

玉米苗期低温抗性全基因组关联分析

于滔^{1,2,3}, 张建国^{1,2,3}, 曹靖生^{1,2,3}, 李树军^{1,2,3}, 蔡泉^{1,2,3}, 马雪娜¹,
殷跃^{1,2,3}, 李昕^{1,2,3}, 李思楠^{1,2,3}, 李云龙¹, 孙岩¹

(1. 黑龙江省农业科学院玉米研究所, 哈尔滨 150086; 2. 农业农村部东北北部玉米生物学与遗传育种重点实验室, 哈尔滨 150086;
3. 黑龙江省玉米种质资源创制与利用重点实验室, 哈尔滨 150086)

摘要: 低温冷害严重制约北方春玉米区玉米的产量和品质。为了丰富寒地玉米响应低温胁迫的遗传理论基础, 选用296份国内外优良玉米自交系为材料, 在苗期进行5℃低温胁迫, 结合24 042个高质量的SNP标记对玉米苗期低温抗性进行全基因组关联分析。结果表明, 筛选出与玉米苗期低温胁迫级别显著相关的SNP标记8个, 分别位于第1、3和4号染色体上, 可解释的表型贡献率为5.14%~7.26%; 挖掘到候选基因 *Zm00001d032382* 和 *Zm00001d039513*, 可能与苗期低温耐性相关。

关键词: 玉米; 低温; 苗期; 全基因组关联分析

中图分类号: S513.035.3

文献标识码: A

Genome-wide Association Analysis of Low Temperature Tolerance in Maize Seedling Stage

YU Tao^{1,2,3}, ZHANG Jian-guo^{1,2,3}, CAO Jing-sheng^{1,2,3}, LI Shu-jun^{1,2,3}, CAI Quan^{1,2,3}, MA Xue-na¹,
YIN Yue^{1,2,3}, LI Xin^{1,2,3}, LI Si-nan^{1,2,3}, LI Yun-long¹, SUN Yan¹

(1. Maize Research Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086;

2. Key Laboratory of Biology and Genetics Improvement of Maize in Northern Northeast Region, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Harbin 150086;

3. Key Laboratory of Germplasm Resources Creation and Utilization of Maize, Harbin 150086, China)

Abstract: Cold damage seriously restricts the yield and quality of spring maize in the northern region. To enhance the genetic theoretical basis of cold-resistant maize response to low temperature stress, this study used 296 excellent domestic and foreign maize inbred lines as materials, and conducted low temperature stress at 5℃ at the seedling stage. Combined with 24 042 high-quality SNP markers, a genome-wide association analysis was conducted on the low temperature resistance of maize seedlings. The results showed that 8 SNP markers significantly associated with the stress level of maize seedlings were screened out, which were located on chromosomes 1, 3 and 4, the explainable phenotypic contribution ranged from 5.14% to 7.26%. Candidate genes *Zm00001d032382* and *Zm00001d039513* were identified.

Key words: Maize; Low temperature; Seedling stage; Genome-wide association analysis

玉米(*Zea mays* L.)是世界上最重要的粮食作物

之一,其产量占全球粮食产量的40%^[1]。玉米在生长发育期对温度非常敏感,最高生长温度为25~28℃,最低生长温度可达5~18℃,温度每下降1℃成熟期推迟10 d,导致减产10%以上^[2-3]。北方春玉米区是我国玉米生产的优势区域,2022年,该区域玉米播种面积1 645万hm²,占全国玉米播种面积的40.95%;玉米总产量12 124万t,占全国玉米总产量的46.90%,在保障国家粮食稳定安全供给中发挥着重要作用。北方春玉米区由于特殊的地理原因,春季低温冷害频发,严重制约了本区域玉米的产量和品

录用日期: 2024-03-24

基金项目: 黑龙江省科研业务费项目(CZKYF2025-1-B002)、黑龙江省农业科学院创新工程资助项目(CX23JD05, CX23JQ04)、黑龙江省种业创新发展项目(2024HZY-CXNK07)、国家玉米产业技术体系项目(CARS-02-07)、科技创新2030-重大项目(2023ZD0402804-2)

