

以 SRAP 和 EST-SSR 标记分析芝麻种质资源的遗传多样性

张鹏¹ 张海洋^{2,*} 郭旺珍^{1,*} 郑永战² 魏利斌¹ 张天真¹

(¹南京农业大学作物遗传与种质创新国家重点实验室,江苏南京 210095;²河南省农作物新品种重点实验室,河南郑州 450002)

摘要: 利用 SRAP 和 EST-SSR 分子标记对 192 份国内外芝麻种质资源进行遗传多样性分析。结果表明,2 种标记都能很好地揭示品种间遗传关系;在 31 对 SRAP 引物组合扩增的 270 个等位基因中多态性占 62.08%,平均每对引物可以检测 5.45 个;25 对 SSR 引物扩增的 136 个等位基因中 56.28% 呈多态性,平均每对检测引物产生 3.04 个。UPGMA 聚类结果显示,在相似性系数为 0.70 时,192 份材料可被分为 3 个类群;阈值为 0.75 时类群 I 又可分为 6 组,表明芝麻种质遗传多样性比较丰富。我国南部地区芝麻品种遗传多样性(多样性指数 $H_i = 2.572$)较中部($H_i = 2.117$)和北部地区($H_i = 2.114$)丰富。分析结果将有助于更好地保护和利用芝麻种质资源,并为育种工作提供依据。

关键词: 芝麻;SRAP;EST-SSR;遗传多样性

Genetic Diversity Analysis of *Sesamum indicum* L. Germplasm Using SRAP and EST-SSR Markers

ZHANG Peng¹, ZHANG Hai-Yang^{2,*}, GUO Wang-Zhen^{1,*}, ZHENG Yong-Zhan², WEI Li-Bin¹, and ZHANG Tian-Zhen¹

(¹National Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, Jiangsu; ²Henan Key Laboratory of Crop Improvement, Zhengzhou 450002, Henan, China)

Abstract: Sesame (*Sesamum indicum* L.), an important oil-yielding plant, is one of the most ancient crops in tropical and subtropical areas. Despite its nutritional value and importance, the research on sesame has been scarce. In this study genetic relationships among 134 Chinese sesames, 41 alien sesames, and 17 improved cultivars were analysed using SRAP and EST-SSR markers. Large genetic variability was found within all the germplasm collection. A total of 270 SRAP markers were recorded using 31 primer combinations, each primer detected 5.45 loci; While 25 pairs of SSR amplified 136 loci, each primer detected 3.04 loci. Mantel test revealed that the relation of genetic similarity matrix between SRAP and SSR was significant ($r = 0.7864$, $t = 5.2571$, $P < 0.01$) for 192 species, so the UPGMA dendrogram was set up based on the integrated data of SRAP and SSR. The 192 accessions were grouped into three robust clusters, and cluster I consisted of six groups, which was not revealed any association between genotype and geographical origin. Accessions came from one region were distributed throughout the dendrogram. The results revealed by the genetic distance and Shannon-weaver index of sesame germplasm resources from different regions that the genetic diversity of sesame was high, and in our nation the southern was higher than the others. We presumed that the sesame species was introduced to the Southern China firstly, of course it needs other evidence to be substantiated. The cluster result suggests that there was a considerable gene flow among different regions. So when we choose the parents in sesame breeding focusing on the genetic relationships is a good strategy.

Keywords: *Sesamum indicum* L.; SRAP; EST-SSR; Genetic diversity

芝麻 (*Sesamum indicum* L., $2n = 26$) 隶属胡麻科胡麻属,是世界上最古老的油料作物之一^[1],有 2 200 多年栽培历史,广泛分布于 40°N 到 40°S 间的热带和温带地区^[2]。芝麻应用广泛但种质资源研究相对滞后,前人曾借助表型性状^[3,4]和同工酶^[5]对芝麻遗传多样性进行研究,但由于受环境、标记数量等因素影响,进展缓慢。近年来,基于基因组检测的

DNA 分子标记,如 RAPD^[6,8]、ISSR^[9]、AFLP^[10] 等已应用于芝麻遗传变异的研究。利用分子标记对种质资源进行准确、科学的鉴定和评价,可以为资源保存和育种工作提供可靠依据。

SRAP(sequence-related amplified polymorphism)是 Li 等^[11]开发的一种基于 PCR 的新型分子标记,其多态型可能因内含子、启动子和间隔序列在个体间的变

基金项目:河南省杰出人才创新基金项目(0421002200);河南省重大科技攻关项目(0422011300)

作者简介:张鹏(1982-),男,山东泰安人,硕士,主要从事分子遗传育种研究。E-mail: zhangpeng5163@yahoo.com.cn

* 通讯作者(Corresponding author):张海洋(1963-),E-mail: zhy@hnagri.org.cn;郭旺珍(1970-),E-mail: moelab@njau.edu.cn 两个完成单位具有同等贡献。

Received(收稿日期):2007-02-12; Accepted(接受日期):2007-04-23.

