

# 20 份特异玉米地方品种的 SSR 遗传多样性分析

王利锋, 李会勇, 唐保军, 程泽强, 王振华, 铁双贵

(河南省农业科学院 粮食作物研究所, 河南 郑州 450002)

**摘要:** 利用 28 对稳定的 SSR 引物分析了 20 份玉米地方品种的遗传多样性, 共检测到 124 个等位基因, 平均每个位点 4.43 个, 每对引物可以稳定检测到 2~9 个多态性片断, 遗传相似系数为 0.56~0.85。聚类分析将此材料划分为 3 个大群, 其中来自山西地方品种划分在一个类群内, 而来自河南的地方种质分布在 3 个类群中, 多样性较高。据此结果, 可对这些地方品种进行针对性的保存和改良利用。

**关键词:** 玉米; 地方品种; SSR; 遗传多样性

中图分类号: S513.03 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2009)01-0125-03

## Genetic Diversity Analysis of 20 Maize Landraces by SSR Markers

WANG Li-feng, LI Hui-yong, TANG Bao-jun, CHENG Ze-qiang,

WANG Zhen-hua, TIE Shuang-gui

(Cereal Crop Research Institute, Henan Academy of Agriculture Sciences, Zhengzhou 450002, China)

**Abstract:** Genetic diversity of 20 maize landraces was analyzed with 28 SSR markers. 124 alleles in all were detected and the average number of alleles was 4.43. 2~9 polymorphic fragments were amplified stably by each SSR marker. Genetic dissimilarity coefficients ranged from 0.56 to 0.85. These maize germplasms could be clustered into 3 groups. The 10 maize landraces from Shanxi Province were clustered into one group. However, the other 10 maize landraces from Henan province were detected in 3 groups, showing a high genetic diversity. The result indicated that these maize landraces could be conserved selectively and used in maize improvement.

**Key words:** Maize (*Zea mays* L.); Landrace; SSR; Genetic diversity

种质资源狭窄是目前玉米育种工作所面临的重要问题, 而对地方品种进行分类、改良和利用, 是拓宽玉米遗传基础的有效途径之一。前人通过对玉米地方品种的研究, 已经成功的选育出了优良自交系并组配出众多杂交组合, 在生产中广泛应用。而对地方品种进行准确的遗传多样性分析, 是改良利用的前提。SSR 标记以其多态性高, 可靠性高, 操作简单、快捷等优点已成为目前玉米遗传多样性研究的最重要方法之一<sup>[1-12]</sup>。姚启伦、吴渝生、张金渝、刘雪、吴永升等<sup>[8-12]</sup>近年来通过 SSR 标记技术对我国各地的玉米地方品种进行了详尽的遗传多样性研究。

本研究利用 SSR 标记分析了来自山西和河南两地部分特异玉米地方品种的遗传多样性, 揭示并

分析相互之间的亲缘关系, 同时结合其特殊的农艺性状, 为更好地利用和改良山西和河南优异玉米地方品种提供参考。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

分别从山西和河南省搜集并筛选到 10 份玉米地方品种, 其中山西材料(编号 1~10)具有极高的耐旱性, 而河南材料(编号 11~20)具有较好的综合性状(尤其产量相关性状)。于 2007 年种植于河南省农科院试验基地。每个材料种植 2 行, 每行 20 株。苗期剪取每个材料 20 个单株的等量叶片作为混合样本<sup>[13,14]</sup>, 并备份, 放入-80℃超低温冰箱保存备用。

收稿日期: 2008-11-06

基金项目: 河南省重大科技专项(0620010200); 河南省农业科学院科技发展专项资金(200703)

作者简介: 王利锋(1979-), 男, 河北邯郸人, 研究实习员, 硕士, 主要从事玉米种质资源研究。

通讯作者: 李会勇(1977-), 男, 山西高平人, 博士, 主要从事玉米种质资源和玉米功能基因组学的研究。

1.2 试验方法

采用 CTAB 法提取并纯化叶片基因组 DNA,并用紫外分光光度计测定 DNA 的浓度和质量,将 DNA 样品浓度稀释至 10 ng/μL。从 CIMMYT( <http://www.cimmyt.org>) 发表的 85 对玉米核心引物中选取均匀分布在 10 条染色体上的 28 对条带清晰、稳定性好、易统计的引物进行扩增。PCR 反应体系(15 μL)为: 2.5 U/μL *Taq* 酶( tiangen 公司) 0.25 μL, 10 × *Taq* Buffer 1.5 μL( tiangen 公司), 2.5 mmol/L dNTP( tiangen 公司) 0.5 μL, 各 0.5 μL 的双向引物( 0.1 μmol/L), 模板 DNA( 10 ng/μL) 4 μL, ddH<sub>2</sub>O 7.75 μL, 最后加一滴石蜡油防止蒸发。采用 Touch-down PCR 程序: 94℃ 2 min; 94℃ 30 s, 65℃ 45 s( 每个循环递减 1℃), 72℃ 1.5 min( 10 循环); 94℃ 30 s, 55℃ 30 s, 72℃ 1.5 min( 28 循环); 72℃ 15 min。扩增产物在 6% 变性聚丙烯酰胺胶 75 W 电泳 1 h 左右, 银染显影。

