

基于表型性状的孔雀草种质遗传多样性分析

傅巧娟, 李春楠, 陈 一, 孙 瑶, 赵福康

(杭州市农业科学研究院, 杭州 310024)

摘要: 为了了解孔雀草种质间的亲缘关系, 提高孔雀草种质的利用效率, 从 18 个形态特征对 40 份孔雀草种质进行了遗传变异分析、主成分分析及聚类分析。结果表明, 孔雀草表型多样性丰富, 种质间表型性状变异程度高, 变异系数(CV 值)范围 3.92% ~ 46.25%, 以花朵数最大, 其次是冠幅和株高; Shannon-Weaver 多样性指数则以叶片性状及花性状较高, 平均 2.0 以上。国内种质比国外种质多样性更丰富。通过主成分分析, 筛选出对总体方差累计贡献率达 78.949% 的 4 个主成分, 并筛选出综合性状表现良好的种质 10 份。参试的 40 份种质在欧氏距离阈值为 7.29 处可分为两大类, 一类植株生长势较强包含 2 份种质(水星黄色和橙色); 其余 38 份种质为一类, 在欧氏距离阈值为 6.0 处, 又以花色差异可进一步划分为 2 个类群, 说明生长势及花色可作为孔雀草种质依据表型性状分类的重要指标。

关键词: 孔雀草; 表型多样性; 主成分分析; 聚类分析

Genetic Diversity Analysis of *Tagetes patula* Germplasm Based on Phenotypic Traits

FU Qiao-juan, LI Chun-nan, CHEN Yi, SUN Yao, ZHAO Fu-kang

(Hangzhou Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310024)

Abstract: In order to understand the relationship and improve the use efficiency of *Tagetes patula* germplasm resources, analysis of genetic diversity and principal component of 40 *Tagetes patula* germplasms was carried out in terms of 18 traits. The results showed that the phenotypic diversity was abundant in *Tagetes patula* germplasms, and the higher variation of phenotypes was detected among accessions in phenotypic traits. The coefficient of variation ranged from 3.92% to 46.25%, with the largest for flower number followed by crown diameter and plant height. Shannon diversity indices indicated the higher diversity in frond (leaf) and flower traits with the average above 2.0. Moreover, the phenotypic diversity was more abundant in domestic germplasm than that in imported varieties. Four principal components with the variance cumulative contribution rate of 78.949% were obtained and 10 accessions with better comprehensive characters were screened out based on the principal component analysis. When the Euclidean distance was about 7.29, 40 accessions tested could be classified into two groups. The first group included 2 varieties (Shuixing yellow and orange) with the higher growth potential, and the second one containing 38 accessions that could be further divided into 2 sub-groups with flower color differences at the Euclidean distance about 6.0, suggesting that the growth potential and flower color may be considered as the important indicators for classification of *Tagetes patula* germplasm based on phenotypic traits.

Key words: *Tagetes patula*; phenotypic diversity; principal component analysis; cluster analysis

孔雀草 (*Tagetes patula* L.) 又名小万寿菊、红黄草等, 为菊科万寿菊属一年生草本花卉, 我国各地常有栽培。现阶段国内孔雀草育种研究进展缓慢, 原

因之一是对现有孔雀草遗传资源了解甚少, 在杂交育种中盲目性较大^[1], 有必要开展孔雀草种质资源分析及评价研究, 以深入了解我国孔雀草种质资源

收稿日期: 2014-08-12 修回日期: 2014-12-11 网络出版日期: 2015-08-04

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20150804.1327.024.html>

基金项目: 杭州市科技计划项目(20140932H04)

第一作者主要从事观赏园艺新品种引育研究。E-mail: fqjwj@126.com

现状及其亲缘关系,加速育种进程。

在孔雀草种质资源表型多样性分析与评价方面的工作开展的很少,齐迎春等^[1]对孔雀草自交系等18份材料的9个形态学特征进行了遗传分析,认为表型性状通过权重之后再行分类,也将孔雀草亲缘关系较近的自交系分离开来,并且分类结果与IS-SR分类结果一致;唐道成等^[2]对71个万寿菊品种(品系)的4个主要观赏性状进行了遗传聚类分析认为,利用系统聚类分析法评价品种(品系)观赏性

