

·特邀综述·

玉米抗旱性的遗传解析

王子阳, 刘升学, 杨志蕊, 秦峰*

中国农业大学生物学院, 植物抗逆高效全国重点实验室, 北京 100193

摘要 玉米(*Zea mays*)是我国第一大粮食作物, 干旱是玉米生长发育过程中主要的非生物胁迫因子, 直接造成玉米产量与品质降低, 甚至威胁粮食安全。目前全球气候变化导致极端天气事件频发, 加剧了对玉米生产的不良影响。因此, 鉴定玉米抗旱种质资源、解析干旱胁迫应答的分子机制和培育抗旱品种至关重要。该文总结了近年来运用全基因组关联分析、数量性状位点基因克隆和多组学联合分析等方法在玉米抗旱性遗传解析方面取得的研究进展, 介绍了玉米抗旱性遗传改良分子设计育种的可能途径, 并对玉米抗旱性遗传解析及改良的发展方向进行了展望。

关键词 玉米, 抗旱性, 遗传解析, 基因克隆, 遗传改良

王子阳, 刘升学, 杨志蕊, 秦峰 (2024). 玉米抗旱性的遗传解析. 植物学报 59, 883–902.

1 我国玉米生产现状

我国是重要的玉米(*Zea mays*)生产国和消费国, 玉米的主要种植区为东北平原和黄淮海地区。据美国农业部统计数据, 我国玉米种植面积和总产量仅次于美国, 居世界第2位。玉米生产对我国粮食安全和农业可持续发展具有举足轻重的作用, 提高玉米单位面积产量以满足国内玉米需求对保障我国粮食安全尤为重要。国家统计局统计数据显示, 2021–2023年我国玉米种植面积保持在约 $4.3 \times 10^7 \text{ hm}^2$, 产量保持在 $2.7 \times 10^8 \text{ t}$ 以上, 种植面积与产量在谷物中的比重保持在40%以上。然而, 随着全球气候变化, 干旱成为影响我国作物产量的重要环境胁迫因素。根据2023年国务院新闻办公室发布的报告, 2012–2023年我国作物年均干旱受灾面积占非生物胁迫受灾面积的25%以上, 严重时甚至超过50%, 每年因干旱造成的粮食减产约为 $1.25 \times 10^8 \text{ kg}$ (国家统计局, 2023) (图1)。玉米是需水量大且对干旱胁迫敏感的旱地作物, 干旱是限制玉米产量和品质的重要因素。因此, 揭示玉米抗旱性的遗传机制、克隆关键抗旱基因和提高玉米抗旱能力, 一直是玉米抗旱性遗传改良的关键问题 (Singh and Laxmi, 2015; 赵坤, 2019; Sun et al., 2023)。

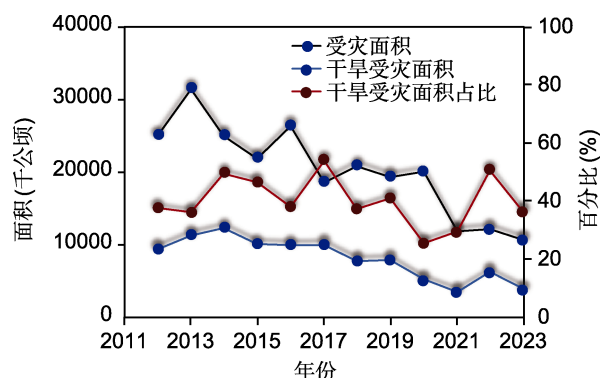


图1 2012–2023年全国作物干旱受灾面积占总非生物胁迫受灾面积的百分比(数据来源于《中国统计摘要2023》)

Figure 1 Percentage of crop affected by drought out of all abiotic stress in China from 2012 to 2023 (data were obtained from China Statistical Abstract 2023)

2 抗旱性

在受到干旱胁迫后, 植物体内会发生一系列生理变化 (图2), 以维持其营养和生殖生长, 这种能力称为抗旱性。植物包括多种抗旱性机制, 如逃旱性、避旱性和耐旱性(Kooyers, 2015; Krannich et al., 2015; Gupta et al., 2020)。逃旱性指植物在干旱条件下提前开花、

收稿日期: 2024-06-07; 接受日期: 2024-07-23

基金项目: 国家自然科学基金(No.32171940, No.32272024)

* 通讯作者。E-mail: qinfeng@cau.edu.cn

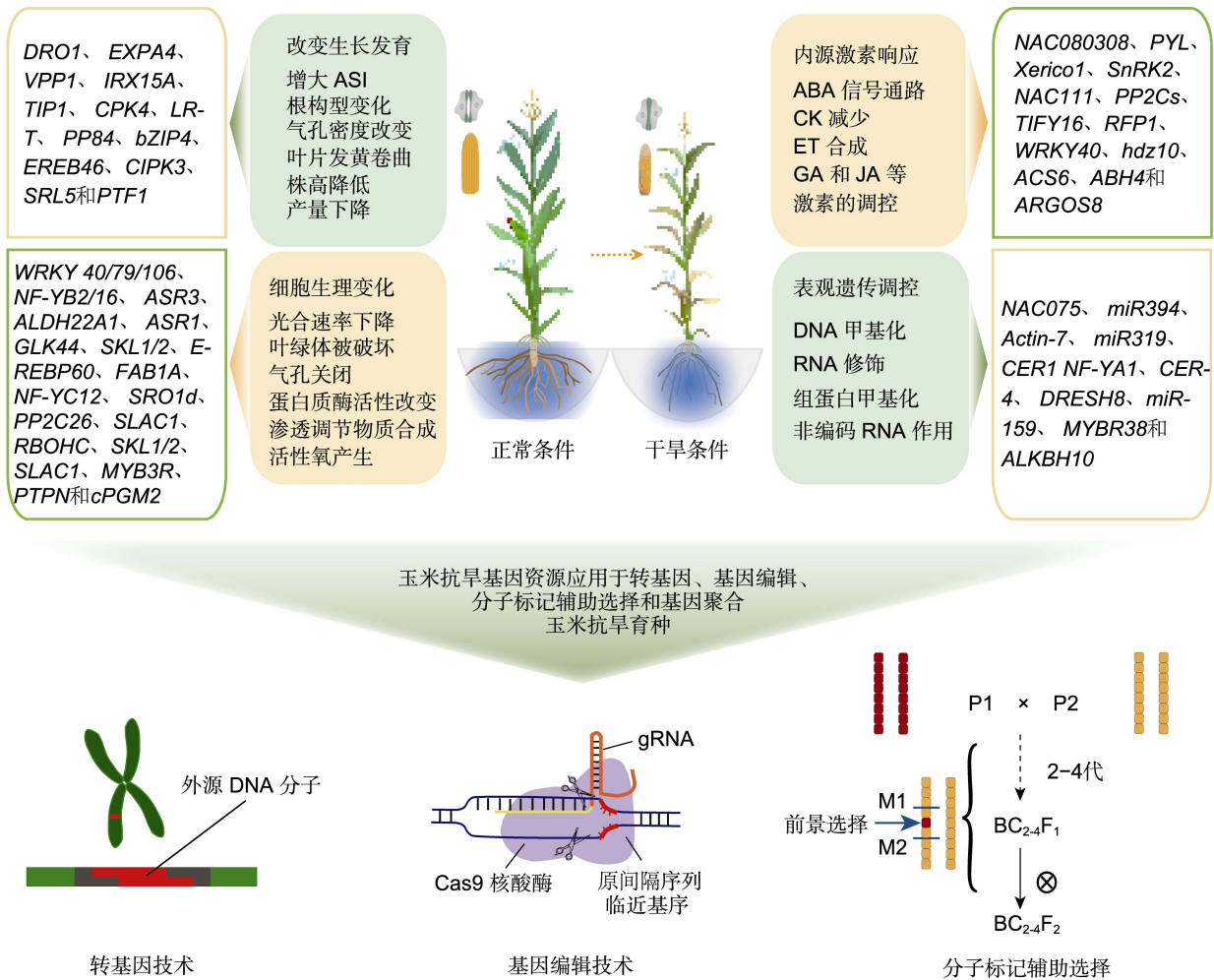


图2 玉米应答干旱胁迫不同途径及抗旱性遗传改良的可能途径
P1: 携带抗旱基因的亲本; P2: 抗旱性待改良的轮回亲本。基因均来自玉米基因组。为书写简化, 图中基因名前省略了“Zm”和“Zea mays”。ABA: 脱落酸; CK: 细胞分裂素; ET: 内皮素; GA: 赤霉素; JA: 茉莉酸; ASI: 散粉与吐丝间隔期; M1和M2: 分子标记

Figure 2 Different ways of maize response to drought stress and potential approaches of genetic improvement of drought resistance
P1: Donor parent with drought resistant genes; P2: The recurrent parent with excellent agronomic traits but drought resistance that needs improvement. All the genes are cloned from *Zea mays*. For simplicity, 'Zm' and 'Zea mays' are omitted in gene names. ABA: Absciscic acid; CK: Cytokinin; ET: Endothelin; GA: Gibberellin; JA: Jasmonic acid; ASI: Anthesis and silking interval; M1, M2: Molecular marker

结实, 减少从营养阶段过渡到生殖发育阶段所需时间, 以确保成功完成生命周期(Kooyers, 2015; Shavruk et al., 2017)。避旱性指植物通过各种方法避开干旱对机体的影响。例如, 通过调节根系结构、气孔开闭和木质部导水等方式, 减少水分流失, 增加水分吸收(Kooyers, 2015; Kramp et al., 2022)。耐旱性指植物通过在其组织中积累渗透保护剂、抗氧化酶和激素等物质, 以维持细胞的水分含量和氧化还原平衡, 从而保护细胞的结构和功能(Kooyers, 2015)。目前已

报道多个与玉米抗旱相关的基因(表1)。

2.1 干旱胁迫对植物生长发育的影响

2.1.1 对根系生长发育的影响

植物根系活力是反映根系吸收、合成、氧化还原能力及生长发育情况的综合指标, 揭示植物根系生长与土壤水分及其环境之间的动态变化关系。在干旱少雨地区, 根系一般具有根系深和分支夹角小的特点, 利于植株获取深层土壤水分; 然而, 浅根系有利于在降水

表1 已报道的玉米抗旱基因及其主要功能

Table 1 Drought-resistant genes identified in maize and the main functions

抗旱基因	基因功能	参考文献
ABH4	编码脱落酸8 ⁺ 羟化酶, 调控脱落酸的水平	Blankenagel et al., 2022
ACS6	编码ACC合酶	Young et al., 2004
ALDH22A1	编码醛脱氢酶	Huang et al., 2008
ARGOS8	乙烯反应的负调控因子	Shi et al., 2017
ASR1	调控支链氨基酸的生物合成	Virlouvet et al., 2011
ALKBH10	编码m ⁶ A脱甲基酶	Miao et al., 2020
bZIP4	促进侧根数量增加和主根伸长	Ma et al., 2018
CIPK3	提高干旱胁迫下种子根的长度	Li et al., 2023
cPGM2	编码磷酸葡萄糖变位酶, 参与糖代谢	Wu et al., 2021
CPK4	参与钙信号转导及脱落酸介导的气孔关闭	Jiang et al., 2013
DRESH8	产生siRNA, 调控干旱应答和种子大小基因的表达	Sun et al., 2023
DRO1	根尖向重力性和根系构型	Feng et al., 2022
EREB46	叶片表皮蜡质积累	Yang et al., 2022a
EXPA4	促进雌穗生长, 减小干旱诱导产生的散粉和吐丝时间间隔	Liu et al., 2021a
FAB1A	编码1-磷脂酰肌醇-4-磷酸-5-激酶, 参与磷酸肌醇代谢	Wu et al., 2021
GLK44	调控玉米的色氨酸合成	Zhang et al., 2021
IRX15A	负调控叶片的气孔密度	Zhang et al., 2023b
LRT	抑制玉米侧根的起始和伸长	Zhang et al., 2023c
NAC111	调控气孔关闭, 提高水分利用效率	Mao et al., 2015
NF-YA1	茉莉酸信号转导、组蛋白修饰和染色质重塑	Yang et al., 2022b
PP2C26	负调控脱落酸信号转导	Lu et al., 2022
PP84	抑制气孔关闭	Guo et al., 2023
PTF1	促进根系发育和脱落酸合成	Li et al., 2019b
PTPN	编码新型核苷酸酶	Zhang et al., 2020a
RBOHC	编码NADPH氧化酶	Gao et al., 2022
RFP1	编码E3连接酶	Xia et al., 2012
Rtn16	编码网状蛋白, 增强液泡H ⁺ -ATPase活性	Tian et al., 2023
SKL1/2	减少干旱下活性氧(reactive oxygen species, ROS)的积累	Liu et al., 2023
SRL5	参与角质层蜡质结构的形成	Pan et al., 2020
SRO1d	提高气孔的ROS含量, 促进气孔关闭	Gao et al., 2022
TIFY16	与茉莉酸信号途径的MYC2互作	Zhang et al., 2023a
TIP1	编码S-酰基转移酶, 促进根毛伸长	Zhang et al., 2020b
VPP1	编码质膜H ⁺ -ATPase, 促进根系发育	Wang et al., 2016
WRKY106	增强抗氧化相关酶活性, 降低ROS含量	Wang et al., 2018b
WRKY40	增强抗氧化相关酶活性, 降低ROS含量	Wang et al., 2018c
WRKY79	促进脱落酸的生物合成	Gulzar et al., 2021
Xerico1	调控脱落酸的代谢稳态	Brugière et al., 2017

所有基因均来自玉米基因组。为书写简化, 表格中基因名前省略了“Zm”和“Zea mays”。
All the genes are cloned from *Zea mays*. For simplicity, ‘Zm’ and ‘Zea mays’ are omitted in gene names.

