

王元琮, 何 冰, 林 峰, 等. 调控玉米阻止授粉后叶片衰老的 QTL 定位[J]. 江苏农业学报, 2017, 33(4): 747-753.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2017.04.004

调控玉米阻止授粉后叶片衰老的 QTL 定位

王元琮, 何 冰, 林 峰, 赵 涵

(江苏省农业科学院种质资源与生物技术研究所/江苏省农业生物学重点实验室, 江苏 南京 210014)

摘要: 源-库比的变化与叶片的衰老速度有密切关系,但是关于叶片衰老的调控机制仍不清楚。为了进一步明确源-库比变化对玉米叶片衰老性状影响的遗传位点,利用 B73 × Mo17 重组自交系群体,于 2015 年、2016 年在抽丝前套袋阻止授粉后观察叶片衰老状况,取 2 年表型一致的 142 株植株并结合对应的基因型数据进行 QTL 分析,在第 8 条染色体的 *bnlg2046* 和 *gta101d* 2 个标记之间定位到一个显著 QTL 位点。该 QTL 的 *LOD* 值为 3.64,贡献率为 12.47%。标记之间的遗传距离为 5.00 cM,物理距离为 3.53 Mb。为进一步确认该 QTL 的准确性,利用来自于相同群体表型有明显差异的 2 个极端池的转录组测序数据,通过分群 SNP 分析(BSR-seq)后发现控制该性状的位点在同一染色体区段,其物理距离为 4.47 Mb,该染色体区段共有 85 个基因。预测其中 7 个基因可能与叶片授粉被阻断后的叶片衰老性状有关。分析 B73 与 Mo17 在该区段的 85 个基因在抽丝期、抽丝后 1 周与抽丝后 2 周的转录组数据,结果显示,在预测的候选基因中,编码类 *WRKY* 家族转录因子的 *GRMZM2G432583* 以及编码 *E2* 结合酶的 *GRMZM2G007276* 和 *GRMZM2G132759* 在这几个时期的 2 个亲本中转录水平差异较大,是目的基因的可能性较大。本研究为阐明参与调控阻止玉米授粉后叶片衰老的基因和研究该性状产生的分子机制奠定了基础。

关键词: 玉米; 阻止授粉; 叶片衰老; QTL

中图分类号: S513

文献标识码: A

文章编号: 1000-4440(2017)04-0747-07

QTL mapping for pollination-prevention on leaf senescence

WANG Yuan-cong, HE Bing, LIN Feng, ZHAO Han

(Provincial Key Lab of Agrobiolgy/Institute of Crop Germplasm and Biotechnology, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

Abstract: Source/sink ratio has close relationship with leaf senescence rate. The QTLs associating with pollination-prevention on leaf senescence has never been found yet in maize. To learn more about genetic mechanism of pollination-prevention on leaf senescence, recombinant inbred line (RIL population) derived from B73 × Mo17 was used to map the QTLs responsible for the phenotype. 142 plants which have consistent pollination-prevented leaf senescence rate in 2 years were chosen and combined with corresponding genotype data for mapping target QTLs. One QTL located on chromosome 8 between *bnlg2046* and *gta101d* was identified, with *LOD* score of 3.64. The genetic and physical distance of this genome region is 5.00 cM and 3.53 Mb respectively. To confirm this result, the plants showing most significant phenotypes were selected for bulk analysis. The sequence data were used to map the regions via bulked segregant RNA-Seq (BSR-Seq), and the same region on chromosome 8 was detected. The physical distance of this region was 4.47 Mb. There are 85 genes har-

收稿日期: 2017-03-26

基金项目: 国家自然科学基金项目(31400248)

作者简介: 王元琮(1984-), 男, 江苏南京人, 博士, 助理研究员, 主要从事玉米遗传育种研究。(E-mail) wangyuancong@163.com

