

郭爽, 聂蕾, 何玥, 等. 玉米叶部性状的 QTL 定位与候选基因分析[J]. 江苏农业学报, 2024, 40(10): 1777-1786.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2024.10.001

玉米叶部性状的 QTL 定位与候选基因分析

郭爽^{1,2}, 聂蕾^{1,2}, 何玥^{1,2}, 王栋^{1,2}, 涂亮², 刘鹏飞², 蒋喻林^{2,3},
郭向阳², 王安贵², 祝云芳², 吴迅^{2,3}, 陈泽辉²

(1. 贵州大学农学院, 贵州 贵阳 550025; 2. 贵州省农业科学院旱粮研究所, 贵州 贵阳 550006; 3. 农业农村部喀斯特山区作物基因资源与种质创新重点实验室, 贵州 贵阳 550006)

摘要: 叶片在玉米生长过程中发挥着重要作用, 它能够有效地进行光合作用, 为玉米提供营养物质, 通过影响耐密性等影响产量提升。本研究选用 QR273 和 T32 为亲本, 构建 150 份 F_2 、 $F_{2:3}$ 家系材料, 结合基因型和不同环境中叶部性状的表型评价数据, 利用完备区间作图法进行数量性状座位(QTL)定位。结果发现, 2 个环境下共检测到 85 个叶部性状相关 QTL, 其中有 12 个全株叶片数相关 QTL、14 个穗上叶片数相关 QTL、22 个叶长相关 QTL、17 个叶宽相关 QTL、20 个叶夹角相关 QTL。结合公共数据库和生物信息学分析方法共筛选出 7 个候选基因。其中 *Zm00001d013612* 编码微管蛋白, 参与调控细胞骨架结构组成; *Zm00001d053543* 参与油菜素甾醇介导的信号通路; *Zm00001d031291* 编码的蛋白质具有组蛋白乙酰化功能; *Zm00001d031292* 参与富含羟脯氨酸糖蛋白家族基因表达的调控; *Zm00001d031296* 调控钾离子跨膜转运蛋白活性; *Zm00001d031300*、*Zm00001d031303* 参与碳水化合物代谢过程。蛋白质功能分析结果表明, 这 7 个候选基因均参与细胞分化, 与植物的生长发育息息相关。本研究结果将为深度揭示玉米叶部性状变异的遗传基础提供更丰富的理论支持。

关键词: 玉米; 叶部性状; 数量性状座位(QTL); 候选基因

中图分类号: S513 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2024)10-1777-10

QTL mapping and candidate gene analysis of leaf related traits in maize

GUO Shuang^{1,2}, NIE Lei^{1,2}, HE Yue^{1,2}, WANG Dong^{1,2}, TU Liang², LIU Pengfei², JIANG Yulin^{2,3},
GUO Xiangyang², WANG Angui², ZHU Yunfang², WU Xun^{2,3}, CHEN Zehui²

收稿日期: 2024-01-17

基金项目: 国家自然科学基金项目(32060460, 32160451); 贵州省科技支撑计划项目[黔科合支撑(2022)重点 029]; 贵州省山地农业关键核心技术攻关项目(GZNYGJHX-2023012); 贵州省育种科研基础平台创新能力建设项目[黔科合企企(2022)014]; 黔农科院国基后补助项目[(2021)16号、(2022)02号、(2022)09号]; 贵州喀斯特山区重要作物生物育种平台建设项目[黔科合中引地(2023)033]; 贵州省育种科研基础平台创新能力建设项目[黔科合企企(2022)014]; 贵州省科研机构创新能力建设项目[(2022)007]

作者简介: 郭爽(1997-), 女, 贵州晴隆人, 硕士研究生, 研究方向为作物遗传育种。(Tel) 18985987996; (E-mail) 18985987996@163.com

通讯作者: 吴迅, (Tel) 18798004601; (E-mail) wuxunyong@126.com; 陈泽辉, (Tel) 13985441082; (E-mail) chenzh907@sina.com

(1. Agricultural College of Guizhou University, Guiyang 550025, China; 2. Institute of Upland Food Crops, Guizhou Academy of Agricultural Sciences, Guiyang 550006, China; 3. Key Laboratory of Crop Genetic Resources and Germplasm Innovation in Karst Region, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Guiyang 550006, China)

Abstract: Leaf plays an important role in the growth process of maize, and can effectively carry out photosynthesis, provide nutrients for maize, as well as affect yield increase by affecting density tolerance. In this paper, 150 F_2 and $F_{2:3}$ family materials were constructed, using QR273 and T32 as the parents. Based on the genotype data and the phenotypic evaluation data of leaf related traits under different environments, quantitative trait locus (QTL) mapping was carried out by using inclusive composite interval mapping method. The results showed that, a total of 85 QTLs

for leaf related traits were detected under two environments, including 12 QTLs relevant to total leaf number, 14 QTLs relevant to leaf number above the ear, 22 QTLs relevant to leaf length, 17 QTLs relevant to leaf width, and 20 QTLs relevant to leaf angle. Combined with the public database and bioinformatics analysis methods, seven candidate genes controlling leaf related traits were screened. Wherein *Zm00001d013612* encoded tubulin and participated in the regulation of cytoskeleton structure composition, *Zm00001d053543* involved in the brassinosteroid-mediated signaling pathway, and *Zm00001d031291* encoded protein had the function of histone acetylation, *Zm00001d031292* involved in the regulation of genes encoding hydroxyproline-rich glycoprotein family. *Zm00001d031296* regulated the activity of potassium ion transmembrane transporter. *Zm00001d031300* and *Zm00001d031303* involved in carbohydrate metabolism. Functional analysis of proteins showed that, the seven candidate genes all involved in cell differentiation, which were closely related with plant growth and development. These results can provide relatively more theoretical support for deeply revealing the genetic basis of maize leaf related trait variation.

