

林 峰,梁帅强,周 玲,等. 玉米自交系的遗传多样性分析及杂种优势群划分[J]. 江苏农业科学,2015,43(11):107-109.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.11.031

玉米自交系的遗传多样性分析及杂种优势群划分

林 峰,梁帅强,周 玲,赵 涵

(江苏省农业科学院农业生物技术研究所/江苏省农业生物学重点实验室,江苏南京 210014)

摘要:收集具有丰富遗传多样性的种质资源是玉米育种的前提,通过对资源进行杂种优势群的划分可以显著提高育种效率。本研究利用 135 对 InDel 分布在玉米 10 条染色体上的分子标记引物,系统分析了 491 份玉米自交系的遗传多样性,结果显示标记多态性信息量变化范围为 0.255 ~ 0.678。通过计算遗传相似值(GS),上述材料被划分成 8 个包括 Reid 群、Lancaster 群、四平头群和 PB 群的杂种优势群。本研究结果为组配优良玉米杂交种提供了遗传信息。

关键词:玉米;分子标记;遗传多样性;杂种优势群;遗传相似性;InDel 标记

中图分类号: S513.03 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)11-0107-03

杂种优势是指 2 个遗传组成不同的生物体杂交后的杂种一代在生长势、生活力、抗逆性、产量及品质等方面优于双亲的现象。利用杂种优势获得总体性状优于亲本的杂交种是现代育种的重要手段之一。而杂种优势群集中了大量有利基因,群间自交系杂交时往往可以获得较大的杂种优势。因此,杂种优势群的划分有助于自交系改良和杂交种选配,对杂交育种具有重要意义。

玉米是典型的异交作物,杂种优势明显。玉米中最早的一对杂种优势模式是 Reid × Lancaster,2003 年,Hallauer 提出了 BSSS-Tuxpeno 和 non-BSSS-non-Tuxpeno 两个杂种优势列(Heterotic Alignment)的概念,又称 SS 和 NSS 群^[1],这一模式大大促进了玉米种质的扩增、改良和创新,得到了广泛应用。根据系谱关系和配合力等,王懿波等将我国玉米主要种质划分为五大杂种优势群:改良 Reid、Lancaster、四平头、旅大红骨以及其他杂种优势群^[2]。分子标记的发展为玉米杂种优势群的划分提供了新的工具。利用 RFLP 和 SSR 标记,袁力行等将供试材料划分为四平头、旅大红骨、LSC、BSSS 和 PA 等 5 个类群,划分结果与系谱分析基本一致^[3]。利用 SSR 标

记对玉米自交系进行分析,大多将其划分为 6~8 个杂种优势群^[4-6]。

InDel 标记是新一代共显性遗传标记,具有数量多、扩增产物稳定和易于检测等优点。本研究利用笔者所在研究室开发的 135 个 InDel 标记分析了 491 份玉米自交系的遗传多样性,并进行了杂种优势群划分,以期为这些材料的高效利用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料

所用材料为 491 份玉米自交系,包括 X178、Q319、P138、昌 7-2、黄早四、Mo17、B73、郑 58 等标准测验种。2014 年种植于南京市蔬菜科学研究所试验地,每株系种植 1 行,行长 2 m,行宽 40 cm,每行播种 10 粒。

1.2 玉米 InDel 的发掘与标记开发

根据 Romay 等开发的 SNP 标记^[7],在多态位点附近与玉米 B73 基因组序列(v3)比对,利用 Primer3^[8]设计引物。通过电子 PCR 的策略在 Mo17、B73、郑 58、昌 7-2 间进行模拟 PCR 扩增,进一步通过 cPCR 软件(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/e-per/>)分析标记位点的多态性,模拟中碱基错配值 Mismatch ≤ 3 bp,电子多态性筛选的候选多态性位点即可能存在 1 个 InDel^[9]。利用该引物即可作为 InDel 标记用于该位点的基因型检测。

1.3 基因型检测

将所有自交系单株取样,植物叶片用低温真空干燥仪干

收稿日期:2015-08-24

基金项目:江苏省自然科学基金(编号:BK20141385);江苏省农业科技自主创新资金[编号:CX(13)3060]。

作者简介:林 峰(1978—),男,博士,助理研究员,主要从事遗传育种研究。E-mail:flinlc@hotmail.com。

通信作者:赵 涵,博士,研究员,主要从事作物遗传育种研究。Tel:(025)84390751;E-mail:zhaohan@jaas.ac.cn。

[6]王宜伦,李潮海,王 瑾,等. 缓/控释肥在玉米生产中的应用与展望[J]. 中国农学通报,2009,25(24):254-257.

