

花生表型及 SSR 遗传多样性的研究

康红梅^{1,2} 李保云² 孙毅³

(¹山西省农业科学院经济作物研究所, 汾阳 032200; ²中国农业大学, 北京 100091; ³山西省农业科学院生物中心, 太原 030031)

摘要: 对山西省农业科学院经济作物研究所保存的 75 份花生材料(包括 28 个已审定的花生品种和 47 个地方品种)进行了包括株型、茸毛的有无、叶色、粒形、叶形、生长习性、开花习性、粒大小、粒色等表型性状的 Shannon-Weaver 遗传多样性指数(简称 SWI) 和 Simpson 遗传多样性指数(简称 SI) 分析。结果表明: 参试的 75 份花生品种遗传多样性指数分别为 SWI = 0.924, SI = 0.500, 其中以开花习性最低(SWI = 0.139, SI = 0.014), 而 Shannon-Weaver 指数以粒色最高为 1.841, Simpson 指数为 0.712。利用 48 对 SSR 引物对这些材料进行了遗传多样性分析, 结果如下: (1) 在 48 对花生的 SSR 引物中, 有 35 对(占所用引物总数的 72.9%) 具有多态性, 共检测到 215 条多态性条带, 平均每对引物可扩增 6 条多态性带。(2) 根据 SSR 扩增结果对 75 份材料的聚类分析结果表明, 这些材料的相似系数(GS) 为 0.25 ~ 0.85, 平均 GS 值为 0.55。28 个审定品种的相似系数为 0.39 ~ 0.85, 平均为 0.60。

关键词: 花生; SSR 标记; 相似系数; 聚类分析

Phenotype and SSR-Based Genetic Diversity Assessment in Peanut

KANG Hong-mei^{1,2}, LI Bao-yun², SUN Yi³

(¹Institute of Industrial Crops, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Fenyang 032200; ²China Agricultural University, Beijing 100091; ³Bio-Technology Research Center of Shanxi Province, Taiyuan 030031)

Abstract: The study had analyzed the Shannon-Weaver and Simpson indexes of phenotypic traits including plant type, presence or absence of hair, grain color, grain shape, leaf shape, habit of growth, flowering habit, particle size, particle color on 75 peanut cultivars(28 identified cultivars and 47 local cultivars) from Institute of Industrial Crops, Shanxi Academy of Agricultural Science. The results showed that genetic diversity index of 75 peanut cultivars were SWI = 0.924, SI = 0.500 respectively, flowering habit was the lowest(SWI = 0.139, SI = 0.014), while Shannon-Weaver index of grain color was the highest with value of 1.841, and Simpson index was 0.712. 48 pairs SSR markers of peanut were used to analyse genetic diversity of the tested materials, the results were as follows: (1) 35 pairs SSR markers(72.9%) were polymorphic, and 215 polymorphic bands had been detected, 6 polymorphic bands could be detected by each marker averagely. (2) On the basis of the results, the genetic similarity(GS) among 75 peanut cultivars were in a range from 0.25 to 0.85, with the mean of 0.55, and the average genetic similarity among the 28 identified cultivars were 0.6 at a range of 0.39 - 0.85.

Key words: Peanut; Simple sequence repeats(SSR); Genetic diversity; Cluster analysis

花生是植物食用油和蛋白质的重要来源之一, 具有较高的经济价值。中国是花生种植大国, 拥有丰富的种质资源。与其他农作物一样, 由于在育种

中大量使用遗传背景相同或相似的亲本, 导致栽培花生品种基因大量流失, 使其遗传基础日益狭窄, 遗传变异率低, 对其产量的提高和品质的改良起到一

收稿日期: 2010-05-24 修回日期: 2010-09-15

基金项目: 山西省农科院科研项目(YGG0814)

作者简介: 康红梅, 副研究员, 研究方向为花生新品种选育。E-mail: kanghongmei2@126.com

通讯作者: 李保云, 教授, 研究方向为小麦品质育种。E-mail: libaoyun0065@sina.com

孙毅, 研究员, 研究方向为作物生物技术。E-mail: sunyi692003@yahoo.com.cn

定的限制作用。另外,在杂交育种中,亲本选配的原则之一就是选用遗传差异比较大的亲本。所以,拓宽花生杂交亲本的遗传基础,建立新的杂交模式是十分必要的。只有对现有的种质基础有明确认识,才能有目的地利用种质资源,有计划地创造新材料,选育出配合力高、农艺性状优良的资源,组配强优势组合。在育种工作中,突破性的品种往往来源于关键遗传资源的发现与利用,而这又取决于种质的遗传多样性和有利基因的频率。所以,花生种质资源遗传多样性的研究已引起花生主要生产国的高度重视。

