

SNP 标记在玉米分子育种中的应用

尹祥佳 李 晶 王雅琳 王剑虹

(兰州职业技术学院,甘肃兰州 730070)

摘要: SNP 是第三代分子标记技术,在玉米分子育种方面具有广泛的应用。对 SNP 标记的概念、特点和相关的 SNP 技术类型进行介绍,并从玉米遗传多样性分析、构建遗传图谱及 QTL 分析、全基因组关联分析、品种真实性和纯度鉴定等方面的应用进行了论述。为 SNP 分子标记在玉米分子育种中的利用提供一些参考。

关键词: 玉米; SNP 分子标记; 育种应用

玉米(*Zea mays* L.)是全球也是我国第一大作物,主要用于主粮食用、饲料和燃料生产原料。玉米作为一种基础研究模式植物,也是杂交良种应用最早、商品化率和经济效益较高的作物,就播种面积和总产量而言在我国农业经济结构中起着重要作用^[1-3]。据中国报告网数据显示,2019 年我国玉米播种面积达 4128 万 hm^2 ,总产量 2.6 亿 t,杂交玉米制种面积 17.06 万 hm^2 ,生产玉米杂交种子 9.9 亿 kg ^[4],这些都得益于我国玉米育种科研实力的显著提升。

我国玉米育种模式发展经历了传统经验育种、杂种优势育种和现代生物工程育种 3 个时期^[5],长期以来,以玉米杂交育种为代表的传统育种为我国育成了大量的优良品种,有力保障了我国玉米生产。近些年,随着测序技术的快速发展和测序成本的下降,已经有 B73 等在内的 8 个玉米骨干自交系完成了全基因组测序工作,掌握了遗传密码^[6],这些玉米基因组遗传信息的发布为发掘大量 SNP 分子标记提供了基础,并能够快速高效地改良和提高玉米品种的产量、品质和抗性等重要性状,帮助育种家选育优良的玉米品种^[7]。

SNP 分子标记具有多态性丰富,在玉米染色体上分布均匀,共显性、准确性高,可重复性好,易于高通量试验等优点,成为了玉米分子育种研究的首选技术手段^[8]。因此,本文对 SNP 标记技术及其在玉米遗传多样性分析、构建遗传图谱及 QTL 分析、全基因组关联分析、品种真实性和纯度鉴定等方面的应

用进行阐述,以期玉米分子育种提供一些参考。

1 SNP 标记

分子标记是 DNA 分子碱基序列变异引发的多态性标记,按照技术原理可分为 3 大类:第 1 类是 DNA 分子杂交标记技术,如 RFLP 标记;第 2 类是以 PCR 为基础的技术,包括 RAPD、AFLP 和 SSR;第 3 类是基于基因组测序的分子标记,其中 SNP 标记成为目前主要应用的分子标记技术^[9]。SNP 是指在基因组水平上由于单个核苷酸的转换、颠换、缺失和插入等 4 种变异而引起的基因组水平的多态性表现,玉米基因组的每个 SNP 标记平均密度大约为 57bp。SNP 标记技术的研究包括 SNP 的发掘和 SNP 基因型鉴定技术,目前 SNP 基因型鉴定技术有基因芯片技术、KASP 分型技术、TaqMan 探针技术、特异性引物延伸法(SPE)、高分辨率熔解曲线(HRM)、Illumina Goldengate 基因分型法、基于测序的基因分型技术(GBS)、FP-TDI 和引物入侵技术(InvaderTM)^[10],这些技术在玉米分子育种中有着广泛的应用。

2 SNP 标记的应用

2.1 玉米遗传多样性分析 玉米是利用杂种优势最为充分的作物。目前,通过分析玉米亲本的遗传多样性,划分杂种优势群,不断开发和使用玉米种质资源,为选育出高品质和高产量的玉米品种提供了重要的理论和材料基础。运用 SNP 标记技术对玉米自交系的遗传多样性进行分析,划分杂种优势群已经成为玉米育种最为有效的途径。王文斌等^[11]利用 2846 个高质量 SNP 标记对陕 A 群 11 个优良自交系和陕 B 群 12 个自交系进行了遗传多样性分

基金项目: 2019 年度兰州市科技发展指导性计划项目(2019-ZD-156);兰州职业技术学院 2020-2021 年度院内科研项目(2020XY-9)

