

鲜食甜玉米南方锈病抗性 QTL 定位分析

张金钰¹ 蒲浩杰² 刘鹏飞¹ 陈青春¹ 张姿丽¹ 蒋锋^{1*}

(1. 仲恺农业工程学院 农业与生物学院, 广州 510225;

2. 广东省云浮市 云城区农业农村和水务局, 广东 云浮 527300)

摘要 为挖掘新的抗南方锈病基因资源,本研究以甜玉米组合 M5×M114 的 216 个 F₂ 单株为遗传作图群体,应用 BSA 方法从 500 对 SSR 引物中筛选出 2 对在 F₂ 代抗病和感病 DNA 池间具有多态性的引物,分别位于 4 和 9 号染色体上;在 4 和 9 号染色体上重新设计 100 对 SSR 引物,构建了包含 33 个标记位点总长为 241.2 cM 的连锁遗传图,各个标记间的平均距离为 7.53 cM。结合 F₂ 单株对南方锈病的抗性表现,用复合区间作图法在 4 和 9 号染色体上共检测到 7 个显著的南方锈病抗性 QTLs,其中:4 个 QTLs 位于 4 号染色体上,可解释 12.1%、7.8%、18.2% 和 14.9% 表型变异;3 个位于 9 号染色体上,分别解释 17.0%、13.3% 与 19.2% 的表型变异。研究结果可为抗南方锈病的精细定位、主效基因克隆和抗南方锈病鲜食甜玉米品种选育提供理论依据。

关键词 甜玉米; 南方锈病; 群体分离分析; QTL 作图

中图分类号 S513

文章编号 1007-4333(2019)04-0082-07

文献标志码 A

QTL mapping for Southern rust resistance in fresh sweet corn

ZHANG Jinyu¹, PU Haojie², LIU Pengfei¹, CHEN Qingchun¹, ZHANG Zili¹, JIANG Feng^{1*}

(1. College of Agronomy and Biology, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China;

2. Yunfu Yuncheng District Agricultural Rural and Water Bureau, Yunfu 527300, China)

Abstract To explore new genetic resources to Southern rust in this study, 216 F₂ individuals of sweet corn combination M5×M114 were used as genetic mapping population to scan resistant QTL of maize Southern rust with the method of Bulk Segregant Analysis. The results showed that: Over 500 SSR markers screened, two markers located on chromosomes 4 and 9 showed polymorphic between resistant and susceptible DNA pools. A linkage genetic map containing 33 marker loci with a total length of 241.2 cM was constructed by redesigning 100 pairs of SSR primers on chromosomes 4 and 9, and the average distance between individual markers was 7.53 cM. Combined with the resistance index of 216 F₂ families, a total of 7 significant Southern rust resistance QTLs were detected on chromosomes 4 and 9 by composite interval mapping. Four QTLs were located on chromosome 4 and respectively explained 12.1%, 7.8%, 18.2% and 14.9% of phenotypic variation. And 3 significant QTLs were located on chromosome 9, which explained 17.0%, 13.3% and 19.2% of the phenotypic variation, respectively. This study provided a theoretical basis for QTL fine mapping of Southern rust resistance, cloning of major genes and breeding Southern rust resistant varieties for maize.

Keywords sweet corn; Southern rust; bulked segregant analysis; QTL mapping

玉米南方锈病(Southern corn rust)是一种气
传病害,主要侵染玉米的叶片,影响产量^[1]。南方锈

病在我国多个玉米产区发生,上升为主要病害,并且
南方锈病的发生有自南向北的趋势^[2]。南方锈病爆

收稿日期: 2019-10-07

基金项目: 广东省鲜食玉米遗传育种工程中心(粤科产学研[2016]176号);广东省农业厅种业提升项目(粤财农[2014]492号);广东省重点领域研发计划(2018B020202013);广州国家现代农业产业科技创新中心创建项目(2018KCZX02)

