

# 采用 RAPD 分子标记、表型和杂种优势 聚类分析法对玉米自交系类群的划分<sup>\*</sup>

刘新芝 彭泽斌 傅骏骅 黄长玲 李连城

(中国农业科学院作物育种栽培研究所, 北京 100081)

**摘 要** 以 15 个我国生产上常用的玉米自交系为试验材料, 采用表型性状、杂种优势和 RAPD 分子标记三种聚类分析方法对玉米自交系的组群划分进行了比较研究。结果表明, 表型聚类因以表型性状为依据, 受环境影响较大, 其聚类结果与实际系谱来源出入较大。与表型性状聚类相比, 杂种优势聚类与已知系谱来源更接近。RAPD 分子标记, 具有标记性状数量较多, 不受生长发育时期限制和环境影响, 无功能性表型效应, 无上位及多效作用等诸多优点, 其聚类结果与已知系谱符合率较高, 反映出的类群关系比较可靠和真实。

**关键词** 玉米自交系 表型性状 杂种优势 RAPD 聚类分析

玉米自交系的类群划分, 是合理选配亲本, 构建玉米杂种优势群, 及预测杂种优势的依据。有关玉米自交系类群划分原则及方法, 国内外学者从不同的角度, 采用不同的方法进行过大量研究和报道。汪茂华等<sup>[1]</sup>曾就生产上常用的 24 个玉米自交系进行了主成分和聚类分析。黄清阳等<sup>[2]</sup>研究了玉米自交系间的遗传距离与杂种优势及杂种产量间的关系。其后, 郑永战等<sup>[3]</sup>研究 48 个自交系遗传距离和聚类分析, 探讨了遗传距离与杂种优势的关系。上述三者均以表型性状数据做聚类分析的依据。

兰发盛<sup>[4]</sup>提出用自交系间的杂种优势进行聚类分析取得了比较理想的结果。刘新芝等<sup>[5]</sup>提出了用自交系配合力进行聚类分析。同工酶是一种中性的遗传标记, 近年来在植物育种的某些方面应用非常成功。Nucca 和 Socne<sup>[7]</sup>, Smith 和 Goodman<sup>[8]</sup>曾报道了用同工酶酶谱资料进行主成分分析和聚类分析, 进而推测自交系间的谱系关系和遗传差异, 预测杂种优势。随着分子标记技术的发展, RFLP 技术已成功地应用于玉米自交系的种群划分<sup>[9,10]</sup>。RAPD 技术是继 RFLP 之后另一新的分子标记技术, 已成功地应用于水稻<sup>[11]</sup>、洋葱<sup>[12]</sup>、花生<sup>[13]</sup>和芹菜<sup>[14]</sup>的种群划分。本研究旨在对表型聚类, 杂种优势聚类, RAPD 标记聚类三种方法进行比较研究, 为育种家选配亲本提供参考。

# 1 材料和方法

选用塘四平头、兰卡斯特、瑞德黄马牙和旅大红骨等 5 类 15 个常用玉米自交系为供试材料, 15 个自交系来源见表 1。按 Griffing 方法 2 进行双列杂交, 组配 105 个杂交组合。

1994 年将 105 个杂交组合及 15 个自交系采用格子方设计, 在北京、河南、陕西、安徽等地进行 4 点 4 次重复的产量鉴定。每小区取 10 株调查各农艺性状, 测定单株籽粒产量。

## 1.1 表型聚类分析

表型聚类法选用的性状有: 株高、穗位高、抽丝期、株型、穗长、穗粗、粒行数、每行粒数、穗粒重、百粒重、粒型、雄穗分枝数、茎粗、叶片数、粒长等 15 个性状。

## 1.2 杂种优势聚类分析

杂种优势采用中亲优势值, 每个自交系与其他 14 个自交系的中亲优势值为性状, 进行聚类分析。中亲优势(H) =  $(F_1 - P) / P \times 100$ 。F<sub>1</sub> 为杂交组合一代产量, P 为双亲产量平均值。