通讯作者: 赵 涵, (Tel) 025-84390751; (E-mail) zhaohan@jaas.ac.cn

bored in this zone, 7 of which may be associated with leaf senescence rate after pollination-prevention. The B73 and Mo17 transcriptome data at silking, 1 week after silking, and 2 weeks after silking was analyzed. Three of the predicted genes, *GRMZM2G432583*, encoding *WRKY* like transcription factor, and *GRMZM2G007276* and

GRMZM2G132759, both encoding conjugating enzyme E2s, showed significantly different transcription patterns in B73 and Mo17, indicative of the possibility of being target genes. This study paved the way for detecting genes and responding mechanisms involved in regulating pollination-prevention on leaf senescence.

Key words: maize; pollination-prevention; leaf senescence; QTL

植物叶片的衰老过程是其自然生长发育进程中的最后阶段,对营养从叶片到籽粒的再分配有非常重要的影响。叶片的衰老受到各种因素如自身发育、外界胁迫、病虫害感染等影响,但触发叶片衰老的机制还没有完全研究清楚^[1-2]。玉米叶片衰老过程中光合作用同化能力逐渐丧失,积累干物质能力减弱。因此,叶片迟衰有利于更多干物质的积累,这些干物质最终会转移至玉米的籽粒中,有助于提高产量^[3-4]。

叶片衰老伴随着营养重新利用的过程。许多大分子物质如蛋白质、核酸、脂类物质在叶片(源)中降解,被运输到正在发育的籽粒(库)中重新合成^[1, 5]。在玉米中,阻止授粉改变源库比,会使得叶片中的游离糖、淀粉以及氮元素与正常授粉的植株相比有更多积累,但对不同品种叶片衰老速度的影响不尽相同。有的玉米材料如 B73、B73 × Mo17 等叶片与正常授粉的植株相比会加速衰老,有的玉米品种如 B14A、YD2 等叶片的衰老速度与对照相比没有显著差别或减慢^[6-9]。有研究者发现这可能与授粉被阻止后,影响了氮元素重新利用效率(Nitrogen remobilization efficiency, NRE)有关^[7]。也有研究表明,阻止玉米 B73 授粉后诱导的衰老转录组数据与拟南芥中糖诱导的衰老转录组数据有相似之处,提示在 B73 中阻止授粉后的叶片早衰有可能是由于过多的糖分积累所致^[9]。筛选和鉴定植物中参与叶片衰老的基因为研究叶片衰老背后的分子机制提供了基础。Woo 等^[10]发现,与野生型相比,拟南芥编码质体核糖体小亚基蛋白(PRPS17)的基因敲除突变体 *ore4-1* 叶片寿命在正常生长条件下明显延长,但在植物激素或者暗诱导条件下,突变体叶片的衰老速度与野生型没有明显区别,说明该基因仅参与调控与年龄相关的衰老过程,突变体 *ore4-1* 之所以具有衰老延迟的表型可能与其自身的新陈代谢与野生型相比较慢有关。植物激素也会影响叶片的衰老过程,如乙烯对叶片衰老有促进作用,拟南芥乙烯不敏感突变体 *ethylene-resistant 1 (etr1)* 以及 *ethylene-insensitive 2 (ein2)* 的叶片衰老速度与野生

型相比,都明显减慢。除此之外,有证据显示脱落酸(ABA)、细胞分裂素等植物激素也参与调控叶片的衰老^[11]。随着基因组测序技术以及转录组检测技术的发展,有关自然衰老以及诱导衰老的研究为鉴定衰老相关基因(Senescence associate genes, SAGs)提供了大量的参考数据。这些 SAGs 编码的蛋白有多种功能,包括参与到植物激素信号通路,大分子物质的降解、转录调控、营养物质循环利用等^[11-15]。尽管对于叶片衰老机制已经有不少研究,但是在玉米中关于调控叶片衰老基因的定位研究有限。Wang 等^[16]用正常授粉情况下的非迟衰玉米品种 Mo17 与迟衰品种 A-150-3-2 以及 Mo17 × A-150-3-2 的 F₁、F₂ 代群体对叶片迟衰的 QTL 进行定位分析,共定位到了 14 个 QTL 位点,其中有 3 个为主效 QTL 位点。Ceppi 等^[17]对阻止授粉后叶片发生早衰的品种 B73,阻止授粉后叶片不发生早衰的品种 B14A,以及 B73 × B14A 的 F₁、F₂ 群体阻止授粉后,对观测得到叶片是否早衰的数据进行统计分析,推测该性状在被测群体中是由显性单基因控制的。

