



田博睿, 赵梁婧, 李旭辉, 李莉, 陈全全, 王建华, 顾日良, 杜雪梅. 玉米种子耐低温萌发 QTL 位点的初定位[J]. 中国农业大学学报, 2026, 31(03): 1-12.
TIAN Borui, ZHAO Liangjing, LI Xuhui, LI Li, CHEN Quanquan, WANG Jianhua, GU Riliang, DU Xuemei. Quantitative trait locus mapping for low-temperature germination ability in maize[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2026, 31(03): 1-12.
DOI: 10.11841/j.issn.1007-4333.2026.03.01

玉米种子耐低温萌发 QTL 位点的初定位

田博睿¹ 赵梁婧¹ 李旭辉² 李莉¹ 陈全全¹ 王建华¹ 顾日良¹ 杜雪梅^{1*}

(1. 中国农业大学农学院/玉米生物育种全国重点实验室, 北京 100193;
2. 广东省科学院南繁种业研究所, 广州 510316)

摘要 早春低温胁迫严重制约我国北方及高海拔地区玉米生产, 挖掘耐低温萌发遗传位点是培育抗逆品种的重要基础。本研究以我国河北省承德地区特有的耐低温萌发自交系‘C181’和骨干系‘PH6WC’为亲本, 构建了包含 209 个家系的 F₄ 分离群体。对群体进行冷浸发芽试验, 选取冷浸发芽率、苗长和根长作为玉米种子耐低温萌发能力的评价指标。利用 3.5K 液相芯片进行全基因组基因分型检测, 构建遗传连锁图谱, 利用完备区间作图法(ICIM)检测低温萌发相关 QTL 位点。结果表明: 利用耐低温萌发自交系‘C181’和骨干系‘PH6WC’的 911 个多态性 SNP 标记构建的遗传连锁图谱总长为 3 772.25 cM, 标记间的平均遗传距离约为 4.14 cM。共检测到调控冷浸发芽率的 QTL 位点 11 个、调控苗长的 QTL 位点 1 个和调控根长的 QTL 位点 2 个, 各 QTL 表型贡献率在 2.33% 至 8.27% 之间。在表型贡献率最高的 2 个 QTL 区间内, 初步筛选出与苗长相关的候选基因 *Zm00001d007153* (编码缺氧响应蛋白) 和与发芽率相关的候选基因 *Zm00001d049926* (编码赤霉素代谢相关酶)。综上, 冷浸发芽法是鉴定玉米种子耐低温萌发 QTL 位点的有效方法, 利用我国特有的耐低温种质‘C181’能够发掘新的遗传位点, 为后续基因克隆与耐低温遗传改良提供了重要位点信息。

关键词 玉米; 种子萌发; 耐低温; QTL 定位

中图分类号 S513 文章编号 1007-4333(2026)03-0001-12 文献标志码 A

Quantitative trait locus mapping for low-temperature germination ability in maize

TIAN Borui¹, ZHAO Liangjing¹, LI Xuhui², LI Li¹, CHEN Quanquan¹, WANG Jianhua¹,
GU Riliang¹, DU Xuemei^{1*}

(1. College of Agronomy and Biotechnology/ State Key Laboratory of Maize Bio-Breeding, China Agricultural University, Beijing 100193, China;
2. Institute of Nanfan and Seed Industry, Guangdong Academy of Science, Guangzhou 510316, China)

Abstract Low-temperature stress during early spring poses a major constraint on maize production in northern China and other high-altitude regions. Mining genetic loci associated with low-temperature germination (LTG) tolerance is therefore essential for developing resilient cultivars. In this study, an F₄ segregating population consisting of 209 families was developed from a cross between ‘C181’, a cold-tolerant inbred line unique to Chengde, Hebei Province, China, and the elite but cold-sensitive line ‘PH6WC’. The population was subjected to cold-soaking germination tests, with germination rate, seedling length, and root length under low temperature used as indicators of LTG tolerance. Genome-wide genotyping was performed using a 3.5K liquid SNP array,

收稿日期: 2025-09-08; 接受日期: 2025-11-11

基金项目: 国家重点研发计划(2023YFD1200502); 国家自然科学基金项目(32201843, 32372161); 国家玉米产业技术体系项目(CARS-02-13)

第一作者: 田博睿(ORCID: 0009-0000-0703-8376), 硕士研究生, E-mail: 15304612679@163.com

通讯作者: 杜雪梅(ORCID: 0000-0002-1781-7207), 副教授, 主要从事玉米种子生物学研究, E-mail: duxuemei@cau.edu.cn

followed by construction of a genetic linkage map and detection of LTG-related quantitative trait loci (QTL) via inclusive composite interval mapping (ICIM). A linkage map spanning 3 772.25 cM was constructed with 911 polymorphic SNP markers, yielding an average marker interval of 4.14 cM. A total of 14 QTLs were identified, including 11 for cold-soaking germination rate, one for seedling length, and two for root length. These QTLs individually explained 2.33% to 8.27% of the phenotypic variance. Within the two QTL intervals with the highest contributions, *Zm00001d007153* (encoding a hypoxia-responsive protein) and *Zm00001d049926* (encoding an enzyme involved in gibberellin metabolism) were prioritized as candidate genes associated with seedling length and germination rate, respectively. Our results demonstrate that the cold-soaking germination assay is an effective method for mapping QTLs underlying LTG tolerance in maize, and that the unique Chinese cold-tolerant germplasm ‘C181’ can serve as a valuable resource for uncovering novel genetic loci. This study provides critical information for subsequent gene cloning and genetic improvement of low-temperature tolerance in maize.

Keywords maize; seed germination; cold tolerance; QTL mapping

玉米起源于热带和亚热带区域,属于典型的喜温作物,对于低温冷害的耐受能力相对薄弱,极易受到冷害的不良影响^[1]。早春低温冷害是影响玉米生产的主要气象灾害之一,特别是在北方地区和高海拔地区^[2]。低温胁迫可引起一系列生理反应,如渗透调节物质含量改变、活性氧异常积累、激素稳态破坏等,导致膜系统损伤、细胞脱水、蛋白质变性^[3-5]。玉米种子萌发期遭受低温冷害不仅容易造成缺苗断垄,还会延缓生长发育,最终影响玉米产量。挖掘玉米耐低温萌发相关的遗传位点和调控基因对保障我国春玉米高产稳产具有重要意义。解析玉米耐低温萌发的遗传基础,是培育抗逆品种、保障高产稳产的关键。

玉米耐低温萌发属于复杂的数量性状,且易受到外界环境的影响^[6]。近年来,随着分子标记技术的快速发展,利用连锁分析和关联分析定位 QTL 位点已成为研究热点^[7]。Rodriguez 等^[8]利用 B73 和 Mo17 组配的遗传群体定位到了 2 个与耐冷性状相关的 QTL; Hu 等^[9]利用 IBM Syn4 重组自交系 (RIL),检测到 12 个与低温发芽率和主根长度相关的 QTL。全基因组关联分析 (GWAS) 则在自然群体中检测到更多与萌发期耐冷性显著关联的位点, Huang 等^[10]利用 125 个玉米自交系对玉米种子萌发和幼苗耐低温特性进行测定, GWAS 共检测到 43 个显著关联的 SNP 位点; Hu 等^[11]利用 282 份玉米自交系对种子萌发耐低温特性进行测定, GWAS 获得了 17 个显著关联的 SNP 位点。这些研究定位了多个玉米耐低温相关的 QTL 位点,但从中克隆功能基因的报道十分缺乏,而且仍需利用更多种质资源克隆相关位点及基因^[12]。