作者简介: 于滔(1982-),女,博士,主要从事玉米抗逆分子育种研究。E-mail: yutaoweimei@163.com
张建国为本文通信作者。

质,选育和创造耐低温性强的玉米种质是解决此种危害最经济有效的途径。

玉米耐低温性是由微效多基因控制的复杂数量性状,且易受环境条件的影响,通过常规方法选育和创造耐低温种质难度较大。迄今为止,利用不同的统计方法在不同群体中已经鉴定出300多个玉米低温耐性相关QTL。Fracheboud等^[4]应用以Ac7643和Ac7729/TZ为亲本构建的RIL群体,检测到25个玉米低温相关QTL。Hu等^[5]对B73×Mo17所构建的自交系群体进行耐低温性QTL分析,共获得15个低温下控制萌发率的QTL。沈瑶利用IBM Syn10 DH群体,在除第10号染色体外的9条染色体上共检测到25个与玉米种子耐低温性相关QTL,单个QTL可解释5.39%~9.49%的表型变异^[6]。由于国内外学者采用的定位群体和作图方法不同,导致获得的玉米耐低温相关QTL之间一致性较差。

玉米具有广泛的遗传多样性、丰富的单核苷酸多态性以及连锁不平衡衰减等特点,成为全基因组关联分析的(GWAS)理想材料^[7]。近年来,随着B73、Mo17、W22、PH207、CML247等参考基因组的构建以及模型和方法的发展^[8],GWAS为解析玉米响应低温等复杂数量性状的遗传机制,通过分子育种创制玉米耐低温种质开辟了新的思路。Revilla等^[9]采用GWAS检测到275个重要位点与叶片叶绿素相对含量和光系统II的量子效率等玉米低温耐性性状相关。Jin等^[10]对两个群体进行GWAS和QTL定位,共鉴定出与耐寒性相关的SNP 4个、QTL 12个,明确了*Zm00001d002729*的过表达能够提高作物的耐寒性。Hu等^[11]以低温处理的萌发率为指标,对282份美国核心玉米自交系进行GWAS,共检测到17个与低温萌发性状相关SNP。Yan等^[12]通过338个杂交试验和GWAS,挖掘出苗期耐冷性显著相关QTL 32个,提出杂种优势可能与玉米耐冷性有关。Zhang等^[13]利用GWAS,筛选出30个与种子萌发耐低温性相关的SNP,并通过转录组测序鉴定到10个低温差异表达基因。Li等^[14]对3个F_{2.3}群体进行GWAS,共检测到43个与种子低温萌发能力相关QTL。作为影响北方春玉米区玉米产量的重要非生物胁迫因素,虽然已经获得部分玉米耐低温性相关QTL,但是能被共同检测的QTL数量极少,这也说明玉米耐低温性是个极其复杂的性状,仍需要更深入的研究。

本研究以来源广泛、具有丰富遗传变异的296份国内外优良玉米自交系为关联分析群体,在苗期进行5℃低温胁迫处理,根据苗期胁迫级别进行GWAS分析,挖掘与玉米苗期耐低温性相关位点,

为玉米耐低温种质资源创新和新品种选育提供重要遗传位点,为获得耐低温性相关性状关键基因提供理论依据,为分子标记辅助选择育种和功能研究提供基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试玉米材料为296份在北方春玉米区极具代表性的国内外优良玉米自交系,其中,包含232份国内骨干玉米自交系、36份美国玉米自交系和28份欧洲玉米自交系。玉米自交系种子由黑龙江省农业科学院玉米研究所提供,种子发芽率均在95%以上。

1.2 试验方法

1.2.1 表型测定与分析

每份玉米自交系挑选饱满、大小一致的种子50粒,经0.5%次氯酸钠溶液和清水表面消毒后置于温水中浸种24 h,随后播种于沙床中,放置于25℃光照培养箱培养,光照周期为12 h/12 h(白天/黑夜),相对湿度为75%。待幼苗生长至2叶1心时,分为对照组和处理组,对照组持续25℃光照培养72 h;处理组5℃培养48 h后转置25℃继续培养24 h^[15],分别调查两组幼苗存活率。试验设置3次重复。幼苗存活率=存活苗数/总处理种子数×100%。苗期低温胁迫级别分为5个等级,1级,叶片和心叶均受害,85%植株死亡;2级,心叶轻微萎蔫,70%植株受害;3级,心叶正常,叶柄或茎秆有冷害痕迹,50%植株受害;4级,叶片边缘萎缩,20%植株受害;5级,叶片生长正常无萎蔫,100%植株存活。应用Excel软件和R version 3.6.2软件分析表型数据^[16]。

