

## 7 个烤烟产量相关性状的 QTL 定位分析

童治军, 焦芳婵, 陈学军, 吴兴富, 方敦煌, 肖炳光\*

(云南省烟草农业科学研究院, 烟草行业烟草生物技术育种重点实验室, 国家烟草基因工程研究中心, 昆明 650021)

**摘要:**以烤烟 Y3 和 K326 为亲本, 采用单粒传法(SSD)获得一个包含 262 个 F<sub>2</sub> 株系的重组自交系群体(RILs)。基于该群体构建了一张含有 24 个连锁群、626 个 SSR 标记, 总长为 1 120.45 cM 的遗传图谱。通过两年一点三次重复的随机区组田间试验, 测定了株高、节距、叶数、茎围、茎叶角度、腰叶长和腰叶宽 7 个与产量相关农艺性状, 采用混合线性模型的严格复合区间作图法(rMQM)在烟草全基因组范围内进行 QTL 扫描分析。结果显示:(1)烤烟 7 个目标性状在 RILs 群体内各株系间存在较大范围的连续变异, 具有显著的双向超亲分离, 且各性状的平均值很接近中亲值; 7 个农艺性状的平均广义遗传率为 73.33%, 其中株高和节距的广义遗传率在 80% 以上, 而茎围和茎叶角度的广义遗传率则低于 60%, 表明 7 个与烤烟产量相关的农艺性状是既受微效多基因控制又受环境条件影响的数量性状。(2)共检测到 30 个 QTLs 分布在 9 条连锁群上, 其中与株高、节距、叶数、腰叶长和腰叶宽相关的 5 个主效 QTLs 在连续两年中均可检测到, 且具有较大的效应值, 可解释大于 10% 的表型变异。(3)7 个目标性状之间存在一定程度的相关性, 与之对应在基因组中也存在一些较小区域, 每个区域包含 2 个或 2 个以上紧密连锁的不同性状的 QTLs。烟草产量相关农艺性状的 QTL 分析和主效 QTLs 的获得, 为进一步利用分子标记辅助选择培育烟草高产新品种奠定了理论基础。

**关键词:**烤烟; 重组自交系; 产量相关性状; 数量性状位点

**中图分类号:** Q343.1<sup>+</sup>7 **文献标志码:** A

## Mapping of Quantitative Trait Loci Underlying Seven Yield-related Traits in Flue-cured Tobacco (*Nicotiana tabacum* L.)

TONG Zhijun, JIAO Fangchan, CHEN Xuejun, WU Xingfu, FANG Dunhuang, XIAO Bingguang\*

(Yunnan Academy of Tobacco Agricultural Sciences, Key Laboratory of Tobacco Biotechnological Breeding, National Tobacco Genetic Engineering Research Center, Kunming 650021, China)

**Abstract:** A population of 262 recombinant inbred lines (RILs) from a flue-cured tobacco cross between Y3 and K326 by single seed descent (SSD) method was used to construct a genetic linkage map. 626 SSR loci were evenly mapped into 24 linkage groups (LGs) which spanned a total length of 1 120.45 cM. With a randomized complete block design, one location field tests with three replicates in two years were conducted to characterize seven agronomic traits related to leaf yield, including plant height (PH), internode length (IL), leaf number (LN), stem girth (SG), angle between leaf and stem (ALS), length of waist leaf (LWL) and width of waist leaf (WWL). Based on the data of field trials and rMQM method, we mapped and analyzed the QTLs for seven target characters. The results showed:(1)the seven target traits

**收稿日期:** 2018-03-22; **修改稿收到日期:** 2018-06-14

**基金项目:** 中国烟草总公司项目 [110201601027 (JY-01), 110201801029 (JY-06)]; 中国烟草总公司云南省公司项目 (2017YN01, 2016YN27, 2018530000241005)

**作者简介:** 童治军 (1980-), 男, 博士, 助理研究员, 主要从事烟草分子育种研究。E-mail: tzj861@163.com

\* **通信作者:** 肖炳光, 研究员, 主要从事烟草分子育种研究。E-mail: xiaobg@263.net

of flue-cured tobacco had a wide range of continuous variation in the RILs population, with significant bidirectional super-parental segregation, and the average value of each trait was very close to the mid-parent value. The average broad heritability of 7 agronomic traits was 73.33%, of which the generalized heritability of PH and IL was above 80%, while the SG and ALS was less than 60%, indicating that 7 agronomic traits related to flue-cured tobacco yield were quantitative traits controlled by both micro-effects and environmental conditions. (2) A total of 30 QTLs were detected on 9 linkage groups, while five major QTLs with relatively large effects, explaining for more than 10% of the phenotypic variation in the RILs population, related to PH, IL, LN, LWL, and WWL were detected by both two years. (3) The seven traits were largely correlated with each other. Consistent with this, some small regions harboring two or more closely linked QTLs of different traits were found in the genome. The results provide an important theoretical basis for developing high yield cultivars in tobacco through marker-assisted selection (MAS).

**Key words:** flue-cured; recombinant inbred lines (RILs); yield-related characters; quantitative trait loci (QTLs)

栽培烟草(*Nicotiana tabacum* L.)是烟草属内一年生的异源四倍体草本植物,同时也是一种广泛种植于温带农业区域的重要经济作物<sup>[1-5]</sup>。作为重要经济作物的烟草,烟叶生产是烟草行业的基础,而烟草品种的培育又是烟叶生产的基础<sup>[6-7]</sup>。因此,培育具有较高烟叶产量的新品种,是当前烟草育种中最重要的目标之一<sup>[8-9]</sup>。与其他大田作物一样,烟叶的产量也是属于微效多基因控制且极易受环境影响的数量性状<sup>[10-11]</sup>。据报道,烟叶产量是与株高(节距)、茎围、叶片数和叶片形状等农艺性状直接相关<sup>[12-14]</sup>。故此,改善与烟叶产量相关的农艺性状,就成为提高烟叶产量的首选途径<sup>[15]</sup>。

