

# 基于表型性状和 SSR 标记的山西省青狗尾草资源遗传多样性分析

张耀元<sup>1,3,4</sup> 任彦鑫<sup>1</sup> 禾璐<sup>1</sup> 张雁明<sup>1</sup> 张彬<sup>1</sup> 王兴春<sup>2,4</sup> 李红英<sup>2,3</sup> 韩渊怀<sup>1,2,3,4\*</sup>

(1. 山西农业大学 农学院, 山西 太谷 030801;

2. 山西农业大学 农业生物工程研究所, 山西 太谷 030801;

3. 农业部黄土高原作物基因资源与种质创制重点实验室, 太原 030031;

4. 杂粮种质资源发掘与遗传改良山西省重点实验室, 山西 太谷 030801)

**摘要** 利用表型性状和 SSR 标记对山西省 41 份青狗尾草资源进行遗传多样性分析。在表型水平, 通过分析每份资源的株型、穗型、叶型等 14 个表型性状指标的测定结果, 发现山西青狗尾草资源具有较为丰富的表型多样性, 其中叶片绿色的深浅即叶绿素含量遗传多样性指数最高, 为 2.76, 其余性状遗传多样性指数也大多保持在 2.0 左右; 大多数青狗尾草的穗型为纺锤形, 籽粒颜色和形状分别是青色和纺锤形。通过表型聚类可将山西青狗尾草资源划分为 3 个类群: 第 1 类主要表现为株高、穗数等整体指标居中; 第 2 类主要表现为植株小, 穗数少, 单株干重低等; 第 3 类主要表现为植株高大, 穗数多, 穗重等。聚类分析发现表型多样性与山西特定生态地理区划有一定相关性。在分子水平, 利用 20 对 SSR 引物共检测到 102 个等位变异, 平均每个位点 5 个, 基因多样性与 PIC 的平均值分别为 0.66 和 0.61。虽然聚类分析、群体结构分析和主成分分析均将 41 份青狗尾草资源分为了 3 类, 但 3 种方法对狗尾草资源的划分结果并不完全一致, 且划分出的 3 个类群与山西的生态地理区划也不完全一致, 表明不同表型和遗传背景的青狗尾草资源在山西混合分布, 区域之间没有明显界限。

**关键词** 青狗尾草; 表型性状; SSR 标记; 遗传多样性; 群体结构

中图分类号 S 554.3

文章编号 1007-4333(2016)10-0011-12

文献标志码 A

## Genetic diversity analysis of green foxtail germplasm resources in Shanxi Province based on phenotypes and SSR markers

ZHANG Yao-yuan<sup>1,3,4</sup>, REN Yan-xin<sup>1</sup>, HE Lu<sup>1</sup>, ZHANG Yan-ming<sup>1</sup>, ZHANG Bin<sup>1</sup>,

WANG Xing-chun<sup>2,4</sup>, LI Hong-ying<sup>2,3</sup>, HAN Yuan-huai<sup>1,2,3,4\*</sup>

(1. College of Agriculture, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China;

2. Institute of Agricultural Bioengineering, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China;

3. Key Laboratory of Crop Gene Resources and Germplasm Enhancement on Loess Plateau, Ministry of Agriculture, Taiyuan 030031, China;

4. Shanxi Key Laboratory of Resources and Genetic Improvement of Minor Crops, Taigu 030801, China)

**Abstract** The genetic diversity of 41 green foxtail resources in Shanxi Province was investigated by phenotypes and SSR markers. At the phenotype level, 14 character indicators such as the types of plant structure, shapes of panicle and leaf were determined. The results showed that the phenotypic diversity of Shanxi green foxtail resources were relatively abundant. The leaf color represented by chlorophyll content had the highest genetic diversity index (2.76), and the genetic diversity index for the rest of the characteristics were about 2.0. Most of the green foxtail had spindle panicle, with grains being cyan in color and spindle-shaped. These resources were divided into three groups by phenotypic clustering, and each group had its own characteristics: The first group showed average phenotypes among all the accessions including traits of plant height, panicle number, and etc; the second group mainly contained those of smaller

收稿日期: 2015-12-29

基金项目: 国家自然科学基金项目(31371693, 31471556, 31471502); 教育部高等学校博士学科点专项科研基金项目(20131403110001); 山西农业大学科技创新基金项目(20142-07)

第一作者: 张耀元, 硕士研究生, E-mail: zhang3576285yy@163.com

通讯作者: 韩渊怀, 教授, 主要从事植物分子生物学研究, E-mail: swgctd@163.com

plant height, fewer panicles and lower dry weight; the third group consisted mainly of those with bigger plant height, more panicles, lower panicle weight and etc. It was discovered that phenotypic diversity had some correlation with specific eco-geographical regions in Shanxi. At the molecular level, twenty pairs of SSR primers were selected to analyze the green foxtail resources and a total of 102 alleles were detected, with an average of 5 alleles per locus. The average value of gene diversity and polymorphism information content was 0.66 and 0.61, respectively. Although these resources were all divided into three categories by three different methods including clustering analysis, population structure analysis and principal component analysis, the classification of these resources were not completely consistent. Moreover, these three clusters were also inconsistent with the distribution of eco-geographical regions in Shanxi, indicating a partially mixed distribution of green foxtail resources in Shanxi and unclear boundary among regions.

**Keywords** *Setaria viridis*; phenotypic traits; SSR markers; genetic diversity; population structure

狗尾草属 (*Setaria*) 属于禾本科 (Gramineae), 共约 125 个种, 已发现 17 个种分布在中国<sup>[1]</sup>。狗尾草属包括谷子以及谷子的野生近缘种如青狗尾草 (*S. viridis*)、金色狗尾草 (*S. glaucu*) 和法式狗尾草 (*S. faberii*) 等<sup>[2]</sup>。其中青狗尾草与谷子的亲缘关系较近, 被认为是谷子的祖先种<sup>[3]</sup>。目前, 狗尾草和谷子逐渐成为新型模式植物<sup>[4]</sup>, 而谷子高密度参考基因组序列图谱和基因组单倍体型图谱的构建, 进一步促进了狗尾草属资源研究的快速发展<sup>[5,6]</sup>。

青狗尾草 (*S. viridis*) 是狗尾草属一年生禾谷类草本植物, 为 2 倍体自花授粉, 具有株型小、基因组小、生育期短、遗传转化体系可行等特点<sup>[7]</sup>。其为 C<sub>4</sub> 植物, 正在发展为 C<sub>4</sub> 光合作用的模式植物<sup>[8]</sup>。

