

# 基于 SSR 标记的 132 份甘薯种质指纹图谱的构建及遗传多样性分析

聂立圆<sup>1,2</sup>, 李爱贤<sup>1</sup>, 秦 桢<sup>1</sup>, 王庆美<sup>1</sup>, 侯夫云<sup>1</sup>, 张立明<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 山东省农业科学院作物研究所/农业部黄淮海薯类科学观测实验站, 济南 250100; <sup>2</sup> 山东大学生命科学院, 济南 250100)

**摘要:**利用 SSR 分子标记技术, 构建 132 份甘薯种质的 DNA 指纹图谱, 并进行遗传多样性分析, 旨在为甘薯种质资源亲缘关系鉴定、分类提供理论依据。利用筛选的核心引物进行 PCR 扩增, 通过聚丙烯酰胺凝胶电泳检测显示, 19 对引物共扩增出 232 个条带, 其中多态性条带 165 条, 多态性比率为 71.1%, 平均每对引物扩增出 8.68 个条带, 多态性信息含量变化范围在 0.6706~0.9331 之间, 平均为 0.8158; 其中引物 SSR9 和引物 C33 可将 132 份种质完全区分开, 并构建供试材料的 DNA 指纹图谱, 供试材料遗传距离在 0.0363~0.5939 之间, 平均为 0.4087, 表明种质资源间遗传多样性丰富。基于 SSR 标记对供试材料进行聚类分析, 将供试材料分为 2 个类群, 第 I 类群分为两个亚类, 第 I-1 亚类包括济薯 25 和 3 份日本引进品种日本金千贯、安纳芋、日本薯; 第 I-2 亚类包括济徐薯 23、苏丹、济薯 09281。第 II 类群分为两个亚类, 第 II-1 亚类由 S07 甘薯品系和与其亲缘关系较近的 20 份甘薯种质组成; 第 II-2 亚类由剩余的 70 份甘薯种质组成, 为甘薯分子辅助育种中亲本的选择提供理论依据。

**关键词:**甘薯; SSR; 指纹图谱; 遗传多样性; 聚类分析

## Construction of DNA Fingerprints and Analysis of Genetic Diversity Based on SSR Markers for 132 Sweetpotato Germplasms

NIE Li-yuan<sup>1,2</sup>, LI Ai-xian<sup>1</sup>, QIN Zhen<sup>1</sup>, WANG Qing-mei<sup>1</sup>, HOU Fu-yun<sup>1</sup>, ZHANG Li-ming<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> Crop Research Institute, Shandong Academy of Agricultural Sciences/Scientific Observing and Experimental Station of Tuber and Root Crops in Huang-Huai-Hai Region, Ministry of Agriculture, Jinan 250100;

<sup>2</sup> School of Life Science, Shandong University, Jinan 250100)

**Abstract:** To provide a theoretical basis for the identification and classification of 132 sweetpotato germplasm accessions, the DNA fingerprints and the genetic diversity were analyzed using SSR markers. As a result, there were 232 fragments were obtained by PCR amplification using 19 pairs of primers, including 165 were polymorphic bands with a polymorphism ratio of 71.1% and an average of 8.68 bands and with a polymorphism ratio of 71.1%. The polymorphic information content values (PIC) ranged from 0.6706 to 0.9331, with a mean of 0.8158. Notably, these 132 varieties could be assigned completely by using the primer pairs SSR9 and C33 and, thus both markers could be valuable for constructing DNA fingerprints. The genetic distance of 132 sweetpotato germplasms ranged from 0.0363 to 0.5939 with a mean of 0.4087, indicating a high level of genetic diversity. The cluster analysis revealed that the tested materials were divided into two categories. For example, the first group was divided into two sub-categories, the I-1 sub-category consisted of Jishu 25 and three Japan introduced varieties, the I-2 sub-category consisted of JiX-

收稿日期: 2018-01-23 修回日期: 2018-02-13 网络出版日期: 2018-06-06

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20180606.1002.002.html>

**基金项目:** 山东省良种工程项目 (2016LZGC005); 国家甘薯产业技术体系 (CARS-10-B07); 山东省重点研发计划项目 (2018GNC111016); 山东省现代农业产业技术体系薯类产业创新团队遗传育种岗位 (SDAIT-10-022-04)

第一作者研究方向为甘薯分子育种。E-mail: 8573351669@qq.com

通信作者: 侯夫云, 研究方向为甘薯分子育种。E-mail: 691697582@qq.com

张立明, 研究方向为甘薯遗传育种与栽培生理。E-mail: zhanglm1@sina.com

ushu 23, Sudan, and Jishu09281. The second group is divided into two sub-categories, the II-1 sub-categories consisted of S07 genotypes and 20 sweetpotato accessions that are closely related to each other, and the II-2 sub-category consists of the remaining 70 sweet potato germplasms. Thus, this work deciphered the genetic diversity of the tested materials, which might provide a theoretical basis for selecting the parental lines used for molecular assisted breeding of sweetpotato.

