

基于高世代姊妹系发掘玉米穗长性状QTL及候选基因

孙瑞东, 李艺萌, 黄 然, 刘 颖, 周筱航, 丁明阳, 刘新航, 吕香玲, 李凤海
(沈阳农业大学农学院, 沈阳 110866)

摘要: 玉米穗长通过影响穗粒数, 进而影响产量, 是育种改良的重要目标性状之一。发掘与穗长性状相关QTL和基因对穗长性状的遗传改良具有重要意义。本研究以一对穗长具有显著差异的高世代姊妹系为亲本, 构建 F_2 群体并自交得到 $F_{2,3}$, 利用Maize6H-60K基因芯片分别对亲本及 F_2 群体进行基因型分析, 并通过ICIM、GCIM和dQTGseq 3种方法对 F_2 和 $F_{2,3}$ 群体的穗长进行QTL定位。结果表明, 3种方法共定位到7个与穗长相关QTL位点和43个QTNs, 解释了2.04%~10.24%的表型变异。交叉分析不同方法得出的定位结果, 在6号染色体上发现一个调控穗长的稳定QTL *qEL6.01*。根据定位区间内基因注释的结果, 并结合参考基因的表达谱数据, 共筛选出5个在雌穗中表达的候选基因: *Zm00001d035514*, *Zm00001d035526*, *Zm00001d035537*, *Zm00001d035553*和*Zm00001d035535*。本研究结果为玉米穗长基因的克隆及育种改良奠定了基础。

关键词: 玉米; 穗长性状; QTL; 基因芯片; 候选基因

QTL Mapping and Candidate Genes Analysis for Ear Length in Maize Population Derived from High-Generation Sister Lines

SUN Ruidong, LI Yimeng, HUANG Ran, LIU Ying, ZHOU Xiaohang, DING Mingyang,
LIU Xinhang, LYU Xiangling, LI Fenghai
(College of Agriculture, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866)

Abstract: The ear length, which associates to the number of grains per ear and the yield production, is one of the important traits in maize breeding. It is of great significance to explore QTL and genes related to ear length traits in its genetic improvement. In this study, two high-generation sister lines showing significant difference on ear length were used to generate a F_2 population and derived $F_{2,3}$ population. Both parents and the F_2 population lines were genotyped using the Maize6H-60K Gene Chip. The ear length in the F_2 and $F_{2,3}$ populations were measured and subjected for QTL mapping by three statistical methods ICIM, GCIM and dQTG-seq. The results showed that 7 QTLs and 43 QTNs related to ear length were identified by three methods, each of which explained the phenotypic variation of 2.04%-10.24%. A stable QTL *qEL6.01* on chromosome 6 was found by different methods. According to the results of gene annotation in the *qEL6.01* and the expression profile data of reference genes, five candidate genes *Zm00001d035514*, *Zm00001d035526*, *Zm00001d035537*, *Zm00001d035553* and *Zm00001d035535* were proposed associating with ear length. Collectively, these results laid a foundation for the future gene isolation and their use in ear length improvement in maize.

Key words: maize; ear length; QTL; gene chip; candidate genes

收稿日期: 2023-07-17 修回日期: 2023-09-03 网络出版日期: 2023-10-07

URL: <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20230717002>

第一作者研究方向为玉米分子育种及基因功能研究, E-mail: 775600685@qq.com

通信作者: 吕香玲, 研究方向为玉米分子育种及株型、抗病基因挖掘和功能研究, E-mail: lvxiangling521@syau.edu.cn

李凤海, 研究方向为玉米遗传育种, E-mail: lifenghai@syau.edu.cn

基金项目: 沈阳市科学技术计划种业创新专项(21-110-3-16, 21-110-3-09-03, 22-318-2-01-02); 辽宁中部生态区早熟宜机收玉米新品种培育(2022JH1/10200001)

Foundation projects: Shenyang Science and Technology Program for Seed Industry Innovation Special Project (21-110-3-16, 21-110-3-09-03, 22-318-2-01-02); Breeding of New Early-Maturing and Machine-Harvestable Corn Varieties in the Central Liaoning Ecological Zone (2022JH1/10200001)

玉米(*Zea mays* L.)是重要的粮饲兼用作物,同时也是重要的工业原料,是世界上主要种植的作物之一,提高玉米产量一直是育种和生产研究的主导方向。在中国,玉米已经成为第一大粮食作物^[1],提高其产量在国家粮食安全战略中具有重要意义。玉米有效穗数、穗粒数和粒重是产量构成三要素,穗粒数与穗长显著相关,较长的玉米雌穗可以增加容纳籽粒的空间,进而增加产量^[2-3],即保证穗行数及粒重不变的前提下,增加穗长可以提高产量^[4-6]。因此,穗长性状作为育种改良的目标之一,发掘与穗长相关 QTL (Quantitative trait locus) 位点及候选基因,对揭示穗长的遗传机制及改良产量相关性状具有重要意义。