频繁, 并且每次降雨量较小的土壤中获取水分 (Gupta et al., 2020)。强大的根系有利于植物吸收土壤中的水分, 促进植物的生长发育。Ogura等(2019)

利用生长素运输抑制剂处理不同拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)生态型, 以植物根系的生长方向为表型, 通过全基因组关联分析鉴定到EXOCYST70A3 (EXO-

CYST COMPLEX COMPONENT 70 FAMILY MEMBER A3)基因, 该基因通过调节PIN4 (PIN-FORMED 4)蛋白水平影响植物根系的生长方向, 决定根系构型, 增强植株对于干旱胁迫的抗性。水稻(*Oryza sativa*) **DRO1 (DEEPER ROOTING 1)**是控制根系生长角度的数量性状位点, 受生长素调控, 参与根尖细胞的伸长, 导致根部不对称生长及在重力作用下的向下弯曲(Uga et al., 2013)。玉米中, 利用脱落酸(abscisic acid, ABA)诱导的启动子驱动**ZmDRO1**的表达, 能有效提高玉米的避旱能力(Feng et al., 2022)。Wang等(2016)通过全基因组关联分析克隆了与玉米苗期抗旱性显著相关的基因**ZmVPP1 (VACUOLAR PROTON-PUMPING PYROPHOSPHATASE 1)**, 该基因可促进根系发育、增加侧根数目、提高叶片光合和水分利用效率, 进而增强玉米的抗旱能力。**ZmTIP1 (TONOPLAST INTRINSIC PROTEIN 1)**启动子的自然变异与玉米幼苗的抗旱性存在明显的关联。该基因编码一个S-酰基转移酶, 能够介导**ZmCPK9 (CALCIUM-DEPENDENT PROTEIN KINASE 9)**蛋白修饰和细胞膜定位, 正向调控根毛伸长(Zhang et al., 2020b)。Zhang等(2023c)以玉米自交系Zong3 (侧根多)和87-1(侧根少)为亲本构建了重组自交系群体, 通过精细定位以及基因编辑技术对候选基因**ZmLRT (LATERAL ROOT)**进行功能研究, 发现该基因对玉米侧根的起始和伸长具有抑制作用, 负调控玉米的抗旱性。**ZmbZIP4 (BASIC LEUCINE ZIPPER TRANSCRIPTION FACTOR 4)**过表达植株通过调节ABA合成和根系发育促进玉米的抗逆性(Ma et al., 2018)。**ZmCIPK3 (CALCINEURIN B-LIKE PROTEIN INTERACTING PROTEIN KINASE 3)**通过提高干旱下种子根的长度增强玉米苗期的抗旱性(Li et al., 2023)。**ZmPTF1 (PHOSPHATE STARVATION-INDUCED BHLH TRANSCRIPTION FACTOR 1)**通过促进根系发育和ABA合成调节玉米的抗旱性(Li et al., 2019b)。近期, Yu等(2024)利用根系可视化技术和根系结构功能模型量化了种子根变化对整个根系形态及水分吸收的影响, 并通过应用全基因组关联分析和基因编辑技术挖掘出控制种子根数目的关键基因**ZmHB77 (HOMEODOMAIN-TRANSCRIPTION FACTOR 77)**。该基因通过减少种子根数量, 提高侧根密度影响根系构型, 增强玉米幼苗的抗旱性。Ren等(2022)通过全基

因组关联分析和基于根系转录组的共表达分析, 发掘到81个玉米根系构型候选基因, 并明确了其中2个候选基因(**ZmRSA3.1 (ROOT SYSTEM ARCHITECTURE 3.1)**和**ZmRSA3.2 (ROOT SYSTEM ARCHITECTURE 3.2)**)通过与生长素响应因子互作来调控玉米根系生长角度与深度的功能。

2.1.2 对气孔密度和气孔运动的影响

干旱条件下, 植物通过降低气孔密度和开度, 减少蒸腾作用造成的水分散失, 增强抗旱性(Hetherington and Woodward, 2003; Pourghayoumi et al., 2017)。降低蒸腾作用造成的水分流失和提高水分利用效率是植物应对水分缺乏的两个关键措施。研究发现**OsDT11 (DROUGHT TOLERANCE 11)**、**OsEPF1 (EPIDERMAL PATTERNING FACTOR 1)**、**TaHXK3-2A (HXKOL-TYPE K⁺ CHANNEL 3-2A)**以及**HvEPF1 (EPIDERMAL PATTERNING FACTOR 1)**通过调控作物的气孔密度, **OsERA1 (ENHANCED RESPONSE TO ABA 1)**通过调控作物的气孔开度来提高叶片的水分利用效率, 增强植物在干旱条件下的保水能力(Caine et al., 2019)。Zhang等(2023b)通过全基因组关联分析, 发现**ZmIRX15A (IRREGULAR XYLEM 15A)**可通过调节气孔密度, 影响玉米的抗旱性。**ZmCPK4 (CALCIUM-DEPENDENT PROTEIN KINASE 4)**则参与钙介导的信号转导及ABA介导的气孔闭合(Jiang et al., 2013)。**ZmPP84 (PROTEIN PHOSPHOTASE 84)**通过作用于**ZmMEK1-ZmSIMK1 (MITOGEN-ACTIVATED PROTEIN KINASE KINASE 1-SALT-INDUCED MITOGEN-ACTIVATED PROTEIN KINASE 1)**信号转导途径抑制气孔关闭, 从而负调控玉米的抗旱性(Guo et al., 2023)。此外, **ZmICE2 (INDUCER OF CBF EXPRESSION 2)**主要通过影响细胞分裂和分化来促进气孔发育, 参与调控玉米生长发育和逆境适应(周文期等, 2023)。

2.1.3 对叶片形态及表面蜡质的影响

干旱胁迫下, 植物常通过减小冠部面积, 降低蒸腾作用。严重干旱时, 叶片会出现卷曲, 呈现萎蔫, 这可能是由于细胞内水势降低, 导致细胞膨压下降所致。干旱条件下, 细胞分裂减慢或停止且生长受到抑制, 因此受到干旱危害的植物通常会长的较为矮小。由于水分不足, 不同器官或组织的水分会根据水势重新分

配,老叶较早脱落。小而厚的叶片、小而密的气孔、更多的表皮毛状体、较厚的角质层表皮、较高的栅栏与海绵状薄壁厚度比值等生理性结构有利于增强植物的抗旱性。表皮角质层上的蜡质可形成水分屏障,防止非气孔部分的水分流失(Castorina et al., 2020; Yang et al., 2022a)。此外,气孔处的蜡覆盖增加了气体扩散的阻力,从而降低了气孔导度、蒸腾和光合作用,同时表皮蜡质有助于防止强光对植物造成损伤。在拟南芥中,过表达玉米转录因子ZmEREB46 (APETA-LA2/ETHYLENE-RESPONSIVE ELEMENT-BINDING PROTEIN 46)可增加叶片表皮蜡质的积累,从而在减少水分散失和增强保水能力方面发挥作用,提高植株的抗旱性(Yang et al., 2022a)。GL6 (GLOSSY 6)蛋白可能参与角质层蜡质的细胞内运输,其基因突变产生的突变体表皮蜡质减少,角质层通透性增加,幼苗的抗旱性下降(Li et al., 2019a)。ZmSRL5 (SEMI-ROLLED LEAF 5)对角质层蜡质结构的形成至关重要,且通过维持适当的玉米角质层蜡质结构来增强抗旱性(Pan et al., 2020)。

2.1.4 对生殖生长与发育的影响

玉米作为雌雄同株异花植物,雄性和雌性花序发育的协调性对成功授粉和籽粒形成起着决定性作用,对玉米产量尤为重要。当玉米雌雄穗分化时遭遇干旱胁迫,其散粉(雄穗成熟)和吐丝(雌穗成熟)时期会产生明显的时间间隔(anthesis and silking interval, ASI),从而影响雌花授粉,导致严重的产量损失。相较于雄穗,干旱胁迫对雌穗发育的影响更为明显。干旱胁迫可推迟雌穗发育和减缓花丝生长速度,导致ASI增大(Liu et al., 2021a)。在花丝伸长期,干旱严重抑制生长素、光合作用、细胞壁前体合成酶和大量细胞伸长生长相关基因的表达。这些基因下调表达可能最终影响花丝的伸长速率。通过对细胞伸长生长相关基因的候选基因进行关联分析,发现一个扩张蛋白基因ZmEXPA4 (EXPANSIN A4)可在不影响株高等性状的前提下显著减小干旱胁迫诱导产生的ASI (Liu et al., 2021a)。干旱条件下,植物会优先保证具有一定发育优势的花粉和胚珠的发育,牺牲其它发育较弱部分。电子显微镜下观察发现,干旱胁迫对玉米花粉和花丝表面超微结构均产生明显的影响。随着干旱胁迫强度的加剧,玉米花粉外壳和内壳形成网纹形泡状突起;花丝表面

形成明显的“垄”形结构,绝大多数薄壁细胞表面形成凹陷,花丝毛明显减少,几乎所有剩余的花丝毛均倒伏于花丝表面。花粉和花丝表面超微结构的变化对花粉管进入花丝维管束鞘细胞造成障碍,加之干旱胁迫下,花粉和花丝超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性降低,自由基清除能力下降,膜脂过氧化作用的终产物丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量剧增,生物膜受到直接伤害,造成有效花粉数目减少,花粉和花丝活力下降,授粉不良,出现大量不育粒,导致产量降低(宋凤斌和戴俊英, 2004)。

2.2 干旱胁迫对细胞生理的影响

2.2.1 引起光合速率下降

干旱条件下,植物光合速率下降,降低的原因可分为气孔限制及非气孔限制两类。气孔限制是指干旱胁迫初期,气孔导度减小,胞间CO₂浓度降低,导致光合速率下降。非气孔限制是指随着干旱胁迫的加剧,叶绿体内核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶(ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase, Rubisco)活性和1,5-二磷酸核酮糖(ribulose-1,5-bisphosphate, RuBP)再生能力均降低,导致光合速率下降(高冠龙等, 2018)。叶绿素是叶绿体中最重要光合色素,在光能吸收、传递与转换中发挥核心作用,其含量在植物体内处于动态变化,并且一定程度上能反映植物的同化能力,与作物光合作用及产物的形成密切相关。水分缺乏会抑制叶绿素的合成,并影响蛋白质的合成,严重缺水还会加速叶绿素分解,导致植物叶片发黄。ZmPP2C26 (TYPE 2C PROTEIN PHOSPHATASE 26)通过去磷酸化降低ZmMAPK3 (MITOGEN-ACTIVATED PROTEIN KINASE 3)和ZmMAPK7 (MITOGEN-ACTIVATED PROTEIN KINASE 7)的激酶活性。该基因敲除突变体具有抗旱表型。对ZmPP2C26过表达材料的磷酸化蛋白质组研究发现,ZmPP2C26影响的磷酸化蛋白主要富集在光合作用中,与光合作用中的碳固定和丙酮酸代谢有关,可降低玉米的光合效率,负调控玉米的抗旱性(Lu et al., 2022)。

