

分蘖型谷子资源的表型和遗传多样性分析

杨慧卿, 王 军, 王智兰, 杜晓芬, 郭二虎, 王玉文, 袁 峰,
田 岗, 刘 鑫, 王秋兰, 李会霞, 张林义, 彭书忠

(山西省农业科学院谷子研究所/杂粮种质资源发掘与遗传改良山西省重点实验室, 长治 046011)

摘要:本研究选用了来自国外及国内的 68 份分蘖型谷子进行了表型及遗传多样性分析。表型分析表明, 质量性状以绿鞘、白谷黄米、圆锥穗、松散穗码居多, 数量性状变异系数除出谷率较小外, 其他性状表现了丰富的遗传变异, 来自山西的小软谷单株穗重、单株穗粒重、千粒重均为最高, 而来自黑龙江的大青谷单株穗粒重、出谷率、千粒重均为最低。遗传多样性分析结果表明, 77 对引物共检测出 202 个等位位点, 每对引物可检测到 1~6 个位点不等, 平均为 2.62 个; 77 对引物多态性信息含量 (PIC) 在 0.0283~0.6974 之间, 平均多态性信息量 (PIC) 为 0.4169, 68 份材料间的遗传相似系数变化范围为 0.59~0.96, 平均值为 0.68。利用软件 NTSYSpc 2.10 的 UPGMA 聚类方法对 68 份谷子分蘖材料进行了聚类, 这些材料被划分为 4 个类群, 即 I、II、III 和 IV。I 类群主要来自西北地区谷子分蘖种质, II 类群主要来自国外谷子分蘖种质, III 类群包括华北、华东和东北的谷子分蘖种质, IV 类群仅包括一个种质。结合表型鉴定出 10 份优势谷子分蘖种质。这些结果揭示 68 份谷子分蘖种质遗传多样性较好, 研究结果为挖掘谷子分蘖优良基因及谷子分蘖育种提供理论依据。

关键词: 谷子分蘖种质; 表型; 遗传多样性; 聚类分析

Analysis of Phenotype and Genetic Diversity of Foxtail Millet Germplasm with Tillering

YANG Hui-qing, WANG Jun, WANG Zhi-lan, DU Xiao-fen, GUO Er-hu, WANG Yu-wen, YUAN Feng,
TIAN Gang, LIU Xin, WANG Qiu-lan, LI Hui-xia, ZHANG Lin-yi, PENG Shu-zhong

(Millet Research Institute, Shanxi Academy of Agricultural Sciences/Shanxi Key Laboratory of
Genetic Resources and Breeding in Minor Crops, Changzhi 046011)

Abstract: The phenotypic and genetic diversity of 68 cultivars of foxtail millet with tillering from abroad and domestic were analyzed in this study. The analysis of phenotype showed that the majority of qualitative traits such as sheath colour, grain colour, hull colour, panicle type and the density of spikelet were green, white, yellow, conic and loose, respectively. The coefficient of variation of the grain percentage was the smallest and other traits showed abundant genetic variation. The XIAO RUAN GU from Shanxi was of the highest values for the panicle weight of single plant, grain weight of single plant and weight of thousand-grain, but the DA QING GU from Heilongjiang was of the lowest values for the grain weight of single plant, grain percentage and weight of thousand-grain. Simultaneously, genetic diversity analysis of 68 foxtail millet germplasm with tillering were conducted using 77 pairs of SNP and SSR primers distributed across the millet genome. A total of 202 alleles with an average of 2.62 per pairs of primers, and 1-6 alleles per locus were detected. PIC varied greatly from 0.0283 to 0.6974 with an average of 0.4169. The ge-

收稿日期: 2016-11-01 修回日期: 2016-12-28 网络出版日期: 2017-06-13

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20170613.0924.036.html>

基金项目: 山西省农业科学院种业发展专项项目 (2016ZYXZ22); 山西省农业科学院科技自主创新能力提升工程项目 (2016ZZCX-09); 山西省青年基金项目 (2015021143); 谷子杂种优势利用与分子机理研究山西省重点科技创新团队项目 (2015013001-09); 山西省农业科学院农业科技创新研究课题项目 (ZDSYS1504)

第一作者研究方向为谷子分子育种。E-mail: feier325@sina.com

通信作者: 王军, 研究方向为谷子分子育种。E-mail: 128wan@163.com

郭二虎, 研究方向为谷子育种与栽培。E-mail: guoerhu2003@163.com

netic similarity coefficient varied from 0.59 to 0.96 with an average of 0.68. The clustering results based on UPG-MA method showed that the tested materials could be divided into four groups named as I, II, III and IV, respectively. I and II were mainly come from Northwest of China and foreign country, respectively. However, III were come from North, East, Northeast of China and the IV included only one material. A total of 10 millet germplasm with tillering were identified according to phenotype. All above revealed that the genetic diversity of 68 germplasm were good. These results would provide a theoretical basis for breeding and mining the good genes for tillering.

Key words: foxtail millet germplasm with tillering; phenotype; genetic diversity; cluster analysis

种质资源是作物品种遗传改良的基础,种质基础越宽,遗传多样性越丰富^[1-3],作物种间的遗传多样性是基因型、环境以及基因型与环境互作效应的综合表现^[4],体现在形态以及 DNA 水平等方面。因此,根据表型性状以及 DNA 水平的遗传多样性研究在种质资源挖掘利用方面具有重要意义。

谷子表型性状遗传多样性研究已有不少报道。王海岗等^[5]选来自不同国家和地区的 878 份谷子核心种质对 15 个表型性状进行了综合鉴定和遗传多样性评估。田伯红^[6]对河南、河北和山东等地的 482 份谷子地方品种和近 30 年育成的谷子品种的 11 个形态性状和农艺性状进行了鉴定和遗传多样性分析。王晓娟等^[7]对 474 份甘肃省谷子地方种质资源的 22 个性状进行了遗传多样性分析,这些研究结果为区分品种(系)遗传差异、优异种质筛选、特殊材料创制奠定了重要基础。

DNA 水平遗传多样性的研究在许多作物上有相关报道,如番茄^[8]、小麦^[9]、小黑麦^[10]、玉米^[11]、水稻^[12]和大豆^[13]等。近年来,谷子上采用分子标记进行遗传多样性研究^[14]也有不少报道。C. F. Wang 等^[15]利用 SSR 分子标记将谷子农家品种清楚地分为早春播型、春播型、春夏兼播型和南方型 4 种类型,X. P. Jia 等^[16]采用 SSR 标记将谷子育成品种清楚地分为春播型和夏播型两类,贾小平等^[17]采用 37 对 SSR 标记对 40 份谷子品种进行了遗传多样性研究。此外,研究者们还利用其他作物上的分子标记在谷子上进行了分子标记可转移性分析和谷子遗传多样性研究,王节之等^[18]利用小麦 120 对 Xgwm 引物对 96 份谷子种质资源材料进行 DNA 多态性分析,王军等^[19]利用 38 个水稻 ACGM (Amplified Consensus Genetic Marker) 标记对 59 份谷子材料进行了聚类分析。

