

基于 EST-SSR 分子标记的青海高原以礼草属主要物种的遗传多样性分析

任建东¹, 李凤珍², 许媛君¹, 王晓醒³, 马晓岗¹

(¹青海省农林科学院, 西宁 810016; ²青海大学环境工程学院, 西宁 810016; ³青海大学农牧学院, 西宁 810016)

摘要: 利用 EST-SSR 分子标记技术对青海高原以礼草属 3 个物种的 21 份材料进行遗传相关分析。遗传多样性分析发现 97 对引物中有 50 对引物可扩增出特异性条带, 共扩增出 103 条条带, 各个引物的扩增条带数范围为 1~5, 每个位点的平均变异数 2.06。Popgene pc 软件分析表明: 梭罗草遗传多样性水平最高 (PP = 62.14%, h = 0.2345), 糙毛以礼草次之 (PP = 58.25%, h = 0.2211), 大颖草最低 (PP = 44.66%, h = 0.1687); 梭罗草和大颖草的遗传距离最小, 遗传相似性程度最高, 糙毛以礼草与梭罗草和大颖草的遗传距离均较远。梭罗草居群中玛多梭罗草与其他居群遗传距离相对较远, 糙毛以礼草居群中克图尼哈糙毛以礼草与其他居群遗传距离相对较远, 大颖草居群中克图尼哈大颖草与其他居群遗传距离相对较远。NT-SYS2.10e 聚类结果为 21 个居群可聚为 3 个组群, 梭罗草组群 10 个; 糙毛以礼草组群 7 个; 大颖草组群 4 个。本研究可进一步为拓宽小麦族植物的遗传基础、野生基因资源利用及研究物种分布规律提供科学参考。

关键词: 以礼草属; EST-SSR 分子标记; 遗传多样性; 聚类分析

Genetic Diversity of the Major Varieties of *Kengyilia* C. Yen et J. L. Yang in Qinghai Plateau Based on EST-SSR Markers

REN Jian-dong¹, LI Feng-zhen², XU Yuan-jun¹, WANG Xiao-xing³, MA Xiao-gang¹

(¹ Qinghai Academy of Agricultural and Forestry Science, Xining 810016;

² Ecological Environment Engineering College of Qinghai University, Xining 810016;

³ Agriculture and Animal Husbandry College of Qinghai University, Xining 810016)

Abstract: The genetic diversity of 21 populations collected from 3 varieties of *Kengyilia* C. Yen et J. L. Yang was investigated by EST-SSR markers. There were 103 polymorphic bands produced by 60 out of 97 EST-SSR primers in those materials. Every primers amplified 1 to 5 bands, and every band had an average number of 2.06. The genetic diversity of *Kengyilia thoroldiana* was the highest followed by *Kengyilia hirsuta*, while *Kengyilia grandiglumis* showed the lowest PP of 44.66% in genetic diversity. Genetic similarity analysis suggested that the distance between *K. thoroldiana* and *K. grandiglumis* was minimal, i. e., the genetic similarity was maximum. The genetic distance was far between *K. hirsuta* and *K. grandiglumis* and *Kengyilia thoroldiana*. The genetic distance was approximately 0.345 comparing Maduo's population of *K. thoroldiana* with other populations. Similarly, genetic distance between Ketunika's population of *K. hirsuta* comparing with other populations was still significant. The 21 populations was classified 3 groups when the genetic similarity coefficient was about 0.65, including 10 *K. thoroldiana* populations in group 1, 7 *K. hirsuta* populations in group 2 and 4 *K. grandiglumis* populations in group 3. The results of this study should provide

收稿日期: 2015-09-20 修回日期: 2015-10-27 网络出版日期: 2016-04-19

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.s.20160419.1532.002.html>

基金项目: 青海省干旱区抗逆农作物种质资源调查 (2011FY110200-7); 青海高原特色冷凉作物优异种质创新与利用 (2013BAD01B05-3); 青海小麦近缘种以礼草属遗传多样性研究 (2012-QNY-9)

第一作者主要从事作物种质资源与鉴定。E-mail: 1260779301@qq.com

通信作者: 马晓岗, 研究方向为作物种质资源保护与利用。E-mail: mxg5988@sina.com

valuable information and reference for future development and protection of wild gene resources in *Triticeae*.

Key words: *Kengyilia* C. Yen et J. L. Yang; EST-SSR marker; genetic diversity; cluster analysis

以礼草属(*Kengyilia* C. Yen et J. L. Yang)是 C. Yen 等^[1]以生长于石质戈壁中的戈壁以礼草(*Kengyilia gobicola* C. Yen et J. L. Yang)为模式种建立的禾本科(Poaceae)小麦族(*Triticeae*)多年生属。该属植物形态介于鹅观草属(*Roegneria* K. Koch)和冰草属(*Agropyron* Gaertn.)之间,又称作仲彬草属,全世界约 26 个种、6 个变种,隶属于 3 个组,广泛分布于青藏高原和其他中亚西亚国家^[2]。青藏高原高山植被区是该属植物的一个主要分布区^[3]。青海高原地区生境类型丰富(包括高原湖泊、河流湿地、高原草甸、沙化草场等),由于大部分地区低温、干旱、缺氧、高海拔,物种产生了多样化的形态和丰富的遗传资源^[4]。分布于青海高原地区的以礼草属植物有大颖草、梭罗草、硬秆以礼草、疏花以礼草、糙毛以礼草等 9 个种,其中梭罗草、糙毛以礼草和大颖草对高寒荒漠化地区有非常强的适应性,为青海高原地区该属植物的绝对优势种群。

