文章编号：1005-0906(2015)03-0008-07 DOI: 10.13597/j.cnki.maize.science.20150302

玉米生物诱导孤雌生殖DH群体的SNP偏分离分析

许理文[1,2],段民孝[2],宋 伟[2],田红丽[2],王凤格[2],赵久然[2],王守才[1]
(1.中国农业大学农学与生物技术学院,北京 100193; 2. 北京市农林科学院玉米研究中心,北京 100097)

摘 要：以单交种先玉335作母本,与京科诱006单倍体诱导系杂交,产生单倍体及秋水仙素加倍形成双单倍体(DH)群体,用SNP芯片对DH群体进行基因型分析,获得1 337个在先玉335的双亲间有多态的SNP数据,对SNP进行卡方检测(P<0.05),发现516个SNP表现偏分离,占38.6%,这些偏分离SNP中有285个偏向母本PH6WC,占55.2%;231个偏向父本PH4CV,占44.8%。在玉米的8条染色体上,发现10个偏分离热点区域(SDR),分析SNP的χ^2值与其在染色体上的位置之间的关系发现,χ^2值最大的SNP往往在SDR的中心位置。

关键词：玉米;SNP;偏分离;加倍单倍体
中图分类号：S513.035.2 **文献标识码**：A

Segregation Distortion study on Bio-induced Parthenogenesis-derived Doubled Haploid Lines of Maize by SNP

XU Li-wen[1,2], DUAN Min-xiao[2], SONG Wei[2], TIAN Hong-li[2], WANG Feng-ge[2], ZHAO Jiu-ran[2], WANG Shou-cai[1]
(1. *College of Agriculture and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing* 100193;
2. *Maize Research Center, Beijing Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Beijing* 100097, China)

Abstract: Haploids originating from the hybrid, Xianyu335(PH6WC×PH4CV) were crossed with the haploid inducer, Jingkeyou006 and the resulting doubled haploid lines(DHs) were obtained by chromosome doubling with colchicine. A total of 1337 SNP markers detected polymorphism between PH6WC and PH4CV. Among 1 337 SNP, covering whole maize 10 chromosomes, five hundred and sixteen SNP(38.6%) showed the genetic distortion(P<0.05). Of the total segregation distortion SNP, two hundred and eighty-five SNP(55.2%) deviated toward female parent, PH6WC, while 231 SNP(44.8%) deviated toward male parent, PH4CV. Totally, tensegregation distortion regions (SDRs) were detected among 8 different chromosomes, the relationship between χ^2 valueand position in chromosome of SNP was analyzed.

Key words: Maize; SNP; Segregation distortion; Doubled haploid(DH)

偏分离是指在一个分离群体中观察到的基因型比例偏离孟德尔分离规律的现象[1]。Mangelsdof和Jones在研究玉米配子体因子Gal与胚乳淀粉*Su*基因间的遗传连锁时最早报道了偏分离。随着RFLP、RAPD、AFLP、SSR等各种分子标记在遗传图谱的构建中的应用,在玉米F_2、BC、永久F_2、RIL和花粉培养DH群体的遗传研究中发现存在偏分离现象[2~7]。XU等认为,几乎所有类型的杂交分离群体都能发现偏分离现象。遗传偏分离是自然界非常普遍的现象,并被认为是生物进化的动力之一[8]。前人研究发现,偏分离标记在连锁群上成簇分布,而且多数偏分离方向一致,称为偏分离的热点区域(SDR,Segregation Distortion Regions)。严建兵等研究发现,4个SDR与定位的配子体基因的位置相近,由此表明,配子体基因是导致偏分离的部分原因。偏分离标记会

收稿日期：2014-10-08
基金项目：北京市科技计划课题(D131100000213002)、国家科技支撑项目(2011BAD35B09)、北京市农林科学院科技创新能力建设专项(KJCX20140202)、“863”计划“玉米产量功能基因研究与克隆”(2012AA10A305)
作者简介：许理文(1981-),男,河北邯郸人,博士,从事玉米遗传育种研究。Tel:010-51503987
E-mail:xulw0408@126.com
赵久然、王守才为本文通讯作者。
E-mail:maizezhao@126.com wangshoucai678@sina.com

