糯玉米种质品质性状鉴定和 SSR 标记遗传多样性分析

王 慧¹, 卢有林¹, 孙大鹏¹, 杨 华², 罗利军², 吴爱忠¹, 施 标¹, 郑洪建¹ (¹上海市农业科学院作物育种栽培研究所, 上海 201106; ²上海市农业生物基因中心, 上海 201106)

摘要:对165 份来源不同的糯玉米农家品种和自交系的穗粒性状和淀粉品质性状进行了鉴定,并利用60 对SSR 标记进行了遗传多样性分析。结果表明,165 份糯玉米种质穗长、秃顶长、行数、行粒数和穗粗变异较大,粗淀粉含量、支链淀粉含量和淀粉糊化特性 RVA 特征谱带值各指标变异丰富。60 对SSR 引物在165 份材料间共检测到281 个等位基因,PCR 扩增片段大小介于90~690 bp,每对引物检测到2~9 个等位基因,平均为4.68 个;每对SSR 引物的多态性信息量(PIC) 在0.332~0.860之间,平均为0.6924。利用 UPGMA 聚类分析方法将供试种质分为3类,划分结果基本符合品系的来源情况,生产应用的多数糯玉米自交系材料与我国西南地区糯玉米地方品种材料具有较远的亲缘关系。165 份糯玉米种质具有丰富的遗传多样性,可为糯玉米杂交利用和遗传改良提供基础。

关键词: 糯玉米: 品质性状: SSR: 遗传多样性

Evaluation of Quality Traits and Genetic Diversity Analysis for Waxy Maize Germplasms by SSR Markers

WANG Hui¹, LU You-lin¹, SUN Da-peng¹, YANG Hua², LUO Li-jun², WU Ai-zhong¹, SHI Biao¹, ZHENG Hong-jian¹

(¹Crop Breeding and Cultivation Research Institute, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201106;

²Shanghai Agrobiological Gene Center, Shanghai 201106)

Abstract: A set of 165 accessions of Chinese waxy maize including landraces and self-bred lines were analyzed for ear traits and starch properties and for the genetic diversity with SSR markers. The results revealed a wide range of genetic diversity for ear and starch quality traits in the Chinese waxy maize germplasm. Among the 165 accessions, a total of 281 alleles were identified at the 60 tested SSR loci with a range of 2 to 9 alleles per marker and the size of PCR amplification products ranged from 90 bp to 690 bp. The average number of alleles per marker across genotypes was 4.68. The allelic polymorphism information content (*PIC*) values ranged from 0.332 to 0.860, with an average of 0.6924. The UPGMA analysis classfied the 165 germplasms into three groups, which was generally consistent with their known pedigrees and breeding histories. The results indicated that most of the modern waxy inbred lines had a distant relationship with the southwest Chinese waxy maize landraces, where the region was regarded as the origin of Chinese waxy maize. The rich genetic diversity in these 165 accessions revealed in this study could provide genetic basis for waxy maize genetic improvement and the utilization of heterosis.

Key words: waxy maize; quality trait; SSR; genetic diversity

收稿日期:2013-01-10 修回日期:2013-01-29 网络出版日期:2013-08-13

URL: http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S. 20130813.0925.002.html

基金项目:中国博士后科学基金(20090450716);上海市博后基金(09R21421100);上海市科委基金项目(11391901004、10410703700、13JC1405000、13PJD027、13540721902);作物生物学国家重点实验室开放课题(2011KF13);上海市农业科学院院青年基金[农青年科技 2011(01)]

第一作者研究方向为玉米遗传育种工作。E-mail:wanghui19840109@163.com

通信作者:施标,研究方向为作物遗传育种。E-mail:wsc@ saas. sh. cn

郑洪建,研究方向为玉米遗传育种工作。E-mail:hjzh6188@163.com

糯玉米(Zea mays L. ceratina Kulesh)是普通玉米发生基因突变而形成的一种特殊玉米类型,营养丰富,有很高的经济价值^[1-3]。我国人民素有喜食粘食的习惯,糯玉米在中国有悠久的种植历史^[1]。进入21世纪以来,我国鲜食糯玉米生产飞跃发展,糯玉米已成为我国广大地区特别是东南沿海发达地区广大民众消费的重要果蔬品种^[2-5]。

我国糯玉米种质资源极为丰富,西南地区是糯玉米的遗传多样性中心和起源中心^[1,6]。黄玉碧等^[1]研究表明,我国西南地区糯玉米农艺性状、品质性状具有丰富的遗传多样性。虽然我国可利用的地方品种资源很多,但由于大多数农家品种农艺性状较差,难以直接利用糯质自然授粉品种成功选育一环糯质系^[7]。近30年来,我国玉米育种家通过各种育种方法和技术手段,创制了大量糯玉米选系基础材料和优良自交系,丰富了我国糯玉米种质资源,拓宽了糯玉米的遗传基础,研究这些种质的遗传多样性,对促进我国糯玉米的杂种优势利用和遗传改良具有重要的意义^[7-10]。然而,当前生产应用的糯玉米优良自交系多数来源于杂交种或中间群体,很多材料无系谱可查,致使亲缘关系不清楚,无法利用系谱追踪法研究其遗传多样性^[11-12]。

近年来,分子标记技术在玉米种质的遗传多样性研究中越来越受重视^[13]。RFLP 标记首先被用于玉米自交系的遗传多样性研究^[14-15],随后 RAPD 和AFLP 标记技术也相继被应用^[16-20]。目前,SSR 标记因具有多态性高、可靠性好、共显性和操作简单等优点被广泛应用于玉米遗传多样性研究^[11-12,21-29]。本研究在对我国糯玉米农家品种和自交系穗部性状和淀粉品质性状鉴定分析的基础上,利用 SSR 分子标记对其进行了遗传多样性分析,旨在为我国糯玉米杂种优势利用和遗传改良提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料与试验设计

