

DOI: 10.1360/yc-007-1013

玉米雄穗分枝数与主轴长的 QTL 鉴定

高世斌, 赵茂俊, 兰海, 张志明

四川农业大学玉米研究所, 西南作物基因资源与遗传改良教育部重点实验室, 四川雅安 625014

摘要: 在包含 103 个 SSR 标记的连锁图谱基础上, 运用复合区间作图法检测玉米组合(N87-1×9526)F₃ 家系在正常与干旱胁迫环境下的雄穗分枝数与主轴长性状 QTL。雄穗分枝数在正常环境下被检测到 2 个 QTL 座位, 分别位于第 5 和 7 连锁群上; 在胁迫环境下被检测到 4 个 QTL 座位分别位于 2、5、7 和 10 连锁群上, 其中位于第 5 和 7 连锁群上的 QTL 不仅具有一致性而且与本作图群体中曾检测到的耐旱相关性状 QTL 存在连锁。雄穗主轴长在正常环境下被检测到 2 个 QTL 位于第 2 和第 6 连锁群上, 在干旱胁迫环境下被检测到了 3 个 QTL 分别位于第 2、4 和 10 连锁群上, 其中位于第 2 染色体上的 QTL 是两种环境下所共同检测到的 QTL。分析 QTL 的遗传作用方式表明, 雄穗分枝数以部分加性效应为主, 而雄穗主轴长全部表现为显性和超显性。

关键词: 玉米; 雄穗分枝数; 雄穗主轴长; 数量性状座位

Identification of QTL associated with tassel branch number and total tassel length in maize

GAO Shi-Bin, ZHAO Mao-Jun, LAN Hai, ZHANG Zhi-Ming

Maize Research Institute, Sichuan Agricultural University, Key laboratory of crop genetic resources and improvement for southwest, Ministry of Education, Ya'an 625014, China

Abstract: On the basis of 103 SSR linkage map, QTLs associated with tassel branch number (TBN) and total tassel length (TTL) were studied by composite interval mapping with F₃ families, which were developed from the cross N87-1 × 9526 and surveyed for phenotype under normal condition (CK) and drought-stress environment (DS). Four QTLs on chromosomes 2, 5, 7, and 10, respectively, were associated with TBN under DS, two of which were not only repeatedly detected on chromosomes 5 and 7 under the CK but also were linked to some QTLs related to drought tolerance that had already been reported in the same mapping population. The two QTLs controlling TTL were identified on chromosomes 2 and 6 under CK, while three QTLs for TTL were detected on chromosomes 2, 4, and 10 under DS. The QTL on chromosome 2 for TTL was consistent under two environments. Most of QTLs for TBN were partial additive while QTLs for TTL were dominant and over-dominant in terms of gene action.

Keywords: maize (*Zea mays* L.); tassel branch number; total tassel length; quantitative trait loci

玉米的雄穗是玉米育种与种子生产过程中被研究的重要农艺性状, 具有较小雄穗的植株, 有益于增加下层叶片的透光性并减少对养分的消耗, 提高

产量^[1]。Geraldi 等^[2]的研究表明雄穗分枝数与产量呈负相关($r = -0.65$)。因此在育种实践中注意选育具有适度较小雄穗的杂交种是目前玉米育种的一个趋

收稿日期: 2006-11-27; 修回日期: 2007-02-07

基金项目: 四川省科技攻关项目(编号: 04NG002-006-2)和长江学者及创新团队发展计划(编号: IRT0458)资助[Supported by Science and Technology Project of Sichuan Province(No.04NG002-006-2) and Program for Changjiang Scholars and Innovative Research Team in University of China(No.IRT0458)]

作者简介: 高世斌(1974-), 男, 四川绵阳人, 博士, 副教授, 主要从事玉米育种和生物技术研究。 Tel: 0835-2885860; E-mail: gaosu@sicau.edu.cn