李晶为并列第一作者

析,将23份选育的自交系划分为2个类群。赵久然等^[12]利用MaizeSNP3072芯片对344份玉米自交系进行全基因组分析,将344份自交系划分为8个类群,从分子水平验证了“X群×黄改群”杂优模式,研究提出了国外种质资源与本地资源形成优势互补,进一步选育优良玉米品种。吴金凤等^[13]利用1041个SNP位点将51份玉米自交系划分为7个杂种优势群,其中6个类群中的瑞德群和改良瑞德群之间的遗传距离最近,旅大红骨群和P群之间的遗传距离最远,9份糯玉米自交系为独立的杂种优势群,划分结果与系谱来源基本一致,能够有效指导自交系组配和测配工作,提高育种效率。姜思奇等^[14]利用56kSNP芯片将44份辽宁省玉米自交系划分为4个杂种优势群,研究得出根据不同的试验目的选用不同密度SNP划分杂种优势群,能够有效提升试验效率。卢媛等^[15]利用Axiom Maize 55K芯片上的34257个SNP标记将44份不同来源的糯玉米自交系和5份普通玉米自交系划分为5个类群,研究得出糯玉米种质资源遗传基础狭窄,要不断拓宽亲本的遗传基础,提供广泛的玉米育种种质资源。因此,随着玉米基因组高通量测序技术发展,SNP标记研究成本逐渐下降,开发出了大量的SNP位点用于玉米种质资源的遗传多样性分析和杂种优势群的划分,及时从分子水平掌握育种材料的亲缘关系,为玉米分子育种提供基础育种材料。

2.2 构建遗传图谱及QTL分析 利用SNP标记对作图群体进行基因型分析,选择育种材料亲本间多态性SNP标记,构建遗传图谱,进行产量和抗性性状相关的QTL分析。高星等^[16]以黄早四和旅28为亲本构建了重组自交系(RIL)群体,利用GBS方法对群体进行基因型分型,构建了遗传图谱,研究了玉米籽粒灌浆特性与生育期相关性状的QTL,在bin 4.05和bin 9.04区间内分别检测到仅与灌浆速率相关的主效QTL。赖国荣等^[17]以X178和NX531为亲本构建了重组自交系(RIL)群体,应用测序的基因分型技术(GBS)获得基因型纯合的多态性SNP位点,得到了20个营养品质性状相关QTL。秦伟伟等^[18]以玉米自交系黄早四和Mo17为亲本,构建包含130个重组自交系(RIL)群体,基于GBS技术获得的高密度多态性SNP位点,构建了包含1262个Bin标记的高密度遗传图谱,研究了籽粒大小及

百粒重性状的QTL。许理文等^[19]以先玉335构建了双单倍体(DH)群体,基于MaizeSNP3072芯片的1337个SNP标记,得到了2个玉米容重性状相关QTL。郑德波等^[20]以K22×CI7、K22×Dan340的F₂群体为作图群体,用Illumina Maize SNP 500G基因芯片构建了2个连锁图谱,研究得出第7染色体上可能存在控制株高和穗位高的主效QTL。张春宵等^[21]以郑58和昌7-2为亲本构建了包含151份重组自交系(RIL)群体为作图群体,通过MaizeSNP3072芯片进行基因型分析,筛选出1407个有效多态性SNP标记,定位了玉米萌发期和苗期的耐盐和耐碱的相关性状QTL。王辉等^[22]以郑58和HD568为亲本构建了220个重组自交系(RIL)群体为作图群体,利用MaizeSNP3芯片完成基因型分析,得到了在不同种植密度下玉米穗长、穗粗、穗行数、行粒数的42个穗部性状QTL。因此,通过SNP标记构建遗传图谱及QTL分析,揭示玉米相关性状的遗传调控机制,从而为玉米相关性状的主效QTL精细定位及挖掘候选基因奠定了扎实的研究基础。

2.3 全基因组关联分析 全基因组关联分析(GWAS)具有更高的分辨率和更广泛的遗传变异。近年来,随着高通量测序技术的应用,开发出了大量的玉米SNP标记并应用于玉米全基因组关联分析^[23]。2008年首次报道了通过全基因组关联分析法研究了影响玉米自交系籽粒中脂肪酸含量的基因,全基因组关联分析可以作为分析玉米不同性状、挖掘优良基因的有效途径,是一种QTL精细定位策略^[24]。吴律等^[25]以80份吉林省核心玉米自交系作为关联群体,利用第2代测序技术对关联群体进行全基因组重测序,精细定位与行粒数紧密关联的SNP分子标记,挖掘出4个玉米行粒数候选基因。张焕欣等^[26]以203份主要玉米自交系为关联群体,用Illumina公司开发的MaizeSNP50 BeadChip芯片进行基因型检测,用41101个高质量的SNP标记进行关联分析,发现9个与穗行数显著关联的SNP,发掘出了4个玉米穗行数候选基因。邵晓宇等^[27]以292份自交系组成自然群体,用Illumina公司开发的MaizeSNP50 BeadChip芯片进行基因型检测,用25331个SNP基因型数据进行关联分析,发现28个与穗粗显著关联的SNP,发掘了9个玉米穗粗候选

