

谷子种质资源表型及 SSR 遗传多样性分析

丁银灯¹, 胡相伟², 聂石辉², 王 仙², 冯国郡², 耿洪伟¹, 郭 丁¹

(¹ 新疆农业大学农学院, 乌鲁木齐 830052; ² 新疆农业科学院粮食作物研究所, 乌鲁木齐 830091)

摘要:本研究对国内外 124 份谷子种质资源进行表型及 SSR 遗传多样性分析。表型性状分析表明, 幼苗叶姿、穗颈 2 个质量性状变异较丰富; 单株秆重、单株生物产量、单穗重 3 个数量性状变异系数较大, 遗传多样性指数较高, 表现出丰富的遗传多样性。表型性状聚类采用 Ward 法, 在遗传距离 7.0 处分为 6 大类群, 各类群性状差异明显。SSR 遗传多样性分析表明, 52 对引物在 124 份材料中共扩增特异性条带 52 条, 平均遗传相似系数 0.834, 变化范围为 0.615~0.962。聚类分析表明, 遗传相似系数为 0.746 时, 124 份材料被分为 4 大类群, 第 I、II 类群均来自中国河北; 第 III 类群来自哈萨克斯坦; 第 IV 类群占参试材料的 87.90%, 没有明显的地理聚类特征。但遗传相似系数为 0.843、0.870 时, 进一步可分 9 个亚群、7 个亚亚群, 材料又基本按地区聚为一类。表型性状及 SSR 聚类分析均存在明显的地理聚类特征, 结合表型性状鉴定出 12 份适宜新疆种植的谷子优异种质。

关键词: 谷子; 种质资源; 表型性状; SSR

Analysis of Phenotypic Traits and SSR Genetic Diversity of Foxtail Millet Germplasms

DING Yin-deng, HU Xiang-wei², NIE Shi-hui², WANG Xian²,
FENG Guo-jun², GENG Hong-wei¹, Guo Ding¹

(¹ College of Agronomy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052;

² Institute of Cereal Crops, Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Urumqi 830091)

Abstract: In this study, the phenotypic and genetic diversity analysis were conducted in 124 foxtail millet germplasm accessions. The higher variations of qualitative traits, such as seedling leaf posture and spike panicle, and larger variation coefficient on stem weight per plant, individual biomass, and single panicle weight were observed, implying the higher genetic diversity being present in this collection. The tested materials can be divided to six groups at the genetic distance 7.0 by adopting the phenotype clustering Ward method, and each group represented different characteristics. In addition, The genetic diversity analysis by 52 SSR primer combinations were performed. Fifty-two specific bands were obtained, with the average genetic similarity coefficient of 0.834 and the variation range of 0.615-0.962. These materials were divided into four groups in the genetic similarity coefficient of 0.746. The accessions in groups I and II were collected from Hebei, and the genotypes in group III were derived from Kazakhstan. 87.90% of the 124 accessions were assigned into group IV, but no geographical clustering feature was observed. When the genetic similarity coefficients are 0.843 and 0.870, the germplasm in group IV can be divided into 9 subgroups and 7 sub-subgroups, respectively. Thus, based on the phenotypic and genetic datasets, 12 elite

收稿日期: 2018-03-20 修回日期: 2018-03-28 网络出版日期: 2018-08-16

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20180815.0932.001.html>

基金项目: 新疆维吾尔自治区公益性科研院所基本科研业务项目 (KY2015065, KYGY2016088); 新疆维吾尔自治区区域协同创新专项 (2016E02008)

第一作者研究方向为谷子遗传育种。E-mail: 1457676749@qq.com

通信作者: 冯国郡, 研究方向为谷子遗传育种与栽培。E-mail: fengguojx@126.com

耿洪伟, 研究方向为小麦遗传育种。E-mail: hw-geng@163.com

accessions of foxtail millet were identified potentially being use in cultivation in Xinjiang.

Key words: foxtail millet; germplasm resources; phenotypic character; SSR

谷子(*Setaria italica* (L.) P. Beauv.)起源于中国,是二倍体自花授粉作物,其基因组较小,约 470 Mb,很适合作为基因组研究对象^[1]。我国拥有 27000 余份谷子种质资源^[2],研究这些资源的遗传多样性,并深入开展特殊类群群体遗传学的研究,是认识谷子资源遗传分型、进行种质创新利用的有效途径^[3]。

国内外关于谷子遗传多样性的研究已有不少报道。王海岗等^[4]通过选用来自世界各地的 878 份谷子核心种质对 15 个表型性状进行了遗传多样性综合评估,田伯红^[5]对河南、河北和山东等地的 482 份谷子地方品种和近 30 年育成的谷子主栽品种的 11 个形态和农艺性状进行了鉴定和遗传多样性分析,结果均表明,育成品种的多样性低于农家品种;利用 DNA 分子标记技术对作物遗传多样性进行研究,目前已在小麦^[6]、玉米^[7]、小黑麦^[8]、大豆^[9]、水稻^[10]、花生^[11]和豌豆^[12]等多种作物研究上加以应用,并且在谷子上的应用也有不少报道。杨慧卿等^[13]选来自国内外的 68 份分蘖型谷子进行了表型及遗传多样性分析;Jia 等^[14]采用 SSR 标记将谷子品种分为春播型和夏播型两类;贾小平等^[15]采用 37 对 SSR 标记对 40 份谷子品种进行了遗传多样性研究,山西以外的育成品种被聚为一类,农家品种生态类型与聚类群存在一致性;Kim 等^[16]利用 28 个

引物对 37 份来自中国、韩国和巴基斯坦的谷子资源进行分析,指出中国谷子资源遗传多态性最高,这与中国是谷子的起源地相一致;Pandey 等^[17]利用谷子全基因组序列,设计了 21294 个 SSR 引物,并在 6 个谷子品种和 2 个狗尾草属植物中进行扩增,有 159 个引物能够扩增出预期大小的目的条带,指出这些引物的开发和利用为研究谷子遗传多样性提供了更加丰富的参考依据。上述研究结果为谷子优异种质筛选及特异种质创制奠定了重要基础。

谷子作为粮饲经作物在新疆发展前景广阔,选育适合南北疆不同生产类型的谷子品种是新疆育种的核心任务,谷子遗传多样性评价可作为育种的重要辅助手段。本研究通过对不同类型谷子主要育成品种及农家种等在新疆的表型鉴定以及 SSR 分子标记的遗传多样性分析,旨在全面准确地对谷子种质资源进行分组,从而为亲本选择、杂交组配和分类研究提供理论依据,并推荐一批优异谷子资源供育种应用。

