

# 玉米株高 *qPH10* 的 QTL 定位及候选基因预测

卢晓环<sup>1</sup>, 周志强<sup>1</sup>, 李海灵<sup>1</sup>, 李冬冬<sup>2</sup>, 刘文欣<sup>2</sup>, 李明顺<sup>1</sup>

(1. 中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081; 2. 中国农业大学, 北京 100193)

**摘要:** 利用掖478为轮回亲本、齐319为供体亲本构建的染色体片段代换系 CL137 为父本, 与掖478杂交构建近等基因系 F<sub>2</sub> 分离群体, 根据齐319、掖478重测序数据开发在双亲中具有多态性的 Indel 分子标记, 在两个环境中对控制玉米株高的 10 号染色体 QTL 进行定位。结果表明, 2017 年的株高表型将 QTL 定位到标记 mk8-bnlgl655 之间, 位于 83.86~85.34 Mb(B73 RefGen\_v3) 的 1.5 Mb 区间, 表型贡献率为 7.57%; 2018 年株高表型将株高 QTL 定位到标记 mk5-bnlgl655 之间, 位于 82.76~85.34 Mb 的 2.5 Mb 区间, 表型贡献率为 5.75%。同时检测发现, 该 QTL 主要以加性效应为主, 显性效应较小。通过对所定位的 QTL 重合区间内的基因进行功能注释, 预测可能控制株高的候选基因, 为后续精细定位第 10 号染色体株高 QTL 以及探索候选基因功能机制提供研究基础。

**关键词:** 玉米; 染色体片段代换系; 株高; 数量性状位点

**中图分类号:** S513.035.3

**文献标识码:** A

## QTL Mapping and Candidate Gene Prediction of Maize Plant Height *qPH10*

LU Xiao-huan<sup>1</sup>, ZHOU Zhi-qiang<sup>1</sup>, LI Hai-ling<sup>1</sup>, LI Dong-dong<sup>2</sup>, LIU Wen-xin<sup>2</sup>, LI Ming-shun<sup>1</sup>

(1. Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081;

2. China Agricultural University, Beijing 100193, China)

**Abstract:** A chromosomal fragment substitution line(CSSL) CL137, which was constructed with Ye478 as the recurrent parent and Qi319 as the donor parent was used as the male parent to hybridize with Ye478 to construct the F<sub>2</sub> segregating population. The polymorphic Indel markers were developed based on the re-sequencing data of Qi319 and Ye478. The plant height QTL on chromosome 10 was identified in two environments. In 2017, the QTL of PH was mapped between the markers mk7-bnlgl655, corresponding to the 83.86–85.34 Mb interval of the B73 genome(RefGen\_v3), the physical distance was about 1.5 Mb, and the phenotypic variation explanation(PVE) was 7.57%. In 2018, the QTL of PH was mapped between the markers mk5-bnlgl655, corresponding to the 82.76–85.34 Mb interval of the B73 genome, the physical distance was about 2.5 Mb, and the PVE was 5.75%. Notably, the genetic effects of *qPH10* were mainly additive effects. This study also annotated the functional genes in the position interval and predicted candidate genes that may control plant height. The results of this study can provide a basis for fine mapping the plant height QTL on chromosome 10 and explore the functional mechanisms of candidate genes.

**Key words:** Maize; CSSLs; Plant height; QTL

玉米是一种多功能型作物, 可作为粮饲、能源并在工业生产中大量应用。玉米株高作为重要的农艺性状, 由于其表型易测量且数据准确, 常被作为模式性状进行分析<sup>[1]</sup>。玉米株高与种植密度密切相关,

培育株高适中的玉米品种对玉米机收有重要意义。长期的育种实践表明, 玉米种植密度的提高和抗逆性的增强是提高玉米单产和总产的重要因素<sup>[2]</sup>。但是, 随着玉米种植密度的增加, 往往会出现倒伏现象, 从而影响产量。因此, 在保证种植密度的情况下培育株高适中的优良株型品种是育种家长期以来追求的育种目标。对玉米进行株高 QTL 定位可以为株高性状改良和分子标记辅助选择提供遗传理论基础。

玉米株高表现出数量性状的变异, 受多基因控

录用日期: 2019-01-16

作者简介: 卢晓环(1993-), 湖北随州人, 硕士, 主要从事玉米遗传育种研究。E-mail: xiaohuanlu111@163.com  
李明顺为本文通讯作者。

