

# 玉米株高主效 QTL *qPH2.4* 的定位分析

张梦迪<sup>1</sup>, 张晓聪<sup>2</sup>, 李新海<sup>2</sup>, 翁建峰<sup>2</sup>, 席章莹<sup>1</sup>

(1. 河南农业大学农学院, 郑州 450046; 2. 中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081)

**摘要:** 课题组前期以玉米自交系郑58为轮回亲本, 以昌7-2为供体亲本, 通过分子标记辅助选择获得染色体单片段代换系 Z12 和 W16。Z12 和 W16 在 bin2.07 区域均含有 1 个来源于昌7-2 的染色体片段, 株高均显著高于轮回亲本郑58。利用郑58 和 Z12 为材料构建 F<sub>2</sub> 分离群体, 基于重测序和混合分离分析(BSA)策略, 将株高主效 QTL *qPH2.4* 定位于第2染色体 13.95 Mb(201 457 953 ~ 215 022 157 bp) 的区域内。利用在目标区间内筛选出的 20 对多态性分子标记对包含 743 个单株的郑58×Z12 F<sub>2</sub> 分离群体和包含 1 720 个单株的郑58×W16 F<sub>2</sub> 分离群体进行基因型分析, 结合田间株高数据进行 QTL 定位, 将株高主效 QTL *qPH2.4* 定位在 InDel 分子标记 ph-18 和 ph-19 之间, 区间的遗传距离为 0.57 cM, 物理距离为 626 kb。参考 B73 基因组(RefGen\_v4)注释信息, 该区间内存在 17 个注释基因, 其中, 包含可以调控油菜素内酯信号的基因 *Zm00001d006677*。

**关键词:** 玉米; 株高; 染色体单片段代换系; 混合分离分析; QTL 定位

**中图分类号:** S513.035.3

**文献标识码:** A

## Positioning Analysis of a Major QTL *qPH2.4* for Maize Plant Height

ZHANG Meng-di<sup>1</sup>, ZHANG Xiao-cong<sup>2</sup>, LI Xin-hai<sup>2</sup>, WENG Jian-feng<sup>2</sup>, XI Zhang-ying<sup>1</sup>

(1. College of Agriculture, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450046;

2. Institute of Crop Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

**Abstract:** Maize inbred line Zheng58 was used as the recurrent parent, the chromosome single segment substitution line Z12 and W16 were constructed with Chang7-2 as the donor parent through genome-wide molecular marker-assisted selection. Z12 and W16 contain a chromosome segment from Chang7-2 in the bin2.07 region, and their plant height was significantly higher than that of Zheng58. In this study, an F<sub>2</sub> population was constructed with Zheng58 and Z12 as materials. Based on the resequencing and bulked segregant analysis strategy, the plant height QTL *qPH2.4* was located in the interval 13.95 Mb(201 457 953–215 022 157 bp) of chromosome 2. Genotype analysis was performed on the Zheng58×Z12 F<sub>2</sub> segregation population containing 743 individuals and the Zheng 58×W16 F<sub>2</sub> segregation population containing 1 720 individual plants using 20 polymorphic molecular markers screened in the target interval, and the plant height QTL *qPH2.4* was located between the InDel molecular markers ph-18 and ph-19. The genetic distance was 0.57 cM, and the physical distance was 626 kb. Reference B73 refgen\_v4, there were 17 candidate genes in this interval, including the gene *Zm00001d006677* which can regulate the brassinosteroid signal.

**Key words:** Maize; Plant height; Chromosome single segment substitution line; Bulked segregant analysis; QTL mapping

玉米株高是构成玉米株型的重要性状并且与产量密切相关。目前, 已有 300 多个株高 QTL 得到了

初步定位(<http://www.maizegdb.org>), 这些 QTL 座位分布在玉米的 10 条染色体上。Beavis<sup>[1]</sup>等利用 4 个群体鉴定出 16 个玉米株高 QTL。Bai<sup>[2]</sup>等利用综 3 和衡白 522 构建的 CSSL 群体, 在第 1、2、3、5、6 染色体上检测到 9 个株高 QTL, 表型变异的贡献程度范围为 3.1% ~ 22.6%。陆明洋等<sup>[3]</sup>利用自交系 87-1 和综 3 构建的染色体片段代换系 SSSL-Y7, 在第 1 染色体 bin1.07 区域精细定位了 1 个玉米株高主效 QTL *qph1-4*。刘忠祥等<sup>[4]</sup>在 2 年 3 个环境中利用两个

录用日期: 2019-03-19

基金项目: 国家自然科学基金项目(31371629)

作者简介: 张梦迪(1995-), 女, 硕士, 从事玉米遗传育种研究。

Tel: 15600160879 E-mail: 15600160879@163.com

席章莹为本文通讯作者。E-mail: xizhangying@163.com

高代回交的重组自交系,将株高主效 QTL *qPH3.2* 定位于第3染色体的20 cM区间内,并利用在目标区内筛选出的重组交换和目标区段跨叠系对 *qPH3.2* 进行了精细定位。Teng<sup>[5]</sup>等利用以综3为遗传背景,导入衡白522第3染色体片段的导入系SL15,精细定位了1个株高主效 QTL *qPH3.1*。通过对 *qPH3.1* 的进一步分析,发现1个与赤霉素合成途径相关的基因 *ZmGA3ox1*,该基因与株高密切相关。采用遗传分析的方法,利用矮秆突变体 *dwarf-1* 证实 *ZmGA3ox1* 基因变异可以影响玉米株高。Xing<sup>[6]</sup>等利用回交群体对玉米株高主效 QTL *qph1* 进行了精细定位和克隆,发现了1个控制生长素极性运输并且发生稀有等位变异的 *br2* 基因,可以解释玉米株高20%的表型变异。

