

张保青, 黄玉新, 周珊, 等. 广西割手密核心种质构建与关联分析[J]. 华中农业大学学报, 2024, 43(5): 75-81.  
DOI: 10.13300/j.cnki.hnlkxb.2024.05.008

## 广西割手密核心种质构建与关联分析

张保青, 黄玉新, 周珊, 段维兴, 杨翠芳, 张革民, 陆衫羽, 高轶静

广西壮族自治区农业科学院甘蔗研究所/广西甘蔗遗传改良重点实验室/  
农业农村部广西甘蔗生物技术与遗传改良重点实验室, 南宁 530007

**摘要** 为发掘甘蔗育种优异野生基因资源, 以来自广西的333份割手密为材料, 应用12对SSR引物的分子标记数据和28个表型性状资料构建广西割手密核心种质, 并进行关联分析。关联分析结果显示, 广西割手密茎径、节间长度、曝光前颜色、脱叶性和毛群共5个表型性状与8个位点显著相关; 茎径与叶长、叶宽、节间长度、节数和锤度5个性状均表现出极显著相关; 株高、茎径、节间长度、节数4个表型性状之间呈现显著或极显著的正相关; 锤度与茎径和节间长度均表现为极显著的负相关。核心种质抽样按照总资源比例的0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9进行梯度筛选, 当抽样比例达到30%以上时, 即可包含100%等位基因覆盖度。遗传多样性评价和主成分分析结果显示, 构建割手密核心种质所筛选材料具有丰富的遗传多样性, 且基于核心种质绘制的主成分图与原始种质的分布图趋势相吻合。结果表明, 根据30%的抽样比例筛选出99个割手密样本构建核心种质, 遗传多样性评价和主成分分析所构建的核心种质具有较好的代表性。

**关键词** 甘蔗; 割手密; 核心种质; 关联分析; SSR标记

**中图分类号** S566.1 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2024)05-0075-07

甘蔗是我国最主要的糖料作物, 我国年产糖约1 300万t, 90%以上来自甘蔗, 其中广西甘蔗产糖量占六成以上。现代甘蔗栽培种是异源多倍体, 是由原种热带种(*Saccharum officinarum* L.)、印度种(*S. barberi*)、野生种割手密(*S. spontaneum* L.)和大茎野生种(*S. robustum*)经过一系列种间杂交育成的, 其中约75%~85%的染色体来源于热带种, 15%~25%来源于割手密<sup>[1]</sup>。割手密还具有种类数量庞大、遗传多样性丰富、利于杂交利用等优点, 因此, 割手密作为甘蔗属的野生种, 已成为现代甘蔗遗传育种和种质创新研究最为重要的野生种质之一, 甘蔗育种工作者非常重视割手密种质资源收集与评价研究<sup>[2-4]</sup>。

近年来, 广西甘蔗种质资源圃(南宁)广泛收集并保存了3 800余份资源, 若对所有资源开展精细鉴定评价和杂交利用研究, 将给资源保育工作者带来巨大的工作量与挑战。核心种质(core collection)概念的提出<sup>[5]</sup>为解决这一难题开辟了新的思路, 核心种

质是以最少数量的种质材料代表原始种质资源的全部或大多数遗传多样性和地理来源, 最大限度地去除原始种质资源中的重复。在割手密的核心种质构建方面, 国内外学者开展了相关研究。早期主要是应用表型数据进行评价, 如Tai等<sup>[6]</sup>应用USA-ARS保育的342份割手密为材料, 根据11个数量性状及地理信息, 构建了含75份种质的核心库; Amalraj等<sup>[7]</sup>以印度Coimbatore甘蔗育种所保育的617份割手密为材料, 应用21个质量性状和10个数量性状, 构建了含60份无性系的核心种质; 苏火生等<sup>[8]</sup>以国家甘蔗种质资源圃中596份割手密为研究对象, 根据21个质量性状和6个数量性状探讨了构建割手密初级核心种质的最佳取样策略。齐永文等<sup>[9]</sup>以海南甘蔗育种场保育的540份割手密为研究对象、徐超华等<sup>[10-11]</sup>以92份割手密初级核心种质<sup>[8]</sup>为研究对象, 利用SSR分子标记和表型数据构建割手密核心种质库, 前者应用分子标记遗传多样性和主成分分析评

