

文章编号 :1000-4025(2003)10-1755-07

SSR 水平上甘、青两省春小麦品种间的遗传多样性现状及演变趋势*

沈裕琥, 窦全文, 王海庆, 黄相国, 张怀刚*

(中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810001)

摘要 利用 22 对 SSR 引物的扩增结果计算品种间的 Jaccard 相似系数, 在此基础上用 UPGMA 方法进行了聚类分析, 检测了 43 个春小麦品种间在 DNA 水平上的遗传变异。22 对引物共扩增出 102 条多态性带, 平均每对引物可扩增出 4.64 条多态性带, 具有较好的多态性。SSR 水平上 43 个品种间遗传距离变异范围为 0.222 2~ 0.839 3, 平均遗传距离 $GD\% = 0.605 5$ 。43 个品种聚为两大类, 除佛手麦自成一类外, 其余 42 个品种聚为第二大类。聚类结果真实地反映了品种间基因型差异。历史上地方品种间 SSR 水平上的遗传变异最大, 育成品种遗传多样性水平总体上呈下降趋势, 且低于地方品种和引进品种。IBL/1RS 易位片段特异性引物 R_{ye} 检测结果显示, 共有 7 个品种含有 1RS 片段, 结果需进一步证实和深入研究。

关键词 春小麦 品种 遗传多样性 SSR

中图分类号 Q943 :S512 文献标识码 A

Detection on evolvement and present situation of genetic diversity of spring wheat cultivars planted in Gansu and Qinghai Provinces by SSR markers

SHEN Yu-hu, DOU Quan-wen, WANG Hai-qing, HUANG Xiang-guo, ZHANG Huai-gang*

(Northwest Plateau Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China)

Abstract :102 polymorphic fragments were obtained in 43 accessions using 22 pairs of SSR primers. The average number of polymorphic fragments at each SSR locus is 4.64. There exists extensive variation among 43 accessions in SSRs. The range of genetic distance by SSRs is 0.222 2~ 0.839 3, and mean genetic distance is 0.605 5. Cluster analysis shows that 43 cultivars could be classified into 2 clusters at the level of $GS\ 0.26$, and the other 42 cultivars are clustered together except Foshoumai. Clustering results reflect genotypic difference truly. The analysis of development of genetic diversity indicates that there exists extensive variation among landraces, and genetic diversity among bred cultivars, which has the trend to decrease in general, is slightly less than that of landraces and introduced cultivars. The result demonstrates that 7 cultivars contain 1RS fragment using peculiar primer of IBL/1RS translocation, which remains to be confirmed and probed further.

Key words :spring wheat cultivars genetic diversity SSR

收稿日期 2003-03-14 修改稿收到日期 2003-05-12

基金项目 This research was supported by the International Foundation for Science (IFS), Stockholm, Sweden, through a grant to SHEN Yuhu; 中国科学院西北高原生物研究所知识创新工程重点领域项目(“适宜冷凉干旱区小麦和牧草遗传资源的研究和利用”) 2001 年度中共中央组织部、中国科学院“西部之光”人才培养计划资助(“水母雪莲在离体条件下有效成分的积累与调控”课题)

作者简介 沈裕琥(1974-), 男(汉族), 硕士, 从事植物逆境生理和遗传研究。

* 通讯联系人。Correspondence to: ZHANG Huai-gang

在特定的生态环境条件中,由于一个时期内相对稳定的育种目标的影响,人工杂交和选择导致即使亲本来源不同的育成品种其形态性状的趋同,多态性降低,但这不足以反映基因水平上的全部真实变化.在杂交育种和强大的人工选择压下,品种间的分子特异性到底如何?趋同?趋异?或根本没有影响.研究育种对遗传多样性的影响,其中心任务同系统学研究一样,是要将从共同祖先(亲本)遗传下来的同源性和由于趋同进化(特定育种目标下的杂交和人工选择压造成的形态趋同)从不同祖先(亲本)演变而来的相似性区分开来.进化意义上的品种分类只应该反映真正的同源性^[1].而分子水平上的信息能很好地区分同源性和相似性.

20 世纪 80 年代中期以来,应用分子标记技术直接或间接地检测生物大分子的一级结构,在基因组中寻找多态位点,用以揭示各种分类群间或分类群内的遗传变异和亲缘关系.

