

# 10个小黑麦品种(系)的遗传多样性分析

郭晓丽,白丽荣

(衡水学院 生命科学系,河北 衡水 053000)

**摘要:**采用 RAPD 分子标记技术,对 10 个小黑麦品种(系)进行遗传多样性分析,结果表明,通过 PCR 扩增出 384 条带,其中 79 条谱带具有多态性,多态性比例为 20.6%,平均扩增条带为 20.3 条,不同品种(系)间的遗传相似系数在 0.250 ~ 0.833。聚类分析表明,以遗传相似系数 0.580 为阈值,可将 10 个小黑麦品种(系)分为 3 类。

**关键词:**小黑麦; RAPD; 遗传多样性; 聚类分析

中图分类号: S512.4 文献标志码: A 文章编号: 1004 - 3268(2016)02 - 0026 - 03

## Genetic Diversity of Ten Varieties(Lines) of *Triticale*

GUO Xiaoli, BAI Lirong

(Department of Life Science, Hengshui University, Hengshui 053000, China)

**Abstract:** RAPD molecular-marker technique was used to detect the genetic diversity of ten varieties (lines) of *Triticale*. Totally 384 bands were detected with PCR, including 79 polymorphic bands, the polymorphism rate was 20.6%, and the average band number was 20.3. The genetic similarity coefficient ranged from 0.250 to 0.833. Cluster analysis showed that these accessions could be divided into three groups with the genetic similarity coefficient threshold of 0.580.

**Key words:** *Triticale*; RAPD; genetic diversity; cluster analysis

小黑麦是由小麦属和黑麦属物种经种属间有性杂交和杂种染色体数加倍而成的杂交种,是小麦家族中的一个新物种。小黑麦不仅生物产量高,蛋白质和赖氨酸含量丰富,而且抗病和抗逆性较强,具有广泛的适应性,可满足我国北方不断发展的畜牧业和种植结构调整的需要<sup>[1]</sup>。目前,小黑麦在生产和实践中已显示出较高的生态及经济价值,具有较大的发展潜力<sup>[2-4]</sup>。育种中选用亲缘关系较远的亲本材料,有利于拓宽新种质类型的遗传变异程度<sup>[5-8]</sup>。为此,本研究利用 20 个随机引物对 10 个小黑麦品种(系)进行 RAPD(随机扩增多态性 DNA)分析,旨在探讨不同小黑麦品种(系)间的遗传差异,并利用统计学方法对这 10 个品种(系)进行分类,期望为今后小黑麦的新品种选育及大规模品种鉴定提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

供试 10 个小黑麦品种(系): NTH1887、NTH1877、冬牧 70、NTH1888、中新 830、NTH2337、中饲 828、冀饲 1 号、劲松 49、NTH1048(依次标记为 T1 ~ T10),由河北省农林科学院旱作农业研究所提供。

### 1.2 基因组 DNA 提取

DNA 提取按照上海生工生物工程股份有限公司植物 DNA 提取试剂盒提取。

### 1.3 RAPD 扩增及检测

选取 20 个随机引物 S1 ~ S20 分别对 10 个小黑麦品种(系)进行 PCR 扩增,PCR 反应总体积为 10  $\mu\text{L}$ ,包括: 10 × buffer 1  $\mu\text{L}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  1  $\mu\text{L}$ , dNTP (2.5 mmol/L) 1  $\mu\text{L}$ , 引物 (20  $\mu\text{mol/L}$ ) 0.5  $\mu\text{L}$ , DNA 聚合

收稿日期:2015-06-20

基金项目:河北省科技计划项目(13222906);河北省高等学校科学研究计划项目(Z2014014)

作者简介:郭晓丽(1977-),女,河北邯郸人,副教授,博士,主要从事植物分子遗传学和基因工程方面的研究。

E-mail:gxl1gf@163.com

酶 0.5 U,DNA 33 ng,ddH<sub>2</sub>O 补足 10 μL。扩增条件:94 ℃,5 min 变性;(94 ℃,1 min;37 ℃,1 min;72 ℃,1.5 min),45 个循环;72 ℃,5 min。扩增产物在 1.5% 琼脂糖凝胶中进行电泳检测,最后用紫外凝胶成像仪观察、拍照。

#### 1.4 数据处理与分析

记录扩增结果中每个清晰可重复的 DNA 电泳带,若某个扩增片段在 1 个样品中出现,记为“1”,未出现的记为“0”。根据 Nei 和 Li 的方法<sup>[9]</sup>计算不同品种(系)间遗传相似系数( $I$ ), $I = 2Nab/(Na + Nb)$ ,其中  $Na$  是样品  $a$  的条带数, $Nb$  是样品  $b$  的条带数, $Nab$  是样品  $a,b$  共有的条带数。利用 NTSYS 程序按 UPGMA 计算不同小黑麦品种(系)间的遗传距离,进一步建立系统聚类分析树状图。

