

利用高密度 SNP 芯片定位玉米雄穗分枝数 QTL

徐 翠¹, 许理文², 葛建榕², 张华生², 王元东², 路运才¹, 王凤格²

(¹ 黑龙江大学现代农业与生态环境学院, 哈尔滨 150080; ² 北京市农林科学院玉米研究中心 /

玉米 DNA 指纹及分子育种北京市重点实验室, 北京 100097)

摘要: 玉米雄穗分枝数是影响玉米产量的重要因素之一, 研究控制玉米雄穗分枝数的 QTL 位点对玉米品种改良、分子辅助育种具有重要意义。本研究利用京科 968 的双亲京 724 和京 92 构建 BC₁F₁ 群体, 以 Maize6H-60K 高质量高密度 SNP 芯片鉴定群体基因型, 获得 28910 个高质量多态性 SNP, 构建了包含 2737 个 BIN 标记的高密度遗传图谱, 各染色体 BIN 标记数在 145~512 个之间, BIN 标记平均遗传距离为 0.56 cM。2021 年将亲本及 727 个单株种植在北京, 调查雄穗分枝数。采用 QTL IciMappingV4.2 的完备区间作图法进行雄穗分枝数 QTL 检测及定位, 共检测到 6 个 QTL, 分别位于第 2、5、6、7、8 和 9 染色体, QTL 的 LOD 值范围为 3.18~11.08, 揭示 1.58%~5.59% 的表型变异。通过物理位置比对, 6 个 QTL 中有 4 个与前人定位在相同区域, qTBN6 和 qTBN7 尚未见报道。其中 qTBN6 的 LOD 为 6.73, 增效等位基因来自京 724, 具有负的加性效应, 作用为减少雄穗分枝数。本研究为克隆调控雄穗分枝数功能基因奠定了基础。

关键词: 玉米; 雄穗分枝数; SNP 芯片; QTL 定位

QTL Mapping of the Tassel Branch Number Using High-density SNP Array in Maize

XU Cui¹, XU Li-wen², GE Jian-rong², ZHANG Hua-sheng²,

WANG Yuan-dong², LU Yun-cai¹, WANG Feng-ge²

(¹ College of Advanced Agriculture and Ecological Environment of Heilongjiang University, Harbin 150080;

² Maize Research Center, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences/Beijing Key

Laboratory of Maize DNA Fingerprinting and Molecular Breeding, Beijing 100097)

Abstract: The tassel branch number of maize is one of the important factors affecting the yield production. Unlocking the QTL loci to control the tassel branch number of maize is of great significance for maize variety improvement and molecular assisted breeding. In this study, the individuals of a BC₁F₁ population derived from the parents Jing724 and Jing92 of Jingke968 were genotyped using high-throughput high-quality SNP array Maize6H-60K. By taking use of 28910 polymorphic SNPs, a high density genetic map containing 2737 BIN markers was constructed. The number of BIN markers on each chromosome ranged from 145 to 512, and the average genetic distance was 0.56 cM. Both parents and 727 offspring lines were planted in Beijing in 2021 to investigate the tassel branch number, followed by QTL mapping using Inclusive Composite Interval Mapping (ICIM) in software QTL Ici Mapping V4.2. A total of 6 QTL were detected, located on chromosomes 2, 5, 6, 7, 8 and 9, respectively. The LOD score of QTL ranged from 3.18 to 11.08, revealing 1.58% to 5.59% phenotypic variation. While four QTL were located in the same or adjacent area as previously reported,

收稿日期: 2021-12-23 修回日期: 2022-01-09 网络出版日期: 2022-02-09

URL: <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20211223002>

第一作者研究方向为玉米种质资源创新与利用, E-mail: 2202080@s.hlju.edu.cn; 许理文为共同第一作者

通信作者: 王凤格, 研究方向为玉米分子鉴定研究, E-mail: gege0106@163.com

路运才, 研究方向为玉米种质资源创新与利用, E-mail: luyuncaicai@hlju.edu.cn

基金项目: “十三五”国家重点研发计划 (2016YFD0101803)

Foundation project: National Key Research and Development Program of the 13th Five-year Plan (2016YFD0101803)

two novel QTL qTBN6 and qTBN7 have been revealed. The LOD of qTBN6 was 6.73, and the synergistic allele derived from Jing724, with a negative additive effect to reduce the tassel branch number. Collectively, this study laid a foundation for future isolating the functional genes that regulate the tassel branch number in maize.

Key words: maize; tassel branch number; SNP chip; QTL mapping

玉米作为粮食、饲料、果蔬和工业原料于一体的多用途兼用作物,在保障国家粮食安全方面发挥着重要作用^[1]。研究发现,现代玉米品种产量的提升主要归因于种植密度的增加,随着种植密度的增加,玉米株型的研究成为热点^[2-3]。玉米雄穗分枝数是株型构成要素之一,Duvick^[4]分析美国 20 世纪 30 年代至 21 世纪初不同年代杂交种的农艺性状与产量的变化趋势,发现随着时间的增加,玉米雄穗分枝数逐渐减少,大约每 10 年减少 2~3 个分枝;Li 等^[5]研究中国 40 年间(1964-2001 年)杂交种的农艺性状随年代的变化规律,发现雄穗分枝数也呈降低趋势。Lambert 等^[6]、Geraldi 等^[7]和贾波等^[8]研究发现,雄穗分枝数与玉米产量负相关,其生长在植株的顶端,先于雌穗发育,雄穗分枝数过多,不仅造成光和能量的浪费,消耗大量养分,加剧与雌穗的竞争,而且产生过多的花粉,高于植株本身需求,覆盖于玉米叶片表面,从而影响叶片的光合作用,因此选育雄穗分枝数少的玉米品种,也是提高玉米产量的重要途径之一。

解析玉米雄穗分枝数性状的遗传基础,挖掘控制雄穗分枝数的 QTL 是雄穗分子设计育种的基础。迄今为止,已有诸多研究者对雄穗分枝数的遗传模型进行研究。Mock 等^[9]、Schuetz 等^[10]、霍仕平^[11]、吴建宇等^[12]研究雄穗分枝数的遗传模型,结果显示,雄穗分枝数为多基因控制的数量性状,受多个遗传因素控制,遗传力可达到 80% 以上,并符合加性、显性基因作用方式,无显著上位性效应。Mickelson 等^[13]以 B73 与 Mo17 为亲本材料构建分离群体,一共定位到 6 个 QTL。王迪等^[14]以齐 319、掖 478 和黄早四为亲本材料构建了 2 个 $F_{2,3}$ 群体,2 个群体雄穗分枝数广义遗传力分别为 93.3% 和 87.7%,共检测到 40 个 QTL。Chen 等^[15]以昌 7-2 和 787 为亲本构建了包含 707 个个体的 F_2 群体,利用低覆盖测序技术进行 F_2 群体的基因型分析,共检测到 7 个 QTL,其中最小物理区间为 0.8 Mb。王赛等^[16]以豫 086 和豫 M 1-7 为亲本材料,利用 10K SNP 芯片检测群体的基因型,构建连锁图谱,平均图距为

