

翟立红,周兰庭,韩鹏,等. 玉米 *Argonaute* 基因家族的全长 cDNA 克隆与表达分析[J]. 江苏农业科学,2016,44(4):41-45.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.04.011

# 玉米 *Argonaute* 基因家族的全长 cDNA 克隆与表达分析

翟立红<sup>1</sup>,周兰庭<sup>1</sup>,韩鹏<sup>1</sup>,滕峰<sup>1,2</sup>

(1. 湖北文理学院生物化学与分子生物学系,湖北襄阳 441053;2. 湖北腾龙种业有限公司,湖北利川 445400)

**摘要:** Argonaute (AGO) 蛋白是小 RNA 分子诱导的沉默复合体 (RISC) 的核心因子,以玉米自交系 B73 为材料,利用 RLM-RACE 技术,克隆得到玉米 17 个 AGO 基因的全长 cDNA 序列,发现 6 个成员具有 5' 非翻译外显子,可能其表达受此机制调控。同时,利用半定量 RT-PCR 对其在玉米幼苗不同根系组织(包括初生胚根、冠根、次生胚根和侧根)进行表达分析,结果表明:未检测到 *ZmAGO5b*、*ZmAGO18b* 表达,*ZmAGO1a/b*、*ZmAGO2a*、*ZmAGO10* 在各类根系中高水平表达,其他 11 个 *ZmAGOs* 表达水平较低,因此揭示选择性表达不同的 *ZmAGOs* 可能是不同类型的根系分化及其功能的精细调控所必需的。

**关键词:** Argonaute 基因;克隆;5'非翻译外显子;表达

**中图分类号:** S513.01;Q785 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)04-0041-04

在真核生物中,小 RNA (small RNA; sRNA) 介导转录水平、转录后水平以及染色质水平的基因沉默。植物内源 sRNA 包括 microRNA (miRNA) 和各类小干扰 RNA (short interfering RNA, siRNA)<sup>[1]</sup>。在已知的由 sRNA 介导的基因表达调控途径中,sRNA 必须与 Argonaute (AGO) 蛋白形成沉默复合体 (RNA-induced silencing complex; RISC) 引导 sRNA 通过序列互补与靶标 (RNA 或 DNA) 结合,进而降解 mRNA、抑制翻译或修饰染色质<sup>[1]</sup>。由此可见,AGO 蛋白是 sRNA 行使其功能的重要因子。Argonaute 蛋白最初是在植物中发现的<sup>[2]</sup>,是一类分子量较大、含有可变的 N 端、PAZ、MID 和 PIWI 结构域的蛋白质<sup>[3-4]</sup>,其中 PAZ 和 PIWI 属于保守结构域。在细菌和人类中的研究揭示了 PAZ、MID、PIWI 结构域在小 RNA 调控途径中的作用<sup>[5-6]</sup>。其中,MID 结合小 RNA 的 5'-磷酸端,使小 RNA 锚定在 AGO 蛋白上;PAZ 识别小 RNA 突出的 3' 端<sup>[3-4]</sup>;PIWI 会形成一种类似于 RNase H 酶的折叠结构,具有内源核酸酶的活性。有研究发现,PIWI 内存在保守的活性位点 Asp-Asp-His (DDH motif)<sup>[7]</sup>,但 DDH motif 存在与否并不能完全代表 AGO 蛋白是否具有催化功能<sup>[8]</sup>。在拟南芥中,证实有催化功能的 AGO 蛋白有 AtAGO1、AtAGO4、AtAGO7 和 AtAGO10<sup>[9-13]</sup>。

不同物种中,AGO 蛋白的数目不同。拟南芥基因组中注释有 10 个 AGO 蛋白,水稻中有 19 个 AGO 蛋白,玉米中有 17 个 AGO 蛋白。拟南芥的 AGO 蛋白大致可分为三大类,AGO1、AGO5 和 AGO10 为第 1 类,AGO2、AGO3、AGO7 为第 2 类,AGO4、AGO6、AGO8 和 AGO9 为第 3 类<sup>[14]</sup>。Kapoor 等把

