

77份山西黍稷DNA二维码身份证的构建

曹越¹, 曹晓宁², 陈凌², Santra Dipak K³, 乔治军², 王瑞云^{1,2}

(1. 山西农业大学农学院, 山西 太谷 030801; 2. 山西农业大学农业基因资源研究中心/农业部黄土高原作物基因资源与种质创制重点实验室/杂粮种质资源发掘与遗传改良山西省重点实验室, 山西 太原 030031; 3. 内布拉斯加大学 林肯分校农艺系小宗粮豆研究与推广中心, 美国 内布拉斯加州 69361)

摘要:为了更好地管理黍稷资源, 分辨其身份以及追溯来源, 创建一个高效可行的种质资源鉴定系统十分必要。以山西省内各地 77 份黍稷资源为材料, 用上海生工生物股份有限公司合成上游 5' 端加 FAM (blue) 荧光基团标记对 77 份黍稷资源进行 PCR 及毛细管电泳。结果发现, 仅用 5 个标记组合 (RYW3、RYW6、RYW20、RYW37 和 RYW40) 可区分全部材料。其中, 组合 RYW6+RYW37 可区分 60 份; 组合 RYW6+RYW20+RYW37 可区分 69 份; 组合 RYW6+RYW20+RYW37+RYW40 可区分 73 份; 组合 RYW3+RYW6+RYW20+RYW37+RYW40 可区分全部 77 份。77 份材料在 8 个位点共检出 79 个等位变异, 每个位点检出平均为 9.875 个, 检测到的有效等位变异 (Ne) 为 2.675 9, Shannon 多样性指数 (I) 为 0.991 6, Nei's 基因多样性指数 (Nei) 为 0.426 0, 多样性信息含量 (PIC) 为 0.553 3。在此基础上, 利用 ID analysis 4.0 在线条形码生成器将对应字符串生成可扫描的条形码 DNA 分子身份证; 利用二维码在线技术将材料基本信息转化成可扫描的二维码 DNA 分子身份证。

关键词: SSR; 黍稷; 二维码; 山西

中图分类号: S516 文献标识码: A 文章编号: 1002-2481(2024)02-0008-08

Construction of 77 Two-Dimensional DNA Identity Cards of Shanxi Broomcorn Millet

CAO Yue¹, CAO Xiaoning², CHEN ling², SANTRA Dipak K³, QIAO Zhijun², WANG Ruiyun^{1,2}

(1. College of Agriculture, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China; 2. Center for Agricultural Genetic Resources Research, Shanxi Agricultural University/Key Laboratory of Crop Gene Resources and Germplasm Enhancement on Loess Plateau, Ministry of Agriculture, Taiyuan 030031, China; 3. Panhandle Research and Extension Center, Department of Agronomy and Horticulture, University of Nebraska Lincoln, Scottsbluff 69361, USA)

Abstract: In order to better manage broomcorn millet resources, distinguish their identities and trace their sources, it is necessary to create an efficient and feasible germplasm resource identification system. In this study, 77 broomcorn millet resources in Shanxi Province were used as the materials. PCR and capillary electrophoresis were carried out on 77 broomcorn millet resources with FAM (blue) fluorescent group labeling at the upstream 5' end synthesized by Shanghai Sangon Biological Co., Ltd. It was found that only five marker combinations (RYW3, RYW6, RYW20, RYW37, and RYW40) could distinguish all materials. Among them, the combination of RYW6+RYW37 could distinguish 60 materials, the combination of RYW6+RYW20+RYW37 could distinguish 69 materials, the combination of RYW6+RYW20+RYW37+RYW40 could distinguish 73 materials, and the combination of RYW3+RYW6+RYW20+RYW37+RYW40 could distinguish all 77 materials. A total of 79 alleles were detected in 77 materials at 8 loci, with an average of 9.875 detected at each locus. The effective allele variation (Ne) detected was 2.675 9, Shannon diversity index (I) was 0.991 6, Nei's gene diversity index (Nei) was 0.426 0, and polymorphism information content (PIC) was 0.553 3. On this basis, the ID analysis 4.0 online barcode generator was used to generate a scannable barcode DNA molecular identity cards. Using two-dimensional code online technology, the basic information of the materials was transformed into scannable two-dimensional code DNA molecular identity cards.

Key words: SSR technology; broomcorn millet; two-dimensional code; Shanxi

黍稷 (*Panicum miliaceum* L.), 又名黍子、稷子、糜子、糜黍, 具有早熟、生育期短, 耐旱、水分利

收稿日期: 2023-02-26

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31271791); 国家现代农业产业技术体系建设专项 (CARS-06-14.5-A16); 山西省现代农业产业技术体系建设 (杂粮) 项目 (2022-03); 山西省重点研发项目 (2022ZDYF110)