异而产生,具有简便、稳定、高通量等特点。传统基因组 SSR 引物开发费时、费力、成本高,目前,大量快速增长的 EST 数据成为 SSR 引物的重要来源^[2],利用 EST 数据能高效、快捷地合成 EST-SSR 引物。EST-SSR 来源于表达基因,将其用于芝麻遗传多样性检测,可直接反映群体中相关基因的多样性。本研究运用 SRAP 和芝麻 EST-SSR 两种新型分子标记分析与评价国内外 192 份芝麻品种的遗传多样性,并在此基础上比较了两种标记在芝麻遗传多样性研究中的有效性。

1 材料与方法

1.1 供试材料

依据取材广泛性和代表性原则,参考中国科学院油料作物研究所主编的《中国芝麻品种资源目录》^[13]、《中国芝麻品种志》^[14]及张秀荣等建立的芝麻核心种质资源库^[15]选取涵盖国内 24 个省的资源 134 份,来自国外 17 个国家的资源 41 份,改良品种 17 份(表 1)。

表 1 参试芝麻品种的名称及来源
Table 1 Names and origins of *S. indicum* L. accessions used in this study

编号 Code	品种名称 Accession	品种来源 Origin	编号 Code	品种名称 Accession	品种来源 Origin	编号 Code	品种名称 Accession	品种来源 Origin
1	毛麻 Maoma	Hubei, China	65	霸王鞭 Bawangbian	Hebei, China	129	又麻 Chama	Guangxi, China
2	迟麻柴 Chiyama	Hubei, China	66	八筒 Batong	Hebei, China	130	佛罗芝麻 Sesame	Guizhou, China
3	楼上楼 Loushanglou	Hubei, China	67	矮杆旱 Aiganzao	Hebei, China	131	石匠芝麻 Sesame	Guizhou, China
4	八方陀 Bafangtuo	Hubei, China	68	单杆黄 Danganguang	Hebei, China	132	花芝麻 Hua芝麻	Guizhou, China
5	一条龙 Yitiaolong	Hubei, China	69	鼠根香 Dugengxing sesame	Hebei, China	133	对角芝麻 Dujiangle sesame	Guizhou, China
6	一叶三 Yiyesan	Hubei, China	70	一窝猴 Yiwohou	Hebei, China	134	岑坎芝麻 Sesame	Guizhou, China
7	本地麻 Yema	Hubei, China	71	霸王鞭 Bawangbian	Hebei, China	135	海芝麻 Hai sesame	Hainan, China
8	野麻黑 Wild black sesame	Hubei, China	72	河北黑芝麻 Black sesame	Hebei, China	136	崖州黑芝麻 Black sesame	Hainan, China
9	猴角八方麻 Huijiaobafangma	Hubei, China	73	香河大八叔 - 1 Badacha-1	Hebei, China	137	号脚黑芝麻 Black sesame	Taiwan, China
10	黑头 Jigutou	Hubei, China	74	温仁黑芝麻 Black sesame	Hebei, China	138	水仁白芝麻 White sesame	Yunnan, China
11	黑芝麻 Black sesame	Hubei, China	75	滦平霸王鞭 Bawangbian	Hebei, China	139	巧家美字 1 号 Qiaojiamazi 1	Yunnan, China
12	蓝利并三 Yebingcan	Hubei, China	76	河北霸王鞭 A Bawangbian	Hebei, China	140	印度 phlo. No.1 India phlo. 1	India
13	建始白芝麻 White sesame	Hubei, China	77	忻北白芝麻 White sesame	Shanxi, China	141	India T-12	India
14	神棒一条鞭 Yitiaobian	Hubei, China	78	大白芝麻 White sesame	Shanxi, China	142	india. sesame-3	India
15	襄阳油籽 Duzi	Hubei, China	79	大白芝麻 White sesame	Shanxi, China	143	india. sesame-6	India
16	大悟高脚麻 Guanyinma	Hubei, China	80	大白芝麻 White sesame	Shanxi, China	144	黑芝麻 Black sesame 1	Vietnam
17	大孝麻黑 Black sesame	Henan, China	81	恒芝麻 Heng sesame	Shanxi, China	145	宁芝 1 号 Ningzhi 1	改良品种 IV
18	兰考麻黑 Black sesame	Henan, China	82	恒芝麻 Heng sesame	Shanxi, China	146	豫芝 1 号 Yuzhi 1	Unknown
19	博爱名优麻 Mingyoutian	Henan, China	83	五子猴科 Wuziyouke	Shanxi, China	147	驻芝 4 号 Zhuzhi 4	Unknown
20	平禹高脚麻 Gaojiaoma	Henan, China	84	桐芝麻 Tong sesame	Shanxi, China	148	麻芝 1 号 Mazi 1	Unknown
21	南阳大八叔 Badacha	Henan, China	85	黑芝麻 Black sesame	Shanxi, China	149	冀芝 1 号 Jishi 1	Unknown
22	荆江芝麻 Red sesame	Henan, China	86	青杆芝麻 Qinggan sesame	Shanxi, China	150	中芝 12 Zhongzhi 12	Unknown
23	青芝麻 Sesame	Henan, China	87	滑县黑芝麻 Black sesame	Shanxi, China	151	中芝 28 Zhongzhi 28	Unknown
24	贾滩嘴口黄 Qiankouhuang	Henan, China	88	五梅芝麻 Wumei sesame	Shanxi, China	152	中芝 1 号 Zhongzhi 1	Unknown
25	孟邑红芝麻 Red sesame	Henan, China	89	武功芝麻 Wugou sesame	Shanxi, China	153	中芝 7 号 Zhongzhi 7	Unknown
26	孟邑芝麻 Mengyisi sesame	Henan, China	90	赖香白芝麻 White sesame	Xinjiang, China	154	晋芝 1 号 Jinzhi 1	Unknown
27	油葵一条鞭 Youliuyitiaobian	Henan, China	91	吐鲁番白芝麻 White sesame	Xinjiang, China	155	郑 D15 Zheng D 15	Unknown
28	油葵芝麻 Youliu sesame	Henan, China	92	日本 301(3) Japan 301	Japan	156	豫芝 4 号 加倍株 Yuzhi 4	Unknown