利用不同遗传背景的试验材料对玉米穗长性状进行遗传研究,结果表明,玉米穗长性状是一个受多基因控制的复杂数量性状。前人利用连锁和关联分析对穗长进行初步解析,谢慧玲等^[7]在 3 种不同环境下利用 173 份重组自交系共定位到 8 个与穗长相关的 QTL; Li 等^[8]利用 DAN232 和 N04 为亲本组配的 F₂ 重组自交系群体,定位到 14 个表型贡献率在 4.5% ~ 8.7% 之间的微效 QTL; Zhang 等^[9]利用 082 和 Ye107 为亲本构建了一个包含 180 个家系的 F_{2,3} 群体进行定位,也同样在 2、3 和 7 号染色体上检测到 QTL 位点,但均与 Li 等^[8]定位结果不同,其中 *JAqEL3-1* 在不同环境中重复检测到; Wang 等^[10]在 3 种不同密度条件下对 220 个家系组成的重组自交系群体进行定位,共检测到 8 个穗长 QTL; 涂亮等^[11]以黄早四和 MO17 为亲本在 1 号染色体上定位到一个主效 QTL *q21EL-GZ*。随着测序技术的不断发展,全基因组关联分析也成为挖掘农艺性状 QTL 的重要手段^[12-15]。刘文童等^[16]利用全基因组关联 (GWAS, genome-wide association studies) 检测到 9 个与穗长显著相关的位点,其中 4 个单核苷酸变异多态性 (SNP, single nucleotide polymorphism) 与前人研究结果吻合; 熊雪航等^[17]利用 500 份自交系组成的自然群体进行 GWAS, 共定位到 9 个显著关联的 SNP, 其中 1 个 SNP 位点在不同环境下共定位并预测候选基因; Luo 等^[18]利用 540 份玉米自交系进行全基因组关联分析, 在 1 号染色体上检测到 33 个与穗长显著关联的 SNPs。此外, 利用多亲本构建的遗传定位群体遗传变异丰富, 可以检测到一些稀有的等位基因。Liu 等^[19]利用 24 个骨干玉米自交系创制了一个包含 1404 个后代的完全双列杂交与人工育种选择的交互群, 定位到 34 个与玉米穗长相关的

QTL 分布在 1、2、3、4、6、8、10 号染色体上。前人利用大量的群体对穗长的 QTL 进行定位, 为进一步挖掘玉米穗长相关基因奠定了基础。

随着分子生物学的不断发展, 许多调控穗长性状的基因相继被报道。Ning 等^[3]对前期鉴定到控制穗长、行粒数和穗重的主效 QTL 位点 *qEL7* 进行精细定位与克隆, 确定候选基因 *ZMACO2*, 其敲除突变体的穗长增加, 过表达株系穗长减少, 并推测其通过乙烯通路调控玉米穗长。Luo 等^[18]利用全基因组关联分析确定一个调控穗长的新基因 *YIGE1*, 其过表达株系穗长显著增加, 突变体材料穗长降低, 并认为 *YIGE1* 可能参与糖介导生长素信号调控花序分生组织的活性和小花数量, 进而影响穗长和产量。CLV-WUS (CLAVATA-WUSCHEL) 负反馈调节通路在拟南芥中首次被报道, 该通路在高等植物中高度保守, 是维持顶端分生组织干细胞活性的重要途径。*FASCIATED EAR2 (Fea2)* 与拟南芥中 *CLV2* 为同源基因, 编码一个亮氨酸重复的受体蛋白, *Fea2* 通过调控花序分生组织 (IM, inflorescence meristem) 来影响雌穗的大小, *fea2* 突变体营养器官正常, 但雌穗变短并呈现扁化^[20]。前期课题组在育种改良中获得了一对在穗长性状上具有显著差异的高世代姊妹系, 本研究以该高世代姊妹系为亲本, 构建分离群体, 利用 Maize6H-60K 芯片构建遗传连锁图谱进行穗长性状 QTL 定位, 并对重复鉴定到的稳定 QTL 位点结合生物信息学分析策略预测候选基因, 为解析玉米穗长的遗传机制及分子标记辅助性状改良提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

L1 和 L2 是由沈阳农业大学特种玉米研究所提供, 以先玉 335 和郑 58 为亲本, 通过杂交并多代自交 F₄ 的一个单株株系中分离得到, 又经多代自交纯化, 育成的一对穗长具有差异的姊妹系, 课题组前期利用 994 对 SSR 标记对该姊妹系进行检测, 仅有 46 个标记存在差异位点, 其背景相似度高达 95.4%。定位群体是以 L1 和 L2 为亲本杂交并自交后得到的 F₂ 及 F_{2,3} 群体。

1.2 田间表型数据鉴定与分析

190 个 F₂ 单株于 2021 年种植于沈阳农业大学北试验田基地 (F₂), F_{2,3} 群体以穗行的方式于 2021 年冬种植于沈阳农业大学南繁育种基地 (HNF_{2,3}), 于 2022 年春种植于沈阳农业大学北试验田基地

(SYF_{2,3}), 行长4 m, 行距为0.6 m, 每行种植16株, 田间管理同大田常规管理。

待玉米成熟收获风干后在室内对穗长进行测量, 利用直尺测量果穗根部到尖部的距离, 包括秃尖长。使用SPSS Statistics 24.0软件分别计算不同群体穗长的统计参数。

1.3 遗传连锁图谱构建和QTL定位

利用CTAB法提取群体叶片的DNA, 并利用Maize6H-60K基因芯片^[21]对亲本及190个F₂单株进行基因分型和分析, 筛选出双亲间存在多态性并缺失率小于10%的SNP标记构建遗传连锁图谱。使用R studio对遗传连锁图谱及热图进行绘制。利用QTL ICIMAPPING4.2软件中的完备区间作图法(ICIM, inclusive composite interval mapping)、R语言中的全基因组复合区间作图法(GCIM, genome-wide composite interval mapping)^[22]和dQTG-seq2^[23]对穗长进行定位。在dQTG-seq2方法中, 使用穗长最长的20%作为高池, 穗长最短的20%作为低池。对QTL进行1000次排列测验(Permutation test), 显著水平 $P < 0.05$, 以确定LOD阈值, 来判断是否存在数量性状核苷酸位点(QTN, quantitative trait nucleotide)。根据McCouch等^[24]提出的QTL方法

进行命名, 即“q”+性状名称+染色体编号+QTL序号, 用斜体表示。如*qEL-6-1*, q表示QTL, EL表示穗长, 6表示该QTL定位在第6染色体上, 1表示为该染色体上第1个QTL。

