作物学报 ACTA AGRONOMICA SINICA 2026, 52(5): 1291−1308 http://zwxb.chinacrops.org/
ISSN 0496-3490; CN 11-1809/S; CODEN TSHPA9 E-mail: zwxb301@caas.cn

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2026.53078

玉米 MAPK 家族全基因组鉴定及其对拟轮枝镰孢菌感染的响应

孙淑凤[1,2] 许振南[2,3] 黄嘉鑫[1,2] 翁建峰[2] 李新海[1,2,*]

[1] 沈阳农业大学农学院, 辽宁沈阳 110866; [2] 中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081; [3] 中国农业科学院国家南繁研究院, 海南三亚 572000

摘 要: 拟轮枝镰孢菌(*Fusarium verticillioides*)引起的穗腐病(Fusarium ear rot, FER)是在生产中影响玉米(*Zea mays* L.)最严重的真菌病害之一。丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)级联通路在植物生长、发育及胁迫响应中具有关键调控作用。研究表明, ZmMAPK 通过增强防御相关基因的表达及关键酶的活性, 调控对真菌病原体的抗性。尽管 MAPK 家族在玉米及其他植物中的功能已有较多研究, 但其成员是否参与调控玉米穗腐病相关通路尚不明确。本研究对玉米 ZmMAPK 基因家族进行了系统分析, 包括全基因组鉴定与特征分析、染色体定位、系统发育重建、共线性分析、启动子顺式作用元件预测、组织特异性表达及响应拟轮枝镰孢菌侵染表达。基于 B73 参考基因组(V5)共鉴定到 24 个 *MAPK* 基因。系统发育分析表明, MAPK 分为 4 个亚族, 同一亚族内的基因在外显子-内含子结构上高度保守。A、B 和 C 组的 MAPK 蛋白均含有典型的 Thr-Glu-Tyr (TEY)激活环, D 组则具有 Thr-Asp-Tyr (TDY)基序。MAPK 家族成员的组织表达存在显著差异, 暗示其功能多样化。RT-qPCR 结果发现, 在接种拟轮枝镰孢菌后, *ZmMAPK12*、*ZmMAPK22*、*ZmMAPK23* 和 *ZmMAPK24* 等基因在玉米抗病自交系齐 319 和感病自交系 B73 中呈现差异表达, 序列分析进一步揭示, 这些基因的启动子及编码区不仅存在 SNP 变异, 同时含有转座子等结构变异, 暗示它们可能参与玉米拟轮枝镰孢菌的调控通路。本研究为解析 MAPK 级联信号通路调控玉米穗腐病的分子机制提供了理论依据, 并为玉米抗病品种的遗传改良提供了基因资源。

关键词: 玉米; MAPK 基因家族; 穗腐病; 拟轮枝镰孢菌; 表达模式

Genome-wide identification of the maize MAPK gene family and its response to *Fusarium verticillioides* infection

Sun Shu-Feng[1,2], Xu Zhen-Nan[2,3], Huang Jia-Xin[1,2], Weng Jian-Feng[2], and Li Xin-Hai[1,2,*]

[1] College of Agronomy, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, Liaoning, China; [2] Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China; [3] National Nanfan Research Institute of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Sanya 572000, Hainan, China

Abstract: Fusarium ear rot (FER), caused by *Fusarium verticillioides*, is one of the most destructive fungal diseases limiting maize (*Zea mays* L.) production. The mitogen-activated protein kinase (MAPK) cascade is a central regulator of plant growth, development, and stress responses. Previous studies have shown that ZmMAPKs can enhance resistance to fungal pathogens by upregulating defense-related genes and activating key enzymes; however, the roles of individual MAPK family members in pathways associated with FER resistance remain unclear. Here, we conducted a comprehensive analysis of the ZmMAPK gene family, including genome-wide identification and characterization, chromosomal localization, phylogenetic reconstruction, collinearity analysis, promoter *cis*-element prediction, tissue-specific expression profiling, and expression responses to *F. verticillioides* infection. In total, 24 *MAPK* genes were identified in the maize B73 reference genome (V5). Phylogenetic analysis grouped these genes into four subgroups, with highly conserved exon-intron structures within each subgroup. Groups A, B, and C contain the canonical Thr-Glu-Tyr (TEY) activation motif, whereas group D contains the Thr-Asp-Tyr (TDY) motif. Expression analyses

本研究由国家重点研发计划项目(2023YFD1201102)资助。

This study was supported by the National Key Research & Development Program of China (2023YFD1201102).

* 通信作者(Corresponding author): 李新海, E-mail: lixinhai@caas.cn

第一作者联系方式: E-mail: sunshufeng33@163.com

Received (收稿日期): 2025-10-11; Accepted (接受日期): 2026-02-27; Published online (网络出版日期): 2026-03-09.

URL: https://link.cnki.net/urlid/11.1809.S.20260306.1740.014

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

showed pronounced tissue-specific differences, suggesting functional diversification within the family. RT-qPCR further indicated that, after *F. verticillioides* inoculation, *ZmMAPK12*, *ZmMAPK22*, *ZmMAPK23*, and *ZmMAPK24* were differentially expressed between the resistant inbred line Qi 319 and the susceptible inbred line B73. Sequence comparisons revealed that, in addition to SNPs, structural variants such as transposon insertions occurred in both promoter and coding regions of these genes. Together, these results suggest that these MAPKs may participate in regulatory pathways controlling maize responses to *F. verticillioides* infection. This study provides a foundation for elucidating how MAPK cascades contribute to FER resistance and offers candidate genes to support genetic improvement of disease-resistant maize varieties.

Keywords: maize; MAPK gene family; Fusarium ear rot; *Fusarium verticillioides*; expression pattern

丝裂原活化蛋白激酶信号通路是真核生物中高度保守的核心信号模块, 核心功能是介导胞外刺激向胞内响应的转化与调控, 广泛参与植物生长发育、激素信号传导及胁迫应答等关键生理过程[1-2]。该信号通路组分的分子构成具有典型的层级结构, 主要包含 3 类依次激活的蛋白激酶: MAPKKK (MAP kinase kinase kinase)、MAPKK (MAP kinase kinase)和 MAPK (MAP kinase) [3-4]。它们以三级磷酸化级联反应为特征, 实现信号传递。具体来说, MAPKKK 属于丝氨酸/苏氨酸激酶, 通过在 S/TXXXXXS/T 基序上对丝氨酸和丝氨酸/苏氨酸残基进行磷酸化来激活 MAPKK。MAPKK 属于双特异性激酶, 通过在激活环(T-loop) VII 和 VIII 催化亚域之间的 Thr-X-Tyr (TXY)保守基序, 对苏氨酸和酪氨酸残基进行磷酸化来激活 MAPK [5-6]。最后, 被激活的 MAPK 通过磷酸化下游靶蛋白(如转录因子)来调控基因表达[7]。

MAPK 作为级联通路的终端效应激酶, 属于丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族, 是连接上游激酶信号与下游底物的关键枢纽。所有 MAPK 均包含 11 个保守结构域(I~XI), 其中, VII 与 VIII 结构域之间的 TXY 基序高度保守, 其磷酸化是 MAPK 激活的必要条件, MAPK 的分子量通常介于 38~55 kD 之间, 核心功能区域含保守的 TXY 磷酸化基序, 基于该基序的氨基酸组成差异, 植物 MAPK 家族可划分为两大亚家族: 含 TEY 基序(苏氨酸-谷氨酸-酪氨酸)的亚家族与含 TDY 基序(苏氨酸-天冬氨酸-酪氨酸)的亚家族[8-9]。其中, TEY 基序亚家族进一步细分为 A、B、C 三组, TDY 基序亚家族单独归为 D 组; A、B、C 三组 MAPK 的 C 端均含 docking (CD)结构域, 该结构域可促进 MAPK 与 MAPKK、磷酸酶及底物的特异性结合, 既提升酶促反应效率, 又保障分子识别的精准性[10]。在模式植物拟南芥中, 各亚组均有典型成员被报道, 如 A 组 *AtMAPK3*、*AtMAPK6* 和 *AtMAPK10*, B 组 *AtMAPK4*, C 组 *AtMAPK1* 和 *AtMAPK2*, D 组 *AtMAPK8* [11-12]。全基因组鉴定明确了玉米中有 24 个 ZmMAPK 家族成员[13], 数量多于拟南芥(20 个)、水稻(17 个)等作物, 暗示玉米 ZmMAPK 家族可能存在独特的进化机制与功能[14-15]。

植物 MAPK 家族成员参与非生物与生物胁迫响应的功能已被广泛报道。在玉米中, *ZmMAPK5* 参与调控叶片衰老、低温胁迫、激素信号诱导及参与 H_2O_2 介导的抗氧化防御反应[16-18]。在拟南芥中, 过表达 *ZmMAPK1* 可显著提升转基因拟南芥的耐旱性[19], 而烟草中异源表达玉米 *ZmMAPK5*、*ZmMAPK7*、*ZmSIMK1* 或 *ZmMAPK17* 也表现出更强的耐旱能力[20]。这些结果表明, 玉米 MAPK 在植物抗非生物逆境中具有核心作用。相比之下, 关于玉米 *MAPK* 基因在生物逆境中的功能研究, 目前报道仍较为匮乏, 其调控机制亟待进一步解析。

玉米穗腐病是全球性毁灭性真菌病害之一, 欧洲、北美、亚洲等玉米主产区已发现 20 余种致病镰孢菌[21-22], 其中, 拟轮枝镰孢菌与禾谷镰孢复合种(*Fusarium graminearum* species complex, FGSC)分布最广、致病力最强[23-24]。该病害不仅导致玉米减产(严重时达 30%以上), 还会因病原菌产生伏马毒素、脱氧雪腐镰刀菌烯醇(DON)毒素等, 对人畜健康构成严重威胁[23]。挖掘抗病基因、培育抗病品种是防控玉米穗腐病的核心途径[23], 目前已通过正向遗传学、关联分析及突变体筛选等方法克隆到 *ZmAuxRP1*、*ZmXYXT2*、*ZmGAE1*、*ZmWAX2*、*ZmFER1* 和 *Zmlox3* 等抗病相关基因[25-30]。尽管 MAPK 在宿主应对真菌病害中的作用机制已有报道, 但玉米中 MAPK 级联信号是否响应拟轮枝镰孢菌, 及 MAPK 基因家族与玉米穗腐病抗性的关联研究非常匮乏。

挖掘抗病基因和培育抗病品种是解决玉米穗腐病的核心途径[31-33]。本研究以玉米自交系 B73 参考基因组为基础, 对 ZmMAPK 基因家族开展系统性的全基因组鉴定与特征分析, 共鉴定出 24 个 *ZmMAPK* 基因, 与前人研究结果一致[13]。在此基础上, 进一步解析基因组结构、染色体定位特征、基

因重复事件、进化关系, 并预测启动子顺式作用元件; 结合拟南芥、水稻等物种的已知功能 *MAPK* 基因, 明确玉米 MAPK 的分类及进化亲缘关系, 通过 RT-qPCR 技术分析 *ZmMAPK* 基因的组织特异性表达及拟轮枝镰孢菌侵染后的表达动态, 结合序列变异分析与亚细胞定位验证, 最终筛选出抗穗腐病的候选基因, 本研究可为解析 MAPK 介导的玉米抗病分子机制及抗病育种提供理论支撑与基因资源。

