

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

吴渝生^{1,2} 郑用琏^{1,*} 孙荣³ 伍少云³ 顾红波⁴ 毕有华^{4*}

(¹华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室,湖北武汉 430070; ²云南农业大学农学与生物技术学院,云南昆明 650201; ³云南省农业科学院作物品种资源研究所,云南昆明 650205; ⁴云南省石林县种子分公司,云南石林 652200)

摘要 利用 SSR 标记分析了 16 份和 14 份代表云南不同生态地区糯玉米、爆裂玉米地方种的遗传多样性。从 96 对 SSR 引物中分别筛选出分布于玉米基因组 10 条染色体上的 61 对引物和 43 对引物,每对引物可以分别稳定地检测到 1~12 个和 1~13 个多态性片段,糯玉米共 226 个,平均为 3.70 个,片段大小介于 70~700 bp 之间;爆裂玉米共 232 个,平均检测的多态性片段为 5.40 个,片段大小介于 65~490 bp 之间。糯玉米中检测出 1 个等位基因 (allele) 的引物有 9 对,占所筛选引物的 14.7%;检测出 11、12 个等位基因的引物有 2 对,占所筛选引物的 3.3%;其余 50 对引物检测出的等位基因一般在 2~7 个,占所筛选引物的 82.0%。爆裂玉米中能检测出 1 个等位基因 (allele) 的引物有 3 对,占所筛选引物的 7.0%;能检测出 12 个和 13 个等位基因的引物有 3 对,占所筛选引物的 7.0%;其余 37 对引物能检测出的等位基因一般为 2~9 个,占所筛选引物的 86.0%。上述结果表明云南糯玉米、爆裂玉米地方种质具有较高的遗传多样性。通过聚类分析将云南糯玉米分为 3 个类群和 5 个亚群,云南爆裂玉米分为 3 个类群和 4 个亚群。这两种类型的玉米聚类结果与云南不同海拔地势的变化走向基本相符。

关键词 云南;糯玉米;爆裂玉米;地方品种;遗传多样性;SSR 标记
中图分类号: S513

Genetic Diversity of Waxy Corn and Popcorn Landraces in Yunnan by SSR Markers

WU Yu-Sheng^{1,2}, ZHENG Yong-Lian^{1,*}, SUN Rong³, WU Shao-Yun³, GU Hong-Bo⁴, BI You-Hua⁴

(¹ National Key Laboratory of Crop Genetics and Improvement, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, Hubei; ² Faculty of Agronomy and Biotechnology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, Yunnan; ³ Institute of Crop Germplasm, Yunnan Academy of Agricultural Science, Kunming 650205, Yunnan; ⁴ Yunnan Stoneforest Seed Company, Stoneforest 652200, Yunnan, China)

Abstract 16 waxy corn landraces and 14 popcorn landraces in Yunnan were analyzed by SSR marker for genetic diversity. 61 primers and 43 primers were screened to be specific with chromosome 10 of waxy corn and popcorn respectively from 96 primers tested. Polymorphic fragments were amplified stably by each specific primer, 1 - 12 for waxy corn and 1 - 13 for popcorn. In total 226 specific DNA bands of 70 - 700 bp in size were detected in waxy corn with an average of 3.70 fragments for each primer. 9 primers accounting for 14.7% in the primers used could detect 1 allele, 2 primers accounting for 3.3% could detect 11 and 12 alleles respectively. Other 50 primers accounting for 82.0% could normally detect 2 - 7 alleles. For popcorn landraces, 232 alleles of 65 - 490 bp in size were detected in total, 5.40 alleles by each primer on average. 3 primers accounting for 7.0% could detect 1 allele, other 3 primers accounting for 7.0% could detect 12 and 13 alleles respectively. The rest of 37 primers accounting for 86.0% could usually detect 2 - 9 alleles. The results suggested that higher genetic polymorphism was maintained in local waxy corn and popcorn landraces of Yunnan. The result by cluster analysis showed that waxy corn could be divided into 3 groups and 5 sub-groups, and popcorn into 3 groups and 4 sub-groups. That was generally in accordance with the tendency of topography and altitude in Yunnan.

