

基于HTP标记对玉米DH、RIL和BC群体遗传规律的比较分析

张云龙¹, 马世鹏^{1,2}, 许理文¹, 赵怡锟¹, 王蕊¹, 朱少喜¹, 霍永学¹,
张立平³, 郭瑞佳⁴, 李莉², 王元东¹, 番兴明⁴, 王风格¹

(1. 北京市农林科学院玉米研究所/玉米DNA指纹及分子育种北京市重点实验室, 北京 100097; 2. 中国农业大学农学院种子科学与技术研究中心, 北京 100193; 3. 北京市农林科学院杂交小麦研究所/杂交小麦分子遗传北京市重点实验室, 北京 100097; 4. 云南省农业科学院粮食作物研究所, 昆明 650205)

摘要: 以先玉335双单倍体(Doubled Haploids, DH)群体、掖107×昌7-2重组自交系(Recombined inbred lines, RIL)群体和京724×京92回交1代(Backcross, BC)群体为试材, 采用全基因组覆盖的新型区块标记——单倍型标签多态性(haplotype-tag polymorphisms, HTP)标记, 从基因型分离比、亲本遗传片段和重组交换3个角度解析DH、RIL、BC群体的遗传规律。结果表明, DH群体虽然偏分离高于BC群体, 平均交换频率低于RIL群体, 但该群体样本中不存在杂合和外源片段, 均为纯合片段; 平均亲本遗传片段长度为384个HTP, 高于RIL群体; 单代上拥有最高的重组交换次数, 相较于其他群体, 在群体特点和创制成本等方面具有较多优势。

关键词: 玉米; DH; RIL; BC; HTP标记; 遗传规律

中图分类号: S513.035.3

文献标识码: A

Comparative Analysis of Genetic Laws of Maize DH, RIL and BC Populations Based on HTP Markers

ZHANG Yun-long¹, MA Shi-peng^{1,2}, XU Li-wen¹, ZHAO Yi-kun¹, WANG Rui¹, ZHU Shao-xi¹, HUO Yong-xue¹,
ZHANG Li-ping³, GUO Rui-jia⁴, LI Li², WANG Yuan-dong¹, FAN Xing-ming⁴, WANG Feng-ge¹

(1. Maize Research Institute, Beijing Academy of Agricultural and Forestry Science /
Beijing Key Laboratory of Maize DNA Fingerprinting and Molecular Breeding, Beijing 100097;
2. Center of Seed Science and Technology, College of Agriculture and Biotechnology, Beijing 100193;
3. Beijing Key Laboratory of Molecular Genetics in Hybrid Wheat, Institute of Hybrid Wheat,
Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100097;
4. Institute of Food Crops, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650205, China)

Abstract: In this study, HTP markers were used to analysis the genetic laws of Xianyu335 DH population, Ye107×Chang7-2 RIL population and Jing724×Jing 92 population, and Jing724×Jing 92 BC1 population from three perspectives: genotype segregation ratio, parental genetic fragmentation, and recombination exchange. The reesults showed that the average exchange frequency of DH population is lower than that of the RIL population, and no heterozygous and exogenous fragments. The average parental genetic fragment length is 384 HTP higher than RIL population, and it has the highest number of recombination exchanges in a single generation. Compared to BC1 and RIL-population the DH has more advantages in terms of population characteristics and creation costs.

Key words: Maize; DH; RIL; BC; HTP marker; Inheritance law

录用日期: 2023-03-08

基金项目: 北京学者计划项目(BSP041)、北京市农林科学院科技创新能力建设专项(KJ CX20200102)、国家玉米产业技术体系项目(CARS-02-11)

作者简介: 张云龙(1995-), 郑州人, 硕士, 从事玉米分子鉴定研究。E-mail: zhangyunlongfrank@163.com

马世鹏为并列第一作者。E-mail: mashipeng0095@163.com

王风格和番兴明为本文通信作者。

玉米是我国以及全世界重要的粮食、经济作物。通过研究玉米遗传群体的遗传规律,从中挖掘优良性状基因和揭示调控网络,可为改良育种提供重要的研究基础^[1,2],其中双亲遗传群体根据群体稳定性可分为临时群体和永久群体。回交(Backcross, BC)群体属于临时群体,具有创制成本低、含有丰富的遗传信息等特点,能够满足部分遗传研究的需求。但此类群体存在大量杂合基因型,后代仍处于性状分离状态,无法进行多年多点的重复性试验^[3,4]。相对于此,双单倍体(Doubled Haploids, DH)群体和重组自交系(Recombined inbred lines, RIL)群体作为永久群体,应用更加灵活和广泛。永久群体可以跨年限和地域进行多次试验,可在不同实验室之间进行合作研究,更加符合当前的科研模式^[5]。RIL群体经过单粒传法(Single seed descend method, SSD)多代自交后积累了大量的重组交换,是目前进行遗传定位研究的重要群体材料^[6~8]。RIL群体创建成功后便可成为重复使用的遗传材料,但对于单个实验室而言,其创制过程的工作量巨大,人工和时间成本较高。DH技术是目前不断发展的新一代育种技术^[9,10],产生的DH群体具有单世代育成、基因型完全纯合等特点,降低了遗传研究中受到环境因素的影响,可以更加准确地预测表型和基因型。随着DH技术流程不断标准化和商业化,DH群体将会成为今后遗传和育种研究中常用的永久群体^[11]。