1　材料与方法

1.1　植物材料与病原菌

供试材料选用玉米抗病自交系齐 319 与感病自交系 B73。采用拟轮枝镰孢菌作为接种菌株, 其分生孢子悬浮液经过滤去除杂质后, 调整浓度至 1×10^6 孢子 mL^{-1}, 以保证病原菌侵染能力的一致性; 对照处理则使用无菌双蒸水(ddH_2O), 排除溶剂本身对试验结果的干扰。人工接种采用花丝通道注射法[31], 在玉米吐丝后 5~7 d 进行, 每个果穗注入 2 mL 孢子悬浮液, 确保病原菌能够通过花丝通道有效侵染。接种后 40 d 调查发病情况, 通过籽粒发病面积占比评估供试材料的抗病性并进行抗性等级划分[31]。

1.2　玉米 MAPK 基因家族的鉴定

从 MaizeGDB 数据库(http://www.maizegdb.org)中下载玉米 B73 参考基因组序列(Zm-B73-REFERENCE-NAM-5.0), 从 TAIR 数据库(https://www.arabidopsis.org)与 TIGR 数据库(http://rice.plantbiology.msu.edu)中获取拟南芥和水稻 MAPK 家族成员的氨基酸序列作为参考序列。采用 NCBI BLASTp 算法(E 值< 1×10^{-5}、序列同一性> 60%、比对长度> 50%)进行同源序列检索, 将候选基因命名为 *ZmMAPK* [25]。同时, 利用 Pfam 数据库(PF00069)的 HMM 种子文件, 通过 HMMER3.0 软件进行全基因组检索, 取 BLASTp 与 HMMER 结果的交集作为候选基因。利用 NCBI CDD 数据库(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/cdd)与 SMART 数据库 (http://smart.embl-heidelberg.de/smart) 验证 Pkinase 结构域(特征序列 TxYVxxRWYRAPEL), 剔除非特异性序列; 通过 ExPASY 在线工具(https://web.expasy.org/compute_pi/)预测编码蛋白的分子量(molecular weight, MW)与等电点(pI)。

1.3　不同物种间 *MAPK* 基因的系统发育分析

选取水稻、高粱、小麦及狗尾草中已鉴定到的 MAPK 家族成员氨基酸序列, 与玉米 ZmMAPK 氨基酸序列共同构建系统发育树。采用 Clustal X 2.0 软件(http://www.clustal.org/clustal2/)对上述 5 个物种/品系的 MAPK 氨基酸序列进行多序列比对。使用 MEGA-X 软件构建系统发育树, 采用邻接法(neighbor-joining, NJ), 并设置 1000 次重复抽样以评估分支的置信度。

1.4　*MAPK* 基因结构及其编码蛋白基序模式分析

利用 GSDS2.0 服务器(http://gsds.cbi.pku.edu.cn/)分析基因的外显子-内含子分布、5'非翻译区(5'UTR)与 3'非翻译区(3'UTR)位置等结构信息。采用 MEME v5.0.5 软件(http://meme-suite.org)鉴定保守基序, 为确保既能覆盖主要保守基序, 又避免冗余信息干扰, 参数设置如下: 基序最大数量设为 10, 最大宽度设为 100 [13]。

1.5　玉米 *MAPK* 基因的染色体定位与结构分析

借助 MaizeGDB (http://www.maizegdb.org)及 Phytozome v9.1 (http://www.phytozome.net/maize.php)数据库, 提取 *ZmMAPK* 的基因组定位信息, 构建染色体分布图谱。参考 Shi 等[13]的标准分析串联重复基因: 若 2 个或多个 *MAPK* 基因位于同一染色体上, 且在 100 kb 范围内相隔不超过 5 个其他基因位点, 则判定为串联重复基因, 以解析 MAPK 基因家族的扩张模式。基因的外显子-内含子结构信息来自 NCBI 和 Phytozome 数据库的玉米基因组注释。随后, 通过比对 cDNA 序列与其对应的基因组 DNA 序列, 对其外显子数量、长度及内含子插入位置进行手动校验与精确测量[34-35]。

1.6　保守结构域分析

采用 MEME 程序(http://meme.sdsc.edu)鉴定玉米候选 MAPK 蛋白的保守基序(motifs), 针对 MAPK 家族特有的功能位点与结构域进行靶向分析[36]: 一方面, 结合前期基因序列的注释结果, 筛选 TXY 磷酸化位点(MAPK 激活的关键位点, 含 TEY 或 TDY 亚型); 另一方面, 提取 MAPK C 端的共同对接结构域。为明确功能元件的序列保守性, 使用 MEGA 5.0 软件集成的 ClustalX 程序, 对 TXY 位点及 CD 结构域的氨基酸序列分别进行多序列比对, 以可视化呈现核心残基的一致性分布。采用 WebLogo 在线工具(http://weblogo.berkeley.edu/logo.cgi)生成序列标识图[37], 展示核心残基的保守性特征。

1.7　共线性分析

利用 MCScanX 鉴定玉米 *MAPK* 基因的串联重复和片段重复事件, Tbtools (v1.120)软件呈现结果, 并进行玉米与水稻、高粱、小麦、狗尾草的 *MAPK*

基因共线性分析。采用 PAL2NAL 工具(http://www.bork.embl.de/pal2nal/)计算直系同源基因对的同义替换率(K_s)和非同义替换率(K_a)。

1.8 RNA 提取

使用北京全式金生物技术股份有限公司(TransGen)的 EasyPure Plant RNA Kit 植物总 RNA 提取试剂盒(ER301)提取 RNA。通过 NanoDrop 2000 (Thermo Scientific, 美国)、Agilent 4200 TapeStation (安捷伦科技公司, 德国)以及 1%琼脂糖凝胶电泳评估 RNA 的完整性、质量和浓度。然后, 使用 FastKing gDNA Dispelling RT SuperMix (天根生物科技有限公司, 中国)进行 cDNA 合成。

1.9 RT-qPCR

选取 B73 自交系吐丝期的根、茎、叶、花丝及授粉后 15 d 的籽粒, 设置 3 个生物学重复, 分析组织特异性表达。分别在拟轮枝镰孢菌接种后 0 (未侵染对照)、48、72 和 96 h 4 个时间点, 从每株植株的相同部位采集籽粒样品, 每个时间点设置 3 个生物学重复, 用于后续试验分析。使用 Bio-Rad CFX-96 PCR 仪(加州, 美国)进行实时定量 PCR 分析, 热循环程序: 95℃预变性 15 min; 95℃变性 10 s, 58℃退火延伸 30 s, 40 个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法[38]计算基因相对表达量, 并以玉米泛素基因 *ZmUBI* 作为内参基因进行表达量标准化[13]。本研究中所有引物均使用 Primer v5.0 设计, 具体引物序列列于附表 1 中。

1.10 亚细胞定位分析

以 B73 为材料, 将 ZmMAPK 蛋白全长编码序列扩增后, 通过 *Bam*H I 位点插入到 CPB-GFP 载体的 N 端下游, 以构建受 CaMV 35S 启动子调控的 ZmMAPK12 (ZmMAPK22、ZmMAPK23、ZmMAPK24)-GFP 融合蛋白, 这些 CDS 扩增引物及载体构建引物信息见附表 2 和附表 3。随后, 将重组载体转化至烟草(*Nicotiana benthamiana*)。转化后, 通过共聚焦显微镜(Zeiss LSM980)进行亚细胞定位成像分析。

1.11 基因组序列比对

从 NCBI 数据库(https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/)中提取候选基因在 B73 参考基因组中的启动子序列(调控区域)与编码序列, 候选基因在齐 319 中的启动子序列与编码序列来自中国农业科学院作物科学研究所玉米优质抗逆育种课题组对齐 319 基因组的组装与注释[39]; 采用 TBtools 软件[40]对上述序列进行批量检索与格式标准化处理, 确保序列的完整性与准确性; 随后使用 DNAMAN 软件将候选基因序列与玉米 B73 参考基因组(V5)中对应的 *MAPK* 参考序列进行多序列比对, 分析序列变异。

2 结果与分析

2.1 玉米 MAPK 家族成员的鉴定与分析

在 B73 参考基因组中共鉴定到 24 个 *MAPK* 基因, 分布在除 7 号染色体外的所有染色体上。根据基因在染色体上的位置, 将 *MAPK* 基因依次命名为 *ZmMAPK1~ZmMAPK24* (表 1)。这 24 个 *ZmMAPK* 编码的蛋白质均包含 TEY 或 TDY 磷酸化位点, 长度在 369~613 aa 之间, 分子量在 42.21~69.97 kD 之间, 等电点在 5.31~9.79 之间。染色体定位分析未发现串联重复的 *ZmMAPK* 基因, 但在全基因组中发现了 8 个片段重复事件(附图 1)。

表 1 玉米 MAPK 家族成员特征
Table 1 Characteristics of maize MAPK family members

基因名称 Gene name	基因编号 Gene ID	正链/负链 +/–	位置 Location	cDNA 长度 cDNA length (bp)
ZmMAPK1	*Zm00001eb013100_T002*	–	1: 43531905–43534945	1830
ZmMAPK2	*Zm00001eb064400_T001*	+	1: 304811655–304817679	1855
ZmMAPK3	*Zm00001eb108620_T002*	+	2: 216734646–216743750	2326
ZmMAPK4	*Zm00001eb157530_T005*	–	3: 216720489–216727838	2686
ZmMAPK5	*Zm00001eb188190_T001*	+	4: 164418415–164426173	2284
ZmMAPK6	*Zm00001eb209160_T001*	–	4: 248117044–248125086	2123
ZmMAPK7	*Zm00001eb226770_T001*	+	5: 57856508–57862058	2238
ZmMAPK8	*Zm00001eb227400_T001*	+	5: 60874738–60880340	2692
ZmMAPK9	*Zm00001eb232260_T002*	–	5: 81917071–81922582	1676
ZmMAPK10	*Zm00001eb251700_T001*	+	5: 208080505–208085121	2063

(续表 1)

基因名称 Gene name	基因编号 Gene ID	正链/负链 +/–	位置 Location	cDNA 长度 cDNA length (bp)
ZmMAPK11	*Zm00001eb269140_T001*	+	6: 69497277–69500626	1663
ZmMAPK12	*Zm00001eb270940_T001*	+	6: 83991180–83995989	1798
ZmMAPK13	*Zm00001eb272710_T001*	–	6: 95444686–95450120	2834
ZmMAPK14	*Zm00001eb296060_T004*	–	6: 176323317–176328469	2434
ZmMAPK15	*Zm00001eb296690_T001*	+	6: 177432982–177438789	2566
ZmMAPK16	*Zm00001eb297110_T001*	–	6: 178288229–178293094	2547
ZmMAPK17	*Zm00001eb343870_T001*	–	8: 71881363–71885620	2229
ZmMAPK18	*Zm00001eb358890_T001*	–	8: 149685650–149692003	3036
ZmMAPK19	*Zm00001eb359260_T001*	–	8: 150659561–150668327	1878
ZmMAPK20	*Zm00001eb359720_T001*	+	8: 152925340–152931695	2726
ZmMAPK21	*Zm00001eb376640_T001*	+	9: 20685730–20691972	1660
ZmMAPK22	*Zm00001eb393610_T001*	+	9: 130844368–130848936	1689
ZmMAPK23	*Zm00001eb397190_T001*	–	9: 144513290–144516878	1982
ZmMAPK24	*Zm00001eb417810_T002*	+	10: 90487044–90493051	2722

