

玉蜀黍属物种间遗传关系的 RAPD 分析

唐祈林*, 王培, 卢艳丽, 郑名敏, 刘坚, 荣廷昭*

(四川农业大学玉米研究所, 四川 雅安 625014)

摘要:用 136 个 RAPD 引物对玉蜀黍属大刍草和玉米种质基因组 DNA 的多态性进行检测, 共得到 5 303 条条带, 其中多态性带 4 500 条。遗传相似系数分析结果表明, 玉米与大刍草种质遗传相似性系数变幅为 0.585~0.809, 相同种遗传相似性系数为 0.767~0.809, 而种间或亚种间的相似性系数为 0.585~0.745, 表明利用 RAPD 技术能准确地揭示出玉米与大刍草种间的遗传关系。聚类结果表明, 玉蜀黍属内所有大刍草和玉米可分类为繁茂亚属和玉蜀黍亚属, 繁茂亚属包括四倍体多年生类玉米种、二倍体多年生类玉米种、繁茂类玉米种和尼加拉瓜类玉米种; 玉蜀黍亚属包括小颖类玉米亚种、墨西哥类玉米亚种、委委特南戈类玉米亚种和玉米。运用 RAPD 技术证实了在玉蜀黍属中尼加拉瓜类玉米种与繁茂类玉米种亲缘关系最近。

关键词:玉蜀黍属; 玉米; 大刍草; RAPD; 遗传关系

中图分类号:S513.032; Q943 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-5759(2009)04-0154-07

* 玉蜀黍族共有 7 个属^[1], 包括薏苡属(*Coix*, $2n=20, 40$)、硬颖草属(*Selerachne*, $2n=20$)、多裔黍属(*Polytoca*, $2n=40$)、葫芦草属(*Chionachne*, $2n=20$)、三裂草属(*Trilobachne*, 染色体数目尚不清楚)、玉蜀黍属(*Zea*, $2n=20, 40$)、摩擦禾属(*Tripsacum*, Gamagrass, $2n=18, 36, 72$), 其中玉蜀黍属是玉蜀黍族最重要的种属, 它包括栽培玉米和所有大刍草。在玉蜀黍属中, 除栽培玉米亚种外, 其他玉米野生近缘材料如墨西哥类玉米亚种、小颖类玉米亚种、委委特南戈类玉米亚种、繁茂类玉米种、二倍体多年生类玉米种和四倍体多年生类玉米种等统称为“大刍草”(teosinte)。近年来, 在大刍草家族中又发现了 1 个新种——尼加拉瓜类玉米种(*Z. nicaraguensis*), 它生长在沿海低海拔 6~15 m 的地带, 具较强的耐水性能^[2~5], 在水里能长出不定根, 根有良好的通气组织; 可是, 有关尼加拉瓜类玉米种的遗传及其分类关系还鲜见报道^[5]。作为玉米近缘材料的大刍草, 具有栽培玉米不具有的抗逆性、抗病虫害等多种优良特征特性, 把这些有益基因导入到玉米基因库中, 对拓展和创新玉米遗传与育种种质基础具有十分重要的意义^[2~5]。

在广泛收集这些野生资源的基础上, 研究它们的遗传关系和多态性水平, 评价其利用价值, 将对物种起源、资源有效保护与利用以及远缘杂交具有重要意义。玉米及其野生近缘种遗传关系已有许多研究, 其中以形态解剖、生化分析、核型分析及分子细胞遗传研究居多, 而利用分子技术的研究报道较少; 并且许多研究的野生近缘种材料不齐全, 研究结果信息量有限, 所得结论也不一致^[2, 5~16]。为了进一步探明玉米及其野生近缘种的遗传关系, 本研究收集了来自美国 and CIMMYT(国际玉米小麦改良中心)的所有大刍草种与亚种, 应用形态、细胞和分子生物学技术对此进行了系统研究^[2, 5~16]。试验拟用 RAPD(randomly amplified polymorphic DNA)技术对玉米及其野生近缘种的遗传关系进行分析, 以期对玉米及玉米野生近缘种的亲缘关系、亲本选配以及远缘杂交提供依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

