

玉米自交系 08-641 不同选择方向 回交改良后代的遗传变异

李芦江¹ 熊尧宇^{1,2} 陈文生³ 兰海¹ 林海建¹ 杨克诚¹ 高世斌¹ 潘光堂¹

(1. 四川农业大学 玉米研究所 农业部西南玉米生物学与遗传育种重点实验室 四川 雅安 625014;

2. 四川省成都市新津县农村发展局 四川 成都 611430; 3. 四川农业大学 农学院 四川 成都 611130)

摘要: 利用 SSR 分子标记对玉米自交系 08-641(R08) 不同选择方向回交改良得到的 79 个 BC₂F₄ 后代的遗传多样性进行分析。结果表明, 利用 44 对具有清晰多态性的引物共检测到 272 个多态性等位基因位点, 其中有 123 个位点在回交后代株系中被检测到而在轮回亲本中缺失; 以种子形状和颜色不像 R08 为标准选择得到的回交后代株系, 基因型与 R08 的相似程度总体低于以种子形状和颜色类似 R08 为标准选择得到的回交后代株, 且其变异范围更广。可见不同选择方向所得回交后代选系的遗传变异存在一定的差异。因此, 在回交过程中采用多向选择的策略, 可能有利于提高回交改良的育种效率。

关键词: 玉米; 自交系; 回交; 选择方向; 08-641; 遗传变异; SSR

中图分类号: S153.03 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2013)05-0101-05

The Genetic Variation of the Backcross Modified Lines Developed from the Maize Line 08-641 Selected by Different Directions

LI Lu-jiang¹, XIONG Yao-yu^{1,2}, CHEN Wen-sheng³, LAN Hai¹, LIN Hai-jian¹,
YANG Ke-cheng¹, GAO Shi-bin¹, PAN Guang-tang¹

(1. Maize Research Institute, Sichuan Agricultural University, Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Maize in Southwest Region, Ministry of Agriculture, Ya'an 625014, China; 2. Xinjin Rural Development Bureau, Chengdu 611430, China; 3. College of Agronomy, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China)

Abstract: In this study, SSR molecular markers were used to analysis the genetic variation of 79 backcross modified lines of the maize inbred line 08-641(R08). The result showed that a total of 272 alleles were detected in the improved lines and R08, and 123 of them were detected in the modified lines but discarded in R08. The modified line selected based on simialry in the shape and corlor of seeds to R08 have lower genetic simialry between R08 than that between the lines selected based on dissimialry in the shape and corlor of seeds and R08, and the genetic varioation of theses lines were wider. It conduvted that when the backcross breeding were used to improve the maize inbred lines, multidirectional selection based on phenotypic value were contribute to create and keep genetic variation.

Key words: Maize; Inbred lines; Backcross breeding; Select direction; 08-641; Genetic variation; SSR

利用回交法改良玉米骨干系是创新玉米种质, 提高育种水平的有效途径之一。该方法广泛用于各种单基因的转育和数量性状的改良。国内外育种者利用回交法对骨干系进行改良, 育成了一系列在育种和生产上利用的优良自交系和杂种^[1-5]。龚士琛等^[6]以自交系 5003 为供体, 对自交系长 3 进行回

交改良, 成功改良了其抗病性和配合力, 育成了综合性状好的自交系 K10、HR25 和 HR3, 组配了黑 301、黑 334 和黑 342 等优良杂种。蒋铭泽等^[7]利用回交法对玉米自交系 444 进行改良, 育成了丝黑穗病抗性、产量及产量构成因素均表现较好, 明显优于轮回亲本 444 的优良自交系 J88 和 J148。

收稿日期: 2013-07-19

基金项目: 国家玉米产业技术体系项目(CARS-02-07); “十二五”农村领域国家科技计划课题项目(2011AA10A103-2); 四川省教育厅资助科研项目(13ZA0250)

