

浙江赤霉病抗性不同的大麦地方品种遗传多样性分析

贾巧君, 朱靖环, 汪军妹, 杨建明

(浙江省农业科学院作物与核技术利用研究所/杭州国家大麦改良中心, 杭州 310021)

摘要:采用 SSR 标记方法研究了 43 份浙江赤霉病抗性不同的大麦地方品种的遗传多样性。结果显示 29 对具有多态性的 SSR 引物在上述品种中共检测到 87 个等位基因, 每对引物等位基因数在 2~9 之间, 平均为 3 个; 平均多态性信息含量 (PIC) 为 0.3509, 平均 Shannon 指数 (I) 为 0.6951, 平均 Nei's 基因多样性指数 (H) 为 0.4268。品种间的遗传相似系数变幅为 0.082~0.986, 平均值为 0.467。聚类分析将参试品种分为 4 大类。浙江省大麦地方品种遗传多样性较高, 其中二棱品种的遗传变异明显高于六棱品种; 抗和中抗赤霉病品种的遗传变异也较大。聚类结果与品种来源无任何关系; 主成分分析结果与聚类分析结果基本一致。

关键词:大麦; SSR 标记; 遗传多样性; 赤霉病

Genetic Diversity of Zhejiang Barley Landraces with Different Levels of Fusarium Head Blight Resistance

JIA Qiao-jun, ZHU Jing-huan, WANG Jun-mei, YANG Jian-ming

(Institute of Crop and Nuclear Technology Utilization, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences,
Chinese Barley Improve Center, Hangzhou 310021)

Abstract: Simple sequence repeats (SSR) markers were adopted to evaluate genetic diversity of 43 accessions of Zhejiang barley landraces with different resistance to Fusarium head blight (FHB). Totally 87 alleles were revealed among the landraces with 29 polymorphic SSR markers, 2-9 alleles could be detected at different SSR locus, with average of 3 alleles per SSR marker. The average polymorphism information content (PIC) was 0.3509, Shannon's information index (I) was 0.6951, and Nei's gene diversity (H) was 0.4268. Based on the data of SSR, the genetic similarity among 43 barley landraces was calculated. The mean of genetic similarity (GS) was 0.467, varying from 0.082 to 0.986. Cluster analysis showed that all the landraces were divided into 4 groups. Abundant genetic diversity was observed among them and the genetic basis of two-rowed accessions varied greater than that of six-rowed ones. Great genetic variation was also detected in FHB resistant and moderately-resistant landraces. The results of principal component analysis and cluster analysis revealed that the genetic relationship among these landraces was not in accord with their geographical origins.

Key words: Barley; simple sequence repeats marker; genetic diversity; Fusarium head blight

赤霉病 (FHB, Fusarium head blight) 是我国大麦的主要病害之一, 该病是由禾谷镰刀菌 (*Fusarium* spp.) 引起的, 病原菌几乎分布于全国各地^[1]。尤其在我国长江中下游流域的大麦产区, 因大麦生长

季节气候温暖潮湿, 使得这些区域的大麦饱受赤霉病危害。根据 T. M. Choo^[2] 对我国大麦赤霉病的综合报道, 在雨水充沛的年份如 1958、1967、1973、1975、1977、1985、1993、1994 和 2003 年, 赤霉病大面

收稿日期: 2012-07-12 修回日期: 2012-10-22 网络出版日期: 2013-04-02

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20130402.1737.023.html>

基金项目: 现代农业产业技术体系 (CARS-05); 浙江省钱江人才项目 (2012R10080); 国家“863”项目 (2012AA101105); 浙江省重大科技专项国际科技合作项目 (2008C14072)

作者简介: 贾巧君, 助理研究员, 研究方向为大麦遗传育种与生物技术。E-mail: jiaqiaojun@163.com

通信作者: 杨建明, 研究员, 研究方向为大麦遗传育种。E-mail: jmyang@163.com

积爆发。赤霉病不但引起大麦减产,而且病原菌产生的毒素积累于病麦粒,进而危及人畜健康。目前,赤霉病难以采用轮作、化学防治等方法来进行有效控制,抗病品种的应用是国内外育种家公认的最有效方法。因此,许多大麦育种家致力于大麦抗赤霉病遗传机制研究,并培育抗赤霉病的大麦品种。

种质资源是大麦抗病育种的重要基因来源,也是培育大麦抗赤霉病新品种的重要物质基础,对未来大麦生产的发展具有十分重要的意义。国外已有 100 多个抗赤霉病资源被鉴定^[3]。我国大麦育种家也先后鉴定了一些赤霉病抗原,如陈宣民等^[4]从 1987 - 1990 年共鉴定了 5112 份大麦品种,获得以二棱皮麦为主的抗病品种 14 份;杨建明等^[5]从 2000 份加拿大大麦新品系中鉴定获得 193 份抗赤霉病品种;戈和静等^[6]利用单花滴注法和孢子液喷雾法鉴定 287 份大麦种质资源,筛选到了 9 个品种表现为抗赤霉病扩展性,3 个品种表现为既抗扩展又抗侵染。迄今,鉴定的抗赤霉病品种都表现为部分赤霉病抗性,遗传研究表明大麦赤霉病是多基因控制的数量性状^[7]。因此大麦抗赤霉病育种需要进行多基因聚合育种,发现并鉴定不同的抗病基因或种质资源有利于抗病育种的进程。

