

334 份青藏高原野生大麦群体结构及连锁不平衡水平分析

宋远方^{1,2}, 夏腾飞^{1,2}, 徐金青^{1,2}, 王寒冬¹, 沈裕虎^{1,3}, 王 蕾^{1,3}

(1. 中国科学院 高原生物适应与进化重点实验室, 西北高原生物研究所, 西宁 810001;

2. 中国科学院大学, 北京 100039; 3. 青海省作物育种重点实验室, 西宁 810001)

摘要 利用 1 389 个 DArT 标记对 334 份青藏高原西藏野生大麦材料进行遗传多样性、群体结构和连锁不平衡水平分析。结果显示, 参试群体 DArT 标记的多态性信息含量(PIC)值为 0.005 6~0.500 0, 平均值为 0.248 9。运用贝叶斯、主坐标分析 2 种方法对野生大麦的群体结构进行研究。结果显示参试材料存在明显的群体分层, 各个亚群中的个体不同来源、不同棱形、不同皮裸性混杂分布。以标记位点间的相关系数平方(r^2)作为衡量连锁不平衡(LD)水平的参数, 在整体上, LD 水平随着遗传距离的增加递减, 各个染色体体内也有相同的趋势, 不同染色体的 LD 水平不同。以 $r^2=0.2$ 为阈值统计, 大于 0.2 的位点组合中, $P<0.001$ 的位点组合比例为 3.31%, r^2 的平均值为 0.454; 群体的 LD 衰减距离为 0.3 cM, 衰减较快。青藏高原地区野生大麦群体结构和连锁不平衡水平的研究为杂交育种和关联图谱的构建奠定了良好的基础。

关键词 大麦; DArT 标记; 群体结构; 连锁不平衡

中图分类号 Q347

文献标志码 A

文章编号 1004-1389(2017)02-0201-09

大麦栽培历史悠久, 是世界上第四大粮食作物^[1]。大麦是农艺学上重要的大基因组作物, 具有大量的品种, 在世界范围内广泛分布^[2]。中国大麦遗传资源丰富, 但其遗传多样性在地区间有很大的差异^[3]。野生二棱皮大麦(*Hordeum spontaneum*)是现在栽培大麦的祖先, 在新石器时期就被驯化作为一种粮食作物^[4]。青藏高原及其边缘地区被认为是栽培大麦的驯化中心之一^[5], 该地区有丰富的野生大麦资源分布。该地区野生大麦无分布群落, 主要与农作物混生, 不同变种呈现重叠分布, 穗和籽粒的深色型比例大, 尤以黑壳类型丰富而广布^[6]。分类上, 主要为野生二棱大麦(*Hordeum spontaneum*)、野生六棱大麦(*Hordeum agtiocritihon*) 2 个亚种, 分别有 12 个和 36 个变种, 其中野生二棱退化型和裸粒型是世界罕见的珍贵遗传资源^[6], 是青藏高原地区青稞育种研究中可利用的重要种质资源。

近年来, 国内外研究者对 1a 生野生大麦开展了农艺性状与品质性状分析^[7-8]、遗传多态性分

析^[9-12]和多种非生物胁迫抗性如干旱^[13]、酸铝^[14]和盐害^[15]等性状的鉴定和优异种质的发掘, 这些研究表明青藏高原野生大麦具有丰富的遗传多样性和遗传变异。Dai 等^[5]研究表明, 近东地区的野生大麦遗传多样性高于青藏高原野生大麦, 参试野生大麦材料分为 4 个亚群, 青藏高原野生大麦和近东地区野生大麦分在不同的亚群。Wu 等^[16]对 188 份青藏高原野生大麦的群体结构和 LD 水平研究发现参试野生大麦群体分为 8 个亚群。但是 Wang 等^[12]对 90 份野生大麦(青藏高原野生大麦 45 份, 中东地区野生大麦 45 份)的遗传多样性研究表明, 青藏高原地区野生大麦的遗传多样性高于中东地区野生大麦, 聚类分析结果表明青藏高原野生大麦和中东地区野生大麦分在两个亚群中。Khodayari 等^[17]利用 22 个微卫星标记对来自于伊朗的 94 份野生大麦进行遗传多样性研究, 结果表明野生大麦具有较高的遗传多态性。Zhang 等^[18]利用 49 对 SSR 引物对 240 份国内和 60 份国外大麦材料的遗传多样性进行研

收稿日期:2016-01-14 修回日期:2016-03-10

基金项目:青海省应用基础研究计划项目(2013-Z-724);2013 年度中国科学院“西部之光”人才培养计划“联合学者”项目;青海省应用基础研究计划项目(2015-ZJ-702);2015 年度中国科学院“西部之光”人才培养计划“西部博士”项目;青海省自然科学基金(2015-ZJ-915)。

第一作者:宋远方,男,硕士研究生,从事作物遗传育种方面的研究。E-mail:songyuanfang20@163.com

通信作者:王 蕾,女,博士,助理研究员,从事作物遗传育种方面的研究。E-mail:wanglei@nwipb.cas.cn

究,发现国内外材料遗传基础组成差异较大。Ivandic 等^[19]利用 33 个 SSR 标记对以色列、土耳其和伊朗的 39 份野生大麦基因型的遗传多样性研究表明,大多数材料能按国家归类。Cai 等^[20]研究表明西藏野生大麦遗传多样性丰富,基因组 LD 水平栽培大麦高于野生大麦。Russell 等^[21]研究表明“新月沃地”地区的野生大麦与地方品种大麦相比具有较高的遗传多样性,大麦地方品种与野生大麦相比具有较高的 LD 水平。

