张姿丽, 蒋 锋, 刘鹏飞,等. 甜玉米雄穗一级分枝数 QTL 定位[J]. 华南农业大学学报,2014,35(1):110-113.

# 甜玉米雄穗一级分枝数 QTL 定位

张姿丽,蒋锋,刘鹏飞,陈青春,张 媛,王晓明 (仲恺农业工程学院作物研究所,广东广州 510225)

摘要:【目的】为改良玉米雄穗性状.【方法】以雄穗一级分枝数有显著差异的超甜玉米自交系 T4 和 T19 为亲本,构建了包含 232 个单株的  $F_2$  群体,考察雄穗一级分枝数,利用复合区间作图法进行 QTL 定位.【结果和结论】结果获得一张包含 77 个 SSR 标记的遗传连锁图谱,全长 868.7 cM,标记平均间距为 11.28 cM,共检测到 4 个与超甜玉米雄穗一级分枝数相关的 QTL 位点,分别位于玉米第 4、7、8 染色体上,可解释 5.08% ~ 17.71% 的表型变异. 主效QTL 位点 qTBN-4 位于第 8 染色体,可解释 17.71% 的表型变异. 这些 QTLs 将为雄穗一级分枝数的分子标记辅助选择提供依据.

关键词:甜玉米; 雄穗一级分枝数; 复合区间作图; QTL

中图分类号:S513

文献标志码:A

文章编号:1001-411X(2014)01-0110-04

## QTL mapping for tassel primary branch number in sweet corn

ZHANG Zili, JIANG Feng, LIU Pengfei, CHEN Qingchun, ZHANG Yuan, WANG Xiaoming (Crop Research Institute, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China)

Abstract: [Objective] To improve the tassel of maize. [Method] In this study, a cross between sweet corns inbred T4 and T19, which were significantly different in tassel primary branch number, was designed and QTLs for tassel primary branch number were identified in a whole genome with the methods of multiple interval mapping (CIM) based on 232 F<sub>2</sub> individuals. [Result and conclusion] A genetic linkage map composing of 77 simple sequence repeat (SSR) markers covering 868.7 cM with an average interval of 11.28 cM was constructed. Four QTLs for tassel primary branch number in chromosome 4, 7, 8 were detected, accounting for 5.08% –17.71% of phenotypic variance. The main QTLs were located on chromosome 8 which accounted for 17.71% of the total phenotypic variance. These QTLs provide the basis of marker-assisted selection for tassel primary branch number.

Key words: sweet corn; tassel primary branch number; multiple interval mapping; QTL

玉米是异花授粉作物,雄穗是玉米生殖生长过程中至关重要的器官,是与产量形成有关的重要农艺性状之一<sup>[1]</sup>.雄穗和雌穗均为生殖器官,共同竞争光合产物,较大的雄穗将生产大量花粉,浪费更多的能量,前人研究证明玉米雄穗大小与籽粒产量之间存在显著负相关<sup>[2]</sup>,而雄穗分枝数是雄穗大小的主要决定因素.因此,剖析玉米雄穗分枝性状的遗传结

构、杂种优势等对保持父本的优良雄穗性状、指导玉 米育种、促进玉米生产具有重要的指导意义.

玉米雄穗性状属数量性状,大量研究表明其为多基因控制<sup>[3]</sup>.随着玉米分子标记技术的发展,QTL 定位方法大量应用于数量性状的研究,借助 QTL 作图,确定玉米雄穗分枝数的主要控制基因位点及这些基因之间的互作关系,能够对玉米的育种改良提

收稿日期:2013-02-21 优先出版时间:2013-11-07

优先出版网址:http://www.cnki.net/kcms/detail/44.1110.S.20131107.1459.001.html

作者简介: 张姿丽 (1979—), 女, 讲师, 博士, E-mail: lily0501@gmail.com; 通信作者: 王晓明 (1956—), 男, 教授, 硕士, E-mail: wxm1724@126.com

