

文章编号: 1005-0906(2010)03-0011-05

我国北方部分玉米自交系的遗传多样性分析

王明泉¹, 苏俊¹, 李春霞¹, 龚士琛¹, 张瑞英², 宋锡章¹, 闫淑琴¹,
李国良¹, 扈光辉¹, 关海涛², 王伟威², 曹士亮¹

(1. 黑龙江省农业科学院玉米研究所, 哈尔滨 150086; 2. 黑龙江省农业科学院农产品质量检验中心, 哈尔滨 150086)

摘要: 利用 SSR 分子标记技术, 分析我国北方部分玉米自交系的遗传多样性。从 79 对 SSR 核心引物目录中, 选出 43 对引物对 52 份玉米自交系进行遗传多样性研究, 共检测到 174 个等位基因位点, 每对引物检测到 2~8 个等位基因, 平均每个位点的等位基因数 4.35 个, 平均多态性信息量为 0.593。UPGMA 聚类分析结果表明, 52 份自交系划分为兰卡斯特群、瑞德群、旅大红骨群、塘四平头群和综合种群 5 个类群。生产上主要推广杂交种的亲本大多来自不同的类群。

关键词: 玉米自交系; SSR 标记; 遗传多样性

中图分类号: S513.024

文献标识码: A

Genetic Diversity Analysis of Portion Maize Inbred Lines from North China

WANG Ming-quan¹, SU Jun¹, LI Chun-xia¹, GONG Shi-chen¹, ZHANG Rui-ying², et al.

(1. *Maize Research Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086;*

2. *Cereal Quality Research Center, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China*)

Abstract: SSR technology is used to analyze the genetic diversity of earlier maize inbred lines from North China. 43 pair of primers, which are selected from 79 pairs SSR core primers catalog provided by CIMMYT-AMBIONET service lab are used for genetic diversity research on 52 maize inbred lines, and 174 polymorphic bands can be detected. The mean allele variance number is 4.35 with arrange from 2 to 8 in each site, the mean PIC value is 0.593. The UPGMA analysis classified 52 inbred lines into 5 distinct clusters, Lancaster, BSSS, Luda red cob, Sipingtou and integration. Most of the parents used in commercial maize hybrids came from the different clusters.

Key words: Maize inbred lines; SSR marker; Genetic diversity

玉米(*Zea mays* L.)是典型的异交作物, 表现极端的近交衰退和杂种优势, 这使其成为首先利用杂种优势大幅度提高产量的作物之一(张世煌, 1998)。系统研究种质的遗传多样性、划分杂种优势群和构建杂种优势模式是国内外玉米育种研究的重要内容。

研究表明, 利用 DNA 分子标记进行遗传多样性和杂种优势群划分其结果与系谱分析的结果基本一

致, 而且不受环境、系谱来源不清和取样的限制。近些年 SSR 技术被大量应用于玉米种质的遗传多样性和杂种优势群划分的研究。本研究采用 SSR 分子标记技术, 结合系谱关系, 对我国北方玉米产区有代表性的 52 份自交系进行遗传多样性分析, 并划分杂种优势群。为充分利用我国北方玉米主产区的种质资源、提高育种效率提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

选取我国北方广泛使用的 47 个自交系和 5 个国内标准测验种 Mo17、B73、黄早四、丹 340 和掖 478, 5 个测验种分别代表我国玉米生产上主要应用的兰卡斯特群、瑞德群、塘四平头群、旅大红骨群和