**Key words:** sweetpotato; SSR; fingerprinting; genetic diversity; cluster analysis

甘薯 [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.], 旋花科番薯属, 起源于中南美洲, 是我国重要的粮食、饲料、工业原料及新型能源作物。甘薯为同源六倍体 ( $2n=6x=90$ ), 同时存在部分异源, 基因高度杂合, 染色体数量多且遗传不稳定, 存在自交不亲和以及同群品种间杂交不亲和等特点, 是公认的图谱构建、QTL 定位等研究较困难的作物之一。在常规育种中, 亲本的选择具有盲目性, 育种效率低<sup>[1-2]</sup>, 当前的推广品种中存在遗传基础狭窄、突破性少的问题。

DNA 分子标记技术稳定性好、成本低、目的性强, 已成为作物分子育种的重要手段<sup>[3]</sup>。Cervantes-Flores 等<sup>[4]</sup>通过 ALFP 标记利用杂交  $F_1$  分离群体的 240 个株系构建 ALFP 标记的遗传连锁图谱, 分别获得两个亲本的连锁群。王红意等<sup>[5]</sup>利用 RAPD 分子标记技术建立了 30 个甘薯品种的指纹图谱, 探讨了 RAPD 分子标记在指纹图谱的构建、甘薯品种鉴定和亲缘关系确定等方面的可行性。张超凡等<sup>[6]</sup>通过 AFLP 分子标记技术, 对来自湖南及其他地区的 61 个甘薯品种进行遗传变异分析及亲缘关系鉴定。Zhao 等<sup>[7]</sup>通过 ALFP 和 SSR 分子标记利用徐薯 18 × 徐 781 的  $F_1$  分离群体 202 个株系构建双亲的连锁图谱, 分别得到父母本的 90 个连锁群。利用 SRAP 标记技术, Li 等<sup>[8]</sup>以漯徐薯 8 号和郑薯 20 的  $F_1$  分离群体的 240 个株系为作图群体, 获得 770 个和 523 个标记, 构建了 2 个亲本的分子连锁图谱。甘薯指纹图谱的构建, 为甘薯基因组学、遗传多样性分析和分子辅助育种的研究提供参考。较其他分子标记, SSR 分子标记技术相对成熟、可靠性高<sup>[9]</sup>, 已成为各个作物构建 DNA 指纹数据库的第一选择<sup>[10]</sup>, 目前已应用于小麦<sup>[11-13]</sup>、水稻<sup>[14]</sup>、玉米<sup>[15]</sup>、木薯<sup>[16]</sup>等主要农作物 SSR 指纹图谱构建中, 但是, 甘薯 SSR 指纹图谱的研究较少。本研究采用 SSR 分子标记技术, 构建 132 份重要甘薯种质的指纹图谱, 并进行聚类分析, 旨在从分子水平分析甘薯品种间的亲缘关系及遗传差异, 为甘薯品种的分类鉴定、甘薯育种中杂交亲本的选择和分子辅助育种提供参

考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

材料共 132 份, 其中 37 份来自漯徐薯 8 号(母本)和郑薯 20(父本)杂交的  $F_1$  高淀粉品系, 由山东省农业科学院作物研究所育成, 85 份来自中国各甘薯科研单位, 9 份来自韩国、日本, 1 份来自苏丹(表 1), 2016 年 5 月将试验材料种植于山东省农业科学院作物研究所甘薯种质资源圃。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 DNA 提取及引物筛选** 采集供试材料的幼嫩叶片, 利用天根快捷型植物基因组 DNA 提取试剂盒法提取甘薯基因组 DNA, 将每个样品的 DNA 浓度稀释到 100 ng/ $\mu$ L, -80 °C 冰箱保存备用。利用 90 对多态性较高的 SSR 引物<sup>[6,10,17-19]</sup>, 以综合农艺性状差异显著的两个品种阜 Y6-7、万薯 8 号基因组 DNA 为模板进行扩增, 筛选核心引物(表 2), 用于指纹图谱的构建。

**1.2.2 PCR 反应体系构建和产物检测** PCR 反应总体积<sup>[17]</sup>为 10  $\mu$ L, 其中 Taq 酶 Mix 5  $\mu$ L, SSR 上下游引物各 0.5  $\mu$ L, 模板 DNA 20~40 ng。PCR 反应程序为 94 °C 预变性 5 min; 94 °C 变性 30 s, 54 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 30 s, 28 个循环; 72 °C 延伸 5 min, 4 °C 保存。扩增产物加 5  $\mu$ L 变性剂<sup>[20]</sup> 94 °C 变性 5 min, 放在冰上迅速冷却后用 6.0% 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳 1 h 后, 0.2% AgNO<sub>3</sub> 染色, 3% NaOH 溶液和甲醛溶液组成的显影液显影, 拍照记录结果。

**1.2.3 数据处理与分析** 采用人工读带的方法, 在凝胶相同位置处, 扩增出 DNA 条带的记为 1, 无 DNA 条带的记为 0, 分别表示等位基因的有无。通过 Excel 分析统计基因型数、等位基因数和等位基因频率, 多态性位点百分率(P)的计算方法:  $P = (k/n) \times 100\%$ , 其中 k 和 n 分别为多态位点数和所测位点总数<sup>[21]</sup>, 通过软件 PIC\_CALC 计算引物多态性信息含量(PIC, polymorphism information content)。利用数据处理软件 NTSYS-pc 2.10 计算 132

