

斑茅割手密复合体杂交利用过程 野生特异基因遗传分析

周 珊, 高轶静, 张保青, 黄玉新, 段维兴, 杨翠芳, 王泽平, 张革民

(广西农业科学院甘蔗研究所 / 广西甘蔗遗传改良重点实验室 / 农业部广西甘蔗生物技术与遗传改良重点实验室, 南宁 530007)

摘要:揭示斑茅割手密复合体在杂交利用过程中的斑茅、割手密野生特异基因在各世代的遗传规律,为利用斑割复合体创制甘蔗育种新亲本提供理论依据。利用 AFLP-PCR 分子标记结合毛细管电泳技术对斑割复合体在杂交利用过程中的斑茅、割手密野生特异基因在各世代的传递动态进行分析,并研究它们之间的遗传关系。29 对 AFLP 引物组合共扩增出 3695 个位点,多态性比例为 97.89%。斑茅和割手密对斑割复合体的遗传贡献率分别为 43.96% 和 56.04%。斑茅特异位点在 F_1 、 BC_1 和 BC_2 3 个世代的平均遗传率分别为 8.25%、1.90% 和 0.63%,割手密特异位点在 F_1 、 BC_1 和 BC_2 3 个世代的平均遗传率分别为 16.98%、2.40% 和 0.21%,特异遗传物质均呈逐代减少趋势。比较不同世代甘蔗栽培种亲本遗传到后代的特异位点比率, F_1 的 GT02-761 特异位点比率最高, BC_1 的 GT05-2743 特异位点比例平均高达 92.75%, BC_2 的 ROC23 遗传率最低,为 49.09%,FN39 遗传率最高,达 94.32%。聚类分析结果表明斑割复合体偏向父本遗传,斑割复合体杂交后代偏向甘蔗栽培种遗传,与分子遗传关系分析结果一致。研究表明,经过 3 代的遗传重组,斑割复合体后代的遗传物质与斑割复合体相比已发生了很大的改变;研究明确了斑茅、割手密 2 个亲本在 3 个世代的遗传贡献规律,为进一步的杂交选育提供理论支持。

关键词: 斑割复合体; AFLP; 野生基因; 遗传分析

Genetic Analysis of Wild Specific Genetic Loci in the Hybridization Process for Intergeneric Hybrid Complex (*Erianthus arundinaceus* × *Saccharum spontaneum*)

ZHOU Shan, GAO Yi-jing, ZHANG Bao-qing, HUANG Yu-xin, DUAN Wei-xing,
YANG Cui-fang, WANG Ze-ping, ZHANG Ge-min

(Sugarcane Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences/Guangxi Key Laboratory of Sugarcane Genetic Improvement/ Key Laboratory of Sugarcane Biotechnology and Genetic Improvement (Guangxi), Ministry of Agriculture, Nanning 530007)

Abstract: The inheritance regularity of wild specific loci for *Erianthus arundinaceus* (Retz.) Jeswiet and *Saccharum spontaneum* L. from intergeneric hybrid complex (*E. arundinaceus* × *S. spontaneum*) inheriting to generations was investigated, in order to provide theoretical basis for exploring new sugarcane parents. AFLP-PCR

收稿日期: 2018-09-17 修回日期: 2018-12-27 网络出版日期: 2019-01-25

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4996.s.20190124.1112.002.html>

第一作者研究方向为甘蔗育种及种质资源创新, E-mail: 272385977@qq.com

通信作者: 张革民, 研究方向为甘蔗育种及种质资源创新, E-mail: 873203772@qq.com

基金项目: 国家重点研发计划资助 (2018YFD0201100, 2018YFD1000503); 国家自然科学基金项目 (31760415); 广西财政项目: 甘蔗新品种选育与示范推广; 广西科技计划项目 (桂科 AB16380126, 桂科 AB16380157, 桂科 AA17202042-1); 广西自然科学基金项目 (2016GXNSFBA380225); 广西农业科学院基本科研业务专项项目 (桂农科 2017YM02, 桂农科 2018JZ16)

Foundation project: Development and Regulation of Economically Important Traits in Tropical Crops (2018YFD0201100, 2018YFD1000503), Natural Science Foundation of China (31760415), Guangxi Financial Project: Breeding and Demonstration of New Sugarcane Varieties (31760415), Guangxi R&D Program (GuikeAB16380126, GuikeAB16380157, GuikeAA17202042-1), Natural Science Foundation of Guangxi Province (2016GXNSFBA380225), The Fundamental Research Fund of Guangxi Academy of Agriculture Sciences (GuiNongKe2017YM02, GuiNongKe2018JZ16)

molecular markers combined with capillary electrophoresis were used to analyze the transmission dynamics of wild specific loci over generations and also clarify the genetic relationship among these materials. A total of 3695 loci were amplified from 29 AFLP primer combinations, with a polymorphic ratio of 97.89%. The genetic fragments derived from *E. arundinaceus* (Retz.) Jeswiet and *S. spontaneum* L. were 43.96% and 56.04% respectively. The average heritability of *E. arundinaceus* (Retz.) Jeswiet in F_1 , BC_1 and BC_2 were 8.25%, 1.9% and 0.63%, respectively, and the average heritability of *S. spontaneum* L. in F_1 , BC_1 and BC_2 was 16.98%, 2.4% and 0.21% respectively. Both indicated a reduction of foreign specific genetic loci over generations. By analyzing the ratios of sugarcane specific loci that remained in different generations, the genetic information of GT02-761 has been ranked first in F_1 . The average percentage of special loci for GT05-2743 inheriting to BC_1 was 92.75%. The heritability for ROC23 inheriting to BC_2 was the lowest, and the heritability for FN39 was the highest, up to 94.32%. The cluster analysis showed that the intergeneric hybrid complex was inherited more from male parent and the progeny from the intergeneric hybrid complex were inherited more from the sugarcane (*Saccharum* spp.), which was consistent with the analysis of molecular genetic relationship. The results showed that the genetic loci for the hybrids from intergeneric hybrid complex had changed a lot compared with that of intergeneric hybrid complex in the process of genetic recombination for three generations. Thus, this work analyzed the inheritance regularity for two parents inheriting to three generations, and the outcome might provide suggestions for future breeding.

