

SNP 分子标记在玉米非生物逆境抗性上的研究进展

于滔^{1,2}, 曹士亮^{1,2}, 张建国², 王明泉², 王成波², 武尔娜², 刘宝民², 曹靖生²

(1. 黑龙江省农业科学院博士后科研工作站, 黑龙江哈尔滨 150086; 2. 黑龙江省农业科学院玉米研究所, 黑龙江哈尔滨 150086)

摘要 玉米是我国第一大粮食作物, 干旱、低温、洪涝等非生物逆境的频繁发生严重影响玉米的产量。玉米非生物逆境抗性多为复杂数量性状, 传统的抗逆育种研究进展缓慢。单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)分子标记因具有多态性丰富、一致性好、成本低、通量高等诸多优点而得到广泛应用。论述了 SNP 分子标记在玉米非生物逆境抗性上的研究进展, 以期对玉米分子标记辅助选择育种奠定基础。

关键词 SNP; 分子标记; 玉米; 非生物逆境

中图分类号 S513 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2019)19-0007-03

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2019.19.003

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Research Development of SNP Molecular Markers in Maize Abiotic Stresses Resistance

YU Tao^{1,2}, CAO Shi-liang^{1,2}, ZHANG Jian-guo² et al (1. The Postdoctoral Workstation of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086; 2. Maize Research Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086)

Abstract Maize is the largest grain crop in China. The frequent occurrence of abiotic stresses, such as drought, low temperature, floods and so on seriously affects maize yield. Maize abiotic stress resistance is mostly complex quantitative traits, the advancement of traditional stress-resistant breeding is still slow. Single nucleotide polymorphism (SNP) molecular markers are widely used due to their rich polymorphism, good consistency, low cost and high throughput. The research progress of SNP molecular markers on maize abiotic stress resistance was discussed in order to lay the foundation for maize molecular marker-assisted selection breeding.

Key words SNP; Molecular marker; Maize; Abiotic stresses

玉米(*Zea mays* L.)是我国第一大粮食作物, 2016年总产量高达2.2亿t。近年来, 由于干旱、低温、洪涝等非生物逆境的频繁发生, 致使玉米产量遭到严重的影响。因此, 加强玉米非生物逆境抗性研究在保障国家玉米安全生产方面无疑具有十分重要的现实意义。玉米非生物逆境抗性多为微效多基因控制的复杂数量性状, 传统的抗逆育种研究进展缓慢。研究玉米抗逆性的分子机制、挖掘和有效利用抗逆性相关基因资源、创制抗逆性优良的玉米新种质、培育抗逆玉米品种是应对非生物逆境对玉米生产威胁的重要策略^[1-2]。

单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)分子标记是一种以测序为基础的第3代分子标记, 是由基因组上单碱基的转换、颠换、缺失和插入引起的DNA序列多态性变化。Rafalski^[3]研究发现, 玉米基因组中SNP出现的频率非常高, 平均每70bp有1个SNP, SNP分子标记也因具有多态性丰富、一致性好、成本低、通量高等诸多优点, 被开发应用于玉米品种鉴定、遗传多样性分析、重要性状的基因定位与辅助育种等方面。近年来, 随着基因芯片和全基因组关联分析(genome-wide association studies, GWAS)技术的快速发展, SNP分子标记更是被广泛应用于玉米复杂遗传网络解析、候选基因挖掘等方面。为此, 笔者对SNP分子标记在玉米非生物逆境抗性研究的应用进展进行综述, 以期对玉米分子标记辅助选择育种奠定基础。