收稿日期: 2009-06-16; 修回日期: 2009-10-20

基金项目: 黑龙江省农业科学院青年基金项目

作者简介: 王明泉(1978-), 男, 黑龙江通河人, 助理研究员, 硕士, 从事玉米遗传育种研究。Tel: 0451-86671284

E-mail: wangmingquan8888@yahoo.com.cn

PA 群的 5 个自交系。各自交系的系谱资料见表 1。实验所选引物目录和序列等资料均由亚洲玉米生物

技术协作网(AMBIONET)提供,由上海生工(Sangon)生物工程公司合成。

表 1 52 份玉米自交系名称及系谱
Table 1 52 inbred lines name and pedigrees

编号 No.	自交系 Inbred lines	系谱 Pedigree	编号 No.	自交系 Inbred lines	系谱 Pedigree
N1	吉 63	(127-32 × 铁 84)(W24 × W20)辐	N27	昌 7-2	黄早四 × 维 54
N2	E28	(A619Hi1 × 旅 9 宽) × 旅 9 宽	N28	黄早四	塘四平头
N3	冬 96	冬黄 × 辽 1311 二环系	N29	丹 340	白骨旅九 × 有稈玉米
N4	甸 11	桦甸红骨子	N30	W40	不详
N5	东 237	M14、维尔 44、维尔 64、维尔 148	N31	RKN6	不详
N6	B73	BSSS	N32	Mo17	187-2 × C103
N7	吉 818	(VT157 × 吉 63) × 吉 63BC4	N33	HR3	5003 × 长 3 改良系
N8	C8605-2	铁 7922 × 沈 5003	N34	HRA65B	不详
N9	旅九宽	旅大红骨	N35	HR78	美国杂交种
N10	HR8110	不详	N36	4F1	Mo17 辐射处理
N11	杂 c546	C103 杂株	N37	3788	不详
N12	龙抗 11	Mo17 × 自 330	N38	434	466 × 桦 94
N13	7884-7	78-6 × H84/78-6	N39	海 1134	甸 11 × 维尔 44
N14	K10	沈 5003 × 长 3	N40	KL2	克山火玉米选
N15	长 3	英粒子	N41	系 14	M14 系选
N16	东 46	大黄 46、塔 22c、牛 11 等(复合杂交种)	N42	KL6	牛尾黄等选
N17	海 014	海龙红骨子	N43	7922	从美国杂交种 3382 中分离
N18	合 344	自常武白头霜 × Mo17	N44	红玉米	地方品种
N19	446	(OH43 × 330) × OH43	N45	444	A619 × 黄早四
N20	HR25	5003 × 长 3 改良系	N46	糯 1	不详
N21	330	OH43 × 克利 67	N47	糯 2	不详
N22	Mo113	1134 × Mo17	N48	掖 478	8112 × 沈 5003
N23	HR06	不详	N49	81162	(525 × 掖 107) × 106
N24	HR034	(黄早四 × 热带种质) × 黄早四	N50	5003	美国 3147 杂交种
N25	268	(海 10A × 早大黄) × 单 423	N51	综 31	自 330 系统综合种
N26	9808	不详	N52	郑 58	掖 478 改良系

表 2 43 对 SSR 引物在 47 个自交系和 5 个标准测验种中检测到的等位基因数目及 PIC 值
Table 2 Allele numbers and PIC values for 43 loci detected in 47 early-maturity lines and 5 testes lines

编号 No.	引物 Primer	图谱位置 Position	等位基因数 Allelic number	多态性信息量 PIC	编号 No.	引物 Primer	图谱位置 Position	等位基因数 Allelic number	多态性信息量 PIC
1	bnlg391	6.01	6	0.78	12	phi113	5.03-5.04	2	0.22
2	phi022	9.02	4	0.65	13	phi114	7.03	6	0.76
3	phi034	7.02	4	0.59	14	phi116	7.06	3	0.60
4	phi041	10.00	4	0.73	15	phi127	2.08	4	0.63
5	phi046	3.08	3	0.50	16	umc1066	7.01	4	0.53
6	phi047	3.09	3	0.59	17	umc1109	4.10	2	0.24
7	phi059	10.02	5	0.63	18	umc1122	1.06	4	0.61
8	phi061	9.03	2	0.37	19	umc1124	1.05	3	0.61
9	phi076	4.11	3	0.63	20	umc1152	10.02	3	0.53
10	phi079*	4.05	4	0.63	21	umc1161	8.06	5	0.76
11	phi089	6.08	3	0.55	22	umc1165	2.02	5	0.72

续表 2 Continued 2

编号 No.	引物 Primer	图谱位置 Position	等位基因数 Allelic number	多态性信息量 PIC	编号 No.	引物 Primer	图谱位置 Position	等位基因数 Allelic number	多态性信息量 PIC
23	umc1269	1.01	4	0.67	35	phi101049	2.09	8	0.70
24	umc1277	9.07-9.08	3	0.67	36	phi102228	3.06	3	0.51
25	umc1279	9.00	2	0.49	37	phi109188	5.03	4	0.58
26	umc1304	8.02	2	0.47	38	phi109275	1.03	5	0.72
27	umc1395	1.05	4	0.51	39	Phi109642	2.03-2.04	3	0.52
28	umc1399	3.07	4	0.64	40	Phi233376	8.09	3	0.70
29	umc1422	2.02	4	0.62	41	phi308707	1.10	4	0.62
30	umc1545	7.00	7	0.79	42	phi328175	7.04	5	0.45
31	umc1590	1.06	5	0.78	43	Phi452693	6.04	5	0.68
32	umc2084	9.01	4	0.61	合计			174	
33	Phi96100	2.01	5	0.62	平均			4.35	0.59
34	phi100175	8.03	4	0.44					