当前,小麦育种在全球范围内面临着由于遗传基础的不不断流失而导致的作物品种单一、抗性减弱、品质下降等问题,造成重大经济损失,并且小麦病害对人类的健康产生相应危害^[5-7]。小麦野生近缘植物的遗传多样性丰富,对于小麦品质改良具有广阔的利用前景^[8-10]。据不完全统计,至今已有 12 个属 80 多个种的小麦野生近缘植物与小麦杂交成功^[11-12]。袁汉民等^[13]利用小麦与近缘种复合杂交创造了新的小麦种质资源。李振声^[14]通过远缘杂交和染色体工程技术与常规育种相结合,利用小麦与长穗偃麦草远缘杂交育成了小偃 4 号、小偃 107、小偃 503 等小麦新品种。小麦近缘种优良抗病基因也为小麦病害防治提供了新的解决方式,并且减少了化学污染^[15-16]。青海高原地区生态类型丰富,使分布于青藏高原的小麦族植物在基因水平上差异显著。以礼草属植物作为小麦野生近缘种具有较高的抗病、抗寒、耐旱、耐盐碱等性能,是小麦杂交育种、品种改良的优异种质资源^[17]。正是这种广泛的遗传多样性,才使分布于青藏高原的小麦族植物在栽培小麦的改良中具有极为重要的利用价值和潜力。然而目前对以礼草属各种群间的关系,遗传变异度的研究尚少。尽管姜志磊^[11]通过 SSR 分子标记分析了梭罗草居群内和居群间遗传变异关系,但鉴于 EST-SSR 来源于表达基因,与 SSR 相比,它反映基因的编码区段,可以直接获得基因表达的信息,为功

能基因提供“绝对”的标记,在不同物种间也有较好的通用性^[18-19]。本研究以分布于我国青海高原地区的以礼草属优势种为基本材料,以居群为单位,采用 EST-SSR 分子标记技术,在理论上阐明该类植物的种间系统关系和居群的遗传多样性,在实践上为拓宽小麦族植物的遗传基础、野生基因资源利用及研究物种分布规律提供科学参考。

1 材料与方法

1.1 供试材料

本实验分析的以礼草属 3 个种 21 个居群采集于不同海拔、经纬度的青海高原地区,包括大颖草 4 份、糙毛以礼草 7 份、梭罗草 10 份。每个居群单株的取样方式为在其分布地方圆 100 m 内均匀取约 120 个单株穗头,详细信息见表 1。

1.2 方法

1.2.1 DNA 的提取 对以礼草属 3 个种 21 个居群每份种质取样 100 粒播种于营养钵内置室温下出苗 15 d 左右,从每份材料中随机挑选 10 株正常生长的植株,并按 K. Edward 等^[20]且稍有改进的 CTAB 法提取 DNA,纯化、构建基因池。

1.2.2 对冰草 EST-SSR 引物的筛选与分析 选用由中国农业科学院作物科学研究所张锦鹏老师提供的 97 对冰草 EST-SSR 引物序列。引物由上海生工生物工程股份有限公司合成。PCR 体系(10 μ L)用北京天根生化科技有限公司生产的 2xTaq PCR Master-Mix(含 0.1 U Taq Polymerase/ μ L, 500 μ M dNTP each, 20 mM Tris-HCl, 100 mM KCl, 3 mM MgCl₂, 其他稳定剂增强剂)5 μ L, 0.55 mol/L primers 0.5 μ L, DNA 模板 50 ng,最后加 3.5 μ L ddH₂O,在反应液上覆 10 μ L 石蜡油。在 PCR System 9700 型 PCR 扩增仪上进行扩增,反应程序为 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 30s, 55 $^{\circ}$ C 退火 30s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 60s, 35 个循环, 72 $^{\circ}$ C 延伸 5min,置于 4 $^{\circ}$ C 冰箱保存。扩增产物用 6% 的聚丙烯酰胺凝胶、DYD-12 型电泳仪 JY-CX2A 型槽电泳,银染,显影,拍照,读带。

1.2.3 数据统计 以 0、1 统计 EST-SSR 扩增的特异性条带,建立相应数据库。在迁移率相同的位置有条带的记 1,没有条带的记 0。数据处理方法参照 Nei's 指数,利用 Popgene pc 软件计算以下相关参数:多态性位点数(NP, number of polymorphic

bands);信息指数(I, Shannon's information index);遗传多样性指数h(Simpson index);群体间遗传距离(genetic distance);遗传一致度(genetic identity)。利用NTSYS2.10e软件进行UPGMA聚类分析。