影响标记间遗传距离的估计和标记的相对顺序[9, 10]，即影响连锁图的精确度与准确度，进而影响偏分离标记的遗传分析。因此有必要基于标记在玉米染色体的物理位置对偏分离标记进行分析。

单核苷酸多态性(SNPs)是广泛存在于基因组中的一类DNA序列变异，是目前为止分布最广、存在数量最多、标记密度最高的一种遗传多态性标记。研究发现，在玉米基因组上平均每48～104 bp有一个SNP[11, 12]。随着高通量SNP芯片检测技术的发展，SNP应用于高分辨率遗传图谱的构建和QTL定位中[13～15]。玉米测序已经完成，能够获得每个SNP在玉米染色体上的位置信息，为基于标记在玉米染色体的物理距离进行偏分离分析奠定基础。

本研究利用SNP芯片分析，采用孤雌生殖诱导方式获得的DH群体的基因型，分析DH群体SNP标记的分离比例，借助SNP在玉米染色体上的物理距离数据，构建SNP的物理图谱，分析偏分离SNP标记在玉米染色体分布规律，检测SNP标记在染色体上的偏分离热点区域(SDR)，寻找可能引起偏分离的偏分离位点(SDL)，为利用分子标记构建连锁图谱提供有益的信息。

1　材料与方法

1.1　实验材料

单倍体诱导实验于2007年春在北京市农林科学院小汤山实验基地进行。单倍体孤雌生殖诱导系为北京市农林科学院玉米研究中心选育的京科诱006，是基于R-nj遗传标记系统，子粒的紫色冠顶和紫色胚为显性标记[16]。种植玉米单交种先玉335(PH6WC×PH4CV，F_1)，在开花期以孤雌生殖诱导系京科诱006为父本进行杂交，杂交果穗晾晒后，利用R-nj遗传标记逐粒鉴定挑选，带紫色冠顶白色胚的子粒为单倍体，带紫色冠顶紫色胚的子粒为杂交二倍体，不显任何紫色标记的子粒为受花粉污染的二倍体种子，另外还有少量无胚或死胚种子。获得单倍体子粒于2007年冬，在北京市农林科学院南繁试验基地利用秋水仙素进行加倍，获得DH系。DH系于2008在北京市农林科学院小汤山实验基地进行人工自交授粉、扩繁，获得240份DH系。

1.2　DNA准备

在玉米的幼苗期田间采集叶片，每个DH系采集10个单株的叶片，混合磨样，采用CTAB法提取基因组DNA。DNA质量和浓度用NanoDrop 2000 (Thermo Scientific)微量紫外分光光度计进行测定；利用吸光值$\lambda_{260}/\lambda_{280}$的比值检测DNA的质量，$\lambda_{260}$的值反映DNA的含量，根据测量值调节工作液浓度约50 ng/μL。

1.3　SNP基因型鉴定

利用本实验室开发基于IlluminaGoldenGate平台的MaizeSNP3072芯片，对DH群体进行基因型分析。MaizeSNP3072芯片是用于玉米品种真实性检测和玉米分子育种而开发的芯片，包含3 072个均匀分布于全基因组的SNP位点，SNP的详细信息可以从http://www.illumina.com.cn和http://www.panzea.org网站查询。

实验参照Illumina公司提供的操作指南[17]，在北京市农林科学院玉米研究中心完成。原理与具体过程为：每个SNP标记包括3条引物，一条引物为通用的分析条形码，另外两条为标记有不同荧光信号的等位基因特异引物；每个检测样品包括5 μL浓度为50 ng/μL的基因组DNA；在96孔的SentrixArray Matrices中放置95个DNA样品(其中含检验样品2份)和1份5 mL的ddH_2O样品作为空白对照，然后与芯片上的3 072个SNP杂交。杂交反应第一步为基因组DNA与3条引物、DNA聚合酶、连接酶共同温育，进行引物的延伸反应，得到PCR反应的模板；第二步以用荧光标记的等位基因特异引物进行PCR扩增，与固定相载体上的磁珠进行杂交，并读出结果，每个样品能同时检测3 072个SNP位点；最后利用Illumina软件GenomeStudio进行基因型数据分析，剔除杂交质量较差、基因型鉴定不可靠的SNP位点，同时对一些基因型鉴定不确切的标记进行手工调整。