1 材料与方法

1.1 试验材料

124 份谷子种质资源多为近年来育成品种,其中 119 份来自中国、5 份来自国外。详见表 1。

表 1 参试材料名称及来源信息

Table 1 The name and origin of foxtail millet in this study

编号 Number	种质名称 Name	来源地 Sources	编号 Number	种质名称 Name	来源地 Sources	编号 Number	种质名称 Name	来源地 Sources
1	朝谷 58	中国山西	14	长生 07	中国山西	27	冀谷 21	中国河北
2	承谷 13	中国山西	15	长生 10	中国山西	28	冀谷 20	中国河北
3	太选 15 号	中国山西	16	长生 11	中国山西	29	冀谷 19	中国河北
4	太选 16 号	中国山西	17	CN2011-2	中国山西	30	鲁谷 10	中国山东
5	太选 17 号	中国山西	18	14/WY034	哈萨克斯坦	31	鲁谷 7 号	中国山东
6	赤谷 17	中国山西	19	14/WY032	哈萨克斯坦	32	鲁谷 6 号	中国山东
7	大同 34 号	中国山西	20	14/WY031	哈萨克斯坦	33	鲁谷 5 号	中国山东
8	大同 39 号	中国山西	21	14/WY030	哈萨克斯坦	34	鲁谷 1 号	中国山东
9	晋品谷 3 号	中国山西	22	14/WY029	哈萨克斯坦	35	昌潍 69	中国山东
10	晋品谷 4 号	中国山西	23	聊农 3 号	中国山东	36	济谷 15	中国山东
11	晋谷 14	中国山西	24	鲁金 5 号	中国山东	37	济谷 14	中国山东
12	长生 04	中国山西	25	鲁金 3 号	中国山东	38	水 514	中国北京
13	长生 06	中国山西	26	冀谷 22	中国河北	39	陇谷 9 号	中国甘肃

表 1(续)

编号 Number	种质名称 Name	来源地 Sources	编号 Number	种质名称 Name	来源地 Sources	编号 Number	种质名称 Name	来源地 Sources
40	赤谷 6 号	中国内蒙古	69	晋汾 23	中国山西	98	豫谷 18	中国河南
41	朝 637	中国辽宁	70	矮 20	中国山西	99	豫谷 19	中国河南
42	九谷 8	中国吉林	71	黑谷青	中国山西	100	冀谷 31	中国河北
43	龙谷 30	中国黑龙江	72	晋谷 35	中国山西	101	冀谷 35	中国河北
44	公矮 3 号	中国吉林	73	鹅黄谷	中国山西	102	冀谷 36	中国河北
45	黑谷子	中国河北	74	94-86	中国山西	103	13H681	中国河北
46	野生谷	中国山西	75	晋汾 38	中国山西	104	K2905	中国河北
47	金香玉	中国内蒙古	76	长 24	中国山西	105	13H616	中国河北
48	承谷 8 号	中国河北	77	晋谷 36 号	中国山西	106	公谷 31 号	中国吉林
49	夏谷 2 号	中国北京	78	晋谷 41 号	中国山西	107	九谷 15	中国吉林
50	大黄谷	中国内蒙古	79	晋谷 51 号	中国山西	108	余三	中国山西
51	小米	中国贵州	80	豫谷 1 号	中国河南	109	红粘谷	中国吉林
52	小红谷	中国山西	81	晋汾 09	中国山西	110	九谷 20	中国吉林
53	红谷子	中国河北	82	中谷 2 号	中国北京	111	晋谷 20	中国山西
54	夏谷	中国北京	83	峰谷 12	中国内蒙古	112	公谷 61 号	中国吉林
55	承德 1	中国河北	84	赤谷 10 号	中国内蒙古	113	公谷 62 号	中国吉林
56	承德 3	中国河北	85	济谷 12	中国山东	114	公谷 65 号	中国吉林
57	承德 5	中国河北	86	长农 44	中国山西	115	公谷 69 号	中国吉林
58	承德 8	中国河北	87	济谷 16	中国山东	116	公谷 71 号	中国吉林
59	承德 9	中国河北	88	龙 34	中国黑龙江	117	公谷 75 号	中国吉林
60	承德 13	中国河北	89	龙 31	中国黑龙江	118	公谷 76 号	中国吉林
61	承德 14	中国河北	90	龙 33	中国黑龙江	119	公矮 5 号	中国吉林
62	承德 20	中国河北	91	龙 25	中国黑龙江	120	公矮 2 号	中国吉林
63	承德 23	中国河北	92	大同 29 号	中国山西	121	衡谷 13 号	中国河北
64	承德 25	中国河北	93	晋谷 31 号	中国山西	122	延谷 12 号	中国陕西
65	承德 26	中国河北	94	陇谷 12 号	中国甘肃	123	延谷 13 号	中国陕西
66	承德 27	中国河北	95	香谷	中国内蒙古	124	公谷 74 号	中国吉林
67	承德 28	中国河北	96	安 08-4129	中国河南			
68	承德 31	中国河北	97	豫谷 16	中国河南			

1.2 田间试验设计

试验位于新疆乌鲁木齐市新市区新疆农业科学院综合试验场,时间为 2015-2016 年,采取随机区组设计,3 次重复;每小区 2 行,行长 2 m,行距 40 cm,株距 4 cm。前茬红薯(2015 年)、玉米(2016 年),土壤肥力中等。田间灌溉、施肥方法采用膜下滴灌 - 施肥技术。

1.3 田间性状调查

田间性状调查参照《谷子种质资源描述规范和数据标准》^[18]进行,田间观察记载出苗 - 抽穗日数、

全生育期、叶鞘色、幼苗叶色、幼苗叶姿、穗颈形状、花药颜色等;成熟期于田间测量主茎节数、株高、茎粗、主穗长、穗下节间长度、主穗直径等;收获时每小区连续取 10 株调查单穗重、单株秆重、单株生物产量等。质量性状差别用阿拉伯数字表示,叶鞘色:1 = 绿色,2 = 红色,3 = 紫色;幼苗叶色:1 = 绿色,2 = 黄绿,3 = 紫绿;幼苗叶姿:1 = 上举,2 = 半上举,3 = 平展,4 = 下披;穗颈形状:1 = 直立,2 = 中弯,3 = 弯曲,4 = 勾形;花药颜色:1 = 白色(含浅绿色),2 = 黄色,3 = 橙色(含浅紫色)。

1.4 样品准备及提取基因组 DNA

将参试材料种子在室内进行培养,待样品长至 3 叶 1 心时,剪取适量叶片放入 1.5 mL 离心管中, -60 °C 超低温冰箱保存备用。采用 CTAB 法(cetyltriethylammonium bromide)^[19]并略加改进提取基因组 DNA,将 DNA 浓度定量为 100 ng/ μ L,并配制 100 μ L 使用液。

