

玉米茎粗 Meta-QTL 及候选基因分析

刘福鹏^{1,2}, 曲文利³, 房海悦⁴, 李莉莉⁵, 金峰学^{2*}, 吴委林¹

(1. 延边大学农学院农学系, 吉林 延吉 133200; 2. 吉林省农业科学院作物资源研究所, 吉林 公主岭 136100; 3. 吉林省农业科学院农业生物技术研究所, 长春 130033; 4. 拜泉县经济合作促进中心, 黑龙江 拜泉 164700; 5. 长春市新立城镇人民政府, 长春 130000)

摘要: 茎粗是影响玉米抗倒性及产量的重要因素之一。本研究对来自 17 个不同作图群体的玉米茎粗 QTL 信息进行收集和整理, 将 95 个玉米茎粗 QTL 整合到 IBM2 2008 Neighbors 高密度分子连锁图谱上, 通过元分析方法得到 20 个与玉米茎粗相关的一致性 QTL (Meta-QTL) 区域。与水稻和高粱已克隆的茎粗相关基因进行对比, 得到两个玉米茎粗候选基因 GRMZM2G307588 和 GRMZM2G089836。

关键词: 玉米; 茎粗; 元分析; 候选基因

中图分类号: S513

文献标识码: A

文章编号: 2096-5877(2019)05-0030-04

Analysis of Meta-QTL and Candidate Genes Related to Stem Diameter in Maize

LIU Fupeng^{1,2}, QU Wenli³, FANG Haiyue⁴, LI Lili⁵, JIN Fengxue^{2*}, WU Weilin¹

(1. College of Agronomy, Yanbian University, Yanji 133200; 2. Crop Germplasm Resources Institute, Jilin Academy of Agricultural Science, Gongzhuling 136100; 3. Institute of Agricultural Biotechnology, Jilin Academy of Agricultural Science, Changchun 130033; 4. Economic Cooperation Promotion Center of Baiquan, Baiquan 164700; 5. People's Government of Xinli Town, Changchun City, Changchun 130000, China)

Abstract: Stem diameter is an important factor affecting maize lodging and grain yield. In the study, we collected the information of maize stem diameter QTL from 17 different mapping populations. 95 QTLs for maize stem diameter were integrated into IBM2 2008 Neighbors, and 20 consistent QTL (Meta-QTL) regions related to maize stem diameter were obtained by meta-analysis. Compared with cloned genes related to stem diameter of rice and sorghum, two candidate genes, GRMZM2G307588 and GRMZM2G089836, were identified for stem diameter in maize.

Key words: Maize; Stem diameter; Meta-analysis; Candidate gene

茎粗作为玉米茎秆的一个重要性状, 不仅在玉米抗倒伏方面起着重要作用, 而且也可作为选育优良饲料玉米品种、评价青枯病病株率、病情指数和作物缺水状况的一个重要指标^[1-4]。找到玉米中控制茎粗的 QTL 位点或关键基因, 对指导实践应用和分子标记辅助育种具有重要意义。

当前对玉米茎粗 QTL 定位的研究较少, 不同研究者定位所采用的自交系以及群体类型也不尽相同, 研究结果存在较大差异, 很难找到与茎粗紧密连锁的分子标记, 定位结果应用在玉米茎粗

分子辅助育种中还有一段距离。元分析可以在整合不同研究定位 QTL 的基础上, 利用数学模型优化 QTL 的置信区间, 提高 QTL 定位的准确度和有效性。此方法已在玉米产量、抗旱、病害相关性状的 QTL 图谱整合与基因挖掘中得以应用^[5-7]。

本文收集和整理已定位的玉米茎粗 QTL 信息, 利用高密度分子连锁图谱 IBM2 2008 Neighbors 进行整合, 通过元分析方法对玉米茎粗进行一致性 QTL (Meta-QTL, 简称 MQTL) 区间的鉴定, 并结合玉米基因组序列信息以及生物信息学方法, 发掘玉米茎粗候选基因。