作者简介: 曹越 (2000-), 女, 吉林白山人, 在读硕士, 研究方向: 糜子分子育种。

通信作者: 王瑞云 (1969-), 女, 山西平定人, 教授, 博士, 主要从事糜子分子育种研究工作。

用效率高,耐瘠、丰产潜力大等特性。它是干旱半干旱地区人们日常生活保障的特色粮食作物,也是重要的救灾作物^[1-2]。黍稷是起源于中国黄河流域黄土高原地区最古老的作物^[3],而山西是其起源中心和种质资源的遗传多样性中心。目前,全世界有26 197份黍稷资源保存在中国、俄罗斯、印度、美国、乌克兰、波兰、墨西哥、日本的10家研究机构中,中国国家种质资源库现有黍稷资源9 885份,其中山西有1 592份^[4-6]。近年来,由于新种质资源的不断收集、引进和分散保存,造成种质间重复引进、同种异名、同名异种以及亲缘关系不清等问题,而且目前对黍稷资源进行系统化整理的研究也很少^[7],严重影响了其高效利用。因此,打造一个准确可靠、操作便捷的鉴定体系成为当务之急。SSR

(Simple sequence repeats, SSR)又称微卫星,是广泛应用于作物染色体图谱构建、品种选育鉴定等方面的DNA分子标记技术^[8]。DNA分子身份证是在SSR基础上,将不同资源基因层面的差异用数字转化成字符串、条形码和二维码,使每份资源拥有特定的数字代码,便于保护种质资源的知识产权^[9-11]。本研究拟利用8个SSR标记来分析山西省不同市县的77份黍稷种质资源,通过构建条形码DNA分子身份证和二维码DNA分子身份证,旨在为种质资源精准鉴定创造高效便捷条件。

1 材料和方法

1.1 供试材料

试验材料来源如表1所示。

表1 试验材料来源
Tab.1 Sources of experimental accessions

序号 Num- ber	统一编号 Unicode	品种 Variety	来源 Origin	序号 Num- ber	统一编号 Unicode	品种 Variety	来源 Origin	序号 Num- ber	统一编号 Unicode	品种 Variety	来源 Origin
1	00000491	红黍	大同市灵丘县	27	00001102	灰黍子	忻州市河曲县	53	00001316	鸡爪红	晋中市太谷县
2	00000864	金疙塔	大同市天镇县	28	00001144	灰脸蛋黍	忻州市偏关县	54	00001331	狗尾蛋	晋中市介休市
3	00000872	白疙塔	大同市天镇县	29	00001171	大黄黍	忻州市崞岚县	55	00001340	白骷髅	晋中市榆社县
4	00000878	紫龙带	大同市天镇县	30	00001176	大红粘糜	忻州市五台县	56	00001349	小红软糜	吕梁市方山县
5	00000883	二青黍	大同市天镇县	31	00001177	红糜子	忻州市五台县	57	00001352	成熟红	吕梁市汾阳市
6	00000888	大青黍	大同市天镇县	32	00001178	紫秆大糜子	忻州市五台县	58	00001386	软白糜	吕梁市柳林县
7	00000894	二白黍	大同市浑源县	33	00001179	大齐黄	忻州市五台县	59	00001439	千斤黍	长治市襄垣县
8	00000905	支黄黍	大同市阳高县	34	00001180	小齐黄粘糜子	忻州市五台县	60	00001474	珍珠连软糜	临汾市襄汾县
9	00000925	高粱黍	朔州市朔城区	35	00001184	气死风粘糜	忻州市五台县	61	00001566	白软黍	运城市万荣县
10	00000927	八米白	朔州市朔城区	36	00001192	灰粘糜	忻州市五台县	62	00001574	红黍子	运城市闻喜县
11	00000928	小日期白黍	朔州市朔城区	37	00001197	大红软糜	太原市尖草坪区	63	00001575	金红黍	运城市闻喜县
12	00000937	马乌黍	朔州市朔城区	38	00001199	红软黍	太原市尖草坪区	64	00001581	白软黍	运城市闻喜县
13	00000947	十样精	大同市灵丘县	39	00001200	疙都红糜子	太原市尖草坪区	65	00003157	糜子	大同市浑源县
14	00000952	炸炸头	大同市灵丘县	40	00001205	金软黍	太原市阳曲县	66	00003196	轮精糜	大同市怀仁县
15	00001000	小红黍	朔州市应县	41	00001237	黄黍	阳泉市城区	67	00003199	黄糜子	大同市怀仁县
16	00001020	黄落黍	朔州市应县	42	00001243	二红黍	晋中市榆次区	68	00003281	60天小红糜	忻州市河曲县
17	00001021	稗黍	朔州市应县	43	00001244	大红黍	晋中市榆次区	69	00003290	准旗大红糜	忻州市保德县
18	00001033	一点青黍子	朔州市应县	44	00001251	小黑黍	晋中市榆次区	70	00003292	峪杂1号	忻州市保德县
19	00001036	紫鹅蛋	朔州市应县	45	00001268	黍子	阳泉市盂县	71	00003311	大黄糜子	忻州市五寨县
20	00001050	大白黍	朔州市平鲁区	46	00001271	黑黍	阳泉市平定县	72	00003316	小青糜子	忻州市五寨县
21	00001057	青间黍	朔州市平鲁区	47	00001278	一点红	晋中市昔阳县	73	00003325	大白硬糜	忻州市五台县
22	00001083	黄罗黍	忻州市代县	48	00001283	扫帚糜	晋中市平遥县	74	00003329	蚂蚱眼子	忻州市五台县
23	00001089	笨蒿白	忻州市代县	49	00001284	硬地黄	晋中市平遥县	75	00003387	大黄芽	晋中市介休市
24	00001094	小黄黍子	忻州市河曲县	50	00001293	黄黍子	晋中市寿阳县	76	00003401	硬糜子	吕梁市离石区
25	00001095	牛心黍子	忻州市河曲县	51	00001295	老来红	晋中市寿阳县	77	00003402	黑蛇蚤	吕梁市文水县
26	00001099	曲峪小白黍	忻州市河曲县	52	00001313	边梅黍	晋中市和顺县				