供试亲本材料见表 1。试验材料包括 3 个玉米自交系和 11 个大刍草材料。大刍草材料包含了现今所有大刍草的各个种与亚种, 分别引自国际小麦玉米改良中心(CIMMYT)和美国(PI 和 Ames)。

* 收稿日期: 2009-01-15; 改回日期: 2009-03-16

基金项目: 国家 973 项目(2007CB108907), 国家自然科学基金项目(30671308), 国家科技支撑项目(2007BAD89B15), 四川省青年基金项目(2007Q14-032), 教育部创新团队发展计划(IRT0453)和四川饲草育种攻关项目资助。

作者简介: 唐祈林(1971-), 男, 重庆云阳人, 博士。

* 通讯作者。E-mail: tangql@sicau.edu.cn, Rongtz@sicau.edu.cn

表 1 供试材料编号、来源及其名称

Table 1 Lists species accession name/chromosome number and origin of the plant materials used in the present study

序号 Sample No.	学名 Scientific name	库号 Access	来源 Origin	染色体数目 Chromosome number	中文名称 Chinese name
Tz01	<i>Z. perennis</i>	9475	CIMMYT	2n=40	四倍体多年生类玉米种
Tz02	<i>Z. perennis</i>	21785	Ames	2n=40	四倍体多年生类玉米种
Tz03	<i>Z. mays</i> ssp. <i>parviglumis</i>	8774	CIMMYT	2n=20	小颖类玉米亚种
Tz04	<i>Z. mays</i> ssp. <i>parviglumis</i>	621785	PI	2n=20	小颖类玉米亚种
Tz05	<i>Z. luxurians</i>	9478	CIMMYT	2n=20	繁茂类玉米种
Tz06	<i>Z. luxurians</i>	441933	PI	2n=20	繁茂类玉米种
Tz07	<i>Z. mays</i> ssp. <i>mexicana</i>	11394	CIMMYT	2n=20	墨西哥类玉米亚种
Tz08	<i>Z. mays</i> ssp. <i>mexicana</i>	8083	Ames	2n=20	墨西哥类玉米亚种
Tz09	<i>Z. diploperennis</i>	10003	CIMMYT	2n=20	二倍体多年生类玉米种
Tz10	<i>Z. nicaraguensis</i>	615697	PI	2n=20	尼加拉瓜类玉米种
Tz11	<i>Z. mays</i> ssp. <i>huehuetenangensis</i>	441934	PI	2n=20	委委特南戈类玉米亚种
Tz12	<i>Z. mays</i> ssp. <i>mays</i>	48-2 (自交系 Inbred)	中国 China	2n=20	玉米自交系
Tz13	<i>Z. mays</i> ssp. <i>mays</i>	08 (自交系 Inbred)	中国 China	2n=20	玉米自交系
Tz14	<i>Z. mays</i> ssp. <i>mays</i>	Mo17 (自交系 Inbred)	Ames	2n=20	玉米自交系

1.2 试验方法

1.2.1 DNA 的提取 材料 2007 年种植在四川雅安多营农场, 每个材料 5 株进行混合取样。按 Saghai-Marooof 等^[17]的 CTAB(cetyltrimethyl ammonium bromide)法提取各材料幼嫩叶片的 DNA。

1.2.2 引物的筛选 试验共用了 340 个随机引物, 每条引物长度均为 10 bp, 由北京赛百盛基因技术有限公司合成。从 340 个随机引物中筛选出 136 个重复性良好的引物用作 PCR 扩增。

1.2.3 RAPD 分析 反应体系: 总体积 25 μL , 包括灭菌双蒸水 16.8 μL , 10 \times PCR 缓冲液 2.5 μL , MgCl_2 (25 mmol/L) 1.5 μL , dNTP(10 mmol/L) 2.0 μL , 引物(10 pmol/ μL) 1 μL , Taq 酶(5 U/ μL) 0.2 μL , DNA 模板(50 ng/ μL) 1 μL 。

PCR 扩增条件: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min, 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 1 min, 38 $^{\circ}\text{C}$ 复性 1 min, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1.5 min, 38 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 7 min; 最后在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下保存。