1.2.2 基因型分析

利用Illumina公司的Bead Station 500 G SNP分型系统检测296份国内外优良玉米自交系的基因型。运用R语言LEA软件包进行群体结构分析^[17],设置亚群数量K=1~10,snmf函数计算交叉验证误差(cross-validation error, CV error)。使用TASSEL 5.0软件分析标记间连锁不平衡(Linkage Disequilibrium, LD)^[18],设置最小等位基因频率(minor allele frequency, MAF)≥0.05。

1.2.3 全基因组关联分析及候选基因预测

利用TASSEL 5.0软件的混合线性模型(mixed linear model, MLM)^[19]进行全基因组关联分析。设置MAF≥0.05, TASSEL 5.0软件的kinship功能计算亲缘关系系数,PCA功能进行主成分分析,错误率≤0.10以校正因多重比较产生的假阳性。根据检测出的与玉米苗期低温胁迫级别显著相关SNP标记的物

理位置,利用 MaizeGDB 筛选显著 SNP 标记上下游 LD 范围内的候选基因,参考基因组为玉米 B73 (ZmB73_RefGen_v4)。

2 结果与分析

2.1 苗期低温胁迫级别的表型分析

根据玉米苗期低温胁迫级别将 296 份国内外优良玉米自交系的耐低温性划分为 5 个等级(图 1),5 级

包含 LX163、LX101、LX131、LX136、B144、DY36、06S060 和 LX98 共 8 份玉米自交系,占比 2.70%;4 ~ 5 级 39 份玉米自交系;3 ~ 4 级 92 份玉米自交系;2 ~ 3 级 72 份玉米自交系;1 ~ 2 级 58 份玉米自交系;0 ~ 1 级 26 份玉米自交系,包含 LX100、LX39、LX87、LX27、LX76、LX122、Q319 和 LX83 等,占比 8.78%, 1 ~ 5 级间表型占比 88.18%,关联群体苗期低温胁迫级别呈现正态分布趋势。

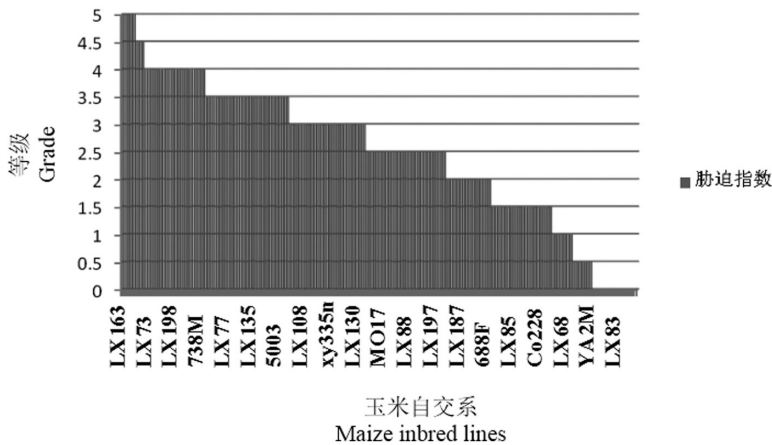


图1 部分玉米自交系苗期低温胁迫级别比较

Fig.1 Comparison of low temperature stress levels during seedling stage in maize inbred lines

苗期低温胁迫级别的表型统计结果见表 1,说明关联群体苗期低温胁迫级别分布的范围较大,群体内不同玉米自交系的耐低温变异比较丰富。苗期低温胁迫级别的方差分析结果见表 2,其中基因型

间、区组间的 P 值均达 0.001 的水平,差异极显著,表明关联群体中不同玉米自交系苗期低温胁迫级别存在极显著差异。

表 1 苗期低温胁迫级别表型统计

Table 1 Phenotypic statistics of low temperature stress levels at seedling stage

项 目 Item	观测数 Number	最小值 Min	最大值 Max	平 均 Mean	中位数 Median	标准差 SD	峰 度 Kurtosis	偏 度 Skewness
苗期低温胁迫级别	279	0.00	5.00	2.64	3.00	1.13	-0.45	-0.43

表 2 苗期低温胁迫级别表型方差分析

Table 2 ANOVA analysis of low temperature stress levels at seedling stage

项 目 Item	变异来源 Source of variation	自由度 DF	平方和 Sum Sq.	均 方 Mean Sq.	F 值 F value	P 值 P value
苗期低温胁迫级别	基因型	278	706.2	2.54	2.98	<2E-10***
	区 组	1	9.8	9.85	11.55	0.000 8***
	误 差	277	236.2	0.85		

注:“***”表示 $P<0.001$ 。

Note: ***, $P<0.001$.