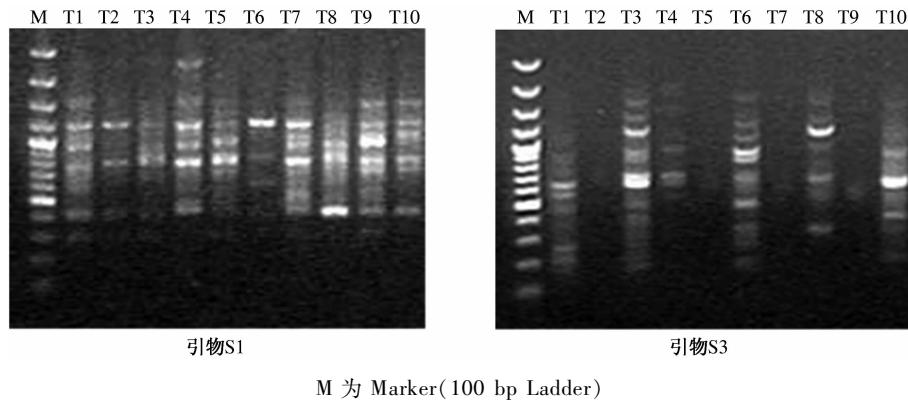


图 1 引物 S1、S3 PCR 扩增结果

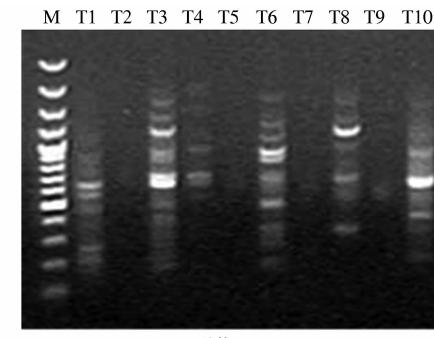
#### 2.2 小黑麦品种(系)的遗传相似性分析

根据 19 个引物对 10 个小黑麦品种(系)的 PCR 扩增结果计算不同品种(系)间的遗传相似系数(表 1),由表 1 发现,所有品种(系)间的相似系数在 0.250 ~ 0.833。其中冀饲 1 号与 NTH1877、

## 2 结果与分析

### 2.1 小黑麦品种(系)PCR 扩增的多态性分析

10 个不同品种(系)小黑麦 PCR 扩增结果表明,S1、S11、S15、S16、S17 对 10 个小黑麦均能扩增出条带,仅引物 S12 未能扩增出条带,其余引物对部分小黑麦品种(系)基因组 DNA 能扩增出条带。19 个引物共扩增出 384 条带,其中 79 条谱带具有多态性,多态性比例为 20.6%,平均扩增条带为 20.3 条,不同引物的扩增带数为 9 ~ 52 条,扩增产物片段大小为 200 ~ 2 500 bp,说明不同品种(系)的小黑麦之间 RAPD 扩增存在一定的多态性。图 1 为引物 S1 和 S3 的扩增结果。



NTH1888 遗传相似系数最小(均为 0.250),说明它们之间遗传距离最大;中新 830 与劲松 49 之间的遗传相似系数最大(0.833),说明 2 个品种之间遗传距离最小。

表 1 不同小黑麦品种(系)的遗传相似系数

品种(系)	NTH1887	NTH1877	冬牧 70	NTH1888	中新 830	NTH2337	中饲 828	冀饲 1 号	劲松 49
NTH1877	0.667	-							
冬牧 70	0.500	0.500	-						
NTH1888	0.500	0.667	0.667	-					
中新 830	0.667	0.333	0.500	0.500	-				
NTH2337	0.750	0.583	0.583	0.583	0.750	-			
中饲 828	0.583	0.417	0.583	0.750	0.750	0.500	-		
冀饲 1 号	0.583	0.250	0.417	0.250	0.750	0.500	0.500	-	
劲松 49	0.667	0.333	0.667	0.500	0.833	0.750	0.583	0.750	-
NTH1048	0.667	0.667	0.500	0.667	0.667	0.583	0.750	0.417	0.500

#### 2.3 小黑麦品种(系)的聚类分析

由图 2 可见,以遗传相似系数 0.580 为阈值,可将这 10 个不同的品种(系)分为 3 类:其中 NTH1887、NTH2337、中新 830、劲松 49 和冀饲 1 号

为第 1 类;NTH1877、NTH1888、中饲 828、NTH1048 为第 2 类;冬牧 70 自成一类。在第 1 类中各品种(系)之间的遗传相似系数在 0.500 ~ 0.833,遗传距离较小,基因变异程度较低;第 2 类中 4 个品种