本研究所用黍稷资源共77份,来自山西省各地区(大同市13份:灵丘县3份、浑源县2份、天镇

县5份、怀仁县2份、阳高县1份;朔州市11份:朔城区4份、应县5份、平鲁区2份;忻州市22份:代县

2 份、河曲县 5 份、偏关县 1 份、岢岚县 1 份、五台县 9 份、保德县 2 份、五寨县 2 份;太原市 4 份:尖草坪区 3 份、阳曲县 1 份;阳泉市 3 份:城区 1 份、盂县 1 份、平定县 1 份;晋中市 13 份:榆次区 3 份、昔阳县 1 份、平遥县 2 份、寿阳县 2 份、和顺县 1 份、太谷县 1 份、介休市 2 份、榆社县 1 份;吕梁市 5 份:方山县 1 份、汾阳市 1 份、柳林县 1 份、离石区 1 份、文水县 1 份;长治市襄垣县 1 份;临汾市襄汾县 1 份;运城市 4 份:万荣县 1 份、闻喜县 3 份), 详见表 1。

1.2 基因组 DNA 提取与质量检测

77 份材料种植于人工气候箱中, 剪取三叶期黍稷叶片, 采用改良 CTAB 法^[12]提取基因组 DNA, DNA 质量检测方法同石甜甜等^[13]。

1.3 引物选择

毛细管电泳荧光引物为单色荧光, 用上海生工生物股份有限公司合成上游 5' 端加 FAM (blue) 荧光基团标记对 77 份黍稷材料进行 PCR 扩增及毛细管电泳。8 对荧光 SSR 标记信息见表 2。

表 2 8 对荧光 SSR 标记信息
Tab.2 Information of 8 pairs of fluorescent SSR markers

位点 Locus	正向引物(5'-3') Forward primer	反向引物(5'-3') Reverse primer	5'端修饰 5'End modification	退火温度/C° Annealing temperature
RYW3	GGAGGCGTGACAATAAAAC	GGCGTGAGGTGTTGTTTTT	5'-FAM	48.90
RYW5	GACGATGCTCTTGACCTTGT	CACCGTGAAATGTCTCTGCT	5'-FAM	51.80
RYW6	AGCCGATTTGCTGTGGAGT	CTGCCTCCGATGAGTTGGT	5'-FAM	52.15
RYW18	CTCCCTCTTTGTCCTCGTT	GCTGCCTCTTCGCTATCTT	5'-FAM	51.10
RYW20	ACCTCTTGCCGCACACTAC	TTCTACATCCCCGAACCAC	5'-FAM	52.15
RYW35	ATTAGCATCCCCCTCCAC	ATCCGCTTTCCCAACCAC	5'-FAM	50.30
RYW37	CATTCCGTTTCTTGTCTTCC	CAGTCTCACTCTGCGATGT	5'-FAM	52.80
RYW40	TGCTCTTCGGCTCTTCTCC	ATCAGCTCATCGTGACCCC	5'-FAM	53.20

1.4 构建分子身份证

用 Gene Marker V2.2.0 读取数据, 获得 SSR 扩增片段的精确分子量, 并进行数字+英文字母编码。将每对标记扩增所有样品的不同带型, 按分子量从大到小用数字 1~9 依次表示, 超出 9 的用英文字母 A~Z 依次表示, 无带用 0 表示。用 PopGen 1.32^[14] 计算遗传多样性指数, 用 PowerMarker 3.25^[15] 分析多态性信息含量 (PIC), 采用资源特征分析软件 ID Analysis 4.0 确定标记及标记顺序, 构建字符串形式的 DNA 分子身份证^[16]。利用在线条形码生成器 (<http://barcode.cnaidc.com/app/html/>

bcgcode128.php) 将对应字符串生成可扫描的条形码 DNA 分子身份证; 利用二维码在线技术 (<https://cli.im/>) 将材料基本信息 (包括名称、统一编号、来源地和字符串 DNA 分子身份证) 转化成可扫描的二维码, 即二维码 DNA 分子身份证。

