

许兰杰,梁慧珍,余永亮,等.红花农艺性状与 SCoT 标记的关联分析[J].江苏农业科学,2024,52(4):157-162.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2024.04.023

红花农艺性状与 SCoT 标记的关联分析

许兰杰¹,梁慧珍¹,余永亮¹,安素妨¹,杨青¹,李春明¹,董薇¹,李磊¹,王红雨¹

(1.河南省农业科学院芝麻研究中心,河南郑州 450002; 2.河南省卫辉市农业农村局,河南卫辉 453100)

摘要:红花种子富含亚油酸,具有降血脂、美容等功效。获得与红花农艺性状关联的分子标记,将为红花品种分子育种提供技术支撑。基于包含 64 条多态性条带的 19 条 SCoT 标记,利用 STRUCTURE 2.3 软件和一般线性模型进行群体结构分析和关联分析。结果表明,84 份红花种质的 12 个农艺性状变异系数为 9.23%~51.21%,数据呈正态分布。单株种子质量与茎粗、有效分枝总数、单株果球总数、顶果球直径、顶果球着粒数、顶果球着粒质量、顶果球质量和单株果球总质量呈显著正相关,而与第 1 分枝高度呈显著负相关。群体遗传结构分析可将 84 份红花种质划分为 5 个类群,分别包含 11.9、20.9、35 份试验材料。84 份红花种质中有 60 份材料 $Q > 0.6$, 占有供试材料的 71.43%,说明各群体中大部分红花种质亲缘关系比较单一。3 个 SCoT 标记位点与单株总果球数、单株 2 级分枝果球数、单株果球总质量和单株种子质量呈极显著相关($P < 0.01$),各位点对表型变异的解释率在 8.25%~10.93%。

关键词:红花;农艺性状;SCoT 标记;关联分析

中图分类号:S567.21⁺9.03 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2024)04-0157-06

红花种子是菊科植物红花(*Carthamus tinctorius* L.)的干燥成熟果实^[1]。红花种子富含油脂,主要为亚油酸,亚油酸含量高达 73~85%,素有“亚油酸之王”的美誉,同时还含有丰富的维生素和人体必需的氨基酸,具有降血脂和抗血栓等功效^[2-3]。红花种子饼粕是高蛋白制品的优质原料^[4]。1973 年,红花作为油料作物被联合国粮农组织正式列入《联合国粮农组织(FAO)生产年鉴》。红花油被世界公认具有保健、美容功效的功能性食用油^[5-7]。红花在我国已有 2 000 多年的栽培历史和药用历史,具有抗旱、耐碱、耐贫瘠等生长特性,适应性广。我国红花种质资源非常丰富,产地分布广泛,其商业化种植主要集中在新疆、云南、甘肃和河南等^[6-9]。

红花是一种常异花授粉植物,天然异交率为 5%~95%,长期天然杂交产生了大量变异,且变异性状多为数量性状^[10-11]。SCoT 标记作为一种显性标记,已广泛应用于红花的品种鉴定和遗传多样性分析等领域^[12-13]。关联分析(association analysis)把具有多样性的目标性状与基因的多态性位点联合起来,筛选出与目标性状密切相关的基因位点或标记位点,是研究数量性状的重要遗传学方法^[14-16]。本研究以 84 份红花种质所构成的自然群体为基础,对其进行群体结构解析,并寻找与 12 个农艺性状关联的 SCoT 标记位点,将为新品种选育、品质改良及分子标记辅助育种提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究所有材料均来自河南省农业科学院芝麻研究中心药用植物研究室。在红花资源圃中选择具有代表性的 84 份红花品种(包括河南 14 份、新疆 32 份、云南 2 份、辽宁 1 份、安徽 1 份、陕西 1 份、土耳其 2 份、利比亚 3 份、印度 10 份、法国 1 份、阿尔及利亚 1 份、以色列 1 份、前苏联 1 份、罗马尼亚 2 份、肯尼亚 9 份、西班牙 1 份、苏丹 2 份)。84 份种质分别于 2020 年和 2021 年的 10 月 15 日大田播种,翌年 3—4 月单株定植,常规田间管理^[17]。在 2020—2021 年连续 2 年对 84 份红花种质的白平子

