

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2009.02187

不同供体及不同回交次数对玉米自交系 R08 的改良效应

乔善宝 王玉花 杨克诚* 荣廷昭 潘光堂 高世斌*

四川农业大学玉米研究所 / 教育部作物基因资源与遗传改良重点实验室, 四川雅安 625014

摘要: 以 R08 为轮回亲本, 18 个优良自交系为供体亲本, 经过不同代的回交和自交, 选育出遗传背景与 R08 相近、但相互之间又存在一定差异的 BC_1F_3 和 BC_2F_2 各 18 个 R08 改良系。通过抗病性鉴定、配合力及 SSR 分子标记分析, 探讨不同供体及不同回交次数对 R08 的改良效果。结果表明, 36 个改良系中, 29 个抗或高抗大斑病, 大部分改良系的多数产量性状一般配合力(GCA)与 R08 相比并无下降或有所提高; 相同供体不同回交次数选系的比较显示, 对大斑病抗性的改良, 回交 1 次自交 2 次(BC_1F_3)优于回交 2 次自交 1 次(BC_2F_2), 且改良后代选系多数产量性状 GCA 大体相当; 相同回交次数不同供体选系的比较表明, 供体对回交后代的影响较大, 供体不同回交后代选系大斑病抗性 & 多数产量性状 GCA 存在较大的差异; SSR 分子标记研究结果在一定程度上揭示相同供体不同回交次数所创造的遗传变异无明显差异, 相同回交次数不同供体选系在分子水平上存在较大差异; 供体昌 7-2 和川 321 对改良 R08 的大斑病抗性和产量性状 GCA 作用较大, 属优良供体亲本; w4-1 和 w10-1 属回交改良优良选系。因此, 利用回交法改良玉米自交系, 在选准供体亲本的基础上, 回交 1 次后, 在自交过程中加强目标性状的鉴定选择及配合力测定, 可提高回交改良的育种效率。

关键词: 玉米; 供体; 回交法; 出苗率; 抗病性; 配合力; SSR 标记

Effects Contributed by Different Donor Parents and Backcross Times on R08 Improvement

QIAO Shan-Bao, WANG Yu-Hua, YANG Ke-Cheng*, RONG Ting-Zhao, PAN Guang-Tang, and GAO Shi-Bin*

Maize Research Institute, Sichuan Agricultural University / Key Laboratory of Crop Genetic Resources and Improvement, Ministry of Education, Ya'an 625014, China

Abstract: In this study, we used R08 as the recurrent parent and 18 excellent inbred lines as the donor parents to improve agronomic traits and resistance to maize northern leaf blight of R08. A total of 18 BC_1F_3 lines and 18 BC_2F_2 lines with diverse genetic background were obtained. The contributions from donor parents and backcross times were analyzed by investigating agronomic traits and resistance to northern blight and evaluating genetic variation with SSR markers. The results showed that 29 lines out of 36 BC-derived lines were resistant or highly resistant to northern leaf blight. The general combining ability (GCA) of major yield traits in most improved lines showed no decrease or a little increase compared with that of R08. The BC_1F_3 lines (backcross once and self-cross twice) presented better resistance to the disease than the BC_2F_2 lines (backcross twice and self-cross once) that were derived from the same donor parent. When comparing the improved lines with the same backcross times, donor background gave distinct effect on the backcross line, especially the resistance to northern leaf blight. The result of SSR markers analysis showed slight differences between the improved lines from the same donor parent and distinct variation among the improved lines with the same backcross times. Inbred lines Chang 7-2 and Chuan 321 acted as important parents in the resistance and yield trait improvements of R08. Therefore, they are regarded as excellent donor parents. As a result, w4-1 and w10-1, which were derived from Chang 7-2 and Chuan 321, respectively, are elite lines from the backcross with R08. In the backcross breeding of maize, the donor parent is suggested for consideration at priority, and backcrossing only once is acceptable on the basis of strict selection of target traits in combination with determination of GCA.

Keywords: Corn; Donor parent; Backcross breeding; Combining ability; SSR

本研究由国家“十五”科技攻关计划项目(2006BAD13B03), 教育部长江学者和创新团队发展计划(IRT0453)和四川省玉米育种攻关项目资助。

* 通讯作者(Corresponding authors): 杨克诚, Tel: 0835-2882465; 高世斌, E-mail: shibingao@gmail.com

第一作者联系方式: E-mail: sbqiao@163.com

Received(收稿日期): 2009-04-27; Accepted(接受日期): 2009-08-22.

玉米种质基础趋于狭窄,创新材料少,已成为玉米育种的瓶颈^[1-3]。随着社会经济发展对玉米品种需求的变化,玉米育种的种质资源及其利用途径也永远处于不断的改良更新之中。时刻关注种质资源的变化动态,及时采取先进的育种手段利用这些资源,培育优良品种,是玉米育种家永恒的使命。根据新的育种目标对亲本的更新要求,通过杂交、回交、自交及选择变异等育种方法,选育出综合性状明显优于原基础材料的新自交系和杂交种是创新种质、拓展种质基础、丰富种质资源的重要途径之一。回交育种能快速地向轮回亲本引入其他优良性状,并可以定向杂交、定向选择、定向控制杂种群体,是聚合优良基因、建拓基因库、提高选育自交系及杂交种效率的有效方法^[4-5]。

玉米自交系 R08 是四川农业大学玉米研究所选育的具有高配合力、大穗和广适等优良特性的中国西南部优良玉米骨干系,截止 2008 年底已组配近 20 个在西南玉米生态区适应性较好的省级以上审定的杂交种。但 R08 也存在抗大斑病性较差的缺点。为了改良 R08 对大斑病的抗性并探讨影响回交改良效果的有关因素,四川农业大学玉米研究所以中国农