0.85 cM,定位到 7 个雄穗分枝数 QTL。以上研究为玉米雄穗分枝数的研究已提供丰富的遗传学基础,但是因遗传背景、标记类型、群体大小等的限制,前人发现 QTL 的染色体分布及其效应大小各不相同,不同研究所发掘 QTL 的重复率相对较低,只有少数主效 QTL 被重复检测到,大部分 QTL 的效应值较低且定位区间大,在生产上应用较少。并且前人发现的 QTL 大多数起增加雄穗分枝数的作用,而减少雄穗分枝数的 QTL 报道较少。因此,定位减少雄穗分枝数的 QTL,挖掘减效的等位变异或等位基因,分析玉米雄穗分枝发育的分子机制,还有待深入探索。现今,随着测序技术的快速发展,在玉米基因组上发现了大量 SNP,开发了多款 SNP 芯片,如 3K、50K、55K、60K 芯片等,在玉米遗传研究上得到了广泛应用^[17-20],利用 SNP 芯片技术可以快速、精确地定位 QTL,为后续的精确定位和图位克隆奠定良好基础。

京 724 为 X 群代表系,品质优良,且雄穗分枝数少,通常无分枝^[21]。本研究以京 724 和京 92 为亲本,构建 BC_1F_1 群体,利用 Maize6H-60K 芯片分析群体的基因型,构建高分辨率遗传连锁图谱,精确定位雄穗分枝数 QTL,为克隆玉米雄穗分枝数的相关基因和玉米雄穗的分子设计育种提供基础支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料及其种植

2020 年冬,在海南三亚北京市农林科学院南繁基地(31.28°N, 121.49°E)种植京科 968 及其双亲京 92 和京 724,花期以京 92 为轮回亲本与京科 968 回交,构建 BC_1F_1 回交群体。2021 年春,将 727 个 BC_1F_1 单株及京 92 和京 724 种植于北京市农林科学院内试验基地(39.94°N, 116.28°E)。所有材料种植均采用完全随机区组设计,单行区,行长 4 m,行距 60 cm,每行 18 株,种植密度 75000 株/hm²。研究材料大田管理同当地玉米种植管理方法。

1.2 表型调查及统计分析

在玉米的散粉盛期至乳熟中期调查 BC₁F₁ 群体及亲本雄穗分枝数,参照 Mock 等^[9]的方法,以每个分枝上可产生花粉作为一个有效分枝,分枝上花粉囊少于 3 个,则亦视为无效分枝,不纳入分枝数表型数据统计。Excel 2016 统计汇总表型数据,SPSS 26.0 软件对分枝数数据进行描述分析,检验 BC₁F₁ 群体雄穗分枝数是否符合正态分布以及亲本间是否存在显著差异。利用芯片基因型检测数据进行背景评估,Excel 2016 统计基因型数据,筛选具有主效 QTL 片段的 BC₁F₁ 单株和无主效 QTL 片段的 BC₁F₁ 单株,Graphpad Prism8.0 软件分析两者间雄穗分枝数的表型差异,进而解析主效 QTL 的雄穗分枝数遗传效应。

1.3 基因组 DNA 提取及基因分型

于苗期将 BC₁F₁ 群体及亲本每株挂牌,田间采集玉米叶片,利用打孔器将叶片打入 2.0 mL 的离心管中,每个离心管中装有 5 mm 钢珠。将装好样品的离心管按照顺序放入研磨机 (SPEX Geno2010-230 型,产地:美国,原制造商:美国 SPEX) 配备的 48 孔金属槽中,经液氮冷冻后进行研磨,采用 SDS 裂解法提取玉米基因组 DNA。

利用 Qubit4 测定 DNA 浓度,均一化到 10 ng/μL 后,使用北京市农林科学院玉米研究中心开发的 Maize6H-60K 芯片^[22]鉴定 BC₁F₁ 群体及双亲的基因型。将制备好的 DNA 变性,全基因组扩增,随后将 PCR 产物片段化并沉淀、重悬、与探针杂交,在 GeneTitan MC Instrument 扫描芯片,获得高分辨率图片,导入 Axiom Analysis Suite 软件进行基因型分析,获得研究材料的基因型数据。试验流程按照 AxiomTM 2.0 Assay Array Format Manual Protocol (Pub. No. 703436 Rev.1) 进行。

1.4 遗传连锁图谱构建及 QTL 定位

整理 BC₁F₁ 群体及双亲的基因型数据,在 Axiom Analysis Suite 软件中去除数据缺失率高即 DQC (Design quality control) < 0.82 的样品,然后拟合受体京 92 的基因型数据,将杂合基因型比例大于 50% 的 SNP 位点判定为缺失,去除数据缺失率高的 SNP 位点,保留数据质量高且双亲间有多态性的 SNP 用于遗传连锁图谱构建^[23]。基于 SNP 的基因型数据,利用 QTL IciMappingV4.2 的 BIN 功能删除冗余 SNP,使用 R 4.1.2 基于保留的 BIN SNP 标记构建遗传连锁图谱。

利用 QTL IciMappingV4.2 软件,采用完备区间

作图法 (ICIM-ADD) 对玉米雄穗分枝数性状进行 QTL 检测。检测时,作图步长设置为 1 cM, LOD 值设置为 3.0。QTL 命名按照 McCouch 等^[24]方法,即 q+ 性状缩写 + 染色体,雄穗分枝数 (TBN, tassel branch number) 缩写为 TBN。将等位基因分别来自 2 个亲本的 QTL 中的 LOD 值最高者做为主效 QTL。采用玉米参考基因组定位的方法把研究检测到的 QTL 与前人研究结果进行比较,具体做法为:利用 QTL 的侧翼标记序列获取其在玉米参考基因组上的物理位置。在 MaizeGDB (<http://www.maizegdb.org>) 网站上查找主效 QTL 区间内的基因注释信息。

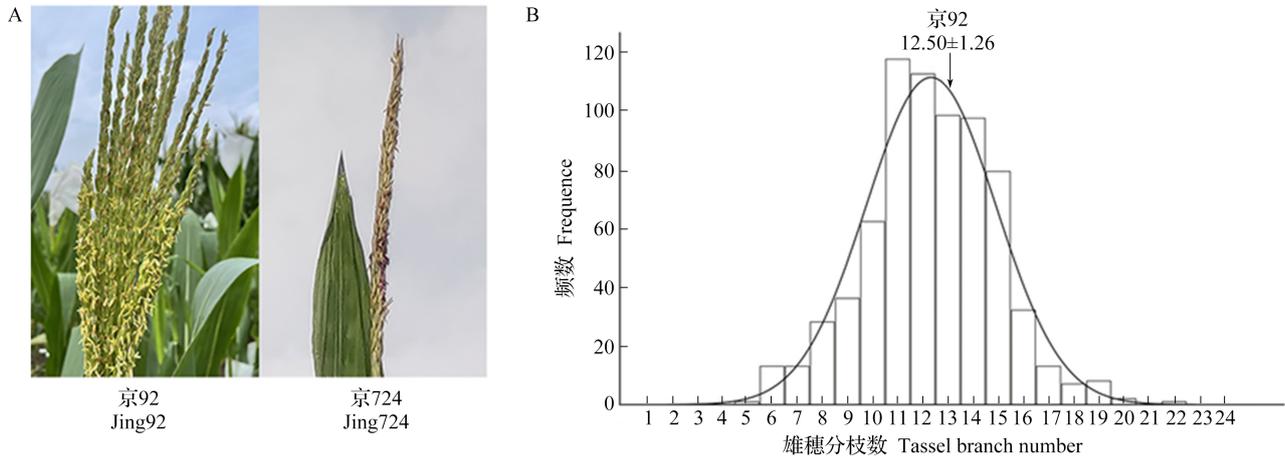
2 结果与分析

2.1 京 724 与京 92 及 BC₁F₁ 群体表型分析

受体亲本京 92 为多分枝玉米品种,供体亲本京 724 为少分枝的玉米品种 (图 1A)。京 92 的雄穗分枝数在 11~15 之间,平均为 12.50,京 724 通常只有 1 个中心主枝 (表 1),亲本之间的表型差异极显著 ($P < 0.01$)。以京 724 和京 92 为亲本材料构建 BC₁F₁ 群体包含 727 个单株,分枝数范围为 5~22。BC₁F₁ 群体雄穗分枝数表型分析符合正态分布,并且数据呈连续变异,适合进行玉米雄穗分枝数 QTL 定位 (图 1B)。

