

应用 SSR 标记分析中国糯大麦 种质的遗传多样性

朱彩梅, 张 京

(中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081)

摘要:利用 SSR 标记对来自中国不同省市的 76 份糯大麦种质的遗传多样性进行分析,并以遗传相似系数为基础进行聚类分析。SSR 标记分析表明,50 对大麦 SSR 引物在 76 份糯大麦中共扩增出 203 个等位基因,属于高度多态性位点范畴。当遗传相似系数为 0.70 时可将 76 个糯大麦品种划分为 5 个类群,在一定程度上反映了与材料的地理来源和皮裸性。糯大麦资源平均 Shannon 多样性指数显示,来自云南和西藏的糯大麦品种遗传多样性略高。SSR 标记分析表明,中国糯大麦具有丰富的遗传多样性,对揭示糯大麦的起源与传播以及对资源的有效利用具有现实意义。

关键词:糯大麦;SSR 标记;遗传多样性;聚类分析

Genetic Diversity Analysis of Waxy Barley in China based on SSR Markers

ZHU Cai-mei, ZHANG Jing

(Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081)

Abstract: The genetic diversity of 76 waxy barley landraces from different region of China was assessed by SSR markers, and cluster analysis was done based on genetic similarity coefficient. A total of 203 alleles were detected from the 76 waxy barley landraces by using 50 SSR primer pairs, which showed that they were in the highest polymorphism range. When genetic similarity value was 0.70, 76 waxy barley landraces were clustered into five groups, which reflected geographical distribution property of the materials and their relationship with hulled and naked relation among all accessions to some extent. The average Shannon's information index (I) showed that genetic diversity of waxy barley landraces from Yunnan and Tibet were a little higher. The research work also showed that there was rich genetic diversity among the waxy barley landraces in China, which would be of great importance for studying the origin and distributing of the waxy barleys in China and for efficiently using of these germplasm resources.

Key words: Waxy barley; SSR markers; Genetic diversity; Cluster analysis

中国大麦栽培历史悠久,是栽培大麦的原产地之一^[1]。糯大麦是人们在长期生产利用过程中,选育出来的一类特异性品种,是改良大麦食用品质的优异种质资源。Ishikawa 等^[2]认为中国是世界上糯大麦的起源地,大约在 16 世纪,糯大麦首先从中国传入朝鲜,17 世纪又从朝鲜传到日本。

大麦胚乳中所含淀粉是种子贮藏的主要营养物质之一。与其他禾谷类作物一样,大麦胚乳淀粉是

由直链淀粉和支链淀粉组成。糯大麦是指由于胚乳中直链淀粉含量(amylose content)显著降低,致使胚乳表现为粘性的一类大麦。在普通大麦胚乳中,直链淀粉和支链淀粉的含量分别是 27% 和 73%^[3],而糯大麦的直链淀粉含量要大大低于 27%。Patron 等^[4]根据子粒直链淀粉含量的高低,将糯大麦分为低直糯大麦和无直糯大麦两种。在低直糯大麦胚乳中能够检测到直链淀粉,而在无直糯大麦中则不能

收稿日期:2009-02-26

修回日期:2009-04-04

基金项目:农业部引进国际先进农业科学技术“948”项目(2006-C9);农业部公益行业科研项目(nyhyza07-010)

作者简介:朱彩梅,在读博士,主要从事大麦遗传资源多样性及新基因挖掘研究。E-mail:zcmky@163.com

通讯作者:张京,研究员。E-mail:zhangjing@caas.net.cn

检测到直链淀粉。

近年来 SSR 标记被广泛用于水稻、小麦、玉米、大豆等作物的遗传作图^[5-7]、基因标记^[8-10]、DNA 指纹图谱和品种鉴定以及遗传多样性和遗传进化^[11-15]等方面的研究。同时,在大麦的遗传多样性研究方面也有所应用^[16-24]。本研究采用 SSR 分子标记对我国 76 个糯大麦品种的遗传多样性进行分析,旨在从分子水平上了解中国糯大麦的遗传变异及其之间的亲缘关系,为糯大麦资源的保护和育种利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

本试验 76 份糯大麦资源均取自中国农业科学院国家农作物种质资源保存中心,且直链淀粉含量均小于 27%,分布于全国 17 省市(表 1)。是由本实验室采用 I₂-KI 染色法,对来自全国 29 个省(市)、自治区 7800 多份中国栽培大麦种质资源进行糯性鉴定,再经单粒纯化繁殖及测定直链淀粉含量而得到的。

1.2 方法

1.2.1 DNA 的提取及引物筛选

基因组 DNA 提取采用酚-氯仿法^[25-26]。用分光光度计和 0.8% 琼脂糖凝胶检测 DNA 质量。参照 Liu 等^[16]、Ramsay 等^[27]、Karakousis 等^[28]和 Marcel 等^[29]发表的大麦 SSR 图谱,在大麦 7 个连锁群的 310 对 SSR 引物中筛选出 50 对多态性引物,平均每条染色体上有 4~9 对。引物由北京奥科生物技术有限公司合成。

1.2.2 扩增反应和变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测

PCR 反应在 PTC-200 扩增仪上进行。反应体系(25 μl)为: Taq 酶(0.5 U/μl) 2 μl, 10 × PCR Buffer 2.5 μl, 25 mmol/L MgCl₂ 2 μl, 2.5 mmol/L dNTP 1.5 μl, 引物(33 ng/μl) 2 μl, 模板 DNA (20 ng/μl) 2 μl, ddH₂O 13 μl。反应条件为: 94℃ 预变性 5 min; 94℃ 变性 40 s, 58℃ 复性 1 min, 72℃ 延伸 1 min, 共 31 个循环; 72℃ 延伸 10 min。用 6% 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳分离扩增产物,银染显色,电脑扫描。