近20年来,研究人员开发了包括简单重复序列(Simple sequence repeats, SSR)、单核苷酸多态性(Single nucleotide polymorphism, SNP)和单倍型标签多态性^[12](haplotype-tag polymorphisms, HTP)等在内的多种分子标记,并研发了多种高通量分型平台^[13],使分子标记在辅助育种^[14]、QTL定位^[15]、种质资源鉴定^[16]等方面得到了广泛应用。其中,HTP标记是一种新型的区块标记,每个区块依据李春辉^[17]等使用的重组交换区进行划分,以首尾衔接的方式覆盖玉米全基因组。相对于Bin标记,每一个HTP区块内的所有变异均是经过严格评估和筛选后的最优异且多态性高的SNP和InDel位点的核心集,从而代表每一个单体型区块。同时随着基因芯片技术^[18,19]和测序技术的发展,实现了准确高效选择群体后代目标单株,促进了重要农艺性状相关基因的挖掘和利用等研究工作的发展,极大加快了我国主要作物的育种进程。

综上所述,在遗传作图和育种研究中构建遗传群体是非常有意义的,明晰各类遗传群体的遗传规律可以帮助控制群体规模和预估育种年限。目前鲜有在全基因组水平解析遗传群体相关遗传规律的研

究。本研究通过使用HTP标记,从遗传群体的基因型分离比、亲本遗传片段、重组交换规律3个角度进行分析,对遗传群体进行客观的评价。

1 材料与方法

1.1 供试材料

本研究使用的3个群体材料包括209份先玉335 DH群体材料^[20],由北京市农林科学院玉米所提供(DH);191份RIL群体材料,由云南农业科学院提供,其构建过程以掖107为母本、昌7-2为父本,配置杂交组合,种植F₁代,单株自交获得F₂种子,使用SSD法进行繁殖,直到获得F₈(RIL);727份BC群体材料,由北京市农林科学院玉米所提供,其构建过程以京724为母本、京92为父本进行杂交,获得F₁代后与京92进行回交,获得BC₁(BC)。

1.2 DNA提取与基因型鉴定

使用改良CTAB法^[21]提取群体个体与双亲DNA,使用本实验室开发的Maize6H-60K芯片对供试样品进行基因分型。使用Axiom Analysis Suite软件的Best Practices Workflow流程进行基因型数据分析,对RIL群体设置参数QC Call Rate ≥ 0.95 ,BC群体和DH群体均使用QC Call Rate ≥ 0.97 与Inbred Value=16进行了基因分型。

1.3 数据分析

1.3.1 SNP标记筛选

本研究中,定义3个群体的母本为A,父本为B。根据双亲与群体的基因型结果筛选SNP标记,首先剔除双亲无差异和缺失的SNP标记,其次根据群体基因型数据依次统计每个标记上的基因型占比,当标记上的某一基因型占比超过80%时或该标记上的数据缺失率超过50%时,则将该标记剔除。最后根据剩余标记的物理位置与A型基因型频率进行曲线拟合,得到标记物理位置 x 关于A型基因型频率的曲线方程 $F(x)$,取A型基因型频率 f 满足 $f \in [F(x)-0.1, F(x)+0.1]$ 条件的标记用于后续分析。最终确定3个群体的SNP标记个数,分别为DH群体19 250个、RIL群体21 096个、BC群体22 724个。

1.3.2 群体与亲本比对

基于Python3编程语言使用Pandas数据分析库,编写SNP逐一比对脚本程序,依次对群体中的样品在选中的SNP标记上的基因型数据与亲本A进行比对并赋予新值。赋值规则,与亲本A基因型一致时赋值为1;群体个体基因型为杂合且与亲本A和亲本B基因型对应时赋值为2;与亲本B基因型一致时赋值为3;基因型为缺失时赋值为0。

1.3.3 SNP数据降噪

使用基于滑动窗口的降噪算法^[22],对3个群体个体在10条染色体上的SNP比对结果进行降噪处理。其中,设置窗口为5个SNP大小,沿SNP依次滑动对窗口内的数据进行降噪,以降低分型数据缺失及错误对后续分析的影响。

1.3.4 HTP转换

将SNP标记划分到相应的HTP区块中,每个HTP区块将包含若干个SNP标记上的比对结果值,对每个HTP区块进行赋值,赋值规则,缺失数据占比超过50%时赋值为0;亲本A基因型占比超过50%时赋值为1;亲本B基因型占比超过50%时赋值为2;杂合基因型占比超过50%时赋值为3;亲本A基因