制。从1987年Edwards<sup>[3]</sup>等首次定位株高QTL至今,研究者们借助分子标记已经定位了大量的株高QTL。截止到2018年10月,已经有237个株高QTL收集在maizegdb数据库中([http://www.maizegdb.org/cgi-bin/qtl\\_loci\\_summary\\_table.cgi](http://www.maizegdb.org/cgi-bin/qtl_loci_summary_table.cgi)),这些QTL在玉米10条染色体上都有分布,主要集中在bin1.06、bin1.08、bin3.04、bin3.06、bin7.04、bin9.03、bin10.04等区域。Beavis<sup>[4]</sup>等利用4套不同的F<sub>2</sub>群体共获得了209个遗传标记,大部分标记为RFLP标记,在玉米10条染色体上一共定位出了16个QTL,发现大部分QTL与已知的矮秆突变体位点接近,说明引起QTL的基因与导致突变体产生的基因可能是同一基因。Weng等<sup>[5]</sup>基于全基因组关联分析,在玉米的10条染色体上发掘到204个与玉米株高显著相关的SNP标记。Teng<sup>[6]</sup>等利用导入衡水522的代换系SL15,采用图位克隆的方法在玉米3号染色体上定位了1个控制玉米株高的主效QTL qPH3.1,可以降低株高约20 cm,对候选基因*ZmGA3ox2*进行克隆和功能分析,发现该基因是通过赤霉素信号传导途径对株高进行调控的。Xing<sup>[7]</sup>等以综3和87-1为亲本选育出的优良玉米杂交种豫玉22构建了3套作图群体,利用RIL群体开发了55个SSR标记以及基于双亲在Bin1.06-1.07位点具有多态性的101个标记,成功将1个玉米株高主效QTL qPH1定位在1号染色体的1 632 bp的区间内。同时,说明位于该区间的*Br2*基因第5个外显子上的SNP突变,致使精氨酸转换为亮氨酸,从而影响蛋白质的结构,通过抑制生长素的极性运输造成植株矮化。Wang<sup>[8]</sup>等采用简化基因组(GBS)策略,构建了含有16 769个Bin标记的高密度连锁图谱,对含有1 021份家系的重组自交系群体进行基因型鉴定,一共定位到了51个株高QTL位点,在一定程度上从实践角度证实了通过大量群体和高密度遗传图谱有助于提高QTL定位的分辨率和准确性,有助于检测具有微效效应的QTL。但是能够被成功克隆到并成功加以应用的株高基因却寥寥无几<sup>[9]</sup>。20世纪60、70年代,“绿色革命”中矮化基因的成功应用与推广,尤其是水稻和小麦的高秆变矮秆使得世界粮食产量有了大幅度的提高。玉米中也存在着大量的矮秆和半矮秆突变体,在一定程度上为克隆株高相关基因提供了便利。利用突变体材料能够克隆到一些与调控株高相关的基因,如*dwarf9*、*dwarf8*、*dwarf3*、*brachytic2*、*nana plant1*等基因,但是由于突变体自身的缺陷难以在生产实践中得到运用<sup>[10-14]</sup>。

染色体片段代换系能够很好地消除背景干扰,

用其构建的回交或测交群体可以更容易地开展QTL定位工作。实验室前期利用齐319和掖478构建的染色体片段代换系群体对玉米株高性状进行QTL定位,在10号染色体标记phi059-umc1045间检测到1个株高QTL。本研究利用染色体片段代换系衍生而来的近等基因系F<sub>2</sub>群体对该株高QTL进行定位,缩小定位区间并对其效应进行分析,发掘玉米株高主效QTL,同时挖掘定位区间的候选基因,为后期精细定位该QTL以及株型相关的分子标记辅助育种提供研究基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

本研究利用来自于杂种优势群PA群的掖478为轮回亲本,与来自于杂种优势群PB群的齐319为供体亲本杂交构建F<sub>1</sub>群体,二者在主要农艺性状上存在显著差异<sup>[15]</sup>,结合分子标记辅助选择,经过5代的回交构建在第10号染色体bin10.04位置67~127 Mb区间内包含齐319的染色体片段代换系CL137<sup>[16]</sup>。以其为母本,与掖478杂交获得的近等基因系F<sub>2</sub>分离群体为定位材料。所有供试材料均由中国农业科学院作物科学研究所提供。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 表型鉴定

2017年于中国农业科学院作物科学研究所北京昌平试验基地,2018年于中国农业大学北京上庄试验基地种植近等基因系F<sub>2</sub>定位群体,采用完全随机设计,行长4 m,株距25 cm,行距60 cm,每行17株,每50行种植两行亲本作为对照。于成熟期调查发育正常的植株株型性状,株高鉴定标准为雄穗顶端到地面的高度;穗位高为地面到最上部果穗的高度;雄穗长为雄穗顶端到雄穗最后分枝的高度。

#### 1.2.2 多态性Indel标记的筛选

根据齐319、掖478重测序数据中的插入缺失片段序列,选取10号染色体bin10.03和bin10.04区域存在4个碱基差异以上的Indel位点,基于这些位点上下游100 bp的序列,利用Primer Premier 5.0软件<sup>[17]</sup>设计长度为18~22 bp的引物,利用聚丙烯酰胺电泳实验筛选出在齐319和掖478呈现多态性的Indel分子标记。实验所用引物由北京天一辉远生物科技有限公司合成。引物信息见表1。

#### 1.2.3 基因型分型

在玉米3叶1心期,从用于定位的单株上取下3~5 g的新鲜叶片,采用改进的CTAB(Cetyltrimethyl Ammonium Bromide)<sup>[18]</sup>法提取幼嫩叶片的基因组

DNA。使用 NanoDrop 2000 检测 DNA 质量和浓度,合格的样品 DNA 保存于 4℃冰箱备用。PCR 体系所用 Taq DNA 聚合酶、10×Buffer 及 dNTP 等试剂由北京天根生化科技有限公司提供。采用降落式程序对目的片段 DNA 进行 PCR 扩增。使用 8%非变性聚丙烯

酰胺凝胶电泳实验对 PCR 产物的基因型进行检测。对于任一引物,与齐 319 相同的带型记为 2,与掖 478 相同的带型记为 0,杂合的带型记为 1,缺失的带型记为-1,所有基因型数据通过 Excel 2010 进行整理。