1.2.3 数据统计分析

对筛选出的具有多态性的引物,统计相同迁移率位置上的 SSR 扩增产物,有带记为 1,无带记为 0,缺失记为 9。每个 SSR 位点的多态性信息量(poly-morphism information content, PIC)按公式 $PIC = 1 - \sum_{i=1}^n f_i^2$ 计算, f_i 表示 i 位点的基因频率^[16]。按 Nei 等^[30]的方法计算品种间的遗传相似系数(genetic similarity,

表 1 供试的 76 份糯大麦资源

Table 1 The waxy barley accession used in this study

代码 Code	统一编号 Accession number	品种名称 Name of accession	原产地 Origin	直链淀粉 含量(%) Amylose content	皮裸 Hulled/ naked
1	ZDM110	没皮大麦	山西高平	26.44	裸
2	ZDM418	宁阳三月黄	山东宁阳	25.5	裸
3	ZDM419	春米大麦	山东莱阳	18.7	裸
4	ZDM454	笨大麦	山东胶南	22.39	裸
5	ZDM467	灰巩大麦	山东胶南	26.44	裸
6	ZDM478	米大麦	山东胶南	12.37	裸
7	ZDM500	米大麦	山东胶南	19.61	裸
8	ZDM654	大麦	河南柘城	21.51	皮
9	ZDM657	红芒猪 食大麦	河南柘城	23.92	皮
10	ZDM677	笨大麦	河南睢县	15.49	皮
11	ZDM685	长芒大麦	河南郸城	17.74	皮
12	ZDM692	芒大麦	河南项城	26.44	皮
13	ZDM693	芒大麦	河南项城	8.53	皮
14	ZDM723	油露大麦	河南郑州	15.11	皮
15	ZDM737	秃头大麦	河南荥阳	20.06	皮
16	ZDM789	长大麦	河南平舆	21.14	皮
17	ZDM850	黄薏仁	河南孟县	22.63	裸
18	ZDM865	大麦	河南宜阳	21.97	裸
19	ZDM936	四棱大麦	陕西兴平	19.01	皮
20	ZDM951	四棱大麦	陕西华阴	21.71	皮
21	ZDM952	老大麦	陕西韩城	14.83	皮
22	ZDM1037	长芒大麦	陕西商县	19.13	皮
23	ZDM1874	寒大麦	江苏睢宁	26.26	皮
24	ZDM1889	长芒大麦	江苏清江	23.89	皮
25	ZDM1898	小大麦	江苏涟水	28.1	皮
26	ZDM1908	薏大麦	江苏阜宁	25.33	皮
27	ZDM1939	泰州三月黄	江苏泰州	21.65	皮
28	ZDM1952	老来光	江苏江都	17.84	皮
29	ZDM2640	泗县秃头大麦	安徽泗县	25.09	皮
30	ZDM2941	新昌六棱 无纹大麦	浙江新昌	24.5	皮
31	ZDM3082	绍兴裸大麦	浙江绍兴	20.29	裸
32	ZDM3105	镇海米麦	浙江镇海	23.51	裸
33	ZDM3171	汤溪四棱米麦	浙江金华	22.16	裸
34	ZDM3072	汤溪四角 米大麦	浙江金华	17.19	裸
35	ZDM3251	嵊县六棱米麦	浙江嵊县	16.75	裸
36	ZDM3364	米麦	江西波阳	24.2	裸
37	ZDM3511	3045 米大麦	湖北孝感	21.45	裸
38	ZDM3609	福鼎长穗	福建福鼎	20.91	裸
39	ZDM3619	连城红大麦	福建连城	22.99	裸
40	ZDM3812	和尚大麦	四川万县	25.48	裸

续表

代码 Code	统一编号 Accession number	品种名称 Name of accession	原产地 Origin	直连淀粉 含量(%) Amylose content	皮裸 Hulled/ naked
41	ZDM3886	谷麦	贵州关岭	23.52	皮
42	ZDM8480	草麦	山西原平	21.68	皮
43	ZDM8557	江苏元麦 155号	江苏	25.15	裸
44	ZDM8663	江苏元麦 9号	江苏	20.86	裸
45	ZDM8677	钜野米大麦	山东	19.71	裸
46	ZDM8958	二月黄	四川梓潼	26.4	皮
47	ZDM8998	大麦	贵州黄平	16.71	裸
48	ZDM9006	须须大麦	贵州开阳	22.71	裸
49	ZDM9028	三月黄大麦	贵州施秉	17.35	裸
50	ZDM9070	光头米麦	贵州织金	23.22	裸
51	ZDM9167	温泉青裸	云南宁浪	16.84	裸
52	ZDM690	芒大麦	河南鹿邑	26.26	皮
53	ZDM870	紫露仁	河南汝阳	26.19	裸
54	ZDM874	露仁大麦	河南淅池	19.82	裸
55	ZDM1075	火烧头露仁	陕西洛南	21.39	裸
56	ZDM1119	米大麦	陕西丹凤	24.74	裸
57	ZDM2008	埠芒大麦	江苏宜兴	22.8	皮
58	ZDM2042	六棱长芒 大麦	江苏铜山	20.99	皮
59	ZDM2060	春大麦	江苏滨海	23.01	皮
60	ZDM2155	2-14	扬州地区 农科所	19.75	皮
61	ZDM2257	桑早六	江苏射阳	26.1	裸
62	ZDM2647	桐城滚子麦	安徽桐城	24.42	皮
63	ZDM2650	泗县三月黄	安徽泗县	21.37	裸
64	ZDM2866	盘安红筋 大麦	浙江东阳	21.94	皮
65	ZDM3169	洞头长穗麦	浙江洞头	25.42	裸
66	ZDM3248	诸暨蚕花麦	浙江诸暨	25.92	裸
67	ZDM3338	无芒裸麦	浙江丽水	24.44	裸
68	ZDM3340	缙云裸麦	浙江缙云	19.48	裸
69	ZDM3620	连城大麦	福建连城	26.15	裸
70	ZDM4443	家久	西藏萨嘎	22.68	裸
71	ZDM8752	四洼白六棱	四川阿坝	23.12	裸
72	ZDM8893	合江大麦	四川合江	21.78	裸
73	ZDM8894	华阳大麦	四川双流	23.69	裸
74	ZDM9036	新场大麦	贵州台江	24.27	裸
75	ZDM1130	露仁大麦	陕西旬阳	15.26	裸
76	ZDM1313	桦南裸1号	黑龙江 桦南	15.19	裸

