

刘鹏飞,王栋,陈泽辉,等.青贮玉米品质相关性状的全基因组关联分析[J].华中农业大学学报,2024,43(5):65-74.  
DOI:10.13300/j.cnki.hnlkxb.2024.05.007

## 青贮玉米品质相关性状的全基因组关联分析

刘鹏飞<sup>1</sup>,王栋<sup>1,2</sup>,陈泽辉<sup>1</sup>,郭向阳<sup>1</sup>,吴迅<sup>1,3</sup>,王安贵<sup>1</sup>,涂亮<sup>1</sup>,祝云芳<sup>1</sup>

1. 贵州省农业科学院旱粮研究所,贵阳 550006; 2. 贵州大学农学院,贵阳 550025;  
3. 农业农村部喀斯特山区作物基因资源与种质创新重点实验室,贵阳 550006

**摘要** 为了初步揭示玉米粗蛋白含量、淀粉含量、中性洗涤纤维(neutral detergent fiber, NDF)含量、酸性洗涤纤维(acid detergent fiber, ADF)含量、可溶性糖含量和体外干物质消化率等性状的遗传规律,按照随机区组设计将183份自交系为材料种植于贵阳,测定玉米粗蛋白含量、淀粉含量、NDF含量、ADF含量、可溶性糖含量和体外干物质消化率,利用Maize SNP 50芯片对供试材料进行基因分型,采用混合线性模型进行全基因组关联分析,结果显示,分别鉴定出31、61、11、36、20和42个与粗蛋白、淀粉、NDF、ADF、可溶性糖及体外干物质消化率显著相关的单核苷酸多态性位点(SNP)( $P < 0.001$ ),对表型变异的解释率分别为5.80%~11.40%、5.78%~11.38%、5.78%~7.85%、5.81%~10.37%、5.78%~7.35%和5.79%~11.33%。同时,发现SYN6712、PHM1190.3、SYN7541和PZE-104072386属于一因多效位点;其中,6号染色体上的SYN6712、PHM1190.3和SYN7541同时与淀粉、体外干物质消化率显著关联,4号染色体上的PZE-104072386同时与ADF、可溶性糖显著关联,经过等位变异鉴定发现T/T基因型是SYN6712和PHM1190.3的优异等位变异,并挖掘到了Zm00001d037272、Zm00001d037386、Zm00001d037532和Zm00001d051166等候选基因。

**关键词** 青贮玉米;品质性状;全基因组关联分析;单核苷酸多态性位点;优异等位变异;候选基因

**中图分类号** S513.3 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2024)05-0065-10

近年来,随着人们生活水平不断提高,肉类、蛋类、奶类等畜牧产品的市场需求也逐渐扩大,畜牧业也因此迅速发展<sup>[1]</sup>。畜牧业的发展必然会加大对饲料的消耗,国内饲料原料(玉米、小麦、大麦、高粱等)已经不能满足需求,仍需从国外进口一部分玉米等饲料原料<sup>[2]</sup>。

青贮玉米作为一种优质饲料资源,生物产量高、营养价值高、适口性好、消化吸收率高,其资源创制和种植推广可有效保障畜牧业的发展<sup>[3-4]</sup>。2023年中央一号文件明确指出“大力发展青贮饲料”,据统计,2023年全国青贮玉米种植面积达333万hm<sup>2</sup>以上(<http://www.nahs.org.cn/>)。

品质性状是评价青贮玉米的指标之一,如粗蛋白含量、淀粉含量、中性洗涤纤维(neutral detergent fiber, NDF)含量、酸性洗涤纤维(acid detergent fi-

ber, ADF)含量和可溶性糖含量等<sup>[5]</sup>。其中,粗蛋白作为生命活动必需的基础养分,其含量越高,饲料营养品质越好<sup>[6]</sup>,越有利于牲畜的生长与发育。淀粉在青贮玉米中含量较高,是饲用价值的重要基础,更是牲畜所需能量的主要来源<sup>[7]</sup>。中性洗涤纤维(NDF)和酸性洗涤纤维(ADF)是衡量青贮玉米作为粗饲料好坏的重要指标<sup>[8]</sup>。NDF主要包括木质素、纤维素和半纤维素,可被牲畜部分吸收利用,其可吸收利用程度与牲畜的采食量有关<sup>[9]</sup>;ADF主要包括饲料中的木质素和纤维素,牲畜一般不能吸收利用,且ADF含量越高,消化率越低<sup>[10]</sup>。一定量的可溶性糖有利于青贮发酵过程的进行,其含量的高低是能否青贮成功的关键因素<sup>[11]</sup>。同时,体外干物质消化率是衡量青贮玉米营养物质可消化性的尺度,是评价青贮玉米营养价值的综合指标之一<sup>[12]</sup>。因此,揭示粗蛋

收稿日期:2023-11-04

基金项目:国家自然科学基金项目(32171981;32060460;32160451);贵州省自然科学基金项目(黔科合基础[2022]一般236);贵州科技计划项目(黔科合基础-ZK[2023]一般173);贵州省科技支撑计划(黔科合支撑[2022]重点029);贵州省重大科技成果转化项目(黔科合成果[2024]重大009)

刘鹏飞, E-mail: 350043232@qq.com

通信作者: 陈泽辉, E-mail: chenzh907@sina.com

白、淀粉、NDF、ADF、可溶性糖和体外干物质消化率的遗传机制对青贮玉米的选育具有重要意义,如利用分子标记辅助选择,通过遗传改良提高青贮玉米的营养价值。

前人对玉米粗蛋白、淀粉、NDF、ADF、可溶性糖和体外干物质消化率的遗传规律进行了一些研究。Cardinal等<sup>[13]</sup>以源自B73×B52的200个重组自交系为试验材料,在叶鞘中检测到11个QTL与ADF显著相关,在茎秆中检测到11个与ADF和NDF均显著相关的QTL。Park等<sup>[14]</sup>以158个02S6140×KSS22的F<sub>2</sub>单株为定位群体,结合SSR标记,鉴定出4个与糖含量相关的QTL。Zhang等<sup>[15]</sup>以298个BHO×B73的F<sub>2:3</sub>家系为作图群体,定位到与油分、蛋白质和淀粉含量相关的QTL分别有6个、6个和5个。Wang等<sup>[16]</sup>以368份自交系为材料,鉴定出73个与ADF含量显著相关的单核苷酸多态性位点(single nucleotide polymorphisms, SNPs)。李灿<sup>[17]</sup>利用全基因组关联分析的方法挖掘出了2个与ADF关联的候选基因。李雪莹等<sup>[18]</sup>通过构建F<sub>2</sub>分离群体,利用SSR标记对玉米总淀粉、直链淀粉和支链淀粉基因QTL进行初步定位,共检测到17个与玉米淀粉含量有关的QTL。卢雨晴等<sup>[19]</sup>利用全基因组关联分析对玉米自交系及测交群体的ADF性状进行显著SNPs筛选,定位到部分与ADF显著相关的位点。Truntzler等<sup>[20]</sup>利用QTL元分析手段,对59个与消化率性状相关的QTL进行分析与比较,发现26个与消化率相关的元QTL位点。