2.2 基因分型及遗传图谱构建

本研究使用的 Maize6H-60K 芯片包含 61214 个 SNP 位点,均匀覆盖玉米全基因组^[22]。删除双亲间无多态性及数据缺失率高于 10% 的 SNP,获得 28910 个高质量多态性 SNP。多态性 SNP 覆盖玉米 10 条染色体,其中第 2 染色体 (Chr. 2) 上多态性 SNP 分布最为密集,平均物理距离为 63.2 kb; 第 10 染色体上 SNP 分布最为分散,平均物理距离为 82.8 kb (表 2)。将 BC₁F₁ 群体 (727 个单株) 的基因型数据导入 QTL IciMapping 软件进行连锁图谱构建。首先进行 BIN 分析,将之间没有发生交换、处于共分离状态的 SNP 合并为一个 BIN,共计获得 2737 个 BIN,利用 2737 个 BIN 进行遗传连锁图谱构建。图谱总长为 1460.9 cM,覆盖玉米 10 条染色体,平均覆盖率达到 99.2%,其中, BIN 标记平均遗传距离 0.56 cM, BIN 标记最小间隔小于 0.2 cM (图 2)。第 1 和第 6 染色体上 BIN 标记分布最为密集,平均遗传距离为 0.4 cM,第 10 染色体上 BIN 标记最少,平均遗传距离为 0.8 cM (表 2)。



A: 京 92 和京 724 田间表型图; B: BC₁F₁ 群体雄穗分枝数, 图 B 中箭头指高值亲本京 92 表型的平均值和标准差
 A: Tassel phenotypic pictures of Jing724 and Jing92, B: Tassel branch number in BC₁F₁ population, the arrow in figure B indicates the average and standard deviation of the phenotype of the high-value parent Jing92

图 1 亲本表型图及群体雄穗分枝数频数分布直方图

Fig.1 Phenotypic map of parents and histogram of frequency distribution of tassel branch number in population

表 1 BC₁F₁ 群体及亲本雄穗分枝数表型分析

Table 1 Phenotypic analysis of the tassel branch number in BC₁F₁ population and its parents

亲本 / 群体 Parent/Population	最小值 Minimum	最大值 Maximum	平均值 Mean	标准差 SD	偏度 Skewness	峰度 Kurtosis
京 724 Jing724	0	1	0.33**	0.47	-	-
京 92 Jing92	11	15	12.50**	1.26	-	-
BC ₁ F ₁ 群体 BC ₁ F ₁ population	5	22	12.32	2.58	0.005	0.314

** : 表示京 724 与京 92 雄穗分枝数呈极显著差异 (P<0.01)

** : Indicates that there is a very significant difference in tassel branches number between Jing724 and Jing92 (P<0.01)

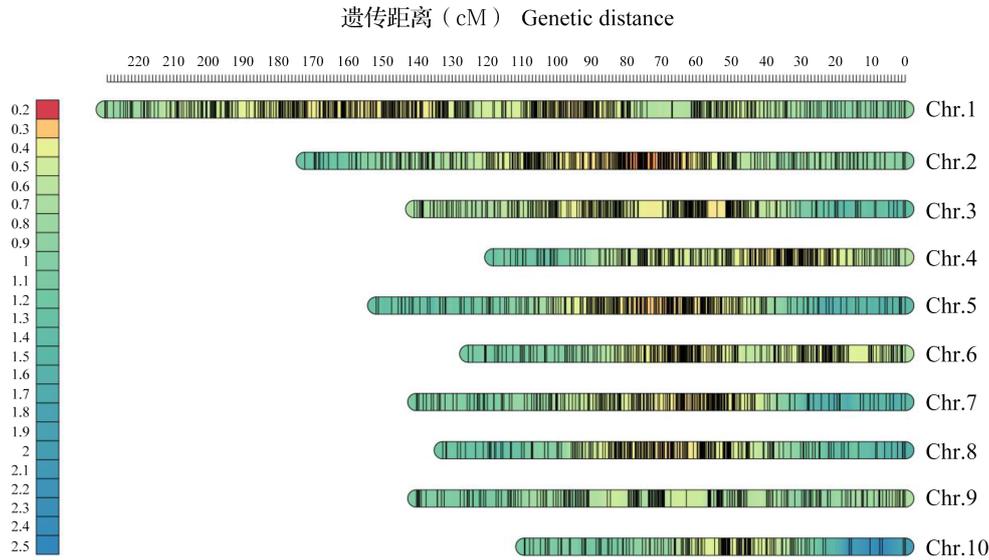
表 2 遗传连锁图谱详细信息

Table 2 Details of the genetic linkage map

染色体 Chromosome	SNP 数量 No. of SNP	SNP 标记平均物理距离 (kb) Average physical distance of SNP markers	BIN 数量 No. of BIN	图谱长度 (cM) Group length	BIN 标记间隔 (>5 cM) Gap of BIN markers (>5 cM)	物理长度 (Mb) Physical length	物理覆盖率 (%) Physical coverage	BIN 标记平均遗传距离 (cM) Average genetic distance of BIN markers
Chr.1	4323	69.6	512	229.8	2	300.5	99.8	0.4
Chr.2	3758	63.2	362	172.3	0	235.2	98.9	0.5
Chr.3	3264	70.4	278	140.9	1	228.5	98.4	0.5
Chr.4	3373	71.3	241	118.3	0	240.1	99.2	0.5
Chr.5	3108	69.8	267	151.8	0	216.1	99.2	0.6
Chr.6	2403	70.3	256	125.4	1	168.1	99.3	0.4
Chr.7	2243	78.5	240	140.3	1	175.6	99.3	0.6
Chr.8	2513	69.6	229	132.6	0	174.5	99.6	0.6
Chr.9	2133	73.4	207	140.2	4	156.5	99.8	0.7
Chr.10	1792	82.8	145	109.3	3	147.8	98.8	0.8
合计 Total	28910	-	2737	1460.9	12	2042.9	-	-
平均 Mean	-	71.8	-	-	-	-	99.2	0.56

BIN 标记间隔 (>5 cM): 表示相邻 BIN 标记距离大于 5 cM 的间隔数目

Gap of BIN marker (>5 cM): Indicates the number of gap where the distance between adjacent BIN markers is greater than 5 cM



