

赵胜杰,周灵焱,尚建立,等. 基于 SSR 标记的中国西瓜地方品种资源遗传多样性分析[J]. 江苏农业科学,2016,44(9):61-63.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.09.017

基于 SSR 标记的中国西瓜地方品种资源遗传多样性分析

赵胜杰¹,周灵焱²,尚建立¹,高磊¹,路绪强¹,何楠¹,刘文革¹

(1. 中国农业科学院郑州果树研究所,河南郑州 450000; 2. 河南农业大学,河南郑州 450002)

摘要:利用 16 对多态性 SSR 引物分析了 52 份中国西瓜地方品种的遗传多样性。共扩增出 42 种基因型,基因型数 2~5 种不等,平均 2.63 个,平均多态性信息量(PIC)为 0.31,变化范围为 0.16~0.47。52 个品种遗传相似系数为 0.288~1.000,平均 0.652,在相似系数 0.69 处,供试品种可分为 6 大群。品种的聚群与地理来源和地理环境关系不大。

关键词:西瓜;地方品种;SSR;遗传多样性

中图分类号: S651.03 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)09-0061-03

地方品种是指未经现代育种技术改良修饰,仅在长期栽培过程中由自然和人工选择形成的农家品种。中国西瓜地方品种在 20 世纪 50、60 年代被广泛种植,通常表现田间生长旺盛,稍难坐瓜,果型大,成熟晚,皮厚,种子大,含糖量低,可溶性固形物含量仅 6%~9%,品质较差。但地方品种对属地自然条件、栽培传统具有高度适应性,拥有丰富的遗传变异,也具有一些有益于品种改良的优良性状,如特殊的抗性、生态适应性、优良品质性状等,是现代生物学和育种研究的重要基因资源,也是西瓜品种选育的基本材料,生产上应用的许多优良西瓜品种都是从本地种质材料中选育出来的。有关我国西瓜地方品种的研究较少,主要集中在田间农艺性状和生物学特

性考察方面。尚建立等以我国西瓜、甜瓜种质资源中期库内 1 200 份西瓜种质为材料(包含了我国绝大部分地方西瓜资源),通过 2~3 年的数据对果实重量、果肉颜色、中心糖、种子千粒质量等 12 项主要植物学性状进行了遗传多样性和相关性分析^[1]。朱金英等对山东德州西瓜地方品种喇嘛、三白果实可溶性糖、维生素 C、可滴定酸的积累规律进行了研究^[2],陶士会等则对这 2 个品种苗期耐低温特性进行了研究,发现三白、喇嘛 SOD、POD、CAT 和 APX 酶活性始终高于对照品种京欣 1 号,表明三白、喇嘛西瓜品种幼苗在低温胁迫下具有更强的细胞膜保护能力^[3]。本研究拟利用核心 SSR 标记对我国部分西瓜地方品种资源进行遗传多样性和亲缘关系分析,以期为我国地方西瓜资源的科学评价和高效利用奠定基础。

收稿日期:2015-07-25

基金项目:中国农业科学院科技创新工程专项(编号:CAAS-ASTIP-2015-ZFRI);现代农业产业技术体系建设专项(编号:ARS-26-03);国家科技支撑计划(编号:2012BAD02B00)。

作者简介:赵胜杰(1979—),男,河南临颍人,硕士,副研究员,主要从事西瓜育种研究。E-mail:zhaoshengjie@caas.cn。

通信作者:刘文革,博士,研究员,主要从事西瓜育种和生物技术研究。E-mail:liuwenge@caas.cn。

时添加的植物生长调节剂种类和浓度差异较大,在进行百合工厂化大规模育苗时,须根据所使用百合的种类,筛选出适宜的植物生长调节剂种类及浓度组合。研究结果还表明,愈伤组织在不同时期的增长量及生长情况对于后期大规模诱导再分化出不定芽直至生产组培苗具有至关重要的影响。

参考文献:

- [1] 李黛,曾艳玲,魏福伦. 淡黄百合的离体保存[J]. 贵阳学院学报:自然科学版,2006,1(3):45-47.
- [2] 杨晶,商万有. 百合的药用价值研究[J]. 吉林农业,2011(7):271.
- [3] 周春华,尤超,陈凝华. 百合组织培养研究进展[J]. 北方园艺,2013(14):193-195.
- [4] 袁丽丽,刘青林. 从第二届国际百合属研讨会看世界百合研究趋

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料均来自国家西瓜甜瓜种质资源中期库,共计 52 份(表 1)。

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取 每份材料取 20 粒种子,破壳催芽后置于

势[J]. 中国花卉园艺,2010(22):13-15.