表 1 供试 132 份甘薯品种

Table 1 Information of 132 sweetpotato accessions

序号 No.	品种 Variety	产地 Origin	序号 No.	品种 Variety	产地 Origin	序号 No.	品种 Variety	产地 Origin
1	E2017	中国湖北	45	YM	韩国	89	绵紫薯 9 号	中国四川
2	E3588	中国湖北	46	安纳芋	日本	90	南薯 009	中国四川
3	GD55-2	中国江西	47	北京 553	中国北京	91	南薯 016	中国四川
4	GZ12-09	中国贵州	48	川薯-12-1-114	中国四川	92	南薯 017	中国四川
5	S07004	中国山东	49	道真红苕	中国贵州	93	南紫薯 018	中国四川
6	S07007	中国山东	50	鄂薯 6 号	中国湖北	94	南紫薯 020	中国四川
7	S07008	中国山东	51	福薯 317	中国福建	95	宁紫薯 4	中国山东
8	S07010	中国山东	52	阜 Y07-8-6	中国安徽	96	蓬尾	中国福建
9	S07012	中国山东	53	阜 Y6-7	中国安徽	97	黔薯 14-3-9	中国贵州
10	S07014	中国山东	54	阜紫薯 1 号	中国安徽	98	黔薯 2 号	中国贵州
11	S07162	中国山东	55	赣渝薯 3 号	中国江西	99	秦薯 9 号	中国陕西
12	S07018	中国山东	56	广薯 87	中国广东	100	秦紫薯 2 号	中国陕西
13	S07021	中国山东	57	贵紫薯	中国贵州	101	日本红东	日本
14	S07025	中国山东	58	桂粉 3 号	中国广西	102	日本金千贯	日本
15	S07033	中国山东	59	桂薯 10 号	中国广西	103	日本薯	日本
16	S07035	中国山东	60	红香蕉	中国安徽	104	日本玉丰	日本
17	S07038	中国山东	61	济紫薯 1 号	中国山东	105	南薯 133-2	中国河南
18	S07042	中国山东	62	济农 290	中国山东	106	南薯 14	中国河南
19	S07057	中国山东	63	济农 304	中国山东	107	南薯 16	中国河南
20	S07074	中国山东	64	济农 51	中国山东	108	南薯 19	中国河南
21	S07096	中国山东	65	济农 57	中国山东	109	苏丹	苏丹
22	S07107	中国山东	66	济农 74	中国山东	110	苏薯 16	中国江苏
23	S07120	中国山东	67	济薯 08276	中国山东	111	皖苏 610	中国安徽
24	S07123	中国山东	68	济薯 08365	中国山东	112	万薯 7 号	中国重庆
25	S07144	中国山东	69	济薯 09281	中国山东	113	万薯 8 号	中国重庆
26	S07148	中国山东	70	济薯 10023	中国山东	114	徐薯 18	中国江苏
27	S07152	中国山东	71	济薯 10216	中国山东	115	徐薯 25	中国江苏
28	S07156	中国山东	72	济薯 10270	中国山东	116	徐薯 33 号	中国江苏
29	S07160	中国山东	73	济薯 11025	中国山东	117	徐薯 55-1	中国江苏
30	S07172	中国山东	74	济薯 18	中国山东	118	徐薯 781	中国江苏
31	S07173	中国山东	75	济薯 21	中国山东	119	徐紫薯 8 号	中国江苏
32	S07178	中国山东	76	济薯 25	中国山东	120	烟薯 25	中国山东
33	S07180	中国山东	77	济薯 26	中国山东	121	烟紫薯 3 号	中国山东
34	S07186	中国山东	78	济薯 05052	中国山东	122	岩薯 5 号	中国福建
35	S07187	中国山东	79	济徐薯 23	中国山东	123	渝薯 13-3-9	中国重庆
36	S07198	中国山东	80	冀薯 4 号	中国河北	124	渝紫薯 3 号	中国重庆
37	S07202	中国山东	81	冀薯 98	中国河北	125	运薯 271	中国山西
38	S07212	中国山东	82	冀紫薯 2 号	中国河北	126	运薯 781	中国山西
39	S07227	中国山东	83	栗子香	中国北京	127	运徐薯 2512-20	中国山西
40	S07044	中国山东	84	龙紫薯 4 号	中国安徽	128	浙薯 33	中国浙江
41	S07077	中国山东	85	漂薯 11 号	中国河南	129	郑红 23	中国浙江
42	SN1	韩国	86	漂徐薯 8 号	中国河南	130	郑红 26	中国河南
43	SN6	韩国	87	漂紫薯 1 号	中国河南	131	郑薯 20	中国河南
44	WHS1-4	中国山东	88	绵薯 1017-2	中国四川	132	紫芋	日本

