

玉米南方锈病抗性相关遗传区段定位与候选基因预测

聂蕾^{1,2}, 何玥^{1,2}, 郭爽^{1,2}, 王栋^{1,2}, 涂亮^{1,2}, 刘鹏飞², 李娟^{3,4},
王安贵², 蒋喻林^{2,3}, 祝云芳², 陈泽辉², 吴迅^{2,3}, 郭向阳²

(1. 贵州大学农学院, 贵阳 550025; 2. 贵州省农业科学院旱粮研究所, 贵阳 550006; 3. 农业农村部喀斯特山区作物基因资源与种质创新重点实验室, 贵阳 550006; 4. 贵州省农业科学院农作物品种资源研究所, 贵阳 550006)

摘要: 以抗、感自交系 QB7866 和 QB5725 为亲本构建的 132 份 F_{2:3} 家系和包含 142 份温热玉米自交系组成的关联群体为材料, 利用简化基因组测序技术和包含 6 万个 SNP 标记的 MaizeSNP50 芯片, 分别对 F_{2:3} 家系和关联群体进行基因型鉴定, 对这两套群体的南方锈病抗性进行评价。结合连锁分析和全基因组关联分析, 规模化鉴定控制玉米南方锈病抗性的遗传区段, 并对相关候选基因进行预测。结果表明, 共鉴定到 13 个玉米南方锈病抗性相关 QTL, 其中, 贡献率大于 10% 的 QTL 两个。GWAS 分析共检测到 100 个玉米南方锈病抗性相关 QTNs。一致性分析发现 3 个一致性遗传区段。候选基因预测发现, 这些区段内存在 4 个候选基因, 可作为下一步精细定位的靶标。

关键词: 玉米; 南方锈病; 连锁分析; 关联分析; 候选基因

中图分类号: S513.035.3

文献标识码: A

Southern Corn Rust Related Genetic Segments Mapping and Candidate Gene Prediction in Corn

NIE Lei^{1,2}, HE Yue^{1,2}, GUO Shuang^{1,2}, WANG Dong^{1,2}, TU Liang^{1,2}, LIU Peng-fei², LI Juan^{3,4}, WANG An-gui²,
JIANG Yu-lin^{2,3}, ZHU Yun-fang², CHEN Ze-hui², WU Xun^{2,3}, GUO Xiang-yang²

(1. Agricultural College, Guizhou University, Guiyang 550025; 2. Institute of Upland Food Crops, Guizhou Academy of Agricultural Sciences, Guiyang 550006; 3. Ministry of Agriculture and Rural Affairs Key Laboratory of Crop Genetic Resources and Germplasm Innovation in Karst Region, Guiyang 550006; 4. Institute of Crop Germplasm Resources, Guizhou Academy of Agricultural Sciences, Guiyang 550006, China)

Abstract: In this paper, 132 F_{2:3} offspring derived from cross of susceptible corn inbred line QB7866 and resistant corn inbred line QB5725 and one associated population including 142 inbred lines were selected to be material, which were genotyped using genome by sequencing (GBS) and MaizeSNP50 chip with 60 000 SNPs, the resistance of these two populations to Southern corn rust was evaluated. By combining linkage analysis and genome-wide association analysis, lots of Southern corn rust resistance segments and related candidate genes were identified. The results showed that 13 QTL of the Southern corn rust were identified. Among these, 2 major QTL showed more than 10% contribution to the Southern corn rust. A total of 100 significant QTNs were detected by using GWAS method. Three concordant genetic segments were found by consistent analysis. Candidate gene prediction indicated the presence of 4 candidate genes within these segments, which can be target for further fine mapping.

Key words: Corn; Southern rust; Linkage analysis; Association analysis; Candidate gene

录用日期: 2024-03-03

基金项目: 贵州省科技支撑计划项目(黔科合支撑[2022]重点029)、贵州省育种科研基础平台创新能力建设项目(黔科合服企[2022]014)、贵州省科技计划项目(黔科合基础-ZK[2023]一般173)、贵州省自然科学基金项目(黔科合基础[2022]一般236)、黔农科院国基后补助项目[2022]02号和[2022]09号、贵州喀斯特山区重要作物生物育种平台建设项目(黔科合中引地[2023]033)、贵州省育种科研基础平台创新能力建设项目(黔科合服企[2022]014)、科研机构创新能力建设项目([2022]007)

作者简介: 聂蕾(1999-), 女, 贵州贞丰人, 硕士, 研究方向为遗传育种。Tel: 15620206133 E-mail: nielei1812@163.com

吴迅和郭向阳为本文通信作者。E-mail: wuxunyong@126.com E-mail: xyguo0372@163.com

玉米南方锈病(Southern corn Rust, SCR)是由多堆病锈菌(*Puccinia polysora* Underw)导致的真菌性病害,夏孢子堆呈现浅褐色或肉桂褐色,圆形或椭圆形,长0.2~2.0 mm,萌发的最适宜温度在24~28℃,当温度超过了36℃时则不会萌发^[1]。该病害病症主要密集于叶片正面,被侵染的玉米叶片上会出现橙黄至棕黄色锈状病斑^[2]。玉米南方锈病是一种全球性的玉米叶部病害,对世界玉米产量造成显著影响^[3]。近年来,玉米南方锈病在我国黄淮海夏玉米区、西南春玉米等大面积暴发,并呈现逐年加重趋势,特别是2021–2023年,玉米南方锈病大暴发,生产上缺乏抗病品种,大大增加了玉米生产风险,给我国玉米生产造成巨大损失^[4]。因此,研究南方锈病致病遗传机制,克隆并利用抗病基因进行育种改良,对于提升我国锈病高发区玉米产量具有十分重要的实践应用价值^[5]。

