

# 利用 SSR 分析山西省玉米地方品种的遗传多样性

崔永霞<sup>1</sup>, 张名昌<sup>2</sup>, 白建荣<sup>2,4</sup>, 程宇坤<sup>1</sup>, 张效梅<sup>3,4</sup>, 任 元<sup>3,4</sup>

(<sup>1</sup> 山西大学生物工程学院, 太原 030006; <sup>2</sup> 山西省农业科学院作物科学研究所, 太原, 030031; <sup>3</sup> 山西省农业科学院  
农作物品种资源研究所, 太原 030031; <sup>4</sup> 农业部黄土高原作物基因资源与种质创制重点实验室, 太原 030031)

**摘要:** 采用混合取样方法和 SSR 分子标记技术, 利用 48 对引物对山西省 38 个玉米地方品种的遗传多样性进行了分析。共检测出 368 个等位基因, 每个 SSR 位点的等位基因数为 2~14 个, 平均为 7.48 个; 多态性信息量 (PIC) 变化范围在 0.24~0.89 之间, 平均为 0.66。总共检测出 185 个稀有等位基因, 21 个特有等位基因。SSR 标记聚类分析把 38 个品种大体分成了 4 个群。研究表明, 山西地方品种遗传多样性非常丰富, 很多品种具有频率很高的独特基因, 它们可能具有一定的特异性。因而, 山西玉米地方品种对于拓宽玉米种质的遗传基础可能会起很大的作用。

**关键词:** 山西; 玉米; 地方品种; 遗传多样性; 混合取样; SSR 标记

## Analysis of Genetic Diversity of Maize Landraces in Shanxi by SSR Markers

CUI Yong-xia<sup>1</sup>, ZHANG Ming-chang<sup>2</sup>, BAI Jian-rong<sup>2,4</sup>, CHENG Yu-kun<sup>1</sup>, ZHANG Xiao-mei<sup>3,4</sup>, REN Yuan<sup>3,4</sup>

(<sup>1</sup> College of Bio-engineering, Shanxi University, Taiyuan 030006; <sup>2</sup> Institute of crop Science, Shanxi Academy of  
Agricultural Sciences, Taiyuan 030031; <sup>3</sup> Institute of Crop Germplasm Resources, Shanxi Academy of  
Agricultural Sciences, Taiyuan 030031; <sup>4</sup> Key Laboratory of Crop Gene Resources and Germplasm Enhancement  
on Loess Plateau, Ministry of Agriculture, P. R. China, Taiyuan 030031)

**Abstract:** The genetic diversity of maize landraces in Shanxi was studied based on SSR markers and bulk sampling method. Totally 368 alleles were detected in 38 maize landraces with an average of 7.48 and range of 2~14 per locus. PIC among these cultivars ranged from 0.24 to 0.89. Also, 185 rare alleles and 21 unique alleles were identified. These landraces were clustered into 4 groups. The results suggested that genetic diversity of maize landraces in Shanxi are very rich and they contains many unique alleles that means they have some special characterization. The maize landraces in Shanxi may play a great role in broadening the genetic bases of germplasm in maize.

**Key words:** Shanxi; Maize; Landraces; Genetic diversity; Bulk sampling; SSR marker

玉米是重要的粮食作物之一。杂交种, 特别是单交种的使用和推广使玉米的单产和总产发生了革命性的变化。但是, 长期以来, 高频率使用少数骨干自交系使品种的遗传基础趋于狭窄, 这是目前我国玉米育种水平进展缓慢的瓶颈<sup>[1]</sup>。并且, 经过多年的应用, 这些自交系逐渐退化, 明显存在着因为遗传脆弱性而引起某些病害蔓延、大面积减产的潜在威胁。我国拥有遗传基础丰富的地方品种, 虽然这些

地方品种逐渐退出生产领域, 但它们对地方环境的适应性强、遗传基础丰富、含有许多可被利用的性状 (如抗病、耐旱、适应性强和品质较好等), 是宝贵的种质资源。对地方品种进行有效的整理和分类, 针对性地进行种质扩增、改良与创新研究是拓宽玉米遗传基础的有效途径之一<sup>[2]</sup>。许多研究者已经对玉米地方品种遗传多样性进行了研究。吴永升等<sup>[3]</sup>、姚启伦等<sup>[4]</sup>、王利峰等<sup>[5]</sup>、张金渝等<sup>[6]</sup>利用

收稿日期: 2012-01-17      修回日期: 2012-03-20

基金项目: 山西省留学回国人员科研资助重点项目 (2008 重点 6 号); 山西省农业与社会发展科技攻关项目 (20090311002-7)

作者简介: 崔永霞, 硕士研究生, 研究方向为作物遗传育种。E-mail: cuiyong\_xia@163.com

通讯作者: 张名昌, 硕士, 研究员, 研究方向为作物遗传育种。E-mail: z7121483@126.com

白建荣, 博士, 研究员, 研究方向为植物分子生物学。E-mail: jrbai30@gmail.com

SSR 标记技术分别对来自三峡库区的 15 份玉米地方品种、45 份广西地方玉米品种和 15 份加拿大改良群体、88 份河南省玉米地方品种和 37 份云南糯玉米地方品种的遗传多样性进行分析并划分类群。刘雪<sup>[7]</sup>、段运平等<sup>[8]</sup>采用 SSR 标记分别对国内 5 个省的 44 份玉米地方农家种,27 个国内外玉米群体做了遗传多样性的研究。这些研究结果都表明,分子标记技术,特别是共显性的 SSR 标记具有多态性高、可靠性高、操作简单、快捷等优点,是分析玉米地方农家种的有效方法。