GS): $GS = 2 N_j / (N_i + N_j)$; 遗传距离 (genetic distance, GD) 计算公式为: $GD = 1 - GS$ 。其中, N_i 为 i 品种出现的谱带数, N_j 为 j 品种出现的谱带数。利用 GS 值按不加权成对群算术平均法 (UPGMA) 进行遗传相似性聚类分析。用统计分析软件 NT-SYSp2.1 进行聚类分析, 并绘制树状图。Shannon 多样性指数计算公式为: $I = -\sum P_i \ln P_i$, 其中 P_i 为某一扩增带出现的频率。有效等位变异数 (N_e) (the effective number of alleles per locus)^[32] 计算公式为:

$$N_e = \sum_{i=1}^n \frac{1}{\sum_{j=1}^m P_{ij}^2}$$

其中 P_{ij} 表示第 i 个位点上第 j 个等位变异的频率; n 表示检测位点总数, m 表示第 i 个位点等位变异总数。数据处理采用 EXCEL 和 SAS 软件完成。

2 结果与分析

2.1 SSR 引物多态性分析

采用 310 对大麦 SSR 引物对 76 份来自中国 17 省市的糯大麦资源基因组 DNA 进行多态性分析, 选出扩增带型稳定、多态性丰富、重复性较好的 50 对引物 (表 2), 基本均匀分布于大麦的每条染色体上。图 1 为引物 scind60002 对 76 份糯大麦的部分扩增产图。50 个 SSR 位点的等位基因频率和遗传多样性估算结果见表 2。由表 2 可知, 从 1H 至 7H 染色体分别检测到 4、5、8、8、8、8、9 个位点, 每条染色体上分别检测到 21、17、29、28、33、34、36 个等位基因, 在 6H、7H 染色体上检测到的等位基因数目最多。所有引物总共检测到 203 条多态性带, 平均每个位点检测到的等位基因数为 4.06 个, 变异范围为 2~7 个, 共有 22 对引物检测到 5 个以上等位基因, 其中引物 HvALAAT 和 Bmac0113 的最多, 为 7 个。在所有检测位点中, 有效等位基因数为 176.98, 平均有效等位基因数为 3.54, 占总等位基因数的 87.18%。表明中国糯大麦具有较高的遗传多样性, 是进行大麦遗传改良的丰富基因库。

多态信息含量指数可用来衡量某个基因位点等位变异程度的高低。Bostsein 等^[32] 首先提出了衡量基因变异程度高低的等位信息含量 (PIC) 指标: $PIC \geq 0.5$, 为高度多态位点; $0.25 < PIC < 0.5$, 为中度多态性位点; $PIC \leq 0.25$, 为低度多态性位点。由表 2 可见, 本试验 50 个 SSR 标记位点的多态性信息含

量(*PIC*)为 0.019 ~ 0.850, 平均为 0.663, 标准差为 1.45, 其中以 HvALAAT 最高(0.850), scind00149

最低(0.019)。有 41 个位点的 *PIC* 值超过 0.5, 属于高度多态性位点。

表 2 50 对 SSR 引物及其扩增结果

Table 2 SSR primers used and their amplification results

引物 Primer	染色体 Chromosome	等位基因数 N_a	有效等位 变异数 N_e	比率 Ratio of N_e/N_a	多态性信息 指数 <i>PIC</i>	Shannon 指数 <i>I</i>
EBmac0501	1H	4	2.663	0.666	0.624	1.173
HvALAAT	1H	7	6.657	0.951	0.85	1.921
Bmag0770	1H	5	4.582	0.916	0.782	1.569
Bmag0872	1H	5	4.304	0.861	0.768	1.538
scssr07759	2H	3	2.836	0.945	0.647	1.069
Bmag0749	2H	4	3.971	0.993	0.748	1.383
Bmac0132	2H	5	3.678	0.736	0.728	1.438
Bmac0576	2H	3	2.94	0.98	0.66	1.088
HvXan	2H	2	1.963	0.981	0.491	0.684
scind05281	3H	2	1.889	0.945	0.471	0.664
HVM60	3H	5	4.603	0.921	0.783	1.571
Bmag0877	3H	5	4.627	0.925	0.784	1.57
Bmag0006	3H	5	3.648	0.73	0.726	1.447
HVITR1	3H	2	1.745	0.873	0.427	0.618
Bmag0606	3H	5	4.998	1	0.8	1.609
GMS116	3H	2	1.835	0.917	0.455	0.647
HVM27	3H	3	2.075	0.692	0.518	0.889
GMS089	4H	6	5.073	0.846	0.803	1.708
Bmag0808	4H	5	3.945	0.789	0.747	1.477
Bmac0310	4H	4	3.38	0.845	0.704	1.294
scssr14079	4H	3	2.541	0.847	0.607	1.012
Bmac0298	4H	2	1.994	0.997	0.499	0.692
Bmac0084	4H	2	1.683	0.842	0.406	0.596
Bmac0181	4H	6	4.172	0.695	0.76	1.618
Bmag0490	4H	5	4.785	0.957	0.791	1.587
scssr05939	5H	2	1.458	0.729	0.314	0.494
scind16991	5H	3	2.864	0.955	0.651	1.074
Bmag0357	5H	5	3.308	0.662	0.698	1.357
HVM07	5H	2	1.999	0.999	0.5	0.693
scssr07106	5H	3	1.834	0.611	0.455	0.804
HVM06	5H	6	5.819	0.97	0.828	1.777
Bmac0113	5H	7	5.837	0.834	0.829	1.856
scssr03907	5H	5	4.126	0.825	0.758	1.519
Bmag210	6H	4	3.707	0.927	0.73	1.347
Bmag0867	6H	3	2.945	0.982	0.66	1.089
MGB371	6H	3	2.882	0.961	0.653	1.077
Bmag0613	6H	4	3.935	0.984	0.746	1.378
scind60002	6H	5	4.893	0.979	0.796	1.599
Bmag0870	6H	6	5.626	0.938	0.822	1.759
Bmag0009	6H	3	2.928	0.976	0.658	1.086
Bmag0496	6H	6	5.867	0.978	0.83	1.781
scssr07970	7H	5	4.321	0.864	0.769	1.532
HVM51	7H	3	2.018	0.673	0.505	0.87
scind00149	7H	2	1.019	0.51	0.019	0.053

