

宝华宾, 梁帅强, 吕远大, 等. 玉米籽粒蛋白含量 Meta-QTL 及候选基因分析[J]. 江苏农业学报, 2016, 32(4): 736-745.
doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2016.04.004

玉米籽粒蛋白含量 Meta-QTL 及候选基因分析

宝华宾^{1,2}, 梁帅强², 吕远大², 赵 涵²

(1. 南京农业大学农学院, 江苏 南京 210095; 2. 江苏省农业科学院农业生物技术研究/江苏省农业生物学重点实验室, 江苏 南京 210014)

摘要: 玉米的蛋白含量与品质直接相关, 可通过各种遗传群体对籽粒蛋白进行 QTL 分析。但是由于使用不同的遗传图谱和分子标记, 结果之间无法直接比较分析, 数据也无法整合和利用。为了综合、系统分析玉米籽粒蛋白的 QTL 位点, 收集和整理了 289 个已报道的玉米籽粒蛋白含量 QTL 相关信息, 采用 BioMercator4.2 软件整合不同遗传图谱, 通过元分析发掘到 44 个 meta-QTL (MQTL), 研究确定了 13 个在不同遗传群体间具有一致性的 QTL 位点。利用生物信息学注释一致性 QTL 位点区段相关候选基因的功能, 获得了 847 个候选基因, 功能富集化分析发现 13 个候选基因显著富集在 9 个生物学过程中。这些 meta-QTL 位点及相关候选基因分析可以为玉米籽粒蛋白的分子标记辅助育种、精细定位和基因克隆提供有用的信息。

关键词: 玉米; 籽粒蛋白; 元分析; meta-QTL; 候选基因

中图分类号: S513.035.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2016)04-0736-10

Analysis of meta-QTL and candidate genes related to protein concentration in maize grain

BAO Hua-bin^{1,2}, LIANG Shuai-qiang², LYU Yuan-da², ZHAO Han²

(1. College of Agriculture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2. Provincial Key Laboratory of Agrobiotechnology/Institute of Agricultural Biotechnology, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing, 210014, China)

Abstract: Although a variety of studies has been conducted for detecting the maize grain protein QTL with the different segregating populations and molecular markers, the consensus map and QTL are still unavailable which hampered the genetically pinpointing the loci responsible for phenotypic variations of protein concentrations. In this study, the information of 289 QTLs related to protein concentration in maize were collected from the published papers and were integrated into the reference map of IBM2 2008 Neighbors which is a high density genetic map. With meta-analysis method, 44 meta-QTL (MQTL) were detected. A total of 847 functional genes bracketed by the MQTL were predicted and annotated. Function annotation showed that the candidate genes were enriched significantly in nine biological processes. The analysis of meta-QTL and function enrichment will be beneficial for marker-assisted selection breeding, fine mapping and gene isolation of grain protein concentration in maize.

Key words: maize; grain protein content; meta-analysis; meta-QTL; candidate gene

收稿日期: 2016-01-31

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31401393)

作者简介: 宝华宾 (1989-), 男, 河南焦作人, 硕士研究生, 主要

从事玉米遗传育种研究。(E-mail) baohuabin_corns

@163.com

通讯作者: 赵 涵, (Tel) 025-84390751; (E-mail) zhaohan@

jaas.ac.cn

玉米既是重要的工业原料和饲料作物, 又是重要的医药和轻工业原料^[1]。随着居民生活水平提高和膳食结构的改变, 对玉米品质的要求逐渐提升。

玉米籽粒营养品质泛指玉米籽粒中所含的营养成分,如蛋白质、脂肪、淀粉以及各种维生素、矿质微量元素含量及质量^[2]。中国普通玉米的专用型品种较少,难以满足畜牧业和玉米深加工的需求^[3],因此加强对其品质研究十分重要。

随着分子标记技术的发展,研究者利用不同数量和类型的遗传群体与作图方法对玉米籽粒蛋白含量进行了 QTL (Quantitative trait locus) 分析。Goldman 等^[4]利用经过 76 代筛选的高蛋白材料 Illinois high protein (IHP) 与低蛋白材料 Illinois low protein (ILP),构建了 100 单株的 F₃ 群体,共定位了 22 个蛋白含量和 19 个淀粉含量的 QTL,其中 16 个位点共同显著影响蛋白和淀粉含量。Dudley 等^[5]基于 SIM (Simple interval mapping) 和 SMA (Single marker analysis) 对经 70 代选择 IHP×ILP 的 500 个 F₁RM₇S₂ (Random mated seven generations and selfed twice),进行籽粒蛋白、油分和淀粉含量 QTL, SIM 检测到 50 个蛋白含量 QTL, SMA 检测到 37 个。Dong 等^[6]利用 Dan232×N04 构建的 258 份重组自交系群体结合多区间作图法 (Multiple interval mapping, MIM) 定位了籽粒蛋白、淀粉和油分 QTL, 在第 2、3、4、5 和 6 号染色体共检测到 13 个蛋白含量 QTL。但是,不同遗传定位研究所采用的群体大小、类型、作图方法、标记数目和试验环境不尽相同,各研究结果存在较大的差异。

