

利用微卫星标记分析山西糜子的遗传多样性

王舒婷¹, 何杰丽², 石甜甜¹, 陈凌³, 王海岗³, 王瑞云^{1,3}, 乔治军³

(¹山西农业大学农学院, 太谷 030801; ²山西农业大学文理学院, 太谷 030801; ³山西省农业科学院农作物品种资源研究所 / 农业部黄土高原作物基因资源与种质创制重点实验室 / 杂粮种质资源发掘与遗传改良山西省重点实验室, 太原 030031)

摘要: 山西是中国糜子主产区之一, 有丰富的地方品种和农家种种质资源。利用微卫星标记分析糜子资源的遗传多样性, 明确其遗传背景, 便于加强糜子各品种之间的基因交流以及优异种质的筛选和利用, 同时对种质资源的亲缘关系分析提供科学依据。利用 27 对 SSR 引物分析 57 份山西糜子的遗传差异, 采用 PowerMarker 3.25 计算每对引物的多态性信息含量, 采用 PopGen1.32 计算每对引物和两个生态区的观测等位基因等遗传参数。用 MEGA5.0 构建 Neighbour-Joining 聚类图, 利用 Structure 2.3.4 鉴定遗传类群, 采用 Ntsys2.11 进行主成分分析。结果显示 27 对 SSR 引物共检测出 71 个等位变异, 平均每个位点扩增出 2.6296 个等位基因, 各引物对的有效等位变异占观测等位变异的 76.94%。各引物对的基因多样性指数为 0.4140~1.0446, 平均为 0.7686; PIC 为 0.0601~0.7158, 平均为 0.5667。两生态区的观测杂合度等遗传参数相差不大。基于 N-J 遗传距离将 57 份材料分为 3 个类群, 类群 I 属于黄土高原春夏糜子区, 类群 II、类群 III 均属于北方春糜子区和黄土高原春夏糜子区。遗传结构分析将 57 份糜子材料分为 3 个类群, 绿色类群的基因多样性指数和 PIC 比蓝色、红色类群高。两种聚类结果基本一致, 分布方式均与地理位置相关。主成分分析结果将晋北部材料与晋中、晋南部材料相区别, 说明两生态区糜子的遗传背景因地理气候因素有明显差异, 与遗传结构群体分析结果一致。研究表明, 山西省糜子资源的遗传多样性丰富。

关键词: 糜子; SSR 标记; 聚类分析; 遗传结构; 主成分分析

Genetic Diversity Analysis of Broomcorn Millet (*Panicum miliaceum* L.) of Shanxi Province Using Microsatellite Markers

WANG Shu-ting¹, HE Jie-li², SHI Tian-tian¹, CHEN Ling³, WANG Hai-gang³,
WANG Rui-yun^{1,3}, QIAO Zhi-jun³

(¹College of Agriculture, Agricultural University of Shanxi, Taigu 030801; ²College of Arts and Sciences, Agricultural University of Shanxi, Taigu 030801; ³Institute of Crop Germplasm Resources, Shanxi Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Crop Gene Resources and Germplasm Enhancement on Loess Plateau, Ministry of Agriculture/Shanxi Key Laboratory of Genetic Resources and Genetic Improvement of Minor Crops, Taiyuan 030031)

Abstract: Shanxi province of China acts as one of the main producing areas of common millets and also a center of local varieties and farmer germplasm resources. Exploration of genetic diversity in common millet germplasms will provide a scientific basis for studying the origin and evolution of common millet, which would strengthen gene transfer between varieties of common millet and facilitate the utilization of excellent

收稿日期: 2018-07-18 修回日期: 2018-08-03 网络出版日期: 2018-10-18

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20181017.1244.004.html>

第一作者研究方向为糜子分子育种, E-mail: 1035757914@qq.com

通信作者: 王瑞云, 主要开展糜子遗传育种研究, E-mail: wry925@126.com

乔治军, 主要开展糜子生理栽培研究, E-mail: nkypzs@126.com

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31271791); 山西省回国留学人员科研资助项目 (2016-066); 国家现代农业产业技术体系建设专项 (CARS-06-13.5-A16); 山西省重点研发计划 (一般项目) (农业) 项目 (201603D221003-5); 山西省重点研发计划 (农业) 项目 (201803D221008-5)

Foundation project: National Natural Science Foundation of China (31271791), Research Project supported by Shanxi Scholarship Council of China (2016-066), China Agriculture Research System (CARS-06-13.5-A16), The Key Research and Development Program (General Project) (Agriculture) of Shanxi Province of China (201603D221003-5), The Key Research and Development Program (Agriculture) of Shanxi Province of China (201803D221008-5)

resources. In this study, we analyzed the genetic differences among 57 common millet accessions from Shanxi province by 27 pairs of SSR polymorphic primers. The statistical analysis were conducted by software PowerMarker 3.25, PopGen 1.32, MEGA 5.0, Structure 2.3.4 and Ntsys 2.11. Within this accessions, 71 alleles were detected with an average of 2.6296 alleles at each locus. The number of effective allele account for 76.94% of the observed one. The Shannon index of all primers ranged from 0.4140 to 1.0446, with an average of 0.7686, The range of *PIC* was 0.0601-0.7158, with an average of 0.5667. The values of genetic diversity indexes such as the observed heterozygosity have no much difference between two ecotopes. Basing on Neighbor-joined genetic distance, 57 materials were divided into 3 groups, the group I belongs to the Loess Plateau spring & summer-sowing ecotopes, the group II belongs to the Loess Plateau spring & summer-sowing and Northeast spring-sowing, the same as the group III. The analysis of genetic structure divided 57 common millet accessions into three groups. In terms of the values of Shannon's information index and *PIC*, the green group is higher than that of the others. The results of two cluster analysis are consistent and they showed a close correlation between geographical region and the method of clustering. Meanwhile the materials in northern of Shanxi province were distinguished from the middle and the southern of Shanxi province by the means of PCA, The result indicated that the genetic background of two ecotopes has obvious differences due to geographical and climatic factors, which is consistent with the result of genetic structure analysis between populations. Thus, the genetic diversity of common millet resources in Shanxi province was abundant.

