

利用 RAPD 进行棉花优势种质资源群的划分与分析研究

唐中杰, 毛建平, 李 武, 谢德意*

(河南省农业科学院 经济作物研究所, 河南 郑州 450002)

摘要: 依据陆地棉供试材料的综合农艺性状和田间表现, 经过田间初步筛选, 然后利用 RAPD 标记进行棉花优势种质资源群的划分研究。结果表明: 从 60 份供试材料中筛选出 29 份优势资源, 按遗传距离的远近划分为 5 个棉花优势种质资源群; 同时聚类分析结果表明, 相同区域的供试材料遗传基础狭窄, 反映出各个区域棉花种质资源利用的局限性。

关键词: 棉花; 种质资源; RAPD; 聚类分析

中图分类号: S562 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-3268(2009)11-0038-03

杂种优势的遗传基础是杂种基因型的杂合性, 双亲的遗传差异越大, 杂种优势就越强。根据遗传差异, 将优势资源划分为不同的类群, 具有简化强优势组合选配过程的潜在能力。杂种优势群是近年研究的热点, 对拓宽种质资源, 克服杂交配组的盲目性, 提高育种效率具有重要意义。利用分子标记技术划分杂种优势群在玉米、水稻和小麦等都有研究报道^[1~3]。而利用分子标记研究棉花大多仅限于对材料的遗传背景及不同来源材料间亲缘关系远近的研究^[4~6], 有针对性地利用分子标记技术研究资源材料的遗传差异, 并在此基础上划分出优势种质资源群, 用以指导杂交种亲本选配的研究则不多见。为此, 结合育种实践, 采用 RAPD 标记划分陆地棉优势种质资源群, 以增加棉花育种杂交配组的目的性, 从而为棉花杂交亲本的选配提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料与设计

广泛收集国内外多种类型的陆地棉品种资源材料 60 份, 包括高产、优质、抗病、抗虫、彩色棉、标记棉等棉花类型。试验于 2008 年在河南省农科院郑州市试验地进行, 土壤肥力均匀, 按春夏棉不同分别种植, 单行区, 随机机组设计, 3 次重复。调查各材料出苗情况、长势、结铃性、丰产性、抗病性等综合农艺性状。

1.2 试验方法

1.2.1 提取 DNA 用改良 CTAB 法^[7] 提取经过

田间初步筛选的亲本资源基因组 DNA。RAPD 随机引物购自上海生工生物工程技术服务有限公司 (Sangon), *Taq* DNA 聚合酶和 dNTP 购自北京鼎国生物公司。

1.2.2 RAPD 反应和电泳 在 PTC-100PCR 仪上进行扩增, 反应总体积为 20 μ L, 其中 Mg^{2+} 2.0mmol/L, dNTPs 0.2 μ mol/L, Primer 0.5 μ mol/L, *Taq* polymerase 1.0U, 模板 DNA 40ng, 加 ddH₂O 至总体积 20 μ L。

1.2.3 PCR 反应程序 94 $^{\circ}$ C 预变性 2min; 94 $^{\circ}$ C 变性 30s, 37 $^{\circ}$ C 退火 1min, 72 $^{\circ}$ C 延伸 1.5min, 循环 40 次; 72 $^{\circ}$ C 延伸 5min。取 10 μ L RAPD 扩增反应产物进行 1.2% 琼脂糖胶电泳, EB 染色, 电泳缓冲液为 1 \times TAE, 电泳 2~3h, 在 DOC21000 凝胶成像仪上进行观察并照相。

1.2.4 数据统计分析 假定凝胶上所有迁移位置相同条带来自同一位点上的同一等位基因, 有带赋值为 1, 无带为 0, 每个引物重复 2~3 次, 统计有重复性的扩增带。数据统计分析采用 NTSYS-PC2.10e 软件分析, 计算 jaccard's 相似系数及用非加权组平均法 (UPGMA) 建立聚类图。