连锁分析和关联分析已成为复杂数量性状基因定位和候选基因挖掘的重要手段,可以整合定位精度、评估QTL效应和遗传多样性,突破QTL位点分离和等位基因频率的限制,通过联合分析获得准确的QTL位点,从而更好地解析自然群体材料中标性状变异的遗传基础^[6–8]。Mahuku等^[9]以3个双亲分离群体和890个玉米自交系为材料,通过全基因组关联分析(GWAS)和完备区间作图法分别在2、7和8号染色体上鉴定出3个玉米焦油斑复合物抗性相关的SNPs和1个主要QTLqRtsc8-1。Li等^[10]以两个双亲分离群体、258个玉米自交系和部分热带自交系组成的关联群体为材料,通过复合区间作图法和GWAS分析,共鉴定出21个与株高和穗位高相关的QTL和41个SNPs。Zhang等^[11]以Ye478×Qi319杂交得到的365份重组自交系和240份由Lancaster、Reid、PB等组成玉米自交系为材料,通过复合区间作图法和全基因组关联分析,共定位到26个玉米穗粒性状相关的稳定QTL和6个稳定SNPs。Wang等^[12]以两个RIL群体和298个不同玉米自交系组成的GWAS群体为材料,通过连锁分析和全基因组关联研究共鉴定出13个与玉米高产性状相关的QTL和8个显著的SNPs。崔婷婷^[13]等以139个自然群体和150个重组自交系群体为材料,用SNP和SSR两种标记结合QTL定位和关联分析两种方法对玉米硝酸还原酶活性进行遗传分析,共检测到15个QTL和48个与硝酸还原酶显著关联的SNP标记。周子建等^[14]以郑单958的双亲昌7-2与郑58构建的F_{2.3}家系和278份包含国内外主要血缘的自交系构建的关联群体为材料,结合完备区间作图法和全基因组关

联分析,在多环境下共检测到两个多环境稳定的穗长主效QTL和219个与穗长显著相关的关联位点。Wu^[15]等以6 595个重组自交系和945个全球不同品系组成的关联群体为试验材料,通过连锁分析和GWAS方法,共鉴定出125个与玉米雄性花序大小相关的QTL和965个QTNs。郭向阳等^[16]以包含226份玉米自交系的关联群体和包含145份单片段代换系的双亲分离群体为材料,通过连锁分析和全基因组关联分析,在3种氮水平下共检测到129个控制株型相关性状的QTNs和83个QTL。这些研究为玉米重要性状相关遗传位点的定位和改良提供了丰富的分子遗传学依据。比较不同研究结果发现,不同研究者因为所用材料、标记类型和数量等差异,所报道的结果也不尽相同。

因此,利用新的抗感自交系为材料,构建新的分离群体,并结合温热改良关联群体为材料,鉴定新的玉米抗南方锈病的遗传位点,可为深度解析玉米南方锈病遗传机制提供更丰富的分子遗传学依据。本研究以包含142份温热玉米骨干自交系组成的关联群体和抗、感自交系QB5725和QB7866为亲本构建的双亲分离家系为材料,利用包含60 000个SNPs标记的MaizeSNP50芯片对关联群体进行基因型鉴定。利用简化基因组测序(GBS)技术对包含132份F₂后代单株进行基因型鉴定。同时,对关联群体和F_{2.3}家系进行南方锈病抗性多年多点评价。结合全基因组关联分析(GWAS)和连锁分析策略,规模化鉴定玉米南方锈病抗性相关遗传区段,揭示其遗传效应。在此基础上,利用生物信息学分析方法鉴定玉米南方锈病抗性关键遗传区段和候选基因,为初步解析南方锈病抗性基因遗传基础提供更丰富的理论支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本试验所用材料包含关联分析群体和F_{2.3}群体。F_{2.3}群体亲本经贵州省植物保护研究所鉴定结果,QB7866表现为高感(HS)南方锈病,QB5725表现为抗(R)南方锈病。关联分析群体包含142份温热改良骨干玉米自交系,其中包括Suwan、Tuxpeno种质等为代表的热带自交系如T32、QR273、QB446等34份,温带种质典型自交系如B73、Mo17、黄早四、齐319、HCL645等74份,以及34份温热改良系。

1.2 试验方法

1.2.1 田间试验设计

关联群体:2021–2022年,将包含142份温热玉

米自交系组成的关联分析群体分别种植于海南省崖州区崖城村(海拔 11 m, 18.36°N, 109.16°E)、云南省文山壮族苗族自治州(海拔 1 368 m, 23.35°N, 104.25°E)、云南省墨江哈尼族自治县(海拔 1 292 m, 23.46°N, 101.67°E), 自然环境下进行玉米南方锈病抗性鉴定。

$F_{2.3}$ 群体: 2022–2023 年, 将 132 份 $F_{2.3}$ 家系分别种于海南省崖州区崖城村(海拔 11 m, 18.36°N, 109.16°E)、海南省海棠区藤桥村(海拔 294 m, 18.24°N, 109.44°E)、河南省安阳市滑县(海拔 1 632 m, 35.58°N, 114.52°E), 并对 $F_{2.3}$ 家系进行人工接种鉴定

和玉米南方锈病抗性评价。

试验均采用完全随机区组设计, 行长 3 m, 行距 65 cm, 株距 20 cm, 3 次重复。田间管理与当地大田管理一致。

1.2.2 田间病害调查

玉米进入乳熟期时, 进行南方锈病抗性表型鉴定。参照王晓鸣^[17]的评价办法对玉米南方锈病进行评价, 即以玉米果穗的上下部位的 3 叶为准, 观察植株叶片总体发病面积及发病程度, 采用 5 个级别对病害症状进行评价(表 1), 逐份记载病级。

