

## 玉米抗玉米穗蟲之機制與育種選拔

黃祥益<sup>1</sup>

### 摘要

玉米穗蟲 (*Helicoverpa zea* (Boddie), corn earworm) 為鱗翅目 (Lepidoptera)，夜蛾科 (Noctuidae) 昆蟲，是玉米的主要害蟲之一，對玉米生產的經濟危害非常大。在美國，每年因玉米穗蟲所引起之玉米生產損失估計約佔 2.5%，而甜玉米則高達 50%。玉米對玉米穗蟲之抗性是由玉米絲狀花柱 (silk) 中所產生的類黃酮化合物 C-glycosyl flavone 使幼蟲在啃食絲狀花柱之後生長受到抑制甚至死亡。在抗性品種的絲狀花柱中主要被分離出的類黃酮化合物有 maysin、apimaysin 及 methoxymaysin 等 3 種。其中最重要的是 maysin，經由餵食絲狀花柱發現 maysin 濃度與玉米穗蟲幼蟲體重呈現明顯的負相關。C-glycosyl flavone 合成是經由類花青素/類黃酮合成路徑 (phenylpropanoid / flavonoid pathway) 的分支路徑而得。其表現受到多個數量性狀基因座 (quantitative trait locus, QTL) 的調控。這些 QTL 中以第 1 條染色體上的 *p1* 基因座最具代表性，*p1* 的存在可促進絲狀花柱中 maysin 的累積，決定 maysin 含量。環境差異、所在染色體的位置、不同基因座間的交通作用都可能影響 *p1* 的表現，進而造成品種間抗性表現差異。由於 maysin 抑制玉米穗蟲生長，在進行抗性品系選拔時可以作為選拔指標。其次，建立 QTL 圖譜之分子標誌也可應用於品種篩選，藉此可減少田間選拔工作量及空間。除了利用分子標記及實驗室輔助選育的方法之外，田間危害評估仍是重要的抗蟲育種選拔依據。

關鍵字：玉米穗蟲、類黃酮、數量性狀基因座、選拔

### 前言

玉米穗蟲 (學名：*Helicoverpa zea* (Boddie)，英名：corn earworm) 為鱗翅目 (Lepidoptera)，夜蛾科 (Noctuidae) 昆蟲。是玉米的主要害蟲之一，其對玉米的生產的經濟危害非常大，尤其是甜玉米。在美國，玉米每年因玉米穗蟲引起生產損失估計約佔 2.5%，但是甜玉米卻高達 50%<sup>(5)</sup>。而玉米穗蟲的危害對象廣泛，不僅止於玉米，在番茄上被稱為番茄夜蛾 (tomato fruitworm)、棉花稱為棉鈴蟲 (cotton bollworm)，其他寄主作物如菜豆、甘藍、

---

<sup>1</sup>高雄區農業改良場助理研究員

萵苣、甜椒、苜蓿、紫花苜蓿、菸草、大豆、高粱等<sup>(5,11)</sup>。由於玉米是非常重要的大宗穀物及蔬菜，所以針對玉米穗蟲進行抗蟲育種在產業上有其需要性，且目前對於玉米抗蟲性的機制及其抗性遺傳背景已有基本的瞭解，也被應用於相關的育種計畫及遺傳研究當中。

### 玉米穗蟲概述

玉米穗蟲雌蟲通常在夜間活動，將卵產於玉米心葉，果穗或絲狀花柱(silk)上。卵呈饅頭形，顏色淡灰。幼蟲孵化後於果穗頂部取食絲狀花柱，排出咖啡色糞便，到四齡後則開始順著絲狀花柱蛀入果穗中咬斷絲狀花柱、取食嫩果及玉米粒，造成嚴重為害。部分幼蟲白天躲藏在苞葉的縫隙間或葉鞘內，夜間出來取食。幼蟲有互相殘食的習性，每個果穗僅有1隻幼蟲，因此有「一穗一蟲」的說法。幼蟲體色會因每次脫皮而有所改變，包括綠色及淺黑色或粉紅色，體表有稀疏細毛。幼蟲至五齡即成熟，但田間採得之幼蟲有時可發育到六齡。老熟幼蟲有些在玉米穗上化蛹，部分在土中化蛹，蛹紅褐色。雌性成蟲為黃褐色，雄蟲灰黃褐色，外橫線及腎狀花紋為暗褐色，體色變化大，從淺綠到暗綠、黃褐、暗褐色等。白天棲息於雜草或玉米葉下，夜間飛出活動、交尾，一年可發生6-7代<sup>(1)</sup>。在台灣地區春作玉米後期偶爾有大發生的情形，早播秋作玉米較晚作受害嚴重。

