

用 SSR 标记分析豫综 5 号和金皇后综合种的遗传变异

吴连成, 侯本军, 库丽霞, 王铁固, 孟庆雷, 陈彦惠

(河南农业大学 农学院, 河南 郑州 450002)

摘要:利用 40 对 SSR 标记引物分析了豫综 5 号和金皇后综合种的遗传变异。结果表明: 40 对引物在两群体中都扩增出 115 个多态位点; 累加 40 对引物扩增的基因型种类, 豫综 5 号 196 种, 金皇后 194 种; 豫综 5 号的平均遗传距离为 0.383 4, 金皇后综合种为 0.339 7; 豫综 5 号的平均观察杂合度是 0.382 6, 平均期望杂合度是 0.474 7; 金皇后综合种的平均观察杂合度是 0.329 2, 平均期望杂合度是 0.414 3。从以上结果来看, 豫综 5 号的遗传变异较丰富。

关键词: 玉米; SSR 标记; 遗传变异

中图分类号: S513.03 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2007)03-0030-05

Analysis on the Genetic Variation of Yuzong 5 and Gold Queen Maize Population by SSR Marker

WU Lian-cheng, HOU Ben-jun, KU Li-xia, WANG Tie-gu,

MENG Qing-lei, CHEN Yan-hui

(Agronomy College, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: The genetic variation of Yuzong 5 and Gold queen maize population was analyzed by SSR molecular marker. The results showed that: 115 polymorphic loci from Yuzong 5 and Gold queen maize population were amplified by 40 SSR primers; the genotypic number accumulated by 40 primer amplification were 196 for Yuzong 5 and 194 for Gold queen; the mean genetic distances were 0.383 4 for Yuzong 5 and 0.339 7 for Gold queen; the mean observed heterozygosity was 0.382 6 for Yuzong 5 and 0.329 2 for Gold queen, while their mean anticipated heterozygosity was 0.474 7 and 0.414 3, respectively. The results suggested that the genetic variation of Yuzong 5 is more abundant than that of Gold queen maize population.

Keywords: Maize; SSR marker; Genetic variation

研究具有重要潜在利用价值的玉米群体遗传多样性, 揭示群体内遗传构成及其变化, 对于改良、利用玉米群体具有十分重要的意义。豫综 5 号是河南农业大学经过近 20 年改良的具有美国血缘的一个优良群体, 具有产量和配合力高、农艺性状好、抗病性强等特点, 在国内外 13 个群体比较中, 它与黄早四之间的特殊配合力最大, 与四平头种质形成一对较好的杂优模式^[1]。金皇后综合种来源于金皇后地方品种的 54 个自交系, 经 2 轮半姊妹轮回选择和 5 轮混合选择的优良地方种质, 它果穗长, 丰产性好, 配合力高^[2-4]。因此, 研究和分析这 2 个群体的遗传变异对于玉米群体的遗传改良和种质渗透具有重要的指导意义。

遗传变异分析是群体改良和利用的可靠依据, SSR 标记为分析群体的遗传变异提供简便、快捷的工具。本研究分析了国内 2 个基础群体豫综 5 号和金皇后综合种的遗传变异, 以揭示其群体遗传结构和特征, 为进一步改良利用该种质资源提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

金皇后综合种 M₅和豫综 5 号 BC₄ 2 个玉米群体的基本情况见表 1。另选用 2 个自交系 Mo17、黄早四作对照。2004 年春田间种植全部材料, 6~7 片叶时, 从金皇后综合种和豫综 5 号群体各取 100 个单

收稿日期: 2006-11-06

基金项目: 河南省杰出人才创新基金(0221000800); 国家高技术研究发展计划(2002AA207008)

作者简介: 吴连成(1971-), 男, 河南确山人, 在读博士, 主要从事作物遗传育种研究

通讯作者: 陈彦惠(1958-), 男, 河南南阳人, 教授, 博士, 主要从事作物遗传育种研究。

株,从对照自交系中各取 6 个单株,采摘幼嫩叶于 - 80℃冰箱保存。金皇后综合种和豫综 5 号按单株叶片,自交系按 6 个单株叶片混合,采用 SDS 法提取 DNA,用琼脂糖凝胶电泳和 UV-2000 型紫外分光光度计(上海 Unico 公司)检测 DNA 的质量和浓度,根据检测结果从金皇后和豫综 5 号群体中选出 60 个单株 DNA 样品,用去离子水调整体积至 10 ng/μL,置 4℃冰箱保存备用。

