

滇西地区小麦地方品种SSR分子标记遗传多样性及亲缘关系分析

陈丹¹, 祝迪², 周国雁¹, 武晓阳¹, 伍少云¹, 蔡青¹

(¹云南省农业科学院生物技术与种质资源研究所/国家农作物种质资源库-云南分库/农业农村部西南作物基因资源与种质创制重点实验室/云南省农业生物技术重点实验室, 昆明 650205; ²普洱学院生物与化学学院, 云南普洱 665000)

摘要:作物种质资源鉴定评价是种质资源保护与利用的重要环节。滇西地区是云南省小麦地方品种最重要的原产地, 分布有类型多样数量丰富的资源。开展分子遗传多样性分析对明确其遗传背景、提高育种利用率具有重要意义。本研究利用65个SSR分子标记对186份来源于滇西地区的小麦地方品种进行遗传多态性分析。共检测出等位变异407个, 平均为6.26个。主要等位基因频率共计为36.1077, 平均为0.5555。基因多样性指数总计为37.5473, 平均为0.5777。多态性信息含量(PIC)总计为34.9924, 平均为0.5383, 变幅为0.1465~0.8356之间, 多态性达到高度水平(PIC≥0.5)。A、B、D亚基因组中, 基因多样性指数的平均值从高到低依次为B>A>D; 7个同源群中, 基因多样性指数的平均值变幅为0.5202~0.6508, 最高为第四同源群, 最低为第七同源群。聚类分析表明共分为2大族群, 其中5份材料为第I类群, 主要为四倍体材料; 181份材料为第II类群, 全部为六倍体材料。第II类群中的铁壳麦单独聚为一类, 其他地方材料大致可按临沧、保山、大理等相同地理来源聚为一类。主成分分析结果与聚类分析一致。上述结果表明滇西小麦地方品种遗传多样性丰富, 是未来小麦育种改良的宝贵基因库。

关键词: 小麦地方品种; 遗传多样性分析; SSR标记

SSR Markers Genetic Diversity Analysis and Genetic Relationship Analysis of Wheat Landraces from the West of Yunnan Province

CHEN Dan¹, ZHU Di², ZHOU Guo-yan¹, WU Xiao-yang¹, WU Shao-yun¹, CAI Qing¹

(¹Institute of Biotechnology and Germplasm Resources, Yunnan Academy of Agricultural Sciences/National Crop Gene Bank-Yunnan Branch/Key Laboratory of Crop Gene Resources and Germplasm Enhancement in Southwest China, Ministry of Agriculture and Rural Affairs /Yunnan Key Laboratory of Agricultural Biotechnology, Kunming 650205;

²School of Biology and Chemistry Science, Pu'er University, Yunnan Pu'er 665000)

Abstract: The identification and evaluation is an important research subject in the protection and utilization of germplasm resources. Wheat landraces from the western region of Yunnan province, P.R. China, were known

收稿日期: 2022-08-02 修回日期: 2022-11-08 网络出版日期: 2022-12-05

URL: <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20220802003>

第一作者研究方向为优异种质资源保存与评价研究, E-mail: xiaoyezi09@163.com; 祝迪为共同第一作者

通信作者: 蔡青, 研究方向为作物种质资源保存与利用研究, E-mail: caiqingysri@163.com

伍少云, 研究方向为作物种质资源保存与利用研究, E-mail: caiyunwu205cn@aliyun.com

基金项目: 云南省基础研究计划项目(2019FB054); 国家自然科学基金项目(32260477); 科技部、财政部国家科技资源共享服务平台(NCGRC-2021-030); 云南省重大科技专项-生物资源数字化开发应用(202002AA100007); 2021年云南省农业科学院科技创新及成果转化试点专项(202102AE090036-05); 2021年云南省农业专项-农业种质资源和植物新品种保护项目-云南省省级农作物种质资源库建设

Foundation projects: Yunnan Province Foundation Research Program (2019FB054); National Natural Science Foundation of China (32260477); National Science and Technology Resources Sharing Service Platform of Ministry of Science and Technology and Ministry of Finance (NCGRC-2021-030); Yunnan Province Science and Technology Major Project -Digital Development and Application of Biological Resources(202002AA100007); 2021 Yunnan Academy of Agricultural Science and Technology Innovation and Achievement Transformation Pilot Project (202102AE090036-05); 2021 Yunnan Provincial Special Fund for Agricultural Development-Agricultural Germplasm Resources and Plant Variety Protection Project-Construction of Yunnan Provincial Crop Germplasm Resource Bank

with various types and abundant diversity. Analysis of their genetic diversity is of significance to accelerate their breeding utilization rate. In this study, 65 SSR markers were used to analyze the genetic polymorphism of 186 wheat landraces from the western region of Yunnan. A total of 407 alleles were detected, with an average of 6.26. The total of the major allele frequency was 36.1077, with an average of 0.5555. The total of gene diversity index was 37.5473, with an average of 0.5777. The total of polymorphism information content (PIC) was 34.9924, the average was 0.5383, the range were from 0.146 to 0.835, and the polymorphism reached high level (PIC \geq 0.5). Among subgenomes A, B and D, the average value of gene diversity index from high to low were B > A > D. Among the 7 homologous groups, the average value of gene diversity index ranged were from 0.5202 to 0.6508. the fourth homologous groups were the highest, and the seventh homologous groups were the lowest. Cluster analysis had showed two groups, of which in group I five samples expect a hulled hexaploid wheat landrace are tetraploid wheat, and in group II 181 samples were hexaploid wheat. In group II, the landraces were clustered into subgroups mainly being coincidence with the geographical sources such as Lincang, Baoshan and Dali. The results of principal component analysis were consistent with those of cluster analysis. These results indicated that wheat landraces from the western region of Yunnan province had possessed high genetic diversity and were valuable gene bank for wheat breeding and improvement in future.

Key words: wheat landrace; genetic diversity analysis; SSR marker

农业种质资源是推动现代种业发展的物质基础,是保障国家粮食安全、建设生态文明、维护生物多样性的战略性资源^[1]。地方品种作为种质资源的重要组成部分,是种质扩增、遗传改良和创新的重要源泉之一^[2]。地方品种大多是在初生或次生起源中心经多年种植而形成的古老品种,适应了当地的生态条件和耕作条件,并对当地常发生的病虫害产生了抗性或耐性,其蕴含有较高的遗传多样性,是传统农业的重要组成部分,也是现代作物育种中重要的基因来源^[3]。加强小麦地方品种资源精准鉴定及遗传多样性分析是发掘优异种质和优良等位基因的重要基础。马正强团队利用我国高抗赤霉病地方品种望水白和苏麦3号,通过图位克隆方法成功获得小麦抗赤霉病重要基因 *Fhb1*^[4]。刘志勇等团队利用高抗白粉病地方品种葫芦头和复壮30,采用图位克隆的方法先后成功克隆小麦抗白粉病基因 *Pm24*、*Pm5e*,为国家小麦生产和粮食安全提供可靠保障^[5-6]。

云南省西部简称滇西,泛指滇西、滇西北和滇西南地区,即昆明以西的广大地区。包括云南西部的大理、丽江、迪庆、怒江、德宏、保山、临沧、普洱等州市,面积约占全省的45.3%^[7]。滇西地处我国西南部和云贵高原最西缘,地势以高山峡谷为主,有举世瞩目的“三江并流”奇观,沟壑纵横、立体气候明显,是我国和世界上生物物种最多样、特有物种最集中的地区之一,是全球25个生物多样性热点地区之一^[8]。滇西少数民族众多,世居傈僳族、怒族、

独龙族、哈尼族、傣族、拉祜族、佤族、景颇族、布朗族、纳西族、藏族、阿昌族和德昂族等民族^[9]。众多生物物种和生态气候类型,以及独特民族传统文化认知相互交融,形成了丰富多样的农业生物种质资源。

滇西地区是云南重要粮食产区和小麦分布区。著名的云南铁壳麦也分布于此。滇西小麦种质资源丰富、类型多样,包括小麦野生近缘种、稀有种、地方品种等。其中地方品种类型涵盖普通小麦 (*Triticum aestivum* L.)、密穗小麦 (*Triticum compactum* Host)、圆锥小麦 (*Triticum turgidum* L.)和硬粒小麦 (*Triticum durum* Desf.)等。作物种质资源保存创新团队早在20世纪70-80年代已在国内开展云南小麦种质资源收集保存工作,但云南尤其是滇西地区小麦地方品种分子水平上遗传多样性尚不清晰。本研究采用SSR分子标记分析方法对保存在云南省农作物种质资源库的滇西小麦地方品种开展遗传多样性分析,明确其在分子水平上的遗传多态性与亲缘关系,旨在为滇西小麦地方品种保护与挖掘利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料为国家农作物种质资源库-云南分库/云南省农作物种质资源库保存的186份小麦地方品种,全部来自滇西地区7个州(市)的24个区(县),具广泛代表性。其中临沧市凤庆县34份、永德县25份、云县20份、双江县12份、镇康县10份、临沧县