势。据 Duvick 等^[3]报道先锋(Pioneer)杂交种的雄穗大小从 1967 至 1991 年之间降低了 36%，实际观察近年来推广在我国的先锋杂交种雄穗分枝数确呈明显偏少的特点。然而在玉米杂交种种子生产过程中却要求作父本的亲本植株具有较为发达的雄穗，以利于提高制种质量与降低成本。因此对雄穗性状进行深入研究与合理利用有着重要意义。Schuetz^[4]、霍仕平^[5]、吴建宇^[6]等以经典数量遗传方法对反映雄穗主要特征的分枝数等性状的遗传效应与模型等方面进行了探索。通过分子标记鉴定控制玉米雄穗性状的基因组区域为深入揭示该性状的遗传分子机制提供了新的手段，然而报道还十分有限，而且主要局限于模式自交系 B73 的遗传背景内^[7,8]。Fischer^[9]报道了在热带种质中直接选择较少雄穗的植株缩短了反映耐旱性的抽雄-吐丝间隔值(ASI); Chapman^[10]在对 Tuxpeño sequán 群体进行全同胞的耐旱性改良时，尽管未把雄穗分枝数列为选择指标，但改良的结果使雄穗分枝数在每轮下降了 3.1%。然而迄今还未见有在分子遗传上证据显示雄穗与耐旱性的联系。本研究拟在正常与干旱环境下鉴定反映雄穗主要特征的雄穗分枝数与雄穗总长度 2 个性状的 QTL 座位及其相应遗传效应，并分析在干旱胁迫下对雄穗性状的影响，旨在进一步理解玉米雄穗性状的遗传基础，为育种实践提供依据。

1 材料和方法

1.1 供试材料与田间试验

本研究所用的材料参照付凤玲等^[11]的试验结果，选择了在耐旱性及其他农艺性状均有较大差异的自交系 N87-1(母本)与 9526(父本)为作图群体的亲本，构建了包括 183 个 F₃ 家系的分离群体。各家系分别被种植在正常(Check, CK)与干旱(Drought Stress, DS)胁迫 2 种环境下进行表型鉴定，详细田间试验见高世斌等^[12]以前的报道。在各家系果穗成熟收获时，剪断每个家系 5 株完整雄穗，带回室内按单株计数雄穗分枝数(Tassel Branch Number, TBN)与测量雄穗主轴长度(Total Tassel Length, TTL)，其中雄穗的主轴长度是从雄穗主轴的最顶端至主轴下部的最后一个分枝着生处的距离(cm)，最后统计各家系的平均值用于进一步的分析。

1.2 SSR 标记与遗传连锁图谱构建

F₂ 单株 DNA 按 CTAB 法从幼苗叶片组织提取

分离，SSR 引物合成的序列来自于玉米基因组数据库(MaizeGDB, <http://www.maizegdb.org/>)。先用候选 SSR 引物筛选在 N87-1 与 9526 之间具有多态性的 SSR 标记，用于 F₂ 单株的基因型鉴定。SSR 的 PCR 扩增产物依据其片段差异大小用琼脂糖凝胶或变性聚丙烯酰胺凝胶电泳分离检测。

经 χ^2 检验后，选择扩增位点符合孟德尔分离定律(1:2:1)的引物用于遗传连锁图谱构建，作图软件采用 Mapmaker/Exp3.0(LOD=3.0, $r=0.4$)，作图函数选用 Kosambi 方法，图谱绘制用 MapChart 2.1 完成。

1.3 QTL 检测与效应分析

用各家系的性状平均数进行 QTL 定位，选用 Windows QTL Cartographer (2.0)软件的复合区间作图法。QTLs 检测区间以每隔 2 cM 为一个单位进行扫描，各性状 LOD 阈值的设定由软件 Permutations 方法确定(置换次数 500 次，显著水平 0.05)。

2 结果与分析

2.1 亲本和 F₃ 家系雄穗表型性状分析

以平均数和变异系数比较亲本与 F₃ 各家系间的雄穗分枝数与雄穗主轴长度在两种环境下的差异(表 1)。在正常环境下，亲本与各家系的雄穗分枝数与雄穗总长度均显著高于干旱胁迫环境，表明干旱严重地影响了雄穗的生长发育。其中亲本 N87-1 在两种环境下的差异幅度明显小于亲本 9526 的变化，这也在一定程度上反映了双亲的耐旱性差异，以前的试验鉴定已表明 N87-1 的耐旱性显著强于 9526。值得注意的是，尽管 F₃ 家系 2 个性状的变幅表现为正常环境下大于干旱环境，但是变异系数却均是干旱环境下大于正常环境，表明在胁迫环境下各家系对胁迫反映的程度不一样，进而影响了雄穗的发育。对雄穗分枝数与主轴长度进行相关分析发现呈正相关，但两种环境下均未达显著水平。

2.2 QTL 检测与遗传效应分析

经复合区间作图法在已构建好的包含 103 个标记的 SSR 连锁图谱上一共检测到了 11 个 QTL 座位，分别位于第 2、4、5、6、7 和 10 连锁群上(图 1, 表 2)。雄穗分枝数在正常环境下检测到 2 个 QTL 座位分别位于第 5 和 7 连锁群上；在胁迫环境下检测到 4 个 QTL 座位分别位于 2、5、7 和 10 连锁群上，其