目前, 对狗尾草属遗传多样性的研究主要集中在谷子农艺性状方面。王晓娟等<sup>[9]</sup>对甘肃省 474 份谷子地方种质资源的 22 个主要性状进行了遗传多样性分析; 闫锋等<sup>[10]</sup>、陈晓敏等<sup>[11]</sup>以及李晓宇等<sup>[12]</sup>分别对 41、52 和 14 份谷子品种的多个农艺性状进行了遗传多样性分析, 结果表明收集于不同地区的谷子品种在遗传多样性上存在差异; 阎洪波等<sup>[2]</sup>对我国谷子主产区的 11 份青狗尾草种质资源的居群, 采用等位酶法分析了其遗传多样性及其与其他种的关系, 并通过统计、聚类分析评价了青狗尾草居群间在遗传上的亲缘关系。此外, 也有不少研究利用简单重复序列 (Simple sequence repeats, SSR) 标记对谷子和狗尾草进行了遗传多样性分析<sup>[13-20]</sup>。现阶段, 在分子水平对狗尾草属遗传多样性的研究多以谷子为主, Jia 等<sup>[7]</sup>用 77 对 SSR 引物对来自全国各地的 288 个青狗尾草资源进行了分析, 发现在我国北方收集的狗尾草资源具有更高的遗传多样性, 但未从形态方面进行表型多样性分析。

山西省地处黄河中游, 黄土高原东部, 华北平原西侧, 整个地貌是黄土覆盖的山地型高原, 大部分地

区海拔在 1 000~2 000 m。东西两侧为山地和高原, 中部则分布着一系列断陷盆地。韩锦涛等<sup>[21]</sup>曾根据各生态地理区的自然条件, 通过反映区域生态的 15 项指标将山西划分为 7 大生态地理区, 分别为: 小型盆地丘陵区 (I)、低山丘陵区 (II)、丘陵区 (III)、南部盆地地区 (IV)、山地区 (V)、中东部盆地地区 (VI) 和盆地山地区 (VII), 特殊的地形和气候赋予了山西特殊的生态区划。青狗尾草适应性强, 山西地形复杂多样, 蕴含着丰富的狗尾草资源, 这些资源中可能存在较多有待进一步发掘的优异基因。所以, 对山西狗尾草种质资源的收集与遗传多样性分析将有助于狗尾草资源抗旱、抗病等重要基因资源的发掘、保护和利用。

本研究利用表型性状和 SSR 标记对收集于山西省各地区 (市) 的 41 份青狗尾草资源进行多样性分析, 以期了解山西复杂生境下的青狗尾草资源遗传多样性特点, 为充分开发、保护和利用我国青狗尾草基因资源提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验在山西农业大学科研试验田进行, 供试的 41 份山西青狗尾草资源详见表 1。为阐述方便, 下文中的狗尾草均指青狗尾草。

### 1.2 表型性状指标的测定

对成熟期狗尾草资源旗叶叶片气孔密度、叶脉密度及叶绿素含量进行测定, 每个资源设 3 次重复。气孔密度的测量采用涂指甲油法; 叶脉密度的测量通过 FAA 固定、NaOH 乙醇溶液漂洗、蒸馏水漂洗, 统计 2 级和 3 级叶脉数来计算; 叶绿素含量的测定使用 SPAD502 叶绿素仪。将成熟期狗尾草整株单收后, 再对其株高、穗长、穗粗、穗型、穗数、刚毛长、千粒重、籽粒颜色、籽粒形状、单株干重等形态指标进行测定, 每份资源测量 3 次重复。

表 1 供试狗尾草资源概况

Table 1 Resource profile of *Setaria viridis* in the study

地区 Region	来源 Source	编号 No.	生态地理区 Region	地区 Region	来源 Source	编号 No.	生态地理区 Region	
阳泉 Yangquan	平定县	SX1-2	I	吕梁 Lvliang	柳林县	SX41	II	
	阳泉市	SX3	VI		兴县	SX42	I	
	阳泉市	SX7	VI		汾阳市	SX47	VI	
	孟县	SX8	I		汾阳市	SX101	VI	
	孟县	SX80	I		吕梁市	SX103	VII	
运城 Yuncheng	河津市	SX10	IV		孝义市	SX105	VI	
	运城市	SX12	IV		忻州 Xinzhou	原平市	SX58	VI
	运城市	SX14	IV			原平市	SX110	VI
	新绛县	SX15	IV			原平市	SX55	VI
	夏县	SX16	IV		晋中 Jinzhong	太谷县	SX65	VI
	临漪县	SX18	IV	太原 Taiyuan		太原市	SX75	VI
临汾 Linfen	浮山县	SX21	IV		太原市	SX76	VI	
	古县	SX23	IV		朔州 Shuozhou	怀仁县	SX106	VII
	襄汾县	SX25	IV			怀仁县	SX107	VII
	乡宁县	SX93	VII	怀仁县		SX109	VII	
	洪洞县	SX94	IV	朔州市		SX50	VII	
襄垣县	SX33	VI	朔州市	SX51		VII		
长治 Changzhi	襄垣县	SX98	VI	朔州市	SX108	VII		
	长治市	SX96	VI	晋城 Jincheng	泽州县	SX119	IV	
	长治市	SX99	VI		高平市	SX120	IV	
大同 Datong	大同市	SX37	VII					

### 1.3 SSR 引物及方法

#### 1.3.1 引物来源

参照 Wang 等<sup>[22]</sup>在谷子群体结构及遗传多样性研究中应用的 SSR 引物,共设计 50 对引物,由深圳华大基因生物科技公司合成,并从中筛选出多态性较好的 20 对用于本研究,详见表 2。

#### 1.3.2 SSR 试验过程

提取 41 份山西青狗尾草资源的幼叶基因组 DNA;称取 0.2 g 叶片,液氮充分研磨后置于 2 mL 离心管中,依次加入 65 °C 预热的溶液 A 750  $\mu$ L、溶液 B 375  $\mu$ L 和 RNase A 溶液(10 mg/mL)15  $\mu$ L,静置 5 min。加入 200  $\mu$ L 氯仿,混匀,12 000 rpm/min 离心 2 min,转移上清液于 1.5 mL 离心管中,并加入与其同体积的异丙醇于离心管中,混匀,12 000 rpm/min 离心 3 min,弃上清。用 1 mL 75% 乙醇洗涤沉淀,12 000 rpm/min 离心 3 min,弃上

清,重复 1 次操作,室温晾干。最后加入 50 ~ 100  $\mu$ L 超纯水溶解 DNA 沉淀。采用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测其完整性,上样量为 5  $\mu$ L,紫外凝胶系统观察并拍照;蛋白核酸分析仪检测其纯度,上样量为 1  $\mu$ L。SSR 反应体系为 20  $\mu$ L 体系:10  $\mu$ L Mix、1  $\mu$ L Primer F (10  $\mu$ mol/L)、1  $\mu$ L Primer R (10  $\mu$ mol/L)、1  $\mu$ L 狗尾草 DNA 模板(10 ng/ $\mu$ L)及 7  $\mu$ L ddH<sub>2</sub>O。PCR 扩增程序为:94 °C 预变性 5 min;94 °C 变性 50 s,60 °C 退火 40 s,72 °C 延伸 1 min,进行 30 个循环;72 °C 延伸 10 min,最后 4 °C 保存。采用 2% 的琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物,进行引物初筛选。对 PCR 产物进行聚丙烯酰胺凝胶电泳以及银染检测,选取扩增条带清晰,浓度较高的条带进行统计。扩增带在电泳凝胶上的相对位置,采用 0-1 系统记录,相同迁移位置上有带记为 1,无带记为 0,获得矩阵。