SSR 又称微卫星 DNA 或短串联重复序列(short tandem repeat, STR),是一类由几个核苷酸

(一般为 1~ 5 个)为重复单位簇集而成的长达几十个核苷酸的串联重复序列^[2].由于这些序列广泛存在于真核细胞的基因组,由于串联重复的数目可变而呈现的高度多态性,以及在单个微卫星位点上可做共显性的等位基因分析,近几年来,SSR 序列作为比较理想的分子标记广泛应用于作物遗传图谱的构建、品种鉴定、遗传多样性检测和亲缘关系的确定.PCR 扩增微卫星位点的主要缺点是必须事先知道微卫星两翼序列才能设计引物,对于许多物种需构建文库.但对于主要农作物和经济作物的基因组而言可从互联网上查询到扩增微卫星位点的引物序列,共享前人成果^[3].

1 材料与方法

1.1 参试春小麦材料

选取甘、青两省自 20 世纪 40 年代以来曾大面积种植或具代表性的春小麦地方品种、引进品种和育成品种共 43 份,作为供试材料,品种名称、系谱及其它有关信息见表 1^[4~ 9].

表 1 参试品种系谱

Table 1 Pedigrees and other relevant information of accessions

编码 Code	品种 Accessions	系谱 Pedigree	育成年份 Year of release	育成单位或原产地 Origin
S1	佛手麦 Fo shou mai	-	-	地方品种
S2	大白麦 Dabai mai	-	-	地方品种
S3	老芒麦 Laowang mai	-	-	地方品种
S4	红农 1 号 Hongnong No. 1	-	-	地方品种
S5	和尚头 Heshangtou	-	-	地方品种
S6	白大头 Baidatou	-	-	地方品种
S7	南大 2419 Nanda 2419	Riet/W ihelme//赤小麦	-	意大利
S8	阿勃 Abo	Fransincto405/M entana//A utgm ia/3/ Fontatarronco	-	意大利
S9	欧柔 Ohrun	New thatch/M arroqui 588//Kenya C9908/M entana/3/Fronteria/M entana	-	智利
S10	内乡 5 号 Neixiang No. 5	南大 2419(M entana)/碧玉麦+ 白火麦+ 白 芒麦	1958	河南省内乡
S11	晋 2148 Jin 2148	晋江赤籽/华东 5 号//欧柔/3/瑞托(R ieto)	1968	福建省晋江地区农科所
S12	晋麦 23 Jimmai 23	耐雪/5027//有芒白 2 号/3/晋麦 7 号/向阳 4 号	1986	山西省农科院小麦研究所
S13	波他姆 Botam	Inia Sib/N apo 63	-	墨西哥
S14	台子 30 Taizi 30	尔老汉/碧玉麦	1958	青海省互助县台子公社
S15	青春 5 号 Q ingchun No. 5	阿勃/欧柔	1969	青海省农林科学院作物研究所
S16	青春 18 Q ingchun No. 18	欧柔/内乡 20	1969	青海省农林科学院作物研究所
S17	甘麦 8 号 Ganmai No. 8	五一麦/阿勃	1964	甘肃省农科院粮食作物研究所
S18	定西 24 Dingxi 24	白老芒麦/肖耶	1969	甘肃省定西地区农科所
S19	甘麦 35 Ganmai 35	五一麦/阿勃	1960's	甘肃省农科院粮食作物研究所
S20	高原 506 Gaoyuan 506	内乡 5 号/小偃 15	1973	中国科学院西北高原生物研究所
S21	高原 338 Gaoyuan 338	高原 506/4/龙丁/3/幸福麦//C285 龙皮 II	1976	中国科学院西北高原生物研究所
S22	曹选 4 号 Caoxuan No. 4	青春 1 号/欧柔	1975	青海省农林科学院作物研究所 青海省互助县高寨公社
S23	青春 25 Q ingchun No. 25	青春 3 号/南大 2419//青海 2 号/阿勃	1978	青海省农林科学院作物研究所
S24	青春 26 Q ingchun No. 26	小偃 65-507//阿勃/欧柔	1970's	青海省农林科学院作物研究所