2.2.2 促进渗透保护物质的合成

渗透保护剂是植物在渗透胁迫下产生的物质,能在不干扰植物正常代谢的情况下保护蛋白质的稳定性并减轻细胞膜系统受到的胁迫。氨基酸(如色氨酸和脯

氨酸)、多元醇/糖(如海藻糖、果聚糖和甘露醇)和季胺(甜菜碱以及多胺)组成渗透调节中的三大类物质。*ZmGLK44* (GOLDEN2-LIKE 44)蛋白识别并结合到*TSB2* (*TRYPTOPHAN SYNTHASE BETA-SUBUNIT 2*)的启动子区,促进其表达,从而调控玉米的色氨酸合成途径,维持干旱下色氨酸更高水平的合成,过表达*ZmGLK44*能提高植株干旱下的存活率及水分利用率(Zhang et al., 2021)。植物在干旱胁迫下产生大量的脯氨酸,其不仅可作为渗透调节物质,还可作为复水后直接利用的氮源。脯氨酸通过其疏水端与一些大分子的疏水端结合,亲水端与水分子结合,增强了大分子对水的亲和力,防止其脱水引起的变性作用。同时,水分胁迫期间产生的氨转入脯氨酸可起解毒作用。*TaERF87* (*ETHYLENE-RESPONSE FACTOR 87*)和*TaAKS1* (*ABSCISIC ACID-STIMULATED BHLH TRANSCRIPTION FACTOR 1*)协同调节*TaP5CS1* (Δ -1-PYRROLINE-5-CARBOXYLATE SYNTHETASE)/*TaP5CR1* (Δ -1-PYRROLINE-5-CARBOXYLATE REDUCTASE)介导脯氨酸的生物合成,以增强小麦(*Triticum aestivum*)的抗旱性(Du et al., 2023)。干旱胁迫下,甜菜碱参与调节维持光合作用的结构和活性,减轻膜受损程度。Li等(2021b)研究发现,高温胁迫下甜菜碱有益于PSII的修复循环及减轻光抑制,表明甜菜碱在提高植物对逆境胁迫的抗性中起重要作用。

2.2.3 促使活性氧产生

干旱胁迫发生时常伴随氧化应激响应中活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生。其中,过氧化物酶体、线粒体、内质网和叶绿体等细胞器是ROS在细胞内产生的场所。NADPH氧化酶又称RBOH (RESPIRATORY BURST OXIDASE HOMOLOGUE),定位于细胞质膜,主要产生胞外过氧化氢(Qi et al., 2018)。然而,干旱胁迫下,由于电子供应失衡,植物在各种细胞器中产生的ROS无法及时清除,积累的ROS会造成氧化胁迫,打破氧化还原平衡,过多的ROS导致膜蛋白或者酶的空间构象改变、增加膜的通透性、破坏叶绿素,导致植物体内代谢紊乱,乃至严重损伤甚至死亡(Gill and Tuteja, 2010)。为保护细胞免受过量ROS的危害,维持体内的氧化还原平衡,植物体进化出一系列抗氧化防御机制,包括SOD、抗坏

血酸(ascorbic acid, ASA)、过氧化物酶(peroxidase, POD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPX)以及谷胱甘肽(glutathione, GSH)等还原性物质(Apel and Hirt, 2004; Mittler et al., 2011)。另外,花青素、细胞色素f、黄酮和生育酚等组成非酶促抗氧化体系(Apel and Hirt, 2004; Gill and Tuteja, 2010)。迄今,植物可通过抵消胞内过度积累的ROS以及增强早期ROS信号转导促进气孔关闭2种途径来提高其抗旱能力(de Carvalho, 2008; Hou et al., 2009; Reguera et al., 2012)。*ZmASR3* (*ABSCISIC ACID-, STRESS-, AND RIPENING-INDUCED PROTEIN 3*)在拟南芥中过表达可降低干旱胁迫下的MDA含量,增加叶片的相对含水量及脯氨酸含量,促进叶片气孔关闭,增强SOD和CAT活性,减少ROS含量,推测其可能通过ABA信号通路来提高玉米的抗旱性(Liang et al., 2019)。*ZmSKL1* (SHIKIMATE KINASE-LIKE GENE 1)和*ZmSKL2*可分别与*ZmASR3*互作,提高SOD和CAT活性,减少ROS积累(Liu et al., 2023)。在玉米中过表达*ZmSRO1e* (*SIMILAR TO RCD1 ONE 1E*)会抑制花青素的生物合成和ROS清除,造成ROS积累,使其对非生物胁迫更加敏感(Qin et al., 2021)。Gao等(2022)鉴定到的*ZmSRO1d-R* (*SIMILAR TO RCD1 ONE 1D-RESISTANT*)能够与*Zm14-3-3.1* (14-3-3 PROTEIN 1)互作并定位到质膜,通过对*ZmRBOHC*的单ADP-核糖基化修饰,提高保卫细胞内的ROS含量,促进气孔关闭,从而正调控玉米的抗旱性(Gao et al., 2022)。*ZmNF-YB16* (*NUCLEAR FACTOR Y SUBUNIT B16*)过表达可增加编码抗氧化酶、抗氧化合成酶和与内质网胁迫反应相关的分子伴侣的基因表达,改善光合作用系统II的保护机制,在玉米的抗旱性中发挥重要作用(Wang et al., 2018a)。*ZmPTPN* (*PTP-LIKE NUCLEOTIDASE*)通过编码一个新型核苷酸酶参与抗坏血酸(ASA) (清除过量ROS)合成的限速步骤,同时该基因表达受到ABA信号途径下游关键转录因子HsFA6a (*HEAT SHOCK TRANSCRIPTION FACTOR 6A*)的直接调控,介导了ABA信号途径与ASA合成途径之间的联系(Zhang et al., 2020a)。*ZmWRKY79* (*WRKY TRANSCRIPTION FACTOR 79*)通过提高ABA的生物合成正向调节抗旱性,促进ROS清除,从而减少H₂O₂和MDA的积累并增加抗氧

化酶活性(Gulzar et al., 2021)。Wang等(2018b, 2018c)通过研究玉米干旱转录组测序数据, 发现*ZmWRKY40*和*ZmWRKY106*均通过增强干旱胁迫下SOD、POD和CAT活性, 降低转基因株系中的ROS含量。*ZmMYB3R* (*MYB TRANSCRIPTION FACTOR 3R*)能提高CAT、POD和SOD活性, 增强对ABA的敏感性, 通过ABA依赖途径提高对干旱胁迫的耐受性(Wu et al., 2019)。*ZmEREBP60* (*ETHYLENE RESPONSIVE ELEMENT BINDING PROTEIN 60*)通过调控H₂O₂分解代谢和ABA信号通路中的基因表达, 增强玉米对干旱胁迫的耐受性(Zhu et al., 2022)。*ZmNF-YC12* (*NUCLEAR FACTOR Y SUBUNIT C12*)是调节抗旱性的转录激活因子基因。将该基因沉默后, 净光合作用、叶绿素含量、抗氧化剂、可溶性蛋白和脯氨酸含量均降低, MDA含量和失水率增加, 玉米的抗旱性下降(Cao et al., 2023)。干旱逆境时, 脂膜过氧化导致MDA积累, 使蛋白质和核酸变性, 膜流动性降低, 膜透性增强。Huang等(2008)在玉米中鉴定到*ZmALDH22A1* (*ALDEHYDE DEHYDROGENASE 22, FAMILY MEMBER A1*), 其编码一个593个氨基酸残基的醛脱氢酶, 在降低胁迫下产生的醛类化合物的毒害作用中发挥重要作用(Huang et al., 2008)。

2.3 干旱胁迫对基因表达的影响

应对不同的环境胁迫, 植物形成了独特而又复杂的信号转导途径, 以响应并适应环境变化, 调节生长发育。外界环境刺激信号被细胞质膜上的感受器感知后, 信号转导途径层层传递, 增强干旱应答基因的表达(Zhu, 2002)。植物干旱应答的分子机制是一个复杂的调控网络, 涉及多个基因、信号分子和转录因子之间的互作。干旱条件下, 植物内源激素变化的总趋势是促进生长的激素减少, 延缓或抑制生长的激素增加, 主要表现为ABA大量积累, 细胞分裂素减少, 刺激乙烯产生, 并通过这些变化影响其它生理过程。ABA积累的主要生理效应是促进气孔关闭, 防止水分进一步散失; 细胞分裂素的减少可降低细胞分裂和增殖; 乙烯增加引起落叶落果, 减轻负担(高辉等, 2013)。

根据信号转导途径是否受到ABA诱导可分为ABA依赖和ABA非依赖2种。*ZmNAC080308* (*NAC TRANSCRIPTION FACTOR 080308*)基因启动子同

时含有ABRE (ABA RESPONSIVE ELEMENT BINDING PROTEIN)和DRE (DEHYDRATION RESPONSIVE ELEMENT), 可通过茎中的ABA依赖途径和根系中的ABA非依赖途径对干旱胁迫做出反应(Wang et al., 2021)。植物细胞感知干旱胁迫后, 体内ABA含量迅速增加, 触发一系列信号传递过程, 并激活干旱应答基因的表达。由于响应干旱的主要途径是ABA依赖的信号转导, ABA信号通路中的基因被认为是改良抗旱性状的重要靶点。*SnRK2* (*SUCROSE NON-FERMENTING-1-RELATED PROTEIN KINASE 2*)、*PP2C* (*TYPE 2C PROTEIN PHOSPHATASE*)和*PYR/PYL/RCAR* (*PYRABACTIN RESISTANCE/PYR1-LIKE/REGULATORY COMPONENTS OF ABA RECEPTOR*)家族共同构成ABA信号级联反应通路(Fujii et al., 2009; Ma et al., 2009; Park et al., 2009)。*PYL/PYR/RCAR*是ABA的受体蛋白, 在ABA不存在时, *PP2C*家族成员*ABI1/2*与*SnRK2s*家族成员*SnRK2.6/OST1*互作形成复合物, 抑制*OST1*的活性。干旱胁迫下, 植物新合成或释放的ABA与*PYR/PYL/RCAR*和*PP2C*相互作用形成复合体, 抑制*PP2C*的活性, 进而激活*OST1*蛋白。*OST1*作为蛋白激酶能磷酸化并激活ABA应答的核心转录因子*AREB* (*ABA RESPONSIVE ELEMENT BINDING PROTEIN*)/*ABF* (*ABRE BINDING FACTORS*), 进而启动下游大量ABA应答基因的表达(Armstrong et al., 1995; Park et al., 2009; Kim et al., 2010; Lebaudy et al., 2010; Soma et al., 2020)。研究发现玉米中的*ZmPYLs*、*ZmSnRK2s*和*ZmPP2Cs*等基因参与干旱应答途径(Wang et al., 2018d)。Xiang等(2017)利用368份玉米自交系组成的关联群体, 围绕*ZmPP2C-A*基因家族进行候选基因关联分析, 鉴定到1个与耐旱性密切相关的干旱响应基因*ZmPP2C-A10*。研究发现, 玉米的耐旱程度与*ZmPP2C-A10*的表达水平呈负相关。*ZmPP2C-A10*的5'UTR区域中*ERSE* (*ENDOPLASMIC RETICULUM STRESS RESPONSE ELEMENT*)的缺失使*ZmPP2C-A10*表达缺失, 植物的耐旱性增强, 该发现证明了ER胁迫信号与耐旱性有关(Xiang et al., 2017)。与其它*ZmPYL*基因相比, 过表达*ZmPYL8*、*ZmPYL9*和*ZmPYL12*的转基因株系的抗旱性更强, 脯氨酸在转基因株系中的积累及与干旱相关基因表达的增强证实, *ZmPYL*在植物抗旱中起正调控作用(He et al., 2018)。*ZmRFP1* (*RING-FINGER*

*PROTEIN 1*编码一个E3泛素连接酶,以植物与环境互动的方式影响植物的生长发育,参与干旱胁迫应答反应(Xia et al., 2012)。*ZmHDZ9 (HD-ZIP TRANSCRIPTION FACTOR 9)*通过调节ABA以及木质素的积累促进玉米的抗旱性(Jiao et al., 2024)。*ZmHDZ10 (HD-ZIP TRANSCRIPTION FACTOR 10)*可通过ABA依赖信号通路正向调节植物的抗旱性(Zhao et al., 2014)。*ZmABH2 (ABSCISIC ACID 8'-HYDROXYLASE 2)*在催化ABA氧化降解的第1步反应中发挥作用。*ZmABH4 (ABSCISIC ACID 8'-HYDROXYLASE 4)*编码ABA 8'-羟化酶,通过调节ABA的水平影响相关的表型变化(Blankenagel et al., 2022)。*ZmXerico1 (RING-H2 FINGER PROTEIN 1)*蛋白定位于内质网,通过调节内质网定位的ABA 8'-羟化酶蛋白的稳定性来控制ABA的稳态(Brugière et al., 2017)。在干旱应答网络中,多个基因在非ABA依赖途径调控中被DREB (DEHYDRATION RESPONSIVE ELEMENT BINDING)和NAC (NAM-ATAF-C-UC2)转录因子诱导表达(Singh and Laxmi, 2015)。*TaDTG6-B*编码DREB转录因子,且研究发现该基因抗旱等位基因型编码的蛋白直接与*TaPIF1 (PHYTOCHROME-INTERACTING FACTOR 1)*启动子上的DRE/CRT (C-REPEAT)顺式作用元件结合,增强其表达以提高抗旱性(Mei et al., 2022)。Mao等(2015)研究发现,*ZmNAC111*的表达可以提高玉米苗期的抗旱性。除上述关键调控蛋白外,参与植物抗旱反应的还包括MYC、DELLA、NF-Y、WRKY以及ERF (ETHYLENE RESPONSIVE FACTOR)等转录因子(Singh and Laxmi, 2015)。有研究表明,MYC2是JA信号转导的重要调控蛋白,*ZmTIFY16*转录因子可与*ZmMYC2*互作影响JA信号转导,从而影响植物的抗旱性(Zhang et al., 2023a)。