型与亲本B基因型占比之和超过80%时赋值为4。最终获取3个群体的HTP个数,分别为DH群体4 764个、RIL群体4 502个、BC群体5 272个。

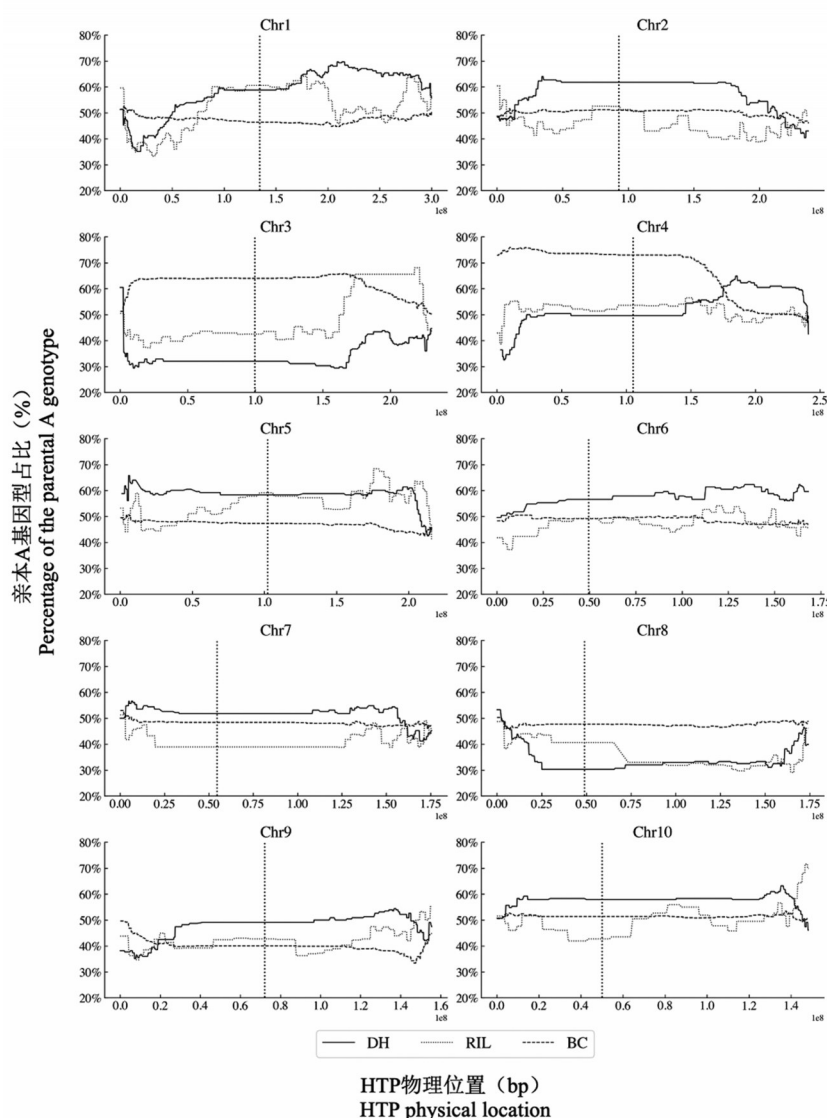
1.3.5 HTP数据降噪

使用基于滑动窗口的降噪算法对HTP结果进行降噪处理,经过以上分析步骤得到3个群体基于HTP的背景评估结果。

2 结果与分析

2.1 分离规律分析

本研究利用HTP标记对所使用的3个群体的分离规律进行分析,3个群体在10条染色体上的平均偏分离系数分别为51.3%(DH)、47.7%(RIL)和50.7%



注:垂直横轴的虚线为染色体上的着丝粒位置。

Note: The dashed line on the vertical abscissa shows the centromere position on the chromosome.

图1 群体在各染色体上的分离曲线

Fig.1 Segregation curves of the populations on each chromosome

(BC)。结合图1分离曲线可知,3个群体在着丝粒附近等异染色质区域的分离曲线均比较平缓,而在近端粒区域,分离曲线则出现的较明显的波动。其中,BC群体的分离曲线在10条染色体上最为平滑,只在3、4、9号染色体上出现了偏分离现象。RIL群体和DH群体的分离曲线在10条染色体上均存在偏分离现象。相较于RIL群体,DH群体的分离曲线在相近HTP标记上的分离规律具有较高的一致度与稳定性,尤其是在着丝粒附近区域,RIL群体的分离曲线具有较多的波动。

