

基于 SNP 芯片对 96 份糯玉米自交系遗传多样性分析

李文跃¹ 于滔¹ 曹士亮¹ 马雪娜¹ 唐贵² 高利³ 杨耿斌¹

(¹黑龙江省农业科学院玉米研究所/农业农村部东北北部玉米生物学与遗传重点实验室, 150000, 黑龙江哈尔滨;

²黑龙江省农业科学院乡村振兴研究所, 150000, 黑龙江哈尔滨; ³黑龙江省农业科学院绥化分院, 152000, 黑龙江绥化)

摘要 近年来, 糯玉米 (*Zea mays* L. var. *certaina* Kulesh) 因其独特的口感而广受欢迎, 成为备受人们喜爱的农产品。然而, 在糯玉米自交系方面, 目前并没有明确的类群划分。为了提高东北地区鲜食糯玉米育种的效率, 利用 Maize 6H-60K 基因芯片对来自东北地区的 96 份糯玉米自交系进行基因型分析。结果表明, 在 96 份自交系中, 14 312 个 SNP 标记检测到基因多样性为 0.098~0.500, 平均值 0.387; 最小等位基因频率 (MAF) 为 0~0.5, 平均值 0.380; 多态性信息量 (PIC) 为 0.094~0.375, 平均值 0.306。96 份材料最终划分为 3 个类群, A 类群为垦粘 1 母本血缘群, B 类群为先糯父本血缘群, C 类群为垦粘 1 父本血缘群。

关键词 糯玉米; SNP; 类群划分; 遗传分析

糯玉米 (*Zea mays* L. var. *certaina* Kulesh) 起源于中国, 又名黏玉米或蜡质玉米^[1]。糯玉米是由 *Wx* 基因突变, 导致 *GBSSI* 蛋白合成失去活性, 进而使玉米籽粒中的淀粉几乎全为支链淀粉。糯玉米具有香、甜、糯等特点, 可即食也可冷藏加工, 市场需求逐年增加。目前种植面积约为 167 万 hm^2 , 我国已是全球鲜食玉米生产和消费大国^[2]。

糯玉米起源于我国, 但是第 1 个糯玉米杂交种是由美国的衣阿华州立农实验室所培育, 并得到商业化生产。早在 1935 年将糯玉米 *wx* 糯质基因定位于 9 号染色体上^[3-4]。美国在 20 世纪 40 年代中期对糯玉米进行了大量的研究。我国糯玉米育种工作起步较晚, 育种手段相对落后^[5]。

我国糯玉米种质资源丰富, 但却没有系统地进行亲缘关系划分, 从而导致资源利用的盲目性。随着生物学特别是遗传学和分子生物学的发展, 检测遗传多样性的方法不断改进和完善。从形态学水平、细胞学 (染色体) 水平、生理生化水平逐步发展到分子水平。然而, 无论在何种水平上进行研究, 其目的都是揭示遗传物质的变异^[6-7]。近年来, 基因芯片和测序技术受到科学学者的青睐, SNP 标记具有标记多态性好、物理位置明确和通量高等特点, 是继 SSR 标记之后应用最广的第三代基因标记技术^[8-11]。目前, SNP 芯片技术大多应用在普通玉米

杂种优势群的划分。吴金凤等^[12]利用 1041 个 SNP 位点对 51 份玉米自交系进行类群划分, 最终将其划分为 7 个杂种优势群。卢柏山^[13]通过 SNP 标记将 39 份甜玉米自交系划分为 5 个类群。范兢升等^[14]通过 10K 玉米基因芯片技术, 将广西 207 份糯玉米农家种和 6 份糯玉米自交系划分为 4 个类群。

目前利用 SNP 标记对糯玉米进行研究还较少, 关于黑龙江地区尚未见报道。本研究采用 Maize 6H-60K 芯片对黑龙江省内常用糯玉米自交系进行遗传多样性分析, 为黑龙江地区糯玉米种质创新和新品种选育提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料为黑龙江省农业科学院玉米研究所提供的黑龙江省常用的 96 份糯玉米自交系, 包括外引系、改良系和二环系, 编号 FZ001~FZ100, 其中编号 FZ067、FZ073、FZ087、FZ092 因样品种子没发芽数据缺失。

1.2 DNA 提取

在大田幼苗 3 叶 1 心时取嫩叶, 采用磁珠法提取样品 DNA, 通过琼脂糖电泳检测 DNA 的纯度, 用紫外分光光度计检测质量状况, 用酶标仪双链定量法检测 DNA 浓度。选择 DNA 条带单一、明亮、