筛选我国特有的地方耐低温种质资源、挖掘耐低温相关 QTL 和功能基因,可以为耐低温新品种培育

提供基础材料和基因资源,为我国玉米生产提供保障^[13]。冷浸发芽法利用低温水浴处理种子来模拟种子吸胀时期遭受低温胁迫,是鉴定玉米种子耐低温萌发能力的有效方法,与田间出苗率相关性较高,为表型精准鉴定提供了可靠方法^[14]。本研究选取来源于河北省承德高纬度地区强耐低温自交系 ‘C181’ 与广适但对低温敏感的骨干系 ‘PH6WC’ 为亲本,构建遗传分离群体,旨在通过冷浸发芽试验结合 SNP 芯片基因分型技术,初步定位调控玉米种子耐低温萌发的 QTL 位点,并挖掘潜在的候选基因,以期为玉米种子耐低温萌发遗传机制解析提供新的遗传位点和理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本试验玉米材料是以对低温敏感程度存在显著差异的 2 个自交系 ‘PH6WC’ 和 ‘C181’ 为亲本,杂交后连续自交,得到 F₄ 群体,共计 209 份。‘C181’ 来源于河北承德农科院, ‘PH6WC’ 是杂交种 ‘先玉 335’ 的母本。

田间材料分别种植于海南省三亚市中国农科院作物科学研究所试验基地和河北省涿州市中国农业大学教学试验场,播种时 5 m 行长, 20 cm 株距,在所有雌穗抽丝前套袋以防花粉污染,吐丝后进行人工授粉。收获材料时按整行收取,剔除病变、劣变和杂株的果穗。

1.2 试验方法

1.2.1 亲本和定位群体的表型鉴定

标准发芽:采用国际种子检验协会的标准发芽方法进行^[15],每份材料挑选 50 粒完好种子,使用 1%

的次氯酸钠溶液浸泡消毒 10 min 后,去离子水清洗直至完全无味。发芽纸用去离子水完全浸湿,确保纸张充分吸水。酒精喷洒桌面,铺两层发芽纸,利用置种板将 50 粒种子均匀平整地摆在发芽纸上,种胚朝下,覆盖一张发芽纸。将三层发芽纸轻轻卷起,竖直放入 12 号自封袋中,记录材料名称以及日期,放入 25℃ 的人工气候箱恒温培养 7 d 后,调查种子的发芽率(GP),并随机测量 10 株幼苗的苗长(SL)和根长(RL)。

冷浸发芽:按照农业农村部行业标准《玉米种子活力测定 冷浸发芽法》(NY/T 3766—2020)^[15]进行。每份材料中挑选 50 粒完好的种子,1% 的次氯酸钠溶液浸泡消毒 10 min 以上,去离子水洗净,放入提前预冷的 4℃ 去离子水中浸泡 3 d 后,取出回干,再进行上述标准发芽试验,记录冷浸条件下 GP、SL、RL。

1.2.2 电导率测定

亲本材料各挑选出 25 粒种子,利用精度为 0.01 g 的称称重,记录下重量 W 。种子用去离子水冲洗 3 次,定性滤纸轻轻吸去种子表面水分。将种子和 100 mL 去离子水加入 150 mL 的烧杯中,种子完全浸没后立即测定溶液电导率,记为 d_1 。用铝箔密封烧杯,并将其置于 4℃ 的环境中浸种 3 d。浸种结束后,立刻移除铝箔或薄膜盖,轻轻摇晃烧杯使种子与溶液充分混合。将电极放入溶液中,测定此时浸出液电导率,记为 d_2 。将装有种子和浸出液的烧杯放入水浴锅中,100℃ 加热 30 min。取出烧杯冷却至室温,测定绝对电导率,记为 d_3 。按式(1)和(2)分别计算浸出液电导率与相对电导率。

$$\text{浸出液电导率} = \frac{d_2 - d_1}{W} \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{相对电导率} = \frac{d_2 - d_1}{d_3 - d_1} \times 100\% \quad (2)$$

式中: W 为测定种子重量, g; d_1 为初始电导率, $\mu\text{S}/\text{cm}$; d_2 为种子冷浸后电导率, $\mu\text{S}/\text{cm}$; d_3 为种子完全失活后的绝对电导率, $\mu\text{S}/\text{cm}$ 。

1.2.3 定位群体遗传连锁图谱构建和 QTL 定位

取定位亲本和群体幼嫩叶片,送至河北省石家庄市博瑞迪生物技术有限公司,利用 3.5K 液相芯片进行基因型检测,并利用 R 包 CMplot 绘制 SNP 密度分布图。利用 QTL IciMapping SNP 转换时去除亲本和后代间没有多态性的标记,并在 QTL IciMapping 4.2 软件 BIN 中设置 50% 的缺失

率阈值和 0.05 的偏分率阈值过滤掉低质量的 SNP,再根据亲本基因型筛选出在群体中符合 1:2:1 分离比的标记构建遗传连锁图谱。利用 QTL IciMapping 4.2 软件对群体进行 QTL 位点初定位,采用完备区间作图法(ICIM),以 LOD 值 ≥ 2.5 作为存在 QTL 的阈值,同时计算筛选到的 QTL 的加性和显性效应,按照“q+性状缩写+染色体编号”的命名方法对 QTL 位点进行命名。

1.3 统计分析

利用 SPSS 28.0 软件对发芽试验的表型数据进行皮尔逊(Pearson)和斯皮尔曼(Spearman)相关性分析。利用 Origin 2021 软件对发芽试验的表型数据进行频数分布统计。

2 结果与分析

2.1 亲本耐低温萌发能力及细胞膜稳定性差异

2.1.1 亲本‘C181’和‘PH6WC’标准和低温萌发表型比较

标准萌发条件下,两个亲本的发芽率、苗长和根长均无显著差异(图 1(a)和图 2)。冷浸处理后,‘C181’的发芽率保持 96% 的高水平,与标准发芽相比几乎无变化,但‘PH6WC’的发芽率降到 80% (图 1(b)和图 2(a)),同时冷浸处理后‘PH6WC’的根长也显著低于‘C181’(图 2(c))。表明双亲对低温的敏感程度具有显著差异,‘C181’自交系在萌发期具有显著的耐低温特性。

