

六倍体小麦 (AABBDD) 及其近缘种属野生二粒小麦和粗山羊草叶绿体 SSR 遗传差异研究

杨新泉, 宋 星, 杜金昆, 倪中福, 孙其信

(中国农业大学植物遗传育种系, 北京 100094)

摘要: 【目的】系统分析不同小麦种的细胞质基因组遗传差异, 用以发掘和利用新的小麦种质资源。【方法】采用 24 个叶绿体基因组微卫星分子标记, 对普通小麦 (*Triticum aestivum* L.)、斯卑尔脱小麦 (*Triticum spelta* L.)、密穗小麦 (*Triticum compactum* Host.) 和中国特有小麦 (新疆稻麦 *T. petropavlovskyi*、西藏半野生小麦 *T. tibetanum* 和云南铁壳麦 *T. yunnanense*) 等不同类型六倍体小麦 (AABBDD) 叶绿体基因组的遗传多样性进行比较分析。【结果】与普通小麦相比, 斯卑尔脱小麦和西藏半野生小麦等群体内的叶绿体遗传变异更丰富, 可以作为普通小麦新的细胞质遗传变异来源; 与粗山羊草相比, 野生二粒小麦与六倍体小麦间存在更近的亲缘关系, 这与前人关于二粒小麦是六倍体细胞质供体的研究结果相印证; 研究还发现, 新疆稻麦与普通小麦在叶绿体基因组上具有很近的亲缘关系, 为新疆稻麦是由波兰小麦与普通小麦杂交再由普通小麦回交后产生的假说提供了分子水平上的证据。【结论】斯卑尔脱小麦和西藏半野生小麦等群体内的叶绿体遗传变异比普通小麦更丰富; 野生二粒小麦与六倍体小麦以及新疆稻麦与普通小麦之间具有很近的亲缘关系, 为不同小麦种的遗传差异提供依据。

关键词: 叶绿体基因组; SSR; 小麦; 遗传差异

Genetic Diversity Revealed by Chloroplast Genomic Microsatellite Markers in Hexaploid Wheat, Wild Emmer and *Aegilops tauschii*

YANG Xin-quan, SONG Xing, DU Jin-kun, NI Zhong-fu, SUN Qi-xin

(Department of Plant Genetics and Breeding, China Agricultural University, Beijing 100094)

Abstract: 【Objective】The goal of this study is to analyze the genetic diversity of chloroplast genome among hexaploid wheat populations and their relatives. 【Method】21 SSR markers derived from chloroplast genome of common wheat, are used to measure the genetic diversity among hexaploid wheat populations and their relatives, which include 20 common wheat (*Triticum aestivum* L.), 21 spelt wheat (*Triticum spelta* L.), 20 club wheat (*Triticum compactum* Host.), 10 wild emmer (*Triticum dicoccoides*), 16 Chinese wheat landraces (9 *T. tibetanum*, 3 *T. yunnanense* and 4 *T. petropavlovskyi*) and 9 *Aegilops tauschii*. 【Result】Compared with common wheat, the genetic variation base of chloroplast genome in spelt and *T. tibetanum* were more abundant, which can be used to broaden the genetic basis of common wheat. Cluster analysis exhibited that wild emmer had a closer consanguine relationship to hexaploid wheat, as compared to *Aegilops tauschii*. In addition, it was found that there was a closer genetic relationship in chloroplast genome of common wheat and *T. petropavlovskyi*, which indicated that *T. petropavlovskyi* probably derived from the backcross between common wheat and Polish wheat. 【Conclusion】The genetic variation of chloroplast genome in spelt and *T. tibetanum* was more abundant than that in common wheat and there were closer genetic relationships between common wheat and *T. petropavlovskyi* and between hexaploid wheat and emmer.