RAPD 扩增产物用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测, 加样量为 12 μL 扩增产物 + 2 μL 含 0.25% 溴酚蓝的载样缓冲液, EB(ethidium bromide) 染色。电泳结束后在紫外灯下用凝胶成像系统拍照。

1.2.4 数据处理与分析 结果记录标准是在同一迁移率上, 根据 RAPD 扩增产物带型分布, 有带计为 1, 无带计为 0, 缺失计为 9。收集统计数据建立数值矩阵, 利用 NTSYS-pc2.10 版软件中的 SIMQUAL 程序求遗传相似系数矩阵; 用 SHAN 程序中的 UPGMA 方法进行聚类分析, 通过 Tree plot 模块生成聚类图。

2 结果与分析

2.1 RAPD 扩增结果与多态性分析

试验选用 340 个随机引物, 从中筛选出扩增产物分离效果和重复性良好的 136 个引物用作 PCR 扩增, 部分引物 C6、C7 的扩增结果见图 1; 136 个随机引物对 14 份材料进行扩增, 共检测到 5 303 条带, 其中多态性条带 4 500, 占总扩增条带数的 84.86%, 引物扩增的 DNA 片段大小为 500~2 000 bp, 以 750~1 000 bp 居多, 平均每个引物得到 38.99 条带和 33.09 条多态性带。这说明玉蜀黍属内的玉米及其野生近缘材料(大刍草)遗传背景复杂, 材料间具有较大的遗传多样性。

Tz01 Tz02 Tz03 Tz04 Tz05 Tz06 Tz07 Tz08 Tz09 Tz10 Tz11 Tz12 Tz13 Tz14 M Tz01 Tz02 Tz03 Tz04 Tz05 Tz06 Tz07 Tz08 Tz09 Tz10 Tz11 Tz12 Tz13 Tz14

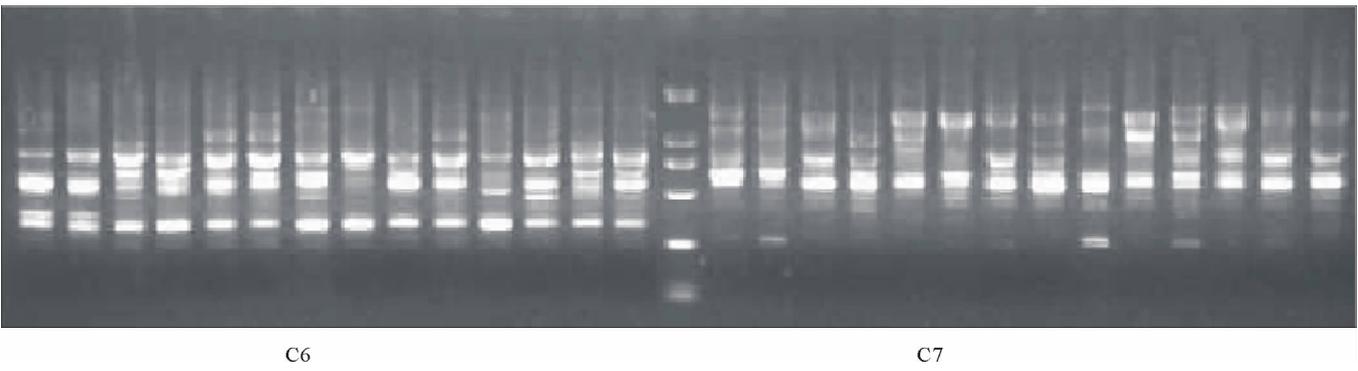


图 1 部分 RAPD 引物 C6、C7 扩增结果

Fig. 1 Banding patterns of RAPD produced by the primers C6 and C7

2.2 供试材料 RAPD 相似性系数分析

14 个材料的遗传相似性系数变幅为 0.585~0.809(表 2),不同地方收集的同种材料遗传相似性系数以四倍体多年生类玉米种最高,为 0.809;其次是繁茂类玉米种、墨西哥类玉米亚种和小颖类玉米亚种,相似系数分别为 0.796,0.784 和 0.767,说明不同地方保留的相同物种纯度高或同种类相似性高。不同种材料遗传相似性系数以小颖类玉米亚种与墨西哥类玉米亚种最高,为 0.745;委委特南戈类玉米亚种与四倍体多年生类玉米种相似性系数最低,为 0.585。比较分析表明,相同种类遗传相似性系数均大于种间或亚种间的。

