

# 玉米卷叶突变体 *rol1* 的遗传分析与基因定位

刘 慧,牟颖熙,王国英,郑 军

(中国农业科学院作物科学研究所,北京 100081)

**摘要:**叶型是作物理想株型育种的关键因素之一,发掘叶片发育相关基因对作物理想株型育种以及叶片发育的分子遗传机理研究具有重要意义。在玉米转座子 Mutator 活性系的杂交后代中,鉴定到一个玉米叶片卷曲的突变体,命名为 *rol1*。突变体 *rol1* 在拔节期可明显观察到叶片内卷的表型,遗传分析表明,该卷叶表型受单隐性基因控制。将玉米骨干自交系 B73 和 *rol1* 杂交,构建遗传定位群体,利用 BSR-Seq 技术,对  $F_2$  分离群体中的卷叶和展叶表型单株分别取样混池,进行转录组测序,将 *Roll* 基因粗略地定位在玉米第 5 号染色体 165~185 Mb 区间内。进一步利用遗传分离群体中的卷叶表型单株缩小定位区间,将 *Roll* 基因定位在 SSR 标记 *umc1822* 和 *umc1155* 之间,物理距离为 5 Mb。本研究为 *Roll* 基因的克隆和功能研究奠定了基础。

**关键词:**玉米;卷叶;突变体;基因定位

## Genetic Analysis and Low-resolution Mapping of Maize Mutant Rolled Leaf *rol1*

LIU Hui, MOU Ying-xi, WANG Guo-ying, ZHENG Jun

(Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081)

**Abstract:** Leaf shape is one of the factors important for crop architecture, and uncovering the genes that control the leaf shape development is of interest in breeding for ideal plant architecture and also in basic theory research. By screening the maize mutant library generated from Mutator active hybrid lines, we identified a rolling leaf mutant *rol1*, which showed dramatic rolling phenotype on its leaves toward the adaxial side at the elongation stage. Genetic analysis indicated that the rolling leaf phenotype was controlled by a single recessive gene.  $F_2$  segregation population was constructed derived from a cross of inbred line B73 and *rol1*. The *Roll* gene was roughly mapped to the physical interval of 165-185 Mb on the chromosome 5 by BSR-Seq strategy, by sequencing the mutant and wild type pool derived from  $F_2$  population. Furthermore, we narrowed down the candidate region to a 5 Mb interval between SSR markers *umc1822* and *umc1155*. Thus, these results provided useful and confident information for cloning and functional characterization of *Roll* gene in the future.

**Key words:** maize; rolled leaf; mutant; gene mapping

玉米作为我国第一大作物,提高玉米产量对保障我国粮食安全具有重要意义。叶片作为主要的光合器官,通过调节光合作用影响植物的生长发育,所以叶型在理想株型育种中是一个非常重要的农艺性状。叶片适度卷曲能够通过维持植株直立姿势,降