种质资源是育种的物质基础,对其进行准确分析和评价是合理利用资源的前提^[22],充分了解自己所拥有的育种材料的遗传变异程度是十分必

要。本研究利用 1 389 个 DArT 标记对 334 份青藏高原野生大麦的遗传多样性、群体结构及连锁不平衡水平进行系统研究分析,旨在拓宽亲本资源,为野生大麦在育种中的利用提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 材料

参试材料为 334 份野生大麦材料,分别来自西藏、青海、四川 3 省区,包括野生二棱皮大麦 95 份,野生二棱裸大麦 59 份,野生六棱皮大麦 125 份,野生六棱裸大麦 55 份(图 1)。所有参试材料由国家作物种质库青海复份库提供。

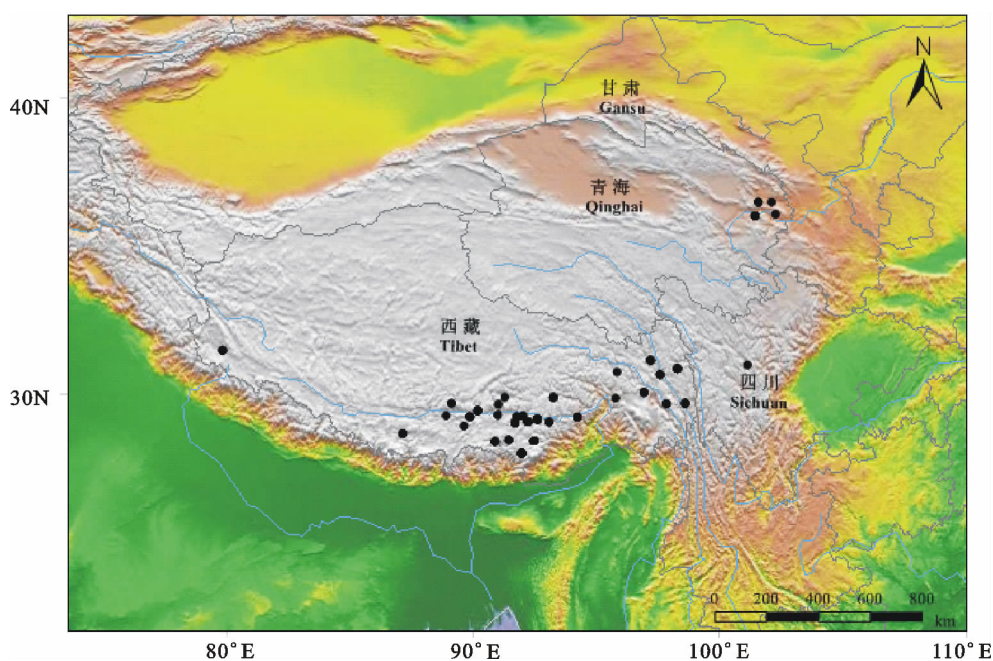


图 1 334 份参试材料地理分布

Fig. 1 Geographical distribution of 334 accessions

1.2 试验方法

1.2.1 DNA 提取 每个大麦材料取 5 粒种子种于培养皿中,2 周后取新鲜叶片采用改进的 CTAB 法(Stewart Jr & Via, 1993)进行基因组 DNA 的提取。

1.2.2 DArT 标记基因组扫描 基因组 DNA 质量浓度调至约 100 mg/L,每个材料取 20 μ L 送交澳大利亚 Diversity Arrays Technology Pty Ltd. 公司进行全基因组 DArT 标记扫描(<http://www.triticarte.com.au>)。芯片型号为 Barley PstI(BstNI)(1.7)。通过 3 次独立试验进行验证其基因分型质量。

1.3 数据分析

每个 DArT 标记的多态性信息含量(Polymorphism information content, PIC)按照下列公式计算: $PIC=1-\sum(p_i)^2$ 。式中, p_i 为 i 个等位基因在群体中出现的频率^[23],该参数使用 POWERMARKER 3.25 软件进行计算^[24]。

群体结构的分析采用 2 种方法。首先,利用 Pritchard 等^[25]提出的贝叶斯模型的方法,使用 STRUCTURE 2.2 软件进行群体结构的划分。具体过程为,设定群体数(K)为 1~16,并假定位点都是独立的。将 MCMC(Markov Chain Monte Carlo)的不作数迭代(Length of burn-in period)设为 100 000 次,再将不作数迭代后的 MCMC 设

为 1 000 000 次。每个 K 值进行 10 次运算,进行 3 次重复运算。每次运算软件产生 1 个 Q 矩阵,得到相应材料的 Q 值(第 i 材料其基因组变异源于第 K 群体的概率)。利用 CLUMM 软件^[26]将 10 次运算的 Q 矩阵结果进行整合。其次,利用 NTSYS 2.1 软件进行主坐标分析。运算中用基于 Nei 氏距离的遗传相似性矩阵。

群体连锁不平衡(LD)水平的分析,以标记位点间的相关系数平方(r^2),作为衡量连锁不平衡的参数^[27]。用 2 种形象化的方式来表示:LD 衰减图和 LD 矩阵。LD 衰减图是以连锁不平衡参数 r^2 和标记位点间的遗传距离作散点图,表示一个区域内的 LD 分布情况;LD 矩阵是某基因组内或染色体上多态性位点间的 LD 线性排列。以 $r^2 = 0.2$ 作为阈值检测 LD 衰减。LD 的计算在 TASSEL 软件中实现。

