文章编号: 1001-1498(2001)01-0035-06

杉木杂交亲本分子遗传变异 与子代生长相关的研究

李 梅¹,施季森¹,甘四明²,何祯祥¹,李 力¹,易能君¹

- (1. 南京林业大学 林木遗传与基因工程实验室,江苏 南京 210037;
 - 2. 中国林业科学研究院 热带林业研究所,广东 广州 510520)

摘要:以 30 个杉木杂交亲本的 RAPD 分析为基础,对亲本间分子遗传变异与子代树高、胸径和材积及其变异系数和亲本间各性状的特殊配合力的相关关系进行了研究。结果表明,亲本间遗传距离只与胸径特殊配合力和材积特殊配合力在 0.10 显著性水平上呈负相关,而与其它因子相关不显著。分别对亲本聚类分析的组内和不同组间的亲本间遗传距离与各因子进行相关分析,组内亲本间遗传距离与各因子的相关基本不显著;在中等平均遗传距离上,组间亲本间遗传距离与子代树高、胸径和/或材积性状达0.05显著水平的相关,但与各性状的变异系数和亲本间特殊配合力相关不显著。共检测到 23 个标记位点显著影响材积性状(≤0.10)。根据亲本携带的材积显著性位点对各家系进行赋值,家系的显著性位点值与胸径和材积两性状及其变异系数达 0.01 显著水平的相关,但与树高性状和其它各因子相关不显著。结论认为,杉木亲本的分子遗传变异与子代生长的相关关系较为复杂;亲本的分子遗传变异对亲本选配有一定的参考价值;材积显著性位点对分子标记辅助的亲本选配和子代表现预测有较大的应用潜力。

关键词: 杉木; RAPD; 遗传距离; 子代性状 中图分类号: S718.46 文献标识码: A

杉木[Cunninghamia lanceolata (Lamb.) Hook.]是我国重要的商品用材树种^[1]。杉木常规育种中,由于遗传负荷大、育种周期长和环境影响大等原因,子代生长的预测和杂交亲本选配一直是困扰育种工作者的一个难题。随着分子生物学的发展,出现了多种分子标记技术,在植物育种中展现了巨大的应用潜力^[2,3]。其中,随机扩增多态性 DNA (Random amplified polymorphic DNA,RAPD)是一种简便而应用广泛的分子标记技术^[4,5]。农作物中,RAPD 已用于研究亲本遗传变异与子代生长表现的相关,如水稻 (*Oryza sativa* L.) 自交系的遗传距离与子代产量、单株花序数和株高等 8 个农艺性状有不同程度的相关^[6],玉米 (*Zea mays* L.) 自交系间较大的遗传距离与子代产量相关极为显著^[7]。林木上,利用分子标记研究亲本间遗传变异与子代生长的相关才刚刚开始。

本研究以 30 个杉木杂交亲本的 RAPD 遗传变异分析为基础,对杉木杂交亲本间遗传距离和材积显著性位点值与树高、胸径和材积及其变异系数和亲本间特殊配合力间的相关关系进

收稿日期: 2000-06-09

基金项目: 国家自然科学基金项目(39470591)

作者简介: 李梅(1972-),女,山东鱼台人,博士研究生.

行研究,旨在探索杉木杂交亲本的遗传背景控制子代表现的理论基础,为分子标记辅助的杉木杂交亲本选配提供理论依据,并为其它树种的有关研究提供有益的参考。

1 材料与方法

1.1 材料

研究材料包括 30 个杉木杂交亲本及其分两组进行部分双列杂交产生的 178 个全同胞家系,各亲本来源及其交配设计见文献[8]。子代鉴定试验设在福建省国营洋口林场,1986 年春造林,分组随机区组设计,9 个家系加上 3 个对照家系计 12 个处理为一组,2 株小区,20 次重复,常规营林措施。1997 年观测试验林的树高和胸径。

1.2 子代单株材积的计算

根据子代试验林 11 年生的树高(H,m)和胸径(D,cm)表型值,计算各子代的单株材积(V,m³),计算公式为:V = 0.000~872 $D^{1.785~386}$ $H^{0.931~392~37}$ 。