## 1.3 RAPD 分子标记聚类分析

从 105 个引物中筛选出扩增产物具有多态性的引物 20 个, 从中又选出主带易区分、多态性明显的引物 6 个。RAPD 扩增引物以  $\theta 1$  统计建立数据库, 在相同的迁移位置上 (相同分子量片断) 有带记为 1、无带记为 0, 进行 RAPD 聚类分析。

表 1 15 个玉米自交系来源

组 群	自 交 系	来 源
塘四平头类	D 黄 212	D729× 黄早四
	黄早四	塘四平头杂株
	汶 黄	黄早四× 汶青 1331 抗
兰卡斯特类	中黄 204	Mo17 二环系
	关 17	自 330× Mo17
	Mo17	C103× 187-2
瑞德黄马牙	B37	BSSSC0
	B73	BSSSC2
	B84	BSSSC5
旅大红骨类	旅 9	旅大红骨
	E28	旅 9× A619
	丹 340	白骨旅 9× 有稈玉米
其 他	自 330	可利 67× OH43
	5003	美 3144
	478	U8112× 5003

# 2 结果与分析

## 2.1 表型聚类

以 15 个表型性状的调查数据, 用类平均法聚类, 聚类分析的结果如图 1 所示。当 T= 4. 0 时, 可将 15 个玉米自交系分为 7 类(表 2)。第 1 类为 B73、B84、中黄 204、旅 9、E28。分到这 1 类的 5 个自交系与实际的系谱来源相差甚远。这其中包括了 3 大类的种质来源, B73、B84 为瑞德黄马牙类, 而中黄 204 为兰卡斯特类, 旅 9、E28 为旅大红骨类; 第 2 类包括丹 340、5003 两个系, 它们也是分别来自两个类, 丹 340 是旅大红骨系统的, 5003 是瑞德黄马牙系统的; 第 3 类为关 17 和 B37, 关 17 为 Lanc 系系统, B37 为 Reid 类系; 第 4 类为自 330 一个系; 第 5 类为 D 黄 212、黄早四、汶黄, 三者均来自塘四平头类; 第 6 类为 478 一个系, 第 7 类是 Mo17 一个系。从上述表型聚类结果与实际系谱来源相差较大, 可见表型聚类是不准确的, 这与前人研究结果

是一致的。

表 2 15 个自交系表型性状聚类结果

组群	自交系数目	自交系名称
1	5	B73、B84、中黄 204、旅 9、E28
2	2	丹 340、5003
3	2	关 17、B37
4	1	自 330
5	3	D 黄 212、黄早四、汶黄
6	1	478
7	1	Mo17

表 3 15 个自交系 杂种优势聚类结果

组群	自交系数目	自交系名称
1	3	B37、B73、B84
2	4	旅 9、E28、丹 340、5003
3	2	478、自 330
4	3	关 17、Mo17、中黄 204
5	3	D 黄 212、汶黄、黄早四

