

文章编号: 1005-0906(2005)02-0012-04

SSR 标记在玉米遗传多态性及杂种优势群划分中的应用

李凌雨¹, 闫彩清¹, 邢亚静¹, 王学雄¹, 张效梅²

(1.山西省农业科学院作物遗传研究所,太原 030031; 2.山西省农业科学院品种资源研究所,太原 030031)

摘要: 描述了 SSR 分子标记的基本概念,简述了 SSR 标记在玉米遗传多态性分析、杂种优势群划分以及玉米轮回选择群体的遗传多样性方面的应用,同时展望了其应用前景。

关键词: SSR 标记;玉米;遗传多态性;杂种优势群

中图分类号: S513.032

文献标识码: A

Utilization of SSR Marker in Genetic Diversity Analysis and Heterotic Grouping of Maize

LI Ling-yu¹, YAN Cai-qing¹, XING Ya-jing¹, WANG Xue-xiong¹, ZHANG Xiao-mei²(1. *Crop Genetics Research Institute, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Taiyuan 030031, China;*2. *Crop Germplasm Research Institute, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Taiyuan 030031, China*)

Abstract: General concept of SSR molecular marker was given. Summarized the utilization of SSR molecular marker in polymorphisms analysis, heterotic grouping of maize inbred lines, and genetic diversity analysis of maize recurrent selection populations in this paper. Forecasted the future of SSR marker usenses.

Key words: SSR marker; Maize; Genetic diversity; Heterotic group

近年来,随着分子生物学的快速发展,分子标记技术已广泛应用于植物遗传图谱构建、系统发育关系分析、种质资源分类鉴定、品种注册、专利保护、病毒鉴定、体细胞杂种鉴定、分子标记辅助选择育种等诸多方面。目前遗传育种研究中使用的主要分子标记有 RFLP、RAPD、AFLP、SSR、ISSR、SCAR、STS 和 CAP_s 8 种,其中的 SSR 标记是继 RFLP 标记之后建立在 PCR 反应基础上的一种新型分子标记。SSR 即简单序列重复,又称微卫星 DNA,它是一类由 1~6 个碱基组成的基因串联重复而成的 DNA 序列,其长度一般较短,它们广泛分布于基因组的不同位置。由于 SSR 标记为共显性遗传标记,具有多态性水平高、遗传方式简单、结果重现性好、稳定可靠、DNA 需要量少且操作简单等特点,近年来受到人们的广泛重视,已发展成为一门技术成熟、程序标准的分子

标记方法。SSR 的研究最早始于动物基因组,特别是人类和哺乳动物基因组研究,首先在人类和小鼠中建立了以 SSR 为主的分子连锁图。目前在植物中 SSR 标记研究也非常活跃,其中已利用 SSR 标记开展遗传育种研究的作物有水稻、玉米、小麦、大麦、大豆、高粱、马铃薯、花生、油菜、菠菜等 10 余种。

研究玉米自交系的遗传变异及其之间的亲缘关系,从而进行类群划分是构建玉米杂种优势群的重要依据,是提高选育优良杂交种效率的基础性工作。国内外学者利用 SSR 标记在玉米中,特别是在玉米的遗传多态性分析和杂种优势群划分方面做了大量的研究工作,另外在轮回选择群体的遗传多样性方面也作了探索性研究,本文将就这些研究作以评述。

1 普通玉米自交系的遗传多态性及杂种优势群

近年来,国内外学者利用 SSR 标记在此方面开展了一系列研究。Smith J.S.C 等利用 131 个 SSR 引物对 58 份玉米自交系进行了类群划分,并与 80 个 RFLP 探针划分的结果进行比较后得出,SSR 标记的

收稿日期: 2004-09-30

基金项目: 山西省自然科学基金资助项目(20031080)和山西省留学归国人员基金资助项目(2001068)

作者简介: 李凌雨(1960-),男,山西永济人,副研究员,学士,主要从事玉米遗传育种研究。Tel:0351-7128002(O)