[7]路海东,薛吉全,马国胜,等. 关中夏玉米不同肥料的施用效应研究[J]. 西北农业学报,2009,18(5):142-145.

[8]卫 丽,马 超,黄晓书,等. 控释肥对土壤全氮含量及夏玉米产量品质的影响[J]. 水土保持学报,2009,23(4):176-179.

[9]赵 霞,刘京宝,王振华,等. 缓控释肥对夏玉米生长及产量的影响[J]. 中国农学通报,2008,24(6):247-249.

[10]王 娜,武文津,游礼胜. 控释肥在玉米上的肥效试验报告[J]. 新疆农业科技,2014,9(1):15-16.

[11]王 萌,郭 强,何秀萍,等. 陕西关中地区夏玉米不同施肥方式效果的比较[J]. 湖北农业科学,2012,51(18):3958-3960.

[12]田红琳,杨 华,许明陆,等. 5 种缓释肥在渝单 8 号玉米上的应用效果[J]. 江苏农业科学,2013,41(9):66-68.

[13]许海涛,王成业,刘 峰,等. 缓控释肥对夏玉米创玉 198 主要生产性状及耕层土壤性状的影响[J]. 河北农业科学,2012,16(10):66-70.

[14]丁 洪,张玉树,陈静蕊,等. 胶粘型控释肥对玉米农艺特性及生理指标的影响[J]. 农业科学与技术,2013,14(6):820-824.

燥后,采用 Karroten 植物基因组 DNA 提取试剂盒抽提 DNA,具体步骤详见试剂盒说明书。DNA 加适量 TE 溶解后,4 ℃ 或 -20 ℃ 贮藏待用。PCR 反应体系为 25 μL,包含 5 pmol 两侧引物,2.5 μL 10 × buffer,1.25 nmol dNTP,1 U *Taq* 聚合酶和 40 ng 模板 DNA。扩增程序为 94 ℃ 预变性 3 min,然后进入扩增循环:94 ℃ 30 s,55 ℃ 或 60 ℃ 30 s,72 ℃ 40 s,35 个循环;72 ℃ 反应 5 min。扩增产物在 2% 琼脂糖凝胶上电泳分离,溴化乙锭显色,凝胶成像仪上观察、照相并记录。

1.4 聚类分析

筛选扩增单一条带的引物对 491 份玉米材料进行检测,比较不同材料里面的带型差异。InDel 标记位点的多态性信息量 (polymorphism information content, PIC) 利用公式 $PIC = 1 - \sum P_i^2$ 计算, P_i 为 i 位点的基因频率。自交系的遗传相似

值 (genetic similarity, GS) 由简单相配系数 (simple matching coefficient, SM) 计算: $GS = m / (m + n)$, m 表示基因型间共有条带的数目, n 表示基因型间有差异的条带数目。利用 Tassel 5.0 软件 (www.maizegenetics.net/tassel), 根据自交系标记遗传相似矩阵,通过 UPGMA (unweighted pair group method) 方法进行遗传距离聚类分析。

2 结果与分析

2.1 InDel 的发掘及多态性分子标记的开发

根据 B73 和 Mo17 的测序信息,共开发 135 对引物,分别位于玉米的 10 条染色体上,平均每条染色体 12.2 个标记 (图 1)。这些标记在 491 份玉米材料中的多态性信息量变化范围为 0.255 ~ 0.678,平均 0.489,其中 ID196 最大, HG20 最小 (表 1)。

