

文章编号: 1005-0906(2010)03-0057-04

# 郑 58 和掖 478 玉米自交系基因组差异性分析

王彦玲<sup>1,3</sup>, 卫文星<sup>2</sup>, 铁双贵<sup>2,3</sup>, 王延召<sup>2,3</sup>,  
朱卫红<sup>2,3</sup>, 岳润清<sup>2,3</sup>, 齐建双<sup>2,3</sup>

(1. 郑州大学生物工程系, 郑州 450001; 2. 河南省玉米生物学重点实验室, 郑州 450002;  
3. 河南省农业科学院粮食作物研究所, 郑州 450002)

**摘要:** 采用 SSR 标记对我国核心种质郑 58 和掖 478 进行基因组差异性分析。结果表明: 200 对引物中有 57 对引物具有多态性, 多态性标记比率达到 28.5%, 遗传相似度为 71.5%。200 对引物共计扩增出 424 个 SSR 等位性片段, 其中有 113 个多态性等位片段, 遗传杂合度为 26.7%, 遗传相似度为 74.3%。SSR 多态性标记在不同染色体上呈现不均匀性分布, 在同一染色体上不同区域分布密度不同, 具有多态性标记集中区域, 基因组差异可能与自交系配合力变化有关。

**关键词:** 玉米; SSR 标记; DNA; 基因组差异

**中图分类号:** S513.03

**文献标识码:** A

## Analysis of Genomes Difference Between Zheng58 and Ye478

WANG Yan-ling<sup>1,3</sup>, WEI Wen-xing<sup>2</sup>, TIE Shuang-gui<sup>2,3</sup>, et al.

(1. *Bio-engineering Department of Zhengzhou University, Zhengzhou 450001;*

*2. Henan Provincial Key Lab. of Maize Biology, Zhengzhou 450002;*

*3. The Cereal Crops Institute, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China)*

**Abstract:** The genome difference between the core collection of Zheng58 and Ye478 was studied using 200 SSR markers in this paper. The results showed that 57 SSR primers were polymorphic, the polymorphism percentage was 28.5% and the genetic relatedness was 71.5%. Four hundred and twenty four amplified fragments and 113 polymorphic fragments of 200 SSR primers were detected. The heterozygosity was 26.7% and the genetic relatedness was 74.3%. SSR markers in different chromosomes and them from different bins of same chromosome appeared uniformly, possessing concentrated region. Genome difference may be related with combining ability variation of inbred lines.

**Key words:** Maize; SSR marker; DNA; Genome difference

玉米自交系郑 58 和掖 478 是我国核心骨干自交系, 是玉米育种的核心基础材料。掖 478 为母本、昌 7-2 为父本选育出的安玉 5 号是河南省玉米杂种优势利用的具有代表性的杂种优势组合模式, 提高了玉米产量, 促进玉米育种的提高, 初步奠定了“瑞德群 × 黄早四群”, 成为我国黄淮海主要育种模式。郑 58 是掖 478 为母本进行杂交选育出的新的骨干

自交系, 以郑 58 为母本、昌 7-2 为父本选育出的郑单 958 目前年推广面积达到 400 万 hm<sup>2</sup>, 成为我国的第一大作物品种。郑 58 比掖 478 在耐密性、抗病性、容重、出籽率都有明显的遗传改进。本研究采用 SSR 标记研究两个自交系之间的基因组差异, 对玉米育种提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

供试自交系为郑 58 和掖 478, 由河南省农科院粮食作物研究所提供。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 基因组 DNA 的提取

采用郭景伦等的玉米单粒种子 DNA 快速提取法并加以改进, 提取基因组 DNA。

收稿日期: 2009-12-10

基金项目: 国家自然科学基金项目“玉米特用品质基因在我国骨干种质遗传背景中的互作效应及应用潜能研究”(30871539)

作者简介: 王艳玲(1984-), 河南内黄人, 硕士, 从事作物遗传育种研究工作。

铁双贵为本文通讯作者。

E-mail: Tieshuangui5012002@yahoo.com.cn

### 1.2.2 SSR 引物

根据染色体位点,在玉米数据库(<http://www.maizgedb.org/>)中选取合成玉米基因组上 200 对引物,由上海博亚生物工程有限公司合成。

### 1.2.3 PCR 扩增及聚丙烯酰胺凝胶电泳检测

PCR 反应体系:反应总体系为 20  $\mu\text{L}$ ,其中 12.35  $\mu\text{L}$  ddH<sub>2</sub>O,2  $\mu\text{L}$  10  $\times$  Buffer(Mg-free),2  $\mu\text{L}$  MgCl<sub>2</sub>(25 mmol/L),1.2  $\mu\text{L}$  dNTP,0.2  $\mu\text{L}$  Tag(5 U/ $\mu\text{L}$ ),0.25  $\mu\text{L}$  Primer 和 2  $\mu\text{L}$  DNA。