第一作者: 张金钰,硕士研究生,E-mail:zjy9437@163.com

通讯作者: 蒋锋,副教授,主要从事玉米遗传育种研究,E-mail:jf5273@sina.com

发,轻则减产 20%,严重时减产可达 80%及以上,甚至绝收^[3]。玉米南方锈病在高温高湿条件下病原菌以夏孢子传播。降雨是病害发生的重要影响因素,有利于病菌夏孢子萌发侵入和传播^[4];施肥的不合理,偏施、多施氮肥现象严重,有机肥施用量不足,加重了玉米南方锈病的发生^[5];此外,单一品种连续种植也是南方锈病爆发的主要因素之一^[6]。改善田间排水、合理施肥、恰当的耕作制度可降低玉米南方锈病的危害。应用玉米抗南方锈病基因资源,选育抗病品种是南方锈病防治最为直接经济有效的方法。

已报道的抗南方锈病的基因多定位于玉米 10 号染色体上。Jines 等^[7]定位了 1 个抗南方锈病的 QTL,位于 10 号染色体上,在 SSR 引物 umc1380 和 bnlg1451 之间,能够解释 83%的表型变异,是一个主效 QTL。Kitti 等^[8]定位了 15 个 QTL,其中 1 个位于 1 号染色体的主效 QTL,能够解释 41.8%的表型变异。王兵伟等^[9]用自交系 S313 的玉米南方锈病抗性由主效单基因控制,其抗性表达强,受环境影响小,检测到的主效基因位于玉米 10 号染色体短臂约 0.47 M 的区间内,区间包括了 3 个与植物抗病性相关的候选基因。Chen 等^[10]将自交系齐 319 所携带的抗南方锈病单显性基因 *RppQ* 定位在 SSR 标记 phi041 和 AFLP 标记 AF1 之间,与这 2 个标记的遗传距离分别为 2.45 和 3.34 cM;刘章雄等^[11]将材料 P25 中抗病主效基因定位于 10 号染色体距离标记 phi059 相距 5.8 cM 的地方。Zhang 等^[12]从自交系 W2D 中鉴定到与另外 2 个抗病基因 *RppQ* 与 *RppP25* 之间紧密连锁的又一抗病单基因 *RppD*,将其定位于 10 号染色体 bin10.01 区域。

目前育种所用亲本材料普遍缺乏对南方锈病的抗性,为培育好的抗南方锈病材料,本研究以 2 个鲜食甜玉米自交系的杂交组合 M5×M114 的 216 个 F₂ 代单株作为试验材料,应用 BSA 群体分离分析法(Bulked segregant analysis),结合自然发病分析 F₂ 家系对南方锈病的抗性表现,用复合区间作图法检测 QTLs,对玉米南方锈病抗性基因进行定位,以期对南方锈病的精细定位、主效基因克隆和抗南方锈病鲜食甜玉米品种选育提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

供试亲本材料为广东省鲜食玉米遗传育种工程技术研究中心提供的鲜食甜玉米自交系 M5 和

M114。经多年田间试验鉴定,2 个亲本对南方锈病的抗性差异显著(M5 病斑面积比为 6.85%±0.02%,M114 病斑面积比 28.22%±0.76%)。

田间试验在仲恺农业工程学院钟村教学农场进行。2014 年秋以 M5 为母本、M114 为父本杂交,得到 F₁ 代种子;2015 年春,种植 F₁ 代及其亲本, F₁ 代严格自交获得 F₂ 代种子;2015 年秋,种植 F₂ 群体及其亲本和 F₁ 代,播种 3 周后取新鲜叶片提取 F₂ 和两亲本基因组 DNA。自然发病条件下,于乳熟期采收 F₂ 单株穗三叶,获得各 F₂ 单株抗病表型值。

1.2 方 法

1.2.1 抗病表型数据获取

自然发病下,于乳熟期采收各 F₂ 单株的穗三叶,用扫描仪进行扫描和图像采集。本研究参考陈趣^[13]结合图像处理玉米小斑病的方法,将玉米叶片扫描之后,使用计算机图像处理软件 Photoshop CS5 进行病斑识别和病斑面积分割,分别得出叶片和病斑的像素值。以穗三叶病斑面积比作为衡量玉米植株对南方锈病的抗病指标,公式如下:

$$\text{穗三叶病斑面积比} = (\text{穗上叶病斑像素} + \text{穗位叶病斑像素} + \text{穗下叶病斑像素}) / \text{穗三叶像素之和} \times 100\%$$

