

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2026.53065

研究简报

## 玉米穗上叶片数全基因组关联分析和全基因组选择

杨欣雨 崔文涛 迪力尼格尔·阿力木 汪凯翔 吴鹏昊 任姣姣\*

新疆农业大学农学院, 新疆乌鲁木齐 830052

**摘要:** 穗上叶片数是影响玉米株型的重要性状之一, 采用遗传定位方法能鉴定到与玉米穗上叶片数显著关联的单核苷酸多态性(SNP)位点, 并进一步筛选出调控该性状的候选基因, 为玉米理想株型定向选育及籽粒产量的高效提升奠定基础。利用 291 个玉米自交系组成的自然群体进行多个环境试验, 采用测序手段进行基因分型, 对穗上叶片数(LNAE)进行全基因组关联分析(GWAS)和全基因组选择(GS)。穗上叶片数受基因型(G)、环境(E)及基因型与环境互作(G×E)影响极显著( $P < 0.001$ ), 广义遗传力为 81.23%; 穗上叶片数在环境间以及在与产量相关性状间均呈显著正相关。MLMM 模型检测到 15 个与穗上叶片数显著相关的 SNP 位点, 单个 SNP 解释的表型贡献率为 1.12%~22.43%。FarmCPU 模型检测到了 37 个显著相关的 SNP, 单个 SNP 解释的表型贡献率为 0.02%~18.23%。2 种不同的模型共检测到 11 个共定位位点, 分别位于第 2、4、5、6、7 和 9 染色体上。其中, 位于 5 号染色体的 5\_93495559 既是环境稳定位点, 又是模型共定位位点, 与前期研究相比, 该 SNP 是新的遗传位点。结合关联图谱、共定位分析和候选基因表达预测分析发现, 在 11 个共定位位点的 15 个候选基因中, 基因 *Zm00001eb315650*、*Zm00001eb315660* 和 *Zm00001eb089980* 在特定的叶片生长阶段呈现高水平表达。全基因组选择结果显示, 70% 的训练群体规模和 3000 个 SNP 可以获得较高的预测准确度。总之, 本研究通过全基因组关联分析定位到 52 个与穗上叶片数显著相关的 SNP 位点, 11 个共定位位点确定了 15 个候选基因, 其中, *Zm00001eb315650*、*Zm00001eb315660* 和 *Zm00001eb089980* 为本研究的 3 个关键候选基因; 穗上叶片数全基因组选择结果表明, 70% 的训练群体规模和 3000 个 SNP 标记组合可获得较高的预测准确度, 该参数可用于穗上叶片数的分子育种选择。

**关键词:** 玉米; 穗上叶片数; 全基因组关联分析; 候选基因; 全基因组选择

## Genome-wide association and genomic selection analysis of the number of leaves above the ear in maize

Yang Xin-Yu, Cui Wen-Tao, Dilinigeer Alimu, Wang Kai-Xiang, Wu Peng-Hao, and Ren Jiao-Jiao\*

College of Agriculture, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, Xinjiang, China

**Abstract:** The number of leaves on the ear is an important trait influencing maize plant architecture. Genetic mapping approaches can identify single nucleotide polymorphisms (SNPs) significantly associated with this trait and facilitate the discovery of candidate genes, thereby laying a foundation for targeted breeding of ideal maize plant architecture and efficient enhancement of grain yield. In this study, a natural population of 291 maize inbred lines was evaluated across multiple environments. Genotyping was performed using sequencing technologies, and both genome-wide association studies (GWAS) and genomic selection (GS) were conducted for the leaf number above the ear (LNAE). LNAE was significantly affected by genotype (G), environment (E), and the genotype-by-environment interaction ( $G \times E$ ) ( $P < 0.001$ ), with a broad-sense heritability of 81.23%. Using the MLMM model, 15 SNPs significantly associated with LNAE were identified, each explaining 1.12% to 22.43% of the phenotypic variation. The

本研究由自治区天山英才项目(2022TSYCJU0003), 自治区自然科学基金重点项目(2022D01D34), 自治区重点研发计划项目(2024B02008-1), 自治区重大专项(2022A02003-4), 国家自然科学基金项目(32360491)和新疆玉米产业技术体系项目(XJARS-02)资助。This study was supported by the Autonomous Region Tianshan Elite Program (2022TSYCJU0003), the Key Project of the Autonomous Region Natural Science Foundation (2022D01D34), the Key R&D Program of the Autonomous Region (2024B02008-1), the Major Special Project of the Autonomous Region (2022A02003-4), the National Natural Science Foundation of China (32360491), and the Xinjiang Maize Industrial Technology System Project (XJARS-02).

\* 通信作者(Corresponding author): 任姣姣, E-mail: renjiaojiao789@sina.com

第一作者联系方式: E-mail: yangxinyutop@163.com

Received (收稿日期): 2025-08-21; Accepted (接受日期): 2026-01-22; Published online (网络出版日期): 2026-02-10.

URL: <https://link.cnki.net/urlid/11.1809.S.20260206.1024.005>

This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

FarmCPU model identified 37 significant SNPs, with individual contributions ranging from 0.02% to 18.23%. A total of 11 co-located loci were detected on chromosomes 2, 4, 5, 6, 7, and 9 were detected by two different models. Among them, SNP 5\_93495559 on chromosome 5 was identified as both an environmentally stable and model co-located locus. Compared with previous reports, this SNP represents a novel genetic locus. By integrating association mapping, co-location analysis, and candidate gene expression profiling, three genes—*Zm00001eb315650*, *Zm00001eb315660*, and *Zm00001eb089980*—were found to exhibit high expression during key leaf development stages and were identified as likely candidates underlying LNAE. Genomic selection analysis indicated that using 70% of the population as a training set and 3000 SNPs could achieve high prediction accuracy. This parameter can be utilized for molecular breeding selection of the number of leaves above the ear.

**Keywords:** maize; number of leaves on the ear; genome-wide association study; candidate gene; genomic selection

作为我国三大粮食作物之一,玉米产量的稳步增长对保障粮食安全和推动农业经济发展至关重要<sup>[1]</sup>。在玉米生长发育过程中,叶片作为发生光合作用、呼吸作用以及蒸腾作用的核心器官,其形态构成主要受细胞分裂与扩张的协同调控<sup>[2]</sup>。通过优化光能利用可提升光合速率,进而影响碳水化合物的积累,最终实现籽粒产量的提高<sup>[3-4]</sup>。Donald<sup>[5]</sup>于1968年提出“理想株型”的概念,定义理想株型应具有单茎无分蘖、茎秆短而粗壮抗倒伏、叶片数量适中且能保持长而直立姿态的特征。作为株型结构的重要组成部分,冠层叶片数量和空间分布显著影响群体光能利用和耐高密度种植的能力。玉米穗上叶片数通常为4~6片,适度增加上部叶片数量可扩大光合面积并增强光能截获能力;但在高密度种植条件下,叶片数量过多可能导致冠层郁闭、加剧植物体内部的光竞争<sup>[4]</sup>。已有研究证实,当把主穗以上叶片摘除后,玉米产量严重下降<sup>[6]</sup>,这是由于主穗上部叶片主要承担能量的供给,合成的光合产物对玉米籽粒发育形成至关重要<sup>[7]</sup>。Fancelli<sup>[8]</sup>在玉米半数雄穗进入授粉期时摘除冠层叶片,观察到显著减产现象。此现象可能源于顶端叶片的缺失导致能量供给不足,进而引起灌浆期缩短、穗重下降以及单穗粒重降低。因此,解析玉米穗上叶片数量相关位点、预测候选基因并探究其遗传规律,对玉米穗上叶片数遗传改良和理想株型的选育具有重要意义。全基因组关联分析(genome-wide association study, GWAS)和连锁分析是解析数量性状遗传基础的重要工具<sup>[9]</sup>。Li等<sup>[10]</sup>利用866份玉米重组自交系对穗上叶片数(number of leaves on the ear, LNAE)和穗下叶片数(number of leaves below the ear, LNBE)进行连锁分析,鉴定出15个与LNAE相关的数量性状位点(quantitative trait loci, QTL)。其中位于1号染色体的*qLA1-1*是影响LNAE的主效位点,该位点上发生的等位突变可使穗上叶片数减少0.42片。刘坤等<sup>[11]</sup>

对玉米株型相关性状进行全基因组关联分析,在3号和4号染色体上检测到3个与穗上叶片数显著相关的SNP位点。李贤唐等<sup>[12]</sup>对玉米株型相关性状进行QTL定位,在1、2、4、5、9号染色体上发现了5个与穗上叶片数相关的QTL。Pan等<sup>[13]</sup>利用10个玉米重组自交系群体的56,110个SNP对株型相关性状进行全基因组关联分析,共定位到39个与穗上叶片数显著相关的SNP位点。Cui等<sup>[14]</sup>在3个地点利用437个连锁群进行QTL分析,鉴定出10个与穗上叶片数相关的QTL,其中*qLA3-4*位于*Lfy1*基因附近。有研究表明,单一杂交后代中获得的自发突变体*Lfy1*(多叶显性玉米突变体)可使穗上叶片数明显增多<sup>[15]</sup>。Du等<sup>[16]</sup>从F<sub>2</sub>群体中选取4830株非叶片繁茂个体对*Lfy1*基因进行精细定位,发现基因*Lfy1*被定位于3号染色体的55 kb区间,其两侧分别是InDel072028和InDel458095。检索B73参考序列后发现,仅2个基因*GRMZM2G072052*和*GRMZM2G072080*位于该区域并可能调控叶片的生长发育。全基因组选择(genomic selection, GS)<sup>[17]</sup>通过整合全基因组遗传信息对目标性状进行准确度预测,加快了育种进程,逐渐取代传统的标记辅助选择<sup>[18-19]</sup>。该技术现已广泛应用于玉米育种领域。Zeng等<sup>[20]</sup>采用五折交叉验证法,对玉米DH群体进行全基因组选择,预测棒三叶叶片长度、叶片宽度和叶面积准确度。结果显示,叶片相关性状预测准确率达30%~43%。Fan等<sup>[21]</sup>运用rrBLUP模型,对DH群体中3项开花相关性状进行全基因组选择预测,抽雄天数、授粉天数和吐丝天数的预测准确度分别为47%、55%和55%。预测准确度的高低受到性状遗传力、训练群体规模、标记密度、训练群体以及预测模型选择等多重因素影响<sup>[22]</sup>。目前,尽管利用全基因组关联分析(GWAS)和数量性状位点(QTL)定位已鉴定出多个调控玉米穗上叶片数的遗传位点,但由于种植环境、作图群体以及遗传标记等因素不

同,使定位到的相关位点存在较大差异,因此本研究结合多环境与多模型方法,识别稳定调控穗上叶片数的 SNP 位点并开展全基因组选择分析,对加快培育具有理想株型的玉米新品种具有重要意义。本研究以 291 份玉米自交系组成的关联群体作为材料,采用重测序技术获取基因型数据,在筛选出高质量 SNP 位点后,针对玉米穗上叶片数(LNAE)开展 GWAS 和 GS 分析,旨在运用 2 种模型检测与穗上叶片数显著关联的 SNP 位点、预测候选基因、解析穗上叶片数的遗传基础;探究不同训练群体规模 and 不同标记密度对穗上叶片数 GS 预测精度的影响,为玉米 GS 育种提供理论依据,加快育种进程。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料与试验设计

供试材料为 291 份玉米自交系组成的关联群体,于 2023 年 5 月种植于新疆奇台试验站(44°5'77"N, 89°44'19"E, 环境简称 PX23)和奇台西地镇(44°4'12"N, 89°44'4"E, 环境简称 PD23)、2023 年 10 月种植于海南乐东试验站(18°27'14"N, 108°57'14"E, 环境简称 PN24)。田间种植采用完全随机区组设计,2 次重复,一行 11 粒,行长 2.5 m,行距 0.5 m,株距 0.25 m。

### 1.2 性状调查及表型数据处理

开花后 30 d 进行性状测量,每小区挑选长势一致的 5 株植株对 LNAE 性状进行计数。使用 R 软件包<sup>[23]</sup>“lme4”中的混合线性模型分别对单一环境和联合环境进行最佳线性无偏估计值(best linear unbiased prediction, BLUP)<sup>[24]</sup>计算,后续分析均基于 BLUP 表型数据值进行。具体 BLUP 计算参照 Mahuku 等<sup>[25]</sup>的方法,分析单一环境的 BLUP 值时,构建的混合线性模型将表型值(Pheno)分解为:固定效应部分(由协变量 Cov 构成),以及 3 项随机效应,分别为样本(Entry)效应、重复(Rep)效应,以及区组与重复的互作(Block:Rep)效应;分析联合环境的 BLUP 值时,模型同样以表型值(Pheno)为因变量,其固定效应为协变量(Cov)。随机效应包括:样本(Entry)效应、环境(Env)效应、重复与环境的互作(Rep:Env)效应、区组与重复与环境的互作(Block:Rep:Env)效应,以及样本与环境的互作(Entry:Env)效应。

广义遗传力( $H^2$ )计算参考 Knapp S 等<sup>[26]</sup>的方法:  

$$H^2 = V_g / (V_g + V_{ge} / e + V_e / re)$$

其中, $H^2$ 代表广义遗传力, $V_g$ 代表基因型方差, $V_{ge}$ 代表基因型与环境互作方差, $e$ 代表环境数, $V_e$ 代表误差方差, $r$ 代表每个环境下重复次数。