Key words: Chloroplast genome; SSR; Wheat; Genetic diversity

收稿日期: 2006-06-23; 接受日期: 2006-11-01

基金项目: 国家重点基础研究发展规划项目 (2001CB1088) 和国家“863”项目 (2001AA241042、2002AA207004) 资助

作者简介: 杨新泉 (1972-), 男, 湖北枣阳人, 副研究员, 博士, 研究方向为作物遗传育种学。Tel: 010-62326918; E-mail: yangxq@nsc.gov.cn. 通讯作者孙其信 (1962-), 男, 甘肃人, 教授, 研究方向为小麦遗传育种学。Tel: 010-62733426; E-mail: qxsun62@public.bta.net.cn

0 引言

【研究意义】真核植物细胞中存在 2 个相对独立的遗传系统: 细胞核遗传系统、细胞质遗传系统 (叶绿体系统与线粒体系统)。细胞质基因组具有自主或半自主的遗传性质, 在决定遗传性状时, 细胞质不但可以影响生物遗传的表现, 并且可以改良细胞核的遗传性。另外, 由于细胞质系统为母体遗传, 与核基因组相比, 在进化过程中比较保守, 适合于进行物种的遗传演化研究。【前人研究进展】早期开展细胞质系统的遗传差异研究主要采用 RFLP 技术, 由于提取细胞质系统的 DNA 和 RFLP 技术程序复杂, 技术难度高, 限制了这方面研究的开展。普通小麦中国春的叶绿体基因组测序已经完成, Ishii 等^[1]从中鉴别出 24 个叶绿体微卫星位点, 每个位点中都有十个以上的单核苷酸重复。针对每个微卫星位点, 分别设计了一对引物, 利用这些引物可以得到大小 100~200 bp 的特异 PCR 扩增产物。这些 SSR 引物的设计和开发已经成为探讨小麦叶绿体基因组遗传多样性及其演化的重要手段。目前, 利用上述小麦细胞质为微卫星 SSR 引物, 对小麦及其近缘种属的细胞质遗传差异已有研究报道。Ishii 等^[1]研究发现, 二粒小麦与普通小麦被划分到两大不同的大组中, 但每个组都有从四倍体到六倍体的一系列的野生种和栽培种。Mizumoto 等^[2]分析表明, 乌拉尔图小麦明显不同于单芒野生一粒小麦和栽培一粒小麦。野生一粒小麦核基因组变异大与两个山羊草种。【本研究的切入点】在小麦族中, 与普通小麦 (*T. aestivum* L.) 具有相同染色体组 (AABBDD) 的物种有 5 个, 包括斯卑尔脱小麦 (*T. spelta*)、马卡小麦 (*T. macha*)、瓦维洛夫小麦 (*T. vavilovi*)、印度圆粒小麦 (*T. sphaerococcum*) 和密穗小麦 (*T. compactum*)。在中国, 也发现一些具有 AABBDD 染色体组的特有小麦类型, 如新疆稻麦 (*T. petropavlovskyi*), 西藏半野生小麦 (*T. tibetanum*) 和云南铁壳麦 (*T. yunnanense*), 以上类型是普通小麦重要的初级基因库, 其中含有许多优异基因, 而且向普通小麦转育基因容易。因此, 应优先发掘和利用这些种质资源, 其中遗传多样性的评价是其基础。迄今为止, 对普通小麦、斯卑尔脱小麦、密穗小麦和中国特有小麦 (新疆稻麦、西藏半野生小麦和云南铁壳麦) 在核基因组上的遗传差异已有报道, 但对细胞质基因组的遗传差异缺乏系统分析^[3]。【拟解决的关键问题】笔者探讨了上述不同类型六倍体小麦 (AABBDD) 的

叶绿体基因组遗传多样性, 并与野生二粒小麦和粗山羊草进行比较分析, 以期对六倍体小麦 (AABBDD) 的遗传变异有更全面系统的了解, 并为深入探讨其起源和演化提供资料。