作者简介: 李文跃, 主要从事玉米分子育种工作, E-mail: 569990044@qq.com

杨耿斌为通信作者, 主要从事玉米育种及资源创新工作, E-mail: kshmaize@163.com

基金项目: 黑龙江省农业科学院院级科研项目 (2020FJZX042); 黑龙江省省属科研院所科研业务费 (CZKYF2023-1-A003);

黑龙江省农业科技创新跨越工程 (CX23TS02, CX23ZD05); 博士后研究人员落户黑龙江科研启动资金

收稿日期: 2024-01-30; 修回日期: 2024-03-30; 网络出版日期: 2025-01-10

完整无降解且无拖尾现象的 DNA 进行琼脂糖电泳检测，用紫外分光光度计检测 OD_{260/280} 值为 1.8~2.0，OD_{260/230} 值 > 2.0，DNA 浓度 > 20 ng/μL。

1.3 基因型鉴定

采用北京市农林科学院玉米研究中心自主研发的 Maize 6H-60K 芯片^[15]进行基因分型分析。

1.4 数据处理

利用 TASSEL 软件完成基因型数据描述性分析和玉米种质资源间遗传距离、聚类分析，利用 R 语言中 LEA、GGplot2、ScatterPlot 3d 等数据包完成群体遗传分析。用 PowerMarker V3.25 软件计算多态性信息含量（PIC）、平均等位变异和基因多样性等。

2 结果与分析

2.1 SNP 标记筛选过程

根据芯片数据结果中 Assay QC 文件，筛选到高分辨率 SNP 39 381 个，分布在玉米 10 条染色体上，10 号染色体上 SNP 数量最少，为 2660 个，1 号染色体上 SNP 数量最多，为 6237 个。

2.2 基因型数据的描述性分析

将缺失数据超过 20%、杂合性超过 20%、最小等位基因频率小于 0.05 的 SNP 标记过滤掉，最终获得 14 312 个 SNP 用于进一步分析。

统计（图 1）分析发现，糯玉米自交系之间的遗传距离在 0 到 0.50 之间变化，总体平均距离为 0.38。大多数（67.2%）遗传距离在 0.4~0.5。最小的遗传距离（0.009）出现在近交系 FZ001 和 FZ007 之间，这 2 个近交系均为白糯材料，亲缘关系较近。最大的遗传距离（0.499）出现在自交系 FZ001 和 FZ090 之间，FZ001 为白糯材料，FZ090 为黑糯材料，亲缘关系较远。

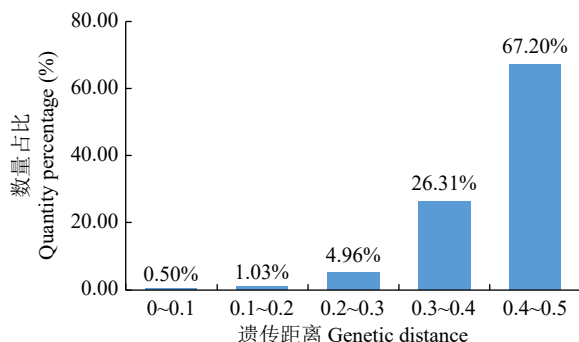


图 1 96 份糯玉米遗传距离分布比例

Fig.1 Distribution of genetic distance for 96 waxy maize

通过 Tassel 软件进行遗传分析，发现 96 份糯玉米自交系的最小等位变异频率变化范围为 0~0.5，平均值为 0.380（图 2 和表 1）；基因多样性为 0.098~0.500，平均值为 0.387；杂合比例变化范围为 0~0.771，平均值为 0.034（表 1）。PIC 范围为 0.094~0.375，平均值为 0.306。在 14 312 个 SNP 标记中，有 8033 个 SNP 标记基因多样性处于 0.40~0.50，占总数的 56.1%，具有较高的多态性水平。

