

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2021.03074

基于农艺及品质性状与 SSR 标记的青贮玉米品种遗传多样性分析

刘少荣^{1,2,**} 杨 扬^{1,**} 田红丽^{1,**} 易红梅¹ 王 璐¹ 康定明²
范亚明¹ 任 洁¹ 江 彬¹ 葛建镭¹ 成广雷^{1,*} 王凤格^{1,*}

¹ 北京市农林科学院玉米研究中心 / 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, 北京 100193

摘 要: 青贮玉米是优质饲料作物, 对畜牧业的大力发展具有重要意义。为了探究青贮玉米品种的遗传多样性现状, 以 141 个通过国家及各省区(市)审定的青贮玉米品种为材料, 基于农艺及品质性状与 SSR 标记从生态区角度对供试品种进行遗传多样性分析。结果表明, 13 个农艺及品质性状的变异系数区间为 10.30%~30.31%, 平均为 16.01%; 多样性指数区间为 0.50~0.71, 平均为 0.60。农艺及品质性状聚类将供试品种划分为 5 个组, 同一生态区来源的品种多归为同一组。40 个 SSR 标记共检测到 482 个等位变异, 平均每个位点 12.05 个, 多态性信息含量(polymorphism information content, PIC)变幅为 0.27~0.89, 平均为 0.68。南方品种大部分聚集在同一组, 与东华北、黄淮海和西北品种间的遗传距离均较远, 分别为 0.054、0.047 和 0.046。两种方法分析结果具有共性, 但也存在一定的差异, 南方品种在农艺及品质性状和 SSR 标记上均具有特异性, 西北和黄淮海品种仅在农艺及品质性状具有特异性。将两种方法相结合, 能更全面、准确的了解青贮玉米品种的遗传背景, 为不同生态区新品种选育及推广种植提供依据和参考。

关键词: 青贮玉米; 审定品种; 遗传多样性; SSR 标记; 农艺及品质性状

Genetic diversity analysis of silage corn varieties based on agronomic and quality traits and SSR markers

LIU Shao-Rong^{1,2,**}, YANG Yang^{1,**}, TIAN Hong-Li^{1,**}, YI Hong-Mei¹, WANG Lu¹, KANG Ding-Ming²,
FANG Ya-Ming¹, REN Jie¹, JIANG Bin¹, GE Jian-Rong¹, CHENG Guang-Lei^{1,*}, and WANG Feng-Ge^{1,*}

¹ Maize Research Center, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences / Beijing Key Laboratory of Maize DNA Fingerprinting and Molecular Breeding, Beijing 100097, China; ² College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100193, China

Abstract: Silage corn is a high-quality feed crop, which is of great significance to the vigorous development of animal husbandry. In order to explore the current status of genetic diversity of silage corn varieties, 141 silage corn varieties approved by national or provincial (municipal) were used as materials. From the perspective of ecological regions, the genetic diversity of the test varieties was analyzed by agronomic and quality traits and SSR markers. The results showed that the coefficient of variation of the 13 agronomic and quality traits ranged from 10.30% to 30.31%, with an average of 16.01%; the diversity index ranged from 0.50 to 0.71, with an average of 0.60. According to the cluster analysis of tested varieties based on agronomic and quality traits, all the varieties were divided into five groups, and most of them from the same ecological region were classified into the same group. A total of 482 allelic variants were detected for 40 SSR markers, with an average of 12.05 per locus, and the polymorphic information content (PIC) ranged from 0.27 to 0.89, with an average of 0.68. The genetic distances between South varieties and Northeast, Huang-Huai-Hai, or Northwest varieties are relatively far with a value of 0.054, 0.047, and 0.046, respectively, and most of South varieties are clustered in the same group. The analysis results of the two methods show both commonalities and differences. South varieties show specificity in both agronomic and quality traits and SSR markers, while Northwest and Huang-Huai-Hai varieties show specificity only in agronomic and quality traits. Combination of the two methods can thus help us understand the genetic

本研究由“十三五”国家重点研发计划项目(2017YFD0102005)资助。

This study was supported by the 13th Five-Year National Key Research and Development Program of China (2017YFD0102005).

* 通信作者(Corresponding authors): 成广雷, E-mail: cglseed@163.com; 王凤格, E-mail: gege0106@163.com

** 同等贡献(Contributed equally to this work)

第一作者联系方式: 刘少荣, E-mail: liushaorong2018@163.com; 杨扬, E-mail: caurwx@163.com; 田红丽, E-mail: tianhongli9963@163.com

Received (收稿日期): 2020-12-17; Accepted (接受日期): 2021-04-14; Published online (网络出版日期): 2021-05-26.

URL: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1809.S.20210525.1140.002.html>

background of silage corn varieties more comprehensively and accurately, and provide basis and reference for the selection and promotion of new varieties in different ecological regions.

Keywords: silage corn; approved varieties; genetic diversity; SSR marker; agronomic and quality traits

玉米是中国重要的粮饲兼用作物, 2019 年种植面积 4128 万公顷^[1], 超过稻谷和小麦, 位居农作物第一。随着中国粮改饲产业结构调整及畜牧业发展, 饲用玉米, 特别是青贮玉米的种植面积在逐步扩大, 为畜牧业供给充足的优质饲料^[2]。青贮玉米作为优质饲料, 具有产量高、品质好、饲用价值高等特点, 已在畜牧业发展、生态环境保护、农业增收中占有不可或缺的地位, 大力开展青贮玉米的品种选育是解决当下畜牧业迅速发展带来的饲料缺乏问题的有效途径^[3]。然而中国青贮玉米研究起步较晚, 虽然审定了不少品种, 但对这些品种的遗传来源并不清楚, 所以亟需摸清我国青贮玉米品种遗传背景现状。近年来, 对青贮玉米的研究主要集中在高产优质^[4-5]、生态适应性^[6-8]和配套栽培技术^[9-10]等方面, 关于青贮玉米遗传多样性分析的报道不多。

遗传多样性分析是作物种质资源研究的一种重要手段, 旨在了解和掌握不同品种之间的遗传差异, 为推动植物育种与遗传改良奠定基础。遗传多样性分析可以从形态学性状和分子标记 2 个方面进行, 形态学性状是从植物的表型性状来区分品种差异, 分子标记是通过遗传物质反映品种间遗传变异程度^[11]。迄今为止, 形态学性状已被广泛应用到玉米^[12]、谷子^[13]、水稻^[14]、马铃薯^[15]等农作物的遗传多样性研究中。在利用形态学性状对青贮玉米品种进行遗传多样性研究方面, 柴华^[16]用 10 个形态学标记将 36 个青贮玉米自交系划分为五大类, 为选育优质青贮玉米品种提供依据; 吴建忠等^[17]基于 22 个品质性状对 14 个青贮玉米品种进行遗传变异分析, 发现脂