收稿日期:2023-04-20

基金项目:国家现代农业产业技术体系建设专项(编号:CARS-21);

河南省重大科技专项(编号:221100310400);中央本级重大增减支项目(编号:2060302);河南省农业科学院自主创新专项基金(编号:2023ZC083);河南省农业科学院新兴学科发展专项(编号:2022XK03、2023XK03);河南省科技攻关项目(编号:222102110379、222102110466、232102110198、232102110243、232102110262)。

作者简介:许兰杰(1982—),女,河南漯河人,博士研究生,副研究员,主要从事红花育种与遗传改良。E-mail:xulanjie18@126.com。

通信作者:梁慧珍,博士,研究员,主要从事中药材遗传育种及品质改良,E-mail:lhzh66666@163.com;余永亮,硕士,副研究员,主要从事中药材遗传育种、区域试验,E-mail:yy1790721@126.com。

产量相关性状进行调查记载。

1.2 试验方法

1.2.1 表型性状的测定 本研究共调查 12 个农艺性状,包括果球性状 8 个(单株总果球数、单株二级分枝果球数、顶果球着粒数、顶果球质量、顶果球直径、单株果球总质量、单株种子质量、顶果球着粒质量)和整体性状 4 个(株高、茎粗、第一分枝高度、单株有效分枝数)。性状测定方法参照许兰杰等的方法^[10],每个品种调查 10 个单株的 12 个农艺性状,求取平均值。将 2 年数据求取平均值,再用平均值计算 12 个农艺性状的变异系数。

1.2.2 DNA 提取 在红花伸长期,每份种质取 5 株中部新鲜叶片,用 TOLOBIO 的快捷无毒植物基因组 DNA 提取试剂盒(货号 36302)提取 84 份红花种质的基因组 DNA。用 1.2% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 质量,带型模糊者重新提取基因组 DNA,样品在 -20 ℃ 保存备用,使用前稀释至 40 ng/μL。

1.2.3 SCoT 引物来源及 PCR 扩增 参照刘新梅等的方法^[18],以 80 条 SCoT 引物为试验对象,对其进行多态性筛选^[19-20]。将筛选出的多态性好、条带清晰的 19 条 SCoT 标记对 84 份红花种质进行扩增。将具有相同迁移率的扩增片段(仅记录清晰、稳定的扩增条带),无带的记为 0,有带的记为 1^[21]。

1.3 数据分析

应用 TASSEL 软件一般线性模型程序,将 84 个红花品种的 Q 值作为协变量,将 12 个农艺性状数据分别对 SCoT 标记变异逐一进行回归分析,确认农艺性状关联位点并计算位点对农艺性状变异的解释率^[16]。

2 结果与分析

2.1 农艺性状描述统计

以 2 年数据的平均数分别对 12 个农艺性状进行调查和统计分析(表 1):12 个性状均表现出广泛的表型变异,变异系数为 9.23% ~ 51.21%,第一分枝高度在品种间变异系数较大,为 51.21%;其次是单株种子质量、单株果球总质量和单株 2 级分枝果球数,分别为 46.62%、45.52% 和 40.93%,其余性状变异系数为 9.23% ~ 31.61%。变异系数反映了 12 个农艺性状在 84 个红花品种间的离散情况,品种间的差异越大越容易在不同基因型间找到与其目标性状关联的标记^[14]。

除单株果球总质量偏度值和峰度值 > 1 外,其余 11 个农艺性状的偏度值和峰度值的绝对值均 < 1(表 1),11 个农艺性状平均值呈连续性分布并符合正态分布,是受多基因控制的数量性状(图 1)。

