

福建省近年来审(认)定花生品种的遗传多样性分析

肖宇, 陈剑洪, 郭陞垚, 陈永水, 王金线

(泉州市农业科学研究所, 福建泉州 362212)

摘要:以近年来通过福建省审(认)定的 23 个花生品种为材料, 对株型、叶形、叶片大小、叶色、荚果形状、网纹粗细、网纹深浅、开花习性、种仁大小、种皮颜色和粒形共 11 个表型性状的 Simpson 遗传多样性指数(简称 SI)和 Shannon-Weaver 遗传多样性指数(简称 H')进行了分析。结果表明:除开花习性、种皮颜色和种仁大小 3 个性状表现一致外, 23 个品种的遗传多样性指数分别为 $SI = 0.506$, $H' = 0.796$, 其中以荚果形状最低($SI = 0.237$, $H' = 0.387$), 以网纹粗细最高($SI = 0.755$, $H' = 1.335$); 从 50 对引物中筛选出 9 条多态性较好引物, 共扩增出 59 条多态性条带, 平均每对引物可扩增 6.56 条多态性条带, 引物的多态性信息含量(PIC)变幅为 0.746~0.957, 平均值为 0.88。23 个品种间的遗传相似系数在 0.225~0.818, 平均为 0.579。在相似系数 0.55 处可分为 3 个类群。系谱分析表明亲本来源相近的品种优先聚在一起, 利用辐照诱变材料对于拓宽花生遗传基础发挥作用较明显。SSR 分析结果基本上与系谱分析的结果相吻合。

关键词:花生; 遗传多样性; 相似系数; 聚类分析

Genetic Diversity of Peanut Cultivars Registered in Fujian Province

XIAO Yu, CHEN Jian-hong, GUO Sheng-yao, CHEN Yong-shui, WANG Jin-xian

(Quanzhou Institute of Agricultural Sciences, Quanzhou Fujian 362212)

Abstract: The study had analyzed the Shannon-Weaver and Simpson indexes of 11 phenotypic traits including plant type, leaf shape, leaf size, leaf color, pod shape, thickness of pod reticulation, depth of pod reticulation, flowering habit, seed size, seed coat color, seed shape on 23 peanut varieties which were registered in Fujian Province in recent years. The results showed that except flowering habit, seed coat color and seed size traits were the same, the genetic diversity index of 23 peanut cultivars were $SI = 0.506$, $H' = 0.796$ respectively, pod shape was the lowest ($SI = 0.237$, $H' = 0.387$) and thickness of pod reticulation was the highest ($SI = 0.755$, $H' = 1.335$). The genetic diversity among 23 peanut varieties was analyzed with 50 SSR markers, 9 SSR loci were polymorphism. 59 bands were polymorphic, 6.56 polymorphic bands could be detected by each marker averagely. The polymorphism information content(PIC) was varied from 0.746 to 0.957, with an average of 0.88. The genetic similarity(GS) among 23 peanut varieties were calculated based on the data from these SSR markers, the value of GS ranged from 0.225 to 0.818, with an average of 0.579. In similarities coefficient of 0.55, 23 peanut varieties could be divided into three groups. Pedigree analysis showed that the sources close to the parental species prioritied together, and the use of irradiation mutagenesis material for broadening the genetic base of peanuts obviously played an important role. The results of SSR analyzing genetic diversity are basically consistent with the pedigree.

Key words: peanut; genetic diversity; genetic similarity coefficient; cluster analysis

福建是我国主要的花生产区之一, 常年种植面积 10 万 hm^2 , 年产花生果 25 万 t。福建花生栽培历

收稿日期: 2014-07-07 修回日期: 2014-08-12 网络出版日期: 2015-06-11

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20150611.0945.010.html>

基金项目: 泉州市科技重点项目(2012N77)