表 1 亲本及 F₃ 家系在两种环境下的雄穗性状的表型鉴定

Table 1 Phenotypic evaluation of tassel traits for parents and F_{2,3} families under two environments

雄穗性状 Trait	环境 Environment	亲本 Parents		F ₃ 家系 F ₃ families		
		N87-1	9526	平均值 Average	范围 Range	变异系数 Variation coefficient
分枝数(TBN)	CK	9.5	12.5	13.8	4.3 ~ 27.0	29.0
	DS	7.8	9.3	12.3	3.67 ~ 26	34.1
主轴长(TTL)	CK	25.2	30.5	32.2	13 ~ 46.2	15.0
	DS	20.4	23.9	25.3	9.5 ~ 12.3	22.7

中在第 5 连锁群 bnlgl836 ~ bnlgl105 和第 7 连锁群的 bnlgl1792 ~ bnlgl1305 标记区间内所检测到 QTL 在两种环境下具有重复性。雄穗主轴长度在正常环境下检测到 2 个 QTL 座位, 分别位于第 2 和 6 连锁群上; 在胁迫环境下的检测到 3 个 QTL 座位分别位于第 2、4 和 10 连锁群上, 其中位于第 2 连锁群上的雄穗分枝数 QTL 座位在两种环境下的也具有有一致性。

按 Stuber 等^[13]标准度量 11 个 QTL 座位的遗传作用方式, 6 个雄穗分枝数座位中有 4 个表现为部分显性, 另 2 个表现为超显性座位。在 5 个雄穗主轴长度 QTL 座位中, 1 个表现为部分加性效应, 另外 4 个表现为超显性效应。在总计被检测到的 11 个 QTL 座位的加性效应部分, 有 8 个座位的加性效值为负值, 占据了主要部分, 显示对雄穗性状值的增加起主要贡献的 QTL 座位来自于亲本 9526 的等位基因, 这与其自身具有相对较为发达的雄穗有关。尽管加性效应值为正值的 QTL 座位数目仅有 3 个, 但值得注意的是位于第 4 和 7 连锁群上的 qTTL4_DS 和

qTBN7_DS 的表型贡献率较高, 分别达到了 14.7% 和 28.4%, 并且都是在胁迫环境下所检测到的, 其增效等位基因来自于抗旱性较强的亲本 N87-1, 在该区域内还曾经检测到与耐旱相关性状 QTL 座位。在 QTL 座位的显性效应中, 以正值为主, 符合通常的杂合位点具有杂种优势规律, 但仍有 4 个座位的效应值表现为负值。各 QTL 座位的表型贡献率变异范围在 5.6%~28.4% 之间, 在 11 个 QTL 座位中表型贡献率超过了 10% 的占据了 5 个, 最高的 QTL 是在胁迫环境下所检测到的第 7 连锁群上的雄穗分枝数 qTBN7_DS 座位。

3 讨论

本研究在两种环境下, 共检测到雄穗分枝数与雄穗主轴长度 2 个性状的 11 个 QTL, 按照 Stuber 等^[13]方法统计的 QTL 基因作用方式, 在 6 个雄穗分枝 QTL 中有 4 个座位表现为部分显性, 加性效应值占据主要部分。Schuetz^[4]与霍仕平等^[5]运用经典数