谷子分蘖种质资源的利用有利于降低植株高度,提高谷子抗倒性,还可以依靠大群体实现高产,依靠分蘖成穗实现精播免间苗,节本省工,因此,开展谷子分蘖种质资源利用研究特别是遗传多样性研

究,对于谷子分蘖免间苗品种选育及优异分蘖基因挖掘具有重要意义。目前,这方面的研究尚未见报道。

本研究利用谷子 SNP (Single Nucleotide Polymorphism) 和 SSR (Simple Sequence Repeat) 共 77 个标记对 68 份谷子分蘖种质进行了遗传多样性分析,旨在了解这些种质的遗传背景,为新品种选育提供理论依据,为分蘖基因或数量性状位点 (QTL, quantitative trait loci) 挖掘奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料种植

供试谷子材料 68 份(表 1),包括国内 46 份、国外 22 份,其中编号 51~56 为青狗尾草种质。供试材料于 2015 年 5 月 14 日种植在山西省农业科学院谷子研究所试验田内。每份材料种植 1 行,行距 0.33 m,行长 3 m。前茬作物为玉米,播种前施底肥 1 次,生长期中耕除草 2 次。

1.2 性状调查

于拔节期,调查谷子鞘色、分蘖数(分蘖数每份种质调查 10 株,取平均值)。谷子抽穗期调查:以播种到抽穗经历的时间间隔计算,一行中单株抽穗数达 50% 时记为该种质抽穗期。于成熟期,调查穗型,以长农 35 号为标准调查谷穗码松紧度;同时,调查单株穗重、单株穗粒重、出谷率、千粒重、粒色及米色等产量与子粒性状,每份材料取 5 株,带回室内进行考种,测定各指标,以均值作为各种质性状值。

1.3 样品准备及提取 DNA

幼苗长至 3 叶 1 心时,剪取适量叶片,放入 1.5 mL 离心管内,立刻带入实验室放入 -80 °C 超低温冰箱保存备用。采用酚-氯仿法^[20]提取谷子基因组 DNA (定量为 50 ng/μL)。

1.4 PCR 扩增

选取覆盖谷子 9 条染色体的 181 对引物进行多态性引物初步筛选,淘汰无多态性和扩增条带模糊、

表 1 谷子分蘖种质的地理来源

Table 1 Geographical origin of foxtail millet germplasm with tillering

编号 Number	名称 Name	地理来源 Geographical origin	编号 Number	名称 Name	地理来源 Geographical origin
1	白谷子	中国辽宁	35	铁 8503	中国辽宁
2	大小穗红谷	中国山东	36	铁 7924	中国辽宁
3	红谷子	中国黑龙江	37	朝 108	中国辽宁
4	猪屎谷子	中国山东	38	朝 66	中国辽宁
5	蓬莱麦茬谷	中国山东	39	黑粘谷	中国辽宁
6	大白糙谷	中国山东	40	红粘谷	中国黑龙江
7	小绳头	中国山东	41	一把粘	中国山西
8	拔谷子	中国山东	42	小青谷	中国山西
9	茶淀谷	中国天津	43	大粒黄	中国黑龙江
10	米优	日本	44	刀把齐	中国黑龙江
11	山东-4	中国山东	45	钱串子	中国黑龙江
12	河北十里香	中国河北	46	衡谷 12	中国河北
13	熊本国分 2 号	日本	47	铁变 16	中国河北
14	小软谷	中国山西	48	69-4	中国河北
15	黄沙子二号	中国黑龙江	49	稗子	中国山西
16	大青谷	中国黑龙江	50	日本千斤谷	日本
17	SE-KEP-1	印度	51	PI296378	美国
18	骡子尾	中国山东	52	PI614817	美国
19	群育一号	中国河北	53	PI649314	美国
20	张 8311-13	中国河北	54	PI436631	美国
21	矮宁黄	中国河北	55	PI464312	美国
22	白根红粘	中国河北	56	PI363068	美国
23	矮 97	中国河北	57	SE-KEP-7	印度
24	衡研 17	中国河北	58	SE-KEP-14	印度
25	小红谷	中国河北	59	SE-KEP-19	印度
26	大青苗白米	中国内蒙古	60	SE-KEP-20	印度
27	竹叶青	中国陕西	61	SE-KEP-22	印度
28	茄头谷	中国甘肃	62	ISE-4	印度
29	白毛谷	中国甘肃	63	ISE-8	印度
30	沙湾谷子	中国新疆	64	ISE-10	印度
31	气死碱	中国吉林	65	ISE-11	印度
32	鹌鹑尾	中国吉林	66	ISE-13-1	印度
33	白把子	中国北京	67	ISE782	印度
34	红苗粘谷	中国辽宁	68	ISE785	印度

扩增不稳定的引物,最后确定 77 对扩增效果好、条带差异明显的引物用于多样性分析。所用引物^[21-22](FM 系列引物由中国农科院作物科学研究

所刁现民提供,部分 SSR 引物由中国农科院作物科学研究所王天宇提供)均由北京赛百盛基因技术有限公司合成。PCR 分析采用 BIO-RAD PTC 0200

Thermal cycler PCR 仪进行。反应体系为 10 μL :1 μL 10 \times PCR buffer, 1 μL 双向引物(4 $\mu\text{mol/L}$), 0.8 μL dNTP(2.5 mmol/L), 0.1 μL Taq DNA 聚合酶(5 U/ μL), 1 μL 模板 DNA(50 ng/ μL), ddH₂O 6.1 μL 。

PCR 反应程序如下:94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min;94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s,55 ~ 60 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s(因引物的退火温度而不同);72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min,35 个循环;72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 5 min;最后 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存 10 min。

1.5 凝胶电泳与银染检测

采用 8% 非变性聚丙烯酰胺凝胶进行电泳,点样量 3 μL (含 0.5 μL 点样缓冲液),电泳缓冲液为 5 \times TBE,稳定电压 100 V,溴酚蓝距凝胶边缘 2 ~ 3 cm 处停止电泳^[23]。根据 C. J. Sanguinetti 等^[24] 的方法银染显色,统计拍照存档。

1.6 遗传多样性分析

利用分子数据建立 0-1 矩阵,在相同迁移位置,有带的记为 1,无带的记为 0,缺失的记为 999。标记位点的多态性信息量(PIC, polymorphism information content)按公式 $PIC = 1 - \sum f_i^2$ 计算, f_i 表示位点的基因频率^[25]。采用 NTSYSpc 2.10 软件 UPMGA 法进行聚类分析并绘制聚类图。