本研究以玉米自交系郑58遗传背景上昌7-2的染色体单片段代换系Z12和W16为试验材料,基于重测序和混合分离分析,对Z12中的株高主效 QTL *qPH2.4* 进行初步定位;基于F<sub>2</sub>分离群体和在目标区域内新开发的分子标记对株高主效 QTL *qPH2.4* 进行定位分析,为该基因的精细定位、基因克隆及基因作用机制解析提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

Z12和W16均为玉米自交系郑58遗传背景,仅带有1个来源于昌7-2染色体片段的染色体单片段代换系,该片段位于bin2.07区域。Z12内的代换片段位于SSR标记nc003与phi090之间<sup>[7]</sup>;W16内的代换片段位于InDel标记ph-4与ph-30之间。Z12和W16的株高均显著高于轮回亲本郑58。BSA所用群体是Z12与郑58构建的F<sub>2</sub>分离群体。QTL定位所用群体是郑58×Z12和郑58×W16的F<sub>2</sub>分离群体。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 田间试验设计与次级分离群体的构建

2017年春于北京昌平种植郑58、Z12、W16、包含743个单株的郑58×Z12的F<sub>2</sub>分离群体和包含1720个单株的郑58×W16的F<sub>2</sub>分离群体。行长4 m,每行17株。灌溉、施肥、防虫、除草等田间管理与当地田间管理方式相同。在成熟期后测量每个植株从地面到雄穗顶端的高度,即株高。

#### 1.2.2 DNA的提取和BSA样品制备

每株叶片取两份分别置于2.0 mL的离心管中,将取下的叶片立即放入液氮中,并在-80℃冰箱中保存。使用CTAB法提取160份材料的DNA,在提取DNA的过程中使用24:1(氯仿与异戊醇的混合液,

体积比为24:1)抽提两次。提取完成的DNA加20 μL水溶解,并加RNA酶37℃孕育4 h。最后使用DNA提取试剂盒中的蛋白柱去除蛋白杂质。从郑58×Z12的F<sub>2</sub>分离群体中挑选极端表型H(高株)和L(矮株)各80株。H群体株高均高于175 cm,L群体株高均低于150 cm。将H群体的80份DNA和L群体的80份DNA分别等质量混合为H混合池和L混合池。将H混合池、L混合池、郑58的DNA测序。

#### 1.2.3 测序数据过滤和质控

为保证数据的质量,测序的Raw Data要经过过滤和质控。首先使用Trimmomatic软件对序列进行过滤,去掉reads中自带的测序接头,去掉reads中N含量比较高(N的含量大于5%,N表示测序过程中无法确定碱基信息)的序列,丢掉质量比较低(质量值低于8的碱基占了50%以上)的reads,过滤后得到Clean Data,然后使用FastQC(<http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>)软件进行质控。为了确保分析质量,采取去掉接头读长150 bp的作后续的数据分析。以B73基因组作为对照使用Bowtie2进行比对,使用GATK软件检测变异信息。

#### 1.2.4 关联分析

BSA测序结果经过计算和拟合分析,筛选出高质量的SNP位点。依据检测出的SNP位点,计算混合池样本的SNP-index[SNP-index(L)= $\rho L/(\rho L + \rho H)$ ; SNP-index(H)= $\rho H/(\rho L + \rho H)$ ],然后计算L池和H池之间 $\Delta$ SNP-index[ $\Delta$ SNP-index=SNP-index(H)-SNP-index(L)]<sup>[8]</sup>。置信区间的候选区域。

#### 1.2.5 标记开发

根据郑58、昌7-2、B73重测序的插入缺失(InDel)片段侧翼序列,采用Premier 5.0软件进行引物设计,扩增产物长度在80~150 bp之间。设计出的引物以郑58、昌7-2和郑58×Z12的F<sub>1</sub> DNA为模板,筛选出具有多态性的标记。

#### 1.2.6 QTL定位分析

基于F<sub>2</sub>代分离群体的分子标记基因型,构建遗传连锁图谱,利用QTL IciMapping V3.1软件的完备区间作图法对玉米株高性状进行QTL定位。首先整理分子标记基因型数据以及表型数据,输入QTL IciMapping软件中,在LOD大于3.00条件下分组,并进行nnTwoOpt方法的排列,以SARF方法进行标记顺序检测,构建遗传连锁图谱。之后,采用完备区间作图方法,结合表型数据定位株高QTL。

#### 1.2.7 候选基因分析

参考B73基因组(RefGen\_v4)注释信息筛选定位区间内的候选基因。根据基因 *Zm00001d006677* 的

序列信息,设计引物 PH-BZRDNA-F1: 5'-GTCA-ATACTGAGCACAATACGC- 3、PH- BZRDNA- R1: 5'-GCTCACACTCCCAGAGAAGATA-3', PH-BZRDNA-F2: 5'-ACCCCTCCATCAAAGAAAAG- 3、PH-BZRDNA-R2: 5'-CGGCCTAGAGTAGCTCACAC-3', PH-BZRCDS-F: 5'-AGGGGCTGAGCATCAGAG-3'、PH-BZRCDS-R: 5'-ACCACGAAGGCACGAACTAC-3'。以郑58和W16的基因组DNA和CDS为模板进行PCR扩增,扩增程序为,98℃预变性3 min;98℃变性30 s,60℃退火30 s,68℃延伸1 min 30 s,共进行35个循环;68℃在延伸10 min。总反应体系为50 μL,PCR产物经电泳检测后进行测序。