虽然对青贮玉米相关营养指标性状的遗传规律进行了相关研究,也挖掘到了部分显著相关的遗传位点,但主要集中在NDF和ADF等性状,且未有高密度的遗传图谱,有待进一步深入研究。此外,大多数研究是分别对这些指标的相关遗传位点进行单独挖掘,同时对多个营养指标进行定位的相关研究较少;对多效遗传位点挖掘的缺乏不利于一因多效位点在分子辅助育种上的应用。同时,前人所用材料主要以温带材料为主,对Suwan等热带材料青贮品质相关遗传机制研究较少。因此,本研究基于包含5.6万个SNPs的Maize SNP 50芯片对183份含有Suwan和Tuxpeño等热带资源的自交系进行基因型鉴定,结合表型数据,进行全基因组关联分析,挖掘出与玉米粗蛋白、淀粉、NDF、ADF、可溶性糖和体外干物质消化率相关的QTNs,并利用生物信息学筛选出相关的候选基因,以期后续选育营养品质优良的青贮玉米品系提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

本研究的供试材料由183份骨干自交系组成,包括Suwan、Tuxpeño、Iodent和Lancaster等资源,遗传背景丰富,且不同自交系间的株型、果穗等性状差异较大,如青贮品种黔青446的亲本QB446为热带材料,其植株叶片宽大且叶间密,生物产量大;温带自交系齐319、HCL645等植株叶片数较少且窄,生物产量较低。

### 1.2 田间设计

183份供试材料于2019年4月种植于贵州省农业科学院试验基地(106°39' E, 26°30' N),行长3 m,行距60 cm,株距25 cm,单行区,2次重复,自然散粉,常规田间管理。

### 1.3 基因型鉴定

当供试材料长到5叶期,利用离心管采集叶片,采用改良CTAB法提取基因组DNA,检测合格后送北京康普森生物技术公司,基于包含5.6万个SNPs标记的高密度基因芯片对供试材料进行基因型鉴定。

### 1.4 表型数据的测定与分析

在籽粒乳线位置1/2时,每个材料选择5株长势、株型等较为一致的植株进行收获,并从地上部10 cm处收割;接着整株进行粉碎并混合均匀,每行材料各取2份1 kg样品分别装入布袋,并于105℃烘箱中进行1~2 h杀青,再在65℃下烘干至恒质量,然后进一步粉碎为粉末,过孔径0.25 mm筛备用。

本研究主要测定玉米粗蛋白、淀粉、NDF、ADF、可溶性糖和体外干物质消化率;其中,粗蛋白的测定参照GB/T 6432—2018《饲料中粗蛋白的测定凯氏定氮法》的操作程序执行;淀粉的测定参照GB/T 20194—2018《动物饲料中淀粉含量的测定旋光法》的操作程序执行;NDF的测定参照GB/T 20806—2006《饲料中中性洗涤纤维(NDF)的测定》的操作程序执行;ADF的测定参照NY/T 145—2007《饲料中酸性洗涤纤维的测定》的操作程序执行;可溶性糖的含量采用蒽酮-硫酸法测定;体外干物质消化率采用胃蛋白酶-胰蛋白酶两步体外消化法进行测定。

参照GB/T 25882—2010《青贮玉米品质分级》对供试材料进行品质分级(表1)。利用Excel 2019软件对表型数据进行整理,用SPSS统计分析软件进行描述性统计分析。

表 1 青贮玉米品质分级及指标				
Table 1 Quality grading of silage maize				%
等级	中性洗涤纤维	酸性洗涤纤维	淀粉	粗蛋白
Scale	NDF	ADF	Starch	Crude protein
一级 First	≤45	≤23	≥25	≥7
二级 Second	≤50	≤26	≥20	≥7
三级 Third	≤55	≤29	≥15	≥7

1.5 全基因组关联分析以及候选基因的预测

根据最小等位基因频率(minor allele frequency, MAF) > 0.05 且样本缺失率< 20% 的标准,筛选出高质量 SNPs。基于 R 4.2.1 软件的 GAPIT 语言包,利用混合线性模型(mixed linear model, MLM)对表型和基因型进行全基因组关联分析。以  $P<0.001$  为阈值,鉴定出控制玉米粗蛋白、淀粉、NDF、ADF、可溶性糖和体外干物质消化率的关键 QTNs(quantitative trait nucleotides);同时,参考 Shim 等<sup>[21]</sup>的方法计算出显著 SNPs 的表型变异解释率(phenotypic variation explained, PVE)。在此基础上,结合玉米 B73 参考基因组(Ref Gen V4),利用生物信息分析手段,筛选出相关的候选基因。

表 2 183 份自交系主要品质性状的统计分析							
Table 2 Statistical analysis of 183 inbred lines for major quality traits							%
性状	极差	最小值	最大值	均值	标准偏差	方差	变异系数
Traits	Range	Minimum	Maximum	Mean	Standard deviation	Variance	Coefficient of variation
粗蛋白 Crude protein	68.90	64.60	13.35	9.97	0.01	0.000	13.08
淀粉 Starch	11.31	67.10	18.02	13.97	0.03	0.001	20.77
中性洗涤纤维 NDF	24.45	40.83	65.28	56.20	0.03	0.001	5.38
酸性洗涤纤维 ADF	18.12	19.46	37.58	28.05	0.03	0.001	12.31
可溶性糖 Soluble sugar	31.53	43.10	35.84	16.53	0.07	0.006	44.97
体外干物质消化率 <i>In vitro</i> dry matter digestibility	20.68	37.05	57.73	47.12	0.04	0.001	7.59

为进一步了解不同性状间的相关性,对玉米粗蛋白、淀粉、NDF、ADF、可溶性糖和体外干物质消化率等性状开展了 Pearson 相关性分析(图 1);结果表明,淀粉含量与粗蛋白含量、ADF 和可溶性糖均呈极显著负相关( $P<0.01$ );相关系数分别为  $-0.27$ 、 $-0.21$  和  $-0.42$ ;可溶性糖与 ADF 呈显著相关( $P<0.05$ ),相关系数为  $0.18$ ;而 NDF 与可溶性糖呈极显著负相关( $P<0.01$ ),相关系数为  $-0.30$ 。

2.2 亲缘关系和主成分分析

根据主成分分析结果及其系谱信息,可将 183 份自交系大致分为 4 个类群(图 2A)。其中,Ⅰ群主要包括 Suwan 种质,如 T32;Ⅱ群主要包括 Iodent 种质,如 HCL645;Ⅲ群主要包括 Lancaster 种质,如 Mo17;