2.1.2 亲本‘C181’和‘PH6WC’低温萌发电导率测定

将亲本‘C181’与‘PH6WC’的种子冷浸处理 3 d,测量浸出液电导率,结果表明‘C181’的浸出液电导率为 5.51 $\mu\text{S}/\text{cm}$,‘PH6WC’的浸出液电导率为 7.86 $\mu\text{S}/\text{cm}$,显著性分析结果表明,亲本‘PH6WC’冷浸处理后电导率显著高于‘C181’(图 3(a))。将装有种子和浸出液的烧杯彻底煮沸后,测定绝对电导率,结果表明‘PH6WC’的相对电导率也显著高于‘C181’(图 3(b))。这证实低温胁迫对‘PH6WC’种子细胞膜造成的损伤更为严重,导致更多胞内溶质外渗,而‘C181’自交系膜系统损伤较轻,更耐低温。

2.2 定位群体不同萌发条件下的表型分析

2.2.1 定位群体标准发芽条件下的表型变异和相关性

F_4 群体在标准发芽条件下,发芽率、苗长以及

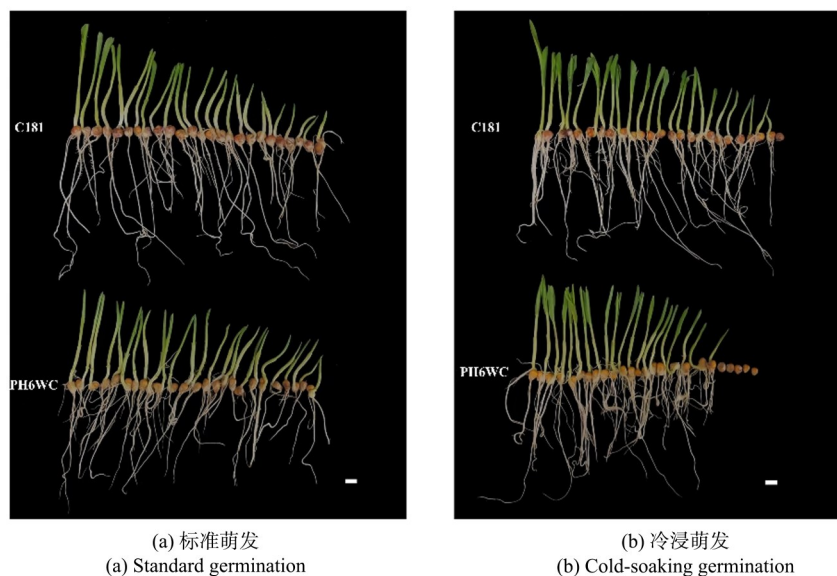


图1 ‘C181’与‘PH6WC’自交系的标准萌发(a)和冷浸萌发(b)表型对比(比例尺为1 cm)

Fig. 1 Phenotypic comparison between ‘C181’ and ‘PH6WC’ inbred lines under standard germination (a) and cold-soaking germination (b) (Bar=1 cm)

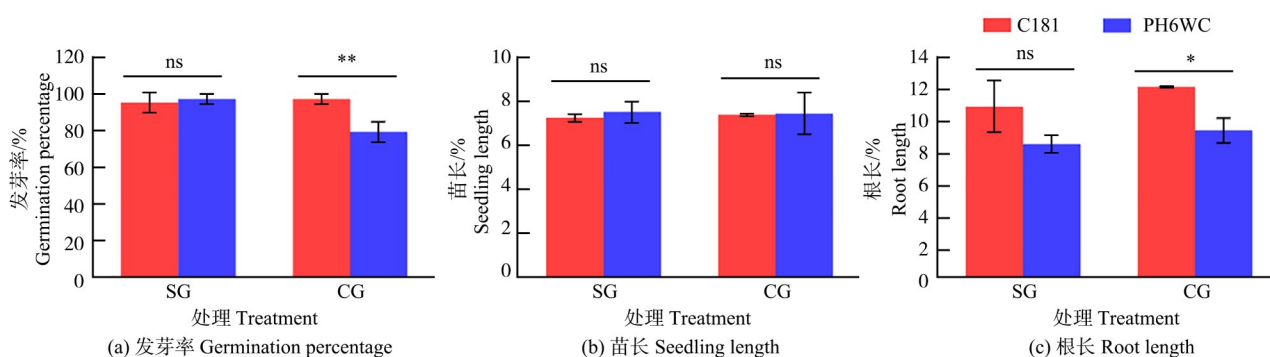


图2 ‘C181’与‘PH6WC’自交系在不同处理条件下的发芽率(a)、苗长(b)和根长(c)

Fig. 2 Germination rate (a), shoot length (b), and root length (c) of the ‘C181’ and ‘PH6WC’ inbred lines under different treatment conditions

根长均呈现连续变异,其中苗长与根长($r=0.87$, $P<0.01$),发芽率与苗长($r=0.23$, $P<0.01$)、发芽率与根长($r=0.19$, $P<0.01$)均呈极显著正相关性(表1)。发现不同果穗的发芽率位于36%~100%之间,发芽率均值为88%,变异系数为12%,偏度和峰度分别为-1.31和2.36(表2)。苗长分布于1.61~15.54 cm之间,均值为6.25 cm,变异系数为43%,偏度和峰度分别为0.63和0.00(表2)。定位群体的根长在4.11~25.84 cm之间,均值为11.46 cm,变异系

数为37%,偏度和峰度为0.52和-0.52(表2)。

2.2.2 定位群体冷浸发芽条件下的表型变异和相关性

标准发芽率80%及以上的种子原始活力较高,可以用于后续冷浸发芽试验。从中随机选取209份材料进行冷浸发芽试验,统计每份材料的冷浸发芽率、苗长和根长。 F_4 群体在冷浸发芽条件下,发芽率、苗长以及根长均呈现连续变异,其中苗长与根长($r=0.80$, $P<0.01$),发芽率与苗长($r=0.24$,

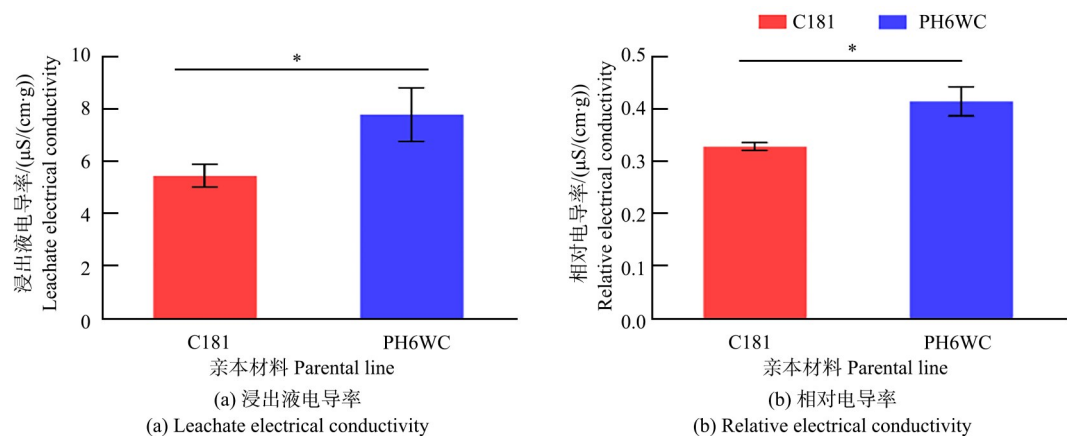


图 3 ‘C181’与‘PH6WC’自交系冷浸萌发的浸出液电导率(a)和相对电导率(b)对比

Fig. 3 Comparison of leachate electrical conductivity (a) and relative electrical conductivity (b) between ‘C181’ and ‘PH6WC’ inbred lines under cold-soaking germination

表 1 定位群体标准发芽不同性状间的相关性分析

Table 2 Correlation between the three phenotypes under standard germination

性状 Trait	发芽率 Germination percentage	苗长 Seedling length	根长 Root length
发芽率 Germination percentage	1.00		
苗长 Seedling length	0.23**	1.00	
根长 Root length	0.19**	0.87**	1.00

注:**代表显著性水平 $P<0.01$ 。下同。

Note: ** denotes statistical significance at $P<0.01$. The same below.

