

60份辣椒骨干亲本的SSR遗传多样性分析及指纹图谱构建

雷刚, 陈学军, 周坤华, 黄月琴, 袁欣捷, 李歌歌, 方钰, 方荣
(江西省农业科学院蔬菜花卉研究所, 南昌 330200)

摘要: 为解析江西省辣椒育种骨干亲本材料的遗传多样性并构建其DNA指纹图谱, 本研究利用毛细管电泳和SSR分子标记技术对江西60份辣椒种质材料进行位点检测。结果表明, 49对SSR引物共检测到202个等位基因, 平均4.122个, 平均有效等位基因为2.172个, 平均香农信息指数为0.850, 平均多态信息含量为0.414, 说明60份供试材料具有较为丰富的遗传多样性; 平均期望杂合度0.475大于观测杂合度0.126, 表明多代自交导致材料纯合度较高。聚类分析、群体结构分析和主坐标分析结果一致, 即江西辣椒育种亲本材料以南方地区和小果型尖椒材料为主, 遗传背景狭窄且保持较纯的血统。此外, 本研究根据多位点匹配分析确定了PM1、CAMS-855、CO911525S、PM22、HpmE015和Hpm1214为核心引物, 并利用这6对核心引物构建了60份辣椒育种亲本的指纹图谱, 为江西辣椒资源的鉴定和保护提供了有力支撑, 为分子辅助育种中亲本的选择提供理论依据。

关键词: 辣椒; SSR标记; 遗传多样性; 指纹图谱; 聚类分析; 遗传结构分析

Genetic Diversity and Fingerprint Analysis in 60 Founder Parents of Pepper Based on SSR Markers

LEI Gang, CHEN Xuejun, ZHOU Kunhua, HUANG Yueqin, YUAN Xinjie, LI Gege, FANG Yu, FANG Rong
(*Institute of Vegetables and Flowers, Jiangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanchang 330200*)

Abstract: In order to reveal the genetic diversity of the backbone parents in pepper breeding in Jiangxi province, as well as decipher their DNA fingerprints, capillary electrophoresis and SSR molecular marker techniques were applied to analyze 60 pepper germplasms from Jiangxi province. The results showed that a total of 202 alleles were detected via 49 pairs of SSR primers, with an average of 4.122 alleles from each pair of primers and an average of 2.172 effective alleles. The mean value of Shannon's information index was 0.850, and the polymorphism information content (PIC) was 0.414, indicating that the tested materials had abundant genetic diversity. The expected heterozygosity (0.475) was averagely greater than the observed heterozygosity (0.126), indicating that the homozygosity of the tested materials was high through continuous selfing for multi-generations. The clustering analysis, population structure analysis and principal coordinate analysis (PCoA) were used to classify the tested materials, and the 60 germplasms were separated into three sets, two populations and three groups, respectively. The consistency of results from different clustering methods supported that the founder parents of pepper breeding in Jiangxi province were mainly from the southern China region and germplasms of small-fruit-type, with narrow genetic origination and relatively simple kinship. In

收稿日期: 2023-08-30 网络出版日期: 2024-06-11

URL: <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20230830002>

第一作者研究方向为辣椒遗传育种与分子生物技术, E-mail: leixgong@163.com

通信作者: 方荣, 研究方向为茄果类蔬菜遗传育种与栽培技术, E-mail: fangrong2020@163.com

基金项目: 江西省农作物良种联合攻关; 国家现代农业产业技术体系(CARS-24-G-08); 江西省现代农业产业技术体系(JXARS-06); 江西现代农业科研协同创新专项(JXXTCX202202)

Foundation projects: Jiangxi Crop Improved Varieties Joint Project; China Agriculture Research System (CARS-24-G-08); Jiangxi Agriculture Research System (JXARS-6); Jiangxi Agricultural Research Collaborative Innovation Project (JXXTCX202202)

addition, PM1, CAMS-855, CO911525S, PM22, HpmsE015 and Hpms1214 were identified as the core primers based on multi-loci matching analysis. Meanwhile, DNA fingerprints of the 60 pepper germplasms were deciphered by using the six core primers. This study provides a reliable basis for the characterization and protection of pepper resources, and for the selection of optimal parents in molecular assisted breeding.

Key words: pepper; SSR marker; genetic diversity; fingerprint; cluster analysis; genetic structure analysis

辣椒(*Capsicum* spp.)是茄科辣椒属一年或多年生草本植物,起源于中南美洲,是我国种植面积最大的蔬菜作物,2017年我国辣椒播种面积达213.3万 hm^2 ,占我国蔬菜播种总面积的10%^[1-2]。随着市场需求日益增加,大量新品种涌入市场,加快了辣椒品种的更新速度^[3]。据统计,仅2017-2019年通过农业农村部非主要农作物品种登记的辣椒品种(含补充登记)就达2801个^[1],但目前我国辣椒育种存在低水平重复研究,品种同质化、碎片化现象严重,遗传背景狭窄,品种保护难度大等问题^[3-4]。我国辣椒资源比较丰富,但遗传背景狭窄,创新力度不足,远远不能满足多样化的育种需求^[5],对种质资源的认识和挖掘是辣椒遗传育种的基础^[1, 3-4],开展辣椒种质资源遗传多样性研究、群体结构分析,对于辣椒遗传基础拓展和有效利用具有重要意义^[6-7],此外,利用分子指纹图谱技术可为品种鉴定和保护提供依据^[8]。

与形态标记相比,分子标记更加稳定、准确、省时省力,其中SSR(Simple sequence repeat)标记具有分辨率高、重复性好、多态性丰富、共显性等特点,在辣椒品种鉴定、系谱分析、遗传多样性分析及指纹图谱构建等研究中被广泛采用^[9-15]。李艳等^[12]采用SSR标记对169份辣椒种质资源的遗传多样性进行分析,结果发现供试辣椒材料遗传信息非常丰富,进一步通过聚类分析将材料分成7类。利用SSR分子标记技术,袁欣捷等^[7]分析了200份辣椒核心种质的遗传多样性和群体结构,结果表明核心种质遗传多样性丰富,群体结构分析显示大部分种

质材料血缘较纯,少部分种质遗传背景相对复杂,具有2个或2个以上亚群的遗传成分。王苑颀等^[15]利用12个SSR标记构建了10个甜椒自交系的指纹图谱。此外,冯鹏龙等^[13]基于筛选的6对SSR引物分析了青海地区26份辣椒主栽品种的遗传多样性,并构建了包含4对引物的分子标记指纹图谱。前人的研究为进一步了解种质资源、种质资源创新、育种亲本选配提供了理论依据,并可用于资源(品种)鉴定和保护。本研究采用SSR分子标记技术,构建60份江西省辣椒育种骨干亲本材料的指纹图谱,并进行聚类分析和遗传结构分析,旨在从分子水平解析供试种质资源间的遗传差异,为辣椒种质资源的鉴定、保护以及分子辅助育种中亲本的选择提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为60份江西省辣椒育种亲本材料,由江西省农业科学院蔬菜花卉研究所和江西大家族种业有限公司提供,包含一年生辣椒(*C. annuum*)和中国辣椒(*C. chinense*)两个栽培种,其中一年生辣椒59份,分为3个变种,即长椒(*C. annuum* var. *longum*)、灯笼椒(*C. annuum* var. *grossum*)和簇生椒(*C. annuum* var. *fusculatum*)。60份材料中,我国的地方资源有52份,来自全国12个省、市、自治区;国外材料4份,分别来自美国、德国和英国;其余4份为创制的材料,详细信息见表1。

表1 60份供试辣椒种质信息

Table 1 Information of the 60 tested pepper germplasms in this study

编号 No.	分类 Classification	来源地 Origin	果实特征 Fruit characters	品种 Variety	编号 No.	分类 Classification	来源地 Origin	果实特征 Fruit characters	品种 Variety
LG01	长椒	中国湖南	羊角、中、绿、单、下	条优2号♀	LG06	灯笼椒	中国新疆	灯笼、无、绿、单、下	精美大宝♂
LG02	长椒	中国陕西	线形、辣、绿、单、下	条优2号♂	LG07	长椒	中国河北/湖南 ^a	牛角、无、绿、单、下	精美大宝♀
LG03	长椒	中国四川	线形、辣、绿、单、下	精细翠长♀	LG08	长椒	中国湖南	羊角、辣、乳黄、单、下	黄金线♀
LG04	长椒	中国江西	羊角、辣、绿、单、下	武阳椒	LG09	长椒	中国江西	羊角、中、绿、单、下	大家族93号♀
LG05	灯笼椒	德国	灯笼、无、绿、单、下	薄佳20♀	LG10	长椒	中国湖南	牛角、中、绿、单、下	大家族608♀

表 1 (续)

