

# 西藏春小麦 SSR 遗传多样性分析

于明寨,张永鹏,梁艳华,王 兰,王菊花,魏迎春\*

(西藏自治区农牧科学院农业研究所,西藏 拉萨 850032)

**摘 要:**小麦作为西藏主要的粮食作物,为了解西藏春小麦遗传背景,选用均衡分布于 21 条染色体的 105 对 SSR 引物,其中 64 对多态性较好,对 73 份大麦亲本材料进行遗传多样性和群体结构分析。结果表明:多态信息含量(PIC)的变幅为 0.375~0.887,平均为 0.673。遗传相似系数(GS)变异范围为 0.635~0.916,聚类分析表明 73 个冬小麦亲本材料在 GS 值为 0.752 水平上聚为 3 个大类,各大类分别包括 15、20 和 38 份材料,通过来源分析发现,各大类材料来源基本相同,说明本地品系来源结构单一,有待进一步引进异质资源,为育种工作突破提供基础。

**关键词:**西藏;小麦;SSR;遗传多样性

**中图分类号:**S512.12 **文献标识码:**A

## Genetic Diversity Analysis of SSR in Tibetan Spring Wheat (*Triticum aestivum* L.)

YU Ming-zhai, ZHANG Yong-peng, LIANG Yan-hua, WANG Lan, WANG Ju-hua, WEI Ying-chun\*

(Agricultural Research Institute, Tibet Academy of Agricultural and Animal Husbandry Sciences, Tibet Lhasa 850032, China)

**Abstract:** Wheat is the main food crop in Tibet. In order to understand the genetic background of Tibetan spring wheat, 105 pairs of SSR primers evenly distributed on 21 chromosomes were selected, among which 64 pairs of primers had good polymorphism. Genetic diversity and population structure of 73 barley parent materials were analyzed. The results showed that the amplitude of polymorphic information content (PIC) was 0.375–0.887, and the average was 0.673. The variation range of genetic similarity coefficient (GS) was 0.635–0.916. Cluster analysis showed that 73 winter wheat parents were grouped into three categories at GS value of 0.752. Each category included 15, 20 and 38 materials respectively. According to the source analysis, it was found that the sources of each category of materials were basically the same, which indicated that the local origin structure was single, so it was required to further introduce heterogeneous resources to provide the basis for the breakthrough of breeding work.

**Key words:** Tibet; wheat; SSR; Genetic diversity

小麦是西藏主要的粮食作物,春小麦在西藏日喀则、山南、拉萨等部分地区广泛种植,相比西藏地区第一大作物青稞,小麦具有产量高的优势,单相比内地地区,西藏小麦育种工作、品种产量等都不具优势。由于西藏小麦育种仍然以常规育种为主,亲本资源相对匮乏,西藏小麦品种选育亲本选择较少,育种突破不大,育种道路日渐狭窄,遗传背景相似度高,来源单一,对优质亲本的频繁使用,导致育成品种适应性日渐降低,进一步压缩了新品种改良突破

的潜力。遗传多样性分析对于育种工作中亲本组合选配具有重要参考价值。取得春小麦育种的突破对西藏粮食安全和国民经济的持续稳定发展具有重要的意义。通过 SSR 分子标记分析西藏春小麦亲本间遗传多样性,可以为西藏春小麦分子标记辅助育种奠定重要基础。

简单重复序列(Simple Sequence Repeat)是指重复出现 2~6 个核苷酸的 DNA 小片段,简称 SSR。SSR 标记具有具有多态性高、开发简易、保有量多、重复试验结果差异较小,而且 SSR 标记 NDA 链各处均有分布等优点<sup>[1-4]</sup>。傅体华运用 SSR 标记分析对四川 47 个育成的普通小麦品种,发现所选材料的遗传背景相似度极高<sup>[5]</sup>。遗传多样性就是基因异质性,运用 SSR 分子标记技术将试供材料多样性直观的反应到凝胶上,通过分析为西藏春小麦育种

收稿日期:2019-04-22

基金项目:西藏自治区科学技术厅自然科学基金西藏春小麦产量农艺性状与 SSR 标记的关联性分析(ZX2017ZRG-37)

作者简介:于明寨(1986-),男,助理研究员,主要从事小麦育种工作,E-mail:363462025@qq.com,\*为通讯作者:魏迎春(1973-),研究员,主要从事小麦育种工作,E-mail:wyc\_6044@163.com。