表 1 12 个农艺性状的描述统计分析

性状	最小值	最大值	平均值	标准差	变异系数(%)	偏度值	峰度值
株高(cm)	77.30	123.00	100.08	10.41	10.41	0.00	-0.19
茎粗(cm)	8.50	14.80	11.17	1.21	10.84	0.20	0.31
第一分枝高度(cm)	4.00	64.00	26.83	13.74	51.21	0.56	-0.35
单株有效分枝数(个)	7.00	21.00	12.07	2.87	23.74	0.61	0.40
单株总果球数(个)	10.00	60.00	33.58	10.01	29.83	0.34	-0.29
单株二级分枝果球数(个)	1.00	42.00	20.36	8.33	40.93	0.27	-0.17
顶果球直径(mm)	18.70	30.30	23.89	2.21	9.23	-0.03	-0.20
顶果球着粒数(个)	11.00	63.00	35.69	10.32	28.92	0.18	0.15
顶果球着粒质量(g)	0.50	2.80	1.49	0.47	31.61	0.26	-0.39
顶果球质量(g)	1.10	4.00	2.36	0.62	26.52	0.20	-0.51
单株果球总质量(g)	15.67	160.00	39.61	18.03	45.52	3.75	23.58
单株种子质量(g)	1.67	37.00	15.56	7.25	46.62	0.37	0.21

相关性分析(表 2)表明,各产量相关性状之间相互影响,相互协同,从而影响红花种子产量。株高与茎粗和第一分枝高度呈显著正相关,有效分枝总数与果球数和二级分枝果球数呈极显著正相关,顶果球直径与顶果球着粒数、顶果球着粒质量和顶果球质量呈极显著正相关;单株种子质量与茎粗、