山西省处于我国特殊的地理位置,三分之二的面积为山区,境内有上百条河流,南北差异和垂直差异较大,是华北平原区向西部山地、黄淮海温带作物区向高寒作物区的过渡区域,地形复杂,因而形成了许许多多的生态小气候。玉米是山西省的第一大作物,经过长期的自然选择和人工选择,已经形成了适应不同山西自然和地理环境的遗传丰富的玉米农家

品种。分析和利用山西玉米地方种质资源的遗传多样性,对扩大玉米种质基础,发掘利用新的杂种优势群、杂种优势模式,提高山西及全国的玉米育种水平具有重要作用。

本研究用 SSR 标记对山西的 38 份玉米地方品种进行了遗传多样性分析及类群划分,确定了山西玉米地方品种含有的稀有等位基因和特有等位基因,为育种家有效利用这些种质资源提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

材料分两部分:(1)6 份标准测验种自交系,包括黄早四、丹 340、Mo17、B73、掖 478 和齐 319,分别代表唐四平头群、旅大红骨群、兰卡斯特群、Reid 群、PA 群和 PB 群;(2)38 份在山西省内收集到的玉米农家种,来自山西省农科院品种资源研究所(表 1)。

表 1 试验材料的来源及特点  
Table 1 Maize landraces used in the study

编号 No.	名称 Name	穗型 Ear types	粒色 Kernel color	粒型 Kernel texture	轴色 Corncob color	收集地 Collection sites
1	白玉米	锥形 A	白 W	硬粒 F	白 W	和顺县
2	白土玉米	锥形 A	白 W	硬粒 F	白 W	祁县
3	小头白玉米	锥形 A	白 W	中间 H	红 R	祁县
4	白玉米	锥形 A	白 W	硬粒 F	红 R	寿阳县
5	二玉米	柱形	白 W	硬粒 F	白 W	左权县
6	小白软玉米	锥形 A	白 W	偏硬 F	白 W	祁县
7	白马牙	锥形 A	白 W	硬粒 F	白 W	太谷县
8	白玉米	柱形 C	白 W	硬粒 F	红 R	平遥县
9	小白玉米	锥形 A	白 W	硬粒 F	白 W	太谷县
10	小玉米	柱形 C	白 W	硬粒 F	白 W	平遥县
11	六十日	锥形 A	白 W	硬粒 F	白 W	祁县
12	小白玉米	锥形 A	白 W	硬粒 F	白 W	祁县
13	小玉米	锥形 A	白 W	硬粒 F	白 W	太谷县
14	白马牙	柱形 C	白 W	硬粒 F	白 W	平遥县
15	小白玉米	锥形 A	白 W	硬粒 F	白 W	平遥县
16	大玉米	柱形 C	白 W	硬粒 F	白 W	平遥县
17	白洋玉米	锥形 A	白 W	硬粒 F	白 W	祁县
18	白马牙	柱形 C	白 W	硬粒 F	白 W	祁县
19	白土玉米	锥形 A	黄 Y	糯质 Wx	红 R	屯留县

续表

编号 No.	名称 Name	穗型 Ear types	粒色 Kernel color	粒型 Kernel texture	轴色 Corncob color	收集地 Collection sites
20	小玉茭	锥形 A	白 W	硬粒 F	白 W	屯留县
21	白玉米	锥形 A	白 W	硬粒 F	白 W	屯留县
22	白马牙	柱形 C	白 W	马齿 D	白 W	安泽县
23	白土玉米	锥形 A	白 W	硬粒 F	白 W	沁源县
24	白马牙	锥形 A	白 W	硬粒 F	白 W	沁源县
25	一百一玉米	锥形 A	白 W	粉质 K	白 W	临汾县
26	小白玉米	锥形 A	白 W	硬粒 F	白 W	隰县
27	小玉米	锥形 A	白 W	硬粒 F	白 W	隰县
28	白玉麦	柱形 C	白 W	中间 H	白 W	大宁县
29	白马牙	柱形 C	白 W	马齿 D	白 W	大宁县
30	小白玉米	锥形 A	白 W	硬粒 F	白 W	吉县
31	红玉米	柱形 C	黄 Y	硬粒 F	红 R	吉县
32	五月鲜	锥形 A	黄 Y	硬粒 F	红 R	安泽县
33	二黄糙	锥形 A	黄 Y	硬粒 F	白 W	大宁县
34	黄玉米	锥形 A	黄 Y	硬粒 F	白 W	隰县
35	金棒锤	锥形 A	黄 Y	硬粒 F	红 R	吉县
36	紫黄后	锥形 A	黄 Y	马齿 D	白 W	吉县
37	竹叶青	锥形 A	桔黄 Y	硬粒 F	红 R	大宁县
38	小黄玉米	锥形 A	黄 Y	马齿 D	红 R	隰县