1 材料和方法

1.1 玉米茎粗相关 QTL 收集与整理

从中国知网、NCBI、MaizeGDB 等公共数据库

收稿日期: 2019-02-26

基金项目: 吉林省农业科技创新工程项目 (C82233805)

作者简介: 刘福鹏 (1993-), 男, 在读硕士, 主要从事作物分子育种研究。

通讯作者: 金峰学, 男, 博士, 研究员, E-mail: fxjin@cjaas.com

中下载和收集玉米茎粗相关 QTL 信息,根据元分析软件格式要求按照作图群体大小、群体类型、染色体位置、LOD 值、表型贡献率、置信区间、遗传图谱标记和遗传距离等信息整理数据。

在 QTL 定位试验中, QTL 的位置(最大可能性位置及其置信区间)和表型贡献率是 QTL 的两个重要参数^[8]。如果 QTL 的置信区间未知,可参照 Darvasi 和 Soller 的公式推断其 95% 置信区间^[9-10]。

$$C.I. = 530/(N \times R^2) \dots\dots\dots(1)$$

$$C.I. = 163/(N \times R^2) \dots\dots\dots(2)$$

其中 $C.I.$ 为 QTL 的置信区间, N 代表作图群体的大小, R^2 代表 QTL 的表型贡献率,公式(1)适用于回交和 F_2 作图群体,公式(2)适用于重组自交系作图群体。

1.2 玉米茎粗 QTL 的映射和元分析

不同研究者在茎粗 QTL 定位研究中所用的作图群体和分子标记存在差异,构建的连锁图谱之间存在的相同标记较少,为整合不同来源的 QTL 信息,需选择一个高密度分子连锁图谱做参考图谱。IBM2 2008 Neighbors 连锁图谱长 8 054.28 cM,包含 RFLP、SSR、RAPD 以及基因等共计 15 991 个标记,可整合不同来源的 QTL 信息^[11]。

利用 BiomercatorV4.2 软件将整理的茎粗 QTL 按照比例投射到参考图谱 IBM2 2008 Neighbors 上。如果某个 QTL 不能映射或映射位置超出参考图谱范围,则舍弃该 QTL^[5]。

1.3 玉米茎粗相关基因的定位和挖掘

基于 MQTL 区间的标记信息,利用 MaizeGDB 网站查询 MQTL 在玉米自交系 B73 基因组参考图 B73RefGen_V4 上的物理位置;若标记位置为估算值,则下载相关标记的引物序列,通过 NCBI 网站 Primer-BLAST 功能分析出该标记的物理位置。

收集水稻和高粱茎粗相关基因和其蛋白质序列,利用 NCBI 在线软件 BLASTp 与玉米 non-redundant protein sequences 数据库进行同源性对比,比对条件为蛋白质序列匹配度大于 80%, E-value 值小于 10^{-10} ,以寻找玉米茎粗相关的同源基因。

2 结果与分析

2.1 玉米茎粗 QTL 信息的收集

收集共 17 篇已发表的涉及玉米茎粗 QTL 定位文章(表 1),涉及 12 个临时性分离群体和 5 个永久性分离群体,共检测到 99 个茎粗 QTL,其中有 95 个 QTL 映射到 IBM2 2008 Neighbors 上。从这些 QTL 的染色体分布来看,第 9 染色体没有定位出茎粗 QTL,第 1、8 和 10 染色体的 QTL 较多,第 4 染色体最少,只有三个茎粗 QTL 被映射。

2.2 玉米茎粗 QTL 元分析

对来自 17 篇文献的茎粗 QTL 进行元分析,共获得 20 个 MQTL(表 2),其中第 3 和第 10 染色体上分别检测到 4 个,第 1 染色体上检测到 3 个,第 2、7 和 8 染色体上分别检测到 2 个,第 4、5 和 6 染

