

基于 SSR 标记的世界豌豆种质遗传多样性分析

李 群, 王 栋, 张文兰, 田 茜, 戴 双, 颜廷进

(山东省农业科学院农作物种质资源研究所, 济南 250100)

摘要: 为综合评价国内外豌豆种质资源及为优异基因挖掘利用提供依据, 本研究以国内外 288 份豌豆种质资源为试验材料, 利用 SSR 标记对其进行遗传多样性分析。结果表明, 利用筛选出的 24 对多态性 SSR 引物, 共扩增出 153 个等位基因, 平均每对引物扩增出 6.38 个等位基因, 其中有效等位基因占 37.49%, Shannon 指数平均为 0.9432, 参试引物的多态性信息量 (PIC) 平均为 0.4331。亚洲豌豆种质资源遗传变异最为丰富, 其基因多样性指数为 0.4638, 而非洲的豌豆资源遗传基础相对狭窄, 其基因多样性指数为 0.3480。通过洲际间的聚类分析显示, 亚洲、欧洲、美洲、大洋洲、非洲及俄罗斯联邦豌豆种质资源群体之间具有明显的地域分布规律, 可分为 2 个类群, 在类群 I 中又分出 2 个亚类群, 其中欧洲与美洲间遗传距离最近, 为 0.922, 其次是亚洲与非洲的遗传距离, 为 1.425, 大洋洲与其他大洲的遗传距离最远, 为 2.958。这些遗传多样性较高的豌豆种质资源可为我国今后豌豆育种及品种改良提供丰富的遗传材料。

关键词: 豌豆; 种质资源; SSR 标记; 遗传多样性

Genetic Diversity Analysis of Pea Germplasm Resources of the World by SSR Markers

LI Qun, WANG Dong, ZHANG Wen-lan, TIAN Qian, DAI Shuang, YAN Ting-jin

(Institute of Crop Germplasm Resources, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan 250100)

Abstract: In this study, the genetic diversity of 288 domestic and foreign pea germplasm resources were analyzed by SSR technique, which provided a basis for comprehensive evaluation of domestic and foreign pea germplasm resources and the utilization of elite genes. The results showed that 153 alleles were amplified by 24 pairs of SSR primers, with an average of 6.38 alleles per primer. Among them, the effective alleles accounted for 37.49%, the Shannon's index averaged 0.9432, and the polymorphism information content (PIC) of the tested primers was 0.4331. The genetic diversity index of Asian pea germplasm was 0.4638, while that of Africa was 0.3480. This indicated that the genetic variation of pea germplasm resources in Asia was the most abundant, while that in Africa was relatively narrow. The intercontinental cluster analysis showed that there were obvious regional distribution rules among the pea germplasm resources in Asia, Europe, America, Oceania, Africa and the Russian Federation, which could be divided into two groups. In group I, there were two subgroups. The genetic distance between Europe and America was the closest (0.922), followed by Asia and Africa (1.425), and the genetic distance between Oceania and other continents was the longest at 2.958. These pea germplasm resources with high genetic diversity could provide rich genetic materials for breeding and cultivar improvement.

Key words: pea; germplasm resources; SSR; genetic diversity

收稿日期: 2020-10-22 修回日期: 2020-12-07 网络出版日期: 2020-12-11

URL: <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20201022001>

第一作者主要从事种子检测技术研究, E-mail: liqun.jinan@aliyun.com; 王栋为共同第一作者

通信作者: 颜廷进, 主要从事生物技术研究, E-mail: Seedtc@sohu.com

基金项目: 山东省农业科学院农业科技创新工程 (CXGC2017A02); 山东省现代农业产业技术体系 (SDARS-16-01); 山东省自然科学基金项目 (ZR2017PCM02)

Foundation projects: Agricultural Science and Technology Innovation Project of Shandong Academy of Agricultural Sciences (CXGC2017A02), Modern Agricultural Industrial Technology System of Shandong Province (SDARS-16-01), Project of Natural Science Foundation of Shandong Province (ZR2017PCM02)