2 结果与分析

2.1 分蘖型谷子表型性状评价

2.1.1 质量性状 叶鞘色多为绿色,占总数的 84.85%,其次为紫色,占 15.15%;粒色 50% 种质为白色,其次为黄色,占 27.27%,此外还有青色、红

色、橙色、黑色等不同颜色;米色多为黄色,占总数的 92.42%,其余为白色和青色;穗型以圆锥形居多,占总数的 68.18%,其次为纺锤形,占总数的 12.12%;穗码松紧度(以长农 35 号为标准)以松居多,占总数的 40.91%,其他类型包括标准型、紧、特松等数量相当。

2.1.2 数量性状 数量性状值及比较分析结果见表 2。由表可知,分蘖数平均值为 3.78 ± 1.91 ,变幅为 1.8 ~ 10.2,来自河北的铁变 16 和内蒙古的大青苗白米分蘖数最少,为 1.8,来自美国的 PI614817 分蘖数最多,为 10.2;抽穗时间平均为 $79.57 \pm 14.08\text{d}$,变幅为 41 ~ 121d,来自河北的衡谷 12 最短,为 41d,来自印度的 SE-KEP-14 最长,为 121d;单株穗重平均值为 $14.16 \pm 8.65\text{g}$,变幅为 1.69 ~ 38.03 g,来自河北的衡谷 12 最低,为 1.69 g,来自山西的小软谷最高,为 38.03 g;单株穗粒重平均值为 $11.12 \pm 7.28\text{g}$,变幅为 0.92 ~ 30.93 g,来自黑龙江的大青谷最低,为 0.92 g,来自山西的小软谷最高,为 30.93 g。出谷率平均值为 $75.7\% \pm 12.2\%$,变幅为 21.10% ~ 95.86%,来自黑龙江的大青谷最低,为 21.10%,来自山东的骡子尾最高,为 95.86%。千粒重平均值为 $2.69 \pm 0.61\text{g}$,变幅为 0.61 ~ 4.0 g,来自黑龙江的大青谷最低,为 0.61 g,来自山西的小软谷最高,为 4.0 g。

质量性状如粒色、穗型变异丰富,数量性状中抽穗期、千粒重、出谷率变异系数较小,其他数量性状如分蘖数、单株粒重、单株穗重变异系数较大,说明这些分蘖种质表型性状遗传多样性较丰富。

表 2 谷子分蘖种质表型性状表现

Table 2 Phenotypic traits of foxtail millet germplasm with tillering

名称 Name	分蘖数 No. of tillers	抽穗时间(d) Heading date	穗型 Panicle type	穗码松紧度# The density of spikelet	单株穗重(g)		粒色 Grain colour	米色 Hull colour	鞘色 Sheath colour	出谷率 (%) Grain percentage	千粒重(g) Weight of thousand-grain
					Panicle weight of single plant	Grain weight of single plant					
白把子	2.3	76	圆锥	松	19.04	15.57	白	黄	绿	81.78	2.91
茶淀谷	3.2	81	圆锥	松	12.07	10.29	白	黄	绿	85.25	2.98
衡谷 12	3.1	41	圆锥	特松	1.69	1.13	白	黄	绿	66.86	2.47
张 8311-13	2.4	72	纺锤	特松	27.78	22.6	青	青	绿	81.35	3.21
矮宁黄	7.9	79	圆筒	标准	9.86	7.53	黄	黄	绿	76.37	2.12
白根红粘	2.8	78	圆锥	紧	13.13	10.75	红	黄	绿	81.87	2.27
矮 97 AI 97	3.4	86	圆锥	标准	18.30	14.77	黄	黄	绿	80.71	2.96
衡研 17	4.1	79	圆锥	紧	11.57	9.99	白	黄	绿	86.34	2.60
群育一号	2.3	84	圆锥	松	19.69	15.96	白	黄	绿	81.06	2.72
铁变 16	1.8	77	圆锥	紧	27.96	24.34	白	黄	绿	87.05	3.00

表 2(续)

名称 Name	分蘖数 No. of tillers	抽穗时 间(d) Heading date	穗型 Panicle type	穗码松紧度 [#] The density of spikelet	单株穗重(g)		粒色 Grain colour	米色 Hull colour	鞘色 Sheath colour	出谷率 (%) Grain percentage	千粒重(g) Weight of thousand- grain
					Panicle weight of single plant	单株穗 粒重(g) Grain weight of single plant					
河北十里香	2.7	75	圆锥	松	19.22	16.87	红	黄	紫	87.77	2.52
小红谷	5.4	76	棍棒	特松	13.58	11.39	橙	黄	紫	83.87	3.15
69-4	2.9	80	圆锥	松	20.03	16.73	白	黄	绿	83.52	3.08
一把粘	4.7	68	圆锥	特松	10.62	7.97	黄	黄	紫	75.05	2.50
小软谷	2.8	74	圆筒	特松	38.03	30.93	白	黄	绿	81.33	4.00
小青谷	4.4	66	圆锥	松	23.55	18.74	黄	黄	紫	79.58	3.72
稗子	5.2	89	圆锥	松	13.84	11.23	青	青	绿	81.14	3.70
骡子尾	3.5	83	圆锥	紧	15.70	15.05	白	黄	绿	95.86	3.08
大小穗红谷	4.9	83	圆锥	紧	4.49	3.63	橙	黄	紫	80.85	2.46
猪屎谷子	2.3	73	圆锥	紧	11.99	10.13	黑	黄	绿	84.49	2.67
蓬莱麦茬谷	2.8	77	圆锥	标准	21.06	16.45	白	黄	绿	78.11	3.33
大白糙谷	3.1	82	圆锥	松	14.23	11.76	白	黄	绿	82.64	3.07
小绳头	2.7	67	圆锥	松	9.37	6.52	白	黄	绿	69.58	2.47
拔谷子	3.2	77	圆锥	特松	36.95	30.86	白	黄	绿	83.52	3.48
山东-4	2.3	82	纺锤	标准	18.04	15.38	黄	黄	绿	85.25	2.81
大青苗白米	1.8	63	圆锥	特松	9.84	6.93	黄	黄	紫	70.43	3.43
竹叶青	3.3	59	圆筒	松	14.58	10.63	黄	黄	紫	72.91	2.37
茄头谷	2.5	58	圆锥	松	6.78	5.12	黄	黄	紫	75.52	2.93
白毛谷	4.1	66	纺锤	特松	32.70	25.70	黄	黄	绿	78.59	3.56
沙湾谷子	2.6	65	圆锥	特松	4.89	1.99	白	黄	绿	40.70	1.46
气死碱	2.8	69	圆锥	特松	17.52	13.75	黄	黄	紫	78.48	3.07
鹌鹑尾	3.2	77	佛手	松	15.28	11.40	黄	黄	绿	74.61	2.45
白谷子	4.6	77	圆锥	紧	9.62	8.04	白	黄	绿	83.58	2.46
红苗粘谷	2.7	80	圆锥	紧	19.13	14.94	白	黄	绿	78.10	2.83
铁 8503	2.7	80	圆锥	标准	15.04	12.25	黄	黄	绿	81.45	2.35
铁 7924	2.3	91	圆锥	标准	22.34	15.75	白	黄	绿	70.50	3.54
朝 108	2.2	83	圆锥	标准	33.39	24.51	黄	黄	绿	73.41	3.57
朝 66	2.1	76	圆锥	标准	22.30	17.01	白	黄	绿	76.28	2.86
黑粘谷	3.6	82	圆锥	松	17.96	14.51	黑	黄	绿	80.79	2.06
红粘谷	2.0	75	圆锥	松	9.73	7.30	橙	黄	紫	75.03	2.23
黄沙子二号	3.3	61	圆锥	松	12.42	9.06	黄	黄	绿	72.95	3.10
大青谷	4.4	63	纺锤	松	4.36	0.92	白	黄	绿	21.10	0.61
大粒黄	3.0	69	圆筒	松	26.59	21.32	黄	黄	绿	80.18	3.50