续表 1 Continued Table 1

S25	互助红 Huzhuhong	从引进品种(原名不详)中系选	1981	青海省互助县双树公社
S26	互麦 11 Humai 11	青春 17 号/青春 5 号	1988	青海省互助县沙塘川乡
S27	互麦 12 Humai 12	晋 2148/互助红	1988	青海省互助县农科所
S28	青春 533 Qingchun 533	367B/A Londra S"-76	1988	青海省农林科学院作物研究所
S29	高原 602 Gaoyuan 602	高原 182/3987-88(3)	1987	中国科学院西北高原生物研究所
S30	高原 158 [*] Gaoyuan 158		1994	中国科学院西北高原生物研究所
S31	高原 175 [*] Gaoyuan 175		1994	中国科学院西北高原生物研究所
S32	青春 570 [*] Qingchun 570		1996	青海省农林科学院作物研究所
S33	高原 913 [*] Gaoyuan 913		1998	中国科学院西北高原生物研究所
S34	高原 V 028	Her/Sap S"/Vee	1998	中国科学院西北高原生物研究所
S35	民和 853 Minhe 853	A Londra S"-76/Opal/O rofen/3/71b7151/Saric	1998	青海省民和县种子站
S36	高原 448 Gaoyuan 448	青春 533/高原 602	1999	中国科学院西北高原生物研究所
S37	宁春 13 Ningchun 13	永 219/中 7906	1990's	宁夏永宁县良种场
S38	陇春 8139 Longchun 8139	陇春 7 号/68-73-20-3	1993	甘肃省农科院粮作所
S39	陇春 13 Longchun 13	68-73-20/75-33-1//陇春 11 号	1994	甘肃省农科院粮作所
S40	陇春 14 Longchun 14	快中子辐照(地 16/陇春 7 号)F ₁ 种子	1994	甘肃省农科院粮作所
S41	陇春 15 Longchun 15	(750025-12/山前麦)变异株系选	1990's	甘肃省农科院粮作所
S42	陇春 16 Longchun 16	Tal 不育小麦组建的轮选测验种群体中鉴定而成	1990's	甘肃省农科院粮作所
S43	陇春 17 Longchun 17	晋 2148/80(8)	1990's	甘肃省农科院粮作所

注: * 高原 175、高原 158、高原 913 和青春 570 系谱较为复杂,故省略。

Note: * Complicated pedigrees of Plateau 175, Plateau 158, Plateau 913 and Qingchun 570 were omitted.

1.2 基因组总 DNA 的提取

对于每份材料,取出苗后 2 周左右的幼嫩叶片,迅速放入液氮中,置于 -70℃ 保存待用。用吴晓雷^[10]等的改良的 SDS 法分离小麦基因组 DNA,具体方法是:在液氮中研磨叶片 3~5 g,放入 65℃ 预热的 20 mL SDS 提取液中(1.25% SDS, 100 mmol/L Tris-HCl, pH 7.0, 500 mmol/L NaCl, 50 mmol/L EDTA, 在预热前加入巯基乙醇),在 65℃ 下保温 25~30 min,加入 5 mL 5 mol/L 醋酸钾,放置冰上 20 min,离心,吸取上清液,加入等体积的氯仿抽提 1 次,再离心,吸出上清液,缓慢加入等体积的异丙醇中沉淀 DNA,30 min 后将絮状的 DNA 挑在 1.5 mL 的 Eppendorf 管中,加入 400 μL 超纯水,在 4℃ 下溶解,加 10 μg/mL 的 RNA 酶 A,37℃ 下保温 2 h,然后加入等体积的苯酚-氯仿-异戊醇(25:24:1),抽提蛋白质,离心后吸取上层水相,加入 2.5 倍体积的无水乙醇于 -20℃ 下沉淀 DNA,离心后弃去上清液,再加 95% 乙醇洗 1 次,离心弃上清液,将沉淀冷冻干燥,加入 200 μL 超纯水溶解。

1.3 SSR 分析

1.3.1 PCR 反应

采用 25 μL PCR (聚合酶链式反应, polymerase chain reaction) 反应体系,包括 1.5 mmol/L MgCl₂, 0.2 mmol/L dNTP 2.0 μL, 1× buffer (50 mmol/L KCl, 10 mmol/L Tris-HCl, pH 8.3), 1 U Taq 酶(Promega 公司), 0.6 μmol/L

3 和 5 端引物, 50 ng 模板 DNA。

PCR 程序为^[11]:

(1) 94℃ 预变性 3 min; (2) 94℃ 变性 1 min, 50℃、55℃ 或 60℃ 引物退火 1 min, 72℃ 延伸 2 min, 共 45 个循环; (3) 72℃ 延伸 10 min。