2.2 关联群体的基因型分析

利用 Bead Station 500 G SNP 系统对 296 份国内

外优良玉米自交系组成的关联群体进行低覆盖度重测序,过滤测序结果后共筛选到 24 042 个高质量的

SNP,均匀分布于玉米的10条染色体上,其中98% SNP的MAF>0.05,36% SNP的MAF>0.1。

以B73 RefGen_v4为参考基因组,利用TASSEL 5.0软件对MAF>0.05的23 497个SNP标记进行LD分析(表3),结果发现,第9号染色体SNP标记间LD平均值最大(0.122),第7号染色体SNP标记间LD平均值最小(0.052)。SNP标记间LD的 r^2 均分布于0~1,且随着标记间遗传距离的增加呈下降趋势。

利用snmf函数进行群体结构分析,设置亚群数量 $K=1\sim10$,计算CV error,当 K 值不同时,关联群体

间自交系的分群比较明显,当 $K=5$ 时,CV error最低,因此可以将关联群体内296份国内外优良玉米自交系分为5个亚群。A群包括LX46、UH302和LX99在内等21份玉米自交系,B群包括LX94、LX115和LX169在内等22份玉米自交系,C群包括LX1、LX2和LX10在内等178份玉米自交系,D群包括LX26、UH004和UH009在内等10份玉米自交系,E群包括吉871、LX11和LX104在内等65份玉米自交系。

表3 玉米10条染色体的LD与LD衰减
Table 3 LD and LD decay of maize chromosomes

染色体 Chromosome	LD 衰减($r^2<0.2$) (Kb) LD decay($r^2<0.2$)	LD 衰减($r^2<0.1$) (Kb) LD decay($r^2<0.1$)	最小值 Min	最大值 Max	平均 Mean	中位数 Median	标准差 SD	峰度 Kurtosis	偏度 Skewness
1	120	410	0	1	0.062	0.008	0.152	13.871	3.605
2	320	1 000	0	1	0.088	0.009	0.201	6.198	2.690
3	130	620	0	1	0.067	0.007	0.169	10.411	3.264
4	100	500	0	1	0.061	0.008	0.152	13.999	3.648
5	270	990	0	1	0.082	0.008	0.187	7.887	2.903
6	85	350	0	1	0.064	0.008	0.160	11.833	3.435
7	90	440	0	1	0.052	0.008	0.141	17.750	4.069
8	220	820	0	1	0.068	0.008	0.169	11.335	3.378
9	340	1 990	0	1	0.122	0.011	0.240	2.903	2.069
10	70	340	0	1	0.070	0.010	0.165	11.326	3.351

2.3 苗期低温胁迫级别的全基因组关联分析及候选基因预测

利用全基因组24 042个高质量的SNP标记,应用TASSEL软件的MLM模型对296份国内外优良玉米自交系的苗期低温胁迫级别进行全基因组关联分析(图2),在 $P<0.000\ 1$ 的水平下,共检测到8个SNP

位点与苗期低温胁迫级别显著相关,其中1号染色体上有5个显著SNP位点;其次是4号染色体,有两个显著SNP位点;3号染色体上有1个显著SNP位点。位于1号染色体的marker.4930可解释的表型贡献率最高,为7.26%;4号染色体上的marker.12612可解释的表型贡献率最低,为5.14%。

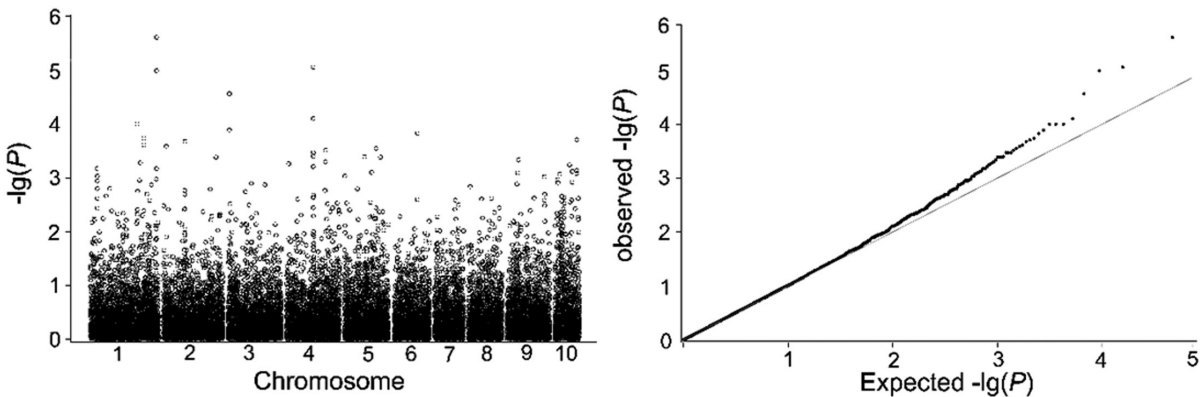


图2 基于混合线性模型苗期低温胁迫级别的关联分析

Fig.2 Genome-wide association analysis of low temperature stress levels based mixed linear model

