

籽用美洲南瓜种质遗传多样性分析及 SSR 指纹图谱构建

张颖¹, 王萍¹, 李二娜¹, 田晓春², 陈鹏¹

(1. 内蒙古农业大学园艺与植物保护学院 呼和浩特 010000;

2. 内蒙古农牧业技术推广中心农垦经济发展处 呼和浩特 010000)

摘要: 利用 20 对 SSR 引物分析 48 份籽用美洲南瓜种质的遗传多样性并建立指纹图谱, 为籽用美洲南瓜种质的亲本选配、保护和鉴定提供依据。结果显示, 这 20 对引物在 48 份籽用美洲南瓜种质中扩增出 115 条具有多态性的等位基因, 位点的 Shannon 信息指数(I)均值为 1.36、遗传多样性指数(H)均值为 0.69、多态性信息指数(PIC)均值为 0.63。聚类分析显示, 20 对 SSR 引物可将 48 份种质从 0.659 相似系数水平上分成两大类。其中, 第 I 类包含 46 份种质, 在遗传相似系数为 0.679 处又将其分为 3 个亚类。第一亚类包含来自内蒙古巴彦淖尔市的 15 份种质和来自甘肃的 18 份种质, 第二亚类包含来自新疆的 10 份种质, 第三亚类包含来自山西的 3 份种质。第 II 类包含了来自内蒙古呼伦贝尔市的 2 份种质。综合各项指标筛选出 5 对 SSR 核心引物将 48 份籽用美洲南瓜种质完全区分并构建了指纹图谱。

关键词: 籽用美洲南瓜; SSR 标记; 指纹图谱; 遗传多样性

中图分类号: S642.1

文献标志码: A

文章编号: 1673-2871(2022)06-009-07

Genetic diversity analysis and SSR fingerprinting of seed-use pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) germplasm

ZHANG Ying¹, WANG Ping¹, LI Erna¹, TIAN Xiaochun², CHEN Peng¹

(1. College of Horticulture and Plant Protection, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010000, Inner Mongolia, China;

2. Agricultural Reclamation Economic Development Office of Inner Mongolia Agricultural and Animal Husbandry Technology Extension Center, Hohhot 010000, Inner Mongolia, China)

Abstract: Twenty pairs of SSR polymorphic primers with good polymorphism and clear bands were used to analyze genetic diversity of 48 seed-use pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) germplasm by fingerprinting for the purpose of parent selection, protection and identification. 115 polymorphic bands were amplified from the 48 pumpkin germplasm. The average Shannon's information index (I) was 1.36, the average genetic diversity index (H) was 0.69, the average polymorphism information content (PIC) was 0.63. Cluster analysis showed that 48 accessions could be divided into two categories from the level of 0.659 similarity coefficient. The first category includes 46 accessions under three subclasses at the genetic similarity coefficient of 0.679. The first subclass has 15 accessions from Bayannur City, Inner Mongolia and 18 accessions from Gansu, the second subclass has 10 accessions from Xinjiang and the third subclass has 3 germplasms from Shanxi. The second category includes two accessions from Hulunbuir, Inner Mongolia. Five pairs of core SSR primers were selected based on diversity indexes. Forty-eight pumpkin germplasm were completely distinguished using fingerprinting based on the five core SSR primer pairs.

Key words: *Cucurbita pepo* L.; SSR markers; Fingerprints; Genetic diversity

籽用美洲南瓜俗称籽用西葫芦 (*Cucurbita pepo* L.), 为葫芦科 (Cucurbitaceae) 南瓜属 (*Cucurbita* L.) 草本植物, 以种子作为主要食用器官。我国

籽用美洲南瓜的生产主要集中在黑龙江、新疆和内蒙古三大产区, 且出口量大, 籽用美洲南瓜已成为重要的经济作物和深具特色的出口创汇型作物^[1-3]。

收稿日期: 2022-01-08; 修回日期: 2022-05-17

基金项目: 内蒙古农业大学动植物品种选育(培育)专项计划项目(YZGC2017018); 内蒙古科技计划项目(2021GG0148, 20120212); 内蒙古自然科学基金项目(2021MS03050)

作者简介: 张颖, 女, 在读硕士研究生, 研究方向为蔬菜种质资源与种质创新。E-mail: 1833556270@qq.com

通信作者: 王萍, 女, 教授, 研究方向为蔬菜种质资源与种质创新。E-mail: wangping@imau.edu.cn

目前生产上优良籽用美洲南瓜种质资源较少,且重复使用少数种质资源作为亲本进行杂交育种,导致栽培种的遗传背景较窄,且大多数栽培种的病害抵抗力较差,严重限制了籽用美洲南瓜育种材料的创新与利用^[4-6]。此外,作物育种发展不充分不平衡问题,使得有限的研究成果难以在育种上得到充分应用,在优良品种选育方面的贡献率没有达到预期^[7-8]。