Key words Yunnan; Waxy corn; Popcorn; Landrace; Genetic diversity; SSR marker

基金项目:教育部西部高级访问学者计划项目资助。

作者简介:吴渝生(1964-),男,副教授,硕士,从事玉米种质改良及生物技术研究 and 教学工作。E-mail: yusheng2@public.km.yn.cn。

*通讯作者:郑用琏,教授,博士生导师,从事玉米种质改良和分子生物学研究和教学。E-mail: yonglian.zheng@263.net。

Received (收稿日期): 2002-12-16, Accepted (接受日期): 2003-04-08。

糯玉米、爆裂玉米是两种重要的玉米类型^[1]。隐性纯合 *wx* 基因型产生几乎 100% 的支链淀粉,主要用于生产各类变性淀粉和鲜食。爆裂玉米 (*Zea mays* L. *evarta* sturt) 专门用于爆制玉米花,具有极好的爆裂特性。由于特殊生态环境的自然选择和农民留种的人工选择,云南糯玉米、爆裂玉米已形成了较为丰富的生态类型。研究这些种质的遗传多样性,对促进糯玉米、爆裂玉米的杂种优势利用和遗传改良具有重要的意义。

SSR 标记为共显性标记^[2],具有稳定性好、等位基因多态性高的优点,已广泛应用于植物种质资源遗传多样性分析、目标性状基因定位以及杂种优势类群划分等方面的研究。国外学者对大豆、大麦、油菜、水稻、橄榄的分析研究结果表明,SSR 标记检测到的位点多态性水平高于 RFLP 标记^[3-7]。Smith 等^[8]用 131 对 SSR 引物评价 58 个玉米自交系的亲缘关系,并与 RFLP 标记作了比较,发现这两种标记鉴别结果与已知系谱一致。Senoir 等^[9]利用 SSR 标记在琼脂糖胶上分析玉米自交系遗传相似性,聚类结果表明对自交系的划群与北美玉米杂种优势群相同。吴晓雷等^[10]利用 SSR 技术对大豆属 11 个种 37 个材料的遗传多样性进行分析,解释了这 11 个种的遗传进化关系。徐立安等^[11]采用 SSR 标记研究栲树遗传结构,认为根据 SSR 等位基因频率分布可以了解群体分化,发现栲树群体中稀有的 SSR 标记的等位基因。向道权等^[12]对产量性状构建了具有 80 对 SSR 标记的玉米遗传图谱,共检测到 30 个 QTLs。李新海等^[13]对我国玉米自交系的遗传变异用 SSR 标记做分析,划分出不同的杂种优势群,为选育优势组合提供可靠的依据。爆裂玉米育种方法与普通玉米的相似,可以采用爆裂玉米材料之间杂交,与普通玉米杂交后回交,轮回选择,诱变育种等方法拓宽爆裂玉米种质基础^[14-17]。Romera 等^[18]用 SSR 标记分析爆裂玉米、甜玉米等 5 种不同类型,57 个自交系的遗传相似性,结果表明各种类型之内自交系相似性很高,类型之间差异较大。Kantety 等^[19]用 ISSR 标记对美国爆裂玉米种质的聚类分析结果与系谱分析结果一致。本文采用 SSR 标记技术,研究云南糯玉米、爆裂玉米地方种质的遗传多样性,旨在为合理利用地方种质资源,选育糯玉米、爆裂玉米新品种提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

表 1 列出由云南省农科院品资所和云南省石林

县种子公司提供从云南省 16 个地州收集的糯玉米地方种质材料 16 份,爆裂玉米地方种质材料 14 份。

表 1 供试云南糯玉米、爆裂玉米地方种的来源
Table 1 Waxy corn and popcorn landraces of Yunnan

Province tested					
编号 No	名称 Cultivar	来源 Origin	编号 No	名称 Cultivar	来源 Origin
01	昆明玉麦	昆明	16	临沧糯包谷	临沧
	Kunmingyumai	Kunming		Lincangnuobaogu	Lincang
02	巧家药麓糯	昭通	17	个旧爆玉米	红河
	Qiaojiayaulunuo	Zhaotong		Gejiubaoyumi	Honghe
03	沾益金锅银	曲靖	18	丘北硬包谷	文山
	Zhanyijinguoyin	Qujing		Qubaiyinbaogu	Wenshan
04	楚雄白糯	楚雄	19	凤庆小包谷	临沧
	Chuxiongbainuo	Chuxiong		Fengqingxiaobaogu	Lincang
05	新平糯玉米	玉溪	20	元谋硬包谷	楚雄
	Xinpingnuoyumi	Yuxi		Yuanmouyingbaogu	Chuxiong
06	红河大地糯	红河	21	潞西爆	德宏
	Honghedadinuo	Honghe		Luxibao	Dehong
07	马关黑糯	文山	22	禄劝爆包谷	昆明
	Maguanheينو	Wenshan		Luquanbaobaogu	Kunming
08	墨江黑糯	思茅	23	勐海硬包谷	版纳
	Mojiangheينو	Simao		Menghaiyingbaogu	Banna
09	勐海紫糯	版纳	24	巍山小包谷	大理
	Menghaizينو	Banna		Weishanxiaobaogu	Dali
10	剑川向图糯	大理	25	江川爆包谷	玉溪
	Jianchuanxiangtunuo	Dali		Jiangchuanbaobaogu	Yuxi
11	保山糯包谷	保山	26	思茅硬包谷	思茅
	Baoshannuobaogu	Baoshan		Simaoyingbaogu	Simao
12	芒市黑糯	德宏	27	鲁甸小爆	昭通
	Mangshiheينو	Dehong		Ludianxiaobao	Zhaotong
13	丽江糯包谷	丽江	28	陆良爆玉米	曲靖
	Lijiangnuobaogu	Lijiang		Luliangbaoyumi	Qujing
14	福贡长穗糯	怒江	29	腾冲爆包谷	保山
	Fugongchangsuينو	Nujiang		Tengchongbaobaogu	Baoshan
15	中甸糯包谷	迪庆	30	施甸爆包谷	保山
	Zhongdiannuobaogu	Diqing		Shidianbaobaogu	Baoshan

