

董玲霞, 苏一钧, 戴习彬, 等. 基于 SSR 分子标记的甘薯地上部专用品种遗传多样性分析[J]. 江苏农业学报, 2018, 34(4): 741-746.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2018.04.004

基于 SSR 分子标记的甘薯地上部专用品种遗传多样性分析

董玲霞, 苏一钧, 戴习彬, 王 娇, 唐 君, 赵冬兰, 曹清河

(江苏徐淮地区徐州农业科学研究所/农业部甘薯生物学与遗传育种重点实验室, 江苏 徐州 221131)

摘要: 为明确国内外甘薯主要地上部专用品种的遗传关系, 利用多态性高的 30 对 SSR 分子标记对国内主栽的 16 份材料进行遗传多样性分析。结果显示, 30 对 SSR 分子标记共检测出 169 条多态性条带, 每对引物可获得 2~16 条多态性条带。基于 SSR 分子标记进行聚类分析, 在遗传相似系数为 0.64 处, 将 16 份材料聚为 3 个类群。16 份材料的遗传相似系数在 0.522 至 0.863 之间, 其中观赏甘薯黄金叶与菜用甘薯材料之间的遗传相似系数较低(0.522~0.626), 与鄂菜薯 10 号的遗传相似系数最低(为 0.522); 而菜用甘薯材料之间, 薯绿 1 号和台农 71 遗传相似系数最高, 为 0.863, 遗传差异较小, 薯绿 1 号和鄂菜薯 10 号遗传相似系数最低, 为 0.522, 遗传差异较大。这些信息可为地上部专用品种选育的亲本选配提供参考。

关键词: 菜用甘薯; 观赏甘薯; 菜观兼用甘薯; 遗传多样性; SSR 分子标记

中图分类号: S531.024 文献标识码: A 文章编号: 1000-4440(2018)04-0741-06

Genetic diversity analysis of overground sweetpotato special-purpose varieties based on simple sequence repeats(SSR) markers

DONG Ling-xia, SU Yi-jun, DAI Xi-bin, WANG Jiao, TANG Jun, ZHAO Dong-lan, CAO Qing-he

(Xuzhou Institute of Agricultural Sciences of the Xuhuai District of Jiangsu Province/Key Lab of Biology & Genetic Improvement of Sweetpotato, Ministry of Agriculture, Xuzhou 221131, China)

Abstract: To understand the genetic relationship of main overground sweetpotato special-purpose varieties at home and abroad, 16 varieties were chosen and used for genetic diversity analysis based on simple sequence repeats (SSR) molecular markers. Thirty pairs of markers with high polymorphism were chosen in this study. The results showed that 169 polymorphic loci were detected using the 30 SSR markers, and each primer pair could produce two to 16 polymorphic bands. The 16 tested sweetpotato genotypes could be divided into three groups based on SSR markers when the genetic similarity coefficient was 0.64. The genetic similarity coefficients among 16 accessions varied from 0.522 to 0.863. The genetic similarity coefficients among ornamental sweetpotato Huangjinye and vegetable sweetpotatoes were lower, ranged from 0.522 to 0.626, and the genetic similarity coefficient between Sweet Carolina, and E Caishu No. 10 was the lowest (0.522). Among vegetable sweetpotatoes, the highest genetic similarity coefficient was 0.863 between Shulv No.1 and Tainong No.71, while the lowest genetic similarity coefficient was 0.522 between Shulv No.1 and E Caishu No.10. These showed that the genetic difference was smaller between Shulv No.1 and Tainong No.71, while genetic difference was larger between Shulv No.1 and E caishu No.10. These results would be useful for choosing good parents for

收稿日期: 2017-07-01

基金项目: 徐州市农业科学院科研基金项目(2015004); 江苏省重点研发技术项目(BK20141144); 徐州市科技创新项目(KC16NG058)

作者简介: 董玲霞(1986-), 女, 山东济南人, 硕士, 助理研究员, 从事甘薯种质创新。(E-mail) donglingxia@jaas.ac.cn

通讯作者: 曹清河, (Tel) 0516-82028165; (E-mail) cqhe75@yahoo.com

overground special-purpose sweetpotato breeding.

