

玉米黄化突变基因 *Zmet 9* 的精细定位

李永生, 王晓娟, 连晓荣, 梁根生, 何海军, 杨彦忠, 周文期, 董小云, 周玉乾, 刘忠祥

(甘肃省农业科学院作物研究所, 兰州 730070)

摘要: 光合作用是植物生存的基础, 叶色突变体往往伴随着叶绿体结构异常、光合色素合成受阻等表型, 因此, 研究叶色突变体可为光合作用和光形态建成提供实验数据和理论支撑。本研究以 2.48 Gy 辐照剂量的快中子辐射诱变玉米自交系 PH6WC 筛选得到的玉米黄化突变体 *et9* 为材料, 通过表型鉴定、叶片内叶绿素含量测定、叶绿体结构显微观察、光合特性等分析, 与野生型 PH6WC 相比突变体 *et9* 株高、穗位高极显著降低, 剑叶长、剑叶宽和倒三叶宽极显著减小, 抽雄、散粉、吐丝期均比野生型推迟 10~12 d; 叶绿素 a、叶绿素 b 及总叶绿素含量都显著低于野生型; 叶绿体结构松散, 类囊体分布混乱, 垛堞基粒数量较少; 净光合速率、气孔导度、蒸腾速率均极显著低于野生型, 胞间二氧化碳浓度极显著高于野生型, 叶绿体荧光参数除非光化学淬灭外均极显著低于野生型, 遗传模式分析表明其黄化表型受一个核隐性基因所控制, 命名为 *Zmet9*。将其与玉米自交系 B73 杂交构建 F_2 分离群体, 通过 BSR-seq 方法将突变位点初步定位在玉米第 9 染色体 20~22 Mb 区间内。进一步在初定位区间内开发 4 个 KASP 标记及 2 个 InDel 标记, 利用约 1100 个 F_2 突变表型单株进行精细定位, 最终将 *Zmet9* 精细定位于玉米第 9 染色体标记 KASP19 和 2040 之间约 160 kb 的区间内。该区间内含有 5 个候选基因, 其中 *Zm00001d045384* 编码一个铁超氧化物歧化酶, 与拟南芥中的同源基因 *FSD2*/*FSD3* 突变后出现叶色漂白的表型类似, 推测 *Zm00001d045384* 可能是 *Zmet9* 的候选基因。

关键词: 玉米; 黄化突变基因 *Zmet9*; BSR-seq; 精细定位

Fine Mapping of the Etiolation Mutant Gene *Zmet 9* in Maize

LI Yongsheng, WANG Xiaojuan, LIAN Xiaorong, LIANG Gensheng, HE Haijun, YANG Yanzhong,
ZHOU Wenqi, DONG Xiaoyun, ZHOU Yuqian, LIU Zhongxiang

(Crops Research Institute, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou 730070)

Abstract: Photosynthesis is the basis for plant survival. Leaf color mutants are often accompanied by abnormal chloroplast structure and blocked photosynthetic pigment synthesis. Therefore, the study of leaf color mutants can provide experimental data and theoretical support for photosynthesis and photomorphogenesis. In this study, maize etiolation mutant *et9*, which was identified from maize inbred line PH6WC treated by 2.48 Gy fast neutron irradiation, was used as the material. Through phenotypic identification, determination of chlorophyll content in leaves, microscopic observation of chloroplast structure and analysis of photosynthetic characteristics, plant height and panicle height of *et9* plants were very significantly lower than those of the wild type. The flag leaf length, flag leaf width and the third leaf width were very significantly reduced in mutant. The tasseling, pollen shedding and silking stages were delayed by 10-12 days compared with the wild type. The contents of chlorophyll a, chlorophyll b and total chlorophyll were obviously lower than those of the wild type. The chloroplast structure is loose, the distribution of thylakoids is chaotic, and the number of basal grains is small. In contrast to the wild type, the net photosynthetic rate, stomatal conductance and transpiration rate decreased significantly, while the intercellular carbon dioxide concentration increased significantly. The

收稿日期: 2024-05-09 网络出版日期: 2024-10-11

URL: <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20240509001>

第一作者研究方向为玉米遗传育种, E-mail: lys087@163.com

通信作者: 刘忠祥, 研究方向为玉米遗传育种, E-mail: lzhiang@sina.com

基金项目: 国家自然科学基金项目 (32260473); 甘肃省农业科学院生物育种专项 (2024GAAS24、2022GAAS04); 兰州市科技计划项目 (2023-3-43)

Foundation projects: The Natural Science Foundation of China (32260473); The Biological Breeding Special Project of Gansu Academy of Agricultural Sciences (2024GAAS24, 2022GAAS04); Lanzhou Science and Technology Plan Project (2023-3-43)

chloroplast fluorescence parameters were significantly lower than those of the wild type except for photochemical quenching. Genetic segregation analysis revealed that the yellowing phenotype was controlled by a nuclear recessive gene, named *Zmet9*. The F_2 segregating population was generated by crossing it with maize inbred line B73, and the mutation site was initially located in the 20-22 Mb on chromosome 9 of maize using the BSR-seq method. Four KASP markers and two InDel markers were further developed in the initial mapping interval, and about 1100 plants showing mutant phenotype were used for fine mapping. Finally, *Zmet9* was finely mapped to a region of about 160 kb between markers KASP19 and 2040. This interval contains five annotated candidate genes, of which *Zm00001d045384* encodes an iron superoxide dismutase. Considering that mutation of its homologous genes *FSD2* and *FSD3* in *Arabidopsis* shows leaf color bleaching phenotype, we speculate that *Zm00001d045384* may be a candidate gene for *Zmet9*.

Key words: maize; etiolation mutant gene *Zmet9*; BSR-seq; fine mapping

植物突变体是挖掘控制突变性状的基因、分析基因的功能及调控网络的理想材料,叶色突变体是当前研究的热点。已在多种植物中创制并鉴定出叶色突变体,其中黄化突变最多,大多黄化突变体内光合色素含量均明显降低,光合作用效率下降,有机物积累明显减少,从而导致植株不能正常生长,无法完成其生活史,直接导致产量降低^[1]。据报道高等植物中发现 700 多个叶色突变的基因位点^[2]。目前已报道或克隆的与玉米叶色相关基因或 QTL 位点有 200 多个^[3],突变位点大多定位于某条染色体或染色体的局部区域,但未进行深入的研究^[4]。目前已知命名和精细定位的玉米叶色突变基因有 23 个,除 4 号染色体外其余染色体上均有分布^[5]。黄绿色突变体 *elm2* 中 *ELM2* 基因为玉米 *HO1* 基因的同源基因,编码血红素加氧酶^[6-7]。玉米 *elm1* 突变体光敏色素积累的活性下降;淡绿色突变体 *elm1* 在长日照环境下,与野生型相比,开花时间更早,这表明光敏色素的缺失直接影响玉米开花时间。值得注意的是 *elm1* 突变体虽然光感受器受损,光敏色素积累减少,但 *elm1* 突变体在田间能够完成其生活史直至成熟^[8]。序列对比发现,玉米 *elm1* 突变体中由于 *ZmHY2* 基因的第 3 个内含子的 3' 剪切点由 G 突变为 A,使蛋白质翻译提前终止,从而导致突变体对光不敏感^[9]。玉米黄绿叶突变体 *ygl-1* 由于编码 cpSRP43 蛋白的 *GRMZM2G007441* 基因在其编码区发生单碱基缺失,使叶绿体前体合成异常,导致叶色黄化^[10]。玉米的 *vy1* 突变体出苗后表现出黄叶,约 2 周后黄叶逐渐恢复并与野生型植株相同。*vy1* 突变体的候选基因是一种叶绿体 Clp 蛋白酶复合物,定位于 9 号染色体的 *VYL* (Chr.9_ClpP5) 基因丢失会导致玉米幼苗期叶片的褪绿表型。重复的杂合基因之间的功能冗余是 *VYL* 与其修饰子