表 1 多态性引物信息表  
Table 1 The information of polymorphic primers

| 引物名称<br>Marker | 引物位置(bp)<br>Position |             | 引物序列<br>Sequence of primer (5' - 3') |                         |
|----------------|----------------------|-------------|--------------------------------------|-------------------------|
| mk3            | 79 044 524           | 79 044 543  | TCCCCTAACCTTACCTCCTT                 | ATCAGAGGGAAAGAGCACGA    |
| mk5            | 82 758 896           | 82 758 915  | ATGACCAGGACAAGGGAGAC                 | TTCGTTGATATAGAGGCGGC    |
| mk7            | 83 078 495           | 83 078 514  | GTCTAGCGAAGGGGGTATTG                 | TCGGTGTTTGGAGGATTGTA    |
| mk8            | 83 855 096           | 83 855 115  | TTAAGACGAAACGCTAGGGC                 | CCTGCTGCGGAAACTAAGA     |
| mk13           | 84 045 098           | 84 045 081  | GCTGGAATCGGTAAACTCGT                 | AGATTGCTGAGGTTTGCCAC    |
| bnlg1655       | 85 338 479           | 85 338 499  | ATTAAAATCTTGCTGATGGCG                | TTCTGTTCCCGCCTGTACTT    |
| umc1336        | 86 431 890           | 86 431 867  | GTACAAATGATAAGCAAGGGGCAG             | CTCTGTTTTGAAGAAGCTTTTGG |
| mk22           | 87 798 234           | 87 798 253  | CTCTCCTCCCTTCTATCGG                  | AACAAGGCAGGAAGCAGAT     |
| mk23           | 89 087 180           | 89 087 199  | GTGTGCTCGGTTTCATTGCTG                | TAGTTTCTGCTCTGTTGGC     |
| mk24           | 94 265 666           | 94 265 649  | ATTGCTCTGGCAGGATTG                   | TCAGTATGGGTTGTTGTATG    |
| mk25           | 95 219 147           | 95 219 166  | AGGTGTTTGTCTTATGCTGG                 | AGAAGGGGGAGTCTGTTGAT    |
| mk28           | 100 147 586          | 100 147 605 | GCAGCAGGTCACAATACTCG                 | TATGCGGGTAAGGCTTGATG    |

1.2.4 遗传连锁图构建与 QTL 定位

应用 QTL IciMapping (Version 4.1) 软件进行遗传图谱的构建和 QTL 的定位。利用近等基因系 F<sub>2</sub> 代分离群体的基因型,根据 kosambi 作图函数将重组率转换为遗传距离,运用软件的 MAP 功能构建遗传连锁图谱。首先按照软件要求的数据格式整理分子标记基因型数据以及表型数据;利用 LOD 等于 3 对标记进行分组;使用 nnTwoOpt 方法对标记进行排序;使用 SARF 方法,设置窗口大小为 5 进行标记的重新排序;最终构建遗传连锁图谱。利用软件的完备区间作图法 (ICIM-ADD) 对玉米株高性状进行 QTL 定位,对于缺失的表型按照删除处理;定位的步长设置为 1 cM,逐步回归的概率设置为 0.001;使用置换检验的方法检测 QTL 定位的阈值,次数设置为 1 000,第一类型错误的概率为 0.05。

2 结果与分析

2.1 表型分析

2.1.1 CL137 遗传构成

CL137 是一个导入来自齐 319 片段的染色体片段代换系,其主要遗传背景来源于掖 478。实验室前期使用均匀分布于全基因组的 200 个齐 319 与掖 478 间有多态性的 SSR 标记,对 CL137 和掖 478 间的遗传差异进行评价<sup>[16]</sup>。图 1 结果所示,在 10 号染色

体的标记 y10q20-y10q30 以及 y10q65-umc1911 之间的染色体片段来自于供体亲本,大片的长度约为 67 Mb,小片段的长度为 10 Mb 左右,其余染色体基因型均与背景掖 478 相同。

2.1.2 CL137 与掖 478 的表型差异

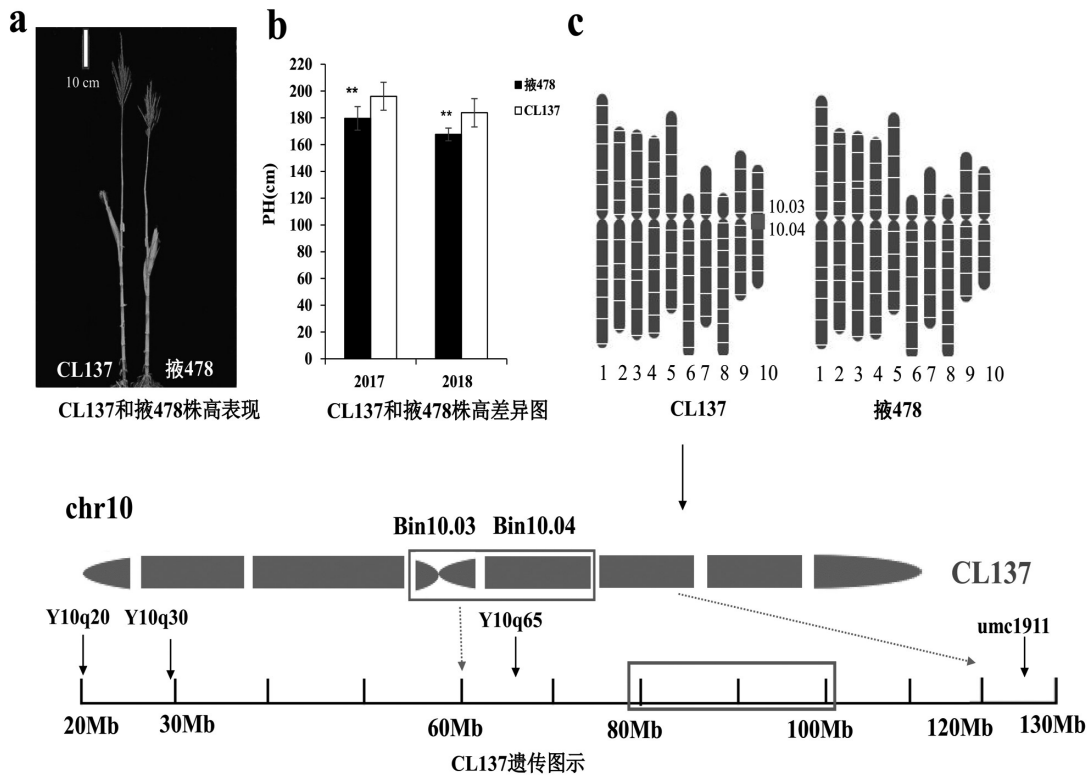
通过两年田间表型观察及测量,CL137 与轮回亲本掖 478 田间株高表现差异明显,代换系 CL137 株高显著高于掖 478。2017 年掖 478 株高为 179.6±8.8 cm,CL137 株高为 196.1±10.4 cm ( $P<0.01$ )。对 CL137 和掖 478 主要农艺性状进行统计分析,由表 2 可以看出,CL137 和掖 478 株高存在显著差异,但是二者穗位高并无显著差异 ( $P>0.05$ ),说明二者株高差异主要是由穗位以上高度引起。CL137 和掖 478 穗上节间数二者节间数无显著差异 ( $P>0.05$ ),穗上平均节长存在显著差异 ( $P<0.05$ ),由此说明代换系 CL137 与掖 478 的株高差异主要是由穗上节间长度差异造成。

