

应用 RAPD 分子标记技术 选配强优势玉米杂交组合的研究*

赵久然 郭景伦 孔艳芳 尉德铭 卢柏山 王元东
滕海涛 邢锦锋 王继东

(北京市农林科学院玉米研究中心,北京 100089)

摘 要:利用 RAPD 分子标记技术研究了我 46 个重要玉米自交系及部分优良自交系相互之间的遗传距离与其杂交组合杂交优势的关系。结果表明,应用 RAPD 分子标记测得的自交系间遗传距离与其杂交优势显著正相关,即玉米自交系之间遗传距离越大,其杂交种子粒产量越高,杂交优势就越强。测得我国 28 个玉米主栽单交种双亲间遗传距离平均值为 6.1。根据不同遗传距离,组配 72 个单交组合,在单株潜力粒重 > 200 g 的 29 个组合中遗传距离 ≥ 6.0 者占 93.1%,而在遗传距离 < 6.0 的 40 个组合中,单株潜力粒重 > 200 g 者只占 5%。故遗传距离 6.0 可作为预测强杂交优势的临界值。

关键词:RAPD; 玉米; 遗传距离; 杂交优势; 子粒产量

中图分类号:S 513.035

关于玉米杂种优势的预测,育种学家提出了很多方法,最初是用数量遗传学的方法即通过对配合力和遗传距离的测定来预测杂种优势^[1,4],但是强优势组合的筛选都需要通过对大量组合的田间鉴定来获得,需要投入大量的时间和人力,对组合的初步筛选一般都在一定的生态环境和栽培条件下进行,具有很大的局限性。后来也有人利用同工酶谱预测杂种优势^[3,7],但是由于同工酶标记所能检测到的差异性座位较少,且受作物种类、酶的种类和生长发育阶段的影响,难以有效地应用于作物杂种优势的预测上^[2]。本研究尝试利用 RAPD 分子标记的方法,重点研究玉米自交系之间遗传距离与其杂交优势的关系,为提高玉米育种效率提供依据。

1 材料与方 法

1.1 材料

将表 1 中所列自交系种植于大田,根据其植物学特性,选择能代表本自交系种性的单株,在吐丝散粉之前,将雄穗和雌穗套袋,严格自交。在收获时再根据穗部性状,选择有代表性的果穗,晾晒,脱粒备用。

1.2 试验方法

1.2.1 DNA 提取 分别提取每个自交系多个单粒种子的 DNA,采用郭景伦^[1]等改进的玉米种子 DNA 提取新方法。

1.2.2 引物 美国 Operon 生产的从 A~Z 共计 520 个随机引物。

*: 本项研究为北京市科委重点资助的科技新星项目内容
收稿日期:1998-08-30

表 1 本试验所应用的 46 个自交系

编号	名称	编号	名称	编号	名称	编号	名称
1	478	13	81515	25	MR6	37	黄 C
2	488	14	获唐黄	26	0013	38	MR10
3	3189	15	丹 340	27	MR7	39	178
4	5005	16	E28	28	0007	40	P138
5	掖 107	17	52106	29	MR8	41	Z5
6	黄早 4	18	双 105	30	9501	42	MR11
7	黄野 4	19	双 741	31	混选 - 2	43	MR12
8	MR1	20	7922	32	早 49	44	MR13
9	MR2	21	8112	33	多 22	45	Mo17
10	吉 853	22	MR3	34	MR9	46	武 314
11	H21	23	MR4	35	金 96		
12	502196	24	MR5	36	综 31		

1.2.3 RAPD 扩增反应体系 反应总体积 25 μ L, 其中 10 mmol Tris - HCl (pH8.0), 50 mmol KCl, 2 mmol $MgCl_2$, 明胶 0.001%, 4 $\times$ dNTPs 分别为 0.2 mmol, 引物 1 μ mol, 1.5 单位 TagDNA 聚合酶, 20ng DNA 模版。

1.2.4 RAPD 扩增程序 反应在 PTC - 100PCR 仪上进行。DNA 扩增程序为: 94 $^{\circ}$ C 预变性 1 min, 94 $^{\circ}$ C 20 S, 37 $^{\circ}$ C 1 min, 72 $^{\circ}$ C 1.5 min, 40 个循环, 然后 72 $^{\circ}$ C 5 min, 4 $^{\circ}$ C 保存。

1.2.5 电泳分析 RAPD 扩增产物用 1.2% 琼脂糖凝胶分离, 溴化乙锭染色, 紫外灯下观察照相。

1.2.6 扩增结果统计分析 RAPD 扩增产物以 0、1 统计建立 DNA 指纹数据库, 在相同迁移位置上(相同的 DNA 分子量片段)有带赋值为 1, 无带赋值为 0, 利用聚类分析软件计算自交系间遗传距离, 利用类平均聚类法进行聚类分析, 划分杂交优势群。自交系间遗传距离采用公式:

$$d_{ij}^2 = \frac{b}{a+b} \times 100$$

a 表示两个自交系具有相同配对带的数量, b 表示两个自交系不同带的数量。将利用 C19, A06, D02, F03, E02, E18, F02, F03, G06, G14, H07, H19, H20, M02, M06, M20, N19, O02, O20, S07, S13 等 21 个引物扩增的结果统计, 计算遗传距离。

