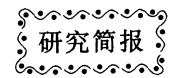


DOI: 10.3724/SP.J.1006.2009.00741



玉米丝裂病的抗性 QTL 定位

魏昕^{1,2} 李丽华² 王振华² 宋锐¹ 曾兴¹ 张志明¹ 荣廷昭¹
潘光堂^{1,*}

¹ 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; ² 河南省农业科学院粮食作物研究所, 河南郑州 450002

摘要: 选用感丝裂病的玉米自交系 R08 与抗丝裂病的自交系 Es40 组配 F₂ 群体共 348 个单株, 构建了包含 115 个 SSR 标记的分子遗传连锁图谱, 覆盖玉米基因组 2 178.6 cM, 平均图距为 18.9 cM。采用复合区间作图法, 对 F_{2:4} 家系丝裂病数据进行抗性 QTL 分析, 共检测到 12 个 QTL, 分别位于第 1、2、4、5 和 7 染色体, 贡献率为 4.22%~37.95%。其中在第 1、3 染色体上检测到主效 QTL, 贡献率均大于 30%, 基因作用方式均为显性, 其余 10 个 QTL 的作用方式多为加性或部分显性。

关键词: 玉米; 丝裂病; QTL 定位; 遗传图谱; SSR

QTL Mapping of Resistance to Silk Cut in Maize

WEI Xin^{1,2}, LI Li-Hua², WANG Zhen-Hua², SONG Rui¹, ZENG Xing¹, ZHANG Zhi-Ming¹,
RONG Ting-Zhao¹, and PAN Guang-Tang^{1,*}

¹ Maize Research Institute / Key Laboratory Crop Genetic Resources and Improvement, Ministry of Education, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China; ² Cereal Crop Research Institute, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China

Abstract: Using 115 SSR markers and the F₂ population consisting of 348 lines derived from the cross between maize (*Zea mays* L.) inbred lines R08 and Es40, a genetic linkage map associated with the resistance to silk cut was constructed. The genetic linkage map covered 2 178.6 cM of maize genome with an average mapping distance of 18.9 cM. Using the composite interval mapping (CIM) method, 12 QTLs controlling the resistance to silk cut were detected on chromosomes 1, 2, 4, 5, and 7. These QTLs explained phenotypic variances ranging from 4.22% to 37.95%. Among them, two major QTLs on chromosomes 1 and 3, which explained more than 30% of phenotypic variances, had dominance effect, whereas, the other 10 QTLs had partial dominance effect or additive effect.

Keywords: Maize (*Zea mays* L.); Silk-cut; QTL mapping; Genetic linkage map; SSR

玉米丝裂病是一种可遗传的非侵染性病害^[1], 典型症状是在玉米种皮上形成与乳线平行的横裂纹或环纹, 裂开的种皮向后皱缩而暴露出胚乳, 从而易受穗粒腐病菌(*Fusarium* spp.)侵害造成烂粒, 同时还易发生胚断裂, 严重影响发芽率。虽然玉米丝裂病在世界玉米产区发生不很普遍, 但因其易导致真菌的二次侵染而影响籽粒的品质和种子出苗率, 危害不容忽视。在环境胁迫下, 一些具有一定产量潜势的玉米品种, 其丝裂病发生率较高且严重, 但不同年份和不同地点的发病情况不一样^[2]。

四川农业大学玉米研究所选育的高配合力、大穗、多抗、广适玉米自交系 08-641(以下简称为 R08)已组配了近 20 个经国家、省审定的玉米新品种, 成为西南地区, 特别是四川玉米育种的骨干自交系。但是由于 R08 易感丝裂病, 在我国西北地区利用其组配的新杂交种丝裂病发病率高达 30%~40%(未发表数据), 在一定程度上影响了该自交系在西南地区玉米育种和生产上应用。

迄今为止, 尚未见到有玉米丝裂病性状的遗传研究报告。为此, 我们在 2004—2007 年期间, 采用感病玉米自

本研究由教育部长江学者和创新团队发展计划项目(IRT0453), 国家高技术研究发展计划(863 计划)项目(2006AA100103), 引进国际先进农业科学技术重大项目(2003-Q03), 国家科技支撑计划项目(2006BAD13B03)资助。

* 通讯作者(Corresponding author): 潘光堂, E-mail: pangt@sicau.edu.cn; Tel: 0835-2882714

第一作者联系方式: E-mail: weixin04@163.com

Received(收稿日期): 2008-07-16; Accepted(接受日期): 2008-12-13.