表 2 19 对核心引物信息表

Table 2 The SSR primers used in this study

引物名称 Primer	多态性信息 含量 <i>PIC</i>	多态性条带 No. of polymorphic bands	基因型数 No. of genotypes	引物序列 Primer sequences	
SSR9	0.9331	18	125	Fwd:GTACCGAGCCAGACAGGATG	Rev:CCTTTGGGATTGGAACACAC
c33	0.9063	14	80	Fwd:GCTTATATTGCGCCATGGTT	Rev:TTGCCTCCAGAGCGTTATCT
Z37	0.9019	15	97	Fwd:GGCGACTGTAATGTGCTGAA	Rev:CGGGAGGTATCTTGGATTGA
IBM13	0.8894	13	78	Fwd:CGAGAAGACACAATCATTCAC	Rev:GTTGATCGCCAGGATACG
SIP012	0.8798	11	111	Fwd:AGTTGAAAAGCACCACCACC	Rev:GATACCTGGGAGAGGCGTTT
c32	0.8723	10	91	Fwd:GACCTGCGAATCGAAATCTT	Rev:CTTGGACTTCCTCTGCCTTG
GDAAS0338	0.8630	9	65	Fwd:GCAGCGGATGGAATACTCA	Rev:TCTACACGACTACCAACTACAA
Z135	0.8508	8	60	Fwd:CGAGTTGGTTTTGAGGAACC	Rev:GACTGTGCGTTGCGTTTATTT
c22	0.8330	8	47	Fwd:CCATTCATCCATCGTTTCA	Rev:GGTCCCCAACAGCTCAAATA
c30	0.8246	7	42	Fwd:GGCTTACGAGGTTGTTCCTAA	Rev:ATAGTCGTCTTCGCCCTCAA
c52	0.8144	7	28	Fwd:CCAACAGGACTTCGGTGTCT	Rev:ATAGTCGTCTTCGCCCTCAA
GDAAS0926	0.8084	7	38	Fwd:GCTCATCTTGGATCTCTTGAAG	Rev:CGAAGGAGGGTTTAGGGTTTA
LBM445	0.7864	6	25	Fwd:AAGGAGCGGAGGGAAAAATA	Rev:ACAACACAGCCCTTCTCCAC
SSR11	0.7650	6	28	Fwd:GACAGTCTCCTTCTCCATA	Rev:CTGAAGCTCGTCGTAAC
Z25	0.7511	5	27	Fwd:AGCAGTTTCGCCATATCCAG	Rev:CACCGTTTGAATCAGCAAA
IBM16	0.7453	7	33	Fwd:GCCTTGCTACTTATTCACAA	Rev:CTGGAGGCTTGATGACAG
c55	0.7184	6	23	Fwd:TACGCCTATCATCCACGTCA	Rev:CCTCTGGCAAGCACTTCATT
SSR7	0.6867	4	8	Fwd:GCTTGCTTGTGTTTCGAT	Rev:CAAGTGAAGTATGGCGTTT
GDAAS0858	0.6706	4	13	Fwd:GCACTGCCAGCAAACCAA	Rev:TTCCTCGTCCATGAAGAACAC
平均值 Average	0.8158	8.68			

份材料之间的遗传距离 (GD, genetic distance), MEGA7.0.21 软件中 UPGMA(unweighted pair-group method with arithmetic means)法进行聚类分析,并生成聚类图<sup>[10,22]</sup>。

2 结果与分析

2.1 SSR 标记多态性分析

利用农艺性状差异显著的亲本,从 90 对 SSR 引物中筛选出多态性高、带型稳定、易于统计的核心引物 19 对(表 2)。在 132 份甘薯种质内进行扩增,19 对引物共扩增出 232 条带,多态性条带 165 条,多态性比率为 71.1%,不同引物扩增多态性条带不同,其范围在 4~18 条之间,平均每对引物扩增 8.68 条多态性条带,平均多态性信息含量 (*PIC*)为 0.8158,变幅为 0.6706~0.9331。其中引物 SSR9 扩增多态性条带最多有 18 条,引物

SSR7 和引物 GDAAS0858 扩增多态性条带只有 4 条。

2.2 DNA 指纹图谱构建

对 19 对引物进行多样性分析后统计基因型数,并综合考虑引物 *PIC* 值大小、等位基因数、带型统计难易程度等因素将引物进行排序(表 2)。用排在第一位的引物区分 132 份甘薯种质,如不能全部鉴别,依次加一个引物进行鉴定,直至将所有品种(系)区分开。通过表 2 可以看出,每对引物区分能力不同,其中引物 SSR9 多态性信息含量(*PIC*)最大,在所有供试材料中总共有 125 个基因型,能够区分 125 份甘薯材料,仍有 7 份材料未被区分,其他引物能区分的基因型数在 8~111 个之间不等,所以只有采取引物组合的方式才能完全区分所有的供试材料。本研究利用引物 SSR9 和引物 C33 将所有材料区分开,建立了 132 份甘薯种质的数字指纹图谱(表 3)。

表 3 用引物 SSR9 和引物 C33 建立的 132 份甘薯种质数字指纹图谱

Table 3 DNA fingerprints code of subset of 132 sweetpotatos with the primer SSR9 and primer C33

