

文章编号: 1005-0906(2010)01-0042-04

高淀粉玉米自交系 SSR 标记 遗传多样性分析

肖木辑, 黄瑞冬, 许文娟, 周宇飞

(沈阳农业大学农学院, 沈阳 110161)

摘要: 利用 70 对扩增产物稳定的 SSR 引物对 23 份高淀粉玉米自交系的遗传多样性进行研究。结果表明, 23 份高淀粉自交系被划分为 4 个类群, 高淀粉玉米自交系中含 Reid 种质的数量 12 份, 含国内种质 6 份, 含有 Lancaster 种质和 PB 种质的高淀粉玉米自交系最少。在聚类分析的基础上对高淀粉玉米育种进行初步探讨。

关键词: 玉米; 自交系; SSR 标记; 遗传多样性

中图分类号: S513.035.3

文献标识码: A

Genetic Diversity Revealed by SSR Among High-starch Maize Inbred Lines

XIAO Mu-ji, HUANG Rui-dong, XU Wen-juan, ZHOU Yu-fei

(Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China)

Abstract: Seventy SSR primers were used to detect genetic diversity among 23 high-starch inbred lines. These inbred lines could be classified into 4 subgroups. Twelve high-starch inbred lines were included in Reid germplasm and 6 high-starch inbred lines were included in domestic germplasm, There are less high-starch inbred lines in Lancaster germplasm and PB germplasm respectively. Some strategies for the genetic improvement of starch content in maize was discussed briefly in the paper.

Key words: Maize; Inbred line; SSR marker; Genetic diversity

测定玉米自交系的淀粉含量, 对高淀粉玉米自交系进行遗传多样性分析, 可以为高淀粉玉米杂交种的选育和种质改良提供指导。近年来, 许多学者对玉米种质资源中子粒的淀粉含量及其遗传进行分析。应用系谱法、数量遗传学、同工酶等方法对玉米种质遗传多样性分析受系谱记录不完整、样本容量有限和多态性位点较少等因素的限制。DNA 分子标记的发展, 为种质遗传多样性研究提供了新的手段。RFLP、RAPD、AFLP、SSR 等标记先后被用于玉米自交系遗传多样性研究。Pejic 和袁力行等评价了 RFLP、SSR、AFLP 和 RAPD 这 4 种分子标记的有效性, 表明 SSR 标记是目前最适合分析玉米种质遗传

多样性的分子标记。

本文对 23 份高淀粉玉米自交系进行 SSR 分子标记, 分析高淀粉玉米自交系的遗传多样性, 结合系谱资料和育种实践, 研究供试自交系的杂种优势类群, 为高淀粉玉米育种和种质改良提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

选用 23 份子粒粗淀粉含量高于 70% 的玉米自交系(包括国内 5 个标准测验种)及黄早四共 24 份玉米自交系为试材(表 1)。试验所用的 70 对引物序列信息由亚洲玉米生物技术协作网(AMBIONET)提供, 由上海生物工程公司(Sangon)合成。

1.2 实验方法

采用 CTAB 法提取基因组 DNA, 利用分光光度计检测 DNA 的浓度和质量, 并把浓度调至 10 ng/ μ L, 备用。扩增反应在 PTC-200 PCR 仪上进行, 反应总体积为 10 μ L, 其中包括 10 mmol/L Tris-HCl、50 mmol/L KCl、0.001% Gelatin、1.5 mmol/L MgCl₂、4

收稿日期: 2009-05-13

基金项目: 沈阳农业大学青年教师科研基金项目(20070116)

作者简介: 肖木辑(1965-), 男, 辽宁建平人, 副教授, 博士, 研究方向为玉米遗传育种。Tel: 13704025150

E-mail: mujixiao@163.com

种 dNTP 各 0.25 mol/L、0.3 mol/L SSR 引物、5 U Taq 酶、25 ng DNA 模板。PCR 反应程序:94℃预变性 4 min,1 个循环;94℃变性 35 s,52℃~60℃(视引物而定)与模板靶位点结合 35 s,72℃延伸 1 min,共 35 个循环;最后在 72℃延伸 5 min,降至 4℃后变性。以