表 2 供试材料之间的遗传相似性系数

Table 2 Similarity coefficient of 14 varieties/species of genus *Zea* by using RAPD primers

材料序号 No.	Tz01	Tz02	Tz03	Tz04	Tz05	Tz06	Tz07	Tz08	Tz09	Tz10	Tz11	Tz12	Tz13	Tz14
Tz01	1.000													
Tz02	0.809	1.000												
Tz03	0.635	0.647	1.000											
Tz04	0.624	0.638	0.767	1.000										
Tz05	0.644	0.641	0.646	0.635	1.000									
Tz06	0.621	0.612	0.624	0.610	0.796	1.000								
Tz07	0.629	0.644	0.737	0.745	0.628	0.651	1.000							
Tz08	0.603	0.601	0.699	0.706	0.635	0.617	0.784	1.000						
Tz09	0.695	0.696	0.610	0.633	0.635	0.612	0.650	0.638	1.000					
Tz10	0.626	0.593	0.611	0.604	0.733	0.736	0.621	0.620	0.639	1.000				
Tz11	0.585	0.588	0.651	0.664	0.613	0.607	0.682	0.692	0.621	0.644	1.000			
Tz12	0.598	0.602	0.662	0.674	0.639	0.631	0.689	0.680	0.594	0.631	0.682	1.000		
Tz13	0.594	0.601	0.683	0.695	0.601	0.617	0.700	0.687	0.586	0.608	0.670	0.808	1.000	
Tz14	0.607	0.603	0.674	0.686	0.625	0.625	0.693	0.686	0.595	0.639	0.653	0.759	0.787	1.000

2.3 供试材料 RAPD 聚类分析

采用 UPGMA 聚类法,利用 NTSYS 软件对 RAPD 试验数据进行聚类分析,结果见图 2。在相似系数为 0.626 处,14 份供试材料被分为 2 大类:一类为四倍体多年生类玉米种(Tz01 和 Tz02)、二倍体多年生类玉米种(Tz09)、繁茂类玉米种(Tz05 和 Tz06)与尼加拉瓜类玉米种(Tz10);另一类为小颖类玉米亚种(Tz03 和 Tz04)与墨西哥类玉米亚种(Tz07 和 Tz08)、委委特南戈类玉米亚种(Tz11)与玉米自交系 48-2(Tz12)、08(Tz13)、Mo17(Tz14)。该结果与经典的 Doebley 和 Iltis^[7],Iltis 和 Doebley^[9]分类完全相似,即把玉蜀黍属分为玉蜀黍亚属和

繁茂亚属。因此,把四倍体多年生类玉米种、二倍体多年生类玉米种、繁茂类玉米种和尼加拉瓜类玉米种归为一类,仍称为繁茂亚属;而另一类包括小颖类玉米亚种、墨西哥类玉米亚种、委委特南戈类玉米亚种和玉米称为玉蜀黍亚属。

在相似系数为 0.626 处,繁茂亚属又可分成 2 个亚类:一亚类为多年生大刍草,包括四倍体多年生类玉米种和二倍体多年生类玉米种;另一亚类为一年生的繁茂类玉米种与尼加拉瓜类玉米种。在相似系数为 0.686 处,玉蜀黍亚属可分为 3 个亚类:委委特南戈类玉米亚种为一亚类;小颖类玉米亚种与墨西哥类玉米亚种归为一亚类;栽培玉米为一亚类。亚属中亚类的聚类分析与经典的 Wilkes^[15]分类相似,这种分类关系与材料间的形态、地理分布、特别生长习性分类高度一致。