试验材料为 165 份来源不同的糯玉米种质,包括 16 份糯玉米农家品种和 149 份引进或最新育成的自交系(表 1)。

田间种植试验于 2009 年在上海市农业科学院 青浦白鹤试验基地进行。每份材料种植 20 株,2 行区,行距 0.60 m,株距 0.25 m,重复 2 次。试验地地面平整,地力均匀,排灌方便。底肥施复合肥750 kg/hm²,苗肥施尿素 150 kg/hm²,穗肥施尿素300 kg/hm²。

表 1 糯玉米种质材料编号及其来源

Table 1 Pedigree of waxy maize germplasm used in the study

编号	名称	支链淀粉	类型	原产地	供种单位	编号	名称	支链淀粉	类型	原产地	供种单位
No.	Name	含量(%)AC	Type	Origin	Seed source	No.	Name	含量(%)AC	Type	Origin	Seed source
SMV011	白粳玉米	97. 29	LR	上海	SAGC	SWL089	SN1220	99. 83	SL	山东	SDAU
SMV012	黄糯玉米	98. 57	LR	上海	SAGC	SWL094	SN1243	99. 00	SL	山东	SDAU
SMV017	粳白大玉米	98. 22	LR	上海	SAGC	SWL097	SN1255	97. 40	SL	山东	SDAU
CMV048	黄色粘包米	99. 08	LR	吉林	CAAS	SWL102	SN1301	99. 33	SL	山东	SDAU
CMV050	板桥黄糯	98. 30	LR	贵州	CAAS	SWL103	SN1319	99. 20	SL	山东	SDAU
CMV052	朝阳白糯	97. 62	LR	贵州	CAAS	SWL104	SN1328	99. 48	SL	山东	SDAU
CMV053	金角白糯	99. 43	LR	云南	CAAS	SWL105	SN1330	97. 39	SL	山东	SDAU
CMV056	糯包谷	99. 07	LR	云南	CAAS	SWL107	SN1332	97. 97	SL	山东	SDAU
CMV059	矮糯包谷	97. 46	LR	云南	CAAS	SWL108	SN1336	98. 15	SL	山东	SDAU
CMV062	白糯玉米	98. 76	LR	云南	CAAS	SWL109	SN1338	96. 92	SL	山东	SDAU
CMV067	保山白糯	98. 52	LR	云南	CAAS	SWL110	SN1345	98. 39	SL	山东	SDAU
CMV069	黄糯包谷	99. 26	LR	云南	CAAS	SWL111	SN1359	98. 01	SL	山东	SDAU
CMV074	本地糯包谷	95. 45	LR	云南	CAAS	SWL112	SN1361	98. 03	SL	山东	SDAU
CMV078	糯玉米	99. 51	LR	云南	CAAS	SWL113	SN1362	99. 58	SL	山东	SDAU
CMV079	紫黑糯	99. 62	LR	云南	CAAS	SWL114	SN1363	97. 89	SL	山东	SDAU
CMV080	糯包谷2	96. 79	LR	陕西	CAAS	SWL115	SN1368	97. 92	SL	山东	SDAU
SWL083	SN745	98. 52	SL	山东	SDAU	SWL118	HN118	98. 86	SL	贵州	SAAS
SWL087	SN1211	98. 84	SL	山东	SDAU	SWL120	HN120	98. 50	SL	山东	SAAS
SWL088	SN1219	98. 25	SL	山东	SDAU	SWL121	HN121	96. 06	SL	山东	SAAS

表1(续)