连锁群上的黑条表示 BIN 标记; 左侧不同颜色及其代表数值表示连锁群上 BIN 标记的分布情况, 数值越小表示 BIN 标记间距离越小, 分布越密集

The black stripe on the linkage group indicates the BIN marker, the different color on the left and their representative values indicates the distribution of BIN marker on the linkage group, the smaller the value, the smaller the distance between BIN markers and the denser the distribution

图 2 基于 Maize6H-60K 芯片的 BC₁F₁ 群体遗传连锁图谱
Fig.2 Genetic map of BC₁F₁ population based Maize6H-60K chip

2.3 雄穗分枝数 QTL 定位

利用 BC₁F₁ 群体 727 个单株的雄穗分枝数表型数据进行 QTL 定位, 共检测到 6 个调控雄穗分枝数的 QTL (表 3、图 3A), 这 6 个 QTL 的 LOD 值在 3.18~11.08 之间, 可解释 1.58%~5.59% 之间的表型变异率, 分别位于第 2、5~9 等 6 条染色体上, 即 qTBN2、qTBN5、qTBN6、qTBN7、qTBN8、qTBN9。6 个 QTL 中 qTBN2、qTBN5、qTBN6 具有负的加性效应 (图 3B), 表明此 3 个 QTL 的增效等位基因来自于低值亲本京 724, 可以起到减少雄穗分枝数的作用, 其中 qTBN6 的效应最大 (表 3、图 3C)。其余 3 个 QTL 具有正的加性效应, 表明来自高值亲本京 92 的等位基因, 起到增加雄穗分枝的作用, 其中 qTBN8 (图 3D) 效应最大 (表 3、图 3B)。

本研究挖掘到的 QTL 位点物理区间长度在 115~246 kb 之间, 在第 5 染色体上检测到的 qTBN5 物理区间长度最小, 为 115 kb。qTBN6 和 qTBN8 是 2 个主效 QTL, 物理区间长度分别为 132 kb 和 194 kb, 在 MaizeGDB (<http://www.maizegdb.org>) 网站上查阅 qTBN6 与 qTBN8 定位区间内的基因注释信息, 在 qTBN6 定位区间内, 预测到 2 个基因, *Zm00001eb260790* 和 *Zm00001eb260800*。在 qTBN8 定位区间内, 共有 6 个基因, 即 *Zm00001eb337540*、*Zm00001eb337550*、*Zm00001eb337560*、

Zm00001eb337580、*Zm00001eb337590*、*Zm00001eb337600*。共计预测到 8 个基因, 4 个基因在 MaizeGDB 网站上具有基因注释信息 (表 4)。

2.4 BC₁F₁ 群体 qTBN6 与 qTBN8 雄穗分枝数遗传效应解析

基于 Maize6H-60K 芯片的基因型信息及 QTL 定位结果, 在背景回复率较高的单株中, 筛选具有 qTBN6、qTBN8 和无 qTBN6、qTBN8 片段的单株, 统计所筛选单株的雄穗分枝数, 解析 qTBN6 与 qTBN8 对雄穗分枝数的不同调控效应。结果显示 (图 4), 具有 qTBN6 单株的雄穗分枝数显著少于无 qTBN6 单株的雄穗分枝数; 具有 qTBN8 单株的雄穗分枝数与无 qTBN8 单株的雄穗分枝数相比较, 分枝数显著增加 ($P < 0.05$)。因此, 可以确定 qTBN6 起到降低雄穗分枝数的作用, 即来自京 724 的优异等位基因对降低玉米雄穗分枝数具有积极作用, 而 qTBN8 起到增加雄穗分枝数的作用。

3 讨论

3.1 一致性 QTL 分析及主效 QTL 定位区间内基因预测

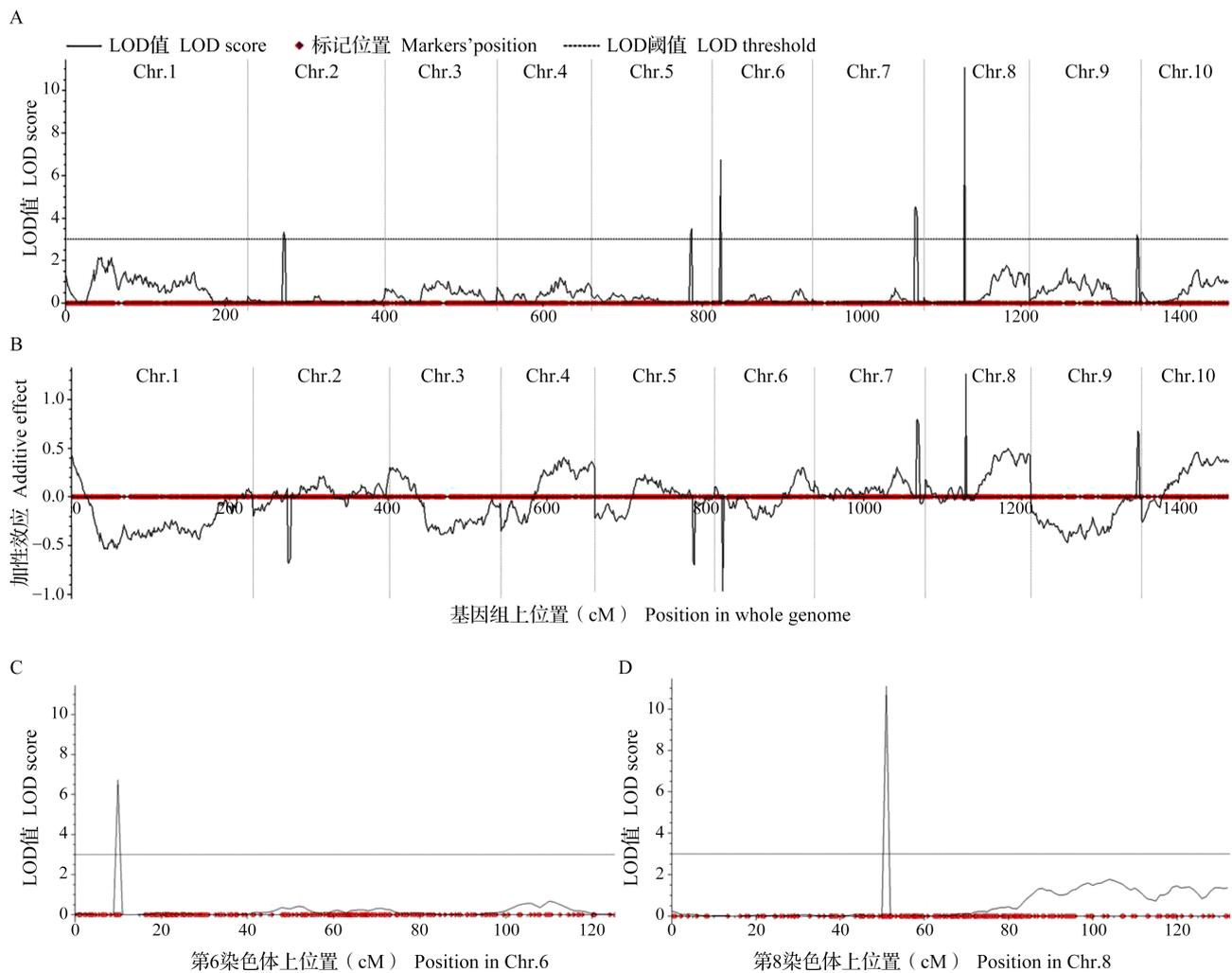
在 MaizeGDB 网站 (<http://www.maizegdb.org>) 上查看划分染色体 bin 区域的核心标记的物理位置, 与本研究挖掘到的 QTL 位点的物理