续表

引物 Primer	染色体 Chromosome	等位基因数 N_a	有效等位 基因数 N_e	比率 Ratio of N_e/N_a	多态性信息 指数 PIC	Shannon 指数 I
Bmag0011	7H	4	3.4	0.85	0.706	1.285
HvCMA	7H	4	2.704	0.676	0.63	1.128
HVPRP1B	7H	3	2.999	1	0.667	1.098
Bmag0206	7H	6	5.628	0.938	0.822	1.759
scsrr04056	7H	4	3.55	0.887	0.718	1.314
scsrr15864	7H	5	4.726	0.945	0.788	1.582
Total		203	176.982	43.499	33.127	62.173
\bar{x}		4.06	3.54	0.87	0.663	1.243
s		1.448	1.36	0.015	0.163	0.421
Max		7	6.657	1	0.85	1.921
Min		2	1.019	0.51	0.019	0.053

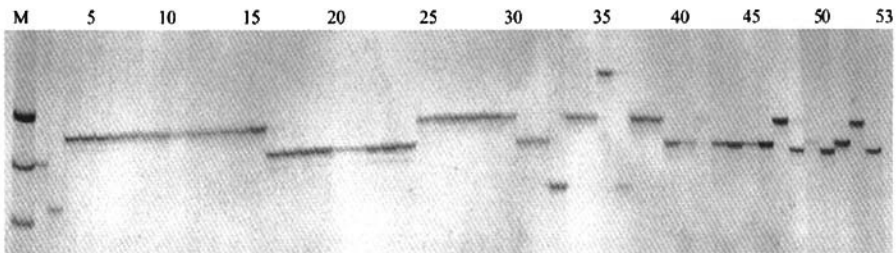


图1 引物 scind60002 的部分电泳图谱

Fig.1 Fingerprinting of partial waxy barley based on SSR primer scind60002

2.2 Shannon 指数及品种间的遗传差异比较

50 个 SSR 标记位点的 Shannon 多样性指数为 0.053 ~ 1.921, 平均为 1.243, 标准差为 0.421, 以 scind00149 的最低 (0.053), HvALAAT 最高 (1.921)。Shannon 多样性指数与多态信息含量揭示的基因变异非常一致, 揭示在中国糯大麦资源中存在丰富的等位基因变异。另外, 根据等位基因数目、有效等位基因数和多态性信息量, 分别评价各个标记位点的多态性, 结果虽有所差异, 但两者呈极显著正相关 ($r=0.887^{**}$, $\alpha=0.01$)。

根据 SSR 标记数据计算成对糯大麦品种的遗传相似系数 (GS), 变幅为 0.158 ~ 0.901, 平均遗传相似系数为 0.682。其中, 岷县六棱米麦 (ZDM3251) 与 3045 米大麦 (ZDM3511) 的遗传相似系数最高 (0.901), 桦南裸 1 号 (ZDM131) 与托县羊草麦 (ZDM1406) 的遗传系数最低 (0.158)。

2.3 基于 SSR 数据的聚类分析

根据遗传相似系数矩阵, 采用 UPGMA 法, 对糯大麦品种进行了聚类分析。在相似系数为 0.70 时聚为五大类 (图 2)。第 I 类 57 个品种, 类群品种间遗传相似系数平均为 0.75, 来自浙江的岷县

六棱米麦与来自湖北 3045 米大麦遗传相似系数高达 0.901。第 I 类在遗传相似系数为 0.73 时又明显聚为两个亚类: 第一亚类 27 个品种, 除来自江苏阜宁的莜大麦和来自贵州关岭的谷麦 2 个品种为皮大麦外, 其余品种均是裸大麦。第二亚类 29 个品种, 其中包括老来光、四棱大麦等 18 个皮大麦品种, 占整个亚类的 60%, 来自河南的红芒猪食大麦等 11 个裸大麦品种也聚在了该亚类。第 I 类除两个亚类外还包括云南的温泉青稞, 是裸大麦品种。第 II 类 7 个品种, 类群品种间遗传相似系数平均为 0.74, 均为裸大麦, 包括山东的米大麦, 河南的大麦、紫露仁, 四川的四洼白六棱、合江大麦、华阳大麦以及来自贵州的新场大麦。第 III 类为 7 个品种, 类群品种间遗传相似系数为 0.73, 其中包括 2 个皮大麦品种: 山西的草麦, 四川的二月黄; 其余的 5 个品种为裸大麦, 分别是山东的宁阳三月黄、钜野米大麦, 贵州的大麦、三月黄大麦及江苏元麦 9 号。第 IV 类 3 个品种均为裸大麦, 即春米大麦、笨大麦、米大麦, 全部来自山东省。第 V 类包括 2 个品种, 分别是黑龙江的桦南裸 1 号和陕西的露仁大麦, 均为裸大麦。