作者简介: 李芦江(1982-), 男, 四川芦山人, 助理研究员, 博士, 主要从事玉米遗传育种研究。

通讯作者: 杨克诚(1940-), 男, 四川郫县人, 教授, 主要从事玉米遗传育种研究。

08-641(R08) 是四川农业大学玉米研究所美国玉米杂交种 Y7861 为基础材料选育的优良自交系,是西南地区玉米杂交育种第 4 轮骨干自交系,曾获 2008 年国家技术发明二等奖,作为亲本之一已组合近 20 个杂交种在西南地区大面积推广。该自交系具有穗大、配合力高等优点,但其大斑病抗性较弱。为了改良 R08 的大斑病抗性,提高其育种利用价值,延长其使用年限,四川农业大学玉米研究所利用 2 个具有不同优良特性的材料作供体,对 R08 进行回交改良。在后代选育过程中,以种子形状和颜色是否类似 R08(马齿、胚部钩状、桔黄色)为标准,进行双向选择,得到 79 个不同 BC2F4 株系^[8-9]。本研究利用 SSR 分子标记对 2 种不同选择方向回交后代的遗传变异进行分析,以期回交后代选择方式和育种策略的改进提供一定的理论参考。

1 材料和方法

1.1 供试材料

回交后代选育过程:2006 年秋季,从 R08 为轮回亲本回交两代自交一代的材料(BC2F2)中,以种子形状和颜色是否类似 R08 为标准,选出供体不同的 2 个典型材料,一个类似 R08(编号为 A,供体为 CN962),另一个不像 R08(编号为 B,供体为 8065),自交 2 代后得到 79 个 BC2F4 株系,A 材料自交分离得到的株系群体称 A 株系群,B 材料自交分离得到的株系群体称 B 株系群,以种子形状和颜色是否类似 R08 为标准,把 A 株系群分为 AR(似 R08)群和 ANR 群(不似 R08),把 B 株系群分为 BR(似 R08)群和 BNR 群(不似 R08),见表 1^[8-9]。

表 1 供试回交改良系及其分类

Tab.1 The group of the tested backcross modified lines		
供体 Donors	类群 Groups	回交改良系 The backcross modified lines included
A(CN962)	AR	BCML1-BCML18
	ANR	BCML25-BCML42
B(8065)	BR	BCML19-BCML24
	BNR	BCML43-BCML79

1.2 SSR 分析

1.2.1 DNA 提取 按 Scott 提出的 CTAB 法^[10]提取并纯化 79 个回交后代株系、供体亲本 CN962 和 8065 以及轮回亲本 R08 的 DNA。

1.2.2 SSR 扩增 选用 44 对扩增条带清晰、具明显多态性的引物,对 79 个 BC2F4 改良系进行扩增分析。PCR 扩增体系、扩增条件和扩增产物电泳分离参照 Smith、Xia 和刘维全等介绍的方法^[11-13],略有改良。

1.2.3 数据分析 按照分析软件 NTSYSpC 2.1 要求,根据筛选出的具有多态性的引物扩增结果,在相同迁移位置上,有带记为 1,无带记为 0,缺失记为 9,建立数据库^[14];计算每对引物的多态位点数、基因型数、多态信息量(PIC)和标记索引数(MI);根据统计检测到的 79 个回交后代株系和 R08 的基因型,分别计算 2 种选择方向回交改良后代株系的不同分类群体中与 R08 有相同基因型的百分率;根据 Nei&Li 提出的公式计算遗传相似系数^[15]。

1.2.4 数据统计分析 由 Microsoft Excel 2007 和 NTSYSpC 2.1 软件完成^[14]。

2 结果与分析

2.1 SSR 扩增结果

SSR 扩增结果表明,44 对具有清晰多态性的引物平均多态信息量(PIC)为 0.78,平均标记索引数(MI)为 4.91,在 82 个 DNA 样品中共检测到 272 个等位基因变异,每对引物检测到多态性等位基因数目变幅为 3~11,平均为 6.18;272 个多态性等位基因位点中,有 123 个位点在回交后代株系中被检测到而在轮回亲本中缺失,可以看出,各回交后代株系与 R08 之间及彼此之间均具有一定的遗传差异,说明回交后代相对于轮回亲本创造了一定的遗传变异。