2.2 亲本遗传片段分析

本研究将所使用的3个群体个体中最长亲本连续片段的HTP个数分为7个区间,以分析群体中亲

本遗传片段长度的占比情况(图2)。3个群体中平均连续长片段HTP个数,DH群体384个,RIL群体259个,BC群体431个。其中,RIL群体在0~100个连续HTP区间内,存在4%的亲本遗传片段,在0~300个连续HTP区间内亲本遗传片段占比总计为67%,并在200~300个连续HTP区间内达到峰值33%。DH和BC群体的亲本遗传片段占比,从100~200个连续HTP区间开始逐步增加,在300~400个连续HTP区间内达到峰值分别为38%、30%。在0~400个连续HTP区间内DH群体的亲本遗传片段占比均高于BC群体;在400个HTP以上的区间内BC群体的亲本遗传片段占比均高于DH群体。

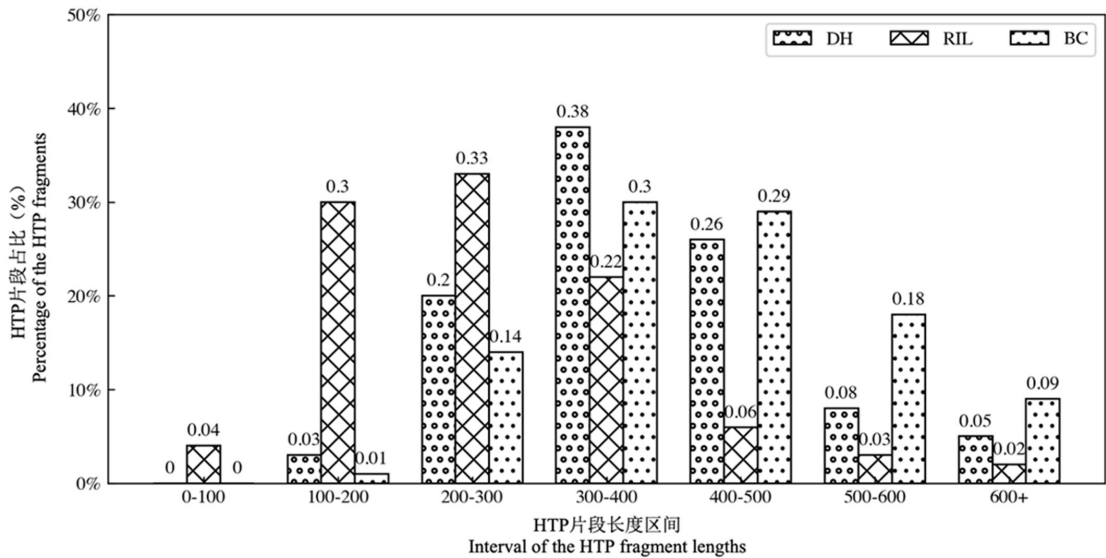


图2 群体亲本遗传片段长度区间占比图

Fig.2 Interval proportion of parental genetic fragment length of the populations

表1 3个群体各染色体上遗传片段类型统计

Table1 Statistics of genetic segment types on chromosomes of the populations %

染色体 Chromosome	DH		RIL				BC	
	A 型	B 型	A 型	AB 型	B 型	外源	A 型	AB 型
	A type	B type	A type	AB type	B type	Exogenous	A type	AB type
1	57.53	42.47	46.94	3.37	46.68	3.01	47.79	52.21
2	55.19	44.81	42.96	0.76	50.85	5.43	49.85	50.15
3	36.06	63.94	42.83	2.71	50.93	3.53	60.62	39.38
4	53.25	46.75	47.87	2.08	46.06	3.99	64.68	35.32
5	58.08	41.93	51.65	1.67	42.53	4.15	46.74	53.26
6	57.97	42.03	44.49	2.39	49.70	3.41	48.32	51.68
7	51.16	48.84	40.96	0.72	52.99	5.32	48.10	51.90
8	36.08	63.92	34.66	2.79	60.93	1.62	47.72	52.29
9	46.73	53.27	40.42	3.50	53.74	2.34	40.06	59.94
10	57.19	42.81	49.11	0.82	44.17	5.90	51.36	48.64

本研究统计所使用的3个群体中各染色体上的片段类型(表1)。由表1统计结果可知,DH群体在3、8号染色体上B型片段占比超过60%,该结果导致DH群体在3、8号染色体上的分离曲线偏向B型。BC群体在3、4号染色体上A型片段占比超过60%,该结果导致BC群体在3、4号染色体上的分离曲线

偏向A型。由图3可知,因BC群体是杂合AB型与纯合A型通过杂交获得,故BC群体的亲本遗传片段类型为AB型和A型。RIL群体平均包含了3.8%的外源片段和2.2%的杂合片段,其中,在2、7、10号染色体上外源片段占比均超过5%,在1、9号染色体上杂合片段占比均超过3%。

