



植物遗传资源学报  
*Journal of Plant Genetic Resources*  
ISSN 1672-1810, CN 11-4996/S

## 《植物遗传资源学报》网络首发论文

题目: 玉米卷叶突变体 *swl5* 的基因定位及功能分析  
作者: 张莹莹, 李健, 秦阳, 李瑞, 张志明, 邹华文, 郑军, 王逸茹  
DOI: 10.13430/j.cnki.jpgr.20250107001  
收稿日期: 2025-01-07  
网络首发日期: 2025-02-26  
引用格式: 张莹莹, 李健, 秦阳, 李瑞, 张志明, 邹华文, 郑军, 王逸茹. 玉米卷叶突变体 *swl5* 的基因定位及功能分析[J/OL]. 植物遗传资源学报.  
<https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20250107001>



**网络首发:** 在编辑部工作流程中, 稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定, 且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式(包括网络呈现版式)排版后的稿件, 可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定; 学术研究成果具有创新性、科学性和先进性, 符合编辑部对刊文的录用要求, 不存在学术不端行为及其他侵权行为; 稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准, 正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性, 录用定稿一经发布, 不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容, 只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

**出版确认:** 纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社有限公司签约, 在《中国学术期刊(网络版)》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版, 以单篇或整期出版形式, 在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊(网络版)》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物(ISSN 2096-4188, CN 11-6037/Z), 所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

玉米卷叶突变体 *swl5* 的基因定位及功能分析张莹莹<sup>1,2</sup>, 李健<sup>2</sup>, 秦阳<sup>2</sup>, 李瑞<sup>2</sup>, 张志明<sup>3</sup>, 邹华文<sup>1</sup>, 郑军<sup>2</sup>, 王逸茹<sup>2</sup><sup>1</sup>长江大学农学院, 湖北荆州 434025; <sup>2</sup>中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081; <sup>3</sup>山东农业大学生命科学学院, 泰安 271000

**摘要:** 干旱是影响玉米生长发育的重要因素, 挖掘玉米抗旱关键基因, 对玉米抗旱遗传改良具有重要意义。本文利用 EMS 诱变自交系 RP125 获得了卷叶突变体 *swl5* (*sensitive to water loss 5*), 在田间干旱条件下 *swl5* 呈现明显的叶片失水卷曲表型。图位克隆将候选基因定位到 5 号染色体 280 kb 的物理区域内, 该区间有 9 个基因, 其中 GRMZM2G002260 基因第 748 位碱基处发生了 C-T 的突变, 翻译提前终止, GRMZM2G002260 编码了内源-1,4-木聚糖酶基因 *ZmWI5*。为进一步验证基因功能, 获得 *ZmWI5* 的突变体 *wi5*, *swl5* 与 *wi5* 突变体杂交 F<sub>1</sub> 代表现与 *swl5*、*wi5* 相同的叶片卷曲失水表型, 说明 *swl5* 是 *ZmWI5* 的一个新等位突变体。干旱胁迫下, *swl5* 突变体表现出明显的干旱敏感表型, 净光合速率、气孔导度、蒸腾速率较对照 WT 显著降低, 叶温明显升高, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量、O<sub>2</sub><sup>-</sup> 含量显著升高。与 WT 相比, 突变体中参与纤维素合成的基因 *CESA5* 及木聚糖合成的基因 *DUF579*、*GT47*、*IRX9*、*IRX9H-1*、*IRX9H-2*、*GUX1*、*TBL33* 表达量在正常浇水和干旱处理下均显著下调。综上表明, *Swl5* 编码了 *ZmWI5* 基因, *swl5* 突变体表现明显的早敏感表型, 且突变体中木聚糖合成相关基因表达显著降低。

**关键词:** 玉米; 卷叶突变体; 基因定位; 干旱

Gene Mapping and Functional Analysis of the Leaf Rolling Mutant *swl5* in MaizeZHANG Yingying<sup>1,2</sup>, LI Jian<sup>2</sup>, QIN Yang<sup>2</sup>, LI Rui<sup>2</sup>, ZHANG Zhiming<sup>3</sup>, ZOU Huawen<sup>1</sup>, ZHENG Jun<sup>2</sup>, WANG Yiru<sup>2</sup><sup>1</sup>College of Agronomy, Yangtze University, Jingzhou 434025, Hubei; <sup>2</sup>Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081;<sup>3</sup>College of Life Sciences, Shandong Agricultural University, Taian 271000

**Abstract:** Drought is an important factor affecting the growth and development of maize. Therefore, identifying drought-resistant genes is vital for the genetic improvement of drought resistance in maize. In this study, the leaf rolling mutant *swl5* (*sensitive to water loss 5*) was selected from the mutant library of EMS-mutagenized inbred line RP125. *swl5* mutant exhibited a distinct leaf wilting and rolling phenotype under drought stress in the field. Map-based cloning revealed that the candidate gene was localized to a physical region of 280 kb on chromosome 5, which contains 9 coding genes. In this interval, a C-T mutation occurred at the 748th nucleotide of the GRMZM2G002260 gene, resulting in a premature stop codon. GRMZM2G002260 encodes the endo-1,4-xylanase gene *ZmWI5*. To further verify the gene function, the mutant *wi5* of *ZmWI5* was obtained. The F<sub>1</sub> plant derived from the cross of *swl5* and *wi5* mutant displayed the same leaf wilting and rolling phenotype as *swl5* and *wi5*, indicating that *swl5* is a new allele mutant of *ZmWI5*. Under drought stress, the *swl5* mutant showed a significant drought sensitive phenotype, with photosynthetic rate, stomatal conductance, and transpiration rate significantly reduced compared to wild type (WT), while leaf temperature significantly increased, and the content of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and O<sub>2</sub><sup>-</sup> were notably elevated. The expression of genes involved in cellulose synthesis (*CESA5*) and xylan synthesis (*DUF579*, *GT47*, *IRX9*, *IRX9H-1*, *IRX9H-2*, *GUX1*, *TBL33*) was significantly down-regulated in the *swl5* under both well-watered and drought stress. In summary, it is indicated that *Swl5* encodes the *ZmWI5* gene. The *swl5* mutant exhibits a drought sensitive phenotype, and the expression of genes related to xylan synthesis is significantly reduced in the mutant.

