

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201410030

任小丹,陈玲,杨琳,等. 两个相关基因表达量和 SNP 与玉米雄穗大小相关 [J]. 广西植物, 2016, 36(3):253-260

REN XD, CHEN L, YANG L, et al. Association of expression amount and SNP of two candidate genes to tassel size in maize [J]. *Guihaia*, 2016, 36(3):253-260

两个相关基因表达量和 SNP 与玉米雄穗大小相关

任小丹, 陈玲, 杨琳, 李晚忱, 付凤玲*

(四川农业大学 玉米研究所, 成都 611130)

摘要: 玉米雄穗通常较发达, 散粉量大于授粉需要, 过量消耗能量会影响光合产物向果穗的分配, 过于发达的雄穗还会影响群体透光性、降低光合效率。生产实践和育种研究证明, 由于雄穗大小与玉米籽粒产量负相关, 因此成为品种选育的间接选择指标。该研究根据前人的报道, 从 11 个雄穗大小不同的玉米自交系中扩增角蛋白相关蛋白基因 *KAP5-4* 和受体样蛋白激酶基因 *CLV1* 的基因组序列, 多重比较后用以分析其开放阅读框、保守结构和单核苷酸多态性, 用荧光实时定量 PCR 检测其在雄穗原基中的差异表达, 并与雄穗分枝数和雄穗干重两个度量雄穗小的指标进行了相关分析。结果表明: *KAP5-4* 基因的相对表达量与雄穗分枝数 ($r=0.77, P<0.01$) 和雄穗干重正相关 ($r=0.83, P<0.01$)。11 个自交系的 *CLV1* 基因开放框在 2 104 bp 存在单核苷酸多态性, 其中 5 个自交系的 2 014~2 016 bp 核苷酸组成密码子 GAC, 编码受体样蛋白第 702 位酸性的天冬氨酸, 另 6 个自交系的 2 014~2 016 bp 核苷酸组成密码子 AAC, 编码受体样蛋白第 702 位极性天冬氨酰胺。在前 5 个自交系中, *CLV1* 基因的相对表达量与雄穗分枝数 ($r=-0.92, P<0.01$) 和雄穗干重 ($r=-0.91, P<0.05$) 负相关; 而在后 6 个自交系中, 仅与雄穗干重负相关 ($r=-0.91, P<0.05$)。综上所述, *KAP5-4* 和 *CLV1* 基因的表达和单核苷酸多态性与玉米雄穗大小关系密切, 可开发功能性的 DNA 标记用于玉米育种的分子标记辅助选择。

关键词: 差异表达, 角蛋白伴侣基因, 玉米, 受体类蛋白激酶, 雄穗大小

中图分类号: Q945.4, Q949.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2016)03-0253-08

Association of expression amount and SNP of two candidate genes to tassel size in maize

REN Xiao-Dan, CHEN Ling, YANG Lin, LI Wan-Chen, FU Feng-Ling*

(Maize Research Institute, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China)

Abstract: Maize tassel usually sheds powders much more than the requirement of pollination. The overdeveloped tassel not only consumes excessive energy, preventing the transferring of photosynthate to the developing ear, but also decreases the sunlight transmittance of the population, resulting in photosynthetic rate decrease. Therefore, tassel size becomes an indirect selection criterion in maize variety selection because its negative correlation with grain yield was found in maize production practice and breeding study. According to previous reports, the genomic sequences of the keratin-associated protein gene *KAP 5-4* and the receptor-like protein kinase gene *CLV1* were amplified piece by piece from eleven maize inbred lines with different tassel size, and used for the analysis of multiple alignment, open reading frames, domain structures, and single nucleotide polymorphism. Their differential expressions in tassel primordial among these inbred lines were detected by fluorescence real-time quantitative PCR, and used for correlation analysis with tassel size

收稿日期: 2014-12-20 修回日期: 2015-03-26

基金项目: 国家自然科学基金(31071433) [Supported by the National Natural Science Foundation of China(31071433)]。

作者简介: 任小丹(1989-), 女, 新疆石河子人, 硕士研究生, 研究方向为植物分子生物学, (E-mail) 1035775907@qq.com。

*通讯作者: 付凤玲, 教授, 博士生导师, 研究方向为玉米遗传育种与生物技术, (E-mail) flf@sicau.edu.cn。

measured by number of primary branch and dry weight of tassel. The results showed that the relative expression amount of the *KAP 5-4* gene was positively correlated with number of primary branch ($r=0.77$, $P<0.01$) and dry weight of tassel ($r=0.83$, $P<0.01$). A single nucleotide polymorphism at the 2 104 bp base of the open reading frame of the *CLV1* gene from eleven maize inbred lines consisted codon GAC encoding acidic aspartic acid at the 702nd site of the receptor-like protein kinase at the 2 104 to 2 016 bp base in five of the inbred lines, and consisted codon AAC encoding polar asparagine at the same site in the other six inbred lines. The relative expression amount of the *CLV1* gene was negatively correlated with number of primary branch ($r=-0.92$, $P<0.01$) and dry weight of tassel ($r=-0.91$, $P<0.05$) within the former five inbred lines, and negatively correlated only with dry weight of tassel ($r=-0.91$, $P<0.05$) within the later six inbred lines. It was concluded that the expression and single nucleotide polymorphism of the *KAP 5-4* and *CLV1* genes were closely associated with tassel size of maize inbred lines, and functional DNA markers can be developed for DNA marker-assisted selection in maize breeding.