基因名称 Gene name	氨基酸数目 Amino acid (aa)	分子量 MW (kD)	等电点 pI	环状结构 T-loop
ZmMAPK1	376	43.49	5.74	TEY
ZmMAPK2	424	48.78	5.76	TDY
ZmMAPK3	556	63.30	8.85	TDY
ZmMAPK4	588	67.01	9.33	TDY
ZmMAPK5	459	51.69	9.79	TEY
ZmMAPK6	491	55.74	8.58	TDY
ZmMAPK7	369	42.21	7.17	TEY
ZmMAPK8	579	66.04	6.42	TDY
ZmMAPK9	370	42.47	6.53	TEY
ZmMAPK10	459	51.37	9.64	TEY
ZmMAPK11	381	43.06	9.58	TEY
ZmMAPK12	398	45.05	5.31	TEY
ZmMAPK13	576	65.48	6.54	TDY
ZmMAPK14	589	67.08	9.20	TDY
ZmMAPK15	601	68.13	6.62	TDY
ZmMAPK16	601	67.55	9.35	TDY
ZmMAPK17	562	63.68	7.61	TDY
ZmMAPK18	613	69.97	9.04	TDY
ZmMAPK19	489	55.86	6.62	TDY
ZmMAPK20	589	67.15	9.41	TDY
ZmMAPK21	398	44.93	5.39	TEY
ZmMAPK22	372	42.33	6.07	TEY
ZmMAPK23	374	43.29	5.52	TEY
ZmMAPK24	557	63.58	8.79	TDY

TEY: 苏氨酸-谷氨酸-酪氨酸; TDY: 苏氨酸-天冬氨酸-酪氨酸。

MW: molecular weight; PI: isoelectric point; TEY: threonine-glutamic acid-tyrosine; TDY: threonine-aspartic acid-tyrosine.

2.2 玉米 MAPK 家族成员的系统进化及染色体定位分析

聚类分析显示, 24 个 ZmMAPK 可划分为 A、B、C、D 4 个亚组, 分别包含 5、4、2 和 13 个成员(图 1)。结合跨物种比较分析发现, 拟南芥和水稻的 *MAPK* 基因在 D 亚组中同样呈现数量优势, 暗示 D 亚组基因的特异性扩张可能在玉米基因组进化过程中具有重要作用。

对玉米染色体上 *MAPK* 基因位置分析(附图 2)可知, 24 个 *ZmMAPK* 基因呈不均匀分布状态, 覆盖 9 条染色体。其中, 2、3 和 10 号染色体上各有 1 个基因, 1 号和 4 号染色体上各有 2 个基因, 9 号染色体上有 3 个基因, 5 号和 8 号染色体上各有 4 个基因, 6 号染色体上有 6 个基因。

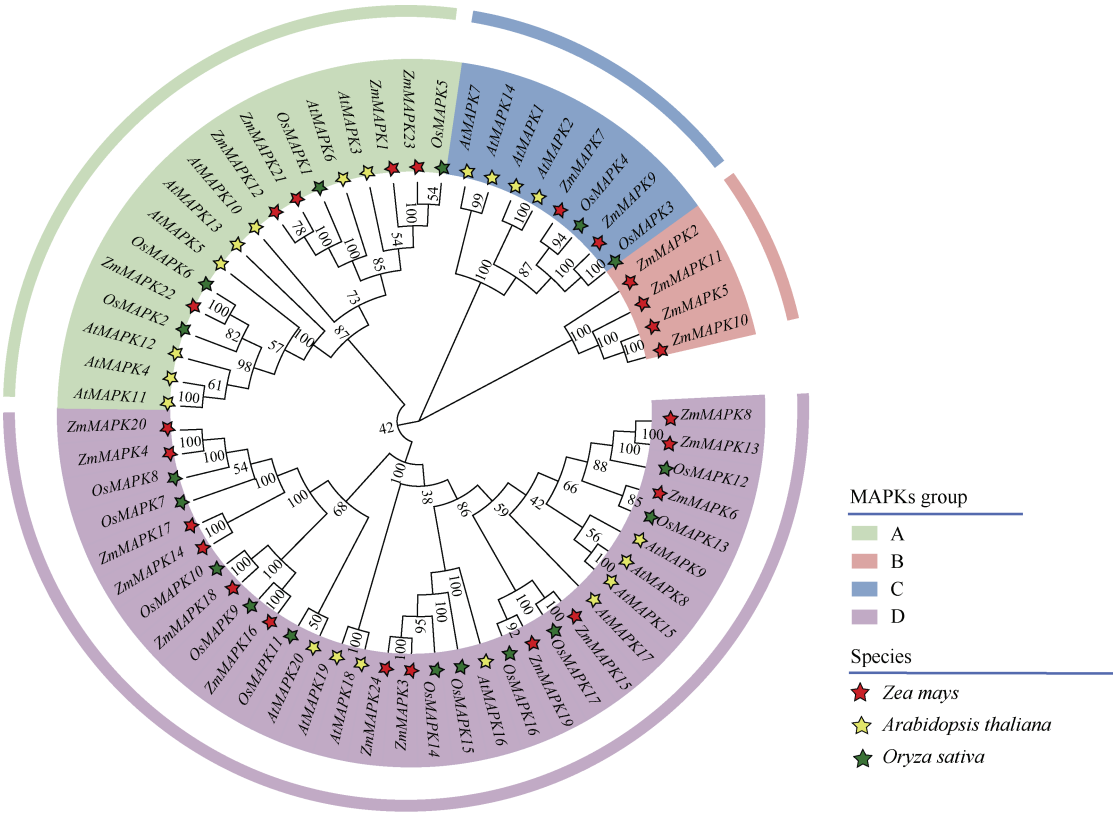


图 1 玉米、水稻和拟南芥中 MAPK 基因家族系统发育进化树
Fig. 1 Phylogenetic tree of the MAPK gene family in maize, rice, and *Arabidopsis*

2.3 玉米 MAPK 家族成员保守基序、结构域及基因结构分析

为进一步明确 ZmMAPK 基因家族的保守特征与功能分化规律, 构建了系统发育树, 并对基序组成、蛋白结构域及基因结构进行整合分析。系统发育树结果显示, ZmMAPK 成员在进化上聚类形成若干分支, 同一分支内的基因具有相似的结构特征。基序分析共鉴定到 10 个保守基序, 其中, Motif 5、Motif 3、Motif 1、Motif 9、Motif 4、Motif 2、Motif 7 和 Motif 6 在 ZmMAPK 蛋白中高度保守, 提示其在家族功能维持中具有核心作用。不同进化分支的基因具有差异化的基序组合模式: 例如, *ZmMAPK8*、*ZmMAPK13* 和 *ZmMAPK6* 等基因特有 Motif 8 和 Motif 10, 仅在特定分支中出现, 提示这些序列在功能分化过程中可能发挥了特定作用(图 2-A)。结构域分析表明, ZmMAPK 蛋白含有典型的 PKc_like superfamily 或 Pkinase 结构域, 这与其在信号转导和转录调控中的潜在作用密切相关(图 2-B)。基因结构分析表明, 不同 *ZmMAPK* 基因的外显子和内含子数目差异较大, 范围介于 2~16 个之间, 反映了家族成员结构的多样性(图 2-C)。为深入解析玉米 ZmMAPK 基因家族的保守结构特征, 对其激活环(activation loop)区域的氨基酸序列进行多序列比对(附图 3)。激活环区域多序列比对显示, 14 个 ZmMAPK 含 TDY 基序, 10 个含 TEY 基序, 与植物 MAPK 家族的保守特征一致。

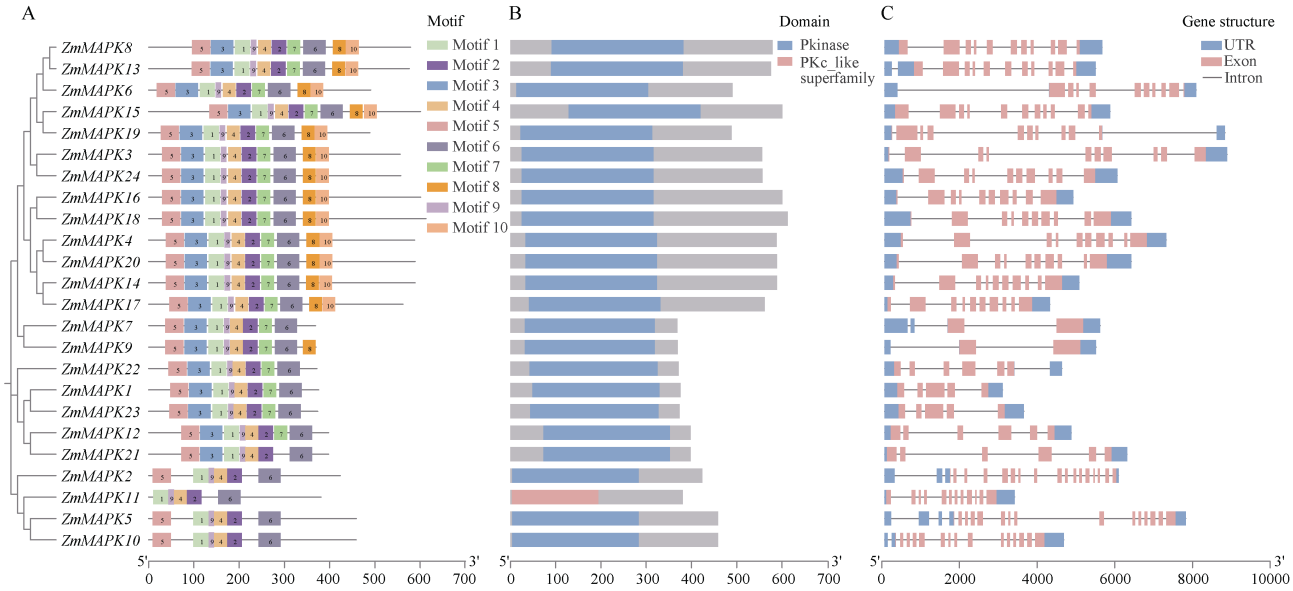


图 2　玉米 MAPK 家族成员保守基序、结构域和基因结构

Fig. 2　Conserved motifs, domains, and gene structures of maize MAPK family members

2.4　玉米 MAPK 家族成员启动子顺式作用元件分析

对 *ZmMAPK* 起始密码子上游 2000 bp 序列进行顺式作用元件预测分析(图 3), 共鉴定到 10~21 种不同类型的顺式作用元件, 功能模块主要涵盖激素响应、胁迫应答、光信号、代谢与发育。其中, *ZmMAPK3*、*ZmMAPK5*、*ZmMAPK6*、*ZmMAPK11*、*ZmMAPK12* 和 *ZmMAPK15* 共 6 个基因的启动子区域富集生长素、赤霉素响应元件, 推测其参与激素介导的生长发育。*ZmMAPK1*、*ZmMAPK2* 和 *ZmMAPK4* 等 17 个基因启动子主要富集防御和胁迫响应元件、低温响应元件及参与干旱诱导的 MYB 结合位点, 在生物和非生物胁迫(病原菌侵染、低温胁迫)中可能优先响应, 是抗逆调控的核心成员。24 个基因均含有光响应元件, 说明其在光形态建成(如叶绿体发育、光周期调控)中可能发挥重要作用。*ZmMAPK10* 和 *ZmMAPK15* 含胚乳表达元件及类黄酮合成调控 MYB 结合位点, 其可能参与种子发育与次生代谢调控。