低群体间的遮阴性,来提高植物的光能利用率,进而获得高产。因此,对玉米卷叶相关基因进行克隆和功能研究,对玉米株型研究和提高玉米产量具有重要意义。

根据叶片卷曲的原因可将卷叶分为:环境应

收稿日期:2018-02-08 修回日期:2018-03-08 网络出版日期:2018-07-18

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20180718.1110.001.html>

基金项目:中国农业科学院创新工程专项经费资助

第一作者 研究方向为玉米分子遗传育种。E-mail: huiliu0913@163.com

通信作者:郑军,研究方向为玉米分子遗传育种。E-mail: zhengjun02@caas.cn

答型卷叶和遗传调控型卷叶。环境控制的卷叶表型往往是可逆的,该表型受某些特定的环境因素诱导如干旱胁迫、高光强和高温。在水分胁迫下,卷叶可以减小气孔导度降低水分散失<sup>[1]</sup>。水分胁迫一旦解除,泡状细胞吸水,细胞膨压升高,气孔打开,叶片进而伸展<sup>[2-3]</sup>。遗传控制的卷叶表型,受一个或多个隐形基因调节,有的则受不完全显性单基因调控。在对拟南芥、金鱼草、水稻和玉米等叶发育突变体的研究中,发现卷叶相关基因大多参与了叶片近-远轴极性的建立。叶片近-远轴极性的特异性依赖于调控基因的时空特异性表达,其中 *HD-ZIP II/III*、*KANADI (KAN)* 和 *YABBY (YAB)* 等基因家族以及 *mi-RNA165/166* 等因子参与了该调控过程<sup>[1,4-5]</sup>。在拟南芥中 *HD-ZIP III* 基因家族主要有 5 个成员,其中 *PHABULOSA (PHB)*、*PHAVOLUTA (PHV)* 和 *REVOLUTA (REV)* 主要在茎顶端分生组织和叶近轴面表达<sup>[4]</sup>。拟南芥 *HD-ZIP III* 功能获得突变体,植株茎的维管组织分化异常,侧生器官近轴化分化,叶片不再平展<sup>[6-7]</sup>。玉米 *Rld1 (Rolled leaf1)* 编码 *HD-ZIP III* 转录因子,*Rld1* 突变后其转录本在远轴端不能为 *mi-RNA166* 识别切割,导致叶片远轴端细胞呈现近轴端分化,叶片出现内卷表型<sup>[8-9]</sup>。*HD-ZIP III* 限定在叶片近轴面表达受 *mi-RNA165/166* 负调控,而 *mi-RNA165/166* 表达则限定在远轴端,两者共同决定了叶片近轴端极性的建立。*KANADI* 突变后,植株侧生器官的远轴端出现近轴端分化,叶片极性遭到破坏<sup>[10]</sup>。植物特异的 *YABBY* 基因在叶原基中呈不对称表达,参与了叶片极性的建立与维持<sup>[11-12]</sup>。玉米 *YABBY* 基因突变体 *dr1 (drooping leaf1)*, 叶片长度、宽度,叶夹角,节间长度和直径发生了变化,并且 *dr12* 加剧了这一表型<sup>[13]</sup>。*KANADI* 和 *YABBY* 表达受 *HD-ZIP III* 负调控,决定了叶片远轴端细胞的发育。从分子层面上,叶片近远轴极性的建立与维持受转录因子和小 RNA 分子间拮抗性调控。

本实验室在玉米转座子 *Mutator* 活性系的杂交后代中,发现了一份玉米卷叶突变体,命名为 *roll (rolled leaf1)*。在玉米拔节期突变体 *roll* 明显表现为叶片内卷褶皱,且该表型在自交多代后仍能够稳定遗传。本研究对该突变体进行遗传分析和基因的初定位,为进一步基因克隆和功能研究奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

玉米卷叶突变体筛选自玉米转座子 *Mutator* 活性系的杂交后代,多代自交,卷叶表型可稳定遗传。将玉米骨干自交系 B73 和 *roll* 杂交, $F_1$  再自交后,获得  $F_2$  遗传分离群体。

### 1.2 表型统计与分析

2014 年夏季在北京种植  $F_2$  遗传分离群体,以叶片内卷褶皱为指标,在拔节后后期对分离群体进行表型鉴定并记录。卡方测验由 SAS 9.3 软件分析。

### 1.3 *Roll* 基因的初定位

采用 BSR-Seq 方法对目的基因进行初定位<sup>[14]</sup>。从分离群体中分别选取约 30 株卷叶表型单株和相应数目的正常表型单株,分别取等量叶片混合,构建突变体池与正常样品池。分别提取总 RNA,在北京贝瑞和康生物技术有限公司利用 HiSeq2000 仪器完成转录组测序。参考 BSR-Seq 方法分析流程<sup>[14]</sup>,对两个样本的测序结果进行分析,利用与突变体性状连锁的 SNP 标记进行 *Roll* 基因定位,根据计算结果分析得出 *Roll* 基因的初定位区间。