1.4　SNP标记的统计分析

利用SNP标记分析各DH系的基因型，与母本基因型相同的标记为“AA”，与父本基因型相同标记为“BB”，缺失记为“-”。将实际观察值逐一按孟德尔分离的理论比率(1∶1)进行卡方检测(P<0.05)，推断被检测标记位点是否存在偏分离，并对照亲本基因型确定偏分离的方向。

1.5　SNP物理图谱构建

从http://www.panzea.org网站获得SNP位点在玉米染色体上的物理位置信息，利用Mapchart把双亲间表现多态的SNP映射在玉米染色体上，构建SNP标记的物理图谱。

2　结果与分析

2.1　SNP 基因型分析

利用IlluminaGenomeStudio基因分析软件对所有基因型数据进行分析。所有检测的DH系被清晰

地分成了两类，分别代表AA、BB基因型，DH系没有AB基因型。每个SNP标记根据杂交的质量进行评分，可设计性分级评分值(Designability rank score)介于0.1～1.0之间，在3 072个SNP标记中有2 707个SNP标记评分值大于0.6，占88.1%；评分值介于0.4～0.6之间的SNP标记194个，占6.3%；低于0.4的SNP标记171个。如果SNP标记的评分值低于0.4，软件一般不能很好地自动识别材料的基因型，即使手工调节也难以保证数据的准确性，因此，此类SNP标记将被去除。本实验中选用评分值大于0.6的2 707个SNP的数据用于后续分析。

2.2 DH群体基因型组成分析

2 707个SNP中有1 337个SNP在DH群体的双亲间有多态，多态率49.4%。分析在双亲间表现多态性的1 337个SNP的基因型分布，结果表明，SNP的基因型来源于母本PH6WC的在14.2%～85.8%之间，平均为50%；来源于父本PH4CV的在14.2%～85.8%之间，平均为50%。对群体的所有株系在全部标记位点上双亲基因型的分析结果为，来源于母本PH6WC的是164 390，占51.2%；来源于父本PH4CV的是154 690，占48.2%；缺失数据1 800，占0.6%。χ^2测验结果表明(χ^2=147.89，>$\chi^2_{0.05}$=3.84)，在整个DH系群体中，基于SNP标记的分析，双亲染色体同源片段分离符合1∶1的理论分离比例。

2.3 SNP的统计分析

对1 337个多态SNP进行χ^2测验显著性分析，当P<0.05时，516个SNP偏分离达显著水平，占38.6%，其中，285个SNP偏向母本PH6WC，占55.2%；231个SNP偏向父本PH4CV，占44.8%。偏分离SNP在玉米的10条染色体都有分布，但是分布很不均匀，在1、3、8、4、2号染色体上发生偏分离的SNP标记较多，分别是116、97、95、79、55个，总计达到442个，占偏分离SNP总数的82.2%；10号染色体发生偏分离的SNP最少，只有3个(表1)。

表1 玉米10条染色体上的总SNP数目和发生偏分离的SNP数目

Table 1 Summary of SNPs and segregation distortion SNP of 10 chromosomes of maize 个

染色体 Chr.	偏分离SNP Segregation distortion SNP	偏向母本 Deviated toward female	偏向父本 Deviated toward female	染色体的SNP数 All SNP on Chr.
1	106	96	10	198
2	55	49	6	133
3	97	5	92	152
4	74	72	2	173
5	27	25	2	131
6	14	14	0	135
7	21	21	0	118
8	95	0	95	116
9	24	0	24	95
10	3	3	0	86
总 和	516	285	231	1 337