- [5] 杨春起,李邱华. 东方百合和亚洲百合鳞片组培试验[J]. 中国花卉园艺,2007(12):40-41.
- [6] 刘芬,王发林. 兰州百合花丝组培诱导完整植株的研究[J]. 甘肃农业科技,2001(6):29-30.
- [7] 申玉华,段永平,李超,等. 西伯利亚百合花托的组织培养与离体快繁[J]. 江苏农业科学,2009(2):79-80,87.
- [8] 李黛,谈锋,祝顺琴. 淡黄花百合的组织培养[J]. 种子,2005,24(9):27-29.
- [9] 郭海滨,雷家军. 卷丹百合鳞片及珠芽组织培养研究[J]. 农业生物技术学报,2006,22(2):72-74.
- [10] 周晓波,吴艺飞,丁苗蕙. 卷丹百合脱毒快繁技术研究[J]. 中国农学通,2012,28(31):201-205.
- [11] 张文娥,潘学军,胥青青,等. 贵州野生淡黄花百合离体快繁研究[J]. 安徽农业科学,2008,36(14):5770-5772,5827.

表 1 供试品种

编号	品种名	来源	编号	品种名	来源
1	皮牙孜奎克	新疆	27	黑皮	安徽
2	吐白皮西瓜	新疆	28	小钢皮	安徽
3	吐花皮西瓜	新疆	29	胎里红	山东
4	大红籽	新疆	30	沂南蜜	山东
5	阿克柯孜外	新疆	31	鸡爪瓜	新疆
6	阿拉克孜外	新疆	32	宿县小籽	安徽
7	小籽葫芦	新疆	33	尉氏西瓜	河南
8	恰儿塔吾孜	新疆	34	青抱筋	河北
9	兰州花皮	甘肃省	35	鸡头黑西瓜	上海
10	陕西红籽	陕西省	36	早密矮	新疆
11	喇嘛瓜	山东省	37	吐黑皮	新疆
12	黑油皮	河南省	38	塔车红	新疆
13	梨皮	山东省	39	鸡爪灰	安徽
14	透心红	辽宁省	40	马楞	安徽
15	宁县西瓜	陕西省	41	温岭西瓜	山东
16	钢皮	安徽省	42	冻瓜	河南
17	桃尖	山东省	43	偃师一号	河南
18	阜阳 3 号	安徽省	44	花皮瓜	安徽
19	阿克塔吾孜	新疆	45	小青皮	新疆
20	小红籽	新疆	46	卡拉夏伯克	新疆
21	奎克塔吾孜	新疆	47	小麻籽	河南
22	卡拉塔吾孜	新疆	48	金瓜	开封
23	马洒河	山东省	49	平湖马铃	浙江
24	核桃纹	山东省	50	广州花皮	广东
25	黑皮西瓜	新疆	51	顶心红	辽宁
26	阜阳 1 号	安徽省	52	黑崩筋	北京

装有细沙的培养盒中,在 25 ℃ 人工发芽箱中培养 10 d,CTAB 法提取新鲜嫩叶的基因组 DNA。

1.2.2 SSR 引物筛选 以 23 对西瓜核心 SSR 引物和 7 对核心扩展引物,以及笔者所在课题组开发的 2 对 EST-SSR 作为候选引物,由上海博彩生物科技有限公司合成。

1.2.3 PCR 扩增及电泳 扩增反应体系的总体积为 10 μL,含有 1 μL 10×PCR buffer、0.8 μL 2.5 mmol/L dNTP、0.1 μL 的 *Taq* DNA 聚合酶(5 U/μL)、10 μmol/L 的正反引物各 0.5 μL 和 20 ng 模板 DNA。扩增反应程序为:94 ℃ 预变性 4 min;94 ℃ 变性 20 s,55 ℃ 复性 20 s,72 ℃ 延伸 90 s,35 个循环;72 ℃ 延伸 5 min。扩增产物经 6% 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳,银染染色,拍照并记录结果。

1.2.4 数据统计与分析 统计分子量在 100~320 bp 的条带,相同迁移位置有带记为 1,无带记为 0。多态性信息量(polymorphism information content) *PIC* 值的计算公式: $PIC = 1 - \sum f_i^2$,其中 f_i 为 i 位点的基因频率。先根据扩增结果计算引物的等位位点数及频率,然后利用软件计算 *PIC* 值。采用 NTSYS-pc V 2.10 软件进行聚类分析 SimQual 程序求 Jaccard 相似系数,SHAN 程序中的 UPGMA(未加权平均法)进行聚类分析,并通过 Treeplot 模块生成聚类图。