表 1 供试材料来源及信息

Table 1 Origins and names of tested populations

序号 Code	名称 Name of populations	海拔(m) Altitude	经纬度 Longitude and latitude	生境 Habitat	来源 Origin
1	玛多梭罗草	4241.3	E98.19N34.90	湖区湿地	果洛州玛多县扎陵湖与鄂陵湖交汇处
2	治多梭罗草 1	4629.2	E93.91N35.54	高寒草原草场	玉树州治多县索加
3	治多梭罗草 2	4650.3	E92.74N35.57	高寒草原草场	玉树州治多县索加
4	沱沱河梭罗草	4549.2	E92.44N34.22	高寒荒漠草场	海西州唐古拉山沱沱河
5	格尔木梭罗草	4664.4	E94.01N35.57	高山谷地	海西州格尔木
6	曲麻莱梭罗草	4458.1	E94.61N34.96	高寒草原草场	玉树州曲麻莱土松涌
7	多秀梭罗草	4500.2	E93.90N35.36	高寒荒漠草场	玉树多秀
8	五道梁梭罗草	4653.4	E93.99N35.57	高山谷地	海西昆仑山五道梁
9	星星海梭罗草	4665.5	E97.88N34.28	高山谷地	果洛玛多星星海
10	花石峡梭罗草	4212.3	E98.94N35.17	高寒荒漠草场	果洛玛多花石峡
11	新街糙毛以礼草	3194.1	E101.39N35.64	高原草原草场	海南贵德新街直亥
12	倒淌河糙毛以礼草	3287.2	E100.90N36.32	高原草原草场	海南共和倒淌河东卫
13	莫合尔糙毛以礼草	3010.5	E101.21N36.78	高山荒漠沙砾坡地	西宁湟源巴燕乡莫合尔
14	克图尼哈糙毛以礼草	3304.2	E100.87N36.83	高原荒漠草场	海北海晏克图尼哈
15	刚察糙毛以礼草	3242.0	E100.12N37.26	高原湖区草场	海北刚察仙女湾
16	莫湘滩糙毛以礼草	3261.3	E100.87N36.88	高原草原草场	海北海晏莫湘滩
17	金银滩糙毛以礼草	3148.9	E100.86N36.97	高原荒漠草场	海北海晏金银滩
18	克图尼哈大颖草	3304.3	E100.87N36.83	高原草原草场	海北海晏克图尼哈
19	沙岛大颖草	3215.7	E100.62N36.87	高原湖区草场	海北青海湖沙岛
20	叶后浪大颖草	3372.5	E101.10N36.27	高原草原草场	海南贵德拉西瓦叶后浪
21	多隆沟大颖草	3324.1	E101.05N36.30	高原草原草场	海南共和县龙羊峡多隆沟

2 结果与分析

2.1 以礼草属的遗传多样性分析

2.1.1 以礼草属的 EST-SSR 标记多态性分析 从表 2 可知以礼草属 3 个种之间的遗传性具有一定的差异,其中梭罗草的多态性条带最多为 64 个,所占百分率为 62.14%。糙毛以礼草多态性条带次之为 60 个,所占百分率为 58.25%。大颖草多态性条带最少为 46 个,所占百分率为 44.66 %。梭罗草遗传多样性指数最大为 0.2345,糙毛以礼草次之为 0.2211,大颖草最小为 0.1687。由信息指数 I 可以看出各个种之间的遗传多样性大小顺序为梭罗草>糙毛以礼草>大颖草。大颖草的基因多样性较低,梭罗草和糙毛以礼草的基因多样性相差不大,说明梭罗草和糙毛以礼草在青海高

原地区具有较高的多样性。

表 2 以礼草属种间遗传多样性比较

Table 2 Genetic diversity of *Kengyilia*Yen et J. L. Yang from different varieties

种群名 Variety name	居群数 Variety group	多态性 条带数 NP	多态性 条带百 分率 (%) PP	Nei's 基 因多样 性指数 h	信息 指数 I
梭罗草 <i>Kengyilia thoroldiana</i>	10	64	62.14	0.2345	0.3449
糙毛以礼草 <i>Kengyilia hirsuta</i>	7	60	58.25	0.2211	0.3249
大颖草 <i>Kengyilia grandiglumis</i>	4	46	44.66	0.1687	0.2495
总体 Total	21	103		0.3634	0.5407

2.1.2 多样性分析 选用 97 对冰草 EST-SSR 引物对以礼草属 3 个物种 21 个居群进行扩增(图 1、2), 共有 50 对引物(表 3)扩增出 103 条特异性条带, 各个引物的扩增条带数范围为 1~5, 每个位点的平均变异数为 2.06。

用 Popgene pc 计算得出以礼草属的遗传多样性指数为 $h = 0.3634$, 梭罗草居群遗传多样性指数 $h = 0.2345$, 糙毛以礼草居群遗传多样性指数 $h = 0.2211$, 大颖草居群遗传多样性指数 $h = 0.1687$, 平均组群内多样性为 $h = 0.2081$ 。

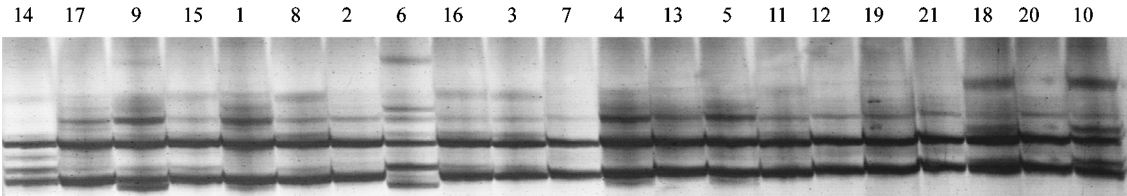


图 1 EST-SSR 引物 AC11621 对以礼草属 21 个居群的扩增结果

Fig. 1 Amplification results of 21 *Kengyilia* Yen et J. L. Yang populations with primers AC11621 of EST-SSR