基金项目:公益性行业(农业)科研项目(201303008);广东省科技计划项目(2012B020301006)

http://xuebao.scau.edu.cn

供实践指导和理论依据. Mickelson 等<sup>[4]</sup>利用 B73 × Mo17 群体对玉米雄穗分枝数和雄穗角度进行了基因定位研究, 共检测到 6 个与雄穗分枝数相关的QTL, 其中位于第 2 染色体 umc53a 附近的主效 QTL位点, 贡献率达 19.2%. 汤华等<sup>[5]</sup>利用豫玉 22 的F<sub>2:3</sub>家系对玉米雄穗分枝数进行QTL定位,检测到9个相关QTL位点. 高世斌等<sup>[6]</sup>利用玉米组合(N87-1×9526)的F<sub>2:3</sub>家系,在干旱和正常 2 种环境条件下共同检测到位于第 5、7 号染色体上控制雄穗分枝数目的多个QTL位点. 迄今为止,在不同遗传背景、环境条件下检测和定位到大量雄穗分枝数相关QTL<sup>[7-11]</sup>,研究结果不完全一致,QTL 的稳定性也很少得到鉴定. 有必要进一步发掘和鉴定玉米雄穗分枝数相关QTL, 研究其分布和遗传效应以及稳定性.

本研究采用在雄穗分枝数存在显著差异的超甜 玉米自交系 T4 和 T19 为亲本,组配 F<sub>2</sub> 群体,构建分子标记连锁图,对雄穗分枝数进行全基因组扫描,以 期检出贡献率较大的主效 QTL 位点,为分子标记辅 助选择提供依据,为进一步揭示雄穗分枝数的遗传 机理提供帮助,为甜玉米背景下改良玉米雄穗性状育种提供有用信息.

### 1 材料与方法

### 1.1 材料

自交系 T4 和 T19,由仲恺农业工程学院玉米研究室提供,基因型纯合. T4 的平均雄穗一级分枝数为12.5、T19 为 22.8,两亲本雄穗一级分枝数差异极显著.

### 1.2 田间试验

2009 年春,在仲恺农业工程学院钟村教学农场选取土壤肥力均匀一致的田块,以 T4 为母本( $P_1$ )、T19 为父本( $P_2$ )进行杂交. 2009 年秋,种植  $F_1$ ,自交获得  $F_2$  果穗. 2010 年春,种植该组合  $P_1$ 、 $P_2$ 、 $F_1$  和  $F_2$  代材料,行距 0. 8 m、株距 0. 3 m,周围设置保护行.同时于大喇叭口期采集该组合亲本  $P_1$ 、 $P_2$ 、 $F_1$  和  $F_2$  群体的幼嫩叶片,采用改良 CTAB 法提取其  $DNA^{[12]}$ ,稀释 DNA浓度到 25 ng·mL·用于 SSR 标记检测. 于散粉后 20 d 调查雄穗一级分枝数, $P_1$ 、 $P_2$ 和  $F_1$ 各选取 10 株调查一级分枝数.

#### 1.3 SSR 标记分析及连锁图谱构建

根据国际玉米小麦改良中心网站(www. maizeg-db. org)公布的玉米 SSR 引物序列,选取在染色体上分布均匀的 250 对 SSR 引物,检测 T4 和 T19 基因组之间的多态性,以 F<sub>2</sub> 为作图群体构建遗传连锁图谱. SSR 引物由上海 Sangon 公司合成,参照 Zhang等<sup>[13]</sup>的方法进行 PCR 扩增、产物电泳和银染. 用 Join-

Map 3.0 软件分析标记间的连锁关系,最低 LOD 值为 2.5,最大遗传距离为50 cM,构建分子遗传图谱<sup>[14]</sup>,采用 Kosambi 函数,遗传图距单位为 cM(centiMorgan).

### 1.4 QTL 分析及命名

雄穗一级分枝数性状平均数、标准差等采用 Microsoft Excel 2003 进行统计分析. 采用复合区间作图法,利用 Windows QTL Cartographer V2.0 进行 QTL 位点的检测并估计其效应值,通过 1 000 次排列来检测 QTL 位点的临界值,选用 LOD 值为 2.5 [15]. QTL 命名方法参照 McCouch 等[16] 的方法,雄穗分枝数 QTL 以 TBN (Tassel branch number)表示,不同位点的 QTL 则加数字"1"、"2"、"3"等加以区别.