伴随现代分子遗传育种技术的飞速发展,在基因水平上指导南瓜品种的改良、选育,是开展籽用美洲南瓜种质资源遗传多样性研究、加快育种进程的重要步骤^[9]。其中 SSR (simple sequence repeat) 分子标记技术因具有多态性丰富、重复性好、等位变异频率高等优点,在植物的遗传多样性分析中得到了广泛应用^[10-11]。迄今为止,已有很多学者通过应用 SSR 分子标记技术对南瓜属植物进行遗传多样性分析,王艳玲等^[12]对南瓜属的 3 个主要栽培种(中国南瓜、美洲南瓜、印度南瓜)的亲缘关系进行分析,结果表明中国南瓜与美洲南瓜亲缘关系较为相近,而印度南瓜则单独在另一分支上,刘超^[13]对 76 份籽用南瓜(籽用印度南瓜和籽用美洲南瓜)种质资源的遗传多样性进行研究,认为籽用南瓜的亲缘关系受其生态型及其来源地影响较大。全面系统地构建指纹图谱是快速厘清籽用美洲南瓜种质资源间的亲缘关系、提升亲本选配效率的重要举措^[14-15]。目前,利用 SSR 分子标记技术,对玉米、大豆、小麦、水稻等^[16-19]主要农作物指纹图谱的研究较多,而籽用美洲南瓜在这方面的报道则很少见。笔者应用 SSR 分子标记技术对其 48 份种质的遗传多样性进行分析,并建立指纹图谱,以期对籽用美洲南瓜种质资源的保护和创新利用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

试验所用 48 份籽用美洲南瓜种质材料由内蒙古农业大学园艺与植物保护学院籽用瓜课题组提供,均为通过多年多代自交选择获得的纯系材料,其主要农艺性状如表 1 所示。于 2021 年 5 月 23 日采用随机区组方式播种于内蒙古农业大学试验田,每个小区 20 株,3 次重复。同年 8 月采集生长旺盛期的植物嫩叶,用液氮急冻,-80℃保存备用。

1.2 基因组 DNA 的提取及引物合成

48 份供试材料的基因组 DNA 用试剂盒(天根生化有限公司)进行提取,提取的 DNA 样本通过

表 1 供试的 48 份籽用美洲南瓜种质

编号	名称	单瓜产 籽数	成熟期果实 颜色、形状	来源地
1	HP-1	304	黄色、近圆形	内蒙古巴彦淖尔市
2	HP-2	272	黄色、近圆形	内蒙古巴彦淖尔市
3	HP-3	255	黄色、椭圆形	甘肃省
4	GP-1	288	深绿色、长筒形	内蒙古巴彦淖尔市
5	GP-2	380	深绿色、长筒形	内蒙古巴彦淖尔市
6	GP-3	337	深绿色、梨形	内蒙古巴彦淖尔市
7	GP-4	269	深绿色、梨形	内蒙古巴彦淖尔市
8	GP-5	402	深绿色、梨形	内蒙古巴彦淖尔市
9	GP-6	278	深绿色、长筒形	内蒙古巴彦淖尔市
10	HP-4	339	黄色、长筒形	内蒙古巴彦淖尔市
11	BP-1	308	墨绿色、长筒形	内蒙古巴彦淖尔市
12	BP-2	392	墨绿色、椭圆形	内蒙古巴彦淖尔市
13	GP-7	303	深绿色、长筒形	内蒙古巴彦淖尔市
14	GP-8	364	深绿色、近圆形	内蒙古巴彦淖尔市
15	GP-9	339	深绿色、近圆形	甘肃省
16	GP-10	361	深绿色、长筒形	内蒙古巴彦淖尔市
17	GP-11	238	深绿色、长筒形	内蒙古呼伦贝尔市
18	GP-12	340	深绿色、长筒形	内蒙古呼伦贝尔市
19	HP-5	183	黄色、近圆形	新疆维吾尔自治区
20	GP-13	326	深绿色、椭圆形	甘肃省
21	HP-6	322	黄色、椭圆形	甘肃省
22	GP-14	249	深绿色、椭圆形	甘肃省
23	GP-15	279	深绿色、椭圆形	甘肃省
24	GP-16	203	深绿色、椭圆形	新疆维吾尔自治区
25	GP-17	204	深绿色、椭圆形	甘肃省
26	BP-3	399	墨绿色、梨形	甘肃省
27	BP-4	240	墨绿色、梨形	内蒙古巴彦淖尔市
28	HP-7	419	黄色、椭圆形	甘肃省
29	HP-8	424	黄色、椭圆形	甘肃省
30	HP-9	329	黄色、椭圆形	甘肃省
31	HP-10	360	黄色、椭圆形	新疆维吾尔自治区
32	WP-1	305	白色、扁圆形	新疆维吾尔自治区
33	WP-2	254	白色、扁圆形	山西省
34	WP-3	304	白色、椭圆形	甘肃省
35	HP-11	418	黄色、长筒形	山西省
36	BP-5	195	墨绿色、长筒形	甘肃省
37	BP-6	450	墨绿色、长筒形	山西省
38	BP-7	444	墨绿色、长筒形	甘肃省
39	GP-18	266	深绿色、椭圆形	甘肃省
40	HP-12	336	黄色、长筒形	甘肃省
41	CP-1	232	橙黄色、长筒形	新疆维吾尔自治区
42	HP-13	364	黄色、长筒形	新疆维吾尔自治区
43	HP-14	272	黄色、长筒形	新疆维吾尔自治区
44	HP-15	405	黄色、长筒形	新疆维吾尔自治区
45	HP-16	343	黄色、长筒形	新疆维吾尔自治区
46	BP-8	233	墨绿色、长筒形	新疆维吾尔自治区
47	WP-4	279	白色、椭圆形	甘肃省
48	WP-5	243	白色、椭圆形	甘肃省