相互作用的分子机制^[11]。近年来,生产实践中叶色突变体作为形态标记在苗期快速鉴别去除杂种^[12-13]、改良或育成新品种^[14-18]、研究功能基因组学^[19]、园林绿化植物培育^[20]等方面得到广泛应用。随着研究的不断深入,其作用和利用价值越来越突显。

叶色变异种类繁多,遗传规律却相差很大。从遗传因素来说,叶色突变可能受核基因控制^[21-23],也可能受细胞质基因控制,还可能受核质互作类型^[24],还存在少数由两对或以上核隐性基因控制的叶色突变体^[25]。此外,叶色突变还受外部环境的影响。在叶绿素合成降解途径过程中,叶绿体核基因的突变通常是导致叶色突变的主要原因。大量研究结果表明,可以将叶色突变机制分为 3 个方面,分别为叶绿体发育,功能途径基因突变、叶绿素生物合成或降解途径的基因突变,光信号传导途径的基因突变^[26-28]。

本研究以快中子诱变玉米自交系 PH6WC 得到一个黄化突变体 *et9* (*Zea mays etiolation 9*) 为材料,通过对 *et9* 表型鉴定、光合色素、光合参数含量测定以及将 *et9* 与玉米自交系 B73 进行杂交,构建 F_2 群体,进行遗传效应分析和基因定位,筛选与突变基因连锁的分子标记,以期对 *Zmet9* 候选基因的鉴定及克隆奠定工作基础,进而对其进行基因功能解析以及调控网络分析,丰富叶色突变体发生的分子机制。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料为玉米自交系 PH6WC (野生型)、B73、黄化突变体 *et9* 由甘肃省农业科学院作物研究所玉米研究室保存。突变体 *et9* 是前期工作中以 2.48 Gy 辐照剂量的快中子诱变玉米自交系 PH6WC 筛选得到,从出苗后即出现黄化表型,但并不致死,整个生育期间不返绿,开花期雄穗能正常抽雄散

粉,雌穗正常吐丝,能完成授精并正常结实,全生育期长势较野生型弱。利用 B73 与 *et9* 杂交构建 F₁ 群体, F₁ 自交获得 F₂ 分离群体进行遗传分析和基因初定位、精细定位工作。

1.2 试验方法

1.2.1 玉米黄化突变体 *et9* 的田间表型调查

将试验材料野生型 PH6WC、B73、黄化突变体 *et9*、以及 B73 与 *et9* 杂交的 F₁、F₂ 群体于 2022 年种植在甘肃省农业科学院张掖玉米育种试验站基地,行长 5 m,行距 0.5 m,株距 0.25 m,自交系及突变体种植 2 行, F₁ 群体种植 8 行,保苗 150 株,自交授粉,收获果穗, F₂ 群体种植 200 行,约 4000 株。待出苗后生长至 3 叶 1 心时,根据幼苗叶片是否黄化分别统计 F₂ 群体中野生型和突变体植株数量,并通过卡方测验进行遗传学分析;野生型和突变体表型的判别标准:叶片黄化的为突变型表型;反之,叶片绿色的为野生型表型。成株期调查项目有:株高、穗位高、雄穗分枝数、单株叶片数、剑叶宽、剑叶长、倒三叶宽、倒三叶长、穗长、穗粗、穗行数、轴粗、出苗至抽雄天数、出苗至散粉天数、出苗至吐丝天数^[29]。

1.2.2 野生型和突变体 *et9* 光合色素的测定

分别取野生型 PH6WC 和突变体 *et9* 各 10 株,分别在各自叶片顶端成熟区取 1 cm² 的叶片,避开叶脉剪成 1~2 mm 的长条,用镊子轻轻将叶片放进 10 mL 80% 丙酮溶液,在黑暗中浸提 24 h 至叶片呈白色,取掉叶片得到光合色素提取液;使用 UV-1800 分光光度计(MAPADA, China)在 645 nm、663 nm 和 470 nm 波长下分别测定叶绿素 a 含量(CChl.a)、叶绿素 b 含量(CChl.b)和类胡萝卜素含量(CCX-C),计算公式为: CChl. a=12.27×A₆₆₃-2.69×A₆₄₅; CChl. b=22.9×A₆₄₅-4.68×A₆₆₃; CCX-C=(1000×A₄₇₀-3.27×Chl. a-104×Chl. b)/229。其中, A₆₆₃、A₆₄₅、A₄₇₀ 分别表示测定提取液在 663 nm、645 nm、470 nm 处的吸光度。色素的含量(mg/cm²)=(光合色素的浓度×提取液体积×稀释倍数)/样品面积^[30]。

1.2.3 野生型和突变体 *et9* 叶绿体结构观察

在突变体 *et9* 和野生型 PH6WC 植株生长到 3 叶期时,将成熟区的叶片剪成 1 mm² 大小的组织浸入 2.5% 戊二醛戈丁溶液 4℃ 保存备用。将组织用 0.1 mol/L 磷

酸缓冲液(PH7.4)冲洗 3~4 次后,1% 锇酸常温固定 2 h,不同浓度梯度乙醇脱水,分别嵌入环氧树脂固定、包埋、聚合;最后用铀酰-柠檬酸铅双染色^[30-31]。样品制备完成后用超微切片仪(Leica EM UC7, Germany)切成 8~10 μm 超薄切片,使用透射电子显微镜(Tecnal G2 20 TWIN, FEI, USA)在 200 kV 下观察并拍照。

1.2.4 野生型和突变体 *et9* 光合参数的测定

在 2022 年夏季玉米开花授粉期,突变体 *et9* 雌穗生长发育到吐丝时,分别选取生长发育状况相对一致的野生型 PH6WC 和突变体 *et9* 植株穗位叶片,于上午 9:00~11:00 时使用 LI-6400XT 光合仪(LI-COR Co. Ltd., USA)测定光合参数,设置饱和光强为 1500 μmol/m²·s, CO₂ 浓度为 400 μmol/mol。野生型和突变体各测 10 株,重复 3 次, *t*-test 测验分析原始数据。叶绿素荧光参数的计算:电子传递效率(ETR, electron transport rate)和非光化学淬灭(NPQ, non-photochemical quenching)可用 PAM-2500 叶绿素荧光仪(WALZ, Germany)直接测得。光系统 II 的效率(φPSII, photosystem II efficiency)指任一光照状态下 PSII 实际的量子效率,即 PSII 反应中心电荷分离的实际的量子效率。通过公式: φPSII=(Fm'-Fs)/Fm' 计算可得,其中 Fm' 为光下最大荧光, qP=0, qN≥0; Fs 为稳态荧光产量。

1.2.5 *Zmet9* 基因初定位与精细定位

为了定位克隆 *Zmet9* 基因,将玉米自交系 B73 与突变体 *et9* 杂交,构建 F₂ 分离群体。在成株期从 F₂ 群体中分别选择叶片黄化、叶片绿色的植株各 100 株,构建两个混合样品池。取样时将叶片用锡箔纸包好并立即用液氮速冻,于 -80℃ 保存备用。总 RNA 提取使用天根提取试剂盒(天根生物科技,北京)提取叶片中的总 RNA。RNA 抽提完成后送至天津诺禾致源科技股份有限公司进行 3 个重复的转录组测序,所得数据参照 Liu 等^[32]所述的方法进行分析。在完成初定位的基础上,开发 KASP 标记和 InDel 标记对构建的 F₂ 群体中进行基因型检测,逐步缩小定位区间。利用天根 PCR 试剂盒(KT201,北京)进行扩增,PCR 反应体系和测序见说明书。*Zmet9* 基因定位所需引物见表 1。

表 1 *Zmet9* 基因定位相关引物

Table 1 Sequence of primers used for *Zmet9* mapping

引物 Primers	序列(5'-3') Sequence(5'-3')
KASP7-1F	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTTGTCCTGTTTGAAGGTAAC
KASP7-2F	GAAGGTCGGAGTCAACCGATTGTCCTGTTTGAAGGTAAT
KASP7-R	CGTGCATCCACAAGGGATTCC