### 1.4 进一步缩小 *Roll* 基因定位区间

在  $F_2$  遗传分离群体中,鉴定卷叶表型单株。采用 CTAB 法提取亲本、 $F_1$  和  $F_2$  群体中卷叶表型单株 DNA。从 <http://www.maizegdb.org> 网站中,选择均匀分布在 *Roll* 基因初定位区间附近的 63 对 SSR 标记,在亲本间进行多态性分析,选择多态性标记用于基因定位。PCR 反应体系为 10  $\mu$ L,包含 2  $\times$  Taq buffer 5  $\mu$ L,模板 1  $\mu$ L (100 ng 左右),primer F 0.5  $\mu$ L (10  $\mu$ mol/L),primer R 0.5  $\mu$ L (10  $\mu$ mol/L),ddH<sub>2</sub>O 3  $\mu$ L。PCR 反应程序:94  $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 94  $^{\circ}$ C 变性 30 s,58  $^{\circ}$ C 退火 30 s,72  $^{\circ}$ C 延伸 30 s,32 ~ 35 个循环;72  $^{\circ}$ C 充分延伸 7 min。PCR 扩增结束后,取 1  $\mu$ L 产物进行 6% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳,最后银染检测<sup>[15]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 *roll* 突变体田间表型

大田种植卷叶突变体 *roll*,田间调查发现,在玉米拔节期能够明显观察到卷叶突变体 *roll* 的卷叶表型,表现为叶片中上部内卷褶皱(图 1),并且干旱环境下 *roll* 的卷叶表型会加剧。

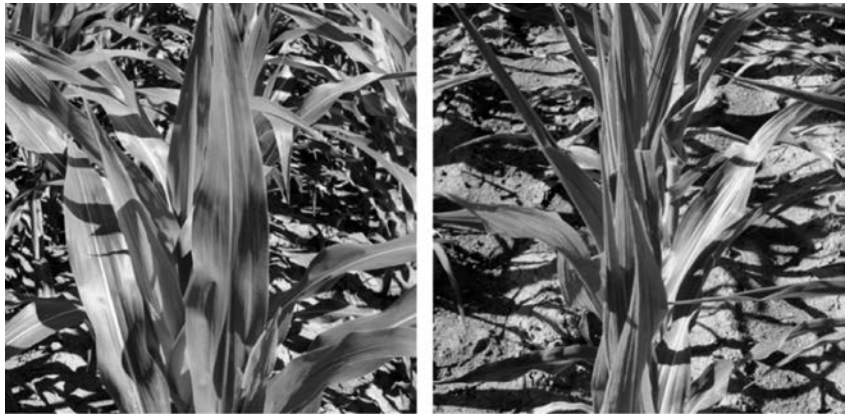


图 1 B73(左)和 *roll1* 突变体(右)田间表型表现

Fig. 1 Left is B73 and right is *roll1* mutant in the field

2.2 *roll1* 卷叶突变体的遗传分析

突变体 *roll1* 与自交系 B73 杂交的  $F_1$  植株叶片发育正常,表型为平展叶。将  $F_2$  分离群体种植在北京顺义,拔节期进行表型调查,来自于一个单穗的

212 个后代中,鉴定到 49 个卷叶单株;从来自另一个单穗的 60 个后代单株中,鉴定到 16 个卷叶单株。卡方测验表明,该分离比符合 3:1 孟德尔遗传分离比例(表 1),说明单隐性基因控制该表型。

表 1 卡方测验和  $F_2$  群体卷叶分离情况

Table 1 Chi-Square test and segregation analysis of leaf rolling phenotype in  $F_2$  segregation population

群体 Population	总株数 Total number	展叶数 No. of flat leaves	卷叶数 No. of rolled leaves	比例 Ratio	P 值 P value	$\chi^2$	是否符合 Whether fit to expected
(B73 × <i>roll1</i> ) $F_2$ - 1#	212	163	49	3 : 1	0.5258	0.4	符合
(B73 × <i>roll1</i> ) $F_2$ - 2#	60	44	16	3 : 1	0.7656	0.09	符合

2.3 *Roll1* 基因定位

采用集团分离分析法(Bulked Segregant Analysis),从  $F_2$  分离群体内中选择卷叶单株和平展叶单株各 30 株,混样构建两个表型池。分别提取总 RNA,进行转录组测序。按照 BSR-Seq 流程分析,结果表明,在 10 条玉米染色体中,只有 5 号染色体能够检测到一个极显著的峰(图 2A),粗略将 *Roll1* 基因定位在 165 ~ 185 Mb 的区间内(图 2B)。

2.4 进一步缩小 *Roll1* 基因定位区间

结合 BSR-Seq 定位分析结果,在 5 号染色体 165 ~ 185 Mb 区间内筛选多态性分子标记。63 个 SSR 标记中,有 13 个标记在亲本间存在多态性(图 3)。