局限于烟草栽培品种间狭窄的遗传基础和极低的遗传多样性<sup>[16-20]</sup>,使得 QTL 定位研究相较于其他作物显得比较落后,远未达到育种应用的程度。目前,在烟草的 QTL 定位研究方面虽然也有一些报道<sup>[21-34]</sup>,但这些研究全部是基于低质量的烟草遗传图谱上进行,因此,极有可能会因错过许多图谱未涵盖基因组区域而导致获得的 QTLs 数量偏少。此外,这些已报道的研究主要集中在对烟草抗病性的 QTL 定位分析上,如烟草根黑腐病<sup>[21]</sup>、马铃薯 Y 病毒病(PVY)<sup>[21]</sup>、黑胫病<sup>[22-23]</sup>、青枯病<sup>[21,24]</sup>、赤星病<sup>[25]</sup>、白粉病<sup>[26]</sup>、番茄斑萎病(TSWV)<sup>[27]</sup>和黄瓜花叶病(CMV)<sup>[28]</sup>等的 QTL 分析,也有少部分是关于烟草化学成分<sup>[29-32]</sup>及叶片烘烤特性<sup>[33]</sup>的 QTL 定位研究。迄今,关于烟草(烤烟)产量性状相关 QTL 定位分析的研究仅有 1 篇,即, Tong 等<sup>[34]</sup>利用一个由 207 个株系构成的 DH 群体和基于该群体构建获得的 SSR 标记遗传图谱,对包含株高、节距、叶数等 6 个与烤烟产量相关农艺性状的 QTL 定位分析。

上述烟草 QTL 定位研究主要是基于非特异性

标记(如 RAPD、ISSR、AFLP、SCAR 等)<sup>[21,24,27,29,31]</sup>构建的局部烟草遗传图谱<sup>[21,23-24,26-29,31-33]</sup>进行的,因此,在很大程度上限制了其在烟草育种中的进一步应用。鉴于此,本研究利用烤烟品种 Y3 和 K326 为亲本构建的 F<sub>6</sub> 代 RILs 群体和已构建获得的高质量烟草遗传连锁图谱,并结合连续 2 年(2016~2017)的田间表型数据,在全基因组范围内对与烤烟产量相关的 7 个农艺性状进行 QTL 分析,以期对产量相关性状的基因的精细定位、克隆及利用分子标记辅助选择(MAS)方法培育高产烤烟新品种提供重要的理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验材料

以烤烟品种 K326 和 Y3 为父母本,配制组合并产生 F<sub>1</sub>,从 F<sub>2</sub> 世代始通过单粒传法(SSD)获得一个包含 262 个株系的遗传性状稳定(F<sub>6</sub>)的重组自交系(RILs)。其中,K326 是由美国引进的具有优良品质和广泛种植面积的烤烟品种,而 Y3 则是由津巴布韦引进的具有优良农艺性状且丰产性好的烤烟种质资源。

RILs 群体于 2016~2017 年种植于云南省烟草农业科学研究院研和试验基地,采用完全随机区组设计,设置 3 个重复,每个株系种植一个小区,每个小区 20 株,株行距为 0.50 m × 1.0 m,并按当地优质烟生产技术措施进行栽培管理。农艺性状调查按照烟草行业标准 YC/T 369-2-10 进行,其中包括株高(自然株高)、叶片数(自然叶片数)、节距、茎围、茎叶角度、腰叶长和腰叶宽,具体测量方法如下:

(1)株高:采用杆尺,测量自地表茎基处至第一青果柄基部间的长度。

(2)叶片数:自主茎基部至中心花下第五花枝处着生叶片数。

(3)节距:沿着烟株的主茎从下往上占整个株高的 1/3 的位置称腰部,在烟株腰部的上下各测量 2 个相邻叶片的基部间距离,然后取平均值。

(4)茎围:在烟株的腰部测量主茎的周长。

(5)茎叶角度:在主茎腰部,测量叶片与主茎间的夹角。

(6)腰叶长:选择腰部最大叶片,测量茎叶连接处至叶尖的直线长度。

(7)腰叶宽:选择腰部最大叶片,测量与主脉垂直的叶面最宽处长度。

## 1.2 数据统计与分析

应用 Excel 2013 和 DPS v14.10 软件,对 262 个 RILs 材料在 2 个年份的 7 个农艺性状的平均值、标准差、偏度、峰度和相关系数等指标进行整理和分析。

## 1.3 QTL 定位分析

基于已构建获得的高质量烤烟遗传连锁图谱<sup>[35]</sup>,并结合 7 个目标性状的田间表型数据,利用 MapQTL<sup>®</sup> v 6 软件<sup>[36]</sup>提供的 Restricted Multiple-QTL model Mapping (rMQM)方法进行全基因组 QTL 扫描定位,相关的参数设置如下:算法选用回归算法,测试统计量选择 LOD,选择  $F_n$ (RILs)为合适的模型,定位时的步长为 1.0,相邻标记的最大数目为 30,最大迭代次数和排列数均为 10 000。按照 McCouch 等<sup>[37]</sup>规则进行 QTLs 命名。

## 2 结果与分析

### 2.1 7 个性状的表型分析

通过对 7 个目标性状的田间表型数据进行统计分析,其结果(表 1)显示:1)7 个与烤烟产量相关的农艺性在双亲间均存在明显的差异,其中,株高(PH)、叶片数(LN)、节距(IL)和腰叶长(LWL)4 个性状在双亲间呈极显著差异,且在性状表型值上母本 Y3 均较父本 K326 高;2)全部的 7 个性状在 RILs 群体内各株系间存在较大范围的连续变异且具有显著的双向超亲分离,同时,各性状的平均值也很接近中亲值;3)各性状的偏度(skewness)和峰度(kurtosis)绝对值均小于 1( $<1$ ),此表明本研究所涉及的 7 个性状在 RILs 群体中呈正态分布,符合典型的数量性状特征。7 个农艺性状的平均广义遗传率为 73.33%,其中,株高和节距的广义遗传率在 80%以上;茎围和茎叶角度的广义遗传率则低于 60%,表明其易受环境影响。上述结果表明,7 个与烤烟产量相关的农艺性状是既受微效多基因控制又受环境条件影响的数量性状。