有效分枝总数、果球总数、顶果球直径、顶果球着粒数、顶果球着粒质量、顶果球质量和单株果球总质量呈显著正相关,而与第一分枝高度呈显著负相关。

2.2 群体结构分析

84 份红花种质在 $K=5$ 时, ΔK 最大,因此在 $K=5$ 的模式下分析红花种质的遗传结构并计算出

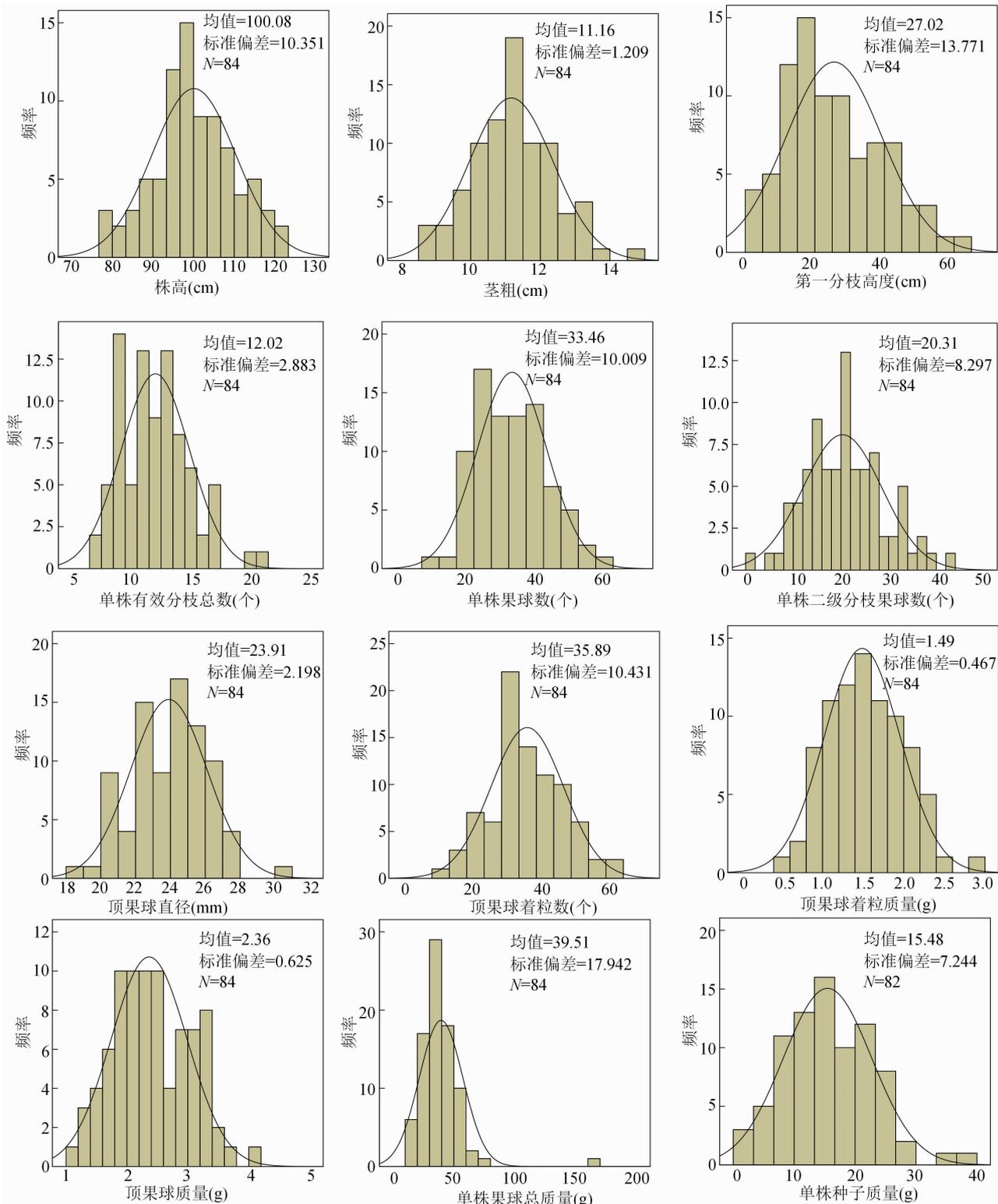


图1 12个产量相关性状的频率分布

5个类群的最大Q值分布(图2)。

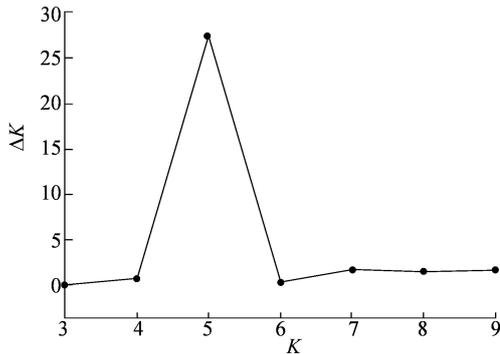
不同的色块代表不同的类群(图3、表3),红色部分为类群I,包含11份材料,其中9份材料来自国外,2份材料来自国内新疆和河南。绿色部分为类群II,包含9份材料,其中5份材料来自国外,4

份材料来自国内新疆和河南。蓝色部分为类群III,包含20份材料,其中7份材料来自国外,10份材料来自国内新疆,3份材料来自国内河南。黄色部分为类群IV,包含9份材料,均来自于国内,其中7份新疆,1份河南,1份安徽。紫色部分为类群V,包含

表2 农艺性状的相关性分析

性状	相关系数										
	株高	茎粗	第一分枝高度	单株有效分枝数	单株总果球数	单株二级分枝果球数	顶果球直径	顶果球着粒数	顶果球着粒质量	顶果球质量	单株果球总质量
茎粗	0.51**										
第一分枝高度	0.22*	-0.20									
单株有效分枝数	0.08	0.40**	-0.76**								
单株总果球数	0.21	0.48**	-0.45**	0.64**							
单株二级分枝果球数	0.23*	0.45**	-0.29**	0.45**	0.97**						
顶果球直径	0.02	0.07	0.02	-0.03	-0.29**	-0.30**					
顶果球着粒数	0.05	0.15	-0.06	0.08	-0.09	-0.12	0.66**				
顶果球着粒质量	-0.05	0.07	-0.05	-0.01	-0.21	-0.23*	0.71**	0.72**			
顶果球质量	0.00	0.14	-0.10	0.03	-0.17	-0.20	0.79**	0.73**	0.88**		
单株果球总质量	0.16	0.43**	-0.31**	0.48**	0.51**	0.46**	0.18	0.16	0.22*	0.27*	
单株种子质量	0.06	0.24*	-0.35**	0.43**	0.22*	0.13	0.39**	0.31**	0.50**	0.56**	0.58**