1.5 PCR 扩增

从 95 对引物中筛选出 52 对多态性高、扩增效果好、条带差异明显的引物用于试验(表 2),所用引物由中国农业科学院作物科学研究所刁现民研究员提供,北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司合成。采用 PCR 仪(型号:TC-412、制造商:英国 TECHNE)进行扩增。

表 2 所用引物详细信息

Table 2 The SSR primers used in this study

编号 Number	引物名称 Marker name	染色体位置 Chromosome located	退火温度(°C) Annealing temperature	预期片段 大小(bp) Expected size	编号 Number	引物名称 Marker name	染色体位置 Chromosome located	退火温度(°C) Annealing temperature	预期片段 大小(bp) Expected size
1	b126	1	56	190	27	p80	2	55	202
2	p44	9	59	190	28	b166	9	57	198
3	b163	3	57	194	29	p89	—	57	218
4	p61	3	56	200	30	b169	—	57	108
5	MPGA50	6	55	289	31	b223	5	55	146
6	p20	9	57	216	32	b269	9	55	189
7	b181	—	54	173	33	b109	4	56	175
8	b263	6	55	251	34	b165	1	57	273
9	b237	5	55	249	35	b187	9	55	195
10	b117	—	59	314	36	p2	4	57	183
11	p41	9	59	202	37	b171	9	57	221
12	p59	7	57	176	38	b241	9	55	140
13	b153	1	56	209	39	b185	8	55	167
14	b258	8	55	267	40	b249	—	47	131
15	p88	1	57	199	41	b174	9	55	168
16	p14	—	59	210	42	b186	3	55	191
17	p29	7	57	208	43	b246	9	55	128
18	b159	6	57	185	44	b101	3	57	264
19	p78	—	57	203	45	b217	9	55	286
20	b200	7	57	350	46	p3	1	57	198
21	b218	1	55	324	47	b102	9	57	237
22	b247	4	55	116	48	b236	4	55	156
23	b225	3	55	131	49	b224	—	55	144
24	b123	7	58	130	50	b189	—	57	222
25	b182	—	55	199	51	b250	—	51	186
26	b242	2	55	168	52	p8	1	55	203

“—”表示引物的位置未明确

“—”in the table indicates that the position of the primer is not clear

扩增反应体系为 12.5 μL ; 3.75 μL Sterile ddH₂O, 6.75 μL 2 \times Tap PCR Mester Mix, 0.5 μL Forward primer (100 $\mu\text{mol/L}$), 0.5 μL Reverse primer (100 $\mu\text{mol/L}$), 1 μL 模板 DNA (100 ng/ μL)。

PCR 反应程序如下: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min, 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 50 s, 退火 40 s (具体退火温度依据引物温度梯度试验来确定), 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min, 30 个循环, 72 $^{\circ}\text{C}$ 最后延伸 10 min, 最终 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

1.6 凝胶电泳与银染显影

试验扩增产物在 8% 聚丙烯酰胺凝胶上电泳, Marker 选用 100 ~ 600 bp, 点样量 8 μL , 电泳缓冲液为 5 \times TBE, 电压稳定在 240 V, 待指示剂条带到胶板下部约 2 ~ 3 cm 处停止电泳, 银染显影后拍照存档。

1.7 数据处理及统计分析

采用 Microsoft Excel 2013 整理数据, 应用 SPSS 25 计算性状的平均值 (X)、标准差 (SD)、变异系数 (CV) 等。根据计算结果将全部材料每个性状划分为 10 个等级, 按第 1 级 [$X_i < (X - 2s)$] 到第 10 级 [$X_i > (X + 2s)$], 每 0.5s 为 1 级, 每 1 级的相对频率 (P_i) 用于计算多样性指数。遗传多样性指数 Shannon-Wiener index (H')^[20] 计算公式: $H' = - \sum P_i \times \ln P_i$ 。式中 P_i 为某性状第 i 级别内材料份数占总份数的百分比, X_i 为第 i 级中的数据。聚类分析过

程中, 为便于数量化和统计分析, 数值首先进行标准化转换 (Z 分数), 将质量性状予以赋值。种质间遗传距离为欧氏距离, 聚类方法采用 Ward 方法。

依据 PCR 扩增结果, 建立 0、1 矩阵。聚类分析采用 NTSYS 2.10 软件 UPGMA 法进行聚类分析并绘制聚类图。

2 结果与分析

2.1 谷子种质资源表型性状遗传多样性

2.1.1 质量性状遗传多样性 对参试材料的 5 个质量性状进行分析 (表 3)。124 份材料叶鞘色多为绿色, 占参试材料的 51.61%; 其次为红色, 占 41.13%; 紫色最少。幼苗叶色以黄绿色为主, 占参试材料的 57.26%; 绿色次之, 占 35.48%; 紫绿色最少。幼苗叶姿多为平展, 占参试材料的 45.97%; 半上举次之, 占 32.26%; 其余为上举、下披类型。穗颈形状多为弯曲, 占参试材料的 59.68%; 其余为勾形、中弯类型。花药颜色以橙色 (含浅紫色) 居多, 占参试材料的 62.90%; 黄色次之, 占 36.29%; 其余为白色 (含浅绿色)。质量性状中遗传多样性指数最高的为幼苗叶姿 1.170, 其余从高到底依次为穗颈形状 0.933、叶鞘色 0.897、幼苗叶色 0.877、花药颜色 0.698。

表 3 5 个质量性状的遗传多样性分析

Table 3 The genetic diversity of 5 qualitative traits

项目	性状	叶鞘色	幼苗叶色	幼苗叶姿	穗颈形状	花药颜色
Item	Trait	LSC	LCS	SLA	PS	AC
频率分布 (%)	1	51.61	35.48	4.84	—	0.81
Ratio of distribution	2	41.13	57.26	32.26	13.71	36.29
	3	7.26	7.26	45.97	59.68	62.90
	4	—	—	16.94	26.61	—
	遗传多样性指数	0.897	0.877	1.170	0.933	0.698
Genetic diversity indexes						

LSC; Leaf sheath color, LCS; Leaf color of seedling, SLA; Seedling leaf attitude, PS; Panicle shape, AC; Anther color. The same as below

2.1.2 数量性状遗传多样性 对 124 份材料 11 个数量性状进行多样性分析 (表 4), 出苗 - 抽穗日数平均值为 69.24 d, 变异幅度 51.00 ~ 88.00 d, 来自内蒙古的金香玉出苗 - 抽穗日数最小为 51.00 d, 来自河北的冀谷 31 最大为 88.00 d。全生育期平均值为 123.94 d, 变异幅度 108.00 ~ 143.00 d, 来自贵州的小米和黑龙江的龙 34 全生育期最小为 108.00 d, 来自河北的冀谷 31 和山西的长 24 最大为 143.00 d。

