

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2009.02205

裸燕麦种质资源 AFLP 标记遗传多样性分析

徐 微¹ 张宗文^{1,2,*} 吴 斌¹ 崔 林³

¹ 中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081; ² 国际生物多样性中心东亚办事处, 北京 100081; ³ 山西省农业科学院农作物品种资源研究所, 山西太原 030031

摘 要: 用 20 对 AFLP 引物组合对 281 份栽培裸燕麦(*Avena nuda*) 进行遗传多样性分析, 共得到 1 137 条带, 其中 260 条为多态性带, 引物的平均多态性百分率为 22.96%, 平均多样性信息指数(PIC)为 0.0326。以地理来源分组, 不同来源的组群 Simpson 指数在 1.235~1.495 之间, Shannon 指数范围为 0.1558~0.4437, 组群内变异贡献率为 83.45%, 组群间变异占 16.55%。组群大小与多态性位点数、组群内变异贡献率、Simpson 指数及 Shannon 指数显著相关。内蒙古和山西资源多样性丰富, 东北地区资源独特, 西部地区资源遗传结构单一, 东欧组群与中国内蒙古组群遗传关系最近。国内组群的遗传多样性水平高于国外组群。地方品种与育成品种相比, 组群内变异贡献率较高。建议在遗传多样性丰富地区进一步收集裸燕麦资源, 并加强对材料少、代表性较差的地区, 如中国西北和西南地区的裸燕麦地方品种的收集, 以丰富我国的裸燕麦基因源。

关键词: 裸燕麦; AFLP; 遗传多样性; 种质资源

Genetic Diversity in Naked Oat (*Avena nuda*) Germplasm Revealed by AFLP Markers

XU Wei¹, ZHANG Zong-Wen^{1,2,*}, WU Bin¹, and CUI Lin³

¹ Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China; ² Bioversity International Office for East Asia, Beijing 100081, China; ³ Institute of Crop Germplasm Resources, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Taiyuan 030031, China

Abstract: Oat (*Avena* L.) is one of the most important cereal crops in the world, ranked at the sixth top place in planting area and yield among all cereal crops, and possesses high values in food and nutrition, health protection and feeding livestock. Naked oat (*A. nuda*) is an endemic type in China. However, a few studies on naked oat germplasm at molecular level have been reported. The aim of this study was to evaluate the genetic diversity of core collection of naked oat using AFLP markers. A total of 281 accessions of naked oat were analyzed using 20 AFLP primer combinations. Selective amplification created 1 137 bands, of which 260 were polymorphic, accounting for 22.96% of the total bands. The mean polymorphism information content (PIC) was 0.0326. For different geographic groups, Simpson's index ranged from 1.235 to 1.495, and Shannon's index varied from 0.1558 to 0.4437. The majority (83.45%) of the AFLP variation resided within accessions of each group, and the rest (16.55%) existed among accessions between groups. The sample size of geographic groups was significantly associated with the number of polymorphic loci, proportion of within-group variation, Simpson's index and Shannon's index. Accessions from Inner Mongolia and Shanxi were most diverse, and those from northeastern China were most distinct. Genetic resemblance was found within accessions from western China. Germplasm from East Europe was genetically close to that from Inner Mongolia, China. The genetic diversity of Chinese accessions was significantly higher than that of exotic accessions. Compared with breeding cultivars, landraces presented a higher proportion of within-group variation. Naked oat landraces were suggested to be collected in the regions where are not well represented by the current collections, and collecting activities should be continuous in the diversity-rich areas such as northwestern and southwestern China in order to enrich naked oat gene pool in China.

Keywords: *Avena nuda*; AFLP; Genetic diversity; Genetic resources

燕麦在植物学分类上属于禾本科燕麦属(*Avena* L.), 是世界上重要的农作物之一^[1]。栽培燕麦一般分为带稃型和裸粒型两大类, 前者称为皮燕麦或普通燕麦(*A. sativa* L.), 后者称为裸燕麦(*A. nuda* L.)。

本研究由国家科技支撑计划项目(2006BAD02B05-11)和国家燕麦产业技术体系建设项目资助。

* 通讯作者(Corresponding author): 张宗文, E-mail: zongwenz@163.com; Tel: 010-82105686

Received(收稿日期): 2009-01-06; Accepted(接受日期): 2009-07-20.

