

# 玉米优势类群划分及其杂交模式的研究 —— 过氧化物酶、酯酶和醇溶蛋白多态性 的聚类分析\*

池书敏 孟义江 刘志增 陈景堂 宋占权

(河北农业大学农学院, 保定 071001)

**摘 要** 选用 36 个优良玉米自交系, 组配了 300 个杂交种 (其中 78 个杂交种为 13 个自交系按完全双列杂交设计组配), 利用过氧化物酶、酯酶和醇溶蛋白多态性的综合分析, 划分了我国玉米的优势类群, 所得结果与材料的血缘和育种实践高度吻合。研究结果表明, 我国的优势杂交模式为美国杂交种选系 $\times$ 四平头系等六类, 综合遗传距离与特殊配合力和杂种产量的关系均为抛物线关系, 相关系数分别为 0.632\* 和 0.671\*。还对优势类群在育种上的利用提供了参考意见。

**关键词** 玉米 过氧化物酶 酯酶 同工酶 醇溶蛋白 优势类群 杂种优势

如何准确地预测杂种优势, 正确地划分玉米优势类群及建立相应的高产杂交模式, 是玉米育种工作者长期以来共同关心并谋求解决的重要课题。国外在这方面进行了大量研究, 逐渐建立了自己的优势杂交模式。如美国玉米带的 Reid $\times$  Lancaster, 热带地区的 ETO $\times$  Tuxpeno 等。而我国, 由于国外种质引入后, 有相当一部分已导入了我国种质, 造成遗传背景混乱, 已无法用国内、国外两类种质来划分。在玉米种质分类上, 诸多研究者采用了农艺性状的聚类分析。虽然大部分研究结果表明, 遗传距离与杂种优势间存在高度相关<sup>[1~3]</sup>, 但在这个问题上还有很大争议。如有人认为农艺性状遗传距离与材料的血缘关系不明显, 聚类结果在很大程度上反映的是材料间表型差异<sup>[4,5]</sup>。而利用同工酶预测杂种优势时, 则局限于把杂种酶带、互补酶带的出现与否作为强优势杂交种的指标, 该方法争议更大<sup>[6~12]</sup>。总之, 在我国玉米种质相当复杂的情况下, 以上的研究均不能恰当地划分玉米优势类群和准确地预测杂种优势。本研究选用了 36 个优良玉米自交系, 组配了 300 个杂交种, 群体大, 取材广泛, 代表性强, 并且将过氧化物酶、酯酶和醇溶蛋白综合起来, 进行全面分析, 以期正确地划分玉米优势类群, 并建立我国的优势杂交模式, 为今后杂交种的亲本选配, 二环系的选育和综合种的合成提供参考。

## 1 材料和方法

所有材料均为河北农大玉米育种室多年自交、遗传稳定的自交系。包括 478 黄早 4 M o17

1996-10-17 收稿。

\* 河北省自然科学基金资助项目。

等 36个 (表 1), 于 1994年冬在海南岛随机组配了 300个杂交种, 其中包括现在广泛使用的掖单 12, 掖单 19等 17个杂交种。对 13个自交系按完全双列杂交设计 (grafting)Ⅳ组配了 78个杂交种, 用于估算材料间的特殊配合力。

田间实验按随机区组分组设计, 三次重复, 行长 5m, 行距 0.6m, 株距 0.27m。于 1995年 5月 15日播种于河北农大试验场, 田间管理精细, 优于大田生产。成熟后取中间的 5个单株测定单株产量。

采用等电聚焦 (IEF)电泳方法, 对所选材料进行分析, 用单粒粉碎器将籽粒研成粉末后分成两份。一份用于醇溶蛋白分析; 一份用于过氧化物酶同工酶和酯酶同工酶的分析。对同一籽粒同时进行三种组分的分析, 以保证遗传背景的一致性。