本研究的目的在于利用花生 SSR 技术流程,依托优质花生资源,开发花生 SSR 标记,初步确定材料间的亲缘关系,选择多态性高的亲本进行杂交,为建成 F_2 分离群体,构建花生分子连锁图谱和优良基因定位、基因克隆和标记辅助选择创造条件。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究所用材料 75 份,包括审定品种 28 份和地方资源 47 份,均由山西省农业科学院经济作物研究所种质资源库提供。

1.2 性状的调查

调查、鉴定供试材料的株型、茸毛、叶色、粒形、叶形、生长习性、开花习性、粒大小、粒色等表型。

1.3 PCR 反应及电泳、检测

采用 CTAB 法提取花生叶片基因组 DNA,所用 48 对引物从 He 等^[1]的花生 SSR 标记序列中选取,由上海生物工程公司合成。

PCR 扩增体系总反应体积 20 μ l,包括:100ng 基因组 DNA,2.0 μ l 10 \times Buffer,1.5 μ l 2mmol/L dNTPs,1.2 μ l 25mmol/L Mg^{2+} ,1.5 μ l 2 μ mol/L 引物,dH₂O 补齐 20 μ l。反应试剂购自上海生物工程有限公司。

PCR 反应程序为:95 $^{\circ}$ C 预变性 5min 后,进行 35 个循环,94 $^{\circ}$ C 变性 30s,55 $^{\circ}$ C ~ 62 $^{\circ}$ C (视不同引物而定)退火 30s,72 $^{\circ}$ C 延伸 1min,循环结束后,72 $^{\circ}$ C 延伸 10min。全部 PCR 反应在 PE9600 型 PCR 仪上进行。SSR 扩增产物在 6% 变性聚丙烯酰胺凝胶上分离,银染检测。

1.4 数据分析

Shannon-Weaver 多样性指数^[2-3]计算公式为 $H = -\sum P_i \ln P_i$,其中 P_i 为某一表型(比如粒型)的第 i 个性状值出现的频率。反映的生物学意义:(1)保证了对数量一定的总体,各种间数量分布均

匀时,多样性最高;(2)2 个物种个体数量分布均匀的总体,物种数目越多,多样性越高;(3)多样性可以分成几个不同的组成部分,即多样性具有可加性:如果从群体中随机地抽取 1 个个体,它将属于哪个种是不定的,而且物种数目越多,不定性越大,因此,有理由将多样性等同于不定性,并且两者用同一度量。

Simpson 多样性指数:SI,也称优势度指数,计算公式为 $SI = 1 - \sum P_i^2$,其中 P_i 为某一表型(比如粒型)的第 i 个性状值出现的频率。

根据 PCR 扩增结果,在相同迁移位置上有带记为 1,无带记为 0,建立数据库。遗传相似系数(genetic similarity,GS)按公式 $GS_{ij} = 2N_{ij} / (N_i + N_j)$ 计算,其中 N_{ij} 表示材料 i 和 j 之间共有的条带数目, N_i 、 N_j 分别表示材料 i 和 j 扩增的条带数目。遗传距离(genetic diversity,GD)按公式 $GD_{ij} = 1 - GS_{ij}$ 计算。聚类分析根据 NTSYS 2.10 版本软件中的质量数据,用类平均法(UPGMA)对相似系数矩阵进行聚类分析,并以此作树状聚类图。

2 结果与分析

2.1 质量性状的分布频率分析

对供试品种的 9 个农艺性状的计算分析结果表明:大多数表型性状中,有 1 ~ 2 个单个性状在性状中出现的频率占主导地位。由表 1 可知,开花习性,大多数连续开花为主,占供试品种的 94.67%;叶形以椭圆形和倒卵型为主,在供试品种中分别占 52.82% 和 32.61%;粒大小以大粒和中粒为主,分别占 30.90% 和 44.10%;生长习性以直立为主,占 75.18%;多、少、无茸毛种质,分别占 30%、25%、45%;粒色以粉红为主,占 55.70%,紫色,占 15.30%,粉白色占 20%,有 1 份为黑色;粒形以长椭圆为主,占 66.7%,少数材料为茧形、三角形等。