Key words: vegetable sweetpotato; ornamental sweetpotato; dual-purpose sweetpotato of edible and ornamental; genetic diversity; simple sequence repeats(SSR) marker

近年来,甘薯以其低投入、高产、耐干旱、耐贫瘠、多用途等优点已经由单一粗粮作物跃升为集健康食品、淀粉加工、优良饲料和菜用观赏于一体的新作物。尤其是菜用甘薯、观赏甘薯及菜观兼用型等地上部专用甘薯越来越受到消费者青睐。菜用甘薯因其宜炒食、口感风味良好、营养丰富均衡等特点在国内外深受欢迎^[1]。但据国家种质徐州甘薯试管苗库统计,1 300 余份甘薯种质资源中仅有 10 余种菜用甘薯品种,菜用甘薯品种有限,遗传资源狭窄现象突出。观赏甘薯具有耐热、抗旱、病害少、适应性强、生长迅速、管理粗放等特点,并且以其亮丽的叶色、多样的叶形及丰富的应用形式和良好的视觉美感凸显出独特的园林价值和家庭园艺特性^[2]。目前,观赏甘薯品种主要有美国的 Sweet Carolina 系列^[3]、黑叶品种 Black Heart^[4]和柠檬绿色品种 Margarita^[5]。国内尚未有通过国家审(鉴)定或品种权保护的观赏甘薯品种。至于具有菜用价值和观赏价值的菜观兼用品种更是鲜有报道,只是 2016 年刘中华等^[5]提出过赏食兼用型甘薯的概念。

因此,分析国内外主要地上部专用甘薯品种的遗传多样性,明确其遗传关系,对于地上部专用甘薯育种的亲本选配和种质创新具有重要的指导意义。前人采用 AFLP^[6]、RAPD^[7]、ISSR^[8-9]、SSR^[10-11]或多种分子标记相结合^[12-13]对甘薯主要品种、地方品种等进行了进化和遗传多样性研究,但是对甘薯地上部专用品种的遗传多样性研究还鲜有报道。本研究利用 SSR 分子标记对目前国内主要推广应用的 16 个地上部专用甘薯品种的遗传多样性进行分析,为这类专用品种系统演化、重点组合配置、菜观兼用甘薯新种质创新提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

收集菜用甘薯、观赏甘薯及菜观兼用甘薯材料 16 份,其中 12 份为菜用甘薯,1 份为观赏甘薯,3 份为有菜用和观赏兼用材料(表 1)。所有供试材料均种植于江苏徐淮地区徐州农业科学研究所(江苏徐州甘薯研究中心)试验地。

表 1 参试甘薯材料

Table 1 The list of the trial sweetpotato accessions

名称	选育单位	品种来源	类型
薯绿 1 号	江苏徐淮地区徐州农科所	台农 71×广薯 2 号	菜用
台农 71	台湾地区嘉义农事所	—	菜用
黄金叶	美国北卡罗来纳州立大学	—	观赏
福菜薯 18	福建省农科院作物所	泉薯 830×台农 71	菜用
浙薯 726	浙江省农科院作物所	菜用型 9902-7×宁紫薯 1 号	菜用
川菜薯 211	四川省农科院作物所	广菜薯 2 号放任授粉	菜用
广菜薯 3 号	广东省农科院作物所	高自 1 号开放授粉	菜用
广菜薯 6 号	广东省农科院作物所	泉薯 830 开放授粉	菜用
鄂菜薯 10 号	湖北省农科院粮作所	福菜 18 放任授粉	菜用
鄂菜薯 2 号	湖北省农科院粮作所	AIS0122-2	菜用
莆薯 53	福建省莆田市农科所	莆薯 3 号放任授粉	菜观兼用
福菜薯 23	福建省农科院作物所	紫叶薯开放授粉	菜观兼用
泉薯 830	福建省泉州市农科所	龙薯 34×泉薯 95	菜用
福菜薯 22	福建省农科院作物所	泉薯 830 开放授粉	菜用
宁菜 1 号	江苏省农科院粮作所	苏薯 9 号放任授粉	菜用
福薯 7-6	福建省农科院作物所	“白胜”计划集团杂交	菜观兼用

1.2 甘薯基因组 DNA 提取及 PCR 反应

参考 Ukoskit 等^[14]、李强等^[15]的方法,采用改进的 CTAB 法提取甘薯基因组 DNA。PCR 反应体系(20.0 μ l):2 \times Taq MasterMix[康为试剂(CWBIO)公司生产]10.0 μ l,50 ng/ μ l DNA 1.0 μ l,100 ng/ μ l 上、下引物各 0.5 μ l,加 ddH₂O 至 20.0 μ l。反应条件:95 $^{\circ}$ C 3 min;95 $^{\circ}$ C 30 s,55 $^{\circ}$ C 30 s,72 $^{\circ}$ C 30 s,35 个循环;72 $^{\circ}$ C 5 min。4 $^{\circ}$ C 保存。