为探究穗上叶片数与产量性状关系,计产小区果穗风干后脱粒(14%水分),室内考种考察单穗粒重(grain weight per ear, GW)和百粒重(hundred-kernel weight, HKW)表型值。重复取样称重 2 次,取平均值。采用“Ggally”结合 BLUP 表型值进行相关性分析。

### 1.3 基因测序及过滤

在苗期对 291 份玉米自交系叶片进行取样,并送北京诺禾致源科技股份有限公司(<https://cn.novogene.com/>)进行 DNA 提取、建库和测序。采用 Illumina X Plus 平台进行双末端测序,每条 read 长 150 bp,测序深度是 5X。获得测序数据(raw reads)后,使用 Fastp V0.23.4 软件(<https://github.com/OpenGene/fastp>)进行质量控制,获得 clean reads。使用 BWA V0.1.17 软件<sup>[27]</sup>将 clean reads 比对到玉米 B73 (Zm-B73-REFERENCE-NAM-5.0.fa.gz)参考基因组上,使用 picard 软件包(<https://broadinstitute.github.io/picard/>)的 dup 选项将比对结果中的重复序列进行去除,采用 GATK 软件进行变异检测<sup>[28]</sup>。采用 VCFtools 工具<sup>[29]</sup>将最小等位基因频率小于 0.05、缺失率大于 0.20、杂合率大于 0.20 的标记去除,获得 22,172,914 个 SNP 标记。使用 PLINK 1.9<sup>[30]</sup>进行 LD 过滤,设置参数:滑动窗口大小 33 kb,步长为 10,  $r^2$  为 0.1,最终获得遍布于玉米 10 条染色体的 1,343,525 个高质量 SNP 标记,用于 GWAS 和 GS 分析。

### 1.4 群体结构及全基因组关联分析

本研究关联群体的连锁不平衡分析和群体结构分析见 Yang 等<sup>[31]</sup>,连锁不平衡采用 PopLDdecay 3.40 软件<sup>[32]</sup>, $r^2 = 0.1$  时平均连锁不平衡衰减距离为 33 kb;群体结构采用 ADMIXTURE 1.3.0 软件<sup>[33]</sup>,关联群体共划分为 3 个亚群( $k = 3$ ),亚群 1、亚群 2 和亚群 3 分别包含 135、53 和 103 个自交系。利用 R 4.4.3 软件 GAPIT 包<sup>[34]</sup>中的 MLM 和 FarmCPU 模型对单一环境及联合环境的 LNAE 进行 GWAS 分析,设置阈值  $-\log_{10} P > 5.53$  (即  $1/\text{有效标记数} = 1/336,900 = 2.968 \times 10^{-6}$ ,使用 GEC 软件计算<sup>[35]</sup>有效标记数)。利用“Cmplot”包(<https://github.com/YinLiLin/R-CMplot>)绘制曼哈顿和 Q-Q 图,利用“UpSetR”包绘制共定位文氏图。采用  $t$  检验探究重要位点等位基因变异对表型造成的影响。

1.5 候选基因注释

从 GWAS 结果中筛选出与目标性状显著关联的 SNP, 利用 MaizeGDB 数据库 (<https://www.maizegdb.org/>) B73RefGen\_v5 参考基因组, 在显著 SNP 上下游 1 个 LD (33 kb) 范围内筛选候选基因。使用 NCBI 数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)对候选基因进行功能注释。候选基因的表达数据采集自 MaizeGDB qTeller 数据库(<https://qteller.maizegdb.org/>), 使用 TBtools-II 软件<sup>[36]</sup>进行可视化处理。

1.6 全基因组选择

采用 R 4.3.2 中的 rrBLUP 模型<sup>[37]</sup>, 随机选取分布于玉米 10 条染色体上的 100,000 个 SNP 进行全基因组选择, 利用五折交叉验证方法随机选择 20% 的群体作为预测群体, 其余 80% 作为训练群体, 重复 100 次以估算 GS 的平均预测准确度。

为确定最佳训练群体规模, 设置 9 个比例(10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%和 90%)用于 GS, 剩余群体作为验证集。为了探索 SNP 数量对预测准确性的影响, 设置 9 个密度梯度(50、100、300、500、1000、3000、5000、10,000 和 20,000)用于 GS, 每个标记密度下重复 100 次以估算 GS 预测准确度。

2 结果与分析

2.1 表型统计分析

玉米自然群体穗上叶片数描述性统计及遗传力

表 1 玉米穗上叶片数描述性统计及遗传力  
Table 1 Phenotypic analysis and heritability of LNAE in maize

| 环境<br>Environment | 均值<br>Mean | 最小值<br>Min. | 最大值<br>Max. | 偏度<br>Skewness | 峰度<br>Kurtosis | 变异系数<br>CV (%) | 遗传力<br>$H^2$ (%) |
|-------------------|------------|-------------|-------------|----------------|----------------|----------------|------------------|
| PX23              | 6.61       | 5.54        | 8.01        | 0.337          | -0.271         | 8.00           | 81.23            |
| PD23              | 6.10       | 4.86        | 7.38        | -0.079         | 0.133          | 6.94           |                  |
| PN24              | 6.04       | 5.16        | 7.42        | 0.179          | -0.165         | 7.68           |                  |
| Combined          | 6.25       | 5.26        | 7.38        | 0.216          | -0.202         | 6.47           |                  |

PX23 为新疆奇台环境; PD23 为奇台西地环境; PN24 为海南乐东环境; Combined 为联合环境。  
PX23 represents the Qitai environment in Xinjiang; PD23 represents the Qitai West area environment; PN24 represents the Ledong environment in Hainan; Combined represents the joint environment.

表 2 玉米穗上叶片数方差分析  
Table 2 Analysis of variance of LNAE in maize

| 变异来源<br>Source     | 自由度<br>DF | 平方和<br>Sum Sq. | 均方<br>Mean Sq. | F 值 F value | P 值 P-value |
|--------------------|-----------|----------------|----------------|-------------|-------------|
| 基因型 Genotype (G)   | 290       | 420.65         | 1.45           | 10.36       | ***         |
| 环境 Environment (E) | 2         | 104.53         | 52.27          | 373.33      | ***         |
| 基因型与环境互作 G×E       | 541       | 152.52         | 0.28           | 2.01        | ***         |
| 误差 Error           | 797       | 111.58         | 0.14           | —           | —           |

\*\*\*表示在 0.001 水平上差异显著。\*\*\* indicates a significant difference at the 0.001 level.

结果见表 1。在 PX23 环境中, LNAE 表型值范围为 5.54~8.01, 均值为 6.61, 变异系数为 8.00%; 在 PD23 环境中, LNAE 表型值范围为 4.86~7.38, 均值为 6.10, 变异系数为 6.94%; 在 PN24 环境中, LNAE 表型值范围为 5.16~7.42, 均值为 6.04, 变异系数为 7.68%; 在联合环境中, LNAE 表型值范围为 5.26~7.38, 均值为 6.25, 变异系数为 6.47%。偏度和峰度系数均在-1 到 1 之间, LNAE 符合正态分布。

对穗上叶片数进行方差分析(表 2)发现, LNAE 在基因型(G)、环境(E)及基因型与环境互作(G×E)方面均达到了极显著差异水平( $P < 0.001$ ), 表明 LNAE 受到基因型、环境、基因型和环境互作影响极显著。基于本研究特定群体及 4 个测试环境, 检测到的遗传力为 81.23%, 遗传力较高, 表明遗传因素在 LNAE 性状中起主要作用。

2.2 相关性分析

穗上叶片数在环境间存在显著( $P < 0.001$ )正相关关系(图 1-A), 皮尔逊相关系数范围为 0.55~0.68。该性状的联合表型相关系数高于环境间表型相关系数( $r$  值为 0.85~0.88), 表明穗上叶片数可能受到基因型与环境互作(G×E)的显著影响。穗上叶片数与单穗粒重( $P < 0.001$ )和百粒重( $P < 0.05$ )的皮尔逊相关系数分别为 0.25 和 0.12 (图 1-B), 表明穗上叶片数与玉米产量相关性状之间存在显著正相关关系, 穗上叶片数的增多和减少可能影响玉米产量的高低。

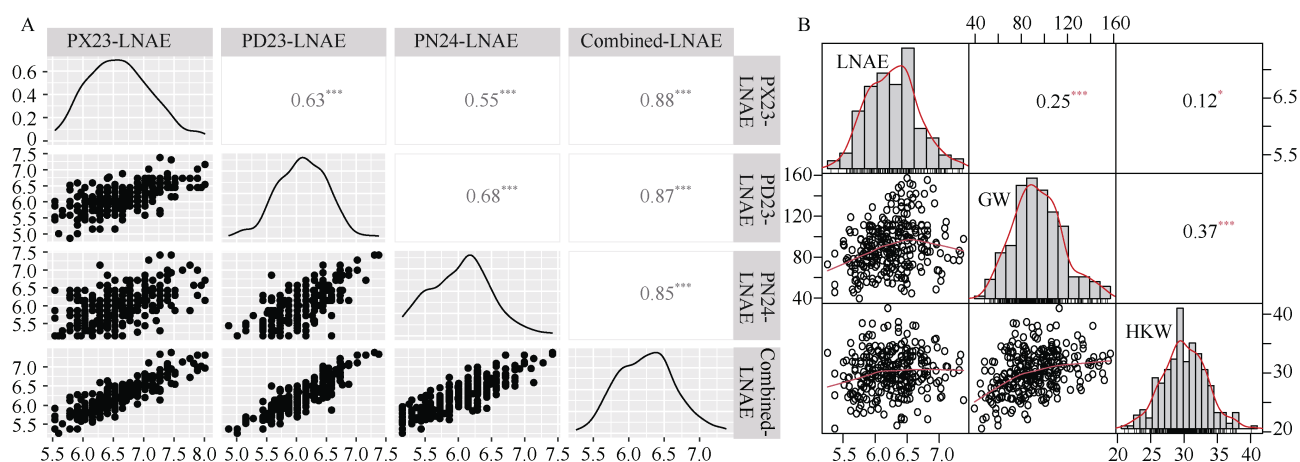


图1 玉米穗上叶片数环境间相关性分析(A)及与产量性状的相关性分析(B)

Fig. 1 Correlation analysis of LNAE across different environments (A) and with yield-related traits in maize (B)

PX23 为新疆奇台环境; PD23 为奇台西地环境; PN24 为海南乐东环境; Combined 为联合环境。LNAE 为穗上叶片数; GW 为单穗粒重; HKW 为百粒重。\*和\*\*\*分别代表在 0.05 和 0.001 水平上显著相关。

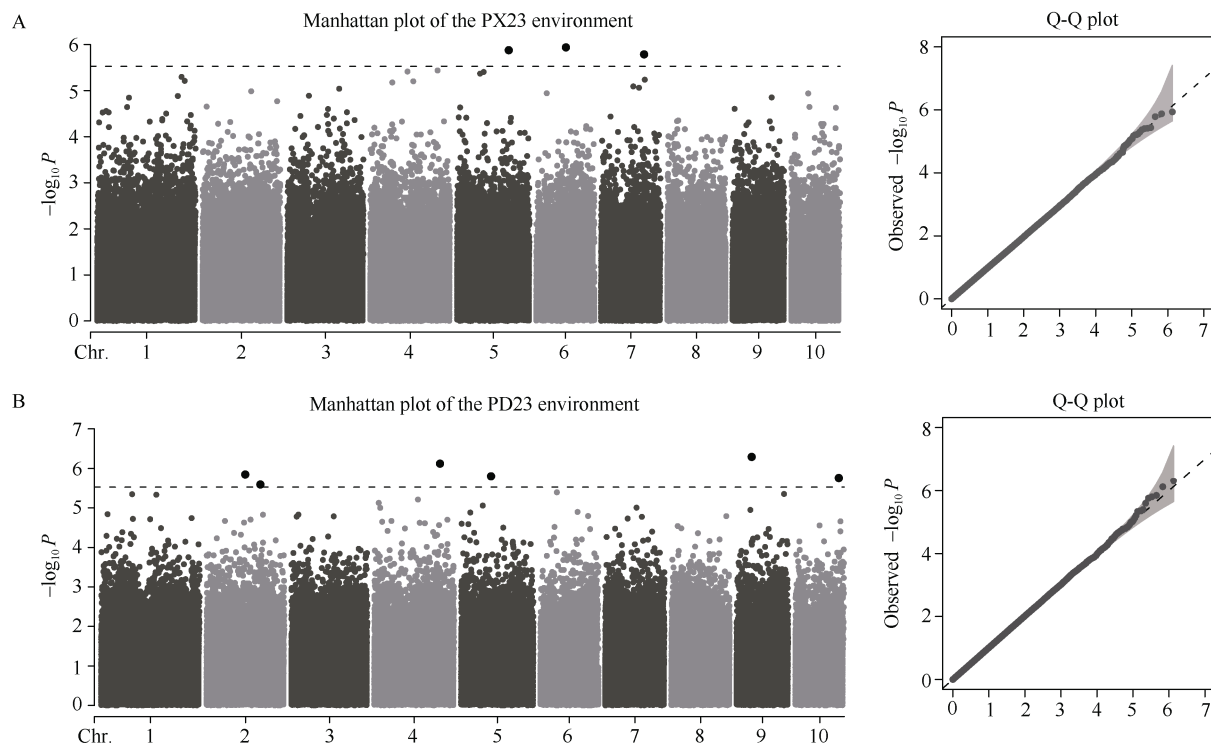
PX23 represents the Qitai environment in Xinjiang; PD23 represents the Qitai West area environment; PN24 represents the Ledong environment in Hainan; Combined represents the joint environment. LNAE: number of leaves above the ear; GW: grain weight per ear; HKW: hundred-kernel weight. \* and \*\*\* denote significance at the 0.05 and 0.001 levels, respectively.