对 7 个性状田间表型数据的相关性分析表明(表 2):每个性状均与其他的 2 个或 2 个以上性状存在显著的相关性。如,株高(PH)与叶片数(LN)、节距(IL)和腰叶长(LWL)存在显著的相关性;茎围(SG)与叶片数(LN)、节距(IL)、腰叶长(LWL)和腰叶宽(WWL)存在显著的正相关。除叶片数(LN)与节距(IL)呈显著的负相关外,余下的所有性状间均

表 1 7 个产量相关性状在亲本和 RILs 群体中的表现

Table 1 Performances of the seven yield-related traits in the RIL population and the parental lines

性状 Trait	亲本 Parent		RILs 群体 RILs population				
	Y3	K326	均值±标准差 Mean±SD	变异范围 Range	峰度 Kurtosis	偏度 Skewness	遗传率 $H^2/\%$
株高 PH/cm	258.77	167.35**	209.35±21.17	145.33~303.77	0.53	0.14	83.15
叶数 LN	47.00	33.00**	40.00±2.00	18.00~53.00	0.38	-0.24	75.41
节距 IL/cm	10.59	4.81**	7.11±0.93	3.18~12.31	0.61	0.33	81.33
茎围 SG/cm	11.01	8.73*	9.02±0.87	6.67~15.67	0.57	-0.61	59.68
茎叶角度 ALS/°	50.72	40.79*	45.37±3.09	20.00~90.00	0.63	0.27	58.73
腰叶长 LWL/cm	83.84	60.96**	72.46±5.72	45.76~92.03	0.32	-0.46	78.16
腰叶宽 WWL/cm	41.97	36.83*	39.28±2.87	29.50~58.59	-0.48	0.37	76.82

注:遗传率为广义遗传率;\*和\*\*分别指双亲间差异达 0.05 和 0.01 显著水平

Note: Heritability is the heritability in broad sense. \* and \*\* mean significant difference between parents at 0.05 and 0.01 levels, respectively

表 2 7 个产量相关性状在 RILs 群体内的相关性分析

Table 2 Correlations between the seven yield-related traits in the RILs population

	株高 PH	叶数 LN	节距 IL	茎围 SG	茎叶角度 ASL	腰叶长 LWL
叶数 LN	0.826**					
节距 IL	0.913**	-0.803**				
茎围 SG	0.242	0.307*	0.313*			
茎叶角度 ASL	0.163	0.173	0.203	0.128		
腰叶长 LWL	0.406*	0.204	0.201	0.352*	0.307*	
腰叶宽 WWL	0.212	-0.125	0.187	0.327*	0.221	0.835**

注: \* 和 \*\* 分别表示相关性达到 0.05 和 0.01 显著水平

Note: \* and \*\* indicate significant correlation at 0.05 and 0.01 level, respectively

呈现显著的正相关。7 个性状间相关系数达到极显著水平 ( $P < 0.01$ ) 的有 4 对, 其中, 株高 (PH) 与节距 (IL) 间的相关系数最大, 为 0.913, 该结果表明本研究中的两亲本及其衍生 RILs 群体单株的主茎节距越大, 则其株高也就越高; 腰叶长 (LWL) 与腰叶宽 (WWL) 间的相关性也非常高 (达 0.835), 这表明, 叶片形状 (以 LWL/WWL 的比例表示) 在 RILs 群体内并没有较大的变化; 此外, 节距 (IL) 与叶片数 (LN) 之间则呈现出极显著的负相关 (-0.803), 表明在株高一定的前提下, 节距越大则植株主茎上着生的叶片数就越少。

