

· 热点评述 ·

鱼和熊掌的选择：反向重复序列变异介导的玉米环境适应与产量平衡

王雷^{1,2*}, 种康^{1,2*}

¹中国科学院植物研究所, 植物分子生理学重点实验室, 北京 100093; ²中国科学院大学, 北京 100049

摘要 作物育种的目标是找到产量和抗性的最佳平衡点, 其中涉及“鱼和熊掌”二者兼得的选择策略。哪些逆境负调控位点影响产量性状, 以及如何调控等是突破育种瓶颈的重要科学问题。近百年来, 高产玉米(*Zea mays*)育种使玉米单产不断提高, 同时现代玉米品种对干旱的敏感性也呈现出增强趋势, 故而存在高产稳产的潜在风险。可对于这一现象背后确切的遗传机制却知之甚少, 从而限制了既高产又高抗玉米新品种的培育。玉米的非生物胁迫抗性与产量性状均为多基因控制的复杂数量性状, 涉及全基因组范围内大量基因的表达与调控。玉米基因组内存在大量的小RNA (sRNA), 其对基因表达起精细调控作用, 但人们对sRNA调控作物环境胁迫应答与产量性状机制的理解仍然有限。近日, 华中农业大学代明球课题组与李林和李峰两个课题组合作, 基于对338份玉米关联群体在不同环境下的sRNA表达组分析, 鉴定到大量干旱应答的sRNA, 以及调控这些sRNA表达的遗传位点(eQTL); 并克隆了8号染色体上1个干旱特异性eQTL热点*DRESH8*。生物信息学分析显示, *DRESH8*是1个由转座子组成的长度约为21.4 kb的反向重复序列(TE-IR)。*DRESH8*通过产生小干扰RNA (siRNA)介导抗旱基因的转录后沉默, 并间接抑制产量负调控因子的表达, 在负调控干旱应答的同时正调控产量性状。进一步研究发现, *DRESH8*在玉米驯化和改良过程中受到了人工选择。据此, 他们认为*DRESH8*可能是玉米平衡抗旱性和产量的关键遗传位点。该研究在全基因组水平上揭示了作物调控产量和环境胁迫抗性平衡的关键遗传机制, 同时也鉴定到大量IR位点, 为未来“高抗、高产”玉米设计育种提供了有价值的操控靶点。

关键词 环境适应性, 产量性状, TE-IR, sRNA, eQTLs

王雷, 种康 (2022). 鱼和熊掌的选择: 反向重复序列变异介导的玉米环境适应与产量平衡. 植物学报 57, 555–558.

育种是人为选择固定优异性状基因组的过程, 追求的目标是生产性状; 而自然选择进化追求的目标是物种的存续繁衍, 二者的选择方向截然不同。在基因组水平上, 逆境性状的负调控位点常与优异生产性状位点紧密连锁, 如何分离并打破这种连锁, 达到产量和抗性的最佳平衡, 从而实现“鱼和熊掌”二者兼得的育种目标, 是当前作物育种面临的重大挑战。因此, 探明影响产量性状的逆境应答负调控位点并解析其作用机理, 有望突破这一育种瓶颈。

近年来, 在全球气候变化条件下, 干旱胁迫成为作物遭受的重要非生物胁迫之一。玉米(*Zea mays*)是我国种植面积最大的农作物, 但玉米的主要种植区与我国干旱和半干旱地区高度重叠。因此, 解析玉米

的干旱适应机制, 减少干旱下的产量损失是我国玉米育种亟待解决的关键科学问题。随着科学技术的快速发展, 目前已实现全基因组关联分析与玉米遗传群体多组学数据的有机结合, 极大地加快了对玉米干旱相关遗传机制的系统解析(Liu et al., 2020; Blein-Nicolas et al., 2020; Zhang et al., 2021; Wu et al., 2021)。

sRNA (small RNA)是真核生物中普遍存在的一类短片段非编码RNA, 在植物生长发育和胁迫应答过程中发挥重要作用。反向重复序列(inverted repeat sequence, IR)是植物基因组中广泛存在的一类特征序列, 其转录产物可通过自身形成茎环结构, 在DCL (Dicer-like)家族的加工下形成大量sRNA。然而, IR对植物生长发育的影响直至2020年才在大豆(*Glycine*

收稿日期: 2022-04-29; 接受日期: 2022-05-12

基金项目: 国家自然科学基金(No.31770287)

* 通讯作者。E-mail: chongk@ibcas.ac.cn; wanglei@ibcas.ac.cn

max)中初次得到揭示(Jia et al., 2020)。环境胁迫适应性与产量性状均为复杂的数量性状,涉及全基因组范围内大量基因的表达与调控。玉米基因组内IR如何调控产生sRNA,以及这些sRNA如何作用于基因表达以调控玉米抗旱等胁迫适应和产量性状仍然未知。

