

利用 SRAP 分子标记划分玉米自交系类群初探^{*}

赵新亮¹, 郭霭光²

(1. 河南科技学院, 河南新乡 453003; 2. 西北农林科技大学, 陕西杨凌 712100)

摘 要: 以河南省 20 世纪 80 年代以来常用的 29 个玉米自交系为材料, 利用 SRAP 分子标记技术对河南省玉米种质遗传多样性及杂种优势群进行划分, 对主要的审定品种亲本间遗传距离及杂种优势模式进行分析。结果表明, 29 个玉米自交系可分为四大类群, 第Ⅱ大类又可分为 2 个亚群, 第Ⅲ大类群又可以分为 3 个亚群, 29 个玉米自交系可分为 7 个亚群, 分析结果与系谱来源基本一致。分类后类间平均遗传相似系数均小于类内平均遗传相似系数, 同时生产上推广组合的亲本大多来自不同的大类或亚类, SRAP 标记的聚类结果是比较合理的, 对于玉米杂种优势群的划分具有参考价值。

关键词: 玉米; SRAP 分子标记; 杂种优势群

中图分类号: S513

文献标识码: A

文章编号: 1004-1389(2007)03-0077-05

Preliminary Study on the Classification of Maize Inbred Lines by SRAP Marker Technology

ZHAO Xin-liang¹ and GUO Ai-guang²

(1. He'nan Institute of Science and Technology, Xinxiang He'nan 453003, China; 2. Northwest A & F University, Yangling Shaanxi 712100, China)

Abstract: 29 maize inbred lines often utilized in Henan since the 1980's were used in this study, for which the genetic diversities and heterotic population were analyzed by SRAP molecular markers technology while the heterotic patterns and their parents' genetic distances were also studied. The results showed: 29 inbred lines were classified into four groups, of which group II was divided into two sub-groups and group III was divided into three sub-groups, so the 29 inbred lines could be divided into seven sub-groups, which was consistent with the original pedigree. Average genetic similarity coefficient among groups were smaller than that within groups after classification and popularized parental hybrids most came from different groups or sub-groups. So the SRAP markers technology was reasonable and valuable for classification of maize heterotic population.

Key words: Maize; SRAP marker; Heterotic population

SRAP 标记 (Sequence-related Amplified Polymorphism, 序列相关扩增多态性) 是由 Li 和 Quiros 发展的一种新的分子标记技术^[1]。最早是在芸薹属作物中开发利用, 目前已在马铃薯、水稻、莴苣、花椰菜、油菜、大蒜、棉花、辣椒等植物及水稻瘟病菌中使用^[2~4], 应用于遗传多样性分析、比较基因组学、图谱构建等方面。SRAP 标记具

有结果稳定可靠, 简单, 中等产率、在基因组中分布均匀的特点, 在国外的研究应用较多, 但在国内此技术的应用较少, 目前国内尚未见到利用 SRAP 分子标记划分玉米自交系类群的报道^[5]。本研究以河南省常用的 29 个玉米自交系为材料, 利用 SRAP 分子标记技术对河南省玉米种质杂种优势群进行划分, 对河南省主要的审定玉米品

^{*} 收稿日期: 2006-12-06 修回日期: 2007-02-17

基金项目: 河南省教育厅科技攻关项目 (200510467009)。

作者简介: 赵新亮 (1975—), 男, 河南新乡人, 讲师, 主要从事玉米育种及种子科学研究。E-mail: zxl@hist.edu.cn

种亲本间遗传距离及杂种优势模式进行分析。

1 材料与方法

1.1 试验材料

选用 29 个河南省近年来常用的玉米自交系

表 1 29 个玉米自交系名称

Table 1 Names of 29 maize inbred lines

编号 No.	自交系 Inbred lines	编号 No.	自交系 Inbred lines	编号 No.	自交系 Inbred lines
1	郑 22	11	P138	21	郑 29
2	沈 219	12	安 246	22	9401
3	87-1	13	478	23	京 7 黄
4	郑 13	14	许 052	24	新 7(红)
5	郑 58	15	浚 92-6	25	漯 12
6	白 107	16	9058	26	E28
7	昌 7-2	17	浚 92-8	27	郑 36
8	综 3	18	248	28	郑 60
9	9212	19	郑 35	29	新 4 白
10	丹 340	20	济 533		

