

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2011.00811

利用 SRAP 标记分析我国甜菜三大产区骨干材料的遗传多样性

王茂芊^{1,2,3} 吴则东^{1,2,3} 王华忠^{1,2,3,*}

¹黑龙江省普通高校甜菜遗传育种重点实验室 / 黑龙江大学, 黑龙江哈尔滨 150080; ²中国农业科学院北方糖料作物资源与利用重点开放实验室, 黑龙江哈尔滨 150080; ³中国农业科学院甜菜研究所 / 黑龙江大学农作物研究院, 黑龙江哈尔滨 150080

摘要: 利用 SRAP 分子标记, 选用甜菜中 SRAP 的 88 对引物组合分别对 4 个经济性状差异较大的代表性品系(高产型、高产低糖抗丛根病型、标准型、中产高糖抗褐斑病型)进行扩增, 筛选出有效引物组合 33 对。采用筛选的 33 对引物检测我国三大产区的 241 份甜菜材料及 9 份外国材料, 扩增到 719 条带, 其中多态性条带 459 条, 多态性条带的比率平均为 63.8%。利用 MEGA3.1 软件中的 Compute over-all mean 计算, 组内品种间平均遗传距离为 0.4165, 平均遗传相似系数为 0.6593。遗传相似系数平均值为外国品种(0.7528)>单胚品系(0.6945)>多胚四倍体品系(0.6816)>多胚二倍体品系(0.6612)。利用 MEGA3.1 软件, 在遗传距离 0.20 处将供试材料分为 4 大类群。结果表明, 我国三大产区供试材料遗传多样性丰富, 其中东北产区优于华北与西北产区。利用 POPGEN32 软件将供试材料与外国品种分为两类, 表明我国材料与外国品种的遗传基础存在较大差异。

关键词: 甜菜; SRAP 标记; 种质资源; 遗传多样性

Genetic Diversity of Major Sugar Beet Varieties from Three Regions of China with SRAP Markers

WANG Mao-Qian^{1,2,3}, WU Ze-Dong^{1,2,3}, and WANG Hua-Zhong^{1,2,3,*}

¹ Key Laboratory of Sugar Beet Genetic Breeding / Heilongjiang University, Harbin 150080, China; ² Key Laboratory of North Sugar Crop Resource and Utilization, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150080, China; ³ Sugar Beet Research Institute Chinese Academy of Agricultural Sciences / Crop Academy of Heilongjiang University, Harbin 150080, China

Abstract: Shortage of sugar beet germplasm resources results in the lag in researches of breeding and molecular biology. It is necessary to analyze the major varieties from three major production regions of China. Eighty-eight primer pairs were used to amplify the genomic DNA from leaves of four types of sugar beet varieties with different economic traits, which contain high yield type; high yield, low sugar and Rhizomania resistant type; standard type; medium yield, high sugar and anti-brown spot type, and 33 of which were obtained to be with availability. Two hundred and forty-one varieties from three major regions of China and nine varieties from abroad were detected with 33 primer pairs of SRAP markers. A total of 719 unambiguous bands were obtained, 459 of which were polymorphic. The average ratio of polymorphic bands was 63.8%. Compute over-all mean showed that genetic distance was 0.4165, genetic similarity among varieties was 0.6593, the genetic similarities were 0.7528 among foreign varieties, 0.6945 among monogerm varieties, 0.6816 among polygerm tetraploid varieties, and 0.6612 among polygerm diploid varieties. A total of 250 varieties were divided into four cluster groups based on cluster analysis by MEGA3.1 (at intercept of 0.2). Each genepool from three major regions of sugar beet production in China showed high level of genetic diversity, of which the North-east genepool showed the highest. The varieties from China and abroad were classified into two different groups by POPGEN32. This indicated definite difference in the genetic background between foreign and native varieties.

Keywords: Sugar beet; SRAP marker; Germplasm resource; Genetic diversity

甜菜是我国重要的糖料作物, 种植历史已有百年之久。但中国不是甜菜起源地, 种质资源缺乏, 遗

传基础狭窄, 而且缺少分子水平的深入研究, 致使育种水平提高缓慢。为培育出更高产、抗病、高糖

本研究由国家“十一五”科技支撑计划重点项目(2006BAD01A06)资助。

* 通讯作者(Corresponding author): 王华忠, E-mail: wwhzz0451@sohu.com, Tel: 0451-86609494

第一作者联系方式: E-mail: wmq_2010@hotmail.com, Tel: 0451-86608495

Received(收稿日期): 2010-10-08; Accepted(接受日期): 2011-01-06.