国外主要种植皮燕麦, 用作饲草、饲料; 中国主要种植裸燕麦, 几乎全部食用^[2]。我国裸燕麦主要种植在华北、西北和西南高寒干旱地区, 其中内蒙古的播种面积居全国之首^[3]。燕麦具有医疗保健作用, 可降低血脂、控制血糖、减肥和美容, 1997 年被美国食品和药品管理局(Food and Drug Administration, FDA)正式批准为保健食品^[4]。

国内外学者已逐步采用 RFLP^[5-7]、RAPD^[7-8]、AFLP^[8-10]、微卫星^[11-12]等标记从分子水平评价了燕麦的遗传多样性。然而, 对栽培裸燕麦种质资源的系统评价仍是一项空白。截至 2000 年, 国家作物种质库保存燕麦资源 3 202 份, 其中裸燕麦 1 937 份^[2], 利用现代分子生物技术对这些材料进行深入评价是目前亟待开展的课题。AFLP 即扩增片段长度多态性, 具有多态性高、DNA 用量少、无需预知基因组序列信息、稳定性好等优点, 此技术已被应用于多种作物^[13-16]。本研究拟对中国燕麦核心种质(未发表)中的裸燕麦开展 AFLP 标记遗传多样性分析, 旨在揭示我国裸燕麦种质资源地理分布特点和遗传关系, 为深入了解裸燕麦的起源和传播提供分子生物学依据, 为我国裸燕麦的收集、保护、研究和利用提供理论指导。

1 材料与方 法

1.1 试验材料及其分组

采用中国燕麦核心种质中的 281 份裸燕麦材料, 国内资源 245 份, 其中甘肃 12 份、河北 25 份、黑龙江 7 份、吉林 1 份、内蒙古 56 份、宁夏 1 份、青海 10 份、山西 99 份、陕西 10 份、贵州 6 份、四川 8 份、西藏 2 份、云南 8 份; 国外资源 36 份, 其中加拿大 10 份、智利 2 份、匈牙利 5 份、前苏联 15 份、丹麦 1 份、法国 1 份、日本 1 份, 来源地不详 1 份。国内材料中 169 份为地方品种, 76 份为选育品种。全部材料均由国家种质库提供。

为便于分析, 将 281 份裸燕麦按地理来源分组, 并对材料数较少的几份进行合并, 如宁夏的 1 份材料与甘肃的材料合并为甘肃+宁夏组群, 吉林的 1 份材料与黑龙江材料合并为东北组群, 贵州、四川、云南、西藏的材料合并为西南组群, 加拿大和智利的材料合并为美洲组群, 前苏联和匈牙利的材料合并为东欧组群, 法国和丹麦各 1 份材料合并为西欧组群, 日本和国外未知来源各 1 份材料合并为国外其他组群。最终形成 12 个组群。

1.2 基因组 DNA 提取

采用改良的 CTAB 法提取 DNA, 提取液中加入 1% β -巯基乙醇和水溶性的 PVP, 以防止植物组织中酚类的氧化; 氯仿-异戊醇抽提两次; 沉淀 DNA 用无水乙醇代替异丙醇, 并同时加入 1/10 体积的 3 mol L⁻¹ 醋酸钠。

1.3 AFLP 分析

采用分步法对模板 DNA 进行酶切和连接。用限制性内切酶 *EcoR* I 和 *Mse* I 对基因组 DNA 双酶切。酶切体系 20 μ L, 包含 DNA 2 μ L, *EcoR* I (20 U μ L⁻¹) 0.3 μ L, *Mse* I (10 U μ L⁻¹) 0.5 μ L, 10 \times *EcoR* I buffer 2.0 μ L, 100 \times BSA 0.2 μ L, ddH₂O 15.0 μ L, 混匀后 37 $^{\circ}$ C 水浴 7 h。连接体系 30 μ L, 包含酶切产物 5 μ L, 10 \times T4 连接酶 buffer 3.0 μ L, *EcoR* I 接头(50 pmol μ L⁻¹) 1.0 μ L, *Mse* I 接头(50 pmol μ L⁻¹) 1.0 μ L, T₄ 连接酶 (400 U μ L⁻¹) 0.2 μ L, ddH₂O 19.8 μ L, 混匀后 16 $^{\circ}$ C 水浴过夜, 65 $^{\circ}$ C 灭活 20 min, -20 $^{\circ}$ C 保存。

预扩增采用 E+0/M+0 引物组合, 体系 20 μ L, 包含 DNA 模板 3.0 μ L, 10 \times PCR buffer (含 Mg²⁺ 15 mmol L⁻¹) 2.0 μ L, dNTP (各 10 mmol L⁻¹) 0.4 μ L, E00 引物(10 pmol μ L⁻¹) 1.0 μ L, M00 引物(10 pmol μ L⁻¹) 1.0 μ L, *Taq* 酶(5 U μ L⁻¹) 0.2 μ L, ddH₂O 12.4 μ L。混匀离心后用以下程序扩增: 94 $^{\circ}$ C 4 min; 94 $^{\circ}$ C 30 s, 56 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 1 min, 30 个循环; 72 $^{\circ}$ C 7 min; 4 $^{\circ}$ C 保存。预扩增产物稀释 20 倍后于 -20 $^{\circ}$ C 保存。