1.2 试验方法

1.2.1 DNA 模板提取 按酚-氯仿(CTAB)法进行提取^[6]。

1.2.2 SRAP 引物筛选 根据 Li 和 Quiros (2001)论文中推荐的 5 条正向引物、6 条反向引物(引物序列见表 2)^[4,5],组成 30 个引物组合,随机选择 4 个玉米自交系材料进行扩增反应,从中选择产物电泳图谱带型清晰丰富,重复性好的引物组合作为本试验用的引物组合。引物由上海鼎安生物科技有限公司合成。

表 2 Li 和 Quiros 推荐的正、反向引物序列

Table 2 Sequences of forward and reverse primers recommended by Li and Quiros

正向引物序列 Sequences of forward primers	反向引物序列 Sequences of reverse primers
me1;5'TGAGTCCAAACCGGATA-3'	em1; 5'GACTGCGTACGAATTAAT -3'
me2;5'TGAGTCCAAACCGGAGC-3'	em2; 5'GACTGCGTACGAATTTCG-3'
me3;5'TGAGTCCAAACCGGAAT-3'	em3; 5'GACTGCGTACGAATTGAC-3'
me4;5'TGAGTCCAAACCGGACC-3'	em4; 5'GACTGCGTACGAATTTGA-3'
me5;5'TGAGTCCAAACCGGAAG-3'	em5; 5'GACTGCGTACGAATTAAAC -3'
	em6; 5'GACTGCGTACGAATTGCA-3'

1.2.3 SRAP 分析 ①PCR 扩增:根据 Li 和 Quiros (2001)的扩增程序^[1],采用反应总体积 25 μ L 中,模板 DNA 浓度为 20 ng Mg^{2+} 浓度 2.0 mmol/L,dNTPs 浓度 0.2 mmol/L,Taq DNA 聚合酶量为 1.5 U,两个引物均为 15×10^{-12} mol。94℃预变性 5 min;94℃变性 1 min,35℃复性 1 min,72℃延伸 1 min,5 个循环;94℃变性 1 min,50℃复性 1 min,72℃延伸 1 min,35 个循环,最后 72℃延伸 10 min,4℃保存;选用 System 9700 扩增仪进行 PCR 扩增。②SRAP 产物的检测:每个

(表 1),将玉米自交系种子消毒后培养,取玉米幼苗幼嫩真叶提取 DNA 模板。本试验所用玉米自交系由河南科技学院玉米育种中心提供。

扩增的 PCR 管中加入 3 μ L 0.25% 溴酚蓝(用 40%蔗糖溶液配制),混匀,取 5 μ L 点样电泳。采用 6%的聚丙烯酰胺凝胶,垂直板电泳,电泳缓冲液为 1×TBE,用 100 V 的电压、稳压电泳 3 h,电泳后银染,银染后利用 C+G/DPZ-E 型凝胶成像系统拍照保存。③统计分析:根据扩增产物电泳图谱,在相同迁移位置有谱带记为 1,无谱带记为 0,制成 0-1 表,建立数据表格。利用 Dps 分析软件,对结果以 UPGMA (类平均法 Unweighted Pair Group Method Arithmetic Average)进行聚类分析,自动生成相似性系数和树状图,对自交系类群进行划分,结合其亲缘关系和生产实践对其杂种优势关系进行分析。

2 结果与分析

2.1 SRAP 标记引物筛选

根据 30 个引物组合的扩增图谱(图略),选择其中带型丰富、清晰均匀的(me1-em3)、(me2-em1)、(me4-em6)、(me5-em1)、(me5-em3)、(me5-em6)等 5 个引物组合做为玉米 SRAP 标记的核心引物。采用这 5 个引物组合对河南省常用玉米自交系进行 PCR 扩增。