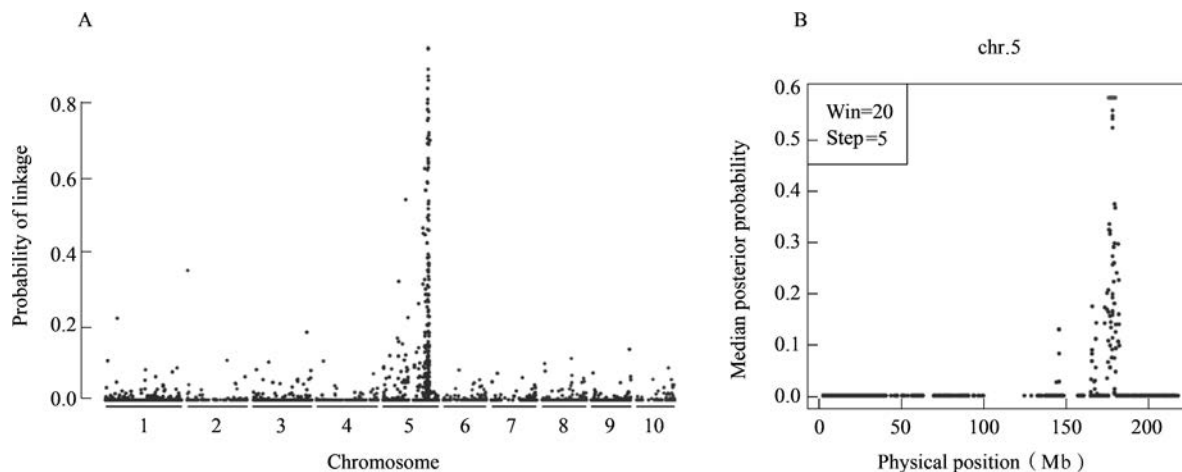
进一步用这 13 对 SSR 标记,对  $F_2$  群体中分离出的 78 个卷叶表型单株,提取 DNA,进行基因型鉴定。对鉴定结果汇总,发现交换单株数目从左(*umc1349*)到右(*umc1822*)呈现递减趋势;而交换单株数目从右(*bnlg278*)到左(*umc1155*)呈现递减趋势。最终,分别在 *umc1822* 和 *umc1155* 标记处,

检测到最少的交换单株,说明 *Roll1* 基因位于这两个 SSR 标记之间。*umc1822* 位于 5 号染色体 175 Mb 位置,*umc1155* 位于 5 号染色体 180 Mb 位置,因此 *Roll1* 基因定位的物理区间为 175 ~ 180 Mb,区间距离约为 5 Mb(图 4)。

3 讨论

目前,对叶片近-远轴极性发育的研究较为清楚。叶片近-远轴组织或细胞的改变,往往会造成叶片形态的异常。根据已解析的卷叶突变体,可以将调控因子分成三大类:转录因子、小 RNA 和酶<sup>[16-18]</sup>。调节因子主要在叶片近远轴极性建立、维持和细胞分化两个层面上,影响叶片卷曲。水稻 *SLLI* (*SHALLOT-LIKE1*) 编码 SHAQKYF 型 MYB 转录因子,*SLLI* 突变后水稻叶片远轴端叶肉细胞不能进行程序化死亡,远轴端厚壁组织异常,叶片极性破坏,出现极度内卷的表型<sup>[18]</sup>。*SRLI* (*SEMI-ROLLED LEAF1*) 通过负调控液泡 H<sup>+</sup>-ATP 酶亚基和 H<sup>+</sup>-