表 1 玉米南方锈病病害分级标准

Table 1 Grading standards for southern rust disease of corn

病情级别 Disease level	抗性 Resistance	症状描述 Symptom description
1	HR	叶片上无或极少孢子堆
3	R	叶片有少量孢子堆, 占叶面积 25%
5	MR	叶片有中量孢子堆, 占叶面积 26% ~ 50%
7	S	叶片有大量孢子堆, 占叶面积 51% ~ 75%
9	HS	叶片有大量孢子堆, 占叶面积 76% ~ 100%, 叶片枯死

1.2.3 数据分析

采用 Microsoft Excel 2019 和 SAS 9.2 软件对表型数据进行描述性统计和方差分析等, 使用 QTL IciMapping 4.1 软件估算不同环境中玉米南方锈病抗性的广义遗传率(H^2 , Broad-sense Heritability)^[18]。

1.2.4 基因型鉴定

DNA 提取、质量检测 and GBS 测序委托北京康普生生物有限公司完成, 具体操作依据吴迅等^[19]描述的方法执行。即在玉米 F_2 植株 5 叶期时, 取各单株幼嫩叶, 采用改良 CTAB 法提取基因组 DNA^[20]; 利用简化基因组测序技术(GBS)对每个单株的基因型进行鉴定。针对关联分析群体的基因型鉴定本课题组前期已经完成。

1.2.5 QTL 定位

采用 IciMapping 4.1 软件中的完备区间作图法(ICIM)对玉米抗南方锈病进行 QTL 检测, 步长为 1 cM, 随机抽样 1 000 例, 阈值为 2.5。QTL 的命名参照 McCouch 等的方法, 格式为 q+性状英文缩写字母+染色体+序号。

1.2.6 GWAS 分析

根据最小等位基因频率(Minor allele frequency, MAF)>0.05、样本缺失率<20%的标准对关联分析群体进行基因型筛选, 获得 43 253 个高质量 SNPs 标记,

用于 GWAS 分析。利用 GAPIT(<https://www.r-project.org/>)程序包的混合线性模型(MLM)对锈病抗性相关位点进行全基因组扫描。

1.2.7 候选基因预测

结合关联分析、连锁分析以及玉米 B73 参考基因组中的物理位置 Ref Gen_v4(<https://maizgedb.org/>)和功能基因组数据库, 对一致性遗传区段进行候选基因分析, 鉴定控制目标性状相关基因所在染色体区段, 并与公共数据库研究结果进行比较, 预测相关候选基因。利用生物学信息分析方法, 预测南方锈病抗性相关候选基因。

2 结果与分析

2.1 南方锈病抗性表型分析

2.1.1 $F_{2.3}$ 群体抗病性分析

$F_{2.3}$ 群体及其亲本抗南方锈病表型鉴定结果统计分析结果列于表 2 和表 3。QB5725 表型鉴定为高抗或抗南方锈病, QB7866 表型鉴定为高感南方锈病。不同环境下 132 份 $F_{2.3}$ 群体抗病表型鉴定结果显示, 藤桥环境下有 90 个家系表现为抗, 42 个家系表现为感, 卡方检验结果为 3.27; 滑县环境下有 91 个家系表现为抗, 有 41 个家系表现为感, 卡方检验结果为 2.59。其 P 值均大于 0.05, 说明 $F_{2.3}$ 群体的抗感

分离符合3:1的遗传规律。鉴定结果比较发现, $F_{2.3}$ 群体在抗性分离上显著偏向于抗病亲本QB5725, 群体中的南方锈病抗性出现超亲分离现象, 且不同家系间抗性差异较大, 表型数据主要集中在3、5、7的3个抗病等级, 说明南方锈病抗性为多基因控制的数量性状。其偏度和峰度绝对值均小于1, 抗性分布为正态分布, 符合QTL定位要求。

对 $F_{2.3}$ 群体表型数据进行方差分析(表4), 从抗

南方锈病这一性状各指标的变异大小看, 基因型 P 值小于环境 P 值, 且基因型 $P < 0.001$, 达1%极显著水平, 环境 $P = 0.386$, 说明基因型引起群体中南方锈病抗性的变异大于环境的影响, 环境引起的表型变异很小, 可以对抗病QTL进行遗传分析。该群体遗传力在不同环境中相差不大, 分别为87.67%、86.54%、84.87%, 说明该群体中抗南方锈病表型差异主要是由遗传因素控制的。

表2 QB7866 × QB5725 $F_{2.3}$ 家系的抗病性统计分析

Table 2 The statistical analysis of disease resistance of QB7866 × QB5725 $F_{2.3}$ family lines

环境 Environment	总株数 Total number	各抗级株数(株) Number of single scale					χ^2 (3:1)	P 值 P value
		1	3	5	7	9		
崖城	132	4	42	42	29	15	4.89	0.027
藤桥	132	5	44	41	24	18	3.27	0.070
滑县	132	5	37	49	23	18	2.59	0.108

表3 亲本及 $F_{2.3}$ 群体的抗性表现

Table 3 Resistance performance of parents and $F_{2.3}$ population

环境 Environment	亲本 Parent		$F_{2.3}$ 群体 $F_{2.3}$ population				遗传力(%) H^2
	QB5725 均值	QB7866 均值	平均值±标(%)准误 Mean±SD	偏度 Skewness	峰度 Kurtosis	变异系数(%) CV	
崖城	1.0	7.5	5.14±0.18	0.30	-0.78	41.17	87.67
藤桥	1.5	8.0	5.09±0.19	0.36	-0.80	43.38	86.54
滑县	2.0	8.5	5.18±0.18	0.31	-0.64	41.43	84.87