Key words: maize; leaf related traits; quantitative trait locus (QTL); candidate gene

玉米(*Zea mays* L.)作为全球主要的粮饲兼用作物及主要的工业原料,在保障国家粮食安全及畜牧业发展中发挥着至关重要的作用^[1]。叶部性状作为影响玉米种植密度的重要组成因素,对植物的光合作用、水分吸收、干物质积累以及产量形成等都起着重要作用^[2]。玉米叶部性状是受多个微效基因调控的数量性状,包括全株叶片数、穗上叶片数、叶长、叶宽、叶夹角等,易受环境影响。目前,已有较多研究者对玉米叶部性状进行了研究。奉杰等^[3]以用玉米自交系 ZNC442 和 SCML0849 为亲本构建的 131 份 $F_{2:3}$ 家系为材料,在 1 号、2 号、3 号、5 号、6 号、8 号、9 号、10 号染色体上定位到 15 个与穗上叶片数相关的数量性状座位(QTL),贡献率最大的为 13.03%;定位到 21 个与叶夹角相关的 QTL,可解释 2.47%~9.43% 的表型变异。罗巧玲等^[4]以郑 58 和 B73 构建的双亲分离群体为材料,共定位到 11 个控制玉米叶长的 QTL,单个 QTL 的表型贡献率为 3.69%~25.53%。王会涛等^[5]利用豫 82 和豫 87-1 构建的重组自交系群体进行试验,共定位到 5 个与叶长相关的 QTL,单个 QTL 的表型贡献率为 8.72%~13.43%;与叶宽相关的 QTL 有 7 个,单个 QTL 的表型贡献率为 6.93%~11.68%;与叶夹角相关的 QTL 有 7 个,单个 QTL 的表型贡献率为 7.08%~11.59%。这些研究结果为玉米叶部性状遗传机制解析和基于分子辅助的叶部性状遗传改良利用提供了较为丰富的分子遗传学依据。但是,比较不同的研究成果,发现所用的材料、分子标记类型和数量都存在差异,所得到的 QTL 区段也存在差异。玉米叶部性状不仅有着复杂的遗传机制和基因调控网络,还受到遗传背景的影响。本研究拟以 150 份由玉米骨干自交系 QR273 和 T32 为亲本构建的 F_2 、 $F_{2:3}$ 家系为材料,结合简化基因组测序(GBS)结果和多个环境下叶部性状表型数据,进行 QTL 定位,利用

生物信息学分析方法对定位结果进行候选基因的预测,研究结果可为玉米叶部性状改良提供更为丰富的理论支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究选用的亲本材料为 QR273 和 T32,构建 150 份 F_2 、 $F_{2:3}$ 家系。双亲均为热带玉米骨干自交系,并在叶部性状表现上具有明显差异,亲本 T32 叶部性状表现为叶夹角大、叶较长、叶较宽,亲本 QR273 叶部性状表现为叶夹角小、叶较短、叶较窄,全株叶片数较少。

1.2 田间试验及性状调查

2021 年冬天,在海南种植亲本及 F_2 代群体材料,将套袋自交后得到的 $F_{2:3}$ 群体种植于甘肃省张掖市、贵州省贵阳市 2 地,试验采取随机区组设计,设置行长为 3.00 m,行距为 0.65 m,重复 2 次。在授粉 20 d 后,参考石云素^[6]对叶部性状的考察标准,调查全株叶片数、穗上叶片数、叶长、叶宽、叶夹角,调查标准和参数设置如下:

全株叶片数:玉米第一节间以上的叶片数,单位为片;穗上叶片数:玉米有效穗部叶及以上叶片数,单位为片;叶长:有效穗上第一叶叶舌至叶尖长度,单位为 cm;叶宽:有效穗上第一叶叶中部的宽度,单位为 cm;叶夹角:有效穗上第一叶与主茎间的角度,单位为°。

1.3 基因型鉴定

对田间的 F_2 代植株进行单株幼苗的 DNA 提取,将提取液送至北京康普生生物有限公司进行基因组测序,详细的过程参考 Wu 等^[7]的方法。

1.4 数据整理与分析

利用 Excel2021 和 SPSS26.0 软件对调查数据进行整理和分析,计算 2 个环境下的材料在群体间的全株叶片数(LN)、穗上叶片数(LAN)、叶长(LL)、叶宽(LW)、叶夹角(LA)的平均值与变异系数、方差、峰度、偏度和相关性系数等,家系遗传力的计算公式为:

$$H^2_{\text{per mean}} = \frac{\delta_g^2}{\delta_g^2 + \frac{\delta_{ge}^2}{e} + \frac{\delta_e^2}{er}}$$

δ_g^2 为基因型方差, δ_{ge}^2 为基因型×环境互作方差, δ_e^2 为误差方差, m 为环境个数, r 为重复数。

1.5 QTL 定位及候选基因预测

去掉等位基因频率(MAF) < 0.05 以及缺失率大于 20%的单核苷酸多态性(SNP)位点后得到 68 994 个高质量 SNP 标记。QTL 定位使用的软件为 Ici-Mapping4.1,其中作图步长为 1 cM、逐步回归标记进入的概率(PIN)为 0.001、对数优势比(LOD 值)为 2.5。对获得的 QTL 结果进行一致性分析,一致性

QTL 判定标准参照奉杰等^[3]的方法,即与前人定位到的同一性状的 QTL 区段存在重叠区段。随后,利用生物学信息法在 maize GDB 的 GBrowse 网站(<https://maizegdb.org/gbrowse>)上对一致性 QTL 区段进行候选基因及其功能注释的查找,再结合前人的相关研究报道,筛选出关键候选基因。

2 结果与分析

2.1 叶部性状表型分析

从表 1 可看出,自交系 QR273 的穗上叶片数平均值高于 T32,而 T32 的全株叶片数、叶长、叶夹角平均值高于 QR273。对于 $F_{2:3}$ 群体的分析结果表明,5 个性状的偏度和峰度的绝对值均小于 3.00,符合正态分布,且各性状在分离群体中差异显著($P < 0.05$),符合 QTL 定位分析的条件。在不同环境中遗传力存在一定的差异,其中叶长和叶夹角间遗传力差异较大,叶长的遗传力在贵阳为 0.90,在张掖为 0.62;叶夹角的遗传力在贵阳为 0.60,在张掖为 0.91。