2.2 SRAP 标记扩增结果

利用本试验筛选的引物组合对河南省 29 个常用玉米自交系的 DNA 组进行 SRAP 标记,得到的这些自交系的扩增图谱(图 1),条带清晰,带型稳定,表现出了比较丰富多态性。

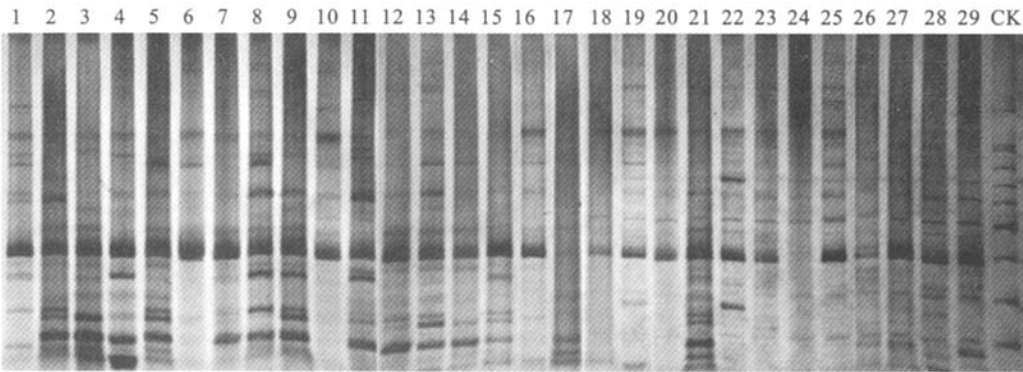


图 1 利用引物(me5-em1)对 29 个玉米自交系 SRAP 扩增图谱

Fig. 1 SRAP amplified profiles of 29 maize inbred lines generated by primer pair me5+em1