1.3 数据统计分析

SSR 分析中, 在相同的迁移位置上( 相同的分子量片断) 有带记为 1, 无带记为 0, 缺失记为 9, 建立数据库。采用 Jaccard 系数的方法计算遗传相似系数 GS,  $GS = X_{ij} / (X_i + X_j - X_{ij})$ , 其中  $X_{ij}$  为第  $i$  个材料和第  $j$  个材料共有的条带数;  $X_i$  和  $X_j$  分别为第  $i$  个材料和第  $j$  个材料特有条带数。按 UPGMA 方法进行聚类作图, 数据处理由 NTSYS-pc2.1 软件完成。

2 结果与分析

2.1 SSR 分析

本研究从 85 对核心引物中, 筛选出稳定性好, 条带清晰, 且均匀分布在每条染色体上的 28 个标

记, 平均每条染色体 2~ 3 个标记, 进行 SSR 分析( 表 1)。共检测出 124 个等位基因变异, 每对引物可以检测到 2~ 9 个等位基因, 平均为 4.43 个。在 10 条染色体上分别检测了 3, 3, 3, 2, 3, 3, 3, 3, 2 个位点, 每条染色体上分别检测出 18, 16, 14, 10, 10, 11, 17, 12, 9, 7 个等位基因。

表 1 用于 SSR 分析的引物信息和检测到的等位基因数目

Tab.1 Information of primer and number of alleles detected by SSR			
编号 No.	引物 Primer	位置 Bin	等位基因数 Number of alleles
1	phi109275	1.00	8
2	phi011	1.09	3
3	phi064	1.11	7
4	phi109642	2.00	3
5	phi083	2.04	6
6	phi127	2.08	7
7	phi104127	3.01	5
8	phi053	3.05	5
9	phi046	3.08	4
10	phi072	4.01	6
11	phi006	4.11	4
12	phi024	5.01	4
13	phi087	5.06	3
14	umc1153	5.09	3
15	bnlg391	6.01	4
16	phi031	6.04	3
17	phi070	6.07	4
18	phi112	7.01	5
19	phi034	7.02	3
20	phi328175	7.04	9
21	umc1304	8.02	4
22	phi121	8.04	3
23	phi015	8.09	5
24	phi065	9.03	3
25	phi108411	9.06	4
26	umc1277	9.08	2
27	phi059	10.02	3
28	phi062	10.04	4

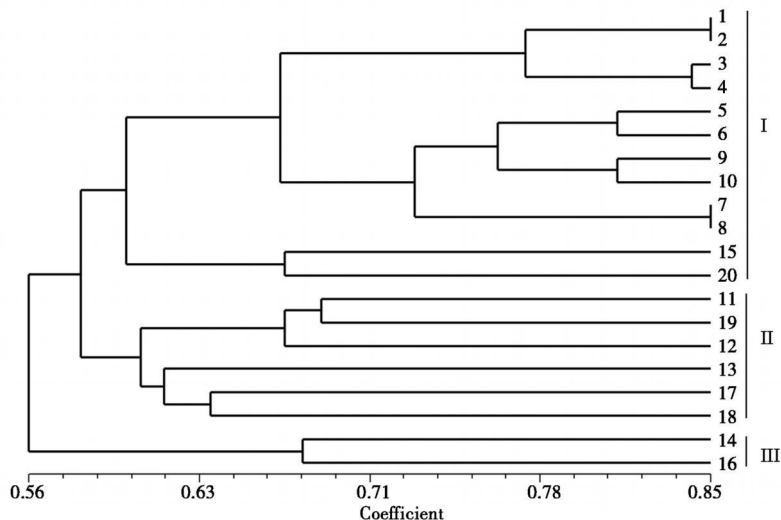


图 1 20 个玉米地方品种的 SSR 聚类树状图  
Fig.1 Dendrogram of 20 maize landrace derived by cluster analysis based on SSR