状的优劣,具有很强的可靠性和真实性。但所选取的表型性状较少,且孔雀草材料数量偏少,难以全面反映现阶段我国栽培的孔雀草品种资源遗传变异情况。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本试验所用的40份孔雀草种质分别来自不同国家及地区(表1),其中,进口品种12个,国产品种14个,自选自交系14份。

表1 孔雀草种质及来源

Table 1 *Tagetes patula* germplasms and their origins

编号 Code	名称 name	花色 Flower color	来源 Origin	编号 Code	名称 name	花色 Flower color	来源 Origin	编号 Code	名称 name	花色 Flower color	来源 Origin
1	P06-1	深橙色	中国杭州	15	英雄-CH	橙色	中国赤峰	29	P09-1	红色	中国杭州
2	P06-2	深橙色	中国杭州	16	鸿运	黄色	美国	30	PF07-1	橙色	中国杭州
3	沙发瑞	橙色	美国	17	沙发瑞	黄色	美国	31	P09-2	橙芯红色	中国杭州
4	杰妮	深橘红色	美国	18	小英雄	黄色	德国	32	P10-1	橙红	中国杭州
5	鸿运	橙色	美国	19	水星	黄色	中国赤峰	33	P07-3	黄色	中国杭州
6	珍妮	橘红色	美国	20	木星	黄色	中国赤峰	34	P07-4	橙色	中国杭州
7	英雄-OR	橙色	德国	21	火星	黄色	中国赤峰	35	A2010-H	橙色	中国杭州
8	小英雄	橙色	德国	22	迪阿哥	黄色	中国赤峰	36	J2010-H	深橘红色	中国杭州
9	金门	橙色	中国赤峰	23	金门	黄色	中国赤峰	37	LH-1	黄色	中国杭州
10	迪阿哥	橙色	中国赤峰	24	珍妮	黄色	中国赤峰	38	H10-1	橙色	中国杭州
11	珍妮	橙色	中国赤峰	25	鸿运	橙芯红色	中国赤峰	39	P07-5	黄色	中国杭州
12	水星	橙色	中国赤峰	26	英雄	黄色	德国	40	LH-2	橙色	中国杭州
13	木星	橙色	中国赤峰	27	杰妮	黄色	美国				
14	火星	橙色	中国赤峰	28	迪阿哥蜜蜂	复色	美国				

1.2 方法

1.2.1 试验设计 2013年1月30日播种,200孔穴盘,温室育苗,2013年3月5日移植,直径14cm的塑料盆,每盆1株,盆土为园土、泥炭、垄糠灰(体积比2:1:1)混合物,盆间距15~20cm。试验在钢管塑料大棚(7m×50m)中进行,3次重复,随机区组排列,每份种质小区60株,共180株。从始花期开始,每小区随机选取5株(15株/品种)观察记载各性状表现。

1.2.2 性状调查 调查性状共18个,其中数量性

状包括株高、冠幅、主茎分枝、复叶长、复叶宽、叶柄长、复叶小叶数、始花时间(第1朵花露色时间)、盛花时间(单株累计5朵花开放的时间)、单朵花花期(从露色到谢花所持续的时间)、花朵直径、花朵纵径、花柄长及花数(盛花期连续统计3次,1次/周的平均花数及最多花数),除生育期外,均在盛花期用直尺测量或目测,其中复叶大小是指完全开放花朵下部第1对叶片大小,测3片/株;质量性状包括叶色、花色和花型,以群体目测的方法进行观察,并以编码的方式分级转换成数量形式(表2)。

表2 孔雀草质量性状描述与分级

Table 2 Description and grouping of qualitative characters of *Tagetes patula*

编号 Code	性状 Trait	分级 Group						
		1	2	3	4	5	6	7
1	叶色 Leaf color	浅绿	中绿	深绿				
2	花色 Flower color	浅黄	黄色	浅橙色	深橙色	红色	复色	橙芯红色
3	花型 Flower shape	重瓣不露芯	重瓣露芯					