基因。李凯等^[28]以360份玉米自交系为试验材料,用Illumina公司开发的MaizeSNP50芯片进行基因型检测,筛选出44569个高质量的SNP标记进行关联分析,得到了6个与株高显著关联的SNP位点,18个与穗位高显著关联的SNP位点。滕守振等^[29]分析了287份玉米自交系第一片叶的叶绿素含量,利用558269个SNP分子标记进行全基因组关联性分析,得到了9个与玉米叶片叶绿素含量显著关联SNP位点和16个候选基因。彭勃等^[30]以285份玉米自交系为研究材料,用MaizeSNP50 BeadChip芯片筛选出39827个SNP标记进行全基因组关联性分析,得到了玉米叶向值的27个SNP位点,挖掘了15个控制玉米叶向值的候选基因。田润苗等^[31]测定了476份玉米自交系种子萌发相关的6个性状,结合1.25M的SNP标记进行了全基因组关联分析,检测到了15个种子萌发相关性状的显著SNP位点和6个候选基因。董青松等^[32]以吉林省80份核心玉米自交系为关联群体,用IlluminaPE150进行测序,对子粒脂肪含量和1490007个高质量的SNP标记进行全基因组关联分析,得到了10个与玉米子粒脂肪含量显著相关的SNP和6个候选基因。除此之外,相关文献还报道了研究玉米抗粗缩病^[33]、丝黑穗病^[34]、耐旱^[35]、耐盐^[36]和耐低磷^[37]的全基因组关联分析。因此,利用测序技术和SNP芯片技术对玉米重要产量性状、养分利用、光合作用、抗旱和抗病相关性状进行全基因组关联分析,挖掘候选基因,为基因克隆和功能验证、功能分子标记开发及选育优良玉米育种材料奠定了基础。

2.4 品种真实性和纯度鉴定 我国玉米种子商品化率为100%,市场规模占7种重要农作物种子市值的3成以上,2020年全国商品玉米种子使用量达10.55亿kg,市场规模为282.25亿元^[38]。玉米种子质量直接关系到玉米种植产量和品质,玉米品种真实性和纯度的鉴定成为了至关重要的技术指标。李雪等^[39]比较研究了SNP和SSR分子标记在11份玉米杂交种的真实性方面的差别,SNP标记技术在试验数据整合和高通量方面具有一定的优势。田红丽等^[40]研究利用384个核心SNP位点构建了335个国审玉米杂交种的DNA指纹图谱数据,可以应用在高密度的SNP芯片平台,高通量的KASP和Taqman技术平台,以及高通量的测序平台,为玉米

品种分子鉴定提供了数据支撑。吴明生等^[41]利用TaqManSNP分型技术快速鉴定出了中糯2号、郑单958、北农301、农大86和京农科728等5份玉米杂交种的纯度。姚宗泽等^[42]将SNP分子标记的高分辨率溶解曲线(HRM)技术与田间小区鉴定法进行了比较研究,验证了SNP分子标记HRM技术鉴定玉米杂交种家佳荣2号纯度的可靠性,提出了鉴定玉米杂交种新的方法。因此,随着SNP分子标记技术的发展,不断展现了其高通量、微型化和自动化的技术应用优势,将广泛应用于玉米品种真实性和纯度鉴定研究^[43]。

3 展望

随着SNP分子标记技术的快速发展,SNP分型技术不断完善,试验结果将更加科学、准确。SNP标记技术在玉米遗传多样性分析、构建遗传图谱及QTL分析、全基因组关联分析、品种真实性和纯度鉴定等玉米育种方面的研究充分体现出了技术的优越性。SNP分子标记技术能够有效划分玉米杂种优势群、挖掘抗性基因、实现主效基因的精细定位,能够对杂交育种等传统育种理论和技术进行辅助育种,帮助育种家精准了解现有玉米育种材料的优良性状,进行统筹有效的设计育种,直接加速育种材料实现优良基因的选择和有效聚合,缩短育种年限,极大提高玉米育种效率,将对玉米育种理论研究和玉米新品种选育产生深远的影响。

