

文章编号: 1005-0906(2009)01-0028-04

玉米单交种郑单 958 遗传结构及杂种优势初步研究

李会勇, 王利锋, 唐保军, 程泽强, 王振华, 铁双贵

(河南省农科院粮食作物研究所, 郑州 450002)

摘要: 郑单 958 是我国目前推广面积最大的玉米单交种, 具有高产稳产、多抗、耐密、杂种优势强等突出的优点。通过亲本郑 58 和昌 7-2 的表型特征、系谱来源、基因组的遗传结构分析, 对郑单 958 的遗传结构及杂种优势的机理进行了初步研究。结果表明: 郑 58 和昌 7-2 在的 60 个不同 SSR 位点上存在着 60% 的差异, 其中在基因内的 SSR 位点上有 70.6% 的差异, 远远高于基因组 SSR 位点上的差异(55.8%)。两亲本功能基因的遗传变异可能是郑单 958 杂种优势强的主要原因之一。

关键词: 郑单 958; 遗传结构; 杂种优势

中图分类号: S513.03

文献标识码: A

Research on the Genetic Structure and Heterosis of Zhengdan958

LI Hui-yong, WANG Li-feng, TANG Bao-jun, WANG Zhen-hua, et al.

(Cereal Crop Research Institute, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: Zhengdan958 was a single-cross maize hybrid with high plant area in China, which characterized by high and stable yield, multi-resistant, tight plant type and high heterosis. In the study, the agronomic character, family tree and genetic structure from Zheng58 and Chang7-2 were analyzed, and the mechanism for heterosis in Zhengdan958 was also studied. The result showed that Zheng58 had 60% difference from Chang7-2 at 60 SSR loci. There were 70.6% polymorphism in gene SSR loci, and more than genome SSR loci(55.8% polymorphism). So the variance of function gene may be the one of major factor for heterosis in Zhengdan958.

Key words: Zhengdan958; Genetic structure; Heterosis

杂种优势(Heterosis)是生物界普遍存在的一种生物现象。玉米是杂种优势利用的最典型作物。玉米育种家在长期的生产实践中认识到优势互补且有一定遗传差异的亲本才能产生较高的杂种优势, 由此产生杂种优势群和杂种优势模式的概念, 对玉米生产进行理论指导。

SSR 标记具有数量丰富、高度变异、共显性、操作简便、重复性好等优点, 被利用到各种作物的遗传

多样性和杂种优势群的研究中。Wang 等(1994)分析 EMBL 和 GenBank 两大数据库发现, 在植物基因组里平均 23.3 kb 存在 1 个 SSR, 单子叶植物为 64.6 kb, 双子叶植物为 21.2 kb。

郑单 958 是以郑 58 为母本、昌 7-2 为父本杂交育成的玉米单交种, 具有高产稳产、多抗、耐密、杂种优势强等突出的优点, 先后通过国家和 7 省(区)审(认)定, 是我国目前推广面积最大的玉米品种。本研究以郑单 958 及其亲本为实验材料, 分析了郑 58 和昌 7-2 的表型特征、系谱来源、基因组遗传差异以及郑单 958 的遗传结构和杂种优势模式。

1 材料与方法

1.1 实验材料与 DNA 的提取

以郑单 958 及其亲本自交系郑 58 和昌 7-2 为实验材料, 于 2007 年 6 月种植于河南省农科院试验

收稿日期: 2008-06-10

基金项目: 河南省重大科技专项(0620010200)、河南省农业科学院科研发展专项资金(200703)

作者简介: 李会勇(1977-), 男, 山西高平人, 副研究员, 博士, 主要从事玉米种质资源和玉米功能基因组学的研究。

Tel: 0371-65758930 0371-72491432

E-mail: lihuiyong@126.com

基地,主要表型农艺性状见表 1。

表 1 郑 58 和昌 7-2 的主要农艺性状调查
Table 1 The agronomic characters in Zheng58 and Chang7-2

材 料	株高(cm)	穗位高(cm)	叶片数(片)	雄穗分枝数(个)	粒 型	子粒大小	千粒重(g)	生育期(d)
Materials	Plant height	Ear height	Leaf number	Tassel partial count	Grain shape	Seed size	1 000-grain weight	Growth period
郑 58	140	32	15	5	偏硬粒型	大	320	103
昌 7-2	175	80	19	22	硬 粒 型	小	255	107

注:表中数值为每个材料中随机 5 个单株测量值的平均值。
Note: The numbers in the table mean the number of random 5 plants for each accession.