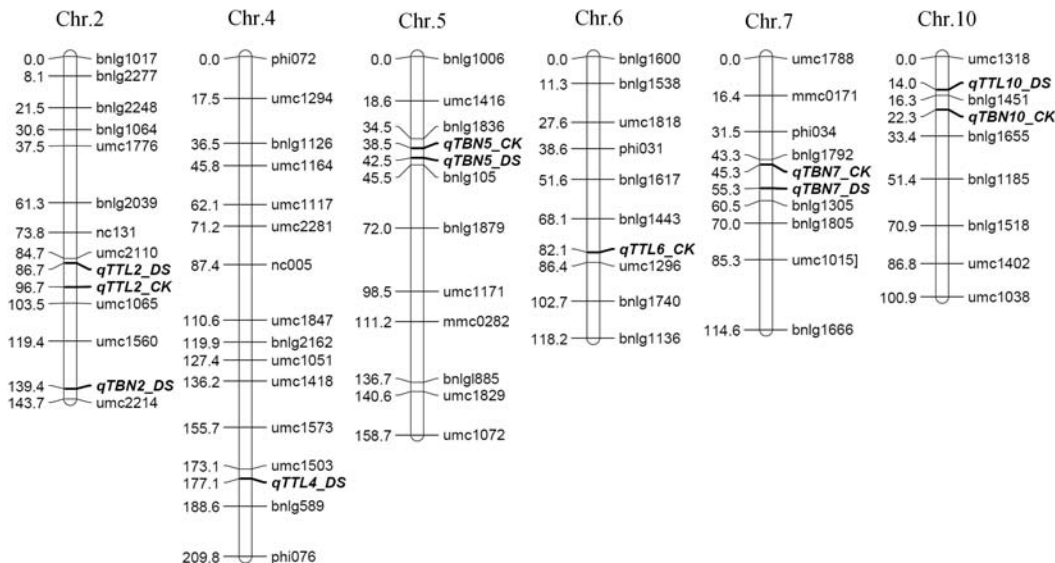


图 1 雄穗分枝数与主轴长性状 QTLs 在标记连锁图上的位置

Fig. 1 QTLs of tassel branch number and total tassel length within SSR linkage map

表 2 玉米雄穗分枝数与主轴长的 QTL 及其遗传效应

Table 2 Putative QTL of tassel traits and their genetic parameters

性状 Trait	QTL	染色体区段 Bin of chromosome	标记区间 Marker interval	LOD	加性效应 Additive	显性效应 Dominance	作用方式* Gene action*	贡献率 R ² (%)
雄穗分 枝数 TBN	qTBN5_CK	5.01 ~ 5.02	bnlg1836 ~ bnlg105	2.3	-1.27	0.80	P	5.6
	qTBN7_CK	7.02 ~ 7.03	bnlg1792 ~ bnlg1305	2.3	1.63	-0.57	P	7.0
	qTBN2_DS	2.07 ~ 2.10	umc1560 ~ umc2214	3.3	-1.65	1.21	P	8.0
	qTBN5_DS	5.01 ~ 5.02	bnlg1836 ~ bnlg105	2.4	-1.02	-2.72	OD	11.1
	qTBN7_DS	7.02 ~ 7.03	bnlg1792 ~ bnlg1305	3.1	3.65	-7.75	OD	28.4
qTBN10_DS	10.01 ~ 10.03	bnlg1451 ~ bnlg1655	3.3	-2.02	0.45	P	8.1	
雄穗 主 轴 长 度 TTL	qTTL2_CK	2.05 ~ 2.06	umc2110 ~ umc1065	2.9	-1.5	1.8	OD	10.1
	qTTL6_CK	6.06 ~ 6.07	Bnlg1443 ~ bnlg1296	2.5	-0.82	-1.87	OD	6.1
	qTTL2_DS	2.05 ~ 2.07	umc2110 ~ umc1065	2.7	-1.1	1.5	OD	7.2
	qTTL4_DS	4.10	umc1503 ~ bnlg589	2.6	2.52	1.62	P	14.7
	qTTL10_DS	10.01 ~ 10.02	umc1318 ~ bnlg1451	3.8	-1.5	2.8	OD	11.7

注: 加性效应的正值表示该 QTL 座位的增效基因来自母本 N87-1, 反之, 负值表示增效基因来自父本 9526。*基因作用方式中, A 表示加性(显性度=0~0.2), P 表示部分显性(显性度=0.21~0.80), D 表示显性(显性度=0.81~1.2), OD 表示超显性(显性度>1.20)。

Note: Positive values of additive indicate that the N87-1 carries the allele for an increase to the value of trait, and negative values indicate that 9526 contributes the allele for an increase to the value of trait. A, additive (dominant degree=0~0.2); P, partial dominant (dominant degree=0.21~0.80); D, dominant (dominant degree=0.81~1.20); OD, over-dominant (dominant degree>1.20).