表 1 金皇后综合种和豫综 5 号群体的基本信息
Tab 1 The germplasm source and characteristic of Golden queen and Yuzong 5 synthetics

群体 Population	来源 Source	特性 Characteristic
金皇后综合种 Golden queen	54 个金皇后自交系组成,经多轮回选择改良	籽粒黄色、马齿,中早熟
豫综 5 号 Yuzong 5	16 个美国种质自交系组成,经多轮回选择改良	籽粒黄色、半马齿,中熟

1.2 引物筛选

在MaizeGDB 中随机初步选择均匀分布在玉米 10 条染色体上的 100 对 SSR 引物,由上海生工合成,再通过电泳从中筛选出带型好、多态性高的 40 对引物用于试验。

表 2 40 对 SSR 引物在 2 个群体中检测到的多态位点数及多态位点比例表

Tab 2 Polymorphic loci and proportion of polymorphic loci by 40 pairs of primers in two maize populations													
引物 Primer	豫综 5 号 Yuzong 5			金皇后综合种 Golden queen synthetic			引物 Primer	豫综 5 号 Yuzong 5			金皇后综合种 Golden queen synthetic		
	位点数 Locus	多态位点 Polymorphic loci		位点数 Locus	多态位点 Polymorphic loci			位点数 Locus	多态位点 Polymorphic loci		位点数 Locus	多态位点 Polymorphic loci	
		数量 No.	比例/ % Ratio		数量 No.	比例/ % Ratio			数量 No.	比例/ % Ratio		数量 No.	比例/ % Ratio
P-umc1327	4	3	75.0	4	3	75	P-umc1776	2	2	100.0	2	2	100.0
P-umc1169	2	2	100.0	2	2	100	P-umc1525	2	2	100.0	2	2	100.0
P-phi031	4	3	75.0	4	3	75	P-phi227562	3	2	66.7	3	3	100.0
P-umc2314	3	3	100.0	3	3	100	P-phi072	3	3	100.0	3	2	66.7
P-umc2162	3	3	100.0	3	3	100	P-umc1339	4	2	50.0	4	4	100.0
P-bnlg1070	6	5	83.3	6	6	100	P-umc1416	2	2	100.0	2	2	100.0
P-umc1062	4	3	75.0	4	3	75	P-phi046	2	2	100.0	2	2	100.0
P-phi079	3	3	100.0	3	2	66.67	P-phi065	4	3	75.0	4	4	100.0
P-umc1053	5	4	80.0	5	3	60	P-phi024	3	3	100.0	3	3	100.0
P-umc1293	3	3	100.0	3	3	100	P-umc1274	3	3	100.0	3	3	100.0
P-phi06342	3	2	66.7	3	2	66.67	P-phi127	3	2	66.7	3	3	100.0
P-phi299852	5	4	80.0	5	4	80	P-phi076	4	3	75.0	4	4	100.0
P-umc2332	3	3	100.0	3	3	100	P-umc1505	2	2	100.0	2	2	100.0
P-umc1336	4	2	50.0	4	4	100	P-phi015	4	4	100.0	4	2	50.0
P-phi452693	5	5	100.0	5	3	60	P-umc1240	2	2	100.0	2	2	100.0
P-phi039	4	3	75.0	4	2	50	P-phi102228	3	3	100.0	3	3	100.0
P-umc1012	4	4	100.0	4	3	75	P-umc1069	4	4	100.0	4	3	75.0
P-umc1279	3	2	66.7	3	3	100	P-umc1279	3	2	66.7	3	3	100.0
P-umc1464	2	2	100.0	2	2	100	P-phi109275	5	4	80.0	5	5	100.0
P-phi420701	2	2	100.0	2	2	100	P-umc1733	4	4	100.0	4	2	50.0

2 结果与分析

2.1 两群体多态位点的分析

两群体多态位点分析结果列入表 2。统计 40

1.3 PCR 反应

扩增反应总体积为 15 μL, 包括 10 × buffer(含 MgCl₂) 1.5 μL, 0.5 mmol/L dNTP 0.3 μL, 1 U Taq 酶 0.1 μL, 10 ng/μL 引物 1.5 μL, 模板 DNA 3.0 μL, ddH₂O 8.6 μL。PCR 反应在 PTC-200 扩增仪上进行。

1.4 电泳检测

用 6% 的变性聚丙烯酰胺凝胶电泳, 恒功率 50 W, 电泳 60 min 左右。以 0, 1 数据统计检测结果, 其中在同一迁移位置有带记为 1, 无带记为 0。