9份、耿马县2份;保山市隆阳区21份、昌宁县4份、腾冲县3份、龙陵县2份;普洱市澜沧县12份、思茅区5份;大理白族自治州巍山县7份、南涧县3份、剑川县2份、宾川县1份、云龙县1份;迪庆藏族自治州

维西县4份、香格里拉县4份、德钦县2份;怒江傈僳族自治州贡山县1份、兰坪县1份;丽江市永胜县1份(表1)。

表1 186份材料编号与来源地

Table 1 Material numbers and select places

材料编号 Material numbers	来源地 Select places	材料编号 Material numbers	来源地 Select places	材料编号 Material numbers	来源地 Select places	材料编号 Material numbers	来源地 Select places
1069	凤庆	1106	永德	W172	云县	W215	凤庆
1070	凤庆	1107	永德	W173	云县	W216	凤庆
1071	凤庆	1108	永德	W174	云县	W217	凤庆
1072	凤庆	1109	云县	W175	云县	W218	凤庆
1073	耿马	1110	云县	W176	云县	W219	凤庆
1074	耿马	1111	云县	W177	云县	W220	凤庆
1075	澜沧	1112	云县	W178	云县	W222	凤庆
1076	澜沧	1113	云县	W179	云县	W223	凤庆
1077	澜沧	1114	云县	W180	云县	W224	凤庆
1078	临沧	1115	云县	W181	云县	W225	凤庆
1080	临沧	1116	云县	W184	永德	W226	凤庆
1079	临沧	1117	镇康	W185	永德	W227	凤庆
1081	临沧	1118	镇康	W186	永德	W228	凤庆
1082	临沧	1119	镇康	W187	永德	W229	凤庆
1083	临沧	1120	镇康	W188	永德	W230	凤庆
1084	龙陵	1121	镇康	W189	永德	W231	凤庆
1085	龙陵	1122	镇康	W190	永德	W232	凤庆
1086	双江	1123	腾冲	W192	永德	W233	凤庆
1087	双江	W150	思茅	W193	永德	W234	凤庆
1088	双江	W151	思茅	W194	永德	W236	凤庆
1089	双江	W152	思茅	W196	永德	W238	凤庆
1090	双江	W153	思茅	W197	永德	W239	昌宁
1091	双江	W154	思茅	W198	永德	W240	昌宁
1092	双江	W155	澜沧	W199	永德	W241	昌宁
1093	双江	W156	澜沧	W200	镇康	W242	昌宁
1094	双江	W157	澜沧	W201	镇康	W243	隆阳
1095	双江	W158	澜沧	W202	镇康	W244	隆阳
1096	双江	W159	澜沧	W203	镇康	W245	隆阳
1097	腾冲	W160	澜沧	W205	凤庆	W246	隆阳
1098	永德	W161	澜沧	W206	凤庆	W247	隆阳
1099	永德	W162	澜沧	W207	凤庆	W248	隆阳
1100	永德	W163	澜沧	W209	凤庆	W249	隆阳
1101	永德	W167	双江	W210	凤庆	W250	隆阳
1102	永德	W168	临沧	W211	凤庆	W251	隆阳
1103	永德	W169	临沧	W212	凤庆	W252	隆阳
1104	永德	W170	临沧	W213	凤庆	W253	隆阳

表 1 (续)

材料编号 Material numbers	来源地 Select places						
1105	永德	W171	云县	W214	凤庆	W254	隆阳
W255	隆阳	W271	巍山	W281	兰坪	W293	德钦
W256	隆阳	W272	巍山	W283	贡山	W294	德钦
W257	隆阳	W273	巍山	W284	维西	W295	隆阳
W260	腾冲	W274	巍山	W285	维西	W296	云县
W261	隆阳	W275	巍山	W286	维西	W297	剑川
W262	隆阳	W276	南涧	W288	维西	W300	隆阳
W264	巍山	W277	南涧	W289	香格里拉	W301	隆阳
W268	云龙	W278	南涧	W290	香格里拉	W302	隆阳
W269	宾川	W279	剑川	W291	香格里拉		
W270	巍山	W280	永胜	W292	香格里拉		

186份供试材料包括:(1)四倍体材料4份,分别为W300(三粒寸)、W301(黑芒三粒寸)、W293(德钦大颗麦)、W295(老玉麦),均为云南地方品种;(2)六倍体材料182份,其中包括小麦原始栽培种类型云南铁壳麦55份,其他六倍体普通小麦地方品种以“W+数字”形式编号。

所有供试材料于2020年10月种植在云南省农业科学院嵩明科研试验基地内(海拔1903 m, 103°11'65"E, 25°35'97"N)。田间试验种植方式为单行区,每份材料种植1行,行长1 m,行距30 cm,每行20株。待2021年4月采集叶片,-20℃保存备用。

1.2 DNA提取

采用改良的CTAB方法^[10],提取186份滇西小麦地方品种叶片全基因组DNA。将叶片研磨完全,加入预热(65℃)CTAB抽提液800 μL,混匀。65℃水浴加热30~60 min,加入等体积氯仿(24:1)抽提,摇匀,重复2次。4℃8500 r/min离心10 min后取上清液倒入1.5 mL新离心管内。加入0.6倍体积异丙醇,温和混匀,4℃静置30~120 min。4℃12000 r/min离心10 min,弃上层相;在沉淀中加入70%乙醇1000 μL,离心10000 r/min,3 min,洗涤2~3次,干燥DNA。加入50 μL ddH₂O溶解,放入4℃保存,过夜。采用Nano Drop 2000仪器测定DNA浓度,并将DNA原液稀释至30 ng/μL,-20℃保存,备用。

1.3 SSR引物合成与PCR扩增

参照Somers等^[11]发表的小麦遗传图谱,随机挑选平均分布于小麦42条染色体的146对SSR标记,进行多态性筛选。从中挑选出条带清晰、重复性好、

多态性较高的标记65对用于分析(表2)。引物由北京擎科生物科技有限公司昆明分公司合成(表3)。PCR扩增反应体系10 μL,包含2×Taq Master Mix 5 μL,10 μmol/L特异引物各0.2 μL,DNA模板1 μL,ddH₂O 3.6 μL。扩增程序为94℃预变性10 min;94℃变性1 min,退火温度1 min,72℃延伸1 min,35个循环;72℃延伸10 min,4℃保存。

表 2 65对SSR标记在染色体上的位置

Table 2 Location of 65 pairs of SSR markers on chromosomes

染色体 Chr.	标记数 No. of markers	染色体 Chr.	标记数 No. of markers	染色体 Chr.	标记数 No. of markers
1A	4	1B	3	1D	1
2A	3	2B	0	2D	4
3A	4	3B	4	3D	3
4A	4	4B	4	4D	2
5A	3	5B	2	5D	4
6A	2	6B	3	6D	4
7A	4	7B	4	7D	3

1.4 电泳检测

采用8%聚丙烯酰胺凝胶电泳分离扩增产物,并通过银染显色。对于聚丙烯酰胺凝胶电泳结果差异较小不便统计的标记,采用荧光修饰引物进行PCR扩增,扩增产物再经过毛细管电泳分离目的片段。荧光基团采用FAM(蓝色)、HEX(绿色)、TAMRA(黑色)、ROX(红色)对引物5'端进行修饰。荧光引物合成和毛细管电泳检测由北京擎科生物科技有限公司昆明分公司完成。