主茎节数平均值为 13.01, 变异幅度 9.70 ~ 15.50, 来自山西的野生谷最小为 9.70, 来自山西的长 24 最大为 15.50。株高平均值为 168.60 cm, 变异幅度 94.79 ~ 199.35 cm, 来自山西的野生谷最矮为 94.79 cm, 来自山西的晋谷 36 号最高为 199.35 cm。茎粗平均值为 0.82 cm, 变异幅度 0.52 ~ 1.01 cm, 来自哈萨克斯坦的 5 个品种茎粗较细, 处于前 5 名, 均小于 0.60 cm, 来自中国河南的豫谷 19 最粗为

1.01 cm。主穗长平均值为 25.86 cm, 变异幅度 17.54 ~ 39.58 cm, 来自山西的晋汾 09 最短为 17.54 cm, 来自陕西的延谷 12 号最长为 39.58 cm。穗下节间长度平均值为 30.92 cm, 变异幅度 21.03 ~ 51.87 cm, 来自河北的衡谷 13 号最短为 21.03 cm, 来自山西的晋谷 51 号最长为 51.87 cm。主穗直径平均值为 2.40 cm, 变异幅度 1.75 ~ 3.23 cm, 来自北京的夏谷 2 号最小为 1.75 cm, 来自山西的晋谷 35 最大为 3.23 cm。单穗重平均值为 22.61 g, 变异幅度 9.58 ~ 32.94 g, 来自哈萨克斯坦的 5 个品种都处于最低水平, 14/WY031 最小为 9.58 g, 来自中国山西的大同 34 号最大为 32.94 g。单株秆重平均值为 27.28 g, 变异幅度 7.19 ~ 53.68 g, 来自哈萨克斯坦的 14/WY031 最小为 7.19 g, 来自中国山东的济谷 14 最大为 53.68 g。单株生物产量平均值为 54.62

g, 变异幅度 19.70 ~ 97.67 g, 来自哈萨克斯坦的 5 个品种均处于较低水平, 14/WY031 最小为 19.70 g, 来自中国黑龙江的龙 34 最大为 97.67 g。11 个数量性状的遗传多样性指数中, 主穗直径最高为 2.047, 茎粗最低为 1.922。遗传多样性指数由高到低排序依次为主穗直径 (2.047)、全生育期 (2.038)、主穗长 (2.023)、主茎节数 (2.023)、穗下节间长度 (1.998)、单穗重 (1.996)、单株秆重 (1.994)、单株生物产量 (1.989)、株高 (1.957)、出苗 - 抽穗日数 (1.942)、茎粗 (1.922)。由结果可知, 质量性状中幼苗叶姿、穗颈形状变异较丰富, 数量性状中单株秆重、单株生物产量、单穗重的变异系数较大, 表明参试材料不同品种间存在较大差异, 各性状差异明显, 参试材料的遗传多样性较丰富, 改良利用潜力较大。

表 4 11 个数量性状的遗传多样性分析

Table 4 The genetic diversity of 11 quantitative traits

性状 Traits	平均值 Average	最小值 Min.	最大值 Max.	标准差 SD	极差 Range	变异系数 (%) CV	遗传多样性指数 H'
出苗 - 抽穗日数 (d) EHD	69.24	51.00	88.00	6.56	37.00	9.47	1.942
全生育期 (d) WGP	123.94	108.00	143.00	8.15	35.00	6.57	2.038
主茎节数 NNMS	13.01	9.70	15.50	1.07	5.80	8.23	2.023
株高 (cm) PH	168.60	94.79	199.35	15.56	104.56	9.23	1.957
茎粗 (cm) DMS	0.82	0.52	1.01	0.09	0.49	10.49	1.922
主穗长 (cm) MPL	25.86	17.54	39.58	3.01	22.04	11.64	2.023
穗下节间长度 (cm) PL	30.92	21.03	51.87	4.50	30.84	14.56	1.998
主穗直径 (cm) DMP	2.40	1.75	3.23	0.31	1.48	12.81	2.047
单穗重 (g) SWPP	22.61	9.58	32.94	4.20	23.37	18.57	1.996
单株秆重 (g) CWPP	27.28	7.19	53.68	7.58	46.50	27.80	1.994
单株生物产量 (g) BYPP	54.62	19.70	97.67	11.95	77.96	21.87	1.989

EHD: Emergent to heading days, WGP: Whole growth period, NNMS: Node numbers of main stem, PH: Plant height, DMS: Diameter of main stem, MPL: Main panicle length, PL: Peduncle length, DMP: Diameter of main panicle, SWPP: Spike weight per plant, CWPP: Culm weight per plant, BYPP: Biological yield per plant. The same as below

2.1.3 基于表型性状的聚类分析 利用 SPSS 25, 采用 Ward 法对 124 份谷子种质资源的 16 个性状进行聚类, 以欧氏距离为遗传距离, 在遗传距离为 7.0 处将参试种质分为 6 大类群 (图 1), 各类群性状特征见表 5。

第 I 类群包括 37 份材料, 其主要特征是叶鞘色以红色为主, 绿色、紫色类型最少; 幼苗叶色以黄绿色为主, 紫绿色类型最少; 幼苗叶姿以平展为主, 半上举类型最少, 无上举类型; 穗颈形状以弯曲为主, 无直立、中弯类型; 花药颜色以橙色 (含浅紫色) 为主, 无白

色 (含浅绿色) 类型。出苗 - 抽穗日数均值 65.16 d, 变异系数 12.76%; 全生育期均值 118.14 d, 居第 2 位, 熟性属早熟, 变异系数 18.08%, 最小; 主穗长、穗下节间长度的均值分别为 27.02 cm、32.69 cm, 在 6 大类群中均排在第 2 位; 而主茎节数、株高、茎粗、单穗重、单株秆重、单株生物产量的均值分别为 12.63、174.11 cm、0.83 cm、22.24 g、25.56 g、51.41 g, 在 6 大类群中均处于中等水平; 综合分析这些性状, 该类群中生育期较短, 属早熟类型, 但其他性状在 6 大类群中表现一般, 在今后育种中应将经济性状加强。