2 结果与分析

2.1 基于荧光 SSR 的山西黍稷核心种质的遗传多样性

用 8 对荧光 SSR 标记, 扩增 77 份山西黍稷核心种质, 分析其遗传多样性, 结果见表 3。

表 3 8 个 SSR 的遗传多样性参数
Tab.3 Genetic diversity parameters of 8 SSRs

引物 Locus	观测等位变异 Observed allelic variants	有效等位变异 Effective allelic variants	Shannon 多样性指数 Shannon's diversity index	观测杂合度 Observed heterozygosity	期望杂合度 Expected heterozygosity	Nei's 基因多样性指数 Nei's gene diversity index	多态性信息含量 Polymorphism information content
RYW3	12.00	1.66	0.99	0.71	0.40	0.40	0.56
RYW5	10.00	1.25	0.55	0.83	0.20	0.20	0.48
RYW6	5.00	2.64	1.19	0.42	0.63	0.62	0.76
RYW18	4.00	1.13	0.29	0.91	0.12	0.12	0.25
RYW20	8.00	2.06	1.01	0.87	0.52	0.51	0.58
RYW35	4.00	1.16	0.31	0.86	0.14	0.14	0.26
RYW37	29.00	9.38	2.63	0.11	0.90	0.89	0.95
RYW40	7.00	2.14	0.96	0.30	0.54	0.53	0.58
Mean	9.88	2.68	0.99	0.63	0.43	0.43	0.55
St.Dev	8.24	2.76	0.74	0.31	0.27	0.27	

由表3可知,77份材料在8个位点共检出79个等位变异,每个位点检出4~29个(平均9.875个);检测到的有效等位变异(Ne)为1.13(RYW18)~9.38(RYW37),平均值为2.68;Shannon多样性指数(I)为0.29(RYW18)~2.63(RYW37),平均值为0.99;Nei's基因多样性指数(Nei)为0.12(RYW18)~0.89(RYW37),平均值为0.43;多样性信息含量(PIC)为0.25(RYW18)~0.95(RYW37),平均值为0.55。8个标记中有5个标记具有高度多态性(PIC>0.5),为高多态性SSR。

2.2 基于SSR的山西黍稷核心种质DNA分子身份证的构建

对毛细管电泳结果进行“数字”编码,将RYW3、RYW5、RYW6、RYW18、RYW20、RYW35、RYW37和RYW40引物的特征编码结合形成特定的字符

串。鉴定8对荧光SSR对供试材料的区分程度,发现任何1对荧光SSR均不能将全部供试种质资源分开。分子身份证的最终目的是对所有供试材料赋予可辨的分子身份证,同时又要满足用最少的标记区分最多材料的要求。因此,通过逐步增加标记设定标记组合,筛选可以将全部材料完全区分的标记。整合PIC值大和区分率高的荧光SSR标记,结果发现仅用5对标记即可区分全部材料。其中,组合RYW6+RYW37可区分60份;组合RYW6+RYW20+RYW37可区分69份;组合RYW6+RYW20+RYW37+RYW40可区分73份;组合RYW3+RYW6+RYW20+RYW37+RYW40可区分全部77份。单个荧光SSR标记对于黍稷种质的区分见表4,不同荧光SSR组合对于黍稷种质的区分见表5。

表4 单个荧光SSR标记对黍子种质的区分
Tab.4 Differentiation of broomcorn millet germplasms by single fluorescent SSR markers

引物名称 Primer name	观测等位变异数 Observed number of allelic variants	可区分种质数/个 The number of distinguishable germplasm	区分率/% Differentiation rate	毛细管电泳多态性片段及编码 Polymorphic fragments and encoding for capillary electrophoresis
RYW3	14	10	12.99	126/150(1)、140/150(2)、144/150(3)、144/150/164(4)、150(5)、150/156(6)、150/164(7)、150/166(8)、150/166/169(9)、150/169(A)、150/170(B)、440(C)、440/444(D)、444(E)
RYW5	10	8	10.39	290/315(1)、296/315(2)、300/315(3)、301(4)、304/336(5)、309/315(6)、315(7)、315/336(8)、315/338(9)、315/345(A)
RYW6	10	5	6.49	366/372(1)、366/373(2)、370(3)、370/373(4)、370/401(5)、370/373/401(6)、372(7)、372/401(8)、373(9)、373/401(A)
RYW18	5	1	1.30	374/382(1)、376/382(2)、382(3)、382/386(4)、386(5)
RYW20	8	6	7.79	254/275/296/439(1)、271/301(2)、275(3)、275/286(4)、275/289(5)、430/439(6)、434/439(7)、439(8)
RYW35	5	2	2.60	271/290(1)、279(2)、279/290(3)、284/290(4)、290(5)
RYW37	52	43	55.84	172/188(1)、172/210/390/394(2)、174/176/378(3)、174/180(4)、174/192/379/394(5)、174/210(6)、176/183(7)、176/239/379/393(8)、177/228/394(9)、180(A)、180/209(B)、180/210(C)、180/242(D)、180/188/393(E)、180/201/393(F)、180/201/379/393(G)、180/210/379/393(H)、180/210/379/394(I)、180/230/379/394(J)、180/233/399(K)、180/247/379/394(L)、181/210/394(M)、188/210/394(N)、188/210/379/394(O)、192/214(P)、190/210/379/393(Q)、192/196/370/394(R)、192/393(S)、192/203/393(T)、192/210/393(U)、192/210/394(V)、192/210/379/393(W)、196(X)、198/210(Y)、198/233/394(Z)、199/203(a)、199/210(b)、203(c)、203/210(d)、203/210/394(e)、205(f)、209(g)、210(h)、210/214/379(i)、210/214/239/393(j)、210/239/379/393(k)、210/239/394(l)、211/217(m)、223/233/394(n)、239/379/393(o)、244/393(p)、393(q)
RYW40	9	6	7.79	192/210(1)、203(2)、203/209(3)、203/210(4)、206(5)、210(6)、210/240(7)、210/244(8)、240(9)