近日,华中农业大学代明球课题组与李林和李峰课题组合作在*Nature Biotechnology*期刊上发表了题为“The role of transposon inverted repeats in balancing drought tolerance and yield-related traits in maize”的研究论文,对sRNA如何调控产量性状进行了清晰的阐述(Sun et al., 2022)。该研究从数百份玉米关联群体自交系材料的全基因组sRNA和RNA测序入手,结合生物信息学、遗传学和分子生物学等分析手段,揭示了转座子-反向重复序列(TE-mediated inverted repeat, TE-IR)对玉米抗旱性和产量相关性状的调控及作用机制。

为探究全基因组水平sRNA的遗传变异与抗旱性关系, Sun等(2022)选取338份玉米关联群体自交系材料,在对照和干旱处理条件下进行sRNA组测序,并对其中的197份材料进行转录组测序,鉴定到上万个响应干旱的sRNA。进一步通过全基因组关联分析,在基因组上鉴定到数千个调控基因(meQTL)和sRNA(seQTL (sRNA-associated eQTLs))表达的QTL位点,这些meQTL和seQTL普遍存在共定位现象,且均具有较强的环境特异性。

基于遗传定位策略, Sun等(2022)克隆了位于8号染色体上的1个干旱特异性sRNA调控热点*DRESH8* (*Drought-related Environment-specific Super eQTL Hotspot on chromosome 8*)。分析显示, *DRESH8*是1个由LTR类转座子构成并且包含反向重复序列的长度约为21.4 kb的TE-IR,该序列插入到蛋白磷酸酶PP2C家族成员*ZmPP2C16*编码基因的第3个内含子中。基于关联和连锁群体的抗旱实验表明, *DRESH8*的缺失是抗旱有利等位变异。为进一步鉴定*DRESH8*的生物学功能,他们利用基因编辑技术构建了基因敲除材料*dDRESH8*。相比于野生型材料, *dDRESH8*中TE-IR产生的sRNA水平显著下降,抗旱性显著提高。为了进一步解析*DRESH8*调控干旱胁迫的分子机制, Sun等(2022)对*DRESH8*调控的干旱响应sRNA的靶基因进行预测,并通过5'-RACE实验初步发现部分靶基因受到这些干旱响应sRNA的切割。构建其中1个靶

基因*ZmMYBR38*的过表达材料,并进行抗旱性检测,结果发现*ZmMYBR38*是抗旱的正调控因子。综上, Sun等(2022)认为*DRESH8*作为干旱应答sRNA的调控热点,通过产生siRNA介导下游靶基因沉默,进而调控玉米的抗旱性。

他们进一步对1 000多份包括玉米祖先种大刍草(teosinte) (*Z. mays* ssp. *parviglumis*)、玉米农家种以及现代玉米自交系在内玉米材料的*DRESH8*位点进行分析,发现*DRESH8*在玉米的驯化与改良过程中受到选择。在现代玉米自交系中, *DRESH8*基因型频率明显升高。既然*DRESH8*的存在不利于玉米抗旱,是什么机制驱动该位点被选择?进一步分析显示, *DRESH8*位点与玉米农家种所在地区的降水量存在显著关联,降水量高的地区*DRESH8*基因型频率高;反之,其基因型频率降低。他们对*dDRESH8*敲除和野生型材料的产量性状进行比较分析,结果显示*DRESH8*的插入显著增加了玉米的穗长、穗粗、粒长、粒宽、粒厚和百粒重等产量相关性状,增幅范围为5%–14%。基因表达分析结果表明,籽粒发育抑制相关基因的表达水平在携带*dDRESH8*的玉米植株中显著升高,暗示*DRESH8*可能通过影响这些基因的表达来调控玉米的产量性状。故Sun等(2022)认为*DRESH8*是1个平衡玉米产量性状和抗旱性的重要功能位点,并提出该位点的选择与作用模式,即在干旱地区,人们倾向于选择不携带*DRESH8*的玉米品种,这样有利于抗旱基因的表达以提高玉米的抗旱性;而在降雨充沛的地区,人们更愿意选择携带*DRESH8*的玉米品种,这样可降低不利于籽粒发育基因的表达,提高产量(图1)。

为进一步探究IR及其调控的sRNA对玉米环境适应性和产量的潜在影响,他们还分析了玉米全基因组中8 000多个IR序列,结果显示这些IR在已报道的玉米基因组的驯化选择区间得到富集。此外,这些IR产生了大部分的干旱响应sRNA,尤其是21和22 nt sRNA。这些IR存在自然变异,且与玉米产量和抗旱性显著相关。需要指出的是,绝大部分情况下(99%),这2种相关性截然相反。玉米基因组序列的85%是TE,对TE-IR sRNA调控的潜在靶基因进行分析,发现这些基因显著富集到与产量性状和逆境胁迫相关的信号通路中。对已发表sRNA序列的分析表明,IR产生的sRNA也响应冷和盐胁迫。据此,他们推测玉米基因

