

来自小麦基因组的 SSR 标记在早熟禾亚科植物中的通用性分析

王小国^{1,2}, 梁红艳², 张 薇¹

(1. 石河子大学 农学院, 新疆 石河子 832003; 2. 三门峡职业技术学院 生化工程系, 河南 三门峡 472000)

摘要:引物的通用性研究对于降低引物开发的成本具有重要的意义。为此, 本试验选取来源于小麦基因组的 41 对 SSR 引物, 对其在早熟禾亚科不同属 4 种植物中的通用性进行了分析。所选取的 41 对引物在大麦、燕麦、小黑麦和三芒草 4 种供试植物中的扩增成功率分别为 73.2%, 82.9%, 87.8% 和 85.4%, 有些引物在特定植物中还会出现特异性条带, 以上结果表明, 从小麦基因组上开发的 SSR 引物, 在早熟禾亚科不同种属植物间有较高的通用性。

关键词:小麦基因组; SSR; 早熟禾亚科; 通用性

中图分类号: S512.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2007)04-0155-03

General Use Analysis in *Pooideae* of SSR Marking Coming from the Wheat Gene Set

WANG Xiao-guo^{1,2}, LIANG Hong-yan², ZHANG Wei¹

(1. Department of Agronomy, Shihezi University, Shihezi 832003, China;

2. Biochemical Engineering Department, Sanmenxia Polytechnic, Sanmenxia 472000, China)

Abstract: General use analysis of primers has the vital significance to reduce their development cost. 41 pairs primers coming from the wheat gene set were selected in this experiment, and general use was carried on analysis among four species in different genus of *Pooideae*. In the barley, the oats, the triticale and three awn grass, the success ratio of these primers respectively was 73.2%, 82.9%, 87.8% and 85.4%, and some primers even still appeared specificity strip bands in particular plant. These results indicate that the SSR marker coming from the wheat gene set is highly transferable among species in different genus of *Pooideae*.

Key words: Wheat gene set; SSR; *Pooideae*; General use

简单序列重复 (Simple sequence repeat, SSR) 又称微卫星 DNA, 是近年来发展起来的基于 PCR 技术的一种新的分子标记技术。SSR 广泛分布于真核生物的基因组中, 是一类由 2~4 个核苷酸组成的多次串联重复的 DNA 序列^[1]。因其具有分布均匀、多态性高、共显性等优点^[2], 在多种作物的种质资源研究中得到广泛应用。

微卫星引物的获得可以通过 3 条途径: 一是在公共的序列数据库 (Genbank 和 EMBL) 里寻找微卫星序列; 二是基因组文库的筛选; 三是从近缘物种中获得已设计好的引物对^[3]。由于 SSR 引物开发的

工作量大, 操作复杂, 且需要知道一定的基因组序列信息, 因此难度较大。而现有数据库的 SSR 引物序列不能代表整个基因组微卫星的分布情况, 且数据库中的 DNA 序列也仅局限于一些模式植物及经济作物, 此外, 通过基因组文库筛选获得微卫星序列也耗时、耗资。

为了降低 SSR 引物的开发成本, 提高其应用的机动性, 近年来很多学者^[4-7]用来自某个物种基因组的 SSR 引物对其在不同种、属植物中的通用性进行了深入研究。本试验则选用来源于小麦基因组并能在小麦品种“晋春 15”中有效扩增的 41 对 SSR 引