表 1 不同环境下亲本及 $F_{2:3}$ 群体叶部性状表型

Table 1 Phenotypes of leaf traits of parents and $F_{2:3}$ population in different environments

地点	性状	亲本			$F_{2:3}$ 群体				
		QR273	T32	平均值±标准误	变异系数(%)	F 值	偏度	峰度	遗传力
贵阳	全株叶片数(张)	11.60	13.20	12.45±0.08	7.58	4.13*	-0.09	-0.30	0.71
	穗上叶片数(张)	7.30	6.90	6.96±0.03	5.76	2.46*	-0.25	0.64	0.99
	叶长(cm)	66.85	80.05	76.07±1.01	8.38	3.78*	0.22	0.09	0.90
	叶宽(cm)	9.87	10.03	9.43±0.07	9.19	2.00*	0.62	2.55	0.98
	叶夹角(°)	26.00	46.18	42.22±0.39	11.10	1.37*	0.47	0.21	0.60
张掖	全株叶片数(张)	15.75	20.17	18.79±0.10	6.38	1.98*	0.04	-0.34	0.90
	穗上叶片数(张)	7.00	6.67	7.16±0.05	8.24	2.09*	0.49	0.46	0.97
	叶长(cm)	72.83	96.25	84.62±0.77	10.84	2.78*	-0.40	-0.24	0.62
	叶宽(cm)	10.75	10.13	10.31±0.08	9.31	1.98*	0.68	2.70	0.97
	叶夹角(°)	28.83	43.75	40.97±0.39	11.10	2.36*	0.18	1.13	0.91

* 表示差异显著($P < 0.05$)。

2.2 相关性分析

叶部性状间的相关性分析结果见表 2。结果显示,全株叶片数与穗上叶片数、叶宽,穗上叶片数与叶宽,在 2 个环境下均呈极显著正相关,而叶长与叶夹角在贵阳环境下呈极显著负相关,穗上叶片数与叶长在贵阳环境下呈显著正相关。

2.3 高密度物理图谱构建

对获得的 SNP 位点进行过滤后得到 68 994 个高质量 SNP 标记。标记数量在 1 号染色体到 10 号染

色体上依次为 8 725 个、8 824 个、7 623 个、8 901 个、7 174 个、5 432 个、5 592 个、6 407 个、5 782 个、4 534 个,标记数量的大小情况表现为: 4 号染色体 > 2 号染色体 > 1 号染色体 > 3 号染色体 > 5 号染色体 > 8 号染色体 > 9 号染色体 > 7 号染色体 > 6 号染色体 > 10 号染色体,染色体长度分别为 308.42 Mb、243.67 Mb、237.96 Mb、250.18 Mb、226.35 Mb、181.35 Mb、185.78 Mb、182.31 Mb、162.90 Mb、152.37 Mb,平均标记间距为 30.89 kb。

表 2 2 个环境下叶部性状间的相关性分析

Table 2 Correlation analysis between leaf traits in two environments

地点	性状	相关系数				
		全株叶片数	穗上叶片数	叶长	叶宽	叶夹角
贵阳	全株叶片数	1.000				
	穗上叶片数	0.641 **	1.000			
	叶长	0.047	0.174 *	1.000		
	叶宽	0.430 **	0.293 **	0.049	1.000	
	叶夹角	0.113	-0.129	-0.234 **	0.049	1.000
张掖	全株叶片数	1.000				
	穗上叶片数	0.455 **	1.000			
	叶长	0.069	0.158	1.000		
	叶宽	0.282 **	0.289 **	0.054	1.000	
	叶夹角	-0.030	-0.132	-0.068	-0.163	1.000

*、** 分别表示相关性在 0.05、0.01 水平下显著。

2.4 控制叶部性状 QTL

如表 3 和图 1 所示,共检测到 85 个叶部相关性状 QTL。全株叶片数相关 QTL 有 12 个,分布于 1 号、2 号、4 号、5 号、6 号、7 号染色体上,其中张掖有 6 个,贵阳有 6 个,单个 QTL 可解释的表型贡献率为 1.07%~9.40%;穗上叶片数相关 QTL 有 14 个,分布于 10 条染色体上,其中张掖有 8 个,贵阳有 6 个,单个 QTL 可解释的表型贡献率为 4.24%~11.98%;叶长相关 QTL 有 22 个,除 6 号染色体以外的 9 条染色体上均有分布,其中张掖有 7 个,贵阳有 15 个,单个 QTL 可解释的表型贡献率为 2.70%~8.44%;叶宽相

关 QTL 有 17 个,分布于 1 号、2 号、3 号、4 号、5 号、9 号、10 号染色体上,其中张掖有 10 个,贵阳有 7 个,单个 QTL 可解释的表型贡献率为 1.58%~12.91%;叶夹角相关 QTL 有 20 个,10 条染色体上均有分布,其中张掖有 6 个,贵阳有 14 个,单个 QTL 可解释的表型贡献率为 2.43%~7.43%。由表 3 还可以看出,共检测到有 2 个穗上叶片数相关 QTL 和 1 个叶宽相关 QTL 贡献率大于 10.00%,并且在 10 号染色体上发现 1 个 QTL 富集区域,即在 10 号染色体上的 138 770 494~139 388 961 bp 区间检测到 1 个同时控制玉米叶宽和叶夹角的 QTL,表现出一因多效的现象。