反应在 PE9600 (PERKINELMER GeneAmp PCR System 9600) 扩增仪上进行。

1.3.2 电泳检测

PCR 产物中加入一滴 6× loading buffer, 在 3% 的含溴化乙锭 (EB) 的琼脂糖凝胶上分离, 加样量为 20 μL/lane^[12]。电极缓冲液为 1× TAE (0.09 mol/L tris-borate, 2 mmol/L EDTA)。电压开始为 100 V, 等样品出加样孔后降至 80 V, 电泳 3~4 h。结束后在紫外灯下检测照相。

1.4 数据处理

1.4.1 性状编码

SSR 是共显性标记, 同其它 DNA 指纹分析的结果一样为二元性状。属于同一位点的产物按扩增阳性 (有条带) 为 1, 扩增阴性 (无条带) 为 0 记录电泳图谱, 形成 SSR 表型原始数据阵^[13]。

1.4.2 遗传距离及聚类分析

计算各个品种间的遗传相似性系数 (Genetic similarity, GS_{ij}) 和遗传距离 (Genetic distance, GD_{ij}), 遗传相似系数采用 Jaccard 系数 (简称 J 系数)。公式如下^[3,14]:

$$GS_{ij} = a / (a + b + c)$$

$$GD_{ij} = 1 - GS_{ij}$$

式中, a 为指基因型 i 和 j 之间共有的条带数, b, c 为基因型 i 和 j 所特有的条带数. GD 为 0 说明所有等位基因全部相同, GD 为 1 则说明所有等位基因都不相同^[10].

在遗传距离矩阵的基础上用非加权配对算术平均法(U PGMA)进行聚类分析,并得到树形图.所有数据统计均由B DSY S 软件完成.

2 结果与分析

2.1 SSR 标记的多态性

总共用 38 对 SSR 引物进行扩增,选择其中有

表 2 SSR 位点、引物序列、扩增序列及多态性条带数

Table 2 SSR locus, primer sequences, amplifying sequences, and number of polymorphic bands

位点 Locus	引物序列 Primer sequences	重复单位 Repeat unit	退火温度 Annealing temperature()	多态性条带数 Number of polymorphic bands
xgwm 10-2A	CGC ACC ATC TGT ATC ATT CTG TGG TCG TAG CAA AGT ATA CGG	(AT) 5 (GT) 15	50	4
xgwm 11-1B	GGA TAG TCA GAC AAT TCT TGT G GTG AAT TGT GTC TTG TAT GCT TCC	(TA) 6 CA TA (CA) 19(TA) 6	50	7
xgwm 18-1B	TGG CGC CAT GAT TGC ATT ATC TTC GGT TGC TGA AGA ACC TTA TTT AGG	(CA) 17 GA (TA) 4	50	2
xgwm 193-6B	CTT TGT GCA CCT CTC TCT CC AAT TGT GTT GAT GAT TTG GGG	(CT) 24mp (CA) 8	60	3
xgwm 194-4D	GAT CTG CTC TAC TCT CCT CC CGA CGC AGA ACT TAA ACA AG	(CT) 32mp	50	8
xgwm 205-5D	CGA CCC GGT TCA CTT CAG AGT CGC CGT TGT ATA GTG CC	(CT) 21	60	6
xgwm 212-5D	AAG CAA CAT TTG CTG CAA TG TGC AGT TAA CTT GTT GAA AGG A	(CT) 20	60	5
xgwm 213-5B	TGC CTG GCT CGT TCT ATC TC CTA GCT TAG CAC TGT CGC CC	(GA) 35	60	6
xgwm 219-6B	GAT GAG CGA CAC CTA GCC TC GGG GTC CGA GTC CAC AAC	(GA) 35mp	60	8
xgwm 293-5A	TAC TGG TTC ACA TTG GTG CG TCG CCA TCA CTC GTT CAA G	(CA) 24	55	3
xgwm 304-5A	AGG AAA CAG AAA TAT CGC GG AGG ACT GTG GGG AAT GAA TG	(CT) 22	55	3
xgwm 371-5B	GAC CAA GAT ATT CAA ACT GGC C AGC TCA GCT TGC TTG GTA CC	(CA) 10 (GA) 32	60	5
xgwm 403-1B	CGA CAT TGG CTT CGG TG ATA AAA CAG TGC GGT CCA GG	(CA) 13	55	2
xgwm 415-5A	GAT CTC CCA TGT CCG CC CGA CAG TCG TCA CTT GCC TA	(GA) 25mp	55	3
xgwm 493-3B	TTC CCA TAA CTA AAA CCG CG GGA ACA TCA TTT CTG GAC TTT G	(CA) 43mp	60	5
xgwm 540-5B	TCT CGC TGT GAA ATC CTA TTT C AGG CAT GGA TAG AGG GGC	(CT) 3 (CC) (CT) 16	55	4
xgwm 565-5D	GCG TCA GAT ATG CCT ACC TAG G AGT GAG TTA GCC CTG AGC CA	(CA) 10	60	7
xgwm 6-4B	CGT ATC ACC TCC TAG CTA AAC TAG AGC CTT ATC ATG ACC CTA CCT T	(GA) 40	55	5
xgwm 601-4A	ATC GAG GAC GAC ATG AAG GT TTA AGT TGC TGC CAA TGT TCC	(CT) 17	60	2
xgwm 67-5B	ACC ACA CAA ACA AGG TAA GCG GAA CCC TCT TAA TTT TGT TGG G	(CA) 10	60	4
xgwm 88-6B	CAC TAC AAC TAT GCG CTC GC TCC ATT GGC TTC TCT CTC AA	(GT) 18 TT (GA) 4	60	7
Rye-1B	GGA GAC ATC ATG AAA CAT TTG CTG TTG TTG GGC AGA AAG	—	55	3

