

48 份玉米自交系的 SSR 遗传多样性分析

闵 丽,许崇香,安英辉,李伟忠,王红霞,孙 梅
(黑龙江省农垦科研育种中心,黑龙江 哈尔滨 150036)

摘要:利用 SSR 标记对 48 个黑龙江省玉米自交系进行遗传多样性分析,初步进行了杂种优势群划分。从 100 对 SSR 引物中筛选取 20 对扩增带清晰且具有稳定多态性的引物。结果表明:20 对引物在供试材料中共检测出 105 个等位基因变异,平均每对引物检测到等位基因数位 5.25 个,变化范围在 3~7 个,多态性信息含量变化范围为 0.405~0.793,平均多态性信息量为 0.664。48 个自交系之间的遗传相似系数变化范围为 0.400~0.905。UPGMA 聚类分析结果表明:供试自交系被划分为 5 大类群,聚类结果与系谱分析基本一致。因此,SSR 标记可以进行玉米自交系遗传变异分析,并用于杂种优势群的划分。

关键词:玉米自交系;分子标记;多态性信息量;杂种优势群

中图分类号:S513 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2010)06-0008-03

合理划分玉米自交系的杂种优势类群,是构建杂种优势模式及预测杂种优势的依据。分子标记技术的发展,为玉米自交系杂种优势群划分、杂种优势预测提供了新的方法^[1-4]。袁力行等^[5]评价了 RFLP、RAPD、SSR、AFLP 等 4 种标记研究玉米自交系遗传多样性的可行性,认为 SSR 标记是目前最适合于分析玉米种质遗传多样性及划分杂种优势群的分子标记。

我国主要杂种优势群为 Lancaster 群、改良 Reid 群、旅大红骨群、塘四平头群和其它类群^[6]。该研究采用 SSR 分子标记技术分析了 48 个黑龙江省自育玉米自交系的遗传多样性,并进行了杂种优势群的划分。对更好地利用自育系,确定杂优模式,提高育种效率具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为 48 份玉米自交系,其中 4 份国内 4 大杂种优势群的标准测验种作为参考对照,另选择黑龙江省玉米自育自交系 44 份。各自交系性状整齐一致,遗传上纯合稳定。其名称、编号及系谱来源见表 1。

表 1 48 个自交系的系谱亲缘关系

自交系编号	自交系	系谱来源
1	北系 1	O2-1-2×冷鉴 89014
2	北系 3	引入中间材料 556 的选系
3	北系 6	引入中间材料 41 的选系
4	北系 7	引入中间材料 292 的选系
5	北系 17	绥 801 选育的二环系
6	北系 19	龙辐 208 选育的二环系
7	北系 20	中综 2 号群体选系
8	北系 22	引入材料品 18 的选系
9	北系 25	引入中间材料 45 的选系
10	北系 26	引入中间材料 336 的选系
11	北系 31	引入中间材料 899 的选系
12	北系 34	引入中间材料 165 的选系
13	北系 35	引入中间材料 375 的选系
14	北系 36	引入中间材料 235 的选系
15	北系 38	龙 326 选育的二环系
16	北系 40	引入中间材料 458 的选系
17	北系 41	引入中间材料 75 的选系
18	北系 42	农大 98001 选育的二环系
19	北系 45	克单 6 号母本杂株选系
20	北系 47	引入中间材料 326 的选系
21	北系 48	引入中间材料 33 的选系
22	北系 52	张 869 选育的二环系
23	北系 53	甘肃引入材料的选系)
24	北系 54	引入中间材料 376 的选系
25	北系 55	农大 98001 的选系
26	北系 56	引入中间材料 365 的选系
27	北系 58	不详
28	北系 59	引入中间材料 164 的选系
29	北系 60	7354 选育的二环系
30	北系 61	河北杂交种选系
31	北系 62	品 18×四早 11
32	北系 63	局试 7 号选育的二环系
33	北系 64	长宏 018 选育的二环系
34	北系 65	11×四早 11
35	北系 66	北 98-402 选育的二环系
36	北系 67	不详
37	北系 68	L060172×4F1
38	北系 69	L060172×1028
39	北系 70	引入中间材料 612 的选系
40	北系 71	引入中间材料 243 的选系
41	北系 72	品 C198
42	X-8	不详
43	红系 113	国外杂交种选系
44	红系 250	中间材料品 18 的选系
45	Mo17	C103×187-2
46	黄早四	塘四平头分离选育而成
47	8112	美国杂交种 3382×3147
48	340	旅 9×有稃玉米 旅大红骨测验种

收稿日期:2010-02-26

第一作者简介:闵丽(1976-),女,安徽省宿县人,硕士,助理研究员,从事玉米遗传育种方面的研究。E-mail: mil-ly197673@163.com。

通讯作者:许崇香(1969-),女,山东省日照市人,硕士,副研究员,从事玉米遗传育种方面的研究。E-mail: xuchongxiang2002@sohu.com。