2 结果与分析

2.1 生产中主要玉米杂交种双亲遗传距离

生产中主要玉米杂交种双亲遗传距离(表 2), 从表 2 中可以看出, 生产中的 28 个主栽玉米品种双亲自交系的遗传距离主要集中在 5.6~6.7 之间, 其中太合 1 号和铁单 9 号最高为 6.7, 其次是掖单 13 为 6.6, 平均值为 6.1, 遗传距离 ≥ 6.0 者占 61%。

表 2 生产中主要玉米杂交种双亲遗传距离

编号	品种名称	杂交组合	遗传距离	编号	品种名称	杂交组合	遗传距离
1	掖单 13	478 $\times$ 340	6.6	15	京单 932	8112 $\times$ 404	6.1
2	掖单 52	8112 $\times$ 双 105	6.0	16	京玉 1 号	比尖八 $\times$ 501	6.4
3	西玉 3 号	478 $\times$ 502196	6.1	17	太合 1 号	8112 $\times$ 340	6.7
4	农大 60	5003 $\times$ 综 31	6.4	18	唐抗 5 号	黄野 4 $\times$ 获唐黄	5.9
5	掖单 5 号	8115 $\times$ 双 741	6.4	19	吉单 204	478 $\times$ 853	5.9
6	掖单 11	5003 $\times$ 52106	5.9	20	丹玉 15	Mo17 $\times$ 340	6.4
7	掖单 12	478 $\times$ 81515	6.0	21	铁单 9 号	7922 $\times$ 340	6.7
8	掖单 19	478 $\times$ 52106	5.9	22	中单 8 号	478 $\times$ 多 22	6.1
9	掖单 22	488 $\times$ 502196	6.0	23	掖单 4 号	8112 $\times$ 黄早 4	5.8
10	黄 417	黄早 4 $\times$ Mo17	6.3	24	掖单 18	3189 $\times$ 81515	5.8
11	鲁玉 10	8112 $\times$ H21	5.9	25	掖单 21	488 $\times$ 双 105	5.8
12	农大 108	178 $\times$ 黄 C	6.1	26	农大 3138	综 31 $\times$ P138	5.7
13	京早 10	比尖八 $\times$ 四自四	5.9	27	丹玉 13	Mo17 $\times$ E28	5.6
14	京单 901	478 $\times$ 京 06	6.1	28	京科 2 号	K227 $\times$ 218	6.1

2.2 遗传距离与杂交优势的关系

在本文中,使用杂交种最大单株子粒产量来反应其杂交优势的强弱。据作者多年连续观察测定,每个杂交种最大单株粒重较之小区平均子粒产量相比,更加稳定,变异系数小,受株型,密度,倒伏,病、虫、草害等环境因素的影响较小。

根据遗传距离的大小,组配了 72 个杂交组合,其编号、遗传距离及单株粒重(表 3)。结果表明,遗传距离 < 6.0 的 40 个组合平均单穗粒重只有 168.8 g,其中仅有 2 个组合的单株最大穗粒重超过 200 g,只占 5.0%。而遗传距离 ≥ 6.0 的 32 个组合平均单穗粒重高达 221.3 g,比遗传距离 < 6.0 的 40 个组合平均单穗粒重高 31.1%,其中有 27 个组合的单株最大穗粒重超过 200 g,占 85%。因此在组配杂交组合时可以把遗传距离 6.0 作为参考界限,重点组配遗传距离在 6.0 以上的组合,这样选出强优势组合的机率较大。相关分析也表明,玉米单株最大子粒产量与双亲自交系间的遗传距离高度正相关,相关系数为 $+0.7054^{**}$,达极显著水平,即玉米双亲自交系间遗传距离越大,其杂交后代单株最大子粒产量就越高,杂交优势也就越高。经过回归分析得出回归方程如下:

$$Y = -216.9289 + 69.27077X \quad (Y \text{ 为单株最大产量}, X \text{ 为双亲遗传距离})$$

根据 DNA 指纹分析结果计算出两个自交系间的遗传距离,代入此方程就可以初步预测其杂种后代单株最大产量的高低。

表 3 双亲自交系间遗传距离与杂交组合单株最大子粒产量(杂交优势)的关系

组合 编号	遗传 距离	单株最大 子粒产量 (g/株)	组合 编号	遗传 距离	单株最大 子粒产量 (g/株)	组合 编号	遗传 距离	单株最大 子粒产量 (g/株)	组合 编号	遗传 距离	单株最大 子粒产量 (g/株)
1	6.4	248.6	19	5.7	194.2	37	5.0	121.6	55	5.9	170.5
2	5.7	172.2	20	5.8	200.7	38	5.7	176.5	56	5.7	152.8
3	6.0	219.9	21	5.5	108.3	39	6.1	222.4	57	6.0	235.5
4	6.1	189.5	22	5.8	163.3	40	6.1	206.1	58	6.4	233.7
5	5.6	177.1	23	5.4	178.1	41	5.8	174.9	59	6.1	246.0
6	6.1	219.6	24	6.1	202.3	42	5.4	133.4	60	5.8	171.4
7	5.9	206.8	25	6.1	213.0	43	5.7	107.0	61	6.1	194.6
8	5.7	190.8	26	5.9	173.7	44	5.8	189.7	62	4.9	158.9
9	6.4	234.3	27	5.9	194.7	45	5.5	158.9	63	6.1	201.0
10	5.8	170.7	28	6.1	220.6	46	5.9	193.1	64	5.7	169.7
11	6.0	222.9	29	6.1	243.8	47	6.1	245.3	65	6.1	210.6
12	6.6	226.7	30	6.1	236.8	48	5.0	163.8	66	5.8	200.0
13	6.4	233.6	31	5.9	162.6	49	5.7	154.4	67	5.0	160.0
14	5.8	147.7	32	5.9	192.4	50	5.7	153.3	68	5.7	188.0
15	5.7	137.7	33	6.0	219.9	51	6.2	189.4	69	6.4	178.0
16	6.1	193.9	34	6.4	200.4	52	6.0	216.0	70	5.8	170.0
17	6.0	212.5	35	5.9	162.2	53	6.4	229.2	71	5.9	190.0
18	6.1	245.7	36	5.9	199.3	54	5.5	163.2	72	6.5	290.0

3 讨 论

关于应用分子标记差异性预测作物杂种优势的研究已有报道,Dudley 等^[5]通过对 14 个玉米近交系双列杂交的资料分析表明,遗传距离与杂种产量相关不显著。而 Lee 等^[6]应用 28 个多态性 DNA 克隆检测了 8 个玉米近交系的 RFLP,分析了 28 个单交种的产量与其亲本遗传距离的水平,结果表明,遗传距离与产量以及遗传距离与特殊配合力的相关性均达到显著或极显著水平,相关系数分别为 $r=0.46^{*}$ 和 $r=0.74^{**}$ 。为什么会出现相反的结论,经过本单位玉米

育种的实践表明,玉米单株最大子粒产量最能反映双亲之间杂交优势的大小。因为每个组合中总有靠近过道或边行的单株发育比较充分,单株产量最高,并且年际间变化不大。而小区产量或公顷产量,由于受密度、肥水,气候等条件的影响较大,有的组合本来杂交优势比较大,但由于密度不合适或其他原因而导致小区产量较低。因此小区产量不能真实地反映杂交优势的高低,而前人研究恰恰采用的都是小区产量折公顷产量,产量结果不准是得出截然相反结论的原因所在。所以本课题利用 RAPD 分子标记对双亲间遗传距离与杂交后代单株最大子粒产量的关系进行了研究,结果表明玉米双亲间遗传距离的大小与其杂交后代单株最大子粒产量高度正相关。因此可以根据自交系间遗传距离的大小有目的地组配杂交组合,做到有的放矢,对遗传距离较小的组合完全可以不配,这样就可以减少盲目性,同时也节省了大量的人力和物力,提高育种效率。

参 考 文 献

- [1] 龙漫远. 玉米遗传距离测量方法及其与产量的杂种优势和特殊配合力的关系. 作物学报, 1987, 13(3): 193 - 200.
- [2] 朱英国, 张为国. 杂交水稻苗期同工酶与杂种优势关系的研究. 作物学报, 1987, 13(21): 89 - 96.
- [3] 李继耕. 植物同工酶及其在作物遗传研究中的应用. 作物学报, 1980, 6(4): 245 - 252.
- [4] Sarathe M L, Perajau P. Genetic divergence and hybrid performance in rice. *Oryza*, 1990, 27: 227 - 231.
- [5] Dudley J W, Saghai M A, Rufener G K. Molecular markers and grouping of parents in maize breeding programs. *Crop Science*, 1991, 31: 718 - 723.
- [6] Lee M, Godshalk E B, Lamkey K R. Association of restriction fragment length polymorphisms among maize inbreds with agronomic performance of their crosses. *Crop Science*, 1989, 29: 1067 - 1071.
- [7] Schwartz D. Genetic studies on mutant enzymes in maize. *Proc. Nat Acad. Sci.*, 1960, 46: 1210

Studies on Selection of Outstanding Maize Hybrids Using RAPD Markers

ZHAO Jiu-ran GUO Jing-lun KONG Yan-Fang et al.

(*Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing, 100089*)

Abstract: The relationship between Genetic distance based on RAPD markers from 21 selected special primers and yield heterosis of 46 important inbred lines was studied. The results indicated that very significant positive correlations was detected between them. Nowadays average genetic distance based on RAPD markers of 28 main using hybrids in China is 6.1. Breed 72 single cross depend on different genetic distance. The genetic distance of 93.1% of the bred hybrids among 29 hybrids which potential grain weight per plant were more than 200 grams is ≥ 6.0 .

Key words: RAPD; Maize; Genetic distance; yield; Heterosis