的甜菜新品种,避免遗传基础过于狭窄可能造成的危害,有必要对我国三大产区的甜菜资源进行亲缘关系和遗传多样性分析。近年来,我国有关甜菜的遗传多样性和分子标记育种的研究已有所进展。路运才等^[1]利用 RAPD 分子标记技术对我国的 15 个甜菜多倍体品种进行分析,于歆等^[2]应用 AFLP 技术分析甜菜双丰系列的 8 个品种,均表明我国甜菜的遗传材料基础狭窄。田自华等^[3-4]利用 RAPD 标记分析表明,甜菜细胞质雄性不育系和保持系的叶绿体 DNA 之间不存在差异,而在线粒体 DNA 之间存在丰富的多态性。王华忠等^[5-6]应用 SRAP 分子标记分析了 49 个甜菜材料的遗传多样性,并对 SRAP 引物组合进行了筛选以及对甜菜 SRAP-PCR 反应体系进行了优化。目前,分子标记技术主要包括 AFLP、RFLP、SRAP、SSR、RAPD、ISSR 等标记方法^[7-9]。SRAP 标记已成功应用于棉花^[10-11]、西瓜^[12]、甘蓝^[13]、莲藕^[14]、甘薯^[15]和野牛草^[16]等植物。但利用 SRAP 标记分析甜菜的报道并不多,且选用的样品数量和引物组合也较少^[5-6]。本研究应用 SRAP 分子标记探讨我国甜菜育种骨干材料在地区之间以及与国外品种之间是否存在遗传上的差异,为育种材料创新,种质资源引进,杂交组合亲本选配和分子标记辅助选择育种等提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

采用我国甜菜三大产区科研单位提供的材料 241 份,即东北产区 94 份(多胚二倍体品系 48 份,多胚四倍体品系 35 份,单胚雄性不育系和保持系 11 份),为中国农业科学院甜菜研究所选育或引进的代表性材料;华北产区 66 份(多胚二倍体品系 56 份,多胚四倍体品系 5 份,单胚雄性不育系和保持系 5 份),为内蒙古农牧业科学院甜菜研究所选育或引进的代表性材料;西北产区 81 份(多胚二倍体品系 61 份,多胚四倍体品系 14 份,单胚雄性不育系 6 份),包含来自新疆农业科学院经济作物研究所的 40 份、新疆生产建设兵团石河子甜菜研究所的 21 份、甘肃兰州和恒种业有限公司的 20 份(表 1)。以 9 份外国品种作统一对照(石河子甜菜所提供)。

1.2 田间鉴定试验与生物学性状调查

2008 年 3~4 月下旬,分别在材料提供单位试验地种植不同类型甜菜材料,随机区组排列,4 次重复,2 行区,行长 10 m,株距 25 cm。利用国际通用的

Beta 属鉴定性状的形态指标及调查褐斑病、丛根病病情,收获后测定根产量,调查根腐病株数,收获后 2~3 d 检测含糖率。每个材料按常规调查 30 株,计算平均数。

1.3 基因组 DNA 的提取

取各产区供试材料生育中期 10 个单株的幼嫩叶片混合,统一在黑龙江大学甜菜育种重点实验室进行 DNA 提取和检测。采用改良 CTAB 法^[17]提取基因组 DNA。采用 1%琼脂糖凝胶电泳检测提取的 DNA 质量和浓度,样品稀释到 $10 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$,置 -20°C 冰箱中保存。

1.4 引物筛选与 PCR 扩增

选用 Li 等^[18]报道的引物,选择 4 个代表性的材料(66、x40、x87 和 n9)对 88 个引物组合进行筛选,获得多态性好、条带清晰的 33 对用于扩增(表 2 和表 3)。SRAP-PCR 体系含 $1.6 \mu\text{L}$ dNTPs (2.5 mmol L^{-1})、 1 U Taq DNA 聚合酶、上下游引物各 60 ng、模板 DNA 40 ng,以重蒸水调整体系至 $20 \mu\text{L}$ 。反应程序为 94°C 预变性 3 min; 94°C 1 min, 35°C 1 min, 72°C 1 min, 5 个循环; 94°C 1 min, 50°C 1 min, 72°C 1 min, 35 个循环; 72°C 延伸 10 min; 4°C 保存。PCR 产物经 8% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测,电泳缓冲液为 $0.5\times\text{TBE}$ 。电泳结束后用硝酸银染色观察结果。

1.5 遗传多样性分析

将电泳图谱上清晰出现的条带记为 1,同一位置无条带记为 0,获得 0 和 1 组成的原始矩阵。按 Nei 和 Li 等的方法,遗传相似系数 $GS=2X_{12}/(X_1+X_2)$,遗传距离 $GD=-\ln GS$ 。其中 X_1 、 X_2 分别为成对比较的 2 个品种的扩增带数, X_{12} 为共有带数。利用 MEGA3.1 软件分析,采用非加权类平均法构建聚类图。重复运算 1 000 次后获得自展值(Boot-strap),以百分数表示。利用软件中的 Compute over-all mean 计算组内品种间平均遗传距离。分析数据采用 POPGEN32 软件,用 Shannon 信息指数 I 和 Nei 基因多样性 H 估计品种的遗传多样性信息。采用遗传分化系数 Gst 估计品种的遗传分化。