为了使上述大量 QTL 结果能高效地应用到玉米育种实践中,需要对其进行归纳与整合,筛选出效应高、置信区间小的 QTL。生物信息学和比较基因组学的理论和方法在作物性状基因比较定位上已成功应用,加上高密度的玉米 IBM 遗传图谱的构建,这些都为不同 QTL 整合和“一致性”图谱构建奠定了基础。栗文娟等^[7]收集 360 个玉米抗旱相关性状 QTL,采用元分析发掘了 79 个 MQTL,通过生物信息分析 43 个 MQTL 区间包含抗旱相关基因信息。王帮太等^[8]对不同试验定位的 400 个玉米产量及产量相关性状 QTL 整合分析,获得了 96 个玉米产量及产量相关性状的 MQTL。江培顺等^[9]整合了 1994—2012 年文献发表的玉米产量性状 584 个 QTL,确定了 22 个穗行数、7 个行粒数和 44 个粒质量 MQTL,进一步挖掘出 10 个玉米产量基因和 12 个与水稻产量基因同源的候选基因。但是,对于应用元分析方法对玉米籽粒蛋白含量相关 QTL 分析还未见报道。

本研究拟系统整理已报道的玉米籽粒蛋白质含量相关 QTL 信息,利用 BioMercator4.2 软件将不同作图群体的 289 个蛋白含量相关 QTL 映射到 IBM2 2008 Neighbors 遗传图谱上,并通过元分析方法挖掘籽粒蛋白相关 MQTL,并进一步结合玉米基因组序列信息以及生物信息学方法,发掘及分析 meta-QTL 区域内与籽粒蛋白含量相关的候选基因,以期研究玉米籽粒蛋白含量遗传机理以及借助分子标记辅助育种奠定基础。

1 材料与方法

1.1 玉米籽粒蛋白含量相关 QTL 信息收集与整理

收集文献中与玉米籽粒蛋白含量 QTL 定位相关的信息,包括作图群体名称、大小、类型和作图函数、性状信息、QTL 名称、染色体位置、LOD 值、表型贡献率、加性效应及遗传图谱标记数目与位置。

1.2 玉米籽粒蛋白含量相关 QTL 映射与 meta-QTL 分析

利用 BioMercator4.2 软件^[10]完成各作图群体的玉米籽粒蛋白含量 QTL 映射及 meta-QTL 分析。基于每个 QTL 的 Mapname (图谱名称)、Chromosome (QTL 所在连锁群)、Size (群体大小)、Type (群体类型)、QTLname (QTL 名称)、Position (QTL 的位置)、R² (遗传贡献率)、Trait (性状)、Additive (加性效应值) 以及各个原始图谱与公共图谱上相关标记,构建一致性遗传图谱 (Consensus map),随后利用 ConsMap 和 QTLProj 功能模块将每个原始图谱中的 QTL 映射到 IBM2 2008 Neighbors 上。利用 Veyrieras 元分析模块进行 MQTL 分析。

软件分析 MQTL 得到 5 个模型,分别为 1-QTL、2-QTL、3-QTL、4-QTL 和 N-QTL,每个模型都按照最大似然函数比的方法通过高斯定理给出在染色体上最可能排列的位置和置信区间。因原始 QTL 数目较多且分散,AIC (Akaike-type criteria values) 最小值多分布在 Model N。在每条染色体上选取 MQTL 数目时,首先考虑 AIC 最小值对应的 MQTL 数目,当为 Model N 时,参考一致性图谱上原始 QTL 分布及数目选取合适的数目。

1.3 玉米籽粒蛋白含量相关 meta-QTL 区段候选基因发掘及分析

基于 B73 参考基因组序列 (V3, www.maizeGDB.org),利用 mInDel^[11] 中 ePCR 定位

模块对 MQTL 的两侧标记进行基因组比对,进而完成 MQTL 的基因组物理定位。仅保留专一性定位到参考基因组的 MQTL 用于后续分析。随后,结合参考基因组注释信息(5b, www.maizeGDB.org),获得候选区段功能基因。进一步基于基因本体学 GO (Gene Ontology) 数据库,利用 Blast2GO 程序^[12]对 MQTL 区域基因进行功能注释,利用费舍尔精确检验(Fisher's exact test)及 FDR 统计校正,选取校正后 P 值小于 0.01 的基因作为显著性富集的候选基因。

2 结果与分析

2.1 玉米籽粒蛋白含量相关 QTL 信息收集与整理

收集整理 23 篇有关玉米籽粒蛋白含量相关 QTL 信息的文献^[6,13-34],涉及 30 个作图群体,共获得 289 个玉米籽粒蛋白含量相关 QTL 信息(表 1),分布于玉米 10 条染色体,其中第 1、2、3、5、6 和 8 染色体上分布较多,分别为 32、37、32、36、35 和 37 个;第 4、7、9 和 10 染色体偏少,分别为 23、21、19 和 17 个。

表 1 玉米籽粒蛋白含量相关 QTL 信息

Table 1 The information of the QTL associated with grain protein concentration in maize