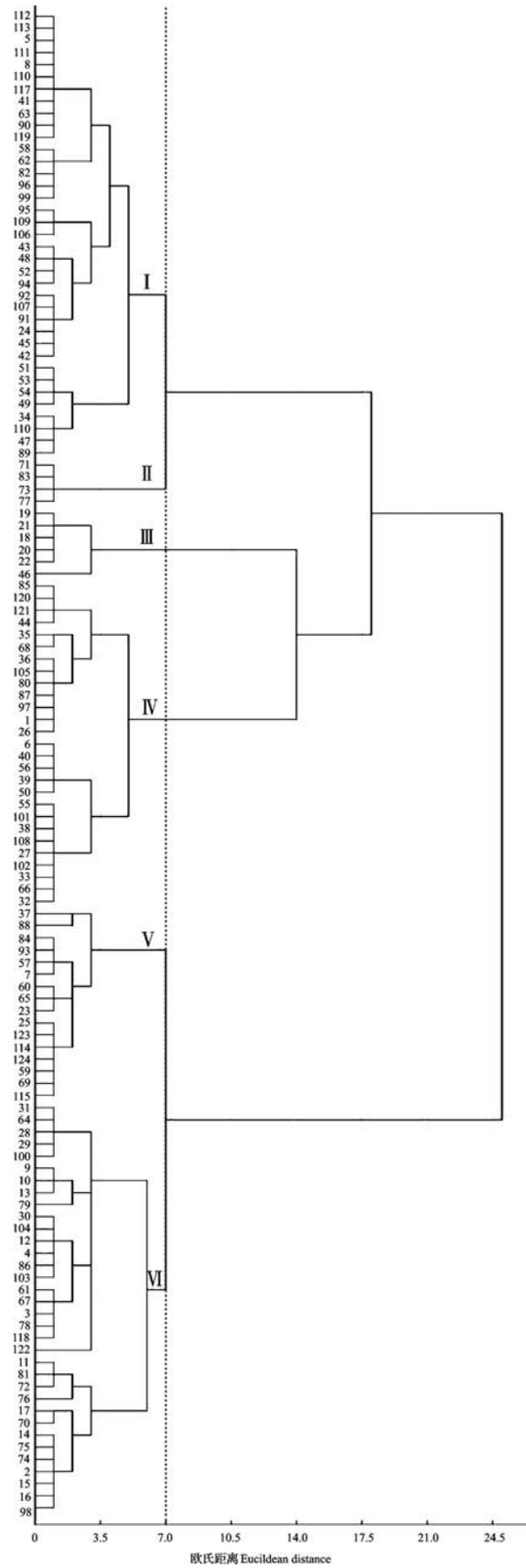


图 1 谷子种质资源基于 16 个性状的聚类图

Fig. 1 Cluster dendrogram of foxtail millet accessions based on 16 agronomic traits

表 5 谷子种质资源各类群农艺性状特征

Table 5 Average and standard deviation amount agronomic traits in different germplasm groups of foxtail millet

性状 Traits	项目 Item	种质类群 Germplasms groups					
		I	II	III	IV	V	VI
株高(cm)	均值	174.11	189.53	149.35	158.09	177.24	167.82
PH	变异系数(%)	16.05	28.24	5.55	10.66	17.48	13.35
主茎节数	均值	12.63	13.55	10.39	12.92	13.26	13.77
NNMS	变异系数(%)	16.76	12.14	20.32	14.36	21.07	17.81
茎粗(cm)	均值	0.83	0.79	0.57	0.80	0.85	0.86
DMS	变异系数(%)	11.90	28.28	9.56	14.30	16.37	13.29
主穗长(cm)	均值	27.02	26.57	25.69	25.05	27.21	24.57
MPL	变异系数(%)	10.76	10.63	13.63	11.67	11.83	6.33
穗下节间长度(cm)	均值	32.69	36.25	24.33	28.16	31.63	31.39
PL	变异系数(%)	9.63	8.39	18.56	7.83	9.55	9.36
主穗直径(cm)	均值	2.25	2.51	2.05	2.35	2.39	2.64
DMP	变异系数(%)	7.51	8.62	20.87	11.37	12.08	9.04
单穗重(g)	均值	22.24	23.70	12.07	21.14	25.35	24.63
SWPP	变异系数(%)	7.74	8.89	3.84	6.67	6.93	7.61
单株秆重(g)	均值	25.56	31.33	10.31	22.08	32.84	33.19
CWPP	变异系数(%)	6.38	4.62	5.31	5.29	4.96	6.31
单株生物产量(g)	均值	51.41	57.76	24.38	47.54	65.14	63.77
BYPP	变异系数(%)	9.47	7.16	5.41	7.11	6.07	9.68
出苗-抽穗日数(d)	均值	65.16	68.50	59.75	69.02	68.81	75.82
EHD	变异系数(%)	12.76	17.04	35.24	11.30	17.58	20.50
全生育期(d)	均值	118.14	126.88	117.42	123.61	122.16	132.18
WGP	变异系数(%)	18.08	26.81	48.58	21.62	19.46	21.98
叶鞘色		红色、绿色、	紫色	绿色	绿色、红色	绿色、紫色	绿色、红色、
LSC		紫色					紫色
幼苗叶色		黄绿、绿色、	紫绿	黄绿、绿色	绿色、黄绿	黄绿、绿色	黄绿、绿色
LCS		紫绿					
幼苗叶姿		平展、下披、	平展、下披	下披、平展、	半上举、平展、	平展、半上举、	平展、半上举、
SLA		半上举		半上举	上举	上举、下披	下披、上举
穗颈形状		弯曲、勾形	中弯、弯曲	弯曲、中弯、	弯曲、勾形、	弯曲、勾形	弯曲、中弯、
PS				勾形	中弯		勾形
花药颜色 AC		橙色、黄色	橙色	橙色	橙色、黄色	橙色	黄色、橙色、白色

第 II 类群包括 4 份材料,其主要特征是叶鞘色均为紫色,无其他类型;幼苗叶色均为紫绿色,无其他类型;幼苗叶姿以平展、下披为主,无半上举、上举类型;穗颈形状以中弯为主,无勾形、直立类型;花药颜色均为橙色(含浅紫色),无白色(含浅绿色)、黄色类型。出苗-抽穗日数均值 68.50 d,居第 3 位,变异系数 17.04%;全生育期均值 126.88 d,熟性属中早熟,变异系数 26.81%;株高和穗下节间长度的

均值为 189.53 cm 和 36.25 cm;株高、茎粗及单穗重的变异系数为 28.24%、28.28% 及 8.89%,在 6 大类群均最大。综合分析这些性状,该类群叶鞘色均为紫色,株高和穗下节间长度最大,经济性状均处于中等靠上,全生育期相对较短,在育种中应降低株高。

第 III 类群包括 6 份材料,其中编号 18~22 等 5 份材料为本所引进的中亚谷子资源,其主要特征是叶鞘色均为绿色,无红色、紫色类型;幼苗叶色以黄

绿色为主,无紫绿色类型;幼苗叶姿以下披为主,无上举类型;穗颈形状以弯曲为主,无直立类型;花药颜色均以橙色(含浅紫色)为主,无白色(含浅绿色)、黄色类型。出苗-抽穗日数均值 59.75 d,最小,变异系数 35.24%,最大;全生育期均值 117.42 d,最小,熟性属早熟,变异系数 48.58%,最大;主茎节数、株高、穗下节间长度、茎粗、主穗直径、单穗重、单株秆重及单株生物产量的均值分别为 10.39、149.35 cm、24.33 cm、0.57 cm、2.05 cm、12.07 g、10.31 g 及 24.38 g,这些性状在 6 大类群中均最小;主穗长、穗下节间长度及主穗直径的变异系数分别为 13.63%、18.56% 及 20.87%,在 6 大类群中均最大。综合分析这些性状,该类群种质资源生育期较短,早熟性明显,主穗长相对较长,叶鞘色均为绿色,其余农艺性状表现均处于较低水平,在今后的育种中经济性状需要加强。