2.1.3 近等基因系 F<sub>2</sub> 群体表型分析

利用掖 478×CL137 构建的近等基因系 F<sub>2</sub> 分离群体株高表型数据统计分析表明,2017 年群体株高均值为 189.40±15.87 cm,群体株高最大值为 245 cm,最小值为 137 cm,偏度值为-0.06,峰度值为 0.13;亲本掖 478 平均株高分布在 170~180 cm;CL137 平均株高分布在 190~200 cm (图 2)。2018 年群体株高均

值为 $179.39\pm15.20$  cm,群体株高最大值为220 cm,最小值为136 cm,偏度值为-0.01,峰度值为-0.27;亲本掖478平均株高分布在160~170 cm;CL137平

均株高分布在180~190 cm。综合以上结果,表明两年构建的F<sub>2</sub>群体株高近似符合正态分布,可以用来进行QTL定位分析。



注:A图为CL137和Ye478的株高表现;B图为CL137和Ye478的株高差异;C图为CL137的遗传组成。  
Note: a, PH performance of CL137 and Ye478; b, the phenotypic difference of CL137 and Ye478; c, the genetic composition of CL137.

图1 CL137遗传构成及亲本表型差异图

Fig.1 The genetic composition of CL137 and the phenotypic difference of two parents

表2 CL137和掖478农艺性状

Table 2 The agronomic characters of CL137 and Ye478

| 性 状<br>Trait | 2018 上庄 Shangzhuang 2018 |           |       |            |         | 2017 昌平 Changping 2017 |            |       |            |         |
|--------------|--------------------------|-----------|-------|------------|---------|------------------------|------------|-------|------------|---------|
|              | Ye478                    |           | CL137 |            | P-value | Ye478                  |            | CL137 |            | P-value |
|              | N                        | Mean±SD   | N     | Mean±SD    |         | N                      | Mean±SD    | N     | Mean±SD    |         |
| PH           | 34                       | 167.6±4.7 | 13    | 183.8±10.6 | ***     | 44                     | 179.6±8.78 | 20    | 196.1±10.4 | ***     |
| NOI          | 34                       | 13.1±0.7  | 13    | 14.3±0.5   | ***     | 10                     | 14.2±0.8   | 11    | 15.3±0.8   | ***     |
| TL           | 34                       | 29.2±4.2  | 13    | 34.5±7.8   | ***     | 10                     | 37.2±5.1   | 11    | 41.6±3.9   | *       |
| EH           | 34                       | 66.1±5.6  | 13    | 67.4±6.6   |         | 10                     | 74.6±8.2   | 11    | 80.2±8.0   |         |
| PH-EH-TL     | 34                       | 72.6±7.1  | 13    | 78.5±9.6   | *       | 10                     | 66.2±10.1  | 11    | 78.5±8.7   | ***     |
| PH-EH        | 34                       | 101.9±7.6 | 13    | 112.9±10.3 | ***     | 10                     | 105.1±13.7 | 11    | 120.2±10.6 | ***     |
| BNOI         | 34                       | 6.0±0.6   | 13    | 6.3±0.6    |         | 10                     | 6.1±0.6    | 11    | 6.45±0.5   |         |
| INT          | 34                       | 17.2±1.4  | 10    | 19.0±2.3   | *       | 10                     | 17.5±0.6   | 11    | 18.5±1.1   | *       |

注:N为个体数;SD为标准差;\*\*\*表示显著水平为0.001;\*表示显著水平为0.05;PH为株高;NOI为节间数;TL为雄穗长;EH为穗位高;PH-EH-TL穗位至雄穗高度;PH-EH为穗位上高度;BNOI为穗上节间数;INT为穗上节间长度。  
Note: N, number of individuals; SD, standard deviation; \*\*\* indicates significant level is 0.001; \* indicates significant level is 0.05; PH is plant height; NOI is internode number; TL is tassel length; EH is the height of ear; PH-EH-TL is the height from the ear to the tassel; PH-EH is the height of the ear; BNOI is the number of internodes on the ear; INT is the length of the internode on the ear.