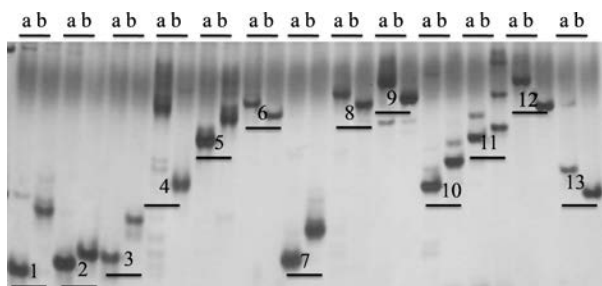




A: 连锁概率分布图,横坐标代表 SNP 在 1~10 号染色体上物理位置,纵坐标代表 SNP 与突变基因位点的连锁概率值;  
B: *Rol1* 基因在 5 号染色体的定位区段,横坐标代表 SNP 的物理位置(Mb),纵坐标代表每 20 个 SNP 与突变基因位点的连锁概率中值  
A: Linkage probability distribution graph, horizontal axis indicates the physical position of SNP marker on chromosome 1-10, vertical axis indicates the probability of each SNP marker being in complete linkage disequilibrium with the causal gene,  
B: Mapping interval of *Rol1* on chromosome 5, horizontal axis indicates the physical position of SNP marker(Mb), vertical axis indicates the median probability of twenty SNP markers being in complete linkage disequilibrium with the causal gene

图 2 BSR-seq 定位 *Rol1* 结果分析

Fig. 2 Mapping of *Rol1* via BSR-seq



1-13:13 对 SSR 标记;a 孔道是 rol1,b 孔道是 B73  
1-13:13 pairs of SSR markers, line a is rol1 and line b is B73

图 3 亲本间多态性的 SSR 标记图

Fig. 3 Polymorphic SSR markers between parents

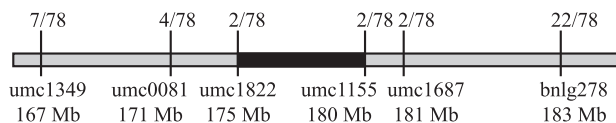


图 4 *Rol1* 基因初定位

Fig. 4 Low resolution mapping of *Rol1*

焦磷酸酶,抑制泡状细胞的形成,从而调控水稻叶片卷曲<sup>[19]</sup>。禾本科植物特有的,高度液泡化的泡状细胞,能够通过调节胞内膨压调节叶片伸展卷缩<sup>[20]</sup>。对水稻叶片内卷突变体 *cow1* (constitutively wilted1) 的研究表明,皱缩的泡状细胞与突变体蒸腾速率降低、膨压减小相关<sup>[21]</sup>。2OG-Fe (II) 加氧酶基因 *R114* 突变后,植株厚壁组织不能形成正常

的次生壁,水分运输受阻,泡状细胞皱缩,叶片也会出现内卷的表型<sup>[17]</sup>。在水稻 BY240 突变体中, *ACLI* (*Abaxially Curled Leaf1*) 基因过表达,泡状细胞数目增多体积变大,近轴端和远轴端细胞生长失调,叶片出现外卷的表型<sup>[22]</sup>。除了泡状细胞,气孔通过蒸腾作用也参与了叶片卷曲的调节。正是通过这种多层的调控网络,植物在不同的生长环境下,自发地调整叶片形态,最大限度地提高光能利用率。目前已从水稻中克隆了 30 多个卷叶基因,并且有的已经用于作物遗传改良<sup>[1]</sup>。这使得进行玉米卷叶基因基础理论研究,并开展理想株型改造显得更为迫切。

自从 2009 年玉米 B73 基因组序列信息公布以来<sup>[23]</sup>,越来越多的玉米基因组数据库相继释放,为科研工作者开展玉米基因组的功能研究提供了便利。基于二代测序的 BSR-seq 技术,是快速获得基因组庞大、结构复杂物种的转录本信息以及分子标记的有效手段<sup>[24]</sup>。本研究以玉米卷叶突变体 *rol1* 为研究材料,利用 BSR-seq 技术和图位克隆的方法将 *Rol1* 基因定位在 5 号染色体 175~180 Mb 区间。通过玉米基因组数据库检索,在此区间内没有发现玉米卷叶相关基因的报道。此外,还创建了大约 12000 个单株的分离群体,结合 SNP 分子标记,用于 *Rol1* 基因的精细定位。同时,还构建了 B73 背景的 *rol1* 高代回交近等基因系,用于 *rol1* 突变体的表型