亲本	群体大小	群体类型	分析方法	标记数目	QTL 数目	参考文献
KW1265×D146	344	F ₂	CIM	89	29	MELCHINGER A E et al ^[13]
KW1265×D146	107	F ₂	CIM	89	12	MELCHINGER A E et al ^[13]
IHO×ILO	167	F ₂	CIM	124	3	WILLMOT D B et al ^[14]
IHO×ILO	195	F ₅	CIM	124	3	WILLMOT D B et al ^[14]
GY220×8984	282	F _{7:8}	CIM	313	10	YANG G H et al ^[15]
GY220×8622	263	F _{7:8}	CIM	313	5	YANG G H et al ^[15]
By804×B73	298	F _{2:3}	CIM	183	6	ZHANG J et al ^[16]
IHO×B73	150	BC ₁ S ₁ s	CIM	110	13	WASSOM J J et al ^[17]
Dan232×N04	258	F ₉	CIM	207	14	DONG Y B et al ^[6]
8984×GY220	284	F _{2:3}	CIM	185	4	LI Y L et al ^[18]
8622×GY220	265	F _{2:3}	CIM	173	1	LI Y L et al ^[18]
B73×By804	245	F _{7:8}	CIM	236	5	GUO Y Q et al ^[19]
N04×丹 232	259	F _{2:3}	CIM	183	4	董永彬 ^[20]
黄 C×许 178	167	F ₈	CIM	161	12	冯晓曦 ^[21]
8984×GY220	284	F _{2:3}	-	185	4	李学慧等 ^[22]
丹 232×N04	259	F _{2:3}	-	183	12	李玉玲等 ^[23]
201×698-3	233	F _{2:3}	IM	134	2	石海春等 ^[24]
黄 C×178	197	F ₂	IM	136	5	孙海艳等 ^[25]
黄 C×178	197	F ₂	IM	91	7	孙海艳 ^[26]
GY220×8984	284	F ₂	CIM	185	11	王延召 ^[27]
GY220×8622	265	F _{2:3}	CIM	173	3	王延召 ^[27]
黄 C×许 178	203	F ₇	CIM	123	32	谢惠玲等 ^[28]
GY220×8984	282	F ₇	CIM	216	9	杨国虎 ^[29]
GY220×8622	263	F ₇	CIM	208	5	杨国虎 ^[29]
N04×丹 232	258	F ₁₀	CIM	212	13	杨美丽 ^[30]
农系 531×农系 110	160	DH	CIM	83	8	张淑贞 ^[31]
DH86×沈 137	106	DH	CIM	44	5	张淑贞 ^[31]
丹 232×N04	258	F ₉	CIM	207	9	张中伟 ^[32]
T8×T48	232	F ₂	CIM	245	10	张姿丽等 ^[33]
黄 C×178	151	F ₇	CIM	123	33	赵素贞 ^[34]

2.2 玉米籽粒蛋白含量相关 QTL 映射与 meta-QTL 分析

共有 275 个已报道的 QTL 成功映射到玉米参考遗传图谱上,通过元分析得到 44 个 MQTL(表 2)(图 1、图 2),平均约 6 个原始 QTL 获得一个 meta-

QTL。将 44 个 meta-QTL 区段与 BioMercator4.2 软件上 QTL overview 模块分析的概率密度曲线比较,第 1 染色体上的 MQTL6、第 6 染色体上的 MQTL26、第 7 染色体上的 MQTL31、第 10 染色体上的 MQTL42,并未在曲线峰值区。

表 2 44 个 meta-QTL 相关信息

Table 2 The related information of the 44 meta-QTL

一致性 QTL	染色体	左侧标记	右侧标记	位置(cM)	权重	95%置信区间大小(cM)	相关基因
MQTL1	1	IDP7620	umc1305	198.57	0.13	8.35	
MQTL2	1	bnlg1007	IDP2362	339.68	0.13	8.51	
MQTL3	1	IDP6818	IDP8593	405.00	0.12	5.08	
MQTL4	1	gpm313	IDP6832	530.31	0.21	13.21	
MQTL5	1	IDP6882	IDP295	698.60	0.26	5.07	
MQTL6	1	gpm164b	magi24643	1 097.49	0.19	3.48	
MQTL7	2	TIDP4641	IDP5920	121.21	0.22	6.01	
MQTL8	2	pza01879	les1	282.60	0.05	8.78	
MQTL9	2	umc1459	bnlg1831	390.67	0.31	5.14	
MQTL10	2	mmc0143	IDP8642	488.70	0.30	5.37	
MQTL11	2	w3	TIDP3223	539.72	0.06	4.75	
MQTL12	3	umc1931	agrr209a	50.82	0.19	10.84	
MQTL13	3	bnlg1325	phi24396	123.84	0.09	16.95	
MQTL14	3	mmp186	uaz159b	191.23	0.13	7.84	
MQTL15	3	IDP7798	p-umc1605	294.36	0.34	9.45	
MQTL16	3	AY106026	bnlg1350a	467.43	0.12	22.70	
MQTL17	3	BE639338	isu1	688.12	0.13	10.30	
MQTL18	4	zpl1d	gpm848b	219.72	0.33	12.16	<i>z1A1</i> ^[35]
MQTL19	4	TIDP3741	IDP424	300.20	0.33	5.82	<i>floury2</i> ^[36]
MQTL20	4	umc1194	umc1775	421.85	0.33	6.15	
MQTL21	5	umc1587	umc107b(croc)	171.27	0.32	9.38	
MQTL22	5	IDP8686	gpm615	259.63	0.15	6.22	
MQTL23	5	IDP5041	bnlg1267	358.66	0.20	5.41	
MQTL24	5	IDP8187	TIDP5693	399.89	0.10	12.35	
MQTL25	5	rop1	bnlg1306	547.92	0.20	7.92	
MQTL26	6	asg79	umc2633	126.36	0.12	7.61	
MQTL27	6	p-bnlg1536	bnl10.42b	192.15	0.15	9.68	
MQTL28	6	bnlg2191	umc58f	297.06	0.17	9.65	
MQTL29	6	AY107053	AY107517	389.50	0.27	5.71	<i>dzs18</i> ^[37]
MQTL30	6	TIDP2808	TIDP4614	582.71	0.29	4.20	
MQTL31	7	IDP7339	TIDP8862	272.02	0.40	22.03	<i>z1B</i> ^[35]
MQTL32	7	TIDP2788	TIDP2722	429.42	0.60	2.74	