2 结果与分析

2.1 以生物学性状和经济性状的分类

根据供试单位的多年试验数据,以田间生物学性状和经济性状即根产量、含糖率、抗病性为依据,将供试材料分为 9 大类群,分别为高产高糖抗褐斑病型、中产高糖抗褐斑病型、高产中糖中抗褐斑病

表 1 供试甜菜材料及其倍性
Table 1 Sugar beet varieties used in this study and their ploidy

编号 Code	材料名称 Variety	倍性 Ploidy	编号 Code	材料名称 Variety	倍性 Ploidy	编号 Code	材料名称 Variety	倍性 Ploidy
1	Ebt-1	2N	85	4N204	4N	x75	G05	2N
2	Ebt-2	2N	86	4N009	4N	x76	G06	2N
3	Ebt-3	2N	87	79411	4N	x77	G07	2N
4	Ebt-4	2N	88	4N140	4N	x78	G08	2N
5	Ebt-5	2N	89	4N169	4N	x79	G09	2N
6	Ebt-6	2N	90	426GEZ	4N	x80	G10	2N
7	Ebt-7	2N	91	426EZ	4N	x81	G11	2N
8	Ebt-8	2N	92	03408F2	4N	x82	G12	2N
9	Ebt-9	2N	93	03409F2	4N	x83	G13	2N
10	Ebt-10	2N	94	03410F2	4N	x84	G14	2N
11	Ebt-11	2N	x1	(R41-2)-3	2N	x85	G15	2N
12	Ebt-12	2N	x2	A1-9	4N	x86	G16	2N
13	Ebt-13	2N	x3	T8142	4N	x87	G17	2N
14	Ebt-14	2N	x4	R27-1-8	2N	x88	G18	2N
15	Ebt-15	2N	x5	O2343	2N	x89	G19	2N
16	Ebt-16	2N	x6	R49-1	2N	x90	G20	2N
17	Ebt-17	2N	x7	L7-1	2N	n1	NM-1	2N
18	Ebt-18	2N	x8	BK-1-3-4	2N	n2	NM-2	2N
19	Ebt-19	2N	x9	Y4-2-1	2N	n3	NM-3	2N
20	JV14	2N	x10	R36-8	2N	n4	NM-4	2N
21	JV809-3	2N	x11	M25-5-2	2N	n5	NM-5	4N
22	JV9-3	2N	x12	N-13-3	4N	n6	NM-6	2N
23	JV811-2	2N	x13	O710	2N	n7	NM-7	2N
24	JV11-3	2N	x14	M65-3	2N	n8	NM-8	2N
25	JV834-2	2N	x15	M36-1	2N	n9	NM-9	2N
26	JV34-2	2N	x16	2-15	2N	n10	NM-10	2N
27	JV809-2N	2N	x17	R31-4	2N	n11	NM-11	2N
28	JV9-2	2N	x18	W095	2N	n12	NM-12	2N
29	JV819	2N	x19	BETA-3-1	2N	n13	NM-13	2N
30	JV21	2N	x20	R43-4	2N	n14	NM-14	2N
31	KWS5075	2N	x21	F17	2N	n15	NM-15	4N
32	03208F2	2N	x22	2E-6-2	4N	n16	NM-16	4N
33	03209F2	2N	x23	M24-15-2	4N	n17	NM-17	2N
34	03210F2	2N	x24	M39-8-4	2N	n18	NM-18	2N
35	W044/R03	2N	x25	R25-2	2N	n19	NM-19	2N
36	W860/R02	2N	x26	M14-13	4N	n20	NM-20	2N
37	202×R080	2N	x27	R1	4N	n21	NM-21	2N
38	211-z	2N	x28	xn13-4	4N	n22	NM-22	2N
39	217-z	2N	x29	YF104-7-2	4N	n23	NM-23	2N
40	W412	2N	x30	WZ8KC	4N	n24	NM-24	2N
41	W441	2N	x31	A99-2	2N	n25	NM-25	2N
42	W1200	2N	x32	R16-3-2	2N	n26	NM-26	2N
43	W400	2N	x33	R26-4	2N	n27	NM-27	2N
44	KWS0143	2N	x34	9103R-1	2N	n28	NM-28	2N

(续表 1)