29	开封黄龙独角虎 Dujiuhu	Henan, China	93	TKV-306 Japan TKV 306	Japan	157	豫芝 5 号 加倍株 Yuzhi 5	Unknown
30	开封县一条鞭 Yitiaobian	Henan, China	94	日本 25(01313) Japan 25	Japan	158	陈芝 3 号 Chenzhi 3	Unknown
31	息县叶一二 Ye'er san	Henan, China	95	Gwangang	Korea	159	豫芝 7 号 Yuzhi 7	Unknown
32	麻山霸王鞭 Bawangbian	Anhui, China	96	Sowon	Korea	160	冀芝 3 号 Jishi 3	Unknown
33	对角芝麻 Dujiangle sesame	Anhui, China	97	青麻 Qingma	Jiangxi, China	161	豫芝 4 号 Yuzhi 4	Unknown
34	黑油芝麻 Heyou sesame	Anhui, China	98	白籽子 Baidizi	Jiangxi, China	162	Turkey sesame	Turkey
35	豫白芝麻 White sesame	Anhui, China	99	白芝麻 White sesame	Jiangxi, China	163	阿联 23-1 UAE 23-1	UAE
36	九头麻 Jiutouying	Anhui, China	100	高城黑芝麻 Black sesame	Jiangxi, China	164	阿联 24-7 UAE 24-7	UAE
37	蒙城分枝芝麻 Fenzhi sesame	Anhui, China	101	对角芝麻 Sijiao sesame	Jiangxi, China	165	阿联 24 - 12 UAE 24-12	UAE
38	应山黄芝麻 Yellow sesame	Anhui, China	102	黄文白芝麻 White sesame	Jiangxi, China	166	高产者 sesame	Burma
39	梁山二糙 Ezao	Anhui, China	103	荆麻黑芝麻 Black sesame	Jiangxi, China	167	耶格竹 Yaghu	Burma
40	凤台芝麻 Fengtai sesame 1	Anhui, China	104	太白红芝麻 Red sesame	Jiangxi, China	168	黑芝麻 B Black sesame	Burma
41	绩溪黄芝麻 2 Jixi sesame 2	Anhui, China	105	江西佛座 Fuozuo	Jiangxi, China	169	魏芝麻 Wu sesame	Jiangxi, China
42	宁国黄芝麻 Yellow sesame	Anhui, China	106	武宁黑芝麻 Black sesame	Jiangxi, China	170	金芝麻 Jin sesame	Henan, China
43	抚顺霸王鞭 Bawangbian	Liaoning, China	107	江苏黑芝麻 Black sesame	Jiangsu, China	171	Proimo	America
44	麻山霸王鞭 Bawangbian	Liaoning, China	108	宁波黑芝麻 Black sesame	Zhejiang, China	172	Gian27	America
45	法库芝麻 Sesame	Liaoning, China	109	白芝麻 White sesame	Heilongjiang, China	173	Giano, 16	America
46	老头麻白 Laotoumazhi	Liaoning, China	110	水城芝麻 Sesame	Hunan, China	174	卡拉达芝 Carinda	America
47	朝新芝麻 Chaoshin sesame	Liaoning, China	111	孤山芝麻 Sesame	Sichuan, China	175	Jerve-(1)	Mexico
48	兴城白芝麻 White sesame	Liaoning, China	112	开县芝麻 Sesame	Sichuan, China	176	Lianq27	Mexico
49	苏塔所 81 Suyuotso81	Russia	113	渠县黑芝麻 Black sesame	Sichuan, China	177	芝麻 Sesame	Venezuela
50	塔什干 122 Tashgan122	Russia	114	新旗白 Xinqibai	Guangdong, China	178	Ethiopia-1	Ethiopia
51	芝麻 Sesame	Finin, China	115	鸡嘴麻 Jizuihe	Guangdong, China	179	Ethiopia-4	Ethiopia
52	天津武清 Wujing sesame	Tianjin, China	116	贵东黑 Guidonghei	Guangdong, China	180	几内亚 K2-1 Guinea K2-1	Guinea
53	北京霸王鞭 Bawangbian	Peking, China	117	安东芝麻 Anle sesame	Guangdong, China	181	K1-2 Guinea K1	Guinea
54	芝麻 Sesame	Shandong, China	118	芦州黑 Luzhouhei	Guangdong, China	182	Oro short-(2)	Mozambique
55	小八枝 Xiaobaicha	Shandong, China	119	企石黑 Qishihai	Guangdong, China	183	Jasbrook	Mozambique
56	白芝麻 White sesame	Shandong, China	120	四破芝麻 Siling sesame	Guangdong, China	184	刚果黑芝麻 Sesame	Congo
57	四破白 Silingbai	Shandong, China	121	黑芝麻 Black sesame	Guangdong, China	185	93d03	Israel
58	黑芝麻 Black sesame	Shandong, China	122	湛江塔芝麻 Ta sesame	Guangdong, China	186	UCR-3	America
59	三叶芹 Sanyeqin	Shandong, China	123	沙湾白芝麻 White sesame	Guangdong, China	187	野芝 3 号 Wild sesame 3	India
60	单杆芝麻 Dangan sesame	Shandong, China	124	白芝麻 White sesame	Guangxi, China	188	97d0A	Israel
61	牛腿芝麻 Niulei sesame	Shandong, China	125	西岭白芝麻 White sesame	Guangxi, China	189	Dunbigg	Korea
62	红芝麻 Red sesame	Shandong, China	126	黑芝麻 Black sesame	Guangxi, China	190	KKID	America
63	大青芝麻 Black sesame	Shandong, China	127	旺扶黑芝麻 Black sesame	Guangxi, China	191	野芝 Wild sesame	Congo
64	麻石苗 Daxinmiao	Shandong, China	128	褐色芝麻 Brown sesame	Guangxi, China	192	野芝 1 号 Wild sesame 1	India