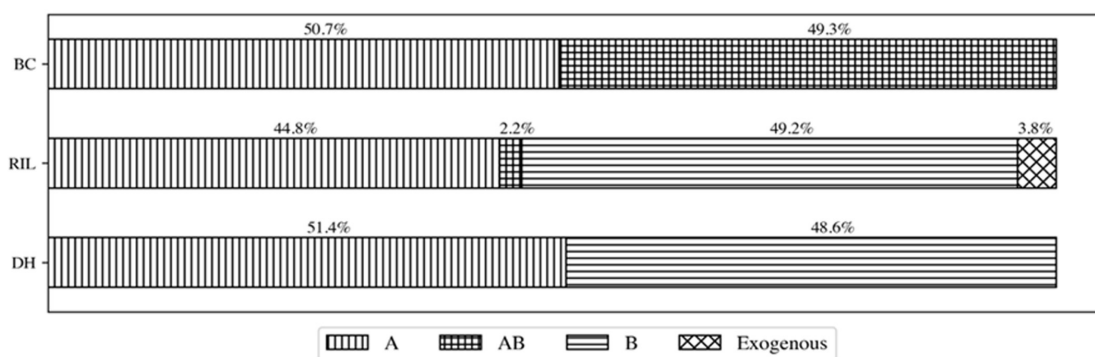


图3 群体亲本遗传片段类型占比

Fig.3 The proportion of parental genetic segment types in the population

2.3 重组交换规律分析

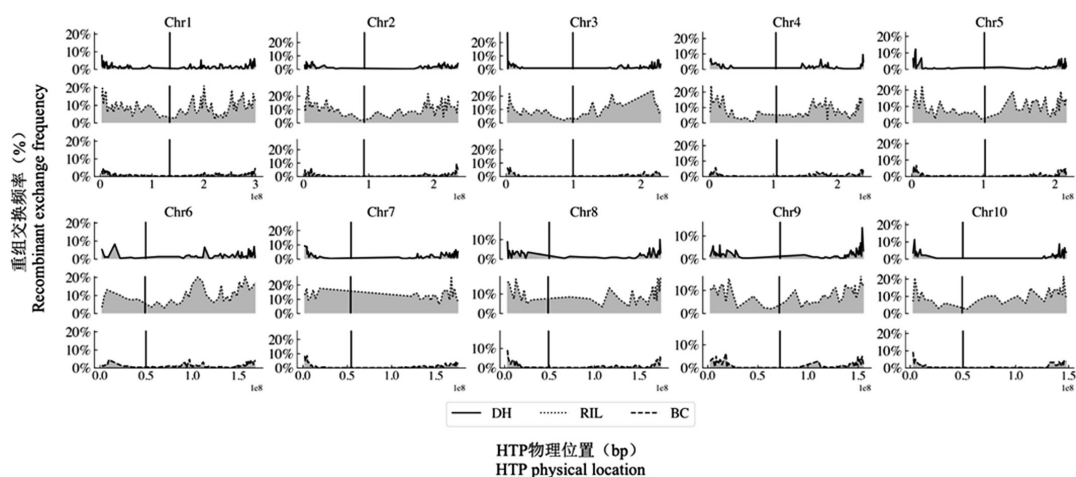


图4 群体各染色体上重组交换频率图

Fig.4 The frequency map of recombination exchange on each chromosome of the populations

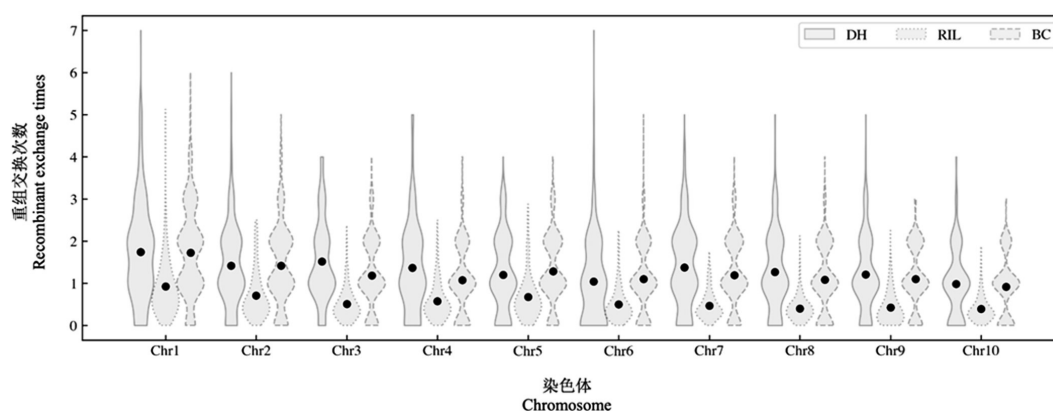


图5 单个世代上群体在各染色体上的交换次数

Fig.5 Number of population exchanges on each chromosome in a single generation

本研究分别统计所使用的3个群体在10条染色体上HTP标记的重组交换频率(图4),3个群体的平均交换频率分别为2.13%(DH)、10.03%(RIL)和1.37%(BC)。3个群体的重组交换规律与分离规律保持高度相似,即群体分离曲线波动越大的区域越容易产生重组交换。染色体长度与各染色体上发生重组交换的HTP标记个数之间呈高度线性相关,相关系数分别为0.89(DH)、0.89(RIL)和0.92(BC),即染色体越长则染色体上的重组交换的HTP个数也越多。根据3个群体的样品在各染色体上单代发生重组交换的情况(图5),统计3个群体个体单代在染色体上的平均交换次数分别为1.3(DH)、0.6(RIL)和1.2(BC),在单代上,DH群体个体具有更高的交换次数,RIL群体虽然在重组交换的HTP上有更高的交换频率,但平均到单代上样品交换次数却远低于DH群体。