 编号			类型	原产地	供种单位	编号			类型	原产地	 供种单位
No.	Name	含量(%)AC	天空 Type	Origin	Seed source	No.	Name	含量(%)AC	Type	Origin	Seed source
SWL122	HN122	98. 98	SL	 山东	SAAS	SWL218	HN218	98. 11	SL	 福建	SAAS
SWL124	HN124	98. 02	SL	山东	SAAS	SWL220	HN220	98. 00	SL	福建	SAAS
SWL124 SWL125	HN125	97. 23	SL	上海	SAAS	SWL221	HN221	98. 12	SL	浙江	SAAS
SWL125	HN126	97. 29	SL	浙江	SAAS	SWL222	HN222	98. 54	SL	浙江	SAAS
			SL								
SWL127	HN127	99. 04		上海	SAAS	SWL223	HN223	98. 58	SL	浙江	SAAS
SWL129	HN129	97. 91	SL	山东	SAAS	SWL224	HN224	97. 71	SL	浙江	SAAS
SWL130	HN130	98. 55	SL	上海	SAAS	SWL226	HN226	98. 68	SL	上海	SAAS
SWL131	HN131	99. 84	SL	山东	SAAS	SWL230	HN230	98. 31	SL	上海	SAAS
SWL132	GN1	98. 38	SL	广东	SCAU	SWL231	HN231	98. 05	SL	上海	SAAS
SWL133	HN133	98. 14	SL	山东	SAAS	SWL239	HN239	98. 39	SL	上海	SAAS
SWL134	GN2	98. 49	SL	广东	SCAU	SWL244	HN244	98. 59	SL	上海	SAAS
SWL135	烟白粘	98. 43	SL	山东	YSAI	SWL248	HN248	98. 84	SL	上海	SAAS
SWL138	烟黄粘	98. 86	SL	山东	YSAI	SWL252	HN252	98. 53	SL	山东	SAAS
SWL161	HN161	99. 11	SL	山东	SAAS	SWL253	HN253	97. 92	SL	上海	SAAS
SWL162	HN162	98. 66	SL	山东	SAAS	SWL257	HN257	98. 32	SL	吉林	SAAS
SWL163	HN163	98. 15	SL	上海	SAAS	SWL258	HN258	97. 86	SL	上海	SAAS
SWL164	HN164	98. 44	SL	上海	SAAS	SWL261	HN261	97. 96	SL	山东	SAAS
SWL165	HN165	98. 82	SL	北京	SAAS	SWL262	HN262	97. 92	SL	上海	SAAS
SWL166	HN166	97. 85	SL	江苏	SAAS	SWL263	HN263	97. 84	SL	黑龙江	SAAS
SWL167	HN167	97. 66	SL	上海	SAAS	SWL264	HN264	97. 82	SL	山东	SAAS
SWL169	HN169	97. 97	SL	贵州	SAAS	SWL265	HN265	97. 96	SL	山东	SAAS
SWL170	HN170	99. 38	SL	贵州	SAAS	SWL269	HN269	98. 35	SL	上海	SAAS
SWL171	HN171	99. 81	SL	贵州	SAAS	SWL271	HN271	97. 57	SL	上海	SAAS
SWL172	HN172	98. 53	SL	上海	SAAS	SWL272	HN272	97. 68	SL	上海	SAAS
SWL174	HN174	97. 95	SL	上海	SAAS	SWL273	HN273	97. 80	SL	上海	SAAS
SWL175	HN175	98. 27	SL	上海	SAAS	SWL274	HN274	98. 67	SL	山东	SAAS
SWL176	HN176	97. 99	SL	山东	SAAS	SWL275	HN275	97. 96	SL	山东	SAAS
SWL177	HN177	98. 46	SL	山东	SAAS	SWL276	HN276	99. 60	SL	北京	SAAS
SWL178	HN178	98. 73	SL	山东	SAAS	SWL277	HN277	98. 51	SL	北京	SAAS
SWL179	HN179	98. 36	SL	山东	SAAS	SWL278	HN278	98. 26	SL	江苏	SAAS
SWL180	HN180	98. 20	SL	山东	SAAS	SWL282	HN282	97. 70	SL	山东	SAAS
SWL182	HN182	99. 12	SL	湖北	SAAS	SWL283	HN283	97. 90	SL	上海	SAAS
SWL183	HN183	98.00	SL	山东	SAAS	SWL284	HN284	99. 07	SL	上海	SAAS
SWL188	HN188	98. 85	SL	上海	SAAS	SWL285	HN285	98. 44	SL	上海	SAAS
SWL190	HN190	98. 29	SL	上海	SAAS	SWL286	HN286	98. 34	SL	上海	SAAS
SWL193	HN193	98. 76	SL	上海	SAAS	SWL287	HN287	98. 15	SL	上海	SAAS
SWL194	HN194	97. 55	SL	上海	SAAS	SWL290	HN290	98. 16	SL	上海	SAAS
SWL196	HN196	98. 58	SL	上海	SAAS	SWL294	HN294	98. 42	SL	上海	SAAS
SWL197	HN197	98. 75	SL	山东	SAAS	SWL296	HN296	97. 87	SL	山东	SAAS
SWL198	HN198	97. 80	SL	上海	SAAS	SWL304	HN304	98. 37	SL	山东	SAAS
SWL200	HN200	98. 15	SL	上海	SAAS	SWL310	HN310	99. 10	SL	上海	SAAS
SWL201	HN201	98. 58	SL	上海	SAAS	SWL312	HN312	97. 71	SL	上海	SAAS
SWL202	HN202	97. 83	SL	上海	SAAS	SWL324	HN324	98. 34	SL	上海	SAAS
SWL205	HN205	96. 65	SL	上海	SAAS	SWL325	HN325	98. 56	SL	山东	SAAS
SWL210	HN210	96. 86	SL	福建	SAAS	SWL326	HN326	97. 90	SL	上海	SAAS
SWL212	HN212	97. 93	SL	安徽	SAAS	SWL328	HN328	96. 66	SL	上海	SAAS
SWL213	HN213	98. 28	SL	江苏	SAAS	SWL329	HN329	98. 84	SL	上海	SAAS
SWL214	HN214	98. 67	SL	江苏	SAAS	SWL333	HN333	99. 21	SL	上海	SAAS
SWL215	HN215	98. 65	SL	江苏	SAAS	SWL334	HN334	98. 61	SL	上海	SAAS
SWL216	HN216	99. 00	SL	江苏	SAAS	SWL335	HN335	99. 37	SL	上海	SAAS
∪ W L∠10	1111/2/10	22. UU	ЭL	仁小	SAAS	OWESS	1111333	J7. J1	ЭL	上1母	SAAS

表 1(渓)	表:	1 (4	卖)
---------	----	-------	----

编号	名称	支链淀粉	类型	原产地	供种单位	编号	名称	支链淀粉	类型	原产地	供种单位
No.	Name	含量(%)AC	Type	Origin	Seed source	No.	Name	含量(%)AC	Type	Origin	Seed source
SWL336	HN336	98. 53	SL	山东	SAAS	SWL367	HN367	98. 25	SL	河南	SAAS
SWL337	HN337	98. 60	SL	上海	SAAS	SWL368	HN368	98. 24	SL	北京	SAAS
SWL339	HN339	99. 60	SL	上海	SAAS	SWL370	HN370	99. 57	SL	上海	SAAS
SWL340	HN340	98. 70	SL	黑龙江	SAAS	SWL371	HN371	99. 44	SL	上海	SAAS
SWL342	HN342	98. 77	SL	山东	SAAS	SWL376	HN376	98. 56	SL	河南	SAAS
SWL343	HN343	98. 58	SL	上海	SAAS	SWL377	HN377	98. 19	SL	河南	SAAS
SWL345	HN345	99. 18	SL	上海	SAAS	SWL378	HN378	98. 63	SL	上海	SAAS
SWL348	HN348	98. 82	SL	上海	SAAS	SWL379	HN379	99. 17	SL	山东	SAAS
SWL349	HN349	98. 66	SL	北京	SAAS	SWL380	HN380	98. 35	SL	黑龙江	SAAS
SWL351	HN351	98. 44	SL	山东	SAAS	SWL381	HN381	98. 36	SL	辽宁	SAAS
SWL352	HN352	99. 43	SL	北京	SAAS	SWL384	HN384	99. 14	SL	山东	SAAS
SWL359	HN359	98. 46	SL	江苏	SAAS	SWL385	HN385	99. 07	SL	上海	SAAS
SWL362	HN362	98. 68	SL	上海	SAAS	SWL386	HN386	97. 96	SL	上海	SAAS
SWL364	HN364	97. 86	SL	北京	SAAS						