收稿日期: 2007-04-16

作者简介: 王小国 (1977-), 男, 山西长治人, 在读硕士, 主要从事小麦遗传育种研究工作

通讯作者: 张 薇 (1969-), 女, 新疆石河子人, 博士, 教授, 主要从事生物技术在作物遗传育种中应用研究。

物,对4种早熟禾亚科植物材料进行初步的通用性分析,旨在为SSR标记更机动、有效地应用于植物资源的研究提供参考。

1 材料和方法

1.1 试验材料

本试验的供试材料为小麦(“晋春15号”)、大麦(“06鉴1-29”)、燕麦、小黑麦(“中饲237”)和三芒草,各1个材料。

1.2 试验方法

DNA提取方法参照中国科学院上海植物生理

研究所的CTAB法^[9],但略作改进。以来自小麦基因组且对供试小麦能有效扩增的41对SSR引物(表1)分别对上述材料进行扩增。PCR的反应体系为:总体积10 μL,其中30 ng/μL DNA模板1.8 μL,10 mmol/L dNTPs 0.26 μL,10 × Buffer(含MgCl₂ 20 mmol/L)1.3 μL,2 U/μL Taq酶0.13 μL,SSR引物1.2 μL,ddH₂O 5.31 μL。PCR扩增程序:95℃预变性3 min,然后按95℃变性1 min,56℃退火1 min,72℃延伸2 min,进行40个循环,最后72℃延伸10 min。扩增产物用6%的聚丙烯酰胺凝胶电泳检测,银染后对结果进行记录并分析。

表1 41对源自于小麦基因组的SSR引物及其扩增条带数

Tab.1 The name and amplification of 41 pair primers coming from the wheat gene set

名称 Name	扩增条带数 Band number				名称 Name	扩增条带数 Band number			
	大麦 Barley	小黑麦 Triticale	燕麦 Oats	三芒草 Three awn grass		大麦 Barley	小黑麦 Triticale	燕麦 Oats	三芒草 Three awn grass
DP36	1	4	1	2	Wms793	0	1	2	2
DP111	1	5	0	2	Wms819	7	11	11	12
DP115	9	7	6	6	Xgwm111	2	0	0	0
DP128	6	11	6	7	Xgwm161	0	4	3	3
DP167	2	5	1	2	Xgwm174	0	0	0	0
DP205	5	7	3	2	Xgwm259	1	3	1	3
DP237	2	4	3	6	Xgwm537	0	3	1	7
DP269	1	2	0	0	Xgwm540	2	8	3	5
DP309	3	4	1	0	Xgwm635	0	2	1	2
DP542	0	3	2	2	Xgwm604	0	8	4	0
TAGLGAP	3	2	0	2	Xgwm610	0	6	0	0
Wmc41	3	1	1	3	Xgwm52	2	2	2	2
Wmc44	0	5	2	0	Xbarc4	5	0	8	8
Wmc215	0	3	0	0	Xbarc45	2	1	7	7
Xgdm148	1	5	1	3	Xbarc56	6	0	6	6
Xgdm145	3	6	1	3	Xbarc77	6	2	5	5
Xgwm43	1	1	1	1	Xbarc78	1	0	1	1
Xgwm11	2	2	1	1	Xbarc79	3	3	3	3
Xgwm518	5	10	0	4	Xbarc82	1	2	3	3
Xgwm413	4	7	5	4	Xbarc181	2	2	4	3
Xgwm513	0	3	7	8					

2 结果与分析

2.1 SSR引物在供试材料中的有效扩增分析

41对SSR引物对供试材料的扩增情况见表2,由表2可以看出,源于小麦基因组的41对SSR引

物,在大麦中能够成功扩增的引物比率最低,仅为73.2%;其次为燕麦和三芒草,所占比率分别为82.9%和85.4%;成功扩增的引物比率在小黑麦中最高,达87.8%,分析其原因,可能是因为小黑麦是小麦和黑麦的远缘杂种,携带小麦遗传信息的缘故。

表2 41对SSR引物在供试材料中的扩增情况

Tab.2 The amplification results of 41 pair of SSR primers

项目 Item	小麦 Wheat	大麦 Barley	小黑麦 Triticale	燕麦 Oats	三芒草 Three awn grass
成功扩增的引物数 The number of working primer	41	30	36	34	35
供试引物 The total number	41	41	41	41	41
成功扩增引物所占比率/% Percentage of the working primers	100	73.2	87.8	82.9	85.4

2.2 SSR 引物在供试材料间的通用性分析

根据各引物的扩增谱带特征(各引物扩整条带数见表 1), 对供试 SSR 引物在试验材料间的通用性进行了分析, 结果见表 3。

表 3 41 对 SSR 引物在供试材料间的通用性

Tab. 3 The transfer ability of 41 pair primers in this study					
项目 Item	小麦 Wheat	大麦 Barley	小黑麦 Triticale	燕麦 Oats	三芒草 Three awn grass
扩增条带总数 The total number of bands	189	88	155	107	130
特有条带数 The number of unique bands	40	13	26	8	17
引物平均扩增条带数 The average number	4. 61	2. 15	3. 78	2. 61	3. 17