豌豆 (*Pisum sativum* L.) 属豆科, 蝶形花亚科, 豌豆属。春播为一年生, 秋播为越年生的草本长日照植物, 喜冷凉湿润气候, 耐寒不耐热^[1]。在多种土地条件和干旱条件下均能够生长^[2], 因此种植区域遍及世界各地。豌豆种子及嫩荚、嫩苗均可食用, 种子还具有保健的功效; 茎叶能清凉解暑, 并作绿肥、饲料或燃料, 是集粮食、蔬菜和饲料等多种功能的世界四大食用豆类作物之一。据 2019 年 FAO 统计数据^[3], 全世界共有 99 个国家和地区生产干豌豆, 种植面积居前 5 位的分别是加拿大、俄罗斯联邦、中国、印度和美国, 总产量居前 5 位的是加拿大、俄罗斯联邦、中国、美国和印度; 生产青豌豆国家和地区共有 88 个, 种植面积前 5 位的国家分别是中国、印度、美国、法国和英国, 总产量居前 5 位的是中国、印度、法国、美国和阿爾及利亚。统计数据表明无论是干豌豆还是青豌豆, 无论是种植面积还是总产量, 我国均居世界前列^[4]。

种质遗传多样性研究是品种改良和种质资源创新的基础^[5], 遗传变异的丰富度决定了对环境变化的适应力。对于优异种质资源进行深入研究并加以利用, 将有助于改变遗传基础日益狭窄、品种单一、抗病虫和抗逆性能力低的状况。SSR 分子标记技术因其共显性遗传, 多态性高, 信息含量丰富且所需 DNA 量少, 目前广泛应用于种质鉴定、遗传多样性分析、数量性状基因座分析、基因定位和亲缘关系鉴定等^[6-10]。如宗绪晓等^[11]利用 21 对 SSR 引物对国家种质库保存的全国 19 省区市 1221 份豌豆地方

品种进行遗传多样性分析, 结果显示省籍资源群体间遗传多样性差异显著, 并划分出了 3 个基因库, 聚类结果显示, 我国豌豆地方品种资源群间遗传距离与其来源地生态环境相关联。孙雪莲^[12]应用磁珠富集法开发了 79 对 SSR 标记引物, 并由此构建了豌豆的遗传连锁图谱。目前, 豌豆遗传多样性的研究从种质资源的遗传关系评价及各种分子标记在遗传关系评价中的应用与比较向分析不同栽培区豌豆遗传多样性的差异方向发展, 以此可为育种家制定育种策略提供参考^[13-14]。

近年来, 对国内豌豆种质资源有了较为深入地研究及开发利用, 但国外豌豆种质资源研究较少。本研究以来自 57 个国家和地区的 288 份豌豆种质资源为试验材料, 利用 SSR 标记对国内外豌豆种质资源的遗传多样性及群体遗传结构进行全面系统分析, 旨在通过筛选优质的豌豆种质资源, 挖掘和利用其优异基因, 以期我国的豌豆育种工作提供丰富优良的资源储备和理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

288 份国内外豌豆种质资源均来自于美国农业部西部地区引种中心, 分布于五大洲及俄罗斯联邦 (横跨欧亚 2 个洲, 故单独作为一个群体) 的 57 个国家和地区 (表 1), 其中亚洲 102 份, 欧洲 110 份, 美洲 38 份, 非洲 19 份, 大洋洲 6 份, 俄罗斯联邦 13 份。

表 1 引进豌豆种质资源的分布信息

Table 1 Distribution information of introduced pea germplasm resources

洲别 Region	来源 Sources	数量 Quantities	比例 (%) Proportion	洲别 Region	来源 Sources	数量 Quantities	比例 (%) Proportion
亚洲 Asia	中国	9	35.4		亚美尼亚	1	
	中国香港	1			哈萨克斯坦	1	
	中国台湾	3			也门	2	
	日本	5		美洲 America	美国	8	13.2
	泰国	1			墨西哥	6	
	马来西亚	4			秘鲁	5	
	伊朗	7			加拿大	4	
	巴基斯坦	7			厄瓜多尔	4	
	阿富汗	12			阿根廷	4	
	印度	18			巴西	2	
	以色列	5			哥斯达黎加	1	
	叙利亚	6			危地马拉	1	
	尼泊尔	6			洪都拉斯	1	
	土耳其	13			巴拉圭	1	
	伊拉克	1			委内瑞拉	1	

表 1(续)

洲别	来源	数量	比例(%)	洲别	来源	数量	比例(%)
Region	Sources	Quantities	Proportion	Region	Sources	Quantities	Proportion
欧洲 Europe	希腊	9	38.2		丹麦	3	
	波兰	12			芬兰	5	
	塞浦路斯	1			爱沙尼亚	1	
	匈牙利	11			塞尔维亚	4	
	阿尔巴尼亚	1			马其顿	3	
	保加利亚	3			意大利	1	
	法国	6			捷克斯洛伐克	1	
	荷兰	6		非洲	埃塞俄比亚	16	6.6
	德国	8		Africa	乌干达	1	
	英国	14			卢旺达	1	
	捷克	6			苏丹	1	
	拉托维亚	1		大洋洲	澳大利亚	6	2.1
	乌克兰	1		Oceania			
	西班牙	4		俄罗斯联邦	前苏联	9	4.5
	瑞典	9		Russian federation	俄罗斯	4	