表 3 65 对 SSR 标记序列信息

Table 3 Primer sequence of 65 pairs of SSR markers

引物名称 Primer name	染色体 Chromosome	退火温度(°C) Annealing temperature	正向引物(5'—3') Forward primer(5'-3')	反向引物(5'—3') Reverse primer(5'-3')
<i>barc117</i>	5A	53	TCATGCGTGCTAAGTGCTAA	GAGGGCAGGAAAAAGTGA CT
<i>barc149</i>	3D	55	ATTCACTTGCCCTTTTAAACTCT	GAGCCGTAGGAAGGACATCTAGTG
<i>barc151</i>	5A	55	TGAGGAAAATGTCTCTATAGCATCC	CGCATAAACACCTTCGCTCTTCCACTC
<i>barc174</i>	7A	54	TGGCATTTTTCTAGACCAATACAT	GCGAACTGGACCAGCCTTCTATCTGTTC
<i>barc190</i>	4A	55	CCGTATGCAAATCTGACAAAAGTTA	GCGATCGTTCTCTTCTCCCTCTACTC
<i>barc204</i>	6D	55	CGCAGAAGAAAAACCTCGCAGAAAAACC	CGCAGTGTATCCAAATGGGCAAGC
<i>barc252</i>	7D	55	CGCAAAAACATGAACACTCTTAAACT	CGCAAAAATGTTTCGTGTA ACTCTAAAA
<i>barc292</i>	7A	57	GCGTGTGAGTCAATCCGTGCTTTAT	GCGTTGGTTTTAAGAGGTGCCTGAA
<i>barc310</i>	3A	57	GGGCGGCGCATGTGCACCTA	GCGTGGAAGCGACTAAATCAACT
<i>barc32</i>	5B	58	GCGTGAATCCGGA AACCAATCTGTG	TGGAGAACCTTCGCATTGTGTCATTA
<i>barc344</i>	3B	57	GCGCGTCGACATGTATTTCTTGAT	GCGTTTCACTGGTATCTGGTGTAT
<i>barc49</i>	7A	57	GTCCCACCAAATTAACAGCTCCTA	AGGCGCAGTGCTCGAAGAATATTAT
<i>barc68</i>	3B	57	CGATGCCAACACACTGAGGT	AGCCGCATGAAGAGATAGGTAGAGAT
<i>barc70</i>	7A	57	GCGAAAAACGATGCGACTCAAAG	GCGCCATATAATTCAGACCCACAAAA
<i>cfa2219</i>	1A	55	TCTGCCGAGTCACTTCATTG	GACAAGGCCAGTCCAAAAGA
<i>cfa2263</i>	2A	53	GGCCATGTAATTAAGGCACA	CTCCCAGGAGTACAGAAGAGGA
<i>cf161</i>	2D	55	GTAAGGCATCTTCGCGTCTC	CCATGATAGATTTGGACGGG
<i>cf37</i>	6D	55	GCTTCTTTTGTGCTTTTGC	CCCCACATACAGAGGCTAA
<i>cf49</i>	6D	53	TGAGTCTTCTGGTGAGGCA	GAATCGGTTACACAAGGGAAA
<i>cf8</i>	5D	55	ACCACCGTCATGTCACTGAG	GTGAAGACGACAAGACGCAA
<i>cf84</i>	4D	55	GTTGCCTCGGTGTCGTTTAT	TCCTCGAGGTCCAAAACATC
<i>gwm126</i>	5A	57	CACACGCTCCACCATGAC	GTTGAGTTGATGCGGGAGG
<i>gwm149</i>	4B	55	CATTGTTTTCTGCCTCTAGCC	CTAGCATCGAACCTGAACAAG
<i>gwm155</i>	3A	52	CAATCATTTCCTCCCTCC	AATCATTGGAAATCCATATGCC
<i>gwm182</i>	5D	53	TGATGTAGTGAGCCATAGGC	TTGCACACAGCCAAATAAGG
<i>gwm213</i>	5B	55	TGCCTGGCTCGTTCTATCTC	CTAGCTTAGCACTGTGCGCC
<i>gwm232</i>	2D	54	ATCTCAACGGCAAGCCG	CTGATGCAAGCAATCCACC
<i>gwm251</i>	4B	55	CAACTGGTTGCTACACAAGCA	GGGATGTCTGTTCCATCTTAG
<i>gwm261</i>	2D	57	CTCCCTGTACGCCTAAGGC	CTCGCGCTACTAGCCATTG
<i>gwm297</i>	7B	51	ATCGTCAAGTATTTGCAATG	TGCGTAAGTCTAGCATTTTCTG
<i>gwm314</i>	3D	57	AGGAGCTCCTCTGTGCCAC	TTCGGGACTCTCTCCCTG
<i>gwm333</i>	7B	52	GCCCGTCAATGTA AAAACG	TTTCAGTTTGCCTAAGCTTTG
<i>gwm437</i>	7D	51	GATCAAGACTTTTGTATCTCTC	GATGTCCAACAGTTAGCTTA
<i>gwm533</i>	3B	51	AAGGCGAATCAAACGGAATA	GTTGCTTAGGGGAAAAGCC
<i>gwm537</i>	7B	55	ACATAATGCTTCTGTGCACC	GCCACTTTTGTGCTGTTCTCT
<i>gwm570</i>	6A	54	TCGCCCTTTACAGTCGGC	ATGGGTAGCTGAGAGCCAAA
<i>gwm583</i>	5D	53	TTCACACCCAACCAATAGCA	TCTAGGACGACACATGCCTG
<i>gwm626</i>	6B	48	GATCTAAAATGTTATTTTCTCTC	TGACTATCAGCTAAAACGTGT
<i>psp2999</i>	1A	55	TCCCGCCATGAGTCAATC	TTGGGAGACACATTGGCC
<i>wmc112</i>	2D	57	TGAGTTGTGGGGTCTTGTTTGG	TGAAGGAGGGCACATATCGTTG
<i>wmc134</i>	1B	55	CCAAGCTGTCTGACTGCCATAG	AGTATAGACCTCTGGCTCACGG
<i>wmc222</i>	1D	53	AAAGGTGCGTTCATAGAAAATTAGA	AGAGGTGTTTGTAGACTAATTTGGTA
<i>wmc24</i>	1A	50	GTGAGCAATTTTGATTACTG	TACCCTGATGCTGTAATATGTG
<i>wmc283</i>	4A	55	CGTTGGCTGGGTATATCAICT	GACCCGCGTGAAGTGATAGGA

表3(续)

引物名称 Primer name	染色体 Chromosome	退火温度(°C) Annealing temperature	正向引物(5'—3') Forward primer(5'-3')	反向引物(5'—3') Reverse primer(5'-3')
wmc326	3B	57	GGAGCATCGCAGGACAGA	GGACGAGGACGCCTGAAT
wmc407	2A	53	GGTAATTCTAGGCTGACATATGCTC	CATATTTCCAAATCCCAACTC
wmc44	1B	59	GGTCTTCTGGGCTTTGATCCTG	TGTTGCTAGGGACCCGTAGTGG
wmc47	4B	55	GAAACAGGGTTAACCATGCCAA	ATGGTGTGCCAACACATACA
wmc487	6B	52	CAAATTTGGCCACCATTTTACA	CGGTTCAATCCTTGGATTTACA
wmc488	7D	55	AAAGCACAAACCAGTTATGCCAC	GAACCATAGTCACATATCACGAGG
wmc494	6B	52	GGATCGAGTCTCAAGTCTACAA	AGAAGGAACAAGCAACATCATA
wmc517	7B	55	ATCCTGACGTTACACGCACC	ACCTGGAACACCACGACAAA
wmc522	2A	55	AAAAATCTCACGAGTCGGGC	CCCAGCAGGAGCTACAAAT
wmc532	3A	53	GATACATCAAGATCGTGCCAAA	GGGAGAAATCATTAACGAAGGG
wmc533	3D	55	AATTGGATCGGCAGTTGGAG	AGCAAGCAGAGCATTGCGTT
wmc580	6A	55	AAGGCGCACAAACAATGAC	GGTCTTTTGTGCAGTGAACtGAAG
wmc664	3A	49	GGGCCAACAAATCCAAT	TCTACTTCCTTCATCCACTCC
wmc680	4A	57	TGAGTGTTACAGCCGCACTATG	ATCCTTGTTTCAGGAATCCCCGT
wmc710	4B	53	GTAAGAAGGCAGCACGTATGAA	TAAGCATTTCCCAATCACTCTCA
wmc720	4D	55	CACCATGGTTGGCAAGAGA	CTGGTGATACTGCCGTGACA
wmc757	4A	57	AAGTCTCACGCCCTCTCCAA	CCCTCCCCGTGGACCT
wmc765	5D	57	GGGATCAGACTGGGACTGGAG	GGGTTGGCTTGGCAGAGAA
wmc773	6D	55	GAGGCTTGCATGTGCTTGA	GCCAACTGCAACCGTACTCT
wmc798	1B	57	GTGTGGTAGTGTAGCTGCCAAAAG	GTTAGCATGGCACATAGAAGCAG
wmc93	1A	55	ACAACCTTGCTGCAAAGTTGACG	CCAACCTGAGCTGAGCAACGAA