选择性扩增选用 E+3/M+3 引物组合。选扩体系 20 μ L, 包含稀释的预扩增产物 3.0 μ L, 10 \times PCR buffer (含 Mg²⁺ 15 mmol L⁻¹) 2.0 μ L, Mg²⁺ (10 mmol L⁻¹) 1.0 μ L, dNTP (各 10 mmol L⁻¹) 0.4 μ L, E00 引物 (10 pmol μ L⁻¹) 1.2 μ L, M00 引物(10 pmol μ L⁻¹) 1.2 μ L, *Taq* 酶(5 U μ L⁻¹) 0.2 μ L, ddH₂O 11.0 μ L。混匀离心后用以下程序扩增: 94 $^{\circ}$ C 4 min; 94 $^{\circ}$ C 30 s, 65 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 1 min, 12 个循环, 每循环降低 0.7 $^{\circ}$ C; 94 $^{\circ}$ C 30 s, 56 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 1 min, 25 个循环; 72 $^{\circ}$ C 7 min; 4 $^{\circ}$ C 保存。

选择扩增后的样品中加入 5 μ L loading buffer (98%甲酰胺; 10 mmol L⁻¹ EDTA, pH 8.1; 0.25%二甲苯青), 95 $^{\circ}$ C 变性 5~8 min, 然后迅速放入冰浴中冷却, 在 80 W 下用 5%聚丙烯酰胺凝胶电泳 90 min 左右, 至二甲苯青指示线距板底部约 1/3 处。银染检测扩增产物。

1.4 数据处理与分析

只记录清晰的谱带, 有带赋值为“1”, 无带赋

值为“0”。计算每对引物的多态性百分率及多态性信息指数(PIC)^[17]。 $PIC = \sum(1-p_i^2)/n$, 其中, p_i 为任一引物组合第 i 条多态性带在所有供试材料中出现的频率; n 为供试材料的总数。用 Simpson 指数(D)和 Shannon 指数(H')评价各组群的多样性。

$$D = 1 / \sum_{i=1}^s p_i^2 ; H' = - \sum_{i=1}^s p_i \ln p_i$$

用 GenAlEx 6.1^[18]作分子方差分析(AMOVA), 并计算组群内及组群间变异贡献率。用 SAS 软件对组群大小和各项遗传参数做线性回归分析。用 PopGene 1.32^[19]计算个体间及组群间的 Nei's 遗传距离, 采用非加权配对算术平均法(UPGMA)和邻接法(neighbor-joining)在 MEGA4^[20]中绘制聚类图, 用 NTSYSpc 2.2^[21]做主坐标分析。

2 结果与分析

2.1 引物的扩增效果

20对 AFLP 引物组合共扩增出 1 137 条带, 其中 260 条为多态性带(表 1)。不同引物组合的效果差异较大, 扩增出总带 40~88 条, 平均 56.85 条; 多态性

条带 4~23 条, 平均 13 条。引物组合 E+GTT/M+ACG 的多态性百分率最高, 为 40.00%; E+ACA/M+CAA 最低, 为 6.25%; 平均多态性百分率 22.96%。不同引物的多样性信息指数(PIC)变化范围为 0.0098~0.0639, 平均为 0.0326。图 1 为引物组合 E+AGG/M+CTA 对 145~177 号材料的 AFLP 指纹图谱。

2.2 遗传变异及遗传多样性分析

12 个组群的多态性位点数变化范围为 67~250 个, 内蒙古组群最多, 其次是山西(249)和河北组群(217), 国外其他组群最低; 组群内变异贡献率范围在 0.30%~33.34%之间, 贡献率最大的 3 个组群依次是山西、内蒙古(19.17%)、河北(6.59%)组群, 国外其他组群最低; Simpson 指数范围为 1.235~1.495, 内蒙古最高, 其次是中国山西(1.489)和东欧(1.453)组群, 青海最低; Shannon 指数范围在 0.1558~0.4437 之间, 最高的 3 个组群依次是中国山西、中国内蒙古(0.4412)和东欧(0.4064)组群, 国外其他组群最低(表 2)。12 个组群间变异对总变异的贡献率为 16.55%, 组群内变异贡献率为 83.45%。