表 2(续)

名称 Name	分蘖数 No. of tillers	抽穗时 间(d) Heading date	穗型 Panicle type	穗码松紧度 [#] The density of spikelet	单株穗重(g)		粒色 Grain colour	米色 Hull colour	鞘色 Sheath colour	出谷率 (%) Grain percentage	千粒重(g) Weight of thousand- grain
					Panicle weight of single plant	单株穗 粒重(g) Grain weight of single plant					
刀把齐	2.0	68	棍棒	特松	9.73	7.69	白	黄	绿	79.03	2.49
钱串子	5.0	78	佛手	特松	6.63	2.30	白	黄	绿	34.69	1.48
红谷子	3.7	75	圆锥	松	12.64	11.1	红	黄	绿	87.82	2.67
米优	2.1	79	圆锥	松	21.41	14.88	白	黄	绿	69.50	2.54
熊本国分2号	2.5	97	猫爪	松	9.83	6.86	白	白	绿	69.79	2.58
日本千斤谷	3.1	84	圆锥	松	11.72	10.1	白	黄	绿	86.18	2.77
PI296378	2.6	70	鸭嘴	松	7.67	4.95	白	黄	绿	64.54	1.48
PI614817	10.2	98	圆锥	松	1.81	1.15	白	黄	绿	63.54	2.07
PI649314	6.8	67	圆筒	松	8.02	6.55	白	黄	绿	81.67	2.98
PI436631	1.9	85	圆锥	标准	31.28	26.7	白	黄	绿	85.36	2.70
PI464312	2.0	90	圆锥	松	7.48	5.50	青	黄	绿	73.53	2.13
PI363068	6.5	68	圆锥	紧	5.96	4.09	黄	黄	绿	68.62	2.61
SE-KEP-1	2.6	82	圆锥	松	9.73	7.91	黄	黄	绿	81.29	3.08
SE-KEP-7	3.7	100	纺锤	标准	4.87	3.46	青	黄	绿	71.05	2.19
SE-KEP-14*	2.5	121									
SE-KEP-19	6.1	94	圆锥	特松	4.27	3.37	白	青	绿	78.92	2.40
SE-KEP-20	2.2	119	棍棒	标准	7.08	4.17	黑	黄	绿	58.90	1.59
SE-KEP-22	2.5	120	圆锥	紧	4.93	3.43	白	黄	绿	69.57	1.91
ISE-4*	8.7	99									
ISE-8	8.0	96	圆筒	紧	11.11	8.78	白	黄	绿	79.03	2.37
ISE-10	7.0	98	圆锥	紧	6.40	4.97	白	白	绿	77.66	2.45
ISE-11	6.8	64	圆锥	标准	7.57	5.75	黄	黄	绿	75.96	2.21
ISE-13-1	7.6	93	纺锤	标准	5.42	2.70	白	黄	绿	49.82	3.21
ISE782	5.1	85	纺锤	松	7.08	5.41	橙	黄	绿	76.41	3.05
ISE785	6.7	82	纺锤	特松	5.51	4.67	橙	黄	绿	84.75	3.02
均值 Average	3.78 ± 1.91	79.57 ± 14.08	—	—	14.16 ± 8.65	11.12 ± 7.28	—	—	—	75.7 ± 12.2	2.69 ± 0.61
变幅 Amplitude	1.8 ~ 10.2	41 ~ 121	—	—	1.69 ~ 38.03	0.92 ~ 30.93	—	—	—	21.10 ~ 95.86	0.61 ~ 4.0
变异系数 CV(%)	50.53	17.70	—	—	61.09	65.47	—	—	—	16.12	22.68

[#]:穗码松紧度以长农35号为标准; * :表示品种成熟度不好,数据缺失

[#]:The density of spikelet is based on Chang Nong 35, * :Indicates that the maturity of the species is not good and the data are missing

2.2 引物多态性分析

本研究从181对引物中筛选获得77对多态性好、条带清晰的引物,利用这77对引物在68份谷子分蘖种质中检测到202个等位位点,每对引物可检测到1~6个位点不等,平均为2.62个。139对SNP引物在供试材料之间有多态性的共65对,占引物总

数的55.4%,42对SSR引物在供试材料之间有多态性的共12对,占引物总数的28.6%。

77对引物多态性信息含量(PIC)(表3)介于0.0283~0.6974之间,平均为0.4169,其中PIC最高的是引物SIsv0696b1,为0.6974,最低的是引物SIsv1328b1,为0.0283(图1)。