苗期 3~4 片叶时取叶片,采取本实验室改良的 CTAB 法提取叶片基因组 DNA: 将叶片在液氮条件下迅速研磨成粉末,将粉末放入到 1.5 mL 的离心管中;然后加入缓冲液约 0.6 mL,充分混匀(样品约 0.1 g 左右);将离心管置于 65℃水浴中 30 min,水浴过程中温和地混匀几次;取出离心管,冷却至室温,每管加入等体积的氯仿-异戊醇(V:V=24:1)溶液,温和地混匀 10 min 后室温离心 20 min(8 000 r/min);用移液器小心吸出上清液移入另一离心管中,加入等体积氯仿-异戊醇(V:V=24:1),混匀后离心 20 min (8 000 r/min),若上清仍为绿色,可重复此步骤;将上清液移入另一离心管中,加入等体积预冷(-20℃)的异丙醇,轻轻混匀,静止一段时间,然后用移液器吸出 DNA,并用 70%的乙醇冲洗 2~3 次;取出 DNA,

室温短时间干燥至无乙醇味,将其溶于含 1×TE (ddH₂O)50 μL 的 1.5 mL 离心管。用日本岛津公司的 UV-2550 紫外分光光度计测定,并用少量样品通过 0.8% Agarose 胶电泳测定 DNA 的质量。取适量 DNA 原液稀释成 50 ng/μL 的使用浓度,在 4℃下保存备用,其余 DNA 原液在 -20℃下保存备用。

1.2 引物筛选

本实验选用 CIMMYT(<http://www.cimmyt.org>)发表的 85 对玉米核心引物,由上海生工(sangon)生物公司合成,按照在玉米全基因组均匀分布的原则,从中筛选出 60 对条带清晰、稳定性好的引物用于 SSR 分析。在这 60 对引物中,来自基因内的引物 17 对(表 2),来自基因组的引物为 43 对(表 3)。

表 2 来自基因内 SSR 引物列表
Table 2 SSR primers derived from gene

标 记	位 置	多态性	基因名称	基因产物
Marker	Site	Polymorphism	Gene name	Gene products
phi011	1.09	是	globulin1(glb1)	胚贮藏蛋白
phi083	2.04	是	pathogenesis-related protein2(BGL2)	发病相关蛋白
phi072	4.01	否	metallothionein1	金属硫蛋白
phi079	4.05	否	glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase1(Gapdh1)	甘油醛-3- 磷酸脱氢酶
phi093	4.08	否	ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase, small subuni1	核酮糖 -1,5- 二磷酸羧化酶
phi006	4.11	是	catalase3	过氧化氢酶
phi076	4.11	是	catalase3	过氧化氢酶
phi024	5.01	是	opaque2 heterodimerizing protein2	异源二聚体蛋白
phi085	5.07	是	glutamine synthetase4	谷氨酸合成酶
phi031	6.04	是	purple plant1(pl1)	MYB 转录因子
umc1545	7.00	是	heat shock protein3	热激蛋白
phi112	7.01	是	opaque endosperm2	奥帕克 -2 蛋白
phi034	7.02	是	cytochrome P450	细胞色素蛋白 P450
phi065	9.03	是	phosphoenolpyruvate carboxylase1	磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶
phi032	9.04	是	sucrose synthase1	蔗糖合成酶
phi062	10.04	否	male-gametophyte specific1	雄配子体特异蛋白
umc1061	10.06	否	porin2	水通道蛋白