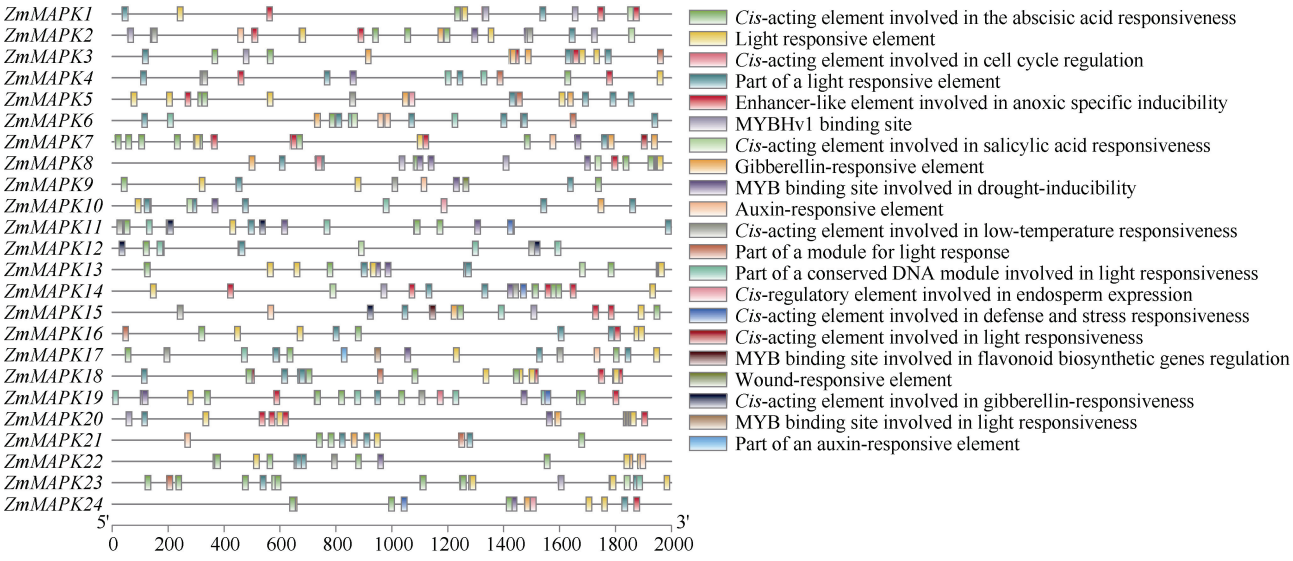


图 3　玉米 24 个 *ZmMAPK* 基因启动子中顺式作用元件

Fig. 3　*Cis*-acting elements in the promoters of 24 *ZmMAPK* genes in maize

2.5 玉米 MAPK 家族成员共线性分析

为探究玉米 MAPK 基因家族的跨物种进化保守性，对水稻、高粱、小麦和狗尾草进行共线性分析(图 4)。该分析结果显示，玉米与水稻之间存在 16 对直系同源基因，与高粱之间存在 19 对直系同源基因，与狗尾草之间存在 20 对直系同源基因，与小麦之间存在 46 对直系同源基因。这一现象凸显出物种之间更近的系统发育关系，表明它们可能起源于共同祖先，基因的排列顺序在一定程度上保留了相似性，体现了物种间的进化亲缘关系与基因组结构的保守性。

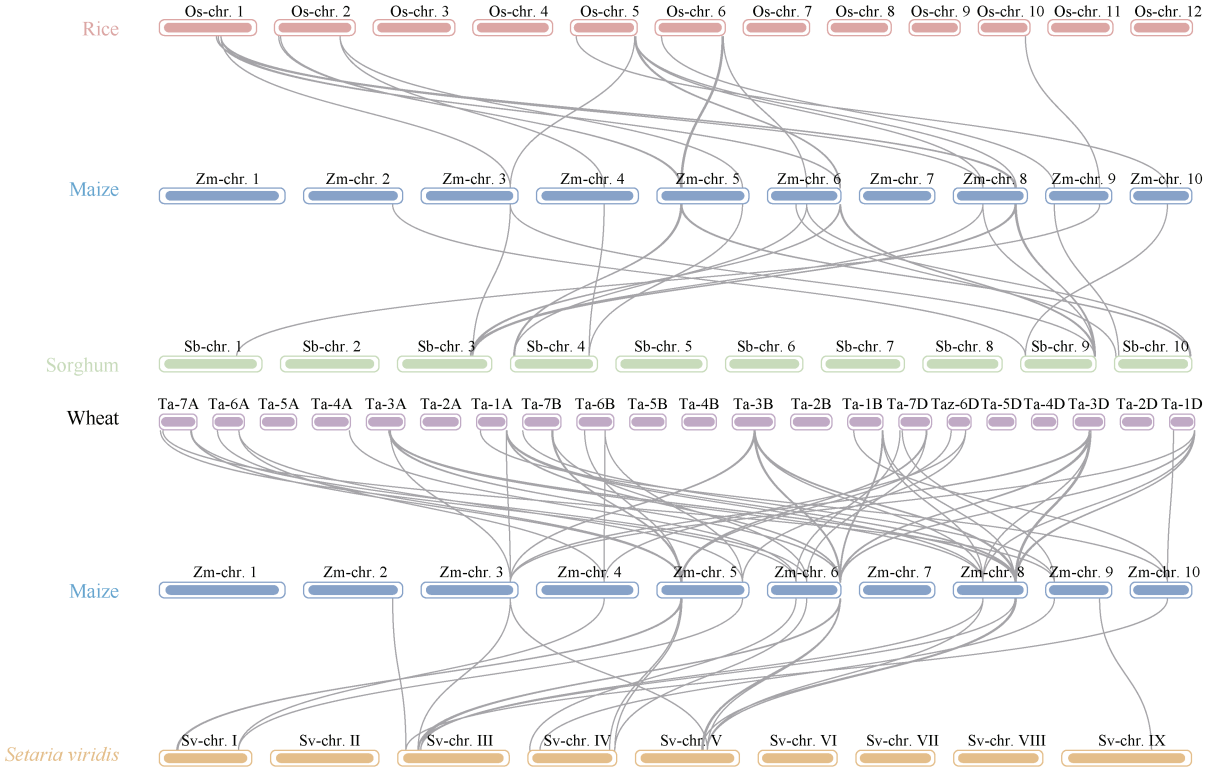


图 4 玉米、水稻、高粱、小麦和狗尾草 *MAPK* 基因的共线性分析

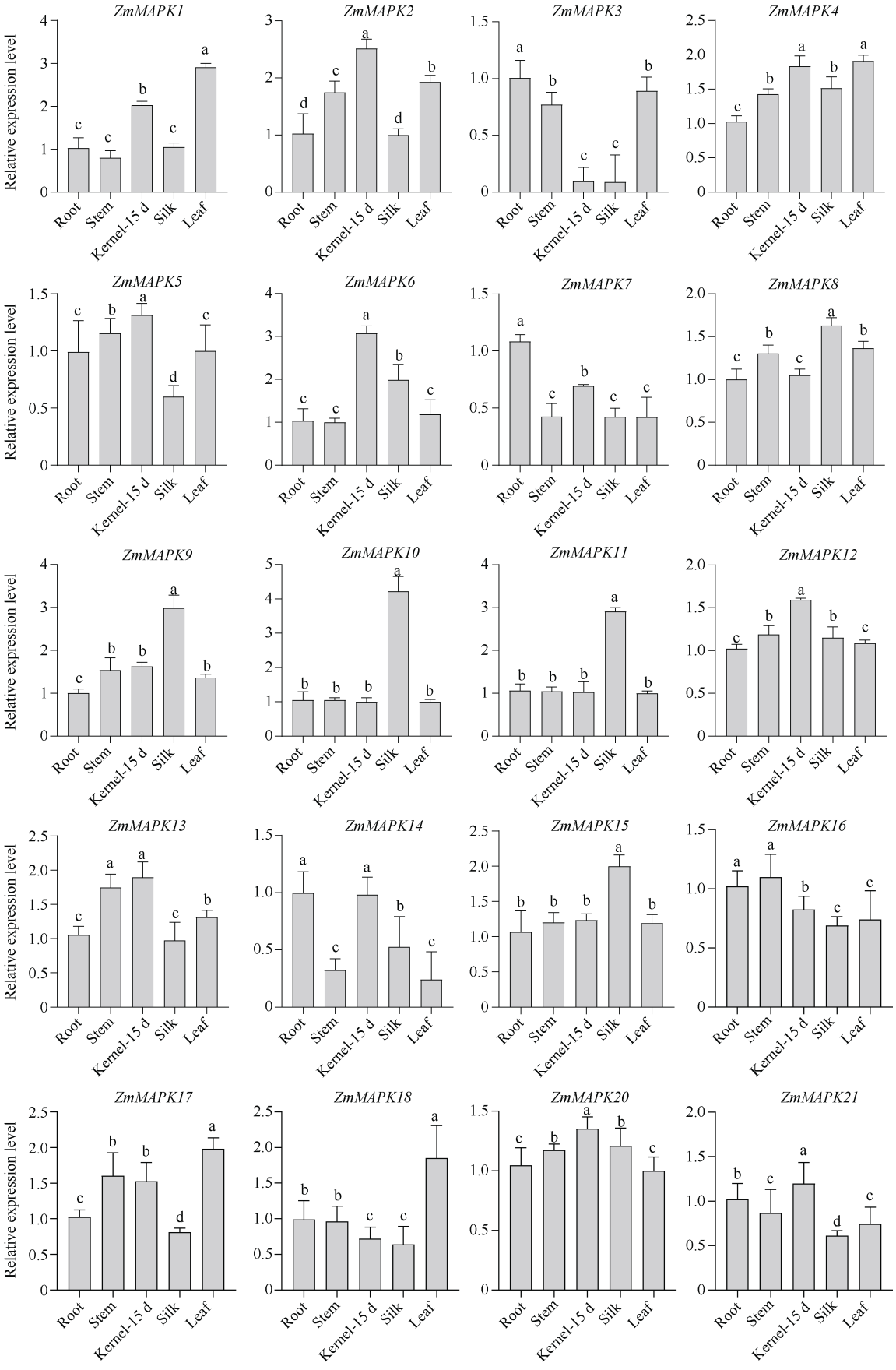
Fig. 4 Synteny analysis of *MAPK* genes among maize, rice, sorghum, wheat, and *Setaria viridis*

2.6 玉米 *MAPK* 基因的组织特异性表达分析

为解析玉米 MAPK 基因家族的组织特异性表达特征，本研究对不同组织中 *ZmMAPK* 基因的表达模式进行了系统分析，结果如图 5 所示。在检测的 *ZmMAPK* 基因中，不同成员在玉米根、茎、花丝、籽粒及叶片中呈现显著的组织特异性表达差异。在根组织中，*ZmMAPK3*、*ZmMAPK7*、*ZmMAPK14* 及 *ZmMAPK16* 的表达量相对较高；在茎组织中，*ZmMAPK13*、*ZmMAPK16* 及 *ZmMAPK22* 的表达水平显著高于其他基因；在花丝组织中，*ZmMAPK8*~*ZmMAPK11*、*ZmMAPK15* 及 *ZmMAPK23* 共 6 个基因表现出较高的表达量；在籽粒组织中，ZmMAPK 基因家族的表达最为活跃，*ZmMAPK2*、*ZmMAPK4*~*ZmMAPK6*、*ZmMAPK12*、*ZmMAPK13*、*ZmMAPK14*、*ZmMAPK20*~*ZmMAPK24* 共 12 个基因均呈现相对较高的表达量；在叶片组织中，*ZmMAPK1*、*ZmMAPK4*、*ZmMAPK17* 及 *ZmMAPK18* 的表达量相对突出。上述结果表明，ZmMAPK 基因家族成员的表达具有明显的组织特异性，推测不同 *ZmMAPK* 基因可能在玉米特定组织的生长发育或生理功能调控中发挥特异性功能，其中，在籽粒组织中 *ZmMAPK* 基因的高表达丰度，暗示该基因家族可能在玉米籽粒发育或胁迫响应过程中具有重要的调控功能。