水稻和拟南芥 AGO 蛋白划分为四大类,分别为 AGO1、MEL1/AGO5、ZIPPY/AGO7 和 AGO4<sup>[15]</sup>。Zhai 等将玉米中的 AGO 蛋白划分为五大类,将与 OsAGO18 同源性较高的 2 个蛋白单独划为一类<sup>[16]</sup>。目前证实,植物中的 AGO1 主要参与 miRNA 通路,在植物的各个生长发育阶段均起着重要的调控作用<sup>[9,17]</sup>。在拟南芥中,与 AtAGO1 亲缘关系最近的 AtAGO10 突变后表现为茎尖分生组织发育异常,AtAGO1 和 AtAGO10 竞争结合 miR165/miR166,调节 HD-ZIP III 的表达,进而调节 SAM 发育和保持<sup>[18]</sup>。拟南芥中的 AtAGO5 仅在生殖组织中表达<sup>[19]</sup>,与水稻中的 OsMEL1 表达相似<sup>[15]</sup>。AGO7 在反式作用的短干扰 RNA (trans-acting short interfering RNAs, tasiRNA) 的形成及其功能途径中起重要作用<sup>[12]</sup>。AtAGO2 与 AtAGO3 结构高度相似且功能冗余,AGO2 在植物逆境环境下高效表达<sup>[15]</sup>,暗示在抗逆过程中起重要作用。AGO4 蛋白主要是围绕 RNA 介导的 DNA 甲基化 (RdDM) 过程中的作用机制展开,在整个发育过程中均有较高水平表达<sup>[15]</sup>。AGO6、AGO4 在 DNA 甲基化上存在部分功能冗余,最近的研究证实 AtAGO6 在拟南芥茎和根的分生组织中存在 RNA 介导转录水平基因沉默的功能<sup>[20]</sup>。AtAGO8、AtAGO9 序列相似度很高,其中,AtAGO8 在拟南芥所有组织中表达量均较低,被认为是一个假基因<sup>[21]</sup>。最近的报道发现拟南芥中的 AtAGO9 在胚珠和花药中的表达量非常高<sup>[22]</sup>。而与 AtAGO9 高度同源的玉米 *AGO104* 基因,控制玉米的无融合生殖,在性母细胞旁的体细胞大量富集<sup>[23]</sup>。截至目前,植物不同根系中 AGO 基因家族的表达模式还未见报道。

玉米 (*Zea mays* L.) 是当今世界最重要的粮、饲、能源、工业原料兼用的高产作物。根系是玉米重要的组织器官,在保持植株形态、水分和营养吸收与运输、响应植物对环境胁迫等方面起着重要的作用。本研究以玉米测序自交系 B73 为材料,选取玉米幼苗不同根系组织包括初生胚根、冠根、次生胚根和侧根对 17 个 AGO 基因进行表达分析,为探索 AGO 基因在根系形态建成方面的调控机制奠定基础,与此同时,利用 RACE 技术对玉米 17 个 AGO 基因的全长 cDNA 进行克隆测

收稿日期:2015-10-29

基金项目:湖北省教育厅科学研究计划中青年人才项目(编号:Q20152601)。

作者简介:翟立红(1983—),女,河北邢台人,讲师,主要从事玉米遗传育种研究。E-mail:zlh\_0302@126.com。

通信作者:滕峰,博士,助理研究员,主要从事玉米育种研究。E-mail:tobenumberone@yeah.net。

序分析,以完善玉米 *AGO* 基因的序列信息,为全面解析玉米的 *AGO* 基因提供基础。

## 1 材料与与方法

### 1.1 供试材料

本试验选用的材料玉米自交系 B73,为美国优良自交系,配合力好,具有参考基因组序列。

选取大小均匀、籽粒饱满的玉米 B73 种子用 15% 的  $H_2O_2$  浸泡 30 min 进行表面消毒处理后,灭菌蒸馏水冲洗 3 次,播种于沙钵中(沙子高压灭菌),室内培养。当初生胚根和次生胚根长出时,分别取样,最后取侧根、冠根,每种根系取样不少于 3 株,液氮速冻,  $-80\text{ }^\circ\text{C}$  冰箱保存。

### 1.2 方法

1.2.1 全长 cDNA 克隆 使用 FirstChoice RLM - RACE (Ambion 公司)试剂盒(货号:AM1700)对玉米中鉴定到的 *ZmAGO* 基因进行 5'末端和 3'末端的扩增,试验步骤严格按照