JA信号转导途径可与ABA途径发生交互,在植物干旱响应中发挥作用(Kazan and Manners, 2013)。此外,赤霉素和乙烯分别受DELLA和ERF类转录因子调控,参与植物的干旱胁迫应答(Wan et al., 2011)。*ZmACS6 (ACC SYNTHASE 6)*编码玉米ACC合酶(乙烯合成关键酶),缺失该基因可促进光合作用,延缓干旱诱导的衰老;同时,在干旱胁迫下,叶片的叶绿素、Rubisco和可溶性蛋白水平均有所升高(Young et al., 2004)。

2.4 应答干旱胁迫的表观遗传调控

2.4.1 DNA甲基化

作为一种重要的表观遗传修饰,DNA甲基化在调节植物发育过程、逆境胁迫响应和维持基因组稳定性等方面发挥重要作用。对抗旱玉米材料CIMBL55甲基化组测序分析,发现部分位于基因转录起始位点附近的插入序列具有高水平的CHH甲基化,并富含DNA类转座子。在干旱敏感材料中,*ZmNAC075*上游存在2个插入序列,具有较高的甲基化状态,可能会抑制其表达,进而影响抗旱性(Tian et al., 2023)。*ZmNAC111*启动子区的1个82 bp的MITE (miniature inverted-repeat transposable element)插入导致其附近区域DNA甲基化和组蛋白修饰H3K9me2水平上升,抑制*ZmNAC111*的表达,从而降低玉米的抗旱性(Mao et al., 2015)。有研究表明,轻度干旱诱导植物的DNA甲基化变化,但这些变异并未被遗传。因此,推测轻度的干旱胁迫可能不会诱导跨代表观遗传效应(Van Dooren et al., 2020)。

2.4.2 RNA修饰(m⁶A)

m⁶A修饰是一种重要的表观遗传调控方式。干旱胁迫下,m⁶A去甲基化酶基因*ZmALKBH10 (ALKB HOMOLOG 10)*表达上调,导致m⁶A水平显著降低,尤其是与胁迫相关的基因,如与脂肪酸代谢相关的基因*CER4 (ECERIFERUM4)*和与蜡质生物合成相关的基因*CER1 (ECERIFERUM1)*。在干旱胁迫下,这些基因可能对维持植物的生长发育和能量平衡至关重要(Miao et al., 2020)。

2.4.3 组蛋白甲基化

组蛋白甲基化是组蛋白甲基转移酶和组蛋白去甲基化酶的动态调节过程。一般来说,组蛋白甲基化标记H3K4me2、H3K4me3和H3K79me3促进转录过程;H3K9me2、H3K9me3、H3K27me2、H3K27me3和H4K20me3则抑制转录。组蛋白甲基化还影响染色体结构及与其它蛋白质的结合。一些组蛋白甲基化位点与DNA修复过程相关,可与参与DNA修复的蛋白结合,从而调控植株的抗旱性(宋博研和朱卫国, 2011)。*ZmNF-YA1 (NUCLEAR FACTOR Y SUBUNIT A1)*是植物干旱响应的正调节因子,参与玉米根系发育。*zmnf-ya1*突变体抗逆性变化的原因可能是*ZmNF-*

YA1介导的茉莉酸信号转导、组蛋白修饰和染色质重塑中的转录调控(Yang et al., 2022b)。

2.4.4 非编码RNA

在真核生物中,除蛋白质编码RNA外,还存在大量的非编码RNA,其中lncRNA (long non-coding RNA)在基因表达调控中行使功能(Yu et al., 2020)。一些lncRNA也参与调控玉米对胁迫的响应。例如, T-CONS_00012662是玉米miR167j的前体,由基因间区编码的lncRNA,表达受干旱胁迫诱导(Zhang et al., 2014)。miRNA在玉米对于干旱胁迫的响应中起重要作用,miR159、miR394和miR319可能与根发育相关,从而影响玉米对于干旱胁迫的响应(Tang et al., 2022)。DRESH8 (DROUGHT-RELATED ENVIRONMENT-SPECIFIC SUPER EQTL HOTSPOT ON CHROMOSOME 8)是一个含有长末端反向重复结构的转座子,能产生大量长度为22 nt的siRNA,进而调控干旱抗性基因*ZmMYBR38* (*MYB-RELATED PROTEIN 38*)的表达,参与干旱胁迫应答(Sun et al., 2023)。

3 玉米抗旱性的遗传解析

3.1 全基因组关联分析

全基因组关联分析(genome-wide association study, GWAS)是一种用于识别遗传区域(基因组片段)与性状间关联程度的统计方法。该方法通过检测生物个体基因组中数百或上千万的DNA变异,使用合适的统计模型鉴定与特定表型具有显著关联的变异位点。GWAS的理论基础是基因座位间的遗传连锁不平衡(linkage disequilibrium, LD),利用LD来研究DNA变异与性状之间的关系(Flint-Garcia et al., 2003)。由于玉米基因组LD衰退较快,运用关联分析的方法可在较短时间内高精度地确定与表型关联程度高的候选基因。Wang等(2016)对368份玉米自交系的苗期干旱存活率进行了GWAS,鉴定到42个与苗期抗旱性相关的候选基因(Wang et al., 2016)。Liu等(2021a)以228份玉米自交系在正常生长和干旱处理下的ASI为表型进行GWAS,鉴定到29个SNPs及其对应的候选基因可能与玉米开花期的抗旱性密切相关。

3.2 DNA混池测序与QTL克隆

DNA混池测序(bulked segregant analysis, BSA)是一种快速定位或克隆由单基因突变导致的质量性状或由主效基因控制的数量性状位点的方法。随着二代测序(next-generation sequencing, NGS)技术的发展,BSA因快速的定位能力和超高的性价比被广泛应用。目前主要有MutMap、MutMap+、MutMap-Gap和QTL-seq四种分析方法(周文期等, 2022)。它们的基本原理相同,即针对研究的目标性状,选择表型差异显著的亲本构建分离群体(或家系群体),再从分离群体中选取一定数量目标性状表型极端的单体,混合构建2个DNA池。通常以双亲的DNA为对照,基于2个极端表型个体的DNA混池的高通量测序,根据不同极端表型组间SNP频率的差异进行基因定位(周文期等, 2022)。MutMap及其衍生分析方法常适用于质量性状,对于数量性状,可采用QTL-seq方法进行基因定位。与MutMap分析方法相比,QTL-seq要求每个混池的样本数较多,测序深度也更大,以提高定位的准确度和精度(Takagi et al., 2013; Lu et al., 2014)。QTL-seq定位技术的快速发展为玉米株型和根系等性状的基因定位研究提供了一种快速确定目标区域和候选基因的方法。此外,经典的QTL定位是数量性状位点遗传解析和基因克隆的有效途径,能定位影响复杂数量性状的多个基因。QTL的实质也是确定分子标记与QTL之间的连锁关系,基本原理是QTL与连锁标记的共分离。当分子标记与某一性状的QTL连锁时,不同标记基因型个体的表型值将存在显著差异。通过分析表型间差异,可推断与分子标记连锁的QTL的位置和效应,即定位。定位结果可用于辅助育种选择,提高选择效率(Lynch, 1995)。高世斌等(2005)对田间2种水分条件下的玉米根数目、根重与产量的QTL进行了鉴定,发现虽然在正常条件下根性状与产量不存在显著正相关,但在干旱条件下根重与产量呈显著正相关,且在第4号和7号染色体上发现了与产量相关的QTL位点。

GWAS和QTL均是利用分子标记对群体进行分析,然后利用统计学方法推断分子标记与性状间的关联程度。GWAS一般以自然变异群体为材料,不依赖杂交创造重组,而是依靠群体的历史重组信息。因此,利用GWAS进行基因定位耗时短,但定位结果容易

受到群体结构的影响。QTL定位则需构建专门的定位群体,一般是高世代的遗传重组群体,不受群体结构的影响,但需花费较长时间。

3.3 多维组学分析助力抗旱基因鉴定

3.3.1 转录组学分析

表达数量性状基因座(expression quantitative trait loci, eQTL)是将基因表达作为一种数量性状进行研究的方法,旨在探明哪些DNA序列的差异可导致特定基因的表达水平改变。eQTL也可通过GWAS方法从大规模样本中检测单个基因变异(如SNP)与表型之间的关联。该分析涉及单个SNP与单个基因表达之间的关联性,以DNA变异位点为自变量,每个基因的mRNA为因变量,逐一进行线性回归分析,通过大量个体数据样本分析,得出每个SNP位点与每个基因表达量之间的关系(Nica and Dermitzakis, 2013)。此外,全转录组关联研究(transcriptome-wide association study, TWAS)是一种结合全基因组关联研究和基因表达数据的分析方法,用于检测基因表达水平与表型变异之间的关联。TWAS可在小样本中估计基因型对基因表达的影响,这些估算的调控程度随后用于建立基因表达水平与性状之间的关联。TWAS受LD的影响更小,表明TWAS在LD衰减速度较慢的基因组中具有显著优势(Li et al., 2021a)。基于基因分析, TWAS比GWAS具有更低的多重比较压力,分析结果呈现为特定基因形式,生物学意义更直接,便于功能研究和结果转化。从GWAS转换到TWAS无须额外的样本测试,利用成熟的人工智能分析方法,预测结果越来越准确(Gusev et al., 2016; Wainberg et al., 2019)。TWAS比GWAS更进一步增大了我们寻找复杂性状基因的可能性。此外, eQTL结合孟德尔随机化分析(Mendelian randomization analysis, MR)可鉴定与抗旱性相关的eQTL。MR是基于遗传变异的因果推断方法,以基因型数据为桥梁,预测基因表达水平与性状之间的因果关联,实现“基因型-基因表达量-性状”的联合分析。MR可利用两步最小二乘法,分别估计基因型与基因表达量及基因型与性状的遗传效应,再建立基因表达量与性状的关联。有研究利用孟德尔随机化分析寻找能通过改变基因表达量使抗旱性发生改变的遗传位点。对224份玉米自交系进行干旱胁迫处理,选择叶片样品相对含水量分别约为97%

(WW)、70% (WS1)和58% (WS2)时取样,进行大规模的转录组分析后,通过基因表达量的GWAS分析,鉴定到73 573个eQTLs。进一步利用干旱胁迫下存活率的表型数据进行MR,鉴定出97个基因是由于DNA变异导致基因表达量的差异,从而导致植株的抗旱性改变。该研究实现了基因型-表达量-表型3个维度的联合分析(Liu et al., 2020)。

3.3.2 代谢组学分析

代谢组全基因组关联研究(metabolome genome-wide association study, mGWAS)是以质谱分析获得的代谢组数据为表型,与基因型数据进行关联分析的一种分析方法(Wen et al., 2014)。mGWAS的研究方法与GWAS类似,是将代谢物含量作为表型性状与基因位点进行关联。然而, mGWAS具有自己独特的优势。首先,一般性状的表型测定复杂,特别是数量性状表型,易受环境影响,人为测量可能存在偏差,其次表型本身变化不稳定。相比之下,代谢物含量的测定更加稳定和单一,减少了数据分析难度,代谢物充当了中间桥梁作用。mGWAS的研究思路是首先,选取具有广泛遗传变异和代谢物多样性的自然群体样本,并收集样本的基因型数据(如SNP数据)和代谢组数据(通过代谢组学实验测定)。其次,对基因型数据进行质量控制。例如,去除缺失值过多和不符合哈迪-温伯格平衡的位点等,对代谢组数据进行预处理,包括数据标准化、归一化和去除批次效应等。然后,利用基因型数据和代谢组数据进行mGWAS分析,寻找与代谢物变异显著相关的基因型位点(如SNP),这些位点可能与代谢物合成、代谢或调节途径中的关键基因有关。最后,通过基因克隆、表达分析和突变体研究等方法,进一步验证候选基因的功能,并探究其调控代谢物的机理(Wen et al., 2014)。Virilouvet等(2011)通过整合转录组、蛋白质组和代谢组分析,揭示ASR1 (ABSCISIC ACID-, STRESS-, AND RIPE-NING-INDUCED PROTEIN 1)对支链氨基酸生物合成的影响,表明13种ASR1依赖性代谢物在促进叶片生长和提高籽粒产量中发挥作用。这些代谢物可能作为信号分子或能量来源,促进植物在水分胁迫下的适应性。有研究利用385份具有广泛遗传变异的玉米自然群体,使用超高效液相色谱-电喷雾电离串联质谱技术获得了正常浇水和干旱条件下群体的代谢谱数