### 2.3 全基因组关联分析

利用 MLM 和 FarmCPU 2 种模型分别对 3 个单环境及联合环境下穗上叶片数性状进行全基因组关联分析。显著性阈值为  $2.968 \times 10^{-6}$  时, 2 个模型共检测到 52 个显著 SNP (表 3), 其中, PX23 环境定位到 SNP 位点 10 个, PD23 环境定位到 SNP 位点 12

个, PN24 环境定位到 SNP 位点 19 个, 联合环境定位到 SNP 位点 11 个。

对于 MLM 模型(图 2), PX23 定位到 3 个显著 SNP, 分别位于 5、6 和 7 号染色体上, 单个 SNP 位点解释 1.35%~9.86% 的表型变异; PD23 定位到 6 个显著 SNP, 分别位于 2 (2 个)、4、5、9 和 10 号染色体



(图 2)

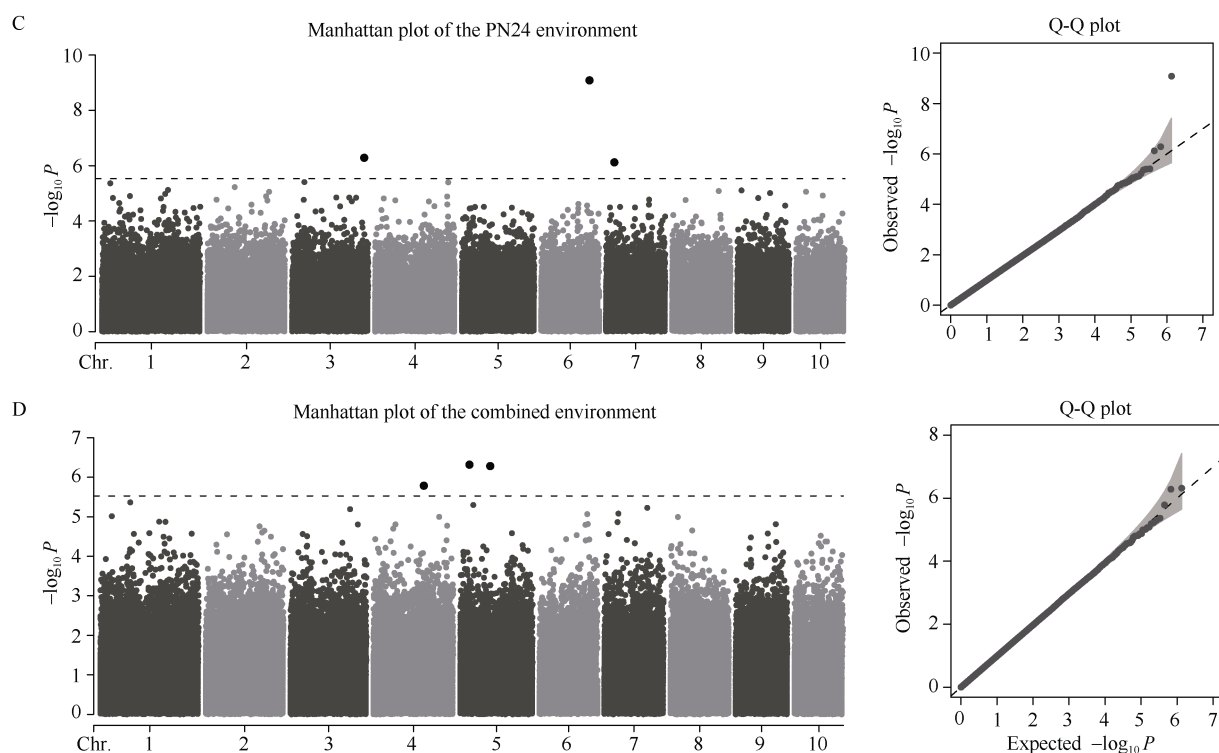


图 2 MLMM 模型下穗上叶片数的曼哈顿和 Q-Q 图

Fig. 2 Manhattan and Q-Q plots of LNAE based on MLMM model

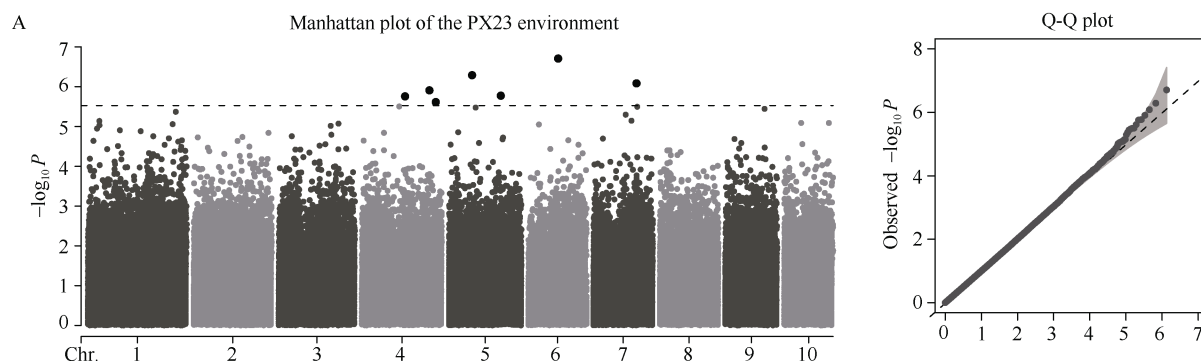
PX23 为新疆奇台环境; PD23 为奇台西地环境; PN24 为海南乐东环境; Combined 为联合环境。

PX23 represents the Qitai environment in Xinjiang; PD23 represents the Qitai West area environment; PN24 represents the Ledong environment in Hainan; Combined represents the joint environment.

上, 单个 SNP 位点解释 2.50%~8.62% 的表型变异; PN24 定位到 3 个显著 SNP, 分别位于 3、6 和 7 号染色体上, 单个 SNP 位点解释 1.12%~22.43% 的表型变异; 联合环境定位到的 3 个显著 SNP, 位于 4 和 5 (2 个) 号染色体上, 单个 SNP 位点解释 1.80%~9.83% 的表型变异。在 MLMM 模型中 SNP 6\_151035576 的  $P$  值最高为  $8.23 \times 10^{-10}$ , 并解释了最高 22.43% 的表型变异。SNP 5\_93495559 在 PD23 和联合环境中均被检测到, 是环境稳定位点。

对于 FarmCPU 模型(图 3), PX23 定位到 7 个显

著 SNP, 分别位于 4 (3 个)、5 (2 个)、6 和 7 号染色体上, 单个 SNP 位点的表型贡献率为 0.03%~18.23%; PD23 定位到 6 个显著 SNP, 分别位于 1、2、4、5 和 9 (2 个) 号染色体上, 单个 SNP 位点的表型贡献率为 4.22%~10.75%; PN24 定位到 16 个显著 SNP, 位于除 5 和 9 号外的其他染色体上, 单个 SNP 位点的表型贡献率为 0.99%~10.62%; 联合环境定位到的 8 个显著 SNP, 分别位于 1、3、4 (2 个)、5 (2 个)、7 和 8 号染色体上, 单个 SNP 位点的表型贡献率为 0.02%~15.46%。在 FarmCPU 模型中, SNP



(图 3)

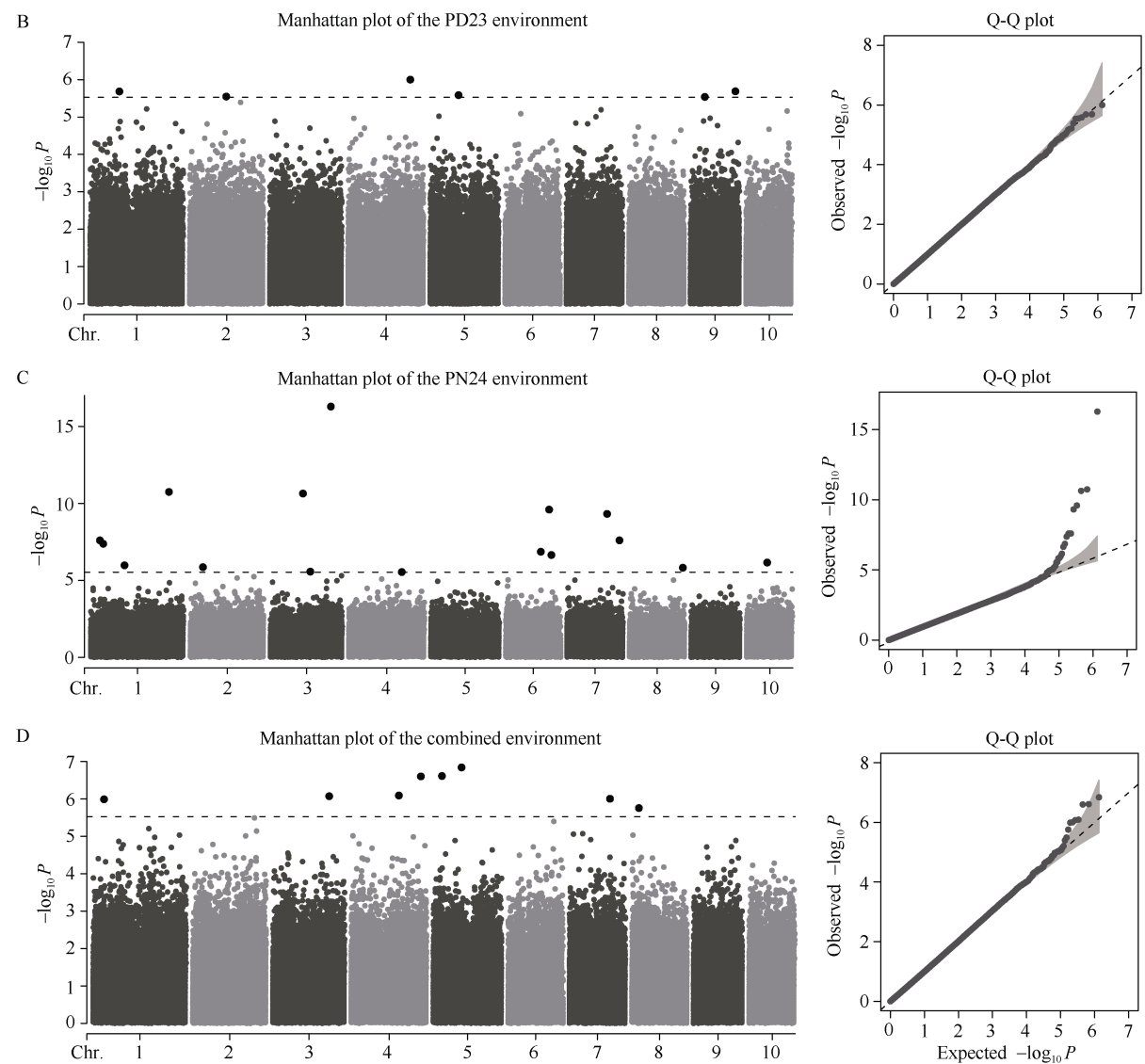


图 3 FarmCPU 模型下穗上叶片数的曼哈顿和 Q-Q 图  
Fig. 3 Manhattan and Q-Q plots of LNAE based on FarmCPU model  
PX23 为新疆奇台环境; PD23 为奇台西地环境; PN24 为海南乐东环境; Combined 为联合环境。  
PX23: the Qitai environment in Xinjiang; PD23: the Qitai West area; PN24: the Ledong environment in Hainan; Combined: the joint environment.