肪、木质素和淀粉的变异系数较大, 分别为 20%、19%和 16%, 为青贮玉米的品质改良提供了参考。SSR 标记具有检测简便快捷、多态性高和重复性好等优点, 被迅速推广应用。李齐向等^[18]采用 23 对 SSR 标记对 4 个代表国内主要杂种优势群的普通玉米品种和 65 个青贮玉米自交系进行聚类分析, 将大部分未知系谱来源的青贮玉米划分为 Lancaster 群、旅大红骨类群、塘四平头群和 Reid 群, 初步明确了其系谱来源。

国内外关于玉米遗传多样性的研究, 主要聚集在种质资源多样性评价、杂种优势群划分等方面, 而针对青贮玉米品种遗传多样性的评估鲜有报道。本研究对 141 个来源于 2002—2020 年国家及各省区(市)审定的青贮玉米品种, 基于其 13 个农艺及品质性状和 40 个 SSR 标记, 并结合品种来源的生态区, 进行了遗传多样性分析, 以了解各生态区青贮玉米品种的农艺、品质性状及遗传分化特点, 为青贮玉米的新品种选育及推广种植提供理论依据和参考。

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料选自 2002—2020 年通过国家及各省区(市)审定的 141 个青贮玉米杂交种。参照 2016 年国家青贮玉米品种区域试验的生态组别划分, 并结合播种区域、播种时间、品种类型和选育单位等因素将供试品种划分为 4 个生态区, 分别为东华北区、黄淮海区、西北区和南方区, 详细品种审定来源及生态区分布见表 1。农艺及品质分析材料: 在 141 个

表 1 样品信息统计
Table 1 Sample information statistics

生态区 Ecological region	审定品种来源及数量 Source and number of varieties approved	总计 Total
东华北 Northeast	国审玉 11 个, 北京 14 个, 黑龙江 22 个 National approved corn 11, Beijing 14, Heilongjiang 22	47
黄淮海 Huang-Huai-Hai	国审玉 4 个, 河北 14 个, 山西 3 个, 陕西 6 个 National approved corn 4, Hebei 14, Shanxi 3, Shaanxi 6	27
西北 Northwest	国审玉 4 个, 内蒙古 21 个, 新疆 14 个, 甘肃 2 个, 宁夏 6 个 National approved corn 4, Inner Mongolia 21, Xinjiang 14, Gansu 2, Ningxia 6	47
南方 South	国审玉 5 个, 四川 8 个, 贵州 2 个, 上海 1 个, 福建 3 个, 云南 1 个 National approved corn 5, Sichuan 8, Guizhou 2, Shanghai 1, Fujian 3, Yunnan 1	20

青贮玉米品种中, 有 19 个品种具有多个生态区或年份审定来源, 其中 13 个品种具有 2 个审定来源, 3 个品种具有 3 个审定来源, 3 个品种具有 4 个审定来源, 即青贮玉米样品由 141 个扩增到 169 个。SSR 标记分析材料: 包括 141 个青贮玉米品种和 5 个普通玉米品种(德美亚 1 号、郑单 958、苏玉 29、先玉 335、农大 108)。从试验材料中选用 5 个国家或省区(市)级青贮玉米区试对照品种(雅玉青贮 8 号、雅玉青贮 26、大京九 26、京九青贮 16、桂青贮 1 号)、2 个推广面积较大的粮饲兼用品种(中玉 335、京科 968)和 5 个国家普通玉米区试对照品种作为参考对照。

1.2 试验方法

1.2.1 农艺及品质性状 农艺及品质数据均来自于国家及各省区(市)青贮玉米审定公告, 其中包括 13 个性状, 分别为生育期、株高、穗位高、绿叶数、穗长、穗行数、粗蛋白、中性洗涤纤维、酸性洗涤纤维、淀粉、干重、鲜重和种植密度。凯氏定氮法测定粗蛋白含量, 旋光法测定淀粉含量, Van Soest 法测定中性洗涤纤维和酸性洗涤纤维含量, 具体步骤参见 GB/T25882-2010^[19], 其他性状测定方法参见审定公告。

1.2.2 SSR 标记 采用的 40 对 SSR 引物, 均为玉米品种鉴定行业标准中发布的引物, 具有多态性好, 均匀分布在玉米的 10 条染色体上的特征, 具体引物名称、序列及片段长度等信息参考已发表的文献^[20-21]。

1.2.3 DNA 制备和 SSR 基因分型 采用改良 CTAB 法^[22]提取供试材料基因组 DNA, DNA 浓度和质量用紫外分光光度计(Nanodrop 2000)测定, 根据测量值调节工作液浓度。SSR-PCR 体系: 反应液总体积为 20 μL , 包括 $2\times\text{Taq Plus Master Mix}$ 10 μL , ddH₂O 7.75 μL , 引物 0.25 μL 和 DNA 样品 2 μL 。PCR 程序: 预变性 95 $^{\circ}\text{C}$ 5 min; 变性 94 $^{\circ}\text{C}$ 40 s, 退火 60 $^{\circ}\text{C}$ 35 s, 延伸 72 $^{\circ}\text{C}$ 45 s, 35 个循环; 延伸 72 $^{\circ}\text{C}$ 10 min; 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。PCR 产物检测: 采用 10 重 PCR 产物电泳检测的方法。向 96 孔电泳板的单个孔中分别加入 2 μL 10 重 PCR 的混合产物、10 μL 含有 1% GS3730-500 分子量内标的甲酰胺。将上述混合样品放入 PCR 仪中 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 5 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存 10 min, 2000 转 min^{-1} 离心 30 s 后, 于 ABI 3730XL DNA 分析仪上进行荧光毛细管电泳。预电泳时间 2 min, 15 kV, 电泳时间 30 min, 15 kV, 电泳原始数据由 Data Collection 软件收集, 用 SSR Analyser (v1.2.4)指纹分析器^[23]对电泳数据基因分型分析。