业科学院提供的 18 份优良自交系为供体亲本,以 R08 为轮回亲本,采用不同回交和自交次数选育出了遗传背景与 R08 相近、但相互之间又存在一定差异的 BC₁F₃ 和 BC₂F₂ 各 18 个 R08 改良系。本研究以上述选系及与 R08 已组配出审定杂交种的另一亲本为测验种,按不完全双列杂交配制的组合为供试材料,通过对改良系的大斑病抗性鉴定、配合力及 SSR 分子标记分析,从不同层面上探讨不同供体及不同回交次数对 R08 的改良效果,以期回交育种的有效利用以及优异供体和改良优良系的发掘提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料与试验病菌

1.1.1 BC₁F₃ 和 BC₂F₂ 选育过程 以中国农业科学院提供的 120 份自交系为供体亲本与轮回亲本 R08 杂交,获得 120 个杂交组合,用 R08 分别与 120 个组合后代回交,再从与 R08 已回交一次的 120 份材料中选取 18 份田间表现优良的材料,并选择优良单株,分别做自交和回交,通过南繁得到经 1 次回交 2 次自交的 18 个 BC₁F₃ 和经 2 次回交 1 次自交的 18 个 BC₂F₂ 材料(表 1)。

表 1 供试材料名称及系谱
Table 1 Name and pedigree of inbred lines

回交后代选系 BC-derived lines		供体材料 Donor parent	系谱 Pedigree
BC ₁ F ₃	BC ₂ F ₂		
w1-1	w1-2	郑 58 Zheng 58	掖 478 改良系 Improved line of Ye 478
w2-1	w2-2	鲁 2548 Lu 2548	齐 205×掖 478 选系 Hybrid of Qi 205×Ye 478
w3-1	w3-2	鲁 9801 Lu 9801	黄改系 Huangzaosi derived line
w4-1	w4-2	昌 7-2 Chang 7-2	黄早四×潍 95 选系 Hybrid of Huangzaosi×Wei 478
w5-1	w5-2	K14	5005×6917 选系 Hybrid of 5005×6917
w6-1	w6-2	K12	黄早四改良系 Huangzaosi improved line
w7-1	w7-2	沈 137 Shen 137	先锋杂交种 6J1K111 选系 Pioneer hybrid 6J1K111
w8-1	w8-2	汶黄 Wenhuan	黄早四×汶青 1331 抗选系 Hybrid of Huangzaosi×Wenqing 1331
w9-1	w9-2	鲁原 92 Luyuan 92	原齐 122×1137 选系 Hybrid of Yuanqi 122×1137
w10-1	w10-2	川 321 Chuan 321	先锋杂交种 78599 选系 Pioneer hybrid 78599
w11-1	w11-2	齐 319 Qi 319	先锋杂交种 78599 选系 Pioneer hybrid 78599
w12-1	w12-2	835	8112×515 选系 Hybrid of 8112×515
w13-1	w13-2	CAL73	中综 4 号选系 Zhongzong 4
w14-1	w14-2	双 741 Shuang 741	(矮金 525×BNP44)×(黄早四×A619)选系 Hybrid of (Aijin 525×BNP44)×(Huangzaosi×A619)
w15-1	w15-2	黄野四 Huangyesi	(野鸡红×黄早四)×墩子黄选系 Hybrid of (Yejihong×Huangzaosi)×Dunzihuang
w16-1	w16-2	荻唐黄 Huotanghuang	(荻唐白 42×海 1917)×Mo17ht 选系 Hybrid of (Huotangbai 42×Hai 1917)×Mo17ht
w17-1	w17-2	CA042	Pool 33 选系 Pool 33
w18-1	w18-2	313	系谱不详 Unknown
轮回亲本 Recurrent parent		R08	先锋杂交种 78641 选系 Pioneer hybrid 78641

w1-1 和 w1-2 分别表示以郑 58 为供体经回交 1 次自交 2 次和回交 2 次自交 1 次后的优良选系,其余类推。
w1-1 and w1-2 are R08 BC-derived lines using Zheng 58 as the same donor parent by one time of backcross and three times of self pollinations and two times of backcross and two times of self pollinations, respectively. The other R08 BC-derived lines are shown as the same way.

1.1.2 测交组合的配制 以 R08 原配已通过审定组合的另一亲本 S28、ES40、RP128、18-599 和 975-12 为测验种，与 BC₁F₃、BC₂F₂ 选系及 R08 按不完全双列杂交组配 185 个组合。

1.1.3 玉米大斑病菌源 由四川省农业科学院植物保护研究所提供，该菌源为 2008 年四川省玉米区试抗病性鉴定所用菌种(2007 年从四川省 18 个玉米主产市县区取典型病斑经鉴定确认后制成的混合菌种)。

1.2 田间试验设计及考察性状

1.2.1 田间试验设计 2008 年春季，在四川农业大学玉米研究所多营试验基地进行 185 个组合及 BC₁F₃、BC₂F₂ 选系和 R08 的田间试验。试验采用随机区组设计，3 次重复，单行区，每行 7 窝，双株种植，密度为 49 500 株 hm⁻²。以川单 13 为统一对照，以 R08 与 5 个测验种的测交种为分类对照。田间管理同大田生产。每个小区取中间 10 株用于取样和性状考察。

参照《中华人民共和国农业行业标准》的玉米抗病虫性鉴定技术规范部分(NY/T 1248.1-2006)^[6]，对上述 BC₁F₃、BC₂F₂ 选系和 R08，于大喇叭口初期和中期人工接种玉米大斑病各一次，乳熟后期调查发病程度，每个小区取中间 10 株用于性状测定。

1.2.2 性状考察 每小区调查中间 10 株，以单株发病程度分为 9 级计算^[6]，具体标准见表 2。对测交组合比较试验进行考察的性状为：穗长、秃尖长、穗行数、行粒数、穗重、单株产量、籽粒深度、百粒重和容重。