## 2 结果与分析

### 2.1 混合分离分析

#### 2.1.1 郑58、Z12的表型性状

2017年,在北京昌平郑58和Z12的株高表型数据 displays,郑58的株高为  $149.5 \pm 5.8$  cm, Z12为

$168.5 \pm 8.6$  cm,两者之间存在极显著的差异( $P < 0.01$ )。

#### 2.1.2 测序数据分析

BSA全基因组重测序结果分析表明,来自亲本郑58的reads有207.96 M个片段,来自L基因池的reads有344.11 M个片段,来自H基因池的reads有258.46 M个片段。郑58、L池和H池的平均测序深度分别为21.19、23.50和22.04,和B73基因组相比分别检测到4 410 907、4 822 008、4 818 351个变异位点。L池和H池之间存在的变异位点为1 129 628个,这些差异位点在第2染色体上分布的最多,为176 042个变异位点;在第10染色体上分布的最少,为59 849个变异位点。

#### 2.1.3 关联分析

将BSA测序结果经过计算和分析,得到可能与性状相关的候选区域(图1),该区域在2号染色体上跨越13.95 Mb(201 457 953 - 215 022 157)。该区域存在6个差异显著位点(表1)。

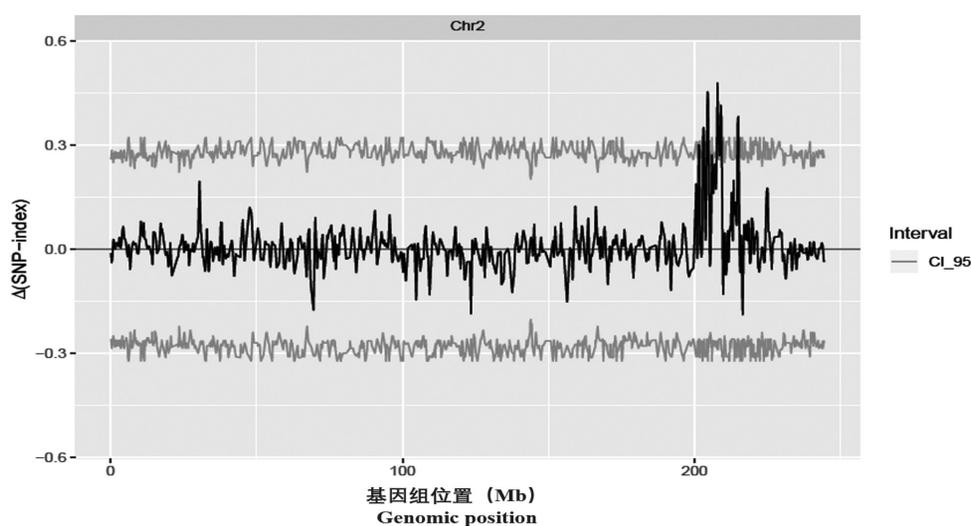


图1 株高性状相关区域的鉴定

Fig.1 Identification of relevant areas of plant height

表1 差异显著位点信息

Table 1 Information of significant difference loci

染色体 Chromosome	位点 Site	起始位置 Starting position	结束位置 End position	avgΔSNP	95%置信区间 CI-95
Chr2		201 257 037	201 274 675	0.124	0.300
Chr2	Ph2.4-1	201 457 953	201 493 362	0.300	0.298
Chr2	Ph2.4-2	202 896 365	203 285 630	0.327	0.287
Chr2	Ph2.4-3	204 225 539	204 638 734	0.412	0.302
Chr2	Ph2.4-4	207 714 184	208 361 383	0.335	0.292
Chr2	Ph2.4-5	208 880 691	209 135 294	0.403	0.295
Chr2	Ph2.4-6	213 756 997	215 022 157	0.375	0.298
Chr2		215 327 421	215 447 005	0.054	0.310