表5 荧光SSR标记组合对黍子种质的区分
Tab.5 Differentiation of broomcorn millet germplasms by fluorescent SSR marker combination

组号 Group number	引物组合 Primer combination	未能区分的种质 Indistinguishable Germplasm	区分率/% Differentiation rate
1	RYW6+RYW37	3,5,7,9,19,23,27,35,36,45,49,68,69,70,71,73,74	77.92
2	RYW6+RYW20+RYW37	3,23,35,36,69,71,73,74	89.61
3	RYW6+RYW20+RYW37+RYW40	3,23,35,36	94.81
4	RYW3+RYW6+RYW20+RYW37+RYW40	无	100

对毛细管电泳结果按表 4 进行数字+英文字母+符号编码,将 RYW3、RYW6、RYW20、RYW37 和 RYW40 用于 DNA 分子身份证的构建。按上述顺序将 5 对荧光 SSR 对应的编码组合,构成黍稷核心种质 DNA 分子身份证,即字符串 DNA 分子身份证,77 份黍稷材料的字符串 DNA 分子身份

证见表 6。将上述字符串 DNA 分子身份证导入在线条形码生成器,获得条形码 DNA 分子身份证。将各供试材料的基本信息和字符串 DNA 分子身份证录入在线二维码生成框,得到二维码 DNA 分子身份证。77 份黍稷材料的条形码和二维码 DNA 分子身份证见图 1、2。

表 6 基于荧光 SSR 的山西黍稷种质的字符串 DNA 分子身份证
Tab.6 String DNA molecular ID cards of Shanxi broomcorn millet germplasm based on fluorescent SSR

序号 Number	字符串 Character string	序号 Number	字符串 Character string	序号 Number	字符串 Character string	序号 Number	字符串 Character string	序号 Number	字符串 Character string	序号 Number	字符串 Character string
1	093a7	14	5A8W2	27	5A8k4	40	50044	53	500b4	66	568F4
2	598Q2	15	220P4	28	300j4	41	570h2	54	308X3	67	E43d0
3	C93d0	16	590M4	29	700p4	42	568i4	55	50094	68	D95d0
4	190h4	17	5A882	30	508S4	43	596K2	56	500C2	69	D93d1
5	090d0	18	568V4	31	5A0N4	44	BA0O4	57	D93f0	70	094d0
6	5A0L2	19	50864	32	500Y4	45	50004	58	5A0G4	71	D93d6
7	091d9	20	598E4	33	580O4	46	560R2	59	500k3	72	D32f0
8	600T4	21	5A7I4	34	548e4	47	59822	60	508g4	73	D93d8
9	50802	22	5A0I4	35	7A0k2	48	5A0I4	61	560H2	74	D93d5
10	578U4	23	093d0	36	5A0k2	49	40064	62	5A0c4	75	860e4
11	540o4	24	510k4	37	5A8n2	50	300D4	63	50074	76	508Z2
12	59854	25	A00m4	38	55834	51	708q4	64	5A0i2	77	500I4
13	548J4	26	568Q4	39	900N4	52	500I2	65	560B2		