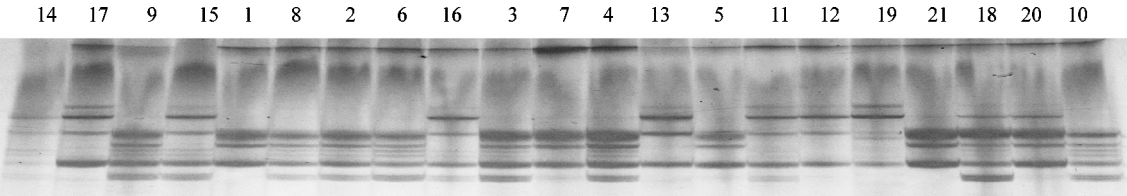


图 2 EST-SSR 引物 AC12985 对以礼草属 21 个居群的扩增结果

Fig. 2 Amplification results of 21 *Kengyilia* Yen et J. L. Yang populations with primer AC12985 of EST-SSR

表 3 具有多态性条带的 50 对引物

Table 3 Polymorphic EST-SSR markers

序号 Code	前引物 Forward primer	引物序列 Forward primer(5'-3')	退火温度 (℃) T _m	后引物 Reverse primer	引物序列 Reverse primer(5'-3')	退火温度 (℃) T _m
1	AC11649F	CTCTGTCTCCTTCCTTCCCC	60.2	AC11649R	TAGATCGATCGTAACCGCCT	59.7
2	AC12019F	AATAAAAGATGCAGGCGTCG	60.2	AC12019R	ATCTGCGGAGGATGTACCAG	60.1
3	AC11796F	CTGCTTCTCGACGCTGACC	62.3	AC11796R	CCCAAGCCAAACAAGTCCTA	60.1
4	AC21769F	TGGGACCGAAAGAATTGAAC	59.9	AC21769R	GCCACTCTTGCTCTGCTTCT	59.9
5	AC13739F	CCTATTGTGCAGTGTGGGTG	60.0	AC13739R	AGATGAAGGACCAGATTCGC	59.2
6	AC13008F	ACCGGCCTTCGTTTCTAAT	60.0	AC13008R	AGAGGTTGGACTCGAGGAGC	60.9
7	AC14117F	CGAGAAGAAAGCCATGGAAG	59.9	AC14117R	CCATCTGGGCACTCTCTAGC	60.0
8	AC12504F	TGGATTGGTGTAGCCTCAA	59.1	AC12504R	AATGCACAACCTGTGTGCAA	60.2
9	AC11752F	CTGCCCTAGAAGTGGCGTAG	60.0	AC11752R	TGTGCAACTCAATAACCCCA	60.0
10	AC12822F	CAAGAAGATCCGGTACGAGG	59.7	AC12822R	ACGAGCAGTTTCGACGAGTT	60.1
11	AC12347F	AGCAGCAAAATATCGAAGCA	58.7	AC12347R	CGCTGTTGAGTGTGAGGTA	60.0
12	AC12794F	CGATGGTATGCAATGCAAGA	60.6	AC12794R	ATTTCCTCCCTCCACTACAG	60.2
13	AC11301F	CTCTCCCTCCTCAGCCAAG	60.1	AC11301R	ACCATCTGATATTGGCCCTG	59.8
14	AC12033F	CTCCAGGAAAGTCGTTGCTC	60.0	AC12033R	CCAATAAACAATCAATCAACAAA	60.0
15	AC12411F	GGTTGGTGGTTGCTGCTAAT	60.0	AC12411R	CGGAAATAGTCCGTCTCAC	59.8
16	AC13735F	AGCGATCTCATCTCTGCTCC	59.7	AC13735R	CTCACTCCCCCTCATCTCTG	59.8
17	AC13273F	GGGCAACAACCAACTAGTGC	60.6	AC13273R	ACCTGGTGATCATCTACGGC	60.0
18	AC13538F	GCATGAGGGTTCCAGTCAAT	59.9	AC13538R	AGTGGGAACCCGTAGTGTG	59.9
19	AC12655F	GAAGGGCTTACCCTCTTC	59.8	AC12655R	CCTAGCTCAGGATCACTGGG	59.8

表 3(续)

