

基于 SLAF-seq 技术分析甜、糯玉米种质遗传多样性

李余良^{1,2}, 索海翠^{1,2}, 韩福光¹, 刘建华¹, 胡建广^{1,2}, 高磊^{1,2}, 李武^{1,2}

(1. 广东省农业科学院作物研究所, 广州 510640; 2. 广东省遗传改良重点实验室, 广州 510640)

摘要: 利用简化基因组测序技术 SLAF-seq, 对国内外引进选育的 81 份鲜食甜、糯玉米自交系进行遗传多样性分析。结果表明, 共获得 803 058 个 SLAF 标签, 其中, 多态性 SLAF 标签 373 764 个。通过序列分析, 获得 169 128 个有效单核苷酸(SNP)多态标记, 利用这些 SNP 标记分析和构建了 81 份鲜食甜、糯玉米资源的群体结构和系统发生树, 并将其分为 2 个群。结果表明, 简化基因组测序技术 SLAF-seq 能高效、低廉地开发出大量 SNP 标记, 是作物种质资源群体遗传分析的有效工具。研究结果为甜玉米不同基因的聚合、温-热种质杂交育种、鲜食甜、糯玉米亚种间杂交育种提供依据, 有利于鲜食甜、糯玉米自交系的高效利用、品种选育及杂种优势群的建立。

关键词: 甜、糯玉米; 种质; SLAF-seq; SNPs 标记; 遗传多样性

中图分类号: S513.035.3

文献标识码: A

Analysis of Genetic Diversity of Sweet and Wax Corn Germplasms Using SLAF-seq Technology

LI Yu-liang^{1,2}, SUO Hai-cui^{1,2}, HAN Fu-guang¹, LIU Jian-hua¹, HU Jian-guang^{1,2}, GAO Lei^{1,2}, LI Wu^{1,2}

(1. Institute of Crop Research, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640;

2. Key Laboratory of Crops Genetics and Improvement of Guangdong Province, Guangzhou 510640, China)

Abstract: High-throughput specific locus amplified fragment sequencing (SLAF-seq) technology was employed to identify the genetic diversity of 81 inbred lines include sweet and wax corn. The results indicated that the total of 803 058 SLAF tags and 373 764 polymorphic SLAF tags were obtained. A total of 169 128 single nucleotide polymorphisms (SNPs) were obtained through sequences analysis. Population structure and phylogenetic relationship of 81 germplasms of fresh sweet and wax corn were analyzed using the SNP dataset, the population was significantly divided into two different groups. It suggests that SLAF-seq can be used to develop large-scale SNPs for population genetic analysis, effectively and economically. The results can provide molecular basis for gene pyramiding of sweet corn, hybrid breeding of temperate-tropical mode and sweet-wax type. It is beneficial for promoting effective utilization of sweet corn inbred lines, breeding new cultivars and building of heterotic groups.

Key words: Sweet and wax corn; Germplasm; SLAF-seq; SNPs marker; Genetic diversity

本世纪以来, 包括甜玉米、糯玉米在内的鲜食玉米在我国迅速发展。玉米子粒胚乳基因发生隐性突变形成甜玉米(*Zea mays* L. *saccharata* Sturt.)、糯玉米(*Zea mays* L. *certaina* Kulesh.) 类型, 已发现的主要胚

乳突变基因有 *su1*、*su2*、*sh1*、*sh2*、*sh4*、*du*、*ae*、*bt1*、*bt2*、*se*、*wx*^[1-3]、*sh2-i* 等, 其中, *sh1*、*sh2*、*sh4*、*bt1* 和 *bt2* 基因突变体导致蔗糖转变为淀粉过程受阻, 胚乳含糖量升高, 乳熟期糖含量可高达 15% 以上。玉米胚乳突变基因 *su1*、*sh2* 及糯质基因 *wx* 的发现与应用带动了鲜食玉米产业的发展, 产生了显著的社会经济效益^[4,5]。*sh2-i* 为 *sh2* 的等位基因, 导致 ADP 葡萄糖-焦磷酸化酶部分失活, 鲜见报道^[6]。目前, 我国甜玉米育种原始资源仍主要来自美国、泰国等地。糯玉米地方资源比较丰富, 自交系选育主要以杂交种选育二环系为主。尽管传统育种技术在作物遗传改良方面已经取得了显著成就, 但其选择效率低, 周期长, 远不能满足育种对优良种质的需求, 然而赖于利用

录用日期: 2018-08-01

基金项目: 广东省科技计划项目(2016A020208006, 2017B090907023)、广东省现代农业共性关键技术项目(2017LM2148)、鲜食玉米现代种业育繁推一体化创新发展联盟建设(粤农计[2016] 35 号)、广东省农业科技创新及推广项目(2018LM2150)

