

文章编号: 1005-0906(2007)S1-0157-03

SSR 标记在玉米育种中的研究与应用

朴红梅¹, 王玉民¹, 李万良¹, 穆楠¹,
尹航¹, 王桂荣², 孙敬³

(1. 吉林省农业科学院, 长春 130124; 2. 吉林市龙潭区承德街道农业站, 吉林 132022; 3. 长春市土肥站)

摘要: SSR 是以几个碱基为基本单元的串联重复序列, 广泛分布于真核生物基因组中。SSR 信息量高, 覆盖整个基因组, 共显性遗传, 多态性水平高, 易用 PCR 分布, 是一种非常实用的分子标记。对 SSR 的种类、研究进展、以及 SSR 在品种鉴定、基因作图和标记辅助育种等方面的研究应用现状作了简要概述。

关键词: SSR; 分子标记; 研究进展; 品种鉴定; 基因作图

中图分类号: S513

文献标识码: A

分子标记是指以生物大分子的多态性为基础的遗传标记, 它能够反应植物在遗传物质 DNA 水平下的差异, 是植物遗传育种领域内的一项新兴技术。

简单序列重复 (Simple Sequence Repeats) 简称 SSR, 又称微卫星 DNA (Microsatellite), 它是由几个核苷酸构成的一段 DNA 片段。它们普遍存在和随机分布于大多数真核生物的基因组中, 重复数具有高频率的变异。对 SSR 的研究始于动物基因组, 最早发现的是由 CA/CT 重复多次构成的一段 DNA。在人类基因组中二核苷酸 (CA)_n 多达 50 000 个, n 的大小在 10~60 之间, 三核苷酸、四核苷酸也广泛存在于人类基因组中。

微卫星位点两侧区域的 DNA 序列较为保守和专一, 且重复基因基序数变化不一; 可用于两侧保守的 DNA 序列相互补的方式设计特定的寡聚核苷酸引物进行 PCR 扩增, 扩增产物可用电泳进行分离。由于 SSR 高水平的多态性, 容易检测和共显性特点, 使得它们成为一个丰富的遗传标记来源。目前, 含有约 8 000 个位点的高饱和人类微卫星图谱已完成。一些哺乳动物的 SSR 图谱也被构建, 一些主要栽培作物, 如大豆、水稻和玉米等的 SSR 类型及频率也相继被评出。虽然微卫星分子标记研究起步相对较晚, 但发展迅速。本文就 SSR 标记在玉米中的研究及应用进行简要概述。

1 SSR 标记的研究进展

随着生物技术在作物育种上广泛应用, 微卫星分子标记作为一个比较理想的分子标记广泛应用于遗传图谱构建群遗传学等各个领域的研究。关于微卫星的产生机制, 普遍认为是 DNA 复制过程中滑动, 或 DNA 复制和修复时滑动链与互补链碱基错配, 导致一个或几个重复单位的插入或缺失。从统计学角度看, Valdas 等认为, 微卫星的产生采用的是逐步突变模式 (Stepwise mutation model, SSM), 即每一次突变均增加 1 个或多个重复单位, 从而导致一个新的等位基因的出现。微卫星的功能目前尚不甚明了, 但已发现微卫星能参与遗传物质的结构改变, 基因调控及分化等过程, 有自身特异性结合蛋白, 还能直接编码蛋白质, 是一种非常活跃的碱基序列。

张建华等用 SSR 标记对云南常用的 72 个玉米骨干自交系进行亲缘关系的研究。结果表明, 用国内外确定的 63 对玉米 SSR 核心引物中筛选的 20 对核心引物, 共扩增出 28 个等位基因, 平均 PIC 值为 0.709 9, MI 值为 8.09, *I* 为 0.553 5, *h* 为 0.375 4, 72 个玉米自交系存在丰富的遗传多样性。郑淑云等利用 SSR 标记对 64 个玉米自交系进行了杂种优势群的划分。20 对 SSR 引物在供试材料中共检测出 96 个等位基因的变异, 每对引物检测出等位基因数 2~9 个, 平均 4.36 个; 多态信息量变化范围为 0.22~0.86, 平均多态信息量为 0.61。聂永心等利用 SSR 标记研究了 20 个玉米自交系的遗传变异, 70 对引物在供试材料中共检测出 270 个等位基因变异, 每对引物检测至等位基因 2~6 个, 平均 3.86 个, 多态性佳息含量变化范围为 0.26~0.80, 平均多