2 结果与分析

2.1 参试野生大麦的遗传多样性分析

通过 3 次独立重复控制 DArT 标记基因分型的质量,结果显示重复性为 95.8%~100%,其中重复率在 99%以上的标记占 80%,说明基因分型结果重现性良好。用 2 304 个 DArT 标记进行参试材料的全基因组扫描,最终有 1 389 个标记在参

试群体中表现出多态性,其中有染色体位置信息的标记共 698 个,覆盖基因组长度为 1 136.060 0 cM(表 1)。

DArT 标记为显性标记,所以其 PIC 值为 0~0.5。参试野生大麦群体中,所用 DArT 标记的 PIC 值变异为 0.005 6~0.500 0,平均值为 0.248 9。不同染色体 DArT 标记 PIC 平均值变化较大,其中 6H 染色体 PIC 平均值最高,为 0.291 2;4H 染色体 PIC 平均值最低,为 0.186 2(表 1)。

2.2 参试野生大麦群体结构分析

运用贝叶斯模型和主坐标分析方法,对 334 份青藏高原野生大麦材料进行群体结构估测。贝叶斯方法结果显示,每次重复的 $\text{LnP}(D)$ 值呈持续增大且无明显的拐点出现,无法直接确定合理的 K 值(图 2-a)。对 Q 矩阵进行重复性检测, $K=2$ 或 $K=5$ 时各重复间相关系数 $r > 0.99$ ($P < 0.01$),因此,可以初步确定 K 的合理取值应该是 2 或者 5; ΔK 的计算结果表明, $K=2$ 或者 $K=5$ 时, ΔK 达到峰值(图 2-b)。 $K=2$ 时,如果将参试野生大麦材料分为 2 个亚群(WPOP1、WPOP2),有 243 份材料的 Q 值 ≥ 0.8 ,占参试材料的 72.75%,2 个亚群中不同地理来源、不同棱型和不同皮裸性的材料混杂分布(表 2)。当 $K=5$ 时,情况亦然。

表 1 全基因组和不同染色体上 DArT 标记分布及其 PIC 值

Table 1 Distribution of DArTs on genome and different chromosomes and the mean of PIC

项目 Item	总数 All	1H	2H	3H	4H	5H	6H	7H
标记数目 Markers number	1 389	97	123	109	39	99	95	136
长度/cM Length	1 136.060 0	144.190 0	166.710 0	181.320 0	145.100 0	190.970 0	147.090 0	160.680 0
PIC 均值 Mean of PIC	0.248 9	0.245 6	0.267 2	0.204 8	0.186 2	0.217 1	0.291 2	0.249 5

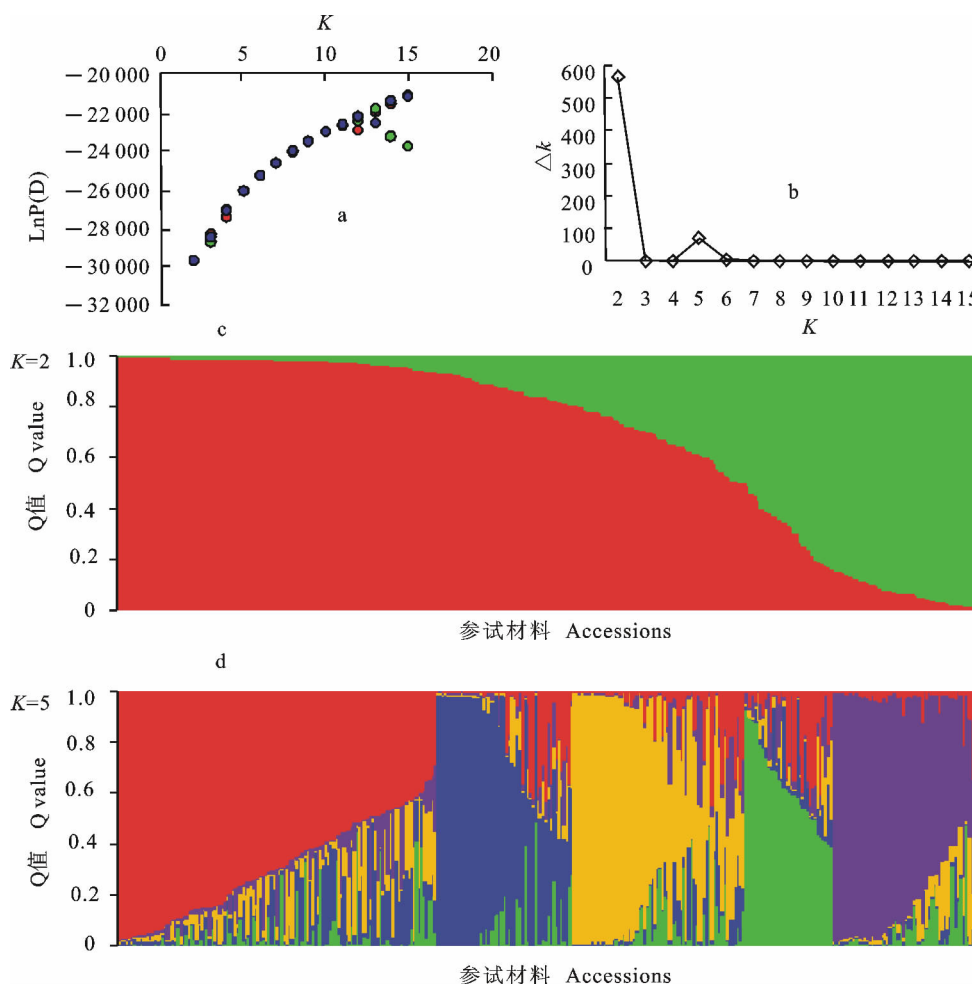
用 1 251 个多态性标记进行基于 Nei 氏距离的主坐标分析(去掉缺失大于 10%的标记),结果表明前 3 个主成分可累计解释 31.71%的分子变异(分别为 12.08%、11.81%、7.82%)。利用每个材料在 3 个主坐标中对应的特征向量做三维散点图(图 3),直观反映出群体材料间的聚类关系。将在贝叶斯方法中 Q 值 < 0.8 的材料记为 Admixed 个体,图 3-a 和图 3-b 中的颜色标定同贝叶斯方法中不同亚群中 Q 值 ≥ 0.8 的材料颜色一致。结果显示,主坐标分析与贝叶斯方法结果基本一致,不同棱型、不同皮裸性和不同地理来源的野生大麦混杂分布(图 3-c),这同青藏高原野生大麦混居的地理分布特征一致。