1.3 亲本间特殊配合力的估算方法

本研究的杂交交配模式为 Griffing(1956)^[9]的方法 4,用 p 个亲本做了 p(p-1)/2 个正交杂交组合。两亲本 i 与 i 间各性状的特殊配合力效应(SCA)的估算公式为^[10]:

$$SCA_{ij} = x_{ij} - \frac{1}{p-2} \left(\sum_{i=1}^{p} x_i + \sum_{j=1}^{p} x_j \right) + \frac{2}{(p-1)(p-2)} \sum_{j=1}^{p-p} x_{ij}$$

1.4 亲本的 RAPD 扩增和亲本间遗传距离计算

利用 26 个随机引物对 30 个亲本进行 RAPD 扩增,计算亲本间遗传距离(GD)和进行聚类分析,见参考文献[8]。

1.5 显著影响材积性状的位点的检验

利用子代的大田表现资料,以各亲本的所有子代的材积平均值作为亲本值,通过一般线性回归检验各标记位点对材积影响的显著性, $0.\ 10$ 。一般线性回归通过 SAS 软件的 CLM 过程进行[11]。

1.6 亲本间遗传距离和显著性位点总值与子代表现的相关分析

对多态性位点计算的亲本间遗传距离和材积显著性位点值与子代的树高、胸径和材积及 其变异系数和亲本间在各性状上的特殊配合力进行简单相关分析。相关分析通过 SAS 软件的 CORR 过程进行[11]。

2 结果与讨论

2.1 以多态性位点计算的亲本间遗传距离与子代生长的相关

26 个引物共扩增出 284 条谱带,多态性谱带 190 条。利用 190 个多态性位点计算亲本间遗传距离(CD),并根据遗传距离进行聚类分析,把 30 个亲本分为 6 组,见参考文献[8]。

2.1.1 亲本间遗传距离与子代生长的相关 基于 190 个多态性位点计算的遗传距离与子代 树高(H)、胸径(D)和材积(V)及各性状变异系数(CV)和各性状上亲本间特殊配合力(SCA)的相关系数见表 1。

相关		树高	- -	_	胸径		材积			
作大	Н	CV	S CA	D	CV	S CA	V	CV	S CA	
r	0.091 69	0.032 65	- 0.028 29	- 0.071 71	0.097 95	- 0.141 29 *	- 0.028 29	0.106 14	- 0.144 68 *	
	0.223 5	0.665 3	0.388 3	0.341 5	0.193 3	0.059 9	0.707 7	0.158 5	0.054 0	

表 1 基于多态性位点的亲本间遗传距离与子代生长的相关系数

注:*示相关达0.10显著水平。

亲本间遗传距离与其胸径特殊配合力和材积特殊配合力达 0.10 显著水平的负相关,而与其它各因子相关不显著。这与水稻自交系间遗传距离与子代生长性状相关显著^[6]的研究结果不一致,但与玉米亲本近交系间遗传距离与其结实量特殊配合力相关显著而与子代结实量相关不显著^[12]的结果一致,也与落叶松属(*Larix* Mill.)杂交亲本间分子遗传距离与不同性状的特殊配合力相关程度不同^[13]的结果类似。这表明亲本间遗传距离与子代表现的相关关系较为复杂,可能与研究的遗传材料有关,也可能与利用的分子标记技术有关^[14]。杉木中,亲本间遗传距离对子代表现的预测性较低,但对亲本间特殊配合力的比较有一定的参考意义。

2.1.2 聚类分析各组内亲本间遗传距离与子代生长的相关 表 2 列出了亲本聚类分析中各组内亲本间遗传距离与其子代生长各因子的相关系数。由于组 4 的 3 个亲本没有进行杂交,组 5 只有 1 个亲本,组 6 只有 2 个亲本,所以表 2 未列出这几个组的相关系数。结果表明,只有组 2 中亲本遗传距离与子代胸径变异系数的相关达 0.10 显著水平,而其它各相关均不显著。这表明在较短的遗传距离上,亲本间遗传距离与子代性状及其变异系数和特殊配合力的相关基本不显著。

组(家系数)	相关	树高				胸 径		材 积		
(\overline{GD})		Н	CV	SCA	D	CV	S CA	V	CV	S CA
组1(3)	r	-0.731 75	0. 314 67	-0. 950 15	-0. 037 54	-0. 521 74	-0.642 73	-0. 279 84	-0. 674 98	-0. 834 85
(0.471 0)		0.477 4	0.796 2	0. 201 9	0. 976 1	0.650 6	0.555 6	0. 819 4	0.528 3	0. 371 1
组 2(11)	r	0. 410 47	0.042 42	0.002 63	-0. 017 38	0. 560 23 *	-0. 374 04	0. 162 32	0. 343 10	-0. 252 57
(0.452 3)		0.209 9	0.901 4	0.993 9	0.959 6	0.073 1	0. 257 1	0. 633 5	0.301 6	0.453 7
组 3(22)	r	0. 196 17	0.076 79	0. 122 07	0. 131 15	-0.023 79	-0. 150 49	0. 159 52	-0.061 89	-0. 123 02
(0. 423 1)		0.381 6	0.734 1	0.588 4	0.560 7	0.916 3	0.503 8	0.478 2	0.784 4	0.585 5