据, 发掘到群体内1 035个干旱响应的特异代谢物。研究者结合mGWAS和转录组数据分析, 揭示了代谢物介导的玉米抗旱遗传机制, 发掘并鉴定到一些参与玉米抗旱过程的候选基因(Zhang et al., 2021)。

3.3.3 表型组学分析

近年来, 以智能化、高通量和动态无损测量为主要特征的表型组学技术迅猛发展, 使得多时空多尺度表型检测成为可能, 并可实现作物全生育期表型的动态精准鉴定。Wu等(2021)基于高通量作物表型平台, 结合高光谱、微型CT (computed tomography)和RGB多光学成像技术, 对368份玉米自然变异群体材料在多个生长期、正常浇水和干旱胁迫下的玉米表型进行了连续无损检测, 并自主研发多光学图像批处理程序分析和提取图像性状(image-based traits, i-traits), 通过筛选最终获得10 080个与干旱胁迫相关的i-traits, 结合GWAS分析鉴定到2 318个与干旱胁迫相关的候选基因, 结合候选基因通路富集分析结果构建了基因与图像性状关联网络。为验证候选基因在抗旱性上的生物学功能, 进一步从候选基因中确定了2个未知抗旱功能的基因cPGM2 (CYTOSOLIC PHOSPHOGLUCOMUTASE)以及FAB1A (1-PHOSPHATIDYLINOSITOL-4-PHOSPHATE 5-KINASE OR FORMS APLOID AND BINUCLEATE CELLS 1), 并进行了实验验证。cPGM2编码胞质磷酸葡萄糖变位酶, 参与糖代谢, 影响光合速率和水分利用效率, 负调控玉米的抗旱性。FAB1A编码1-磷脂酰肌醇-4-磷酸5-激酶, 参与磷酸肌醇代谢, 影响光合速率、气孔导度、蒸腾速率和水分利用效率。研究团队对干旱胁迫响应相关i-traits进行了分析, 发现15个i-traits能有效预测玉米在干旱胁迫后的存活率。这15个i-traits与已知光谱指数高度相关, 暗示它们可作为潜在的响应干旱胁迫的生物标记, 在玉米抗旱育种改良中具有重要的应用潜力。该研究提出了一种新的玉米抗旱基因挖掘策略(Wu et al., 2021)。

4 玉米抗旱性的遗传改良

4.1 转基因育种

转基因技术是将外源目标基因导入并整合到生物体基因组中, 从而改善生物性状或赋予新的优良性状。

例如, 增强*Rtn16* (*RETICULON 16*)基因表达的转基因材料显著提高玉米苗期和全生育期的抗旱性, 在田间干旱胁迫下, 其产量高于对照, 且正常条件下产量不受影响(Tian et al., 2023)。Nelson等(2007)应用转基因技术, 将含水稻肌动蛋白启动子以及*NF-YB2* (*NUCLEAR FACTOR Y SUBUNIT B2*)基因的载体转入玉米基因组中, 在肌动蛋白启动子驱动下, *NF-YB2*基因在玉米植株中组成型表达。通过对叶绿素含量、气孔导度、叶片温度以及维持光合作用等参数的响应数据进行分析, 显示过表达*NF-YB2*的转基因玉米植株的干旱耐受能力增强。Nuccio等(2015)通过将1个在穗部特异表达的启动子与编码水稻海藻糖-6-磷酸酯酶的基因*TPP* (*TREHALOSE 6-PHOSPHATE PHOSPHATASE*)连接, 实现了*TPP*在玉米雌穗的特异性表达, 在增强穗部*TPP*基因效应的同时, 避免了其功能的多效性。在玉米穗中过表达编码*TPP*的基因, 降低了海藻糖-6-磷酸(一种调节生长和发育的糖信号)浓度, 增加了玉米雌穗中的蔗糖浓度, 提高了抗旱性。多个地点和多个季节的田间数据表明, 与非转基因对照相比, 转基因玉米在非干旱或轻度干旱条件下的产量提高9%–49%, 在严重干旱条件下产量提高31%–123%。通过多年多点田间试验, 明确了转基因材料抗旱性的稳定性(Nuccio et al., 2015)。

4.2 基因编辑育种

基因编辑技术可针对基因组特定位置, 进行DNA序列的替换、切除和增加, 达到按照预定目标实现DNA序列改变的目的(Doudna and Charpentier, 2014)。基因编辑技术具有高效、可控和定向操作的特点。以CRISPR/Cas9系统为主的基因编辑技术, 已在多个物种中应用。在玉米花序建成中, *CLV* (*CLAVATA*)-*WUS* (*WUSCHEL*)的表达对分生组织的分化以及维持至关重要。玉米*CLE7* (*CLAVATA3/EMBRYO SURROUNDING REGION-RELATED 7*)和*FCP1* (*FON2-LIKE CLE PROTEIN 1*)是一类短肽信号分子, 该类分子将信号传递给*TD1* (*THICK TASSEL DWARF 1*)、*FEA2* (*FASCIATED EAR 2*)及*FEA3* (*FASCIATED EAR 3*), 并通过它们抑制*WUS*基因的表达, 精准调控花序分生组织的发育。研究者利用CRISPR/Cas9系统, 对*CLE7*和*FCP1*启动子区域进行DNA序列编辑, 从而精细调控下游基因的表达水平, 平衡其在花

序发育中的功能,提高单株玉米籽粒产量,创制玉米高产等位基因(Liu et al., 2021b)。玉米ARGOS8 (*AUXIN REGULATED GENE INVOLVED IN ORGAN SIZE 8*)编码乙烯反应的负调控因子,过表达该基因可降低乙烯的敏感性,在干旱条件下提高玉米产量。利用CRISPR/Cas9技术将玉米组成型表达基因GOS2的启动子序列插入ARGOS8基因的5'非翻译区或直接替换该基因的启动子,能使ARGOS8基因的表达量升高。与野生型相比,ARGOS8过表达植株在干旱条件下的产量明显增加(Shi et al., 2017)。

4.3 分子标记辅助选择育种

分子标记辅助选择(molecular marker-assisted selection, MAS)是指借助分子标记对目标性状的基因型进行选择,根据与目标基因紧密连锁的分子标记的基因型来确定目标基因的基因型(金锐等, 2021)。后代选择是作物育种中最重要的环节之一。表型选择具有周期长、效率低和准确性易受环境影响等缺点。MAS可根据DNA序列差异,快速准确地进行基因型选择,其优势包括: (1) 可直接检测作物的基因型及准确鉴定目标基因存在与否; (2) 对种质资源进行全面且高效的评估和利用,快速筛选出具有目标基因的材料; (3) 能对由隐性基因控制的性状位点进行选择; (4) 能在短时间内完成大规模筛选,缩短选择时间,提高选择效率。对表型鉴定周期长和难度大的性状, MAS优势尤其明显(郭莹等, 2023)。

在回交育种后代选择中, DNA标记的广泛应用可提高选择效率。回交选择涉及3个方面(Ribaut and Ragot, 2007): (1) 目标基因前景选择,尤其适合于传统育种中费时费力且难以选择的表型性状; (2) 重组选择,即回交后代中重组事件的选择,目的是获得供体染色体片段,减少连锁累赘; (3) 背景选择,即选择具有最大回交亲本染色体比率的测交后代。利用传统育种恢复轮回亲本至少需要回交6–7代,且产生连锁累赘的可能性大,利用标记回交选择则仅需回交2–4代,并能减小连锁累赘效应。借助分子标记,对源自中国小麦育种系KM2939的广谱显性抗白粉基因Pm2b (*POWDERY MILDEW RESISTANCE 2B*)进行前景和背景选择,通过回交将其渗入石麦15、石新828和科农199易感品种,增强其抗白粉病能力。在选定的种群中,通过适当的回交世代和背景选择标记

数,在3个不同的遗传背景中确认了Pm2b基因的渗入,并评估了抗白粉病情况和农艺性状(Xu et al., 2017)。因此,在玉米抗旱性遗传改良中,可利用现有的玉米抗旱基因资源,通过分子标记辅助选择和回交育种,快速将抗旱基因渗入到优良玉米品种中,从而改良现有优良品种的抗旱性,创制新品种。

此外, MAS还可辅助基因聚合育种,将多个基因通过选择集成到1个作物品种中。Schneider等(1997)利用5个抗旱性的RAPD标记对大豆(*Glycine max*)进行改良,获得的改良系在同等干旱条件下产量有所提高。因此,可在玉米中选择多个表型优越的抗旱基因聚合到现有的高产品种中,叠加不同基因的功能,对多基因控制的数量性状达到更好的改良效果。将抗旱基因ZmVPP1和ZmNAC111的转基因过表达株系进行杂交,获得了2个基因叠加的双价转基因材料。与野生型相比, 2个抗旱基因共表达的玉米幼苗表现出更高的光合速率、抗氧化酶活性和根冠比,缺水条件下,开花-吐丝间隔较短,籽粒产量较高(Liu et al., 2022)。

4.4 全基因组选择育种

全基因组选择(genomics selection, GS)育种是利用覆盖全基因组的高密度遗传标记和表型,针对主效和微效基因,对个体育种值进行估计并进行选择的技术(Nakaya and Isobe, 2012; Xu et al., 2012)。可通过早期选择缩短世代间隔,提高育种值估计的准确性,加快遗传进程,尤其对低遗传力和难测定的复杂性状具有较好的预测效果,实现了基因组技术指导育种实践(尹立林等, 2019)。GS利用SNP对个体进行基因型分析,并结合相关遗传模型和统计方法更好地利用效应值较小的QTL (Heffner et al., 2009)。与表型选择相比, GS在后续测试群体中可根据基因型对表型的预测,筛除大部分后代个体,仅对表型预测值较高的后代进行表型鉴定。因此,采用GS策略育种能极大地减少表型测定的样本量和费用。GS方法具有很高的灵活性,不仅能应用于双亲群体、多亲群体和轮回选择群体,也适用于杂交种育种。Zhao等(2013)利用GS方法成功预测了杂交小麦的表型,双亲均被测验过的杂交种表型的预测精度最高。类似发现也在预测玉米杂交种表型的研究中得到验证(Massman et al., 2013),并为其它作物遗传育种规律的解析和优良基

因挖掘提供了有益借鉴。

5 玉米抗旱品种的研发与应用

5.1 国际发展状况

鉴于增强玉米抗旱性的重要性,大型国际种业公司在该研究领域均进行了提前布局 and 大量研发投入,并先后推出相关生物技术产品。2013年,美国科迪华公司(原杜邦-先锋公司)推出抗虫、耐除草剂以及抗旱玉米品种AQUAmax。该品种通过分子标记辅助设计育种技术,在抗虫和耐除草剂性状基础上,叠加了多个抗旱基因,成为杜邦-先锋公司的主销品种。该公司根据多地点的性状表型数据及分子标记指纹图谱,构建了产量等农艺性状的基因组预测模型。在正常和干旱胁迫环境下,对杂交种产量及农艺性状进行评估,培育成AQUAmax系列78个杂交种。与主栽品种相比,AQUAmax在限水条件下(2 006个地点)的产量平均高出6.5%,在正常条件下(8 725个地点)的产量平均高出1.9%。说明AQUAmax杂交种不仅在干旱条件下表现出色,在正常条件下也具有较好的丰产性(Gaffney et al., 2015)。2022年,先正达公司(现中国化工-先正达集团公司)利用玉米抗旱分子标记辅助选择设计育种,推出Artesian系列抗虫、耐除草剂和抗旱玉米品种。与对照相比,该系列品种的散粉和吐丝协调性更好,结实率更高,提高了干旱条件下的玉米产量。拜耳公司(原孟山都公司)开发的转耐旱基因玉米DroughtGard携带细菌冷激蛋白*cspB* (*COLD SHOCK PROTEIN B*)基因,在2010年12月获美国食品药品监督管理局批准用于食品和饲料生产;2009–2010年间,干旱条件下,DroughtGard比对照品种(Monsanto hybrid NH6212)增产约7.3%–11.7%。2012年美国农业部解除对其管制,2013年我国批准其进入转基因玉米进口名单(Nemali et al., 2015)。

5.2 国内发展状况

我国已选育出多个抗旱玉米品种,其中包括由河南省农业科学院粮食作物研究所选育的杂交品种郑单958以及由辽宁东亚种业有限公司选育的玉米品种东单1331。郑单958株型紧凑、根系发达、抗倒伏、耐干旱并耐高温。东单1331具有较好的抗旱和耐高温特性。除上述品种外,我国还选育了其它多种抗旱玉米

品种,如龙高L2、烟单17号、良硕88和隆玉369,为保障我国玉米产量稳定做出了贡献。然而,这些抗旱品种的选育大多通过传统育种途径,选育周期长且几乎完全依靠育种者的个人经验。