注：*、** 分别表示显著($P < 0.05$)、极显著($P < 0.01$)相关。

图2 84份红花种质的K值与 ΔK 值的关系

35份材料,其中12份材料来自国外,12份来自新疆,7份来自河南,2份来自云南,1份来自辽宁,1份来自陕西。

群体结构分析中,当某一材料在某类群中的 $Q \geq 0.6$ 时,则认为该材料血缘关系相对比较单一,否则认为该材料血缘关系来源复杂^[23]。 $Q \geq 0.6$ 、 $Q \geq 0.8$ 、 $Q \geq 0.9$ 的红花品种分别占有供试材料的71.43%、28.57%和23.81%,说明5个群体中大部分品种亲缘关系比较单一。N1在5个类群中的Q值分别为0.075、0.022、0.359、0.399和0.145,它们

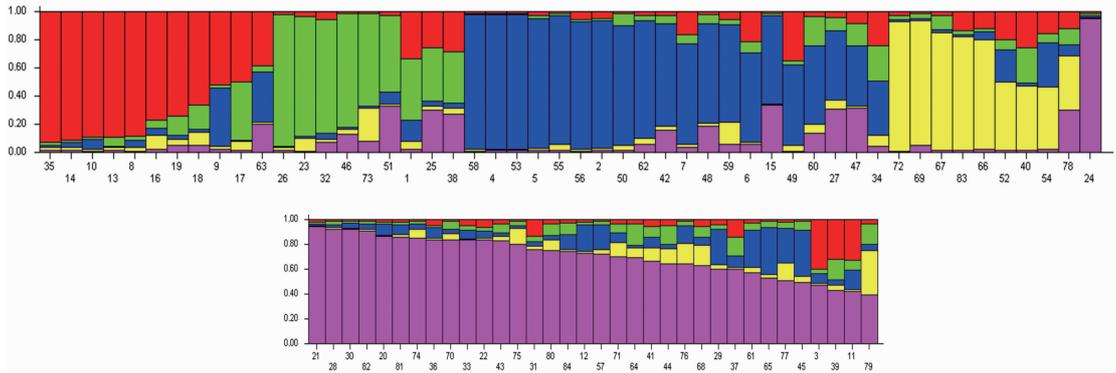


图3 84份红花种质的群体遗传结构分析

的基因都主要来源于类群I和类群II中(表4)。

2.3 SCoT标记与表型性状关联的分子标记位点

将84份红花种质对应的Q值作为协变量,将12个农艺性状的表型变异对SCoT标记位点进行回归分析,寻找与农艺性状相关联的等位变异。结果表明,在0.05水平上,11条引物总共17个位点与8个产量相关性状发生显著性关联,各位点对表型变异

的解释率在4.34%~10.93%。其中,与茎粗相关的SCoT位点有4个,分别是ScoT62、ScoT48、ScoT54和ScoT3;与单株有效分枝总数相关的SCoT位点有2个,分别是ScoT55和ScoT29;与单株总果球数相关的SCoT位点有1个,为ScoT29;与单株二级果球数相关的SCoT位点有3个,分别是ScoT62、ScoT69和ScoT29;与顶果球直径相关的SCoT位点有2个,

表 3 84 份红花种质在各组群中的分布 ($K=5$)

来源	种质数量(份)				
	红色 I	绿色 II	蓝色 III	黄色 IV	紫色 V
土耳其		1			1
利比亚			2		1
印度	4		4		2
法国	1				
阿尔及利亚	1				
以色列	1				
前苏联	1				
罗马尼亚	1				1
肯尼亚		3	1		5
西班牙					1
苏丹		1			1
河南	1	2	3	1	7
新疆	1	2	10	7	12
云南					2
辽宁					1
安徽				1	
陕西					1

表 4 各群体 Q 值分布

类群	各群体品种数量(份)	不同 Q 值品种数量(份)			
		$Q < 0.6$	$0.6 \leq Q < 0.8$	$0.8 \leq Q < 0.9$	$Q \geq 0.9$
I	11	3	3	3	2
II	9	4	1	3	1
III	20	5	6	2	7
IV	9	4	1	3	1
V	30	8	13	9	5

