

研究报告

A Letter

78 份高粱种质的遗传关系和遗传结构解析

张春宵^{1*}, 王晶^{2,1*}, 杨德光², 郝彩环³, 周海涛³, 王凤华³, 李晓辉¹

1. 吉林省农业科学院生物技术研究中心, 长春, 130033
 2. 东北农业大学农学院, 哈尔滨, 150030
 3. 吉林省农业科学院/农业部植物新品种测试公主岭分中心, 公主岭, 136100
- *共同第一作者

✉ 通讯作者: wfh1234@163.com; lixiaohui2002lix@163.com ✉ 作者

分子植物育种, 2012 年, 第 10 卷, 第 37 篇 doi: 10.5376/mpb.cn.2012.10.0037

收稿日期: 2012 年 05 月 24 日

接受日期: 2012 年 06 月 06 日

发表日期: 2012 年 07 月 31 日

这是一篇采用 Creative Commons Attribution License 进行授权的开放取阅论文。只要对本原作有恰当的引用, 版权所有人允许并同意第三方无条件的使用与传播。

引用格式(中文):

张春宵等, 2012, 78 份高粱种质的遗传关系和遗传结构解析, 分子植物育种(online) Vol.10 No.37 pp.1265-1277 (doi: 10.5376/mpb.cn.2012.10.0037)

引用格式(英文):

Zhang et al., 2012, Analysis of Genetic Relationship and Genetic Structure Among 78 Sorghum Accessions, Fenzi Zhiwu Yuzhong (online) (Molecular Plant Breeding) Vol.10 No.37 pp.1265-1277 (doi: 10.5376/mpb.cn.2012.10.0037)

摘要 本研究利用筛选确立的 41 对 SSR 引物对 78 份高粱材料(常规种和地方品种)进行遗传关系和遗传结构分析, 并对遗传距离聚类法和模型聚类法进行比较。结果表明: 模型聚类法更适用于高粱的遗传关系研究。根据模型聚类的结果, 78 份高粱材料可归属为 I、II、III 和 IV 共 4 个类群。第 II 类群与第 I 类群、第 IV 类群都有明显的重叠区域, 说明该群中有部分材料含有其它类群的遗传成分。第 I 类群和第 II 类群间的遗传关系最为接近, 与第 IV 类群的遗传关系最远。根据各群间遗传关系的远近, 4 个群可以简化为 A (I 群, II 群)、B (III 群)、C (IV 群) 3 个类群, 也可以进一步简化为 A (I, II, III 群)、B (IV 群) 2 个类群。本研究结果对融合多种高粱优良基因的基础群体的构建, 对现存的高粱杂种优势模式的简化, 有目标的高效定向高粱育种提供了理论依据。

关键词 高粱; 遗传关系; 遗传结构; 遗传距离聚类; 模型聚类

Analysis of Genetic Relationship and Genetic Structure Among 78 Sorghum Accessions

Zhang Chunxiao^{1*}, Wang Jing^{2,1*}, Yang Deguang², Hao Caihuan³, Zhou Haitao³, Wang Fenghua³, Li Xiaohui¹

1. Center of Agri-Biotechnology, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun, 130033
2. College of Agronomy, Northeast Agricultural University, Harbin, 150030
3. Gongzhuling Station for Testing of New Varieties of Plant, MOA, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Gongzhuling, 136100

*These authors contributed equally to this paper

✉ Corresponding author, wfh1234@163.com; lixiaohui2002lix@163.com; ✉ Authors

Abstract In this study, the screened 41 pairs of SSR were used to analyze the genetic relationships and genetic structure in 78 sorghum materials (conventional varieties and landraces), and genetic distance clustering and model clustering method were compared. The results showed that the model clustering method is more applicable to the sorghum genetic relationship. According to the results of the model cluster, the 78 sorghum materials can be designated to four groups, namely I, II, III and IV. There are significant overlapping regions between Group II to Group I or IV, indicating that the the material in Group I contains the genetic composition of the other groups. The genetic relationship between the Group I and II is the closest, whereas the genetic relationship between the Group I and IV is the most far. According to the proximity of the genetic relationships between each group, four groups can be simplified to A (group I, group II), B (group III) and C groups (group IV), but also can be further simplified to A (group I, II, III), B (group IV). The results of this study provide a theoretical basis for constructing the sorghum foundational population by integration of excellent genes, simplifying existing sorghum heterotic patterns, as well as for targeted and efficient directional sorghum breeding.

Keywords Sorghum; Genetic relationship; Genetic structure; Distance-based cluster; Model-based cluster

研究背景

高粱在中国分布极广, 几乎中国各地均有种

植, 但主产区却主要集中在秦岭、黄河以北, 特别是长城以北。由于高粱栽培区的气候、土壤、栽培

制度的不同,栽培品种的多样性特点也不一样,故高粱的分布与生产带有明显的区域性,中国分为 4 个栽培区:春播早熟区、春播晚熟区、春、夏兼播区和南方区。

目前,生产上所应用的亲本系大多属于中国高粱和印度高粱,高粱种质的遗传基础较为狭窄,高粱可利用的育种材料贫乏,杂种优势的利用模式陈旧,最终导致杂交育种难度大。因此,应该利用现代分子生物学技术研究不同生态型,对现有的种质加以改良和利用(高士杰, 2006, 作物杂志, 3: 11-13)。基于高粱种质类群的遗传多样性及其类群间遗传关系的研究,不仅可以对高粱种质进行改良,确定杂种优势的模式,对其育种效率的提高也具有积极意义(吴承来等, 2010)。

分子标记已被证明在遗传关系分析上是一种强有力的工具。与其它的遗传标记相比,SSR 标记具有均匀的基因组覆盖、高水平的多态性和共显性遗传模式(Tautz, 1989),因此,被广泛应用于玉米、高粱等各类农作物品种间遗传差异和多样性研究(吴承来等, 2010; 余传涨等, 2010)。依据 SSR 分子标记进行种质聚类时,主要有距离聚类法和模型聚类法。距离聚类法主要是基于遗传距离,通过 NJ、ME 或是 UPGMA 法进行聚类,这种方法已经广泛用于高粱、玉米等农作物的遗传关系研究(余传涨等, 2010; 赵香娜等, 2010; 孙友位, 2007)。而模型聚类法则是通过设置参数模型运用标准算法(如最大似然法,贝叶斯法等),对个体的归属群进行推断(吴承来等, 2010)。Pritchard 等(2000)通过模型聚类法(STRUCTURE 软件)分析群体遗传结构。此法可以由供试材料的遗传成分进行聚类。

前人已对高粱种质间的遗传关系进行了很多研究,但是同时使用距离聚类法和模型聚类两种方法进行遗传关系分析及化简杂种优势群和杂种优势模式的报道目前尚无。本研究采用 SSR 标记并利用上述两种聚类方法,对 78 份(常规种,地方品种)高粱分别进行聚类分析,探究高粱试材的遗传结构及其类群间的遗传关系,试验结果将为高粱杂种优势群的划分和简化,有目的的改良高粱种质,进一步提高杂交种选育效率提供理论依据。

1 结果分析

1.1 78 份高粱材料的遗传关系和遗传结构

1.1.1 UPGMA 聚类

利用 41 对 SSR 引物共标记出 193 个等位基因,

利用这 193 个等位基因对 78 份材料(42 份常规品种和 36 份地方品种)进行 GS 中心化聚类分析,供试材料可以划分为 2 个类群(图 1),A 类群有 2 个亚群,B 类群有 2 个亚群(表 1)。同时表明,A 类群的第 II 亚群与 B 类群的第 II 亚群种质间的遗传进化关系接近。

