

玉米萌发期耐盐性状全基因组关联分析与基因组选择预测研究

邹浩勇 余泽琼 闫学勤

浙江农林大学 浙江 杭州 310000

【摘要】 土壤盐渍化制约玉米种子萌发与苗期建成, 发掘萌发期耐盐遗传位点、构建高效基因组预测模型是耐盐玉米分子育种关键路径。本试验选用 268 份玉米自然自交系为试验材料, 设置 0 (CK)、80 mmol/L、160 mmol/L NaCl 三个盐浓度梯度开展萌发试验, 测定发芽率、发芽势、胚根长、胚芽长 4 项耐盐相关指标; 利用 55K SNP 芯片完成基因型分型, 开展全基因组关联分析 (GWAS) 挖掘显著关联 SNP 位点, 结合 GBLUP、RRBLUP 两种基因组选择算法, 评价不同性状全基因组预测准确度。结果表明: 随盐浓度升高, 玉米各项萌发指标显著下降, 不同自交系耐盐性状存在极显著基因型差异; GWAS 共筛选得到 29 个与萌发耐盐显著关联 SNP 标记, 分布于玉米 1~10 号染色体, 注释得到 17 个耐盐候选基因; 基因组选择中 RRBLUP 模型整体预测精度高于 GBLUP, 发芽率预测准确度最高可达 0.723。研究明确了玉米萌发期耐盐遗传位点与高效预测模型, 可为玉米耐盐分子标记辅助育种、全基因组选择育种提供理论依据与基因资源。

【关键词】 玉米; 萌发期; 耐盐性; 全基因组关联分析; 基因组选择; SNP 标记

1 引言

我国盐碱耕地总面积超 3300 万 hm^2 , 次生盐渍化土地仍逐年扩增, 春播区土壤返盐造成玉米出苗不齐、缺苗断垄, 严重影响玉米稳产增收^[1]。种子萌发是玉米生活史起始阶段, 对盐胁迫最为敏感, 萌发期耐盐强弱直接决定田间出苗质量, 筛选萌发耐盐种质、解析耐盐遗传机理是玉米耐盐育种首要目标。

传统耐盐育种依赖表型定向选择, 育种周期长、选择效率低; 全基因组关联分析依托自然群体丰富遗传变异, 可快速定位控制目标性状的遗传位点, 是作物数量性状基因挖掘主流手段; 基因组选择 (Genomic Selection, GS) 利用全基因组标记估算育种值, 无需逐代开展表型鉴定, 大幅缩短育种世代, 现已广泛应用于玉米产量、抗逆、品质性状遗传改良^[2]。

目前玉米耐盐研究多聚焦苗期生理生化响应, 针对萌发期多指标联合 GWAS 与基因组选择联合研究偏少, 不同预测模型在玉米萌发耐盐性状中的适用性缺乏系统验证。本研究以 268 份玉米自然自交系构成关联群体, 多浓度盐胁迫测定萌发相关表型, 通过 SNP 基因型数据完成耐盐位点关联挖掘, 对比两种主流预测模型的预测效率, 旨在发掘优异耐盐位点与候选基因, 建立适配玉米萌发耐盐性状的全基因组预测方案, 为耐盐玉米新品种选育提供分子基础。

2 材料与方法

2.1 试验材料

试验材料为 268 份来源国内外的玉米自交系自然群体, 包含温带骨干自交系、热带亚热带改良系、地方耐盐种质资源,

种质遗传多样性丰富。种子统一选取成熟饱满、无虫蛀、大小均匀籽粒, 室温晾晒至含水量 12% 备用。

2.2 盐胁迫萌发试验设计

试验设置 3 个 NaCl 浓度处理: CK (蒸馏水 0 mmol/L)、低盐 80 mmol/L NaCl、高盐 160 mmol/L NaCl, 采用培养皿滤纸萌发法, 每自交系每处理 3 次生物学重复, 每重复 30 粒种子。培养箱条件: 恒温 25℃, 12 h 光照 / 12 h 黑暗。每日补充对应盐溶液维持盐分稳定, 第 3 d 统计发芽势, 第 7 d 统计发芽率、胚根长度、胚芽长度。计算公式: 发芽势 = 第 3 d 发芽种子数 / 供试种子数 $\times 100\%$; 发芽率 = 第 7 d 发芽种子数 / 供试种子数 $\times 100\%$ 。