2.4 偏分离SNP在染色体上分布和方向

基于SNP在染色体上的位置信息，利用Mapchart把在双亲间表现多态的1 337个SNP映射在玉米染色体上，建立SNP的物理图谱，把偏分离达显著水平的516个SNP标记出来，根据偏分离SNP在染色体上的分布是否聚集分为两类：一类为少量独立、随机分布于染色体的偏分离SNP，本研究中发现17个这样的SNP(图2箭头所指)，这些偏分离SNP的χ^2值往往比较大，其中，SYN6674和SYN21851的χ^2值最大，都是122.3，但是偏分离方向不同，SNP位点SYN6674有34个父本基因型，206个母本基因型，偏向于母本PH6WC；SYN21851则正好相反，偏向于父本PH4CV。SYN6674的严重偏分离并没有引起上下相邻SNP位点的跟随，更有如7号染色体上的PZE-107136612和PZE-107136972上下相邻的SNP位点偏分离方向是父本，而这两个SNP位点偏分离方向是母本；相似的还有2号染色体的SYN11378和SYN30559，3号染色体上的PZE-103095468和PZE-103095475。另一类为广泛分布于不同染色体上的偏分离SNP呈连续聚集，而且偏分离方向一致，形成染色体上的偏分离热点区(SDR)。

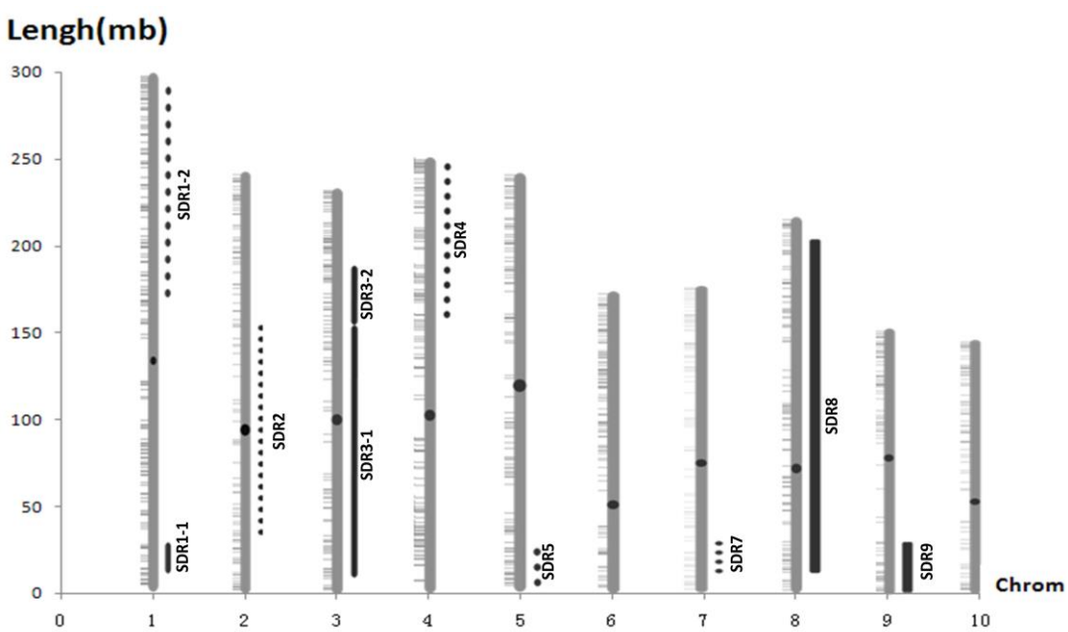
本研究以超过连续10个偏分离SNP聚集区域称为偏分离热点区域，共检测到10个偏分离热点区域，分别命名为SDR1-1、SDR1-2、SDR2、SDR3-1、

SDR3-2、SDR4、SDR5、SDR7、SDR8和SDR9(图1)。其中,5个偏分离热点区SDR1-1、SDR3-1、SDR3-2、SDR8和SDR9偏向父本PH4CV;另外5个偏分离热点区偏向母本PH6WC。研究发现,SDR1-2、SDR2、SDR3-1、SDR4和SDR8这5个SDR在染色体上的跨度很大,达半条染色体甚至几乎整条染色体,如SDR8,8号染色体上共有多态性的SNP116个,其中,95个SNP的偏分离达显著程度,这些偏分离的SNP在染色体是连续,而且都是向父本PH4CV偏分离。3号染色体上的如果不是由于PZE-103095468和PZE-103095475向母本PH6WC的偏分离,SDR3-1和SDR3-2形成一个大的SDR。SNP的χ^2值反映了SNP位点的偏分离程度,χ^2值越高,SNP位点的偏分离越厉害,5号染色体上的SYN6674和SYN21851的χ^2值都是122.3,是偏分离程度最大的SNP,但是SYN6674和SYN21851的偏分离方向相反,SYN6674偏向于母本PH6WC,而SYN21851偏向于父本PH4CV,SNP的χ^2值的不能反映出SNP的偏分离方向。