1.1.2 基于 N-J、ME 和 UPGMA 法进化树分析

根据 Nei 遗传距离(GD)对 78 份高粱材料进行系统发育树的重建(图 2)。NJ、ME 和 UPGMA 法进化树构建的结果表明,可以将 78 份高粱材料划分为 2 个种质类群,种质类群划分结果与 UPGMA 聚类基本一致。

1.1.3 模型聚类和遗传结构分析

78 份高粱材料的混合模型遗传结构分析结果表明,类群数 K,由似然值可以推测出 $K > 3$,由于当 $K=3$ 时,似然值明显升高,而且缺少了个别亚群,说明亚群数可能大于 3。而 $K > 4$ 时的似然值,较 $K=4$ 的似然值有极小的增长。当 K 取不同值(2~10)时,Ln(P)随着 K 值的增大而连续升高,当 $K=4$ 时,变化幅度趋于平缓(图 3-A),并取得较稳定的 α 值(图 3-B)。结合以上划分结果,可以得出 K 取值为 4 是合理的,即 78 份高粱材料划分为 4 个类群。与 UPGMA、系统发育树重建方法划分结果也基本吻合。

当 $K=4$ 时,将 78 份高粱材料分为地方品种(I)、地方品种衍生的自交系(II)、新疆品种(III)、国外品种(IV)共 4 个亚类(图 4)。

若 78 份高粱材料适合划分为较少的潜在类群,也可以应用 STRUCTURE 软件对较少的类群数($K=2, 3$)进行聚类,最适合似然值出现在 $K=3$ 时,同时也说明 $K=4$ 与 $K=3$ 时的似然值相比, $K=4$ 时的似然值更为适合,因此说明 78 份高粱材料的确包含 4 个亚群。当 $K=2$ 被允许时,78 份高粱材料主要是依据地理起源进行聚类的。将 I、II 合为 A 类群,III、IV 合为 B 类群(图 4)。A 类群为地方品种及其衍生的自交系,B 类群为国外品种及亲本具有国外品种的新疆品种。如第 II 亚群的 0-30 是(分枝大红穗×晋梁五)×4003 后选育的自交系,很显然与第 I 亚群的晋梁 5 号具有极相近的血缘关系。第 II 亚群的铁恢 208 为 6060×(铁紧穗×晋 57-1)后选育的自交系,显然铁紧穗为地方品种,因此铁恢 208 与地方品种具有极相近的血缘关系。又如第 II 亚群的三尺三为山西地方品种选育的自交系,辽恢 115 为辽宁自选系,铁恢 157 为铁岭自选系等,

表 1 78 份高粱材料的 UPGMA 聚类结果

Table 1 The UPGMA clustering results of 78 sorghum materials

组	高粱材料		组	高粱材料		组	高粱材料		
Group	Sorghum materials		Group	Sorghum materials		Group	Sorghum materials		
	编号	名称	编号	名称	编号	名称	名称		
	No.	Name	No.	Name	No.	Name	Name		
I (29)	1	阿克苏扫帚高粱 Akesusaozhou sorghum	I (29)	24	饭高粱 Fan sorghum	III(10)	50	沙湾扫把绸子高粱 Shawan saobachouzi gaoliang	
	2	库尔勒高秆大高粱 Kuerlegaoganda sorghum		25	绿高粱 Lv sorghum		51	乌恰白高粱 Wuqiabai sorghum	
	3	二老鸽座 Erlaoguzuo		26	黄克黄米高粱 Huangkehuangmi sorghum		52	传种高粱 Chuanzhong sorghum	
	4	大黄壳 Dahuangke		27	多头高粱 Duotou sorghum		53	S.bicolor holcus	
	5	红圪 Hongge		28	低晋 5 Dijin5		54	笱帚高粱 Tiaozhou sorghum	
	6	北京二号 Beijingerhao		29	晋梁 5 号 Jiliang5hao		IV(24)	55	乌鲁木齐高粱 Wulumuqi sorghum
	7	小粘棒 Xiaonianbang		30	晋福 1 号 Jinfulhao			56	吉 R13 JiR13
	8	绿苗 Lv miao		31	0-30			57	v4B
	9	黑黄棒子 Heihuangbangzi		32	5-27			58	F4B
	10	散穗红壳 Sansuihongke		33	135B			59	TAM428A
	11	合恢 8 号 Hehui8hao		34	4003	60		TX430	
	12	平顶香 Pingdingxiang		35	铁恢 208 Tiehui208	61		甜选 44 Tianxuan44	
	13	克恢 22 号 Kehui22hao		36	南 133R Nan133R	62		TX622B	
	14	小白高粱 Xiaobai sorghum		37	辽恢 115 Liaohui115	63		英国高粱 England sorghum	
	15	黑壳白粘高粱 Heikebainian sorghum		38	铁恢 157 Tiehui157	64		埃塞 45 Aisai45	
	16	小散码 Xiaosanma		39	吉 L116R JiL116R	65	7501B		
	17	洋大粒 Yangdali		40	7413-24	66	232EB		
	18	小金棒锤 Xiaojinbangchui		III(10)	41	7788	67	吉 4190A Ji4190A	
					42	三尺三 Sanchisan	68	吉 352A Ji352A	
	19	长毛红高粱 Changmaohong sorghum		43	43	吉恢 7384 Jihui7384	69	Sg 1681	
					44	R5933	70	QL33B	
	20	大中粘高粱 Dazhongnian sorghum		44	44	沙湾白高粱 Shawanbai sorghum	71	3148A	
					45	吐鲁番大白高粱 Tulufandabai sorghum	72	314A	
21	大青料高粱 Daqingliao sorghum	45	45	吐鲁番小高粱 Tulufanxiao sorghum	73	314B			
			46	吐鲁番密穗高粱 Tulufanmisui sorghum	74	铁恢 6 号 Tiehui6hao			
22	榆皮黄 Yupihuang	46	46	吐鲁番甜高粱 Tulufantian sorghum	75	黑 11B Hei11B			
			47	吐鲁番甜高粱 Tulufantian sorghum	76	黑 11A Hei11A			
23	白平 Baiping	47	47	吐鲁番密穗高粱 Tulufanmisui sorghum	77	黑 30B Hei30B			
			48	吐鲁番甜高粱 Tulufantian sorghum	78	黑 30A Hei30A			