## 2.2 聚类与遗传相似性分析

根据 28 个 SSR 数据矩阵, 按照 UPGMA 对 20 份地方种质进行了聚类分析(图 1)。从图 1 可看出, 各品种间遗传相似性系数为 0.56~0.85, 均值为 0.71。选取 0.59 为阈值, 20 份材料大体上可分为 3 个类群, 其中第 I 类群包括 12 份材料, 各品种间遗传相似性系数为 0.60~0.85, 均值为 0.76; 第 II 类群包括 6 份材料, 各品种间遗传相似性系数为 0.61~0.69, 均值为 0.64; 第 III 类群包括 2 份材料, 两者之间的遗传相似性系数为 0.68。

而所有来自山西的地方品种全部聚在第 I 类群中, 各品种间遗传相似性系数为 0.67~0.85, 均值为 0.79, 遗传相似性极高, 表明其间亲缘关系很近, 并同另 2 个来自河南地方品种位于同一类群中。其余 8 个河南地方品种被划分到另外 2 个类群内, 其中 14 和 16 号材料独立成群, 同其他 18 个品种亲缘关系较远。所有的河南地方品种分布在 3 个类群中, 材料间遗传相似性系数为 0.56~0.69, 均值为 0.63, 具有较高的遗传多样性。

## 3 讨论

山西省位于黄土高原, 地貌类型复杂多样。由于地势和环境等因素, 造成土地贫瘠, 干旱胁迫较为严重, 不利于优异高产杂交玉米品种的生产, 而当地延续下来的地方品种经过长期的干旱选择, 具有极高的耐旱性, 但其产量较低, 只适合稀植。因此, 改良这些地方品种的产量性状并同时保持其自身的抗旱性对于提高当地玉米生产力具有极为重要意义。而河南省作为我国重要的玉米高产区, 具有种类繁多的高产地方品种, 但由于抗旱性表现较差而未被很好地加以利用。

因此, 本研究有针对性的选择了 10 份河南地方品种(优良的产量相关性状)和 10 份山西地方品种(极高的耐旱性), 通过 SSR 标记方法, 对其进行了遗传多样性的分类。旨在找出其亲缘关系的远近,

并从不同的类群内选择目标性状表现良好的株系, 进一步从群内培育自交系, 并结合外来优异种质, 配置杂交组合, 通过配合力测定和评价筛选, 有望得到综合农艺性状表现良好且具有较高抗旱性的组合, 为拓宽我国 2 个重要玉米产地山西和河南杂交种的改良提供材料和理论依据, 并为今后我国玉米种质扩增、改良和创新提供参考。

## 参考文献:

- [1] 番兴明, 谭 静, 张世煌, 等. 利用 SSR 标记对 29 个热带和温带玉米自交系进行杂种优势群的划分[J]. 作物学报, 2003, 29(6): 835–840.
- [2] 袁力行, 傅骏骅, 张世煌, 等. 利用 RFLP 和 SSR 标记划分玉米自交系杂种优势群的研究[J]. 作物学报, 2001, 27(2): 149–156.
- [3] 李新海, 傅骏骅, 张世煌, 等. 利用 SSR 标记研究玉米自交系的遗传变异[J]. 中国农业科学, 2000, 32(2): 1–9.
- [4] 刘世建, 荣廷昭, 杨俊品, 等. 四川玉米地方种质的 SSR 聚类分析[J]. 作物学报, 2004, 30(3): 221–226.
- [5] Yoseph Beyene, Anna-Maria Botha, Alexander A Myburg. Genetic diversity among traditional Ethiopian highland maize accessions assessed by simple sequence repeat (SSR) markers[J]. Genetic Resources and Crop Evolution, 2006, 53: 1579–1588.
- [6] 姚启伦, 姚成强. 利用 SSR 分子标记分析三峡库区玉米地方品种的遗传关系[J]. 西南大学学报, 2007, 29(10): 119–123.
- [7] 吴渝生, 郑用琰, 孙 荣, 等. 基于 SSR 标记的云南糯玉米、爆裂玉米地方种质遗传多样性研究[J]. 作物学报, 2004, 30(1): 36–42.
- [8] 张金渝, 张建华, 杨晓洪, 等. 用 SSR 标记划分云南糯玉米地方品种遗传类群的研究[J]. 玉米科学, 2007, 15(1): 53–58.
- [9] 刘 雪. 利用 SSR 标记分析我国 44 个玉米地方品种的遗传多样性[D]. 北京: 中国农业科学院, 2005.
- [10] 吴永升. 广西玉米地方品种和加拿大群体的遗传多样性分析[D]. 南宁: 广西大学, 2006.