2.7 玉米 *MAPK* 基因响应拟轮枝镰孢菌的表达分析

为解析玉米 MAPK 基因家族在拟轮枝镰孢菌侵染过程中的表达调控特征，本研究以感病自交系 B73 和抗病自交系齐 319 为试验材料，通过 RT-qPCR 分析检测了不同侵染时间点(0、48、72、96 hpi) *MAPK* 基因的表达动态，结果如图 6 所示。玉米 MAPK 基因家族成员在感病与抗病材料中呈现显著的差异表达模式。除 *ZmMAPK19* 未检测到有效表达外，其余 23 个基因的表达水平在 2 个材料间存在明显差异。*ZmMAPK1*、*ZmMAPK12*、*ZmMAPK13*、


ZmMAPK1
ZmMAPK2
ZmMAPK3
ZmMAPK4
ZmMAPK5
ZmMAPK6
ZmMAPK7
ZmMAPK8
ZmMAPK9
ZmMAPK10
ZmMAPK11
ZmMAPK12
ZmMAPK13
ZmMAPK14
ZmMAPK15
ZmMAPK16
ZmMAPK17
ZmMAPK18
ZmMAPK20
ZmMAPK21
Relative expression level
Root
Stem
Kernel-15 d
Silk
Leaf

(图 5)

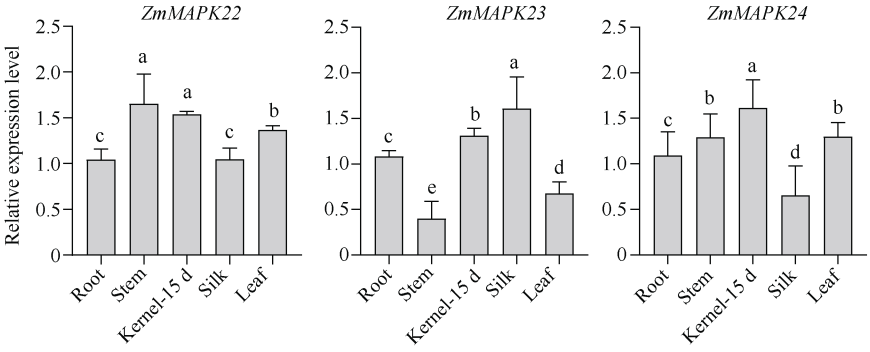
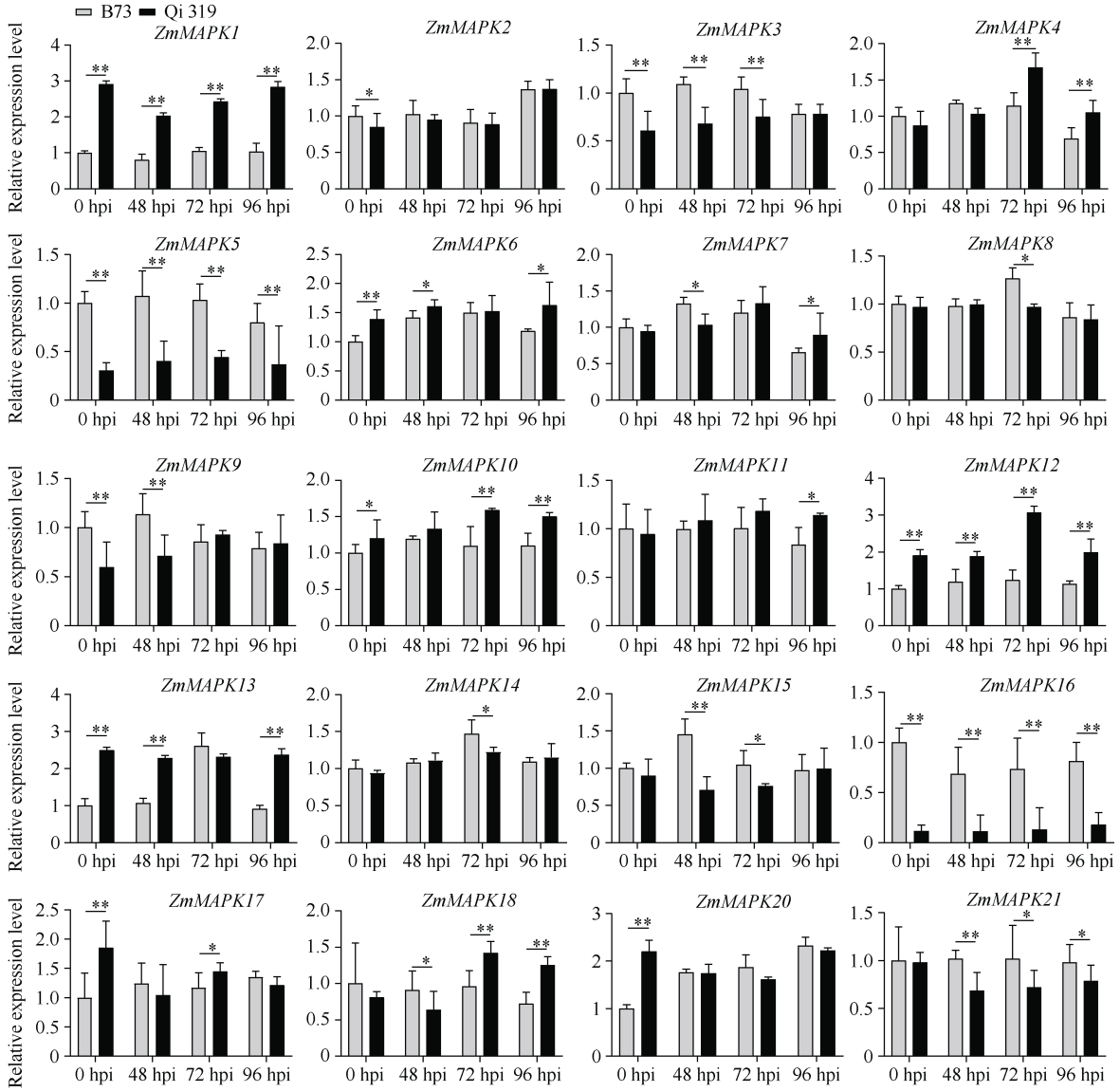


图 5 玉米 *MAPK* 基因的表达模式分析

Fig. 5 Expression pattern analysis of maize *MAPK* genes

不同小写字母代表在 0.05 水平差异显著。

Different lowercase letters mean significant difference at the 0.05 level.



(图 6)

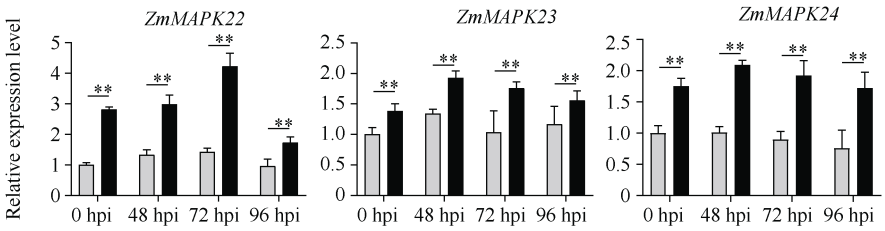


图 6　玉米 *MAPK* 基因在拟轮枝镰孢菌侵染下的定量分析

Fig. 6　RT-qPCR analysis of maize *MAPK* genes in response to *Fusarium verticillioides* infection

*、**分别表示在 0.05 和 0.01 水平差异显著。

*, ** mean significant difference at the 0.05 and 0.01 levels, respectively.

ZmMAPK18、*ZmMAPK22*、*ZmMAPK23* 和 *ZmMAPK24* 在抗病材料中表达量显著高于感病材料, 其中, *ZmMAPK12*、*ZmMAPK18*、*ZmMAPK22*、*ZmMAPK23* 和 *ZmMAPK24* 的表达量在抗病材料中随病原菌侵染时间的延长呈现先上升后下降的趋势, 于侵染 48 hpi 或 72 hpi 达到表达峰值后逐渐回落, 在感病材料中的变化趋势并不明显, 且无明显的时间依赖性变化, 表明这些基因可能作为正调控因子, 通过快速激活表达参与玉米对镰孢菌穗腐病的早期防御应答。相反, *ZmMAPK3*、*ZmMAPK5*、*ZmMAPK15*、*ZmMAPK16* 和 *ZmMAPK21* 在感病材料中的表达量更高, 且表达趋势随时间变化更为活跃, 推测这类基因可能作为感病相关基因, 在病原菌侵染宿主的过程中发挥作用, 或通过抑制植物防御通路促进病害发生。MAPK 基因家族成员在感病与抗病材料中的表达模式差异, 体现了该家族在植物-病原菌互作过程中存在功能分化。

2.8　候选基因序列变异分析

鉴于 *ZmMAPK12*、*ZmMAPK22*、*ZmMAPK23* 和 *ZmMAPK24* 在籽粒中高表达且在抗病材料中对病原菌侵染响应显著, 对其进行序列变异分析(表 2)。与 B73 相比, 在齐 319 中 *ZmMAPK12* 的启动子区存在 297 bp 插入、9 bp 插入、257 bp 缺失、10 bp 缺失及 SNP 位点的突变, CDS 区存在 SNP 变异, 在第 1 外显子存在 3 bp 缺失, 第 6 外显子存在 5 bp 和 28 bp 插入, 蛋白序列显示, 在蛋白序列的末端存在大量的氨基酸变异; *ZmMAPK22* 的启动子区存在 221 bp 缺失、100 bp 插入、37 bp 插入、83 bp 插入, 以及 SNP 位点的变异, CDS 区在第 1 外显子存在 3 个碱基(CGG)的插入, 蛋白序列显示为一个氨基酸的插入(G); *ZmMAPK23* 的启动子区存在 SNP 位点变异, CDS 区在第 3 外显子存在 90 bp 的插入, 在第 5 外显子存在两处 1 bp、一处 2 bp、一处 3 bp、一处 20 bp 的插入和大量 SNP 位点, 蛋白序列显示为 31 个氨基酸的插入和蛋白序列末端大量的氨基酸变异; *ZmMAPK24* 的启动子存在 hAT 转座子超家族成员的插入, 3 段缺失和 2 段插入, CDS 区存在一个 SNP 变异位点, 在第 8 外显子存在 5 bp 的插入, 导致 3′UTR 区翻译终止。