表 2 定位群体标准发芽表型数据统计

Table 2 Statistical analysis of the germination phenotype under standard germination

表型 Trait	样本量 Number of sample	均值 Average	标准差 Standard deviation	偏度 Skewness	峰度 Kurtosis	变异系数/% Coefficient of variation	幅度 Range of variation
发芽率 Germination percentage	552	0.88	0.11	-1.31	2.36	0.12	0.36~1.00
苗长 Seedling length	552	6.25	2.71	0.63	0.00	0.43	1.61~15.54
根长 Root length	552	11.46	4.23	0.52	-0.52	0.37	4.11~25.84

$P<0.01$)、发芽率与根长($r=0.25$, $P<0.01$)均呈极显著正相关性(表 3)。发现不同果穗的发芽率位于 17%~100% 之间,发芽率均值为 75%,变异系数为 25%,偏度和峰度分别为 -1.22 和 0.97(表 4)。冷浸后苗长分布于 1.16~10.48 cm 之间,均值为 4.77 cm,变异系数为 39%,偏度和峰度分别为 0.36

和 -0.17(表 4)。冷浸后根长在 3.36~17.26 cm 之间,均值为 8.99 cm,变异系数为 30%,偏度和峰度为 0.66 和 0.23(表 4)。与标准发芽试验的表型数据进行对比,发现冷浸发芽率平均降低了 13%,苗长平均减少了 1.48 cm,根长平均减少了 2.47 cm,说明低温后种子活力显著降低。

表3 定位群体3个冷浸发芽表型之间的相关性

Table 3 Correlation between the three phenotypes under cold soaking germination

性状 Trait	发芽率 Germination percentage	苗长 Seedling length	根长 Root length
发芽率 Germination percentage	1.00		
苗长 Seedling length	0.24**	1.00	
根长 Root length	0.25**	0.80**	1.00

表4 定位群体冷浸发芽表型数据统计

Table 4 Statistical analysis of the germination phenotype under cold soaking germination

表型 Trait	样本量 Number of sample	均值 Average	标准差 Standard deviation	偏度 Skewness	峰度 Kurtosis	变异系数/% Coefficient of variation	幅度 Range of variation
发芽率 Germination percentage	209	0.75	0.18	-1.22	0.97	0.25	0.17~1.00
苗长 Seedling length	209	4.77	1.86	0.36	-0.17	0.39	1.16~10.48
根长 Root length	209	8.99	2.66	0.66	0.23	0.30	3.36~17.26

2.2.3 定位群体冷浸发芽表型频数分布图

对定位群体冷浸发芽表型数据绘制频数分布直方图,发现冷浸发芽率呈现偏态分布,根长和苗

长呈现正态分布,可以用作后续的耐低温 QTL 位点的定位(图4)。

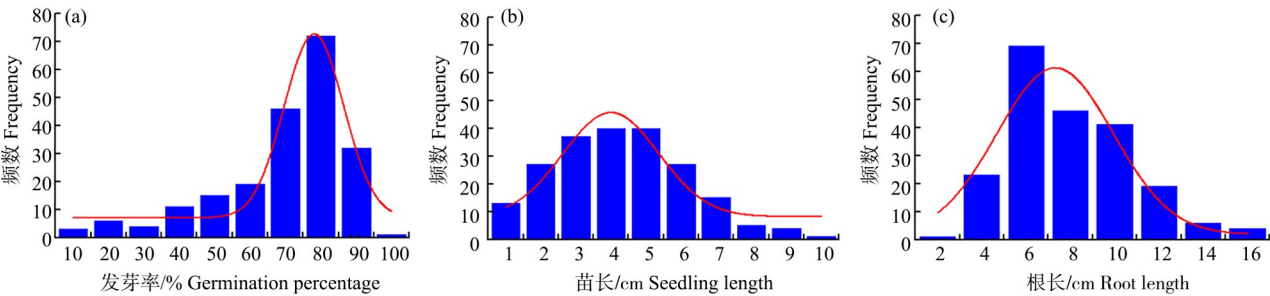


图4 定位群体冷浸萌发的萌发率(a)、苗长(b)和根长(c)的频率分布图

Fig. 4 Frequency distribution of germination percentage (a)、seedling length (b) and root length (c) under cold-soaking germination

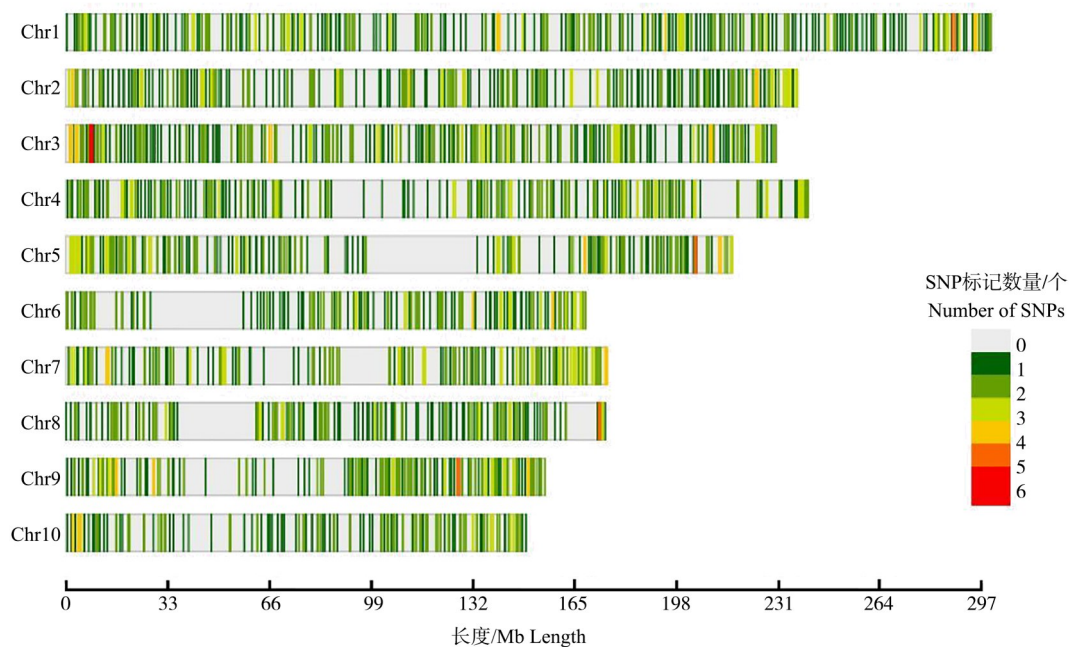
2.3 玉米耐低温萌发 QTL 的初定位

2.3.1 遗传连锁图谱构建

利用 3.5K 液相芯片-靶向测序基因型分型 (GBTS) 技术对双亲和定位群体进行基因型鉴定, 总共获得 3 617 个初始 SNP 标记, 使用 R 包 CMplot 绘制 SNP 标记分布图, 发现它们 1 号、2 号和 3 号染色体上的标记分布密度较高(图 5)。利用 QTL IciMapping SNP 转换功能去掉亲本与后