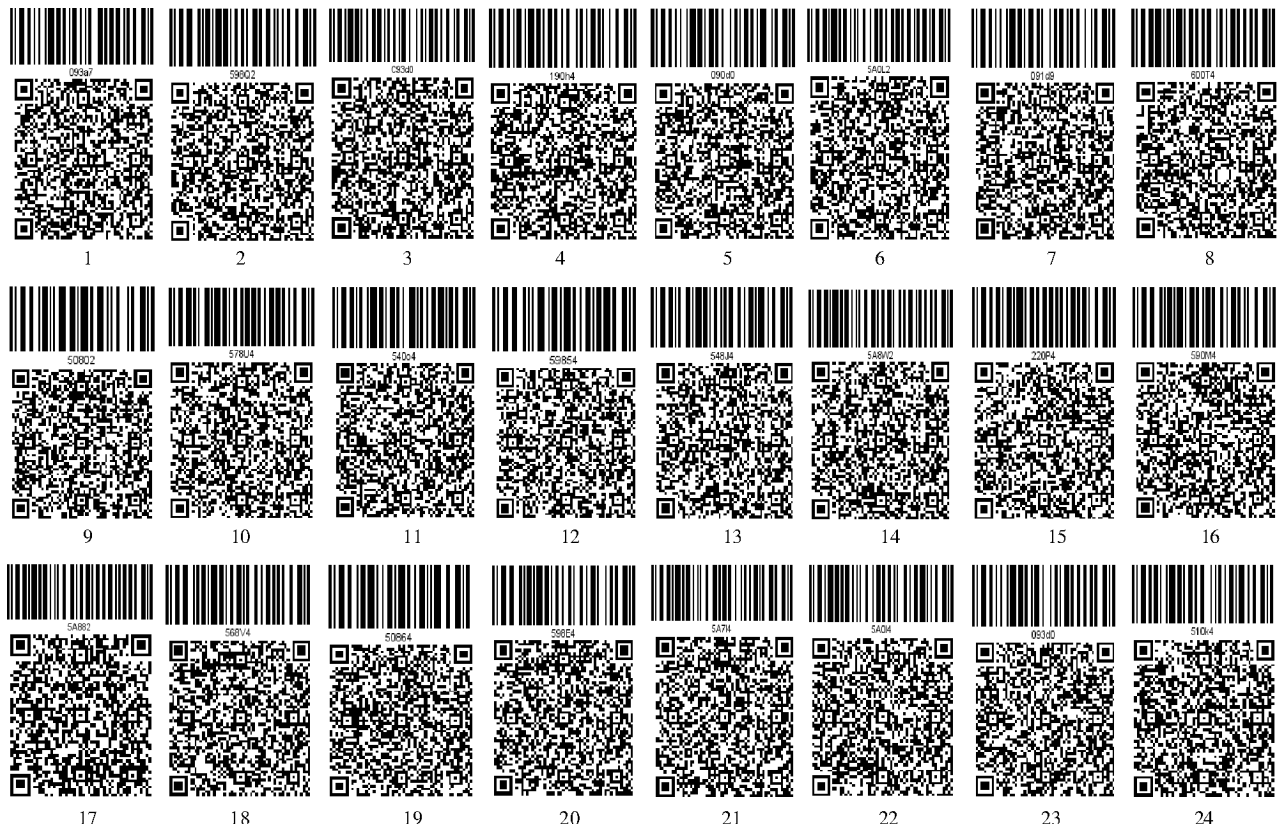


图 1 24 份黍子资源的条形码与二维码身份证
Fig.1 Barcode and two-dimensional code ID cards of 24 broomcorn millet accessions

3 讨论

3.1 荧光 SSR 在黍稷遗传多样性上的应用

毛细管电泳检测技术具有一系列优点,在小麦^[17-18]、玉米^[19]、油菜^[20]、烟草^[21]等植物中广泛应用,但在黍稷上相关报道不多^[22-24]。王璐琳等^[23]用 15 对荧光 SSR 检测 132 份黍稷种质资源,引物平均等位基因数为 7 个,I 值为 0.529 8,PIC 值为 0.486 4。寇淑君等^[24]利用 22 对标记检测 131 份黍稷种质资源,平均每对 SSR 标记扩增出 5.82 个主要等位变异,I 值为 1.206 2,PIC 值为 0.587 4。本研究的平均等位基因数为 9.875 0,I 值为 0.991 6,PIC 值为 0.553 3,具有较高的利用价值。

3.2 黍稷分子身份证的构建和实际应用

种质资源的分子身份证与其地理来源密切相关^[25-28],地理来源接近的分子身份证类似^[29-32];地理来源存在较大差异,则分子身份证很容易区别开来^[33-36]。陈巍等^[37]构建中国桃品种分子身份证,发现来源于吉林的吉林 8501 和吉林 8601,其分子身份证分别为 432566620382554 和 4325766103855545,极为相似;而分别来源于新疆的喀什 3 号和陕西的陕甘山桃,其分子身份证分别为 4367566143957525 和 1502233222010434,差异较大。本试验也有类似结果。基于荧光 SSR 构建的分子身份证中,气死风粘糜(序号 35)和灰粘糜(序号 36)均来自忻州市五台县,其分子身份证分别为 7A0k2 和 5A0k2,差别不大;而二白黍(序号 7)和白软黍(序号 61)来自大同和运城,其分子身份证分别为 091d9 和 560H2,地理来源差异较大,其分子身份证也有较大差别。本研究利用 5 个 SSR 标记来构建 77 个黍稷种质资源的分子身份证,并结合图 1 的 77 份黍稷资源的条形码与二维码身份证表述材料信息,能够实现该作物种质资源更加高效规范的管理,为今后的种质资源管理提供依据。

4 结论

用 5 个荧光高基元 SSR 标记组合构建的 77 份山西黍稷资源二维码 DNA 分子身份证,为标准化管理该作物种质以及后续追溯作物来源提供了参考。

参考文献:

[1] LU H Y, ZHANG J P, LIU K B, et al. Earliest domestication of common millet (*Panicum miliaceum*) in East Asia extended to 10,000 years ago[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2009, 106(18): 7367-7372.

[2] 朱建楚. 基于 PCR 标记的糜子遗传多样性分析[D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2005: 10-31.
ZHU J C. Analysis on the genetic diversity of broomcorn millet (*Panicum miliaceum*. L) by means of PCR markers[D]. Yangling: Northwest A & F University, 2005: 10-31.

[3] LÁGLER R, GYULAI G, HUMPHREYS M, et al. Morphological and molecular analysis of common millet (*P. miliaceum*) cultivars compared to an aDNA sample from the 15th century (Hungary)[J]. Euphytica, 2005, 146(1): 77-85.