品种名称 Name of varieties	数字指纹图谱 Numbered fingerprints	品种名称 Name of varieties	数字指纹图谱 Numbered fingerprints
E2017	11001100111010111011001110011111	S07227	11100000001111111011001110111111
E3588	11101100001111111110111101111111	S07044	01000011110111110011011010011110
GD55-2	10000010011110000011110100000111	S07077	11110001101111110010000100000000
GZ12-09	11101100011111111011000100000111	SN1	10110000111001111111001110111111
S07004	11000001100001111101000000000110	SN6	10110010110111111111001110111111
S07007	11101101111111111111001110111111	WHS1-4	10000000001111010111001110011110
S07008	01101100000011100110110100111110	YM	10110010110111111111001110111111
S07010	10100010101101110111011110111111	安納芋	11100101011111111110101110100000
S07012	11000010101111111111000100010111	北京 553	10000101110101100001011011011110
S07014	11110000011110000000001010010110	川薯-12-1-114	11000011100111110101000010011110
S07162	11111010110111111010000100000000	道真红苕	11011001111011011011000100100110
S07018	11000001110011111011000100000111	鄂薯 6 号	11000001111111111110000100000000
S07021	10100001100001011011000100000110	福薯 317	10000000000110000111001110011110
S07025	1110111111111110111010100010111	阜 Y07-8-6	01000010100111001011000100000111
S07033	11000001110111111111000100010111	阜 Y6-7	111100011011111111011001010011110
S07035	10000010101100111011000100000111	阜紫薯 1 号	10100101000110111111001110111110
S07038	11101101110111111111101110111111	赣渝薯 3 号	11010000000111000011000100000111
S07042	10110010101111000010000100000000	广薯 87	11011001100111110011000100000111
S07057	10110010110111111111101111011111	贵紫薯	11100000001111101011001100111110
S07074	11000011111111110011010100010111	桂粉 3 号	10000000000110001010000110010000
S07096	10110010101111100001111010001011	桂薯 10 号	11010000000101000001000000111110
S07107	10110011011111111011010100000111	红香蕉	01100000000101110011010100000111
S07120	11000001100111110001011110111111	济紫薯 1 号	11100010101101110001011010000111
S07123	10110011011111110011110100111110	济农 290	11100011011111111111010100000110
S07144	01100011110111110011011010011110	济农 304	10000101000100001011000110111111
S07148	11110010101111100010011010000000	济农 51	11011111101111000110010100111110
S07152	11000001100100000010000000000110	济农 57	11000000010111101111000000111111
S07156	11000011111111110111010100010111	济农 74	01101101100111110011000000000110
S07160	11110010101111000011010100010111	济薯 08276	11000011110111111010110100000000
S07172	11000000000111000010111110100000	济薯 08365	111110111111111110011000100010111
S07173	10000010101101111010000100000000	济薯 09281	10101101011111111111010010010111
S07178	01000011110001111010000100000000	济薯 10023	11100010101011100001010010010111
S07180	10111100000111111110000100000111	济薯 10216	11110001011111001011110000000111
S07186	11110001000111110010100100000000	济薯 10270	1101100001111111111110111000100
S07187	11110001100111110010000100000000	济薯 11025	11000100101111110011010100000111
S07198	10000011010110001011001110111110	济薯 18	11000001100101000011000100111110
S07202	11100001110011110111000010000000	济薯 21	11000101111111111011010100000111
S07212	11100011101111011011000100000111	济薯 25	11110011000111101010110100000000



表 3(续)

品种名称	数字指纹图谱	品种名称	数字指纹图谱
Name of varieties	Numbered fingerprints	Name of varieties	Numbered fingerprints
济薯 26	11000101100111111101011010011111	商薯 133-2	11111010100111101111011010011111
济薯 05052	110000111101111111011010100010111	商薯 14	110110001011110111001000001010010
济徐薯 23	11100101000111001010000100000000	商薯 16	01111000000101011101010010011011
冀薯 4 号	11110000000110111011001010011110	商薯 19	110011011011111111011010010111011
冀薯 98	10000000000111001011000100000110	苏丹	11110011000111110010110110110000
冀紫薯 2 号	10101100000110001111110100000111	苏薯 16	01101100100111110011010100000111
栗子香	01101100000011110011001010011110	皖苏 610	10101100000111111111010010000110
龙紫薯 4 号	11011011101111101011110001011011	万薯 7 号	10100000000111110111000100001111
漯薯 11 号	11100000001111111100000000011010	万薯 8 号	11011001110111100011001010011110
漯徐薯 8 号	10100001111111101000000100000110	徐薯 18	111011011111111111111001110111111
漯紫薯 1 号	11100100101010110010001010000000	徐薯 25	111011011111111111111011110111111
绵薯 1017-2	11100010100111010111001110111111	徐薯 33 号	00100000010011110010001110100000
绵紫薯 9	00000000000110100000000100000000	徐薯 55-1	10000000010101011001000100000111
南薯 009	11011001100111100010000110000100	徐薯 781	0100000111111100011011010010110
南薯 016	11000011100111111101010101000110	徐紫薯 8 号	1000000101010111011000100000111
南薯 017	11000101111111110010010100000000	烟薯 25	1110000000010111101010000000110
南紫薯 018	1010110001110111111110100000111	烟紫薯 3 号	1111100001111111110110110100000
南紫薯 020	1000010101010111010111110100000	岩薯 5	11110011100101000111000000000110
宁紫薯 4	11110011000101110011000000000110	渝薯 13-3-9	10100000000111111111010100000111
蓬尾	11100001101111111101101011111111	渝紫薯 3 号	11011000001110111101001010100100
黔薯 14-3-9	11000001000110010111000100100110	运薯 271	11000001111111101001011110111111
黔薯 2	11010000010111111001000001000000	运薯 781	11110001111111111010000100000000
秦薯 9 号	10000000001111110011001010011110	运徐薯 2512-20	1111111111111011110000110100111
秦紫薯 2 号	01100000011111111011011011000000	浙薯 33	11000010100111100011000111000111
日本红东	1011001011011111111101110011111	郑红 23	01000101010111110000000000000000
日本金千贯	11000101000011110010111010100000	郑红 26	11100101000111110100000000000011
日本薯	11101101000111111110000110100000	郑薯 20	01100010100001110011001010011110
日本玉丰	10000011111100110011011110111110	紫芋	11101100000100111011100001000111

