

文章编号: 1005-0906(2008)05-0016-04

欧洲玉米种质 BC8241Ht 衍生系的 SRAP 多态性与亲缘关系分析

晏庆九¹, 霍仕平¹, 张兴端¹, 张正圣², 向振凡¹, 张芳魁¹,
张 健¹, 余志江¹, 刘大军², 郑凤敏², 王永娟³

(1. 重庆三峡农业科学研究所, 重庆 万州 404001; 2. 西南大学农学与生物科技学院, 重庆 北碚 400716;
3. 巫溪县农业技术推广中心, 重庆 巫溪 404700)

摘要: 以包含 BC8241Ht 衍生系在内的 21 个玉米自交系为试材, 从 DNA 分子水平上分析和鉴定欧洲玉米种质 BC8241Ht 衍生系的遗传多样性与亲缘关系。选取 27 对 SRAP 标记引物进行基因组 DNA 扩增, 扩增产生 275 条谱带, 其中有 131 条带存在多态性, 多态性条带比率为 47.6%。结果表明: 所用 21 个供试玉米自交系具有丰富的遗传多样性; 基于 SRAP 分子标记的聚类分析将欧洲玉米种质 BC8241Ht 衍生出的 10 个玉米自交系聚为一大类, 但在聚类树上处于同大类中的第一和第三亚类; 欧洲玉米种质 BC8241Ht 的 10 个衍生系间存在较近的亲缘关系, 但彼此间又表现出一定的遗传差异; 在对该种质及其衍生系实施改良过程中, 应尽量避免与旅大红骨、塘四平头、PN 和西南地方种质混血, 可分别用热带或亚热带种质、Lancaster 或 Reid 种质进行改良。

关键词: 衍生系; 亲缘关系; SRAP 标记; 玉米种质; 聚类分析

中图分类号: S513.024

文献标识码: A

Analysis of SRAP Polymorphism and Genetic Relationship on Derived Lines from Europe Maize Germplasm BC8241Ht

YAN Qing-jiu¹, HUO Shi-ping¹, ZHANG Xing-duan¹, ZHANG Zheng-sheng², et al.

(1. *Three Gorges Agricultural Sciences Institute of Chongqing, Wanzhou 404001;*

2. College of Agronomy & Biotechnology, Southwestern University, Beibei 400716, China)

Abstract: Analyzed and identified SRAP polymorphism and genetic relationship on derived lines from Europe maize germplasm BC8241Ht at DNA molecular level, 27 SRAP primer combinations were used to amplify the genome DNA of 21 maize lines of including derived lines from BC8241Ht. Total of 275 SRAP bands were observed and 131 out of these (47.6%) were polymorphic, and the polymorphism indicated that 21 maize lines used in the present study had abundant genetic diversity. The cluster analysis based on SRAP markers showed that 10 BC8241Ht derived lines were clustered in one group, but they were further clustered in first or third sub-groups. The close genetic relationship existed in 10 derived lines from Europe maize germplasm BC8241Ht, but the genetic differences also existed each other in the derived lines. In the course of improving the germplasm and its derived lines, they should be avoided mixing with Lvdahonggu, Tangsipingtou, PN and Southwestern local germplasm, and it can be improved by introducing tropical, subtropical germplasm.

Key words: Derived lines; Genetic relationship; SRAP markers; Maize germplasm; Cluster analysis

收稿日期: 2007-12-10

基金项目: 重庆市“十一五”水稻玉米重大专项(CSTC, 2007AA1022)、重庆市自然科学基金项目(CSTC, 2007BB1222)

作者简介: 晏庆九(1969-), 男, 副研究员, 从事玉米遗传育种研究。

Tel: 023-58800549 E-mail: yanqj98@163.com

BC8241Ht 是欧洲玉米杂交种。经过一系列遗传改良, 已衍生出 10 个成型的自交系, 并组配出了 16 个杂交种。10 个衍生系在表观型性状上表现出 BC8241Ht 种质的一些特性, 但在遗传本质上是否有比较近的亲缘关系尚未进行过研究和比较。应用分