1%琼脂糖凝胶电泳检测其质量浓度,将 DNA 样本质量浓度稀释至 30~50 ng·μL⁻¹, -20℃保存备用。SSR 标记共用引物 50 对,其序列从相关文献^[20]中获得。所有引物均由上海生物工程技术公司合成。

1.3 引物筛选及 PCR 反应

以5份表型差异较为明显的种质材料对50对引物进行初筛,初筛后选择条带清晰、多态性好的22对引物用于48份种质的遗传多样性分析。PCR反应体系为10 μ L,模板DNA 2 μ L,上下游引物各1 μ L,Taq Mix 5 μ L,ddH₂O 2 μ L。PCR扩增程序为:94 $^{\circ}$ C预热变性3 min;94 $^{\circ}$ C变性20 s,68 $^{\circ}$ C退火20 s,72 $^{\circ}$ C延伸30 s,6个循环(退火温度每个循环降2 $^{\circ}$ C);94 $^{\circ}$ C变性20 s,58 $^{\circ}$ C退火20 s,72 $^{\circ}$ C延伸30 s,8个循环(退火温度每个循环降1 $^{\circ}$ C);94 $^{\circ}$ C变性20 s,50 $^{\circ}$ C退火20 s,72 $^{\circ}$ C延伸30 s,20个循环;72 $^{\circ}$ C延伸5 min。

1.4 8%非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测

扩增产物用8%的聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,并通过硝酸银染色检测种质间的多态性。具体方法如下:30%丙烯酰胺 21 mL,5 \times TBE buffer 14 mL,加蒸馏水定容至70 mL后加入10%的过硫酸铵700 μ L溶液,配置70 mL的8%非变性聚丙烯酰胺凝胶,最后在使用前加入50 μ L的TEMED。待胶凝固后,将其与电泳槽组装好,上下倒入1 \times TBE。在10 μ L的PCR产物中加入2 μ L的6 \times Loading