### 玉米對玉米穗蟲抗性機制

玉米對玉米穗蟲的抗性機制被認為屬於抗性(antibiosis)，在一些具有抗性的品種或品系的絲狀花柱中被分離出一群黃酮(flavone)化合物，具有抑制玉米穗蟲幼蟲生長的效果<sup>(3,8)</sup>。此類黃酮化合物為C-glycosyl flavone(順式醣苷黃酮)，包含maysin (5,7,3',4'-tetrahydroxy)、ampimaysin (5,7,4'-trihydroxy)及methoxy-maysin (5,7,4'-trihydroxy 3'-methoxy)。此3種化合物的基本化學結構是相同的，其差異僅在位於B環(B-ring)上的官能基不同，maysin鍵結羥基(-OH)，apimaysin鍵結一個氫原子(-H)，而methoxymaysin則結合甲氧基(-OCH<sub>3</sub>)<sup>(6)</sup>。這3種化合物的合成是經由類花青素/黃酮合成路徑(phenylpropanoid / flavonoid pathway)的分支路徑而得。

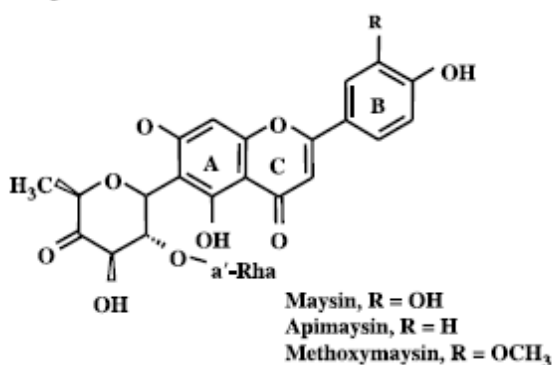


圖1. C-glycosyl flavone的化學結構  
Fig. 1. Chemical structure of C-glycosyl flavone.  
(Cortés-Cruz *et al.*, 2003)

黃酮合成酵素位於細胞內質網中參與反應，合成後的產物貯存於液泡中或分泌至細胞壁中。C-glycosyl flavones的具有抗生性的主要原因是由於此類化合物被玉米穗蟲的幼蟲攝食進入腸道後，轉變為更具毒性的‘醌’(quinones)。醌類化合物可以降低游離氨基酸、蛋白質與氫硫基(-SH)、胺基(-NH<sub>2</sub>)之間的鍵結能力，造成幼蟲和蛹的重量下降，生長遲緩，並使蛹期延長<sup>(3,8)</sup>。Maysin是此類化合物中效果最強的，apimaysin降低幼蟲體重的效果只有maysin的一半。不同品種玉米對玉米穗蟲生長的抑制效果並未依絲狀花柱中的總flavones含量比例呈現，但二者間呈現顯著的負相關性<sup>(8)</sup>。Byrne等人(1998)<sup>(2)</sup>於2個地點種植抗蟲品種(GE37)、感蟲品種(FF8)玉米及二者雜交後之自交後代(F<sub>2:3</sub>世代)，分別分析絲狀花柱中的maysin濃度，發現maysin濃度越高的絲狀花柱在餵食後，幼蟲的體重越輕，二者呈現極顯著的負相關(r = -0.43 及 -0.53, p < 0.001)。抗性與感性品種間maysin之遺傳率高(0.65 及 0.68)顯示在育種選拔上身具潛力(表 1)。

表 1. 玉米(GE37 × FF8)F<sub>2:3</sub>族群之親本、雙親中值及F<sub>2:3</sub>後裔絲狀花柱中 maysin濃度的平均、標準誤差及廣義遺傳力