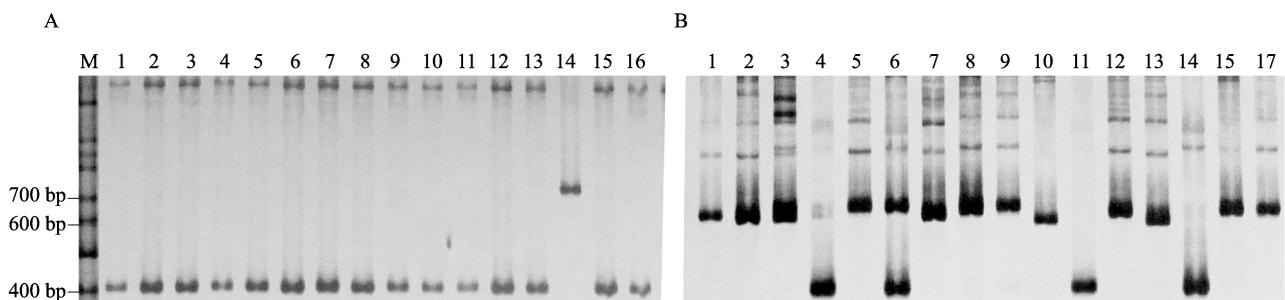
表 3 试验所用引物多样性分析

Table 3 Polymorphism analysis of primers used in the test

标记名称 The name of marker	所在染色体 No. chromosome	引物序列 The sequences of primers		等位变异数 No. of allele	多态性 信息量 <i>PIC</i>
SIsv0264b2	1	F:CGGACAAGACAATGCAGGAC	R:GCTCCATCCACCGTGTATTC	2	0.4107
SIsv0063b1	1	F:CTTCACACTTCCCACCTCAC	R:AAGTTTGCGAGCAAGCACAA	1	0.2311
SIsv0820b3	1	F:CTATTCACAGGATTGAACGTG	R:GCTACTGGATTCTTGCAGTC	1	0.1196
SIsv0122b1	1	F:GCCTCAAGTTGCTCTCTTGC	R:GGA AAGGATGCACTGCCAAT	2	0.4079
SIsv0803b3	1	F:CATGGGCTCCTTGTCTTGC	R:CCACTCAGAAACCAATCAC	2	0.2550
SIsv0307b1	1	F:GGAAGACTCGGCAAATAGGT	R:CCCAATCCACAGAATCAAGC	3	0.4665
SIsv0593b1	1	F:TCGGATTGTTCTAGCCTATTG	R:ACGCAGAAGCTGAAAAGACGG	2	0.4669
SIsv0163b1	1	F:CAAGCCATGCATCCATGATC	R:CGACCAACCATAACATGACT	2	0.2550
SIsv0646b1	1	F:GAGTCAATAACGAGTTGGCAT	R:GGAATTGTTG AATGAAGTGGC	4	0.3746
SIsv0383b1	1	F:GGTGAATGTCCCATCTGAC	R:CTAGAGGGATAGCCAGGGAT	2	0.5093
SIsv0030b1	2	F:CTTGACACTCAAATGCTCA	R:GTACGTGTTCTGAAAGCAT	3	0.4918
SIsv0106b1	2	F:CTAGCTCCCAGGACACACAG	R:GGATCCGATCTTAGGATGAT	2	0.4539
SIsv0603b1	2	F:CCCTGAGCTACTTCTTGCAG	R:AGTAACGATGCTTCTCGTC	3	0.1324
SIsv0271b1	2	F:GCTGACTGAAGAATCCATGC	R:ATCGCCTCCAAGAATCATCAG	3	0.6172
SIsv0172b1	2	F:ACCGTCAGAGCTGTGTACTC	R:AGCCTTCGAAGATTCGATGT	3	0.0570
SIsv1323b1	2	F:CACTGCCACTACTTCATCAC	R:GAGTGCCAGAGGACTGCAAT	2	0.5119
SIsv0677b1	2	F:GCATCAATCTTATGTTGCAGTT	R:GGTGATGTATTCCATGCAGT	3	0.2106
b242	2	F:CACTACCACTGTTCCAGATCG	R:CAGGGACCTTGCTTGCATAC	3	0.6261
P22	2	F:GTCAGCAAGATGCAAACCTC	R:AGCTGATAACGCTCCTGTGG	2	0.5463
SIsv0315b1	3	F:CCGTGTAATACCCGACCTAC	R:FTGATTAGCCAATTACAGAC	2	0.1362
SIsv0473b1	3	F:TGGATCTGATCTACTCGTGT	R:GTATGGCACATCACGACGAT	3	0.6460
SIsv1240b1	3	F:ACCAGGCATTTTGAGACGTG	R:ACAGCACCGAGTTTGATCCT	2	0.2662
SIsv1354	3	F:TCACACGTGCATGTTGCAC	R:GAACTTGGATCAGACCTCAC	3	0.6557
SIsv0420b1	3	F:ACAGAAGCTAATGACGTGTG	R:GACGTCCCTTCTGACTTTG	2	0.4118
SIsv0086b1	3	F:CATGCATGCACGGAGCTCAT	R:AGACGGCTCACTGTAGTCTT	3	0.5543
SIsv0446b1	3	F:TCAGCCCGACAGCAATCACT	R:CACGTTCTTCTCCTTGTTC	1	0.0292
SIsv1365	3	F:TCCTTGACGCATCGATGGTT	R:AGCACGTTTCAGAAGCTCAG	2	0.2956
SIsv0119b1	3	F:TGGTGTACACAAGCCAGAGC	R:AACCAAGCTGTCTCCTGACG	3	0.4998
B101	3	F:ATCTAGGTGCCGATGCCGT	R:TGTGGGAAGAAGCTAGGGAA	3	0.5690
SIsv0305b2	4	F:GCTCGTGAACGAAAAGTTGC	R:AACGGCAATGAGTGTCCAAG	4	0.5826
SIsv0437b1	4	F:TCTTGACCCGAGGAAATAG	R:ACGGGACTGTTGTACGGTG	4	0.6579
SIsv1002b1	4	F:CCGCTCTTCTGATACCATC	R:CACTTTACTTGGCTGAACCT	3	0.3813
SIsv0424b1	4	F:TGTCCATGACCGTGCTAGAC	R:TCGCTAAGCTATCGCTGCTT	2	0.1408
SIsv0770b1	4	F:AGCCTGGGGACGCGGTAAT	R:TGTCTGATGAGCATCTGAAC	3	0.6847
SIsv0491b1	4	F:CGTCAGAGCTCCAGTGACAT	R:TCTACTGACAGGTGCGATGC	2	0.3891
SIsv1329b1	4	F:CACAAGGTGCCCTTTGGATGT	R:TGAAATGGAATGGAGGCACC	2	0.5952
SIsv0182b1	5	F:TGCAGCGTGATCTAAATTGG	R:AACTTGTCCGGACTGAAAGG	2	0.3821
SIsv1127b1	5	F:CCAGTGATCGGAGCTGAGCT	R:AGTGTGGTTGCTTCAGCTGT	4	0.5065
SIsv0217b2	5	F:CAGGCACCCTGGAAGTGTGCT	R:TCTTGCCTCATAAACATGCC	3	0.6174
SIsv0594b1	5	F:ACCCATTACAGACGTTCACT	R:CAAGCGGTGGATTTCAGGATT	3	0.4982
SIsv0698b1	5	F:CGGTTAGCATCAAATCTCC	R:TGCTGTCAAGATGGGCATC	2	0.3432
SIsv0563b1	5	F:TGAAGGTGCCTGAACCTCAT	R:GCTGGTGATACTTCTTCATC	2	0.3207
SIsv0641b1	5	F:CTCACTGCAAGACTCGACCT	R:CGCTTCCCATCCATGCCATT	2	0.1107
FM50	6	F:GCCGAACATAAGAAGCACCTG	R:TGGAGAATGTGAGAACGTCG	2	0.5285
FM75	6	F:CTGAAAGGTCAGTTCGAGGC	R:GAGAAAGTCTGAACCTGGCG	2	0.3501
FM4	6	F:ACATCAGCACTGGTTTGCAG	R:AGAAGACGACATGAGCGGTT	3	0.5456
FM15	6	F:GGACCTCTATACACATCCAGAAAG	R:ATCGATCGATCCCACAACTTGA	2	0.3242
FM22	6	F:TGGTCTTGTTCATGTGGAT	R:CCTCCTTCCATCAACTCCAA	3	0.5564