多态信息含量值(PIC,下同)的变幅大于 RFLP,9 个 SSR 标记的 PIC 值超过 RFLP 的最大相应值,因而 SSR 标记的多态性更高。两种标记的划群结果高度相关,且 SSR 标记与系谱数据间的相关系数略大于 RFLP 标记与系谱数据间的相关系数,两种标记所分析的自交系间的关系非常近似,且与已知的自交系间的系谱关系非常接近,类群划分结果与系谱分析基本吻合。Senior M.L.等用 70 个 SSR 标记位点研究了 94 份自交系的遗传多态性,从中检测到 365 个等位基因变异,每个位点检测到等位基因数 2~23 个,平均为 5 个,PIC 值的变幅在 0.17~0.92,平均为 0.59。SSR 多态性所揭示的遗传变异模式与已知血缘关系一致,聚类分析成功地将供试材料分为 9 个类群,与北美玉米的主要杂种优势群或市场分类相符。SSR 标记在估测遗传多样性、划分杂种优势群等方面的效用性等同或超过了 RFLP 标记,可为玉米育种程序的制定提供有力的技术支撑。Pejic I.等来自 BSSS 群、LSC 群及 MISC 群的 33 份玉米自交系为试材,对 RFLP、RAPD、SSR 和 AFLP 共 4 种标记分析的遗传相似性结果进行了比较。4 种标记检测到的多态性条带数分别为 253 条、90 条、183 条及 232 条,但 27 个 SSR 引物对的每个位点检测到的有效等位基因数为 1.1~6.6 个,平均有效等位基因数为 4.4 个,平均等位基因变异数目为 6.8 个,预期杂种优势值为 0.72,均远高于其它 3 种标记的相应值,检测有效指数为 4.4,高于 RFLP 标记。不论是杂种优势群内还是群间,SSR 所揭示的遗传相似系数均低于其它 3 种标记,这是由于 SSR 标记具有很高的识别力。4 种方法均能将供试自交系明显地区分开来,而 SSR 标记数据在任何自交系对间的识别力最高,划群结果与自交系的血缘关系表现基本一致。Bernardo R.等得出结论认为,在估测遗传关系方面,SSR 标记要优于 RFLP 标记。

在国内,李新海等首先利用 SSR 标记研究了 21 个玉米自交系的遗传变异,并初步进行了杂种优势群划分,43 对 SSR 引物共检测出 127 个等位基因变异,每对引物检测到等位基因 2~7 个,平均为 2.95 个,平均 PIC 值为 0.511。将供试自交系分为两个类群,5 个亚群,划群结果与其系谱关系基本一致。此外,多数高产组合亲本分别来自不同类群,而在群(亚群)内无高产组合。他用同样方法划分了我国 70 份主要玉米自交系的杂种优势群,用 64 对引物从供试材料中共检测出 248 个等位基因变异,每对引物检测出等位基因 2~9 个,平均 3.88 个,平均 PIC 值为 0.523。试材分属于塘四平头、旅大红骨、PA、PB、

BSSS 及 Lancaster 6 个类群,划群结果与系谱分析和育种家经验基本相符。除以前鉴定出的 5 个类群外,还鉴定出 PB 群,同时将来源于 PN 材料的自交系分为 PA 和 PB 群。刘杰等利用 SSR 标记研究了我国 15 个骨干玉米自交系的遗传变异和优势类群,40 个 SSR 引物对共检测到 188 个等位基因变异,每个 SSR 位点的等位基因数为 2~9 个,平均为 4.7 个。位点的多态信息含量(PIC)值变幅居 0.360~0.851 之间,平均为 0.675,bnlg1108 等 10 个引物可有效地将 15 个自交系区分开来。供试材料可分为 4 大类群,其结果与系谱关系相一致。与杂种优势聚类法相比,SSR 方法具有高效、可靠、标准化等特点。曹永国等用 71 对 SSR 引物从 17 份自交系中检测到 384 个等位基因变异,每对引物检测出 2~12 个等位基因,平均为 5.4 个,PIC 值的变幅在 0.278~0.896 之间,平均为 0.740。将 17 个自交系聚为 6 类,和已知系谱关系十分吻合。袁力行等利用 RFLP、SSR、RFLP 和 RAPD 4 种标记对玉米自交系遗传多样性的研究结果进行了比较。结果显示,SSR 标记位点的平均 PIC 值最大,而 AFLP 最小,但其多态性检测效率最高,4 种标记的遗传相似系数相关显著,RAPD 可靠性较低。它们均将 15 份试材划为塘四平头、旅大红骨、兰卡斯特、PN 和瑞德 5 个类群,与系谱分析基本一致。并认为 SSR 和 RFLP 两种分子标记方法适合进行玉米种质遗传多样性的研究。他还于 2001 年用 SSR 和 RFLP 两种标记对 29 份玉米自交系的杂种优势群进行了研究,筛选出 56 个 RFLP 探针酶组合和 66 对多态性 SSR 引物,分别检测到 187 个和 232 个等位基因变异,SSR 位点的平均 PIC 值高于 RFLP,两种标记均将试材自交系划分为塘四平头、旅大红骨、LSC、BSSS 和 PA(PN 种质)5 个类群,划群结果与系谱分析基本一致,并把系谱来源不清的种质划分到相应的优势群中。PN 群的确认,进一步完善了我国玉米种质杂种优势群的基本框架,为育种实践提供了有价值的信息。