1.4 候选基因的预测

利用在线网站MaizeGDB (Maize GENETICS AND GENOMICS DATSBASE), 对QTL定位区间内的基因进行注释及基因表达量分析, 并通过NCBI (National Center for Biotechnology Information) 查询候选基因功能。

2 结果与分析

2.1 玉米穗长定位群体表型数据分析

亲本L1的平均穗长在13.77~14.11 cm之间, 亲本L2的穗长在9.11~9.88 cm之间, 且双亲穗长存在极显著差异。以L1和L2为亲本构建的F₂、HNF_{2,3}和SYF_{2,3}的3个群体的极值、均值、标准差、变异系数、偏度和峰度如表1所示, 后代群体穗长的范围在7.90~16.20 cm之间, 偏度和峰度的绝对值均小于1, 表明各个群体均符合正态分布的特征, 可以用于QTL定位。

表1 F₂、HNF_{2,3}和SYF_{2,3}群体穗长的均值、极值、变异系数、偏度和峰度

Table 1 Mean value, extreme value, coefficient of variation, skewness and kurtosis of ear length in F₂, HNF_{2,3} and SYF_{2,3} populations

年份 Year	地点 Location	群体 Population	L1×L2的杂交后代 Crossing offspring of L1×L2						
			均值 Mean	标准差 SD	极小值 Min.	极大值 Max.	变异系数 CV	偏度 Skewness	峰度 Kurtosis
2021	沈阳	F ₂	12.23	1.25	8.40	16.20	10.19	0.03	0.20
2021	海南	HNF _{2,3}	11.04	0.84	7.90	13.20	7.65	-0.13	0.17
2022	沈阳	SYF _{2,3}	11.75	0.99	8.40	14.90	8.46	-0.03	0.65

2.2 定位群体的基因型分析及遗传连锁图谱的构建

本研究利用Maize6H-60K基因芯片对L1、L2和F₂群体中的190个F₂单株进行基因分型, 通过质控剔除无多态性和子代缺失率较高的SNP标记, 共筛选到1496个SNP标记, 分布在10条染色体上, 其中6号染色体上SNP标记最多, 为281个, 4号染色体上SNP标记最少, 为31个, 遗传图谱的总长度为2095.02 cM, 两标记之间的平均距离为1.40 cM

(表2)。由于L1和L2是筛选出的高世代姊妹系, 因此存在某一条染色体上标记偏少(例如4号染色体)的情况, 进而说明双亲遗传背景相似度较高。

2.3 QTL定位结果分析

将F₂、HNF_{2,3}和SYF_{2,3}的表型数据与遗传连锁图谱结合, 利用ICIM和GCIM法对玉米穗长进行定位, 共得到7个与穗长相关的QTL, 分布在2、3、5、6、7、10号染色体上, 解释了2.04%~10.24%的表型变异, LOD值在3.53~5.86之间, 除去*qEL-2-2*和*qEL-*

3-1 加性效应为 0 外, 所有 QTL 位点的加性效应均为正值, 其效应值在 0.30 ~ 0.60 之间, 由 L1 的等位基因贡献(表 3)。但两种方法均未在 HNF_{2,3} 群体中检测到与穗长相关的 QTL 位点, 为了提高检测 QTL 位点的准确性, 再次利用 dQTG-seq 对穗长进行重新定位。共检测到 43 个显著关联的 QTNs, 分布在全部 10 条染色体上, 与前两种方法相比,

dQTG-seq 在 HNF_{2,3} 群体中检测到显著关联的 19 个 QTNs(表 4)。

结合 ICIM、GCIM 和 dQTG-seq 3 种方法, 综合 F₂、HNF_{2,3} 和 SYF_{2,3} 的 3 个群体的定位结果, 发现在 6 号染色体上存在一个在不同环境和群体中均定位到的稳定 QTL 位点 (AX-107996468 ~ AX-247242292), 约 2.85 Mb, 并将其命名为 *qEL6.01*。

表 2 遗传连锁图谱详细信息

Table 2 Detailed information of genetic linkage map

染色体 Chromosome	SNP 数量 Number of SNPs	连锁图谱距离 (cM) Linkage distance	标记间平均距离 (cM) Average distance between markers
1	251	348.72	1.39
2	110	171.88	1.56
3	233	374.11	1.60
4	31	37.22	1.20
5	247	410.78	1.66
6	281	340.48	1.21
7	124	182.79	1.47
8	87	103.97	1.19
9	58	46.73	0.81
10	74	78.34	1.05
合计 Total	1496	2095.02	
平均 Average			1.40

表 3 利用 ICIM 和 GCIM 法对 F₂、HNF_{2,3} 和 SYF_{2,3} 群体穗长的 QTL 定位

Table 3 QTL mapping of ear length in F₂, HNF_{2,3} and SYF_{2,3} populations using ICIM and GCIM