收稿日期: 2007-06-14

作者简介: 朴红梅 (1978-), 女 (朝鲜族), 硕士研究生, 从事作物遗传育种。Tel: 0431-87063141

E-mail: piaohongmei123@sohu.com

态性信息量为化范围为 0.594 6 ~ 0.771 1, 平均为 0.660 1。20 个自交系之间的遗传相似系数变 Senior M.L. 等用 70 个 SSR 标记位点研究了 94 份自交系的遗传多样性, 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。聚类分析将供试材料划分为 9 个类群, 与北美玉米的主要杂种优势群或市场分类相符。李新海等利用 SSR 标记研究了 21 个玉米自交系的遗传变异, 43 对 SSR 引物共检测出 127 个等位基因变异, 每个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。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 引物共检测出 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 0.360 ~ 0.851 之间, 平均为 0.675。供试材料可分为 4 大类群。曹永国等用 71 对 SSR 引物从 7 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, 和已知系谱关系完全吻合。

2 SSR 在玉米研究中的应用

2.1 建立 DNA 指纹、品种鉴定及种子纯度检测

作物的性状大多属数量性状, 由多基因控制, 易受环境影响。利用传统形态学鉴定方法区分新品种时间长、费用高、难度较大和准确性差。现有的鉴定方法中, 同工酶和蛋白质电泳可检测的位点少, 蛋白质类型不多, 多态性水平低, 对同一作物不同品种不能有效区分。SSR 分子在整个基因组中, 多态性水平高, 易于分析, 不受环境影响, 在品种鉴定中显示出巨大的潜力。

张建华等用 SSR 标记对云南常用的 72 个玉米骨干自交系进行亲缘关系的研究, 将 72 个云南玉米骨干自交系被划分为 11 个遗传类群。郑淑云等利用 SSR 标记对 64 个玉米自交系进行了杂种优势群的划分, UPGMA 聚类分析结果表明, 供试自交系可分为 8 大类群。张金渝等利用 39 个 DUS 测试标准品种, 建立了 DUS 标准品种 SSR 分子指纹图谱。肖木辑等利用 SSR 标记对 37 份玉米自交系进行划分, 供试自交系划分为 6 个类群, 分类结果与系谱来源基本一致。赵久然等利用 5 个玉米单交种的子粒的

果皮, 以 160 对 SSR 引物进行 SSR 分析, 表明果皮中的 DNA 具有与杂交种母本完全相同的 DNA 指纹。可通过杂交种种子获得其母本的全套 DNA 及其 DNA 指纹图谱。聂永心等利用 SSR 标记对 20 个玉米自交系的遗传变异, 初步进行了杂种优势群划分, UPGMA 聚类分析结果表明, 供试自交系可分为 5 群, 分类结果与系谱基本一致。

2.2 种质资源保存、评价和利用

在种质资源保存研究中, 可利用 SSR 的高分辨率鉴定品种真实性, 去除重复种子, 防止混杂, 评价不同个体、群体之间的近缘程度, 分析其遗传构成, 区分个体、品种及群体内的变异, 还可分析现代作物品种相对于原始资源的遗传构成。肖木辑等利用 SSR 标记研究了 37 份玉米自交系的遗传多样性。结果表明, 70 对引物在供试材料中检测出 260 个等位基因变异, 每对引物检测等位基因 2 ~ 7 个, 平均 3.71 个, 每个位点的多态性信息量(PIC)变化为 0.157 ~ 0.813, 平均为 0.564, 37 份自交系之间的遗传相似系数变化范围为 0.69 ~ 0.89。类似研究有利于丰富作物基因库, 评价育种家对种质资源中变异的利用程序。