## 2.2 株高QTL定位分析

### 2.2.1 分子标记开发

以郑58和Z12基因组DNA为模板,在SSR标记

nc003与phi090之间,筛选出20对亲本间有多态的插入缺失(InDel)标记,引物序列及物理位置见表2。

表2 开发的InDel标记信息

Table 2 Information of developed InDel markers

引物名称 Primer name	F链序列 Forward sequence	R链序列 Reverse sequence	物理位置(bp) Physical location
ph-4	TCTGCTGCGTGAGAGTGAG	GGCAGTCCCCTTCATCAG	200 408 355
ph-5	ACACGCTACACGATATGAGGGAG	TGAGTGCCTTCTATTCTGAGTCG	202 651 049
ph-6	CATTACAGCCCCACCCTACGC	AACACGAACCAGCAGCAGCGG	203 790 379
ph-7	ACCCGTGTAGACAGAAGCCT	AGTCGTATGCCACCTGTTCG	204 890 461
ph-11	CTGTGTGTTTGGTCTGAGC	CCCGTGAGAAGCAGATAAC	208 239 050
ph-12	GCCCTACTGATGAGGCCTT	CAGCAACAGCCAAGAACCA	209 834 304
ph-13	TTGGGACATCAACACGACAC	CGGCAACGATAAGTCAAGTC	210 288 598
ph-14	TCACTGCCACGAAAACA	TTCTGAAATGTGGCGGCA	211 025 757
ph-15	CCCTGATTTTCTTCGCTGG	GTGTGGGGAATGGTGTCTGT	211 618 757
ph-16	CTGGACAAGGAGACGCTGGA	ACACTTTTTCTGCCCCCTC	212 884 277
ph-18	GTCTTGGTAGCGAGAGAGGAG	ATTCGCTTCTGTATTGCTCG	213 468 374
ph-19	GTCATCGCCGGCATTGAT	TAGTCTTACCGCCTCTCTGG	214 094 078
ph-20	GCGATTCCGTCGTCCTGTA	GGATGAAGAGCGTCTTGCC	214 473 528
ph-21	TGTTTTCGGTTGAGGGAG	ACGAGCGGCAGGATGATAT	215 377 969
ph-23	AGGAGGCGTCATCGTCAAT	AACTGAACCCTGCCTTGCC	216 892 334
ph-24	GAGAAAGGTTAGGTGATGGCG	GAGCCACTGGAAGCAATGAA	217 448 794
ph-25	ACCACTACCACCAACGCA	CCATCTCGTCTCGGAAGGAA	219 062 128
ph-26	AATCCTCTCGTCCCTCTCCTA	TGTTTCGCTTTTCTAGGTGTGC	219 987 164
ph-27	TTCATTCACGAAGCAAGCA	AGTCAAATCCGGACCACCA	221 853 827
ph-30	GTCAAACGAGGTGAGGGAGTA	CAGCAGCCAGAGAAGGTTG	224 446 917

### 2.2.2 郑58×Z12的F<sub>2</sub>分离群体表型分析

2017年于北京昌平调查表型数据,在包含743个单株的F<sub>2</sub>分离群体中,株高变异范围在120~202 cm,平均为160.5 cm,双向均存在具有超亲现象的个体。由图2所示,依据分子标记ph-16的3种带

型(郑58带型、Z12带型、杂合带型),将743个单株分为3组,分别统计每组内的株高的次数分布。Z12带型的单株偏态分布于右侧,郑58带型的单株偏态分布于左侧。

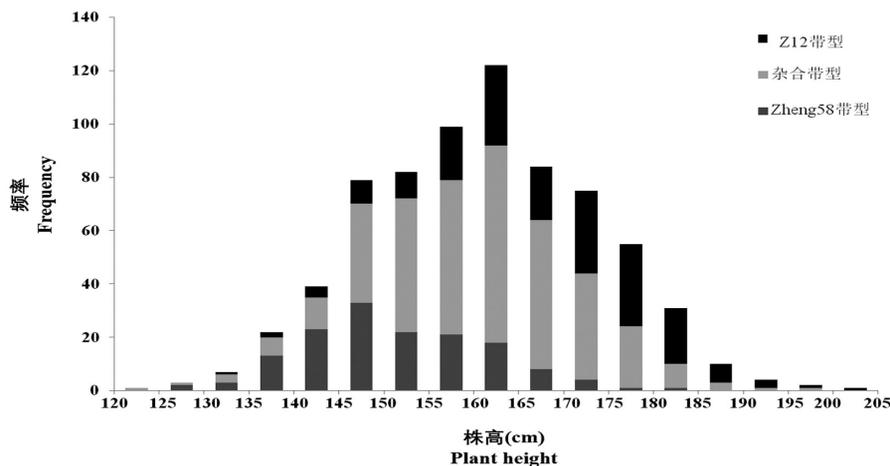


图2 郑58×Z12 F<sub>2</sub>分离群体株高频率分布图

Fig.2 Frequency distribution of plant height in F<sub>2</sub> derived from Zheng58×Z12

### 2.2.3 郑58 × Z12的 F<sub>2</sub>分离群体 QTL 定位

根据 QTL IciMapping 软件格式要求整理表型数据,然后导入该软件中进行遗传连锁图谱构建。13 个标记在遗传图谱中的相对位置与 B73 参考基因组的物理位置基本一致。该图谱全长 16.963 cM,平均遗传距离为 1.41 cM。利用软件中的 ICIM-ADD 方法进行 QTL 作图分析,LOD 临界值为 3.0 时,将株高

QTL 定位于 InDel 分子标记 ph-15 和 ph-19 之间,期间的遗传距离为 2.67 cM,物理距离为 2475.321 kbp (211 618 757 ~ 214 094 078),最大 LOD 值为 35.13,可解释株高 20.37% 的表型变异。该 QTL 加性效应为 8.38,显性效应为 0.93,其遗传效应表现为加性效应,命名为 *qPH2.4*(图 3)。