表 1 73 份小麦材料来源及名称

Table 1 Name and origin of 56 wheat materials

| 编号<br>No. | 品种名称<br>Name<br>of variety | 来源<br>Origin  | 编号<br>No. | 品种名称<br>Name<br>of variety  | 来源<br>Origin           | 编号<br>No. | 品种名称<br>Name<br>of variety | 来源<br>Origin           |
|-----------|----------------------------|---------------|-----------|-----------------------------|------------------------|-----------|----------------------------|------------------------|
| 1         | 藏春 951<br>Zangchun951      | 拉萨<br>Lhasa   | 26        | 黑小麦 76 号<br>Heixiaomai76    | 北京<br>Beijing          | 51        | Nimatashi                  | 拉萨<br>Lhasa            |
| 2         | 山春 1 号<br>Shanchun1        | 山南<br>Shannan | 27        | 日春 19 号<br>Richun19         | 日喀则<br>Rikaze          | 52        | Nepal wheat                | 尼泊尔<br>Nepal           |
| 3         | 京吉 166<br>Jingji166        | 北京<br>Beijing | 28        | 龙麦 20 号<br>Longmai20        | 北京<br>Beijing          | 53        | 定日春麦<br>Dingrichunmai      | 地方品种<br>Difangpinzhong |
| 4         | 品比 10<br>Pinbi10           | 拉萨<br>Lhasa   | 29        | 天 9629<br>Tian9629          | 甘肃天水<br>Gansutianshui  | 54        | 定结春-3<br>Dingjiechun3      | 地方品种<br>Difangpinzhong |
| 5         | 品比 11<br>Pinbi11           | 拉萨<br>Lhasa   | 30        | 龙麦 10 号<br>Longmai10        | 北京<br>Beijing          | 55        | 春小麦<br>Chunxiaomai         | 地方品种<br>Difangpinzhong |
| 6         | 品比 12<br>Pinbi12           | 拉萨<br>Lhasa   | 31        | 陇鉴 9345-4<br>Longjian9345-4 | 甘肃天水<br>Gansutianshui  | 56        | 邦达扎尼玛<br>Bangdazhanima     | 地方品种<br>Difangpinzhong |
| 7         | 品比 14<br>Pinbi14           | 拉萨<br>Lhasa   | 32        | 津强 1 号<br>Jinqiang1         | 北京<br>Beijing          | 57        | 邦达高杆<br>Bangdagaogan       | 地方品种<br>Difangpinzhong |
| 8         | 品比 16<br>Pinbi16           | 拉萨<br>Lhasa   | 33        | 白朗当地小麦<br>Bailangxiaomai    | 地方品种<br>Difangpinzhong | 58        | 城北扎娜<br>Chengbeizhانا      | 地方品种<br>Difangpinzhong |
| 9         | 品比 17<br>Pinbi17           | 拉萨<br>Lhasa   | 34        | 日春 2 号<br>Richun2           | 日喀则<br>Rikaze          | 59        | 茶卓<br>Chazhuo              | 地方品种<br>Difangpinzhong |
| 10        | 品比 18<br>Pinbi18           | 拉萨<br>Lhasa   | 35        | 美抗-112<br>Meikang112        | 北京<br>Beijing          | 60        | 香堆麦-1<br>Xiangduimai1      | 地方品种<br>Difangpinzhong |
| 11        | 品比 19<br>Pinbi19           | 拉萨<br>Lhasa   | 36        | 美抗-115<br>Meikang115        | 北京<br>Beijing          | 61        | 柳条春<br>Liutiaomai          | 地方品种<br>Difangpinzhong |

亲本选配提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

实验选取 3 组不同来源的 73 份小麦材料,由西藏自治区农科院种质库地方品种系列、农科院小麦育种室育种品系和中国农业科学院美抗系列组成(表 1)。

### 1.2 小麦 DNA 提取

取 1 g 生长旺盛的小麦植株叶片,于液氮中迅速研磨成粉;将粉末转移至 10 mL 离心管中,加入 2 mL(枪头需提前划好刻度以免因受热后吸取过量)煮沸的 1.5 × CTAB(保持高温);65 ℃ 温浴 30 min;样品排序,加入等体积(通风橱内通过胶头滴管)的氯仿/异戊醇(24:1),保证每个离心管不漏液,轻缓颠倒混匀 25 min,3000 r/min 离心 15 min;转移(直接倒即可)上清液于 10 mL 离心管中(一般 2 mL 左右),加入 1/10 体积 10 % 的 CTAB(提前 65 ℃ 温浴),再加入等体积氯仿/异戊醇(24:1),轻缓颠倒混匀 20 min,3000 r/min 离心 15 min;吸 2 mL 上清(1 mL 的枪头需剪去大约 7 mm 的枪尖)于离心管,加入 5 mL 1 % CTAB,充分混合均匀后,静置 10 min 致絮状 DNA 聚集,3000 r/min 离心 15 min;弃上清,加入 1 mL 1M NaCl 溶液和 1 μl RNase(提前根据所