2.2 杂种优势聚类

采用中亲优势值,用类平均法聚类分析,结果见图 2。当 T= 4 时,分类结果见表 3。从图 2

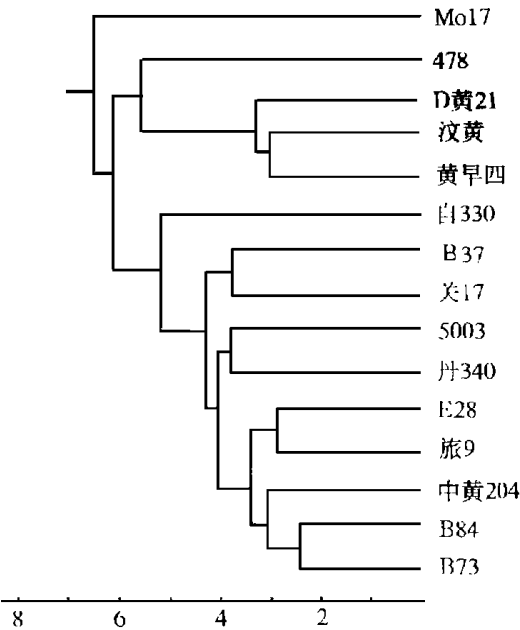


图 1 15 个自交系表型聚类

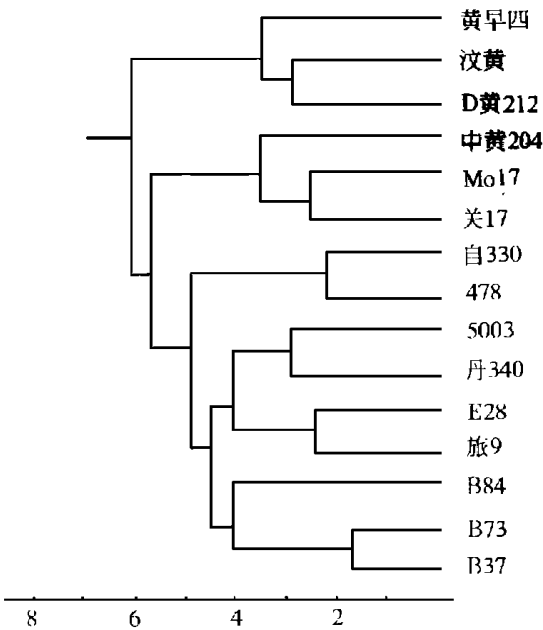


图 2 15 个自交系杂种优势聚类

中可见 15 个自交系分成了 5 类,第 1 类为 B37、B73、B84 三个系均属于瑞德黄马牙系统,第 2 类为旅 9、E28、丹 340、5003 等 4 个自交系,其中旅 9、E28、丹 340 来源于旅大红骨系统;而 5003 来源于瑞德黄马牙;第 3 类为 478、自 330,第 4 类为关 17、Mo17、中黄 204,三个系均来自于 Lancaster;第五类为 D 黄 212、汶黄、黄早四均来源于塘四平头血统。综上按杂种优势聚类分析的结果,与已知谱系来源和类群基本相符,只有个别系与实际谱系稍有出入。

2.3 RAPD 分子标记聚类

根据 6 个引物对 15 个自交系 RAPD 扩增结果,在相同的位置上,有 RAPD 带的记为 1,无带的为 0,将 6 个引物扩增带型转化为 0-1 型数据,计算各自交系的欧氏距离,再进行系统聚类。RAPD 聚类结果(图 3): 15 个自交系共聚成 6 个类,第 1 类是中黄 204、关 17、Mo17;第 2 类是 D 黄 212、黄早四、汶黄;第 3 类是 B37、B73、B84;第 4 类是旅 9、E28、丹 340;第 5 类是

5003、478; 第 6 类是自 330 一个自交系(表 4), 从 RAPD 标记对 15 个自交系分类结果和已知谱系的亲缘关系比较看, 二者基本是一致的。

3 讨论

植物种质类群的划分, 杂种优势的预测一直是植物育种家关注的热点问题。从传统的育种方法来看, 玉米育种家的选配强优势的杂交组合, 主要是采用测交法, 根据自交系的一般配合力大小及自交系间的亲缘关系进行亲本选配的。过去人们曾从形态、生理、生化性状入手对玉米类群划分进行了大量探讨。60 年代, 随着生化标记技术的发展, 很多研究者试图用同工酶标记, 做为玉米类群划分及杂种优势预测的依据。由于上述这几类遗传标记都是以基因表达为前提的, 易受作物生态环境和组织发育时期的影响, 深入地研究和广泛应用受到限制, 从我们的研究结果也可看出这点。表型聚类结果与实际各自交系的谱系来源相差较远, 结果是不准确的。原因有二: ①表型性状受环境影响较大; ②表型性状与杂种优势间不存在或有十分微弱的相关性。这在前人研究中已经有大量报道。Smith<sup>[8]</sup>指出:“揭示优良玉米种质的差异, 以往只有很少的测定是有用的, 原因是所用数据分析都是以某些自交系的观察值为基础, 因此, 对自交系间的遗传差异和亲缘关系不能提供一个准确的客观标准”。