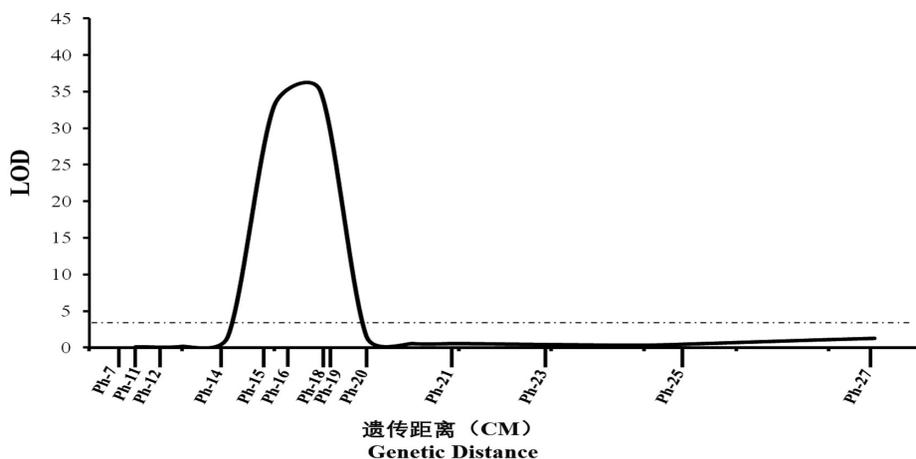


图3 郑58 × Z12 F<sub>2</sub>分离群体定位作图分析

Fig.3 Mapping of F<sub>2</sub> derived from Zheng58×Z12

### 2.2.4 郑58、W16及其 F<sub>2</sub>分离群体的表型分析

2017年夏在北京昌平对郑58、W16及其 W16×郑58的 F<sub>2</sub>分离群体的株高表型数据进行调查分析。郑58的株高平均值为 149.50±5.80 cm, W16的株高平均值为 183.71±5.31 cm。在包含 1720 个单株的 F<sub>2</sub>分离群体中,株高变异范围在 121 ~ 204 cm,平

均为 161.9 cm。依据 InDel 分子标记 ph-18 的 3 种带型(郑58带型、W16带型、杂合带型),将 1 720 个单株分为 3 组,分别统计每组内的株高的次数分布。W16带型的单株偏态分布于右侧,郑58带型的单株偏态分布于左侧(图 4)。

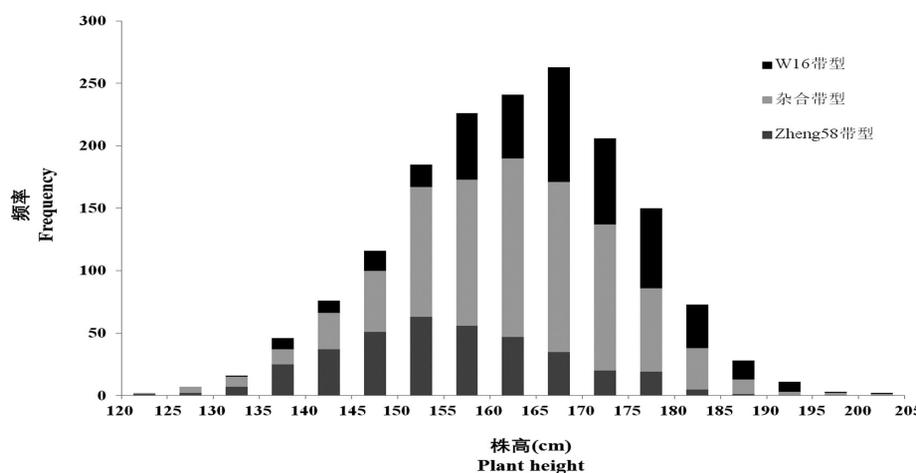


图4 郑58 × W16 F<sub>2</sub>分离群体株高频率分布图

Fig.4 Frequency distribution of plant height in F<sub>2</sub> derived from Zheng58×W16

### 2.2.5 郑58×W16的 F<sub>2</sub>分离群体 QTL 定位

根据 QTL IciMapping 软件格式要求整理表型数据,然后导入该软件中进行遗传连锁图谱构建。17

个标记在遗传图谱中的相对位置与 B73 参考基因组的物理位置基本一致。图 5 所示,该图谱全长 19.203 cM,平均遗传距离为 1.2 cM。利用软件中的

ICIM-ADD方法进行QTL作图分析,LOD临界值为3.0时,将株高主效QTL *qPH2.4*定位于InDel分子标记ph-18和ph-19之间,期间的遗传距离为0.57 cM,物理距离为626.604 kbp(213 468 374 ~ 214 094 078)

区内,最大LOD值为43.57,可解释株高11.40%的表型变异。该QTL加性效应为6.09,显性效应为0.031,其遗传效应表现为加性效应。

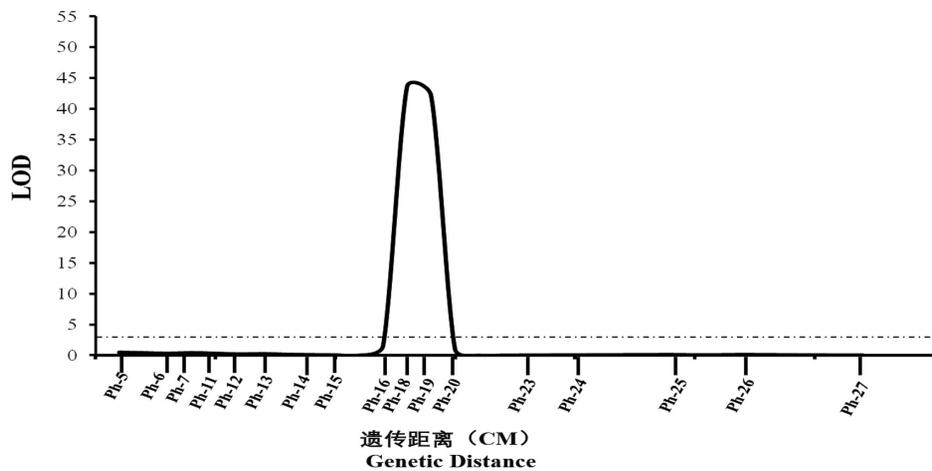


图5 郑58 × W16 F<sub>2</sub>分离群体定位作图分析  
Fig.5 Mapping of F<sub>2</sub> derived from Zheng58×W16