第Ⅳ类群包括 27 份材料,其主要特征是叶鞘色以绿色为主,红色类型最少,无紫色类型;幼苗叶色以绿色为主,无紫绿色类型;幼苗叶姿以半上举为主,上举类型最少,无下披类型;穗颈形状以弯曲为主,无直立类型;花药颜色以橙色(含浅紫色)为主,无白色(含浅绿色)类型。出苗-抽穗日数均值 69.02 d,居第 2 位,变异系数 11.30%,最小;全生育期均值 123.61d,熟性属中早熟,变异系数 21.62%;株高均值为 158.09 cm,变异系数 10.66%。综合分析这些性状,该类群中的材料株高相对较低,出苗-抽穗日数相对较长,农艺性状均处于中等靠下水平。

第Ⅴ类群包括 16 份材料,其主要特征是叶鞘色以绿色为主,紫色类型最少,无红色类型;幼苗叶色以黄绿色为主,无紫绿色类型;幼苗叶姿以平展为主,下披类型最少;穗颈形状以弯曲为主,无中弯、直立类型;花药颜色均为橙色(含浅紫色),无黄色、白

色(含浅绿色)类型。出苗-抽穗日数均值 68.81 d,变异系数 17.58%;全生育期均值 122.16 d,熟性属中早熟,变异系数 19.46%;株高均值 177.24 cm,居第 2 位,主茎节数变异系数 21.07%,最大;主穗长、单穗重及单株生物产量的均值分别为 27.21 cm、25.35 g 及 65.14 g,在 6 大类群中均居第 1 位。综合分析这些性状,该类群中的材料生育期相对较短,花药颜色均为橙色(含浅紫色),株高较高,单株生物产量较大,此类群在育种中可以向饲草方向考虑。

第Ⅵ类群包括 34 份材料,其主要特征是叶鞘色以绿色为主,紫色最少;幼苗叶色以黄绿色为主,无紫绿色类型;幼苗叶姿以平展为主,上举类型最少;穗颈形状以弯曲为主,勾形最少,无直立类型;花药颜色以黄色为主,白色(含浅绿色)最少。出苗-抽穗日数均值 75.82 d,居第 1 位,变异系数 20.50%;全生育期均值 132.18 d,居第 1 位,熟性属中晚熟,变异系数 21.98%;单株生物产量变异系数 9.68%,最大,主穗长变异系数 6.33%,最小;单穗重和单株生物产量均值分别为 24.63 g、63.77 g,在 6 大类群中均居第 2 位;主茎节数、茎粗、主穗直径及单株秆重的均值分别为 13.77、0.86 cm、2.64 cm 及 33.19 g,在 6 大类群中均居第 1 位,仅主穗长均值 24.57 cm,最小。综合分析这些性状,该类群生育期相对较长,属中晚熟类型,株高较低,单株生物产量较高,在育种中需加强早熟性。

2.2 谷子种质资源 SSR 标记的遗传多样性

2.2.1 谷子 SSR 多态性分析

依据条带清晰、多态性好的原则,从 95 对引物中筛选出 52 对,特异性条带均在 100~600 bp 之间(图 2),引物所在染色体位置 1~9 号染色体均有分布。由于选用的材料多是育成品种,纯合稳定,利用 52 对引物对 124 份谷子种质资源进行扩增,扩增出特异性条带 52 条。



图 2 引物 p61 对 23 份材料的 SSR 扩增结果

Fig. 2 PCR fragments amplified by primer p61 in 23 foxtail millet accessions

2.2.2 遗传相似系数 根据 52 对引物扩增结果,计算 124 份谷子种质间的遗传相似系数,平均遗传相似系数为 0.834,变化范围为 0.615~0.962。其中来自中国山西的鹅黄谷遗传相似系数最高为 0.962;其次是来自中国山西的晋品谷 4 号、94-86、晋谷 35 及 CN2011-2,遗传相似系数均为 0.942,这 4 份材料地理来源相同,在表型性状方面同样差异较小;来自中国河北的冀谷 36 遗传相似系数最低为 0.615,5 份来自哈萨克斯坦的材料均处于较低水平。结果表明,参试 124 份材料的遗传基础相对比较狭窄,通过加强不同种质间的组配利用及特异亲本类型的创制对于谷子遗传改良至关重要。

2.2.3 聚类分析 利用 52 对 SSR 引物的扩增结果,采用 UPGMA 法进行聚类分析(图 3),在遗传相似数为 0.746 处,124 份谷子种质资源被划分为 4 个类群。

第 I 类群包含材料 3 份,13H681、13H616、K2905 全部来自中国河北,生育期均值 126.83 d,属于中早熟品种,株高均值 155.27 cm,单穗重均值 23.85 g,单株生物产量均值 56.94 g,主要农艺性状表现一般。

第 II 类群包含材料 7 份,冀谷 19、冀谷 36 等 7 份材料全部来自中国河北,生育期均值 126.71 d,株高均值 157.08 cm,单穗重均值 20.65 g,单株生物产量均值 53.05 g;冀谷 19 在单株生物产量(64.23 g)上表现突出,冀谷 31 生育期(143.00 d)较长,冀谷 22 株高(182.27 cm)表现突出。

第 III 类群包含材料 5 份,均来自哈萨克斯坦(品种编号为 18~22),这 5 份材料全生育期均值 116.60 d,熟性属早熟,单穗重、单株秆重及单株生物产量均值分别为 10.92 g、10.04 g 和 23.05 g,在参试 124 份材料中均处于较低水平。

第 IV 类群包含的材料最多,共 109 份,占参试材料总数的 87.90%,没有明显的地理来源聚类特征。但在遗传相似系数为 0.843 时,第 IV 类群又可划分为 9 个亚群,第 IV 1~IV 8 亚群按照地理来源的不同,每个亚群均是按地理来源相同的聚为一类,第 IV 9 亚群包含材料相对较多,没有明显的地理来源聚类特征。IV 9 亚群在遗传相似系数为 0.870 时,又进一步可分为 7 个亚亚群。亚亚群中同一地区的材料可聚为一类,如 IV 9-6 亚亚群材料全部来自中国河北承德,IV 9-7 亚亚群材料基本来自中国山西;亚亚群中也存在来源地不同的品种聚为一类,如来自中国山东的聊农 3 号与来自中国陕西的延谷 12 号、延谷 13 号聚在一起,来自中国贵州的小米与来自中国