2.3 基因标记与作图

SSR 的高度变异性, 在整个基因组均匀分布, 共显性及易于分析等特点使其成为构建基因组图谱的最佳选择。利用 SSR 作图极易获得双亲间等位基因的差异。

2.4 系谱分析及分子标记辅助育种

在系统育种中, 大多数品种都有详细的系谱记录。SSR 标记可分析系谱育种过程中基因的转移。目前, 已开发出可把分子标记数据、系谱关系及表现型综合在一起的软件, 大大方便了在育种中的应用。SSR 标记是辅助选择育种的理想分子标记。

除上述应用外, SSR 还可用于估算遗传距离、亲缘关系研究、预测杂种优势和利用细胞质单亲遗传特性进行群体遗传进化研究等。

3 结论及展望

SSR 标记是较为理想的遗传标记。与其他标记相比, 以微卫星序列为基础的 SSR 标记显示了独特的优越性: SSR 标记数量丰富, 覆盖整个基因组, 揭示的多态性高; 具有重复等位基因的特性, 提供的信息量高; 以孟德尔方式遗传, 呈共显性; 每个位点由设计的引物序列决定, 便于不同实验室相互交流合作开发引物, 获得的资料能够在不同的实验室重

复并共享,每隔一段时间就有新的引物增加,为该技术在指纹图谱中的应用提供了良好的条件。尽管需要设计合成引物,且花费较大,但由于它具有异常丰富、分布广泛、多态性强和共显性遗传易于分析使用等特点,使得 SSR 在玉米研究中具有良好的应用前景。

目前,SSR 在玉米上刚刚开始研究和应用。各类作物中发现的 SSR 位点较少,大多为二核苷酸重复类型。由于不同类型及不同 SSR 多态性水平不同,研究者应针对研究目标,确定基因组的研究区域,开发更多的信息量更高的 SSR 标记。随着更多 SSR 位点的发现及研究应用,在玉米上可构建完全由 SSR 标记组成的基因组图谱,进一步推动 SSR 标记在种子纯度检验、DNA 指纹建立、遗传标记、基因作图及其他研究领域中更广泛的应用。

参考文献:

- [1] 郭小平,等. SSR 技术及其在植物遗传育种中的应用[J]. 华北农学报,1998,13(3):73-76.
- [2] 李汝玉,等. 简单序列重复(SSR)及其在品种鉴定及种子检测中的应用[J]. 种子,1999(5):33-35.
- [3] 李凌雨,闫彩清,邢亚静,等. SSR 标记在玉米遗传多态性及杂种优势群划分中的应用[J]. 玉米科学,2005,13(2):12-15.
- [4] 赵久然,刘龙洲,王风格,等. 利用杂交玉米 F1 代种子果皮组织鉴定母本真实性的 SSR 研究[J]. 玉米科学,2004,12(3):6-8,12.
- [5] 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.
- [6] 肖木辑,李明顺,孙有位,等. 辽宁省主要玉米自交系的 SSR 遗传多样性分析[J]. 玉米科学,2006,14(1):33-36.
- [7] 张金渝,张建华,杨晓洪,等. 玉米 DUS 测试标准品种的 SSR 分子指纹图谱的构建[J]. 玉米科学,2006,14(4):47-52.
- [8] 郑淑云,王守才,刘东占. 利用 SSR 标记划分玉米自交系杂种优势群的研究[J]. 玉米科学,2006,14(5):26-29.
- [9] 张建华,张金渝,杨晓洪,等. 利用 SSR 标记研究云南玉米骨干自交系的亲缘关系[J]. 玉米科学,2007,15(3):30-35.

(责任编辑:李万良)