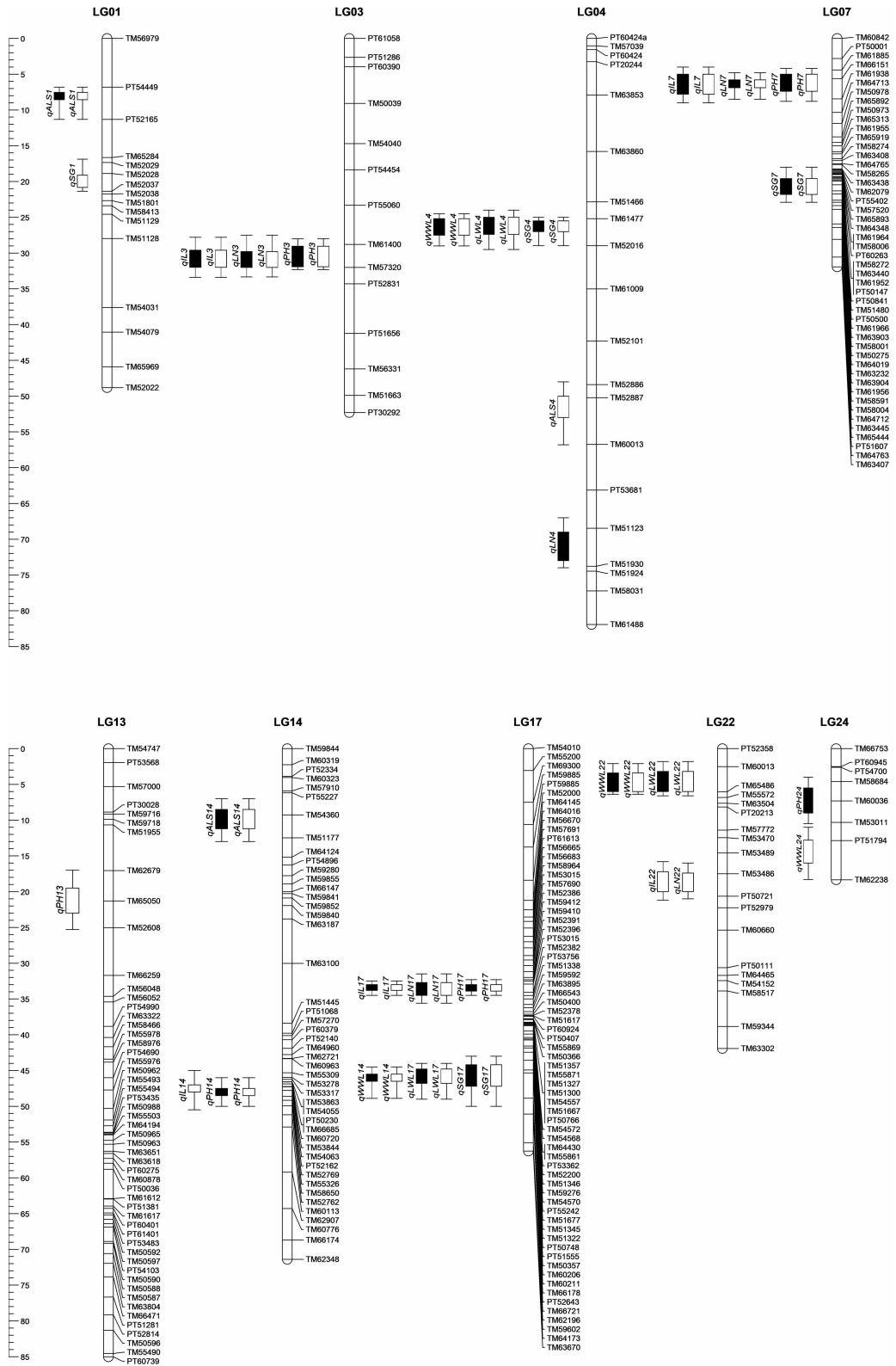
## 2.2 目标性状的 QTL 定位分析

本研究针对 7 个与烤烟产量相关的农艺性状进行全基因组 QTL 扫描, 共检测获得 30 个 QTLs, 其分别分布在第 1 (LG01)、3 (LG03)、4 (LG04)、7 (LG07)、13 (LG13)、14 (LG14)、17 (LG17)、22 (LG22) 和 24 (LG24) 共 9 个连锁群上 (图 1; 表 3)。在检测获得的 30 个 QTLs 中, 2016 年和 2017 年分别检测获得 28 个和 23 个 QTLs, 21 个 QTLs 在连续 2 年中均能检测到。检测到与株高相关的 QTLs 最多, 为 6 个; 其次是与叶片数和节距相关的 QTLs, 各有 5 个; 与茎围和腰叶宽相关的 QTLs 分别为 4 个; 而与茎叶角度和腰叶长相关的 QTLs 数最少, 为 4 个 (图 1; 表 3)。连锁群 LG17 上检测到的 QTL 数目最多, 为 6 个, 其次是连锁群 LG04 (5 个 QTLs), 而连锁群 LG13 上检测到的 QTL 最少, 仅有 1 个 QTL。其中, LG01、LG03、LG07、LG17 和 LG22 共 5 个连锁群上的 QTLs 均是在连续 2 年中能够检测到。7 个性状的加性效应值绝大部分是正值, 即增加性状的表型值的等位基因均是来自高值亲本-Y3, 此外, 也存在少量来自亲本 K326 的具有负效应值的等位基因 (表 3)。此结果恰好与两亲

本间在 7 个目标性状上具有较显著的差异 (Y3 具有比 K326 高的表型值) 及所有性状在 RILs 群体中超亲分离的结果是一致的。在连续 2 年检测获得的 30 个 QTLs 中, 大部分的效应值很小, 平均每个 QTL 仅解释 7.22% 的表型变异值 ( $R^2$ ), 其中, 2016 年和 2017 年每个 QTL 分别平均解释表型变异值为 7.10% 和 7.34%。

在株高和节距 2 个性状上 2 年均检测到了 2 个具有较大效应值 ( $R^2 > 20\%$ ) 的 QTLs, 即,  $qPH17$  ( $R^2 = 23.18\%$ , 2016; 21.37%, 2017) 和  $qIL17$  (25.75%; 20.09%)。此外, 叶片数、腰叶长和腰叶宽 3 个性状在连续 2 年中也检测到 3 个效应值大于 10% 的 QTLs。上述 5 个性状在 2 年检测出的 5 个效应值较大的 QTLs 均位于第 17 号连锁群 (LG17) 上, 其中,  $qPH17$ 、 $qLN17$  和  $qIL17$  定位于 LG17 近中部的 PT53015 和 PT53756 标记之间约 1.62 cM (34.522~32.906) 区域内; 而  $qLWL17$  和  $qWWL17$  则被定位在 LG17 的近端处, 位于标记 TM66721 和 TM62196 之间约 3.54 cM (48.881~45.339) 范围内, 与此同时, 具有较小效应值且与茎围相关的 QTLs ( $qSGS17$ ;  $R^2 = 6.8\%$ , 2016 和 7.17%, 2017) 也在该位置被检测到 (表 3; 图 1)。上述 6 个 QTLs 的加性效应值均是正值, 即, 来自高值亲本 Y3 的等位基因对 6 个不同性状在连续 2 年检测获得的 6 个 QTLs 贡献是正方向的。

同样, 本研究也发现在烟草基因组中存在一些较小区域 ( $< 5.0$  cM), 每个区域包含 2 个或 2 个以上紧密连锁的不同性状 QTLs。如  $qPH3$ 、 $qIL3$  和  $qLN3$  连续 2 年检测到 3 个 QTLs 均位于 LG03 的标记 TM61400 和 TM57320 之间,  $qLWL4$ 、 $qWWL4$  和  $qSG4$  3 个性状 2 年检测获得的 3 个 QTLs 位于 LG04 上一个跨度约 3.85 cM 的小区域内,  $qPH7$ 、



2016 和 2017 年的 QTLs 分别用黑色空心条和黑色实心条表示

图 1 利用严格复合区间作图法(rMQM)检测到的 7 个产量相关性状 QTLs 在烤烟遗传图谱上的位置信息

2016 and 2017 indicated by black hollow squares and black solid squares, respectively