参考文献

- [1] 李少昆,王立春,王璞,陆卫平,王俊河,杨祁峰,王子明,赵久然,董树亭,赵明. 中国玉米栽培研究进展与展望. 中国农业科学, 2017, 50(11): 1941-1959
- [2] Tian H L, Wang F G, Zhao J R, Yi H M, Wang L, Wang R, Yang Y, Song W. Development of maizeSNP3072, a high-throughput compatible SNP array, for DNA fingerprinting identification of Chinese maize varieties. *Molecular Breeding*, 2015, 35: 136
- [3] 田红丽,杨扬,王璐,王蕊,易红梅,许理文,张云龙,葛建铭,王风格,赵久然. 兼容型maizeSNP384标记筛选与玉米杂交种DNA指纹图谱构建. *作物学报*, 2020, 46(7): 1006-1015
- [4] 李有强. 推进甘肃现代种业发展的思路与措施. *中国种业*, 2021(1): 1-4
- [5] 王向峰,才卓. 中国种业科技创新的智能时代:“玉米育种4.0”. *玉米科学*, 2019, 27(1): 1-9
- [6] 宋伟彬,赵海铭,赖锦盛. 2019年中国玉米生物学研究进展. *玉米科学*, 2020, 28(3): 15-30
- [7] 李穆,孟令聪,郑淑波,周德龙,刘宏伟,王敏,何欢,路明. “十二五”