从表 3 种可以看出, 每对引物的平均扩增条带数以小黑麦最高, 可达到 3. 78; 其次是三芒草、燕麦和大麦, 分别为 3. 71, 2. 61, 2. 15, 变化趋势与引物的成功扩增的引物比率一致(引物 Xgdm145 和 Wmc44 的扩增谱带如图 1 所示)。特有条带数除大麦高于燕麦以外, 其余也都与成功扩增的引物比率变化规律一致。

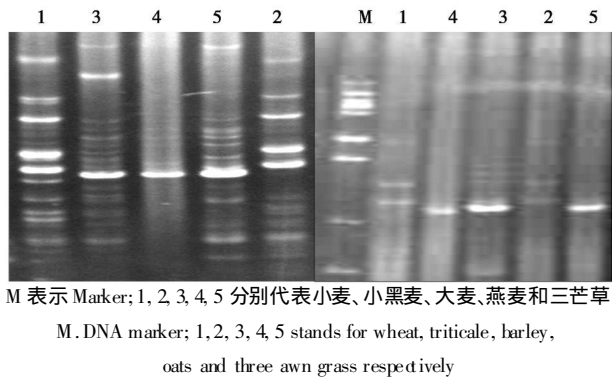


图 1 引物 Xgdm145(a) 和 Wmc44 的扩增谱带(b)

Fig. 1 The amplification patterns of Xgdm145(a) and Wmc44(b)

3 讨论

从小麦基因组的 SSR 引物对 4 种早熟禾亚科植物的扩增结果来看, 引物的有效扩增率均在 73% 以上, 引物的平均扩增条带数在 2. 15 以上, 说明源于小麦基因组的 SSR 引物在早熟禾亚科不同种属植物间有较高的通用性。其中, 41 对 SSR 引物在三芒草中的有效扩增率和平均扩增条带数分别达到 85. 4% 和 3. 17, 因此, 从小麦基因组开发的 SSR 引物在早熟禾亚科野生物种中也有一定的通用性。

通用性引物的存在能够有效地弥补物种分子标记不足, 丰富标记数量^[7], 这对于植物种质资源研究, 尤其是构建高密度遗传图谱及种质资源的收集、保存和评价都有着重要意义。此外, 在对特定物种基因组信息尚未充分了解的情况下, SSR 引物的通用性也为对其开展广泛深入的研究提供便利途径。

参考文献:

[1] 伍 玲, 杨恩年. 几个抗穗发芽小麦品种 SSR 标记多态性[J]. 西南农业学报, 2003, 16(1): 16– 21

[2] Gha E maroofma S A, Biya Shev R M, Yang G P, *et al* . Extraordinarily polymorphic microsatellite DNA in barley: species diversity, chromosomal location and population dynamics[J] . Proc Natl Acad Sci USA, 1994, 91: 5466– 5470.

[3] 王 丽, 赵桂仿. 植物不同种属间共用微卫星引物的研究[J]. 西北植物学报, 2005, 25(8): 1540– 1546

[4] 崔秀敏, 侯喜林, 董玉秀, 等. 不结球白菜 SSR 引物的高效开发及其通用性研究[J] . 科技导报, 2005, 11(23): 20 – 22

[5] 王彩虹, 田义轲, 赵 静. 来自苹果的 SSRs 在蔷薇科植物资源上的通用性分析[J] . 园艺学报, 2005, 32(3): 500 – 502

[6] 陈树林, 王沛政, 胡保民. 陆地棉 EST-SSRs 在向日葵中的通用性研究[J] . 西北植物学报, 2006, 26(3): 502– 0506.

[7] 李宏伟, 刘曙东, 高丽锋, 等. 小麦 EST-SSRs 的通用性研究[J] . 植物遗传资源学报, 2003, 4(3): 252– 255.

[8] 忻 雅, 崔海瑞, 张明龙, 等. 白菜 EST-SSR 标记的通用性[J] . 细胞生物学杂志, 2006, 28: 248– 252

[9] 中国科学院上海植物生理研究所, 上海市植物生理学. 现代植物生理学实验指南[M] . 北京: 科学出版社, 1999.