AC:支链淀粉含量;LR:地方种;SL:自交系;CAAS:中国农业科学院国家种质库;SAGC:上海市农业生物基因中心;SDAU:山东农业大学;SCAU:华南农业大学;YASI:烟台农科院;SAAS:上海市农业科学院

AC: Amylopectin content, LR: Landrace, SL: Self-bred line, CAAS: Chinese Academy of Agricultural Sciences, SAGC: Shanghai Agrobiological Gene Center, SDAU: Shandong Agricultural University, SCAU: South Chinese Agricultural University, YASI: Yantai Agricultural Sciences Institute, SAAS: Shanghai Academy of Agricultural Sciences

1.2 穗部性状测定

乳熟期随机连续取样 10 穗鲜果穗进行穗部性 状测量。穗长为穗基部至穗顶端长度;穗粗为果穗 中间的直径;秃尖长为果穗顶端不结实部分的长度; 穗行数为果穗中部的子粒行数;行粒数为每穗对称 数 2 行再除以 2。

1.3 淀粉品质性状测定

淀粉的分离:及时收获玉米果穗,脱粒晒干,贮存 30 d后,参照陆大雷等^[30]的方法分离淀粉,略加改进。粗淀粉含量的测定采用旋光法^[31];直链淀粉含量的测定采用碘蓝比色法^[32],支链淀粉含量 = (粗淀粉含量 - 直链淀粉含量)/粗淀粉含量;淀粉糊化特性的测定采用澳大利亚 Newport Scientific 公司生产的 RVA(rapid visco analyzer, model 3D),并用TCW(thermal cycle for windows)配套软件分析^[33],参照 Y. H. Chang 等^[34]的方法进行。

1.4 糯玉米种质材料的 SSR 分析

- 1.4.1 基因组 DNA 的制备 每份种质材料随机 选取 3 个单株,从每个单株剪取幼嫩叶片(去除中脉)剪碎混合用于 DNA 的制备。采用 CTAB 法提取 DNA。
- 1.4.2 SSR 引物序列 在玉米基因组上选取 115 对多态性较好的 SSR 标记,标记信息来自于 MaizeG-

DB 玉米基因组数据库(http://www.maizegdb.org),由上海生工生物工程技术服务有限公司合成。

1.4.3 SSR 分析 SSR 反应基本按照 B. J. Bassam 等^[17] 的方法并加以改进, PCR 扩增 30 个循环, 4 ℃保存, SSR 产物用 6.0% 聚丙烯酰胺凝胶电泳, 80 W 恒功率下约 2 h, 凝胶经银染后室温下风干观察并记载带型。

计算引物多态性信息量(PIC, polymorphism information content)。按公式 $PIC = 1 - \sum P_i^2$ 计算标记位点的多态性信息含量(遗传多样性指数),就某一特定引物对扩增出片段而言, P_i 为第 i 个等位基因(Allele)的频率。

用 NTSYS-pc(Version 2. 10)软件计算自交系间简单匹配系数 $S_{ij} = 2N_{ij}/(N_i + N_j)$,其中 N_{ij} 为 2 个种质共有的谱带数, N_i 和 N_j 分别为第 i 和第 j 个种质各自的谱带数,通过软件中的 SIMQUAL 程序计算相似系数,并获得相似系数矩阵,再用其中的 SAHN 程序和 UPGMA 方法进行聚类分析,最后通过 Tree plot 程序生成聚类图。

2 结果与分析

2.1 果穗性状和淀粉品质性状分析

鲜食糯玉米对商品性状有较高的要求,果穗外

观性状是育种考核的重要指标。由表 2 可见,糯玉米种质的穗长、秃顶长、穗行数、行粒数和穗粗均表现较大差异,其中秃顶长的变异系数最大,为77.39%,该性状变异幅度为 0~5 cm,说明供试材料的秃尖变异最为丰富,鲜食糯玉米品种要求秃尖尽可能地短,无秃尖的品种最好,所以在基础材料选

择、亲本选育上要尽量选择秃尖短或无秃尖的材料。 供试种质的其他果穗性状变异系数和变异幅度也较 大,说明供试糯玉米种质的果穗性状变异丰富。鲜 食糯玉米要求果穗形态美观,行列整齐,穗长适中, 供试材料丰富的变异可为鲜食糯玉米育种提供丰富 的种质资源。

表 2 糯玉米种质材料的果穗性状表现

Table 2 Ear traits performance of waxy maize germplasm

性状	均值	标准差	变异系数(%)	最大值	最小值
Traits	Mean	SD	CV	Max.	Min.
穗长(cm)Ear length	10. 75	2. 22	20. 62	17. 40	6. 25
秃顶长(cm)Bare tip length	0. 89	0.69	77. 39	5. 00	0
穗行数(行)Ear rows	12. 86	1.96	15. 27	18. 50	6.00
行粒数(粒)Row grains	17. 15	4. 85	28. 27	30. 50	6. 50
穗粗(cm)Ear diameter	3. 58	0.38	10. 50	4. 48	2. 40