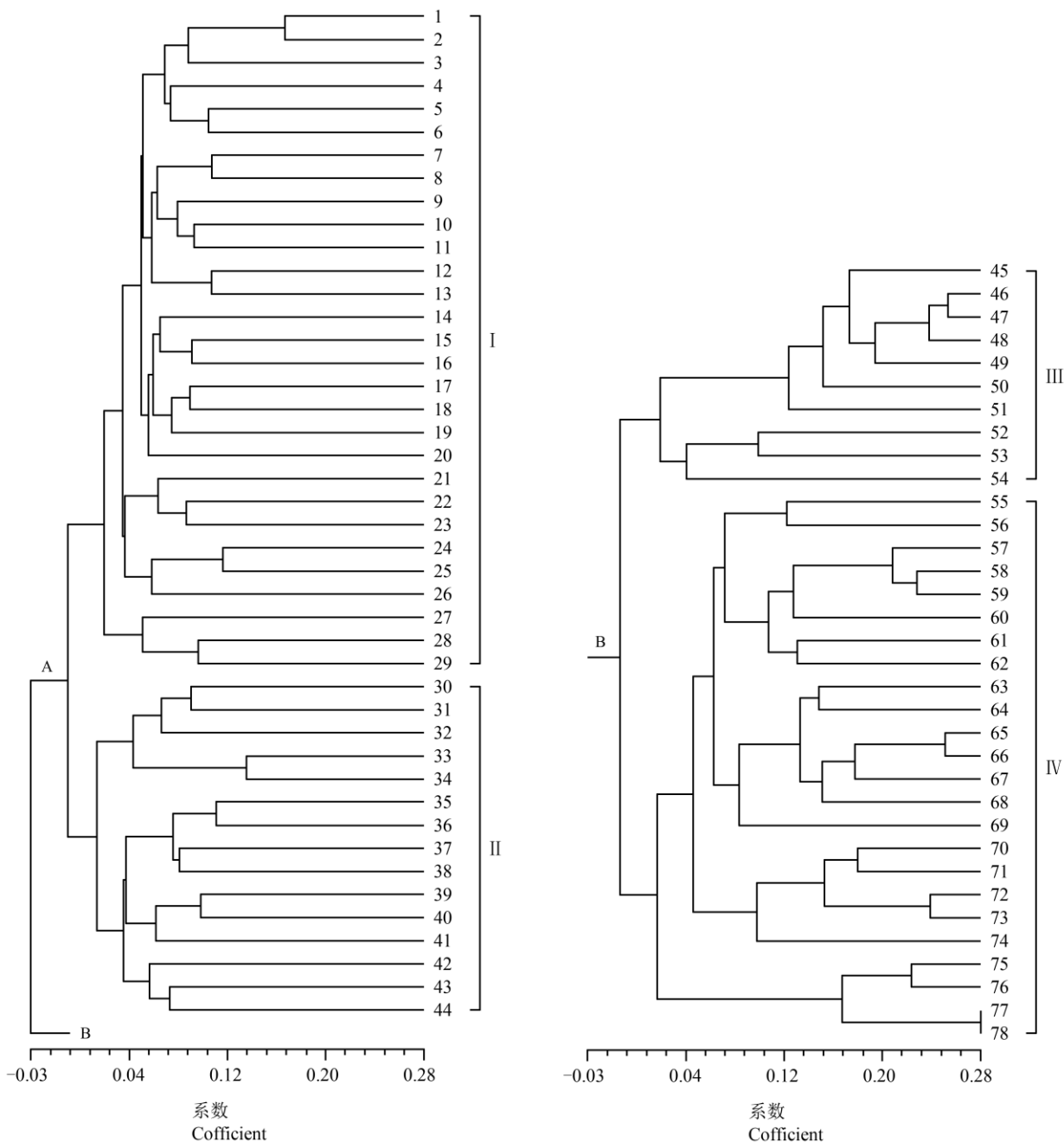


图 1 根据遗传相似矩阵(中心化)对 42 份常规种和 36 份地方品种的 UPGMA 聚类
注: A: 类群 A; B: 类群 B

Figure 1 Association among 78 sorghum materials including 42 conventional cultivars and landraces revealed by UPGMA clustering analysis ansed on the centered genetic similarity coefficients generated by 41 pairs of SSR

Note: A: group A; B: group B

根据以上示例表明, 第 II 亚群与第 I 亚群具有极相近的血缘关系, 因此将这两个亚群归为 A 类群。

第 III 亚群的新疆品种虽是属于中国的地方品种, 但是中国新疆的高粱最初是由国外引入的, 与第 IV 亚群的国外品种具有很近的亲缘关系。因此将其分为一类。其结果与 STRUCTURE 软件得到各群

的无根进化树(图 5)的结果一致。黄色、绿色部分为一类, 红色、蓝色为一类。

由 STRUCTURE 软件得到的 Q 值(表 2)可以看出各高粱材料不同亚群遗传成分多少。根据最大 Q 值分布(表 3), 78 份高粱材料中有 6 份材料小于 0.6, 占总材料数的 7.7%; Q 值大于 0.8 和 0.9 的材料占

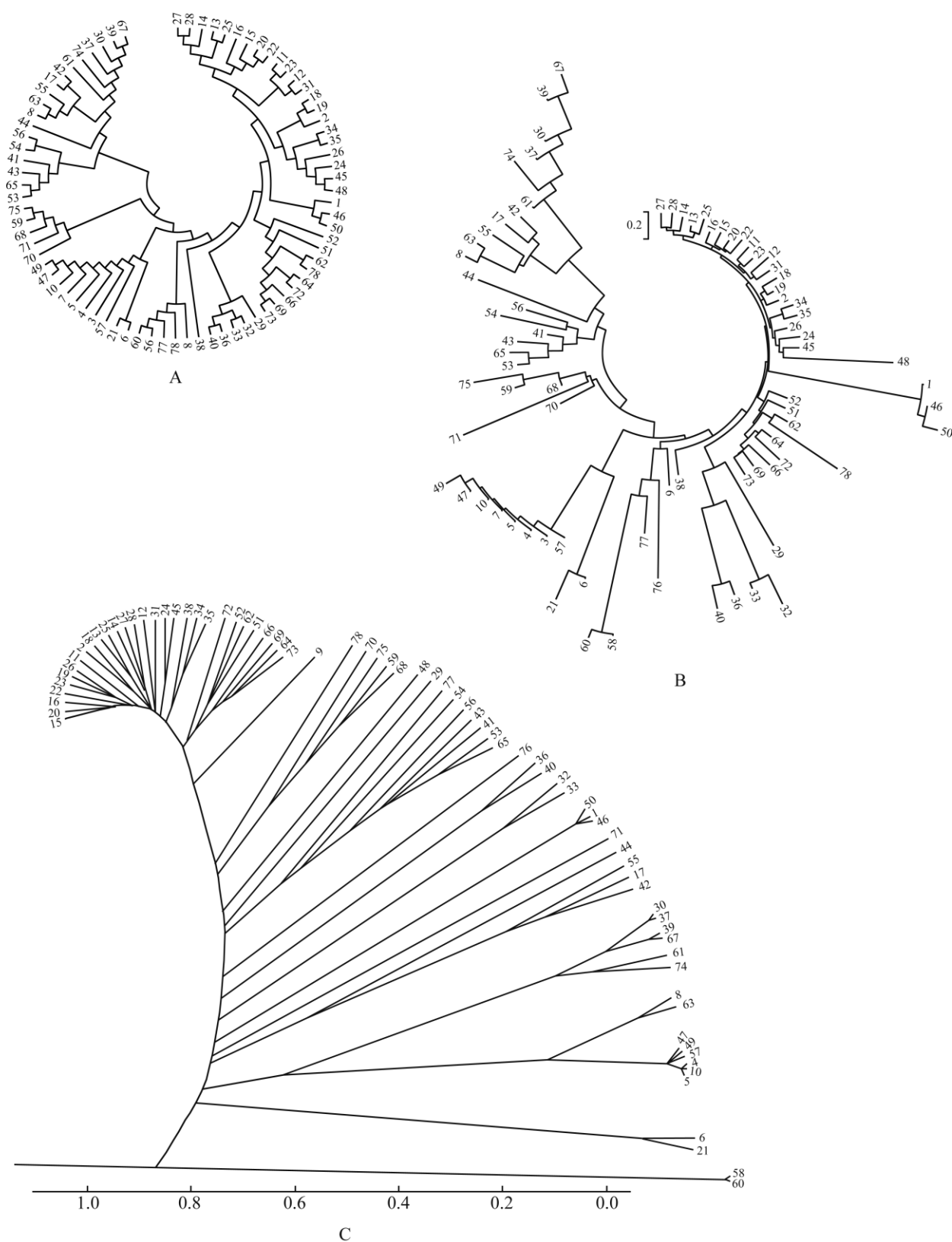


图 2 进化树分析

注: A: N-J 法构建的进化树; B: 基于 Nei 遗传距离的 ME 法系统进化树; C: UPGMA 法构建的系统进化树

Figure 2 The analysis of phylogenetic tree

Note: A: The phylogenetic tree generated by NJ methods; B: The phylogenetic tree generated by the ME method with Nei GD; C: The phylogenetic tree generated by the UPGMA