Key words: common millet; SSR markers; clustering analysis; genetic structure; principal component analysis (PCA)

糜子 (*Panicum miliaceum* L.) 属禾本科黍属, 又称黍稷, 为一年生暖季型禾谷类作物。作为地球上最古老的栽培作物之一, 糜子生育期短, 具有极高的营养保健功能。糜子富含微量营养元素和卵磷脂, 其中卵磷脂可以促进神经细胞功能的恢复和髓鞘纤维的再生、再生髓鞘纤维、加强脑细胞新陈代谢, 为保持神经系统健康提供帮助, 还可以减缓人体衰老、避免老年性疾病的发生^[1]。同时因其钙、铁、钾、镁、磷、锌、膳食纤维、多酚和蛋白质等含量高而在众多谷物中独具特色^[2-4]。此外, 糜子面粉无麸质, 是麸质过敏患者的理想食品, 也可以作为蒸馏酒和啤酒的原料, 用于制作发酵饮料。中国是糜子起源中心, 栽培历史已达 10000 多年^[5], 资源丰富, 但糜子因其自花授粉特性导致育种进程缓慢^[6]。糜子抗旱耐瘠, 适应能力强, 曾在北方作物栽培史上占据重要地位。

以往对糜子的研究多侧重于农艺性状方面, 研究中易受人工、季节等因素限制。目前从 DNA 层面分析资源的遗传差异可以弥补上述不足。SSR (simple sequence repeat) 以高度多态性、共显性、分析简单且易于转移等优点, 成为目前应用较广的分子标记, 已经在小麦^[7-8]、水稻^[9-11]、玉米^[12-14]等

大宗作物中广泛应用。Hu 等^[15]首次用 46 个种间 SSR 标记研究 118 份中国糜子的遗传差异, 后各遗传参数值表明黄土高原春夏糜子区材料的遗传多样性最高。连帅等^[16]利用 63 对 SSR 多态性引物对来自国内外的 192 份糜子地方品种和野生种质进行遗传多样性分析, 结果表明内蒙古地区、东北地区、黄土高原地区种质资源遗传多样性最丰富。董俊丽等^[17]采用表型鉴定和 19 个 SSR 标记对 96 份糜子资源进行遗传差异检测, 综合评价种质资源优劣, 发现山西糜子的遗传多样性较丰富; 本研究利用本实验室构建的 27 对 SSR 引物分析 57 份山西糜子的遗传多样性, 明确其遗传背景, 旨在为糜子优异种质的筛选和利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试材料为 57 份山西糜子资源 (表 1), 包括育成品种、地方品种和农家种, 其中育成品种 1 份, 来自山西省农业科学院作物高寒区研究所; 地方品种 4 份, 来自中国农业科学院作物科学研究所; 农家种 52 份, 为本实验室收集, 分布在晋北、晋中、晋南地区 (图 1)。

表 1 57 份试验糜子资源一览表

Table 1 Accessions of 57 common millet in this study

| 编号 No. | 种质名称 Name | 来源 Origin | 获取单位 Provider | 备注 Note |
|-----------|--------------|--------------|-------------------|------------|
| 1 | 雁黍 7 号 | 山西省大同市 | 山西省农业科学院作物高寒区研究所 | 育成品种 |
| 2 | 二白黍 | 山西大同南郊区 | 中国农业科学院作物科学研究所 | 地方品种 |
| 3 | 大白黍 | 山西大同南郊区 | 中国农业科学院作物科学研究所 | 地方品种 |
| 4 | 黍稷 | 山西省大同市 | 山西省大同市大同县周士庄镇周士庄村 | 农家种 |
| 5 | 黍稷 | 山西省大同市 | 山西省大同市大同县周士庄镇周士庄村 | 农家种 |
| 6 | 白糜子 | 山西省朔州市 | 山西省朔州市山阴县合盛堡乡黄巍村 | 农家种 |
| 7 | 白糜子 | 山西省朔州市 | 山西省朔州市山阴县北周庄村 | 农家种 |
| 8 | 大青黍 | 山西大同灵丘 | 中国农业科学院作物科学研究所 | 地方品种 |
| 9 | 黄黍子 | 山西忻州岢岚县 | 山西省忻州市岢岚县三井镇南川村 | 农家种 |
| 10 | 大红糜 | 山西省忻州定襄县 | 山西省定襄县南王乡南王村 | 农家种 |
| 11 | 红黍 | 山西省忻州定襄县 | 山西省定襄县贾家庄村 | 农家种 |
| 12 | 白硬糜 | 山西省忻州定襄县 | 山西省定襄县师家岗村 | 农家种 |
| 13 | 大红黍 | 山西省忻州定襄县 | 山西省定襄县师家岗村 | 农家种 |
| 14 | 红糜子 | 山西省阳泉市 | 山西省阳泉市郊区小河村 | 农家种 |
| 15 | 红黍子 | 山西省阳泉市 | 山西省阳泉市平定县冠山镇常家沟村 | 农家种 |
| 16 | 黍子 | 山西省阳泉市 | 山西省阳泉市平定县张庄镇石洼村 | 农家种 |
| 17 | 红糜子 | 山西省阳泉市 | 山西省阳泉市平定县牌岭村 | 农家种 |
| 18 | 黍子 | 山西省阳泉市 | 山西省阳泉市平定县冠山镇河头村 | 农家种 |
| 19 | 红黍 | 山西省阳泉市 | 山西省阳泉市平定县冠山镇冠庄坨村 | 农家种 |
| 20 | 黍子 | 山西省阳泉市 | 山西省阳泉市平定县锁簧镇朝阳堡村 | 农家种 |
| 21 | 红糜子 | 山西省阳泉市 | 山西省阳泉市平定县岔口镇冯家峪村 | 农家种 |
| 22 | 红糜子 | 山西省阳泉市 | 山西省阳泉市平定县东回镇后石窑村 | 农家种 |
| 23 | 红黍子 | 山西省阳泉市 | 山西省阳泉市平定县冠山镇里社村 | 农家种 |
| 24 | 黍子 | 山西省阳泉市 | 山西省阳泉市平定县冠山镇南坨村 | 农家种 |
| 25 | 红黍子 | 山西省阳泉市 | 山西省阳泉市平定县冠山镇南坨村 | 农家种 |
| 26 | 红黍子 | 山西省平定县 | 山西省阳泉市平定县冠山镇南坨村 | 农家种 |
| 27 | 白黍子 | 山西省平定县 | 山西省阳泉市平定县冠山镇南坨村 | 农家种 |
| 28 | 大白黍 | 山西省阳泉市 | 山西省阳泉市平定县冠山镇南坨村 | 农家种 |
| 29 | 黍子 | 山西省阳泉市 | 山西省阳泉市平定县冠山镇南坨村 | 农家种 |
| 30 | 黍子 | 山西省阳泉市 | 山西省阳泉市平定县冠山镇西关村 | 农家种 |
| 31 | 黍子 | 山西省阳泉市 | 山西省阳泉市平定县冠山镇西沟村 | 农家种 |
| 32 | 黍子 | 山西省阳泉市 | 山西省阳泉市平定县张庄镇宁艾村 | 农家种 |
| 33 | 黍子 | 山西省阳泉市 | 山西省阳泉市平定县张庄镇宁艾村 | 农家种 |
| 34 | 黍子 | 山西省阳泉市 | 山西省阳泉市平定县冶西镇马家庄村 | 农家种 |
| 35 | 青糜子 | 山西省阳泉市 | 山西省阳泉市平定县娘子关镇董宅村 | 农家种 |
| 36 | 黍子 | 山西省晋中昔阳县 | 山西省晋中市昔阳县小瓦邱村 | 农家种 |
| 37 | 黑糜子 | 山西省孝义市 | 山西省孝义市中阳楼街道办事处桥南村 | 农家种 |
| 38 | 黍子 | 山西省晋中市 | 山西省晋中市榆社县 | 农家种 |
| 39 | 黄糜子 | 山西省长治市 | 山西省长治市襄垣县善福乡卜沟村 | 农家种 |
| 40 | 红糜子 | 山西省长治市 | 山西省长治市长子县慈林镇横岭庄村 | 农家种 |
| 41 | 红糜子 | 山西省临汾市 | 山西省临汾市乡宁县昌宁镇韩村 | 农家种 |