表4 $F_{2.3}$ 群体南方锈病抗性方差分析

Table 4 Analysis of variance of SCR resistance of $F_{2.3}$ population

变异来源 Source	平方和 Sum of squares	自由度 DF	均方 Mean squares	F 值 F value	P 值 P value(> F)
基因型	4 141.215	131	31.612	13.607***	<0.001
环境	4.429	2	2.215	0.953**	0.386
基因型×环境	2 031.348	262	7.753	3.337***	<0.001
误差	1 840.000	792	2.323		
总变异	8 016.992	1 187			

2.1.2 关联群体抗病性分析

针对142份关联群体的抗南方锈病鉴定结果列于表5。结果显示, 该群体的抗病鉴定范围在1~9级, 主要集中在3、5、7的3个抗病等级。峰度、偏度绝对值均小于1, 表明该群体符合数量性状的典型特征。抗病性遗传力在不同环境中分别为93.37%、88.90%、86.36%。联合方差结果表明, 不同环境和不同基因型间的抗病性差异均呈极显著水平

($P \leq 0.001$)。南方锈病抗性的基因型、环境、基因型与环境互作效应平方和分别占总平方和的38.23%、1.52%、45.67%(表6)。

2.2 高密度物理图谱构建

按照如下标准对检测到的SNP标记进行过滤, 去掉不合格数据: ①缺失率大于20%; ②最小等位基因频率(MAF<0.05); ③具有确定物理图距。最后获得180 358个高质量SNPs, 均匀地分布在10条染色

体上。各染色体上的标记数量表现为 Chr1>Chr4>Chr2>Chr3>Chr5>Chr7>Chr8>Chr9>Chr10>Chr6, 其数量分别为 26 406、23 174、21 805、19 582、16 948、15 512、15 436、14 193、14 047、13 255。

表5 关联群体的抗性表现

Table 5 Resistance performance of associated population

环境 Environment	总株数 Total number	各抗级株数(株) Number of single scale					关联群体 Related population				遗传力(%) H^2
		1	3	5	7	9	平均值±标准误(%)	偏度	峰度	变异系数(%)	
							Mean±SD	Skewness	Kurtosis	CV	
墨江	142	30	33	40	24	15	4.51±0.22	0.21	-0.99	57.46	93.37
文山	142	12	63	39	23	5	4.24±1.95	0.50	-0.28	45.90	88.90
崖城	142	19	38	41	41	3	4.60±0.18	-0.15	-0.97	46.56	86.36

表6 关联群体南方锈病抗性方差分析

Table 6 The SCR resistance variance analysis of associated population

变异来源 Source	平方和 Sum of squares	自由度 DF	均方 Mean squares	占比(%) Percentage of total SS	F值 F value
基因型	2 965.296	141	21.030	38.23	15.847***
环境	117.659	2	58.829	1.52	44.330***
基因型×环境	3 541.897	282	12.560	45.67	9.464***
误差	1 130.667	852	1.327	14.58	
总变异	7 755.518	1 277			

2.3 F_{2:3}群体QTL定位

利用构建的遗传连锁图谱,采用完备区间作图法对F_{2:3}群体进行抗南方锈病QTL检测(表7)。共鉴定出13个南方锈病抗性相关QTL,包括*qSCR3*、*qSCR4-1*、*qSCR5*、*qSCR9*、*qSCR10*、*qSCR1-1*、*qSCR1-2*、*qSCR2-1*、*qSCR2-2*、*qSCR4-2*、*qSCR4-3*、*qSCR8*和

qSCR1-3,分别位于第1、2、3、4、5、8、9和10连锁群上,LOD值介于2.52~3.31,可解释2.90%~13.36%的表型变异。贡献率大于10%以上的QTL共有两个,分别为*qSCR8*和*qSCR1-3*。基因作用方式以加性效应为主,其中,7个QTL的增效等位基因来自QB5725,6个QTL的增效等位基因来自QB7866。

表7 抗南方锈病QTL定位结果

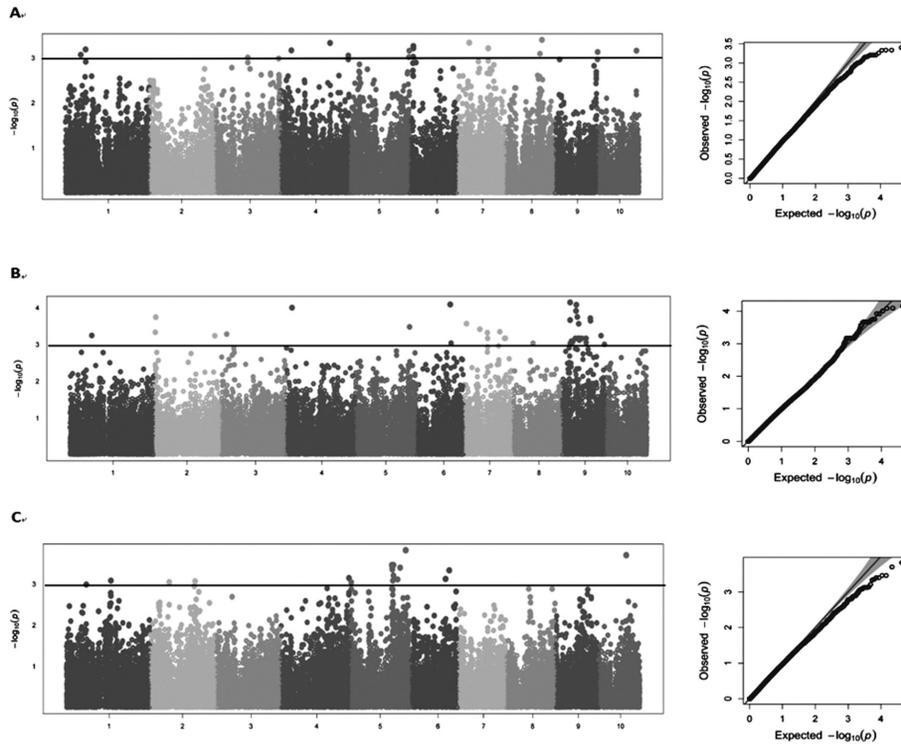
Table 7 QTL mapping results of southern corn rust resistance