1 材料与方法

1.1 供试材料

96 份供试材料包括普通小麦 (*Triticum aestivum* L.) 20 份, 斯卑尔脱小麦 (*Triticum spelta* L.) 21 份、密穗小麦 (*Triticum compactum* Host.) 20 份、野生二粒小麦 (*Triticum dicoccoides*) 10 份、中国特有小麦 (包括西藏半野生小麦 (*T. tibetanum*) 9 份、云南铁壳麦 (*T. yunnanense*) 3 份和新疆稻麦 (*T. petropavlovskyi*) 4 份)、粗山羊草 (*Aegilops tauschii*) 9 份 (表 1)。

1.2 DNA 提取

供试材料分别各取约 5 g 幼苗在含有 15 ml 预热提取缓冲液 (100 mmol·L⁻¹ Tris-HCl, 50 mmol·L⁻¹ EDTA-Na₂, 100 mmol·L⁻¹ NaCl, 1.0% SDS) 的研钵中磨碎后转至 5 ml 的离心管中, 65℃ 水浴中温育 20 min, 期间要颠倒几次, 加入 5 ml KAC 冰浴 20 min, 用 10 ml 氯仿-异戊醇 (24 : 1) 抽提 10 min, 在 4 000 r/min 离心 10 min, 取上清液加等体积氯仿-异戊醇重复上述抽提过程, 上清液以 2 倍体积预冷无水乙醇沉淀 DNA, 以牙签挑出, 70% 的乙醇洗 2~3 次, 无离子水稀释。

1.3 SSR 分析

微卫星引物: 实验所用 21 个叶绿体 SSR 标记为 Ishii 等开发的 Wct 引物 (表 2)^[1]。

扩增程序: 扩增前在 94℃ 初始变性 3 min, PCR 扩增为 45 个循环, 每循环在 94℃ 变性 1 min, 55℃ 退火 1 min, 72℃ 延伸 2 min, 最后 1 次循环结束后, 72℃ 延伸 10 min。

1.4 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳

扩增 DNA 变性: 在扩增产物中加入 5 μl 上样缓冲液 (98% 甲酰胺; 10 mmol·L⁻¹ EDTA, pH 8.0; 0.025% 溴酚兰; 0.025% 二甲苯青), 95℃ 变性 5 min, 立即置于冰上待用。凝胶电泳: 采用 5% (W/V) 变性聚丙烯酰胺凝胶 (Acr : Bis=19 : 1; 7 mol·L⁻¹ 尿素; 溶于 1×TBE), 电极缓冲液为 1×TBE。恒定功率 85 W, 预电泳约 30 min, 加入扩增产物 3~7 μl, 电泳约 40~50 min。制胶前先将 2 块玻板分别进行硅烷化和剥离硅烷化处理。

1.5 银染程序

将凝胶用 10% 的醋酸固定 30 min 后用蒸馏水漂洗 3 次, 每次 5 min, 置染色液(每升含 1 g 硝酸银和 1.5 ml 37% 甲醛)中染色 30 min, 再用蒸馏水漂洗数秒(至

多 20 s) 并迅速显影(显影液每升含 30 g 碳酸钠、200 μ l 10 mg·ml⁻¹ 的硫代硫酸钠和 1.5 ml 37% 甲醛, 预冷至 12℃), 最后用 10% 的醋酸固定。