1.5 数据分析

采用人工读带方法对聚丙烯酰胺凝胶电泳结果进行统计,目的片段按照从小到大进行赋值1、2、3...,并将数据根据不同软件要求进行相应格式转换。采用GeneMapper软件(<https://www.thermofisher.com>)对毛细管电泳检测结果进行图像分析和数据采集,无效等位变异记录为0/0。利用Powermarker V3.25 (<https://brcwebportal.cos.ncsu.edu/powermarker/downloads.htm>)软件计算标记的等位基因数、有效等位基因频率、基因多样性指数、多态性信息含量(PIC, polymorphism information content),并根据品种间Nei's遗传距离,采用算数平均数非加权对组法(UPGMA, unweighted pair group method arithmetic)进行聚类分析,构建聚类图。利用MVSP 3.21软件进行主成分分析(PCA, principal component analysis)^[12]。最后,利用iTOL(<https://itol.embl.de/>)在线软件美化聚类图形。

2 结果与分析

2.1 SSR标记遗传多态性分析

Powermarker V3.25软件统计结果表明,65对标记在186份滇西地区小麦地方品种中共检测出407个等位基因(表4),平均每个标记检测到6.26个等位

基因,变幅为3~13。其中,1A染色体上的 $psp2999$ 标记的等位基因数量最多,为13个,其次依次为 $gwm213$ (12个)、 $gwm314$ (10个)、 $wmc710$ (10个)、 $wmc720$ (10个)。而位于1D染色体上的 $wmc222$ 和5A染色体上的 $gwm126$ 等位基因数量最少,均为3个。65对标记的主要等位基因频率共计为36.1077,平均为0.5555。高于主要等位基因平均值的标记共计31个,占比47.69%。其中,3B染色体上的 $barc344$ 最高,达0.9194。其次为7D染色体上的 $wmc488$ (0.9032)。而3B染色体上的 $wmc326$ 主要等位基因频率最低,仅为0.2204。65对标记的基因多样性指数总计为37.5473,平均为0.5777,变幅为0.1517~0.8513。65对标记的多态性信息含量(PIC)总计为34.9924,平均为0.5383,多态性达到高度水平($PIC \geq 0.5$)。其中,5B染色体上的 $gwm213$,PIC值最高,为0.8356。而位于3B染色体的 $barc344$,PIC值最小,为0.1465,相差较大。38对标记多态性均大于0.5,达到高度水平,占比58.46%。23对标记为中度水平($0.5 > PIC \geq 0.25$),占比35.38%。4对标记为低度水平($PIC < 0.25$),占比6.15%。由此表明,65对标记能够较好反映供试材料的遗传多态性。部分聚丙烯酰胺凝胶电泳及毛细管电泳检测结果如图1所示。

表 4 65 对 SSR 标记遗传多态性参数统计

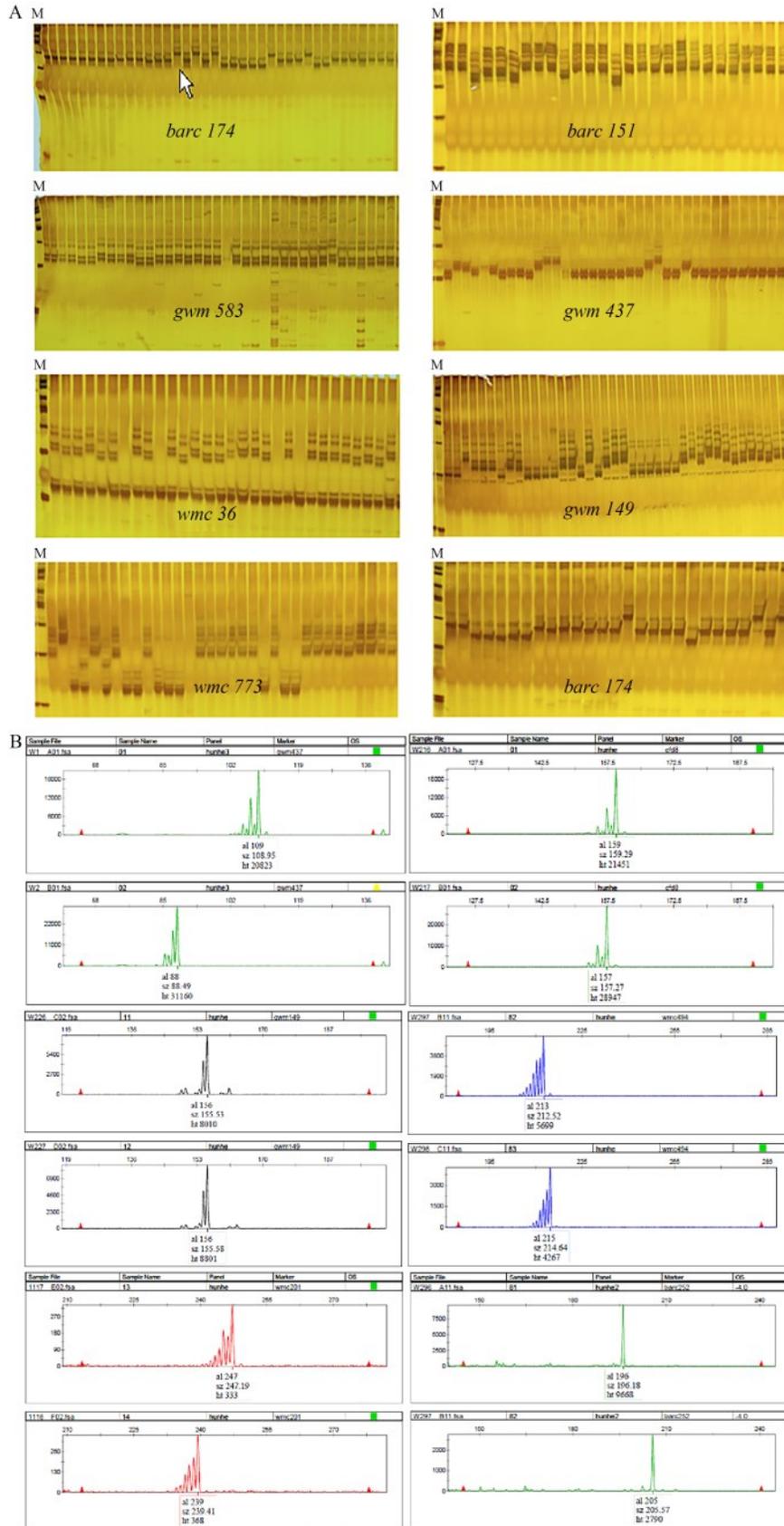
Table 4 Genetics polymorphism parameters of 65 pairs of SSR markers