编号 No.	分类 Classification	来源地 Origin	果实特征 Fruit characters	品种 Variety	编号 No.	分类 Classification	来源地 Origin	果实特征 Fruit characters	品种 Variety
LG11	长椒	中国河南	牛角、中、绿、单、下	大家族酷优♀	LG36	长椒	中国福建	羊角、辣、黄绿、单、下	赣椒36号♀
LG12	灯笼椒	美国/中国广西 ^a	灯笼、无、乳白、单、下	大家族真优♂	LG37	中国辣椒	中国海南	灯笼、强、黄绿、单、下	赣椒36号♂
LG13	长椒	德国/中国福建 ^a	牛角、无、绿、单、下	大家族真优♀	LG38	长椒	JXSC	线形、辣、绿、单、下	赣椒39号♀
LG14	灯笼椒	德国	灯笼、无、绿、单、下	精制018♀	LG39	长椒	JXSC	线形、中、绿、单、下	赣椒39号♂
LG15	长椒	中国河南	牛角、中、黄绿、单、下	精制018♂	LG40	长椒	JXSC	牛角、辣、绿、单、下	赣椒特早♀
LG16	灯笼椒	中国江苏	灯笼、微、绿、单、下	精制55♀	LG41	灯笼椒	JXSC	灯笼、无、绿、单、下	赣椒特早♂
LG17	灯笼椒	中国河北/英国 ^a	灯笼、无、绿、单、下	精制55♂	LG42	长椒	中国吉林	羊角、辣、浅绿、单、下	赣丰5号♀
LG18	长椒	中国陕西	线形、辣、绿、单、下	精细23号♂	LG43	长椒	JXSC	牛角、微、绿、单、下	赣丰5号♂
LG19	长椒	中国河南	羊角、微、绿、单、下	精制23号♀	LG44	长椒	JXSC	牛角、微、绿、单、下	赣丰辣玉♀
LG20	长椒	中国湖南	牛角、辣、绿、单、下	精细翠颀♀	LG45	长椒	中国江西	牛角、辣、浅绿、单、下	赣丰辣玉♂
LG21	长椒	中国江西	线形、中、绿、单、下	辛香8号♀	LG46	长椒	JXSC	牛角、微、深绿、单、下	赣椒26号♂
LG22	长椒	JXSC	羊角、微、绿、单、下	辛香8号♂	LG47	长椒	中国湖南	羊角、辣、绿、单、向下	樟树港辣椒
LG23	长椒	JXSC	线形、辣、绿、单、下	赣椒16号♀	LG48	灯笼椒	JXSC	灯笼、无、绿、单、下	20E207♀
LG24	长椒	JXSC	羊角、中、绿、单、下	赣椒16号♂	LG49	长椒	中国江西	羊角、中、深绿、单、下	21N027♂
LG25	长椒	JXSC	线形、辣、绿、单、下	赣椒17号♀	LG50	长椒	JXSC	羊角、中、绿、单、下	21E257♀
LG26	长椒	JXSC	牛角、中、绿、单、下	赣椒17号♂	LG51	长椒	中国江西	羊角、辣、绿、单、下	余干椒
LG27	长椒	JXSC	羊角、辣、深绿、单、下	赣椒18号♂	LG52	灯笼椒	中国北京	灯笼、无、紫、单、下	赣彩椒1号♀
LG28	长椒	JXSC	羊角、辣、深绿、单、下	赣椒19号♀	LG53	灯笼椒	中国北京	灯笼、无、绿、单、下	20E011♀
LG29	长椒	JXSC	牛角、微、绿、单、下	赣椒19号♂	LG54	灯笼椒	中国天津	灯笼、辣、乳黄、单、下	赣彩椒1号♂
LG30	长椒	JXSC	线形、辣、绿、单、下	赣椒20号♀	LG57	长椒	中国江苏	牛角、辣、绿、单、下	赣椒15号♀
LG31	簇生椒	JXSC	线形、辣、绿、簇、上	赣椒20号♂	LG58	长椒	美国	牛角、辣、乳黄、单、下	赣椒15号♂
LG32	长椒	JXSC	羊角、辣、棕、单、上	棕辣1号♀	LG60	长椒	JXSC	羊角、中、绿、单、下	21E244♀
LG33	灯笼椒	英国	灯笼、无、褐、单、下	棕辣1号♂	LG61	长椒	中国江苏	牛角、辣、绿、单、下	21N033♀
LG34	长椒	JXSC	羊角、辣、绿、簇、下	赣椒27号♀	LG62	灯笼椒	JXSC	灯笼、无、绿、单、上	21E058♀
LG35	长椒	JXSC	羊角、辣、绿、单、上	赣椒27号♂	LG63	灯笼椒	JXSC	灯笼、辣、绿、单、下	21N012♂

^a: 通过不同来源材料杂交、自交创制的材料。JXSC表示材料由江西省农业科学院蔬菜花卉研究所收集,多来自我国南方地区,具体来源不详。果实特征包括果形(灯笼/牛角/羊角/线形)、辣味程度(强/辣/中/微/无)、果色(青熟期)、果实着生习性(簇/单)、朝向(上/下)。品种:材料选配的品种名称及其作为母本(♀)/父本(♂);名称为“汉字+数字”的是通过非农作物登记、省级园艺学会认定的品种;名称为“字母+数字”的表示正在进行DUS检测或第二年田间观察品种;名称为“汉字”表示优良地方品种

^a: Materials created by hybridization and self-crossing of materials from different origin. JXSC indicated that the materials with unknown origin were collected from southern China by Institute of Vegetables and Flowers, Jiangxi Academy of Agricultural Sciences. Fruit characteristics include fruit shape (bell pepper/ cayenne pepper/ sheep-horn pepper/ line pepper), spicy intensity (strongly spicy/ spicy/ medium spicy/ slightly spicy/ no spicy taste), fruit color (green mature stage), fruit bearing habits (fasciculation/ single), fruit growth orientation (up/ down). Variety: The name of the variety bred by the material used as female parent (♀)/ male parent (♂); The variety name "Chinese character + number" is a variety recognized by non-crop registration or provincial horticultural society; The variety name "letter + number" indicates that the variety is under the DUS test or the second year field observation; The variety name "Chinese character" indicates excellent local varieties

1.2 试验方法

1.2.1 材料种植

选取饱满的辣椒种子播于50孔育苗穴盘中,每个材料各播5穴,播种后置于人工气候室常规培养。培养条件为:白天28℃/14h、光照12000 lx,夜间23℃/10h,湿度均设置为70%。待幼苗长至4片真叶完全展开时,一株用于取样进行

DNA提取,4株移栽至田间至果实成熟期调查果实特性,如果形、果色、辣味程度、果实着生习性及朝向。田间管理同正常生产水平。

1.2.2 DNA提取

取辣椒幼苗叶片0.5g,基因组DNA提取采用改良的CTAB法^[16]。提取完成后,DNA质量和浓度分别使用1%琼脂糖凝胶电泳和

NanoDrop 8000 超微量分光光度计(Thermo Fisher Scientific, 美国)检测,并将质量合格的DNA稀释至50 ng/ μ L备用。

1.2.3 SSR分子标记 参照前人研究^[17-20],以6份不同类型且果形、果色、果实朝向差异较大材料的

DNA样品为模板,从中筛选得到能稳定扩增出条带的49对SSR引物(表2)用于本研究,引物由生工生物工程(上海)有限公司合成,每对引物在合成时,在正向引物5'端连接通用引物M13(5'-CACGACGTTGTAAAACGAC-3')序列。

