

玉米自交系杂种优势群划分方法的比较

王明泉

(黑龙江省农业科学院玉米研究所, 黑龙江哈尔滨 150086)

摘要: 玉米种质资源是人类宝贵的物质财富, 大量的种质资源是开展玉米育种的基础, 合理、准确地划分玉米杂种优势群, 建立相应的杂种优势模式, 才能有效地改良自交系和选配杂交组合, 提高育种效率。通过对几种不同划分玉米杂种优势群的方法进行比较分析, 表明分子标记技术在划分杂种优势群较其它方法具有优越性。

关键词: 玉米自交系; 杂种优势群; 分类方法; 分子标记

中图分类号: S513 文献标识码: A 文章编号: 1002-2767(2009)05-0041-04

Comparison of Classification Methods of Maize Inbred Lines into Heterotic Advantage Group

WANG Ming-quan

(Maize Research Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences Harbin, Heilongjiang 150086)

Abstract: Maize germplasm resources are human valuable material wealth, a large number of germplasm resources are the basis of maize breeding. Dividing reasonably and accurately maize heterotic groups and establishing heterotic corresponding model that inbred lines hybrid combination of matching and breeding efficiency could be effectively improved. In this paper, it showed that the molecular marker technology in heterosis group had advantages over other methods by comparing the several different classification methods of heterotic advantage groups of maize.

Key words: maize inbred lines; heterotic advantage groups; classification; molecular marker

玉米种质资源是人类宝贵的物质财富, 大量的种质资源是开展玉米育种的基础, 但是如何充分利用他们, 需要进行遗传分类研究。杂种优势利用是 20 世纪农业科学研究中一项重大突破, 也是 20 世纪各国提高作物产量的重要技术措施。正确划分杂种优势群, 才能在实践中有目的地对种质进行改良和创新, 丰富种质基础, 从而有利于选育优良自交系, 配制强优势组合, 提高育种效率^[1]。因此, 正确划分杂种优势群在玉米杂种优势利用上有重要意义。

杂种优势群(Heterotic groups)是遗传基础广阔, 遗传变异丰富, 具有较多的有利基因, 较高的一般配合力(GCA), 种性优良的育种基础群体; 是在自然选择和人工选择作用下经过反复重组种质互渗而形成的活基因库; 从中可不断地分离筛选出高配合力的优良自交系。

1 系谱法

系谱追踪法在早期曾被广泛应用, 此方法的结论应是可靠的。它是根据种质的系谱来源确定亲缘关系的远近, 进而达到划分杂种优势群的目的。采取查找育种手册和计算共亲系数法对已知血缘的自交系进行聚类分析, 从而划分类群。但是由于作物品种的系谱不完整甚至不清楚, 制约着系谱分析法划分作物杂种优势群的应用。

自 1947 年以后, 美国人根据玉米自交系的来源把自交系划分为 Reid 和 Lancaster 两个优势群, 发现两者间有很强杂种优势, 形成了著名的 Reid×Lancaster (简称 Lan)杂种优势模式。后来依照地理来源和籽粒类型划分杂种优势群, 并建立美国马齿型×欧洲硬粒型杂种优势模式。处于热带的发展中国家利用本地资源, 探索出了一些很有发展潜力的杂种优势模式, 如 Texpeno×ETO、Tuson×Tuxpeno、古巴硬粒×expeon 等。Messmer 等通过比较 Malecot 共亲系数和 188 个 RFLP 标记数据的遗传相似系数, 研究了欧洲 29 个玉米自交系的亲缘关系, 发现遗传相似性和共祖系数之间相关显著(硬粒自交系间 $R=0.71$, 马齿自交系间 R

收稿日期: 2009-06-15

作者简介: 王明泉(1978-), 男, 黑龙江省通河县人, 硕士, 助理研究员, 从事玉米育种研究。E-mail: wangmingquan888@yaho.com.cn.