Dye,混合均匀后进行点样,每孔1 μ L。点样后接通电源,在175 V的电压下电泳120 min左右,银染后拍照记录。

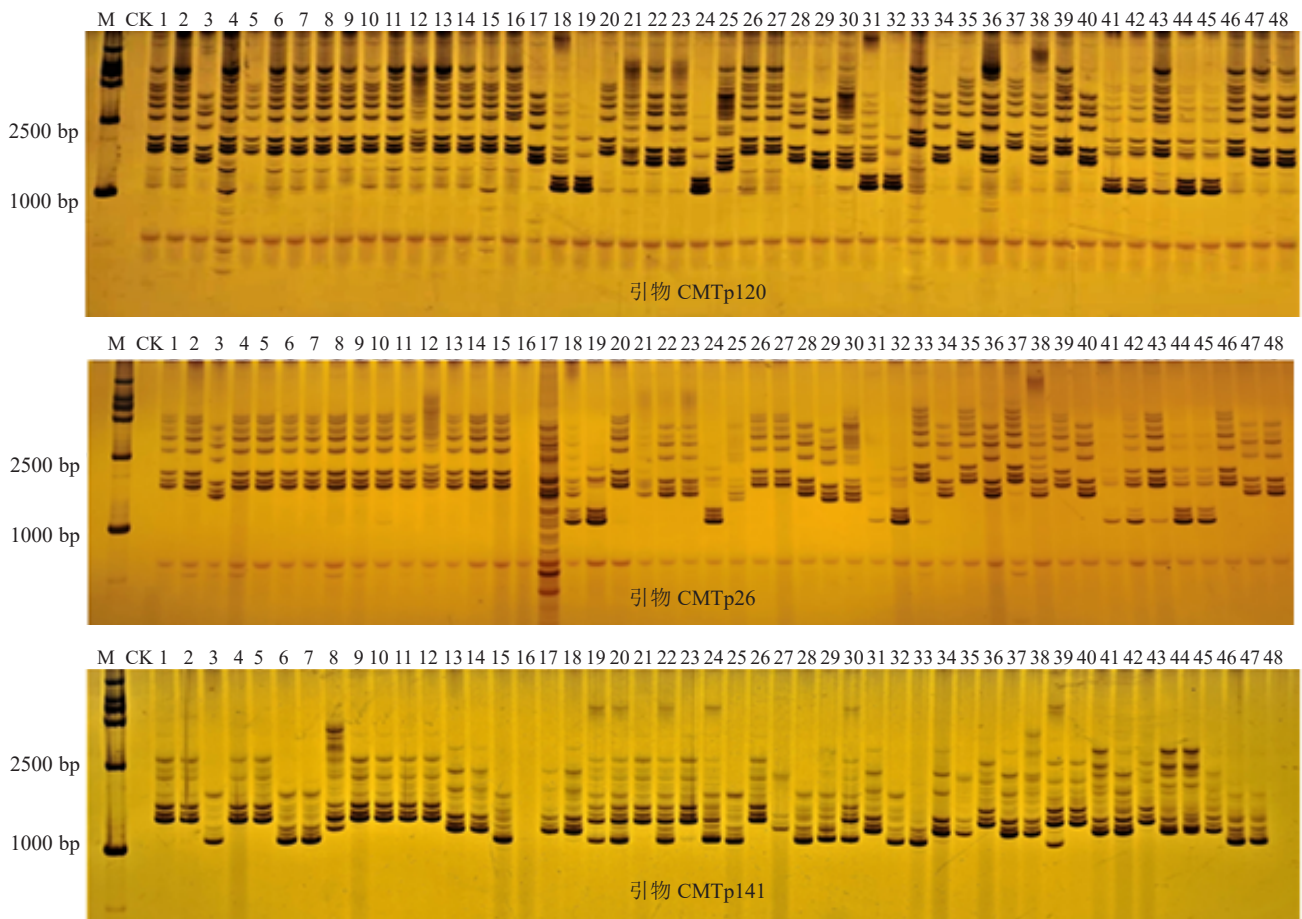
1.5 数据处理

对扩增片段大小在250 bp以下的条带进行统计,用“1”和“0”两种数字来表示条带的分布情况,有条带的位置用“1”表示,没有条带的位置用“0”表示,以此来获得基础的0/1矩阵。通过POWER-MARKER 3.0分析引物多态性信息含量(PIC),使用软件NTSYS-PC 2.10e对样品进行聚类分析,利用POPGEN32分析观测等位基因数(N_a)、有效等位基因数(N_e)、Shannon信息指数(I)、遗传多样性指数(H)、期望杂合度(H_e)和观测杂合度(H_o)。

2 结果与分析

2.1 引物多态性分析

从50对引物中筛选出了多态性好、条带清晰明亮的20对引物对48份种质的基因组DNA进行PCR扩增,部分引物扩增效果如图1所示。20对引物共扩增出122条清晰可统计的条带,其中有115



注:1~48:供试材料;M:DL2000 marker;CK:引物,无模板。

图1 引物CMTp120、CMTp26、CMTp141对供试材料的PCR扩增结果

条多态性条带,多态性百分率为94.26%。由表2可知,在本研究的20对引物中,引物CMTp141的PIC值最高,为0.90;引物CMTp18的PIC值最低,为0.44。所有引物的PIC值均介于0.44~0.90之间,平均多态性信息含量为0.63。20对引物的Na值在3~13之间,平均为5.65。Ne值在2.05~10.32之间,平均为3.58。由此可见20对引物间的观测

等位基因数与有效等位基因数有较大差异,说明等位基因在群体内存在分布不均的现象。20对引物的Ho值介于0.09~0.50之间,平均值为0.31。而He值介于0.52~0.91之间,平均为0.69,平均观测杂合度小于平均期望杂合度。20对引物的I值在0.88~2.45之间,均值为1.36。其H值在0.51~0.90之间,均值为0.69。综合以上各个指标,表明试验所用的48份种质材料具有较为丰富的遗传多样性。