2.2 质量性状的遗传多样性分析

计算 9 个农艺性状的 Shannon-Weaver 遗传多样性指数(简称 SWI)和 Simpson 遗传多样性指数(简称 SI)(表 2),结果表明:参试的 75 份花生品种遗传多样性指数分别为 $SWI = 0.924$, $SI = 0.500$,其中以开花习性最低($SWI = 0.139$, $SI = 0.014$),而 Shannon-Weaver 指数以粒色最高为 1.841,Simpson 指数为 0.712。对这 9 个质量性状而言,根据 2 个多样性指数(SWI、SI)的意义,发现开花习性多样性指数较低的原因是:性状较少(只有连续开花和交替开花),

表 1 主要性状分布频率表

Table 1 The main morphological characters distributing frequency

性状 Characters	开花习性 Flowering habit		叶形 Leaf shape				粒大小 Particle size		
	连续	交替	椭圆型	倒卵型	宽倒卵型	长椭圆型	大粒	中粒	小粒
分布频率(%)	94. 67	5. 33	52. 82	32. 61	8. 32	6. 25	30. 90	44. 10	25

性状 Characters	生长习性 Growth Habit			粒色 Seed color				茸毛的有无 Hair growth		
	直立	半蔓	蔓生	粉红	紫色	粉白	黑色	紫红	多	少
分布频率(%)	75. 18	17. 50	7. 32	55. 70	15. 30	20	0. 75	8. 25	30	25

性状 Characters	叶大小 Leaf size			叶色 Leaf color				粒型 Grain type		
	大	中	小	淡绿色	深绿	黄绿	绿	长椭圆	茧型	三角形
分布频率(%)	15. 3	50. 2	34. 5	8. 8	18. 5	27. 3	45. 4	66. 7	15	18. 3

而且分布不均匀(连续开花习性占 94. 67% ,交替开花习性仅占 5. 33%)。茸毛的有无虽然仅有 3 个性状 ,但其性状分布与开花习性相比较为均匀 ,因此多样性指数较高。同理 ,粒大小仅有 3 个性状 ,不如叶形、粒形性状多 ,但分布较均匀 ,这也是其 Simpson 多样性指数较高的原因。

2. 3 花生 SSR 多态性分析

本研究从 48 对花生 SSR 引物中筛选出多态性好的引物 35 对 ,共检测出 215 个等位变异。平均每个位点上有 6 个等位变异 ,等位位点数目范围为 2 ~ 9 个。在 35 对 SSR 引物中 ,出现等位位点数目最多的引物是 pm377、pm204、pm179 ,分别检测到 9 个等位变异 ,pm188、pm53 等位位点数目最少 ,只有 2 个等位变异(部分引物扩增结果见图 1、图 2)。

表 2 供试材料表型性状遗传多样性比较表

Table 2 Comparison of Shannon-Weaver information index on morphological characters on the material used in the study

农艺性状 Trait	Shannon-Weaver 遗传多样性指数 SWI	Simpson 遗传多样性指数 SI
株型	0. 692	0. 499
叶色	0. 820	0. 446
叶型	0. 873	0. 538
叶大小	0. 686	0. 493
开花习性	0. 139	0. 014
茸毛的有无	1. 071	0. 648
粒形	1. 031	0. 511
粒大小	1. 148	0. 588
粒色	1. 841	0. 712
平均	0. 924	0. 500

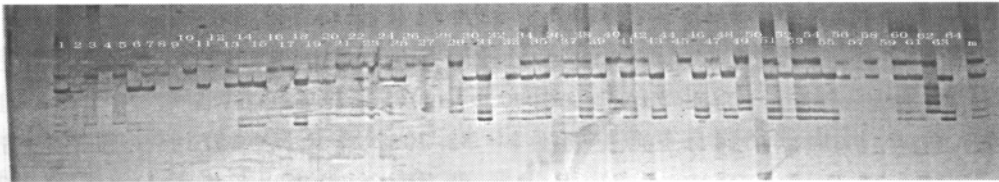


图 1 引物 pm50 对部分花生品种的扩增结果

Fig. 1 Amplification result of some cultivars by primer pm50

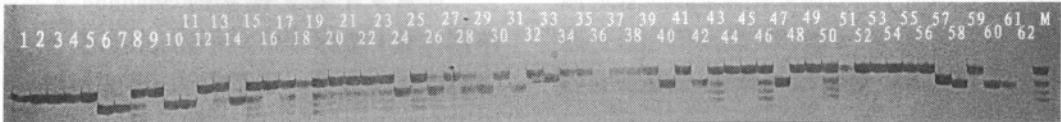


图 2 引物 pm32 对部分花生品种的扩增结果

Fig. 2 Amplification result of some cultivars by primer pm32

在本研究中 ,部分引物 (pm375、Ah4 - 125、Ah041) 在一个品种 (系) 中同时扩增出 2 个大小不同的等位基因 ,lec1 有 3 个等位基因。在上述 4 对