1.2 DNA 提取

每供试材料各取 20 粒,置于培养箱中暗培养 10 d 左右。采用 CTAB 法提取黄化叶片总 DNA^[20],紫外分光光度计检测 DNA 浓度和质量,将 DNA 样品浓度稀释至 10 ng/ μ L, -20℃ 下保存备用。

1.3 SSR 分析

PCR 扩增反应体系为 20 μ L,其中 1 \times buffer, 2.5 mmol/L Mg^{2+} , 150 μ mol/L dNTP, 0.3 μ mol/L SSR 引物, 0.75 单位 *Taq* DNA 聚合酶, 50 ng DNA 模板。反应液上加盖 1 滴矿物油。PCR 反应过程包括: 93℃ 1 min, 1 个循环; 93℃ 1 min, 58℃ 2 min, 72℃ 2

min,共30个循环;最后于72 5 min。PCR扩增产物经6%聚丙烯酰胺凝胶电泳,硝酸银染色^[21],照相。在相同迁移率位置上的SSR扩增产物,有带记为1,无带记为0。利用STATISTICA软件,采用COMPLETE LINKAGE(全联法)和EUCLIDEAN DISTANCES(欧氏距离)计算数据,获得聚类分析图。

2 结果和分析

2.1 糯玉米 SSR 引物筛选

采用96对SSR引物对16份糯玉米DNA进行多态性分析,选出扩增带型稳定,多态性丰富,重复性较好的61对引物,详见表2。这些引物均匀分布于玉米基因组的10条染色体上,共检测出226个等位基因(allele),每对引物可以检测到1~12个等位基因,平均为3.70个,片段大小介于70~700 bp之

间。从1至10染色体分别检测到6、6、7、6、6、6、5、6、6、7个位点,每条染色体上分别检测出19、17、20、21、18、22、17、32、27、33个等位基因,在第8、10染色体上检测到的等位基因数目最多。

检测出1个等位基因的引物有9对,占所筛选引物的14.7%,它们是19、20、31、35、37、53、59、89、99号,片段大小在120~700 bp之间。检测出11、12个等位基因的引物分别是54号和55号,占所筛选引物的3.3%,片段大小分别在205~410 bp之间和152~290 bp之间。其余50对引物检测出的等位基因一般在2~7个,占所筛选引物的82.0%,片段大小在70~320 bp之间。结果表明云南糯玉米种质具有较高的遗传多样性,是进行糯玉米遗传改良的丰富种质资源库。