表 3 MLMM 模型和 FarmCPU 模型鉴定到的与穗上叶片数显著相关的 SNP  
Table 3 Significant SNPs associated with LNAE identified using MLMM and FarmCPU

| 模型 Model | 环境 Environment | SNP         | 区间 Bin | MAF  | P 值 P-value          | PVE (%) |
|----------|----------------|-------------|--------|------|----------------------|---------|
| MLMM     | PD23           | 2_120634825 | 2.05   | 0.06 | $1.43\times10^{-6}$  | 2.50    |
|          | PD23           | 2_168025488 | 2.06   | 0.49 | $2.55\times10^{-6}$  | 3.98    |
|          | PN24           | 3_225158062 | 3.09   | 0.08 | $5.19\times10^{-7}$  | 4.81    |
|          | Combined       | 4_157618103 | 4.06   | 0.07 | $1.64\times10^{-6}$  | 9.53    |
|          | PD23           | 4_205497294 | 4.08   | 0.07 | $7.58\times10^{-7}$  | 8.62    |
|          | PX23           | 5_161426166 | 5.04   | 0.28 | $1.33\times10^{-6}$  | 3.38    |
|          | Combined       | 5_28589012  | 5.03   | 0.08 | $4.80\times10^{-7}$  | 1.87    |
|          | PD23           | 5_93495559  | 5.04   | 0.09 | $1.58\times10^{-6}$  | 4.34    |
|          | Combined       | 5_93495559  | 5.04   | 0.09 | $5.22\times10^{-7}$  | 1.80    |
|          | PN24           | 6_151035576 | 6.05   | 0.10 | $8.23\times10^{-10}$ | 22.43   |

(续表 3)

| 模型 Model | 环境 Environment | SNP          | 区间 Bin | MAF  | P 值 P-value            | PVE (%) |
|----------|----------------|--------------|--------|------|------------------------|---------|
| MLMM     | PX23           | 6_92586565   | 6.01   | 0.05 | $1.16 \times 10^{-6}$  | 9.86    |
|          | PX23           | 7_134339386  | 7.03   | 0.12 | $1.64 \times 10^{-6}$  | 1.35    |
|          | PN24           | 7_26144877   | 7.02   | 0.22 | $7.56 \times 10^{-7}$  | 1.12    |
|          | PD23           | 9_47509326   | 9.03   | 0.08 | $5.11 \times 10^{-7}$  | 5.43    |
|          | PD23           | 10_135626210 | 10.05  | 0.13 | $1.75 \times 10^{-6}$  | 3.37    |
| FarmCPU  | PN24           | 1_111517760  | 1.05   | 0.06 | $1.06 \times 10^{-6}$  | 1.95    |
|          | PN24           | 1_258669737  | 1.09   | 0.35 | $1.81 \times 10^{-11}$ | 1.57    |
|          | PN24           | 1_30205600   | 1.03   | 0.09 | $2.53 \times 10^{-8}$  | 3.20    |
|          | Combined       | 1_35793348   | 1.03   | 0.08 | $1.02 \times 10^{-6}$  | 2.29    |
|          | PN24           | 1_41061523   | 1.03   | 0.45 | $4.23 \times 10^{-8}$  | 1.31    |
|          | PD23           | 1_96687462   | 1.05   | 0.05 | $2.07 \times 10^{-6}$  | 7.45    |
|          | PD23           | 2_120634825  | 2.05   | 0.06 | $2.83 \times 10^{-6}$  | 5.61    |
|          | PN24           | 2_41387828   | 2.04   | 0.07 | $1.40 \times 10^{-6}$  | 6.16    |
|          | PN24           | 3_107497527  | 3.04   | 0.06 | $2.31 \times 10^{-11}$ | 7.62    |
|          | PN24           | 3_131795894  | 3.05   | 0.49 | $2.71 \times 10^{-6}$  | 1.36    |
|          | Combined       | 3_186294797  | 3.06   | 0.05 | $8.47 \times 10^{-7}$  | 0.02    |
|          | PN24           | 3_199745851  | 3.07   | 0.05 | $5.19 \times 10^{-17}$ | 10.62   |
|          | PX23           | 4_134561575  | 4.05   | 0.06 | $1.75 \times 10^{-6}$  | 1.92    |
|          | Combined       | 4_157618103  | 4.06   | 0.07 | $8.10 \times 10^{-7}$  | 15.46   |
|          | PN24           | 4_175173380  | 4.06   | 0.05 | $2.89 \times 10^{-6}$  | 4.32    |
|          | PD23           | 4_205497294  | 4.08   | 0.07 | $9.99 \times 10^{-7}$  | 5.70    |
|          | PX23           | 4_210561941  | 4.08   | 0.07 | $1.23 \times 10^{-6}$  | 6.23    |
|          | PX23           | 4_230408762  | 4.09   | 0.07 | $2.44 \times 10^{-6}$  | 0.03    |
|          | Combined       | 4_230408762  | 4.09   | 0.07 | $2.50 \times 10^{-7}$  | 4.50    |
|          | PX23           | 5_161426166  | 5.04   | 0.28 | $1.68 \times 10^{-6}$  | 2.88    |
|          | Combined       | 5_28589012   | 5.03   | 0.08 | $2.44 \times 10^{-7}$  | 2.89    |
|          | PX23           | 5_71843763   | 5.03   | 0.26 | $5.14 \times 10^{-7}$  | 4.27    |
|          | PD23           | 5_93495559   | 5.04   | 0.09 | $2.59 \times 10^{-6}$  | 5.75    |
|          | Combined       | 5_93495559   | 5.04   | 0.09 | $1.44 \times 10^{-7}$  | 3.88    |
|          | PN24           | 6_115959165  | 6.04   | 0.07 | $1.39 \times 10^{-7}$  | 3.14    |
|          | PN24           | 6_143596272  | 6.05   | 0.05 | $2.55 \times 10^{-10}$ | 9.22    |
|          | PN24           | 6_151035576  | 6.05   | 0.10 | $2.25 \times 10^{-7}$  | 9.68    |
|          | PX23           | 6_92586565   | 6.01   | 0.05 | $1.96 \times 10^{-7}$  | 18.23   |
|          | PN24           | 7_132786846  | 7.02   | 0.08 | $4.82 \times 10^{-10}$ | 8.85    |
|          | PX23           | 7_134339386  | 7.03   | 0.12 | $8.23 \times 10^{-7}$  | 2.24    |
|          | Combined       | 7_134339386  | 7.03   | 0.12 | $9.90 \times 10^{-7}$  | 4.67    |
|          | PN24           | 7_173598659  | 7.04   | 0.09 | $2.53 \times 10^{-8}$  | 4.65    |
|          | PN24           | 8_176458605  | 8.08   | 0.15 | $1.51 \times 10^{-6}$  | 0.99    |
|          | Combined       | 8_22982115   | 8.03   | 0.10 | $1.75 \times 10^{-6}$  | 4.19    |
|          | PD23           | 9_148731042  | 9.06   | 0.07 | $2.05 \times 10^{-6}$  | 10.75   |
|          | PD23           | 9_47509326   | 9.03   | 0.08 | $2.89 \times 10^{-6}$  | 4.22    |
|          | PN24           | 10_67379697  | 10.03  | 0.08 | $6.98 \times 10^{-7}$  | 2.77    |

PX23 为新疆奇台环境; PD23 为奇台西地环境; PN24 为海南乐东环境; Combined 为联合环境。SNP 为单核苷酸多态性; MAF 为最小等位基因频率; PVE 为表型贡献率。

PX23: the Qitai environment in Xinjiang; PD23: the Qitai West area; PN24: the Ledong environment in Hainan; Combined: the joint environment. SNP: single nucleotide polymorphism; MAF: minor allele frequency; PVE: phenotypic variance explained.

3\_199745851 的  $P$  值最高为  $5.19 \times 10^{-17}$ , 表型贡献率仅为 10.62%。SNP 4\_230408762 在 PX23 和联合环境均被检测到, SNP 5\_93495559 在 PD23 和联合环境均被检测到, 均为环境稳定位点。

2.4 稳定 SNP 位点分析

全基因组关联分析共检测到 11 个稳定位点(表 4), 其中, SNP 4\_230408762 在 PX23 和联合环境下均被检测到, SNP 5\_93495559 在 PD23 和联合环境下均被检测到。研究发现, MLM 和 FarmCPU 模型共定位到 10 个 SNP, 位于 bin 2.05 的 SNP 2\_120634825、bin 4.08 的 SNP 4\_205497294 和位于 bin 9.03 的 SNP 9\_47509326 被 2 个模型同时在 PD23 环境下检测到; 位于 bin 5.04 的 SNP 5\_161426166

和位于 bin 6.01 的 SNP 6\_92586565 被 2 个模型同时在 PX23 环境下检测到; 位于 bin 4.06 的 SNP 4\_157618103 和位于 bin 5.03 的 SNP 5\_28589012 被 2 个模型同时在联合环境下检测到; 位于 bin 6.05 的 SNP 6\_151035576 被 2 个模型同时在 PN24 环境下检测到; 位于 bin 7.03 的 SNP 7\_134339386 被 MLM 在 PX23 环境检测到, 并同时被 FarmCPU 模型在 PX23 和联合环境中检测到; 位于 bin 5.04 的 SNP 5\_93495559 被 2 个模型在 PD23 和联合环境下共同检测到与 LNAE 相关。结合 2 个环境稳定位点 SNP 4\_230408762 和 SNP 5\_93495559, 本研究共检测到 11 个稳定位点, 其中, SNP 5\_93495559 既是环境稳定位点, 又是 2 个模型共定位位点。

表 4 11 个稳定 SNP 的具体信息  
Table 4 Detailed information on eleven stable SNPs

| 定位条件<br>Positioning condition                            | SNP         | 候选基因<br>Candidate gene | 区间<br>Bin |
|----------------------------------------------------------|-------------|------------------------|-----------|
| PD23-MLMM, PD23-FarmCPU                                  | 2_120634825 | Zm00001eb089980        | 2.05      |
| Combined-MLMM, Combined-FarmCPU                          | 4_157618103 | —                      | 4.06      |
| PD23-MLMM, PD23-FarmCPU                                  | 4_205497294 | Zm00001eb199890        | 4.08      |
| PX23-FarmCPU, Combined-FarmCPU                           | 4_230408762 | Zm00001eb203860        | 4.09      |
| Combined-MLMM, Combined-FarmCPU                          | 5_28589012  | Zm00001eb221520        | 5.03      |
|                                                          |             | Zm00001eb221530        | 5.03      |
| PD23-FarmCPU, Combined-FarmCPU, PD23-MLMM, Combined-MLMM | 5_93495559  | Zm00001eb233990        | 5.04      |
| PX23-MLMM, PX23-FarmCPU                                  | 5_161426166 | Zm00001eb240510        | 5.04      |
|                                                          |             | Zm00001eb240520        | 5.04      |
|                                                          |             | Zm00001eb240530        | 5.04      |
|                                                          |             | Zm00001eb240540        | 5.04      |
| PX23-MLMM, PX23-FarmCPU                                  | 6_92586565  | Zm00001eb272100        | 6.01      |
| PN24-MLMM, PN24-FarmCPU                                  | 6_151035576 | Zm00001eb286080        | 6.05      |
| PX23-FarmCPU, Combined-FarmCPU, PX23-MLMM                | 7_134339386 | Zm00001eb315650        | 7.03      |
|                                                          |             | Zm00001eb315660        | 7.03      |
| PD23-MLMM, PD23-FarmCPU                                  | 9_47509326  | Zm00001eb381590        | 9.03      |

PX23 为新疆奇台环境; PD23 为奇台西地环境; PN24 为海南乐东环境; Combined 为联合环境。定位条件中 PD23-MLMM 代表 MLM 模型下 PD23 环境。SNP 为单核苷酸多态性。候选基因的检索参考 B73 RefGen\_v5。

PX23: the Qitai environment in Xinjiang; PD23: the Qitai West area; PN24: the Ledong environment in Hainan; Combined: the joint environment. For positioning conditions, PD23-MLMM refers to the PD23 environment under the MLM model. SNP: single nucleotide polymorphism. Candidate gene searches were conducted using the B73 RefGen\_v5 reference genome.

2.5 等位变异分析

对 PX23、PD23、PN24 和联合环境中 11 个稳定 SNP 位点的等位变异与表型数据进行  $t$  检验(图 4)。结果显示, SNP 4\_157618103、4\_205497294、5\_28589012、6\_92586565、6\_151035576 和 9\_47509326 的等位变异对应表型值间均存在极显著差异( $P < 0.01$ ), 表明等位基因的突变使表型值发生改变, 其

中, SNP 4\_157618103 等位基因从 AA 转变为 TT 后 LNAE 显著减少; SNP 4\_205497294 等位基因从 AA 转变为 GG 后 LNAE 显著减少; SNP 5\_28589012 等位基因从 GG 转变为 CC 后 LNAE 显著增加; SNP 6\_92586565 等位基因从 GG 转变为 CC 后 LNAE 显著增加; SNP 6\_151035576 等位基因从 GG 转变为 AA 后 LNAE 显著减少; SNP 9\_47509326 等位基因从

CC 转变为 TT 后 LNAE 显著减少。另外, SNP 2\_120634825 在联合环境中等位变异后表型值差异显著( $P < 0.05$ ), 其余 3 个环境中表型值差异不显著; SNP 5\_93495559 除在 PX23 环境中等位变异后表型值差异显著( $P < 0.05$ )外, 其余 3 个环境中表型值差异极显著( $P < 0.01$ ), 等位基因从 GG 转变为 CC 后 LNAE 显著增加; SNP 5\_161426166 除 PN24 环境中

等位变异后表型值差异不显著外, 其余 3 个环境等位变异后表型值均存在极显著差异( $P < 0.01$ ), 等位基因从 AA 转变为 TT 后 LNAE 显著增加; SNP 7\_134339386 除在 PD23 环境中等位变异后表型值差异显著( $P < 0.05$ )外, 其余 3 个环境中等位变异对应的表型值在  $P < 0.01$  水平上差异极显著, 等位基因从 CC 转变为 GG 后 LNAE 显著增加。