淀粉是玉米子粒的主要成分,糯玉米育种实际 上是玉米碳水化合物品质育种。由表3可见,供试 种质淀粉品质性状中的谷值黏度变异系数较大,峰 值黏度、崩解值、终值黏度、回复值的变异系数较大, 粗淀粉含量、峰值时间、糊化温度的变异系数较小。 供试材料中支链淀粉含量变异系数最小,变异幅度为 95.45%~99.84%,均大于 95%,表现为糯质类型。其他性状变异系数和变异幅度较大,说明供试材料淀粉品质存在较大差异,可作为糯玉米品质改良重要的种质资源。

表 3 糯玉米种质材料的品质性状表现

Table 3 Quality character performance of waxy maize germplasm

性状	均值	标准差	变异系数(%)	最大值	最小值
Traits	Mean	SD	CV	Max.	Min.
粗淀粉含量(%)Crude starch content	62. 74	3. 37	5. 38	69. 73	51. 42
支链淀粉含量(%)Amylopectin content	98. 38	0. 65	0. 66	99. 84	95. 45
峰值黏度(RVU)PV	82. 90	32. 52	39. 23	147. 08	- 56. 54
谷值黏度(RVU)TV	3. 89	13. 72	352. 42	31. 25	-57. 13
崩解值(RVU)BD	78. 73	20. 07	25. 50	117. 83	0. 58
终值黏度(RVU)FV	17. 77	17. 34	97. 54	44. 58	- 56. 59
回复值(RVU)SB	13. 88	6. 33	45. 60	37. 33	0. 54
峰值时间(min)PeT	4. 25	0. 21	5. 03	5. 27	2. 14
糊化温度(℃)PaT	82. 23	3. 53	4. 29	88. 80	41. 13

PV:峰值黏度; TV:谷值黏度; BD:崩解值; FV:终值黏度; SB:回复值; PeT:峰值时间; PaT:糊化温度

PV: Peak viscosity, TV: Trough viscosity, BD: Breakdown, FV: Final viscosity, SB: Setback, PeT: Peak time, PaT: Pasting temperature

2.2 遗传多样性的 SSR 分析

2.2.1 遗传变异分析 利用选取的 115 对 SSR 标记,对 165 份糯玉米种质进行多态性分析,筛选出扩增带型稳定、多态性丰富、重复性较好的 60 对引物,扩增结果见表 4。60 对引物在 165 份材料间共检测到 281 个差异片段(等位基因变异),PCR 扩增片段大小介于 90~690 bp 之间。每对引物检测到 2~9个等位基因,平均为 4.68 个;每对 SSR 引物的多态性信息量(PIC)在 0.332~0.860之间,平均为

0.6924,其中引物 umc1845 的 *PIC* 值最大,达到 0.860,引物 umc1936 的 *PIC* 值最小,为 0.332。在 1~10 染色体上分别检测到 10、9、7、4、3、4、8、3、8、4 个位点,每条染色体上分别检测出 40、43、43、19、16、19、32、17、37、15 个等位基因,每条染色体上总 *PIC* 值分别为 6.961、6.396、5.441、2.961、2.203、2.747、4.992、2.115、5.106、2.625,第 1、2 和 3 染色体差异片段较多,*PIC* 值也较大。以上结果表明我 国糯玉米种质具有丰富的遗传多样性。

表 4 60 对 SSR 引物在 165 份种质间的多态性

Table 4 Polymorphic analysis of 60 SSR primers in 165 germplasms

序号 No.	引物名称 Primer name	染色体 位置 Bin	等位 基因数 No. of alleles	多态性 信息量(%) <i>PIC</i>	片段大小 (bp) Size	序号 No.	引物名称 Primer name	染色体 位置 Bin	等位 基因数 No. of alleles	多态性 信息量(%) <i>PIC</i>	片段大小 (bp) Size
1	bnlg439	1. 03	4	71. 0	205 ~ 240	33	umc1153	5. 09	5	68. 3	105 ~ 120
2	umc1397	1.03	4	65.6	225 ~ 270	34	phi126	6.00	8	79. 3	140 ~ 185
3	umc1479	1.03	5	75. 0	380 ~560	35	umc1857	6.04	5	73.6	140 ~ 360
4	umc1598	1.03	5	75. 0	90 ~ 300	36	mmc0241	6.05	4	71.8	160 ~ 207
5	umc2390	1.04	4	73. 2	125 ~ 190	37	umc1795	6.05	2	50.0	300 ~ 310
6	umc1515	1.05	4	72. 7	205 ~ 380	38	umc1241	7.00	3	50.0	300 ~ 375
7	ume2237	1.07	4	69. 7	230 ~ 260	39	phi112	7. 01	3	50. 4	135 ~ 160
8	umc1706	1.07	3	64. 1	500 ~690	40	umc1339	7. 02	5	77. 1	120 ~ 240
9	umc1446	1.08	3	66. 3	340 ~430	41	umc1936	7. 03	2	33. 2	200 ~ 290
10	phi011	1.09	4	63. 5	190 ~ 230	42	phi328175	7. 04	4	68. 1	100 ~ 125
11	umc2246	2.00	3	62. 6	240 ~ 315	43	umc1768	7.04	3	60.8	140 ~ 250
12	umc1261	2.02	4	73. 3	155 ~ 240	44	ume2333	7.05	6	76. 6	180 ~ 330
13	umc1845	2.03	8	86. 0	135 ~ 365	45	phi116	7.06	6	83.0	150 ~ 440
14	bnlg381	2.04	7	83.8	175 ~ 250	46	bnlg2181	8.00	8	80. 7	195 ~ 225
15	umc1026	2.04	4	67. 0	125 ~ 245	47	phi080	8.08	6	78. 2	140 ~ 165
16	umc2252	2.05	6	77. 1	135 ~ 375	48	umc1663	8.09	3	52. 6	350 ~ 375
17	umc1156	2.06	3	65.6	115 ~ 175	49	umc1867	9.01	3	54. 4	230 ~ 260
18	umc2085	2.08	4	61. 1	355 ~450	50	bnlg244	9. 02	8	81.6	130 ~ 210
19	umc1551	2.09	4	63. 1	150 ~ 170	51	umc1636	9.02	6	82. 3	175 ~ 530
20	umc2101	3.00	4	70. 7	140 ~ 165	52	umc1267	9.04	4	70. 6	115 ~ 230
21	umc2255	3.00	6	82. 3	145 ~ 250	53	umc1654	9.05	3	52. 6	150 ~ 235
22	umc2071	3.01	9	75. 2	140 ~400	54	umc2345	9.06	9	81. 9	110 ~ 340
23	bnlg197	3.06	6	81.0	100 ~ 125	55	umc1505	9.07	2	46. 6	430 ~ 445
24	umc1286	3.07	6	73.4	225 ~ 248	56	umc1277	9.08	2	40.6	140 ~ 143
25	umc1844	3.08	6	78. 9	130 ~ 250	57	umc1380	10.00	3	56. 4	147 ~ 155
26	umc2048	3. 10	6	82. 6	115 ~ 270	58	umc1319	10.01	4	70. 9	120 ~ 225
27	phi072	4. 01	4	69. 4	145 ~ 160	59	umc1196	10.07	4	70. 3	135 ~ 155
28	umc1276	4. 01	6	83. 1	90 ~ 195	60	umc2021	10.07	4	64. 9	220 ~ 250
29	umc1791	4. 05	4	74. 6	140 ~ 335	合计7	Γotal		281		
30	bnlg2162	4. 08	5	69. 0	135 ~ 175	均值	Mean		4. 68	69. 24	
31	umc1705	5. 03	5	74. 2	125 ~ 145	范围]	Range		2~9	33. 2 ~ 86. 0	90 ~690
32	umc1355	5. 03	6	77. 8	140 ~ 340						

