

小麦微卫星标记在中间偃麦草中通用性研究

王黎明¹, 李兴锋², 刘树兵², 王洪刚²

(1. 河南科技大学 农学院, 河南 洛阳 471003; 2. 山东农业大学 农学院, 国家小麦改良分中心, 作物生物学
国家重点实验室, 山东 泰安 271018)

摘要: 利用分布于普通小麦整个基因组的 525 对微卫星引物, 对其在普通小麦与中间偃麦草(*Thinopyrum intermedium*) 之间的通用性及其亲缘关系进行了分析。结果表明: 202 对引物在小麦和中间偃麦草间多态性扩增, 所占比率为 38.4%, 小麦的 A, B, D 3 个基因组多态性引物所占比率分别为 34.6%, 36.9% 和 42.2%; 说明普通小麦 SSR 引物在中间偃麦草之间具有通用性, 小麦 D 基因组与中间偃麦草亲缘关系要远于 A, B 基因组与中间偃麦草关系, 表明小麦的 A, B, D 基因组之间存在遗传差异性。

关键词: 小麦; SSR 标记; 中间偃麦草; 通用性; 遗传差异

中图分类号: S512.03 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2007)06-0050-03

Studies on the Transferability of Common Wheat (*T. Aestivum*) Microsatellites (SSR) Markers Used in *Thinopyrum intermedium*

WANG Li-ming¹, LI Xing-feng², LIU Shu-bing², WANG Hong-gang²

(1. Agronomy College of Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003, China;

2. Agronomy College of Shandong Agricultural University, Subcentre of National Wheat
Improvement Centre, State Key Laboratory of Crop Biology, Tai'an 271018, China)

Abstract: 525 pairs of common wheat SSRs primers distributed in the total genomes of *T. aestivum* were used to identify the transferability in *Thinopyrum intermedium* and to analyze the genetic relationship between *T. aestivum* and *Thinopyrum intermedium*. The results were as follows: 202 pairs SSRs primers amplified polymorphism between *T. aestivum* and *Thinopyrum intermedium*, which polymorphic percentage was 38.4%. And the polymorphic percentage between *T. aestivum* on genome A, B, D and *Thinopyrum intermedium* was 34.6%, 36.9% and 42.2% respectively. These results showed that wheat SSRs primers can be used in *Thinopyrum intermedium*; the genetic relationship between *T. aestivum* on genome D and *Thinopyrum intermedium* was far than that of on genome A, B, which indicated that there was genetic differentiation within *T. aestivum* genome A, B, and D.

Key words: *T. aestivum*; SSR; *Thinopyrum intermedium*; Transferability; Genetic differentiation

中间偃麦草 [*Elytigia intermedium* (Host) Nevski, *Thinopyrum intermedium* (Host) Bark worth & Dewey, *Agropyron intermedium* (Host) Beauv, E₁E₁E₂E₂X X(S₁S₁) = E^eE^eE^bE^bS₁S₁ = JJJS₁S₁SS, 2n = 6x = 42] 又名天蓝冰草, 是禾本科小麦族 (*Triticeae*) 中的多年生野生草本植物, 耐寒、耐旱、多花、抗倒、优质, 高抗小麦的黄矮病、条斑病、锈病、白粉病等多种病害, 是小麦的三级基因源, 因其容易与小麦杂交而在小麦遗传改良中

具有重要利用价值^[1]。

简单序列重复 (Simple sequence repeats, SSR) 又称微卫星 (Microsatellites)、短串联重复序列 (Short sequence repeats, STR), 是由少数核苷酸为单位簇集而成的串联重复序列, 总长度为几十到几百个 bp, 随机分布在整個小麦基因组。以 PCR 为基础的 SSR 标记, 具有操作简单、多态性高、稳定性强、共显性等特点, 已经成为小麦一个丰富的遗传标记, 被广泛地

收稿日期: 2007-08-08

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30571156, 30671300); 河南科技大学校基金项目 (2007ZY017); 河南科技大学博士基金项目 (09001130)

作者简介: 王黎明 (1976-), 男, 山东日照人, 讲师, 博士, 主要从事作物遗传改良的研究工作

通讯作者: 王洪刚 (1955-), 男, 山东滕州人, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事现代生物技术与作物遗传改良研究工作。

用于小麦遗传背景中外源染色体(片断)和同源群归属的确定、分子标记和遗传作图研究。还有报道,小麦基因组 SSR 引物用于小麦族的近缘种属之间通用性和遗传多样性研究,以及有关基因组进化演变关系分析等方面,目前已有报道小麦 SSR 引物在披碱草属(*Elymus*)^[2-4]、黑麦(*Secale cereale* L.)^[5]、野生二粒小麦(*Triticum dicoccoides*)^[6]、密穗小麦(*T. compactum*)^[7]、斯卑尔脱小麦(*Triticum. spelta*)^[7]等小麦的近缘种属得到应用,但是,还未见有报道普通小麦 SSR 引物在中间偃麦草通用性研究。