需量配好 mixture),65 ℃ 溶解 1 d;加入 3 mL 预冷乙醇沉淀 DNA;将沉淀转至 1.5 mL 离心管中,之后用 75 % 的乙醇洗涤沉淀,10 000 r/min 离心 5 min;弃上清,晾干后溶于 50 ~ 100 μl TE 中,溶解至少 1 周(TE 用于长时间保存 DNA,若短时间可直接用双蒸水溶解);取 1 μl 用于 0.8 % 琼脂糖凝胶电泳检测提取的基因组 DNA,剩余 -20 ℃ 保存备用。

### 1.3 SSR 分析

参考 UMR INRA-UBP 遗传图谱均衡的从小麦的 21 条染色体组上选取引物 105 对,尽量每条染色体上都有引物分布。PCR 设定程序:预变性温度 94 ℃ 时间 3 min;变性温度 94 ℃ 时间 30 s,退火温度 64 ~ 56 ℃ 时间 30 s(根据引物 Tm 值不同退火温度不同),延伸温度 72 ℃ 时间 30 s,重复 32 个循环,之后延伸,延伸温度 72 ℃ 时间 10 min,PCR 环节完成,取出后置于 4 ℃ 冰箱临时保存。采用非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳进行 PCR 产物分析,电泳结束后用 10 % 的冰乙酸固定凝胶,之后采用 1 % 的 AgNO<sub>3</sub> 银染,将银染后的凝胶拍照留存。