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

玉米是我国非常重要的粮食作物, 其种植面积和总产量已超过水稻成为我国第一大粮食作物。然而随着全球气候的变化, 旱情的发生也在逐步加重<sup>[1-2]</sup>, 严重威胁着粮食生产安全。干旱会影响玉米生长发育, 使其生物量减少、叶面积缩减、光合作用能力下降、吸收和利用养分的能力降低<sup>[3-4]</sup>; 而生殖生长阶段缺水则会造成其花期不遇、影响结实及籽粒发育, 是玉米产业可持续发展的重要限制因素<sup>[5-6]</sup>。因此, 探究玉米响应干旱胁迫的内在机制、解析其抗旱性分子机理, 对于培育优良耐旱品种、提高其产量和品质具有重大

收稿日期: 2025-01-07

第一作者研究方向为植物逆境分子生物学, E-mail: 15660559298@163.com

通信作者: 邹华文, 研究方向为植物逆境分子生物学, E-mail: zouhuawen@yangtzeu.edu.cn;

郑军, 研究方向为玉米分子遗传改良, E-mail: zhengjun02@caas.cn;

王逸茹, 研究方向为玉米分子遗传改良, E-mail: wangyiru@caas.cn

基金项目: 国家重点研发项目(2023YFD1200500)

Foundation project: The National Key R&D Program of China (2023YFD1200500)

意义。

细胞壁是植物细胞与外界环境之间的一层物理屏障和第一道防线，是一个刚性、灵活且动态组织的网络结构<sup>[7]</sup>。在典型的禾本科植物中，细胞壁含有约 55% 的半纤维素、25% 的纤维素和 10% 的果胶，不仅能为细胞提供机械支持，而且能通过自身结构的不断重构，来维持正常的生长发育和对外界胁迫的响应<sup>[8]</sup>。*Dos1* 突变体中 *α-tubulin 4* 基因突变，使得突变体茎和叶中的原生木质部导管次生细胞壁加厚模式从环状变为螺旋状，导管内径减小，水分运输效率降低<sup>[9]</sup>。*ZmIRX15A* 编码木聚糖沉积酶，其功能的破坏显著降低了次生细胞壁组分中木聚糖的丰度，并增加了气孔密度，使得蒸腾速率和 CO<sub>2</sub> 同化效率增加<sup>[10]</sup>。*MicroRNA166* (miRNA166) 靶向 *OsBH4* 调控纤维素合成基因，miRNA166 的低表达导致植株木质部导管直径变小，茎秆导水率降低<sup>[11]</sup>。水稻 *CLD1/SRL1* 编码一个糖磷脂酰肌醇 (GPI) 锚定的膜蛋白，其功能的缺失会导致叶片次生细胞壁中纤维素和木质素的含量显著降低，水分散失加快、叶片失水卷曲<sup>[12]</sup>。*GhGRPL* 可以通过影响木质素沉积来调节次生细胞壁发育，从而提高对非生物胁迫和生物胁迫的抵抗力<sup>[13]</sup>。*ZmNST3* 可以直接调控细胞壁生物合成相关基因的表达，促进细胞壁增厚或植物激素信号转导，从而改善玉米倒伏和抗旱性<sup>[14]</sup>。此外拟南芥中过表达 *ZmXTH30*、*RhEXPA4*，烟草中过表达 *TaEXPA2*、*EXPA4*，均能提高植株的抗氧化能力，增强其抗旱性<sup>[15-18]</sup>。

正向遗传学是经典的遗传学方法，通过挖掘调控重要性状的关键基因，可为玉米遗传改良提供靶向基因。本文通过鉴定 EMS 诱变的玉米突变体材料，获得稳定遗传的卷叶突变体 *swl5*，对其进行表型鉴定、遗传分析和功能解析，为抗旱玉米品种培育提供了候选基因。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

玉米 (*Zea mays* L.) 背景材料为自交系 RP125，作为野生型 (WT)，*swl5* 是 EMS 诱变 RP125 后分离到的一个卷叶突变体。构建突变体 *swl5* 与郑 58 杂交的 F<sub>2</sub> 分离群体，进行卷叶性状的遗传分析和基因定位。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 突变体 *swl5* 的遗传分析和基因定位** 2022 年夏季在北京和新疆种植 F<sub>2</sub> 遗传分离群体，以叶片失水卷曲为指标，在拔节中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。采用 BSR-Seq 方法对目的基因进行初定位，从分离群体中选取约 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样品池与正常样品池，利用 RNA 提取试剂盒 (TIANGEN, Cat#DP452) 提取叶片总 RNA，在北京贝瑞和康生物技术有限公司完成转录组测序。参考 BSR-Seq 方法分析流程，根据测序结果计算分析得出 *swl5* 基因的初定位区间<sup>[19]</sup>。采用 CTAB 法提取亲本、F<sub>1</sub> 和 F<sub>2</sub> 群体中卷叶表型单株 DNA 进行精细定位。候选基因定位所用方法及引物设计方法参考刘慧<sup>[20]</sup>。精细定位及基因克隆所用引物如表 1。

表 1 基因定位及基因克隆所用引物

Table 1 Primers for gene mapping and cloning

引物名称 Primer name	上游引物 (5'-3') Forward primer (5'-3')	下游引物 (5'-3') Reverse primer (5'-3')
SSR19	CCTCGATCTTTGGGTACTGC	GTATGTGCATATGCGGGTGT
Ins27	CCAATTCCATCCAACCATTC	TTTGTGGCTATTTTAGATCCACT
Del3	CTGCTGTCTGCTCGTGTC	GAAGGCGCTTCCTAGGAGTT
Del19	CAAGGTGCGGTTAGTCCAAT	GTATCACGGGACCGAGACTG
Ins59	CTCCTAAATGGTCCCGTTC	GCATAGTTTCCACAGGTGGTG
Ins100	GATCAGCGTTTTCCCTTTTG	CAGCCTCTCCCTCTCTCAC
Del70	TCCATGCGGTCTCTCTCTCT	CTGGGCAATGAACGAACC
Ins85	GTAGTGACTAGTGAGTGACCCGTCT	CCGAGCCTCACACAGCAA
Del69	GACTATCCGAGGGTGTGCGAA	TGGCTAGTGACGACAGCAAATT
Ins84	ACGCCAGCAGTTATCAAAT	CCCAGATCAACGGCACTTAT
GRMZM2G002260	GTCAAGGCGAAACGAAACCGA	CAGAAGTTGCTGGTGTTCAGACAAT

收集精细定位区间内候选基因的 EMS 突变体材料，繁种后获得突变体材料目的基因的基因型均为 Aa 的单穗，种于田间观察其表型并进行基因型鉴定；筛选基因型为 aa 的单株与 *swl5* 杂交进行等位测验，获得 F<sub>1</sub> 代单穗种于田间观察其表型。

**1.2.2 干旱胁迫处理** 田间拔节期干旱胁迫处理：设置田间干旱处理，每个材料种三行，行长 3.5 m，每行

15 株。前期正常浇水，播种后 51 d 进行控水处理，自然干旱 5 d 后观察野生型 WT 与突变体 *swl5* 的干旱胁迫表型。

苗期盆栽干旱胁迫处理：设置盆栽干旱处理，每盆种三株，营养土与蛭石比例为 1:1。前期正常浇水，播种后 35 d，干旱组进行控水处理，对照组正常浇水，干旱处理 3 d 后观察野生型 WT 与突变体 *swl5* 的干旱胁迫表型。每组处理设置三个生物学重复。

**1.2.3 光合参数测定** 选取长势一致的植株，使用 Li-6400 便携式光合测定仪 (LI-COR) 测定 WT 和 *swl5* 的净光合速率 (Pn,  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )、气孔导度 (Gs,  $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )、蒸腾速率 (Tr,  $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) 与叶片温度 (Lt,  $^{\circ}\text{C}$ )，每个材料至少测定 10 株。

