

用 SSR 标记进行玉米功能基因定位及 QTL 分析

李凌雨¹, 邢亚静¹, 闫彩清¹, 王学雄¹, 张效梅², 郭高明¹

(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: 回顾了近年来国内外利用 SSR 标记研究玉米的功能基因定位及 QTL 分析的一些研究进展,着重评述了 SSR 标记在玉米产量性状基因、干旱耐受性基因、抗病抗虫基因及育性恢复基因的定位及 QTL 分析的主要研究成果,并对 SSR 标记在玉米功能基因定位及 QTL 分析中的应用前景进行了展望。

关键词: 玉米; SSR 标记; 基因定位; QTL 分析

中图分类号: S513.035.3

文献标识码: A

Genetic Mapping and QTL Analysis in Maize by SSR Markers

LI Ling-yu, XING Ya-jing, YAN Cai-qing, et al.

(Crop Genetics Research Institute, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Taiyuan 030031, China)

Abstract: The article mainly reviewed achieves in recent years of genetic mapping and QTL analysis in maize by SSR makers. Emphatically summarized main results in genetic mapping and QTL of yield components, drought-resistant, diseases-resistant, insects-resistant and restoring genes for male sterility in maize by SSR markers. And forecasted the prospects of utility of SSR makers in genetic mapping and QTL analysis in maize.

Key words: Maize; SSR makers; Genetic mapping; QTL analysis

分子生物学的快速发展使得分子标记技术在作物遗传育种研究的许多领域得到了广泛应用。SSR 标记即简单序列重复, 又称微卫星 DNA, 它是继 RFLP、RAPD、AFLP 标记之后建立在 PCR 反应基础上的第二代分子标记。它是指一个串状重复的 DNA 家族, 表现为极短的核苷酸序列重复, 它们在真核生物中大量存在, 成串联片段, 在基因组 DNA 中呈散状分布。由于 SSR 在不同基因型间表现高度多态性, 且遗传方式简单、结果重现性好、稳定可靠、DNA 需要量少、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、应用广泛的分子标记方法。

SSR 标记已用于玉米、水稻、小麦等 10 余种作物的遗传育种研究, 特别是玉米方面, 已普遍应用于自交系的遗传多态性及杂种优势群划分的研究、群体遗传多样性研究、杂交种纯度鉴定、种质资源的鉴

评及利用、遗传连锁图谱构建、功能基因定位及 QTL 分析、指纹图谱制作、标记辅助选择育种、杂种优势预测等方面。

植物的许多重要性状, 如株高、产量、品质等均表现数量性状的遗传特点, 即受多个数量基因座位 (QTLs) 和环境因子的共同作用。QTL 定位就是通过分析整个染色体组的 DNA 标记和数量性状表型值的关系, 而将 QTL 逐一定位到染色体的相应位置, 并估计其遗传效应。分子标记技术, 特别是随着 SSR 标记技术的全面应用, 为高精度的植物遗传连锁图谱的建立提供了可能, SSR 重复单位数量多、片段短、且重复程度不同, 同一类 SSR 可遍布于整个染色体组的不同位置上, 可将随机 PCR 标记沿着染色体锚定在已知位置, 因而可以用作功能基因定位、饱和遗传连锁图的建立为在整个基因组范围内检测 QTL 提供了可能, 促进了 QTL 定位的快速发展, 为分子标记辅助选择打下了基础。

本文就 SSR 标记近年来在玉米产量性状基因定位及 QTL 分析、玉米干旱耐受性基因定位及 QTL 分析、玉米抗病基因定位及 QTL 分析、玉米抗虫基因定位及 QTL 分析、玉米育性恢复基因的定位及 QTL 分析等方面的研究进展作以评述, 以期对玉米

收稿日期: 2004-12-02

基金项目: 山西省自然科学基金资助项目(20031080)、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, 农学学士, 主要从事玉米遗传育种及生物技术研究。

Tel: 0351-7128002(O) E-mail: zwychs@yahoo.com.cn

遗传育种工作者提供参考。

1 产量性状基因定位及 QTL 分析

产量 QTL 是玉米生产中最重要性状,由于其低的遗传力和复杂的生物学基础,使其在遗传改良的具体操作上面临巨大的困难。研究控制产量性状的基因数目、位置和基因效应,找到主效基因,对于指导玉米遗传改良具有重大意义。