1.2 DNA 提取及检测

参试材料每份取 20 粒进行田间种植,选择生长良好的植株随机取幼嫩叶片 200~300 mg 混合后放入 2mL 的离心管中,经液氮冷冻后用 MM400 球磨机研磨成粉末,采用 CTAB 法提取 DNA^[15-16],稀释后的母液保存于 -80 ℃冰箱中备用。

根据已公开发表的文献资料^[17-20],选取具有多态性的引物 72 对进行预备试验,经试验筛选保留了 24 对谱带清晰多态性高的引物(表 2)用于 PCR 扩增(引物由北京梓熙生物科技有限公司合成)。

PCR 扩增及产物检测反应体系 10 μL,含有 2 × Taq PCR MasterMix 5 μL、上下游引物各 0.5 μL、ddH₂O 3.5 μL、模板 DNA 0.5 μL。反应程序为 94 ℃预热 5 min,95 ℃变性 30 s,最适退火温度 5 s,72 ℃延伸 45 s,重复 35 个循环,72 ℃延伸 5 min,4 ℃保温,扩增产物用 8% 非变性聚丙烯酰胺凝胶进行电泳检测,电泳缓冲液为 0.5 × TBE,银染凝胶,拍照并记录结果。

1.3 数据处理与分析

每份样品条带的读取只记录扩增清晰的条带,参照 DNA marker 所对应的位置,根据分子量从大到小的顺序分别记录,按照所用分析软件的格式进行整理。采用 Popgen32 软件分别统计计算群体的等位基因数(*Na*)、有效等位基因数(*Ne*)、Shannon 指数(*I*)统计。采用 PowerMarker 3.5 软件计算标记位点的多态性信息量(*PIC*)。利用 Popgen32 及 MEGA6.2 完成 Nei72 遗传距离计算及群体间遗传距离聚类图绘制。

2 结果与分析

2.1 SSR 标记及其位点多态性分析

本研究以 72 对 SSR 引物为备选,首先从 288 份参试材料中选取 8 份不同地理来源的豌豆 DNA 样品进行最适引物筛选,最终筛选出 24 对多态性引物用于全部样品的 PCR 扩增。在 288 份样品中,共扩增出 153 个等位基因,每对引物平均扩增 6.38 个等位基因,其中 CLM0022 标记的等位基因数最多,为 12 个。有效等位基因数(*Ne*)范围在 1.0070~4.0898 之间,平均为 2.2264,有效等位基因变异所占比重为 37.49%。24 对引物的基因多样性指数范围在 0.0231~1.6575 之间,平均为 0.9432。综合以上指标表明不同位点遗传变异差异较大,其中 PSAC75、CLM0443 和 AA205 共 3 对引物的 Shannon 指数达到 1.5 以上,等位基因数在 7~10 个之间,有效等位基因数在 3.9572~4.0898 之间。

为了评价 24 对引物在群体中出现多态性的频率,应用 PowerMarker 3.5 软件计算了其多态性信息含量(*PIC*),其范围为 0.0069~0.7233,平均值为 0.4331。*PIC* > 0.5 的高度多态位点有 11 个,其中 PSAC75 的值最高,为 0.7233; 0.25 < *PIC* ≤ 0.5 的中度多态位点有 6 个,*PIC* ≤ 0.25 的低度多态位点有 7 个,其中 AA285 的值最低,为 0.0069。等位基因的多少及等位基因在群体中分布频率的均匀度决定了 *PIC* 值的大小,并与 *PIC* 值呈正相关。本研究中高 *PIC* 值的引物占 45.8%,表明所选引物较好地反映了参试样本的遗传多样性信息(表 3)。