说明书执行,5' - RACE 和 3' - RACE 所用的巢式引物见 Zhai 等发表的文章<sup>[16]</sup>,最后一步扩增得到的 PCR 产物进行琼脂糖凝胶电泳,将目的条带切胶回收,连接至 pGEM - T Easy 载体(Promega 公司),  $4\text{ }^\circ\text{C}$  连接过夜后进行转化,筛选约 10 个阳性克隆送至 Invitrogen 公司进行菌液测序。

1.2.2 半定量 RT - PCR 以 Zhai 等报道的 17 个玉米 *AGO* 基因家族<sup>[16]</sup>作为研究对象,利用 NCBI 网站上在线工具 Primer - Blast 进行基因特异引物设计(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>),扩增产物进行测序以确保扩增片段的特异性,所使用的引物信息见表 1,以 *Actin* (NM\_001155179)作为内参基因,进行玉米 *AGO* 基因家族成员的半定量 RT - PCR。首先用内参引物对 4 个组织的 cDNA 进行不同循环数目的 PCR 扩增,确定处于指数扩增期的循环数并调整模板加入体积使其在相同的循环数下亮度一致,然后利用内参调好的模板体积进行基因扩增,此时同样要进行指数扩增期循环数的确定,最终得出不同基因在不同组织中的相对表达水平。

表 1 玉米 *AGO* 基因半定量 RT - PCR 扩增引物

转录本编号	引物名称	正向引物序列(5'→3')	反向引物序列(5'→3')
AC189879.3_FTG003	AG1 - 1	TCCGCCTCTACCGCTCGTCC	ATCTGGGTCGGCCGGATGCT
AC209206.3_FTG011	AG2 - 5	GTATGTGTCTTTCATTGCTGG	ATGACTGCCAACTCATGAG
GRMZM2G007791_T01	AG3 - 1	ACTCGCTCCCACGGGTCGGT	GTCGCCAGCGACACCGGCTT
GRMZM2G039455_T01	AG4 - 1	AGCCCATCGCCAGGAGCTGA	GGGGCCTGACCGCAACTC
GRMZM2G059033_T01	AG7 - 3	TGCCTCCACCTATGCTGAAATACCACGAA	GTTGAATTGTCTTCACTTATTCATCCCT
GRMZM2G079080_T02	AG8 - 5	GGGAAGATGAGGATGCTGAATG	ATGTTGATCCCAAATTCCTTCG
GRMZM2G105250_T01	AG9 - 2	AAACAAGTGTGGAACAAGAAATCCCTGAG	CTAGCGTCCCGTGAATGCTGAATAACTGA
GRMZM2G123063_T01	AG11 - 4	GATTACTCCCATCCCTAT	AAGTTTCTCCCTACCAG
GRMZM2G141818_T03	AG12 - 4	GCTGGATCAGATCATCGAGGCATGTAAGT	GTTTGGAGCGAGTGAAGTGCCTCAGTAT
GRMZM2G347402_T01	AG15 - 5	ATTCTCTTTCAGTCGGTT	GATAATTAGGGCGTTTTG
GRMZM2G354867_T01	AG16 - 1	CCGTCTGACCCCGAGCAGGA	TCTGCGGCTTCACGGGTTT
GRMZM2G361518_T01	AG17 - 3	GCTGAAGATAAATGTCAAGTTCGGAGGAA	AGGTGTAGCAAAGTGTGTTGGTGAGGGTC
GRMZM2G441583_T01	AG22 - 3	GCGAGCGGTCTACGACAAG	AAGAACAGTCAAGCAACAAG
GRMZM2G457370_T01	AG23 - 3	GGCTGGAAGTAAATACAAATATCTCCC	GCTTGTCTTCGTTCTCTGATAGCACCTA
GRMZM2G461936_T02	AG24 - 5	GCTGGTCCGCTACCGTTC	TGCCCCATCTTGATTAA
GRMZM5G892991_T01	AG25 - 1	CGTACCGCAGGATACCG	TCTCTTCGCTCTCCCA
GRMZM2G589579_T01	AG26 - 2	TGCTACGCCACCTTGCAGC	CGACAAACACAGCTCAGAGGCCG
GRMZM2G126010_T01	Actin	GGCCCAACTGCCGAAGCCAT	GAGAGGGCCTCGGTCAGCA

1.2.3 微共线性分析 利用 VISTA Gateway 网站的 Browser (<http://pipeline.lbl.gov/cgi-bin/gateway2>)工具对 *ZmAGOs* 所在基因组的位置分别与水稻基因组进行生物信息学比对,找到同源性非常高的 *OsAGO* 基因,根据所处的染色体位置进行微共线性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 *AGO* 家族基因的全长 cDNA 克隆及分析