第一作者主要从事花生遗传育种研究。E-mail: xiaoyuunivers@163.com

史较久,1949 年新中国成立以来花生生产上经历了 4 次品种更新换代,无论在农艺性状、产量及产量结构因素上还是在抗病性、抗逆性等方面,均发生不同程度的变化^[1]。由于长期对产量、抗性、品质等性状的连续定向选择,造成了育成品种遗传基础逐渐狭窄,遗传多样性下降,遗传改良后劲不足,抵御自然灾害能力差^[2-4]。为了解和进一步拓宽育成品种的遗传基础,有必要对这些育成品种进行遗传多样性分析。

SSR 标记具有非常丰富的等位基因多样性,呈共显性遗传,可鉴别出杂合子和纯合子,符合孟德尔遗传规律,兼具 PCR 优点,对 DNA 质量要求不高,结果稳定可靠,可以广泛应用于花生遗传性多样性研究中^[5]。已有研究表明,SSR 引物在花生栽培品

种中检测到的多态性高于此前报道的其他所有分子标记如同工酶、RFLPs、RAPDs 和 AFLPs^[6]。

本研究采用 SSR 标记对福建省近年来育成并通过审(认)定的 23 个品种进行遗传多样性分析,旨在从分子水平上了解福建新育成品种的遗传多样性,为今后杂交育种亲本的选择提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

材料为 2001-2013 年已通过福建省审(认)定的 22 个花生品种以及作为区试对照品种泉花 10 号,试验种子由各个育种单位提供,保存于泉州市农业科学研究所冷库,品种编号、名称及来源见表 1。

表 1 供试花生品种

Table 1 The tested peanut cultivars

编号 Code	品种 Accession	来源 Origin	亲缘系谱 Parentage	编号 Code	品种 Accession	来源 Origin	亲缘系谱 Parentage
1	泉花 7 号	福建省泉州市农科所	028-9 × 205-1	13	莆花 4 号	福建省莆田市农科所	粤油 7 号 × 金花 1022
2	泉花 551	福建省泉州市农科所	泉花 7 号 × 粤油 13	14	莆花 3 号	福建省莆田市农科所	粤油 5 号 × 金花 11
3	福花 3 号	福建省农科院作物所	梧油 7 号 × 9817-36-2	15	福花 8 号	福建省农科院作物所	梧油 7 号 × (泉花 10 号 × ICGV91284)F ₇
4	莆花 2 号	福建省莆田市农科所	农大 MF ₇ -CS2-1 × 泉花 10 号	16	泉花 327	福建省泉州市农科所	惠花 705-2 × 汕油 523
5	龙花 243	福建省龙岩市农科所	泉花 7 号 × 台南 13	17	泉花 6 号	福建省泉州市农科所	泉花 327 × 泉花 10 号
6	福花 6 号	福建省农科院作物所	湛油 41 × 9817-36-2	18	抗黄 1 号	福建省农科院作物所	粤油 169 × ICGV94449A
7	金花 18 号	福建农林大学油料所	汕油 523 × CBF ₆ -10-1-2	19	泉花 8 号	福建省泉州市农科所	粤油 169 × 205-1
8	闽花 5 号	福建农林大学油料所	汕油 523 × CBF ₅ -10-1-3	20	泉花 9 号	福建省泉州市农科所	泉花 327 × 粤油 92
9	闽花 6 号	福建农林大学油料所	汕油 523 × Q ₆	21	泉花 10 号	福建省泉州市农科所	广 A × 粤油 92
10	莆花 1 号	福建省莆田市农科所	闽花 2 号 × 汕油 71-61	22	龙花 163	福建省龙岩市农科所	粤油 256 经 Co ⁶⁰ -γ 辐射育成
11	福花 4 号	福建省农科院作物所	泉花 327 × ICGV94449A	23	闽花 8 号	福建农林大学油料所	泉花 10 号 × 粤油 93
12	粤油 93	广东省农科院作物所	湛油 30 × 粤油 256				

1.2 性状的调查

根据花生记载调查标准^[7]调查、考察供试材料的株型、叶形、叶片大小、叶色、荚果形状、网纹粗细、网纹深浅、开花习性、种仁大小、种皮颜色和粒形共 11 个表型性状。粒形、网纹粗细和网纹深浅因区试数据不完整,经统一种植、统一调查所得,其余数据为往年区域试验数据。