标记 Marker	染色体 Chr.	等位基因数 Alleles number	主要等位 基因频率 Major allele frequency	基因多样性 指数 Gene diversity index	多态性 信息含量 <i>PI</i> C	标记 Marker	染色体 Chr.	等位基因数 Alleles number	主要等位 基因频率 Major allele frequency	基因多样性 指数 Gene diversity index	多态性 信息含量 <i>PI</i> C
<i>cfa2219</i>	1A	6	0.7634	0.4035	0.3875	<i>cf84</i>	4D	6	0.6075	0.5543	0.4965
<i>psp2999</i>	1A	13	0.5054	0.7015	0.6785	<i>wmc720</i>	4D	10	0.2796	0.8239	0.8018
<i>wmc24</i>	1A	6	0.4516	0.6856	0.6354	<i>barc117</i>	5A	4	0.8548	0.2594	0.2450
<i>wmc93</i>	1A	9	0.7204	0.4616	0.4412	<i>barc151</i>	5A	5	0.4409	0.7025	0.6557
<i>wmc134</i>	1B	4	0.3710	0.6722	0.6025	<i>gwm126</i>	5A	3	0.6667	0.4547	0.3650
<i>wmc44</i>	1B	8	0.4409	0.6946	0.6456	<i>barc32</i>	5B	4	0.8172	0.3100	0.2804
<i>wmc798</i>	1B	6	0.3710	0.7599	0.7259	<i>gwm213</i>	5B	12	0.2634	0.8513	0.8356
<i>wmc222</i>	1D	3	0.8065	0.3308	0.3062	<i>cf8</i>	5D	4	0.6613	0.5050	0.4537
<i>cfa2263</i>	2A	6	0.7097	0.4712	0.4456	<i>gwm182</i>	5D	6	0.6398	0.5191	0.4599
<i>wmc407</i>	2A	6	0.8387	0.2889	0.2780	<i>gwm583</i>	5D	4	0.5591	0.5861	0.5204
<i>wmc522</i>	2A	7	0.2742	0.7762	0.7394	<i>wmc765</i>	5D	6	0.4677	0.6311	0.5629
<i>cf161</i>	2D	5	0.3495	0.7057	0.6505	<i>gwm570</i>	6A	6	0.5430	0.6261	0.5771
<i>gwm232</i>	2D	6	0.6452	0.5344	0.4923	<i>wmc580</i>	6A	4	0.8226	0.3093	0.2903
<i>gwm261</i>	2D	6	0.7527	0.4163	0.3968	<i>gwm626</i>	6B	5	0.5161	0.6300	0.5695
<i>wmc112</i>	2D	5	0.5968	0.5859	0.5431	<i>wmc487</i>	6B	5	0.6828	0.4997	0.4674
<i>barc310</i>	3A	9	0.6559	0.5231	0.4824	<i>wmc494</i>	6B	5	0.8065	0.3311	0.3069
<i>gwm155</i>	3A	8	0.4839	0.6731	0.6278	<i>barc204</i>	6D	6	0.4409	0.7025	0.6585
<i>wmc532</i>	3A	8	0.3118	0.8082	0.7834	<i>cf37</i>	6D	4	0.7204	0.4502	0.4177
<i>wmc664</i>	3A	8	0.3172	0.7747	0.7408	<i>cf49</i>	6D	5	0.6022	0.5683	0.5163
<i>barc344</i>	3B	4	0.9194	0.1517	0.1465	<i>wmc773</i>	6D	9	0.3333	0.7845	0.7548
<i>barc68</i>	3B	8	0.4677	0.6958	0.6560	<i>barc174</i>	7A	5	0.6989	0.4753	0.4395
<i>gwm533</i>	3B	6	0.3817	0.6959	0.6438	<i>barc292</i>	7A	5	0.4731	0.6377	0.5725
<i>wmc326</i>	3B	9	0.2204	0.8319	0.8099	<i>barc49</i>	7A	4	0.8226	0.3108	0.2937
<i>barc149</i>	3D	5	0.5699	0.5998	0.5479	<i>barc70</i>	7A	6	0.8065	0.3385	0.3240
<i>gwm314</i>	3D	10	0.4086	0.7756	0.7538	<i>gwm297</i>	7B	8	0.5269	0.6292	0.5759
<i>wmc533</i>	3D	6	0.5753	0.5781	0.5168	<i>gwm333</i>	7B	5	0.6237	0.5303	0.4662
<i>barc190</i>	4A	6	0.7419	0.4308	0.4100	<i>gwm537</i>	7B	5	0.5430	0.6023	0.5369
<i>wmc283</i>	4A	7	0.3495	0.7523	0.7147	<i>wmc517</i>	7B	6	0.5054	0.6482	0.5951
<i>wmc680</i>	4A	7	0.2581	0.7851	0.7508	<i>barc252</i>	7D	7	0.4892	0.6574	0.6026
<i>wmc757</i>	4A	7	0.3817	0.7260	0.6820	<i>gwm437</i>	7D	7	0.4086	0.7115	0.6639
<i>gwm149</i>	4B	4	0.4946	0.5737	0.4828	<i>wmc488</i>	7D	5	0.9032	0.1811	0.1761
<i>gwm251</i>	4B	9	0.3333	0.7706	0.7354	合计 Total		407	36.1077	37.5473	34.9924
<i>wmc47</i>	4B	4	0.8602	0.2501	0.2355	平均值 Mean		6.26	0.5555	0.5777	0.5383
<i>wmc710</i>	4B	10	0.2527	0.8410	0.8218						

进一步将 65 对标记按 A、B、D 基因组划分,比较不同基因组间的遗传多态性(表 5)。结果表明,3 个基因组中等位基因总数量最多的是 A 基因组,为 155 个,平均为 6.4583 个。B 和 D 基因组等位基因总数量相近,分别为 127 和 125,平均分别为 6.35 和 5.9524。主要等位基因频率的平均值从高到低依次为 A > D > B,分别为 0.5789、0.5627 和 0.5199。基因多样性指数的平均值从高到低依次为 B > A > D,分别为 0.5818、0.5791 和 0.5719。多态性信息含量(*PI*C)的平均值从高到低依次为 B > D > A,分别为 0.5570、0.5377 和 0.5233。

同时,将 65 对标记按小麦 7 个同源群划分,比较不同同源群间的遗传多态性(表 6)。结果表明,

7 个同源群的标记数量分布比较均匀,变幅为 7~11 个。等位基因数变幅为 41~81。等位基因数量平均值最多的是第三同源群,为 7.3636 个。最少的是第五同源群,为 5.3333 个。主要等位基因频率的平均值变幅为 0.4559~0.6183,从高到低依次为第七同源群 > 第六同源群 > 第五同源群 > 第二同源群 > 第一同源群 > 第三同源群 > 第四同源群。基因多样性指数的平均值变幅为 0.5202~0.6508,从高到低依次为第四同源群 > 第三同源群 > 第一同源群 > 第六同源群 > 第二同源群 > 第五同源群 > 第七同源群。7 个同源群的多态性信息含量(*PI*C)平均值从高到低依次为第四同源群 > 第三同源群 > 第一同源群 > 第六同源群 = 第二同源群 > 第五同源群 > 第七同源群。



A: 8对标记聚丙烯酰胺凝胶电泳检测结果, M: DGL2000 marker; B: 6对标记毛细管电泳检测结果
 A: The PAGE detection result of 8 pairs of markers, M: DGL2000 marker; B: The CE detection result of 6 pairs of markers

图1 部分标记电泳检测结果
 Fig.1 Electrophoretic detection results of some markers

表 5 按基因组分类统计 65 对 SSR 标记遗传多态性参数

Table 5 Genetics polymorphism parameters of 65 pairs of SSR markers by genomes

基因组 Genomes	标记数量 Marker number	等位基因数 Alleles number	主要等位基因频率 Major allele frequency	基因多样性指数 Gene diversity index	多态性信息含量 <i>PIC</i>	
A	合计	24	155.0000	13.8925	33.5873	12.5603
	平均值		6.4583	0.5789	0.5791	0.5233
B	合计	20	127.0000	10.3979	33.7452	11.1396
	平均值		6.3500	0.5199	0.5818	0.5570
D	合计	21	125.0000	11.8173	33.1686	11.2925
	平均值		5.9524	0.5627	0.5719	0.5377

表 6 65 对 SSR 标记遗传多态性参数按同源群分类统计

Table 6 Genetics polymorphism parameters of 65 pairs of SSR markers by homoeologous groups

同源群 Homoeologous groups	标记数量 Marker number	等位基因数 Alleles number	主要等位基因频率 Major allele frequency	基因多样性指数 Gene diversity index	多态性信息含量 <i>PIC</i>	
一 First	合计	8	55.0000	4.4302	4.7096	4.4228
	平均值		6.8750	0.5538	0.5887	0.5529
二 Second	合计	7	41.0000	4.1668	3.7786	3.5457
	平均值		5.8571	0.5953	0.5398	0.5065
三 Third	合计	11	81.0000	5.3118	7.1079	6.7091
	平均值		7.3636	0.4829	0.6462	0.6099
四 Fourth	合计	10	70.0000	4.5591	6.5078	6.1313
	平均值		7.0000	0.4559	0.6508	0.6131
五 Fifth	合计	9	48.0000	5.3709	4.8192	4.3786
	平均值		5.3333	0.5968	0.5355	0.4865
六 Sixth	合计	9	49.0000	5.4678	4.9017	4.5585
	平均值		5.4444	0.6075	0.5446	0.5065
七 Seventh	合计	11	63.0000	6.8011	5.7224	5.2464
	平均值		5.7273	0.6183	0.5202	0.4769

2.2 聚类分析

利用 PowerMarkerV3.25 软件对 186 份供试材料进行基于 Nei's 遗传距离的 UPGMA 聚类分析。图 2 为全部材料根据 65 对 SSR 标记遗传距离绘制的聚类图。图中的分支长度代表材料间遗传变异度、进化距离。分支越短,代表材料间遗传距离越近,遗传变异度越低,亲缘关系越密切。从遗传相似度 0.3988 处,所有材料被划分为 2 大类群,命名为类群 I 和类群 II。