1.2 实验方法

1.2.1 DNA 提取

采用 CTAB 提取法大量提取玉米基因组 DNA。用 Beckman DU-65 型分光光度计检测 DNA 的质量和浓度,将 DNA 的工作浓度定为 10 ng/ μ L,备用。

1.2.2 SSR 扩增程序

在 PTC-200 上进行 PCR 扩增反应,扩增反应体系如表 3。反应液上加盖 15 μ L 矿物油(Sigma),以防止反应过程中水分蒸发。

表 3 PCR 扩增的反应体系

Table 3 PCR system

反应组分 Component	终浓度 Final concentration	反应体积(μ L) Volume
ddH ₂ O	-	5.625
10 × Buffer(Mg-free)	1 ×	1
MgCl ₂ (25 mmol/L)	2.5 mmol/L	1
dNTP(2.5 mmol/L)	25 μ mol/L	0.15
Taqg(5 U/ μ L)	0.5 U	0.1
DNA(10 ng/ μ L)	20 ng	2
Prime (20 μ mol/L)	0.25 μ mol/L	0.125

扩增程序:94℃模板 DNA 预变性 4 min,1 个循环;94℃模板 DNA 变性 1 min,60℃引物与模板靶位点结合 45 s,72℃引物沿模板延伸 2 min,共 35 个循环(根据引物特点可作适当调整);最后 72℃延伸 5 min,4℃保存备用。

1.2.3 电泳、银染

以 pBR332/Msp I 片段为分子量标准,在 4.5% 聚丙烯酰胺凝胶(PAGE)上电泳检测扩增产物,银染观察结果。70 W 恒功率电泳约 50 ~ 60 min。凝胶通

过固定、漂洗、染色、漂洗、显影、定影、漂洗、干胶等步骤完成染色。在白炽灯下观察电泳结果,进行数据统计和扫描照片。

1.2.4 数据统计与分析

据 PCR 扩增结果,在相同迁移位置有带记为 1,无带记为 0,缺失数据记为 9,建立数据库。以简单相配系数(Simple matching coefficient, SM)计算自交系的遗传相似系数(Genetic similarity, GS) $GS = m / (m + n)$,其中 m 表示基因型间共有带数目; n 表示基因型间差异带数目。每一个 SSR 位点多态性信息量(Polymorphism information content, PIC)的计算公式为: $PIC = 1 - \sum P_i^2$,其中 P_i 表示 i 位点的基因频率。利用 NTSYSpc-2.11 软件进行数据处理,按 UPGMA (Unweighted Pair Group Method Arithmetic Average)方法进行聚类分析,构建树状图,对供试自交系进行类群划分。

2 结果与分析

2.1 SSR 分子标记分析

本研究共采用 56 对 SSR 引物对 52 份自交系进行同源位点扩增,从中选取扩增条带清晰且有多态性的 43 对引物统计结果,其余 13 对引物在某些自交系中扩增质量较差,无法进行统计分析(表 2)。这 43 对引物均匀分布于玉米的 10 条染色体上,对 52 份自交系的 SSR 分析共检测到 174 条多态性条带(174 个等位基因),涉及 43 对 SSR 引物(即 43 个 SSR 位点),每对引物检测到 2 ~ 8 个等位基因,平均每个位点的等位基因数为 4.35 个。平均多态性信息量(PIC 值)为 0.593,变化范围 0.222(phi113) ~ 0.792(umc1545)。