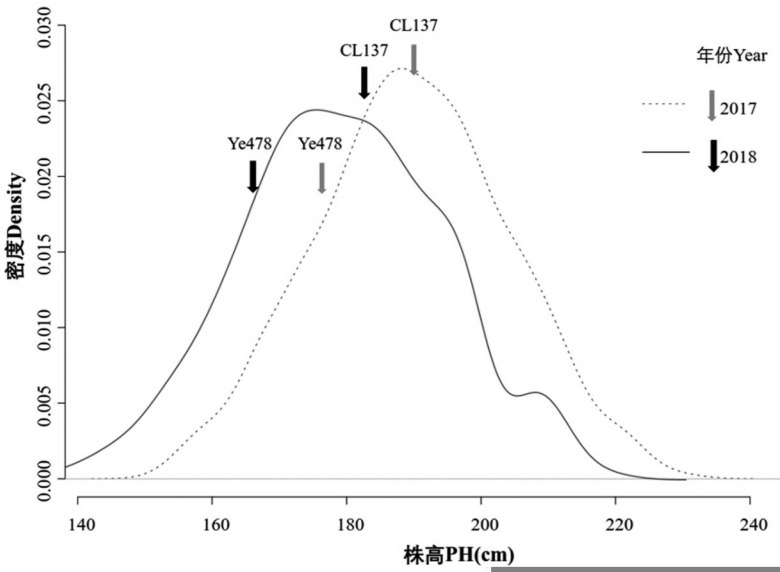


图2 F<sub>2</sub>群体株高表型概率密度分布图

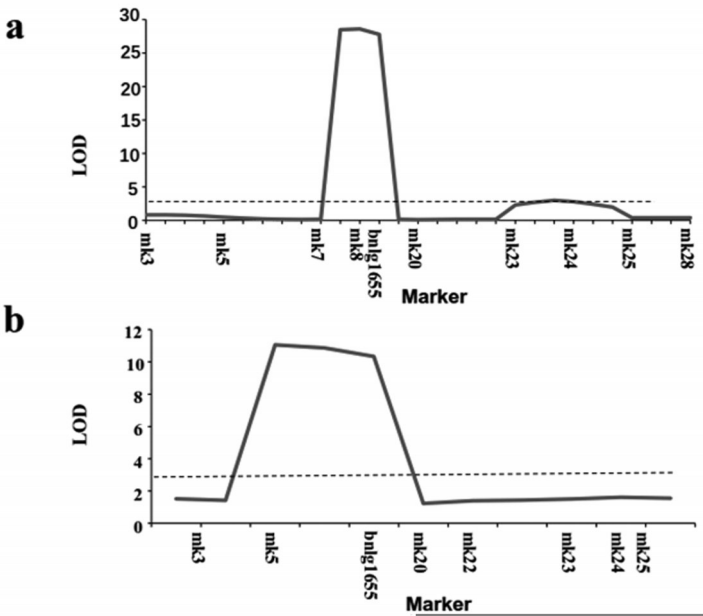
Fig.2 The phenotype distribution of F<sub>2</sub> population

表3 F<sub>2</sub>群体株高表型统计表

Table 3 The plant height statistical of F<sub>2</sub> population

| 年 份<br>Year | 观测数<br>Number | 平均(cm)<br>Mean | 中位数(cm)<br>Median | 众数(cm)<br>Mode | 标准差<br>SD | 范围(cm)<br>Range | 峰 度<br>Kurtosis | 偏 度<br>Skewness |
|-------------|---------------|----------------|-------------------|----------------|-----------|-----------------|-----------------|-----------------|
| 2017        | 1830          | 189.40         | 189               | 192            | 15.87     | 137 ~ 245       | 0.13            | -0.06           |
| 2018        | 911           | 179.39         | 179               | 177            | 15.20     | 136 ~ 220       | -0.27           | -0.01           |

2.2 玉米株高QTL定位



注:a图为2017年株高QTL定位结果;b图为2018年株高QTL定位结果;虚线为LOD值为2.93。  
Note: a, QTL mapping results in 2017; b, QTL positioning results of PH in 2018; dotted line indicates LOD value is 2.93.

图3 株高定位结果图

Fig.3 The QTL mapping result of plant height

2017年以CL137与Ye478为亲本杂交,构建群体量为1830的F<sub>2</sub>群体。使用在包含导入片段80~100 Mb区段内筛选出的10个插入缺失的多态性分子标记检测F<sub>2</sub>的基因型。使用IciMapping软件进行QTL定位,将该株高QTL定位于标记mk8-bnlgl655

之间,位于83.86~85.34 Mb(B73 RefGen\_v3)区间,物理距离约为1.5 Mb左右。通过遗传分析,该QTL的LOD值为28.60,表型贡献率为7.57%,加性效应为5.87 cm。将该QTL命名为*qPH10*(表4)。

表4 不同环境下玉米株高定位  
Table 4 QTL analysis of maize plant height in different environments

| 年份<br>Year | 性状<br>Trait | 左标记<br>Left-marker | 右标记<br>Right-marker | LOD   | 表型贡献率<br>PVE(%) | 加性效应<br>Add | 显性效应<br>Dom |
|------------|-------------|--------------------|---------------------|-------|-----------------|-------------|-------------|
| 2017       | PH          | mk8                | bnlg1655            | 28.60 | 7.57            | 5.87        | -0.56       |
| 2018       | PH          | mk5                | bnlg1655            | 11.06 | 5.75            | 4.76        | 2.30        |