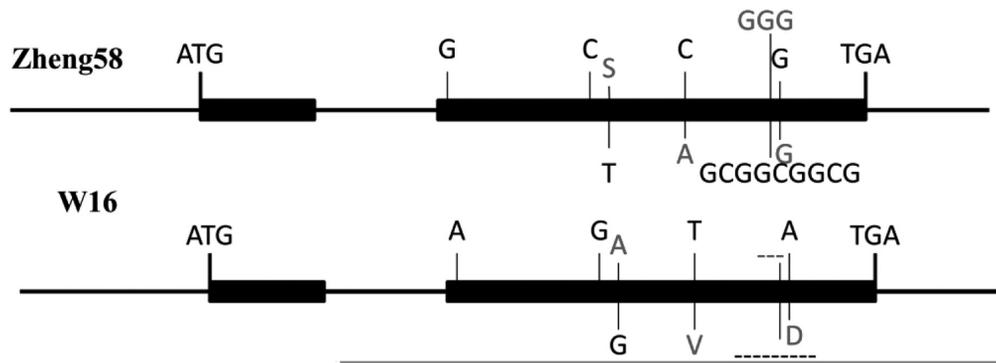
### 2.3 候选基因分析

利用MaizeGDB数据库对玉米第2号染色体213.468 ~ 214.094 Mb该区间进行检索,发现该区间存在17个编码蛋白的基因(表3)。其中,*Zm00001d006677*是可以调控油菜素内酯信号(BES1/BZR1)表达的基因,该基因所在的位置与BSA

测序结果Ph2.4-6效应位点所在区域一致。经DNA测序分析发现,该基因的CDS序列在郑58和W16间有9个碱基的插入和5处单核苷酸变异。两个亲本的氨基酸序列也存在3处差异和1处缺失,分别是197(S-A)、241(A-V)、283(G-D)和276-278(缺失)位氨基酸(图6)。

表3 *qPH2.4*区间内17个候选基因注释信息  
Table 3 Annotation information of the 17 candidate genes in *qPH2.4* interval

基因名称 Gene model	起始位置(bp) Gene start	终止位置(bp) Gene end	注释 Annotation
<i>Zm00001d006651</i>	213 473 849	213 477 743	tua5 - alpha tubulin5
<i>Zm00001d006653</i>	213 547 650	213 548 585	(RAP2.11) related to AP2 11(Arabidopsis)
<i>Zm00001d006654</i>	213 551 909	213 560 477	(emb2734) ARM repeat superfamily protein(Arabidopsis)
<i>Zm00001d006656</i>	213 605 594	213 606 086	(ATRAD51, RAD51) RAS associated with diabetes protein 51(Arabidopsis)
<i>Zm00001d006657</i>	213 698 948	213 714 990	(ATHST, HST, PDS2) homogentisate prenyltransferase(Arabidopsis)
<i>Zm00001d006658</i>	213 741 901	213 749 883	O-Glycosyl hydrolases family 17 protein(Arabidopsis)
<i>Zm00001d006659</i>	213 754 814	213 755 869	Unknown
<i>Zm00001d006663</i>	213 805 344	213 811 979	(LHCA2) photosystem I light harvesting complex gene 2(Arabidopsis)
<i>Zm00001d006665</i>	213 884 456	213 884 833	(ATJ2, J2) DNAJ homologue 2(Arabidopsis)
<i>Zm00001d006667</i>	213 889 759	213 895 829	Succinyl-CoA ligase alpha subunit(Arabidopsis)
<i>Zm00001d006668</i>	213 897 891	213 899 273	(AGL86) AGAMOUS-like 86(Arabidopsis)
<i>Zm00001d006669</i>	213 900 069	213 902 405	sbt2 - subtilisin2
<i>Zm00001d006670</i>	213 904 733	213 908 168	Target SNARE coiled-coil domain protein(Arabidopsis)
<i>Zm00001d006671</i>	213 938 824	213 947 817	Unknown
<i>Zm00001d006673</i>	214 011 828	214 022 318	AARP2CN domain containing(Rice)
<i>Zm00001d006676</i>	214 081 018	214 084 611	(5-FCL) 5-formyltetrahydrofolate cycloligase(Arabidopsis)
<i>Zm00001d006677</i>	214 086 849	214 088 343	(BZR1) Brassinosteroid signalling positive regulator (BZR1) family protein(Arabidopsis)

图6 郑58与W16中 *Zm00001d006677* 的CDS序列比对Fig.6 CDS sequence alignment between Zheng58 and W16 in *Zm00001d006677*