表 2 基于多态性位点的聚类分析各组内亲本间遗传距离与子代生长的相关系数

注:*示相关达 0.10 显著水平。

2.1.3 聚类分析不同组间亲本间遗传距离与子代生长的相关 表 3 列出了亲本聚类分析中不同组的组间亲本间遗传距离与其子代生长各因子的相关系数。由于组 1 与组 5、组 1 与组 6 没有做杂交,组 4 与组 5 只有 1 个家系,组 4 与组 6、组 5 与组 6 各有 2 个家系,因此这几个组间的相关没有列入表 3 中。从表 3 可见,大部分组间亲本间遗传距离与子代生长各因子的相关不显著。值得注意的是,组 2 x组 3 的 43 个家系的亲本间遗传距离与子代的树高、胸径和材积 3 个性状的相关均达 0.05 显著水平,组 2 x组 4 的 14 个家系的亲本间遗传距离与子代胸径和材积两个性状的相关也达 0.05 显著水平,组 3 x组 4 的 8 个家系的亲本间遗传距离与子代树高性状达 0.05 水平的显著相关,与材积达 0.10 显著相关,这 3 个组间的平均遗传距离都较

小,但比组内的亲本间平均遗传距离大,这与桉树(*Eucalyptus* spp.)种间杂交中亲本间中等大小的遗传距离与子代表现相关显著的情况类似^[15]。这也表明,一定范围内的亲本遗传变异对子代生长的预测具有参考价值。

2.2 亲本中显著影响材积的位点与子代生长的相关

190 个多态性位点中,显著影响材积的位点有 23 个(0.10)。根据各家系的亲本携带材积显著性位点的情况对各家系进行赋值。

RAPD 为显性标记,携带某标记的个体的基因型为 AA 或 Aa,我们假设其为 AA 或 Aa 的概率各为 50 %。如果某家系的两个亲本均有某标记,则亲本间交配的基因型组合为 Aa ×Aa 的概率为 25 %,交配产生隐性纯合子 aa 的概率为 6.25 %,而产生基因型 A-的概率为 93.75 %;另一方面,如果只有一个亲本具有某标记,则亲本间交配基因型组合为 Aa ×aa 的概率为 50 %,交配产生隐性纯合子 aa 的概率为 25 %,而产生基因型 A-的概率为 75 %。因此,只考虑基因位点的显性效应时,如两亲本均有某标记,则相应家系在该标记上赋值为 0.937 5;如只有一个亲本具有某标记,则相应家系赋值为 0.75;两亲本均无某标记,赋值为 0.937 5;如只有一个亲本具有某标记,则相应家系赋值为 0.75;两亲本均无某标记,赋值为 0.937 5;如只有材积的每个位点给各家系赋值。把各家系的所有位点赋值的总和作为该家系的材积显著性位点值,并与生长各因子进行相关分析。表 4 列出了各家系的材积显著性位点值与各生长性状的相关情况。