表 1 36个自交系的血缘

代号	自交系	血 缘	代号	自交系	血 缘
01	5003	美国杂交种 3147二环系	19	农 1	(5003× 抗旱大粒黄)
02	478	(5003× 8112)二环系	20	农 2	(5003× 抗旱大粒黄)
03	8112	BSSS群体选系× ? → 3382二环系	21	农 7	478改造系
04	3189	(5003× 8112)二环系	22	农 6	478改造系
05	农 3	(8112× 5003)(8112× 3A)	23	农 11	(原齐 1222× 1137)
06	81832	3382二环系	24	农 8	478改造系
07	自 330	Lancaster→ oh43× 克利 67(k rol)	25	掖 107	X1.80二环系
08	M o17	Lancaster→ C 103× 187-2(k rug)	26	矮 192	改良 C103
09	综 31	来源于自 330的综合种	27	农 10	美国杂交种 78599选系
10	黄早 4	塘四平头选系	28	农 12	黄早 4× 自 330
11	黄野 4	黄早 4× 野鸡红	29	白野 4	白早 4× 野鸡红
12	冀 35	冀多 142× 黄早 4	30	黄抗	黄早 4改良系
13	502	丹 340× 黄早 4	31	52106	(矮金 525× 掖 107/106)
14	双 741	(矮金 525× BLP 44)(黄早 4× A 619)	32	农 5	南斯拉夫材料
15	双 105	(矮金 525× BLP 44)(黄早 4× A 619)	33	农 4	南斯拉夫材料
16	81515	(华凤 100× 矮 C 103)S2× 黄早 4	34	获唐黄	获白× 唐 203→ 二环系
17	丹 340	旅大红骨→ 白骨旅 9× 有稃玉米	35	获唐白	获白× 唐 203→ 二环系
18	E28	旅大红骨→ 旅 9宽× A 619H t	36	农 9	获白后代

注: A 619 为 Lancaster血缘。

按 W ilson的方法改良后提取玉米醇溶蛋白。称取 0.1g 胚乳粉, 加入 0.5m l样品提取液 (pH= 8.0)振荡 10m in后, 室温下浸提 2~ 3h, 8000g离心 10m in, 取上清液用于电泳 (Am pho-line pI= 3.5~ 10), 电泳完毕, 用 0.1% (w /v)考马斯亮兰 R<sub>250</sub>染色 2h, 冲洗干净后制成干板。

用 0.1M T ris-HCl (pH= 8.0)提取同工酶, 每 0.1g 籽粒粉加入 0.4m l提取液, 振荡 5m in, 0~ 4℃浸提 2~ 3h, 8000g离心 10m in, 取上清液电泳。

过氧化物酶同工酶电泳方法同醇溶蛋白, 用醋酸联苯胺 (0.1%, W /V)法染色。

酯酶同工酶电泳所用 Am pholine pI= 4~ 6电泳完毕, 用乙酸-α萘酯, 乙酸-β萘酯, 坚牢兰 RR 盐 (0.1% W /V)染色, 37℃保温 30m in, 酶带呈褐色后, 制成干板。

上述三种组合的命名方法相同, 均按相对等电点 (pI)的大小, 由低到高顺序编号, 并根据染色深浅分为 1、2、3级。无带位置为 0, 从而实现了谱带的数据化, 用于以后的统计分析。

2 结果与分析

将电泳分析得到的 49 条谱带 (其中过氧化物同工酶 12 条, 酯酶同工酶 9 条, 醇溶蛋白 28 条) 作为 49 个聚类指标, 利用系统聚类法, 估算 36 个自交系间的遗传距离, 再利用离差平方和法进行聚类, 得到聚类图 (图 1)。

在  $D^2 = 34$  时, 类内平均距离显著小于类间平均距离, 从而将 36 个自交系划为 8 个类群。

从表 2 看, 该聚类结果与血缘密切相关, 血缘关系较近的自交系归入一类, 而血缘关系较远的自交系则被划分在不同类群中。将四平头系分为两类 (第 I、II 类) 笔者认为比较合理。