PCR 反应过程:94 $^{\circ}\text{C}$  预变性 5 min,1 个循环;94 $^{\circ}\text{C}$  变性 1 min,60 $^{\circ}\text{C}$  退火 90 s,每循环降低 0.5 $^{\circ}\text{C}$ ,72 $^{\circ}\text{C}$  延伸 2 min,20 个循环;94 $^{\circ}\text{C}$  变性 1 min,56 $^{\circ}\text{C}$  退火 90 s,72 $^{\circ}\text{C}$  延伸 2 min,20 个循环;72 $^{\circ}\text{C}$  延伸 10 min。

反应终止后在 45 W 功率条件下,取 5  $\mu\text{L}$  扩增产物在制备好的 6% 的聚丙烯酰胺凝胶板上电泳约 90 min。

### 1.2.4 银染及显影

结合 Bassam 和 Sanguinetti 的方法并加以改进进行银染和显影。

### 1.3 统计分析

根据筛选出的具有多态性引物的扩增结果,将相同迁移率位置上的 SSR 扩增引物,有带的记为 1,无带记为 0,缺失记为 9。根据 Smith 方法,计算 SSR 位点的多态性信息量(Polymorphism information content, PIC) 按照公式  $\text{PIC}=1-\sum f_i^2$  计算,  $f_i^2$  表示  $i$  位点的基因频率。按照 Nei 等方法,计算自交系间的遗传相似系数(GS),  $\text{GS}=m/(m+n)$ ,其中  $m$  为基因型间共有带数目,  $n$  为差异带数目。

## 2 结果与分析

### 2.1 SSR 标记等位片段基因杂合度

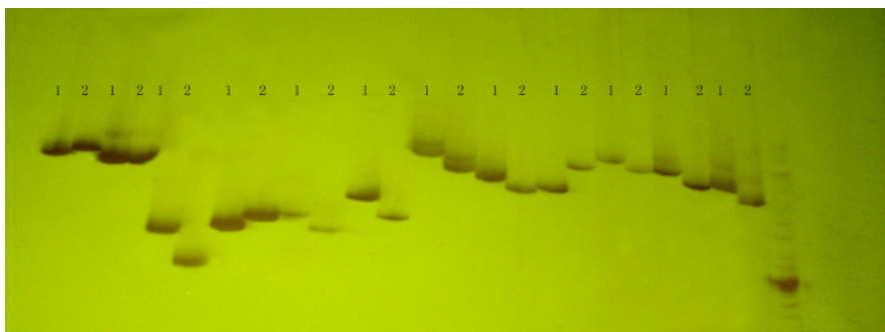
郑 58 和掖 478 扩增和电泳分析(表 1、图 1)表明,200 对 SSR 引物中有 57 对引物具有多态性,多态性标记比率达到 28.5%,遗传相似度为 71.5%。200 对引物共计扩增出 424 个 SSR 等位性片段,其中有 113 个多态性等位片段,遗传杂合度为 26.7%,遗传相似度为 74.3%。说明郑 58 和掖 478 之间具有一定差异。