子标记技术可以从 DNA 分子水平上分析和鉴定欧洲玉米种质 BC8241Ht 系列衍生系的遗传多样性与亲缘关系。本研究利用 SRAP 标记技术,从 DNA 分子水平上分析欧洲玉米种质 BC8241Ht 系列衍生系的遗传多样性与亲缘关系,为该种质系列衍生系的利用与改良提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料

玉米自交系包括欧洲玉米种质 BC8241Ht 创制、改良产生的 10 个衍生系;利用其他种质选育和改良产生的 4 个自选系;从国内科研单位引进的 7 个自交系(表 1)。

1.2 基因组总 DNA 的提取

供试材料长到 5 ~ 6 叶时,摘取同一材料不同植株幼嫩叶片,采用 CTAB 法提取幼叶基因组 DNA。操作流程如下:1.0 g 幼叶液氮磨成粉末,迅速转入 10 mL 离心管;加入 3 mL 65℃预热的 2%CTAB(4% PVP、2% β – 巯基乙醇)抽提液,混匀;65℃水浴 45 min,3 ~ 4 次混匀;加入 1 mL 5 mol/L 醋酸钾,冰浴 20 min;加入等体积(4 mL)氯仿 / 异戊醇(24:1),混匀;10 000 r/min 室温离心 10 min;吸取上清液于另一干净的 10 mL 离心管中;加入 2/3 体积(2.5 mL)预冷(–20℃)的异丙醇,混匀,至白色絮状(DNA)沉淀出现;用玻璃钩挑出 DNA 沉淀,放入盛有 1 mL 75%乙醇的 1.5 mL 离心管中;用 1 mL 75%乙醇再漂洗 2 次,无水乙醇漂洗 1 次;沉淀于室温干燥至刚出现半透明,用 500 μL TE 溶解沉淀,–20℃保存备用。

表 1 供试材料及来源
Table 1 Experimental materials and their origination

编 号 Number	材料名称 Material name	来 源 Origination
1	Nan21–3	BC8241Ht
2	286–4	Nan21–3 × [(Hebai × Jin03)S ₂ × CIMMYT Pop.94]
3	286–5	Nan21–3 × [(Hebai × Jin03)S ₂ × CIMMYT Pop.94]
4	373	286–4 × 478
5	411	286–4 × 478
6	BCSM11	(Nan21–3 × Mo17) × Mo17
7	BCSM13	(Nan21–3 × Mo17) × Mo17
8	L–24112	[(Mo17 × 286–4) × (Nan21–3 × Mo17 ³)] × [(Mo17 ² × 330) × ST]
9	L–41112	[(Mo17 × 286–4) × (Nan21–3 × Mo17 ³)] × [(Mo17 ² × 330) × ST]
10	75–1	77 × Wu151
11	SZL–714211	Shanzong 5 × [(Mo17 × 286–4) × (Nan21–3 × Mo17 ³)] × [(Mo17 ² × 330) × ST]
12	CHang7–2	Improved line of Huangzao 4
13	Dan598	Improved line of Lvdahonggu
14	478	8112 × 5003
15	BCFM13	75–1 × Mo17 ²
16	261	A632 × 330
17	178	Pioneer hybrid
18	5003	Pioneer hybrid 3382
19	Huangzao4	Tangsipingtou
20	Zheng58	From variating plant of 478
21	33–2	75–1 × Mo17 ⁴

1.3 PCR 扩增体系

SRAP 反应体系:1 μL 10 × PCR buffer,0.8 μL MgCl₂(25 mmol/L),1 μL dNTPs(2 mmol/L),0.5 μL 正向引物(10 μmol/L),0.5 μL 反向引物(10 μmol/L),0.4 μL Taqase (1 U/μL),4.8 μL ddH₂O,1 μL DNA (40 ng/μL)。反应混合物在 PCR 仪上进行扩增,PCR 扩