表 2 24 对豌豆引物及其相关信息

Table 2 24 pairs of primers and related information

引物 Primer	碱基序列 Base sequence	最佳退火温度 (°C) Optimal annealing temperature	引物 Primer	碱基序列 Base sequence	最佳退火温度 (°C) Optimal annealing temperature
PSGAP1-F	GACATTGTTGCCAATAACTGG	51	PSAB72-F	ATCTCATGTTCAACTTGCAACCTTTA	68
PSGAP1-R	GGTTCTGTTCTCAATACAAG		PSAB72-R	TTCAAAACACGCAAGTTTCTGA	
PSAC75-F	CGCTCACCAAAATGTAGATGATAA	62	AD147-F	AGCCCAAGTTTCTTCTGAATCC	61
PSAC75-R	TCATGCATCAATGAAAAGTGATAAA		AD147-R	AAATTCGCAGAGCGTTTGTGTAC	
CLM0022-F	GTCCACAAATCAGATGCACA	55	AA317-F	CGCTAGGTCATATTTGTTAGAGT	51
CLM0022-R	AGTTCCCTTCCCTTCAATGTT		AA317-R	CCTTGACAACAATTTTAAAGAGAT	
CLM0443-F	GGATGCGTCTAAGCCTGTTA	55	PSU81288-F	CGCCATGGAGCTTAGCTTCC	54
CLM0443-R	CACATGACGAAAGAGATGGA		PSU81288-R	CGAGTAGATAGAAAGAGATGC	
PSAA175-F	TTGAAGGAACACAAATCAGCGAC	62	PSAB141-F	ATCCCAATACCTCCACCAATGTT	62
PSAA175-R	TGCGCACCAAACTACCATAATC		PSAB141-R	AGACTTAGGCTTCCCTTCTACGA	
AA205-F	TACGCAATCATAGAGTTTGGAA	51	PSAC58-F	TCCGCAATTTGGTAACACTG	60
AA205-R	AATCAAGTCAATGAAACAAGCA		PSAC58-R	CGTCCATTTCTTTTATGCTGAG	
AA206-F	CTGAGAACTCAACGCTCAGACG	56	2200-F	TGGTTCCTCTGTTGGTCGAG	53
AA206-R	CGAGGGTCGAGTCTTGAGATTT		2200-R	ACACACACACATACACGGCG	
AA416-F	TTACTGTACTTTGCGACATCA	61	4013-F	ACACGCATGCACGATTACAT	53
AA416-R	ATAGTGTGAAATTTTCCATCC		4013-R	GTACGAGCTTTTGTACGCA	
AA278-F	CCAAGAAAGGCTTATCAACAGG	61	4581-F	ACACCATTCACCATTTCTGA	52
AA278-R	TGCTTGTGTCAAAGTGATCAGTG		4581-R	GTGCGTGTGTGTGTGAGTG	
AB27-F	CCATGTTGAAAGTAAGATTAAAGAAA	50	5540-F	CAGAAAAGGAAGCAAGGTGC	52
AB27-R	TCCACCTTCAAAAGTTTGTCTAAAAGT		5540-R	AGGCAGAGGTTGTGAGCAAT	
PSU51918-F	GTCGTAAACAGATCAATATGGC	54	2614-F	ATGTGTGTGCGTGTGTGTG	50
PSU51918-R	CGATAGTGAGAGTGGCGGTG		2614-R	GATTGTTATGTGCTGCGTGG	
AA285-F	TCGCCCTAATCTAGATGAGAATA	51	4043-R	ACACGCATGCACGATTACAT	50
AA285-R	CTTAACATTTTAGGCTCTGGAG		4043-R	CGTGTACGTAGCTTTGCACG	

表 3 288 份豌豆材料 24 个 SSR 位点的遗传多样性信息
Table 3 Genetic diversity information of 24 SSR loci in 288 pea materials

SSR 位点 SSR loci	等位基因数 <i>Na</i>	有效等位基因数 <i>Ne</i>	有效等位基因 所占比 (%) Proportion of <i>Ne</i>	Shannon 指数 <i>I</i>	多态性信息含量 <i>PIC</i>
PSGAPA1	11.0000	2.6865	24.42	1.3466	0.5919
PSAC75	7.0000	4.0394	57.71	1.6402	0.7233
CLM0022	12.0000	2.9412	24.51	1.3599	0.6023
CLM0443	10.0000	4.0898	40.90	1.6575	0.7228
PSAA175	7.0000	2.6409	37.73	1.1727	0.5661
AA205	10.0000	3.9572	39.57	1.5747	0.7078
AA206	10.0000	2.7228	24.75	1.2646	0.5814
AA416	11.0000	3.6838	33.49	1.4832	0.6863
AA278	6.0000	2.3052	38.42	1.0803	0.5032
AB27	6.0000	2.2156	36.93	1.0076	0.4891
PSU51918	7.0000	2.3185	33.12	0.9781	0.4733
AA285	2.0000	1.0070	50.35	0.0231	0.0069
AB72	7.0000	2.5581	36.54	1.1485	0.5313
AD147	4.0000	2.0200	50.50	0.9649	0.4694
AA317	3.0000	1.2065	50.22	0.3359	0.1587
PSU81288	5.0000	1.2244	24.49	0.4160	0.1734
PSAB141	6.0000	2.7024	45.04	1.1663	0.5697
PSAC58	3.0000	1.2389	41.30	0.3569	0.1755
2200	5.0000	1.6155	32.31	0.7655	0.3030
4013	3.0000	1.2979	43.26	0.4505	0.2085
4581	4.0000	1.0876	27.19	0.2013	0.0786
5540	4.0000	1.3717	31.29	0.5170	0.2466
2614	6.0000	2.1000	35.00	0.9885	0.4740
4043	4.0000	1.6285	40.71	0.7378	0.3524
合计 Total	153				
平均 Mean	6.38	2.2264	37.49	0.9432	0.4331
标准差 SD	3.0507	0.9802		0.5015	