Fig. 1 Genetic map of flue-cured tobacco showing the positions of QTLs of seven yield-related traits estimated by composite interval mapping

表3 在 RILs 群体中检测到的 7 个性状的 QTLs 信息  
Table 3 QTLs detected for the seven traits in the RILs population

性状 Trait	位点 QTL	连锁群 LGs	两侧标记 Marker	位置 Position/cM	2016			2017		
					LOD <sup>a</sup>	Add <sup>b</sup>	R <sup>2</sup> / % <sup>c</sup>	LOD <sup>a</sup>	Add <sup>b</sup>	R <sup>2</sup> / % <sup>c</sup>
株高 PH	<i>qPH3</i>	LG03	TM61400-TM57320	31.208	8.03	6.15	9.03	7.29	5.73	6.24
	<i>qPH7</i>	LG07	TM66151-TM61938	6.021	7.65	5.37	4.67	6.21	4.83	5.97
	<i>qPH13</i>	LG13	TM65050-TM52608	22.397	4.27	2.96	2.32			
	<i>qPH14</i>	LG14	TM53844-TM52769	47.936	6.93	4.12	4.09	6.26	4.17	3.95
	<i>qPH17</i>	LG17	PT53015-PT53756	33.425	21.53	18.69	23.18	18.83	16.86	21.37
	<i>qPH24</i>	LG24	TM60036-TM53011	8.616				4.09	2.73	3.02
叶数 LN	<i>qLN3</i>	LG03	TM61400-TM57320	31.208	4.54	-0.65	4.72	4.25	-0.58	3.77
	<i>qLN4</i>	LG04	TM51123-TM51930	72.803				5.12	0.66	4.36
	<i>qLN7</i>	LG07	TM66151-TM61938	6.021	11.84	-1.04	8.55	9.08	-0.82	7.01
	<i>qLN17</i>	LG17	PT53015-PT53756	33.425	14.27	0.99	11.28	11.72	0.87	10.51
	<i>qLN22</i>	LG22	TM53486-PT50721	19.031				4.01	0.36	3.17
节距 IL	<i>qIL3</i>	LG03	TM61400-TM57320	31.208	4.83	0.52	4.31	4.15	0.51	3.98
	<i>qIL7</i>	LG07	TM66151-TM61938	6.021	7.26	-1.08	8.49	6.87	-0.92	7.99
	<i>qIL14</i>	LG14	TM53844-TM52769	47.936	3.51	0.43	3.01			
	<i>qIL17</i>	LG17	PT53015-PT53756	33.425	24.6	1.63	25.75	21.74	1.39	20.09
	<i>qIL22</i>	LG22	TM53486-PT50721	19.031	3.58	-0.41	3.01			
茎围 SG	<i>qSG1</i>	LG01	TM52028-TM52037	20.637	4.65	0.34	4.03			
	<i>qSG4</i>	LG04	TM61477-TM52016	26.423	8.87	0.48	7.59	8.06	0.51	6.82
	<i>qSG7</i>	LG07	TM50275-TM61956	20.738	4.73	0.39	4.18	4.16	0.36	3.96
	<i>qSG17</i>	LG17	TM66721-TM62196	46.371	8.04	0.39	6.8	7.26	0.52	7.17
茎叶角度 ALS	<i>qALS1</i>	LG01	PT54449-PT52165	8.153	4.25	5.75	3.14	4.21	5.14	3.04
	<i>qALS4</i>	LG04	TM52887-TM60013	51.762	3.24	3.96	2.71			
	<i>qALS14</i>	LG14	TM54360-TM51177	10.734	5.32	7.36	7.34	5.04	6.76	6.96
腰叶长 LWL	<i>qLWL4</i>	LG04	TM61477-TM52016	26.423	5.82	2.58	4.06	5.58	2.14	3.92
	<i>qLWL17</i>	LG17	TM66721-TM62196	46.371	18.01	5.11	11.07	17.67	5.03	10.13
	<i>qLWL22</i>	LG22	TM60013-TM65486	5.836	3.38	0.88	2.36	3.72	0.83	2.27
腰叶宽 WWL	<i>qWWL4</i>	LG04	TM61477-TM52016	26.423	6.13	2.49	5.98	6.44	2.47	5.63
	<i>qWWL17</i>	LG17	TM66721-TM62196	46.371	21.17	3.18	15.29	20.39	2.87	13.86
	<i>qWWL22</i>	LG22	TM60013-TM65486	5.836	7.36	2.65	6.14	7.48	2.49	6.79
	<i>qWWL24</i>	LG24	PT51794-TM62238	13.193	3.41	-1.14	2.23			

注:<sup>a</sup> 在  $\alpha=0.05$  水平下,利用交换测验方法(permutation times = 10 000)在全基因组范围内估计 LOD 显著阈值;PH 和 IL 的 LOD=3.5,ALS 的 LOD=3.2,LN 的 LOD=3.4,SG、WWL 和 LWL 的 LOD=3.3。<sup>b</sup> Add 指加性效应,其中的正/负号表示来自于亲本 Y3/K326 的等位基因的作用方向。<sup>c</sup> R<sup>2</sup> 指 QTL 解释表型总变异的比例

Note:<sup>a</sup> LOD thresholds at the genome-wise significance level of 0.05 estimated by 10 000 permutation tests were: 3.5 for PH and IL, 3.2 for ALS, 3.4 for LN, 3.2 for SG, WWL and LWL. <sup>b</sup> Add is additive effect, of which the positive/negative sign indicates the action direction of the allele from parent Y3/K326. <sup>c</sup> R<sup>2</sup> is the proportion of phenotypic variance explained by the QTL

*qIL7* 和 *qLN7* 位于 LG07 上,及 *qLWL22*、*qW-  
WL22* 和 *qLN22*、*qIL22* 位于 LG22 上(图 1;表 3)。此结果与本研究 7 个目标性状间存在显著的相关性的结果吻合(表 2)。