Key words: intergeneric hybrid complex (GXAS07-6-1); AFLP; wild gene; genetic analysis

甘蔗是我国最重要的糖料作物,在世界食糖总产量中,蔗糖约占 80%^[1]。现代的甘蔗品种,大多数都是甘蔗属中热带种、割手密、印度种的杂交后代,少部分还含有大茎野生种、中国种的血缘,由于长期的近亲杂交,狭窄的遗传基础成为限制甘蔗育种获得突破性进展的主要障碍。因此,必须不断利用野生种质发掘利用新基因、创制优异育种新材料才能选育出突破性的甘蔗新品种。目前,创新甘蔗亲本的常规有效技术手段是利用甘蔗近缘属野生种质与甘蔗栽培种杂交和多代回交,目的是导入野生种质的优异基因并保留甘蔗的优良基因,从而获得具有优良性状的育种新材料。斑茅(*Erianthus arundinaceus* (Retz.) Jesws.) 和割手密(*Saccharum spontaneum* L.)是目前广泛利用的甘蔗野生种质资源。斑茅(*Erianthus arundinaceus* (Retz.) Jeswiet)是禾本科(*Gramineae*)蔗茅属(*Erianthus* Michx.)高大禾草,是甘蔗的近缘属,具有较强的抗旱、抗寒、耐瘠薄及抗病虫等特性^[2,3]。割手密(*Saccharum spontaneum* L.)是甘蔗属及其近缘属种中最有育种价值和研究价值的野生种质资源之一,比甘蔗的其他野生种质更易于杂交利用,具有抗逆性强、适应性广、多蘖等特点,且割手密数量庞大、变异类型多、遗传多样性丰富^[4,7]。

印度农业研究委员会甘蔗育种研究所的 Lekshmi 等^[8]用斑茅与割手密杂交得到的后代作为母本,与甘蔗栽培种回交至第 3 代,研究斑茅割手密及其后代染色体的遗传规律。而本课题组利用斑茅

与割手密杂交获得的斑割复合体^[9]作为父本,再与甘蔗进行杂交和逐代回交,获得了一批经鉴定为真杂种的优良创新育种材料 F_1 、 BC_1 和 BC_2 ^[10-11]。随着杂交利用世代的推进,原有的优良野生基因是否能稳定遗传,对于进一步的有效利用至关重要。

近年来,AFLP 分子标记技术具有信息量大、灵敏度高和多态性丰富等优点,已被迅速应用于甘蔗生物多样性分析^[12-14]、图谱构建^[15-18]、基因定位^[19-22]、种质鉴定^[23-25]和标记辅助选择育种^[26]等方面的研究。本研究利用 AFLP 分子标记结合毛细管电泳技术研究斑割复合体中的野生特异基因在不同世代的群体间的遗传,从分子水平上分析不同斑割复合体后代的特异基因的遗传规律,并了解斑割复合体后代选育群体的遗传结构,以期进一步有目标地发掘利用斑茅、割手密中蕴藏的有利野生基因,从而为选育优良甘蔗育种新材料、新亲本提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为斑茅(GXA87-36),割手密(GXS79-9),斑割复合体(GXAS07-6-1),粤糖 93-159(YT93-159)、桂糖 01-53(GT01-53)、桂糖 02-761(GT02-761)、桂糖 05-2743(GT05-2743)、福农 39(FN39)、新台糖 22(ROC22)、新台糖 23(ROC23) 7 个甘蔗品种(系),30 个 GXAS F_1 后代,29 个 GXAS BC_1 后代,30 个 GXAS BC_2 后代(表 1)。

表1 试验材料组合

Table 1 The materials used in this study and pedigree information

试材 Materials	母本 Female parents	父本 Male parents	后代 Progeny
	GXA87-36	GXS79-9	GXAS07-6-1
F ₁	GXASF ₀₈₋₁ 组合 YT93-159	GXAS07-6-1	GXASF ₀₈₋₁₋₁ 、GXASF ₀₈₋₁₋₂ 、GXASF ₀₈₋₁₋₃ 、GXASF ₀₈₋₁₋₅ 、 GXASF ₀₈₋₁₋₆ 、GXASF ₀₈₋₁₋₇ 、GXASF ₀₈₋₁₋₈ 、GXASF ₀₈₋₁₋₉ 、 GXASF ₀₈₋₁₋₁₀ 、GXASF ₀₈₋₁₋₁₁
	GXASF ₀₈₋₂ 组合 GT01-53	GXAS07-6-1	GXASF ₀₈₋₂₋₂ 、GXASF ₀₈₋₂₋₆ 、GXASF ₀₈₋₂₋₁₁ 、GXASF ₀₈₋₂₋₁₈ 、 GXASF ₀₈₋₂₋₁₉ 、GXASF ₀₈₋₂₋₃₇ 、GXASF ₀₈₋₂₋₅₀ 、GXASF ₀₈₋₂₋₅₂ 、 GXASF ₀₈₋₂₋₅₄ 、GXASF ₀₈₋₂₋₆₀
	GXASF ₀₈₋₃ 组合 GT02-761	GXAS07-6-1	GXASF ₀₈₋₃₋₁ 、GXASF ₀₈₋₃₋₂ 、GXASF ₀₈₋₃₋₃ 、GXASF ₀₈₋₃₋₆ 、 GXASF ₀₈₋₃₋₇ 、GXASF ₀₈₋₃₋₈ 、GXASF ₀₈₋₃₋₁₀ 、GXASF ₀₈₋₃₋₁₁ 、 GXASF ₀₈₋₃₋₁₂ 、GXASF ₀₈₋₃₋₁₃
BC ₁	GXASBC ₁₁₋₁ 组合 GXASF ₀₈₋₃₋₆	GT05-2743	GXASBC ₁₁₋₁₋₅ 、GXASBC ₁₁₋₁₋₈ 、GXASBC ₁₁₋₁₋₁₁ 、 GXASBC ₁₁₋₁₋₁₆ 、GXASBC ₁₁₋₁₋₁₈ 、GXASBC ₁₁₋₁₋₁₉ 、 GXASBC ₁₁₋₁₋₂₇ 、GXASBC ₁₁₋₁₋₃₁ 、GXASBC ₁₁₋₁₋₃₂ 、 GXASBC ₁₁₋₁₋₃₇
	GXASBC ₁₁₋₂ 组合 GXASF ₀₈₋₃₋₂	GT05-2743	GXASBC ₁₁₋₂₋₂ 、GXASBC ₁₁₋₂₋₃ 、GXASBC ₁₁₋₂₋₅ 、 GXASBC ₁₁₋₂₋₆ 、GXASBC ₁₁₋₂₋₇ 、GXASBC ₁₁₋₂₋₈ 、 GXASBC ₁₁₋₂₋₉ 、GXASBC ₁₁₋₂₋₁₃ 、GXASBC ₁₁₋₂₋₁₄ 、 GXASBC ₁₁₋₂₋₁₆
	GXASBC ₁₁₋₃ 组合 GXASF ₀₈₋₃₋₁₁	GT05-2743	GXASBC ₁₁₋₃₋₂ 、GXASBC ₁₁₋₃₋₄ 、GXASBC ₁₁₋₃₋₆ 、 GXASBC ₁₁₋₃₋₇ 、GXASBC ₁₁₋₃₋₁₁ 、GXASBC ₁₁₋₃₋₁₂ 、 GXASBC ₁₁₋₃₋₁₄ 、GXASBC ₁₁₋₃₋₁₇ 、GXASBC ₁₁₋₃₋₂₃
BC ₂	GXASBC ₁₂₋₁₁₅ 组合 GXASBC ₁₁₋₁₋₂₉	ROC23	GXASBC ₁₂₋₁₁₅₋₂ 、GXASBC ₁₂₋₁₁₅₋₃ 、GXASBC ₁₂₋₁₁₅₋₇ 、 GXASBC ₁₂₋₁₁₅₋₁₁ 、GXASBC ₁₂₋₁₁₅₋₁₄ 、GXASBC ₁₂₋₁₁₅₋₁₅ 、 GXASBC ₁₂₋₁₁₅₋₁₆ 、GXASBC ₁₂₋₁₁₅₋₁₉ 、GXASBC ₁₂₋₁₁₅₋₂₁ 、 GXASBC ₁₂₋₁₁₅₋₂₂
	GXASBC ₁₂₋₂₉ 组合 GXASBC ₁₁₋₁₋₂₈	FN39号	GXASBC ₁₂₋₂₉₋₂ 、GXASBC ₁₂₋₂₉₋₃ 、GXASBC ₁₂₋₂₉₋₈ 、 GXASBC ₁₂₋₂₉₋₁₀ 、GXASBC ₁₂₋₂₉₋₁₁ 、GXASBC ₁₂₋₂₉₋₁₂ 、 GXASBC ₁₂₋₂₉₋₁₃ 、GXASBC ₁₂₋₂₉₋₁₇ 、GXASBC ₁₂₋₂₉₋₁₉ 、 GXASBC ₁₂₋₂₉₋₂₃
	GXASBC ₁₂₋₃₈ 组合 GXASBC ₁₁₋₁₋₁₁	ROC22	GXASBC ₁₂₋₃₈₋₁ 、GXASBC ₁₂₋₃₈₋₂ 、GXASBC ₁₂₋₃₈₋₇ 、 GXASBC ₁₂₋₃₈₋₁₂ 、GXASBC ₁₂₋₃₈₋₁₄ 、GXASBC ₁₂₋₃₈₋₁₆ 、 GXASBC ₁₂₋₃₈₋₁₇ 、GXASBC ₁₂₋₃₈₋₁₈ 、GXASBC ₁₂₋₃₈₋₁₉ 、 GXASBC ₁₂₋₃₈₋₂₂