本试验利用合成的小麦基因组 SSR 引物,对其在小麦和中间偃麦草间的通用性开展研究,以期明确小麦与中间偃麦草亲缘关系,为进一步研究和利用中间偃麦草提供一定依据。

1 材料和方法

1.1 材料

本研究利用的中间偃麦草原引自中国科学院西北植物研究所,由李振声先生提供,普通小麦(AABBDD)烟农 15 由国家小麦改良中心(山东泰安)分中心保存;所用 SSR 引物根据 Röder 等^[8]、Gypta 等^[9]公布的序列由上海生工公司合成。

1.2 方法

1.2.1 DNA 的提取 叶片 DNA 的提取参照 Devos 等^[10]改进的酚-氯仿提取法,略有改动。

1.2.2 SSR-PCR 参照李文才等^[11]方法进行。

2 结果与分析

2.1 小麦 SSR 在中间偃麦草中的通用性

运用位于小麦 A, B, D 3 个基因组、7 个同源群的 21 条染色体上的总共 525 对 SSR 引物(总共 532 个位点)对普通小麦烟农 15 和小麦近缘属植物中间偃麦草进行了多态性筛选,结果记载于表 1。

从表 1 看出,所供试的 525 对小麦 SSR 引物分布于小麦不同基因组的染色体上。其中,来自于 A, B, D 3 个基因组引物数量分别为 153 对、192 对和 180 对,分布于同一基因组的染色体上 SSR 引物在数量上也不尽相同,位于小麦 4B 染色体上的引物数量最少,仅为 11 对,定位于 2B 染色体上引物的数量最多,达到 45 对。

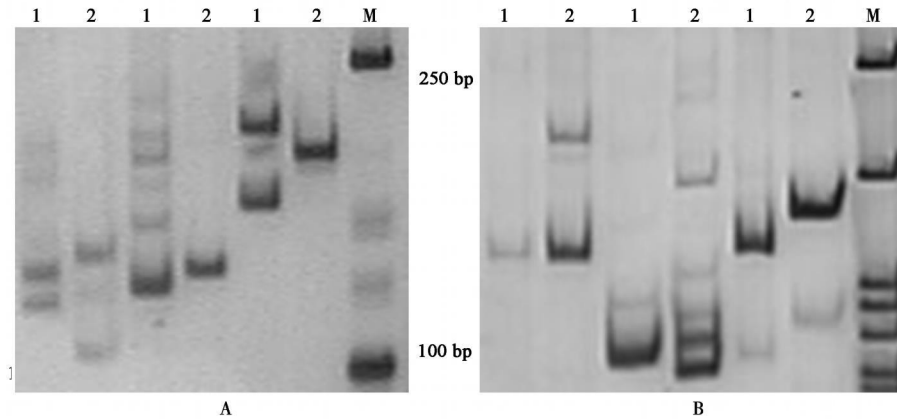
在这 525 对 SSR 引物中除极少数引物(如 Xgwm175-6D, SWES221 等)未能在亲本中出现扩增产物,大多数引物均能在双亲间或者双亲之一出现 1

条以上的扩增产物。从 525 对 SSR 引物中筛选出 202 对在亲本之间扩增出差异带(表 1、图 1),有差异引物比率达 38.4%。这表明,在普通小麦中开发的 SSR 引物可以用于普通小麦和中间偃麦草多态性差异引物的筛选。从图 1 可以看出,这些多态性差异引物在烟农 15 和中间偃麦草两者均出现一条或者一条以上的带型,但是扩增片段的长度不一样导致两者出现差异,因而可以利用。

表 1 烟农 15- 中间偃麦草多态性 SSR 引物的筛选结果
Tab. 1 Polymorphism SSR primers between wheat cv. Yannong 15 and *Thinopyron intermedium*

基因组 Genome	同源群 Homologous	所用引物 SSRs primers	多态性引物 Polymorphic primers	多态性比率/% Polymorphic percentage
A	1	15	6	40.0
	2	28	11	39.3
	3	27	9	33.3
	4	20	5	25.0
	5	29	9	31.0
	6	15	6	40.0
	7	22	8	36.4
	Total	153 (156 个位点)	54	34.6
B	1	24	10	41.7
	2	45	16	35.6
	3	28	9	32.1
	4	11	5	45.4
	5	32	12	37.5
	6	23	11	47.8
	7	22	9	40.9
	Total	192 (195 个位点)	72	36.9
D	1	20	9	45.0
	2	38	19	50.0
	3	23	9	39.1
	4	15	8	53.3
	5	36	14	38.9
	6	21	7	33.3
	7	28	10	35.7
	Total	180 (181 个位点)	76	42.2
	Total	525 (532 个位点)	202	38.4