=0.86)。Smith 等用系谱法、 F_1 产量与 RFLP 标记对代表美国玉米带种质的 37 个玉米自交系的遗传相似性进行了研究, 得出三种方法的聚类结果的相关系数较高^[2]。

我国学者 20 世纪 80 年代初就采用系谱法对国内玉米杂交种的种质基础、杂种优势群及优势模式等进行了研究。吴景锋根据系谱推测, 将我国玉米种质划分为国内系和国外系。曾三省也曾将我国种质划分为国内系和国外系两大类。王懿波等根据系谱分析将国内 234 个玉米自交系划分为 5 个杂种优势群、9 个亚群, 杂种优势利用模式 10 种主体模式和 16 种子模式。这些划分玉米自交系类群的方法虽然粗浅, 却是研究的基础^[3]。

2 形态指标法

形态指标法就是用玉米自交系的形态学指标进行聚类的方法。郑永战等以 48 个不同来源的玉米自交系为材料, 利用表型值估算的遗传距离进行聚类, 并研究了遗传距离与杂种优势的关系^[4]。结果表明 根据自交系的表型值计算出的遗传距离不能完全反映亲本自交系间的遗传差异, 聚类结果与材料的亲缘关系、地理来源没有必然的内在联系, 在此方面只能反映亲本间的形态差异。

席章营等用星座图聚类法研究了 36 个自交系的亲缘关系, 认为星座图聚类法只是表型性状的聚类, 聚类结果与自交系间的血缘无必然联系。池书敏认为根据农艺性状遗传距离划分玉米杂种优势类群, 反映的是材料间的差异, 与材料的血缘关系不明显^[5]。刘新芝等也认为表型聚类受环境影响较大, 其聚类结果与实际系谱来源有很大出入。

综上所述, 根据形态指标或表型聚类, 不是杂交育种所需要的遗传聚类, 在育种实践中意义不大, 因此划分自交系的杂种优势群不太合适, 更不能用来分析杂种优势模式。

3 数量遗传学方法

大多数育种者采用此方法研究玉米杂种优势类群的划分。根据种质杂交后代的杂种优势表现和变异程度可以进行杂种优势群划分。杂交种的表现可以分解为亲本的一般配合力和特殊配合力; 亲本自交系间的特殊配合力有一定规律可循, 可以作为类群划分的依据。通过双列杂交方法可以分析自交系间的特殊配合力而用于类群划分, 并且非常有效, 其可靠性取决于参试自交系的数量与遗传基础的广泛性。兰发盛等用超中亲值杂种优势法把 14 个自交系划分为 4 个优势群, 认为聚类结果与生产应用相吻合。因此对进行自交系间的杂种优势进行聚类分析可得到较理想的效果。然而对于大量自交系的分析, 巨大的工作量使其在实际操作中缺少可行性。NC-II 设计大大降低了种质分析

所需的工作量, 但它必须先通过已知的杂种优势群筛选出一套标准测验种。对于一定数量的种质资源, 并已经建立了一定的杂种优势群或标准测验种, NC-II 设计将非常适合划分种质类群。