作者简介: 李余良(1969-), 陕西渭南人, 博士, 研究员, 主要从事鲜食甜糯玉米遗传育种研究。E-mail: yl.lee@126.com

的种质资源背景、亲缘不清,遗传结构不明、系谱混乱,给亲本选配、种质鉴定和有效利用带来相当大的难度。

随着分子生物学技术的快速发展,分子标记技术越来越多地应用于资源品种间的亲缘关系分析。黄君等^[7]利用56对SSR引物对54份甜玉米自交系进行了遗传多样性分析,检测到155个位点的等位基因变异,将甜玉米自交系划分为3大类。卢柏山等^[8]利用1 031个SNP标记对39份甜玉米自交系进行基因型分析,将其划分为5个类群。雍洪军等^[9]利用SSR荧光标记分析了90个糯玉米地方品种的遗传多样性,检测到216个等位变异,将这些品种划为3个类群,认为广西和贵州的糯玉米地方品种的遗传多样性相对更丰富。史亚兴等^[10]基于SNP标记技术分析了39份不同基因型糯玉米自交系,将他们划分为5大类群,认为SNP标记适用于糯玉米自交系的遗传多样性及亲缘关系分析。利用多种分子标记技术构建玉米遗传图谱、研究资源遗传多样性取得了很大的进展,但仍然存在工作量大、可重复性较差、标记数量较少、通量低和成本高等问题。

SLAF-seq(Specific-Locus Amplified Fragment Sequencing)技术,是基于高通量测序开发出来的一种简化基因组深度测序技术。通过构建SLAF-seq文库,筛选特异性位点扩增片段,在全基因组范围开发大量单核苷酸多态性标记(SNP)。SNP标记已经广泛应用在作物种质资源亲缘关系分析,高密度遗传图谱构建、全基因组关联分析及基因定位中,具有准确性高、通量高、成本低等优点^[11-13]。本项目利用北京百迈客生物科技有限公司自主研发的SLAF-seq技术,对81份鲜食玉米进行遗传多样性和群体结构研究,获得全基因组范围内的SNP标记,为种质利用和杂交育种提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

选取81份鲜食玉米自交系为试验材料,包括*su1*、*sh2*、*wx*、*sh2-i*基因型(表1),均是近些年从国内外引进并经选育而成,由广东省农业科学院作物研究所提供。

表1 81份鲜食玉米材料信息表
Table 1 81 fresh corn germplasms and their relatives

编 号	名 称	基因型	系谱来源	编 号	名 称	基因型	系谱来源
No.	Name	Genotype	Pedigree	No.	Name	Genotype	Pedigree
Y1	W13	<i>sh2-i</i>	选自美国黄甜种质	102	06478-1	<i>wx</i>	粤白糯7号母本
Y15	Y15	<i>su1</i>	选自美国黄甜种质	5	C4	<i>sh2</i>	国内杂交种选系C4
Y17	Y17	<i>sh2-i</i>	美国种质W14-1×鲜美1选系	6	C5	<i>sh2</i>	国内杂交种选系C5
B4	C68	<i>sh2</i>	引自美国温带自交系	7	C5-1	<i>sh2</i>	国内杂交种C5选系
B10	WX	<i>sh2</i>	选自美国温带种质	10	B抗2	<i>sh2</i>	国内杂交种B选系
B11	A17	<i>sh2</i>	选自美国温带种质	11	SH1	<i>sh2</i>	国内杂交种SH1选系
B14	KK-2	<i>sh2</i>	美国杂交种Krispy king选系	12	SH2	<i>sh2</i>	国内杂交种SH2选系
B16	KK-3	<i>sh2</i>	美国杂交种Krispy king选系	13	海7	<i>sh2</i>	杂交种海7选系
B21	KK-4	<i>sh2</i>	美国杂交种Krispy king选系	14	UST	<i>sh2</i>	正甜68父本
B24	Hsii	<i>sh2</i>	美国杂交种How sweet it is选系	59	Ia5125	<i>sh2</i>	引自美国自交系
B31	M5965	<i>sh2</i>	Xtra tender 2170×C23杂交种选系	61	W13	<i>sh2-i</i>	选自美国黄甜种质
Y3	W14-1	<i>sh2-i</i>	选自美国黄甜种质	62	W14	<i>sh2-i</i>	选自美国黄甜种质
B38	Wf1	<i>sh2</i>	美国商用杂交种Wf1选系	63	W24	<i>sh2</i>	美国商用黄白双色杂交种Wf1选系
B40	Wf2-1	<i>sh2</i>	美国商用杂交种Wf2选系	64	W25	<i>sh2</i>	美国商用黄白双色杂交种Wf5选系
B43	Wf2-2	<i>sh2</i>	美国商用杂交种Wf2选系	65	W26	<i>sh2</i>	美国商用黄白双色杂交种Wf5选系
B45	Wf3	<i>sh2</i>	美国商用杂交种Wf3选系	66	W27	<i>sh2</i>	美国杂交种Sweet 82选系
B50	Wf4-1	<i>sh2</i>	美国商用杂交种Wf4选系	67	W28	<i>sh2</i>	美国杂交种Xtra tender 2170选系
B52	Wf4-2	<i>sh2</i>	美国商用杂交种Wf4选系	68	C	<i>sh2</i>	国内杂交种C选系
B55	Wf4-3	<i>sh2</i>	美国商用杂交种Wf4选系	69	Z31-2	<i>sh2</i>	国内杂交种Z31选系
B56	Wf4-4	<i>sh2</i>	美国商用杂交种Wf4选系	70	Z32-2	<i>sh2</i>	国内杂交种Z32选系
B58	Wf4-5	<i>sh2</i>	美国商用杂交种Wf4选系	71	Z1	<i>sh2</i>	国内杂交种Z1选系
B61	Wf4-6	<i>sh2</i>	美国商用杂交种Wf4选系	72	Z2	<i>sh2</i>	国内杂交种Z2选系
Y5	Y5	<i>sh2-i</i>	美国杂交种Krispy king选系	74	Jan-39	<i>sh2</i>	美国杂交种Jan选系