2.2 回交后代基因型分析

统计出每对引物检测到的 79 个回交后代株系中基因型与 R08 基因型相同的株系数量百分比(表 2),得其均值为 16.5%,即在检测位点上有 83.5%的株系相对于 R08 产生了变异,从另一角度表明回交后代与轮回亲本间存在一定的遗传差异。其中,AR 群平均为 83.2%,ANR 群为 83.3%,两者基本相当;BR 群平均为 79.2%,BNR 群为 84.4%,BNR 群高于 BR 群;A 群平均为 83.3%,B 群为 83.7%,B 群略高于 A 群。上述结果说明,以种子形状和颜色不像 R08 为方向选出的株系中,基因型在检测位点上与 R08 不同的相对偏多。

表 2 不同类群改良系与 R08 的相同基因型所占比例

Tab.2 The proportion of the same genotype between different groups and R08	
基因型 Genotype	比例/% Proportion
79 个回交后代株系与 R08 79 lines between R08	16.5
AR 株系与 R08 AR between R08	16.8
ANR 株系与 R08 ANR between R08	16.7
BR 株系与 R08 BR between R08	20.8
BNR 株系与 R08 ANR between R08	15.6
A 株系与 R08 A between R08	16.7
B 株系与 R08 B between R08	16.3

2.3 回交改良后代遗传相似系数

玉米回交后代选系与轮回亲本间的遗传相似系数可用于衡量回交后代遗传变异(表 3)。79 个回交后代株系与轮回亲本 R08 遗传相似系数最大值为 0.857(株系 BCML64),最小值为 0.689(株系 BCML46),平均为 0.784,变幅较小,平均值较大。可见,经过 2 次回交后这些株系的遗传基础总体上已与 R08 相接近。

表 3 SSR 遗传相似系数
Tab.3 Genetic similarity of SSR data

SSR 遗传相似系数 Genetic similarity of SSR data	最大值 Maximum	最小值 Minimum	平均值 Average
79 个回交后代株系与 R08 79 lines between R08	0.857	0.689	0.784
AR 株系与 R08 AR between R08	0.830	0.729	0.784
ANR 株系与 R08 ANR between R08	0.838	0.711	0.778
BR 株系与 R08 BR between R08	0.850	0.760	0.803
BNR 株系与 R08 ANR between R08	0.857	0.689	0.783
A 株系与 R08 A between R08	0.838	0.711	0.781
B 株系与 R08 B between R08	0.857	0.689	0.786