6 研究展望

全球气候变化导致世界区域性旱灾频发,干旱严重威胁着世界粮食安全。现阶段玉米抗旱研究多集中在高校和科研机构,且主要是在实验室或温室等特定环境条件下对苗期或营养生长期进行抗旱表型鉴定,克隆了系列潜在有利用价值的抗旱基因。但是,抗旱性作为一种复杂的性状,在实际农业生产中容易受到多种因素的影响,包括干旱发生的时期、程度和持续时间。基础研究与育种实践二者关注的重点往往不一致,导致两者间存在差距,甚至脱节。因此,基础研究取得的成果在育种实践中的应用相对滞后。另外,在植物抗逆性和生长发育之间可能存在平衡调控的机制,这意味着在提高作物抗旱性的同时,可能会对其生物量或产量造成不利影响。许多作物的野生亲缘植物虽然表现出较强的抗旱性,但其产量能力通常较差。相反,一些丰产性高的品种可能抗旱性不强。在保证作物高产性状的同时提高抗旱性,这对抗旱基因的评价和利用提出了更高的要求。因此,未来玉米抗旱性的基础研究应与实际需求相结合,明确与玉米稳产直接相关的抗旱性状,且除在实验室可控条件下开展抗旱性解析外,还应增加在大田环境下进行抗旱基因的克隆和育种价值评价。今后不仅要作物的抗旱机制进行深入研究,还应深入揭示不同抗旱性状与植株生长发育间的互作和平衡关系。建立和完善玉米抗旱性评价体系,包括生理生化指标和田间表现评价,为育种提供准确的参考依据。促进农业科学、分子生物学和气象学等多学科交叉合作,研究玉米在不同环境胁迫下的适应性。制定并执行长期的育种计划,持续跟踪和评估新品种的田间表现,确保育种目标与农业生产实际需求相符合。此外,还应通过国际合作项目,引入先进的育种理念和技术,提升国内的育种水平。

总之,躬身实践并不断加强基础理论研究和育种实践的交流与合作,才能产出真正有价值的科研成果,提升我国农业科技研发和种业创新实力,为我国和世界农业生产稳定及可持续发展做出贡献。

作者贡献声明

王子阳: 构思并撰写论文; 刘升学: 修改论文并提出建议; 杨志蕊: 图片修改; 秦峰: 修改论文并对综述整体结构、语言表述及图片构思提出建议。

参考文献

- 高冠龙, 冯起, 张小由, 司建华, 鱼腾飞 (2018). 植物叶片光合作用的气孔与非气孔限制研究综述. *干旱区研究* **35**, 929–937.
- 高辉, 张红芳, 袁思安, 李小婷 (2013). 植物内源激素对干旱胁迫的响应研究. *绿色科技* (11), 5–7.
- 高世斌, 冯质雷, 李晚忱, 荣廷昭 (2005). 干旱胁迫下玉米根系性状和产量的QTLs分析. *作物学报* **31**, 718–722.
- 国家统计局 (2023). 中国统计摘要-2023. 北京: 中国统计出版社. pp. 1–212.
- 郭莹, 化青春, 虎梦霞, 王勇, 袁俊秀, 杨芳萍 (2023). 分子标记辅助选择在作物育种中的应用及展望. *寒旱农业科学* **2**, 785–790.
- 金锐, 张从合, 朱全贵, 苏法 (2021). 分子标记辅助选择在玉米抗病和抗虫育种上的应用. *安徽农业科学* **49**(16), 10–15.
- 宋博研, 朱卫国 (2011). 组蛋白甲基化修饰效应分子的研究进展. *遗传* **33**, 285–292.
- 宋凤斌, 戴俊英 (2004). 干旱胁迫对玉米花粉和花丝表面超微结构及两者活力的影响. *吉林农业大学学报* **26**, 1–5.
- 尹立林, 马云龙, 项韬, 朱猛进, 余梅, 李新云, 刘小磊, 赵书红 (2019). 全基因组选择模型研究进展及展望. *畜牧兽医学报* **50**, 233–242.
- 赵坤 (2019). 我国玉米生产现状及发展趋势. *新农业* (12), 49.
- 周文期, 刘忠祥, 王晓娟, 何海军, 周玉乾, 杨彦忠, 连晓荣, 李永生 (2022). 利用BSA-Seq方法快速定位作物农艺性状QTL/基因概述. *甘肃农业科技* **53**(4), 1–10.
- 周文期, 周玉乾, 李永生, 何海军, 杨彦忠, 王晓娟, 连晓荣, 刘忠祥, 胡筑兵 (2023). 玉米ZmICE2基因调控气孔发育. *植物学报* **58**, 866–881.
- Apel K, Hirt H (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu Rev Plant Biol* **55**, 373–399.
- Armstrong F, Leung J, Grabov A, Brearley J, Giraudat J, Blatt MR (1995). Sensitivity to abscisic acid of guard-cell K^+ channels is suppressed by *abi1-1*, a mutant *Arabidopsis* gene encoding a putative protein phosphatase. *Proc Natl Acad Sci USA* **92**, 9520–9524.
- Blankenagel S, Eggels S, Frey M, Grill E, Bauer E, Dawid C, Fernie AR, Haberer G, Hammerl R, Barbosa Medeiros D, Ouzunova M, Prestler T, Ruß V, Schäufele R, Schlüter U, Tardieu F, Urbany C, Urzinger S, Weber APM, Schön CC, Avramova V (2022). Natural alleles of the abscisic acid catabolism gene *ZmAbh4* modulate water use efficiency and carbon isotope discrimination in maize. *Plant Cell* **34**, 3860–3872.
- Brugière N, Zhang WJ, Xu QZ, Scolaro EJ, Lu C, Kahsay RY, Kise R, Trecker L, Williams RW, Hakimi S, Niu XP, Lafitte R, Habben JE (2017). Overexpression of RING domain E3 ligase ZmXerico1 confers drought tolerance through regulation of ABA homeostasis. *Plant Physiol* **175**, 1350–1369.
- Caine RS, Yin XJ, Sloan J, Harrison EL, Mohammed U, Fulton T, Biswal AK, Dionora J, Chater CC, Coe RA, Bandyopadhyay A, Murchie EH, Swarup R, Quick WP, Gray JE (2019). Rice with reduced stomatal density conserves water and has improved drought tolerance under future climate conditions. *New Phytol* **221**, 371–384.
- Cao LR, Ma CC, Ye FY, Pang YY, Wang GR, Fahim AM, Lu XM (2023). Genome-wide identification of *NF-Y* gene family in maize (*Zea mays* L.) and the positive role of *ZmNF-YC12* in drought resistance and recovery ability. *Front Plant Sci* **14**, 1159955.
- Castorina G, Domergue F, Chiara M, Zilio M, Persico M, Ricciardi V, Horner DS, Consonni G (2020). Drought-responsive *ZmFDL1/MYB94* regulates cuticle biosynthesis and cuticle-dependent leaf permeability. *Plant Physiol* **184**, 266–282.
- de Carvalho MHC (2008). Drought stress and reactive oxygen species: production, scavenging and signaling. *Plant Signal Behav* **3**, 156–165.
- Doudna JA, Charpentier E (2014). Genome editing. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. *Science* **346**, 1258096.
- Du LY, Huang XL, Ding L, Wang ZX, Tang DL, Chen B, Ao LJY, Liu YL, Kang ZS, Mao HD (2023). TaERF87 and TaAKS1 synergistically regulate TaP5CS1/TaP5CR1-mediated proline biosynthesis to enhance drought tolerance in wheat. *New Phytol* **237**, 232–250.
- Feng XJ, Jia L, Cai YT, Guan HR, Zheng D, Zhang WX, Xiong H, Zhou HM, Wen Y, Hu Y, Zhang XM, Wang QJ, Wu FK, Xu J, Lu YL (2022). ABA-inducible *DEEPER*

- ROOTING 1* improves adaptation of maize to water deficiency. *Plant Biotechnol J* **20**, 2077–2088.
- Flint-Garcia SA, Thornsberry JM, Buckler ES (2003). Structure of linkage disequilibrium in plants. *Annu Rev Plant Biol* **54**, 357–374.
- Fujii H, Chinnusamy V, Rodrigues A, Rubio S, Antoni R, Park SY, Cutler SR, Sheen J, Rodriguez PL, Zhu JK (2009). *In vitro* reconstitution of an abscisic acid signaling pathway. *Nature* **462**, 660–664.
- Gaffney J, Schussler J, Löffler C, Cai WG, Paszkiewicz S, Messina C, Groetke J, Keaschall J, Cooper M (2015). Industry-scale evaluation of maize hybrids selected for increased yield in drought-stress conditions of the US corn belt. *Crop Sci* **55**, 1608–1618.
- Gao HJ, Cui JJ, Liu SX, Wang SH, Lian YY, Bai YT, Zhu TF, Wu HH, Wang YJ, Yang SP, Li XF, Zhuang JH, Chen LM, Gong ZZ, Qin F (2022). Natural variations of *ZmSRO1d* modulate the trade-off between drought resistance and yield by affecting ZmRBOHC-mediated stomatal ROS production in maize. *Mol Plant* **15**, 1558–1574.
- Gill SS, Tuteja N (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol Biochem* **48**, 909–930.
- Gulzar F, Fu JY, Zhu CY, Yan J, Li XL, Meraj TA, Shen QQ, Hassan B, Wang Q (2021). Maize WRKY transcription factor ZmWRKY79 positively regulates drought tolerance through elevating ABA biosynthesis. *Int J Mol Sci* **22**, 10080.
- Guo YZ, Shi YB, Wang YL, Liu F, Li Z, Qi JS, Wang Y, Zhang JB, Yang SH, Wang Y, Gong ZZ (2023). The clade F PP2C phosphatase ZmPP84 negatively regulates drought tolerance by repressing stomatal closure in maize. *New Phytol* **237**, 1728–1744.
- Gupta A, Rico-Medina A, Caño-Delgado AI (2020). The physiology of plant responses to drought. *Science* **368**, 266–269.
- Gusev A, Ko A, Shi H, Bhatia G, Chung W, Penninx BW, Jansen R, de Geus EJ, Boomsma DI, Wright FA, Sul-livan PF, Nikkola E, Alvarez M, Civelek M, Lusi AJ, Lehtimäki T, Raitoharju E, Kähönen M, Seppälä I, Raitakari OT, Kuusisto J, Laakso M, Price AL, Pajukanta P, Pasaniuc B (2016). Integrative approaches for large-scale transcriptome-wide association studies. *Nat Genet* **48**, 245–252.
- He ZH, Zhong JW, Sun XP, Wang BC, Terzaghi W, Dai MQ (2018). The maize ABA receptors ZmPYL8, 9, and 12 facilitate plant drought resistance. *Front Plant Sci* **9**, 422.
- Heffner EL, Sorrells ME, Jannink JL (2009). Genomic selection for crop improvement. *Crop Sci* **49**, 1–12.
- Hetherington AM, Woodward FI (2003). The role of stomata in sensing and driving environmental change. *Nature* **424**, 901–908.
- Hou X, Xie KB, Yao JL, Qi ZY, Xiong LZ (2009). A homolog of human ski-interacting protein in rice positively regulates cell viability and stress tolerance. *Proc Natl Acad Sci USA* **106**, 6410–6415.
- Huang WZ, Ma XR, Wang QL, Gao YF, Xue Y, Niu XL, Yu GR, Liu YS (2008). Significant improvement of stress tolerance in tobacco plants by overexpressing a stress-responsive *aldehyde dehydrogenase* gene from maize (*Zea mays*). *Plant Mol Biol* **68**, 451–463.
- Jiang SS, Zhang D, Wang L, Pan JW, Liu Y, Kong XP, Zhou Y, Li DQ (2013). A maize calcium-dependent protein kinase gene, *ZmCPK4*, positively regulated abscisic acid signaling and enhanced drought stress tolerance in transgenic *Arabidopsis*. *Plant Physiol Biochem* **71**, 112–120.
- Jiao P, Jiang ZZ, Miao M, Wei XT, Wang CL, Liu SY, Guan SY, Ma YY (2024). Zmhdz9, an HD-Zip transcription factor, promotes drought stress resistance in maize by modulating ABA and lignin accumulation. *Int J Biol Macromol* **258**, 128849.
- Kazan K, Manners JM (2013). MYC2: the master in action. *Mol Plant* **6**, 686–703.
- Kim TH, Böhmer M, Hu HH, Nishimura N, Schroeder JI (2010). Guard cell signal transduction network: advances in understanding abscisic acid, CO₂, and Ca²⁺ signaling. *Annu Rev Plant Biol* **61**, 561–591.
- Kooyers NJ (2015). The evolution of drought escape and avoidance in natural herbaceous populations. *Plant Sci* **234**, 155–162.
- Kramp RE, Liancourt P, Herberich MM, Saul L, Weides S, Tielbörger K, Májeková M (2022). Functional traits and their plasticity shift from tolerant to avoidant under extreme drought. *Ecology* **103**, e3826.
- Krannich CT, Maletzki L, Kurowsky C, Horn R (2015). Network candidate genes in breeding for drought tolerant crops. *Int J Mol Sci* **16**, 16378–16400.
- Lebaudy A, Pascaud F, Véry AA, Alcon C, Dreyer I, Thibaud JB, Lacombe B (2010). Preferential KAT1-KAT2 heteromerization determines inward K⁺ current properties in *Arabidopsis* guard cells. *J Biol Chem* **285**, 6265–6274.
- Li CH, Guo J, Wang DM, Chen XJ, Guan HH, Li YX, Zhang