表2　偏分离热点区的染色体位置、SNP数和偏分离方向

Table 2　Summary of chromosomal position, segregation distortion, and SNP No. in segregation distortion regions

偏分离热点区 SDR	染色体 Chr.	SDR内SNP数(个) SNP No. in SDR	偏向 Direction	SDR跨度(Mb) Span of SDR
SDR1-1	1	10	父本	12.0-35.0
SDR1-2	1	88	母本	121.0-288.0
SDR2	2	47	母本	32.0-173.2
SDR3-1	3	77	父本	7.9-151.8
SDR3-2	3	14	父本	156.0-178.3
SDR4	4	70	母本	152.5-241.8
SDR5	5	22	母本	2.1-17.8
SDR7	7	18	母本	7.3-30.2
SDR8	8	95	父本	8.7-164.3
SDR9	9	24	父本	1.0-23.7



注:灰色圆柱代表染色体及其上的SNP分布;黑色点线表示SDR偏向于母本PH6WC;黑色实线表示SDR偏向父本PH4CV。下图同。

Note: Gray column is chromosome, black dotted line is SDR deviated toward female, black solid line is SDR deviated toward male. The same below.

图1　SDR在染色体上的分布示意图

Fig.1　Schematic of distribution of SDR in chromosome

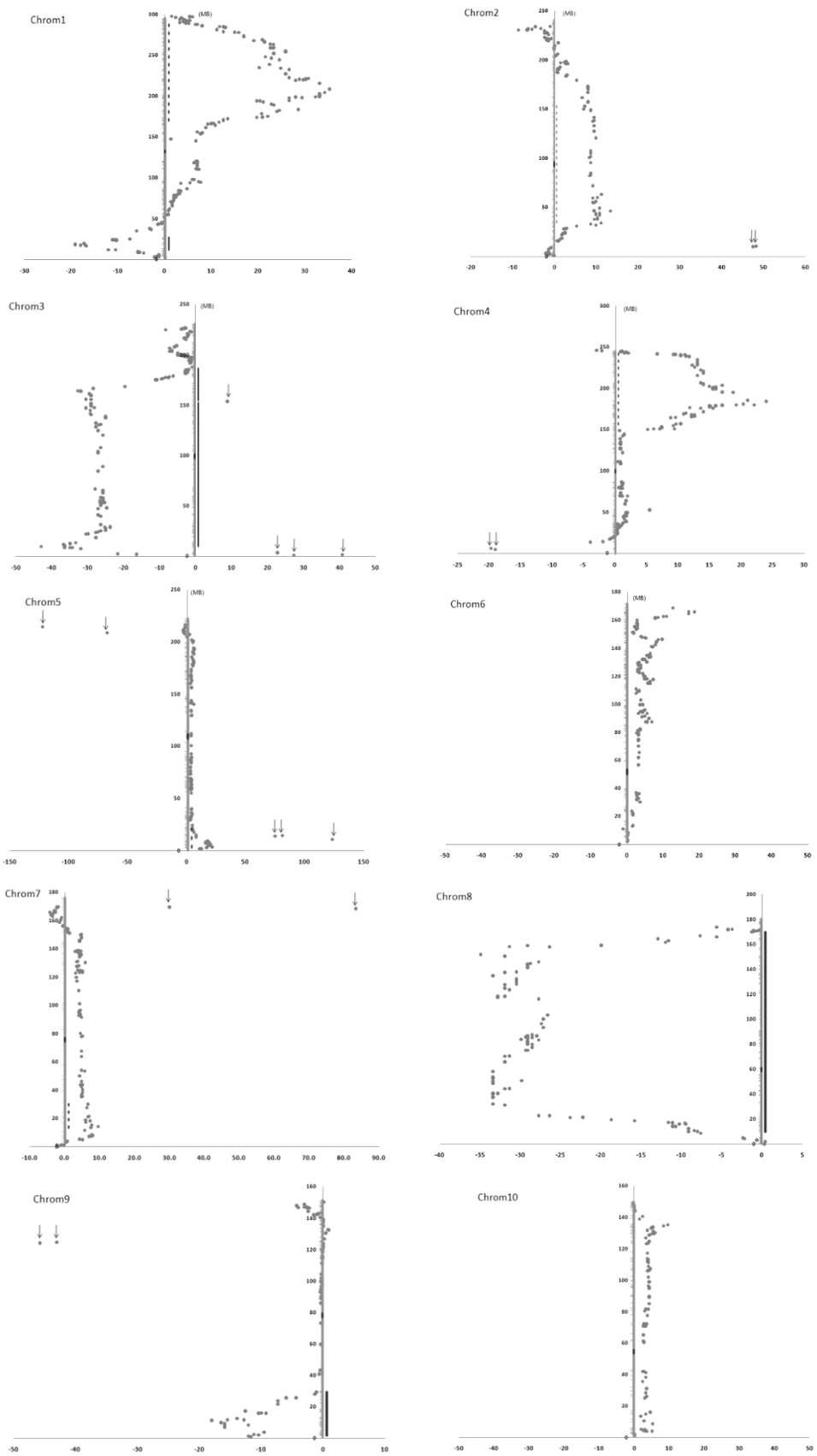


图2 玉米10条染色体上处理后SNP的χ^2值与物理距离散点图分析

Fig.2 Scatter diagram of the processed χ^2 value against location of SNP on chromosome