2.2 世界豌豆种质资源遗传多样性分析

由于引进的种质资源数量较多,且各国家的分布也不均匀,因此将来自世界不同国家的豌豆资源按地理来源分为亚洲、欧洲、美洲、非洲、大洋洲及俄罗斯联邦 6 个群体。利用 Popgen32 计算 6 个豌豆种质资源群体的遗传多样性参数(表 4),结果表明,群体间的等位基因数的范围在 64~123 个之间,由于各群体的参试数量分布不均匀,其差异较大,总体 Nei 基因多样性指数为 0.3480~0.4638,其中亚洲的基因多样性指数最高,为 0.4638,非洲最低,为 0.3480;而多态性信息量 (*PIC*) 亦为亚洲最高 (0.4203),非洲最低 (0.3076),其变化趋势与基因多样性指数基本一致。表明亚洲豌豆种质资源的遗传

基因变异最为丰富。

2.3 世界豌豆种质资源洲际间聚类分析

将划分的 6 个群体利用 Popgen32 及 MEGA6.2 完成 Nei72 遗传距离计算,并绘制群体间遗传距离聚类图(图 1)。结果显示,6 个群体有着明显的地域分布特征,其遗传距离变化范围为 0.922~2.958。从截距 2.449 分割,形成了 2 个类群(Ⅰ、Ⅱ),从 1.425 处进一步分割,又形成 3 个亚类群:亚洲和非洲亚类(Ⅰ-1),欧洲和美洲亚类(Ⅰ-2)以及俄罗斯联邦亚类(Ⅰ-3)。聚类图表明,欧洲与美洲之间的遗传一致性最高而遗传距离最小,仅为 0.922,说明欧洲与美洲资源的遗传距离最近,这与宗绪晓等^[17]的研究结果相符。其次是亚洲与非洲的遗传距离

表 4 6 个豌豆组群遗传多样性分析

Table 4 Genetic diversity analysis of peas from six regions

群体 Region	组群大小 Sample size	Nei 基因多样性 <i>H</i>	等位基因数量 <i>N_a</i>	多态性信息量 <i>PIC</i>
亚洲 Asia	103	0.4638	123	0.4203
欧洲 Europe	102	0.4407	122	0.4033
美洲 America	45	0.4411	92	0.3879
非洲 Africa	19	0.3480	75	0.3076
大洋洲 Oceania	6	0.4072	64	0.3587
俄罗斯联邦 Russian Federation	13	0.4137	79	0.3799
总体 Total	288		153	

为 1.425,其豌豆种质资源的亲缘关系可追溯于豌豆的起源。而大洋洲组群与其他组群的遗传相似性最小,为 0.9124;遗传距离则最大,为 2.958。综上所述,参试豌豆种质资源的遗传多样性与其地理分布有着密切关系。

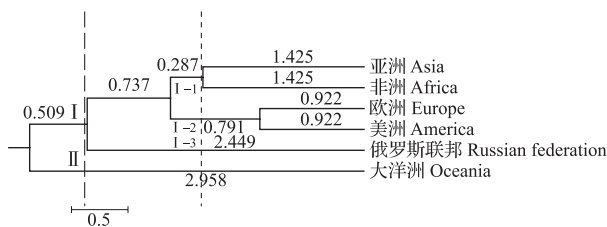


图 1 基于 SSR 标记数据的群体间遗传距离聚类图

Fig.1 Clustering map of intercontinental genetic distance based on SSR marker data