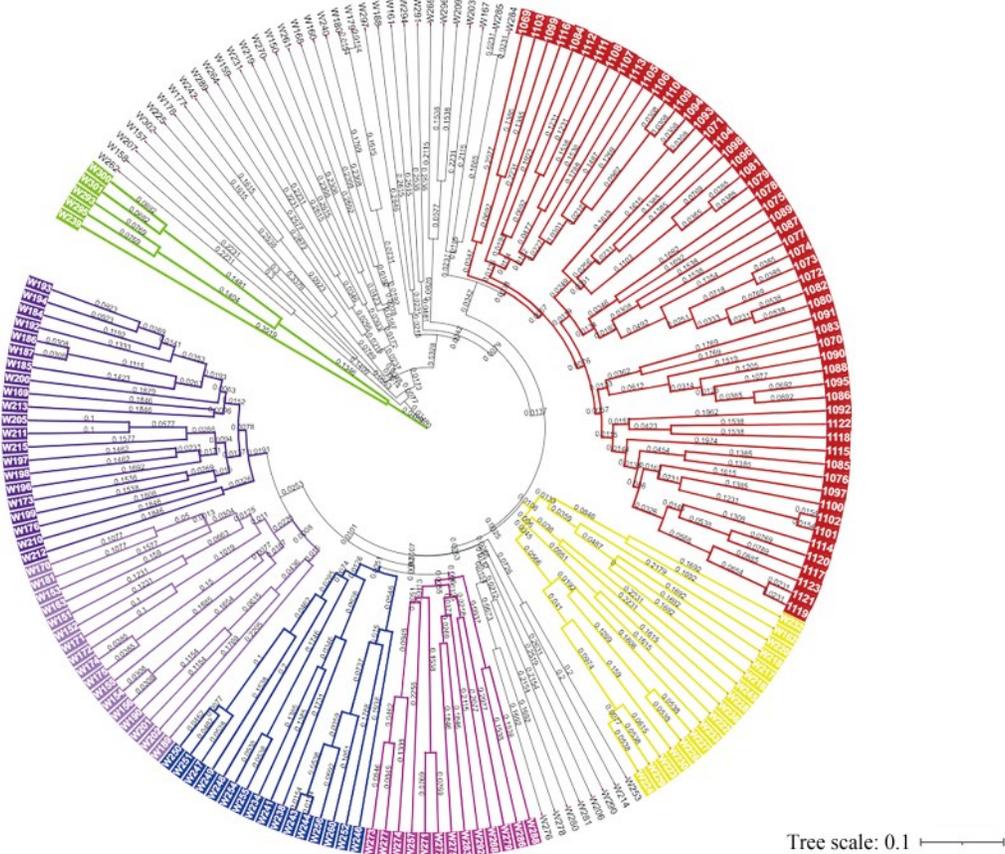
第 I 类群为 5 份材料(绿色分支),占供试材料的 2.69%,包括四倍体和六倍体小麦。在遗传相似度 0.3519 处,5 份材料又被划分为 2 个亚群,其中一个亚群包括 4 份材料,分别为 W300、W301、W293、W295,均为四倍体小麦;另一个亚群只包含一份材料,即 W239,为六倍体小麦。

第 II 类群为 181 份材料,全部为六倍体小麦,占

供试材料的 97.31%。其中大部分小麦地方品种可按相同地理来源或者亚种类别聚为一群(图 2)。在遗传相似度 0.2462 处,55 份云南小麦亚种即云南铁壳麦被单独聚为一类,占供试材料的 29.57%(红色分支)。其他小麦材料,除 42 份材料暂无地理来源聚类规律外(灰色分支),其余可大致按地理来源聚类。主要分为:(1)滇西临沧市区域(在遗传相似度 0.2779 处),以凤庆县为主,共计 17 份材料(黄色分支)。其中 15 份来源于临沧市凤庆县,2 份分别来源于普洱市澜沧县和保山市隆阳区。(2)滇西北区域(在遗传相似度 0.2481 处),以大理州、迪庆州、怒江州为主,共计 13 份材料(粉色分支)。分别来源于大理州云龙县、巍山县、南涧县、剑川县,7 份;迪庆州维西县、香格里拉县,3 份;怒江州贡山县,1 份;保山市隆阳区,2 份。(3)滇西保山市区域(在遗传相似度 0.2535 处),共计 16 份材料(蓝色分支)。分别来源

于保山市隆阳区,12份;保山市腾冲县,1份;保山市昌宁县,1份;临沧市凤庆县,2份。(4)滇西南区域(在遗传相似度0.2363处),包括临沧市和普洱市,共计17份材料(浅紫色分支)。分别来源于临沧市临沧县、云县、永德县、镇康县,10份;普洱市思茅

区、普洱县、澜沧县,7份。(5)滇西临沧市区域(在遗传相似度0.2363处),以永德县为主,共计21份材料(深紫色分支)。来源于临沧市永德县,12份;凤庆县,6份;云县,2份;临沧县,1份。



分支颜色代表不同类群。其中,绿色分支为第I类群,红、黄、粉、蓝、紫色分别为第II类群中的不同亚群。具体包括红色为铁壳麦亚群,黄色为主要来源于滇西临沧市凤庆县区域亚群,粉色为主要来源于滇西北大理州、迪庆州和怒江州等区域亚群,蓝色为主要来源于滇西保山市区域亚群,浅紫色为主要来源于滇西南普洱市、临沧市区域亚群,深紫色为主要来源于滇西临沧市永德等县区域亚群,灰色分支为暂无地理来源聚类规律的材料

Branch colors represent different groups. Among them, the green branch is group I, and red, yellow, pink, blue and purple are different subgroups in group II. Specifically, the red is the Yunnan hulled wheat subgroup. The yellow is the regional subgroup mainly from Fengqing county, Lincang city, West of Yunnan. The pink is the regional subgroup mainly from Northwest of Yunnan, including Dali city, Diqing city and Nujiang city. The blue is the regional subgroup mainly from Baoshan city, West of Yunnan. The light purple is the regional subgroup mainly from Southwest of Yunnan, including Pu'er city and Lincang city. And the deep purple is the regional subgroup mainly from Yongde and other counties, Lincang city, West of Yunnan. The grey branch are the materials without the clustering rule of geographical sources

图2 186份滇西地区小麦地方品种的聚类分析图

Fig.2 Cluster analysis of 186 wheat landrace from the west of Yunnan

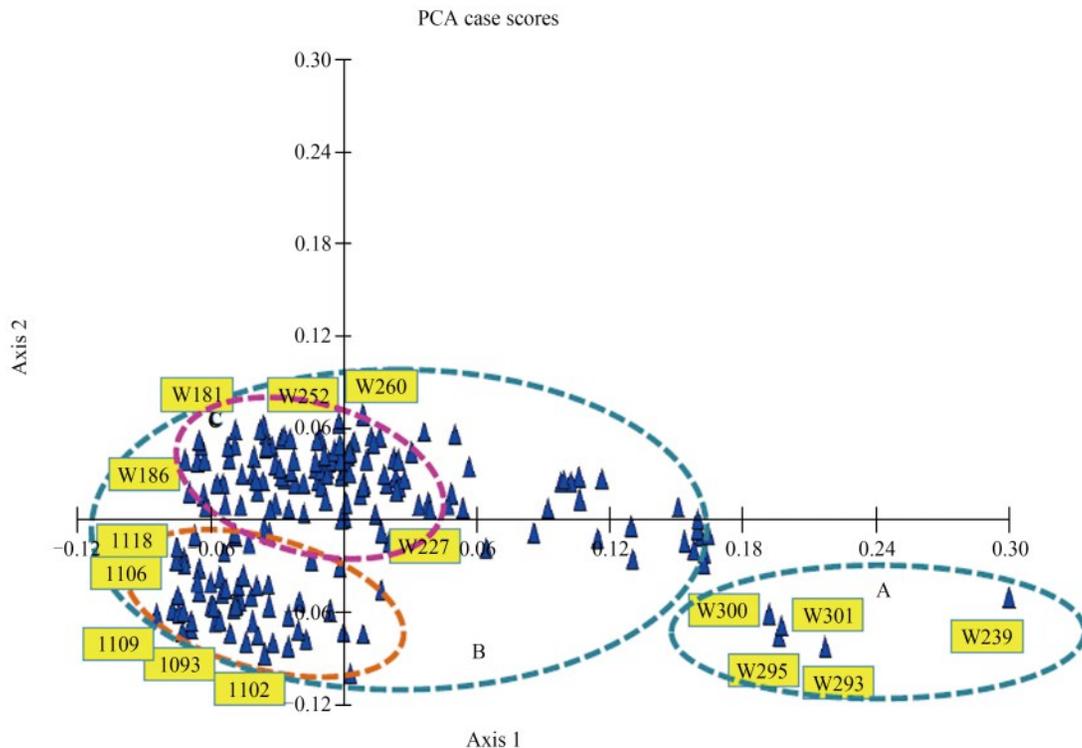
2.3 主成分分析

同时,利用MVSP 3.21软件进行主成分分析,贡献度排名前两位的主成分PC1和PC2,特征值分别为0.861和0.337,贡献率分别为44.067%和17.259%,累积贡献率为61.327%。图3为PCA分析结果的二维散点图。可以看出供试材料大致由2簇构成。A簇位于第四象限,共5份材料,为W300、W301、W293、W295和W239。其中W300、W301、W293、