1.2 试验方法及数据处理

1.2.1 样品DNA提取纯化 样品DNA提取参照黄东亮等^[27]的SDS法。

1.2.2 DNA质量及浓度检测 将DNA溶液稀释50倍,用核酸蛋白含量测定仪测定其浓度和A₂₆₀/A₂₈₀值。然后将样品DNA稀释至40 ng/μL, -20 °C保存备用。

1.2.3 AFLP试验方法 AFLP试验方法参照Vos等^[28]的方法。供试验使用的限制性内切酶EcoR I、Mse I, 连接酶T4DNA均为Fermentas公司产品。引物及接头由上海生物工程有限公司合成,在

引物5'端采用FAM荧光标记。选择性扩增使用EcoR I引物和Mse I引物共78个引物组合,根据引物筛选试验结果,从中筛选出重复性较好、多态性较高的29对引物组合进行正式扩增反应。扩增产物采用毛细管电泳检测。

1.3 数据统计与分析

用GeneMarker-V 2.4.0软件分析AFLP毛细管电泳图谱数据,根据AFLP标记片段与Genescan-500分子量标准品比较,得出差异片段,以“1”标记峰的位置,“0”标记无峰的位置,转换为“01”矩阵,人工调整系统自动输出矩阵图。利用NTSYS 2.10e软

件, 计算材料间的多态位点百分率 (PPL)、遗传距离 (D) 和遗传相似性系数 (I)。

1.4 亲本对后代的遗传位点统计

根据亲本与子代间电泳带型的多态性, 统计亲本对子代有贡献的遗传位点数。如在某一位点, 子代与其一个亲本的电泳带型相同, 而与该杂交组合中的其他亲本的电泳带型又不同, 就认为该后代继承了该亲本的遗传位点。亲本对子代的遗传贡献率为一个子代继承一个亲本的位点数与其来自所有亲本的总位点数的比值。

统计斑茅、割手密野生基因特有位点在子代的传递率。如在某一位点, 一个亲本有而其他亲本没有, 就认为该位点为该亲本的特有位点。特有位点遗传比率为子代继承某一亲本特有的遗传位点数与该亲本的特有位点数的比值。

2 结果与分析

2.1 AFLP 引物组合筛选与分析

选用 78 对 AFLP 引物组合对斑茅 GXA87-36 与割手密 GXS79-9 进行 PCR 扩增, 从中筛选出 29 对条带稳定、清晰的 AFLP 引物组合对斑茅复合体及其与甘蔗杂交、回交后代的基因组 DNA 进行 PCR 扩增及毛细管电泳分析。扩增片段的大小主要分布在 100~600 bp 范围内。其中 29 对引物组合共产生 3695 个多态性标记 (平均每对引物 127 个标记), 平均多态性比例 97.89%, 29 对引物组合的多态性位点比例范围在 91.34%~100%; 平均每对引物扩增 1 个材料可产生 37 个多态性标记。E6M2 组合扩增出的标记最多, 为 212 个, 多态性标记 202 个。E6M7 组合多态性比例最低 (表 2)。