- DF, Liu XY, He GH, Wang TY, Li Y (2023). Genomic insight into changes of root architecture under drought stress in maize. *Plant Cell Environ* **46**, 1860–1872.
- Li DL, Liu Q, Schnable PS (2021a). TWAS results are complementary to and less affected by linkage disequilibrium than GWAS. *Plant Physiol* **186**, 1800–1811.
- Li DX, Wang MW, Zhang TP, Chen X, Li CY, Liu Y, Brestic M, Chen THH, Yang XH (2021b). Glycinebetaine mitigated the photoinhibition of photosystem II at high temperature in transgenic tomato plants. *Photosynth Res* **147**, 301–315.
- Li L, Du YC, He C, Dietrich CR, Li JK, Ma XL, Wang R, Liu Q, Liu SZ, Wang GY, Schnable PS, Zheng J (2019a). Maize *glossy6* is involved in cuticular wax deposition and drought tolerance. *J Exp Bot* **70**, 3089–3099.
- Li ZX, Liu C, Zhang Y, Wang BM, Ran QJ, Zhang JR (2019b). The bHLH family member ZmPTF1 regulates drought tolerance in maize by promoting root development and abscisic acid synthesis. *J Exp Bot* **70**, 5471–5486.
- Liang YN, Jiang YL, Du M, Li BY, Chen L, Chen MC, Jin DM, Wu JD (2019). ZmASR3 from the maize ASR gene family positively regulates drought tolerance in transgenic *Arabidopsis*. *Int J Mol Sci* **20**, 2278.
- Liu BX, Zhang B, Yang ZR, Liu Y, Yang SP, Shi YL, Jiang CF, Qin F (2021a). Manipulating ZmEXPA4 expression ameliorates the drought-induced prolonged anthesis and silking interval in maize. *Plant Cell* **33**, 2058–2071.
- Liu L, Gallagher J, Arevalo ED, Chen R, Skopelitis T, Wu QY, Bartlett M, Jackson D (2021b). Enhancing grain-yield-related traits by CRISPR-Cas9 promoter editing of maize CLE genes. *Nat Plants* **7**, 287–294.
- Liu SX, Li CP, Wang HW, Wang SH, Yang SP, Liu XH, Yan JB, Li BL, Beatty M, Zastrow-Hayes G, Song SH, Qin F (2020). Mapping regulatory variants controlling gene expression in drought response and tolerance in maize. *Genome Biol* **21**, 163.
- Liu SX, Liu XH, Zhang XM, Chang SJ, Ma C, Qin F (2022). Co-expression of ZmVPP1 with ZmNAC111 confers robust drought resistance in maize. *Genes (Basel)* **14**, 8.
- Liu YQ, Li AQ, Liang MN, Zhang Q, Wu JD (2023). Over-expression of the maize genes ZmSKL1 and ZmSKL2 positively regulates drought stress tolerance in transgenic *Arabidopsis*. *Plant Cell Rep* **42**, 521–533.
- Lu FZ, Li WC, Peng YL, Cao Y, Qu JT, Sun FA, Yang QQ, Lu YL, Zhang XH, Zheng LJ, Fu FL, Yu HQ (2022). ZmPP2C26 alternative splicing variants negatively regulate late drought tolerance in maize. *Front Plant Sci* **13**, 85–1531.
- Lu HF, Lin T, Klein J, Wang SH, Qi JJ, Zhou Q, Sun JJ, Zhang ZH, Weng YQ, Huang SW (2014). QTL-seq identifies an early flowering QTL located near *Flowering Locus T* in cucumber. *Theor Appl Genet* **127**, 1491–1499.
- Lynch J (1995). Root architecture and plant productivity. *Plant Physiol* **109**, 7–13.
- Ma HZ, Liu C, Li ZX, Ran QJ, Xie GN, Wang BM, Fang S, Chu JF, Zhang JR (2018). ZmbZIP4 contributes to stress resistance in maize by regulating ABA synthesis and root development. *Plant Physiol* **178**, 753–770.
- Ma Y, Szostkiewicz I, Korte A, Moes D, Yang Y, Christmann A, Grill E (2009). Regulators of PP2C phosphatase activity function as abscisic acid sensors. *Science* **324**, 1064–1068.
- Mao HD, Wang HW, Liu SX, Li ZG, Yang XH, Yan JB, Li JS, Tran LSP, Qin F (2015). A transposable element in a NAC gene is associated with drought tolerance in maize seedlings. *Nat Commun* **6**, 8326.
- Massman JM, Gordillo A, Lorenzana RE, Bernardo R (2013). Genomewide predictions from maize single-cross data. *Theor Appl Genet* **126**, 13–22.
- Mei FM, Chen B, Du LY, Li SM, Zhu DH, Chen N, Zhang YF, Li FF, Wang ZX, Cheng XX, Ding L, Kang ZS, Mao HD (2022). A gain-of-function allele of a DREB transcription factor gene ameliorates drought tolerance in wheat. *Plant Cell* **34**, 4472–4494.
- Miao ZY, Zhang T, Qi YH, Song J, Han ZX, Ma C (2020). Evolution of the RNA N^6 -methyladenosine methylome mediated by genomic duplication. *Plant Physiol* **182**, 345–360.
- Mittler R, Vanderauwera S, Suzuki N, Miller G, Tognetti VB, Vandepoele K, Gollery M, Shulaev V, Van Breusegem F (2011). ROS signaling: the new wave? *Trends Plant Sci* **16**, 300–309.
- Nakaya A, Isobe SN (2012). Will genomic selection be a practical method for plant breeding? *Ann Bot* **110**, 1303–1316.
- Nelson DE, Repetti PP, Adams TR, Creelman RA, Wu JR, Warner DC, Anstrom DC, Bensen RJ, Castiglioni PP, Donnarummo MG, Hinchey BS, Kumimoto RW, Maszle DR, Canales RD, Krolikowski KA, Dotson SB, Guttererson N, Ratcliffe OJ, Heard JE (2007). Plant nuclear factor Y (NF-Y) B subunits confer drought tolerance and lead to improved corn yields on water-limited acres. *Proc Natl Acad Sci USA* **104**, 16450–16455.

- Nemali KS, Bonin C, Dohleman FG, Stephens M, Reeves WR, Nelson DE, Castiglioni P, Whitsel JE, Sammons B, Silady RA, Anstrom D, Sharp RE, Patharkar OR, Clay D, Coffin M, Nemeth MA, Leibman ME, Luethy M, Lawson M (2015). Physiological responses related to increased grain yield under drought in the first biotechnology-derived drought-tolerant maize. *Plant Cell Environ* **38**, 1866–1880.
- Nica AC, Dermitzakis ET (2013). Expression quantitative trait loci: present and future. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* **368**, 20120362.
- Nuccio ML, Wu J, Mowers R, Zhou HP, Meghji M, Primavesi LF, Paul MJ, Chen X, Gao Y, Haque E, Basu SS, Lagrimini LM (2015). Expression of trehalose-6-phosphate phosphatase in maize ears improves yield in well-watered and drought conditions. *Nat Biotechnol* **33**, 862–869.
- Ogura T, Goeschl C, Filiault D, Mirea M, Slovak R, Wolhrab B, Satbhai SB, Busch W (2019). Root system depth in *Arabidopsis* is shaped by *EXOCYST70A3* via the dynamic modulation of auxin transport. *Cell* **178**, 400–412.
- Pan ZY, Liu M, Zhao HL, Tan ZD, Liang K, Sun Q, Gong DM, He HJ, Zhou WQ, Qiu FZ (2020). *ZmSRL5* is involved in drought tolerance by maintaining cuticular wax structure in maize. *J Integr Plant Biol* **62**, 1895–1909.
- Park SY, Fung P, Nishimura N, Jensen DR, Fujii H, Zhao Y, Lumba S, Santiago J, Rodrigues A, Chow TFF, Alfred SE, Bonetta D, Finkelstein R, Provart NJ, Desveaux D, Rodriguez PL, McCourt P, Zhu JK, Schroeder JI, Volkman BF, Cutler SR (2009). Absciscic acid inhibits type 2C protein phosphatases via the PYR/PYL family of START proteins. *Science* **324**, 1068–1071.
- Pourghayoumi M, Bakhshi D, Rahemi M, Kamgar-Haghighi AA, Aalami A (2017). The physiological responses of various pomegranate cultivars to drought stress and recovery in order to screen for drought tolerance. *Sci Hortic* **217**, 164–172.
- Qi JS, Song CP, Wang BS, Zhou JM, Kangasjärvi J, Zhu JK, Gong ZZ (2018). Reactive oxygen species signaling and stomatal movement in plant responses to drought stress and pathogen attack. *J Integr Plant Biol* **60**, 805–826.
- Qin LM, Sun L, Wei L, Yuan JR, Kong FF, Zhang Y, Miao X, Xia GM, Liu SW (2021). Maize SRO1e represses anthocyanin synthesis through regulating the MBW complex in response to abiotic stress. *Plant J* **105**, 1010–1025.
- Reguera M, Peleg Z, Blumwald E (2012). Targeting metabolic pathways for genetic engineering abiotic stress-tolerance in crops. *Biochim Biophys Acta* **1819**, 186–194.
- Ren W, Zhao LF, Liang JX, Wang LF, Chen LM, Li PC, Liu ZG, Li XJ, Zhang ZH, Li JP, He KH, Zhao Z, Ali F, Mi GH, Yan JB, Zhang FS, Chen FJ, Yuan LX, Pan QC (2022). Genome-wide dissection of changes in maize root system architecture during modern breeding. *Nat Plants* **8**, 1408–1422.
- Ribaut JM, Ragot M (2007). Marker-assisted selection to improve drought adaptation in maize: the backcross approach, perspectives, limitations, and alternatives. *J Exp Bot* **58**, 351–360.
- Schneider KA, Brothers ME, Kelly JD (1997). Marker-assisted selection to improve drought resistance in common bean. *Crop Sci* **37**, 51–60.
- Shavrukov Y, Kurishbayev A, Jatayev S, Shvidchenko V, Zotova L, Koekemoer F, de Groot S, Soole K, Langridge P (2017). Early flowering as a drought escape mechanism in plants: how can it aid wheat production? *Front Plant Sci* **8**, 1950.
- Shi JR, Gao HR, Wang HY, Lafitte HR, Archibald RL, Yang MZ, Hakimi SM, Mo H, Habben JE (2017). ARGOS8 variants generated by CRISPR-Cas9 improve maize grain yield under field drought stress conditions. *Plant Biotechnol J* **15**, 207–216.
- Singh D, Laxmi A (2015). Transcriptional regulation of drought response: a tortuous network of transcriptional factors. *Front Plant Sci* **6**, 895.
- Soma F, Takahashi F, Suzuki T, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K (2020). Plant Raf-like kinases regulate the mRNA population upstream of ABA-unresponsive SnRK2 kinases under drought stress. *Nat Commun* **11**, 1373.
- Sun XP, Xiang YL, Dou NN, Zhang H, Pei SR, Franco AV, Menon M, Monier B, Ferebee T, Liu T, Liu SY, Gao YC, Wang JB, Terzaghi W, Yan JB, Hearne S, Li L, Li F, Dai MQ (2023). The role of transposon inverted repeats in balancing drought tolerance and yield-related traits in maize. *Nat Biotechnol* **41**, 120–127.
- Takagi H, Abe A, Yoshida K, Kosugi S, Natsume S, Mitsuoka C, Uemura A, Utsushi H, Tamiru M, Takuno S, Innan H, Cano LM, Kamoun S, Terauchi R (2013). QTL-seq: rapid mapping of quantitative trait loci in rice by whole genome resequencing of DNA from two bulked populations. *Plant J* **74**, 174–183.
- Tang Q, Lv HZ, Li QM, Zhang XY, Li L, Xu J, Wu FK,