F、D、H、Wx 和 K 分别表示玉米子粒型为硬粒、马齿、中间、糯质和粉质;W、R 和 Y 分别表示白色、红色和黄色。A 和 C 分别表示锥形和柱形  
F,D,H,Wx,and K stand for the kernel texture is flint,dent,medium,waxy and powder in kernel texture,respectively. W,R,and Y stand for the white,red and yellow color,respectively. A and C stand for awl and column,respectively

1.2 SSR 标记的引物

采用建立国家玉米品种指纹库的 20 对标准引物(引物 1-20)作为基本核心引物<sup>[9]</sup>,按照扩增条带清晰、多态性强、扩增带型稳定和在染色体上均匀分布的原则筛选出来的 20 对引物(引物 21-40)为辅助核心引物,另外增加 8 对较好的引物(引物 41-48),引物信息见表 2。

1.3 SSR 分析

依照刘雪等<sup>[10]</sup>的方法混合提取群体 DNA,每个群体 4 个样本,每个样本由 10 个单株(随机取样)的叶片混合而成。采用 CTAB 法提取并纯化 DNA,用分光光度计检测 DNA 的质量和浓度,DNA 的工作浓度定为 20 ng/μl 备用。

扩增反应在 MJ 公司的 PT100 扩增仪上进行。PCR 反应总体系为 20μl,其中 1 × PCR Buffer,

25mmol/L Mg<sup>2+</sup> 2μl,5mmol/L dNTPs 0.1μl,10μmol/L SSR 引物 1μl,Taq DNA 聚合酶 0.5U,DNA 模板 80ng。PCR 反应过程为 95℃ 预变性 5min,1 个循环;94℃ 变性 1min,55℃ 复性 30s,72℃ 延伸 1min,共 35 个循环;最后于 72℃ 延伸 10min。

用 6% 聚丙烯酰胺变性凝胶进行扩增产物的电泳分析,恒定功率 60W。凝胶通过固定、水洗、银染、显影等步骤完成染色并室温干燥。在白炽灯下观察电泳结果,进行数据统计和扫描照相。

1.4 数据处理

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 Nei 和 Li 的公式计算各材料间的遗传相似系数 GS( genetic similarity) 和遗传距离 GD

表 2 48 对 SSR 引物信息

Table 2 Basic information of the primer of the 48 pairs

编号	SSR 位点	位置	等位基因数	稀有等位基因数	特有等位基因数	多态性信息量
No.	SSR locus	Bin	No. of alleles	No. of rare alleles	No. of unique alleles	PIC
1	bnlg439	1. 03	7	3	0	0. 78
2	bnlg2331	1. 11	10	6	0	0. 87
3	umc2007	2. 04	7	3	1	0. 77
4	mmc0191	2. 07	12	6	2	0. 85
5	umc2105	3. 00	11	6	0	0. 89
6	bnlg1496	3. 09	8	3	0	0. 85
7	phi072	4. 00	11	7	1	0. 86
8	bnlg2291	4. 06	12	7	2	0. 87
9	umc1705	5. 03	8	4	0	0. 81
10	umc1225	5. 08	9	5	0	0. 85
11	bnlg161	6. 00	13	9	0	0. 89
12	phi299852	6. 07	16	12	0	0. 89
13	bnlg1792	7. 02	7	3	0	0. 82
14	phi116	7. 06	4	1	0	0. 68
15	umc1741	8. 03	9	4	0	0. 83
16	phi080	8. 08	12	8	1	0. 88
17	phi065	9. 03	11	8	0	0. 84
18	bnlg1191	9. 07	10	5	1	0. 85
19	umc2163	10. 04	6	2	0	0. 78
20	bnlg1450	10. 07	13	7	2	0. 88
21	phi109275	1. 03	6	3	0	0. 78
22	phi120	1. 11	4	0	0	0. 69
23	phi402893	2. 00	8	5	0	0. 74
24	umc1065	2. 06	5	2	0	0. 79
25	nc030	3. 04	5	3	0	0. 68
26	phi102228	3. 06	4	2	0	0. 68
27	phi074	4. 04	3	0	0	0. 53
28	phi076	4. 11	5	3	0	0. 66
29	phi109188	5. 03	7	4	2	0. 6
30	phi085	5. 06	3	0	0	0. 66
31	phi126	6. 00	14	7	1	0. 87
32	umc1018	6. 01	5	1	1	0. 71
33	umc1066	7. 01	14	11	0	0. 87
34	phi328175	7. 04	15	9	2	0. 89
35	umc1414	8. 01	5	0	1	0. 75
36	phi015	8. 08	7	3	0	0. 79
37	umc1279	9. 00	11	7	2	0. 85
38	bnlg128	9. 07	8	7	0	0. 85
39	phi063	10. 02	6	3	0	0. 78
40	umc1196	10. 07	6	1	1	0. 64
41	umc1335	1. 06 ~ 1. 07	4	1	1	0. 63
42	bnlg1940	2. 08	2	0	0	0. 33
43	bnlg2305	5. 07	7	3	0	0. 76
44	umc1545	7. 00	5	1	0	0. 76
45	umc1125	7. 04	4	0	0	0. 73
46	bnlg240	8. 06	3	0	0	0. 65
47	umc1492	9. 04	2	0	0	0. 65
48	umc1506	10. 05	4	0	0	0. 24
合计 Total			368	185	21	
平均 Mean			7. 5			0. 76