表 1(续)

| 编号 No. | 种质名称 Name | 来源 Origin | 获取单位 Provider | 备注 Note |
|-----------|--------------|--------------|------------------|------------|
| 42 | 白糜子 | 山西省临汾市 | 山西省临汾市乡宁县昌宁镇韩村 | 农家种 |
| 43 | 黄硬黍 | 山西省高平市 | 山西省高平市米山县云西村 | 农家种 |
| 44 | 硬黍 | 山西省高平市 | 山西省高平市野川镇北杨村 | 农家种 |
| 45 | 软黍 | 山西省高平市 | 山西省高平市野川镇北杨村 | 农家种 |
| 46 | 硬黍 | 山西省高平市 | 山西省高平市大野川镇 | 农家种 |
| 47 | 白黍子 | 山西省高平市 | 山西省高平市河西镇 | 农家种 |
| 48 | 白黍子 | 山西省高平市 | 山西省高平市四庄镇冯家庄村 | 农家种 |
| 49 | 红黍子 | 山西省高平市 | 山西省高平市四庄镇冯家庄村 | 农家种 |
| 50 | 白黍子 | 山西省高平市 | 山西省高平市南城办上玉井村 | 农家种 |
| 51 | 粘黍 | 山西省高平市 | 山西省高平市米山县 | 农家种 |
| 52 | 白黍子 | 山西省高平市 | 山西省高平市米山县 | 农家种 |
| 53 | 黄硬黍 | 山西临汾翼县 | 中国农业科学院作物科学研究所 | 地方品种 |
| 54 | 黑黍子 | 山西省晋城沁水县 | 山西省沁水县柿庄村庄科 | 农家种 |
| 55 | 白糜子 | 山西省运城市 | 山西省运城市绛县东山村 | 农家种 |
| 56 | 黑糜子 | 山西省晋城市 | 山西省晋城市泽州县大阳镇西街村 | 农家种 |
| 57 | 白糜子 | 山西省运城市 | 山西省运城市临猗县牛堵镇 | 农家种 |

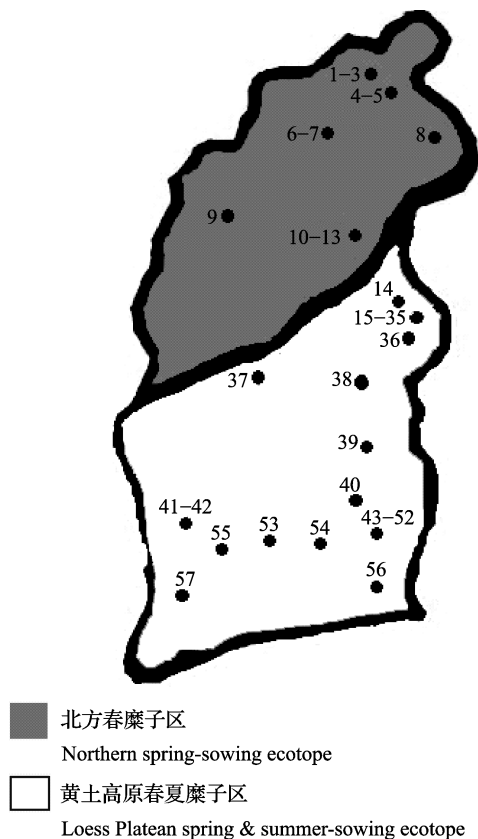


图 1 57 份山西糜子分布图

Fig. 1 The distribution of 57 common millet accessions in Shanxi province

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取 剪取糜子幼嫩叶片,采用 CTAB 改良法^[18]提取糜子基因组 DNA,利用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 质量并用紫外微量核酸仪测定 DNA 的纯度和浓度。

1.2.2 SSR 引物扩增 选用本实验室开发的 27 对 SSR 引物(表 2)对 57 份山西糜子进行 PCR 扩增反应。

1.2.3 反应体系及扩增程序 SSR-PCR 反应体系(20 μ L): dNTPs 1.8 μ L, 10 \times Taq Buffer 2 μ L, Taq 聚合酶 0.4 μ L, 前后引物各 0.6 μ L, ddH₂O 13.6 μ L, DNA 模板 1 μ L, 总体积 20 μ L。PCR 扩增程序: 预变性 94 $^{\circ}$ C 5 min; 变性 94 $^{\circ}$ C 45 s; 退火 50 s; 延伸 72 $^{\circ}$ C 1 min, 共 38 个循环; 后延伸 72 $^{\circ}$ C 10 min。PCR 扩增在 PCR 仪 TC-96/G/H(B)c 中进行。扩增产物用聚丙烯酰胺凝胶电泳检测。

1.2.4 数据统计与分析 根据凝胶电泳结果中是否有扩增条带记录试验结果,有读为 1,没有读为 0。用 PowerMarker 3.25^[19]分析不同品种间某一位点的多态性信息含量(PIC),用 PopGen1.32^[20]分析不同品种间某一位点的观测等位基因、有效等位基因、基因多样性指数等,用 MEGA5.0^[21]构建 Neighbour-Joining(N-J)聚类图,用 Structure2.3.4^[22]基于遗传结构进行聚类分析。用 Ntsys2.11^[23]对试验材料进行主成分分析。