利用 MaizeGDB 在 B73_RefGen_v4 参考基因组上显著 SNP 位点上下游 LD 区间内查找相关候选基因,共检测到 21 个基因(表 4),经功能注释筛选出 *Zm00001d032382* 和 *Zm00001d039513* 两个可能与苗期低温耐性相关的候选基因,其中 *Zm00001d032382* 编码产物是 MYB 类转录因子, *Zm00001d039513* 编码产物为生长素反应蛋白 IAA26,是 Aux/IAA 类转录因子。

表 4 与苗期低温胁迫级别显著相关的 SNP 及候选基因
Table 4 SNP and candidate genes significantly correlated with low temperature stress levels at seedling stage

序 号 No.	标 记 Marker	染色体 Chr.	位置(bp) Physical position	-Lg(p)	标记贡献率(%) Contribution	候选基因 Candidate gene
1	marker.3886	1	224 649 085	4.00	5.24	<i>Zm00001d032377</i> , <i>Zm00001d032378</i>
2	marker.3887	1	224 649 095	4.00	5.24	<i>Zm00001d032379</i> , <i>Zm00001d032380</i>
3	marker.3888	1	224 649 096	4.00	5.24	<i>Zm00001d032381</i> , <i>Zm00001d032382</i>
4	marker.4930	1	303 003 752	5.61	7.26	<i>Zm00001d034822</i> , <i>Zm00001d034823</i>
5	marker.4931	1	303 003 755	4.99	6.42	<i>Zm00001d034824</i> , <i>Zm00001d034825</i> , <i>Zm00001d034826</i>
6	marker.8340	3	6 292 053	4.56	6.00	<i>Zm00001d039512</i> , <i>Zm00001d039513</i> , <i>Zm00001d039514</i> , <i>Zm00001d039515</i> , <i>Zm00001d039516</i> , <i>Zm00001d039517</i> , <i>Zm00001d000470</i> , <i>Zm00001d000471</i>
7	marker.12609	4	129 477 532	5.06	6.44	<i>Zm00001d050904</i> ,
8	marker.12612	4	129 479 446	4.10	5.14	<i>Zm00001d050905</i>

3 结论与讨论

近年来,随着测序技术和统计算法的快速发展,GWAS 已成为解析作物重要农艺性状相关遗传变异机理和挖掘候选基因的最有效方法之一^[20-23]。与传统的连锁分析相比,GWAS 可以直接利用自然群体作为材料,具有丰富的等位基因多样性^[24-25]。与传统的双亲群体 QTL 定位相比,GWAS 因使用了更多的分子标记而能够检测到更多的 QTL。此外,GWAS 可同时分析多个环境和多个时间点的多个表型性状,其高通量测序和高精度显著提高了作物育种效率^[26-27]。因此 GWAS 极大地推进了玉米功能基因组学的遗传研究^[28]。Li 等^[29]利用 US-NAM 群体进行 GWAS,共检测出 90 个与玉米开花时间变异相关区域,其中,三分之一的区域与玉米花期的环境敏感性相关。Yang 等^[30]对 513 个玉米自交系组成的自然

群体进行 GWAS,筛选到与包括株高、种子形态和开花时间等在内 17 个农艺性状相关的 678 个 SNP,其中 54.3% 的 SNP 至少与两个以上的农艺性状相关。Samayoa 等^[31]采用 GWAS 鉴定出 39 个 SNP 与玉米粒腐病抗性显著相关。Wang 等^[32]对 143 个优良玉米自交系进行 GWAS 和转录组测序,检测到 15 个 SNP 与玉米白斑病抗性相关,其中 SYN10137-PZA00131.14 为提高玉米对白斑病抗性的关键区域。