**1.2.4 活性氧含量检测** 选取长势一致的野生型和突变体材料各三株，取倒四叶的叶片，液氮速冻研磨成粉后，利用试剂盒测定  $\text{H}_2\text{O}_2$  含量 (科铭生物, Cat# $\text{H}_2\text{O}_2$ -1-Y) 及  $\text{O}_2^{\cdot-}$  含量 (科铭生物, Cat#SA-1-G)。每组实验设置三个生物学重复，具体步骤参见试剂盒说明书。

**1.2.5 RNA 提取与 qRT-PCR 分析** 选取长势一致的野生型和突变体材料各三株，提取倒四叶的总 RNA (TIANGEN, Cat#DP452)，并以之为模板反转录为 cDNA (全式金, Cat#AT311)。采用 qRT-PCR 方法测量与细胞壁合成与降解相关基因的表达情况，qRT-PCR 反应体系为 20  $\mu\text{L}$ ：2 $\times$ TB Green Premix Ex Taq II Fast qPCR (TaKaRa, Cat#CN830A) 10  $\mu\text{L}$ ，正反向引物各 0.4  $\mu\text{L}$ ，cDNA 模板 2  $\mu\text{L}$ ，ddH<sub>2</sub>O 7.2  $\mu\text{L}$ ；反应程序：95 $^{\circ}\text{C}$  预变性 30 s，95 $^{\circ}\text{C}$  变性 10 s，60 $^{\circ}\text{C}$  延伸 30 s，40 个循环。每组实验设置三个生物学重复。基因表达量检测所用引物如表 2。

**表 2 qPCR 所用引物**  
**Table 2 Primers for qPCR**

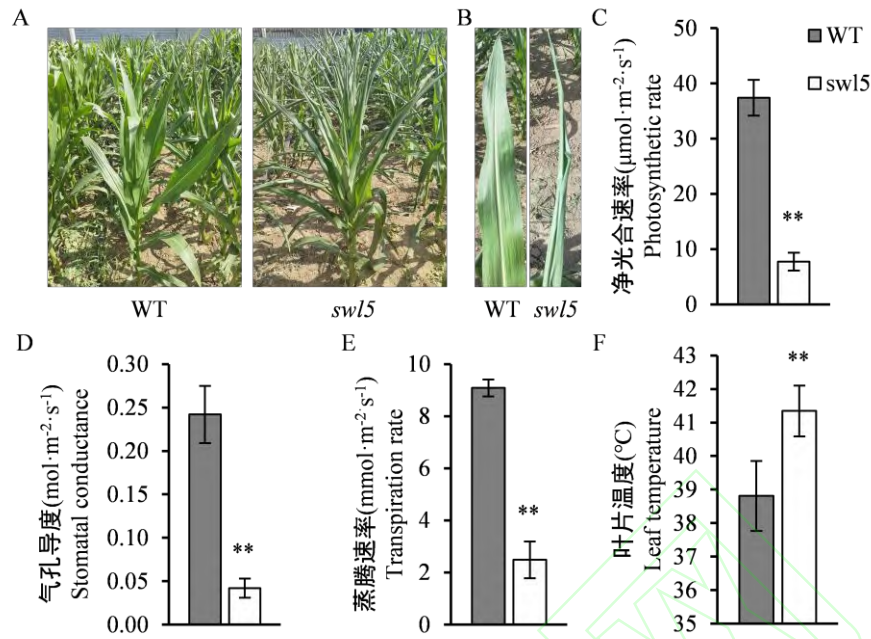
引物名称 Primer name	上游引物 (5'-3') Forward primer (5'-3')	下游引物 (5'-3') Reverse primer (5'-3')
<i>CESA5</i>	TGCACTGCTCCCGTGTACAAAC	TGTTCCACTGGCAGATGCACATTC
<i>DUF579</i>	AGGTGTACGAGACCGAGTGG	CATATCGCGGCCATCCT
<i>GT47</i>	AAGCCTTGGTAGCATCGTACG	ATTGGCTTGTGTCAGCAGTGT
<i>IRX9</i>	GTTTCGTCCAGCAAGTGGTTC	TGCCATACCATGACCTCTGA
<i>IRX9H-1</i>	GCATCGACGCCATTGTCTAT	ACCACACCAACACCATCCTT
<i>IRX9H-2</i>	ATCCACGGCCTCGTCTACTT	CCAGGTGCCAAAACCTCCTTA
<i>GUX1</i>	TGCTGCGTTTCTAACACTCCT	TCCATATCCACCCATTGAC
<i>TBL33</i>	CCCAGCTTCAATGCAACTCT	GCCCACGGTTCAGAGAATC
<i>Tubulin</i>	GTGTCCTGTCCACCCACTCTCT	GGAACTCGTTCACATCAACGTTC

## 2 结果与分析

### 2.1 突变体 *swl5* 的田间表型观察

卷叶突变体 *swl5* 由自交系 RP125 (WT) 经 EMS 诱变处理后得到，多代自交后卷叶表型仍稳定遗传。在田间干旱条件下，*swl5* 叶片严重失水卷曲、叶色泛白，内卷成葱状且直立，而野生型叶片则始终接近为平展叶、叶色青绿，长势正常 (图 1A~B)。对野生型和 *swl5* 进行光合效率的评估，与 WT 相比，*swl5* 的净光合速率、气孔导度和蒸腾速率均表现出明显的降低，而叶片温度则明显升高，叶片失水严重 (图 1C~F)。





A: 拔节期 WT 和 *swl5* 植株的表型; B: 拔节期 WT 和 *swl5* 叶片的表型; C: 拔节期 WT 与 *swl5* 的净光合速率; D: 拔节期 WT 与 *swl5* 的气孔导度; E: 拔节期 WT 与 *swl5* 的蒸腾速率; F: 拔节期 WT 与 *swl5* 的叶温, \*\*表示在  $P < 0.01$  水平上存在极显著差异

A: Phenotypes of WT and *swl5* plants at the elongation stage; B: Phenotypes of leaves of WT and *swl5* at the elongation stage; C: The photosynthetic rate of WT and *swl5* at the elongation stage; D: The stomatal conductance of WT and *swl5* at the elongation stage; E: The transpiration rate of WT and *swl5* at the elongation stage; F: The leaf temperature of WT and *swl5* at the elongation stage, \*\*indicating that there was an extremely significant difference at the  $P < 0.01$  level