表2 20对SSR引物在48份籽用美洲南瓜种质中的遗传多样性指标

引物名称	Na	Ne	I	Ho	He	H	PIC
CMTp177	5	2.86	1.20	0.34	0.66	0.65	0.59
CMTp88	5	3.88	1.47	0.25	0.75	0.74	0.70
CMTp69	4	2.05	0.99	0.48	0.52	0.51	0.48
CMTp18	4	2.17	0.88	0.45	0.55	0.54	0.44
CMTp161	6	2.57	1.15	0.38	0.62	0.61	0.54
CMTp265	5	4.20	1.50	0.23	0.77	0.76	0.72
CMTp99	6	3.62	1.47	0.27	0.73	0.72	0.68
CMTp236	3	2.63	1.03	0.37	0.63	0.62	0.55
CMTp17	4	3.37	1.28	0.29	0.71	0.70	0.65
CMTp182	7	3.06	1.36	0.22	0.68	0.67	0.62
CMTp39	6	3.86	1.48	0.25	0.75	0.74	0.70
CMTp217	4	2.90	1.18	0.34	0.66	0.66	0.59
CMTp41	5	2.88	1.23	0.34	0.66	0.65	0.59
CMTp171	4	2.65	1.10	0.37	0.63	0.62	0.55
CMTp63	4	3.05	1.21	0.32	0.68	0.67	0.61
CMTp257	7	3.69	1.53	0.26	0.74	0.73	0.69
CMTp201	5	3.80	1.44	0.26	0.74	0.74	0.69
CMTp141	13	10.32	2.45	0.09	0.91	0.90	0.90
CMTp26	8	4.19	1.66	0.23	0.77	0.76	0.73
CMTp120	8	3.77	1.66	0.26	0.74	0.74	0.69
平均值	5.65	3.58	1.36	0.31	0.69	0.69	0.63

2.2 籽用美洲南瓜种质遗传多样性分析

根据这48份种质的来源地将其分为5个群体,群体A包含来自内蒙古巴彦淖尔市的15份种质;群体B包含来自甘肃的18份种质;群体C包含来自新疆的10份种质;群体D包含来自山西的3份种质;群体E包含来自内蒙古呼伦贝尔市的2份种质。通过NTSYS-PC2.10e软件对48份材料进行UPGMA聚类分析,其遗传相似系数介于0.31~0.98之间。由图2可知,48份种质中亲缘关系最近的是47和48,遗传相似系数为0.98。而亲缘关系最远的是6和18,遗传相似系数为0.31。在遗传相似系数为0.66水平处,可把这48份材料分成两大类。第I类包含了46份种质,在遗传相似系数为0.68的水平上又分为3个亚类。第一亚类包含1、2、12等15份种质(属群体A)和3、28、25等18份种质(属群体B),第二亚类包含31、19、24等10份种质(属群体C),第三亚类包含33、35、37共3份种质(属群体D)。第II类包含了17、18两份材料(属群

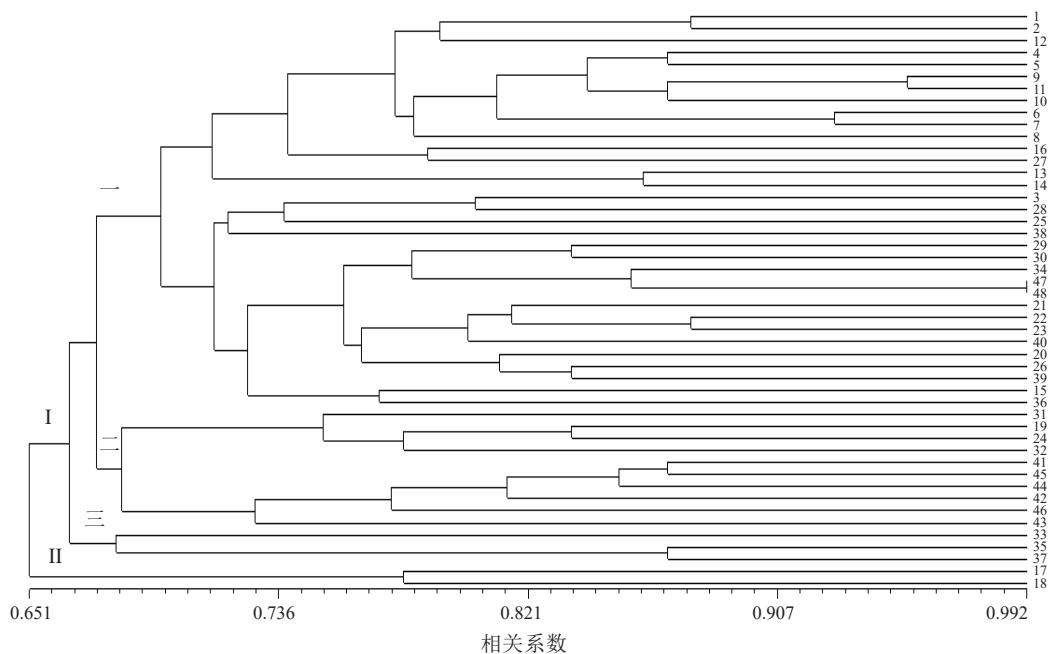


图2 48份籽用美洲南瓜种质的亲缘关系聚类结果

体 E)。

2.3 不同籽用美洲南瓜种质资源群体的遗传多样性分析

为进一步分析籽用美洲南瓜种质资源遗传多样性与其地域来源的关系以及不同区域籽用美洲南瓜种质资源的亲缘关系,对这 5 个群体的 *I* 值进行计算。由表 3 可知,5 个群体的 *I* 值变化范围为 0.68~1.30,综合各群体多样性指数(*N_a*、*N_e*、*I*)的计算结果,5 个群体的遗传多样性由低到高依次为群体 E<群体 D<群体 A 群<群体 C<群体 B,由此可见群体 E 遗传多样性相对较匮乏,群体 B 的遗传多样性相对较为丰富。