玉米耐低温性是由多基因控制的复杂数量性状,不同时期抗性机制不同且极易受环境条件影响。同时,玉米具有较快的 LD 衰减速率,是全基因组关联分析的理想作物^[33]。Yang 等^[34]通过 GWAS 确定了玉米 ABC 转运体基因 *ZmMRPA6* 在玉米种子萌发过程中的耐寒性;在萌发期和苗期,*zmmrpa6* 突变体表现出更强的耐冷能力,说明 *ZmMRPA6* 在玉米响应低温过程中发挥了重要作用。Yi^[35]等采用

GWAS技术对836个玉米近交系进行评估,检测萌发期和苗期耐寒性的遗传位点,结果发现159个重要的耐低温性相关QTL。Zhang^[36]等利用14个种子萌发相关性状来评估222个玉米自交系的耐低温性,通过GWAS分析,共检测出30个与低温耐受性显著相关的SNP。马云^[37]等对190份玉米自交系的相对萌发率和相对萌发指数进行GWAS分析,挖掘到与耐低温萌发性状显著相关的候选基因*Zm00001eb272370*和*Zm00001eb272390*。

本研究通过对296份国内外优良玉米自交系进行GWAS,检测到与玉米苗期低温胁迫级别显著相关的SNP标记共8个,分别位于1、3和4号染色体上,其中位于1号染色体上的显著相关SNP共5个。前人研究中,董潇潇^[38]利用GWAS研究了340份玉米自交系苗期耐低温性,在1和4号染色体上发现了17个候选基因。孟爱菊^[39]通过对238份玉米自交系的18个耐低温相关性状进行GWAS,共筛选出47个与苗期耐低温性显著相关的SNP位点,在两个表型性状中检测到一致性SNP位点6个,其中5个SNP位于3号染色体的PZE-103174386和PZE-103174950之间。研究结果均表明,玉米耐低温相关QTL具有成簇分布的特点,验证了玉米中QTL的富集现象^[40-42],原因很可能是一因多效,其结果为获得玉米抗逆基因富集区域提供了一定的参考,对今后玉米耐低温标记开发、开展分子标记辅助选择实践具有指导意义。此外,研究者在5、6、7、8、9、10号染色体上也发现了与玉米耐低温性相关的SNP或QTL^[43-46],说明采用不同关联群体和统计方法进行玉米耐低温性QTL定位,所获得的耐低温性相关SNP或者QTL广泛分散于玉米10条染色体上^[47]。本研究中位于第1号染色体的marker.4930可解释的表型贡献率最高,为7.26%;4号染色体上的marker.12612可解释的表型贡献率最低,为5.14%。相关研究进一步证明,玉米耐低温性是由微效多基因控制的复杂数量性状,存在单个QTL贡献率低的情况,因此采用基因聚合或多个分子标记筛选鉴定对于进行玉米耐低温性遗传改良是行之有效的策略。

本研究以苗期低温胁迫级别为检测指标,对296份国内外优良玉米自交系进行GWAS,结果共筛选出显著相关SNP标记8个,分别位于第1、3和4号染色体上,可解释的表型贡献率为5.14%~7.26%,挖掘到候选基因*Zm00001d032382*和*Zm00001d039513*,可能与苗期低温耐性相关。

参考文献:

[1] YU T, ZHANG J G, CAO J S, et al. A meta-analysis of low tempera-

ture tolerance QTL in maize[J]. *Electronic Journal of Biotechnology*, 2022, 58: 82-91.