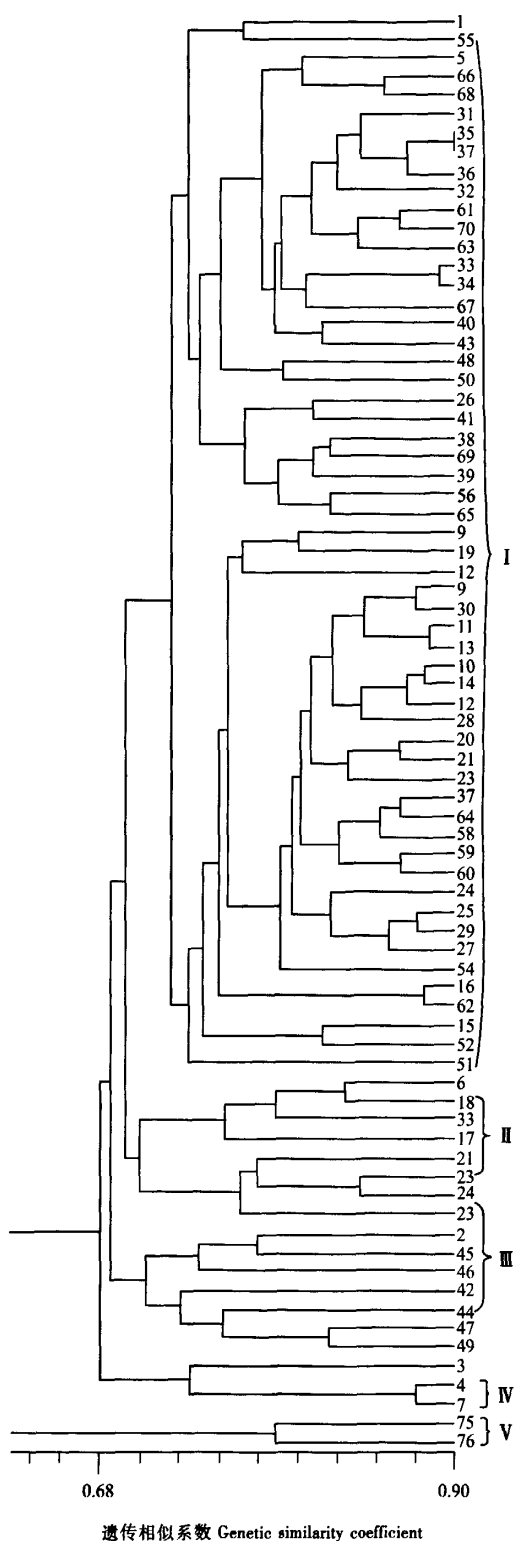


图2 SSR 标记的遗传聚类图

Fig. 2 Dendrogram of 76 waxy barley accessions based on SSR markers

从聚类图中可以看出,个别材料聚类结果与其地理来源联系不太明显,相对分散于不同的类群,具有相同地理来源的品种大部分比较相对地集中于同一个大类或亚类中,另外聚类结果与糯大麦的皮裸性有一定的关联,如第 I 大类第一亚类中除江苏的耐大麦(ZDM1908)和贵州的谷麦(ZDM3886)外,其他品种均为裸大麦;87.9%的皮大麦聚在第 I 大类第二亚类中,其中包括来自河南的全部皮大麦品种。这说明中国不同地区的糯大麦品种之间以及糯大麦的不同皮裸性之间存在着不同程度的遗传变异和演化关系。

2.4 不同地区糯大麦群体间的遗传多样性

中国糯大麦主要分布于黄河中下游、长江中下游及云贵青藏高原一带^[31]。这 3 个区域又分别以河南、江苏、云南和西藏(云藏)为中心。因此将来自河南、江苏、云南和西藏的材料作为 3 个群体进行了比较(表 3),多态性条带分别为 150、158、153 个,平均每个位点检测到的等位基因数为 3、3.16、3.06,变异范围分别为 1~7、1~7、1~5 个。Shannon 指数分别为 0.85、0.86、0.97,表明 3 个地区糯大麦品种遗传多样性大小分别为:云南、西藏 > 江苏 > 河南,以云南、西藏的糯大麦品种群体的遗传多样性略高。

表 3 50 对 SSR 引物对来自 3 个不同地区糯大麦材料的扩增结果

Table 3 SSR primers used and their amplification results based on three different regions

指标项 Item	等位基因数 N_a			Shannon 指数 I		
	河南 Henan	江苏 Jiangsu	云南和 西藏 Yunnan and Tibet	河南 Henan	江苏 Jiangsu	云南和 西藏 Yunnan and Tibet
平均 \bar{x}	3	3.16	3.06	0.857	0.894	0.970
s	2.449	3.449	4.449	0.491	0.494	0.390
最大 Max	7	7	5	1.930	1.922	1.607
最小 Min	1	1	1	0	0	0
总计 Total	150	158	153	42.834	44.714	48.511

3 讨论

利用分子标记技术对我国栽培大麦和野生大麦的遗传多样性进行研究已有一些报道,而在分子水平上对中国糯大麦资源进行遗传多样性分析尚未见报道。Russell 等^[18]用 11 个 SSR 标记区分了包括相同系谱来源在内的 24 个大麦基因型。Struss 等^[19]用 15 个 SSR 标记研究了 163 份大麦材料的遗传多样性,聚类结果与材料地理来源较一致。

