

文章编号: 1005-0906(2007)S1-0154-03

应用 SRAP 标记分析甜玉米自交系的遗传差异

赵 炜¹, 刘冠明², 王晓明², 王汉宁¹

(1. 甘肃农业大学农学院, 兰州 730070; 2. 仲恺农业技术学院农业与园林学院, 广东 仲恺 510225)

摘 要: 利用 25 对 SRAP 引物对 9 个甜玉米自交系进行了遗传差异分析。结果表明, 有 8 对引物扩增出多态性, 在 9 个自交系间共检测出 36 个多态性等位点, 每对引物分别检测出 2~7 个等位点变异, 平均为 4.88 个; 用欧式平方距离聚类分析表明, 9 个甜玉米自交系可聚为两类。

关键词: 甜玉米; 遗传差异; SRAP

中图分类号: S513

文献标识码: A

Analysis of Genetic Difference Among Sweet Corn Inbred Lines by SRAP

ZHAO Wei,

(1. Agronomy College, Gansu Agricultural University, 730070;

2. College of Agriculture and Garden, Zhongkai Agricultural and Technical College, 510225)

Abstract: The genetic difference among 9 inbred lines of sweet corn were analyzed with 25 SRAP marker. The result were as follows: 8 SRAP loci were polymorphism; Total 36 alleles were revealed among 9 inbred lines and 2-7 alleles were detected by one SRAP marker with the average of 4.88 alleles; Nine inbred lines tested could be classified into 2 groups based on Squared Euclidean distance with clustering analysis.

Key words: Sweet corn; Genetic difference; SRAP

SRAP 是一种新型的分子标记, 其利用独特的引物设计对 ORFs(open reading frames, 开放阅读框)进行扩增^[1,2,3], 上游引物中的 CCGG 序列目的是与位于富含 GC 区域的开放阅读框(ORFs)中的外显子进行特异结合, 下游引物中的 AATT 对内含子区域、启动子区域进行特异扩增, 因个体不同以及物种的内含子、启动子与间隔长度不等而产生多态性, 而且上下游引物可以随意配对, 大大提高引物的利用率。前人研究表明, SRAP 具有简便、稳定、中等产率、在基因组中分布均匀的特点, 适合于基因定位、遗传多样性分析、遗传图谱构建、cDNA 指纹图谱等诸多研究领域^[4-7]。目前, SRAP 标记已经在多种植物上得到了应用^[8-9]。

甜玉米分子标记的研究主要是用 RFLP 和 AFLP 标记在抗寒性、花丝抗虫基因、抗矮花叶病毒等数量性状基因的定位上^[10]; 在资源鉴定中主要应用 RAPD 和 SSR 标记^[11]; 在国内还未有关于 SRAP 在甜玉米

中应用的报道。本研究利用 SRAP 标记分析甜玉米自交系的遗传差异性, 为甜玉米自交系在育种中的应用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究以 9 个甜玉米自交系为材料。材料由仲恺农业技术学院农业与园林学院提供。

1.2 DNA 的提取

将种子置于沙盘中暗培养, 取黄化叶片, 采用 CTAB 法^[12]提取 DNA。

1.3 引物

按照 Li 等提出的经典引物, 由上海生工合成, 引物组合见表 1。

1.4 PCR 反应体系和条件

PCR 体系: 包括 60 ng 模板 DNA, 引物各 50 ng, dNTP, 10 × buffer(含 Mg^{2+}), 2UTaq 聚合酶。操作采用预混液, 提高工作效率并使样品均匀一致。采用 96 孔 PCR 板, 每 20 ul 体系加入 20 ul 石蜡油。PCR 反应条件为: 94℃ 5 min, (94℃ 1 min, 35℃ 1 min, 72℃ 1 min)5 个循环, (94℃ 1 min, 50℃ 1min, 72℃ 1 min) 35 个循环, 72℃ 7 min。

收稿日期: 2006-10-10

作者简介: 赵 炜(1981-), 男, 甘肃天水人, 硕士, 研究方向: 玉米品质改良。

王晓明为本文通讯作者。

表 1 采用的 SRAP 引物名称及序列

Table 1 Adoption the name of SRAP primer and primer sequence

上游引物	序列	下游引物	序列
M1	TGAGTCCAAACCGGATA	E1	GACTGCGTACGAATTAAT
M2	TGAGTCCAAACCGGAGC	E2	GACTGCGTACGAATTTGC
M3	TGAGTCCAAACCGGAAT	E3	GACTGCGTACGAATTGAC
M4	TGAGTCCAAACCGGACC	E4	GACTGCGTACGAATTTGA
M5	TGAGTCCAAACCGGAAG	E5	GACTGCGTACGAATTAAC