表 1 SSR 多态性引物扩增产物电泳带谱统计  
Table 1 PCR Fragments of SSR polymorphic markers

编号 Codes	标记名称 Markers names	染色体位置 Chromosome site	拷贝数 Fragments	掖 478 Ye478	郑 58 Zheng58	编号 Codes	标记名称 Markers names	染色体位置 Chromosome site	拷贝数 Fragments	掖 478 Ye478	郑 58 Zheng58
1	bnlg2086	bin1.04	$f_1$	0	1	12	bnlg1523	bin3.02	$f_1$	1	0
			$f_2$	1	0				$f_2$	0	1
2	bnlg1556	bin1.07	$f_1$	1	0	13	bnlg1647	bin3.02	$f_1$	1	0
			$f_2$	0	1				$f_2$	0	1
3	bnlg1556	bin1.07	$f_1$	1	0	14	bnlg1523	bin3.02	$f_1$	1	0
			$f_2$	1	1				$f_2$	1	1
			$f_3$	0	1				$f_3$	0	1
4	bnlg1643	bin1.08	$f_1$	1	0	15	mmc0312	bin3.04	$f_1$	1	0
			$f_2$	1	1				$f_2$	0	1
			$f_3$	0	1				$f_3$	0	1
5	phi039	bin1.08	$f_1$	1	1	16	nc030	bin3.04	$f_1$	0	1
			$f_2$	1	0				$f_2$	1	0
6	bnlg1643	bin1.08	$f_1$	1	0	17	bnlg1616	bin3.05	$f_1$	0	1
			$f_2$	0	1				$f_2$	1	0
7	phi039	bin1.08	$f_1$	1	0	18	umc2265	bin3.05	$f_1$	0	1
			$f_2$	0	1				$f_2$	1	0
8	bnlg131	bin1.11	$f_1$	1	0	19	bnlg1035	bin3.05	$f_1$	0	1
			$f_2$	0	1				$f_2$	1	0
9	bnlg1017	bin2.02	$f_1$	0	1	20	bnlg1035	bin3.05	$f_1$	0	1
			$f_2$	1	0				$f_2$	1	1
10	bnlg1017	bin2.02	$f_1$	0	1	21	umc2050	bin3.07	$f_1$	0	1
			$f_2$	1	1				$f_2$	1	0
			$f_3$	1	0				$f_3$	1	0
11	phi101049	bin2.10	$f_1$	1	0	22	umc2050	bin3.07	$f_1$	0	1
			$f_2$	0	1				$f_2$	1	0
12	bnlg1523	bin3.02	$f_1$	1	0	23	umc2174	bin3.08	$f_1$	0	1
			$f_2$	0	1				$f_2$	1	0
						24	umc2276	bin3.08	$f_1$	0	1

续表 1 Continued 1

编号	标记名称	染色体位置	拷贝数	掖 478	郑 58	编号	标记名称	染色体位置	拷贝数	掖 478	郑 58
Codes	Markers names	Chromosome site	Fragments	Ye478	Zheng58	Codes	Markers names	Chromosome site	Fragments	Ye478	Zheng58
24	umc2276	bin3.08	f <sub>2</sub>	1	0	42	bnlg238	bin6.00	f <sub>1</sub>	1	0
25	phi046	bin3.08	f <sub>1</sub>	1	0				f <sub>2</sub>	1	1
			f <sub>2</sub>	0	1				f <sub>3</sub>	0	1
26	umc1273	bin3.08	f <sub>1</sub>	0	1	43	phi126	bin6.00	f <sub>1</sub>	1	0
			f <sub>2</sub>	1	0				f <sub>2</sub>	1	1
27	umc2008	bin3.09	f <sub>1</sub>	0	1				f <sub>3</sub>	0	1
			f <sub>2</sub>	+	1	44	bnlg1641	bin6.01	f <sub>1</sub>	0	1
28	bnlg1257	bin3.09	f <sub>1</sub>	1	0				f <sub>2</sub>	1	0
			f <sub>2</sub>	0	1	45	bnlg1600	bin6.01	f <sub>1</sub>	1	0
29	umc1594	bin3.09	f <sub>1</sub>	0	1				f <sub>2</sub>	1	1
			f <sub>2</sub>	1	0				f <sub>3</sub>	0	1
30	npi425a	bin3.09	f <sub>1</sub>	0	1	46	nc012	bin6.05	f <sub>1</sub>	1	0
			f <sub>2</sub>	1	0				f <sub>2</sub>	0	1
31	umc1641	bin3.09	f <sub>1</sub>	0	1	47	umc1066	bin7.01	f <sub>1</sub>	1	0
			f <sub>2</sub>	1	0				f <sub>2</sub>	0	1
32	bnlg1182	bin3.09	f <sub>1</sub>	1	0	48	umc2160	bin7.01	f <sub>1</sub>	1	0
			f <sub>2</sub>	0	1				f <sub>2</sub>	0	1
33	phi047	bin3.09	f <sub>1</sub>	1	0	49	umc1409	bin7.01	f <sub>1</sub>	0	1
			f <sub>2</sub>	0	1				f <sub>2</sub>	1	0
34	umc1578	bin3.09	f <sub>1</sub>	1	0	50	bnlg398	bin7.02	f <sub>1</sub>	0	1
			f <sub>2</sub>	0	1				f <sub>2</sub>	1	0
35	umc2008	bin3.09	f <sub>1</sub>	0	1	51	umc1015	bin7.03	f <sub>1</sub>	1	0
			f <sub>2</sub>	1	0				f <sub>2</sub>	0	1
36	bnlg1257	bin3.09	f <sub>1</sub>	1	0	52	umc1824	bin8.05	f <sub>1</sub>	1	0
			f <sub>2</sub>	0	1				f <sub>2</sub>	0	1
37	umc1594	bin3.09	f <sub>1</sub>	0	1	53	phi080	bin8.08	f <sub>1</sub>	1	0
			f <sub>2</sub>	1	0				f <sub>2</sub>	0	1
38	umc1639	bin3.10	f <sub>1</sub>	0	1	54	bnlg1401	bin9.02	f <sub>1</sub>	0	1
			f <sub>2</sub>	1	0				f <sub>2</sub>	1	0
39	umc1346	bin4.05	f <sub>1</sub>	0	1	55	phi050	bin10.03	f <sub>1</sub>	1	0
			f <sub>2</sub>	1	0				f <sub>2</sub>	0	1
40	bnlg1265	bin4.05	f <sub>1</sub>	1	0	56	bnlg1655	bin10.03	f <sub>1</sub>	0	1
			f <sub>2</sub>	1	1				f <sub>2</sub>	1	0
			f <sub>3</sub>	0	1	57	bnlg1526	bin10.04	f <sub>1</sub>	1	0
41	bnlg161b	bin6.00	f <sub>1</sub>	1	0				f <sub>2</sub>	1	1
			f <sub>2</sub>	1	1				f <sub>3</sub>	0	1
			f <sub>3</sub>	0	1	合计	57		125	69	69