1.2.3 数据处理及计算方法 记载数据在 Excel 中进行整理,计算各数量性状的最大值、最小值、平均值、标准差(s)及变异系数(CV , coefficient of variation),并对各性状进行 10 级分类,1 级 $< X - 2s$, 10 级 $\geq X + 2s$, 中间每级差 $0.5s$ (X 为群体性状平均值, s 为标准差),采用 Shannon-Weaver 多样性指数 ($I = -\sum P_i \ln P_i$, P_i 为某性状第 i 级出现的频率)反映品种群体的表型遗传多样性状况^[3-9]。

1.2.4 主成分分析 采用 SPSS Statistics 17.0 软件进行主成分分析。对原始数据进行标准化处理,根据各主成分特征向量计算各主成分值 F_n (第 n 个主成分值);再以每个主成分所对应的特征值占所提取主成分总的特征值之和的比例作为权重计算综合主成分值 F ,并对综合主成分值进行排序。

1.2.5 聚类方法 运用 DPS v7.05 软件,按照欧氏距离、类平均法(UPGMA)进行系统聚类,绘制树状

聚类图。

2 结果与分析

2.1 表型变异及多样性

通过对 40 份孔雀草种质表型变异分析发现(表 3),不同种质间各性状表现均存在一定的差异,其中冠幅极差达到 32.42 cm,盛花期极差达到 31.15 d。变异系数(CV 值)变化范围 3.92% ~ 46.25%,其中最大的是花朵数,其次是株高和冠幅, CV 值分别达到了 35.34%、36.23%,说明种质间在花朵数及生长势上差异较大; CV 值最小的是播种至始花所需时间,但始花至盛花时间 CV 值达 22.67%,说明不同种质间始花期比较稳定,但始花后植株开花速度差异较大。多样性指数则以叶片性状及花性状较高,平均 2.0 以上,多样性丰富。可见,变异系数大的性状,多样性指数并不一定高。

表 3 孔雀草资源数量性状变异及多样性

Table 3 Quantitative traits variation and Shannon-Weaver diversity index of *Tagetes patula* germplasm

性状 Trait	最大值 Max.	最小值 Min.	极差 Range	平均值 Mean	标准差 s	变异系数(%) CV	多样性指数 I
株高(cm) Plant height	23.30	4.50	18.80	9.65	3.41	35.34	1.84
冠幅(cm) Crown diameter	40.60	8.18	32.42	16.92	6.13	36.23	1.76
主茎分枝 Plant Branch	5.00	2.00	3.00	3.35	0.63	18.93	2.02
复叶长(cm) Fronds length	8.47	2.80	5.67	5.14	1.16	22.49	2.02
复叶宽(cm) Fronds width	4.90	1.57	3.33	3.06	0.73	23.73	2.00
叶柄长(cm) Petiole length	1.74	0.73	1.01	1.08	0.21	18.97	1.97
复叶小叶数 Leaf number	8.90	5.33	3.57	7.51	0.82	10.89	1.81
始花时间(d) Flowering time	74.60	66.00	8.60	69.62	2.73	3.92	1.88
盛花时间(d) Blooming time	52.75	21.60	31.15	32.82	7.44	22.67	1.95
单朵花花期(d) Single flower blooming	23.00	16.20	6.80	19.93	1.66	8.31	2.01
平均花数 Average flower number	8.20	1.27	6.93	3.75	1.74	46.25	1.91
最多花数 Most flowers	9.60	1.80	7.80	4.78	2.01	41.96	1.79
花柄长(cm) Flower stalk length	4.19	1.67	2.52	2.82	0.59	20.90	2.05
花朵直径(cm) Flower diameter	5.69	3.10	2.59	4.34	0.61	14.00	2.01
花朵纵径(cm) Flower Longitudinal diameter	3.92	2.77	1.15	3.38	0.27	8.06	2.00