编号 Code	材料名称 Variety	倍性 Ploidy	编号 Code	材料名称 Variety	倍性 Ploidy	编号 Code	材料名称 Variety	倍性 Ploidy
45	96079	2N	x35	XJD141	2N	n29	NM-29	2N
46	KWS5075	2N	x36	XJD154	2N	n30	NM-30	2N
47	2B035	2N	x37	XJ033	2N	n31	NM-31	4N
48	2B039	2N	x38	XJ055	2N	n32	NM-32	2N
49	RIMA	2N	x39	XJ001A	2N	n33	NM-33	2N
50	2B009	2N	x40	XJ005B	2N	n34	NM-34	2N
51	2B019	2N	x41	S01	2N	n35	NM-35	2N
52	202-A	2N	x42	S02	2N	n36	NM-36	2N
53	2B029	2N	x43	S03	2N	n37	NM-37	2N
54	2B042	2N	x44	S04	2N	n38	NM-38	2N
55	2B050	2N	x45	S05	2N	n39	NM-39	2N
56	2B023	2N	x46	S06	2N	n40	NM-40	2N
57	2B051	2N	x47	S07	2N	n41	NM-41	2N
58	2B027	2N	x48	S08	2N	n42	NM-42	2N
59	2B049	2N	x49	S09	2N	n43	NM-43	2N
60	274/427	4N	x50	S10	2N	n44	NM-44	2N
61	174/97	4N	x51	S11	2N	n45	NM-45	2N
62	204/97	4N	x52	S12	2N	n46	NM-46	4N
63	008HN1-2	4N	x53	S13	4N	n47	NM-47	2N
64	202I Co4n	4N	x54	S14	4N	n48	NM-48	2N
65	FA/I-104n	4N	x55	S15	4N	n49	NM-49	2N
66	83407	4N	x56	S16	4N	n50	NM-50	2N
67	4N003	4N	x57	S17	2N	n51	NM-51	2N
68	4N013	4N	x58	S18	2N	n52	NM-52	2N
69	4N1226	4N	x59	S19	2N	n53	NM-53	2N
70	4N261	4N	x60	S20	2N	n54	NM-54	2N
71	4N128	4N	x61	Kws2007	2N	n55	NM-55	2N
72	4N1242	4N	x62	Kws2008	2N	n56	NM-56	2N
73	4N047G	4N	x63	Kws0023	2N	n57	NM-57	2N
74	4N150	4N	x64	AVD 8805	2N	n58	NM-58	2N
75	4N016	4N	x65	AVD8801	2N	n59	NM-59	2N
76	4N1205	4N	x66	AVD0022	2N	n60	NM-60	2N
77	4N1217	4N	x67	HI0305	2N	n61	NM-61	2N
78	4N189	4N	x68	Xt-18	2N	n62	NM-62	2N
79	408-A	4N	x69	HI0871	2N	n63	NM-63	2N
80	4N012	4N	x70	HI0732	2N	n64	NM-64	2N
81	4N001	4N	x71	G01	2N	n65	NM-65	2N
82	4N252	4N	x72	G02	2N	n66	NM-66	2N
83	4N1221	4N	x73	G03	2N			
84	4N249	4N	x74	G04	2N			

x、n 分别代表新疆和内蒙古材料; x61、x62、x63、x64、x65、x66、x67、x69、x70 为外国品种。

x and n represent the varieties from Xinjiang and Inner Mongolia, respectively. x61, x62, x63, x64, x65, x66, x67, x69, and x70 are foreign varieties.

表 2 SRAP 引物序列与名称
Table 2 Sequences of SRAP primers used in this study

正向引物 Forward primer	序列 Sequence (5'-3')	反向引物 Reverse primer	序列 Sequence (5'-3')
me1	TGAGTCCAAACCGGATA	em1	GACTGCGTACGAATTAAT
me2	TGAGTCCAAACCGGAGC	em2	GACTGCGTACGAATTTGC
me3	TGAGTCCAAACCGGAAT	em3	GACTGCGTACGAATTGAC
me4	TGAGTCCAAACCGGACC	em4	GACTGCGTACGAATTTGA
me5	TGAGTCCAAACCGGAAG	em5	GACTGCGTACGAATTAAC
me6	TGAGTCCAAACCGGTAA	em6	GACTGCGTACGAATTGCA
me7	TGAGTCCAAACCGGTCC	em7	GACTGCGTACGAATTCAA
me8	TGAGTCCAAACCGGTGC	em8	GACTGCGTACGAATTCTG
		em9	GACTGCGTACGAATTCTGA
		em10	GACTGCGTACGAATTCTAG
		em11	GACTGCGTACGAATTCTCA

表 3 SRAP 引物组合、扩增带数及多态性带数
Table 3 Number of total and polymorphic fragments per SRAP primer combination