表2 糯玉米 SSR 检测的等位基因

Table 2 Alleles detected by SSR in waxy corn

编号 No	引物 Primer	染色体 Chrom.	等位基因 Allele	片段大小 Band range (bp)	编号 No	引物 Primer	染色体 Chrom	等位基因 Allele	片段大小 Band range (bp)
2	Bnlg1083	1.02	3	190—210	52	Bnlg2097	6.01	4	170—200
3	Bnlg1953	1.03	4	85—120	65	Bnlg1135	6.01	4	220—380
5	Bnlg1811	1.04	4	190—205	68	Bnlg1617	6.05	3	150—160
6	Bnlg2086	1.05	2	265—275	69	Nc012	6.05	5	110—145
7	Bnlg1023	1.06	3	130—150	64	Phi075	6.06	2	225—230
12	Phi011	1.09	3	105—120	70	Phi070	6.06	4	225—430
48	Bnlg108	2.04	2	90—100	71	Phi057	7.01	5	105—180
19	Nc131	2.05	1	148	72	Phi112	7.01	5	130—410
20	Bnlg1225	2.06	1	290	53	Bnlg1305	7.03	1	140
21	Bnlg1633	2.07	6	170—265	74	Umc1015	7.03	3	90—120
22	Bnlg1662	2.08	3	170—280	75	Phi082	7.05	3	115—130
23	Bnlg1520	2.09	4	180—195	76	Bnlg1352	8.02	5	88—125
26	Nc030	3.04	5	95—115	54	Bnlg2834	8.03	11	205—410
49	Bnlg1647	3.04	2	210—215	77	Phi115	8.03	4	80—100
27	Bnlg1035	3.05	4	85—100	79	Bnlg2181	8.05	7	175—320
28	Phi053	3.05	3	175—195	80	Mmc0181	8.06	2	300—310
30	Bnlg1796	3.06	3	205—220	81	Phi080	8.09	3	102—110
31	Bnlg1931	3.07	1	250	82	Phi033	9.01	6	185—280
32	Phi046	3.08	2	70—80	55	Bnlg1401	9.02	12	152—290
35	Bnlg1434	4.01	1	200	88	Phi027	9.03	3	155—170
36	Nc004	4.03	6	105—260	89	Phi065	9.03	1	160
37	Phi096	4.04	1	120	90	Phi032	9.04	2	235—240
50	Bnlg1265	4.05	5	215—290	91	Bnlg1209	9.05	3	162—240
41	Bnlg1189	4.07	5	232—255	94	Phi059	10.02	7	380—600
42	Bnlg2162	4.08	3	230—245	95	Bnlg1655	10.03	6	135—155
45	Nc007	5.01	3	110—700	97	Bnlg1526	10.04	6	100—135
46	Phi113	5.02	4	120—300	98	Phi084	10.04	2	180—300
57	Bnlg1879	5.03	3	135—155	56	Bnlg236	10.06	5	260—280
59	Bnlg150	5.04	1	700	99	Bnlg1250	10.06	1	170
61	Phi100	5.06	2	90—100	100	Bnlg1839	10.07	6	160—195
62	Bnlg1346	5.07	5	160—230					

2.2 爆裂玉米 SSR 引物筛选

利用 96 对 SSR 引物对 14 份爆裂玉米 DNA 进行多态性分析,选出扩增带型稳定,多态性丰富,重复性较好的 43 对引物,这些引物均匀分布于玉米基因组的 10 条染色体上(表 3)。43 对引物共检测出 232 个等位基因,每对引物可以检测到 1~13 个等位基因,平均为 5.40 个,PCR 扩增的片段大小介于 65~490 bp 之间。从 1 至 10 染色体上分别检测了 4、5、5、5、5、4、2、4、5、4 个位点,每条染色体上分别检测出 19、17、29、25、22、26、21、21、28、24 个等位基因,在第 3、9 染色体上检测到的等位基因数目最多。

检测出 1 个等位基因的引物有 3 对,占所筛选引物的 7.0%,它们是第 15、22、35 号引物,扩增片段的大小在 115~320 bp 之间。检测出 12 个和 13 个等位基因的引物分别是 68、71、55 号,占所筛选引物的 7.0%,扩增片段的大小在 105~300 bp 之间。其余 37 对引物检测出的等位基因一般在 2~9 个,占所筛选引物的 86.0%,扩增片段的大小在 65~490 bp 之间。以上结果表明云南爆裂玉米种质具有较高的遗传多样性。

2.3 糯玉米、爆裂玉米聚类分析

在图 1 中,当阈值为 7.4 时,糯玉米可以被划分为 3 个类群,第 1 类群包括丽江糯包谷(13)、福贡长穗糯(14)、中甸糯包谷(15)、巧家药麓糯(02)等海拔在 2400~3300 m 的种质;第 2 类群包括临沧糯包谷(16)、昆明玉麦(01)、新平糯玉米(05)、剑川向图糯(10)、保山糯包谷(11)、楚雄白糯(04)、沾益金锅银(03)等海拔在 1700~2200 m 的种质;第 3 类群包括墨江黑糯(08)、勐海紫糯(09)、红河大地糯(06)、马关黑糯(07)、芒市黑糯(12)等海拔在 1000~1300 m 的种质。当阈值为 7.0 时,糯玉米又可以进一步被划分为 5 个亚群,第 1 亚群包括丽江糯包谷(13)、福贡长穗糯(14)、中甸糯包谷(15) 3 个来自滇西北的种质,第 2 亚群包括巧家药麓糯(02) 1 个来自滇东北的种质,这两种亚群同属于第 1 类群;第 3 亚群包括临沧糯包谷(16)、昆明玉麦(01)、新平糯玉米(05)、剑川向图糯(10)、保山糯包谷(11)、楚雄白糯(04)、沾益金锅银(03) 7 个来自滇西、滇中的种质,它属于第 2 类群;第 4 亚群包括墨江黑糯(08)、勐海紫糯(09) 2 个来自滇南的种质,第 5 亚群包括红河