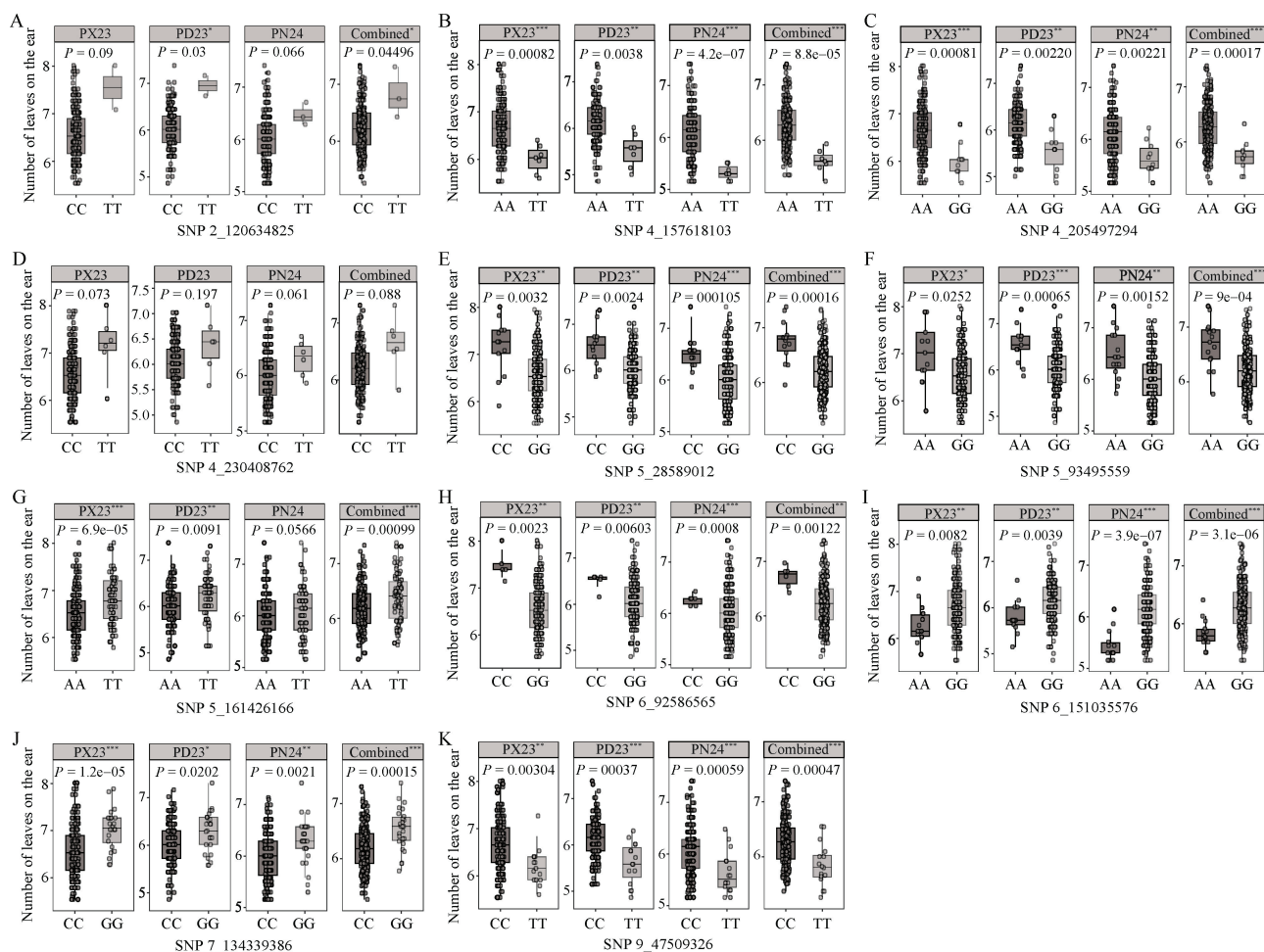


图 4 稳定 SNP 等位变异对表型的影响

Fig. 4 Effects of stable SNP allelic variation on phenotype

A-K 分别为 11 个稳定 SNP 在 3 个环境和联合环境中等位变异对应的穗上叶片数表型值差异。PX23 为新疆奇台环境; PD23 为奇台西地环境; PN24 为海南乐东环境; Combined 为联合环境。P 为显著性差异, \*代表  $P < 0.05$ , \*\*代表  $P < 0.01$ , \*\*\*代表  $P < 0.001$ 。

A-K show LNAE phenotypic differences associated with allelic variation of 11 stable SNPs in PX23, PD23, PN24, and Combined environments, respectively. PX23: the Qitai environment in Xinjiang; PD23: the Qitai West area; PN24: the Ledong environment in Hainan; Combined: the joint environment. P indicates significance: \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ ; \*\*\* $P < 0.001$ .

## 2.6 候选基因分析

基于 B73 RefGen\_v5 参考基因组, 在所有与 LNAE 性状显著相关的 SNP 位点上游或下游 33 kb 区域内鉴定出 51 个候选基因, 共有 38 个基因包含功能注释信息(表 5)。PX23-MLMM、PD23-MLMM、PN24-MLMM、Combined-MLMM、PX23-FarmCPU、

PD23-FarmCPU、PN24-FarmCPU 和 Combined-FarmCPU 对应的候选基因数量分别为 7、7、2、3、13、5、24 和 9 个。

针对 11 个稳定 SNP, 共鉴定出 15 个候选基因, 其中 14 个候选基因具有已知功能。Zm00001eb240510、Zm00001eb240520、Zm00001eb240530 和

*Zm00001eb240540* 均位于 SNP 5\_161426166 的连锁不平衡区间内, 前 2 个基因功能注释为 UDP-糖基转移酶 73D1 和 UDP-糖基转移酶 73C5。2 个模型在联合环境定位到与 LNAE 显著相关的 SNP 5\_28589012 位于候选基因 *Zm00001eb221520* 和 *Zm00001eb22130* 的编码区域, 分别编码浮游蛋白样蛋白 2 和未表征蛋白。FarmCPU 模型在 PX23 和 Combined 环境、MLMM 模型在 PX23 环境下检测到与 LNAE 显著相关的 SNP 7\_134339386 位于候选基因 *Zm00001eb315650* 和 *Zm00001eb315660* 的编码区域, 分别编码蓝铜蛋白和转录调控蛋白 AlgP。关键 SNP 5\_93495559 被 FarmCPU 模型和 MLMM 模型在 PD23 和联合环境下共同检测到, 位于

*Zm00001eb233990* 的连锁不平衡区间内, 功能注释为未表征的蛋白 LOC111589340。

为探究共定位位点的 15 个候选基因表达模式, 下载并分析了 B73 玉米 28 种不同叶片组织中的基因表达水平, 如图 5 所示(叶片组织详细描述参考 Stelpflug 等<sup>[38]</sup>、Walley 等<sup>[39]</sup>和 Sekhon 等<sup>[40]</sup>)。其中 2 个基因在 28 种组织中表现出低表达或无表达; 基因 *Zm00001eb315650* 在营养阶段 V9 (第 9 片叶完全展开) 的未成熟叶片和 V9 第 13 片叶片中高表达<sup>[38]</sup>; *Zm00001eb315660* 在营养阶段 V9 未成熟叶片中高表达<sup>[38]</sup>; *Zm00001eb089980* 在第 8 片叶(30 d 龄)的 3 个区域(对称区、气孔区和生长区)及成熟的第 8 片叶(43 d 龄)表现出相对较高的表达水平<sup>[39]</sup>。

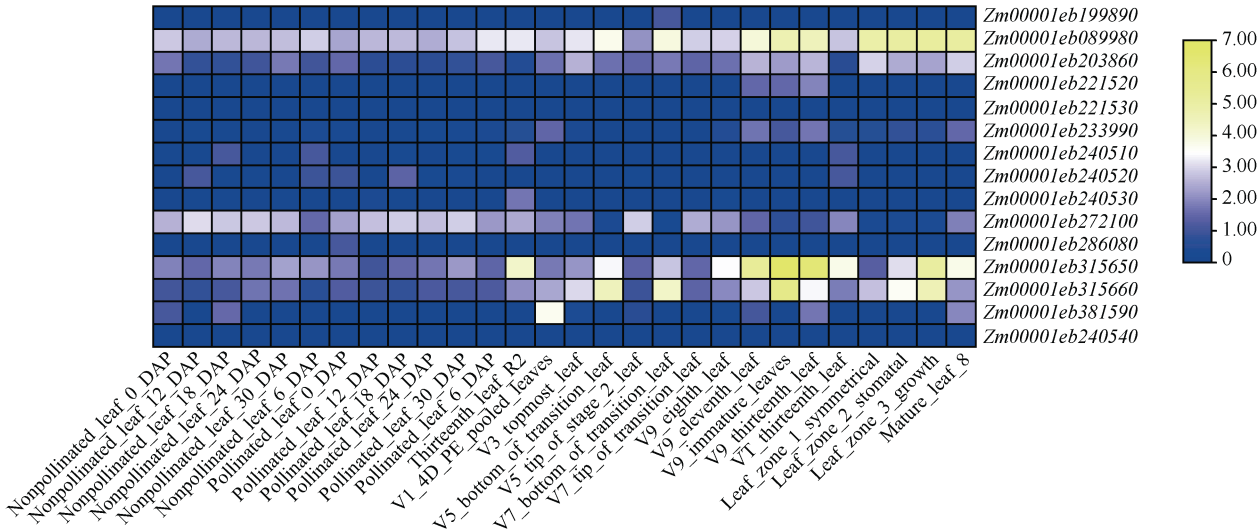


图 5 与穗上叶片数相关的 15 个候选基因在 28 种叶片相关组织中的表达量热图  
Fig. 5 Heatmap of expression levels for 15 candidate genes associated with the number of leaves above the ear across 28 leaf-related tissues

图例中数字为候选基因的表达值, 即  $\log_2(\text{FPKM}+1)$ 。  
Numeric values in the legend represent gene expression levels, calculated as  $\log_2(\text{FPKM}+1)$ .

表 5 玉米穗上叶片数推定候选基因  
Table 5 Putative candidate genes for LNAE traits in maize

| SNP         | 候选基因<br>Candidate gene | 功能注释<br>Function annotation                                                     |
|-------------|------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|
| 4_134561575 | <i>Zm00001eb183540</i> | 蛋白质毛状体双折射样蛋白 33 Protein trichome birefringence-like 33                          |
|             | <i>Zm00001eb183550</i> | 未表征的 LOC103653699 Uncharacterized LOC103653699                                  |
| 4_210561941 | <i>Zm00001eb200840</i> | 核酸结合蛋白(C2H2 样锌指蛋白) Nucleic acid binding protein (C2H2-like zinc finger protein) |
|             | <i>Zm00001eb200860</i> | 甘油醛氧化酶 Glyoxal oxidase                                                          |
| 5_71843763  | <i>Zm00001eb230020</i> | —                                                                               |
| 1_96687462  | —                      | —                                                                               |
| 9_148731042 | <i>Zm00001eb398600</i> | IRK 相互作用蛋白 IRK-interacting protein                                              |
| 1_30205600  | <i>Zm00001eb009640</i> | 亮氨酸富含重复序列受体样丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 BAM2                                                    |
|             |                        | Leucine-rich repeat receptor-like serine/threonine-protein kinase BAM2          |

(续表 5)

| SNP          | 候选基因<br>Candidate gene | 功能注释<br>Function annotation                                                           |
|--------------|------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| 1_41061523   | <i>Zm00001eb012470</i> | 热休克同源蛋白 70 kD 蛋白 2 Heat shock cognate 70 kD protein 2                                 |
|              | <i>Zm00001eb012480</i> | PHM2177                                                                               |
|              | <i>Zm00001eb012490</i> | 线粒体磷酸盐载体蛋白 3 Mitochondrial phosphate carrier protein 3, mitochondrial                 |
| 1_111517760  | <i>Zm00001eb025660</i> | —                                                                                     |
| 1_258669737  | —                      | —                                                                                     |
| 2_41387828   | <i>Zm00001eb080140</i> | ABC 转运蛋白 G 家族成员 51 ABC transporter G family member 51                                 |
| 3_107497527  | —                      | —                                                                                     |
| 3_131795894  | <i>Zm00001eb137220</i> | 腺嘌呤核苷酸 $\alpha$ 水解酶样超家族蛋白 Adenine nucleotide alpha hydrolase-like superfamily protein |
| 3_199745851  | <i>Zm00001eb152260</i> | 蓝铜蛋白 Blue copper protein                                                              |
|              | <i>Zm00001eb152270</i> | DUF155 家族蛋白 DUF155 family protein                                                     |
|              | <i>Zm00001eb152280</i> | 未表征的蛋白质 Uncharacterized protein                                                       |
| 4_175173380  | <i>Zm00001eb190970</i> | U-box 结构域含蛋白 33 U-box domain-containing protein 33                                    |
| 6_115959165  | <i>Zm00001eb277790</i> | 与 Shaggy 相关的蛋白激酶 iota Shaggy-related protein kinase iota                              |
|              | <i>Zm00001eb277800</i> | 含 UmuC 结构域的蛋白质 UmuC domain-containing protein                                         |
|              | <i>Zm00001eb277810</i> | 果胶裂解酶样超家族蛋白 Pectin lyase-like superfamily protein                                     |
| 6_143596272  | <i>Zm00001eb284230</i> | 花粉特异性蛋白 SF21 Pollen-specific protein SF21                                             |
|              | <i>Zm00001eb284240</i> | 丝氨酸合成酶 1 叶绿体 Threonine synthase 1 chloroplastic                                       |
|              | <i>Zm00001eb284250</i> | 含锌指 CCCH 结构域蛋白 35 Zinc finger CCCH domain-containing protein 35                       |
| 7_132786846  | —                      | —                                                                                     |
| 7_173598659  | <i>Zm00001eb327060</i> | EAL2                                                                                  |
|              | <i>Zm00001eb327080</i> | 蛋白质蛋装置-1 Protein EGG APPARATUS-1                                                      |
|              | <i>Zm00001eb327090</i> | 未表征的蛋白质 Uncharacterized protein                                                       |
| 8_176458605  | <i>Zm00001eb368560</i> | AT 富集元件结合因子 3 AT-rich element binding factor 3                                        |
| 10_67379697  | <i>Zm00001eb414020</i> | 丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 STY13 Serine/threonine-protein kinase STY13                               |
|              | <i>Zm00001eb414030</i> | YTH 结构域含蛋白 ECT2 YTH domain-containing protein ECT2                                    |
| 1_35793348   | <i>Zm00001eb011120</i> | PGG 结构域含蛋白质 PGG domain-containing protein                                             |
| 3_186294797  | <i>Zm00001eb148440</i> | 未表征的蛋白质 Uncharacterized protein                                                       |
| 4_230408762  | <i>Zm00001eb203860</i> | F-box/Kelch 家族蛋白 F-box/Kelch-repeat protein                                           |
| 8_22982115   | <i>Zm00001eb337930</i> | 酪蛋白激酶 1 样蛋白 HD16 Casein kinase 1-like protein HD16                                    |
| 5_161426166  | <i>Zm00001eb240510</i> | UDP-糖基转移酶 73D1 UDP-glycosyltransferase 73D1                                           |
|              | <i>Zm00001eb240520</i> | UDP-糖基转移酶 73C5 UDP-glycosyltransferase 73C5                                           |
|              | <i>Zm00001eb240530</i> | —                                                                                     |
|              | <i>Zm00001eb240540</i> | —                                                                                     |
| 6_92586565   | <i>Zm00001eb272100</i> | ATP 依赖性锌金属蛋白酶 FTSH 5 叶绿体<br>ATP-dependent zinc metalloprotease FTSH 5 chloroplastic   |
| 7_134339386  | <i>Zm00001eb315650</i> | 蓝铜蛋白 Blue copper protein                                                              |
|              | <i>Zm00001eb315660</i> | 转录调控蛋白 AlgP Transcriptional regulatory protein AlgP                                   |
| 2_120634825  | <i>Zm00001eb089980</i> | 60 kD 茉莉酸盐诱导蛋白 60 kD jasmonate-induced protein                                        |
| 2_168025488  | <i>Zm00001eb095640</i> | 蛋白质长叶素 2 Protein LONGIFOLIA 2                                                         |
|              | <i>Zm00001eb095650</i> | 未表征的蛋白质 Uncharacterized protein                                                       |
| 4_205497294  | <i>Zm00001eb199890</i> | 未表征的蛋白质 Uncharacterized protein                                                       |
| 9_47509326   | <i>Zm00001eb381590</i> | 羧基端加工蛋白酶 Carboxyl-terminal-processing protease                                        |
| 10_135626210 | <i>Zm00001eb427460</i> | $\beta$ -果糖苷酶 1 样蛋白 Beta-fructofuranosidase 1-like                                    |