为了更加形象地反映SNP的偏分离信息,以SNP的χ^2值×(母本等位基因数目-父本等位基因数目),当SNP位点的母本等位基因数目大于父本等位基因数目时,是正值,表示SNP偏分离方向是母本;当父本等位基因数目大于母本时,是负值,表示该SNP的偏分离方向是父本。处理后的χ^2值与SNP在染色体上的位置信息进行散点图分析(图2),处理后SNP的χ^2值连线类似抛物线,顶点位置的SNP的χ^2值最大,即偏分离最严重的SNP,而且抛物线轨迹与染色体上的SDR对应,抛物线的顶点往往是SDR的中心,SNP的偏分离程度随着远离SDR中心偏分离程度降低,χ^2值减小,这在SDR1-1、SDR1-2、SDR2、SDR3-2、SDR4、SDR5、SDR7和SDR9表现明显。

3　结论与讨论

3.1　DH群体偏分离的原因

目前,在多种作物的不同类型分离群体上,均有大量关于偏分离热点区域的报道,认为偏分离热点区域是由偏分离位点(SDL)引起[18]。本研究中,SDR区域χ^2值最大的SNP位点可能是偏分离位点或偏分离位点的作用点,其两侧SNP偏分离则是基因在染色体上的线性排列和遗传连锁的关系。Vogl等认为,如果一个SDL在一个群体中发生分离,与其连锁的相邻标记就会表现一定的偏分离。标记离SDL越近(连锁紧密),偏分离越严重,表现为χ^2值增大。Cheng[19]等认为,可以利用χ^2值与遗传距离的分布图初步推测SDL的位置。根据偏分离位点基因起作用时间可分为配子选择和合子选择,分别在受精前和受精后受偏分离位点的控制。配子体选择分为花粉致死、花粉管竞争和选择性受精[20]。孤雌生殖诱导单倍体通过自然加倍产生DH系,DH系的基因型与减数分裂后形成的雌配子的基因型是一样的,即一个雌配子发展成为一个DH系,因此,诱导系的花粉的选择性受精(诱导产生单倍体)可能与DH系群体偏分离相关,而花粉致死和花粉管生长速度的竞争在孤雌生殖诱导产生单倍体过程中是不起作用的。合子选择是授粉后起作用的选择,往往是合子生存能力竞争的选择,在孤雌生殖诱导生产DH系的过程中,这一选择更多地存在于单倍体时期。单倍体时期玉米基因组由2n变成n,导致隐性致死基因大量暴露,由于遗传搭车效应(genetic hitch-hiking effect),致死因子两侧的染色体都随着发生偏分离,致死因子的位置是偏分离最为严重的地方,因此,SNP的χ^2值在其物理距离上呈类似抛物线的曲线,越往致死基因的两侧SNP的χ^2值越小。