表 2 29 对 AFLP 引物组合的检测结果

Table 2 The polymorphic results by using 29 pairs of AFLP primer combinations

引物名称 Primer name	缩写 Abbreviation	总位点数 Total number of loci	多态性位点数 Polymorphic loci	多态性百分数 (%) Percentage of polymorphism
E-AAG/M-CAC	E1M4	136	136	100.00
E-AAG/M-CAG	E1M6	171	169	98.83
E-AAG/M-CTT	E2M6	174	174	100.00
E-AAG/M-CAA	E5M9	113	113	100.00
E-ACA/M-CAC	E5M10	104	104	100.00
E-ACA/M-CAG	E6M1	100	99	99.00
E-ACA/M-CTC	E6M2	212	202	95.28
E-ACA/M-CTG	E6M4	149	147	98.66
E-AGG/M-CAC	E6M5	122	117	95.90
E-AGG/M-CAG	E6M6	123	117	95.12
E-AGG/M-CTC	E6M7	127	116	91.34
E-AGG/M-CAA	E6M8	136	130	95.59
E-AGT/M-CAG	E6M9	90	89	98.89
E-AGT/M-CTA	E7M1	117	117	100.00
E-AGT/M-CTT	E7M2	96	91	94.79
E-AGT/M-CTG	E7M3	132	128	96.97
E-AGT/M-CAC	E7M4	119	112	94.12
E-ATA/M-CAC	E7M8	80	80	100.00
E-ATA/M-CTT	E7M10	71	70	98.59
E-ATA/M-CAA	E13M1	132	129	97.73
E-ATA/M-CGC	E13M2	158	154	97.47
E-ATC/M-CAC	E13M5	97	97	100.00
E-ATC/M-CTA	E13M6	183	183	100.00
E-ATC/M-CTT	E13M8	90	88	97.78
E-ATC/M-CTG	E13M9	82	81	98.78
E-ATC/M-CAA	E15M1	137	137	100.00
E-ATC/M-CGC	E15M8	147	147	100.00
E-ATG/M-CAC	E16M4	173	173	100.00
E-ATG/M-CAT	E16M7	124	124	100.00
总计 Total	/	3695	3617	/
平均 Average	/	127.41	124.72	97.89

2.2 遗传分析

2.2.1 斑茅和割手密特异位点的传递分析 利用 29 对在斑茅和割手密间具有多态性的 AFLP 标记分析斑茅和割手密遗传位点在其 90 份后代中的传递率。结果显示,斑茅和割手密总位点分别为 1067 和 1120,特异位点分别为 563 和 616,传递给斑割复合体 GXAS07-6-1 的特异位点分别为 118 和 257。斑茅、割手密两者共有位点 504 个,有 388 个位点 (76.98%) 传递到后代斑割复合体 GXAS07-6-1 (表 3); 斑割复合体 GXAS07-6-1 特有位点 103 个,占遗传总位点的 2.79%。斑茅和割手密在斑割复合体中的遗传贡献率分别为 43.96% 和 56.04% (表 3)。从特异位点传递来看,割手密在后代 GXAS 07-6-1 的传递率 (41.72%) 约是斑茅在后代 GXAS 07-6-1 的传递率的 2 倍 (20.96%)。

斑茅对 F₁、BC₁、BC₂ 3 个世代的平均传递率分别为 8.25%、1.90% 和 0.63%,割手密对 F₁、BC₁、BC₂

3 个世代的传递率分别为 16.98%、2.40% 和 0.21% (表 4),表明割手密特异位点在后代的遗传率高于斑茅,并且随着世代的增加,斑茅和割手密的特异遗传物质均呈逐代减少趋势,它们的特异位点传递到 BC₂ 时已经很少 (分别为 0.63% 和 0.21%)。从组合上来看,斑茅 GXA87-36 对其 9 个组合后代的传递率介于 0.63%~9.84% 之间,对 GXAS F₁08-3 组合传递率最高 (9.84%),其中 GXAS F₁08-3-2 遗传到的位点最多,为 16 个; GXAS F₁08-3-10、GXAS F₁08-3-11、GXAS F₁08-3-13、GXAS F₁08-3-1 位点最少,为 8 个,说明该组合含斑茅遗传物质最多。对 GXASBC₂115 组合传递率最低,仅有 0.63%。割手密 GXS79-9 对其 9 个组合后代的传递率介于 0~21.25% 之间,对 GXAS F₁08-2 组合传递率最高 (21.25%),传递到 GXAS F₁08-2-11 的位点最多,为 38 个,传递到 GXAS F₁08-2-57 的位点最少,为 7 个。GXASBC₂115 组合并没有遗传到割手密的特异位点 (表 4)。

表 3 斑茅割手密对斑割复合体传递的遗传位点数

Table 3 AFLP loci of parents inheriting to the progeny and parental contributions to progeny in the *Erianthus arundinaceus* (Retz.) Jeswiet/*Saccharum spontaneum* L. cross

子代 Progeny	亲本传递给后代的遗传位点数 Loci number of parents inheriting to the progeny			
	GXA87-36	GXS79-9	相同 *Consistent	不相同 **Inconsistent
GXAS07-6-1	506 (43.96)	645 (56.04)	388	375

*: 与 2 个亲本具有相同等位变异的 AFLP 位点; **: 子代与亲本等位变异不同的 AFLP 位点; 括号中的数据为遗传贡献率

*: AFLP loci where two parents have the same alleles, **: AFLP loci where the alleles of the progeny are not equal to either of two parents, Data in parentheses contribute to heredity

表 4 斑茅、割手密特异遗传位点的传递分析

Table 4 Analysis of the genetic loci transfer of the *Erianthus arundinaceus* (Retz.) Jeswiet/*Saccharum spontaneum* L.

子代 Progeny		GXA87-36			GXS79-9		
		百分 比 (%) Percentage	遗传位点 Genetic locus	平均百分 比 (%) Average percentage	百分 比 (%) Percentage	遗传位点 Genetic locus	平均百分 比 (%) Average percentage
F ₁ generation	GXAS07-6-1	16.51			40.00		
	GXAS F ₁ 08-1 组合	6.35	5~12	8.25	9.06	6~14	16.98
	GXAS F ₁ 08-2 组合	8.57	4~13		21.25	7~38	
	GXAS F ₁ 08-3 组合	9.84	8~16		20.63	8~35	
BC ₁ generation	GXASBC ₁ 11-1 组合	2.54	1~5	1.90	1.88	0~4	2.40
	GXASBC ₁ 11-2 组合	1.90	0~3		2.81	0~5	
	GXASBC ₁ 11-3 组合	1.27	0~3		2.50	1~2	
BC ₂ generation	GXASBC ₂ 115 组合	0.63	0~1	0.63	0.00	0~0	0.21
	GXASBC ₂ 38 组合	1.27	0~2		0.63	0~1	
	GXASBC ₂ 29 组合	0.00	0~0		0.00	0~0	

2.2.2 甘蔗栽培品种遗传位点的传递分析 F_1 中 3 个甘蔗栽培亲本遗传到后代的特异位点比例范围为 52.11%~64.95%, 平均 59.75%, 其中 GT02-761 的特异位点传递率在 3 个甘蔗亲本中最高(表 5)。BC₁ 中 3 个组合后代的栽培种亲本都是 GT05-2743, 其遗传到后代的特异位点比例平均为 92.75%。BC₂ 中 3 个甘蔗栽培亲本遗传到后代的特异位点比例范围为 49.09%~94.32%, 平均 76.63%, 其中 ROC23 特