续表2 Continued

一致性 QTL	染色体	左侧标记	右侧标记	位置(cM)	权重	95%置信区间大小(cM)	相关基因
MQTL33	8	<i>wip1</i>	<i>gpm152</i>	172.97	0.11	9.98	
MQTL34	8	<i>mrpa6</i>	<i>umc1802</i>	248.78	0.18	6.99	
MQTL35	8	<i>ncr(sod3c)</i>	<i>tubg1</i>	270.09	0.10	11.23	
MQTL36	8	<i>bnlg119</i>	<i>upr1b(rpS12)</i>	325.87	0.20	9.33	
MQTL37	8	<i>met6</i>	<i>swd1</i>	405.23	0.22	13.18	
MQTL38	8	<i>umc150a</i>	<i>mmc0181</i>	487.83	0.18	12.02	
MQTL39	9	<i>umc273a</i>	<i>IDP8457</i>	264.79	0.11	23.15	
MQTL40	9	<i>umc1654</i>	<i>umc1357</i>	331.60	0.23	10.53	
MQTL41	9	<i>umc2119</i>	<i>gpm263</i>	379.95	0.50	2.51	
MQTL42	10	<i>IDP7773</i>	<i>IDP7488</i>	59.74	0.24	5.95	
MQTL43	10	<i>IDP48</i>	<i>umc1381</i>	191.94	0.52	8.18	
MQTL44	10	<i>bnlg2190</i>	<i>IDP3850</i>	449.90	0.24	3.60	

进一步通过对遗传距离小于 10 cM,且权重大于 0.1 的 MQTL 进行过滤筛选^[38],获得 25 个候选 MQTL。其中第 5 染色体上最多,有 5 个;第 1、2 染色体上较多,各有 4 个;第 8 染色体上次多,有 3 个;第 3、4、7、10 染色体分布较少,分别为 2 个;第 9 染色体最少,为 1 个。

2.3 玉米籽粒蛋白含量相关 meta-QTL 区段候选基因发掘及分析

基于 B73 参考基因组序列(V3, www.maizeGDB.org),利用 mInDel 中 ePCR 定位模块对 25 个候选 MQTL 的两侧标记进行锚定,确定 MQTL 的基因组物理定位。3 个 MQTL 由于标记序列不保守导致定位在基因组多个位置,而 9 个 MQTL 则无法定位到参考基因组。只有 13 个 MQTL 被专一性定位到玉米 B73 参考基因组(表 3)。针对可以专一性定位的 13 个 MQTL,结合参考基因组注释信息,获得了包含在这些区段内的 847 个候选功能基因。

基于基因本体学 GO 数据库,对上述 13 个 MQTL 区域基因进行功能富集化分析后,发现 13 个候选基因显著性富集在 9 个生物进程中(表 4、表 5)。这些生物进程与氨基酸代谢、蛋白质合成密切相关,比如,Trehalose-6-phosphate(T6P)是调节植物生长发育重要的信号分子^[39],对涉及氨基酸、蛋白质、核苷酸生物合成,三羧酸循环,线粒体电子传递的基因有上调作用^[40];植物上的 MATE 转运蛋白家族对内生次级代谢产物和有毒的外源物质有解毒作用^[41];谷氨酸棒杆菌 branched-chain amino acid ami-

notransferase 基因参与不同氨基酸生物合成途径^[42],如参加亮氨酸和异亮氨酸的合成;异丙基合成酶在拟南芥特异性催化亮氨酸的生物合成^[43];苏氨酸脱氨酶在异亮氨酸生物合成过程中起十分重要的作用^[44]。

对包含在 44 个 MQTL 区段已克隆的籽粒蛋白进行分析,发现 MQTL18、19、29、31 区段包含 delta-zein 蛋白(dzs18^[45])、19 000 alpha-zein 蛋白(z1A1^[35]和 z1B^[35])和 22 000 alpha-zein 蛋白(floury2^[36]),其中,z1A1 位点为染色体 4 上编码 19 000 alpha-zein 蛋白的基因簇,在 B73 基因组中有 9 个基因成员;而染色体 7 上的 z1B 位点为编码 19 000 zein 蛋白的基因簇,包含 9 个基因成员。