表 3 不同籽用美洲南瓜种质群体的遗传多样性指标

群体	<i>N_a</i>	<i>N_e</i>	<i>I</i>
群体 A	4.60	2.99	1.20
群体 B	5.10	3.32	1.30
群体 C	4.45	3.15	1.24
群体 D	2.60	2.45	0.87
群体 E	2.00	1.98	0.68
总体	3.75	2.78	1.05

2.4 不同籽用美洲南瓜群体间的遗传一致度和遗传距离分析

由表 4 可知,依据 5 个群体的遗传距离(*GD*),其亲缘关系由远到近进行排序:群体 E 与群体 D (0.46)>群体 E 与群体 A(0.37)>群体 E 与群体 C (0.30)>群体 D 与群体 B(0.27)>群体 D 与群体 A (0.26)>群体 D 与群体 C(0.25)=群体 E 与群体 B (0.25)>群体 A 与群体 C(0.18)>群体 C 与群体 B (0.16)>群体 A 与群体 B(0.11)。这表明群体 E 与群体 D 的亲缘关系最远,它们之间的遗传一致度(*GI*)为 0.63,遗传距离(*GD*)为 0.46;群体 A 与群体 B 的种质的亲缘关系最近,它们之间的 *GI* 为 0.90, *GD* 为 0.11。

表 4 5 个籽用美洲南瓜种质居群间的 Nei's 遗传一致度 (*GI*, 对角线上方)、遗传距离(*GD*, 对角线下方)

居群名称	群体 A	群体 B	群体 C	群体 D	群体 E
群体 A	*	0.90	0.84	0.77	0.69
群体 B	0.11	*	0.86	0.77	0.78
群体 C	0.18	0.16	*	0.78	0.74
群体 D	0.26	0.27	0.25	*	0.63
群体 E	0.37	0.25	0.30	0.46	*

2.5 指纹图谱的构建

综合多态性信息含量和基因频率的数值,再结合基因型数据,挑选出 5 对引物。由表 5 可知,将

表 5 用 5 对引物建立的 48 份籽用美洲南瓜种质数字指纹图谱

编号	CMTp141	CMTp26	CMTp120	CMTp 265	CMTp 41
1	0101011100000	0011100000	00110100000	01101	10101
2	0000011100000	0011100000	00110100000	10010	01101
3	0001000001010	0001011000	10001011000	01101	01101
4	0100011100000	0011100000	00110100101	00110	01101
5	0100011100000	0011100000	00110100000	01101	01101
6	0001000001110	0011100000	00110100000	00010	10011
7	0001000001110	0011100000	00110100000	00010	01101
8	0100011101000	0011100000	00110100000	11111	01101
9	0101011100000	0011100000	00110100000	00010	00001
10	0101011100000	0011100000	00110100000	11111	01101
11	0101011100000	0011100000	00110100000	00010	01101
12	0101011100000	0111100000	01110100000	01101	01101
13	1010000110100	0011100000	00110100000	00101	01101
14	1010000110100	0011100000	00110100000	00011	01101
15	0000010010110	0011100000	00110100000	11101	01101
16	0000000000000	0000000000	00110100001	01101	10101
17	0000000100100	0001010100	10001111000	01101	01011
18	1000000100100	0001110111	00101011011	01101	01101
19	0000101010010	0001100111	00100010011	00011	01101
20	0000101010010	0011100000	00111100000	00011	01101
21	0000101110000	0001110000	10100101000	11111	01011
22	0000101110010	0001110000	10000111000	01101	01101
23	0000101110000	0001110000	10000111000	11111	10101
24	0000100010110	0000100111	00100010011	00011	01101
25	0000100000110	0001111000	10000011100	00011	01101
26	0000010110000	0101100000	00110100000	00011	01101
27	0100000000100	0101100000	00110101000	00011	00101
28	0000100000010	0001110000	10011001000	01101	01101
29	0000100000100	0001110000	00010101000	11111	01110
30	0000001000010	0001111000	00010101000	00011	10110
31	0100000100100	0000000001	00110101011	00011	01101
32	0000100000001	0001000111	00100000011	01101	01101
33	0000000000001	1011100001	00110000000	00010	01110
34	0100000001010	0001110000	10010101000	01101	01101
35	0000000000010	1011100000	01110000000	01101	01101
36	0000000110100	0001110000	10010111000	01101	01010
37	0100100001010	1011100000	01110000000	01101	01101
38	0100000001010	1001110000	10111111000	01101	01101
39	0000000110101	0101100000	00111100000	00011	01101
40	0000000110100	0001110000	10010111000	01101	00101
41	1101000001010	0000100001	00110100011	01101	00000
42	0100100011010	0101100111	00110100011	01101	01101
43	0000000100100	0101100001	10111100001	01101	01101
44	1101000001010	0101100111	00110100011	01101	10011
45	1101000000010	0101100111	00110100011	01101	01101
46	0000000001010	0111100000	00111100000	01101	01011
47	0000000000111	0010110000	10001100000	01101	01011
48	0000000000111	0010110000	10001100000	00101	01011