比较不同品种类型之间的差异, 发现在多态性

表1 20对AFLP引物组合的扩增结果
Table 1 Amplification results of 20 AFLP primer combinations

引物组合 Primer combination	总带数 No. of bands	多态性带数 No. of polymorphic bands	多态性百分率 Percentage of polymorphic bands (%)	多态性信息指数 PIC
E+AAC/M+CAG	40	7	17.50	0.0193
E+ACA/M+CAA	64	4	6.25	0.0098
E+ACC/M+CAA	56	9	16.07	0.0198
E+ACG/M+CAA	88	17	19.32	0.0337
E+ACG/M+CAC	65	23	35.38	0.0639
E+ACG/M+CAT	58	18	31.03	0.0465
E+ACT/M+CAA	53	10	18.87	0.0272
E+AGA/M+ACG	60	12	20.00	0.0341
E+AGG/M+CAA	55	12	21.80	0.0371
E+AGG/M+CTA	61	17	27.87	0.0366
E+ATG/M+GAG	78	21	26.92	0.0436
E+CAG/M+CGA	58	17	29.31	0.0387
E+CAG/M+CGC	50	15	30.00	0.0374
E+GAC/M+GAC	55	8	14.50	0.0210
E+GTC/M+CCC	45	5	11.11	0.0243
E+GTC/M+GAC	52	19	36.54	0.0421
E+GTT/M+ACG	40	16	40.00	0.0313
E+GTT/M+CGC	43	7	16.28	0.0215
E+TAT/M+ACG	53	13	24.53	0.0378
E+TAT/M+CCT	63	10	15.87	0.0259
合计 Total	1137	260	—	—
平均 Average	56.9	13.0	22.96	0.0326

PIC: polymorphism information content.

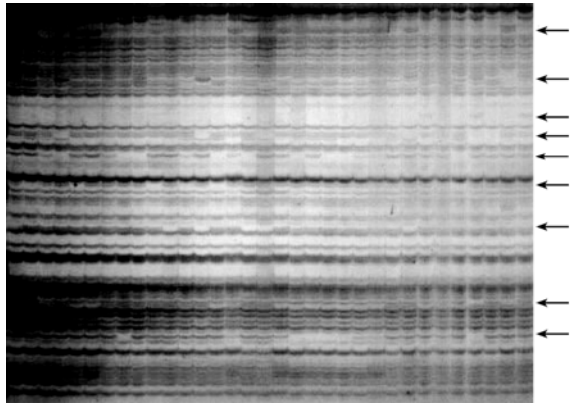


图 1 引物组合 E+AGG/M+CTA 对部分材料的 AFLP 指纹图谱
Fig. 1 AFLP fingerprinting of the primer combination E+AGG/M+CTA for part accessions
 从左至右, 各泳道依次为 145 至 177 号材料。箭头示差异条带。
 From left to right, lanes loaded with genomic DNA of accessions from No. 145 to 177. Arrows show polymorphic bands.

位点数和组群内变异贡献率两项参数上, 由高到低依次为国内地方品种(256, 59.77%)、国内选育品种(249, 27.54%)、国外品种(227, 11.71%); 而对于 Simpson 及 Shannon 指数, 则国内选育品种最高, 分别为 1.535 和 0.4549; 其次是国内地方品种, 为

1.491 和 0.4471; 国外品种最低, 为 1.469 和 0.4290 (表 3)。3 个组群间变异对总变异的贡献率为 3.98%, 组群内变异贡献率为 96.02%。

进一步比较国内外品种之间的差异, 发现国内品种 Simpson 指数(1.518)及 Shannon 指数(0.4595)均高于国外品种相应指数(1.469 和 0.4290); 国内组群变异贡献率(86.79%)显著大于国外组群变异比例(11.71%)。

2.3 组群大小与遗传参数的相关性

为了揭示组群大小与相关遗传参数的关系, 分别分析各组群材料份数与多态性位点数、组群内变异、Simpson 指数及 Shannon 指数的相关性(表 4)。按来源地分组时, 组群大小与 4 项参数均呈现极显著相关性($P < 0.01$ 或 $P < 0.001$); 若按品种类型分组, 则组群大小仅与组群内变异贡献率显著相关($P < 0.05$), 与其他参数均无相关性。

2.4 组群及群体的遗传结构

采用 UPGMA 法的聚类结果显示, 在遗传距离 0.05 处, 12 个不同来源的组群可被划分为两大组(图 2)。A 组包括 3 个国内组群和 3 个国外组群, B 组

表 2 不同来源或不同类型的组群大小及相关遗传参数
Table 2 Size and genetic parameters of groups with different geographic origins

组群 Group	组群大小 Sample size	多态性位点数 No. of polymorphic loci	组群内变异贡献率 Proportion of within-group variation (%)	D	H'
中国甘肃+宁夏 Gansu+Ningxia, China	13	171	3.23	1.350	0.3317
中国河北 Hebei, China	25	217	6.59	1.361	0.3654
中国东北 Northeast, China	8	132	1.57	1.274	0.2540
中国内蒙古 Inner Mongolia, China	56	250	19.17	1.495	0.4412
中国青海 Qinghai, China	10	111	1.64	1.235	0.2249
中国山西 Shanxi, China	99	249	33.34	1.489	0.4437
中国陕西 Shaanxi, China	10	127	1.93	1.277	0.2533
中国西南 Southwest, China	24	173	5.44	1.317	0.3138
美洲 America	12	191	3.62	1.440	0.3880
东欧 East Europe	20	213	6.30	1.453	0.4064
西欧 West Europe	2	74	0.33	1.285	0.1721
国外其他 Exotic others	2	67	0.30	1.258	0.1558
总体 Total	281	260	—	1.520	0.4626

组群内变异大小由分子方差分析(AMOVA)的平方和来衡量。

Within-group variation calculated from the sum of squares from analysis of molecular variance (AMOVA).