1.3 室内分析

1.3.1 DNA 提取 于生长期，BC₁F₃ 和 BC₂F₂ 选系各随机取 3 个单株上部新鲜叶片，轮回亲本 R08 及 18 个供体亲本各随机取 1 株上部新鲜叶片，按 Saghai-Maroo^[7]提出的 CTAB 法提取并纯化 DNA。

1.3.2 扩增反应和变性聚丙烯酰胺凝胶电泳 SSR 扩增反应体系和变性聚丙烯酰胺凝胶电泳方法参照陈发波等^[8]的方法进行。

1.4 数据处理与分析

1.4.1 田间试验分析 以小区平均数为单位，对 BC₁F₃、BC₂F₂ 选系和 R08 的大斑病抗性指标(病情指数)进行差异显著性检验，对 F 测验供试材料间差异显著的性状用最小显著差数法进行多重比较，参照百分数资料的有关统计分析方法进行^[9-10]。

$$\text{病情指数}(\%) = \frac{\sum(\text{病害级数} \times \text{该级病害株数})}{\text{病害最高级数} \times \text{样本总株数}} \times 100$$

以小区均数为单位，对 185 个组合考察性状进行差异显著性检验，对 F 检验组合间差异显著的性状，按不完全双列杂交设计分析程序进行配合力分析^[11]。

分析各组合单株产量的对照优势表现，分别计算各组合与统一对照和分类对照的产量对照优势。对照优势(%)=(F₁-CK)/CK × 100%，其中 F₁ 为组合单株产量平均值，CK 为对照单株产量平均值。

1.4.2 SSR 标记资料分析 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，有带计为 1，无带计为 0，缺失记为 9，建立数据库。计数或计算每对引物的总扩增位点数、基因型数及新基因型频率。根据 Nei & Li 的公式计算遗传相似系数：GS=2N_{ij}/(N_i+N_j) [N_{ij} 是材料 i 和 j 之间共同的等位基因，(N_i+N_j) 是两个材料所有的等位基因]^[12]。

1.4.3 数据统计分析 由 SPSS16.0、Microsoft Excel 和 NTSYSpc2.1 软件完成。

2 结果与分析

2.1 大斑病抗性指标

2.1.1 差异显著性检验 方差分析结果表明，相同供体不同回交次数对病情指数有显著的影响，相

表 2 玉米大斑病田间调查分级标准

Table 2 The classification standard of corn northern leaf blight lesion

病级 Diseases level	症状描述 Description of the symptoms	抗性评价 Evaluation of resistance	病情指数 Disease index (%)
1	叶片上无病斑或仅在穗位下部叶片上有零星病斑，病斑占叶面积少于或等于 5%。	高抗 HR	0-20
3	穗位下部叶片上有少量病斑，占总叶面积的 6%~10%，穗位上部有零星病斑。	抗 R	20.1-40
5	穗位下部叶片上病斑多，占总叶面积的 11%~30%，穗位上部叶片有少量病斑。	中抗 MR	40.1-60
7	穗位下部叶片或穗位上部叶片有大量病斑，病斑相连，占叶面积 31%~70%。	感 MS	60.1-80
9	全株叶片基本为病斑覆盖，叶片枯死。	高感 HS	80.1-100

HR: highly resistant; R: resistant; MR: moderate resistant; MS: moderate susceptible; HS: highly susceptible.

同回交次数不同供体材料间差异极显著,说明重组次数和不同供体对这一性状的改良有明显的影响,且不同供体对病情指数的影响比回交次数对病情指数的影响更大。

2.1.2 病情指数的多重比较 多重比较结果(表 3)表明,BC₁F₃和BC₂F₂选系中,有 29 个改良系表现为抗或高抗大斑病,其中病情指数显著或极显著低于 R08 的有 8 个,极显著高于 R08 的只有 1 个。

BC₁F₃选系中,有 16 个改良系表现为抗或高抗,病情指数显著或极显著低于 R08 的有 5 个,BC₂F₂选系中,有 13 个改良系表现为抗或高抗,病情指数显

著或极显著低于 R08 的有 3 个,说明同一供体不同回交次数对选系大斑病抗性改良效应存在一定差异。进一步分析表明,不同供体相同回交次数对选系大斑病抗性的改良效应存在较大差异,如 BC₁F₃选系中 w18-1、w10-1、w9-1、w2-1 和 w4-1,BC₂F₂选系中 w14-2、w11-2 和 w12-2 不仅表现抗性强,且病情指数显著或极显著低于 R08,而其他供体选系则相对较差。