2.2 52份自交系的类群划分

根据52个玉米自交系的遗传相似系数矩阵,按UPGMA方法对供试自交系进行聚类,得到的SSR分析聚类图(图1)。以相似系数0.658为标准,52个玉米自交系可分为5类。分析表明,大多数分类结果与系谱一致,本试验将一些系谱来源不明的自交系也划到了相应类群中。第一群包括吉63、吉818、3788、RKN6、W40、5003、E28、旅九宽、丹340、330、综31自交系,属于旅大红骨种质;5003是从美国3147杂交种里选出的,前人利用分子标记研究,将其划入瑞德种质,与本试验结果有些出入;330、丹340和综31划入一个群,也证明了它们之间的亲缘关系比较近。第二群包括甸11、Mo113、1134、HR06、杂C546、9808、Mo17、81162、龙抗11、4F1、合344、糯1、HR8110、KL2自交系,属于兰卡斯特种质;甸11、81162被划到此种质和一些前人划分的结果不

太一致,且大多数分类结果与系谱一致。第三群包括HR03、黄早四、海014、444、HRA65B、昌7-2、糯2自交系,属于塘四平头种质;从聚类图中可以看出,昌7-2划入该种质里也是与前人利用分子标记研究结果是一致的。第四类为B73Ht1、东46、HR78、掖478、郑58、K10、系14、7922、C8605-2、KL6、长3、HR3、7884-7、HR25自交系,属于瑞德种质;含PA血缘的掖478归入了瑞德种质群,该自交系被划入PA亚群;同样属于杂种优势群内亚群之间的移动,在一定程度上说明把瑞德种质与P群种质合并为A杂种优势群是有道理的(张世煌,2000)。第五群包括冬96、红玉米、446、东237、268、434自交系,血缘关系比较混乱,由聚类图可看出关系较近,故全归入一群,属于综合种,这也与前人利用数量遗传学方法分析的结果基本相同。

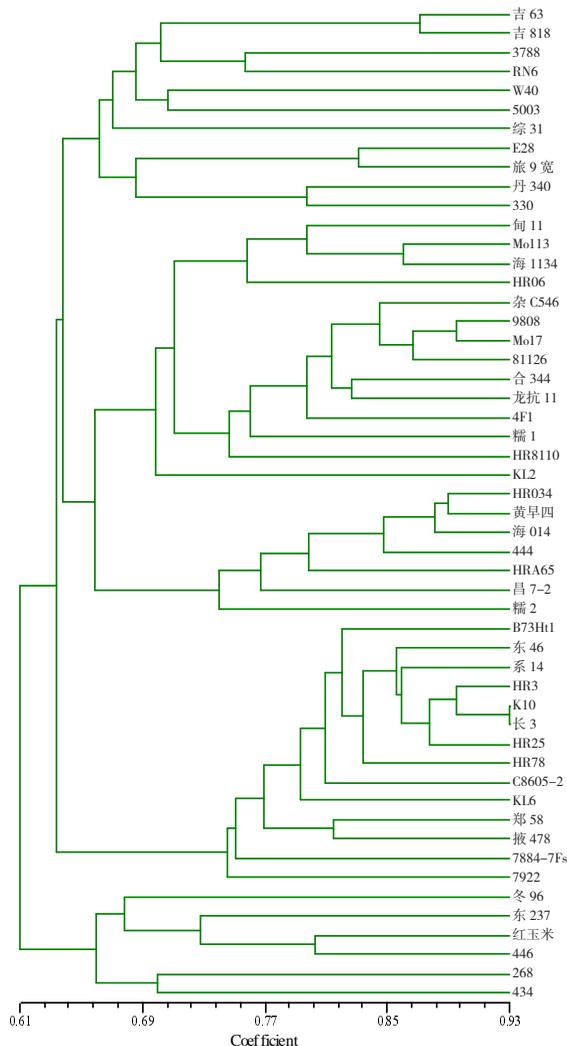


图1 47个早熟自交系和5个标准测验种UPGMA聚类图

Fig.1 Cluster analysis using UPGMA based on 43 Loci among 47 early-maturity lines and 5 tester lines

表 4 52 个玉米自交系 UPGMA 聚类结果

Table 4 Cluster results using UPGMA based on 43 SSRs among 52 maize inbred lines

类群 Group	自交系 Inbred lines	系统 System
第一群	吉 63、吉 818、3788、RKN6、W40、5003、E28、旅九宽、丹 340、330、综 31	旅大红骨
第二群	甸 11、Mo113、1134、HR06、杂 C546、9808、Mo17、81162、龙抗 11、4F1、合 344、糯 1、HR8110、KL2	兰卡斯特
第三群	HR034、黄早四、海 014、444、HRA65、昌 7-2、糯 2	塘四平头
第四群	B73Ht1、东 46、HR78、掖 478、郑 58、K10、系 14、7922、C8605-2、KL6、长 3、HR3、7884-7、HR25	瑞 德
第五群	冬 96、红玉米、446、东 237、268、434	综合种