表 3 基于 BC₁F₁ 群体检测的玉米雄穗分枝数 QTLTable 3 QTL of the tassel branch number in maize was detected by BC₁F₁ population

QTL	染色体 Chromosome	位置 (cM) Position	标记区间 (cM) Marker interval	物理区间长度 (kb) Physical interval length	LOD 值 LOD score	表型变异率 (%) Phenotypic variation rate	加性效应 Additive effect
qTBN2	2	45.0	43.5~47.5	246	3.31	1.66	-0.6832
qTBN5	5	126.0	123.5~126.5	115	3.47	1.73	-0.6994
qTBN6	6	10.0	9.5~10.5	132	6.73	3.34	-0.9676
qTBN7	7	130.0	128.5~132.5	160	4.52	2.24	0.7934
qTBN8	8	51.0	50.5~51.5	194	11.08	5.59	1.2545
qTBN9	9	135.0	134.5~137.5	166	3.18	1.58	0.6713

加性效应: 值为负, 代表来自于京 724 的等位基因起减少雄穗分枝数作用; 值为正, 代表来自于京 92 的等位基因起增加雄穗分枝数作用

Additive effect: The value is negative, which means that the allele from Jing724 plays a role in reducing the number of tassel branches, while the value is positive, which means that the allele from Jing92 plays a role in increasing the number of tassel branches



A: 全基因组 QTL 定位结果; B: 全基因组定位结果的加性效应值; C: 第 6 染色体上 QTL 定位结果; D: 第 8 染色体上 QTL 定位结果

A: Results of genome-wide QTL mapping, B: Additive effect value of genome-wide mapping results,

C: Mapping result of QTL on chromosome 6: qTBN6, D: Mapping result of QTL on chromosome 8: qTBN8

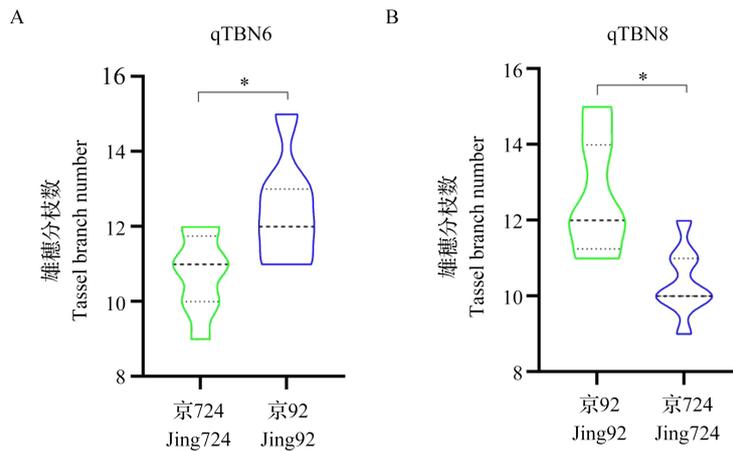
图 3 基于 BC₁F₁ 群体的雄穗分枝数 QTL 定位Fig.3 QTL mapping of tassel branch number based on BC₁F₁ population

表4 qTBN6与qTBN8基因组注释

Table 4 Genome annotation of qTBN6 and qTBN8

QTL	基因名称 Gene ID	基因注释信息 Gene annotation information
qTBN6	<i>Zm00001eb260790</i>	含 <i>NAC</i> 结构域的蛋白基因
	<i>Zm00001eb260800</i>	—
qTBN8	<i>Zm00001eb337540</i>	蛋白质 <i>IQ</i> 结构域
	<i>Zm00001eb337550</i>	铁离子结合蛋白基因
	<i>Zm00001eb337560</i>	—
	<i>Zm00001eb337580</i>	—
	<i>Zm00001eb337590</i>	—
	<i>Zm00001eb337600</i>	拟南芥光周期基因 <i>Gigantea</i> 的同源性

位置进行比对。结果显示,本研究检测到的6个QTL分别位于染色体的bin2.02、bin5.08、bin6.01、bin7.05、bin8.02、bin9.07区域。与前人研究结果比较发现,qTBN2、qTBN5、qTBN8和qTBN9与此前的报道结果位于同一染色体bin区域内^[14,25-29];而位于bin7.05的QTL未见报道。位于玉米8号染色体bin8.02的qTBN8在前人的研究中已有相关报道,是本研究中效应值最大的QTL,LOD值为11.08,可以解释表型变异的5.59%,王迪等^[14]在bin8.02区域检测到的Qqtpbn8-1 LOD值大于10,说明此区域真实存在与雄穗分枝数相关的主效QTL,但本研究达到了精确定位,物理区间长度仅为194 kb,更利于展开后续基因定位研究。



A: 具有 qTBN6(京724)和无 qTBN6(京92)染色体片段的 BC₁F₁ 单株的雄穗分枝数差异性比较;

B: 具有 qTBN8(京92)和无 qTBN8(京724)染色体片段的 BC₁F₁ 单株的雄穗分枝数差异性比较。

横坐标京724代表来自京724的优异等位基因,京92代表来自京92的等位基因;*代表雄穗分枝数具有显著差异($P < 0.05$)

A: Comparison of the difference of tassel branch number between the BC₁F₁ plant with qTBN6(Jing724) and the without qTBN6(Jing92),

B: Comparison of the difference of tassel branch number between the BC₁F₁ plant with qTBN8(Jing92) and the without qTBN8(Jing724).

The abscissa Jing724 represents the excellent allele from Jing724, and Jing92 represents the allele from Jing92,

* indicates that there is a difference in tassel branches number ($P < 0.05$)

图4 qTBN6与qTBN8对雄穗分枝数遗传效应解析

Fig.4 Analysis of genetic effects of qTBN6 and qTBN8 on tassel branch number

本研究共发现3个具有负的加性效应的QTL,分别为qTBN2、qTBN5、qTBN6,其增效等位基因均来自雄穗分枝数极少的低值亲本京724,在一定程度上有利于减少玉米雄穗分枝数,这些QTL的发掘,为培育雄穗分枝数少的玉米品种提供基础支持。其中,qTBN6是本研究挖掘的3个作用为减少玉米雄穗分枝数QTL中效应值最大的QTL,LOD值为6.73,与贾波等^[29]在第6染色体检测到的QTL位于同一bin区域,但贾波等^[29]检测到QTL物理位置应在9503317~22662923之间,表现为正加性效应,起增加雄穗分枝数的作用,本研究检测到的qTBN6则起减少雄穗分枝数的作用,物

理位置在9059124~9190630之间,因此推测qTBN6是一个新发现的QTL,也可能是已发现QTL的新等位基因。因此,本研究将qTBN6作为减少雄穗分枝数的主效QTL作为后续基因克隆研究的候选位点。