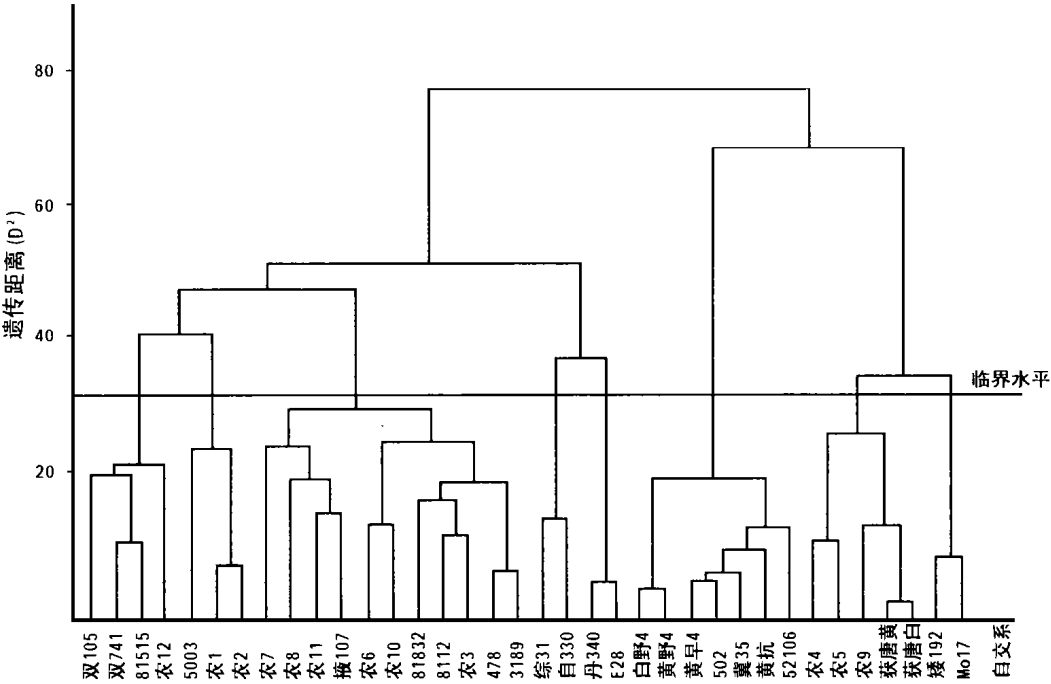


图 1 36 个自交系同工酶与醇溶蛋白多态性遗传聚类图

因为第 I 类中的 4 个自交系均不同程度地掺入了 Lancaster 种质, 而第 II 类中的前 6 个自交系基本上是我国地方品种选系或地方品种间杂交选系。将 Lancaster 系分成两类 (自 330 亚类和 M o 17 亚类), 也符合育种实践。这两类自交系分属于 Lancaster 系的两个分支, 且它们之间具有较高的配合力。虽然获白系和南斯拉夫材料选系在  $D^2 = 34$  时归在了一类 (第 VIII 类), 但从聚类图看, 它们聚类的水平也较高 ( $D^2 = 25$ ), 同时这两类材料具有中等程度的配合力, 因此将它们作为两个亚类处理。将 5003 从美国自交种选系中分离出来自成一类 (IV 类) 也比较合理。虽然 5003 为美国先锋公司杂交种选系, 农 1 农 2 为 5003 改造系, 但它们与第 III 类美国杂交种选系间杂交产量也比较高, 说明这两类间存在较大的遗传差异, 作为两类处理更为合适。因此供试的 36 个自交系实质上可以归为 6 个大类群 9 个亚群 (表 3)。

对本研究中组配出的产量较高的杂交种进行分析发现, 它们均为类间 (或亚类间) 杂交种

(表 4) 亚类内杂交种的产量虽有一定的差异, 但还不足以形成强优势的杂交种在生产上推广利用。这说明, 根据过氧化物酶多态性, 酯酶多态性和醇溶蛋白多态性综合聚类对玉米自交系优势类群的划分是合理的。遗传距离与材料间的亲缘关系、杂种产量间存在普遍相关, 对于有目的地组配杂交种有重要的指导意义。

将综合遗传距离对  $F_1$  产量作回归分析, 得到极显著二次多项式回归方程:  
$$Y = 20.34 - 13.26X - 0.25X^2 \quad (r = 0.671^*, SYX = 15.1g)$$

表 2 36个自交系遗传类群划分结果

类群	血 缘	自 交 系
I	四平头系	双 105 双 741 81515 农 12
II	四平头系	白野 4 黄野 4 黄早 4 黄抗冀 35 502 52106
III	5003改造系	5003 农 1 农 2
IV	美国杂交种选系	8112 农 3 81832 478 3189 掖 107 农 6 农 7 农 8 农 10 农 11
V	Lancaster系	M o17 矮 192
VI	Lancaster系	自 330 综 31
VII	旅大红骨系	丹 340 E28
VIII	获白后代	获唐白 获唐黄 农 9
	南斯拉夫材料	农 5 农 4