多态性且电泳谱带清晰的 22 对引物进行统计分析,所选 22 个 SSR 标记分别位于小麦基因组 10 条不同的染色体上^[11]. 这 22 对引物序列、重复单位、染色体定位、退火温度、多态性条带数等信息列于表 2. 22 对引物扩增出 102 条多态性带,每对引物可扩增出 2~8 条多态性带,平均每对引物可扩增出 4.64 条多态性带,其中引物 xgwm 194 和 xgwm 219 扩增出的多态性带最多(8 条),具有较好的多态性.

2 2 SSR 标记揭示的品种间遗传相似系数和遗传距离

根据 SSR 标记数据计算品种间的遗传相似系数和遗传距离。遗传距离变异范围为 0.222 2~0.839 3, 平均遗传距离 $GD = 0.605 5$, 其中互助红与互麦 12 遗传距离最小($GD = 0.222 2$), 佛手麦和晋麦 33 遗传距离最大($GD = 0.839 3$)。而佛手麦和白大头与其它普通小麦品种间的遗传距离明显大于普通小麦品种间的遗传距离。说明 SSR 标记真实地揭示了种间和种内品种间的遗传差异。

2 3 聚类分析

在遗传相似系数的基础上, 用 UPGMA 法进行聚类分析, 聚类后各大类和亚类组成见表 3 和图 1 (图 1 中品种编号同表 1)。在 GS 值 0.26 水平上, 所有供试 43 个品种聚为两类, 除佛手麦自成一类外, 第二大类包含了其余 42 个品种。这个结果与数量性状和醇溶蛋白的数据聚类结果一致。在 GS 值 0.303 水平上, 第二大类又可聚为两个亚类, 第一亚类包括白大头和晋麦 33 两个品种。晋麦 33 从系谱上看与

第二亚类其它品种无相同亲本, 亲缘关系较远。白大头是地方品种, 属于密穗小麦(*T. compactum*)。第二亚类包括 40 个品种, 大多数都是阿勃、欧柔和南大 2419 的衍生品种, 而阿勃和欧柔又都有南大 2419 的血统, 故第二亚类下的分组呈阶梯状。20 世纪 70 年代青海省育成的高原 338、曹选 4 号、青春 25 和青春 26, 在 GS 值 0.503 的水平上被聚为一类, 其遗传距离的变异范围为 0.3333~0.5405; 20 世纪 90 年代育成的高原 175、高原 913、高原 V028、青春 570 和民和 853 在 GS 值 0.511 的水平上被聚为一类, 其遗传距离的变异范围为 0.3953~0.5510, 可以看出这两个时期品种间遗传距离变异范围狭窄, 说明 70 年代和 90 年代育成品种间多态性相对较低, 且品种间遗传差异几乎等距。从聚类结果来看, 大多具有共同亲本品种被聚在一起, 如互助红和互麦 12, 欧柔和青春 5 号, 阿勃和甘麦 35。但也有例外, 如甘麦 8 号和甘麦 35, 这与选择的多向性和随机性有关。