以来我国玉米分子育种研究进展. 玉米科学, 2019, 27 (6): 1-6

- [8] Yan J B, Yang X H, Shah T, Sánchez-Villeda H, Li J S, Warburton M, Zhou Y, Crouch J H, Xu Y B. High-throughput SNP genotyping with the GoldenGate assay in maize. *Molecular Breeding*, 2010, 25: 441-451
- [9] 周龙华, 蒋立. SNP 分子标记及其在甘蓝型油菜中应用的研究进展. *农业生物技术学报*, 2016, 24 (10): 1608-1616
- [10] Mammadov J A, Chen W, Ren R, Pai R, Marchione W, Yalçin F, Witsenboer H, Greene T W, Thompson S A, Kumpatla S P. Development of highly polymorphic SNP markers from the complexity reduced portion of maize [*Zea mays* L.] genome for use in marker-assisted breeding. *Theoretical and Applied Genetics*, 2010, 121: 577-588
- [11] 王文斌, 徐淑兔, 高杰, 张兴华, 郭东伟, 李向阳, 薛吉全. 基于 SNP 标记的玉米自交系遗传多样性分析. *玉米科学*, 2015, 23 (2): 41-45
- [12] 赵久然, 李春辉, 宋伟, 王元东, 张如养, 王继东, 王风格, 田红丽, 王蕊. 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): 626-634
- [13] 吴金凤, 宋伟, 王蕊, 田红丽, 李雪, 王风格, 赵久然, 蔚荣海. 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
- [14] 姜思奇, 郭瑞, 张放, 赵艳贺, 时免免, 邓丽霞, 崔震海, 阮燕晔. 利用核心 SNP 标记划分辽宁省常用玉米自交系杂种优势群的研究. *玉米科学*, 2018, 26 (4): 17-23
- [15] 卢媛, 韩晴, 艾为大, 施标, 王义发, 潘春丹, 沈雪芳. 基于 SNP 标记的糯玉米种质资源遗传多样性分析. *玉米科学*, 2020, 28 (3): 44-51
- [16] 高星, 李永祥, 杨明涛, 李琲琲, 李春辉, 宋燕春, 张登峰, 王天宇, 黎裕, 石云素. 基于高密度遗传图谱的玉米籽粒灌浆特性遗传解析. *中国农业科学*, 2017, 50 (21): 4087-4099
- [17] 赖国荣, 张静, 刘函, 董小妹, 赖锦盛, 黄亚群, 陈景堂, 郭晋杰. 基于 GBS 构建玉米高密度遗传图谱及营养品质性状 QTL 定位. *农业生物技术学报*, 2017, 25 (9): 1400-1410
- [18] 秦伟伟, 李永祥, 李春辉, 陈林, 吴迅, 白娜, 石云素, 宋燕春. 基于高密度遗传图谱的玉米籽粒性状 QTL 定位. *作物学报*, 2015, 41 (10): 1510-1518
- [19] 许理文, 段民孝, 田红丽, 宋伟, 王风格, 赵久然, 刘保林, 王守才. 基于 SNP 标记的玉米容重 QTL 分析. *玉米科学*, 2015, 23 (5): 21-25
- [20] 郑德波, 杨小红, 李建生, 严建兵, 张士龙, 贺正华, 黄益勤. 基于 SNP 标记的玉米株高及穗位高 QTL 定位. *作物学报*, 2013, 39 (3): 549-556
- [21] 张春宵, 李淑芳, 金峰学, 刘文平, 李万军, 刘杰, 李晓辉. 用 3 种方法定位玉米萌发期和苗期的耐盐和耐碱相关性状 QTL. *作物学报*, 2019, 45 (4): 508-521
- [22] 王辉, 梁前进, 胡小娇, 李坤, 黄长玲, 王琪, 何文昭, 王红武, 刘志芳. 不同密度下玉米穗部性状的 QTL 分析. *作物学报*, 2016, 42 (11): 1592-1600
- [23] Buermans H P J, den Dunnen J T. Next generation sequencing technology : advances and applications. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2014, 1842 (10): 1392-1941
- [24] Xiao Y, Liu H, Wu L, Warburton M, Yan J. Genome-wide association studies in maize : praise and stargaze. *Molecular Plant*, 2017, 10: 359-374
- [25] 吴律, 代力强, 董青松, 施婷婷, 王丕武. 玉米行粒数的全基因组关联分析. *作物学报*, 2017, 43 (10): 1559-1564
- [26] 张焕欣, 翁建峰, 张晓聪, 刘昌林, 雍洪军, 郝转芳, 李新海. 玉米穗行数全基因组关联分析. *作物学报*, 2014, 40 (1): 1-6
- [27] 邵晓宇, 宋希云, 潘顺祥, 赵美爱. 玉米穗粗性状的全基因组关联分析及 QTL 元分析. *植物生理学报*, 2017, 53 (12): 2091-2102
- [28] 李凯, 张祥, 管中荣, 沈亚欧, 潘光堂. 玉米株高和穗位高的全基因组关联分析. *玉米科学*, 2017, 25 (6): 1-7
- [29] 滕守振, 汪海, 梁海生, 辛红佳, 李圣彦, 郎志宏. 玉米叶片叶绿素含量的全基因组关联性分析. *生物技术通报*, 2017, 33 (4): 98-103
- [30] 彭勃, 赵晓雷, 王奕, 袁文姬, 李春辉, 李永祥, 张登峰, 石云素, 宋燕春, 王天宇. 玉米叶向值的全基因组关联分析. *作物学报*, 2020, 46 (6): 819-831
- [31] 田润苗, 张雪海, 汤继华, 白光红, 付志远. 玉米种子萌发相关性状的全基因组关联分析. *作物学报*, 2018, 44 (5): 672-685
- [32] 董青松, 代力强, 吴律, 施婷婷, 王丕武. 玉米籽粒脂肪含量的全基因组关联分析. *玉米科学*, 2018, 26 (2): 58-63
- [33] 刘昌林. 玉米抗粗缩病全基因组关联与连锁分析. 北京: 中国农业科学院, 2013
- [34] 王明. 玉米抗丝黑穗病的全基因组关联分析. 武汉: 华中农业大学, 2012
- [35] 张雪海. 玉米耐旱全基因组关联分析及基于高通量表型组的动态生长遗传结构解析. 武汉: 华中农业大学, 2016
- [36] 王炳才. 玉米苗期耐盐性的全基因组关联分析. 武汉: 华中农业大学, 2017
- [37] 张力天. 玉米苗期耐低磷相关性状全基因组关联分析. 成都: 四川农业大学, 2014
- [38] 刘春青, 景琦. 我国玉米种业市场规模变化趋势分析. *中国种业*, 2020 (12): 4-7
- [39] 李雪, 田红丽, 王风格, 赵久然, 李云伏, 王蕊, 扬扬, 易红梅. SSR 和 SNP 两种标记技术在玉米品种真实性鉴定中的比较分析. *分子植物育种*, 2014, 12 (5): 1000-1004
- [40] 田红丽, 扬扬, 王璐, 王蕊, 易红梅, 许理文, 张云龙, 葛建镭, 王风格, 赵久然. 兼容型 maizeSNP384 标记筛选与玉米杂交种 DNA 指纹图谱构建. *中国农业科学*, 2020, 46 (7): 1006-1015
- [41] 吴明生, 赵海艳, 宋歌, 律宝春. 利用 TaqMan-SNP 基因分型技术快速鉴别玉米杂交种与其亲本. *种子*, 2015, 34 (1): 117-119
- [42] 姚宗泽, 李阳, 郭宗娟, 李军萍, 聂贵芳, 赵自仙, 李云波. 玉米品种“家佳荣 2 号”杂交种子纯度的 SNP 分子鉴定. *西南农业学报*, 2019, 32 (11): 2486-2491
- [43] 李巧英. SNP 分子标记技术在农作物种子检测中的研究与应用. *中国种业*, 2019 (11): 16-17

(收稿日期: 2021-01-22)