表2 试验所选 SSR 引物名称及序列  
Table 2 SSR primers used in this study

引物名称 Name	染色体 Chromosome	重复基元 Repeat motif	引物序列 Primer sequence
B186	3	(GA) <sub>40</sub>	F:CCCGTATAAATGTCATCATCCC R:GCACCTGGCTTCCCTTT
B166	9	(CT) <sub>24</sub>	F:CGCCCATACTACCCAACAG R:ACCTCACCTTCCACTCCTC
B241	9	(GA) <sub>35</sub>	F:CACGCACGTAGTATTGCTAT R:GTTCTGGGCTTCTGGCTG
B249	*	(GA) <sub>32</sub>	F:ACCTGGTCTTCGTTTTGG R:AAAATTCTGCACCCAATGAA
P3	1	(GT) <sub>34</sub>	F:GCAGAAAGCATGCCGTAGTC R:GCTTGGAGTCCACATGGATAG
B123	7	(AC) <sub>19</sub>	F:GGTGTCTCCTGTGTGC R:AGAGTTATTTCCAGCATTAGTG
B269	9	(GA) <sub>45</sub>	F:GTGCGTGCCTCCCTTTA R:CCAGATGCTTCCACGGT
B102	9	(CT) <sub>31</sub>	F:CCGTGAAACCCACCACTATT R:GCACACACAAACCCGTCA
B171	9	(CT) <sub>26</sub>	F:CACCACCACCCGTTATATT R:GGAGGAAGTTTGAGGGAAG
B174	9	(GA) <sub>30</sub>	F:TTCGGGTAAGAATTGAGATGG R:GGTAGCAAGGTGACAAAGTT
B153	1	(GT) <sub>30</sub>	F:ACCCAACACATTCTCCTGAA R:TGCTATCAAAATAGTGCTAGAAT
B236	4	(CT) <sub>45</sub>	F:TCTGGACCAGCATTCTGTCTT R:GGTAACTCTGCTTGGACGAG
B242	2	(GA) <sub>37</sub>	F:CACTACCACTGTTCCAGATCG R:CAGGGACCTTGCTTGCATAC
B246	9	(GA) <sub>29</sub>	F:CACGCACGTAGTATTGCTAT R:GTTCTGGGCTTCTGGCTG
B258	8	(CA) <sub>9</sub> (GA) <sub>35</sub>	F:GGGCAATAATGGTTGCATA R:TTGCACATCCAAATCTTCC
P29	7	(GT) <sub>42</sub>	F:GATGAGCACACGTTGATTGG R:GGACTTACCACCGAGATG
P20	9	(CA) <sub>33</sub> (GA) <sub>11</sub>	F:GTGCCCGCTTAGCTTTAATC R:ATGCACGTGGGACCCATAC
P59	7	(AC) <sub>22</sub>	F:TAATTTTGTGGCGTGGGATG R:GCACTGGTTTTGTTGAATGG
P88	1	(AC) <sub>5</sub> (GT) <sub>22</sub>	F:CAAGCCACCCAGTCTAGAGG R:TTCATCAGAAGTGCCAAAC
P4	9	(GT) <sub>28</sub>	F:CGCTAGCTGTAGCAGCCTTC R:ATTTCGAGCAGCTGAAACTC

注: \* 表示该标记未定位于具体染色体, 参见参考文献[22]。

Note: \* represents the marker is not located on chromosome, please view reference [22].

## 1.4 数据处理方法

### 1.4.1 表型性状统计

利用 Excel 对 14 个表型性状进行统计并计算

遗传多样性指数。根据每个性状的平均值( $X$ )和标准差( $S$ ), 将资源分为 10 级, 从第 1 级 [ $x_i < (X - 2S)$ ] 到第 10 级 [ $x_i > (X + 2S)$ ], 中间每级间差

0.5S,每一级的相对频率用于计算多样性指数<sup>[9]</sup>。利用 DPS 软件中的系统聚类 Ward 法,计算狗尾草资源各材料之间的欧式距离,从表型水平对狗尾草资源进行聚类分析。

#### 1.4.2 SSR 遗传多样性指标统计

运用 PowerMarkerV3.25 软件对一般遗传多样性指标进行分析,得到等位基因数目、主等位基因频率、基因型数目、基因多样性指数、Shannon's 多样性指数、核苷酸杂合度和多态性信息含量 (Polymorphism information content, PIC) 等参数值,并构建其 UPGMA 聚类图<sup>[23]</sup>。运用 STRUCTURE V2.11 软件对群体结构进行分析,将资源按照遗传组成划分为不同亚群,并确定每个资源在各个亚群中的遗传组成<sup>[24]</sup>。运用 NTSYS-pc 2.10 软件对 41 份狗尾草资源进行主成分分析 (Principal component analysis, PCA),通过做散点图,将不同资源划分为不同类群。

## 2 结果与分析

### 2.1 青狗尾草表型多样性分析

#### 2.1.1 山西青狗尾草表型性状分析

通过对每个资源株高、单株干重、穗长、穗粗、穗型、穗数、刚毛长、千粒重、籽粒颜色、籽粒形状、叶片

气孔密度、叶脉密度及叶绿素含量共 14 个表型指标的测定,发现山西青狗尾草在株型、穗型、叶型方面均表现出较高的遗传多样性(表 3)。如表 3 所示,叶绿素含量遗传多样性指数最高,为 2.76;穗数遗传多样性指数最低,为 1.49;其余性状遗传多样性指数均保持在 2.0 左右。不同性状变异系数存在较大差异,变化范围是 12.31%~95.25%,变异系数最大的是单株干重,达 95.25%,其次是穗数,达 81.75%,其余则均小于 40%,说明各个资源单株干重和穗数表型有很大变异范围。此外,穗部形态及籽粒形态方面也表现出了多样性,穗型所占比例最高的是纺锤形,为 51.22%;籽粒颜色大多数为青色和黄色,分别占 56.10% 和 26.83%;籽粒形状多为纺锤形,占 97.56%,只有少数为圆锥形,占 2.44%。由此可初步推测,大多数狗尾草资源的穗型为纺锤形,籽粒颜色和形状分别为青色和纺锤形。

#### 2.1.2 青狗尾草表型聚类与群体特征分析

利用 DPS 软件中的系统聚类 Ward 法,对狗尾草资源进行表型聚类,结果如图 1 所示。在欧氏距离为 4.13 时,供试狗尾草资源划分为 3 类。第 1 类 (Group1) 共 13 份资源,包括:运城(5)、阳泉(3)、朔州(2)、临汾(1)、太原(1)、晋中(1)。第 2 类 (Group2) 共 12 份资源,包括:朔州(3)、忻州(3)、吕