浙江省地处长江流域三角洲地区,大麦生长季节(3 - 5 月)降雨量较多、湿度大,属于大麦赤霉病易发地区。地方品种是当地农民在栽培过程中经自然选择和人工选择,培育出的适应当地环境的品种,其特点是数量多,对当地条件有特殊的适应性,如抗病、抗逆、耐贫瘠等。因此浙江省地方品种中存在有抗大麦赤霉病资源。虽然自 20 世纪 80 年代,我国已经开始利用农家品种进行大麦抗赤霉病品种的改良,但地方品种系谱信息不全,亲缘关系难以确定等因素,利用这些品种进行抗病改良存在一定的盲目性。

SSR 标记(简单重复序列, simple sequence repeat),又称微卫星分子标记,是一类建立在 PCR 基础上的第 2 代分子标记,具有共显性、操作简单、多态性丰富等优点^[8-9],也是一种评价品种遗传多样性和亲缘关系的有效工具。本研究的目的主要是用 SSR 分子标记对抗赤霉病的浙江大麦地方品种进行遗传多样性和亲缘关系分析,以期为合理利用优异抗病种质资源进行亲本选配、培育新品种提供分子水平上的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

43 份浙江大麦地方品种,包括 5 份抗病品种,10 份中抗品种,17 份中感品种和 11 份感病品种(见表 1),其赤霉病抗性评价参照吴佳祺等^[10]的研究。

1.2 SSR 检测

利用 CTAB 法^[11]提取 DNA, -20 °C 保存备用。SSR 引物按 J. Becker 等^[12]和 L. Ramsay 等^[13]报道的序列,由上海 Sangon 公司合成。首先利用 3 个品种上虞红大麦、余姚红大麦和镇海混杂种进行 SSR 引物初步筛选,共筛选了 321 对,得到 33 对扩增效果好、条带明显、重复性好的引物进行遗传多样性分析(表 2)。PCR 扩增仪为美国 MJ 公司生产的 PTC - 200。扩增条件参照 J. Becker 等^[12]和 L. Ramsay 等^[13]的报道。扩增产物用 6% 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳,银染检测。

1.3 聚类图构建和数据分析

每 1 对 SSR 引物检测 1 个位点,每条多态性带为 1 个等位基因。根据扩增产物进行记录,1 和 0 分别记录等位基因的有和无,获得矩阵。每个 SSR 位点的多态性信息含量(PIC, polymorphism information content)按公式 $PIC = 1 - \sum(f_i^2)$ 计算,其中 f_i 为第 i 位点的基因频率。利用 POPGENE 32 统计软件^[14]计算等位基因数(N_a)、有效等位基因数(N_e)、Shannon 信息指数(I)和 Nei's 基因多样性指数(H)^[15]。利用 NTSYS-pc Version 2.11 统计分析软件计算品种间的遗传相似系数(GS)。采用 UPGMA 法(算术平均非加权配组法, unweighted pair-group method with arithmetic average)进行聚类分析,并绘制树状聚类图。利用 SAS 软件进行不同类型品种的显著性检验和主成分分析。

2 结果与分析

2.1 引物 SSR 多态性分析

利用筛选出的 33 对大麦 SSR 引物对所有参试品种进行 PCR 扩增,都能扩增到稳定、清晰的条带,其中 29 对 SSR 引物产生的扩增条带有多态性。从表 3 可知,29 对 SSR 引物共检测到 87 个等位基因,每对引物可扩增出 2 ~ 9 个等位基因,平均为 3 个。多数引物的等位基因数在 2 ~ 4 之间,EBmac0009 检测到的等位基因数最多(9 个),表现出很好的多态性和较高的检测效率。29 对引物检测到平均有效等位基因