表 3 36个玉米自交系种质类群划分结果

类 群	亚 类	血 缘	自 交 系
I 类 四平头系	I 亚类	四平头系	白野 4 黄野 4 黄早 4 502冀, 35黄抗, 52106
	II 亚类	四平头× Lan	双 105, 双 741, 农 12 81545
II 类 Lancaster	III亚类	自 330	自 330 综 31
	IV 亚类	M o17	M o17, 矮 192
III类 美国杂交种选系		美国杂交种选系	478 3189, 8112 81832 掖 107 农 3 农 6 农 7 农 8 农 10 农 11
IV类 5003改造系		5003	5003 农 1 农 2
V 类 旅大红骨系		旅大红骨系	丹 340 E28
VI类	V 亚类	南斯拉夫系	农 4 农 5
	VI亚类	获白后代	获唐白, 获唐黄, 农 9

将 300个杂交种的  $F_1$  产量对综合遗传距离作散点图 (图 2), 从图上可以看出,  $F_1$  产量随遗传距离的增加而增加。在  $D^2 = 26.5$  时达到最高值, 以后又随遗传距离的增加而降低。因此最高的杂种产量可能存在于最适的或中等程度偏大的遗传差异的组合。对 78个杂交种的特殊配合力与综合遗传距离作回归分析, 也得到了极显著的二次多项式回归方程。从 78个杂交种的特殊配合力与综合遗传距离的散点图 (图 3), 可以看出特殊配合力随遗传距离的改变趋势与产量随遗传距离变化的趋势是一致的。在  $D^2 = 25.5$  时, 特殊配合力达到最大值。

3 讨论

3.1 玉米优势类群在亲本选配、自交系选育上的应用

从表 4可以看出, 大部分高产杂交种分布于以下 6种杂交模式中, 在今后杂交种的亲本选配上应优先考虑这 6种类型的杂交。第一种杂交模式: 第I 类 (四平头系) × 第III类 (美国杂交种选系) 以掖单系列杂交种为代表; 第二种杂交种模式: 第III类美国杂交种选系 × 第V 类 (旅大

表 4 高产杂交种与种质类群的关系

类 群		杂 交 种
I 类× II 类	I 亚类× VI亚类	京黄 417 冀单 24
I 类× III类	I 亚类× III类	农 10× 黄抗, 农 3× 冀 35 农 3× 黄早 4 黄抗× 农 6 农 6× 52106 农 7× 52106 掖单 2 掖单 4 掖单 19, 西玉 13 农 1× 黄早 4 掖 107× 冀 35
	II 亚类× III类	掖单 51, 掖单 52 掖单 12 农 3× 农 12 农 10× 农 12
I 类× IV类	I 亚类× IV类	5003× 52106
	II 亚类× IV类	5003× 81515
I 类× VI类	I 亚类× V 亚类	农 5× 黄早 4 农 5× 黄抗, 农 4× 52106
	I 亚类× VI亚类	唐抗 1 唐抗 5 农 9× 52106
	II 亚类× V 亚类	农 5× 农 12 农 4× 农 12
II 类 内	III亚类× IV亚类	中单 2
II 类× IV类	III亚类× IV类	农大 6Q 农 1× 自 33Q 农 2× 自 33Q 农 1× 综 31, 农 2× 综 31
II 类× V 类	IV亚类× V 类	丹玉 13 丹玉 15
	III类× IV类	478× 农 1, 478× 农 2 81832× 农 1, 8112× 农 2
	III类× V 类	太合一, 掖单 13 农 10× E28, 农 8× E28, 农 1× 丹 34Q 农 3× E28
III类× VI类	III类× V 亚类	478× 农 5, 478× 农 4 农 7× 农 5 农 10× 农 5, 农 6× 农 5, 农 1× 农 5
	III类× VI亚类	478× 农 9, 农 10× 获唐黄, 农 10× 获唐白
	IV类× V 类	沈单 7 农 1× 丹 34Q 农 2× 丹 34Q
IV类× VI类	IV类× V 亚类	农 5× 农 1 农 5× 农 2
	IV类× VI亚类	农 1× 农 9 农 1× 获唐黄

