

玉米穗部性状及其一般配合力的关联分析

刘文童, 监立强, 郭晋杰, 赵永锋, 黄亚群, 陈景堂, 祝丽英

(河北农业大学农学院 / 国家玉米改良中心河北分中心 / 河北省作物种质资源实验室, 保定 071000)

摘要: 穗部性状是影响玉米产量的重要性状, 一般配合力是评价玉米自交系利用价值的重要指标。为解析穗部性状及其一般配合力的遗传基础, 本研究对 248 份玉米自交系组成的自然群体和以其中 100 份自交系为母本按照 NC II 遗传交配设计与 4 个测验种 (Mo17、昌 7-2、E28 和郑 58) 组配的 400 份 F_1 杂交组合的穗部性状进行研究, 并利用分布于全基因组的 83057 个 SNP 标记进行穗部性状及其一般配合力的关联分析。结果表明, 穗长、穗粗 2 个穗部性状基因型间、环境间差异达极显著水平, 其广义遗传率分别为 81.22% 和 87.70%。母本间、父本间及不同杂交组合间穗长、穗粗差异均达极显著水平, 在基因型方差中特殊配合力贡献率较大。利用 2 年 2 点 4 个环境下的数据分别进行关联分析, 检测到 34 个性状 SNP 关联, 利用 BLUP 值检测到 7 个性状 SNP 关联。这些性状 SNP 关联可解释的表型变异为 0.01%~19.42%, 其中有 5 个性状 SNP 关联的表型贡献率大于 10%, 未检测到穗部性状本身与一般配合力性状的相同 SNP 位点。基于该群体的 LD 衰减距离在显著关联 SNP 位点上下游各 120 kb 范围内进行候选基因搜索, 共发现 158 个候选基因, 推测可能的候选基因涉及泛素代谢相关基因 (*GRMZM2G360374*、*GRMZM2G049568*、*GRMZM2G178120*), β 半乳糖苷酶 (*GRMZM2G178106*), 丝氨酸苏氨酸蛋白激酶 (*GRMZM2G127050*), 赖氨酸和组氨酸特异性转运体 (*GRMZM2G116004*)。研究结果为解析玉米穗长和穗粗及其一般配合力的遗传基础和分子辅助选择育种提供了参考。

关键词: 玉米; 穗部性状; 一般配合力; 关联分析; 候选基因

Association Analysis of Ear-Related Traits and Their General Combining Ability in Maize

LIU Wen-tong, JIAN Li-qiang, GUO Jin-jie, ZHAO Yong-feng, HUANG Ya-qun,
CHEN Jing-tang, ZHU Li-ying

(College of Agronomy, Hebei Agricultural University/Hebei Sub-center of National Maize Improvement Center/
Key Laboratory for Crop Germplasm of Hebei, Baoding 071000)

Abstract: Ear-related traits have an important impact on maize yield and general combining ability (GCA) is an important indicator for assessing maize inbred lines. 248 inbred lines of maize and 400 F_1 hybrids derived from combinations with 100 lines selected randomly from the 248 inbred lines as the female parents and four elite inbred lines (‘Mo17’, ‘Chang 7-2’, ‘E28’ and ‘Zheng 58’) as the testers according to the NCII genetic mating design were used to study the ear-related traits. The association analysis of ear-related traits and their GCA was performed using 83057 SNP markers. The results indicated that the ear-related traits were significantly different among the genotypes and the environments. The broad-sense heritability of ear length (EL) and ear diameter (ED) were 81.22% and 87.70%, respectively. Combining ability analysis indicated that there were significant differences among females, males and combinations for the two traits. The contribution rate of special combining ability was greater than general combining ability. 34 significant trait-SNP associations were identified using the data of 4 environments (2 locations in 2 years) respectively, and 7 significant trait-SNP associations were identified

收稿日期: 2019-08-01 修回日期: 2019-08-22 网络出版日期: 2019-09-19

URL: <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20190801001>

第一作者研究方向为作物遗传改良与分子设计, E-mail : toweniu@foxmail.com

通信作者: 祝丽英, 研究方向为玉米遗传育种, E-mail : zhuliying73@163.com

基金项目: 国家重点研发计划 (2018YFD0300501)

Foundation project: National Key Research and Development Project (2018YFD0300501)

using the data of best linear unbiased prediction. Each trait-SNP association can explain phenotypic variation ranged from 0.01% to 19.42% and 5 of them had phenotypic variance explained value greater than 10%. The same SNPs of the ear-related traits and GCA were not identified simultaneously. Based on the LD decay distance, candidate genes were identified in the range of the 120 kb upstream and downstream of significantly associated SNP, and 158 genes were obtained. The putative candidate genes were involved in ubiquitin metabolism (*GRMZM2G360374*, *GRMZM2G049568*, *GRMZM2G178120*), β -galactosidase (*GRMZM2G178106*), serine/threonine-protein kinase (*GRMZM2G127050*), lysine and histidine specific transporter (*GRMZM2G116004*). The study provides a reference for the analysis of the genetic basis and molecular-assisted selection breeding of maize ear-related traits and general combining ability.

Key words: maize; ear-related traits; general combining ability; association analysis; candidate gene

玉米 (*Zea mays* L.) 是重要的粮食、饲料作物和工业原料, 在农业生产中有着举足轻重的地位。随着人口、经济和社会的发展, 对玉米的需求量越来越大, 提高玉米产量仍是当前育种的重要目标。玉米产量性状一直是育种家重视的农艺性状之一, 涉及籽粒、穗部等相关性状, 其中穗部性状有穗长、穗粗等, 与产量有着紧密的联系。玉米是杂种优势利用最为成功的作物之一, 选择强优势杂交组合, 是育种工作的重点, 而配合力是衡量自交系性能不可忽视的指标。对玉米穗部性状及其一般配合力进行研究, 进一步理解其遗传规律, 挖掘相关的候选基因, 对于产量提高、品种选育和分子标记辅助选择育种有着积极意义。