序号 Code	引物组合 Primer combination	扩增带数 No. of fragments	多态性带数 No. of polymorphic fragments	多态性比率 Percentage of polymorphic fragments (%)
1	me1/em11	23	13	56.5
2	me2/em2	23	15	65.2
3	me2/em4	20	11	55.0
4	me2/em8	19	12	63.2
5	me2/em11	17	13	76.5
6	me3em2	19	11	57.9
7	me3/em5	17	10	58.8
8	me3/em8	21	14	66.7
9	me3/em9	22	15	68.2
10	me4/em2	25	15	60.0
11	me4/em3	21	13	61.9
12	me4/em4	21	14	66.7
13	me4/em7	22	13	59.1
14	me4/em9	18	14	77.8
15	me5/em1	23	17	73.9
16	me5/em2	18	12	66.7
17	me5/em6	27	15	55.6
18	me5/em7	19	12	52.6
19	me5/em9	18	11	52.9
20	me5/em11	19	12	63.2
21	me6/em4	24	17	70.8
22	me6/em5	28	18	64.3
23	me6/em6	27	15	55.6
24	me6/em8	21	14	66.7
25	me7/em3	24	15	62.5
26	me7/em6	23	14	60.9
27	me7/em9	26	15	57.7
28	me8/em1	29	21	72.4
29	me8/em2	20	14	70.0
30	me8/em3	24	15	62.5
31	me8/em7	20	13	65.0
32	me8/em8	21	14	66.7
33	me8/em9	20	12	60.0
	总数 Total	719	459	
	平均数 Mean	21.8	13.9	63.8

型、高产抗丛根病型、标准抗丛根病型、高产型、高糖型、高产高糖型和标准型。田间生物学性状调查结果显示,我国三大产区的供试材料各有特色,华北供试材料表现根产量较高、抗丛根病性强的特性;西北供试材料表现根产量高、抗丛根病性较强的特性;东北供试材料表现含糖率较高、抗褐斑病性强的特性。

2.2 SRAP 标记分析

利用 33 对引物扩增 250 份参试材料,产生扩增条带 719 条,其中多态性条带 459 条,平均每对引物扩增条带 21.8 条和多态性条带 13.9 条,多态性条带比率平均为 63.8%。从 SRAP 扩增条带的数量上来看,东北材料(694 条)>华北材料(604 条)>西北材料(592 条);从多态性条带比率来看,东北材料(61%)>西北材料(54.7%)>华北材料(53.0%)。结果显示,选用的 33 对引物在 250 份甜菜材料上均产生了数量较多的特异性条带,多态性丰富,较好地显示了供试品种的遗传多样性。

2.3 遗传距离与遗传相似性分析

MEGA3.1 软件分析结果显示,供试材料的平均遗传距离为 0.4165,平均遗传相似系数为 0.6593。其中华北和东北间的平均遗传距离为 0.4057,平均遗传相似系数为 0.6665;西北和东北间的平均遗传距离为 0.4171,平均遗传相似系数为 0.6590;华北和西北间的平均遗传距离为 0.3941,平均遗传相似系数为 0.6743。具有相近亲缘关系的材料聚到一起,如东北材料中同型的单胚不育系和保持系 25 (JV834-2)和 26 (JV34-2),二者遗传距离在单胚品系中最小,为 0.1121,遗传相似系数最大,为 0.8940,同型的单胚不育系和保持系 23 和 24 聚合到一起,遗传距离为 0.1466,遗传相似系数为 0.8636。结果显示,华北与西北材料间的遗传距离最小,相似系数最大,而东北与西北材料之间的遗传距离最大,相似系数最小。表明华北与西北产区的材料亲缘关系较近,而东北与西北产区材料的遗传基础有一定差异。遗传相似系数平均值为外国品种(0.7528)>单胚品系(0.6945)>多胚四倍体品系(0.6816)>多胚二倍体品系(0.6612),说明外国品种与国产各类型材料之间的遗传基础有一定差异。

2.4 聚类分析

应用 MEGA3.1 软件得到 250 份甜菜材料的遗传关系聚类图(图 1)。按照 UPGMA 方法进行聚类分析,在遗传距离 0.20 处,可将供试材料分为 4 大类群,第 I 类群有 47 个材料,包括 32 个多胚二倍体品

系,2 个多胚四倍体品系,13 个单胚品系,其中东北材料占该类群的 79%,81%的材料属于高产型。第 II 类群有 47 个材料,包括 13 个多胚二倍体品系,34 个多胚四倍体品系,东北材料占该类群的 96%,其中 40%属于高产高糖高抗褐斑病型,43%属于中产高糖高抗褐斑病型。第 III 类群有 66 个材料,包括 54 个多胚二倍体品系,8 个多胚四倍体品系,4 个单胚品系,西北材料占 64%。此类群又分两个亚类,第 I 亚类有 3 个材料,都是华北材料。第 II 亚类又包括 2 个小类群,其中第 1 小类群有 18 个材料(西北材料 13 个,华北材料 5 个),89%属于高产型;第 2 小类群有 45 个材料(东北材料 8 个,西北材料 29 个,外国品种 8 个),76%的材料属于高产抗丛根病型。我国的 37 个材料与 8 个外国品种聚到一起,说明它们遗传基础相近。第 IV 类群有 90 个材料,包括 75 个多胚二倍体品系、10 个多胚四倍体品系、5 个单胚品系,华北材料占 64%,属于高产抗丛根病型的材料占 51%。聚类结果表明,供试材料具有丰富的遗传多样性。材料的聚类与其经济性状存在相关性,但有一定差异。我国多数供试材料与外国品种的遗传基础存在明显差异。