PBR322 片段为分子量 Marker,采用 Bio-RAD 测序胶板装置(38 cm×30 cm×0.4 mm)电泳设备,进行聚丙烯酰胺变性凝胶电泳,恒定功率 60 W,电泳 50 min。按照 CIMMYT 应用生物技术中心的银染程序染色。

表 1 24 份玉米自交系及系谱来源
Table 1 Pedigree of 24 inbred lines used in the study

编 号	自交系	系谱来源	淀粉含量(%)	编 号	自交系	系谱来源	淀粉含量(%)
Code	Inbred lines	Pedigree source	Starch content	Code	Inbred lines	Pedigree source	Starch content
1	丹 340	白骨旅×有稃玉米	70.1	13	52106	矮金 525×掖 107/106	71.0
2	齐 319	美国 78599 杂交种选系	70.8	14	铁 7922	美国杂交种 P3382	70.5
3	掖 478	5003×U8112	70.3	15	昌 7-2	(黄早四×潍 95)×S901	70.7
4	B73	BSSS	72.7	16	374	黄早四×群 5	70.3
5	Mo17	C103×CI187-2	71.0	17	653	(5003×综 3)×5003	70.2
6	黄早四	塘四平头杂株	67.9	18	32	美国杂交种 3382 选系	71.4
7	吉 477	外国杂交种 HC777	72.9	19	掖 107	美国杂交种 XL80 选系	70.4
8	吉 63	(127-32×铁 84)(W24×W20)	70.0	20	齐 205	潍矮 141×中系 017	72.7
9	海 014	海龙红骨子	71.7	21	掖 502	黄早四×丹 340	70.5
10	K12	黄早四×潍春	72.0	22	444	A619Ht1×黄早四	70.3
11	沈 5003	美国杂交种 3147	73.5	23	K14	5005×6917	71.3
12	U8112	美国杂交种选系	73.5	24	48-2	(丹 340×330)与 6 个杂交种混粉	71.8

1.3 数据分析

对于 SSR 扩增产物,有带记为“1”,无带记为“0”,缺失记为“9”。以简单配对参数(simple matching coefficient)计算遗传相似系数 $GS=m/(m+n)$,其中 m 为基因型间共有带数目, n 为差异带数目。利用 NTSYS-PC version 2.11 软件处理数据,按 UPGMA

方法对供试自交系进行聚类。每一个 SSR 位点的多态性信息量(PIC)按 Smith 等(1997)的公式计算, $PIC=1-\sum f_i^2$,其中 f_i 为 i 位点的基因频率。

2 结果与分析

2.1 SSR 标记分析

表 2 70 对引物在 24 份自交系之间扩增的片断数目及多态性信息量

Table 2 Chromosome locations for 70 SSR loci, and their allele numbers and PIC value detected in 24 inbred lines of maize.

编 号	引 物	染色体位置	等位基因数	多态性信息量	编 号	引 物	染色体位置	等位基因数	多态性信息量
Code	Primer	Bin No.	Alleles	PIC	Code	Primer	Bin No.	Alleles	PIC
1	nc130	5.00	2	0.244 9	15	phi050	10.03	3	0.611 1
2	nc133	2.05	2	0.079 9	16	phi053	3.05	4	0.744 8
3	phi006	4.11	4	0.564 5	17	phi056	1.01	4	0.639 1
4	phi011	1.09	4	0.594 1	18	phi057	7.01	3	0.434 0
5	phi014	8.04	2	0.500 0	19	phi059	10.02	3	0.559 2
6	phi015	8.08	6	0.771 2	20	phi062	10.04	2	0.491 5
7	phi024	5.01	4	0.710 8	21	phi063	10.02	5	0.555 6
8	phi027	9.03	3	0.561 2	22	phi064	1.11	6	0.797 5
9	phi029	3.04	4	0.698 1	23	phi065	9.03	3	0.652 8
10	phi034	4.11	5	0.681 6	24	phi072	4.00	4	0.545 1
11	phi041	10.00	5	0.703 7	25	phi073	3.05	4	0.675 7
12	phi046	3.08	2	0.499 2	26	phi076	4.11	3	0.620 0
13	phi047	3.09	3	0.541 7	27	phi078	6.05	4	0.631 4
14	phi049	3.01	2	0.226 8	28	phi079	4.05	4	0.523 7