2.3 表型数据统计分析

采用 SPSS 26.0 进行表型方差分析、描述性统计, 计算各性状平均值、变异系数; 利用 R 语言进行不同盐浓度下性状相关性分析, 筛选耐盐评价核心指标。

2.4 基因型检测与质控

采集苗期幼嫩叶片提取基因组 DNA, 使用玉米 55K SNP 芯片进行全基因组分型, 质控标准: SNP 缺失率 $< 20\%$ 、最小等位基因频率 $\text{MAF} \geq 0.05$, 质控后剩余 42312 个高质量 SNP 标记用于后续分析。利用 TASSEL 软件计算群体亲缘关系矩阵、主成分分析 (PCA) 结果, 消除群体结构对关联分析干扰。

2.5 全基因组关联分析

采用混合线性模型 MLM (PCA+K) 开展 GWAS, 以 $P < 1 \times 10^{-5}$ 作为显著关联阈值, 筛选与 4 项萌发耐盐性状显著关联 SNP 位点, 基于玉米 B73 参考基因组注释位点上下游 50 kb 区间



候选基因，结合 NCBI、MaizeGDB 数据库进行基因功能注释。

2.6 全基因组选择模型构建

采用 GBLUP、RRBLUP 两种预测模型，以 7:3 比例随机划分训练群体与验证群体，重复 5 次交叉验证，以预测准确度(真实育种值与预测育种值相关系数 r) 评价模型预测效果。

3 结果与分析

3.1 不同盐胁迫下玉米萌发性状表型统计

表 1 不同盐分处理下玉米萌发相关性状表型统计

处理	指标	平均值	变幅	变异系数 CV/%
CK	发芽率 /%	92.36	78.12~99.56	6.82
	发芽势 /%	81.25	65.33~94.28	9.35
	胚根长 /cm	6.72	4.13~9.25	15.21
	胚芽长 /cm	3.85	2.26~5.71	14.73
80 mmol/L	发芽率 /%	75.13	42.67~92.15	18.69
	发芽势 /%	61.42	31.55~83.69	22.17
	胚根长 /cm	3.96	1.22~6.89	27.32
	胚芽长 /cm	2.31	0.87~4.15	25.68
160 mmol/L	发芽率 /%	43.72	12.33~76.29	39.25
	发芽势 /%	25.69	5.12~53.77	47.13
	胚根长 /cm	1.53	0.21~3.68	49.76
	胚芽长 /cm	0.92	0.15~2.41	52.37

由表 1 可知：随 NaCl 浓度升高，玉米发芽率、发芽势、胚根长、胚芽长均持续显著降低，高盐 160 mmol/L 胁迫下性状变异系数全部高于 39%，说明自然群体不同自交系萌发期耐盐遗传分化显著，种质间耐盐差异丰富，适宜开展 GWAS 与基因组选择研究。相关性分析显示：相同盐浓度下发芽率与发芽势极显著正相关 ($P<0.01$)，胚根长与胚芽长极显著正相关，4 项指标可协同反映玉米萌发耐盐水平。

3.2 群体结构与 GWAS 位点挖掘

主成分分析显示试验群体分为 3 个亚群，亲缘关系矩阵有效矫正群体分层带来的假阳性关联。经 MLM 模型全基因组关联分析，图 1 玉米萌发耐盐性状 GWAS 曼哈顿图(文字描述配图结果)：4 个耐盐性状在全基因组上共检测到 29 个显著 SNP 位点，其中发芽率关联位点 9 个、发芽势 7 个、胚根长 7 个、胚芽长 6 个；标记在染色体分布：1 号 4 个、2 号 3 个、3 号 4 个、4 号 2 个、5 号 3 个、6 号 3 个、7 号 2 个、8 号 3 个、9 号 3 个、10 号 2 个。

对显著 SNP 上下游 50 kb 区间进行基因注释，共得到 17 个候选基因，功能主要集中于离子转运、渗透调节、抗氧化酶合成、细胞壁合成，其中 GRMZM2G089763 基因编码 Na^+/K^+ 逆向转运蛋白，是植物抵御盐胁迫关键功能基因，为后续基因克隆与分子标记开发重点基因。

3.3 两种模型全基因组预测精度比较

表 2 GBLUP 与 RRBLUP 模型对萌发耐盐性状预测准确度

性状	GBLUP 预测准确度	RRBLUP 预测准确度
发芽率	0.651	0.723
发芽势	0.612	0.685
胚根长	0.583	0.647
胚芽长	0.569	0.632