### 3 讨论

大量的研究表明,与烟草产量相关的农艺性状属于易受环境影响的数量性状<sup>[32,38-39]</sup>。蔡长春

等<sup>[32]</sup>利用烤烟 DH 群体对烟草开花期和叶数 2 个性状进行了遗传分析,结果表明,2 性状存在一定程度的双向超亲现象,且均符合正态分布特征,说明该 2 个性状属于多基因控制的数量性状。许明辉等<sup>[38]</sup>利用‘红花大金元’、‘青梗’和‘中烟 14 号’3 份烤烟材料配制的 2 个组合,经 6 个世代,对 7 个农艺性状和 4 个品质性状进行了遗传分析,结果表明:烟草的株高、叶数、腰叶长、腰叶宽、节距和茎围(茎粗)等 6 个性状是受微效多基因控制数量性状。李华丽等<sup>[39]</sup>基于  $F_{2:3}$  群体,对 6 个烟草重要性状进行了遗传分析,结果显示:所观察的 6 个性状呈连续分布,且各性状均存在不同程度的双向超亲现象,表现出数量性状的特点。本研究通过对烤烟 RILs 群体连续 2 年的田间表型数据分析,其结果表明与烟草产量相关的 7 个农艺性状属于由多基因控制的数量性状,与已报道的研究结果一致<sup>[13,29,34]</sup>。

相较于前人有关烟草农艺性状 QTL 定位分析的报道,本研究进行 QTL 定位分析所用的遗传图谱具有更高的质量和饱和度,因此,更利于在烟草全基因组范围内进行 QTL 扫描分析。Julio 等<sup>[29]</sup>基于构建的局部烟草遗传图谱(仅含有 18 个连锁群)对 59 个烟草性状(农艺性状、化学成分及品质等)进行了 QTL 分析,最终共检测到了 75 个 QTLs,平均每个性状仅能检测到 1.27 个 QTLs。蔡长春等<sup>[32]</sup>基于 160 个标记构建的仅含有 23 个连锁群的不完整烟草图谱,对 2 个性状进行 QTL 分析并获得 3 个 QTLs,每个性状可检测获得的 QTL 数平均为 1.5 个。同样,李华丽等<sup>[39]</sup>基于构建获得的部分烟草连锁图谱(190 个非特异性标记构建获得包含 26 个连锁群的烟草遗传图谱)对 6 个性状进行 QTL 分析,最终获得 11 个 QTLs,每个性状平均可检测到 QTLs 数为 1.83 个。而本研究基于一张包含 626 个 SSR 标记和 24 条连锁群的高质量烟草图谱,对 7 个目标性状在全基因组范围上进行 QTL 扫描分析并最终获得 30 个 QTLs,平均每个性状可检测到多达 4.3 个 QTLs。造成上述 QTL 检测能力(检测获得 QTL 数量多少)的因素有多种,如,构成群体的亲本间遗传关系、群体的种类、大小及性状的遗传力等,但用于进行全基因组 QTL 扫描分析的遗传图谱的质量(包含标记的种类、数量、密度、图谱的基因组覆盖度等)可能是关键因素之一。不难发现,上述用于 QTL 定位分析的遗传图谱质量不高(如,标记的稳定性较差、标记数量较少、图谱的完整度较低等),因此,就极大地降低了对图谱尚未覆盖的众多

与目标性状相关的 QTLs 检测能力。同样是基于 SSR 标记构建的完整烤烟遗传图谱对 6 个烟草农艺性状(株高、节距、茎围、叶数、最大腰叶长和宽)进行 QTL 定位分析,Tong 等<sup>[34]</sup>对目标性状在 207 个 DH 株系一年 2 重复的表型数据进行 QTL 分析,结果获得多达 69 个 QTLs,其中有 4 个 QTLs 具有较大效应值,可解释约 15%~20%的表型变异。与之相比,本研究在检测 QTLs 数量上要少些,但连续 2 年均能检测到具有较大效应值的 QTLs 为 5 个,其中,与株高和节距相关的 2 个 QTLs 效应值均在 20%以上。这一结果刚好与株高和节距 2 个性状在 RILs 中具有较高的广义遗传率(株高和节距的广义遗传率分别为 83.15%和 81.33%;表 1)相吻合。此外,本研究通过对 17 号连锁群上连续 2 年(2016~2017)获得的 5 个高效应值 QTLs 两侧的标记进行检测,发现与株高、节距和叶数 3 个性状相关的 QTLs 两侧标记(PT53015 和 PT53756)在 262 个 RILs 中有 10 个株系与低值亲本 K326 的基因型相同,其性状均值分别为 170.39 cm(PH 变异范围:160.83~191.57)、5.21 cm(IL 变异范围:4.26~6.17)和 35.50 cm(LN 变异范围:32.00~40.00);13 个株系与高值亲本 Y3 具有相同的基因型,其性状均值分别为 236.33 cm(PH 变异范围:207.27~303.77)、9.63 cm(IL 变异范围:8.03~12.31)和 45.33 cm(LN 变异范围:40.00~53.00)。同样,检测到与腰叶长和腰叶宽 2 个性状相关的 QTLs 两侧标记(TM66721 和 TM62196)有 7 个株系与低值亲本 K326 的基因型一致,其性状均值分别为 62.82 cm(LWL 变异范围:58.76~70.04)和 38.05 cm(WWL 变异范围:36.16~41.03);11 个株系与高值亲本 Y3 基因型一致,其性状均值分别为 81.04 cm(LWL 变异范围:71.49~92.03)和 40.95 cm(WWL 变异范围:38.66~58.59)。上述 2 组的株高值差异为 65.94(约占两亲本间 PH 值差异的 72%),解释了约 59.6%( $qPH17$  的加性效应值/全部株高 QTLs 的加性效应值)的加性效应值;同样,节距、叶数、腰叶长和腰叶宽等 4 个性状值在两组间的差异分别为 4.42(占两亲本间 IL 值差异的约 76%)、9.83(占两亲本间 LN 值差异的约 70%)、18.22(占两亲本间 LWL 值差异的约 80%)和 2.9(占两亲本间 WWL 值差异的约 56%),解释了约 43.8%、31.2%、61.2%和 35.0%的加性效应值。更有意义的是,本研究中位于第 17 号连锁群上且连续 2 年均能检测到的效应值大于 10%的 5 个 QTLs,