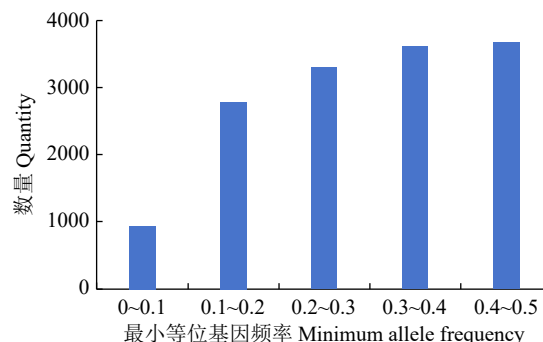


图 2 最小等位基因频率柱状图

Fig.2 Minimum allele frequency histogram

表 1 基因型总结

Table 1 Summary of genotypes

项目 Item	数值 Numeric
样品数量 Sample number	96
标记数量 Number of markers	38 693
杂合比例 Heterozygous ratio	0.034
最小等位基因频率 Minimum allele frequency	0.380
基因多样性 Gene diversity	0.387
PIC	0.306

2.3 供试玉米资源间主成分分析和聚类分析

利用 R 软件对 96 份糯玉米自交系进行群体遗传系统解析，结果如图 3 显示，当类群数（K）为 1~10 时，ΔK=3 时下降趋势开始减缓，并结合育种实际情况，本研究选择 ΔK=3 进一步分析。当 ΔK=3 时表明 96 个供试自交系可分为 3 个类群。

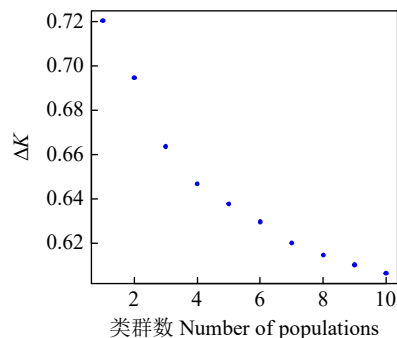


图 3 ΔK 变化曲线

Fig.3 The change curve of ΔK

对 96 份自交系进行了 PCA 分析, 比例最高的 3 个主成分分别占比为 8.32%、7.98% 和 5.29%, 从 PCA 分析结果 (图 4) 发现 3 个群基本被划分开, 根据种质资源在育种中的应用, 3 个群之间可以形成强杂种优势。

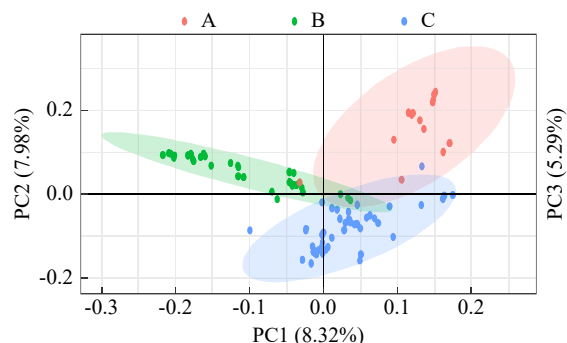


图 4 96 份糯玉米自交系主成分分析
Fig.4 Principal component analysis
of 96 waxy maize inbred lines

进一步计算供试资源间的遗传距离, 采用 N-J 方法进行聚类分析。结果如图 5 所示, 整体上供试的 96 份玉米资源可以被分成 3 个类群, 其中红色为 A 类群, 包含了 FZ-099、FZ017、FZ031、FZ045、FZ052、FZ055、FZ049、FZ047、FZ053、FZ050、FZ059、FZ048、FZ058、FZ038 共 14 份自交系; 绿色代表 B 类群, 包含了 FZ-002、FZ090、FZ098、FZ060、FZ061、FZ095、FZ065、FZ068、FZ094、FZ097、FZ096、FZ062、FZ072、FZ066、FZ071、FZ009、FZ063、FZ083、FZ093、FZ076、FZ069、FZ084、FZ064、FZ070、FZ074、FZ077、FZ078、FZ082、FZ079、FZ091、FZ081、FZ085、FZ088 共 33 份自交系的糯玉米群; 蓝色为 C 类群, 包含了 FZ-001、FZ004、FZ030、FZ042、FZ005、FZ044、FZ053、FZ056、FZ100、FZ046、FZ051、FZ007、FZ075、FZ057、FZ003、FZ010、FZ043、FZ080、FZ011、FZ021、FZ022、FZ012、FZ026、FZ020、FZ027、FZ033、FZ035、FZ023、FZ041、FZ014、FZ039、FZ040、FZ086、FZ025、FZ028、FZ037、FZ006、FZ015、FZ08、FZ034、FZ013、FZ018、FZ024、FZ089、FZ036、FZ029、FZ016、FZ032、FZ019 共 49 份自交系的糯玉米群。A 类群中包含了垦粘 1 母本 (FZ045) 以及亲缘关系近的 13 份种质资源, B 类群包含了先糯父本 (FZ060) 以及亲缘关系近的 32 份种质资源, 其中先糯父本为籽粒用糯玉米种质资源, C 类群包含了垦粘 1 父本