基于所预测的基因序列设计基因特异性引物,使用 RACE 技术扩增所有 17 个基因的全长 cDNA,我们共得到了 11 个 *ZmAGOs* 的 5'末端和 17 个 *ZmAGOs* 的 3'末端。大多数基因的转录本与 B73 RefGen v2 所预测的相似,但 *ZmAGO1b* 与 B73 RefGen v2 所预测的基因结构存在较大差异,实际扩增所得到的 5' - UTR 第 1 个 184 bp 长度的非编码外显子(untranslated exon)位于预测基因的第 1 内含子区域,起始密

码子后移 15 bp,说明该基因可能存在多个选择性剪切转录本。通过序列分析发现,*ZmAGO1a/b/f*、*ZmAGO5c*、*ZmAGO4*、*ZmAGO9* 存在 5'非编码外显子,有可能这 6 个 *ZmAGO* 基因受该机制调控。

### 2.2 *AGO* 家族基因在不同类型根组织中的表达分析

为详细鉴定 *ZmAGOs* 基因在各类根系组织中的表达,将各类根系组织细分为:冠根、初生胚根、次生胚根、侧根并分别取样(图 2)。图 3 的 RT - PCR 结果表明:*ZmAGO5b* 和 *ZmAGO18b* 在被测的玉米根系组织中未检测到表达,15 个 *ZmAGOs* 在玉米根系组织中表达,其中 *ZmAGO1a*、*ZmAGO1b*、*ZmAGO2a*、*ZmAGO10* 在各类根系都高水平表达,暗示这些基因在玉米根系发育中的重要作用;其他 11 个 *ZmAGOs* 基因的表达水平则相对较低。另外,有些 *ZmAGOs* 基因也显示出其不同根组织中的表达的特异性,如 *ZmAGO2b*、*ZmAGO9* 在冠根、初生胚根和侧根中表达,但在次生胚根中未检测到其

表达; *ZmAGO5d*、*ZmAGO4* 则在冠根、次生胚根和侧根中表达,但在初生胚根中未检测到其表达。不同类型的根组织中大多数 *ZmAGOs* 基因具有相似的表达模式,说明这些 *ZmAGOs* 基因是各种根系组织生长发育共同需要的,以保持根系的基本

组织特性;而不同类型的根组织表达不同的 *ZmAGOs* 基因,说明选择性地表达不同的 *ZmAGOs* 基因可能是不同类型的根系分化及其功能的精细调控所必需的。

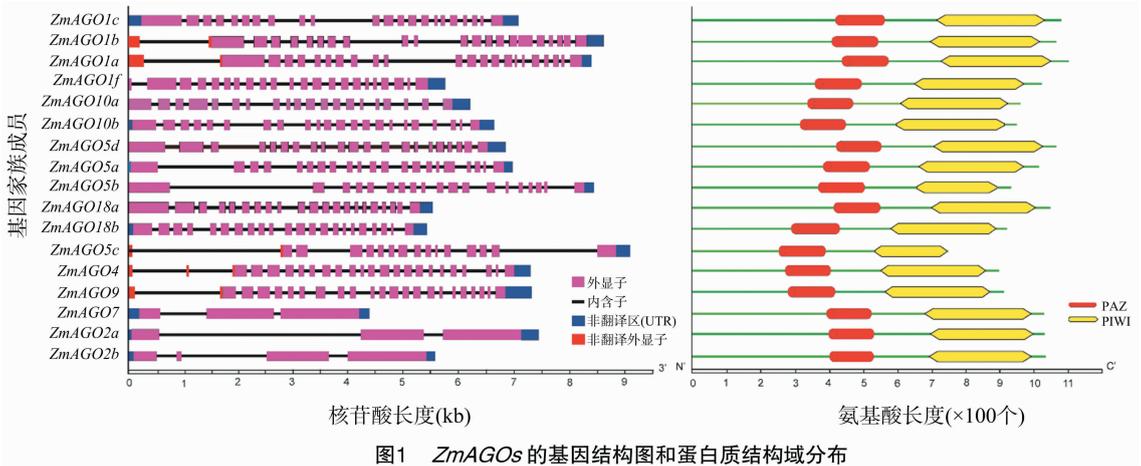
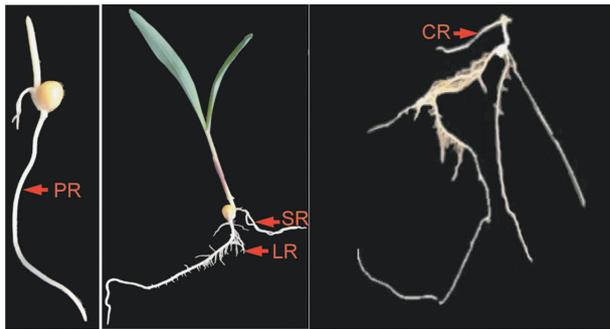