向道权等利用以农大 3138 为试材,构建的 230 个玉米 F_{23} 家系和 SSR 标记技术,构建了玉米遗传图谱并检测了与玉米产量有关的 8 个性状的 QTLs。利用 80 个共显性或显性 SSR 标记构建了玉米 SSR 遗传图谱,标记间的平均距离为 25.42 cM,覆盖玉米基因组的 2 033.4 cM,10 个连锁群中,大部分标记在染色体上的排序与已发表的位置基本相同,2 个标记被定位在不同的染色体上,9 号染色体上的 BnlG469 被定位到 1 号染色体,2 号染色体上的 BnlG108 被定位到了 3 号染色体。同时标记在染色体上的排列顺序也存在一些差异。穗长、穗粗、穗重、单株粒重、穗行数、行粒数、千粒重和控制秃尖长的广义遗传力分别为 75.75%、87.19%、89.28%、74.4%、85.21%、81.06%、66.27%和 72.27%。同时他还检测上述 8 个性状的 QTL 位置、效应和基因作用方式。除第 6 染色体外,从其余染色体上检测到与产量性状有关的 30 个 QTLs。其中第 9 染色体上有 12 个,它们位于 phi033 和 BnlG1209 区间内,这一区间内共有 5 个标记,遗传距离总长度为 53.1cM,单个性状的 QTLs 为 3~5 个,QTLs 解释变异量占总变异量比例的为 9.5%~55.3%,大多数在 20%以下。有些位点存在多个控制不同性状的 QTLs。30 个 QTLs 以部分显性和超显性为主,不同性状的作用方式和作用方向都存在着差别。

李新海等采用 SSR 标记对黄早四×掖 107 组合的 F_3 群体进行了玉米结穗率与产量数量性状位点(QTL)分析。灌溉条件下,在第 3、6 染色体上分别检测到 1 个控制结穗率的 QTL,基因作用方式为加性或部分加性,可解释 19.9%的表型变异;干旱条件下,在第 3、7、10 染色体上共检测到 4 个控制结穗率的 QTL,基因作用方式为显性或部分显性,可解释 60.4%的表型变异。在干旱和灌溉条件下,控制产量的 QTL 分别被定位在第 3、6、7 染色体和第 1、2、4、8 染色体上,基因作用方式均以加性或部分显性为主,可解释表型变异的 7.3%~22.0%。在干旱条件下,借助连锁分子标记和基因效应分析,可构建包含 ASI、结穗率和产量 QTL 的选择指数,用于分子标记

辅助育种。

2 干旱耐受性基因定位及 QTL 分析

M.Sari-Gorla, et al.用包括 SSR、RFLP 和 AFLP 标记在内的 153 个位点,对 B73×H99 杂交种的 F_1 自交后代 142 个重组自交系的群体,在灌水和水分胁迫两种情况下的株高和开花期进行了干旱耐受性的遗传分析。鉴定出 19 个与 MFT(父本开花期)、FFT(母本开花期)、ASI(开花吐丝间隔)及 pH(株高)有关的基因位点,这些位点分别位于 1、2、4、5、7、8、9 染色体,每个染色体上分别定位了 3、3、1、1、7、3 和 2 个基因位点。有同一位点同时对应几种性状,也有几个位点共同对应几个性状。上述位点中与 MFT 有关的位点有 8 个,与 FFT 有关的位点有 4 个,与 ASI 对应的位点有 10 个,与 pH 有关的位点有 5 个。李新海等采用 SSR 标记对黄早四×掖 107 组合的 F_3 群体进行了玉米雌雄开花间隔天数 QTL 分析。在灌溉和干旱条件下,分别检测到了 3 个和 2 个控制雌雄开花间隔天数(ASI)的 QTL,它们分别位于 1、2、3 和 2、5 染色体上。