图 1 突变体 *swl5* 的田间表型鉴定

Fig.1 The phenotype of *swl5* mutant in the field

## 2.2 突变体 *swl5* 的遗传分析及基因定位

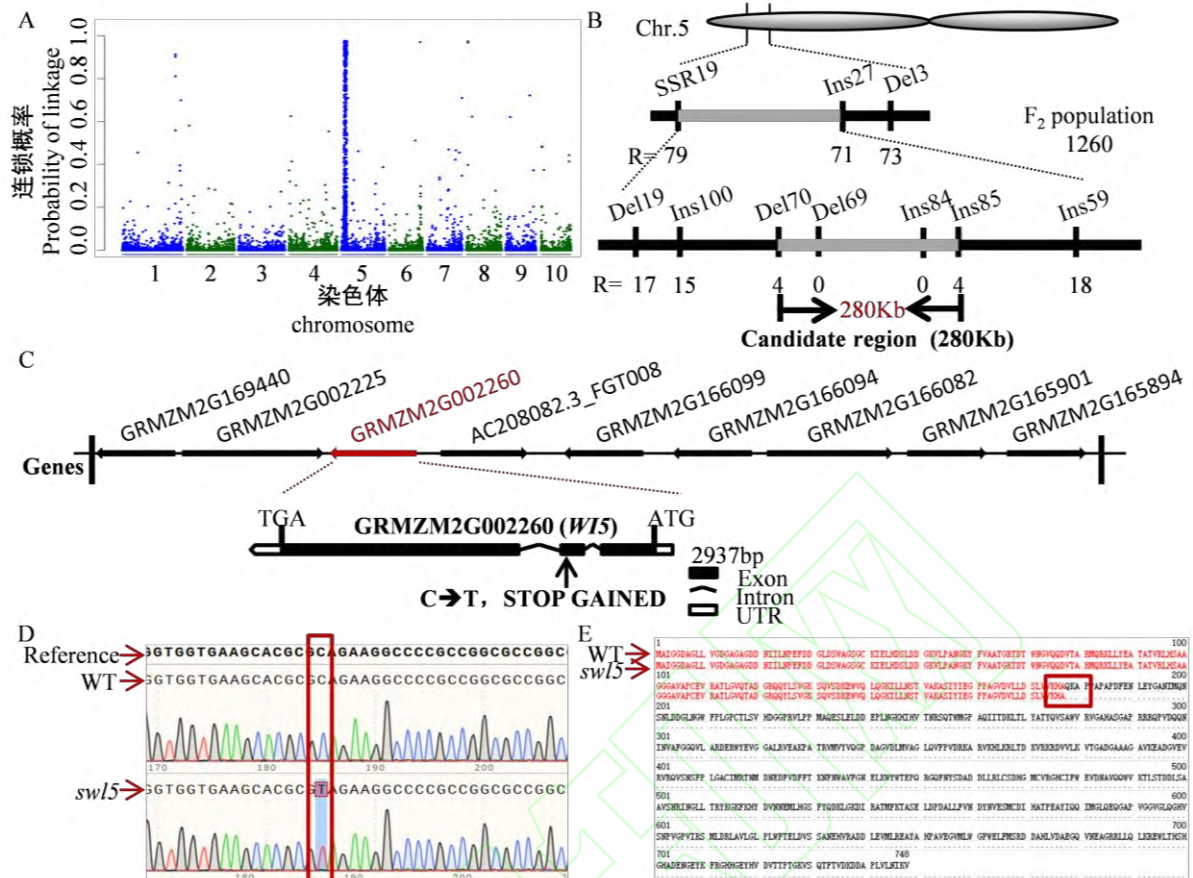
将突变体 *swl5* 与郑 58 之间进行杂交, 自交后  $F_2$  群体中表现出明显的卷叶分离, 经卡方检验, 正常表型与卷叶表型数量比值符合 3:1 分离比 (表 3), 表明该表型受隐性单基因控制。从分离群体中选择卷叶单株和平展叶单株各 30 株进行 BSR-seq 初定位, 结果显示, 在 10 条玉米染色体中, 只有 5 号染色体能够检测到一个极显著的峰 (图 2A), 将 *Swl5* 基因初步定位在 Chr.5 13.4~29.9 Mb (参考基因组 B73 V3 版本) 的区间。在 Chr.5 11.9~29.9 Mb 的区间内筛选多态性分子标记进行精细定位, 发现交换单株数目从左 (SSR19) 到右 (Del69) 呈现递减趋势; 而交换单株数目从右 (Del3) 到左 (Ins84) 呈现递减趋势, 在 Del70 和 Ins85 标记处分别检测到最少的交换单株, 进一步将 *Swl5* 基因定位于 Chr.5 13.8~14.1 Mb, 区间内有 9 个候选基因 (图 2B~C)。

对区间内候选基因进行扩增并测序, 发现与 WT 相比, *swl5* 在基因 GRMZM2G002260 第 748 位碱基处产生了 C-T 突变, 翻译提前终止 (图 2C~E)。该基因为已报道的 *ZmWl5*, 编码一个 GH10 家族的内源-1,4-木聚糖酶, 参与了植物细胞壁的降解和修饰过程<sup>[21-22]</sup>, 初步确定 *ZmWl5* 是 *swl5* 的功能基因。

表 3  $F_2$  代群体材料表型分离统计

Table3 The segregation ratio of the phenotypes in  $F_2$  generation population

地点 Position	群体 Population	正常表型 Normal phenotype	卷叶表型 Rolling phenotype	理论比例 Ratio of theory	卡方 $\chi^2$	P 值 P-value
新疆 Xinjiang	(Zh58× <i>swl5</i> ) $F_2$	146	49	3:1	0.002	0.967
顺义 Shunyi	(Zh58× <i>swl5</i> ) $F_2$	206	55	3:1	1.943	0.163
顺义 Shunyi	(Zh58× <i>swl5</i> ) $F_2$	267	76	3:1	1.330	0.249

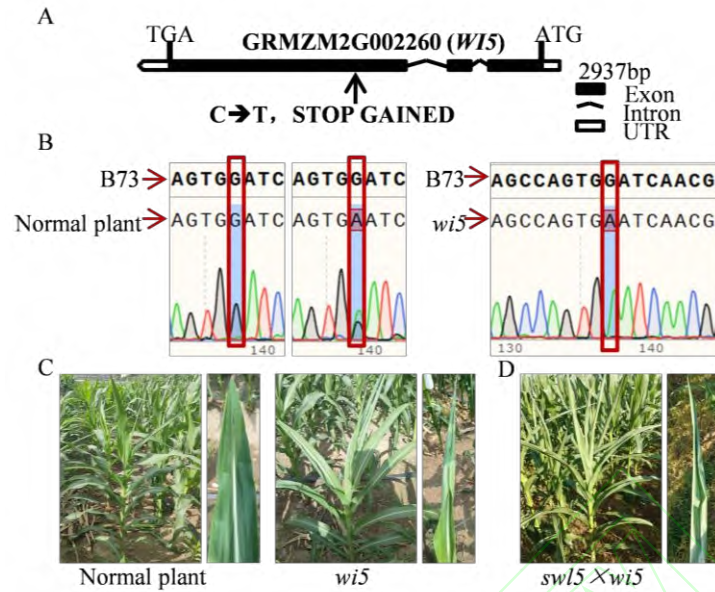


A: SNP 连锁概率分布; B: 候选基因精细定位遗传图谱; C: *swl5* 候选基因结构图; D: *swl5* 候选基因突变位点; E: WT 与 *swl5* 氨基酸序列比对结果, 红框所标为突变位点

A: SNP linkage probability distribution; B: The genetic map of the candidate gene by fine mapping; C: The structure of the *swl5* candidate gene; D: Sequence comparison of WT and *swl5* at the mutation site; E: Alignment of the amino acid sequence between WT and *swl5*, the red boxes is the mutation site of the mutant