引物中 ,出现 2 个或 3 个等位基因的品种占参试品种总数的 1. 41% ~ 100% 。

利用 Excel 软件对供试种质的遗传多样性进

行分析,结果表明:不同 SSR 位点的多态性信息含量差异很大,其中以 pm179 多态性信息含量最高,为 0.91,而 pm53 多态性信息含量最低,为 0.35。多态性信息含量变异范围为 0.35 ~ 0.91,平均为 0.603。

2.4 SSR 标记揭示的品种间的相似系数

根据 SSR 标记计算品种间的相似系数,变异范围为 0.25 ~ 0.85,平均为 0.55。其中唐 3311 和唐 6313 之间的相似系数最大为 0.85,这 2 个品种都是河北唐山市农科所选育的花生品种,而且表型性状差异也很少,只是叶色上稍有不同;其次是唐 3323 与 RH77-1,相似系数为 0.84;豫花 6 号和辐选 1 号之间的相似系数最小为 0.25,辐选 1 号与其他品种的相似系数也很小,最大为 0.53,小于平均水平。结果表明,供试的 75 份花生种质的遗传基础相对比较狭窄。28 份审定品种的相似系数最小为 0.39,最大为 0.85,平均为 0.60,大于 75 份材料的平均水平(表 3)。揭示出这 28 个审定品种的遗传基础相对比较狭窄,也说明加强不同来源种质的利用和特异亲本类型的培育对于花生遗传改良非常重要。

2.5 75 个供试材料间的遗传关系

根据 35 对 SSR 引物的扩增结果,用 UPGMA 法对 75 份供试材料进行聚类分析(图 3),结果表明,利用 35 对 SSR 标记能将供试的 75 份材料相互分开。在相似系数 0.45 处可以将 75 份供试材料分为 4 个类群。

I 类 2 份材料为伏花生和辐选 1 号,其农艺性状情况是:粒色为粉红、株型直立疏散型、连续开花、叶型椭圆、叶色黄绿,只在茎的茸毛上有所区别,伏花生茎上无茸毛,而辐选 1 号却有,属地方型资源,来源不详。

II 类 1 份材料,景农 2 号为早熟性品种。

III 类 3 份材料,为花 35、瓜哇 13、白沙 1010,全部为小粒品种、粒色粉白、株型直立疏散型、连续开花、叶型倒卵、叶色深绿,1 份为育成品种,2 份为地方品种。

IV 类 69 份材料,在相似系数 0.55 处可以将 IV 类分为 9 类。

IV₈ 48 份材料在相似系数 0.58 处又分为 8 个亚类,其中 IV₈₋₈ 在相似系数 0.68 处又分为 7 类,有 12 个育成品种都聚在这一类,说明我国现有育成品种遗传基础狭窄,亲缘关系相近。如山西省农业科学院经济作物研究所选育的新品系 98-404,与该所

审定的品种晋花 1 号、晋花 3 号聚在一起,说明本研究所育成品种遗传基础狭窄,亲缘关系相近,而该研究所选育的另一新品系 98-415,虽然没有与以上品种聚在一起,但却与山东省育成品种鲁花 12 号和辽宁省育成品种锦选 5 号聚在一起,追其系谱却发现 98-415 其父本为鲁花 12 号,而锦选 5 号和鲁花 12 号也具有相同的血缘。

聚类结果中也出现了系谱相同或相似的材料并没有聚为一组的现象。79266 和 79266 选具有相同的亲本组合,但在聚类中并未紧密聚合在一起。共有同一亲本品种也出现了距离相对较远的现象,如代 1 和晋花 1 号,具有相同的父本 72-52,但并未聚在一组,这说明,人工选择也能造成一定的遗传差异。

从以上分析可以看出,SSR 不仅能有效地进行品种鉴定,而且能较好地揭示品种间的亲缘关系。

根据 SSR 分子数据对能够聚在一起的材料进行农艺性状分析,发现其表型性状也具有较大程度的相似性,且一般具有相同的地理来源,即某一类中的材料往往是来自一个大的地理区划,甚至来自同一省份。

3 讨论

3.1 SSR 标记应用于花生品种鉴定的可行性

对 75 份供试花生种质的 9 个主要农艺性状的形态多样性研究结果表明:山西省农业科学院经济作物研究所保存的花生种质具有较丰富的形态多样性,其遗传多样性指数平均为 0.924。