40 份孔雀草种质质量性状多样性指数以花色较大(表 4),为 1.53,多样性较为丰富,其中以橙色花比例最高为 60%。

不同来源地孔雀草种质间表型多样性存在一定差异(图 1),平均多样性指数以国内种质更高,多样性丰富,来自美国的其次,来自德国的最低,说明我国利用不同来源的进口种质进行杂交和选育,培育出的种质多样性更为丰富。

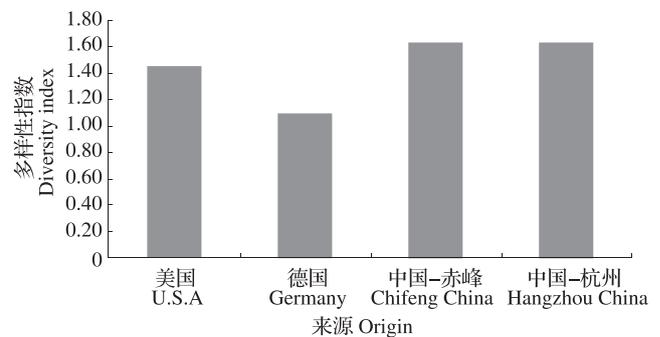


图 1 不同来源孔雀草资源多样性指数

Fig. 1 Shannon's index of *Tagetes patula* germplasm in various origin

2.2 主成分分析

按照主成分对应的特征值大于1的原则,提取4个主成分,累计贡献率达78.949%(表5),这4个主成分提供了表型性状的主要信息。第1主成分的特征值9.192,方差贡献率最大,达51.065%,占主导地位;其中以复叶长、复叶宽、冠幅、株高、平均花数、最多花数等的特征向量较大,且均为正值,说明叶片越大,植株长势越强,花朵数越多,与表型变异分析结果相符,可概括为长势因子及花数因子。第2主成分方差贡献率12.660%,其中花型的特征向

量为最高的正值,单朵花花期为较高的负值,说明花朵重瓣性越好,其观赏期越长,可概括为花型因子及观赏期因子。第3主成分方差贡献率9.072%,特征向量以花色、叶色较高,分别达到0.5355、0.4869,说明随着花色从黄色→橙色→红色变化,叶色也逐渐加深,可概括为颜色因子。第4主成分方差贡献率仅占6.153%,其中主茎分枝特征向量最高,反映的是植株的紧凑性,可概括为株型因子。

表4 质量性状多样性指数

Table 4 Qualitative traits and Shannon-Weaver diversity index of *Tagetes patula* germplasm

性状 Trait	频率分布(%) Frequency distribution							多样性指数 <i>I</i>
	1	2	3	4	5	6	7	
叶色 Leaf color	20.0	50.0	30.0					1.03
花色 Flower color	5.0	25.0	22.5	37.5	2.5	2.5	5.0	1.53
花型 Flower shape	70.0	30.0						0.61

表5 入选主成分的特征值、贡献率及特征向量

Table 5 The Eigenvalue, contribution rate and eigenvector of selected principal component