环境 Environment	位点 QTL	染色体 Chromosome	物理区间(Mb) Physical interval	阈值 LOD	贡献率(%) Variance	加性效应 Additive effect
崖城	<i>qSCR3</i>	3	213.08 ~ 213.11	2.82	8.97	-0.60
	<i>qSCR4-1</i>	4	138.27 ~ 138.30	2.55	7.22	-0.60
	<i>qSCR5</i>	5	145.91 ~ 146.05	3.25	7.58	-0.69
	<i>qSCR9</i>	9	149.00 ~ 149.28	2.52	8.10	0.75
	<i>qSCR10</i>	10	2.98 ~ 3.03	3.07	4.75	0.61
藤桥	<i>qSCR1-1</i>	1	31.91 ~ 32.23	2.60	4.26	-0.98
	<i>qSCR1-2</i>	1	34.05 ~ 34.06	2.93	2.90	-0.60
	<i>qSCR2-1</i>	2	55.93 ~ 56.18	2.76	6.42	1.45
	<i>qSCR2-2</i>	2	160.00 ~ 160.03	2.54	2.57	0.27
	<i>qSCR4-2</i>	4	157.27 ~ 157.34	2.73	7.52	-0.49
滑县	<i>qSCR4-3</i>	4	104.26 ~ 104.37	2.54	5.12	-0.97
	<i>qSCR8</i>	8	19.02 ~ 19.06	3.31	13.36	0.81
	<i>qSCR1-3</i>	1	157.05 ~ 157.12	2.81	10.93	0.73

2.4 关联群体 GWAS 分析

GWAS 分析结果表明(图 1),在 3 个环境下共检测到 100 个 QTNs($P < 0.001$)与 SCR 显著相关,所有 QTNs 都仅在单环境下被检测到。在墨江环境下,检测到 22 个与 SCR 有关的 QTNs,分别位于 1、3、4、5、

6、7、8 和 10 号染色体上。在文山环境下,检测到 57 个与 SCR 有关的 QTNs,分别位于 1、2、3、4、5、6、7、8 和 9 号染色体上。在崖城环境下,共检测到 21 个与 SCR 有关的 QTNs,分别位于 1、2、4、5、6 和 10 号染色体上。



注:A 为墨江环境下的曼哈顿图(左)和 Q-Q 图(右);B 为文山环境下的曼哈顿图(左)和 Q-Q 图(右);C 为崖城环境下的曼哈顿图(左)和 Q-Q 图(右)。Note: A is the Manhattan(left) and Q-Q(right) in the Mojiang environment, B is the Manhattan(left) and Q-Q(right) in the Wenshan environment, and C is the Manhattan(left) and Q-Q(right) in the cliff city environment.

图 1 不同环境下 GWAS 结果的曼哈顿图(左)和 Q-Q 图(右)

Fig.1 Manhattan plots(left) and Q-Q plots(right) of GWAS results in different environments

2.5 一致性遗传位点比较

发现 33 个与前人研究结果重合的一致性 QTL,初步预测出 4 个锈病抗性候选基因结果,结合 QTL 定位和 GWAS 分析结果,共鉴定出 3 个一致性遗传

位点,分别是 PZE-102119036、PZE-105100244 和 SYN23703,位于玉米第 2、5、9 染色体上(表 8)。与公开数据库的比对发现,共检测到有 8 个 QTL 和 25 个 QTNs(表 9)^[22-29]。

表 8 QTNs 标记附近的基因与 QTL 位点的整合

Table 8 Consensus results of the gene related to QTNs marker and QTL

染色体 Chromosome	QTL	物理区间(bp) Physical interval	QTNs	位置 Position	候选基因 Gene
2	<i>qSCR2-2</i>	160 004 793 ~ 160 032 657	PZE-102119036	160028845	<i>Zm00001d005131</i>
5	<i>qSCR5</i>	145 907 661 ~ 146 050 056	PZE-105100244	145326108	<i>Zm00001d016132</i> <i>Zm00001d048057</i> <i>Zm00001d048063</i> <i>Zm00001d048055</i>
9	<i>qSCR9</i>	149 000 233 ~ 149 284 359	SYN23703	149278614	<i>Zm00001d048059</i> <i>Zm00001d048065</i> <i>Zm00001d048061</i>

表9 抗南方锈病QTL定位结果

Table 9 QTL mapping results of southern corn rust resistance

环境 Environment	染色体 Chromosome	位点 QTL/SNP	区间(Mb) Interval	已发表位点 Published QTL	参考区间(Mb) Reference interval	参考文献 Reference
滑县、崖城	1	<i>qSCR1-3</i> 、PZE-101126302	157.05 ~ 159.94	未命名	93.19 ~ 194.11	[22]
崖城	2	SYN9292	5.47	<i>qSCR2.02/03</i>	SYN2692 ~ SYN26838	[23]
崖城	3	<i>qSCR3</i>	213.08 ~ 213.11	<i>qSCR3</i>	212.50 ~ 217.50	[24]
崖城、藤桥、 文山、墨江	4	<i>qSCR4-1</i> 、 <i>qSCR4-2</i> <i>qSCR4-3</i> PUT-163a-60396647-2946 PZE-104033002 PZA03598.1 PZE-104020883、SYN7941	104.25 ~ 248.39	<i>qLBC-chr4-2</i>	5.76 ~ 245.09	[25]
藤桥	8	<i>qSCR8</i>	19.02 ~ 19.06	<i>QTL7</i>	15.71 ~ 134.89	[26]
文山	9	PHM1871.19、SYN13050 SYN13048、SYN13044 SYN13051、SYN13043 PZE-109027784 PZE-109029767 PUT-163a-101389953-18	28.32 ~ 32.97	<i>qSCR9</i> <i>qLBC-chr9-1</i>	22.50 ~ 35.50	[24] [25]
文山	9	PZE-109037067 PZE-109036621 PZE-109036695 SYN35457 PZE-109037131 PZE-109032148	138.24 ~ 150.27	<i>qLBC-chr9-2</i> <i>qSCR9.03</i>	68.99 ~ 147.74 97.25 ~ 102.80	[25][27]
崖城、文山	9	<i>qSCR9</i> 、SYN25340 SYN23703	138.24 ~ 150.27	<i>qLBC-chr9-3</i>	135.61 ~ 154.67	[25]
崖城、墨江	10	<i>qSCR10</i> 、PZE-110000193	0.57 ~ 3.03	<i>qSCR10.01</i> <i>qSCRCML496</i>	3.15 ~ 4.55 0.00 ~ 16.20 2.36 ~ 3.66	[27] [28] [29]