本研究利用 35 对具有多态性 SSR 引物对 75 份花生品种的总 DNA 进行了扩增,共检测到等位位点 215 个,每对引物扩增出的等位位点的个数最少为 2 个,最多为 9 个,平均每对引物为 6.0 个。唐荣华等^[4]从 36 对 SSR 引物中筛选出 10 对引物,能在 24 个珍珠豆型花生品种中扩增出多态性片段,从 40 对 SSR 引物中筛选出 16 对引物,能在 24 个多粒型花生品种 DNA 中扩增出多态片段,在同一类型种质间检测出丰富的 DNA 多态性,表明 SSR 在花生中的信息量很高。韩柱强等^[5]利用 11 对 SSR 引物对 24 个栽培种花生品种(包括 4 大类型)进行 PCR 扩增分析,其中 4 对检测到明显的多态性,共检测到 33 个等位基因变异,每一个位点上检测到的等位变异数为 5 ~ 13 个,平均为 8.25 个。根据扩增结果可以将 24 个品种中的 21 个相互区分。供试品种间的遗传相似系数在 0.2 ~ 1.0 之间,平均为 0.4788。Raina 等^[6]用

表 3 28 个花生育成品种之间的遗传相似系数

Table 3 Genetic similarity among 28 cultivar

i	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	19	20	24	32	35	39	48	49	50	57
1																											
2	0.75																										
3	0.73	0.68																									
4	0.81	0.81	0.72																								
5	0.61	0.71	0.60	0.63																							
6	0.62	0.63	0.54	0.62	0.48																						
7	0.60	0.63	0.51	0.64	0.48	0.63																					
8	0.68	0.65	0.65	0.67	0.51	0.56	0.49																				
9	0.75	0.70	0.62	0.69	0.62	0.67	0.53	0.65																			
10	0.76	0.75	0.71	0.72	0.63	0.65	0.57	0.75	0.83																		
11	0.70	0.65	0.71	0.70	0.58	0.54	0.48	0.59	0.62	0.67																	
12	0.66	0.59	0.70	0.64	0.58	0.54	0.47	0.62	0.63	0.73	0.61																
13	0.63	0.70	0.61	0.63	0.71	0.42	0.49	0.50	0.54	0.60	0.60	0.60															
14	0.64	0.80	0.57	0.73	0.61	0.56	0.54	0.62	0.69	0.74	0.70	0.56	0.62														
15	0.68	0.63	0.65	0.66	0.48	0.54	0.51	0.57	0.67	0.68	0.63	0.59	0.53	0.62													
16	0.57	0.60	0.60	0.55	0.55	0.51	0.46	0.57	0.56	0.67	0.67	0.54	0.53	0.59	0.54												
17	0.69	0.64	0.64	0.63	0.53	0.59	0.52	0.69	0.74	0.80	0.62	0.61	0.53	0.67	0.64	0.57											
19	0.67	0.64	0.57	0.61	0.57	0.56	0.51	0.52	0.68	0.67	0.58	0.52	0.54	0.61	0.56	0.57	0.66										
20	0.69	0.66	0.68	0.67	0.60	0.54	0.49	0.63	0.64	0.73	0.83	0.59	0.62	0.71	0.65	0.62	0.66	0.64									
24	0.59	0.58	0.60	0.58	0.49	0.47	0.48	0.54	0.54	0.63	0.63	0.59	0.53	0.61	0.68	0.53	0.53	0.49	0.61								
32	0.59	0.58	0.54	0.54	0.47	0.55	0.53	0.55	0.67	0.68	0.51	0.53	0.45	0.54	0.49	0.54	0.60	0.52	0.51	0.43							
35	0.69	0.74	0.64	0.74	0.62	0.61	0.59	0.70	0.72	0.77	0.65	0.59	0.62	0.80	0.63	0.57	0.77	0.61	0.69	0.59	0.63						
39	0.66	0.80	0.59	0.71	0.65	0.58	0.54	0.64	0.69	0.74	0.66	0.56	0.65	0.81	0.56	0.53	0.67	0.59	0.68	0.57	0.59	0.85					
48	0.67	0.68	0.60	0.66	0.54	0.63	0.55	0.66	0.77	0.80	0.63	0.61	0.50	0.69	0.65	0.62	0.71	0.58	0.65	0.59	0.69	0.73	0.68				
49	0.60	0.63	0.67	0.58	0.56	0.49	0.39	0.62	0.65	0.70	0.59	0.62	0.60	0.64	0.62	0.56	0.65	0.61	0.59	0.61	0.52	0.68	0.64	0.59			
50	0.66	0.63	0.63	0.67	0.63	0.48	0.47	0.55	0.63	0.65	0.66	0.72	0.69	0.62	0.64	0.54	0.59	0.52	0.63	0.59	0.48	0.62	0.58	0.63	0.55		
57	0.48	0.45	0.46	0.46	0.30	0.47	0.55	0.42	0.45	0.47	0.41	0.39	0.32	0.43	0.48	0.43	0.46	0.45	0.43	0.42	0.45	0.43	0.39	0.53	0.35	0.41	
70	0.56	0.56	0.63	0.52	0.51	0.47	0.40	0.64	0.54	0.61	0.52	0.54	0.49	0.53	0.54	0.56	0.61	0.51	0.49	0.49	0.45	0.62	0.54	0.55	0.62	0.54	0.40