Key words: differential expression, keratin-associated protein, maize, receptor-like protein kinase, tassel size

玉米雄穗通常比较发达,散粉量大于授粉需要,过量消耗能量会影响光合产物向果穗的分配,过于发达的雄穗还会影响群体透光性、降低光合效率(Gue et al, 1996)。前人研究表明,雄穗大小与玉米籽粒产量负相关(Lambert & Johnson, 1978; Geraldi et al 等, 1985; Fischer et al, 1987; Bodi et al, 2008)。玉米生产和育种实践证明,在授粉前部分去除雄穗或选择小雄穗品种,均可显著提高籽粒产量(Subedi, 1996; Upadyayula et al, 2006; Duvick et al, 1999; Neto & Filho, 2000)。在美国等玉米生产较为发达的国家和地区,推广玉米杂交种的雄穗一般较小(Duvick & Cassman, 1999; Neto & Filho, 2000)。而在发展中国家,逆境胁迫是玉米生产的主要限制因素,适当大小的雄穗可保证授粉所需的花粉量,具有一定的稳产作用(Monneveux et al, 2008; Tiwari et al, 2004)。因此,虽然雄穗大小并不是玉米籽粒产量的构成因素,但在育种中常被用作间接选择指标,一般以雄穗分枝数和雄穗干重来度量。然而,雄穗大小的遗传性质也很复杂,是一个受众多基因调控的数量性状。现已发现 *ba2* (barren stalk 2)、*bif2* (barren inflorescence 2)、*bd1* (branched silkless 1)、*fe2* (fasciated ear 2)、*ra1* (ramosal 1)、*ra2* (ramosa 2)、*ra3* (ramosa 3)、*Ts6* (Tassel seed 6)、*td1* (thick tassel dwarf 1) 等多个染色体位点,均与玉米雄穗分生组织发育和形态建成有关(Vollbrecht et al, 2005; Bommert et al, 2005; Bortiri et al, 2006; Chuck et al, 2002; Irish, 1997; Skirpan et al, 2009; Taguchi-Shibara et al, 2001)。而且,与雄穗分枝数和雄穗重相关的 QTL 位点也不少(Upadyayula et al, 2006; Mickelson et al, 2002)。然而,这些染色体或 QTL 位点对雄穗大小的具体调控关系,却不甚了解。

在水稻上,与穗密度、穗粒数和穗直立性相关的 *DEP1* (Dense and Erect Panicle 1) 基因与编码角蛋白相关蛋白 5-4 (*KAP 5-4*) 的 QTL 位点 *qPE9-1* 等位。进化分析还发现,其他温带谷物也具有相应功能的等位基因,而且早在小麦与大麦分化前就已存在(Huang et al, 2009; Kong et al, 2007; Yan et al, 2007; Zhou et al, 2009)。*FON1* (Floral Organ Number 1) 基因。*FON1* 基因与水稻花序分生组织的发育,以及后续的分枝、小穗和小花增殖相关。该基因与拟南芥编码富含亮氨酸重复受体蛋白激酶的 *CLV1* (*CLAVATA1*) 基因高度同源(Chu et al, 2006; Suzaki et al, 2004)。在拟南芥上, *CLV/WUS* 信号转导途径被证实参与细胞分裂的调节,进而调控茎端分生组织的增殖和花芽的分化(Dieverta et al, 2003; Godiard et al, 2003; Schoof et al, 2000; Suzaki et al, 2006; Torri, 2004)。

本研究根据同源比对结果,克隆与水稻 *DEP1* 和 *FON1* 基因同源的玉米基因 *KAP5-4* 和 *CLV1*, 检测其在雄穗发育过程中的差异表达,以及在雄穗大小差异明显自交系间的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP), 分析其与雄穗分枝数和雄穗干重的相关性。

1 材料与方法

1.1 田间鉴定与样品制备

2010-2011 年,按随机区组设计、3 次重复种植雄穗大小及其他农艺性状差异明显的 11 个玉米自交系。取六叶期脚叶,用 DNA quick Plant System 试剂盒(Tiagen, 北京)提取基因组 DNA。在顶端分生组织伸长期,每小区随机取样 3 株,解剖雄穗原基,

用 Easy Spin Plant RNA Mini Kit 试剂盒 (Aidlab, 北京) 提取总 RNA, 并用 PrimeScript RT Reagent Kit 试剂盒 (TakaRa, 大连) 立即反转录成 cDNA。授粉后 2 d, 每小区随机抽样 5 株收获雄穗, 调查雄穗分枝数后 105 °C 杀青 1 h, 95 °C 烘干至恒重, 调查雄穗干重。

1.2 多重比较和保守结构域预测

从 NCBI 数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/guide/>) 下载水稻 *DEP1* 和 *FON1* 基因的推导氨基酸序列 GI: 208293844 和 GI: 75112604), 以此为探针从 UniProt 数据库 (<http://www.uniprot.org>) 搜索玉米推导氨基酸序列。先用 MEGA 5.05 软件 (<http://www.megasoftware.net/index.php>) 与模式植物的同源序列进行多重比较, 然后用 Sanger Pfam 25.0 软件 (<http://pfam.sanger.ac.uk>) 预测保守结构域。

1.3 *KAP5-4* 和 *CLV1* 基因组序列的 SNP 分析

根据与水稻 *DEP1* 和 *FON1* 基因推导氨基酸序列的同源比对结果, 分别设计 3 对 (KF1: 5'-TCCTCGCTTCCTCATCCAGAC-3'/KR1: 5'-GGTAGCCACAGGTTGCCATAA-3'; KF2: 5'-GGTTGAAGGGAG-AAGGCTGAG-3'/KR2: 5'-GGTCATACATCGGTATTAGTGGG-3'; KF3: 5'-TACCGATGTATGACCTATAC-TTGAT-3'/KR3: 5'-CTTCTGCTGATATGGGATTTCTT-3') 和 2 对 (CF1: 5'-TCGGCTCCACTTCCACTGGTCTA-3'/CR1: 5'-CGACAACACGATCAATCCCAAAC-3'/CF2: 5'-CGTGCTTTTCACCCTGTCA-3'/CR2: 5'-TCATGGTCCAGAGTCCCG-3') 特异 PCR 引物, 以 11 个玉米自交系的基因组 DNA 为模板, 用 PrimeSTAR HS DNA 聚合酶 (TakaRa, 大连), 分段扩增玉米 *KAP5-4* 和 *CLV1* 基因。PCR 温度循环为 94 °C 变性 1 min; 94 °C 变性 10 s, 按不同引物的退火温度退火 30 s, 72 °C 延伸 2 min, 循环 35 次; 72 °C 延伸 5 min。扩增产物用 7% 琼脂糖凝胶分离, Universal DNA 纯化试剂盒 (Tiangen, 北京) 回收, 用 Taq 酶 (TaKaRa, 大连) 在 3'-端加 (A) 尾后, 插入 pMD19-T 质粒 (TakaRa, 大连), 分别在 Majorbio (上海) 和 SinoGenoMax (北京) 重复测序 2 次。用 NCBI 网站 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/gorf.html>) 的开放阅读框分析软件 ORF finder 查找开放阅读框, 再用 DNAMAN 软件 (<http://www.lynnon.com>) 进行多重比较, 分析两个基因在 11 个自交系间的 SNP。