3 讨论

对于作物育种或品种改良而言,收集保存尽可能多的种质资源,是开展育种工作的首要基础,而明确种质资源或育种材料之间的遗传多样性及亲缘关系,则是进行杂交组配和构建目标群体的有效途径。因此,引进遗传基因丰富的资源,开展豌豆种质资源遗传多样性分析,对指导豌豆种质鉴定、育种和遗传改良都具有参考意义。

SSR 分子标记在植物遗传多样性研究中已得到广泛应用^[21-23],可用来对种质资源进行充分的挖掘和利用^[5]。通过多态性信息含量(*PIC*)可反映 SSR 位点变异程度,数值越大,变异越多。乔玲等^[24]用 58 对引物对 379 份绿豆种质资源进行 SSR 标记的遗传多样性分析显示,8 个不同地理来源的绿豆材料中俄罗斯的 *PIC* 值最高,表明其具有丰富的遗传变异,应充分被中国的育种者加以利用。王

衍莉等^[25]利用 11 对引物对 73 份山葡萄及杂交后代进行遗传多样性及亲缘关系分析,结果表明东北山葡萄资源与俄罗斯野生葡萄资源亲缘关系较近,与俄罗斯选育葡萄资源亲缘关系较远,俄罗斯选育品种的遗传多样性高于山葡萄品种与俄罗斯野生葡萄资源。本研究筛选的 24 对 SSR 引物具有丰富的多态信息,其中有 45.8% 的引物为高 *PIC* 值标记,说明这些引物是可行有效的,为今后豌豆分子标记辅助育种研究提供一定的技术支持。

通过遗传多样性参数可反映种内不同组群之间及组群内不同个体之间的遗传变异水平^[26-28]。本试验结果表明各洲际及俄罗斯联邦群体之间豌豆资源遗传多样性有着明显差异,遗传基因变异的丰富度依次为亚洲>欧洲>美洲>俄罗斯联邦>大洋洲>非洲,与宗绪晓等^[17]研究的结果有些许差异(亚洲>欧洲>俄罗斯>美洲>非洲>大洋洲),这可能与各群体种子来源地的数量分布不均有关,造成了结果偏差,而亚洲种质资源遗传多样性最为丰富且是一致的,遗传变异丰富的种质资源可为作物育种及品种改良加以利用。近代随着农业生产技术的不断发展,在育种工作中,豌豆种质资源互相交换频繁,已将各自来源地的基因渗透到了世界五大洲^[29]。聚类分析表明,欧美间遗传距离最为相近,尽管从地理位置上相距甚远,但从历史的角度分析,自从 500 余年前哥伦布发现美洲新大陆,开辟了欧美之间新航道,使得国际贸易蓬勃兴起,促进了世界动植物之间的大交流,在植物种子传播方面尤为突出,因此它们的亲缘关系最为接近。据前人研究,豌豆起源于西亚、地中海地区及埃塞俄比亚^[1],豌豆可从西亚往东传播至整个亚洲、由地中海沿岸及埃塞俄比亚等传播至非洲适宜豌豆生长的地区,其遗传基础相

近,因此亚洲与非洲资源在一个亚组群内。俄罗斯联邦亚组与亚、非、欧、美同在一个组群,横跨欧亚大陆板块,因此该地区的种质资源遗传基因既具有适应当地自然环境的特点,又融合了欧亚地区可能有的遗传基因,本研究结果从地理分布上印证了上述推断。大洋洲群体与其他各洲群体的遗传距离最大,其豌豆来源国家为澳大利亚,在沦为欧洲的殖民地后引入豌豆种植,因其所处的地理位置远离其他大陆,不利于豌豆资源的迁移和交流,从而证实豌豆种群的形成与其起源地的地理位置和气候环境有着密切的关系。

目前,由于人工选择的压力造成了豌豆资源遗传基础狭窄、遗传多样性趋于一致、抗逆性低的现状,同时随着我国人民生活水平的不断改善,也需要更多特色、品质优异的品种。为解决这一矛盾,亟需深度挖掘我国的优异基因资源,创制新种质,同时积极引进国外资源,不仅可以改良中国原有品种,也可丰富我国的基因资源库,这也是今后豌豆育种和品种改良的必然趋势。本研究结果从分子层面探讨了引进豌豆种质资源的遗传多样性特点,明确了引进材料的遗传分布规律,为引进的种质资源合理利用提供理论依据。