异位点传递率最低, FN39 特异位点传递率最高(表 5)。对甘蔗栽培品种与野生种质特异位点的遗传进行比较, 其中 GT02-761 遗传到 GXAS F₁08-3 组合特异位点比例约是斑茅遗传到 GXAS F₁08-3 组合特异位点比例的 6 倍, 约是割手密的 3 倍; 其遗传到 GXAS BC₁11-1 组合的特异位点比例约是斑茅的 3 倍, 割手密的 4 倍; 遗传到 GXAS BC₂38 组合的特异位点比例约是斑茅的 3 倍, 约是割手密的 6 倍。

表 5 甘蔗栽培品种对后代遗传贡献的特异性

Table 5 Specificity of genetic contribution of sugarcane cultivars to their progenies

后代 Progeny	甘蔗栽培种亲本 Parents of sugarcane cultivars	特异位点传递到后 代的位点比例(%) Proportions of specific points transmitted to offspring	后代与亲本平均遗传相似性系数 Average genetic similarity coefficient between offspring and parents		
			甘蔗栽培种亲本 Parents of sugarcane cultivars	GXA87-36	GXS79-9
GXAS F ₁ 08-1 组合 GXAS F ₁ 08-1 combination	93-159	62.20	0.56	0.45	0.44
GXAS F ₁ 08-2 组合 GXAS F ₁ 08-2 combination	GT01-53	52.11	0.55	0.46	0.45
GXAS F ₁ 08-3 组合 GXAS F ₁ 08-3 combination	GT02-761	64.95	0.60	0.46	0.44
GXAS BC ₁ 11-1 组合 GXASBC ₁ 11-1 combination	GT05-2743	92.39	0.73	0.39	0.36
GXAS BC ₁ 11-2 组合 GXASBC ₁ 11-2 combination	GT05-2743	93.48	0.77	0.38	0.35
GXAS BC ₁ 11-3 组合 GXASBC ₁ 11-3 combination	GT05-2743	92.39	0.77	0.37	0.35
GXAS BC ₂ 38 组合 GXASBC ₂ 38 combination	ROC22	86.49	0.74	0.37	0.34
GXAS BC ₂ 115 组合 GXASBC ₂ 115 combination	ROC23	49.09	0.65	0.37	0.34
GXAS BC ₂ 29 组合 GXASBC ₂ 29 combination	FN39	94.32	0.73	0.37	0.34

2.3 系谱间遗传相似性分析

2.3.1 斑茅、割手密与斑割复合体及其后代的遗传相似性分析 斑茅与割手密间的遗传相似系数为 0.46, 斑割复合体 GXAS07-6-1 与斑茅、割手密的遗传相似系数分别为 0.52 和 0.65, 表明 GXAS07-6-1 与父本割手密的亲缘关系较近。由表 5 可以看出, F_1 组合后代与斑茅、割手密的平均遗传相似性系数要高于 BC₁、BC₂ 组合后代, 与表 4 中斑茅、割手密传递给后代的特异位点比率相一致。GXAS F₁08-2 与 GXAS F₁08-3 组合在斑茅中的平均遗传相似系数最高, 均为 0.46, 在割手密中平均遗传相似性系数最高的是 GXAS F₁08-2 组合, 为 0.45。

2.3.2 甘蔗与斑割复合体及其后代的遗传相似性分析

甘蔗栽培种与斑茅、割手密及斑割复合体之间的遗传相似系数在 0.32~0.38 之间, 表明亲缘关系较远, 斑割复合体与其 9 个组合后代的遗传相似系数在 0.34~0.51 之间, 而甘蔗栽培种与 9 个组合后代间的遗传相似系数平均为 0.69, 说明后代偏向于甘蔗栽培种遗传。

2.3.3 聚类分析 图 1 的聚类结果显示, 在遗传相似系数 0.45 处切割时, 所有的材料可以分为两大类: I 类是野生资源的亲本斑茅、割手密及其杂交后代斑割复合体; II 类是斑割复合体的杂交及回交后代。在相似性系数 0.52 处切割时, F_1 与其 3 个栽