2 地方玉米种质的遗传多样性及杂种优势群

田孟良等依据 SSR 标记,研究了贵州、云南的 9 个糯玉米地方品种和 5 个普通玉米地方品种的遗传差异。79 对 SSR 引物共检测出 330 个等位基因变异,平均每个位点的等位基因变异为 4.18 个。聚类分析表明,在分子水平上糯玉米与普通玉米存在着较大的遗传差异,这不仅表现在 wax 基因及相关位点,而且遍布整个基因组。吴渝生等用 SSR 标记分

析了云南不同生态区糯玉米、爆裂玉米地方品种的遗传多样性。61对引物从16份糯玉米中共检测到226个多态性片段,每对引物检测到1~12个,平均为3.70个;43对引物从14份爆裂玉米中检测到232个多态性片段,每对引物检测到1~13个,平均为5.40个。聚类分析将糯玉米分为3个类群5个亚群;爆裂玉米分为3个类群4个亚群,这与云南不同海拔地势的变化走向基本相符。刘世建等对四川地方玉米种质进行了SSR聚类分析,研究了28个玉米自交系的遗传变异,得知大部分四川地方玉米种质可划归到常见的几大杂种优势群中去,少数地方玉米自交系则单独成群。四川省地方玉米种质具有广泛的遗传基础,SSR标记能较真实地揭示自交系间的遗传多样性,可认定是进行杂种优势类群划分的有效分子标记方法。杜金友等利用SSR和AFLP两种标记方法研究了23份玉米种质材料的遗传多样性,并对两种标记系统进行了比较。用40对SSR引物和12个AFLP引物组分别检测到202个等位基因和444条多态性带。两种标记均有很高的多态性,均将试材划分为5组,与系谱分析基本一致,两种标记划分的结果相近,且认为两种标记均适于玉米种质的遗传多样性研究。

3 不同生态区间玉米自交系的遗传多样性及杂种优势群

番兴明等利用SSR标记对4个温带系和25个热带系的杂种优势群进行了划分。39对引物在供试材料中共检测到127个等位基因变异,平均PIC值为0.49。依据自交系间的遗传相似系数作聚类分析,供试自交系分为4个群,即国内玉米种质群、Lancaster种质群、B73种质群及热带玉米种质群。热带玉米种质群由A、B两个杂种优势群构成,A群分2个亚群,B群分4个亚群。划分结果与系谱来源基本一致。白锦雯等用SSR标记研究了热带、亚热带玉米自交系与温带自交系的遗传关系。温、热带杂交组合的产量特殊配合力较高,将9个热带、亚热带系和5个温带系聚类为6个类群,其中,第一类群包括CML10和CML265;第二类群包括CML27、CML96、CML295以及Mo17;第三类群包括CML323和黄早四;第四类群包括CML310、CML312、自330以及丹340;第五类群包括CML107;第六类群包括掖478。SSR标记的分类结果与产量配合力及系谱分析结果基本一致。