(续表 5)

| SNP         | 候选基因<br>Candidate gene | 功能注释<br>Function annotation                    |
|-------------|------------------------|------------------------------------------------|
| 3_225158062 | <i>Zm00001eb160130</i> | 未表征的蛋白质 Uncharacterized protein                |
| 6_151035576 | <i>Zm00001eb286080</i> | FAM91A1 样蛋白 FAM91A1-like protein               |
| 7_26144877  | —                      | —                                              |
| 4_157618103 | —                      | —                                              |
| 5_28589012  | <i>Zm00001eb221520</i> | 浮游蛋白样蛋白 2 Flotillin-like protein 2             |
|             | <i>Zm00001eb221530</i> | 未表征的蛋白质 Uncharacterized protein                |
| 5_93495559  | <i>Zm00001eb233990</i> | 未表征的 LOC111589340 Uncharacterized LOC111589340 |

SNP 为单核苷酸多态性; 候选基因的检索参考 B73 RefGen\_v5; 功能注释通过 NCBI 网站查找。  
SNP: single nucleotide polymorphism; gene annotations were based on the B73 RefGen\_v5 reference genome and NCBI functional databases.

2.7 全基因组选择

采用 rrBLUP 模型, 五折交叉验证方法对穗上叶片数进行全基因组选择(GS), 预测精度为 0.316。

设置 9 个不同的训练群体规模对穗上叶片数进行 GS 分析, 预测精度结果如图 6 所示。随着训练群体占总群体比例的 10%增加到 90%, 预测精度逐渐增加, 分别为 11.1%、15.6%、17.7%、20.8%、23.1%、28.3%、30.5%、31.6%和 32.4%。当训练群体从 70%增加到 90%时, 预测精度变化趋势几乎接近, 表明

穗上叶片数的最佳训练群体比例为 70%。

设置 9 个不同标记密度对穗上叶片数进行 GS 分析, 预测精度结果如图 7 所示。随着标记数目由 50 个增加到 20,000 个, 预测精度逐渐增高, 各梯度下预测精度分别为 5.7%、8.9%、14.5%、20.0%、23.1%、28.4%、28.5%、28.7%和 29.2%。当标记个数从 50 增加到 3000 时, 穗上叶片数的预测精度大幅度提升; 当标记数目达到 3000 后, 预测精度逐渐趋于饱和, 表明标记数达到 3000 时即可获得较好的预测准确度。

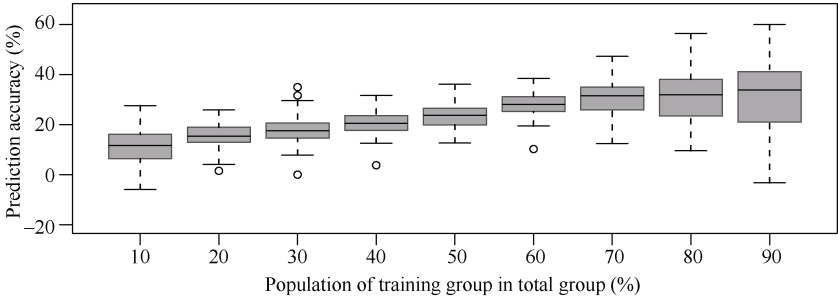


图 6 不同训练群体大小对预测准确性的影响  
Fig. 6 Effects of different training population sizes on prediction accuracy

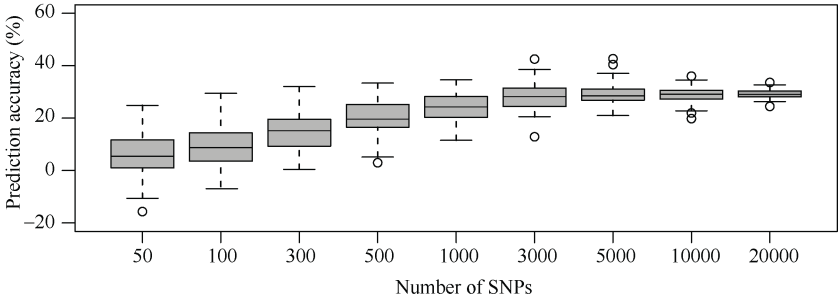


图 7 不同标记数量对穗上叶片数预测准确性的影响  
Fig. 7 Effects of different marker numbers on prediction accuracy for LNAE

3 讨论

叶片作为植物进行光合、呼吸及蒸腾作用的关

键器官, 其形态特征对植物的生理功能具有重要影响。李协钟等<sup>[41]</sup>进行回归分析发现, 甜玉米穗上叶从顶部到基部, 叶片每减少 1 片产量减少约 2.7%;

宋世宗等<sup>[42]</sup>也得出相似结果,在玉米授粉后进行去雄与去叶处理,发现叶片减少后雌穗穗长缩短,秃尖变长,穗粗变小,减产严重。根据主穗的位置,叶片总数可划分为穗上和穗下 2 部分。与穗下叶相比,穗上叶相对年轻,新陈代谢更活跃<sup>[43]</sup>,光合作用能力更强,有利于为穗部谷物填充提供碳水化合物<sup>[44]</sup>。穗下叶通常与玉米的开花时间密切相关,主要维持茎和根的能量供应<sup>[45]</sup>,易受到遮荫和衰老的影响<sup>[46]</sup>。先前的研究表明,穗上叶数和穗下叶数表现出较低的表型相关性<sup>[10]</sup>。与穗上叶片数相关 QTL 的等位基因更倾向于增加雌穗上方叶片数量,而与穗下叶片数相关 QTL 的等位基因更倾向于减少雌穗以下叶片数量,二者具有相对独立的遗传控制<sup>[10]</sup>。适当提高玉米穗上叶片数可有效扩大密植栽培条件下的“源”容量<sup>[47]</sup>,而过多的穗上叶会导致玉米开花延迟、晚熟,最终影响产量<sup>[48]</sup>。因此最佳叶片数量比例对于改善植物结构以最大限度地发挥植物群体的光合潜力至关重要。本研究在 3 个环境下对 LNAE 进行表型分析,结果表明 LNAE 均值范围为 6.04~6.61,基因型、环境及基因与环境互作对 LNAE 的影响均达到极显著水平( $P < 0.001$ )。这一发现与郭向阳<sup>[48]</sup>在不同供氮下对穗上叶片数的探究结果具有一致性,LNAE 在基因型、环境和基因与环境互作效应上均呈极显著差异。本研究中,LNAE 遗传力为 81.23%,与崔敏<sup>[49]</sup>在扬州、淮安、海南及联合环境下获得的 LNAE 遗传力(83%~92%)相吻合。这一研究结果表明 LNAE 性状具有较高的遗传力特征,反映该性状主要受遗传因素的调控,具有稳定的遗传基础。

全基因组关联分析是探究数量性状遗传基础的有效工具。为提高 GWAS 统计功效,已开发出多种统计方法,其中固定随机模型循环概率统一模型(FarmCPU)属于多位点检验方法,能有效控制假阳性结果发生<sup>[50]</sup>;多元线性混合模型(MLMM)可同时考虑固定效应和随机效应,结合了多元线性回归模型和方差分析模型的特点。本研究利用 MLMM 和 FarmCPU 在  $2.968 \times 10^{-6}$  的阈值下分别检测到 15 个和 37 个与控制穗上叶片数的显著关联 SNP 位点,其中 2 个 SNP 在多个环境下同时被检测到,10 个稳定 SNP 被 2 个模型同时检测到,分布于 bin 2.05、4.06、4.08、4.09、5.03、5.04、6.01、6.05、7.03、9.03 区间。不同模型共定位位点可靠性更高,需要进一步进行探索。稳定 SNP 等位变异表型值的  $t$  检验结果中,除环境稳定位点 4\_230408762 差异不显著外,

其余 10 个共定位位点表型值在不同环境下均存在一定程度的差异,分析 SNP 4\_230408762 不显著原因,可能是等位变异 TT 基因型单株个数较少,使结果存在一定误差。

本研究共定位到 52 个显著关联的 SNP 位点,其中 PX23 环境定位到 10 个 SNP 位点,PD23 环境定位到 12 个 SNP 位点,PN24 环境定位到 19 个 SNP 位点,联合环境定位到 11 个 SNP 位点。其中 SNP 5\_93495559 被环境与模型重复定位到 4 次,是本试验重要的 SNP 位点,与前期研究相比,该 SNP 是新的遗传位点。一些 SNP 在先前研究中已有所报道<sup>[10,14,51-52]</sup>。FarmCPU 模型在 PN24 环境下定位到位于 bin 2.04 的 SNP 2\_41387828 与 Li 等<sup>[10]</sup>检测到与穗上叶片数有关的 QTL *qLA2-1* 位于同一染色体区段;FarmCPU 模型在联合环境下定位到位于 bin 8.03 的 SNP 8\_22982115 与 Shi 等<sup>[51]</sup>在 HnLA 和 HfLA 环境检测到影响 LNAE 的 *qHnLA8-1* 和 *qHfLA8-1* 位于同一染色体区段;位于 bin 6.01 的共定位位点 6\_92586565 与 Cui 等<sup>[14]</sup>在扬州和海南环境下检测到与 LNAE 显著相关的 *qLA6-1* 位于同一染色体区段;位于 bin 2.05 的共定位位点 2\_120634825 与赵满义<sup>[52]</sup>检测到控制 LNAE 的 *qEN2* 位于同一染色体区段。

对挖掘到的显著 SNP 进行候选基因预测,有助于揭示 LNAE 性状的遗传基础、优化玉米株型进而提高产量。基于 B73 RefGen\_v5 基因组,本研究共鉴定出 51 个候选基因,其中 38 个具有功能注释。基因 *Zm00001eb203860* 编码 F-box/kelch 重复蛋白,该蛋白是植物中最常见的 F-box 家族蛋白亚家族之一<sup>[53]</sup>,充当植物激素或光受体,广泛作用于植物调节中的光信号传导、分枝、激素信号转导、衰老和花发育等过程<sup>[54-55]</sup>。研究表明,F-box 蛋白(如 FBX92、TaFBK8/29)在叶片不同发育阶段发挥着重要作用:前者调控早期的细胞分裂与器官大小<sup>[56]</sup>,后者于成熟期通过泛素化降解途径来延迟叶片衰老<sup>[57]</sup>。我们由此推测 *Zm00001eb203860* 可能通过影响茎顶端分生组织的发育间接影响玉米穗上叶片数<sup>[58]</sup>。基因 *Zm00001eb080140* 编码 ABC 转运蛋白 G 家族,在 8 个 ABC 转运蛋白亚族中属于最大亚族之一<sup>[59]</sup>,已被揭示可以转运多种激素,包括生长素、脱落酸(abscisic acid, ABA)、细胞分裂素和茉莉酸(jasmonic acid, JA)<sup>[60]</sup>。脱落酸在种子发芽和休眠、气孔闭合、叶片衰老和根系生长等发育过程中发挥重要作用<sup>[61-63]</sup>;茉莉酸甲酯能够调节植物营养生长、促进次生代谢

物产生,并影响植物的生殖生长<sup>[64]</sup>。此外,玉米 *ABCG* 基因被证实广泛参与植株发育,尤其在叶片与根系发育中作用显著<sup>[65]</sup>,例如, *ZxABCG11* 基因在幼嫩叶片中表达量最高<sup>[66]</sup>;拟南芥 *AtABCG32* 和大麦 *HvABCG31* 是参与植株叶片角质层形成的关键转运蛋白<sup>[67]</sup>。上述研究进一步揭示了 *ABC* 转运蛋白 *G* 家族在叶片发育与构建过程中的重要功能。基因 *Zm00001eb284250* 编码含锌指 *CCCH* 结构域蛋白 35; 锌指蛋白是一个超家族蛋白,参与植物生长、发育以及适应胁迫调节,与水稻叶片衰老相关基因 *OsDOS*<sup>[68]</sup> 和拟南芥细胞伸长相关基因 *AtC3H14*<sup>[69]</sup> 已被克隆研究。