3 结论与讨论

前人在使用MaizeSNP3072芯片,对玉米的DH和RIL群体进行偏分离分析时,统计了两个群体的偏分离标记占比分别为38.6%和37.3%,揭示了两个群体的偏分离现象并对产生偏分离的原因进行了推测^[23]。本研究使用HTP标记,进一步对所使用的3个群体的分离规律进行综合性的比较,发现3个群体都存在偏分离现象,其中,RIL与DH群体的分离曲线具有更强的波动性,并且近端粒区的偏分离程度要高于着丝粒区,这与两个群体中重组交换点的数量和分布有关。偏分离现象的产生主要是因为DH和RIL群体的创制过程都存在着导致偏分离的风险,RIL群体采用的单粒传法存在人工随机取样的干扰,DH群体在田间的生长耐受性低导致死苗^[24]等均会影响群体中的不同基因型的比例。偏分离会影响标记间的重组距离和连锁群上的标记顺序,进而影响遗传作图的准确性,在使用RIL与DH群体进行遗传作图时,需要考虑偏分离标记的影响。

由于使用亲本材料和构建方式的不同,使得3个群体样品中的亲本遗传片段类型有所差异。本研究在RIL群体中检测到2.2%的杂合片段和3.8%的外源染色体片段,对片段的大小及分布进行可视化分析,存在外源染色体片段的原因可能是由于RIL群体在连续多代自交的过程中受到外源花粉污染,或亲本自身的遗传背景不够完全纯合,通过强化田间管理可有效避免这一问题,但这无疑加大了创制成本。Smith J.S.C.^[25]等使用模拟的RIL和DH群体,分析群体中与某一亲本等位基因组成相匹配的基因

组片段大小及其占比时发现,当基因组片段超过50 cM时,DH群体的占比均高于RIL群体。本研究使用HTP标记对真实的DH与RIL群体进行分析,发现DH群体相较于RIL群体,其个体中拥有更完整的纯合亲本染色体片段,能够更准确高效地使用长连续片段进行亲本系谱的推测。

本研究发现,3个群体的重组交换点都集中分布在染色体的近端粒区域,在着丝粒附近区域DH与BC群体不发生重组交换,而RIL群体在该区域存在重组交换点,且重组交换频率低于位于染色体端粒的重组交换点频率。可知RIL群体在连续多代自交的过程中,在着丝粒区域也积累了少量的重组交换点。RIL群体为达到纯合稳定状态自交了8代,此过程中虽然重组交换频率不断上升,但每代新增的重组交换点是减少的。李春辉^[26]等分析玉米NAM群体的基因组特征时发现,RIL群体经过多次加代,群体中重组交换的数量是不断累积的,且不同的RIL群体有着不同的重组交换数量与重组频率。同时发现,重组交换并不都是可遗传的,因为可遗传重组交换的比例在多次加代过程中迅速减少。

Maize6H-60K芯片在开发时所选择的玉米自交系是非常具有代表性的材料,同时芯片上的每一个位点均是经过了严格筛选的高质量位点。HTP作为区块形态的复合标记,依据重组交换进行划分,可将玉米基因组进行首尾相接完整覆盖,每一个HTP区块内的所有变异均经过严格评估和筛选,可以通过实验直接获得基因型的具有高多态性、分型稳定和不易缺失的SNP和InDel核心位点集。因此,在使用HTP进行遗传分析时可利用区块内的核心位点代表整个HTP区块,在降低数据量的同时也保证了分析结果的准确性,为群体解析提供了高效精准的新策略。与传统的Bin标记不同,HTP除了可以完成QTL定位分析外,还可用于玉米的高通量基因分型和遗传作图、遗传群体精准背景评估、种质资源分析和基因组学信息育种等相关研究。

单倍体技术作为新一代育种技术,能够在较短的时间内获得大量自交系,逐渐成为遗传研究的关键技术^[27]。目前单倍体技术已在玉米育种工作中得到广泛应用^[28]。DH群体属于永久遗传群体,虽然偏分离高于BC群体,平均交换频率低于RIL群体,但该群体样品中不存在杂合和外源片段,均为纯合片段,平均亲本遗传片段长度高于RIL群体,单代上拥有最高的重组交换次数,相较于其他群体,在群体特点和创制成本等方面具有较多优势。随着DH技术流程的不断优化以及加倍方法的探索、高效诱导