通过双列杂交, 根据产量特殊配合力(SCA)计算亲本间遗传距离, 然后划分杂种优势群^[6]。近年来, 国内育种家通常采用 NC-II 设计分析种质材料的产量 SCA, 然后把材料间的特殊配合力做聚类分析, 并结合 F_1 产量、杂种优势、一般配合力来划分杂种优势群。如陈彦惠等用 15 个来源不同的玉米自交系组配 105 个杂交组合, 以每个组合单株产量的对照优势作为基础, 初步分析了玉米自交系杂种优势群的划分, 根据杂种优势和配合力测定结果, 将我国玉米种质划分为四平头、旅大红骨、兰卡斯特、瑞德和难以分群的其他类型共五群^[7]。彭泽斌等还进一步对杂种优势类群间的 F_1 产量、杂种优势与配合力的测定结果进行综合分析, 提出了 7 个杂种优势利用模式, 为玉米杂种优势利用提供了理论依据^[8]。陈彦惠等分析了代表中国温带玉米主要杂种优势群的 5 个自交系、3 个改良群体与 10 个热带、亚热带群体之间的配合力、杂种优势和杂优组合模式。曹靖生等根据总配合力效应值, 分析了 20 个玉米自交系, 并将它们划为四大类群^[9]。番兴明等根据杂交组合产量性状的配合力分析, 初步将 10 个优质蛋白玉米自交系划分为 4 个杂种优势群和 4 种杂种优势模式^[10]。李明顺等采用 NC-II 设计, 以 Mo17、B73、黄早四、丹 340、K12、K22 为测验种, 12 个玉米自交系为被测系, 通过两年、两地点完全区组试验设计, 分析了 18 个自交系的配合力和杂种优势群, 结果分为兰卡斯特、瑞得、四平头、旅大红骨和 PA 群 5 群, 并获得了 9 个强优势组合。李玉玲等用 7 个国内不同类群自交系测定了 9 个南斯拉夫玉米自交系的 GCA 和 SCA, 将 9 个南斯拉夫玉米自交系划分为 5 类。陈泽辉等研究了 4 个 Suwan 群体与我国四大骨干自交系的配合力和杂种优势, 研究显示 Suwan 选系与四大骨干系间的杂种优势是明显的^[11]。姜海鹰等以 5 个测验种将 20 个高油玉米自交系分为两个杂种优势群和 9 种杂种优势模式。

4 生化标记法

生物化学技术的发展为生化标记应用于杂种优势群划分提供了新的方法。同工酶电泳被大量应用于定性分析优良自交系和区分玉米的远缘群体。Smith 等用 21 个同工酶位点分析了 111 个玉米杂交种的亲缘关系。结果表明, 美国和加拿大杂交种的等位基因频率差异不大, 但与外来和野生种质相比, 遗传多态性明显减少。他们认为同工酶可用于筛选不同种质的代表杂交种。Smith 等用同工酶和胚乳蛋白区分了大量玉米自交系和杂交种。然而, 在许多的研究中同工酶等位基因与特殊配合力相关性很低或不显著^[12]。Stuber 等认为同工酶标记不能提供足够的遗传多样性分析位

点^[13]。张祖新等研究了 10 份地方玉米品种和 4 份外来种质的同工酶遗传多样性。池书敏等利用过氧化物酶、酯酶和醇溶蛋白多态性的综合分析, 其聚类结果与用单个同工酶相比, 准确性有所提高。但总的来说, 同工酶检测亲本遗传差异的最大限制因素是亲本间同工酶位点少, 多态性低, 而且可分析酶的种类少^[9]。

由以上分析可以看出常规分类方法都是以基因表达产物为依据, 性状表现易受生态环境和组织发育时期的影响。随着国际范围内种质的相互渗透和基因交流以及从商业杂交种大量选育二环系, 许多新的自交系系谱关系已经开始混乱; 另一方面, 虽然用遗传关系相近的商业杂交种在相似的生态环境下选育二环系, 但由于选择方向 and 标准有很大不同, 选出的材料间仍能存在较大的遗传差异, 因此很难判断自交系或群体的地理来源、血缘关系和杂种优势类群。