1.2 DNA提取与检测

取田间刚展开的嫩绿叶片,以CTAB法^[16]提取基因组DNA。纯化后的DNA用0.8%琼脂糖凝胶电泳检测,模板DNA工作浓度稀释至50 ng μL^{-1} 。

1.3 SRAP与SSR分析

参照Budak等^[17]、Ferrioli等^[18]、Lin等^[19]发表的SRAP引物序列,由上海英骏生物技术有限公司(Invitrogen Biotechnology Co.)合成,反应体系及程序同文献^[11]。依据NCBI公布的芝麻ESTs数据^[20]进行SSR寻找,并利用Primer 5对其两侧序列进行引物设计获得EST-SSR引物,反应体系和程序以及扩增产物的电泳参考文献^[21]。

1.4 数据统计分析

每对引物的扩增结果至少重复2次,在电泳图谱上清晰且可重复的条带记为“1”,同一位置上无条带记为“0”。计算群体的Shannon-weaver多样性指数 H_i ;利用NTSYS-PC 2.10e软件的SAHN程序和UPGMA方法进行聚类分析并生成聚类图;计算遗传

相似性系数GS及Nei氏遗传距离;对SRAP与SSR的聚类结果进行Mantel^[22]相关性检测。

2 结果与分析

2.1 引物筛选及扩增多态性

用6个不同来源且性状差异大的材料对220对SRAP引物组合和98对EST-SSR引物进行扩增能力和扩增多态性筛选。SRAP引物中,得到87个易于识别、带型清晰易辨的引物组合,其中31个具多态性;SSR引物中,71对可扩增出清晰谱带,其中25对引物具多态性。31对SRAP引物共扩增出270个条带,平均每个引物组合8.71个;得到169个多态性条带,不同引物组合揭示的等位基因2~10个,平均每个引物组合5.45个(见表2)。25对SSR引物共产生136个条带,平均每对引物5.44个;得到76个多态性条带,不同引物揭示的等位基因2~5个,平均每对引物3.04个(表3)。

表2 SRAP引物组合、总扩增带数及多态性带数

Table 2 The number of total and polymorphic fragments amplified by per SRAP primer combination

引物组合 Primer combination	条带总数 Total band	多态性带 Poly. band	引物组合 Primer combination	条带总数 Total band	多态性带 Poly. band	引物组合 Primer combination	条带总数 Total band	多态性带 Poly. band
Me1-Em1	8	6	Me4-Em15	9	5	Me9-Em7	13	9
Me1-Em2	6	3	Me5-Em13	10	7	Me9-Em18	9	7
Me1-Em4	7	5	Me6-Em11	7	4	Me10-Em10	7	6
Me1-Em8	9	5	Me6-Em13	11	8	Me10-Em11	12	9
Me1-Em19	8	2	Me7-Em5	8	4	Me10-Em14	10	5
Me2-Em2	8	5	Me7-Em14	9	4	Me10-Em20	11	6
Me2-Em8	8	5	Me7-Em16	13	10	Me11-Em1	9	5
Me2-Em14	9	6	Me8-Em5	6	4	Me11-Em16	9	6
Me3-Em1	8	4	Me8-Em6	7	2	Me11-Em20	10	6
Me3-Em18	8	6	Me8-Em10	7	5	Total	270	169
Me4-Em3	7	4	Me8-Em19	7	6	Mean	8.71	5.45

Me1 - Me8, Em1 - Em16 参考文献^[17]; Me9 (ME-8), Em17 (EM-3) 和 Em18 (EM-6) 参考文献^[18]; Me10 (me9), Me11 (me12), Em19 (em10) 和 Em20 (em13) 参考文献^[19]。

Me1 - Me8 和 Em1 - Em16 come from reference ^[17]; Me9 (ME-8), Em17 (EM-3) 和 Em18 (EM-6) come from reference ^[18]; Me10 (me9), Me11 (me12), Em19 (em10) 和 Em20 (em13) come from reference ^[19]。

表3 EST-SSR引物、总扩增带数及多态性带数

Table 3 The number of total and polymorphic fragments amplified by per EST-SSR primer