1.3 SSR 分子标记及分析方法

选择 30 对条带清晰、表现稳定、多态性好的 SSR 分子标记进行多态性分析。其中 17 对(C22、C27、C30、C33、C48、C58、C51、C56、C60、C71、Z25、Z37、Z57、ZY5、C32、C5、Z91)来自于 Yang 等^[16]的报道,13 对(p238、p241、p243、p244、p250、p253、p258、p268、p269、p245、p308、p325、p355)由本课题组根据转录组数据自行设计(表 2)。引物由上海生工有限公司合成。

扩增产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测后,用 6% 非变性聚丙烯酰胺电泳分离,银染检测。统计结果,每条谱带作为一个单位,有带记为“1”,无条带记为“0”,缺失记为“2”,列出二元数据矩阵。根据 SSR 分子标记数据,采用软件 NTSYSpc Version 2.10e^[17]计算 16 份材料的遗传相似系数,并基于遗传相似系数进行聚类分析。

表 2 SSR 分子标记引物

Table 2 The list of simple sequence repeats(SSR) primer pairs

引物名称	引物序列或重复序列(5'→3')	退火温度($^{\circ}$ C)
C22F	CCATTCACCTCCATCGTTTCA	52.2
C22R	GGTCCCAACAGCTCAAATA	54.8
C27F	GAATCACAGCAAGCAACTAAGAGA	54.7
C27R	AGAAAACCCGACGATCTTT	53.7
C30F	GGCTTACGAGGTGTGTCCAA	55.1
C30R	ATAGTCGTCTTCGCCCTCAA	55.6
C33F	GCTTATATTGCGCCATGGTT	53.3
C33R	TGCGCTCCAGAGCGTTATCT	56.0
C48F	ATCCACTTCCGTTTCATCCAC	54.7
C48R	CGCAAATCCCAGGTCTTTTA	52.5
C58F	TTGTACCATTCGCTGATCCA	53.5
C58R	ATAGCCAAGCCTCGGAAAT	56.5
C51F	GAGGACTTCTCCGACCACTG	57.7
C51R	ACCAGATCCGTGTTCTGCTC	57.0
C56F	CCACCCTAAGACTGAAGAAGAAA	53.8
C56R	GCAAAGCAAACAAAGCAAAA	50.0

续表 2 Continued 2

引物名称	引物序列或重复序列(5'→3')	退火温度($^{\circ}$ C)
C60F	ATGGCGCCAATCTCTCTCTA	55.5
C60R	GATGAGGTTGAGTTGCCTGA	54.7
C71F	CCCCATGTTTAGGATGGATG	52.9
C71R	AAACAAAACAAGTTAGGATGGA	51.6
Z25F	AGCAGTTTCGCCATATCCAG	55.1
Z25R	CACCGTTTTGAATCAGCAAA	51.1
Z37F	GGCGACTGTAATGTGGTGAA	55.1
Z37R	CGGGAGGTATCTTGGATTGA	53.7
Z57F	AGCTGACTGGAGGTGGAAGA	55.0
Z57R	ATAATTGCTGTGGGGCTGTT	45.0
ZY5F	TCGTCACTTTCTCTCTCCTG	53.5
ZY5R	GCTCTCCTCCATCTCTTCTG	54.7
p238F	GTGGGCGGCAATCAAATG	59.7
p238R	TGCATGACCACCTATGTCCC	59.8
p241F	GAGCTGATCAATCGGCGTG	59.7
p241R	TGTGCTTTCTTGCACAAACCC	57.8
p243F	CTGTCTCTACACAGGCCG	61.9
p243R	GGGTAGATATTGCTGCCAAGAC	60.1
p244F	AGAAGAGCTTTGCCTTTGCAG	58.0
p244R	GCAAACCCCTCATCCATCGC	59.7
p250F	AGATGCGACTGTGGAACCC	59.7
p250R	GTGGAGACCCTCCGGTTG	61.9
p253F	ACATTACAAGCACTGAATGGG	56.1
p253R	GTTCAAGAAGGGCGTGAAGG	59.8
p258F	GGAACACCCTTGCCAGAAC	59.7
p258R	GCCTCAAACCTTGCGAAGC	59.7
p268F	GCCCGAGGATTCTAGTGGG	61.9
p268R	GAAGGGTCAGGAACCGAGG	61.9
p269F	ACGCCCTCTGAAGGACTTG	59.7
p269R	CAAACGGATCACCCATGCC	59.7
C32F	GACCTGCGAATCGAAATCTT	52.5
C32R	CTTGGAATCTCTGCTTTC	55.9
C5F	GTGCCATCTGATCACCCAAT	50.0
C5R	TCCCAGGTGGTTAGGCATAC	55.0
Z91F	CACCAAGAAACGAAGCAGAA	52.9
Z91R	CAAGGTTTATTGTTGACATGGAGA	52.5
p245F	GCTCGATTGCCCAAAGTCC	59.7
p245R	AGCCAACCTTGCACTAGTCTTC	58.0
p308F	TGGTGAATTGCGCTTGAGG	57.6
p308R	CCCGGGCCATTCTTAGAGG	61.9
p325F	AGAGGAACACTCGACTGCC	57.9
p325R	CTCAGCTCGTGCCAATTCC	57.9
p355F	CCGCTGTAAACCATTTGGGC	59.7
p355R	CGGGCGGCAAGGATGAAG	61.9