表 3 玉米叶部性状的 QTL 定位结果

Table 3 QTL mapping results of leaf traits in maize

性状	地点	染色体	物理区间(bp)	阈值	贡献率(%)	加性效应	显性效应
全株叶片数	张掖市	2	10 413 436~10 449 633	2.56	1.07	-0.21	0.22
		4	27 289 249~27 785 339	2.66	1.72	-0.07	0.53
		4	227 312 703~227 628 609	3.09	1.90	-0.17	-2.00
		5	188 155 372~188 396 852	2.52	1.24	0.18	-0.29
		6	124 109 869~124 305 340	2.59	1.11	0.19	0.30
		7	55 086 511~55 191 099	2.91	2.09	0.22	-1.02
	贵阳市	1	167 069 161~167 502 979	2.63	6.57	0.24	0.21
		2	20 401 828~20 448 777	2.66	7.83	0.33	0.26
		4	69 354 548~69 594 534	3.26	8.52	0.33	0.24
		4	158 307 811~158 428 622	2.69	7.09	0.18	0.37
穗上叶片数	张掖市	7	66 097 801~66 178 794	2.77	7.07	0.04	0.74
		7	102 679 211~103 198 298	2.88	9.40	0.23	-0.85
全株叶片数	张掖市	1	243 077 226~243 683 551	2.60	4.24	-0.05	0.77

续表3 Continued3

性状	地点	染色体	物理区间(bp)	阈值	贡献率(%)	加性效应	显性效应	
叶长	贵阳市	2	28 381 925~28 684 963	4.95	8.50	-0.07	-0.37	
		2	31 292 838~31 505 497	3.66	9.62	-0.31	-0.40	
		3	214 196 778~214 650 547	3.39	6.21	0.00	0.55	
		4	37 125 455~37 995 984	5.65	11.98	-0.25	-0.20	
		6	58 240 454~58 392 249	2.62	5.42	0.13	-0.24	
		6	86 246 210~86 338 615	2.55	5.10	0.10	0.59	
		10	49 005 774~49 033 827	3.00	4.95	-0.16	-0.17	
		1	222 054 982~222 200 588	3.41	5.44	0.13	0.02	
		1	225 842 247~226 164 227	3.31	6.44	0.16	-0.04	
		5	194 665 029~195 415 741	7.36	11.82	0.20	-0.03	
	张掖市	7	22 938 401~23 540 206	2.51	6.89	0.14	-0.20	
		8	162 961 214~163 106 571	2.69	5.45	0.09	0.21	
		9	60 437 927~60 744 442	3.14	9.63	0.06	-0.56	
		1	11 923 092~12 179 600	3.38	7.17	1.95	4.61	
		1	174 961 153~175 144 051	3.30	6.51	2.48	-5.65	
		1	268 060 234~268 090 819	3.62	5.96	-0.82	-3.88	
		4	169 388 325~169 754 574	2.55	4.09	-1.82	0.03	
		5	28 352 982~28 491 147	2.59	4.45	2.17	1.12	
		5	161 308 125~161 562 419	2.66	5.46	-1.08	4.94	
		10	5 935 086~6 174 101	2.76	8.44	-1.34	5.86	
		贵阳市	1	99 974 451~100 123 270	3.03	4.23	-2.20	2.21
			1	147 975 638~148 138 772	6.41	7.48	-2.12	5.26
			2	98 208 294~98 424 042	3.58	4.03	-2.82	-1.33
			3	9 203 807~9 282 460	3.27	3.80	2.69	0.77
			3	60 069 648~60 248 015	2.55	2.70	-0.85	-5.36
			4	57 158 169~57 569 535	2.69	4.87	0.23	-5.22
			4	232 942 269~233 569 373	3.72	6.83	-2.24	4.67
			5	162 303 287~162 413 945	2.80	4.65	-0.11	4.52
7	125 005 934~125 125 629		2.63	3.39	-1.87	-4.15		
8	84 989 234~85 041 690		2.85	4.17	-2.03	-5.95		
张掖市	8	96 001 602~96 044 738	2.58	2.74	-1.84	1.94		
	8	120 004 880~120 063 719	3.65	3.75	-2.09	2.68		
	9	132 458 047~132 869 997	3.11	4.00	-1.17	4.15		
	10	33 901 069~34 115 608	2.81	3.24	-2.10	1.76		
	10	111 060 900~112 338 784	2.74	7.04	-0.89	6.58		
	1	228 850 282~229 182 189	3.57	5.88	0.23	0.47		
	1	242 019 662~242 314 035	3.28	4.96	0.19	0.46		
	1	250 061 531~250 251 360	3.68	4.78	0.14	0.45		
	1	272 011 055~272 299 658	2.59	4.27	0.05	0.48		

续表3 Continued3

性状	地点	染色体	物理区间(bp)	阈值	贡献率(%)	加性效应	显性效应	
叶夹角	贵阳市	2	221 044 104~221 435 451	3.04	4.08	0.27	0.03	
		3	202 183 431~202 378 899	2.66	4.59	-0.26	-0.38	
		3	215 119 954~215 358 154	7.66	12.91	-0.04	2.72	
		4	153 053 224~153 778 854	3.08	7.25	-0.08	0.68	
		5	18 254 644~18 624 796	3.51	9.14	-0.28	-0.51	
		10	138 770 494~139 388 961	2.62	5.57	-0.26	-0.30	
		1	23 913 649~24 450 445	3.97	3.80	0.09	2.34	
		1	89 005 052~89 511 244	2.61	2.85	-0.05	2.81	
		1	118 931 117~119 088 485	2.71	1.58	-0.07	0.90	
		1	158 963 115~159 772 567	2.57	2.01	0.02	0.41	
		1	185 328 126~186 116 521	2.72	3.90	0.04	1.82	
		5	62 326 194~63 038 717	2.79	3.03	-0.08	2.89	
		9	89 357 928~89 566 712	2.70	2.71	-0.01	2.87	
		张掖市	1	155 999 965~156 212 507	2.64	5.64	0.22	2.09
		3	221 169 544~221 261 903	3.05	5.81	0.94	-1.28	
	4	63 225 106~63 418 848	3.62	6.21	-0.57	-6.28		
	4	246 397 982~246 470 314	2.60	5.24	0.16	-3.52		
	7	55 864 853~58 064 883	3.64	7.43	-0.14	-2.53		
	10	112 978 782~113 038 955	2.83	7.07	0.98	3.31		
	贵阳市	1	64 080 735~64 227 996	2.97	2.67	0.01	3.02	
	1	155 044 557~155 129 591	2.55	2.77	0.62	2.90		
	1	231 897 685~232 695 522	2.86	5.00	1.87	2.08		
	2	217 345 085~217 421 762	2.92	4.30	-0.73	11.38		
	3	1751 858 11~175 353 582	2.57	2.43	-1.84	-0.39		
	5	15 285 587~15 392 078	3.02	6.25	0.69	7.81		
	6	52 236 716~52 545 723	2.58	3.25	-1.56	2.58		
	7	158 931 081~159 197 451	3.79	4.14	0.12	3.71		
	8	66 957 607~67 084 761	2.60	3.45	-1.71	0.45		
	8	150 981 293~151 010 613	2.68	2.51	-0.68	-2.69		
	9	101 372 152~101 701 921	2.55	3.69	-1.94	-1.24		
10	3 993 850~4 010 820	3.65	3.33	-1.54	-4.79			
10	116 920 964~117 087 249	2.96	3.29	0.73	5.70			
10	138 770 494~139 388 961	3.00	5.42	0.02	5.83			