3 讨论

借助元分析将不同试验条件下遗传定位信息优化整合已得到广泛应用,Zhang 等^[37]将涉及玉米产量、产量构成因素、发芽、根系生物量、形态学及生理学性状的 191 个 QTL 进行元分析,其中 131 个原始 QTL 整合为 23 个 MQTL;Said 等^[46]利用 Biomercator V3 软件进行了棉花多个性状共 1 223 个 QTL 的元分析,获得多个性状的 QTL 簇以及单个性状的热点区域信息;Wang 等^[47]对玉米植株形态学、产量、保绿与抗病性状共 637 个 QTL 进行了元分析,挖掘了 113 个 MQTL,并对小于 5 Mb 的 58 个 MQTL 区段候选基因进行了研究;Chardon 等^[38]对玉米开花期 QTL 进行了元分析,检测到 62 个 MQTL,随后 Salvi

表 3 专一性定位到玉米 B73 参考基因组的 13 个 meta-QTL

Table 3 The specifically mapped 13 meta-QTL on maize B73 genome

染色体	标记	物理位置 (bp)	正向引物序列 (5'→3')	反向引物序列 (3'→5')
1	IDP6818	43 137 927	CTCAACATCACCAGACCACG	CAGTACTGGCATCCCCAAACC
1	IDP8593	44 340 086	TCCCTACCTGCCCCATTACG	ATCAAGGCCTCACCTACACC
1	bnlg1007	26 682 952	GATGCAATAAAGGTTGCCGT	ATGTGCTGTGCCTGCCTC
1	IDP2362	30 349 503	CATTACCCCAACGCTTATCC	TCACCGAAGGACATTACAGC
1	IDP6882	194 762 027	GCTTAGCGTACTCGTCGTCC	CTGCCTTCACTCTCACTCCC
1	IDP295	195 955 875	ATATACCACAGCCCACAGGG	GAGGAGGCTCTCAACACACC
2	IDP8642	196 489 639	CGTACGACTGCTACAAGACGC	CAGAGGTAGACGACGAGCG
2	mmc0143	199 241 610	CTTCTGCTGCTGGACGAAGAT	TACGCTGCCGCGACTTTTCG
2	umc1459	145 434 715	TCTTGACATTGTCCATTATTAGA	CTTCCTCTTCCTTGACTGGAAGGT
2	bnlg1831	152 869 271	TCGCTCATTTGCATACACCT	TAGGAACATGCCAGCAGTTG
4	TIDP3741	21 160 993	CCTCAGCTCAAGCGATAACC	TGAGAAGGTTGCTGCTCTCC
4	IDP424	22 580 967	TTCAGTTAGAAGACATGTCACGC	AGCTGGTTCAAAGGCACG
5	umc1587	10 184 901	ATGCGTCTTTCACAAAGCATTACA	AGGTGCAGTTCATAGACTTCCTGG
5	umc107b(croc)	10 942 652	TCACGAGGGACGAATCTACC	CAATTGAACGGGATTGTTCC
5	rop1	206 209 631	CTCTTCACTCGCTTCTCCCAGA	AGCCGACAGAAGGGAAGCAG
5	bnlg1306	208 222 332	CACCTTGAAAGCATCCTCGT	CAAAAACAAATGGCAGCTGA
5	TIDP5693	188 335 386	TGAAAGAAGGGTATCGCTCG	ACTTCAGCAAATCTGCAATGG
5	IDP8187	195 180 241	GAGAAGCAGCAGATTCCACC	GTGGTGCAGGAAGTTGATGG
7	TIDP2788	154 224 733	CTCCTAGTCTTGTGCGACGC	AGACGAAGAGGATCACACGC
7	TIDP2722	155 624 811	CTACGCTGAATATGATGCGG	CTGAGGTTCTCGAACTTGCC
9	umc1654	131 180 682	CACATTGATCAACTACCAGGTGGA	GCCTCTTTTCTTCTCCATTTTCT
9	umc1357	133 469 693	TAGACATGTTGAAACCAGGACCG	ACGACGTCAACAACAGCATGA
10	IDP7773	921 965	CAGTCGCTTCTTCCTTCACC	GAATGACACGACACCCCTTC
10	IDP7488	2 661 319	CACGTTCAAGAGGAGCTTTCC	CTTGTTTCAAGAGCAAGGGC
10	umc1381	58 009 087	CTCTAGCTACGAGCCTACGAGCA	CCGTCCAGTCAACTAGAGAAAGGA
10	IDP48	65 013 033	ACCTGAATGCCAAATGAAGC	CAGTCTGAAGGCAACAGCG