基于MaizeGDB网站的基因注释信息,位于qTBN6区间内的*Zm00001eb260790*基因为含有NAC蛋白结构域的蛋白基因,NAC转录因子在植物的生长发育及非生物胁迫的反应中起重要作用^[30-31],可能有调节雄穗分枝数的功能,后续研究中重点关注。位于qTBN8区间的*Zm00001eb337540*基因为IQD基因,其参与玉米干旱胁迫调节,在玉米的

茎 (V3 时期) 和顶端分生组织 (SAM) 中表达^[32], 且已有研究表明, 干旱胁迫下, 玉米雄穗分枝数大幅下降^[33], 因此, 可以推测 *Zm00001eb337540* 可能与雄穗分枝数相关; *Zm00001eb337550* 为铁离子结合蛋白基因, 单拷贝, 类似于细菌叶酸生物合成酶; *Zm00001eb337600* 为拟南芥的光周期基因 *Gigantea* 的同源基因, 对开花时间可起到调控作用, 目前没有文献支持与玉米雄穗分枝数调控有关系。

3.2 群体大小与标记密度对 QTL 定位结果的影响

QTL 定位的精度取决于群体的大小和标记的密度。使用规模较大的群体, 群体内累积了大量的基因重组交换, 利用超高密度标记, 可构建高质量、高密度连锁图谱, 从而提高 QTL 定位的分辨率、准确性、精度^[15, 34-36]。目前随着分子检测技术的快速发展, 可通过具有高密度标记的高通量全基因组测序技术、SNP 芯片等检测方法^[37-39] 检测 QTL 定位群体, 构建高密度遗传连锁图谱, 进行 QTL 定位。例如, 张先创^[40] 利用 10K SNP 芯片在 F₂ 群体中定位到 5 个对表型贡献率在 1.04%~2.24% 之间的与雄穗分枝数相关的 QTL, 并筛选到 1 个注释基因。Chen 等^[38] 以 RICE6K 芯片检测包含 400 个单株的稻米 F₂ 群体, 共挖掘到 4 个控制稻米粒形的主效 QTL, 位于 136 kb 与 301 kb 之间, 并且都具有改良籽粒的潜力, 说明 SNP 芯片是一种有效的 QTL 定位方法。Chen 等^[15] 通过全基因组高通量测序方法, 利用 6533 个标记构建高密度图谱, 在具有 708 个单株的 F₂ 群体中鉴定出了 10 个与玉米雄穗和果穗相关的 QTL, 多个 QTL 的物理距离都小于 7 Mb, 其中 7 个 QTL 是前人已报道的。以上研究者通过高密度标记和规模较大群体进行 QTL 精细定位, 最小物理距离仅 136 kb, 在对定位结果加以验证真实性的同时, 筛选到了与目标性状相关的候选基因, 这说明高密度标记和大群体能实现 QTL 的精细定位。本研究利用包含 61214 个 SNP 的高质量高密度 Maize6H-60K SNP 芯片检测包含 727 个单株的较大规模群体, 构建高密度遗传连锁图谱, 极大缩小了 QTL 定位区间, 本研究中定位的 6 个 QTL, 最小物理区间长度为 115 kb, 最大物理区间长度为 246 kb, 由于区间较小, 为候选基因预测分析等研究奠定了良好基础。

值得注意的是, 本研究共发现 6 个雄穗分枝数 QTL, qTBN8 的 LOD 值最高, 为 11.08, 但是仅能解释 5.59% 的表型变异率, 与前人 QTL 定位研究的结果相比^[25-29], 本研究的 QTL 表型变异率偏低, 认

为很可能是受标记密度的影响。本研究使用的是具有 61214 个 SNP 的高密度芯片, QTL 定位中加密标记可以更加准确的检测 QTL, 高的密度标记以及较大规模群体更易将连锁 QTL 分离开, 提高 QTL 检测功效, 因此, 超高的标记密度可能是造成表型变异率较低的主要原因^[41]。

3.3 京 724 新种质在玉米雄穗分枝相关性状改良中的应用

在中国玉米发展过程中, 外来种质资源在丰富我国玉米遗传多样性、增强植株抗性、促进品种更新等方面起到了巨大作用^[42]。X 群是由北京市农林科学院玉米研究中心等单位利用外来杂交种所构建, 该类群体具有抗病抗逆性强、籽粒品质优、产量及配合力高等多方面优点^[43]。新的种质资源使用是挖掘新基因的基础, 京 724 作为 X 群第一代骨干自交系, 其不仅具有上述优良的农艺性状, 而且京 724 雄穗通常只有 1 个中心主枝, 无分枝, 是研究玉米雄穗分枝数的理想亲本材料, 在玉米雄穗分枝数的 QTL 发掘以及后续的目标基因分离与功能验证中具有良好的应用潜力^[21]。京 92 是以昌 7-2、京 24 和 Lx9801 三个亲本自交系基因组重组, 所选育的具有适应性强、品质好、花粉量大等多方面优点的优良黄改系品种, 与其亲本及黄早四相比, 具有更强的杂种优势, 利用京 92 和京 724 组配的京科 968 是目前我国年推广超过 133 万 hm² 的 3 个主导大品种之一^[21, 44]。本研究首次使用京 724 和京 92 为亲本材料, 构建京科 968 的 BC₁F₁ 群体, 以此为基础发掘调控玉米雄穗分枝数的 QTL 位点。本研究新发现的 qTBN6, 是一个减少雄穗分枝数的主效 QTL, 此 QTL 位点的发现得益于新种质京 724 的应用。

4 结论

本研究采用新种质京 724 和京 92 构建 BC₁F₁ 群体, 利用 Maize6H-60K 芯片检测群体基因型, 构建高密度连锁图谱, 结合 BC₁F₁ 群体的雄穗分枝数表型数据, 共挖掘 6 个控制雄穗分枝数的 QTL, 物理区间长度最小为 115 kb, 实现了 QTL 精细定位, 并且在第 6 条染色体新发现一个功能为减少雄穗分枝数的 qTBN6, 为玉米雄穗分枝数相关基因的克隆奠定基础。

参考文献

- [1] 赵久然, 王帅, 李明, 吕慧颖, 王道文, 葛毅强, 魏珣, 杨维才. 玉米育种行业创新现状与发展趋势. 植物遗传资源学报, 2018, 19(3): 435-446