增根据 Li 等建立的反应程序进行:94℃ 5 min,1 个循环;94℃ 1 min,35℃ 1 min,72℃ 2 min,5 个循环;94℃ 1 min,50℃ 1 min,72℃ 2 min,35 个循环;最后 72℃延伸 5 min。

1.4 PCR 扩增产物的凝胶电泳检测

随机选取的 27 对 SARP 引物对 21 个基因组

DNA 进行 PCR 扩增和电泳分离。扩增产物用 9% 的 PAGE 胶(聚丙烯酰胺凝胶)分离,电泳缓冲液为 0.5 × TBE,250 V 电泳 50 min,以 600 maker 作为分子量标准。电泳后凝胶检测参照张军等的银染方法进行。最后进行多态性统计,所有样品共有的谱带记为无多态性位点,不同样品存在差异的谱带记为多态性位点,将有带赋值为 1,无带赋值为 0。

1.5 SRAP 标记基因型的系统聚类分析

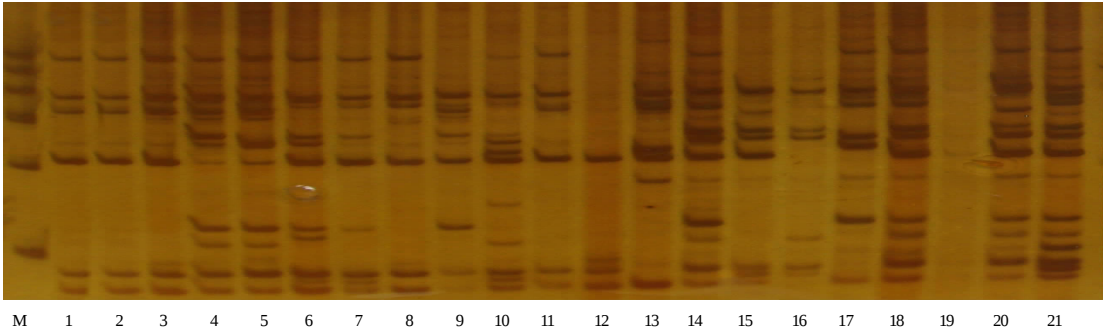
将得到的 131 个 SRAP 标记位点的 0、1 数据矩阵输入 DPS 数据处理系统,然后选用 Jaccard 系数,采用权重配对算术平均法(weighted pair group mean arithmetic average, WPGMA)进行聚类分析,得到分子

标记聚类树状图。

2 结果与分析

2.1 遗传多样性分析

27 对引物对 21 份自交系总 DNA 进行 PCR 扩增,共检测出 275 个等位基因变异,平均每对引物检测出 10.2 个,其中 131 个存在多态性,多态性条带比率为 47.6%。(图 1 为 1 对引物的标记图谱)。表明本研究所用玉米自交系具有丰富的遗传多样性,SRAP 标记可以很好地揭示 21 个供试自交系间的遗传差异和亲缘关系。



注:M 为标准分子量 DNA;1 ~ 20 为供试材料。编号与表 1 同。
Notes: M: DNA marker, 1 – 20 are numbered with experiment lines in Table 1.