续表1 Continued 1

编 号	名 称	基因型	系谱来源	编 号	名 称	基因型	系谱来源
No.	Name	Genotype	Pedigree	No.	Name	Genotype	Pedigree
B65	Wf5-1	sh2	美国商用杂交种 Wf5 选系	75	shimar2	sh2	美国杂交种 Shimar 选系
B66	Wf5-2	sh2	美国商用杂交种 Wf5 选系	76	黄甜-1	sh2	天津杂交种黄甜选系
B70	NX1	sh2	美国杂交种 Northern Xtra 选系	78	2043	sh2	美国杂交种 2043 选系
B71	KK-5	sh2	美国杂交种 Krispy king 选系	81	甘肃-2号	sh2	甘肃-2号选系
B73	S82	sh2	美国杂交种 Sweet 82 选系	83	ang100(黄)	sh2	美国杂交种 ang100
B76	EIX	sh2	美国杂交种 Early illini xtra 选系	84	TQ05-30	sh2	美国杂交种 TQ05 选系
B81	B81	sh2	Xtra tender 2170×C23 杂交种	85	2043-3	sh2	美国杂交种 2043 选系
B83	B83	sh2	选自奥甜 8703	88	正甜 88	sh2	国内杂交种正甜 88
Y7	Y7	su1	美国种质 WX×montauk 选系	100	粤紫糯选白	wx	粤白糯 7 号父本
Y8	Y8	su1	美国种质 sh2-i 选系	A59	粤科 06-3	sh2	正甜 68 母本
Y9	Y9	su1	美国种质 Wf3×luscious 选系	Zheng	正甜 68	sh2	正甜 68
Y10	Y10	su1	美国杂交种 Northern Xtra 选系	Bai7	Bai7	wx	粤白糯 7 号
Y11	Y11	su1	美国杂交种 Northern Xtra 选系	9	B 抗 1	sh2	国内杂交种 B 选系
Y13	Y13	su1	美国种质 sh2-i 选系	60	101t	sh2	引自美国自交系 101t
1	B73	wild	美国自交系 B73	77	TJ	sh2	TJ 杂交种选系
2	2	sh2	英德杂交种 2 选系	79	225-1	sh2	美国杂交种 225 选系
73	D3	sh2	国内杂交种 D3 选系	82	ang100(白)	sh2	美国杂交种 ang100 选系
80	甘肃-1号	sh2	选自甘肃-1号杂交种				

1.2 基因组DNA制备

取每个材料5株玉米4叶期幼嫩叶片,液氮速冻,存于-80℃超低温冰箱中。各样品的基因组DNA采用CTAB法提取,DNA质量检测用Nanodrop 2000C和Qubit 2.0进行。

1.3 酶切方案确定

根据玉米基因组(2.29 Gb)以及GC含量(43.34%)等信息,以玉米基因组作为参考基因组进行酶切预测。参考基因组地址:ftp://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/all/GCA_000005005.5B73_RefGen_v3。经SLAF酶切预测软件对参考基因组进行电子酶切预测,选择最适酶切方案,组装出的基因组大小为2.07 Gb,GC含量为47.40%。

1.4 基因组测序、SLAF标签分析及SNP分析

各样品基因组DNA依据实验选取的最适酶切设计方案进行酶切。将得到的SLAF标签的酶切片段按顺序进行以下操作:3'端加A处理、连接Dual-index^[14]测序接头、PCR扩增及产物纯化、目的片段回收、建立文库、文库质检,质检合格后用Illumina-HiSeq进行测序。以水稻日本晴作为对照(Control)进行测序分析来评估酶切实验的准确性。

测序原始数据经Dual-index识别,获得各个样品的reads。过滤接头后,评估测序质量和数据量。通过对照数据评估RsaI的酶切效率,判断实验过程

的准确性和有效性,然后通过生物信息学方法,在群体中开发全基因组范围的SNP标记,利用代表性的高质量SNP进行群体多态性分析。

1.5 群体遗传结构和亲缘关系分析

对所有的SNP根据完整度>80%、次要基因频率(MAF)>0.05过滤,基于过滤后的SNP,运用数学统计学方法对群体进行进化树、群体结构分析,从基因组水平揭示群体之间的遗传分化关系。