表 3 狗尾草资源表型统计及其遗传多样性指数

Table 3 Phenotypic statistics and diversity index of *Setaria viridis* resources

性状 Characters	最大值 Maximum	最小值 Minimum	平均值 Mean	标准差 Standard deviation	变异系数/% Coefficient of variation	遗传多样性指数 Genetic diversity index
株高/cm Height	162.87	71.07	122.61	22.59	18.42	1.93
穗长/cm Panicle length	13.37	5.29	8.32	2.00	24.03	1.98
穗粗/cm Panicle diameter	2.12	0.93	1.57	0.26	16.86	2.00
穗数 Panicle number	299	17	81	66.05	81.75	1.49
刚毛长/cm Bristle length	1.18	0.48	0.79	0.18	22.72	1.97
千粒重/g 1 000-grain weight	0.67	0.10	0.34	0.11	33.62	1.86
单株干重/kg Dry weight per plant	0.56	0.02	0.13	0.13	95.25	1.52
叶脉密度/(个/cm) Vein density	71.64	16.68	49.28	11.72	23.79	1.90
叶绿素含量(鲜重)/(mg/g) Chlorophyll content (FW)	53.67	30.93	42.48	5.82	13.70	2.76
上表皮气孔密度/(个/mm <sup>2</sup> ) Stomatal density of adaxial epidermis	121.53	50.00	85.21	14.83	17.41	1.97
下表皮气孔密度/(个/mm <sup>2</sup> ) Stomatal density of abaxial epidermis	106.94	66.67	85.92	10.57	12.31	2.01

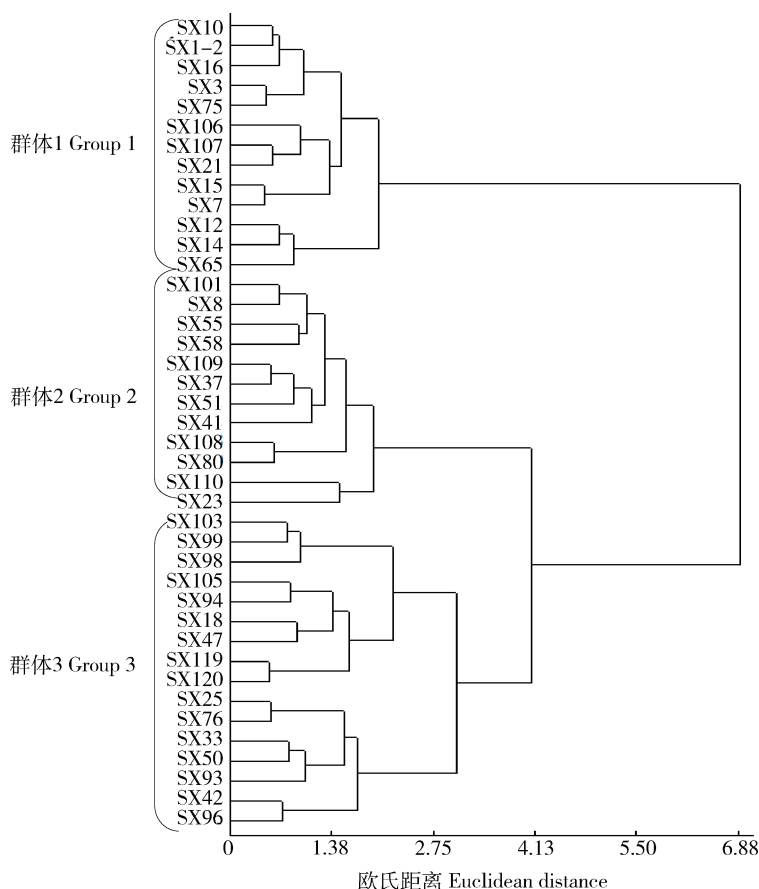


图1 基于表型性状的41份狗尾草资源聚类图

Fig. 1 Dendrogram of cluster analysis for 41 *Setaria viridis* resources based on phenotypes

梁(2)、阳泉(2)、大同(1)、临汾(1)。第3类(Group3)共16份资源,包括:吕梁(4)、长治(4)、临汾(3)、晋城(2)太原(1)、运城(1)、朔州(1)。

将聚类结果与山西特定生态地理区比较发现,第1类狗尾草资源主要来自运城盆地、临汾盆地和太原盆地,属于南部盆地生态地理区;第2类主要来自大同盆地、忻定盆地和吕梁山地等西部及西北部地区,属于盆地山地生态地理区;第3类狗尾草集中于吕梁山脉东南和太行山脉西南之间的长治盆地、太原盆地及运城和临汾盆地,属于中东部盆地生态地理区。可见表型多样性与山西特定生态地理区有一定相关性。将以上3类群体11个数量性状数据进行整理,结果见表4。通过比较不同群体同一表型性状平均值与变异系数的大小差异,发现3类群体表现出不同的群体特征:第1类群体表现为株高,穗数等整体指标居中,叶脉密度大;第2类群体表现为株型相对偏小,穗数少,单株干重低,叶绿素含量高;第3类群体表现为株型高大,穗数多,穗

重,单株干重高、上下表皮气孔密度和叶脉密度小,刚毛长。

## 2.2 狗尾草资源 SSR 标记的遗传多样性分析

### 2.2.1 SSR 标记的遗传多样性特征

利用20个SSR标记对41份狗尾草资源进行多样性分析,结果如表5所示,共检测到102个等位变异,平均每个位点5个,基因多样性平均为0.66,变化范围是0.39~0.84,PIC平均为0.61,变化范围是0.34~0.82。其中,B102位点检测到8个等位变异和13个基因型,与其他标记相比最多,PIC值为0.77;B269位点的多样性指数最大,为1.79;B269位点PIC最大,为0.82。

### 2.2.2 群体结构分析

为了较好地研究狗尾草资源的遗传组成与群体结构,运用STRUCTURE V2.11软件对41份狗尾草资源进行遗传类群划分。设置 $K=2\sim 11$ ,每个 $K$ 值运行5次,以每个 $K$ 值为横坐标, $\Delta K$ 值为纵坐标,做折线图。结果如图2、3所示: $K$ 值确定为3,