1.3 SSR 分析

采用 CTAB 法提取 DNA^[8]。SSR 标记引物按照福建农林大学庄伟建提供的序列由深圳华

大基因研究中心合成。采用 20 μL PCR 反应体系: 50 ng/μL 基因组 DNA 2.0 μL, *Taq* 酶 0.2 μL, 10 × Buffer 2.0 μL, 2 mmol/L dNTPs 2.0 μL, 2.0 μmol/L 引物 0.8 μL, ddH₂O 补齐 20 μL。反应试剂购自宝生物工程(大连)有限公司。PCR 反应程序为:95 ℃ 预变性 5 min 后,94 ℃ 变性 30 s,54 ~ 58 ℃ 退火 30 s,72 ℃ 延伸 1 min,进行 35 个循环,循环结束后,72 ℃ 延伸 10 min。SSR 扩增产物在 8% 变性聚丙烯酰胺凝胶上分离,银染检测。所有胶板均拍照存档。

1.4 数据分析

Simpson 多样性指数 (SI, 也称优势度指数) = $1 - \sum P_i^2$, 其中 P_i 为某一表型 (比如网纹粗细) 的第 i 个性状值出现的频率^[9]。Shannon - Weaver 多样性指数^[10-11] (H') = $-\sum P_i \ln P_i$, 其中 P_i 为某一表型 (比如网纹粗细) 的第 i 个性状值出现的频率。根据 PCR 扩增结果, 统计图谱上有差异且易于识别的多态性条带, 在相同迁移位置上, 有带记为 1, 无带记为 0, 组成 1 和 0 的原始矩阵。遗传相似系数 (genetic similarity, GS) 按公式 $GS_{ij} = 2N_{ij} / (N_i + N_j)$ 计算, 其中 N_{ij} 表示材料 i 与 j 之间共有的条带数目, N_i, N_j 分别表示 i 和 j 扩增的条带数目。采用 NT-SYS—pc2. 10e 软件进行聚类分析^[12]。用 SHAN 程序中的 UPGMA (unweighted pair - group method using arithmeticaverages) 方法进行聚类分析, 并通过 Treeplot 模块生成聚类图。SSR 引物扩增的等位变异多态性信息含量 (PIC) 按公式 $PIC_k = 1 - \sum_{i=1}^k P_i^2$,

表 2 主要性状分布频率

Table 2 Distributing frequency of the main morphological characters

性状 Characters	株型 Plant type			叶形 Leaf shape		叶片大小 Blade size			荚果形状 Pod shape		
	直立紧凑 Vertical and compact	直立松散 Vertical and loose		椭圆形 Ellipse	倒卵形 Obovate	大 Big	中 Middle	小 Small	茧形 Cocoon shape	普通型 Common shape	
分布频率(%) Distributing frequency	69.6	30.4		82.6	17.4	43.5	47.8	8.7	87.0	13.0	
性状 Characters	叶色 Leaf color			网纹粗细 Thickness of pod reticulation				网纹深浅 Depth of pod reticulation			
	淡绿色 Yellow and green	深绿色 Dark green	绿色 Green	粗 Thick	中粗 Comparatively thick	中细 Comparatively thin	细 Thin	中深 Middle – deep	中浅 Middle – shallow	浅 Shallow	
分布频率(%) Distributing frequency	4.35	56.5	39.1	21.7	39.1	17.4	21.8	26.1	17.4	56.5	
性状 Characters	开花习性 Flowering habit			种皮颜色 Seed color		种仁大小 Seed size		粒形 Seed shape			
	连续 Succession of blooming			粉红 Pink		中粒 Medium kernel		椭圆形 Ellipse	桃形 Peach shape	三角形 Triangle	
分布频率(%) Distributing frequency	100			100		100		52.2	43.5	4.3	