表 2 SSR 引物明细

Table 2 The detail of SSR primers

| 引物 Locus | 正 / 反向引物 (5' -3') F/R-Sequence (5' -3') | 退火温度 (°C) Tm | 重复基序 Repeated motif |
|-------------|--|-----------------|------------------------|
| RYW1 | TAACGCTTCACCTTCAGACC TGAGATGGAGTTGGCTGATG | 55.2/56.2 | (TCATCT)6 |
| RYW2 | TTAGGGCTCTCCTGCATCC CAGCGAGTTCACCGTCAAG | 57.4/57.0 | (CGAAGC)5 |
| RYW3 | GGAGGCGTGACAATAAAAAC GGCCTGAGGTGTTGTTTTT | 52.8/55.7 | (CCTTCC)5 |
| RYW4 | AATCCACAACGCACACGAC ATTTGCTCCTCTCGTCGGT | 56.9/56.9 | (GTGCCG)5 |
| RYW6 | AGCCGATTGCTGTGGAGT CTGCCTCCGATGAGTTGGT | 57.8/56.4 | (ACACC)5 |
| RYW8 | GGGTCAGAGAATACACAGCG GTAGGGAAGGAGAAGTGGGT | 55.3/56.0 | (AATAG)5 |
| RYW9 | GGACCCTTCCCTCACAGATT TCCAGTTGCTCTTGCCGTT | 57.6/58.9 | (CTAG)6 |
| RYW10 | TGGATTGGGTGGTGGTAT AAGGACGGCAGCACAAAT | 53.0/56.0 | (CGAG)5 |
| RYW11 | TGCTCGTCTTCTCGCTTCG AGTAGTCTCCACCGCCATCT | 59.7/60.1 | (GGTA)5 |
| RYW12 | ACCATCCCAGCACAAACCA TGCCTGAAGGAGAAGAGCG | 58.9/58.6 | (AGCT)5 |
| RYW13 | CTCCTGCTCTGCTTCGTTT CTTCCAGCAGACCTTCACTC | 55.3/54.4 | (CGGC)5 |
| RYW15 | ACCGTGAAAAGAAATGCTG GTCCTGGATGTCGTCAACT | 53.4/51.9 | (ACAA)5 |
| RYW17 | TCAGCTACTTCGAACGGC GGATCATGCGATACATTGG | 54.2/56.1 | (TTTC)5 |
| RYW18 | CTCCCTCTTTGTCTCGTT GCTGCCTCTTCGCTATCTT | 53.8/54.8 | (AGTT)6 |
| RYW20 | ACCTCTTGCCGCACACTAC TTCTACATCCCCGAACCAC | 55.6/55.2 | (TTGG)6 |
| RYW21 | CCCTCCTACTGCTCCCTTT ATTACTCGTTCTCGCCTCG | 55.8/55.3 | (CGGA)6 |
| RYW22 | AAGCCAACACATTGAGGT CGTGATAACTGAATACGAGCC | 52.4/55.3 | (GGAA)5 |
| RYW27 | GCTGCTGGTTTCATTTTCC CCAAGATTGATTGGTTTCG | 55.5/56.1 | (GGAA)5 |
| RYW29 | CTTGATTCTCACGCACCG TGTCCAGCAGTAGTCGTTCTCT | 57.1/57.2 | (GCAG)5 |
| RYW30 | TAGCCTTCTTTGCCACCACT GCCCGTGATGATATTCGAC | 57.5/55.7 | (TTTC)5 |
| RYW31 | ACCCAGAGTCCAGAGAAGC GATGTCCTCCTCTTCTCC | 53.4/52.6 | (AGCG)5 |
| RYW40 | TGCTCTTCGGCTCTTCTCC ATCAGCTCATCGTGACCCC | 57.7/57.5 | (CAGC)6 |
| RYW42 | AGACACCCTGGGCAACATC CTGGACTGGGCTTCGTTCT | 57.4/57.3 | (GGCT)5 |
| RYW43 | GGGAGATGCTTGCTTGGTT GCTTCTTTCCTTAGCCGAT | 57.4/56.1 | (GGAA)6 |
| RYW46 | TAGCGATTACGAACGAG AGACGCTAAAAAGCCCGAC | 56.9/57.3 | (CCTC)6 |
| RYW61 | ACTGCTGCTTGCTCCTTGT ACATCCCAGAAACCCTAACC | 55.5/56.2 | (ATAC)5 |
| RYW79 | TCAGCAGACAACCCAAAAG CGATTGTTGAGGGAAGTGA | 53.9/53.5 | (ATCA)5 |

2 结果与分析

2.1 SSR 引物的多态性分析

利用 27 对引物评估糜子的遗传多样性(表 3),结果发现 57 份材料在 27 个位点共检出 71 个观测等位变异,每个位点为 2~3 个,平均为 2.6296 个;其中有效等位变异占观测等位变异的 76.94%。57 份材料在 27 个位点的基因多样性指数为 0.4140(RYW22)~1.0446(RYW1),平均为 0.7686。57 份材料在 27 个位点检测到的 PIC 为 0.0601(RYW30)~0.7158(RYW43),平均为 0.5667;高度

多态性信息位点($PIC>0.5$)有 21 个(77.78%)。

分析不同生态区糜子种质的遗传多样性(表 4),结果发现北方春糜子区和黄土高原春夏糜子区的 PIC 值、期望杂合度、观测杂合度、基因多样性指数和有效等位基因数等遗传多样性衡量指标相差不大。

2.2 不同糜子个体聚类分析

用 27 对引物将黄土高原春夏糜子区和北方春糜子区两个生态区的 57 份糜子材料进行 N-J 聚类(图 2)。结果显示 57 份糜子划分为 3 个类群。类群 I(蓝色)包括 11 份材料,属于黄土高原春夏糜子区。包括晋中部材料 3 份(27.3%)、晋南

表 3 27 个 SSR 的遗传多样性参数

Table 3 Genetic parameters from the 27 polymorphic SSR markers used in the study

| 引物 Locus | 观测等位基因 <i>Na</i> | 有效等位基因 <i>Ne</i> | 基因多样性指数 <i>I</i> | 观测杂合度 <i>Ho</i> | 期望杂合度 <i>He</i> | Nei's 期望杂合度 <i>Nei</i> | 多态性信息含量 <i>PIC</i> |
|---------------|---------------------|---------------------|---------------------|--------------------|--------------------|---------------------------|-----------------------|
| RYW1 | 3 | 2.7332 | 1.0446 | 0.5349 | 0.6416 | 0.6341 | 0.6956 |
| RYW2 | 3 | 1.9618 | 0.7923 | 0.5349 | 0.4960 | 0.4903 | 0.6441 |
| RYW3 | 2 | 1.6964 | 0.6008 | 0.5000 | 0.4186 | 0.4105 | 0.5337 |
| RYW4 | 3 | 1.9428 | 0.8280 | 0.3864 | 0.4909 | 0.4853 | 0.6689 |
| RYW6 | 3 | 2.4342 | 0.9580 | 0.5745 | 0.5955 | 0.5892 | 0.6944 |
| RYW8 | 3 | 2.1590 | 0.8716 | 0.4464 | 0.5417 | 0.5368 | 0.6285 |
| RYW9 | 2 | 1.9347 | 0.6762 | 0.6122 | 0.4881 | 0.4831 | 0.6054 |
| RYW10 | 3 | 2.6601 | 1.0351 | 0.1731 | 0.6301 | 0.6241 | 0.6901 |
| RYW11 | 3 | 2.1298 | 0.8919 | 0.4130 | 0.5363 | 0.5305 | 0.6873 |
| RYW12 | 2 | 1.5888 | 0.5575 | 0.4912 | 0.3739 | 0.3706 | 0.3748 |
| RYW13 | 3 | 2.0058 | 0.7540 | 0.5536 | 0.5060 | 0.5014 | 0.5505 |
| RYW15 | 2 | 1.5463 | 0.5383 | 0.4167 | 0.3570 | 0.3533 | 0.5718 |
| RYW17 | 2 | 1.8394 | 0.6488 | 0.4773 | 0.4616 | 0.4564 | 0.6384 |
| RYW18 | 2 | 1.7808 | 0.6303 | 0.6491 | 0.4423 | 0.4384 | 0.3831 |
| RYW20 | 3 | 2.2061 | 0.9236 | 0.5098 | 0.5521 | 0.5467 | 0.5972 |
| RYW21 | 2 | 1.7101 | 0.6058 | 0.4706 | 0.4193 | 0.4152 | 0.5899 |
| RYW22 | 3 | 1.2691 | 0.4140 | 0.2000 | 0.2140 | 0.2121 | 0.3574 |
| RYW27 | 3 | 2.5294 | 1.0109 | 0.2632 | 0.6100 | 0.6046 | 0.6624 |
| RYW29 | 3 | 2.1418 | 0.8299 | 0.4490 | 0.5386 | 0.5331 | 0.6796 |
| RYW30 | 2 | 2.0000 | 0.6931 | 1.0000 | 0.5045 | 0.5000 | 0.0601 |
| RYW31 | 2 | 1.9665 | 0.6846 | 0.7826 | 0.5024 | 0.4915 | 0.4443 |
| RYW40 | 3 | 2.1895 | 0.8490 | 0.4884 | 0.5497 | 0.5433 | 0.6732 |
| RYW42 | 3 | 2.3855 | 0.9638 | 0.5577 | 0.5864 | 0.5808 | 0.5874 |
| RYW43 | 3 | 2.2555 | 0.8836 | 0.3958 | 0.5625 | 0.5566 | 0.7158 |
| RYW46 | 2 | 1.9810 | 0.6883 | 0.8235 | 0.5001 | 0.4952 | 0.4307 |
| RYW61 | 3 | 1.6493 | 0.6412 | 0.4038 | 0.3975 | 0.3937 | 0.5431 |
| RYW79 | 3 | 1.9321 | 0.7374 | 0.4038 | 0.4871 | 0.4824 | 0.6442 |
| 平均值 Mean | 2.6296 | 2.0233 | 0.7686 | 0.5004 | 0.4964 | 0.4911 | 0.5667 |
| 标准差 <i>SD</i> | 0.4921 | 0.3441 | 0.1657 | 0.1755 | 0.0932 | 0.0923 | 0.1467 |