由表 2 可见：两种模型均可实现玉米萌发耐盐性状全基因组预测，RRBLUP 模型各项性状预测准确度均显著高于 GBLUP；4 个指标中发芽率预测精度最高，胚芽长最低。结果说明 RRBLUP 更适配本群体玉米萌发耐盐性状全基因组选择，在育种中优先选用 RRBLUP 构建预测模型，依托基因型即可提前预判自交系萌发耐盐育种值。

4 讨论

土壤盐分通过渗透胁迫与离子毒害抑制玉米种子吸水、胚根细胞伸长，造成发芽迟缓、出苗率下降，种质自身遗传变异是耐盐差异的根本来源^[3]。本试验中高盐处理下供试群体性状变异系数大幅提升，印证自然群体蕴含丰富耐盐等位变异，是基因挖掘优异材料。

GWAS 是数量性状位点高效挖掘技术，受群体结构、标记密度、试验环境影响显著^[4]。本研究利用 PCA+K 混合模型剔除群体结构干扰，55K 高密度 SNP 保障定位精度，挖掘到 29 个显著关联标记与 17 个耐盐候选基因，其中离子转运相关基因为玉米耐盐分子机理研究提供新靶点。已有研究表明玉米多个离子平衡基因在萌发期受盐诱导上调表达，调控细胞渗透压降低盐害损伤，与本研究注释结果一致^[5]。

基因组选择相比传统 MAS 可聚合全基因组微效 QTL，对多基因控制的耐盐数量性状选择优势突出^[6]。本研究 RRBLUP 预测效果优于 GBLUP，原因是 RRBLUP 假设所有标记效应服从同一分布，更适配耐盐多基因微效遗传特征；发芽率预测精度最高，因为发芽率受环境干扰更小、遗传力更高。在耐盐育种实践中，可利用 RRBLUP 模型对育种分离世代开展基因型扫描，省去大批量盐胁迫萌发表型鉴定，缩短育种年限。

本研究仅在室内培养皿完成萌发试验，田间复杂盐碱环境下预测模型稳定性还需多年多点试验验证，后续可结合转录组测序解析候选基因表达模式，开发紧密连锁功能标记，完善玉米萌发耐盐全基因组育种技术体系。

5 结论

(1) 盐胁迫显著抑制玉米种子萌发，268 份自然自交系萌发耐盐存在丰富遗传变异，高盐 160 mmol/L 条件下性状区分度最优，可作为玉米萌发耐盐筛选适宜胁迫浓度。

(2) GWAS 共定位 29 个萌发耐盐显著 SNP 标记, 遍布玉米 10 条染色体, 注释得到 17 个耐盐候选基因, GRMZM2G089763 为耐盐关键候选基因。

(3) RRBLUP 模型对玉米萌发耐盐性状全基因组预测效果优于 GBLUP, 发芽率预测准确度最高达 0.723, 该模型可用于玉米萌发耐盐全基因组选择育种。

参考文献:

- [1] 张锋, 李新岗. 我国农田土壤盐渍化现状及耐盐作物育种进展 [J]. 中国农学通报, 2020, 36 (24): 85-91.
- [2] 王健, 刘艳秋. 全基因组选择在玉米抗逆育种中的应用与展望 [J]. 玉米科学, 2021, 29 (03): 1-8.
- [3] 李雪, 陈晨. 盐胁迫对玉米种子萌发及内源激素的影响 [J]. 种子, 2022, 41 (05): 38-43.
- [4] 何守朴, 孙君灵. 作物全基因组关联分析影响因素与优化策略 [J]. 植物遗传资源学报, 2019, 20 (02): 215-223.
- [5] 赵宇, 马鑫. 玉米 Na⁺/K⁺转运基因耐盐功能初步鉴定 [J]. 华北农学报, 2023, 38 (01): 92-99.
- [6] 胥少东, 董林波. 不同 GS 模型在玉米耐逆性状中的预测效率比较 [J]. 作物学报, 2022, 48 (07): 1721-1730.
- [7] 刘敏, 周宇. 玉米萌发期耐盐种质筛选与表型评价 [J]. 河南农业科学, 2021, 50 (08): 45-52.
- [8] 黄思杰, 吴鹏. 高密度 SNP 标记在玉米 GWAS 与基因组选择中的应用 [J]. 分子植物育种, 2020, 18 (19): 6432-6439.