2.2 表型性状的遗传多样性分析

因开花习性、种皮颜色和种仁大小均为单个

其中 P_i 为第 i 个等位基因在 k 位点上的群体的比例^[13]。

2 结果与分析

2.1 表型性状的分布频率

对审 (认) 定品种 11 个农艺性状的计算结果分析表明: 大多数表型中, 有 1 ~ 2 个单个性状出现的频率较为集中。由表 2 可知, 开花习性全部为连续开花; 种皮颜色全部为粉色; 种仁大小全部为中粒; 株型以直立紧凑为主, 占 69.6%, 直立松散占 30.4%; 叶形以椭圆形为主, 占 82.6%; 叶片大小主要为大叶和中叶, 分布频率分别为 43.5% 和 47.8%; 叶色主要以深绿色和绿色为主, 分布频率分别为 56.5% 和 39.1%; 荚果形状以茧形为主, 占 87.0%; 网纹粗细中, 各性状分布频率较为分散; 网纹深浅, 以浅网纹为主, 占 56.5%; 粒形以椭圆形和桃形为主, 分别占 52.2% 和 43.5%。总体来看, 23 个审 (认) 定品种在大多数表型中, 表现性状较为集中。

表型占比 100%, 所以计算剩余 8 个表型性状的 Simpson 遗传多样性指数 (SI) 和 Shannon - Weav-

er 遗传多样性指数 (H'), 由表 3 可知, 23 个花生品种的遗传多样性指数分别为 $SI = 0.507$, $H' = 0.796$, 其中以荚果形状最低 ($SI = 0.237$, $H' = 0.387$), 以网纹粗细最高 ($SI = 0.755$, $H' = 1.335$)。对这 8 个表型性状而言, 根据两个多样性指数的意义, 荚果形状多样性指数较低的原因是表型类型较少(只有茧形与普通型), 且分布不均匀(茧形占 87%, 普通型占 13%)。网纹粗细表型类型较多且分布均匀, 所以多样性指数最高。株型、叶形和荚果形状均为 2 个表型类型, 但是株型分布更为均匀, 所以多样性指数三者间最高。叶片大小、叶色、粒形和网纹深浅均为 3 个表型类型, 但网纹深浅分布更为均匀, 所以多样性指数在 4 个性状中间为最高, 其次为叶片大小、粒形, 叶形多样性指数在 4 个性状间为最低。

表 3 供试材料表型性状遗传多样性比较

Table 3 Comparison of genetic diversity on morphological characters on the material used in the study

农艺性状 Trait	Simpson 遗传多样 性指数 SI	Shannon – Weaver 遗传多样性 指数 H'
叶型 Leaf shape	0.300	0.462
株形 Plant type	0.443	0.615
荚果形状 Pod shape	0.237	0.387
叶片大小 Blade size	0.601	0.927
叶色 Leaf color	0.549	0.826
粒形 Seed shape	0.561	0.838
网纹粗细 Thickness of pod reticulation	0.755	1.335
网纹深浅 Depth of pod reticu- lation	0.609	0.977
平均 Mean	0.507	0.796

2.3 SSR 标记多态性

利用 50 对 SSR 引物进行多态性分析, 结果有 9 对引物扩增带型好、品种间带型差异明显、易于识别, 均出现在一个品种中同时扩增出大小不同的等位基因。每对引物产生 6 ~ 25 条扩增条带, 9 对引物共产生 122 条带, 平均每对引物产

生 13.56 条; 每对引物产生 2 ~ 14 条多态性条带, 9 对引物共产生 59 条多态性条带, 多态性比率为 48.36%, 平均每对引物产生 6.56 条多态性条带(表 4)。引物的 PIC 值变幅为 0.746 ~ 0.957, 平均值为 0.886, 说明这些引物总体上具有较好的鉴别能力。其中引物 PM255 的 PIC 值最高, 引物 PM193 的 PIC 值最低。