(FZ044) 以及亲缘关系相近的 48 份种质资源, 在实际育种应用中, 选育鲜食糯玉米优先考虑 A 和 C 类群间的杂种优势, 选育生产中籽粒型糯玉米则考虑 A 和 B 以及 C 和 B 类群间的杂种优势。

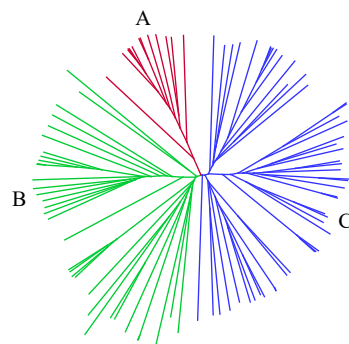


图 5 96 份糯玉米自交系聚类分析
Fig.5 Clustering analysis of 96 waxy maize inbred lines

2.4 群体遗传结构分析

群体遗传结构是指遗传变异在物种或群体中的一种非随机分布。可按照地理分布或其他标准将一个类群分为若干亚群, 处于同一亚群内的不同个体亲缘关系较高, 而亚群与亚群间的亲缘关系较远。通过 R 软件对 96 份糯玉米自交系进行群体结构分析, 结果如图 6 所示, 以红色 (A) 为主有 14 份自交系, 亲缘关系与垦粘 1 母本相近; 以绿色 (B) 为主有 33 份自交系, 亲缘关系与先糯父本相近; 以蓝色 (C) 为主有 49 份自交系, 亲缘关系与垦粘 1 父本相近。群体结构结果与主成分分析和聚类分析结果相同, 证明 96 份糯玉米种质划分为 3 个类群较为合理。

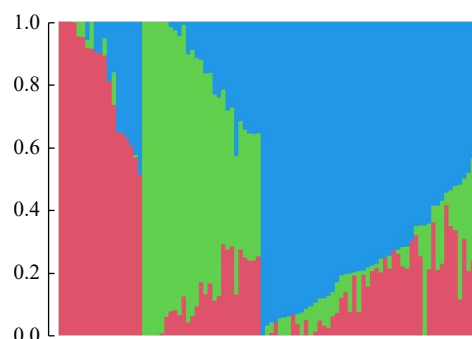


图 6 96 份糯玉米自交系群体遗传结构分析
Fig.6 Group genetic structure analysis
of 96 waxy maize inbred lines

3 讨论

近年来, 随着社会的发展和人们生活水平的不断提高, 糯玉米也越来越受人们的喜爱, 市场需求

逐年增加。糯玉米不仅可以鲜食，而且在畜牧业和加工行业也有广泛应用，因此糯玉米具有广阔的市场前景。我国是世界第二大糯玉米生产国，也是第一大进口国。通过选育优良的糯玉米杂交种是改变这一现状的途径之一。尽管我国糯玉米资源丰富，但育种水平相对落后^[16]。

由于糯玉米的种质材料大多数来源不详，也导致亲缘关系不清楚，因此系谱追踪法并不能用于其遗传多样性研究，而配合力测定和同工酶标记等方法都具有一定的局限性。

遗传多样性的研究经历了形态学、细胞学和生理生化，并随着遗传学和分子生物学的发展最终进入分子水平。分子标记技术不受外界因素的影响，并可直接对遗传物质进行研究，能够高效、准确地检测物种的遗传多样性。近些年开发了多种分子标记方法（如 RFLP、RAPD、SSR、SNP 等），并在玉米遗传多样性研究中得到应用^[17-20]。

韩晴等^[21]利用 SSR 分子标记技术对 50 份糯玉米进行了遗传多样性分析，共检测到 190 个等位基因变异，每对 SSR 标记的多态性信息量平均为 0.675，划分为 3 个类群，聚类结果与品种的来源基本一致。杨亚桐等^[22]利用 19 对 SSR 标记对 32 份糯玉米自交系进行遗传多样性分析，结果检测到 80 个等位基因变异，共划分为 6 个类群。