表 3 不同品种类型的组群大小及相关遗传参数
Table 3 Size and four genetic parameters of different types of group

组群 Group	组群大小 Sample size	多态性位点数 No. of polymorphic loci	组群内变异贡献率 Proportion of within-group variation (%)	D	H'
国内品种 Domestic	245	260	86.79	1.518	0.4595
国内地方品种 Domestic landraces	169	256	56.77	1.491	0.4471
国内选育品种 Domestic cultivars	76	249	27.54	1.535	0.4549
国外品种 Exotic	36	227	11.71	1.469	0.4290

表 4 组群大小和遗传参数的线性回归分析
Table 4 Linear regression of genetic parameters over accession number of a group

遗传参数 Genetic parameter	地理来源 Geographic origin		品种类型 Variety type	
	相关系数 Coefficient	R ²	相关系数 Coefficient	R ²
多态性位点数 No. of polymorphic loci	0.7517**	0.5650	0.8696	0.7563
组群内变异贡献率 Proportion of within-group variation	0.9965***	0.9932	0.9984*	0.9968
D	0.7255**	0.5264	0.1071	0.0155
H'	0.7180**	0.4670	0.4996	0.2460

*P<0.05; **P<0.01; ***P<0.001.

表 5 281 份裸燕麦在各类群中的分布情况
Table 5 Distribution in nine major clusters of 281 *A. nuda* accessions

组群 Group	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	Total
中国甘肃+宁夏 Gansu+Ningxia, China			1		2	1		1	8	13
中国河北 Hebei, China				23				2		25
中国东北 Northeast, China				8						8
中国内蒙古 Inner Mongolia, China		6	9	15	2		19	5		56
中国青海 Qinghai, China								2	8	10
中国山西 Shanxi, China	14	30	4				17	33	1	99
中国陕西 Shaanxi, China					1				9	10
中国西南 Southwest, China								1	23	24
美洲 America	2				1	9				12
东欧 East Europe			2		2	12	1	2	1	20
西欧 West Europe						2				2
国外其他 Exotic others						1		1		2
合计 Total	16	36	16	46	8	25	37	47	50	281

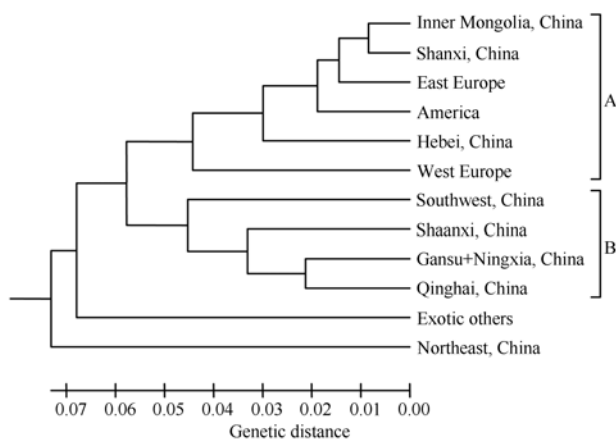


图 2 基于 Nei's 遗传距离的 12 个组群 UPGMA 聚类结果
Fig. 2 UPGMA dendrogram of 12 groups based on Nei's genetic distance

包括 4 个国内组群, 中国东北和国外其他组群遗传背景特殊, 与两大组关系较远。从地理来源上看, A 组中国内组群主要来自华北地区, 包括内蒙古、山西及河北, 其中内蒙古和山西组群的遗传关系最近, 国外组群中东欧与国内资源的遗传关系更近; B 组中各组群均来自我国西部地区, 包括青海、甘肃+宁夏、陕西及西南组群, 其中青海与甘肃+宁夏的资源遗传距离更小, 西南组群与其他来自西北的组群遗传关系稍远。

用邻接法(neighbor-joining)分析 281 份裸燕麦的遗传结构, 聚类图显示全部材料可划分为 9 个类群(图 3), 不同类群包含的材料数差异较大, 但均涵盖多个地理来源(表 5)。资源数量最多的第 IX 类包含了来自 6 个地区的 50 份材料, 以我国西部资源为主。第 VI 类除 1 份甘肃材料外, 其余 24 份均来自国外, 集中了国外材料总数的 67%。东北资源全部分布在第 IV 类。资源最少的第 V 类只涵盖了 8 份材料, 且无明显地理分布规律, 遗传背景较为独特。其余各类中的资源主要来自内蒙古和山西。由此可见, 内蒙古和山西两省的材料分布最分散, 均覆盖 6 个类群, 遗传背景复杂。而河北、东北、青海、陕西和西南地区的资源集中在一个或两个类群, 遗传结构较单一。国外各组群中东欧材料分布最分散, 覆盖了 6 个类群。从材料类型上看, 地方品种和选育品种的分布呈现既集中又分散的特点, 除第 V、VI 类外, 在其余各类群中皆有分布, 但地方品种有 51% 的材料集中在第 VIII 和第 IX 类, 选育品种有 55% 集中在第 I 和第 II 类。