图 1 引物 Me21 Em21 扩增结果

Fig.1 Result of PCR amplification using primer Me21 Em21

2.2 聚类分析

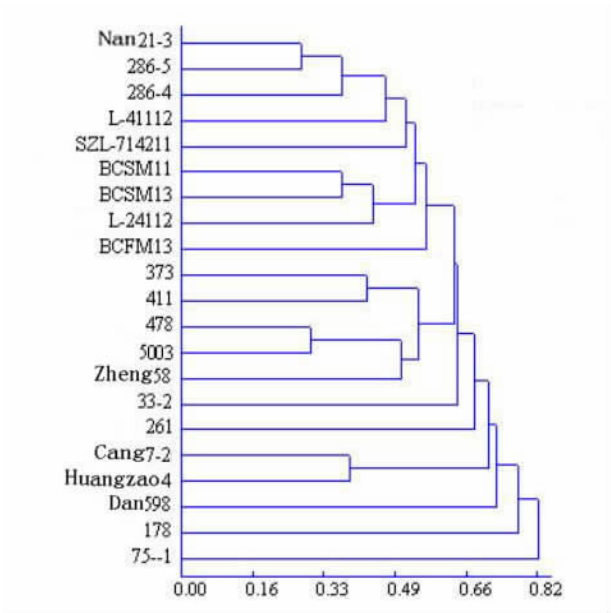


图 2 21 份玉米自交系 SRAP 标记的聚类图

Fig.2 Cluster dendrogram of 21 maize lines based on SRAP markers

利用 SRAP 标记对供试自交系进行聚类分析(图 2)。结果表明,21 个自交系可以分为 6 个类群,第 1 类群有 15 个自交系,包括了 BC8241Ht 种质的所有衍生系,即南 21-3、286-4、286-5、L-41112、SZL-714211、BCSM11、BCSM13、L-24112、373 和 411,也包含了这些衍生系在衍生过程中涉及到的 Lancaster 种质改良系 BCFM13 和 33-2,Reid 种质改良系 478、5003 和郑 58;第 2 类群只有 1 个自交系即 261;第 3 类群有 2 个自交系,即昌 7-2 和黄早四;其余 3 个自交系丹 598、178 和 75-1 各自聚为一类,分别为第 4、第 5 和第 6 类群。

第 1 类群的 15 个自交系又可细分为 4 个亚类。BC8241Ht 种质直选系南 21-3、一次衍生系 286-4、286-5、BCSM11 和 BCSM13、二次衍生系 L-41112、L-24112 和 SZL-714211 属于第 1 亚类;Lancaster 种质改良系 BCFM13 属于第 2 亚类;BC8241Ht 种质二次衍生系 373、411 和与其衍生过程有关或血缘相近的自交系 478、5003、郑 58 属于第 3 亚类;Lancaster 种质改良系 33-2 属于第 4 亚类。

3 讨 论

3.1 BC8241Ht 种质系列衍生系的亲缘性

BC8241Ht 的 10 个衍生系在 DNA 分子水平上与 BC8241Ht 种质直选系南 21-3 存在较近的亲缘性,其中衍生系 286-4、286-5、L-41112 和 SZL-714211 与直选系南 21-3 在 DNA 分子水平上的亲缘性最近。系谱关系表明,直选系南 21-3 含 100%BC8241Ht 种质,衍生系 286-4、286-5 含 50% BC8241Ht 种质。因此,DNA 标记显示的亲缘性与系谱显示的亲缘关系完全一致;衍生系 L-41112 和 SZL-714211 均为 BC8241Ht 种质综合群体的选系;衍生系 BCSM11、BCSM13 和 L-24112 在 DNA 分子水平上与 BC8241Ht 种质直选系南 21-3 有较近的亲缘性。衍生系 BCSM11 和 BCSM13 含 25% BC8241Ht 种质,因此 DNA 标记显示的亲缘性与系谱显示的一致;衍生系 L-24112 为 BC8241Ht 种质综合群体的选系。

衍生系 373 和 411 在 DNA 分子水平上与 BC8241Ht 种质直选系南 21-3 也有较近的亲缘性。系谱显示衍生系 373 和 411 含 25%BC8241Ht 种质,与直选系南 21-3 的亲缘性在 DNA 水平和系谱上也是一致的。373 和 411 在理论上含有 50% 478 血缘,与 Reid 种质改良系 478、5003 和郑 58 在 DNA 水平被归为同一亚类,DNA 分子水平显示的亲源性与系谱关系是吻合的。