图1 *ZmAGOs* 的基因结构图和蛋白质结构域分布



PR—初生胚根; SR—次生胚根; CR—冠根; LR—侧根

图2 玉米幼苗不同根系组织分类

第6染色体的 *OsPNHI* 高度同源;玉米第2染色体的 *ZmAGO18a*,第1染色体的 *ZmAGO18b* 与水稻第7染色体的 *OsAGO18* 高度同源。由此推测玉米和水稻分化后,可能玉米的部分基因组序列发生了重复或加倍。

### 3 讨论

小RNA介导的基因沉默在植物的生长发育和抗胁迫响应等方面均发挥重要作用,RISC作为小RNA行使功能的主要组分,AGO蛋白是核心元件,甚至有学者认为研究AGO蛋白所结合的小RNA的表达量比整体研究小RNA的表达量更能说明某种小RNA的功能<sup>[24]</sup>。近年来,在植物中开展关于AGO蛋白功能及其结合的小RNA类型的研究越来越多,使得AGO蛋白的研究成为小RNA调控途径的热点。目前,AGO基因的功能在模式植物拟南芥中的研究最为全面和透彻,而在玉米中的报道较少。Qian等利用B73 RefGen v1的基因组序列对玉米全基因组的AGO蛋白进行了预测和表达分析,结果显示,玉米基因组存在18个AGO基因,并以玉米幼苗为材料对AGO基因家族在干旱和盐胁迫下的表达模式进行了分析<sup>[25]</sup>。许鑫等以玉米自交系昌7-2为材料,研究了6个AGO基因在玉米幼苗第1叶、第2叶、第3叶、第4叶、总根、茎尖和胚芽鞘中的表达情况<sup>[26]</sup>。Zhai等利用B73 RefGen v2基因组序列发现了17个编码AGO蛋白的基因,并选取了8个包含营养组织和生殖组织的材料进行了表达分析,结果显示,所有AGO家族基因在生殖组织的表达远高于营养组织<sup>[16]</sup>,这与水稻中*OsAGOs*的表达模式相似<sup>[15]</sup>,预示着小RNA在生殖生长阶段发挥重要的调控作用。

根系是玉米重要的组织器官,在保持植株形态、水分和营养吸收与运输、响应植物对环境胁迫等方面起着重要的作用。本研究以Zhai等报道的17个*ZmAGO*基因为研究对象,以玉米自交系B73为材料,对该基因家族成员的基因结构进行了解析,并将玉米幼苗的4种根系分别取材进行表达分析,结果发现,*ZmAGOs*有6个成员存在5'非翻译外显子,可能AGO基因家族受到此机制的调控<sup>[16]</sup>;对*ZmAGOs*在各类根系中的表

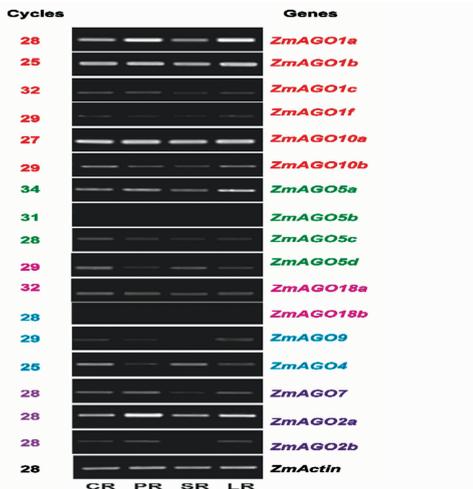


图3 *ZmAGOs* 基因在根系中表达的半定量RT-PCR结果

#### 2.3 *ZmAGOs* 与 *OsAGOs* 的微共线性分析

通过微共线性分析发现(图4),玉米第10染色体的 *ZmAGO1c*、*ZmAGO2b*,第2染色体的 *ZmAGO2a* 和 *ZmAGO1b* 与水稻第4染色体的 *OsAGO1b*、*OsAGO2* 的片段高度同源;玉米第9染色体的 *ZmAGO10a*,第6染色体的 *ZmAGO10b* 与水稻