2.3 参试野生大麦基因组连锁不平衡分析

用 554 个已知染色体位置信息的多态性 DArT 标记进行参试材料群体基因组连锁不平衡分析(去除缺失大于 20%和 MAF 小于 5%的标记)。以标记位点间的相关系数平方(r^2)作为衡量连锁不平衡性的参数。结果显示,参试材料群体基因组内存在一定程度的连锁不平衡性,统计概率($P < 0.001$)支持的 LD 成对位点占有位点组合的比例为 8.100%,其 r^2 平均值为 0.082,整体 LD 水平较低。由于 4H 染色体上可用的 DArT 标记仅有 37 个且分布不均匀,在下面不作分析。不同染色体上得到统计概率支持的($P < 0.001$)的成对位点数比例不同,其中 2H 上得到

统计概率支持的成对位点数比例最大为 13.690%，5H 最小，为 6.290%。5H 成对位点的 r^2 平均值最大(0.215)，1H 成对位点的 r^2 平

均值最小(0.093)。一般情况下，以 $r^2 = 0.2$ 阈值，认为 r^2 高于该阈值时，连锁不平衡是由遗传连锁造成的^[26]。以 $r^2 = 0.2$ 为阈值，整体上 $r^2 \geq$



a. LnP(D) 值重复性检测 The repeatability test of LnP(D); b. ΔK 值的变化 The variance of ΔK ; c, d. $K=2$ 或 $K=5$ 时参试材料群体结构 The population structure of accessions when $K=2$ or $K=5$

图 2 参试材料群体结构估计

Fig. 2 The estimate of population structure for accessions

表 2 各个亚群中参试野生大麦材料的分布情况

Table 2 Distribution of different wild type barley in subpopulations

K 值 K value	群体 Population	二棱皮大麦 Two-rowed hulled barley	二棱裸大麦 Two-rowed hullless barley	六棱皮大麦 Six-rowed hulled barley	六棱裸大麦 Six-rowed hullless barley	总计 Total
K=2	亚群 1 WPOP1	80	44	82	34	240
	亚群 2 WPOP2	15	15	43	21	94
	总计 Total	95	59	125	55	334
K=5	亚群 1 WPOP1	38	21	45	19	123
	亚群 2 WPOP2	10	4	12	8	34
	亚群 3 WPOP3	10	9	26	8	53
	亚群 4 WPOP4	17	15	21	13	66
	亚群 5 WPOP5	20	10	21	7	58
	总计 Total	95	59	125	55	334

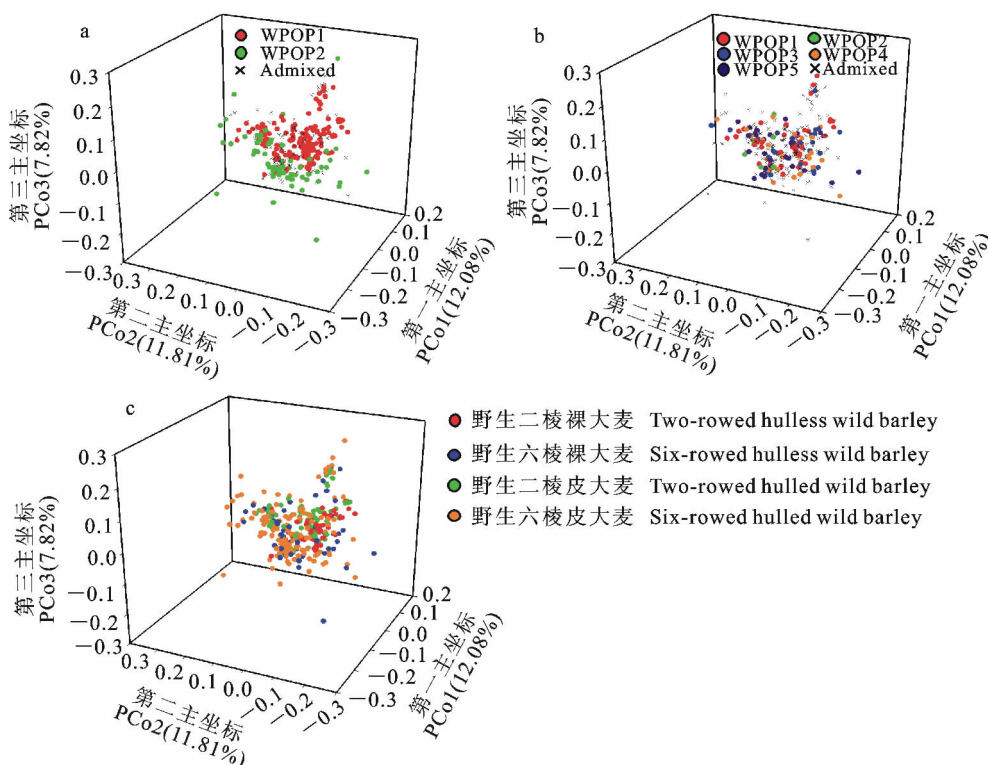


图3 参试野生大麦材料基于 Nei 氏距离的主坐标分析

Fig.3 Principal coordinate analysis of wild barley accessions based on a Nei's distance matrix