图 2 *swl5* 突变体基因定位  
Fig.2 Gene-mapping of the *swl5*

为了进一步验证基因 *ZmWI5* 编码 *ZmSwl5*, 我们收集了精细定位区间内 9 个候选基因的 EMS 突变体材料, 繁种后获得 9 个突变体材料目的基因的基因型均是 Aa 的单穗, 种于田间观察其表型。表型鉴定结果表明, 9 个突变体中只有 *wi5* 突变体表现出与 *swl5* 一致的卷叶表型, 且具有卷叶表型的单株基因型均是 aa, 正常单株的基因型是 AA/Aa (图 3A~C), 正常单株与卷叶单株分离比符合 3:1 (表 4); 将 *swl5* 与 *wi5* 突变体进行杂交, 获得的 F<sub>1</sub> 代均表现出与 *swl5*、*wi5* 相似的卷叶表型 (图 3D), 进一步验证 *ZmWI5* 是突变体 *swl5* 的功能基因 *ZmSwl5*。



A: *wi5* 突变体的突变信息; B: 正常单株及 *wi5* 突变体对应测序峰图, 红框所标为突变位点; C: 正常单株及 *wi5* 突变体表型; D: *swl5* 和 *wi5* 突变体杂交 F<sub>1</sub> 代表型

A: The mutation information of *wi5* mutant; B: The sequencing peak map of the normal plant and *wi5* mutant, the red boxes indicate the mutation site; C: The phenotype of the normal plant and *wi5* mutant; D: The phenotype of the F<sub>1</sub> plant derived from the cross of *swl5* and *wi5* mutant

图 3 *wi5* 突变体的田间表型鉴定及等位测验

Fig.3 The phenotype of *wi5* mutant in the field and allele test

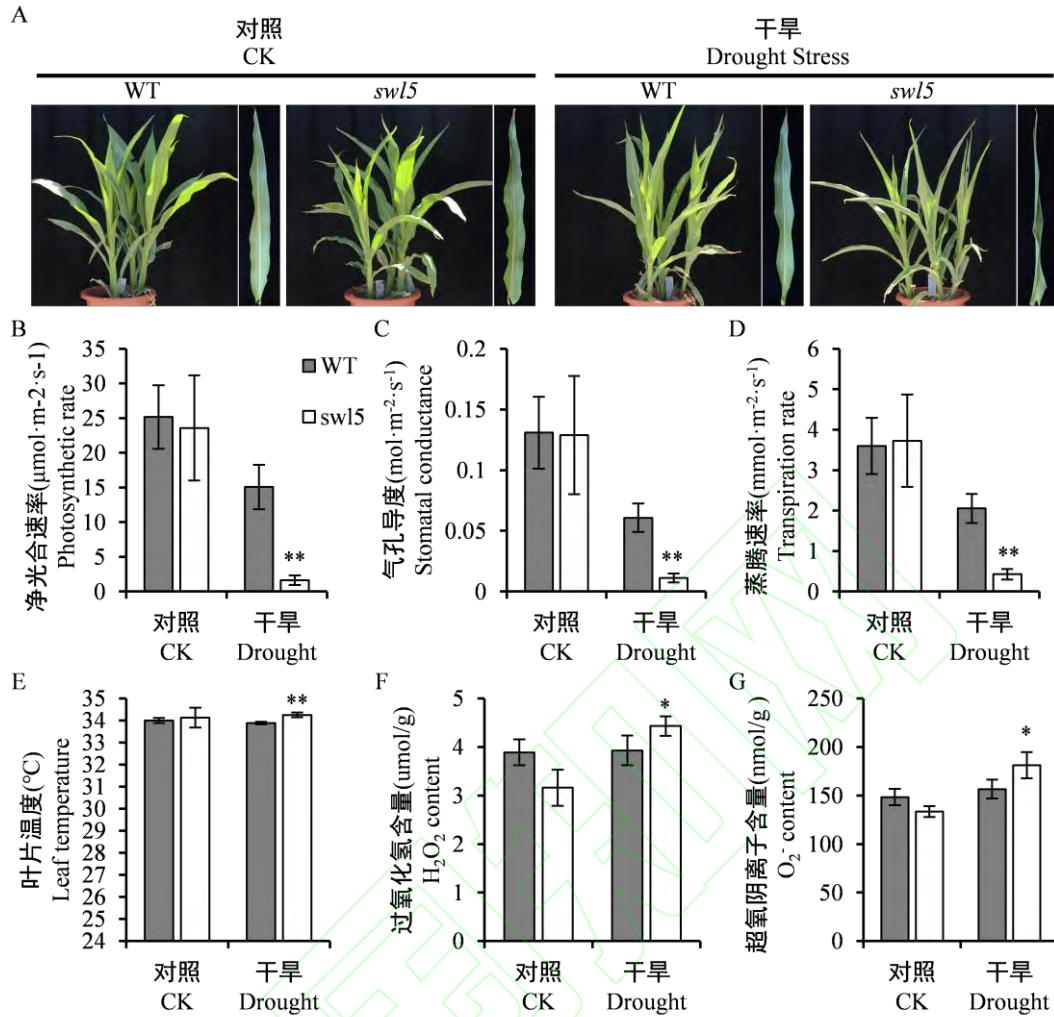
表 4 *wi5* 突变体表型与基因型统计

Table 4 The phenotype and genotype of the *wi5* mutant

基因号 Gene ID	总株数 Total number	正常单株 Normal plant		卷叶单株 Rolling plant		理论比例 Ratio of theory	卡方 $\chi^2$	P 值 P-value
		株数 Number	基因型 Genotype	株数 Number	基因型 Genotype			
		GRMZM2G002260	22	17	AA/Aa			

### 2.3 *swl5* 苗期干旱表型鉴定

前期在田间观察到 *swl5* 表现叶片卷曲失水的表型, 后续进一步鉴定 *ZmWI5* 基因在盆栽控水条件下是否参与干旱胁迫响应。在正常浇水条件下, *swl5* 突变体与野生型的生长状态基本一致, 叶片舒展、株型正常; 而在干旱条件下, 在野生型依然保持正常生长的状态下, *swl5* 已表现出严重的萎蔫卷曲表型, 叶尖开始干枯、叶色发白, 植株卷曲如葱状 (图 4A)。同时对其光合效率进行分析, 在正常浇水条件下, *swl5* 与 WT 的净光合速率、气孔导度、蒸腾速率和叶温保持一致, 无明显差异; 而在干旱条件下, *swl5* 的净光合速率、气孔导度、蒸腾速率表现出极显著的降低, 叶温也明显的升高 (图 4B~E), 这与前期田间所测数据是对应的 (图 1C~F)。进一步测定植株体内活性氧含量的变化, 发现干旱条件下 *swl5* 中的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 含量显著升高 (图 4F~G), 细胞受到损伤的程度更为严重。说明 *swl5* 是一个旱敏感的突变体, *ZmWI5* 正向调控玉米抗旱。