表3(续)

标记名称 The name of marker	所在染色体 No. chromosome	引物序列 The sequences of primers		等位变异数 No. of allele	多态性 信息量 PIC
FM27	6	F:TTCAGGGATACACGAGCATTAC	R:CATCCATCCATGATCACCAG	3	0.6626
P32	6	F:TTCAGGGATACACGAGCATTAC	R:TTCAGGGATACACGAGCATTAC	3	0.5011
SIsv0711b1	7	F:GCAAAGGCAATGTCCTTCTTC	R:GAGTGACTTGGCTCCCATCT	3	0.3655
SIsv0990	7	F:TACGCCCTCGTTATTGAATG	R:TATTCGTTTTCTGCCGATGG	3	0.5357
SIsv1320b1	7	F:AGTACCGTGGACACCGTGTG	R:CTATCGCCATGGGAGGTGAG	2	0.4269
SIsv0254b1	7	F:CCTGGATGCCTCTGTGTGTTG	R:CTCACATTGGGATTGGAATCT	3	0.5515
SIsv0324b1	7	F:GGCTACTGGCATTGCTTCCA	R:ACGGCAATGATTACGAGACC	3	0.5006
SIsv0508b1	7	F:AGTCAGCGATATGGAGGATC	R:ATCGGTAGAAGCTAATCACGT	2	0.3501
SIsv0356b1	7	F:GGAGCATGGACTTGTTCAGAG	R:AATCAGCGGTGAAAACAGCT	2	0.3854
SIsv0682b1	7	F:TGCAACGAAGGGATTAGGTT	R:CTGTAGTACGCTATGGTAGC	2	0.1678
SIsv0696b1	8	F:CAGCTCATTCTTCAGCAGCT	R:CCATCTGACTCCTCATGGAT	4	0.6974
SIsv0459b1	8	F:GCGTCGTCAGCATCAAAGAC	R:GCCAATGGAGGATAAGGAAG	2	0.1791
SIsv0752b1	8	F:CCCATGGATCATGGCAGATC	R:ATTGGACGAGGCTGTCTCCT	6	0.6475
SIsv0764b1	8	F:TAGCTGTCTTCACCTTGCTC	R:GATCAGACAGAAGAGCTGAG	2	0.3951
SIsv0598b1	8	F:GTGCAACATGAGCCATGAGT	R:TGGAGTTGCACAGTGGATGT	2	0.4721
SIsv1045b1	8	F:CGGCATGGTGCATGTATTGT	R:TGGAGGACGGATGCCTAAG	3	0.4531
SIsv0354b1	8	F:CGAACTACCATTGTTGCTTG	R:TGGTGTGCTCTGACTGTG	3	0.4174
SIsv0206b1	8	F:GAAACCTTCATCCACCCTCT	R:GTGCAAATGGGCTCTATTGT	3	0.6752
SIsv0656b1	8	F:ACAACATGCATCCAGAATCAT	R:GAGCATTCTCGCATCGGTAT	4	0.6215
b258	8	F:GGGCAATAATGTTGCATA	R:TTCACATCCAAATCTTTCC	3	0.4343
SIsv0620b1	9	F:CTTGCCGACTTTCATATGAAG	R:GGACCTGGACATTGAATGGT	3	0.5212
SIsv1328b1	9	F:CGCCGCTAGAAGAGAACTAG	R:AGTGTACACGACAGGTCCT	2	0.0283
SIsv0392b1	9	F:AATCGCTGACGGTGTATTTC	R:GTCAGTAGCGTGTCTAATCT	2	0.1003
SIsv0435b1	9	F:GTCGTGTGGATCTCACGT	R:TCATCTAACGTCACCACCATT	2	0.1678
SIsv0562b1	9	F:GCCTCTGTCTGTCAAGCAGG	R:CCCATTAGAAATGAGGAGGAT	3	0.4364
SIsv0095b1	9	F:CTGGGTGCTGTCTTGTCTTT	R:TGTTCCAGATGTGTGCAGT	2	0.4546
SIsv0202b1	9	F:CAATGACTCATTGGCCAGAT	R:GAGCCTGTTCAGCTGAACCT	3	0.3041
SIsv0294b1	9	F:GGGCATTAGTGGTGGAGTGG	R:CGTGTCTTACATCAATGCAG	4	0.4085
b102	9	F:CCGTGAAACCCACCACTATT	R:GCACACACAAACCCGTCA	3	0.5203



1~17 编号同表1

Number1-Number17 are same to table 1. M:Marker, A:SIsv1328b1, B:SIsv0696b1

图1 SIsv1328b1、SIsv0696b1 在不同谷子分蘖种质中的扩增结果

Fig. 1 Amplification results of SIsv1328b1 and SIsv0696b1 in different foxtail millet germplasm with tillering

2.3 遗传相似系数

谷子分蘖种质间的遗传相似系数介于 0.59 ~ 0.96 之间,平均为 0.68,多数材料之间的相似系数小于 0.90。其中,来自河北的矮宁黄与来自日本的日本千斤谷遗传相似系数最高达 0.96,来自山东的山东-4 与来自河北的矮 97 的相似系数达 0.94,且 4 个材料聚为一个小亚类;来自北京的白把子与来自

辽宁的红苗粘谷的相似系数为 0.95;来自山西的小软谷与其他种质间的遗传相似系数最低为 0.59,整体上看 68 份分蘖种质遗传多样性较高。

2.4 基于分子标记的 UPGMA 聚类

本研究采用 NTSYSpc 2.10 软件 UPGMA 法进行分子聚类,结果表明:以相似系数 0.68 为阈值,68 份谷子分蘖种质被划分为 4 个类群(图 2)。