参考文献

- [1] 郑卓杰. 中国食用豆类学. 北京: 中国农业出版社, 1997: 93-125
Zheng Z J. Chinese edible leguminology. Beijing: China Agricultural Publishers, 1997: 93-125
- [2] 王志刚. 菜用豌豆种质资源形态性状遗传多样性分析. 北京, 中国农业科学院, 2009
Wang Z G. Diversity on morphological characteristics of vegetable pea (*Pisum sativum* L.) genetic resources. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2009
- [3] Food and Agriculture Organization of the United Nations. Production and area harvested of top 5 producers. (2021-03-04) [2020-12-22]. <http://www.faostat3.fao.org/>
- [4] 方俐. 基于 SSR 标记的豌豆遗传连锁图谱加密及抗冻基因关联分析. 北京: 中国农业科学院, 2016
Fang L. Density enhancement of genetic linkage map and association analysis of winter hardy genes based on SSR markers in pea (*Pisum sativum* L.). Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2016
- [5] 贺晨帮, 宗绪晓. 豌豆种质资源形态标记遗传多样性分析. 植物遗传资源学报, 2011, 12(1): 42-48
He C B, Zong X X. Genetic diversity of pea (*Pisum sativum* L.) germplasm resources revealed by morphological traits. Journal of Plant Genetic Resources, 2011, 12(1): 42-48
- [6] 李玲. 国内豌豆种质资源形态性状多样性分析. 北京: 中国农业科学院, 2009
Li L. Diversity on morphological characteristics of Chinese indigenous pea (*Pisum sativum* L.) genetic resources. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2009
- [7] Ni J J, Colowit P M, Mackill D J. Evaluation of genetic diversity in rice subspecies using microsatellite markers. Crop Science, 2002, 42: 601-607
- [8] Prasad M, Kumar N, Kulwal P, Röder M, Balyan H, Dhaliwal H, Gupta P. QTL analysis for grain protein content using SSR markers and validation studies using NILs in bread wheat. Theoretical and Applied Genetics, 2003, 106: 659-667
- [9] 张增翠, 侯喜林. SSR 分子标记开发策略及评价. 遗传, 2004, 26(5): 763-768
Zhang Z C, Hou X L. Strategies for development of SSR molecular markers. Hereditas, 2004, 26(5): 763-768
- [10] Gupta P K, Varshney R K. The development and use of microsatellite markers for genetic analysis and plant breeding with emphasis on bread wheat. Euphytica, 2002, 113: 163-185
- [11] 宗绪晓, 关建平, 王述民, 刘庆昌. 中国豌豆地方品种 SSR 标记遗传多样性分析. 作物学报, 2008, 34(8): 1330-1338
Zong X X, Guan J P, Wang S M, Liu Q C. Genetic diversity among Chinese pea (*Pisum sativum* L.) landraces revealed by SSR markers. Acta Agronomica Sinica, 2008, 34(8): 1330-1338
- [12] 孙雪莲. 豌豆 SSR 标记开发及遗传连锁图谱构建. 北京: 中国农业科学院, 2013
Sun X L. SSR markers development and genetic linkage map construction of pea (*Pisum sativum* L.). Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2013
- [13] 马明, 武天龙. 豌豆分子标记研究进展. 上海交通大学学报: 农业科学, 2006, 24(5): 489-493
Ma M, Wu T L. Advances in molecular marker s of pea (*Pisum sativum* L.). Journal of Shanghai Jiaotong University: Agricultural Science, 2006, 24(5): 489-493
- [14] 顾竟, 宗绪晓. 豌豆资源遗传多样性及核心种质研究进展. 植物遗传资源学报, 2009, 10(2): 334-337
Gu J, Zong X X. Research progress on *Pisum* genetic diversity and core collection. Journal of Plant Genetic Resources, 2009, 10(2): 334-337
- [15] Dellaporta S L, Wood J, Hicks J B. A plant DNA miniprep: Version II. Plant Molecular Biology Reporter, 1983, 1(4): 19-21
- [16] Doyle J J, Doyle J L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus, 1990, 12: 149-151
- [17] 宗绪晓, 关建平, 王述民, 刘庆昌, Robert R Redden, Rebecca Ford. 国外栽培豌豆遗传多样性分析及核心种质构建. 作物学报, 2008, 34(9): 1518-1528
Zong X X, Guan J P, Wang S M, Liu Q C, Redden R R, Ford R. Genetic diversity and core collection of alien *Pisum sativum* L. Germplasm. Acta Agronomica Sinica, 2008, 34(9): 1518-1528
- [18] 顾竟, 李玲, 宗绪晓, 王海飞, 关建平, 杨涛. 豌豆种质表型性状 SSR 标记关联分析. 植物遗传资源学报, 2011, 12(6): 833-839
Gu J, Li L, Zong X X, Wang H F, Guan J P, Yang T. Association analysis between morphological traits of pea and its polymorphic SSR markers. Journal of Plant Genetic Resources, 2011, 12(6): 833-839
- [19] Lordon K, McPhee K, Morin J, Dubreuil P, Pilet-Nayel M L, Aubert G, Rameau C, Baranger A, Coyne C, Lejeune-Hénaut