Table 1. Means and standard errors of parents, mid-parent, and F<sub>2:3</sub> lines, and broad-sense heritabilities for silk maysin concentration and corn earworm larval weight in the population (GE37 × FF8)F<sub>2:3</sub>

	Silk maysin concentration		Larval weight
	Columbia, MO	Tifton, GA	Tifton, GA
	----- % fresh silk weight -----		mg
GE37	0.989 ± 0.415	0.722 ± 0.140	91.7 ± 12.4
FF8	0.243 ± 0.056	0.309 ± 0.036	259.6 ± 24.6
Mid-parent mean	0.616 ± 0.095	0.516 ± 0.102	175.7 ± 55.8
F <sub>2:3</sub> population mean	0.409 ± 0.010	0.305 ± 0.009	144.6 ± 7.1
Heritability (h <sup>2</sup> )	0.65	0.68	0.98
90% C.I. on h <sup>2</sup>	(0.56, 0.72)	(0.61, 0.75)	(0.97, 0.98)

(Byrne *et al.*, 1998)

### 玉米對玉米穗蟲抗性之遺傳模式

C-glycosyl flavone合成及表現受到許多個數量性狀基因座(quantitative trait locus, QTL)所控制<sup>(9,10)</sup>，其中最重要的是位於第1條染色體的p1基因座上。絲狀花柱maysin含量的表現主要由p1決定，由分離的F<sub>2</sub>世代分析結果p1占58%<sup>(3,7,8,9,13)</sup>。p1在玉米類花青素/黃酮生合成路徑中占有重要的地位，控制maysin及類花青素 3-deoxyanthocyanin共同前驅物chalcone合成至二者合成的分支路徑(圖 2)。除調控maysin合成之外，p1基因對於apimaysin

和methoxymaysin的合成有極顯著的相關性，即使在不同的玉米品種間均有穩定的表現(表 2)<sup>(3,14)</sup>。

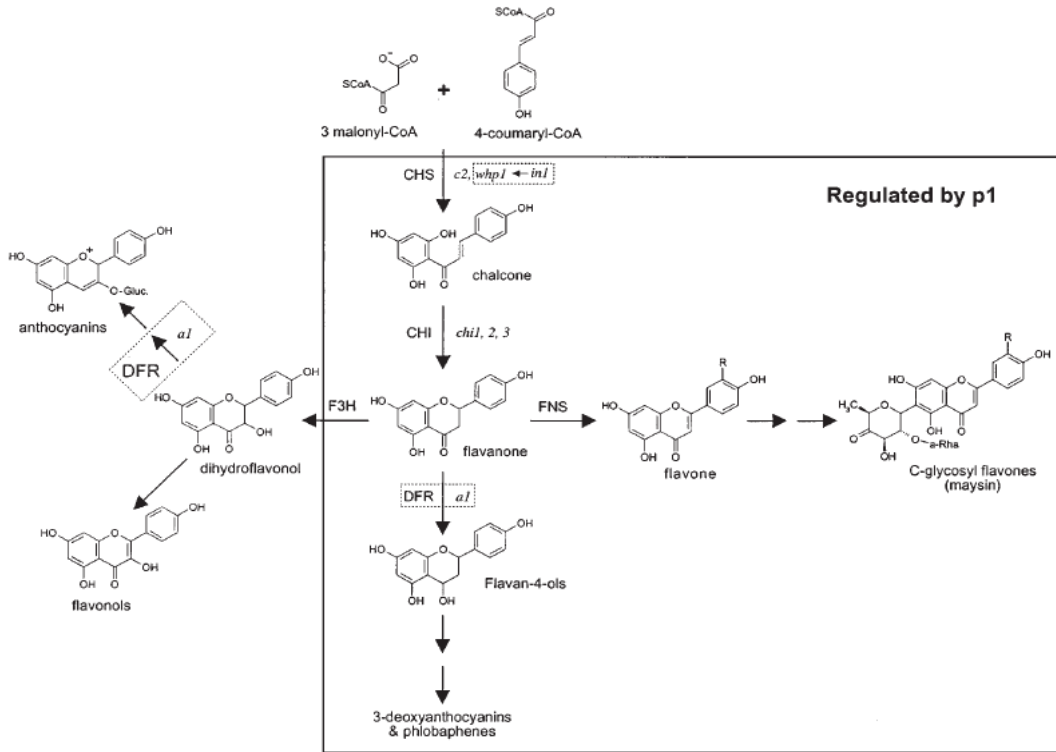


圖 2. 玉米 maysin and 3-deoxyanthocyanin 的合成路徑

Fig 2. Proposed maysin and 3-deoxyanthocyanin pathway in maize. (McMullen *et al.*, 2001)