1.2.2 DNA 分子标记分析

采用 CTAB 法^[14]提取鲜食甜玉米亲本和 F₂ 群体 DNA。应用 BSA 方法,分别挑选 10 株极端抗病 F₂ 单株和极端感病 F₂ 单株,找到与之对应的 F₂ DNA,混合组成抗感 DNA 池。根据赵茂俊等^[15]、Wang 等^[16]、于永涛等^[17]、刘宗华等^[18]和李永祥等^[19]已发表过的玉米连锁遗传图谱设计引物,选用分布于玉米 10 个连锁群上的 500 对 SSR 引物对抗感 DNA 池进行多态性筛选,在多态引物所在 4 号和 9 号染色体上分别重新设计 50 对 SSR 引物,构建遗传连锁图谱。

SSR 引物序列来源于 Maize GDB,由北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司合成。PCR 体系、PAGE 凝胶电泳和银染程序按照郭海林等^[20]和武玉清等^[21]的方法,最后进行银染带型统计。

1.2.3 遗传连锁图谱构建和 QTL 定位分析

用 JoinMap 3.0 软件对 216 个 F₂ 单株进行分子标记的连锁关系分析,构建分子遗传图谱。采用 WinQTLCart2.0 结合复合区间作图法(Composite interval mapping)检测玉米南方锈病抗性 QTLs^[22]。

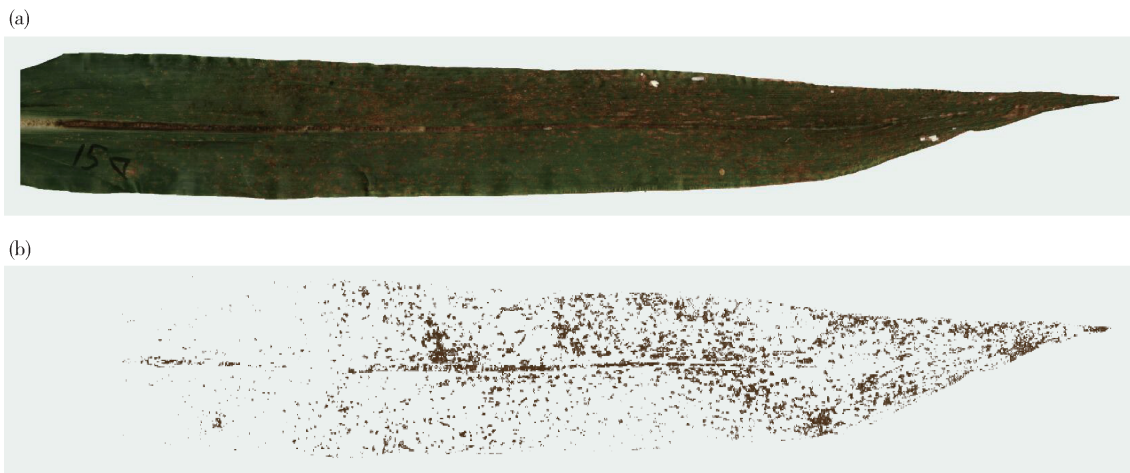
1 000 次抽样模拟测试数据结果确定 LOD 阈值。QTL 命名方法参照 McCouch 等^[23]的方法,按照 q+性状英文缩写+染色体编号+QTLs 个数。

2 结果与分析

2.1 群体的抗南方锈病性状表现

通过 Photoshop CS5 软件进行叶片病斑识别和

病斑面积分割,分别得出叶片和病斑的像素值(图 1)。再结合在对 F₂ 家系进行抗性鉴定,得到穗三叶病斑面积比的统计数据(图 2)。从统计参数来看,F₂ 家系中病斑面积比的变幅为 3.3~38.8,平均值为 14.29,标准差为 6.64,变异系数为 46.43%,可见变异系数变异都比较大,因此,可以对这个性状进行 QTL 定位和分析。



(a) 识别前;(b) 识别后
(a) Before identification; (b) After identification

图 1 Photoshop CS5 软件进行南方锈病玉米叶部病斑识别前后图

Fig. 1 Images of corn leaf infected by Southern rust lesion before and after identification by Photoshop CS5 software