Na: Observed allele number, *Ne*: Effective allele number, *I*: Shannon's information index, *Ho*: Observed heterozygosity, *He*: Expected heterozygosity, *Nei*: Nei's (1973) expected heterozygosity, *PIC*: Polymorphism information content. The same as below

表 4 不同生态区糜子的遗传多样性分析

Table 4 Evaluation of genetic diversity of different ecotopes of common millet

| 来源地 Origin | 资源数 Accessions | 观测等位 基因 <i>Na</i> | 有效等位 基因 <i>Ne</i> | 基因多样性 指数 <i>I</i> | 观测杂合度 <i>Ho</i> | 期望杂合度 <i>He</i> | 多态性 信息含量 <i>PIC</i> |
|--|-------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------|--------------------|---------------------------|
| 北方春糜子区 Northern spring-sowing ecotope | 13 | 2.3704 ± 0.4921 | 2.0343 ± 0.3882 | 0.7496 ± 0.1812 | 0.5015 ± 0.2416 | 0.5166 ± 0.1064 | 0.5376 |
| 黄土高原春夏糜子区 Loess Plateau spring & summer-sowing ecotope | 44 | 2.5926 ± 0.5007 | 1.9832 ± 0.3831 | 0.7478 ± 0.1802 | 0.4964 ± 0.1836 | 0.4831 ± 0.1076 | 0.5451 |

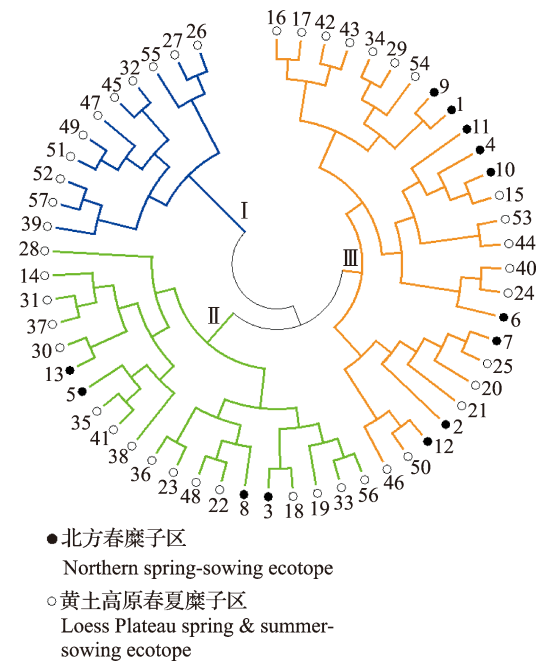


图 2 基于遗传距离的 57 份糜子种质资源聚类图
 Fig. 2 Cluster diagram of 57 common millets based on genetic distance

部材料 8 份 (72.7%)。其中 26 号、27 号聚在一起,均来自阳泉市平定县南坳村;47 号、49 号和 51 号聚在一起,均来自高平市。类群 II (绿色) 包含 20 份材料,属于黄土高原春夏糜子区和北方春糜子区。其中晋北部材料 4 份 (20%),晋中部材料 13

份 (65%),晋南部材料 3 份 (15%),黄土高原春夏糜子区材料占类群 II 的 80%。类群 III (橘色) 包含 26 份材料,属于黄土高原春夏糜子区和北方春糜子区。包括晋北部材料 9 份 (34.6%),晋中部材料 9 份 (34.6%),晋南部材料 8 份 (30.8%),黄土高原春夏糜子区占类群 III 的 65.4%。

2.3 基于模型的糜子群体结构分析

对 57 份材料进行基于模型的群体结构分析 (图 3)。从图 3 可知,等位变异频率特征数 (遗传群体数) 在 K=3 处出现拐点,供试材料划分为 3 个类群 (图 4)。

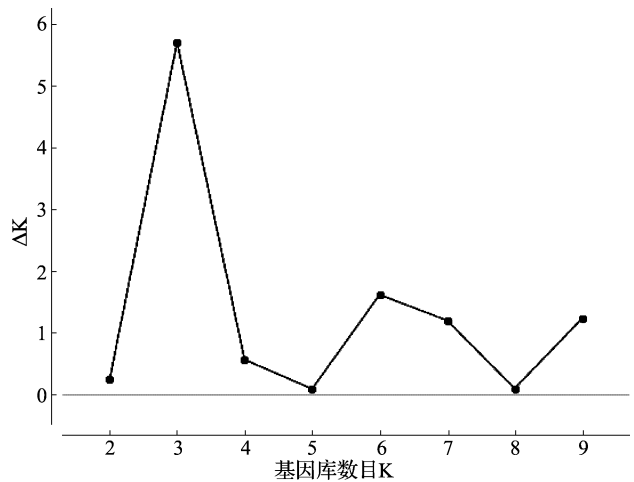
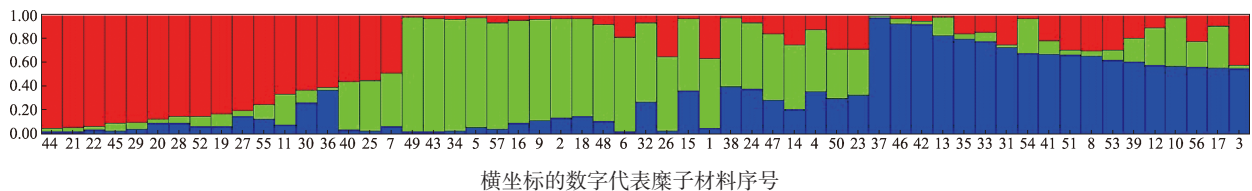