交系 R08 与抗病玉米自交系 975-12 杂交, 构建了 P_1 、 P_2 、 F_1 、 $F_{2:3}$ 、 $B_{1:2}$ 和 $B_{2:2}$ 共 6 个家系群体, 经分离分析方法鉴定, 发现玉米丝裂病抗性遗传符合 1 对加性主基因+加性—显性多基因模型^[3]。为进一步验证和补充这一结果, 本研究采用 SSR 分子标记技术, 对玉米抗丝裂病性状进行 QTL 定位分析, 以期抗病基因的分离与克隆打下基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料

以玉米感病自交系 R08 和抗病自交系 Es40 为亲本, 2003 年春在四川雅安四川农业大学多营农场配制杂交组合 $R08 \times Es40$ (F_1), 次年获得 F_2 种子。2005 年 9 月在云南元江种植 F_2 群体获 348 个单株, 自交获 $F_{2:3}$ 家系种子。2006 年春将 $F_{2:3}$ 种子在新疆农四师六十六团种子站种植, 2 次重复, 单行区, $0.30 \text{ m} \times 0.55 \text{ m}$, 行长 7.5 m, 家系内混粉得 $F_{2:4}$ 种子用于调查丝裂病发病率。

1.2 籽粒丝裂病的鉴定

籽粒成熟(乳线消失, 黑色层出现)收获后, 当含水量降到 15% 以下时调查发病率。每个家系随机取 1 000 粒, 如果籽粒在与乳线平行处有丝裂纹出现记为发病, 发病籽粒数与调查籽粒数的比值为发病率。为消除均值与误差的相关, 对所有数据做反正弦平方根转换后进行统计分析。

1.3 QTL 作图及基因效应分析

采用 CTAB 法^[4]提取 F_2 单株的基因组 DNA, 选用分布于玉米 10 个连锁群上的 658 对 SSR 引物进行 PCR 扩增^[5]。SSR 引物序列来源于 Maize DB(<http://www.agron.missouri.edu/query.html>), 由 SBS 公司合成, 用 3% 琼脂糖或 6.0% 聚丙烯酰胺凝胶电泳检测 PCR 产物。用 Mapmaker/EXP3.0b^[6]和 QTL Cartographer v2.0 软件^[7]进行数据处理和连锁图谱构建。参照 Stuber 等^[8]的方法确定 QTL 的基因效应类型。

2 结果与分析

2.1 玉米丝裂病表型数据分布

经反正弦平方根转换, $F_{2:4}$ 家系种子丝裂病发生率平均值为 9.3, 变幅为 0~51.84。峰度 1.457, 偏度 1.262, 符合偏态分布(图 1), 表明可能存在主效基因。

2.2 抗玉米丝裂病 QTL 定位

遗传连锁图谱共拟合 115 个标记, 图谱总长 2 076.7 cM, 平均间距 18.9 cM, 与已发表的高密度遗传连锁图谱^[10]相对一致, 能满足 QTL 初级定位的要求。在玉米基因组中共检测到 12 个 QTL(图 2 和表 1), 其中在第 1 染色体上检测到 3 个 QTL, 邻近标记分别为 bnlg1564、umc1144 和 umc2189; 在第 2 染色体检测到 2 个 QTL, 邻近标记分别为 umc1004 和 umc1003; 在第 3 染色体上检测到 1 个 QTL, 邻近标记为 bnlg2047; 在第 4 染色体检测到 3 个