0.2 的 LD 成对位点数占得到统计概率支持成对位点数的 3.310%, r^2 平均值为 0.454。不同染色体 $r^2 \geq 0.2$ 的 LD 成对位点数比例和其 r^2 平均值也不尽相同,5H 上 $r^2 \geq 0.2$ 的 LD 成对位点数的比例最高为 18.520%, 其 r^2 平均值也最大(0.805),1H 上 $r^2 \geq 0.2$ 的 LD 成对位点数的比例最低为 5.240%, 但是 r^2 平均值最小的染色体是 2H。同一染色体内的 $r^2 \geq 0.2$ 的 LD 成对位点数(9.640%)和 r^2 平均值(0.552)均大于不同染色体间的数值,说明参试材料群体基因组内处于 LD 的成对位点主要来自于染色体内部而非不同染色体间。从整体上看,参试群体基因组 LD 随着标记间遗传距离的增大而减弱。如果将整个基因组或不同染色体划分为 5 个区段,可以发现,随着遗传距离增大,LD 成对位点的 r^2 平均值急剧减小,且这种变化主要集中在 3 cM 位置附近。从不同染色体来看,遗传距离 ≤ 3 cM 时,5H 上的 LD 成对位点 r^2 平均值最大,1H 上的 LD 成对位点 r^2 平均值最小(图 4-a)。

LD 衰减所延伸的距离决定着关联分析所需使用的标记多寡及关联分析的精度。对 DArT 成对位点 r^2 值对遗传距离(cM)进行回归分析发

现(图 4-b),参试野生大麦群体 DArT 成对位点 r^2 值随着遗传距离衰减迅速衰减且遵循方程: $y = a \ln(x) + b$ 。当 $r^2 = 0.2$ 时,整个基因组 LD 衰减距离仅为 0.3 cM。不同染色体 LD 衰减水平差异很大,7H 上 LD 衰减距离仅为 0.035 cM,而 5H LD 衰减距离最大达到 5.8 cM,说明每条染色体承受不同的选择压(表 3)。

3 讨论

3.1 参试野生大麦遗传多样性分析

Dai 等^[5]利用 DArT 标记的研究结果表明,近东地区野生大麦的遗传多样性($PIC = 0.379$)要高于青藏高原野生大麦($PIC = 0.353$),也高于本研究参试野生大麦的遗传多样性水平($PIC = 0.2489$)。其原因可能是近东地区的野生大麦群体分布远离大麦等作物种植区,其多样性能得以较为完整保留。而青藏高原地区的野生大麦是以野草形式在田间地头与栽培大麦等作物共生,且不同稃型、不同皮裸性的野生大麦交错分布,野生大麦与栽培大麦或不同类型群体间存在基因渗透,造成野生大麦多样性降低。同时,青藏高原环境严酷,对野生大麦群体适应性可能会产生某种

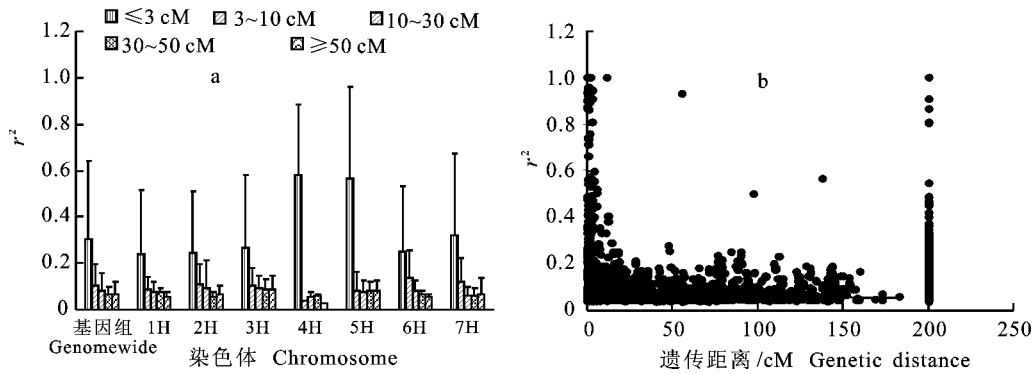


图 4 参试野生大麦群体基因组及不同染色体的 LD 衰减

Fig. 4 LD decay as calculated across genome and different chromosomes of wild barley accessions

表 3 参试群体全基因组及各染色体达到统计概率标记对比例、 $r^2 > 0.2$ 标记对比例、 r^2 平均值及 LD 衰减距离

Table 3 Percentage of pairs in significant level and percentage of pairs in LD and mean r^2 and LD extent distance in genome-wide and individual chromosomes for wild barley accessions

项目 Item	基因组 Genome	染色体 Intra-chr	染色体间 Inter-chr	1H	2H	3H	4H	5H	6H	7H
$P < 0.001$ 标记对比例 / % Percentage of pairs in sig. $P < 0.001$	8.100	10.640	7.630	12.720	13.690	13.450	8.330	6.290	7.750	8.990
$P < 0.001$ 标记对 r^2 平均值 Average r^2 of pairs in sig.	0.082	0.121	0.072	0.093	0.106	0.120	0.223	0.215	0.120	0.123
$r^2 > 0.2$ 标记对比例 / % Percentage of pairs in LD $r^2 > 0.2$	3.310	9.640	1.680	5.240	8.140	10.590	28.000	18.520	12.220	9.110
$r^2 > 0.2$ 标记对 r^2 平均值 Average r^2 of pairs in LD	0.454	0.552	0.308	0.479	0.462	0.456	0.661	0.805	0.463	0.636
LD 衰减距离 LD extent distance	0.300	—	—	0.510	0.370	0.140	—	5.800	0.041	0.035