量遗传学方法研究了雄穗分枝数的遗传规律和遗传力, 认为雄穗分枝数遗传效应以加性为主和具有较高的遗传力, 其狭义遗传力的变幅在 46%~89%之间, 在育种中可以进行早期选择。因此经典数量遗传学与 QTL 分析均表明, 雄穗分枝数性状是遗传力相对较高的性状, 本研究的结果进一步表明存在早代选择的分子基础, 可选择具有较少雄穗分枝数的亲本, 期望组配出较少雄穗的杂交种。然而在 5 个雄穗主轴总长度 QTL 座位中, 仅有 1 个座位的基因作用方式为部分显性, 其余 4 个均属超显性座位, 因此在组配杂交种时要特别注意杂种优势对雄穗主轴长度的影响。

综合已报道的控制雄穗分枝数、雄穗主轴总长度的 QTL 资料(表 3), 除第 6 和 8 染色体上目前还未检测到有雄穗分枝数 QTL 报道以外, 其他染色体上均有分布。本研究所检测到的雄穗分枝数 QTL 所在染色体的 *bin* (MaizeGDB, 按照连锁图上核心标记

把玉米 10 条染色体分成 100 个片段, 一个片段就称为 1 个 *bin*)仍在上述作图群体所鉴定的节段范围之内, 没有在这些染色体 *bin* 以外检测到新的 QTL 座位。雄穗主轴长度 QTL 的鉴定仅在(Illinois low protein × B73) B73 群体中进行过研究, 与我们所定位的结果比较发现在 *bin*6.06~6.07 区段内是两个不同组合所定位的共同区段, 我们在第 2 和 10 染色体检测到了新的 QTL 座位。由于目前只在几个有限的作图群体内鉴定了雄穗性状的 QTL 座位, 所以在染色体某些具体 *bin* 出现相关性状 QTL 集中成簇分布的趋势还不够明显, 随着在其他群体中的更多研究, 可能会呈现出一定的规律。

在我们所定位的第 5 和第 7 连锁群上重复检测到的雄穗分枝数 QTL 座位的染色体 *bin* 附近已鉴定到了有影响控制玉米雄花与雌花发育的突变基因, 如位于 *bin*5.04 的 *thick tassel dwarf1* 基因(该基因可

表 3 其他作图群体所鉴定的雄穗分枝数与雄穗主轴长 QTL 所在染色体的 *bin*Table 3 Chromosome *bin* of QTL associated with TTB and TTL among other mapping populations

性状 Trait	QTL 位置 QTL location
雄穗分枝数 Tassel branch number, TBN	1.01_B; 1.02-1.03_C; 2.02_B; 2.05_B; 2.07_A/B; 3.04_C3*; 3.05_B; 4.05_D; 4.06_C; 4.08_B/C; 5.02_C; 7.0_D; 7.03_A; 9.04_C; 10.04_C
雄穗主轴长 Total tassel length, TTL	1.10_D; 4.05_D; 5.02-5.03_D; 6.06-6.07_D; 7.02_D

A: Illinois high oil × Illinois low oil, Berke *et al.* [14]; B: B73 × M017, Mickelson *et al.* [7]; C: N87-1 × Zhong 31, Tang *et al.* [15]; D: (Illinois Low Protein × B73) × B73, Upadyayula *et al.* [18]

注: 以 3.04_C3* 为例, 表示用 C 作图群体在染色体 *bin*3.04 处检测到了 3 个雄穗分枝数 QTL。

Note: As an example, 3.04_C3* indicates that 3 QTL associated with TBN were detected on chromosome *bin* 3.04 with C mapping population.

增加雌穗与雄穗的分裂组织能力)^[16]以及 *bin7.02* 附近的隐性突变基因 *ramosa1*(该基因的突变体可增加雄穗分枝数)^[17], 其中 *qTBN7_DS* 的表型贡献率达到了 28.4%, 说明我们在第 5 和第 7 连锁群上所检测到的雄穗分枝数 QTL 具有较高的可靠性。

值得注意的是本研究在干旱胁迫环境下检测到相对正常环境较多数目的 QTL, 这可能是由于各家系对胁迫的差异影响了雄穗的生长发育, 增加了家系间的变异, 提高了 QTL 检测的能力。分析在胁迫环境下检测到的 QTL 座位, 多数与本作图群体中在胁迫环境下检测到的其他耐旱相关性状如同样位于第 5 和 7 连锁群上的根重、产量耐旱系数 QTL 相连锁^[11], 因此可以推测耐旱性与雄穗分枝数存在着关联的分子基础, 这可能是在玉米耐旱性群体改良实践过程中间接导致雄穗分枝数减少的原因^[10,18]。

参考文献(References):