QTL 名称 QTL Name	染色体 Chromosome	标记区间 Marker interval	物理位置 (bp) Mapping interval	阈值 LOD	表型贡献率 (%) PVE	加性效应 Additive	群体 Generation	方法 Method
<i>qEL-2-1</i>	2	AX-108097808 ~ AX-90739563	35308939 ~ 35420447	3.53	4.34	0.32	SYF _{2,3}	GCIM
<i>qEL-2-2</i>	2	AX-107939086 ~ AX-108093213	230222387 ~ 230365609	4.03	2.04	0	F ₂	GCIM
<i>qEL-3-1</i>	3	AX-108101904 ~ AX-108019151	190656822 ~ 191133897	3.56	2.19	0	SYF _{2,3}	GCIM
<i>qEL-5-1</i>	5	AX-107960145 ~ AX-107967959	18757665 ~ 18911482	5.86	9.66	0.60	F ₂	ICIM
<i>qEL-6-1</i>	6	AX-107996468 ~ AX-108015384	29933230 ~ 30690219	4.10	10.24	0.49	SYF _{2,3}	GCIM
	6	AX-107996468 ~ AX-108015384	29933230 ~ 30690219	4.48	7.29	0.51	F ₂	ICIM
	6	AX-108019967 ~ AX-107996468	29933230 ~ 30476196	3.92	3.39	0.32	F ₂	GCIM
<i>qEL-6-1</i>	6	AX-107957789 ~ AX-247242292	30238241 ~ 32785746	4.86	8.54	0.30	SYF _{2,3}	ICIM
	7	AX-107987357 ~ AX-107946121	173268502 ~ 173364739	3.93	6.32	0.44	F ₂	ICIM
<i>qEL-10-1</i>	10	AX-86277957 ~ AX-107938325	102860189 ~ 103079716	3.96	7.15	0.40	SYF _{2,3}	ICIM

表4 利用dQTG-seq对F₂、HNF_{2,3}和SYF_{2,3}群体穗长的QTNs定位Table 4 QTNs localization of ear length in F₂, HNF_{2,3} and SYF_{2,3} populations using dQTG-seq

群体 Population	标记 Marker	染色体 Chr	位置(bp) Position	统计 量值 Gw	平滑统计 量值 Smooth_Gw	群体 Population	标记 Marker	染色体 Chr	位置(bp) Position	统计 量值 Gw	平滑统计 量值 Smooth_Gw
F ₂	AX-108075784	1	30541733	9.24	10.95	HNF _{2,3}	AX-247236770	4	824775	12.39	11.08
F ₂	AX-91846788	2	220528063	9.25	10.14	HNF _{2,3}	AX-247241945	5	218713908	10.88	10.89
F ₂	AX-107991875	2	230779894	12.01	12.80	HNF _{2,3}	AX-90601962	5	220580680	15.08	12.99
F ₂	AX-107953842	3	187650449	7.14	7.65	HNF _{2,3}	AX-108040898	5	223267834	7.27	8.33
F ₂	AX-247259223	6	20153062	7.77	7.79	HNF _{2,3}	AX-108084852	6	165627966	9.69	9.35
F ₂	AX-247242292	6	32785746	7.86	9.08	HNF _{2,3}	AX-107962422	7	123305175	9.31	8.67
F ₂	AX-108029447	6	47616495	6.24	7.80	HNF _{2,3}	AX-86277957	10	102860189	10.81	10.51
F ₂	AX-91014937	6	148257247	8.17	9.10	HNF _{2,3}	AX-86256609	10	108821777	8.15	8.16
F ₂	AX-108041924	6	159355691	9.50	9.78	HNF _{2,3}	AX-107963687	10	113185987	14.52	13.11
F ₂	AX-107947814	6	165171910	11.74	12.21	HNF _{2,3}	AX-107951813	10	118816942	10.19	9.48
F ₂	AX-108027699	7	173952526	15.75	14.93	HNF _{2,3}	AX-86323004	10	132236900	8.15	7.71
F ₂	AX-86319029	7	178846216	8.98	8.62	SYF _{2,3}	AX-108075560	1	176346275	7.74	9.60
F ₂	AX-108035572	7	180593154	7.87	7.68	SYF _{2,3}	AX-90739563	2	35420447	8.75	8.23
F ₂	AX-91121904	9	23388074	10.33	10.04	SYF _{2,3}	AX-107991875	2	230779894	6.82	9.97
HNF _{2,3}	AX-108047757	1	223297297	11.03	8.83	SYF _{2,3}	AX-107973354	3	77181	16.51	12.98
HNF _{2,3}	AX-107986778	2	31800999	6.61	8.04	SYF _{2,3}	AX-247236770	4	824775	9.90	8.91
HNF _{2,3}	AX-107994290	2	38268698	11.65	11.51	SYF _{2,3}	AX-247242292	6	32785746	9.50	9.34
HNF _{2,3}	AX-108060386	2	219725155	8.30	7.96	SYF _{2,3}	AX-108038407	7	125921578	10.12	9.29
HNF _{2,3}	AX-108023493	2	221313468	11.45	11.64	SYF _{2,3}	AX-107937175	7	178787794	10.06	7.85
HNF _{2,3}	AX-107976650	2	223804204	13.27	13.26	SYF _{2,3}	AX-86319249	8	28559336	9.13	8.32
HNF _{2,3}	AX-91846788	2	220528063	12.98	13.03	SYF _{2,3}	AX-108033983	8	70680745	9.13	8.21
HNF _{2,3}	AX-107973354	3	77181	9.50	10.63						

2.4 候选基因的预测

根据上述定位结果,将 *qEL6.01* 定位在 29933230 ~ 32785746 bp 之间,其中包含 30 个编码蛋白质的基因。利用 MaizeGDB 对 30 个基因进行注释,其中 11 个基因有明确功能注释或包含已知结构域(表 5),结合玉米基因组参考品种 B73 的 RNA-seq 基因表达谱进行分析(图 1),仅有 *Zm00001d035514*、*Zm00001d035526*、*Zm00001d035537*、*Zm00001d035553* 和 *Zm00001d035535* 五个基因在雌穗和穗原基中表达。其中 *Zm00001d035535* 仅在穗原基和雌穗中表达,且与 *WUS* 基因同属于 WOX 家族,可能参与顶端分生组织干细胞的维持和花器官的发育。

表5 *qEL6.01* 区间内基因功能注释Table 5 Functional annotation of genes within the *qEL6.01* interval