表 4 狗尾草资源的 3 类群体的群体特征分析

Table 4 Analysis for population characteristics of 3 groups of *Setaria viridis*

性状 Characters	群体 1 Group 1		群体 2 Group 2		群体 3 Group 3	
	平均值 Mean	变异系数/% Coefficient of variation	平均值 Mean	变异系数/% Coefficient of variation	平均值 Mean	变异系数/% Coefficient of variation
穗长/cm Panicle length	7.81	0.24	6.79	0.17	9.76	0.17
穗粗/cm Panicle diameter	1.49	0.16	1.49	0.19	1.63	0.16
穗数 Panicle number	65	0.46	45	0.46	112	0.77
刚毛长/cm Bristle length	0.71	0.12	0.69	0.22	0.92	0.20
单株干重/kg Dry weight per plant	0.10	0.79	0.06	0.38	0.22	0.69
株高/cm Height	122.94	0.19	105.05	0.15	135.52	0.14
千粒重/g 1 000-grain weight	0.30	0.13	0.33	0.31	0.37	0.41
上表皮气孔密度/(个/mm <sup>2</sup> ) Stomatal density of adaxial epidermis	87.02	0.17	87.50	0.15	82.42	0.20
下表皮气孔密度/(个/mm <sup>2</sup> ) Stomatal density of abaxial epidermis	87.45	0.12	86.81	0.09	84.03	0.15
叶脉密度/(cm <sup>-1</sup> ) Vein density	54.81	0.15	52.56	0.23	42.33	0.26
叶绿素含量(鲜重)/(mg/g) Chlorophyll content (FW)	42.06	0.14	44.36	0.13	41.41	0.14

表 5 20 个 SSR 标记多样性统计

Table 5 Diversity statistics of 20 SSR markers

名称 Name	主等位变异 频率 Major allele frequency	基因型 数目 Genotype No.	等位变异 数目 Allele No.	Shannon's 多样性指数 Shannon's diversity index	基因多样性 Gene diversity	杂合度 Heterozygosity	多态信 息含量 PIC
B186	0.50	7	5	1.31	0.65	0.33	0.60
B166	0.45	10	7	1.62	0.72	0.51	0.68
B241	0.76	4	5	0.71	0.39	0.02	0.34
B249	0.44	4	4	1.23	0.68	0	0.62
P3	0.33	11	6	1.51	0.75	0.8	0.71
B123	0.39	10	6	1.29	0.73	0.63	0.68
B269	0.24	15	7	1.79	0.84	0.83	0.82
B102	0.28	13	8	1.71	0.80	0.76	0.77
B171	0.33	5	5	0.94	0.73	0.89	0.68
B174	0.38	9	7	1.66	0.75	0.63	0.72
B153	0.40	12	6	1.47	0.73	0.66	0.69
B236	0.68	5	3	0.83	0.46	0.13	0.39

表5(续)

名称 Name	主等位变异 频率 Major allele frequency	基因型 数目 Genotype No.	等位变异 数目 Allele No.	Shannon's 多样性指数 Shannon's diversity index	基因多样性 Gene diversity	杂合度 Heterozygosity	多态信息 含量 PIC
B242	0.40	5	4	1.17	0.66	0.03	0.59
B246	0.33	13	6	1.62	0.77	0.59	0.73
B258	0.37	7	4	1.24	0.68	0.4	0.61
P29	0.46	13	7	1.59	0.72	0.61	0.68
P20	0.53	4	3	1.00	0.61	0.06	0.54
P59	0.64	4	3	0.68	0.47	0.22	0.37
P88	0.56	3	3	0.78	0.51	0	0.40
P4	0.48	4	3	1.01	0.61	0.07	0.53
平均值 Mean	0.45	8	5	1.26	0.66	0.41	0.61

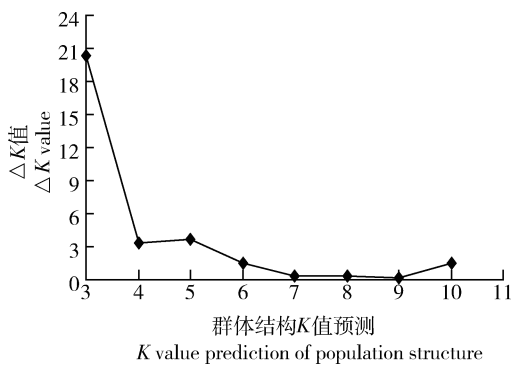


图2 狗尾草资源群体结构的最优 K 值确定

Fig. 2 Determination of the optimal value of K for population structure of *Setaria viridis* resources

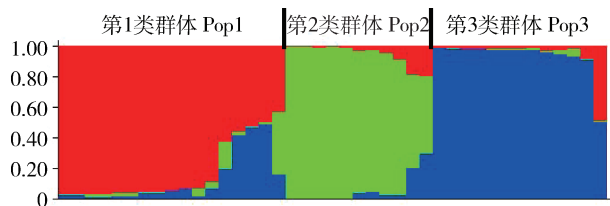


图3 41份狗尾草资源的群体遗传结构

Fig. 3 Population structure of 41 *Setaria viridis* resources

即将所有狗尾草资源划分为3个亚群,不同颜色代表不同群体,不同颜色所占的比例越大,则该资源被划分到相应群体的可能性就越大。红色代表第1类群体(Pop1),包括17份资源:吕梁(4)、阳泉(3)、朔州(3)、临汾(2)、长治(2)、忻州(1)、晋城(1)、大同(1);绿色代表第2类群体(Pop2),包括11份资源:阳泉(2)、运城(2)、长治(2)、太原(2)、朔州(1)、晋城(1)、

临汾(1);蓝色代表第3类群体(Pop3),包括13份资源:运城(4)、临汾(2)、吕梁(2)、忻州(2)、朔州(2)、晋中(1)。通过对不同群体狗尾草来源的分析,发现大多数来自同一地区的资源在3类群体中均有分布,即使是来源同一生态区划的狗尾草资源,也没有完全聚为一类,没有表现出明显的群体分类特征。