表 4 显著性富集的 13 个候选基因

Table 4 The 13 significantly enriched candidate genes annotation analyses

候选基因	染色体	起始位置 (bp)	终止位置 (bp)	基因功能	期望值
GRMZM2G099860	1	28 446 753	28 451 214	trehalose-phosphate synthase	0
GRMZM2G135877	1	29 789 596	29 791 722	protein detoxification 48	1.76×10^{-114}
GRMZM2G153536	1	29 513 373	29 516 591	branched-chain-amino-acid aminotransferase	3.719×10^{-162}
GRMZM2G163154	1	27 099 589	27 103 458	protein detoxification 42	1.480×10^{-161}
GRMZM2G079127	2	150 148 298	150 150 973	protein detoxification 21	0
GRMZM2G430607	2	145 678 958	145 686 485	trehalose-phosphate synthase	2.347×10^{-95}
GRMZM2G537291	2	146 828 961	146 834 656	2-isopropylmalate synthase a	0
GRMZM2G055150	5	208 220 124	208 222 639	probable trehalose-phosphate phosphatase 4	0
GRMZM2G112830	5	192 358 346	192 362 866	probable trehalose-phosphate phosphatase 1	0
GRMZM2G569855	5	10 807 461	10 811 942	threonine dehydratase	0
GRMZM5G840002	5	191 419 370	191 422 695	3-isopropylmalate dehydratase small subunit 3	2.378×10^{-74}
GRMZM2G130062	10	1 728 666	1 734 854	2-isopropylmalate synthase 1	0
GRMZM2G151903	10	2 435 336	2 439 141	protein detoxification 21	0

表5 MQTL 区域基因功能富集化分析

Table 5 Functional enrichment analysis of genes underlying MQTL regions

富集编号	富集形式	功能描述	P 值	错误率
GO:0009081	P	branched chain family amino acid metabolic process	1.1×10^{-7}	0.000 17
GO:0009082	P	branched chain family amino acid biosynthetic process	2.2×10^{-6}	0.001 70
GO:0009098	P	leucine biosynthetic process	4.6×10^{-6}	0.001 80
GO:0006551	P	leucine metabolic process	4.6×10^{-6}	0.001 80
GO:0005992	P	trehalose biosynthetic process	8.9×10^{-6}	0.002 80
GO:0009312	P	oligosaccharide biosynthetic process	0.000 022	0.003 50
GO:0016138	P	glycoside biosynthetic process	0.000 020	0.003 50
GO:0005991	P	trehalose metabolic process	0.000 015	0.003 50
GO:0046351	P	disaccharide biosynthetic process	0.000 020	0.003 50

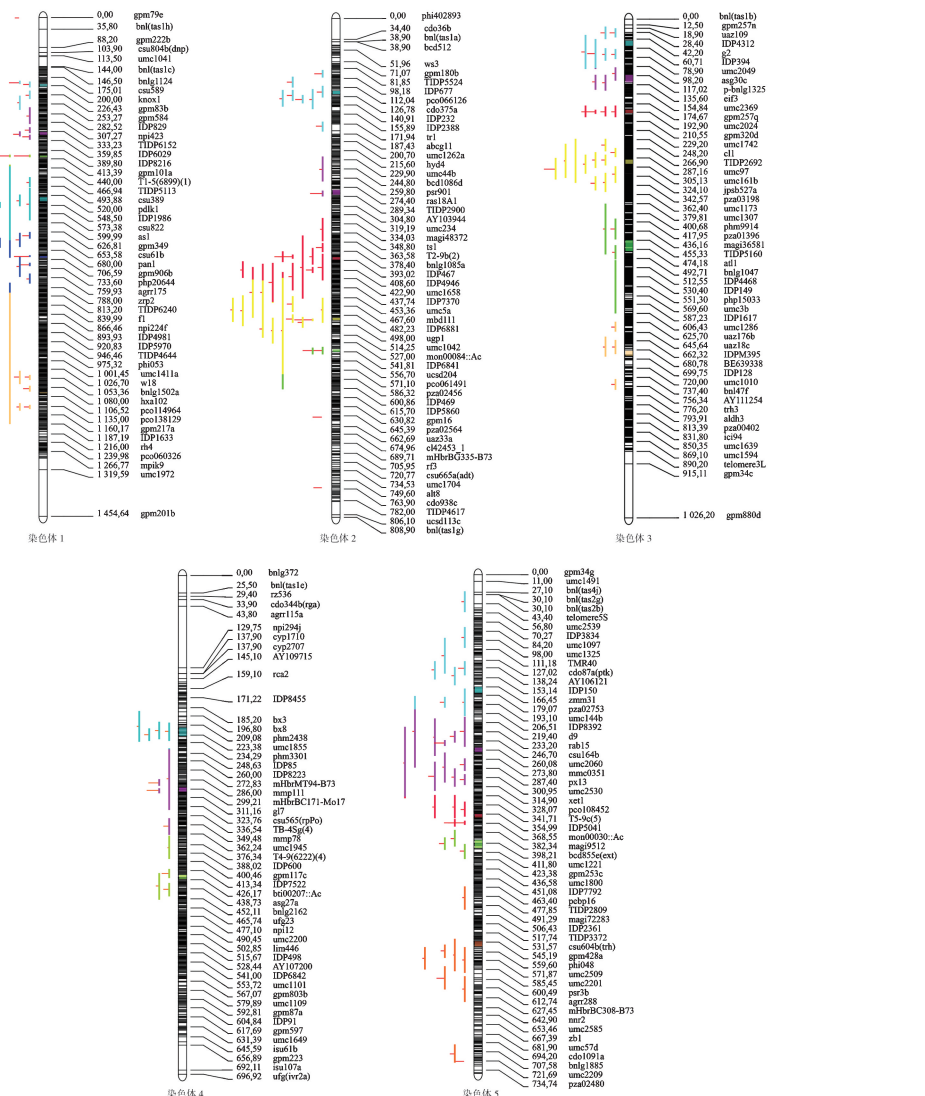
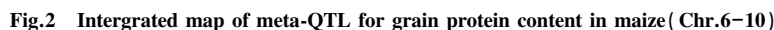