W295 4份材料分布更为集中。W239与上述4份材料有一定距离。B簇距离A簇较远,主要位于第二、三象限,全部为六倍体云南地方小麦。其中云南铁壳麦集中分布于第三象限,如1118、1106、1109等(橙色虚线圈)。滇西六倍体普通地方小麦集中分布于第二象限和第一象限,包括来自临沧市、保山市、普洱市、大理州、迪庆州和怒江州等材料(粉色虚线圈)。可以看出分布较近的材料,地理来源也

较为接近,如以 W181、W186 等为代表的材料主要来源于临沧市云县、永德县等,以 W252、W260 等为代表的材料主要来源于保山市隆阳区、腾冲县等。

其他分布于第一象限的散点所代表的材料与聚类分析中无地理来源分布规律的材料相同。



蓝色三角形代表供试材料,黄色标签为材料编号,浅蓝色虚线圈代表材料分簇,共A,B两簇。橙色虚线圈内集中分布材料为云南铁壳麦,粉色虚线圈内集中分布材料为其他六倍体滇西小麦地方品种

The blue triangles represent the test material, the yellow labels represent the material number, and the light blue dotted coil represent the material cluster, a total of A and B two clusters. The concentrated distribution materials in the orange dotted coil are Yunnan hulled wheat, and the concentrated distribution materials in the pink dotted coil are other wheat landrace from the west of Yunnan

图3 186份滇西地区小麦地方品种的主成分分析

Fig.3 PCA analysis of 186 wheat landrace from the west of Yunnan

综上,聚类分析与主成分分析结果一致。即供试材料大致可按四倍体和六倍体材料聚为两大类。而六倍体材料中的铁壳麦作为一类单独聚在一起,其他地方品种大致可按地理来源聚类。

3 讨论

遗传多样性作为生物多样性最重要且最基础的部分,是物种长期进化的产物。物种遗传多样性越丰富,对环境变化适应性越强。研究种质资源遗传多样性,是了解种质资源现状、开展种质资源保护与发掘利用的重要基础。分子标记技术是目前遗传多样性分析最为便捷有效的检测手段^[13-14]。

开展小麦种质资源遗传多样性研究,可为小麦种质资源深入评价及育种利用提供理论依据。前人在农艺学性状、SSR标记、麦谷蛋白亚基等方面针对云南省不同类型小麦开展了遗传多样性研

究^[15-21]。王志伟等^[22]利用20对SSR标记比较分析了35份云南地方小麦品种及37份云南铁壳麦遗传多样性,分析发现72份材料的基因多样性指数平均为0.2735,Shannon多样性指数平均为0.4150。云南地方小麦品种和云南铁壳麦均具有一定的遗传多样性。二者相比,云南地方小麦品种遗传多样性水平高于云南铁壳麦。Shannon多样性指数平均分别为0.3519、0.3498。刘丽等^[23]利用相同标记比较分析上述材料及30份历史小麦品种的遗传多样性,结果发现SSR标记在供试材料中具较高多态性,共检测出52条带,多态性位点占比96.3%。聚类分析结果表明地方品种与历史品种之间具有较近的亲缘关系,同时与云南铁壳麦的亲缘关系相对较远。程加省等^[24]利用植物分类学、株高、穗部等形态学性状对云南铁壳麦、地方品种和推广品种的遗传多样性进行比较,聚类分析表明地方品种聚类最为分

散,云南铁壳麦次之,推广品种聚类最为集中,认为地方品种遗传基础多样性最丰富,云南铁壳麦次之,推广品种最窄。以往研究均以云南全省的小麦地方品种为研究对象,但是材料数量不多。而针对滇西地区小麦地方品种遗传多样性研究尚未见报道。本研究以揭示滇西小麦地方品种遗传多样性为目的,共利用65对SSR标记对186份滇西小麦地方品种遗传多样性和亲缘关系进行分析,发现与以往研究结果相比,滇西小麦地方品种,共检测到等位变异407个,平均为6.26个,变幅为3~13;多态性信息含量平均为0.5383;基因多样性指数为0.5777,在遗传多样性上更为丰富一些。推测可能与采用的标记数量、研究材料数量、范围等有关。

同时,聚类分析表明滇西小麦地方品种的四倍体材料与六倍体材料可明显划分为2个类群。值得注意的是,第I类群中的5份材料又可分为2个亚群。其中,W239材料为单独1个亚群,根据收集时原始记录及田间性状观察,均符合六倍体小麦特征,但在本研究SSR电泳检测结果中,该材料多个条带无法扩增,多个标记位点存在缺失,导致聚类分析时,没有与其他六倍体材料聚为一类,缺失具体原因尚需进一步研究。第I类群的其余4份材料被聚为另一亚群,均为四倍体材料,包括三粒寸、老玉麦、德钦大颗麦等滇西地方小麦,属四倍体圆锥小麦种,具有显著的大粒、大穗特征。同时,主成分分析也再次印证了聚类分析结果。可以看出,186份材料大致可分为2个类型,即四倍体材料为一类、六倍体材料为一类。

进一步对滇西小麦六倍体地方品种聚类结果分析发现,六倍体材料中其他地方品种大致可按普洱市、临沧市、保山市、大理州、丽江市、迪庆州和怒江州等不同地理来源聚为滇西南、滇西、滇西北3类。而铁壳麦资源,较其他滇西地方品种亲缘关系较远,单独聚为一类,这与以往研究一致。铁壳麦是“云南小麦”亚种的俗称,也称硬壳麦,是普通小麦的原始栽培种,为我国特有云南独有的小麦稀有种^[25]。仅在云南滇西地区的临沧、保山等地零星分布。解放前种植面积较大,至20世纪80年代初期,临沧地区尚有近万亩种植面积。目前,生产上种植已灭绝,资源调查亦难以搜集^[26]。本研究再次印证了铁壳麦不仅在形态学上具有较为原始性状,在分子水平上与其他普通小麦种相比,也具有较大遗传差异。同时,本研究也发现,在按地理来源聚类的各个类群中,偶尔会存在个别不同地理来源的材

料。另外,40余份材料也没有按地理来源聚到各类群中,存在交错分布。推测可能与上述材料人为交换而导致基因交流发生有关,同时说明滇西小麦地方品种遗传背景复杂,多样性丰富。

总之,滇西小麦地方品种遗传多样性丰富,是拓宽现代小麦品种遗传基础的宝贵资源。本研究明确了其遗传多样性及亲缘关系,为深入开展生物学特性研究与种质资源育种利用提供理论参考。

参考文献

- [1] 武晶,郭刚刚,张宗文,王述民.作物种质资源管理:现状与展望.植物遗传资源学报,2022,23(3):627-635
Wu J, Guo G G, Zhang Z W, Wang S M. Management of crop germplasm resource: Advances and perspectives. Journal of Plant Genetic Resources, 2022, 23(3):627-635
- [2] 李春辉,王天宇,黎裕.基于地方品种的种质创新:现状及展望.植物遗传资源学报,2019,20(6):1372-1379
Li C H, Wang T Y, Li Y. Germplasm innovation of landraces: Current status and future prospect. Journal of Plant Genetic Resources, 2019, 20(6):1372-1379
- [3] 刘旭,杨庆文.中国作物及其野生近缘植物名录卷.第一版.北京:中国农业出版社,2013:19
Liu X, Yang Q W. Crops and their wild relatives in China. First Edition. Beijing: China Agriculture Press, 2013: 19
- [4] Li G Q, Zhou J Y, Jia H Y, Gao Z X, Fan M, Luo Y J, Zhao P T, Xue S L, Li N, Yang Y, Ma S W, Kong Z X, Jia L, An X, Jiang G, Liu W X, Cao W J, Zhang R R, Fan J C, Xu X W, Liu Y F, Kong Q Q, Zheng S H, Wang Y, Qin B, Cao S Y, Ding Y X, Shi J X, Yan H S, Wang X, Ran C F, Ma Z Q. Mutation of a histidine-rich calcium-binding-protein gene in wheat confers resistance to Fusarium head blight. Nature Genetics, 2019, 51(7):1106-1112
- [5] Xie J Z, Guo G H, Wang Y, Hu T Z, Wang L L, Li J T, Qiu D, Li Y H, Wu Q H, Lu P, Chen Y X, Dong L L, Li M M, Zhang H Z, Zhang P P, Zhu K Y, Li B B, Deal K R, Huo N X, Zhang Y, Luo M C, Liu S Z, Gu Y Q, Li H J, Liu Z Y. A rare single nucleotide variant in Pm5e confers powdery mildew resistance in common wheat. New Phytologist, 2020, 228(3): 1011-1026
- [6] Lu P, Guo L, Wang Z Z, Li B B, Li J, Li Y H, Qiu D, Shi W Q, Yang L J, Wang N, Guo G H, Xie J Z, Wu Q H, Chen Y X, Li M M, Zhang H Z, Dong L L, Zhang P P, Zhu K Y, Yu D Z, Zhang Y, Deal K R, Huo N X, Liu C M, Luo M C, Dvorak J, Gu Y Q, Li H J, Liu Z Y. A rare gain of function mutation in a wheat tandem kinase confers resistance to powdery mildew. Nature Communications, 2020, 11(1): 1-11
- [7] 杨曙辉,李江,欧阳作富,严绍萍,石云.滇西高原特色玉米产业发展:特点、挑战与思考—以云南大理州为例.农业科技管理,2018,37(3):66-69,90
Yang S H, Li J, Ouyang Z F, Yan S P, Shi Y. Development of corn industry with plateau features in western Yunnan province: Characteristics, challenges and considerations, a case study of Dali of Yunnan province. Management of Agricultural Science