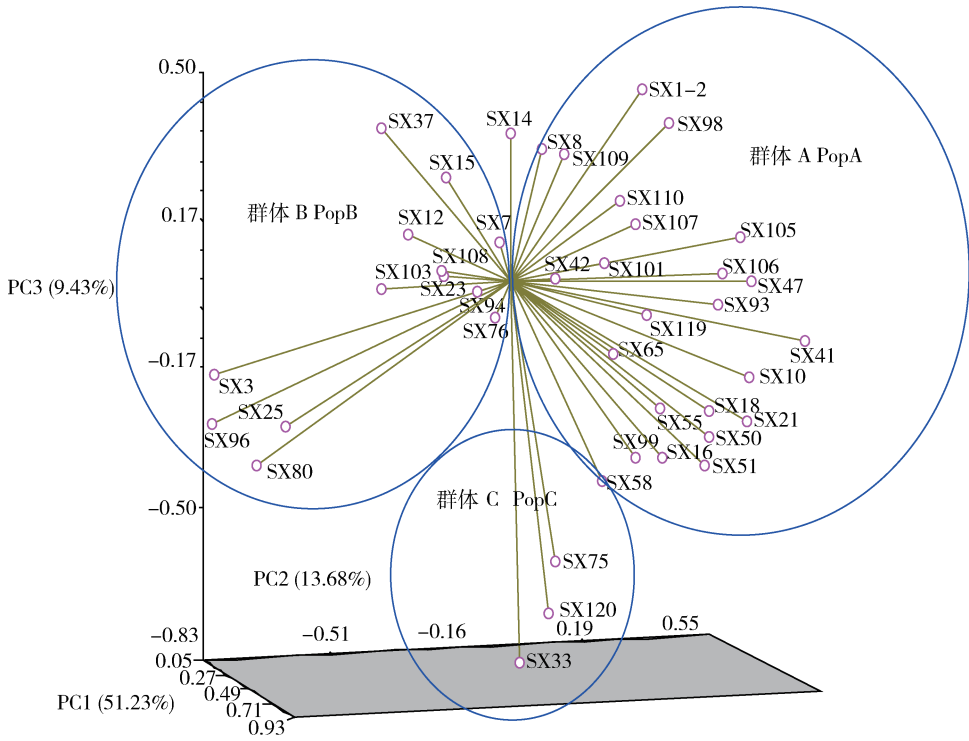
### 2.2.3 主成分分析

运用NTSYS-pc 2.10将41份材料进行主成分分析,结果如图4所示,狗尾草资源分为3个类群,群体A(PopA)、群体B(PopB)和群体C(PopC),其中A类群中包含的资源较多,主要分布于朔州、忻州、吕梁、临汾、运城等地,分析表明A类群的狗尾草资源主要来自盆地山地区和南部盆地区这2大生态地理区。

### 2.2.4 基于SSR标记的聚类分析

运用PowerMarker V3.5软件,对供试狗尾草资源进行UPGMA聚类。结果如图5所示,41份狗尾草资源聚为3类。第1类群体共3份资源,包括吕梁(1)、大同(1)、长治(1);第2类群体共12份资源,包括运城(2)、长治(2)、阳泉(2)、临汾(2)、太原(2)、朔州(1)、晋城(1);第3类群体共26份资源,包括吕梁(5)、朔州(5)、运城(4)、阳泉(3)、临汾(3)、忻州(3)、晋中(1)、晋城(1)、长治(1)。根据聚类结果可以看出,同一生态区划的狗尾草资源在3个类群中均有分布,表明41份狗尾草资源在山西省无明显地域聚类特征。





PC1、PC2 和 PC3 分别表示主成分 1、2 和 3；SX 表示狗尾草资源收集地山西，其后阿拉伯数字表示各个资源对应的编号。下图同。  
 PC1、PC2 and PC3 represent principal component 1, 2 and 3, respectively; SX represents the *Setaria viridis* resources were collected from Shanxi and the numeral followed represent corresponding number of each resource. The same below.

图 4 41 份狗尾草资源的主成分分析

Fig. 4 Principal component analysis (PCA) for 41 *Setaria viridis* resources

### 3 讨论

#### 3.1 表型多样性分析

本研究首次从株型、穗型以及叶型方面共 14 个表型指标对山西 41 份狗尾草资源进行了表型多样性分析。叶型方面，叶绿素含量遗传多样性指数最高(2.76)，高于任彦鑫<sup>[23]</sup>研究的全国 185 份青狗尾草资源叶绿素含量多样性指数(2.02)，同时也高于所调查的其他表型性状多样性指数(均不高于 2.10)，究其原因除了山西狗尾草本身该指标遗传多样性较高外，还可能由于二者供试的狗尾草资源数目差异较大，使得山西 41 份资源的代表性相对较高，进而表现出了较高的遗传多样性；此外，与光合特性密切相关的另外 2 个表型性状叶脉密度和上下表皮气孔密度也表现出了较高的遗传多样性，多样性指数依次为 1.90、1.97 和 2.01。遗传多样性越丰富，其可利用性就越大，因此可为高光合基因资源的发掘提供丰富材料来源。其次，穗型方面，与穗型相关的一些农艺性状如穗数、穗长、穗粗以及千粒重

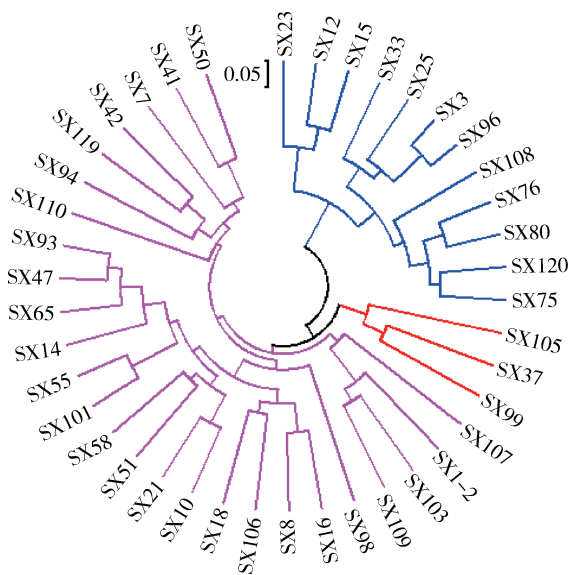


图 5 基于 SSR 标记的 41 份狗尾草资源聚类图

Fig. 5 Dendrogram of cluster analysis for 41 *Setaria viridis* resources based on SSR markers

等性状变异系数都较高,尤其是穗数(81.75%),可见这些材料在产量性状上有较高的变异潜力,可为定位相关基因提供丰富的材料。因为青狗尾草与谷子亲缘关系较近<sup>[3]</sup>,所以将山西青狗尾草表型多样性研究结果与已有的谷子表型遗传多样性相关研究结果进行比较,发现一些共同调查的农艺性状如株高、穗长、千粒重等,在变异系数上,野生遗传背景的青狗尾草要明显高于谷子育成品种甚至地方种;山西青狗尾草上述性状的多样性指数与全国范围的谷子资源相应表型性状的多样性指数并无明显差异,个别还高于后者<sup>[11-12,25]</sup>。可见,山西青狗尾草资源具有较高的表型多样性。同时,本研究也发现同一性状的多样性指数和变异系数表现趋势并不一致,这与闫峰等<sup>[10]</sup>在谷子农艺性状遗传多样性研究中得到的结果一致,因为二者虽均可描述性状变异情况,但多样性指数着重反映某一性状多样性的丰度和均匀度,而变异系数则反映的是某一性状的变异范围。