1.3 数据统计与分析

采用 SPSS 25 软件对农艺及品质数据进行平均值、标准差和极值的统计, 并进行方差分析; 利用 Microsoft Excel 2016 计算变异系数和 Simpson 多样性指数。基于 R 语言 scale 函数对农艺及品质数据标准化处理, 再利用 dist 函数, 选择“euclidean”方法计算出品种间的欧式距离。将上述品种间的欧式距离矩阵导入 PowerMarker V3.25^[24]软件得到农艺及品质性状 NJ (Neighbor-Joining) 聚类结果, 结合 MEGA7^[25] 软件绘制聚类图。采用 PowerMarker V3.25 软件对 SSR 基因型数据进行分析, 计算不同生态区品种的等位变异数、基因型数、基因多样性、杂合度和 PIC 值。同时基于 Nei's (1973) 方法计算品种间的遗传距离, 得到 SSR 标记 NJ 聚类结果, 结合 MEGA7 软件绘制聚类图。基于欧式距离矩阵和遗传距离矩阵, 选用多变量统计分析软件 MVSP V3.22^[26] 对品种进行主成分分析并绘制 PCA 图。

2 结果与分析

2.1 农艺及品质性状遗传多样性分析

对 169 个青贮玉米样品的 13 个农艺及品质性状进行了描述性统计(表 2), 各性状存在不同程度的变异, 变异系数分布在 10.30%~30.31% 之间, 平均为 16.01%, 其中干重和酸性洗涤纤维的变异系数超过 20%, 其他性状变异系数在 10%~20% 之间。Simpson 多样性指数的变化区间在 0.50~0.71, 平均为 0.60, 穗长多样性指数最高, 粗蛋白多样性指数最低。在青贮玉米品质性状中, 粗蛋白和酸性洗涤纤维表现出较丰富的遗传多样性。

基于 13 个农艺及品质性状对供试品种进行聚类分析, 从图 1-A 可知, 169 个青贮玉米样品可被划分为 5 个组, 大部分样品聚集在 X3、X4 组。X1 组包括以桂青贮 1 号为代表的 19 个样品, X2 组包括以中玉 335 为代表的 13 个样品, X3 组包括以京九青贮 16、京科 968 及雅玉青贮 8 号为代表的 72 个样品, X4 组包括以大京九 26 为代表的 45 个样品, X5 组包括以雅玉青贮 26 为代表的 20 个样品。对农艺及品质性状聚类组群进行主成分分析(图 1-B), 根据 5 个聚类组群的具体分布情况将坐标图划分为 I、II、III、IV 四个区域, 从整体上来看, 各组群分布均相对集中, X1、X5 组分布在 I、III 区, 但主要集中在 III 区, X2 组主要分布在 I 区, X3 组主要分布在 I、II 区, X4

表 2 169 个样品的农艺及品质性状特征
Table 2 Agronomic and quality characteristics of 169 samples

农艺及品质性状	平均值±标准差	变异幅度	变异系数	Simpson 指数
Agronomic and quality traits	Mean±SD	Range	Coefficient of variation (%)	Simpson's index
生育期 Growth period (d)	116.09±13.56	82.9–141.5	11.68	0.64
株高 Plant height (cm)	305.34±31.45	228–400	10.30	0.59
穗位高 Ear height (cm)	138.85±24.26	89.00–215.03	17.47	0.52
绿叶数 Green leaf number (piece)	15.25±2.89	8.80–22.02	18.95	0.56
穗长 Ear length (cm)	22.10±2.38	16.7–27.0	10.77	0.71
穗行数 Ear rows (row)	16.60±1.76	12.5–21.0	10.60	0.63
粗蛋白 Crude protein (%)	8.73±1.47	6.61–15.91	16.84	0.50
中性洗涤纤维 NDF (%)	45.87±6.64	26.36–62.34	14.48	0.64
酸性洗涤纤维 ADF (%)	20.94±4.88	12.46–33.90	23.30	0.61
淀粉 Starch (%)	30.81±3.51	22.07–37.79	11.39	0.55
干重 Dry weight (kg hm ⁻²)	21,848.09±6622.33	11,238.00–39,082.65	30.31	0.66
鲜重 Wet weight (kg hm ⁻²)	80,071.25±12,994.96	50,290.5–108,431.1	16.23	0.63
种植密度 Planting density (plant hm ⁻²)	66,553.56±10,532.54	42,000–120,000	15.83	0.53

NDF: neutral detergent fiber; ADF: acid detergent fiber.