表 1 已报道的玉米茎粗 QTL

亲本	群体类型	群体大小	分析方法	QTL 数目	参考文献
928×928	DH	162	ICIM	3	[12]
中 72×502	$F_{2:3}$	206	CIM	4	[13]
1212×B73	F_2	240	CIM	7	[14]
L26 × 095	F_2	186	CIM	1	[15]
JB×Y53	F_2	240	CIM	6	[16]
综 3×87-1	$F_{2:3}$	266	CIM	10	[17]
黄 C ×178	F_2	197	IM	2	[18]
农系 531×农系 110	DH	74	CIM	1	[19]
JS037×JS133	F_2	192	CIM	3	[20]
(郑 58×豫 87-1)×(PH6WC×自 330)	F_2	228	IM	11	[21]
JB×Y53	$F_{2:3}$	180	-*	3	[22]
郑 58×昌 7-2	DH	161	CIM	22	[23]
丹 232×N04	RIL	258	CIM	10	[24]
N04×丹 232	BC ₂ S ₁	220	SMM	5	[25]
teosinte×W22	BC ₆ S ₆	259	-	1	[26]
B73×Ce03005	RIL	216	CIM	2	[27]
SICAU1212×B73	F_2	233	-	4	[28]

注: * 为分析方法; ICIM: 完备区间作图法; CIM: 复合区间作图法; IM: 区间作图法; SMM: 单标记作图法。“-”: 未给出分析方法

染色体上分别检测到1个,而在第9染色体上没有发现与茎粗相关MQTL。20个MQTL的置信区间

变异范围为1.77~68.09 cM,置信区间小于10 cM的MQTL共7个。

表2 玉米茎粗MQTL相关信息

MQTL	连锁群	左标记	右标记	左标记位置(cM)	右标记位置(cM)
MQTL1	1	TIDP3342	brs1	181.09	202.91
MQTL2	1	bnlg2238	TIDP5629	326.11	360.71
MQTL3	1	rs2	az19D2	456.495	469.485
MQTL4	2	mmp33	pza00497	202.73	206.54
MQTL5	2	vdac1a	TIDP6704	385.77	387.54
MQTL6	3	magi20667	TIDP5269	139.64	161.8
MQTL7	3	IDP7384	AY111333	210.675	258.645
MQTL8	3	phm9914	dupssr23	360.31	387.21
MQTL9	3	IDP7549	myo1	744.565	756.435
MQTL10	4	cyp1710	AY109715	-8.54	-4.5
MQTL11	5	hmg1	knox6	283.95	310.85
MQTL12	6	sbp3	AY111964	153.99	174.12
MQTL13	7	tsa1	caf1	114.69	182.78
MQTL14	7	umc1987a	TIDP7142	317.56	323.78
MQTL15	8	zmm2	IDP7228	180.93	186.07
MQTL16	8	cdo920a	csu31a	373.49	388.43
MQTL17	10	IDP7647	psk4	44.165	82.515
MQTL18	10	umc2034	aasr1	121.02	143.44
MQTL19	10	umc1239	pza01877	214.6	217.42
MQTL20	10	isr1	r1	379.98	389.78

2.3 玉米茎粗候选基因的挖掘

通过 MaizeGDB 网站(<http://www.maizegdb.org/>)查询发现,20个MQTL区域内共包含3 432个候选基因。利用在线软件BLASTp比较水稻及高粱茎粗基因蛋白质序列与玉米B73蛋白质序列的同源

性,共有2个候选基因位于MQTL区间内。其中与水稻OsSPL14基因同源的玉米茎粗候选基因GRMZM2G307588位于MQTL16区间内,与高粱SAI-1基因同源的玉米茎粗候选基因GRMZM2G089836位于MQTL11区间内(表3)。

表3 玉米茎粗MQTL内的水稻及高粱同源候选基因

水稻及高粱基因名称	基因编号	基因产物	玉米候选基因	参考文献
OsSPL14	LOC4345998	squamosa promoter-binding-like protein 17	GRMZM2G307588	[29],[30]
SAI-1	LOC8085173	Sucrose: sucrose 1-fructosyltransferase	GRMZM2G089836	[31]