5 分子标记技术

5.1 分子标记技术的研究简况

分子标记是继形态标记、细胞标记和生化标记之后发展起来的一种新的较为理想的遗传标记形式。近年来发展非常迅速。DNA 分子标记是指能反映生物个体或种群间基因组中某种差异特征的 DNA 片断, 它能够直接反映基因组 DNA 间的差异。DNA 分子标记在分子生物学的发展过程中诞生和发展的。1974 年, Gatzliker 等人在鉴定温度敏感表形的腺病毒 DNA 突变体时, 利用经限制性内切酶酶解后得到的 DNA 片断的差异, 首创了 DNA 分子标记——限制性片断长度多态性标记 (restriction fragment length polymorphism, RFLP)。自从 1980 年 Botstein 等发现限制性片段长度多态性 (RFLP) 出现以来, RFLP 标记技术是构建遗传连锁图的好方法, RFLP 标记技术用于许多植物完整遗传图的构建。分子标记技术有了较大的发展。1982 年, Hamade 发现第二代 DNA 分子标记——简单序列重复标记 (Simple sequence repeat, SSR)。1983 年, Soller 和 Beckman 最先把 RFLP 应用于品种鉴定和品系纯度的测定。1990 年, Williams 和 Welsh 等发明了随机扩增多态性 DNA 标记 (randomly amplified polymorphic DNA, RAPD) 和任意引物 PCR (arbitrary primer PCR, AP-PCR)。1991 年 Adams 等建立了表达序列标签 (expressed sequence tag, EST) 标记技术。1993 年, Zabeau 和 Vos 发明了扩展片断长度多态性标记 (Amplified fragment length polymorphism, AFLP)。1994 年 Ziekiewicz 等发明了简单重复间序列标记 (inter-simple sequence repeat, ISSR)。1995 年, Velculescu 等发明了基因表达系列分析技术 (Serial analysis of gene expression, SAGE)。1998 年, 在人类基因组计划的实施过程中, 第三代分子标记——单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 标记诞生。2001 年美国加州大学蔬菜系的 Li 和 Qui-

ros 博士提出了基于 PCR 的相关序列扩增多态性 (sequence-related amplified polymorphism, SRAP) 标记。2003 年, 美国农业部北方作物科学实验室的 Hu 和 Vick 又提出了基于 PCR 的靶位区域扩增多态性 (target region amplified polymorphism, TRAP)。目前分子标记已经发展到几十种。

5.2 分子标记技术的分类

目前已经应用的分子标记有多种, 基于 DNA 分子标记的分子标记技术大致可分为五类, 一类是以分子杂交技术为基础的 DNA 标记, 主要有限制性片段长度多态性标记 (RFLP)、可变数目串联重复序列标记 (VN-TR)、原位杂交 (ISH)、单链构象多态性 RFLP (SSCP-RFLP) 等; 第二类是以聚合酶链式反应 (PCR) 为基础的各种 DNA 指纹技术, 如 RAPD、SCAR、STS、SSR、DAF、AFLP、SRAP、AP-PCR、RP-PCR、SSCP-PCR 等; 第三类是以重复顺序为基础的分子标记技术, 如卫星 DNA (satellite DNA)、小卫星 DNA (minisatellite DNA)、简单重复序列 (simple sequence repeat, SSR)、短重复序列 (short repeat sequence, SRS)、串珠式重复序列 (tandem repeat sequence, TRS) 等; 第四类是以 mRNA 为基础的分子标记技术, 如逆转录 PCR (reverse transcription PCR, RT-PCR)、表达顺序标签 (expressed sequence tags, EST) 等; 第五类是以如单核苷酸多态性 (SNP) 为基础分子标记技术。

5.3 分子标记技术的优点

分子标记技术具有以下优点: (1) 研究的是基因型, 而不是通过表型去推测基因型; (2) 直接以 DNA 的形式表现, 在生物体的各个组织、各个发育阶段均可检测到, 不受季节、环境限制, 不存在表达与否等问题; (3) 数量极多, 遍布整个基因组, 可检测座位几乎无限。根据研究目的, 可以从浩如烟海的 DNA 序列中提取我们所需的遗传标记 (genetic marker), 如进化速率不同的基因及遗传方式不同的基因等; (4) 多态性高, 自然界存在许多等位变异, 无须人为创造; (5) 表现为中性, 不影响目标性状的表达; (6) 从分析方法来看, 各种类型的 DNA 基本上是通用的; (7) 从技术上来讲, 我们已从非常微量和异常陈旧 (保存 100 年以上) 甚至很古老 (几千万年直至上亿年) 的样品中提取 DNA 并进行分析, 尤其对于珍稀濒危动物来说, 可以在不伤害动物的情况下达到分析的目的。如从毛发中提取 DNA 进行分析等; (8) 许多标记表现为共显性的特点, 能区别纯合体和杂合体。目前分子标记已广泛用于植物分子遗传图谱的构建, 植物遗传多样性分析与种质鉴定, 重要农艺性状基因定位与克隆, 转基因植物鉴定, 分子标记辅助育种选择等方面。