表1(续)

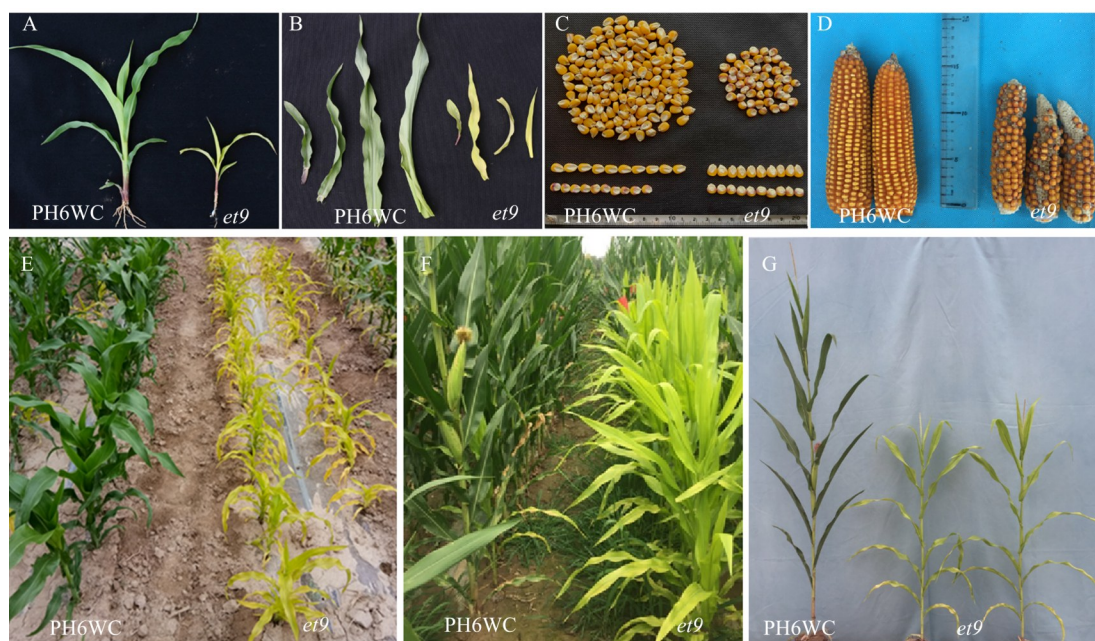
引物 Primers	序列(5'-3') Sequence(5'-3')
KASP19-1F	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTCGACGTGAACCCAGAAAGGC
KASP19-2F	GAAGGTCGGAGTCAACGGATTTCGACGTGAACCCAGAAAGGT
KASP19-R	CACAAGATTCTCACAGGAAG
KASP23-1F	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTAAACAGGCACTACGTACTCG
KASP23-2F	GAAGGTCGGAGTCAACGGATTAAACAGGCACTACGTACTCA
KASP23-R	ATTGGGACGTGGCAGCGATG
KASP32-1F	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTAGCTGCACTTCTCTTTAGA
KASP32-2F	GAAGGTCGGAGTCAACGGATTAGCTGCACTTCTCTTTAGC
KASP32-R	TGTAGTTGTTGGCTGTGGTG
2099F	TTGGATTACCTGAGGGCGTG
2099R	ACAGAGACTCAGAGGCTCAC
2037F	CGTCTGTAGCTATCACGGT
2037R	GCACTTGAAATGCCAACCTG
2040F	GCTCACTGAAAGCTTGGCAG
2040R	CACCCCTCGCGTAGATAAG

2 结果与分析

2.1 玉米黄化突变体 *et9* 的田间表型调查及农艺性状比较分析

田间表型调查发现,玉米黄化突变体 *et9* 从田间刚出苗就表现为黄化(图1A、B),黄化表型一直

持续到整个生育期,而野生型 PH6WC 叶色表现正常深绿色(图1E~G)。该突变体雌雄协调,花粉量中等,花药红色,能够正常生长并结实,通过自交繁殖,黄化表型在后代中稳定遗传,说明突变位点已经纯合。突变体雄穗分枝与野生型 PH6WC 相同,均为独枝(图1G),生长势比野生型 PH6WC 明显减



A: 苗期表型; B: 苗期叶片; C: 籽粒; D: 果穗; E: 拔节期; F: 吐丝期; G: 成株期

A: Seedling phenotype; B: Seedling leaves; C: Grain; D: Ear; E: Jointing stage; F: Silking period; G: Adult stage

图1 野生型 PH6WC (左) 与玉米黄化突变体 *et9* (右) 田间表型调查

Fig. 1 Phenotype investigation of wild-type PH6WC (left) and maize etiolation mutant *et9* (right) in the field

弱。与其他黄化致死突变体不同。

从表2可以看出,突变体 *et9* 和野生型 PH6WC 相比,成株期玉米黄化突变体 *et9* 的株高和穗位高极显著降低,其中株高降低约 79.6 cm,穗位高降低约 44 cm;雄穗分枝数均为独枝,差异不显著,单株

叶片数差异不显著;剑叶长和剑叶宽差异极显著;倒三叶的叶长和叶宽较野生型 PH6WC 变小,倒三叶的叶宽差异极显著,叶长差异不显著,出苗至抽雄、散粉、吐丝天数均比野生型 PH6WC 推迟 10~12 d。

表2 玉米黄化突变体 *et9* 和野生型 PH6WC 农艺性状考察分析

Table 2 Statistical analysis of agronomic traits in *et9* and its parent PH6WC

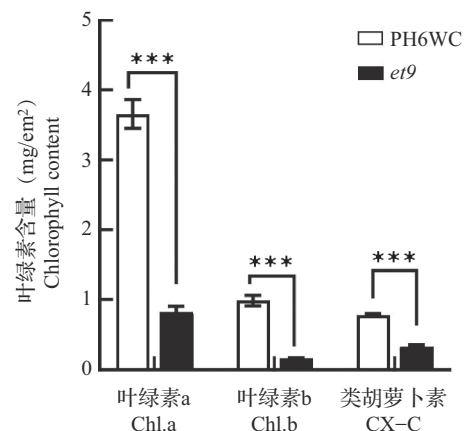
性状 Trait	PH6WC	<i>et9</i>	P值 P-value
株高(cm) Plant height	247.6 ± 17.3	168 ± 15.7	1.44 × 10 ⁻¹² **
穗位高(cm) Ear height	99.3 ± 11.8	55.3 ± 10.5	8.25 × 10 ⁻⁹ **
雄穗分枝数 Number of tassel branches	0.8 ± 0.8	0.7 ± 0.7	0.138
单株叶片数 Number of leaves	13.9 ± 1.0	14.1 ± 0.6	0.173
剑叶宽(cm) Width of blade leaf	6.2 ± 0.9	5.0 ± 0.7	3.57 × 10 ⁻⁵ **
剑叶长(cm) Length of blade leaf	38.1 ± 6.6	29.8 ± 4.2	8.14 × 10 ⁻⁵ **
倒三叶宽(cm) Width of the third last leaf	9.7 ± 1.2	7.7 ± 0.9	1.15 × 10 ⁻³ **
倒三叶长(cm) Length of the third last leaf	60.2 ± 5.5	58 ± 5.4	0.85
穗长(cm) Ear length	14.0 ± 0.5	11.0 ± 0.8	9.06 × 10 ⁻⁷ **
穗粗(cm) Ear diameter	3.9 ± 0.4	3.7 ± 0.2	0.66
穗行数 Row number per ear	14.8 ± 1.0	12.8 ± 1.0	8.47 × 10 ⁻³ *
轴粗(cm) Axis diameter	2.5 ± 0.3	2.4 ± 0.2	0.045 *
出苗至抽雄天数(d) Days from emergence to tasseling	75.5 ± 1.6	86.4 ± 1.2	1.96 × 10 ⁻⁹ **
出苗至散粉天数(d) Days from emergence to pollen shedding	77.1 ± 1.4	89.4 ± 0.8	1.97 × 10 ⁻⁹ **
出苗至吐丝天数(d) Days from emergence to silking	78.0 ± 1.4	90.5 ± 0.8	2.6 × 10 ⁻⁹ **