1.4 荧光实时定量 PCR

根据测序结果, 分别设计特异 PCR 引物 (KF4: 5'-CCCACTAATACCGATAACGAAG-3'/KR4: 5'-CA-

ATGGCAGGAACAGCAGA-3'; CF3: 5'-TCAGATTGACAAACAACAGC-3'/CR3: 5'-GGAGAAACGGTACATGT-3'), 用 SsoFast EvaGreen Supermix 反应体系 (Bio-Rad, 美国) 和 iQ™ 5 荧光定量 PCR 仪 (Bio-Rad, 美国), 分别扩增 *KAP 5-4* 和 *CLV1* 基因的 103 bp 和 75 bp 片段, 分析雄穗发育中两个基因在 11 个自交系间的表达差异, 并用引物 GR (5'-CCATCACTGCCACACAGAAAC-3')/GR (5'-AGGAACACGGAA-GGACATACCAG-3') 扩增 *GAPDH* 基因片段作内参。10 μL 反应体系含 SsoFast EvaGreen Supermix 5 μL, 稀释 cDNA 1 μL 和 10 pmol/μL 引物各 0.5 μL。温度循环为 95 °C 变性 30 s; 95 °C 变性 5 s, 60 °C (*KAP 5-4*)/59 °C (*CLV1*) 延伸 10 s, 循环 40 次。最后一次循环后, 将温度以 0.5 °C / 10 s 的速度升至 95 °C, 计算标准曲线, 检测扩增产物的特异性。iQ 5 系统 (Bio-Rad, 美国) 自带软件以绝对表达量最低的样品为标准, 计算其他样品的相对表达量 (Vandesompele et al, 2002)。

2 结果与分析

2.1 玉米 *KAP 5-4* 和 *CLV1* 基因的同源性比较

KAP5-4 基因的开放阅读框长 1 227 bp, 编码蛋白长 408 个氨基酸。多重比较表明, *KAP5-4* 基因的编码蛋白与水稻 *DEP1* 基因 (gi: 208293844) 的推导氨基酸序列具有 51% 的同源性。进化树分析表明, 植物 *KAP5-4* 蛋白质家族可分为单子叶和双子叶两个明显的亚家族 (图 1)。第 26 至第 98 位氨基酸的多肽序列包含一个 G-蛋白 γ-样结构域, 在物种间高度保守 (图 2)。

CLV1 基因的开放阅读框长 2 619 bp, 编码蛋白长 872 个氨基酸, 包含 1 个富含亮氨酸重复的胞外结构域、1 个小的跨膜结构域和 1 个细胞质丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶结构域 (图 3)。多重比较表明, 其推导氨基酸序列与高粱 (gi: 242073424) 和大麦 (gi: 326531976) 受体样蛋白激酶 1 (*CLV1*) 高度同源, 但与水稻 *FON1* 基因 (gi: 75112604) 推导蛋白的氨基酸序列却只有 31% 的同源性。进化树分析表明, 12 个植物物种的 *CLV1* 基因间没有明显的亚家族划分 (图 4)。

2.2 *CLV1* 基因基因组序列 SNP

通过多重比较, 在 11 个自交系间未发现 *KAP 5-4* 基因的基因组序列内存在一致性的 SNP。但在 11

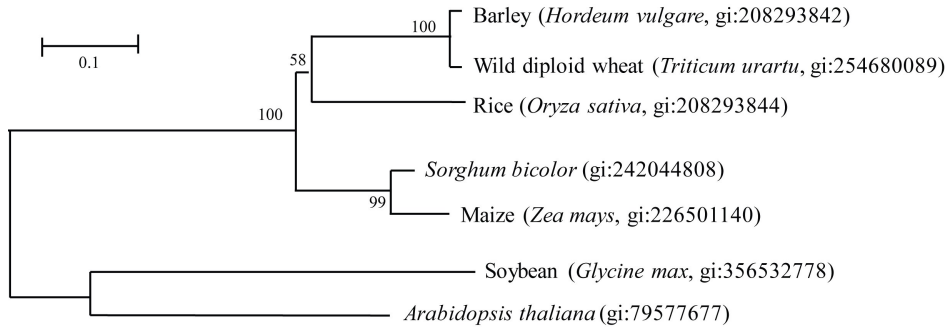


图 1 玉米与其他 6 种植物角质蛋白相关蛋白 5-4 (KAP5-4) 进化树

Fig. 1 Phylogenetic tree of keratin-associated protein 5-4 (KAP 5-4) among maize and six other plant species

个自交系 *CLV1* 基因的基因组序列第 2 104 bp 存在 SNP。自交系“郑 58”、“Mo17”、“178”、“478”和“自 330”第 2 104 bp 碱基为鸟嘌呤 (G), 组成密码子 GAC, 编码的 702 位氨基酸为天冬氨酸。自交系“R08”、“昌 7-2”、“丹 340”、“苏 37”、“ES40”和“RP125”第 2 104 bp 碱基为腺嘌呤 (A), 组成密码子 AAC, 编码的 702 位氨基酸为天冬酰胺 (图 5)。根据图 3 所示的结构预测, 702 位氨基酸正是 *CLV1* 蛋白丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶结构域的质子受体。

2.3 *KAP 5-4* 和 *CLV1* 基因的差异表达及其与雄穗大小的相关性

KAP 5-4 和 *CLV1* 基因在雄穗原基中的相对表达量在 11 个自交系间差异明显 (图 6, 图 7)。值得注意的是, *CLV1* 基因在第 2 104 bp 碱基为鸟嘌呤 (G) 的 5 个自交系中的相对表达量, 均低于其他 6 个第 2 104 bp 碱基为腺嘌呤 (A) 的自交系。可能是该位点的碱基替代引起了基因表达的下调, 或是酸性天冬氨酸与极性天冬酰胺的差异对基因表达的反馈调节。