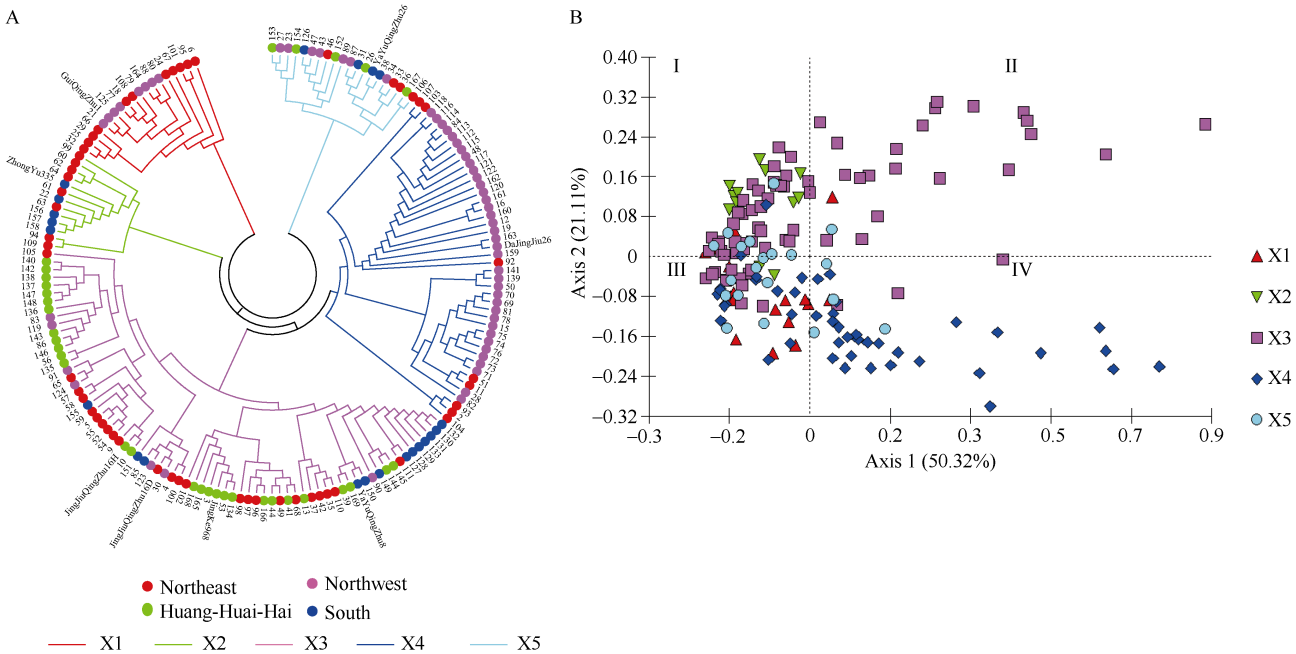


图 1 169 个青贮玉米样品的农艺及品质性状聚类图及聚类组群主成分图
Fig. 1 Cluster diagram and principal component diagram of 169 silage corn samples grouped by agronomic and quality traits
A: 169 个青贮玉米样品的 NJ 聚类图。在该图中, 红色、绿色、紫色、蓝色小圆分别代表东华北、黄淮海、西北和南方品种, 红色、绿色、紫色、蓝色、天蓝色线条分别代表 X1、X2、X3、X4 和 X5 聚类组群。B: 聚类组群主成分图。在该图中, 红色、绿色、紫色、蓝色、天蓝色分别代表 X1、X2、X3、X4 和 X5 聚类组群。
A: NJ cluster diagram of 169 silage corn samples. In this figure, the red, green, purple, and blue circles represent the Northeast, Huang-Huai-Hai, Northwest, and South varieties, respectively, and the red, green, purple, blue, and sky blue lines represent X1, X2, X3, X4, and X5 cluster group. B: Principal component diagram of cluster group. In this figure, the red, green, purple, blue, and sky blue represent X1, X2, X3, X4, and X5 cluster group.

组分布在 III、IV 区。各组群坐标分布结果与聚类分
组结果基本一致。

2.2 SSR 标记遗传多样性分析

40 对 SSR 引物在 141 个青贮玉米品种中共检测到
482 个等位变异, 每对引物等位变异数量范围为 3~27

个, 平均为 12.05 个; 基因多样性的变化范围为 0.29~
0.90, 平均为 0.71; 杂合率的变化范围为 0.27~0.94, 平均
为 0.68; PIC 的变化区间为 0.27~0.88, 平均为 0.68。

以普通玉米为参考对照, 分析青贮玉米品种的
遗传背景, 对 141 个青贮玉米品种和 5 个普通玉米

品种进行聚类分析(图 2-A), 供试品种被划分为 5 个组。S1 组包括以雅玉青贮 28、雅玉青贮 8 号和德美亚 1 号为代表的 33 个品种, S2 组包括以大京九 26 为代表的 24 个品种, S3 组包括以京科 968 和郑单 958 为代表的 14 个品种, S4 组包括以京九青贮 26、苏玉 29 和先玉 335 为代表的 62 个品种, S5 组包括以中玉 335 和农大 108 为代表的 13 个品种。SSR 标

记聚类组群的主成分分析显示, 虽然存在极少数的离散品种, 但整体上各组群分布相对集中(图 2-B), 基本上各自占据相应的位置。S1、S3 组分布均主要集中在 II 区, S2、S5 组在 III 和 IV 区均有分布, S4 组分布在 I、II、III 区, 但主要聚集在 I、III 区。各组群坐标分布结果与聚类分组结果一致, 且两者分析结果可以相互佐证。

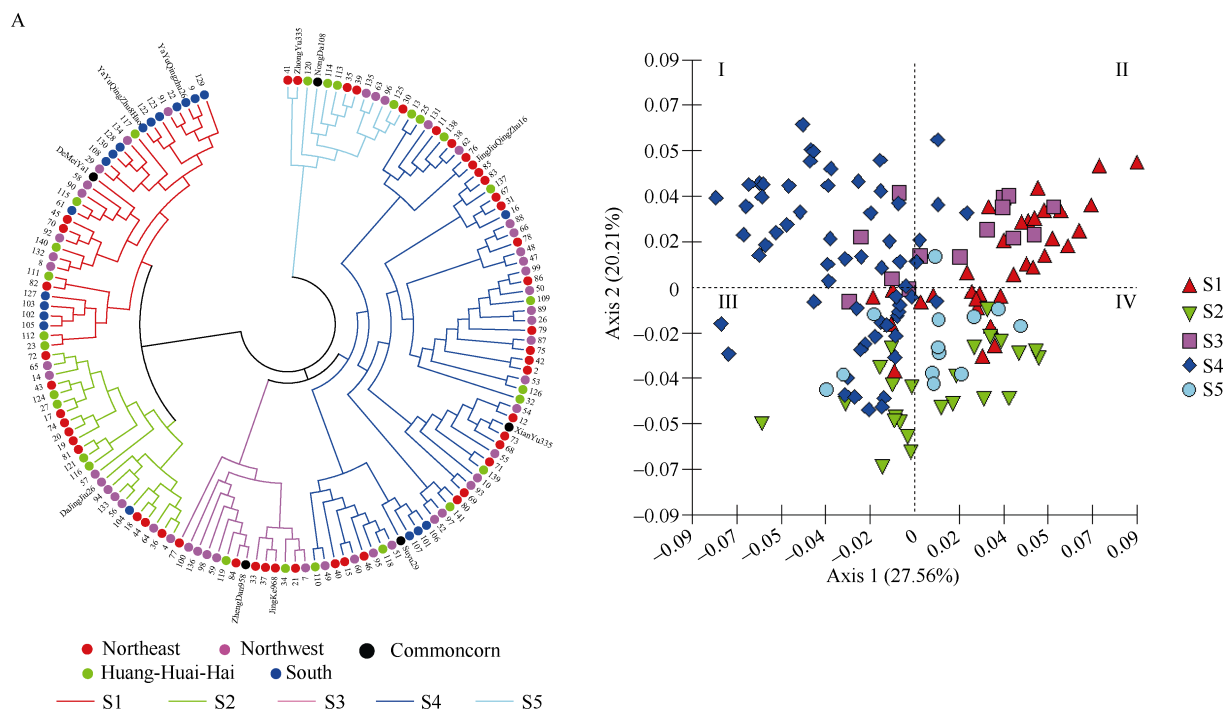


图 2 141 个青贮玉米品种和 5 个普通玉米品种的 SSR 标记遗传聚类图及聚类组群主成分图

Fig. 2 Cluster diagram and principal component diagram of 141 silage corn varieties and 5 common corn varieties grouped by SSR marker

A: 141 个青贮玉米品种和 5 个普通玉米品种的 NJ 遗传聚类图。在该图中, 红色、绿色、紫色、蓝色小圆分别代表东北、黄淮海、西北和南方品种, 红色、绿色、紫色、蓝色、天蓝色线条分别代表 S1、S2、S3、S4 和 S5 聚类组群。B: 聚类组群主成分图。在该图中, 红色、绿色、紫色、蓝色、天蓝色分别代表 S1、S2、S3、S4 和 S5 聚类组群。

A: NJ genetic clustering of 141 silage corn varieties and 5 common corn varieties. In this figure, the red, green, purple, and blue circles represent the Northeast, Huang-Huai-Hai, Northwest, and South varieties, respectively, and the red, green, purple, blue, and sky blue lines represent S1, S2, S3, S4, and S5 cluster group. B: Principal component diagram of cluster group. In this figure, the red, green, purple, blue, and sky blue represent S1, S2, S3, S4, and S5 cluster group.