为了验证初步定位的结果,继续使用CL137与掖478杂交,2018构建了1个群体量为911的F<sub>2</sub>群体。同样利用在80~100 Mb区段内筛选出的8个Indel标记检测F<sub>2</sub>的基因型。使用相同的方法进行株高QTL定位,将该QTL定位于标记mk5-bnlgl655之间,对应B73参考基因组的82.76~85.34 Mb区间,物理距离约为2.5 Mb。该QTL的LOD值为11.06,可以解释5.75%的表型变异,等位基因的加性定位效应为4.76 cm,显性效应为2.30 cm。

结合两年结果发现,两年株高表型定位的重合性较好,可以初步将*qPH10*定位到10号染色体的mk8-bnlgl655两个标记之间,对应B73参考基因组83.86~85.34 Mb区间,物理距离约为1.5 Mb左右。

2.3 候选基因预测

在网站 <http://ensembl.gramene.org> 上下载区间83 855 096~85 338 479内存在的基因,并对该区间的基因进行筛选,发现在该区间一共含有30个可编码蛋白质的基因,通过玉米遗传学及基因组学数据库(<http://www.maizegdb.org>),对其中功能已知的24个基因进行功能注释。表5所示,发现2个基因可能与株高相关。根据研究报道,基因*GRMZM2G133529*编码Copine蛋白,Copine属于Ca<sup>2+</sup>依赖性磷脂结合蛋白家族的新成员,由于其磷脂结合特性,认为Copine参与膜运输现象。对拟南芥的观察表明,Copine可能参与细胞分裂和生长<sup>[19]</sup>。据此推测,Copine蛋白很可能通过参与细胞分裂和生长的调控,进而对株高进行调节。

基因*GRMZM2G125977*是一种β-胡萝卜素异构酶(D27),是催化独脚金内酯生物合成途径中的关键酶。独脚金内酯是一种新发现的植物激素,是在棉花种子萌发时分离出的一种信号物质,可以直接或间接抑制植物侧根发芽,能够与生长素和细胞分裂

素产生相互作用<sup>[20]</sup>。近年的研究发现,独脚金内酯对拟南芥地上部株型有显著的调控作用,对水稻株高以及分蘖数也有调控作用<sup>[21]</sup>,但是还鲜有在调控玉米株高方面的报导。

3 结论与讨论

3.1 QTL定位结果的一致性

Guo等<sup>[21]</sup>利用5003和p138构建的RIL群体,在10号染色体发现1个株高QTL与标记bnlg1655连锁,该标记的物理位置为85 338 479~85 338 499 (B73 RefGen\_v3),本研究中定位的QTL区间一侧标记也是bnlg1655。Zhang等<sup>[22]</sup>利用齐319和黄早四构建的F<sub>2.3</sub>群体,在10号染色体umc1179-umc1337标记之间定位到1个QTL,位于74.96~85.43 Mb区间(B73 RefGen\_v3);在该QTL邻近的地方还定位到1个QTL位于标记umc1047-umc2016之间,对应的区间为62.25~83.33 Mb。Zhou<sup>[15]</sup>等利用掖478和齐319的重组自交系群体构建高密度遗传连锁图谱,利用该图谱在玉米第10号染色体bin10.04位置检测到调控株型相关性状的主效QTL,株高的定位区间位于10号染色体的81.30~85.10 Mb区间。本研究2017年利用10对Indel分子标记将株高QTL定位到标记mk8-bnlgl655之间,对应B73基因组的83.86~85.34 Mb区间,物理距离约为1.5 Mb。2018年利用8对Indel分子标记将株高QTL定位到标记mk5-bnlgl655之间,对应B73基因组的82.76~85.34 Mb区间,物理距离约为2.5 Mb。2017年定位区间相比2018年更为精细,可能是由于作图群体大小的不同导致,2017年群体大小基本是2018的两倍。一般对于数量性状而言,群体越大定位的精度越高<sup>[23]</sup>。综合两年定位结果以及前人的定位结果,说明该株高QTL是一个稳定存在的真实QTL,后续

表 5 定位区间基因功能注释(B73 RefGen\_v3)