为进一步鉴定调控玉米阻止授粉后参与调控叶片衰老的基因,我们利用 IBM 群体(由玉米自交系 B73 和 Mo17 杂交 F₁ 经过 4 次交互授粉后连续自交形成的重组自交系)在抽丝前套袋阻止授粉并记录叶片衰老表型。分别采用遗传连锁分析和转录组测序结合分群分析(BSR-Seq)2 种方法,定位到 1 个共同的染色体区段,并对该区段范围内可能的目标基因做了分析,为后续进一步定位基因提供了依据。

1 材料与方法

1.1 玉米材料

玉米材料来自于 B73 × Mo17 杂交 F₁ 经过 4 次交互授粉后连续自交形成的重组自交系(IBM 群体)。群体于 2015 年、2016 年种植于江苏省农业科学院六合基地。株距为 30 cm,行距为 80 cm。

1.2 表型测定方法

分别于 2015 年、2016 年,将挑选的 IBM 群体植株快抽丝前立即套袋,阻止其授粉。45 d 后观察统

计叶片是否枯黄,本研究以整个穗位叶枯黄定为枯黄标准^[9],并记录。

1.3 遗传分析与 QTL 定位

取 2 年表型一致的玉米材料提取 DNA,根据 www.maizegdb.org 发布的 IBM 群体遗传图谱,使用 Premier 5.0 软件设计 Indel 引物,对 IBM 群体的亲本 B73 和 Mo17 进行多态性分析,获得的多态性引物用于 142 个重组自交系单株的基因型鉴定。使用 Microsoft Excel 2010 进行数据整理与统计。采用 QTL Ici mapping 4.1.0 软件,通过加性效应完备区间作图法(ICIM-ADD)检测控制阻止授粉后叶片衰老的 QTL。步长为 1.00 cM,设置 LOD 阈值为 3.00。

1.4 转录组测序结合分群分析(BSR-seq)

参考 McGirr 等^[18]、Liu 等^[19]的方法,为排除基因组上非转录区多态性的干扰,挑选叶片枯黄和未枯黄表现最为明显的植株,于玉米生长 V6 期(6 片完全展开叶)取叶片,分别构建 2 个极端性状的混样池,进行 RNA-Seq 检测,使用 Burrows-Wheeler 比对工具(Burrows-wheeler alignment tool)将测得序列与 B73 参考基因组进行比对整理。整理完成的序列信息使用 VCF 工具(VCF tools)转换成 VCF(Variant call format)格式进行关联性分析,找到与突变基因共分离的 SNP 位点。并采用 VCF 工具中的 Weir-fst-popfunction 功能计算 F_{st} 遗传分化系数,曲线拟合产生的趋势线采用 R 语言的 Lowess 函数计算绘制。

1.5 QTL 所在染色体区段生物信息学分析

根据玉米 B73 基因组测序信息(www.maizegdb.org)提供的基因注释结果与该区段所有基因进行匹配。并在网站 www.maizegdb.org 下载 B73 与 Mo17 抽丝期、抽丝后 1 周、抽丝后 2 周的转录组数据,在 Excel 2010 中与区段基因进行匹配,用软件 MeV 4.8 绘制热点图。