表1 用于SSR分析的浙江大麦地方品种及其赤霉病抗性

Table 1 Zhejiang barley landraces for SSR analysis and their FHB resistance

编号 Code	地方品种 Landraces	来源 Origin	棱形 Row type	抗性 Resistance	编号 Code	地方品种 Landraces	来源 Origin	棱形 Row type	抗性 Resistance
1	寿昌蜈蚣麦	杭州	6	MR	23	矮白洋	宁波	2	MS
2	矮脚二棱裸麦	杭州	2	MS	24	鄞县二棱大麦	宁波	2	S
3	杭州市三月黄	杭州	6	MS	25	衢州大麦	衢州	6	MS
4	淳安本地大麦	杭州	6	S	26	开化四棱大麦	衢州	6	MS
5	萧山二棱大麦	杭州	2	S	27	龙游米麦	衢州	6	S
6	江山二棱麦	金华	2	R	28	上虞红大麦	绍兴	2	R
7	永康二棱大麦	金华	2	MR	29	诸暨早大麦	绍兴	6	MS
8	浦江三月黄	金华	6	MS	30	新昌小将大麦	绍兴	6	MS
9	义乌二棱大麦	金华	2	MS	31	玉环猪尾巴	台州	2	R
10	浦江朝天麦	金华	6	MS	32	黄岩野大麦	台州	2	R
11	磐安糯麦	金华	6	MS	33	天台大麦	台州	2	MR
12	兰溪迟大麦	金华	6	MS	34	玉环六棱米麦	台州	6	MR
13	永康扁麦	金华	6	S	35	天台二棱大麦	台州	2	MR
14	兰溪金华种	金华	6	S	36	乐清扁大麦	温州	2	R
15	云和四棱白麦	丽水	6	MS	37	洞头白芒大麦	温州	6	MR
16	缙云大麦	丽水	6	MS	38	文成黄麦	温州	6	MS
17	松阳四棱米麦	丽水	6	S	39	乐清洋大麦	温州	2	MS
18	景宁早麦	丽水	6	S	40	泰顺本地大麦	温州	6	MS
19	余姚洋大麦	宁波	2	MR	41	乐清中熟大麦	温州	6	S
20	镇海混杂种	宁波	2	MR	42	瑞安花鼓锤	温州	6	S
21	余姚红大麦	宁波	2	MR	43	永嘉白大麦	温州	6	S
22	奉化二棱大麦	宁波	2	MR					

R;抗赤霉病;MR:中抗赤霉病;MS:中感赤霉病;S:感赤霉病

R;resistant to FHB,MR:moderate resistant to FHB,MS:moderatesusceptible to FHB,S :susceptible to FHB

表2 SSR引物信息

Table 2 The information of SSR primers

标记名称 Name of SSRs	正向序列(5' - 3') Sequence of forward primer	反向序列(5' - 3') Sequence of reverse primer	染色体 Chromosome	退火温度(℃) Annealing temperature
Bmac0032	CCATCAAAGTCCGGCTAG	GTCGGGCTCATACTGAC	1H	65
EBmac0501	ACTTAAGTGCCATGCAAAG	AGGGACAAAATGGCTAAG	1H	58
Bmac0090	ACATCAACCCCTCTGCTC	CCGCACATAGTGGTTACATC	1H	58
HVM20	CTCCACGAATCTCTGCACAA	CACCGCCTCTCTTTGAC	1H	55
Bmac0213	ATGGATGCAAGACCAAAC	CTATGAGAGGTAGAGCAGCC	1H	58
WMC1E8	TCATTGCTTGAGATACACCAC	TCAATGCCCTTGTTTCTGACCT	1H	55
Bmag0125	AATTAGCGAGAACAAAATCAC	AGATAACGATGCCACCACC	2H	55
Bmag0720	AAACCCGTTGTATAGCAGC	ATAAGTGAATGCTTCTGAGGA	2H	55
Bmag0813	ATGGGTCCATAGCAATAGATA	GGAAGAATCACATCAAATAGG	2H	57
EBmac0415	GAAACCCATCATAGCAGC	AAACAGCAGCAAGAGGAG	2H	55
HVM54	AACCCAGTAAACACCTGTCTG	AGTTCCTGACCCGATGTC	2H	60
Bmag0603	ATACCATGATACATGCATCG	GGGGTATGTACGACTAACTA	3H	55
EBmac0705	GTGGAACCTGAGTGAACCTC	TTGAGGAGAAGTAATGACGAT	3H	55
Bmac0209	CTAGCAACTTCCCAACCGAC	ATGCCCTGTGTGGACCAT	3H	58
Bmac0047	AACACACGTACACAAATACACA	ACGTCCATCACTTTGACC	4H	55
Bmag0808	TCATAGACTACGACGAAGATG	TCTTTGGATGTGTTTACTG	4H	55
EBmac0679	ATTGGAGCCGATTAGGAT	CCCTATGTATGTAGGAGATG	4H	55
EBmac0775	GCTTCCTCATAGACCCAT	ATATCATGCCAATGGTGTG	4H	55
HVM40	CGATTCCCCTTTTCCCAC	ATTCTCCGCCCTCCACTC	4H	58
GMS089	TGAAGTGGAAAGGCTTCCG	GCTCTCGTTGTGCGGAG	4H	60
EBmac0009	TCACAACAACAACAACAGCC	AACAGCTTTGGTTGTGGGT	4H	58
HVRCABG	ACACCTTCCCAGGACAATCC	CAGAGCACCGAAAAAGTCTGTA	4H	55
Bmag0751	CATCGCAAATATTTAAAATGGA	GATCTACTGGTCCATAGTTGC	5H	55
EBmac0824	GCAAGCTTCTAAATCCTTA	TGCAGACAGTTTTTCATATACA	5H	55
GMS002	CCGACAACATGCTATGAAGC	CTGCAGCAAATACCCATGTG	5H	60
Bmag0337	ACAAAGAGGGAGTAGTACGC	GACCCATGATATGAAGATCA	5H	55
Bmag0870	AACCATAGGATTTGTAAGTTTC	TCATGACATCTCAAGAAGC	6H	55
Bmag0496	AGTATAACCAACAGCCGTCTA	CTATAGCACGCCTTGAGA	6H	55
Bmac0316	ATGGTAGAGGTCCCAACTG	ATCACTGCTGTGCCTAGC	6H	55
Bmag0011	ACAAAAACACCGCAAAGAAGA	GCTAGTACCTAGATACCCCC	7H	58
EBmac0827	CATGGTATTCAAACATACAGC	AAGGTCTTAAGGGGTGATG	7H	55
HVWAXYG	TCCAATGGCATCTACAGGACGGCCAAAGCAGGTTGAGCTGCGCAAAGTCTGCG		7H	57
Bmac0064	CTGCAGGTTTCAGGAAGG	AGATGCCCGCAAAGAGTT	7H	58