(系)间的遗传相似系数在 0.417 ~ 0.750, 较第 1 类变异程度有所增加。而冬牧 70 与其他品种(系)间

遗传差异较大, 基因组可能存在较大的变异。

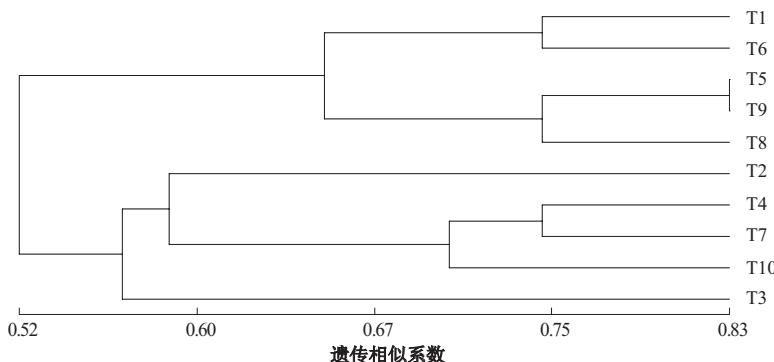


图 2 不同小黑麦品种(系)的聚类分析结果

### 3 结论与讨论

本研究结果表明, 10 个小黑麦品种(系)间遗传相似系数在 0.250 ~ 0.833, 表明不同品种(系)间的相似度差距较大, 同时小黑麦 NTH1877 与中新 830、中饲 828、劲松 49 和冀饲 1 号的遗传相似系数均低于 0.500, 从电泳图中也能发现, 在能扩增出条带的不同引物中, NTH1877 的条带数或条带的分子质量均和其他几个品种(系)有着明显的差异, 说明 NTH1877 与其他几个品种(系)间基因组差异较大, 充分说明了 RAPD 分析方法可广泛用于不同小黑麦之间的遗传相似性分析, 这与其他研究者的观点一致<sup>[10-11]</sup>。研究发现, 冬牧 70 与其他品种(系)遗传差异较大, 独立分为一组, 说明其基因组水平上与其他品种(系)有较大差距, 可在杂交育种中优先考虑作为候选品种, 这与董晓宁等<sup>[10]</sup>的研究结果一致。

前人研究表明, 劲松 49 和中新 830 在苗期耐盐性鉴定中均为盐敏感品种<sup>[12]</sup>, 在全生育期干旱处理中抗旱性均为中等偏弱水平<sup>[13]</sup>。本研究表明, 劲松 49 和中新 830 之间的遗传相似系数最大(0.833), 亲缘关系最近, 说明遗传相似系数较大的品种在不同抗性试验中均有很大的相似性。同时表明在大批量品种的抗逆性鉴定中, 首先可以通过对不同品种采用 RAPD 分析, 确定其亲缘关系后, 再选择其中一些代表性品种进行生理水平的抗逆性分析, 最终通过抗逆性分析结合 RAPD 分析, 初步判断大量品种的抗逆性水平, 为今后大规模地开展不同小黑麦品种抗逆性分析提供新的思路。

### 参考文献:

- [1] Sun Qixin, Ni Zhongfu, Liu Zhiyong, et al. Genetic relationships and diversity among Tibetan wheat, common wheat and European spelt wheat revealed by RAPD markers [J]. Euphytica, 1998, 99: 205-211.
- [2] 贾继增, 张正斌. 小麦 21 条染色体 RFLP 作图位点遗传多样性分析 [J]. 中国科学 (C 编), 2001, 31 (1): 13-21.
- [3] 杜金昆, 姚颖垠, 倪中福, 等. 普通小麦、斯卑尔脱小麦、密穗小麦和轮回选择后代材料 ISSR 分子标记遗传差异研究 [J]. 遗传学报, 2002, 29 (5): 445-452.
- [4] Williams J G K. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers [J]. Nucleic Acids Research, 1990, 18 (22): 6531-6535.
- [5] Welsh J. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers [J]. Nucleic Acids Research, 1990, 18 (24): 7213-7218.
- [6] 赵光磊, 张雅奎, 吴凌娟, 等. 黑龙江省马铃薯主栽品种遗传多样性的 RAPD 分析 [J]. 中国马铃薯, 2014, 28 (2): 65-69.
- [7] 胡宝忠, 刘娣, 胡国富, 等. 中国紫花苜蓿地方品种随机扩增多态性 DNA 的研究 [J]. 植物生态学报, 2000, 24 (6): 697-701.
- [8] 杨天育, 窦全文, 沈裕琥, 等. 应用 RAPD 标记研究不同生态区谷子品种的遗传差异 [J]. 西北植物学报, 2003, 23 (5): 765-770.
- [9] Nei M, Li W H. Mathematical model for studying genetic variation in term of restriction endonucleases [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1979, 76: 5269-5273.
- [10] 董晓宁, 张晓佩, 李文杨. 18 个黑麦草品种(系)的 RAPD 分析 [J]. 福建农业学报, 2009, 24 (3): 266-269.
- [11] 宁婷婷, 张再君, 金诚赞, 等. 用 RAPD 分析多年生黑麦草品种间遗传多样性 [J]. 武汉植物学研究, 2005, 23 (1): 27-31.
- [12] 李杰勤, 王丽华, 詹秋文, 等. 不同黑麦草及其近缘种高羊茅的 RAPD 多态性分析 [J]. 种子, 2007, 26 (11): 21-23.
- [13] 时丽冉, 郭晓丽, 白丽荣, 等. 不同基因型小黑麦苗期耐盐性的评价 [J]. 麦类作物学报, 2010, 30 (3): 500-503.