### 2 结果与分析

### 2.1 雄穗一级分枝数表型变异

对  $P_1$ 、 $P_2$ 、 $F_1$  和  $F_2$  群体的雄穗一级分枝数进行描述性统计分析, 雄穗一级分枝数各统计量见表 1. 因  $P_1$ 、 $P_2$  和  $F_1$  只选取了 10 株进行表型鉴定, 未统计其变异系数、峰度和偏度,  $F_1$  代的雄穗一级分枝数均值为 17. 10, 双亲均值为 17. 65, 与双亲均值接近;  $F_2$  群体的雄穗一级分枝数均值为 18. 00, 略高于双亲均值,变幅为 10~25, 表现为超亲分离, 其峰度值为 - 0. 52, 偏度值为 - 0. 10, 均小于 1, 表现为正态分布,符合 QTL 定位的基本要求, 可以进行 QTL 检测.

表 1 P<sub>1</sub>、P<sub>2</sub>、F<sub>1</sub>和 F<sub>2</sub>群体雄穗一级分枝数的表型变异 Tab. 1 The phenotypic variation of tassel primary branch number in P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, F<sub>1</sub> and F<sub>2</sub> population

| 调查群体           | 均值    | 变幅      | 标准差  | 变异系数  | 峰度    | 偏度    |
|----------------|-------|---------|------|-------|-------|-------|
| $P_1$          | 12.50 | 11 ~ 13 | 1.23 |       |       |       |
| $P_2$          | 22.80 | 21 ~ 23 | 0.79 |       |       |       |
| $\mathbf{F}_1$ | 17.10 | 15 ~ 19 | 2.43 |       |       |       |
| $\mathbf{F}_2$ | 18.00 | 10 ~ 25 | 6.32 | 35.11 | -0.52 | -0.10 |

#### 2.2 SSR 标记连锁图谱构建

250 对 SSR 引物经筛选,得到 T4 和 T19 之间有多态性的引物 81 对,均为共显性标记,用 Joinmap3. 0 软件对 232 单株的  $F_2$  群体的 81 个多态位点进行连锁分析,得到 1 张含 77 个位点全长 868. 7 cM 的玉米 SSR 标记遗传连锁图谱,包含 10 个连锁群,标记顺序与 IBM 2008 Neighbors 的图谱相一致,定名为 10 条染色体,标记间的平均间距为 11. 28 cM(图 1).

### 2.3 甜玉米雄穗一级分枝数 QTL 定位

232 个 F<sub>2</sub> 群体的雄穗一级分枝数结合分子标记连锁图信息,应用复合区间作图的方法共检测到 4 个 QTL,分别位于第 4、7、8 染色体上(图 1,表 2). 其中,在第 4 染色体检测到 1 个 QTL 位点(*qTBN-1*),可

http://xuebao.scau.edu.cn

解释 6.61% 的表型变异,加性效应值为 -1.18;在第 7 染色体上检测到 2 个位点(qTBN-2 和qTBN-3),对表型的贡献率分别为 5.08% 和 5.79%,加性效应值分别为 -0.83 和 -0.93;主效 QTL 位点,qTBN-4 位于第 8

染色体,可解释 17.71%的表型变异,加性效应值为 - 1.69. 所检测到的 4 个 QTL 位点的加性效应值均为负值,说明雄穗一级分枝数少的亲本 T4 提供了 4 个雄穗一级分枝数少的有利等位基因.

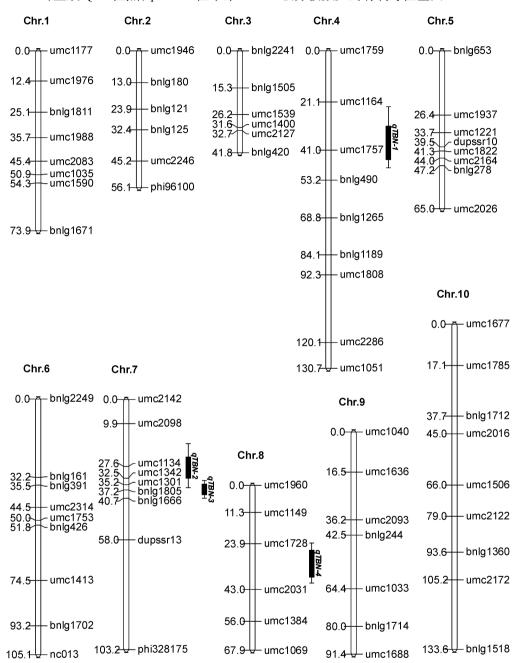


图 1 甜玉米 F<sub>2</sub> 群体 SSR 标记连锁遗传图谱及雄穗一级分枝数 QTL 分布

Fig. 1 SSR genetic linkage map and chromosome location of QTL clusters for tassel primary branch number in F<sub>2</sub> population of sweet corns