表中 PH6WC 和 *et9* 的数据为平均值 ± 标准差; * 和 ** 分别在 $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$ 水平差异显著;下同

The data of PH6WC and *et9* in the table were mean ± standard deviation; * and ** mean significant difference at $P < 0.05$ and $P < 0.01$, respectively; The same as below

2.2 突变体 *et9* 的光合色素含量测定

由于光合色素的含量能显著影响叶色以及植物的光合作用,光合色素含量减少造成植物光合作用效率降低,最终导致植物提早死亡或产量降低。本试验中利用分光光度计测定野生型 PH6WC 和突变体 *et9* 的光合色素含量,结果表明与野生型相比,突变体 *et9* 的叶绿素 a 含量、叶绿素 b 含量及类胡萝卜素的含量均显著降低,*et9* 为总叶绿素缺乏突变体(图2)。光能的吸收、传递、转化都需要光合色素发挥作用,突变体的光合色素含量降低可能显著限制了光合作用的进行,导致了黄化表型的产生。



***: $P < 0.001$ 水平差异显著;下同

Chl.a: Chlorophyll a; Chl.b: Chlorophyll b; CX-C: Carotenoids;

*** mean significant difference at $P < 0.001$; The same as below

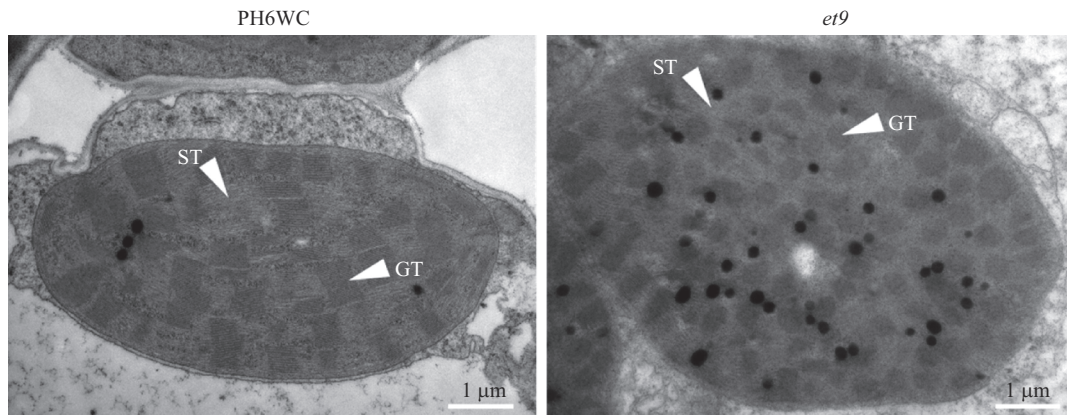
图2 野生型 PH6WC 与突变体 *et9* 色素含量

Fig. 2 Pigment content of wild-type PH6WC and mutant *et9*

2.3 突变体 *et9* 的叶绿体结构分析

对野生型 PH6WC 和突变体 *et9* 的叶绿体结构通过透射电子显微镜进行观察,发现在野生型材料中,叶绿体呈纺锤型,内部的类囊体垛叠紧密,基粒结构清晰;而在 *et9* 中,叶绿体结构松散,类囊体分布混乱,没有垛叠成基粒或者垛叠基粒数量

非常少(图3)。电子传递链和光合色素分布在类囊体上,承担着光反应的进行,突变体中基粒类囊体减少会使得光能向活跃的化学能转化不足,影响后续的暗反应等。由此可见叶色突变体常常伴随着叶绿体结构异常,从而导致光合色素的产生和行使功能异常、植物光合能力降低等一系列变化。



ST: 基质类囊体; GT: 基粒类囊体

ST: Stromal thylakoid; GT: Grana thylakoid

图3 透射电镜下的野生型 PH6WC 和突变体 *et9* 叶绿体结构

Fig. 3 Chloroplasts structure of wild-type PH6WC and mutant *et9* under transmission electron microscope

2.4 突变体 *et9* 的光合特性分析

为探究叶绿素含量及叶绿体结构变化对 *et9* 光合特性的影响,对 *et9* 和野生型 PH6WC 进行了光合参数和叶绿体荧光参数的测定。光合参数测定表明 *et9* 的净光合速率、蒸腾速率和气孔导度均极显著低于野生型 PH6WC(图4A~C);但由于光合速率降低,突变体对二氧化碳的利用能力降低,导致 *et9* 的胞间二氧化碳浓度极显著高于野生型 PH6WC(图4D)。

光合作用的大多数过程都可以通过叶绿素荧光反应出来,如非光化学淬灭、光系统II的效率、电子传递效率等。经 *t*-test, *et9* 的非光化学淬灭显著高于野生型 PH6WC(图4F),光系统II的效率和电子传递效率显著低于野生型 PH6WC(图4E、G)。非光化学淬灭能表示植物的光保护能力,而光系统II的效率能表示光抑制程度,突变体中两者数值变化表明突变体耗散过剩光能的能力较差,发生了光抑制。

2.5 突变性状的遗传学分析

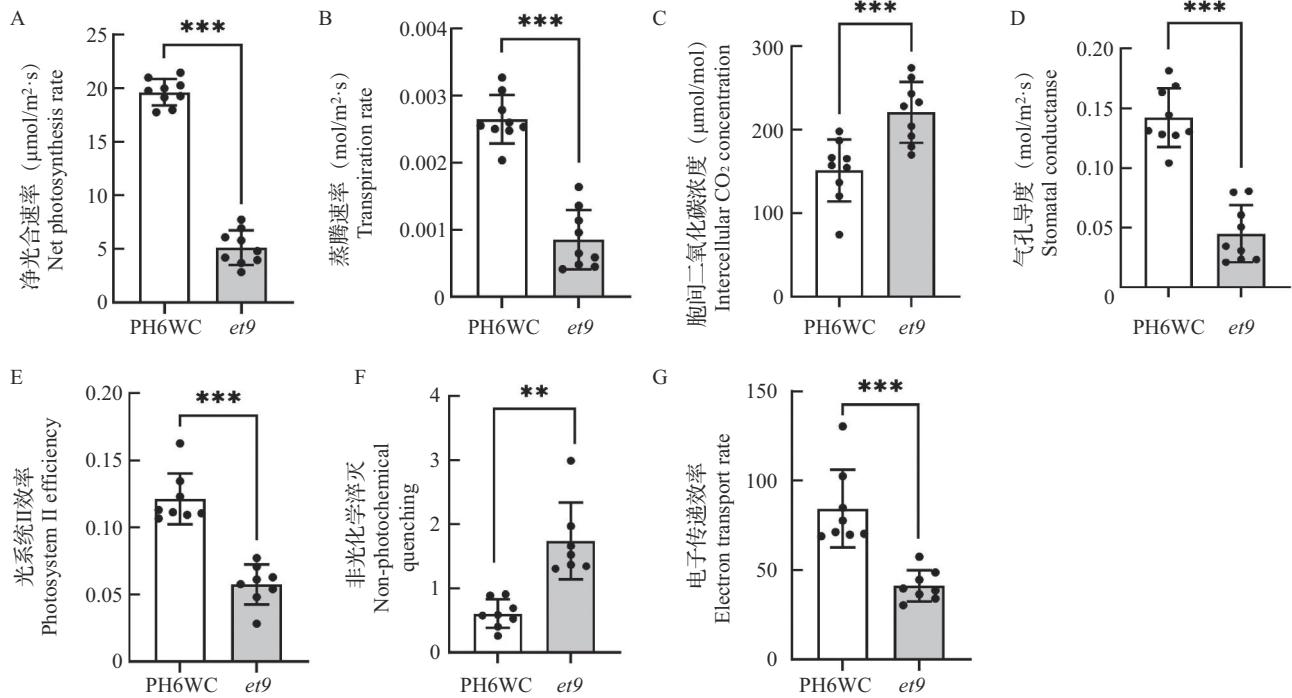
将 B73 与 *et9* 杂交进行遗传学分析,结果表明无论正反交 F_1 所有植株为正常叶色,而 F_2 中野生型和突变体的分离比符合 3:1 ($\chi^2=0.065 < \chi^2_{0.05}=3.84$),与