染色体上隐形致死基因的存在,是形成偏分离热点区的一种可能原因。前人研究认为,隐形致死基因和偏分离位点等都是染色体的遗传片段引起的偏分离,是造成偏分离的遗传因素,是造成偏分离的主要原因。与F_2群体、BC群体和RIL群体相比,通过诱导系孤雌生殖产生单倍体的方法引入了第三方遗传物质,诱导系的雄配子对雌配子是否有选择,不同基因型雌配子的被诱导能力是否不同及单倍体的加倍是否对偏分离有影响。因此,需要通过利用相同亲本构建的其他类型群体继续研究,确定玉米染色体上的SDR和SDL。此外,环境因素、非同源重组、基因转换、转座因子、转基因沉默等都有可能导致偏分离。对于那些缺乏规律性、随机分布的偏分离SNP,研究认为,亲本存在剩余杂合性、DNA引物结合位点的突变和标记基因型划分、统计错误等是造成此类偏分离的原因。

3.2　偏分离对遗传作图的影响

偏分离影响遗传作图准确性,这在多个物种的研究中有报道。偏分离可以影响标记间的重组距离,也影响连锁群上标记的顺序。依据偏分离SNP在染色体上的分布是否有规律,把偏分离SNP分为两类。本研究中的17个随机分布于染色体的偏分离SNP对遗传作图有较大的影响,这类SNP依据与周边SNP的偏分离方向是否一致,细分为两类:与周边偏分离SNP的方向相同,只是χ^2值远大于左右两边的SNP,偏分离很严重,如5号染色体上的SYN6674,这类偏分离SNP会对SNP间的重组距离和标记顺序有较大的影响,作图中应该去除此类偏分离SNP;与周边偏分离SNP的方向不同,且χ^2值较大,偏分离比较严重的SNP,在作图中进入到错误的连锁群,如7号染色体PZE-107136612作图中进入2号染色体,因此此类偏分离标记也要去除。那些成簇分布形成SDR的SNP在作图中往往是相邻标记的互换或者附近标记间的交换,而且发生的也不是很多,标记在连锁群上的顺序与在染色体上的顺序基本一致,对连锁群上标记的顺序影响不大,对标记间的重组距离影响也不大,因此可以保留。

参考文献:

[1] Lu H, Romero-Severson J, Bernardo R. Chromosomal regions associated with segregation distortion in maize[J]. Theoretical Applied Genetics, 2002, 105: 622-628.

[2] Helentjaris T, Slocum M, Wright S, et al. Construction of genetic linkage maps in maize and tomato using restriction fragment length polymorphisms[J]. Theor. Appl. Genet., 1986, 72: 761-769.

[3] Konishi T, Yano Y, Abe K. Geographic distribution of alleles at the Ga2 locus for segregation distortion in barley[J]. Theoretical Applied

Genetics, 1992, 85: 419-422.

[4] Gardiner J M, Coe E H, Melia-Hancock S, et al. Development of a core RFLP map in maize using an immortalized F_2 population[J]. Genetics, 1993, 134: 917-930.

[5] Xu Y, Zhu L, Xiao J, et al. Chromosomal regions associated with segregation distortion of molecular markers in F_2, backcross, double haploid, and recombinant inbred populations in rice(*Oryza sativa* L.)[J]. Molecular and General Genetics, 1997, 253: 535-545.

[6] 严建兵,汤 华,黄益勤,等 . 玉米F_2群体分子标记偏分离的遗传分析[J] . 遗传学报,2003,30(10):913-918 .
Yan J B, Tang H, Huang Y Q, et al. Genetic analysis of segregation distortion of molecular markers in maize F_2 population[J]. Acta Genetica Sinica, 2003, 30(10): 913-918. (in Chinese)

[7] 宋宪亮,孙学振,张天真 . 偏分离及对植物遗传作图的影响[J] . 农业生物技术学报,2006,14(2):286-292 .
Song X L, Sun X Z, Zhang T Z. Segregation distortion and Its effect on genetic mapping in plants[J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2006, 14(2): 286-292. (in Chinese)

[8] McDaniel S F, Willis J H, Shaw A J. A linkage map reveals a complex basis for segregation distortion in an interpopulation cross in the moss Ceratodonpupureus[J]. Genetics, 2007, 176(4): 2489-2500.