玉米穗部性状及其一般配合力是复杂的数量性状。随着分子标记、测序技术的快速发展, 大量 SSR、SNP 标记得到开发并逐渐应用到作物农艺性状连锁分析和关联分析中。近年来, 研究人员已对玉米穗部性状进行了大量研究。Li 等^[1] 利用 210 份 $F_{2:3}$ 家系和 SSR 标记构建的遗传连锁图谱, 在高磷和低磷处理条件下对玉米产量及相关构成因素进行 QTL 定位, 共检测到 69 个 QTL, 其中有一个穗长 QTL 在 2 个环境中同时被检测到。谭巍巍等^[2] 使用 2 个 $F_{2:3}$ 群体对玉米穗部性状进行 QTL 分析, 2 个群体分别检测到 33 个和 46 个 QTL, 主要分布在 4、5、6、7、10 号染色体上, 其中主效 QTL (表型贡献率大于 10%) 总计 23 个。杨莎等^[3] 的类似研究中分别在 2 个群体得到 7 个和 12 个穗长 QTL。Huo 等^[4] 的研究共得到 11 个穗长 QTL, 其中 qEL1.10 被多次检测到, 并且该 QTL 区域在近等基因系中被证实同时与穗长、行粒数和穗重有关, 表明该 QTL 是一个效应较大的多效性区域。Chen 等^[5] 基于 bin 高密度图谱对 F_2 群体雄穗及穗部性状进行 QTL 定位, 得到 2 个分布在 4、5 号染色

体上表型贡献率总计为 10.9% 的穗长 QTL。王辉等^[6] 使用 220 个重组自交系 (RIL, recombinant inbred lines) 群体研究玉米穗部性状在不同种植密度的遗传响应中检测到 42 个 QTL, 3 个种植密度下未检测到一致 QTL, 表明玉米穗部性状对于不同密度条件的遗传响应机制可能不同。宋晓恒等^[7] 利用 RIL 群体和 SNP 标记构建的连锁图谱对玉米穗部性状进行 QTL 定位, 共检测到 18 个 QTL, 并且这些 QTL 与环境的互作均并不显著。陈浩等^[8] 使用 RIL 群体和 IF_2 群体分别检测到穗部性状 QTL 22 个和 32 个, 这些 QTL 在多个染色体区域内呈簇状分布, 其中少量 QTL 表现出环境一致性和较高贡献率。马娟等^[9] 使用 BC_3F_4 群体对玉米产量相关性状进行 QTL 分析, 得到 7 个加性 QTL 和 5 个显性 QTL, 同时使用 Meta-QTL 分析方法获得正常田间管理条件下 37 个 MQTL 和营养胁迫条件下 16 个 MQTL。以上研究由于使用群体、标记类型和定位方法存在一定差异, 得到的 QTL 在数量及效应上也不尽相同, 需要更多相关试验来互相验证。

随着多种作物测序的完成, 全基因组关联分析 (GWAS, genome wide association study) 越来越多地应用在作物农艺性状研究中。目前, 对产量相关因素性状进行 GWAS 已经在多种作物中开展, 如水稻^[10]、小麦^[11]、高粱^[12]、棉花^[13] 等。Zhou 等^[14] 结合连锁分析 ($F_{2:3}$, 4 交叉家系) 和关联分析方法对玉米穗长进行研究, 连锁分析检测到 14 个 QTL, 其中 6 个位于 3 个相同的基因组区域被认为是稳定 QTL, 3 个 QTL 的候选基因被 GWAS 的结果验证, 同时证实玉米穗长受微效多基因控制。Xiao 等^[15] 使用多个群体结合连锁分析和关联分析对玉米穗部性状遗传组成进行分析, 3 种方法检测到 17~34 个微效或中效 QTL, 4 个新发现的 QTL 使用候选基因关联分析被验证并得到精确定位, 推断出与穗长相

关的潜在候选基因 *GRMZM5G864815*。Zhu 等^[16]使用 292 份玉米自交系,对穗部性状进行关联分析得到 20 个相关 SNP 位点,这些关联 SNP 位点通过 Meta-QTL 分析的方法得到部分验证。此外,Shen 等^[17]、Liao 等^[18]和 Liu 等^[19]结合多组学技术对玉米穗部发育进行了研究。

一般配合力 (GCA, general combining ability) 是评价亲本材料利用价值的一个重要指标,对一般配合力进行 QTL 定位已在水稻和玉米中开展,但研究相对较少。Qu 等^[20]基于回交重组自交系群体对水稻农艺性状配合力进行 QTL 定位,发现每个农艺性状配合力定位到 1~6 个不等的 QTL,其中部分 QTL 是多效性的且与其他 QTL 紧密连锁。Liu 等^[21]的研究定位到 13 个 QTL 与水稻 3 个重要农艺性状相关,并且对其中 2 个 QTL (GCA1-OsPPR37、GCA2-Ghd7) 进行了精细定位。Chen 等^[22]对水稻部分农艺性状及其配合力进行全基因组关联分析,检测到 34 个显著关联,其中 12 个与一般配合力关联,11 个与特殊配合力关联;并认为优良基因 (*Ghd8*、*GS3*、*qSSR4*) 在高一般配合力亲本中积累并能达到 30.03% 的方差解释率,在一定程度上说明了高一般配合力亲本分子选育方法是可行的。Qi 等^[23]利用导入系群体和 SSR 标记进行玉米产量相关性状的研究,得到 56 个产量性状一般配合力位点。Huang 等^[24]的类似研究中得到 31 个产量性状一般配合力位点。Zhou 等^[25]使用 RIL 群体研究株高相关性状及其一般配合力的遗传基础,检测到 16 个株高相关性状 QTL,21 个株高相关性状一般配合力 QTL,其中只有 7 个 QTL 同时被检测到。

为解析玉米穗部性状及一般配合力的遗传基础,本试验利用自然群体和 F_1 群体对玉米穗部性状及其一般配合力进行关联分析,筛选与目标性状显著相关的 SNP 标记,挖掘相关候选基因,为穗部性状的遗传改良和分子标记辅助育种提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验设计和性状采集

自然群体由 248 份来源广泛、遗传多样性丰富的玉米自交系组成,包括中国玉米育种中广泛应用的骨干自交系及其衍生系和部分美国玉米自交系,覆盖了玉米当前主要杂种优势类群核心种质资源。从自然群体随机选取 100 份自交系为母本,以不同杂种优势类群的骨干自交系 Mo17、昌 7-2、E28 和

郑 58 为父本,按照 NCII 遗传交配设计组配 400 份 F_1 杂交组合。

自然群体和 F_1 群体于 2015 年和 2016 年分别在河北保定和河北辛集进行种植。田间试验均采用完全随机区组设计,2 次重复,其中自然群体每个材料为单行区,行长 3 m,行距 0.6 m,密度 75000 株/hm²; F_1 每个材料为 3 行区,行长 4 m,行距 0.6 m,密度 60000 株/hm²。成熟后,自交系收获除行头、行尾外的果穗, F_1 收获中间行除行头、行尾外的果穗。待自然风干后,每小区选 10 个均匀果穗,测量果穗从基部到顶部的长度为穗长 (EL, ear length)、果穗中部的直径为穗粗 (ED, ear diameter),取平均值作为该性状的观测值。