2.5 遗传多样性评价

表 4 表明,东北供试材料的有效等位点、Nei 基因多样度和 Shannon 多样性指数均最高($N_e=1.4629$, $H=0.2882$, $I=0.4482$),华北供试材料的有效等位点、Nei 基因多样度和 Shannon 信息指数($N_e=1.4499$), $H=0.2809$)和 Shannon 信息指数($I=0.4443$)均最低。表明我国三大产区的供试甜菜遗传多样性非常丰富,其中东北材料遗传多样性较好于其他两区。物种水平上,Shannon 多样性指数 $I=0.4799$, Nei 基因多样度 $H=0.3083$, 种内总遗传变异量 $H_t=0.3120$, 居群内遗传变异量 $H_s=0.2784$, 遗传分化系数 $G_{st}=0.1078$, 表明甜菜的遗传变异主要存在于居群之间,且遗传分化不大。利用 POPGEN32 得到的群体聚类图(图 2)可见,我国三大产区供试材料与外国品种分为两类,进一步表明我国材料与外国品种遗传基础有较大差异。各产区之间遗传多样性差异不明显,华北与西北材料亲缘关系较近。

3 讨论

3.1 以 SRAP 标记分析甜菜遗传多样性的有效性

近年来,利用 SRAP 标记对棉花^[10-11]、西瓜^[12]、甘蓝^[13]等许多作物的遗传多样性研究表明,SRAP

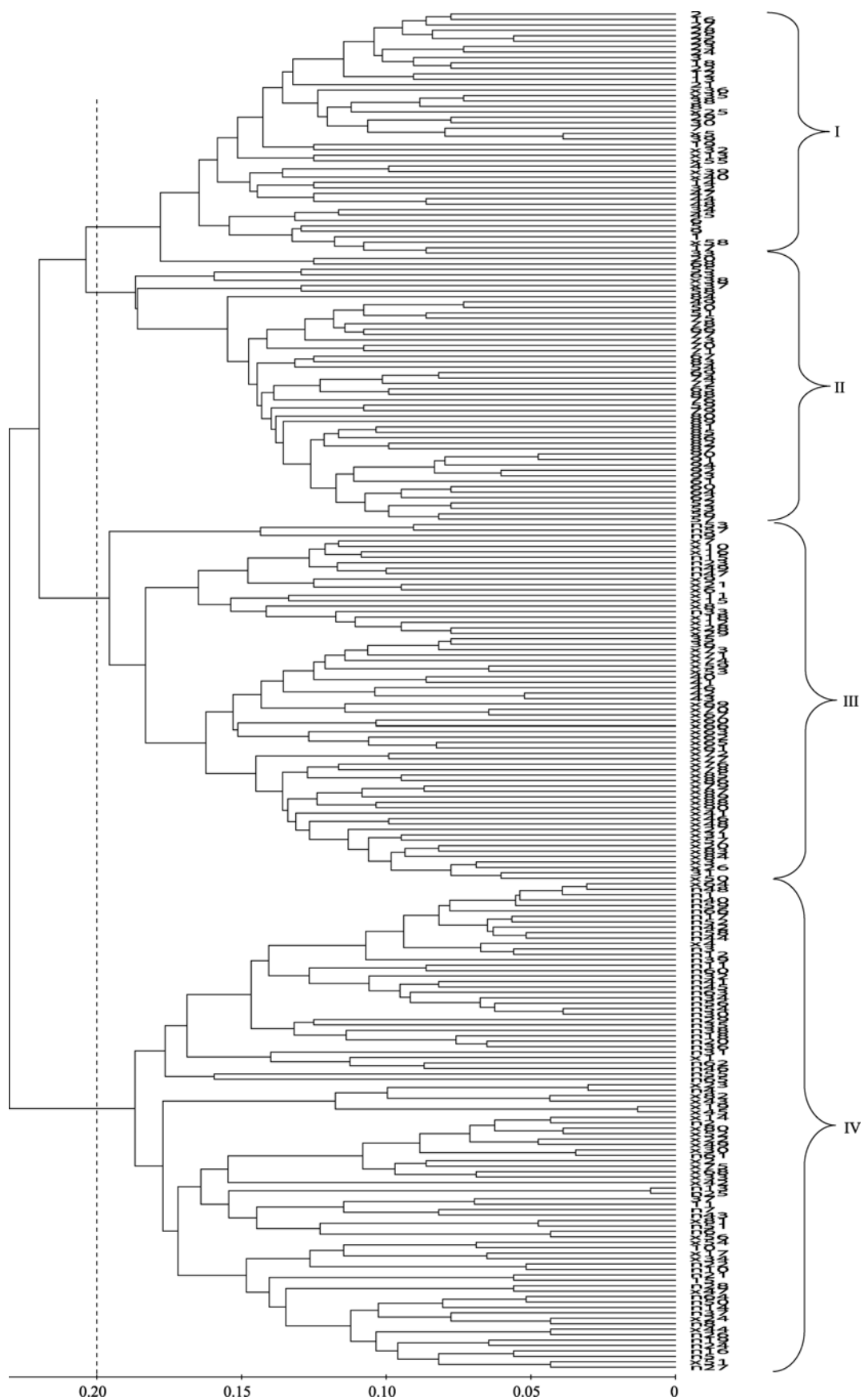


图 1 中国甜菜三大产区 250 份材料遗传多样性聚类图
Fig. 1 UPGMA dendrogram of 250 sugar beet varieties based on SRAP data