3 抗病基因定位及 QTL 分析

研究 SSR 的主要目标之一是利用其作为重要性状的标记,目前已有越来越多的关于 SSR 多态性与抗病基因位点之间紧密连锁的报道。

尹小燕等以感大斑病的自交系“获白”为母本,抗病自交系“77Ht2”为父本,构建了 F_2 作图群体,在 RFLP 分析的基础上,将玉米大斑病抗性基因 *Ht2* 定位在第 8 染色体的 UMC89 和 BNL2.369 之间,与 BNL2.369 相距 0.9 cM,再用 21 对 SSR 引物检测双亲及 F_1 植株,并对标记进行连锁分析,得知 SSR 标记 UMC1202、BNLG1152、UMC1149 与玉米大斑病抗性基因 *Ht2* 紧密连锁,其中 UMC1149 与 *Ht2* 基因的距离为 7.2 cM。吴建宇等用微卫星标记技术定位了来自塘四平头血缘的自交系黄早四中一个抗 MDMV-B 的新基因位点,微卫星标记 phi077 和 bnlG391 与抗病基因的遗传距离分别为 4.74 cM 和 6.72 cM。

王凤格等以黄早四(抗)×掖 107(感)的 F_2 群体为试验材料,构建了具有 65 个 SSR 标记位点的遗传连锁图谱,覆盖玉米基因组 1 333.3 cM,标记间平均距离为 20.5 cM。共检测到了 3 个与玉米甘蔗花叶病抗性有关的 QTL,分别位于第 3、6、10 染色体上,与标记 phi053、phi077、phi062 连锁。第 3 染色体上的 QTL 效应最大,可解释表型方差的 17.8%,基因作用

方式为加性;第 6、第 10 染色体的效应较小,分别占表型方差的 6.1%和 7.0%,基因作用方式均为部分显性。未检测到 QTL 间显著的上位性作用,3 个 QTLs 共解释表型方差的 30.2%。吴建宇等定位了来自塘四平头血缘的自交系黄早四中一个抗 MDMV-B 的新基因位点,SSR 引物 phi077 和 bnl391 与抗病基因的遗传距离分别为 4.74 cM 和 6.72 cM。陈翠霞等的研究表明,标记引物 phi041 和 phi118 与齐 319 抗南方锈病基因连锁,其遗传距离分别为 7.69 cM 和 8.55 cM,将该抗病基因定位于第 10 染色体短臂上。刘章雄等利用 SSR 标记技术以南方型玉米锈病免疫自交系 P₂₅ 和感病自交系 F₃₄₉ 的 F₂₃ 为作图群体,构建了 SSR 连锁图,将玉米抗南方型锈病基因定位于 10 号染色体上,与 phi059 标记的遗传距离为 5.8 cM。

黎裕等借助 AFLP 和 SSR 标记,从丹 340×沈 135 组合的 F₂₃ 群体为试材,进行玉米弯孢菌叶斑病抗性基因的遗传作图和 QTL 分析后得出结论:玉米弯孢菌叶斑病受多基因控制;对两年的玉米全株抗病性检测到 4 个和 6 个 QTL,分别位于第 6、6、8、10 染色体和 6、6、7、7、7、10 染色体上,可分别解释表型变异的 49.9%和 7.6%;每个 QTL 均检测到加性和显性效应,但相对大小不同,各 QTL 的遗传方式以部分显性、显性和超显性为主;控制玉米弯孢菌叶斑病抗性的 QTL 之间存在上位性作用。

4 抗虫基因定位及 QTL 分析

于永涛以 H21×Mo17 的 F₂₃ 群体为作图材料,利用 SSR 和 AFLP 标记对玉米自交系 H21 的亚洲玉米螟抗性进行了 QTL 分析。根据叶片侵食度性状检测到 3 个 QTL,分别位于第 1、5、8 染色体上;根据茎秆虫孔数性状检测到 3 个 QTL,分别位于第 4、10、10 染色体上;根据茎秆隧道长度性状检测到 2 个 QTL,位于第 4 和第 8 染色体上;以隧道长度/虫孔数为鉴定性状,检测到 1 个 QTL,位于第 4 染色体上。这些 QTL 所能解释的表型变异在 7.7%~51.8%,QTL 的作用方式以超显性为主。

