

# 谷子品种遗传差异的 RAPD 标记分析

杨延兵<sup>1</sup>, 管延安<sup>1</sup>, 张华文<sup>1</sup>, 徐平平<sup>2</sup>, 张文兰<sup>1</sup>, 陈利容<sup>1</sup>, 秦岭<sup>1</sup>

(1. 山东省农业科学院作物研究所, 山东 济南 250100; 2. 陕西师范大学, 陕西 西安 710062)

**摘要:**利用 RAPD 标记对来自春、夏谷区不同育种单位的 23 份谷子品种进行了多态性和聚类分析。结果表明, 23 份品种的 RAPD 标记的多态性较低, 13 个引物共扩增出 56 条多态性带, 平均每个引物扩增多态性带为 4.31 条, 引物 S30 和 S45 都有 7 条多态性带, 能够鉴别的品种最多为 13 个。聚类分析表明, 当遗传相似性系数为 0.75 时, 23 个品种可分为 4 类, 不同生态区的品种可以归为一类, 而同一生态区的品种也可以归为不同的类, 基于 RAPD 的遗传相似性和品种来源地没有必然的一致性。

**关键词:** 谷子; 遗传差异; RAPD 标记

中图分类号: S515.01 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2007)04-0134-03

## Genetic Variation Among Varieties of Foxtail Millet(*Setaria italica* Beauv.) Based on RAPD Markers

YANG Yarr bing<sup>1</sup>, GUAN Yarr an<sup>1</sup>, ZHANG Hua wen<sup>1</sup>, XU Ping ping<sup>2</sup>,  
ZHANG Wei lan<sup>1</sup>, CHEN Li rong<sup>1</sup>, QIN Ling<sup>1</sup>

(1. Crop Research Institute, Shandong Academy of Agriculture Science, Jinan 250100, China;

2. Shaanxi Normal University, Xian 710062, China)

**Abstract:** Genetic variation of 23 varieties of foxtail millet collected from spring millet region and summer millet regions was studied. The results showed that 23 varieties had certain degree of genetic variation in molecular level, but the degree of variation was not significant. 13 primers yielded 56 polymorphic bands from 23 varieties and the average of polymorphic bands was 4.31 yielded by each primer. The primers S30 and S45 yielded 7 polymorphic bands, respectively, and which could be used to distinguish 13 varieties. The cluster analysis of RAPD makers indicated that the cluster type of genetic variation of varieties was not consistent with ecological type. Varieties from different regions could be clustered in the same type, and varieties from same regions might be clustered in different types.

**Key words:** Foxtail millet(*Setaria Italica* Beauv.); Genetic variation; RAPD marker

RAPD 标记技术的基本原理是利用随机引物通过 PCR 反应非定点扩增 DNA 片断, 然后利用凝胶电泳分析扩增产物 DNA 片断的多态性。RAPD 反应在遗传多样性中的应用主要有绘制品种、品系指纹图谱、种子纯度检测、种质分类以及利用 RAPD 在 RFLP 连锁区寻找新标记等。RAPD 标记技术广泛应用于各种植物, 如棉花、水稻、玉米、何首乌、莲、罗汉果等等<sup>[1-7]</sup>。杨天育等<sup>[8]</sup>、Li 等<sup>[9]</sup>对不同生态区和不同地理区域谷子品种遗传多样性进行 RAPD 研究, 结果表明不同生态区和不同地理区域的谷子品种存在一定的遗传差异, 但遗传差异并不高, 根据

RAPD 分析的遗传聚类群与生态类型有很大的一致性。但是现在利用 RAPD 标记技术对目前来自主要谷子育成品种及重要亲本的研究较少, 本研究对目前 23 份谷子育成品种和重要亲本进行多态性扩增, 利用 RAPD 多态性分析品种的遗传多样性及遗传基础, 为谷子新品种选育提供科学依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 供试品种

选取 23 份育成品种或重要亲本作为试验材料 鲁谷 10 号(山东农科院作物所)、鲁谷 8 号(山东农

收稿日期: 2007-03-26

基金项目: 山东省农业科学院青年科研基金项目资助(2005YQ051); 国家科技支撑计划资助(2006BAD02B02)