图 3 基于模型的群体结构分析
 Fig. 3 Population structure analysis based on model



横坐标的数字代表糜子材料序号
 Numbers in the horizontal axis represent serial number of accession

图 4 糜子种质资源群体遗传结构图 (K=3)
 Fig. 4 Population structure of common millet germplasm resources (K=3)

由图 4 可知,类群 A 为红色 (17 份),晋北、晋中、晋南的材料分配为 2:10:5,北方春糜子区和黄土高原春夏糜子区的材料比为 2:15。类群 B 为绿色 (22 份),晋北、晋中、晋南的材料分配为 3:5:3,北方春糜子区和黄土高原春夏糜子区的材料比为 7:15。类群 C 为蓝色 (18 份),晋北、晋中、晋南的材料分配为 5:5:8,北方春糜子区和黄土高原春夏糜子区的材料比为 5:13。

分析 K=3 遗传结构图各分类群的遗传多样性参数 (表 5)。绿色类群、蓝色类群和红色类群的材料数分别占 38.6%、31.6% 和 29.8%;就基因多样性指数和 PIC 值而言,绿色类群 (0.7393 和 0.5353) > 蓝

色类群 (0.7388 和 0.5073) > 红色类群 (0.6789 和 0.4753)。

2.4 主成分分析

对 57 份试验材料进行主成分分析 (PCA),结果见图 5。前 3 个主成分 PC1 (Dim-1)、PC2 (Dim-2) 和 PC3 (Dim-3) 分别解释总方差的 25.70%、5.22% 和 4.88%,共解释累积方差 35.80%。PC1 划分出大部分北方春糜子区的基因型 (2~10 号、12~13 号) 和 36 号 (晋中昔阳) 基因型。PC2 将黄土高原春夏糜子区划分出来,包括 2 份长治 (39 号、40 号)、2 份晋中 (36 号、38 号)、9 份阳泉 (15~18 号、24~26 号、33~34 号) 的材料。PC3 为其余的材料。

表 5 遗传结构图中各分类群的多样性统计

Table 5 The statistics among the different sub-populations

| 类群 Cluster | 资源份数 Sample size | 观测等位基因 <i>N_a</i> | 有效等位基因 <i>N_e</i> | 基因多样性指数 <i>I</i> | 观测杂合度 <i>H_o</i> | Nei's 期望杂合度 <i>N_ei</i> | 多态性信息含量 <i>PIC</i> |
|---------------|---------------------|--------------------------------|--------------------------------|---------------------|-------------------------------|--------------------------------------|-----------------------|
| 红色 Red | 17 | 2.2963 | 1.8598 | 0.6789 | 0.4965 | 0.4564 | 0.4753 |
| 绿色 Green | 22 | 2.5185 | 1.9565 | 0.7393 | 0.4366 | 0.4821 | 0.5353 |
| 蓝色 Blue | 18 | 2.3704 | 2.0309 | 0.7388 | 0.5729 | 0.4998 | 0.5073 |

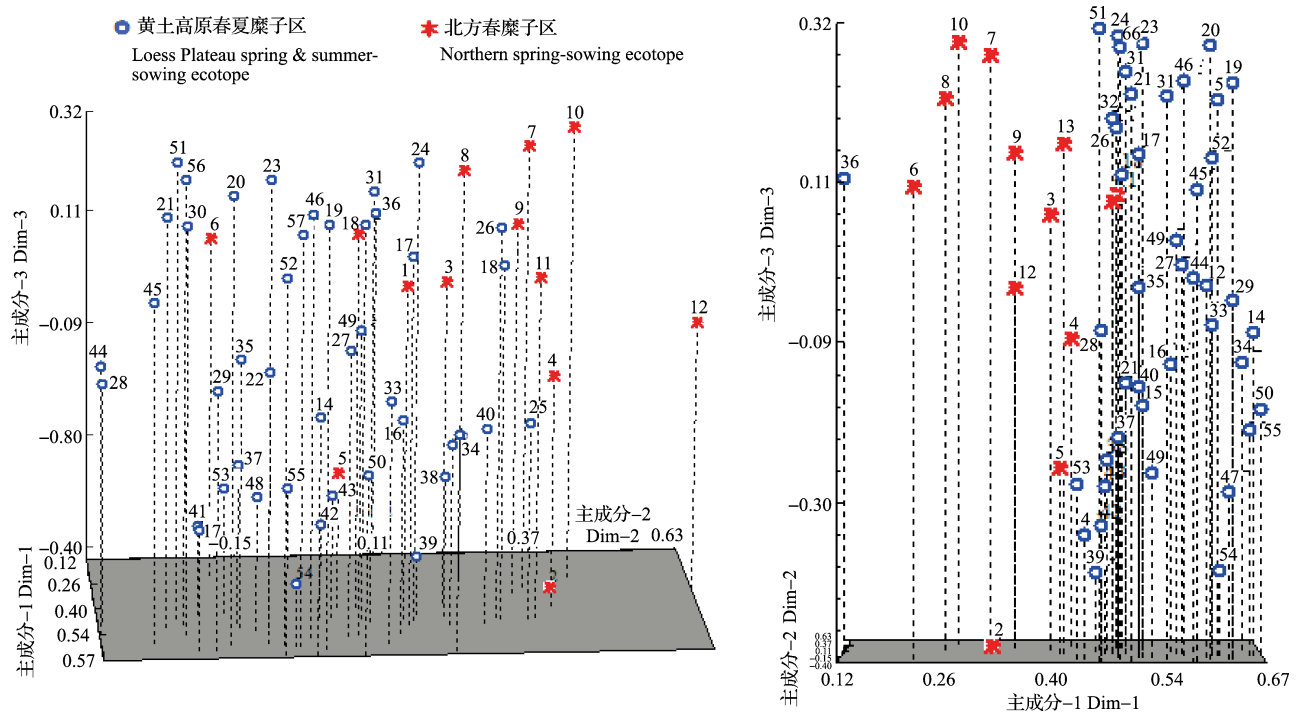


图 5 57 份糜子材料主成分分析图

Fig. 5 Principle component analysis of 57 common millet accessions

3 讨论

基于 SSR 标记多态性, Cho 等^[24]通过建立糜子基因组 DNA 的基因文库首次开发出了 25 个 SSR 标记, 检测得 *PIC* 为 0.04~0.70, 平均为 0.33。就中国而言, 连帅等^[16]利用 63 对 SSR 引物分析国内外 192 份资源的多样性, 共检测出 161 个等位变异, 基因多样性指数为 0.1623~1.0939, 平均为 0.6275, *PIC* 为 0.1866~0.7006, 平均为 0.4855。Liu 等^[25]用 66 对 SSR 引物分析中国 88 份糜子资源, 所得多态性信息含量为 0.043~0.729, 平均为 0.376。董俊丽等^[17]用 19 对 SSR 引物检测 96 份糜子材料, 发现基因多样性指数为 0.0610~0.8088, 平均为 0.4097, *PIC* 为 0.0600~0.7889, 平均为 0.3920。王瑞云等^[26]用 15 个 SSR 标记对来源于中国 11 个省的 132 份糜子种质资源进行遗传多样性分析, *PIC*