表中数字代表品种依次为: 1: 晋花 1 号; 2: 晋花 2 号; 3: 晋花 3 号; 4: 98-404; 5: 98-415; 6: 代 1; 7: 白沙 1010; 8: 开农 36; 9: 开农 37; 10: 开农 41; 11: 鲁花 9 号; 12: 鲁花 11 号; 13: 鲁花 12 号; 14: 9507; 15: 豫花 13; 16: 徐州 9505; 17: 邢 9013-1-2; 19: 美花 22; 20: 冀 9107; 24: 淮花 8 号; 32: 冀油 5 号; 35: 唐 6313; 39: 唐 3311; 48: 7803; 49: 79266; 50: 8130; 57: 花 35; 70: 豫花 6 号

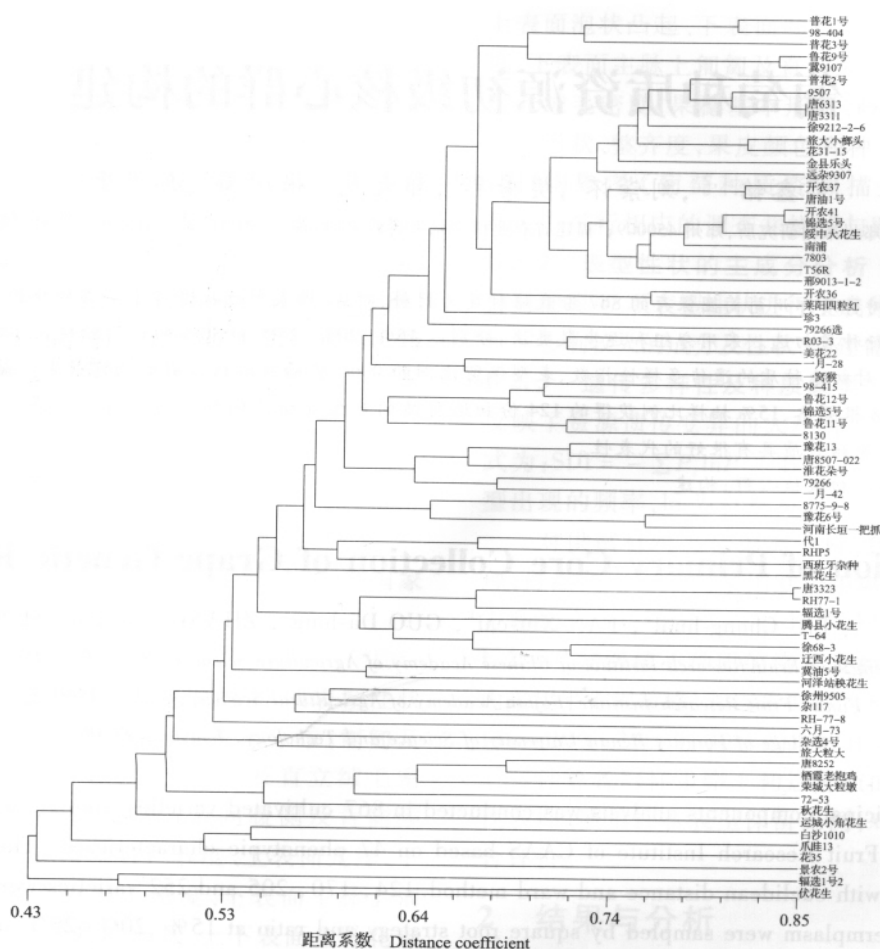


图3 75个供试品种 SSR 标记的 Jaccard 相似系数聚类图

Fig.3 Clustering analysis of 75 cultivars by SSR marker

21 个 RAPD 引物和 29 个 SSR 引物在 13 份花生种质资源中扩增出的 DNA 片段多态性分别达到 42.7% 和 54.4%; 发现每一个 SSR 标记可检测到的位点为 3~16 个, 平均 6.2 个。表明可以用 SSR 标记来检测花生种质资源间的遗传多样性或品种鉴定。