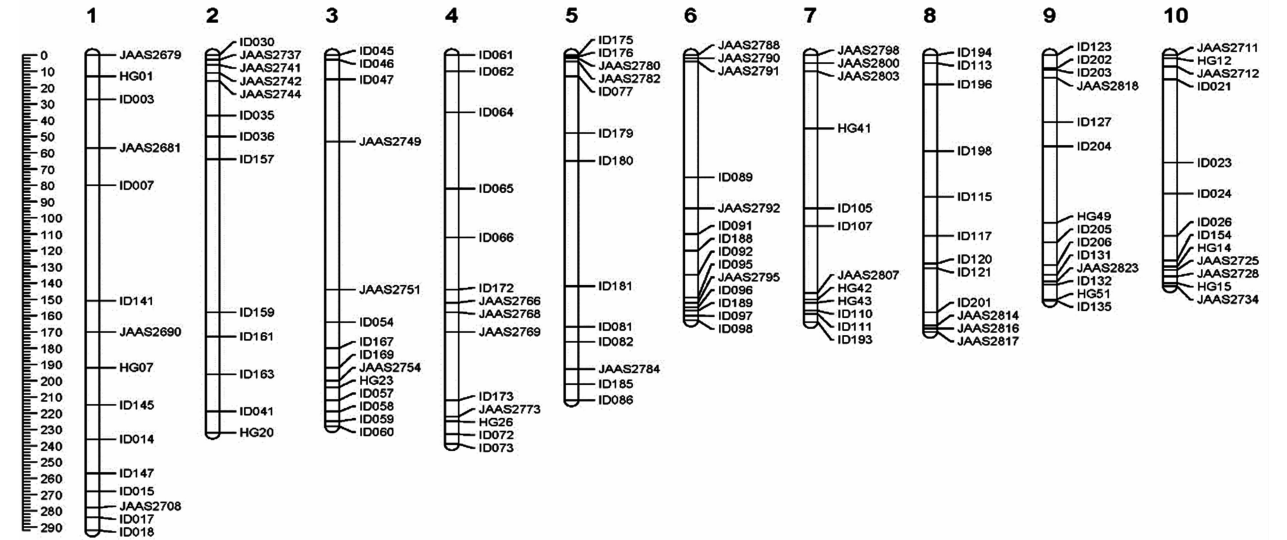


图1 InDel 标记在玉米 10 条染色体上的分布

表 1 135 对 InDel 引物在 491 份玉米材料中检测到的多态性信息含量 (PIC)

| 标记 | PIC | 标记 | PIC | 标记 | PIC | 标记 | PIC | 标记 | PIC | 标记 | PIC | 标记 | PIC |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|----------|-------|----------|-------|
| HG01 | 0.503 | ID017 | 0.656 | ID060 | 0.496 | ID097 | 0.391 | ID141 | 0.482 | ID185 | 0.481 | JAAS2711 | 0.435 |
| HG07 | 0.605 | ID018 | 0.522 | ID061 | 0.498 | ID098 | 0.646 | ID145 | 0.416 | ID188 | 0.437 | JAAS2712 | 0.49 |
| HG12 | 0.378 | ID021 | 0.383 | ID062 | 0.36 | ID105 | 0.473 | ID147 | 0.522 | ID189 | 0.36 | JAAS2725 | 0.487 |
| HG14 | 0.613 | ID023 | 0.446 | ID064 | 0.496 | ID107 | 0.541 | ID154 | 0.365 | ID193 | 0.433 | JAAS2728 | 0.335 |
| HG15 | 0.386 | ID024 | 0.545 | ID065 | 0.485 | ID110 | 0.518 | ID157 | 0.663 | ID194 | 0.658 | JAAS2734 | 0.475 |
| HG20 | 0.255 | ID026 | 0.59 | ID066 | 0.482 | ID111 | 0.378 | ID159 | 0.498 | ID196 | 0.678 | JAAS2737 | 0.494 |
| HG23 | 0.501 | ID030 | 0.499 | ID072 | 0.266 | ID113 | 0.497 | ID161 | 0.635 | ID198 | 0.47 | JAAS2741 | 0.493 |
| HG26 | 0.542 | ID035 | 0.467 | ID073 | 0.502 | ID115 | 0.325 | ID163 | 0.526 | ID201 | 0.496 | JAAS2742 | 0.319 |
| HG41 | 0.341 | ID036 | 0.548 | ID077 | 0.454 | ID117 | 0.487 | ID167 | 0.456 | ID202 | 0.507 | JAAS2744 | 0.439 |
| HG42 | 0.46 | ID041 | 0.534 | ID081 | 0.507 | ID120 | 0.526 | ID169 | 0.503 | ID203 | 0.438 | JAAS2749 | 0.526 |
| HG43 | 0.599 | ID045 | 0.513 | ID082 | 0.529 | ID121 | 0.535 | ID172 | 0.658 | ID204 | 0.54 | JAAS2751 | 0.499 |
| HG49 | 0.554 | ID046 | 0.5 | ID086 | 0.481 | ID121 | 0.541 | ID173 | 0.484 | ID205 | 0.483 | JAAS2754 | 0.464 |
| HG51 | 0.538 | ID047 | 0.443 | ID089 | 0.499 | ID123 | 0.484 | ID175 | 0.503 | ID206 | 0.438 | JAAS2766 | 0.379 |
| ID003 | 0.411 | ID054 | 0.469 | ID091 | 0.466 | ID127 | 0.523 | ID176 | 0.5 | JAAS2679 | 0.477 | JAAS2768 | 0.581 |
| ID007 | 0.546 | ID057 | 0.452 | ID092 | 0.495 | ID131 | 0.499 | ID179 | 0.499 | JAAS2681 | 0.504 | JAAS2769 | 0.414 |
| ID014 | 0.534 | ID058 | 0.495 | ID095 | 0.653 | ID132 | 0.491 | ID180 | 0.494 | JAAS2690 | 0.463 | JAAS2773 | 0.481 |
| ID015 | 0.523 | ID059 | 0.522 | ID096 | 0.589 | ID135 | 0.539 | ID181 | 0.513 | JAAS2708 | 0.435 | JAAS2780 | 0.523 |