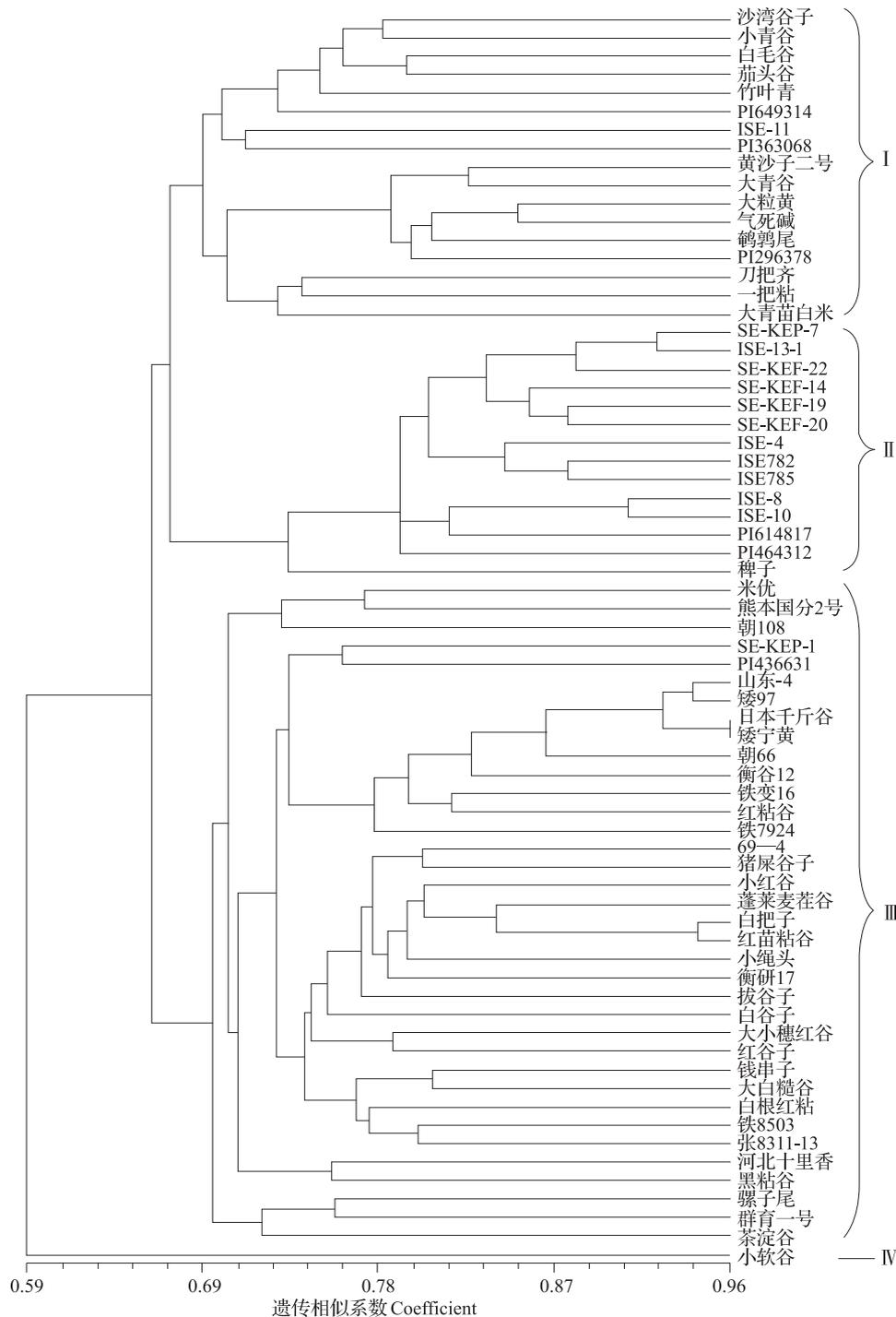


图 2 谷子分蘖种质分子聚类结果

Fig. 2 Molecular clustering results of foxtail millet germplasm with tillering

I类群共包含17份材料,其中3份来自美国,1份来自印度,其他均来自中国;II类群共包含14份材料,除稗子外均为国外种质,其中PI614817和PI464312来自美国,其余11份来自印度;III类群共包含36份材料,占4个类群总数的52.9%,3份来自日本,1份来自印度,1份来自美国,31份来自中国;来自山西的小软谷单独聚为一个类群,即IV类群。

3 讨论

3.1 分子标记多态性和PIC值

本研究选用77个分布于谷子9条染色体上的标记对68份谷子分蘖种质的遗传多样性进行了研究,结果表明不同标记所扩增的变异位点数在1~6个不等,平均为2.62个,77个标记PIC值介于0.0283~0.6974,平均为0.4169。这与朱学海等^[26]利用21个SSR标记在120份谷子材料上所检测到的平均等位变异(14.5个/位点)与平均PIC(0.8090),以及郝晓芬等^[27]利用5个SSR标记在96份谷子材料上检测到的平均等位变异(6.6个/位点)与平均PIC(0.7324)结果不同。造成这种现象的原因可能在于标记的选择,本研究所选取的77个标记,多数是SNP标记(65个,占研究用标记数的84.4%),由于SNP标记是一种二态的标记,即二等位基因(biallelic),这可能降低标记的等位变异数和PIC值。

3.2 谷子分蘖种质遗传多样性

利用分子标记对种质进行遗传多样性研究可以更全面地反映不同种质DNA水平上的遗传变异,聚类分析是鉴别品种资源遗传差异程度、筛选核心资源的有效手段。本研究首次采用谷子SNP和SSR标记对68份谷子分蘖种质资源进行了遗传多样性分析,聚类研究结果揭示:68份谷子分蘖种质大致分为4个类群,其中,山西、甘肃、吉林的分蘖材料基本聚在I类群,来自国外的分蘖种质构成II类群,河北、山东、辽宁的分蘖材料基本聚在III类群,黑龙江的分蘖材料聚在I和III类群,而来自山西的小软谷单独聚为一类(IV类群),不同类群间的差异明显大于群内不同品种间的差异,说明这些种质间遗传背景比较丰富。来自相同地区的分蘖品种更倾向于聚在相同类群,比如,来自国外的分蘖种质构成II类群,来自西北生态区的谷子分蘖种质聚在I类群,这与杨天育等^[28]、贾小平等^[17]等聚类结果一致。另外,分蘖种质中矮秆材料均在III类群中,比如日本千

斤谷和矮宁黄,矮97和山东-4,他们的遗传相似系数均很高,分别为0.96和0.94,暗示谷子分蘖种质分蘖特性与株高存在一定相关性。这些结果为谷子分蘖优异基因挖掘及分蘖新品种选育提供了一定理论依据。