2.2.2 聚类分析 依据 60 对 SSR 引物在 165 份糯 玉米种质材料上扩增出的 281 个等位基因变异,计算所有材料之间的遗传距离(遗传相似系数),165 份材料之间遗传相似系数变化范围为 0.33 ~ 0.98。根据遗传相似系数矩阵,再进行 UPGMA 聚类分析,在遗传相似系数 0.35 处,将所有种质材料分为 3 个类群,即类群 I、Ⅱ 和Ⅲ(图 1)。将聚类结果与材料的原有类群信息综合分析发现,划分结果基本符合品系的来源情况。第 I 类群包含 44 份种质材料,其中地方品种 14 份、自交系 30 份,在遗传相似系数 0.37 处将第 I 类群分为 A、B 2 个亚群,B 亚群主要是从山东引进的糯玉米自交系,A 亚群则主要是来

自我国西南云贵川地区的糯玉米地方种。第Ⅱ类群有63份种质材料,主要是从我国长江中下游地区的种质中选育或引进的糯玉米自交系。第Ⅲ类群有58份种质材料,主要是从我国北方地区的种质中选育或引进的糯玉米自交系。目前生产中应用的糯玉米材料主要来自类群Ⅱ、Ⅲ和类群Ⅰ中的B亚群,主要包括我国北方地区和长江中下游地区的种质材料,而来自第Ⅰ类群中A亚群的西南地区材料在糯玉米杂交育种上应用的并不多,较难分离出优良自交系,说明我国西南地区云贵川等地糯玉米地方品种与生产上的大部分糯玉米具有较远的亲缘关系。

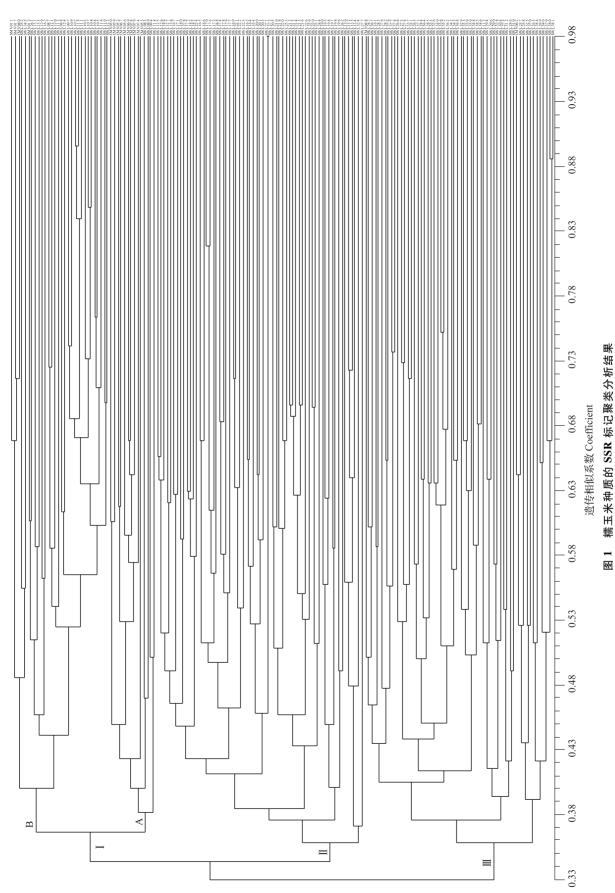


Fig. 1 Dendrogram of 165 waxy maize germplasm based on SSR markers

3 讨论

种质资源是选育优良糯玉米品种的物质基础, 搜集原始材料、拓宽种质基础、开展种质鉴定与科学 评价在糯玉米品种改良中始终占有重要地位[35-36]。 鲜食型糯玉米以新鲜果穗直接上市、整穗速冻或罐 藏加工,对果穗的外观品质要求较高,尤其秃尖要尽 可能地短,无秃尖的品种最好[37]。穗长也是鲜食型 玉米的重要指标之一,但是对穗长的要求还没有统 一的标准。事实上南方和北方之间及不同人群的喜 好不尽相同。就目前来看,北方较喜欢高产大穗品 种,而南方更注重品质,中等果穗品种更受欢迎[37]。 淀粉是糯玉米的主要成分,国际上淀粉品质的定量评 价主要采用快速黏度分析(RVA),RVA 特征谱带值 反映了淀粉的糊化特性,糯玉米淀粉的糊化特性不仅 影响淀粉蒸煮加热的时间和稳定性,而且影响水分的 吸收[38-39]。本研究选用的糯玉米种质材料果穗性状 和淀粉的糊化特性 RVA 特征谱带值变异丰富. 为我 国糯玉米品质改良提供了丰富的遗传基础。