表2 本研究所用的49对SSR引物信息

Table 2 Information of 49 pairs of SSR primers in this study

位点名称 Locus name	正向引物(5'-3') Forward primer sequence(5'-3')	反向引物(5'-3') Reverse primer sequence(5'-3')
AF208834	TGCACCAAGGTCCAGTAAGGTTG	CCAACCACCATGGTTTCATACAAG
AF039662	CCCCCTCGTCTCTCTTTAITT	TTGCAAATCTTTTGTCAATTTTT
CAMS-020	CAGCAGTAACAGAGGCAGGTC	CACAAGTGAGTTTATTCATATCACCA
CAMS-024	TGTTGAGGCTTGGGAAAAAC	CAAGATAATGGGTAGAAAAGGCAAC
CAMS-075	ACTAATTACACATTCTGCATTTTCTC	AGGCTCGAGTACCACGAAGA
CAMS-090	TCGCTCAAAGCACATCAAAG	CTTGATTGTTCTTCCACTGCTG
CAMS-095	CGCTAGCATGACACTCAAGG	AAACGGCAAGGCTACACATC
CAMS-313	CAGCCTGCTTGGCTAGAACT	TCGTCATGCATGGCTAATCT
CAMS-324	AACTTGATCCAACGGCTGAG	TCGAAGGAGAGAAAACGGTTG
CAMS-327	GCATCTAAGTCTACGCCCTTG	AAAGCCTTTGGCAATGAACA
CAMS-336	GGTGAAAATTGCTTGGAGA	CCCAGAACCATCCACCTACT
CAMS-361	TTGGTGTGGTTAGGGGAGAG	GGCGTTCGAACTTGTGAAAT
CAMS-378	GAAATCGACGCGTTTCTAGC	TGTGGGGAGAGAGAGGAAGA
CAMS-454	GAGCCTCTTAATGTATCTGAAAACA	AATTTTGGTGAATCGCACCT
CAMS-844	GCAAAGAAAAAGAAAAGCCTGA	CTGCAACTGCTGCTTCATTC
CAMS-855	AAGTGTCAAGGAAGGGGACA	CCTAACCACCCCCAAAAGTT
CO911525S	AGTCATCAACTTCGCGTTATTGTC	GTTTCTGCTGTTTGGCCATATCC
ge35-141 pmH0135C	ATTGAGCCGACAAATTTTCTCCG	GTTTCACACACACATACAACCCCAA
ge69-375 pmH0312C	ACCCAAAAATTGTCATCTGTCCTC	GTTTCAATACCTGGAAAGGATCGTCAGC
ge74-417 pmc0303C	ATTACAGAGGGCAGAAAAAGAGG	GTTTCTTTTTGCTGCCTGTGAGTGATGTT
ge203-58 pmc0491C	ACTGCATGGAATGTGTACTTGG	GTTTCCCCTTTGATTCTGAAAGACATTG
ge204-63 pmr0568C	AGACAGGTTATTAAGAGAGGCTTGGA	GTTTAACTTTCAGCCAACCTAAACCCAA
ge228-361 pms0785C	ATGGCCTTCAGATTCTATCCCTGA	GTTTAAAGTCAGTGTGCTTTCTGCGATG
ge273-249 pmc0783C	ATGAAGCCTAAATCTTGGGCAGAA	GTTTCGATCTCTCTCTTGTATGCC
ge277-96 pmc0567C	AGCAATGACATAGAAGTGCCAGAA	GTTTGTAAGGGTAGGGGACTTGGA
Hpms1-43	AACCAGCAATCCATGAAAACC	GGGCTTTGGGGAGAATAGTGTG
Hpms1-106	TCCAAACTACAAGCTGCCTAACC	TTTTGCATTATTGAGTCCCACAGC
Hpms1-139	CCAACAGTAGGACCCGAAAATCC	ATGAAGGCTACTGCTGCGATCC
Hpms1-155	ACGAGGCCCAAGCTGTTATGTC	TTGTCCCAGCTCTCATTGACC
Hpms1-214	TGCGAGTACCGAGTTCTTTCTAG	GGCAGTCTGGGACAACCTCG
Hpms1-216	TGCTTGTGTTTTTACCCTCAGC	AGTGAAAGGTGGGCAACAGC
Hpms2-24	TCGTATTGGCTTGTGATTACCG	TTGAATCGAATACCCGCAGGAG
HpmsAT2-20	TGCACTGTCTTGTGTTAAAATGACG	AAAATTGCACAAATATGGCTGCTG

表 2 (续)

位点名称 Locus name	正向引物(5'-3') Forward primer sequence(5'-3')	反向引物(5'-3') Reverse primer sequence(5'-3')
HpmsCaSIG19	CATGAATTTTCGTCTTGAAGGTCCC	AAGGGTGTATCGTACGCAGCCTTA
HpmsE014	CTTTGGAACATTTCTTTGGGGG	GCGGACGTAGCAGTAGGTTTGG
HpmsE015	TTGTGAGGGTTTGACACTGGGA	CCGAGCTCGATGAGGATGAACT
HpmsE082	TTTTTCCCACTTTGCCCTTCC	CAACCCAAGAAAACCCATTGGA
HpmsE120	GGGGGAGGAAGAGAAGAAGTCG	CCGGACTTTACGAGCACAACT
HpmsE132	ACATCCACAGCAAAAGGAAAAA	GTGGAAAGTTTGGTGGATCAGA
PM1	GAACCGCACCTCCAAT	CCGACTGAGTATCGGAGATC
PM12	GCAGAAGCCATAATTGGCTG	GGAGTAACTCAAAGTTGC
PM18	CGACAGTCTTTCAAGAACTAGA	AGTGGAGCAAACACAGCAGA
PM22	TCGCTTCCAGATCATCTCT	GAATAGGGCCAGGCCACG
PM38	CGCATACGCATATACAGAGAG	AAAAGAGTTCGCCGCGGAGA
PM47	CTTTGCTGTTGTCGATCTCTAAG	GGGAATTGTGGAGGAATATAGT
TC3309S	ACCTCAACAGCATCCAATGTTACAA	GTTTGCATATCAGCAGAAGCCATAATTG
TC3943S	AGTTTCAGTGGTGGTGTGGAGTT	GTTTCAACTCGTCCATGTCTGATCC
TC5131S	ATGGAGCCATCTGACAGCAAATTC	GTTTCCGAGCTCGATGAGGATGAACTA
TC7268S	AGTACCTTCTGAACCAAACCAGCA	GTTTAGGCTCTTCTCCAAGAAAATGG

1.2.4 PCR 扩增 扩增体系 20 μL : 1.0 μL DNA (50 ng/ μL)、17.0 μL 1.1 \times 金牌 Mix(擎科生物科技有限公司,北京)、1.0 μL 反向引物(10 $\mu\text{mol/L}$)、0.1 μL 正向引物(10 $\mu\text{mol/L}$)、0.9 μL 带荧光染料标记(FAM、HEX、TAMRA、ROX)的M13引物(10 $\mu\text{mol/L}$)。PCR 反应在 Veriti 384 PCR 仪(Applied Biosystem, 美国)上进行,反应程序设置为:95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min;95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s,52~62 $^{\circ}\text{C}$ 梯度退火 30 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s,运行 10 个循环;95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s,52 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s,运行 25 个循环;72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 20 min,最后 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

1.2.5 毛细管电泳检测 用去离子水将各 PCR 产物稀释 20 倍,取 1 μL 加入上样板;然后,将去离子甲酰胺 Hi-Di™ Formamide(Applied Biosystem, 美国)与分子量内标 GeneScan™ 500 LIZ(Applied Biosystem, 美国)按 100:1 的体积比混匀后,取 9 μL 加入上样板,震荡混匀,离心后置于 PCR 仪上运行变性程序(95 $^{\circ}\text{C}$, 3 min),变性完成后立即冷却;最后,使用 ABI 3730xl 基因测序仪(Applied Biosystem, 美国)进行位点信息检测,并利用 GeneScan 500 LIZ 对原始数据进行统计及校正。

1.3 数据分析

在 GenAlEx v6.501 软件中,计算 SSR 位点和群体的各项遗传多样性指标,包括观测等位基因(N_a , number of alleles)、有效等位基因(N_e , effective

number of alleles)、香农信息指数(I , Shannon's information index)、多态性信息指数(PI , polymorphism information content)、观测杂合度(H_o , observed heterozygosity)、期望杂合度(H_e , expected heterozygosity)及鉴别概率(PI , probability of identification)等;利用 PowerMarker 3.25 软件计算各材料间的 Nei's 遗传距离,并利用 UPGMA 方法进行聚类分析,绘制聚类图。利用 STRUCTURE 2.3.4 对 60 份辣椒资源进行群体结构分析,设置 $K=1\sim 20$, Burn-in 周期为 10000, MCMC (Markov Chain Monte Carlo)设为 100000,每个 K 值运行 20 次,并利用在线工具 STRUCTURE HARVESTER 算出最佳 ΔK 值(即为最佳群体分层情况)。结构分析的结果图用 CLUMMP 和 DISTRUCT 软件绘制。运用 GenAlEx v6.501 对供试材料进行主坐标分析(PCoA, principal co-ordinates analysis)。

1.4 基于 SSR 标记的 DNA 指纹图谱构建

DNA 指纹图谱构建采用引物与基因型组合的方式^[21],使用大写英文字母“A~Z”依次对筛选的 SSR 核心引物进行编码,将引物编号与读数之间用“-”连接构成引物与等位标记配置的组合,组合间用“/”分隔,形成由不同引物序列与等位基因配置组合串联构成该材料的指纹代码。最后,通过 QR Code 转化工具(<https://www.the-qr-code-generator.com>)进

行编码,将每个材料的信息和指纹图谱代码录入软件生成对应的指纹图谱二维码。

2 结果与分析

2.1 遗传多样性分析

利用49对引物在60份辣椒材料中共检测出202个等位基因,变化范围在2~9个之间,平均4.122个;有效等位基因总数为106.412,变化范围为1.068(CAMS-324)~6.029(PM1),平均2.172;Shannon's

信息指数 I 的范围为0.145(CAMS324)~1.942(PM1),平均0.850;多态信息含量 PIC 范围为0.062(CAMS324)~0.814(PM1),平均0.414(表3),表明60份供试种质材料间具有较丰富的遗传多样性。观测杂合度变幅介于0~1之间,平均为0.126;期望杂合度介于0.064~0.834之间,平均为0.475(表3),其中,46对引物的期望杂合度高于观测杂合度,占比93.878%,表明种质杂合子缺失,可能是育种亲本材料多年自交纯化的结果所致。