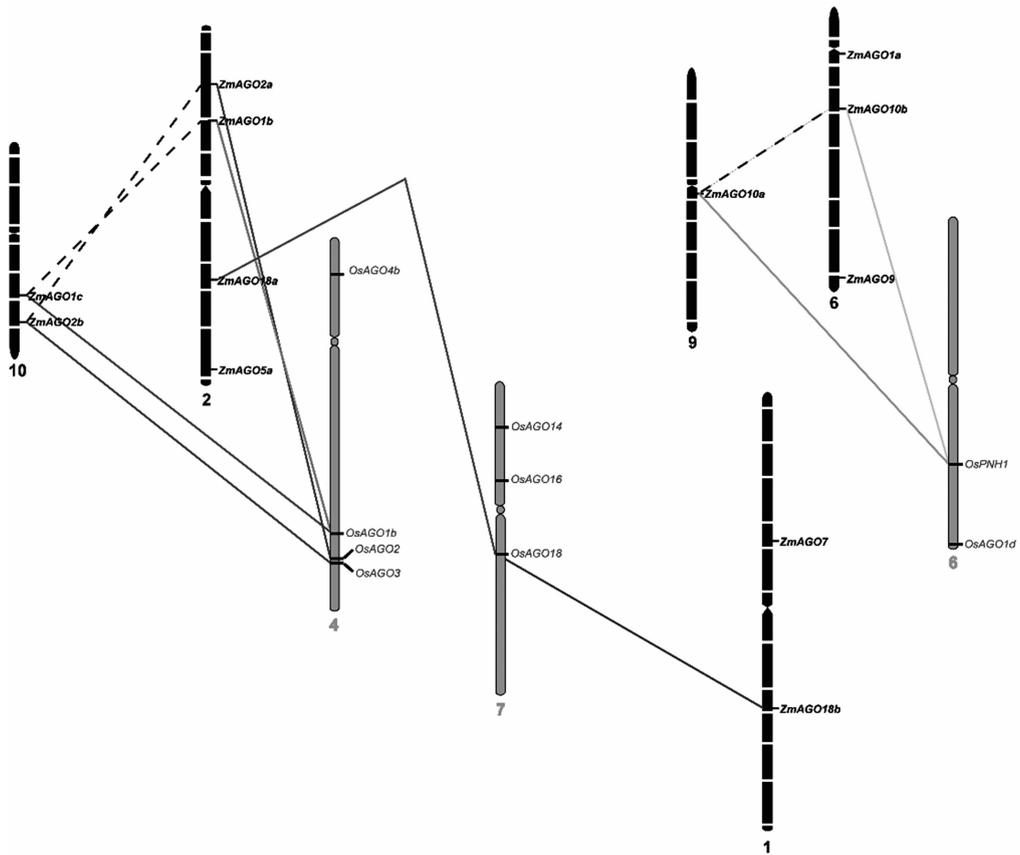


图4 玉米和水稻AGO基因的微共线性分析

达分析表明,有些 *ZmAGO*s 基因显示出其在不同类型根组织中表达的特异性,如 *ZmAGO2b*、*ZmAGO9* 在冠根、初生胚根和侧根中表达,但在次生胚根中未检测到其表达,*ZmAGO5d*、*ZmAGO4* 则冠根、次生胚根和侧根中表达,但在初生胚根中未检测到其表达,说明选择性地表达不同的 *ZmAGO*s 基因可能是不同类型的根系分化及其功能的精细调控所必需的。