相关分析表明, *KAP 5-4* 基因在伸长期雄穗原基中的相对表达量, 与雄穗分枝数 ($r = 0.77, P < 0.01$) 和雄穗干重 ($r = 0.83, P < 0.01$) 正相关。然而, *CLV1* 基因相对表达量与雄穗分枝数 ($r = -0.17, P > 0.05$) 和雄穗干重 ($r = -0.25, P > 0.05$) 的相关性不显著。这一基因序列 SNP 造成氨基酸序列第 702 位酸性天冬氨酸与极性天冬酰胺的差异, 可能影响其质子受体的活性 (图 5)。因此, 将第 702 位氨基酸为天冬氨酸的 5 个自交系和第 702 位氨基酸为天冬酰胺的 6 个自交系, 分别对 *CLV1* 基因相对表达量与雄穗大小进行相关分析。在自 330、478、郑 58、Mo17 和 178 五个自交系中, *CLV1* 基因相对表达量与雄穗分枝数 ($r = -0.92, P < 0.01$) 和雄穗干重 ($r =$

$-0.91, P < 0.05$) 负相关。在丹 340、昌 7-2、RP125、苏 37、ES40 和 R08 六个自交系中, *CLV1* 基因相对表达量与雄穗干重 ($r = -0.91, P < 0.05$) 负相关, 而与雄穗分枝数的相关性仍不显著 ($r = -0.62, P > 0.05$)。

3 讨论

KAP5-4 基因首先发现于哺乳动物, 是 *KAP ty* 家族 5 的成员, 编码角质蛋白相关蛋白, 是发基质的组成成分 (Wu et al, 2008)。在水稻上发现, 与 *KAP5-4* 同源的 *DEP1* 基因与穗大小密切相关 (Huang et al, 2009; Kong et al, 2007; Yan et al, 2007; Zhou et al, 2009)。The feedback regulation of another ortholog 与 *CLV1* 同源的 *CLV3* 基因发现有反馈调节现象, 而且与拟南芥顶端分生组织的增殖和分化有关 (Brand et al, 2000)。在本研究中, *KAP 5-4* 基因的相对表达量与雄穗大小正相关 (图 6)。根据结构域预测, 玉米及其他 6 种植物的 *KAP5-4* 蛋白, 均包含一个高度保守的 G-蛋白 γ -样结构域。这些结果说明, *KAP5-4* 蛋白在植物中可能是一种调节蛋白, 而不是发基质的组成成分。

本研究克隆的 *CLV1* 基因, 位于第 10 染色体第 125009858 至 125013205 bp。在第 5 染色体第 121675658 至 121681684 bp, 还有另外一个同源基因 (GRMZM2G300133), 通过重模型突变鉴定为 *td1* (thick tassel dwarf1)。这一突变体的雄穗顶端分生组织发育不良, 造成穗轴缩短、小穗增密、颖片和雄蕊增生等畸形 (Bommert et al, 2005)。在本研究中, 11 个雄穗大小不同自交系的 *CLV1* 基因相对表达量与其雄穗大小相关性不显著, 但根据其 2 104 bp 的 SNP 将 11 个自交系分为两组后再作相关分析, 却发现存在显著的负相关关系 (图 7), 说明 *CLV1* 基因可

