265: 17-29.

[45] Beebe St E, Rojas-Pierce M, Yan X L *et al*. Quantitative trait loci for root architecture traits correlated with phosphorus acquisition in common bean [J].Crop Sci., 2006, 46: 413-423.

[46] 崔世友,耿雷跃,孟庆长,喻德跃. 大豆苗期耐低磷性及其 QTL 定位[J]. 作物学报,2007,33(3): 378-383.
Cui S Y, Geng L Y, Meng Q C, Yu D Y. QTL mapping of phosphorus deficiency tolerance in soybean (*Glycine Max*. L) during seedling stage [J]. Acta Agron. Sin., 2007, 33(3): 378-383.

[47] 耿雷跃,崔士友,张丹,等. 大豆磷效率 QTL 定位及互作分析[J]. 大豆科学,2007,26 (4): 461-466.
Geng L Y, Cui S Y, Zhang D *et al*. QTL mapping and epistasis analysis for P-efficiency in soybean (*Glycine Max* L.) [J]. Soybean Sci., 2007, 26 (4): 461-466.

[48] Koyama M L, Levesley A, Robert M D *et al*. Quantitative trait loci for component physiological traits determining salt tolerance in rice [J]. Plant Physiol., 2001, 125: 406-422.

[49] Lin H X, Zhu M Z, Yano M *et al*. QTLs for Na^+ and K^+ uptake of the shoots and roots controlling rice salt tolerance [J]. Theor. Appl. Genet., 2004, 108: 253-260.

[50] Ming F, Zheng X W, Mi G H *et al*. Identification of quantitative trait loci affecting tolerance to low phosphorus in rice (*Oryza Sativa* L.) [J]. Chin. Sci. Bull., 2000, 45(6): 520-525.

[51] 穆平,黄超,李君霞,等. 低磷胁迫下水稻产量性状变化及其 QTL 定位[J]. 作物学报,2008,34(7): 1137-1142.
Mu P, Huang C, Li J X *et al*. Yield trait variation and QTL mapping in a DH population of rice under phosphorus deficiency [J]. Acta Agron. Sin., 2008, 34(7): 1137-1142.

[52] Li Z X, Ni Z F, Peng H R *et al*. Molecular mapping of QTL for root response to phosphorus deficiency at seedling stage in wheat (*Triticum aestivum* L.)[J]. Prog. Nat. Sci., 2007, 17(10): 1177-1184.

[53] Fang P, Wu P. QTL x N-level interaction for plant height in rice (*Oriza Sativa* L.)[J]. Plant Soil, 2001, 236: 237-242.

[54] 方萍,季天委,陶勤南,吴平. 两种供氮水平下水稻穗长 QTLs 的检测[J]. 中国水稻科学,2002,16(2): 176-178.
Fang P, Ji T W, Tao Q N, Wu P. Detecting QTLs for rice panicle length under two nitrogen levels [J]. Chin. J. Rice Sci., 2002, 16 (2): 176-178.

[55] 曹卫东,贾继增,金继运. 不同供氮水平下小麦苗期叶绿素含量的 QTL 及互作研究[J]. 植物营养与肥料学报,2004,10(5): 473-478.
Cao W D, Jia J Z, Jin J Y. Identification and interaction analysis of QTL for chlorophyll content in wheat seedling [J]. Plant Nutr. Fert. Sci., 2004, 10(5):473-478.