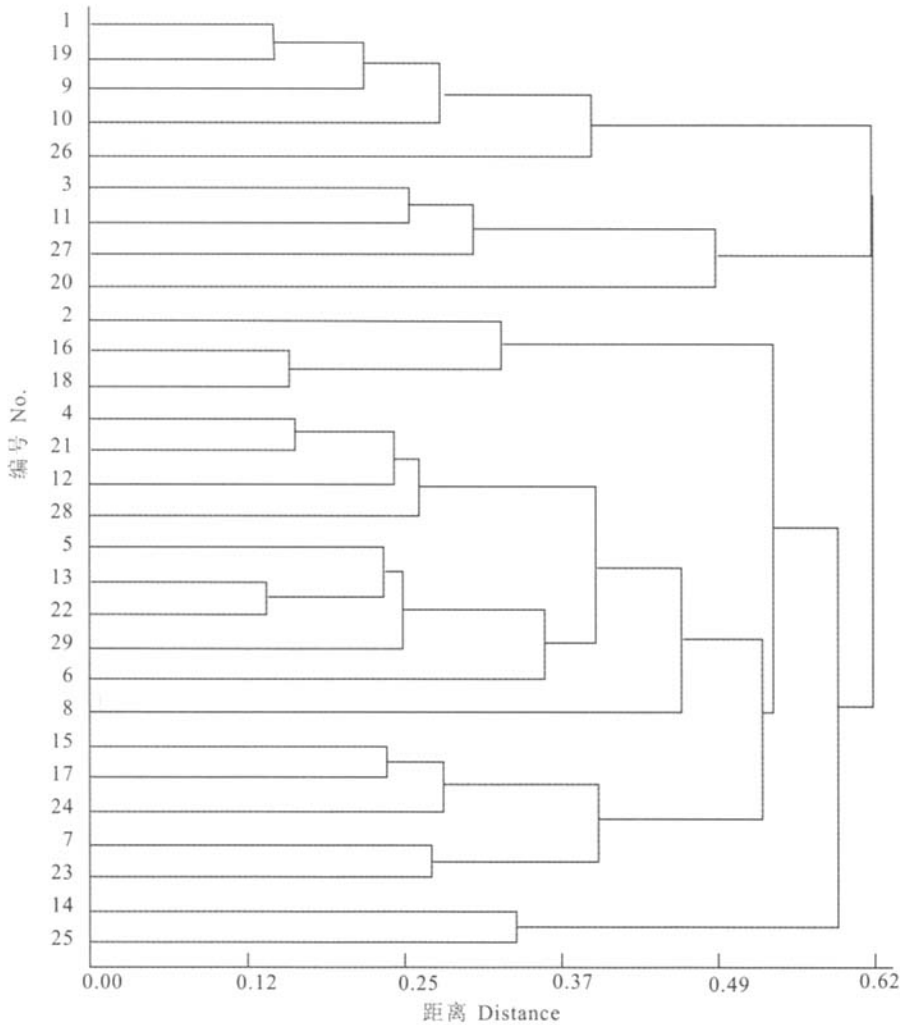


图 2 29 个玉米自交系 UPGMA 聚类分析图

Fig. 2 UPGMA clustering dendrogram of 29 maize inbred lines

2.3 SRAP 标记聚类分析结果

将 29 个玉米自交系的扩增图谱转换为 0,1 矩阵,按 UPGMA(类平均法)方法对 29 个玉米自交系进行聚类分析,得到 SRAP 分析聚类图(图 2)。以遗传距离 0.60 为标准,29 个玉米自交系可分为 4 大类群,进而以遗传距离 0.49 为标准,

第Ⅱ大类又可分为 2 个亚群,第Ⅲ大类群又可以分为 3 个亚群,29 个玉米自交系则可分为 7 个亚群(表 3)。类群Ⅰ包括郑 22、郑 35、9212、丹 340、E28,属于族大红骨群;类群Ⅱ-1 包括 87-1、郑 36、P138;类群Ⅱ-2 包括济 533,属于美国外引交种选系;类群Ⅲ-1 包括沈 219、9058、248,是含有低纬

度玉米种质的类型;类群Ⅲ-2 包括郑 13、郑 29、安 246、郑 60、郑 58、478、9401、新 4 白、白 107、综 3,属于改良 Reid 杂优群;类群Ⅲ-3 包括浚 92-6、浚 92-8、新 7(红)、昌 7-2、京 7 黄,属于唐四平头杂优群;类群Ⅳ 包括许 052、漯 12,属于 Lan 杂优群。从系谱亲缘关系上来看,玉米自交系 SRAP 标记的聚类分析结果与之基本相符^[7]。其中自交系 248 既含有美国杂交种 78599 的种质,又含有亚热带种质,但没有划入同样含有美国杂交种 78599 种质类群Ⅱ-1 中,可能是由于自交系在选

育及改良过程中亚热带种质占据了优势,而与同具有 8085 泰遗传基因的 9058 等自交系划分为一个类群。综 3 属于综合种自交系,它含有多种类群亲本自交系的遗传基因,在本试验中它被归入类群Ⅲ-3,即唐四平头杂优群,但我们如果把类群划分标准(遗传距离)再稍降低,它是可以从这个类群中划分出来的,这说明它本身含有本类群种质基因,但与本类群其他自交系遗传距离较远,这也可能是材料自身的问题。

表 3 29 个玉米自交系聚类分析结果

Table 3 Clustering analysis results of 29 maize inbred lines

类群 Group	亚群 Sub-group	自交系 Inbred lines	杂种优势群 Heterotic group
I		郑 22、郑 35、9212、丹 340、E28	旅大红骨群
II	II-1	87-1、郑 36、P138	外杂选群
	II-2	济 533	
III	III-1	沈 219、9058、248	其他 改良 Reid 群 唐四平头群
	III-2	郑 13、郑 29、安 246、郑 60、郑 58、478、9401、新 4 白、白 107、综 3	
	III-3	浚 92-6、浚 92-8、新 7(红)、昌 7-2、京 7 黄	
IV		许 052、漯 12	Lan 杂优群