定向自然选择过程,从而降低青藏高原野生大麦的遗传多样性。尽管如此,研究结果表明,青藏高原野生大麦的遗传多样性($PIC = 0.2489$)依然高于农家品种($PIC = 0.2125$)和育成品种($PIC = 0.2458$)^[28-29],表明驯化家养过程中,为了适应复杂的地理环境和人类需求,野生大麦经历了严苛的自然选择和人工选择,基因组内有若干基因位点因其等位基因丢失而导致该位点多样性丧失,导致遗传多样性降低。

3.2 参试野生大麦群体结构分析

用贝叶斯和主坐标分析 2 种方法对 334 份青藏高原野生大麦进行群体结构估测,结果表明,参试青藏高原野生大麦内存在一定的群体结构。贝叶斯方法分析的结果显示,参试群体可划分为 2 个或 5 个亚群,当 Q 值 > 0.8 时(Q 值 < 0.8 的材料记为 Admixed 个体),主坐标分析结果同贝叶斯方法分析结果基本一致。从参试材料在各个亚群的分布来看,不同棱型、不同皮裸性和不同地理来源的材料混杂分布,且 admixed 个体数较多,各个亚群间没有明显的界限。推测其原因,一是这

种群体结构样式同青藏高原野生大麦地理分布特征相符合。除了野生二棱皮大麦外,青藏高原还分布有大量的野生二棱裸大麦、野生六棱皮大麦和野生六棱裸大麦,这些野生大麦同栽培六棱裸大麦一起混杂分布于田间地头,没有地理隔离和生殖隔离条件下,各类型材料间很可能存在基因渗透现象;另一方面,可能是由于不同棱型、皮裸性或者地理来源的材料起源较为单一,起源地狭窄导致了参试群体结构样式。与本研究不同的是,邱龙^[30]利用 DArT 标记采用 STRUCTURE 软件和聚类分析方法分析 188 份青藏高原 1 a 野生大麦资源的群体结构,结果表明供试野生大麦基于棱型等可划分为 8 个亚群,其中 2 个亚群主要为野生六棱大麦,其他 6 个亚群多为野生二棱大麦。这可能是由于 2 个研究所用的材料类型和数目以及标记数目不尽相同造成的,还需要进一步的研究确认。

3.3 参试野生大麦群体连锁不平衡分析

对于野生大麦群体基因组 LD 水平的研究较少。邱龙^[30]的研究发现青藏高原野生大麦群体

LD 衰减延伸距离为 20 cM ($r^2 = 0.1$)。这与 Stracke 等^[31]和 Kraakman 等^[32]的研究结果基本一致。同时,邱龙^[30]的研究结果表明,青藏高原 1a 生野生大麦的第 2、6 和 7 号染色体的 LD 衰减较快,其衰减的距离分别 12.5、10 和 15 cM。与此不同的是, Morrell 等^[33]研究 25 份野生大麦群体的 LD 水平, Caldwell 等^[34]研究 4 个候选基因区段在 3 个不同大麦群体(野生大麦、农家品种、育成品种)中的 LD 水平。结果表明育成品种基因组 LD 衰减距离为 212 kb, 而野生大麦和农家品种这 2 个比较原始的群体中 LD 衰减明显要快于育成品种。Wang 等^[28]利用 DArT 标记研究发现,青藏高原大麦农家品种群体基因组 LD 衰减距离可达 5.58 cM, 育成品种群体基因组衰减距离为 200.33 cM^[29]。本项研究的结果同 Morrell 等^[33]和 Caldwell 等^[34]的一致, 参试青藏高原野生大麦群体基因组 LD 衰减较快, 其衰减距离为 0.30 cM。6H 和 7H 染色体 LD 衰减最快, 5H 衰减最慢。野生大麦作为原始群体, 不同于农家品种和育成品种, 由于未受到严苛的人工选择, 发生在其基因组内的选择和重组事件较少, 保留了较高的多样性水平, 同时其基因组 LD 衰减距离较快。5H 的 LD 衰减距离显著大于其他染色体(表 3), 说明该条染色体上承受了较大的选择压, 作为野生群体, 这种选择压主要来自于群体适应于不同环境所产生的自然选择, 推测在该条染色体上可能存在同环境适应性相关的基因。

利用 DArT 标记对 334 个青藏高原野生大麦群体进行群体结构和基因组 LD 水平估测, 发现青藏高原野生大麦具有较高的遗传多样性水平, 其群体结构同其混居的地理分布特征相适应, 基因组 LD 衰减较快。野生大麦尽管具有碎穗、穗粒数少、千粒质量低等不利农艺性状, 但抗逆、耐瘠, 同时蛋白质含量等品质性状优良, 在大麦育种中有着巨大的潜在应用价值。作为中国所独有的珍贵自然资源, 对青藏高原野生大麦群体结构和基因组 LD 水平进行估测, 有助于后续开展基于自然群体的关联作图和基因发掘工作, 有利于拓宽目前大麦育种的遗传基础。

参考文献 Reference:

[1] 顾自奋, 黄志仁, 许如根, 等. 近 10 年世界大麦生产概况[J]. 大麦科学, 2001, 1(1): 1-4.
GU Z F, HUANG ZH R, XU R G, *et al.* Summary of barley production in the world in the last ten years[J]. *Barley Science in China*, 2001, 1(1): 1-4 (in Chinese with English ab-

stract).