3 结论与讨论

本研究利用 SSR 标记研究了 52 个我国北方部分玉米自交系的遗传变异,将各个自交系材料划分到不同的类群中,划分结果与系谱关系基本一致。但有些结果与前人研究不太一致,如系谱中 5003 是从美国 3147 杂交种里选出的,前人利用分子标记研究将其划入瑞德种质,与本试验结果有些出入,有待于进一步研究。本研究将 PA 群的标准测验种掖 478 划入瑞德群,这也说明 PA 种质和瑞德种质在很大程度上具有相同的遗传背景,也标志着国内亚群中的一部分正逐步融入 A 群。而冬 96、红玉米、446、东 237、268、434 自交系血缘关系比较混乱,由聚类图可看出关系较近,故全归入一群,属于综合种,说明大部分供试自交系与相应类群的常用玉米自交系之间具有较高的同源性。而吉 63、吉 818 划入旅大红骨群中,这与前人用系普法划分的结果不同,但还是与孙友位(2007)用 SSR 标记研究的结果相同,这也为该材料的改良利用提供了更好的理论依据。北方近年来自育的早熟玉米自交系如 9808、3788、HR78、HRA65B、HR8110、RKN6 等血缘不详的在本研究中也把它们归入到相应的类群,这为今后更好利用和组配杂交组合提供了理论依据。从聚类分析的结果中看出,塘四平头种质有 7 个,占 52 个供试材料的 13.5%,这与本实验的选材有直接关系,同时也说明目前在玉米育种中应加大对塘四平头种质的利用。我国北方春玉米区在进行种质改良和材料创新时,一方面应充分挖掘和利用现有的优良种质资源,针对其突出特点进行深入改良和再利用;另一方面应加强杂种优势群和杂种优势模式的研究与普及利用。

参考文献:

[1] 张世煌. 玉米的杂种优势群和杂种优势模式[J]. 作物杂志, 1998 (增刊): 84-85.

- [2] 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.
- [3] 彭泽斌, 刘新芝, 傅俊骅, 等. 玉米自交系杂种优势类群与杂优模式构建的初步研究[J]. *作物学报*, 1998, 24(6): 711-717.
- [4] 袁力行, 张世煌, 傅俊骅, 等. 玉米遗传多样性与杂种优势群研究[J]. *中国农业科学*, 2000, 33(增刊): 9-14.
- [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] 刘 杰, 陈 刚. SSR 标记用于玉米自交系遗传变异与优势类群划分的研究[J]. *西北植物学报*, 2002, 22(4): 741-750.
- [7] 曹永国, 向道权, 黄烈健, 等. SSR 分子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.
- [8] 田清震, 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.
- [9] 滕文涛, 曹靖生, 陈彦惠, 等. 十年来中国玉米杂种优势群及其模式变化的分析[J]. *中国农业科学*, 2004, 37(4): 1804-1811.
- [10] 李新海, 袁力行, 李晓辉, 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*, 2004, 36(6): 622-627.
- [11] 王懿波, 王振华, 王永善, 等. 中国玉米主要种质杂交优势利用模式研究[J]. *中国农业科学*, 1997, 30(4): 16-24.
- [12] 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*, 2004, 16(1): 1-8.
- [13] 聂永心, 张 丽, 潘光堂, 等. 四川省常用玉米自交系 SSR 遗传多样性分析[J]. *分子植物育种*, 2005, 3(1): 43-51.
- [14] 董海合, 李凤华, 任 军, 等. 东北春玉米区热带种质利用研究[J]. *玉米科学*, 2001, 9(2): 32-34.
- [15] 苏 俊. 黑龙江省玉米育种研究 50 年回顾和展望[J]. *黑龙江农业科学*, 2006(5): 8-13.
- [16] 肖木辑, 李明顺, 孙友位, 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.
- [17] 张世煌, 彭泽斌, 李新海. 玉米杂种优势与种质扩增、改良和创新[J]. *中国农业科学*, 2000, 33(增刊): 34-39.
- [18] 孙友位, 李明顺, 张德贵, 等. 利用 SSR 标记研究 85 个玉米自交系的遗传多样性[J]. *玉米科学*, 2007, 15(6): 19-26.

(责任编辑: 张 英)