也能够同时在 Tong 等<sup>[34]</sup>研究中的相同连锁群上检测到,即,与株高、节距、叶数、腰叶长和腰叶宽 5 个性状相关的 QTLs 均在第 17 号连锁群上同时被检测到。以上结果表明:一方面,本研究的结果具有较高的真实性和可信度;另一方面,与烟草产量相关农艺性状中的株高、节距、叶数、腰叶长和腰叶宽 5 个性状具有较高的遗传率和较强的稳定性。

另外,在本研究的烟草基因组中存在一些较小

区域,每个区域包含 2 个或 2 个以上紧密连锁的不同性状的 QTLs。由于位于同一区域内的部分 QTLs 间如此密切,它们很可能是一个具有‘一因多效’的单独 QTL,也即它们可能是影响多个性状的相同基因(QTL)<sup>[34]</sup>。故此,可将这些包含有紧密相连 QTL 的小区域视作为具有多效性的单个遗传单位,在开展分子标记辅助选择(MAS)育种提高烟草产量时,予以充分考虑这些具有多效性的区域。

## 参考文献:

- [1] GOODSPEED T H. The Genus *Nicotiana* [M]. Waksman USA: The Chronica Botania Company, 1954:106-110.
- [2] KENTON A, PAROKONNY A S, GLEBA Y Y, *et al.* Characterization of the *Nicotiana tabacum* L. genome by molecular cytogenetics [J]. *Mol. Gen. Genet.*, 1993, **240**: 159-169.
- [3] SMITH HH. Recent cytogenetic studies in the genus *Nicotiana* [J]. *Advances in Genetics*, 1968, **14**: 1-54.
- [4] LIM K Y, LICHTENSTEIN R, LEITCH A R. Molecular cytogenetic analyses and phylogenetic studies in the *Nicotiana* section *Tomentosae* [J]. *Chromosoma*, 2000, **109**: 245-258.
- [5] KITAMURA S, INOUE M, OHMIDO N, *et al.* Quantitative chromosome maps and rDNA localization in the T subgenome of *Nicotiana tabacum* L., and its putative progenitors [J]. *Theor. Appl. Genet.*, 2000, **101**: 1 180-1 188.
- [6] 王仁刚, 王云鹏, 任学良. 烟属植物学分类研究新进展[J]. 中国烟草学报, 2010, **16**(2): 84-90.  
WANG R G, WANG Y P, REN X L. Research advances in genus *Nicotiana* taxonomy [J]. *Acta Tabacaria Sinica*, 2010, **16**(2): 84-90.
- [7] 王仁刚, 蔡刘体, 任学良. 烟属起源与分子系统进化的研究进展[J]. 贵州农业科学, 2011, **39**(1): 1-7.  
WANG R G, CAI L T, REN X L. Research progress on origin and molecular phyletic evolution of genus *Nicotiana* [J]. *Guizhou Agricultural Sciences*, 2011, **39**(1): 1-7.
- [8] 王元英, 周 健. 中美主要烟草品种亲缘分析与烟草育种[J]. 中国烟草学报, 1995, **2**(3): 11-22.  
WANG Y Y, ZHOU J. Parentage analysis of major tobacco varieties and tobacco breeding in America and China [J]. *Acta Tabacaria Sinica*, 1995, **2**(3): 11-22.
- [9] 常爱霞, 贾兴华, 冯全福, 等. 我国主要烤烟品种的亲缘系谱分析及育种工作建议 [J]. 中国烟草科学, 2013, **34**(1): 1-6.  
CHANG A X, JIA X H, FENG Q F, *et al.* Parentage analysis of Chinese flue-cured tobacco varieties and breeding suggestion [J]. *Chinese Tobacco Science*, 2013, **34**(1): 1-6.
- [10] 徐云碧, 朱立煌. 分子数量遗传学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1994: 125-132.
- [11] 方宣钧, 吴为人, 唐纪良. 作物 DNA 标记辅助育种 [M]. 北京: 科学出版社, 2001: 32-40.
- [12] LEGG P D, COLLINS G B. Genetic parameters in a Ky 14 × Ky Ex 42 burley population of *Nicotiana tabacum* L [J]. *Theor. Appl. Genet.*, 1975, **45**: 264-267.
- [13] WHITE F H, PANDEYA R S, DIRKS V A. Correlation studies among and between agronomic, chemical, physical and smoke characteristics in flue-cured tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) [J]. *Can. J. Plant Sci.*, 1979, **59**: 111-120.
- [14] HONARNEJED R, SHOAI D M. Gene effect, combining ability and correlation of characteristics in F<sub>2</sub> populations of Burley tobacco [J]. *J. Sci. Technol. Agric. Nat. Resour.*, 2004, **8**(2): 135-148.
- [15] MOHAN M, NAIR S, BHAGWAT A, *et al.* Genome mapping, molecular markers and marker-assisted selection in crop plants [J]. *Molecular Breeding*, 1997, **3**: 87-103.
- [16] REN N, TIMKO M P. AFLP analysis of genetic polymorphism and evolutionary relationships among cultivated and wild *Nicotiana* species [J]. *Genome*, 2001, **44**: 559-571.
- [17] MOON H S, NICHOLSON J S, LEWIS R S. Use of transferable *Nicotiana tabacum* L. microsatellite markers for investigating genetic diversity in the genus *Nicotiana* [J]. *Genome*, 2008, **51**: 547-559.
- [18] MOON H S, NICHOLSON J S, HEINEMAN A, *et al.* Changes in genetic diversity of U. S. Flue-Cured tobacco germplasm over seven decades of cultivar development [J]. *Crop Science*, 2009, **49**: 498-506.
- [19] MOON H S, NIFONG J M, NICHOLSON J S, *et al.* Microsatellite-based analysis of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) genetic resources [J]. *Crop Science*, 2009, **49**: 2 149-2 157.
- [20] JESSADA D, SORNUSUDA S, WILASINEE S, *et al.* Determination of local tobacco cultivars using ISSR molecular marker [J]. *Chiang Mai J. Sci.*, 2010, **37**(2): 293-303.
- [21] JULIO E, VERRIER J L, DE BORNE F D. Development of SCAR markers linked to three disease resistances based on AFLP within *Nicotiana tabacum* L. [J]. *Theor. Appl. Genet.*, 2006, **112**: 335-346.
- [22] VONTIMITTA V, LEWIS R S. Mapping of quantitative trait loci affecting resistance to *Phytophthora nicotianae* in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) line Beihart-1000 [J]. *Mol. Breeding*, 2012, **29**: 89-98.