5 育性恢复基因的定位及 QTL 分析

汤继华等对恢复系凤可 1、A619 与 Cms-C237、Cms-CMo17 组配的 F₂ 和 BC₁ 分离群体的研究表明:凤可 1 有两对显性恢复基因,且两对恢复基因的遗传表现为重叠效应,重叠恢复基因为 *Rf₄* 和 *Rf₅*。用 SSR 标记将凤可 1 中恢复主基因 *Rf₅* 定位于第 5 染色体长臂上,与引物 bnl1711、bnlg1346 和 phi058

紧密连锁,距 3 个引物的遗传距离分别为 7.51 cM、1.68 cM 和 9.87 cM,恢复主基因 *Rf₄* 与第 8 染色体短臂上的引物 bnl2307 连锁。汤继华等在另一研究中观察了 A619 与 Cms237 的 F₂ 及 BC₁ 群体的育性后得出,恢复系 A619 有一对核基因,用 SSR 标记将 A619 的恢复基因 *Rf₄* 定位于第 8 染色体短臂上,与 SSR 引物 bnl2307 连锁,其间的遗传距离为 12.3 cM。玉米的这些分子标记的获得,为玉米的产量性状、抗旱性状、抗病性状、抗虫性状及育性性状方面的研究提供了必要的分子基础,加强了玉米在这方面的遗传研究。

6 结 语

由于 SSR 标记具有多态性丰富、信息含量高、重复性好、呈共显性遗传、稳定可靠、在基因组中散在分布等诸多优点,因此使其较迅速发展为继 RFLP 之后的第二代分子标记,可用来高效、准确地检测生物体中的遗传变异。借助日趋饱和的分子遗传图谱和日臻完善的 QTL 定位方法,近年来对玉米 QTL 的研究发展很快,目前国内外学者应用 SSR 标记技术在玉米遗传育种的许多方面开展了功能基因定位和 QTL 分析的研究工作,为玉米的标记辅助选择育种、性状遗传机制的研究奠定了分子基础,展示了 SSR 标记广泛的应用前景。但当前分子标记辅助的 QTL 定位只能是初级定位,大多数分子标记所定位的 QTL 位置、效应随实验材料、时间及地点的而异,且成本较高,随着分子生物学技术和数量遗传学的进一步发展,高密度遗传图谱的构建、QTL 位置、效应和机理的逐步探明,以及低成本的基于 PCR 的分子标记技术的发展和运用,功能基因定位和 QTL 分析将在玉米遗传育种中发挥巨大作用。

参考文献:

- [1] 铁双贵,郑用琰. 玉米基因组的简单重复序列遗传研究进展[J]. 生物工程进展,2001,21(5):59-62.
- [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] 陈佩度. 作物育种生物技术[M]. 北京:中国农业出版社,2001.
- [4] 番兴明,陈洪梅,谭 静,等. 利用配合力和 SSR 标记对热带和温带玉米自交系进行杂种优势群划分[J]. 西南农业学报,2003,16(1):1-8.
- [5] 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.
- [6] 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.