1.5 数据处理

基因频率 f_i = 等位基因数/2N (N 是样本容量)。多态位点比例 = 多态位点数/扩增位点。根据 Nei & Li^[5] 提出的公式计算遗传相似指数 $GS(N) = 2a / (2a + b + c)$, 遗传距离 $GD(N) = 1 - GS(N)$ 。式中 a 为同一群体内 2 个单株共有的条带, b 和 c 分别为 2 个单株各自特有的条带。观察杂合度 H_0 = 观察杂合单株数/N。按 Hardy-Weinberg 平衡比例估计期望杂合度 $H_e = 1 - \sum(f_i^2)$ (f_i 是两群体 i 等位基因的频率)。从电泳版面上根据带型统计两群体内不同基因型数量及基因型频率。

对引物扩增的位点数为 134, 两群体的多态位点数都为 115 个, 每个引物的多态位点平均数为 2.9 个。而多态位点比例豫综 5 号中 40 对引物达 100% 的有 23 对, 75.0% ~ 99.0% 的有 10 对, 50.0% ~ 74.0%

全面, 它们都能说明群体的变异程度。从表 4 可以看出豫综 5 号群内两单株间的遗传距离变异范围为 0.204 1~ 0.613 6, 平均遗传距离为 0.383 4, 金皇后综合种的遗传距离变异范围为 0.185 2~ 0.528 1, 平

表 4 用 Ne 氏法计算的群体内两单株间的遗传距离

Tab. 4 Genet c d stance between tw plants n p pulat n by Ne					
群体 Population	群体内最大遗传距离 GD Max	群体内最小遗传距离 GD Min	平均数 Mean	标准差 Standard deviation	变异系数 CV
豫综 5 号 Yuzong 5	0.613 6	0.204 1	0.383 4	0.059 3	15.48
金皇后综合种 Golden queen synthetic	0.528 1	0.185 2	0.339 7	0.052 2	15.36

2.4 两群体基因杂合度的分析

群体基因平均杂合度能有效反映群体的遗传组成变异。从表 5 可以统计出豫综 5 号有 18 对引物的观察杂合度和期望杂合度相近, 金皇后综合种有 17 对, 都没有达到显著水平, 说明这些位点的基因已经处于平衡状态, 其余引物检测到的基因位点处于不平衡状态。从平均杂合度看, 豫综 5 号的平均观察杂合度是 0.382 6, 平均期望杂合度是 0.474 7;

表 5 2 个群体观察杂合度和期望杂合度比较

Tab 5 C mpare f bserved heter zyg s ty and expected heter zyg sty n tw p pulat n									
引物 Primer	豫综 5 号 Yuzong 5		金皇后综合种 Golden queen synthetic		引物 Primer	豫综 5 号 Yuzong 5		金皇后综合种 Golden queen synthetic	
	观察杂合度 Observed	期望杂合度 Expected	观察杂合度 Observed	期望杂合度 Expected		观察杂合度 Observed	期望杂合度 Expected	观察杂合度 Observed	期望杂合度 Expected
	heterozygosity	heterozygosity	heterozygosity	heterozygosity		heterozygosity	heterozygosity	heterozygosity	heterozygosity
P-umc1327	0.245 3	0.368 6	0.226 4	0.207 0	P-umc1776	0.313 7	0.315 3	0	0.393 5
P-umc1169	0.196 1	0.476 7	0.078 4	0.264 5	P-umc1525	0.169 5	0.182 7	0	0.064 4
P-ph i03 1	0.372 9	0.355 5	0.711 9	0.605 6	P-ph i227 562	0.018 2	0.467 6	0.440 7	0.460 6
P-umc2314	0.442 3	0.559 2	0.362 1	0.428 2	P-ph i072	0.355 9	0.516 7	0.150 0	0.138 8
P-umc2162	0.576 3	0.564 1	0.350 0	0.399 4	P-umc1339	0.431 0	0.499 9	0.258 6	0.654 6
P-bnlg1070	0.679 2	0.667 9	0.727 3	0.735 4	P-umc1416	0.259 3	0.301 8	0.127 3	0.119 2
P-umc1062	0.637 9	0.658 3	0.649 1	0.525 2	P-ph i046	0.396 6	0.488 0	0.413 8	0.383 5
P-ph i079	0.576 3	0.983 8	0.116 7	0.109 9	P-ph i065	0.474 6	0.441 7	0.706 9	0.726 7
P-umc1053	0.327 3	0.718 8	0.310 3	0.527 5	P-ph i024	0.357 1	0.444 7	0.072 7	0.401 3
P-umc1293	0.280 7	0.324 6	0.350 0	0.311 3	P-umc1274	0.474 6	0.637 3	0.500 0	0.463 9
P-ph i06 342	0.066 7	0.064 4	0.084 7	0.140 9	P-ph i127	0.454 5	0.483 5	0.300 0	0.291 5
P-ph i29 9852	0.508 8	0.560 6	0.436 4	0.636 9	P-ph i076	0.362 1	0.577 4	0	0.502 7
P-umc2332	0.471 7	0.611 4	0.283 0	0.539 2	P-umc1505	0.550 0	0.426 5	0.466 7	0.486 1
P-umc1336	0.589 3	0.506 9	0.233 3	0.242 1	P-ph i015	0.631 6	0.666 1	0.433 3	0.505 4
P-ph i45 2693	0.509 1	0.568 6	0.444 4	0.612 3	P-umc1240	0.183 3	0.166 5	0.483 3	0.468 8
P-ph i03 9	0.084 7	0.571 5	0.264 2	0.419 2	P-ph i102 228	0.440 7	0.411 3	0.666 7	0.561 5
P-umc1012	0.310 3	0.552 0	0.423 1	0.521 4	P-umc1069	0.568 6	0.611 1	0.406 8	0.463 8
P-umc1279	0.250 0	0.243 2	0.271 2	0.270 0	P-umc1279	0.300 0	0.277 8	0.283 3	0.278 8
P-umc1464	0.320 0	0.295 2	0.120 7	0.296 5	P-ph i109 275	0.702 1	0.656 6	0.593 2	0.631 7
P-ph i42 0701	0.035 1	0.160 0	0.333 3	0.464 4	P-umc1733	0.379 3	0.604 2	0.086 2	0.317 9
豫综 5 号杂合度 Yuzong 5 heterozygosity	观察平均值 Observed mean	0.382 6	期望平均值 Expected mean	0.474 7	金皇后杂合度 Golden queen heterozygosity	观察平均值 Observed mean	0.329 2	期望平均值 Expected mean	0.414 3