1.2 表型数据分析

在 Excel 2010 中对 2 年 2 点 4 个环境下的穗部性状的数据进行整理,使用 SPSS 23 进行描述统计分析。按照公式 $g_i = y_i - y_j$ 分别计算 100 个母本自交系的穗部性状一般配合力,其中 g_i 表示自交系 i 一般配合力效应; y_i 为自交系 i 与 4 个测验种杂交组合表现的平均值; y_j 为所有组合表现的平均值。使用 R 平台^[26] 软件包 “ggplot2” 绘制一般配合力的箱线图。利用 400 份 F_1 的穗长穗粗数据在 DPS 软件中进行配合力方差分析。使用 SAS 软件对 4 个环境下 248 份玉米自交系的穗长、穗粗性状分别进行联合方差分析,参照 Knapp 等^[27] 的方法计算广义遗传率,计算公式如下:

$$H_B^2 = \sigma_g^2 / (\sigma_g^2 + \sigma_{ge}^2 / n + \sigma_e^2 / nr)$$

其中 σ_g^2 为遗传方差, σ_{ge}^2 为基因型与环境互作方差, σ_e^2 为随机误差方差, n 为环境个数, r 为每个试验环境中的重复次数。

利用 R 平台 lme4 软件包中 “lmer” 函数对 4 个环境下穗部性状及其一般配合力数据进行最佳线性无偏估计 (BLUP, best linear unbiased prediction), 获得每个自交系每个性状的 BLUP 表型数据 (简称 BLUP 值)。

1.3 基因型测序及分析

采用 CTAB 法提取 248 份自交系的基因组 DNA, GBS 分型 (genotyping by sequencing) 方法^[28] 构建合格文库,使用第 2 代测序仪 Illumina Hiseq2000 进行双末端测序,将测序所得有效数据比对到 B73 AGPV2 参考基因组上,数据质控 (缺失率和最小等位基因频率过滤) 后得到均匀分布于基因组的 83057 个 SNP 标记。SNP 标记按照 “染色体编号_位置” 规则命名。

使用 PLINK 1.90 beta 软件计算基因组上 200 kb 以内的两两 SNP 间的 r^2 , 基于 Hill 和 Weir 方法原理^[29] 和 jujumaan (<https://jujumaan.com/2017/07/15/linkage-disequilibrium-decay-plot/>) 的 R 代码计算 LD decay。取 $r^2=0.1$ 时的衰减距离 120 kb 为 LD 衰减距离。

1.4 关联分析和候选基因挖掘

使用 GAPIT 软件包^[30] 对玉米穗长、穗粗及其一般配合力在 4 个环境下的表型值和 BLUP 值分别进行全基因组关联分析, 其中穗长和穗粗性状使用自然群体 248 份玉米自交系基因型; 一般配合力性状使用作母本的 100 份玉米自交系基因型, 采用 SUPER 算法^[31] (settlement of MLM under progressively exclusive relationship), 使用 Q 矩阵用于群体结构分层; SUPER 算法抽取一部分 SNP 计算 Kinship 矩阵用于分析各个材料间的亲缘关系, 其中参数设置为 sangwich.top=“MLM”, sangwich.bottom=“SUPER”, LD=0.1。

利用 GEC 软件^[32-33] 计算有效标记数, 根据软件给出的建议 P 值, 设置显著性位点的阈值, 确定与各性状显著关联的 SNP 位点。在 maizeGDB (<https://www.maizegdb.org/>) 网站 B73 AGPV2 参考基因组图谱在显著位点上下游延伸 120 kb 范围

内查找相关候选基因, 使用 NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)、UniPort (<https://www.uniprot.org/>) 等数据库网站查询相关基因的信息, 将候选基因 ID 上传至 GENE ONTOLOGY 网站 (<http://www.geneontology.org/>) 进行 GO 分析。

2 结果与分析

2.1 穗部性状及其一般配合力描述统计分析

对自然群体和 F₁ 群体在 2 年 2 点 4 个环境下的穗部性状进行统计分析 (表 1), 可知 2 个群体的穗长和穗粗在 4 个环境下均存在广泛变异。自然群体 4 个环境下穗长、穗粗变异系数平均值分别为 13.36% 和 8.45%; F₁ 群体 4 个环境下穗长、穗粗变异系数平均值分别为 10.67% 和 6.30%。可见无论是自然群体还是 F₁ 群体, 穗长的变异均大于穗粗; F₁ 群体穗长、穗粗的变异均小于自然群体。

穗长一般配合力和穗粗一般配合力在 4 个环境下的数据见图 1。可见穗部性状一般配合力数据分布集中, 存在个别异常数据。以上数据表明穗部性状及其一般配合力变异广泛, 并且基本符合正态分布, 一定程度上说明了这些性状都是由微效多基因控制, 符合数量性状的特点。

表 1 穗部性状描述统计分析
Table 1 Descriptive statistics analysis of ear-related traits

群体 Population	性状 Trait	环境 Environment	范围 Range	平均值 ± 标准差 Mean ± SD	偏度 Skewness	峰度 Kurtosis	变异系数 (%) CV
自然群体 Natural population	穗长 (cm)	15_B	9.25~26.50	13.96 ± 1.87	1.53	9.97	13.40
		15_X	9.41~26.98	14.13 ± 1.90	1.58	10.38	13.45
		16_B	9.45~19.12	13.74 ± 1.75	0.08	-0.19	12.74
		16_X	9.19~21.18	14.03 ± 1.94	0.34	0.92	13.83
	穗粗 (cm)	15_B	3.10~4.78	3.93 ± 0.32	0.16	0.18	8.14
		15_X	3.34~5.01	4.14 ± 0.32	0.09	0.10	7.73
		16_B	3.27~5.11	4.10 ± 0.34	0.15	-0.09	8.29
		16_X	2.74~5.11	3.94 ± 0.38	-0.02	0.30	9.64
F ₁ 群体 F ₁ Population	穗长 (cm)	15_B	9.83~19.90	16.90 ± 1.21	-1.08	4.74	7.16
		15_X	12.36~20.53	16.92 ± 1.46	-0.06	0.10	8.63
		16_B	10.02~23.68	17.11 ± 2.05	-0.15	0.91	11.98
		16_X	8.01~21.67	16.62 ± 2.48	-0.80	0.52	14.92
	穗粗 (cm)	15_B	3.64~5.59	4.56 ± 0.26	0.08	0.79	5.70
		15_X	3.59~5.76	4.62 ± 0.28	0.18	1.01	6.06
		16_B	3.70~5.61	4.38 ± 0.29	0.34	0.26	6.62
		16_X	3.63~5.93	4.39 ± 0.30	0.40	1.35	6.83