表 2 甜玉米  $F_2$  群体复合区间法检测到的雄穗一级分枝数 QTL

Tab. 2 All QTLs detected for TBN using the method of CIM in F<sub>2</sub> population of sweet corns

| QTLs      | 染色体位置  | 遗传距离/cM | 标记区间              | 加性效应  | 显性效应  | LOD 值 | 贡献率/% |
|-----------|--------|---------|-------------------|-------|-------|-------|-------|
| qTBN-1    | Chr. 4 | 41.0    | umc1757-bnlg490   | -1.18 | 0.23  | 4.00  | 6.61  |
| qTBN-2    | Chr. 7 | 29. 6   | umc1134 - umc1342 | -0.83 | 0. 84 | 2. 66 | 5. 08 |
| qTBN- $3$ | Chr. 7 | 35.2    | umc1301-bnlg1805  | -0.93 | 0.91  | 3.73  | 5.79  |
| qTBN-4    | Chr. 8 | 31.9    | umc1728 - umc2031 | -1.69 | 0.82  | 7.58  | 17.71 |

# 3 讨论与结论

玉米雄穗相关性状的研究<sup>[1-11,17-19]</sup>,以及玉米雄穗分枝数的遗传和 QTL 定位研究<sup>[4-6,8-9,11,19]</sup>已有报道. Geraldi 等<sup>[2]</sup>的研究表明雄穗分枝数与产量呈负相关(r=-0.65)<sup>[2]</sup>. Schuetz 等<sup>[17]</sup>与霍仕平等<sup>[18]</sup>运用经典数量遗传学方法研究了雄穗分枝数的遗传规律和遗传力,结果认为雄穗分枝数遗传效应以加性为主遗传力较高,狭义遗传力在 46% ~89% 之间,在育种中可以进行早代选择,而小的雄穗有利于玉米将更多的能量转化为产量. 本研究中考察了 P<sub>1</sub>、P<sub>2</sub>、F<sub>1</sub>和 F<sub>2</sub>群体的雄穗一级分枝数,F<sub>1</sub>和 F<sub>2</sub>的均值与双亲均值差异均不大,说明雄穗一级分枝主要受基因间的加性效应影响,选择雄穗一级分枝数少的亲本有利于选育小雄穗杂交种,提高产量.

已有许多关于雄穗一级分枝数基因定位的报 道. 汤华等[5] 定位了9个玉米雄穗分枝数 QTL,可解 释表型变异的 5.13%~12.01%, 其中 6 个 QTL 来 自父本的等位基因有增效作用. Upadyayula 等[19] 2006 年利用 BC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> 群体对玉米的雄穗长、雄穗质量 和雄穗分枝角度等 13 个雄穗相关性状讲行 OTL 定 位研究,在7.02 bin 位置检测到6个QTL位点与雄 穗性状有关. 本研究中利用 2 个雄穗一级分枝数有 显著差异的超甜玉米自交系为亲本构建 F, 群体,共 检测到 4 个雄穗分枝数 QTLs,分别位于第 4、7、8 染 色体上. 其中,主效 QTL qTBN-4 定位于第8条染色 体,表型贡献率为17.71%.王迪等[9]的研究也发现, 第8染色体存在着环境稳定的雄穗分枝数相关 QTL,与本研究中的位置一致,说明第8条染色体存 在控制雄穗一级分枝数的重要基因. qTBN-3 位于第 7 染色体,与张志明等[8] 定位的雄穗分枝数 QTL 存 在一个共同连锁标记 bnlg1553,而王迪<sup>[9]</sup>在 7.02 bin 也检测到控制雄穗一级分枝数的 QTL 位点. 因此, 7.02 bin 也存在影响雄穗一级分枝数的重要基因. 本 研究也在第4和第7染色体发现了前人未检测到的 2 个微效 QTL 位点 qTBN-1 和 qTBN-3, 其功能有待于 进一步验证. 玉米雄穗一级分枝数是育种者选育品 种时的重要性状,少的雄穗一级分枝数意味着更高 的产量,本研究在甜玉米背景下检测到1个影响雄 穗一级分枝数的主效 QTL 位点和 1 个前人有报道的 QTL 位点,为进一步进行玉米雄穗一级分枝数 QTL 的精细定位和甜玉米小雄穗分子标记辅助选择育种 提供了基础和依据.