2.5 国内与国外材料的遗传关系

组群聚类结果显示, 国外大部分裸燕麦材料与

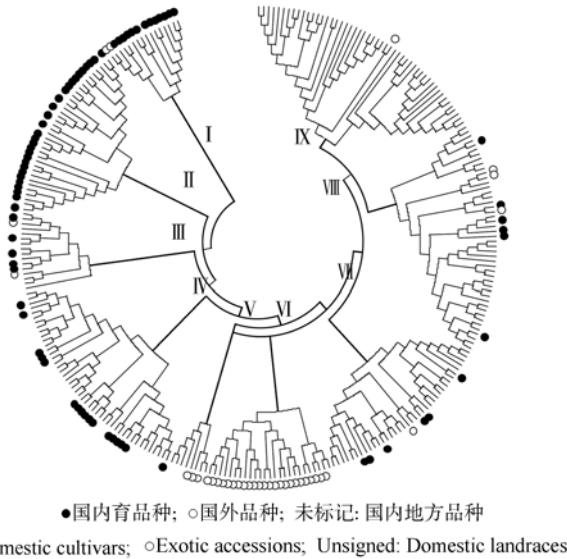


图 3 邻接法对 281 份裸燕麦的聚类结果
 Fig. 3 Clustering of 281 *A. nuda* accessions based on neighbor-joining analysis

表 6 聚类结果的 A 组中 6 个组群间的 Nei's 遗传距离
 Table 6 Nei's genetic distance among six groups in cluster A revealed by UPGMA analysis

组群 Group	东欧 East Europe	美洲 America	西欧 West Europe
中国内蒙古 Inner Mongolia, China	0.0237	0.0396	0.0910
中国山西 Shanxi, China	0.0340	0.0422	0.0946
中国河北 Hebei, China	0.0560	0.0756	0.1177

国内华北地区的材料遗传关系相近, 分在同一组(图 2)。按该组中 6 个组群之间的 Nei's 遗传距离, 中国内蒙古与东欧组群的距离最小(表 6)。进一步对 6 个组群中遗传关系最近的 4 个国内外组群做二维主成分分析, 结果显示, 内蒙古和山西组群遗传结构复杂, 与聚类结果吻合, 且二者交错重叠, 但山西材料较多位于右下方, 内蒙古材料倾向于分布在左上方(图 4)。东欧与美洲资源在空间上并未明显分开, 但位置偏于上方, 与山西和内蒙材料都有交错, 与内蒙资源渗透更严重。PCA 分析与遗传距离的计算结果相吻合。

3 讨论

3.1 引物多态性与裸燕麦分子评价

Fu^[10]等用 5 对 AFLP 引物对属于 25 个种的 167 份燕麦材料扩增, 不同引物获得 57~122 条清晰的多态性条带; 用相同引物研究 670 份普通栽培燕麦的遗传多样性, 平均每对引物扩增出 34 条清晰的多态

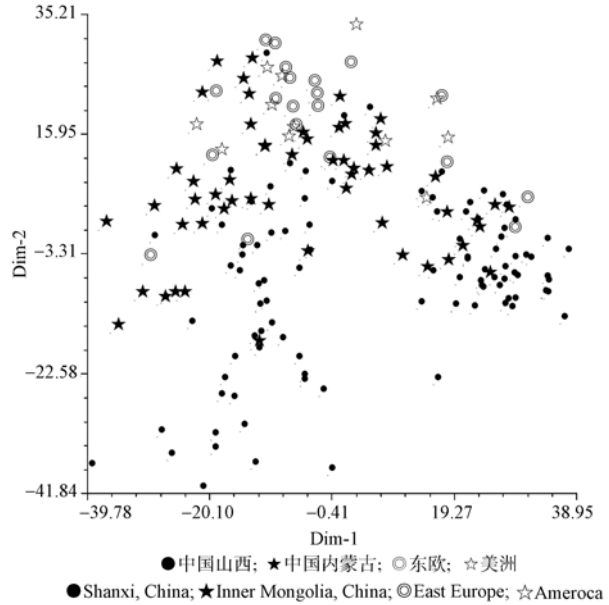


图 4 对国内外 4 个组群共 187 份材料的二维主坐标分析
 Fig. 4 Two-dimension principal correspondence analysis of 187 *A. nuda* accessions from four groups

性条带^[9]。本试验获得的多态性条带数目虽略低于 Fu 的研究结果, 但与用 RAPD^[7-8]、SSR^[11-12]标记研究燕麦的结果相比, 每对引物仍能获得较高的多态性信息量, 可见 AFLP 标记完全适用于裸燕麦的分子评价。