MaizeMGEEVAVVL.EEPRPKSPPRYPDLGRRRQLELQILNREIFLKDQLLEGVEVSR	59
RiceMGEEAIVM.EAPRPKSPPRYPDLGRRRQLEVCILSREIFLKDHLFLEGAQVSR	58
<i>Arabidopsis</i>	MSAPSGGGEGGGKESAAGGVSSSLAPSSLPFPPRPKSPPRYPDLYGRREARVQLEREIFLEGEIKFIEGVCP	80
BarleyMGEGAVVLEPPKPRSPPRYPDMCGRRRLQLEVQILDRELTFLKDELHLLEGAQVSR	59
WheatMGEGAVVLEAPKPRSPPRYPDMCGRRRLQLEVQILDRELTFLKDELHLLEGAQVSR	59
SoybeanMSTSTRATSNILLSLPLSPKAAAPPSCPDLYGRREMAKIQILEREISFLEEFKSSSEGLCP	66
SorghumMGEEVAAAAAVVL.EEPRPKSPPRYPDLGRRRQLELQILNREIFLKDQLSLEGVEVSR	63
Maize	CKEV..IDFVGTQDPLIPITKTKTHRSCLFRWIRSKLCICVWFCCSCHMPCNCRPCFLDCSC.....	122
Rice	GCIKEINEFVGTQKHDPLIPTKRRRHSCLFRWIGSKLCICISCLCYCKCSPKCRPRCLNCSC.....	123
<i>Arabidopsis</i>	IKEVSDFVANS DPLIPAQRKSRFRFWKWLCPCLSLVVFCCCCQSKCSCHLRKPKC.....CNCTSCSCIGSKCC	153
Barley	ACLKEVNEFVGTQDPLIPINKRKHRSCLRYWIRSKLCVCAWLCSCCQLPTCRPSCLDCSC.....	124
Wheat	ACLKEVNEFVGTQDPLIPINKRKHRSCLRYWIRSKLCVCAWLCSCCQLPTCRPSCLDCSC.....	124
Soybean	CKEIIADFVMANS DPLLPSTKKNHRSCSFWKWLCDIPFNLSWICHWCDCGCFEQNMSSCCHMPCNCCSSCLPSTNCS	146
Sorghum	CKEV..NEFVGTQDPLLPKIKTKTHRSCLFRWIRSKLCICVSWFCCSCHLPCNCRPCCLDCSC.....	126
MaizeCSCFDLSCCY.....PSCSKCNKPCFGPNS	147
RiceSSCDEPCKPNC SACCAGSCSPDCSCCKPNC SCKTPSCCKPNC SCSPSC	177
<i>Arabidopsis</i>	DGSCSNICCCPRLSCPSCSFRGCWCSCPDMSCCIPSCFRSCSCTRPSCNLKKKSSCCSNCKIRW.....	220
BarleyCEPN.....	128
WheatCEPN.....	128
Soybean	CCPNGISHCKDSCGCKICTLPSCNIGWFFPSCICKKSCS SWSGPKKPKVPRCCCTNSCWNP.....	213
SorghumCSCFDLSCCK.....PSCSKCNKPCSWPNS	151
Maize	CSCCDISCRKPDPCSTSSCSCCNRP CGNPDSCSCTCNPSCKPNCNSCCRPNCS SCSNLSCCKPSCS SCFSCCKANS	227
Rice	SSCDDTSCCKPSC TCFNIFSCFKSLYCFKIPSCFKSQCNCSSPNCCTCTLPSCSCKGCACPSGCGNGCGPCSGCNGCG	257
<i>Arabidopsis</i>SSCFSCP KVL	231
Barley	128
Wheat	128
SoybeanCSCF	217
Sorghum	CSCDDT PCKPDCPSCSSSCSCCNLSCCNPNCS SCTCNPSCKPNCNSCCRPNCS SCSNLSCCKPNC SSWWKPS....	227
Maize	SSCKPKSCSFKALSCCKLQCS PNCCTCSLPSCSGCNP GSKQCCS PDCFDCKPNC GFGAQCCS VRCSCSC...	304
Rice	CPSCGCGCGL.....PSCGCGGSCS CAQCKPDCGSCS	292
<i>Arabidopsis</i>	CSCCFNCNKLCSNPCLAF	251
BarleyCSCCSPNCCS CFKI	142
WheatCSCCSPNCRS CFKI	142
Soybean	
SorghumCSCFKAPSCCKLQCS PNCCTCSLPSCSGCNP GSKQCCS PDCDCNCKPSCGCFSAQCCS CAACSSCL...	297
MaizePRCSSFGCFKYFKCSNLFGCCSCKQCFKQSSCCCKGAPSCCKCQSS	351
Rice	TNCCSCKPSCNGCCGEQCCRCADCFSCS PRCSSCF.NIFKCSAGCCSS LCKPCPTT.....	349
<i>Arabidopsis</i>	
Barley	PSCCKPSCGCFGCCSCKPQCCSGGCNPGCECKPEC.GSCSAGGCCGDCKPSCS CCGEQCCQCS PRCITGGCFKLPKCS	221
Wheat	PSC.....CSKPQCCSGGCNPGCECKPEC.GSCSAGGCCGDCKPSCS CCGEQCCQCS PRCITGGCFKLPKCS	209
Soybean	
SorghumSCF.SCFGCFKSFKCSNLFGCCSCKQCFKQSSCCCKGAPSCCKCQSS	343
Maize	CCEGEDGS.....SSCWRSCSVPKPDPCGCSGCVWSCRKCTEGRCRCSGCRKPCCATGCL	407
Rice	.QCFSCQS SCKRQPSCKCQS CCEGQPS CCEGHCCSLPKPS CPECSGCVWSSCKNCTEGRCRPRCRNPCLSGCL	425
<i>Arabidopsis</i>	
Barley	AQCFNCQS SCKGQPSCFRCQSSCCDKGGCCSSGSLSCP KPS CPECSGCVWSSCKNCTDGCRCARCCAGGLC	295
Wheat	AQCFNCQS SCKGQPSCFRCQSSCCDKGGCCSSGSLSCP KPS CPECSGCVWSSCKNCTDGCRCARCCAGGLC	283
Soybean	
Sorghum	CCEGEDGS.....SCRRSCSVPKPA PCGCSGCVWSSCKCTDGCRCRCSGCRNPCCATGCL	399

图 2 玉米与其他 6 种植物角质蛋白相关蛋白 5-4 (KAP5-4) 的氨基酸序列多重比较 黑色背景表示完全 (100%) 保守; 深灰背景表示高度 (75%) 保守; 浅灰背景表示中度 (50%) 保守; 白色背景表示低度 (25%) 保守。

Fig. 2 Multiple alignment of amino acid sequence of KAP 5-4 protein in maize and other six plant species Black background indicates completely conservative (100%); Dark grey background indicates highly conservative (75%); Light grey background indicates moderate conservative (50%); White background indicates low conservative (25%).

能与玉米雄穗发育存在密切关系。拟南芥与 *CLV1* 同源的基因, 编码富含亮氨酸重复的受体样蛋白激

酶, 参与 *CLV/WUS* 信号转导, 通过对细胞分裂的负调控, 对茎顶端分生组织的细胞增殖和分化起重要

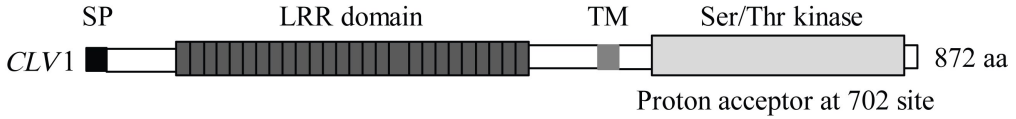


图 3 玉米 CLV1 蛋白的域结构 SP: 信号肽; LRR domain: 富含亮氨酸重复结构域; TM: 跨膜结构域; Ser/Thr kinase: 丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶。

Fig. 3 Domain structure of maize CLV1 protein SP. Signal peptide; LRR domain. Leucine-rich repeat domain; TM. Transmembrane domain; Ser/Thr kinase. Serine/threonine protein kinase.