2.9　亚细胞定位分析

为探究玉米 ZmMAPK 家族成员在细胞中的功能分布及潜在的作用机制, 基于 RT-qPCR 表达分析和序列比对结果, 对 ZmMAPK12、ZmMAPK22、ZmMAPK23 和 ZmMAPK24 进行亚细胞定位分析。结果显示, 各基因编码的融合蛋白呈现出不同的亚细胞定位特征。ZmMAPK12 的荧光信号显著富集于细胞核中, 暗示其可能主要参与核内生物学过程; ZmMAPK22 和 ZmMAPK24 的荧光信号同时分布于细胞膜与细胞核中, 提示该蛋白可能兼具膜相关信号的感知与核内转录调控的双重功能; ZmMAPK23 的荧光信号广泛存在于细胞核与细胞质中, 说明其可能参与胞质信号转导与核内基因表达调控的多层次过程(图 7)。

3　讨论

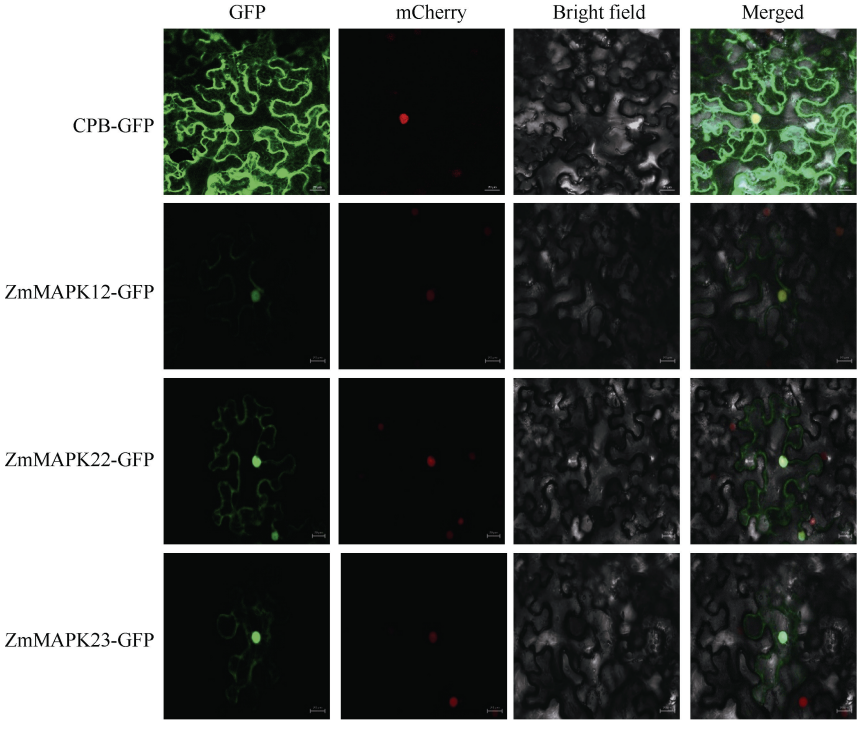
3.1　玉米 MAPK 基因家族的生物学特征

与以往已鉴定的 MAPK 基因家族不同, 本研究整合玉米基因组数据库(MaizeGDB)、综合基因组数据库(Phytozome v9.1)与 NCBI 数据库的序列资源, 通过 BLASTp (基于已知植物 MAPK 蛋白序列)和 HMMER (基于 MAPK 保守结构域隐马尔可夫模型)相结合策略进行序列检索, 显著提高潜在的 *MAPK* 基因覆盖度; 在序列筛选过程中, 不仅要求序列包含 MAPK 核心保守结构域, 还通过 cDNA 与基因 DNA 序列比对验证基因结构的完整性(确保外显子-内含子拼接无误), 在表达模式和病原菌侵染后的表达量分析中发现 *ZmMAPK19* 不表达。系统发育分析将玉米 24 个 *ZmMAPK* 基因划分为 A、B、C 和 D

表 2 *ZmMAPK12*、*ZmMAPK22*、*ZmMAPK23*、*ZmMAPK24* 的变异类型及可能的功能影响
Table 2 Variant types in *ZmMAPK12*, *ZmMAPK22*, *ZmMAPK23*, and *ZmMAPK24* and their potential functional impacts

基因 Gene	启动子区变异 Promoter variation	CDS 区变异 CDS variation	氨基酸序列变化 Amino acid sequence variation	可能的功能影响 Potential functional implications
ZmMAPK12	大片段插入、缺失及 SNP 位点突变 Large fragment insertion, deletion, and SNP site mutation	Indel 及 SNP 位点突变 Indel and SNP site mutation	大量氨基酸变异及插入、缺失 Numerous amino acid variations, insertions, and deletions	启动子变异可能影响基因表达; CDS 插入/缺失可能导致移码或氨基酸改变, 影响蛋白质稳定性或功能 Promoter variation may affect gene expression; insertions/deletions in the CDS may cause frameshifts or amino acid changes, thereby affecting protein stability or function
ZmMAPK22	大片段插入、缺失及 SNP 位点突变 Large fragment insertion, deletion, and SNP site mutation	第 1 外显子 3 个碱基(CGG)插入 3-base (CGG) insertion in exon 1	一个氨基酸插入(G) A single amino acid (G) insertion	启动子变异可能影响基因表达; CDS 插入导致单个氨基酸插入, 可能影响蛋白质结构或功能 Promoter variation may affect gene expression; CDS insertion results in the insertion of a single amino acid, which may affect protein structure or function
ZmMAPK23	SNP 位点变异 SNP site variation	大片段插入和大量 SNP 位点突变 Large fragment insertion and numerous SNP site mutations	大量氨基酸变异及插入 Numerous amino acid variations, and insertions	启动子 SNP 可能影响表达; CDS 插入和 SNP 导致蛋白质结构显著改变, 可能影响功能 Promoter SNPs may affect expression; insertions and SNPs in the CDS cause significant alterations in protein structure, potentially affecting function
ZmMAPK24	hAT 转座子超家族成员插入及 SNP 位点突变 Insertion of members from the hAT transposon superfamily and SNP site mutations	一个 SNP 变异位点、第 8 外显子 5 bp 插入 A SNP variant site and a 5-bp insertion in exon 8	翻译提前终止, 产生截短蛋白质 Premature translation termination, resulting in a truncated protein	启动子转座子插入可能大幅改变表达调控; CDS 插入导致移码和截短, 可能丧失蛋白质功能 Transposon insertion in the promoter region may significantly alter expression regulation; insertion in the CDS leads to frameshift and truncation, likely resulting in loss of protein function

以上为齐 319 基因组序列与 B73 参考基因组序列比对结果。
Variants were identified by aligning the Qi 319 genomic sequence to the B73 reference genome.



(图 7)

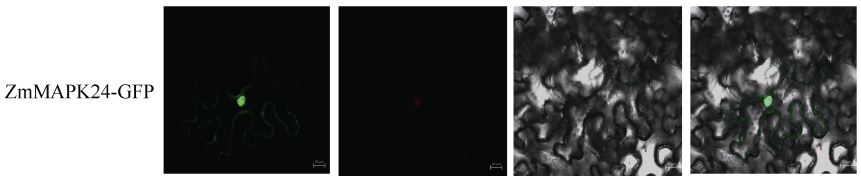


图 7　ZmMAPK 蛋白亚细胞定位分析
Fig. 7　Subcellular localization of ZmMAPK proteins
标尺: 20 μm。Scale bar: 20 μm.

4 个亚组, 与拟南芥、水稻等植物中 *MAPK* 基因的分类方式一致[14], 表明该基因家族在进化过程中具有高度保守性。其中, 玉米中 D 组 MAPK 数量最多, 且在拟南芥、水稻中同样呈现 D 亚组扩张特征[15,32], 暗示 D 亚组基因的扩张可能是植物适应环境胁迫的进化策略, 为玉米应对复杂逆境提供遗传基础。基因复制是基因家族扩张的主要动力, 主要包括串联重复和片段重复 2 种方式。在本研究中, 通过对玉米基因组的分析, 发现部分 *ZmMAPK* 基因无串联重复现象, 但存在 8 个片段重复事件。串联重复基因往往在功能上具有冗余性或产生新功能, 从而为植物适应复杂环境提供更多的遗传变异。此外, 基因结构分析显示, 同一亚组基因的外显子-内含子结构相对保守, 而不同亚组间存在显著差异, 反映了亚组间的功能分化, 这可能是长期进化中受不同选择压力作用的结果。

3.2　玉米 MAPK 基因家族成员的时空表达特征分析

拟轮枝镰孢菌主要侵染玉米花丝、籽粒及穗轴, 其中, 籽粒是病原菌定殖、扩展及真菌毒素产生的核心部位, 也是病害造成产量损失与品质下降的关键靶器官。病原菌通过花丝通道侵入后, 会快速在籽粒中定殖, 破坏胚乳结构并大量积累真菌毒素, 因此, 籽粒组织的防御能力直接决定了玉米对穗腐病的抗性水平。启动子顺式作用元件分析结果表明, *ZmMAPK* 基因的启动子区域包含光响应元件、激素响应元件等多种与植物生长发育相关的顺式作用元件, 这暗示 *ZmMAPK* 基因可能在玉米生长发育的多个过程中发挥调控作用。组织特异性表达分析显示, 有 12 个 *ZmMAPK* 基因在授粉后 15 d 的籽粒中表达量显著高于根、茎、叶等营养器官。

3.3　玉米 MAPK 基因家族成员在拟轮枝镰孢菌侵染后的表达特征分析

MAPK 级联途径是植物感知病原菌信号、启动防御应答的核心信号通路, 在植物-病原菌互作中发挥关键调控作用。拟轮枝镰孢菌作为引发玉米穗腐病和茎腐病的重要致病菌, 严重威胁玉米产量与品质。为解析玉米 ZmMAPK 基因家族在应对该病原菌侵染中的作用, 本研究采用 RT-qPCR 技术, 系统检测了不同侵染时间点(0、48、72、96 hpi) *ZmMAPK* 基因的表达动态, 结果显示, 多个 *ZmMAPK* 基因的表达水平随病原菌侵染进程发生显著改变, 表明该基因家族积极参与玉米对拟轮枝镰孢菌的防御响应。在侵染早期(48 hpi), *ZmMAPK23*、*ZmMAPK24* 等基因即呈现显著上调表达特征。这一表达模式与病原菌入侵初期的信号感知及快速防御启动过程密切相关, 推测这些基因可通过 MAPK 级联磷酸化反应, 将病原菌侵染信号快速传递至细胞内, 进而激活下游防御相关基因的表达, 包括病程相关蛋白(PR 蛋白)编码基因、植保素合成酶基因等, 为玉米建立早期的基础防御屏障, 增强对病原菌的初始抗性。

进入侵染后期(72 hpi、96 hpi), *ZmMAPK12* 和 *ZmMAPK22* 等基因的表达水平出现显著的动态变化, 暗示其可能参与玉米对病原菌定殖的持续应答调控。这一阶段, 玉米需调动多重生理代谢过程以抑制病原菌进一步扩展, 如通过加强细胞壁修饰以巩固物理防御屏障、调控活性氧(ROS)稳态避免氧化损伤等, 而这些防御过程的有序开展可能依赖于特定 *ZmMAPK* 基因的精准调控。进一步分析发现, 不同亚组的 *ZmMAPK* 基因对拟轮枝镰孢菌侵染的响应模式存在明显分化。A 组和 B 组 *ZmMAPK* 基因主要在侵染早期快速响应激活, 推测其在病原菌信号感知与快速传递中发挥核心作用, 可迅速启动基础防御反应以抵御病原菌初步入侵; C 组和 D 组 *ZmMAPK* 基因则偏向于侵染后期的表达调控, 可能参与针对拟轮枝镰孢菌毒力因子的特异性防御应答, 通过启动精准的抗病信号通路增强玉米对病原菌的靶向抗性。这种亚组间的功能分工是玉米在与病原菌长期协同进化中形成的高效防御策略, 有助于优化能量分配, 实现对病原菌侵染的分阶段精准应对。