分别是 ScoT55 和 ScoT51; 与顶果球质量相关的 SCoT 位点有 1 个, 为 ScoT65; 与单株果球总质量相关的 SCoT 位点有 2 个, 分别是 ScoT41 和 ScoT36; 与单株种子质量相关的 SCoT 位点有 2 个, 分别是 ScoT65 和 ScoT51(表 5)。

共有 3 个 SCoT 标记位点与 4 个数量性状(单株总果球数、单株二级果球数、单株果球总质量和单株种子质量)在 0.01 水平上显著相关。各位点对表型变异的解释率在 8.25% ~ 10.93%, 解释率最大(10.93%)的 SCoT 位点是 SCoT41; SCoT29 同时与单株总果球数和单株二级分枝果球数显著相关, 对表型的解释率分别为 10.21% 和 8.25%(表 5)。

表 5 与数量性状关联的 SCoT 位点及其对表型变异的解释率

显著水平	ScoT 位点	解释率(%)							
		茎粗	有效分枝总数	果球数	二级果球数	顶果球直径	顶果球质量	单株果球总质量	单株种子产量
0.05	ScoT55		4.94			5.13			
	ScoT62	5.47			4.42				
	ScoT65						6.02		9.31
	ScoT41							10.93	
	ScoT51					6.29			7.28
	ScoT48	5.14							
	ScoT54	5.47							
	ScoT69				4.34				
	ScoT3	4.73							
	ScoT29		7.70	10.21	8.25				
0.01	ScoT36							4.90	
	SCoT29			10.21	8.25				
	SCoT41							10.93	
	SCoT65								9.31

3 讨论

红花种子产量是一个复杂的数量性状, 其构成比较复杂, 与多个性状(单株有效果球数、百粒质量、二级分枝数等)密切相关^[23-24]。赵昕鹏等认为百粒质量、一级分枝数对种子产量影响最大^[23], 而

官玲亮等认为单株有效果球数和单株总果球数对产量的直接影响最大^[24]。单株有效果球数、总果球数、百粒质量与单株种子产量呈正相关^[23-24]。本研究以 84 份红花核心种质为研究对象, 相关分析发现株高与茎粗和第一分枝高度呈显著正相关; 单株有效分枝数与单株总果球数和单株二级分枝果球数

呈极显著正相关。顶果球直径与顶果球着粒数、顶果球着粒质量和顶果球质量呈极显著正相关;单株种子质量与茎粗、单株有效分枝数、单株总果球数、顶果球直径、顶果球着粒数、顶果球着粒质量、顶果球质量和单株果球总质量呈显著正相关,而与第一分枝高度呈显著负相关;其他单株种子质量相关性状间也存在显著或极显著的相关性,说明各产量相关性状之间相互影响、相互协同,从而影响红花单株种子质量。

本研究利用关联分析能够有效地找到与红花 12 个农艺性状关联的标记标点。研究结果可为红花分子标记辅助育种品种提供技术支持。使用筛选出的 19 条 SCoT 引物,共 64 条多态性条带对 84 份红花种质进行多位点扫描分析。本研究在 0.05 水平上,11 个 SCoT 标记与 8 个农艺性状发生显著关联,各 SCoT 标记位点对表型变异的解释率在 4.34%~10.93%;在 0.01 水平上,共有 3 个 SCoT 标记位点与 4 个农艺性状(单株总果球数、单株二级果球数、单株果球总质量和单株种子总质量)显著相关,这可能与果球性状在品种间存在较大程度变异有关,更利于关联标记的发现。

4 结论

综上所述,本研究中 84 份红花种质的 12 个农艺性状变异系数为 9.23%~51.21%,数据呈正态分布。群体遗传结构分析可将 84 份红花种质划分为 5 个类群,分别包含 11、9、20、9、35 份试验材料。3 个 SCoT 标记位点与单株总果球数、单株二级分枝果球数、单株果球总质量和单株种子质量呈极显著相关($P < 0.01$),各位点对表型变异的解释率为 8.25%~10.93%。