续表 2 Continued 2

编 号	引 物	染色体位置	等位基因数	多态性信息量	编 号	引 物	染色体位置	等位基因数	多态性信息量
Code	Primer	Bin No.	Alleles	PIC	Code	Primer	Bin No.	Alleles	PIC
29	phi080	8.08	6	0.588 8	50	phi328175	7.04	4	0.609 4
30	phi083	2.04	4	0.607 6	51	phi339017	1.03	4	0.732 6
31	phi084	10.40	2	0.462 8	52	phi3391888	5.04	3	0.225 7
32	phi085	5.05	4	0.642 7	53	phi374118	3.02	3	0.517 4
33	phi087	5.06	3	0.642 7	54	phi420701	8.00	3	0.652 8
34	phi089	6.08	3	0.650 3	55	phi423796	6.01	3	0.500 0
35	phi102228	3.04 ~ 3.05	3	0.536 9	56	phi448880	9.05	3	0.447 9
36	phi108411	9.05	3	0.430 8	57	phi96100	2.00	5	0.762 8
37	phi109188	5.00	4	0.500 0	58	umc1061	10.06	3	0.531 3
38	phi109275	1.00	4	0.739 2	59	umc1122	1.06 ~ 1.07	5	0.726 6
39	phi112	7.01	4	0.449 0	60	umc1124	1.05	3	0.446 1
40	phi113	5.03 ~ 5.04	3	0.505 6	61	umc1143	6.00	5	0.600 7
41	phi114	7.03	4	0.329 9	62	umc1152	10.01	4	0.533 1
42	phi115	8.03	2	0.459 2	63	umc1153	5.09	4	0.746 5
43	phi116	7.06	5	0.614 4	64	umc1161	8.06	6	0.809 0
44	phi121	8.04	2	0.375 0	65	umc1196	10.07	5	0.752 1
45	phi123	6.07	2	0.491 5	66	umc1277	9.08	4	0.544 9
46	phi127	2.08	4	0.526 3	67	umc1279	9.00	2	0.297 5
47	phi227562	1.12	5	0.557 9	68	umc1399	3.07	4	0.576 0
48	phi233376	8.03	5	0.716 8	69	umc1545	7.00	4	0.677 1
49	phi308707	1.10	6	0.735 3	70	umc1555	2.02 ~ 2.03	4	0.518 0

利用 70 对 SSR 引物对 24 份自交系进行同源位点扩增,在 4.5%聚丙烯酰胺凝胶上表现多态性,且带型稳定。这 70 对 SSR 引物分布在玉米 10 条染色体上,在 24 份自交系间共检测出 259 个等位基因变异,每对引物检测到 2~6 个等位基因,平均每对

引物检测到 3.7 个等位基因。每个 SSR 位点的多态性信息量(PIC)在 0.079 9~0.809 0,平均 0.566 1,其中引物 umc1161 位点的 PIC 最大为 0.809 0,nc133 位点最小为 0.079 9(表 2)。