[4] BAGDI A, BALÁZS G, SCHMIDT J, et al. Protein characterization and nutrient composition of Hungarian proso millet varieties and the effect of decortication[J]. Acta Alimentaria, 2011, 40(1): 128-141.

[5] HABIYAREMYE C, MATANGUIHAN J B, GUEDES J D, et al. Proso millet (*Panicum miliaceum* L.) and its potential for cultivation in the Pacific northwest, U.S.: a review[J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 7: 1961.

[6] DEVI P B, VIJAYABHARATHI R, SATHYABAMA S, et al. Health benefits of finger millet (*Eleusine coracana* L.) polyphenols and dietary fiber: a review[J]. Journal of Food Science and Technology, 2014, 51(6): 1021-1040.

[7] GUPTA S, SHRIVASTAVA S K, SHRIVASTAVA M. Proximate composition of seeds of hybrid varieties of minor millets[J]. Int. J. Res. Eng. Technol, 2014, 3(2): 687-693.

[8] 杨鹏凯, 王瑞云, 韩强, 等. 利用微卫星标记分析糜子资源的遗传多样性[J]. 分子植物育种, 2017, 15(5): 1979-1985.
YANG P K, WANG R Y, HAN Q, et al. Genetic diversity analysis of broomcorn millet (*Panicum miliaceum* L.) resources using microsatellite markers[J]. Molecular Plant Breeding, 2017, 15(5): 1979-1985.

[9] 王瑞云. 糜子遗传多样性及进化研究进展[M]. 北京: 中国农业出版社, 2017: 2-3.
WANG R Y. Research progress on genetic diversity and evolution of broomcorn millet[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2017: 2-3.

[10] 王晋, 王世红, 赖勇, 等. 大麦 SSR 标记遗传多样性及群体遗传结构分析[J]. 核农学报, 2014, 28(2): 177-185.
WANG J, WANG S H, LAI Y, et al. Genetic diversity and population structure analysis by using SSR markers in barley[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2014, 28(2): 177-185.

[11] ZHANG X L, TANG K X. Plant biotechnology[J]. Beijing: Science Press, 2004: 401-500.

[12] LE THIERRY D'ENNEQUIN M, PANAUD O, TOUPANCE B, et al. Assessment of genetic relationships between *Setaria italica* and its wild relative *S. viridis* using AFLP markers[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2000, 100(7): 1061-1066.

[13] 石甜甜, 何杰丽, 高志军, 等. 利用 EST-SSR 评估糜子资源遗传差异[J]. 中国农业科学, 2019, 52(22): 4100-4109.
SHI T T, HE J L, GAO Z J, et al. Genetic diversity of common millet resources assessed with EST-SSR markers[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2019, 52(22): 4100-4109.

[14] RAJPUT S G, PLYLER-HARVESON T, SANTRA D K. Development and characterization of SSR markers in proso millet based on switchgrass genomics[J]. American Journal of Plant Sciences, 2014, 5(1): 175-186.

[15] HU X Y, WANG J F, LU P, et al. Assessment of genetic diversity in broomcorn millet (*Panicum miliaceum* L.) using SSR markers[J]. Journal of Genetics and Genomics, 2009, 36(8):