2 结果与分析

2.1 B73 与 Mo17 重组自交系群体叶片阻止授粉后衰老表型分析

为了排除环境因素的干扰,我们统计 2015 年和 2016 年 2 年的阻止授粉后 IBM 群体叶片衰老数据,仅取 2 年表型一致的植株材料共 142 株作为定位 QTL 位点的依据。结果显示,142 株植株中有 54 株叶片经套袋阻止授粉处理后 45 d 没有枯黄,有 88 株叶片发生枯黄坏死。

2.2 定位参与调控阻止授粉后叶片衰老的 QTL

为定位参与调控玉米阻止授粉后叶片衰老速度的 QTL,我们利用 www.maizegdb.org 上已有的 B73 与 Mo17 遗传图谱,针对其中的未覆盖标记的区段开发 InDel 分子标记,饱和遗传图谱,获得包含 1 600 个标记位点的覆盖玉米基因组 6 405.00 cM 的遗传图谱。通过完备区间作图,以 $LOD = 3.00$ 为阈值,检测到了 1 个 QTL 位点。该位点定位于在第 8 条染色体上的 *bnlg2046* 和 *gta101d* 2 个标记之间, LOD 值为 3.64。这 2 个标记在染色体上的遗传距离为 5.00 cM,物理距离约为 3.53 Mb。该区段对表型的贡献率为 12.47%(图 1)。

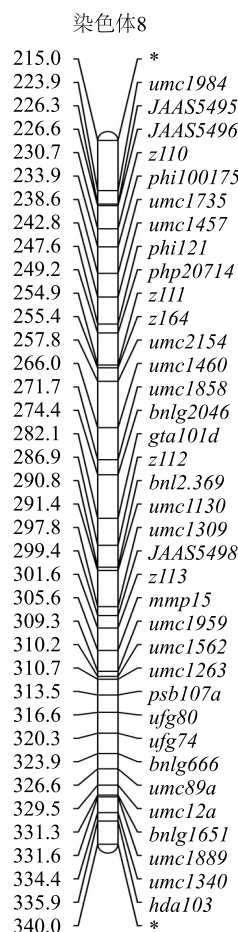


图 1 阻止授粉后叶片衰老的 QTL 定位

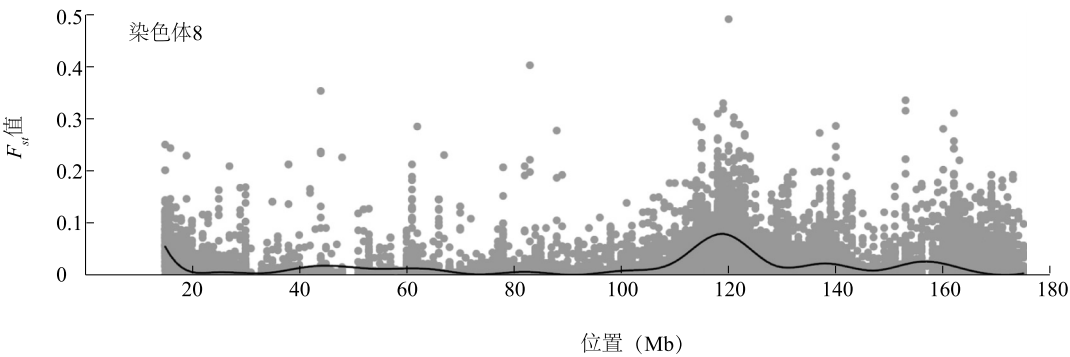
Fig.1 QTL mapping for pollination-prevention on leaf senescence

2.3 利用 BSR-Seq 定位参与调控阻止授粉后叶片衰老的位点

为进一步验证遗传数据得出的 QTL 位点,我们挑选 2 种表型差异最明显的植株共 20 株进行 RNA-

Seq 检测,将得出的序列信息组装后进行 BSR-Seq 关联分析。结果(图 2)显示,在第 8 条染色体的 115 304 024~119 772 235 bp 区段与授粉阻止后叶片衰老性状的相关性最好,该区段物理距离为 4.47