图1 玉米籽粒蛋白含量相关 meta-QTL 综合图谱(染色体 1~5)

Fig.1 Integrated map of meta-QTL for grain protein content in maize (Chr.1-5)



本研究对收集的 289 个玉米籽粒蛋白 QTL 元分析优化, 获得 44 个 MOTL, 优化后的置信区间由初始的

参考文献:

- [1] 刘金龙,李 波,王铁良,等.沈阳地区滴施条件下施肥比例对

- 玉米产量和品质的影响[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(2): 95-98.
- [2] 柯永培, 石海春, 杨志荣. 玉米营养品质的遗传研究与育种进展[J]. 玉米科学, 2004, 12(4): 16-20.
- [3] 王敏杰. 玉米品质育种研究进展[J]. 农业科技与装备, 2009(6): 1-3.
- [4] GOLDMAN I L, ROCHEFORD T R, DUDLEY J W. Quantitative trait loci influencing protein and starch concentration in the Illinois Long Term Selection maize strains[J]. Theor Appl Genet, 1993, 87(1-2): 217-224.
- [5] DUDLEY J W, CLARK D, ROCHEFORD T R, et al. Genetic analysis of corn kernel chemical composition in the random mated 7 generation of the cross of generations 70 of IHP×ILP[J]. Crop Science, 2007, 47(47): 45-57.
- [6] DONG Y B, ZHANG Z W, SHI Q L, et al. QTL identification and meta-analysis for kernel composition traits across three generations in popcorn[J]. Euphytica, 2015, 204: 649-660.
- [7] 栗文娟, 刘志斋, 石云素, 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.
- [8] 王帮太, 吴建宇, 丁俊强, 等. 玉米产量及产量相关性状 QTL 的图谱整合[J]. 作物学报, 2009, 35(10): 1836-1843.
- [9] 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.
- [10] SOSNOWSKI O, CHARCOSSET A, JOETS J. BioMercator V3: an upgrade of genetic map compilation and QTL meta-analysis algorithms[J]. Bioinformatics, 2012, 28(15): 2082-2083.
- [11] LV Y D, LIU Y H, ZHAO H. mInDel: a high-throughput and efficient pipeline for genome-wide InDel marker development[J]. BMC Genomics, 2016, 17(1): 1-5.
- [12] CONESA A, GÖTZ S. Blast2GO: a comprehensive suite for functional analysis in plant genomics[J]. International Journal of Plant Genomics, 2008, 2008: 1-12.
- [13] MELCHINGER A E, UTZ H. F, SCHÖN C C. Quantitative trait locus (QTL) mapping using different testers and independent population samples in maize reveals low power of QTL detection and large bias in estimates of QTL effects[J]. Genetics, 1998, 149(1): 383-403.
- [14] WILLMOT D B, DUDLEY J W, ROCHEFORD T R, et al. Effect of random mating on marker-oil associations for grain quality traits in the cross of Illinois high oil × Illinois low oil[J]. Maydica, 2006, 51(2): 187-199.
- [15] YANG G H, DONG Y B, LI Y L, et al. QTL verification of grain protein content and its correlation with oil content by using connected RIL populations of high-oil maize[J]. Genetics and Molecular Research, 2014, 13(1): 881-894.
- [16] ZHANG J, LU X Q, SONG X F, et al. Mapping quantitative trait loci for oil, starch, and protein concentrations in grain with high-oil maize by SSR markers[J]. Euphytica, 2008, 162(3): 335-344.
- [17] WASSOM J J, WONG J C, MARTINEZ E, et al. QTL associated with maize kernel oil, protein, and starch concentrations; kernel mass; and grain yield in Illinois high oil × B73 backcross-derived lines[J]. Crop Science, 2008, 48(1): 243-252.
- [18] LI Y L, WANG Y Z, WEI M G, et al. QTL identification of grain protein concentration and its genetic correlation with starch concentration and grain weight using two populations in maize (*Zea mays* L.)[J]. Journal of Genetics, 2009, 88(1): 61-67.
- [19] GUO Y Q, YANG X H, CHANDER S, et al. Identification of unconditional and conditional QTL for oil, protein and starch content in maize[J]. Crop Journal, 2013, 1(1): 34-42.
- [20] 董永彬. 普通×爆裂玉米群体单性状及多性状联合 QTL 分析[D]. 郑州: 河南农业大学, 2006.
- [21] 冯晓曦. 玉米灌浆期不同阶段籽粒品质性状及灌浆速度的 QTL 分析[D]. 郑州: 河南农业大学, 2008.
- [22] 李学慧, 申顺先, 李玉玲, 等. 利用种子性状 QTL 定位高油玉米蛋白质含量 QTL[J]. 作物杂志, 2011(4): 40-42.
- [23] 李玉玲, 王延召, 董永彬, 等. 利用三倍体胚乳遗传模型定位爆裂玉米子粒蛋白含量 QTL[J]. 玉米科学, 2006, 14(6): 13-16.
- [24] 石海春, 余学杰, 袁继超, 等. 玉米营养品质性状的 QTL 定位[J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2009, 46(5): 1454-1460.
- [25] 孙海艳, 蔡一林, 王久光, 等. 玉米籽粒主要品质的 QTL 定位[J]. 农业生物技术学报, 2011, 19(4): 616-623.
- [26] 孙海艳. 玉米籽粒主要品质的 QTL 定位[D]. 重庆: 西南大学, 2008.
- [27] 王延召. 玉米籽粒品质性状 QTL 定位及其遗传相关研究[D]. 郑州: 河南农业大学, 2007.
- [28] 谢惠玲, 段柳静, 吴欣, 等. 不同发育时期玉米籽粒蛋白质含量的 QTL 分析[J]. 河南农业大学学报, 2008, 42(4): 372-374.
- [29] 杨国虎. 玉米两个相关 RILs 群体遗传图谱构建及主要性状 QTL 分析[D]. 郑州: 河南农业大学, 2011.
- [30] 杨美丽. 利用 RILs 群体定位玉米不同时期籽粒灌浆及品质性状 QTL[D]. 郑州: 河南农业大学, 2010.
- [30] 张淑贞. 玉米 DH 群体品质性状的分离及 QTL 分析[D]. 保定: 河北农业大学, 2008.
- [31] 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.
- [32] 张姿丽, 蒋锋, 刘鹏飞, 等. 鲜食甜玉米籽粒蛋白质含量的 QTL 定位[J]. 西北农林科技大学: 自然科学版, 2013, 41(3): 100-104.
- [33] 赵素贞. 不同发育时期玉米籽粒品质性状的 QTLs 动态分析[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2007.
- [35] DONG J Q, FENG Y P, KUMAR D, et al. Analysis of tandem gene copies in maize chromosomal regions reconstructed from long sequence reads[J]. PNAS, 2016, 113(29): 7949-7956.
- [36] SONG R T, MESSING J. Gene expression of a gene family in maize based on noncollinear haplotypes[J]. PNAS, 2003, 100(15): 9055-9060.