性状 Trait	主成分特征向量 Eigenvector of the principal component			
	1	2	3	4
株高 Plant height	0.3025	0.0602	-0.0562	0.1839
冠幅 Crown diameter	0.3045	0.0494	-0.1288	0.0637
主茎分枝 Plant Branch	0.1450	-0.3193	0.2047	0.4903
复叶长 Fronds length	0.3180	0.0193	0.0086	-0.1556
复叶宽 Fronds width	0.3047	-0.0424	-0.0266	-0.2564
叶柄长 Petiole length	0.2626	0.1133	0.1513	0.0425
复叶小叶数 Leaf number	0.2304	0.1815	-0.2050	-0.2678
始花时间 Flowering time	0.2446	0.2101	-0.0300	0.3858
盛花时间 Blooming time	-0.2370	0.1850	-0.1991	0.1610
单朵花花期 Single flower blooming	-0.0391	-0.5213	-0.1395	-0.2191
平均花数 Average flower number	0.2867	-0.1899	0.1208	-0.1299
最多花数 Most flowers	0.2863	-0.2019	0.1426	-0.1397
花柄长 Flower stalk length	0.2685	0.0875	-0.1264	-0.0191
花朵直径 Flower diameter	0.2323	0.1749	-0.3577	0.1912
花朵纵径 Flower Longitudinal diameter	0.2115	-0.1641	-0.2837	0.1696
叶色 Leaf color	0.1548	0.1010	0.4869	-0.3136
花色 Flower color	0.0445	-0.0122	0.5355	0.3488
花型 Flower shape	-0.0204	0.5843	0.1719	-0.1158
特征值 Eigenvalue	9.1920	2.2790	1.6330	1.1080
方差贡献率(%) Variance contribution rate	51.0650	12.6600	9.0720	6.1530
累计贡献率(%) Cumulative contribution rate	51.0650	63.7250	72.7960	78.9490

按照各主成分特征值和相应的特征向量及种质各性状的标准化值,计算出 40 份种质的第 1 到第 4 主成分值($F_1 \sim F_4$)及综合主成分值 F ,并按 F 值从大到小的顺序排列。综合主成分值 F 值越大,植株

生长势越强、花朵数越多;但各种质均有各自特点。根据上述评价标准,综合各主成分值并结合实践经验,筛选出综合表现较好的种质 10 份(表 6)。

表 6 筛选孔雀草种质主成分值

Table 6 The math of principal component of screened *Tagetes patula* germplasm

编号 Code	主成分值 Math of principal component				
	F_1	F_2	F_3	F_4	F
13	2.3070	-0.4917	-1.5611	-0.0370	1.2310
38	1.8159	-0.3751	-0.1791	1.7098	1.2271
30	1.9410	-0.7160	0.6754	-0.1102	1.2096
2	2.0814	-1.6783	0.1211	0.8816	1.1597
31	1.2669	-1.6563	2.0122	0.0681	0.7904
3	1.1509	1.7775	-1.7352	-0.9304	0.7575
28	0.0655	2.1918	1.9449	0.0984	0.6250
33	0.8614	-0.6198	0.0180	-0.2249	0.4423
26	-0.3492	0.6566	-1.3312	3.0381	-0.0367
7	0.4092	-2.0470	-0.3692	0.3405	-0.0794

2.3 聚类分析

采用欧式平均距离、非加权类平均法(UPGMA)对 40 份孔雀草种质的 18 个表型性状进行聚类。从聚类图(图 2)可知,不同地域来源的孔雀草种质交错分布聚类;产自我国内蒙古的 2 个水星(12、19)品种与其余品种间欧氏距离最远,首先分离出来成为一大类群,其植株相对高大,叶片大,生长势强;其余 38 份种质聚为一大类群,这与主成分分析结果一致。在欧氏距离阈值为 6.0 处,又可将 38 份种质划分为 2 个类群,第 I 类群包括 2 份种质鸿运橙芯红色(25)和 P09-1 红色(29),它们在花色上与其余种质间差异较大,生长势仅次于水星品种;其余 36 份资源聚为第 II 类群。在欧氏距离阈值为 5.4 处,进一步将第 II 类群分为 2 个亚类(A、B),A 亚类包含 10 份资源,其中 8 份为黄色,2 份橙色,其生长势相对较弱,植株较矮;B 亚类包含 26 份资源,以橙色为主,其中 11 份自交系,7 份进口,8 份国产,此亚类中生长势较弱的杰妮深橘红(4)、J2010-H(36)、珍妮橘红色(6)、珍妮橙色(11)、英雄橙色(15)以及火星橙色(14)首先聚在一起;生长势相对较强、株型较大的鸿运橙色(3)和迪阿哥橙色(10)也首先聚在一起;7 份来自同一亲本的自交系首先聚在一起。以上结果表明,生长势(株型)和花色可作为区