表 3 爆裂玉米 SSR 检测的等位基因
Table 3 Alleles detected by SSR in popcorn

编号 No	引物 Primer	染色体 Chrom.	等位基因 Allele	扩增片段 Band range (bp)	编号 No	引物 Primer	染色体 Chrom	等位基因 Allele	扩增片段 Band range (bp)
2	Bnlg1083	1.02	4	162—180	60	Bnlg1246	5.05	4	80—200
5	Bnlg1811	1.04	7	158—290	51	Bnlg1885	5.07	6	210—280
6	Bnlg2086	1.05	2	250—245	65	Bnlg1135	6.01	8	200—380
11	Phi039	1.08	6	180—147	66	Yssr	6.02	4	190—215
15	Bnlg469	2.02	1	195	68	Bnlg1617	6.05	12	130—200
18	Umc1003	2.04	8	105—290	70	Phi070	6.06	2	225—230
19	Nc131	2.05	2	100—300	71	Phi057	7.01	13	105—290
22	Bnlg1662	2.08	1	320	72	Phi112	7.01	8	130—180
23	Bnlg1520	2.09	5	160—200	76	Bnlg1352	8.02	6	100—300
24	Phi049	3.01	3	130—150	54	Bnlg2834	8.03	4	170—280
25	Bnlg1523	3.03	9	120—320	79	Bnlg2181	8.05	5	175—210
27	Bnlg1035	3.05	5	85—110	81	Phi080	8.09	6	150—180
29	Gst14	3.05	4	80—190	83	Phi044	9.01	3	85—95
34	Phi047	3.09	8	160—115	55	Bnlg1401	9.02	12	135—300
35	Bnlg1434	4.01	1	115	85	Bnlg469	9.03	5	65—85
39	Phi026	4.05	4	75—125	90	Phi032	9.04	2	240—250
50	Bnlg1265	4.05	6	190—225	92	Bnlg1525	9.07	6	155—200
42	Bnlg2162	4.08	8	230—490	94	Phi059	10.02	3	160—190
44	Phi006	4.11	6	70—95	95	Bnlg1655	10.03	8	110—180
45	Nc007	5.01	2	250—255	97	Bnlg1526	10.04	6	90—130
46	Phi113	5.02	5	205—230	100	Bnlg1839	10.07	7	160—195
58	Phi008	5.03	5	240—280					