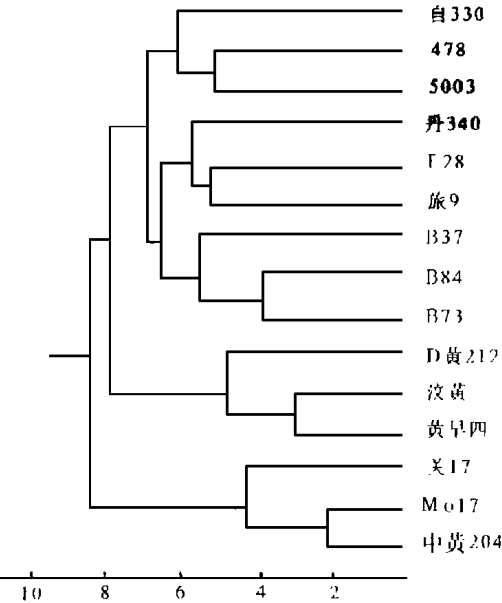


表 4 15 个自交系 RAPD 聚类结果

组群	自交系 数 目	自交系名称
1	3	中黄 204、关 17、Mo17
2	3	D 黄 212、黄早四、汶黄
3	3	B37、B73、B84
4	3	旅 9、E28、丹 340
5	2	5003、478
6	1	自 330

图 3 15 个自交系 RAPD 分子标记聚类

差异, 能够在多大程度上代表遗传差异性, 直接影响遗传距离测定的真实性, 而育种中所涉及的大部分性状为数量性状, 就更为复杂。在此基础上测定的遗传距离其代表性就有很大局限性, 我们的研究结果也正说明了这点。

池书敏等<sup>[6]</sup>利用杂种优势距离对 10 个常用玉米自交系进行了聚类分析, 获得了比用表型性状聚类更为直观的结果。我们用杂种优势聚类得出和他们同样的结论, 聚类结果与各自交系的已知谱系来源除个别自交系外, 均基本相符合。相对于表型聚类来说还是比较准确的, 更

郑永战等<sup>[3]</sup>研究表明, 从 48 个玉米自交系 15 个表型性状入手, 用主成分分析法测定供试材料的遗传距离, 运用类平均法进行聚类, 48 个自交系聚类结果与材料的亲缘关系和地理来源没有必然的内在联系, 正因为表型聚类有上述诸多缺点, 所以近期的一些研究对此提出疑义。

表型遗传距离是依据材料的外观测定性状的

有实用性,这主要是因为杂种优势本身就反映了各自交系的配合力水平。

从上述两种聚类分析方法的比较看,笔者更倾向于利用杂种优势聚类。从三种方法综合评价看,RAPD 分子标记聚类是比较可靠准确的方法。我们用 RAPD 分子标记聚类结果,将 15 个自交系分为 6 类。这 6 类与 15 个自交系的已知谱系基本一致,其中唯一例外为自 330,其含有 37.5% 的 Lancaster 血缘,按系谱分类应属 Lanc 类,RAPD 将其分在另一类,且与 Lanc 类间遗传距离为最大,这与育种实际相符。Lanc 类 Mo17 与自 330 配出了优良组合中单 2 号,且 Lanc 类自交系与自 330 衍生自交系也配出了推广组合。这是因为自 330 在长期的分离进化过程中,已发展成与 Lanc 类种质完全独立的一类。以上结果说明 RAPD 分子标记对玉米自交系类群划分的结果比系谱追踪结果准确,更符合育种实际。