收稿日期: 2023-11-08

基金项目: 广西科技重大专项(桂科AA22117002-1); 广西自然科学基金项目(2023GXNSFAA026354); 国家糖料产业技术体系项目(CARS-17); 中国科学院华南植物园重点支持项目(E36101); 广西农业科学院基本科研业务专项(桂农科2021YT004; 桂农科2024YP028)

张保青, E-mail: zbxqaxu@126.com

通信作者: 高轶静, E-mail: yijinggao@aliyun.com

价核心种质的代表性,后者主要应用分子标记遗传多样性进行评价,结果均表明所构建的核心种质具有较好的代表性。

广西属亚热带气候,是我国甘蔗原产地之一,具有丰富多样的甘蔗栽培品种资源和野生种质资源<sup>[12]</sup>。本研究对搜集于广西境内于广西甘蔗种质资源圃(南宁)保育的割手密种质资源进行评价,构建割手密核心种质并进行关联分析,旨在为割手密种质优异基因的发掘和育种提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

333份割手密材料均来自广西甘蔗种质资源圃(南宁),主要采集于广西境内的百色市凌云县和田林县、柳州市鹿寨县和三江侗族自治县、桂林市平乐县和灵川县、来宾市金秀瑶族自治县等。

### 1.2 表型数据收集

形态表型数据标准参照文献<sup>[13]</sup>,采集锤度、茎径、株高、叶宽、叶长、节间长度、节数、茎形、节间性状、曝光前后茎色、蜡粉带、木栓、生长裂缝、空心、蒲心、生长带性状、根点排列、气根、芽形、芽位、芽沟、叶姿、叶色、脱叶性、毛群、内叶耳形状和外叶耳形状共28个表型性状数据。

### 1.3 叶片基因组总DNA提取与PCR扩增

采用SDS法<sup>[14]</sup>进行割手密叶片基因组DNA的提取和纯化。筛选出12对条带清晰的甘蔗SSR引物<sup>[15-16]</sup>(表1),参照高轶静等<sup>[14]</sup>的方法设计SSR反应体系和PCR扩增条件,对扩增产物进行毛细管电泳<sup>[17]</sup>。

## 1.4 数据分析

应用GeneMarker软件(v2.4.0, SoftGenetics, State College, Pennsylvania)分析SSR扩增的DNA片段的毛细管电泳图谱数据。应用GenAIEx软件<sup>[18]</sup>进行群体的遗传多样性分析;应用TASSEL5软件<sup>[19]</sup>对SSR分子标记和表型数据进行关联分析,模型选择为混合线性模型(MLM);应用TBtools软件<sup>[20]</sup>对割手密材料的6个数量性状进行相关性分析,相关性采用Pearson相关系数计算。核心种质构建应用Core Hunter II软件<sup>[21]</sup>进行;参照文献<sup>[22-23]</sup>使用加权指数modified rogers distance (0.7)和Shannon diversity index (0.3)按照总的种质资源比例的0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9梯度进行筛选,选择最优抽样比例,并对最终确定的核心种质材料进行覆盖度评价。应用以上的GenAIEx软件<sup>[18]</sup>对核心种质进行遗传多样性分析,同时使用adegenet软件<sup>[24]</sup>的glPca模块进行主成分分析,进一步评估核心种质筛选的准确性。

## 2 结果与分析

### 2.1 割手密遗传多样性分析

遗传多样性分析结果(表1)显示,12对SSR引物在333份割手密材料上共检测到227个多态性条带,平均每对引物检测到多态性条带为18.92。各引物的多态性条带数差异较大,其中,SMC31CUQ检测到的条带数最多,为33条;引物SMC336BS次之,检测到32条;引物ESTB155检测到的最少,仅为4条。各引物的Shannon-Weiner指数在0.294 6~0.570 7,平均值为0.411 4,表明本研究中搜集于广西境内的

表1 割手密基于12对SSR引物的多态性分析结果

Table 1 Polymorphic analysis based on 12 SSRs pairs of primers in *S. spontaneum*