表 4 19 个推广的高产杂交组合的亲本在 SRAP 聚类结果中所属的类群

Table 4 Sorts of 19 popularized parental groups of high-yield crossed generated by SRAP

编号 No.	品种名称 Name of variety	亲本组合 Parent combination	母本所属类群 Group for male parent	父本所属类群 Group for female parent
1	漯单 2 号	许 052×E28	Ⅳ	I
2	郑单 11 号	郑 13×丹 340	Ⅲ-2	I
3	新黄单 90-4	478×京 7 黄	Ⅲ-2	Ⅲ-3
4	郑单 14 号	478 优×郑 22	Ⅲ-2	I
5	白玉 109	白 107×沈 219	Ⅲ-2	Ⅲ-1
6	豫玉 22 号	综 3×87-1	Ⅲ-2	Ⅱ-1
7	安玉 2 号	478×昌 7-2	Ⅲ-2	Ⅲ-3
8	安玉 8 号	安 246×昌 7-2	Ⅲ-2	Ⅲ-3
9	豫玉 31 号	漯 12×丹 340	Ⅳ	I
10	郑单 958	郑 58×昌 7-2	Ⅲ-2	Ⅲ-3
11	新单 23	新 4 白×新 7(红)	Ⅲ-2	Ⅲ-3
12	浚单 18	248×浚 92-6	Ⅲ-1	Ⅲ-3
13	浚单 20	9058×浚 92-8	Ⅲ-1	Ⅲ-3
14	浚单 22	9058×浚 92-6	Ⅲ-1	Ⅲ-3
15	郑单 19	P138×郑 35	Ⅱ-1	I
16	郑单 21	郑 29×郑 35	Ⅲ-2	I
17	济单 7 号	济 533×昌 7-2	Ⅱ-2	Ⅲ-3
18	濮单 4 号	9401×9212	Ⅲ-2	I
19	郑单 22	郑 60×郑 36	Ⅲ-2	Ⅱ-1

2.4 聚类结果与审定推广组合的关系

从 1990 年起,本试验供试自交系已组配成了 19 个在在河南省通过审定的玉米杂交品种,这些杂交种的亲本在本研究所属类群列于表 4。从表 4 我们可以看出,所有优良杂交种的亲本均在不同的大类和亚类。因此从整体来说,SRAP 标记的聚类结果是比较合理的,对于玉米杂种优势群

的划分具有参考价值。

2.5 SRAP 标记聚类后相似系数的变化

根据 SRAP 标记数据对河南省常用 29 个玉米自交系聚类,划分为 7 类(或亚类),并计算出聚类后玉米自交系 SRAP 分子标记平均遗传相似系数(表 5),从表 5 可以看出类间平均遗传相似系数均小于类内平均遗传相似系数,表明分类有

利于选择合适的自交系配制组合,避免群内自交 系间杂交,减少育种的工作量。

表 5 7 个类群玉米自交系间 SRAP 标记平均相似系数

Table 5 Average similarity coefficient of 7 maize inbred lines by SRAP

类群	I	Ⅱ-1	Ⅱ-2	Ⅲ-1	Ⅲ-2	Ⅲ-3	Ⅳ
I	0.7639	0.5414	0.4161	0.3617	0.5383	0.5094	0.3762
Ⅱ-1		0.8215	0.6542	0.4783	0.5619	0.5694	0.4509
Ⅱ-2			—	0.4249	0.4480	0.4769	0.3342
Ⅲ-1				0.7897	0.5634	0.5338	0.4264
Ⅲ-2					0.7018	0.6043	0.5086
Ⅲ-3						0.6696	0.4838
Ⅳ							0.7500