3 讨论

多态性位点比例、位点的平均杂合度、遗传距离以及基因型种类和频率都能从不同的角度反映群体的遗传变异性, 但用基因型种类及其频率表示群体的遗传变异更符合育种实际^[6]。通过对上述 4 个方

面遗传距离为 0.339 7; 豫综 5 号的变异系数是 15.48, 金皇后综合种的变异系数是 15.36。从中可以看出两群体内单株间的差异大, 变异范围广, 遗传变异丰富, 其中豫综 5 号较优。

金皇后综合种的平均观察杂合度是 0.329 2, 平均期望杂合度是 0.414 3, 两群体的平均观察杂合度和平均期望杂合度都存在着一定的差异, 说明豫综 5 号和金皇后综合种确实没有达到 Hardy-Weinberg 遗传平衡状态, 这可能是由于群体的轮回选择和优良种质的渗透导致豫综 5 号和金皇后偏离遗传平衡状态, 与育种实践相吻合。

面的分析, 结果表明, 两群体均具有丰富的遗传多样性。其中 40 对引物在豫综 5 号中检测到 196 种基因型, 而金皇后综合种检测到 194 种, 在豫综 5 号中检测所得到的基因型种类稍多, 且基因型频率的变异范围较广。计算两群体 60 个单株间的遗传距离发现豫综 5 号单株间的变异范围比较广, 遗传变异

比较丰富。这与段运平等^[1]利用 SSR 标记研究国内外 27 个玉米群体所得的豫综 5 号具有相当高的异质性结论相似。说明豫综 5 号遗传基础确实比较丰富。近些年来,从豫综 5 号中选出了不少自交系并组配了杂交种,进一步印证了这一结论。

参考文献:

[1] 段运平, 陈卫国, 李明顺, 等. 利用 SSR 标记分析 27 个玉米群体的遗传关系[J]. 中国农业科学, 2006, 39(6): 1102– 1113.

[2] 陈彦惠, 汪茂华. 对两个玉米群体进行特殊配合力轮

回选择的研究[J]. 作物学报, 1988, 14(3): 221– 226

[3] 吴连成, 陈彦惠, 武安柱, 等. 金系综合种玉米群体主要数量性状分析[J]. 河南农业科学, 2003(5): 9– 12

[4] 陈彦惠, 武安柱, 吴连成, 等. “金皇后”等八个玉米群体产量配合力分析[J]. 玉米科学, 2002, 10(4): 10– 12

[5] Nei M, Li W H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1979, 76: 5269– 5273.

[6] 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.