(genetic distance),  $GS = 2N_{ij}/(N_i + N_j)$ ,  $GD = 1 - GS$ , 其中  $N_{ij}$  为第  $i$  个材料和第  $j$  个材料基因型间共有的条带数;  $N_i$  和  $N_j$  分别为第  $i$  个材料和第  $j$  个材料各自的特有条带数, 多态性信息量  $PIC = 1 - \sum f_i^2$ , 其中  $f_i$  为  $i$  位点的基因频率(由于混合取样无法准确计算基因频率, 这里假设每个引物对同一样本扩增出的多态性条带频率是相等的)。然后按 UPGMA 方法对各材料进行聚类作图, 数据处理由 NTSYS - pc2.1 软件完成。

特有基因是指在标准种质中没有且只有 1 个供试农家种有的等位基因; 稀有基因是指在标准种质中没有但有 2 个以上供试农家种有的等位基因。

2 结果与分析

2.1 SSR 标记分析

本研究用 48 对 SSR 引物对 38 份山西玉米地方品种的 152 份 DNA 混合样品进行扩增。由表 1 可以看出, 本研究所选用的覆盖玉米全基因组的 48 对

SSR 引物在所有的供试材料中都有多态性, 共检测出 368 个等位基因, 每对引物检测出的等位基因为 2~14 个, 平均每个位点 7.5 个。共检测出稀有等位基因 185 个, 特有等位基因 21 个。PIC 变化范围为 0.24~0.90, 平均为 0.76。

试验中每个品种采用每 10 株混合叶片提取的 DNA 的 4 个样本, 可以防止一些稀有和特有等位基因的丢失, 即使丢失可能只会发生在一些频率很低的基因。如图 1 的第 7 号材料, 如果只采用 4 个样本中的第 1 个样本, 有可能把 7 号材料的第 2 个等位基因丢掉; 又如 9 号材料, 第 3 个样本只检测到了 1 个等位基因, 而其他 3 个样本都是检测到了 2 个等位基因, 如果在取样时刚好取到了第 3 个样本, 就会造成 9 号材料的另一个等位基因的丢失。由此表明 10 个单株是不能完全覆盖整个玉米基因组遗传信息的, 如果取得的是单个混合样本, 也许就丢掉了育种需要的宝贵的等位基因, 也不能够准确的揭示山西省地方品种的遗传多样性。

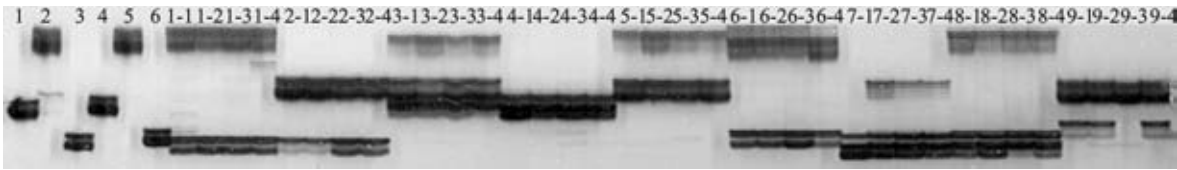


图 1 引物 13(bnlg1792) 在部分品种中的扩增图谱

Fig.1 Profile of the amplified products of some landraces with primer 13(bnlg1792)

泳道 1-6: 黄早四、丹 340、Mo17、B73、掖 478 和齐 319; 1-1、1-2、1-3 和 1-4: 1 号材料的 4 个样本  
1-6: Huangzao 4, Dan 340, Mo17, B73, Ye 478, and Qi 319; 1-1, 1-2, 1-3, and 1-4: 4 bulks of OPV1

2.2 38 份玉米地方品种中检测到的稀有和特有等位基因数目

用 48 对 SSR 引物对 38 份地方品种的样品进行扩增, 在所有的 38 份样品中都检测到稀有等位基因, 更值得注意的是在一些品种中还检测到一些特有等位基因。总共检测出 185 个稀有等位基因, 占全部等位基因的 50.3%; 21 个特有等位基因, 占全部等位基因的 5.7%(表 3)。其中, 来自屯留县的 20 号材料小玉茭检测出 59 个稀有等位基因, 居所有材料的首位; 来自祁县的 11 号材料六十日, 检测出 47 个稀有等位基因, 3 个特有等位基因, 3 个特有等位基因分别位于 7、29 和 37 号引物上; 来自祁县的 12 号材料小白玉米检测出 31 个稀有等位基因和 3 个特有等位基因, 第 1 个位于 3 号引物上, 第 2 个和第 3 个位于第 4 号引物上。说明这些材料具有高度的品种特异性, 可能蕴涵有独特的优良基因, 能够