2.2 遗传变异分析及聚类分析

使用 135 个 InDel 标记计算 491 份玉米自交系之间的遗传相似系数,其范围在 0.004 ~ 0.967 之间,平均为 0.469。根据 491 份玉米自交系材料的遗传相似系数矩阵,利用

UPGMA 方法对上述材料进行聚类分析,将 491 份材料分为 8 个大群 (图 2)。根据标准测验种所代表的中国玉米生产上主要应用的杂种优势群,在聚类分析划分的群中包括 Reid 群 (B73)、Lancaster 群 (Mo17)、四平头群 (昌 7-2, 黄早四)、PB

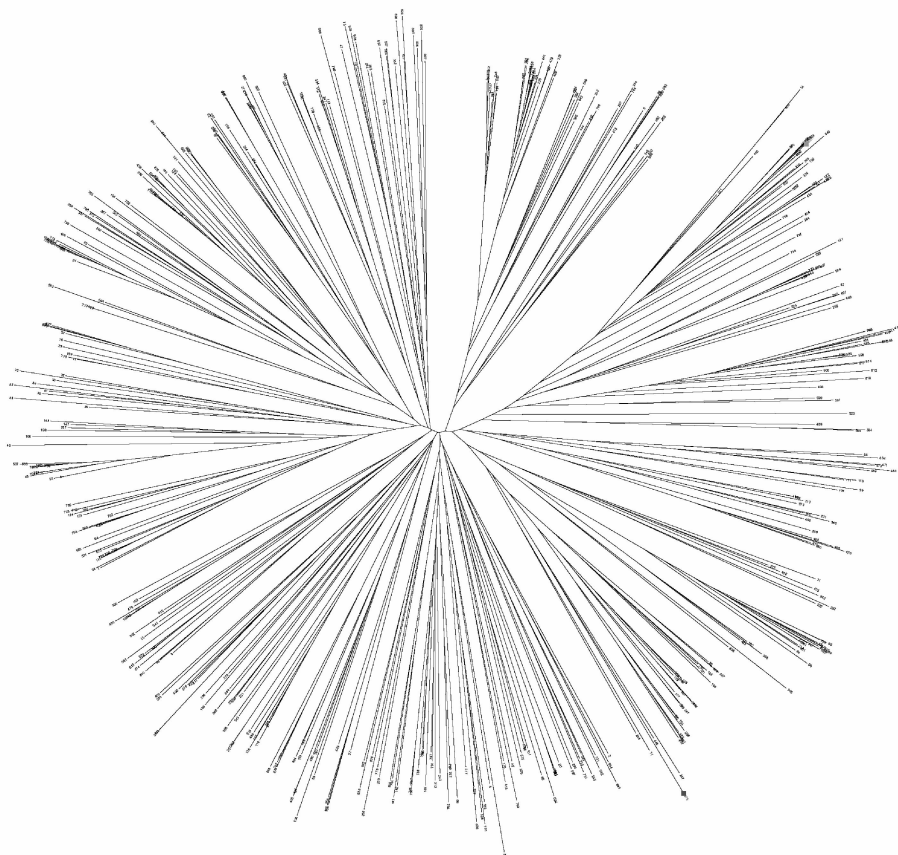


图2 491 份玉米自交系的 UPGMA 聚类结果

群(X178,Q319,P138)。

3 结论与讨论

玉米种质资源是育种的前提,了解其亲缘关系、划分杂种优势群有助于自交系的改良和杂交种选配,能够大大减少育种的盲目性。杂种优势群的划分一般通过系谱法、表型聚类、同工酶以及分子标记等方法。随着分子生物学的迅猛发展,DNA 分子标记技术得到广泛应用。

InDel 标记是指由于核苷酸插入或缺失引起的多态性标记。通过重测序比较发现,玉米不同基因型间存在着大量 InDel 变异。Lai 等分析了 6 个中国玉米优良自交系,估算大约存在 30 178 个 InDel,其中 571 个 InDel 位于功能基因内^[10]。这些变异导致了玉米的多样性,并提供了更多的标记位点。吕远大等利用玉米基因组重测序信息,建立了大规模开发分子标记并对其进行电子多态性筛选的流程^[9]。根据测序信息,笔者共开发出 135 对 InDel 标记引物,这些标记在 491 份玉米材料中的多态性信息量变化范围为 0.255 ~ 0.678,可以用于分析不同玉米材料的遗传多样性。

通过系谱或 SSR 标记分析,我国玉米主要种质可划分为 6~8 个杂种优势群^[2-3]。利用 InDel 分子标记对 491 份材料进行分析后,笔者得到的分群结果与上述结果一致。主要将 491 份材料分为 8 个大群,根据标准测验种所代表的中国玉米生产上主要应用的杂种优势群,笔者在聚类分析划分的群中包括 Reid 群、Lancaster 群、四平头群和 PB 群,以及一些不清楚系谱来源的材料组成的亚群。对于新划入群的材料可以

根据所在杂种优势群进行有选择的交配组合。

参考文献:

- [1] Hallauer A. Introgression of elite subtropical and tropical germplasm with us corn belt germplasm [C]. North Central Regional Corn Breeding Meeting, American, 2003.
- [2] 王懿波,王振华,陆利行,等. 中国玉米种质基础、杂种优势群划分与杂优模式研究[J]. 玉米科学,1998,6(1):9-13,28.
- [3] 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.
- [4] 郑淑云,王守才,刘东占. 利用 SSR 标记划分玉米自交系杂种优势群的研究[J]. 玉米科学,2006,14(5):26-29.
- [5] 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,2003,36(6):622-627.
- [6] 赵旭,方永丰,王汉宁. 玉米 SSR 标记杂优类群划分及群体遗传结构分析[J]. 核农学报,2013,27(12):1828-1838.
- [7] Romay M C, Millard M J, Glaubitz J C, et al. Comprehensive genotyping of the USA National maize inbred seed bank[J]. Genome Biology, 2013,14(6):R55.
- [8] Rozen S, Skaletsky H. Primer3 on the www for general users and for biologist programmers [M]//Bioinformatics methods and protocols. Berlin: Springer, 1999:365-386.
- [9] 吕远大,李坦,石丽,等. 基于全基因组重测序信息开发玉米 H99 自交系特异分子标记[J]. 作物学报,2014,40(2):191-197.
- [10] Lai J S, Li R Q, Xu X, et al. Genome-wide patterns of genetic variation among elite maize inbred lines[J]. Nature Genetics, 2010,42(11):1027-1030.