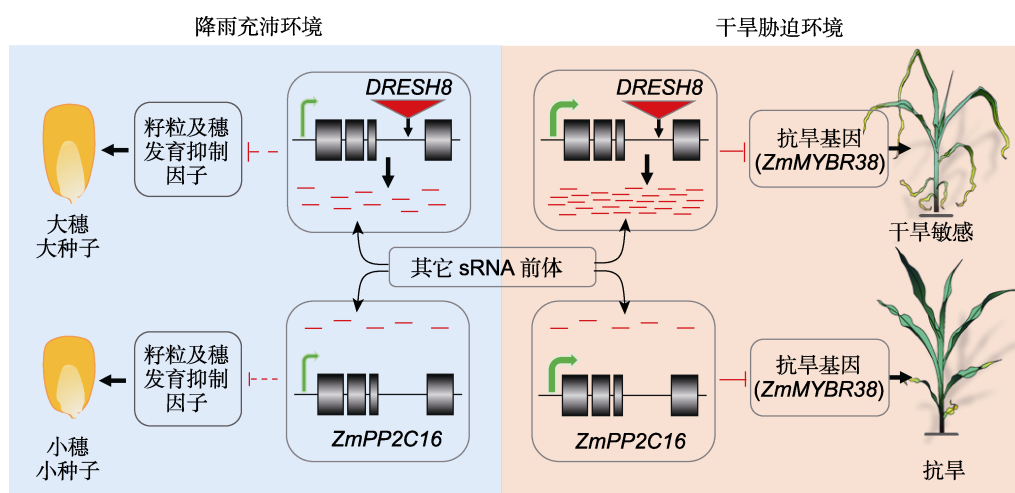


图1 *DRESH8*调控玉米抗旱性和产量平衡的工作模型

方框内部红色短线代表sRNA。方框外面的T字形短线表示抑制作用,箭头代表促进作用。实线为直接作用,虚线为间接作用。

Figure 1 Working model of *DRESH8* function in regulating the trade-off between drought tolerance and yield in maize. The short red lines in the box indicate sRNA. T-shaped short lines outside the box indicate inhibition, while the arrowheads stand for promotion. The solid lines represent the direct effect, while the dashed lines stand for the indirect effect.

组内TE-IR平衡环境适应性和产量性状可能是一种普遍性机制。

该成果基于玉米关联群体不同环境下的sRNA和RNA表达数据,揭示了TE-IR介导的转录后沉默是玉米平衡产量和环境胁迫抗性的关键分子机制,为作物驯化和遗传改良提供了新见解。此外,该研究还揭示了依赖于DCL2的由TE-IR介导产生的22 nt sRNA在调控作物重要农艺性状上的功能,是TE驱动作物性状改良的新机制。

产量和胁迫应答等复杂性状由多个基因的表达及其调控决定,而sRNA在基因表达过程中发挥广泛的调控作用。Sun等(2022)创新性地从玉米自然群体的sRNA表达变异入手,定位全基因组范围内调控sRNA表达的eQTL,发现这些eQTL主要为IR结构变异,并进一步揭示IR在平衡产量和环境胁迫抗性中的关键调控作用。全基因组范围内这些IR位点及其优异等位变异有望为玉米设计育种提供大量有价值的遗传靶点。一方面,可以根据区域环境特征,选择利用这些IR进行偏向产量或侧重抗性的区域个性化育种。另一方面,尽管包括*DRESH8*在内的众多IR对环境胁迫抗性起负调控作用,但在育种上可根据这些IR起作用的确切机制进行精准设计,从而降低其对抗性的负调控作用。例如,*DRESH8*分子模块不利于抗旱但

有利于产量,可针对其特定siRNA产生位点进行基因编辑介导的定点突变,消除这些siRNA对抗旱基因的抑制作用,将改良后的*DRESH8*用于高抗高产玉米新品种的培育,便可做到“鱼和熊掌”兼得。

致谢 本文中的图片由华中农业大学代明球教授提供,在此表示诚挚的感谢。

参考文献

- Blein-Nicolas M, Negro SS, Balliau T, Welcker C, Cabrera-Bosquet L, Nicolas SD, Charcosset A, Zivy M (2020). A systems genetics approach reveals environment-dependent associations between SNPs, protein co-expression, and drought-related traits in maize. *Genome Res* 30, 1593–1604.
- Jia JB, Ji RH, Li ZW, Yu YM, Nakano M, Long YP, Feng L, Qin C, Lu DD, Zhan JP, Xia R, Meyers BC, Liu B, Zhai JX (2020). Soybean DICER-LIKE2 regulates seed coat color via production of primary 22-nucleotide small interfering RNAs from long inverted repeats. *Plant Cell* 32, 3662–3673.
- Liu SX, Li CP, Wang HW, Wang SH, Yang SP, Liu XH, Yan JB, Li BL, Beatty M, Zastrow-Hayes G, Song SH, Qin F (2020). Mapping regulatory variants controlling gene expression in drought response and tolerance in maize. *Genome Biol* 21, 163.