代间没有多态性的标记, 过滤低质量的 SNP 位点后得到了 1 766 个 SNP 标记, 多态率达到了 49%, 说明这两个亲本有较大的遗传背景差异。

从多态性标记中筛选出在群体中分离比符合 1: 2: 1 的标记, 共计 911 个。使用 QTL IciMapping 4.2 软件对筛选的标记进行遗传连锁作图。遗传连锁图谱总长为 3 772.25 cM, 覆盖 10 条染色体, 1~10 号染色体分别有 159、82、22、



不同颜色代表不同区域包含的 SNP 标记数量。

Different color represents the number of SNP markers in different chromosome regions.

图 5 3.5K 芯片 SNP 标记在玉米染色体上的分布

Fig. 5 Distribution of 3.5K chip SNP markers on the maize chromosome

161、84、95、124、40、79 和 65 个标记，标记间的平均遗传距离约为 4.14 cM(图 6)。其中 1 号染色体，4 号染色体，7 号染色体上的标记较多，标

记间平均距离为 3.95、3.22 和 3.01 cM，3 号染色体标记较少，标记间平均距离为 10.50 cM(表 5)。

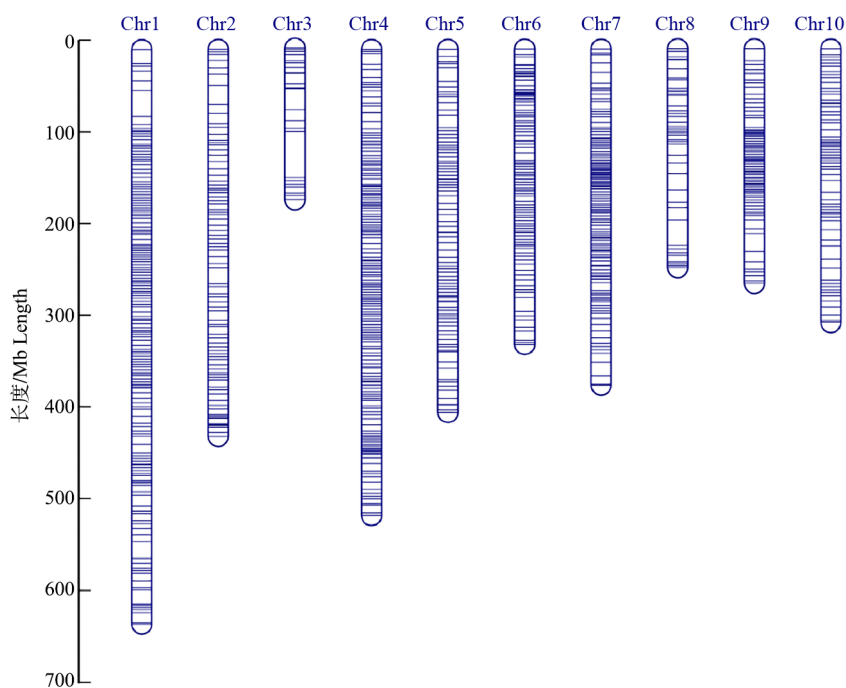


图 6 定位群体遗传连锁图谱构建

Fig. 6 Genetic linkage map of the population

表5 遗传连锁图谱染色体SNP标记的数量及遗传距离统计
Table 5 Number of SNP markers and genetic distance statistics

染色体 Chromosome	标记数 Maker number	染色体长度/cM The length of chromosome	标记间平均距离/cM Average spacing between each maker
1	159	628.37	3.95
2	82	437.67	5.33
3	22	230.90	10.50
4	161	519.83	3.22
5	84	412.76	4.91
6	95	338.25	3.56
7	124	373.31	3.01
8	40	255.36	6.38
9	79	271.35	3.43
10	65	304.45	4.68
总计 Total	911	3 772.25	4.14

2.3.2 耐低温萌发性状的QTL初定位

使用QTL IciMapping 4.2软件的完备区间作图法(ICIM)对群体种子冷浸发芽率、苗长,根长三种性状进行QTL定位,将LOD阈值设置为2.5,共检测到了14个与3种低温萌发性状相关的QTL位点(图7,表6)。其中与冷浸发芽率相关的QTL位点最多,共检测到11个,分别位于1号、2号、4号、6号、8号和10号染色体上,LOD值介于3.69~11.67,表型贡献率2.33%~7.55%(图7,表6)。调控冷浸发芽苗长的QTL1个(*qSL2-1*),位于2号染色体上的342 cM处,LOD值为2.67,表型贡献率为8.27%(图7,表6)。调控冷浸发芽根长的QTL 2个(*qRL1-1*,*qRL1-2*),分别位于1号染色体上的64 cM处和546 cM处,LOD值分别为2.67和2.78,表型贡献率分别为6.03%和3.95%(图7,表6)。