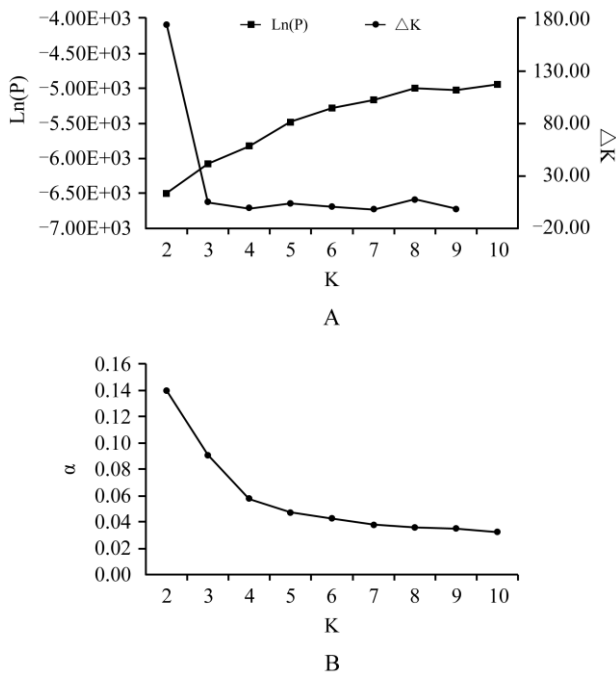


图 3 取不同 K 值时的 Ln(P), ΔK 、 α 值的变化情况
注: A: Ln(P), ΔK ; B: α
Figure 3 The changes of Ln(P), ΔK , and α values varied with different K values (1~10)
Note: A: Ln(P), ΔK ; B: α

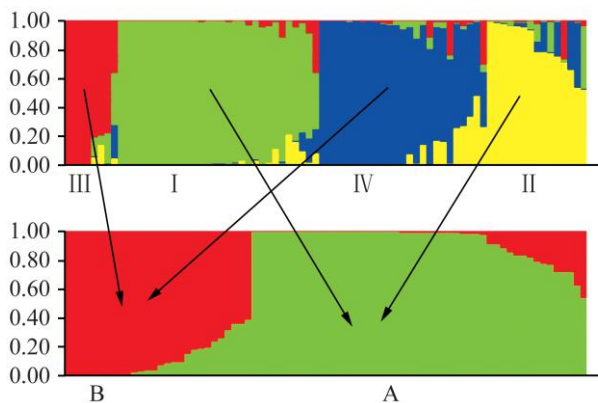


图 4 基于 SSR 标记的 78 份高粱材料的遗传结构比较(K=4 变为 K=2)
Figure 4 Comparison of genetic structure among 78 sorghum materials assessed by STRUCTURE based on 41 pairs of SSR (k=4 changed to K=2)

74.4 和 60.3, 说明各群中有部分材料含有其他类群的遗传成分, 其中晋福 1 号含有 48.8% 的 I 群种质和 50.3% 的 III 群种质, 三尺三含有 48.6% 的 I 群种质和 49.7% 的 IV 群种质, 传种高粱含有 38.6% 的 II 群种质和 33.8% 的 IV 群种质, 铁恢 6 号含有 55.1% 的 I 群种质和 43.6% 的 III 群种质。

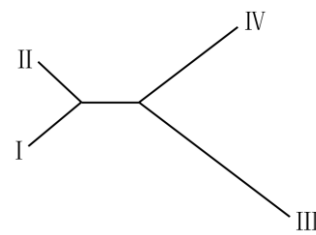


图 5 模型聚类的各群的无根进化树
Figure 5 Rootless phylogenetic tree of groups based on Model-based cluster

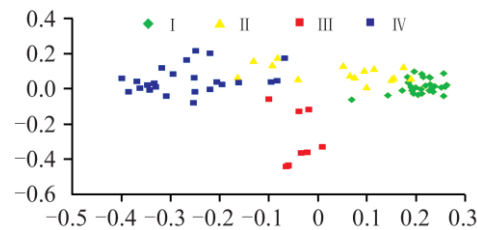


图 6 基于模型聚类的 78 份高粱材料遗传成分(Q 值)的 PCO 分析
Figure 6 PCO graph of 78 sorghum materials on genetic components (Q-value) by model-based

1.2 高粱各类群的遗传多样性和类群间遗传关系分析

1.2.1 各类群的遗传多样性分析

分析表明(表 4), IV 群在等位变异数、有效等位变异数、Shannon-Weaver 多样性指数和期望杂合度四个方面在四个亚群中均属最高, 而遗传固定指数相对其他亚群较高, 说明该群的遗传多样性高, 遗传分化程度较明显。I 类群的遗传多样性较高, 但其遗传分化程度最明显(0.763 1)。II 类的遗传多样性及遗传分化程度均较高。III 类群的等位变异数、有效等位变异数、Shannon-Weaver 指数在四个亚群中最低, 遗传固定指数也最低, 这说明 III 类群具有遗传多样性低、遗传分化程度低、遗传特点不明显等特点。

1.2.2 各类群的遗传关系

由表 5 可以看出, 各类群间的遗传相似系数均较低。相比之下, 第 I 类群和第 II 类群间的遗传相似系数最大(0.300 7)。表明四个类群间, 第 I 类群和第 II 类群的遗传关系最为接近, 与第 IV 类群的遗传相似系数最小, 表明第 I 类群与第 IV 类群的遗传关系最远。第 II 类群与第 IV 类群的遗传相似系数较大(0.294 9)。从图 6 可以看出, 第 II 类群与第 I 类群、第 IV 类群都有明显的重叠区域, 说明该群中有