2 结果与分析

2.1 SSR 标记多态性分析

从参试的 32 对候选引物中选择稳定性强、具多态性的 16 对引物用于品种 DNA 指纹分析(表 2)。16 对多态性引物

表 2 SSR 引物序列

编号	FORWARD 5'→3'	REVERSE 5'→3'
BVWS00208	GCAAAGATTGTCATGAAGCAGCA	GCTCATGGCTTCTTGAATCTGTT
BVWS01734	AAAATTACATCTTAAATGCGCC	GGAACATTGACTTCAATCAGCA
BVWS00441	TGGTTGAAATCAATAAAAAGTGAA	TGGATGTTTTTGGCATTTGA
BVWS00433	TCTTTTAAGTTTTGAGGGAGAGC	TTCCCAAGCTAGCCTTTTCA
BVWI00170	AACGCACGATAGTTAGAAGG	TGACTAATTAACTACACTCAGACT
BVWS00369	TGAGAAAATGGAAGATGCAAATGA	TTCTTCTCACTCTCTCCTAAGATTTGC
BVWS00209	TGCTTCAAAATCTATTACAAATTTGC	TTCTTGTTTTCGGGTTTCTTTACA
BVWS00333	TGTTGAGATTCTTTGATTTCAACTGT	TGGGTCAAAGTATTTTTGCTTTTT
BVWS01843	CCCCCGCCAAAATTAATAA	CACCCGTGTAAAGGTGGTAA
BVWS02048	TCTGTGTGGATGCAAAATGGT	GCTAATCGAGCCCAGTTACG
BVWS02433	ATTTCTGGCCCCAGTGTAAG	GAACAACGCACACAGTATG
BVWS01358	CCCTATTGCCTATTTTTCTCAA	AAATTTGTGCTCTTCGTGGG
BVWS00358	CATTTCCGTTTCCATTTTCTTCAC	AAGTAACATCAAGCAGTTCGCCAT
BVWS00131	GGGATCTGATCAGGTATCTGCAAG	TGTTTTGTGTTGTACCTCACTCACA
GD2	CCATTAGCGCGTGAGGTGT	CTCCCCGTGGGTGATTGA
GD21	TCCGATCTAGGCCGAAGGT	GCTCAGGAGGGAGTTTACG

共扩增出 42 种基因型,基因型数 2~5 种不等,平均 2.63 个,平均多态性信息量(PIC)为 0.31,变化范围为 0.16~0.47。以引物 BVWS00433 最高,引物 BVWS02433 最低(表 3)。

2.2 聚类分析结果

根据 16 对引物扩增数据,采用 UPGMA 法进行聚类分析,建立树状聚类图(图 1)。

供试品种间遗传相似系数为 0.288~1.000,平均 0.652,阿拉克孜外(6)和小籽葫芦(7)相似系数最小,黑皮(27)和温岭西瓜(41)、梨皮(13)和钢皮(16)、阜阳 1 号(26)和偃师

表 3 引物扩增基因型数及 *PIC* 值

引物编号	基因型数	<i>PIC</i> 值	引物编号	基因型数	<i>PIC</i> 值
BVWS00208	2	0.26	BVWS01843	2	0.33
BVWS01734	2	0.32	BVWS02048	3	0.40
BVWS00441	2	0.32	BVWS02433	2	0.16
BVWS00433	5	0.43	BVWS01358	2	0.23
BVWI00170	2	0.25	BVWS00358	2	0.31
BVWS00369	3	0.40	BVWS00131	2	0.18
BVWS00209	3	0.39	GD2	2	0.34
BVWS00333	4	0.47	GD21	4	0.26

一号(43)、鸡爪灰(39)和冻瓜(42)无法区分。在相似系数 0.69 处,供试材料可分为 6 大群,皮牙孜奎克(1)、塔车红(38)、小钢皮(28)、卡拉夏伯克(46)为第 1 群;大红籽(4)、阿克塔吾孜(19)为第 2 群;吐白皮西瓜(2)、小红籽(20)、吐黑皮(37)、吐花皮西瓜(3)、卡拉塔吾孜(22)、宿县小籽(32)、早密矮(36)、恰儿塔吾孜(8)、鸡爪瓜(31)、沂南蜜(30)为第 3 群;阿克柯孜外(5)、花皮瓜(44)、阿拉克孜外(6)、奎克塔吾孜(21)为第 4 群;小籽葫芦(7)为第 5 群;兰州

花皮(9)、马泗河(23)、胎里红(29)、小青皮(45)、陕西红籽(10)、黑皮(27)、温岭西瓜(41)、梨皮(13)、钢皮(16)、桃尖(17)、鸡头黑西瓜(35)、阜阳 1 号(26)、偃师一号(43)、马楞(40)、鸡爪灰(39)、冻瓜(42)、小麻籽(47)、喇嘛瓜(11)、平湖马铃(49)、宁县西瓜(15)、尉氏西瓜(33)、黑油皮(12)、黑皮西瓜(25)、青抱筋(34)、阜阳 3 号(18)、核桃纹(24)、透心红(14)、顶心红(51)、广州花皮(50)、金瓜(48)、黑崩筋(52)为第 6 群(图 1)。