分析。本研究为进一步克隆并解析 *Roll* 基因奠定了基础,同时为阐明玉米卷叶的分子遗传机制提供理论依据。

### 参考文献

- [1] Zhang J, Zhang H, Srivastava A K, Pan Y, Bai J, Fang J, Shi H, Zhu J K. Knock-down of rice microRNA166 confers drought resistance by causing leaf rolling and altering stem xylem development. *Plant Physiology*, 2018, 176 (3): 2082-2094
- [2] Toole J C, Cruz R T. Response of leaf water potential, stomatal resistance, and leaf rolling to water stress. *Plant Physiology*, 1980, 65(3): 428-432
- [3] Price A H, Young E M, Tomos A D. Quantitative trait loci associated with stomatal conductance, leaf rolling and heading date mapped in upland rice (*Oryza sativa*). *New Phytologist*, 1997, 137(1): 83-91
- [4] Emery J F, Floyd S K, Alvarez J, Eshed Y, Hawker N P, Izhaki A, Baum S F, Bowman J L. Radial patterning of arabidopsis shoots by class III HD-ZIP and KANADI genes. *Current Biology*, 2003, 13(20): 1768-1774
- [5] Merelo P, Ram H, Pia Caggiano M, Ohno C, Ott F, Straub D, Graeff M, Cho S K, Yang S W, Wenkel S. Regulation of MIR165/166 by class II and class III homeodomain leucine zipper proteins establishes leaf polarity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2016, 113(42): 11973-11978
- [6] McConnell J R, Emery J, Eshed Y, Bao N, Bowman J, Barton M K. Role of PHABULOSA and PHAVOLUTA in determining radial patterning in shoots. *Nature*, 2001, 411: 709
- [7] Ochando I, Gonzalez-Reig S, Ripoll J J, Vera A, Martinez-Laborda A. Alteration of the shoot radial pattern in Arabidopsis thaliana by a gain-of-function allele of the class III HD-Zip gene INCURVATA4. *The International Journal of Developmental Biology*, 2008, 52(7): 953-961
- [8] Juarez M T, Kui J S, Thomas J, Heller B A, Timmermans M C P. MicroRNA-mediated repression of rolled leaf1 specifies maize leaf polarity. *Nature*, 2004, 428: 84
- [9] Nelson J M, Lane B, Freeling M. Expression of a mutant maize gene in the ventral leaf epidermis is sufficient to signal a switch of the leaf's dorsoventral axis. *Development*, 2002, 129(19): 458
- [10] Kerstetter R A, Bollman K, Taylor R A, Bomblies K, Poethig R S. KANADI regulates organ polarity in Arabidopsis. *Nature*, 2001, 411: 706
- [11] Siegfried K R, Eshed Y, Baum S F, Otsuga D, Drews G N, Bowman J L. Members of the YABBY gene family specify abaxial cell fate in Arabidopsis. *Development*, 1999, 126(18): 4117
- [12] Sarojam R, Sappl P G, Goldshmidt A, Efroni I, Floyd S K, Eshed Y, Bowman J L. Differentiating arabidopsis shoots from leaves by combined YABBY activities. *The Plant Cell*, 2010, 22(7): 2113-2130
- [13] Strable J, Wallace J G, Unger-Wallace E, Briggs S, Bradbury P J, Buckler E S, Vollbrecht E. Maize YABBY genes drooping leaf1 and drooping leaf 2 regulate plant architecture. *The Plant Cell*, 2017, 29(7): 1622-1641
- [14] Liu S, Yeh C T, Tang H M, Nettleton D, Schnable P S. Gene mapping via bulked segregant RNA-Seq (BSR-Seq). *PLoS One*, 2012, 7: e36406
- [15] 牟颖熙, 刘艳, 王国英, 郑军. 一个玉米早敏感突变体的遗传分析与基因定位. *植物遗传资源学报*, 2014, 15(3): 615-619
- [16] Moon J, Hake S. How a leaf gets its shape. *Current Opinion in Plant Biology*, 2011, 14: 24-30