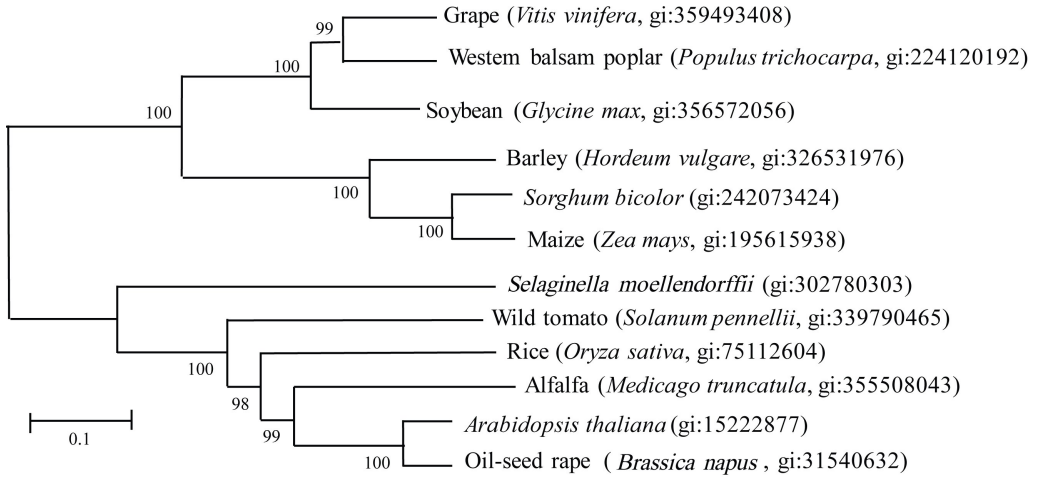


图 4 玉米与其他 7 种植物受体样蛋白激酶 1 (CLV1) 进化树

Fig. 4 Phylogenetic tree of receptor-like protein kinase gene CLV1 among maize and seven other plant species

Amino acid	Gln	Val	Leu	His	Arg	Leu	Lys	Ser	Ser	Asn
Zi330	CAAGT	GCTGC	CATAGA	GAC	CTCAAG	TCGAG	CAAT			
478	CAAGT	GCTGC	CATAGA	GAC	CTCAAG	TCGAG	CAAT			
Zheng58	CAAGT	GCTGC	CATAGA	GAC	CTCAAG	TCGAG	CAAT			
Mo17	CAAGT	GCTGC	CATAGA	GAC	CTCAAG	TCGAG	CAAT			
178	CAAGT	GCTGC	CATAGA	GAC	CTCAAG	TCGAG	CAAT			
Dan340	CAAGT	GCTGC	CATAGA	AAC	CTCAAG	TCGAG	CAAT			
RP125	CAAGT	GCTGC	CATAGA	AAC	CTCAAG	TCGAG	CAAT			
Chang7-2	CAAGT	GCTGC	CATAGA	AAC	CTCAAG	TCGAG	CAAT			
S37	CAAGT	GCTGC	CATAGA	AAC	CTCAAG	TCGAG	CAAT			
ES40	CAAGT	GCTGC	CATAGA	AAC	CTCAAG	TCGAG	CAAT			
R08	CAAGT	GCTGC	CATAGA	AAC	CTCAAG	TCGAG	CAAT			
	*****				*****					

图 5 11 个玉米自交系 CLV1 基因第 2 104 bp 碱基 SNP
Fig. 5 Single nucleotide polymorphism at the 2 104th bp of gene CLV1 among the eleven maize inbred lines

调控作用 (Dievarta et al, 2003; Godiard et al, 2003; Schoof et al, 2000; Suzaki et al, 2006; Torri, 2004; Trotochaud et al, 1999)。水稻与 CLV1 同源的 FON1 基因, 也发现参与花序分生组织的发育, 以及后续的分枝、小穗和小花分生组织的增殖 (Chu et al, 2006; Suzaki et al, 2004)。

参考文献:

BODI Z, PEPO P, KOVACS A, 2008. Morphology of tassel com-

ponents and their relationship to some quantitative features in maize [J]. Cereal Res Comm, 36(2): 353-360.
BOMMERT P, LUNDE C, NARDMANN J, et al, 2005. Thick tassel dwarf1 encodes a putative maize ortholog of the Arabidopsis CLAVATA1 leucine-rich repeat receptor-like kinase [J]. Development, 132(6): 1 235-1 245.
BORTIRI E, CHUCK G, VOLLBRECHT E, et al, 2006. Ramosa2 encodes a LATERAL ORGAN BOUNDARY domain protein that determines the fate of stem cells in branch meristems of maize [J]. Plant Cell, 18(3): 574-585.
BRAND U, FLETCHER JC, HOBE M, et al, 2000. Dependence of stem cell fate in Arabidopsis on a feedback loop regulated by CLV3 activity [J]. Science, 289(5479): 617-619.
CHUCK G, MUSZYNSKI M, KELLOGG E, et al, 2002. The control of spikelet meristem identity by the branched silkless1 gene in maize [J]. Science, 298(5 596): 1 238-1 241.
CHU HW, QIAN Q, LIANG WQ, et al, 2006. The floral organ number4 gene encoding a putative ortholog of Arabidopsis CLAVATA3 regulates apical meristem size in rice [J]. Plant Physiol, 142(3): 1 039-1 052.
DUVICK DN, CASSMAN KG, 1999. Post-green revolution trends in yield potential of temperate maize in the north-central United States [J]. Crop Sci, 39(6): 1 622-1 630.
DIEVART A, DALAL M, TAX FE, et al, 2003. CLAVATA1 dominant-negative alleles reveal functional overlap between multiple receptor kinases that regulate meristem and organ development [J]. Plant Cell, 15(5): 1 198-1 211.
FISCHER KS, EDMEADES GO, JOHNSON EC, 1987. Recurrent

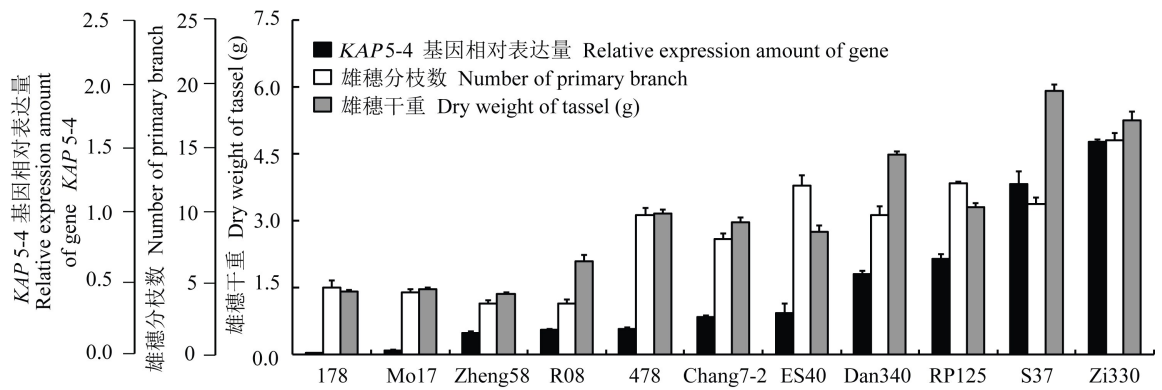


图 6 *KAP5-4* 基因在雄穗原基中的相对表达量与雄穗性状的相关性

Fig. 6 Relative expression of gene *KAP5-4* in tassel primordia and its correlation with tassel character