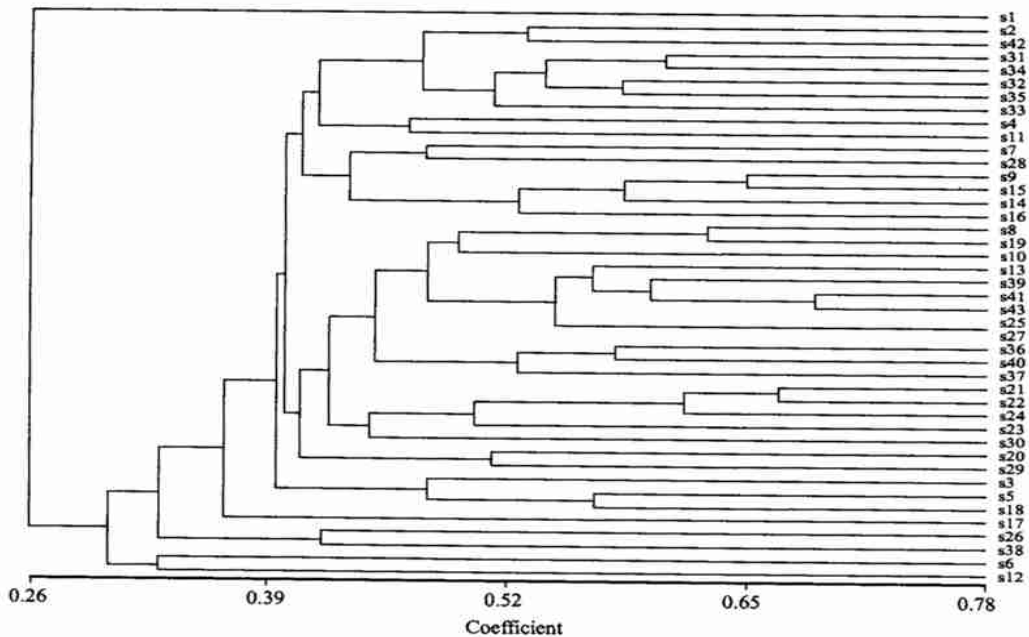


图 1 43 个春小麦品种 SSR 标记数据聚类

Fig. 1 Dendrogram upon SSRs data of 43 spring wheat cultivars

表 3 聚类后各类群组成

Table 3 Composition of every group after clustering

类群 Groupes	品种数 Number of cultivar	品种名称 Cultivars
第一大类 1st group	1	佛手麦
第二大类 2nd group	42	
第一亚类 1st subgroup	2	白大头、晋麦 33
第二亚类 2nd subgroup	40	老芒麦、红农 1 号、和尚头、大白麦、南大 2419、曹选 4 号、阿勃、欧柔、晋 2148、波他姆、台子 30、青春 5 号、陇春 16、互助红、互麦 12、互麦 11、宁春 13、陇春 15、内乡 5 号、青春 18、高原 158、定西 24、高原 506、青春 533、高原 602、青春 570、民和 853、高原 448、甘麦 35、甘麦 8 号、高原 175、陇春 8139、陇春 14、高原 338、青春 25、青春 26、高原 V 028、陇春 13、陇春 17、高原 913

2.4 SSR 水平春小麦品种间遗传多样性演变趋势

计算 20 世纪 40 年代以来甘、青两省不同时期种植品种间 SSR 水平上的平均遗传距离,列于表 4,并作图 2。

从表 4 和图 2 可以看出,历史上的地方品种间 SSR 水平上的遗传变异程度最大($GD = 0.6562$),

20 世纪 70 年代育成品种变异程度最小($GD = 0.4845$)。从 40 年代到 70 年代,育成品种间 SSR 水平上的遗传多样性一直处于下降趋势,到 80 年代有一上升过程,之后又开始下降,但总体上育成品种遗传变异程度要低于地方品种和引进品种。

表 4 SSR 水平上春小麦品种间遗传多样性演变趋势

Table 4 Evolutionary trend of genetic diversity development among wheat cultivars detected by SSR markers

年代 Era	1940s	1950s	1960s	1970s	1980s	1990s
变异范围 Variance range	0.4737~0.7551	0.4474~0.7451	0.3784~0.6977	0.3333~0.6429	0.2222~0.7111	0.3143~1.7551
平均遗传距离 Mean GD	0.6562	0.5986	0.5630	0.4845	0.5595	0.5523