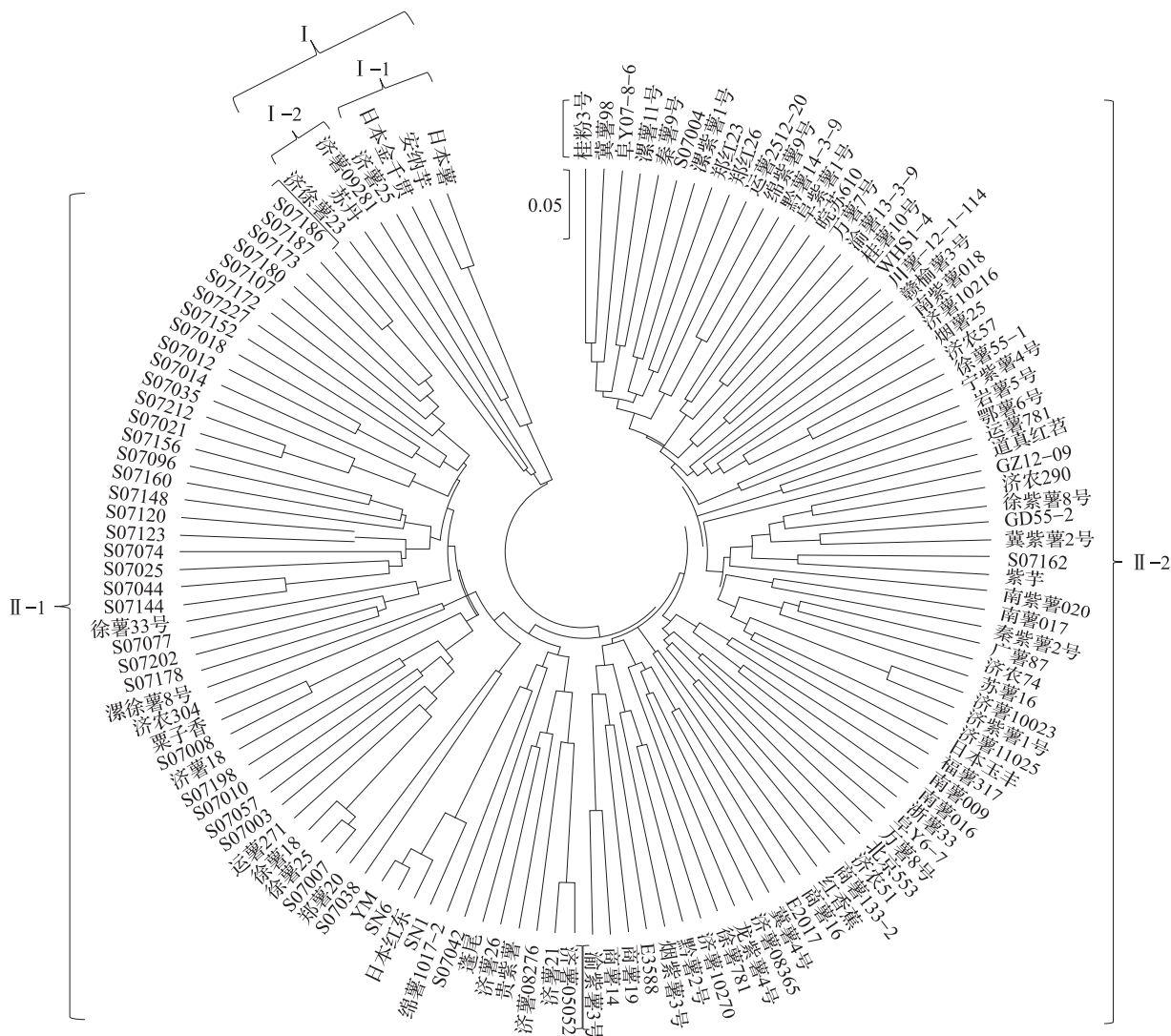
2.3 聚类分析

利用 19 对 SSR 标记引物对供试材料进行聚类分析,利用 NTSYS-pc2.1 计算得到 132 份甘薯材料的遗传距离矩阵,遗传距离大小范围是 0.0363 ~ 0.5939,平均为 0.4087,表明供试材料之间遗传多样性较为丰富,其中福薯 371 和 S07123 遗传距离最大,遗传距离最小的是来自韩国的 2 个品种 YM 和 SN6。10 份日本、韩国和苏丹材料的平均遗传距离为 0.366,中国甘薯材料的遗传距离为 0.357,两组间平均遗传距离为 0.431,从所得数据看出供试材料间的遗传距离较为相似。根据上述计算所得 132

份甘薯种质的遗传距离矩阵,利用分析软件 MEGA7.0.21 通过 UPGMA 法对供试材料进行分类并得到聚类图(图 1)。从聚类图可以看出,在可信度 0.23 处,所有甘薯材料被分为 2 大类,第 I 大类又分为两个亚类,第 I-1 亚类包括济薯 25 和 3 份日本引进品种日本金千贯、安纳芋、日本薯;第 I-2 亚类有济徐薯 23、苏丹、济薯 09281。第 II 大类在可信度 0.21 处分为两个亚类,第 II-1 亚类包括 S07 甘薯品系和济薯 05052、济薯 21、济薯 08276、济薯 26、济薯 18、徐薯 25、徐薯 18、徐薯 33 号、郑薯 20、漯徐薯 8 号、济农 304、贵紫薯、蓬尾、绵薯 1017-2、