序号	前引物	引物序列	退火温度	后引物	引物序列	退火温度
Code	Forward primer	Forward primer(5'-3')	(℃) Tm	Reverse primer	Reverse primer(5'-3')	(℃) Tm
20	AC12967F	TTGTTGCTCGTCTTGGATGA	60.4	AC12967R	TCCATCAGAGCCAGACATTT	58.2
21	AC11568F	GGCCAGCTACAAGGCCTAC	59.9	AC11568R	CTACTCGCAAGCAATGTTTCG	59.6
22	AC12535F	CATTCACAGCTTCTTGAGCA	60.1	AC12535R	GTCTCCCGTGAGAATCGC	59.3
23	AC13280F	CTGCTCTCGCTCGTCCTC	60.0	AC13280R	AAATCTGGTCCATGAGCTGG	60.1
24	AC11621F	CCTGCCATCCTGAATCTCAT	60.0	AC11621R	ACGAGTGTC AAGTATGGGGC	60.0
25	AC11860F	GAACAGCCCGATCGAAATC	60.6	AC11860R	GCTGGAAGCCACTCTCTGTT	59.6
26	AC11864F	CCGCAGAAGGAGAAAGAGAA	59.7	AC11864R	AACTGGGAGGGGTAGGGAC	60.2
27	AC12867F	GCACTAGAGTCAAACGAAGCG	60.2	AC12867R	CCTGGAGGTTGTGCTATGGT	60.0
28	AC13418F	TCCCATCTTTTCTTTTCCCC	60.2	AC13418R	CAGCTAGCTTGGTCTCGAC	60.2
29	AC13998F	CTCCTCGCGCATCATACAG	60.5	AC13998R	GCTGAGTTAGTTCGGCTTGG	60.0
30	AC14041F	GAGGAGCAGGTCAAGGTCAG	60.0	AC14041R	GTTTGTTCGTCCAAGCCAGG	60.5
31	AC14106F	ACGACGGAGGAAGTAAGCAA	59.9	AC14106R	ATTTCGTGCTGAAGGACTCG	60.3
32	AC11404F	TTGTCCCCCTCCAGTATCAG	59.9	AC11404R	ATGGTCTGCTGCTACACCG	59.9
33	AC11419F	CAGCTGACCAACCAAAACAA	59.7	AC11419R	CCTCGTGGATGTCCGTCT	59.6
34	AC11818F	CATGGGTAGAGGCAGAGGAG	59.8	AC11818R	GAAAGCGCCCTCGAAGTAG	60.1
35	AC11928F	CCGGAGGTGCTCAGGAAG	61.9	AC11928R	GACGTAGTTGTCGTGCTGGA	59.9
36	AC12212F	CTCTTCTGCCCTGTCCACTC	60.0	AC12212R	GCTGGTCATCTTGGCTTTGT	60.3
37	AC12376F	GATTAGCTGCGACGGGAG	59.5	AC12376R	ACTCCAATATGTCGTTGGGC	59.8
38	AC12447F	CACCAAAATAGGCAGTGCTGA	59.9	AC12447R	AATACCTTCCGACCATTTCCC	60.0
39	AC12511F	GCAGCGAGAGAGACAGACAG	59.0	AC12511R	AGAATGACTGGACGAGGTGG	60.1
40	AC12735F	GCCACAATCCAACATCAGTG	60.0	AC12735R	GAGTGCGTGCTGAGCATGT	60.1
41	AC12985F	GACACCGTTGGGTCAGAGAT	60.0	AC12985R	CCCCTCGTCATCTGTTTCAT	60.1
42	AC13097F	ATCTCGAACGCTTCGTCAAT	59.8	AC13097R	GACCAGATCATGCGCGAG	60.2
43	AC13103F	CCAATCTTTTCCCCTCTCGT	60.4	AC13103R	AATTCCCCAGGACTTTGCTT	59.9
44	AC13389F	CCTACCCGATTCCCTTTGTG	61.6	AC13389R	GACCGAGTTATCGAGGTCCA	60.1
45	AC13413F	CGAAGGTCTTCTTGTCGGAG	60.0	AC13413R	AGAGGCGAGAGAACCAACC	59.4
46	AC13419F	GGCCACATGTTTTGCTACCT	60.0	AC13419R	GAACAGCAGCGAATGAGACA	60.1
47	AC13772F	TGCACGTCCACGACTGTACT	60.4	AC13772R	GCGCATGAGGAATTAAGGAA	60.2
48	AC13852F	CACTTACCAGCCTGACACCC	60.6	AC13852R	GTGCGTTCTCTGGAAGAAG	60.0
49	AC14183F	GAATAAGCTCAGCGGCCC	60.9	AC14183R	GGGAGGTAGGCGAAAGAGAT	59.7
50	AC14302F	AACTACGAGCTCCTCGTCCTC	60.0	AC14302R	CCACGGGCTTACTTTCACAT	60.0

2.2 以礼草属 3 个种间的遗传相似性分析

居群间亲缘关系远近的考量参数主要是遗传距离及遗传一致度,遗传一致度介于 0~1 之间,亲缘关系越近其数值越接近 1,亲缘关系越远越接近 0,遗传距离大小直接反映着亲缘关系的远近^[21]。

由表 4 可见,梭罗草和大颖草之间的遗传距离最小为 0.1786,梭罗草和糙毛以礼草之间的遗传距离次之为 0.4293,大颖草和糙毛以礼草之间的遗传

距离最大为 0.4536;梭罗草和大颖草之间的遗传一致度最大为 0.8364,梭罗草和糙毛以礼草遗传一致度次之为 0.6510,大颖草和糙毛以礼草之间的遗传一致度最小为 0.6354。这说明梭罗草和大颖草的亲缘关系较近,而糙毛以礼草与大颖草和梭罗草的亲缘关系均相对较远。

通过对所有材料两两之间遗传距离的计算(表 5),发现以礼草属种内居群间的平均遗传一致度在

表 4 以礼草属 3 个物种的遗传一致度 (右上角) 和遗传距离 (左下角)

Table 4 Genetic identity (upper right triangle) and genetic distance (lower left triangle) among 3 variety of *Kengyilia*Yen et J. L. Yang