[9] Orieux M B, Perrier G X, Gonzalez de L, et al. Maximum likelihood models for mapping genetic markers showing segregation distortion.1. Backcross populations[J]. Theor. Appl. Genet., 1995, 90: 73-80.

[10] Lorieux M, Perrier X, Goffinet B, et al. Maximum-likelihood modles for mapping genetic markers showing segregation distortion.2. F_2 populations[J]. Theoretical Applied Genetics, 1995, 90: 81-89.

[11] Tenaillon M I, Sawkins M C, Long A D, et al. Patterns of DNA sequence polymorphism along chromosome1of maize(*Zea mays* ssp. *mays* L.)[J]. Proc Natl AcadSei USA, 2001, 98: 9661-9666.

[12] Ching A, Caldwell K S, Jung M, et al. SNP frequency, haplotype structure and linkage disequilibrium in elite maize inbred lines[J]. BMC Genetics, 2002, 3: 19.

[13] Akhunov E, Nicolet C, Dvorak J. Single nucleotide polymorphism genotyping in polyploid wheat with the illuminagolden gate assay [J]. Theor. Appl. Genet., 2009, 119(3): 507-517.

[14] Zhao K, Aranzana M J, Kim S, et al. An Arabidopsis example of association mapping in structured samples[J]. PLoS Genet, 2007, 3 (1): 4.

[15] Aranzana M J, Kim S, Zhao K Y, et al. Genome-wide association mapping in Arabidopsis identifies previously known flowering time and pathogen resistance genes[J]. PLoS Genet, 2005, 1(5): 531-539.

[16] Chang M T, Coe Jr E H. Doubled haploids[M]//Molecular genetic approaches to maize improvement[J]. Springer Berlin Heidelberg, 2009: 127-142.

[17] Fan J B, Gunderson K L, Bibikova M, et al. Illumina universal bead arrays[J]. Methods Enzymol, 2006, 410: 57-73.

[18] VoglC, Xu S. Multipoint mapping of viability of segregation distoriting loci using molecular markers[J]. Genetics, 2000, 155: 1439-1447.

[19] Cheng R, Saito A, Takano Y, et al. Estimation of the position and effect of a lethal factor locus on a molecular marker linkage map[J]. Theoretical Applied Genetics, 1996, 93: 494-502.

[20] Liedl B, Anderson N O. Reproductive barriers: Identification, uses and circumvention[J]. Plant Breed Review, 1993, 11: 11-54.

(责任编辑:朴红梅)

(上接第7页)

Zhao Y M, Dong S T, Gao H W. Analysis of genetic main effects and genotype by environment interactions for leaf chlorophyll content in maize[J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2006, 21(4): 1-4. (in Chinese)

[18] 周艳敏,张春庆 . 玉米生育后期光合特性的遗传分析[J] . 中国农业科学,2008,41(7):1900-1907 .
Zhou Y M, Zhang C Q. Genetic analysis of photosynthetic characteristics of maize during late growth stage[J]. Scientia Agicultura Sinica, 2008, 41(7): 1900-1907. (in Chinese)

[19] 王爱玉,张春庆 . 玉米叶绿素含量的QTL定位[J] . 遗传,2008,30(8):1083-1091 .
Wang A Y, Zhang C Q. QTL mapping for chlorophyll content in maize[J] . Hereditas(Beijing), 2008, 30(8): 1083-1091. (in Chinese)

[20] 闫洪奎,刘 祥,王会广,等 . 低钾胁迫下耐低钾玉米可溶性蛋白、可溶性糖和钾含量的变化及其关系[J] . 玉米科学,2012,20(6):81-84 .
Yan H K, Liu X, Wang H G, et al. Changes and relation of soluble protein, soluble sugar and potassium in Low-potassium tolerant maize under low-potassium condition[J]. Journal of Maize Sciences, 2012, 20(6): 81-84. (in Chinese)

[21] 周 璇,宋凤斌 . 不同种植方式下玉米叶片叶绿素和可溶性蛋白含量变化[J] . 土壤与作物,2012,1(1):41-48 .
Zhou X, Song F B. Chlorophyll and soluble protein content in maize leaf under different crop planting patterns[J]. Soil and Crop, 2012, 1(1): 41-48. (in Chinese)

(责任编辑:姜媛媛)