15_B: 2015 年保定; 15_X: 2015 年辛集; 16_B: 2016 年保定; 16_X: 2016 年辛集。下同
15_B: Baoding in 2015, 15_X: Xinji in 2015, 16_B: Baoding in 2016, 16_X: Xinji in 2016. The same as below

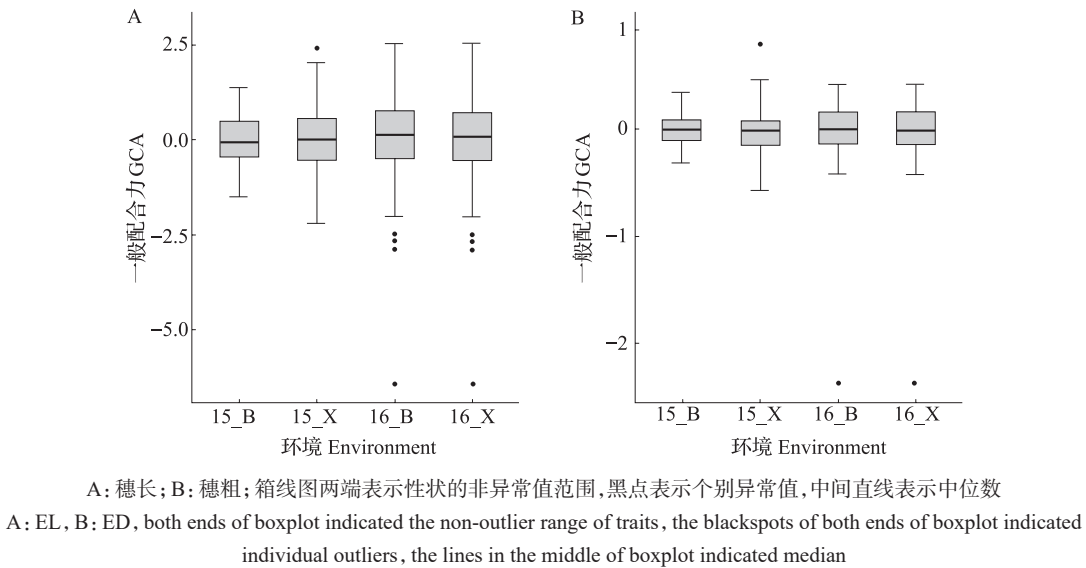


图 1 穗部一般配合力性状箱线图
Fig.1 The boxplot of ear-related traits GCA

2.2 穗部性状及其一般配合力联合方差分析

分别对穗长、穗粗性状进行联合方差分析(表 2),结果显示自然群体穗长、穗粗 2 个性状的基因型间差异、不同环境间的差异均达到极显著水平,其广义遗传率分别为 81.22% 和 87.70%,说明穗部性状变异主要受遗传因素的影响。

对 4 个环境下 400 份 F_1 的穗长、穗粗分别进行配合力方差分析(表 3),可见穗长、穗粗在

母本间、父本间及不同杂交组合间的差异均达到极显著水平,表明父本效应、母本效应及其交互作用共同影响 F_1 的穗部性状。配合力的基因型方差中,穗长、穗粗的一般配合力贡献率较小,仅占 28.68% 和 38.33%;而特殊配合力贡献率较大,分别占 71.32% 和 61.67%,一定程度上说明在穗长、穗粗 2 个性状的遗传中非加性效应的作用比较大。

表 2 自然群体穗部性状联合方差分析
Table 2 Joint analysis of variance of ear-related traits in natural population

性状 Trait	F 值 F-value				
	区组 Block	环境 Environment	基因型 Genotype	基因型 × 环境 Genotype × Environment	广义遗传率(%) H^2_B
穗长 EL	2.51*	4.77**	8.75**	1.64**	81.22
穗粗 ED	3.05*	55.12**	7.91**	0.72	87.70

** 表示在 0.01 水平极显著, * 表示在 0.05 水平显著,下同
** indicated significance at the level of 0.01, * indicated significance at the level of 0.05, the same as below

表 3 F_1 群体穗部性状配合力方差分析
Table 3 Analysis of variance on combining ability of ear-related traits in F_1 population

性状 Trait	环境 Environment	F 值 F-value			基因型方差 Variance of genotype			贡献率(%) Contribution rate	
		母本一般配合力 GCA of female	父本一般配合力 GCA of male	母本 × 父本 Female × male	母本一般配合力 GCA of female	父本一般配合力 GCA of male	特殊配合力 SCA	一般配合力 GCA	特殊配合力 SCA
穗长 EL	9.08**	1.72**	16.83**	2.26**	0.05	0.03	0.21	28.68	71.32
穗粗 ED	40.77**	1.67**	9.25**	2.71**	0.91	0.83	2.79	38.33	61.67

2.3 穗部性状及其一般配合力的关联分析

2.3.1 显著位点阈值确定 利用 GEC 软件计算 83057 个 SNP 标记的有效标记数为 40705, 软件给出的建议 P 值为 $2.46E-5$, 将显著性位点的阈值设置为 $-\log_{10}^{(2.46E-5)}$ 即 4.61。

2.3.2 4 个环境下穗部性状及其一般配合力的关联分析 对 4 个环境下的穗部性状和穗部性状一般配合力进行关联分析, 检测到 34 个性状 SNP 关联 (表 4), 共涉及到分布在 7 条染色体上的 18 个 Bin 区段中的 25 个 SNP 位点。各环境下检测到的性状 SNP 关联个数分别为 2015 年保定 5 个, 2015 年辛集 5 个, 2016 年保定 13 个, 2016 年辛集 11 个, 有 9 个 SNP 位点在不同环境中同时检测到。表型贡献率为 0.03%~19.42%, 其中 5 个性状 SNP 关联的表