表3 49对SSR引物多态性信息

Table 3 Polymorphic information of 49 pairs of SSR primers in this study

位点名称 Locus name	观测等位基因 N_a	有效等位基因 N_e	香农指数 I	多态性信息 指数 PIC	观测杂合度 H_o	期望杂合度 H_e	鉴别概率 Identification probability	
							PI	$PIsibs$
AF039662	2	1.579	0.553	0.300	0.017	0.367	0.361	0.592
AF208834	3	1.984	0.746	0.389	0.034	0.496	0.468	0.684
CAMS-020	2	1.920	0.672	0.364	0.051	0.479	0.386	0.607
CAMS-024	3	1.833	0.704	0.365	0.067	0.454	0.386	0.619
CAMS-075	3	1.145	0.284	0.122	0	0.127	0.769	0.879
CAMS-090	3	1.849	0.708	0.368	0.068	0.459	0.384	0.616
CAMS-095	4	1.665	0.769	0.369	0.217	0.400	0.391	0.648
CAMS-313	2	1.385	0.451	0.240	0	0.278	0.560	0.751
CAMS-324	2	1.068	0.145	0.062	0	0.064	0.877	0.937
CAMS-327	4	2.136	0.841	0.422	0.050	0.532	0.329	0.566
CAMS-336	7	3.607	1.486	0.678	0.033	0.723	0.122	0.419
CAMS-361	3	1.984	0.764	0.389	0.034	0.496	0.361	0.592
CAMS-378	5	2.061	0.976	0.469	0.033	0.515	0.282	0.563
CAMS-454	3	2.591	1.009	0.533	0.017	0.614	0.230	0.500
CAMS-844	4	2.213	0.972	0.488	0.017	0.548	0.264	0.542
CAMS-855	9	4.698	1.694	0.753	0.083	0.787	0.079	0.376
CO911525S	8	3.894	1.552	0.702	0.600	0.743	0.108	0.405
ge35-141 pmH0135C	4	1.296	0.501	0.219	0.217	0.228	0.605	0.787
ge69-375 pmH0312C	4	2.690	1.087	0.557	0.085	0.628	0.209	0.488
ge74-417 pmc0303C	4	2.730	1.084	0.565	1.000	0.634	0.202	0.484
ge203-58 pmc0491C	5	1.229	0.452	0.181	0	0.187	0.667	0.823
ge204-63 pmr0568C	6	2.687	1.209	0.567	0.051	0.628	0.200	0.486
ge228-361 pms0785C	5	2.890	1.219	0.592	0.050	0.654	0.182	0.468
ge273-249 pmc0783C	7	2.167	1.025	0.470	0.733	0.538	0.282	0.551
ge277-96 pmc0567C	5	2.609	1.153	0.555	0.053	0.617	0.209	0.494
Hpms1-43	5	1.531	0.684	0.314	0.017	0.347	0.458	0.691
Hpms1-106	2	1.980	0.688	0.372	0.100	0.495	0.378	0.597
Hpms1-139	5	2.699	1.162	0.566	1.000	0.630	0.200	0.485

表 3 (续)

位点名称 Locus name	观测等位基因 N_a	有效等位基因 N_e	香农指数 I	多态性信息 指数 PI_C	观测杂合度 H_o	期望杂合度 H_e	鉴别概率 Identification probability	
							PI	$PIsibs$
Hpms1-155	4	1.618	0.703	0.340	0.034	0.382	0.424	0.665
Hpms1-214	5	1.916	0.947	0.446	0.067	0.478	0.305	0.587
Hpms1-216	3	2.011	0.753	0.392	0.017	0.503	0.358	0.588
Hpms2-24	4	2.142	0.957	0.478	0.035	0.533	0.273	0.551
HpmsAT2-20	3	1.816	0.697	0.362	0.050	0.449	0.391	0.623
HpmsCaSIG19	6	2.757	1.194	0.573	0.067	0.637	0.197	0.481
HpmsE014	3	1.182	0.330	0.146	0	0.154	0.722	0.853
HpmsE015	5	2.200	0.907	0.444	0.320	0.545	0.308	0.554
HpmsE082	3	1.425	0.548	0.269	0.017	0.298	0.521	0.731
HpmsE120	3	1.462	0.547	0.276	0.050	0.316	0.509	0.719
HpmsE132	3	1.224	0.371	0.171	0	0.183	0.680	0.829
PM1	9	6.029	1.942	0.814	0.083	0.834	0.048	0.345
PM12	4	1.639	0.686	0.336	0	0.390	0.426	0.661
PM18	3	2.011	0.753	0.392	0.017	0.503	0.358	0.588
PM22	5	3.827	1.408	0.693	0.542	0.739	0.115	0.410
PM38	4	2.157	0.863	0.431	0.100	0.536	0.319	0.561
PM47	2	1.724	0.611	0.332	0	0.420	0.425	0.646
TC3309S	4	1.652	0.690	0.340	0	0.395	0.421	0.658
TC3943S	3	2.132	0.817	0.422	0.068	0.531	0.329	0.567
TC5131S	5	1.983	0.888	0.426	0.033	0.496	0.324	0.583
TC7268S	2	1.385	0.451	0.240	0.033	0.278	0.560	0.751
均值 Mean	4.122	2.172	0.850	0.414	0.126	0.475	0.367	0.604
组合值 Combined value							4.24×10^{-25}	5.96×10^{-12}

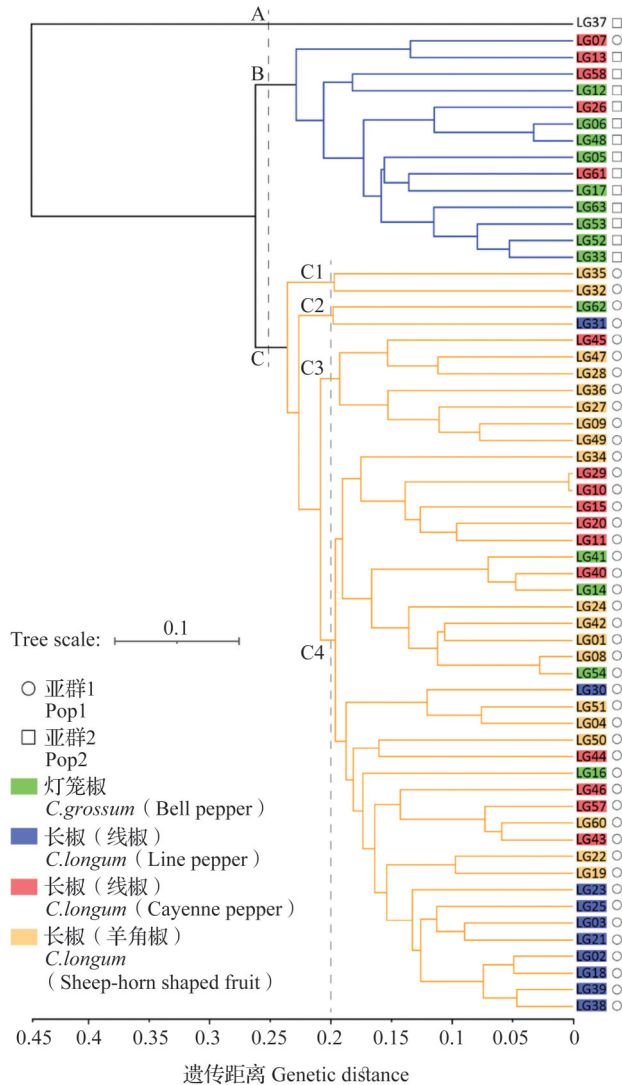
PI 指两个随机样本基因型相同的平均概率; $PIsibs$ 指从一个群体中随机发现基因型相同的两个样本的概率。组合值(PI)表示 60 份材料中两份随机样本在所有 49 对引物组合中存在完全相同多位点基因型的概率; 组合值($PIsibs$)表示两个随机样本在 49 对引物组合中存在完全相同多位点基因型的概率上限; 下同

PI is the average probability that two random samples have the same genotype; $PIsibs$ is the probability of randomly finding two samples with the same genotype from a population; The combined value (PI) indicates that the probability that two random samples from 60 materials have exactly the same multi-locus genotypes in all 49 primer combinations; The combined value ($PIsibs$) represents the upper limit of the probability that two random samples have exactly the same multi-locus genotypes in 49 primer combinations; The same as below

2.2 聚类分析

聚类分析结果(图 1)显示,在 Nei's 遗传距离约为 0.25 处,60 份辣椒种质可分为 3 个组,其中 A 组只有 1 份材料,为中国辣椒种质海南黄灯笼, B 组和 C 组均为一年生辣椒种质。B 组包含 14 份材料,为 9 份灯笼椒和 5 份牛角椒(图 1),从果形来看均为大果型材料;从地域来看,以我国北方和国外材料为主;还包含 4 份创制的材料,其中, LG12 和 LG17 都是国外灯笼椒与国内灯笼椒材料杂交后代单株自交选育的灯笼椒材料,而 LG07 和 LG13 是我国北方或者国外灯笼椒与我

国南方地区羊角椒材料杂交后代选育的牛角椒材料。C 组包含 45 份材料,在遗传距离约 0.2 时可分为 4 个亚组(C1~C4),每个亚组包含的种质从 2 份到 34 份不等,农艺性状相似或地理来源相近的种质聚为一组,如 C1 亚组包含 2 份种质 LG35 和 LG32 均为单果着生的朝天椒材料; C2 亚组中 LG31 为簇生朝天的小线椒材料,而 LG62 为朝天的小灯笼椒材料; C3 亚组包含 7 份种质,以我国南方地区的羊角椒材料为主; C4 亚组包含了绝大多数线椒类型的材料,此外,还发现青熟果为乳黄色的 LG08 和 LG54 聚为一簇。