表 1 96 份供试材料的名称及其来源

Table 1 The names and origins of 96 accessions

编号 No.	品种 Accessions	类型 Type	来源 Origin	编号 No.	品种 Accessions	类型 Type	来源 Origin	编号 No.	品种 Accessions	类型 Type	来源 Origin
1	Fa0428	I	法国 France	33	Jing-Y125	III	中国 China	65	Temple	V	美国 USA
2	Wichita	I	美国 USA	34	Jing-Ae37	III	中国 China	66	90455ARS	V	美国 USA
3	Hope	I	美国 USA	35	Jing-Y127	III	中国 China	67	Rely	V	美国 USA
4	Cheyenne	I	美国 USA	36	Jing-Y217	III	中国 China	68	Big Head	V	美国 USA
5	Portola	I	波兰 Poland	37	Jing-Y202	III	中国 China	69	Line F	V	美国 USA
6	99W307	I	墨西哥 Mexico	38	Jing-Y207	III	中国 China	70	Tres	V	美国 USA
7	CS	I	中国 China	39	Jing-Ae40	III	中国 China	71	Rouge De La Gruyer	V	美国 USA
8	karl	I	美国 USA	40	okerkulmer	IV	瑞士 Switzerland	72	American Club	V	美国 USA
9	Lamar	I	美国 USA	41	Altgold	IV	瑞士 Switzerland	73	Konia	V	美国 USA
10	99w301	I	墨西哥 Mexico	42	Balmegg	IV	瑞士 Switzerland	74	Gluclub	V	美国 USA
11	TAM107	I	美国 USA	43	Oslro	IV	瑞士 Switzerland	75	Elmar	V	美国 USA
12	99w268	I	墨西哥 Mexico	44	Di4	IV	德国 Germany	76	Omar	V	美国 USA
13	Yecora	I	波兰 Poland	45	Di7	IV	德国 Germany	77	Faro	V	美国 USA
14	Fa0403	I	法国 France	46	1994WSC	IV	加拿大 Canada	78	Rulo	V	美国 USA
15	3214	I	中国 China	47	PI348682	IV	加拿大 Canada	79	Paha	V	美国 USA
16	8201-69	I	中国 China	48	PI295062	IV	加拿大 Canada	80	Tyee	V	美国 USA
17	NPPF	I	中国 China	49	PI348501	IV	加拿大 Canada	81	Zang1817	VI	中国 China
18	309-1	I	中国 China	50	PI348494	IV	加拿大 Canada	82	Zang1807	VI	中国 China
19	Mian2-285B	I	中国 China	51	Di1	IV	德国 Germany	83	Zang1882	VI	中国 China
20	Jing411	I	中国 China	52	97Meisi-6	IV	美国 USA	84	Zang1803	VI	中国 China
21	TZ3	II	以色列 Israel	53	Ostar	IV	瑞士 Switzerland	85	Zang1881	VI	中国 China
22	TZ26	II	以色列 Israel	54	Di8	IV	德国 Germany	86	Zang1849	VI	中国 China
23	TZ33	II	以色列 Israel	55	Di9	IV	德国 Germany	87	Zang1941	VI	中国 China
24	TZ41	II	以色列 Israel	56	Di13	IV	德国 Germany	88	Zang1944	VI	中国 China
25	H99-129	II	以色列 Israel	57	Di10	IV	德国 Germany	89	Zang1863	VI	中国 China
26	TZ109	II	以色列 Israel	58	PI294576	IV	加拿大 Canada	90	Yunnan17	VIII	中国 China
27	TZ110	II	以色列 Israel	59	Sertel	IV	瑞士 Switzerland	91	Yunnan18	VIII	中国 China
28	TZ120	II	以色列 Israel	60	Hubel	IV	瑞士 Switzerland	92	Yunnan15	VIII	中国 China
29	TZ133	II	以色列 Israel	61	Malgas	V	美国 USA	93	Xinjiang2	IX	中国 China
30	TZ215	II	以色列 Israel	62	W2691	V	美国 USA	94	Xinjiang4	IX	中国 China
31	Jing-Y121	III	中国 China	63	Teremok	V	美国 USA	95	Xinjiang5	IX	中国 China
32	Jing-Y122	III	中国 China	64	C028	V	美国 USA	96	Xinjiang1	IX	中国 China

I: 普通小麦; II: 野生二粒小麦; III: 粗山羊草; IV: 斯卑尔脱小麦; V: 密穗小麦; VI: 西藏半野生小麦; VIII: 云南铁壳麦; IX: 新疆稻麦

I: Common wheat; II: Wild emmer; III: *Aegilops tauschii*; IV: Spelt; V: Compactum; VI: *T. tibetanum*; VIII: *T. yunnanense*; IX: *T. petropavlovskiyi*