### 3.2 表型聚类及群体特征分析

本研究依据 14 个表型指标将青狗尾草资源聚为 3 类:第 1 类主要来自南部盆地生态地理区,青狗尾草群体表现为株高、穗数等整体指标居中;第 2 类主要来自盆地山地生态地理区,群体表现为植株较小、穗数少、单株干重低和叶脉密度大等;第 3 类主要集中于中东部盆地生态地理区,群体表现为植株高大、穗数多、穗重和单株干重高等。可见表型多样性与山西特定生态地理区有一定相关性。因为表型易受环境条件影响,不同生态区划降雨量、热量、光照等气候条件的差异造成了山西青狗尾草资源的表型多样性,如盆地山地生态地理区的全年大风日数与平均风速均高于南部盆地与中东部盆地<sup>[21]</sup>,青狗尾草株型偏小可能利于其生长及其对环境的适应;中东部盆地全年日照时数要高于南部盆地<sup>[21]</sup>,光照时间的延长利于青狗尾草光合产物的积累,从而提高其穗重及单株干重,这与阎洪波等<sup>[2]</sup>在青狗尾草遗传多样性研究中得出的青狗尾草间遗传差异同地理区域相关的结论一致。但部分来自同一市区的青狗尾草资源并未完全聚为一类,如 6 份收集于吕梁地区的资源,在第 2、第 3 类群体中均有分布,可能因为吕梁山脉贯穿全省,左侧主要为山地(包括离石区,柳林县等),右侧为太原盆地(包括汾阳市、孝义市等),使得同一地区分属不同的生态地理区划,进而造成了分类上的差异。此外,个别来源于同一生态区划的青狗尾草资源,未完全聚为一类,表明青狗尾草资源分布

广泛,虽表型多样性与特定生态地理区之间存在一定联系,但并不严格,地区与地区之间的界限并不明显。

### 3.3 SSR 标记遗传多样性及群体结构分析

利用筛选出的谷子的 20 对 SSR 引物,从分子水平对 41 份青狗尾草资源遗传多样性进行了分析。通过群体结构分析、主成分分析和 UPGMA 聚类分析 3 种方法,均将其分为 3 类。

首先,这 20 对谷子的 SSR 引物在青狗尾草资源中得以成功扩增,表明青狗尾草与谷子亲缘关系近,这与青狗尾草被认为是谷子祖先种的理论相一致<sup>[26]</sup>。20 对 SSR 引物共检测到 102 个等位变异,平均每个位点 5 个,基因多样性与 PIC 的平均值分别为 0.66 和 0.61。该结果小于 Jia 等<sup>[7]</sup>用 77 对 SSR 引物对全国各地的 288 个青狗尾草资源进行分析所得到的等位变异数(2 312 个),平均基因多样性值(0.9)与 PIC 值(0.9)等 SSR 多样性指标。造成这种差异的原因一方面可能是由于 2 项研究所用的试验材料在数量和来源范围上差异较大;另一方面则可能由于本研究所选的 20 个 SSR 标记本身多态性要低于 Jia 等<sup>[7]</sup>所筛选出的引物,因此揭示的青狗尾草资源的遗传变异水平有所局限。其次,表型聚类与 SSR 标记聚类并不一致。可能供试品种所适应的环境复杂多样,导致表型性状与 DNA 水平遗传相似性有所差异,这与张冬玲等<sup>[27]</sup>研究相似,当研究群体分布较广,其外界生态环境复杂多样时,表型水平可能不能真实地反映 DNA 水平,而呈现出表观遗传学特征;另一方面由于本研究所选用的 SSR 标记多分布于谷子第 9、7、1 号染色体,其他染色体标记并未涉及或涉及较少,难以较全面地反映青狗尾草资源的遗传差异,可能是造成表型与标记聚类结果不一致的原因之一。因此,在后续研究中,需收集更多的青狗尾草资源,并充分利用谷子中已经开发的大量 SSR 标记,增加试验所选标记数量,尽可能使其在各染色体的分布趋于均匀,来更加全面地揭示青狗尾草资源遗传多样性。最后,山西青狗尾草群体结构与地理分布不一致,每一类所包含的资源没有明显的地区性特点,分布较为分散,这与 Jia 等<sup>[7]</sup>在青狗尾草群体结构研究中得到的结果一致,即来自全国的 288 份青狗尾草资源也未呈现出明显地理区划的群体结构划分,由此推测青狗尾草混合的地理分布可能与人类或动物活动以及自然选择引起的种质混杂有关,但目前证据尚不充足。