成为今后玉米育种的新基因资源, 对拓宽种质遗传基础具有潜在的价值。

2.3 聚类分析

根据遗传相似系数矩阵, 按照 UPGMA 进行聚类分析, 得到 152 个混合样本 SSR 分析聚类图(图 2)。再由 152 个混合样本的遗传相似系数矩阵计算出 38 个品种之间成对品种的平均遗传相似系数矩阵, 得到 38 个品种的树状聚类图(图 3)。

比较图 2 与图 3 可以看出, 图 2 与图 3 完全吻合, 38 个品种的聚类结果基本上是图 2 中 152 个样本聚类结果的缩影。这是由于图 2 内 38 个品种中的 4 个混合样本都紧密地聚在一起, 说明同一群体内的每个样本与另外 3 个样本间的遗传差异比其他群体的样本间的遗传差异都要小得多。虽然每个样本是 10 个单株叶片的混合 DNA, 但并不意味着群体内的遗传变异不丰富。即使 1 个材料的 4 个混



表 3 38 份玉米地方品种中检测到的稀有基因数和特有基因数

Table 3 Number of rare alleles and unique alleles of 38 maize landraces

序号 No.	名称 Name	稀有等位基因数 No. of rare alleles	特有等位基因数 No. of unique alleles	序号 No.	名称 Name	稀有等位基因数 No. of rare alleles	特有等位基因数 No. of unique alleles
1	和顺白玉米	41	2	20	屯留小玉茭	59	0
2	祁县白土玉米	41	2	21	屯留白玉米	41	0
3	祁县小头白玉米	47	0	22	安泽白马牙	36	0
4	寿阳白玉米	42	0	23	沁源白土玉米	50	0
5	左权二玉米	33	0	24	沁源白马牙	48	0
6	祁县小白软玉米	43	0	25	临汾一百一玉米	44	0
7	太谷白马牙	35	0	26	隰县小白玉米	27	0
8	平遥白玉米	43	1	27	隰县小玉米	30	0
9	太谷小白玉米	36	2	28	大宁白玉麦	27	0
10	平遥小玉米	36	1	29	大宁白马牙	37	0
11	祁县六十日	47	3	30	吉县小白玉米	43	0
12	祁县小白玉米	31	3	31	吉县红玉米	47	0
13	太谷小玉米	38	0	32	安泽五月鲜	44	0
14	平遥白马牙	41	2	33	大宁二黄糙	32	0
15	平遥小白玉米	42	2	34	隰县黄玉米	35	1
16	平遥大玉米	44	0	35	吉县金棒锤	28	0
17	祁县白洋玉米	43	0	36	吉县紫黄后	31	0
18	祁县白马牙	42	1	37	大宁竹叶青	31	1
19	屯留白土玉米	44	0	38	隰县小黄玉米	36	0

合样本都聚在了一起,然而还是有差别的,这种遗传上的差距在图 2 上是很容易看到的,而在图 3 上是无法看到的,这也再次证明了 4 个混合样本分析的必要性和科学性。说明用成对品种的平均遗传相似系数矩阵对其按照 UPGMA 进行聚类可以准确地反映品种之间的遗传关系。

依据图 3 在相似系数大约 0.682 处可以把 38 份山西省玉米地方品种划分为四大群。第Ⅰ类群分为 2 个亚类,祁县的六十日单独成 1 个亚类,其他 12 个品种成 1 个亚类。他们的来源都是晋中市,其中包括祁县、太谷县、平遥县、寿阳县、和顺县、左权县。第Ⅱ类有 13 个农家种,全部来源于临汾地区汾河西部的吕梁山区,包括隰县、大宁县、安泽县、吉县。第Ⅲ类群也分为 2 个亚类,第 1 个亚类包括平遥白马牙、平遥大玉米、平遥小白玉米、祁县白马牙、

屯留小玉茭和屯留白土玉米;第 2 亚类包括屯留白玉米、安泽白马牙、沁源白马牙和临汾一百一玉米。第Ⅳ类的 2 个农家种来源于太行山区的上党地区的沁县和沁源县。综合分析 38 份山西农家种的聚类结果,可以初步认为具有特异等位基因的玉米地方品种,如和顺白玉米、祁县六十日、太谷小白玉米、平遥白马牙、隰县黄玉米等有可能作为山西省的核心种质的标志,在一定程度上代表了山西地方品种的分子指纹特征。