表 2 叶绿体-SSR 引物的名称、退火温度及检测到的等位基因数

Table 2 The names, annealing temperature and alleles number of chloroplast genome SSR primers

引物 Primers	退火温度 Annealing temperature	检测到的等位基因 No. of alleles	引物 Primers	退火温度 Annealing temperature	检测到的等位基因 No. of alleles	引物 Primers	退火温度 Annealing temperature	检测到的等位基因 No. of alleles
Wct1	55℃	3	Wct9	55℃	5	Wct16	55℃	3
Wct2	55℃	5	Wct10	55℃	6	Wct17	55℃	3
Wct3	55℃	4	Wct11	55℃	9	Wct18	55℃	7
Wct4	55℃	4	Wct12	55℃	4	Wct19	55℃	6
Wct5	55℃	5	Wct13	55℃	3	Wct22	55℃	3
Wct6	55℃	4	Wct14	55℃	6	Wct23	55℃	4
Wct8	55℃	5	Wct15	55℃	5	Wct24	55℃	5

1.6 数据处理

变性聚丙烯酰胺凝胶电泳分离的微卫星扩增条带按有为 1，无为 0 进行数据统计后，采用 Nei 等的方法计算相似系数（GS）^[4]： $GS=2N_{ij}/(N_i+N_j)$ 其中， N_i 和 N_j 分别为 i 和 j 两材料总等位基因数， N_{ij} 为 i 和 j 两材料的共有等位基因数。

遗传差异（GD）=1 - GS，利用 GD 值按不加权重对群算数平均法（UPGMA）进行聚类分析。

统计分析软件是由中国农业大学小麦育种组开发的 AGROSYS 软件包。

2 结果与分析

2.1 叶绿体 SSR 标记多态性

采用 21 个扩增效果好的叶绿体 SSR 引物，对 96 份材料在 21 个位点上的叶绿体基因组多态性进行了研究。在 21 个叶绿体-SSR 位点上，共检测到 99 个等

位基因，每个位点上为 3~9 个，平均为 4.71 个（表 3）。由表 3 可以看出，斯卑尔脱小麦群体内检测到的等位基因总数和平均每个位点上的等位基因数分别为 64 和 3.05 个，明显高于密穗小麦（43 和 2.05 个），更高于普通小麦（37 和 1.76 个）。分析还发现，在西藏半野生小麦、野生二粒小麦或粗山羊草中，平均每个位点上检测到的等位基因数基本接近，分别为 2.00 个、2.05 和 2.00 个，均高于普通小麦（1.76 个），表明上述不同群体内也具有较高的 SSR 多态性。

2.2 叶绿体 SSR 标记遗传距离

为了分析不同类型材料群体内（间）在叶绿体基因组上的遗传差异，利用 99 个叶绿体基因组 SSR 标记等位基因计算了不同材料间遗传距离（GD）（表 4）。96 个基因型之间的平均遗传距离为 0.5162，最小值为 0，最大值为 1。

就不同类型材料群体内的 GD 平均值来看，斯卑

表 3 六倍体小麦（AABBDD）及其近缘种属粗山羊草和野生二粒叶绿体-SSR 标记多态性

Table 3 The polymorphism of Chloroplast genome SSR in hexaploid wheat, wild emmer and *Aegilops tauschii*

供试材料 Accessions	材料数 No. of accessions	位点数 No. of polymorphic loci	检测到的等位基因 No. of amplified alleles	
			总数 Total	平均每个位点上的等位基因数 No. of alleles/locus
普通小麦 Common wheat	20	21	37	1.76
斯卑尔脱小麦 Spelt wheat	21	21	64	3.05
密穗小麦 Club wheat	20	21	43	2.05
野生二粒小麦 Wild emmer	10	21	43	2.05
粗山羊草 <i>Aegilops tauschii</i>	9	21	42	2.00
西藏半野生小麦 <i>T. tibetanum</i>	9	21	42	2.00
云南铁壳麦 <i>T. yunnanense</i>	3	21	24	1.14
新疆稻麦 <i>T. petropavlovskiyi</i>	4	21	25	1.19
总计 Total	96	21	99	4.71