2 结果与分析

2.1 基因组测序数据统计和质量

通过电子酶切预测,最终选用RsaI进行酶切,将酶切片段长度为364~394 bp的序列定义为SLAF标签,预测能得到155 447个SLAF标签,在玉米基因组10个染色体上分布基本均匀,平均SLAF间距在14 497~15 017 bp。序列分析表明,实验中RsaI的酶切效率为94.26%,共得到209.00 MReads。通过SOAP^[15]软件将Control的测序reads与其参考基因组进行比对,结果显示,双端比对效率在97.52%,比对效率基本正常,SLAF建库正常,说明SLAF标签酶切方案可行。对各样品的测序数据进行统计,共获得209.38 MReads数据,测序平均Q30(测序质量值大于或等于30的碱基所占百分比)为91.04%,表明测序质量很高,平均GC含量为44.05%(表2)。

表2 各样品 SLAF-seq 测序数据统计表
Table 2 Summary of genomic sequences generated by SLAF-seq

样品编号 Sample ID	测序片段数(个) Total reads	GC 含量(%) GC	测序质量(%) Q30	样品编号 Sample ID	测序片段数(个) Total reads	GC 含量(%) GC	测序质量(%) Q30
Y1	3 316 627	44.71	91.97	102	2 113 795	43.30	89.88
Y15	2 935 848	46.97	92.38	5	2 266 241	43.32	90.18
Y17	3 143 675	44.38	92.35	6	1 868 022	43.58	90.53
B4	3 584 753	43.75	92.52	7	2 089 185	43.52	90.26
B10	4 473 856	44.17	92.10	10	2 410 864	43.45	87.69
B11	4 351 413	43.74	92.36	11	1 563 245	43.68	89.91
B14	6 685 897	43.98	92.14	12	2 043 481	43.57	89.85
B16	4 097 255	44.79	92.54	13	1 775 104	43.40	90.68
B21	2 780 676	45.32	92.49	14	1 819 556	43.18	90.08
B24	2 663 031	45.73	92.03	59	1 142 720	43.08	90.39
B31	2 270 356	45.62	92.12	61	2 010 952	43.58	91.11
Y3	3 118 308	43.93	92.43	62	1 673 210	43.81	90.30
B38	4 157 971	43.41	92.22	63	1 974 984	43.47	90.87
B40	4 006 788	43.72	92.08	64	2 089 695	43.61	90.42
B43	2 545 356	45.64	91.92	65	1 353 802	43.63	90.58
B45	3 094 085	45.60	92.35	66	1 814 374	43.58	90.93
B50	3 304 315	45.60	92.33	67	1 792 497	43.72	90.40
B52	3 470 580	44.62	92.08	68	1 961 069	43.61	90.78
B55	3 536 371	44.18	91.92	69	1 831 140	43.55	90.14
B56	3 036 316	45.16	91.31	70	2 144 282	43.85	89.50
B58	3 320 538	45.52	91.66	71	1 889 891	43.56	88.99
B61	2 947 920	44.58	91.69	72	1 710 661	43.27	89.74
Y5	3 911 510	46.32	92.58	74	1 956 031	43.42	89.44
B65	2 672 200	44.25	91.92	75	1 661 716	43.45	88.31
B66	2 524 518	44.91	90.66	76	2 017 846	43.48	88.67
B70	3 300 438	45.14	91.55	78	1 940 926	43.65	89.95
B71	3 513 777	45.06	91.86	81	1 911 175	43.52	89.34
B73	2 296 747	44.41	91.98	83	1 718 226	43.57	89.77
B76	2 856 833	44.76	91.93	84	1 776 815	43.68	90.00
B81	3 569 322	44.71	92.10	85	2 185 850	43.90	89.70
B83	3 022 168	44.94	91.82	88	1 993 909	43.65	89.80
Y7	3 498 257	44.18	92.43	100	1 893 320	43.41	89.20
Y8	4 194 003	43.99	92.36	A59	1 749 167	43.52	90.86
Y9	4 435 697	43.74	92.32	Zheng	1 830 222	43.68	90.84
Y10	4 453 768	43.76	92.75	Bai7	1 664 143	43.51	91.12
Y11	4 093 695	43.79	92.27	9	1 713 758	43.37	90.90
Y13	2 745 765	44.61	92.07	60	1 527 258	43.42	91.03
1	1 714 705	43.70	90.29	77	1 738 731	43.19	91.26
2	2 307 874	43.53	89.88	79	1 578 288	43.19	91.08
73	1 652 488	43.35	90.21	82	1 683 584	43.08	91.67
80	1 895 439	43.66	90.27	Control	609 829	42.47	91.66

2.2 SLAF 标签和 SNP 标记的鉴定

利用 BWA 软件定位 SLAF 标签到参考基因组上,通过生物信息学分析,本研究共获得 803 058 个 SLAF 标签,各材料的平均测序深度为 9.66x。表 3 统

计在玉米不同染色体上的 SLAF 标签和多态性 SLAF 标签的个数,结果获得 373 764 个多态性的 SLAF 标签。进一步分析,鉴定到 1 135 763 个 SNP 标记,每个样品的 SNP 标记数目在 256 171 ~ 477 605 个。这

些 SNP 标记的平均完整度(即 SNP 所在位点在全部样品中的信息完整度)在 22.55% ~ 42.05%。在经过次要基因型频率(MAF)大于 5%和完整度大于 80%的选择标准去除后,共得到 169 128 个高一一致性的有效 SNP 可用于群体遗传分析。从鉴定到的 SNP 可以看出,不同种质样品的 SNP 杂合率差异不大,范围在 0.35% ~ 10.19%,绝大多数在 5% 以下,表明各种质基因组纯合度很高(表 4)。