2.3 不同生态区品种遗传多样性分析

为了探究各生态区品种间是否存在遗传差异, 对不同生态区品种进行方差分析及遗传多样性比较(表 3 和表 4)。结果表明, 东北品种各性状相对居中, 基因多样性、杂合度和 PIC 均最低, 分别为 0.68、0.65 和 0.64; 黄淮海品种生育期最短, 达到显著水平, 等位变异数最低, 为 7.40; 西北品种生育期、穗位高、干重和鲜重最高, 且均达到显著水平, 等位变异数和基因型数均最高, 分别为 9.13 和 16.30; 南方品种穗长、穗行数和鲜重最低, 粗蛋白最高, 且

均达到显著水平, 基因型数最低, 为 10.30, 基因多样性、杂合度和 PIC 均为最大, 分别为 0.71、0.72 和 0.68。结果表明, 西北和南方品种表现出丰富的遗传多样性, 出现不同程度的性状分化, 产生了具有地方性特征的性状特点。

分析不同生态区品种在两类方法的聚类分布情况。由农艺及品质性状聚类可知(图 2-A), 有 3 个生态区的大多数品种聚在相同的组群, 其中 37 个西北样品(62.7%)聚于 X4 组, 28 个黄淮海样品(84.8%)和 13 个南方样品(59.1%)聚于 X3 组, 但东北样品分

表 3 4 个生态区品种农艺及品质性状的方差分析
Table 3 Analysis of variance of agronomic and quality traits of varieties from four ecological regions

农艺及品质性状 Agronomic and quality traits	东华北 Northeast	黄淮海 Huang-Huai-Hai	西北 Northwest	南方 South
生育期 Growth period (day)	116.37±9.06 B	101.72±8.82 C	126.77±8.52 A	110.37±17.39 B
株高 Plant height (cm)	309.55±19.65 A	287.15±30.13 B	320.26±31.20 A	281.43±32.28 B
穗位高 Ear height (cm)	132.34±16.32 B	121.18±15.76 C	158.86±22.38 A	125.51±17.76 BC
绿叶数 Green leaf number (piece)	14.59±2.20 A	16.53±1.75 A	15.36±3.63 A	14.94±2.85 A
穗长 Ear length (cm)	23.66±1.96 A	22.60±1.85 AB	21.56±2.17 AB	19.27±1.63 C
穗行数 Ear rows (row)	16.83±1.51 A	16.42±1.56 A	16.94±1.77 A	14.57±1.29 B
粗蛋白 Crude protein (%)	8.15±0.72 B	8.91±1.20 B	8.70±0.77 B	10.10±2.80 A
中性洗涤纤维 NDF (%)	44.83±4.23 A	47.42±9.43 A	44.52±5.43 A	47.69±6.65 A
酸性洗涤纤维 ADF (%)	19.09±2.45 C	22.53±6.47 AB	20.02±4.92 BC	23.39±3.74 A
淀粉 Starch (%)	31.39±3.41 A	33.41±2.53 A	28.99±2.81 A	31.38±5.63 A
干重 Dry weight (kg hm ⁻²)	18,547.24±2435.26 B	17,536.17±2650.54 B	29,537.64±5435.77 A	17,759.3±3242.5 B
鲜重 Wet weight (kg hm ⁻²)	74,212.27±9542.69 B	74,436.46±7081.53 B	87,674.94±10583.30 A	62,630.35±10905.50 C
种植密度 Planting density (plant hm ⁻²)	63,409.06±6881.68 B	70,340.91±16,516.78 A	69,877.12±8121.04 A	59,500.00±5916.61 B

表格中的数据均为平均值±标准差。
NDF: neutral detergent fiber; ADF: acid detergent fiber. Value is mean ± SD.

表 4 4 个生态区品种间的遗传多样性比较
Table 4 Comparison of genetic diversity among varieties from four ecological regions

生态区 Ecological region	样品数量 Sample size	等位变异数 Number of alleles	基因型数 Genotype number	基因多样性 Gene diversity	杂合度 Heterozygosity	PIC 值 PIC index
东华北 Northeast	47	7.65	13.55	0.68	0.65	0.64
黄淮海 Huang-Huai-Hai	27	7.40	11.13	0.69	0.69	0.64
西北 Northwest	47	9.13	16.30	0.71	0.69	0.68
南方 South	20	7.43	10.03	0.71	0.72	0.68

布相对离散, 24 个样品(43.6%)聚于 X3 组, 11 个样品(20%)聚于 X1 组。各生态区品种之间的遗传距离结果表明, 南方品种与东华北、黄淮海和西北品种遗传距离较大, 分别为 0.054、0.047、0.046, 而东华北、黄淮海和西北品种两两间遗传距离较小, 均在 0.01 左右。由 SSR 标记聚类可知(图 2-A), 15 个南方品种(75%)聚于 S1 组, 东华北、黄淮海和西北品种主要聚于 S4 组, 分别为 23 个(48.9%)、11 个(40.7%)和 22 个(46.8%)。比较 2 种聚类结果发现, 两者都能将南方品种聚集在一起, 但农艺及品质性状还能将黄淮海、西北品种聚集在一起。