3.2 多位点 SSR

花生(2n) 是高度自花授粉作物, 是由 2 个二倍体野生种经自然杂交并通过长期进化而来, 本研究大部分 SSR 引物都能在同个花生基因组内扩增出 2~9 个 DNA 片段; Hopkins 等^[7] 用 6 对 SSR 引物对 22 份花生 DNA 进行 PCR 扩增, 每个引物可扩增出 2~14 条 DNA 片段。He 等^[1] 利用设计的 56 对引物, 单个位点的平均等位基因数为 4.25 个, 高的可以达到 14 个。所有这些研究结果都表明: 从分子水平上看, 花生可能是部分异源四倍体作物。同一个基因组每个位点最多可有 4 个等位基因。至于某些引物能扩增出 4 条以上 DNA 片段, 分析认为可能这些 SSR 引物在染色体上具有非等位结合位点, 这

些位点被称为多位点 SSR, 由于没有对扩增片段进行克隆测序, 尚不知道这些片段是否含有 SSR 序列。如果这些片段都含有相同的 SSR, 则可证明有包括微卫星的重复序列, 或者存在反转座子之类的功能单位。

3.3 SSR 分子标记与表型性状的关系

本研究用 35 对花生的 SSR 引物的 PCR 扩增结果对 75 份供试材料进行聚类分析, 发现相似系数非常高的 2 个品种, 如唐 6313 和唐 3311 相似系数为 0.85, 都属于河北唐山市农科所选育的品种, 而且表型性状差异也很少, 只是叶色上稍有不同, 其次是唐 3323 与 RH77-1 相似系数为 0.84, 农艺性状也非常相似, 都为小粒品种, 而且都来自同一地区(河北)的地方品种。这说明 SSR 数据能够比较真实地反映花生品种间的亲缘关系。同表型性状有不一致的地方, 可能是表型性状受环境影响较大的原因。SSR 标记是非编码区的分子标记, 与农艺性状的关系有待进一步研究。

(下转 76 页)

3 讨论

核心种质是以最少的资源数量代表群体最大的遗传多样性,是当前品种资源研究工作的重要课题。葡萄作为一种多年生果树,常采用活体进行种植保存,占用空间大,保存成本高,因而其核心种质的构建具有重要意义。本研究抽取了 867 份葡萄栽培种质的 15 个主成分,提取了具有代表性的幼叶颜色、成龄叶裂片数、果实形状等性状,这些性状在实际工作中便于观察和获取,且均属于稳定性状,是传统研究方法中利用的主要数据。

本研究中初级核心群的构建采用了分组和逐步聚类法,且认为分组法相对较优。Diwan 等^[12]、李娟等^[13]及 Chandra 等^[14]在构建苜蓿(*Medicago sativa* L.)、茶树(*Camellia sinensis*)、安第斯四倍体马铃薯(Andean tetraploid potato)核心种质中也分别采用了先将全部种质进行分组,组内抽取核心种质的方法,均获得了良好的核心种质资源。核心种质分组后常采用的取样方法有完全随机取样法、系统取样法等^[15]。本研究采用分组后组内平方根策略的系统取样方法抽取葡萄种质,经检验发现初选种质很好地代表了原始种质的性状,这也与中原牡丹品种(Tree Peony Cultivars from Chinese Central Plains)^[16]、秘鲁甘薯^[17]核心种质构建中对取样策略研究的结果相对一致。果树资源中,桃、果梅(*Prunus mume* Sieb. et Zucc.)的总体取样比例均为 10%^[6,18],柚类(*Citrus grandis* Osbeck)的总体取样比例为 22.7%^[19],本研究中 15% 的取样比例即对原始种质具有很好的代表性,这与不同种质的资源份数相关。最终,将郑州葡萄圃保存的葡萄种质资源初级核心群数量确定为 124 份。

参考文献

- [1] Frankel O H. Genetic perspectives of germplasm conservation

(上接第 71 页)