1.5 电泳与数据分析

PCR 产物用 6%变性的聚丙烯酰胺凝胶电泳,银染显色。用 Bio-Rad 全自动凝胶成像系统照相,SRAP 反应产物中每条带代表一个变异,以 1 和 0 记录带的有和无。遗传相似系数 (GS) 及遗传距离 (GD)按照:GS=m/(m+n),GD=1-GS 计算,其中 m 表示基因型间共有带数目,n 表示基因型间差异带数目。按欧式平方距离进行聚类分析,所有数据统计由 SPSS 软件完成。

2 结果和分析

2.1 甜玉米自交系间的 SRAP 标记多态性

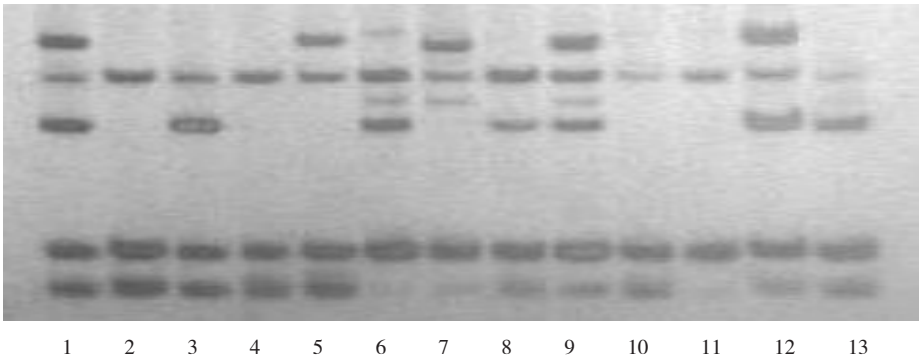
25 对引物中有 8 对扩增出多态性,占 32%。8 对引物在 9 个材料中共检测出 41 个位点,其中 36

个为多态性等位点,多态性百分率达到 87.8%,每对引物分别检测出 2~7 个等位点变异,平均为 4.88 个(表 2,图 1)。

表 2 8 个 SRAP 标记的扩增结果

Table 2 The amplification result of 8 SRAP markers

引物对	等位基因数	多态性位点数	多态性百分率(%)
M1-E2	6	5	83.3
M1-E3	5	4	80.0
M1-E4	4	3	75.0
M2-E4	7	7	100.0
M4-E4	3	3	100.0
M5-E1	6	6	100.0
M5-E3	7	6	85.7
M5-E5	3	2	66.7
总 计	41	36	87.8



注:1~9 是甜玉米自交系,10~11 是普通玉米自交系,12~13 是糯玉米自交系。
Note: 1-9 is inbred lines of sweet corn, 10-11 is inbred lines of corn, 12-13 is inbred lines of waxy corn.

图 1 引物(M1-E3)对 9 个自交系的扩增结果

Fig.1 The amplification result of 9 inbred lines of sweet corn by primer pair M1-E3

2.2 自交系间的遗传相似性及聚类分析

根据 SRAP 标记的数据计算得到自交系间的遗传相似系数见表 3。9 个自交系间的遗传相似系数在 0.000~1.000 之间,其中甜 1 和甜 2、甜 3,甜 2 和甜 4,甜 6 和甜 9 的遗传相似系数为 1.000,说明本研究中的 8 个标记未能检测出几个自交系间的遗传差异。甜 5 与甜 6 的遗传相似系数为 0.000,说明 8 个

标记的 36 个多态性位点在它们之间都是不同的变异位点。甜 2、甜 4、甜 8 与大多数自交系的遗传相似系数大于 0.500,甜 1、甜 3、甜 5、甜 6、甜 7、甜 9 与大多数自交系的遗传相似系数小于 0.500。

利用欧式平方距离对 SRAP 标记数据进行聚类分析,由聚类图可知(图 2),在欧氏距离为 25 处,9 个自交系可分为 2 大类,第一类包括甜 6、甜 7、甜 9

等三个自交系;第二类包括甜 1、甜 2、甜 3、甜 4、甜 5、甜 8 等六个自交系。

表 3 9 个甜玉米自交系间的遗传相似系数矩阵
Table 3 Similarity coefficient matrix of 9 inbred lines of sweet corn

品 种	甜 1	甜 2	甜 3	甜 4	甜 5	甜 6	甜 7	甜 8	甜 9
甜 1	1.000								
甜 2	1.000	1.000							
甜 3	1.000	0.909	1.000						
甜 4	0.182	1.000	0.636	1.000					
甜 5	0.545	0.636	0.455	0.727	1.000				
甜 6	0.364	0.455	0.818	0.727	0.000	1.000			
甜 7	0.273	0.364	0.364	0.636	0.636	0.455	1.000		
甜 8	0.545	0.818	0.455	0.545	0.364	0.727	0.636	1.000	
甜 9	0.273	0.364	0.364	0.273	0.273	1.000	0.909	0.636	1.000