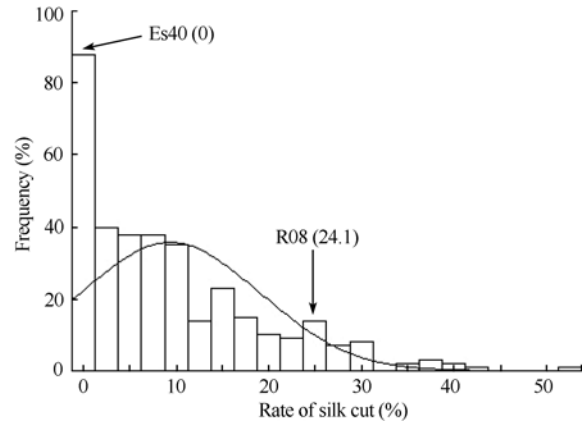


图 1 $F_{2:4}$ 种子丝裂病发生率的分布
Fig. 1 Distribution of silk-cut rate in $F_{2:4}$ family

QTL, 邻近标记分别为 mmc0371 和 umc2280; 在第 5 染色体上检测到 1 个 QTL, 邻近标记为 umc1815; 在第 7 染色体上检测到 2 个 QTL, 邻近标记都为 phi328175。在第 1 和第 3 染色体上, 各有一个主效 QTL, 分别为 $qSC-1-1$ 和 $qSC-3-1$, 其贡献率分别为 36.91% 和 37.95%, 基因作用方式都为显性, 其余 10 个 QTL 的效应均不大, 贡献率在 4.22%~18.61% 之间, 其中 $qSC-1-2$ 、 $qSC-1-3$ 和 $qSC-2-2$ 基因作用方式为加性, $qSC-7-1$ 为显性, $qSC-2-1$ 、 $qSC-4-1$ 、 $qSC-4-2$ 、 $qSC-4-3$ 和 $qSC-5-1$ 为部分显性, $qSC-7-2$ 为超显性(表 1)。

3 讨论

本研究首次对普通玉米丝裂病抗性进行了 QTL 定位分析, 获得 2 个贡献率大于 30% 的主效 QTL 和 10 个贡献率较小的微效 QTL, 这与用经典数量遗传的方法分析得出, 组合 $R08 \times 975-12$ 玉米丝裂病性状是主基因和多基因共同控制的结果较为一致^[3]。但主效基因的作用方式不一致, 可能是不同的遗传背景所致。玉米丝裂病受很多因素的影响^[2], 为尽量做到一种环境条件下鉴定, 最大限度保证鉴定的准确性, 本研究将试验安排在新疆进行。新疆光照强、光照时间长, 昼夜温差大, 空气干燥, 籽粒内部淀粉充实较快, 容易获得较高的产量, 易发病。本研究, 在第 4 和 7 染色体上各检测到 1 对相邻 QTL, 即 $qSC-4-1$ 与 $qSC-4-2$ 、 $qSC-7-1$ 与 $qSC-7-2$, 其临近标记与效应方向相同, 从理论上讲, 复合区间定位不能区分位于相邻标记区间的 2 个 QTL, 因此二者可能实质上是 1 个 QTL。

在抗玉米丝裂病育种的实践中, 由于抗玉米丝裂病的主效 QTL 的基因作用方式为显性, 因此不易在早代进行高强度选择。目前可以采取以高抗玉米丝裂病的自交系作为抗病基因供体、以 R08 为轮回亲本进行回交转育, 实现摒除不利基因, 聚合有益基因, 达到改善丝裂病抗性的目的。