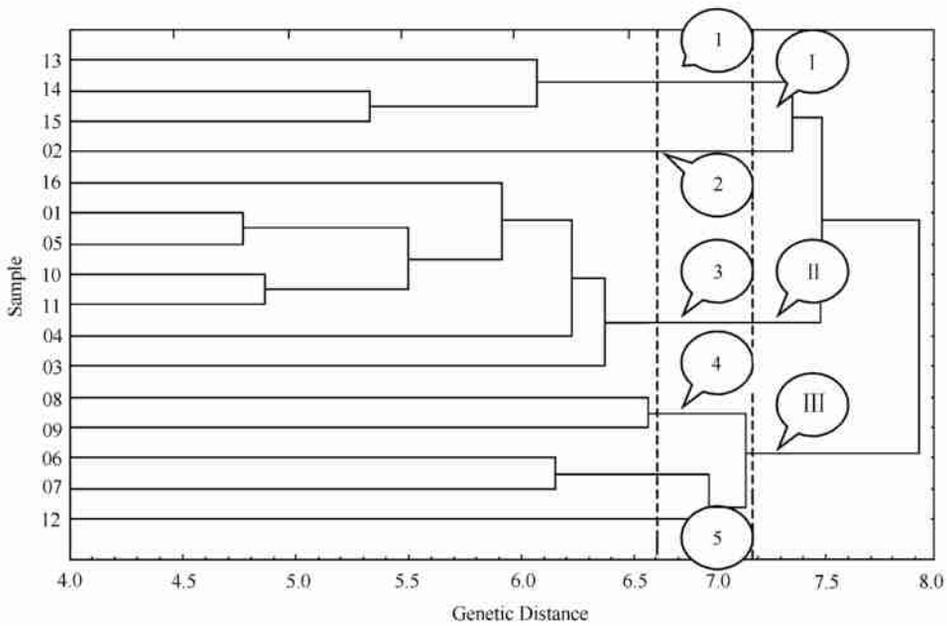


图1 基于 SSR 标记的糯玉米聚类分析图

Fig.1 The diagram of cluster analysis in waxy corn based on SSR markers

-----: 阈值, 、 、 : 3 个糯玉米类群, 01~16: 16 个糯玉米地方种

-----: Threshold, , , : three groups of waxy corn, 01—16: 16 waxy corn landraces

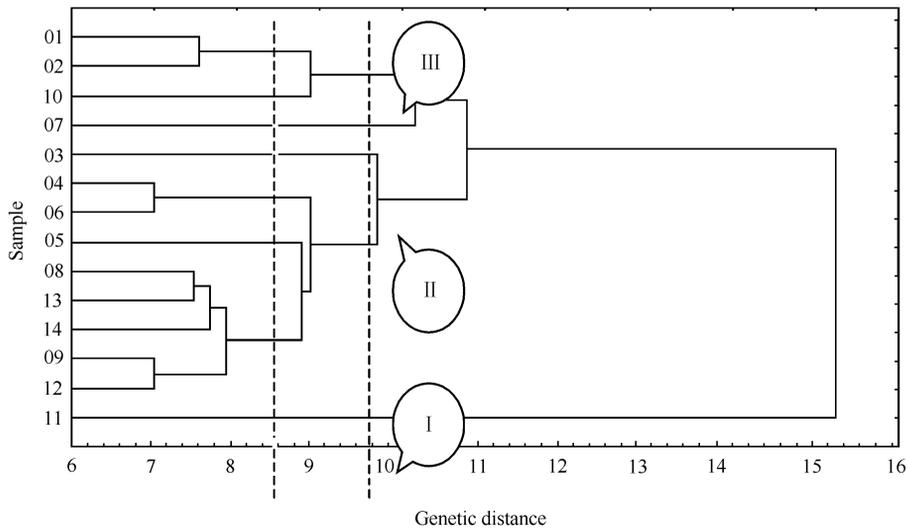


图2 基于 SSR 标记的爆裂玉米聚类分析图

Fig.2 The diagram of cluster analysis in popcorn based on SSR markers

-----: 阈值, 、 、 : 3 个爆裂玉米类群, 17~30: 14 个爆裂玉米地方种

-----: Threshold, , , : three groups of popcorn, 17—30: 14 popcorn landraces

大地糯(06)、马关黑糯(07)、芒市黑糯(12)滇东南、滇西南的种质,这两种亚群属于第 类群。

从图 2 看出,当阈值为 10.4 时,供试的爆裂玉米种质可被划分为 3 个类群,属于第 类群的只有选自海拔在 2400~2600 m 昭通地区的 27 号种质;第 类群包括 19、20、21、22、24、25、28、29 和 30 号等 9

个种质,它们均选自海拔在 1700~2200 m 的地区;第 类群包括 17、18、23 和 26 号等 4 份选自海拔在 1000~1300 m 地区的种质。当阈值为 9.3 时,第 类群可被划分为 2 个亚群,第 1 亚群包括 20、21、22、24、25、28、29 和 30 号等 8 个选自滇中、滇西的种质,第 2 亚群只包括选自滇西 19 号种质。第 类群也

可被划分为 2 个亚群,第 1 亚群只有选自滇南的 23 号种质;第 2 亚群包括 17、18 和 26 号等 3 个选自滇东南的种质。

云南位于青藏高原的东南部,总的地势特征是北高南低,大致由西北向东南呈阶梯状递降。省内西北部和东北部高,西北最高;西南部、南部和东南部低,东南最低;西部和中部居于中间。由此将全省地势划分为 3 个梯层。滇西北德钦、中甸一带是地势最高的一级梯层,海拔一般在 2700 ~ 4000 m 之间。第二梯层是以滇中高原为主体残存的古夷平面,海拔约在 2300 ~ 2600 m 之间,山间盆地底部海拔在 1700 ~ 2000 m 左右。最低一级梯层包括南部、东南部边缘地区,主要由海拔 1200 ~ 1400 m 的中山、低山、丘陵和海拔不到 1000 m 的盆地河谷组成^[22]。本文通过以上聚类分析将供试糯玉米分为 3 个类群和 5 个亚群,爆裂玉米分为 3 个类群,4 个亚群,与云南省地势变化走向、生态区域分布基本相符。

陈守良等^[23]在对中国散生竹类分类的研究中提出了聚类分析涉及的飞跃值(阈值)计算公式,强调指出:在结合线中的飞跃阶段不十分明显时,要根据生物分类的实际意义来确定各分类等级。飞跃值(阈值)计算公式: $l_k = (d_i + d_j) / 2$,式中 l_k 表示第 k 次飞跃的类群等级分界线, d_i 和 d_j 表示第 k 次飞跃两个相邻的结合水平(遗传距离)。当结合水平大于 l_k 时,类群的归并最终产生第 k 级类群。

表 4 中,依据云南实际的地势走向、生态区域分布和聚类分析结果,确定糯玉米聚类分析过程,以第 11 步与第 12 步的结合为 5 种亚群分类的界限比较合理,当 $k = 1$ 时,则 $l_1 = (6.9 + 7.1) / 2 = 7.0$,如图 1 中相应的虚线所示。同理,以第 13 步与第 14 步的结合作为 3 种类群分类的界限较合理,当 $k = 2$ 时,则 $l_2 = (7.3 + 7.5) / 2 = 7.4$,如图 1 中相应的