作者简介: 杨延兵(1971-), 男, 山东在平人, 助理研究员, 硕士, 主要从事作物遗传育种工作。

科院作物所)、郑 737 青( 河南农科院粮作所)、矮 88 ( 河北谷子所)、长农 38( 山西谷子所)、太选 2 号( 山西农科院作物遗传所)、龙谷 31( 黑龙江农科院育种所)、公谷 70( 吉林省农科院作物所)、济谷 13( 山东农科院作物所)、晋谷 21( 山西农科院经作所)、鲁谷 9 号( 山东农科院作物所)、WR1( 河北谷子所)、冀谷 25( 河北谷子所)、冀谷 14( 河北谷子所)、青丰谷( 河北沧州农科所)、鲁谷 5 号( 山东农科院作物所)、鲁谷 2 号( 山东农科院作物所)、豫谷 2 号( 河南安阳农科所)、菠菜根( 山东省地方种质)、济谷 12 号( 山东农科院作物所)、吨谷 1 号( 山西)、冀谷 19( 河北谷子所)、冀谷 21( 河北谷子所)。

1.2 DNA 的提取

取约 100 粒各样品种子放入盛有湿润沙的培养盒内, 然后放入培养箱内 25℃培养 6~ 9 d, 剪取谷子幼苗采用 CTAB 法提取总 DNA<sup>[10]</sup>。

1.3 PCR 反应

引物为上海生工生物工程技术有限公司的 RAPD 引物, 其序列见表 2, PCR 扩增仪 T1 购自英国 Biometra 公司, 反应体系和反应程序参照杨天育<sup>[8]</sup>的方法, 略做改动。

1.4 电泳检测

扩增产物中加入 1 滴 10 × Loading buffer, 在 1% 的琼脂糖凝胶上电泳, 加样量为 20 μL/ Lane, 电极缓冲液为 1 × TBE, 电泳电压开始为 100 V, 待样品出加样孔后调至 80 V, 电泳时间 1 h 左右, 用 3% 的溴化乙锭(EB) 染色, 紫外灯下检测照相。LDYCP-310 电泳槽由北京六一仪器厂生产, 成像系统 DE400 Cabiret 购自美国 Alpha 公司。

1.5 RAPD 数据统计

参照分子量标记的电泳图谱, 按同一迁移率电泳条带的有无记录, 有记为 1, 无记为 0。扩增反应

重复 1 次, 统计可重复的扩增带, 记录的电泳图谱形成 RAPD 标记原始数据矩阵, 利用 STSYSp2. 11 软件进行统计分析。

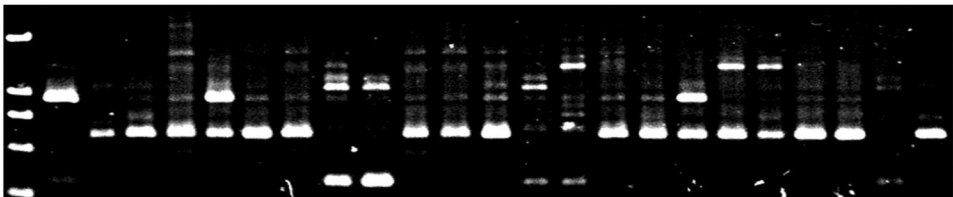
2 结果与分析

2.1 RAPD 多态性分析

用 50 个 RAPD 随机引物对 23 份谷子品种进行了扩增, 选择其中条带清晰的, 且多态性条带 3 条以上的 13 个引物进行分析。引物编号、序列及扩增结果见表 1。RAPD 标出的片段分子量变化范围为 250~ 2 000 bp。从表 1 和图 1 中可以看出 13 个引物共扩增出 80 条带, 其中 56 条为多态性条带, 占总扩增条带的 70%。不同引物之间扩增多态性条带数差别较大, 总扩增条带在 4~ 9 条之间, 多态性条带在 3~ 7 条之间, 平均每个引物扩增条带 4. 31 条, 13 个引物中每个引物可鉴别的品种数在 5~ 13 个之间。引物 S30 和 S45 的多态性带都为 7 条, 可鉴别的品种都为 13 个, 所以用单个引物很难将 23 品种完全分开。