运薯 271、栗子香、日本红东、SN1、SN6 和 YM; 第 II-2 亚类包括剩余的 70 份甘薯种质, 在这个亚类

中又分为几个小类群, 每个类群都有来自不同地域的甘薯材料。



图片所示分支长度为 19.63573112 的最优树。聚类树是按比例绘制的, 其分支长度与用于推断系统发育树的进化

距离的单位相同。进化距离由实验结果提供。在 MEGA7 中进行了聚类分析<sup>[23]</sup>

The picture shows the optimal tree with a branch length of 19.63573112. The cluster tree is drawn in proportion, and its branch length is the same as the unit used to deduce the evolutionary distance provided by the experimental results. The cluster analysis was carried out in MEGA7<sup>[23]</sup>

图1 132 份甘薯材料基于 SSR 分析的遗传距离聚类分析

Fig. 1 The cluster analysis of 132 sweetpotato accessions using SSR markers

### 3 讨论

目前用于甘薯研究的分子标记主要有 AFLP、RFLP、RAPD、SSR、SNP、EST-SSR 等<sup>[24]</sup>, 相比其他标记, SSR 分子标记具有共显性遗传、数量大、稳定性高、成本低且对 DNA 质量要求较低等优点, 广泛应用于甘薯研究中。常用的构建 DNA 指纹图谱的方法有特征条带法、单引物法及引物组合法, 根据尽量用最少的引物区分开最多的品种的一般原则构建

DNA 指纹图谱<sup>[25]</sup>。本研究中有 12 对引物多态性信息含量 (PIC) 大于 0.8, 引物 SSR9 的基因型数高达 125、多态性信息含量 0.9331, 2 对引物 SSR9 和 C33 可将 132 份甘薯种质完全分开, 并构建了 132 份甘薯种质的数字指纹图谱。因此, SSR 标记可有效用于甘薯品种鉴定、种子纯度鉴定等。本研究采用 SSR 标记对 132 份甘薯品种 (系) 或材料进行遗传多样性分析, 共扩增出 232 条带, 多态性条带 165 条, 多态性比率为 71.1%, 遗传距离范围在 0.0363 ~

0.5939 之间,平均为 0.4087,其遗传距离变异幅度较大,从分子水平上进一步表明我国甘薯种质间遗传多样性比较丰富,与南文卓等<sup>[9]</sup>、罗凯等<sup>[19]</sup> 研究结果相似。

利用 SSR 技术所得的聚类图与已知育成品种的系谱比较,吻合度较高,如 29 份 S07 品系材料来自亲本漯徐薯 8 号和郑薯 20 杂交的 F<sub>1</sub> 代品系,与两个亲本漯徐薯 8 号和郑薯 20 同列为一类群;育成品种漯徐薯 8 号、济薯 18 和徐薯 25 均是徐薯 18 的后代,与徐薯 18 聚为一类,育成品种济薯 25 与 3 份日本品种血缘关系较近,列为一类。因此,SSR 标记对甘薯亲缘关系的确定有一定可信度,聚类结果与系谱来源较一致,亲缘关系较近的品种(系)首先聚在一起,同时进一步验证了 SSR 技术用于甘薯品种亲缘关系和遗传变异分析的可行性。从聚类图中可以看出,济薯 10023、济薯 11025 和济紫薯 1 号与日本玉丰在同一个分支,说明济薯 10023、济薯 11025 和济紫薯 1 号的亲本与日本品种有一定亲缘关系。另外,济薯 26 与地方品种蓬尾、贵紫薯在同一分支,说明济薯 26 含有部分地方品种的血缘关系。但在聚类过程中分子标记并没有确切反映甘薯品种(系)地域性,10 份来自国外的材料分布在 2 个类群中,相同地理来源的各个品种(系)分布在各个亚类群中,说明从地理上判断甘薯亲缘关系有一定局限,研究结果与杨育峰等<sup>[21]</sup>、罗凯等<sup>[19]</sup>、赵冬兰等<sup>[18]</sup> 结论一致。SSR 标记聚类结果可直观反映甘薯种质的亲缘关系,在甘薯育种工作中可高效准确提供亲本的选择和杂种优势的利用<sup>[26]</sup>,利用关系较远的品种改良甘薯品种时,既可获得遗传差异较丰富的后代,又能避免降低甘薯种质的遗传多样性<sup>[27]</sup>。