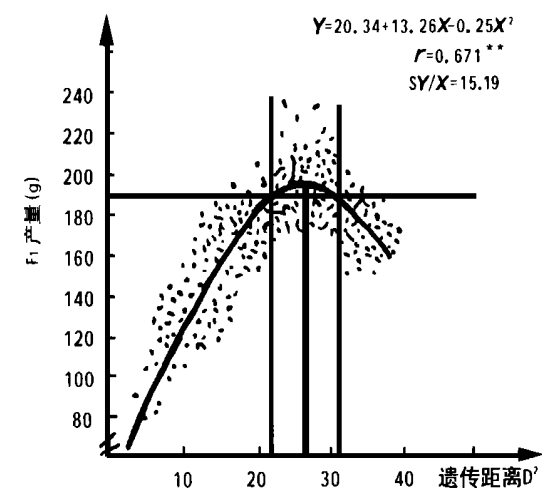


图 2 综合遗传距离与 F<sub>1</sub> 产量的关系

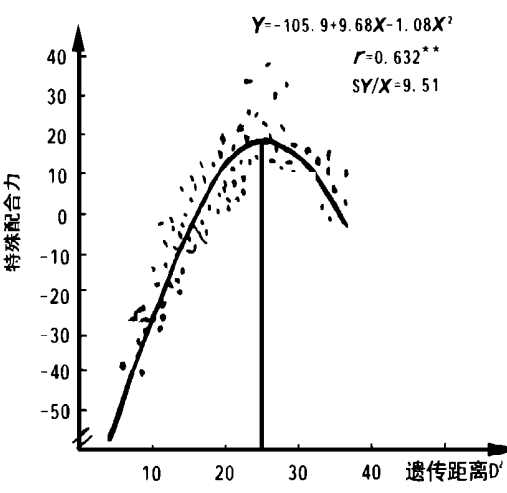


图 3 综合遗传距离与特殊配合力的关系

红骨系)以掖单 13 为代表; 第三种杂交模式: 第III类美国杂交种选系× 第VI类 (获白系和南斯拉夫系)以 478× 农 5 为代表; 第四种杂交模式: 第I 类 (四平头系)× 第VI类 (获白系和南斯拉夫系)以唐抗 5 和农 5× 农 12 为代表; 第五种杂交模式: 第II 类 (Lancaster 系)× 第IV类 (5003

改造系)以农大 60 农 K 自 330 为代表; 第六种杂交模式: 第Ⅳ类 (5003 改造系) × 第Ⅵ类 (获白系和南斯拉夫系) 以农 K 农 5 农 K 获唐黄为代表。从综合遗传距离与杂种产量的关系 (图 2) 可以看出, 产量较高的杂交种 (单穗粒重超过 190g) 其亲本间遗传距离大部分分布于 22 ~ 31 之间。应在优先考虑上述优势模式的同时, 考虑自交系间遗传距离的大小, 尽量选择在 22 ~ 31 之间的自交系杂交, 从而大大减少育种的盲目性, 提高育种成效。

在新二环系的选育以及综合种的合成时, 应尽量避免那些相互高配的类型间杂交, 包括上面提到的 6 类杂交模式以及 Lancaster 系的两个亚类间杂交 (Ⅲ亚类和Ⅳ亚类), 四平头系 (第Ⅰ类) 与 Lancaster 类中的 M o 17 亚类 (Ⅳ亚类) 间杂交, Lancaster 系与旅大红骨系 (第Ⅴ类) 间杂交, 从而保持其相互高配的特性。对于那些相互低配或中等配合力的类群间可以互相杂交选育新的二环系, 如: 四平头系与 Lancaster 系中的自 330 亚类间, 四平头与旅大红骨系间, Lancaster 系中的 M o 17 亚类与南斯拉夫和获白系间。由于美国改良种选系和其它类群均有较高的优势, 因而应该在类内互相改造, 同时也可以与第Ⅳ类间杂交选育新的二环系。

### 3.2 杂种优势预测的方法

我国育种工作者利用同工酶来预测杂种优势的表现时有些人认为杂种优势与同工酶的酶谱类型有关, 具有杂种酶带, 互补酶带的组合为强优势组合<sup>[6, 7]</sup>。从而提出把杂种酶带、互补酶带的出现与否作为杂种优势大小的指标。本研究分析了 36 个自交系和 300 个杂交种的酶谱与  $F_1$  产量的关系, 发现过氧化物酶、酯酶出现互补酶谱, 杂种酶谱 (酯酶) 的组合产量有高也有低, 表现并不完全一致。因此仅根据“杂种酶带”、“互补酶带”的出现与否并不能准确地预测杂种优势的表现, 这与戴景瑞等人的研究结果是一致的<sup>[7]</sup>。

利用农艺性状遗传距离来预测杂种优势时, 由于农艺性状受微效多基因的控制, 容易受到环境的影响而变化, 农艺性状遗传距离在不同生态条件下, 有较大的变化。因而, 利用农艺性状遗传距离的预测效果也不理想。