表 3 SLAF 标签和多态性 SLAF 标签在各染色体分布统计

Table 3 Summary of obtained SLAF tags and polymorphism SLAF tags on each chromosome

个

染色体编号	SLAF 标签数	多态性 SLAF 标签数	染色体编号	SLAF 标签数	多态性 SLAF 标签数
Chromosome ID	SLAF number	Polymorphic SLAF	Chromosome ID	SLAF number	Polymorphic SLAF
1	115 960	53 247	7	69 244	33 655
10	56 405	26 278	8	66 376	30 636
2	91 338	43 432	9	58 567	26 735
3	90 292	43 214	Mt	974	210
4	91 757	41 738	Pt	217	6
5	82 385	37 142	Scaffold_1	16 103	7 611
6	63 440	29 860	Total	803 058	373 764

表 4 群体 SNP 信息统计表

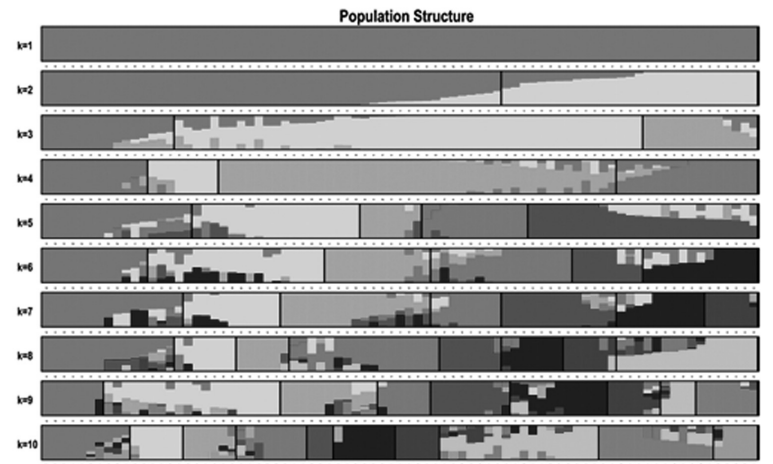
Table 4 Summary of identified SNPs

材料编号	SNP 数量	SNP 完整度(%)	SNP 杂合率(%)	材料编号	SNP 数量	SNP 完整度(%)	SNP 杂合率(%)
Sample ID	SNP num	Integrity	Heter ratio	Sample ID	SNP num	Integrity	Heter ratio
Y1	421 721	37.13	6.23	102	309 331	27.24	3.25
Y3	313 733	27.62	4.04	5	273 849	24.11	2.46
Y5	477 605	42.05	5.99	6	305 751	26.92	2.67
Y7	358 595	31.57	4.81	7	306 639	27.00	2.58
Y8	366 321	32.25	3.75	10	275 676	24.27	2.67
Y9	363 887	32.04	5.78	11	256 171	22.55	2.77
Y10	342 932	30.19	3.97	12	316 391	27.86	3.17
Y11	341 229	30.04	4.34	13	302 721	26.65	2.86
Y13	334 720	29.47	3.80	14	294 153	25.90	3.10
Y15	424 984	37.42	7.06	59	256 293	22.57	2.94
Y17	345 926	30.46	7.99	61	313 165	27.57	3.19
B4	329 152	28.98	3.42	62	298 575	26.29	4.57
B10	378 907	33.36	7.18	63	294 734	25.95	3.21
B11	361 221	31.80	5.45	64	297 488	26.19	2.85
B14	416 852	36.70	4.93	65	281 887	24.82	4.25
B16	362 282	31.90	3.63	66	300 678	26.47	3.61
B21	339 339	29.88	5.23	67	303 348	26.71	3.07
B24	351 476	30.95	6.63	68	310 069	27.30	2.91
B31	337 253	29.69	5.23	69	295 709	26.04	2.81
B38	349 453	30.77	3.85	70	297 926	26.23	3.10
B40	349 535	30.78	4.68	71	265 430	23.37	2.79
B43	333 607	29.37	3.81	72	306 929	27.02	2.56
B45	315 373	27.77	3.46	74	301 415	26.54	2.92
B50	324 866	28.60	3.52	75	287 463	25.31	2.70
B52	351 669	30.96	3.83	76	299 844	26.40	3.08
B55	353 441	31.12	3.59	78	292 784	25.78	2.76
B56	315 218	27.75	3.46	81	289 380	25.48	2.73
B58	346 886	30.54	3.49	83	298 344	26.27	2.86
B61	328 697	28.94	3.84	84	296 690	26.12	2.51
B65	308 753	27.18	3.07	85	314 434	27.68	2.80
B66	316 985	27.91	3.28	88	339 725	29.91	10.19
B70	325 044	28.62	3.45	100	294 430	25.92	2.75
B71	333 194	29.34	3.17	A59	302 863	26.67	2.89
B73	315 258	27.76	3.20	Zheng	321 422	28.30	9.69
B76	319 552	28.14	4.18	Bai7	312 115	27.48	9.38
B81	335 693	29.56	3.94	9	300 937	26.50	3.15
B83	322 571	28.40	3.51	60	295 795	26.04	2.95
1	335 909	29.58	0.35	77	316 870	27.90	5.25
2	295 643	26.03	2.65	79	293 171	25.81	3.34
73	297 171	26.16	2.67	82	290 533	25.58	3.35
80	311 604	27.44	2.75				