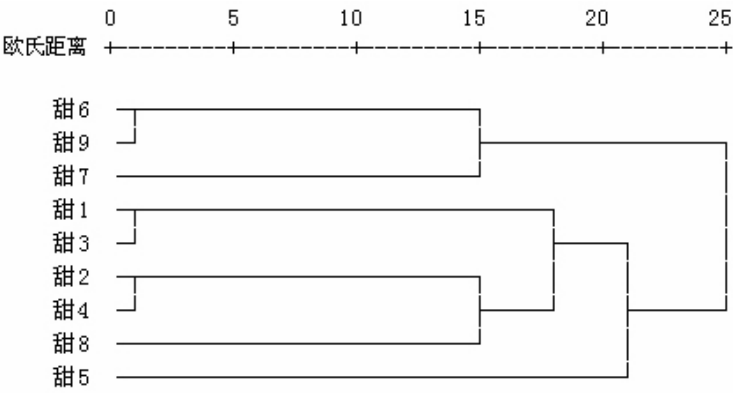


图 2 9 个甜玉米自交系的欧式距离聚类图

Fig.2 Dendrogram by cluster analysis of 9 inbred lines of sweet corn

3 讨 论

本研究利用 SRAP 标记分析了甜玉米自交系的遗传差异。结果表明,SRAP 标记在甜玉米自交系间多态性高,操作简单,条带清晰,因此,SRAP 标记是一种分析甜玉米自交系遗传差异比较理想的标记。

供试的 9 个自交系多态性百分率达到 87.8%。甜 2、甜 4、甜 8 与大多数自交系的遗传相似系数大于 0.500,甜 1、甜 3、甜 5、甜 6、甜 7、甜 9 与大多数自交系的遗传相似系数小于 0.500。说明本实验研究的 9 个甜玉米自交系遗传差异较大,结合品质分析和配合力分析挑选出优良的自交系,有可能配出高产、优质的甜玉米新品种。

甜玉米育种在我国起步较晚,所用自交系除本地资源外,其它多为引进资源和选育的二环系。为了避免以后甜玉米品种遗传基础狭窄的问题,因此,应发掘自身资源、进行群体改良、引进国外优质种质,加大种质扩增、改良、创新,结合品质分析、配合力分析、分子育种技术,找出高产、品质好的自交系,

为以后选育优质的甜玉米品种奠定基础。

参考文献:

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

[2] Ferriol M, Pico B, Nuez F. Genetic diversity of oilseed Brassica napus inbred lines bases on sequence-related, amplified polymorphism and its relation to hybrid performance[J]. Plant Breeding, 2001, 120(5): 411-415.

[3] Li G, Gao M, Yang B, Quiros C F. Gene for gene alignment between the Brassica and Arabidopsis genomes by direct transcriptome mapping[J]. Theor Appl Genet, 2003, 107(1): 168-180.

[4] 李 莉,彭建营,白瑞霞,等. SRAP 与 TRAP 标记及其在园艺植物研究中的应用[J]. 西北植物学报,2006,26(8):1749-1752.

[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,2005,21(5):108-112.

[6] 张书芬,傅廷栋,李媛媛,等. SRAP 标记分析甘蓝型油菜多态性[J]. 华北农学报,2006,21(1):50-54.

[7] 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.

(下转第 159 页)

(上接第 156 页)

- [8] 张建成,王传堂,焦 坤,等. SRAP 标记技术在花生种子纯度鉴定中的应用[J]. 中国农学通报,2005,21(12):35-39.
- [9] 文雁成,王汉中,沈金雄,等. 用 SRAP 标记分析中国甘蓝型油菜品种的遗传多样性和遗传基础[J]. 中国农业科学,2006,39(2):246-256.
- [10] 王 莹,胡建广,李余良,等. 生物新技术在甜玉米育种中的应用研究进展[J]. 中国农学通报,2003,22(7):101-104.
- [11] 胡建广,祁喜涛,李余良. RAPD 技术应用于超甜玉米种子鉴定[J]. 中国农学通报,2002,18(6):25-27.
- [12] 李 丽,郑晓鹰,柳李旺. 用 SRAP 标记分析黄瓜品种遗传多样

性及鉴定品种[J]. 分子植物育种,2006,(4)5:702-708.

- [13] Clark M S. 植物分子生物学实验手册[M]. 顾红雅,瞿礼嘉译. 北京:高等教育出版社,1998.
- [14] 刘冠明,郑奕雄,等. 珍珠豆型花生品种遗产差异的 SSR 标记分析[J]. 河南农业科学,2006,10,28-31.
- [15] 聂永心,张 丽,潘光堂,等. 四川省常用玉米自交系 SSR 遗传多样性分析[J]. 分子植物育种,2005,(3)1:43-51.
- [16] 彭忠华,张明生,高 翔,等. RAPD 标记对喀斯特高海拔山区适宜玉米自交系遗传多样性的研究[J]. 玉米科学,2005,13(1):10-14.

(责任编辑:朴红梅)