以上数据分析说明,不同供体及不同回交次数对大斑病抗性的改良效应不尽相同。从综合分析结果看,回交 1 次自交 2 次(BC₁F₃)选系优于回交 2 次

表 3 病情指数多重比较结果
Table 3 Significance test of disease index

供试材料 Provided lines	反正弦值 Arcsine values	显著水平 Significance level		病情指数(反正弦值反转换为%) Disease index (%)	抗性评价 Grade of resistance
		5%	1%		
w16-2	71.25	a	A	89.67	HS
w15-1	50.63	b	B	59.76	MR
w11-1	50.31	b	BC	59.22	MR
w14-1	50.22	bc	BC	59.06	MR
w1-2	49.43	bcd	BC	57.71	MR
w18-2	41.85	bcde	BCD	44.52	MR
R08	40.74	bcdef	BCD	42.59	MR
w7-2	40.06	bcdefg	BCDE	41.42	MR
w17-1	38.13	cdefgh	BCDEF	38.13	R
w17-2	38.02	defgh	BCDEF	37.93	R
w12-1	37.14	efghi	BCDEF	36.45	R
w3-1	35.98	efghij	BCDEF	34.51	R
w5-2	35.44	efghij	BCDEF	33.62	R
w10-2	35.40	efghij	BCDEF	33.56	R
w8-2	35.19	efghij	BCDEF	33.21	R
w9-2	35.16	efghijk	BCDEF	33.16	R
w1-1	34.44	efghijkl	CDEF	31.99	R
w6-2	34.31	efghijkl	CDEF	31.78	R
w8-1	33.00	efghijkl	DEF	29.67	R
w5-1	32.17	efghijkl	DEF	28.34	R
w4-2	31.99	efghijkl	DEF	28.06	R
w3-2	31.58	efghijkl	DEF	27.42	R
w7-1	31.05	efghijkl	DEF	26.61	R
w6-1	30.84	efghijkl	DEF	26.28	R
w2-2	30.14	efghijkl	DEF	25.21	R
w13-1	30.10	efghijkl	DEF	25.15	R
w15-2	29.95	efghijkl	DEF	24.93	R
w16-1	29.21	fghijkl	DEF	23.82	R
w13-2	29.07	fghijkl	DEF	23.61	R
w4-1	27.98	ghijkl	DEF	22.01	R
w12-2	27.29	hijkl	DEF	21.02	R
w11-2	26.66	hijkl	DEF	20.13	R
w2-1	25.83	ijkl	DEF	18.98	HR
w9-1	25.83	ijkl	DEF	18.98	HR
w10-1	24.40	kl	EF	17.07	HR
w14-2	23.07	kl	F	15.35	HR
w18-1	22.92	l	F	15.17	HR

LSD_{0.05}=12.11; LSD_{0.01}=16.08.

自交 1 次(BC_2F_2)选系, 不同供体中, 则以鲁 2548、昌 7-2、鲁原 92、川 321、齐 319、835、双 741 和 313 对改良 R08 的大斑病抗性作用较大, 它们可能是改良玉米自交系大斑病抗性的优良供体。

2.2 配合力分析

2.2.1 组合间差异显著性检验 以小区均数, 对 185 个组合的 9 个性状进行方差分析(表 4)。可以看出, 组合间差异均达极显著水平, 表明各性状组合间存在真实的遗传差异。

2.2.2 配合力方差分析 方差分析结果(表 5)表明, 所

有性状 GCA 在测验种及供试材料间的差异均达显著或极显著水平, 且所有性状 SCA 在组合间的差异也均达显著或极显著水平。说明这些性状的 GCA 和 SCA 在亲本及组合间存在真实的遗传差异。

2.2.3 一般配合力分析 为准确直观评价 BC_1F_3 和 BC_2F_2 选系与 R08 间 GCA 相对效应值的差异, 将显著性检验结果进行归类, 结果列于表 6。由表可知, 不同性状 GCA 相对效应值与 R08 差异达显著或极显著水平的选系个数存在差异。除穗长、行粒数、籽粒

表 4 9 个性状方差分析结果(F 值)
Table 4 Variance and combining ability analysis in 9 trait (F-value)

变异来源 Source of variation	df	穗长 Ear length	秃尖长 Sterile length	穗行数 Ear row number	行粒数 Kernels/row	籽粒深度 Kernel depth	穗重 Ear weight	单株产量 Yield /plant	百粒重 100-kernel weight	容重 Volume weight
区组 Block	2	1.58	2.89	0.97	1.79	4.09*	6.99**	2.62	2.28	0.52
组合 Hybrid	184	5.07**	2.87**	5.36**	4.23**	3.12**	3.39**	3.40**	3.01**	4.26**
误差 Error	368	1.15	0.25	0.49	8.92	0.01	460.28	172.31	8.57	314.25

表 5 配合力方差分析结果(F 值)
Table 5 Analysis of variance (F-value) for combining ability

变异来源 Source of variation	df	穗长 Ear length	秃尖长 Sterile length	穗行数 Ear row number	行粒数 Kernels /row	籽粒深度 Kernel depth	穗重 Ear weight	单株产量 Yield /plant	百粒重 100-kernel weight	容重 Volume weight
测验种 GCA GCA of tested lines	4	21.86***	22.63**	12.16**	3.34*	35.03**	17.70**	17.08**	45.14**	30.43**
供试材料 GCA GCA of provided lines	36	2.39**	1.58*	4.45**	3.70**	2.01**	2.04**	1.93**	2.32**	2.66**
测验种×供试材料 SCA SCA of T.L.×P.L.	144	2.94**	1.81**	2.79**	2.68**	1.61**	2.16**	2.22**	1.36*	2.17**
误差 Error	368	1.15	0.25	0.49	8.92	0.01	460.28	172.31	8.57	314.25

表 6 各性状 GCA 效应值达显著或极显著水平亲本个数及效应值最大的亲本
Table 6 Parents with positively or negatively GCA effect and maximum GCA effect

性状 Trait	材料 Material	正向亲本数 No. of parents with positively significant effect	负向亲本数 No. of parents with negatively significant effect	正向效应值最大的亲本 Parent with maximum positive GCA effect	负向效应值最大的亲本 Parent with maximum negative GCA effect
穗长 Ear length	BC_1F_3 BC_2F_2	1 1	14 16	w10-1 w10-2	w15-1 w18-2
秃尖长 Sterile length	BC_1F_3 BC_2F_2	5 10	11 8	w6-1 w8-2	w8-1 w4-2
穗行数 Ear row number	BC_1F_3 BC_2F_2	11 8	6 7	w12-1 w11-2	w11-1 w16-2
行粒数 Kernels/row	BC_1F_3 BC_2F_2	2 2	12 15	w10-1 w10-2	w14-1 w14-2
籽粒深度 Kernel depth	BC_1F_3 BC_2F_2	4 3	13 15	w5-1 w5-2	w1-1 w3-2
穗重 Ear weight	BC_1F_3 BC_2F_2	0 0	4 1	w4-1 w4-2	w14-1 w15-2
单株产量 Yield/plant	BC_1F_3 BC_2F_2	3 3	3 5	w5-1 w4-2	w15-1 w18-2
百粒重 100-kernel weight	BC_1F_3 BC_2F_2	6 7	6 3	w6-1 w8-2	w13-1 w9-2
容重 Volume weight	BC_1F_3 BC_2F_2	0 0	0 0	w13-1 w13-2	w14-1 w1-2