本研究利用过氧化物酶、酯酶和醇溶蛋白的综合分析, 把整个图谱看作一个向量, 其中的每条带看做一个分量, 对其进行全面的定量分析, 使得结果准确性大大提高, 同时, 由于同工酶和醇溶蛋白受环境影响小, 因而结果稳定可靠。该方法对杂种优势预测准确性高, 利用双亲综合遗传距离能够解释  $F_1$  产量变异的 45.3%。

### 3.3 优势类群划分方法

利用农艺性状遗传距离划分的玉米优势类群, 很大程度上反映的是材料间的表型差异, 与材料的血缘关系不明显, 而利用中亲值、配合力的聚类分析来划分优势类群, 需要组配大量的杂交种, 且需进行多年多点的综合分析, 因而非常浪费资源。而利用过氧化物酶、酯酶和醇溶蛋白多态性的综合聚类分析, 对玉米优势类群的划分结果与材料的血缘关系和育种实践高度吻合, 并能建立了我国玉米的优势杂交模式, 对杂交种的亲本选配等方面具有较大指导作用。本方法快速简便, 结果比较稳定可靠, 可以广泛地用于玉米优势类群的研究。

## 参 考 文 献

- 1 徐占宏, 程砚玺, 等. 玉米遗传距离与产量的杂种优势和特殊配合力关系的研究. 吉林市农业科技, 1991 (3): 5~9
- 2 兰发盛, 腾耀聪, 等. 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

- 3 Paszkiewicz SR, Schaffer JA, et al Genetic diversity among widely grown maize hybrids in missouri Madison W IP. Agron Abstr ASA, 1986 77
- 4 吴建宇. 玉米自交系性状及分类研究. 河南农业大学学报, 1992 26(2): 163~ 168
- 5 郑永战. 玉米自交系遗传距离及其与杂种优势关系的初步研究. 河南农业大学学报, 1993 27(1): 77~ 82
- 6 张德水, 赵吉平. 过氧化物同工酶预测玉米产量杂种优势的研究. 山东农业大学学报, 1990 21(4): 85~ 88
- 7 戴景瑞, 罗美中, 等. 玉米过氧化物酶和酯酶同工酶与杂种产量的关系. 作物学报, 1989, 15(3): 193~ 201
- 8 Price SC, Kahlert AL. Relationships between performance and multilocus heterozygosity at enzyme loci in single-cross hybrids of maize. J Heredity, 1986 77 341~ 344
- 9 Lankey KR, Haller AR, et al Allelic difference at enzyme loci and hybrid performance in maize. The Journal of Heredity, 1987, 78 231~ 234
- 10 Lefort-Busin M, Lavergne V, et al Genetic variability among populations of maize germplasm. I. Enzymatic polymorphism and its relationship to quantitative trait diversity. Maydica 1991 36 237~ 246
- 11 Smith JSC. Diversity of United States hybrid maize germplasm: Isozyme and chromatographic evidence. Crop Sci 1988 28 63~ 69
- 12 Smith JSC. The characterization and assessment of genetic diversity among maize (*Zea mays* L.) hybrids that are widely grown in France. Chromatographic data and isozymic data. Euphytica 1989, 43 73~ 85

## A Study on Heterotic Groups among Maize Inbred Lines and Heterotic Patterns —— Cluster Analysis for Polymorphism of Peroxidase Esterase and Alcohol-soluble Zein

Chi Shumin   Meng Yijiang   Liu Zhizeng   Chen Jingtang   Song Zhanquan  
(Department of Agronomy, Agricultural University of Hebei Baoding 071001)

**Abstract** Thirty six elite maize (*Zea mays* L.) inbred lines were used to make 300 hybrids, among which 78 were created with dialled crossed by using 13 inbred lines. On the basis of comprehensive genetic analysis of polymorphism of peroxidase, esterase and zein, the inbred lines were classified into several heterotic groups. And the cluster analysis result was highly correlated with parentage of them materials and the breeding practice. The heterotic patterns in China were found to belong to 6 heterotic patterns, such as the pattern of the American hybrid selected lines × Sipingtou lines etc. Parabolic correlations between comprehensive  $D^2$  and hybrid yield or special combining ability were found with the correlation coefficients being 0.632\* and 0.671\*, respectively. The utilization of heterotic groups in breeding was also discussed.

**Key words** Maize, Peroxidase, Esterase, Isozyme, Zein, Genetic distance, Heterotic group, Heterosis