1.2 玉米总 DNA 的提取

采用王珍等提出的 CTAB 法提取玉米种胚 DNA^[7]。

1.3 SSR 扩增

1.3.1 PCR 反应体系 每 10 μ L 反应体系中,含有 1 μ L 10 \times Buffer,0.2 μ L 2.5 mmol \cdot L⁻¹ dNTPs,0.6 μ L 25 mmol \cdot L⁻¹ MgCl₂,0.7 μ L Primer,0.1 μ L Taq 酶,20 ng DNA,ddH₂O 补齐。

1.3.2 反应程序 94℃预变性 5 min,94℃变性 1 min,55℃退火 2 min,72℃延伸 2 min,共进行 35 次循环,于 4℃保存。PCR 扩增在 BIOMEMA T gradient PCR 仪上进行。

1.4 电泳检测

PCR 反应产物在 8%聚丙烯酰胺凝胶进行电泳,电泳缓冲液 0.5 \times TBE,电压 200 U 电泳 2 h 左右。

1.5 银染检测

10%酒精,0.5%冰醋酸固定 2 次。0.2% AgNO₃ 染色 10 min。ddH₂O 快速清洗 2 次,0.002%硫代硫酸钠溶液置代 30 s,显影液 1.5% NaOH,0.4%甲醛溶液显色。

1.6 数据统计分析

SSR 扩增以 0、1、9 统计建立数据库。在相同迁移率位置上,有带记为 1,无带记为 0,缺失记为 9。每个 SSR 位点的多态性信息量(polymorphism information content,简称 PIC 值),按 Smith J S C 等^[8]提供的公式计算,PIC = 1 - $\sum f_i^2$,其中 f_i 为 i 位点的基因频率。以简单相配系数(simple matching coefficient)方式计算自交系的遗传相似系数(genetic similarity coefficient,GS),GS = $m/(m+n)$, m 表示基因型间共有条带数目, n 表示基因型间有差异的条带数目。聚类分析按 UPGMA (Unweight Pair Group Method using Arithmetic Average)方法进行。数据统计在 NTSYSpc-2.10e 软件下完成。

2 结果与分析

2.1 SSR 标记统计结果

从 100 对均匀分布于玉米 10 条染色体上的通用 SSR 核心引物中^[9],筛选出扩增带清晰且具有稳定多态性的引物 20 对,对 48 个供试材料进行扩增,共检测出 105 个等位基因变异,平均每个引物位点检测到的等位基因数 5.25 个,变化范围在 3 ~ 7 个,以引物 mmc0191、bnlg244 和 bn-

lg1451 最高。平均多态性信息量(PIC)为 0.664,变化范围为 0.405 ~ 0.793,以引物 umc1137 最高,引物 umc1429 最低(见表 2)。PIC 值的大小取决于检测到的等位基因数目及基因频率,而与后者关系更密切。利用 105 个多态性 SSR 标记位点计算了 48 个自交系之间的遗传相似系数(GS),其范围在 0.400 ~ 0.905。自交系北系 53 和 Mo17 的遗传相似系数最大(GS 为 0.905)。

表 2 20 对 SSR 引物在 48 个玉米自交系中检测到的等位基因数目和 PIC 值

编号	引物	位置	等位基因数	多态信息量
1	umc2112	1.04	6	0.709
2	bnlg1025	1.07	6	0.702
3	umc1065	2.06	6	0.744
4	mmc0191	2.07-2.08	7	0.742
5	umc2105	3.00	4	0.655
6	bnlg1452	3.04	5	0.724
7	phi021	4.03	4	0.601
8	bnlg490	4.04	4	0.427
9	bnlg565	5.02	6	0.731
10	umc1429	5.03	3	0.405
11	mmc0523	6.04	5	0.681
12	umc2165	6.07	4	0.545
13	umc1016	7.02	4	0.684
14	bnlg1805	7.03	4	0.588
15	bnlg2235	8.02	6	0.759
16	umc1741	8.03	5	0.541
17	bnlg244	9.02	7	0.751
18	umc1137	9.08	6	0.793
19	bnlg1451	10.02	7	0.713
20	umc2163	10.04	6	0.786
平均			5.25	0.664

2.2 聚类分析

根据 SSR 标记各自交系的遗传相似系数矩阵,利用 UPGMA 方法对 48 个自交系进行聚类分析(见图 1)。

根据聚类分析树状图,以相似系数 0.66 为标准,可将供试的 48 个自交系划分为 5 个类群。从系谱亲缘关系分析,SSR 聚类结果与系谱分析具有较好的一致性,4 个标准测验种分别被划到相应的优势类群(见表 3)。其中,第Ⅰ类群:27 份自育自交系和测验种 Mo17 聚为一类属于 Lanncaster 群;第Ⅱ类群:北系 19、北系 63、北系 47、北系 72、北系 26 和测验种 8112,属于 Reid 类群;第Ⅲ类群:黄早四和北系 36,系谱不详的 X-8,红系 250 聚为一类,属于塘四平头类群;第Ⅴ类