2.5 “一致性”QTL 及候选基因预测

对比前人的研究结果^[8-12],共找到 7 个“一致性”QTL,分别控制叶长、叶宽和叶夹角的变异。在这 7 个“一致性”QTL 中查找相关基因的功能注释,再根据前人的研究成果,初步预测出 7 个候选基因(表 4)。蛋白质功能分析结果显示,*Zm00001d013612* 编码微管蛋白 β 链并且参与调控细胞骨架结构组成、微管细胞骨架组织的

组成;*Zm00001d053543* 参与油菜素甾醇介导的信号通路;*Zm00001d031291* 编码组蛋白乙酰化并且参与 DNA 甲基化调控;*Zm00001d031292* 参与富含羟脯氨酸糖蛋白家族基因表达的调控;*Zm00001d031296* 调控钾离子跨膜转运蛋白活性;*Zm00001d031300*、*Zm00001d031303* 参与碳水化合物代谢过程。这些基因参与的蛋白质编辑功能可能与植物叶片发育密切相关。

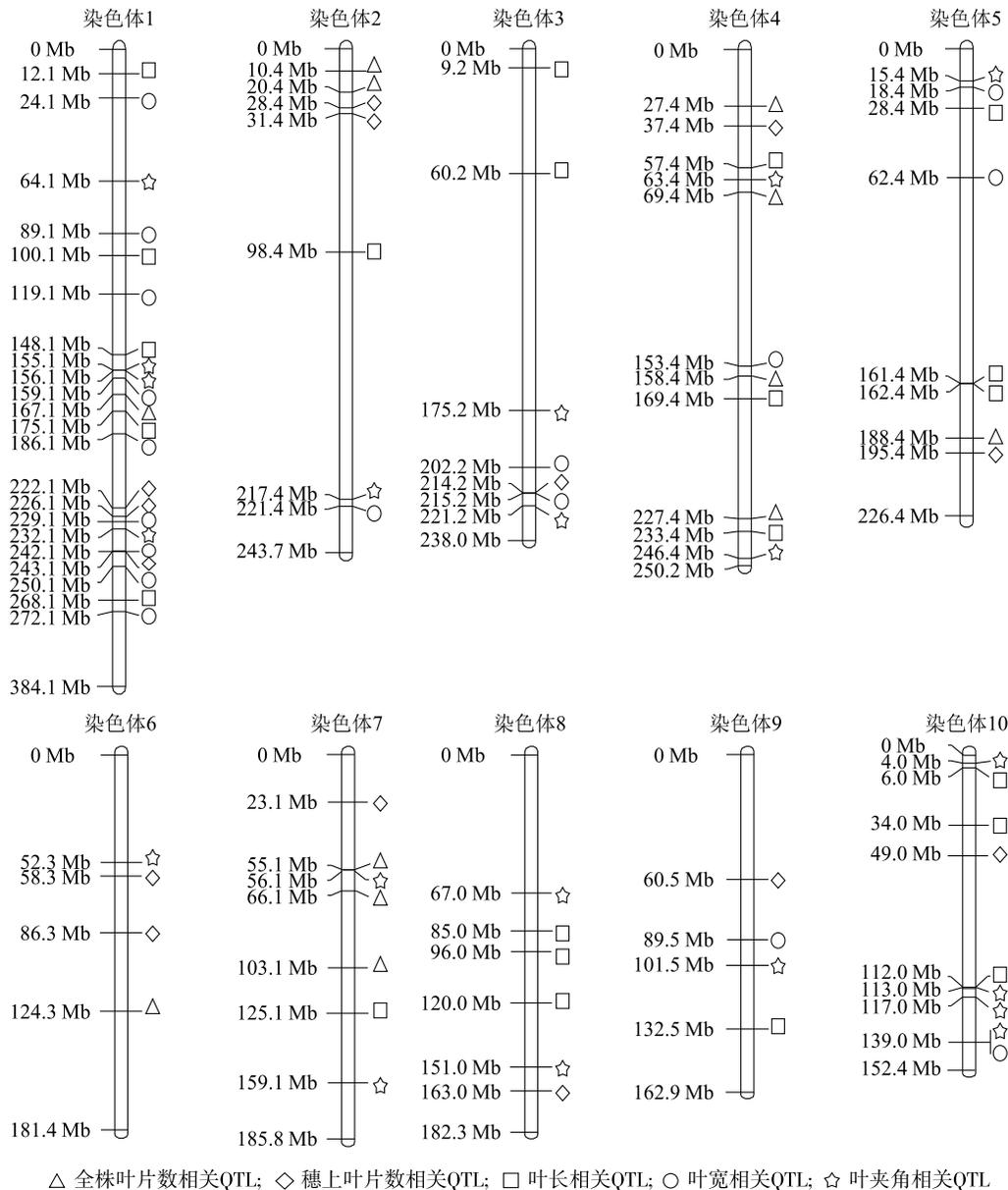


图 1 叶部性状 QTL 在染色体上的位置

Fig.1 QTL position of leaf traits on chromosomes

表 4 候选基因功能注释

Table 4 Annotation of candidate genes' function

性状	染色体	物理区间(bp)	基因名称	蛋白质	蛋白功能
叶夹角	5	15 285 587~153 92 078	<i>Zm00001d013612</i>	微管蛋白 β 链	细胞骨架结构组成、微管细胞骨架组织组成
叶长	4	232 942 269~233 569 373	<i>Zm00001d053543</i>	BZR1 蛋白同源物	油菜素甾醇介导的信号通路
叶宽	1	185 328 126~186 116 521	<i>Zm00001d031291</i>	伸长复合体蛋白 2	组蛋白乙酰化、调控 DNA 甲基化
叶宽	1	185 328 126~186 116 521	<i>Zm00001d031292</i>	晚期胚胎发育丰富 (LEA)、富含羟脯氨酸糖蛋白家族基因表达的调控 富含羟脯氨酸糖蛋白家族	
叶宽	1	185 328 126~186 116 521	<i>Zm00001d031296</i>	钾转运体	钾离子跨膜转运蛋白活性、钾离子转运
叶宽	1	185 328 126~186 116 521	<i>Zm00001d031300</i> 、 <i>Zm00001d031303</i>	肌醇半乳糖苷-蔗糖半乳糖 基转移酶	糖基转移酶活性、碳水化合物代谢过程

3 讨论

3.1 本研究与前人研究结果的比较

本研究共定位到 85 个叶部性状相关 QTL, 其中有 7 个 QTL 与前人定位到的区段存在重合, 本研究在 4 号染色体 232.9~233.6 Mb 和 10 号染色体 33.9~34.1 Mb 定位到的叶长相关 QTL, 与赵文明^[8]利用简单重复序列 (SSR) 标记对豫 82 和沈 137 构建的 F_{2:3} 家系群体进行 QTL 定位, 在第 4 染色体的 120.2~244.5 Mb (B73RefGen_v4) 和第 10 染色体的 13.5~85.2 Mb (B73RefGen_v4) 定位到的叶长相关 QTL 存在重叠, 但本研究鉴定出的 QTL 区间更小。此外, 张旷野^[9]通过 SSR 标记对掖 478 和齐 319 构建的 300 份重组自交系进行 QTL 定位, 在 1 号染色体的 184.8~193.6 Mb (B73RefGen_v4) 定位到 1 个与叶宽相关 QTL, 大小为 8.8 Mb。