3 讨论

3.1 青贮玉米杂交品种的品质性状评价及遗传多样性分析

粗蛋白、酸性洗涤纤维、中性洗涤纤维和淀粉是反映青贮玉米品质的重要指标。粗蛋白提供动物的蛋白质和氮化物两大营养物质, 其含量越高, 青

贮玉米品质越好。中性洗涤纤维和酸洗洗涤纤维是评价动物消化率的重要指标, 其含量越低, 动物可消化的干物质越多。根据 2010 年国家颁布的青贮玉米品质分级标准^[19], 在本研究 2002—2020 年通过国家及各省区(市)审定的 169 个青贮玉米样品数据中, 136 个样品达到粗蛋白国家一级标准(≥7%), 56 个样品达到中性洗涤纤维国家一级标准(≤45%), 86 个样品达到酸性洗涤纤维国家一级标准(≤23%), 40 个样品达到淀粉含量国家一级标准(≥25%), 且品种质量呈现为逐年提高的趋势。以上表明育种家在青贮玉米的研究方面得到深度和广度拓展, 更加注重饲喂效果, 把为牲畜养殖提供更多能量作为出发, 使选育品种的目标更明确, 体现中国培育出的青贮玉米新品种质量越来越好^[27]。

青贮玉米品种遗传多样性评价可为新品种选育、品种生产应用提供重要参考。在供试品种的产量及品质性状分析中, 发现干重、粗蛋白和酸性洗涤纤维遗传多样性较丰富。本文研究结果与吴建忠

等^[17]、吴欣等^[28]相比较,干重、粗蛋白和酸性洗涤纤维的变异系数均高出许多,这可能与品种数目及种植区域差异大有关。以上研究表明青贮玉米品种的干重、粗蛋白和酸性洗涤纤维存在较大的改良空间,可为以后优质品种选育提供方向。本研究在王凤格等^[29]分析 32 个青贮玉米品种遗传多样性的基础上将样品数增至 141 个,发现等位变异数、基因多样性、PIC、杂合率普遍升高,但与易红梅等^[30]研究参加 2014—2019 年国家区试的 127 个青贮玉米品种结果基本一致,这可能受样品总数大小的影响。

3.2 不同生态区品种遗传多样性

从生态区角度来对青贮玉米进行遗传多样性分析,能更精准的了解中国各种植区域品种的遗传分化特点。根据方差分析及遗传多样性结果表明,西北和南方品种基因多样性、杂合度、PIC 指标略高于东华北和黄淮海品种,显现出丰富的遗传多样性,且出现了明显的性状分化现象。分析其可能原因,有如下 3 点: (1) 生态环境差异。不同生态区的地形、气候、土壤条件等因素影响玉米品种形态性状表达。(2) 生态区地理跨度及需求区域差异。东华北和黄淮海品种种植区域跨度较小,而西北和南方品种种植区域跨度较大,且青贮玉米主要需求区域在西北和南方地区,两地区品种类型多,故遗传多样性较高。(3) 不同生态区畜牧结构及生产要求不同。西北生态区畜牧业发展迅速,饲料相对缺乏,对青贮玉米品种的产量要求较高,故西北品种生育期及生物产量等性状指标高,产生性状分化现象。

农艺及品质性状聚类显示,同一生态区的大部分品种聚集在一起。分析其可能原因为不同生态区的育种目标及生产需求不同,即不同生态区形成了适应当地需求的育种模式,对目标性状存在定向选择,导致品种出现一定的性状分化。除此之外,该结果体现了我国青贮玉米的品种选育正在逐步出现针对特点区域、生态区进行品种改良的情况。SSR 标记聚类显示,15 个南方品种(75%)聚于 S1 组,而其他组群中各生态区品种掺杂,单生态区品种无明显聚集现象,结合不同生态区之间的遗传距离,表明仅南方品种有倾向于聚在一起。分子聚类结果说明,东华北、西北和黄淮海生态区品种基因来源复杂,关键种质资源接近,不同品种间存在基因交流,造成亲缘关系接近、遗传差异较小。同时,南方地区品种与其他生态区品种的遗传分化现象在一定程度

上反映出青贮玉米亲本具有区域选择差异。比较两种聚类分析结果发现,两者均能将大多数南方品种聚集在一起,但农艺及品质性状还能将黄淮海、西北品种聚在一起。究其原因这两种分析方法是青贮玉米品种遗传多样性在不同层面上的体现,形态学聚类方法是依据作物的表型性状来区分不同品种间的遗传差异,然而表型性状易受很多复杂因素影响如标记数量少、人为测量误差、环境条件等,造成遗传表达不稳定或不同基因型的品种表现出相同表型特征的结果。相比之下,分子标记是从 DNA 水平上反映不同个体间的遗传变异现象,不受外界环境影响,结果相对准确。因此,农艺及品质性状与分子标记的分析结果不完全一致是合理的,将两类方法相结合能够更加准确、全面的了解物种的遗传变异并描述和解释其遗传背景。

本文利用农艺及品质性状与 SSR 标记评价了我国 4 个生态区青贮玉米品种的遗传多样性,了解了各生态区品种的农艺、品质性状及遗传分化情况,其结果对不同生态区的育种策略调整具有参考价值,但仅从生态区角度对我国主要生产利用的青贮玉米品种进行了分析评价,今后还有待从统一田间试验方面对品种进行更深层次了解,以期更加客观评价不同品种间形态差异,为优质品种推广种植提供科学依据。

4 结论

通过利用农艺、品质性状和 SSR 标记分析 141 个国审和各省区(市)青贮玉米品种的遗传多样性,发现我国青贮玉米品种存在丰富的遗传多样性,尤其是西北和南方品种出现明显的性状分化现象;南方品种在农艺及品质性状和分子遗传上均具有特异性,西北和黄淮海品种在农艺及品质性状上具有特异性;综合两类方法能更准确、全面揭示品种遗传多样性,其研究结果对不同生态区育种策略调整具有一定参考价值。

References

- [1] 国家统计局. 中华人民共和国 2019 年国民经济和社会发展统计公报. 北京: 中华人民共和国国家统计局, 2020 [2020-12-16]. http://www.stats.gov.cn/tjsj/zxfb/202002/t20200228_1728913.html.
National Bureau of Statistics. Statistical Communique of the People's Republic of China on 2019 National Economic and Social Development. Beijing: National Bureau of Statistics of People's Republic of China, 2020 [2020-12-16]. http://www.stats.gov.cn/tjsj/zxfb/202002/t20200228_1728913.html.