### 3 结论与讨论

BSA是构建两个具有极端表型群体的混池,然后将两个混池多态性位点的等位基因频率进行比较,得到具有显著性差异的位点的实验方法<sup>[9]</sup>。新一代测序技术与BSA结合通过克服可用的DNA标记限制性和避免完全的基因分型以加速精细定位与基因分离<sup>[10]</sup>。Takagi<sup>[11]</sup>等将全基因组重测序与BSA相结合快速鉴定植物QTL的方法命名为QTL-seq,并将该方法应用于水稻重组自交系与F<sub>2</sub>群体中,鉴定出与水稻重要农艺性状相关的QTL。BSA由于在建基因池时选用了特定的分离群体(如F<sub>2</sub>群体),并在分组的时候选择了具有目标性状的植株,因此保证了遗传背景不被其他性状干扰。两个基因池之间应该只在目标区段存有差异,排除了环境以及人为因素的影响,使结果更加准确可靠<sup>[12]</sup>。本研究中,利用BSA与新一代测序技术相结合的方法,将目标区域迅速缩小至一定区间内。该方法经济并且有效,可以加速玉米育种的改良。

本研究用的材料Z12和W16均为染色体单片段代换系,其特点是除目标染色体片段来自供体亲本外,基因组的其余部分均来源于受体亲本,遗传背景较为一致,适宜用于QTL定位分析<sup>[13,14]</sup>。本研究基于染色体片段代换系Z12和W16与郑58构建F<sub>2</sub>分离群体,由于只在目标区间内发生分离,该群体可以最大限度地降低遗传背景造成的干扰,增加定位结果的可靠性。在前人进行的玉米株高QTL的定位工作中,有一些QTL定位于在bin2.07区域<sup>[15]</sup>。Beavis等通过B73×Mo17的F<sub>2:4</sub>后代鉴定了24个农艺性状的基因组区域,平均每个性状鉴定出的QTL约为3个,其中,有1个第2染色体的株高QTL位于bin2.07区域,该QTL位于标记umc131,LOD值为3.6,可以解释8%的表型变异,加性效应和显性效应分别为

-7.1和-4.1。Lübberstedt等<sup>[16]</sup>使用F<sub>3</sub>家系的两个测交群体鉴定了20个株高QTL,其中,在2号染色体上鉴定的QTL位于bin2.07区域,该QTL在两个群体中分别位于120~146 cM和124~150 cM区间内,LOD值分别为3.1和3.4,表型贡献率为4.4%和4.7%。Tang<sup>[17]</sup>等利用RIL群体在bin2.07区域定位了1个株高主效QTL *qPH2*(umc2372~umc1497, 181.459~194.069)。Zhou<sup>[18]</sup>等利用RIL群体(掖478/齐319)构建的高密度bin-map图谱对玉米株高进行QTL定位,在3个环境下稳定检测到位于第二染色体的1个与株高显著相关的QTL *qPH2*(mk926~mk950, 193.1~201.4 Mb)。本实验以郑58遗传背景、昌7-2为供体的染色体片段代换系Z12和W16为材料,对株高主效QTL进行定位分析,两个材料均在bin2.07区域存在单一的代换片段,Z12株高平均值比W16株高平均值低,但均与郑58的株高存在显著差异,并且均能检测到株高主效QTL *qPH2.04*。因Z12与W16代换片段长度的差异,Z12与郑58构建的F<sub>2</sub>分离群体数量小于W16与郑58构建的F<sub>2</sub>分离群体数量,所以利用Z12为试验材料定位的LOD值较低且定位区间较大。

油菜素内酯(BRs),是一类植物类固醇激素,可以介导细胞伸长、细胞分裂、病原体抗性、种子萌发、气孔形成、开花和光形态发生<sup>[19,20]</sup>。BZR1是一种转录抑制因子,具有未知的DNA结合域,并且直接与反馈调节的BR生物合成基因的启动子结合。He<sup>[21]</sup>等利用微阵列分析和生物学研究的方法,说明BZR1通过在调节BR生物合成和下游生长反应中发挥双重作用来协调BR的稳态和信号传导,使得BZR1成为BR途径的中心调节剂。Wang<sup>[22]</sup>等发现显性突变 *bzr1-ID* 可以抑制BR缺陷和BR不敏感(*bri1*)表型并增强BR生物合成的反馈抑制。BZR1蛋白在黑暗生长的下胚轴细胞核中积累,并通过BR信号传导和

*bzr1-1D* 突变来维持稳定。这些现象表明, BZR1 是 BR 信号通路的正调节因子, 并且介导 BR 下游反应和 BR 生物合成的反馈调节。油菜素内酯对株高具有最直接的影响, 并且负效应很小, 因此, 在农业上具有很大的应用价值, 而 BZR1 反馈回路是维持 BR 平衡的关键机制。Zm00001d006677 是编码油菜素内酯信号转导正调节因子(BZR1)家族蛋白的基因, 该基因可能通过介导 BR 的反馈调节对玉米植株高度产生影响。在后期工作中, 可以针对该基因进行候选基因的关联分析以及功能方面的研究。

利用 BSA 和 QTL 定位分析定位了 1 个控制玉米株高的主效 QTL *qPH2.4*, 该 QTL 在两个定位群体中表型贡献率均在 10% 以上且效应明显 (LOD 值 > 35), 有利于进行精细定位和候选基因的挖掘; 在定位区间的 17 个基因中, 初步分析基因 Zm00001d006677 的 CDS 序列在亲本郑 58 和 W16 上的差异, 推测该基因可能通过介导 BR 的反馈调节从而影响植物的细胞伸长。