本研究仅对 *ZmMAPK* 基因家族在玉米响应拟轮枝镰孢菌侵染中的表达特征及潜在功能进行了初步解析。后续需通过基因敲除、过表达等功能验证试验，结合下游靶基因筛选与互作蛋白鉴定，进一步明确关键 *ZmMAPK* 基因的生物学功能及调控网络，为玉米抗病育种提供理论支撑与基因资源。

3.4 参与拟轮枝镰孢菌胁迫响应的候选基因分析

基于时空表达和病原菌侵染响应分析，*ZmMAPK12*、*ZmMAPK22*、*ZmMAPK23* 和 *ZmMAPK24* 均在玉米籽粒中高表达，且病原菌侵染后，这 4 个基因在抗病材料中的表达量显著高于感病材料，且在抗病材料中的表达呈先上升后下降的趋势，而在感病材料中保持不变或者持续下降。对 4 个基因(*ZmMAPK12*、*ZmMAPK22*、*ZmMAPK23* 和 *ZmMAPK24*)的启动子、CDS 及蛋白序列进行分析后发现，这些序列均存在丰富的变异类型，包括缺失、插入、SNP 以及氨基酸替换。其中，*ZmMAPK22* 的蛋白仅存在一个氨基酸插入，而 *ZmMAPK12*、*ZmMAPK23* 和 *ZmMAPK24* 的蛋白序列则均表现出不同程度的氨基酸变异。这些变异可能导致氨基酸结构发生改变，进而潜在影响其蛋白质功能的行使。亚细胞定位结果显示，ZmMAPK12 的荧光信号显著富集于细胞核中，而细胞核是病原菌胁迫下防御相关基因转录调控的核心场所。ZmMAPK22 与 ZmMAPK24 的荧光信号同时分布于细胞膜与细胞核中，细胞膜定位使其可直接感知病原菌入侵(如病原菌相关分子模式 PAMPs 触发的膜信号变化)，快速启动胞内信号传导；而细胞核定位则确保其后续参与转录调控，形成“膜感知-核调控”的双重功能模式，这种定位特征使其能更高效地整合病原菌早期信号与下游防御响应。ZmMAPK23 的荧光信号广泛分布于细胞核与细胞质中，细胞质中的蛋白可能通过磷酸化过氧化氢酶、超氧化物歧化酶等相关调控因子等参与胞质内 ROS 稳态调控，减轻病原菌引发的氧化损伤。

4 结论

本研究通过全基因组分析鉴定到 24 个 *ZmMAPK* 基因，这些基因不均匀地分布于 9 条染色体上，进化上被划分为 A、B、C、D 4 个亚组，同一亚组基因具有保守的结构与基序组成特征。表达模式分析显示，*ZmMAPK* 基因呈现显著的组织特异性表达特征，且多个成员对拟轮枝镰孢菌侵染响应显著。结合序列变异与亚细胞定位分析，筛选出 *ZmMAPK12*、*ZmMAPK22*、*ZmMAPK23* 和 *ZmMAPK24* 作为穗腐病的候选基因。这些基因可能通过参与病原菌信号感知、信号转导及转录调控等过程，调控玉米对拟轮枝镰孢菌的抗性。本研究为深入解析玉米 MAPK 基因家族的功能与进化提供了基础数据，同时为玉米抗穗腐病分子育种提供了候选基因资源与理论依据。

References

[1] Chang Y, Yang H L, Ren D T, et al. Activation of ZmMKK10, a maize mitogen-activated protein kinase kinase, induces ethylene-dependent cell death. Plant Sci, 2017, 264: 129–137.

[2] de Zelicourt A, Colcombet J, Hirt H. The role of MAPK modules and ABA during abiotic stress signaling. Trends Plant Sci, 2016, 21: 677–685.

[3] Jonak C, Ökr é sz L, Bögre L, et al. Complexity, cross talk and integration of plant MAP kinase signalling. Curr Opin Plant Biol, 2002, 5: 415–424.

[4] Sinha A K, Jaggi M, Raghuram B, et al. Mitogen-activated protein kinase signaling in plants under abiotic stress. Plant Signal Behav, 2011, 6: 196–203.

[5] Zhang T, Liu Y, Yang T, et al. Diverse signals converge at MAPK cascades in plant. Plant Physiol Biochem, 2006, 44: 274–283.

[6] Tena G, Asai T, Chiu W L, et al. Plant mitogen-activated protein kinase signaling cascades. Curr Opin Plant Biol, 2001, 4: 392–400.

[7] Colcombet J, Hirt H. *Arabidopsis* MAPKs: a complex signalling network involved in multiple biological processes. Biochem J, 2008, 413: 217–226.

[8] Xu J, Zhang S Q. Mitogen-activated protein kinase cascades in signaling plant growth and development. Trends Plant Sci, 2015, 20: 56–64.

[9] Pedley K F, Martin G B. Role of mitogen-activated protein kinases in plant immunity. Curr Opin Plant Biol, 2005, 8: 541–547.

[10] Meng X Z, Zhang S Q. MAPK cascades in plant disease resistance signaling. Annu Rev Phytopathol, 2013, 51: 245–266.

[11] Tena G, Boudsocq M, Sheen J. Protein kinase signaling networks in plant innate immunity. Curr Opin Plant Biol, 2011, 14: 519–529.

[12] Chen L H, Hu W, Tan S L, et al. Genome-wide identification and analysis of MAPK and MAPKK gene families in *Brachypodium distachyon*. PLoS One, 2012, 7: e46744.

[13] Shi Z, Zhao B B, Song W, et al. Genome-wide identification and characterization of the MAPKKK, MKK, and MPK families in Chinese elite maize inbred line Huangzaosi. Plant Genome, 2022, 15: e20216.

[14] Ichimura K, Shinozaki K, Tena G, et al. Mitogen-activated protein kinase cascades in plants: a new nomenclature. Trends Plant Sci, 2002, 7: 301–308.

[15] Reyna N S, Yang Y N. Molecular analysis of the rice MAP kinase gene family in relation to *Magnaporthe grisea* infection. Mol Plant Microbe Interact, 2006, 19: 530–540.

[16] Ding Y F, Cao J M, Ni L, et al. *ZmCPK11* is involved in abscisic acid-induced antioxidant defence and functions upstream of

ZmMPK5 in abscisic acid signalling in maize. J Exp Bot, 2013, 64: 871–884.

[17] Zhang A Y, Zhang J, Ye N H, et al. ZmMPK5 is required for the NADPH oxidase-mediated self-propagation of apoplastic H_2O_2 in brassinosteroid-induced antioxidant defence in leaves of maize. J Exp Bot, 2010, 61: 4399–4411.

[18] Lin F, Ding H D, Wang J X, et al. Positive feedback regulation of maize NADPH oxidase by mitogen-activated protein kinase cascade in abscisic acid signalling. J Exp Bot, 2009, 60: 3221–3238.

[19] Wu L J, Zu X F, Zhang H M, et al. Overexpression of *ZmMAPK1* enhances drought and heat stress in transgenic *Arabidopsis thaliana*. Plant Mol Biol, 2015, 88: 429–443.

[20] Pan J W, Zhang M Y, Kong X P, et al. *ZmMPK17*, a novel maize group D MAP kinase gene, is involved in multiple stress responses. Planta, 2012, 235: 661–676.

[21] 陈晓娟, 文成敬. 四川省玉米穗腐病研究初报. 西南农业大学学报, 2002, 24: 21–23.
Chen X J, Wen C J. Preliminary study of maize ear rot in Sichuan. J Southwest Agric Univ, 2002, 24: 21–23 (in Chinese with English abstract).

[22] 李晓鸯. 东北地区玉米穗腐病致病镰孢菌种群结构及品种抗性分析. 沈阳农业大学硕士学位论文, 辽宁沈阳, 2018.
Li X Y. Population Structure of *Fusarium spp.* and the Resistance of Maize to Ear Rot in Northeast China. MS Thesis of Shenyang Agricultural University, Shenyang, Liaoning, China, 2018 (in Chinese with English abstract).

[23] 席靖豪. 黄淮海夏玉米穗腐病病原多样性分析及玉米新品种抗病性鉴定. 河南农业大学硕士学位论文, 河南郑州, 2018.
Xi J H. Pathogen Diversity of Summer Maize Ear Rot in Huang-Huai-Hai Region and Resistance Identification of New Maize Cultivars. MS Thesis of Henan Agricultural University, Zhengzhou, Henan, China, 2018 (in Chinese with English abstract).

[24] 李晓鸯, 马周杰, 盖晓彤, 等. 东北地区玉米穗腐镰孢菌种类鉴定及拟轮枝镰孢菌遗传多样性. 沈阳农业大学学报, 2018, 49(2): 136–142.
Li X Y, Ma Z J, Gai X T, et al. Identification of *Fusarium* species causing maize ear rot in Northeast China and the diversity of *F. verticillioides*. J Shenyang Agric Univ, 2018, 49(2): 136–142 (in Chinese with English abstract).

[25] Ye J R, Zhong T, Zhang D F, et al. The auxin-regulated protein ZmAuxRP1 coordinates the balance between root growth and stalk rot disease resistance in maize. Mol Plant, 2019, 12: 360–373.

[26] Ma P P, Li H J, Liu E P, et al. Evaluation and identification of resistance lines and QTLs of maize to seedborne *Fusarium verticillioides*. Plant Dis, 2022, 106: 2066–2073.

[27] Dong C P, Wu Y B, Gao J Y, et al. An InDel insertion in the promoter of a *UDP-D-glucuronate 4-epimerase 1* gene enhances maize resistance to Fusarium ear rot. Plant Commun, 2025, 6: 101380.

[28] Ma P P, Liu E P, Zhang Z R, et al. Genetic variation in *ZmWAX2* confers maize resistance to *Fusarium verticillioides*. Plant Biotechnol J, 2023, 21: 1812–1826.

[29] Liu C L, Kong M, Zhu J J, et al. Engineering null mutants in *ZmFER1* confers resistance to ear rot caused by *Fusarium verticillioides* in maize. Plant Biotechnol J, 2022, 20: 2045–2047.

[30] Gao X Q, Brodhagen M, Isakeit T, et al. Inactivation of the lipoxygenase *ZmLOX3* increases susceptibility of maize to *Aspergillus spp*. Mol Plant Microbe Interact, 2009, 22: 222–231.

[31] 段灿星, 崔丽娜, 夏玉生, 等. 玉米种质资源对拟轮枝镰孢与禾谷镰孢穗腐病的抗性精准鉴定与分析. 作物学报, 2022, 48: 2155–2167.
Duan C X, Cui L N, Xia Y S, et al. Precise characterization and analysis of maize germplasm resources for resistance to Fusarium ear rot and Gibberella ear rot. Acta Agron Sin, 2022, 48: 2155–2167 (in Chinese with English abstract).

[32] Lanubile A, Maschietto V, Borrelli V M, et al. Molecular basis of resistance to Fusarium ear rot in maize. Front Plant Sci, 2017, 8: 1774.

[33] Zhou D N, Wang X M, Chen G K, et al. The major Fusarium species causing maize ear and kernel rot and their toxigenicity in Chongqing, China. Toxins, 2018, 10: 90.