型贡献率大于 10%。

检测到 9 个穗长 SNP 关联, 涉及 7 个 SNP 位点, 表型贡献率在 0.14%~17.63% 之间, 其中位点 5_214281601、1_246412968 的表型贡献率分别为 14.10% 和 17.63%, 位点 3_87782503 和 8_141391844 在 2015 年 2 个环境中同时检测到。检测到 5 个穗粗 SNP 关联, 涉及 5 个 SNP 位点, 表型贡献率为 0.03%~6.75%。检测到 20 个穗粗一般配合力 SNP 关联, 涉及 13 个 SNP 位点, 表型贡献率为 0.03%~19.42%。7 个 SNP 位点 1_278374127、2_196143041、2_231659962、2_231659993、2_231660007、4_3453533 和 4_169960270 在 2016 年 2 个环境中同时检测到。未检测到穗长一般配合力的关联位点。

表 4 穗部性状及其一般配合力关联分析

Table 4 Association analysis of ear-related traits and GCA

性状 Trait	关联位点 Associated SNP	环境 Environment	$-\log_{10}^{(p)}$	Bin	表型贡献率 (%) Phenotypic variance explained
穗长 EL	1_13072970	16_B	4.67	1.02	1.90
	1_246412968	16_X	4.72	1.08	17.63
	3_87782503 ^a	15_B	4.71	3.04	0.14
	3_87782503 ^a	15_X	4.67	3.04	0.34
	4_96696114	15_B	4.68	4.05	0.30
	5_214281601	16_B	5.00	5.08	14.10
	8_141391844 ^a	15_B	4.80	8.05	1.04
	8_141391844 ^a	15_X	4.62	8.05	0.88
	9_151766131	15_B	4.95	9.07	1.84
穗粗 ED	2_43431928	15_B	4.72	2.04	0.57
	5_205834756	16_B	5.04	5.07	0.43
	5_205834764	16_B	5.14	5.07	6.75
	8_25010232	16_X	4.75	8.03	0.03
	9_153429225	15_X	5.09	9.07	0.05
穗粗一般配合力 ED-GCA	1_278374127 ^a	16_B	5.28	1.1	0.72
	1_278374127 ^a	16_X	5.03	1.1	0.72
	2_196143041 ^a	16_B	7.25	2.07	19.42
	2_196143041 ^a	16_X	6.42	2.07	19.42
	2_231659962 ^a	16_B	6.56	2.09	1.73
	2_231659962 ^a	16_X	7.44	2.09	1.73
	2_231659993 ^a	16_B	6.74	2.09	5.26
	2_231659993 ^a	16_X	7.22	2.09	5.26
	2_231660007 ^a	16_B	6.74	2.09	5.26
	2_231660007 ^a	16_X	7.22	2.09	5.26

表 4(续)

性状 Trait	关联位点 Associated SNP	环境 Environment	$-\log_{10}(P)$	Bin	表型贡献率(%) Phenotypic variance explained
穗粗一般配合力 ED-GCA	3_178528265	16_X	4.74	3.06	2.91
	3_184064791	16_B	4.89	3.06	0.03
	4_3453533 ^a	16_B	5.06	4.01	5.35
	4_3453533 ^a	16_X	5.34	4.01	5.35
	4_26425263	15_X	4.66	4.04	0.13
	4_169960208	16_X	4.90	4.06	1.60
	4_169960270 ^a	16_B	4.74	4.06	6.64
	4_169960270 ^a	16_X	4.67	4.06	6.64
	5_60521691	15_X	5.45	5.03	14.19
	5_65223333	16_B	4.76	5.03	0.26

^a 表示多个环境同时检测到的关联 SNP
^a indicated associated SNP identified in multi-environment simultaneously

2.3.3 穗部性状及其一般配合力 BLUP 值的关联分析 利用自然群体穗部性状及其一般配合力 BLUP 值进行关联分析(表 5)。共检测到 7 个性状 SNP 关联,穗长、穗粗、穗长一般配合力和穗粗一般配合力分别检测到 2 个、1 个、3 个和 1 个性状 SNP 关联,共涉及 7 个 SNP 位点,表型贡献率范围为 0.01%~4.34%。

表 5 穗部性状及其一般配合力 BLUP 值关联分析
Table 5 Association analysis of ear-related traits and GCA at BLUP

性状 Trait	关联位点 Associated SNP	$-\log_{10}(P)$	Bin	表型贡献率(%) Phenotypic variance explained
穗长 EL	4_113854388	5.28	4.05	0.03
	8_172672141	4.70	8.08	0.89
穗粗 ED	2_190024161	4.92	2.07	2.59
穗长一般配合力 EL-GCA	2_174982891	5.39	2.06	0.01
	7_19807688	6.02	7.02	1.19
	9_113057074	6.23	9.04	4.34
穗粗一般配合力 ED-GCA	4_195532382	4.65	4.08	2.65

2.4 穗部性状及其一般配合力候选基因分析

基于该群体的 LD 衰减距离,在显著关联 SNP 位点上下游 120 kb 的范围内检索候选基因,共检索到 158 个候选基因,其中可能的候选基因(表

6)有涉及泛素代谢相关基因(*GRMZM2G360374*、*GRMZM2G049568*、*GRMZM2G178120*),β 半乳糖苷酶(*GRMZM2G178106*),丝氨酸苏氨酸蛋白激酶(*GRMZM2G127050*),赖氨酸和组氨酸特异性转运体(*GRMZM2G116004*)。泛素代谢途径在植物生命进程有重要的作用,涉及细胞周期调控、信号转导、转录调控活动;丝氨酸苏氨酸蛋白激酶参与植物信号转导活动;β 半乳糖苷酶参与碳水化合物转运代谢;赖氨酸和组氨酸特异性转运体参与氨基酸转运代谢。它们可能通过上述功能影响玉米果穗的发育,导致穗长和穗粗的差异。

表 6 玉米穗部性状及其一般配合力候选基因
Table 6 Putative candidate genes of ear-related traits and GCA

性状 Trait	基因模型 Gene model	基因描述 Gene description
穗粗 ED	<i>GRMZM2G360374</i>	泛素羧基末端水解酶 3
	<i>GRMZM2G049568</i>	推定的泛素羧基末端水解酶超家族蛋白
	<i>GRMZM2G178120</i>	泛素羧基末端水解酶相关蛋白
	<i>GRMZM2G178106</i>	β 半乳糖苷酶 5
穗长 EL	<i>GRMZM2G127050</i>	推定的丝氨酸苏氨酸蛋白激酶
穗长一般配合力 EL-GCA	<i>GRMZM2G116004</i>	赖氨酸和组氨酸特异性转运体