这 5 对引物按照 CMTp141、CMTp26、CMTp120、CMTp265、CMTp41 的顺序结合可将 48 份种质材料完全区分开。利用材料在这 5 对引物中扩增出

的谱带信息构成“0/1”代码,使得每份种质材料都得到一个独一无二的编码,从而构成了这 48 份材料的数字指纹图谱,结合片段大小将它们绘制成图 3



图 3 48 份籽用美洲南瓜种质指纹图谱

所示的指纹图谱。

3 讨论与结论

通过对引物的遗传多样性分析,结果表明本试验选用 20 对引物,扩增出 122 条条带,其中,多态性条带 115 条,多态率 94.26%,高于王洋洋^[21]报道的同为 SSR 分子标记多态性 92.36%和刘超^[13]报道的 SSR 分子标记多态性 85.89%,说明本试验所选用的引物具有较高的分辨率,能够区分亲缘关系较近的品种。研究中 48 份种质间的遗传相似系数变幅为 0.31~0.98,说明这 48 份籽用美洲南瓜种质间存在较丰富的遗传多样性。在聚类分析图中遗传相似系数为 0.66 处,可以将 48 份种质分为两大类,第一类包含了来自内蒙古巴彦淖尔市、甘肃、山西

及新疆的所有种质材料,而来自内蒙古呼伦贝尔市的种质材料则被单独聚为一类,由此可见,呼伦贝尔市的种质材料与其他 4 个地区的种质材料的亲缘关系相对较远。这与对这 5 个群体间的遗传距离和遗传相似系数的分析结果相一致。结合地理位置来看,呼伦贝尔种质被单独聚为一类可能是由于内蒙古巴彦淖尔市、新疆、山西及甘肃都属于中国的西北部,而内蒙古呼伦贝尔市更靠近中国的东北部,且相近地区的籽用美洲南瓜种质资源间存在频繁交流,因此,地理位置相近种质间的亲缘关系较为密切。由此可见,种质间的差异受其所处地理位置的影响较大,这与前人的结论较为一致^[13,22]。

笔者采用引物组合法对供试材料进行了区分,陈世军等^[23]曾用这种方法为 60 份黔南野生茶树构

建了指纹图谱。由于不同引物鉴别能力存在差异, *PIC* 值最高的引物 CMTp141 仅能区分 28 个样品, 因此, 按照 *PIC* 值最高的前 4 个引物对 44 份种质资源进行了区分。由于 6 和 7、9 和 11 之间的遗传相似系数较高, 仅有极个别引物能够将其区分, 因此, 在符合要求的引物中选取 *PIC* 值最高的引物 CMTp41 对其进行区分。但试验筛选出的引物的鉴别能力低于陶爱芬等^[24]利用 88 份南瓜种质(包含美洲南瓜、中国南瓜、印度南瓜)分析筛选出的可区分 72 份种质的引物 E5EM8。分析原因, 可能是试验所用材料生态类型较为单一, 亲缘关系较近, 难以通过较少的引物组合对大量种质进行完全区分。后续为了获取区分能力强的引物, 可选择地理来源更加广泛、生态类型更加丰富的材料进行试验。本试验虽利用 5 对核心引物将 48 份种质完全区分, 但随着籽用美洲南瓜的种质资源越来越丰富, 这 5 对引物的鉴别能力也会逐渐下降, 需要继续对来自不同地区籽用美洲南瓜的种质进行指纹图谱的构建, 筛选出更多鉴别能力强的引物, 进一步完善籽用美洲南瓜种质的指纹图谱。