- [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] 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.
- [9] 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.
- [10] 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.
- [11] 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.
- [12] 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.
- [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] 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.
- [16] 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.
- [17] 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.
- [18] 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.
- [19] 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.
- [20] 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.
- [21] 李晓晖, 李新海, 李文华, 等. SSR 标记技术在玉米杂交种种子纯度测定中的应用[J]. *作物学报*, 2003, 29(1): 63–68.
- [22] 刘龙洲, 赵久然, 曲延美, 等. SSR 鉴定 SC704 玉米亲本及杂交种纯度的研究[J]. *西北农业学报*, 2003, 12(4): 68–70.
- [23] 王凤格, 赵久然, 郭景伦, 等. 中国玉米新品种 DNA 指纹库建立系列研究 I. 玉米品种纯度及真伪鉴定中 SSR 技术标准实验体系的建立[J]. *玉米科学*, 2003, 11(1): 3–6.
- [24] 吴渝生, 郑用琰, 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.
- [25] 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.
- [26] Senior M L, Chin E C L, Lee M, et al. Simple sequence repeat markers development from maize sequence found in the GENBANK database: map construction[J]. *Crop Sci.*, 1996, 36: 1676–1683.
- [27] 向道权, 曹海河, 曹永国, 等. 玉米 SSR 遗传图谱的构建及产量性状基因定位[J]. *遗传学报*, 2001, 28(8): 778–784.
- [28] 陈翠霞, 邢全华, 梁春阳, 等. 南方玉米锈病抗病基因定位及不同遗传背景对基因标记的比较分析[J]. *遗传学报*, 2003, 30(4): 341–344.
- [29] 汤继华, 胡彦民, 季洪强, 等. 玉米 C 型 Cms 育性恢复基因 *Rf₄* 的 SSR 标记[J]. *河南农业大学学报*, 2001, 35(1): 1–3, 8.
- [30] 汤继华, 刘宗华, 陈伟程, 等. 玉米 C 型胞质不育恢复主基因 SSR 标记[J]. *中国农业科学*, 2001, 34(6): 592–596.
- [31] 夏宗良, 吴建宇, 丁俊强, 等. 玉米矮花叶病基因的染色体定位及分子标记研究进展[J]. *河南农业大学学报*, 2001, 35(1): 4–8.
- [32] 刘章雄, 王守才, 戴景瑞, 等. 玉米 P₂₅ 自交系抗锈病基因的遗传分析[J]. *遗传学报*, 2003, 30(8): 706–710.
- [33] 尹小燕, 王庆华, 杨继良, 等. 玉米大斑病抗性基因 *Ht2* 的精细定位[J]. *科学通报*, 2002, 47(23): 1811–1814.
- [34] Sari-Gorla M, Krajewski P, Di Fonzo N, et al. Genetic analysis of drought tolerance in maize by molecular markers. II. Plant height and flowering[J]. *Theor Appl Genet*, 1999, 99: 289–295.
- [35] 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.
- [36] 王凤格, 刘贤德, 王振华, 等. 玉米抗甘蔗花叶病毒 QTL 的初步研究[J]. *作物学报*, 2003, 29(1): 69–74.
- [37] 黎裕, 戴法超, 景蕊莲, 等. 玉米弯孢菌叶斑病抗性的 QTL 分析[J]. *中国农业科学*, 2002, 35(10): 1221–1227.
- [38] 于永涛, 宋燕春, 黎裕, 等. 玉米种质资源 H21 和 Mo17 抗亚洲玉米螟的 QTL 分析[J]. *植物遗传资源学报*, 2003, 4(2): 94–98.
- [39] 吴渝生, 杨文鹏, 郑用琰, 等. 3 个玉米杂交种和亲本 SSR 指纹图谱的构建[J]. *作物学报*, 2003, 29(4): 496–500.
- [40] 谭君, 丁仲芳, 孙世贤, 等. 西南常用玉米自交系 SSR 指纹图谱构建[J]. *西南农业学报*, 2003, 16(2): 1–6.
- [41] 卢平, 滑冰. 生物技术及其在甜玉米育种中的应用[J]. *河南农业科学*, 2002, (8): 12–13.
- [42] 沈新莲, 张天真. 作物分子标记辅助选择育种研究的进展与展望[J]. *高技术通讯*, 2003, (2): 105–110.
- [43] 田清振, 李新海, 李明顺, 等. 优质蛋白玉米的分子标记辅助选择[J]. *玉米科学*, 2004, 12(2): 108–110, 113.
- [44] Smith O S, Sullivan H, Hobart B, et al. Evaluation of a divergent set of SSR markers to predict F₁ grain yield performance and grain yield heterosis in maize [J]. *Maydica*, 2002, 45: 235–241.
- [45] 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.
- [46] 袁力行, 傅俊华, 刘新芝, 等. 利用分子标记预测玉米杂种优势的研究[J]. *中国农业科学*, 2000, 33(6): 6–12.
- [47] 阮成江, 何祯祥, 钦佩, 等. 我国农作物 QTL 定位研究的现状及进展[J]. *植物学通报*, 2003, 20(1): 10–22.
- [48] 梅德圣, 李云昌, 王汉中. 作物产量性状 QTL 定位的研究现状及应用前景[J]. *农业生物技术科学*, 2003, 19(5): 83–88.
- [49] 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.