3 讨论

3.1 冷浸发芽法在耐低温QTL定位中的适用性

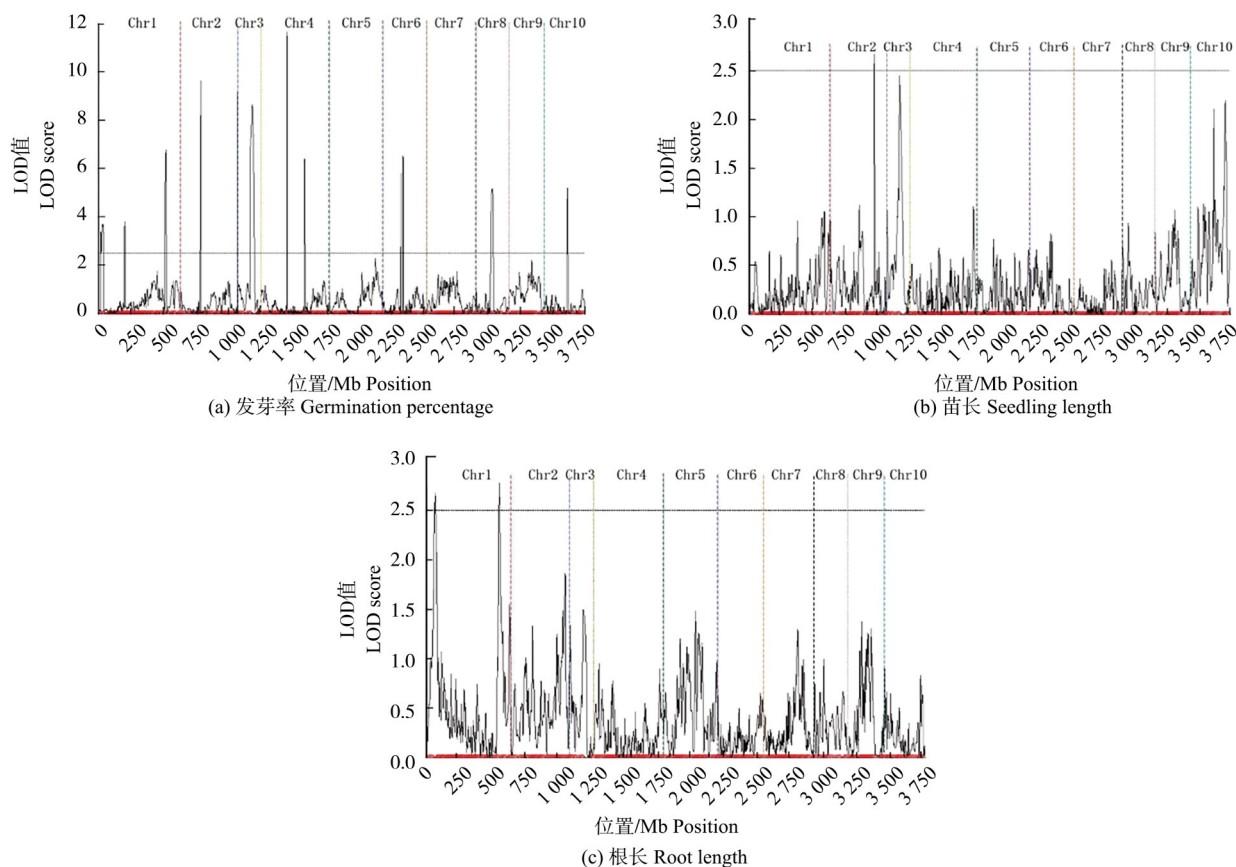
玉米耐低温萌发能力属于数量性状,遗传机制复杂,并且受环境因素影响较大,需要稳定可靠的表型鉴定方法。目前采用的研究方法主要分为田间鉴定法和室内鉴定法^[16]。虽然田间试验可以真实模拟早春的低温环境,但田间各种环境因素波动较大,对研究结果有一定影响,所以目前多采用人工气候培养箱进行室内鉴定^[17]。已有研究利用不同方法鉴定玉米耐低温萌发能力,如Yan等^[18]将温

度设置在5.5℃到6.5℃之间,对338份材料组成的定位群体进行7天的低温处理,共检测到32个SNP位点和7个QTL区间;Han等^[19]利用176个IBM Syn10群体的种子在10℃的条件下处理21 d,通过全基因组关联分析和转录组测序的方法共检测到7个QTL。

冷浸发芽法利用低温水浴处理种子来模拟种子吸胀时期遭受低温胁迫,近年来被用于种子耐低温萌发能力检测。高婷婷^[20]等在不同冷浸温度下对种子发芽率进行了测定,发现4℃条件下的测量值标准差和变异系数均显著高于其他温度条件,该温度下种子活力差异最为明显。本实验室前期对不同品种的冷浸发芽率与田间出苗率进行相关性分析,发现该方法的预测准确度最高,并颁布了农业农村部行业标准^[14]。本研究利用该方法,在F₄群体中成功检测到与低温萌发率和幼苗健壮度有关的14个QTL位点,进一步说明该方法是进行耐低温萌发QTL定位的有效方法。

3.2 新定位QTL的遗传价值及候选基因分析

本研究共定位到14个耐低温萌发性状相关QTL位点,与已发表的低温萌发相关的QTL位点进行比较,发现2个与前人的研究结果重叠。本试验定位到的*qGP6-1*与*qGP6-2*在6号染色体上的物理位置相邻,位于118.3~125.5 Mb之间。Allam等^[21]在该区段的121.8 Mb处检测到了1个与低温环境下穗位高相关的SNP位点;贺韵涵^[22]利用



横线表示 LOD 的阈值设置为 2.5, 即 $\text{LOD} \geq 2.5$ 时认定存在 QTL 位点。

The horizontal line represents an LOD threshold of 2.5, meaning a QTL is identified when its scores ≥ 2.5 .

图7 冷浸萌发的萌发率(a)、苗长(b)和根长(c)性状的 QTL 位点在基因组的位置分布图

Fig. 7 QTL locations in the genome of germination percentage (a)、seedling length (b) and root length (c) under cold-soaking germination

247 份玉米骨干自交系也在此次区间内检测到了 1 个与低温胁迫发芽指数相关的 SNP 位点, 位于 119.6 Mb, 说明这个区域可能是调控玉米低温响应的热点区域, 值得深入解析。此外, 本研究定位 9 个的 QTL 位点与前人的研究结果位置接近。如 *qGP1-3* 定位于 1 号染色体 254.5~255.2 Mb 之间, Revilla 等^[23]利用 1 928 个 DH 系检测到了 1 个与叶绿素荧光参数相关的 QTL 位点 (245.3~253.6 Mb); *qGP1-2* 定位于 1 号染色体 114.8~116.0 Mb 之间, 董潇潇等^[24]利用 527 份玉米关联群体自交系在 1 号染色体 117.6~117.8 Mb 曾检测到 5 个与苗期耐冷性状显著相关的 SNP, 与该 QTL 位点相近; *qGP2-1* 定位于 2 号染色体 33.2~35.0 Mb 之间, Yi 等^[25]在 2 号染色体 32.7 Mb 处曾检测到 2 个与低温条件下发芽天数相关的 SNP 位点, 与该 QTL 位点相近。

本研究定位到的贡献率高于 5% 的 QTL 位点共 5 个, 其中 4 个位点的物理区间小于 2 Mb (表 6)。*qSL2-1* 位点的表型贡献率最高, 为 8.27%, 其基因组位置位于 2 号染色体 217 215 707—217 302 341, 该区间内包含 9 个蛋白编码基因, 其中 *Zm00001d007153* 是拟南芥 *AtHIGD2* 和水稻 *OsHIGD2* 的同源基因, 编码定位于线粒体的缺氧响应蛋白, 在水稻和拟南芥中被报道与电子传递链复合物细胞色素氧化酶的组装密切相关^[26, 27]。线粒体功能与能量代谢在种子萌发及逆境响应中起核心作用^[28], 该基因可能是连接低温胁迫与能量代谢从而影响幼苗生长的关键节点。*qGP4-1* 位点位于 4 号染色体 499 450 32—513 251 84 区域, 表型贡献率 7.55%, 该区间大小 1.38 Mb, 包含 12 个蛋白编码基因。该区间内的 *Zm00001d049926* 编码依赖铁离子的 2-氧代戊二酸双加氧酶, 是拟南芥 *AtGIM2*

表 6 定位群体冷浸发芽率的 QTL 定位结果
Table 6 QTL mapping of the population under cold soaking germination