表 4 各产区供试甜菜材料的遗传多样性
Table 4 Indices for genetic diversity of sugar beets in this study

编号 Code	分类群 Taxon	N_e	H	I
Pop1	东北 Northeast China	1.4629	0.2882	0.4482
Pop2	西北 Northwest China	1.4502	0.2816	0.4450
Pop3	华北 North China	1.4499	0.2809	0.4443
Pop4	国外 Foreign	1.4310	0.2580	0.3931

N_e : 有效等位点数目; H : Nei 基因多样性; I : Shannon 多样性指数。

N_e : effective number of alleles; H : Nei's gene diversity; I : Shannon's information index.

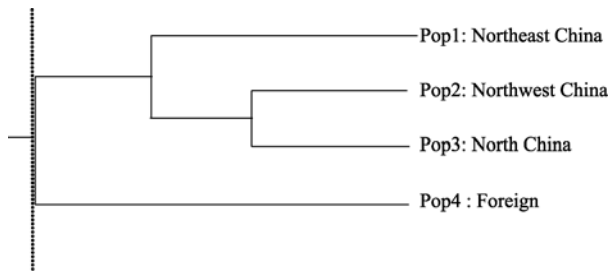


图 2 中国甜菜三大产区和外国材料群体聚类图

Fig. 2 Dendrogram of sugar beet based on UPGMA cluster analysis generated from SRAP data

是一种经济、有效、可靠的分子标记技术。本研究利用 SRAP 分子标记对我国甜菜三大产区的 241 份材料进行遗传多样性分析, SRAP 标记表现出较高的多态性, 说明 SRAP 标记对甜菜的扩增具有较高的效率, 适合对大规模甜菜种质的遗传变异检测。本试验聚类图看出, 已知亲缘关系相近的 9 份国外供试材料有 8 份聚在一起, 表明 SRAP 标记在甜菜资源材料类群划分上较为有效, 可作为甜菜新品种选育及分子标记辅助育种的有力工具。

3.2 甜菜种质遗传多样性相关分析

目前, 利用分子标记技术对我国甜菜进行研究的报道已有很多。路运才等^[1-6]应用不同分子标记分析若干甜菜品种和材料的遗传多样性, 但其材料数量较少, 缺乏代表性。本研究材料来自我国甜菜三大产区, 数量较多, 引物组合数量也多, 并利用不同的遗传多样性分析软件比较与分析, 比较客观真实地揭示了我国的甜菜资源情况。遗传距离结合生物学性状和经济性状调查结果分析可见, 华北产区与西北产区的材料在遗传基础或基因来源上较近, 东北与西北供试材料遗传基础有一定差异, 可能是由于东北供试材料主要以高糖及抗褐斑病为主, 缺少抗丛根病基因, 而华北和西北供试材料表现高产及抗丛根病。聚类结果显示, 我国有 37 个材料与 8 个外国品种聚在一起, 可能这些国内材料是由国外品种杂交而来, 遗传基础相近。聚类时有些二倍体

品系和四倍体品系聚到一类, 可能是由于这些四倍体材料的来源与这些二倍体材料具有一定的亲缘关系, 这些四倍体是由二倍体诱变而来。有个别已知遗传基础相近的材料没有聚到一起, 可能是由于它们经选择后产生不同程度的变异。有些来自不同产区的供试材料聚到一类, 可能是由于多年来各产区育种家之间互相引进交换资源, 经杂交和选择, 遗传基础相近。田间生物学性状调查分类与 SRAP 标记聚类结果有一定的差异, 可能是所用 SRAP 引物标记的性状与调查性状连锁不强所致, 在今后的研究中应增加与甜菜产量或含糖率等育种选择性状紧密连锁的引物筛选工作, 为甜菜分子标记辅助选择育种提供理论指导。外国品种丰产性状较为突出, 而我国甜菜产量一直落后于外国品种, 说明我国甜菜材料需进一步进行高产性状改良筛选或导入外国品种的高产基因。

4 结论

我国材料与外国品种的遗传基础存在较大差异。华北产区与西北产区的供试材料亲缘关系较近, 东北产区的供试材料的遗传基础较为丰富。东北产区供试材料表现含糖率较高、抗褐斑病性较强, 华北和西北产区供试材料表现根产量较高、抗丛根病性中等, 外国材料表现根产量高、抗丛根病性强, 但含糖率偏低。说明我国甜菜材料缺少外国品种的高产和抗丛根病基因。