### 3 讨论

#### 3.1 利用 SSR 标记分析遗传多样性时的玉米群体取样策略

玉米是一种异花授粉作物,地方品种和育种群体中的个体间存在一定程度的差异,即在一个群体

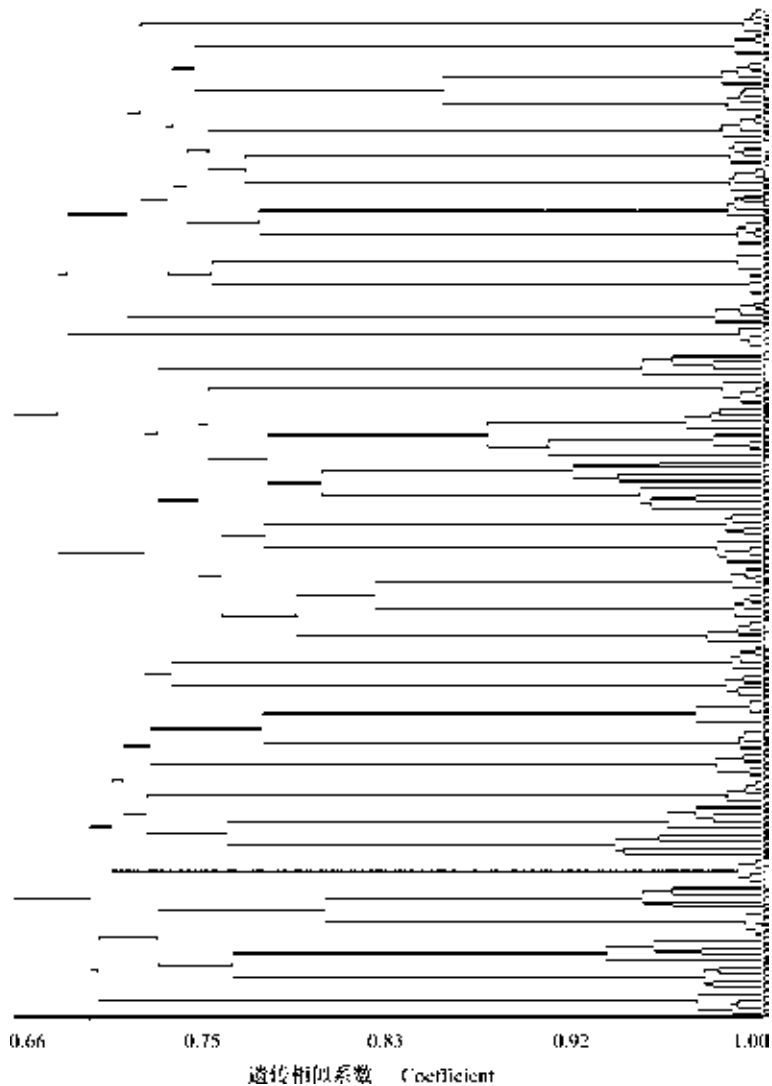


图 2 48 对引物对 38 份材料 152 个样本的 SSR 聚类结果

Fig. 2 UPGMA dendrogram constructed from the pairwise matrix of simple match among 152 samples of 38 landraces

中某遗传位点在不同个体间非常可能存在等位基因的变异。一个群体至少取多少株可以基本包含这个群体的遗传信息,是很多研究者必须考虑的问题。在 20 世纪 70 年代,等位酶技术是研究群体内和群体间遗传变异广泛使用的技术,通常的做法是在每个群体内取 15~40 个个体来分析群体内的变异大小<sup>[11]</sup>。Marshall 等<sup>[12]</sup>认为在 1 个群体中选取 59 个或者更多的不相关配子就足够有 95% 的概率检测到群体中基因频率大于 5% 的等位基因。利用分子标记检测大量单株的遗传变异,可以最大程度地反映群体的遗传基础。黎裕等<sup>[13]</sup>建议,在不知道单个群体的遗传变异大小的情况下,可以随机抽取 30 个个体利用分子标记(如 SSR 标记)进行分子检测,从而评估所有实验群体的遗传多样性的总体情况,并且找到那些存在于特殊群体中的稀有或特殊等位

基因。

利用 SSR 标记单株取样分析开放授粉玉米地方品种的遗传变异,不仅可以反映地方品种中等位基因数、基因频率、基因型杂合度等遗传结构信息,而且可以检测到群体内频率极低的处于杂合状态的稀有等位基因,有利于对群体进行较全面的遗传分析。然而,在对群体进行大规模遗传多样性分析时,单株取样将耗费大量的人力、物力、财力,这极大地限制了利用 SSR 标记研究群体的遗传变异。因此,混合取样作为有效的应对措施得到了很多研究者的支持<sup>[14-15]</sup>。但是,混合 DNA 样本包含的单株数目的增多意味着每一株 DNA 含量的减少,因而导致电泳带型的清晰度减弱,分辨率也随之降低。黎裕等<sup>[13]</sup>认为,可以由 3 个随机选取的 10 个左右个体组成的混样来代表一个群体,或用 2 个随机选取