表 1 引物及其扩增结果

Tab. 1 Primer and amplified results				
引物 Primer	碱基序列 Primer sequence	多态性带数 Polymorphic band	总扩增数 Total band	可鉴别的品种数 Number of identified Variety
S11	GTAGACCGT	4	6	7
S12	CCCTGACGCA	5	7	9
S21	AATCGGGCTG	3	5	8
S23	AGTCAGCCAC	3	4	3
S30	GTGATGCCAG	7	7	13
S33	CAGCACCCAC	3	5	5
S45	TGAGCGGACA	7	9	13
S47	TTTGCCACGGG	3	4	4
S48	GTGTGCCCA	6	8	7
S56	AGGCGCTAAG	3	6	5
S60	ACCGGTCAC	4	7	6
S82	GGCACTGAGG	4	6	8
S91	TGCCGTCGT	4	6	10
合计	56	80		



从左至右依次为: Marker, 鲁谷 10 号, 鲁谷 8 号, 郑 737 青, 矮 88, 长农 38, 太选 2 号, 龙谷 31, 公谷 70, 济谷 13, 晋谷 21, 鲁谷 9 号, WR1, 冀谷 25, 冀谷 14, 青丰谷, 鲁谷 5 号, 鲁谷 2 号, 豫谷 2 号, 菠菜根, 济谷 12 号, 吨谷 1 号, 冀谷 19, 冀谷 21  
From left to right: Marker, Lugu 10, Lugu 8, Zheng 737qing, Ai88, Changnong 38, Taixuan 2, Longgu 31, Gonggu 70, Jingu 21, Lugu 9, WR1, Jigu 25, Jigu 14, Qingfenggu, Lugu 5, Lugu 2, Yugu 2, Bocaigen, Jigu 12, Dunggu 1, Jigu 19, Jigu 21

图 1 23 个谷子品种 RAPD 引物 S30 扩增结果

Fig. 1 Amplified results of 23 foxtail millet varieties on RAPD primer S30

2.2 品种聚类分析

图 2 是 RAPD 标记的遗传聚类图, 其中太选 2 号和龙谷 31 相似性系数最高为 0.95。当相似系数

为 0.62 时, 23 个品种可以分为 2 类, 矮 88 和郑 737 青为一类, 其他 21 个品种为一类。当相似系数为 0.75 时, 23 个品种可以分为 4 类, 第一类为鲁谷 8

号、鲁谷 10 号,长农 38、太选 2 号,谷 31。第二类包括 15 个品种,又可分三个亚类,第一亚有公谷 70、冀谷 19、冀谷 25、吨谷 1 号,第二亚类晋谷 21,菠菜根、鲁谷 5 号、鲁谷 9 号,豫谷 2 号,冀谷 14;第三亚类 WR1、青丰谷、冀谷 21,鲁谷 2 号、济谷 12 号。第三类有济谷 13 号,第四类郑 737 青、矮 88。可以看出,来源于同一地方的品种遗传相似性不一定高而聚为不同类,而来源于不同地方的品种遗传不一定低可聚为一类,遗传相似性和品种来源地或育种单位没有必然的一致性。

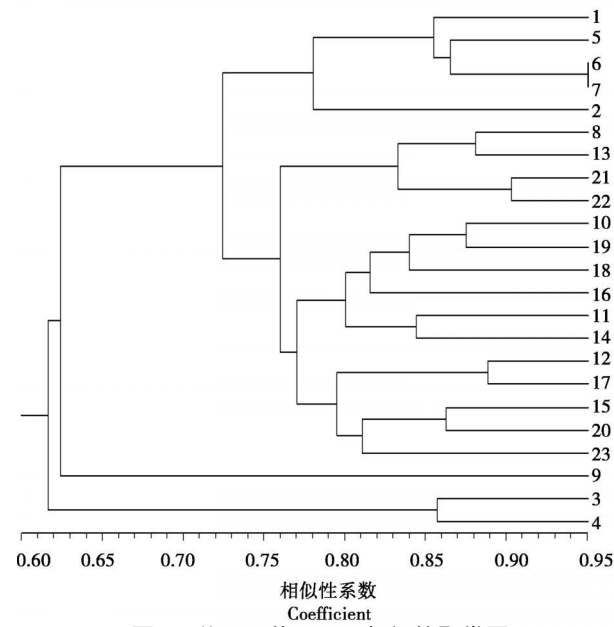


图 2 谷子品种 RAPD 标记的聚类图  
Fig.2 Dendrogram of 23 foxtail millet varieties  
RAPD markers