2.6 候选基因分析

在一致性分析结果的基础上,结合前人研究报道,初步预测出21个候选基因。基于MaizeGDB网站数据库(<http://maizegdb.org>)对目标候选基因的生物功能进行分析,发现大部分候选基因所编码蛋白参与植物生长发育、激素合成和营养成分转运等生命进程(表10)。进一步分析发现,候选基因*Zm00001d051043*编码1种乙酰乳酸合成酶/氨基酸结合蛋白,*Zm00001d048059*编码1种含NAC结构域的蛋白,*Zm00001d048061*编码的蛋白是3-酮酰基-CoA合酶,*Zm00001d052185*编码细胞周期蛋白D2-1均参与激素代谢途径调控植物生长发育^[30-33]。在9号染色体检测到的QTN标记SYN23703不仅位于本研究检测到的QTL*qSCR9*物理区间内,也位于QTL*qLBC-chr9-3*物理区间内。表明SYN23703可能是调控

SCR的关键区段,对其潜在基因的挖掘对于未来南方锈病抗性育种具有实际意义。因此,通过一致性分析和生物信息学分析,初步预测出4个候选基因*Zm00001d048055*、*Zm00001d048059*、*Zm00001d048061*和*Zm00001d048065*,可能是控制玉米南方锈病病表型变异的相关基因。

3 结论与讨论

本文以高感玉米南方锈病自交系QB7866为母本、抗玉米南方锈病自交系QB5725为父本构建的132份F_{2:3}家系以及142份由热带、温带、温热改良系组成的自然关联群体为试验材料,结合3年5个环境下的表型结果和QTL定位与GWAS分析结果,共定位到13个南方锈病抗性QTL和100个QTNs,鉴定出3个锈病抗性一致性遗传区段,分别是PZE-

表 10 候选基因的物理位置及功能注释

Table 10 The Physical location and functional annotations of the candidate genes

染色体 Chromosome	环境 Environment	QTL/QTNs	位置 Position	候选基因 Gene	注释 Annotation	注释功能 Annotation function
1	滑县	<i>qSCR1-3</i>	157.057 4	<i>Zm00001d030739</i>	富含丝氨酸/精氨酸的SC35样剪接因子SCL30	RNA 结合
3	崖城	<i>qSCR3</i>	213.103 2	<i>Zm00001d043888</i>	Rop 鸟嘌呤核苷酸交换因子9	鸟苷核苷酸交换因子活性
4	崖城	<i>qSCR4-1</i>	138.284 7	<i>Zm00001d051043</i>	乙酰乳酸合成酶/氨基酸结合蛋白	乙酰乳酸合成酶活性、乙酰乳酸合成酶调节活性
4	藤桥	<i>qSCR4-2</i>	157.284 7	<i>Zm00001d051405</i>	跨膜蛋白	液泡蛋白加工
4	藤桥	<i>qSCR4-3</i>	104.284 7	<i>Zm00001d050611</i>	DNA 定向 DNA 聚合酶	DNA 定向 DNA 聚合酶活性、核苷酸转移酶、转移酶
4	墨江	PUT-163a-60396647-2946	178.713 3	<i>Zm00001d050612</i>	DNA 修复蛋白 RAD50	ATP 结合、ATP 水解活性、金属离子结合
4	文山	PZE-104020883	22.069 9	<i>Zm00001d049260</i>	细胞周期蛋白 D2-1	细胞周期蛋白、细胞周期蛋白依赖性丝氨酸/苏氨酸激酶调节活性、细胞分裂
8	藤桥	<i>qSCR8</i>	19.053 6	<i>Zm00001d008753</i>	丝氨酸 C-棕榈酰转移酶	转移酶、磷酸吡哆醛结合丝氨酸 C-棕榈酰转移酶活性
9	文山	SYN13050	28.319 4	<i>Zm00001d045603</i>	假定 HLH DNA 结合域超家族蛋白	蛋白质二聚化活性、转录顺式调控区结合、DNA 结合
9	文山	PUT-163a-101389953-18	28.539 5	<i>Zm00001d045611</i>	RNA 聚合酶 II 转录亚基 13 的介导子	抑制因子、激活因子、转录辅助调节因子激活因子
9	文山	PZE-109036621	49.257 1	<i>Zm00001d045975</i>	蛋白 MEI2 样 5	RNA 结合
9	文山	SYN35457	46.477 6	<i>Zm00001d045940</i>	RING 型 E3 泛素转移酶	泛素蛋白转移酶活性
9	文山	SYN25340	138.242 5	<i>Zm00001d047918</i>	含 SPARK 结构域的蛋白质	膜
9	崖城	<i>qSCR9</i>	149.111 5	<i>Zm00001d048057</i>	未鉴定的蛋白质	未知
				<i>Zm00001d048063</i>	含有细胞周期蛋白 C 末端结构域的蛋白质	细胞周期蛋白依赖性丝氨酸/苏氨酸激酶调节活性
				<i>Zm00001d048059</i>	未鉴定的蛋白质	未知
				<i>Zm00001d048061</i>	含 NAC 结构域的蛋白 8	DNA 结合
				<i>Zm00001d048064</i>	3-酮酰基-CoA 合酶	酰基转移酶活性、氨基酰基以外的转移基团
10	崖城	<i>qSCR10</i>	3.015 5	<i>Zm00001d023320</i>	未鉴定的蛋白质	未知
10	墨江	PZE-110000193	0.577 4	<i>Zm00001d023215</i>	Rp1 样蛋白	ADP 结合
					香豆素基转移酶	转移酶、酰基转移酶活性、氨基酰基以外的转移基团