表 4 六倍体小麦（AABBDD）及其近缘种属粗山羊草和野生二粒叶绿体-SSR 标记遗传距离

Fig. 4 Genetic distance of chloroplast genomic SSR in hexaploid wheat, *Aegilops tauschii* and wild emmer

	普通小麦 Common wheat	野生二粒小麦 Wild emmer	粗山羊草 <i>Aegilops tauschii</i>	斯卑尔脱小麦 Spelt wheat	密穗小麦 Club wheat	西藏半野生小麦 <i>T. tibetanum</i>	云南铁壳麦 <i>T. yunnanense</i>	新疆稻麦 <i>T. petropavlovskiyi</i>
普通小麦 Common wheat	0.1363 ^a (0.0000-0.4286) ^b							
野生二粒小麦 Wild emmer	0.5151 (0.1429-0.7619)	0.3513 (0.0952-0.6190)						
粗山羊草 <i>Aegilops tauschii</i>	0.7895 (0.6098-0.9024)	0.7680 (0.6585-0.9512)	0.3181 (0.1000-0.5500)					
斯卑尔脱小麦 Spelt wheat	0.5105 (0.0476-0.9048)	0.6206 (0.2857-0.9048)	0.7398 (0.5610-0.9024)	0.5329 (0.0476-0.9524)				
密穗小麦 club wheat	0.3824 (0.2381-0.6190)	0.5829 (0.3333-0.7619)	0.8317 (0.6585-0.9512)	0.6178 (0.1905-1.0000)	0.2639 (0.0000-0.5714)			
西藏半野生小麦 <i>T. tibetanum</i>	0.4040 (0.0952-0.6667)	0.6111 (0.4286-0.8095)	0.8085 (0.6585-1.0000)	0.6694 (0.1905-0.9524)	0.3479 (0.0476-0.5714)	0.3056 (0.1429-0.5238)		
云南铁壳麦 <i>T. yunnanense</i>	0.1378 (0.0000-0.3333)	0.5190 (0.2857-0.6667)	0.7796 (0.6585-0.8537)	0.5624 (0.1429-0.9048)	0.3571 (0.2381-0.5238)	0.3545 (0.0952-0.5238)	0.0952 (0.0476-0.1429)	
新疆稻麦 <i>T. petropavlovskiyi</i>	0.1639 (0.0476-0.3333)	0.5381 (0.3333-0.7143)	0.7954 (0.6585-0.9024)	0.5471 (0.1429-0.9048)	0.3863 (0.2381-0.5238)	0.3902 (0.0952-0.5238)	0.1270 (0.0000-0.2381)	0.0952 (0.0000-0.1429)

a: 遗传距离平均值; b: 括号内为遗传距离变化范围

a: Mean genetic distance; b: The data in brackets are the range of genetic distance

尔脱小麦 (0.5329) > 野生二粒小麦 (0.3513) > 粗山羊草 (0.3181) > 西藏半野生小麦 (0.3056) > 密穗小麦 (0.2639) > 普通小麦 (0.1363) > 云南铁壳麦和新疆稻麦 (0.0952 和 0.0952)。

从不同类型材料间遗传差异来看, 粗山羊草与不同类型六倍体小麦 (AABBDD) 之间的 SSR 平均遗传距离为最高 (0.7398~0.8085), 野生二粒小麦则相对较小 (0.5151~0.6206), 说明野生二粒小麦与六倍体小麦之间存在更近的亲缘关系, 这与前人关于二粒小麦为六倍体小麦细胞质供体的研究结果相印证。

就不同六倍体小麦群体之间的遗传差异来看, 斯卑尔脱小麦与其他不同类型材料之间的 SSR 平均遗传距离最高 (0.5 以上), 西藏半野生小麦和密穗小麦次之。相比较而言, 云南铁壳麦、新疆稻麦和普通小麦之间的 GD 平均值最小 (0.2 以下), 这暗示着云南铁壳麦和新疆稻麦与普通小麦在叶绿体基因组上可能具有较近的遗传和亲缘关系。