		—————————————————————————————————————				——— 胸 径	<u> </u>			
(\overline{GD})	相关	Н	cv	S CA	D	cv	SCA		CV	S CA
1 ×2(18)	r	-0.070 83	-0. 535 84 * *	0. 116 27	-0. 250 98	-0. 383 44	-0. 205 79	-0. 299 84	-0. 380 54	-0. 259 97
(0. 513 9)		0.780 0	0. 021 9	0. 645 9	0. 315 1	0.116 2	0.412 6	0. 226 7	0.119 3	0. 297 5
1 ×3(16)	r	0. 199 09	0. 293 46	-0. 354 29	0. 087 31	0. 318 79	-0.309 45	0. 145 88	0. 312 50	-0. 306 84
(0. 530 9)		0.459 8	0. 270 0	0. 178 2	0. 747 8	0. 228 8	0. 243 5	0.589 8	0. 238 6	0. 247 7
1 ×4(8)	r	0.094 96	0.006 31	-0. 507 99	0. 446 61	0. 122 75	-0. 373 23	0. 404 68	0.058 76	-0.376 27
(0. 535 6)		0.823 0	0.988 2	0. 198 7	0. 267 3	0.772 2	0.362 5	0.320 0	0.890 1	0.358 3
2 ×3(43)	r	0.340 82 * *	0. 023 36	0. 035 53	0.313 55 * *	0. 167 22	0.057 21	0. 335 82 *	* 0.186 75	0.067 40
(0.497 9)		0.025 3	0. 881 8	0. 821 0	0.040 6	0. 283 8	0.715 6	0.027 7	0. 230 5	0.667 6
2 ×4(14)	r	0.429 63	-0. 406 86	0.040 47	0. 551 42 * *	-0. 308 97	-0. 164 43	0. 539 93 *	* -0.547 29	-0. 149 36
(0.519 5)		0.125 2	0. 148 8	0.890 8	0.040 9	0. 282 4	0.574 3	0.046 3	0.042 8	0.610 3
2 ×5(3)	r	0. 721 72	-0. 955 02	-0. 397 80	0. 338 20	-0. 251 22	-0. 761 48	0. 324 97	-0. 262 75	-0.996 31 *
(0.508 2)		0.486 7	0. 191 7	0. 739 5	0.780 4	0. 838 3	0.448 9	0.789 3	0.830 7	0.054 7
2 x 6(8)	r	0. 417 89	-0. 081 03	0. 221 47	0. 404 85	0. 242 02	0. 180 03	0. 442 31	0. 179 28	0. 323 10
(0. 557 6)		0.302 9	0.848 7	0. 598 1	0. 319 8	0.563 6	0.669 7	0. 272 5	0.671 0	0.435 0
3 x 4(8)	r	0.725 75 * *	0. 081 40	0. 331 46	0. 587 33	0. 284 17	0. 139 53	0. 697 35 *	0. 196 13	0. 301 55
(0. 499 4)		0.041 5	0.848 0	0. 422 5	0. 125 8	0.495 2	0.741 8	0.054 5	0.641 6	0.467 9
3 x 5(6)	r	-0. 179 63	-0. 308 33	-0. 437 71	-0. 703 51	-0. 239 03	-0.780 37 *	-0. 674 21	-0. 246 34	-0. 791 47 *
(0.541 0)		0.733 4	0.552 2	0. 385 4	0. 118 8	0.648 3	0.067 1	0. 141 9	0.638 0	0.060 7
3 x 6(12)	r	-0.068 87	0.042 19	-0. 164 56	-0. 148 92	-0. 144 08	-0. 187 17	-0. 146 33	0.088 02	-0. 248 09
(0.501 2)		0.831 6	0.8964	0.609 3	0. 644 1	0. 655 1	0.560 2	0.650 0	0.785 6	0.436 9

表 3 基于多态性位点的聚类分析不同组间的亲本间遗传距离与子代生长的相关系数

注: * *示相关达 0.05 显著水平; *示相关达 0.10 显著水平。

扣子		树高			胸径			材 积			
相关 	H	CV	S CA	D	cv	S CA	V	CV	SCA		
r	0. 021 16	-0. 033 78	0. 019 62	0. 282 86 * * *	0. 229 56 * * *	0. 007 57	0. 228 15 * * *	0. 228 72 * * *	0.004 05		
	0.779 2	0. 654 4	0. 794 9	0. 000 1	0. 002 4	0. 920 1	0. 002 2	0. 002 2	0. 957 2		

表 4 家系的材积显著性位点值与子代生长的相关系数

注: * * *示相关达 0.01 显著水平。

从表 4 可见,亲本的材积显著性位点值与胸径和材积两性状及其变异系数的相关达 0.01 显著水平,而与树高性状和其它因子相关不显著。由于材积一般是目的经济性状,因此材积显著性位点可以用于分子标记辅助的子代表现预测和亲本选配。

3 结论

- (1) 亲本的分子遗传变异与子代生长的相关关系较复杂,可能与研究材料和分子标记方法有关。林木为远交物种,遗传背景比农作物的近交系和自交系复杂,因此简单的相关关系很难解释林木亲本遗传变异与子代生长之间的内在机制,有关问题的阐明需要进一步的探索性研究。
- (2) 杉木杂交亲本的分子遗传变异对亲本选配有一定的参考价值,但在实际应用时应持谨慎的态度。本研究中,某些亲本间遗传距离在一定范围时与子代树高、胸径和/或材积性状相关显著,但由于不具有普遍意义,因此仍不能用于杂交育种的子代表现预测。
- (3) 家系的材积显著性位点值与其胸径和材积相关显著,材积显著性位点对分子标记辅助的亲本选配和子代表现预测有较大的应用潜力。