引物名称 Primer	多态性条带数 Number of polymorphic bands	有效等位基因数 Number of effective allele	香浓维纳多样性指数 Shannon-Wiener index	观测杂合度 Observed heterozygosity	期望杂合度 Expected heterozygosity
mSSCIR9	9	1.246 4	0.294 6	0.170 8	0.172 6
mSSCIR41	29	1.258 7	0.345 1	0.199 1	0.201 2
SMC1047HA	24	1.497 9	0.473 7	0.308 7	0.311 8
SMC1604SA	8	1.686 4	0.570 7	0.389 2	0.393 2
SMC16SA	6	1.336 7	0.361 8	0.223 7	0.225 9
SMC179SA	25	1.467 1	0.471 1	0.301 6	0.304 7
SMC278CS	24	1.389 9	0.395 2	0.247 2	0.249 7
SMC31CUQ	33	1.402 2	0.420 1	0.263 1	0.265 7
SMC336BS	32	1.405 3	0.422 0	0.264 3	0.267 0
SMC36BUQ	5	1.514 7	0.496 4	0.322 0	0.3253
SMC221MS	28	1.331 2	0.356 7	0.217 0	0.219 2
ESTB155	4	1.321 0	0.329 5	0.200 6	0.202 6

割手密材料具有丰富的遗传多样性。

### 2.2 割手密表型性状与SSR标记关联分析

对SSR分子标记和27个表型数据进行关联分析,共有5个表型性状与8个位点显著相关,分别是茎径、节间长度、曝光前颜色、脱叶性和毛群(表2)。其中,相关性最显著的表型性状是毛群,与SMC336BS标记的相关系数为1.74E-09。其余7个

显著相关位点是茎径与SMC221MS标记(相关系数为3.2E-05),节间长度与mSSCIR9、SMC16SA标记(相关系数分别为1.22E-05、1.16E-04),曝光前颜色与1.38E-06标记(相关系数为1.38E-06),脱叶性与mSSCIR9、SMC16SA标记(相关系数分别为9.01E-05、1.02E-05),毛群与mSSCIR41标记(相关系数为2.25E-05)。

表2 12对SSR引物与割手密表型数据的关联分析结果

Table 2 Association analysis between 12 SSRs pairs of primers and phenotypic data in *S. spontaneum*

引物 Primer	表型性状P值 P value of phenotypic traits				
	茎径 Stem diameter	节间长度 Internode length	曝光前颜色 Preexposure color	脱叶性 Defoliation	毛群 Hair group
mSSCIR9	2.8525E-01	1.22E-05	6.263E-02	9.01E-05	6.339E-02
mSSCIR41	9.2287E-01	4.7223E-01	9.619E-02	1.9487E-01	2.25E-05
SMC16SA	1.1E-03	1.16E-04	2.868E-02	1.02E-05	5.1078E-01
SMC31CUQ	2.3101E-01	1.5743E-01	1.38E-06	4.7684E-01	9.5686E-01
SMC336BS	5.4428E-01	2.1651E-01	8.0731E-01	3.3582E-01	1.74E-09
SMC221MS	3.2E-05	1.072E-02	7.5042E-01	9.092E-02	8.2925E-01

注:阈值为2.20264E-04。Note: Threshold is 2.20264E-04.

对割手密材料的6个数量性状进行变异及相关性分析,相关性采用Pearson相关系数计算。结果表明,茎径与其他5个性状均表现出极显著相关,其中叶长、叶宽、节间长度和节数为正相关,锤度为负相关。株高、茎径、节间长度、节数是甘蔗产量上极为重要的表型,该4个表型性状之间互相呈现显著至极显著的正相关;锤度是甘蔗品种选育目标上的另一重要指标,与茎径和节间长度均表现为极显著的负相关(图1)。

### 2.3 核心种质构建

根据遗传变异SSR标记数据,应用Core Hunter II软件,结合加权指数Modified Rogers distance (0.7)和Shannon diversity index (0.3),按照总资源比例的0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9进行梯度筛选,并对筛选材料进行覆盖度评价(图2)。结果显示,当抽样比例达到30%以上时,即可包含100%等