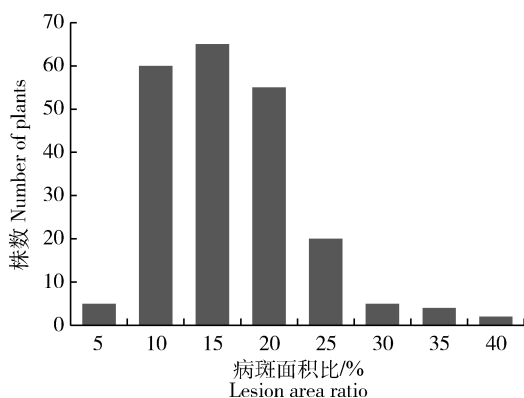


图 2 F₂ 代穗三叶病斑面积比在 F₂ 群体中的分布情况

Fig. 2 Distribution of lesion area ratio of trifoliate leaf in F₂ population

2.2 SSR 标记连锁图谱的构建

以鲜食甜玉米自交系组合 M5(抗)×M114(感)的 216 个 F₂ 单株为遗传作图群体,应用 BSA 群体分离分析的方法,从均匀分布在鲜食甜玉米基因组的 500 对 SSR 引物的筛选选择出来 2 对在 F₂

群体有抗病和感病的 DNA 池间多态的引物,分别定位到了 4 号和 9 号连锁群上。后在 4 号和 9 号连锁群上分别重新设计 50 对 SSR 引物,而后构建了有 33 个标记位点的遗传连锁图谱在这 2 条连锁群上,连锁图谱总长是 241.2 cM,平均遗传距离是 7.53 cM(表 1,图 3)。

表 1 F₂ 群体 2 个连锁群标记数目和长度

Table 1 Number and length of markers of the two linkage groups in F₂ population

连锁群 Linkage group	染色体 Chromosome	长度/cM Length	标记数 Marker
1	Chr. 4	117.20	19
2	Chr. 9	124.00	14