- 491-500.
- [16] CHO Y I, CHUNG J W, LEE G A, et al. Development and characterization of twenty-five new polymorphic microsatellite markers in proso millet (*Panicum miliaceum* L.) [J]. *Genes & Genomics*, 2010, 32(3):267-273.
- [17] 徐先良, 赖勇, 王鹏喜, 等. 大麦亲本材料农艺性状鉴定及遗传多样性分析[J]. *麦类作物学报*, 2013, 33(4):640-646.
XU X L, LAI Y, WANG P X, et al. Identification of agronomic traits and genetic diversity analysis of barley parent materials[J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2013, 33(4):640-646.
- [18] HUNT H V, CAMPANA M G, LAWES M C, et al. Genetic diversity and phylogeography of broomcorn millet (*Panicum miliaceum* L.) across Eurasia[J]. *Molecular Ecology*, 2011, 20(22):4756-4771.
- [19] 王瑞云, 季煦, 刘晓欢, 等. 不同生态区糜子种质间叶片及光合特性的多样性分析[J]. *山西农业大学学报(自然科学版)*, 2014, 34(2):97-102.
WANG R Y, JI X, LIU X H, et al. Diversity of leaf traits and photosynthetic characteristics in broomcorn millet (*Panicum miliaceum* L.) germplasms among different ecotype zone of China[J]. *Journal of Shanxi Agricultural University(Natural Science Edition)*, 2014, 34(2):97-102.
- [20] 连帅, 王瑞云, 马跃敏, 等. 不同生态区糜子种质资源的遗传多样性分析[J]. *山西农业大学学报(自然科学版)*, 2015, 35(3):225-231.
LIAN S, WANG R Y, MA Y M, et al. Genetic diversity of millet germplasm resources in different ecological regions[J]. *Journal of Shanxi agricultural university (Natural science edition)*, 2015, 35(3):225-231.
- [21] 董俊丽, 王海岗, 陈凌, 等. 糜子骨干种质遗传多样性和遗传结构分析[J]. *中国农业科学*, 2015, 48(16):3121-3131.
DONG J L, WANG H G, CHEN L, et al. Analysis of genetic diversity and structure of proso millet core germplasm[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2015, 48(16):3121-3131.
- [22] LIU M X, XU Y, HE J H, et al. Genetic diversity and population structure of broomcorn millet (*Panicum miliaceum* L.) cultivars and landraces in China based on microsatellite markers[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2016, 17(3):370.
- [23] 王璐琳, 王瑞云, 何杰丽, 等. 糜子特异性 SSR 标记的开发[J]. *山西农业科学*, 2018, 46(1):1-4, 86.
WANG L L, WANG R Y, HE J L, et al. Development of specific SSR marker in common millet[J]. *Journal of Shanxi Agricultural Sciences*, 2018, 46(1):1-4, 86.
- [24] 寇淑君, 霍阿红, 付国庆, 等. 利用荧光 SSR 分析中国糜子的遗传多样性和群体遗传结构[J]. *中国农业科学*, 2019, 52(9):1475-1487.
KOU S J, HUO A H, FU G Q, et al. Genetic diversity and population structure of broomcorn millet in China based on fluorescently labeled SSR[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2019, 52(9):1475-1487.
- [25] 陈小红, 何杰丽, 石甜甜, 等. 基于转录组测序开发糜子 SSR 标记[J]. *中国农业科学*, 2020, 53(10):1940-1949.
CHEN X H, HE J L, SHI T T, et al. Developing SSR markers of proso millet based on transcriptome sequencing[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2020, 53(10):1940-1949.
- [26] EDWARDS K, JOHNSTONE C, THOMPSON C. A simple and rapid method for the preparation of plant genomic DNA for PCR analysis[J]. *Nucleic Acids Research*, 1991, 19(6):1349.
- [27] LIU K J, MUSE S V. PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis[J]. *Bioinformatics*, 2005, 21(9):2128-2129.
- [28] YEH F. Population genetic analysis of codominant and dominant markers and quantitative traits[J]. *Belgian Journal of Botany*, 1997, 129:157.
- [29] TAMURA K, PETERSON D, PETERSON N, et al. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2011, 28(10):2731-2739.
- [30] FALUSH D, STEPHENS M, PRITCHARD J K. Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies[J]. *Genetics*, 2003, 164(4):1567-1587.
- [31] 刘笑瑜, 王瑞云, 刘敏轩, 等. 利用 SSR 标记分析 40 份糜子资源的遗传多样性[J]. *分子植物育种*, 2016, 14:1631-1636.
LIU X Y, WANG R Y, LIU M X, et al. Genetic diversities among 40 parts of broomcorn millet revealed by SSR markers [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2016, 14:1631-1636.
- [32] 连帅, 陆平, 乔治军, 等. 利用 SSR 分子标记研究国内外黍稷地方品种和野生资源的遗传多样性[J]. *中国农业科学*, 2016, 49(17):3264-3275.
LIAN S, LU P, QIAO Z J, et al. Genetic diversity in broomcorn millet (*Panicum miliaceum* L.) from China and abroad by using SSR markers[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2016, 49(17):3264-3275.
- [33] 王瑞云, 刘笑瑜, 王海岗, 等. 用高基元微卫星标记分析中国糜子遗传多样性[J]. *中国农业科学*, 2017, 50(20):3848-3859, 中插 1-中插 11.
WANG R Y, LIU X Y, WANG H G, et al. Evaluation of genetic diversity of common millet (*Panicum miliaceum*) germplasm available in China using high motif nucleotide repeat SSR markers[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2017, 50(20):3848-3859, 中插 1-中插 11.
- [34] 王瑞云, 季煦, 陆平, 等. 利用荧光 SSR 分析中国糜子遗传多样性[J]. *作物学报*, 2017, 43(4):530-548.
WANG R Y, JI X, LU P, et al. Analysis of genetic diversity in common millet (*Panicum miliaceum*) using fluorescent SSR in China[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2017, 43(4):530-548.
- [35] BONMAN J M, BABIKER E M, CUESTA-MARCOS A, et al. Genetic diversity among wheat accessions from the USDA national small grains collection[J]. *Crop Science*, 2015, 55(3):1243-1253.
- [36] 王舒婷, 何杰丽, 石甜甜, 等. 利用微卫星标记分析山西糜子的遗传多样性[J]. *植物遗传资源学报*, 2019, 20(1):69-78.
WANG S T, HE J L, SHI T T, et al. Genetic diversity analysis of broomcorn millet (*Panicum miliaceum* L.) of Shanxi Province using microsatellite markers[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2019, 20(1):69-78.
- [37] 陈巍, 王力荣, 张绍铃, 等. 利用 SSR 研究不同国家桃育成品种的遗传多样性[J]. *果树学报*, 2007(5):580-584.
CHEN W, WANG L R, ZHANG S L, et al. Genetic diversity analysis of peach (*Prunus persica*) cultivars introduced from different countries by SSR[J]. *Journal of Fruit Science*, 2007(5):580-584.