102119036、PZE-105100244、SYN23703。发现33个与前人研究结果重合的一致性QTL,初步预测出4个锈病抗性候选基因,其编码的蛋白具有合成激素等生物学功能,可作为后续基因图位克隆和分子辅助育种的候选靶标。这些结果可以为进一步研究玉米抗南方锈病的分子机制提供重要的线索。

本研究结果在1号染色体157.05~157.12 Mb和159.94 Mb区间内分别定位到1个抗玉米南方锈病相关QTL:*qSCR1-3*和PZE-101126302;在3号染色体212.5~217.5 Mb区间内定位到1个QTL:*qSCR3*,区间为213.08~213.11 Mb;在4号染色体104.25~248.39 Mb区间内定位到8个南方锈病相关位点,分别为*qSCR4-1*、*qSCR4-2*、*qSCR4-3*、SYN7941、PUT-163a-60396647-2946、PZE-104033002、PZA03598.1和PZE-104020883;在8号染色体19.02~19.06 Mb区间定位到1个QTL为*qSCR8*;在9号染色体100.26~100.86 Mb区间内定位到2个抗南方锈病SNPs位点:PZE-109061692和PZE-109061997。在9号染色体10.91~51.71 Mb区间内定位到15个SNPs位点:PHM1871.19、PZE-109037067、PZE-109036621、PZE-109036695、SYN13050、SYN13048、SYN13044、SYN13051、SYN13043、PZE-109027784、SYN35457、PZE-109037131、PZE-109029767、PZE-109032148和PUT-163a-101389953-18,1个抗南方锈病QTL *qSCR9*;在9号染色体135.61~154.67 Mb区间内定位到13个位点:*qSCR9*、PZE-109061692、PZE-109061997、SYN25340、PZE-109043533、PZE-109043553、PZE-109043536、SYN38486、PZE-109050554、SYN4507、PZE-109050702、SYN25340和SYN23703。

比较发现,本研究鉴定出一些控制玉米南方锈病的一致性遗传区段。如在9号和10号染色体上定位到一致性南方锈病抗性遗传区段,说明这个区域可能是控制玉米抗南方锈病的重要位点。此外,本研究还定位到一些新的与玉米南方锈病抗性相关的QTL和QTNs,这些新位点分别在第1、2和5染色体以及第3、5、6、7和8染色体上被检测到。这些研究成果将为玉米抗南方锈病遗传机制解析提供新的理论支持。

参考文献:

- ULLSTRUP A. Inheritance and linkage of a gene determining resistance in maize to an American race of *Puccinia polysora*[J]. *Phytopathology*, 1965, 55(4): 425-428.
- RAID R N, PENNYPACKER S P. Characterization of *puccinia polysora* epidemics in pennsylvania and maryland[J]. *Phytopathology*, 1988, 78(5): 579-585.
- 郑明祥,胡务义,阮义理,等.玉米南方锈病夏孢子的侵染时期[J]. *植物保护学报*, 2004(4): 439-440.
ZHENG M X, HU W Y, RUAN Y L, et al. Infected period of urediniospores of *Puccinia polysora* underw in Zhejiang of China[J]. *Journal of Plant Protection*, 2004(4): 439-440. (in Chinese)
- 郭宁,刘树森,石洁,等.黄淮海夏玉米近年国审品种及主栽品种对南方锈病的抗性分析[J]. *玉米科学*, 2023, 31(3): 160-167.
GUO N, LIU S S, SHI J, et al. Resistance analysis of approved maize cultivars and main maize cultivars to southern rust in summer maize area of Huang-Huai-Hai[J]. *Journal of Maize Sciences*, 2023, 31(3): 160-167. (in Chinese)
- 任雅琨,韩托,朱胜男,等.我国玉米南方锈病的抗病育种进展和防治策略[J]. *中国种业*, 2023(11): 21-25.
REN Y K, HAN T, ZHU S N, et al. Progress of resistance breeding and control strategy of southern corn rust in China[J]. *Journal of China Seed Industry*, 2023(11): 21-25. (in Chinese)
- 王虹.结合关联与连锁分析剖析玉米籽粒生育酚含量的遗传基础及一个主效QTL的精细定位[D].武汉:华中农业大学, 2018.
- 温天旺.连锁和关联作图解析棕色棉重要农艺性状的遗传基础[D].武汉:华中农业大学, 2019.
- 刘敬贤.玉米株型相关性状的连锁和关联分析[D].保定:河北农业大学, 2018.
- MAHUKU G, CHEN J, SHRESTHA R, et al. Combined linkage and association mapping identifies a major QTL(*qRtsc8-1*), conferring tar spot complex resistance in maize[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2016, 129(6): 1217-1229.
- 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.
- ZHANG C, ZHOU Z, YONG H, et al. Analysis of the genetic architecture of maize ear and grain morphological traits by combined linkage and association mapping[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2017, 130(5): 1011-1029.
- WANG Z, GAO J, LI Y, et al. Combined linkage analysis and genome-wide association study reveal QTLs and candidate genes conferring genetic control of prolificacy trait in maize[J]. *Preprints*, 2021(11): 185.
- 崔婷婷.玉米硝酸还原酶活性的QTL定位和全基因组关联分析[D].杨陵:西北农林科技大学, 2018.
- 周子键,李晓鹏,吴亚滨,等.连锁分析结合关联分析挖掘玉米穗长主效QTL[C].中国作物学会玉米专业委员会.农业部玉米生物学与遗传育种重点实验室.北京:中国作物学会, 2015.
- WU X, LI Y, SHI Y, et al. Joint-linkage mapping and GWAS reveal extensive genetic loci that regulate male inflorescence size in maize[J]. *Plant Biotechnol J.*, 2016, 14(7): 1551-1562.
- 郭向阳.基于关联分析和连锁分析策略挖掘玉米氮响应的株型性状关键位点[D].长沙:湖南农业大学, 2020.
- 王晓鸣.玉米抗病虫性鉴定与调查技术[J]. *作物杂志*, 2005(6): 53-55.
WANG X M. Corn resistance to diseases and pests identification