数为 1.8943 个。引物多态性信息量 (PIC) 的范围为在 0.0444 ~ 0.7065, 平均为 0.3509, 以引物 EB-macc0009 值最高, 引物 WMC1E8 和 Bmag0603 最低。Shannon 指数在 0.1105 ~ 1.6791 之间, 平均为 0.6951, 各位点大小顺序和多态性信息含量基本相同。平均 Nei's 基因多样性指数为 0.4268, 变幅为 0.0454 ~ 0.7312, Bmag0496 (0.7312) 和 EBmac0501 (0.7182) 的 Nei's 基因多样性指数较高。

2.2 不同棱型的浙江大麦地方品种遗传多样性分析

按棱型把参试大麦分为 2 组, 即二棱大麦和六棱大麦; 按赤霉病的抗性也可分成 2 组, 抗病 (抗和

中抗) 和感病 (感和中感)。利用 SSR 标记对不同棱形和赤霉病抗性材料进行遗传多样性分析 (表 4), 二棱和六棱之间、抗病和感病之间, 等位基因数差异都不显著。二棱品种的有效等位基因数、Shannon 指数和 Nei's 基因多样性指数都显著高于六棱品种, 而且 Nei's 基因多样性指数差异达极显著 ($P < 0.01$), 表明所选浙江大麦品种中, 二棱大麦的遗传多样性高于六棱大麦。抗赤霉病品种的有效等位基因数、Shannon 指数和 Nei's 基因多样性指数也极显著高于感病品种 ($P < 0.01$), 表明浙江省抗赤霉病品种的遗传多样性较丰富。

表 3 浙江大麦地方品种的引物 SSR 多态性分析

Table 3 Polymorphism analysis of SSR primers in the Zhejiang barley landraces

标记名称 Name of SSRs	等位基因数 N_a	有效等位基因数 N_e	多态性信息含量 PIC	Shannon 指数 I	Nei's 基因多样性指数 H
Bmac0032	4	1.6009	0.3332	0.6910	0.3753
EBmac0501	3	1.6436	0.3310	0.6466	0.7182
Bmac0090	3	2.7312	0.5598	1.0487	0.5747
HVM20	2	1.4947	0.2762	0.5130	0.2726
Bmac0213	3	2.0752	0.4059	0.7830	0.6127
WMC1E8	2	1.0476	0.0444	0.1105	0.2401
Bmag0125	4	2.3510	0.5030	1.0061	0.5747
Bmag0720	4	2.5817	0.5491	1.1043	0.1327
Bmag0813	2	1.8615	0.3557	0.6555	0.4628
EBmac0415	3	2.0208	0.3989	0.7697	0.4321
HVM54	2	1.2725	0.1912	0.3708	0.5051
Bmag0603	2	1.0476	0.0444	0.1105	0.3916
EBmac0705	2	1.6000	0.3047	0.5623	0.4839
Bmac0047	7	3.5489	0.6712	1.4555	0.4781
Bmag0808	2	1.1529	0.1239	0.2573	0.3750
EBmac0679	2	1.9161	0.3638	0.6711	0.5312
EBmac0775	3	2.1332	0.4346	0.8428	0.2726
HVM40	4	2.0183	0.4581	0.9285	0.5045
GMS089	2	1.6182	0.3091	0.5700	0.2401
EBmacc0009	9	3.7203	0.7065	1.6791	0.3820
HVRCABG	4	3.1286	0.6126	1.1819	0.6339
Bmag0751	2	1.3160	0.2113	0.4041	0.3310
EBmac0824	2	1.9376	0.3668	0.6770	0.5181
GMS002	2	1.3160	0.2113	0.4041	0.0454
Bmag0870	2	1.7610	0.3388	0.6237	0.2142
Bmag0496	3	2.1376	0.4721	0.9062	0.7312
Bmag0011	2	1.3747	0.2354	0.4443	0.5322
EBmac0827	2	1.3747	0.2354	0.4443	0.6804
HVWAXYG	3	1.1520	0.1273	0.2974	0.1320
平均 Mean	3	1.8943	0.3509	0.6951	0.4268