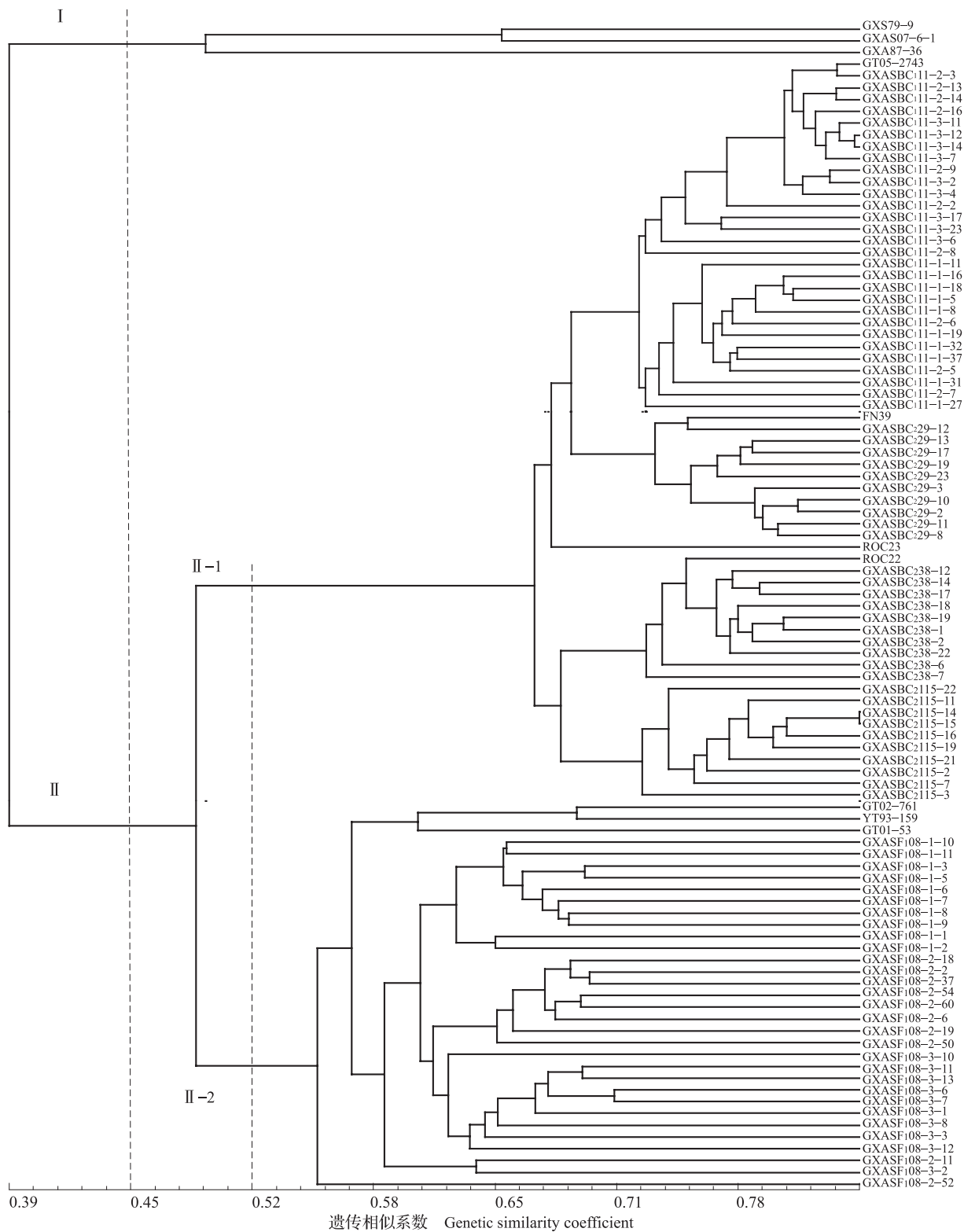


图1 斑茅、割手密及其杂交回交后代的 AFLP 聚类图

Fig.1 Genetic similarity of GXA87-36, GXS79-9 and their derivatives using AFLP markers

培种亲本聚为 II-2 类; BC₁、BC₂ 分别与其 4 个甘蔗栽培种聚为 II-1 类。聚类结果与分子遗传关系的分析结果相一致。

3 讨论

3.1 引物筛选

本研究用 29 对 AFLP 引物组合共检测到 3695 个遗传位点,多态性比率达 97.89%; 筛选出的引物组合均能同时在 GXAS07-6-1 中扩增出双亲的多态性位点,证实 GXAS07-6-1 含有双亲遗传物质,兼具斑茅和割手密血缘,这与前人对 GXAS07-6-1 鉴定的结论一致^[26]。本研究所用的 AFLP 引物组合,其图谱既有其父母本位点消失或增加现象,也有其独立的特征性位点,与刘昔辉等^[29]利用 SRAP、刘许辉^[30]利用 AFLP 对其进行遗传分析结果相同。

3.2 斑茅、割手密遗传物质的传递分析

理论上,杂交后代的所有等位变异应都来源于杂交亲本,但在杂交后代的实际选育过程中,来自于双亲的遗传物质在每一世代都可能发生基因重组,甚至碱基突变、插入、缺失或多个碱基的颠换和置换等变异,从而形成一些可供选择的变异性状。本研究中,2 个亲本对斑割复合体的遗传贡献率与传统的遗传分析出现偏离(50%:50%),父本割手密对斑割复合体的遗传贡献率(56.04%)略高于母本斑茅对斑割复合体的遗传贡献率(43.96%),并且斑割复合体 GXAS07-6-1 特有位点 103 个,占遗传总位点 2.79%,均说明除了继承双亲的遗传物质外,其自身也发生了一些基因重组。

从 29 对引物扩增结果表明,斑茅和割手密总的扩增位点很丰富,平均每对引物分别扩增出 36.8、38.6 个位点,但是斑茅、割手密的特异位点分别占总扩增位点的 8%。在第一次与甘蔗杂交时,斑茅特异位点传递到 F₁ 中的平均比例不到 10%,其中以 GXAS F₁08-3 组合含有斑茅特异位点最多,因此将 08-3 组合选为下一回交代的亲本,以期在后代中获得较多特异位点的遗传。而在回交过程中,斑茅、割手密的遗传物质传递到 BC₁、BC₂ 的比例极低,甚至存在有不传递的现象,说明遗传物质主要还是在 F₁,体现了利用野生资源的特异基因改良栽培品种的困难性,这与前人研究规律相同^[30]。

割手密特异位点在 F₁、BC₁ 和 BC₂ 3 个世代中遗传比率要略高于斑茅,表明在对斑茅和割手密复合杂交利用特异位点的追踪中,割手密的特异基因在世代间减少的趋势要比斑茅慢,与前人所得试验

结果相同^[29]。

3.3 遗传相似性及聚类分析

本研究中 GXAS07-6-1 与母本、父本间的遗传相似系数分别为 0.52 和 0.65, GXAS07-6-1 与父本的遗传相似系数相对较高,表明 GXAS07-6-1 得到更多的父本遗传位点,更偏向于父本遗传,与前人研究结果相一致^[29-30]。对斑割复合体及其亲本间遗传贡献率分析中,斑茅和割手密对斑割复合体的实际遗传贡献率分别为 43.96% 和 56.04% (表 3),也表明斑割复合体与母本斑茅的亲缘关系较远,与父本割手密的亲缘关系较近,偏向于父本遗传。因此,遗传相似性分析与分子遗传关系分析结果有较好的一致性。

由于甘蔗遗传背景的复杂性,即使是相同的杂交组合内的个体之间也可能存在着较大的差异^[31-32]。例如,来源于 GXAS F₁08-2 组合(GT01-53 × GXAS07-6-1)的 GXAS F₁08-2-52 和 GXAS F₁08-2-11 材料并没有与其余的 GXAS F₁08-2 组合材料聚为一类; F₁ 的 3 个组合间的平均遗传相似性系数分别为 0.71、0.69 和 0.70,说明这些组合间的血缘关系都比较近,但 GXAS F₁08-2-52 和 GXAS F₁08-3-2 遗传相似性系数仅为 0.50,存在较大的差异; GT02-761 的父本为 ROC22,它们的遗传相似性系数为 0.62,但却没有归为一类。这些都说明了甘蔗品种遗传基础的复杂性和杂交后代遗传的多样性。

参考文献

- [1] 高云,李树君,矫健,秦学敏,范莹. 广西糖料蔗产业发展路径分析. 世界农业, 2016(9): 237-343
Gao Y, Li S J, Jiao J, Qin X M, Fan K. Analysis on the development path of sugarcane industry in Guangxi. World Agriculture, 2016(9): 237-343
- [2] 黄永吉,吴嘉云,刘少谋,邓祖湖,符成,林彦铨,李奇伟,黄忠兴,陈如凯. 基于 GISH 的甘蔗与斑茅 F₁ 染色体遗传与核型分析. 植物遗传资源学报, 2014, 15(2): 394-398
Huang Y J, Wu J Y, Liu S M, Deng Z H, Fu C, Lin Y Q, Li Q W, Huang Z X, Chen R K. Chromosome genetic and karyotype analysis of F₁ hybrids between *Saccharum officinarum* and *Erianthus arundinaceus* based on GISH. Journal of Plant Genetic Resources, 2014, 15(2): 394-398
- [3] 高轶静,方锋学,刘昔辉,张荣华,宋焕忠,杨荣仲,罗霆,段维兴,游建华,张革民. 甘蔗与斑茅割手密复合体杂交后代的分子标记鉴定. 植物遗传资源学报, 2012, 13(5): 912-916
Gao Y J, Fang F X, Liu X H, Zhang R H, Song H Z, Yang R Z, Luo T, Duan W X, You J H, Zhang G M. Identification of progeny from crosses between sugarcane (*Saccharum* spp.) and intergeneric hybrid complex (*Erianthus arundinaceus* × *Saccharum spontaneum*) with molecular markers. Journal of Plant Genetic