孟德尔遗传定律相符,因此得出黄化性状是由一个核隐性基因所控制的(表3),并将该基因命名为 *Zmet9*(*Zea mays etiolation 9*)。

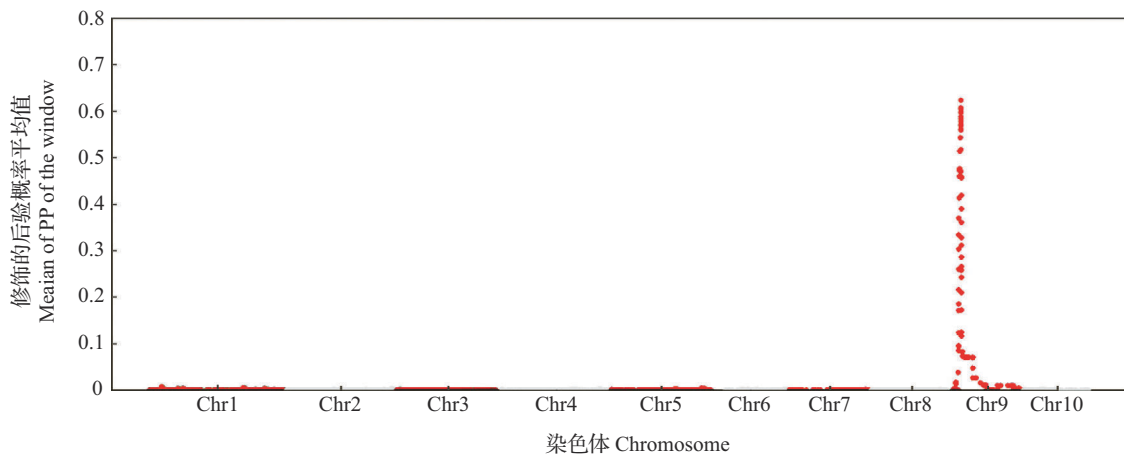
2.6 *Zmet 9* 初定位与精细定位

为克隆候选基因,从 F_2 群体中分别选取 100 株野生型表型和 100 株突变体表型植株的叶片,分别等量混合构建野生型表型和突变体表型两个混池并抽提 RNA,进行转录组测序;测序数据通过贝叶斯统计分析的方法,将目的基因初定位于玉米第 9 染色体 20~22 Mb 区间约 2 Mb 的区间内(图5)。

为了验证初定位区间的正确性,在初定位的基础上通过一个含有 150 个单株的 F_2 群体对 BSR-Seq 的结果进行验证。选取 BSR-seq 数据中突变体和野生型间测序深度大于 30× 的 SNP 位点开发标记,共开发 33 对标记,其中有 22 个标记在两亲本间具有多态性,经过筛选后选取其中效果较好、位于区间两端的 4 个标记 KASP7、KASP19、KASP23 和 KASP32,对 150 个突变体单株进行基因型检测,在 KASP19 和 KASP23 之间共筛选得到 47 个交换单株,将目的基因定位在第 9 染色体

图4 野生型 PH6WC 和突变体 *et9* 植株的光合参数Fig. 4 Photosynthetic parameters of wild-type PH6WC and mutant *et9* plants表3 F₂ 分离群体的卡方测验表Table 3 Chi-square test table for F₂ isolated population

群体 Population	观察值 Observations		期望值 Expectations		卡方检验 Chi-square
	B73	<i>et9</i>	B73	<i>et9</i>	
F ₂	532	165	522.75	174.25	0.065

图5 BSR-seq 分析揭示黄花突变基因 *Zmet9* 的遗传定位Fig. 5 The genetic allocation of the etiolation mutant gene *Zmet9* revealed by BSR-seq

20245043~21984785 bp 之间约 2 Mb 的区间内,证实了初定位区间的准确性。由于 KASP19 和 KASP23 之间仍有交换,在该区间内开发了一个 InDel 标记 2099,并进一步缩小区间,将目的基因

定位在约 750 kb 的区间内。为进一步缩小目的基因 *Zmet9* 的定位区间,利用 KASP19、2099 和新开发的两个 InDel 标记 2040、2037,对来自 F₂ 群体的 1100 个突变体单株进行基因型鉴定,共筛选到 51

个交换单株,通过对交换单株基因型分析,将目的基因定位在KASP19和2040之间约160 kb的区间

内(Chr9:20245023~20402375 bp),该区间内含有5个候选基因(表4、图6)。

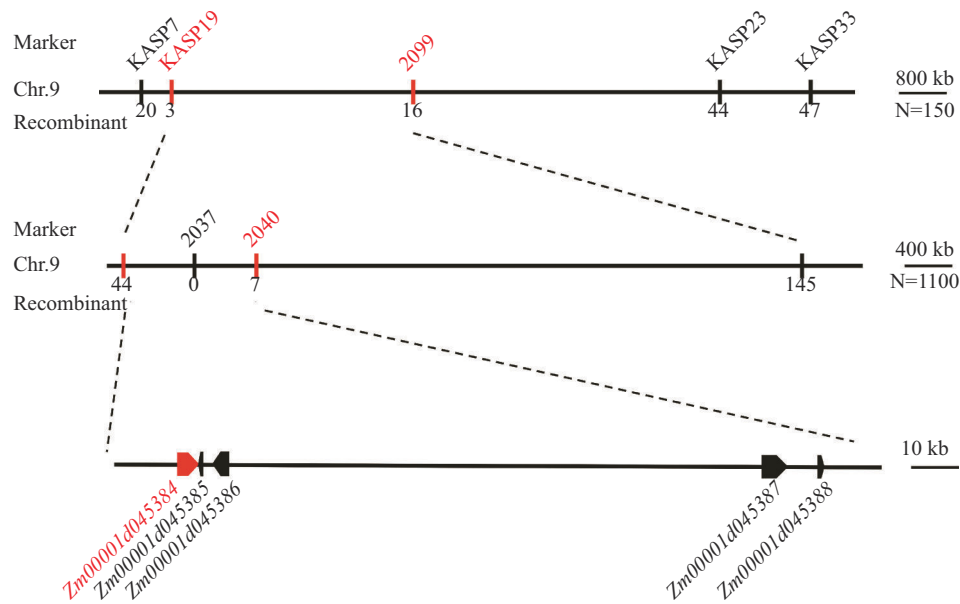
表4 精细定位区间内的5个基因

Table 4 Genes within the fine-mapping interval

基因 ID Gene ID	功能描述 Gene description	基因类型 Gene type
Zm00001d045384	超氧化物歧化酶	蛋白质编码基因
Zm00001d045385	-	蛋白质编码基因
Zm00001d045386	ERF 转录因子	蛋白质编码基因
Zm00001d045387	脂酰基-ACP 硫酯酶	蛋白质编码基因
Zm00001d045388	假定的D-甘露糖结合凝集素受体样蛋白激酶	蛋白质编码基因

--:功能未知

--: Function unknown



Marker: 标记名称;N:群体大小;Recombinant:重组单株数;红色图注表示定位区间

Marker: Marker names; N: Size of F₂ population used in mapping; Recombinant: The number of recombinants; The red captions indicate the mapped region