- [2] MALYSHEVA-OTTO L V, GANAL M W, RÖDER M S. Analysis of molecular diversity, population structure and linkage disequilibrium in a worldwide survey of cultivated barley germplasm (*Hordeum vulgare* L.) [J]. *BMC Genetics*, 2006, 7(1): 6.
- [3] 张赤红, 张京, 赵会英, 等. 应用 SSR 标记对 61 个国家大麦遗传多样性的研究[J]. 植物遗传资源学报, 2008, 9(1): 15-19.
ZHANG CH H, ZHANG J, ZHAO H Y, *et al.* Study on genetic diversity of barley from 61 countries using SSR markers [J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2008, 9(1): 15-19 (in Chinese with English abstract).
- [4] ZOHARY D, HOPF M, WEISS E. Domestication of Plants in the Old World: The Origin and Spread of Domesticated Plants in Southwest Asia, Europe, and the Mediterranean Basin [M]. Demand: Oxford University Press, 2012.
- [5] DAI F, NEVO E, WU D, *et al.* Tibet is one of the centers of domestication of cultivated barley [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2012, 109 (42): 16969-16973.
- [6] 马得泉, 徐廷文, 顾茂芝, 等. 西藏野生大麦的分类和分布[J]. 中国农业科学, 1987(2): 1-5.
MA D Q, XU T W, GU M ZH, *et al.* The classification and distribution of wild barley in Tibet [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 1987(2): 1-5 (in Chinese).
- [7] 吕毅. 青藏高原一年生野生大麦若干农艺性状的 QTL 定位 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2007.
LÜ Y. QTL Analysis of some agronomic traits in Qing-Tibetan Plateau annual wild barley [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2007 (in Chinese with English abstract).
- [8] 杨勇. 青藏高原一年生野生大麦的农艺性状及品质性状分析 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2010.
YANG Y. Analysis of agronomic and quality traits in the annual wild barley accessions of Qing-Tibetan Plateau [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2007 (in Chinese with English abstract).
- [9] 唐慧慧, 丁毅, 胡耀军, 等. 中国近缘野生大麦醇溶蛋白的遗传多样性研究 [J]. 武汉植物学研究, 2002, 20(4): 251-257.
TANG H H, DING Y, HU Y J, *et al.* Genetic polymorphism of hordein in wild relatives of barley from China [J]. *Journal of Wuhan Botanical Research*, 2002, 20(4): 251-257 (in Chinese with English abstract).
- [10] 侯永翠, 郑有良, 魏育明, 等. 青藏高原近缘野生大麦醇溶蛋白遗传多样性分析 [J]. 西南农业学报, 2004, 17(5): 545-551.
HOU Y C, ZHENG Y L, WEI Y M, *et al.* Analysis of genetic diversity of hordein in wild relatives of barley from Qingzang plateau [J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2004, 17(5): 545-551 (in Chinese with