甘肃的陇谷 9 号聚在一起。

聚类结果说明,同一区域谷子育成品种的亲缘关系较近,遗传基础狭窄。结合表型性状对各类群分析,发现各类群材料在表现性状上也具有较大程度的相似性,地理来源基本相同的一般聚为一个类群。本研究表型聚类和 DNA 水平上的聚类结果一致。

3 讨论

本研究 11 个数量性状中茎粗的遗传多样性指数最小为 1.922,单穗重遗传多样性指数 1.996。王海岗等^[4]对 874 份国内外谷子种质资源进行多样性研究,其中单穗重遗传多样性指数最大为 1.840,其结果明显低于本研究结果;11 个数量性状的遗传多样性指数均高于 5 个质量性状,其结果与王春芳^[1]研究结果相一致。通过对 124 份谷子种质 16 个农艺性状的聚类分析,在遗传距离 7.0 处可划分为 6 大类群。贾小平等^[21]采用平均联接和中心法两种聚类方法对 42 份来自河北、河南、山东等地谷子种质资源进行分析,聚类结果均将 42 份谷子种质资源聚为 2 个类群。本研究采用的聚类方法为 Ward 法,与贾小平等^[21]研究结果差异较大,产生差异的原因可能为材料选择的不同,本研究采用的材料来源更丰富,调查的农艺性状相对较多,同时也可能与聚类方法选择的差异有关。

本研究选用 52 个均匀分布于谷子 9 条染色体的 SSR 标记对 124 份谷子种质资源遗传多样性进行研究,利用 52 对 SSR 引物共检测到特异性条带 52 条。贾小平等^[15]利用 37 个 SSR 在 40 份谷子材料上所检测到的平均等位变异 6.16 个,郝晓芬等^[22]利用 SSR 标记在 96 份谷子材料上检测到的平均等位变异 6.6 个以及杨慧卿等^[13]利用 77 对引物在 68 份材料上检测到的平均等位变异 2.62 个,前人的研究结果与本研究结果存在差异。造成这些现象的原因,一方面可能是由于研究所采用材料差异较大,本研究利用 124 份材料多为育成品种,基因纯合稳定,而等位变异的检测又明显受到分析材料的影响。另一方面,可能为本研究所选取的 52 个 SSR 标记具有较高的多态性,更能揭示材料间的遗传差异水平。124 份谷子种质间的平均遗传相似系数为 0.834,变化浮动范围在 0.615~0.962 之间,常玉卉等^[23]30 个谷子品种利用 8 条 ISSR 引物扩增 120 多条多态性条带,遗传相似系数的变化范围为 0.89~0.93 及朱学海等^[24]利用 120 份材料 21 个标记计算遗传相似系数其变化范围为 0.83~0.96,这些研究结果与本研究结果接近。