亚群是基于 Structure 软件对群体遗传结构的分析结果将群体划分的类别;材料编号同表 1,下同

Population (Pop) is the subgroups divided from the population based on the results of genetic structure analysis by Structure software; The material numbers are the same as those in table 1, the same as below

图 1 基于 Nei's 遗传距离的 60 份辣椒种质的 UPGMA 聚类

Fig. 1 UPGMA dendrogram of 60 pepper germplasms based on Nei's genetic distance

2.3 群体遗传结构

应用 Structure 软件对辣椒样本的遗传结构进行评估,根据似然值最大原则,当 $K=2$ 时, ΔK 变化率最大并出现明显拐点(图 2A),表明 60 份辣椒种质可划分为 2 个亚群,分别包含 46 份和 14 份种质(图 2B)。其中,亚群 1 与聚类树中 C 组的材料基本一致,亚群 2 包含聚类分析中 A 组的 1 份材料以及 B 组中除 LG07 外的 13 份材料(图 1)。Structure 软件分析结果显示,55 份种质材料血缘较纯(Q 值 ≥ 0.6),其余 5 份材料 Q 值 < 0.6 ,说明 LG13、LG07、LG14、LG12 和 LG05 的遗传背景包含两个亚群的成分,其

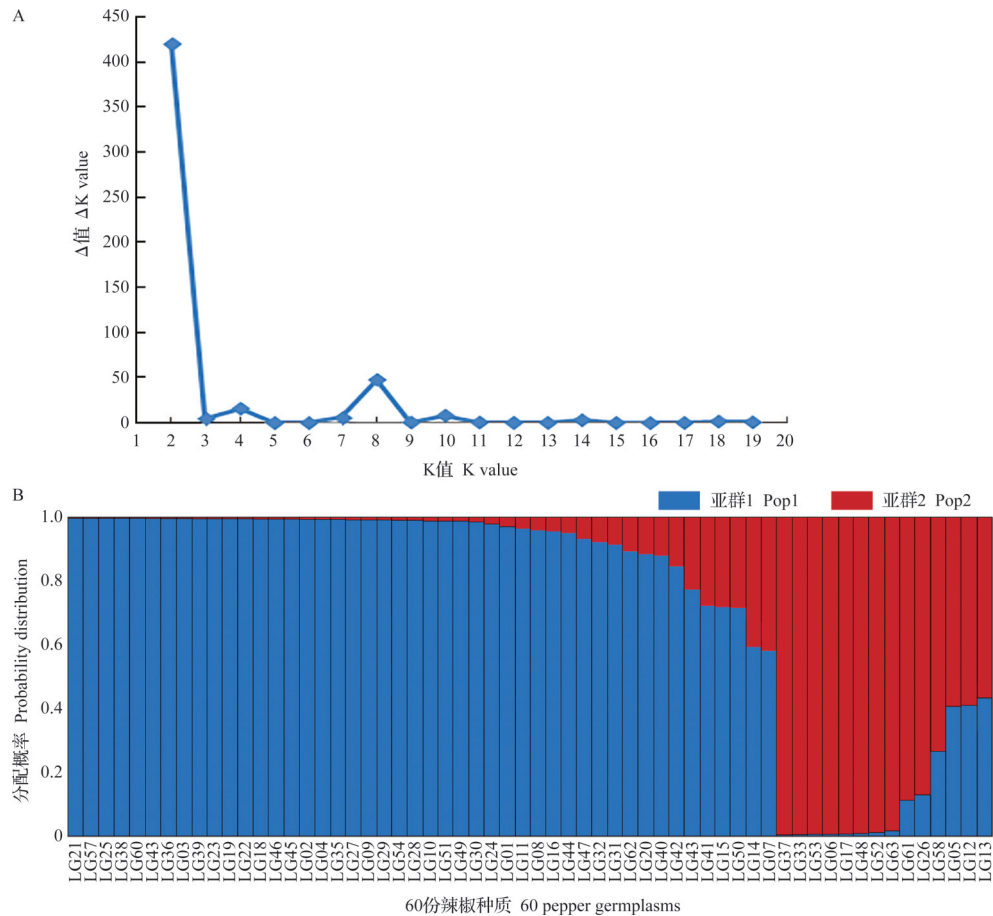
中 LG07 为我国河北灯笼椒和湖南羊角椒材料杂交后代选育出的大牛角椒材料,分别具有 61.3% 的亚群 1 和 38.7% 的亚群 2 的遗传成分,归属于亚群 1; LG12、LG13 分别由国外和我国南方地区材料的杂交后代自交筛选而来,其具有亚群 1 和亚群 2 的遗传成分分别为 33.19% 和 66.81%、42.18% 和 57.82%,均归属于亚群 2(图 2B)。综合可见,江西辣椒育种材料以南方地区和小果型尖椒材料为主(亚群 1),且保持较纯的遗传背景,而以大果型材料为主的亚群 2 材料数量较少,且多具有亚群 1 的遗传成分,这与江西长期以选育小果型尖椒品种有关,因此,需要加强对我国北方地区和国外大果型材料的引进,同时利用亚群 2 材料拓宽亚群 1 种质的遗传背景,以满足品种选育多样化的需求。

2.4 主坐标分析

根据 Nei's 遗传距离,利用 GenAlEx 软件对供试材料进行主坐标分析,如图 3 所示,前两个主坐标的方差贡献率分别为 15.40% 和 7.76%。60 份辣椒种质可分为 3 个类群,其中类群 1 与类群 2、类群 3 距离较远,分界明显,而类群 2 与类群 3 并未明显的区分,存在交叉。为了方便与群体结构分析中划分的 2 个亚群比较,将主坐标分析中亚群 1 和亚群 2 对应材料分别标记为蓝色和红色。从图 3 可看出亚群 1 材料在主坐标中虽分为类群 2 和类群 3,但两个类群间交叉重叠,未明显分隔;亚群 2 材料在主坐标中由类群 1 及 LG13(类群 3)和 LG37(类群 2)构成,其中 LG13 和 LG37 分别含有 42.18% 和 0.30% 的亚群 1 遗传成分,在主坐标中分别划分至类群 3 和类群 2。综上所述,主坐标分析与群体结构分析结果具有一致性。

2.5 指纹图谱构建

基于基因分型数据,利用 GenAlex 6.51 软件对辣椒种质进行了复合基因座匹配分析,发现基于 49 对 SSR 标记组合未检测到两个基因型完全一致的种质,表明 60 份种质材料都拥有唯一的 SSR 指纹。为评估 49 对分子标记的鉴别能力,进一步计算了组合位点的鉴别概率的两个参数 PI 和 $PIsibs$ (表 3)。结果表明,各标记的 PI 值范围为 0.048~0.877,平均 0.367;假设所有位点独立分离的情况下,49 对标记位点组合后任意两个材料位点组合相同的概率(PI)为 4.24×10^{-25} 。若位点非独立分离时,60 份种质中任意两份材料位点组合相同的概率($PIsibs$)为 5.96×10^{-12} ,各标记的 $PIsibs$ 值范围为 0.345~0.937,平均 0.604。



A: 不同K值的 ΔK 分布, K代表材料所分亚群数, ΔK 值越大所对应的K值越合理; B: 60份辣椒种质的遗传结构(K=2)
 A: The ΔK distribution of different K values, K represents the number of populations for materials, the larger the ΔK value, the more reasonable the corresponding K value; B: Genetic structure of 60 pepper germplasms (K=2)

图2 供试材料的群体结构
 Fig. 2 Population structure of the tested materials

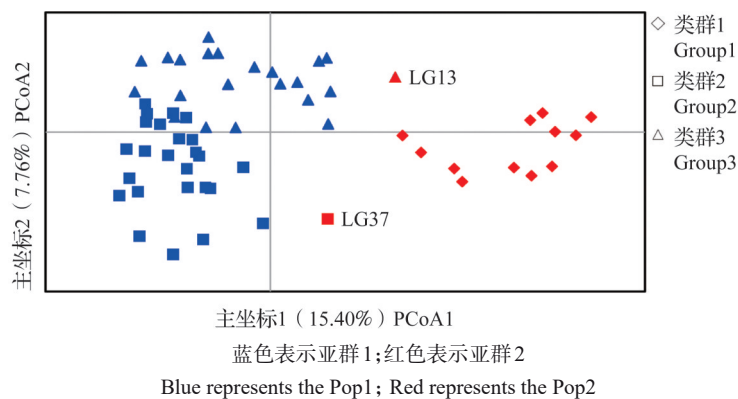


图3 60份辣椒种质的主坐标分析
 Fig. 3 The principle co-ordinates analysis (PCoA) of 60 pepper germplasms

根据位点组合数据分析49对SSR标记在不同标记数量随机组合下的鉴别能力,由图4可知,当标记数量增加至6个时,PI值接近于0,表明最少需要6个SSR标记组合即可将60份辣椒种质区分。因此,选择具有较高PIC值和较小PI值的前3对引物PM1、