Mb。这与我们使用遗传标记定位出的 QTL 位点在基因组上的位置基本重合,证明之前的 QTL 定位是准确的,参与调控该表型的基因很可能位于这个区段内。



图中每个点表示一个 SNP 位点,黑线为通过曲线拟合产生的趋势线。

图 2 与阻止授粉后叶片衰老关联的染色体

Fig.2 Chromosome associated with pollination-prevention on leaf senescence

2.4 调控授粉阻止后叶片衰老 QTL 区域基因预测

根据玉米 B73 基因组 QTL 信息,位于标记 *bn-lg2046* 与标记 *gta101d* 之间,物理距离为 3.53 Mb,包含 85 个基因。这些基因编码的蛋白包括转录因子、激酶、转运蛋白、跨膜受体等多种类型。基于已有的研究结论,我们挑选了一些可能的候选基因(表 1)。这些基因分为 3 类,第 1 类编码 WRKY 家族或类 WRKY 家族转录因子,包括 *GRMZM2G034421* 和 *GRMZM2G432583* 2 个基因。第 2 类编码泛素降解途径相关蛋白,包括编码 E2 泛素结合酶的 *GRMZM2G132759*、*GRMZM2G007276* 和编码 E3 泛素连接酶的 *GRMZM2G328988*。第 3 类编码参与糖代谢相关蛋白,包括编码葡萄糖焦磷酸酶的 *AC197705.4_FGT011* 和编码蔗糖磷酸酶的 *GRMZM2G055489*。