Thruspekov 等^[20]研究表明,来自同一栽培地区的品种可聚为 1 个类群。Feng 等^[21]用 30 个 SSR 标记,研究了西藏 3 类野生大麦的遗传多样性,结果表明,3 类野生大麦在遗传组成及等位变异频率分布上存在着明显的遗传分化。侯永翠等^[22]利用 RAPD 标记对国内外 60 份大麦种质资源的遗传多样性进行了检测,结果表明材料间遗传差异明显。张赤红等^[23]利用 49 对 SSR 标记对来自中国的 240 份和国外的 60 份大麦种质资源的遗传多样性进行评价并予以分类,结果将国内外的材料聚为不同种类,其中 60 份国外材料中的 43 份单独被聚为一组,可见国内外材料存在地理隔离和生理隔离,遗传基础组成差距较大。Ivandic 等^[17]用已知图谱位置的 33 个 SSR 标记对来自以色列、土耳其和伊朗的 39 份野生大麦基因型的遗传多样性研究表明,大多数野生大麦能按其起源的国家归类。本研究根据 50 个 SSR 标记位点,对来自中国不同地区的 76 份糯大麦种质的多态位点数、平均每个位点的等位基因数、多态信息含量、遗传多样性指数进行了分析,同时对 3 个中国糯大麦不同地理分布地区代表省份的糯大麦材料单独进行了多样性比较。

Kimura 等^[29]提出有效等位基因是衡量 DNA 分子标记有效多态性的重要指标,有效等位基因数与实际检测到的等位基因数越接近越能说明所用标记的准确性。本研究中有有效等位基因位点(176.98 个)占所检测总多态性位点(203 个)的 87.18%,说明所选用的 50 对 SSR 标记具有较高的多态性,能够较准确地反映整个糯大麦群体的遗传差异。试验中共有 41 对 SSR 引物的 PIC 值大于 0.5,占总数的 46.67%。仅有 1 对引物的 PIC 值小于 0.25。去除 PIC 值相对小的这 1 对引物,重新计算遗传相似系数和进行聚类分析发现对同源系统树的影响不大。

通过对不同来源的糯大麦遗传多样性的 SSR 分析发现,在中国糯大麦群体中蕴含着丰富的遗传多样性,这可能与中国复杂的地理生态环境有关:物种为了适应不同的生态环境,形成了丰富多样的生态类型。另外在相同的自然选择条件下,由于不同地区不同民族的饮食习惯不同,有些地区偏重于糯性食品,因此对糯大麦的人工选择较为注重。加上大麦这一作物本身具有较强的环境适应性,这就使得中国糯大麦资源遗传多样性较为丰富。

根据朱彩梅等^[31]研究的结果可知,在对中国近 78% 的栽培大麦进行鉴定后发现,中国糯大麦主要分布于黄河中下游、长江中下游及云贵青藏高原一

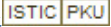
带。这 3 个区域分别以河南、江苏、云南和西藏为中心。对河南、江苏、云南和西藏的糯大麦的 SSR 分析发现,3 个地区的遗传多样性指数差别不大,云南、西藏稍高,可能与云南和西藏地理生态环境差异有关。另外从聚类结果来看,相似性的高低一定程度上反映了材料的地理来源,有些地理来源相同的材料能相对集中地聚在一起,但也有些较分散。在遗传相似系数为 0.65 时,来自 13 省的糯大麦材料均聚在了一起,这一方面可能与大麦育种资源交流日趋频繁,导致品种的地域性差异程度降低有关;另一方面可能与育种家在选育新品种过程中的选育倾向有关。聚类结果显示,来自黑龙江唯一的 1 份糯大麦材料和陕西的 1 份材料在遗传相似系数为 0.78 时单独聚在了一起,说明了黑龙江的糯大麦品种和黄河中下游地区的糯大麦品种之间具有某种亲缘关系,这对研究中国糯大麦的起源及传播有一定的借鉴意义。但是中国糯大麦究竟是如何传播的,是自然传播或扩散还是人为引种,还有待进一步从基因水平上进行论证。

参考文献

- [1] 卢良恕. 中国大麦学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1996
- [2] Ishikawa N, Ishihara J, Itoh M. Artificial induction and characterization of amylose-free mutants of barley[J]. Barley Genetics Newsletter, 1994, 24: 49-53
- [3] Domon E, Saito A, Takeda K. Comparison of the waxy locus sequence from a non-waxy strain and two waxy mutants of spontaneous and artificial origins in barley[J]. Genes & Genetic Systems, 2002, 77: 351-359
- [4] Patron N J, Smith A M, Fahy B F, et al. The altered pattern of amylose accumulation in the endosperm of low-amylose barley cultivars is attributable to a single mutant allele of granule-bound starch synthase 1 with a deletion in the 5'-non-coding region[J]. Plant Physiology, 2002, 130: 190-198
- [5] Hymowitz T. On the domestication of the soybean[J]. Econ Bot, 1970, 24: 408-421
- [6] Temnykh S, Park W D, Ayres N, et al. Mapping and genome organization of micro satellite sequences in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Theor Appl Genet, 2000, 100: 697-712
- [7] Röder M S, Korzun V, Wendehake K, et al. A microsatellite map of wheat[J]. Genetics, 1998, 149: 2007-2023
- [8] Hegstad J M, Tarter J A, Vodkin L O, et al. Positioning the *wf* flower color locus on the soybean genome map [J]. Crop Sci, 2000, 40: 534-537
- [9] Reddy O U K, Siddiq E A, Sarma N P, et al. Genetic analysis of temperature sensitive male sterility in rice [J]. Theor Appl Genet, 2000, 100: 794-801
- [10] Huang X Q, Hsam S L K, Zeller F J, et al. Molecular mapping of the wheat powdery mildew resistance gene and marker validation for molecular breeding [J]. Theor Appl Genet, 2000, 101: 407-414
- [11] Wu X L, He C Y, Chen S Y, et al. Phylogenetic analysis of interspecies in genus *Glycine* through SSR markers [J]. Acta Genetica Sinica, 2001, 28 (4): 395-366
- [12] 李云海. 用微卫星 DNA 标记检测中国主要杂交水稻亲本的