基因编号 Gene ID	注释 Annotation
<i>Zm00001d035510</i>	三磷酸腺苷脱氢酶
<i>Zm00001d035512</i>	AP2-EREBP 转录因子
<i>Zm00001d035514</i>	C2H2 转录因子
<i>Zm00001d035526</i>	驱动蛋白
<i>Zm00001d035528</i>	非特异性丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶/苏氨酸特异性蛋白激酶
<i>Zm00001d035535</i>	WOX 基因家族
<i>Zm00001d035537</i>	酰基鞘氨醇脱酰酶
<i>Zm00001d035539</i>	细胞分裂因子
<i>Zm00001d035548</i>	激酶相互作用(Kip-like)家族蛋白
<i>Zm00001d035550</i>	翻译起始因子
<i>Zm00001d035553</i>	麦芽糖转运 ATP 酶

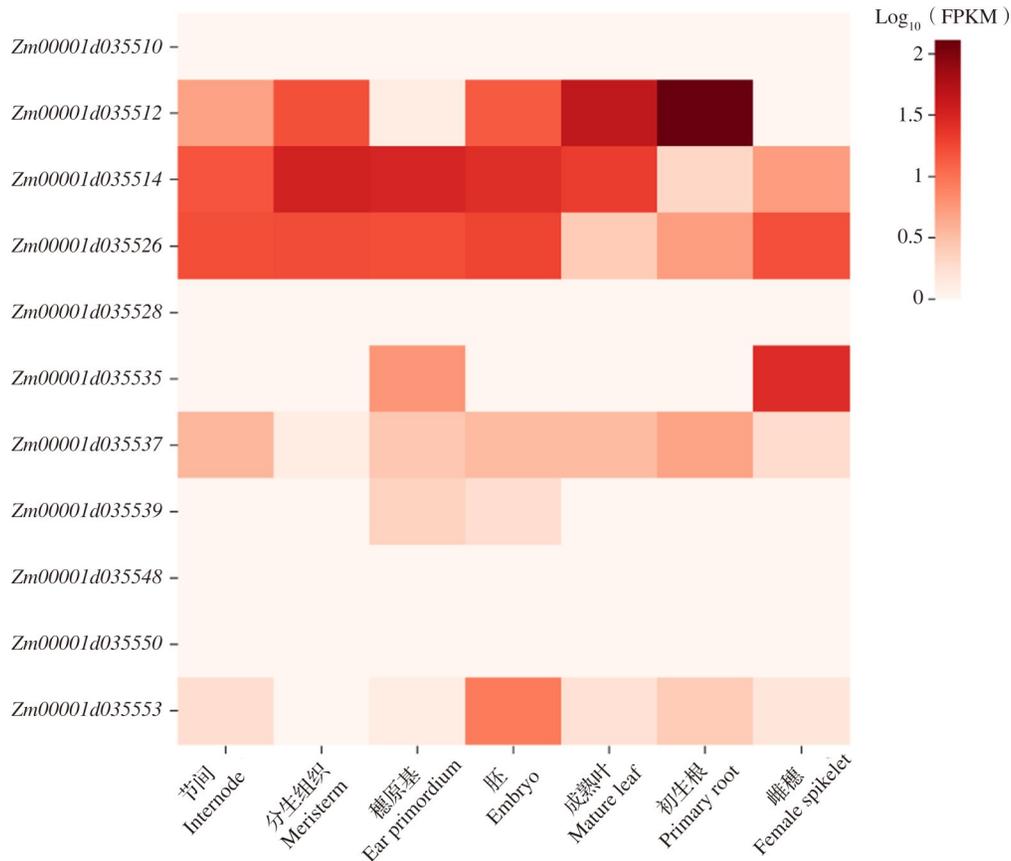


图1 定位区间内 11 个候选基因的表达量 heatmap

Fig.1 Heatmap of the expression of 11 candidate genes within the localization interval

3 讨论

3.1 定位结果的比较

玉米穗长是由多基因控制的复杂数量性状,受主效位点及一系列微效位点共同调控,很难将表型性状与基因型对应起来,因此研究人员构建大量的遗传群体,并创建了许多不同的方法进行定位^[25-30]。本研究以一对高世代姊妹系为亲本,利用Maize6H-60K基因芯片对玉米穗长进行QTL定位,在6号染色体bin6.01区间内定位一个重复检测到的稳定QTL位点 $qEL6.01$,解释了6.32%~10.24%的表型变异。6号染色体是穗长定位的热门染色体,Yang等^[31]利用DH系在6号染色体上定位到一个控制穗长的QTL簇;Jia等^[2]利用Ye478及其近等基因系在6号染色体上发现了一个编码丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶的控制穗长和穗行数的基因;Xiao等^[32]利用10个重组自交系群体在不同环境下对穗部性状进行定位,在6号染色体上定位到4个QTL位点,其中两个QTL位点表型贡献率大于10%。但上述结果均与本研究主效QTL位点 $qEL6.01$ 并不一致,说明不同背景材料构建的遗传群体定位结果存在差异,通

过对不同遗传背景的材料进行组合,结合不同环境下的表型鉴定,为挖掘玉米穗长的关键基因提供支持。此外,Yi等^[33]利用301份重组自交系及IF₂群体进行定位,定位到18个穗长相关的QTLs,其中 $qEL6-2$ 的物理位置与本研究中AX-91014937、AX-108041924两个SNP重合, $qEL10-2$ 与本研究中 $qEL-10-1$ 重合。此外,7号染色体上的AX-86319029标记与Li等^[8]定位结果中的 $qxEL-7-1$ 重合。因此,本研究中 $qEL6.01$ 作为一个新的QTL位点为玉米穗部相关性状的精细定位及基因功能研究提供新的思路。