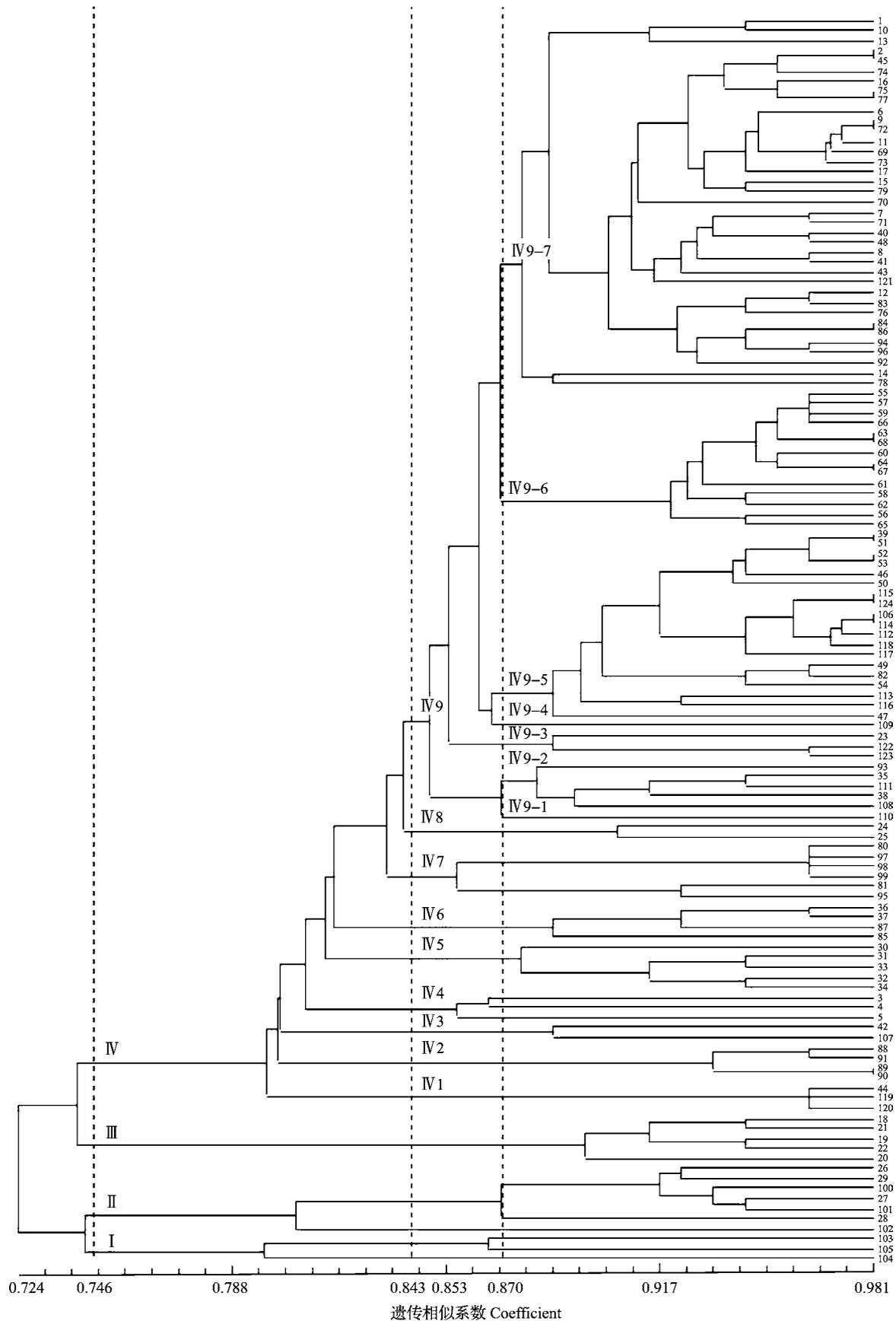


图3 124份谷子种质分子聚类结果

Fig. 3 Cluster dendrogram of 124 foxtail millet accessions based on SSR markers

利用分子标记技术对种质资源进行遗传多样性研究,能够在 DNA 水平更好地揭示不同种质资源间的遗传变异,聚类分析是鉴别种质资源遗传差异水平、筛选核心种质资源的重要手段。本研究聚类结果显示,来自相同省区的种质,更倾向于聚集在相同的类群,其中第 I、II 类群 10 份谷子均来自中国河北,第 III 类群 5 份来自哈萨克斯坦。这与杨天育等^[25]、贾小平等^[15]聚类结果一致。结合表型性状的聚类结果分析,两种聚类方法中都将地理来源相同的聚为一类,例如来自哈萨克斯坦的 5 份材料,虽然表型聚类中多一份来自中国山西的野生谷,这可能是在调查性状中存在人为误差导致的结果,但是两种聚类方法均存在明显的地域聚类特征。

本研究依据谷子分子及表型性状,并结合新疆的气候条件,鉴定出 12 份优秀材料,包括植株矮秆、抗倒伏、产量表现较高的豫谷 18、公谷 76 号、中谷 2 号和大同 34 号 4 份材料,这些材料适宜在北疆地区种植,矮秆有利于机械作业,具有明显的增产潜力,其中豫谷 18、中谷 2 号在新疆复播表现优异,平均生育期 93 d、88 d,平均株高 89.8 cm、103.5 cm,平均产量 5250 kg/hm²、5175 kg/hm²;济谷 14、晋汾 09、龙 34、长 24,此 4 份材料生物产量较高,适宜北疆地区作为饲草种植;龙 33、小红谷、公谷 69 号、陇谷 12 号,此 4 份材料生育期较短,籽粒产量及生物产量都较高,适宜在北疆沿天山一带冷凉地区种植。新疆地域辽阔,农业机械化水平较高,目前筛选适宜南北疆全程机械化生产的谷子品种是新疆谷子育种的首要目标。

致谢:感谢中国农业科学院作物科学研究所刁现民研究员、贾冠清研究员为本试验提供的 SSR 引物以及国家谷子产业技术体系各位专家为本研究提供的种质资源。

参考文献

- [1] 王春芳. 利用微卫星标记分析中国谷子地方品种的群体结构与遗传多样性. 石家庄:河北师范大学,2011:50-62
- [2] 刁现民. 中国谷子产业与产业技术体系. 北京:中国农业科学与技术出版社,2011:20-30
- [3] 刁现民. 谷子生物技术研究成果与未来方向. 河北农业科学,2005,9(4):61-68
- [4] 王海岗,贾冠清,智慧,温琪汾,董俊丽,陈凌,王君杰,曹晓宁,刘思辰,王纶,乔治军,刁现民. 谷子核心种质表型遗传多样性分析及综合评价. 作物学报,2016,42(1):19-30
- [5] 田伯红. 谷子地方品种和育成品种的遗传多样性研究. 植物遗传资源学报,2010,11(2):224-228
- [6] 李瑞奇,杨鑫雷,张艳,马峙英,李雁鸣. 河北省冬小麦品种 SSR 标记遗传多样性分析. 植物遗传资源学报,2014,15(3):526-533
- [7] 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
- [8] 胡立芹,张超,徐林涛,张一铎,马莹雪,王洪刚. 基于 SSR 标记的六倍体小黑麦遗传多样性分析. 植物遗传资源学报,2015,16(4):796-805
- [9] 崔艳华,邱丽娟,常汝镇,吕文河. 黄淮夏大豆遗传多样性分析. 中国农业科学,2004,37(1):15-22
- [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
- [11] 康红梅,李保云,孙毅. 花生表型及 SSR 遗传多样性的研究. 植物遗传资源学报,2012,13(1):66-71,76
- [12] 顾竟,李玲,宗绪晓,王海飞,关建平,杨涛. 豌豆种质表型性状 SSR 标记关联分析. 植物遗传资源学报,2011,12(6):833-839
- [13] 郝慧卿,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. 分蘖型谷子资源的表型和遗传多样性分析. 植物遗传资源学报,2017,18(4):685-695
- [14] Jia X P, Zhang Z B, Liu Y H, Zhang C W, Shi Y S, Song Y C, Wang G Y, Wang T Y, Li Y. Development and genetic mapping of SSR markers in foxtail millet [*Setaria italica* (L.) P. Beauv.]. Theoretical and applied genetics,2009,118(4):821-829
- [15] 贾小平,谭贤杰,李永祥,王天宇,黎裕. 用 SSR 标记研究谷子品种的遗传多样性. 江西农业大学学报,2009,31(4):633-638
- [16] Kim E J, Sa K J, Park K C, Ju K L. Study of genetic diversity and relationships among accessions of foxtail millet [*Setaria italica* (L.) P. Beauv.] in Korea, China, and Pakistan using SSR markers. Genes and Genomics,2012,34(5):529-538
- [17] Pandey G, Misra G, Kumari K, Gupta S, Parida S K, Chattopadhyay D, Prasad M. Genome-wide development and use of microsatellite markers for large-scale genotyping applications in foxtail millet [*Setaria italica* (L.)]. DNA Research,2013,20(2):197-207
- [18] 刁现民. 谷子种质资源描述规范和数据标准. 北京:中国农业科学技术出版社,2012:1-16
- [19] Sharp P J, Chao S, Desai S, Gale M D. The isolation, characterization and application in the Triticeae of a set of wheat RFLP probes identifying each homoeologous chromosome arm. Theoretical and Applied Genetics,1989,78(3):342-348
- [20] Keylock C J. Simpson diversity and the Shannon-Wiener index as special cases of a generalized entropy. Oikos,2005,109(1):203-207
- [21] 贾小平,陆平,董志平,董普辉,郁飞燕. 42 个谷子品种的聚类分析. 种子,2016,35(1):64-67
- [22] 郝晓芬,王节之,王璐英,王根全. SSR 标记分析谷子遗传多样性. 山西农业科学,2005,33(4):29-31
- [23] 常玉卉,张艾英,刘盼,张莉. ISSR 荧光标记毛细管电泳与谷子品种遗传多样性分析. 分子植物育种,2017,15(8):3302-3308
- [24] 朱学海,张艳红,宋燕春,赵治海,刘志斋,石云素,黎裕,王天宇. 基于 SSR 标记的谷子遗传多样性研究. 植物遗传资源学报,2010,11(6):698-702
- [25] 杨天育,沈裕琥,黄相国,何继红,吴国忠. 用 A-PAGE 鉴定谷子遗传多样性. 作物学报,2005,31(1):131-133