种群名 Variety name	梭罗草 <i>Kengyilia thoroldiana</i>	糙毛以礼草 <i>Kengyilia hirsuta</i>	大颖草 <i>Kengyilia grandiglumis</i>
梭罗草 <i>Kengyilia thoroldiana</i>		0. 6510	0. 8364
糙毛以礼草 <i>Kengyilia hirsuta</i>	0. 4293		0. 6354
大 颖 草 <i>Kengyilia grandiglumis</i>	0. 1786	0. 4536	

0. 689 ~ 0. 797 之间, 平均遗传距离在 0. 230 ~ 0. 376 之间。梭罗草居群间的平均遗传一致度在 0. 711 ~ 0. 797 之间, 平均遗传距离在 0. 230 ~ 0. 345 之间; 玛多梭罗草的平均遗传一致度比其他材料小、平均遗传距离比其他材料大, 说明玛多梭罗草与其他梭罗草居群的遗传基础差异较大。糙毛以礼草居群间的平均遗传一致度在 0. 689 ~ 0. 754 之间, 平均遗传距离在 0. 291 ~ 0. 376 之间; 克图尼哈糙毛以礼草的平均遗传一致度比其他材料小、平均遗传距离比其他材料大, 说明克图尼哈糙毛以礼草与其他糙毛以礼草居群的遗传基础差异较大。大颖草居群间的平均遗传一致度在 0. 715 ~ 0. 773 之间, 平均遗传距离在 0. 260 ~ 0. 336 之间; 克图尼哈大颖草的平均遗传一致度比其他材料小、平均遗传距离比其他材料大, 说明克图尼哈大颖草与其他大颖草居群的遗传基础差异较大。

表 5 以礼草属 3 个种内 Nei's 遗传一致度和遗传距离统计

Table 5 Genetic identity and genetic distance among 21 populations of 3 varieties of *Kengyilia*Yen et J. L. Yang

材料编号 Accession code	最大遗传一致度 Maximum genetic identity	最小遗传一致度 Minimum genetic identity	平均遗传一致度 Average genetic identity	最大遗传距离 Maximum genetic distance	最小遗传距离 Minimum genetic distance	平均遗传距离 Average genetic distance
1	0. 854 (5) *	0. 621 (7)	0. 711	0. 476 (7)	0. 157 (5)	0. 345
2	0. 835 (8, 9)	0. 709 (4)	0. 771	0. 344 (1, 4)	0. 180 (8, 9)	0. 261
3	0. 806 (8, 9)	0. 709 (1)	0. 763	0. 344 (1)	0. 216 (8, 9)	0. 272
4	0. 777 (9)	0. 699 (1)	0. 743	0. 358 (1)	0. 253 (9)	0. 297
5	0. 854 (1)	0. 660 (6)	0. 730	0. 415 (6)	0. 157 (1)	0. 317
6	0. 806 (9, 10)	0. 631 (1)	0. 735	0. 460 (1)	0. 216 (9, 10)	0. 311
7	0. 874 (9)	0. 621 (1)	0. 758	0. 476 (1)	0. 138 (9)	0. 281
8	0. 845 (9)	0. 728 (1, 6)	0. 786	0. 317 (1, 6)	0. 169 (9)	0. 242
9	0. 874 (7)	0. 689 (1)	0. 797	0. 372 (1)	0. 135 (7)	0. 230
10	0. 845 (9)	0. 680 (5)	0. 763	0. 386 (5)	0. 169 (9)	0. 273
11	0. 835 (12)	0. 660 (14)	0. 743	0. 415 (14)	0. 180 (12)	0. 301
12	0. 874 (17)	0. 612 (15)	0. 754	0. 492 (15)	0. 135 (17)	0. 291
13	0. 806 (12)	0. 689 (14)	0. 744	0. 372 (14)	0. 216 (12)	0. 297
14	0. 825 (15)	0. 621 (17)	0. 689	0. 476 (17)	0. 192 (15)	0. 376
15	0. 825 (14)	0. 611 (12)	0. 702	0. 492 (12)	0. 192 (14)	0. 359
16	0. 777 (11)	0. 689 (14)	0. 731	0. 372 (14)	0. 253 (11)	0. 314
17	0. 874 (12)	0. 621 (14, 15)	0. 740	0. 476 (14, 15)	0. 135 (12)	0. 310
18	0. 748 (19)	0. 680 (20)	0. 715	0. 386 (20)	0. 291 (19)	0. 336
19	0. 748 (18)	0. 738 (20, 21)	0. 741	0. 304 (20, 21)	0. 291 (18)	0. 300
20	0. 864 (21)	0. 680 (18)	0. 761	0. 386 (18)	0. 146 (21)	0. 279
21	0. 864 (20)	0. 718 (18)	0. 773	0. 331 (18)	0. 146 (20)	0. 260

* : 括号内数据表示对应数据的材料编号

* : Figure in the bracket indicates the material accession code of the corresponding data

2.3 以礼草属 3 个物种居群的聚类分析

根据 Nei's 遗传相似性系数,用 NTSYS2.10e 软件对 21 个以礼草属居群进行 UPGMA 聚类分析,结果显示 21 个居群在遗传相似性系数 0.60 处聚为 2 大类,10 个梭罗草和 4 个大颖草居群聚为一类,7 个糙毛以礼草居群单独聚为一类。在遗传相似性系数