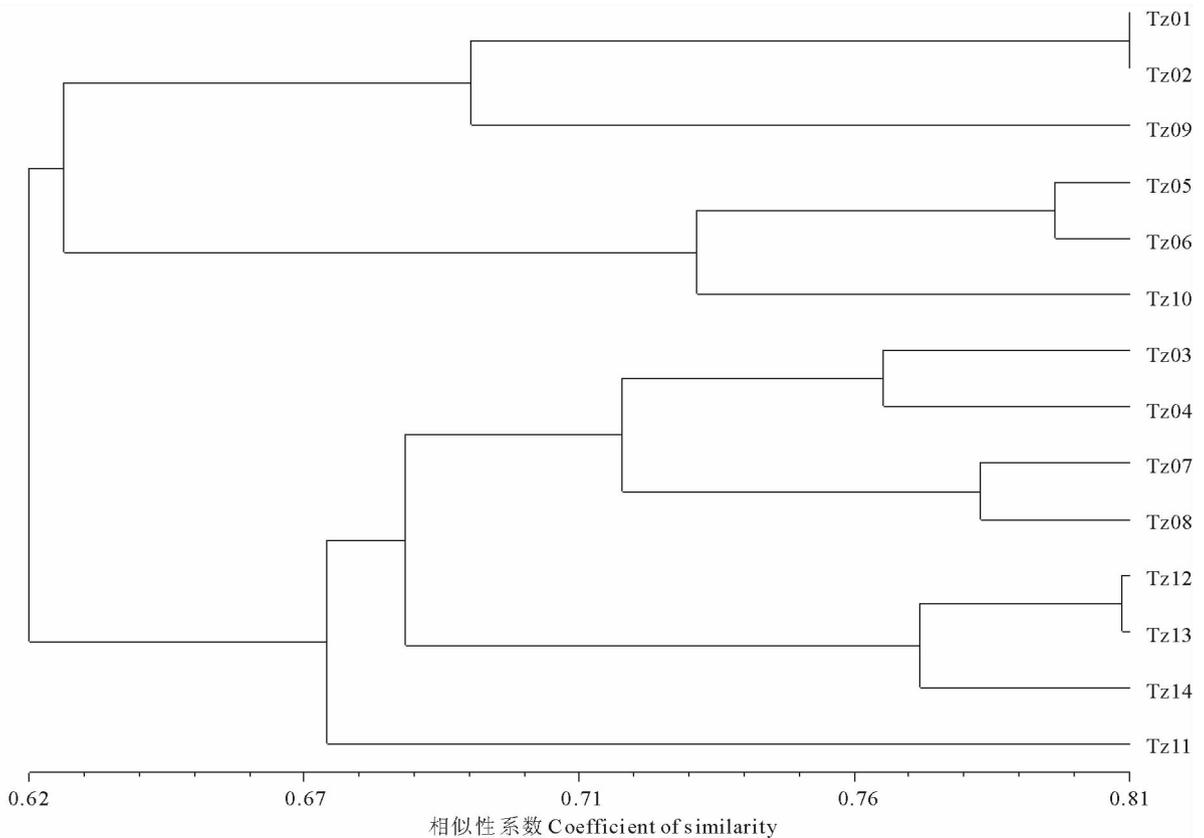


图 2 玉蜀黍属内玉米及其野生近缘种大刍草材料的 RAPD 聚类图

Fig. 2 Dendrogram of cluster analysis of the 14 species/varieties of *Zea* by using RAPD markers

3 讨论

3.1 玉米与大刍草的遗传关系及分类研究

同其他禾谷类作物一样,玉米是一种驯化作物。但玉米又区别于其他禾谷类作物,因为其他作物如水稻 (*Oryza sativa*)、小麦 (*Triticum aestivum*),在自然界还保留有与之形态、结构相似的野生材料,而玉米至今尚未发现与之形态结构相似的野生材料或化石乃至玉米从野生到栽培驯化过程中的中间类型^[2,6~10,18~20]。

大刍草作为玉米亲缘关系最近的野生近缘材料已成共识^[2,6~10,18~20];玉米可能起源于大刍草,即玉米起源于一种原始野生的大刍草 (*Z. mays* ssp. *mexicana*) 假说也成为玉米起源最重要的假说。该假说认为玉米的野生祖先是 大刍草,人们在采集过程中,往往采集那些不易于脱落的种子,长期的驯化选择,使原本易于脱落的种子逐步增加了缩合水平,这种半驯化缩合类型有利于人们的栽培与采集,通过这种长期的选择、驯化而成现代栽培玉米。