基因 *Zm00001eb315650* 被鉴定为多效性位点 SNP 7\_134339386 的候选基因,其编码产物为蓝铜蛋白,该类蛋白在植物中多以小分子形式存在<sup>[70]</sup>。通过表达量分析发现,该基因在玉米营养生长阶段 V9 未成熟叶片和第 13 片叶片中呈现高表达<sup>[38]</sup>。有研究表明,蓝铜蛋白主要通过介导电子从供体向受体转移来参与调控光合作用<sup>[71]</sup>、氧化还原反应、根瘤形成以及叶片衰老等生理生化过程<sup>[72-73]</sup>。在叶片衰老调控方面,已有证据表明位于细胞内膜的衰老相关蛋白 *SAG14* 能与蓝铜蛋白家族成员 *PCY* 发生互作。在黑暗条件下,光敏色素因子 *PIF3/4/5* 可稳定存在并抑制 *miR408* 的表达,促使 *PCY-SAG14* 复合体在叶片细胞中积累,加速叶片衰老进程<sup>[73]</sup>。Ma 等<sup>[74]</sup>对玉米地上部发育和产量形成关键调节因子 *ZmEREB14* 的研究中,蓝铜蛋白被认为是 *VC* 细胞类型的标记蛋白,能够调控玉米 *SAM* 发育和产量形成<sup>[75]</sup>。*Zm00001eb315650* 可能通过影响 *SAM* 的发育间接影响玉米穗上叶片数。

基因 *Zm00001eb315660* 作为多效性位点 SNP 7\_134339386 的候选基因,编码转录调控蛋白 *AlgP*。表达量分析表明,该基因在玉米营养阶段 V9 未成熟叶片中高表达<sup>[38]</sup>。Cross 等<sup>[76]</sup>研究发现,转录调控蛋白 *AlgP* 可能更多地参与微调基因表达。在一项揭示玉米高斯青枯病和叶枯病抗性的研究中发现基因 *Zm00001eb315660* (B73 v3 基因: *GRMZM2G355316\_P01*) 在 450BACT 中表现下调,差异表达量较高,有助于玉米进行生长发育、光合作用及耐药机制的调节,潜在影响穗上叶片数的调控机制<sup>[77]</sup>。

基因 *Zm00001eb089980* 作为多效性位点 SNP 2\_120634825 的候选基因,编码 60 kD 茉莉酸盐诱导蛋白(*JIP*)。表达量分析表明,该基因在玉米第 8 片

叶的 3 个区域(30 d 龄)及成熟第 8 片叶(43 d 龄)中均呈现高表达水平<sup>[39]</sup>,且在茉莉酸处理后在叶片中大量积累<sup>[78]</sup>。茉莉酸盐作为植物防御与发育调控的重要信号分子,不仅能作为响应胁迫的调节性脂质激活植物系统性防御以应对多种逆境<sup>[79-80]</sup>,还参与调控植株整株生长、叶片衰老,尤其参与生殖器官的发育等生理过程<sup>[81-84]</sup>。在一项探讨植物磺胺调控成熟玉米叶片发育机制的研究中发现,成熟玉米经外源性 *PSK* 处理后叶片伸长率得到持续增强,处理后的第 7 周玉米叶片数量平均比对照组多 1 片,并鉴定到基因 *Zm00001eb089980* (B73 v4 基因: *Zm00001d004591*) 可能参与玉米叶片的生长发育<sup>[85]</sup>。

本研究将多效性基因 *Zm00001eb315650*、*Zm00001eb315660* 和 *Zm00001eb089980* 列为后续功能验证的首要目标,为玉米穗上叶片数分子育种的开展提供了思路和理论依据,后续拟通过 *CRISPR-Cas9* 基因编辑及 qRT-PCR 等技术深入挖掘穗上叶片数的分子遗传机制。

目前全基因组选择已成为分子育种领域的核心方法。该技术通过构建预测模型,基于基因组估计育种值实现对个体的遗传评估和早期选择,为作物遗传育种提供了新的见解。在考察群体规模对预测准确性的影响时,训练群体与测试群体之间的比例是关键参数。冯艳飞<sup>[86]</sup>采用 *GBLUP* 模型对 2 类玉米群体开花性状进行 *GS* 预测,发现 *RIL* 群体开花性状最优训练群体比例为 60%~70%,*DH* 群体开花性状最优训练群体比例为 70%~80%。Dang 等<sup>[87]</sup>对 190 个甜玉米自交系和 287 个蜡质玉米自交系植株形态性状进行 *GS* 分析发现,当训练群体规模从 10%增至 30%时,*GS* 预测准确性迅速提升;然而当比例从 40%增至 80%时,精度提升趋势明显趋缓。周广飞和高夕全<sup>[88]</sup>发现,训练群体占总群体规模的 80%时预测准确性达到最大(0.45)。除训练群体规模外,标记密度也被证实是显著影响预测准确性的重要因素,目标性状的预测准确性会随标记密度的增大而增高<sup>[89-90]</sup>。Cao 等<sup>[91]</sup>针对玉米抗焦油斑病群体进行 *GS* 分析发现,当标记数量为 3000 时预测精度最高。Zeng 等<sup>[20]</sup>发现,训练群体大小占总群体规模的 60%且标记密度为 3000 时,玉米叶片相关性状预测准确度达到最佳。在一项玉米拟轮枝镰孢菌穗腐病抗性 *GS* 分析<sup>[92]</sup>中发现,仅需要 4000 个标记即可获得较高的预测水平(0.36)。基于这些研究结果,本研究建议在实际育种应用中,采用 70%的训练群体规模和

3000 个标记策略, 确保预测准确性的同时优化成本效益, 在玉米育种推广和应用中提供理论基础和实践指导。

## References

- [1] Luo N, Meng Q F, Feng P Y, et al. China can be self-sufficient in maize production by 2030 with optimal crop management. *Nat Commun*, 2023, 14: 2637.
- [2] Fu Y H, Xu G H, Chen H F, et al. QTL mapping for leaf morphology traits in a large maize-teosinte population. *Mol Breed*, 2019, 39: 103.
- [3] 李长文, 刘秀荣, 杨粤. 多叶型玉米选育进展. *玉米科学*, 1993, 1(3): 4–6.  
Li C W, Liu X R, Yang Y. Progress in breeding of multi-leaf maize. *J Maize Sci*, 1993, 1(3): 4–6 (in Chinese).
- [4] Tian J G, Wang C L, Xia J L, et al. Teosinte ligule allele narrows plant architecture and enhances high-density maize yields. *Science*, 2019, 365: 658–664.
- [5] Donald C M. The breeding of crop ideotypes. *Euphytica*, 1968, 17: 385–403.
- [6] Remison S U, Omueti O. Effects of nitrogen application and leaf clipping after mid-silk on yield and protein content of maize. *Can J Plant Sci*, 1982, 62: 777–779.
- [7] Pendleton J W, Hammond J J. Relative photosynthetic potential for grain yield of various leaf canopy levels of corn. *Agron J*, 1969, 61: 911–913.
- [8] Fancelli A L. Influência Do Desfolhamento No Desempenho De Plantas E De Sementes De Milho (*Zea mays* L.). PhD Dissertation of Universidade de Sao Paulo, Sao Paulo, Brazil, 1988.
- [9] Zhu C S, Gore M, Buckler E S, et al. Status and prospects of association mapping in plants. *Plant Genome*, 2008, 1: 89.
- [10] Li D, Wang X F, Zhang X B, et al. The genetic architecture of leaf number and its genetic relationship to flowering time in maize. *New Phytol*, 2016, 210: 256–268.
- [11] 刘坤, 张雪海, 孙高阳, 等. 玉米株型相关性状的全基因组关联分析. *中国农业科学*, 2018, 51: 821–834.  
Liu K, Zhang X H, Sun G Y, et al. Genome-wide association study of plant type related traits in maize. *Sci Agric Sin*, 2018, 51: 821–834 (in Chinese with English abstract).
- [12] 李贤唐, 丁俊强, 王瑞霞, 等. 玉米株型相关性状的 QTL 定位与分析. *江苏农业科学*, 2011, 39(2): 21–25.  
Li X T, Ding J Q, Wang R X, et al. QTL mapping and analysis of plant type-related traits in maize. *Jiangsu Agric Sci*, 2011, 39(2): 21–25 (in Chinese).
- [13] Pan Q C, Xu Y C, Li K, et al. The genetic basis of plant architecture in 10 maize recombinant inbred line populations. *Plant Physiol*, 2017, 175: 858–873.
- [14] Cui M, Jia B, Liu H H, et al. Genetic mapping of the leaf number above the primary ear and its relationship with plant height and flowering time in maize. *Front Plant Sci*, 2017, 8: 1437.
- [15] Muirhead R C, Shaver D. Genetic factor capable of altering leaf number and distribution in maize. US Patent: 4513532, 1985–04–30.
- [16] Du X M, Linghu J J, Shang H J, et al. Fine mapping of leafy, a dominant mutant conferring extra leaves above the ear in maize. *Euphytica*, 2015, 206: 49–56.
- [17] Meuwissen T E, Hayes B J, Goddard M E. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics*, 2001, 157: 1819–1829.
- [18] Wang X, Xu Y, Hu Z L, et al. Genomic selection methods for crop improvement: current status and prospects. *Crop J*, 2018, 6: 330–340.
- [19] Heffner E L, Lorenz A J, Jannink J, et al. Plant breeding with genomic selection: gain per unit time and cost. *Crop Sci*, 2010, 50: 1681–1690.
- [20] Zeng Y K, Xu X M, Jiang J L, et al. Genome-wide association analysis and genomic selection for leaf-related traits of maize. *PLoS One*, 2025, 20: e0323140.
- [21] Fan Z H, Lin S H, Jiang J L, et al. Dual-model GWAS analysis and genomic selection of maize flowering time-related traits. *Genes*, 2024, 15: 740.
- [22] Liu X G, Wang H W, Wang H, et al. Factors affecting genomic selection revealed by empirical evidence in maize. *Crop J*, 2018, 6: 341–352.
- [23] Team R C. R: a language and environment for statistical computing. *MSOR Connect*, 2014, 1.
- [24] Cristina-Marianini-Rios, Sanchez M E C, de Paredes A G G, et al. The best linear unbiased prediction (BLUP) method as a tool to estimate the lifetime risk of pancreatic ductal adenocarcinoma in high-risk individuals with no known pathogenic germline variants. *Fam Cancer*, 2024, 23: 233–246.
- [25] Mahuku G, Chen J F, Shrestha R, et al. Combined linkage and association mapping identifies a major QTL (*qRtsc8-1*), conferring tar spot complex resistance in maize. *Theor Appl Genet*, 2016, 129: 1217–1229.
- [26] Knapp S J, Stroup W W, Ross W M. Exact confidence intervals for heritability on a progeny mean basis. *Crop Sci*, 1985, 25: 192–194.
- [27] Li H, Durbin R. Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler transform. *Bioinformatics*, 2009, 25: 1754–1760.
- [28] Zhou Y, Kathiresan N, Yu Z C, et al. A high-performance computational workflow to accelerate GATK SNP detection across a 25-genome dataset. *BMC Biol*, 2024, 22: 13.
- [29] Danecek P, Auton A, Abecasis G, et al. The variant call format and VCFtools. *Bioinformatics*, 2011, 27: 2156–2158.
- [30] Chang C C, Chow C C, Tellier L C, et al. Second-generation PLINK: rising to the challenge of larger and richer datasets. *Gigascience*, 2015, 4: 7.
- [31] Yang X Y, Wu P H, Cui W T, et al. Genome-wide association studies and genomic selection for leaf-related traits in maize. *Front Plant Sci*, 2025, 16: 1669346.
- [32] Zhang C, Dong S S, Xu J Y, et al. PopLDdecay: a fast and effective tool for linkage disequilibrium decay analysis based on variant call format files. *Bioinformatics*, 2019, 35: 1786–1788.
- [33] Musmann S M, Douglas M R, Chafin T K, et al. ADMIXPIPE: population analyses in ADMIXTURE for non-model organisms. *BMC Bioinform*, 2020, 21: 337.
- [34] Lipka A E, Tian F, Wang Q S, et al. GAPIT: genome association and prediction integrated tool. *Bioinformatics*, 2012, 28: 2397–2399.
- [35] Li M X, Yeung J M, Cherny S S, et al. Evaluating the effective numbers of independent tests and significant p-value thresholds in commercial genotyping arrays and public imputation reference