位基因覆盖度。因此,根据30%的抽样比例,共筛选出99个割手密样本构建核心种质。

### 2.4 核心种质代表性分析

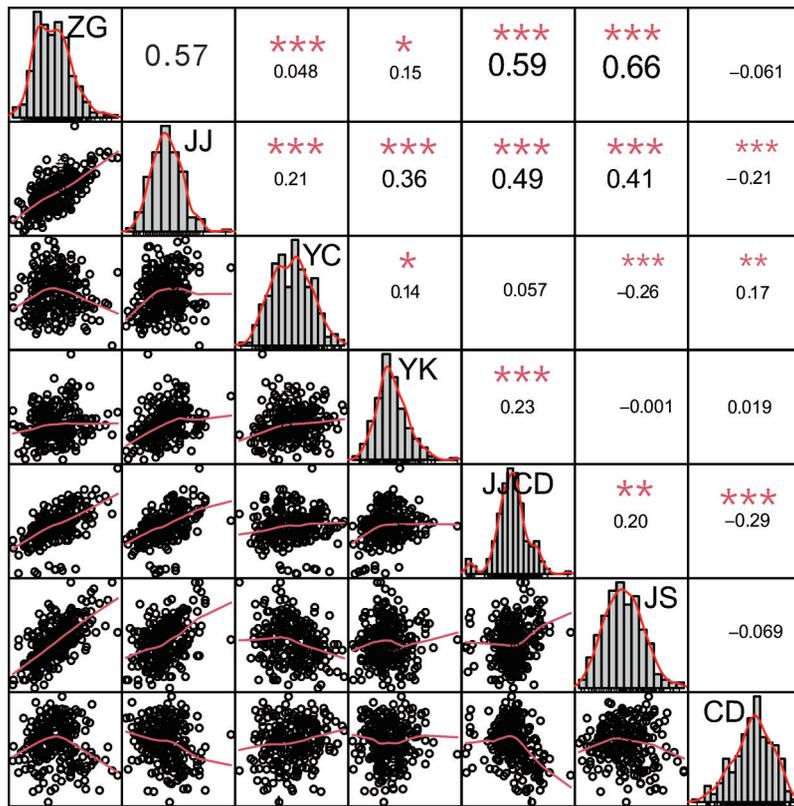
对所有材料以及筛选出的核心种质进行遗传多样性评价。结果显示,核心种质的有效等位基因数、香农维纳指数(Shannon-Wiener index)、观测杂合度和期望杂合度均略高于原始种质,表明本研究构建的核心种质所筛选材料间具有丰富的遗传多样性,同时保留了较高的遗传变异(表3)。

对所有种质材料和筛选的核心种质材料进行主成分分析(principal component analysis, PCA),以评估种质筛选的准确性。聚类分析结果显示,基于核心种质绘制的主成分图能保持原始种质分布的几何形状和特征,核心种质较为均匀地分布在333份原种质中,和原始种质的分布图趋势吻合(图3),充分说明了核心种质材料筛选的合理性,且具有较好的代表性。

表3 遗传多样性指数评估

Table 3 Assessment of genetic diversity index

样本类型 Popular type	个体数目 Number of individuals	有效等位基因数 Number of effective allele	香农维纳多样性指数 Shannon-Wiener index	观测杂合度 Observed heterozygosity	期望杂合度 Expected heterozygosity
原始种质 Original germplasm	333	1.372	0.385	0.240	0.241
核心种质 Core germplasm	99	1.394	0.410	0.256	0.259



沿对角线为ZG(株高)、JJ(茎径)、YC(叶长)、YK(叶宽)、JJCD(节间长度)、JS(节数)、CD(锤度)的直方图;右上图中数字为相关系数, \*: $P < 0.05$ ; \*\*:  $P < 0.01$ ; \*\*\*:  $P < 0.001$ ; 左下图为所对应2个表型数据的坐标点,红线表示相关性拟合曲线。Histogram of ZG (plant height), JJ (stem diameter), YC (leaf length), YK (leaf width), JJCD (internode length), JS (node number), CD (brix) was displayed diagonally; The figure in the upper right is the correlation coefficient, \*: $P < 0.05$ ; \*\*:  $P < 0.01$ ; \*\*\*:  $P < 0.001$ . The lower left graph is the coordinate points corresponding to the two phenotypic data, and the red line indicates the correlation fitting curve.