基因芯片技术具有高通量、高分辨率和分型准确等优点，随着基因芯片技术成本的降低也逐渐应用于植物育种中。吴金凤^[23]利用 SNP 标记技术将 72 份玉米自交系划分为 7 个杂种优势群，其结果与 SSR 分群结果相同。高嵩等^[24]通过 SNP 标记技术对 205 份玉米材料进行遗传结构等分析，将材料划分为 7 个类群。基因芯片在糯玉米中的应用鲜有报道，本研究利用 SNP 芯片技术对糯玉米种质进行遗传多样性分析，结果发现，材料 FZ001（白糯）与 FZ090（黑糯）的遗传距离最大，PIC 平均值为 0.306，这一数值与前人^[25-27]在玉米研究中的 PIC 结果相似，说明 SNP 芯片技术在糯玉米种质遗传分析中的可行性。本研究进一步利用 PCA 分析、聚类分析、群体结构分析，其结果一致，均将 96 份糯玉米自交系划分为 3 个类群。与普通玉米相比，糯玉米没有明确的类群划分，本研究对东北常用糯玉米自交系进行类群划分，能够避免组配的盲目性，减少育种工作量，进而缩短育种年限，为糯玉米杂交种的选育提供了理论基础。

4 结论

本研究利用 14 312 个 SNP 位点对 96 份玉米自交系进行基因型分析，最终发现有 8033 个 SNP 标记基因多样性处于 0.40~0.50，占总数的 56.1%，说明具有较高的多态性水平，结果显示最小等位基因频率范围为 0~0.5，平均值为 0.380；PIC 范围为 0.094~0.375，平均值为 0.306；群体结构分析将 96 份糯玉米自交系划分为 3 个类群，A 群为垦粘 1 母本血缘群，共有 14 份糯玉米自交系；B 群为先糯父本血缘群，共计 33 份，C 群为垦粘 1 父本血缘群，共计 49 份。

参考文献

- [1] 杨明花, 嵇闯, 崔亚坤, 等. 鲜食糯玉米货架期苞叶相关性状的配合力及其遗传效应分析. 玉米科学, 2023, 31(6): 10-16.
- [2] 马佳, 马莹, 王丽媛, 等. 上海鲜食玉米产业发展现状与对策研究. 上海农业学报, 2023, 39(5): 149-156.
- [3] 鲍坚东. 中国糯玉米起源与育种选择分子机制. 杭州: 浙江大学, 2011.
- [4] 邢政. 东北地区主要糯玉米自交系聚类分析及杂种优势的利用. 长春: 吉林农业大学, 2017.
- [5] 程宇坤. 山西省糯玉米自交系的遗传多样性分析及类群划分. 太原: 山西大学, 2012.
- [6] Reif J C, Melchinger A E, Xia X C, et al. Genetic distance based on simple sequence repeats and heterosis in tropical maize populations. Crop Science, 2003, 43(4): 1275-1282.
- [7] Akaogu I C, Badu-Apraku B, Adetimirin V O, et al. Genetic diversity assessment of extra-early maturing yellow maize inbreds and hybrid performance in Striga-infested and Striga-free environments. Journal of Agricultural Science, 2013, 151(4): 519-537.
- [8] Ilyas M Z, Park H, Jang S J, et al. Association mapping for evaluation of population structure, genetic diversity, and physiochemical traits in drought-stressed maize germplasm using SSR markers. Plants (Basel), 2023, 12(24): 4092.
- [9] Gao C S, Xin P F, Cheng C H, et al. Diversity analysis in *Cannabis sativa* based on large-scale development of expressed sequence tag-derived simple sequence repeat markers. PLoS ONE, 2014, 9(10): e110638.
- [10] 李松, 施德林, 董云武, 等. 基于 SSR 标记的云南 35 个玉米自交系遗传多样性分析. 云南农业大学学报(自然科学), 2023, 38(5): 732-738.
- [11] Ryu J, Lyu J I, Kim D G, et al. Single nucleotide polymorphism (SNP) discovery and association study of flowering times, crude fat and fatty acid composition in rapeseed (*Brassica napus* L.) mutant lines using genotyping-by-sequencing (GBS). Agronomy, 2021, 11(3): 508-521.
- [12] 吴金凤, 宋伟, 王蕊, 等. 利用 SNP 标记对 51 份玉米自交系进行类群划分. 玉米科学, 2014, 22(5): 29-34.
- [13] 卢柏山. 糯玉米骨干自交系的表型及 SSR 分类研究. 北京: 中国农业科学院, 2009.
- [14] 范競升, 谢和霞, 谢小东, 等. 基于 SNP 标记揭示广西糯玉米地方品种的遗传多样性与群体遗传结构. 植物遗传资源学