2 结果与分析

2.1 优势种质资源田间初步筛选

从广泛收集的国内外 60 份高产优质、抗病虫、彩色棉、标记棉等多种类型的陆地棉品种资源中, 依据

收稿日期: 2009-04-26

作者简介: 唐中杰 (1975-), 男, 河南漯河人, 助理研究员, 在读硕士研究生, 主要从事棉花遗传育种工作。

通讯作者: 谢德意 (1966-), 男, 河南商城人, 研究员, 博士, 主要从事棉花遗传育种工作。

生长势、结铃性、丰产性、抗病性等综合农艺性状,初步筛选出 29 份综合性状较优良的亲本材料(表 1)。

表 1 通过田间初步筛选的亲本资源材料

编号	品种(系)名称	材料来源	特征特性
1	豫棉 12 号	河南省农科院经作所	早熟棉
2	中 27	中国农科院棉花所	早熟棉
3	豫早 73	河南省农科院经作所	早熟棉
4	豫棉 22 号	河南省农科院经作所	早熟棉
5	邯郸 102	河北邯郸棉花研究所	常规中早熟品种
6	冀 668	河北省农科院经作所	常规中早熟品种
7	豫棉 19 号	河南省农科院经作所	常规中早熟品种
8	99B	河北冀岱公司	转 Bt 基因抗虫棉
9	33B	河北冀岱公司	转 Bt 基因抗虫棉
10	20B	河北冀岱公司	转 Bt 基因抗虫棉
11	鲁 1138	山东棉花研究中心	转 Bt+CpTI 双价抗虫棉
12	冀抗 668	河北省农科院经作所	转 Bt+CpTI 双价抗虫棉
13	中 41	中国农科院棉花所	转 Bt+CpTI 双价抗虫棉
14	鲁 272	山东棉花中心	转 Bt+CpTI 双价抗虫棉
15	豫棉 21 号	河南省农科院经作所	常规中早熟品种
16	新 9408	新乡麦棉研究所	常规中早熟品种
17	豫 668	河南省农科院经作所	常规中早熟品种
18	中 44	中国农科院棉花所	常规中早熟品种
19	豫棉 15 号	河南省农科院经作所	常规中早熟品种
20	豫棉 6 号	河南省农科院经作所	低酚棉
21	中无 5629	中国农科院棉花所	低酚棉
22	中彩 58269	中国农科院棉花所	彩色棉
23	豫棉 112	河南省农科院经作所	常规中早熟品种
24	天彩 4 号	新疆天彩公司	彩色棉
25	天彩 6 号	新疆天彩公司	彩色棉
26	豫棉 8 号	河南省农科院经作所	常规中早熟品种
27	天彩 7 号	新疆天彩公司	彩色棉
28	中 45	中国农科院棉花所	转 Bt+CpTI 双价抗虫棉
29	天彩 8 号	新疆天彩公司	彩色棉

2.2 29 份优势种质资源材料的遗传变异分析

筛选的 39 个随机引物均能在 29 份优势种质资源材料的基因组 DNA 中产生明显的扩增差异带。39 个 RAPD 引物共扩增出 155 条多态带,每个引物多态性条带数 2~7 个不等,平均每个引物产生 3.97 个;供试材料间的遗传相似系数在 0.65~0.98;由此可见,在分子标记水平上,29 份优势种质资源具有较丰富的遗传变异。

2.3 29 份优势种质资源材料的聚类分析

从图 1 可以看出:相似系数在 0.87 时,可将上述 29 份优势资源材料划分为 5 个棉花种质资源优势群。第 1 类群有 4 个品种(系),主要包括豫棉 12 号、豫早 73 等早熟品种;第 2 类有 10 个品种(系),主要包括 20B、33B、中 41、鲁 1138、鲁 272 等抗虫棉

品种和豫棉 19 号等具有形态抗虫特性的品种;第 3 类有 5 个品种(系),主要有豫 668、豫棉 21 号等常规中早熟品种;第 4 类有 2 个品种(系),为豫棉 6 号和中无 5629 低酚棉品种;第 5 类有 8 个品种(系),除主要包括中彩 58269、天彩 4 号、天彩 6 号等彩色棉品种外,还包括豫棉 112、豫棉 8 号常规中早熟品种。

聚类分析结果表明:不同类型的棉花品种基本聚为一类,同时又按遗传距离远近的差异划分出不同的亚类及次亚类,表明它们之间亲缘关系的远近不同。这与王学得等^[8]的研究相比有较强的可操作性,较好地解决了棉花育种中杂交亲本选配、杂种优势利用的盲目性问题,简化了强优势组合选配过程,提高了育种效率。