表 4 不同棱型和赤霉病抗性大麦品种的多样性分析

Table 4 Genetic diversity of Zhejiang barley landraces with different row type and FHB resistance

划分类型 Classified types	样本数 No. of varieties	平均等位基因数 Average of alleles	平均有效等位基因数 Average of effective alleles	平均 Shannon 指数 Average of Shannon's diversity index	Nei's 基因多样性指数 Average of Nei's genetic diversity index	
棱型	二棱	18	2.4138 ^a	1.7609 ^a	0.5947 ^a	0.3588 ^A
	六棱	25	2.4483 ^a	1.4427 ^b	0.4280 ^b	0.2375 ^B
抗病性	抗和中抗	15	2.6897 ^a	1.8863 ^A	0.6760 ^A	0.3998 ^A
	感和中感	28	2.5172 ^a	1.5611 ^B	0.5229 ^B	0.3001 ^B

小写和大写字母代表 0.05 和 0.01 水平的差异显著性 Lowercases and uppercases represent significant difference at 0.05 and 0.01 level, respectively

2.3 遗传相似系数分析

根据 SSR 标记数据分析, 43 个浙江地方品种的遗传相似系数范围是 0.082 ~ 0.986。其中, 景宁早麦和永康二棱大麦之间的遗传相似系数最低, 为 0.082; 兰溪迟大麦和衢州大麦之间的遗传相似系数最高, 为 0.986; 所有品种之间平均成对遗传相似系数为 0.467。2.21% 品种对的相似系数很大, 大于 0.90; 有 36.88% 品种对的相似系数分布在数值较大的(0.50, 0.90) 区间内; 在相似系数较小的区间(0, 0.50) 所占比例最大, 为 60.91%。二棱品种中, 近 70% 品种对相似系数低于 0.50; 六棱品种中, 约有 10% 品种对相似系数低于 0.50。参试材料的抗病品种(包括抗和中抗) 遗传相似系数范围在 0.161 ~ 0.981 之间, 60% 以上品种对相似系数低于 0.50, 其中以玉环六棱米麦和永康二棱大麦关系相似系数最低。表明浙江省大麦地方品种的遗传背景较宽, 而且二棱品种的遗传相似度明显低于六棱品种; 抗赤霉病品种的遗传背景较宽, 可能含有不同的抗病基因。

2.4 浙江大麦地方品种的聚类分析

根据 29 个 SSR 遗传相似系数矩阵, 利用 UP-GMA 法进行聚类分析, 在遗传相似系数为 0.32 水平上, 参试品种聚为 4 大类。第 I 类 14 个品种, 都

为二棱品种, 包括所有的抗赤霉病品种、6 个中抗品种、2 个中感品种和 1 个感病品种。第 II 类 27 个品种中, 24 个为六棱形, 除 2 个品种玉环六棱米麦和洞头白芒大麦为中抗赤霉病外, 其余都为中感或感病品种。在相似系数 0.51 水平上, 可将第 II 类分为 3 个亚类, 其中 II-1 有 2 个品种、II-3 有 1 个品种; 其余 24 个品种组成 II-2 亚类, 包含 23 个六棱品种。表明浙江省地方品种中, 六棱大麦的遗传背景比二棱大麦的遗传背景狭窄; 抗赤霉病品种的遗传背景比中抗品种的遗传背景略窄。中抗品种永康二棱大麦和寿昌蜈蚣麦分别自成第 III 和第 IV 类。从地理分布看, 聚类分析结果与品种来源几乎没有联系, 即同一类群中几乎包含不同来源的品种。

2.5 参试大麦品种主成分分析

对 43 份浙江大麦地方品种的 SSR 标记的原始矩阵进行主成分分析, 第 1、第 2 主成分所能解释的遗传变异分别为 44.2% 和 15.6%。通过第 1、第 2 主成分散点图(图 2) 可以看出, 该结果基本与聚类结果吻合。图中抗和中抗品种聚集在一起, 感与中感品种聚集在一起, 而且在聚类图 1 中独自成类的永康二棱大麦和寿昌蜈蚣麦与其他品种关系较远。