4 特异种质玉米自交系的遗传多态性及杂种优势群

番兴明等对18个优质蛋白玉米自交系和代表国内主要杂种优势群的4个普通玉米自交系进行了SSR分析。39对引物共检测出134个等位基因变异,平均PIC值为0.55,供试材料分属于5大类群,其中除已确定的旅大红骨种质、塘四平头种质、瑞德种质及兰卡斯特种质4个杂种优势群外,又增加了一个新类群,SSR标记划分与田间产量配合力划分结果及系谱分析基本一致。王振华等研究了玉米抗甘蔗花叶病毒资源的遗传多样性,从46份主要自交系中筛选出8份高抗系和7份抗病系,用SSR标记分析了46份自交系的遗传多样性。49对引物共检测出168个等位基因变异,每对引物检测等位基因2~10个,平均3.43个,供试材料被划归到7个类群中,与系谱分析结果和育种家经验基本相符。抗病自交系分散于4个类群,可用于改良同一群内感病系的抗性,或作为抗病毒种质,组建抗病群体。李新海等将玉米自交系的花期耐旱性与SSR标记相结合,研究了自交系的开花期耐旱性差异及改良方法。从37份材料中筛选出耐旱系12份,并用SSR评价了遗传多样性。47对引物共检测出156个等位基因变异,供试自交系划分为6个类群,9份耐旱系分散于4个类群,其中E群被鉴定为耐旱种质群。

综合各学者的研究结果可得到如下几点启示:尽管所用SSR引物不尽相同,研究取材亦各有差异,但均能检测到较多的等位基因变异和较高的多态信息含量PIC值;聚类分析均能将供试自交系准确、合理地划归到相应的类群中去,划群结果与其系谱分析基本一致;SSR标记可将未知血缘的自交系划归到相应的类群中去;SSR是研究玉米自交系的遗传变异及杂种优势群划分的有效分子标记方法。

5 玉米群体的遗传多样性分析

在自然界中,生物个体表现出来的各种遗传变异,在本质上就是DNA的差异。因此,通过研究DNA的变异来分析群体的遗传结构及遗传多样性更为直接。

黄素华等利用SSR标记对5个玉米不同轮回选择世代群体进行了分子水平上的遗传变异研究。49对引物在所研究的5个玉米轮回选择群体中共扩增出185个等位位点,每个SSR座位上的等位基因数目为1~7个,平均3.8个。结果显示,两个基础群体DC₀、XFC₀的遗传基础比较宽,经不同的轮回选择方法改良后,改良群体的遗传变异仍很丰富,随着群体改良的实施,由于重组交换和选择,使某些位点发生了变化。轮回选择后的群体多态位点总数及

比例均略低于基础群体。当用 SSR 标记来表示群体间基因的等位性和非等位性差异时,发现同一引物在不同群体间表现不同的基因型,同一基因型也存在着频率的差异。在有些引物中,改良群体的基因型比基础群体丰富。改良群体 HSC₂、MSC₂ 与基础群体 DC₀ 的平均遗传距离几乎没有变化,但遗传距离的分布并不相同,改良群体的遗传距离向小的方向偏移。同一引物对在不同群体中的基因频率不同,从而导致各种基因型的种类和比例出现差异。轮回选择使群体的基因频率产生了变化,有些位点的基因达到纯合,基因频率为 1。DC₀、HSC₂、MSC₂ 这 3 个群体的基因平均杂合度相似,XFC₀ 与 XFC₄ 的基因平均杂合度相似;改良群体的基因型种类偏少,但这些差异均不显著。

6 结 语

由于 SSR 标记的诸多优点,使其较迅速发展成为继 RFLP 之后的第二代分子标记,可用来高效、准确地检测生物体的遗传变异。玉米是较早利用 SSR 标记开展遗传育种学研究的作物之一,目前该技术已普遍应用于玉米遗传多样性及杂种优势群划分的研究,充分显示了其优越性,并取得了一定成果。目前已有 2 300 多个 SSR 标记被定位,随着研究的深入及更多 SSR 位点的发现,SSR 标记技术在玉米的遗传多态性及杂种优势群研究中将展现出更加诱人的应用前景。

参考文献:

- [1] 陈佩度. 作物育种生物技术[M]. 北京:中国农业出版社,2001.
- [2] 席章营,张桂权. SSR 标记及其在作物育种中的应用[J]. 河南农业大学学报,2002,36(3):293-297.
- [3] 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.): Comparisons with data from RFLPs and pedigree[J]. Theor Appl Genet, 1997, 95: 163-173.
- [4] Senior M L, Murphy J P, Goodman M M, et al. Utility of SSRs for determining genetic similarities and relationships in maize using an agarose gel system[J]. Crop Sci., 1998, 38: 1088-1098.
- [5] Pejic I, Ajmone-Marsan P, Morgante M, et al. Comparative analysis of genetic similarity among maize inbred lines detected by RFLPs, RAPDs, SSRs, and AFLPs[J]. Theor Appl Genet, 1998, 97: 1248-1255.
- [6] 聂永心,张丽,潘光堂,等. SSR 分子标记在玉米杂种优势群划分中的应用[J]. 玉米科学,2004,12(3):26-29.
- [7] Bernardo R, Romero-Severson J, Ziegler J, et al. Parental contribution and coefficient of coancestry among maize inbreds: pedigree, RFLP, and SSR data[J]. Theor Appl Genet, 2000, 100: 552-556.
- [8] 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.
- [9] 李新海,袁力行,李晓晖,等. 利用 SSR 标记划分 70 份我国玉米自交系的杂种优势群[J]. 中国农业科学,2003,36(6):622-627.
- [10] 刘杰,刘公社,朱至清,等. SSR 标记用于玉米自交系遗传变异及优势类群划分的研究[J]. 西北植物学报,2002,22(4):741-750.
- [11] 曹永国,向道权,黄烈健,等. SSR 标记与玉米杂种优势关系的研究[J]. 农业生物技术学报,2002,10(2):120-123.
- [12] 袁力行,傅俊华,Warbuttrton 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.
- [13] 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.
- [14] 田孟良,黄玉碧,刘永建,等. SSR 标记揭示的云南省、贵州省糯玉米与普通玉米种质资源的遗传差异[J]. 四川农业大学学报,2003,21(3):213-216.
- [15] 吴渝生,郑用琏,孙荣,等. 基于 SSR 标记的云南糯玉米、爆裂玉米地方种质遗传多样性分析[J]. 作物学报,2004,30(1):36-42.
- [16] 刘世建,荣廷昭,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.
- [17] 杜金友,黎裕,王天宇,等. SSR 和 AFLP 分析玉米遗传多样性的研究[J]. 华北农学报,2003,18(1):59-63.
- [18] 番兴明,谭静,张世煌,等. 利用 SSR 标记对 29 个热带和温带玉米自交系进行杂种优势群的划分[J]. 作物学报,2003,29(6):835-840.
- [19] 白锦雯,陈彦惠,王铁固,等. 热带、亚热带玉米自交系与温带自交系遗传关系研究[J]. 河南农业科学,2003,(12):4-8.
- [20] 番兴明,张世煌,谭静,等. 根据 SSR 标记划分优质蛋白玉米自交系的杂种优势群[J]. 作物学报,2003,29(1):105-110.
- [21] 王振华,李新海,袁力行,等. 玉米抗甘蔗花叶病毒资源的遗传多样性研究[J]. 作物学报,2003,29(3):391-396.
- [22] Li X H, Liu X D, Li M S, et al. Identification of quantitative trait loci for anthesis-silking interval and yield components under drought stress in maize[J]. Acta Botanica Sinica, 2003, 45(7): 852-857.
- [23] 张玉刚,郭绍霞,韩振海,等. 微卫星 DNA 分子标记及其在高等植物遗传育种中的应用[J]. 莱阳农学院学报,2003,20(1):51-56.
- [24] 黄素华,滕文涛,王玉娟,等. 利用 SSR 标记分析玉米轮回选择群体的遗传多样性[J]. 遗传学报,2004,31(1):73-80.
- [25] 黄烈健,向道权. 玉米 Hi 近等基因系的 RAPD、SSR 分子标记比较研究[J]. 玉米科学,2003,11(3):31-33.