2.2 聚类分析

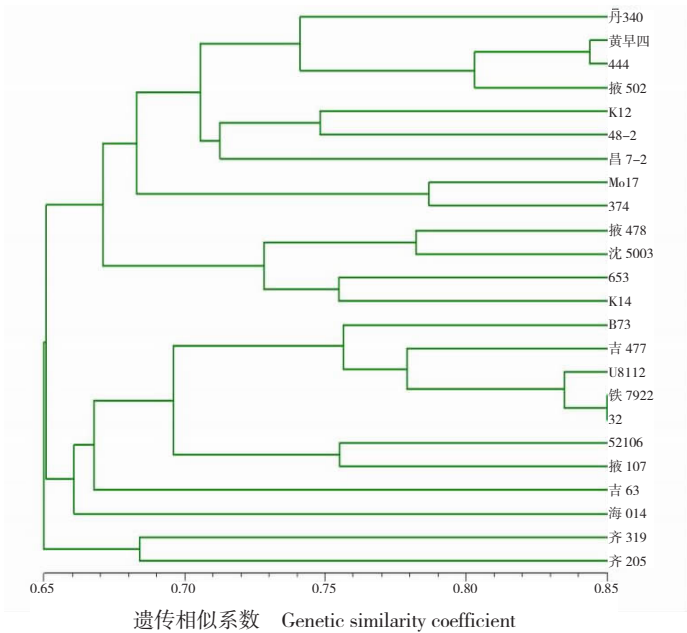


图 1 24 份自交系的 SSR 标记聚类图

Fig.1 SSR markers dendrogram of 24 inbred lines

利用 70 对引物扩增出的 259 个等位基因,计算 24 个自交系之间的遗传相似系数(0.65 ~ 0.85),用 UPGMA 方法聚类,24 份自交系可划分为 5 个类群(图 1)。由于在育种实践中 BSSS 种质与 PA 种质可以合并为 Reid 种质,结合育种实践和 SSR 聚类结果,24 份自交系可划分为 4 个类群,分别是国内(D)种质、Reid 种质、PB 和 Lancaster 种质。属于 D 群种质的自交系包括丹 340、黄早四、444、掖 502、K12、48-2、昌 7-2,该群除丹 340 属旅大红骨种质外,其余都属于塘四平头种质; Reid 群包括 PA 种质的掖 478、沈 5003、K14、653 和 BSSS 种质的 B73、吉 477、U8112、铁 7922、32、吉 63、52106、掖 107;PB 群种质包括齐 319、齐 205;Lancaster 种质包括 Mo17 和 374。自交系海 014 未归入相应类群。

3 讨 论

3.1 高淀粉玉米自交系遗传多样性分析

用 70 对 SSR 引物分析玉米自交系,在 24 份自交系间共检测出 259 个等位基因变异,每对引物检测到 2 ~ 6 个等位基因,平均每对引物检测到 3.7 个等位基因;每个 SSR 位点的多态性信息量(PIC)在 0.079 9 ~ 0.809 0,平均 0.566 1。比较高淀粉玉米自交系与普通玉米自交系平均等位基因数和各位点的多态性信息量(PIC),高淀粉玉米自交系都是最低的。因此,高淀粉玉米种质的遗传基础与普通玉米种质相比遗传基础更狭窄,在高淀粉玉米育种实践中要注意挖掘更多的高淀粉种质或在基本保持淀粉含量的基础上,适当利用优良的普通玉米种质。

3.2 高淀粉玉米种质的利用

目前国内的各类玉米种质中都含有高淀粉自交系,本实验中 Reid 种质中高淀粉自交系最多,达 12 份,塘四平头种质 5 份,PB 种质、旅大红骨种质和 Lancaster 种质中也有高淀粉含量的自交系,但数量都比较少。

Reid 种质和塘四平头种质都有较多含有高淀粉的自交系,这对于高淀粉育种非常有利。利用这些材料组建基础群体,采用轮回选择的方法提高子粒中的淀粉含量。在改良群体中选择高淀粉自交系,再组配杂交种。群体的组配应以同一群内的高淀粉自交系为核心,适当加入同一群内的其他优良自交系,还可以加入一些淀粉含量比较高的普通玉米骨干自交系,在保证高淀粉含量的同时也要保证其他性状的优良,避免高淀粉玉米种质的遗传基础狭窄的局限性。高淀粉玉米改良在以 Reid × 塘四平头为主要的杂种优势模式的基础上,可进行群体改良,特别是