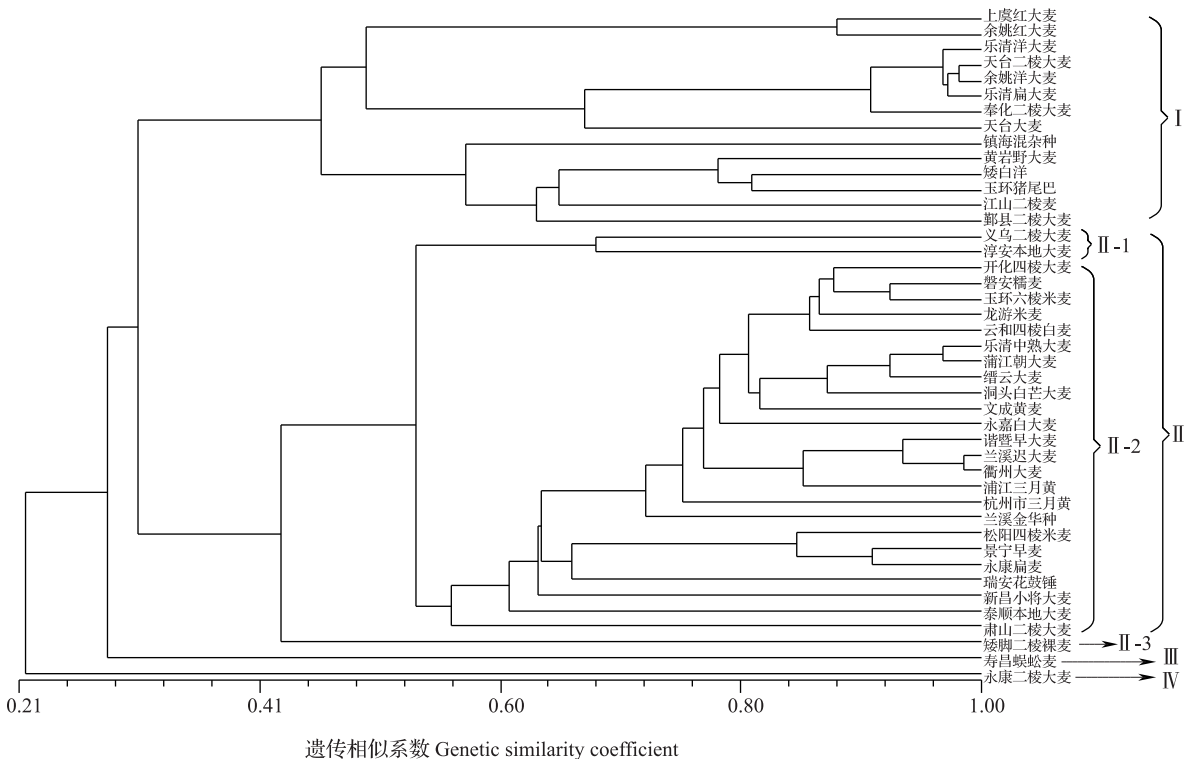


图 1 SSR 标记的遗传聚类图

Fig. 1 Dendrogram of genetic cluster analysis based on SSR markers

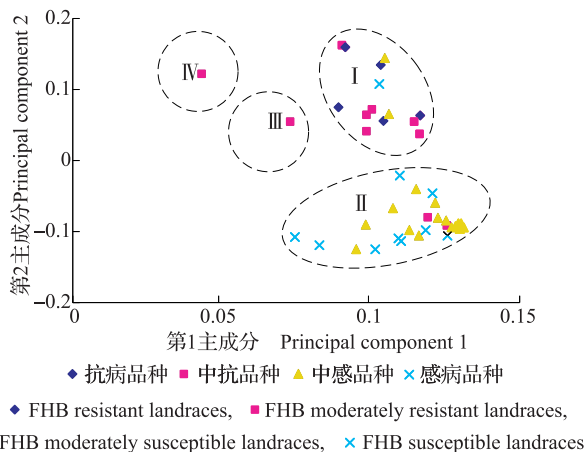


图2 43份大麦品种二维主成分散点图

Fig.2 Scatter plot of the first and second principal components of 43 barley landraces

3 讨论

SSR 标记用于大麦遗传多样性研究最早由 M. A. Saghai-Marooif 等^[8]报导,其后由于该标记的操作简便、重复性好等特点被诸多大麦研究者运用。研究发现 SSR 标记在大麦基因组中的多态性因群体材料的不同而不同。M. A. Saghai-Marooif 等^[8]用 4 个 SSR 标记在 207 个品种中的等位基因检出率为 17.8 个。J. Becker 等^[12]报导从 15 个 SSR 标记中筛选的 10 个标记用于检测 11 个大麦品种,平均每个标记所能检测的等位基因数为 2.1 个。蒋玮等^[16]用 25 对 SSR 标记对 60 份大麦材料进行遗传多样性分析,平均每个引物可扩增至 7.96 个等位基因位点。J. M. Wang 等^[17]报导在 40 份国内外啤酒品种中,单个 SSR 等位基因变异范围为 1~5,平均每个 SSR 等位基因数为 2.4。朱彩梅等^[18]利用 50 对 SSR 引物研究我国不同省市的 76 份糯大麦种质的遗传多样性,SSR 位点变异范围为 2~7 个,平均检测的等位基因数为 4.06 个。本研究中,浙江地方品种的平均每个 SSR 标记等位基因数为 3 个,属于中等水平;根据 D. Bostsein 等^[19]指出引物 PIC 变幅在 0.25~0.50 属于中度多态性,因此本研究所用引物的 PIC 平均值为 0.3509,属于中度多态性。张建华等^[20]分析了云南青稞(裸大麦)的遗传多样性,平均 Shannon 指数为 0.5584,变幅为 0.0732~0.6931;平均 Nei's 多样性指数为 0.3786,变幅为 0.0274~0.5000。本研究平均 Shannon 指数为 0.6951,平均 Nei's 多样性指数为 0.4268,均高于张建华等^[20]的研究结果,表明浙江大麦地方品种遗传