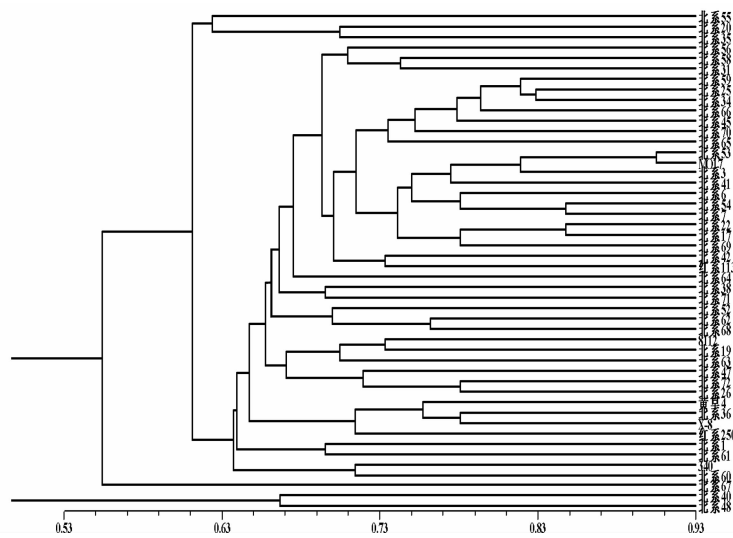


图 1 48 个玉米自交系聚类分析树状图

群:测验种 340 与北系 60 同属于旅大红骨群;而第Ⅳ类能否单独划为一个类群,有待通过传统和田间试验进一步验证。其它部分自交系北系 55、北系 20、北系 35、北系 67、北系 40、北系 48 与常用自交系的遗传基础较远,未被划到任何类群。北系 22 和红系 250 为姊妹系,分别被划为 Lanncaster 群和塘四平头类群 2 个类群,这可能是因为选系的基础材料是由 Lanncaster 群和塘四平头类群的自交系杂交组成的。

表 3 48 个玉米自交系的 SSR 聚类结果

类群	自交系
I	北系 56,北系 58,北系 31,北系 59,北系 25,北系 34,北系 66,北系 45,北系 70,北系 65,北系 53,Mo17,北系 3,北系 41,北系 6,北系 54,北系 7,北系 22,北系 17,北系 69,北系 42,红系 113,北系 64,北系 38,北系 71,北系 52,北系 62,北系 68
II	8112,北系 19,北系 63,北系 47,北系 72,北系 26
III	黄早四,北系 36,X-8,红系 250
IV	北系 1,北系 61
V	340,北系 60
未归类自交系	北系 55、北系 20、北系 35、北系 67、北系 40、北系 48

3 讨论

将玉米优良自交系划分成不同杂种优势群,进而建立玉米的杂种优势模式,已成为国内外玉米育种的一个重要研究方向。供试的 48 份玉米自交系被划为 5 大优势类群,其中有 27 份和 Mo17 聚为一类,而只有 1 份和 340 聚为一类,由此可以看出黑龙江省的基础材料含有 Lanncaster

血缘的较多,含有旅大红骨血缘的较少;这可能是因为黑龙江省气候冷凉、无霜期短的特点,需要生育期较早、轴细、成熟后期脱水快的基础材料,而 Lanncaster 血缘的材料多具备这一优点;旅大红骨血缘的材料多轴粗,后期脱水慢不适宜黑龙江特殊的生态环境,因此 Lanncaster 群也成为黑龙江省的主要优势群。从分类结果也可以看出黑龙江省农垦科研育种中心育种材料的遗传基础狭窄,今后的育种工作中,除注重利用适应当地的 Lanncaster 群种质改良外,还要加大 Reid 群和塘四平头等群种质的引入和改良,拓宽种质基础,为提高种质资源的扩增、改良和创新能力奠定坚实基础。

目前,黑龙江省农垦科研育种中心已审定的新品种龙垦 3 号(红系 250×合 344),正在参试的高产苗头组合北种 916(北系 25×北系 26)进一步说明了聚类的合理性,同时杂种优势群的划分为自育自交系针对性的选择测验种及选配强优势杂交组合提供了理论依据,减少了育种工作的盲目性,从分子水平为玉米育种工作者合理和充分利用地方玉米种质,进行亲本选配、二环系培育和综合种的合成提供参考。

参考文献:

[1] 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.
[2] 赵久然,郭景伦,郭强,等. 应用 RAPD 分子标记技术对我国骨干玉米自交系进行类群划分[J]. 华北农学报,1999,14(1):32-37.
[3] 刘世建,蔡廷昭,杨俊品,等. 四川地方玉米种质的 SSR 聚类分析[J]. 作物学报,2004,30(3):221-226.