- I, Burstin J. Microsatellite marker polymorphism and mapping in pea (*Pisum sativum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 2005, 111: 1022-1031
- [20] 吴星波. 豌豆核心种质资源遗传多样性的研究. 重庆: 西南大学, 2014
- Wu X B. Genetic diversity of pea core germplasm resources. Chongqing: Southwest University, 2014
- [21] 曾亮, 李敏权, 杨晓明. 豌豆属种质资源遗传多样性的 ISSR 分析. *草业学报*, 2012, 21(3): 125-131
- Zeng L, Li M Q, Yang X M. ISSR analysis on genetic diversity of Pea (*Pisum sativum* L.) germplasm resources. *Acta Prataculturae Sinica*, 2012, 21(3): 125-131
- [22] 尹国英, 杨小燕, 何其波, 曲存民, 张建奎, 戴秀梅. 鉴定烟草种质资源 SSR 核心引物筛选和验证. *植物遗传资源学报*, 2013, 14(5): 960-965
- Yin G Y, Yang X Y, He Q B, Qu C M, Zhang J K, Dai X M. Screen and identification of SSR core primers for tobacco germplasm. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2013, 14(5): 960-965
- [23] 马钰. 蚕豆 SSR 标记的开发及遗传连锁图谱的构建. 北京: 中国农业科学院, 2012
- Ma Y. Development of SSR markers and construction of genetic linkage map in faba bean (*Vicia faba* L.). Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2012
- [24] 乔玲, 郑海泽, 曲运琴, 张红芳, 姚勇, 张耀文, 陈红霖, 程须珍. 国外绿豆种质资源 SSR 标记的遗传多样性分析. *分子植物育种*, 2020, 18(22): 7577-7587
- Qiao L, Zheng H Z, Qu Y Q, Zhang H F, Yao Y, Zhang Y W, Chen H L, Cheng X Z. Analysis of genetic diversity of mung bean germplasm resources from abroad by SSR markers. *Molecular Plant Breeding*, 2020, 18(22): 7577-7587
- [25] 王衍莉, 杨义明, 范书田, 赵莹, 许培磊, 路文鹏, 李昌禹. 基于 SSR 分子标记的 73 份山葡萄及杂交后代的遗传多样性分析. *生物技术通报*, 2021, 37(1): 189-197
- Wang Y L, Yang Y M, Fan S T, Zhao Y, Xu P L, Lu W P, Li C Y. Genetic diversity analysis of 73 *Vitis amurens* and its hybrids resources based on SSR molecular markers. *Biotechnology Bulletin*, 2021, 37(1): 189-197
- [26] 宗绪晓, Ford R, Redden R R, 关建平, 王述民. 豌豆属 (*Pisum*) SSR 标记遗传多样性结构鉴别与分析. *中国农业科学*, 2009, 42(1): 36-46
- Zong X X, Ford R, Redden R R, Guan J P, Wang S M. Identification and analysis of genetic diversity structure within *Pisum* genus based on microsatellite markers. *Scientia Agricultura Sinica*, 2009, 42(1): 36-46
- [27] 宗绪晓, 关建平, 顾竟, 王海飞, 马钰. 中国和国际豌豆核心种质群体结构与遗传多样性差异分析. *植物遗传资源学报*, 2009, 10(3): 347-353
- Zong X X, Guan J P, Gu J, Wang H F, Ma Y. Differentiation on population structure and genetic diversity of pea core collections separately constituted from Chinese landraces and international genetic resources. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2009, 10(3): 347-353
- [28] 张红岩, 郭兴莲, 杨涛, 刘荣, 黄宇宁. 利用 SSR 标记分析蚕豆品种 (品系) 与优异种质的遗传多样性. *中国蔬菜*, 2018(2): 34-41
- Zhang H Y, Guo X L, Yang T, Liu R, Huang Y N. Genetic diversity of faba bean varieties (lines) and elite collections by SSR markers. *China Vegetables*, 2018(2): 34-41
- [29] Ambrose M J. From near east centre of origin the prized pea migrates throughout world. *Diversity*, 1995, 11: 118