多样性丰富。本研究所选标记涵盖了大麦 7 条染色体组,能将 43 份品种一一区分,因此利用这些 SSR 信息能为分析地方品种的遗传背景提供可靠的基础。

利用分子标记进行大麦品种间的相似度分析在不同类型的大麦品种中也有不少报导。杨振华等^[21]分析了 35 份甘啤和国外引进啤麦品种的遗传相似系数分布范围在 0.0500~0.6667 之间。张建华等^[20]报导 72 份云南青稞之间的遗传距离为 0.102~0.866。蒋玮等^[16]根据 Nei&Li 计算 60 个大麦品种的遗传相似系数,其范围在 0.4792~0.9948 之间。朱彩梅等^[18]研究发现我国糯大麦遗传资源丰富,其遗传相似系数变幅为 0.158~0.901。J. M. Wang 等^[17]报导了国内啤酒品种的遗传基础相对狭窄,其遗传相似系数范围为 0.45~0.88。多数研究者认为由于长期的定向改良,育成品种的遗传背景相对狭窄^[16-17,21-22]。尤其以早熟 3 号为直接或间接核心亲本进行啤酒大麦育种的方式在遗传多样性分析中得到了有力的证实^[22]。本研究中浙江地方品种间的遗传相似系数最低不到 0.10,最高的超过 0.90,表明浙江大麦地方品种表现较大的遗传差异。研究还发现浙江地方品种中六棱大麦的遗传相似性高于二棱大麦,说明浙江地方品种中二棱大麦亲缘关系较远,而六棱大麦亲缘关系较近。因此根据地方品种的亲缘关系,可以避免重复使用近源关系亲本,拓宽大麦新品种选育的遗传基础。

本研究采用聚类分析和二维因子的主成分分析所获得的结果基本一致。聚类结果显示,多数抗和中抗品种聚集在一起,多数感与中感品种聚集在一起,主成分分析也证明了这一点,因此通过两者相互结合,可以相互补充和印证。由于试验材料的抗和中抗品种多为二棱型,感与中感品种多为六棱型,分析发现所用的标记不与棱型相关基因 *Vrs1* 连锁,且与该基因最近的标记 Bmag0125 并不能将 2 种棱型的品种有效区分,因此认为 2 种棱型各自成类可能是由于品种间的遗传背景所致。本研究中聚类结果与品种来源地无关,其原因可能是浙江省面积小,各区域位置较近,有着相似的生长环境或是气候条件,当然也不排除各地方品种间的频繁交流,导致这些地方品种的地域程度降低。

参试品种中,抗和中抗赤霉病品种分别为 5 份和 10 份,仅中抗品种有 3 份六棱品种,其余均为二棱品种,表明地方品种中存在的抗病品种也以二棱

为主。赤霉病在我国最早的记载是在 1951 年,由我国近现代植物病理学家仇元先生首次报导了赤霉病在长江流域大面积爆发,造成生产损失重大^[23]。该病流行的年份主要是受湿度(降雨)和温度的影响较大。鉴于赤霉病在长江流域的流行以及二棱大麦品种的较好赤霉病抗性,1974 年以来,江浙一带种植的大麦地方品种逐渐由六棱型替换为二棱型^[2]。本试验材料抗赤霉病品种遗传相似系数 0.161 ~ 0.981,有亲缘关系较远的品种如玉环六棱米麦、永康二棱大麦和寿昌蜈蚣麦,可能含有不同抗赤霉病基因;也有关系较近的品种,如余姚洋大麦、奉化二棱大麦。通过 QTL 定位国内抗病品种如 Clho4196、浙大 1 号和浙大 2 号的抗病基因,发现国内品种抗病性的来源与国外品种有所不同^[24-27],表明国内抗赤霉病资源中有不同的抗病基因。本研究通过分析抗、感赤霉病品种的遗传多样性,发现抗病品种的遗传多样性高于感病品种。由于抗病品种以二棱品种为主(占 80%),感病品种以六棱品种为主(占 75%),而且二棱大麦遗传多样性比六棱大麦好,因此抗病品种的高遗传多样性可能源于二棱品种的高遗传多样性。因此针对遗传差异较大的基因型,有必要进一步开展抗病基因鉴定,明确抗病基因的异同;同时利用品种的亲缘关系,根据杂种优势原理,在抗赤霉病育种中亲本应选择关系较远的品种,通过聚合不同抗病基因进行育种,拓宽遗传背景,这是培育优质抗病大麦新品种的潜力所在。