- [2] 中华人民共和国农业农村部信息中心. 循环农业促增收 绿色发展奔小康——“粮改饲”凝聚产业兴旺 走出脱贫致富新路子. 北京: 中华人民共和国农业农村部, 2020 [2020-12-16]. http://www.moa.gov.cn/xw/qg/202010/t20201028_6355258.htm.
Information Center of the Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China. Recycling Agriculture to Increase Income, Green Development Towards a Well-off Society—"Grain Reforms to Feed" to Condense the Prosperity of the Industry and Take a New Path out of Poverty. Beijing: Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China, 2020 [2020-12-16]. http://www.moa.gov.cn/xw/qg/202010/t20201028_6355258.htm.
- [3] 梁晓玲, 雷志刚, 阿布来提, 冯国俊, 李进, 李铭东. 青贮玉米育种及其生产. 玉米科学, 2003, 11(增刊 2): 73-76.
Liang X L, Lei Z G, Abu L T, Feng G J, Li J, Li M D. Breeding and production of silage corn. *J Maize Sci*, 2003, 11(S2): 73-76 (in Chinese).
- [4] 徐军, 虞德兵, 冯彬彬, 曹嘉铨, 周正, 郭彩霞. 不同来源鸡粪有机肥对西瓜-青贮玉米产量、品质的影响及效益分析. 中国农业大学学报, 2020, 25(10): 89-97.
Xu J, Yu D B, Feng B B, Cao J C, Zhou Z, Wu C X. Effects of different organic chicken manure fertilizers on the yield and quality of watermelon-silage maize and benefit analysis. *J China Agric Univ*, 2020, 25(10): 89-97 (in Chinese with English abstract).
- [5] 刘刚, 张红瑞, 郭凯, 付彤, 刘天学. 河南青贮玉米品种鉴定与青贮质量评价. 草地学报, 2019, 27: 510-514.
Liu G, Zhang H R, Guo K, Fu T, Liu T X. Evaluation and selection of the silage quality of forage maize in Henan province. *Acta Agrestia Sin*, 2019, 27: 510-514 (in Chinese with English abstract).
- [6] 庄克章, 徐立华, 徐相波, 汪黎明, 胡明, 吴荣华, 张春艳, 李俊庆. 鲁南地区青贮玉米品种筛选. 中国农学通报, 2017, 33(29): 13-18.
Zhuang K Z, Xu L H, Xu X B, Wang L M, Hu M, Wu R H, Zhang C Y, Li J Q. Screening of silage maize in southern Shandong province. *Chin Agric Sci Bull*, 2017, 33(29): 13-18 (in Chinese with English abstract).
- [7] 陈桂兰, 阳康春, 韦冠睦, 阳俭, 蒋业钊, 林善海. 14 个青贮玉米品种(系)田间表现评价. 南方农业学报, 2017, 48: 266-271.
Chen G L, Yang K C, Wei G M, Yang J, Jiang Y Z, Lin S H. Field performance of 14 silage corn varieties (lines). *J Southern Agric*, 2017, 48: 266-271 (in Chinese with English abstract).
- [8] 王茜茜, 葛兆鹏, 裴玉贺, 赵美爱, 李军, 宋希云, 郭新梅. 38 个青贮玉米品种的农艺性状及品质比较. 西南农业学报, 2020, 33: 487-493.
Wang Q Q, Ge Z P, Pei Y H, Zhao M A, Li J, Song X Y, Guo X M. Comparison of agronomic traits and quality of 38 silage maize varieties. *Southwest China J Agric Sci*, 2020, 33: 487-493 (in Chinese with English abstract).
- [9] 邢锦丰, 段民孝, 王元东, 刘新香, 宋伟, 赵久然. 青贮玉米新品种京科 932 选育及配套技术. 种子科技, 2016, 34(7): 59.
Xing J F, Duan M X, Wang Y D, Liu X X, Song W, Zhao J R. Breeding and supporting techniques of a new silage corn variety Jingke 932. *Seed Sci Technol*, 2016, 34(7): 59 (in Chinese).
- [10] 谭友斌, 唐高民, 苏道志. 国审青贮玉米新品种“中玉 335”的选育及配套技术研究. 农学报, 2020, 10(9): 16-20.
Tan Y B, Tang G M, Su D Z. New national silage maize variety 'Zhongyu 335': breeding and supporting technology. *J Agric*, 2020, 10(9): 16-20 (in Chinese with English abstract).
- [11] 谭华强. 利用形态学和 RAPD, ISSR 分子标记分析 68 个豇豆品种的亲缘关系. 四川农业大学硕士学位论文, 四川成都, 2014.
Tan H Q. Genetic Diversity Analysis and Varietal Identification among 68 Chinese Asparagus Bean (*Vigna unguiculata* ssp. *sesquipedialis*) Cultivars Based on RAPD, ISSR and Morphological Markers. MS Thesis of Sichuan Agricultural University, Chengdu, Sichuan, China, 2014 (in Chinese with English abstract).
- [12] 刘志斋, 郭荣华, 石云素, 蔡一林, 曹墨菊, 宋燕春, 王天宇, 黎裕. 中国玉米地方品种核心种质花期相关性状的表型多样性研究. 中国农业科学, 2008, 41: 1591-1602.
Liu Z Z, Guo R H, Shi Y S, Cai Y L, Cao M J, Song Y C, Wang T Y, Li Y. Phenotypic diversity of flowering-related traits of maize landraces from the core collection preserved in china national GenBank. *Sci Agric Sin*, 2008, 41: 1591-1602 (in Chinese with English abstract).
- [13] 王海岗, 贾冠清, 智慧, 温琪汾, 董俊丽, 陈凌, 王君杰, 曹晓宁, 刘思辰, 王纶, 乔治军, 刁现民. 谷子核心种质表型遗传多样性分析及综合评价. 作物学报, 2016, 42: 19-30.
Wang H G, Jia G Q, Zhi H, Wen Q F, Dong J L, Chen L, Wang J J, Cao X N, Liu S C, Wang L, Qiao Z J, Diao X M. Phenotypic diversity evaluations of foxtail millet core collections. *Acta Agron Sin*, 2016, 42: 19-30 (in Chinese with English abstract).
- [14] 胡标林, 万勇, 李霞, 雷建国, 罗向东, 严文贵, 谢建坤. 水稻核心种质表型性状遗传多样性分析及综合评价. 作物学报, 2012, 38: 829-839.
Hu B L, Wan Y, Li X, Lei J G, Luo X D, Yan W G, Xie J K. Analysis on genetic diversity of phenotypic traits in rice (*Oryza sativa*) core collection and its comprehensive assessment. *Acta Agron Sin*, 2012, 38: 829-839 (in Chinese with English abstract).
- [15] 余斌, 杨宏羽, 王丽, 刘玉汇, 白江平, 王蒂, 张俊莲. 引进马铃薯种质资源在干旱半干旱区的表型性状遗传多样性分析及综合评价. 作物学报, 2018, 44: 63-74.
Yu B, Yang H X, Wang L, Liu Y H, Bai J P, Wang D, Zhang J L. Genetic diversity analysis and comprehensive assessment of phenotypic traits in introduced potato germplasm resources in arid and semi-arid area. *Acta Agron Sin*, 2018, 44: 63-74 (in Chinese with English abstract).
- [16] 柴华. 基于形态学标记青贮玉米自交系的聚类分析. 现代畜牧科技, 2017, (2): 4-5.
Cai H. Cluster analysis of silage maize inbred lines base on morphological marker. *Mod Anim Husb Sci Technol*, 2017, (2): 4-5 (in Chinese with English abstract).
- [17] 吴建忠, 李绥艳, 林红, 马延华, 潘丽艳, 李东林, 孙德全. 青贮玉米品质性状遗传变异及主成分分析. 作物杂志, 2019, (3): 42-48.
Wu J Z, Li S Y, Lin H, Ma Y H, Pan L Y, Li D L, Sun D Q. Genetic variation and principal component analysis of quality characters in silage maize. *Crops*, 2019, (3): 42-48 (in Chinese).
- [18] 李齐向, 张小中, 涂前程, 雷富贵, 纪平, 陈由禹. 基于 SSR 分子标记的青贮玉米自交系遗传多样性分析. 福建农业学报, 2013, 28: 320-323.