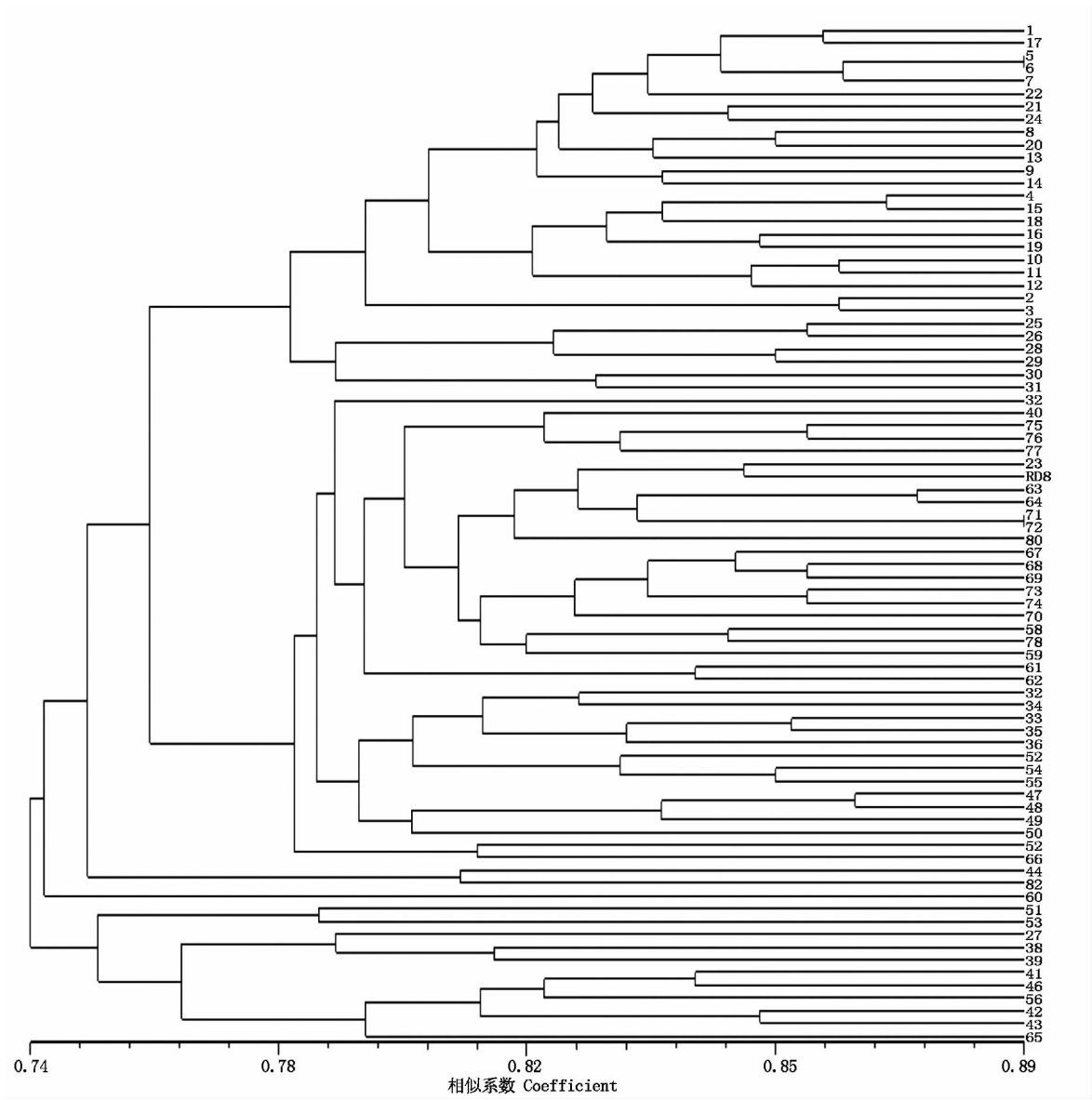


图 1 79 个回交后代株系与 R08 的 SSR 分析树状聚类图
Fig.1 Dendrogram by cluster analysis based on SSR genetic similarities

AR 群与 R08 遗传相似系数平均值略高于 ANR 群,其变幅小于 ANR,说明 AR 群比 ANR 群与 R08 的相似程度略高,ANR 群比 AR 群相对 R08 的变异范围大;BR 群与 R08 遗传相似系数平均值高于 BNR 群,变幅小于 BNR 群,说明 BR 群比 BNR 群与 R08 的相似程度高,BNR 群比 BR 群相对 R08 的变异范围大。

以上结果在一定程度上表明,以种子形状和颜色类似 R08 为方向选出株系的基因型与 R08 的相似程度总体上高于以种子形状和颜色不像 R08 为方向选出的株系。同时也可看出,以同一表型方向选出的株系在与 R08 的遗传相似程度上也更集中。

2.4 聚类分析

根据遗传相似系数矩阵,按照 UPGMA 方法进行聚类分析(图 1),结果表明,以遗传相似系数 0.756 为阈值,可将 80 个株系(79 个回交后代株系和供体 R08)划分为五大类,第一类包括 R08 和 65 个回交后代株系,AR 与 BR 类群的改良系全部与 R08 聚为一类,没有与 R08 聚在一类的回交后代株系有 14 个,其中 ANR 群有 5 个(27.8%),BNR 群有 9 个(24.3%)。这说明以种子形状和颜色是否类似 R08 进行选择分类得到不像 R08 的株系,部分株系在遗传上产生了较大的变异,而以类似 R08 为方向选出的株系相对于 R08 产生的变异则相对较少。