为 0.65 处分为 3 大类,3 个种分别各聚为一类。从形态学上观察梭罗草和大颖草具有一定的相似性,而糙毛以礼草与梭罗草和大颖草差异较大,这与聚类分析的结果十分吻合,说明梭罗草与大颖草之间的亲缘关系较近,而糙毛以礼草与梭罗草和大颖草之间的亲缘关系较远。

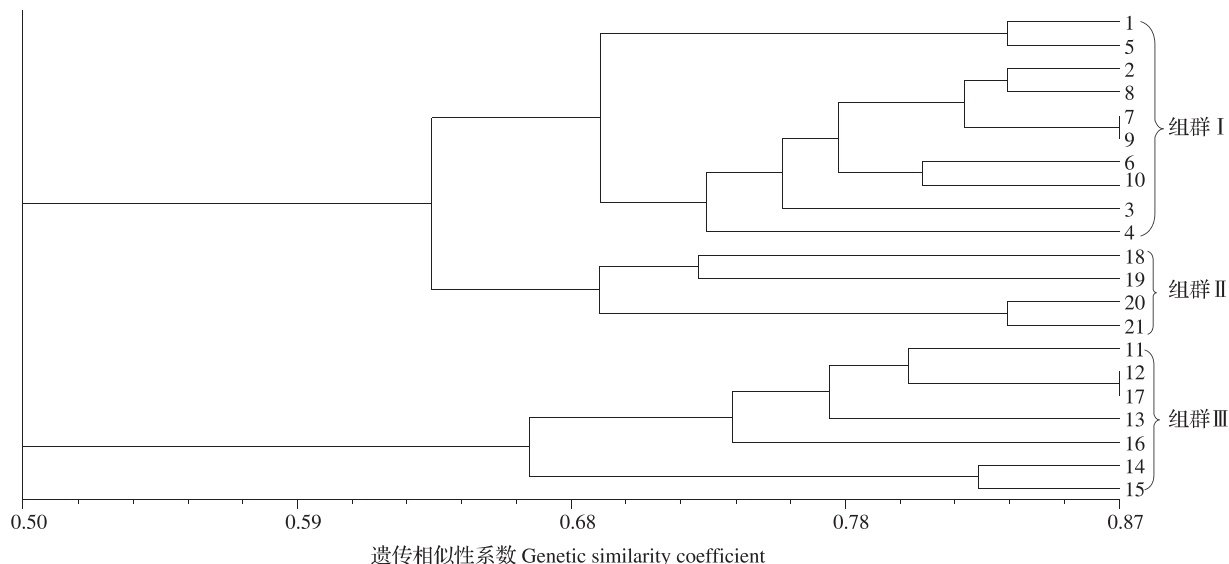


图 3 基于 UPGMA 的供试材料聚类图

Fig. 3 UPGMA dendrogram of 21 populations

3 讨论

为改良小麦品质,引进优良基因,目前关于小麦近缘物种的研究取得了较大成就,其共同特点是具有良好的抗病抗逆或丰产性状。黑麦抗白粉病基因已经在栽培小麦中转移成功,并且育成携带小麦—黑麦易位系的小麦品种^[22]。W. C. Zhao 等^[23]利用分子标记、GISH 结合 C 带分析技术创制出了一套新的中国春-簇毛麦整臂互补易位系。同样以礼草属作为小麦近缘种资源具有进一步开发利用的价值。

通过对以礼草属青海主要物种糙毛以礼草、梭罗草、大颖草居群的 EST-SSR 标记分析,在遗传多样性角度得出以礼草属居群总体的遗传多样性指数为 $h = 0.3634$,梭罗草居群遗传多样性指数 $h = 0.2345$,糙毛以礼草居群遗传多样性指数 $h = 0.2211$,大颖草居群遗传多样性指数 $h = 0.1687$ 。发现种间遗传多样性明显大于种内不同居群间的遗传多样性,这与张利等^[24-25]对以礼草属植物进行 RAPD 和 RAMP 分子标记分析结果相同。梭罗草和糙毛以礼草的遗传多样性较为丰富,而大颖草的遗

传多样性明显较低,这一结论可能与组群的大小有关^[26]。上述结果表明梭罗草和糙毛以礼草种内变异较大,更适合于麦类改良的优异基因库,而大颖草的利用价值可能会相对较小。

本研究从遗传相似性角度得出梭罗草和大颖草之间的遗传距离最小为 0.1786,梭罗草和糙毛以礼草之间的遗传距离次之为 0.4293,大颖草和糙毛以礼草之间的遗传距离最大为 0.4536。这说明梭罗草和大颖草亲缘关系近,而糙毛以礼草与他们亲缘关系较远。同时基于 UPGMA 的供试材料树状聚类图显示,在遗传距离为 0.60 时,3 个草种聚为 2 大类,梭罗草和大颖草聚为一类,糙毛以礼草独自聚为一类。组群内呈现出一定的地理区域分化,这一结论与刘振兴等^[27]豆类资源分布研究结论相似。在梭罗草居群中玛多梭罗草和格尔木梭罗草与其他材料血缘关系较远;在糙毛以礼草居群中克图尼哈糙毛以礼草和刚察糙毛以礼草与其他居群血缘关系相对较远,其原因与海拔和经纬度之间并无明显关系,可能是由于其生境类型相对封闭,阻断居群间的基因交流表现出相对较低的遗传多样性。