3.2 候选基因的预测

根据MaizeGDB的注释结果, $Zm00001d035535$ 与WUS同属于WOX基因家族,在前人研究中,WOX基因家族中WUS基因是维持顶端分生组织干细胞活性的重要基因,其在顶端分生组织不同区域中浓度不同导致各个区域的功能出现差异,并通过植物中高度保守的CLV-WUS负反馈调节通路调节穗发育^[34-38]。而 $Zm00001d035535$ 在水稻中的同源基因OsWOX3B的突变体表现为叶片发育异常、稻穗变长以及每穗粒数增多^[39-41]。因此推测

Zm00001d035535 可能具有 WOX 家族中相似的功能, 从而影响玉米穗长的发育。*Zm00001d035526* 编码一个驱动蛋白, 水稻中的多个驱动蛋白参与水稻籽粒的发育, 通过参与细胞扩张和分裂决定水稻籽粒的大小^[42], 同时驱动蛋白还参与纺锤丝的形成从而控制花粉育性^[43]。*Zm00001d035514* 是 C2H2 转录因子家族中的一个基因, C2H2 锌指蛋白转录因子是植物中重要的一类转录因子, 参与植物的生长发育并对逆境胁迫进行响应^[44], 拟南芥中过表达 *ZAT2* 基因导致植株生长缓慢, 生殖生长阶段花和荚果变小, 并且激活胁迫响应基因 *CBFs* 进而提高植物响应胁迫的能力^[45]。

4 结论

本研究以一对穗长具有显著差异的高世代姊妹系为亲本, 分别利用 ICIM、GCIM 和 dQTG-seq 3 种方法对 F_2 及 $F_{2,3}$ 进行定位, 共得到 7 个 QTLs 和 43 个 QTNs。其中 6 号染色体上存在一个在不同群体和年份下均定位到的稳定 QTL 位点, 并将其命名为 *qEL6.01*。根据参考基因组的注释及表达量分析, 预测 *Zm00001d035514*、*Zm00001d035526*、*Zm00001d035537*、*Zm00001d035553* 和 *Zm00001d035535* 是可能调控穗长的候选基因。

参考文献

- [1] Luo N, Meng Q F, Feng P Y, Qu Z R, Yu Y H, Liu D L, Müller C, Wang P. China can be self-sufficient in maize production by 2030 with optimal crop management. *Nature Communications*, 2023, 14(1):2637
- [2] Jia H T, Li M F, Li W Y, Liu L, Jian Y N, Yang Z, Shen X M, Ning Q, Du Y F, Zhao R, Jackson D, Yang X H, Zhang Z X. A serine/threonine protein kinase encoding gene *KERNEL NUMBER PER ROW6* regulates maize grain yield. *Nature Communications*, 2020, 11(1):988
- [3] Ning Q, Jian Y N, Du Y F, Li Y F, Shen X M, Jia H T, Zhao R, Zhan J M, Yang F, Jackson D, Liu L, Zhang Z X. An ethylene biosynthesis enzyme controls quantitative variation in maize ear length and kernel yield. *Nature Communications*, 2021, 12(1):5832
- [4] 陈刚, 张中东, 王璞, 陶洪斌. 旱地不同玉米品种穗部性状与产量关系的综合分析. *作物杂志*, 2012(5):100-104
Chen G, Zhang Z D, Wang P, Tao H B. Comprehensive analysis on ear characters and yield of the different maize varieties in dryland area. *Crops*, 2012(5):100-104
- [5] 史庆玲, 李可伟, 董永彬, 冉午玲, 李玉玲. 玉米四交群体穗部性状的相关及通径分析. *中国农学通报*, 2020, 36(14):22-27
Shi Q L, Li K W, Dong Y B, Ran W L, Li Y L. Ear traits of maize four-cross population correlation analysis and path analysis. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2020, 36(14):22-27
- [6] 吕莹莹, 张萌, 沈丹丹, 张士东, 李特, 瞿培, 张恩盈. 玉米区域试验品种产量与穗部性状的相关与通径分析. *华北农学报*, 2017, 32(S1):160-165
Lv Y Y, Zhang M, Shen D D, Zhang S D, Li T, Qu P, Zhang E Y. Correlation and path analysis of yield and ears characters of maize regional trials. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2017, 32(S1):160-165
- [7] 谢惠玲, 冯晓曦, 吴欣, 王松江, 袁延乐, 张占峰, 袁立, 胡彦民. 玉米穗部性状的 QTL 分析. *河南农业大学学报*, 2008(2):145-149
Xie H L, Feng X X, Wu X, Wang S J, Yuan Y L, Zhang Z F, Yuan L, Hu Y M. QTL analysis for ear traits in maize using molecular markers. *Journal of Henan Agricultural University*, 2008(2):145-149
- [8] Li J Z, Zhang Z W, Li Y L, Wang Q L, Zhou Y G. QTL consistency and meta-analysis for grain yield components in three generations in maize. *Theoretical and Applied Genetics*, 2011, 122(4):771-782
- [9] Zhang Z, Shen T, Jiang T, Hu X L, Wen M, Qiu H B. Quantitative trait loci mapping of maize (*Zea mays*) ear traits under low-phosphorus stress. *Plant Breeding*, 2022, 142(1):12-23
- [10] Wang L W, Zhou Z Q, Li R G, Weng J F, Zhang Q G, Li X H, Wang B Q, Zhang W Y, Song W, Li X H. Mapping QTL for flowering time-related traits under three plant densities in maize. *The Crop Journal*, 2021, 9(2):372-379
- [11] 涂亮, 高媛, 刘鹏飞, 郭向阳, 王安贵, 何兵, 刘颖, 祝云芳, 吴迅, 陈泽辉. 玉米穗长主效 QTL *q21EL-GZ* 的精细定位. *植物遗传资源学报*, 2021, 22(5):1394-1401
Tu L, Gao Y, Liu P F, Guo X Y, Wang A G, He B, Liu Y, Zhu Y F, Wu X, Chen Z H. Fine mapping of the ear length major QTL *q21EL-GZ* in maize. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2021, 22(5):1394-1401
- [12] Xiao Y J, Liu H J, Wu L J, Warburton M, Yan J B. Genome-wide association studies in maize: Praise and stargaze. *Molecular Plant*, 2017, 10(3):359-374
- [13] Liang Y M, Liu H J, Yan J B, Tian F. Natural variation in crops: Realized understanding, continuing promise. *Annual Review of Plant Biology*, 2021, 72:357-385
- [14] Liu H J, Yan J B. Crop genome-wide association study: A harvest of biological relevance. *Plant Journal*, 2019, 97(1):8-18
- [15] Flint-Garcia S A, Thornsberry J M, Buckler E S IV. Structure of linkage disequilibrium in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 2003, 54:357-374
- [16] 刘文童, 监立强, 郭晋杰, 赵永锋, 黄亚群, 陈景堂, 祝丽英. 玉米穗部性状及其一般配合力的关联分析. *植物遗传资源学报*, 2020, 21(3):706-715
Liu W T, Jian L Q, Guo J J, Zhao Y F, Huang Y Q, Chen J