Table 5 Gene annotation of the QTL interval

| 序 号<br>Number | 基因编号<br>Gene ID      | 起始位置(bp)<br>Gene start | 终止位置(bp)<br>Gene end | 作 物<br>Crop         | 注 释<br>Annotation                                                                                                                |
|---------------|----------------------|------------------------|----------------------|---------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1             | <i>GRMZM2G002818</i> | 84 043 613             | 84 045 592           | Arabidopsis<br>Rice | Leucine-rich repeat transmembrane protein kinase<br>verticillium wilt disease resistance protein putative expressed              |
| 2             | <i>GRMZM2G168795</i> | 84 061 218             | 84 063 729           | Arabidopsis<br>Rice | Leucine-rich repeat transmembrane protein kinase<br>verticillium wilt disease resistance protein putative expressed              |
| 3             | <i>GRMZM2G123963</i> | 84 079 614             | 84 081 619           | Arabidopsis<br>Rice | (AtRLP27, RLP27) receptor like protein 27<br>verticillium wilt disease resistance protein putative expressed                     |
| 4             | <i>GRMZM2G148909</i> | 84 102 747             | 84 105 858           | Arabidopsis<br>Rice | (AtRLP50, RLP50) receptor like protein 50<br>verticillium wilt disease resistance protein putative expressed                     |
| 5             | <i>GRMZM2G148924</i> | 84 106 322             | 84 110 776           | Arabidopsis<br>Rice | (FIE, FIE1, FIS3) Transducin/WD40 repeat-like superfamily protein<br>WD domain G-beta repeat domain containing protein expressed |
| 6             | <i>GRMZM2G004957</i> | 84 242 542             | 84 246 083           | Arabidopsis<br>Rice | (PDF2) protodermal factor 2<br>homeobox and START domains containing protein putative expressed                                  |
| 7             | <i>GRMZM2G005024</i> | 84 247 242             | 84 250 053           | Arabidopsis<br>Rice | (ATTSB1, TRP2, TRPB, TSB1) tryptophan synthase beta-subunit 1<br>tryptophan synthase beta chain 1 putative expressed             |
| 8             | <i>GRMZM2G005126</i> | 84 252 239             | 84 259 713           | Arabidopsis<br>Rice | Zinc finger C-x8-C-x5-C-x3-H type family protein<br>zinc finger C-x8-C-x5-C-x3-H type family protein expressed                   |
| 9             | <i>GRMZM2G170291</i> | 84 269 093             | 84 278 641           | Arabidopsis<br>Rice | DNAse I-like superfamily protein<br>endonuclease/exonuclease/phosphatase family domain containing protein expressed              |
| 10            | <i>GRMZM2G133529</i> | 84 369 139             | 84 370 401           | Arabidopsis<br>Rice | Ca(2+)-dependent phospholipid-binding protein (Copine) family<br>copine-6 putative expressed                                     |
| 11            | <i>GRMZM2G022793</i> | 84 500 884             | 84 504 860           | Arabidopsis<br>Rice | nodulin MtN21 /EamA-like transporter family protein<br>transporter putative expressed                                            |
| 12            | <i>GRMZM5G845163</i> | 84 609 055             | 84 613 942           | Arabidopsis<br>Rice | S-adenosyl-L-methionine-dependent methyltransferases superfamily protein<br>NOL1/NOP2/sun family protein putative expressed      |
| 13            | <i>GRMZM2G139157</i> | 84 614 500             | 84 622 087           | Arabidopsis<br>Rice | Protein kinase superfamily protein<br>tyrosine protein kinase domain containing protein putative expressed                       |
| 14            | <i>GRMZM2G439268</i> | 84 621 545             | 84 622 031           | Arabidopsis<br>Rice | (LTP, LTP7) lipid transfer prote<br>LTPL24 - Protease inhibitor/seed storage/LTP family protein precursor expressed              |
| 15            | <i>GRMZM5G830329</i> | 84 622 439             | 84 624 344           | Arabidopsis<br>Rice | (CYP703, CYP703A2) cytochrome P450 family 703 subfamily A polypeptide 2<br>cytochrome P450 putative expressed                    |
| 16            | <i>GRMZM2G086303</i> | 847 41 380             | 847 42 366           | Arabidopsis<br>Rice | etratricopeptide repeat (TPR)-like superfamily protein<br>RNA polymerase II-associated protein 3 putative expressed              |
| 17            | <i>GRMZM2G136341</i> | 84 769 353             | 84 774 213           | Arabidopsis         | (ATEYA, EYA) EYES ABSENT homolog                                                                                                 |
| 18            | <i>GRMZM2G177620</i> | 84 800 604             | 84 805 061           | Rice                | LOC_Os02g14500.1 expressed protein                                                                                               |
| 19            | <i>GRMZM2G126007</i> | 85 027 936             | 85 028 422           | Arabidopsis         | PPPDE thiol peptidase family protein                                                                                             |
| 20            | <i>GRMZM2G125977</i> | 85 023 075             | 85 025 866           | Arabidopsis<br>Rice | beta-carotene isomerase D27<br>LOC_Os05g04070.1 expressed protein                                                                |
| 21            | <i>GRMZM2G101932</i> | 85 186 461             | 85 196 661           | Arabidopsis<br>Rice | (ATRPA70B, RPA70B) RPA70-kDa subunit B<br>LOC_Os03g63870.1 expressed protein                                                     |
| 22            | <i>GRMZM2G101926</i> | 85 197 047             | 85 200 378           | Arabidopsis<br>Rice | transmembrane protein<br>LOC_Os05g04150.1 expressed protein                                                                      |
| 23            | <i>GRMZM2G101875</i> | 85 201 886             | 85 207 308           | Arabidopsis<br>Rice | (CER8, LACS1) AMP-dependent synthetase and ligase family protein<br>AMP-binding enzyme putative expressed                        |
| 24            | <i>GRMZM2G425427</i> | 85 332 939             | 85 334 512           | Arabidopsis<br>Rice | (AtMYB112, MYB112) myb domain protein 112<br>MYB family transcription factor putative expressed                                  |

可开展对该株高基因的精细定位工作。

### 3.2 控制株高的基因

前人的研究表明,株高主要受激素的调节。已经克隆出来的控制株高的基因大都在激素的合成、运输及信号转导中发挥作用。对克隆出的株高基因功能研究比较清楚的有介导赤霉素合成的 *dwarf3* 基因和 *An1* 基因、调控赤霉素信号转导的 *dwarf8* 和 *dwarf9* 基因、影响生长素极性转运的 *brachytic2* 基因和影响油菜素内酯合成的 *nana plant1* 基因<sup>[24]</sup>。但是关于独脚金内酯在调控玉米株高方面还未有报导。梁越洋等<sup>[25]</sup>发现,独脚金内酯信号的靶蛋白 SMXL7 能够增加生长素极性运输能力。黎舒佳等<sup>[26]</sup>对独脚金内酯合成与信号在调控水稻分蘖的研究进展方面进行了最新报导。在目前定位区间存在的基因 *GRMZM2G125977* 正是编码一种 $\beta$ -胡萝卜素异构酶(D27),以此推测该基因很可能通过独脚金内酯途径参与株高调控。