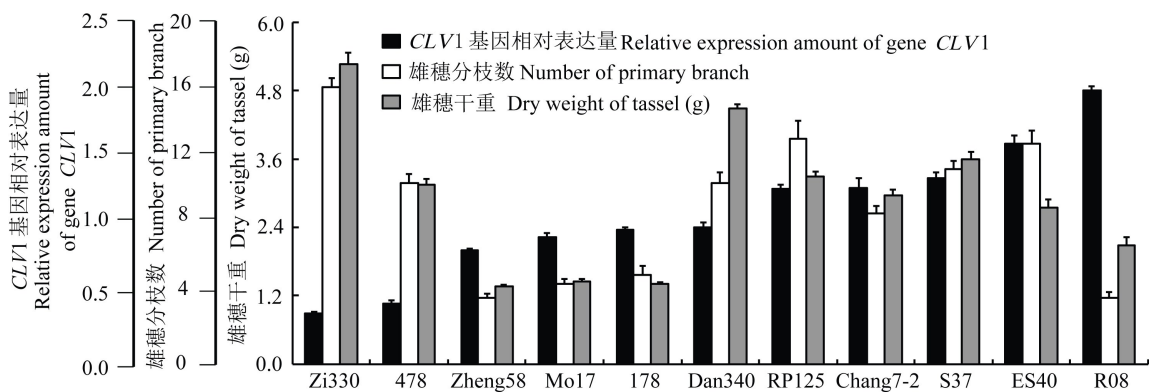


图 7 *CLV1* 基因在雄穗原基中的相对表达量与雄穗性状的相关性

Fig. 7 Relative expression of gene *CLV1* in tassel primordia and its correlation with tassel character

selection for reduced tassel branch number and reduced leaf area density above the ear in tropical maize populations [J]. *Crop Sci*, 27(6): 1 150–1 156.

GUEI RG, WASSOM CE, 1996. Genetic analysis of tassel size and leaf senescence and their relationships with yield in two tropical lowland maize populations [J]. *Afr Crop Sci J*, 4(3): 275–281.

GERALDI IO, FILHO JBM, VENCOSKY R, 1985. Estimates of genetic parameters of tassel characters in maize (*Zea mays* L) and breeding perspectives [J]. *Maydica*, 30(1): 1–14.

GODIARD L, SAUBIAC L, TORRI KU, et al, 2003. *ERECTA*, an LRR receptor-like kinase protein controlling development pleiotropically affects resistance to bacterial wilt [J]. *Plant J*, 36(3): 353–365.

HUANG X, QIAN Q, LIU Z, et al, 2009. Natural variation at the *DEP1* locus enhances grain yield in rice [J]. *Nat Gen*, 41(4): 494–497.

IRISH EE, 1997. Experimental analysis of tassel development in the maize mutant Tassel Seed 6 [J]. *Plant Physiol*, 114(3): 817–825.

KONG FN, WANG JY, ZOU JC, et al, 2007. Molecular tagging and mapping of the erect panicle gene in rice [J]. *Mol Breed*, 19(4): 297–304.

LAMBERT RJ, JOHNSON RR, 1978. Leaf angle, tassel morphology, and the performance of maize hybrids [J]. *Crop Sci*, 18

(3): 499–502.

MONNEVEUX P, SANCHEZ C, TIESSEN A, 2008. Future progress in drought tolerance in maize needs new secondary traits and cross combinations [J]. *Agric Sci*, 146(3): 287–300.

MICKELSON SM, STUBER CS, SENIOR L, et al, 2002. Quantitative trait loci controlling leaf and tassel traits in a B73×Mo17 population of maize [J]. *Crop Sci*, 42(6): 1 902–1 909.

NETO ALF, FILHO JBM, 2000. Inbreeding in two maize subpopulations selected for tassel size [J]. *Sci Agric*, 57(3): 487–490.

SUBEDI KD, 1996. Effect of leaf stripping, de-tasselling and topping of maize on the yield of maize and relay intercropped finger millet [J]. *Exp Agric*, 32(1): 57–61.

SKIRPAN A, CULLER AH, GALLAVOTTI A, et al, 2009. *BARREN INFLORESCENCE2* interaction with *ZmPIN1a* suggests a role in auxin transport during maize inflorescence development [J]. *Plant Cell Physiol*, 50(3): 652–657.

SUZAKI T, SATO M, ASHIKARI M, et al, 2004. The gene *FLORAL ORGAN NUMBER1* regulates floral meristem size in rice and encodes a leucine-rich repeat receptor kinase orthologous to *Arabidopsis CLAVATA1* [J]. *Development*, 131(22): 5 649–5 657.

SCHOOF H, LENHARD M, HAECKER A, et al, 2000. The stem cell population of *Arabidopsis* shoot meristems is maintained by a regulatory loop between the *CLAVATA* and *WUSCHEL* genes [J]. *Cell*, 100(6): 635–644.