3 讨 论

SRAP 标记是在总结已有的 DNA 分子标记的优缺点的基础上开发的一种新的基于 PCR 的 DNA 分子标记技术。SRAP 标记引物设计简单,17 bp 的正向引物、18 bp 的反向引物以及 50℃ 的退火温度保证了扩增结果的稳定性。正向引物的 CCGG 和反向引物的 AATT 的核心序列使得 SRAP 标记主要是对开放阅读框(ORF)进行扩增,提高了扩增结果与表现型的相关性。SRAP 标记不需要像 RFLP 标记那样要求高纯度和高浓度的 DNA 和使用放射性同位素,不需要像 SSR 标记那样花费人力物力进行引物开发,比 RAPD 标记稳定,不需要像 AFLP 那样需要预扩增和连接,但扩增结果的多态性很丰富。

由于优良的玉米自交系间经过反复杂交和多方向的选育,系谱关系已不大清楚,因而单纯利用系谱关系划分杂种优势群比较困难。本试验利用 SRAP 标记研究了 29 个河南省常用玉米自交系的遗传多样性,将 33 个自交系进行了类群划分,划分结果与系谱关系基本一致;划群后群间平均遗传相似系数都小于群内平均遗传相似系数,表明分类是合理的;另外从目前生产上推广的高产杂交组合来看,其双亲基本都在不同的类群和亚群,而类内杂交几乎没有优良的杂交组合出现,从实践角度说明 SRAP 标记技术在玉米杂种优势群的划分上是可行的。通过划分杂种优势群,可

为选配强优势杂交组合提供理论依据。利用分子标记确切划分玉米种质杂种优势群及构建杂种优势模式,还需要与数量遗传学分析以及育种家的实践经验相结合。笔者下一步准备将供试材料按双列杂交或 NC-II 设计进行组配,再将田间鉴定结果与本试验 SRAP 聚类结果进行对比、验证,这样对玉米种质杂种优势群的划分将更为客观、合理。

参考文献:

[1] G Li, Quiro C F. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction; its application to mapping and gene tagging in Brassica [J]. Theor. Appl Genet., 2001, 103: 455~461.

[2] 林忠旭,张献龙,聂以春,等. 棉花 SRAP 遗传连锁图构建 [J]. 科学通报, 2003, 48(15): 1676~1679.

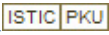
[3] 任 羽,王得元. 辣椒 SRAP-PCR 反应体系的建立与优化 [J]. 分子植物育种, 2004, 2(5): 689~693.

[4] 吴伟怀,王 玲,程贯忠,等. 稻瘟病菌群体的分子遗传学研究—广东省与云南省稻瘟病菌群体遗传及致病型结构的比较分析 [J]. 中国农业科学, 2004, 37(5): 675~680.

[5] 李 严,张春庆. 新型分子标记—SRAP 技术体系优化及应用前景分析 [J]. 中国农学通报, 2005, 2(15): 108~112.

[6] [美]F. 奥斯伯等著. 颜子颖等译. 精编分子生物学实验指南 [M]. 北京: 科学出版社, 1999. 10.

[7] 王振华,张新,王俊忠. 河南省玉米种质基础杂优群划分和杂交优势利用模式研究 [J]. 河南农业科学, 2002, (7): 4~8.

作者: 赵新亮, 郭霁光, ZHAO Xin-liang, GUO Ai-guang
作者单位: 赵新亮, ZHAO Xin-liang(河南科技学院, 河南新乡, 453003), 郭霁光, GUO Ai-guang(西北农林科技大学, 陕西杨凌, 712100)
刊名: 西北农业学报 
英文刊名: ACTA AGRICULTURAE BOREALI-OCIDENTALIS SINICA
年, 卷(期): 2007, 16(3)
被引用次数: 13次

参考文献(7条)