3 讨论

3.1 与前人定位结果的比较

本研究使用的自然群体来源广泛、遗传多样性丰富,覆盖玉米当前主要杂种优势类群核心种质资源,群体内各自交系的穗部性状及其一般配合力差异极显著,适合进行关联分析。

综合穗部性状及其一般配合力在 4 个环境下和 BLUP 值的关联分析结果,本研究共检测到 9 个与穗长显著关联的 SNP 位点,将它们与前人已有的研究结果进行比较,发现有 4 个位点位于已定位到的 QTL 置信区间。其中,位点 9_151766131 位于 Huo 等^[4]的 QTL 定位结果 qWEL9(umc1519b~umc1804)之中;位点 4_96696114 与 Li 等^[1]穗长定位结果中标记 bnlgl755~umc1329 同位于 Bin4.05,同时位于马娟等^[9]的研究中与穗长相关的 MQTLNP11(65.70~153.69 Mb)之中;位点 5_214281601 位于 Zhou 等^[14]定位结果中标记 umc2201~bnlg1346 的 QTL 之中;位点 1_13072970 位于马娟等^[9]研究中 MQTL3(12.17~16.24 Mb)和 MQTLNP1(10.99~14.96 Mb)之中。位点 1_246412968 与 MaizeGDB 网站中 qearl37 同位于 Bin1.02,位点 3_87782503 与 qearl42 同位于 Bin3.04。本研究共检测到 6 个与穗粗显著关联的 SNP 位点,分布在 5 个 Bin 区段,位点 2_190024161 与 MaizeGDB 网站中 qeard6 和 qeard35 同位于 Bin2.07,位点 8_25010232 与 qeard10 和邵晓宇等^[34]研究中与穗粗关联的标记 PZE_108042082、PZE_108035132 同位于 Bin8.03。本研究检测到 3 个与穗长一般配合力显著关联的 SNP 位点,与 Huang 等^[24]产量相关性性状定位的研究中穗长一般配合力性状有相同的染色体。本研究共检测到 14 个与穗粗一般配合力显著关联的 SNP 位点,暂未发现与前人研究有相近结果。

目前,已知基因 *ral*(Bin7.02)、*ra2*(Bin3.02)、*ra3*(Bin4.01)、*bif2*(Bin1.05) 对穗部性状发育产生影响,本研究中只有位点 7_19807688 与 *ral* 位于相同的 Bin 区段。较多的关联位点并未在前人的研究中出现,可能由于使用群体和分析方法存在差异或者这些位点为新发现的位点,需要试验进一步来验证,而对一般配合力性状的定位研究相对较少,本研究结果可为其他研究提供参考。

3.2 穗部性状关联位点与穗部性状一般配合力关联位点的关系

玉米是成功利用杂种优势的作物之一,配合力的研究在玉米育种中一直备受关注,解析配合力的遗传基础、研究一般配合力相关 QTL 和性状本身 QTL 的关系,对玉米杂交育种具有重要意义。胡文明等^[35]以 RIL 为被测系、若干个随机选择的纯系为测验系的 NCII 交配设计以及 QTL 定位策略,研究 GCA 的遗传组成,认为一般配合力的 QTL 位点与性状本身 QTL 属于同一套遗传位点;Qu 等^[20]的研究认为水稻回交重组自交系群体中农艺性状配合力的 QTL 位点与其对应的农艺性状位点基本保持一致。Chen 等^[22]认为由于特殊配合力和一般配合力对不同的性状有不同的贡献程度,农艺性状本身与一般配合力关联有相近的位点,并且与优良基因距离较近。而 Lv 等^[36]利用导入系和 3 个测验种测交产生的群体进行玉米产量相关性状 QTL 定位,检测到 69 个性状本身 QTL,9 个一般配合力 QTL,认为两者由不同的遗传位点控制。Qi 等^[23]和 Huang 等^[24]的研究也认为一般配合力与其性状本身遗传相关性不明显,两者的遗传基础不同。Zhou 等^[25]的研究中检测到的玉米植株高度相关性状 QTL 位点与玉米植株高度相关性状一般配合力位点也不尽相同,认为玉米植株高度相关性状和其一般配合力是由不同的基因控制的。

本研究中穗部性状本身与其一般配合力并未定位到相同位点,仅仅部分结果位于相同的染色体上,如穗长和其一般配合力同在 9 号染色体,穗粗和其一般配合力同在 2 号和 5 号染色体,但性状本身的关联位点与其一般配合力的关联位点间距离较远。基于以上结果认为穗部性状和穗部性状一般配合力的遗传基础仍不明晰,穗部性状自身与一般配合力的遗传可能是由不同的基因控制的。因此在玉米杂交育种中不能把自交系自身的表现作为评价自交系的唯一指标,由其组配的 F_1 的表现在自交系的评估和筛选中也有重要的参考价值。

3.3 候选基因分析

本研究在关联分析检测到的 32 个显著关联 SNP 位点上下游 120 kb 的范围内检索候选基因,共检索到 158 个候选基因,其中 93 个基因可用于 GO 分析。基因注释和 GO 分析表明这些基因编码的蛋白主要功能包括结合(binding, GO: 0005488)、结构分子活性(structural molecule activity, GO: 0005198)、催化活性(catalytic activity,

GO: 0003824)、转运活性(transporter activity, GO: 0005215)。

候选基因 *GRMZM2G360374*、*GRMZM2G049568* 和 *GRMZM2G178120* 与泛素代谢有关。植物细胞中许多短命蛋白的选择性降解是由泛素系统完成的,蛋白通过与泛素蛋白共价连接而被靶向降解。泛素介导的蛋白质降解控制植物细胞周期、信号调节、转录调节、负调控和内吞作用进程,并且可能与免疫系统有关,参与细胞发育和程序性死亡^[37]。Zhu 等^[16]的研究中定位到 4 个与泛素有关的基因,认为其与玉米穗部发育有关。

候选基因 *GRMZM2G127050* 编码丝氨酸苏氨酸蛋白激酶参与植物信号转导活动。Mendes-Moreira^[38]的研究中定位到穗粗和轴粗的 QTL (umc1144-umc1128),该区间推断候选基因 *bif2*,该基因会影响玉米花序分生组织向成对小穗或者分支分生组织的转变,*bif2* 突变体表现腋分生组织缺陷,导致雄穗分枝和小穗减少,进而影响玉米穗部形态,基因 *bif2* 编码丝氨酸苏氨酸蛋白激酶调控生长素的极性运输。Shen 等^[17]利用转录组数据对玉米未成熟穗形态建成进行研究,丝氨酸苏氨酸蛋白激酶参与植物信号转导并差异表达,对玉米未成熟穗细胞去分化产生作用。候选基因 *GRMZM2G127050* 同样编码丝氨酸苏氨酸蛋白激酶,可能会影响穗部性状的发育。