- English abstract).
- [11] FENG Z Y, LIU X J, ZHANG Y Z, *et al.* Genetic diversity analysis of tibetan wild barley using SSR markers[J]. *Acta Genetica Sinica*, 2006, 33(10): 917-28.
- [12] WANG A, YU Z Y, DING Y. Genetic diversity analysis of wild close relatives of barley from Tibet and the Middle East by ISSR and SSR markers[J]. *Comptes Rendus Biologies*, 2009, 332(4): 393-403.
- [13] ZHAO J, SUN H, DAI H, *et al.* Difference in response to drought stress among Tibet wild barley genotypes[J]. *Euphytica*, 2010, 172(3): 395-403.
- [14] DAI H X, SHAN W N, ZHAO J, *et al.* Difference in response to aluminum stress among Tibetan wild barley genotypes[J]. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2011, 174(6): 952-960.
- [15] QIU L, WU D Z, ALI S, *et al.* Evaluation of salinity tolerance and analysis of allelic function of HvHKT1 and HvHKT2 in Tibetan wild barley[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2011, 122(4): 695-703.
- [16] WU D, QIU L, XU L, *et al.* Genetic variation of HvCBF genes and their association with salinity tolerance in Tibetan annual wild barley. [J]. *Plos One*, 2011, 6(7): 646-648.
- [17] KHODAYARI H, SAEIDI H, AKHAVAN A, *et al.* Microsatellite analysis of genetic diversity of wild barley (*Hordeum vulgare* subsp. spontaneum) using different sampling methods in Iran [J]. *Iranian Journal of Botany*, 2014, 20(1): 41-50.
- [18] ZHANG C H, ZHANG J. Genetic diversity assessment of barley germplasm resources using SSR markers[J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2008, 28(2): 214-219.
- [19] IVANDIC V, HACKETT C A, NEVO E, *et al.* Analysis of simple sequence repeats (SSRs) in wild barley from the fertile crescent; associations with ecology, geography and flowering time[J]. *Plant Molecular Biology*, 2002, 48(5-6): 511-527.
- [20] CAI S G, WU D Z, JABEEN Z, *et al.* Genome-wide association analysis of aluminum tolerance in cultivated and Tibetan wild barley. [J]. *Plos One*, 2013, 8(7): e69776-e69776.
- [21] RUSSELL J, DAWSON I K, FLAVELL A J, *et al.* Analysis of > 1 000 single nucleotide polymorphisms in geographically matched samples of landrace and wild barley indicates secondary contact and chromosome-level differences in diversity around domestication genes [J]. *New Phytologist*, 2011, 191(2): 564-578.
- [22] 周 伟. 二棱大麦种质资源引进与评价研究[D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2006.
ZHOU W. Introduction and evolution of two-rowed barley germplasms abstract [D]. Yangling Shaanxi: Northwest Agriculture & Forestry University, 2006 (in Chinese with English abstract).
- [23] BOTSTEIN D, WHITE R L, SKOLNICK M, *et al.* Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms[J]. *American Journal of Human Genetics*, 1980, 32(3): 314-331.
- [24] LIU K, MUSE S. Power marker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis [J]. *Bioinformatics*, 2005, 21(9): 2128-2129.
- [25] PRITCHARD J K, STEPHENS M, DONNELLY P. Inference of population structure using multilocus genotype data[J]. *Genetics*, 2000, 155(2): 945-959.
- [26] JAKOBSSON M, ROSENBERG N A. CLUMPP: a cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure[J]. *Bioinformatics*, 2007, 23(14): 1801-1806.
- [27] HILL W G, ROBERTSON A. Linkage disequilibrium in finite populations [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1968, 38(6): 226-231.
- [28] WANG L, XU J, XIA T, *et al.* Population structure and linkage disequilibrium in six-rowed barley landraces from the Qinghai-Tibetan Plateau [J]. *Crop Science*, 2014, 54(5): 2011-2022.
- [29] 王 蕾. 青藏高原青稞及野生大麦群体结构和标记/性状全基因组关联分析[D]. 北京: 中国科学院大学, 2014.
WANG L. Population structure of six-rowed barley and wild barley from Qinghai-Tibet Plateau and traits/markers genome-wide association analysis [D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2014 (in Chinese with English abstract).
- [30] 邱 龙. 青藏高原一年生野生大麦耐盐性评价及优异等位基因的挖掘[D]. 杭州: 浙江大学, 2011.
QIU L. The evaluation of salt tolerance and exploitation of elite alleles in Tibetan Plateau annual wild barley [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2011 (in Chinese with English abstract).
- [31] STRACKE S, PEROVIC D, STEIN N, *et al.* Linkage disequilibrium in barley [C] // Proceedings of 11th Molecular Markers Symposium of the GPZ. Gatersleben; Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), 2003: 114.
- [32] KRAAKMAN A T W, NIKS R E, VAN DEN BERG P M M, *et al.* Linkage disequilibrium mapping of yield and yield stability in modern spring barley cultivars [J]. *Genetics*, 2004, 168(1): 435-446.
- [33] MORRELL P L, TOLENO D M, LUNDY K E, *et al.* Low levels of linkage disequilibrium in wild barley (*Hordeum vulgare* ssp. spontaneum) despite high rates of self-fertilization [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005, 102(7): 2442-2447.
- [34] CALDWELL K S, RUSSELL J, LANGRIDGE P, *et al.* Extreme population-dependent linkage disequilibrium detected in an inbreeding plant species, *Hordeum vulgare* [J]. *Genetics*, 2006, 172(1): 557-567.

Population Structure and Linkage Disequilibrium in 334 Wild Barley from the Qinghai-Tibetan Plateau

SONG Yuanfang^{1,2}, XIA Tengfei^{1,2}, XU Jinqing^{1,2},
WANG Handong¹, SHEN Yuhu^{1,3} and WANG Lei^{1,3}

(1. Key Laboratory of Adaptation and Evolution of Plateau Biota, Northwest Plateau Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China; 3. Key Laboratory of Crop Molecular Breeding of Qinghai Province, Xining 810001, China)

Abstract The genetic diversity, population structure, and extent of linkage disequilibrium (LD) were investigated at a genome-wide level in 334 wild barley (*Hordeum vulgare* L. ssp. *vulgare*) from the Qinghai-Tibetan Plateau using 1 389 polymorphic diversity array technology (DArT) markers. The mean polymorphism information content (PIC) of the DArT markers ranged between 0.005 6 and 0.500 0 with an average of 0.248 9. Bayesian supported that all wild barley accessions from this region are divided into two distinct subpopulations; the individuals of each subpopulation are mixed distribution with different form and different skin naked. The LD values, expressed as r^2 , statistical threshold for $r^2=0.2$, there are 3.31% of marker pairs ($P<0.001$) when $r^2>0.2$, the average of r^2 were 0.454; the LD levels in different chromosomes which of the same accessions are also different. The LD values declined with increasing genetic distance, and the same tendency occurred on each chromosome. The attenuation distance of the population is 0.3 cM, decaying rapidly. Our results discerned relevant patterns of genetic diversity, population structure, and LD among members of a Qinghai-Tibet Plateau wild barley accessions have important implications for further practical breeding and studies on association mapping.

Key words Barley; DArT markers; Population structure; Linkage disequilibrium

Received 2016-01-14

Returned 2016-03-10

Foundation item The Applied Basic Research Project in Qinghai Province (No. 2013-Z-724); the West Light Foundation of Chinese Academy of Sciences in 2013; the Applied Basic Research Project in Qinghai Province (No. 2015-ZJ-702); the West Light Foundation of Chinese Academy of Sciences in 2015; Natural Science Foundation of Qinghai Province (No. 2015-ZJ-915).

First author SONG Yuanfang, male, master student. Research area: crop genetics and breeding. E-mail: songyuanfang20@163.com

Corresponding author WANG Lei, female, Ph. D, assistant researcher. Research area: crop genetics and breeding. E-mail: wanglei@nwipb.cas.cn

(责任编辑:成敏 Responsible editor: CHENG Min)