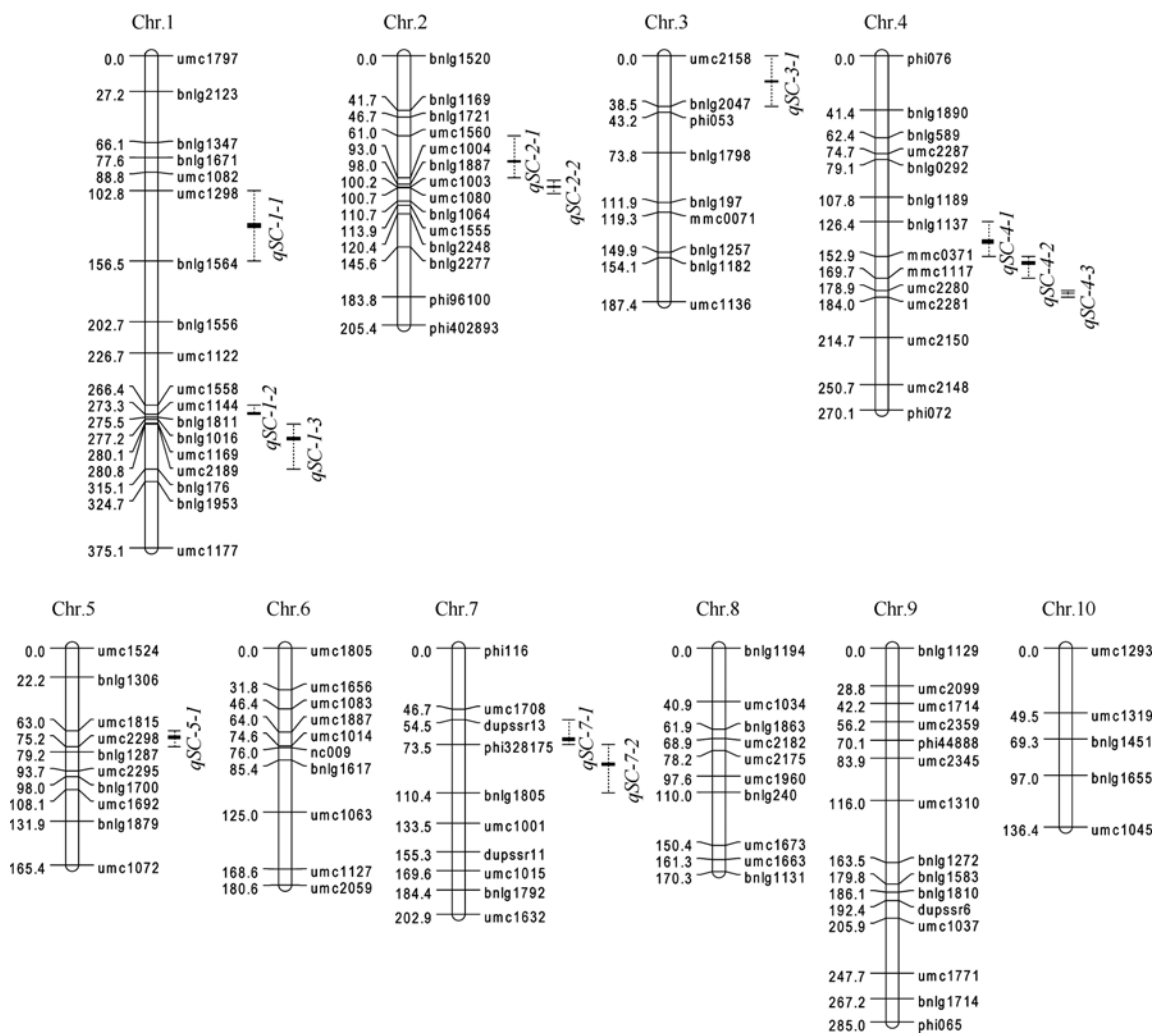


图 2 玉米丝裂病抗性 QTL 连锁图谱
Fig. 2 Linkage map of QTLs associated with resistance to silk cut in maize