2.2 小麦不同基因组与中间偃麦草亲缘关系分析
从表 1 看出,不同基因组所筛选到多态性引物数量、所占比率不尽相同,A, B, D 3 个基因组具有多态性引物数量分别为 54, 72, 76 对,多态性引物所占比率分别为 34.6%, 36.9% 和 42.2%。这表明,小麦的 3 个基因组与中间偃麦草的亲缘关系不完全相同,A, B 基因组二者与中间偃麦草亲缘关系略近于 D 基因组与中间偃麦草基因组之间的亲缘关系;同时也说明小麦的 3 个基因组之间具有遗传差异性。



1. 烟农 15; 2. 中间偃麦草; M. Marker; A. 引物从左往右依次为 Xgwm272-5D, Wmc25-2DS, Xgwm121-7AL/ 7DL ;
B. 引物从左往右依次为 Wmc95-7A, BARC148-1A, BARC158-1AL

1. Yannong 15; 2. *Thinopyrum intermedium*; A. Primers were arranged from left to right as follows: Xgwm272-5D, Wmc25-2DS, Xgwm121-7AL/ 7DL; B. Primers were arranged from left to right as follows: Wmc95-7A, BARC148-1A, BARC158-1AL

图 1 部分 SSR 引物在烟农 15 与中间偃麦草之间的多态性扩增

Fig. 1 Polymorphism SSR primers between Yannong 15 and *Thinopyrum intermedium*

3 讨论

已有研究表明, 小麦的基因组 SSR 引物在披碱草属、黑麦、野生二粒小麦、斯卑尔脱小麦等小麦族的近缘种属之间具有通用性, 可以用于小麦近缘种属遗传多样性、及其有关基因组进化演变关系分析等方面研究。本研究在对普通小麦烟农 15 与中间偃麦草通用性研究中发现, 小麦 SSR 引物在中间偃麦草具有通用性, 这与前人研究结果类似, 为不同种属间可共享某些引物的理论提供了新的证据; 研究还表明, 小麦的 SSR 引物在中间偃麦草具有 SSR 扩增位点, 说明中间偃麦草具有普通小麦部分同源序列, 这为进一步研究与利用中间偃麦草进行小麦的遗传改良、筛选和开发中间偃麦草特异的 SSR 标记提供了理论依据。

本研究还发现, 小麦的不同染色体组与中间偃麦草之间多态性差异不一致, 说明小麦的 3 个基因组与中间偃麦草之间亲缘关系不尽相同, 进一步表明中间偃麦草没有与小麦相同的基因组, 佐证了小麦与中间偃麦草之间远同源的亲缘关系; 也间接表明小麦的 3 个基因组之间具有遗传差异性。

参考文献:

[1] 王黎明, 林小虎, 王洪刚, 等. 中间偃麦草的染色体组及其优良基因向普通小麦的转移[J]. 中国草地, 2005, 27 (1): 57- 63.
[2] 李永祥, 李斯深, 李立会, 等. 披碱草属 12 个物种遗传

多样性的 ISSR 和 SSR 比较分析[J]. 中国农业科学, 2005, 38(8): 1522- 1527.
[3] Sun G L, Salomon B, von Bothmer R. Analysis of tetraploid Elymus species using wheat microsatellite markers and RAPD markers[J]. Genome, 1997, 40: 806- 814.
[4] MacRitchie D, Sun G L. Evaluating the potential of barley and wheat microsatellite markers or genetic analysis of Elymus trachycaulus complex species[J]. Theor Appl Genet, 2004, 108: 720- 724.
[5] Khlestkina E K, Myint Than M H, Pestsova E G, et al. Mapping of 99 new microsatellite-derived loci in rye (*Secale cereale* L.) including 39 expressed sequence tags[J]. Theor Appl Genet, 2004, 109: 725- 732.
[6] 时津霞, 乔永利, 杨庆文, 等. 野生二粒小麦 (*Triticum dicoccoides*) 与普通小麦 (*T. aestivum*) A、B 染色体组的同源性分析[J]. 作物学报, 2005, 31(6): 723- 729.
[7] 杨新泉, 刘 鹏, 韩宗福, 等. 普通小麦、斯卑尔脱小麦和密穗小麦基因组中 SSR 和 EST-SSR 分子标记的遗传差异研究[J]. 自然科学进展, 2004, 14(9): 989- 998.
[8] Röder M S, Korzun V, Wendehake K, et al. A microsatellite map of wheat[J]. Genetics, 1998, 149: 2007- 2023.
[9] Gypta P K, Balyan H S, Edward K J, et al. Genetic mapping of 66 new microsatellite (SSR) in bread wheat[J]. Theor Appl Genet, 2002, 105: 413- 422.
[10] Devos K M, Gale M D. The use of random amplified polymorphic DNA marker in wheat [J]. Theor Appl Genet, 1992, 84: 567- 572.
[11] 李文才, 李 涛, 赵逢涛, 等. 小麦 D 基因组产量性状 QTL 定位[J]. 华北农学报, 2005, 20(1): 23- 26.