3 讨论

RAPD 是利用寡聚核苷酸对基因组 DNA 进行多态性检测,检测区域几乎覆盖了整个基因组,因而可以检测不同品种间的微小差异,RAPD 技术也具备了良好基因型鉴定方法的要素,如简单易行、快速、低成本、需样品量少、不用放射性同位素,虽然 RAPD 的稳定性较差,但只要严格控制反应条件建立起 RAPD 分析的标准模式可以得到准确可靠的鉴定结果。RAPD 标记用于谷子基因型的鉴别是有效的。本研究中谷子的多态性标记有限,说明谷子 RAPD 标记的遗传变异不太高,单一引物最多可区分 13 个品种,可以选用几对核心引物对谷子品种做有效的区分。

本研究聚类分析表明,来源于不同育种单位的品种,尽管来自不同生态区,但可以聚为一类,如黄土高原春谷区的晚熟品种太选 2 号和东北春谷区的龙谷 31 遗传相似性达 0.95。当遗传相似性系数为

0.75 时,太选 2 号、龙谷 31、长农 38 号(春谷区)、鲁谷 8 号、鲁谷 10 号(夏谷区)归为一类;而同一育种单位的品种可以归为不同的类,如同为山东省农科院作物所育成的夏谷品种鲁谷 5 号、鲁谷 8 号、鲁谷 10 号、鲁谷 13 可以归为不同的类。这和杨天育等<sup>[7]</sup>同一生态类型的材料基本可以归为一类不完全一致。可能的原因,一是 RAPD 标记的谷子多态性较低,标记差异的原因可有多重遗传因素形成;本研究扩增出的总标记数目尚少,多态性带仅 56 条,尚不能充分反应存在的遗传差异;二是不同地区品种的交流 and 育种资源的交流;以及本研究选用品种数目少,地理差距不大,多集中在华北地区等原因。三是选用试验材料的差异,杨天育等选用的材料是“粟类优异种质的评价与利用”研究材料中代表东北平原、华北平原、内蒙高原、黄土高原区的品种,得出结果可能反映生态区的差异。本研究选用的材料多为各地育成品种,同一单位的品种位于同一生态区,但遗传基础还是存在一定的差异;不同育种单位的品种也可能由于选育目标的相似性,以及地区之间品种、资源的交流等等原因,也可造成不同育种单位的品种间也存在遗传基础相似性较高等现象。这进一步说明我国谷子主要育成品种遗传基础较窄,这要求谷子育种工作尽可能拓宽遗传基础,尽可能选用遗传差异较大的材料,避免育种遗传基础较窄,使杂种后代性状组合理想,提高育种效率。

参考文献:

[1] 王心宇,郭旺珍.我国短季棉品种 RAPD 指纹图谱分析[J].作物学报,1997,23(6):669-676  
[2] 王凌晖,曹福亮.何首乌野生种质资源的 RAPD 指纹图谱构建[J].南京林业大学学报,2005,7(4):37-40  
[3] 余四斌,徐才国.用 RAPD 技术鉴定水稻种子纯度初探[J].种子,1996(5):56-57.  
[4] 郑宝东.中国莲子种质资源遗传多样性的 RAPD 分析[J].中国食品学报,2006:3(6):138-142  
[5] 刘新芝,彭泽斌,傅骏骅.RAPD 在玉米类群划分研究中的应用[J].中国农业科学,1997,30(3):44-51  
[6] 朱立煌,徐吉臣.用分子标记定位一个未知的抗稻瘟基因[J].中国科学,1994,24(10):1048-10521.  
[7] 周俊亚,唐绍清.栽培罗汉果遗传多样性的 RAPD 分析[J].分子植物育种,2006,4(1):71-78  
[8] 杨天育.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] Li Y, Jia J Z, Wang Y R, et al. Intraspecific and interspecific variation in *Setaria* revealed by RAPD analysis[J]. Genetic Resource and Crop Evaluation, 1998, 45(3): 279-285.  
[10] Doyle J J, Doyle J L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities fresh leaf tissue[J]. Phytochemical Bulletin, 1987, 19: 11-15.