3.2 组群内及组群间的遗传变异

对不同组群的遗传变异分析表明, 国内各组群中山西和内蒙古组群遗传变异较大。内蒙古地域辽阔, 经纬跨度大, 复杂多变的气候条件有利于裸燕麦的遗传分化。然而, 山西省地理条件较内蒙古单一, 但组群内变异却高于内蒙古资源, 一方面可能是山西从国内其他省份和国外引种较多, 另一方面由于山西组群中包含相当一部分选育品种, 这些品种经过人为的驯化与目标性状选择后, 逐渐形成了与其他资源不同的, 有着独特遗传背景的材料。组群间变异贡献率的分析结果显示, 不同地理来源的组群之间变异贡献率为 16.55%, 高于 Fu^[9]等对普通栽培燕麦的相关研究结果。可见, 来自不同地域的裸燕麦受地理气候条件影响较大, 各自形成了较为独特的遗传背景。

3.3 组群大小对遗传参数的影响

本研究中不同地理来源的材料在 1~99 之间, 相关分析显示不同地理来源的组群大小与 4 项参数均呈现极显著相关性($P < 0.01$ 或 $P < 0.001$); 而不同品种类型的组群大小与多态性位点数、Simpson 指数及 Shannon 指数均不相关, 与组群内变异相关性降低。

由此可见, 组群大小与遗传参数并无绝对的正相关性, 并非资源份数越多, 相应的遗传参数一定越大^[22]。另一方面, 本研究采用的裸燕麦核心种质是通过来源地分层法这一取样策略构建的, 因此不同地理来源的组群大小与遗传参数的显著正相关性恰好证明了采用该策略构建的核心种质保证了各来源地内每份材料都具有很强的代表性, 从而使组群内获得最丰富的遗传变异及遗传多样性。这一方法的有效性在国外一些研究中也得到证实^[9,12]。然而, 此方法却未能使基于品种类型分组的组群捕捉到最大的遗传变异, 有必要对其中原因展开进一步研究, 为裸燕麦核心种质的调整 and 不断完善提供依据。

3.4 遗传关系及遗传结构

UPGMA 聚类结果与地理来源表现出较高的一致性, 但国外材料与国内材料并未明显分开, 而是与华北地区的资源分为一组, 说明国外与我国华北地区的裸燕麦种质交流较频繁。西南与西北各省的资源聚为一组, 与华北地区的材料亲缘关系较远, 可见西部资源的遗传背景受地理条件影响较大。此外, 东北组群遗传背景独特, 可注意挖掘该地区的特殊材料。群体聚类结果表明, 山西和内蒙古的资源遗传结构复杂; 而河北、东北、青海、陕西和西南组群的遗传结构单一, 应着力拓宽这些地区裸燕麦资源的遗传基础, 为育种提供更多样化的材料。此外, 值得注意的是, 尽管选育品种的数量较少, 但在多样性指数上却略高于地方品种, 可能因为这些选育品种的祖先亲本来源多样化, 并未局限于少数优良品种, 因此人为的驯化与选择并未使其遗传基础变窄。地方品种中有相当一部分来自西部地区, 品种间表现出一定的相似性。建议在遗传多样性丰富地区进一步收集燕麦资源的同时, 加强对那些材料少、代表性较差的地区如西北和西南地区的燕麦地方品种的收集, 以丰富我国的燕麦基因源。

3.5 裸燕麦的起源与传播

Vavilov^[23]认为, 普通栽培燕麦(*A. sativa*)由其初生起源地地中海沿岸引入中国后, 经突变演化为大粒裸燕麦(*A. nuda*), 因此中国是大粒裸燕麦的次生起源中心。Жуковский^[2]指出, 裸粒燕麦类型是在中国和蒙古国的接壤地带由突变产生, 这个发源地可以认为是裸燕麦的基因中心。本研究发现内蒙古的资源遗传结构复杂, 多样性极为丰富, 初步印证了中国-蒙古一带是裸燕麦发源地这一观点。此外, Nei's 遗传距离和主成分分析的结果都表明, 中国内

蒙古和东欧组群遗传关系最近, 本研究结果支持裸燕麦由中国引入欧洲^[23]的观点。

4 结论

AFLP 标记适用于裸燕麦的多样性研究, 能够获得较高的信息量。我国裸燕麦种质资源遗传多样性比较丰富, 聚类结果与地理来源一致性较强。山西和内蒙古的资源遗传变异大, 多样性丰富; 西部各省的资源遗传结构较单一; 东欧与中国内蒙古资源的遗传关系最近。建议在遗传多样性丰富地区进一步收集燕麦资源, 并加强对材料少、代表性较差的地区, 如西北和西南地区的燕麦地方品种的收集, 以丰富我国的燕麦基因源。