3.3 分蘖型谷子资源的优异种质鉴定

本研究依据分蘖种质分子多样性和生育期不同,结合穗重、穗粒重、千粒重等产量指标(表2),鉴定出10份优势分蘖种质。I类群中早熟优势种质为竹叶青、中晚熟优势种质为白毛谷、晚熟优势种质为鹤鹑尾;II类群中早熟、中晚熟、晚熟分别为ISE-782、ISE-8和SE-KEP-20;III类群中早熟、中晚熟、晚熟分别为衡谷12、拔谷子和铁7924;IV类群为小软谷。这些种质分蘖数大部分介于3~4之间,而ISE-782和ISE-8的分蘖数分别为5.0、8.0,这些种质产量水平都较高,暗示其具有明显的增产潜力,因此,这些种质可以作为不同生态区适宜机收分蘖型谷子新品种选育的骨干亲本。在山西等春谷中晚熟区,优势分蘖种质中小软谷、白毛谷、ISE-8、拔谷子等,尤其是小软谷,具有最高单株穗重、单株穗粒重和千粒重,可以作为本生态区特异种质在今后分蘖新品种选育中加以利用。

致谢:感谢中国农业科学院作物科学研究所刁现民研究员为本研究提供谷子第IV染色体部分引物,感谢中国农业科学院作物科学研究所王天宇研究员为本研究提供部分SSR引物,感谢美国North Central Regional Plant Introduction Station(NCRPIS)为本研究提供青狗尾草种质资源。

参考文献

- [1] Feng X L, Zhao Z H, Wang X H, et al. Recent research progress in foxtail millet (*Setaria italica*) [J]. *Agric Sci Technol*, 2014, 15 (4): 564-570, 575
- [2] 蔡旭. 植物遗传育种学[M]. 北京: 科学出版社, 1988: 301-304
- [3] 李君霞, 杨国红, 孟昭桂, 等. 谷子育种中的株型结构源、优质源和抗源的创新[J]. *作物杂志*, 2008(24): 108-110
- [4] 张嘉楠, 昌小平, 郝晨祥, 等. 北方冬麦区小麦抗旱种质资源遗传多样性分析[J]. *植物遗传资源学报*, 2010, 11(3): 253-259
- [5] 王海岗, 贾冠清, 智慧, 等. 谷子核心种质表型遗传多样性分析及综合评价[J]. *作物学报*, 2016, 42(1): 19-30
- [6] 田伯红. 谷子地方品种和育成品种的遗传多样性研究[J]. *植物遗传资源学报*, 2010, 11(2): 224-228
- [7] 王晓娟, 祁旭升, 王兴荣, 等. 甘肃省谷子地方种质资源遗传多样性分析[J]. *干旱地区农业研究*, 2009, 27(6): 129-153
- [8] 孙兆法, 黄婷婷, 刘炳禄, 等. 24份番茄育种材料的分子鉴别及遗传分析[J]. *园艺学报*, 2011, 38(5): 2564
- [9] 刘丽华, 王立新, 赵昌平, 等. 光温敏二系杂交小麦恢复系遗传多样性和群体结构分析[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2009, 25(9): 867-875
- [10] 胡立芹, 张超, 徐林涛, 等. 基于SSR标记的六倍体小黑麦遗

- 传多样性分析[J]. 植物遗传资源学报,2015,16(4):796-805
- [11] 段灿星,江凯,秦子惠,等. 玉米抗南方锈病种质标记基因型鉴定与遗传多样性分析[J]. 植物保护学报,2016(6):899-907
- [12] 马静,孙建昌,安永平,等. 基于 SSR 标记的宁夏水稻遗传多样性分析[J]. 植物遗传资源学报,2013,14(5):826-832
- [13] 崔艳华,邱丽娟,常汝镇,等. 黄淮夏大豆遗传多样性分析[J]. 中国农业科学,2004,37(1):15-22
- [14] Jia G Q,Liu X T,Schnable J C,et al. Microsatellite variations of elite *Setaria* varieties released during last six decades in China [J]. PLoS One,2015,10(5):e0125688. doi:10.1371/journal.pone.0125688
- [15] Wang C F,Jia G Q,Zhi H,et al. Genetic diversity and population structure of Chinese foxtail millet [*Setaria italica* (L.) Beauv.] landraces[J]. Genes Genom Genet,2012,2:769-777
- [16] Jia X P,Zhang Z B,Liu Y H,et al. Development and genetic mapping of SSR markers in foxtail millet(*Setaria italica* (L.) P. Beauv.) [J]. Theor Appl Genet,2009,118:821-829
- [17] 贾小平,谭贤杰,李永祥,等. 用 SSR 标记研究谷子品种的遗传多样性[J]. 江西农业大学学报,2009,31(4):633-638
- [18] 王节之,郝晓芬,王根全,等. 谷子种质资源分子标记的多态性研究[J]. 生物技术,2006,16(1):10-14
- [19] 王军,王智兰,杨慧卿,等. 水稻 ACGM 遗传标记在谷子中的可转移性研究与应用[J]. 中国农学通报,2014,30(3):219-225
- [20] Sharp P J,Chao S,Desai S,et al. The isolation, characterization and application in the triticeae of a set of wheat RFLP probes identifying each homoeologous chromosome arm[J]. Theor Appl Genet,1989(78):342-348
- [21] Zhang G Y,Liu X,Quan Z W,et al. Genome sequence of foxtail millet(*Setaria italica*) provides insights into grass evolution and biofuel potential[J]. Nat Biotechnol,2012,30(6):549-556
- [22] Jia X P,Shi Y S,Song Y C,et al. Development of EST-SSR in foxtail millet (*Setaria italica*) [J]. Genet Resour Crop Evol,2007,54:233-236
- [23] 梁宏伟,王长忠,李忠,等. 聚丙烯酰胺凝胶快速、高效银染方法的建立[J]. 遗传,2008,30(10):1379-1382
- [24] Sanguinetti C J,Dias Neto E,Simpson A J G. Rapid silver staining and recover of PCR products separated on polyacrylamide gels[J]. Biotechniques,1994,17(5):914-921
- [25] Smith J S C,Chin E C L,Shu H,et al. An evaluation of the utility of SSR loci as molecular markers in maize (*Zea mays* L.) : comparison with data from RFLPs and pedigree[J]. Theor Appl Genet,95(1):163-173
- [26] 朱学海,张艳红,宋燕春,等. 基于 SSR 标记的谷子遗传多样性研究[J]. 植物遗传资源学报,2010,11(6):698-702
- [27] 郝晓芬,王根全,王璐英,等. SSR 标记分析谷子遗传多样性[J]. 山西农业科学,2005,33(4):29-31
- [28] 杨天育,沈裕琥,黄相国,等. 用 A-PAGE 鉴定谷子遗传多样性[J]. 作物学报,2005,31(1):131-133