- [2] YU T, ZHANG J G, CAO J S, et al. Leaf transcriptomic response mediated by cold stress in two maize inbred lines with contrasting tolerance levels[J]. *Genomics*, 2021, 113(2): 782-794.
- [3] SAHITO J H, ZHANG H, GISHKORI Z G N, et al. Advancements and prospects of genome-wide association studies(GWAS) in maize[J]. *Int J. Mol Sci.*, 2024, 5: 1918.
- [4] FRACHEBOUD Y, RIBAUT J M, VARGAS M, et al. Identification of quantitative trait loci for cold-tolerance of photosynthesis in maize (*Zea mays* L.)[J]. *J. Exp Bot*, 2002, 53: 1967-1977.
- [5] HU S, LÜBBERSTEDT T, ZHAO G, et al. QTL mapping of Low-Temperature germination ability in the maize IBM Syn4 RIL population[J]. *PLoS One*, 2016, 31: e0152795.
- [6] 沈 瑶. 基于IBM Syn10 DH群体的玉米种子耐低温萌发性状的QTL定位[D]. 杭州:浙江农林大学, 2021.
- [7] SHIKHA K, SHAHI J P, VINAYAN M T, et al. Genome-wide association mapping in maize: status and prospects[J]. *Biotech*, 2021, 11: 244.
- [8] YU T, ZHANG J G, CAO J S, et al. Identification of multiple genetic loci related to low temperature tolerance during germination in maize (*Zea mays* L.) through a genome-wide association study[J]. *Curr. Issues Mol. Biol*, 2023, 45: 9634-9655.
- [9] REVILLA P, RODRÍGUEZ V M, ORDÁS A, et al. Association mapping for cold tolerance in two large maize inbred panels[J]. *BMC Plant Biol*, 2016, 6: 127.
- [10] JIN Y, ZHANG Z, XI Y, et al. Identification and functional verification of cold tolerance genes in spring maize seedlings based on a genome-wide association study and quantitative trait locus mapping[J]. *Front. Plant Sci.*, 2021, 12: 776972.
- [11] HU G H, LI Z, LU Y C, et al. Genome-wide association study identified multiple genetic loci on chilling resistance during germination in maize[J]. *Sci. Rep.*, 2017, 7: 10840.
- [12] YAN J, WU Y, LI W, et al. Genetic mapping with test crossing associations and F_{23} populations reveals the importance of heterosis in chilling tolerance at maize seedling stage[J]. *Sci. Rep.*, 2017, 7: 427-428.
- [13] ZHANG Y, LIU P, WANG C, et al. Genome-wide association study uncovers new genetic loci and candidate genes underlying seed chilling-germination in maize[J]. *PeerJ*, 2021, 9: e11707.
- [14] LI X H, WANG G H, FU J J, et al. QTL mapping in three connected populations reveals a set of consensus genomic regions for low temperature germination ability in *Zea mays* L.[J]. *Front. Plant Sci.*, 2018, 9: 65-72.
- [15] LEIPNER J, MAYER E. QTL mapping in maize seedlings reveals little relevance of C_4 cycle enzymes and antioxidants for genotypic differences in chilling tolerance of photosynthesis[J]. *Maydica*, 2008, 53(1): 269-277.
- [16] TEAM R C. R: A language and environment for statistical computing[J]. *Computing*, 2013(1): 12-21.
- [17] FRICHOT E, FRANCOIS O. LEA: an R package for landscape and ecological association studies[J]. *Methods in Ecology & Evolution*, 2015, 6(8): 925-929.