表 2 42 份常规种和 36 份地方品种及其 Q 值

Table 2 Q-values of 42 conventional varieties and 36 landrace

材料	I	II	III	IV	材料	I	II	III	IV
Material					Material				
阿克苏扫帚高粱	0.002	0.003	0.001	0.994	低晋 5	0.028	0.067	0.171	0.734
Akesusaozhou sorghum					Dijin5				
库尔勒高秆大高粱	0.003	0.003	0.002	0.992	TX430	0.237	0.002	0.738	0.023
Kuerlegaoganda sorghum					黄壳黄米高粱	0.118	0.015	0.111	0.755
沙湾白高粱	0.03	0.787	0.003	0.181	Huangkehuangmi sorghum				
Shawanbai sorghum					甜选 44	0.088	0.002	0.881	0.029
沙湾扫把绸子高粱	0.127	0.78	0.002	0.091	Tianxuan44				
Shawansaobachouzigaoliang					晋福 1 号	0.488	0.002	0.503	0.008
吐鲁番大白高粱	0.002	0.996	0.001	0.001	Jinfu1hao				
Tulufandabai sorghum					英国高粱	0.19	0.01	0.767	0.033
吐鲁番甜高粱	0.003	0.995	0.001	0.001	England sorghum				
Tulufantian sorghum					S.bicolor holcus	0.204	0.293	0.403	0.1
吐鲁番小高粱	0.002	0.994	0.001	0.003	埃塞 45	0.005	0.002	0.986	0.007
Tulufanxiao sorghum					Aisai45				
乌鲁木齐高粱	0.022	0.231	0.716	0.031	Sg 1681	0.008	0.166	0.786	0.039
Wulumuqi sorghum					榆皮黄	0.104	0.015	0.001	0.879
乌恰白高粱	0.069	0.8	0.005	0.125	Yupihuang				
Wuqiabai sorghum					铁恢 208	0.986	0.003	0.003	0.008
吐鲁番密穗高粱	0.002	0.994	0.001	0.003	Tiehui208				
Tulufanmisui sorghum					5-27	0.727	0.002	0.268	0.003
大黄壳	0.004	0.041	0.005	0.951	白平	0.200	0.003	0.002	0.794
Dahuangke					Baiping				
小白高粱	0.032	0.002	0.003	0.963	QL33B	0.002	0.005	0.991	0.002
Xiaobai sorghum					314A	0.005	0.003	0.945	0.047
小粘棒	0.002	0.002	0.002	0.993	三尺三	0.486	0.016	0.001	0.497
Xiaonianbang					Sanchisan				
平顶香	0.004	0.003	0.002	0.990	晋梁 5 号	0.129	0.025	0.005	0.841
Pingdingxiang					Jiliang5hao				
洋大粒	0.004	0.007	0.003	0.987	7501B	0.002	0.004	0.993	0.002
Yangdali					TX622B	0.012	0.021	0.958	0.009
二老鸱座	0.005	0.003	0.005	0.988	吉 4190A	0.006	0.011	0.981	0.002
Erlaoguzuo					Ji4190A				
传种高粱	0.164	0.386	0.112	0.338	吉 352A	0.006	0.017	0.971	0.005
Chuanzhong sorghum					Ji352A				
红圪	0.014	0.007	0.002	0.977	吉 L116R	0.954	0.002	0.001	0.043
Hongge					JiL116R				
北京二号	0.003	0.002	0.001	0.994	黑 11B	0.263	0.013	0.705	0.019
Beijingerhao					Hei11B				
小金棒锤	0.005	0.007	0.002	0.987	314B	0.007	0.002	0.987	0.004
Xiaojinbangchui					黑 30B	0.109	0.011	0.847	0.032
大中粘高粱	0.004	0.003	0.001	0.992	Hei30B				
Dazhongnian sorghum					7413-24	0.804	0.017	0.049	0.13
长毛红高粱	0.003	0.003	0.002	0.991	7788	0.754	0.012	0.003	0.231
Changmaohong sorghum					吉 R13	0.016	0.005	0.885	0.094
黑壳白粘高粱	0.004	0.002	0.001	0.993	JiR13				
Heikebainian sorghum					辽恢 115	0.936	0.003	0.002	0.059
大青料高粱	0.022	0.003	0.002	0.973	Liaohui115				
Daqingliao sorghum					232EB	0.003	0.004	0.992	0.002

续表 2

Continuing table 2

材料	I	II	III	IV	材料	I	II	III	IV
Material					Material				
绿苗	0.01	0.002	0.002	0.986	铁恢 157	0.973	0.011	0.012	0.004
Lvmiao					Tiehui157				
黑黄棒子	0.006	0.031	0.002	0.961	F4B	0.011	0.002	0.985	0.002
Heihuangbangzi					铁恢 6 号	0.551	0.006	0.436	0.007
散穗红壳	0.004	0.002	0.001	0.993	Tiehui6hao				
Sansuihongke					0-30	0.974	0.01	0.011	0.006
合恢 8 号(R)	0.003	0.003	0.002	0.992	135B	0.853	0.005	0.139	0.003
Hehui8hao(R)					4003	0.837	0.006	0.153	0.004
克恢 22 号(R)	0.027	0.037	0.002	0.935	吉恢 7384	0.986	0.003	0.005	0.005
Kehui22hao(R)					Jihui7384				
v4B	0.014	0.005	0.964	0.017	南 133R	0.986	0.002	0.002	0.01
小散码	0.01	0.003	0.001	0.986	Nan133R				
Xiaosanma					TAM428A	0.002	0.009	0.987	0.002
笱帚高粱	0.015	0.353	0.247	0.385	3148A	0.005	0.002	0.989	0.004
Tiaozhou sorghum					黑 11A	0.193	0.017	0.750	0.039
多头高粱	0.012	0.106	0.013	0.869	Hei11A				
Duotou sorghum					黑 30A	0.175	0.015	0.803	0.008
饭高粱	0.009	0.005	0.006	0.980	Hei30A				
Fan sorghum					R5933	0.707	0.261	0.005	0.026
绿高粱	0.009	0.009	0.003	0.979					
Lv sorghum									

表 3 模型聚类的各群材料最大 Q 值分布

Table 3 Distribution of Q-value in four groups by model-based cluster method

类群	各类群材料数	材料数(%)			
		Amount of materials (%)			
Groups	Number of materials in each group	Q<0.6	Q≥0.6	Q≥0.8	Q≥0.9
I	29	0 (0)	29 (100.0)	26 (89.7)	23 (79.3)
II	15	2 (13.3)	13 (86.7)	10 (66.7)	7 (46.7)
III	10	3 (30.0)	7 (70.0)	5 (50.0)	4 (40.0)
IV	24	1 (4.2)	23 (95.8)	17 (70.8)	13 (51.2)
合计	78	6 (7.7)	72 (92.3)	58 (74.4)	47 (60.3)
Total					

表 4 模型聚类的各类群遗传多样性

Table 4 Genetic diversity of four groups by model-based cluster method

遗传参数	A		B		4 个类群
	I	II	III	IV	
Genetic parameters					Four groups
等位变异数	2.8261	2.7826	2.3478	3.9348	4.4130
Number of alleles					
有效等位变异	1.7769	1.9443	1.6318	2.7777	2.6462
Effective number of alleles					
Shannon 多样性指数	0.5586	0.6800	0.5455	1.0784	1.0462
Shannon's information index					
期望杂合度	0.3029	0.3820	0.3198	0.5890	0.5491
Expected heterozygosity (He)					
遗传固定指数	0.7631	0.4431	0.1889	0.4166	0.2700
Fixation index (Fst)					
基因流					0.6758
Gene flow (Nm)					



表 5 类群见的遗传相似系数(对角线上方)和遗传距离(对角线下方)

Table 5 Nei's genetic identity (above diagonal) and genetic distance (below diagonal) between groups

类群 Groups	I	II	III	IV
I		0.300 7	0.190 5	0.123 8
II	0.699 3		0.294 9	0.270 3
III	0.809 5	0.705 1		0.243 4
IV	0.876 2	0.729 7	0.756 6	

部分材料含有其他类群的遗传成分。

由表 6 可以看出, 第 II 类群与第 I 类群、第 IV 类群间的基因流均较大, 其中第 II 类群与第 I 类群间的基因流最大(1.488 3), 第 II 类群与第 III 类群间的基因流最小(0.790 7)。该结果与各类群间的遗传相似系数大小关系相吻合, 这一点说明造成高粱各类群间遗传关系远近的主要原因可能是基因流。