1. G Li; Quiro C F Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in Brassica 2001
2. 林忠旭, 张献龙, 聂以春, 贺道华, 吴茂清 棉花SRAP遗传连锁图构建[期刊论文]-科学通报 2003(15)
3. 任羽, 王得元, 张银东, 李颖, 王恒明 辣椒SRAP-PCR反应体系的建立与优化[期刊论文]-分子植物育种 2004(5)
4. 吴伟怀, 王玲, 程贯忠, 朱有勇, 潘庆华 稻瘟病菌群体的分子遗传学研究—广东省与云南省稻瘟病菌群体遗传及致病型结构的比较分析[期刊论文]-中国农业科学 2004(5)
5. 李严, 张春庆 新型分子标记-SRAP技术体系优化及应用前景分析[期刊论文]-中国农学通报 2005(5)
6. F 奥斯伯; 颜子颖; R E 金斯顿 精编分子生物学实验指南 1999
7. 王振华, 张新, 王俊忠, 温春东 河南省玉米种质基础、杂优群划分和杂交优势利用模式研究[期刊论文]-河南农业科学 2002(7)

本文读者也读过(6条)

1. 谭君 四川常用玉米自交系、杂交种的SSR指纹图谱构建[学位论文]2003
2. 陈丽静, 潘刚刚, 何晶, 刘君, 张立军, 张丽, CHEN Li-jing, PAN Gang-gang, HE Jing, LIU Jun, ZHANG Li-jun, ZHANG Li 用SRAP分子标记鉴定玉米自交系的遗传多样性[期刊论文]-四川农业大学学报2009, 27(2)
3. 郑淑云 玉米自交系杂种优势群划分的研究[学位论文]2006
4. 胡利宗 玉米自交系NX110导入系群体评价及耐旱相关性状QTL分析[学位论文]2008
5. 江禹奉 利用分子标记辅助回交选育糯玉米自交系[学位论文]2009
6. 胡文斌 不同玉米自交系之间的遗传多样性分析[学位论文]2008

引证文献(13条)

1. 李永新, 巩振辉, 李大伟, 陈儒钢 辣椒疫病抗性相关的共显性RGA-STS标记的开发及应用[期刊论文]-西北农业学报 2011(06)
2. 阮先乐, 陈龙 马铃薯SRAP-PCR反应体系的优化[期刊论文]-安徽农业科学 2009(25)
3. 马小锋, 段可, 胡景江 糯玉米DNA提取方法的优化及SSAP方法的建立[期刊论文]-西北农业学报 2008(06)
4. 王兵伟, 覃永媛, 覃嘉明, 黄安霞, 秦洪波, 时成俏 SRAP分子标记分析广西糯玉米地方品种的遗传多样性[期刊论文]-南方农业学报 2013(01)
5. 黄君, 冯发强, 王青峰, 张晶, 周鹏, 李小琴 54份甜玉米自交系的SSR遗传多样性分析[期刊论文]-华南农业大学学报 2012(01)
6. 杜文平, 余桂容, 宋军, 徐利远 卫星搭载后玉米诱变系的SRAP分析[期刊论文]-核农学报 2011(05)
7. 陈丽静, 潘刚刚, 何晶, 刘君, 张立军, 张丽 用SRAP分子标记鉴定玉米自交系的遗传多样性[期刊论文]-四川农业大学学报 2009(02)

8. [盖树鹏, 盖伟玲, 黄进勇](#) [SSR与SRAP标记在玉米品种鉴定中的比较研究](#)[期刊论文]-[植物遗传资源学报](#) 2011 (03)
9. [赵欣欣, 于运国, 崔克艳](#) [玉米种子纯度室内检验方法的研究现状与应用展望](#)[期刊论文]-[种子科技](#) 2010 (01)
10. [黄君](#) [甜玉米自交系遗传多样性及群体结构分析](#)[学位论文]硕士 2011
11. [王柯尘](#) [6个开放改良玉米群体的遗传变异分析及育种潜势评价](#)[学位论文]硕士 2010
12. [罗小敏](#) [国内主要甘薯种质资源的遗传多样性研究](#)[学位论文]硕士 2009
13. [罗小敏](#) [国内主要甘薯种质资源的遗传多样性研究](#)[学位论文]硕士 2009

引用本文格式: [赵新亮, 郭霭光, ZHAO Xin-liang, GUO Ai-guang](#) [利用SRAP分子标记划分玉米自交系类群初探](#)
[期刊论文]-[西北农业学报](#) 2007 (3)