- and survey technology[J]. *Crops*, 2005(6): 53–55. (in Chinese)
- [18] MENG L, LI H, ZHANG L, et al. QTL IciMapping: Integrated software for genetic linkage map construction and quantitative trait locus mapping in biparental populations[J]. *The Crop Journal*, 2015, 3(3): 269–283.
- [19] WU X, GUO X, WANG A, et al. Quantitative trait loci mapping of plant architecture-related traits using the high-throughput genotyping by sequencing method[J]. *Euphytica*, 2019, 215(12): 1–13.
- [20] CHEN D H, RONALD P C. A Rapid DNA minipreparation method suitable for AFLP and other PCR applications[J]. *Plant Molecular Biology Reporter*, 1999, 17(1): 53–57.
- [21] MCCOUCH S R, CHO Y G, YANO M, et al. Report on QTL nomenclature[J]. *Rice Genetics Newsletter*, 1997(14): 11–13.
- [22] KITTI W, JETSADA A, APICHAT V, et al. QTL Mapping for partial resistance to southern corn rust using rils of tropical sweet corn [J]. *American Journal of Plant Sciences*, 2013(4): 878–889.
- [23] 艾堂顺,田志强,李会敏,等. 玉米南方锈病抗病QTL鉴定和效应分析[J]. *河南农业大学学报*, 2018, 52(4): 514–518 .
AI T S, TIAN Z Q, LI H M, et al. Mapping and effectiveness analysis for resistance genes of southern corn rust in maize[J]. *Journal of Henan Agricultural University*, 2018, 52(4): 514–518. (in Chinese)
- [24] 陈文娟,路 璐,李万昌,等. 玉米抗南方锈病基因的QTL定位[J]. *植物遗传资源学报*, 2019, 20(3): 521–529 .
CHEN W J, LU L, LI W C, et al. QTL mapping for resistance to southern corn rust in maize[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2019, 20(3): 521–529. (in Chinese)
- [25] 张金钰,蒲浩杰,刘鹏飞,等. 鲜食甜玉米南方锈病抗性QTL定位分析[J]. *中国农业大学学报*, 2020, 25(4): 82–88 .
ZHANG J Y, PU H J, LIU P F, et al. QTL mapping for southern rust resistance in fresh sweet corn[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2020, 25(4): 82–88. (in Chinese)
- [26] MU X H, DAI Z Z, GUO Z Y, et al. Systematic dissection of disease resistance to southern corn rust by bulked-segregant and transcriptome analysis[J]. *The Crop Journal*, 2022, 10(2): 426–435.
- [27] 路 璐. 玉米抗南方锈病基因挖掘和精细定位[D]. 北京: 中国农业科学院, 2021 .
- [28] JINES M P, BALINT-KURTI P, ROBERTSON-HOYT L A, et al. Mapping resistance to Southern rust in a tropical by temperate maize recombinant inbred topcross population[J]. *Theor Appl Genet*, 2007, 114(4): 659–667.
- [29] 邓 策. 玉米南方锈病抗性QTL定位和抗病基因富集测序分析[D]. 郑州: 河南农业大学, 2022 .
- [30] 刘长乐,郭 月,李芳芳,等. 抗 ALS 类除草剂作物种质创制与利用研究进展[J]. *植物遗传资源学报*, 2022, 23(2): 333–345 .
LIU C L, GUO Y, LI F F, et al. Advances in development and utilization of crop germplasm resources resistant to ALS herbicides[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2022, 23(2): 333–345. (in Chinese)
- [31] 王 芳,孙立娇,赵晓宇,等. 植物 NAC 转录因子的研究进展[J]. *生物技术通报*, 2019, 35(4): 88–93 .
WANG F, SUN L J, ZHAO X Y, et al. Research progress on plant NAC transcription in factors[J]. *Biotchnology Bulletin*, 2019, 35(4): 88–93. (in Chinese)
- [32] 魏小艳,李 勇,郭 娟,等. 薏苡 3-酮酯酰-CoA 合酶基因克隆和生物信息学分析[J]. *药学报*, 2021, 56(2): 610–617 .
WEI X Y, LI Y, GUO J, et al. Cloning and bioinformatic analysis of the 3-ketoacyl-CoA synthase gene in *Coix lacryma-jobi* L[J]. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 2021, 56(2): 610–617. (in Chinese)
- [33] WANG F, HUO S N, GUO J, et al. Wheat D-type cyclin Triae: CYCD2;1 regulate development of transgenic *Arabidopsis* plants [J]. *Planta*, 2006, 224: 1129–1140.

(责任编辑:朴红梅)