表 1 玉米丝裂病抗性 QTL 检测
Table 1 Detection of silk-cut QTL in maize

QTL	染色体 Chromosome	临近标记 Adjacent marker	位置 Position (cM)	LOD	加性效应 A	显性效应 D	作用方式 ¹⁾ Gene action	贡献率 R ² (%)
<i>qSC-1-1</i>	1	bnlg1564	130.81	4.61	-7.11	-8.34	D	36.91
<i>qSC-1-2</i>	1	umc1144	272.41	6.20	-3.68	-0.24	A	6.76
<i>qSC-1-3</i>	1	umc2189	292.81	8.82	-5.27	-0.44	A	13.91
<i>qSC-2-1</i>	2	umc1004	81.01	7.64	5.21	-2.53	PD	14.34
<i>qSC-2-2</i>	2	umc1003	100.01	7.71	4.00	-0.72	A	8.03
<i>qSC-3-1</i>	3	bnlg2047	20.01	5.44	8.83	-8.91	D	37.95
<i>qSC-4-1</i>	4	mmc0371	140.41	3.56	3.70	-1.83	PD	5.68
<i>qSC-4-2</i>	4	mmc0371	158.91	6.56	4.98	-1.68	PD	10.05
<i>qSC-4-3</i>	4	umc2280	180.91	7.16	4.14	-2.43	PD	8.26
<i>qSC-5-1</i>	5	umc1815	69.01	3.78	-3.06	1.32	PD	4.22
<i>qSC-7-1</i>	7	phi328175	66.51	4.51	-2.99	-2.95	D	6.38
<i>qSC-7-2</i>	7	phi328175	89.51	5.52	-4.60	-5.61	OD	18.61

¹⁾ A: additive; PD: partial dominant; D: dominant; OD: over dominant.

References

- [1] Wang X-M(王晓鸣), Dai F-C(戴法超). Manual for Diseases and Insect Pests in Maize (玉米病虫害田间手册). Beijing: China Agricultural Sciencetech Press, 2002. p 49 (in Chinese)
- [2] Odvody G N, Spencer N, Remmers J. A description of silk cut, a stress-related loss of kernel integrity in preharvest maize. *Plant Dis*, 1997, 81: 439–444
- [3] Wei X(魏昕), Li L-H(李丽华), Wang J(王娟), Fan Q-Q(樊庆琦), Lan H(兰海), Wu Y-Q(吴元奇), Rong T-Z(荣廷昭), Pan G-T(潘光堂). Quantitative genetic analysis of silk cut in maize. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 2008, 41(8): 2235–2240(in Chinese with English abstract)
- [4] CIMMYT. Applied Molecular Genetics Laboratory Protocol. Mexico: CIMMYT, 1998
- [5] Wei X(魏昕), Rong T-Z(荣廷昭), Pan G-T(潘光堂). The genetic diversity variation revealed by SSR markers in the tropical maize population Pob32 after 5 cycles of mass selection. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 2006, 39(2): 237–245(in Chinese with English abstract)
- [6] Lincoln S E, Daly M J, Lander E S. Constructing Genetics Linkage Maps with MAPMAKER/EXP Version3.0b: A Tutorial and Reference Manual, 3rd edn. Cambridge, Massachusetts: Institute for Biometrical Research, 1993 [2008-08-10]. http://www.umani-toba.ca/afs/plant_Science/psgendb/doc/mapmaker.tutorial.pdf.
- [7] Wang S, Basten C J, Zeng Z B. WindowsQTLCartographer2.0. Raleigh, NC: Department of Statistics, North Carolina State University, 2003 [2008-08-10]. <http://statgen.ncsu.edu/qtlcart/WQTLCart.htm>
- [8] Stuber C W, Edwards M D, Wendel J F. Molecular marker-facilitated investigation of quantitative trait loci in maize: II. Factors influencing yield and its component traits. *Crop Sci*, 1987, 27: 639–648
- [9] Maize Genetics and Genomics Database. [2008-08-10] <http://www.maizegdb.org/>