2.3 群体遗传结构分析

基于筛选的有效SNP,通过 Admixture 软件,从基因组水平分析了 81 份鲜食玉米种质的群体结构(图 1)。从图 1 可以看出,根据交叉验证错误率的谷值确定最优分群数为 2,说明 81 份鲜食玉米种质群体结构较为明显,被分为 2 类。利用这些全基因组 SNP 信息,可以揭示这 81 份鲜食玉米不同自交系材料的遗传分化关系。从图 2 进化树可以看出,“B”、“Y”系的自交系大多数聚为 BY 群,这些自交系的原

始种质直接来源于美国中西部甜玉米带,是 2011 年一次引进的,而且与国内种质间没有进行基因交流,组成上基本一致。其他自交系聚为 NBY 群,包括近年来国内选育的自交系,早期来源于美国甜玉米种质在选育中同国内种质进行杂交重组再创新的,他们之间亲缘关系较近。进一步将 BY 群和 NBY 群又分别划为 4 个和 3 个亚群,BY 群的 4 个亚群分别包含 10、27、9、8 个材料,NBY 群的 3 个亚群分别包含 14、4、9 个材料(表 5)。



注:各个 K 值对应的交叉验证错误率显示 k 为 2 时得到最优分群结果。
Note: Cross validation error rates corresponding to different K-values show k=2 is the best.

图 1 基于鉴定的 SNP 分析 81 份种质群体结构
Fig.1 Analysis of population structure based on identified SNPs

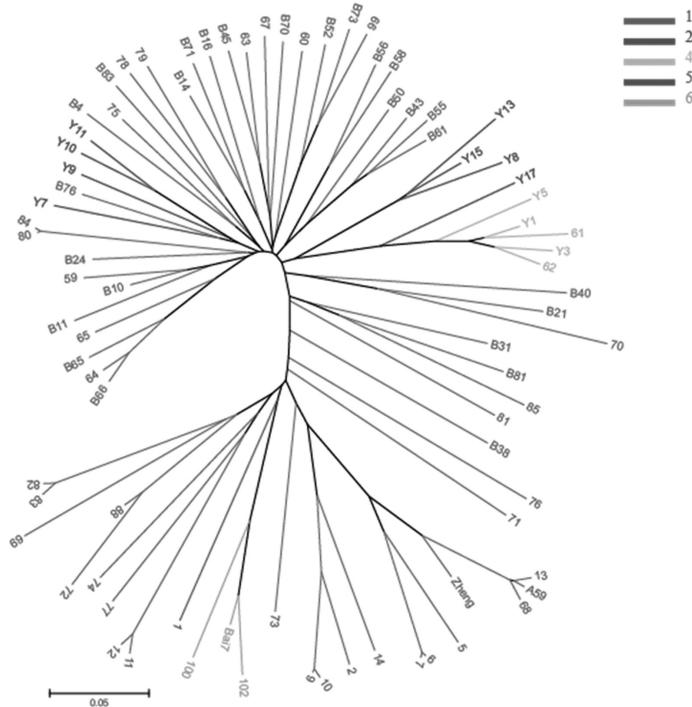


图 2 基于鉴定的 SNP 分析种质的系统进化树
Fig.2 Phylogenetic tree based on identified SNPs

表5 81份种质群体划分的亚群
Table 5 Sub groups of 81 germplasms by identified SNPs

组 群 Group	参试种质编号 Sample ID of accession	数 量 No. of accession
BY 群	亚群 1: B66 64 B65 65 B11 B10 59 B24 80 84	10
	亚群 2: Y7 B76 Y9 Y10 Y11 B4 75 B83 78 79	27
	B14 B71 B16 B45 63 67 B70 60 B52	
	B73 66 B56 B58 B60 B43 B55 B61	
	亚群 3: Y13 Y15 Y8 Y17 Y5 Y1 61 Y3 62	9
	亚群 4: B40 B21 70 B31 B81 85 81 B38	8
NBY 群	亚群 1: 76 7113 A59 68 Zheng 5 6 7 14 2 10 9 73	14
	亚群 2: 102 Bai7 100 1	4
	亚群 3: 11 12 77 74 72 88 69 83 82	9

3 结论与讨论

第3代分子标记SNP标记具有明显的优势,分布范围广、密度高,是最为广泛存在的一种多态性标记;易开发、与功能基因关联度高,更容易获得与性状相关的功能标记;突变率低、较高的遗传稳定性,其突变率一般仅为 10^{-9} ,遗传稳定性强;仅两种等位基因型,检测通量高,易标准化、自动化分析。在水稻、玉米、大麦等作物遗传图谱构建及遗传多样性分析等领域有良好的应用前景^[16~18]。将SNP标记和其他分子标记相结合用于分子辅助育种,分辨率和准确性大幅度提高,能够更有效地挖掘利用种质资源^[19]。尤其在禾谷类作物遗传改良研究中,SNP标记能够得到期望的基因型,节约时间和成本,提高育种的效率^[20]。