3.2 BC8241Ht 种质及其衍生系的杂优类群

SRAP 分子标记聚类结果表明,BC8241Ht 种质不同于我国北方的旅大红骨和塘四平头两大地方种质优势群,也不同于 PN 群和我国西南地方种质优势群,因为 BC8241Ht 种质的部分衍生系已和这些类群的自交系杂交培育出了产量杂种优势较强的杂交品种或组合。从聚类树上可以看出,BC8241Ht 种质直选系及其一次改良系与 Lancaster 或 Reid 种质改良系处于不同的亚类,这一结果预示着 BC8241Ht 种质只要不与 Lancaster 种质或 Reid 种质混血,它与 Lancaster 种质或 Reid 种质选系杂交也可能组配出好的杂交品种或组合。

3.3 BC8241Ht 种质的利用与改良方向

到目前为止,在利用 BC8241Ht 种质衍生系组配成功的杂交种中,应用最多的杂交模式是衍生

系×西南地方种质选系,已育成 5 个杂交种;其次是衍生系×Lancaster 种质改良系,已育成 4 个杂交种;第三是衍生系×旅大红骨种质改良系,已育成 3 个杂交种。说明 BC8241Ht 种质衍生系还有较大的利用潜力。BC8241Ht 与我国已经广泛应用的玉米种质优势群(Lancaster、Reid、旅大红骨、塘四平头、PN、西南地方种质等)材料似乎都存在较大的遗传差异,在该种质实施改良过程中,应尽量避免与旅大红骨、塘四平头、PN 和西南地方种质混血,可分别用热带或亚热带特别是 Tuxpeno 种质、Lancaster 或 Reid 种质进行改良。

参考文献:

- [1] 晏庆九,霍仕平,许明陆,等. 欧洲玉米种质 BC8241Ht 的利用与改良[J]. 玉米科学,2004,12(1):36-39.
- [2] 霍仕平,张兴端,向振凡,等. 欧洲玉米种质 BC8241Ht 改良系主要经济性状的配合力分析[J]. 玉米科学,2006,14(1):40-42,45.
- [3] 霍仕平,晏庆九,张兴端,等. 南斯拉夫玉米种质 BC8241Ht 的改良效果评价[J]. 玉米科学,2006,14(2):1-3.
- [4] 李新海,傅俊骅,张世煌,等. 利用 SSR 标记研究玉米自交系的遗传变异[J]. 中国农业科学,2000,33(2):1-9.
- [5] 赵久然,郭景伦,孔艳芳,等. 应用 RAPD 分子标记技术选配强优势玉米杂交组合的研究[J]. 玉米科学,1999,7(2):12-15.
- [6] 黄益勤,李建生. 利用 RFLP 标记划分 45 份玉米自交系杂种优势群的研究[J]. 中国农业科学,2001,34(3):244-250.
- [7] 刘新芝,彭泽斌,傅俊骅,等. RAPD 在玉米类群划分研究中的应用[J]. 中国农业科学,1997,30(3):44-51.
- [8] 袁力行,傅俊骅,张世煌,等. 利用 RFLP 和 SSR 标记划分玉米自交系杂种优势群的研究[J]. 作物学报,2001,27(2):149-156.
- [9] 袁力行,傅俊骅,Warburton M,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.
- [10] 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,2005,121(5):108-112.
- [11] 柳李旺,龚义勤,黄 浩. 新型分子标记——SRAP 与 TRAP 及其应用[J]. 遗传,2004,26(5):777-781.
- [12] Li G, Quiros 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]. Theoretical and Applied Genetics, 2001, 103: 455-461.
- [13] Zhang J, Guo W Z, Zhang T Z. Molecular linkage map of allotetraploid (*Gossypium hirsutum* L. × *Gossypium barbadense* L.) with a haploid population[J]. Theor. Appl. Genet., 2002, 105: 1166-1174.

(责任编辑:朴红梅)