本研究在 1 号染色体 185.3~186.1 Mb 定位到 1 个叶宽相关 QTL, 大小为 0.8 Mb, 定位区间显著小于前人定位结果。路明等^[10]利用 SSR 标记以掖 478 和丹 340 构建的 F₂、F_{2:3} 群体为材料, 在 164.2~194.9 Mb 定位到 1 个控制叶夹角的 QTL, 与本研究在 3 号染色体的 175.19~175.35 Mb 定位到的叶夹角相关 QTL 存在重叠。常立国等^[11]以许 178×K12 构建的 150 份重组自交系为材料, 利用 SSR 标记对叶部性状进行 QTL 定位, 在第 3 染色体的 172.8~190.3 Mb (B73RefGen_v4) 和第 10 染色体的 115.2~128.2 Mb (B73RefGen_v4) 各定位到 1 个与叶夹角相关的 QTL, 与本研究定位结果相似, 即本研究在 3 号染色体 175.2~175.4 Mb (B73RefGen_v4) 和 10 号染色体 116.9~117.1 Mb (B73RefGen_v4) 也各定位到 1 个与叶夹角相关的 QTL, 大小均为 0.2 Mb, 定位区间进一步缩小。刘鹏飞等^[12]在 5 号染色体的 4.3~55.7 Mb (B73RefGen_v4) 定位到 1 个控制玉米叶夹角的 QTL, 本研究在 3 号染色体 175.2~175.4 Mb (B73RefGen_v4) 和 10 号染色体 116.9~117.1 Mb 内也各定位到 1 个与叶夹角相关的 QTL, 在这些“一致性”QTL 表达较稳定、可靠性较高的基础上, 本研究定位到的 QTL 较前人定位区间更小, 更利于下一步精细定位和候选基因的图位克隆。

3.2 候选基因预测分析

本研究共筛选出 7 个关键候选基因, 这些基因参与的激素调控和蛋白质表达, 可能与植物叶片生长发育密切相关。其中, *Zm00001d013612* 编码

微管蛋白 β 链并且参与调控细胞骨架结构组成、微管细胞骨架组织的组成。根据前人的研究结果, 细胞骨架包括微丝、微管和中间纤维^[13], 微管在植物中具有维持植物细胞形态^[14-15]、细胞运动^[16]、细胞内物质运输^[17-18]、细胞分裂^[19]以及细胞壁形成等重要作用^[20]。*Zm00001d053543* 参与油菜素甾醇介导的信号通路, 在植物中参与茎的伸长、细胞分裂和分化的调节^[21-24], 参与了几乎所有的植物生长发育过程, 被证实在水稻中能够调控株高、叶夹角、籽粒大小^[25]。*Zm00001d031291* 编码组蛋白乙酰化并且参与 DNA 甲基化调控, 影响植物的分生组织形成^[26]、细胞的增殖^[27]等过程, 与器官的生长过程密切相关, 在细胞内通过影响基因的转录和表达, 从而影响细胞分化的过程^[28]。*Zm00001d031292* 参与富含羟脯氨酸糖蛋白家族表达基因的调控, 而此蛋白质是高等植物细胞壁中特有的, 具有强固细胞壁的作用^[29]。*Zm00001d031296* 与钾离子跨膜转运蛋白活性密切相关, 钾营养能够影响油菜叶片生长过程中叶肉细胞的分布和形态, 对叶面积扩张、CO₂ 和 H₂O 的运输过程具有重要作用^[30]。*Zm00001d031300*、*Zm00001d031303* 参与碳水化合物的代谢过程, 碳水化合物能够参与植物细胞壁的形成, 是植物的主要能量来源, Blumstein 等^[31]研究发现非结构性碳水化合物能够向细胞发出时间流逝的信号, 触发叶片发育, 这些基因可能通过影响细胞的生长发育或参与激素的调控等方式影响植物叶部性状的生长发育, 可初步预测为关键候选基因。本研究结果可为后续的基因精细定位、克隆以及有效开展玉米叶部性状分子改良研究提供支撑。