#### 参考文献:

- [1] Voinnet O. Origin, biogenesis, and activity of plant microRNAs [J]. *Cell*, 2009, 136(4): 669 - 687.
- [2] Bohmert K, Camus I, Bellini C, et al. AGO1 defines a novel locus of *Arabidopsis* controlling leaf development [J]. *The EMBO Journal*, 1998, 17(1): 170 - 180.
- [3] Tolia N H, Joshua - Tor L. Slicer and the argonautes [J]. *Nature Chemical Biology*, 2007, 3(1): 36 - 43.
- [4] Hutvagner G, Simard M J. Argonaute proteins: key players in RNA silencing [J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2008, 9(1): 22 - 32.
- [5] Song J J, Smith S K, Hannon G J, et al. Crystal structure of argonaute and its implications for RISC slicer activity [J]. *Science*, 2004, 305(5689): 1434 - 1437.
- [6] Liu J, Carmell M A, Rivas F V, et al. Argonaute2 is the catalytic engine of mammalian RNAi [J]. *Science*, 2004, 305(5689): 1437 - 1441.
- [7] Rivas F V, Tolia N H, Song J J, et al. Purified argonaute2 and an siRNA form recombinant human RISC [J]. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2005, 12(4): 340 - 349.
- [8] Vaucheret H. Plant argonautes [J]. *Trends in Plant Science*, 2008, 13(7): 350 - 358.
- [9] Qi Y, Denli A M, Hannon G J. Biochemical specialization within *Arabidopsis* RNA silencing pathways [J]. *Molecular Cell*, 2005, 19(3): 421 - 428.
- [10] Qi Y, He X, Wang X J, et al. Distinct catalytic and non - catalytic roles of argonaute4 in RNA - directed DNA methylation [J]. *Nature*, 2006, 443(7114): 1008 - 1012.
- [11] Baumberger N, Baulcombe D C. *Arabidopsis* argonaute1 is an RNA Slicer that selectively recruits microRNAs and short interfering RNAs [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005, 102(33): 11928 - 11933.
- [12] Montgomery T A, Howell M D, Cuperus J T, et al. Specificity of argonaute7 - miR390 interaction and dual functionality in TAS3 trans - acting siRNA formation [J]. *Cell*, 2008, 133(1): 128 - 141.
- [13] Ji L J, Liu X G, Yan J, et al. Argonaute10 and argonaute1 regulate the termination of floral stem cells through two microRNAs in *Arabidopsis* [J]. *PLoS Genetics*, 2011, 7(3): e1001358.
- [14] Morel J B, Godon C, Mourrain P, et al. Fertile hypomorphic argonaute (ago1) mutants impaired in post - transcriptional gene silencing and virus resistance [J]. *The Plant Cell*, 2002, 14(3): 629 - 639.
- [15] Kapoor M, Arora R, Lama T, et al. Genome - wide identification, organization and phylogenetic analysis of Dicer - like, argonaute and RNA - dependent RNA polymerase gene families and their expression analysis during reproductive development and stress in rice [J]. *BMC Genomics*, 2008, 9(1): 451.

肖松,周棱波,张国兵,等. 酱香型白酒用糯高粱种质遗传多样性分析[J]. 江苏农业科学,2016,44(4):45-49.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.04.012

# 酱香型白酒用糯高粱种质遗传多样性分析

肖松<sup>1</sup>,周棱波<sup>2</sup>,张国兵<sup>2</sup>,邵明波<sup>2</sup>,乙引<sup>1</sup>,张立异<sup>2</sup>

(1. 贵州师范大学生命科学学院,贵州贵阳 550001;2. 贵州省农业科学院旱粮研究所,贵州贵阳 550006)

**摘要:**酱香型白酒又称茅香型白酒,其中最著名的代表就是国酒茅台,主要原料为优质糯高粱。由于其独特的酿造工艺,对高粱品质有特殊的要求。目前,对酱香型酒用糯高粱种质资源遗传多样性缺乏全面的调查,已经妨碍了酒用高粱品种的选育。因此,采用28对SSR分子引物对145个贵州酒用糯高粱种质进行全基因组扫描,共得到61个多态位点,引物位点的多态信息含量指数(polymorphism information content, PIC)值范围为0.02~0.66,平均值为0.42, Jacard遗传相似系数(genetics similarity, GS)变异范围为0.60~0.98,平均值为0.71。根据高粱资源亲缘关系的远近,非加权组平均法(unweighted pair-group method with arithmetic mean, UPGMA)聚类分析结果显示,在GS值为0.63水平上主要聚集形成2个主要的类群(G I、G II)。进一步进行主坐标分析(principal coordinates analysis, PCOA)显示,这批育种资源由大、小2个亚群组成。试验结果表明,贵州白酒用糯高粱育种资源具有较高的遗传相似性,遗传多样性水平较低,遗传背景较为狭窄,研究结果对贵州省今后的酱香型白酒用糯高粱的选育具有一定的指导意义。