分孔雀草种质的主要性状。

3 讨论

利用表型性状研究植物的遗传变异具有简便易行及快速等优势,因此长期以来,植物种质资源的分类、鉴定及育种材料的选择通常是依据表型性状来开展的^[10-17]。本研究通过调查分析 40 份不同基因型孔雀草种质的 18 个表型性状,明确了种质间各性状的差异性表现及其亲缘关系,利用主成分分析筛选主导性状,并对 40 份种质进行综合评价,为今后孔雀草的亲本选配和育种材料的选择与利用提供了依据。

研究结果显示,孔雀草种质间性状表现差异较大,尤其是花朵数、株高及冠幅,其变异系数最大,这可能与其在华东地区春季栽培适宜性有关;表型变异丰富,尤其是数量性状,如叶片性状及花性状平均多样性指数 2.0 以上,多样性丰富。变异系数的变化与多样性指数的变化趋势并不一致,即变异系数大的性状,多样性指数并不一定高,这与刘金等^[4]在小扁豆上、王海平等^[11]在中国大蒜上及本课题组在一串红^[18]上的试验结果一致。国内种质虽来源于国外,但经不同环境驯化及多年的创新与筛选,其多样性较国外种质更为丰富。

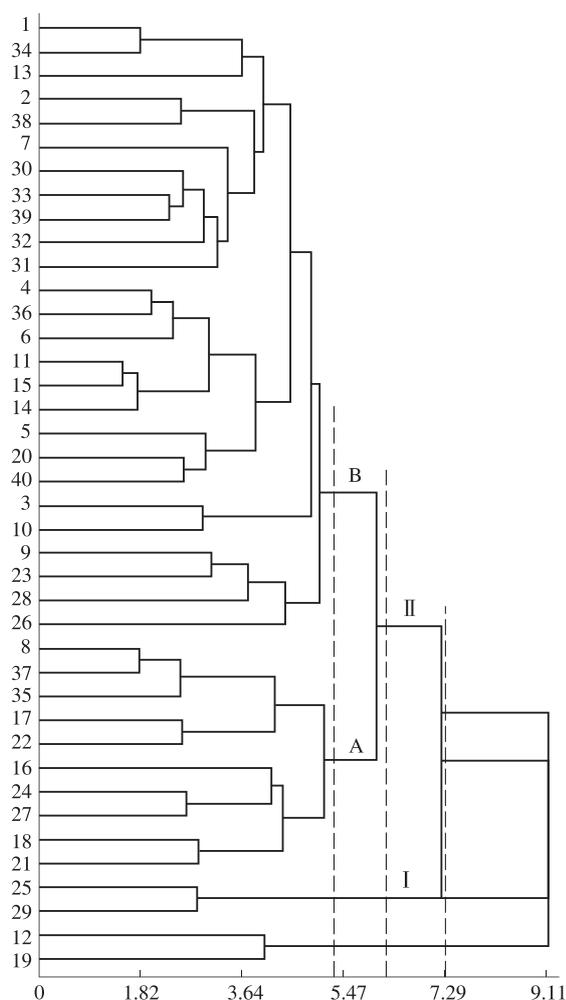


图2 40份孔雀草资源聚类分析

Fig.2 Dendrogram of 40 *Tagetes patula* germplasm

本研究基于18个表型性状进行了主成分分析,获得4个主成分6个主成分因子,其中长势因子与花数因子在第1主成分,并占主导地位,与其性状变异分析结果相符;第2主成分为花型因子及观赏期因子,这与孔雀草是观赏植物,春季栽培中在关注生长势及花数的同时,兼顾花型及观赏期的目标相吻合。通过各主成分值综合评价了各种质的优劣,同时结合生产实际,筛选出10份在春季栽培中综合表现较好的种质,为其栽培利用及育种工作中亲本的选择提供参考。

本研究的聚类结果显示,生长势(株型)和花色是区别孔雀草种质的主要指标,与表型变异及主成分分析结果一致。与齐迎春等^[1]研究认为花型和材料来源是孔雀草分类重要依据的结果并不完全一致,这与所用的材料(数目与来源)、考查的指标不同有关。本研究还观察到,不同地域来源的孔雀草