- [18] GAUT B S, LONG A D. The lowdown on linkage disequilibrium[J]. *Plant Cell*, 2003, 15(7): 1502–1506.
- [19] YU J M, PRESSOIR G, BRIGGS W H, et al. A unified mixed model method for association mapping that accounts for multiple levels of relatedness[J]. *Nat Genet*, 2006, 38(2): 203–208.
- [20] WANG Q, TANG J, HAN B, et al. Advances in genome-wide association studies of complex traits in rice[J]. *Theor. Appl. Genet*, 2020, 3: 1415–1425.
- [21] ALSEKH S, KOSTOVA D, BULUT M, et al. Genome-wide association studies: Assessing trait characteristics in model and crop plants[J]. *Cell Mol. Life Sci.*, 2021, 8: 5743–5754.
- [22] SAINI D K, CHOPRA Y, SINGH J, et al. Comprehensive evaluation of mapping complex traits in wheat using genome-wide association studies[J]. *Mol. Breed*, 2021, 42: 1.
- [23] XIAO Y, LIU H, WU L, et al. Genome-wide association studies in maize: praise and stargaze[J]. *Mol. Plant*, 2017, 10: 359–374.
- [24] WENG J F, XIE C X, HAO Z F, 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: e29229.
- [25] HUANG X H, ZHAO Y, WEI X H, et al. Genome-wide association study of flowering time and grain yield traits in a worldwide collection of rice germplasm[J]. *Nat. Genet*, 2012, 44: 32–39.
- [26] XIAO Q, BAI X, ZHANG C, et al. Advanced high-throughput plant phenotyping techniques for genome-wide association studies: A review[J]. *J. Adv. Res*, 2021, 35: 215–230.
- [27] GUPTA P K, KULWAL P L, JAISWAL V. Association mapping in plants in the post-GWAS genomics era[J]. *Adv. Genet*, 2019, 104: 75–154.
- [28] WANG B, LIN Z, LI X, et al. Genome-wide selection and genetic improvement during modern maize breeding[J]. *Nat. Genet*, 2020, 52: 565–571.
- [29] LI Y X, LI C, BRADBURY P J, et al. Identification of genetic variants associated with maize flowering time using an extremely large multi-genetic background population[J]. *Plant J.*, 2016, 86: 391–402.
- [30] YANG N, LU Y, YANG X, et al. Genome wide association studies using a new nonparametric model reveal the genetic architecture of 17 agronomic traits in an enlarged maize association panel[J]. *PLoS Genet*, 2014, 10: e1004573.
- [31] SAMAYOA L F, CAO A, SANTIAGO R, et al. Genome-wide association analysis for fumonisin content in maize kernels[J]. *BMC Plant Biol*, 2019, 19: 166.
- [32] WANG D, HE Y, NIE L, et al. Integrated IBD analysis, GWAS analysis and transcriptome analysis to identify the candidate genes for white spot disease in maize[J]. *Int. J. Mol. Sci.*, 2023, 24: 10005.
- [33] 刘志鹏. 玉米12个农艺性状的全基因组关联分析及玉米氮响应相关基因的鉴定[D]. 北京: 中国农业大学, 2015.
- [34] YANG W, LIU X, YU S, et al. The maize ATP-binding cassette (ABC) transporter ZmMRPA6 confers cold and salt stress tolerance in plants[J]. *Plant Cell Rep*, 2023, 43: 13.
- [35] YI Q, ÁLVAREZ-IGLESIAS L, MALVAR R A, et al. A worldwide maize panel revealed new genetic variation for cold tolerance[J]. *Theor Appl Genet*, 2021, 134: 1083–1094.
- [36] ZHANG H, ZHANG J, XU Q, et al. Identification of candidate tolerance genes to low-temperature during maize germination by GWAS and RNA-seq approaches[J]. *BMC Plant Biol*, 2020, 20: 333.
- [37] 马云, 姚兰, 赵久然, 等. 用新建玉米群体进行全基因组关联分析耐低温萌发性状[C]. 中国作物学会. 第二十届中国作物学会学术年会论文摘要集, 2023.
- [38] 董潇潇. 玉米萌发期和苗期耐冷基因的初步鉴定与分析[D]. 武汉: 华中农业大学, 2023.
- [39] 孟爱菊. 玉米耐低温萌发相关性状全基因组关联分析及候选基因功能研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2023.
- [40] TUBEROSA R, SALVI S, SANGUINETI M C, et al. Mapping QTL regulating morpho-physiological traits and yield: Case studies, shortcomings and perspectives in drought-stressed maize[J]. *Annals of Botany*, 2002, 89(7): 941–963.
- [41] 严建兵, 汤华, 黄益勤, 等. 玉米和水稻重要性状 QTL 的比较研究[J]. *遗传学报*, 2005, 31(12): 1401–1407.
- YAN J B, TANG H, HUANG Y Q, et al. Comparative analyses of QTL for important agronomic traits between maize and rice[J]. *Journal of Genetics and Genomics*, 2005, 31(12): 1401–1407. (in Chinese)
- [42] 汤华, 严建兵, 黄益勤, 等. 玉米5个农艺性状的QTL定位[J]. *遗传学报*, 2005, 32(2): 203–209.
- TANG H, YAN J B, HUANG Y Q, et al. QTL mapping of five agronomic traits in maize[J]. *Journal of Genetics and Genomics*, 2005, 32(2): 203–209. (in Chinese)
- [43] HAN Q, ZHU Q, SHEN Y, et al. QTL mapping low-temperature germination ability in the maize IBM syn10 DH population[J]. *Plants(Basel)*, 2022, 11: 214.
- [44] HUANG J, ZHANG J, LI W, et al. Genome-wide association analysis of ten chilling tolerance indices at the germination and seedling stages in maize[J]. *J. Integr. Plant Biol*, 2013, 55: 735–744.
- [45] YI Q, MALVAR R A, ÁLVAREZ-IGLESIAS L, et al. Dissecting the genetics of cold tolerance in a multiparental maize population[J]. *Theor Appl Genet*, 2020, 133: 503–516.
- [46] SHIKHA K, MADHUMAL THAYIL V, SHAHI J P, et al. Genomic-regions associated with cold stress tolerance in Asia-adapted tropical maize germplasm[J]. *Sci. Rep.*, 2023, 13: 6297.
- [47] HU S, LÜBBERSTEDT T, ZHAO G, et al. QTL Mapping of Low-Temperature germination ability in the maize IBM Syn4 RIL population[J]. *PLoS One*, 2016, 11: e0152795.

(责任编辑: 朴红梅)