图6 Zmet9的精细定位

Fig. 6 Fine mapping of Zmet9

从表4可知,精细定位区间的5个基因中,Zm00001d045384编码一个超氧化物歧化酶,与拟南芥中的同源基因FSD2、FSD3(AT5G23310)突变后

出现叶色漂白的表型类似。通过氨基酸序列比对发现 Zm00001d045384 基因编码蛋白与拟南芥 FSD3 基因编码蛋白同源(图7)。

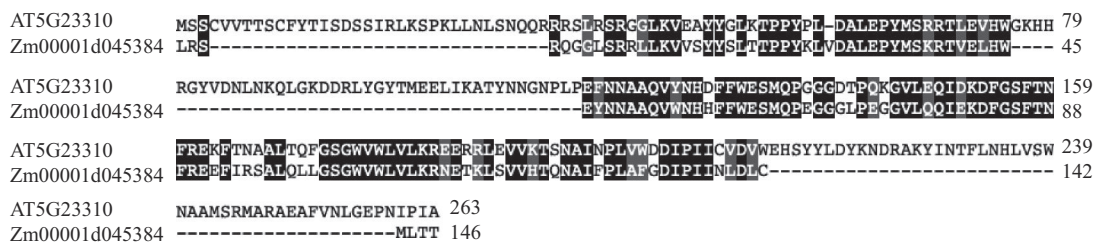


图7 候选基因 Zm00001d045384 与 FSD3 编码蛋白的氨基酸序列比对

Fig. 7 Sequence alignment of amino acid sequence of Zm00001d045384 with FSD3

其余4个基因中 *Zm00001d045385* 编码一个功能未知的蛋白,在拟南芥中无同源基因,在水稻中的同源基因功能未知。*Zm00001d045386* 注释为一个 ERF 转录因子,但经预测其只有一个 PBD 结构域,而不存在典型的 AP2/ERF 结构域,功能有待进一步确认。*Zm00001d045387* 编码一个脂酰基-ACP 硫酯酶,是脂肪酸合成过程中最后一步脂酰基与 ACP 解离所需要的酶;其在拟南芥中的同源基因 *FTAB* 突变会导致种子含油量变化。*Zm00001d045388* 编码一个假定的 D-甘露糖结合凝集素受体样蛋白激酶,同源基因未见报道(表4)。根据基因功能注释,推测 *Zm00001d045384* 可能是 *Zmet9* 的候选基因。

3 讨论

3.1 *et9* 是一个新的特异性黄化突变体

叶色突变体的产生受到叶绿体结构和叶绿素含量的影响。黄化突变体是叶色突变体中比较丰富的一类,一般由于缺少叶绿素,叶绿体发育不良致使突变体捕获、传递、转化光能的能力弱、光合作用效率低。目前发现的黄化突变体多在某个生长阶段死亡(如苗期或生长后期)。多数黄化突变体难以完成正常生命周期开花结实。如玉米黄化突变体 *crs4* 由于对应的等位基因丢失导致光合酶复合物合成与降解失衡,叶片呈浅黄绿色、光合作用异常,幼苗期即致死;*crs1* 缺失叶绿体 ATP 合成酶导致叶片淡绿致死;*crp1* 无法正常合成细胞色素和光系统 I 的效率,幼苗淡绿色致死;*why1* 苗期出现白化病,成熟期胚形成受阻,胚乳发育正常^[33]。*nec-t* 苗期叶片表现出黄绿色,随后叶片上出现坏死斑,短时间内植株萎蔫死亡^[34]。另据报道 *FSD2*、*FSD3* 基因的 T-DNA 插入的突变体都表现出黄化或白化的表型^[35]。拟南芥中的同源基因 *FSD2*、*FSD3* 有报道其突变后出现叶色漂白的表型,不同的是 *fsd3* 突变体不能存活至苗期以上,但其同家族基因 *FSD2* 的突变体 *fsd2* 则可以存活至苗期^[36];*FSD2* 和 *FSD3* 在早期叶绿体发育中起着重要作用,*fsd2-lfsd3-1* 双突变体在琼脂平板上具有严重的白化表型,而 *fsd2* 和 *fsd3* 单敲除突变体具有浅绿色表型^[37];本研究的黄化突变体 *et9*,种子播种一出苗就出现黄化表型,整个生育期均不返绿、不致死。与野生型相比,生长缓慢,雄穗能正常抽雄散粉,抽雄、散粉、吐丝期均比野生型推迟 10~12 d,能完成授精最后正常结实,黄化性状能够稳定遗传。故此推断 *et9* 是一个区别

于已报道黄化突变体的特异性黄化突变体。

3.2 *Zmet9* 可能为一个新的黄化突变基因

目前已经精细定位并克隆的玉米黄化突变基因有 23 个,分布在玉米除第 9 染色体以外的 9 条染色体上。*elm1* 基因定位于第 8 染色体 163614240~163618286 bp 的区间内,其编码一个叶绿素铁氧还蛋白氧化还原酶^[38];*yg1l* 基因定位于第 1 染色体 7311454~7312602 bp 的区间内,*YGL1* 是编码叶绿素合成酶的基因,该基因突变后导致叶绿素合成酶的合成与积累减少^[39];*why1* 基因定位于第 6 染色体 74547569~74550576 bp 的区间内,该基因编码叶绿体单链核酸结合蛋白,突变后导致 *atpF* 无法正常剪接及 23S rRNA 无法成熟,突变体缺少质体核糖体,在苗期淡绿色致死^[40]。*eti1* 突变体目标基因定位在 3 号染色体 SSR 标记 146-M194 和 147-M92 之间约 815 kb 区间^[41];*xy122* 从萌发出芽就为黄色,从六叶期开始叶色逐渐由黄转绿直至生育期结束。*xy122* 突变基因精细定位于第 3 染色体 C50 和 G20 标记之间约 32.59 Mb 的区间,该区间通过全基因组重测序共检测到 92521 个 SNP 和 20 个 InDels^[42];黄化突变体 *74101* 自萌发期直至整个生育期结束均为黄化表型,不影响正常授粉结实。该基因初定位于第 5 染色体 K-138 和 K-27 标记之间约 76.05 kb 的物理距离。基因序列扩增比对分析发现,该基因存在点突变使翻译提前终止。在提前终止的 EMS 株系及敲除株系均在三叶期观察到与 *74101* 相同表型的黄化叶片^[43];*yg1m1* 从幼苗生长到结实成熟的整个生育过程中,叶片细长,茎秆纤细,整个生育期叶色为黄化表型,但能正常结实。基因精细定位与克隆未见报道^[44];拟南芥 EMS 诱变 *Col-0* 筛选的突变体 27-24 具有叶片呈黄色、植株矮小等表型,研究发现该突变体的表型与超氧化物歧化酶突变的表型一致,该突变体是由 *AtFSD3* (*At5g23310*) 发生点突变所致。该突变基因定位在第 5 染色体的 6.61~8.60 Mb 之间,该基因 cDNA 序列中的第 748 位碱基由 G 变为 A,导致 FSD3 蛋白中 Glu 250 转变为 Lys 250^[35]。粳稻后期黄化突变体 *lle* 基因定位于第 8 号染色体上,根据 ANNOVAR 的注释分析推测第 8 号染色体上参与编码 PPR 重复结构域蛋白的基因 *LOC_Os08g17080* 为候选基因^[45]。番茄黄化突变体 *ym* 基因定位于第 2 染色体上 4.4 Mb (50800001~55200000 bp) 区间内,该区间筛选到两个在转录组中呈现下调表达的候选基因 *Solyc02g093180*、*Solyc02g092460*^[46]。本研究的黄化突变体 *et9* 与 *yg1m1*、*74101*、*27-24* 类似,从