**关键词:**糯高粱;SSR分子标记;遗传多样性;聚类分析;主坐标分析

**中图分类号:** S514.03 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)04-0045-05

高粱(*Sorghum bicolor* L.)是全世界种植的第五大禾谷类作物,作为C<sub>4</sub>植物的模式作物,因其光合效率高、耐高温干旱、耐贫瘠等优点而备受关注。高粱栽培品种根据用途不同

一般可以分为3种类型:甜高粱、饲料高粱以及作为粮食的籽粒高粱,在籽粒高粱中又将直链淀粉含量在0~5%之间的称为糯高粱<sup>[1]</sup>。酿造茅台酒等酱香型高档白酒的主要原料是优质籽粒用糯高粱<sup>[2]</sup>。面对红缨子等贵州省主栽糯高粱品种的产量无法满足生产需求的现状<sup>[3]</sup>,贵州省的酒用糯高粱育种工作开展已经迫在眉睫。全面了解种质资源的遗传多样性信息是选择杂交亲本、建立杂种优势群的基础,对于选育优质、高产和抗病的糯高粱新品种具有指导意义,对于糯高粱遗传多样性的研究、遗传资源的保存与利用有重要意义。

分子标记技术在遗传多样性分析的研究中有着重要地位,主要包括限制性片段长度多态性(restriction fragment

收稿日期:2015-11-02

基金项目:贵州省农业科学院课题(编号:黔农科院院专项[2014]034号、黔农科院院专项[2013]013号);贵州省科学技术基金(编号:黔科合J字LKN[2013]26号);贵州省科技计划(编号:黔科合农G字[2012]4004号、黔科合NY[2015]3021-2)。

作者简介:肖松(1990—),男,贵州铜仁人,硕士研究生,从事植物抗病基因研究。E-mail:15285157430@163.com。

通信作者:张立异,研究员,硕士生导师,主要从事作物分子育种研究。E-mail:lyzhang1997@hotmail.com。

- [16] Zhai L, Sun W, Zhang K, et al. Identification and characterization of argonaute gene family and meiosis-enriched argonaute during sporogenesis in maize[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2014, 56(11):1042-1052.
- [17] Wu L, Zhang Q, Zhou H, et al. Rice MicroRNA effector complexes and targets[J]. *The Plant Cell*, 2009, 21(11):3421-3435.
- [18] Zhu H, Hu F, Wang R, et al. Arabidopsis argonaute10 specifically sequesters miR166/165 to regulate shoot apical meristem development[J]. *Cell*, 2011, 145(2):242-256.
- [19] Schmid M, Davison T S, Henz S R, et al. A gene expression map of *Arabidopsis thaliana* development[J]. *Nature Genetics*, 2005, 37(5):501-506.
- [20] Changho E, Lorkovic Z J, Ulf N, et al. AGO6 functions in RNA-mediated transcriptional gene silencing in shoot and root meristems in *Arabidopsis thaliana*[J]. *PLoS One*, 2011, 6(10):e25730.
- [21] Takeda A, Iwasaki S, Watanabe T, et al. The mechanism selecting the guide strand from small RNA duplexes is different among argonaute proteins[J]. *Plant & Cell Physiology*, 2008, 49(4):493-

500.

- [22] Durán-Figueroa N, Vielle-Calzada J P. Argonaute9-dependent silencing of transposable elements in pericentromeric regions of *Arabidopsis*[J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2010, 5(11):1476-1479.
- [23] Singh M, Goel S, Meeley R B, et al. Production of viable gametes without meiosis in maize deficient for an argonaute protein[J]. *The Plant Cell*, 2011, 23(2):443-458.
- [24] Thomson D W, Pillman K A, Anderson M L, et al. Assessing the gene regulatory properties of Argonaute-bound small RNAs of diverse genomic origin[J]. *Nucleic Acids Research*, 2015, 43(1):470-481.
- [25] Qian Y, Cheng Y, Cheng X, et al. Identification and characterization of Dicer-like, argonaute and RNA-dependent RNA polymerase gene families in maize[J]. *Plant Cell Reports*, 2011, 30(7):1347-1363.
- [26] 许鑫,李丹丹,李双江,等. 玉米AGO基因的克隆与表达分析[J]. *西北植物学报*, 2014, 34(3):449-453.