- [17] Fang L, Zhao F, Cong Y, Sang X, Du Q, Wang D, Li Y, Ling Y, Yang Z, He G. Rolling-leaf14 is a 2OG-Fe (II) oxygenase family protein that modulates rice leaf rolling by affecting secondary cell wall formation in leaves. *Plant Biotechnology Journal*, 2012, 10(5): 524-532
- [18] Zhang G H, Xu Q, Zhu X D, Qian Q, Xue H W. SHALLOT-LIKE1 Is a KANADI transcription factor that modulates rice leaf rolling by regulating leaf abaxial cell development. *The Plant Cell*, 2009, 21: 719-35
- [19] Xiang J J, Zhang G H, Qian Q, Xue H W. SEMI-ROLLED LEAF1 encodes a putative glycosylphosphatidylinositol-anchored protein and modulates rice leaf rolling by regulating the bulliform cells. *Plant Physiology*, 2012, 159: 1488-100
- [20] 王元军. 禾本科植物的泡状细胞. *生物学教学*, 2005, 30(11): 7-9
- [21] Woo Y M, Park H J, Su'udi M, Yang J I, Park J J, Back K, Park Y M, An G. Constitutively wilted 1, a member of the rice YUCCA gene family, is required for maintaining water homeostasis and an appropriate root to shoot ratio. *Plant Molecular Biology*, 2007, 65(1): 125-136
- [22] Li L, Shi Z Y, Li L, Shen G Z, Wang X Q, An L S, Zhang J L. Overexpression of ACL1 (abaxially curled leaf 1) increased bulliform cells and induced abaxial curling of leaf blades in rice. *Molecular Plant*, 2010, 3(5): 807-817
- [23] Schnable P S, Ware D, Fulton R S, Stein J C, Wei F, Pasternak S, Liang C, Zhang J, Fulton L, Graves T A, Minx P, Reilly A D, Courtney L, Kruchowski S S, Tomlinson C, Strong C, Delhaunt K, Fronck C, Courtney B, Rock S M, Belter E, Du F, Kim K, Abbott R M, Cotton M, Levy A, Marchetto P, Ochoa K, Jackson S M, Gillam B, Chen W, Yan L, Higginbotham J, Cardenas M, Waligorski J, Applebaum E, Phelps L, Falcone J, Kanchi K, Thane T, Scimone A, Thane N, Henke J, Wang T, Ruppert J, Shah N, Rotter K, Hodges J, Ingenthron E, Cordes M, Kohlberg S, Sgro J, Delgado B, Mead K, Chinwalla A, Leonard S, Crouse K, Collura K, Kudrna D, Currie J, He R, Angelova A, Rajasekar S, Mueller T, Lomeli R, Scara G, Ko A, Delaney K, Wissotski M, Lopez G, Campos D, Braidotti M, Ashley E, Golser W, Kim H, Lee S, Lin J, Dujmic Z, Kim W, Talag J, Zuccolo A, Fan C, Sebastian A, Kramer M, Spiegel L, Nascimento L, Zutavern T, Miller B, Ambroise C, Muller S, Spooner W, Narechania A, Ren L, Wei S, Kumari S, Faga B, Levy M J, McMahan L, Van Buren P, Vaughn M W, Ying K, Yeh C T, Emrich S J, Jia Y, Kalyanaraman A, Hsia A P, Barbazuk W B, Baucom R S, Brutnell T P, Carpita N C, Chaparro C, Chia J M, Deragon J M, Estill J C, Fu Y, Jeddellah J A, Han Y, Lee H, Li P, Lisch D R, Liu S, Liu Z, Nagel D H, McCann M C, SanMiguel P, Myers A M, Nettleton D, Nguyen J, Penning B W, Ponnala L, Schneider K L, Schwartz D C, Sharma A, Soderlund C, Springer N M, Sun Q, Wang H, Waterman M, Westerman R, Wolfgruber T K, Yang L, Yu Y, Zhang L, Zhou S, Zhu Q, Bennetzen J L, Dawe R K, Jiang J, Jiang N, Presting G G, Wessler S R, Aluru S, Martienssen R A, Clifton S W, McCombie W R, Wing R A, Wilson R K. The B73 maize genome: complexity, diversity, and dynamics. *Science*, 2009, 326: 1112-1115
- [24] Li L, Li D, Liu S, Ma X, Dietrich C R, Hu H C, Zhang G, Liu Z, Zheng J, Wang G, Schnable P S. The Maize glossy13 gene, cloned via BSR-Seq and Seq-Walking encodes a putative ABC transporter required for the normal accumulation of epicuticular waxes. *PLoS One*, 2013, 8(12): e82333