1 SNP 分子标记在玉米耐旱研究中的应用

全球耕地面积的43.9%为干旱、半干旱地区^[4]。我国玉米种植面积中, 旱作面积约占2/3, 每年由于干旱造成的玉米减产高达20%~30%^[5]。

有很多学者开展了SNP分子标记在玉米耐旱研究, 取得了丰硕的成果。国际玉米小麦改良中心(CIMMYT, International maize and wheat improvement center)利用10000个SNP设计玉米耐旱芯片, 对350份来自全球的玉米自交系进行GWAS, 获得大量参与玉米耐旱代谢遗传网络的候选基因及其变异位点^[6]。苏治军^[7]通过关联分析, 在干旱胁迫下找到*dbf1*基因中存在2个多态性位点与3个耐旱相关性状存在显著关联。Lu等^[8]利用1536个SNP标记对干旱胁迫条件下的株高和植被均一化指数(NDVI)这2个性状进行关联分析, 结果分别检测到2和29个显著的SNP。Xue等^[9]进行了干旱胁迫和正常水分环境下9个性状的关联分析, 共检测到位于33个基因内42个显著的SNP, 其中3个基因定位在耐旱相关的QTL区段内。柳思思等^[10-11]利用关联分析法, 在玉米基因组中共检测到29个与玉米耐旱性紧密相关的变异位点, 并根据耐旱基因*dhn1*和*rsp41*中的多态性位点开发出*dhnC397*和*rspC1090*2个CAPS功能标记用于选育玉米抗旱品种。Assenov等^[12]通过对26份耐旱和对干旱敏感的玉米自交系*ZmMYBE1*基因中的SNP进行测序鉴定, 发现耐旱玉米自交系的*ZmMYBE1*基因在富含丝氨酸/苏氨酸的区域存在A/G转变。王楠^[13]借助MaizeSNP50芯片分析了188份玉米自交系的产量性状, 在玉米第一染色体bin 1.03处分析得到一个编码肌动蛋白解聚因子5的耐旱候选基因*ZmADF5*, 干旱条件下该基因能够通过促进根的生长, 缩短生

基金项目 黑龙江省农业科学院院级科研项目(2017JS02); 七大作物育种专项项目(2017YFD0101100); 国家自然科学基金面上项目(31771814)。

作者简介 于滔(1982—), 女, 黑龙江哈尔滨人, 助理研究员, 博士, 从事玉米抗逆分子育种研究。

收稿日期 2019-05-16

育期,从而提高植株抗旱性。胡新民^[14]利用耐旱玉米自交系早21和干旱敏感玉米自交系掖478构建的DH群体,通过芯片技术获得1266个亲本间有效多态性SNP,结合田间表型数据,定位到13个玉米苗期、开花期重要耐旱QTL。Wang等^[15]分析了300多份玉米自交系干旱胁迫下苗的存活率,筛选到42个苗期耐旱候选基因,其中一个编码植物液泡膜上焦磷酸酶的基因*ZmVPP1*为玉米苗期耐旱关键基因。施婷婷等^[16]利用1490007个SNP标记对80份吉林省玉米骨干自交系进行玉米苗期抗旱性关联分析,在bin3.06和bin5.04位置分别获得1个与玉米苗期抗旱性显著关联的SNP位点,并挖掘出2个候选基因。

2 SNP分子标记在玉米耐冷研究中的应用

玉米是起源于热带、亚热带地区的典型C4植物,最适生长温度为28~32℃^[17],在芽期、苗期和灌浆期对温度尤为敏感。低温冷害是我国北方春玉米区和西北灌溉玉米区普遍发生的一种自然灾害^[18],对玉米的产量和品质均造成严重影响。

国内外研究人员利用不同的作图群体,先后定位到200余个玉米耐冷相关QTL。近期,王大志^[19]以Mo17和墨西哥野生大刍草X26-4为材料构建连锁群体,借助1282个SNP标记构建遗传连锁图谱,在常温和低温下共定位到10个与玉米苗期株高、根长和干重相关的QTL,可解释的表型贡献率为5.8%~8.8%。同时,研究者利用GWAS技术定位到多个玉米耐冷相关SNP位点,为培育优良耐冷玉米品种奠定基础。Huang等^[20]通过GWAS分析了由125份玉米自交系构成的自然群体萌发期和苗期的10个耐冷相关性状,共检测到分布于40个耐冷相关候选基因内的31个显著SNP。Strigens等^[21]利用MaizeSNP50芯片对低温胁迫下375份玉米自交系苗期早发性和叶绿素荧光参数进行关联分析,获得19个耐冷相关QTL,并确定6个SNP与早发性显著相关。Hu等^[22]利用2271584个SNP对低温胁迫下发芽率、发芽50%所需天数和发芽指数进行关联分析,共获得17个显著SNP,其中7个SNP定位于候选基因内。Yan等^[23]采用GWAS技术对玉米苗期的4个耐冷相关性状进行了研究,共鉴定出32个显著SNP位点,筛选出10个耐冷相关候选基因。