2 结果与分析

2.1 表型分析

测定结果显示,供试材料的粗蛋白含量  $6.46\% \sim 13.35\%$ ,变异系数为  $13.08\%$ ;淀粉含量  $6.71\% \sim 18.02\%$ ,变异系数为  $20.77\%$ ;NDF 含量  $40.83\% \sim 65.26\%$ ,变异系数为  $5.38\%$ ;ADF 含量  $19.46\% \sim 37.58\%$ ,变异系数为  $12.31\%$ ;可溶性糖含量  $4.31\% \sim 35.84\%$ ,变异系数为  $44.97\%$ ;体外干物质消化率  $37.05\% \sim 57.73\%$ ,变异系数为  $7.59\%$ (表 2)。其中,粗蛋白含量  $\geq 7\%$  的有 181 份自交系;淀粉含量  $\geq 15\%$  的有 81 份;ADF 含量  $\leq 29\%$  的有 114 份,  $\leq 26\%$  的有 51 份,  $\leq 23\%$  的有 11 份;NDF 含量  $\leq 55\%$  的有 48 份,  $\leq 50\%$  的有 7 份,  $\leq 45\%$  的有 1 份。按照青贮玉米品质分级标准(表 1),有 17 份自交系的品质符合三级标准,分别为 14D1310、15D551、16XH-51、17HG825、17HG837、17HG850、QB44、QB193、QB196、QB506、QB662、QB2663、QB2721、QB2778、QB2894、M03 和 Mei22。其中 QB506 作为金玉 818 的亲本,已于 2019 年通过贵州省青贮玉米审定,符合该试验的结果。

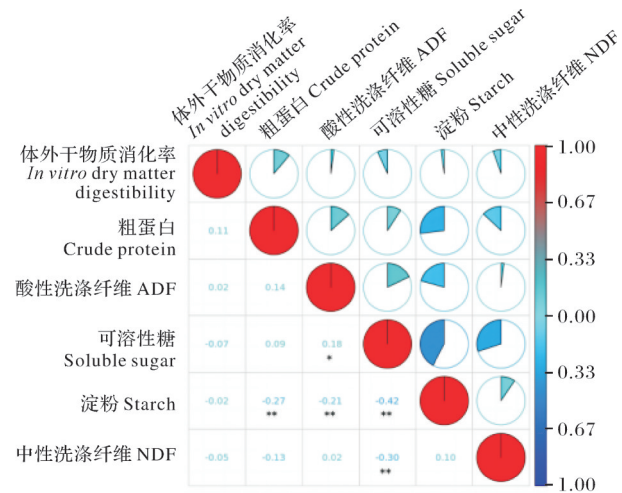
Ⅳ群主要包括 Reid 种质,如 Shen5003。基于 Kinship 分析(图 2B),发现大部分自交系间的亲缘关系系数为  $0.0 \sim 0.5$ ,仅有少部分为  $0.5 \sim 1.0$ ,表明该 183 份自交系间的亲缘关系较远。同时,主成分和亲缘关系作为协变量用于后续进行全基因组关联分析。

2.3 全基因组关联分析

根据最小等位基因频率  $MAF>0.05$  且样本缺失率<20% 的标准,筛选出 40 498 个高质量 SNPs 用于全基因组关联分析。利用 MLM 模型分别鉴定出 31、61、11、36、20 和 42 个与粗蛋白、淀粉、NDF、ADF、可溶性糖及体外干物质消化率显著相关的 SNPs( $P<0.001$ )(图 3)。

与粗蛋白显著相关的 SNPs 分布在 9 条染色体上

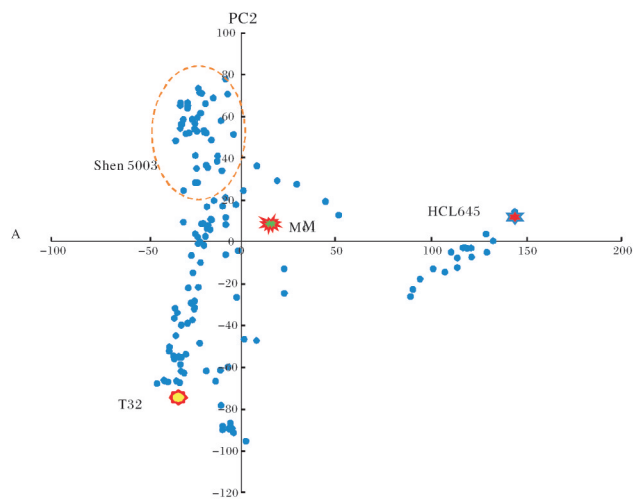




\*表示显著相关( $P<0.05$ );\*\*表示极显著相关( $P<0.01$ )。\* indicates significant correlation ( $P<0.05$ ); \*\* indicate extremely significant correlation ( $P<0.01$ ).

图1 玉米粗蛋白、淀粉、中性洗涤纤维、酸性洗涤纤维、可溶性糖和体外干物质消化率的Pearson相关性分析  
Fig. 1 Pearson correlation analysis of corn crude protein, starch, NDF, ADF, soluble sugar and *in vitro* dry matter digestibility

(图3A),其中4号染色体上有11个,2号染色体有5个,3号染色体上有4个,1号和10号染色体上各有3个,5号染色体上有2个,6号、7号、8号染色体上各有1个。粗蛋白显著相关SNPs的表型变异解释率为



5.80%~11.40%,其中位于3号染色体上的SYN1589表型变异解释率最高。

与淀粉显著相关的SNPs分布在9条染色体上(图3B),其中6号染色体上有19个,2号染色体上有16个,4号染色体上有7个,9号染色体上有6个,5号和8号染色体上有4个,1号和10号染色体上各有2个,3号染色体上有1个。淀粉显著相关SNPs的表型变异解释率为5.78%~11.38%,其中位于6号染色体上的SYN22472表型变异解释率最高。

与NDF显著相关的SNPs分布在6条染色体上(图3C),其中5号染色体上有4个,1号和2号染色体上各有2个,3号、7号和10号染色体上各有1个。NDF显著相关SNPs的表型变异解释率为5.78%~7.85%,其中位于1号染色体上的PZE-101058310表型变异解释率最高。

与ADF显著相关的SNPs分布在8条染色体上(图3D),其中2号染色体上有9个,4号和6号染色体上各有6个,3号和8号染色体上各有5个,1号染色体上有3个,7号和10号染色体上各有1个。ADF显著相关SNPs的表型变异解释率为5.81%~10.37%,其中位于2号染色体上的PUT-163a-29947492-1846表型变异解释率最高。