种子萌发出苗就出现黄化表型,整个生育期均不返绿、不致死,黄化性状能够稳定遗传,均由一对隐性核基因控制。与野生型相比,生长缓慢,雄穗能正常抽雄散粉,雌穗正常吐丝,抽雄、开花散粉、吐丝时间较野生型晚 10~12 d 左右,能完成授精最后正常结实。区别在于基因精细定位在不同的染色体和基因结构的差异。*et9* 基因精细定位于第 9 染色体 (Chr9: 20245023~20402375 bp) 标记 KASP19 和 2040 之间约 160 kb 的区间内,该区间内含有 5 个候选基因,其中 *Zm00001d045384* 编码一个铁超氧化物歧化酶,与拟南芥中的同源基因 *FSD2*、*FSD3* 突变后出现叶色漂白的表型类似。通过对 *Zm00001d045384* 基因进行生物信息学分析和预测,结合玉米数据库中玉米 10 条染色体上已经精细定位的叶色黄化突变体,比较 *Zmet9* 与这些突变基因定位的具体位置、突变植株的表型等,推测 *Zm00001d045384* 可能是 *Zmet9* 的候选基因,*Zmet9* 可能是一个未曾报道的新的黄化突变位点。

参考文献

- [1] 李想. 大白菜黄化突变基因 *Brpem1* 精细定位及表达特性分析. 沈阳: 沈阳农业大学, 2019
Li X. Fine mapping and expression characteristics of the etiolated mutant gene *Brpem1* in Chinese cabbage. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2019
- [2] Eckhardt U, Grimm B, Hrtenstein S. Recent advances in chlorophyll biosynthesis and breakdown in higher plants. *Plant Molecular Biology*, 2004, 56(1): 1-14
- [3] 韩帅, 王立静, 钟世宜, 赵燕, 刘保申. 一个新的玉米叶色突变体的遗传分析及基因定位. *玉米科学*, 2012, 20(3): 26-28
Han S, Wang L J, Zhong S Y, Zhao Y, Liu B S. Genetic analysis and gene mapping of a new leaf color mutant in maize. *Journal of Maize Sciences*, 2012, 20(3): 26-28
- [4] 彭雷. 玉米黄化突变体 *eti1* 的鉴定、遗传分析及突变基因初步克隆. 郑州: 河南大学, 2015
Peng L. Identification, genetic analysis and preliminary map-based cloning of etiolated mutant *eti1* in maize. Zhengzhou: Henan University, 2015
- [5] 李秦, 杜何为. 玉米叶色突变体研究进展. *南方农业*, 2019, 13(28): 14-21, 27
Li Q, Du H W. Research progress on maize leaf color mutants. *Southern Agriculture*, 2019, 13(28): 14-21, 27
- [6] Sheehan M J. Structure and expression of maize phytochrome family homeologs. *Genetics*, 2004, 167(3): 1395-1405
- [7] Shi D Y, Zheng X, Li L, Lin W H, Xie W H, Yang J P, Chen S J, Jin W W. Chlorophyll deficiency in the maize elongated *mesocotyl2* mutant is caused by a defective heme oxygenase and delaying grana stacking. *PLoS ONE*, 2013, 8(11): e80107
- [8] 杨泽峰, 张恩盈, 徐晔晖, 毛蓓丽, 潘亮, 陈庆, 徐辰武. 玉米 *ELMI* 基因的序列变异及与株型和穗部相关性状的关联分析. *科技导报*, 2014, 32(35): 78-84
Yang Z F, Zhang E Y, Xu S H, Mao B L, Pan L, Chen Q, Xu C W. Sequence variations of the maize *ELMI* gene and their association with plant types and ear traits. *Science & Technology Review*, 2014, 32(35): 78-84
- [9] Sawers R J H, Linley P J, Gutierrez-Marcos J F, Delli-Bovi T, Farmer P R, Kohchi T, Terry M J, Brutnell T P. The *elm1* (*ZmHy2*) gene of maize encodes a phytochromobilin synthase. *Plant Physiology*, 2004, 136(1): 2771-2781
- [10] Guan H Y, Xu X B, He C M, Liu C X, Wang L M. Fine mapping and candidate gene analysis of the leaf-color gene *ysl-1* in maize. *PLoS ONE*, 2016, 11(4): e0153962
- [11] Xing A, Williams M E, Bourett T M, Hu W, Hou Z, Meeley R B, Jaqueth J, Dam T, Li B. A pair of homeolog *ClpP5* genes underlies a virescent yellow-like mutant and its modifier in maize. *The Plant Journal*, 2014, 79(2): 192-205
- [12] 钟世宜. 三个玉米叶色突变体的鉴定和遗传分析. 泰安: 山东农业大学, 2013
Zhong S Y. Identification and genetic analysis of three maize leaf color mutants. Tai'an: Shandong Agricultural University, 2013
- [13] 舒庆尧, 刘贵付, 夏英武. 温敏水稻叶色突变体的研究. *核农学报*, 1996, 10(1): 6-10
Shu Q Y, Liu G F, Xia Y W. Study on temperature-sensitive rice leaf color mutants. *Chinese Journal of Nuclear Agronomy*, 1996, 10(1): 6-10
- [14] Gan S, Amasino R M. Inhibition of leaf senescence autoregulated production of cytokinin. *Science*, 1995, 270(5244): 1986-1988
- [15] Hui Z, Tian F X, Wang G K, Wang G P, Wang W. The antioxidative defense system is involved in the delayed senescence in a wheat mutant *tasg1*. *Plant Cell Reports*, 2012, 31(6): 1073-1084
- [16] 张友炯, 曾建明, 章志芳, 郝国双, 俞燎远, 聂美英, 李静. 白化茶树新品种“中白1号”选育报告. *中国茶叶*, 2016, 38(3): 22-24
Zhang Y J, Zeng J M, Zhang Z F, Hao G S, Yu L Y, Nie M Y, Li J. Breeding report of a new albino tea variety "Zhongbai No. 1". *China Tea*, 2016, 38(3): 22-24
- [17] 成浩, 李素芳, 陈明, 虞富莲, 晏静, 刘益民, 陈龙安. 安吉白茶特异性状的生理生化本质. *茶叶科学*, 1999, 19(2): 87-92
Cheng H, Li S F, Chen M, Yu F L, Yan J, Liu Y M, Chen L A. Physiological and biochemical essence of the extraordinary characters of Anji Baicha. *Tea Science*, 1999, 19(2): 87-92
- [18] 何冰, 刘玲珑, 张文伟, 万建民. 植物叶色突变体. *植物生理学通讯*, 2006, 42(1): 1-9
He B, Liu L L, Zhang W W, Wan J M. Plant leaf color mutants. *Plant Physiology Letters*, 2006, 42(1): 1-9