#### 参考文献:

- [1] 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]. Theor Appl Genet, 1991, 83(2): 141-145.
- [2] Bai W, Zhang H, Zhang Z, et al. The evidence for non-additive effect as the main genetic component of plant height and ear height in maize using introgression line populations[J]. Plant Breed, 2010, 129(4): 376-384.
- [3] 陆明洋, 陈春侠, 高岭巍, 等. 玉米矮秆主效 QTL *qph1-4* 的精细定位[J]. 河南农业大学学报, 2012, 46(3): 242-246.  
Lu M Y, Chen C X, Gao L W, et al. Fine mapping of the major QTL *qph1-4* for dwarf in maize (*Zea mays* L.)[J]. J. Henan Agric. Univ., 2012, 46(3): 242-246. (in Chinese)
- [4] 刘忠祥, 杨梅, 殷鹏程, 等. 玉米株高主效 QTL *qPH3.2* 精细定位及遗传效应分析[J]. 作物学报, 2018, 44(9): 1357-1366.  
Liu Z X, Yang M, Duan P C, et al. Fine mapping and genetic effect analysis of a major QTL *qph3.2* associated with plant height in Maize (*Zea mays* L.)[J]. Acta Agron Sin, 2018, 44(9): 1357-1366. (in Chinese)
- [5] Teng F, Zhai L H, Liu R X, et al. *ZmGA3ox2*, a candidate gene for a major QTL, *qPH3.1*, for plant height in maize[J]. Plant J., 2013, 73: 405-416.
- [6] Xing A Q, Gao Y F, Ye L F. A rare SNP mutation in *Brachytic2* moderately reduces plant height and increases yield potential in maize[J]. J. Exp Bot, 2015, 66(13): 3791-3802.
- [7] Lu M Y, Li X H, Shang A L, et al. Characterization of a set of chromosome single-segment substitution lines derived from two sequenced elite maize inbred lines[J]. Maydica, 2011, 56(4): 399-408.
- [8] Li R, Song W, Wang B, et al. Identification of a locus conferring dominant resistance to maize rough dwarf disease in maize[J]. Scientific Reports, 2018, 8(1): 3248.
- [9] Schlötterer C, Tobler R, Kofler R. Sequencing pools of individuals—mining genome-wide polymorphism data without big funding[J]. Nat. Rev. Genet, 2014(15): 749-763.
- [10] Han Y, Lv P, Hou S, et al. Combining next generation sequencing with bulked segregant analysis to fine map a stem moisture locus in sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench)[J]. PLoS One, 2015, 10(5): e0127065.
- [11] Takagi H, Abe A, Yoshida K, et al. QTL-seq: rapid mapping of quantitative trait loci in rice by whole genome resequencing of DNA from two bulked populations[J]. Plant J., 2013, 74: 174-183.
- [12] 白凤虎, 李德芳, 陈安国, 等. 基于 BSA 分析法的分子标记基因定位技术在农作物中的应用[J]. 中国麻业科学, 2006, 28(6): 282-288.  
Bai F H, Li D F, Chen A G, et al. The application of the molecular gene localization technique based on BSA in crop[J]. Plant Fiber Sci. Chn, 2006, 28(6): 282-288. (in Chinese)
- [13] Wang S Y, Chen C X, Feng Y Y, et al. Characterization of a major quantitative trait locus on chromosome five for hundred-kernel weight of maize (*Zea mays* L.)[J]. Maydica, 2016, 89(1): 383-395.
- [14] 陈春侠, 陆明洋, 尚爱兰, 等. 基于单片段代换系的玉米百粒重 QTL 分析[J]. 作物学报, 2013, 39(9): 1562-1568.  
Chen C X, Lu M Y, Shang A L, et al. Analysis of QTL for 100-kernel weight using chromosome single segment substitution lines in maize[J]. Acta Agron Sin, 2013, 39(9): 1562-1568. (in Chinese)
- [15] Beavis W D, Smith O S, Grant D, et al. Identification of quantitative trait loci using a small sample of topcrossed and F<sub>4</sub> progeny from maize[J]. Crop Sci., 1994, 34: 882-896.
- [16] Lübberstedt T, Melchinger A E, Schön C C, et al. QTL mapping in testcrosses of European flint lines of maize I. Comparison of different testers for forage yield traits[J]. Crop Sci., 1997, 37(3): 921-931.
- [17] Tang J H, Teng W T, Yan J B, et al. Genetic dissection of plant height by molecular markers using a population of recombinant inbred lines in maize[J]. Euphytica, 2007, 155(1-2): 117-124.
- [18] Zhou Z Q, Zhang C S, 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.
- [19] Azpiroz R, Wu Y, Locascio J C, et al. An Arabidopsis brassinosteroid-dependent mutant is blocked in cell elongation[J]. Plant Cell, 1998, 10(2): 219-230.
- [20] Yamamoto R, Fujioka S, Iwamoto K, et al. Co-Regulation of brassinosteroid biosynthesis-related genes during xylem cell differentiation[J]. Plant Cell Physiology, 2007, 48(1): 74-83.
- [21] He J, Gendron J, Sun Y, et al. BZR1 is a transcriptional repressor with dual roles in brassinosteroid homeostasis and growth responses[J]. Science, 2005, 307(5715): 1634-1638.
- [22] Wang Z Y, Nakano T, Gendron J, et al. Nuclear-localized BZR1 mediates brassinosteroid-induced growth and feedback suppression of brassinosteroid biosynthesis[J]. Dev. Cell, 2002, 2(4): 505-513.

(责任编辑: 朴红梅)