3 SNP分子标记在玉米耐盐碱研究中的应用

盐碱土包含盐土、碱土及各种盐化和碱化土壤。在我国,盐碱土面积将近4000万hm²,其中盐碱化耕地760万hm²,极大地限制了我国玉米的种植,因此增强玉米的耐盐碱性,提高玉米在盐碱胁迫下的产量,一直以来都是人们研究的热点。

由于开展玉米全生育期耐盐碱性研究难度较大,因此前人主要针对萌发期和苗期玉米耐盐碱的生理生化机制及遗传机制进行研究。近年来,研究人员通过GWAS挖掘到部分玉米耐盐碱的相关分子标记及候选基因,陈婷婷^[24]采用56万个SNP标记对364份玉米自交系在盐胁迫下植株的存活天数和死叶率进行GWAS,检测出4个显著SNP,并最终克隆一个位于5号染色体上的玉米耐盐性相关基因。汪泓

洋^[25]以苗期株高和鲜重为指标,在420个品系构成的自然群体中筛选出耐盐玉米材料27份和盐敏感玉米材料22份,结合GWAS及生物信息学技术获得了99个盐胁迫相关SNP及潜在玉米盐胁迫相关基因。陈阳松^[26]以耐盐水平、株高比率、鲜重比率和干重比率为指标,对368份玉米自交系的苗期耐盐性进行GWAS,检测到145个位于玉米全基因组与耐盐性显著相关的SNP位点。同时对玉米*ZmCIPK*基因家族进行耐盐性关联分析,共在14个*ZmCIPK*基因区域内检测到显著性SNP位点。王炳才^[27]以存活率为指标,对445份玉米关联群体的耐盐性进行GWAS,共获得与盐胁迫显著相关的SNP196个,并发现盐胁迫下64个参与逆境胁迫、激素信号、代谢和发育过程的基因的表达量发生明显变化。任凤阳^[28]利用35171个SNP标记对172个玉米自交系在盐胁迫下的萌发期相对发芽率、相对活力指数、综合指标进行关联分析,获得与3个性状同时关联的SNP标记3个。

4 SNP分子标记在玉米耐渍研究中的应用

玉米作为旱地作物,对涝渍环境极其敏感。在我国南方,玉米苗期、花期经常遇到雨水天气,长期的低氧胁迫环境易造成玉米根系腐烂及叶片枯黄,因此渍害已成为限制我国南方玉米产量的重要影响因素。

Zhang等^[29]利用包含56110个SNP的芯片对144份玉米自交系的苗期耐渍相关性状进行GWAS,在第5、6和9染色体上共检测到与苗期耐渍极显著相关的SNP位点4个。赵蝶^[30]使用Q+K的混合线性模型MLM分析了64份玉米自交系*zma-miR528*启动子多态性与水淹胁迫下其表达量变化的相关性,在*zma-miR528*启动子区域内检测到调控*zma-miR528*水淹胁迫下表达的功能位点8个。Qiu等^[31]和邹锡玲^[32]根据耐渍玉米自交系HZ32和敏感玉米自交系K12中*zmbRLZ*基因的SNP,开发出CAPS标记*zmbRC/G*,并利用构建的(HZ32×K12)F₂群体,将*zmbRLZ*基因进一步定位在SSR标记umc1743和umc1107之间。赵俊立^[33]利用连锁和关联分析对170份RILs和368份玉米自交系水淹后的叶片损伤进行研究,在第6、8和9染色体上发现了6个显著关联SNPs位点,并确定2个关键耐渍候选基因GRMZM2G095302和GRMZM2G395672。Yu等^[34]利用368份玉米自交系的关联群体结合GWAS与候选基因关联分析,定位玉米苗期耐渍关键基因*ZmEREB180*。

5 SNP分子标记在玉米其他非生物抗逆性研究中的应用

SNP分子标记在发掘玉米耐低氮基因资源方面,吴永升^[35]通过候选基因关联分析法对180份玉米自交系群体的氮代谢关键基因(*Gln1-3*、*Gln1-4*)进行研究,发现在低氮胁迫下,*Gln1-3*基因中有19个SNP位点与开花期的5个性状显著关联,*Gln1-4*基因中有14个SNP位点与大喇叭口期和开花期的5个性状显著关联。SNP分子标记在发掘应答玉米低磷胁迫候选基因方面,许诚^[36]利用55K芯片对593份玉米自交系进行GWAS、DNA混池以及RNA-seq分析,筛选到45个显著的SNP位点和6个耐低磷相关候选基因区段。张力天^[37]运用SNP50芯片对456份玉米自交系苗期性状进