- T, Zhu L Y. Association analysis of ear-related traits and their general combining ability in maize. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2020, 21(3): 706-715
- [17] 熊雪航, 段海洋, 李文龙, 李建新, 孙莉, 孙岩, 秦永田, 汤继华, 张雪海. 玉米穗长全基因组关联分析. *分子植物育种*, 2022, URL: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20220630.1359.004.html>
- Xiong X H, Duan H Y, Li W L, Li J X, Sun L, Sun Y, Qin Y T, Tang J H, Zhang X H. Genome-wide association study of ear length in maize. *Molecular Plant Breeding*, 2022, URL: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20220630.1359.004.html>
- [18] Luo Y, Zhang M L, Liu Y, Liu J, Li W Q, Chen G S, Peng Y, Jin M, Wei W J, Jian L, Fernie A R, Yan J B. Genetic variation in *YIGE1* contributes to ear length and grain yield in maize. *The New Phytologist*, 2022, 234(2): 513-526
- [19] Liu H J, Wang X Q, Xiao Y J, Luo J Y, Qiao F, Yang W Y, Zhang R Y, Meng Y J, Sun J M, Yan S J, Peng Y, Niu L Y, Jian L J, Song W, Yan J L, Li C H, Zhao Y X, Liu Y, Marilyn L W, Zhao, J R, Yan J B. CUBIC: An atlas of genetic architecture promises directed maize improvement. *Genome Biology*, 2020, 21(1): 20
- [20] Bommert P, Nagasawa NS, Jackson D. Quantitative variation in maize kernel row number is controlled by the FASCIATED EAR2 locus. *Nature Genetics*, 2013, 45(3): 334-337
- [21] Tian H L, Yang Y, Yi H M, Xu L W, He H, Fan Y M, Wang L, Ge J, Liu Y W, Wang F, Zhao J R. New resources for genetic studies in maize (*Zea mays* L.): A genome-wide Maize6H-60K single nucleotide polymorphism array and its application. *The Plant Journal*, 2021, 105(4): 1113-1122
- [22] Wen Y J, Zhang Y W, Zhang J, Feng J Y, Dunwell J M, Zhang Y M. An efficient multi-locus mixed model framework for the detection of small and linked QTLs in F_2 . *Briefings in Bioinformatics*, 2019, 20(5): 1913-1924
- [23] Li P, Li G, Zhang Y W, Zuo J F, Liu J Y, Zhang Y M. A combinatorial strategy to identify various types of QTLs for quantitative traits using extreme phenotype individuals in an F_2 population. *Plant Communications*, 2022, 3(3): 100319
- [24] McCouch S R, Cho Y G, Yano M, Paul E, Blinstrub M, Kinoshita T, Blinstrub M, Morishima H M. Report on QTL nomenclature. *Rice Genetics Newsletter*, 1997, 14: 11-13
- [25] Liu G, Zhao T, You X, Jiang J, Li J, Xu X. Molecular mapping of the *Cf-10* gene by combining SNP/InDel-index and linkage analysis in tomato (*Solanum lycopersicum*). *BMC Plant Biology*, 2019, 19(1): 15
- [26] Li Z Q, Xu Y H. Bulk segregation analysis in the NGS era: A review of its teenage years. *Plant Journal*, 2022, 109(6): 1355-1374
- [27] Austin R S, Vidaurre D, Stamatiou G, Breit R, Provar N J, Bonetta D, Zhang J, Fung P, Gong Y, Wang P W, McCourt P, Guttman D S. Next-generation mapping of *Arabidopsis* genes. *Plant Journal*, 2011, 67(4): 715-725
- [28] Zhang H W, Wang X, Pan Q C, Li P, Liu Y J, Lu X D, Zhong W S, Li M Q, Han L Q, Li J, Wang P X, Li D D, Liu Y, Li Q, Yang F, Zhang, Y M, Wang G Y, Li L. QTG-seq accelerates QTL fine mapping through QTL partitioning and whole-genome sequencing of bulked segregant samples. *Molecular Plant*, 2019, 12(3): 426-437
- [29] Takagi H, Abe A, Yoshida K, Kosugi S, Natsume S, Mitsuoka C, Uemura A, Utsushi H, Tamiru M, Takuno S. QTL-seq: Rapid mapping of quantitative trait loci in rice by whole genome resequencing of DNA from two bulked populations. *Plant Journal*, 2013, 74(1): 174-183
- [30] Kang M G, Gao J. Integration of multi-omics data for expression quantitative trait loci (eQTL) analysis and eQTL epistasis. *Methods in Molecular Biology (Clifton, NJ)*, 2020, 2082: 157-171
- [31] Yang J W, Liu Z H, Chen Q, Qu Y Z, Tang J H, Lübberstedt T, Li H C. Mapping of QTL for grain yield components based on a DH population in maize. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): 7086
- [32] Xiao Y, Tong H, Yang X, Xu S, Pan Q, Qiao F, Raihan MS, Luo Y, Liu H, Zhang X, Yang N, Wang X, Deng M, Jin M, Zhao L, Luo X, Zhou Y, Li X, Liu J, Zhan W, Liu N, Wang H, Chen G, Cai Y, Xu G, Wang W, Zheng D, Yan J. Genome-wide dissection of the maize ear genetic architecture using multiple populations. *New Phytologist*, 2016, 210(3): 1095-106
- [33] Yi Q, Liu Y H, Hou X B, Zhang X G, Li H, Zhang J J, Liu H M, Hu Y F, Yu G W, Li Y P, Wang Y B, Huang Y B. Genetic dissection of yield-related traits and mid-parent heterosis for those traits in maize (*Zea mays* L.). *BMC Plant Biology*, 2019, 19(1): 392
- [34] Yu Y H, Yang M M, Liu X Y, Xia Y, Hu R Q, Xia Q Q, Jing D L, Guo Q G. Genome-wide analysis of the *WOX* gene family and the role of *EjWUSa* in regulating flowering in loquat (*Eriobotrya japonica*). *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13: 1024515
- [35] Su D D, Wen L, Xiang W, Shi Y, Lu W, Liu Y D, Xian Z Q, Li Z G. Tomato transcriptional repressor SIBES1.8 influences shoot apical meristem development by inhibiting the DNA binding ability of SIWUS. *Plant Journal*, 2022, 110(2): 482-498
- [36] Agarwal Y, Shukla B, Manivannan A, Soundararajan P. Paradigm and framework of WUS-CLV feedback loop in stem cell niche for SAM maintenance and cell identity transition. *Agronomy*, 2022; 12(12): 3132.
- [37] Schlegel J, Denay G, Wink R, Pinto K G, Stahl Y, Schmid J, Blümke P, Simon R G. Control of *Arabidopsis* shoot stem cell homeostasis by two antagonistic CLE peptide signalling pathways. *eLife*, 2021, (10): 1-30
- [38] Chen Z, Li W, Gaines C, Buck A, Galli M, Gallavotti A. Structural variation at the maize *WUSCHEL1* locus alters stem cell organization in inflorescences. *Nature Communications*,