参考文献

- [1] He G H, Meng R H, Melanie N, et al. Microsatellites as DNA markers in cultivated peanut (*Arachis hypogaea* L.) [J]. BMC Plant Bio 2003 3: 1-6
- [2] 马克平, 刘玉明. 生物群落多样性的测度方法 I. 多样性的测度方法(下) [J]. 生物多样性, 1994 2(4): 231-239
- [3] 刘灿然, 马克平, 吕延华, 等. 生物群落多样性的测度方法 VI 与多样性测度有关的统计问题 [J]. 生物多样性, 1998 6(3): 229-239
- [4] 唐荣华, 庄伟建, 高国庆, 等. 珍珠豆型花生的简单序列重复

- [M]//Arber W, Limensee K, Peacock W J, et al. Genetic manipulation: Impact on Man and society. Cambridge: Cambridge University Press, 1984: 161-170
- [2] Brown A H D. The case for core collection [M]//Brown A H D, Frankel O H, Marshall R D, et al. The use of plant genetic resources. Cambridge: Cambridge University Press, 1989: 136-156
- [3] 李自超, 张洪亮, 曹永生, 等. 中国地方稻种资源初级核心种质取样策略研究 [J]. 作物学报, 2003 29(1): 20-24
- [4] 王丽侠, 李英慧, 李伟, 等. 长江春大豆核心种质构建及分析 [J]. 生物多样性, 2004 12(6): 578-585
- [5] 冯建灿, 潘建宾, 张玉洁, 等. 河南枣品种数量分类研究 [J]. 经济林研究, 1994 12(2): 29-32
- [6] 李银霞, 高其洁, 李天红. 基于果实相关性状的桃品种初级核心种质取样策略研究 [J]. 果树学报, 2006 23(3): 359-364
- [7] 孔庆山. 中国葡萄志 [M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2004: 16-61
- [8] 刘闯萍, 王军, 沈育杰, 等. 山葡萄(*Vitis amurensis*) 资源核心种质的初步构建 [J]. 植物遗传资源学报, 2008 9(3): 372-374
- [9] Loïc L C, Alexandre F L, Valérie, et al. Construction of nested genetic core collections to optimize the exploitation of natural diversity in *Vitis vinifera* L. subsp. sativa [J]. BMC Plant Biol, 2008: 8-31
- [10] 刘崇怀, 沈育杰, 陈俊. 葡萄种质资源描述规范和数据标准 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2006
- [11] Brown A H D. Core collection: a practical approach to genetic resources management [J]. Genome, 1989 31(5): 818-824
- [12] Diwan N, McIntosh M S, Bauchan G R. Methods of developing a core collection of annual *Medicago* species [J]. Theor Appl Genet, 1995 90: 755-761
- [13] 李娟, 江昌俊. 中国茶树核心种质的初步构建 [J]. 安徽农业大学学报, 2004 31(3): 282-287
- [14] Chandra S, Huaman Z, Hari Krishua S, et al. Optimal sampling strategy and core collection size of Andean tetraploid potato based on isozyme data—a simulation study [J]. Theor Appl Genet, 2002, 104(8): 1325-1334
- [15] Hu J, Zhu J, Xu H M. Methods of constructing core collections by stepwise clustering with three sampling strategies based on the genotypic values of crops [J]. Theor Appl Genet, 2000 101(1-2): 264-268
- [16] 李保印. 中原牡丹品种遗传多样性与核心种质构建研究 [D]. 北京: 北京林业大学, 2007
- [17] Huaman Z, Aguilar C, Ortiz R. Selecting a Peruvian sweetpotato core collection on the basis of morphological eco-geographical and disease and pest reaction data [J]. Theor Appl Genet, 1999 98: 840-844
- [18] 高志红, 章镇, 韩振海, 等. 中国果梅核心种质的构建与检测 [J]. 中国农业科学, 2005 38(2): 363-368
- [19] 刘勇, 孙中海, 刘德春, 等. 利用分子标记技术选择柚类核心种质资源 [J]. 果树学报, 2006 23(3): 339-345

(SSR) 多态性 [J]. 中国油料作物学报, 2004 30(2): 20-26

- [5] 韩柱强, 高国庆, 韦鹏霄, 等. 利用 SSR 标记分析栽培花生多态性及亲缘关系 [J]. 花生学报, 2003 32(增刊): 295-300
- [6] Raina S N, Rani V, Ojima T K, et al. RAPD and ISSR fingerprints as useful genetic markers for analysis of genetic diversity, varietal identification, and phylogenetic relationships in peanut (*Arachis hypogaea*) cultivars and wild species [J]. Genome, 2001 44: 763-772
- [7] Hopkins M S, Casa A M, Wang T, et al. Discovery and characterization of polymorphic simple sequence repeat (SSRs) in peanut [J]. Crop Sci, 1999 39(4): 1243-1247