图1 割手密数量性状变异及 Pearson 两两相关分析

Fig. 1 Association analysis between quantitative character variation and Pearson correlation analysis in *S. spontaneum*

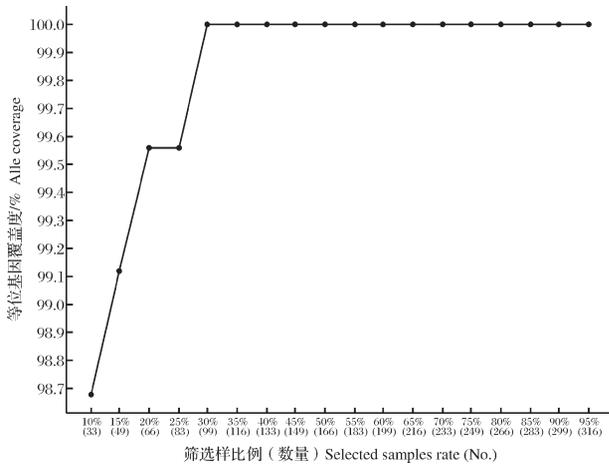


图2 割手密资源比例梯度覆盖度

Fig. 2 Proportional gradient coverage in *S. spontaneum*

### 3 讨论

本研究所用的12对SSR引物中有7对具有高多态性,分别是mSSCIR41、SMC1047HA、SMC179SA、

SMC278CS、SMC31CUQ、SMC336BS 和 SMC221MS,每对引物均获得条带24条以上。

齐永文等<sup>[9]</sup>研究显示9对引物已经能够满足鉴别所选种质的需要,在其研究中SSR引物的平均多态性条带为22.7、总条带数达到204.3条(9×22.7)时,能够鉴别所选种质。本研究共检测到227个多态性条带,已经满足割手密核心种质取样需要。并且本研究采用荧光标记毛细管电泳,条带数据清晰,可用软件直接读取,易于统计,因此应用高多态性SSR标记引物和毛细管电泳技术相结合是较好的选择。同时,随着分子标记的迅猛发展,利用高通量测序获得的适合规模化分析、多态性丰富的SNP(single nucleotide polymorphism)标记已被广泛应用于分子遗传学研究,本团队将在今后的割手密种质资源遗传多样性研究中应用。

近年来,已有研究人员应用SSR分子标记开展甘蔗表型性状关联分析相关研究<sup>[25-27]</sup>,然而,尚未见

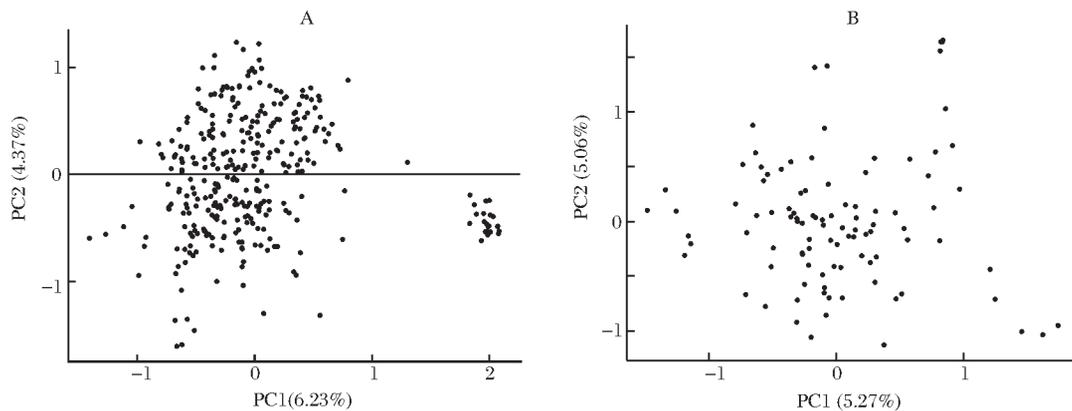


图3 所有种质材料(A)和核心种质样本(B)PCA分析

Fig. 3 PCA analysis of all genotypes (A) and core collection (B)

利用分子标记对割手密的表型性状进行关联分析。在本研究中,12对SSR引物的Shannon-Weiner多样性指数在0.294 6~0.570 7,说明割手密材料在12个SSR位点上的遗传多样性十分丰富,然而对SSR分子标记和27个表型数据进行关联分析,仅有5个表型性状与8个位点显著相关,主要原因是用于关联分析的分子标记数量偏少,在目标材料的全基因组中分布密度低,远远不能覆盖全基因组。同时关联分析结果显示,除茎径外,相关性显著的主要是质量性状,推测原因可能是株高、锤度等数量性状受栽培技术、气候等环境影响较大<sup>[27]</sup>,而不易受环境影响的质量性状在关联分析中更容易被定位到。因此,对于数量性状,后续将通过多年多点的表型鉴定进一步提升其稳定性,为定位主效位点打下基础。