- Zhao J R, Wang S, Li M, Lv H Y, Wang D W, Ge Y Q, Wei X, Yang W C. Current status and perspective of maize breeding. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2018, 19(3): 435-446
- [2] Donald C M. The breeding of crop ideotypes. *Euphytica*, 1968, 17(3): 385-403
- [3] Mock J J, Pearce R B. An Ideotype of maize. *Euphytica*, 1975(24): 613-623
- [4] Duvick D N. The contribution of breeding to yield advances in maize (*Zea mays* L.). *Advances in Agronomy*, 2005, 86: 83-145
- [5] Li Y, Ma X, Wang T Y, Li Y X, Liu C, Liu Z Z, Sun B C, Shi Y S, Song Y C, Carlone M, Bubeck D, Bhardwaj H, Whitaker D, Wilson W, Jones E, Wright K, Sun S K, Niebur W, Smith S. Increasing maize productivity in China by planting hybrids with germplasm that responds favorably to higher planting densities. *Crop Science*, 2011, 51(6): 2391-2400
- [6] Lambert R J, Johnson R R. Leaf angle, tassel morphology, and the performance of maize hybrids. *Crop Science*, 1978, 18(3): 499-502
- [7] Geraldi I O, Filho J, Vencovsky R. Estimates of genetic-parameters for tassel characters in maize (*Zea mays* L.) and breeding perspectives. *Maydica*, 1985, 30(1): 1-14
- [8] 贾波, 谢庆春, 蒋学祥, 沈业松, 刘畅. 玉米雄穗主要性状研究进展. *安徽农业科学*, 2016, 44(32): 24-26
- Jia B, Xie Q C, Jiang X X, Shen Y S, Liu C. Research progress of the main characters of tassel in maize. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2016, 44(32): 24-26
- [9] Mock J J, Schuetz S H. Inheritance of tassel branch number in maize. *Crop Science*, 1974, 14(6): 885-888
- [10] Schuetz S H, Mock J J. 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
- [11] 霍仕平. 玉米雄穗的遗传和相关性研究. *作物学报*, 1993, 53(6): 515-519
- Huo S P. Study on inheritance and correlation of tassel in maize. *Acta Agronomica Sinica*, 1993, 53(6): 515-519
- [12] 吴建宇, 陈彦惠, 席章营, 夏宗良, 吴连成, 常胜合, 胡树军. 玉米雄穗性状主基因一多基因遗传的初步研究. *河南农业大学学报*, 2000, 34(2): 107-108, 113
- Wu J Y, Chen Y H, Xi Z Y, Xia Z L, Wu L C, Chang S H, Hu S J. Preliminary study on the major-polygene inheritance of maize tassel. *Journal of Henan Agricultural University*, 2000, 34(2): 107-108, 113
- [13] Mickelson S M, Stuber C S, Senior L, Kaeppeler S M. Quantitative trait loci controlling leaf and tassel traits in a B73 × Mo17 population of maize. *Crop Science*, 2002, 42(6): 1902-1909
- [14] 王迪, 李永祥, 王阳, 刘成, 刘志斋, 彭勃, 谭巍巍, 张岩, 孙宝成, 石云素, 宋燕春, 王天宇, 黎裕. 控制玉米雄穗分枝数目和雄穗重的主效QTL的定位. *植物学报*, 2011, 46(1): 11-20
- Wang D, Li Y X, Wang Y, Liu C, Liu Z Z, Peng B, Tan W W, Zhang Y, Sun B C, Shi Y S, Song Y C, Wang T Y, Li Y. Mapping of major QTL controlling the number and weight of male ear branches in maize. *Chinese Bulletin of Botany*, 2011, 46(1): 11-20
- [15] Chen Z L, Wang B B, Dong X M, Liu H, Ren L H, Chen J, Hauck A, Song W, Lai J S. An ultra-high density bin-map for rapid QTL mapping for tassel and ear architecture in a large F₂ maize population. *BMC Genomics*, 2014, 15(1): 433
- [16] 王赛, 王宇宇, 王石磊, 徐梦真, 邹欢, 侯清桂, 毛棣, 田磊, 陈彦惠, 吴连成. 基于SNP遗传图谱定位玉米雄穗分枝数和主轴长QTLs. *河南农业大学学报*, 2019, 53(5): 671-676
- Wang S, Wang Y Y, Wang S L, Xu M Z, Zou H, Hou Q G, Mao D, Tian L, Chen Y H, Wu L C. QTLs mapping of tassel branch number and tassel total length in maize based on SNP genetic map. *Journal of Henan Agricultural University*, 2019, 53(5): 671-676
- [17] Rousselle Y, Jones E, Charcosset A, Moreau P, Robbins K, Stich B, Knaak C, Flament P, Karaman Z, Martinant J P, Fourneau M, Taillardat A, Romestant M, Tabel C, Bertran J, Ranc N, Lespinasse D, Blanchard P, Kahler A, Chen J L, Kahler J, Dobrin S, Warner T, Ferris R, Smith S. Study on essential derivation in maize: III. Selection and evaluation of a panel of single nucleotide polymorphism loci for use in European and North American germplasm. *Crop Science*, 2015, 55(3): 1170-1180
- [18] Guo Z F, Wang H G, Tao J J, Ren Y H, Xu C, Wu K S, Zou C, Zhang J N, Xu Y B. Development of multiple SNP marker panels affordable to breeders through genotyping by target sequencing (GBTS) in maize. *Molecular Breeding*, 2019, 39(3): 37
- [19] Ganai M W, Durstewitz G, Polley A, Bérard A, Buckler E S, Charcosset A, Clarke J D, Graner E, Hansen M, Joets J, Le Paslier M, McMullen M D, Montalent P, Rose M, Schön C, Sun Q, Walter H, Martin O C, Falque M. A large maize (*Zea mays* L.) SNP genotyping array: Development and germplasm genotyping, and genetic mapping to compare with the B73 reference genome. *PLoS ONE*, 2011, 6(12): e28334
- [20] Xu C, Ren Y H, Jian Y Q, Guo Z F, Zhang Y, Xie C X, Fu J J, Wang H G, Wang G Y, Xu Y B, Li P, Zou C. Development of a maize 55 K SNP array with improved genome coverage for molecular breeding. *Molecular Breeding*, 2017, 37(3): 20
- [21] 王元东, 赵久然, 冯培煜, 段民孝, 张华生, 王荣焕, 陈传永. 京科968等系列玉米品种“易制种”性状选育与高产高效制种关键技术研究. *玉米科学*, 2016, 24(2): 11-14
- Wang Y D, Zhao J R, Feng P Y, Duan M X, Zhang H S, Wang R H, Chen C Y. Characteristics related to ‘Easy Seed Production’ and the key technology of high yield and high efficiency seed production of commercial hybrids jingke968 et al. *Journal of Maize Sciences*, 2016, 24(2): 11-14
- [22] Tian H L, Yang Y, Yi H M, Xu L W, He H, Fan Y M, Wang L, Ge J R, Liu Y W, Wang F G, Zhao J R. New resources for genetic studies in maize (*Zea mays* L.): A genome-wide Maize6H-60K single nucleotide polymorphism array and its application. *The Plant Journal*, 2021, 105(4): 1113-1122
- [23] Roorkiwal M, Jain A, Kale S M, Doddamani D, Chitikineni A, Thudi M, Varshney R K. Development and evaluation of high-density Axiom®CicerSNP array for high-resolution genetic mapping and breeding applications in chickpea. *Plant Biotechnology Journal*, 2018, 16(4): 890-901
- [24] McCouch S R, Cho Y G, Yano M, Paul E, Blinstrub M,