虚线所示。

从表 5 可知,确定爆裂玉米聚类分析过程,以第 9 步与第 10 步的结合为分类界限较为合理,当 $k = 1$ 时, $l_1 = (8.9 + 9.7) / 2 = 9.3$,如图 2 中相应的虚线所示。同理,以第 11 步与第 12 步的结合作为分类界限较合理,当 $k = 2$ 时, $l_2 = (10.1 + 10.7) / 2 = 10.4$,如图 2 中相应的虚线所示。

3 讨论

云南糯玉米资源十分丰富,在全省各地、州均有分布和种植,由于不同生态环境的影响产生了 3 种主要类型。多穗型糯玉米,例如:四路糯的株型及穗部性状表现出原始玉米的某些迹象,如多穗、护颖较长。虽然产量极低,但是糯性极好,因而在海拔 600 ~ 1400 m 之间的南部、西南部傣族聚居地区仍有种植。大穗型糯玉米,如马齿糯兼有糯质和马齿玉米的特点,叶片宽大,产量高,适应性广,在 1400 ~ 2400 m 范围内的温凉地区、暖热地区均能正常生长。小穗型糯玉米,如巧家药麓糯,植株矮小,穗小粒小,糯性好,抗倒伏能力强,但是产量低,一般在海拔 2400 m 以上寒凉玉米区种植。云南省具有北高南低,由西北向东南呈阶梯状递降的独特的生态环境,长久的自然选择和农民留种的人工选择,使云南糯玉米、爆裂玉米已形成了较为丰富的生态类型。本文通过 SSR 标记技术,对云南糯玉米、爆裂玉米的遗传多态性进行了较为广泛的全基因组分析,结果表明在糯玉米中 61 对引物共检测到 226 个等位基因,每对引物可以检测到 1 ~ 12 个等位基因,平均为 3.70 个;在爆裂玉米中 43 对引物共检测到 232 个等位基因,每对引物可以检测到 1 ~ 13 个等位基因,平均为 5.40 个。这些研究结果进一步证明了云南糯玉米、爆裂玉米地方种质具有较高的遗传多样性,为有效地发掘和利用这些种质提供了理论依据。

表 4 基于 SSR 标记的糯玉米聚类分析图结合的过程

Table 4 The amalgamation process of cluster analysis diagram based on SSR marker in waxy corn

结合次数 A. F.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
结合水平 A. L.	4.8	4.9	5.4	5.6	6.0	6.2	6.2	6.3	6.5	6.5	6.9	7.1	7.3	7.5	7.9

Note: A. F. standing for amalgamation frequency(结合次数), A. L. for amalgamation level(结合水平)。

表 5 基于 SSR 标记的爆裂玉米聚类分析图结合的过程

Table 5 The amalgamation process of cluster analysis diagram based on SSR markers in popcorn

结合次数 A. F.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
结合水平 A. L.	7.0	7.0	7.5	7.5	7.9	7.9	8.8	8.9	8.9	9.7	10.1	10.7	15.2

本研究选用的 16 个云南糯玉米种质分别来自全省 16 个地、州,爆裂玉米种质分别来自全省 13 个地、州,代表了不同的生态类型,而聚类分析的结果与云南省的海拔地势、生态区域分布基本相符。这一有意义的研究结果也为云南省其他糯玉米、爆裂玉米种质的类群归属、遗传评价、亲本选择提供了重要的理论依据,并可直接采用多元统计分析中的判别分析法,进行新材料类群的划归分析。

爆裂玉米的选育程序与普通玉米的选育程序惟一不同的是要对选择自交系和杂交种进行爆裂膨胀值的测定。只有爆裂膨胀值高、适口性好,才具有商业价值。据前人研究^[24],膨爆性是一种可遗传的性状,由多基因控制。因此,运用分子标记技术对膨爆性状的 QTL 定位和分子标记辅助选择也有重要意义。