- Resources, 2012, 13(5): 912-916
- [4] 中华人民共和国农业部. 中国作物遗传资源. 北京: 中国农业出版社, 1998: 499-518
Ministry of agriculture of the People's Republic of China. Crop genetic resources in China. Beijing: China Agricultural Publishs, 1998: 499-518
- [5] 陈辉, 范源洪, 史宪伟, 蔡青, 张明, 张亚平. 甘蔗细茎野生种 (*Saccharum spontaneum* L.) 的遗传多样性和系统演化研究. 作物学报, 2001, 27(5): 645-652
Chen H, Fan Y H, Shi X W, Cai Q, Zhang M, Zhang Y P. Research on genetic diversity and systemic evolution in *Saccharum spontaneum* L. Acta Agronomica Sinica, 2001, 27(5): 645-652
- [6] 陈如凯. 现代甘蔗育种的理论与实践. 北京: 中国农业出版社, 2003: 11-12
Chen R K. Theory and practice of modern sugarcane breeding. Beijing: China Agricultural Publishs, 2003: 11-12
- [7] 王先宏, 郭超, 娄红波, 李富生, 何丽莲, 何顺长, 唐荣平, 杨清辉. 不同基因型割手密无性系的核型分析. 植物遗传资源学报, 2014, 15(4): 912-917
Wang X H, Guo C, Lou H B, Li F S, He L L, He S C, Tang R P, Yang Q H. Karyotype analysis of different *Saccharum spontaneum* genotype clones. Journal of Plant Genetic Resources, 2014, 15(4): 912-917
- [8] Lekshmi M, Pazhany A S, Sobhakumari V P, Premachandran N M. Nuclear and cytoplasmic contributions from *Erianthus arundinaceus* (Retz.) Jeswiet in a sugarcane hybrid clone confirmed through genomic in situ hybridization and cytoplasmic DNA polymorphism. Genetic Resources and Crop Evolution, 2017, 64: 1553-1560
- [9] 张革民, 刘昔辉, 方锋学, 张荣华, 宋焕忠, 方位宽, 游建华, 刘海彬. 斑茅割手密复合体创制及其与甘蔗杂交 F_1 的染色体计数和形态表现. 2009 年中国作物学会学术年会论文摘要集, 2009: 157
Zhang G M, Liu X H, Fang F X, Zhang R H, Song H Z, Fang W K, You J H, Liu H B. Development of intergeneric complex between *Erianthus arundinaceus* and *Saccharum spontaneum* (GXAS07-6-1) and analysis of chromosome counting and morphological manifestation for the F_1 hybrids from sugarcane (*Saccharum* spp.) with the intergeneric complex. The 2009 Annual Academic Conference of Chinese Crop Society, 2009: 157
- [10] Gao Y J, Liu X H, Zhang R H, Zhou H, Liao J X, Duan W X, Zhang G M. Verification of progeny from crosses between sugarcane (*Saccharum* spp.) and an intergeneric hybrid (*Erianthus arundinaceus* \times *Saccharum spontaneum*) with molecular makers. Sugar Tech, 2015, 17(1): 31-35
- [11] 黄玉新, 罗霆, 林秀琴, 张保青, 周珊, 杨翠芳, 雷敬超, 高轶静, 段维兴, 张革民, 李杨瑞. 斑茅割手密复合体 (GXAS07-6-1) 及其与甘蔗 F_1 的 GISH 分析. 植物遗传资源学报, 2017, 18(3): 461-466
Huang Y X, Luo T, Liu X H, Zhang B Q, Zhou S, Yang C F, Lei J C, Gao Y J, Duan W X, Zhang G M, Li Y R. GISH analysis of intergeneric complex between *Erianthus arundinaceus* and *Saccharum spontaneum* (GXAS07-6-1) and its F_1 hybrids from crosses with sugarcane (*Saccharum* spp.). Journal of Plant Genetic Resources, 2017, 18(3): 461-466
- [12] 钱路, 安榆林, 徐梅, 杨晓军, 朱宏斌. 舞毒蛾不同地理种群基于 AFLP 分子标记的遗传分析. 林业科学, 2011, 47(10): 104-110
Qian L, An Y L, Xu M, Yang X J, Zhu H B. AFLP analysis of different geographic populations of the gypsy moth, *Lymantria dispar* (Lepidoptera: *Lymantriidae*). Scientia Silvae Sinicae, 2011, 47(10): 104-110
- [13] Selvi A, Nair N V, Noyer J L, Singh N K, Balasundaram N, Bansal K C, Koundal K R, Mohapatra T. AFLP analysis of the phenetic organization and genetic diversity in the sugarcane complex, *Saccharum* and *Erianthus*. Genetic Resources and Crop Evolution, 2006, 53: 831-842
- [14] Zhao S S, Chen X, Wan Q H. Assessment of genetic diversity in the forest musk deer (*Moschus berezovskii*) using microsatellite and AFLP markers. Chinese Science Bulletin, 2011, 56(24): 2565-2569
- [15] Kaur S, Cogan N O, Ye G, Baillie R C, Hand M L, Ling A E, McGearey A K, Kaur J, Hopkins C J, Todorovic M, Mountford H, Edwards D, Batley J, Burton W, Salisbury P, Gororo N, Marcroft S, Kearney G, Smith K F, Forster J W, Spangenberg G C. Genetic map construction and QTL mapping of resistance to blackleg (*Leptospha-erimaculans*) disease in *Australian canola* (*Brassic napus* L.) cultivars. Theoretical and Applied Genetics, 2009, 120(1): 71-83
- [16] 孙子淇, 张新友, 徐静, 张忠信, 刘华, 严玫, 董文召, 黄冰艳, 韩锁义, 汤丰收, 刘志勇. 河南省审定花生品种的指纹图谱构建. 作物学报, 2016, 42(10): 1448-1461
Sun Z Q, Zhang X Y, Xu J, Zhang Z X, Liu H, Yan M, Dong W Z, Huang B Y, Han S Y, Tang F S, Liu Z Y. DNA fingerprinting of peanut (*Arachis hypogaea* L.) varieties released in Henan province. Acta Agronomica Sinica, 2016, 42(10): 1448-1461
- [17] 吕品, 于海峰, 于志贤, 张永虎, 张艳芳, 王婷婷, 侯建华. 向日葵高密度遗传连锁图谱构建及两种水分条件下芽期性状的 QTL 分析. 作物学报, 2017, 43(1): 19-30
Lv P, Yu H F, Yu Z X, Zhang Y H, Zhang Y F, Wang T T, Hou J H. Construction of high-density genetic map and QTL mapping for seed germination traits in sunflower under two water conditions. Acta Agronomica Sinica, 2017, 43(1): 19-30
- [18] Aitken K, Jackson P M, McIntyre C L. A combination of AFLP and SSR markers provides extensive map coverage and identification of homo(eo)logous linkage groups in a sugarcane cultivar. Theoretical and Applied Genetics, 2005, 100: 789-801
- [19] 段会军, 张彩英, 李喜焕, 郭小敏, 王省芬, 马峙英. 河北省西瓜枯萎病菌生理小种鉴定与 AFLP 分析. 中国农业科学, 2007, 40(5): 925-931
Duan H J, Zhang C Y, Li X H, Guo X M, Wang X F, Ma Z Y. Identification of physiological races and AFLP analysis of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* from Hebei province. Scientia Agricultura Sinica, 2007, 40(5): 925-931
- [20] Lionneton E, Ravera S, Sanchez L, Aubert G, Delourme R, Ochart S. Development of an AFLP-based link-age map and localization of QTLs for seed fatty acid content in condiment mustard (*Brassicajuncea*). Genome, 2002, 45(6): 1203-1215
- [21] Salland C, Lorieux M, Roumen E, Tharreau D, Berruyer R, Svestasrani P, Grasmour O, Ghesquire A, Notteghem J L.