系^[29]的选育、单倍体鉴定技术^[30]、单倍体植株的田间管理等研究的不断深入,并逐渐实现规模化,能够为DH技术在其他作物上的应用提供技术支持。在未来改良育种工作中DH群体将成为性价比更高、应用更加全面的遗传群体。

参考文献:

- [1] 刘欣芳,姜敏,马骏,等.玉米辽热群体轮回改良效果评价及染色体区段遗传分析[J].玉米科学,2022,30(2):5-11.
LIU X F, JIANG M, MA J, et al. Evaluation of improvement and genetic analysis of genome regions on Liaore population cyclic improvement[J]. Journal of Maize Sciences, 2022, 30(2): 5-11. (in Chinese)
- [2] 郭向阳,吴迅,王安贵,等.玉米Suwan和Iodent改良系育种应用探索与分析[J].植物遗传资源学报,2021,22(6):1676-1683.
GUO X Y, WU X, WANG A G, et al. Exploration and analysis of performance of test crosses of Suwan-Iodent improved lines in maize breeding[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2021, 22(6): 1676-1683. (in Chinese)
- [3] 单娟,崔良国,韩志景,等.基于温热BC₁群体的农艺性状QTL定位[J].玉米科学,2013,21(3):24-29.
SHAN J, CUI L G, HAN Z J, et al. Detection of quantitative trait loci for agronomic characters of temperate-tropical maize BC₁ population[J]. Journal of Maize Sciences, 2013, 21(3): 24-29. (in Chinese)
- [4] VOGEL K E. Backcross breeding[J]. Methods Mol Biol, 2009, 526: 161-169.
- [5] 林谦,毛孝强,杨德,等.QTL作图主要统计方法及主要作图群体[J].云南农业大学学报,2004(2):121-127.
LIN Q, MAO X Q, YANG D, et al. The introduction of major statistical methods and mapping populations of QTL mapping[J]. Journal of Yunnan Agricultural University, 2004(2): 121-127. (in Chinese)
- [6] 李云梦,喻倩,王昭,等.玉米穗腐病子粒抗性与其穗轴抗性的相互影响[J].植物遗传资源学报,2021,22(6):1659-1667.
LI Y M, YU Q, WANG Z, et al. Interaction of the resistance between kernel and cob to fusarium ear rot in maize[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2021, 22(6): 1659-1667. (in Chinese)
- [7] 代资举,张莹莹,王新涛,等.玉米花丝颜色基因*qSC10*精细定位及候选基因分析[J].植物遗传资源学报,2021,22(5):1383-1393.
DAI Z J, ZHANG Y Y, WANG X T, et al. Fine mapping and candidate gene analysis of silk color gene *qSC10* in maize(*Zea mays* L.)[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2021, 22(5): 1383-1393. (in Chinese)
- [8] SA K J, CHOI I Y, PARK J Y, et al. Mapping of QTL for agronomic traits using high-density SNPs with an RIL population in maize[J]. Genes Genomics, 2021, 43(12): 1403-1411.
- [9] 张如养,段民孝,赵久然,等.单倍体技术在玉米种质改良和育种中的应用方向[J].作物杂志,2012(5):4-8.
ZHANG R Y, DUAN M X, ZHAO J R, et al. The application of haploid technology on germplasm improving and breeding in maize[J]. Crops, 2012(5): 4-8. (in Chinese)
- [10] 郭书磊,魏昕,魏良明,等.玉米单倍体诱导、加倍技术及相关机理探讨[J].玉米科学,2020,28(3):52-59,65.
GUO S L, WEI X, WEI L M, et al. Analysis of technique and mechanism relate to induction and doubling of haploid in maize[J]. Journal of Maize Sciences, 2020, 28(3): 52-59, 65. (in Chinese)
- [11] 王葆生,刘湘萍,廉勇,等.单倍体育种技术研究进展[J].北方农业学报,2018,46(5):44-49.
WANG B S, LIU X P, LIAN Y, et al. Research progress on haploid breeding technology[J]. Journal of Northern Agricultural, 2018, 46(5): 44-49. (in Chinese)
- [12] ZHAO Y K, TIAN H L, LI C H, et al. HTPdb and HTPtools: Exploiting maize haplotype-tag polymorphisms for germplasm resource analyses and genomics-informed breeding[J]. Plant Communications, 2022, 3(4): 100331.
- [13] 张先文,贺治洲,江南,等.高通量基因型分型技术及其在水稻中的应用[J].生物技术通报,2017,33(12):67-73.
ZHANG X W, HE Z Z, JIANG N, et al. High-throughput genotyping techniques and their applications in rice[J]. Biotechnology Bulletin, 2017, 33(12): 67-73. (in Chinese)
- [14] 周洪昌,宋伟,王凤格,等.玉米丝黑穗病分子标记辅助选择育种中前景引物与背景引物的筛选[J].分子植物育种,2011,9(4):450-456.
ZHOU H C, SONG W, WANG F G, et al. The selection of foreground and background markers used in maize resistance head smut marker assisted breeding[J]. Molecular Plant Breeding, 2011, 9(4): 450-456. (in Chinese)
- [15] 徐翠,许理文,葛建镭,等.利用高密度SNP芯片定位玉米雄穗分枝数QTL[J].植物遗传资源学报,2022,23(3):832-841.
XU C, XU L W, GE J R, et al. QTL mapping of the tassel branch number using high-density SNP array in maize[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2022, 23(3): 832-841. (in Chinese)
- [16] 宋伟,王凤格,易红梅,等.功能标记及在品种鉴定和辅助育种中的应用前景[J].分子植物育种,2009,7(3):612-618.
SONG W, WANG F G, YI H M, et al. Functional markers and their potential application in varieties identification and MAS breeding[J]. Molecular Plant Breeding, 2009, 7(3): 612-618. (in Chinese)
- [17] LI C H, LI Y X, BRADBURY P J, et al. Construction of high-quality recombination maps with low-coverage genomic sequencing for joint linkage analysis in maize[J]. BMC Biol, 2015, 13: 78.
- [18] 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[J]. Plant J., 2021, 105(4): 1113-1122.
- [19] XU C, REN Y H, JIAN Y Q, et al. Development of a maize 55 K SNP array with improved genome coverage for molecular breeding[J]. Molecular Breeding, 2017, 37(3): 20.
- [20] 许理文,段民孝,宋伟,等.玉米生物诱导孤雌生殖DH群体的SNP偏分离分析[J].玉米科学,2015,23(3):8-14.
XU L W, DUAN M X, SONG W, et al. Segregation distortion study on Bio-induced parthenogenesis-derived doubled haploid lines of maize by SNP[J]. Journal of Maize Sciences, 2015, 23(3): 8-14. (in Chinese)
- [21] CIMMYT. Laboratory protocols: CIMMYT applied molecular genetics laboratory: Third Edition[M]. Mexico: CIMMYT, 2005.
- [22] 王凤格,许理文,葛建镭,等.基于SNP标记获取回交群体背景