深度 GCA 相对效应值显著或极显著低于 R08 的选系个数较多外, 其余性状 GCA 比 R08 显著提高或与 R08 无显著差异的选系数较多。说明在抗病(大斑病)性得到改良的同时, 大部分改良系的多数产量性状 GCA 并无下降, 且部分改良系一些产量性状 GCA 还有所提高。

进一步分析表明,同一性状的 GCA 在相同供体不同回交次数选系间差异达显著或极显著的选系数相差不大。比较 BC_1F_3 和 BC_2F_2 与 R08 差异达正向显著或极显著的选系数可知,在穗长、行粒数、穗重、单株产量和容重 5 个性状中, BC_1F_3 选系数与 BC_2F_2 选系数相同;在秃尖长(以负向为准)、穗行数和籽粒深度 3 个性状中, BC_1F_3 选系数比 BC_2F_2 选系数分别多 3 个、3 个和 1 个;在百粒重中, BC_1F_3 选系数比 BC_2F_2 选系数少 1 个。同时可以看出,同一性状的 GCA 在 BC_1F_3 和 BC_2F_2 选系与 R08 差异达负向显著或极显著的选系数相差也不大。

在相同回交次数不同供体选系间, 产量性状 GCA 也存在一定的差异, 如 BC_1F_3 选系中, 各产量性状 GCA 表现较好的有 w4-1、w5-1 和 w10-1, 表现较差的有 w1-1、w14-1 和 15-1; BC_2F_2 选系中, 各

产量性状 GCA 表现较好的有 w4-2、w5-2 和 w10-2, 表现较差的有 w3-2、w11-2、w14-2 和 w18-2。

以上数据分析说明, R08 经不同供体及不同回交次数改良后, 各改良系 GCA 表现存在差异。从总体水平看, BC₁F₃ 和 BC₂F₂ 选系各产量性状的 GCA 表现大体相当, 但不同供体对产量性状 GCA 改良有较大影响, 其中以供体昌 7-2、K14 和川 321 表现为优, 它们的回交后代不仅单株产量 GCA 效应值显著或极显著高于 R08, 且多数产量构成性状的 GCA 相对效应值为正, 对产量配合力改良, 它们可能具有较大利用潜势。

2.2.4 特殊配合力分析 以 R08 与 5 个测验种所配组合 SCA 效应值为分类对照, 用最小显著差数法测验改良系与测验种所配组合 SCA 效应值与分类对照的差异显著性(表 7)。结果表明, BC₁F₃ 和 BC₂F₂ 选系所配组合中, 有 16 个组合的 SCA 效应值显著或极显著高于分类对照, 其中 BC₁F₃ 选系组合 9 个, BC₂F₂ 选系组合 7 个; 有 20 个组合 SCA 效应值显著或极显著低于分类对照, 其中 BC₁F₃ 选系组合 8 个, BC₂F₂ 选系组合 12 个。说明 BC₁F₃ 和 BC₂F₂ 选系与各测验种所配组合的 SCA 表现差异不明显。

表 7 单株产量 SCA 相对效应值
Table 7 SCA relative effect of grain yield

2.3 杂种优势分析

2.3.1 分类对照优势分析 以 R08 与 5 个测验种所配组合的单株产量为分类对照，超分类对照 8% 以上的组合数列于表 8。由表可知，共 49 个组合超分类对照 8% 以上，占 BC₁F₃、BC₂F₂ 选系所配组合数的 27.22%。其中，BC₁F₃ 选系组合 23 个，BC₂F₂ 选系组合 26 个，两者差异不大。

2.3.2 统一对照优势分析 以川单 13 为统一对照，根据单株产量分析 BC₁F₃ 和 BC₂F₂ 选系所配组合的杂种优势表现，比对照优势大于 20% 的强优势组合列于表 9。可以看出，20 个强优势组合的父本，BC₁F₃ 选系出现 9 次，BC₂F₂ 选系出现 11 次，与分类对照优势分析结果基本一致。

2.4 SSR 分析

2.4.1 SSR 标记扩增结果 共筛选了 40 对具有清晰多态性的 SSR 引物，对包括 17 个供体(第 14 供体双 741 缺失)亲本及轮回亲本 R08 和 108 个回交后代单株 DNA 样品进行扩增。这些引物分别分布于玉米的 10 条染色体上，平均每条染色体为 4 对。从扩增结果看，40 对引物共检测到 136 个等位基因变异，每对引物检测到等位基因数目变幅为 2~6，平均 3.40；有效等位基因数目(A_e)变幅为 1.08~4.32，平均

1.80。这些指标说明所用 40 对玉米 SSR 核心引物可以在一定程度上揭示供试材料间的遗传变异。

2.4.2 BC₁F₃ 和 BC₂F₂ 选系间的遗传变异分析 比较 BC₁F₃ 和 BC₂F₂ 选系中的 SSR 位点新基因型数表明，每个位点回交后代出现的不同于轮回亲本 R08 的新基因型数为 1~8，其中在 BC₁F₃ 和 BC₂F₂ 世代的新基因型数分别是 3.15 和 3.18；在所检测到的 136 个多态性等位基因位点中，有 93 个在回交后代单株中出现而在轮回亲本 R08 中缺失，这些位点在后代中出现的频率为 0.065~0.889，平均 0.284 (表 10)，而且在 BC₁F₃ 世代出现的平均频率(0.280)与 BC₂F₂ 世代(0.289)基本相当。上述结果说明回交一次自交 2 次与回交 2 次自交 1 次的遗传变异没有明显差异。