2.3 QTLs 定位分析

对 F₂ 代的家系抗南方锈病性状与结合分子标记连锁图信息,进行 1 000 次抽样确定 LOD 值阈值,采用复合区间作图法,结果显示:鲜食甜玉米抗

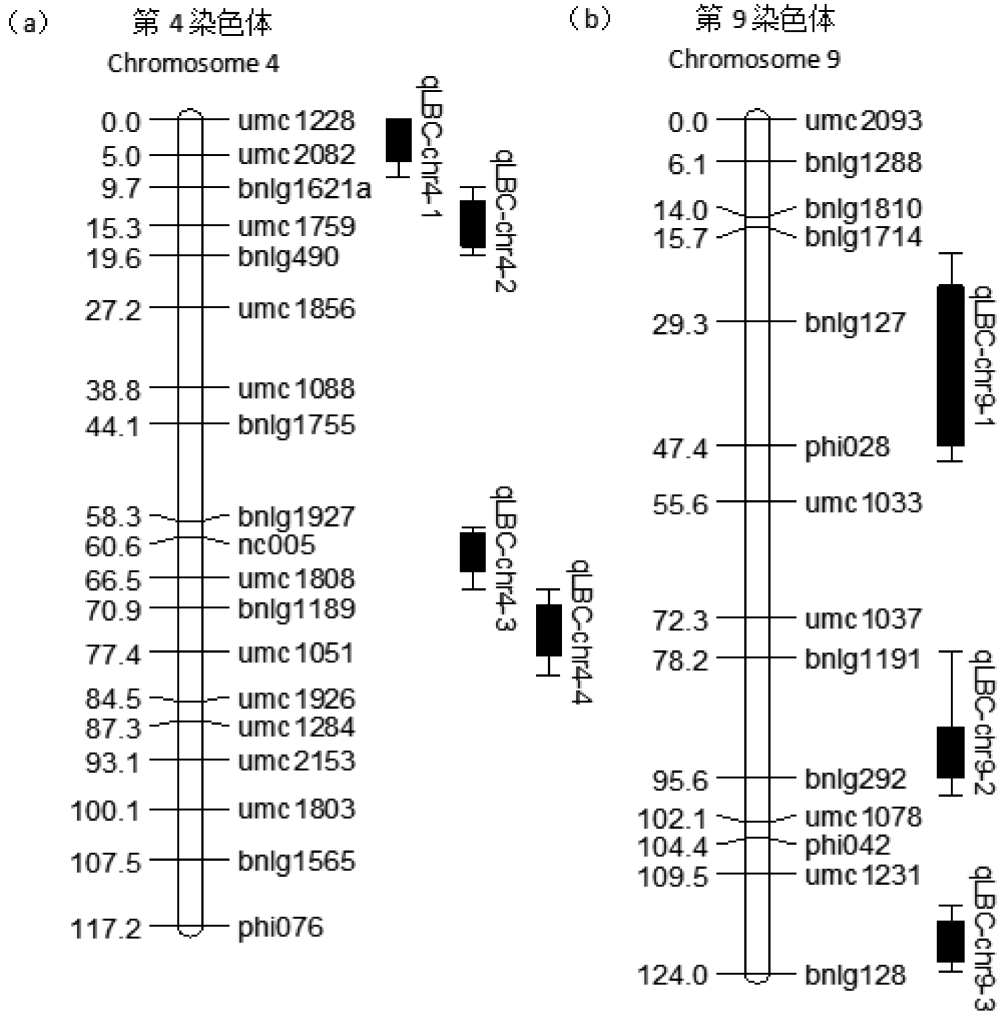


图 3 SSR 遗传连锁遗传图谱及玉米南方锈病抗性 QTL 的分布

Fig. 3 SSR genetic linkage map and QTL mapping for Southern corn rust

南方锈病的抗性 QTL 集中在染色体 4 号和 9 号 2 条染色体上。检测到的 QTLs 的 LOD 值分布见 (表 2)。

检测到 7 个 QTLs, 定位于 4 号和 9 号染色体。其中有 4 个 QTLs (qLBC-chr4-1、qLBC-chr4-2、qLBC-chr4-3 和 qLBC-chr4-4) 定位在 4 号染色体上, 分别位于标记区间 umc1228—umc2082、umc1759—bnlgl490、nc005—umc1808 和 bnlgl1189—umc1051, LOD 值为 6.17、4.08、9.39 和 7.96, 分别解释了 12.1%、7.8%、18.2% 和 14.9% 的表型变异。在 9 号染色体上定位了 3 个 QTLs 分别是 qLBC-chr9-1、qLBC-chr9-2 和 qLBC-chr9-3, 所在区间分别为 bnlgl127—phi028、bnlgl1191—bnlgl292 和 umc1231—bnlgl128, LOD 值分别为 9.17、6.17 和

7.57, 贡献率为 17.0%、13.3% 和 19.2%。

3 讨论与结论

3.1 南方锈病病斑图像处理及抗病性数据量化

病斑识别研究多基于颜色特征、纹理特征、形状特征。徐贵力等^[24]利用彩色图像纹理识别技术对番茄缺素病的识别上成功有效, 并提供了所需要的重要识别参数; 为识别和辨别柑橘正常叶片、油斑病叶片、黑斑病叶片, Pydipati 等^[25]通过研究在实验室光照环境下, 基于 HIS 颜色模型的色彩共生纹理分析法, 识别准确率超过 95%, 该试验未考虑图像亮度因素, 因此对大田环境光照强度变化较大的情况下不能重复识别; 马晓丹等^[26]提取病健组织边界清晰的大豆病斑面积等 8 个形状特征参数, 用以描

表2 复合区间作图分析检测到的南方锈病抗性 QTL
Table 2 QTLs for Southern corn rust with the method of CIM

QTL	染色体 Chromosome	位置 Location	标记区间 Flanking marker	加性效应 Additive effect	显性效应 Dominant effect	LOD 值 LOD value	贡献率/% Variance explained
qLBC-chr4-1	Chr. 4	2.0	umc1228—umc2082	2.24	3.95	6.17	12.1
qLBC-chr4-2	Chr. 4	15.5	umc1759—bnlg490	4.49	3.32	4.08	7.8
qLBC-chr4-3	Chr. 4	62.6	nc005—umc1808	-5.85	0.67	9.39	18.2
qLBC-chr4-4	Chr. 4	71.1	bnlg1189—umc1051	-4.82	1.48	7.96	14.9
qLBC-chr9-1	Chr. 9	29.4	bnlg127—phi028	-5.48	0.33	9.17	17.0
qLBC-chr9-2	Chr. 9	94.3	bnlg1191—bnlg292	-3.78	3.99	6.17	13.3
qLBC-chr9-3	Chr. 9	121.5	umc1231—bnlg128	-4.79	5.34	7.57	19.2