为 0.0893~0.8538, 平均为 0.4864。均低于本研究中山西糜子资源的基因多样性指数 (0.7686) 和 *PIC* (0.5667), 这可能与本研究所用的引物为高基元标记有关。

基于 N-J 遗传距离, 董俊丽等^[17]将 96 份糜子资源划分为 3 个类群, 其中黄土高原栽培区和北方春季栽培区的资源从所有材料中分离出来, 所聚类群与地理来源有关。本研究将 57 份山西材料可分为 3 个类群, 从类群 I 到类群 III 的材料分布存在从晋南部地区过渡到晋中、晋北部混合区的趋势, 可直观地看出各材料的亲缘关系, 同以上研究结果一致, 聚类结果与材料的地理分布相关。此外, 聚类结果中将 9 号材料黄黍子与 1 号材料雁黍 7 号聚在一起。9 号黄黍子为本实验室收集的农家种, 来源于山西忻州岢岚县三井镇南川村, 世代相传, 为本村农民种植的当家品种, 农艺性状优良, 产量较高。雁黍

7 号为育成品种,是山西省农业科学院作物高寒区研究所通过伊选黄黍子和大白黍杂交选育而来。二者地理来源均为北方春糜子区,遗传关系较近,经过进一步遗传多样性评估,有望将 9 号材料黄黍子在实践中推广运用。

基于模型的群体结构分析, Hunt 等^[27]用 16 个 SSR 分析 98 份欧亚大陆糜子资源的遗传结构,发现糜子资源划分群组与地理来源相符; Rajput 等^[28]用 100 对 SSR 引物对 90 份来源于各大洲的糜子资源进行聚类分析,基于遗传距离可划分为 3 个类群,群组划分结果与地理来源、系谱发生及农艺特征相符;另有研究发现基于遗传结构和遗传距离的中国糜子资源聚类与地理来源相关^[17,26]。本研究也获得类似结果,并且绿色类群材料的地理位置差异大,多样性指数和 PIC 值均较高,说明晋北部和晋中、晋南部资源的遗传背景差异较大。

基于主成分分析, Rajput 等^[28]用 100 对 SSR 引物分析 90 份糜子资源,发现前 3 个主成分共解释了 10.1% 的累积方差,本研究发现前 3 个主成分解释了 35.80% 的累积方差,二者的累计方差均小于 85%,可能与糜子的异源四倍体特性有关,各基因型间存在连锁不平衡。目前利用 PCA 研究糜子全部基因型的地理分布类群方面的资料的缺乏,与糜子没有经过长期的育种和人工选择、缺少种群结构有关。本研究基于 N-J 聚类将 3 号、5 号、8 号和 13 号与其他北方春糜子区的资源聚在两个类群中,而在主成分分析中 PC1 却将它们均划分在 PC1 中,表明主成分分析解决了基于遗传距离的聚类结果中的例外,这与 Rajput 等^[28]的研究结果类似。

本研究利用 27 个 SSR 分析了 57 份糜子资源的遗传差异,可为今后糜子育种中亲本的选择提供一定的理论指导。同时,挖掘优质资源,可为加强各地区糜子种质间的基因交流提供材料支持。而国家糜子种质资源库中山西糜子有 1000 余份,为了明确其遗传背景,尚需利用更多微卫星标记评估更多的资源。另外,中国的糜子资源丰富多样,遗传差异显著,我们已经利用高通量测序手段挖掘了一批 SSR 标记,包括高基元引物;同时评估了中国糜子的 waxy 等位变异的多样性^[29-33]。

参考文献

[1] Habiyaremye C, Matanguihan J B, Guedes J D, Ganjyal G

- M, Whiteman M R, Kidwell K K, Murphy K M. Proso millet (*Panicum miliaceum* L.) and its potential for cultivation in the Pacific Northwest, U.S.: A Review. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 7: 1961
- [2] Hulse J H, Laing E M, Pearson O E. Sorghum and the millets: Their composition and nutritive value. London: Academic Press, 1980
- [3] Devi P B, Vijayabharathi R, Sathyabama S, Malleshi N G, Priyadarisini V B. Health benefits of finger millet (*Eleusine coracana* L.) polyphenols and dietary fiber: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 2014, 51 (6): 1021-1040
- [4] Gupta S, Shrivastava S K, Shrivastava M. Proximate composition of seeds of hybrid varieties of minor millets. *International Journal of Research in Engineering and Technology*, 2014, 3 (2): 687-693
- [5] Lu H Y, Zhang J P, Liu K B, Wu N Q, Li Y M, Zhou K S, Ye M L, Zhang T Y, Zhang T Y, Zhang H J, Yang X Y, Shen L C, Xu D K, Li Q. Earliest domestication of common millet (*Panicum miliaceum* L.) in East Asia extended to 10000 years ago. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2009, 106 (18): 7367-7372
- [6] Diao X M. Production and genetic improvement of minor cereals in China. *The Crop Journal*, 2017, 5 (2): 103-114
- [7] 李莉, 王俊峰, 颜廷进, 李娜娜, 丁汉凤, 樊守金. 基于 SSR 标记的山东省小麦 DNA 指纹图谱的构建. *植物遗传资源学报*, 2013, 14 (3): 537-541
- Li L, Wang J F, Yan T J, Li N N, Ding H F, Fan S J. Establishment of DNA fingerprinting for wheat in Shandong province by SSR markers. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2013, 14 (3): 537-541
- [8] 郑永胜, 张晗, 王东建, 孙加梅, 王雪梅, 段丽丽, 李华, 王玮, 李汝玉. 基于荧光检测技术的小麦品种 SSR 鉴定体系的建立. *中国农业科学*, 2014, 47 (19): 3725-3735
- Zheng Y S, Zhang H, Wang D J, Sun J M, Wang X M, Duan L L, Li H, Wang W, Li R Y. Development of a wheat variety identification system based on fluorescently labeled SSR markers. *Scientia Agricultura Sinica*, 2014, 47 (19): 3725-3735
- [9] 马静, 孙建昌, 安永平, 王兴盛, 张振海, 韩龙植. 基于 SSR 标记的宁夏水稻遗传多样性分析. *植物遗传资源学报*, 2013, 14 (5): 826-832
- Ma J, Sun J C, An Y P, Wang X S, Zhang Z H, Han L Z. Analysis of genetic diversity with population of Japonica rice from Ningxia using microsatellite markers. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2013, 14 (5): 826-832
- [10] 张科, 魏海锋, 卓大龙, 张晓敬, 张帆, 周永力, 黎志康. 黑龙江省近年审定水稻品种基于 SSR 标记的遗传多样性分析. *植物遗传资源学报*, 2016, 17 (3): 447-454
- Zhang K, Wei H F, Zhuo D L, Zhang X J, Zhang F, Zhou Y L, Li Z K. Genetic diversity analysis of registered rice (*Oryza sativa* L.) varieties in Heilongjiang province based on SSR markers. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2016, 17 (3): 447-454
- [11] 马静, 安永平, 王兴盛, 孙建昌. 宁夏水稻品种微卫星标记数据库的建立. *植物遗传资源学报*, 2016, 17 (2): 226-232
- Ma J, An Y P, Wang X S, Sun J C. Establishment of Ningxia rice microsatellite marker database. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2016, 17 (2): 226-232
- [12] 张全芳, 梁水美, 李燕, 刘艳艳, 范阳阳, 郭庆法, 鲁守平, 步