表 4 不同 SSR 引物的扩增结果

Table 4 Amplification results of different SSR primers

引物 Primer	总条带数 Number of total bands	多态性条 带数 Number of polymorphic bands	多态性 信息含量 PIC
PM31	9	4	0.837
PM40	11	5	0.894
PM103	18	9	0.887
PM110	16	9	0.934
PM142	14	5	0.953
PM193	7	2	0.746
PM215	16	7	0.923
PM238	6	4	0.845
PM255	25	14	0.957
合计 Total	122	59	
平均 Mean	13.56	6.56	0.886

2.4 品种间相似系数及聚类分析

利用 NTSYS – pc 2.10e 分析软件, 对扩增的 59 条多态性带, 计算 23 个品种间的相似系数, 并进行遗传聚类分析。供试品种间相似系数变异范围在 0.225 ~ 0.818 之间(表 5), 平均为 0.579。其中泉花 551 和泉花 6 号之间相似系数最小为 0.225, 说明这 2 个品种的亲缘关系较远。泉花 7 号和龙花 243 之间的相似系数最大为 0.818, 说明这 2 个品种亲缘关系较近。

根据遗传相似系数进行 UPGMA 聚类分析, 结果如图 1 所示。在相似系数 0.55 处, 可分为 3 个类群。第 I 类群包括 3 个品种, 分别是福花 8 号、泉花 10 号和龙花 163。第 II 类群包括 17 个品种。第 III 类群包括 3 个, 分别是泉花 7 号、龙花 243 和泉花 551。通过聚类结果发现福建省近年来审(认)定品种主要分布在第 II 类群, 表明福建省的审(认)定品种亲缘关系比较近, 遗传基础相对较为狭窄, 遗传多样性降低。

表 5 品种间的遗传相似系数

Table 5 Genetic similarity among 23 peanut cultivars

编号 Code	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
1	1.000																						
2	0.659	1.000																					
3	0.500	0.652	1.000																				
4	0.500	0.405	0.468	1.000																			
5	0.818	0.717	0.588	0.569	1.000																		
6	0.545	0.523	0.469	0.786	0.500	1.000																	
7	0.550	0.425	0.378	0.804	0.571	0.732	1.000																
8	0.575	0.500	0.489	0.661	0.571	0.589	0.643	1.000															
9	0.675	0.405	0.553	0.517	0.500	0.518	0.500	0.679	1.000														
10	0.477	0.455	0.694	0.571	0.585	0.509	0.510	0.510	0.592	1.000													
11	0.523	0.370	0.451	0.672	0.500	0.533	0.554	0.661	0.672	0.604	1.000												
12	0.477	0.413	0.588	0.569	0.581	0.550	0.446	0.446	0.603	0.717	0.629	1.000											
13	0.455	0.348	0.451	0.690	0.419	0.750	0.607	0.607	0.621	0.623	0.726	0.677	1.000										
14	0.659	0.674	0.784	0.517	0.677	0.517	0.464	0.536	0.655	0.717	0.532	0.645	0.484	1.000									
15	0.636	0.432	0.571	0.589	0.550	0.617	0.571	0.571	0.607	0.566	0.583	0.567	0.633	0.600	1.000								
16	0.600	0.381	0.447	0.655	0.603	0.625	0.643	0.679	0.655	0.551	0.672	0.534	0.655	0.552	0.643	1.000							
17	0.550	0.225	0.533	0.607	0.518	0.536	0.554	0.625	0.732	0.735	0.786	0.714	0.768	0.625	0.661	0.625	1.000						
18	0.568	0.500	0.490	0.690	0.565	0.633	0.714	0.571	0.586	0.547	0.710	0.629	0.629	0.532	0.583	0.724	0.589	1.000					
19	0.568	0.543	0.543	0.604	0.667	0.600	0.627	0.667	0.528	0.625	0.632	0.667	0.632	0.702	0.636	0.642	0.667	0.596	1.000				
20	0.409	0.614	0.612	0.679	0.617	0.617	0.625	0.589	0.482	0.698	0.617	0.600	0.533	0.667	0.400	0.518	0.536	0.683	0.709	1.000			
21	0.579	0.474	0.583	0.500	0.536	0.500	0.500	0.571	0.464	0.464	0.500	0.464	0.500	0.500	0.714	0.464	0.500	0.571	0.478	0.321	1.000		
22	0.500	0.433	0.457	0.462	0.538	0.486	0.459	0.432	0.513	0.568	0.538	0.538	0.513	0.564	0.676	0.538	0.676	0.564	0.529	0.486	0.607	1.000	
23	0.500	0.565	0.652	0.478	0.560	0.479	0.500	0.500	0.565	0.646	0.620	0.680	0.660	0.640	0.521	0.478	0.682	0.560	0.660	0.500	0.478	0.588	1.000