为进一步明确各类群间的遗传关系, 根据类群间的 Nei's 的遗传距离对模型聚类的 4 个类群进行无根树状遗传关系聚类分析(图 7)。当该群体划分为 3 类时, 第 I 类群和第 II 类群首先聚为一类; 若划分为 2 类, 第 I、II、III 群适宜合并为一类, 而第 IV 群单独成为一个群。

2 讨论

2.1 不同聚类结果的比较和类群化简

种质聚类方法主要有遗传距离聚类法和模型聚类法两种(陈红菊等, 2004)。

基于遗传距离的聚类方法已广泛应用于高粱遗传关系分析, 农艺性状近似的聚在同一个类群内(赵香娜等, 2010)。余传涨等(2010)等利用 52 对 SSR 引物对 41 个高粱材料进行遗传多样性分析, 通过距离聚类结果将 41 个高粱材料分为 2 个类群(籽粒高粱, 甜高粱)。

用于群体遗传结构研究时, 模型聚类 STRUCTURE 软件需要设定群体的分群数(K 值)(吴承来等, 2010)。

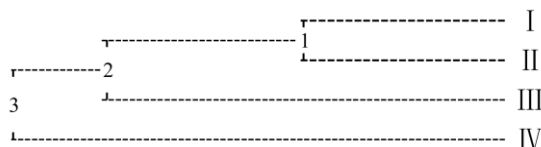


图 7 模型聚类的 4 个类群的聚类关系

Figure 7 Clustered relationship among four groups by model-based cluster

表 6 模型聚类的各类群间基因流

Table 6 Gene flow between groups by model-based cluster method

类群 Groups	II	III	IV
I	1.488 3	0.825 6	0.922 1
II		0.790 7	1.353 0
III			1.027 7

一般 K 值是通过由 STRUCTURE 软件得到的最高 Ln(P)值来确定, 估算真正的群体数目(K 值)是很困难的(Pritchard et al., 2000)。而在现实情况下, 仅有很少的数据可以准确的证实 STRUCTURE 模型, 并且当 K 值已达到真正的类群数时, Ln(P)值仍然不断增大。因此, Evanno 等(2005)等提出 ΔK , 当 K 值达到准确类群数目时, ΔK 的变化是很理想的。孙友位(2007)在利用 STRUCTURE 软件对 375 个自交系进行混合模型遗传结构分析时, 当 K=6 时, Ln(P)值增幅趋于平缓, 并取得较稳定的 α 值, 而且似然值获得较高的值, 因此得出 K 取值为 6。本研究通过距离聚类 and 模型聚类两种方法, 对 78 份高粱材料进行类群划分, 两种方法的类群划分结果大体一致。

确立种质杂种优势模式, 并在此基础上化简杂种优势群, 可以有目的的进行种质遗传改良及提高杂交种选育效率。关于玉米杂优划分的相关研究较多(吴承来等, 2010), 而关于高粱的类群化简尚无相关报道。本研究模型聚类的 4 个群中, 第 I 群和第 II 群的遗传关系最近, 第 II 群与第 III 群的遗传关系较近, 与第 IV 群的遗传关系较远, 第 I 群与第 IV 群的遗传关系最远。根据各群间遗传关系的远近, 4 个群可以简化为 A (I 群, II 群)、B (III 群)、C (IV 群) 3 个类群, 也可以进一步简化为 A (I, II, III 群)、B (IV 群) 2 个类群。

2.2 基于 SSR 标记的高粱种质资源遗传多样性分析

Agrama 等(2003)等利用 32 对 RAPD 引物和 28 对高粱 SSR 引物, 对 22 份高粱材料进行多态性检测, RAPD 引物具有较低的多态性并且 40% 的片段是单态的; 而 SSR 标记具有高度的多态性, 每对引物平均检测到 4.5 个等位变异, 基于 SSR 数据测算的遗传距离与高粱自交系的地理起源、种族分类高度一致, 因此说明 SSR 标记对于评估高粱不同基因型间的遗传相似性是很适用的。Abu Assar 等(2005)等利用 16 个 SSR 引物对 96 份高粱材料进行 UPGMA

表 7 78 份高粱材料清单

Table 7 The list of 78 sorghum accessions

序号 No.	材料 Material	类型 Type	序号 No.	材料 Material	类型 Type
1	三尺三(R) Sanchisan(R)	地方品种 Landrace	40	饭高粱 Fan sorghum	地方品种 Landrace
2	晋梁 5 号(R) Jiliang5hao(R)	常规种 Inbred line	41	绿高粱 Lv sorghum	地方品种 Landrace
3	7501B(B)	常规种 Inbred line	42	低晋 5 Dijin5	常规种 Inbred line
4	TX622B(B)	常规种 Inbred line	43	TX430(R)	常规种 Inbred line
5	吉 4190A Ji4190A	常规种 Inbred line	44	黄壳黄米高粱 Huangkehuangmi sorghum	地方品种 Landrace
6	吉 352A Ji352A	常规种 Inbred line	45	甜选 44 Tianxuan44	常规种 Inbred line
7	阿克苏扫帚高粱 Akesusaozhou sorghum	地方品种 Landrace	46	晋福 1 号(R) Jinfu1hao(R)	常规种 Inbred line
8	库尔勒高秆大高粱 Kuerlegaoganda sorghum	地方品种 Landrace	47	英国高粱(F) England sorghum(F)	常规种 Inbred line
9	沙湾白高粱 Shawanbai sorghum	地方品种 Landrace	48	S.bicolor holcus(F)	常规种 Inbred line
10	沙湾扫把绸子高粱 Shawansaobachouzi gaoliang	地方品种 Landrace	49	埃塞 45(F) Aisai45 (F)	常规种 Inbred line
11	吐鲁番大白高粱 Tulufandabai sorghum	地方品种 Landrace	50	Sg 1681(F)	常规种 Inbred line
12	吐鲁番甜高粱 Tulufantian sorghum	地方品种 Landrace	51	榆皮黄 Yupihuang	地方品种 Landrace
13	吐鲁番小高粱 Tulufanxiao sorghum	地方品种 Landrace	52	铁恢 208(R) Tiehui208(R)	常规种 Inbred line
14	乌鲁木齐高粱 Wulumuqi sorghum	地方品种 Landrace	53	5-27 (R)	常规种 Inbred line
15	乌恰白高粱 Wuqiabai sorghum	地方品种 Landrace	54	白平(R) Baiping(R)	地方品种 Landrace
16	吐鲁番密穗高粱 Tulufanmisui sorghum	地方品种 Landrace	55	QL33B(B)	常规种 Inbred line
17	大黄壳 Dahuangke	地方品种 Landrace	56	314A	常规种 Inbred line
18	小白高粱 Xiaobai sorghum	地方品种 Landrace	57	吉 L116R JiL116R	常规种 Inbred line
19	小粘棒 Xiaonianbang	地方品种 Landrace	58	黑 11B Hei11B	常规种 Inbred line
20	平顶香 Pingdingxiang	地方品种 Landrace	59	314B	常规种 Inbred line
21	洋大粒 Yangdali	地方品种 Landrace	60	黑 30B Hei30B	常规种 Inbred line
22	二老鸱座 Erlaoguzuo	地方品种 Landrace	61	7413-24(R)	常规种 Inbred line
23	传种高粱 Chuanzhong sorghum	地方品种 Landrace	62	7788(R)	常规种 Inbred line
24	红圪 Hongge	地方品种 Landrace	63	吉 R13 JiR13	常规种 Inbred line