构建核心种质常用的2类特征数据分别是表型性状和分子标记。其中,表型性状在早期的割手密核心种质构建研究中被普遍采用<sup>[6-8]</sup>,主要是由于表型性状具有可直接反映种质资源应用价值、易获取等优点。然而,割手密的遗传背景非常复杂,染色体倍性从四倍体到十六倍体不等、具有多种类型<sup>[28]</sup>,并且割手密生长周期长、属于多年生植物,其表型性状尤其是一些与生长周期相关的数量性状测量需要花费大量时间,测量结果准确性较低,而且受生态、气候等环境因素的影响很大,因此,表型性状不能稳定反映割手密种质资源的遗传多样性。而分子标记具有遍布整个基因组、多态性丰富、密度大、遗传稳定性好等优点,并且不受环境和植物发育时期的影响,可准确、稳定地反映种质间的遗传关系,更适用于核心种质构建。在利用SSR分子标记构建割手密核心

种质库的研究中,齐永文等<sup>[9]</sup>应用主成分分析评价核心种质的代表性,其结果显示10%的取样比例可获得70%以上的变异保留比例;徐超华等<sup>[10]</sup>应用分子标记遗传多样性进行评价,结果表明核心种质较好地代表了基础原始种质。本研究应用SSR分子标记进行广西割手密核心种质构建,主成分分析结果显示,当抽样比例达到30%以上时,可包含100%等位基因覆盖度。

在利用分子标记和表型数据构建割手密核心种质库的研究中,齐永文等<sup>[9]</sup>以海南甘蔗育种场保存的来自广东、广西、海南、福建、云南、四川、贵州、江西、湖南和上海等10个省(市)、自治区的540份割手密为研究对象,徐超华等<sup>[10-11]</sup>以国家甘蔗种质资源圃保存的来源于国内8个省份和4个国家的92份割手密为研究对象,均覆盖了较大范围的地理来源。广西是我国甘蔗原产地之一,野生种质资源丰富,尤其是割手密类型多样,有许多高大型割手密材料,本研究以广西甘蔗种质资源圃(南宁)保存的来源于广西境内百色、柳州、桂林、来宾等市的333份割手密材料为试验材料,已覆盖广西所有割手密类型,遗传多样性评价和主成分分析也表明所构建的核心种质具有较好的代表性,目前本课题组已开展利用广西割手密中的高大型割手密,杂交后代已表现出明显优势。

本研究利用SSR分子标记与割手密表型性状开展关联分析研究,并建立了一个包含99份广西割手密的核心种质。核心种质取样比例为30%,包含了100%等位基因覆盖度,遗传多样性评价和主成分分析均表明所构建的核心种质具有较好的代表性,将为后续割手密种质资源的分子遗传学和基因组学研究提供依据。