用 Reid 种质组配高淀粉群体与塘四平头种质组配高淀粉群体进行相互轮回选择。目前我国除 Reid × 塘四平头的杂种优势模式为主外,还存在其他的杂种优势模式,如 Lancaster × 塘四平头等。

在 24 份自交系中,掖 478、昌 7-2 是高淀粉玉米自交系,也是目前我国玉米生产上广泛应用的骨干自交系,以其为双亲或双亲之一育成了高淀粉杂交种,如豫玉 23(掖 478 × 昌 7-2)、郑单 958(郑 58 × 昌 7-2),其淀粉含量都在 73 % 以上。在高淀粉玉米育种中,应进一步利用这些优良自交系。

参考文献:

[1] 刘新香,库丽霞,吴连成,等. 玉米子粒淀粉含量的遗传效应分析[J]. 河南农业科学,2008(2):25-28.

[2] 顾晓红. 中国玉米种质资源品种性状的分析与评价[J]. 玉米科学,1998,6(1):14-16.

[3] 魏良明,戴景瑞,张义荣,等. 玉米淀粉含量的杂种优势与基因效应分析[J]. 作物学报,2005,31(7):833-837.

[4] 魏良明,戴景瑞. 玉米子粒主要营养成分在杂交后代的表现[J]. 作物杂志,2005(4):17-19.

[5] 段民孝,郭景伦,邢锦丰,等. 我国部分玉米种质资源子粒淀粉含量分析[J]. 作物杂志,2002(4):17-19.

[6] 魏良明,戴景瑞. 我国普通玉米常用自交系的品质分析与评价[J]. 作物杂志,2004(5):12-14.

[7] Smith J S C, Chin E C L, Shu H, et al. An evaluation of the utility of SSR loci as molecular markers in maize(*Zea mays* L.): ComReidrisons with data from RFLPs and pedigree[J]. Theoretical Applied Genetics, 1997, 95: 163-173.

[8] Mumm R H, Dudley J W. A classification of 148 U S inbreds: I. Cluster analysis based on RFLPs[J]. Crop Science, 1994, 34: 842-85.

[9] Kejun Liu, Major Goodman, Spencer Muse, et al. Genetic structure and diversity among maize inbred lines as inferred from DNA microsatellites [J]. Genetics, 2003, 165: 2117-2128.

[10] 袁力行,傅骏骅,等. 利用 RFLP、SSR、AFLP 和 RAPD 标记分析玉米自交系遗传多样性的比较研究[J]. 遗传学报,2000,27(8):725-733.

[11] Pejic I, Ajmone M P, Morgante M, et al. ComReidrative analysis of genetic similarity among maize inbred lines detected by rflps, RAPDs, SSRs, and AFLPs[J]. Theoretical Applied Genetics, 1998. 97: 124-125.

[12] Hoisington D A, Khairallah M M, Gonzales-de-Leon D. Laboratory protocols: CIMMYT Applied Molecular Genetics Laboratory[C]. CIM-MYT, Mexico, 1994.

[13] 肖木辑,李明顺,李新海,等. 东北地区主要玉米自交系的 SSR 遗传多样性分析[J]. 华北农学报,2006(增刊):23-27.

[14] 肖木辑,李明顺,李新海,等. 黄淮海地区主要玉米自交系的 SSR 遗传多样性分析[J]. 玉米科学,2008,14(1):33-36.

[15] Berke T G, Rocheford T R. Quantitative trait loci for flowering , plant and ear height , and kernel traits in maize[J]. Crop Science, 1995, 35: 1542-1549.

[16] 孙发明,刘兴武,徐艳荣,等. 高淀粉玉米种质资源的类群划分、应用与创新[J]. 吉林农业科学,2006,31(5):24-27.

(责任编辑:姜媛媛)