3.3 叶部性状 QTL 在育种上的利用

目前也有较多研究者通过 QTL 定位发现控制玉米叶部性状的关键基因, Gao 等^[32]鉴定到叶宽相关 QTL 的候选基因 *ZmNL4* 在被敲除后玉米叶片宽度显著降低, Xia 等^[33]通过全基因组关联分析发现了 1 个位于基因 *RHW1* 上的 SNP 位点与玉米壳叶宽度显著相关, 并证实 *RHW1-ZCN4* 调控途径会影响玉米壳叶的宽度, Tian 等^[34]研究证实 *ZmRAVLI* 能够通过影响叶鞘和韧带区域正向厚壁组织细胞数目从而正向调节玉米叶夹角。植物中还存在许多基因通过参与激素调控来控制叶部性状。例如拟南芥中 *ROTUNDIFOLIA3/4* 编码的 *CYP90C1* 能够通过合成油菜素内

脂,影响细胞的极性扩展,从而对叶片长度起到调控作用^[35-37]。Uzair 等^[38]研究发现窄叶突变体生长素响应因子 *ARF* 的蛋白质翻译效率降低后会导致生长素调控的叶片细胞分裂和扩展受阻,从而影响叶片宽度。Best 等^[39]研究发现影响油菜素甾醇合成的基因 *Nana plant2* 突变后会导致玉米矮小、叶片形态变化和叶夹角增大^[40]。总的来说,植物叶部性状的生长发育是一个复杂的过程,具体的调控网络还有待进一步的深入挖掘。QTL 定位是数量遗传学的主要研究课题之一,高分辨率的遗传标记图谱能够定位到更精确的 QTL 区段,基于这些研究成果,后续可对所得到的关键遗传区段进行精细定位,利用亚细胞定位、 β -葡萄糖醛酸糖苷酶(*GUS*)染色、遗传转化(过表达、干扰、基因编辑等)对候选基因进行功能验证,开展蛋白质互作相关试验,通过酵母双杂、免疫共沉淀(CO-IP)、双分子荧光互补(BiFC),或是蛋白质与核酸互作研究等方式对目标基因的功能机制进行更深入的研究。综上所述,本研究结果能够对后续深度揭示玉米叶部性状变异的遗传机制、相关候选基因克隆以及基于分子辅助选择育种提供参考。

4 结 论

本研究共检测到 85 个叶部性状相关 QTL,单个 QTL 的贡献率为 1.07%~12.91%,与前人研究结果进行比对,共发现 7 个“一致性”QTL,并且定位到的区间更小。共预测出 7 个候选基因,分别是 *Zm00001d013612*、*Zm00001d053543*、*Zm00001d031291*、*Zm00001d031292*、*Zm00001d031296*、*Zm00001d031300*、*Zm00001d031303*,所参与的细胞生长发育、蛋白质和激素调控在作物生长发育过程中起着重要作用,可能是玉米叶部性状变异的关键候选基因,可以作为后续 QTL 的精细定位、候选基因图位克隆和功能研究新的参照。

参考文献:

- [1] 张 强,赵晓阳,张 洁,等. 国审玉米品种宝景 186 及其栽培技术[J]. 中国种业,2023(7):127-129.
- [2] 高祥斌,张秀省,蔡连捷. 观赏植物叶面积测定及相关分析[J]. 福建林业科技,2009,36(2):231-234,251.
- [3] 奉 杰,刘鹏飞,涂 亮,等. 玉米株型相关性状的 QTL 定位与候选基因分析[J]. 玉米科学,2023,31(4):34-42.
- [4] 罗巧玲,孙 强,张潇誉,等. 玉米叶长 QTL 定位和全基因组选择[J]. 新疆农业大学学报,2021,44(1):14-19.
- [5] 王会涛,柳华峰,郑耀刚,等. 玉米叶型相关性状 QTL 定位及上位性效应分析[J]. 分子植物育种,2018,16(15):4955-4963.
- [6] 石云素. 玉米种质资源描述规范和数据标准[M]. 北京:中国农业出版社,2006.
- [7] WU X, GUO X Y, WANG A G, et al. Quantitative trait loci mapping of plant architecture-related traits using the high-throughput genotyping by sequencing method[J]. Euphytica,2019,215:1-13.
- [8] 赵文明. 玉米株型相关性状 QTL 定位与分析[D]. 郑州:河南农业大学,2008.
- [9] 张旷野. 玉米叶夹角和叶宽的遗传分析及 QTL 定位[D]. 沈阳:沈阳农业大学,2018.
- [10] 路 明,周 芳,谢传晓,等. 玉米杂交种掖单 13 号的 SSR 连锁图谱构建与叶夹角和叶向值的 QTL 定位与分析[J]. 遗传,2007,29(9):1131-1138.
- [11] 常立国,何坤辉,刘建超,等. 不同环境条件下玉米叶夹角的 QTL 定位[J]. 玉米科学,2016,24(4):49-55.
- [12] 刘鹏飞,蒋 锋,王汉宁,等. 玉米叶夹角和叶向值的 QTL 定位[J]. 核农学报,2012,26(2):231-237.
- [13] 王洁茹,戴 银,沈学怀,等. 冠状病毒与宿主细胞骨架相互作用的研究进展[J]. 中国兽医科学,2021,51(11):1433-1437.
- [14] GARDINER J. The evolution and diversification of plant microtubule-associated proteins[J]. The Plant Journal,2013,75(2):219-229.
- [15] SUN W, LI Y, ZHAO Y X, et al. The TsnsLTP4, a nonspecific lipid transfer protein involved in wax deposition and stress tolerance[J]. Plant Molecular Biology Reporter,2015,33:962-974.
- [16] WANG X, ZHU L, LIU B Q, et al. *Arabidopsis* MICROTUBULE-ASSOCIATED PROTEIN18 functions in directional cell growth by destabilizing cortical microtubules [J]. The Plant Cell,2007,19(3):877-889.
- [17] ZHOU S, CHEN Q H, LI X Y, et al. MAP65-1 is required for the depolymerization and reorganization of cortical microtubules in the response to salt stress in *Arabidopsis* [J]. Plant Science,2017,264:112-121.
- [18] LI S P, CHEN M, YU D L, et al. *EXO70A1*-mediated vesicle trafficking is critical for tracheary element development in *Arabidopsis* [J]. Plant Cell,2013,25(5):1774-1786.
- [19] WASTENEYS G O. Progress in understanding the role of microtubules in plant cells [J]. Current Opinion In Plant Biology,2004,7(6):651-660.
- [20] 马彩霞. 陆地棉 *GhTUBB1* 基因的功能研究[D]. 太原:山西农业大学,2022.
- [21] ASAMI T, NAKANO T, FUJIOKA S. Plant brassinosteroid hormones[J]. Vitamins & Hormones,2005,72:479-504.
- [22] LI J H, LI Y H, CHEN S Y, et al. Involvement of brassinosteroid signals in the floral-induction network of *Arabidopsis* [J]. Journal of Experimental Botany,2010,61(15):4221-4230.
- [23] BASIT F, LIU J X, AN J Y, et al. Brassinosteroids as a multidimensional regulator of plant physiological and molecular responses under various environmental stresses [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2021,28:44768-44779.

- [24] 张存家,刘小青,韩婧,等.基于转录组测序的红树秋茄叶片发育中差异表达基因分析[J].分子植物育种,2023,21(24):8075-8083.
- [25] 杨彦钊,童红宁.水稻中油菜素甾醇功能机制解析与分子设计利用[J].生命的化学,2021,41(6):1171-1180.
- [26] HOLLENDER C, LIU Z C. Histone deacetylase genes in *Arabidopsis* development[J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2008, 50(7):875-885.
- [27] LIU X C, YANG S G, ZHAO M L, et al. Transcriptional repression by histone deacetylases in plants[J]. Molecular Plant, 2014, 7(5):764-772.
- [28] 李甜甜.小茴香挥发油促进拟南芥生长的机制研究[D].昆明:云南中医药大学,2023.
- [29] 宋凤鸣,郑重,葛起新.富含羟脯氨酸糖蛋白在植物-病原体相互作用中的积累、作用及调控[J].植物生理学通讯,1992,(2):141-145.
- [30] HU W S, LU Z F, GU H H, et al. Potassium availability influences the mesophyll structure to coordinate the conductance of CO₂ and H₂O during leaf expansion[J]. Plant, Cell & Environment, 2022, 45(10):2987-3000.
- [31] BLUMSTEIN M, OSEGUERA M, CASO-MCHUGH T, et al. Nonstructural carbohydrate dynamics' relationship to leaf development under varying environments[J]. New Phytologist, 2024, 241(1):102-113.
- [32] GAO L L, YANG G H, LI Y F, et al. A kelch-repeat superfamily gene, *ZmNLA*, controls leaf width in maize (*Zea mays* L.) [J]. The Plant Journal, 2021, 107(3):817-830.
- [33] XIA A A, ZHENG L M, WANG Z, et al. The *RHW1-ZCN4* regulatory pathway confers natural variation of husk leaf width in maize [J]. New Phytologist, 2023, 239(6):2367-2381.
- [34] TIAN J G, WANG C L, XIA J L, et al. *Teosinte ligule* allele narrows plant architecture and enhances high-density maize yields[J]. Science, 2019, 365(6454):658-664.
- [35] KIM G T, TSUKAYA H, UCHIMIYA H. The *ROTUNDIFOLIA3* gene of *Arabidopsis thaliana* encodes a new member of the cytochrome P-450 family that is required for the regulated polar elongation of leaf cells[J]. Genes & Development, 1998, 12(15):2381-2391.
- [36] KIM G T, FUJIOKA S, KOZUKA T, et al. *CYP90C1* and *CYP90D1* are involved in different steps in the brassinosteroid biosynthesis pathway in *Arabidopsis thaliana* [J]. The Plant Journal, 2005, 41(5):710-721.
- [37] 崔晓峰,黄海.叶发育的遗传调控机理研究进展[J].植物生理学报,2011,47(7):631-640.
- [38] UZAIR M, LONG H, ZAFAR S A, et al. *Narrow Leaf21*, encoding ribosomal protein RPS3A, controls leaf development in rice [J]. Plant Physiology, 2021, 186(1):497-518.
- [39] BEST N B, HARTWIG T, BUDKA J, et al. *nana plant2* encodes a maize ortholog of the *Arabidopsis* brassinosteroid biosynthesis gene *DWARF1*, identifying developmental interactions between brassinosteroids and gibberellins [J]. Plant Physiology, 2016, 171(4):2633-2647.
- [40] 张全艳,张培高,徐春霞,等.玉米叶夹角的遗传与分子调控研究进展[J].中国农业科技导报,2021,23(10):15-24.

(责任编辑:陈海霞)