- 2021, 12(1):2378
- [39] Honda E, Yew C L, Yoshikawa T, Sato Y, Hibara K I, Itoh J I. *LEAF LATERAL SYMMETRY1*, a member of the *WUSCHEL-RELATED HOMEBOX3* gene family, regulates lateral organ development differentially from other paralogs, *NARROW LEAF2* and *NARROW LEAF3* in rice. *Plant Cell Physiology*, 2018, 59(2):376-391
- [40] Sun W Q, Gao D W, Xiong Y, Tang X X, Xiao X F, Wang C R, Yu S B. Hairy leaf 6, an AP2/ERF transcription factor, interacts with *OsWOX3B* and regulates trichome formation in rice. *Molecular Plant*, 2017, 10(11):1417-1433
- [41] 郑亚莉,余林闯,安肖肖,程心乐,任丽君,苏子龙,郑小雅,兰涛.一份水稻 *OsWOX3B* 基因敲除突变体的鉴定. *中国水稻科学*, 2021, 35(2):112-120
- Zheng Y L, Yu L C, An X X, Cheng X L, Ren L J, Su Z L, Zheng X Y, Lan T. Identification of a knockout mutant of *OsWOX3B* gene in rice (*Oryza sativa* L.). *Chinese Journal of Rice Science*, 2021, 35(2):112-120
- [42] Kitagawa K, Kurinami S, Oki K, Abe Y, Ando T, Kono I, Yano M, Kitano H, Iwasaki Y. A novel kinesin 13 protein regulating rice seed length. *Plant and Cell Physiology*, 2010, 51(8):1315-1329
- [43] Zhou S R, Wang Y, Li W C, Zhao Z G, Ren Y L, Wang Y, Gu S H, Li Q B, Wang D, Jiang L, Su N, Zhang X, Liu L L, Chen Z J, Lei C L, Wang J L, Guo X P, Wu F Q, Hiroshi I, Wang H Y, Wan J M. *Pollen Semi-Sterility1* encodes a kinesin-like protein important for male meiosis, anther dehiscence, and fertility in rice. *The Plant Cell*, 2011, 23(1):111-129
- [44] Han G L, Wei X C, Dong X X, Wang C F, Sui N, Guo J R, Yuan F, Gong Z Z, Li X Z, Zhang Y, Meng Z, Chen Z, Zhao D Z, Wang B S. *Arabidopsis* ZINC FINGER PROTEIN1 acts downstream of GL2 to repress root hair initiation and elongation by directly suppressing bHLH genes. *Plant Cell*, 2020, 32(1):206-225
- [45] Shi H T, Wang X, Ye T T, Chen F F, Deng J, Yang P F, Zhang Y S, Chan Z L. The cysteine2/histidine2-type transcription factor *ZINC FINGER OF ARABIDOPSIS THALIANA6* modulates biotic and abiotic stress responses by activating salicylic acid-related genes and *C-REPEAT-BINDING FACTOR* genes in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 2014, 165(3):1367-1379