3 讨论

玉米茎粗细程度的不同会给玉米株型和产量等造成重要影响。本研究通过整合95个不同来源的茎粗QTL,经元分析最终检测到20个MQTL,除第9染色体外,其它染色体均有分布。

将水稻和高粱已克隆的茎粗相关基因蛋白质序列与玉米B73基因蛋白质序列进行同源对比发现,在MQTL区间内检测到两个玉米茎粗候选基因GRMZM2G307588和GRMZM2G089836。SBP是植物特有的一类转录因子,已从大豆、水稻、拟南

芥等多种植物中分离出来,参与植物生长、发育的多个方面^[32]。SAI-1是植物蔗糖代谢中的关键调节酶,钟海丽^[31]研究结果表明SAI-1可能参与高粱茎粗形态建成。

本文通过同源对比发现并非所有已知的茎粗同源基因与MQTL区间重叠,但有些靠近MQTL区域。如Zhao等^[33]发现,与对照组YIL55植株相比,水稻LOC4345535基因使水稻PAY1突变体植株的株高增高、茎秆增粗,其玉米同源基因GRMZM2G150212临近MQTL20区间。江培顺等^[5]在对玉米产量相关性状进行元分析时,也发现并非所有已

知的产量性状同源基因与MQTL位置重叠。其主要原因可能是茎粗QTL定位研究应用的亲本群体不能完全覆盖玉米所有种质,且大多数所用遗传群体为初级遗传群体。

元分析方法需要不同作图群体之间存在大量相同标记,或以高密度的分子连锁图谱来整合不同来源的QTL信息。随着分子技术的高速发展,大量SNP标记在QTL定位中得到应用。但基于SNP标记定位的QTL信息并未能映射到IBM2 2008 Neighbors上。Li等^[34]利用GWAS (genome-wide association study)群体,结合R语言对玉米株高和穗位高进行元分析,分别获得一个株高及穗位高候选基因,但该研究仅基于QTL的物理位置进行,并未涉及其贡献率等信息,是否能用于大量不同群体间的整合还有待研究。

本研究通过元分析和基因同源对比的方法,确定了20个玉米茎粗Meta-QTL。在Meta-QTL区段内发掘了2个与玉米茎粗相关的候选基因,为玉米抗逆分子育种提供了重要参考。

参考文献:

- [1] Casanas F, Bosch L, Almirall A. Correlated response in forage yield and quality of the Lancaster variety of maize through selection in the stalk diameter (*Zea mays* L.-Spain)[J]. *Maydica*,1998, 43(4): 243-249.
- [2] Torrecillas M, Bertoia L, Broccoli A. Forage maize (*Zea mays* L.) production: relationship between plant architecture and genetic structure[J]. *Cuban Journal of Agricultural Science*,2000,34 (1): 57-63.
- [3] 王殿昌,王奎生,韩志景,等.玉米青枯病抗性遗传规律研究-IV.玉米青枯病抗性与农艺性状的相关性研究[J].*山东农业科学*,1995(5):4-5.
- [4] 李会,刘钰,蔡甲冰,等.夏玉米茎流速率和茎直径变化规律及其影响因素[J].*农业工程学报*,2011,27(10): 187-191.
- [5] 江培顺,张焕欣,吕香玲,等.玉米产量相关性状Meta-QTL及候选基因分析[J].*作物学报*,2013,39(6):969-978.
- [6] 李博,张焕欣,杨小艳,等.玉米穗位高全基因组关联分析及其候选基因预测[J].*作物杂志*,2013(2):27-32.
- [7] 周强,王平喜,程备久,等.玉米穗行数性状QTL的元分析[J].*玉米科学*,2014,22(2):35-40.
- [8] 吕香玲,李新海,谢传晓,等.玉米抗甘蔗花叶病毒基因的比较定位[J].*遗传*,2008,30(1):101-108.
- [9] Darvasi A, Soller M. Advanced intercross lines, an experimental population for fine genetic-mapping[J]. *Genetics*,1995,141(3): 1199-1207.
- [10] Darvasi A, Soller M. A simple method to calculate resolving power and confidence interval of QTL map location behavior[J]. *Behavior Genetics*,1997,27(2):125-132.
- [11] 栗文娟,宋燕春,王天宇,等.基于元分析和生物信息学分析的玉米抗旱相关性状QTL一致性区间定位[J].*作物学报*,2010,36(9):1457-1467.
- [12] 祝丽英.玉米株型、穗部性状QTL鉴定和不育系遗传分析[D].保定:河北农业大学,2012.
- [13] 袁刘正.玉米耐荫性的QTL分析[D].郑州:河南农业大学,2009.
- [14] 殷勇.玉米几个茎秆性状的遗传分析[D].成都:四川农业大学,2012.
- [15] 徐德林,蔡一林,吕学高,等.玉米株型性状的QTL定位[J].*西南大学学报(自然科学版)*,2010,17(12):27-31.
- [16] 汤在祥,贾波,张丹,等.玉米杂交种苏玉16农艺性状的QTL分析[J].*江苏农业学报*,2012,28(2):265-273.
- [17] 汤华,严建兵,黄益勤,等.玉米5个农艺性状的QTL定位[J].*遗传学报*,2005,32(2):203-209.
- [18] 孙海艳,蔡一林,王久光,等.玉米株型性状的QTL定位[J].*西南大学学报(自然科学版)*,2010,32(12):14-18.
- [19] 宋炜.玉米DH群体的遗传分析及QTL定位初探[D].保定:河北农业大学,2005.
- [20] 史良国.4个玉米相关性状的QTL定位分析[D].合肥:安徽农业大学,2013.
- [21] 刘鹏飞.基于四交群体的玉米耐密性及相关性状QTL定位与分析[D].兰州:甘肃农业大学,2013.
- [22] 贾波,蒋思霞,邓德祥,等.玉米农艺性状QTL定位分析[J].*玉米科学*,2011,19(3):31-34.
- [23] 陈琼.基于DH家系的玉米植株抗倒伏相关性状的QTL分析[D].郑州:河南农业大学,2016.
- [24] 张中伟.普通×爆裂玉米RILs构建及主要性状QTL分析[D].郑州:河南农业大学,2009.
- [25] 牛素贞.爆裂玉米高代回交QTL定位及其在遗传育种中的应用[D].郑州:河南农业大学,2006.
- [26] Lemmon Z, Doebley J. Genetic dissection of a genomic region with pleiotropic effects on domestication traits in maize reveals multiple linked QTL[J]. *Genetics*,2014,198(1):345-353.
- [27] Hu H, Liu W, Fu Z, et al. QTL mapping of stalk bending strength in a recombinant inbred line maize population[J]. *Theoretical & Applied Genetics*,2013,126(9):2257-2266.
- [28] Yang C, Liu J, Rong T. Detection of quantitative trait loci for ear row number in F₂ population of maize[J]. *Genetics & Molecular Research*,2015,14(4):14229-14238.
- [29] Jiao Y, Wang Y, Xue D, et al. Regulation of OsSPL14 by Os-miR156 defines ideal plant architecture in rice[J]. *Nature Genetics*,2010,42(6):541-544.
- [30] 高新梅.小麦SPL家族基因TaSPL17的功能研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2018.
- [31] 钟海丽.甜高粱SAI-1基因等位变异及其生物学效应研究[D].北京:中国农业科学院,2015.
- [32] 辛婧.SBP转录因子的结构和功能[J].*现代生物医学进展*,2006(12):140-142.
- [33] Zhao L, Tan L, Zhu Z, et al. PAY1 improves plant architecture and enhances grain yield in rice[J]. *Plant Journal for Cell & Molecular Biology*,2015,83(3):528-536.
- [34] Li X, Zhou Z, Ding J, et al. Combined Linkage and association mapping reveals QTL and candidate genes for plant and ear height in maize[J]. *Frontiers in Plant Science*,2016,7:833.