#### 参考文献:

- [1] LAMBERT R J, JOHNSON R R. Leaf angle, tassel morphology, and the performance of maize hybrids [J]. Crop Sci, 1978, 18:499-502.
- [2] GERALDI K S, MIRANDA FILHO J B, VENCOVSKY

- R. Estimates of genetic parameters of tassel characters in maize (*Zea mays L.*) and breeding perspectives [J]. Maydica, 1985, 30:1-14.
- [3] BROWN P J, UPADYAYULA N, MAHONE G S, et al. Distinct genetic architectures for male and female inflorescence traits of maize [J]. PloS Genet, 2011,7:1-14.
- [4] MICKELSON S M, STUBER C S, SENIOR L, et al. Quantitative trait loci controlling leaf and tassel traits in a B73 × Mo17 population of maize [J]. Crop Sci, 2002, 42:1902-1909.
- [5] 汤华, 严建兵, 李建生, 等. 玉米 5 个农艺性状的 QTL 定位 [J]. 遗传学报, 2005, 32(2): 203-209.
- [6] 高世斌, 赵茂俊, 兰海, 等. 玉米雄穗分枝数与主轴长的 QTL 鉴定 [J]. 遗传, 2007, 29(8): 1013-1017.
- [7] 丰光,李妍妍,景希强,等. 玉米雄穗分枝性状的数量遗传分析[J]. 沈阳农业大学学报,2011,42(1):94-97.
- [8] 张志明, 赵茂俊, 荣廷昭, 等. 玉米 SSR 连锁图谱构建 与株高及雄穗分枝数 QTL 定位 [J]. 作物学报, 2007, 33(2): 75-79.
- [9] 王迪,李永祥,王阳,等. 控制玉米雄穗分枝数目和雄穗重的主效 QTL 的定位[J]. 植物学报,2011,46 (1):11-20.
- [10] 白琪林, 陈绍江, 苏书文, 等. 玉米雄穗性状的配合力及遗传参数研究 [J]. 华北农学报, 2004, 19(1): 13-16.
- [11] 杨晓军,路明,张世煌,等. 玉米株高和雄穗分枝数的QTL定位[J]. 遗传,2008,30(11):45-49.
- [12] PATERSON A H, BRUBAKER C L, WENDEL J F. A rapid method for extraction of cotton (*Gossypium* spp.) genomic DNA suitable for RFLP or PCR analysis [J]. Plant Mol Biol Rep., 1993, 11:122-127.
- [13] ZHANG J, GUO W, ZHANG T. Molecular linkage map of allotetraploid cotton ( *Gossypium hirsutum L. × Gossypium barbadense L.*) with a haploid population [J]. Theor Appl Genet, 2002, 105(8); 1166-1174.
- [14] VAN O J, VOORRIPS R E. JoinMap Version 3.0, software for the calculation of genetic linkage maps [R]. Wangeningen, the Netherlands: Plant Research International, 2001.
- [15] BASTEN C J, WEIR B S, ZENG Z B. QTL Cartograp Her Version 2.0 [R]. Raleigh, NC: North Carolina State University, 2001.
- [16] McCOUCH S R,CHO Y G,YANO P E, et al. Report on QTL nomenclature [J]. Rice Genet Newslett,1997(14):11-13.
- [17] SCHUETZ S H, MOCK J J. Genetics of tassel branch number in maize and its implications for a selection program for small tassel size [J]. Theor Appl Genet, 1978, 53(6);265-271.
- [18] 霍仕平. 玉米雄穗的遗传和相关性研究 [J]. 作物学报,1993,19(6):24-27.
- [19] UPADYAYULA N, DA SILVA H S, BOHN M O, et al. Genetic and QTL analysis of maize tassel and ear inflorescence architecture [J]. Theor Appl Genet, 2006, 112 (4):592-606.

【责任编辑 周志红】