编号 Code	序列 Sequence (5'-3')		条带总数 Total bands	多态性带 Poly. bands
	F:	R:		
1	F: CCT GCC GAC ATC ACT ACA AC	R: CAC GGA AGC AGC TCA TCA T	6	4
2	F: CTC CTC CTC GAA CCT TCC TT	R: TAG CTC TCG CCG TTC TCT TT	5	4
3	F: TGC ACC ACT AGG AAC AGC AG	R: TTT CTC CTC TCA CTC TGC AAT C	4	3
4	F: CCT CCT CAC CCT TCA ACT GA	R: TTT TCA CGC TAT CAT CAA ACC	5	2
5	F: TGC CTC ATC TTT CCA CAA AA	R: TCA CTG ACG GGC CTT TAC TT	4	2
6	F: CAC TCA AAG CAA ACC AGC AA	R: TTG CAT CAG GAG ATT CAA CA	5	4
7	F: CAA TAA CCC CTC AGG TGG AG	R: CAT TAG GCC TTG TCC ATC CT	5	4
8	F: TTA CTT GGA CCA CCA CAA AAA	R: AGG CTG GAG TCC ATT GAG AA	5	2
9	F: AAC CCC ACT AGG CGA AGA AT	R: CCC AGC CAA CAA ACA AGA AA	8	5
10	F: GAA TAG CCT TCA GGC TCC AG	R: ACT TGA CAG CCA TGG GAA AG	4	2
11	F: ATT CCC ACA TCT CAC ATC CT	R: TGG ATT GCA AGA CAA AAT GC	7	3
12	F: CAA ATG CAC CGT GAA TCA AC	R: TAT CGG CGA TTT CTC CAA AG	4	2
13	F: CTG TCG CCT TTG CTT TTA CC	R: TTC TGT GCC ACT CGT AGT CG	5	2

续表

编号 Code	序列 Sequence (5'-3')	条带总数 Total bands	多态性带 Poly. bands
14	F: CTG GCA TGC ATA GTC AGT CG	4	2
15	F: GGG GTG GGG ACT TGT ACT TA	6	3
16	F: GTT CAT GGC TTG GAG CCT TA	6	4
17	F: AAG GAT TGG CAG GAT CAT TG	5	2
18	F: AAT GCT GCG AAC AGC TTC TT	7	3
19	F: TCC CTT ATT TGC AAG CAA CC	7	4
20	F: ATT TGG GAG CCG ACT CTT TT	6	4
21	F: AAT TCG GGC TCT TGA ACA CA	6	3
22	F: CAG GAA ATC AGT ACA CTG GAA	3	2
23	F: ATG GCG GTA TCA GTT TCG AC	7	4
24	F: GGG GCA CAG ACT GGA TGT AG	5	3
25	F: CAG CCC CTT CTT CTT CCT TC	7	3
	R: ACG GAG CCT GTA TCA TCA GC	4	2
	R: CTT TGA TGG TGG CAA TTG TG	6	3
	R: TCA CAC AAT TAC ACA CAC ACA	6	4
	R: TCG CCA CCT ACT TGT CAT TG	5	2
	R: ACA GCG TAA GCG TTC TGC TG	7	3
	R: AGG ACA AGA TCC ACG GTG AC	7	4
	R: CCT TCG TTG ATC CCT TCT CC	6	4
	R: AGC AGC CTT TGC TTG AGG AT	6	3
	R: AAA CGA TCG ACG ACT GTT CA	3	2
	R: TTT CCT GCC AAC TTT TCT CG	7	4
	R: GGA CCA TGT AAT CCC AGC AC	5	3
	R: CAG CTG GCA GAT CAG TAT GG	7	3
	Total	136	76
	Mean	5.44	3.04

2.2 聚类分析

对基于 SRAP 和 SSR 标记的遗传相似性矩阵进行 Mantel 相关性检测, 两者存在较高相关性 ($r = 0.7864$, $t = 3.2571$, $P < 0.01$), 因此将两种标记进行合并, 采用 UPCMA 法聚类分析。结果(图 1)显示, GS 为 0.69 时, 可以将所有材料分为 3 个类群。类群 I, 包括 184 份来源各异的材料; 类群 II, 5 份材料, 即来自南亚的 143、166 和 187(材料名称见表 1, 下同), 来自非洲的 180 和来自安徽的 34, 平均 GS 为 0.724, 都表现为分枝株型和有色种皮; 类群 III, 3 份野生材料, 即非洲刚果的 184 和 192、印度的 191, 平均 GS 为 0.911, 植株矮小、强分枝、种皮黑色。

类群 I 在阈值为 0.75 时可分为 6 组。第 1 组 129 份材料可分为 3 个亚组, 亚组 A 19 份材料, 平均 GS 为 0.853, 其中来自湖北的 16 和 153, GS 达 0.908, 154(山西)和 170(江西)遗传差异最大, GS 为 0.796, 5 个改良品种聚到一起, 表明选育品种间遗传差异较小; 亚组 B 87 份材料, 平均 GS 为 0.837, 分为 a、b 两组, a 组 20 份材料, 主要来自华南、华中地区, 平均 GS 为 0.8024; b 组 67 份材料来源于 17 个省区和 6 个国家, 平均 GS 较高, 为 0.897, 50(原苏联)与 175(墨西哥)间遗传差异最大, 为 0.789。韩国和国内 11 个省区的 23 份材料聚在 C 亚组, 平均 GS 是 0.862, 其中 70(河北)与 87(陕西)间的遗传距离最小, GS 高达 0.961, 44(辽宁)却同 123(广东)聚在一