注:1 为郑 58;2 为 478;3 为 DL2000。 Notes: 1, zheng58; 2, 478; 3, DL2000.

图 1 郑 58 和掖 478 部分 SSR 引物扩增产物电泳分析

Fig.1 Part of the SSR primers amplified electrophoresis on Zheng58 and Ye478

## 2.2 SSR 多态性标记在不同染色体上呈现不均匀性分布

57 个多态性标记分布于(除第 5 条染色体之外)基因组的其他 9 条染色体上,其中第 1 条染色体上有 8 个多态性引物;第 2 条有 3 个;第 3 条有 27 个,多态性引物出现最多;在第 4 条有 2 个;第 6 条有 6 个;第 7 条有 7 个;第 8 条有 2 个;第 9 条有 1 个;第 10 条有 2 个,说明多态性标记的不均匀分布。SSR 多态性标记在不同染色体上呈现不均匀性分布,每对引物可检测到 2~4 个等位基因,平均为 2.4 个, PIC 分布范围为 0.422~0.625。

## 2.3 SSR 多态性标记在同一染色体上呈现不均匀性分布

SSR 多态性标记在同一染色体上不同区域的分布密度不同,第 1 条染色体上共有 8 个多态性引物,在 1.08 区出现 4 个多态性引物,是引物出现的集中区;第 3 条染色体上出现 27 条多态性引物,在 3.09 区出现 11 个多态性引物,该区对于郑 58 和掖 478 来说是一个多态性引物集中区,分布密度最大;第 6 条染色体上共有 6 个多态性引物,其中在 6.00 区出现 3 条多态性引物;第 7 条染色体上共有 5 个多态性引物,其中 7.01 区出现 3 条多态性引物。表明这些染色体区域为易发生遗传变异,可能是性状改变的遗传基础。

## 3 讨 论

郑 58 和掖 478 是既有差异又有较高遗传相似

度的遗传材料。这两个自交系是我国重要的骨干自交系。采用昌 7-2 为父本,分别组配出我国两个主栽品种安玉 5 号和郑单 958。郑单 958 产量比安玉 5 号高 15.2%。亲本自交系基因组差异是杂交种产量差异的遗传基础。研究基因组 DNA 分子标记水平上的遗传差异与产量等性状之间的相关性,有助于挖掘与产量相关的基因标记和染色体区域。

在不同染色体上 SSR 多态性标记的数量不同,可能揭示出特定的染色体易于发生遗传重组和变异,这些变异有可能与产量配合力有关。因此,研究多态性标记较多的染色体与产量的关系对育种具有指导意义。

在同一染色体不同区段多态性标记分布密度不同。研究多态性标记集中区与产量等性状之间的相关性,从而找出该区对产量的贡献份额。

在本研究的基础上,通过分子标记辅助选择建立系列近等基因系,且与昌 7-2 杂交进行配合力测试,能够找到与产量配合力有关的染色体和染色体区域。

### 参考文献:

- [1] 铁双贵,郑用琰. 玉米基因组简单重复序列研究进展[J]. 生物工程进展, 2001, 21(5):59-62.
- [2] 郭景伦,赵久然,王风格. 适用于 SSR 分子标记的玉米单子粒种子 DNA 快速提取新方法[J]. 玉米科学, 2005, 13(2): 16-17.
- [3] Smith J S C, Chin E C L, Shu H, et al. An evaluation of the utility of SSR loci as molecular makers in maize(*Zea mays* L.): Comparisons with data from RFLPs and pedigree[J]. TAG. 1997, 95: 163-173.

(责任编辑:朴红梅)