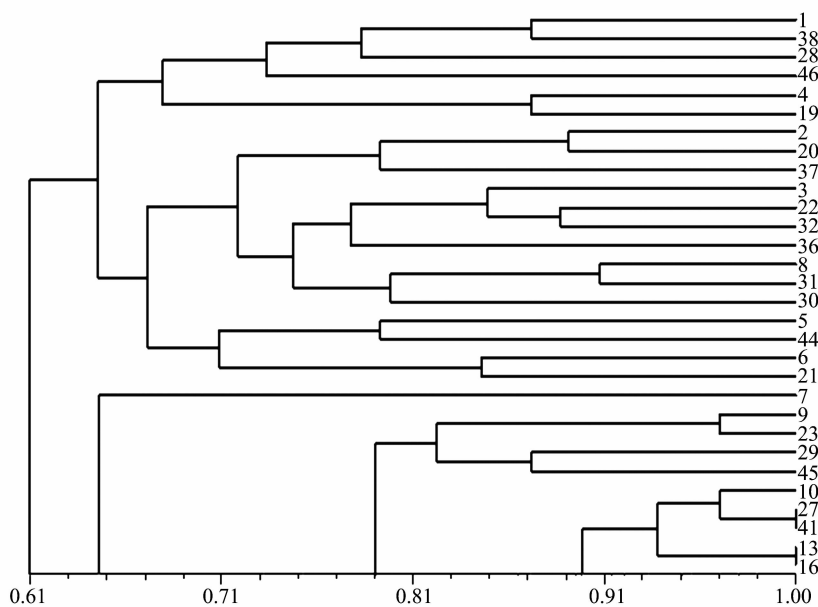


图1 52个品种的聚类分析

3 讨论

本研究利用 16 对多态性 SSR 引物分析了 52 份中国地方西瓜品种资源,数据分析结果表明供试品种间相似系数为 0.288~1.000,平均 0.652,多态性高于选育品种和骨干亲本材料^[4-6]。现代品种选育研究由于单一多次重复使用少数几个骨干亲本材料,造成品种间同质化严重,同时由于过度追求产量和品质,忽视了抗性、适应性选择,很多抗逆性优良基因逐步丢失,给农业生产埋下了巨大风险。西瓜地方品种在我国 20 世纪 50、60 年代被广泛种植,长期的自然和人工选择造就其独特的环境适应性,很多材料具有特殊的抗性和生态适应性,品种间遗传多样性丰富,是扩大我国西瓜品种遗传来源、有益于品种抗性和适应性改良的重要基因资源,今后应加强对地方品种资源的收集和系统研究,使其更好地服务于现代育种工作。

从聚类分析结果可以看出,来源地相同的品种遗传相似性不一定高,如同样来源于南疆的阿拉克孜外和小籽葫芦相似系数最小,既遗传差异最大。来源于新疆的品种分别被聚类到了 6 个群中,显示了新疆西瓜资源具有较高的多样性。河南、山东、浙江、辽宁、陕西、甘肃、广东的品种都聚到了第 6

群,安徽 6 个品种有 4 个聚到第 6 群。单从聚类结果来看,品种的聚群与地理来源和地理环境并未呈现较大的相关性。

参考文献:

- [1] 尚建立,王吉明,郭琳琳,等. 西瓜种质资源主要植物学性状的遗传多样性及相关性分析[J]. 植物遗传资源学报,2012,13(1): 11-15,21.
- [2] 朱金英,贺洪军,王磊,等. 德州西瓜地方品种“喇嘛”和“三白”主要营养物质积累规律的研究[J]. 上海蔬菜,2011(2): 70-72.
- [3] 陶士会,徐光东,张春沂,等. 德州西瓜地方品种三白和喇嘛幼苗耐低温能力研究[J]. 上海蔬菜,2012(2): 79-81.
- [4] 段会军,马峙英,张彩英,等. 西瓜品种间亲缘关系的 AFLP 分析[J]. 河北农业大学学报,2007,30(1): 27-30.
- [5] 李朋飞,霍秀爱,程永强,等. 基于 SRAP 的西瓜种质资源遗传多样性评价[J]. 中国农业科技导报,2013,15(2): 89-96.
- [6] 张爱萍,王晓武,张岳莉,等. 西瓜种质资源遗传多样性的 SRAP 分析[J]. 中国农学通报,2008,24(4): 115-120.
- [7] 苏卫国,郭军,郑佳秋,等. 西瓜与水生蔬菜水旱轮作模式栽培技术要点[J]. 江苏农业科学,2014,42(6): 205-206.