玉米回交改良系及其与轮回亲本间的遗传相似系数是衡量这些回交后代遗传变异的另一个指标。由表 11 可知，回交选系单株样本间的遗传相似系数在 BC₁F₃ 变幅为 0.859~0.978，平均 0.919，在 BC₂F₂ 变幅为 0.825~0.981，平均 0.915。各选系内单株间遗传相似系数变幅较小，且其值较大，说明经不同回交及自交次数选择，各选系内个体间的遗传差异较小。

表 8 单株产量分类对照优势大于 8% 的杂交组合数
Table 8 The number of Hybrid combinations with superiority over the 8% of yield per plant of CK combination

对照组合 CK combination	单株产量 Yield per plant (g)	BC ₁ F ₃ 选系 BC ₁ F ₃ lines	BC ₂ F ₂ 选系 BC ₂ F ₂ lines	总计 Total
S28×R08	100.08	9	8	17
ES40×R08	131.72	4	5	9
RP128×R08	115.13	6	8	14
18-599×R08	119.87	4	5	9
975-12×R08	147.87	0	0	0
总计 Total		23	25	49

表 9 比单株产量统一对照优势大于 20% 的杂交组合
Table 9 Hybrid combinations with superiority over 20% of yield/plant of CK

序号 Code	杂交组合 Hybrid combination	单株产量 Yield per plant (g)	对照优势 Superiority over CK (%)	序号 Code	杂交组合 Hybrid combination	单株产量 Yield per plant (g)	对照优势 Superiority over CK (%)
1	ES40×w4-1	174.12	47.30	11	RP128×w13-2	149.01	26.06
2	ES40×w10-1	160.90	36.11	12	975-12×w4-1	148.87	25.93
3	ES40×w7-1	159.40	34.84	13	18-599×w16-2	148.56	25.67
4	975-12×w7-2	158.95	34.46	14	ES40×w5-1	148.17	25.34
5	ES40×w8-2	158.68	34.23	15	RP128×w4-2	148.14	25.32
6	ES40×w9-2	157.33	33.09	16	18-599×w5-1	146.33	23.78
7	ES40×w10-2	157.23	33.01	17	ES40×w2-2	145.52	23.10
8	975-12×w10-1	152.99	29.42	18	18-599×w4-2	144.41	22.16
9	975-12×w5-1	150.79	27.56	19	975-12×w1-1	143.48	21.37
10	18-599×w5-2	149.05	26.09	20	ES40×w12-2	143.44	21.34
CK	川单 13 Chuandan 13	118.21					

表 10 不同 SSR 引物所检测到的新基因型频率
Table 10 Frequency of new SSR allele from R08 BC-derived lines

引物 Primer	新基因型频率 Frequency	引物 Primer	新基因型频率 Frequency	引物 Primer	新基因型频率 Frequency	引物 Primer	新基因型频率 Frequency
umc1288	0.380	bnlg2291	0.278	bnlg238	0.324	phi024	0.250
phi402893	0.074	umc1741	0.380	bnlg1792	0.185	umc1061	0.157
bnlg1191	0.259	bnlg125	0.167	phi308707	0.204	phi085	0.213
umc1705	0.889	phi080	0.435	umc2246	0.065	phi034	0.204
umc2163	0.259	phi072	0.204	phi047	0.222	phi448880	0.435
bnlg439	0.324	bnlg161	0.296	umc1518	0.241	phi065	0.333
phi299852	0.333	bnlg2331	0.481	phi112	0.222	phi420701	0.481
phi053	0.102	umc1225	0.185	phi115	0.204	umc2105	0.194
bnlg1496	0.222	bnlg1450	0.259	phi063	0.194	phi089	0.370
phi116	0.250	bnlg162	0.472	phi050	0.398	umc1792	0.222

BC₁F₃ 选系与 R08 间的遗传相似系数(表 11)变幅为 0.773~0.920, 平均 0.842, BC₂F₂ 选系与 R08 间的遗传相似系数变幅为 0.738~0.899, 平均 0.835, 表明相同供体不同回交次数选系与 R08 间的遗传相似程度基本相当, 但相同回交次数不同供体选系与 R08 间的遗传相似程度则存在较大的差异。进一步验证了在回交改良中供体对回交后代的影响更大。

3 讨论

3.1 不同回交次数对轮回亲本的改良效果

对现有玉米自交系的改良是提高自交系水平的

重要途径之一, 常用的方法是回交改良法。作为改良自交系的有效途径, 应用是很灵活的, 如改良的目的是保留轮回亲本和供体系双方的部分优良性状, 就不宜采用饱和回交, 回交次数可减少至 1~2 次^[13]。尤其是用回交法改良数量性状时, 为了保持超亲分离的可能性, 使新系不仅具有供体亲本的性状, 而且还可能出现超越轮回亲本的优良性状, 应较早地停止回交^[4,13]。

本研究结果表明, 相同供体不同回交次数对玉米自交系 R08 抗大斑病特性的改良效果不同, 且回交 1 次自交 2 次(BC₁F₃)选系优于回交 2 次自交 1 次