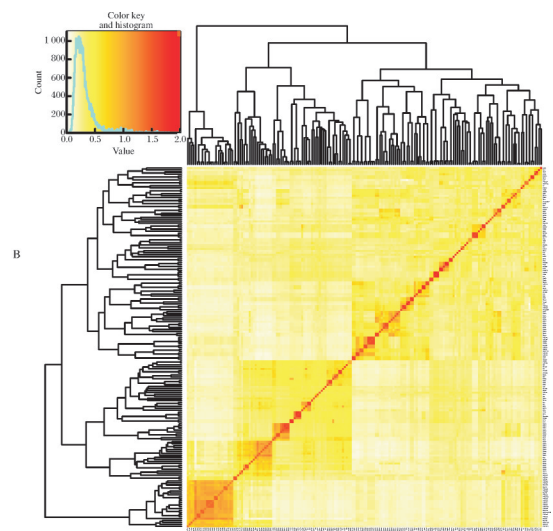


图2 183份玉米自交系主成分分析(A)与亲缘关系分析(B)

Fig. 2 Principal component analysis (A) and Kinship analysis (B) of 183 maize inbred lines

与可溶性糖显著相关的SNPs分布在6条染色体上(图3E),其中4号染色体上有8个,5号染色体上有4个,9号染色体上有3个,2号和10号染色体上各有2个,7号染色体上有1个。可溶性糖显著相关SNPs的表型变异解释率为5.78%~7.35%,其中位于10号

染色体上的SYN19780表型变异解释率最高。

与体外干物质消化率显著相关的SNPs分布在7条染色体上(图3F),其中6号染色体上有28个,3号染色体上有6个,2号、7号和8号染色体上各有2个,4号和5号染色体上各有1个。体外干物质消化率显

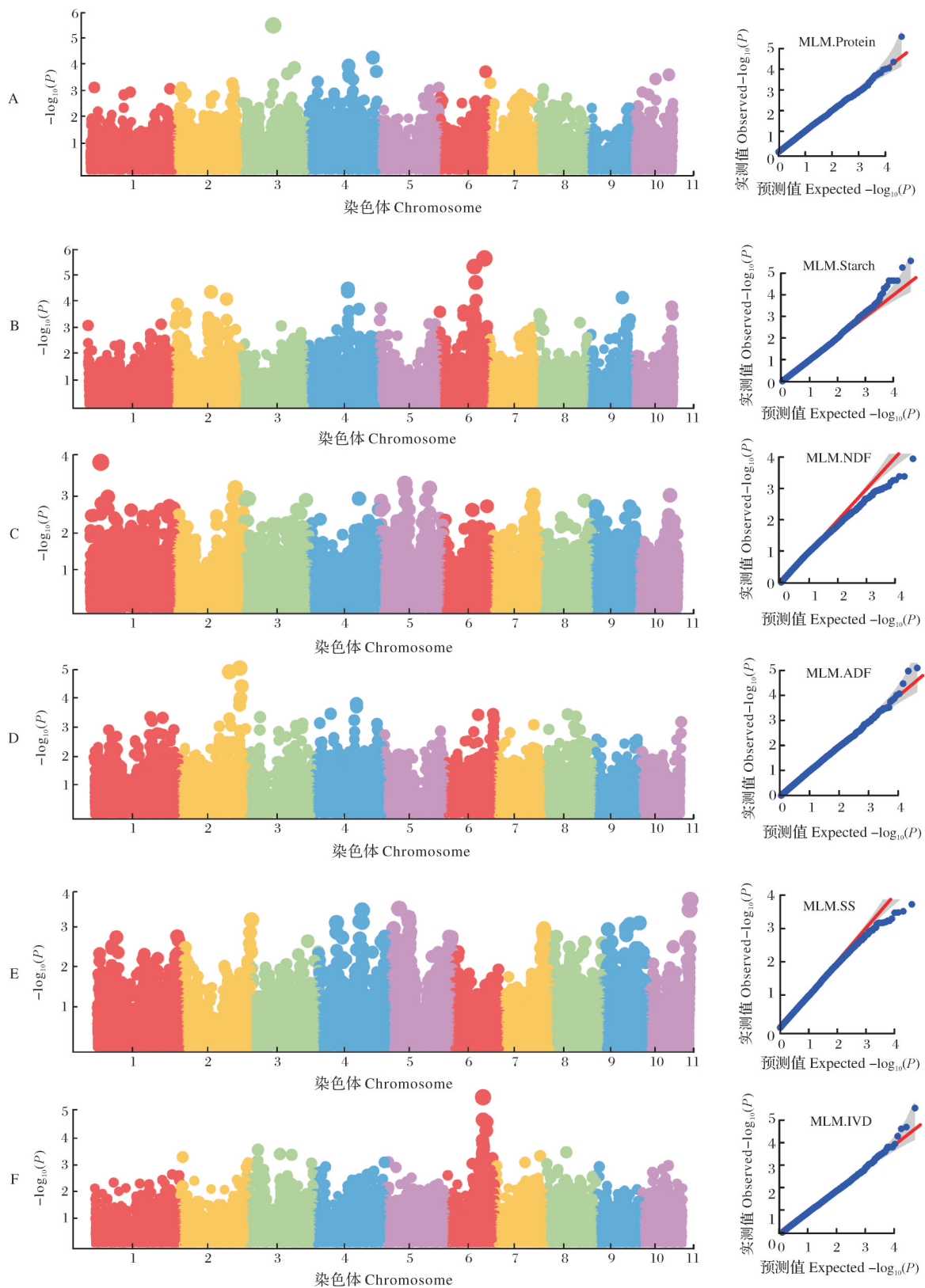


图3 粗蛋白(A)、淀粉(B)、NDF(C)、ADF(D)、可溶性糖(E)和体外干物质消化率(F)的曼哈顿图(左)与QQ-plot图(右)  
Fig. 3 Manhattan plot (left) and QQ-plot (right) of crude protein (A), starch (B), NDF (C), ADF (D), soluble sugars (E) and *in vitro* dry matter digestibility (F)

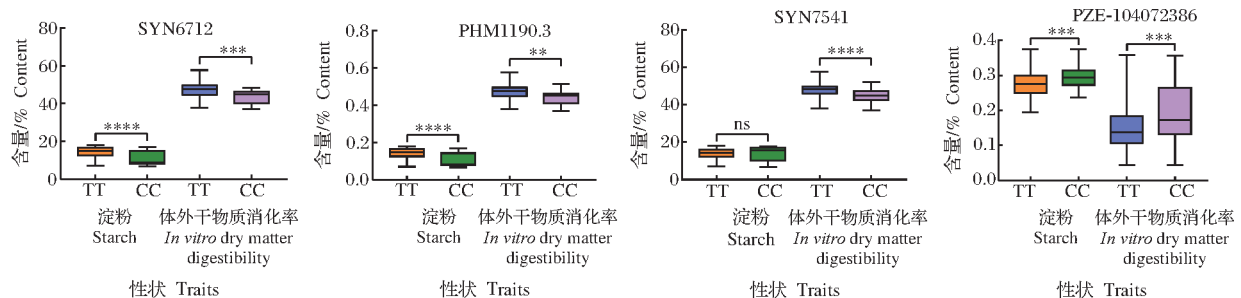
著相关SNPs的表型变异解释率为5.79%~11.33%，其中位于6号染色体上的PZE-106069016表型变异解释率最高。