候选基因 *GRMZM2G178106* 编码 β 半乳糖苷酶, *GRMZM2G116004* 编码赖氨酸和组氨酸特异性转运体。Shen 等^[17]转录组玉米未成熟穗形态建成研究中, β 半乳糖苷酶与赖氨酸和组氨酸转运体在试验中差异表达,对玉米未成熟穗细胞去分化产生作用。以上可能的候选基因为解析玉米穗部性状及其一般配合力的遗传基础和分子辅助选择育种提供支持,但需要更多的试验来证明候选基因的有效性。

参考文献

- [1] Li M, Guo X, Zhang M, Wang X, Zhang G, Tian Y, Wang Z. Mapping QTLs for grain yield and yield components under high and low phosphorus treatments in maize (*Zea mays* L.). *Plant Science*, 2010, 178(5): 454-462
- [2] 谭巍巍,王阳,李永祥,刘成,刘志斋,彭勃,王迪,张岩,孙宝成,石云素,宋燕春,杨德光,王天宇,黎裕. 不同环境下多个玉米穗部性状的 QTL 分析. *中国农业科学*, 2011, 44(2): 233-244
Tan W W, Wang Y, Li Y X, Liu C, Liu Z Z, Peng B, Wang D, Zhang Y, Sun B C, Shi Y S, Song Y C, Yang D G, Wang T Y, Li Y. QTL analysis of ear traits in maize across multiple environments. *Scientia Agricultura Sinica*, 2011, 44(2): 233-244
- [3] 杨莎,王彩红,梁世浩,赵永锋,祝丽英,黄亚群,郭晋杰,陈景堂. 基于不同群体的玉米产量性状 QTL 分析. *河北农业大学学报*, 2016, 39(1): 1-8
Yang S, Wang C H, Liang S H, Zhao Y F, Zhu L Y, Huang Y Q, Guo J J, Chen J T. QTL analysis of yield components by using different populations of maize. *Journal of Agricultural University of Hebei*, 2016, 39(1): 1-8
- [4] Huo D, Ning Q, Shen X, Liu L, Zhang Z. QTL mapping of kernel number-related traits and validation of one major QTL for ear length in maize. *PLoS One*, 2016, 11(5): e0155506
- [5] Chen Z, Wang B, Dong X, Liu H, Ren L, Chen J, Hauck A, Song W, Lai J. An ultra-high density bin-map for rapid QTL mapping for tassel and ear architecture in a large F₂ maize population. *BMC Genomics*, 2014, 15: 433
- [6] 王辉,梁前进,胡小娇,李坤,黄长玲,王琪,何文昭,王红武,刘志芳. 不同密度下玉米穗部性状的 QTL 分析. *作物学报*, 2016, 42(11): 1592-1600
Wang H, Liang Q J, Hu X J, Li K, Huang C L, Wang Q, He W Z, Wang H W, Liu Z F. QTL mapping for ear architectural traits under three plant densities in maize. *Acta Agronomica Sinica*, 2016, 42(11): 1592-1600
- [7] 宋晓恒,豆丹丹,柳华峰,刘浩浩,赵帅帅,郑耀刚,库丽霞,陈彦惠. 玉米穗部性状 QTL 定位及上位性效应分析. *中国农学通报*, 2018, 34(9): 62-67
Song X H, Dou D D, Liu H F, Liu H H, Zhao S S, Zheng Y G, Ku L X, Chen Y H. QTL mapping and epistatic effect analysis of ear traits in maize. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2018, 34(9): 62-67
- [8] 陈浩,薛亚东,杨天啸,闫鹏帅,孟淑君,王璐林,张战辉. 基于农大 108 “永久 F₂ 群体”的玉米穗部性状 QTL 与 HL 位点定位. *河南农业大学学报*, 2018, 52(2): 169-178
Chen H, Xue Y D, Yang T X, Yan P S, Meng S J, Wang L L, Zhang Z H. Identification QTL and heterotic loci for maize ear related traits using a set of “immortalized F₂” population of Nongda 108. *Journal of Henan Agricultural University*, 2018, 52(2): 169-178
- [9] 马娟,王浩,王利锋,曹言勇,李晶晶, Lubberstedt T, 王丽艳,李会勇. 玉米产量相关性状定位和 Meta-QTL 整合. *植物遗传资源学报*, 2019, 20(1): 37-47
Ma J, Wang H, Wang L F, Cao Y Y, Li J J, Lubberstedt T, Wang L Y, Li H Y. QTL mapping and Meta QTL analysis for grain yield related traits in maize (*Zea mays* L.). *Journal of Plant Genetic Resources*, 2019, 20(1): 37-47
- [10] Ma X, Feng F, Wei H, Mei H, Xu K, Chen S, Li T, Liang X, Liu H, Luo L. Genome-wide association study for plant height and grain yield in rice under contrasting moisture regimes. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7: 1801
- [11] Sukumaran S, Dreisigacker S, Lopes M, Chavez P, Reynolds M P. Genome-wide association study for grain yield and related traits in an elite spring wheat population grown in temperate irrigated environments. *Theoretical and Applied Genetics*, 2015, 128(2): 353-363
- [12] Boyles R E, Cooper E A, Myers M T, Brenton Z, Rauh B L, Morris G P, Kresovich S. Genome-wide association studies of grain yield components in diverse sorghum germplasm. *Plant Genome*, 2016, 9(2): 1-17