- SUZAKI T, TORIBA T, FUJIMOTO M, et al, 2006. Conservation and diversification of meristem maintenance mechanism in *Oryza sativa*: function of the FLORAL ORGAN NUMBER2 gene [J]. *Plant Cell Physiol*, 47(12): 1 591-1 602.
- TIWARI TP, BROOK RM, SINCLAIR FL, 2004. Implications of hill farmers' agronomic practices in Nepal for crop improvement in maize [J]. *Exp Agric*, 40(4): 397-417.
- TAGUCHI-SHIBARA F, YUAN Z, HAKE S, et al, 2001. The fasciated ear2 gene encodes a leucine-rich repeat receptor-like protein that regulates shoot meristem proliferation in maize [J]. *Gen Dev*, 15(20): 2 755-2 766.
- TORRI KU, 2004. Leucine-rich repeat receptor kinases in plants: structure, function and signal transduction pathways [J]. *Int Rev Cytol*, 234: 1-46.
- TROTOCHAUD AE, HAO T, WU G, et al, 1999. The CLAVATA1 receptor-like kinase requires CLAVATA3 for its assembly into a signaling complex that includes KAPP and a Rho-related protein [J]. *Plant Cell*, 11(3): 393-405.
- UPADYAYULA N, DA SILVA HS, BOHN MO, et al, 2006. Genetic and QTL analysis of maize tassel and ear inflorescence architecture [J]. *Theor Appl Genet*, 112(4): 592-606.
- VOLLBRECHT E, SPRINGER PS, GOH L, et al, 2005. Architecture of floral branch systems in maize and related grasses [J]. *Nature*, 436(7 054): 1 119-1 126.
- VANDESOMPELE J, PRETER KD, PATTYN F, et al, 2002. Accurate normalization of real time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes [J]. *Gen Biol*, 3(7): Research0034- Research0034.11.
- WU DD, IRWIN DM, ZHANG YP, 2008. Molecular evolution of the keratin associated protein gene family in mammals, role in the evolution of mammalian hair [J]. *BMC Evol Biol*, 8(1): 241-256.
- YAN CJ, ZHOU JH, YAN S, et al, 2007. Identification and characterization of a major QTL responsible for erect panicle trait in japonica rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Theor Appl Genet*, 115(8): 1 093-1 100.
- ZHOU Y, ZHU J, LI Z, et al, 2009. Deletion in a quantitative trait gene qPE9-1 associated with panicle erectness improves plant architecture during rice domestication [J]. *Genetics*, 183(1): 315-324.

(上接第 314 页 Continue from page 314)

- LIN X, YAN ZZ, WANG WQ, 2004. Ecological distribution and salt tolerance of *Terminalia catappa* [J]. *Subtrop Plant Sci*, 33(4): 22-25. [林晞, 闫中正, 王文卿, 2004. 榄仁树的生态分布与耐盐性研究 [J]. *亚热带植物科学*, 33(4): 22-25.]
- LÜ FD, XU DC, HOU HB, et al, 2003. Comparative study on chlorophyll fluorescence character of five kinds of *Camellia* [J]. *Econ For Res*, 21(4): 4-7. [吕芳德, 徐德聪, 侯红波, 等, 2003. 5种红山茶叶绿素荧光特性的比较研究 [J]. *经济林研究*, 21(4): 4-7.]
- MITTLE R, VANDERAUWERA S, GOLLERY M, et al, 2004. Reactive oxygen gene network of plants [J]. *Trend Plant Sci*, 9(10): 490-498.
- OLAIZOLA M, ROCHE JL, KOLBER Z, et al, 1994. Non-photochemical fluorescence quenching and the diadinoxanthin cycle in a marine diatom [J]. *Photosynth Res*, (41): 357-370.
- SCHREIBER U, ARMOND PA, 1978. Heat-induced changes of chlorophyll fluorescence in isolated chloroplasts and related heat-damage at the pigment level [J]. *Biochim Biophys Acta*, (502): 138-151.
- SRIVASTAVA AK, 1995. Biomass and energy production in *Casuarina equisetifolia* plantation stands in the degraded dry tropic of Vindhyan plateau, India [J]. *Biomass Bioen*, 9(6): 465-471.
- WANG CQ, LIN Q, LI Y, et al, 2012. Effect of *cauarina equisetifolia* extract on the photosynthetic characteristics of *Vatica mangachapoi* seedlings [J]. *J NW For Univ*, 27(4): 31-38. [王春晴, 刘强, 李云, 等, 2012. 木麻黄浸提液对青皮苗光合特性的影响 [J]. *西北林学院学报*, 27(4): 31-38.]
- WANG XK, 2006. Experiments theory and technology of plant physiology biochemistry [M]. Beijing: Higher Education Press; 278-283. [王学奎, 2006. 植物生理生化实验原理和技术 [M]. 北京: 高等教育出版社; 278-283.]
- WEI XJ, 2001. Landscaping greening tree species-*Terminalia catappa* L. [J]. *Guangxi For Sci*, 30(3): 150-151. [韦晓娟, 2001. 优良园林绿化树种——榄仁 [J]. *广西林业科学*, 30(3): 150-151.]
- YAO BQ, LIU Q, 2010. Research progress in construction of mixed forest as windbreak [J]. *Prot For Sci & Technol*, (3): 58-61. [姚宝琪, 刘强, 2010. 中国东南沿海混交海防林建设研究进展 [J]. *防护林科技*, (3): 58-61.]
- YE GF, ZHANG LH, LIN YM, et al, 2007. Dynamics of nutrient and energy for fine roots of *Casuarina equisetifolia* plantations on coastal sandy soil [J]. *Acta Ecol Sin*, 27(9): 3 874-3 882. [叶功富, 张立华, 林益明, 等, 2007. 滨海沙地木麻黄人工林细根养分与能量动态 [J]. *生态学报*, 27(9): 3 874-3 882.]
- YE ZP, YU Q, 2009. Mechanism model of stomatal conductance [J]. *J Plant Ecol*, 33(4): 772-782. [叶子飘, 于强, 2009. 植物生态学报, 33(4): 772-782.]
- ZHANG SS, YE GF, LIN WX, et al, 2002. Studies on the type classification of backbone forest strip for *cauarina equisetifolia* and key techniques for its regeneration afforestation [J]. *Sci Sil Sin*, 38(2): 44-53. [张水松, 叶功富, 林武星, 等, 2002. 木麻黄骨干林带类型划分和更新造林关键技术研究 [J]. *林业科学*, 38(2): 44-53.]