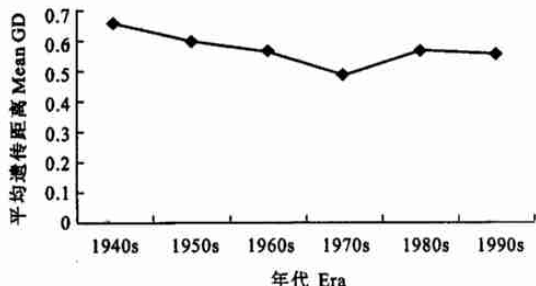


图 2 SSR 标记水平上的遗传多样性演变

Fig. 2 Evolutionary trend of genetic diversity detected by SSR markers

2.5 1BL/1RS 易位片段检测

黑麦属(*Secale*)是小麦属的近缘属植物,是改良小麦产量、品质以及适应性的主要基因资源之一。导入黑麦外源有利基因最有效的方法是染色体片段易位。迄今为止,黑麦的 1R~7R 片段都成功地转移至小麦中,黑麦 1RS 上具有 *Yr9*、*Lr26*、*Sr31* 和 *Pm8* 的抗性基因,也有控制重要农艺性状的大量基因,与地上生物量和千粒重等也密切相关^[15-17]。1BL/1RS 易位系已广泛应用于小麦育种中^[18]。引物 Rye^[19]是 1BL/1RS 易位片段的特异性引物,其扩增结果可以检测 1BL/1RS 易位片段的有无。从检测结果来看,台子 30、定西 24、甘麦 35、高原 158、高原 175、民和 853 和陇春 15 等具有 1RS 片段(图 3)。民和 853 的 1RS 来自 A lndra S"-76,高原 158 和高

原 175 的 1RS 根据系谱推测可能来自于前苏联品种高加索,陇春 15 的 1RS 可能来自于前苏联品种山前麦,而台子 30、定西 24 和甘麦 35 的 1RS 片段到底来自哪些品种仍需进一步研究。

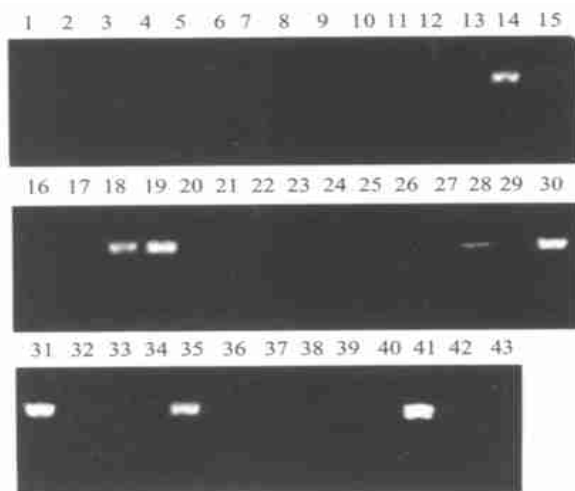


图 3 1B/1R 易位片段特异引物 Rye 扩增结果

Fig. 3 Rye-PCR products of 43 spring wheat cultivars

3 讨论

SSR 数据从 DNA 水平上直接揭示了不同品种基因组重复序列间的遗传变异,同其它分子标记技

术一样,它提供的遗传多样性几乎是无限的.相对于其它分子标记,少量的微卫星标记就可区分亲缘关系较近的小麦品种(系).本研究中所用 22 个 SSR 标记分别位于 10 条不同的染色体上,每对引物平均扩增出 4~64 条多态性带,具有较高的多态性.

从聚类结果来看,所有参试品种除佛手麦外,其余 40 个品种(尤其是当前育成品种)呈阶梯状聚类,说明这 40 个品种(尤其是当前育成品种)间在 SSR 水平上遗传变异较小,具有较近的亲缘关系.从甘、青两省开展杂交育种的历史来看,最初的亲本基础主要是 50 年代后国内外引进品种.骨干亲本主要有阿勃、欧柔和南大 2419,而前两个品种都有来自南大 2419 的血统,故甘、青两省育成品种绝大多数都

与南大 2419 有着或远或近的亲缘关系.育成品种遗传背景单一已成为当前品质、产量和抗性育种取得突破性进展的制约因素.

SSR 水平上甘、青两省春小麦品种间遗传多样性降低的演变趋势同育种实践也相一致.随着育种工作的深入,亲本选配中少数核心种质的反复利用和人工选择导致优良性状集中于少数亲本材料身上,遗传改良基础日趋狭窄,许多非育种目标所追求的多样化性状基因丢失,必然导致遗传多样性的下降,从而使一些亲本各异的品种性状趋于一致.目前甘、青两省春小麦育种工作急需解决的问题是积极引入外缘基因,创造优异种质资源,拓宽春小麦育种的遗传改良基础.