- datasets. *Hum Genet*, 2012, 131: 747–756.
- [36] Chen C J, Wu Y, Li J W, et al. TBtools-II: a “one for all, all for one” bioinformatics platform for biological big-data mining. *Mol Plant*, 2023, 16: 1733–1742.
- [37] Endelman J B. Ridge regression and other kernels for genomic selection with R package rrBLUP. *Plant Genome*, 2011, 4: 250–255.
- [38] Stelpflug S C, Sekhon R S, Vaillancourt B, et al. An expanded maize gene expression atlas based on RNA sequencing and its use to explore root development. *Plant Genome*, 2016, 9: plant-genome2015.04.0025.
- [39] Walley J W, Sartor R C, Shen Z X, et al. Integration of omic networks in a developmental atlas of maize. *Science*, 2016, 353: 814–818.
- [40] Sekhon R S, Lin H, Childs K L, et al. Genome-wide atlas of transcription during maize development. *Plant J*, 2011, 66: 553–563.
- [41] 李协钟, 林颀文, 庄鸿浩, 等. 甜玉米春、夏季授粉后穗上叶对果穗性状的影响研究. 佛山科学技术学院学报(自然科学版), 2023, 41(1): 56–64.  
Li X Z, Lin D W, Zhuang H H, et al. Effects of upper leaves on ear characters of sweet corn after pollination in spring and summer. *J Foshan Univ (Nat Sci Edn)*, 2023, 41(1): 56–64 (in Chinese with English abstract).
- [42] 宋世宗, 李继平, 李文举, 等. 玉米授粉后去雄与去叶对穗部性状及产量影响的研究. 湖南农业科学, 2011(9): 33–35.  
Song S Z, Li J P, Li W J, et al. Effects of emasculation and defoliation on ear traits and yield of maize after pollination. *Hunan Agric Sci*, 2011(9): 33–35 (in Chinese with English abstract).
- [43] Tollenaar M, Dwyer L M. Physiology of maize. In: Smith D L and Hamel C, eds. *Crop Yield: Physiology and Processes*. Berlin, Heidelberg: Springer, 1999. pp 169–204.
- [44] Shaver D L. Genetics and breeding of maize with extra leaves above the ear. In: *Proceedings of 38th Annual Corn and Sorghum Research Conference*. Chicago: American Seed Trade Association, 1983. pp 161–180.
- [45] Palmer A F E, Heichel G H, Musgrave R B. Patterns of translocation, respiratory loss, and redistribution of  $^{14}\text{C}$  in maize labeled after flowering. *Crop Sci*, 1973, 13: 371–376.
- [46] Stewart D W, Dwyer L M, Andrews C J, et al. Modeling carbohydrate production, storage, and export in leafy and normal maize (*Zea mays* L.). *Crop Sci*, 1997, 37: 1228–1236.
- [47] Li Y, Wang J, Zhong S Y, et al. MADS-box encoding gene *Tunicate1* positively controls maize yield by increasing leaf number above the ear. *Nat Commun*, 2024, 15: 9799.
- [48] 郭向阳. 基于关联分析和连锁分析策略挖掘玉米氮响应的株型性状关键位点. 湖南农业大学博士学位论文, 湖南长沙, 2020.  
Guo X Y. Mining of Key Genetic Loci for Plant Architecture of Nitrogen Response in Maize Based on Genome-wide Association Analysis and Linkage Analysis. PhD Dissertation of Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan, China, 2020 (in Chinese with English abstract).
- [49] 崔敏. 玉米穗上叶片数 QTL 定位及其育种利用评价. 扬州大学硕士学位论文, 江苏扬州, 2018.  
Cui M. QTL Mapping of the Leaf Number above the Primary Ear and Its Breeding Utilization Evaluation in Maize. MS Thesis of Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu, China, 2018 (in Chinese with English abstract).
- [50] Liu X L, Huang M, Fan B, et al. Iterative usage of fixed and random effect models for powerful and efficient genome-wide association studies. *PLoS Genet*, 2016, 12: e1005767.
- [51] Shi J, Wang Y H, Wang C H, et al. Linkage mapping combined with GWAS revealed the genetic structural relationship and candidate genes of maize flowering time-related traits. *BMC Plant Biol*, 2022, 22: 328.
- [52] 赵满义. 基于两个  $F_{2,3}$  群体的玉米株型相关性状 QTL 定位及候选基因分析. 贵州大学硕士学位论文, 贵州贵阳, 2020.  
Zhao M Y. QTL Mapping and Candidate Gene Analysis of Maize Plant Architecture Related Traits by Using Two  $F_{2,3}$  Families. MS Thesis of Guizhou University, Guiyang, Guizhou, China, 2020 (in Chinese with English abstract).
- [53] Naeem ul Hassan M, Zainal Z, Ismail I. Plant kelch containing F-box proteins: structure, evolution and functions. *RSC Adv*, 2015, 5: 42808–42814.
- [54] 秘彩莉, 刘旭, 张学勇. F-box 蛋白质在植物生长发育中的功能. 遗传, 2006, 28: 1337–1342.  
Bi C L, Liu X, Zhang X Y. The function of F-box protein in plant growth and development. *Hereditas (Beijing)*, 2006, 28: 1337–1342 (in Chinese with English abstract).
- [55] 吴丹, 唐冬英, 李新梅, 等. F-box 蛋白在植物生长发育中的功能研究进展. 生命科学研究, 2015, 19: 362–367.  
Wu D, Tang D Y, Li X M, et al. Progresses on F-box protein function in plant growth and development. *Life Sci Res*, 2015, 19: 362–367 (in Chinese with English abstract).
- [56] Baute J, Polyn S, De Block J, et al. F-box protein FBX92 affects leaf size in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol*, 2017, 58: 962–975.
- [57] Wei C R, Zhao W Q, Fan R Q, et al. Genome-wide survey of the F-box/Kelch (FBK) members and molecular identification of a novel FBK gene *TaAFR* in wheat. *PLoS One*, 2021, 16: e0250479.
- [58] 史勇, 董永彬, 王晨, 等. 玉米顶端分生组织发育的研究进展. 分子植物育种, 2023, 21: 896–905.  
Shi Y, Dong Y B, Wang C, et al. Research advances in development of SAM in maize. *Mol Plant Breed*, 2023, 21: 896–905 (in Chinese with English abstract).
- [59] 王梦龙, 翁灵灵, 吴淑英, 等. ABCG 转运蛋白参与植物雄性育性调控的研究进展. 植物科学学报, 2024, 42: 387–394.  
Wang M L, Weng L L, Wu S Y, et al. Research progress of ABCG transporter involved in male fertility regulation in plants. *Plant Sci J*, 2024, 42: 387–394 (in Chinese with English abstract).
- [60] Park J, Lee Y, Martinoia E, et al. Plant hormone transporters: what we know and what we would like to know. *BMC Biol*, 2017, 15: 93.
- [61] Finkelstein R. Abscissic acid synthesis and response. *Arab Book*, 2013, 11: e0166.
- [62] Raghavendra A S, Gonugunta V K, Christmann A, et al. ABA perception and signalling. *Trends Plant Sci*, 2010, 15: 395–401.
- [63] Christmann A, Moes D, Himmelbach A, et al. Integration of abscisic acid signalling into plant responses. *Plant Biol*, 2006, 8: 314–325.
- [64] 曹颖, 崔敏, 肖雅洁, 等. ABCG 转运蛋白的功能研究进展. 生

- 物化工, 2025, 11(3): 229–231.
- Cao Y, Cui M, Xiao Y J, et al. Research progress on the function of ABCG transporter. *Biol Chem Eng*, 2025, 11(3): 229–231 (in Chinese with English abstract).
- [65] Guo Z L, Yuan X Q, Li L Y, et al. Genome-wide analysis of the ATP-binding cassette (ABC) transporter family in *Zea mays* L. and its response to heavy metal stresses. *Int J Mol Sci*, 2022, 23: 2109.
- [66] 张婧, 陈梦词, 马清, 等. 植物 ABCG 转运蛋白研究进展. *草业学报*, 2015, 24(7): 180–188.
- Zhang J, Chen M C, Ma Q, et al. Review of advances in the study of plant ABCG transporters. *Acta Pratac Sin*, 2015, 24(7): 180–188 (in Chinese with English abstract).
- [67] Chen G X, Komatsuda T, Ma J F, et al. An ATP-binding cassette subfamily G full transporter is essential for the retention of leaf water in both wild barley and rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 12354–12359.
- [68] Kong Z S, Li M N, Yang W Q, et al. A novel nuclear-localized CCCH-type zinc finger protein, OsDOS, is involved in delaying leaf senescence in rice. *Plant Physiol*, 2006, 141: 1376–1388.
- [69] Kim W C, Kim J Y, Ko J H, et al. AtC3H14, a plant-specific tandem CCCH zinc-finger protein, binds to its target mRNAs in a sequence-specific manner and affects cell elongation in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 2014, 80: 772–784.
- [70] Rydén L G, Hunt L T. Evolution of protein complexity: the blue copper-containing oxidases and related proteins. *J Mol Evol*, 1993, 36: 41–66.
- [71] Shi Y, Xin Y Y, Wang C, et al. Cryo-EM structures of the air-oxidized and dithionite-reduced photosynthetic alternative complex III from *Roseiflexus castenholzii*. *Sci Adv*, 2020, 6: eaba2739.
- [72] 贾雁茹, 靳雨璠, 焦元, 等. 植物 Phytocyanin 蛋白家族研究进展. *植物科学学报*, 2024, 42: 644–653.
- Jia Y R, Jin Y F, Jiao Y, et al. A review on the research progress of the Phytocyanin (PC) protein family. *Plant Sci J*, 2024, 42: 644–653 (in Chinese with English abstract).
- [73] Hao C, Yang Y Z, Du J M, et al. The PCY-SAG14 phytocyanin module regulated by PIFs and miR408 promotes dark-induced leaf senescence in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2022, 119: e2116623119.
- [74] Ma L L, Zhang N, Liu P, et al. Single-cell RNA sequencing reveals a key regulator ZmEREB14 affecting shoot apex development and yield formation in maize. *Plant Biotechnol J*, 2025, 23: 766–779.
- [75] Knauer S, Javelle M, Li L, et al. A high-resolution gene expression atlas links dedicated meristem genes to key architectural traits. *Genome Res*, 2019, 29: 1962–1973.
- [76] Cross A R, Csatory E E, Raghubar V, et al. The histone-like protein AlgP regulon is distinct in mucoid and nonmucoid *Pseudomonas aeruginosa* and does not include alginate biosynthesis genes. *Microbiology*, 2020, 166: 861–866.
- [77] Sayari M, Good S V, Trubetskoy D, et al. Unveiling molecular mechanisms and candidate genes for goss's bacterial wilt and leaf blight resistance in corn through RNA-Seq analysis. *BMC Genom*, 2025, 26: 755.
- [78] Rustgi S, Pollmann S, Buhr F, et al. JIP60-mediated, jasmonate- and senescence-induced molecular switch in translation toward stress and defense protein synthesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111: 14181–14186.
- [79] Browse J. Jasmonate passes muster: a receptor and targets for the defense hormone. *Annu Rev Plant Biol*, 2009, 60: 183–205.
- [80] Koo A J K, Gao X L, Jones A D, et al. A rapid wound signal activates the systemic synthesis of bioactive jasmonates in *Arabidopsis*. *Plant J*, 2009, 59: 974–986.
- [81] Hu Y R, Jiang Y J, Han X, et al. Jasmonate regulates leaf senescence and tolerance to cold stress: crosstalk with other phytohormones. *J Exp Bot*, 2017, 68: 1361–1369.
- [82] Wasternack C, Hause B. Jasmonates: biosynthesis, perception, signal transduction and action in plant stress response, growth and development. An update to the 2007 review in *Annals of Botany*. *Ann Bot*, 2013, 111: 1021–1058.
- [83] Huang H, Chen Y, Wang S H, et al. Jasmonate action and crosstalk in flower development and fertility. *J Exp Bot*, 2023, 74: 1186–1197.
- [84] Wasternack C, Song S S. Jasmonates: biosynthesis, metabolism, and signaling by proteins activating and repressing transcription. *J Exp Bot*, 2017, 68: 1303–1321.
- [85] Osadchuk K, Beydler B, Cheng C L, et al. Transcriptome analyses at specific plastochrons reveal timing and involvement of phytosulfokine in maize vegetative phase change. *Plant Sci*, 2025, 350: 112317.
- [86] 冯艳飞. 早熟玉米开花期的 QTL 定位及全基因组选择. 黑龙江八一农垦大学硕士学位论文, 黑龙江大庆, 2023.
- Feng Y F. QTL Mapping and Genomic Selection for Flowering Time of Early-maturing Maize. MS Thesis of Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing, Heilongjiang, China, 2023 (in Chinese with English abstract).
- [87] Dang D D, Guan Y, Zheng H J, et al. Genome-wide association study and genomic prediction on plant architecture traits in sweet corn and waxy corn. *Plants*, 2023, 12: 303.
- [88] 周广飞, 高夕全. 玉米禾谷镰孢菌穗腐病抗性基因组选择研究. *江苏农业科学*, 2023, 51(14): 65–70.
- Zhou G F, Gao X Q. Genomic selection for resistance to maize Gibberella ear rot. *Jiangsu Agric Sci*, 2023, 51(14): 65–70 (in Chinese).
- [89] Heffner E L, Jannink J L, Iwata H, et al. Genomic selection accuracy for grain quality traits in biparental wheat populations. *Crop Sci*, 2011, 51: 2597–2606.
- [90] Combs E, Bernardo R. Accuracy of genomewide selection for different traits with constant population size, heritability, and number of markers. *Plant Genome*, 2013, 6: plantgenome2012.11.0030.
- [91] Cao S L, Song J Q, Yuan Y B, et al. Genomic prediction of resistance to tar spot complex of maize in multiple populations using genotyping-by-sequencing SNPs. *Front Plant Sci*, 2021, 12: 672525.
- [92] Guo Z F, Zou C, Liu X G, et al. Complex genetic system involved in Fusarium ear rot resistance in maize as revealed by GWAS, bulked sample analysis, and genomic prediction. *Plant Dis*, 2020, 104: 1725–1735.