简化基因组测序能有效克服基因组复杂、序列与标记信息缺乏进行大规模开发SNP标记。目前,主要有限制性酶切位点相关的DNA(RAD)测序、基因分型测序(GBS)、基于II B型限制性内切酶位点相关的DNA等^[21~23]。本研究通过SLAF-seq技术在鲜食玉米种质中成功开发了高通量的SNP标记,总数达到169 128个,高一一致性的有效SNP用于群体遗传和亲缘关系分析,为进一步研究鲜食甜、糯玉米资源杂种优势提供了基础数据。

优异种质是品种选育的基础,依据杂种优势群选配自交系是重要的考虑因素。近几十年来,许多研究者利用亲本形态差异、地理来源、系谱关系、配合力表现以及同工酶标记等来划分玉米杂种优势群,分子标记手段研究玉米杂种优势群具有显著的优势^[24,25]。美国玉米带种质被分为2个杂种优势群,

在育种中发挥了巨大的作用。张世煌^[26]提出了我国玉米杂种优势群的分群思想,即杂种优势群的划分应向两群靠拢,最终归纳为SS和NSS两个杂种优势群。近年来,大量针对国内玉米自交系遗传多样性的分析也得到了类似的结果。赵旭等^[27]将106份玉米自交系也归并为SS(旅大红骨、PA、Reid)和NSS(PB、塘四平头、Lancaster)两大种质类群。本研究针对81份不同自交系鲜食甜糯玉米,利用SNP标记,分析了他们的遗传分化关系,结果说明,从美国中西部甜玉米带引进的种质为基础材料选育的自交系归于BY群,组成上属于温带亲缘,包含4个亚群,他们的亲缘关系最近;来源于本地种质所选育的自交系归属于NBY群,主要由亚热带血缘的种质组成,也可划分为3个亚群,显示他们之间有相近的亲缘。本研究通过种质档案及系谱比对,也发现存在异名同种、不同世代同种现象。本研究结果能够为纠正种质间关系、理清系谱提供基础数据,也为甜玉米温-热种质杂交育种、鲜食甜糯玉米亚种间杂交育种及建立杂种优势群提供分子依据。

参考文献:

[1] Hallauer A R. Specialty Corns, 2nd edn[M]. Boca Raton, Florida: CRC Press, 2001.

[2] Laughnan J R. The effect of the sh2 factor on carbohydrate reserves in the mature endosperm of maize[J]. Genetics, 1953, 38(5): 485-499.

[3] 曾孟潜,刘雅楠,杨涛兰,等. 甜玉米、笋玉米的起源与遗传[J]. 遗传, 1999, 21(3): 44-45.

Zeng M Q, Liu Y N, Yang T L, et al. The evolution and genetics of sweet corn and baby corn[J]. Hereditas, 1999, 21(3): 44-45. (in Chinese)