- Kinosita T, Blinstrue M, Morishima H M. Report on QTL nomenclature. Rice Genetics Newsletter, 1997, 14: 11-13
- [25] Berke T G, Rocheford T R. Quantitative trait loci for tassel traits in maize. Crop Science, 1999, 39(5): 1439-1443
- [26] 代资举, 王新涛, 杨青, 王艳, 张莹莹, 席章营, 李保全. 玉米雄穗分枝数主效 QTL 定位及 qTBN5 近等基因系构建. 作物学报, 2018, 44(8): 1127-1135
- Dai Z J, Wang X T, Yang Q, Wang Y, Zhang Y Y, Xi Z Y, Li B Q. Major quantitative trait loci mapping for tassel branch number and construction of qTBN5 near-isogenic lines in maize (*Zea mays* L.). Acta Agronomica Sinica, 2018, 44(8): 1127-1135
- [27] 高世斌, 赵茂俊, 兰海, 张志明. 玉米雄穗分枝数与主轴长的 QTL 鉴定. 遗传, 2007, 29(8): 1013-1017
- Gao S B, Zhao M J, Lan H, Zhang Z M. Identification of QTL associated with tassel branch number and total tassel length in maize. Hereditas, 2007, 29(8): 1013-1017
- [28] 杨钊钊, 李永祥, 刘成, 刘志斋, 李春辉, 李清超, 彭勃, 张岩, 王迪, 谭巍巍, 孙宝成, 石云素, 宋燕春, 王天宇, 黎裕. 基于多个相关群体的玉米雄穗相关性状 QTL 分析. 作物学报, 2012, 38(8): 1435-1442
- Yang Z Z, Li Y X, Liu C, Liu Z Z, Li C H, Li Q C, Peng B, Zhang Y, Wang D, Tan W W, Sun B C, Shi Y S, Song Y C, Wang T Y, Li Y. QTL analysis of tassel-related traits in maize (*Zea mays* L.) using multiple connected populations. Acta Agronomica Sinica, 2012, 38(8): 1435-1442
- [29] 贾波, 崔敏, 谢庆春, 严卫古, 印志同. 基于 SNP 标记的玉米雄穗主要性状 QTL 定位分析. 西南农业学报, 2019, 32(7): 1469-1473
- Jia B, Cui M, Xie Q C, Yan W G, Yin Z T. QTL analysis of tassel traits based on SNP markers in maize. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2019, 32(7): 1469-1473
- [30] Nakashima K, Takasaki H, Mizoi J, Shinozaki K, Yamaguchi S K. NAC transcription factors in plant abiotic stress responses. Biochimica et Biophysica Acta-gene Regulatory Mechanisms, 2012, 1819(2): 97-103
- [31] 马娟, 王浩, 王利锋, 曹言勇, 李晶晶, Thomas Lubberstedt, 王丽艳, 李会勇. 玉米产量相关性状定位和 Meta-QTL 整合. 植物遗传资源学报, 2019, 20(1): 37-47
- Ma J, Wang H, Wang L F, Cao Y Y, Li J J, Thomas L, Wang L Y, Li H Y. QTL mapping and meta-QTL analysis for grain yield related traits in maize (*Zea mays* L.). Journal of Plant Genetic Resources, 2019, 20(1): 37-47
- [32] Cai R H, Zhang C S, Zhao Y, Zhu K J, Wang Y F, Jiang H Y, Xiang Y, Cheng B J. Genome-wide analysis of the *IQD* gene family in maize. Molecular Genetics and Genomics, 2016, 291(2): 543-558
- [33] 宋凤斌, 戴俊英. 玉米对干旱胁迫的反应和适应性 II. 玉米雌穗和雄穗生长发育对干旱胁迫的反应. 吉林农业大学学报, 2005, 27(1): 1-5, 10
- Song F B, Dai J Y. Response and adaptability of maize to drought stress II. Responses of ear and tassel growth and development of maize to drought stress. Journal of Jilin Agricultural University, 2005, 27(1): 1-5, 10
- [34] Vales M I, Schön C C, Capetini F, Chen X M, Corey A E, Mather D E, Mundt C C, Richardson K L, Sandoval-Islas J S, Utz H F, Hayes P M. Effect of population size on the estimation of QTL: A test using resistance to barley stripe rust. Theoretical and Applied Genetics, 2005, 111(7): 1260-1270
- [35] Li X M, Quigg R J, Zhou J, Xu S Z, Masinde G, Mohan S, Baylink D J. A critical evaluation of the effect of population size and phenotypic measurement on QTL detection and localization using a large F₂ murine mapping population. Genetics and Molecular Biology, 2006, 29(1): 166-173
- [36] Sun L, Li S C, Jiang J F, Tang X P, Fan X C, Zhang Y, Liu J H, Liu C H. New quantitative trait locus (QTLs) and candidate genes associated with the grape berry color trait identified based on a high-density genetic map. BMC Plant Biology, 2020, 20(1): 302
- [37] Wang L, Wang A H, Huang X H, Zhao Q, Dong G J, Qian Q, Sang T, Han B. Mapping 49 quantitative trait loci at high resolution through sequencing-based genotyping of rice recombinant inbred lines. Theoretical and Applied Genetics, 2011, 122(2): 327-340
- [38] Chen J X, Zhou H, Gu Y, Xia D, Wu B, Gao G J, Zhang Q L, He Y Q. Mapping and verification of grain shape QTLs based on high-throughput SNP markers in rice. Molecular Breeding, 2019, 39(3): 42
- [39] 王富强, 樊秀彩, 张颖, 刘崇怀, 姜建福. SNP 分子标记在作物品种鉴定中的应用和展望. 植物遗传资源学报, 2020, 21(5): 1308-1320
- Wang F Q, Fan X C, Zhang Y, Liu C H, Jiang J F. Application and prospect of SNP molecular markers in crop variety identification. Journal of Plant Genetic Resources, 2020, 21(5): 1308-1320
- [40] 张先创. 玉米雄穗相关性状的 QTL 定位. 重庆: 西南大学, 2020
- Zhang X C. QTL mapping of tassel related traits in maize (*Zea mays* L.). Chongqing: Southwest University, 2020
- [41] 李慧慧, 张鲁燕, 王建康. 数量性状基因定位研究中若干常见问题的分析与解答. 作物学报, 2010, 36(6): 918-931
- Li H H, Zhang L Y, Wang J K. Analysis and answers to frequently asked questions in quantitative trait locus mapping. Acta Agronomica Sinica, 2010, 36(6): 918-931
- [42] 李海明, 胡瑞法, 张世煌. 外来种质对中国玉米生产的遗传贡献. 中国农业科学, 2005, 38(11): 2189-2197
- Li H M, Hu R F, Zhang S H. The impacts of US and CGIARs germplasm on maize production in China. Scientia Agricultura Sinica, 2005, 38(11): 2189-2197
- [43] 张如养, 宋伟, 赵久然, 王继东, 孙轩, 吉玉龙. 玉米自交系京 724 和郑 58 的产量配合力及杂种优势研究. 玉米科学, 2018, 26(6): 1-6
- Zhang R Y, Song W, Zhao J R, Wang J D, Sun X, Ji Y L. Yield combining ability and heterosis of maize inbred lines Jing724 and Zheng58. Journal of Maize Sciences, 2018, 26(6): 1-6
- [44] 赵久然, 李春辉, 宋伟, 王元东, 张如养, 王继东, 孙轩, 王夏青. 玉米优良自交系 '京 92' 遗传重组及杂种优势解析. 分子植物育种, 2021, 19(15): 5172-5179
- Zhao J R, Li C H, Song W, Wang Y D, Zhang R Y, Wang J D, Sun Y, Wang X Q. Genetic recombination dissection and heterosis of the elite maize inbred line 'Jing92'. Molecular Plant Breeding, 2021, 19(15): 5172-5179