[34] Duvaud S, Gabella C, Lisacek F, et al. Expasy, the Swiss bioinformatics resource portal, as designed by its users. Nucleic Acids Res, 2021, 49: W216–W227.

[35] Liu Y K, Zhang D, Wang L, et al. Genome-wide analysis of mitogen-activated protein kinase gene family in maize. Plant Mol Biol Rep, 2013, 31: 1446–1460.

[36] Nicole M C, Hamel L P, Morency M J, et al. MAP-Ping genomic organization and organ-specific expression profiles of poplar MAP kinases and MAP kinase kinases. BMC Genom, 2006, 7: 223.

[37] Chatterjee A, Paul A, Unnati G M, et al. MAPK cascade gene family in *Camellia sinensis*: *in-silico* identification, expression profiles and regulatory network analysis. BMC Genom, 2020, 21: 613.

[38] Trapnell C, Roberts A, Goff L, et al. Differential gene and transcript expression analysis of RNA-seq experiments with TopHat and Cufflinks. Nat Protoc, 2012, 7: 562–578.

[39] Xu Z N, Zhou Z Q, Cheng Z X, et al. A transcription factor *ZmGLK36* confers broad resistance to maize rough dwarf disease in cereal crops. Nat Plants, 2023, 9: 1720–1733.

[40] 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.

附表 1 ZmMAPK 基因家族定量引物
Table S1 qPCR primers for the ZmMAPK gene family

引物名称 Primer name	正向序列 Forward sequence (5'–3')	反向序列 Reverse sequence (5'–3')
ZmUBI-2q	TGGTTGTGGCTTCGTTGGTT	GCTGCAGAAGAGTTTTGGGTACA
ZmMAPK1	CTGTCGGAGGAGCACTGC	TTGCTGGGCTTGAGGTCG
ZmMAPK2	CCGGGATTTGAGAATACCCC	CCGGATAGGTGCTAACGAAC
ZmMAPK3	AGCACGGCCAATATAACAGA	AGATGCTTGAGAGAGGTTGT
ZmMAPK4	GTGACAAGGTGGCAATCAAGA	GGATGGCGTAATAGCCGAAG
ZmMAPK5	GGTTAGCAAAGGTGTCATAAAGC	TGCCCGATACCAGCGAGTT
ZmMAPK6	GGCGAGTCAGTATCAAATCCAA	GGGGCAACATAATGTGCTTAA
ZmMAPK7	TGGCAAGTCAAGGAAAGCAT	TTCATTGGTCTCGCGGTTAA
ZmMAPK8	TGAAAGGCGGAGAACAGATTAG	GGTAGTGCGGGCAACAGAA
ZmMAPK9	GTTGCTCCGAGGACTCAAAT	TTGTACGTGCGAGACCAAAA
ZmMAPK10	GCTAGTCTCGGTTGGCTTC	GCTAGTCTCGGTTGGCTTC
ZmMAPK11	ACAAAGGCAGAAGCGATGAA	AAACCTCTCGGAACCCAAAC
ZmMAPK12	TGAACGATGGCTGCCTGAAT	GCAGGCAACGTCGGAGATA
ZmMAPK13	CCTTTGGCTCTTCGTCTTTTAG	TTGGGTGTCTTGATGGCTCA
ZmMAPK14	GATACAGAACATCTTCGAGCACC	TTCGTCAAGTCATCGTTAGCCT
ZmMAPK15	TCCAGGGAAGAATGTTGTGC	AGCAAGAAGACGTTCAAGCA
ZmMAPK16	AAGGACTTCAAGGACATTTTCG	TTGAATGCGACTCGGGCTA
ZmMAPK17	CCGGCTAGGAGGGACTACAA	GTCGTCAGGTCAGGGTTAGC
ZmMAPK18	GGCAATCTCCCCAGAACGT	TGGTGTCTCCATTTTGGTAAGG
ZmMAPK19	CAAAGGACCGACCAACTGC	TTGAAACGATCCACCCCACT
ZmMAPK20	GGAAGTTATGGCGTTGTTTGC	GGATGGCGTAATAGCCGAAG
ZmMAPK21	ATAAGGGATATCATACCTCCTGCG	ATACTGACAGTGCTCCTCTGA
ZmMAPK22	GAAATCGTTACTCGTCAACCCC	AGTCCTGTCTTGGAAACTGTGG
ZmMAPK23	CCGAGACGAAGGAGATGGTG	CGGAGTGGATGTACTTGAGCC
ZmMAPK24	GCCGAGCGATATGAGCAAC	TGACCACCACGACTATCAACG

附表 2 基因扩增引物序列
Table S2 Primer sequences for gene amplification

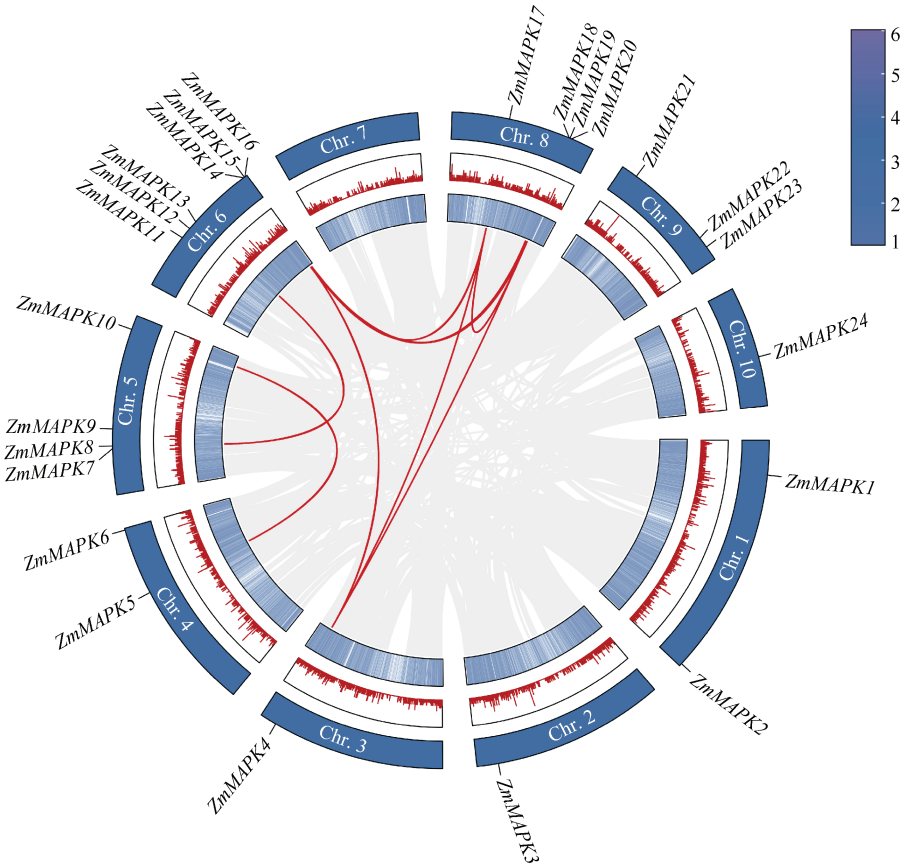
引物名称 Primer name	正向序列 Forward sequence (5'–3')	反向序列 Reverse sequence (5'–3')
ZmMAPK12 CDS	CTCGAAAGCAACCCAAAACTC	TGAATGGCACCGTCTCCTG
ZmMAPK22 CDS	CCGCCCATCAACGACTAGA	TGCCCGTATGCCCAACA
ZmMAPK23 CDS	CACTTTCTCGCTACCTTCCTC	TATGGTTCGGAACTGACGAG
ZmMAPK24 CDS	AGCTCTGCTTAGGTCTCACA	AGATCCAATCTTTCGTGCCC

附表 3 亚细胞定位载体构建引物序列
Table S3 Primer sequences for constructing subcellular localization vectors

引物名称 Primer name	引物序列 Primer sequence (5'–3')	限制性内切酶 Restriction enzyme
CPB-GFP-*ZmMAPK12*-F	ACTCTAGAGGATCGGTCACCATGGACGGCGGGGGGCAG	*Bam*H I
CPB-GFP-*ZmMAPK12*-R	CGGGCCCGCGGTACGGTGACCTGGTAATCTGGGTTGAA	
CPB-GFP-*ZmMAPK22*-F	ACTCTAGAGGATCGGTCACCATGGATTCCTCCGGCGGC	

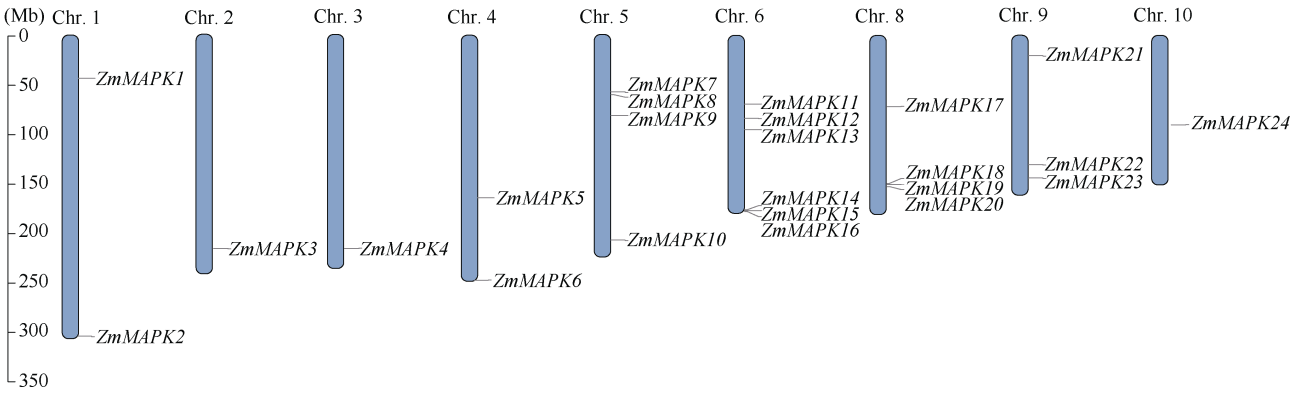
(续附表 3)

引物名称 Primer name	引物序列 Primer sequence (5'–3')	限制性内切酶 Restriction enzyme
CPB-GFP-*ZmMAPK22*-R	CGGGCCCGCGGTACGGTGACGTAGGGAGGCTCTGGGTT	*Bam*H I
CPB-GFP-*ZmMAPK23*-F	ACTCTAGAGGATCGGTCACCATGAGCGGAGGAGGCGTG	
CPB-GFP-*ZmMAPK23*-R	CGGGCCCGCGGTACGGTGACGTATCGGAAGTTGGGGTT	
CPB-GFP-*ZmMAPK24*-F	ACTCTAGAGGATCGGTCACCATGCAGCACGACCAGAAG	
CPB-GFP-*ZmMAPK24*-R	CGGGCCCGCGGTACGGTGACCCAGTGACCACCACGACT	



附图 1　染色体位置和片段重复分布

Fig. S1　Chromosomal locations and distribution of segmentally duplicated genes



附图 2　*ZmMAPK* 基因在玉米染色体上的分布

Fig. S2　Chromosomal distribution of *ZmMAPK* genes in maize



附图 3 玉米 MAPKs 保守基序

Fig. S3 Conserved motifs in maize MAPKs