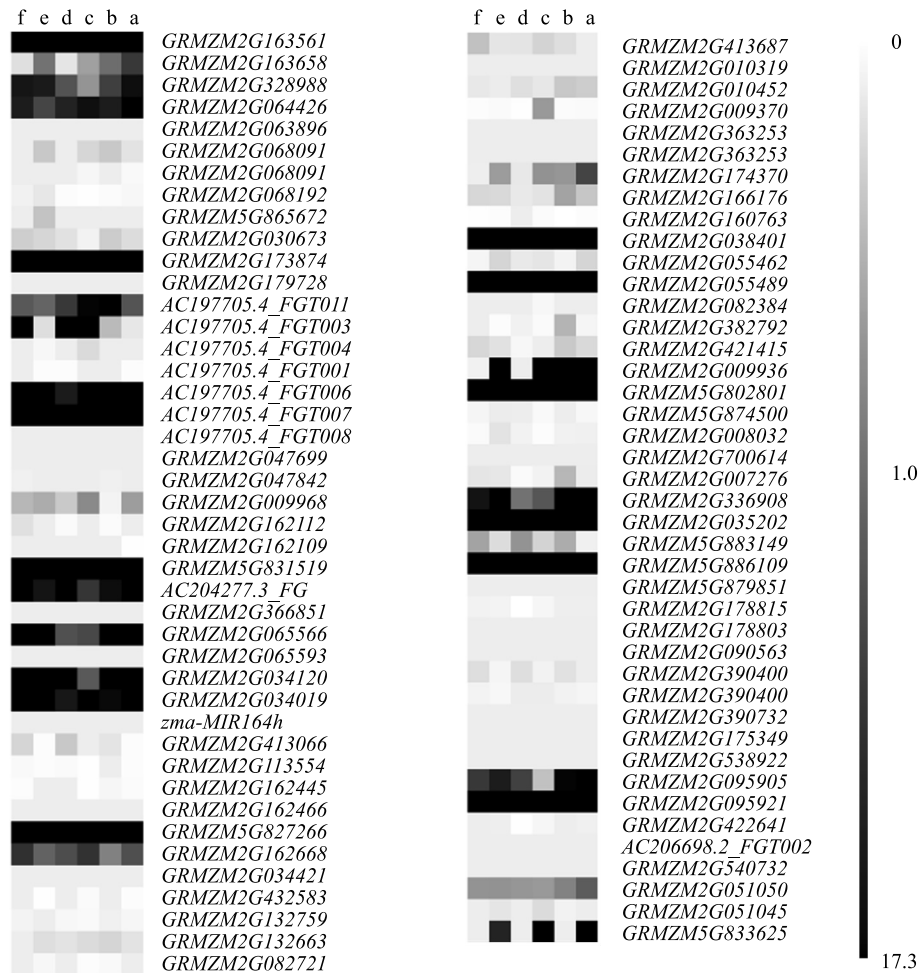
2.5 B73 与 Mo17 在抽丝前后期的 mRNA 表达谱分析

为进一步获得我们定位到区段的基因信息,我们从网站 www.maizegdb.org 下载了本试验所使用的重组自交系群体的亲本 B73 与 Mo17 在抽丝期、抽丝期后 1 周、和抽丝期后 2 周的转录组数据,并对定位区段内的基因进行了分析,结果(图 3)显示,大部分基因在 2 种亲本直接的转录水平

相差不大。在我们预测的基因中,编码类 WRKY 家族转录因子基因 *GRMZM2G432583* 在 3 个时期的 Mo17 中转录水平较高,在 B73 中几乎不转录。编码 E2 结合酶的 *GRMZM2G007276*、*GRMZM2G132759* 在抽丝期的 Mo17 中转录水平较高,在 B73 的抽丝期几乎不转录。由此我们认为这 3 个基因参与调节阻止授粉后叶片衰老速度的可能性较大。

表 1 参与调控阻止授粉后叶片衰老基因预测结果
Table 1 Prediction of genes involved in pollination-prevention on leaf senescence

基因 ID	编码蛋白	参与代谢途径
<i>GRMZM2G055489</i>	蔗糖磷酸酶	糖代谢
<i>AC197705.4_FGT011</i>	UDP-葡萄糖焦磷酸化酶	糖代谢
<i>GRMZM2G328988</i>	E3 泛素连接酶	26S-蛋白酶体
<i>GRMZM2G132759</i>	E2 泛素结合酶	26S-蛋白酶体
<i>GRMZM2G007276</i>	类 E2 泛素结合酶	26S-蛋白酶体
<i>GRMZM2G034421</i>	WRKY 家族转录因子	未知
<i>GRMZM2G432583</i>	类 WRKY 家族转录因子	未知



图中黑白颜色深浅表示表达量的高低,白色表示最低表达,黑色表示最高表达。a: B73 抽丝期; b: Mo17 抽丝期; c: B73 抽丝期后 7 d; d: Mo17 抽丝期后 7 d; e: B73 抽丝期后 14 d; f: Mo17 抽丝期后 14 d。

图 3 不同时期 QTL 所在区段基因的转录水平分析

Fig.3 Transcription level of target genes located on QTL at and after silking

3 讨论

获得高产、高质量的玉米品种一直是玉米育种的目标。由于延迟叶片衰老速度有利于提高玉米的最终产量,因此获得能够降低叶片衰老速度的品种具有较大的应用价值^[20]。尽管 Ceppi 等^[17]的研究结果显示阻止授粉后的叶片衰老性状在 B73×B14A 的 F₂代群体中分离符合显性单基因控制的情形,但由于玉米的基因组较复杂,叶片衰老的表型也会受环境因素的影响,与该表型关联的基因或 QTL 位点一直未能找到。本研究选择 2 年独立试验表型一致的株系作为群体,最大限度排除了环境因素对表

型的影响,并通过遗传学和转录组序列关联分析 2 种方法,分别独立定位到了同一个基因组区段,降低了不确定性。

植物叶片衰老过程中,氮元素被运送至籽粒,被用于籽粒中的蛋白质合成^[2, 21-23]。许多情况下,由于籽粒消失,叶片中的氮元素输出减少,氮元素积累增加,会使得叶片延迟衰老。但在玉米中,虽然籽粒形成受阻后叶片中的氮元素输出减少,积累增加,叶片是否会延迟衰老在不同品种中的情况却各不相同。Yang 等^[7]的研究结果发现,如果套袋阻止授粉后玉米氮的重新利用效率受到较大影响,叶片的衰老会发生延迟,如果影响不大,叶片的衰老与正常授