述病害症状,但对渐变色类病害不太适用。本次试验克服了传统抗性鉴定中只能获得分级间断型数据的缺点,克服了人为判断分级的主观干扰,使用图像分析软件,联合图像背景分割、健病叶识别、像素转换等统计方法,重新设计出可以相对精确统计玉米南方锈病抗性的鉴定方法,使得抗性数据呈现连续性、精确性、客观性。

3.2 南方锈病 QTL 定位

目前,国内定位抗南方锈病为显性单基因,多位于 10 号染色体的短臂上。陈文娟等^[1]以感病自交系黄早四为母本、抗病自交系 W456 为父本构建的 F₂ 群体,共检测到 6 个控制南方锈病的 QTL 分别位于 3、7、8、9 和 10 号染色体上,其中 8 号染色体上有 2 个位点,标记区间长度在 5~19 cM,单个 QTL 的表型贡献率为 2.61%~24.19%。艾堂顺等^[27]以玉米抗病自交系 P178、感病自交系 G41 构建的 BC₂F₃ 群体为材料,在玉米 2、5、6 和 10 号染色体上共鉴定出 5 个抗病位点,可以解释 6.88% 到 45.31% 的表型遗传变异。本研究以鲜食甜玉米自交系组合 M5(抗)×M114(感)的 216 个 F₂ 单株为遗传作图群体,应用 BSA 群体分离分析的方法,2 个基因池之间理论上应该主要在目标基因区段存在差异,降低了环境及人为因素的影响,研究结果更为准确可靠。BSA 法克服了很多作物研究中难以得到近等基因系的限制,比近等基因系法省时省力,是一种非常实用的基因标记定位的方法。

本研究在 4 和 9 号染色体上检测到 7 个显著的南方锈病抗性 QTLs,在 4 号染色体上定位了 4 个

相互连锁的 QTLs,分别能解释表型变异中的 12.1%、7.8%、18.2% 和 14.9%。定位了 3 个显著的 QTLs 在 9 号染色体,分别能够解释 17%、13.3% 和 19.2% 表型的变异。7 个 QTLs 中有 qLBC-chr4-1、qLBC-chr4-3、qLBC-chr4-4、qLBC-chr9-1、qLBC-chr9-2、qLBC-chr9-3 对表型的贡献率>10%,是南方锈病主效抗性基因。同时,本次试验测得的 7 个 QTLs 的 LOD 值较高,说明其可靠性较高。本研究结果可为抗南方锈病的精细定位、主效基因克隆和抗南方锈病鲜食甜玉米品种选育提供理论依据。

参考文献 References

- [1] 陈文娟,路璐,李万昌,张小杰,孙素丽,朱振东,王晓鸣,段灿星. 玉米抗南方锈病基因的 QTL 定位[J]. 植物遗传资源学报, 2019, 20(3): 521-529
Chen W J, L L, Li W C, Zhang X J, Sun S L, Zhu Z D, Wang X M, Duan C X. QTL mapping for resistance to Southern corn rust in maize [J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2019, 20(3): 521-529 (in Chinese)
- [2] 刘杰,刘万才,姜玉英. 2017 年玉米重大病虫害发生特点和原因分析[J]. 植物保护, 2019, 45(3): 152-157
Liu J, Liu W C, Jiang Y Y. Occurrence characteristics and related factors of major corn diseases and insect pests in 2017 [J]. *Plant Protection*, 2019, 45(3): 152-157 (in Chinese)
- [3] 穆春华,鲁守平,付晋,张发军,李文才,孙琦,张秀清,孟昭东. 玉米南方锈病的研究进展[J]. 福建农业学报, 2013, 28(5): 509-512