- Wang QJ, Feng XJ, Lu YL (2022). Characteristics of microRNAs and target genes in maize root under drought stress. *Int J Mol Sci* **23**, 4968.
- Tian T, Wang SH, Yang SP, Yang ZR, Liu SX, Wang YJ, Gao HJ, Zhang SS, Yang XH, Jiang CF, Qin F (2023). Genome assembly and genetic dissection of a prominent drought-resistant maize germplasm. *Nat Genet* **55**, 496–506.
- Uga Y, Sugimoto K, Ogawa S, Rane J, Ishitani M, Hara N, Kitomi Y, Inukai Y, Ono K, Kanno N, Inoue H, Takehisa H, Motoyama R, Nagamura Y, Wu JZ, Matsumoto T, Takai T, Okuno K, Yano M (2013). Control of root system architecture by *DEEPER ROOTING 1* increases rice yield under drought conditions. *Nat Genet* **45**, 1097–1102.
- Van Dooren TJM, Silveira AB, Gilbault E, Jiménez-Gómez JM, Martin A, Bach L, Tisné S, Quadrana L, Loudet O, Colot V (2020). Mild drought in the vegetative stage induces phenotypic, gene expression, and DNA methylation plasticity in *Arabidopsis* but no transgenerational effects. *J Exp Bot* **71**, 3588–3602.
- Virlouvet L, Jacquemot MP, Gerentes D, Corti H, Bouton S, Gilard F, Valot B, Trouverie J, Tcherkez G, Falque M, Damerval C, Rogowsky P, Perez P, Noctor G, Zivy M, Coursol S (2011). The ZmASR1 protein influences branched-chain amino acid biosynthesis and maintains kernel yield in maize under water-limited conditions. *Plant Physiol* **157**, 917–936.
- Wainberg M, Sinnott-Armstrong N, Mancuso N, Barbeira AN, Knowles DA, Golan D, Ermel R, Ruusalepp A, Quertermous T, Hao K, Björkegren JLM, Im HK, Pasaniuc B, Rivas MA, Kundaje A (2019). Opportunities and challenges for transcriptome-wide association studies. *Nat Genet* **51**, 592–599.
- Wan LY, Zhang JF, Zhang HW, Zhang ZJ, Quan RD, Zhou SR, Huang RF (2011). Transcriptional activation of *OsDERF1* in *OsERF3* and *OsAP2-39* negatively modulates ethylene synthesis and drought tolerance in rice. *PLoS One* **6**, e25216.
- Wang BM, Li ZX, Ran QJ, Li P, Peng ZH, Zhang JR (2018a). *ZmNF-YB16* overexpression improves drought resistance and yield by enhancing photosynthesis and the antioxidant capacity of maize plants. *Front Plant Sci* **9**, 709.
- Wang CT, Ru JN, Liu YW, Li M, Zhao D, Yang JF, Fu JD, Xu ZS (2018b). Maize WRKY transcription factor ZmWRKY106 confers drought and heat tolerance in transgenic plants. *Int J Mol Sci* **19**, 3046.
- Wang CT, Ru JN, Liu YW, Yang JF, Li M, Xu ZS, Fu JD (2018c). The maize WRKY transcription factor ZmWRKY40 confers drought resistance in transgenic *Arabidopsis*. *Int J Mol Sci* **19**, 2580.
- Wang N, Cheng M, Chen Y, Liu BJ, Wang XN, Li GJ, Zhou YH, Luo P, Xi ZY, Yong HJ, Zhang DG, Li MS, Zhang XC, Vicente FS, Hao ZF, Li XH (2021). Natural variations in the non-coding region of *ZmNAC080308* contributes maintaining grain yield under drought stress in maize. *BMC Plant Biol* **21**, 305.
- Wang XL, Wang HW, Liu SX, Ferjani A, Li JS, Yan JB, Yang XH, Qin F (2016). Genetic variation in *ZmVPP1* contributes to drought tolerance in maize seedlings. *Nat Genet* **48**, 1233–1241.
- Wang YG, Fu FL, Yu HQ, Hu T, Zhang YY, Tao Y, Zhu JK, Zhao Y, Li WC (2018d). Interaction network of core ABA signaling components in maize. *Plant Mol Biol* **96**, 245–263.
- Wen WW, Li D, Li X, Gao YQ, Li WQ, Li HH, Liu J, Liu HJ, Chen W, Luo J, Yan JB (2014). Metabolome-based genome-wide association study of maize kernel leads to novel biochemical insights. *Nat Commun* **5**, 3438.
- Wu JD, Jiang YL, Liang YN, Chen L, Chen WJ, Cheng BJ (2019). Expression of the maize MYB transcription factor ZmMYB3R enhances drought and salt stress tolerance in transgenic plants. *Plant Physiol Biochem* **137**, 179–188.
- Wu X, Feng H, Wu D, Yan SJ, Zhang P, Wang WB, Zhang J, Ye JL, Dai GX, Fan Y, Li WK, Song BX, Geng ZD, Yang WL, Chen GX, Qin F, Terzaghi W, Stitzer M, Li L, Xiong LZ, Yan JB, Buckler E, Yang WN, Dai MQ (2021). Using high-throughput multiple optical phenotyping to decipher the genetic architecture of maize drought tolerance. *Genome Biol* **22**, 185.
- Xia ZL, Liu QJ, Wu JY, Ding JQ (2012). ZmRFP1, the putative ortholog of SDIR1, encodes a RING-H2 E3 ubiquitin ligase and responds to drought stress in an ABA-dependent manner in maize. *Gene* **495**, 146–153.
- Xiang YL, Sun XP, Gao S, Qin F, Dai MQ (2017). Deletion of an endoplasmic reticulum stress response element in a ZmPP2C-A gene facilitates drought tolerance of maize seedlings. *Mol Plant* **10**, 456–469.
- Xu HX, Cao YW, Xu YF, Ma PT, Ma FF, Song LP, Li LH, An DG (2017). Marker-assisted development and evaluation of near-isogenic lines for broad-spectrum powdery mildew resistance gene *Pm2b* introgressed into different genetic backgrounds of wheat. *Front Plant Sci* **8**, 1322.
- Xu YB, Lu YL, Xie CX, Gao SB, Wan JM, Prasanna BM (2012). Whole-genome strategies for marker-assisted

- plant breeding. *Mol Breed* **29**, 833–854.
- Yang Y, Shi JX, Chen LM, Xiao WH, Yu JJ (2022a). ZmEREB46, a maize ortholog of *Arabidopsis* WAX INDUCER1/SHINE1, is involved in the biosynthesis of leaf epicuticular very-long-chain waxes and drought tolerance. *Plant Sci* **321**, 111256.
- Yang YL, Wang BM, Wang JM, He CM, Zhang DF, Li P, Zhang JR, Li ZX (2022b). Transcription factors ZmNF-YA1 and ZmNF-YB16 regulate plant growth and drought tolerance in maize. *Plant Physiol* **190**, 1506–1525.
- Young TE, Meeley RB, Gallie DR (2004). ACC synthase expression regulates leaf performance and drought tolerance in maize. *Plant J* **40**, 813–825.
- Yu J, Xu F, Wei ZW, Zhang XX, Chen T, Pu L (2020). Epigenomic landscape and epigenetic regulation in maize. *Theor Appl Genet* **133**, 1467–1489.
- Yu P, Li CH, Li M, He XM, Wang DN, Li HJ, Marcon C, Li Y, Perez-Limón S, Chen XP, Delgado-Baquerizo M, Koller R, Metzner R, van Dusschoten D, Pflugfelder D, Borisjuk L, Plutenko I, Mahon A, Resende MFR, Salvi S, Akale A, Abdalla M, Ahmed MA, Bauer FM, Schnepf A, Lobet G, Heymans A, Suresh K, Schreiber L, McLaughlin CM, Li CJ, Mayer M, Schön CC, Bernau V, von Wirén N, Sawers RJH, Wang TY, Hochholdinger F (2024). Seedling root system adaptation to water availability during maize domestication and global expansion. *Nat Genet* **56**, 1245–1256.
- Zhang C, Yang RJ, Zhang TT, Zheng DY, Li XL, Zhang ZB, Li LG, Wu ZY (2023a). ZmTIFY16, a novel maize TIFY transcription factor gene, promotes root growth and development and enhances drought and salt tolerance in *Arabidopsis* and *Zea mays*. *Plant Growth Regul* **100**, 149–160.
- Zhang F, Wu JF, Sade N, Wu S, Egbaria A, Fernie AR, Yan JB, Qin F, Chen W, Brotman Y, Dai MQ (2021). Genomic basis underlying the metabolome-mediated drought adaptation of maize. *Genome Biol* **22**, 260.
- Zhang H, Xiang YL, He N, Liu XG, Liu HB, Fang LP, Zhang F, Sun XP, Zhang DL, Li XW, Terzaghi W, Yan JB, Dai MQ (2020a). Enhanced vitamin C production mediated by an ABA-induced PTP-like nucleotidase improves plant drought tolerance in *Arabidopsis* and maize. *Mol Plant* **13**, 760–776.
- Zhang K, Xue M, Qin F, He Y, Zhou YY (2023b). Natural polymorphisms in *ZmIRX15A* affect water-use efficiency by modulating stomatal density in maize. *Plant Biotechnol J* **21**, 2560–2573.
- Zhang M, Chen YH, Xing HY, Ke WS, Shi YL, Sui Z, Xu RB, Gao LL, Guo GG, Li JS, Xing JW, Zhang YR (2023c). Positional cloning and characterization reveal the role of a miRNA precursor gene *ZmLRT* in the regulation of lateral root number and drought tolerance in maize. *J Integr Plant Biol* **65**, 772–790.
- Zhang W, Han ZX, Guo QL, Liu Y, Zheng YX, Wu FL, Jin WB (2014). Identification of maize long non-coding RNAs responsive to drought stress. *PLoS One* **9**, e98958.
- Zhang XM, Mi Y, Mao HD, Liu SX, Chen LM, Qin F (2020b). Genetic variation in *ZmTIP1* contributes to root hair elongation and drought tolerance in maize. *Plant Biotechnol J* **18**, 1271–1283.
- Zhao Y, Ma Q, Jin XL, Peng XJ, Liu JY, Deng L, Yan HW, Sheng L, Jiang HY, Cheng BJ (2014). A novel maize homeodomain-leucine zipper (HD-Zip) I gene, *Zmhdz10*, positively regulates drought and salt tolerance in both rice and *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol* **55**, 1142–1156.
- Zhao YS, Zeng J, Fernando R, Reif JC (2013). Genomic prediction of hybrid wheat performance. *Crop Sci* **53**, 802–810.
- Zhu JK (2002). Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annu Rev Plant Biol* **53**, 247–273.
- Zhu YQ, Liu Y, Zhou KM, Tian CY, Aslam M, Zhang BL, Liu WJ, Zou HW (2022). Overexpression of ZmEREBP60 enhances drought tolerance in maize. *J Plant Physiol* **275**, 153763.

Genetic Dissection of Drought Resistance in Maize

Ziyang Wang, Shengxue Liu, Zhirui Yang, Feng Qin*

State Key Laboratory of Plant Environmental Resilience, College of Biological Sciences,
China Agricultural University, Beijing 100193, China

Abstract Maize (*Zea mays*) is the main crop in China, and drought is a primary abiotic stress during its growth, resulting in direct reduction in grain yield and quality, thereby posing a threat to food security within the global climate context. At present, global climate change leads to extreme weather events, which aggravates the adverse effects on yield. Therefore, it is imperative to identify drought-resistant germplasm resources, elucidate the molecular mechanisms of drought stress response, and breed drought-resistant varieties. Here, we review recent advances in the genetic dissection of drought resistance in maize using methods such as genome-wide association study, quantitative trait locus gene cloning and multi-omics analysis. Additionally, we introduce potential strategies for genetic improvement of drought resistance by leveraging the identified genetic resources while discussing future perspectives within this research area.

Key words maize, drought resistance, genetic dissection, gene cloning, genetic improvement

Wang ZY, Liu SX, Yang ZR, Qin F (2024). Genetic dissection of drought resistance in maize. *Chin Bull Bot* **59**, 883–902.

* Author for correspondence. E-mail: qinfeng@cau.edu.cn

(责任编辑: 孙冬花)

通讯作者简介

秦峰, 2010–2016年在中国科学院植物研究所任研究员, 入选“百人计划”。2016年至今任中国农业大学生物学院教授。主要从事玉米抗旱性的遗传解析与基因克隆研究, 致力于为玉米抗旱性的遗传改良提供基因资源和基因编辑靶点。2014年获“杜邦青年教授奖”; 2015年获“第一届中国作物学会青年科技奖”; 2016年获得国家自然科学基金委“杰出青年”基金资助; 2018年获“卫志明青年创新奖”; 2019年入选“国家特殊支持计划”科技创新领军人才。研究成果发表在*Nature Genetics*、*Nature Communications*、*Molecular Plant*、*Genome Biology*和*Plant Cell*等国际期刊上。目前担任《植物学报》、*Plant Journal*、*Plant Molecular Biology*和*Molecular Breeding*编委。