## 参考文献 References

- [1] D'HONT A, GRIVET L, FELDMANN P, et al. Characterisation of the double genome structure of modern sugarcane cultivars (*Saccharum* spp.) by molecular cytogenetics[J]. *Molecular & general genetics*, 1996, 250(4): 405-413.
- [2] MARY S, NAIR N, CHATURVEDI P K, et al. Analysis of genetic diversity among *Saccharum spontaneum* L. from four geographical regions of India, using molecular markers[J]. *Genetic resources and crop evolution*, 2006, 53: 1221-1231.
- [3] LIU P W, QUE Y X, PAN Y B. Highly polymorphic microsatellite DNA markers for sugarcane germplasm evaluation and variety identity testing[J]. *Sugar Tech*, 2011, 13(2): 129-136.
- [4] ZHANG G M, LI Y R, HE W Z, et al. Analysis of the genetic diversity in *Saccharum spontaneum* L. accessions from Guangxi of China with RAPD-PCR[J]. *Sugar Tech*, 2010, 12(1): 31-35.
- [5] FRANKEL O H, BROWN A D H. Current plant genetic resources; a critical appraisal: genetics new frontiers Proceedings of XV Int Congress of Genetics[C]. New Delhi: Oxford & IBH Publishing Co (4), 1984: 3-13.
- [6] TAI P Y P, MILLER J D. A core collection for *Saccharum spontaneum* L. from the world collection of sugarcane[J]. *Crop science*, 2001, 41(3): 879-885.
- [7] AMALRAJ V A, BALAKRISHNAN R, JEBADHAS A W, et al. Constituting a core collection of *Saccharum spontaneum* L. and comparison of three stratified random sampling procedures[J]. *Genetic resources and crop evolution*, 2006, 53(8): 1563-1572.
- [8] 苏火生, 刘新龙, 毛钧, 等. 割手密初级核心种质取样策略研究[J]. *湖南农业大学学报(自然科学版)*, 2011, 37(3): 253-259. SU H S, LIU X L, MAO J, et al. Sampling strategy of pre-core collection for *Saccharum spontaneum* [J]. *Journal of Hunan Agricultural University (natural sciences)*, 2011, 37(3): 253-259 (in Chinese with English abstract).
- [9] 齐永文, 樊丽娜, 罗青文, 等. 甘蔗细茎野生种核心种质构建[J]. *作物学报*, 2013, 39(4): 649-656. QI Y W, FAN L N, LUO Q W, et al. Establishment of *Saccharum spontaneum* L. core collections[J]. *Acta agronomica sinica*, 2013, 39(4): 649-656 (in Chinese with English abstract).
- [10] 徐超华, 刘新龙, 毛钧, 等. 基于 SSR 分子标记数据构建割手密核心种质库[J]. *湖南农业大学学报(自然科学版)*, 2020, 46(6): 657-663. XU C H, LIU X L, MAO J, et al. Construction of a core-collection of *Saccharum spontaneum* based on SSR molecular markers[J]. *Journal of Hunan Agricultural University (natural sciences)*, 2020, 46(6): 657-663 (in Chinese with English abstract).
- [11] XU C H, LIU X L, BURNER D M, et al. Phenotypic and molecular characterization of a core collection of *Saccharum spontaneum* L. in China[J]. *Sugar Tech*, 2020, 22(1): 76-88.
- [12] 邓国富, 吴建明, 段维兴, 等. 广西农作物种质资源: 甘蔗卷[M]. 北京: 科学出版社, 2020: 1-3. DENG G F, WU J M, DUAN W X, et al. Guangxi crop germplasm resources: sugarcane[M]. Beijing: Science Press, 2020: 1-3 (in Chinese).
- [13] 蔡青, 范源洪, 马丽, 等. 甘蔗种质资源描述规范和数据标准[M]. 北京: 中国农业出版社, 2006: 7-13. CAI Q, FAN Y H, MA L, et al. Descriptors and data standard for sugarcane[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2006: 7-13 (in Chinese).
- [14] 高轶静, 方锋学, 刘昔辉, 等. 甘蔗与斑茅割手密复合体杂交后代的分子标记鉴定[J]. *植物遗传资源学报*, 2012, 13(5): 912-916. GAO Y J, FANG F X, LIU X H, et al. Identification of progeny from crosses between sugarcane (*Saccharum* spp.) and intergeneric hybrid complex (*Erianthus arundinaceus* × *Saccharum spontaneum*) with molecular markers [J]. *Journal of plant genetic resources*, 2012, 13(5): 912-916 (in Chinese with English abstract).
- [15] CORDEIRO G M, TAYLOR G O, HENRY R J. Characterisation of microsatellite markers from sugarcane (*Saccharum* sp.), a highly polyploid species [J]. *Plant science*, 2000, 155(2): 161-168.
- [16] OLIVEIRA K M, PINTO L R, MARCONI T G, et al. Characterization of new polymorphic functional markers for sugarcane[J]. *Genome*, 2009, 52(2): 191-209.
- [17] GAO Y J, ZHOU H, LIU J X, et al. Characterization of new microsatellite markers from sugarcane (*Saccharum officinarum*) transcriptome [J]. *The Indian journal of agricultural sciences*, 2020, 90(5): 860-867.
- [18] PEAKALL R, SMOUSE P E. GenAIEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research: an update [J]. *Bioinformatics*, 2012, 28(19): 2537-2539.
- [19] BRADBURY P J, ZHANG Z W, KROON D E, et al. TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples [J]. *Bioinformatics*, 2007, 23(19): 2633-2635.
- [20] CHEN C J, CHEN H, ZHANG Y, et al. TBtools: an integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data [J]. *Molecular plant*, 2020, 13(8): 1194-1202.
- [21] DE BEUKELAER H, SMÝKAL P, DAVENPORT G F, et al. Core Hunter II: fast core subset selection based on multiple genetic diversity measures using Mixed Replica search [J/OL]. *BMC bioinformatics*, 2012, 13: 312 [2023-11-08]. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-13-312>.
- [22] CORRADO G, CARAMANTE M, PIFFANELLI P, et al. Genetic diversity in Italian tomato landraces: implications for the development of a core collection [J]. *Scientia horticultrae*, 2014, 168: 138-144.
- [23] ZHANG J, PAN D J, FAN Z L, et al. Genetic diversity of wild rice accessions (*Oryza rufipogon* Griff.) in Guangdong and Hainan provinces, China, and construction of a wild rice core