参考文献

- [1] 朱彤霞,张旻.玉米赤霉烯酮产生菌在我国的分布及其特性[J].菌物学报,1991,10(2):143-148
- [2] Choo T M. Fusarium head blight of barley in China[J]. Can J Plant Pathol,2010,31:3-15
- [3] Steffenson B J. Fusarium head blight of barley: impact, epidemics, management, and strategies for identifying and utilizing genetic resistance[M]//Leonard K J, Bushnell W R. Fusarium head blight of wheat and barley. St. Paul: American Phytopathological Society,2002:256-258
- [4] 陈宣民,杨雨后,高达时.中国大麦种质资源抗赤霉病的初步鉴定[J].浙江农业科学,1991(2):91-92
- [5] 杨建明,沈秋泉,杨文新,等.加拿大大麦育种材料的赤霉病抗性鉴定[J].大麦科学,2001(4):35-38
- [6] 戈和静,陆维忠,张旭,等.大麦赤霉病抗源的发掘与评价[J].2007,27(1):153-157
- [7] Steffenson B J. Fusarium head blight of barley: epidemics, impact, and breeding for resistance[J]. MBAA Tech Quart,1998,35:177-184
- [8] Saghai-Marooif M A, Biyashev R M, Yang G P, et al. Extraordinarily polymorphic microsatellite DNA in barley: species diversity, chromosomal locations, and population dynamics[J]. Proc Natl Acad Sci USA,1994,91:5466-5470
- [9] Dávila J A, Loarce Y, Ramsay L, et al. Comparison of RAMP and SSR markers for the study of wild barley genetic diversity[J]. Hereditas,1999,131:5-13
- [10] 吴佳祺,朱靖环,汪军妹,等.大麦赤霉病抗扩展性及其与农艺性状相关性评价[J].浙江农业学报,2011,23(2):215-220
- [11] Doyle J J, Doyle J L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue[J]. Phytochem Bull,1987,19:11-15
- [12] Becker J, Heun M. Barley microsatellites: allele variation and mapping[J]. Plant Mol Biol,1995,27:835-845
- [13] Ramsay L, Macaulay M, degli Ivanisovich S, et al. A simple sequence repeat-based linkage map of barley[J]. Genetics,2000,156:1997-2005
- [14] Nei M. Genetic distance between populations[J]. American Naturalist,1972,106(3):283-292
- [15] Nei M. Analysis of gene diversity in subdivided populations[J]. Proc Natl Acad Sci,1973,70(12):3321-3323
- [16] 蒋玮,漆燕玲,梁守翠.不同类型啤酒大麦品种遗传多样性及遗传差异的 SSR 分析[J].作物杂志,2010(2):76-80
- [17] Wang J M, Yang J M, Zhu J H, et al. Assessment of genetic diversity by simple sequence repeat markers among forty elite varieties in the germplasm for malting barley breeding[J]. J Zhejiang Univ Sci B,2010,11(10):792-800
- [18] 朱彩梅,张京.应用 SSR 标记分析中国糯大麦种质的遗传多样性[J].植物遗传资源学报,2010,11(1):57-64
- [19] Bostein D, White R L, Skolnick M, et al. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment polymorphisms[J]. Am J Hum Genet,1980,32(3):314-331
- [20] 张建华,杨晓洪,于亚雄,等.云南青稞(裸大麦)品种亲缘关系的 SSR 标记研究[J].麦类作物学报,2009,29(1):35-43
- [21] 杨振华,漆燕玲,蒋玮.甘啤系列啤酒大麦品种(系)与国外引进品种间遗传多样性的 SSR 分析[J].麦类作物学报,2009,29(4):592-598
- [22] 张大乐,高红云,李锁平.利用 SSR 标记技术分析中国啤酒大麦品种的遗传多样性[J].西北农业学报,2007,16(3):72-76
- [23] 夏禹甸.小麦苗期赤霉病的发生及其防治的初步试验.农业科学与技术[J].1951(3):45-46
- [24] Prom L K, Steffenson B J, Salas B, et al. Evaluation of selected barley accessions for resistance to Fusarium head blight and deoxynivalenol concentration[C]//Slinkard A, Scoles G, Rosnagel B. (Ed.), Proc. 5th International Oat Conference and the 7th International Barley Genetics Symposium. Saskatoon: University Extension Press,1996:764-766
- [25] Rudd J C, Horsley R D, McKendry A L, et al. Host plant resistance genes for Fusarium head blight: Sources, mechanisms, and utility in conventional breeding systems[J]. Crop Sci,2001,41:620-627
- [26] Dahleen L S, Agrama H A, Horsley R D, et al. Identification of QTLs associated with Fusarium head blight resistance in Zhedar 2 barley[J]. Theor Appl Genet,2003,108:95-104
- [27] Horsley R D, Schmierer D, Maier C, et al. Identification of QTL associated with Fusarium head blight resistance in barley accession Clho 4196[J]. Crop Sci,2006,46:145-156