QTL	位置 /cM Location	标记区间 Marker interval	LOD 值 Logarithm of Odds	贡献率 / % Contribution	加性效应 Additive effect	置信区间 /cM Confidence interval
<i>qGP1-1</i>	33	M1c7237807— M1c12485388	3.69	2.43	0.05	25.50—34.50
<i>qGP1-2</i>	205	M1c114820845— M1c116022011	3.82	2.33	−0.05	202.50—211.50
<i>qGP1-3</i>	524	M1c254461599— M1c255210140	6.75	4.23	0.07	518.50—526.50
<i>qGP2-1</i>	156	M2c33151472— M2c34989836	9.62	6.39	0.07	154.50—157.50
<i>qGP2-2</i>	435	M2c235833121— M2c236204729	9.14	5.76	0.07	433.50—435.50
<i>qGP4-1</i>	200	M4c49945032— M4c51325184	11.67	7.55	0.09	198.50—201.50
<i>qGP4-2</i>	336	M4c171406334— M4c172718034	6.41	4.01	−0.06	333.50—339.50
<i>qGP6-1</i>	140	M6c118333382— M6c120823678	5.78	3.89	0.01	138.50—141.50
<i>qGP6-2</i>	155	M6c123569611— M6c125493299	6.51	4.03	−0.06	153.50—159.50
<i>qGP8-1</i>	125	M8c123244844— M8c123817863	5.15	3.21	−0.06	115.50—133.50
<i>qGP10-1</i>	179	M10c106806428— M10c113190030	5.18	3.21	0.06	176.50—181.50
<i>qSL2-1</i>	342	M2c217215707— M2c217302341	2.67	8.27	0.49	338.50—345.50
<i>qRL1-1</i>	64	M1c15070178— M1c45520473	2.67	6.03	−0.91	51.50—77.50
<i>qRL1-2</i>	546	M1c262451989— M1c268879977	2.78	3.95	0.80	540.50—557.50

注:SNP 标记命名规则:M(Marker)+染色体号+字母c+标记在 B73 RefGen_V3 参考基因组上的物理位置。
Note: The SNP markers are named according to the following convention: “M” (for Marker), followed by the chromosome number, the letter “c”, and the physical position of the marker on the B73 RefGen_V3 reference genome.

的同源基因,在拟南芥中 AtGIM2 蛋白可催化赤霉素 GA12 发生水合反应生成脱氢 GA12,在种子萌发、光形态建成及幼苗发育过程中负调控脱落酸 (ABA) 敏感性,突变后导致 ABA 超敏,种子萌发率降低,子叶发育受阻^[29-30]。ABA 是调控种子萌发和逆境胁迫的最主要激素^[31],暗示该基因可能通过激

素途径调控玉米种子在低温下萌发。此外,低温萌发率相关的 QTL 位点 *qGP2-1* 候选区间内的 *Zm00001d003186* 的拟南芥同源基因也曾被报道参与种子萌发过程^[32], *qGP2-2* 区间内的 *Zm00001d007936* 的拟南芥同源基因曾被报道参与植物逆境胁迫响应^[33]。这些基于同源性和功能注

释筛选出的候选基因,为后续的图位克隆与功能验证提供了明确靶标。

本研究证实冷浸发芽法是挖掘耐低温萌发 QTL 的有效手段,而利用‘C181’这类具有地方适应特色的种质,能够发掘新的、有育种价值的遗传变异。本研究结果为深入解析玉米耐低温萌发的分子机制提供了新的遗传位点,也为利用分子标记辅助选择技术改良玉米萌发期耐冷性奠定了基础。