表 2. 玉米 GT-A1 × GT119 單交組合之 F<sub>2:3</sub> 族群中絲狀花柱 maysin、3'M+A 及 chlorogenic acid 濃度複因子變方分析<sup>a</sup>

Table 2. Multiple-factor analyses of variance for silk maysin, 3'M+A, and chlorogenic acid concentrations in the F<sub>2:3</sub> population derived from the single cross GT-A1 × GT119

Locus	Bin <sup>b</sup>	Maysin	3'M+A	Chlorogenic acid
<i>p1</i>	1.03	0.0001	0.0001	0.0001
<i>csu1066</i>	2.05	0.0010	0.0001	0.0001
<i>php20608</i>	4.10	-	0.0001	-
<i>p1×csu32</i>		-	-	0.0030
R <sup>2</sup> (%) <sup>c</sup>		59.3	54.2	53.3

<sup>a</sup> Level of probability for the F-test in a multiple-factor analysis of variance.

<sup>b</sup> QTL positions refer to the UMC 1999 Maize Map Standard. Chromosome was dissected into Bin regions.

<sup>c</sup> Percentage of total phenotypic variance explained by the multiple-locus model for each compound. (Widstrom *et al.*, 2003)

在*p1* 基因座上含有 5 對對偶基因分別控制不同的組織功能。其中 3 對則與玉米絲狀花柱中黃酮合成有關，分別是*P1-rrb*、*P1-wrb*及*P1-wwb*，此 3 對基因並且與果皮、穗軸顏色及絲狀花柱褐化有關<sup>(8)</sup>。同時也與苞葉、種皮等組織花青素的合成與表現有交互作用<sup>(14)</sup>。

與maysin合成有關的QTL除第 1 條染色體上的*p1* 之外，其他各條染色體上均存在相關的QTL(表 3)，有些研究已將這些QTL在染色體上的位置標定完成(圖 3)<sup>(9)</sup>。這些QTL對maysin的生合成雖然有影響，但不如*p1* 基因座重要。例如位於第 9 條染色體(chromosome 9)的*rem 1*。這個基因座在抑制玉米穗蟲幼蟲重量或黃酮合成路徑的功能及角色實際上並不清楚，且其與maysin含量及餵食後幼蟲重量並無顯著的相關性。但*rem 1* 的存在與*p1* 產生交互作用在餵食幼蟲體重的表現上卻有顯著的相關性。此外，位於第 6 條染色體(chromosome 6)的*sm1* 也被觀察到與maysin含量有關，不過，其機制仍不清楚<sup>(2)</sup>。

表 3. 與 C-glycosyl flavone 合成有關之基因座在玉米染色體上的位置

Table 3. The correlative loci for C-glycosyl flavone synthesis on maize chromosomes' position

Chromosome	Correlation loci			Relative referance
	Maysin	Apimaysin	Other flavones	
1	<i>bz2, p1, umc166b, umc167a</i>	<i>p1</i>	<i>p1</i>	2,3,8,14
2	<i>whp1</i>			2
3	<i>a1</i>		<i>a1</i>	7,9
4	<i>c2</i>			2
5	<i>bng609, pr1</i>	<i>pr1</i>		8,9
6	<i>pl1, sm1, cus70</i>			2
7	<i>asg34(msd)</i>			9
8	<i>npi268, nl2.369, c1, bp1, bz1, wx1,</i>			3,7
9	<i>sh1, umc105, umc113a, rem 1</i>		<i>umc105a</i>	2,3,8
10	<i>r1,</i>			2,3