参考文献:

- [1] 俞新妥. 杉木[M]. 福州:福建科学技术出版社,1982.
- [2] 钱惠荣,郑康乐. DNA 标记和分子育种[J]. 生物工程进展,1998,18(3):12~18,11.
- [3] 甘四明,施季森,白嘉雨.分子标记技术在林木常规育种中的应用及其问题[J].生物工程进展,1999,19(3):49~51,11.
- [4] Williams J G K, Kubelik A R, Livak KJ, et al. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers [J]. Nucl Acids Res, 1990, 18(22): 6531 ~ 6535.
- [5] 邹喻萍. RAPD 分子标记简介[J]. 生物多样性,1995,3(2):104~108.
- [6] Xiao J , Li J , Yuan L , et al. Genetic diversity and its relationship to hybrid performance and heterosis in rice as revealed by PCR-based markers [J]. Theor Appl Genet , 1996 , 92(6): 637-643.
- [7] Lanza L L, de Souzo C L, Ottoboni L M M, et al. Genetic distance of inbred lines and predictions of maize single-cross performance using RAPD markers [J]. Theor Appl Genet, 1997, 94(7):1023 ~ 1030.
- [8] 李梅. 杉木杂交亲本 RAPD 遗传变异及其与子代表现相关研究[D]. 南京:南京林业大学硕士学位论文,1998.
- [9] Griffing B. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems [J]. Aust J Bio Sci , 1956 , 9(2): $399 \sim 433$.
- [10] 朱军. 遗传模型分析方法[M]. 北京:中国农业出版社,1997.
- [11] SAS Institute Inc. . SAS/STAT User 's guide, release 6.12 edition. Cary, NC, USA, 1997.
- [12] Dudley J W, Maroof M A S, Rufener G K. Molecular markers and grouping of parents in maize breeding programs [J]. Crop Sci , 1991, 31(3):718 ~ 723.
- [13] Arcade A, Faivre-Rampant P, Le Guerroue B, et al. Heterozygosity and hybrid performance in larch [J]. Theor Appl Genet, 1996,

- 93(8):1274~1281.
- [14] Pejic I, Ajmone-Marson P, Morgante M, et al. Comparative analysis of genetic similarity among maize inbred lines detected by RHLPs, RAPDs, SSRs, and AHLPs[J]. Theor Appl Genet, 1998, 97(8):1248 ~ 1255.
- [15] Baril C P, Verhaegen D, Vigneron P, et al. Structure of the specific combining ability between two species of *Eucalyptus* I: RAPD data [J]. Theor Appl Genet, 1997, 94(4): 796 ~ 803.

Correlation between RAPD-based Parental Genetic Distance and Filial Performance of Chinese Fir

LI Mei¹, SHI Ji-sen¹, GAN Si-ming², HE Zhen-xiang¹, LI Li¹, YI Neng-jun¹
(1. Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, Jiangsu, China;
2. Research Institute of Tropical Forestry, CAF, Guangzhou 510520, Guangdong, China)

Abstract: RAPD-based genetic distance between 30 parental trees of Chinese fir ($Cunninghamia\ lanceolata$) and its correlation with hybrid performance in height (H), diameter breast-high (DBH) and volume (V) as well as their variation coefficients (CV) and specific combining ability values (SCA) were calculated. Parental genetic distance was negatively correlated at 0.10 of significance level with SCA in DBH and V, but not significantly correlated with other factors. With the 6 groups of parents divided by cluster analysis, intra-group genetic distance was not significantly correlated with hybrid performance, and medium inter-group genetic distance was significantly correlated with H, DBH, and/or V at 0.05 level. Hybrid value based on the number of marker loci related with volume at 0.10 significance level was significantly correlated with DBH and V as well as their CV at 0.01 level. The conclusions came to that RAPD-based parental genetic distance would be valuably referable for parental grouping and volume-significant loci be relatively great potential in parental grouping and hybrid performance prediction in Chinese fir breeding practices.

Key words: Chinese fir; RAPD; genetic distance; filial performance