- Mu C H, Lu S P, Fu J, Zhang F J, Li W C, Sun Q, Zhang X Q, Meng Z D. Research progress on Southern corn rust[J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2013, 28(5): 509-512 (in Chinese)
- [4] 田耀加, 赵守光, 张晶, 王秋燕, 黄亮华, 陈红弟. 中国玉米锈病研究进展[J]. 中国农学通报, 2014, 30(4): 226-231
- Tian Y J, Zhao S G, Zhang J, Wang Q Y, Huang L H, Chen H D. Research progress corn rust in China [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2014, 30(4): 226-231 (in Chinese)
- [5] 郑丽敏, 牛永锋, 孙慧敏. 南繁玉米锈病的发生及防治[J]. 玉米科学, 2006(S1): 129-130
- Zheng L M, Niu Y F, Sun H M. Occurrence and control of maize rust disease in maize breeding in Hainan Province[J]. *Journal of Maize Sciences*, 2006(S1): 129-130 (in Chinese)
- [6] 安瞳昕, 代平, 吴伯志, 牛华林, 代龙坤. 甜玉米间作蔬菜对主要病虫害的控制作用研究[J]. 云南农业大学学报; 自然科学版, 2011, 26(4): 449-453
- An T X, Dai P, Wu B Z, Niu H L, Dai L K. Control efficacy of intercropping of sweet maize and vegetables on main pest and disease[J]. *Journal of Yunnan Agricultural University; Natural Science Edition*, 2011, 26(4): 449-453 (in Chinese)
- [7] Jines M P, Balint P, Robertson L A, Molnar T, Holland J B, Goodman M M. Mapping resistance to Southern rust in a tropical by temperate maize recombinant inbred topcross population[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2007, 114(4): 659-667
- [8] Kittiwong W, Jetsada A, Apichat V, Somvong T. QTL mapping for partial resistance to Southern corn rust using RILs of tropical sweet corn[J]. *American Journal of Plant Sciences*, 2013(4): 878-889
- [9] 王兵伟, 覃嘉明, 时成俏, 郑加兴, 覃永媛, 黄安霞. 一个高抗玉米南方锈病基因的 QTL 定位及遗传分析[J]. 中国农业科学, 2019, 52(12): 2033-2041
- Wang B W, Qin J M, Shi C Q, Zheng J X, Qin Y A, Huang A X. QTL Mapping and genetic analysis of a gene with high resistance to Southern corn rust [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2019, 52(12): 2033-2041 (in Chinese)
- [10] Chen C X, Wang Z L, Yang D E, Ye C J, Zhao Y B, Jin D M, Weng M L, Wang B. Molecular tagging and genetic mapping of the disease resistance gene *RppQ* to Southern corn rust[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2004(108): 945-950
- [11] 刘章雄, 王守才, 戴景瑞, 黄烈健, 曹海河. 玉米 P₂₅ 自交系抗锈病基因的遗传分析及 SSR 分子标记定位[J]. 遗传学报, 2003, 30(8): 706-710
- Liu Z X, Wang S C, Dai J R, Huang L J, Cao H H. Studies of genetic analysis and SSR linked marker location of gene resistance to Southern rust in inbred line P₂₅ of maize[J]. *Journal of Genetics and Genomics*, 2003, 30(8): 706-710 (in Chinese)
- [12] Zhang Y, Xu L, Zhang D F, Dai J R, Wang S C. Mapping of Southern corn rust-resistant genes in the W2D inbred line of maize (*Zea mays* L)[J]. *Molecular Breeding*, 2010, 25(3): 433-439
- [13] 陈趣. 鲜食甜玉米小斑病抗及主要农艺性状 QTL 定位[D]. 广州: 仲恺农业工程学院, 2015
- Chen Q. QTLs mapping for Southern leaf blight resistance and main agronomic traits in sweet corn[D]. Guangzhou: Zhongkai University of Agriculture and Engineering, 2015 (in Chinese)
- [14] 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 Molecular Biology Reporter*, 1993(11): 22-1127
- [15] 赵茂俊, 高世斌, 张志明, 荣廷昭, 潘光堂. 拔节期与抽穗期玉米抗纹枯病相关 QTL 的初步定位[J]. 分子细胞生物学报, 2006, 39(2): 139-144
- Zhao M J, Gao S B, Zhang Z M, Rong T Z, Pan G T. Initial identification of quantitative trait loci controlling resistance to banded leaf and sheath blight at elongating and heading date in maize[J]. *Journal of Molecular Cell Biology*, 2006, 39(2): 139-144 (in Chinese)
- [16] Wang F G, Zhao J R, Dai J R, Yi H M, Kuang M, Sun Y M, Yu X Y, Guo J L, Wang L. Selection and development of representative simple sequence repeat primers and multiplex SSR sets for high throughput automated genotyping in maize [J]. *Chinese Science Bulletin*, 2007, 52(2): 215-223
- [17] 于永涛, 宋燕春, 黎裕, 石云素, 王天宇. 玉米对亚洲玉米螟抗性的 QTL 分析[J]. 玉米科学, 2007, 15(5): 1-5
- Yu Y T, Song Y C, Li Y, Shi Y S, Wang T Y. QTL associated with resistance to Asian corn borer (*Ostrinia furnacalis*) in maize[J]. *Journal of Maize Sciences*, 2007, 15(5): 1-5 (in Chinese)
- [18] 刘宗华, 谢惠玲, 王春丽, 田国伟, 卫晓轶, 胡彦民, 崔党群. 氮胁迫和非胁迫条件下玉米不同时期叶绿素含量的 QTL 分析[J]. 植物营养与肥料学报, 2008, 14(5): 845-851
- Liu Z H, Xie H L, Wang C L, Tian G W, Wei X Y, Hu Y M, Cui D Q. QTL analysis of chlorophyll content of maize under N-stress and no N-stress at different development stages [J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2008, 14(5):