粉的植株相比没有显著差别或者提早发生,但是叶片衰老与氮元素重新利用率高低的相关性只有0.72,暗示氮元素的积累可能不是叶片是否会发生早衰的决定因素,还有其他因素参与调控该性状。

我们所定位到的区段中没有发现与氮元素积累或转运直接相关的基因。转录组分析结果表明,玉米的授粉被阻止后,其转录组数据的变化与拟南芥中糖诱导衰老的转录组数据分析结果非常相似,因此推测玉米的授粉被阻止后产生的早衰现象可能是由于过多的糖分积累所造成的^[9]。由此推测,如果考虑糖分积累状况可能会提高两者的相关性。在我们所定位到的区段中,发现了2个编码参与糖代谢途径相关蛋白的基因,分别是编码葡萄糖焦磷酸酶的 *AC197705.4_FGT011* 和编码蔗糖磷酸酶的 *GRMZM2G055489*。尽管转录组分析结果显示,在B73和Mo17中这2个基因的转录水平没有显著差异,但仍可能参与调控该性状。在拟南芥中, *WRKY* 家族转录因子参与衰老机制的触发^[1],转录组数据显示,编码类 *WRKY* 家族转录因子基因 *GRMZM2G432583* 在抽丝期、抽丝期后1周和抽丝期后2周的B73中几乎没有转录,而在这3个时期Mo17中均有一定转录,增加了该基因参与调控阻止授粉后叶片衰老性状的可能性。叶片的衰老过程伴随着蛋白等大分子物质迅速降解,泛素-蛋白酶体系(Ubiquitin-proteasome system, UPS) 是细胞内蛋白质降解的主要途径之一。在我们所定位到的区段中,发现编码 *E2* 结合酶基因 *GRMZM2G007276* 和 *GRMZM2G132759* 的转录水平在B73与Mo17抽丝期的差异较大,暗示这些基因参与调控阻止授粉后叶片衰老性状的可能性也比较高。

Yang等^[7]发现,当正常授粉被阻止后,对玉米叶片中氮元素的重新利用率影响不大的品种中氮元素很可能被转移至茎秆、根等其他部位。相对的,对叶片中的氮重新利用率影响较大的品种中氮元素在没有籽粒的情况下,无法较好转移至根茎等部位。因此,叶片在授粉被阻止后是否发生早衰暗示了不同品种对氮元素的分配倾向和调控能力。这些分配倾向和调控能力的不同是由大量基因差异造成,所以将这个性状作为杂交育种的依据,很可能会提高杂种产量。

参考文献:

[1] LIM P O, KIM H J, NAM H G. Leaf senescence[J]. Annu Rev

Plant Biol, 2007,58: 115-136.