A: 苗期 WT 和 *swl5* 在正常浇水和干旱胁迫处理下植株及叶片的表型; B: 苗期 WT 和 *swl5* 的净光合速率; C: 苗期 WT 和 *swl5* 的气孔导度; D: 苗期 WT 和 *swl5* 的蒸腾速率; E: 苗期 WT 和 *swl5* 的叶片温度; F: 苗期 WT 和 *swl5* 的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量; G: 苗期 WT 和 *swl5* 的 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 含量。\*表示在  $P < 0.05$  水平上存在显著差异; \*\*表示在  $P < 0.01$  水平上存在极显著差异

A: The plants and leaves phenotype of WT and *swl5* mutants under well-watered and drought stress at the seedling stage; B: The photosynthetic rate of WT and *swl5* at the seedling stage; C: The stomatal conductance of WT and *swl5* at the seedling stage; D: The transpiration rate of WT and *swl5* at the seedling stage; E: The leaf temperature of WT and *swl5* at the seedling stage; F: The H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> content of WT and *swl5* at the seedling stage; G: The O<sub>2</sub><sup>-</sup> content of WT and *swl5* at the seedling stage. \*indicating that there was a significant difference at the  $P < 0.05$  level; \*\*indicating that there was an extremely significant difference at the  $P < 0.01$  level

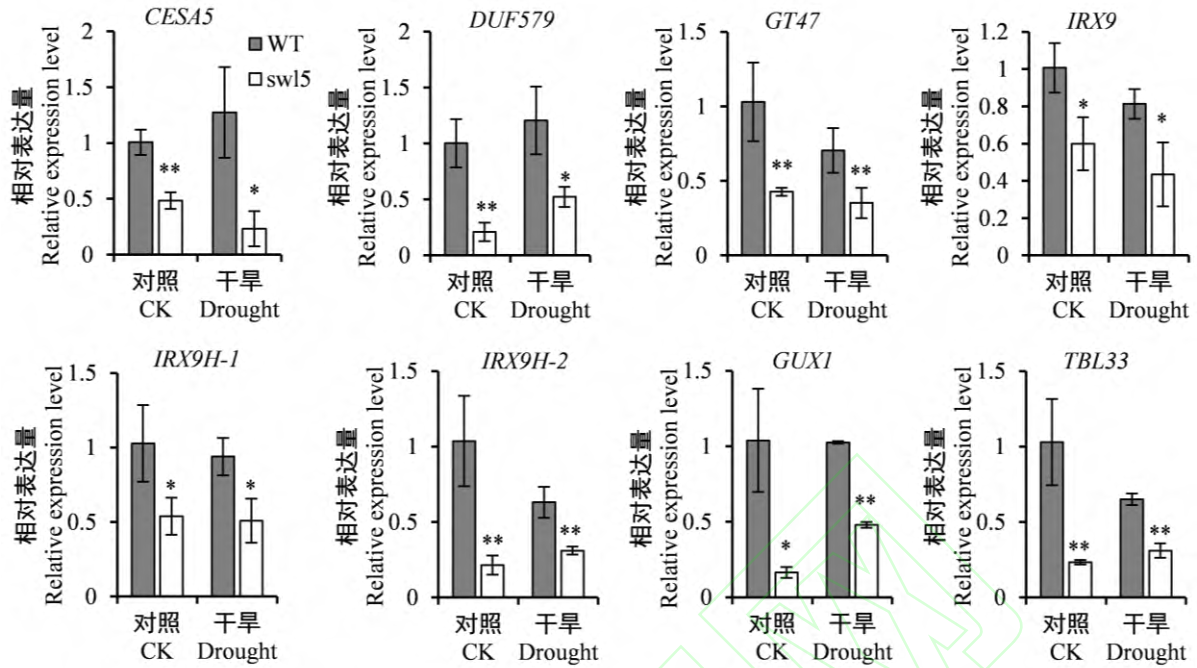
图 4 *swl5* 突变体的干旱表型鉴定

Fig.4 The phenotype of *swl5* mutant under drought stress

## 2.4 *swl5* 突变体细胞壁形成相关基因的表达分析

基因 *ZmWIS* 编码了一个 GH10 家族的内源-1,4-木聚糖酶, 主要功能是降解和重组细胞壁木聚糖, 参与植物细胞壁的形成过程<sup>[21-22]</sup>。因此为了进一步探究 *swl5* 表现干旱敏感表型的原因, 我们检测了参与细胞壁形成的基因在不同材料间的表达差异。初生细胞壁主要由纤维素、半纤维素、果胶和蛋白质等组成<sup>[23]</sup>; 次生细胞壁主要由纤维素、半纤维素(主要成分为木聚糖)和木质素构成, 结构更加坚韧<sup>[8]</sup>。与 WT 相比, *swl5* 中参与初生细胞壁纤维素合成的 *CESA5*、次生细胞壁木聚糖合成的 *DUF579*、*GT47*、*IRX9*、*IRX9H-1*、*IRX9H-2*、*GUX1* 及细胞壁木聚糖乙酰化的 *TBL33* 基因的表达量在正常和干旱条件下均显著降低(图 5), 表明 *swl5* 突变体中细胞壁合成相关基因表达降低, 可能导致突变体中细胞壁生长异常, 在干旱胁迫下, 突变体可能保水性降低, 表现出旱敏感表型。





\*表示在  $P < 0.05$  水平上存在显著差异; \*\*表示在  $P < 0.01$  水平上存在极显著差异

\* indicating that there was a significant difference at the  $P < 0.05$  level; \*\* indicating that there was an extremely significant difference at the  $P < 0.01$  level

图 5 *swl5* 突变体中细胞壁形成相关基因的表达量

Fig.5 The expression level of genes related to cell walls in *swl5* mutant

### 3 讨论

玉米是一种高耗水植物,对水分胁迫非常敏感,在其整个生长阶段都对水分的供应有着较高的要求<sup>[24-27]</sup>。干旱发生在营养生长期,会减缓幼苗生长速率,增加营养生长期<sup>[25]</sup>;发生在花期会降低花粉活性、延长散粉吐丝间隔期,降低授粉成功率<sup>[5,26]</sup>;发生在灌浆期会降低光合作用同化物向穗部运输和分配的比例,影响籽粒灌浆速度和灌浆程度<sup>[27]</sup>。植物对干旱的感知和反应机制是异常复杂的,由多个基因共同调控。目前科研工作者围绕玉米抗旱基因克隆和机理解析取得了很大的研究进展,*ZmNAC111*、*ZmVPP1*、*ZmSRO1d*、*ZmDREB2.7* 基因与玉米苗期耐旱性显著关联,且各自过表达均能显著提高玉米耐旱性<sup>[28-31]</sup>。*ZmPP2C-A10* 作为一个负调控因子参与了玉米逆境胁迫响应过程,在玉米中过表达该基因表现出对干旱敏感的表型<sup>[32]</sup>。克隆调控玉米抗旱的关键基因是个长期而艰巨的任务,本研究鉴定到的 *swl5* 突变体在苗期和成株期均表现明显的干旱敏感表型,净光合速率、气孔导度、蒸腾速率降低,表明 *swl5* 的功能基因在调控玉米抗旱方面起到重要的作用。