- 迅. 基于荧光 SSR 标记的玉米自交系遗传结构解析. 植物遗传资源学报, 2017, 18(1): 19-31
- Zhang Q F, Liang S M, Li Y, Liu Y Y, Fan Y Y, Guo Q F, Lu S P, Bu X. Analysis of genetic diversity and genetic structure of maize germplasms using fluorescent SSR markers. Journal of Plant Genetic Resources, 2017, 18(1): 19-31
- [13] 王慧, 卢有林, 孙大鹏, 杨华, 罗利军, 吴爱忠, 施标, 郑洪建. 糯玉米种质品质性状鉴定和 SSR 标记遗传多样性分析. 植物遗传资源学报, 2013, 14(5): 800-808
- Wang H, Lu Y L, Sun D P, Yang H, Luo L J, Wu A Z, Shi B, Zheng H J. Evaluation of quality traits and genetic diversity analysis for Waxy maize germplasms by SSR markers. Journal of Plant Genetic Resources, 2013, 14(5): 800-808
- [14] 盖树鹏, 盖伟玲, 黄进勇. SSR 与 SRAP 标记在玉米品种鉴定中的比较研究. 植物遗传资源学报, 2011, 12(3): 468-472
- Gai S P, Gai W L, Huang J Y. Comparison of SSR and SRAP marker for varieties identification in Maize (*Zea mays* L.). Journal of Plant Genetic Resources, 2011, 12(3): 468-472
- [15] Hu X Y, Wang J F, Lu P, Zhang H S. Assessment of genetic diversity in broomcorn millet (*Panicum miliaceum* L.) using SSR markers. Journal of Genetics and Genomics, 2009, 36(8): 491-500
- [16] 连帅, 陆平, 乔治军, 张琦, 张茜, 刘敏轩, 王瑞云. 利用 SSR 分子标记研究国内外黍稷地方品种和野生资源的遗传多样性. 中国农业科学, 2016, 49(17): 3264-3275
- Lian S, Lu P, Qiao Z J, Zhang Q, Zhang Q, Liu M X, Wang R Y. Genetic diversity in broomcorn millet (*Panicum miliaceum* L.) from China and abroad by using SSR markers. Scientia Agricultura Sinica, 2016, 49(17): 3264-3275
- [17] 董俊丽, 王海岗, 陈凌, 王君杰, 曹晓宁, 王纶, 乔治军. 糜子骨干种质遗传多样性和遗传结构分析. 中国农业科学, 2015, 48(16): 3121-3131
- Dong J L, Wang H G, Chen L, Wang J J, Cao X N, Wang L, Qiao Z J. Analysis of genetic diversity and structure of proso millet core germplasm. Scientia Agricultura Sinica, 2015, 48(16): 3121-3131
- [18] Edwards K, Johnstone C, Thompson C. A simple and rapid method for the preparation of plant genomic DNA for PCR analysis. Nucleic Acids Research, 1991, 19: 1349
- [19] Liu K, Muse S V. PowerMarker: Integrated analysis environment for genetic marker data. Bioinformatics, 2005, 21: 2128-2129
- [20] Yeh F C, Boyle T J. Population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits. Belgian Journal of Botany, 1997, 129: 157
- [21] Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance and maximum parsimony methods. Molecular Biology and Evolution, 2011, 665: 2731-2739
- [22] Falush D, Stephens M, Pritchard J K. Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. Genetics, 2003, 164: 1567-1587
- [23] Nei M, Li W H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1979, 76: 5269-5273
- [24] Cho Y I, Chung J W, Lee G A, Ma K H, Dixit A, Gwag J G, Park Y J. Development and characterization of twenty-five new polymorphic microsatellite markers in proso millet (*Panicum miliaceum* L.). Genes & genomics, 2010, 32(3): 267-273
- [25] Liu M, Xu Y, He J, Zhang S, Wang Y Y, Lu P. Genetic diversity and population structure of broomcorn millet (*Panicum miliaceum* L.) cultivars and landraces in China based on microsatellite markers. International Journal of Molecular Sciences, 2016, 17(3): E370
- [26] 王瑞云, 季煦, 陆平, 刘敏轩, 许月, 王纶, 王海岗, 乔治军. 利用荧光 SSR 分析中国糜子遗传多样性. 作物学报, 2017, 43(4): 530-548
- Wang R Y, Ji X, Lu P, Liu M X, Xu Y, Wang L, Wang H G, Qiao Z J. Analysis of genetic diversity in common millet (*Panicum miliaceum*) using fluorescent SSR in China. Acta Agronomica Sinica, 2017, 43(4): 530-548
- [27] Hunt H V, Campana M G, Lawes M C, Park Y J, Bower M A, Howe C J, Jones M K. Genetic diversity and phylogeography of broomcorn millet (*Panicum miliaceum* L.) across Eurasia. Molecular Ecology, 2011, 20(22): 4756-4771
- [28] Rajput S G, Santra D K. Evaluation of genetic diversity of proso millet (*Panicum miliaceum* L.) germplasm available in the USA using SSR markers. Crop Science, 2016, 56: 1-9
- [29] Wang R Y, Hunt H V, Qiao Z J, Wang L, Han Y H. Diversity and cultivation of broomcorn millet (*Panicum miliaceum* L.) in China: A Review. Economic Botany, 2016, 70(3): 332-342
- [30] Wang R Y, Wang H G, Liu X Y, Lian S, Chen L, Qiao Z J, McInerney C E, Wang L. Drought-induced transcription of resistant and sensitive common millet varieties. The Journal of Animal & Plant Sciences, 2017, 27(4): 1303-1314
- [31] Wang R Y, Wang H G, Liu X Y, Ji X, Chen L, Lu P, Liu M X, Teng B, Qiao Z J. Waxy allelic diversity in common millet (*Panicum miliaceum* L.) in China. The Crop Journal, 2018, 6(4): 321-329
- [32] 王瑞云, 刘笑瑜, 王海岗, 陆平, 刘敏轩, 陈凌, 乔治军. 用高基元微卫星标记分析中国糜子遗传多样性. 中国农业科学, 2017, 50(20): 3848-3859
- Wang R Y, Liu X Y, Wang H G, Lu P, Liu M X, Chen L, Qiao Z J. Evaluation of genetic diversity of common millet (*Panicum miliaceum*) germplasm available in China using high motif nucleotide repeat SSR markers. Scientia Agricultura Sinica, 2017, 50(20): 3848-3859
- [33] 王瑞云. 糜子遗传多样性及进化研究进展. 北京: 中国农业出版社, 2017: 116-125
- Wang R Y. Genetic diversity and evolution advancement in common millet (*Panicum miliaceum* L.) Beijing: China Agriculture Press, 2017: 116-125