表 11 SSR遗传相似系数
Table 11 Genetic Similarity of SSR data

供体 Donor parent	各 BC ₁ F ₃ 选系单株间 In BC ₁ F ₃			各 BC ₂ F ₂ 选系单株间 In BC ₂ F ₂			BC ₁ F ₃ 选系与 R08 间 Between BC ₁ F ₃ and R08			BC ₂ F ₂ 选系与 R08 间 Between BC ₂ F ₂ and R08		
	Max.	Min.	Aver.	Max.	Min.	Aver.	Max.	Min.	Aver.	Max.	Min.	Aver.
郑 58 Zheng 58	0.934	0.911	0.919	0.959	0.903	0.924	0.848	0.838	0.844	0.832	0.772	0.812
鲁 2548 Lu 2584	0.929	0.885	0.911	0.944	0.922	0.933	0.829	0.799	0.819	0.836	0.825	0.833
鲁 9801 Lu 9801	0.933	0.911	0.923	0.918	0.859	0.893	0.836	0.784	0.817	0.877	0.810	0.845
昌 7-2 Chang 7-2	0.963	0.885	0.916	0.878	0.844	0.866	0.934	0.837	0.896	0.818	0.768	0.792
K14	0.929	0.888	0.908	0.981	0.941	0.955	0.967	0.884	0.920	0.881	0.859	0.867
K12	0.963	0.941	0.953	0.926	0.892	0.907	0.840	0.833	0.835	0.896	0.877	0.887
沈 137 Shen 137	0.945	0.940	0.942	0.941	0.904	0.925	0.865	0.849	0.860	0.802	0.771	0.787
汶黄 Wenhuang	0.881	0.859	0.866	0.948	0.911	0.928	0.796	0.751	0.773	0.866	0.803	0.839
鲁原 92 Luyuan 92	0.978	0.937	0.955	0.963	0.937	0.953	0.866	0.855	0.861	0.896	0.885	0.861
川 321 Chuan 321	0.903	0.885	0.896	0.911	0.829	0.879	0.900	0.829	0.871	0.877	0.803	0.843
齐 319 Qi 319	0.941	0.915	0.931	0.967	0.937	0.953	0.911	0.855	0.889	0.911	0.889	0.897
835	0.922	0.896	0.913	0.963	0.955	0.958	0.807	0.781	0.797	0.863	0.840	0.848
CAL73	0.947	0.918	0.932	0.918	0.898	0.907	0.840	0.825	0.832	0.749	0.722	0.738
双 741 Shuang 741	0.918	0.906	0.910	0.895	0.836	0.858	0.787	0.765	0.784	0.818	0.749	0.799
黄野四 Huangyesi	0.912	0.873	0.889	0.921	0.825	0.867	0.851	0.800	0.833	0.853	0.842	0.846
获唐黄 Huotanghuang	0.929	0.872	0.898	0.899	0.863	0.882	0.87	0.800	0.843	0.823	0.773	0.790
CA042	0.958	0.944	0.952	0.947	0.918	0.935	0.894	0.874	0.882	0.921	0.877	0.899
313	0.951	0.911	0.930	0.954	0.918	0.942	0.811	0.778	0.792	0.870	0.826	0.846
平均 Average	0.935	0.904	0.919	0.935	0.894	0.915	0.858	0.824	0.842	0.855	0.816	0.835

(BC₂F₂)选系。说明改良系上述性状随轮回亲本与非轮回亲本所占遗传比例的不同呈现较大差异,这可能与本研究中绝大多数材料对大斑病的抗性受多基因控制有关^[14-19]。因此,对多基因控制的数量性状的改良,应采用适度回交。此外,用回交法改良玉米自交系,要求在改良轮回亲本某一缺点的同时,尽可能保持其原有配合力^[20-21]。本研究结果表明,在相同供体背景下,BC₁F₃和BC₂F₂选系多数产量性状的GCA表现大体相当,且部分改良系的多数产量性状GCA与R08相比并无下降,甚至有所提高;对于BC₁F₃和BC₂F₂选系与各测验种所配组合的SCA表现以及高产组合中改良系的出现次数,BC₁F₃和BC₂F₂也大体相当。说明回交改良时,要将多个优良性状最大限度地集合于轮回亲本,应充分利用不饱和回交产生的边缘效应,以扩大轮回亲本的遗传基础。

SSR分子标记研究结果在一定程度上揭示,回交后代中出现不同于R08的新基因型数在BC₁F₃和BC₂F₂选系基本相当,且相同供体不同回交次数选系与R08的遗传相似系数相差甚小。这些指标均说明回交1次自交2次(BC₁F₃)与回交2次自交1次(BC₂F₂)所创造的遗传变异没有明显的差异。这很可能与回交自交后代鉴定过程中,育种者严格按照相同目标性状进行选择有关。这就进一步说明回交改良中,严格选择具有重要的作用。

综合上述,不同回交次数对轮回亲本各性状的改良效应不尽相同。从SSR分子标记研究结果、配合力的总体水平看,相同供体不同回交次数选系没有明显的差异;而对大斑病的抗性则回交1次自交2次(BC₁F₃)选系的表现优于回交2次自交1次(BC₂F₂)选系。因此,笔者认为要提高回交的改良效果,应以回交1次为主。

3.2 不同供体对轮回亲本的改良效果

回交育种中,能够提供轮回亲本待改良性状优良基因的自交系称为供体。供体必需具备两个基本条件:第一,具备明显的、可以弥补被改良系某些缺点的优良性状;第二,具有较高配合力,较多的优良性状没有严重的、难以克服的缺点^[4,22]。

本研究以中国农业科学院提供的18份田间性状表现优良及配合力较高的自交系为供体,通过分析发现不同供体对R08抗大斑病特性及配合力的改良效应存在较大的差异。其中,供体昌7-2和川321的改良系对大斑病的抗性多数产量性状GCA均

显著或极显著优于R08,对于单株产量SCA表现和回交选系在强优势组合中出现的频率,这两个供体的改良系优于其他供体的改良系。

SSR分子标记研究的初步结果是,不同供体相同回交次数选系与R08的平均遗传相似系数在BC₁F₃世代变幅为0.773~0.920,平均0.842;在BC₂F₂选系世代变幅为0.738~0.899,平均0.835,这在一定程度上说明相同供体不同回交次数选系间遗传差异不明显,而不同供体相同回交次数选系间存在较大的遗传差异。