- [1] Lambert RJ, Johnson RR. Leaf angle, tassel morphology, and the performance of maize hybrids. *Crop Science*, 1978, 18(3): 499–502.
- [2] Geraldi IO, Miranda Filho JB, Vencovsky R. Estimates of genetic parameters for tassel characters in maize (*Zea mays* L.) and breeding perspectives. *Maydica*, 1985, 30(1): 1–14.
- [3] Duvick DN, Cassman KG. Post-green revolution trends in yield potential of temperate maize in the North-Central United States. *Crop Science*, 1999, 39(6): 1622–1630.
- [4] Schuetz SH, Mock JJ. Genetics of tassel branch number in maize and its implications for a selection program for small tassel size. *Theoretical and Applied Genetics*, 1978, 53(6): 265–271.
- [5] HUO Shi-Ping. Study on inheritance and correlation of tassel in maize. *Acta Agronomica Sinica*, 1993, 19(6): 515–519.
霍仕平. 玉米雄穗的遗传和相关性研究. 作物学报, 1993, 19(6): 515–519.
- [6] WU Jian-Yu, CHEN Yan-Hui, XI Zhang-Ying, XIA Zong-Liang. Preliminary study on the major-polygene inheritance of maize tassel. *Journal of Henan Agricultural University*, 2000, 34(2): 107–113.
吴建宇, 陈彦惠, 席章营, 夏宗良. 玉米雄穗性状主基因-多基因遗传的初步研究. 河南农业大学学报, 2000, 34(2): 107–113.
- [7] Mickelson SM, Stuber CS, Senior L, Kaeppler SM. Quantitative trait loci controlling leaf and tassel traits in a B73 × Mo17 population of maize. *Crop Science*, 2002, 42(6): 1902–1909.
- [8] Upadyayula N, Silva HS, Bohn O, Rocheford TR. Genetic and QTL analysis of maize tassel and ear inflorescence architecture. *Theoretical and Applied Genetics*, 2006, 112(4): 592–606.
- [9] Fischer KS, Edmeades GO, Johnson EC. Recurrent selection for reduced tassel branch number and reduced leaf area density above the ear in tropical maize populations. *Crop Science*, 1987, 27(6): 1150–1156.
- [10] Chapman SC, Edmeades GO. Selection improves drought tolerance in tropical maize populations: II. Direct and correlated responses among secondary traits. *Crop Science*, 1999, 39(5): 1315–1324.
- [11] FU Feng-Ling, ZHOU Shu-Feng, PAN Guang-Tang, YANG Wan-Shen, RONG Ting-Zhao. Multiple regression analysis of drought tolerance coefficients in maize. *Acta Agronomica Sinica*, 2003, 29(3): 468–472.
付凤玲, 周树峰, 潘光堂, 杨婉身, 荣廷昭. 玉米耐旱系数的多元回归分析. 作物学报, 2003, 29(3): 468–472.
- [12] GAO Shi-Bin, FENG Zhi-Lei, LI Wan-Chen, RONG Ting-Zhao. Mapping QTLs for root and yield under drought stress in maize. *Acta Agronomica Sinica*, 2005, 31(6): 718–722.
高世斌, 冯质雷, 李晚忱, 荣廷昭. 干旱胁迫下玉米根系性状和产量的 QTLs 分析. 作物学报, 2005, 31(6): 718–722.
- [13] Stuber CW, Edwards MD, Wendel JF. Molecular marker facilitated investigations of quantitative trait loci in maize. II. Factors influencing yield and its component traits. *Crop Science*, 1987, 27(4): 639–648.
- [14] Berke T, Rocheford TR. Quantitative trait loci for tassel traits in maize. *Crop Science*, 1999, 39(5): 1439–1443.
- [15] TANG Hua, YAN Jian-Bing, HUANG Yi-Qin, ZHENG Yong-Lian, LI Jian-Sheng. QTL mapping of five agronomic traits in maize. *Acta Genetica Sinica*, 2005, 32(2): 203–209.
汤华, 严建兵, 黄益勤, 郑用链, 李建生. 玉米 5 个农艺性状的 QTL 定位. 遗传学报, 2005, 32(2): 203–209.
- [16] Bommert P, Lunde C, Nardmann J, Volbrecht E, Running M, Jackson D, Hake S, Werr W. Thick tassel dwarf1 encodes a putative maize ortholog of the arabidopsis CLAVATA1 leucine-rich repeat receptor-like kinase. *Development*, 2005, 132(6): 1235–1245.
- [17] Vollbrecht E, Springer P, Buckler E, Goh L, Martienssen RA. Architecture of floral branch systems in maize and related grasses. *Nature*, 2005, 436(7054): 1119–1126.
- [18] Bolanos J, Edmeades GO, Martinez L. Eight cycles of selection for drought tolerance in lowland tropical maize. III. Responses in drought-adaptive physiological and morphological traits. *Field Crops Research*, 1993, 31(3-4): 269–286.