- and Technology, 2018, 37(3):66-69, 90
- [8] Myers N, Mittermeier R A, Mittermeier C G, Fonseca G A B, Kent J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 2000, 43(24): 853-858
- [9] 戴陆园,刘旭,黄兴奇. 云南特有少数民族的农业生物资源及其传统文化知识. 第一版. 北京:科学出版社,2013:1
Dai L Y, Liu X, Huang X Q. Agricultural biological resources and traditional cultural knowledge of unique minority nationalities in Yunnan. First Edition. Beijing: Science Press, 2013: 1
- [10] 柴建芳,刘旭,贾继增. 一种适于 PCR 扩增的小麦基因组 DNA 快速提取法. *植物遗传资源学报*,2006,7(2):246-248
Chai J F, Liu X, Jia J Z. A rapid isolation method of wheat DNA suitable for PCR analysis. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2006, 7(2):246-248
- [11] Somers D J, Isaac P, Edwards K. A high-density microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 2004, 109(6):1105-1114
- [12] 姚榕,方彦. 生物学分析软件 MVSP 的介绍与使用. *湖北农业科学*,2012,51(11):2357-2360
Yao R, Fang Y. Introduction and utilization of biological software MVSP. *Hubei Agricultural Sciences*, 2012, 51(11): 2357-2360
- [13] 孙梦涵,邢宝,崔宏亮,周帮伟,张琴萍,任贵兴,秦培友. 藜麦种质资源遗传多样性 SSR 标记分析. *植物遗传资源学报*, 2021,22(3):625-637
Sun M H, Xing B, Cui H L, Zhou B W, Zhang Q P, Ren G X, Qin P Y. Genetic diversity analysis of quinoa by SSR markers. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2021, 22(3):625-637
- [14] 李群,王栋,张文兰,田茜,戴双,颜廷进. 基于 SSR 标记的世界豌豆种质遗传多样性分析. *植物遗传资源学报*, 2021, 22(3):684-691
Li Q, Wang D, Zhang W L, Tian X, Dai S, Yan T J. Genetic diversity analysis of pea germplasm resources of the world by SSR markers. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2021, 22(3): 684-691
- [15] 丁明亮,周国雁,方艺瑾,李晓华,乔玲,刘琨,伍少云,李绍祥,郑军,杨木军. 云南省小麦育成品种(系)遗传多样性分析. *西南农业学报*,2020,33(3):494-502
Ding M L, Zhou G Y, Fang Y J, Li X H, Qiao L, Liu K, Wu S Y, Li S X, Zheng J, Yang M J. Genetic diversity analysis of wheat bred cultivars (lines) in Yunnan province. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2020, 33(3):494-502
- [16] Wang H Y, Wang X E, Chen P D, Liu D J. Assessment of genetic diversity of Yunnan, Tibetan, and Xinjiang wheat using SSR markers. *Journal of Genetics and Genomics*, 2007, 34(7): 623-633
- [17] 程加省,于亚雄,勾宇宏,杨金华,刘丽,胡银星,程耿. 利用 SSR 分析云南省小麦资源的遗传多样性. *大麦与谷类科学*, 2009(4):1-5
Cheng J S, Yu Y X, Gou Y H, Yang J H, Liu L, Hu Y X, Cheng G. Analysis of genetic diversity of wheat varieties in Yunnan province using SSR markers. *Barley and Cereal Sciences*, 2009(4):1-5
- [18] 勾宇宏,于亚雄,刘丽,杨金华,程家省,胡银星,程耿. 云南铁壳麦遗传多样性的 SSR 标记分析. *西南农业学报*,2009, 22(3):556-559
Gou Y H, Yu Y X, Liu L, Yang J H, Cheng J S, Hu Y X, Cheng G. Genetic diversity analysis of *Triticum aestivum* ssp. yunnanense King using SSR makers. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2009, 22(3):556-559
- [19] 杨金华,于亚雄,刘丽,程耿,胡银星. 云南铁壳麦高分子量麦谷蛋白亚基组成及其遗传多样性分析. *植物遗传资源学报*, 2007,8(3):275-279
Yang J H, Yu Y X, Liu L, Cheng G, Hu Y X. HMW-GS compositions and genetic diversities in *Triticum aestivum* ssp. yunnanense King. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2007, 8(3):275-279
- [20] 杨金华,于亚雄,王志伟,程加省,许荣娇,沈为频. 云南铁壳麦 D 染色体组 SSR 标记遗传多样性研究. *西南农业学报*, 2012,25(2):365-371
Yang J H, Yu Y X, Wang Z W, Cheng J S, Xu R J, Shen W P. Genetic diversity of D-genome in *Triticum aestivum* ssp. yunnanense King based on SSR markers. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2012, 25(2):365-371
- [21] 王志伟,杨金华,程加省,胡银星,程耿,于亚雄. 云南铁壳麦变种分类及基于农艺性状的遗传多样性分析. *安徽农业科学*, 2011,39(9):5148-5150,5190
Wang Z W, Yang J H, Cheng J S, Hu Y X, Cheng G, Yu Y X. Mutation classification and genetic diversity analysis of *Triticum aestivum* ssp. Yunnanense King based on agronomic traits. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2011, 39(9): 5148-5150, 5190
- [22] 王志伟,于亚雄,刘丽,杨金华,程加省,勾宇宏. 云南小麦地方品种及铁壳麦遗传多样性比较分析. *云南农业大学学报*, 2009,24(5):647-653
Wang Z W, Yu Y X, Liu L, Yang J H, Cheng J S, Gou Y H. Comparison of genetic diversity between Yunnan local wheat variety and *Triticum aestivum* ssp. Yunnanense King. *Journal of Yunnan Agricultural University*, 2009, 24(5):647-653
- [23] 刘丽,勾宇宏,于亚雄,杨金华,程家省,胡银星,程耿. 云南铁壳麦、地方和历史小麦品种的遗传多样性比较. *西南大学学报:自然科学版*,2010,32(8):1-7
Liu L, Gou Y H, Yu Y X, Yang J H, Cheng J S, Hu Y X, Cheng G. A comparative study of genetic diversity of Yunnan hulled wheat, Yunnan landraces and historical cultivars using SSR markers. *Journal of Southwest University: Natural Science Edition*, 2010, 32(8):1-7
- [24] 程加省,杨金华,勾宇宏,于亚雄,胡银星,程耿,史和刚. 基于形态学标记的云南小麦种质资源遗传多样性研究. *种子*, 2011,30(7):72-75
Cheng J S, Yang J H, Gou H Y, Yu Y X, Hu Y X, Cheng G, Shi H G. Study on germplasm genetic diversity of Yunnan wheat based on morphological markers. *Seed*, 2011, 30(7):72-75
- [25] 董玉琛,郑殿升. 中国小麦遗传资源. 第一版. 北京:中国农业出版社,2000:54-55
Dong Y C, Zheng D S. Wheat genetic resources in China. First Edition. Beijing: China Agriculture Press, 2000: 54-55
- [26] 董玉琛,郑殿升,乔丹杨,曾学琦,恩在诚,陈勋儒. “云南小麦”的考察与研究. *作物学报*,1981,7(3):145-152,219
Dong Y C, Zheng D S, Qiao D Y, Zeng X Q, En Z C, Chen X R. Investigation and study on *Triticum aestivum* ssp. Yunnanense King. *Acta Agronomica Sinica*, 1981, 7(3):145-152, 219