可是,大刍草与玉米有诸多不同的物理结构,特别是果穗与种子物理结构完全不同。大刍草雌穗穗行数为二

列式,具有6~12颗种子,种子外包被坚硬的果壳,成熟籽粒能自行脱落;而玉米果穗穗行数为多列式,穗行可达到20行或更多,可产生几百粒种子,籽粒外被花苞片或颖片,籽粒不能自行脱落。大刍草籽粒是不可食用的,人们选择大刍草籽粒进行采集、驯化获得现代栽培玉米是不可理解的。大刍草果壳坚硬、凹陷,而古生物学玉米颖片软化、瘦薄、壳斗较浅,大刍草细小的雌花(果穗)即使通过人类的选择育种,似乎也不可能形成现代玉米硕大的多列果穗。玉米与大刍草的这些结构区别导致人们对玉米与大刍草各种间的遗传关系、分类一直存在较大的分歧,甚至在19世纪早中期,植物学家仍把大刍草归为玉蜀黍族的类蜀黍属(*Euchlaena*)^[5~6,12~15]。

Collins^[20]于1921年提出大刍草是玉米亲缘关系最近的野生近缘材料。Beadle^[18]于1939年提出玉米起源于大刍草的理论假说。Wilkes^[15]于1967年首次把大刍草和玉米归为玉蜀黍属,该玉蜀黍属又分类蜀黍亚属和玉米亚属,所有大刍草归于类蜀黍亚属,该亚属包括墨西哥类玉米种和四倍体多年生类玉米种2个种,墨西哥类玉米种包括繁茂类玉米、墨西哥类玉米、小颖类玉米、委委特南戈类玉米,而四倍体多年生类玉米种仅1个种。玉米亚属,仅1个种——玉米。后来,Wilkes^[15]把二倍体多年生类玉米种合并入四倍体多年生类玉米种中,命名为繁茂玉米种。Wilkes^[15]分类理论对大刍草与玉米远缘杂交、玉米的起源与演化研究起到了极大的推进作用,奠定了玉米与大刍草分类的基础。1980年,Doebley和Iltis^[7],Iltis和Doebley^[9]根据各分类种可能的进化关系,结合地理分布特征,依据雄穗分枝和雄小穗外颖的10个数量性状、7个质量性状和雌小穗壳斗的形状、同工酶和叶绿体DNA限制性内切酶电泳图谱^[15]进行了玉米和大刍草的分类。该分类认为玉米和大刍草同属于玉蜀黍属,玉蜀黍属又分玉蜀黍亚属和繁茂亚属,繁茂亚属包括繁茂类玉米种、二倍体多年生类玉米种和四倍体多年生类玉米种;玉蜀黍亚属仅1个种——玉米种,玉米种包括墨西哥类玉米亚种、小颖类玉米亚种和栽培玉米亚种。后来,把发现的委委特南戈类玉米亚种归类为玉米种的1个亚种^[9];因为委委特南戈类玉米雄花形态与小颖类玉米亚种极其相似,也有把委委特南戈类玉米归类为小颖类玉米亚种的分类理论。

本试验应用RAPD分子标记技术对玉米和大刍草各个种与亚种进行了遗传关系分析,分析结果综合了现今玉米与大刍草两大经典分类系统的精髓,即本研究结果支持Doebley和Iltis^[7],Iltis和Doebley^[9]把玉蜀黍属分为对繁茂亚属和玉蜀黍亚属的分类观点;而在亚属内的分类关系与材料间的形态、地理分布、特别是与它们的生长习性分类一致,这种分类支持Wilkes^[15]的观点。

本研究结果不支持把委委特南戈类玉米归类为小颖类玉米亚种。事实上,委委特南戈类玉米生长习性区别于小颖类玉米亚种,委委特南戈类玉米具有较长的生命周期,自然环境下,从种子发芽到成熟大约需要7~8个月,植株比小颖类玉米亚种植株高,株高可达5m。因此认为委委特南戈类玉米归类为玉蜀黍亚属内的独立1个种,具有合理性。本试验首次运用RAPD技术把新发现的尼加拉瓜类玉米种分类为繁茂玉米亚属,分析结果与其早期的尼加拉瓜类玉米种分类推论相符^[5]。