行 GWAS, 分别在低磷胁迫和正常供磷条件下筛选到 44 个和 62 个显著关联 SNP 标记, 并挖掘到 4 个玉米耐低磷候选基因。SNP 分子标记在玉米耐低锌、耐低铁研究方面, 徐健钦^[38]借助 4 个重组自交系群体和 508 份玉米自交系自然群体, 联合连锁分析及 GWAS 分析, 筛选到与玉米耐低锌胁迫显著相关 SNP 位点 13 个, 与玉米耐低铁胁迫显著相关的 SNP 位点 14 个, 并挖掘到相关候选基因。

6 展望

随着测序技术的飞速发展和测序成本的不断降低, SNP 分子标记在玉米非生物逆境抗性研究中凸显出更加重要的作用。可以预期 SNP 分子标记的应用将为解析玉米非生物逆境抗性的遗传结构、挖掘和定位抗逆基因提供技术支持, 能够加快玉米非生物逆境抗性功能分子标记的开发, 对玉米非生物逆境抗性的分子标记辅助选择育种具有指导意义。

参考文献

- [1] MONNEVEUX P, SANCHEZ C, BECK D, et al. Drought tolerance improvement in tropical maize source populations[J]. *Crop science*, 2006, 46(1): 180-191.
- [2] ZAIDI P H, SRINIVASAN G, SINGH N N. Increasing crop-water productivity through genetic improvement for tolerance to water stresses in maize (*Zea mays* L.) [C]// FISCHER T. New directions for a diverse planet. Proceedings for the 4th International Crop Sci Congress, Brisbane, Australia, 26 September-1 October 2004. Gosford, NSW, Australia; [s. n.], 2004.
- [3] RAFALSKI A. Applications of single nucleotide polymorphisms in crop genetics[J]. *Current opinion in plant biology*, 2002, 5(2): 94-100.
- [4] 张木清, 陈如凯. 作物抗旱分子生理与遗传改良[M]. 北京: 科学出版社, 2005.
- [5] 高志勇, 谢恒星, 王志平, 等. 玉米抗旱性功能基因研究进展[J]. *作物研究*, 2016, 30(6): 732-735.
- [6] 郝转芳, 苏治军, 李亮, 等. 基于 SNP 标记的关联分析在玉米耐旱研究中的应用[J]. *作物杂志*, 2009(6): 1-7.
- [7] 苏治军. 耐旱候选基因与玉米相关性状的关联分析[D]. 北京: 中国农业科学院, 2009.
- [8] LU Y L, XU J, YUAN Z M, et al. Comparative LD mapping using single SNPs and haplotypes identifies QTL for plant height and biomass as secondary traits of drought tolerance in maize[J]. *Molecular breeding*, 2012, 30(1): 407-418.
- [9] XUE Y D, WARBURTON M L, SAWKINS M, et al. Genome-wide association analysis for nine agronomic traits in maize under well-watered and water-stressed conditions[J]. *Theoretical and applied genetics*, 2013, 126(10): 2587-2596.
- [10] 柳思思. 玉米耐旱功能标记开发及优异单倍型应用[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2012.
- [11] LIU S S, HAO Z F, WENG J F, et al. Identification of two functional markers associated with drought resistance in maize[J]. *Molecular breeding*, 2015, 35(1): 1-10.
- [12] ASSENOV B, ANDJELKOVIC V, IGNJATOVIC-MICIC D, et al. Identification of SNP mutations in MYBE-1 gene involved in drought stress tolerance in maize[J]. *Bulgarian journal of agricultural Science*, 2013, 19(2): 181-185.
- [13] 王楠. 干旱胁迫下玉米 ZmADF5 基因功能解析[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2016.
- [14] 胡新民. 利用玉米 DH 和 BC 群体鉴定耐旱 QTL 及选育耐旱材料[D]. 北京: 中国农业大学, 2017.
- [15] WANG X L, WANG H W, LIU S X, et al. Genetic variation in ZmVPP1 contributes to drought tolerance in maize seedlings[J]. *Nature genetics*, 2016, 48(10): 1233-1241.