- [13] 王娟,董承光,刘丽,孔宪辉,王旭文,余渝. 陆地棉主要产量相关性状的 SSR 标记关联分析. 植物遗传资源学报, 2017, 18(4): 720-727
Wang J, Dong C G, Liu L, Kong X H, Wang X W, Yu Y. Association analysis of yield-related traits with SSR markers in upland cotton (*Gossypium hirsutum*). Journal of Plant Genetic Resources, 2017, 18(4): 720-727
- [14] Zhou B, Zhou Z, Ding J, Zhang X, Mu C, Wu Y, Gao J, Song Y, Wang S, Ma J, Li X, Wang R, Xia Z, Chen J, Wu J. Combining three mapping strategies to reveal quantitative trait loci and candidate genes for maize ear length. Plant Genome, 2018, 11(3): 1-8
- [15] Xiao Y, Tong H, Yang X, Xu S, Pan Q, Qiao F, Raihan M S, Luo Y, Liu H, Zhang X, Yang N, Wang X, Deng M, Jin M, Zhao L, Luo X, Zhou Y, Li X, Liu J, Zhan W, Liu N, Wang H, Chen G, Cai Y, Xu G, Wang W, Zheng D, Yan J. Genome-wide dissection of the maize ear genetic architecture using multiple populations. New Phytologist, 2016, 210(3): 1095-1106
- [16] Zhu X M, Shao X Y, Pei Y H, Guo X M, Li J, Song X Y, Zhao M A. Genetic diversity and genome-wide association study of major ear quantitative traits using high-density SNPs in maize. Frontiers in Plant Science, 2018, 9: 966
- [17] Shen Y, Jiang Z, Yao X, Zhang Z, Lin H, Zhao M, Liu H, Peng H, Li S, Pan G. Genome expression profile analysis of the immature maize embryo during dedifferentiation. PLoS One, 2012, 7(3): e32237
- [18] Liao C, Peng Y, Ma W, Liu R, Li C, Li X. Proteomic analysis revealed nitrogen-mediated metabolic, developmental, and hormonal regulation of maize (*Zea mays* L.) ear growth. Journal of Experimental Botany, 2012, 63(14): 5275-5288
- [19] Liu H, Yang X, Liao X, Zuo T, Qin C, Cao S, Dong L, Zhou H, Zhang Y, Liu S, Shen Y, Lin H, Lubberstedt T, Zhang Z, Pan G. Genome-wide comparative analysis of digital gene expression tag profiles during maize ear development. Genomics, 2015, 106(1): 52-60
- [20] Qu Z, Li L, Luo J, Wang P, Yu S, Mou T, Zheng X, Hu Z. QTL mapping of combining ability and heterosis of agronomic traits in rice backcross recombinant inbred lines and hybrid crosses. PLoS One, 2012, 7(1): e28463
- [21] Liu C, Song G, Zhou Y, Qu X, Guo Z, Liu Z, Jiang D, Yang D. *OsPRR37* and *Ghd7* are the major genes for general combining ability of DTH, PH and SPP in rice. Scientific Reports, 2015, 5: 12803
- [22] Chen J, Zhou H, Xie W, Xia D, Gao G, Zhang Q, Wang G, Lian X, Xiao J, He Y. Genome-wide association analyses reveal the genetic basis of combining ability in rice. Plant Biotechnology Journal, 2019, 17(11): 2211-2222
- [23] Qi H, Huang J, Zheng Q, Huang Y, Shao R, Zhu L, Zhang Z, Qiu F, Zhou G, Zheng Y, Yue B. Identification of combining ability loci for five yield-related traits in maize using a set of testcrosses with introgression lines. Theoretical and Applied Genetics, 2013, 126(2): 369-377
- [24] Huang J, Qi H, Feng X, Huang Y, Zhu L, Yue B. General combining ability of most yield-related traits had a genetic basis different from their corresponding traits per se in a set of maize introgression lines. Genetica, 2013, 141(10-12): 453-461
- [25] Zhou Z, Zhang C, Lu X, Wang L, Hao Z, Li M, Zhang D, Yong H, Zhu H, Weng J, Li X. Dissecting the genetic basis underlying combining ability of plant height related traits in maize. Frontiers in Plant Science, 2018, 9: 1117
- [26] Coreteam R. R: A language and environment for statistical computing. Computing, 2015, 14: 12-21
- [27] Knapp S J, Stroup W W, Ross W M. Exact confidence intervals for heritability on a progeny mean basis. Crop Science, 1985, 25(1): 192-194
- [28] Elshire R J, Glaubitz J C, Qi S, Poland J A, Ken K, Buckler E S, Mitchell S E. A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. PLoS One, 2012, 6(5): e19379
- [29] Hill W, Weir B. Variances and covariances of squared linkage disequilibria in finite populations. Theoretical Population Biology, 1988, 33(1): 54-78
- [30] Tang Y, Liu X, Wang J, Li M, Wang Q, Tian F, Su Z, Pan Y, Liu D, Lipka A E, Buckler E S, Zhang Z. GAPIT Version 2: An enhanced integrated tool for genomic association and prediction. Plant Genome, 2016, 9(2): 1-9
- [31] Wang Q, Tian F, Pan Y, Buckler E S, Zhang Z. A SUPER powerful method for genome wide association study. PLoS One, 2014, 9(9): e107684
- [32] Li M X, Yeung J M, Cherny S S, Sham P C. Evaluating the effective numbers of independent tests and significant *p*-value thresholds in commercial genotyping arrays and public imputation reference datasets. Human Genetics, 2012, 131(5): 747-756
- [33] 刘坤,张雪海,孙高阳,闫鹏帅,郭海平,陈思远,薛亚东,郭战勇,谢惠玲,汤继华,李卫华. 玉米株型相关性状的全基因组关联分析. 中国农业科学, 2018, 51(5): 821-834
Liu K, Zhang X H, Sun G Y, Yan P S, Guo H P, Chen S Y, Xue Y D, Guo Z Y, Xie H L, Tang J H, Li W H. Genome wide association studies of plant type traits in maize. Scientia Agricultura Sinica, 2018, 51(5): 821-834
- [34] 邵晓宇,宋希云,潘顺祥,赵美爱. 玉米穗粗性状的全基因组关联分析及 QTL 元分析. 植物生理学报, 2017, 53(12): 2091-2102
Shao X Y, Song X Y, Pan S X, Zhao M A. Genome wide association studies and MetaQTL analysis of ear traits in maize. Plant Physiology Journal, 2017, 53(12): 2091-2102
- [35] 胡文明,徐扬,张恩盈,徐辰武. 基于 QTL 定位分析策略的一般配合力遗传基础研究. 中国农业科学, 2013, 46(16): 3305-3313
Hu W M, Xu Y, Zhang E Y, Xu C W. Study on the genetic basis of general combining ability with QTL mapping strategy. Scientia Agricultura Sinica, 2013, 46(16): 3305-3313
- [36] Lv A Z, Zhang H, Zhang Z X, Tao Y S, Yue B, Zheng Y L. Conversion of the statistical combining ability into a genetic concept. Journal of Integrative Agriculture, 2012, 11(1): 43-52
- [37] Hershko A, Ciechanover A. The ubiquitin system. Annual Review of Biochemistry, 1998, 67: 428-479
- [38] Mendes-Moreira P, Alves M L, Satovic Z, Dos Santos J P, Santos J N, Souza J C, Pego S E, Hallauer A R, Vaz Patto M C. Genetic architecture of ear fasciation in maize (*Zea mays*) under QTL scrutiny. PLoS One, 2015, 10(4): e0124543