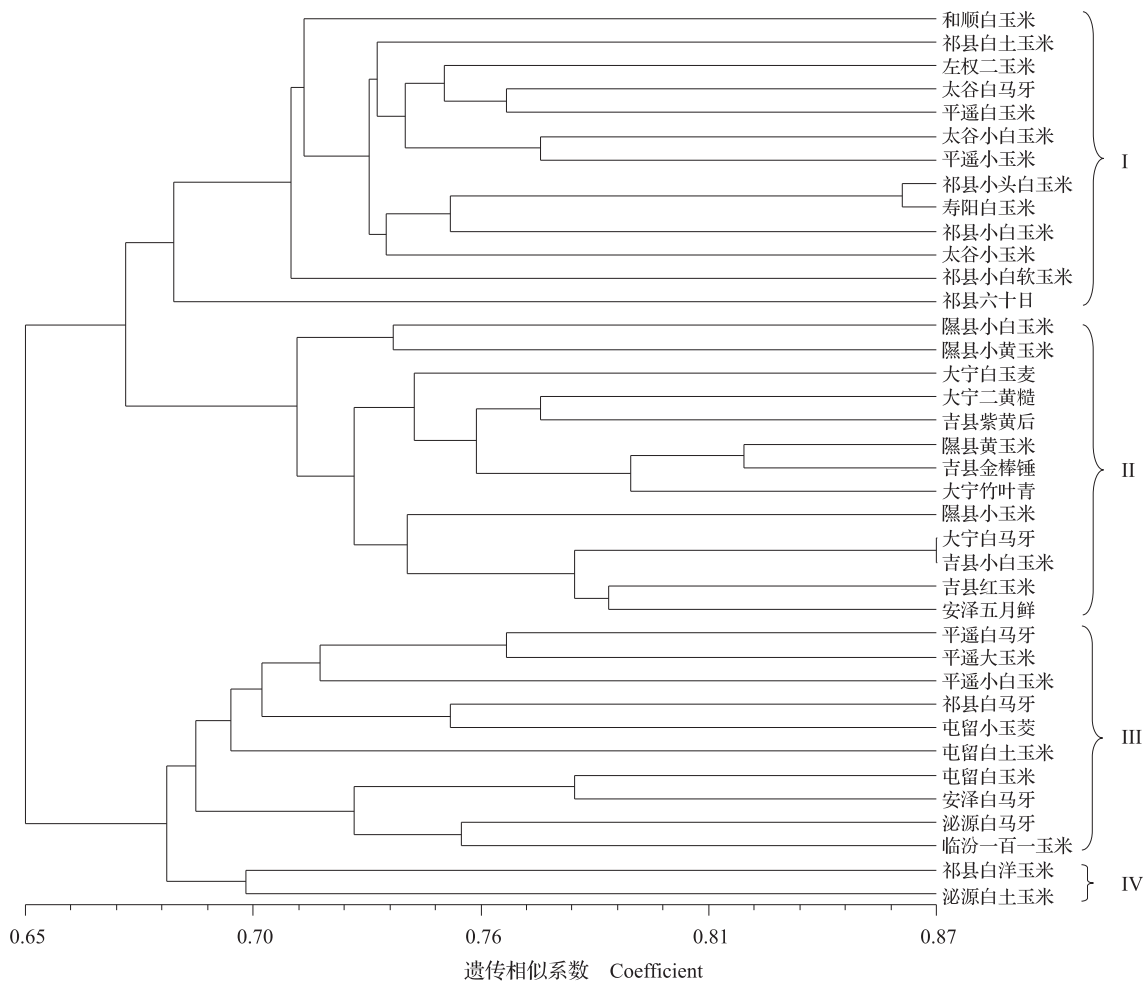


图3 48 对引物对 38 份山西省玉米地方品种的 SSR 聚类结果  
Fig.3 UPGMA dendrogram constructed from the pairwise matrix of 38 maize landraces

的 15 个个体组成的混样来代表一个群体。根据刘雪等<sup>[10]</sup>的研究,单株 DNA 与 5 株和 10 株混合叶片 DNA 样本扩增所获得的等位基因数目显著相关,而与 15 株和 20 株混合叶片 DNA 样本扩增所获得的等位基因数目的相关性则明显下降。

考虑到上述因素,本试验采用 10 株叶片混合提取的 4 个 DNA 样本代替同等数目的单株 DNA 进行群体遗传变异分析。这样不仅防止一些稀有和特有基因的丢失,而且节省了人力、物力和时间。

3.2 关于从不同材料检测到的稀有和特有等位基因数目的探讨

刘雪<sup>[7]</sup>将 70 对 SSR 引物在 44 个地方品种中检测到的等位基因数目与在 12 个标准自交系中检测到的等位基因进行比较,发现在每个群体中都有 一些在标准自交系中未能检测到的稀有等位基因,在陕西省的白乌龙早群体中发现的稀有等位基因数最多(16 个)。本研究应用 SSR 技术分析山西省 38

份玉米地方品种时发现,在每个材料上都检测到很多稀有等位基因(27 ~ 59 个),共检测出 185 个稀有等位基因;在 12 个材料中检测到特有等位基因,共检测出 21 个特有等位基因。说明山西地方品种遗传多样性非常丰富,很多品种具有频率很高的独特基因,它们可能具有一定的特异性,对于拓宽种质的遗传基础可能会起很大的作用,应引起育种家的高度重视。有效地利用这些群体,将有助于种质扩增、改良与创新,建立新的杂种优势配对模式。但这些独特的等位基因出现的频率和性质都还很不清楚,而本试验由于采用混合取样方法提取 DNA,不能对群体内的等位基因频率进行估计。因此,首先应对目标群体利用单株取样方法分析这些独特的等位基因的频率及目标株,然后确定这些材料的利用价值和策略。