- Li Q X, Zhang X Z, Tu Q C, Lei F G, Ji P, Chen Y Y. Analysis of genetic diversity based on SSR markers on silage maize inbred lines. *Fujian J Agric Sci*, 2013, 28: 320–323 (in Chinese with English abstract).
- [19] 余鸣, 李存福, 玉柱, 潘金豹, 石守定, 杨清峰, 李玉荣, 刘芳, 尹晓飞. 青贮玉米品质分级. GB/T 25882-2010, 2010.
- Yu M, Li C F, Yu Z, Pan J B, Shi S D, Yang Q F, Li Y R, Liu F, Yin X F. Quality Grading for Silage Maize. GB/T25882-2010, 2010 (in Chinese).
- [20] Wang F G, Tian H L, Zhao J R, Yi H M, Wang L, Song W. Development and characterization of a core set of SSR markers for fingerprinting analysis of Chinese maize varieties. *Maydica*, 2011, 56: 7–17.
- [21] 王凤格, 易红梅, 赵久然, 刘平, 张新明, 田红丽, 堵苑苑. 玉米品种鉴定技术规程: SSR 标记法. NY/T 1432-2014, 2014.
- Wang F G, Yi H M, Zhao J R, Liu P, Zhang X M, Tian H L, Du Y Y. Protocol for the Identification of Maize Varieties: SSR Marker Method. NY/T 1432-2014, 2014 (in Chinese).
- [22] 王凤格, 杨扬, 易红梅, 赵久然, 任洁, 王璐, 葛建镭, 江彬, 张宪晨, 田红丽, 侯振华. 中国玉米审定品种标准 SSR 指纹库的构建. *中国农业科学*, 2017, 50: 1–14.
- Wang F G, Yang Y, Yi H M, Zhao J R, Ren J, Wang L, Ge J R, Jiang B, Zhang X C, Tian H L, Hou Z H. Construction of an SSR-based standard fingerprint database for corn variety authorized in China. *Sci Agric Sin*, 2017, 50: 1–14 (in Chinese with English abstract).
- [23] 王凤格, 李欣, 杨扬, 易红梅, 江彬, 张宪晨, 霍永学, 朱丽, 葛建镭, 王蕊, 任洁, 王璐, 田红丽, 赵久然. 植物品种 SSR 指纹分析专用软件 SSR Analyser 的研发. *中国农业科学*, 2018, 51: 2248–2262.
- Wang F G, Li X, Yang Y, Yi H M, Jiang B, Zhang X C, Huo Y X, Zhu L, Ge J R, Wang R, Ren J, Wang L, Tian H L, Zhao J R. SSR Analyser: a special software suitable for SSR fingerprinting of plant varieties. *Sci Agric Sin*, 2018, 51: 2248–2262 (in Chinese with English abstract).
- [24] Liu K, Muse S V. PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. *Bioinformatics*, 2005, 21: 2128–2129.
- [25] Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol Biol Evol*, 2016, 33: 1870–1874.
- [26] Kovach Computing Services (KCS). MVSP: Multivariate statistical package. United Kingdom: Kovach Computing Services (KCS), 2019 [2020-12-16]. <https://www.kovcomp.co.uk/mvsp/index.html>.
- [27] 杨扬, 王凤格, 赵久然, 刘亚维. 中国玉米品种审定现状分析. *中国农业科学*, 2014, 47: 4360–4370.
- Yang Y, Wang F G, Zhao J R, Liu Y W. Analysis of the current situation of accredited maize varieties in China. *Sci Agric Sin*, 2014, 47: 4360–4370 (in Chinese with English abstract).
- [28] 吴欣, 徐海良, 陈威, 刘素玲. 国审青贮玉米品种综合性状评价及发展趋势. *农学报*, 2019, 9(9): 5–10.
- Wu X, Xu H L, Chen W, Liu S L. Comprehensive evaluation and development trend of silage maize varieties approved by the state. *J Agric*, 2019, 9(9): 5–10 (in Chinese with English abstract).
- [29] 王凤格, 田红丽, 赵久然, 王璐, 易红梅, 宋伟, 高玉倩, 杨国航. 中国 328 个玉米品种(组合) SSR 标记遗传多样性分析. *中国农业科学*, 2014, 47: 856–864.
- Wang F G, Tian H L, Zhao J R, Wang L, Yi H M, Song W, Gao Y Q, Yang G H. Genetic diversity analysis of 328 maize varieties (hybridized combinations) using SSR markers. *Sci Agric Sin*, 2014, 47: 856–864 (in Chinese with English abstract).
- [30] 易红梅, 任洁, 王璐, 王蕊, 葛建镭, 王凤格, 赵久然, 徐明良. 2014–2019 年国家玉米区域试验参试组合 DNA 指纹检测及遗传多样性分析. *华北农学报*, 2020, 35(3): 87–93.
- Yi H M, Ren J, Wang L, Wang R, Ge J R, Wang F G, Zhao J R, Xu M L. DNA fingerprinting and genetic diversity analysis of national maize regional trials in 2014–2019. *Acta Agric Boreali-Sin*, 2020, 35(3): 87–93 (in Chinese with English abstract).