续表 7

Continuing table 7

序号 No.	材料 Material	类型 Type	序号 No.	材料 Material	类型 Type
25	北京二号 Beijingerhao	地方品种 Landrace	64	辽恢 115(R) Liaohui115(R)	常规种 Inbred line
26	小金棒锤 Xiaojinbangchui	地方品种 Landrace	65	232EB(B)	常规种 Inbred line
27	大中粘高粱 Dazhongnian sorghum	地方品种 Landrace	66	铁恢 157(R) Tiehui157(R)	常规种 Inbred line
28	长毛红高粱 Changmaohong sorghum	地方品种 Landrace	67	F4B(B)	常规种 Inbred line
29	黑壳白粘高粱 Heikebainian sorghum	地方品种 Landrace	68	铁恢 6 号(R) Tiehui6hao(R)	常规种 Inbred line
30	大青料高粱 Daqingliao sorghum	地方品种 Landrace	69	0-30(R)	常规种 Inbred line
31	绿苗 Lvmiao	地方品种 Landrace	70	135B(B)	常规种 Inbred line
32	黑黄棒子 Heihuangbangzi	地方品种 Landrace	71	4003(R)	常规种 Inbred line
33	散穗红壳 Sansuihongke	地方品种 Landrace	72	吉恢 7384(R) Jihui7384(R)	常规种 Inbred line
34	合恢 8 号(R) Hehui8hao(R)	常规种 Inbred line	73	南 133R(R) Nan133R(R)	常规种 Inbred line
35	克恢 22 号(R) Kehui22hao(R)	常规种 Inbred line	74	TAM428A	常规种 Inbred line
36	v4B(B)	常规种 Inbred line	75	3148A	常规种 Inbred line
37	小散码 Xiaosanma	地方品种 Landrace	76	黑 11A Hei11A	常规种 Inbred line
38	笱帚高粱 Tiaozhou sorghum	地方品种 Landrace	77	黑 30A Hei30A	常规种 Inbred line
39	多头高粱 Duotou sorghum	地方品种 Landrace	78	R5933(R)	常规种 Inbred line

聚类分析, 将其分为非改良种质和改良种质两大类, 与其原始地域、系谱和形态特征等相符, 说明高粱材料间存在着强烈的分化。

根据聚类结果, 地方品种(I)与地方品种衍生的自交系(II)遗传距离最接近, 与国外品种(IV)的遗传关系最远。根据基因流的数值, II类群与I类群、IV类群(新疆品种)间的基因流均较大, 其中II类群与I类群间的基因流最大, II、III类群间和I、IV类群间的基因流最小, 由此推测, 新疆高粱可能由来源于国外, 而中国的地方品种可能为中国本土高粱, 进而选育出一系列的高粱自交系。因此怀疑中

国也是高粱起源地之一。

3 材料与方法

3.1 供试材料

本实验收集由吉林省农业科学院作物育种研究所、农业部植物新品种测试(公主岭)分中心等单位提供的高粱材料共计 78 份(表 7)。品种类型包括地方品种、常规种(含有国外种质, 下简称 F; 包括保持系和恢复系, 下分别简称 B 和 R)和杂交种。

本实验所使用的 41 对核心引物(表 8)是经过筛选确立的, 其具有均匀分布于高粱染色体, 扩增带型清晰、稳定且多态性水平高等特点。引物由北京

表 8 41 对 SSR 引物清单

Table 8 The list of 41 SSR primers

序号 No.	引物 Primer	染色体位置 Chr. No.	cM 距离 cM distance	序号 No.	引物 Primer	染色体位置 Chr. No.	cM 距离 cM distance
1	Xtxp482	SBI01	25.2	22	Xtxp317	SBI06	90.5~90.9
2	gpsb089	SBI01	53.8	23	Xtxp274	SBI06	90.9
3	gap57	SBI01	108.9~109.7	24	Xcup02	SBI09	99.9
4	Xtxp80	SBI02	18~19.7	25	Xtxp17	SBI06	149.3
5	Xcup26	SBI02	166.8	26	Xtxp481	SBI07	31.8
6	Xcup69	SBI02	198.5	27	Xtxp159	SBI07	38.3
7	Xtxp494	SBI03	4.2	28	Xtxp99	SBI07	130.0~130.5
8	Xtxp439	SBI03	127.3	29	Xtxp168	SBI07	131.5~132.8
9	Xtxp421	SBI03	137.4	30	gpsb067	SBI08	66.8
10	Xtxp424	SBI03	147.8~149.9	31	Xtxp516	SBI08	86.8~88.5
11	Xtxp343	SBI04	71.4~75.8	32	Xtxp105	SBI08	97.7
12	Sb1-10	SBI04	87.6	33	Xtxp321	SBI08	104.2
13	Xtxp41	SBI04	106.2~108.0	34	Xtxp289	SBI09	23.5~38.5
14	Xtxp60	SBI04	120.7	35	Xtxp287	SBI09	80.5~85.5
15	Xtxp021	SBI04	153	36	Xtxp258	SBI09	80.5~85.5
16	Xtxp65	SBI05	14.4	37	Xtxp230	SBI09	85.5
17	Xtxp015	SBI05	58.2	38	Xtxp010	SBI09	108.4
18	Xtxp23	SBI05	75.9	39	Xtxp20	SBI10	53.2~54.2
19	SBKAFGK1	SBI05	89.3~95.7	40	Xcup43	SBI10	102.6
20	Xtxp123	SBI05	93.1	41	Xcup07	SBI10	115.2
21	Xtxp6	SBI03	31.6				

注: cM 距离数据来源于 Mace (2009)

Note: The data of cM distance come from Mace (2009)

三博远志公司合成。

3.2 试验方法

3.2.1 DNA 提取

本实验采用 CTAB 法(余传涨等, 2010)并进行了适当的优化: 1、称适量样品, 液氮下迅速磨成粉末; 2、将粉末转入 2.0 ml Eppendorf 管中, 加入 65°C 预热的 CTAB 缓冲液 700 μ l, 并使其混匀; 3、65°C 水浴加热 45 min, 不断地轻轻倒转摇动。水浴后, 取出离心管, 冷却至室温; 4、通风橱下加入 700 μ l 的氯仿: 异戊醇(24:1), 轻轻倒转摇动 5~10 min; 5、室温下 12 000 rpm 离心 10 min, 用去头枪尖将上清转至一新 2.0 mL Eppendorf 管中; 6、加入 10 μ l RNA 酶溶液(10 mg/mL), 37°C 下温浴 30 min; 7、重复 4~5 步骤; 8、加入-20°C 预冷的异丙醇或无水乙醇于 2.0 mL Eppendorf 管中, 轻轻混匀。-20°C 冰箱静置一段时间后, 至 DNA 凝集, 室温下钩出 DNA; 9、76% 乙醇洗涤两次, 洗涤完毕后, 将 DNA 晾干; 10、加入适量的 1×TE (PH 8.0)溶解于试管中, 4°C 下保存备用。取 2 μ l DNA 溶液, 用 0.8% 的琼脂糖凝胶电泳检测。

3.2.2 PCR 扩增体系及程序

扩增体系: 采用 10 μ l 反应体系, 其中含 1× PCR Buffer²⁺ (含 2 mmol/L Mg²⁺), 100 μ mol/L dNTP, 0.24 μ mol/L SSR 引物, 0.4 U *Taq* DNA 聚合酶, 20 ng DNA 模板, 其余用双蒸水补足。