RAPD 标记从分子水平上反映了各自交系的差异和亲缘关系的远近。RAPD 分子标记聚类,由于其简单、快速、灵敏等优点,已经被国外一些研究者用于各种作物及蔬菜种群划分和杂种优势预测。之所以比较准确和更加实用,是因为这种标记方法克服了表型聚类的缺点和不足,标记性状的数目不受限制,不受生长发育时期和环境的影响,也无功能性的表型效应,无上位及多效作用,因而反映出的类群之间的关系比较可靠和真实。通过上述三种聚类方法的比较,我们认为在有条件的情况下,最好是采用 RAPD 分子标记法进行玉米聚类分析和杂种优势的预测,相对于表型聚类和杂种优势来说更加准确可靠。

## 参 考 文 献

- 1 汪茂华等. 玉米自交系主要成分分析及遗传距离测定研究初报. 河南农业大学学报, 1986, 20(4): 407~415
- 2 黄清阳等. 自交间遗传距离与产量杂种优势、杂种产量的关系. 遗传学报, 1991, 18(3): 271~276
- 3 郑永战等. 利用玉米自交系间遗传距离预测杂种优势可行性分析. 华北农学报, 1995, 10(增刊): 15~21
- 4 兰发盛. 玉米自交系优势群划分及其利用的初步研究. 四川农业大学学报, 1993, 11(1): 64~69
- 5 刘新芝, 彭泽斌, 思杨等. 50 个常用玉米自交系配合力的聚类分析. 玉米科学, 1994, 2(1): 1~5
- 6 池书敏, 刘志增. 几个常用玉米自交系的优势类群分析. 河北农业大学学报, 1995, 18(1) 22~26
- 7 Nucce R, Soave. Taxonomie significance of the zein isoelectric focusing pattern. Maydica, 1978, 13: 239~249
- 8 Smith S C, *et al.* Genetic variability within U. S. Maize germplasm. Widely-used inbred lines 1970 to 1979. Crop Sci, 1985, 25: 682~685
- 9 Dudley J W, *et al.* Molecular markers and grouping of parents in maize breeding programs. Crop Sci, 1991, 31: 718~722
- 10 Smith O S, Smith J S C, Bowen S L, *et al.* Similarities among a group of elite maize inbreds as measured by Pedigree F<sub>1</sub> grain, grain yield, heterosis and RFLPs. Theor Appl Genet, 1990, 80: 833~840
- 11 Yu L X, Nguyen H T. Genetic variation detected with RAPD markers among upland and lowland rice cultivars (*Oryza sativa* L.). Theor Appl Genet, 1994, 87: 668~672
- 12 Susan E, Wilkie, Peter G Isaac, *et al.* Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers for genetic analysis in Allium. Theor Appl Genet, 1986, 70: 497~504
- 13 Halward T, Stalker T, Larue E, *et al.* Use of single-primer DNA amplifications in genetic studies of peanut (*Arachis hypogaea* L.). Plant Molecular Biology, 1992, 18: 325

- 14 Yang X, Ouiros C. Identification and classification of celery cultivars with RAPD markers. *Theor Appl Genet*, 1993, 86: 205~ 212

## Compared Study of Molecular Marker with Two Normal Methods for Maize Inbred Lines Grouping

Liu Xinzhi Peng Zebin Fu Junhua Huang Changling Li Liancheng

(Institute of Crop Breeding and Cultivation, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081)

**Abstract** Three methods of cluster analysis based on phenotype characters, heterosis, and RAPD's molecular markers, were compared in terms of methodology of heterosis grouping with 15 inbred lines used dominantly in commercial hybrid maize production in China. The analysis of phenotype cluster influenced by environment remarkably did not fit with the pedigree of the 15 entries. The heterosis cluster fitted better with the pedigree. RAPD's cluster fitted best with the pedigree for this method is based on plenty of molecular markers without functional phenotypic and multiple effects and epistasis, which are not influenced by growing and development stages and environment. RAPD's cluster is a reliable approach to distinguish the heterosis groups for inbred lines.

**Key words:** Inbred line of maize; Phenotype character; Heterosis; RAPD; Cluster