- [37] ZHANG H W, UDDIN M S, ZOU C, et al. Meta-analysis and candidate gene mining of low-phosphorus tolerance in maize [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2014, 56(3): 262-270.
- [38] CHARDON F, VIRLON B, MOREAU L, et al. Genetic architecture of flowering time in maize as inferred from quantitative trait loci meta-analysis and synteny conservation with the rice genome [J]. *Genetics*, 2004, 168(4): 2169-2185.
- [39] HARTHILL J E, MEEK S E M, MORRICE N, et al. Phosphorylation and 14-3-3 binding of *Arabidopsis* trehalose-phosphate synthase 5 in response to 2-deoxyglucose [J]. *Plant Journal*, 2006, 47(2): 211-223.
- [40] ZHANG Y H, PRIMAVESI L F, JHURREEA D, et al. Inhibition of SNF1-related protein kinase1 activity and regulation of metabolic pathways by trehalose-6-phosphate [J]. *Plant Physiology*, 2009, 149(4): 1860-1871.
- [41] SONG J N, JI C G, ZHANG J Z H. Insights on Na⁺-binding and conformational dynamics in multidrug and toxic compound extrusion transporter NorM [J]. *Proteins*, 2014, 82(2): 240-249.
- [42] MCHARDY A C, TAUCH A, RÜCKERT C, et al. Genome-based analysis of biosynthetic aminotransferase genes of *corynebacterium glutamicum* [J]. *Journal of Biotechnology*, 2003, 104(1-3): 229-240.
- [43] KRAKER J W D, LUCK K, TEXTOR S, et al. Two *Arabidopsis* genes (IPMS1 and IPMS2) encode isopropylmalate synthase, the branchpoint step in the biosynthesis of leucine [J]. *Plant Physiology*, 2007, 143(2): 970-986.
- [44] MÖCKEL B, EGDELING L, SAHM H. Functional and structural analyses of threonine dehydratase from *corynebacterium glutamicum* [J]. *Journal of Bacteriology*, 1992, 174(24): 8065-8072.
- [45] WU Y R, WANG W Q, MESSING J. Balancing of sulfur storage in maize seed [J]. *BMC Plant Biology*, 2012, 12: 77.
- [46] SAID J I, LIN Z X, ZHANG X L, et al. A comprehensive meta-QTL analysis for fiber quality, yield, yield related and morphological traits, drought tolerance, and disease resistance in tetraploid cotton [J]. *BMC Genomics*, 2013, 14(1): 776.
- [47] WANG Y J, XU J, DENG D X, et al. A comprehensive meta-analysis of plant morphology, yield, stay-green, and virus disease resistance QTL in maize (*Zea mays* L.) [J]. *Planta*, 2016, 243(2): 459-471.
- [48] SALVI S, SPONZA G, MORGANTE M, et al. Conserved noncoding genomic sequences associated with a flowering-time quantitative trait locus in maize [J]. *PNAS*, 2007, 104(27): 11376-11381.
- [49] DUDLEY J W, LAMBERT R J. Ninety generations of selection for oil and protein in maize [J]. *Maydica*, 1992, 37: 1-7.
- [50] 魏良明, 戴景瑞, 刘占先, 等. 普通玉米蛋白质、淀粉和油分含量的遗传效应分析 [J]. *中国农业科学*, 2008, 41(11): 3845-3850.

(责任编辑:陈海霞)