表 3 来自基因组 SSR 引物列表
Table 3 SSR primers derived from genome

标 记	位 置	多态性	标 记	位 置	多态性
Marker	Site	Polymorphism	Marker	Site	Polymorphism
phi109275	1.00	是	phi423796	6.02	是
phi339017	1.03	否	phi452693	6.06	是
umc1122	1.06	是	phi123	6.07	否
phi002	1.08	否	phi299852	6.08	否
phi064	1.11	是	phi328175	7.04	是
phi96100	2.00	否	phi069	7.05	是
umc1555	2.02	是	phi116	7.06	否
nc133	2.05	否	phi420701	8.01	否
phi127	2.08	否	umc1304	8.02	是
phi101049	2.09	否	phi233376	8.03	是
phi104127	3.01	否	phi121	8.04	是
phi374118	3.03	否	phi100175	8.06	否
phi102228	3.04	否	phi015	8.09	是
phi053	3.05	是	umc1279	9.00	否
phi046	3.08	是	phi448880	9.05	否
umc1136	3.10	是	phi108411	9.06	是
umc1109	4.10	是	umc1277	9.08	是
nc130	5.00	否	phi041	10.00	是
phi109188	5.00	是	umc1152	10.01	是
phi331888	5.04	是	phi059	10.02	否
umc1153	5.09	否	umc1196	10.07	是
bnlg391	6.01	是			

1.3 PCR 扩增、聚丙烯酰胺凝胶电泳和数据统计

PCR 反应在 BIOmetra T1 型 PCR 仪上进行,反应体系为 15 μL, 包括:50 ng 模板 DNA,0.4 mmol/L dNTPs,0.4 μmol/L SSR primers(forward and reverse), 0.1 mmol/L MgCl₂,0.5 U Taq polymerase(promerga)和 1 × reaction buffer(10 mmol/LTris-HCl,50 mmol/L KCl, 1.5 mmol/L MgCl₂)。

采用 Touch-down PCR 程序:94 ℃预变性 2 min, 94℃变性 30 s,65℃退火 45 s (每个循环递减 1℃), 72℃延伸 1.5 min,10 循环;94℃变性 30 s,55℃退火 30 s,72℃延伸 1.5 min,28 循环;72℃延伸 15 min。

PCR 产物在 6%的聚丙烯酰胺凝胶上 70 W 电泳 40 min 后,银染显影。SSR 扩增带型以 0、1、9 记录,在相同迁移率位置上,有带记 1,无带记 0,缺失记 9。

2 结果与分析

2.1 郑 58 和昌 7-2 的表型差异分析

由表 1 可知,郑 58 和昌 7-2 在株高、穗位高、叶片数、雄穗分枝数、子粒大小、千粒重等农艺性状都

存在着很大的差异,且生育期相对一致。

郑 58 耐肥水、抗旱性强、株型紧凑、抗倒能力强,抗大小斑病、青枯病、穗粒腐病和黑粉病,自身繁殖和作母本制种产量都比较高;昌 7-2 抗青枯病及大小斑病、黑粉病、粗缩病,耐涝,对光温不敏感,根系弱,抗倒能力差。

2.2 郑 58 和昌 7-2 的基因组遗传差异分析

用均匀分布在 10 条染色体上的 60 对 SSR 标记对郑 58 和昌 7-2 的全基因组进行了扫描,发现有 36 对引物存在着多态性,其中基因内的 12 对引物存在差异(表 2),基因组有 24 对引物存在差异(表 3)。

在基因内 SSR 标记的分析中,存在多态性的基因占 70.6%,包括 1 个胚贮藏蛋白(glb1),1 个发病相关蛋白(bgl2),2 个过氧化氢酶(catalase3),2 个奥帕克-2 蛋白(opaque endosperm2, opaque2 heterodimerizing protein2),1 个谷氨酸合成酶(glutamine synthetase4),1 个 MYB 转录因子(pl1),1 个热激蛋白(heat shock protein 3),1 个细胞色素蛋白(cytochrome P450),1 个磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶(phosphoenolpyruvate carboxylase 1),1 个蔗糖合成酶(sucrose synthase 1);没有多态性

的基因占 29.4%，包括金属硫蛋白(metallothionein 1),甘油醛-3-磷酸脱氢酶(Gapdh1),核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶(ribulose biphosphate carboxylase small subunit1),雄配子体特异蛋白(MCS1),水通道蛋白(aquaporin)等。但是在基因组 SSR 标记的分析中,只有 55.8%的 SSR 位点(24 个)存在差异,远远低于基因内(70.6%)的遗传变异。