起, GS 为 0.866。第 2 组包括 13 份材料, 平均 GS 为 0.844, 40(安徽)与 64(山东)遗传距离较小, GS 为 0.923, 43(辽宁)与 112(四川)遗传差异较大, GS 为 0.754, 其中 31(河南)与 112(四川)单独聚为一枝。第 3 组共 4 份材料, 来自安徽的 38 与阿联的 165 聚为一枝, GS 是 0.843, 来自缅甸的 168 和来自几内亚的 181 聚为一枝, GS 为 0.837, 该组材料同其他组间遗传关系较远。第 4 组包括 30 份材料, 来自 5 个国家和 12 个省区, GS 为 0.824, 135(海南)与 137(台湾)间 GS 最高, 为 0.925, 119(广东)与 54(山东)间差异较大, GS 为 0.758, 其中来自美国和韩国的 4 个国外品种聚在一起。第 5 组 4 份材料, 其中 141(印度)和 188(以色列)聚在一起, 而 152(改良品种)和 179(埃塞俄比亚)形成一枝。第 6 组 4 份材料, 平均 GS 为 0.828, 亚洲的 162(土耳其)和 167(缅甸)聚在一起; 美洲 173(美国)和 176(墨西哥)聚在一起。

2.3 不同区域芝麻品种遗传差异分析

依据纬度差异将国内 134 份品种分为 3 部分, 北部品种(40°N ~ 50°N)来自 6 个省市, 共 16 份; 中部品种(30°N ~ 40°N)来自 9 个省, 共 77 份; 南部品种(18°N ~ 30°N)来自 11 个省, 共 41 份。表 4 显示, 国外品种遗传多样性最高; 国内南部地区品种遗传多样性较丰富($H_i = 2.572$)高于中部和北部, 改良品种最低($H_i = 1.641$)。

表 4 不同区域品种遗传多样性比较
Table 4 Comparison of genetic diversity from different regions

遗传多样性 Genetic diversity	北部品种 Northern	中部品种 Central	南部品种 Southern	国外品种 Overseas	改良品种 Improved
品种数 Accession number	16	77	41	41	17
多态性条带百分率 Percentage of polymorphic bands (%)	60.75	53.28	71.14	82.93	50.36
最小遗传距离 Minimum genetic distance	0.0372	0.0464	0.0384	0.0726	0.0647
最大遗传距离 Maximum genetic distance	0.2163	0.3052	0.2547	0.5313	0.2011
平均遗传距离 Average genetic distance	0.1713	0.1709	0.1769	0.2287	0.1638
多样性指数 Shannon-weaver information index	2.114	2.117	2.572	3.058	1.641

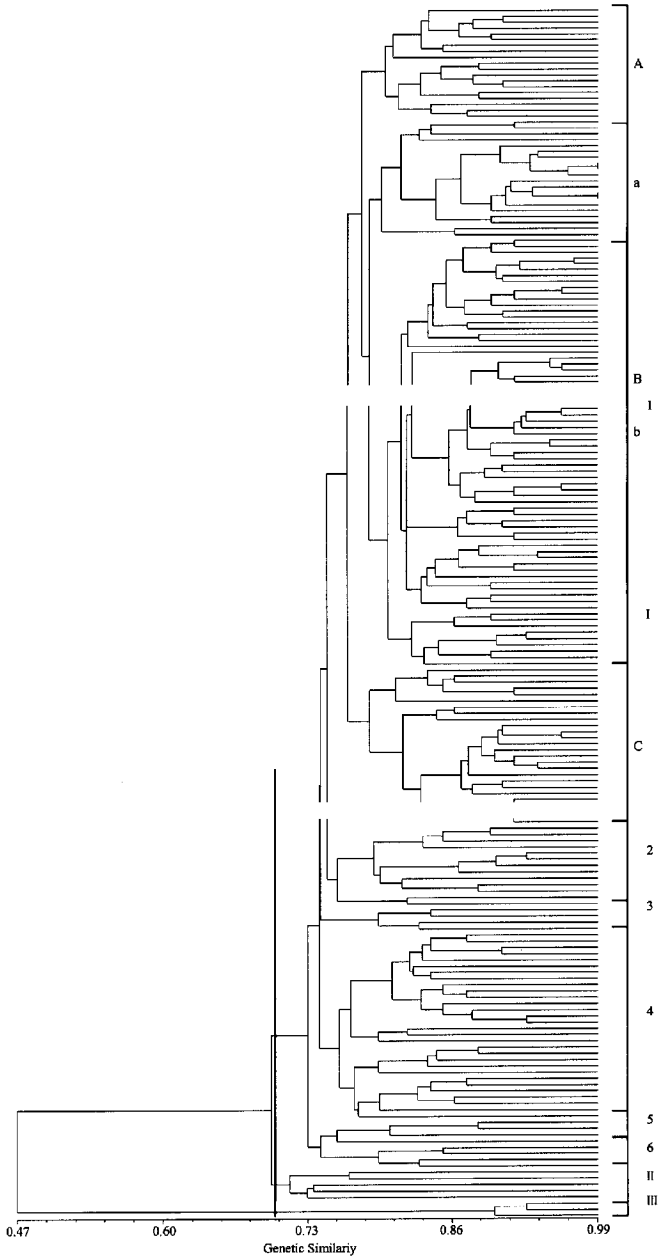


图1 192份材料的聚类结果(编号同表1)
Fig.1 The cluster result of 192 sesame materials (the code is same as table 1)