进一步分析发现,有4个遗传位点存在一因多效的特性。其中,6号染色体上的SYN6712、PHM1190.3和SYN7541同时与淀粉、体外干物质消化率显著关联;SYN6712对淀粉和体外干物质消化率的表型变异解释率分别为6.66%、5.80%;PHM1190.3对淀粉和体外干物质消化率的表型变异解释率分别为10.72%、6.45%;SYN7541对淀粉和体外干物质消化率的表型变异解释率分别为6.12%、7.27%。4号染色体上的PZE-104072386同时与ADF、可溶性糖显著关联,表型变异解释率分别为6.41%、6.18%。

## 2.4 多效位点的等位变异鉴定和表型效应分析

SYN6712、PHM1190.3、SYN7541和PZE-104072386是本研究发现的多效位点。在本研究供试群体中有164份材料在SYN6712携带T/T基因型,10份材料携带C/C基因型,4份材料携带T/C基因型,其余5份材料基因型缺失;并且在该位点携带T/T基因型材料比携带C/C基因型材料的淀粉含量和体外干物质消化率分别平均增加3.80%和

3.62%,差异均达到极显著水平( $P<0.001$ )(图4A),说明T/T基因型是SYN6712的优异等位变异。在PHM1190.3上有164材料携带T/T基因型,15份材料携带C/C基因型,2份材料携带T/C基因型,其余2份材料基因型缺失;基因型为T/T材料比基因型为C/C材料的淀粉含量和体外干物质消化率分别平均增加4.12%和2.76%,差异分别达到极显著( $P<0.001$ )和显著水平( $P<0.01$ )(图4B),说明T/T基因型是PHM1190.3的优异等位变异。在SYN7541上有131份材料携带A/A基因型,44份材料携带G/G基因型,其余8份材料携带A/G基因型;基因型为A/A材料比基因型为G/G材料的体外干物质消化率平均增加2.74%,差异达到极显著( $P<0.001$ ),而该位点变异对淀粉含量没有显著影响(图4C)。在PZE-104072386上有121份材料携带A/A基因型,49份材料携带C/C基因型,9份材料携带A/C基因型,其余4份材料基因型缺失;基因型为A/A材料比基因型为C/C材料的ADF和可溶性糖含量分别平均降低2.03%和4.39%,差异均达到极显著( $P<0.001$ )(图4D)。其中,品质符合三级标准的17份自交系在多效位点的优异等位变异均有2个及以上(表3)。



采用 $t$ 检验,ns表示无显著差异;\*\*表示 $P<0.01$ \*\*\*表示 $P<0.001$ \*\*\*\*表示 $P<0.0001$ 。 $t$ -test, ns indicates no significant difference; \*\* indicates  $P<0.01$ ; \*\*\* indicates  $P<0.001$ ; \*\*\*\* indicates  $P<0.0001$ .

图4 多效位点等位变异表型效应分析

Fig.4 Analysis of phenotypic effects of allelic variants of multiple-effect loci

## 2.5 候选基因预测

针对4个多效遗传位点进行候选基因挖掘,结合公共数据库(www.maizegdb.org),对候选位点进行功能注释,寻找位点附近的候选基因,通过评估预测基因与表型性状之间的关联性,筛选到4个相关联的候选基因。其中,同时与淀粉、体外干物质消化率显著相关的SYN6712、PHM1190.3和SYN7541分别与Zm00001d037272、Zm00001d037386和Zm00001d037532相关联。同时与ADF、可溶性糖显著相关的PZE-104072386与Zm00001d051166相关联。其中,

Zm00001d037272编码 $\alpha$ -甘露糖苷酶,该酶是真核生物蛋白质N-聚糖修饰的关键酶;在植物细胞壁中的糖蛋白含有大量N-聚糖结构, $\alpha$ -甘露糖苷酶对N-聚糖的修饰会直接影响细胞壁的结构;因此, $\alpha$ -甘露糖苷酶的表达可能破坏了青贮玉米的细胞壁,使其软化利于发酵,提高体外干物质消化率;同时,参与糖蛋白的降解,与淀粉的形成密切相关。Zm00001d051166编码苯丙氨酸解氨酶,该解氨酶是植物代谢途径的关键酶之一,参与可溶性糖等次生代谢物和ADF中木质素的合成。



表 3 多效位点在 17 份自交系的等位变异情况  
Table 3 Allelic variation of polycistronic loci  
in 17 maize inbred lines

材料 Material	位点 Loci			
	SYN6712	PHM1190.3	SYN7541	PZE-104072386
14D1310	TT	TT	GG	AA
15D551	TT	NN	AA	AC
16XH-51	TT	TT	AA	AA
17HG825	TT	TT	GG	AA
17HG837	TT	TT	GG	AC
17HG850	TT	TT	GG	AA
QB44	TT	TT	AA	CC
QB193	TT	TT	AA	AA
QB196	TT	TT	AG	CC
QB506	NN	TT	AA	CC
QB662	TT	TT	AA	AA
QB2663	TT	TT	AA	CC
QB2721	TT	TT	AA	CC
QB2778	TT	TT	AA	CC
QB2894	TT	TT	AA	AA
M03	TT	TT	AA	NN
Mei22	CT	TT	AA	AC

注:NN为缺失基因型。Note: NN is the deletion genotype.

3 讨 论

3.1 青贮玉米亲本的重要性

我国青贮玉米产业起点晚、资源少、规模小,有待进一步发展。现阶段,我国青贮玉米育种存在的主要问题之一是缺乏优异的青贮亲本,选育符合育种目标的亲本为当前的难题之一。本研究发现 17 份自交系的品质符合青贮玉米品质三级标准,且 17 份自交系在多效位点的优异等位变异均有 2 个及以上。其中, QB506 的粗蛋白、淀粉、NDF 和 ADF 含量分别为 10.98%、15.27%、54.81% 和 28.43%。笔者所在团队利用 QB506 作为亲本之一,组配的金玉 818 已于 2019 年通过贵州省青贮玉米审定。同时,金玉 818 的另一个亲本 T32,其粗蛋白含量为 10.35%、淀粉含量为 16.28%。此外,我们选育的另一个青贮玉米黔青 446 的双亲(QB446、QB1545)同样有较高的粗蛋白和淀粉含量, QB446 的粗蛋白和淀粉含量分别为 10.75% 和 14.72%, QB1545 的的粗蛋白和淀粉含量分别为 10.96% 和 12.97%。