细胞壁是植物细胞抵抗外界环境胁迫的第一道屏障,细胞壁代谢紊乱会影响植株对逆境胁迫的耐受力。我们对 *swl5* 进行定位,发现 *Swl5* 编码内源-1,4-木聚糖酶,为已报道的 *ZmWI5*,参与细胞壁多糖成分水解,*wi5* 在木聚糖沉积和次生细胞壁增厚方面存在缺陷<sup>[21-22]</sup>。木聚糖是禾本科植物细胞壁的重要组成成分,糖基转移酶家族 43 (如 *IRX9*、*IRX9H*)、47、8 (如 *GUX1*) 等参与木聚糖的合成,其功能的正常行使对于细胞壁的正常沉积乃至植株的生长发育至关重要<sup>[33-36]</sup>。*AtIRX9*、*AtIRX10* 的突变影响重度干旱条件下拟南芥莲座叶的发育,叶面积明显减少、植株长势较弱<sup>[33]</sup>。*TBL* 基因参与细胞壁的乙酰化,与拟南芥 *esk1* 单突变体相比, *tbl34/tbl35/esk1* 三突变体的木聚糖乙酰化降低,木质部导管严重坍塌,次生细胞壁结构改变,植物生长极其缓慢<sup>[37]</sup>。本研究发现在 *swl5* 突变体中参与木聚糖合成的相关基因 *DUF579*、*GT47*、*IRX9*、*IRX9H-1*、*IRX9H-2*、*GUX1* 及细胞壁木聚糖乙酰化的 *TBL33* 基因在正常和干旱条件下表达均显著降低,说明 *ZmWI5* 基因的突变导致木聚糖合成相关基因表达降低,从而影响了细胞壁木聚糖的合成,可能导致细胞壁的功能受损,当遭受到干旱胁迫时表现出叶片失水卷曲的旱敏感表型。

## 参考文献

- [1] Chan F K S, Zhu Y G, Wang J Y, Chen J N, Johnson M F, Li G, Chen W Q, Wang L, Li P F, Wang J L. Food security in climatic extremes: Challenges and opportunities for China. *Cell Reports Sustainability*, 2024, 1(2): 100013
- [2] 陈亚宁, 李稚, 方功煊, 李玉册. 全球干旱变化及应对. *科技导报*, 2025, DOI:10.3981/j.issn.1000-7857.2024.04.00355
- Chen Y N, Li Z, Fang G H, Li Y P. Global drought variation and its adaptation. *Science & Technology Review*, 2025, DOI:10.3981/j.issn.1000-7857.2024.04.00355
- [3] 赵文赛, 孙永林, 刘西平. 干旱-复水-再干旱处理对玉米光合能力和生长的影响. *植物生态学报*, 2016, 40(6): 594-603
- Zhao W S, Sun Y L, Liu X P. Effects of drought-rewatering-drought on photosynthesis and growth of maize. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 2016, 40(6): 594-603
- [4] 李小炜, 李晓韬. 干旱区玉米不同水肥下 N、P、K 吸收及干物质积累规律的研究. *江西农业学报*, 2018, 30(1): 27-31, 36
- Li X W, Li X T. Studies on N, P, K absorption and dry matter accumulation in maize under different water and fertilizer conditions in arid area. *Acta Agriculturae Jiangxi*, 2018, 30(1): 27-31, 36
- [5] Liu B X, Zhang B, Yang Z R, Liu Y, Yang S P, Shi Y L, Jiang C F, Qin F. Manipulating *ZmEXPA4* expression ameliorates the drought-induced prolonged anthesis and silking interval in maize. *The Plant Cell*, 2021, 33(6): 2058-2071
- [6] 陈妮娜, 纪瑞鹏, 贾庆宇, 冯锐, 米娜, 张淑杰, 张玉书, 于文颖. 关键发育期干旱对春玉米产量及籽粒品质的影响. *生态学杂志*, 2021, 40(6): 1687-1694
- Chen N N, Ji R P, Jia Q Y, Feng R, Mi N, Zhang S J, Zhang Y S, Yu W Y. Effects of drought stress at key growth stages on yield and grain quality of spring maize. *Chinese Journal of Ecology*, 2021, 40(6): 1687-1694
- [7] Seifert G J, Blaukopf C. Irritable walls: the plant extracellular matrix and signaling. *Plant Physiology*, 2010, 13(2): 467-478
- [8] Vogel J. Unique aspects of the grass cell wall. *Current Opinion in Plant Biology*, 2008, 11(3): 301-307
- [9] Huang S Q, Guo S Y, Dai L F, Mi L Y, Li W R, Xing J J, Hu Z B, Wu W Q, Duan Z K, Li B Z, Sun T, Wang B J, Zhang Y, Xiao T Q, Xue Y L, Tang N, Li H, Zhang C Q, Song C P. Tubulin participates in establishing protoxylem vessel reinforcement patterns and hydraulic conductivity in maize. *Plant Physiology*, 2024, 196(2): 931-947
- [10] Zhang K, Xue M, Qin F, He Y, Zhou Y Y. Natural polymorphisms in *ZmIRX15A* affect water-use efficiency by modulating stomatal density in maize. *Plant Biotechnology Journal*, 2023, 21(12): 2560-2573
- [11] Zhang J S, Zhang H, Srivastava AK, Pan Y J, Bai J J, Fang J J, Shi H Z, Zhu J K. Knockdown of rice MicroRNA166 confers drought resistance by causing leaf rolling and altering stem xylem development. *Plant Physiology*, 2018, 176(3): 2082-2094
- [12] Li W Q, Zhang M J, Gan P F, Qiao L, Yang S Q, Miao H, Wang G F, Zhang M M, Liu W T, Li H F, Shi C H, Chen K M. *CLD1/SRL1* modulates leaf rolling by affecting cell wall formation, epidermis integrity and water homeostasis in rice. *Plant Journal*, 2017, 92(5): 904-923
- [13] Yu W T, Dai Y L, Chen J M, Liang A M, Wu Y P, Suo Q W, Chen Z, Yan X Y, Wang C N, Lai H Y, Wang F L, Zhang J Y, Liu Q Z, Wang Y, Li Y H, Ran L F, Xiang J, Pei Z W, Xiao Y H, Zeng J Y. Upregulation of the glycine-rich protein-encoding gene *GhGRPL* enhances plant tolerance to abiotic and biotic stressors by promoting secondary cell wall development. *Journal of Integrative Agriculture*, 2024, 23(10): 3311-3327
- [14] Ren Z Z, Zhang D L, Cao L R, Zhang W Q, Zheng H J, Liu Z X, Han S B, Dong Y H, Zhu F F, Liu H F, Su H H, Chen Y H, Wu L C, Zhu Y F, Ku L X. Functions and regulatory framework of *ZmNST3* in maize under lodging and drought stress. *Plant Cell and Environment*, 2020, 43(9): 2272-2286
- [15] Fu W C, Fan D L, Zhang Y. Genome-wide identification and characterization of xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase gene family in maize (*Zea mays* L.) and the function of *ZmXTH30* in response to drought stress. *Environmental and Experimental Botany*, 2024, 222:105744
- [16] Lü P T, Kang M, Jiang X Q, Dai F W, Gao J P, Zhang C Q. *RhEXPA4*, a rose expansin gene, modulates leaf growth and confers drought and salt tolerance to *Arabidopsis*. *Planta*, 2013, 237(6): 1547-1559
- [17] Chen Y H, Han Y Y, Zhang M, Zhou S, Kong X Z, Wang W. Overexpression of the Wheat Expansin Gene *TaEXPA2* improved seed production and drought tolerance in transgenic tobacco plants. *PLoS ONE*, 2016, 11(4): e0153494
- [18] Chen L J, Zou W S, Fei C Y, Wu G, Li X Y, Lin H H, Xi D H.  $\alpha$ -Expansin *EXPA4* positively regulates abiotic stress tolerance but negatively regulates pathogen resistance in *Nicotiana tabacum*. *Plant and Cell Physiology*, 2018, 59(11): 2317-2330
- [19] 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
- [20] 刘慧. 一个玉米卷叶突变体的表型鉴定与基因定位. 北京: 中国农业科学院, 2016
- Liu H. Phenotypic Characterization and gene mapping of a rolled leaf mutant in maize (*Zea mays* L.). Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2016
- [21] Hu X J, Cui Y, Lu X M, Song W B, Lei L, Zhu J J, Lai J S, E L Z, Zhao H M. Maize *W15* encodes an endo-1,4- $\beta$ -xylanase required for secondary cell wall synthesis and water transport in xylem. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2020, 62(10):1607-1624
- [22] Pang S Y, Zheng H Y, Zhang J K, Ren X T, Zong X F, Zou J J, Wang L. Function analysis of a maize Endo-1,4- $\beta$ -xylanase gene *ZmHSL* in response to high-temperature stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 2024, 25(16): 8834
- [23] Cosgrove D J. Assembly and enlargement of the primary cell wall in plants. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 1997, 13: 171-201
- [24] 肖俊夫, 刘战东, 南纪琴, 于秀琴. 不同水分处理对春玉米生态指标、耗水量及产量的影响. *玉米科学*, 2010, 18(6): 94-97, 101
- Xiao J F, Liu Z D, Nan J Q, Yu X Q. Effects of different moisture treatments on ecological index, water consumption and yield of spring maize. *Journal of Maize Sciences*, 2010, 18(6): 94-97, 101
- [25] 邹成林, 翟瑞宁, 钦洁, 谭华, 黄爱花, 韦新兴, 黄开健, 莫润秀, 黄艳芬. 不同浓度 PEG 模拟干旱胁迫对玉米种子萌发特性的影响. *玉米科学*, 2021, 29(6): 68-75
- Zou C L, Zhai R N, Qin J, Tan H, Huang A H, Wei X X, Huang K J, Mo R X, Huang Y F. Effects of simulated drought stress with different concentrations of PEG on germination characteristics of maize seed. *Journal of Maize Sciences*, 2021, 29(6): 68-75
- [26] 宋有洪, 张婷, 黄骥达, 杨曼, 胡兆玉, 朱凡, 于怡, 王志伟. 干旱胁迫延迟玉米花丝吐丝的生理特征研究. *安徽农业大学学报*, 2024, 51(4): 557-562
- Song Y H, Zhang T, Huang X D, Yang M, Hu Z Y, Zhu F, Yu Y, Wang Z W. Physiological characterization of maize silking delayed by drought stress. *Journal of Anhui Agricultural University*, 2024, 51(4): 557-562
- [27] 赵花荣, 张玲, 齐月, 杨超, 胡丽丽. 旱、渍胁迫对夏玉米根冠比及籽粒灌浆源库关系的影响. *气候变化研究进展*, 2024, 20(6): 782-798
- Zhao H R, Zhang L, Qi Y, Yang C, Hu L L. Effects of drought and waterlogging stress on root-shoot ratio and source-sink relationship of grain filling of summer maize. *Climate Change Research*, 2024, 20(6): 782-798
- [28] Mao H D, Wang H W, Liu S X, Li Z G, Yang X H, Yan J B, Li J S, Tran L S, Qin F. A transposable element in a *NAC* gene is associated with drought tolerance in maize seedlings. *Nature Communications*, 2015, 6(1): 8326
- [29] Wang X L, Wang H W, Liu S X, Ferjani A, Li J S, Yan J B, Yang X H, Qin F. Genetic variation in *ZmVPP1* contributes to drought tolerance in maize seedlings. *Nature Genetics*, 2016, 48(10): 1233-1241