- Identification of five new blast resistance genes in the highly blast resistant variety IR 64 using a QTL mapping strategy. *Theoretical and Applied Genetics*, 2003, 106 (5): 794-803
- [22] Caballero A, Pereira M J G, Quesada H. Genomic distribution of AFLP markers relative to gene locations for different eukaryotic species. *BMC Genomics*, 2013, 14: 528
- [23] 刘昔辉, 张荣华, 张革民, 周会, 宋焕忠, 方位宽, 区惠平, 杨丽涛, 李杨瑞. 基于 AFLP 标记的河八王种质资源遗传多样性分析及分子身份证构建. *华中农业大学学报*, 2016, 35 (4): 7-13
Liu X H, Zhang R H, Zhang G M, Zhou H, Song H Z, Fang W K, Qu H P, Yang L T, Li Y R. Genetic diversity and molecular identification card construction of *Narenga porphyrocoma* (Hance) Bor germplasm based on ALFP markers. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2016, 35 (4): 7-13
- [24] 毛钧, 刘新龙, 苏火生, 陆鑫, 林秀琴, 蔡青, 范源洪. 基于表型与分子数据的斑茅核心种质构建. *植物遗传资源学报*, 2016, 17 (4): 607-615
Mao J, Liu X L, Su H S, Lu X, Lin X Q, Cai Q, Fan Y H. Constructing core collection of *Saccharum arundinaceum* L. based on phenotype and molecular markers. *Journal of Plant Genetic Resources*. 2016, 17 (4): 607-615
- [25] Tagane S, Ponragdee W, Sansayawichai T, Sugimoto A, Terajima Y. Characterization and taxonomical note about Thai *Erianthus* germplasm collection: the morphology, flowering phenology and biogeography among *E. procerus* and three types of *E. arundinaceus*. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 2012, 59: 769-781
- [26] 刘新龙, 蔡青, 马丽, 应雄美, 毛钧. 甘蔗基因定位及分子标记辅助育种研究. *西南农业学报*, 2006, 19 (S): 521-525
Liu X L, Cai Q, Ma L, Ying X M, Mao J. Research advancements of locating gene and marker-assisted selection breeding of sugarcane. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2006, 19 (S): 521-525
- [27] 黄东亮, 覃肖良, 廖青, 高轶静, 方锋学. 高质量甘蔗基因组 DNA 的简便快速提取方法研究. *生物技术通报*, 2010 (5): 101-106
Huang D L, Qin X L, Liao Q, Gao Y J, Fang F X. Simple and rapid procedure for isolation of high quality genomic DNA from sugarcane. *Biotechnol Bull*, 2010 (5): 101-106
- [28] Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijans M, vande Lee T, Hornes M, Frijters A, Pot J, Peleman J, Kuiper M, Zabeau M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, 1995, 23 (21): 4407-4414
- [29] 刘昔辉, 方锋学, 高轶静, 张荣华, 宋焕忠, 杨荣仲, 方位宽, 段维兴, 罗霆, 张革民, 李杨瑞. 斑茅割手密杂种后代真实性鉴定及遗传分析. *作物学报*, 2012, 38 (5): 914-920
Liu X H, Fang F X, Gao Y J, Zhang R H, Song H Z, Yang R Z, Fang W K, Duan W X, Luo T, Zhang G M, Li Y R. Identification and genetic analysis of hybrid from cross between *Erianthus arundinaceus* (Retz.) Jesws. and *Saccharum spontaneum* L. *Acta Agronomica Sinica*, 2012, 38 (5): 914-920
- [30] 刘许辉. 甘蔗与斑茅割手密复合体杂交后代的遗传分析. 南宁: 广西大学, 2013
Liu X H. Genetic analysis for the progenies from the cross *Saccharum* with the hybrid of *Erianthus Arundinaceus* (Retz) Jeswiet and *Saccharum Spontaneum* L. Nanning: Guangxi University, 2013
- [31] 庄南生, 郑成木, 黄东益, 唐燕琼, 高和琼. 甘蔗种质遗传基础的 AFLP 分析. *作物学报*, 2005, 31 (4): 444-450
Zhuang N S, Zheng C M, Huang D Y, Tang Y Q, Gao H Q. AFLP analysis for sugarcane germplasms. *Acta Agronomica Sinica*, 2005, 31 (4): 444-450
- [32] 刘家勇, 赵培方, 刘新龙, 赵俊, 杨昆, 吴才文, 应雄美, 管逢刚, 陈学宽. 68 份国外甘蔗种质资源遗传多样性的 AFLP 分析. *湖南农业大学学报: 自然科学版*, 2013, 39 (5): 466-470
Liu J Y, Zhao P F, Liu X L, Zhao J, Yang K, Wu C W, Ying X M, Zan F G, Chen X K. Genetic diversity analysis on 68 foreign sugarcane germplasms (*Saccharum* spp.) with AFLP technique. *Journal of Hunan Agricultural University : Natural Sciences*, 2013, 39 (5): 466-470