扩增程序: 94°C 10 min, 1 个循环; 94°C 1 min, 55°C 1 min, 72°C 1 min, 共 36 个循环(根据引物特点可作适当调整); 72°C 10 min, 4°C 保存。(赵泽双等, 2012)。扩增反应在 Bio-Rad 公司 MyCyclerTM PCR 仪上进行。

3.2.3 电泳检测

SSR 扩增产物在 6% 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳上分离。70W 预电泳 45 min, 70W 电泳 45 min。银染: 将凝胶板置于 10% 醋酸溶液固定 20 min; 双蒸水漂洗 3 min; 在 2 L 新配的染色液(3g AgNO₃) 中染色 20~30 min; 双蒸水快速漂洗 1 次, 时间不超过 10 s; 2L 显影液(25 g NaOH+7 ml 甲醛溶液) 显影; 10% 醋酸溶液中定影 5 min; 双蒸水漂洗 5 min 后置于室温下自然晾干。

3.2.4 数据统计分析

SSR 扩增产物以 0、1 和 9 统计建立数据库。在相同迁移率位置上, 有带标记为 1, 无带标记为 0, 缺失数据标记为 9。采用 Popgene1.32 软件(Yeh and Yang, 1999)分别计算: (1)总等位变异数(number of alleles, na); (2)有效等位变异数(effective number of alleles, ne); (3)Shannon-Weaver 指数(Shannon's information index, I); (4)基因流(gene flow, Nm); (5)Nei 期望杂合度(expected heterozygosity, He); (6)多态性信息量(polymorphism information content, PIC)。

计算材料间的遗传相似系数(Genetic similarity, GS)和遗传距离(Genetic distance, GD)采用软件 NTSYpce-2.11 (Exeter Software, Setauket, NY)。根据材料间的遗传相似系数矩阵以及中心化(Double-center)后的相似系数矩阵, 按 UPGMA (Unweighted pair Group Method Arithmetic Average) 方法进行聚类分析, 构建树状图。中心化数据是指将矩阵 X 的每一个元素减去相应变量(即列)的平均值所得的矩阵。本研究中所采用 NTSYpce-2.11 软件中 Dcenter 模块对 GS 矩阵进行中心化处理(赵泽双等, 2012)。

用软件 Structure2.3.1 对常规种群体结构进行分析(Pritchard et al., 2000)。设置“Burnin Period”和“after Burnin”两 Structure 参数为 10 000 次, K 值 1~10, 每个 K 重复 10 次。画出基于模型的群体遗传结构图, 并计算各常规材料的 Q 值(第 i 常规材料其基因组变异源于第 k 群体的概率)(赵泽双等, 2012)。

作者贡献

李晓辉和王凤华负责实验设计和论文修改; 杨德光参与实验设计和数据分析; 郝彩环和周海涛整理和收集实验材料; 张春宵和王晶是本研究的具体执行人, 共同开展试验、数据分析和论文写作。全体作者都阅读并同意最终的文本。

致谢

本研究由农业部“DUS 测试品种、信息 DNA 测试技术研究”项目(200903008), “DNA 指纹图谱鉴定技术方法研究和数据采集”课题(200903008-07), “高粱 DNA 指纹图谱鉴定技术标准研制及数据库构建”子课题(200903008-07-08)共同资助。感谢吉林省农业科学院作物育种研究所、农业部植物新品种测试(公主岭)分中心等单位为本研究提供实验材料。感谢匿名的同行评审人的评审建议和修改建议。

参考文献

Abu Assar A.H., Uptmoor R., Abdelmula A.A., Salih M., Ordon F., and Friedt W., 2005, Genetic variation in sorghum germplasm from sudan, ICRISAT and USA assessed by simple sequence repeats (SSRs), *Crop Sci.*, 45: 1636-1644 <http://dx.doi.org/10.2135/cropsci2003.0383>

- Agrama H.A., and Tuinstra M.R., 2003, Phylogenetic diversity and relationships among sorghum accessions using SSRs and RAPDs, *Afr. J. Biotechnol.*, 2(10): 334-340
- Chen H.J., Yue Y.S., Fan X.Z., Zhang C.S., and Du L.X., 2004, A Comparative study of genetic distance and clustering analysis among Shandong indigenous chicken breeds, *Xumu Shouyi Xuebao (Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica)*, 35(1): 33-36 (陈红菊, 岳永生, 樊新忠, 张传生, 杜立新, 2004, 山东地方鸡种遗传距离与聚类分析方法比较研究, *畜牧兽医学报*, 35(1): 33-36)
- Evanno G., Regnaut S., and Goudet J., 2005, Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study, *Mol. Ecol.*, 14: 2611-2620 <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x> PMID:15969739
- Pritchard J.K., Stephens M., and Donnelly P., 2000, Inference of population structure using multilocus genotype data, *Genetics*, 155: 945-959 PMID:10835412 PMID:1461096
- Sun Y.W., 2007, Analysis of genetic diversity among maize inbred lines using SSR markers, Thesis for M.S., Chinese academy of agricultural sciences, Supervisor: Zhang S.H., pp.42-44 (孙友位, 2007, 利用 SSR 标记分析玉米自交系的遗传多样性, 硕士学位论文, 中国农业科学院, 导师: 张世煌, pp.42-44)
- Tautz D., 1989, Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers, *Nucl. Acid. Res.*, 17(16): 6463-6471 <http://dx.doi.org/10.1093/nar/17.16.6463> PMID:2780284 PMID:318341
- Wu C.L., Zhang Q.Q., Dong B.X., Li S.F., and Zhang C.Q., 2010, Analysis of genetic structure and genetic relationships of partial maize inbred lines in China, *Zuowu Xuebao (Acta Agronomica Sinica)*, 36(11): 1820-1831 (吴承来, 张倩倩, 董炳雪, 李圣福, 张春庆, 2010, 我国部分玉米自交系遗传关系和遗传结构解析, *作物学报*, 36(11): 1820-1831)
- Yeh F.C., and Yang R.C., 1999, <http://www.ualberta.ca/~fyeh/popgene.pdf>
- Yu C.Z., Zhai G.W., Zou G.H., Tao Y.Z., and Wang H., 2010, Assessment of genetic diversity among 41 sorghum varieties using SSR marker, *Jiangsu Nongye Xuebao (Jiangsu Journal of Agricultural Sciences)*, 26(2): 248-253 (余传涨, 翟国伟, 邹桂花, 陶跃之, 王华, 2010, 41 个高粱品种遗传多样性的 SSR 标记检测, *江苏农业学报*, 26(2): 248-253)
- Zhao Z.S., Yang S.H., zhang C.X., Yang D.G., Li X.H., 2012, Analysis of genetic relationships of 69 maize inbred lines in China and screening of effective markers used in three main diseases identification, *Yumi Kexue (Journal of Maize Sciences)*, 20(2): 16-26 (赵泽双, 杨书华, 张春宵, 杨德光, 李晓辉, 2012, 69 份玉米自交系的遗传关系分析及三大病害鉴定有效标记的筛选, *玉米科学*, 20(2): 16-26)
- Zhao X.N., Yue M.Q., Liu Y., Dun B.Q., Zhao W.H., Tan L., and Li G.Y., 2010, Genetic diversity of domestic and foreign sweet sorghum germplasm revealed by SSR markers, *Zhiwu Yichuan Ziyuan Xuebao (Journal of Plant Genetic Resources)*, 11(4): 407-412 (赵香娜, 岳美琪, 刘洋, 顿宝庆, 赵伟华, 谭亮, 李桂英, 2010, 国内外甜高粱种质遗传多样性的 SSR 分析, *植物遗传资源学报*, 11(4): 407-412)