- 报, 2023, 24(3): 661-670.
- [15] Tian H L, Yang Y, Yi H M, et al. New resources for genetic studies in maize (*Zea mays* L.): a genome-wide Maize6H-60K single nucleotide polymorphism array and its application. *The Plant Journal*, 2021, 105(4): 1113-1122.
- [16] 王蓁. 鲜食糯玉米食用品质评价及影响机制研究. 无锡: 江南大学, 2022.
- [17] 甘娜. 应用 RAPD 标记和细胞质基因组 PCR-RFLP 技术研究大花蕙兰的遗传多样性. 成都: 四川农业大学, 2005.
- [18] Amom T, Tikendra L, Apana N, et al. Efficiency of RAPD, ISSR, iPBS, SCoT and phytochemical markers in the genetic relationship study of five native and economical important bamboos of North-East India. *Phytochemistry*, 2020, 174(5): 312-330.
- [19] Lin C J, Zhang C B, Zhao H K, et al. Sequencing of the chloroplast genomes of cytoplasmic male-sterile and male-fertile lines of soybean and identification of polymorphic markers. *Plant Science*, 2014, 229(3): 208-214.
- [20] Han Y P, Chagné D, Gasic K, et al. BAC-end sequence-based SNPs and Bin mapping for rapid integration of physical and genetic maps in apple. *Genomics*, 2009, 93(3): 282-288.
- [21] 韩晴, 卢媛, 王义发, 等. 50 个鲜食糯玉米农艺性状和 SSR 标记遗传多样性分析. *上海农业学报*, 2016, 32(5): 11-15.
- [22] 杨亚桐, 董安忆, 刘松涛, 等. 基于 SSR 分子标记的糯玉米遗传多样性研究. *江苏农业科学*, 2020, 48(2): 83-86.
- [23] 吴金凤. 利用 SSR 和 SNP 标记研究玉米自交系的遗传多样性. 长春: 吉林农业大学, 2014.
- [24] 高嵩, 刘宏伟, 何欢, 等. 利用 SNP 芯片进行玉米遗传多样性和群体遗传结构分析及新品种选育. *玉米科学*, 2021, 29(1): 39-45.
- [25] Govindaraj M, Vetriventhan M, Srinivasan M, et al. Importance of genetic diversity assessment in crop plants and its recent advances: an overview of its analytical perspectives. *Genetics Research International*, 2015, 41(4): 1-14.
- [26] 赵久然, 李春辉, 宋伟, 等. 基于 SNP 芯片揭示中国玉米育种种质的遗传多样性与群体遗传结构. *中国农业科学*, 2018, 51(4): 626-644.
- [27] 张鹏, 管俊娇, 黄清梅, 等. 基于 SNP 芯片的云南玉米自交系遗传多样性和群体遗传结构分析. *南方农业学报*, 2020, 51(9): 2082-2089.

Genetic Diversity Analysis of 96 Waxy Maize Inbred Lines Based on SNP Chip

Li Wenyue¹, Yu Tao¹, Cao Shiliang¹, Ma Xuena¹, Tang Gui², Gao Li³, Yang Gengbin¹

(¹Maize Research Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences / Key Laboratory of Maize Biology and Genetics in the Northern Part of Northeast China, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Harbin 150000, Heilongjiang, China; ²Rural Revitalization Research Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150000, Heilongjiang, China; ³Suihua Branch, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Suihua 152000, Heilongjiang, China)

Abstract In recent years, waxy maize has been popular due to its unique texture and has become a favoured agricultural product widespread popularity. However, for waxy maize inbred lines, currently no clear classification has been reported. In order to improve the efficiency of fresh glutinous corn breeding in the Northeast of China, this study utilized the Maize 6H-60K gene chip to conduct genotype analysis on 96 waxy corn inbred lines from the Northeast of China. The results showed that among the 96 inbred lines, the gene diversity detected by 14 312 SNP markers ranged from 0.098 to 0.500, with an average of 0.387. The minimum allele frequency ranged from 0 to 0.5, with an average of 0.380, and the polymorphic information content ranged from 0.094 to 0.375, with an average of 0.306. The 96 materials were ultimately classified into three clusters, group A was the Kennian 1 maternal group, group B was the Xiannuo paternal group, and group C was the Kennian 1 paternal group.

Key words Waxy maize; SNP; Group division; Genetic analysis