3 讨论与结论

SSR 分子标记分析可从基因组水平上反映供试材料间遗传差异,根据扩增结果,可计算多态位点数、多态位点比例、基因杂合度、基因型种类和个体间遗传相似系数等一系列指标,从而对供试材料进行遗传评价^[16-21]。本研究利用 SSR 分子标记对玉米自交系 08-641(R08)不同选择方向回交改良得到的 79 个 BC₂F₄ 后代的遗传多样性进行分析,结果表明,在轮回亲本的理论遗传比重相同的情况下,以种子形状和颜色类似 R08 为方向选出的株系,基因型与 R08 的相似程度总体上较高;而以种子形状和颜色不像 R08 为方向选出的株系,基因型与 R08 的相似程度总体上较低,且变异的范围更广。这可能是因为以种子形状和颜色不像 R08 为标准进行选择保留和积累了较多的不同于轮回亲本 R08 的变异,更有利于异源种质的发掘;而这些异源种质一方面来自供体遗传成份的导入,另一方面则来自遗传重组的创新,可见遗传重组在异源种质的发掘中也发挥着重要作用。在利用回交法导入新基因的过程中通过创新的选择策略、严格的选择过程,充分发挥

遗传重组的作用,提高供体系和轮回亲本的利用价值,将有可能使改良系的遗传基础得以进一步拓展。本研究所利用的双向分类选择,作为一种创新的选择策略,可能有一定的利用价值。笔者认为在回交后代的选择中,除坚持改良目标性状的选择外,可采用多向选择的策略,这样有可能发掘出较多的有利变异,得到更好的改良效果,从而提高回交改良的育种效率。

回交不仅是改良自交系的有效方法,也是创建近等基因系的基本手段^[16]。研究表明,回交后代株系与 R08 遗传相似系数平均值为 0.784,最高为 0.857(BCML64),最低为 0.689(BCML46),多数回交后代与轮回亲本已有较高的遗传相似性。以种子形状和颜色不像 R08 为标准选择得到的那些与轮回亲本 R08 在遗传上相当接近,在种子形状和颜色上却差异很大的株系材料(如 BCML64),可能在构建轮回亲本的近等基因系方面有特别的利用潜力。因此,在利用回交法培育近等基因系的过程中,在每个回交世代都选择某些典型性状与轮回亲本存在差异的材料,并结合使用分子标记和其他田间性状表现进行综合鉴定,将有可能得到一些有特殊利用价值的近等基因系。

参考文献:

- [1] 李玉玲,路凤银,杜振伟,等.普通玉米种质及双回交对爆裂玉米改良效果初报[J].华北农学报,2002,17(4):37-43.
- [2] 李玉玲,吕德彬,吴晓军,等.普×爆自交和回交后代连续选择效果研究[J].华北农学报,2005,20(1):12-16.
- [3] 陈洪梅,汪燕芬,姚文华,等.导入热带种质的温带玉米自交系的利用潜力[J].作物学报,2011,37(10):1785-1793.
- [4] 乔善宝,王玉花,杨克诚,等.不同供体及不同回交次数对玉米自交系 R08 的改良效应[J].作物学报,2009,35(12):2187-2196.
- [5] 刘海利,刘志斋,宋燕春,等.基于黄早四与掖 478 衍生的双向 BC₃回交群体的品质分析[J].玉米科学,2012,20(1):84-89.
- [6] 龚士琛,苏俊,李春霞,等.玉米自交系长 3 的改良与利用[J].玉米科学,2004,12(2):46-48.
- [7] 蒋铭泽,张林,刘显君,等.444 玉米回交导入系主要性状及对丝黑穗病的抗性评价[J].玉米科学,2012,20(6):30-35.
- [8] 熊尧宇,李芦江,文水清,等.不同选择方向回交改良玉米后代的出苗率和大斑病抗性[J].玉米科学,2011,19(6):1-5.
- [9] 熊尧宇,李芦江,文水清,等.玉米自交系 08-641 不同