回交改良中供体对回交后代的影响较大,不同供体对轮回亲本的改良效果存在显著的差异。因此,笔者认为,利用回交法改良现有玉米自交系,供体的选择显得尤为重要。本研究中,田间试验部分仅进行一年,尚缺乏环境因素对试验结果的影响,相关试验将在续后的研究中进行。

4 结论

相同供体不同回交次数对R08的改良效应存在一定差异,回交1次自交2次(BC₁F₃)与回交2次自交1次(BC₂F₂)选系多数产量性状的GCA表现大体相当,且分子水平上无明显差异,但对大斑病抗性的改良,前者优于后者;相同回交次数供体不同的回交后代选系在大斑病抗性和多数产量性状GCA表现及分子水平上存在较大的差异;昌7-2和川321对改良R08的大斑病抗性及其配合力作用较大,属优良供体亲本;w4-1和w10-1属回交改良优良选系;在选准供体亲本的基础上,回交1次后,在自交过程中加强对目标性状的鉴定选择及配合力测定,可能有利于提高回交改良的育种效率。

References

- [1] Rong T-Z(荣廷昭), Li W-C(李晚忱), Pan G-T(潘光堂). Suggestion on development of science and technology in maize genetics and breeding at the beginning of 21st century. *J Maize Sci* (玉米科学), 2003, 11(suppl-2): 42-53 (in Chinese with English abstract)
- [2] Wu J-F(吴景锋). A review on the germplasm basis of major maize hybrids in China. In: Li J-X(李竞雄) ed. *Advance of Maize Breeding* (玉米育种研究进展). Beijing: Science Press, 1992. pp 61-69 (in Chinese)
- [3] Darrah L L, Zuber M S. The United States farm corn germplasm base and commercial breeding strategies. *Crop Sci*, 1986, 26: 1109-1113
- [4] Pan J-J(潘家驹). *Crop Breeding* (作物育种学总论). Beijing: China Agriculture Press, 1994. pp 68-74, 91, 161 (in Chinese)
- [5] Hu Y-J(胡延吉). *Plant Breeding* (植物育种学). Beijing: Higher

- Education Press, 2003. pp 21–23 (in Chinese)
- [6] People's Republic of China Agriculture Industry Standard (中华人民共和国农业行业标准). NY/T 1248.1-2006 (in Chinese)
- [7] Saghai-Marooif M A, Soliman K M, Jorgensen R A, Allard R W. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1984, 81: 8014–8018
- [8] Chen F-B(陈发波), Yang K-C(杨克诚), Rong T-Z(荣廷昭), Pan G-T(潘光堂). Analysis of genetic diversity of maize hybrids in the regional tests of Sichuan and Southwest China. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2007, 33(6): 991–998 (in Chinese with English abstract)
- [9] Rong T-Z(荣廷昭), Li W-C(李晚忱). Field Experimentation and Statistical Methods (田间试验与统计方法). Chengdu: Sichuan University Press, 2001. p 105 (in Chinese)
- [10] Yang Z-X(杨竹轩), Li X-J(李小军). Several problems on data-processing of pesticide experiment in field. *Pesticide Sci Admin* (农药科学与管理), 2003, 24(9): 26–28 (in Chinese with English abstract)
- [11] Rong T-Z(荣廷昭), Pan G-T(潘光堂), Huang Y-B(黄玉碧). Quantitative Genetics (数量遗传学). Beijing: China Science and Technology Press, 2003. pp 211–243 (in Chinese)
- [12] Nei M, Li W H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1979, 76: 5256–5273
- [13] Liu J-L(刘纪麟). Maize Breeding (玉米育种学), 2nd edn. Beijing: China Agriculture Press, 2002. pp 177–178 (in Chinese)
- [14] Paterson A H. Molecular Dissection of Complex Traits. Boca Raton: CRC Press, 1997
- [15] Hughes G R, Hooker A L. Gene action conditioning resistance to northern leaf blight in maize. *Crop Sci*, 1997, 11: 180–184
- [16] Hooker A L. A new type of resistance in corn *Helminthosporium turcicum*. *Plant Dis Repr*, 1961, 45: 780–781
- [17] Hooker A L. A second major gene locus in corn for chlorotic lesion resistance to *Helminthosporium turcicum*. *Crop Sci*, 1977, 17: 132–135
- [18] Li J-S(李建生), Liu J-L(刘纪麟). Study on the interaction of monogenic and polygenic resistance to *Helminthosporium turcicum* in maize. In: Li J-X(李竞雄). Advance of Maize Breeding (玉米育种研究进展). Beijing: Science Press, 1992. pp 94–100 (in Chinese)
- [19] Yang J-L(杨继良), Wang B(王斌). The research advancement on genetics of resistance to *Exserohilum turcicum* in maize. *Hereditas* (遗传), 2002, 24(4): 501–506 (in Chinese with English abstract)
- [20] Guo H-A(郭海鳌). Review on Selection Process of Series hybrid with Sizao hao. *J Maize Sci* (玉米科学), 2002, 10(4): 8–9 (in Chinese)
- [21] Li Y-L(李玉玲), Wang Y-Z(王延召). Effect of backcrossing on the popping characteristics of normal corn × popcorn crosses. *J Henan Agric Univ* (河南农业大学学报), 2007, 6(3): 247–250 (in Chinese with English abstract)
- [22] Rong T-Z(荣廷昭), Li W-C(李晚忱), Yang K-C(杨克诚). Maize Breeding in Southwest Ecological Zones (西南生态区玉米育种). Beijing: China Agriculture Press, 2003. pp 114–115 (in Chinese)