编号 1~23 所对应品种名称见表 1 No. 1 to 23 which are corresponding to the names of varieties are shown in Table 1

参考福建省审(认)定品种系谱关系分析结果^[14],发现供试的品种均与狮头企、伏花生有一定亲缘关系,从系谱角度也进一步说明这些育成品种的遗传基础相对狭窄。福花 8 号是以泉花 10 号为主要亲本衍生出来的品种,所以泉花 10 号与福花 8 号遗传距离较近且均在第Ⅰ类群,龙花 163 是粤油 256 经辐射育成,也在第Ⅰ类群,表明在现有育成品种均为珍珠豆型的情况下,辐照有助于扩大育成的花生品种遗传多样性。大部分以粤油 551 为主要亲本衍生出来的品种分布在第Ⅱ类群,分别是泉花 8 号、抗黄 1 号、泉花 6 号、泉花 9 号、泉花 327、福花 4 号、莆花 3 号、莆花 4

号、莆花 1 号、粤油 93、福花 6 号、闽花 6 号、金花 18、闽花 5 号和福花 3 号。闽花 8 号和莆花 2 号也在第Ⅱ类群。以泉花 7 号为主要亲本的衍生品种龙花 243 和泉花 551 均聚在第Ⅲ类群。其中,第Ⅱ类群较大,可分为两个较小的类群,以汕油 523 为主要亲本衍生出的大部分品种聚在Ⅱ-1 类群,分别是金花 18 号、福花 6 号、泉花 327、闽花 5 号和闽花 6 号等。Ⅱ-2 类群主要聚类了主要以汕油 523 和粤油 116 为亲本的衍生品种,分别是福花 3 号、粤油 93、泉花 6 号、泉花 9 号、福花 4 号、泉花 8 号、莆花 3 号、莆花 4 号和莆花 1 号。这一结果与系谱分析的结果基本一致。