3 讨论

有效利用和保护遗传资源的关键环节是对所收集资源中可能存在的遗传变异进行评估。EST-SSR 可以对基因内部变异进行直接评价^[2], SRAP 结合了 RAPD 和 AFLP 的优点, 已经被广泛应用于甘蓝^[11]、野牛草^[17]、西葫芦^[18]和棉花^[24]等研究中; Ahmad 等^[25]用 SSR 和 SRAP 分析桃的遗传多样性, 二者都能将遗传关系很近的品种区分开来。我们认为, 两种标记的扩增物都分布在基因组的转录区, 该区域受选择压力较大, 结构相对保守, 所以二者揭示基因型遗传差异的结果相似。本试验 SRAP 引物的扩增条带数及多态性位点数都比 SSR 引物高, 说明 SRAP 在揭示不同品种遗传多样性方面其性能要优于 SSR。SRAP 和 SSR 合并后的相似性系数矩阵分别与两种标记结果进行 Mantel 比较, 相关系数分别为 0.9173 ($P < 0.01$) 和 0.8759 ($P < 0.01$), 两两间匹配良好。因此认为, 结合两种标记会产生更合理的分类结果。

不同物种的基因组 DNA 多态性表现不同, 野牛草为 95%^[17], 西葫芦为 73%^[18], 桃为 23%^[24]。在芝麻资源遗传多样性研究中, Shiro 等用同工酶研究发现仅 IDH 一种酶有多态性^[5]; Gulhan 等用 RAPD 研究多态性为 78%^[8]; Kim 等^[9] ISSR 的研究结果是 33%; Hernán 等用 AFLP 研究结果为 93%^[10]。本试验得到芝麻基因组 DNA 多态性为 60%。RAPD 使用随机引物, 产物中非特异性片段较多; AFLP 稳定性较好, 但凝胶检测到的片段多达 50~100 条, 易产生假阳性; 同工酶多态性低, 已逐渐为分子标记替代; ISSR 得到的多态性低, 其作者指出是凝胶分辨率低及显影过程出现问题所致。本试验中 EST-SSR 引物扩增条带较多的原因估计是, 目前已获得的芝麻 EST 数量较少, 来源单一; 部分基因存在多个拷贝; 试验材料为农家品种, 可能有杂合基因存在。

本试验中, 品种间遗传多样性低于前人研究结果^[7-10], 原因可能是前人选取材料多在 70 份以内且来自不同的洲或国家, 而我们选取了 192 份材料且 70% 来自国内, 所以材料间差异相对较小。国内品种的聚类结果与我国芝麻生态分区间没有明显的相互关系, 来自不同生态区域和省份的芝麻品种相互交错聚为一类, 表明遗传关系跟地理远缘之间没有必然的联系, 这与国内外许多研究结果相一致^[7-8, 10], 可能是地区间引种导致基因交流频繁引起

的。76.5% 的改良品种分布在 A、B 亚组中, A 亚组以华北和黄淮地区品种为主, B 亚组以黄淮、江淮和华南地区品种为主, 说明我国芝麻品种选育主要在上述地区进行, 这同我国芝麻主产区分布相一致, 表明栽培芝麻遗传基础相对狭窄。我国南部地区品种遗传多样性最丰富, 我们推测芝麻首先在我国南部的云南、贵州、广西、广东等地区引种种植, 这里一年两熟或三熟的耕作方式和不同季节气候环境的巨大差异为丰富芝麻的遗传多样性提供了条件; 随着芝麻种植业的发展, 生活习性不同、形态特征各异的品种逐渐向北传播, 形成适应不同生态环境和耕作方式的芝麻品种。

4 结论

我国芝麻种质资源遗传多样性比较丰富; 南部地区芝麻品种遗传多样性比中部和北部地区丰富; 但品种间地理远缘与遗传差异没有明显关系。在品种选育时, 宜选用不同类群间品种作亲本而不必过分考虑地理来源, 并且不断引进和创新优异的种质资源以扩大芝麻品种的遗传基础。

References

- [1] Bedigian D, Harlan J. Evidence for cultivation on sesame in the ancient world. *Econom Bot*, 1986, 40: 137-154
- [2] Ashri A. Sesame breeding. *Plant Breed Rev*, 1998, 16: 179-228
- [3] Shen J-X(沈金雄), Guo Q-Y(郭庆元), Zhang X-R(张秀荣), Zhao Y-Z(赵应忠), Feng X-Y(冯祥运), Chen H-X(陈和兴), Wu X-M(伍晓明). Cluster analysis of sesame germplasm collection in China. *Huazhong Agric Univ* (华中农业大学学报), 1995, 14(6): 532-536 (in Chinese with English abstract)
- [4] Bisht I S, Mahajan R K, Loknathan T R, Agrawal R C. Diversity in Indian sesame collection and stratification of germplasm accessions in different diversity groups. *Genet Resour Crop Evol*, 1998, 45: 325-335
- [5] Shiro I, Teruhisa U. Genetic variations of isozymes in cultivated sesame (*Sesamum indicum* L.). *Euphytica*, 1997, 93: 375-377
- [6] Zhang X-R(张秀荣), Chen K-R(陈坤荣), Peng J(彭俊), Xu Z-Y(许泽永). The RAPD analysis and genetic diversity of selected sesame germplasm. *Chin J Oil Crop Sci* (中国油料作物学报), 2004, 26(4): 34-37 (in Chinese with English abstract)
- [7] Venkataramana B K, Prashant B P, Suman L. Study of genetic diversity in Indian and exotic sesame (*Sesamum indicum* L.) germplasm using random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. *Euphytica*, 1999, 110: 21-33
- [8] Gulhan E A, Melih T, Kenan T. Analysis of genetic diversity in Turkish sesame (*Sesamum indicum* L.) populations using RAPD markers. *Genet Resour Crop Evol*, 2004, 51: 599-607
- [9] Kim D H, Zur C, Danin P Y, Lee S W, Shim K B, Kang C W, Kashi Y. Genetic relationships of sesame germplasm collection as revealed by inter-simple sequence repeats. *Plant Breed*, 2002, 121: 259-262
- [10] Hernán E L, Petr K. Genetic relationship and diversity in a sesame (*Sesamum indicum* L.) germplasm collection using amplified fragment length polymorphism (AFLP). *BMC Genet*, 2006, 7: 10
- [11] Li G, Quira C F. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP) a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to