除化學抑制物質造成玉米抗玉米穗蟲原因之外，物理特性也有部分功效，例如果穗苞葉硬度及緊實度會影響幼蟲攝食意願及增加幼蟲鑽入玉米果穗阻力，植體表面絨毛也影響雌蟲產卵意願，但這些性狀對玉米穗蟲的防禦多為輔助性的抗性<sup>(12)</sup>。

### 抗蟲品系的選拔方法

由玉米穗蟲幼蟲餵食試驗中觀察到絲狀花柱中 maysin 含量與幼蟲體重呈現負相關，因此，進行田間抗蟲品系選拔時，可歸納出下列方式篩選抗蟲品系。

一、分析絲狀花柱中 maysin 及 total flavones 的含量：

配合田間蟲害調查結果訂定具抗蟲效果絲狀花柱 maysin 最低含量，作為種原及雜交後裔早期世代篩選指標，可節省大量田間選拔及調查的勞力。須注意的是此指標須與經濟臨界閾值(Economic threshold)直接相關。

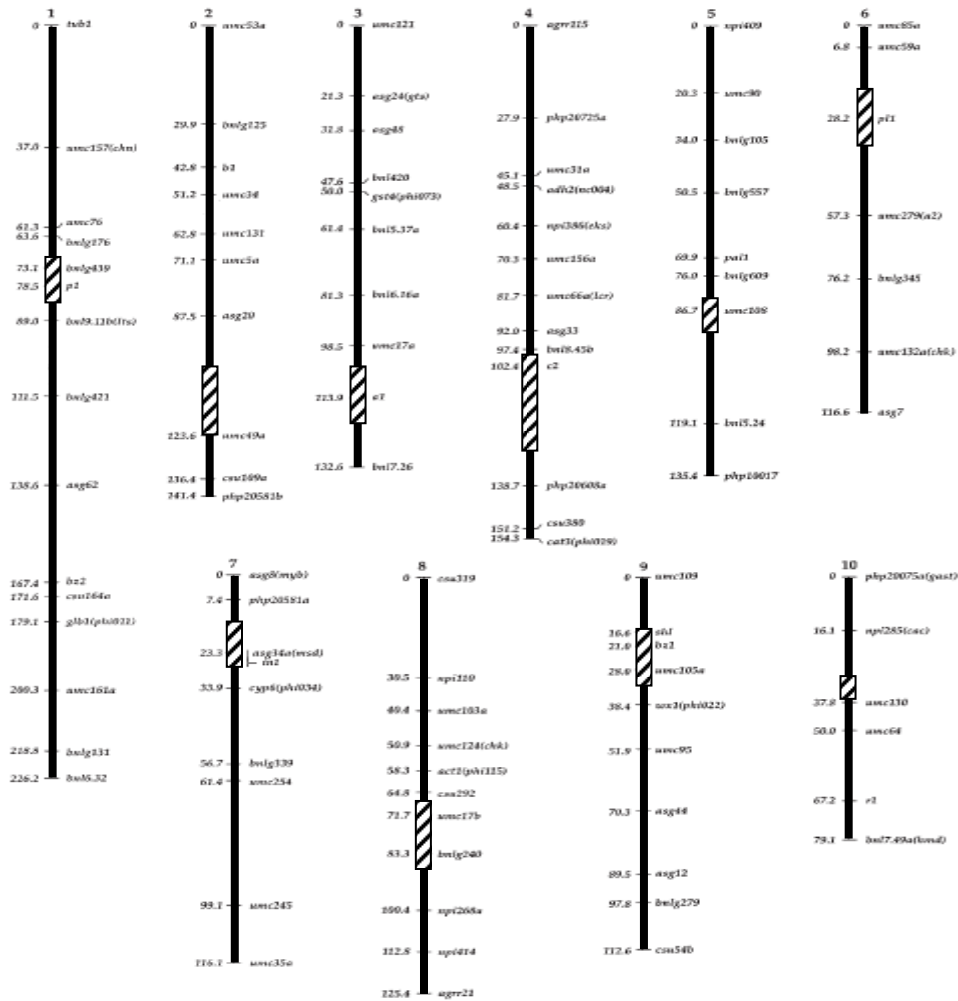


圖 3.玉米基因連鎖圖，斜線區域為與 C-glycosyl flavone 合成有關之基因座。  
 Fig 3. Genetic linkage map for the maize. The cross-hatched regions are the correlative loci for C-glycosyl flavone synthesis.  
 (modified from McMullen *et al.*, 2001)