CAMS-855、CO911525S进行组合,可鉴别37份种质,占有资源的61.67%;继续增加第4个标记PM22,此时鉴别数量达到49份;然而按照顺序继续增加标记至6个时,始终无法区分LG54/LG08和LG29/LG10,通过查找以上4份材料的标记位点数

据发现,仅HpmsE015可将这4份材料区分,因此将HpmsE015作为第5个标记,此时可鉴别53份种质;当增加第6个标记Hpms1214时,可完全区分60份种质。最终,筛选出6对核心标记为PM1、CAMS-855、CO911525S、PM22、HpmsE015和Hpms1214,并对其依次编号为A~F。依据设计的指纹图谱代码构建方法,为60份供试材料建立能够相互区别于其他供试材料的指纹图谱代码,并将每个样品的信息(名称、分类、来源)及指纹代码导入QR code软件生成QR指纹图谱二维码(表4)。

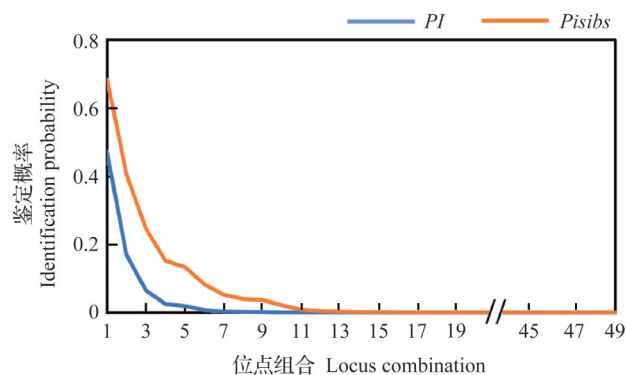


图4 49对SSR标记在辣椒种质指纹鉴定能力中的评估
Fig. 4 Evaluation for the fingerprinting power of 49 SSR markers in pepper germplasm

表4 60份辣椒种质的SSR指纹代码及指纹图谱二维码

Table 4 SSR fingerprint codes and fingerprinting QR codes of 60 pepper germplasm

编号 No.	SSR 指纹代码 SSR fingerprint code	指纹图谱二维码 Fingerprinting QR code	编号 No.	SSR 指纹代码 SSR fingerprint code	指纹图谱二维码 Fingerprinting QR code
LG01	A-172, 172/B-267, 267/C-216, 218/ D-187, 187/E-0, 0/F-112, 112		LG09	A-176, 176/B-261, 261/C-197, 197/ D-191, 245/E-166, 166/F-112, 112	
LG02	A-172, 172/B-267, 267/C-218, 220/ D-0, 0/E-166, 166/F-112, 112		LG10	A-176, 176/B-261, 261/C-216, 218/ D-195, 195/E-158, 166/F-112, 112	
LG03	A-172, 172/B-267, 267/C-197, 197/ D-187, 245/E-0, 0/F-112, 112		LG11	A-182, 182/B-261, 261/C-197, 218/ D-187, 245/E-166, 166/F-112, 112	
LG04	A-168, 168/B-264, 264/C-211, 213/ D-195, 195/E-166, 166/F-112, 112		LG12	A-166, 166/B-311, 311/C-197, 197/ D-187, 245/E-158, 166/F-112, 112	
LG05	A-172, 172/B-261, 261/C-216, 218/ D-191, 245/E-166, 166/F-118, 118		LG13	A-176, 176/B-261, 261/C-218, 220/ D-187, 245/E-158, 158/F-109, 109	
LG06	A-166, 166/B-305, 305/C-216, 218/ D-191, 245/E-158, 158/F-109, 109		LG14	A-170, 170/B-264, 264/C-197, 197/ D-195, 195/E-158, 158/F-109, 109	
LG07	A-182, 182/B-305, 305/C-216, 218/ D-187, 245/E-158, 158/F-109, 109		LG15	A-176, 176/B-261, 261/C-218, 220/ D-187, 245/E-158, 158/F-112, 112	
LG08	A-178, 178/B-267, 267/C-216, 218/ D-195, 195/E-158, 166/F-112, 112		LG16	A-176, 176/B-264, 264/C-216, 218/ D-187, 245/E-166, 166/F-109, 109	

表 4 (续)













































编号 No.	SSR 指纹代码 SSR fingerprint code	指纹图谱二维码 Fingerprinting QR code	编号 No.	SSR 指纹代码 SSR fingerprint code	指纹图谱二维码 Fingerprinting QR code
LG17	A-172, 172/B-305, 305/C-216, 218/ D-191, 245/E-155, 158/F-118, 118		LG28	A-178, 178/B-261, 261/C-197, 197/ D-195, 195/E-166, 166/F-112, 112	
LG18	A-172, 172/B-270, 270/C-218, 220/ D-187, 245/E-158, 166/F-112, 112		LG29	A-176, 176/B-261, 261/C-216, 218/ D-195, 195/E-166, 166/F-112, 112	
LG19	A-174, 174/B-267, 267/C-216, 218/ D-195, 245/E-166, 166/F-112, 121		LG30	A-174, 174/B-264, 264/C-216, 218/ D-195, 195/E-166, 166/F-112, 112	
LG20	A-176, 176/B-305, 305/C-197, 197/ D-187, 245/E-0, 0/F-112, 112		LG31	A-170, 170/B-305, 305/C-199, 199/ D-187, 187/E-158, 158/F-112, 112	
LG21	A-174, 174/B-264, 264/C-197, 197/ D-195, 195/E-158, 166/F-112, 112		LG32	A-174, 174/B-264, 264/C-218, 220/ D-191, 245/E-166, 166/F-112, 112	
LG22	A-174, 174/B-267, 267/C-216, 218/ D-187, 187/E-166, 166/F-112, 112		LG33	A-166, 166/B-305, 305/C-216, 218/ D-191, 245/E-158, 158/F-115, 115	
LG23	A-174, 174/B-261, 261/C-216, 218/ D-195, 195/E-158, 166/F-112, 112		LG34	A-176, 176/B-305, 305/C-197, 197/ D-191, 191/E-155, 158/F-112, 112	
LG24	A-178, 178/B-267, 267/C-197, 197/ D-187, 245/E-0, 0/F-112, 112		LG35	A-182, 182/B-267, 267/C-199, 199/ D-195, 195/E-160, 160/F-112, 112	
LG25	A-174, 174/B-264, 264/C-218, 220/ D-195, 195/E-158, 166/F-112, 112		LG36	A-176, 176/B-308, 308/C-197, 197/ D-195, 195/E-158, 166/F-112, 112	
LG26	A-174, 174/B-305, 305/C-216, 218/ D-187, 245/E-158, 158/F-109, 109		LG37	A-162, 162/B-288, 288/C-194, 194/ D-175, 175/E-158, 163/F-115, 115	
LG27	A-174, 174/B-261, 261/C-197, 197/ D-191, 191/E-158, 166/F-112, 112		LG38	A172, 176/B-261, 267/C-197, 218/ D-187, 245/E-166, 166/F-112, 112	

表 4 (续)

编号 No.	SSR 指纹代码 SSR fingerprint code	指纹图谱二维码 Fingerprinting QR code	编号 No.	SSR 指纹代码 SSR fingerprint code	指纹图谱二维码 Fingerprinting QR code
LG39	A-172, 176/B-261, 267/C-216, 218/ D-195, 245/E-166, 166/F-112, 112		LG50	A-174, 174/B-302, 302/C-216, 218/ D-191, 245/E-158, 166/F-118, 118	
LG40	A-170, 176/B-261, 264/C-197, 197/ D-195, 195/E-158, 166/F-109, 112		LG51	A-170, 170/B-264, 264/C-216, 218/ D-195, 195/E-0, 0/F-112, 112	
LG41	A-170, 172/B-264, 267/C-197, 197/ D-195, 245/E-158, 166/F-109, 112		LG52	A-172, 172/B-267, 267/C-216, 218/ D-191, 245/E-158, 158/F-115, 115	
LG42	A-172, 172/B-267, 267/C-197, 216/ D-187, 245/E-166, 166/F-112, 112		LG53	A-166, 166/B-305, 305/C-213, 216/ D-191, 245/E-158, 158/F-118, 118	
LG43	A-176, 176/B-264, 264/C-197, 197/ D-187, 245/E-0, 0/F-112, 112		LG54	A-178, 178/B-267, 267/C-216, 218/ D-195, 195/E-166, 166/F-112, 112	
LG44	A-174, 174/B-261, 261/C-197, 197/ D-187, 245/E-166, 166/F-112, 112		LG57	A-176, 176/B-267, 267/C-216, 218/ D-187, 245/E-0, 0/F-112, 112	
LG45	A-176, 176/B-264, 264/C-197, 197/ D-195, 195/E-0, 0/F-112, 112		LG58	A-174, 174/B-305, 305/C-218, 220/ D-195, 195/E-0, 0/F-118, 118	
LG46	A-182, 182/B-261, 261/C-197, 197/ D-187, 245/E-0, 0/F-112, 112		LG60	A-176, 176/B-264, 264/C-216, 218/ D-187, 245/E-166, 166/F-112, 112	
LG47	A-174, 178/B-261, 261/C-197, 197/ D-195, 195/E-166, 166/F-112, 112		LG61	A-166, 166/B-305, 305/C-194, 194/ D-191, 191/E-158, 158/F-112, 118	
LG48	A-166, 166/B-261, 305/C-216, 218/ D-191, 245/E-158, 158/F-109, 109		LG62	A-178, 178/B-264, 264/C-197, 197/ D-195, 195/E-158, 158/F-112, 112	
LG49	A-174, 174/B-267, 267/C-197, 197/ D-191, 191/E-158, 166/F-112, 112		LG63	A-166, 166/B-305, 305/C-216, 218/ D-191, 245/E-158, 158/F-118, 118	