- [16] 施婷婷, 张默, 吴楠, 等. 玉米苗期抗旱性的全基因组关联分析[J]. *玉米科学*, 2018, 26(5): 44-48.
- [17] ARNOLD C Y. Predicting stages of sweet corn (*Zea mays* L.) development[J]. *J Am Soc Hortic Sci*, 1974, 99(6): 501-505.
- [18] 冯玉香, 何维助. 我国玉米霜冻害的时空分布[J]. *中国农业气象*, 2000, 21(3): 6-10.
- [19] 王立志. 玉米苗期耐冷 QTL 初步定位与分析[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2018.
- [20] HUANG J, ZHANG J H, LI W Z, et al. Genome-wide association analysis of ten chilling tolerance indices at the germination and seeding stages in maize[J]. *J Integr Plant Biol*, 2013, 55(8): 735-744.
- [21] STRIGENS A, FREITAG N M, GILBERT X, et al. Association mapping for chilling tolerance in elite flint and dent maize inbred lines evaluated in growth chamber and field experiments[J]. *Plant cell & environment*, 2013, 36(10): 1871-1887.
- [22] HU G H, LI Z, LU Y C, et al. Genome-wide association study identified multiple genetic loci on chilling resistance during germination in maize[J]. *Scientific reports*, 2017, 7(1): 1-11.
- [23] YAN J B, WU Y, LI W M, et al. Genetic mapping with testcrossing associations and F_{2:3} populations reveals the importance of heterosis in chilling tolerance at maize seedling stage[J]. *Scientific reports*, 2017, 7(5): 427-428.
- [24] 陈婷婷. 玉米苗期耐盐性光合机制及耐盐基因挖掘研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2016.
- [25] 汪泓洋. 玉米苗期耐盐性状的关联分析[D]. 扬州: 扬州大学, 2016.
- [26] 陈阳松. 玉米苗期耐盐性全基因组关联分析[D]. 北京: 中国农业科学院, 2017.
- [27] 王炳才. 玉米苗期耐盐性的全基因组关联分析[D]. 武汉: 华中农业大学, 2017.
- [28] 任凤阳. 玉米自交系萌发特性的评价及 SNP 关联分析[D]. 泰安: 山东农业大学, 2014.
- [29] ZHANG X B, TANG B, YU F, et al. Identification of major QTL for waterlogging tolerance using Genome-wide association and linkage mapping of maize seedlings[J]. *Plant Mol Biol Rep*, 2013, 31(3): 594-606.
- [30] 赵蝶. 玉米 zma-miR528 对淹水胁迫响应的顺反调控机理研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2016.
- [31] QIU F Z, ZHENG Y L, ZHANG Z L, et al. Mapping of QTL associated with waterlogging tolerance during the seedling stage in maize[J]. *Ann Bot*, 2007, 99(6): 1067-1081.
- [32] 邹锡玲. 玉米苗期根系淹水应答相关基因的筛选、克隆以及鉴定[D]. 武汉: 华中农业大学, 2011.
- [33] 赵俊立. 玉米耐渍性位点的鉴定[D]. 武汉: 华中农业大学, 2016.
- [34] YU F, LIANG K, FANG T, et al. A group VII ethylene response factor gene, ZmERE180, coordinates waterlogging tolerance in maize seedlings [J/OL]. *Plant Biotechnol J*, 2019[2019-03-20]. <https://www.researchgate.net/publication/332734792>. DOI:10.1111/pbi.13140.
- [35] 吴永升. 玉米谷氨酰胺合成酶基因 Gln1-3, Gln1-4 氮利用效率关联性分析[D]. 北京: 中国农业科学院, 2009.
- [36] 许诚. 玉米耐低磷种质资源筛选和遗传研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2018.
- [37] 张力天. 玉米苗期耐低磷相关性状全基因组关联分析[D]. 雅安: 四川农业大学, 2014.
- [38] 徐健钦. 结合连锁与关联分析剖析玉米耐低锌、铁胁迫的遗传机制[D]. 北京: 中国农业大学, 2017.