- 845-851 (in Chinese)
- [19] 李永祥, 王阳, 石云素, 宋燕春, 王天宇, 黎裕. 玉米籽粒构型与产量性状的关系及 QTL 作图[J]. 中国农业科学, 2009, 42(2): 408-418
- Li Y X, Wang Y, Shi Y S, Song Y C, Wang T Y, Li Y. Correlation analysis and QTL mapping for traits of kernel structure and yield components in maize [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2009, 42(2): 408-418 (in Chinese)
- [20] 郭海林, 刘建秀, 高鹤, 何秋, 胡化广. 结缕草属优良品系 SSR 指纹图谱的构建[J]. 草业学报, 2007, 16(2): 53-59
- Guo H L, Liu J X, Gao H, He Q, Hu H G. Establishment of DNA fingerprint for eleven new strains of *Zoysia japonica* by SSR[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2007, 16(2): 53-59 (in Chinese)
- [21] 武玉清, 刘录祥, 郭会君, 赵林妹, 赵世荣. 小麦苗期耐盐相关性状的 QTL 分析[J]. 核农学报, 2007, 21(6): 545-549
- Wu Y Q, Liu L Y, Guo H J, Zhao L S, Zhao S R. Mapping QTL for salt tolerant traits in wheat[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2007, 21(6): 545-549 (in Chinese)
- [22] Zeng Z B. Precision mapping of quantitative trait loci[J]. *Genetics*, 1994(136): 1457-1468
- [23] McCouch S R, Cho Y G, Yano P E. Report on QTL nomenclature[J]. *Rice Genetics Newsletter*, 1997(14): 11-13
- [24] 徐贵力, 毛罕平, 李萍萍. 缺素叶片彩色图像颜色特征提取的研究[J]. 农业工程学报, 2002, 18(4): 150-154
- Xu G L, Mao H P, Li P P. Extracting color features of leaf color images [J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2002, 18(4): 150-154 (in Chinese)
- [25] Pydipati R, Burks T F, Lee W S. Identification of citrus disease using color texture features and discriminant analysis [J]. *Computers and Electronics in Agriculture*, 2006, 52(2): 49-59
- [26] 马晓丹, 祁广云. 基于神经网络的大豆叶片病斑的识别与研究[J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2006, 18(2): 84-87
- Ma X D, Qi G Y. Investigation and recognition on diseased spots of soybean laminae based on neural network[J]. *Journal of Heilongjiang Bayi Agricultural University*, 2006, 18(2): 84-87 (in Chinese)
- [27] 艾堂顺, 田志强, 李会敏, 邓策, 丁俊强, 张学林, 刘海富, 朱伟岭, 李志敏. 玉米南方锈病抗病 QTL 鉴定和效应分析[J]. 河南农业大学学报, 2018, 52(4): 514-518
- Ai T S, Tian Z Q, Li H M, Deng C, Ding J Q, Zhang X L, Liu H F, Zhu W L, Li Z M. Mapping and effectiveness analysis for resistance genes of Southern corn rust in maize[J]. *Journal of Henan Agricultural University*, 2018, 52(4): 514-518 (in Chinese)

责任编辑: 杨爱东