## 二、幼蟲餵食：

絲狀花柱中的maysin是抗蟲主要成分，實驗室中可利用絲狀花柱直接餵食的方式，調查幼蟲體重、身長、齡期及蛹期變化。選拔出對幼蟲生長抑制最大的品系或品種。Carpenter及Wiseman (2001)<sup>(4)</sup> 分別以感蟲及抗蟲玉米品種的絲狀花柱乾燥後，依不同比例製成人工飼料餵食玉米穗蟲幼蟲，結果發現，餵食抗蟲品種絲狀花柱的幼蟲體重顯著較輕，餵食高比例抗性品種絲狀花柱之處理其幼蟲體重更加受抑制。且化蛹的時間也隨之延後。

## 三、分子標誌：

由於目前所知控制 maysin 表現的基因都為 QTL，且功能不甚完整，但是仍可由指標性的基因座如 *p1*，將其 DNA 序列利用為分子標誌，應用 PCR 的偵測技術，可以在植株生育初期即進行篩選，節省大量田間選拔的時間與勞力，有利於縮短品種育成時間。但是，玉米對玉米穗蟲的抗性由許多的基因所共同組成，目前被發現與抗性有關的基因數比例仍未知。所以分子標誌目前僅被建議作為協助選拔的角色，並建議使用於早期世代，後裔數量多的時候使用。以避免遺失實際上有抗性的種原，卻因分子資料不完整而被淘汰。

## 四、田間選拔：

實驗室篩選後仍須進行田間選拔以驗證實驗室選拔指標的正確性及代表性。一般田間選拔以自然感染及人工施放兩種方式進行，由於自然感染會因為種植的位置而影響到昆蟲產卵和取食不均勻，造成評估時的誤差，相關的育種計畫仍被建議以人工施放方式進行。人工施放則可利用施放蟲卵或幼蟲，接蟲時必須配合最佳的植株生育期、適當的施放蟲卵或幼蟲數量、重複數、接蟲日數，同時要考慮以卵或幼蟲接種，以及昆蟲材料的來源。最後，調查玉米穗的被害率及產量，作為選拔依據<sup>(11)</sup>。Xu等人(2003)<sup>(15)</sup>從田間調查發現，玉米抗蟲程度或受危害程度在不同基因型的表現具有極顯著的差異性(表 4)，抗蟲性越強的品種，果穗上幼蟲的食痕越短。藉由田間的調查也可以驗證前述實驗室篩選指標的可靠性。

## 結論

玉米抗玉米穗蟲的機制屬於較明確而單純的抗性，主要以本身所分泌的化合物造成抗蟲的效果。在抗性選拔上有清楚而明確指標可依循，但此一抗性由多個基因所控制，且這些基因座分散於不同的染色體中，對於其遺傳機制及各基因間的交互作用仍有許多地方需更進一步瞭解，如此對於抗蟲品種的育成會有更大幫助。另外，對於其他作物或害蟲的抗性研究也可利用這些研究作為基礎模式。

表 4. 玉米穗蟲危害率、穗長、取食比率及穗黴病之變方分析均方值(1999 及 2000 年)

Table 4. Mean squares from the analysis of variance for CEW penetration, ear length, feeding ratio of CEW penetration to ear length (Ratio), and grain mold (Mold, %) at Lubock, Texas in 1999 and 2000

Source of variation	df	Penetration	Ear length	Ratio	Mold
Year	1	9.98	21.45	722.58	186.89
Rep (year)	4	1.82	9.35**	188.02	39.24**
Genotype	75	9.49**	8.51**	16.28**	20.05
Genotype × year	75	3.20	1.85*	90.71	7.69
Pooled error	300	2.74	1.25	95.68	6.73

\* Significant at 0.05 level of probability.

\*\* Significant at 0.01 level of probability.