分析糯玉米种质资源的遗传多样性,对拓宽玉 米种质基础、发掘利用新的杂种优势群和杂种优势 模式、调整育种目标、制定更加合理的育种策略、提 高玉米育种水平具有重要作用。目前,分子标记技 术在玉米种质的遗传多样性研究中越来越受到重 视,尤其是SSR标记,因具有多态性高、可靠性好、 共显性和操作简单等优点被广泛应用于玉米遗传多 样性研究[40-41]。田孟良等[24]以贵州和云南的9个 糯玉米地方品种和5个普通玉米地方品种为材料, 用79 对SSR 引物共检测出330 个等位变异,平均 每个位点上的等位基因变异数为 4.18。杨勇等[42] 利用 SSR 标记研究了 30 份中国主要糯玉米自交系 的遗传变异,用21对引物检测出101个等位基因变 异,每对引物检测等位基因2~10个,平均4.81个, 平均多态性信息量为0.60。刘丽君等[11]利用88对 SSR 引物对江苏沿江地区糯玉米种质的遗传多样讲 行了研究, 共检测到 350 个等位基因变异, 每对引物 检测出2~9个,平均为3.98个,平均多态性信息量 值为0.520。与以往研究相比,本研究中选用60对 引物在165份糯玉米种质中检测到2~9个等位基 因,平均为 4.68 个,平均多态性信息量为 0.6924, 说明本试验所选用的种质材料遗传多样性较高,总 体遗传基础十分丰富。本研究通过 UPGMA 聚类分 析方法将供试种质分为3个类群,目前生产应用的 糯玉米材料主要来自类群 Ⅱ、Ⅲ和类群 Ⅰ 中的 B 亚

群,主要包括我国北方地区和长江中下游地区的种质材料,而来自第 I 类群的西南地区材料在糯玉米杂交育种上应用的并不多,较难分离出优良自交系。说明我国西南地区云贵川等地的糯玉米地方品种,与我国生产上应用的多数糯玉米自交系具有较远的亲缘关系,如何发掘和利用我国西南地区的糯玉米种质,从我国丰富的糯玉米地方品种资源尤其是西南地区材料中引入优良等位基因是现代糯玉米育种品质改良需要深入研究的课题。

参考文献

- [1] 黄玉碧,荣廷昭. 我国糯玉米种质资源的遗传多样性和起源 进化[J]. 作物杂志,1998(SI):77-80
- [2] 杨华,王玉兰,张保明,等.鲜食与爆裂玉米育种和栽培[M]. 北京:中国农业科学技术出版社,2008
- [3] 李艳茹,吉士东,郑大浩.糯玉米的营养价值和发展前景[J]. 延边大学农学学报,2003,25(2):145-148
- [4] 彭泽斌,田志国. 我国糯玉米产业现状与发展战略[J]. 玉米科学,2004,12(3);116-118
- [5] 刘正,王波,谷业理,等. 糯质玉米的利用价值[J]. 安徽农业技术师范学院学报,1994,8(1);22-26
- [6] 刘纪麟. 玉米育种学[M]. 北京:中国农业科学技术出版 社,2008
- [7] 谢孝颐,蔡志飞,印志同,等. 糯玉米育种概论[J]. 玉米科学, 2003(S2);58-67
- [8] 丁照华,孟昭东,张发军,等. 我国糯玉米育种现状及发展对策[J]. 玉米科学,2006,14(3):46-48
- [9] 汪黎明,孙琦,孟昭东,等. 我国鲜食玉米育种现状及进展分析[J]. 玉米科学,2005,13(3):35-38
- [10] 薛林,印志同,陈国清,等. 鲜食糯玉米育种研究概况[J]. 上海农业学报,2006,22(2):111-114
- [11] 刘丽君,张丹,薛林,等. 基于 SSR 标记的江苏沿江地区糯玉米种质资源遗传多样性研究[J]. 江苏农业学报,2011,27 (4):723-729
- [12] 陈婧,杨引福,郭强. 利用 SSR 标记分析 40 个糯玉米自交系 遗传多样性[J]. 玉米科学,2009,17(4):32-35
- [13] 胡丹东,赵久然. DNA 分子标记技术及其在玉米育种中的应用[J]. 甘肃农业大学学报,2007,42(6);92-98
- [14] Lee M, Godshalk E B, Lamkey K R, et al. Association of restriction fragment length polymorphisms among maize inbreds with agronomic performance of their crosses [J]. Crop Sci,1989,29(4): 1067-1071
- [15] Messmer M M, Melchinger A E, Lee M, et al. Genetic diversity a-mong progenitors and elite lines from the Iowa Stiff Stalk Synthetic (BSSS) maize population; comparison of allozyme and RFLP data [J]. Theor Appl Genet, 1991, 83(1):97-107
- [16] 刘新芝,彭泽斌,傅骏骅,等. RAPD 在玉米类群划分研究中的应用[J]. 中国农业科学,1997,30(3):44-51
- [17] Bassam B J, Anolles G C, Gresshoff P M. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels[J]. Anal Biochem, 1991, 196.80-83
- [18] Ajmone M P, Castiglioni P, Fusari F, et al. Genetic diversity and its relationship to hybrid performance in maize as revealed by RFLP and AFLP markers[J]. Theor Appl Genet, 1998, 96 (2): 219-227
- [19] 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 [20] 吴敏生,王守才,戴景瑞. AFLP 分子标记在玉米优良自交系
- 优势群划分中的应用[J]. 作物学报,2001,26(1):9-13
 [21] Senior M L, Murphy J P, Goodman M M, et al. Utility of SSRs for determining genetic similarities an relationships in maize using an