Sun XP, Xiang YL, Dou NN, Zhang H, Pei SR, Franco A, Menon M, Monier B, Ferebee T, Liu T, Liu SY, Gao YC, Wang JB, Terzaghi W, Yan JB, Hearne S, Li L, Li L, Dai MQ (2022). The role of transposon inverted repeats in balancing drought tolerance and yield-related traits in maize. *Nat Biotechnol*. Doi: <https://www.nature.com/articles/s41587-022-01470-4>

Wu X, Feng H, Wu D, Yan SJ, Zhang P, Wang WB, Zhang J, Ye JL, Dai GX, Fan Y, Li WK, Song BX, Geng ZD,

Yang WL, Chen GX, Qin F, Terzaghi W, Stitzer M, Li L, Xiong LZ, Yan JB, Buckler E, Yang WN, Dai MQ (2021). Using high-throughput multiple optical phenotyping to decipher the genetic architecture of maize drought tolerance. *Genome Biol* 22, 185.

Zhang F, Wu JF, Sade N, Wu S, Egbaria A, Fernie AR, Yan JB, Qin F, Chen W, Brotman Y, Dai MQ (2021). Genomic basis underlying the metabolome-mediated drought adaptation of maize. *Genome Biol* 22, 260.

Choice of both Ways: Variations of Reverted Repeats Balance Environmental Adaptation and Yield in Maize

Lei Wang^{1,2*}, Kang Chong^{1,2*}

¹Key Laboratory of Plant Molecular Physiology, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China

²University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract Optimal Balance between high yield and stress tolerance is the goal of breeding, which is related to the strategy in choice of both ways. The questions such as which negative regulators of stress tolerance affect yield and how they function are important issues for breeding. Over the past century, owing to the breeding of high-yield varieties, the maize yield has been tremendously increased, but this is accompanied with the increased sensitivity to environmental stresses, and the genetic mechanisms underlying this phenomenon remains elusive. This restricts the breeding of maize cultivars with both high yield and stress tolerance. Both yield traits and stress tolerance are complex quantitative traits, determined by the expression and regulation of a large number of genes. Small RNAs (sRNAs) are important gene expression regulators, and they are generated in large quantities from the maize genome. But the mechanisms underlying their regulation on crop stress responses and yield traits remain largely elusive. Recently, the group of Prof. Mingqiu Dai, collaborated with the groups of Prof. Lin Li and Prof. Feng Li at Huazhong Agricultural University, identified about ten-thousands of drought-responsive sRNAs and eQTLs associated with the expression of these sRNAs, by analyzing the sRNAome and transcriptome of a maize panel consisting 338 natural inbred lines grown under different environment conditions. They cloned an eQTL hotspot named *DRESH8*, which is a Transposable Element-mediated Inverted Repeat (TE-IR) in a length of about 21.4 kb. Genetic and molecular evidence showed that *DRESH8*-derived siRNAs directly inhibit the expression of the drought-resistant genes via a post-transcriptional silencing mechanism, and indirectly inhibit the expression of negative regulators of yield-related traits, thus negatively regulating drought response and positively regulate yield-related traits. Further analysis demonstrated that *DRESH8* was selected during maize domestication and improvement. Their findings suggest that *DRESH8* is a key genetic locus that balances maize yield and drought tolerance, and that IR-mediated balance between maize yield and drought resistance may be a universal mechanism. This study thus revealed a key genetic mechanism underlying balancing crop yield and environmental stress resistance at a genome-wide level, and provided a large number of valuable IR loci for breeding new maize varieties with both high yield and stress tolerance via genetic engineering approaches in the future.

Key words environmental adaptability, yield related traits, TE-IR, sRNA, expression QTL (eQTLs)

Wang L, Chong K (2022). Choice of both ways: variations of reverted repeats balance environmental adaptation and yield in maize. *Chin Bull Bot* 57, 555–558.

* Authors for correspondence. E-mail: chongk@ibcas.ac.cn; wanglei@ibcas.ac.cn

(责任编辑: 孙冬花)