- [19] 刘文真. 三个水稻叶色突变体的鉴定与基因克隆. 杭州:浙江大学, 2006
Liu W Z. Identification and gene cloning of three rice leaf color mutants. Hangzhou: Zhejiang University, 2006
- [20] Liu X, Yu W, Wang G, Cao F, Cai J, Wang H. Comparative proteomic and physiological analysis reveals the variation mechanisms of leaf coloration and carbon fixation in a xantha mutant of *Ginkgo biloba* L.. International Journal of Molecular Sciences, 2016, 17(11): e1794
- [21] 刘富中, 张映, 杨锦坤, 陈钰辉, 舒金帅, 李淑培, 陈露露. 茄子叶色黄化突变体的特征及遗传分析. 园艺学报, 2020, 47(12): 2340-2348
Liu F Z, Zhang Y, Yang J K, Chen Y H, Shu J S, Li S P, Chen L L. Characteristics and genetic analysis of eggplant leaf color yellowing mutants. Chinese Journal of Horticulture, 2020, 47(12): 2340-2348
- [22] 康伟伟, 李哲理, 易自力, 孙志忠, 盛夏冰, 黄安平, 段美娟, 谭炎宁. 水稻黄叶突变体 *yl(t)* 的鉴定与遗传分析. 农业生物技术学报, 2020, 28(12): 2108-2117
Kang W W, Li Z L, Yi Z L, Sun Z Z, Sheng X B, Huang A P, Duan M J, Tan Y N. Identification and genetic analysis of the yellow leaf mutant *yl(t)* in rice. Chinese Journal of Agricultural Biotechnology, 2020, 28(12): 2108-2117
- [23] 王中豪, 贺彦, 张晓波, 徐霞, 吴建利, 施勇烽. 水稻白化转绿和穗顶端退化突变体 *vpal* 的遗传分析和基因定位. 中国水稻科学, 2020, 35(1): 19-26
Wang Z H, He Y, Zhang X B, Xu X, Wu J L, Shi Y F. Genetic analysis and gene mapping of *vpal* mutant from albino to green and panicle apical degeneration in rice. China Rice Science, 2020, 35(1): 19-26
- [24] Millerd A, McWilliam J R. Studies on a maize mutant sensitive to low temperature I. Influence of temperature and light on the production of chloroplast pigments. Plant Physiology, 1968, 43(12): 1967-1972
- [25] 陈甲法. 一个玉米叶色突变体的遗传研究. 郑州: 河南农业大学, 2009
Chen J F. Genetic study of a maize leaf color mutant. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2009
- [26] Eckhardt L, Grimm B, Hortensteiner S. Recent advances in chlorophyll biosynthesis and breakdown in higher plants. Plant Molecular Biology, 2004, 56(1): 1-14
- [27] Jiang H, Li M, Liang N, Yan H, Wei Y, Xu X, Liu J, Xu Z, Fan C, Wu G. Molecular cloning and function analysis of the stay green gene in rice. Plant Journal, 2007, 52(2): 197-209
- [28] Kusaba M, Ito H, Morita R, Iida S, Sato Y, Fujimoto M, Kawasaki S, Tanaka R, Hirochika H, Nishimura M, Tanaka A. Rice NON-YELLOW COLORING1 is involved in light-harvesting complex II and gram degradation during leaf senescence. Plant Cell, 2007, 19(4): 1362-1375
- [29] 石云素, 黎裕, 王天宇, 宋燕春. 玉米种质资源描述规范和数据标准. 北京: 中国农业出版社, 2006: 10-51
Shi Y S, Li Y, Wang T Y, Song Y C. Description and data standard for maize (*Zea mays* L.). Beijing: China Agriculture Press, 2006: 10-51
- [30] 李玉荣. BSR-Seq 方法定位玉米黄化突变基因. 武汉: 华中农业大学, 2014
Li Y R. Etiolation mutant gene mapping via bulked segregant RNA-Seq (BSR-Seq) method in maize. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2014
- [31] Qin Y, Xiao Z, Zhao H, Wang J, Wang Y, Qiu F. Starch phosphorylase 2 is essential for cellular carbohydrate partitioning in maize. Journal of Integrative Plant Biology, 2022, 64(9): 1755-1769
- [32] 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(5): e36406
- [33] 李秦, 杜何为. 玉米叶色突变体研究进展. 南方农业, 2019, 13(28): 14-21, 27
Li Q, Du H W. Research progress on maize leaf color mutants. Southern Agriculture, 2019, 13(28): 14-21, 27
- [34] 韩帅, 王立静, 钟世宜, 赵燕, 刘保申. 一个新的玉米叶色突变体的遗传分析及基因定位. 玉米科学, 2012, 20(3): 26-28
Han S, Wang L J, Zhong S Y, Zhao Y, Liu B S. Genetic analysis and gene mapping of a new leaf color mutant in maize. Journal of Maize Sciences, 2012, 20(3): 26-28
- [35] 马乾. 拟南芥叶绿体 TAC 复合物相互作用网络的构建. 上海: 上海师范大学, 2014
Ma Q. Mapping an *Arabidopsis* plastid transcriptional active chromosome interaction network. Shanghai: Shanghai Normal University, 2014
- [36] 刘敏. 拟南芥黄色叶片突变体的基因定位和功能的初步研究. 广州: 华南农业大学, 2020
Liu M. The gene identification of an *Arabidopsis* thaliana yellow leaf mutant and its preliminary function study. Guangzhou: South China Agricultural University, 2020
- [37] Fumiyoshi M, Chieko H, Taishi U, Haruko I, Takashi K, Reiko M, Yuriko S, Noriko N, Masahiko I, and Kazuo S. A heterocomplex of iron superoxide dismutases defends chloroplast nucleoids against oxidative stress and is essential for chloroplast development in *Arabidopsis*. Plant Cell, 2008, 20(11): 3148-3162
- [38] Sawers R J, Linley P J, Farmer P R, Hanley N P, Costich D E, Terry M J, Brutnell T P. *Elongated mesocotyl1*, a phytochrome-deficient mutant of maize. Plant Physiology, 2002, 130(1): 155-163
- [39] Guan H, Xu X, He C, Liu C, Liu Q, Dong R, Liu T, Wang L. Fine mapping and candidate gene analysis of the leaf-color gene *ygl-1* in maize. PLoS ONE, 2016, 11(4): e0153962
- [40] Zhang Y F, Hou M M, Tan B C. The requirement of *WHIRLY1* for embryogenesis is dependent on genetic background in maize. PLoS ONE, 2013, 8(6): p0067369
- [41] 彭雷. 玉米黄化突变体 *eti1* 的鉴定、遗传分析及突变基因初步克隆. 郑州: 河南大学, 2015
Peng L. Identification, genetic analysis and preliminary map-

- based cloning of etiolated mutant *etil* in maize. Zhengzhou: Henan University, 2015
- [42] 高先玉. 玉米黄化突变体 $xy122$ 的基因定位及生理分析. 泰安: 山东农业大学, 2019
- Gao X Y. Gene Mapping and Physiological Analysis of Maize Yellow Mutant $xy122$. Tai'an: Shandong Agricultural University, 2019
- [43] 刘胜坤. 玉米突变体 74101 黄化基因的定位及克隆. 泰安: 山东农业大学, 2023
- Liu S K. Localization and Cloning of Yellowing Genes in Maize Mutant 74101 . Tai'an: Shandong Agricultural University, 2023
- [44] 徐冬平. 一份玉米全生育期黄化材料的初步研究. 成都: 四川农业大学, 2013
- Xu D P. The preliminary study about a yellow green maize of whole growth period. Chengdu: Sichuan Agricultural University, 2013
- [45] 何汛锋. 水稻后期黄化突变体 lle 的生理特性与候选基因分析. 南昌: 江西农业大学, 2021
- He X F. Physiological characteristics and candidate genes analysis of leaf late etiolation mutant lle of rice. Nanchang: Jiangxi Agricultural University, 2021
- [46] 赵亚然. 番茄EMS诱变叶片黄化突变体 ym 的生理分析和候选基因预测. 沈阳: 沈阳农业大学, 2023
- Zhao Y R. Physiological analysis and candidate gene prediction of ym mutants mutated by EMS in tomato leaves. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2023

2024年中国科协科技期刊双语传播工程——结构化论文入选文献 (中国种业)

施肥量及施肥方式对夏玉米产量及相关性状的影响

作者: 肖兴中 闫妞 孙迷平 赵玉玲 马朝喜 陈坤 卢娇娇 岳竞之 蔡友敏

创新点: 在当地中高产大田条件下, 探寻适宜的施肥量及施肥方式, 以减少夏玉米化肥施用量, 促使其不减产甚至增产, 节能减排, 促产增收。

中国种业, 2023(1): 84-87

DOI: 10.19462/j.cnki.1671-895x.2023.01.025

“一带一路”背景下中国农业与种业国际化的战略思考

作者: 童翼飞 吴俊锋 余国文 黄坤 蒋茂双 邹洪锋 凌永国 芦雪 袁国保

创新点: 1) 分析了中国农业国际化的必要性, 论述“一带一路”倡议对中国粮食安全和种业发展的影响, 强调技术共享、资源互补和产能合作的重要性。2) 提出农业和种业国际化具体的对策和建议。

中国种业, 2023(3): 1-4

DOI: 10.19462/j.cnki.1671-895x.2023.03.038

对我国农作物种业发展的几点思考

作者: 邓超 唐浩

创新点: 回顾分析了农作物种业的重要性以及国内外发展形势, 对未来我国种业发展趋势提出新的思考。

中国种业, 2022(6): 1-5

DOI: 10.19462/j.cnki.1671-895x.2022.06.001