- mapping and gene tagging in *Brassica*. *Theor Appl Genet*, 2001, 103: 455-461
- [12] Kota R, Varshney R K, Thiel T, Dehmer K J, Graner A. Generation and comparison of EST-derived SSRs and SNPs in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Hereditas*, 2001, 135: 145-151
- [13] Oil Crop Research Institute of CAAS (中国农业科学院油料作物研究所). The Catalogue of Varietal Germplasm Resources of Sesame in China (中国芝麻品种资源目录). Vol. 3. Beijing: China Agricultural Sciencetech Press, 1997 (in Chinese)
- [14] Chen C-Y (陈翠云), Feng X-Y (冯祥运), Ding F-Y (丁法元). Sesame Germplasm Resources in China (中国芝麻品种志). Beijing: Agricultural Press, 1990. pp 5-33 (in Chinese)
- [15] Zhang X R, Zhao Y Z, Cheng Y, Feng X Y, Guo Q Y, Zhou M D, Toby H. Establishment of sesame germplasm core collection in China. *Genet Resour Crop Evol*, 2000, 47: 273-279
- [16] Paterson A H, Brubaker C, Wendel J F. A rapid method for extraction of cotton (*Gossypium* spp.) genomic DNA suitable for RFLP or PCR analysis. *Plant Mol Biol Rep*, 1993, 11: 122-127
- [17] Budak H, Shearman R C, Parmaksiz I, Gaussoin R E, Riordan T P, Dweikat I. Molecular characterization of buffalograss germplasm using sequence-related amplified polymorphism markers. *Theor Appl Genet*, 2004, 108: 328-334
- [18] Ferriol M, Pioó B, Nuez F. Genetic diversity of a germplasm collection of cucurbita pepo using SRAP and AFLP markers. *Theor Appl Genet*, 2003, 107: 271-282
- [19] Lin Z X, He D H, Zhang X L, Nie Y C, Guo X P, Feng C D, Stewart J M. Linkage map construction and mapping QTL for cotton fiber quality using SRAP, SSR and RAPD. *Plant Breed*, 2005, 124 (2): 180-187
- [20] Suh M C, Kim M J, Hur C G, Bae J M, Park Y I, Chung C H, Kang C W, Ohlrogge J B. Comparative analysis of expressed sequence tags between *Sesamum indicum* and *Arabidopsis thaliana* developing seeds. *Plant Mol Biol*, 2003, 52: 1107-1123
- [21] Zhang J (张军), Wu Y-T (武耀廷), Guo W-Z (郭旺珍), Zhang T-Z (张天真). Fast screening of microsatellite markers in cotton with PAGE/silver staining. *Cotton Sci* (棉花学报), 2000, 12(5): 267-269 (in Chinese with English abstract)
- [22] Lapointe F J, Legendre P. Statistical significance of the matrix correlation coefficient for comparing independent phylogenetic trees. *Syst Biol*, 1992, 41(3): 378-384
- [23] Cho Y G, Ishii T, Tem S, Chen X, Lipovich L, McCouch S R, Park W D, Ayres N, Cartinhour S. Diversity of microsatellite derived from genomic libraries and GenBank sequences - in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor Appl Genet*, 2000, 100: 713-722
- [24] Lin Z-X (林志旭), Zhang X-L (张献龙), Nie Y-C (聂以春), He D-H (贺道华), Wu M-Q (吴茂清). Construction of cotton genetic linkage maps with sequence related amplified polymorphism. *Chin Sci Bull* (科学通报), 2003, 48: 1676-1679 (in Chinese with English abstract)
- [25] Ahmad R, Potter D, Southwick S M. Genotyping of peach and nectarine cultivars with SSR and SRAP molecular marker. *J Am Soc Hort Sci*, 2004, 129 (2): 204-210

欢迎订阅 欢迎投稿 欢迎刊登广告——《作物杂志》

《作物杂志》是中国作物学会和中国农业科学院作物科学研究所主办的农作物实用性技术类期刊,1985年创刊。本刊信息量大、时效性强;发行量大、影响面广。曾荣获第三届/第四届/第五届全国优秀农业科技期刊奖、中国科协优秀科技期刊奖。连续入选全国中文核心期刊、入选中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)和中国农业核心期刊,2005年进入国家精品期刊库。

办刊宗旨:为农业生产服务。刊登具有创新性、实用性强的有关农作物的文章;快速报道农业新技术、新成果;关注三农问题;积极配合国家农业政策发表具有导向作用的宏观指导性的文章。

读者对象:种植业专业户、农业经营人员、农业技术推广工作者,蔬菜、林果基地、农业示范园区、农场、农垦系统有关人员,各级农业领导、农业院校师生及广大农民朋友。

《作物杂志》为双月刊,大16开本,110页/期。定价6元/期,全年36元,全国各地邮局均可订阅。漏订者请寄款至编辑部,地址:北京中关村南大街12号中国农科院作物所内,收款人:作物杂志编辑部,邮编:100081。电话:(010)68918790

E-mail: zwzz@chinajournal.net.cn; zwzz304@mail.caas.net.cn