参考文献 References

- [1] Ma Y, Tan R X, Zhao J R. Chilling tolerance in maize: insights into advances-toward physio-biochemical responses' and QTL/genes' identification[J]. *Plants*, 2022, 11(16):2082
- [2] 张雪峰. 低温对玉米萌发期种子抗冷性的影响[J]. *园艺与种苗*, 2014, 34(3): 23-25, 29
Zhang X F. Effect of low temperature on coldresistance of maize in seed germination[J]. *Horticulture & Seed*, 2014, 34(3): 23-25, 29 (in Chinese)
- [3] Neuhofer W, Beck F X. Survival in hostile environments: strategies of renal medullary cells[J]. *Physiology*, 2006, 21: 171-180
- [4] Suzuki N, Mittler R. Reactive oxygen species and temperature stresses: a delicate balance between signaling and destruction [J]. *Physiologia Plantarum*, 2006, 126(1): 45-51
- [5] 吴广霞, 唐献龙, 杨德光, 席景会. 植物低温胁迫生理研究进展[J]. *作物杂志*, 2008(3): 17-19
Wu G X, Tang X L, Yang D G, Xi J H. Research progress on physiology of plant cold hardiness[J]. *Crops*, 2008(3): 17-19 (in Chinese)
- [6] Li X, Wang G, Fu J, Li L, Jia G, Ren L, Lubberstedt T, Wang G, Wang J, Gu R. QTL mapping in three connected populations reveals a set of consensus genomic regions for low temperature germination ability in *Zea mays* L[J]. *Frontier in Plant Science*, 2018, 9: 65
- [7] Xu Q Y, Song Y Y, Bao D, Meng L Z, Di H, Zhang L, Dong L, Zeng X, Zhang J Y, Li C X, Xing J P, Zhang N F, Li X, Weng J F, Wang Z H, Zhou Y. *ZmBARK1* as a low-temperature tolerance gene in maize germination[J]. *The Crop Journal*, 2025, 13: 1197-1209
- [8] Rodriguez, V M, Butron A, Malvar R A, Ordas A and Revilla P. Quantitative trait loci for cold tolerance in the maize IBM population[J]. *International Journal of Plant Sciences*, 2008, 169(4): 551-556
- [9] Hu S D, Lubberstedt T, Zhao G and Lee M. QTL mapping of low-temperature germination ability in the maize IBM Syn4 RIL population[J]. *PLoS One*, 2016, 11(3): e0152795
- [10] Huang J, Zhang J H, Li W Z, Hu W, Duan L C, Feng Y, Qiu F Z and Yue B. Genome-wide association analysis of ten chilling tolerance indices at the germination and seedling stages in maize[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2013, 55(8): 735-744
- [11] Hu G H, Li Z, Lu Y C, Li C X, Gong S C, Yan S Q, Li G L, Wang M Q, Ren H L, Guan H T, Zhang Z W, Qin D L, Chai M Z, Yu J P, Li Y, Yang D G, Wang T Y, Zhang Z W. Genome-wide association study identified multiple genetic loci on chilling resistance during germination in maize[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 10840
- [12] 郑军军. MTP-玉米渐渗系耐低温出苗主效 QTL 的精细定位及候选基因分析[D]. 雅安: 四川农业大学, 2023
Zheng J J. Fine mapping and candidate gene analysis of major QTL for low temperature emergence tolerance in MTP-maize introgression lines[D]. Yaan: Sichuan Agricultural University, 2023 (in Chinese)
- [13] 林海晴, 麦嘉琦, 黄汝涛, 梁铭怡, 郑文浩, 余梓健, 刘鹏飞. 玉米耐低温遗传相关研究进展[J]. *安徽农学通报*, 2023, 29(5): 19-21, 26
Lin H Q, Mai J Q, Huang R T, Liang M Y, Zheng W H, She Z J, Liu P F. Related research progress on low temperature tolerance in maize[J]. *Anhui Agricultural Science Bulletin*, 2023, 29(5): 19-21, 26 (in Chinese)
- [14] NY/T 3766—2020. 玉米种子活力测定 冷浸发芽法[S]. 北京: 中国农业出版社, 2020
NY/T 3766—2020. Corn seed viability determination cold soak germination method[S]. Beijing: China Agriculture Press, 2020 (in Chinese)
- [15] International seed testing association (ISTA). International rules for seed test[Z]. *Zurich, Switzerland Edition* 2015
- [16] 于滔, 张建国, 曹靖生, 马雪娜, 何长安, 曹士亮, 李树军, 蔡泉, 李昕, 李思楠, 杨耿斌, 李文跃. 110 份玉米新材料萌发期耐低温性鉴定与评价[J]. *作物杂志*, 2024(5): 18-28
Yu T, Zhang J G, Cao J S, Ma X N, He C A, Cao S L, Li S J, Cai Q, Li X, Li S N, Yang G B, Li W Y. Identification and evaluation of low temperature tolerance of 110 new maize materials at germination stage[J]. *Crops*, 2024(5): 18-28 (in Chinese)
- [17] Munamava M R, Goggi A S, Pollak L. Seed quality of maize inbred lines with different composition and genetic backgrounds[J]. *Crop Science*, 2004, 44(2): 542-548
- [18] Yan J B, Wu Y, Li W M, Qin X E, Wang Y, Yue B. Genetic mapping with testcrossing associations and F2: 3 populations reveals the importance of heterosis in chilling tolerance at maize seedling stage[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 3232
- [19] Han Q H, Zhu Q X, Shen Y, Lee M, Lübberstedt T, Zhao G W. QTL mapping low-temperature germination ability in the maize IBM Syn10 DH population[J]. *Plants*, 2022, 11(2): 214
- [20] 高婷婷, 李洋, 王秀芬, 李穆, 王敏, 孙中生, 白英秀, 路明. 基于冷浸法测定玉米种子活力的研究[J]. *分子植物育种*, 2020, 18(23): 7879-7884
Gao T T, Li Y, Wang X F, Li M, Wang M, Sun Z S, Bai Y X, Lu M. Determination of maize seed vigor by cold-maceration[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2020, 18(23): 7879-7884 (in Chinese)
- [21] Allam M, Revilla P, Djemel A, Tracy W F, Ordás B. Identification of QTLs involved in cold tolerance in sweet × field corn[J]. *Euphytica*, 2016, 208(2): 353-365
- [22] 贺韵涵. 玉米骨干自交系萌芽期耐冷性鉴定及全基因组关联分析[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2020
He J H. Identification of germplasm and genome-wide association analysis for chilling tolerance during germination and budding stage in maize backbone inbred line[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2020 (in Chinese)
- [23] Revilla P, Butrón A, Rodríguez V M, Rincón R, Charcosset A, Giauffret C, Melchinger A E, Schön C C, Bauer E, Altmann T, Brunel D, Moreno-González J, Campo L, Ouzunova M, Álvarez Á, Ruíz de Galarreta J I, Laborde J, Malvar R A. Genetic variation for cold tolerance in two nested association mapping populations[J]. *Agronomy*, 2023, 13(1): 195
- [24] 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, 2022
Cheng X X. Identification and analysis of cold-responsive genes at germination and seedling stages in maize[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2022 (in Chinese)
- [25] Yi Q, Álvarez-Iglesias L, Malvar R A, Romay M C, Revilla P. A worldwide maize panel revealed new genetic variation for cold tolerance[J]. *Theoretical*

- and Applied Genetics*, 2021, 134(4): 1083-1094
- [26] Hwang S T, Choi D. A novel rice protein family of OSHIGDs may be involved in early signalling of hypoxia-promoted stem growth in deepwater rice[J]. *Plant Cell Reports*, 2016, 35(10): 2021-2031
- [27] Lee C P, Le X H, Gawryluk R M R, Casaretto J A, Rothstein S J, Millar A H. EARLY NODULIN93 acts via cytochrome c oxidase to alter respiratory ATP production and root growth in plants[J]. *The Plant Cell*, 2024, 36(11): 4716-4731
- [28] Racca S, Gras D E, Canal M V, Ferrero L V, Rojas B E, Figueroa C M, Ariel F D, Welchen E, Gonzalez D H. Cytochrome c and the transcription factor ABI4 establish a molecular link between mitochondria and ABA-dependent seed germination[J]. *New Phytologist*, 2022, 235(5): 1780-1795
- [29] Xiong W, Ye T T, Yao X, Liu X, Ma S, Chen X, Chen M L, Feng Y Q, Wu Y. The dioxygenase GIM2 functions in seed germination by altering gibberellin production in Arabidopsis [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2018, 60(4): 276-291
- [30] Liu H, Guo S Y, Lu M H, Zhang Y, Li J H, Wang W, Wang P T, Zhang J L, Hu Z B, Li L L, Si L Y, Zhang J, Qi Q, Jiang X N, Botella J R, Wang H, Song C P. Biosynthesis of DHGA12 and its roles in Arabidopsis seedling establishment[J]. *Nature Communications*, 2019, 10: 1768
- [31] Fu D, Wu W H, Mustafa G, Yang Y, Yang P F. Molecular mechanisms of rice seed germination[J]. *New Crops*, 2025, 2: 100051
- [32] Zúñiga-Sánchez E, Soriano D, Martínez-Barajas E, Orozco-Segovia A, Gamboa-deBuen A. BHD1 the At4g32460 DUF642 gene, is involved in pectin methyl esterase regulation during Arabidopsis thaliana seed germination and plant development[J]. *BMC Plant Biology*, 2014, 14: 338
- [33] Morales L O, Brosché M, Vainonen J P, Sipari N, Lindfors A V, Strid Å, Aphalo P J. Are solar UV-B- and UV-A-dependent gene expression and metabolite accumulation in Arabidopsis mediated by the stress response regulator RADICAL-INDUCED CELL DEATH1? [J]. *Plant, Cell & Environment*, 2015, 38(5): 878-891

责任编辑: 梁芷健



第一作者简介: 田博睿, 中国农业大学硕士研究生, 主要从事玉米种子低温萌发遗传位点定位与克隆。



通讯作者简介: 杜雪梅, 中国农业大学农学院种子科学与生物技术系副教授, 中国作物学会作物种子专业委员会副秘书长。主要从事玉米制种花期调控、高活力种子遗传改良等研究, 以第一或通讯作者在 *Nature Communications*, *Plant Biotechnology Journal* 等期刊发表论文 10 多篇, 副主编参与编写种子科学与工程专业核心教材《种子生产学》, 参与撰写《作物学学科发展报告—作物种子科技发展报告》及《玉米高活力种子质量标准》等团体标准。