## 2 结果与分析

亲本材料的遗传多样性直接决定育种工作能否选择出更多的有用变异,对数量遗传性状的提升具有关键作用,小麦育种工作中的关键性状多数都是

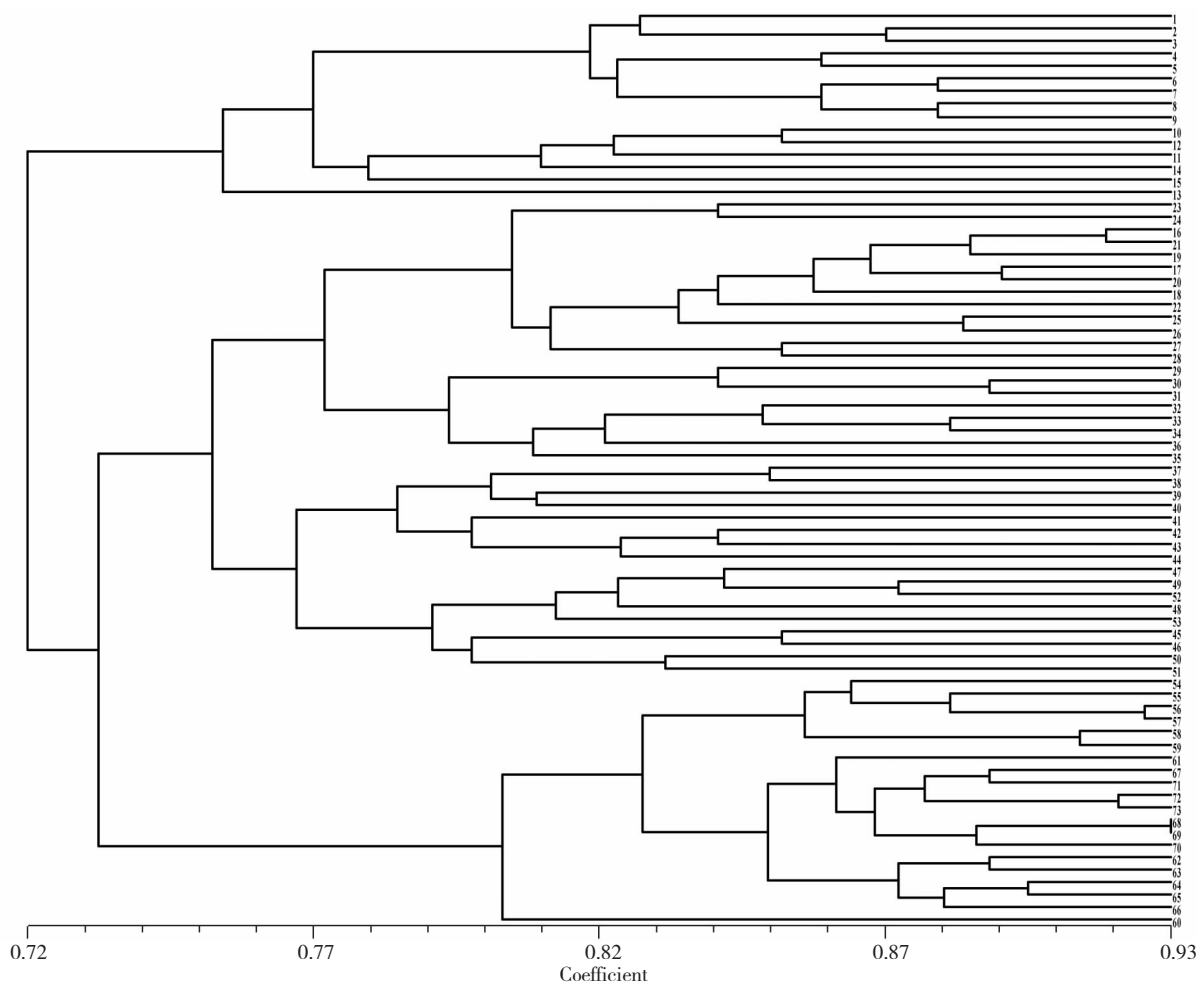


图 1 小麦材料 UPGMA 聚类图

Fig.1 UPGMA dendrogram of wheat materials

数量性状,广泛的遗传背景为育种工作提供良好的基础,更加容易选择出优良的品种。运用分子标记 SSR 分析小麦间遗传多样性国内外已有报道<sup>[6-10]</sup>。为探明西藏冬小麦亲本材料的遗传背景和群体结构特点,选用 64 对多态性好的 SSR 引物对 73 份大麦亲本材料进行遗传多样性和群体结构分析。结果表明:多态信息含量(PIC)的变幅为 0.375~0.887,平均为 0.673。遗传相似系数(GS)变异范围为 0.635~0.916,聚类分析表明 73 个冬小麦亲本材料在 GS 值为 0.752 水平上聚为 3 个大类,各大类分别包括 15、20 和 38 份材料(图 1)。

3 讨论

其中品种锁通中芒(68 号)和高安红麦(69 号)之间的遗传相似系数最大,为 0.92,说明这 2 个材料遗传背景非常相似,其次是邦达扎尼玛与邦达高杆(0.915)和桑日高杆麦与桑珠林-1(0.911),所以不建议锁通中芒与高安红麦、邦达扎尼玛与邦达高杆和桑日高杆麦与桑珠林-1 进行亲本杂交组合的

配置。遗传相似系数最小的是品种 13 号,为 0.75,该品种与其他材料的亲缘关系较远,遗传差异性较大。

4 结论

从聚类图可以将 74 份材料分为 3 大类,通过分析来源发现,第 1 类 15 份材料都来自于西藏自治区农牧科学院农业研究所小麦室育种品系,第 2 类 20 份材料主要来源是西藏自治区农牧科学院资源库地方品种,第 3 类 38 份材料来源较驳杂,单主要以中国农科院材料为主,间杂其他来源。由此可以看出本地育成品系遗传背景相似度高,在今后的育种工作选配组合时应当尽量避免,适当的引入外地优异的材料充实本地亲本材料来源,为今后育种工作取得突破进展提供帮助。

参考文献:

[1] Akkaya M S, Bhagwat A A, Cregan P B. Length polymorphisms of simple sequence repeat DNA in soybean[J]. Genetics, 1992, 132 (4): 1131-1139.  
[2] Salem K F M, Röder M S, Börner A. Assessing genetic diversity of

- Egyptian hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) using microsatellite markers[J]. Genetic Resources and Crop Evolution, 2015, 62(3): 377–385.
- [3] Prasad M, Varshney R K, Roy J K, et al. The use of microsatellites for detecting DNA polymorphism, genotype identification and genetic diversity in wheat[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2000, 100(3–4): 584–592.
- [4] Wang Z, Weber J L, Zhong G, et al. Survey of plant short tandem DNA repeats[J]. Theoretical and Applied Genetics, 1994, 88: 1–6.
- [5] Fu T H, Wang CH M, Ren ZH L, et al. SSR Genetic Diversity among Modern Advanced Wheat Cultivars (*Triticum aestivum* L.) in Sichuan and Its Relationships with Their Pedigree[J]. Journal of Sichuan Agricultural University, 2007, 25(1): 1–8.
- [6] Dreisigacker S, Zhang P, Warburton M L, et al. SSR and pedigree analyses of genetic diversity among CIMMYT wheat lines targeted to different megaenvironments[J]. Crop Science, 2004, 44(2): 381–388.
- [7] Nei M, Li W H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1979, 76(10): 5269–5273.
- [8] Dice L R. Measures of the amount of ecologic association between species[J]. Ecology, 1945, 26(3): 297–302.
- [9] Reif J C, Zhang P, Dreisigacker S, et al. Wheat genetic diversity trends during domestication and breeding[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2005, 110(5): 859–864.
- [10] Gupta P K, Rustgi S, Sharma S, et al. Transferable EST-SSR markers for the study of polymorphism and genetic diversity in bread wheat[J]. Molecular Genetics and Genomics, 2003, 270(4): 315–323.