- collection[J/OL].Frontiers in plant science, 2022, 13: 999454 [2023-11-08].<https://doi.org/10.3389/fpls.2022.999454>.
- [24] JOMBART T. Adegnet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers[J].Bioinformatics, 2008, 24(11): 1403-1405.
- [25] SIRAREE A, BANERJEE N, KUMAR S, et al. Identification of marker-trait associations for morphological descriptors and yield component traits in sugarcane[J].Physiology and molecular biology of plants, 2017, 23(1): 185-196.
- [26] BARRETO F Z, ROSA J R B F, BALSALOBRE T W A, et al. A genome-wide association study identified loci for yield component traits in sugarcane (*Saccharum* spp.) [J/OL]. PLoS One, 2019, 14(7): e0219843 [2023-11-08]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0219843>.
- [27] 田春艳, 边芯, 郎荣斌, 等. 甘蔗3个育种性状与SSR标记的关联分析及优异等位变异发掘[J].作物学报, 2024, 50(2): 310-324. TIAN C Y, BIAN X, LANG R B, et al. Association analysis of three breeding traits with SSR markers and exploration of elite alleles in sugarcane [J]. Acta agronomica sinica, 2024, 50(2): 310-324 (in Chinese with English abstract).
- [28] CHEN C L, LI L F, WU S Z. Chromosome number distribution of *Saccharum spontaneum* in the southwest region of China[J]. Intl Sugar J, 1981, 83: 264-267.

## Construction and association analysis of core germplasm for *Saccharum spontaneum* L. in Guangxi

ZHANG Baoqing, HUANG Yuxin, ZHOU Shan, DUAN Weixing,  
YANG Cuifang, ZHANG Gemin, LU Shanyu, GAO Yijing

*Institute of Sugarcane, Guangxi Academy of Agricultural Sciences/Guangxi Key Laboratory of Sugarcane Genetic Improvement/Ministry of Agriculture and Rural Affairs Key Laboratory of Sugarcane Biotechnology and Genetic Improvement (Guangxi), Nanning 530007, China*

**Abstract** 333 accessions of *Saccharum spontaneum* L. from Guangxi were used to mine the excellent wild genetic resources for sugarcane breeding. The data from 12 pairs of SSR primers and 28 phenotypic traits were used to construct the core germplasm and conduct association analysis of *Saccharum spontaneum* L. in Guangxi. The results of association analysis showed that 5 phenotypic traits including the stem diameter, the internode length, the color before exposure, defoliation and hairiness were significantly correlated with 8 SSR loci. The diameter of stem was significantly correlated with leaf length, leaf width, internode length, number of nodes and brix. There was a significant to extremely significant positive correlation between the 4 phenotypic traits including the plant height, stem diameter, internode length, and number of nodes. The brix was negatively correlated with stem diameter and internode length. Core germplasm sampling was subjected to gradient screening based on the proportion of total resources at 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, and 0.9. When the sampling ratio reached 30% or more, it covered 100% allele. The results of evaluating genetic diversity and principal component analysis showed that the screened materials for constructing the core germplasm of *Saccharum spontaneum* L. had rich genetic diversity, and the principal component map drawn based on the core germplasm was consistent with the distribution map of the original germplasm. It is indicated that the core germplasm of *Saccharum spontaneum* L. constructed with 99 selected samples based on a sampling ratio of 30% has good representativeness by evaluating genetic diversity and principal component analysis.

**Keywords** sugarcane; *Saccharum spontaneum* L.; core germplasm; association analysis; SSR markers

(责任编辑:张志钰)