3.2 RAPD技术在遗传多样性评价中的应用

RAPD技术由于DNA多态性的检出率高,不需有关DNA结构方面的信息,操作简单易行,因而在植物的亲缘关系研究、遗传多样性评价中得到了广泛应用^[17,21~24]。当然,RAPD标记技术也存在一定的缺陷,如试验过程中多型性带型不稳定性是其主要问题之一。因为使用了较短的引物,RAPD标记的PCR扩增易受试验条件、引物的竞争性等^[17]因素的影响,导致基因组的RAPD位点有时不能全部检出。在玉米研究上,RAPD技术主要应用于玉米自交系杂种优势群的划分及其亲缘关系研究^[25],应用于玉米与大刍草遗传关系分析尚无报道。本试验RAPD分析是136个分离效果和重复性良好的引物PCR扩增的聚类结果,较大的引物容量分析的聚类结果真实地反映供试材料之间的遗传关系。因此,可以认为,RAPD技术虽然易受试验条件、引物竞争性等偏差的影响,但是RAPD分析用的是随机引物,在DNA水平上检测基因组所得数据是无偏的随机样本,只要在操作过程中严格控制试验条件的一致性,加强对引物的筛选,特别是增大引物容量,其分析结果可以真实地反映基因组的本质特征以及物种间的亲缘关系。

4 结论

本研究利用RAPD技术对玉蜀黍属大刍草和玉米种质基因组DNA的多态性进行检测,研究表明,玉蜀黍属内的玉米及其野生近缘材料(大刍草)间具有较大的遗传多样性;聚类分析表明玉蜀黍属内的玉米及其野生近缘

材料(大刍草)可分类为繁茂亚属和玉蜀黍亚属,繁茂亚属包括四倍体多年生类玉米种、二倍体多年生类玉米种、繁茂类玉米种和尼加拉瓜类玉米种;玉蜀黍亚属包括小颖类玉米亚种、墨西哥类玉米亚种、委委特南戈类玉米亚种和栽培玉米亚种。首次运用分子技术证实了在玉蜀黍属中尼加拉瓜类玉米种与繁茂类玉米种亲缘关系最近,并且研究结果不支持把委委特南戈类玉米归类为小颖类玉米亚种。

参考文献:

- [1] 刘继麟. 玉米育种学[M]. 北京:中国农业出版社,2000.
- [2] Iltis H H, Benz B F. *Zea nicaraguensis* (Poaceae), a new teosinte from Pacific coastal *Nicaragua*[J]. *Novon*, 2000, 10: 382-390.
- [3] Mano Y, Muraki M, Fujimori M, *et al.* Identification of QTL controlling adventitious root formation during flooding conditions in teosinte (*Zea mays* ssp. *huehuetenangensis*) seedlings[J]. *Euphytica*, 2005, 142: 33-42.
- [4] Mano Y, Omori F, Takamizo T, *et al.* Variation for root aerenchyma formation in flooded and non-flooded maize and teosinte seedlings[J]. *Plant Soil*, 2006, 281: 269-279.
- [5] Pernilia E S, Carlos H L, Arnulf M. Chromosome C-banding of the teosinte *Zea nicaraguensis* and comparison to other *Zea* species[J]. *Hereditas*, 2007, 144: 96-101.
- [6] Bird R M. A name change for Central American teosinte[J]. *Taxon*, 1978, 27: 361-363.
- [7] Doebley J F, Iltis H H. The taxonomy of *Zea* (Gramineae). I. Subgeneric classification with key to taxa[J]. *American Journal of Botany*, 1980, 67: 982-993.
- [8] Hadlaczký G Y, Ka'ima'n L. Discrimination of homologous chromosomes of maize with Giemsa staining[J]. *Heredity*, 1975, 35: 371-374.
- [9] Iltis H H, Doebley J F. Taxonomy of *Zea* (Gramineae). 2. Subspecific categories in the *Zea mays* complex and a generic synopsis[J]. *American Journal of Botany*, 1980, 67: 994-1004.
- [10] Kato T A, Lopez R. Chromosome knobs of the perennial teosintes[J]. *Maydica*, 1990, 35: 125-141.
- [11] Molina M C, Naranjo C A. Cytogenetic studies in the genus *Zea*. 1. Evidence for five as the basic chromosome number[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1987, 73: 542-550.
- [12] Naranjo A, Molina M C. New cytological evidences for a basic number $X=5$ in the genus *Zea*[J]. *Maize Genetics Coop Newsletter (USA)*, 1987, 61: 62-63.
- [13] Poggio L, Confalonieri V, Comas C, *et al.* Genomic affinities of *Zea luxurians*, *Z. diploperennis*, and *Z. perennis*: Meiotic behavior of their F_1 hybrids and genomic in situ hybridization (GISH)[J]. *Genome*, 1999, 42: 993-1000.
- [14] Tito C M, Poggio L, Naranjo C A. Cytogenetic studies in the genus *Zea*. 3. DNA content and heterochromatin in species and hybrids[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1991, 83: 58-64.
- [15] Wilkes H G. Teosinte: The Closest Relative of Maize[M]. Cambridge, Massachusetts: Bussey Institute of Harvard University, 1967.
- [16] 田松杰,石云素,宋燕春,等. 利用 AFLP 技术研究玉米及其野生近缘种的遗传关系[J]. *作物学报*, 2004, 30(4): 354-359.
- [17] Saghai-Marouf M A, Soliman K M, Jorgensen R A. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1984, 81: 8014-8018.
- [18] Beadle G W. Teosinte and the origin of maize[J]. *Journal of Heredity*, 1939, 30: 245-247.
- [19] Beadle G W. The ancestry of corn[J]. *Scientific American*, 1980, 242: 112-119.
- [20] Collins G N. Teosinte in Mexico[J]. *Journal of Heredity*, 1921, 12: 339-350.
- [21] Li Y G, Dewald C L, Sims P L. Genetic relationships within tripsacum as detected by RAPD variation[J]. *Annals of Botany*, 1999, 84: 695-702.
- [22] 田志宏,邱永福,严寒,等. 用 RAPD 标记分析高羊茅的遗传多样性[J]. *草业学报*, 2007, 16(1): 58-63.
- [23] 陆建英,杨晓明,马瑞君. 青藏高原东缘鹅绒委陵菜种群克隆结构的研究[J]. *草业学报*, 2008, 17(2): 68-74.
- [24] 刘光欣,陈佩度,王苏玲,等. 8 个大赖草材料的 C-分带和 RAPD 分析[J]. *草业学报*, 2006, 15(2): 107-112.

[25] 赵剑峰,杨庆凯. RAPD 技术在国内玉米育种中的应用[J]. 玉米科学,2000,8(4):18-19.

Genetic relationship analysis of *Zea* species using RAPD markers

TANG Qi-lin, WANG Pei, LU Yan-li, ZHENG Ming-min, LIU Jian, RONG Ting-zhao

(Maize Research Institute, Sichuan Agriculture University, Ya'an 625014, China)

Abstract: Randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) was used to identify the polymorphisms and relationships between 14 genotypes of maize and its wild relatives (teosinte). A total of 136 primers were screened from 340 random decamer primers, and a total of 5 303 DNA bands were amplified, of which 4 500 were polymorphic. Genetic similarities among the cultivars ranged from 0.570 to 0.809 and in wild species, from 0.767 to 0.809 in the same genotypes, and from 0.570 to 0.745 between different genotypes. A consensus tree indicated that the genus *Zea* can be classified into two sections: *Zea* and *Luxuriantes*. Section *Zea* consists of four subspecies: *Z. mays* ssp. *mays*, *Z. mays* ssp. *mexicana*, *Z. mays* ssp. *parviglumis* and *Z. mays* ssp. *huetenangensis*. Section *Luxuriantes* is composed of *Z. diploperennis*, *Z. luxurians* and *Z. perennis*, as well as *Z. nicaraguensis*. *Z. nicaraguensis* was genetically closer to *Z. luxurians* than to other teosintes. In conclusion, polymorphism information obtained using RAPDs in a set of genotypes is useful for the assessment of genetic relationships and could be useful in taxonomic classification programs.

Key words: genus *Zea*; maize; teosinte; randomly amplified polymorphic DNA (RAPD); genetic relationship