参考文献:

- [1]班小军,孙芸,赵翠琴,等.白平子质量标准提升研究[J].中国中医药科技,2019,26(6):865-868.
- [2]梁慧珍,许兰杰,余永亮,等.红花籽油中脂肪酸组成评价与分析[J].食品科学,2021,42(6):244-249.
- [3]周冰,魏全嘉.白平子对血瘀模型大鼠血流变学的实验研究[J].青海医学院学报,2007,28(4):259-261.
- [4]杨玉霞,吴卫,郑有良,等.不同品种(系)红花籽粕营养品质分析[J].中国粮油学报,2008,23(4):174-178.
- [5]袁国弼.红花种质资源及其开发利用[M].北京:科学出版社,1989.
- [6]林寒,李刚,刘虹,等.中国红花种质资源的种类与分布[J].生物资源,2018,40(4):314-320.
- [7]郭丽芬,徐宁生,张跃,等.云南红花种质资源主要农艺性状的遗传多样性分析[J].植物遗传资源学报,2012,13(2):219-225.
- [8]李彬瑞,温晓亮,靳存旺,等.河套灌区红花适宜播种期和密度的研究[J].北方农业学报,2018,46(6):22-26.
- [9]许兰杰,梁慧珍,余永亮,等.我国红花品种特征特性、适应性及栽培技术研究进展[J].中药材,2020,43(8):2037-2041.
- [10]许兰杰,梁慧珍,余永亮,等.河南红花种质资源表型性状的综合评价[J].河南农业科学,2017,46(10):26-31.
- [11]贾东海,王秀珍,侯献飞,等.32份油药兼用红花种质资源表型性状遗传多样性分析[J].新疆农业科学,2020,57(10):1775-1784.
- [12]刘新梅.不同基因型红花种质表型和分子遗传多样性分析[D].郑州:郑州大学,2021.
- [13]Talebi R, Nosrati S, Etminan A, et al. Genetic diversity and population structure analysis of Landrace and improved safflower (*Carthamus tinctorious* L.) germplasm using arbitrary functional gene-based molecular markers[J]. Biotechnology & Biotechnological Equipment, 2018, 32(5):1183-1194.
- [14]冯建英,温阳俊,张瑾,等.植物关联分析方法的研究进展[J].作物学报,2016,42(7):945-956.
- [15]李仁伟,王晨,戴思兰,等.菊花品种表型性状与 SRAP 分子标记的关联分析[J].中国农业科学,2012,45(7):1355-1364.
- [16]Flint-Garcia S A, Thornsberry J M, Buckler IV E S. Structure of linkage disequilibrium in plants[J]. Annual Review of Plant Biology, 2003, 54:357-374.
- [17]杨红旗,许兰杰,董薇,等.河南红花高产高效栽培技术[J].园艺与种苗,2016,36(10):37-38,44.
- [18]刘新梅,梁慧珍,许兰杰,等.红花 SCoT-PCR 反应体系的建立与优化[J].分子植物育种,2022,20(3):895-901.
- [19]Collard B C Y, MacKill D J. Start Codon targeted (SCoT) polymorphism: a simple, novel DNA marker technique for generating gene-targeted markers in plants[J]. Plant Molecular Biology Reporter, 2009, 27(1):86-93.
- [20]查美琴.新疆枸杞和枣种质资源遗传多样性分析[D].乌鲁木齐:新疆农业大学,2016.
- [22]寇淑君,霍阿红,付国庆,等.利用荧光 SSR 分析中国糜子的遗传多样性和群体遗传结构[J].中国农业科学,2019,52(9):1475-1487.
- [23]赵昕鹏,石晓卫,董天宇,等.红花主要农艺性状与单株籽粒产量的相关和通径分析[J].河南师范大学学报(自然科学版),2016,44(6):140-144.
- [24]官玲亮,吴卫,郑有良,等.油用型红花主要农艺性状与单株籽粒产量间的相关及通径分析[J].西南农业学报,2007,20(3):486-491.