- 遗传差异[J]. 植物学报, 1999, 41(10): 1061-1066
- [13] Bohn M, Utz H F, Melchinger A E. Genetic similarities among winter wheat cultivars determined on the basis on RFLPs, AFLPs and SSRs and their use for predicting progeny variance[J]. Crop Sci, 1999, 39: 228-237
- [14] Smith J S C, Kresovich S, Hopkins M S, et al. Genetic diversity among elite sorghum inbred lines assessed with simple sequence repeats[J]. Crop Sci, 2000, 40: 226-232
- [15] Rongwen J, Akkaya M S, Bhagwat A A, et al. The use of microsatellite DNA markers for soybean genotype identification[J]. Theor Appl Genet, 1995, 90: 43-48
- [16] Liu Z W, Biyashev R M, Saghai-Marof M A. Development of simple sequence repeat DNA markers and their integration into a barley linkage map[J]. Theor Appl Genet, 1996, 93: 869-876
- [17] Ivandic V, Hackett C A, Nevo E, et al. Analysis of simple sequence repeats (SSRs) in wild barley from the Fertile Crescent: associations with ecology, geography and flowering time[J]. Plant Molecular Biology, 2002, 48: 511-527
- [18] Russell J, Fuller J, Young G, et al. Discriminating between barley genotypes using microsatellite markers[J]. Genome, 1997, 40: 442-450
- [19] Struss D, Plieske J. The use of microsatellite markers for detection of genetic diversity in barley population[J]. Theor Appl Genet, 1998, 97: 308-315
- [20] Thruspekov Y, Nakamura K, Waugh R, et al. Application of SSR markers for genetic diversity assessment barley (*H. vulgare* L.) [C]//Logue S. Barley Genetics VIII. Proceedings of the 8th International Barley Genetics Symposium. Australia, Adelaide, 2000: 66-68
- [21] Feng Z Y, Liu X J, Zhang Y Z, et al. Genetic diversity analysis of Tibetan wild barley using SSR markers[J]. Acta Genetic Sinica, 2006, 33(10): 917-9288
- [22] 侯永翠, 颜泽洪, 魏育明, 等. 利用 RAPD 标记分析大麦种质资源的遗传资源的多样性[J]. 植物遗传资源学报, 2005, 6(2): 145-150
- [23] 张亦红, 张京. 大麦品种资源遗传多样性的 SSR 标记评价[J]. 麦类作物学报, 2008, 28(2): 214-219
- [24] Sharp P J, Chao S, Desai S, et al. The isolation, characterization and application in *Triticeae* of a set of wheat RFLP probe identifying each homoeologous chromosome arm[J]. Theor Appl Genet, 1989, 78: 342-348
- [25] Devos K M, Gale M D. The use of random amplified polymorphic DNA marker in wheat[J]. Theor Appl Genet, 1992, 84: 567-572
- [26] Ramsay L, Macaulay M, de gli Ivanissevich S, et al. A simple sequence repeat-based linkage map of barley[J]. Genetics, 2000, 156: 1997-2005
- [27] Karakousis A, Gastafson J P, Chalmers K J, et al. A consensus map of barley integrating SSR, RFLP and AFLP markers[J]. Austr J Agr Res, 2003, 54: 1173-1185
- [28] Marcel T C, Niks R E. Molecular dissection of a QTL region for partial resistance to barley leaf rust [C]// Spunjar J, Janikova J. Proceedings of the 9th International Barley Genetics Symposium. Brno, Czech Republic. Agricultural Research Institute Kromeriz Ltd, 2004: 709-715
- [29] Nei M, Li W H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases [J]. PNAS, 1979, 76: 5256-5273
- [30] Boetstein 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: 314-331
- [31] 朱彩梅, 张京. 中国糯大麦品种资源及地理分布研究[J]. 中国农业科学, 2008, 41(12): 4244-4249
- [32] Kimura M, Ota T. Mutation and evolution at the molecular level [J]. Genetics, 1973, 73(Suppl): 19-35
- ~~~~~
- (上接第 56 页)
- [17] Bridgen M P, Staby G L. Low pressure and low oxygen storage of *Nicotiana tabacum* and *Chrysanthemum x Morifolium* tissue cultures [J]. Plant Science Letters, 1981, 22(2): 177-186
- [18] Dorion N. Effects of temperature and hypoxic atmosphere on preservation and further development of *in vitro* shoots of peach ('Armkings') and peach x almond hybrid ('GF 677') [J]. Scientia Horticulturae, 1994, 57(3): 201-213
- [19] 辛淑英. 甘薯分生组织培养和试管苗低温保存方法的研究[J]. 作物品种资源, 1987(2): 34-36
- [20] 周明德. 马铃薯种质试管苗保存[J]. 作物品种资源, 1989(3): 42-43
- [21] 王子成. 柑橘种质资源的离体保存研究[D]. 武汉: 华中农业大学园艺林学院果树学系, 2003
- [22] 吴传金, 陈学森, 曾继吾, 等. 新疆野苹果 (*Malus sieversii*) 超低温保存及其植株再生[J]. 植物遗传资源学报, 2008, 9(2): 243-247
- [23] 王艳军. 大蒜离体保存技术初步研究[D]. 武汉: 华中农业大学园艺林学院蔬菜学系, 2003
- [24] 王培忠, 裴崎君, 顾寒琳, 等. 植物种质资源超低温保存原理与研究进展[J]. 吉林林业科技, 2007, 36(4): 17-20
- [25] 宋尚伟, 闫锋, 蔡艳婷, 等. 桃品种 '八月香' 花粉的超低温保存[J]. 植物生理学通讯, 2007, 43(1): 181-183
- [26] 赵艳华, 吴雅琴, 程和禾, 等. 李离体茎尖的超低温保存[J]. 园艺学报, 2008, 35(3): 426-426
- [27] Tyagi R K, Agrawal A, Yusuf A. Conservation of *Zingiber* germplasm through *in vitro* rhizome formation[J]. Scientia Horticulturae, 2006, 108: 210-219
- [28] 张玉芹. 食用百合离体保存技术初步研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学农学院园艺系, 2004