SSR 指纹代码中大写英文字母 A~F 表示筛选的 6 对 SSR 核心引物 (PM1, CAMS-855, CO911525S, PM22, HpmsE015, Hpms1214), 数字为不同引物对应的扩增片段

SSR fingerprint code: The capital letters (A-F) in the SSR fingerprint code represent the 6 pairs of SSR core primers (PM1, CAMS-855, CO911525S, PM22, HpmsE015, Hpms1214), the numbers represent amplified fragments of different primers

3 讨论

SSR 是由 1~6 个碱基串联排列的短 DNA 重复序列组成,自 1980 年首次报道以来,已成为植物遗传育种研究中最具吸引力的标记之一^[22],广泛应用于各种动植物的遗传多样性评估、资源(品种)鉴定和分子指纹图谱构建等研究^[23]。本研究基于前期筛选的 49 对 SSR 引物对江西省辣椒育种骨干亲本材料进行检测,结果表明 60 份种质材料的香农信息指数 I 变幅为 0.145~1.942,平均 0.850;多态信息含量 PI 范围为 0.062~0.814,平均 0.414;观测杂合度平均值为 0.126,期望杂合度平均值为 0.475。说明供试种质材料的遗传多样性比较丰富,但与前人报道的辣椒核心种质相比较低^[24-25],可能是由于核心种质包含更多类型的在育种中难以利用的遗传变异的缘故。此外,93.878% 的引物期望杂合度明显大于观测杂合度,说明供试材料的杂合度低,这是作为育种材料多年自交纯化的结果。

在基于 Nei's 遗传距离的 UPGMA 聚类分析结果中,当遗传距离为 0.25 时,60 份种质可分为 3 组,其中, LG37 为中国辣椒种质单独聚为一类,这与陈学军等^[26]的研究结果一致;其他 59 份一年生辣椒种质被分为 B 组和 C 组,且在组中农艺性状相似或地理来源相近的材料聚在一起,这与罗玉娣等^[27]和袁欣捷等^[7]的研究结果相似,说明采用 SSR 标记来区分辣椒种质资源是可行的。

群体结构分析将 60 份种质分为 2 个亚群,与聚类分析结果相似,来源我国南方地区的种质大多在亚群 1,以朝天椒、线椒和羊角椒等小果型为主,而我国北方地区和国外的大果型材料都分布于亚群 2,与袁欣捷等^[7]对 200 份核心种质群体结构分析的结果一致,说明我国南北方消费习惯、气候等因素的不同导致辣椒种质材料存在较大遗传差异。同时,主坐标分析结果也支持群体结构分析结果,主坐标分类类群 1 与亚群 2 包含的材料基本一致,而亚群 1 材料虽在主坐标中分为两个类群,但类群 2 和类群 3 之间交叉重叠,无明显分隔。此外, Structure 分析的 Q 值能够反映各种质材料所含不同亚群遗传成分的比例,当某材料在亚群中 Q 值 ≥ 0.6 时,则认为其血统较纯;当 Q 值 < 0.6 ,说明该材料含有其他亚群的遗传成分^[28]。本研究 60 份供试材料中,55 份材料的 Q 值 ≥ 0.6 ,占材料总数的 91.67%,说明绝大多数的材料遗传成分单一;材料 LG13 的 Q 值 < 0.6 ,亚群 1 和亚群 2 遗传成分各占近一半, LG13 由国外和

我国南方地区材料的杂交后代自交筛选而来。相似的还有 LG07 和 LG12,均为亚群 1 与亚群 2 材料杂交后代筛选而来,但在选择过程中更倾向于亚群 1 或亚群 2 其中一个的性状,导致 LG07 和 LG12 分别具有的亚群 1 和亚群 2 遗传成分占比超过 60%,分属不同的亚群。

种质资源分子指纹图谱的构建,要求用最少的引物对数区分最多的种质,因此,选择合适的引物是分子指纹图谱构建的重要前提^[29-30]。本研究在基因分型后,分别计算了各位点组合的鉴别概率的两个重要指标 PI 和 $PIsibs$,对 49 对 SSR 分子标记进行多位点匹配计算, PI 和 $PIsibs$ 值分别为 4.24×10^{-25} 和 5.96×10^{-12} ,远低于前人提出的鉴定随机自然群体大多数个体的 PI 值阈值范围 ($PI < 0.01 \sim 0.0001$)^[31],说明本研究选用的 SSR 标记有很好的鉴别能力。为了确定鉴定 60 份种质所需的标记数量和对应的标记,本研究根据多位点匹配分析结果,确定了至少需要 6 对引物才能获得各材料唯一的指纹信息,进一步根据 PI 和 PI 值筛选出 6 对引物 PM1、CAMS-855、CO911525S、PM22、HpmsE015 和 Hpms1214 作为核心标记,并获取各材料唯一的 SSR 指纹代码信息。鉴于指纹代码包含信息量少,而指纹图谱二维码虽比较抽象,但可以录入较多相关信息,所包含的信息量较大,且可以随时修改,具有高效、方便等特点^[21]。最终,本研究采用二维码将每份种质材料的名称、分类、来源地和指纹代码信息等转换成二维码,构建了 60 份江西省育种骨干亲本材料的 SSR 分子指纹图谱,为亲本材料及相应品种的鉴定和保护利用提供了有力支撑。

参考文献

- [1] 王立浩,张宝玺,张正海,曹亚从,于海龙,冯锡刚.“十三五”我国辣椒育种研究进展、产业现状及展望.中国蔬菜,2021(2): 21-29
Wang L H, Zhang B X, Zhang Z H, Cao Y C, Yu H L, Feng X G. Status in breeding and production of *Capsicum* spp. in China during ‘The Thirteenth Five-year Plan’ period and future prospect. China Vegetables, 2021(2): 21-29
- [2] 彭月,吴永红,王俊莹,周书栋,李雪峰,马艳青,郑井元.2021 年辣椒科学若干领域重要研究进展.辣椒杂志,2022,20(1): 1-11
Peng Y, Wu Y H, Wang J Y, Zhou S D, Li X F, Ma Y Q, Zheng J Y. Important research advances in the selected areas of pepper sciences in 2021. Journal of China Capsicum, 2022, 20(1): 1-11
- [3] 邹学校,胡博文,熊程,戴雄泽,刘峰,欧立军,杨博智,刘