References

- [1] Zheng D-S(郑殿升), Wang X-M(王晓明), Zhang J(张京). Descriptors and Data Standard for Oats (*Avena* spp.) (燕麦种质资源描述规范和数据标准). Beijing: China Agriculture Press, 2006 (in Chinese)
- [2] Dong Y-C(董玉琛), Zheng D-S(郑殿升). Crops and Their Wild Relatives in China (中国作物及其野生近缘植物). Beijing: China Agriculture Press, 2006 (in Chinese)
- [3] Wang M-Y(王茅燕), Qi X-L(齐秀丽), Zhang F-Y(张凤英). Progress in the research of oat molecular biology abroad. *J Inner Mongolia Agric Univ* (内蒙古农业大学学报), 2001, 22(4): 139-144 (in Chinese with English abstract)
- [4] Zheng D-S(郑殿升), Lü Y-C(吕耀昌), Tian C-Y(田长叶), Zhao W(赵伟). Analysis on beta-glucan content of naked oat (*Avena nuda* L.) in China. *J Plant Genet Resour* (植物遗传资源学报), 2006, 7(1): 54-58 (in Chinese with English abstract)
- [5] O'Donoghue L S, Souza E, Tanksley S D, Sorrells M E. Relationships among North American oat cultivars based on restriction fragment length polymorphisms. *Crop Sci*, 1994, 34: 1251-1258
- [6] Alicchio R, Aranci L, Conte L. Restriction fragment length polymorphism based phylogenetic analysis of *Avena* L. *Genome*, 1995, 38: 1279-1284
- [7] Nocelli E, Giovannini T, Bioni M, Alicchio R. RFLP- and RAPD-based genetic relationships of several diploid species of *Avena* with the A genome. *Genome*, 1999, 42: 950-959
- [8] Edyta P G. Pedigree, RAPD and simplified AFLP-based assessment of genetic relationships among *Avena sativa* L. cultivars. *Euphytica*, 2004, 138: 13-22
- [9] Fu Y B, Peterson G W, Williams D, Richards K W, Fetch J M. Patterns of AFLP variation in a core subset of cultivated hexaploid oat germplasm. *Theor Appl Genet*, 2005, 111: 530-539
- [10] Fu Y B, Williams D J. AFLP variation in 25 *Avena* species. *Theor Appl Genet*, 2008, 117: 333-342
- [11] Li C D, Rossnagel B G, Scoles G J. Tracing the phylogeny of the hexaploid oat *Avena sativa* with satellite DNAs. *Crop Sci*, 2000, 40: 1755-1763
- [12] Fu Y B, Chong J, Fetch T, Wang M L. Microsatellite variation in germplasm accessions of the wild oat *Avena sterilis* L. *Theor Appl Genet*, 2007, 114: 1029-1038

- [13] Russell J R, Fuller J D, Macaulay M, Hatz B G, Jahoor A, Powell W, Waugh R. Direct comparison of levels of genetic variation among barley accessions detected by RFLPs, AFLPs, SSRs and RAPDs. *Theor Appl Genet*, 1997, 95: 714–722
- [14] Shoaib A, Arabi M I E. Genetic diversity among Syrian cultivated and landraces wheat revealed by AFLP markers. *Genet Resour Crop Evol*, 2006, 53: 901–906
- [15] Du J-Y(杜金友), Li Y(黎裕), Wang T-Y(王天宇), Shi Y-S(石云素), Song Y-C(宋燕春), Wang H-B(王海波). Studies of genetic diversity in maize inbred lines based on SSRs and AFLPs markers. *Acta Agric Boreali-Sin* (华北农学报), 2003, 18(1): 59–63 (in Chinese with English abstract)
- [16] Yan L(闫龙), Guan J-P(关建平), Zong X-X(宗绪晓). Genetic diversity analysis of pigeon pea germplasm resources by AFLP. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2007, 33(5): 790–798 (in Chinese with English abstract)
- [17] Weir B S. *Genetic Data Analysis: Methods for Discrete Population Genetic Data*. Sunderland, MA, USA: Sinauer Associates, 1990
- [18] Peakall R, Smouse P E. GENALEX 6: Genetic analysis in Excel: Population genetic software for teaching and research. *Mol Ecol Notes*, 2006, 6: 288–295
- [19] Yeh F C, Boyle T J B. Population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits. *Belg J Bot*, 1997, 129: 157
- [20] Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S. MEGA4: Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol Biol Evol*, 2007, 24: 1596–1599
- [21] Rohlf F J. NTSYSpc: Numerical Taxonomy System, ver. 2.20. Setauket, NY, USA: Exeter Publishing Ltd., 2008
- [22] Xu N(徐宁), Cheng X-Z(程须珍), Wang L-X(王丽侠), Wang S-H(王素华), Liu C-Y(刘长友), Sun L(孙蕾), Mei L(梅丽). Screening and application of SSR molecular markers for genetic diversity analysis of Chinese adzuki bean germplasm resources. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2009, 35(2): 219–227 (in Chinese with English abstract)
- [23] Vavilov N I. *Studies on the Origin of Cultivated Plants*. Leningrad: State Press, 1926