- [29] 张玉芹, 李锡香, 马庆, 等. 食用百合种质的玻璃化法超低温保存技术初探[J]. 中国蔬菜, 2004(4): 11-13
- [30] 李锡香, 王海平, 沈镛, 等. 一种微型茎苗组培快繁培养基及组培快繁方法: 中国, CN101147466A [P]. 2008-03-26
- [31] 洪森荣, 郭连金. 离体保存技术在植物种质资源保存中的应用[J]. 上饶师范学院学报, 2006, 26(3): 92-97
- [32] Engelmann F. Plant cryopreservation: progress and prospects[J]. In vitro Cellular & Developmental Biology-plant, 2004, 40: 427-433

应用SSR标记分析中国糯大麦种质的遗传多样性

作者: 朱彩梅, 张京
作者单位: 中国农业科学院作物科学研究所, 北京, 100081
刊名: 植物遗传资源学报 
英文刊名: JOURNAL OF PLANT GENETIC RESOURCES
年, 卷(期): 2010, 11(1)
被引用次数: 1次

参考文献(32条)

1. Ivandic V;Hackett C A;Nevo E Analysis of simple sequence repeats(SSRs)in wild harley from the Fertile Crecent:associations with ecology,geography and flowering time 2002
2. Temnykh S;Park W D;Ayres N Mapping and genome organization of micro satellite sequences in rice (Oryza sativa L.) 2000
3. Hymowitz T On the domestication of the soybean 1970
4. Patron N J;Smith A M;Fahy B F The altered pattern of amylose accumulation in the endosperm of low-amylose barley cultivars is attributable to a single mutant allele of granule-bound starch synthase 1 with a deletion in the 5'-non-coding region 2002
5. Russell J;Fuller J;Young G Discriminating between barley genotypes using microsatellite markers 1997
6. Kimura M;Ota T Mutation and evolution at the molecular level 1973(Suppl)
7. 朱彩梅;张京 中国糯大麦品种资源及地理分布研究 2008(12)
8. Bostsein D;White R L;Skolnick M Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment polymorphisms 1980
9. Reddy O U K;Siddiq E A;Sarma N P Genetic analysis of temperature sensitive male sterility in rice 2000
10. Hegstad J M;Tarter J A;Vodkin L O Positioning the wp flower color locus on the soybean genomic map 2000
11. Roder M S;Korzum V;Wendehake K A microsatellite map of wheat[外文期刊] 1998(4)
12. Domon E;Saito A;Takeda K Comparison of the waxy locus sequence from a non-waxy strain and two waxy mutants of spontaneous and artificial origins in barley 2002
13. Ishikawa N;Ishihara J;Itoh M Artificial induction and characterization of amylose-free mutants of barley 1994
14. Nei M;Li W H Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases 1979
15. Marcel T C;Niks R E Molecular dissection of a OTL region for partial resistance to barley leaf rust 2004
16. Karakousis A;Gastafson J P;Chalmers K J A consensus map of barley integrating SSR, RFLP and AFLP markers 2003
17. Ramsay L;Macaulay M;de gli Ivanissovich S A simple sequence repeat-based linkage map of barley[外文期刊] 2000

18. [Devos K M;Gale M D](#) [The use of random amplified polymorphic DNA marker in wheat](#) 1992
19. [Sharp P J;Chao S;Desai S](#) [The isolation, characterization and application in Triticeae of a set of wheat RFLP probe identifying each homoeologous chromosome arm](#) 1989
20. [张赤红;张京](#) [大麦品种资源遗传多样性的SSR标记评价](#)[期刊论文]-[麦类作物学报](#) 2008(02)
21. [侯永翠;颜泽洪;魏育明](#) [利用RAPD标记分析大麦种质资源的遗传资源的多样性](#)[期刊论文]-[植物遗传资源学报](#) 2005(02)
22. [Feng Z Y;Liu X J;Zhang Y Z](#) [Genetic diversity analysis of Tibetan wild barley using SSR markers](#)[期刊论文]-[Acts Genetic Sinica](#) 2006(10)
23. [Thruspekoy Y;Nakamura K;Waugh R](#) [Application of SSR markers for genetic diversity assessment barley\(H. vulgare L.\)](#) 2000
24. [Struss D;Plieske J](#) [The use of microsatellite markers for detection of genetic diversity in barley population](#) 1998
25. [Liu ZW;Biyashev RM;Saghai-Marooif M A](#) [Development of simple sequence repeat DNA markers and their integration into a barley linkage map](#)[外文期刊] 1996(5/6)
26. [Rongwen J;Akkaya M S;Bhagwat A A](#) [The use of microsatellite DNA markers for soybean genotype identification](#)[外文期刊] 1995(1)
27. [Smith J S C;Kresovich S;Hopkins M S](#) [Genetic diversity among elite sorghum inbred lines assessed with simple sequence repeats](#) 2000
28. [Bohn M;Utz H F;Melchinger A E](#) [Genetic similarities among winter wheat cultivars determined on the basis on BFLPs, AFLPs and SSRs and their use for predicting progeny variance](#) 1999
29. [李云海](#) [用微卫星DNA标记检测中国主要杂交水稻亲本的遗传差异](#)[期刊论文]-[植物学报](#) 1999(10)
30. [Wu X L;He C Y;Chen S Y](#) [Phylogenetic analysis of interspecies in geneus glycine through SSR markers](#) 2001(04)
31. [Huang X Q;Hsam S L K;Zeller F J](#) [Molecular mapping of the wheat powdery mildew resistance gene and marker validation for molecular breeding](#) 2000
32. [卢良恕](#) [中国大麦学](#) 1996

引证文献(1条)

1. [张想平, 雷耀湖, 何庆祥, 毋玲玲, 王小龙](#) [裸大麦垦啤黑糯1号的品种特性及产业化开发](#)[期刊论文]-[大麦与谷类科学](#) 2010(3)

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zwyczyxb201001011.aspx