利用筛选出的 20 对多态性引物对 48 份种质进行多样性分析, 试验筛选出的 20 对多态性较高的引物($PIC \geq 0.4$), 可为后续研究提供可参考的引物材料; 基于 SSR 分子标记进行聚类, 48 份种质被聚为 5 类, 聚类结果与地理来源相一致, 即同一地区种质被聚为一类, 说明个体间亲缘关系与地理来源密切相关, 与群体间遗传距离分析结果一致性较高; 本试验将 5 对核心引物(CMTp141、CMTp26、CMTp120、CMTp256、CMTp41)进行组合, 将 48 份种质完全区分, 进一步完善了籽用美洲南瓜种质的指纹图谱。

参考文献

- [1] 王丰丰. 基于植物学性状和 SCoT 标记分析籽用南瓜的遗传多样性及南瓜砧木资源的初步筛选[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2018.
- [2] 靳娜. 籽用南瓜种质资源的评价[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2012.
- [3] 李海真, 田佳星, 张国裕, 等. “十三五”我国南瓜遗传育种研究进展[J]. 中国蔬菜, 2021(9): 16-24.
- [4] 郭禄芹, 赵世豪, 朱华玉, 等. 167 份西瓜种质材料的遗传多样性分析[J]. 中国瓜菜, 2018, 31(1): 5-11.
- [5] 魏照信, 陈荣贤, 殷晓燕, 等. 中国籽用南瓜产业现状及发展趋势[J]. 中国蔬菜, 2013(9): 10-13.
- [6] 郑扬, 张国裕, 张帆, 等. 南瓜育种相关基础研究进展[J]. 中国蔬菜, 2018(12): 16-23.
- [7] 谭行之, 崔崇士, 屈淑平. 南瓜作物分子标记辅助育种研究进展[J]. 中国瓜菜, 2010, 23(3): 37-40.
- [8] 刘宜生, 林德佩, 孙小武, 等. 我国南瓜属作物产业与科技发展的回顾和展望[J]. 中国瓜菜, 2008, 21(6): 4-9.
- [9] 张儒文, 韩广轩. 植物遗传多样性与生态系统功能关系的研究进展[J]. 植物生态学报, 2018, 42(10): 977-989.
- [10] 孔维政. 金柑属及其近缘属植物遗传多样性与亲缘关系分析[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2020.
- [11] 朱华玉, 杨路明, 宋芄垚, 等. 西瓜全基因组 SSR 位点的特征及其在比较遗传作图和遗传多样性分析中的应用[J]. 中国瓜菜, 2019, 32(8): 180-181.
- [12] 王艳玲, 向成钢, 王长林, 等. 南瓜属三个栽培种亲缘关系的 SSR 分析[C]/中国园艺学会南瓜分会籽用南瓜新品种展示及产业发展研讨会论文集, 2012: 73-82.
- [13] 刘超. 籽用南瓜种质资源遗传多样性研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2012.
- [14] 云天海, 郑道君, 谢良商, 等. 中国南瓜海南农家品种间的遗传特异性分析和 DNA 指纹图谱构建[J]. 植物遗传资源学报, 2013, 14(4): 679-685.
- [15] 赵胜杰, 关立颖, 阎志红, 等. 郑抗系列无籽西瓜品种 SSR 指纹图谱的构建[J]. 中国瓜菜, 2012, 25(4): 1-4.
- [16] 倪晨晨, 李瑞霞, 陶启威, 等. 基于 SSR 标记的地方品种糯性小玉米自交系指纹图谱构建[J]. 浙江农业科学, 2019, 60(6): 911-914.
- [17] 李琼, 李金花, 常世豪, 等. 61 份高油大豆品种(系)指纹图谱构建及遗传多样性分析[J]. 河南农业科学, 2021, 50(9): 53-62.
- [18] 秦瑞英, 许学, 张立平, 等. 小麦 SSR 指纹图谱及品种身份证的构建: 基于毛细管电泳分析[J]. 中国农学通报, 2017, 33(34): 46-55.
- [19] 曾晓珊, 彭丹, 石媛媛, 等. 利用 SSR 标记构建水稻核心亲本指纹图谱[J]. 作物研究, 2016, 30(5): 481-486.
- [20] ABOUZIED H M, ELDEMERY S M M, BDELLATIF K F. SSR- based genetic diversity assessment in tetraploid and hexaploid wheat populations[J]. British Biotechnology Journal, 2013, 3(3): 390-404.
- [21] 王洋洋. 美洲南瓜种质资源的遗传多样性研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2016.
- [22] 郭秀霞. 不同西葫芦品种及其亲本遗传多样性分析[D]. 太原: 山西农业大学, 2017.
- [23] 陈世军, 张明泽, 姚玉仙, 等. 基于 SSR 标记的黔南茶树种质资源 DNA 指纹图谱构建[J]. 植物遗传资源学报, 2017, 18(1): 106-111.
- [24] 陶爱芬, 魏嘉俊, 刘星, 等. 应用 SRAP 标记绘制 88 份南瓜属种质资源 DNA 指纹图谱[J]. 植物遗传资源学报, 2017, 18(2): 225-232.