2.3 叶绿体 SSR 聚类分析

为了确定 96 份材料在叶绿体基因组上的遗传关系, 利用 SSR 遗传距离矩阵按 UPGMA 方法进行了聚类分析, 构建了各供试基因型的亲缘关系图 (图)。聚类结果显示, 96 份材料可以明显区分为两个大的类群, 9 份粗山羊草单独聚为一组 (类群 I), 野生二粒小麦和六倍体小麦聚为一组 (类群 II)。在类群 II 内, 可划分为 3 个亚组: 5 份斯卑尔脱小麦 (包括来自瑞士的 4 份和德国 1 份) 归为一组, 9 份野生二粒小麦聚为一组, 其他 73 份材料归为同一组, 其中包括 1 份野生二粒、16 份斯卑尔脱小麦和所有其他类型的六倍体小麦。

3 讨论

研究证实, 叶绿体基因组是比较保守的, 主要以碱基突变为主^[5]。据此, Doyle 等提出利用几个叶绿体微卫星位点并不能准确揭示出物种之间的亲缘和进化关系^[6]。最近, Ishii 等针对中国春小麦的叶绿体基因组序列设计了 24 对微卫星引物, 这些引物基本均匀分布在整个小麦叶绿体基因组上^[1]。与核基因组分子标记相比, 叶绿体 SSR 多态性较低, 但揭示出的遗传信息并不少^[1,6], 可以用于小麦的遗传差异和起源演化研究。本研究采用叶绿体 SSR 分子标记, 首次系统分析了不同类型六倍体小麦 (AABBDD), 特别是中国特有小麦叶绿体基因组的遗传多样性, 并与野生二粒小麦和粗山羊草进行了比较分析, 获得了一些有价值的

信息。

本试验的叶绿体 SSR 标记研究结果显示, 斯卑尔脱小麦群体内的遗传多样性最高, 西藏半野生小麦和密穗小麦中等, 普通小麦、新疆稻麦和云南铁壳麦最小。本文所用普通小麦材料来源比较广泛 (包括美国和法国等国家), 但其叶绿体分子标记遗传差异仍然很小, 说明普通小麦的叶绿体基因组遗传基础狭窄, 而斯卑尔脱小麦和西藏半野生小麦等群体内的遗传变异丰富, 并且与普通小麦具有相同的基因组, 杂交一代一般结实正常, 可以作为新的细胞质遗传变异来源。

研究还发现, 粗山羊草与不同类型六倍体小麦 (AABBDD) 之间的 SSR 平均遗传距离为最高 (0.7398~0.8085), 野生二粒小麦则相对较小 (0.5151~0.6206)。聚类结果也将粗山羊草单独划分为一个类群, 野生二粒与所有六倍体小麦归为另一个类群, 说明野生二粒小麦与六倍体小麦之间存在更近的亲缘关系, 这与前人关于二粒小麦为六倍体小麦细胞质供体的研究结果相印证^[7], 同时也说明这些叶绿体 SSR 引物可以用于小麦的起源和演化研究。