#### 参考文献:

- Peiffer J A, Romay M C, Gore M A, et al. The genetic architecture of maize height[J]. *Genetics*, 2014, 196(4): 1337–1356.
- Duvick D N. The contribution of breeding to yield advances in maize (*Zea mays* L.)[J]. *Advances in Agronomy*, Academic Press, 2005: 83–145.
- Edwards M D, Stuber C W, Wendel J F. Molecular-marker-facilitated investigations of quantitative-trait loci in maize I. Numbers, genomic distribution and types of gene action[J]. *Genetics*, 1987, 116(1): 113–25.
- Beavis W D, Grant D, Albertsen M, et al. Quantitative trait loci for plant height in four maize populations and their associations with qualitative genetic loci[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1991, 83: 141–145.
- Weng J, Xie C, Hao Z, et al. Genome-wide association study identifies candidate genes that affect plant height in Chinese elite maize (*Zea mays* L.) inbred lines[J]. *Plos One*, 2011, 6(12): e29229.
- Teng F, Zhai L, Liu R, et al. ZmGA3ox2, a candidate gene for a major QTL, qPH3.1, for plant height in maize[J]. *Plant Journal*, 2013, 73(3): 405–416.
- Xing A, Gao Y, Ye L, et al. A rare SNP mutation in *Brachytic2* moderately reduces plant height and increases yield potential in maize [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2015, 66(13): 3791–3802.
- Wang B, Liu H, Liu Z, et al. Identification of minor effect QTLs for plant architecture related traits using super high density genotyping and large recombinant inbred population in maize(*Zea mays* L.)[J]. *BMC Plant Biology*, 2018, 18(1): 17.
- Johal G S, Multani D S, Briggs S P. Isolated nucleic acid molecules encoding the Br2 P-glycoprotein of maize and methods of modifying growth in plants transformed therewith[P]. US, 2009, US7612256.
- Lawit S J, Wych H M, Xu D P, et al. Maize DELLA proteins dwarf plant8 and dwarf plant9 as modulators of plant development[J]. *Plant & Cell Physiology*, 2010, 51(11): 1854–1868.
- Thomsberry J M, Goodman M M, Doebley J, et al. Dwarf8 polymorphisms associate with variation in flowering time[J]. *Nature Genetics*, 2001, 28(3): 286–289.
- Winkler R G, Helentjaris T. The maize Dwarf3 gene encodes a cytochrome P450-mediated early step in gibberellin biosynthesis[J]. *Plant Cell*, 1995, 7(8): 1307–1317.
- Multani D S, Briggs S P, Chamberlin M A, et al. Loss of an MDR transporter in compact stalks of maize br2 and sorghum dw3 mutants[J]. *Science*, 2003, 302(5642): 81–84.
- Hartwig T, Chuck G S, Fujioka S, et al. Brassinosteroid control of sex determination in maize[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2011, 108(49): 19814.
- Zhou Z, Zhang C, Yu Z, et al. Genetic dissection of maize plant architecture with an ultra-high density bin map based on recombinant inbred lines[J]. *BMC Genomics*, 2016, 17(1): 178.
- 郑雷. 玉米染色体片段导入系群体构建和株高QTL定位[D]. 东北农业大学, 2016.
- Lalitha S. Primer premier 5[R]. *Biotech Software & Internet Report*, 2000(1): 270–272.
- Saghai-Marouf M A, Soliman K M, Jorgensen R A, et al. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1984, 81: 8014–8018.
- Tomsig J L, Creutz C E. Copines: a ubiquitous family of  $Ca^{2+}$ -dependent phospholipid-binding proteins[J]. *Cellular & Molecular Life Sciences Cmls*, 2002, 59(9): 1467–1477.
- Harrison P J, Newgas S A, Descombes F, et al. Biochemical characterization and selective inhibition of beta-carotene cis-trans isomerase D27 and carotenoid cleavage dioxygenase CCD8 on the strigolactone biosynthetic pathway[J]. *Febs Journal*, 2015, 282(20): 3986–4000.
- Tanksley S D, Nelson J C. Advanced backcross QTL analysis: a method for the simultaneous discovery and transfer of valuable QTLs from unadapted germplasm into elite breeding lines[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1996, 92(2): 191–203.
- Zhang Y, Li Y, Wang Y, et al. Correlations and QTL detection in maize family per se and testcross progenies for plant height and ear height[J]. *Plant Breeding*, 2011, 130(6): 617–624.
- 薛艳芳. QTL定位方法和有关因素对定位效果的影响[D]. 山西农业大学, 2004.
- 郑雷, 周羽, 曾兴, 等. 玉米株高QTL定位研究进展[J]. *作物杂志*, 2016(2): 8–13.
- Zheng L, Zhou Y, Zeng X, et al. Research in QTL mapping of maize plant height[J]. *Crops journal*, 2016(2): 8–13. (in Chinese)
- 梁越洋. 独脚金内酯信号靶蛋白SMXL7调控拟南芥地上株型[D]. 四川农业大学, 2016.
- 黎舒佳, 高谨, 李家洋, 等. 独脚金内酯调控水稻分蘖的研究进展[J]. *植物学报*, 2015, 50(5): 539–548.
- Li S J, Gao J, Li J Y, et al. Study on the regulation of rice tiller by strigolactone[J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2015, 50(5): 539–548. (in Chinese)

(责任编辑:朴红梅)