5.4 用于杂种优势群划分研究

Lee 等最早利用 RFLP 构建杂种优势群。之后, 许多学者对作物开展了用 RFLP 来划分杂种优势群的研

究。Smith 等发现,亲本间 RFLP 的遗传距离和杂种优势有着显著的正相关性;Livini 等利用 RFLP 分子标记技术成功地将 40 个玉米自交系分为 3 大杂种优势群,并发现它们的分类与系谱关系非常一致^[4]。Senior 等用 70 个 SSR 标记位点研究了 94 份自交系的遗传多态性,SSR 多态性所揭示的遗传变异模式与已知血缘关系一致,聚类分析成功地将供试材料分为 9 个类群,与北美玉米的主要杂种优势群或市场分类相符^[5]。Pejic 等利用 RFLP、AFLP、RAPD、SSR 对 32 个玉米自交系进行遗传多样性分析,结果证明 AFLP 技术最为有效^[19]。刘新芝等利用 RAPD 分子标记首次对我国玉米自交系进行了杂种优势群划分,将我国玉米种质分为 6 群,其聚类结果与已知系谱符合率较高^[19]。赵久然等还利用 RAPD 分子标记技术研究了我国 46 个重要玉米自交系及部分优良自选系之间的遗传距离与其杂交组合杂交优势的关系^[17]。袁力行等利用 RFLP 标记将 29 个广泛应用的玉米骨干系划分为四平头、旅大红骨、兰卡斯特、瑞得和 PA 群共 5 类,划分结果与系谱分析基本一致,并把系谱来源不清的种质划分到相应的杂种优势群^[8]。黄益勤等利用 RFLP 标记将我国南方玉米区广泛利用的 41 份自交系和代表美国主要玉米杂种优势群的 4 份美国自交系划分为六大类群。Warburton 用 85 对 SSR 引物分析 CIMMYT 的 52 个玉米自交系遗传变异后认为,CIMMYT 玉米自交系应该划分为更多的杂种优势群而不仅仅是 HG“A”和 HG“B”两个杂种优势群。李新海等利用 SSR 标记研究了 21 个玉米自交系的遗传变异^[19]。刘杰等采用 SSR 和杂种优势聚类方法分析我国 15 个玉米自交系的遗传变异,并初步进行了杂种优势类群划分,结果表明,应用 SSR 聚类分析的结果与系谱关系相一致,与杂种优势聚类分析相比较,SSR 方法具有效率高、结果可靠、可标准化的特点^[20]。孙友位等利用 SSR 分子标记方法研究 375 个玉米自交系的遗传变异,认为 SSR 能较真实地揭示自交系间的遗传多样性,划群结果与系谱来源基本一致^[21]。Thomas 等采用 8 对 AFLP 引物对代表欧洲早期的包括硬粒和马齿两种类型的 51 个玉米自交系进行遗传多样性分析,结果表明 AFLP 在划分杂种优势群上是可行的。栗生群、贾建航、吴敏生、袁力行等利用 AFLP 技术分别对供试材料进行优势群划分,结果与系谱亲缘关系基本一致。

解释杂种优势的显性假说和超显性假说都是建立在遗传差异基础之上,利用遗传相似系数预测杂种优势正是遵循这一思路。应用分子标记可以经济快速地将大量供试材料划分到相应的杂种优势群,这是系谱分析和数量遗传学都无法比拟的。然而杂种优势是一个非常复杂的生物学现象,但是完全依靠分子标记而忽视对育种材料的地理来源、系谱分析、田间组配与评

价是不科学的。因此,利用分子标记划分玉米杂种优势群及构建杂种优势模式要与数量遗传学及育种家的实践相结合。

参考文献:

- [1] 张世煌. 玉米种质创新和商业育种策略[J]. 玉米科学, 2006, 14(4): 1-3 6.
- [2] Smith J S C, Chin E C L, Shu H, et al. An evaluation of the utility of SSR loci as molecular markers in maize (*Zea mays* L.): Comparisons with data from RFLPs and pedigree[J]. *Theor. Appl. Genet.*, 1997, 95: 163-173.
- [3] 王懿波, 王振华, 王永普, 等. 中国玉米主要种质杂种优势利用模式研究[J]. 玉米科学, 1997, 30(4): 16-24.
- [4] 谢俊贤. 玉米杂种优势群与杂种优势模式研究进展[J]. 甘肃农业科技, 2001(7): 5-8.
- [5] 池书敏, 刘志增. 几个常用玉米自交系的优势群分析[J]. 河北农业大学学报, 1995, 18(1): 22-26.
- [6] 李明顺. 13 个玉米群体的配合力和遗传多样性分析[D]. 北京: 中国农业科学院, 2005.
- [7] 陈彦惠, 张传贞, 徐洪杰. 玉米杂种优势类群和模式的研究 玉米国外血缘杂优类群数量性状的遗传分析[J]. 华北农学报, 1995, 10(1): 17-21.
- [8] 彭泽斌, 刘新芝, 傅骏骅, 等. 玉米自交系杂种优势类群与杂优模式构建的初步研究[J]. 作物学报, 1998, 24(6): 711-717.
- [9] 曹靖生. 黑龙江省玉米杂种优势基础现状与育种对策[J]. 黑龙江农业科学, 1999(2): 42-443.
- [10] 潘兴明, 陈洪梅, 谭静, 等. 利用配合力和 SSR 标记对热带和温带玉米自交系进行杂种优势群划分[J]. 西南农业学报, 2004, 16(1): 1-8.
- [11] 陈泽辉, 高翔, 祝云芳. Suwan 与我国四大玉米种质的配合力和杂种优势分析[J]. 玉米科学, 2005, 13(1): 5-9.
- [12] Smith J S C, Duvick D N, Smith O S, et al. Changes in pedigree backgrounds of pioneer brand maize hybrids widely grown from 1930 to 1999[J]. *Crop Sci.*, 2004, 44: 1935-1946.
- [13] Stuber C W. Mapping and manipulating quantitative traits in maize[J]. *Trends Genet.*, 1995, 11(12): 477-481.
- [14] Livini G, Masant A P, Melchinger A E, et al. Genetic diversity of maize inbred lines within and among heterotic groups revealed by RFLP[J]. *Theor. Appl. Genet.*, 1992, 84: 17-25.
- [15] Senior M L, Murphy J P, Goodman M M, et al. Utility of SSRs for determining genetic similarities and relationships in maize using an agarose gel system[J]. *Crop Sci.*, 1998, 38: 1088-1098.
- [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] 赵久然, 郭景伦. 应用 RAPD 分子标记技术对我国骨干玉米自交系进行类群划分[J]. 华北农学报, 1999, 14(1): 32-37.
- [18] 袁力行, 傅骏骅, Warburton M, 等. 利用 RFLP, SSR, AFLP 和 RAPD 标记玉米自交系遗传多样性的比较研究[J]. 遗传学报, 2000, 27(8): 725-733.
- [19] 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.
- [20] 刘杰, 陈刚. SSR 标记用于玉米自交系遗传变异与优势类群划分的研究[J]. 西北植物学报, 2002, 22(4): 741-750.
- [21] 苏俊, 李春霞. 黑龙江省玉米品种的种质基础和杂优利用模式分析[J]. 黑龙江农业科学, 2004(1): 1-5.
- [22] 孙友位, 李明顺, 张德贵, 等. 利用 SSR 标记研究 85 个玉米自交系的遗传多样性[J]. 玉米科学, 2007, 15(6): 19-26.