本研究对中国特有小麦的起源和演化提供了一个新的研究途径, 对其有了更深的认识。根据形态学和细胞学鉴定结果, 西藏半野生小麦和云南铁壳麦被确定为普通小麦的一个亚种, 笔者利用核基因组的分子标记研究结果也支持这一观点。本文对叶绿体基因组的 SSR 聚类结果也将西藏半野生小麦和云南铁壳麦与普通小麦归为同一类群。新疆稻麦是另一个特殊的六倍体小麦类型, 然而对其分类和起源目前还有争议。Ward 等^[8]采用 RFLP 分子标记, 对核基因组研究发现, 新疆稻麦是与其它中国特有小麦明显不同的一个类群。笔者所在课题组^[3]采用核基因组 SSR 分子标记研究表明, 新疆稻麦与其它六倍体小麦在 A、B 和 D 不同染色体组上均存在很大的遗传差异。根据 AB 和 D 染色体组遗传距离所进行的聚类结果证实, 新疆稻麦是与普通小麦、斯卑尔脱小麦、密穗小麦、西藏半野生小麦和云南铁壳麦明显不同的一个群体。另外, 在新疆稻麦中检测到较多的群体特有等位基因。据此, 可以认为新疆稻麦的起源比较特殊, 值得深入研究 (结果待发表)。细胞学研究结果显示, 新疆稻麦的许多形态学特征如分蘖力差、叶宽大、颖长、外稃显著长于内稃和小穗基部有基盘等非常类似于波兰小麦。陈勤等^[9]从细胞遗传学角度认为, 新疆稻麦是由波兰小麦与普通小麦杂交再由普通小麦回交后产生的。本文采用叶绿体基因组微卫星分子标记研究表明, 新疆稻麦



图 96 份材料按叶绿体 SSR 标记遗传距离聚类图

Fig. Dendrogram of the 96 accessions constructed from chloroplast genomic SSR marker-based genetic distance

与普通小麦在叶绿体基因组上具有很近的亲缘关系，支持了陈勤等关于新疆稻麦的起源假说。

4 结 论

本研究发现斯卑尔脱小麦和西藏半野生小麦等群体内的叶绿体遗传变异比普通小麦更丰富；野生二粒小麦与六倍体小麦以及新疆稻麦与普通小麦之间具有很近的亲缘关系，这些结果为研究不同小麦种的遗传差异提供了依据。

References

- [1] Ishii T, Mori N, Ogihara Y. Evaluation of allelic diversity at chloroplast microsatellite loci among common wheat and its ancestral species. *Theoretical and Applied Genetics*, 2001, 103: 896-904.
- [2] Mizumoto K, Hirosawa S, Nakamura C, Takumi S. Nuclear and chloroplast genome genetic diversity in the wild einkorn wheat, *Triticum urartu*, revealed by AFLP and SSLP analyses. *Hereditas*, 2002, 137: 208-214.
- [3] Yang X Q, Liu U P, Han Z F, Ni Z F, Sun Q X. Genetic diversity revealed by genomic-SSR and EST-SSR markers among common wheat, spelt and compactum. *Progress in Natural Science*, 2005, 15(1): 24-33.
- [4] Nei M, Li W. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 1979, 76: 5269-5273.
- [5] Doyle J J, Morgante M, Tingey S V, Powell W. Size homoplasy in chloroplast microsatellites of wild perennial relatives of soybean (*Glycine subgenus Glycine*). *Molecular Biology and Evolution*, 1988, 15: 215-218.
- [6] Wolfe K H, Li W H, Sharp P M. Rates of nucleotide substitution vary greatly among plant mitochondrial, chloroplast, and nuclear DNAs. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 1987, 84: 9054-9058.
- [7] Bowman C M, Bonnard G, Dyer T A. Chloroplast DNA variation between species of *Triticum* and *Aegzlops*: location of the variation on the chloroplast genome and its relevance to the inheritance and classification of the cytoplasm. *Theoretical and Applied Genetics*, 1983, 65: 247-262.
- [8] Ward R W, Yang Z L, Kim H S, Yen C. Comparative analyses of RFLP diversity in landraces of *Triticum aestivum* and collections of *T. tauschii* from China and Southwest Asia. *Theoretical and Applied Genetics*, 1998, 96: 312-318.
- [9] 陈 勤, 孙雨珍, 董玉琛. 新疆小麦种间杂种的细胞遗传学研究. *作物学报*, 1985, 11(1): 23-28.
- Chen Q, Sun Y Z, Dong Y C. Cytogenetic studies on interspecific hybrids of Xinjiang wheat. *Acta Agronomica Sinica*, 1985, 11: 23-28. (in Chinese)

(责任编辑 孙雷心)