## 参考文献

- [1] 李爱贤,刘庆昌,王庆美,张海燕,侯夫云. 我国甘薯育种研究现状及展望. 山东农业科学,2009(1):38-42
- [2] Jie Q, Li H, Zhai H, Wang Y P, Li Q, Ma D F, Xie Y P, Liu Q C. Development of AFLP markers linked to stem nematode resistance gene in sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.). Journal of Agricultural Biotechnology, 2008, 16(5): 837-841
- [3] 罗冉,吴委林,张咏,李玉花. SSR 分子标记在作物遗传育种中的应用. 基因组学与应用生物学, 2010, 29(1): 137-143
- [4] Cervantes-Flores J C, Yencho G C, Kriegner A, Pecota K V, Faulk M A, Mwanga R O M, Sosinski B R. Development of a genetic linkage map and identification of homologous linkage groups in sweetpotato using multiple-dose AFLP markers. Molecular Breeding, 2008, 21(4): 511-532
- [5] 王红意,翟红,王玉萍,何绍贞,刘庆昌. 30 个中国甘薯主栽品种的 RAPD 指纹图谱构建及遗传变异分析. 分子植物育种, 2009, 7(5): 879-884
- [6] 张超凡,黄艳岚,周虹,易九红. 湖南甘薯品种 AFLP 标记的遗传差异分析. 江苏农业学报, 2010, 26(4): 706-710
- [7] Zhao N, Yu X X, Jie Q, Li H, Li H, Hu J, Zhai H, He S Z, Liu Q C. A genetic linkage map based on AFLP and SSR markers and mapping of QTL for dry-matter content in sweetpotato. Molecular Breeding, 2013, 32(4): 807-820
- [8] Li A X, Liu Q C, Wang Q M, Zhang L M, Zhai H, Liu S Z. Establishment of molecular linkage maps using SRAP markers in sweet potato. Acta Agronomica Sinica, 2010, 36(8): 1286-1295
- [9] 南文卓,张小贝,苏一钧,祝志欣,曹清河,朱国鹏. 30 份海南地区引种甘薯种质资源的 SSR 分析. 贵州农业科学, 2016, 44(12): 1-5
- [10] 罗忠霞,房伯平,李茹,王章英,黄立飞,陈景益,张雄坚,李育军,陈新亮,黄实辉. 基于 EST-SSR 标记的甘薯种质资源 DNA 指纹图谱构建. 植物遗传资源学报, 2014, 15(4): 810-814
- [11] Roder M S, Wendehake K, Korzun V, Bredemeijer G, Laborie D, Bertrand L, Isaac P, Rendell S, Jackson J, Cooke R J, Vosman B, Ganai M W. Construction and analysis of a microsatellite-based database of European wheat varieties. Theoretical & Applied Genetics, 2002, 106(1): 67-73
- [12] 李根英, Susanne D, Marilyn L. Warburton, 夏先春, 何中虎, 孙其信. 小麦指纹图谱数据库的建立及 SSR 分子标记试剂盒的研发. 作物学报, 2006, 32(12): 1771-1778
- [13] 王立新, 李云伏, 常利芳, 黄岚, 李宏博, 葛玲玲, 刘丽华, 姚骥, 赵昌平. 建立小麦品种 DNA 指纹的方法研究. 作物学报, 2007, 33(10): 1738-1740
- [14] 朱勇良, 谢裕林, 黄凌哲, 吴建祥, 乔中英, 王建平, 黄萌, 陈培峰. 太湖稻区及国内部分香稻 SSR 指纹图谱构建及遗传多样性初析. 植物遗传资源学报, 2012, 13(4): 666-671
- [15] 王风格, 赵久然, 戴景瑞, 郭景伦, 原亚萍, 王璐, 易红梅, 孙世贤, 吕波. 玉米品种 DNA 指纹数据库构建的标准化规范. 分子植物育种, 2007, 5(1): 128-132
- [16] Francesco M, Caterina L, Daniela P, Fabrizio A, Antonio L, Michele M M, Maria C F, Maria R A, Francesco S. Genetic variation of an italian long shelf-life tomato (*Solanum lycopersicon* L.) collection by using SSR and morphological fruit traits. Genetic Resources & Crop Evolution, 2015, 62(5): 721-732
- [17] 杨新笋. 基于 SSR, SNP 和形态学标记的甘薯种质资源遗传多样性研究. 北京: 中国农业大学, 2016
- [18] 赵冬兰, 唐君, 曹清河, 周志林, 张安. 中国甘薯地方种质资源遗传多样性分析. 植物遗传资源学报, 2015, 16(5): 994-1003
- [19] 罗凯, 卢会翔, 吴正丹, 吴雪莉, 尹旺, 唐道彬, 王季春, 张凯. 中国西南地区甘薯主要育种亲本的遗传多样性及群体结构分析. 中国农业科学, 2016, 49(3): 593-608
- [20] 鲍思元. DNA 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳的实验教学改进. 实验科学与技术, 2015, 13(2): 122-124
- [21] 杨育峰, 史典义, 王雁楠, 杨国红, 徐心志, 翟红, 何绍贞, 刘庆昌, 苏文瑾. 基于转录组测序数据的甘薯 SSR 标记开发及群体聚类分析. 分子植物育种, 2018, 16(11): 3569-3579
- [22] Sneath P H A, Sokal R R. Numerical Taxonomy: The principles and practice of numerical classification. 1973, 573
- [23] Kumar S, Stecher G, Tamura K. Mega7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. Molecular Biology & Evolution, 2016, 33(7): 1870-1874
- [24] 唐道彬, 张凯, 吕长文, 谢德斌, 傅体华, 王季春. 基于 EST-SSR 标记甘薯连锁图谱构建及淀粉性状的 QTL 定位. 中国农业科学, 2016, 49(23): 4488-4506
- [25] 陈世军, 张明泽, 姚玉仙, 谢维斌. 基于 SSR 标记的黔南茶树种质资源 DNA 指纹图谱构建. 植物遗传资源学报, 2017, 18(1): 106-111
- [26] 赵光磊, 张雅奎, 吴凌娟, 万群芳, 陈耀锋. 黑龙江省主栽马铃薯品种遗传多样性的 SRAP 分析. 西北农业学报, 2015, 24(2): 66-72
- [27] 李强, 刘庆昌, 翟红, 马代夫, 王欣, 李雪琴, 王玉萍. 中国甘薯主要亲本遗传多样性的 ISSR 分析. 作物学报, 2008, 34(6): 972-977