热带、亚热带玉米种质具有生物产量高、品质优、抗逆性强、持绿期长等特点,符合当前青贮玉米的育种目标,对我国的青贮玉米品种选育起着关键性作用。我国育成的大部分青贮玉米品种含有一定

的热带血缘<sup>[22-24]</sup>,例如京科青贮 301、北青贮 410、中农大青贮 67、雅玉青贮 8 号、雅玉青贮 26 和雅玉青贮 04889 等<sup>[25]</sup>。优良自交系是品种的保障,为了进一步利用热带种质,国内科研单位相继选育出了一批粮饲兼用自交系,如 Suwan 种质 S37、YA3729、YA3737,巴西热带种质 YA8201、YA8702, Tuxpeño 种质 YH-1 等,这些自交系的成功选育为我国青贮玉米的发展拓宽了新的途径。常海滨<sup>[26]</sup>认为热带、亚热带玉米与温带材料组配是青贮玉米的杂种模式之一。同样,采用“热×温”模式组配的金玉 818 和黔青 446 为品质优、产量高、抗性好的强优势组合,适宜在贵州等西南地区种植<sup>[27-28]</sup>。

3.2 多效遗传位点分析

遗传位点的多效性对青贮玉米相关品质性状研究起着重要的作用,多效遗传位点的鉴定有助于更好地理解不同品质性状间的遗传相关性。Park 等<sup>[14]</sup>利用 02S6140 和 KSS22 构建作图群体,发现 4 号染色体的 umc1088-bnlg1265 区域同时与玉米的淀粉、葡萄糖和蔗糖有关。Wassom 等<sup>[29]</sup>发现在 8 号染色体上的 bnlg162 - umc1130 区域同时与玉米籽粒的油分、蛋白和淀粉相关。Wang 等<sup>[16]</sup>利用 368 份玉米自交系的茎秆品质性状进行全基因组关联分析,发现在 1 号染色体的 chr1.S\_18202551、2 号染色体的 chr2.S\_198724413 和 5 号染色体的 chr5.S\_79867527 均同时与 ADF 和体外干物质消化率相关,4 号染色体的 PZE-104075114、7 号染色体的 chr7.S\_2739958 和 8 号染色体的 chr8.S\_150908620 均同时与 NDF 和 ADF 相关,6 号染色体的 PZE-106111799 同时与 NDF 和体外干物质消化率相关,6 号染色体的 chr6.S\_155653406 同时与 NDF、ADF 和体外干物质消化率相关;其中 PZE-104075114 与本研究发现的多效位点 PZE-104072386 相隔 4.15 Mb, chr6.S\_155653406 与本研究发现的多效位点 SYN6712、PHM1190.3 和 SYN7541 分别相距 40.52、35.42 和 30.84 Mb,可见,6 号染色体可能存在着大量与青贮玉米品质性状相关的多效遗传位点,有待进一步深挖,进而构建高密度青贮玉米品质性状相关的遗传图谱,利用分子辅助选择产量高、品质优的青贮玉米品系。

挖掘多效遗传位点的优异等位变异是利用分子标记辅助选择育种的首要条件之一<sup>[30-31]</sup>;因此,α-甘露糖苷酶的表达可能破坏了玉米植株的细胞壁,使其软化利于畜牧消化,提高体外干物质消化率;同

时,参与糖蛋白的降解,可能与淀粉的形成密切相关<sup>[32]</sup>。*Zm00001d037386*编码跨膜蛋白,跨膜蛋白是细胞与外界联系的桥梁,参与细胞膜内外物质交换、能量和信号的传递<sup>[33]</sup>,可能与淀粉等物质的吸收有关。*Zm00001d037532*编码6-磷酸果糖-2-激酶/果糖-26-二磷酸酶,参与糖的代谢<sup>[34]</sup>,可促进营养物质的降解,利于牲畜消化,提高体外干物质消化率。*Zm00001d051166*编码苯丙氨酸解氨酶,该酶作为植物代谢途径的关键酶之一,参与次生代谢物的合成,如可溶性糖和ADF中木质素等<sup>[35]</sup>。这些候选基因的发现,可为品质相关性状的功能基因克隆提供一定的科学依据。