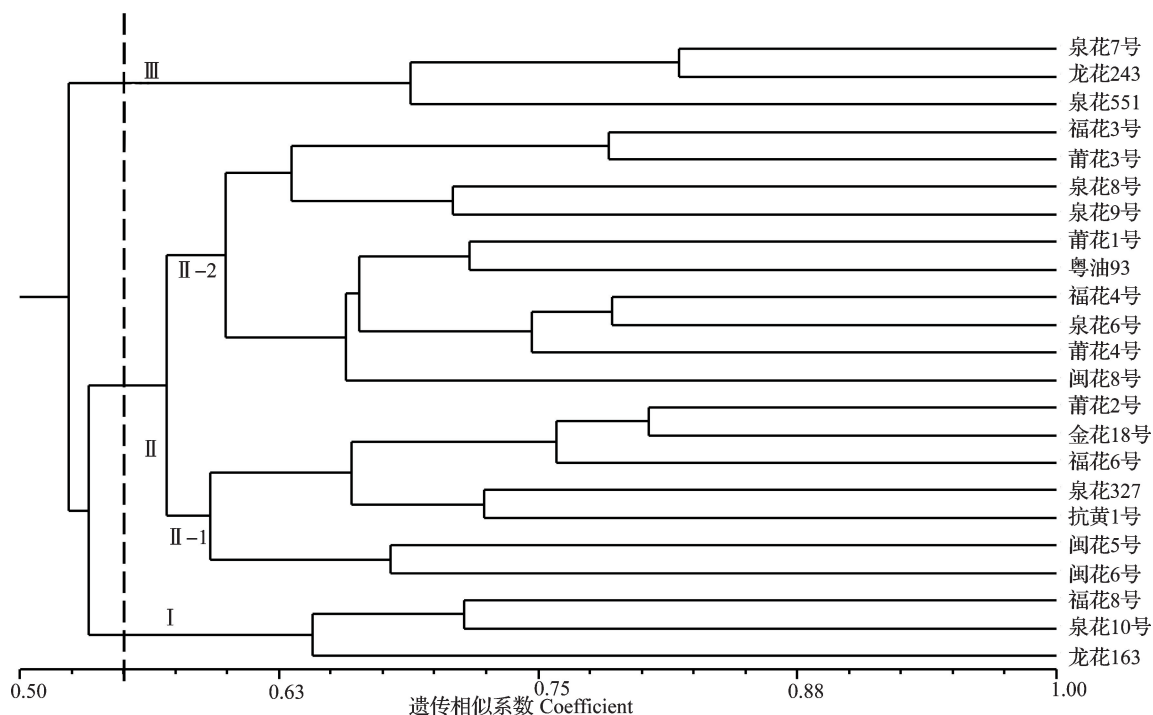


图1 23个花生品种的UPGMA聚类图

Fig. 1 UPGMA clustering of the 23 cultivars

3 讨论

以往花生育种目标的制订主要考虑产量、含油量和蛋白质含量等性状,使得许多较为优异的材料比如农家品种得不到有效的应用,同时由于育成品种间相互杂交的几率明显增加,造成了现有育成品种的遗传基础日益狭窄,其潜在风险是可能造成抵御自然灾害能力差、抗病能力降低和育成突破性品种难度大等负面影响。本文选用23个福建省近年来审(认)定花生品种进行遗传多样性分析,其中22个品种是自2001年以来审(认)定品种,1个是1995年认定品种(曾为福建省花生区域试验对照种),具有很好的代表性。目的是了解福建省新育成的花生品种的遗传基础及亲缘关系,为杂交育种合理利用种质资源和选配亲本提供参考。

SSR标记已广泛应用于花生资源的遗传多样性分析。M. S. Hopkins等^[6]首次利用6对SSR引物对5个栽培品种的遗传多样性进行了研究。G. He等^[15]利用19对引物在所研究的24个花生种质中扩增出多态性片段,其中引物PM50在一个位点鉴定出了14个等位基因。任小平等^[16]采用27对花生SSR引物,对168份ICRISAT微核心花生种质资源进行分析,其中南美洲花生种质资源遗传多样性较高。本研究对福建省近年来审(认)定品种进行

SSR分子标记聚类,从50对引物中筛选出9对多态性较好的引物,将这些品种分为3个类群,其中第I类群和第III类群聚类品种较少,大部分品种聚类在第II类群,这一结果说明福建省近年来育成的品种品种遗传背景较为狭窄,这可能是由于花生育种目标大致相同,育成品种大多为珍珠豆型的品种所造成的。聚类分析与系谱分析的结果基本一致,但聚类结果中出现少部分系谱相同或相似的材料并没有聚为一组的现象,如闽花8号并未和泉花10号或粤油93聚在一组,莆花2号和泉花10号并未聚在一组,导致了一定差异的原因可能是受到SSR标记的多少及其在染色体上分布的影响,或者是人工选择等原因造成的差异。在今后的研究中,有必要采用更多的标记,将表型性状和基因型分析相结合,这对考察品种遗传多样性可能更为合理。

丰富遗传多样性、解决育成品种遗传背景狭窄的问题可以通过以下几种途径,即可通过杂交直接利用农家种、地方品种或四倍体野生种,通过染色体加倍利用二倍体野生种,通过辐射诱变、化学诱变等诱变育种方法创造新的种质应用于育种当中^[17-20]。本研究通过聚类分析结合品种系谱的追踪分析,认为诱变育种对于丰富品种遗传多样性有积极的作用,如选育出的品种龙花163。

(下转 742 页)