3 结论与讨论

从表型特征分析,郑 58 和昌 7-2 存在很大差异,表明表型特征不是评价玉米自交系好坏的主要标准,只要植株株型、抗倒性、穗部性状和抗逆性等符合生产的需要,应该把自交系的配合力放在首要位置。

从系谱来源分析,郑 58 和昌 7-2 分属 Reid 和塘四平头两大杂种优势群。郑单 958 的成功选育说明 Reid × 塘四平头是我国目前最佳的杂优模式之一。但由于外来种质的引进和融和,原有的杂种优势模式效率逐渐下降,应以郑 58 和昌 7-2 为基础材料重点深入开展玉米杂种优势机理的研究。

从基因组遗传结构分析,郑 58 和昌 7-2 在不同的 SSR 位点上存在着 60%的差异,其中在基因内的 SSR 位点上有 70.6%的差异,在基因组 SSR 上有 55.8%的差异。已有研究表明:基因内 SSR 的位点等位基因数、多态性信息量等方面都低于基因组 SSR。Eujayl 等(2001)对不同来源的 SSR 进行比较,认为基因内 SSR 的扩增质量很好,但比基因组来源的 SSR 多态性要低。但是在本研究中却出现了相反的结果。因此,郑单 958 之所以有超强的杂种优势,主要原因可能在于其两亲本的功能基因存在着较大的遗传变异,从而导致 F₁ 代杂合子中对生长有利的显性基因

产生互补作用。

参考文献:

- [1] Powell W. Polymorphism revealed by simple sequence repeats [J]. Trends in Plant Science, 1996, 1: 215-222.
- [2] Gabor T, Zoltan G, Jerzy J. Microsatellites in different eukaryotic Genome—survey and analysis[J]. Genome Research, 2000, 10: 967-981.
- [3] Gupta P K, Balyan H S, Sharma P C, Ramesh B. Microsatellite in plants: a new class of molecular markers[J]. Curr. Sci., 1996, 70: 45-54.
- [4] Wang Z, Weber J L, Zhong B. Survey of plant short tandem DNA repeats[J]. Theor. Appl. Genet., 1994, 19: 137-144.
- [5] Qu L J, Li X Y, Wu G Q, Yang N. Efficient and sensitive method of DNA silver staining in polyacrylamide gels[J]. Electrophoresis, 2005, 26, 99-101.
- [6] 吴景峰. 我国主要玉米杂交种种质基础评述[J]. 中国农业科学, 1983(16): 1-7.
- [7] 曾三省. 中国玉米杂交种的种质基础[J]. 中国农业科学, 1990, 23(4): 1-9.
- [8] 王懿波, 王振华. 中国玉米主要种质杂种优势利用模式的研究[J]. 中国农业科学, 1997, 30(4): 16-24.
- [9] 王懿波, 王振华, 等. 中国玉米主要种质的改良与杂优模式的利用[J]. 玉米科学, 1999, 8(1): 2-9.
- [10] 柳迎春, 蔡鑫茹, 刘爱华. 改良 Reid × 塘四平头杂优模式在吉林省玉米育种中的应用[J]. 玉米科学, 2007, 15(5): 38-40.
- [11] 张世煌, 彭泽斌, 李新海. 玉米杂种优势与种质扩增、改良和创新[J]. 中国农业科学, 2000, 33(增刊): 34-39.
- [12] Cho Y G, Ishii T, Temnykh S, Chen X, et al. Diversity of microsatellites derived from genomics libraries and GenBank sequences in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. Theor. Appl. Genet., 2000, 100: 713-722.
- [13] 赵亚丽, 李潮海, 王小星, 等. 玉米昌 7-2 近缘系及其杂交后代性状比较分析[J]. 玉米科学, 2008, 16(1): 47-51.
- [14] Eujay I, Sorrells M, Baum M, et al. Assessment of genotypic variation among cultivated durum wheat based on EST-SSR and genomic SSRs [J]. Euphytica, 2001, 119: 39-43.

(责任编辑: 朴红梅)