致谢:本实验是在江苏省农业科学院农业部农业生物遗传生理与生物技术重点开放实验室完成的,感谢陆维忠研究员、蔡士宾研究员和刘朝晖先生提供的帮助!

参考文献:

- [1] AVISE JC. Molecular markers, natural history and evolution[M]. New York: Chapman & Hall, Inc, 1994.
- [2] CHAI SHUO (柴守诚), YUN HAIYAN (员海燕). Characteristics of repeated DNA sequences in higher plants[J]. *Acta Botanica Sinica* (西北植物学报), 1999, 19(3): 555-563 (in Chinese).
- [3] ZHOU YUNXIN (邹喻苹), GE FAN (葛颂), WANG XIAODONG (王晓东). System and molecular markers in evolutionary plant biology[M]. Beijing: Science Press, 2001: 68-107.
- [4] JIN SHANBAO (金善宝). Chinese wheat varieties[M]. Beijing: Agriculture Press, 1964: 478-497.
- [5] JIN SHANBAO (金善宝). Chinese wheat varieties[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1996: 1-2, 37-39, 55-57.
- [6] JIN SHANBAO (金善宝). Chinese wheat varieties and their spectra[M]. Beijing: Agriculture Press, 1983: 236-263, 336-381.
- [7] JIN SHANBAO (金善宝). Chinese wheat varieties (1983-1993)[M]. Beijing: Agriculture Press, 1997: 363-391.
- [8] TAO YU (陶于洪). Gansu province excellent crop varieties[M]. Beijing: China Agriculture Science Press, 1995: 1-76.
- [9] QINGHAI PROVINCE ACADEMY OF FORESTRY (青海省农林科学院). Qinghai province excellent crop varieties[M]. Xining: Qinghai People's Press, 1983: 1-52.
- [10] WU XIAOLI (吴晓雷), HE CHUYI (贺超英), CHEN SHUYI (陈受宜), ZHUANG BAOCHANG (庄炳昌), WANG KEJING (王克晶), WANG XIAOCHEN (王学臣). Phylogenetic analysis of interspecies in genus *Glycine* through SSR markers[J]. *Acta Genetica Sinica* (遗传学报), 2001, 28(4): 359-366 (in Chinese).
- [11] RODEMERS M S, KORZUN V, WENDEHAKKE K, PLASCHKE J, MARIE-HÉLÈNE TIXIER, LEROY P, GANAL M W. A microsatellite map of wheat[J]. *Genetics*, 1998, 149: 2007-2023.
- [12] MARTIN B, FRIEDRICH H U, ALBRECHTE EM. Genetic similarities among winter wheat cultivars determined on the basis of RFLPs, AFLPs and SSRs and their use for predicting progeny variance[J]. *Crop Science*, 1999, 39: 228-237.
- [13] LIU F (刘峰), DONGFANG Y (东方阳), ZOU J J (邹继军), CHEN SHUYI (陈受宜), ZHUANG BAOCHANG (庄炳昌). Soybean germplasm diversity and genetic variance detected by microsatellite markers[J]. *Acta Genetica Sinica* (遗传学报), 2000, 27(7): 628-633.
- [14] XU QIANXUE (徐克学). Numerical taxonomy[M]. Beijing: Science Press, 1994: 63-72.
- [15] MCDONTOSH R A. A catalogue of gene symbols for wheat[A]. Sakamoto S, et al. Proc 6th International Wheat Genet Symp Plant Germplasm Inst Fac Agric[C]. Kyoto, 1983: 197-1255.
- [16] VILLAREAL R L, et al. The 1BL/1RS chromosome translocation effect on yield characteristics in a *Triticum aestivum* L. cross[J]. *Plant Breeding*, 1995, 114: 497-500.
- [17] RAJARAM S, et al. Adaptation, stability and high yield potential of certain 1B/1R CMMYT wheats[A]. Sakamoto S, et al. Proc 6th International Wheat Genet Symp Plant Germplasm Inst Fac Agric[C]. Kyoto, 1983: 613-621.
- [18] RABNOVICHS V. Importance of wheat-rye translocations for breeding modern cultivars of *Triticum aestivum* L. [J]. *Euphytica*, 1998, 100: 323-340.
- [19] FRANCISHA A, LEITCH A R, KOEBNER R M D. Conversion of a RAPD-generated PCR product, containing a novel dispersed repetitive element, into a fast and assay for the presence of rye chromatin in wheat[J]. *Theor Appl Genet*, 1995, 90: 636-642.