- 回复率的方法[P]. 中国专利:CN114203257B, 2022-05-17.
- [23] 付忠军, 官 玲, 张丕辉, 等. 玉米RIL群体SNP偏分离分析[J]. 农业生物技术学报, 2019, 27(9): 1542-1549.
- FU Z J, GUAN L, ZHANG P H, et al. Segregation distortion analysis on maize (*Zea mays*) RIL population by SNP[J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2019, 27(9): 1542-1549. (in Chinese)
- [24] 成 锴, 苏晓慧, 栗建枝, 等. 不同加倍技术加倍玉米单倍体的研究[J]. 玉米科学, 2019, 27(4): 42-46.
- CHENG K, SU X H, LI J Z, et al. Research on different doubling method of maize haploid[J]. Journal of Maize Sciences, 2019, 27(4): 42-46. (in Chinese)
- [25] SMITH J S C, HUSSAIN T, JONES E S, et al. Use of doubled haploids in maize breeding: implications for intellectual property protection and genetic diversity in hybrid crops[J]. Mol Breeding, 2008, 22: 51-59.
- [26] LI C H, LI Y X, SHI Y S, et al. Analysis of recombination QTLs, segregation distortion, and epistasis for fitness in maize multiple populations using ultra-high-density markers[J]. Theor Appl Genet, 2016, 129(9): 1775-1784.
- [27] MAQBOOL M A, BESHIR A, KHOKHAR E S. Doubled haploids in maize: Development, deployment, and challenges[J]. Crop Science, 2020, 60(6): 2815-2840.
- [28] 梁翰文, 吕慧颖, 葛毅强, 等. 作物育种关键技术发展态势[J]. 植物遗传资源学报, 2018, 19(3): 390-398.
- LIANG H W, LÜ H Y, GE Y Q, et al. Development of key breeding technology[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2018, 19(3): 390-398. (in Chinese)
- [29] 段民孝, 刘新香, 邢锦丰, 等. 玉米高频单倍体诱导系选育研究[J]. 玉米科学, 2020, 28(4): 8-14.
- DUAN M X, LIU X X, XING J F, et al. Study on breeding the high frequency haploid inducer in maize[J]. Journal of Maize Sciences, 2020, 28(4): 8-14. (in Chinese)
- [30] 王风格, 许理文, 赵久然, 等. 玉米单倍体诱导DH系的分子鉴定研究[J]. 玉米科学, 2011, 19(1): 35-38.
- WANG F G, XU L W, ZHAO J R, et al. Molecular identification of maize induced haploid DH lines[J]. Journal of Maize Sciences, 2011, 19(1): 35-38. (in Chinese)

(责任编辑: 朴红梅)