从以上聚类分析结果(图 1)还可以看出:聚类

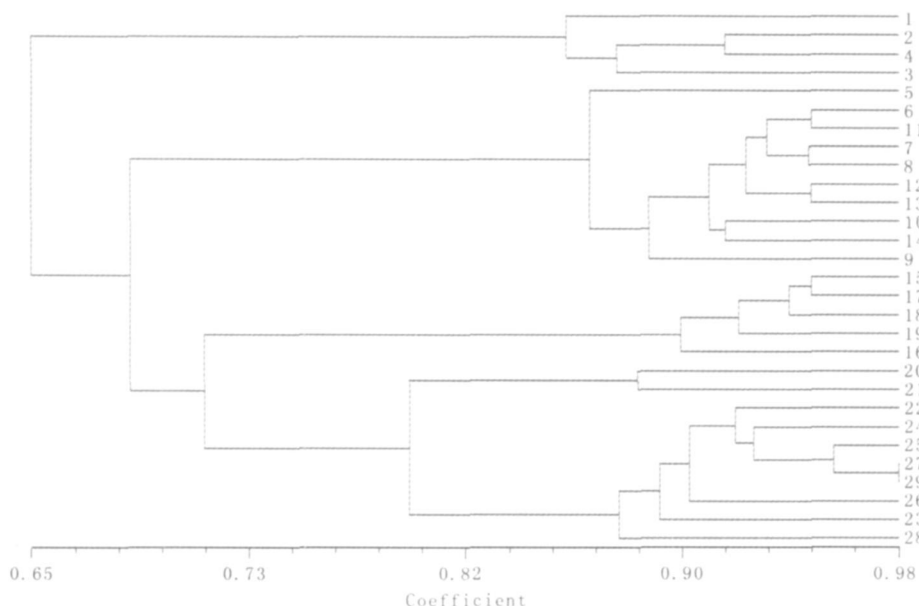


图 1 29 份优势种质资源材料聚类分析

结果与供试材料来源有密切关系。比如第 2、3、5 类都是常规中早熟棉花品种, 但第 2 类主要是来自山东、河北的棉花资源, 第 3 类主要是河南的品种, 第 5 类主要是新疆的品种。这反映了各个区域所育品种遗传差异变窄, 各个区域种质资源利用的局限性, 各个区域的棉花育种仍在相对封闭、数量有限的资源材料内进行, 要想在杂种优势上取得突破必须加大种质资源的引进, 扩大遗传变异基础。

3 讨论

3.1 利用 RAPD 标记划分棉花杂种优势群的可行性

利用 RAPD 标记研究了 29 个优势种质资源的遗传变异, 39 个引物在供试材料间共检测到 155 个等位基因变异, 依据 155 条多态性片段估算出的遗传相似系数, 将 29 个优势种质资源进行了类群划分, 结果与其形态类型和资源来源具有一致性, 群间平均遗传相似系数都小于群内平均遗传相似系数, 表明分类是合理的。另外, 从目前生产上推广的高产杂交组合来看, 其双亲基本都在不同的类群和亚群, 而类群内几乎没有优良的杂交组合出现, 从实践角度说明在棉花杂种优势群的划分上是可行的。通过划分棉花种质资源优势群, 可为选配强优势杂交组合提供理论依据。

3.2 棉花杂种优势利用展望

近几年棉花杂交种产量徘徊不前, 杂种优势利

用已经出现瓶颈效应, 最重要的原因是可利用的种质资源的遗传基础狭窄, 要想在杂种优势利用上取得突破, 必须加大棉花种质资源的收集, 利用常规育种和生物技术相结合, 创造出综合农艺性状优良、遗传基础丰富的优势种质资源。

参考文献:

- [1] 段智利, 姚文华, 黄云霄, 等. 利用配合力和分子标记划分玉米自交系杂种优势群[J]. 分子植物育种, 2008, 6(5): 921—928.
- [2] 田曾元, 王懿波, 王振华, 等. 利用 RAPD 进行玉米自交系种质类群划分的研究[J]. 华北农学报, 2001, 16(2): 31—37.
- [3] 王胜军, 陆作楣, 万建民. 采用表型和分子标记聚类研究杂交水稻亲本的遗传多样性[J]. 中国水稻科学, 2006, 20(5): 475—480.
- [4] 朱龙付, 张献龙, 聂以春. 利用 RAPD 和 SSR 标记分析陆地棉种质资源的遗传多样性[J]. 农业生物技术学报, 2003, 11(5): 450—455.
- [5] 吴玉香, 孙玉强, 陈崇乾. 利用 RAPD 检测棉属种间亲缘关系的研究[J]. 作物学报, 2007, 33(6): 909—913.
- [6] 房卫平, 许守明, 孙玉堂, 等. 棉花抗黄萎病的 RAPD 标记[J]. 河南农业科学, 2001(9): 9—11.
- [7] 宋国立, 崔荣霞, 王坤波, 等. 改良 CTAB 法快速提取棉花 DNA[J]. 棉花学报, 1998, 10(5): 273—275.
- [8] 王学得, 潘家驹. 棉花亲本遗传距离与杂种优势间的关联性研究[J]. 作物学报, 1990, 16(1): 32—38.