## 参 考 文 献

- [1] 王永强, 智慧, 李伟, 李海权, 王永芳, 刁现民. 狗尾草属野生近缘种的染色体鉴定[J]. 植物遗传资源学报, 2007, 8(2): 159-164  
Wang Y Q, Zhi H, Li W, Li H Q, Wang Y F, Diao X M. Chromosome number identification of some wild *Setaria* species[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2007, 8(2): 159-164 (in Chinese)
- [2] 阎洪波, 黎裕, 王天宇, 石云素, 宋燕春, 马峙英, 周世良. 中国谷子主产区谷子近缘种狗尾草的遗传多样性[J]. 西北植物学报, 2003, 23(6): 926-932  
Yan H B, Li Y, Wang T Y, Shi Y S, Song Y C, Ma Z Y, Zhou S L. Genetic diversity of wild relatives of foxtail millet distributed in the major foxtail millet production regions of China[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2003, 23(6): 926-932 (in Chinese)
- [3] 李伟, 智慧, 王永芳, 李海权, 刘小静, 刁现民. SRAP 标记技术在谷子及其近缘野生种青狗尾草的应用分析[J]. 河北农业科学, 2010, 14(11): 68-72  
Li W, Zhi H, Wang Y F, Li H Q, Liu X J, Diao X M. Application of SRAP technology on foxtail millet and its wild relative green foxtail [J]. *Journal of Hebei Agricultural Sciences*, 2010, 14(11): 68-72 (in Chinese)
- [4] Diao X M, Schnable J, Bennetzen J L, Li J Y. Initiation of *Setaria* as a model plant[J]. *Frontier of Agricultural Science and Engineering*, 2014, 1(1): 16-20
- [5] Bennetzen J L, Schmutz J, Wang H, Percifield R, Hawkins J, Pontaroli A C, Estep M, Feng L, Vaughn J N, Grimwood J, Jenkins J, Barry K, Lindquist E, Hellsten U, Deshpande S, Wang X W, Wu X M, Mitros T, Triplett J, Yang X H, Ye C Y, Herrera M M, Wang L, Li P H, Sharma M, Sharma R, Ronald P C, Panaud O, Kellogg E A, Brutnell T P, Doust A N, Tuskan G A, Rokhsar D, Devos K M. Reference genome sequence of the model plant *Setaria*[J]. *Nature Biotechnology*, 2012, 30(6): 555-561
- [6] Jia G Q, Huang X H, Zhi H, Zhao Y, Li W J, Chai Y, Yang L F, Liu K Y, Lu H Y, Zhu C R, Lu Y Q, Zhou C C, Fan D L, Weng Q J, Guo Y L, Huang T, Zhang L, Lu T T, Feng Q, Hao H F, Liu H K, Lu P, Zhang N, Li Y H, Guo E H, Wang S J, Wang S Y, Liu J R, Zhang W F, Chen G Q, Zhang B J, Wang Y F, Li H Q, Zhao B H, Li J Y, Diao X M, Han B. A haplotype map of genomic variations and genome-wide association studies of agronomic traits in foxtail millet (*Setaria italica*) [J]. *Nature Genetics*, 2013, 45(8): 957-961
- [7] Jia G Q, Shi S K, Wang C F, Niu Z G, Chai Y, Zhi H, Diao X M. Molecular diversity and population structure of Chinese green foxtail [*Setaria viridis* (L.) Beauv] revealed by microsatellite analysis[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2013, 64(12): 3645-3655
- [8] Brutnell T P, Wang L, Swartwood K, Goldschmidt A, Jackson D, Zhu X G, Kellogg E, Eck J V. *Setaria viridis*: A model for C<sub>4</sub> photosynthesis[J]. *Plant Cell*, 2010, 22(8): 2537-2544
- [9] 王晓娟, 祁旭升, 王兴荣, 苏俊阳. 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): 129-133  
Wang X J, Qi X S, Wang X R, Su J Y. Analysis of genetic diversity of local germplasm resources for foxtail millet in Gansu[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2009, 27(6): 129-133 (in Chinese)
- [10] 闫锋, 崔秀辉, 李清泉, 王成, 曾玲玲, 刘峰, 季生栋. 谷子农艺性状的遗传多样性分析[J]. 湖南农业科学, 2010(3): 8-9, 12  
Yan F, Cui X H, Li Q H, Wang C, Zeng L L, Liu F, Ji S D. Genetic diversity analysis of millet based on agronomic traits [J]. *Hunan Agricultural Sciences*, 2010(3): 8-9, 12 (in Chinese)
- [11] 陈晓敏, 赵云昆, 郭世华. 谷子农艺性状的聚类 and 主成分分析[J]. 内蒙古农业科技, 2013(2): 30-32  
Chen X M, Zhao Y K, Guo S H. Cluster and principal analysis of agronomic characteristics on foxtail millet [J]. *Inner Mongolia Agricultural Science and Technology*, 2013(2): 30-32 (in Chinese)
- [12] 李晓宇, 王昆鹏, 刘迎春, 张一波. 谷子主要农艺性状分析[J]. 内蒙古农业大学学报, 2015, 36(2): 26-30  
Li X Y, Wang K P, Liu Y C, Zhang Y B. Analysis on the agronomic traits of millet [J]. *Journal of Mongolia Agricultural University*, 2015, 36(2): 26-30 (in Chinese)
- [13] Jia X P, Zhang Z B, Liu Y H, Zhang C W, Shi Y S, Song Y C, Wang T Y, Li Y. Development and genetic mapping of SSR markers in foxtail millet [*Setaria italica* (L) P Beauv][J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2009, 118(4): 821-829
- [14] Wang C F, Chen J F, Zhi H, Yang Lu, Li W, Wang Y F, Li H Q, Zhao B H, Chen M S, Diao X M. Population genetics of foxtail millet and its wild ancestor[J]. *BMC Genetics*, 2010, 11(1): 90
- [15] Zhang S, Tang C J, Zhao Q, Li J, Yang L F, Qie L F, Fan X K, Li L, Zhang N, Zhao M C, Liu X T, Chai Y, Zhang X, Wang H L, Li Y T, Li W, Zhi H, Jia G Q, Diao X M. Development of highly polymorphic simple sequence repeat markers using genome-wide microsatellite variant analysis in foxtail millet [*Setaria italica* (L) P Beauv][J]. *BMC Genomics*, 2014, 15: 78
- [16] 杨天育, 牟平, 孙万仓, 何继红, 董孔军. 中国北部高原地区谷子品种遗传差异的 SSR 分析[J]. 西北植物学报, 2010, 30(9): 1786-1791  
Yang T Y, Mou P, Sun W C, He J H, Dong K J. Genetic variation of foxtail millet cultivars in north plateau region of China by SSR markers[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2010, 30(9): 1786-1791 (in Chinese)
- [17] 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[J]. 植物遗传资源学报, 2010, 11(6): 698-702  
Zhu X H, Zhang Y H, Song Y C, Zhao Z H, Liu Z Z, Shi Y S,

- Li Y, Wang T Y. Genetic diversity analysis of foxtail millet accessions revealed by SSR markers[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2010, 11(6): 698-702 (in Chinese)
- [18] Kim E J, Sa K J, Park K C, Lee J K. Study of genetic diversity and relationships among accessions of foxtail millet [*Setaria italica* (L) P Beauv] in Korea, China and Pakistan using SSR markers[J]. *Genes & Genomics*, 2012, 34(5): 529-538
- [19] Lin H S, Chiang C Y, Chang S B, Kuoh C S. Development of simple sequence repeats (SSR) markers in *Setaria italica* (Poaceae) and cross-amplification in related species [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2011, 12(11): 7835-7845
- [20] 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)] [J]. *DNA Research*, 2013, 20(2): 197-207
- [21] 韩锦涛, 韩黄英, 李素清. 山西省生态地理区划[J]. 中国农业资源与区划, 2008, 29(1): 17-20
- Han J T, Han H Y, Li S Q. Regional planning for ecological and geographic regions of Shanxi Province[J]. *Chinese Journal of Agricultural Resources and Regional Planning*, 2008, 29(1): 17-20 (in Chinese)
- [22] Wang C F, Jia G Q, Zhi H, Niu Z G, Chai Y, Li W, Wang Y F, Li H Q, Lu P, Zhao B H, Diao X M. Genetic diversity and population structure of Chinese foxtail millet [*Setaria italica* (L) Beauv] landraces[J]. *G3-Genes Genomes Genetics*, 2012, 2(7): 769-777
- [23] 任彦鑫. 中国青狗尾草遗传多样性研究[D]. 太谷: 山西农业大学, 2014
- Ren Y X. Genetic diversity of green millet in China[D]. Taigu: Shanxi Agricultural University, 2014 (in Chinese)
- [24] Pritchard J K, Stephens M, Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data[J]. *Genetics*, 2000, 155(2): 945-959
- [25] 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
- Tian B H. Genetic diversity of landrace and improved cultivars in foxtail millet[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2010, 11(2): 224-228 (in Chinese)
- [26] Li H W, Li C H, Pao W K. Cytogenetical and genetical studies of the interspecific cross of the cultivated foxtail millet, *Setaria italica* (L) Beauv and the green foxtail millet *S. viridis* (L) Beauv[J]. *Journal of American Society Agronomy*, 1945, 37: 32-54
- [27] 张冬玲, 张洪亮, 魏兴华, 齐永文, 王美兴, 孙俊立, 丁立, 汤圣祥, 裴宗恩, 曹永生, 王象坤, 李自超. 贵州栽培稻的遗传结构及其遗传多样性[J]. 科学通报, 2006, 51(23): 2747-2754
- Zhang D L, Zhang H L, Wei X H, Qi Y W, Wang M X, Sun J L, Ding L, Tang S X, Qiu Z E, Cao Y S, Wang X K, Li Z C. Genetic structure and genetic diversity of *Oryza sativa* L in Guizhou[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2006, 51(23): 2747-2754 (in Chinese)

责任编辑: 杨爱东