- [30] Gao H J, Cui J J, Liu S X, Wang S H, Lian Y Y, Bai Y T, Zhu T F, Wu H H, Wang Y J, Yang S P, Li X F, Zhuang J H, Chen L M, Gong Z Z, Qin F. Natural variations of *ZmSRO1d* modulate the trade-off between drought resistance and yield by affecting ZmRBOHC-mediated stomatal ROS production in maize. *Molecular Plant*, 2022, 15(10): 1558-1574
- [31] Liu S X, Wang X L, Wang H W, Xin H B, Yang X H, Yan J B, Li J S, Tran LS, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K, Qin F. Genome-wide analysis of *ZmDREB* genes and their association with natural variation in drought tolerance at seedling stage of *Zea mays* L. *PLoS Genetics*, 2013, 9(9): e1003790
- [32] Xiang Y L, Sun X P, Gao S, Qin F, Dai M Q. Deletion of an endoplasmic reticulum stress response element in a *zmp2c-a* gene facilitates drought tolerance of maize seedlings. *Molecular Plant*, 2017, 10(3): 456-469
- [33] Barbut F R, Cavel E, Donev E N, Gaboreanu I, Urbancsok J, Pandey G, Demailly H, Jiao D Y, Yassin Z, Derba-Maceluch M, Master E R, Scheepers G, Gutierrez L, Mellerowicz E J. Integrity of xylan backbone affects plant responses to drought. *Frontiers in Plant Science*, 2024, 15:1422701
- [34] Lee C, Teng Q, Zhong R, Ye Z H. *Arabidopsis* GUX proteins are glucuronyltransferases responsible for the addition of glucuronic acid side chains onto xylan. *Plant and Cell Physiology*, 2012, 53(7): 1204-1216
- [35] Mortimer J C, Miles G P, Brown D M, Zhang Z N, Segura M P, Weimar T, Yu X L, Seffen K A, Stephens E, Turner S R, Dupree P. Absence of branches from xylan in *Arabidopsis gux* mutants reveals potential for simplification of lignocellulosic biomass. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(40): 17409-17414
- [36] Pandey S K, Nookaraju A, Fujino T, Pattathil S, Joshi C P. Virus-induced gene silencing (VIGS)-mediated functional characterization of two genes involved in lignocellulosic secondary cell wall formation. *Plant Cell Reports*, 2016, 35(11): 2353-2367
- [37] Yuan Y X, Teng Q C, Zhong R Q, Ye Z H. Roles of *Arabidopsis* TBL34 and TBL35 in xylan acetylation and plant growth. *Plant Science*, 2015 243: 120-130