3.3 同一个材料不同来源的比较

本研究中有 一些材料,名称相同,但来源不同,



如白玉米、白土玉米、白马牙、小白玉米等。来自和顺县、平遥县、寿阳县的白玉米聚在了第Ⅰ类群中,但来自于屯留县的白玉米却聚在了第Ⅳ类群中。平遥的白玉米与寿阳、平顺的白玉米的遗传相似系数分别为 0.74、0.71,寿阳的白玉米与和顺的白玉米遗传相似系数为 0.73,说明这 4 个白玉米遗传异质性比较高,遗传差距大,虽然叫法相同,但是它们是 4 个品种。来自于祁县、屯留县、沁源县的白土玉米分别聚在了 3 个不同的类群里,说明它们遗传距离较远,这 3 个白土玉米不是一个材料。来自太谷县的白马牙聚在了第Ⅰ类群中,来自大宁县的白马牙聚在了第Ⅱ类群中,来自平遥县、祁县、安泽县和沁源县的白马牙聚在了第Ⅲ类群中;又如小玉米,来自太谷县和祁县的小白玉米聚在了第Ⅰ类群中,来自隰县和吉县的小白玉米聚在了第Ⅱ类群中,来自平遥县的小白玉米聚在第Ⅲ类群中;再如小玉米,来自平遥县和太谷县的小玉米聚在了第Ⅰ类群中,来自隰县的小玉米单独聚在了第Ⅱ类群中,造成上述这种遗传差距的原因有多种,有可能是相同的白马牙在当初进入某一个地方后,为了适应当地的环境,在经过了几十年的选择之后,淘汰了不适应当地环境的自身的某些基因;也有可能是自身的基因发生突变,产生了能够适应当地环境的优异基因,最终导致了同一个材料但来源地不同的品种的遗传差异。这说明,地方品种仅从征集处得来的信息往往不可靠,有必要对其进行遗传分析,为这些种质资源的利用奠定基础。

## 参考文献

- [1] 孟义江,严建兵,滕文涛,等. 1999-2001 年中国主要玉米杂交种遗传基础的变化趋势及三大种质类群在育种中的应用[J]. 中国农业科学,2010,43(4):670-679
- [2] 张世煌,彭泽斌,李新海. 玉米杂种优势和种质扩增、改良和创新[J]. 中国农业科学,2000,33(S):34-39
- [3] 吴永升,李明顺,李新海,等. 广西地方玉米种质和加拿大群体的遗传多样性分析[J]. 中国农业科学,2008,41(3):890-900
- [4] 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
- [5] 王利锋,李会勇,唐保军,等. 利用表型和 SSR 标记分析河南省玉米地方品种的遗传多样性[J]. 中国农业科学,2009,42(4):1136-1144
- [6] 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
- [7] 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
- [8] 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
- [9] 王风格,赵久然,戴景瑞,等. 玉米通用 SSR 核心引物筛选及高通量多重 PCR 复合扩增体系建立[J]. 科学通报,2006,51(23):2738-2746
- [10] 刘雪,李明顺,李新海,等. 利用 SSR 标记分析玉米群体遗传变异的取样方法[J]. 作物学报,2005,31(7):858-863
- [11] Lu H, Li J S, Liu J L, et al. Allozyme polymorphisms of maize populations from southwestern China [J]. Theor Appl Genet, 2002,104:119-126
- [12] Marshall D R, Brown A H D. Optimum sampling strategies in genetic conservation[R]//Frankel O H, Hawkes J G ed. Crop Genetic Resources for Today and Tomorrow. Cambridge, England: Cambridge Univ Press, 1975:53-80
- [13] 黎裕,王天宇,田松杰,等. 利用分子标记分析遗传多样性时的玉米群体取样策略研究[J]. 植物遗传资源学报,2003,4(4):314-317
- [14] Rebourg C, Dubreuil P, Charcosset A. Genetic diversity among maize populations: bulk RFLP analysis of 65 accessions [J]. Maydica, 1999,44:237-249
- [15] Dubreuil P, Rebourg C, Merlino M, et al. Evaluation of a DNA pool-sampling strategy for estimating the RFLP diversity of maize populations[J]. Plant Mol Biol Rep, 1999,17:123-138

## 欢迎订阅 2013 年《花生学报》

《花生学报》是由山东省花生研究所主办的我国花生学科唯一的专业学术刊物,为全国农业核心期刊。国内外公开发行,季刊,国内统一刊号:CN 37-1366/S,国际标准刊号:ISSN 1002-4093。主要刊登花生遗传育种、栽培生理、土壤肥料、植物保护、贮藏加工、综合利用及分析测试等方面的试验研究报告、技术与方法、专题综述及研究简报等。读者主要是科研、教学、生产推广部门的各级领导干部、科技人员、院校师生以及花生产区的种植者等。

《花生学报》1972 年创刊,季刊,48 页,每期定价 5.00 元,全年定价 20.00 元。《花生学报》由本刊编辑部自办征订和发行,欢迎读者订阅。另外,本刊参加了全国非邮发报刊联合征订,请读者向天津市大寺泉集北里别墅 17 号(邮编 300381)全国非邮发报刊联合征订服务部直接汇款订阅,不必先索取定单,本刊负责将刊物寄给订户。也可直接向本刊订阅,由邮局汇款到青岛市李沧区万年泉路 126 号山东省花生研究所《花生学报》编辑部。

地址:(266100)青岛市李沧区万年泉路 126 号山东省花生研究所《花生学报》编辑部

电话:0532-87632131 传真:0532-87626832

E-mail:hsxb@163169.net