种质交错分布聚类,没有较明显的地理位置规律性,这与孔雀草种质在不同国家和地区之间引种的频繁流动性有关,导致种质间的遗传差异与地域来源之间没有必然的联系;也可以发现表型聚类的结果与品种(系)的系谱基本吻合,如杰妮橙色(4)与其自交选系 J2010-H(36),小英雄橙色(8)与其自交选系 LH-1(37),以及来源于同一亲本的多个自交系如 P07-3(33)、P07-5(39)、PF07-1(30)、P10-1(32)、P09-2(31)等各自相应的聚在一起。这些聚类结果与我们利用 SRAP 进行遗传多样性分析的结果也基本一致^[19],同时也进一步说明表型性状虽存在表型数量有限,易受到生物发育阶段、环境条件影响等诸多缺点,但仍不失为评价种质多样性及遗传距离的重要手段。当然,表型性状与分子水平的评价相结合将有利于更深入地了解孔雀草资源的亲缘关系和遗传背景。

根据本研究结果,在孔雀草资源分析与利用中,依据表型性状进行直观的选择时,首先应从生长势、花朵数等性状入手;其次,在关注花色的同时,选择观赏期长、花型好的材料;同时,注重选择分枝性好、株型紧凑的优良材料。

参考文献

- [1] 齐迎春, 宁国贵, 包满珠. 应用 ISSR 分子标记和表型性状评价孔雀草自交系的遗传关系[J]. 中国农业科学, 2007, 40(6): 1236-1241
- [2] 唐道城, 唐楠, 唐新桥. 万寿菊资源观赏性状的遗传聚类分析[J]. 青海大学学报: 自然科学版, 2008, 26(5): 45-47
- [3] 王述民, 曹永生, Redden R J, 等. 我国小豆种质资源形态多样性鉴定与分类研究[J]. 作物学报, 2002, 28(6): 727-733
- [4] 刘金, 关建平, 徐东旭, 等. 小扁豆种质资源形态标记遗传多样性分析[J]. 植物遗传资源学报, 2008, 9(2): 173-179
- [5] 刘志斋, 郭荣华, 石云素, 等. 中国玉米地方品种核心种质花期相关性状的表型多样性研究[J]. 中国农业科学, 2008, 41(6): 1591-1602
- [6] 陈秀萍, 黄爱萍, 蒋际谋, 等. 牝牡属植物4个种的花序性状多样性研究[J]. 植物遗传资源学报, 2010, 11(6): 709-714
- [7] 胡建斌, 马双武, 简在海, 等. 中国甜瓜种质资源形态性状遗传多样性分析[J]. 植物遗传资源学报, 2013, 14(4): 612-619
- [8] 刘声传, 段学艺, 赵华富, 等. 贵州野生茶树种质资源生化多样性分析[J]. 植物遗传资源学报, 2014, 15(6): 1255-1261
- [9] 马艳明, 范玉顶, 李斯深, 等. 黄淮海区小麦品种(系)品质性状多样性分析[J]. 植物遗传资源学报, 2004, 5(2): 133-138
- [10] 陈灵芝, 马克平. 生物多样性科学: 原理与实践[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2001
- [11] 王海平, 李锡香, 沈镛, 等. 基于表型性状的中国大蒜资源遗传多样性分析[J]. 植物遗传资源学报, 2014, 15(1): 24-31
- [12] 郭宁, 杨树华, 葛维亚, 等. 新疆天山山脉地区疏花蔷薇天然居群表型多样性分析[J]. 园艺学报, 2011, 38(3): 495-502
- [13] 刘新龙, 马丽, 蔡青, 等. 云南甘蔗品种表型性状的遗传多样性分析[J]. 植物遗传资源学报, 2010, 11(6): 703-708
- [14] 张彩霞, 明军, 刘春, 等. 岷江百合天然群体的表型多样性[J]. 园艺学报, 2008, 35(8): 1183-1188

(下转 1127 页)