References

- [1] Liu J-L (刘纪麟). Maize Breeding (Second Edition) [玉米育种学(第二版)]. Beijing: China Agricultural Press, 2002. 221—256
- [2] Xu Y-B (徐云碧), Zhu L-H (朱立煌). Molecular Quantitative Genetics (分子数量遗传学). Beijing: China Agriculture Press, 1994. 55—91
- [3] Rongwen J, Akkaya M S, Bhagwat A A, Lavi U, Cregan P B. The use of microsatellite DNA markers for soybean genotype identification. *Theor Appl Genet*, 1995, **90**: 43—48
- [4] Struss D, Plieske J. The use of microsatellite markers for detection of genetic diversity in barley populations. *Theor Appl Genet*, 1998, **97**: 308—315
- [5] Szezew-Mc Fadden A K, Kresovich S, Bliker S M, McFerson J R. Identification of polymorphic, conserved simple sequence repeats (SSRs) in cultivated *Brassica* species. *Theor Appl Genet*, 1996, **93**: 534—538
- [6] Wu K S, Tanksley S D. Abundance, polymorphism and genetic mapping of microsatellite in rice. *Molec Gen Genet*, 1993, **241**: 225—235
- [7] Carriero F, Fontanazza G, Cellini F, Gorio G. Identification of simple sequence repeats (SSRs) in Olive. *Theor Appl Genet*, 2002, **104**: 301—307
- [8] Smith J S C, Chin E C L, Shu H, Smith O S, Wall S J, Senior M L, Mitchell S E, Kresovich S, Ziegler J. An Evaluation of the utility of SSR loci as molecular markers in maize (*Zea mays*): Comparisons with data from RFLPs and pedigree. *Theor Appl Genet*, 1997, **95**: 163—173
- [9] Senoir M L, Murphy J P, Godman M M, Stuber C W. Utility of SSRs for determining genetic similarities and relationships in maize using an agarose gel system. *Crop Sci*, 1998, **38**: 1088—1098
- [10] Wu X-L (吴晓雷), He C-Y (贺超英), Chen S-Y (陈受宜), Zhuang B-C (庄炳昌), Wang K-J (王克晶), Wang X-C (王学臣). Phylogenetic analysis of interspecies in genus through SSR markers. *Acta Genetica Sinica* (遗传学报), 2001, **28**(4): 359—366
- [11] Xu L-A (徐立安), Li X-J (李新军), Pan H-X (潘惠新), Zou H-Y (邹惠渝), Yin D-M (尹冬明), Huang M-R (黄敏仁). Study on population genetic structure in *Castanopsis fargesii* with microsatellite markers. *Acta Botanica Sinica* (植物学报), 2001, **43**(4): 409—412
- [12] Xiang D-Q (向道权), Cao H-H (曹海河), Cao Y-G (曹永国), Yang P-J (杨品俊), Huang L-J (黄烈健), Wang S-C (王守才), Dai J-R (戴景瑞). Construction of a genetic map and location quantitative trait loci for yield component in maize by SSR. *Acta Genetica Sinica* (遗传学报), 2001, **28**(8): 778—784
- [13] Li X-H (李新海), Fu J-H (傅骏华), Zhang S-H (张世煌), Yuan L-X (袁力行), Li M-S (李明顺). Genetic variation of inbred lines of maize detected by SSR markers. *Scientia Agricultura Sinica* (中国农业科学), 2000, **33**(2): 1—9
- [14] Li Y-L (李玉玲). Research advances of the heredity of expansion characteristics and hybrid selections. *China Agronomy Bulletin* (中国农学报), 2001, **17**(1): 43—45
- [15] Prodhon H S, Rai R. Heterosis in popcorn. *Environment and Ecology*, 1999, **17**(4): 799—802
- [16] Pereira M G, Amaral A T. Estimation of genetic components in popcorn based on the nested design. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 2001, **1**(1): 3—10
- [17] Adamu A K. Induced multiple ear mutants in popcorn. *Maize Genetics Cooperation Newsletter*, 2000, (74): 82
- [18] Romera S J, Smith J S C, Ziegler J, Hauser J, Joe L, Hookstra G. Pedigree analysis and haplotype sharing within diverse groups of *Zea mays* L. inbreds. *Theoretical Applied Genetics*, 2001, **103**(4): 567—574
- [19] Kantety R V, Zeng X P, Bennetzen J L, Zehr B E, Zeng X P. Assessment of genetic diversity in dent and popcorn (*Zea mays* L.) inbred lines using inter-simple sequence repeat (ISSR) amplification. *Molecular* (缺年代, 卷期页码)
- [20] Ausubel F M (奥斯伯), Kingston R E (金斯顿), Seidman J G (塞德曼), Struhl K (斯特拉), Brent R (布伦特), Moore D D (穆尔), Smith J A (史密斯). Short Protocols in Molecular Biology (Second Edition) [精编分子生物学实验指南(第二版)]. Beijing: Scientific Press, 1998. 37—38
- [21] Sambrook J (萨姆布鲁克), Fritsch E F (弗里奇), Maniatis T (曼尼阿蒂斯). Molecular Cloning: A Laboratory Manual (Second Edition) [分子克隆实验指南(第二版)]. Scientific Press, 1998. 325—331
- [22] Chen Z-Y (陈宗瑜). Yunnan Climate Pandect (云南气候总论). Beijing: Climate Press. 2001. 1—8
- [23] Chen S-L (陈守良), Xu K-X (徐克学), Sheng G-Y (盛国英). Exploring quantitative taxonomy and taxonomic grade in eurychoric bamboo in China. *Acta Phytotaxonomica Sinica* (植物分类学报), 1983, **21**(2): 114—119
- [24] Zeng S-S (曾三省). Selections for the quality in popcorn. *Journal of Maize Sciences* (玉米科学), 1999, **7**(1): 14—17