- [2] JING H C, NAM H G. Leaf senescence in plants: from model plants to crops, still so many unknowns [J]. J Integr Plant Biol, 2012,54(8): 514-515.
- [3] ECHARTE L, ROTHSTEIN S, TOLLENAAR M. The response of leaf photosynthesis and dry matter accumulation to nitrogen supply in an older and a newer maize hybrid[J]. Crop Sci, 2008,48(2): 656-665.
- [4] MA B, DWYER L. Nitrogen uptake and use of two contrasting maize hybrids differing in leaf senescence [J]. Plant Soil, 1998, 199(2): 283-291.
- [5] HIMELBLAU E, AMASINO R M. Nutrients mobilized from leaves of *Arabidopsis thaliana* during leaf senescence [J]. J Plant Physiol, 2001,158(10): 1317-1323.
- [6] CHRISTENSEN L E, BELOW F E, HAGEMAN R H. The effects of ear removal on senescence and metabolism of maize [J]. Plant Physiol, 1981,68(5): 1180-1185.
- [7] YANG L, GUO S, CHEN F, et al. Effects of pollination-prevention on leaf senescence and post-silking nitrogen accumulation and remobilization in maize hybrids released in the past four decades in China [J]. Field Crops Res, 2017,203: 106-113.
- [8] CRAFTSBRANDNER S J, BELOW F E, WITTENBACH V A, et al. Differential senescence of maize hybrids following ear removal: II. selected leaf[J]. Plant Physiol, 1984,74(2):360.
- [9] SEKHON R S, CHILDS K L, SANTORO N, et al. Transcriptional and metabolic analysis of senescence induced by preventing pollination in maize[J]. Plant Physiol, 2012,159(4):1730-1744.
- [10] WOO H R, GOH C H, PARK J H, et al. Extended leaf longevity in the ore4-1 mutant of *Arabidopsis* with a reduced expression of a plastid ribosomal protein gene [J]. Plant J, 2002,31(3):331-340.
- [11] BUCHANAN-WOLLASTON V, EARL S, HARRISON E, et al. The molecular analysis of leaf senescence—a genomics approach [J]. Plant Biotech J, 2003,1(1):3-22.
- [12] BREEZE E, BUCHANAN-WOLLASTON V. High-resolution temporal profiling of transcripts during *Arabidopsis* leaf senescence reveals a distinct chronology of processes and regulation[J]. Plant Cell, 2011, 23(3):873-894.
- [13] GRAAFF E V D, KUNZE R. Transcription analysis of *Arabidopsis* membrane transporters and hormone pathways during developmental and induced leaf senescence [J]. Plant Physiol, 2006,141(2):776-792.
- [14] GUO Y, CAI Z, GAN S. Transcriptome of *Arabidopsis* leaf senescence[J]. Plant Cell Environ, 2004,27(5):521-549.
- [15] BUCHANANWOLLASTON V, PAGE T, HARRISON E, et al. Comparative transcriptome analysis reveals significant differences in gene expression and signalling pathways between developmental and dark/starvation-induced senescence in *Arabidopsis*[J]. Plant J, 2005,42(4):567-585.
- [16] WANG A, LI Y, ZHANG C. QTL mapping for stay-green in maize

- (*Zea mays*) [J]. Can J Plant Sci, 2017, 92(2):249-256.
- [17] CEPPI D, SALA M, GENTINETTA E, et al. Genotype-dependent leaf senescence in maize: inheritance and effects of pollination-prevention[J]. Plant Physiol, 1987, 85(3):720-725.
- [18] MCGIRR J A, MARTIN C H. Novel candidate genes underlying extreme trophic specialization in Caribbean pupfishes[J]. Mol Biol Evol, 2017, 34(4): 873-888.
- [19] LIU S, YEH C T, TANG H M, et al. Gene mapping via bulked segregant RNA-Seq (BSR-Seq) [J]. PLoS ONE, 2012, 7(5): e36406.
- [20] MUELLER S M, VYN T J. Maize plant resilience to N stress and post-silking N capacity changes over time: a review [J]. Front Plant Sci, 2016, 1(7):53.
- [21] BORRÁS L, WESTGATE M E, OTEGUI M E. Control of kernel weight and kernel water relations by post-flowering source-sink ratio in maize[J]. Ann Bot, 2003, 91(7):857.
- [22] BORRÁS L, MADDONNI G A, OTEGUI M E. Leaf senescence in maize hybrids: plant population, row spacing and kernel set effects [J]. Field Crops Res, 2003, 82(1):13-26.
- [23] PAN W L, CAMBERATO J J, MOLL R H, et al. Altering source-sink relationships in prolific maize hybrids: consequences for nitrogen uptake and remobilization [J]. Crop Science, 1995, 35(3): 836-845.

(责任编辑:陈海霞)