[4] 胡建广,王子明,李余良,等. 我国甜玉米育种概况与发展方向

- [J]. 玉米科学, 2004, 12(1): 12-15.
- Hu J G, Wang Z M, Li Y L, et al. General situation and development direction of sweet corn breeding in China[J]. Journal of Maize Sciences, 2004, 12(1): 12-15. (in Chinese)
- [5] 赵久然, 卢柏山, 史亚兴, 等. 我国糯玉米育种及产业发展动态[J]. 玉米科学, 2016, 24(4): 67-71.
- Zhao J R, Lu B S, Shi Y X, et al. Development trends of waxy corn breeding and industry in China[J]. Journal of Maize Sciences, 2016, 24(4): 67-71. (in Chinese)
- [6] Dodson-Swenson H G, Tracy W F. Endosperm carbohydrate composition and kernel characteristics of shrunken2-intermediate(sh2-i/sh2-i Su1/Su1) and shrunken2-in-termediate-sugary1-reference(sh2-i/sh2-i su1-r/su1-r) in sweet corn[J]. Crop Science, 2015, 55(6): 2647-2656.
- [7] 黄君, 冯发强, 王青峰, 等. 54份甜玉米自交系的SSR遗传多样性分析[J]. 华南农业大学学报, 2012, 33(1): 1-4.
- Huang J, Feng F Q, Wang Q F, et al. Study on genetic diversity of 54 sweet corn inbred lines by SSR markers[J]. Journal of South China Agricultural University, 2012, 33(1): 1-4. (in Chinese)
- [8] 卢柏山, 史亚兴, 宋伟, 等. 利用SNP标记划分甜玉米自交系的杂种优势类群[J]. 玉米科学, 2015, 23(1): 58-62, 68.
- Lu B S, Shi Y X, Song W, et al. Heterotic grouping of sweet corn inbred lines by SNP markers[J]. Journal of Maize Sciences, 2015, 23(1): 58-62, 68. (in Chinese)
- [9] 雍洪军, 张世煌, 张德贵, 等. 利用SSR荧光标记分析90个糯玉米地方品种的遗传多样性[J]. 玉米科学, 2009, 17(1): 6-12.
- Yong H J, Zhang S H, Zhang D G, et al. Analysis of genetic diversity among 90 waxy corn landraces using fluorescent SSR markers[J]. Journal of Maize Sciences, 2009, 17(1): 6-12. (in Chinese)
- [10] 史亚兴, 卢柏山, 宋伟, 等. 基于SNP标记技术的糯玉米种质遗传多样性分析[J]. 华北农学报, 2015, 30(3): 77-82.
- Shi Y X, Lu B S, Song W, et al. Genetic diversity analysis of waxy corn inbred lines by single nucleotide polymorphism(SNP) markers[J]. Acta Agriculturae Boreali-sinica, 2015, 30(3): 77-82. (in Chinese)
- [11] Sun X, Liu D Y, Zhang X F, et al. SLAF-seq: an efficient method of large-scale De novo SNP discovery and genotyping using high-throughput sequencing[J]. PloS One, 2013, 8: e58700.
- [12] Davey J W, Cezard T, Fuentes-Utrilla P, et al. Special features of RAD Sequencing data: implications for genotyping[J]. Molecular Ecology, 2013, 22: 3151-3164.
- [13] 石璇, 王茹媛, 唐君, 等. 利用简化基因组技术分析甘薯种间单核苷酸多态性[J]. 作物学报, 2016, 42(5): 641-647.
- Shi X, Wang R Y, Tang J, et al. Analysis of interspecific SNPs in sweetpotato using a reduced-representation genotyping technology[J]. Acta Agronomica Sinica, 2016, 42(5): 641-647. (in Chinese)
- [14] Kozich J J, Westcott S L, Baxter N T, et al. Development of a dual-index sequencing strategy and curation pipeline for analyzing amplicon sequence data on the MiSeqIllumina sequencing platform[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2013, 79(17): 5112-5120.
- [15] Li R Q, Yu C, Li Y R, et al. SOAP2: an improved ultrafast tool for short read alignment[J]. Bioinformatics, 2009, 25(15): 1966-1967.
- [16] Rafalski A. Applications of single nucleotide polymorphisms in crop genetics[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2002, 5(4): 94-100.
- [17] Jones E S, Sullivan H, Bhattaramakki D, et al. A comparison of simple sequence repeat and single nucleotide polymorphism marker technologies for the genotypic analysis of maize(*Zea mays* L.)[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2007, 115: 361-371.
- [18] Varshney R K, Thiel T, Sretenovic-Rajacic T, et al. Identification and validation of a core set of informative genic SSR and SNP markers for assaying functional diversity in barley[J]. Molecular Breeding, 2008, 22: 1-13.
- [19] Cabezas J A, Ibanez J, Lijavetzky D, et al. A 48 SNP set for grapevine cultivar identification[J]. BMC Plant Biology, 2011, 11: 153.
- [20] Paux E, Sourdille P, Mackay I, et al. Sequence-based marker development in wheat: advances and applications to breeding[J]. Biotechnology Advances, 2012, 30(5): 1071-1088.
- [21] Li H, Vikram P, Singh R P, et al. A high density GBS map of bread wheat and its application for dissecting complex disease resistance traits[J]. BMC Genomics, 2015, 16: 1-15.
- [22] 王洋坤, 胡艳, 张天真. RAD-seq技术在基因组研究中的现状及展望[J]. 遗传, 2014, 36(1): 41-49.
- Wang Y K, Hu Y, Zhang T Z. Current status and perspective of RAD-seq in genomic research[J]. Hereditas, 2014, 36(1): 41-49. (in Chinese)
- [23] 赖国荣, 张静, 刘函, 等. 基于GBS构建玉米高密度遗传图谱及营养品质性状QTL定位[J]. 农业生物技术学报, 2017, 25(9): 1400-1410.
- Lai G R, Zhang J, Liu H, et al. Construction of high density genetic map via GBS technology and QTL mapping for nutritional quality traits in Maize(*Zea mays*)[J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2017, 25(9): 1400-1410. (in Chinese)
- [24] Lu Y, Yan J, Guimarães C T. Molecular characterization of global maize breeding germplasm based on genome wide single nucleotide polymorphisms[J]. Theor Appl Genet. Dec, 2009, 120(1): 93-115. doi: 10.1007/s00122-009-1162-7.
- [25] Xie C, Zhang S, Li M, et al. Inferring genome ancestry and estimating molecular relatedness among 187 Chinese Maize inbred lines[J]. J Genet Genomics, 2007, 34(8): 738-48.
- [26] 张世煌. 商业育种只需要两个杂种优势群[J]. 种子科技, 2014(7): 7-8.
- Zhang S H. Commercial breeding only requires the two heterotic groups[J]. Seeds Technology, 2014(7): 7-8. (in Chinese)
- [27] 赵旭, 方永丰, 王汉宁. 玉米SSR标记杂优类群划分及群体遗传结构分析[J]. 核农学报, 2013, 27(12): 1828-1838.
- Zhao X, Fang Y F, Wang H N. Analysis of population genetic structure of maize by SSR marker and heterotic grouping[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2013, 27(12): 1828-1838. (in Chinese)

(责任编辑: 朴红梅)