agarose gel system[J]. Crop Sci,1998,38 (4):1088-1098

- [22] 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
- [23] 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
- [24] 田孟良,黄玉碧,刘永建,等. SSR 标记揭示的云南省、贵州省 糯玉米与普通玉米种质资源的遗传差异[J]. 四川农业大学 学报,2003,21(3);213-216
- [25] 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
- [26] 吴渝生,郑用琏,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
- [27] Beyene Y, Botha A M, Myburg A A. Genetic diversity among traditional Ethiopian highland maize accessions assessed by simple sequence repeat (SSR) markers [J]. Genet Resour Crop Ev, 2006,53:1579-1588
- [28] 马延飞,卢新雄,陈晓玲,等. 基于 SSR 标记的 30 份玉米种质 遗传完整性分析[J]. 植物遗传资源学报,2007,8 (4);387-391
- [29] 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
- [30] 陆大雷,景立权,王德成,等. 拔节期追氮对不同季节糯玉米淀粉糊化特性的影响[J]. 生态学报,2010,30(2);549-555
- [31] 中华人民共和国国家标准. 旋光法快速测定粗淀粉含量[S]. 北京:中国标准出版社,1983;131-133

- [32] 中华人民共和国农业部标准. 米质测定方法(NY147-88) [S]. 北京:中国标准出版社,1988:25-29
- [33] 中华人民共和国国家标准. 谷物及淀粉糊化特性测定法粘度 仪法[S]. 北京: 中国标准出版社,1993;490-499
- [34] Chang Y H, Lin J H, Lii C Y. Effect of ethanol concentration on the physicochemical properties of waxy corn starch treated by hydrochloricacid [J]. Carbohyd Polyme, 2004, 57;89-96
- [35] 李凤艳,张兴华,张仁和. 玉米优异地方种质资源的筛选与评价[J]. 植物遗传资源学报,2003,4(3);225-227
- [36] 石云素. 国家库玉米种质资源的保护与利用[J]. 植物遗传资源学报,2011,12(3);F2
- [37] 史振声,张喜华. 鲜食型玉米育种目标和品种标准的探讨 [J]. 玉米科学,2002,10(4);16-18
- [38] 李健生, Glover D V. 10 种玉米胚乳突变基因型淀粉糊化的热力学特性[J]. 作物学报,1997,23 (1):76-81
- [39] 洪雁,顾正彪,李兆丰. 蜡质玉米淀粉的性质及其在食品加工中的应用[J]. 中国粮油学报,2005,20(3):30-34
- [40] 乔治军,刘龙龙,南晓洁,等.180 份玉米自交系亲缘关系的分子评价[J]. 植物遗传资源学报,2011,12(2):211-215
- [41] 马延飞,卢新雄,陈晓玲,等. 基于 SSR 标记的 30 份玉米种质 遗传完整性分析 [J]. 植物遗传资源学报,2007,8(4): 387-391
- [42] 杨勇,王鹏文,张树光. SSR 标记在糯玉米遗传多样性研究上的应用[J]. 玉米科学,2006,14(6):62-65

欢迎订阅 2014 年《中国蔬菜》

《中国蔬菜》由中国农业科学院蔬菜花卉研究所主办,属全国中文核心期刊,2013年被国家新闻出版广电总局评为"百强期刊",半月刊,上半月以综合信息为主,下半月以学术论文为主。

《中国蔬菜》上半月刊(综合版):服务于生产一线,以刊登蔬菜产销信息、新优品种、种植技术、病虫害防控技术为主,全年12期,年价96元。全国各地邮局(所)均可订阅,邮发代号82-131。也可将订阅款项汇至编辑部,并在汇款留言中注明订阅上半月刊。

《中国蔬菜》下半月刊(学术版):服务于学术交流,以刊登蔬菜研究论文、新品种选育报告为主,全年12期,年价96元。只能汇款订阅:将订阅款项汇至编辑部,并在汇款留言中注明订阅下半月地址(100081):北京市海淀区中关村南大街12号

收款人:《中国蔬菜》编辑部

电话:010 - 82109550 E-mail:zgsc@caas.cn

网址:www.cnveg.com.cn www.cnveg.org

欢迎订阅 2014 年《亚热带植物科学》

《亚热带植物科学》是福建省亚热带植物研究所主办、国内外公开发行的农业综合类学术性期刊,2004年和2006年连续两届被评为全国优秀农业期刊。主要刊载亚热带植物的育种栽培、生理生化与分子生物学、形态结构、生态、分类、资源保护与开发利用,以及园林绿化、花卉园艺等方面的最新研究论文、报告、简报及综述。目前已被《中国生物学文摘》、《中国核心期刊(遴选)数据库》等数据库收录。

读者对象为相关科研院所的科研人员,大中专院校师生,林业、农业基层单位的科技人员及个体种植户等。本刊为季刊,季末月下旬出版,大16 开,全书铜版纸印刷,2014 年每册定价15.00元(另加邮包费2元),全年68.00元(含邮包费)。国内刊号CN35-1243/S,国际统一刊号ISSN1009-7791。本刊编辑部常年办理订购手续。

地址:(361006)厦门市嘉禾路 780 号《亚热带植物科学》编辑部

电话/传真:0592 - 5654157

E-mail:yrdzwkx@126.com

网址:www.fjisb.com