本研究表明青海高原以礼草属植物表现出了较高的遗传多样性,3 个物种间梭罗草和大颖草的亲缘关系最近,梭罗草和糙毛以礼草亲缘关系最远,这一结果与物种起源与进化程度是否有关还有待于进一步研究。

参考文献

- [1] Yen C, Yang J L. *Kengyilia gobicola*, a new taxon from west China [J]. *Can J Bot*, 1990, 68: 1894-1897
- [2] 蔡联炳. 以礼草属的地理分布[J]. *植物分类学报*, 2001, 39(3): 248-259
- [3] 颜济, 杨俊良, Baum B R. 小麦族生物系统学. 第 3 卷[M]. 北京: 中国农业出版社, 2006: 3-117
- [4] 孙航, 张建文, 蔡霖培. 青藏高原植物资源与种子库建设[J]. *生命科学*, 2013, 25(5): 451-457
- [5] Mesterházy Á, Bartók T, Lamper C. Influence of wheat cultivar, species of *Fusarium*, and isolate aggressiveness on the efficacy of fungicides for control of *Fusarium* head blight [J]. *Plant Dis*, 2003, 87(9): 1107-1115
- [6] Duveiller E, Singh R P, Nicol J M. The challenges of maintaining wheat productivity: pests, diseases, and potential epidemics [J]. *Euphytica*, 2007, 157: 417-430
- [7] Bai G H, Shaner G. Management and resistance in wheat and barley to *Fusarium* head blight [J]. *Annu Rev Phytopathol*, 2004, 42: 135-161
- [8] 刘旭, 曹永生, 张宗文. 农作物种质资源基本描述规范和术语[M]. 北京: 中国农业出版社, 2008: 48-49
- [9] 马克平. 作物野生近缘种的研究与保护需要重视[J]. *生物多样性*, 2012, 20(6): 641-642
- [10] 郑殿升, 杨庆文, 刘旭. 中国作物种质资源多样性[J]. *植物遗传资源学报*, 2011, 12(4): 497-500, 506
- [11] 姜志磊. 小麦野生近缘植物梭罗草的遗传多样性研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2005: 4-5
- [12] 李立会, 杨欣明. 通过属间杂交向小麦转移冰草优异基因的研究[J]. *中国农业科学*, 1998, 31(6): 1-5
- [13] 袁汉民, 杨欣明, 张富国, 等. 利用普通小麦与近缘属间的复合杂交创造小麦新种质[J]. *植物遗传资源学报*, 2004, 5(4): 320-323
- [14] 李振声. 我国小麦育种的回顾与展望[J]. *中国农业科技导报*, 2010, 12(2): 1-4
- [15] 丛雯雯, 郭长虹. 小麦近缘野生植物的赤霉病抗源筛选及其利用[J]. *分子植物育种*, 2010, 8(5): 1043-1049
- [16] 魏学军, 张娜, 闫红飞, 等. 小麦野生近缘植物抗病性鉴定研究进展[J]. *中国农学通报*, 2012, 28(12): 182-186
- [17] 郑殿升, 杨庆文. 中国作物野生近缘植物资源[J]. *植物遗传资源学报*, 2014, 15(1): 1-11
- [18] Lalitha D G, Pranitha K, Vinay S, et al. Making an Indian traditional rice variety Mahuri, bacterial blight resistant using marker assisted selection [J]. *JCSB*, 2013, 16(2): 111-121
- [19] 潘海涛, 汪俊君, 李斯深, 等. 小麦 EST-SSR 标记的开发和遗传作图[J]. *中国农业科学*, 2010, 43(3): 452-461
- [20] Edwards K, Johnstone C, Thompson C. A simple and rapid method for the preparation of plant genetic DNA for PCR analysis [J]. *Nucl Acid Res*, 1991, 19: 43-49
- [21] 宫慧慧, 谢华, 马荣才. 利用 SSR 分析小豆种质遗传多样性[J]. *农业生物技术学报*, 2008, 16(5): 872-880
- [22] 李方安, 唐宗祥, 符书兰. 新型小麦-黑麦 6R 附加系的创制及其白粉病抗性基因向小麦中的渗入[J]. *麦类作物学报*, 2014, 34(1): 34-38
- [23] Zhao W C, Qi L L, Gao X, et al. Development and characterization of two new *Triticum aestivum*-*Dasypyrum villosum* Robertsonian translocation lines T1DS · 1V#3L and T1DL · 1V#3S and their effect on grain quality [J]. *Euphytica*, 2010, 175: 343-350
- [24] 张利, 周永红, 郑有良. 小麦族仲彬草属植物的研究进展[J]. *四川农业大学学报*, 2004, 22(3): 263-267
- [25] 张利, 周永红, 魏育明, 等. 应用 RAMP 分子标记探讨仲彬草属的种间关系[J]. *高技术通讯*, 2003, 13(4): 28-33
- [26] 鄯家俊. 青藏高原老芒麦种质资源遗传多样性及优异种质筛选[D]. 成都: 四川农业大学, 2009: 57-58, 70-71
- [27] 刘振兴, 程旭珍, 王丽侠, 等. 天津和唐山小豆地方品种遗传多样性分析[J]. *植物遗传资源学报*, 2011, 12(5): 679-685