- [23] 高亭亭, 蒋彩虹, 罗成刚, 等. 烟草品种 Beinhart1000-1 抗黑胫病基因的 QTL 定位[J]. 植物遗传资源学报, 2015, **16**(2): 330-335.  
GAO T T, JIANG C H, LUO C G, *et al.* Mapping of quantitative trait loci affecting resistance to black shank in tobacco line Beinhart1000-1[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2015, **16**(2): 330-335.
- [24] NISHI T, TAJIMA T, NOGUCHI S, *et al.* Identification of DNA markers of tobacco linked to bacterial wilt resistance [J]. *Theor. Appl. Genet.*, 2003, **106**: 765-770.
- [25] TONG Z J, JIAO T L, WANG F Q, *et al.* Mapping of quantitative trait loci conferring resistance to brown spot in flue-cured tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) [J]. *Plant Breeding*, 2012, **131**: 335-339.
- [26] 牟建英, 钱玉梅, 任 民, 等. 烟草白粉病抗性基因的 QTL 定位 [J]. 中国烟草学报, 2013, **19**(4): 105-108.  
MU J Y, QIAN Y M, REN M, *et al.* QTL analysis of resistance gene to powdery mildew in tobacco [J]. *Acta Tabacaria Sinica*, 2013, **19**(4): 105-108.
- [27] MOON H S, NICHOLSON J S. AFLP and SCAR markers linked to tomato spotted wilt virus resistance in tobacco [J]. *Crop Science*, 2007, **47**: 1 887-1 894.
- [28] 文 轲, 张志明, 任 民, 等. 烤烟 CMV 抗性基因 QTL 定位 [J]. 中国烟草科学, 2013, **34**(3): 55-59.  
WEN K, ZHANG Z M, REN M, *et al.* QTL analysis of the resistance gene to CMV in flue-cured tobacco [J]. *Chinese Tobacco Science*, 2013, **34**(3): 55-59.
- [29] JULIO E, DENOYES R B, VERRIER J L, *et al.* Detection of QTLs linked to leaf and smoke properties in *Nicotiana tabacum* based on a study of 114 recombinant inbred lines [J]. *Mol. Breeding*, 2006, **18**: 69-91.
- [30] VONTIMITTA V, DAVID A, DANEHOWER S, *et al.* Analysis of a *Nicotiana tabacum* L. genomic region controlling two leaf surface chemistry traits [J]. *Agric. Food Chem.*, 2010, **58**: 294-300.
- [31] 肖炳光, 卢秀萍, 焦芳婵, 等. 烤烟几种化学成分的 QTL 初步分析 [J]. 作物学报, 2008, **34**(10): 1 762-1 769.  
XIAO B G, LU X P, JIAO F C, *et al.* Preliminary QTL analysis of several chemical components in flue-cured tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2008, **34**(10): 1 762-1 769.
- [32] 蔡长春, 邓 环, 冯 吉, 等. 烤烟生育期相关性状的初步遗传分析 [J]. 中国烟草学报, 2014, **20**(6): 70-77.  
CAI C C, DENG H, FENG J, *et al.* Preliminary genetic analysis of relevant traits in flue-cured tobacco at growth and development period [J]. *Acta Tabacaria Sinica*, 2014, **20**(6): 70-77.
- [33] 谭效磊, 徐秀红, 王暖春, 等. 烤烟易烤性 QTL 定位分析 [J]. 分子植物育种, 2012, **10**(2): 201-206.  
TAN X L, XU X H, WANG N C, *et al.* QTLs analysis of the easy curing potential in flue-cured tobacco [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2012, **10**(2): 201-206.
- [34] TONG Z J, JIAO F C, WU X F, *et al.* Mapping of quantitative trait loci underlying six agronomic traits in flue-cured tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2012, **38**(8): 1 407-1 415.
- [35] TONG Z J, XIAO B G, JIAO F C, *et al.* Large-scale development of SSR markers in tobacco and construction of a linkage map in flue-cured tobacco [J]. *Breeding Science*, 2016, **66**: 381-390.
- [36] VAN OOIJEN J W. MapQTL® 6.0, Software for the Mapping of Quantitative Trait loci in Experimental Populations of Diploid Species [M]. Kyazma B. V, Wageningen Netherlands, 2009: 1-120.
- [37] MCCOUCH S R, CHO Y G, YANO M, *et al.* Report on QTL nomenclature [J]. *Rice Genet. Newsl.*, 1997, **14**: 11-13.
- [38] 许明辉, 王孟宇, 龙文虹. 烟草主要数量性状的遗传效应分析 [J]. 遗传, 2000, **22**(6): 395-397.  
XU M H, WANG M Y, LONG W H. Analysis of genetic effects of major agronomic and quality characters in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) [J]. *Hereditas*, 2000, **22**(6): 395-397.
- [39] 李华丽, 陈美霞, 周东新, 等. 烟草 6 个重要性状的 QTL 定位 [J]. 作物学报, 2011, **37**(9): 1 577-1 584.  
LI L H, CHEN M X, ZHOU D X, *et al.* QTL analysis of six important traits in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2011, **37**(9): 1 577-1 584.

(编辑: 宋亚珍)