## 参考文献 References

- [1] 张留华,吴夏. 中国式现代化背景下畜牧强国建设的内涵特征、动力机制与实践方略[J]. 饲料研究, 2023(15): 187-190. ZHANG L H, WU X. Connotative characteristics, dynamic mechanism and practical strategy of building a powerful animal husbandry country in context of Chinese path to modernization[J]. Feed research, 2023(15): 187-190 (in Chinese).
- [2] 简利蓉,安伟洁,王依然.“双循环”发展格局下中国饲料进出口贸易整体趋势及竞争力提升分析[J]. 中国饲料, 2023(4): 152-155. JIAN L R, AN W J, WANG Y R. Analysis of the overall trend and competitiveness improvement of China's feed import and export trade under the development pattern of "dual circulation"[J]. China feed, 2023(4): 152-155 (in Chinese).
- [3] 戴忠民,高凤菊,王友平,等. 青贮玉米的育种及发展趋势[J]. 玉米科学, 2004, 12(4): 9-11. DAI Z M, GAO F J, WANG Y P, et al. Silage maize breeding and its development trend[J]. Journal of maize sciences, 2004, 12(4): 9-11 (in Chinese).
- [4] 徐国良,李淑华,才卓. 美国高产优质青贮玉米杂交种的选育[J]. 玉米科学, 2011, 19(3): 1-6. XU G L, LI S H, CAI Z, et al. Breeding maize hybrids for high silage yield and quality[J]. Journal of maize sciences, 2011, 19(3): 1-6 (in Chinese).
- [5] 蒋丛泽,受娜,高玮,等. 陇东旱塬区不同青贮玉米品种生产性能和营养品质综合评价[J]. 草业学报, 2023, 32(7): 216-228. JIANG C Z, SHOU N, GAO W, et al. A multivariate evaluation of production performance and nutritional quality of different varieties of silage maize in the dry plateau area of Longdong[J]. Acta praeaculturae sinica, 2023, 32(7): 216-228 (in Chinese with English abstract).
- [6] 雷建平,雷凯文,邓龙华,等. 饲料代谢能和粗蛋白水平对31~86日龄清远麻鸡生长性能和经济效益的影响[J]. 饲料工业, 2023, 44(23): 37-43. LEI J P, LEI K W, DENG L H, et al. Effect of dietary metabolizable energy and crude protein levels on growth performance and economic benefits of qingyuan-ma capons from 31 to 86 days[J]. Feed industry, 2023, 44(23): 37-43 (in Chinese).
- [7] 李莉,吴汉葵,解祥学,等. 添加纤维素酶和淀粉对象草青贮发酵品质的影响[J]. 动物营养学报, 2021, 33(9): 5025-5035. LI L, WU H K, XIE X X, et al. Effects of adding cellulase and starch on fermentation quality of napier grass silage[J]. Chinese journal of animal nutrition, 2021, 33(9): 5025-5035 (in Chinese with English abstract).
- [8] 闫贵龙,程成,曹春梅,等. 煮沸时间对滤袋法测定青贮玉米NDF和ADF含量的影响[J]. 畜牧兽医学报, 2012, 43(3): 404-409. YAN G L, CHENG C, CAO C M, et al. The effects of boiling time on the determination of NDF and ADF in corn silage with the filter bag technique[J]. Acta veterinaria et zootechnica sinica, 2012, 43(3): 404-409 (in Chinese with English abstract).
- [9] 黄建智,盛月云,关鹏,等. 饲料中性洗涤纤维水平对塔里木马鹿瘤胃发酵参数、血清生化指标、食糜外流速度及采食反刍规律的影响[J]. 动物营养学报, 2023, 35(4): 2580-2592. HUANG J Z, SHENG Y Y, GUAN P, et al. Effects of dietary neutral detergent fiber level on rumen fermentation parameters, serum biochemical indexes, chyme outflow rate and feeding and rumination law of Tarim wapiti[J]. Chinese journal of animal nutrition, 2023, 35(4): 2580-2592 (in Chinese with English abstract).
- [10] 刘磊,李福昌,杨鹏程,等. 饲料粗纤维、中性洗涤纤维和酸性洗涤纤维残渣中各成分的研究[J]. 动物营养学报, 2018, 30(3): 1044-1051. LIU L, LI F C, YANG P C, et al. Study of components in residues of crude fiber, neutral detergent fiber and acid detergent fiber in feed[J]. Chinese journal of animal nutrition, 2018, 30(3): 1044-1051 (in Chinese with English abstract).
- [11] 王志敬,杨慧山,葛影影,等. 发酵时间对青贮凤梨渣pH·亚硝酸盐·氨态氮·可溶性糖和有机酸含量的影响[J]. 安徽农业科学, 2020, 48(21): 100-102. WANG Z J, YANG H S, GE Y Y, et al. Effects of fermentation time on pH, contents of nitrite, ammonia nitrogen, soluble sugar and organic acid in silage pineapple residue[J]. Journal of Anhui agricultural sciences, 2020, 48(21): 100-102 (in Chinese with English abstract).
- [12] 吕仁龙,张雨书,张祎,等. 不同比例姬菇菌糠与王草混合在高水分条件下青贮效果及对体外消化的影响[J]. 饲料研究, 2022, 45(24): 12-16. LÜ R L, ZHANG Y S, ZHANG Y, et al. Ferment effect of king grass with different ratios of *Agaricus blazei* Murill in high-moisture fermentation conditions and its effect on in vitro digestibility[J]. Feed research, 2022, 45(24): 12-16 (in Chinese with English abstract).
- [13] CARDINAL A J, LEE M, MOORE K J. Genetic mapping and analysis of quantitative trait loci affecting fiber and lignin content in maize[J]. Theoretical and applied genetics, 2003,



- 106(5): 866-874.
- [14] PARK K J, SA K J, KOH H J, et al. QTL analysis for eating quality-related traits in an  $F_{2:3}$  population derived from waxy corn  $\times$  sweet corn cross[J]. *Breeding science*, 2013, 63(3): 325-332.
- [15] ZHANG J, LU X Q, SONG X F, et al. Mapping quantitative trait loci for oil, starch, and protein concentrations grain with high-oil maize by SSR markers[J]. *Euphytica*, 2008, 162(3): 335-344.
- [16] WANG H W, LI K, HU X J, et al. Genome-wide association analysis of forage quality in maize mature stalk[J]. *BMC plant biology*, 2016, 16(1): 227-239.
- [17] 李灿. 玉米主要营养品质性状的全基因组关联分析[D]. 成都: 四川农业大学, 2018. LI C. Genome-wide association study of traits about major nutritional quality in maize[D]. Sichuan Agricultural University, 2018(in Chinese with English abstract).
- [18] 李雪莹, 吴晗, 张君, 等. 玉米淀粉QTL定位分析[J]. *玉米科学*, 2019, 27(6): 46-51. LI X Y, WU H, ZHANG J, et al. Analysis of QTL mapping on maize starch[J]. *Journal of maize sciences*, 2019, 27(6): 46-51(in Chinese with English abstract).
- [19] 卢雨晴, 崔淑娜, 张红伟, 等. 利用杂交种群解析玉米酸性洗涤纤维含量的遗传基础[J/OL]. *分子植物育种*, 2022, (2022-05-13)[2023-11-04]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.s.20220512.1531.030.html>. LU Y Q, CUI S N, ZHANG H W, et al. The genetic basis of acid detergent fiber content in maize was analyzed using hybrid populations[J/OL]. *Molecular plant breeding*, 2022, (2022-05-13)[2023-11-04]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.s.20220512.1531.030.html>(in Chinese with English abstract).
- [20] TRUNTZLER M, BARRIÈRE Y, SAWKINS M C, et al. Meta-analysis of QTL involved in silage quality of maize and comparison with the position of candidate genes[J]. *Theoretical and applied genetics*, 2010, 121, 1465-1482.
- [21] SHIM H, CHASMAN D I, SMITH J D, et al. A multivariate genome-wide association analysis of 10 LDL subfractions, and their response to statin treatment, in 1868 Caucasians[J/OL]. *PLoS One*, 2015, 10: e0120758[2023-11-04]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0120758>.
- [22] 苏天增, 李建生, 刘杭, 等. 大京九7个青贮玉米杂交种及杂优模式分析[J]. *种子*, 2020, 39(8): 119-123. SU T Z, LI J S, LIU H, et al. Study on characteristics of seven silage maize varieties of dajingjiu series and hybrid optimization model analysis[J]. *Seed*, 2020, 39(8): 119-123(in Chinese).
- [23] 孟令聪, 路明, 张志军, 等. 我国青贮玉米育种研究进展[J]. *北方农业学报*, 2016, 44(4): 99-104. MENG L C, LU M, ZHANG Z J, et al. Research progress of breeding silage maize in China[J]. *Journal of northern agriculture*, 2016, 44(4): 99-104(in Chinese with English abstract).
- [24] 周海宇, 吴国军, 程伟东, 等. 青贮玉米自交系农艺性状的配合力分析及杂优模式探讨[J]. *玉米科学*, 2022, 30(1): 1-7. ZHOU H Y, WU G J, CHENG W D, et al. Analysis of combining ability of agronomic traits and heterosis of silage maize inbred lines[J]. *Journal of maize sciences*, 2022, 30(1): 1-7(in Chinese with English abstract).
- [25] 徐艳荣, 仲义, 代秀云, 等. 我国青贮玉米的发展现状及种质改良[J]. *东北农业科学*, 2017, 42(1): 8-11. XU Y R, ZHONG Y, DAI X Y, et al. Development of silage maize in china; present situation and germplasm improvement[J]. *Journal of northeast agricultural sciences*, 2017, 42(1): 8-11(in Chinese with English abstract).
- [26] 常海滨. 热带玉米群体杂种优势关系研究及青贮玉米育种利用价值评估[D]. 北京: 中国农业科学院, 2012. CHANG H B. Analysis of heterosis relationships among tropical maize populations and identification of populations useful for improving silage corn[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2012(in Chinese with English abstract).
- [27] 祝云芳, 陈泽辉, 王安贵, 等. 玉米杂交种金玉818的选育及制种技术[J]. *种子*, 2014, 33(5): 106-108. ZHU Y F, CHEN Z H, WANG A G, et al. The breeding and seed production techniques of hybrid maize Jinyu 818[J]. *Seed*, 2014, 33(5): 106-108(in Chinese).
- [28] 王安贵, 陈泽辉, 刘鹏飞, 等. 高产优质青贮玉米新品种黔青446的选育及栽培技术[J]. *贵州农业科学*, 2021, 49(11): 7-11. WANG A G, CHEN Z H, LIU P F, et al. Breeding and cultivation techniques of qianging 446, a new silage maize variety with good quality and high yield[J]. *Guizhou agricultural sciences*, 2021, 49(11): 7-11(in Chinese with English abstract).
- [29] WASSOM J J, WONG J C, MARTINEZ E, et al. QTL associated with maize kernel oil, protein, and starch concentrations; kernel mass; and grain yield in Illinois high oil  $\times$  B73 backcross-derived lines[J]. *Crop science*, 2008, 48(1): 243-252.
- [30] 殷芳冰, 李雅楠, 鲍建喜, 等. 玉米雌穗产量相关性状全基因组关联分析与候选基因鉴定[J]. *作物学报*, 2023, 49(2): 377-391. YIN F B, LI Y N, BAO J X, et al. Genome-wide association study and candidate genes predication of yield related ear traits in maize[J]. *Acta agronomica sinica*, 2023, 49(2): 377-391(in Chinese with English abstract).
- [31] 黄志明, 林素英, 傅明连, 等. 枇杷果实发育过程中果肉质地与胞壁酶活性的变化[J]. *热带作物学报*, 2012, 33(1): 24-29. HUANG Z M, LIN S Y, FU M L, et al. The change of cell wall enzymes and fruit texture during the development and maturation of *Eriobotrya japonica*[J]. *Chinese journal of tropical crops*, 2012, 33(1): 24-29(in Chinese with English abstract).
- [32] 王姗姗, 徐向军, 路浩, 等.  $\alpha$ -甘露糖苷酶研究进展[J]. *动物医学进展*, 2012, 33(1): 92-97. WANG S S, XU X J, LU H, et al. Advance in  $\alpha$ -mannosidase[J]. *Progress in veterinary medicine*, 2012, 33(1): 92-97(in Chinese with English abstract).