- 周斌, 索欢, 徐昊, 朱凡, 远方. 中国辣椒育种60年回顾与展望. 园艺学报, 2022, 49(10): 2099-2118
- Zou X X, Hu B W, Xiong C, Dai X Z, Liu F, Ou L J, Yang B Z, Liu Z B, Suo H, Xu H, Zhu F, Yuan F. Review and prospects of pepper breeding for the past 60 years in China. *Acta Horticulturae Sinica*, 2022, 49(10): 2099-2118
- [4] 王立浩, 张正海, 曹亚从, 张宝玺. “十二五”我国辣椒遗传育种研究进展及其展望. 中国蔬菜, 2016 (1): 1-7
- Wang L H, Zhang Z H, Cao Y C, Zhang B X. Research progress and prospect on pepper genetic breeding during China's 'Twelfth Five-Year Plan'. *China Vegetables*, 2016 (1): 1-7
- [5] 张宝玺, 王立浩, 毛胜利, 张正海. “十一五”我国辣椒遗传育种研究进展. 中国蔬菜, 2010 (24): 1-9
- Zhang B X, Wang L H, Mao S L, Zhang Z H. Research progress on pepper genetic breeding during China's 'Eleventh Five-year Plan'. *China Vegetables*, 2010 (24): 1-9
- [6] 吕伟, 韩俊梅, 任果香, 文飞, 王若鹏, 刘文萍. 山西芝麻种质资源SSR遗传多样性及群体结构分析. 核农学报, 2021, 35(7): 1495-1506
- Lv W, Han J M, Ren G X, Wen F, Wang R P, Liu W P. Genetic diversity analysis of sesame germplasm resources in Shanxi with SSR markers. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2021, 35(7): 1495-1506
- [7] 袁欣捷, 周坤华, 吴茵, 方荣, 陈学军. 辣椒核心种质遗传多样性及群体结构分析. 分子植物育种, 2019, 17(9): 3090-3104
- Yuan X J, Zhou K H, Wu Y, Fang R, Chen X J. Genetic diversity and population structure analysis of pepper core collections. *Molecular Plant Breeding*, 2019, 17(9): 3090-3104
- [8] Grattapaglia D, Ribeiro V J, Rezende G D. Retrospective selection of elite parent trees using paternity testing with microsatellite markers: An alternative short term breeding tactic for Eucalyptus. *Theoretical and Applied Genetics*, 2004, 109(1): 192-199
- [9] 何建文, 杨文鹏, 姜虹, 杨红, 万文鹏, 胡明文. 贵州12个辣椒杂交种SSR标记指纹图谱的构建与分析. 云南农业大学学报: 自然科学版, 2010, 25(6): 769-774
- He J W, Yang W P, Jiang H, Yang H, Wan W P, Hu M W. Establishment and analyses of SSR marker fingerprints on 12 *Capsicum* hybrids in Guizhou province. *Journal of Yunnan Agricultural University: Natural Science*, 2010, 25 (6) : 769-774
- [10] 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
- Luo K, Lu H X, Wu Z D, Wu X L, Yin W, Tang D B, Wang J C, Zhang K. Genetic diversity and population structure analysis of main sweet potato breeding parents in Southwest China. *Scientia Agricultura Sinica*, 2016, 49(3): 593-608
- [11] 傅鸿妃, 吕晓茜, 陈建瑛, 李国景. 辣椒种质表型性状与SSR分子标记的遗传多样性分析. 核农学报, 2018, 32(7): 1309-1319
- Fu H F, Lv X H, Chen J Y, Li G J. Genetic diversity analysis of *Capsicum* germplasm based on phenotypic traits with SSR markers. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2018, 32 (7): 1309-1319
- [12] 李艳, 赵红星, 王勇, 姜俊, 孟祥锋, 魏小春, 李金玲. 169份辣椒种质资源的遗传多样性分析. 河南农业科学, 2018, 47(2): 91-97
- Li Y, Zhao H X, Wang Y, Jiang J, Meng X F, Wei X C, Li J L. Genetic diversity analysis of 169 pepper germplasm resources. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 2018, 47 (2): 91-97
- [13] 冯鹏龙, 韩睿, 王亚艺, 邵登魁, 李全辉, 钟启文. 基于SSR标记辣椒品种DNA指纹图谱的构建. 西北农业学报, 2022, 31(3): 320-327
- Feng P L, Han R, Wang Y Y, Shao D K, Li Q H, Zhong Q W. Construction of DNA fingerprints of pepper (*Capsicum annuum* L.) varieties based on SSR markers. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinia*, 2022, 31(3): 320-327
- [14] 张曼, 常媚瑕, 张才鲜, 候小晓, 李倩, 吉高锋, 吴辉晶, 郝亚军, 李伟. 利用SSR分子标记分析35份朝天椒种质遗传差异性. 石河子大学学报: 自然科学版, 2022, 40(6): 713-718
- Zhang M, Chang M X, Zhang C X, Hou X X, Li Q, Ji G F, Wu H J, Hao Y J, Li W. Genetic difference analysis of 35 *Capsicum frutescens* germplasm using SSR molecular markers. *Journal of Shihezi University: Natural Science*, 2022, 40(6): 713-718
- [15] 王苑嫫, 王秀英, 薛永, 姚泉洪, 查丁石, 彭日荷, 龚繁荣, 朱玉英. 利用SSR分子标记构建甜椒自交系的指纹图谱. 生物学杂志, 2015, 32(5): 96-98
- Wang Y Y, Wang X Y, Xue Y, Yao Q H, Zha D S, Peng R H, Gong F R, Zhu Y Y. Construction of fingerprints for pepper inbred line by SSR markers. *Journal of Biology*, 2015, 32(5): 96-98
- [16] Murray M G, Thompson W F. Rapid isolation of molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Research*, 1980, 8 (19) : 4321-4325
- [17] Lee J M, Nahm S H, Kim Y M, Kim B D. Characterization and molecular genetic mapping of microsatellite loci in pepper. *Theoretical and Applied Genetics*, 2004, 108(4): 619-627
- [18] Yi G, Lee J M, Lee S, Choi D, Kim B D. Exploitation of pepper EST-SSRs and an SSR-based linkage map. *Theoretical and Applied Genetics*, 2006, 114(1): 113-130
- [19] Minamiyama Y, Tsuro M, Hirai M. An SSR-based linkage map of *Capsicum annuum*. *Molecular Breeding*, 2006, 18(2): 157-169
- [20] Sugita T, Semi Y, Sawada H, Utoyama Y, Hosomi Y, Yoshimoto E, Maehata Y, Fukuoka H, Nagata R, Ohyama A. Development of simple sequence repeat markers and construction of a high-density linkage map of *Capsicum annuum*. *Molecular Breeding*, 2013, 31(4): 909-920

- [21] 韩志强, 任勇谕, 夏宇飞, 耿喜宁, 杜康, 康向阳. 毛白杨多态 SSR 引物库和种质资源指纹图谱库构建. 北京林业大学学报, 2019, 41 (7): 10-18
Han Z Q, Ren Y Y, Xia Y F, Geng X N, Du K, Kang X Y. Construction of polymorphic SSR primer library and germplasm resource fingerprint database of *Populus tomentosa*. Journal of Beijing Forestry University, 2019, 41 (7): 10-18
- [22] Tautz D, Renz M. Simple sequences are ubiquitous repetitive components of eukaryotic genomes. Nucleic Acids Research, 1984, 12(10): 4127-4138
- [23] Cheng J, Zhao Z, Li B, Qin C, Wu Z, Trejo-Saavedra D L, Luo X, Cui J, Rivera-Bustamante R F, Li S, Hu K. A comprehensive characterization of simple sequence repeats in pepper genomes provides valuable resources for marker development in *Capsicum*. Scientific Reports, 2016, 6: 18919
- [24] 顾晓振, 张正海, 王海平, 曹亚从, 宋江萍, 张宝玺, 李锡香, 王立浩. 中国辣椒遗传多样性分析及核心种质构建. 园艺学报, 2015, 42(S1): 2726
Gu X Z, Zhang Z H, Wang H P, Cao Y C, Song J P, Zhang B X, Li X X, Wang L H. Genetic diversity analysis of germplasm resources and construction of core collections for chinese pepper. Acta Horticulturae Sinica, 2015, 42 (S1): 2726
- [25] 贾豪, 魏小春, 姚秋菊, 原玉香, 王志勇, 姜俊, 杨双娟, 赵艳艳, 王彬, 张晓伟. 辣椒 SSR 标记种质资源遗传多样性的分析. 分子植物育种, 2017, 15(1): 353-363
Jia H, Wei X C, Yao Q J, Yuan Y X, Wang Z Y, Jiang J, Yang S J, Zhao Y Y, Wang B, Zhang X W. Genetic diversity analysis of *Capsicum* genus germplasm resources using SSR markers. Molecular Plant Breeding, 2017, 15(1): 353-363
- [26] 陈学军, 周坤华, 宗洪霞, 方荣. 中国灌木辣椒种质遗传多样性的 SRAP 和 SSR 分析. 西北植物学报, 2012, 32(11): 2201-2205
Chen X J, Zhou K H, Zong H X, Fang R. Genetic diversity of *Capsicum frutescens* in China as revealed by SRAP and SSR markers. Acta Botanica Boreall-Occidentalia Sinica, 2012, 32 (11): 2201-2205
- [27] 罗玉娣, 李建国, 李明芳. 用 SSR 标记分析辣椒属种质资源的遗传多样性. 生物技术通报, 2006 (S1): 337-341
Luo Y D, Li J G, Li M F. Genetic diversity analysis of *Capsicum* germplasm resources based on SSR markers. Biotechnology Bulletin, 2006 (S1): 337-341
- [28] 吴承来, 张倩倩, 董炳雪, 李圣福, 张春庆. 我国部分玉米自交系遗传关系和遗传结构解析. 作物学报, 2010, 36(11): 1820-1831
Wu C L, Zhang Q Q, Dong B X, Li S F, Zhang C Q. Analysis of genetic structure and genetic relationships of partial maize inbred lines in China. Acta Agronomica Sinica, 2010, 36 (11): 1820-1831
- [29] 陈琛, 张兴桃, 程斐, 庄木, 刘玉海, 杨丽梅, 张扬勇, 方智远. 秋甘蓝品种的 SSR 指纹图谱的构建. 园艺学报, 2011, 38 (1): 159-164
Chen C, Zhang X T, Cheng F, Zhuang M, Liu Y H, Yang L M, Zhang Y Y, Fang Z Y. Establishment of SSR fingerprinting on autumn cabbage hybrids and their parents. Acta Horticulturae Sinica, 2011, 38(1): 159-164
- [30] 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
Chen S J, Zhang M Z, Yao Y X, Xie W B. Establishment of DNA fingerprinting for tea germplasm from qiannan prefecture by SSR markers. Journal of Plant Genetic Resources, 2017, 18 (1): 106-111
- [31] Waits L P, Luikart G, Taberlet P. Estimating the probability of identity among genotypes in natural populations: Cautions and guidelines. Molecular Ecology, 2001, 10(1): 249-256