(Xu *et al.*, 2003)

### 參考文獻

1. 陳文雄、張煥英. 2005. 玉米害蟲. P.286-295. 刊於：台灣農家要覽 農作篇(三). 增修訂三版. 豐年社. 台北.
2. Byrne, P. F., M. D. McMullen, B. R. Wiseman, M. E. Snook, T. A. Musket, J. M. Theuri, N. W. Widstrom, and E. H. Coe. 1998. Maize silk maysin concentration and corn antibiosis: QTLs and genetic mechanism. *Crop Sci.* 38:461-471.
3. Byrne, P. F., M. D. McMullen, M. E. Snook, T. A. Musket, J. M. Theuri, N. W. Widstrom, B. R. Wiseman, and E. H. Coe. 1996. Quantitative trait loci and metabolic pathways: Genetic control of the concentration of maysin, a corn earworm resistance factor, in maize silks. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93:8820-8825.
4. Carpenter, J. E. and B. R. Wiseman. 1999. Comparisons of laboratory and feral strains of *Spodoptera frugiperda* and *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) in laboratory and field bioassays. *Fla. Entomol.* 82(2): 237-247.
5. Cook, K. A. and R. Weinzierl 2004. Corn Earworm. University of Illinois Extension, Champaign. 1 May 2005. <[http://www.ipm.uiuc.edu/fieldcrops/insects/corn\\_earworm/](http://www.ipm.uiuc.edu/fieldcrops/insects/corn_earworm/)>
6. Cortés-Cruz, M., M. Snook, and M. D. McMullen. 2003. The genetic



- basis of C-glycosyl flavone B-ring modification in maize (*Zea mays* L.) silks. *Genome* 46:182-194.
7. Guo, B. Z., Z. J. Zhang, N. W. Widstrom, M. E. Snook, R. E. Lynch, and D. Plaisted. 2001. Restriction fragment length polymorphism markers associated with silk maysin, antibiosis to corn earworm (Lepidoptera: Noctuidae), larvae, in a dent and sweet corn cross. *J. Econ. Entomol.* 95(6):1303-1307.
  8. Lee, E. A., P. F. Byrne, M. D. McMullen, M. E. Snook, B. R. Wiseman, N. W. Widstrom, and E. H. Coe. 1998. Genetic mechanism underlying apimaysin and maysin synthesis and corn earworm antibiosis in maize (*Zea mays* L.). *Genetics* 149: 1997-2006.
  9. McMullen, M. D., M. Snook, E. A. Lee, P. F. Byrne, H. Kross, T. A. Musket, K. Houchins, and E. H. Coe. 2001. The biological basis of epistasis between quantitative trait loci for flavone and 3-deoxyanthocyanin synthesis in maize (*Zea mays* L.). *Genome* 44:667-676.
  10. McMullen, M. D., P. F. Byrne, M. E. Snook, B. R. Wiseman, E. A. Lee, and N. W. Widstrom. 1998. Quantitative trait loci and metabolic pathways. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 95:1996-2000.
  11. Ortega, A., S. K. Vasal, J. Mihm, and C. Hershey. 1980. Breeding for Insect Resistance in Maize. p.371-419. In: *Breeding Plants Resistant to Insects*. Press, John Wiley & Sons, Inc.
  12. Rector, B. G., M. E. Snook, and N. W. Widstrom. 2002. Effect of husk characters on resistance to corn earworm (Lepidoptera: Noctuidae) in high-maysin maize populations. *J. Econ. Entomol.* 95(6):1303-1307.
  13. Szalma, S. J., E. S. Buckler IV, M. E. Snook, and M. D. McMullen. 2005. Association analysis of candidate genes for maysin and chlorogenic acid accumulation in maize silks. *Theor. Appl. Genet.* 110:1324-1333.
  14. Widstrom, N. W., A. Butron, B. Z. Guo, D. M. Wilson, M. E. Snook, T. E. Cleveland, and R. E. Lynch. 2003. Control of preharvest aflatoxin contamination in maize by pyramiding QTL involved in resistance to ear-feeding insects and invasion by *Aspergillus* spp. *Europ. J. Agronomy* 19:563-572.
  15. Xu, W., L. Pollak, and E. D. Bynum. 2003. Tropical × temperate germplasm resistant to corn earworm (Lepidoptera: Noctuidae). *Crop Prot.* 22:859-864.