- [33] 宋江华, 张立新. 植物跨膜蛋白研究进展[J]. 生物学杂志, 2009, 26(6): 62-64. SONG J H, ZHANG L X. Progress on the transmembrane protein in plants [J]. Journal of biology, 2009, 26(6): 62-64 (in Chinese with English abstract).
- [34] RIDER M H, BERTRAND L, VERTOMMEN D, et al. 6-Phosphofructo-2-kinase/fructose-2, 6-bisphosphatase: head-to-head with a bifunctional enzyme that controls glycolysis[J]. The biochemical journal, 2004, 381(Pt 3): 561-579.
- [35] 李莉, 赵越, 马君兰. 苯丙氨酸代谢途径关键酶: PAL、C4H、4CL 研究新进展[J]. 生物信息学, 2007(4): 187-189. LI L, ZHAO Y, MA J L. Recent progress on key enzymes: PAL, C4H, 4CL of phenylalanine metabolism pathway [J]. Chinese journal of bioinformatics, 2007(4): 187-189 (in Chinese with English abstract).

## Genome-wide association analysis of quality related traits in silage maize

LIU Pengfei<sup>1</sup>, WANG Dong<sup>1,2</sup>, CHEN Zehui<sup>1</sup>, GUO Xiangyang<sup>1</sup>,  
WU Xun<sup>1,3</sup>, WANG Angui<sup>1</sup>, TU Liang<sup>1</sup>, ZHU Yunfang<sup>1</sup>

1. Institute of Upland Food Crops, Guizhou Academy of Agricultural Sciences, Guiyang 550006, China;

2. College of Agriculture, Guizhou University, Guiyang 550025, China;

3. Ministry of Agriculture and Rural Affairs Key Laboratory of Crop Genetic Resources and Germplasm Innovation in Karst Region, Guiyang 550006, China

**Abstract** 183 maize inbred lines were planted in Guiyang according to a random block design to preliminarily study the genetic patterns of the content of crude protein, starch, neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), soluble sugar, and the *in vitro* digestibility of dry matter in maize. The content of crude protein, starch, NDF, ADF, soluble sugars, and the *in vitro* digestibility of dry matter in maize was determined. The Maize SNP 50 chip was used to genotype materials tested. Genome-wide association analysis (GWAS) with the mixed linear model (MLM) was performed. The results showed that 31, 61, 11, 36, 20, and 42 single nucleotide polymorphisms (SNPs) sites were identified to be significantly associated with the content of crude protein, starch, NDF, ADF, soluble sugars, and the *in vitro* digestibility of dry matter in maize ( $P < 0.001$ ), with the explanation rates for phenotypic variation of 5.80%-11.40%, 5.78%-11.38%, 5.78%-7.85%, 5.81%-10.37%, 5.78%-7.35%, and 5.79%-11.33%, respectively. It was found that SYN6712, PHM1190.3, SYN7541, and PZE-104072386 belong to a pleiotropic locus. Among them, SYN6712, PHM1190.3, and SYN7541 on the chromosome 6 were significantly associated with the content of starch and the *in vitro* digestibility of dry matter, while PZE-104072386 on the chromosome 4 was significantly associated with the content of ADF and soluble sugars. The results of allele identification showed that the T/T genotype was an elite allele of SYN6712 and PHM1190.3, and candidate genes including *Zm00001d03772*, *Zm00001d037386*, *Zm00001d037532*, and *Zm00001d051166* were identified. It will provide theoretical support for the further studies on the genetic mechanism of quality related traits in maize including the content of crude protein, starch, NDF, ADF and soluble sugars, as well as for the molecular markers assisted breeding.

**Keywords** silage maize; quality traits; genome-wide association analysis (GWAS); single nucleotide polymorphisms (SNPs); elite allelic variation; candidate genes

(责任编辑: 张志钰)