References

- [1] Lu Y-C(路运才), Wang H-Z(王华忠). Genetic analysis of sugarbeet polyploid varieties by RAPD markers. *Sugar Crops China* (中国糖料), 2006, (3): 5-8 (in Chinese with English abstract)
- [2] Yu X(于歆), Xu D-C(徐德昌), Cui J(崔杰), Wu Y-Y(吴永英), Xia H-M(夏红梅). AFLP relationship and genealogy analysis of sugar beet sumfull series varieties (lines). *Mol Plant Breed* (分子

- 植物育种), 2004, 2(2): 229–234 (in Chinese with English abstract)
- [3] Tian Z-H(田自华), Zhang Z-Y(张子义), Zhang J-F(张剑峰), Shi S-D(史树德), Bai W(白薇), Shao J-W(邵金旺). RAPD analysis of mitochondrial DNA of cytoplasmic male sterile line and its maintainer line in sugarbeet. *Mol Plant Breed* (分子植物育种), 2004, 2(6): 817–828 (in Chinese with English abstract)
- [4] Tian Z-H(田自华), Shi S-D(史树德), Zhang J-F(张剑峰), Zhang Z-Y(张子义), Shao J-W(邵金旺). RAPD analysis of chloroplast DNA of cytoplasmic male sterile line and its maintainer line in sugarbeet. *Acta Agric Boreali-Sin* (华北农学报), 2004, 19(1): 54–56 (in Chinese with English abstract)
- [5] Wang H-Z(王华忠), Wu Z-D(吴则东), Wang X-W(王晓武), Fang Z-Y(方智远). Analysis of the genetic diversity in different types of sugar beets by SRAP and SSR Markers. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2008, 34(1): 37–46 (in Chinese with English abstract)
- [6] Wang H-Z(王华忠), Wu Z-D(吴则东), Han Y(韩英), Wang C-L(王丛玲). Optimization of sugarbeet SRAP-PCR reaction system. *Sugar Crops China* (中国糖料), 2007, (2): 1–4 (in Chinese with English abstract)
- [7] Tautz D. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucl Acids Res*, 1989, 17: 6463–6471
- [8] Liu L-W(柳李旺), Gong Y-Q(龚义勤), Huang H(黄浩), Zhu X-W(朱献文). A new molecular marker SRAP and TRAP and its application. *Hereditas* (遗传), 2004, 26(5): 777–781 (in Chinese with English abstract)
- [9] 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
- [10] Lin Z-X(林忠旭), 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 SRAP linkage map in cotton. *Chin Sci Bull* (科学通报), 2003, 48(15): 1676–1679 (in Chinese)
- [11] Lin Z-X(林忠旭), Zhang X-L(张献龙), Nie Y-C(聂以春). Evaluation of application of a new molecular marker SRAP on analysis of F₂ segregation population and genetic diversity in cotton. *Acta Genet Sin* (遗传学报), 2004, 31(6): 622–626 (in Chinese with English abstract)
- [12] Li Y(李严), Zhang C-Q(张春庆). Studies on genetic diversity with a molecular marker SRAP of watermelon hybrids. *Acta Horti Sin* (园艺学报), 2005, 32(4): 643–647 (in Chinese with English abstract)
- [13] Wen Y-C(文雁成), Wang H-Z(王汉中), Shen J-X(沈金雄), Liu G-H(刘贵华), Zhang S-F(张书芬). Analysis of genetic diversity and genetic basis of Chinese rapeseed cultivars (*Brassica napus* L.) by sequence-related amplified polymorphism markers. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 2006, 39(2): 246–256 (in Chinese with English abstract)
- [14] Liu Y-G(刘月光), Teng Y-Y(滕永勇), Pan C(潘辰), Han Y-C(韩延闯), Zhou M-Q(周明全), Hu Z-L(胡中立). Cluster analysis of *Nelumbo* based on SRAP markers. *Amino Acids Biotic Res* (氨基酸和生物资源), 2006, 28(1): 29–32 (in Chinese with English abstract)
- [15] Wu J(吴洁), Tan W-F(谭文芳), He J-R(何俊蓉), Pu Z-G(蒲志刚), Wang D-Y(王大一), Zhang Z-S(张正圣), Zhan F-F(詹付凤), Yan W-Z(阎文昭). Construct on of SRAP linkage map and QTL mapping for starch content in sweet potato. *Mol Plant Breed* (分子植物育种), 2005, 3(6): 841–845 (in Chinese with English abstract)
- [16] 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
- [17] Chen K-S(陈昆松), Li F(李方), Xu C-J(徐昌杰), Zhang S-L(张上隆), Fu C-X(傅承新). An efficient macro-method of genomic DNA isolation from *Actinidia chinensis* leaves. *Hereditas* (遗传), 2004, 26(4): 529–531 (in Chinese with English abstract)
- [18] Li G, Quiros 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