- 选择方向回交改良后代主要性状的配合力[J]. 玉米科学 2012 20(1): 10-14.
- [10] Scott O R. Extraction of DNA from plant tissue [J]. Plant Molecular Biology, 1998 6: 1-6.
- [11] Smith J S C, Chin E C L, Shu H. An evaluation of the utility of SSR loci as molecular markers in maize (*Zea mays* L.): Comparison with data from RFLPs and pedigree [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1997(95): 163-173.
- [12] Xia X C, Reif J C, Hoisington D A *et al.* Genetic diversity among CIMMYT maize inbred lines investigated with SSR Markers: I lowland tropical maize [J]. Crop Science 2004 44(6): 2230-2238.
- [13] 刘维全. 精编分子生物学试验指导[M]. 北京: 化学工业出版社 2009: 100-111.
- [14] Rolf J F. NTSYS-pc2 Numerical taxonomy and multivariate analysis system (CP). Version 2.0 Exeter Software, Setauket, New York, 1998.
- [15] Nei M, Li W H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases [J]. Proc Nat Acad Sci USA, 1979 76: 5256-5273.
- [16] 雷开荣, 石春焱, 李明顺, 等. 在构建 QPM 近等基因系过程中对回交群体的 SSR 标记选择 [J]. 玉米科学, 2006 14(6): 028-031.
- [17] 柴美清, 原佳敏. SSR 分子标记在玉米种质研究中的应用 [J]. 山西农业科学 2011 39(9): 1017-1019.
- [18] 兰青阔, 李欧静, 张继波, 等. 津南芹菜 EST-SSR 指纹图谱的构建及遗传差异分析 [J]. 天津农业科学, 2012 18(5): 7-11.
- [19] 尚爱兰, 王玉民, 席章营. 玉米回交后代群体中供体基因组成分分析 [J]. 玉米科学 2010 18(1): 24-28.
- [20] 李锐, 白建荣, 张丛卓, 等. 山西中晚熟玉米区玉米自交系的遗传多样性及杂种优势群分析 [J]. 山西农业科学 2013 41(4): 311-316.
- [21] 赵永锋, 宋占权, 裴振东, 等. 分子标记辅助选择下的玉米回交群体农艺性状分析 [J]. 玉米科学 2012 20(1): 30-34.

欢迎订阅《作物学报》

《作物学报》是中国科学技术协会主管、中国作物学会和中国农业科学院作物科学研究所共同主办、科学出版社出版的有关作物科学的学术期刊。前身可追溯到 1919 年创办的《中华农学会丛刊》。主要刊载农作物遗传育种、耕作栽培、生理生化、种质资源以及与作物生产有关的生物技术、生物数学等学科具基础理论或实践应用性的原始研究论文、专题评述和研究简报等。办刊宗旨是报道本领域最新研究动态和成果, 为繁荣我国作物科学研究、促进国内外学术交流、加速中国农业现代化建设服务。读者对象是从事农作物科学研究的科技工作者、大专院校师生和具有同等水平的专业人士。

《作物学报》从 1999 年起连续 12 年获“国家自然科学基金重点学术期刊专项基金”的资助。2006—2013 年连续 8 年获“中国科协精品科技期刊工程项目 (B 类)”资助。从 2002 年起连续 11 年被中国科技信息研究所授予“百种中国杰出学术期刊”称号。2013 年被新闻出版广电总局评为“百强科技期刊”, 2011 年获“第二届中国出版政府奖期刊奖提名奖”, 2005 年获“第三届全国期刊奖提名奖”。2008 和 2011 年被中国科学技术信息研究所授予“中国精品科技期刊”称号。2009 年被中国期刊协会和中国出版科学研究所授予“新中国 60 年有影响力的期刊”称号。据北京大学图书馆编著的《中文核心期刊要目总览》(2004、2008 和 2011 年版) 登载, 《作物学报》被列在“农学、农作物类核心期刊表”的首位。

《作物学报》为月刊, 定价 50 元/册, 全年 600 元。可通过全国各地邮局订阅, 刊号: ISSN 0496-3490, CN 11-1809/S, 邮发代号: 82-336。也可向编辑部直接订购。

地址: 北京市海淀区中关村南大街 12 号, 中国农业科学院作物科学研究所《作物学报》编辑部

邮编: 100081

电话: 010-82108548

传真: 010-82105793

E-mail: zwx301@caas.cn; xbw@chinajournal.net.cn

网址: <http://zwx.chinacrops.org/>