2 结果与分析

2.1 16 份甘薯材料的 SSR 多态性

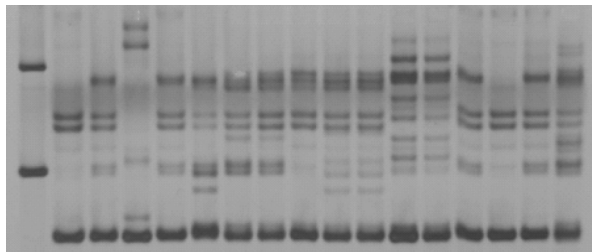
读取 100 bp 至 700 bp 间的扩增条带,30 对多态性引物共检测出条带 182 条,多态性条带 169 条。每对引物获得 2~16 条条带,平均每对引物获得多态性条带 5.63 条。其中引物 C32 扩增获得的多态性条带最多,有 16 条(表 3)。多数 SSR 引物(例如 Z37)在不同菜用、观赏、菜观兼用甘薯材料中的扩增条带清晰、稳定(图 1)。

表 3 30 对 SSR 引物在不同地上部专用甘薯材料中的扩增结果

Table 3 The amplification results of the different overground sweetpotato special-purpose varieties using 30 SSR primers

引物名称	扩增条带数	多态性条带数	多态百分率 (%)
C22	7	7	100.00
C27	7	7	100.00
C30	5	4	80.00
C33	7	7	100.00
C48	9	9	100.00
C58	2	2	100.00
C51	3	3	100.00
C56	2	2	100.00
C60	7	6	85.71
C71	8	7	87.50
Z25	6	6	100.00
Z37	13	12	92.31
Z57	3	2	66.67
ZY5	9	8	88.89
p238	5	4	80.00
p241	8	7	87.50
p243	4	3	75.00
p244	3	2	66.67
p250	4	4	100.00
p253	7	6	85.71
p258	3	2	66.67
p268	8	8	100.00
p269	2	1	50.00
C32	16	16	100.00
C5	6	6	100.00
Z91	4	4	100.00
p245	8	8	100.00
p308	4	4	100.00
p325	7	7	100.00
p355	5	5	100.00

M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16



M 为 1 500 bp marker,1~16 依次为薯绿 1 号、台农 71、黄金叶、福莱薯 18、浙薯 726、川菜薯 211、广菜薯 3 号、广菜薯 6 号、鄂菜薯 10 号、鄂菜薯 2 号、莆薯 53、福莱薯 23、泉薯 830、福莱薯 22、宁菜 1 号、福薯 7-6。

图 1 引物 Z37 在不同地上部专用甘薯材料中的扩增结果

Fig.1 The results of amplification with primer Z37 in different overground sweetpotato special-purpose varieties

2.2 基于 SSR 分子标记的甘薯遗传多样性分析

基于 SSR 分子标记多态性,用 NTSYS 软件计算 16 份甘薯材料间的遗传相似系数(表 4)。由表 4 可知,16 份甘薯材料的遗传相似系数在 0.522 至 0.863 之间,其中薯绿 1 号和台农 71 之间的遗传相似系数最高,为 0.863;观赏甘薯黄金叶与菜用甘薯材料之间的遗传相似系数都较低,其中与鄂菜薯 10 号之间的遗传相似系数最低,为 0.522;在菜用甘薯材料中,薯绿 1 号和鄂菜薯 10 号之间的遗传相似系数最低,为 0.522。

2.3 基于 SSR 分子标记的甘薯聚类分析

在遗传相似系数为 0.64 时,16 份甘薯材料分为 3 个类群。其中类群 I 包括薯绿 1 号、台农 71、广菜薯 3 号、广菜薯 6 号、浙薯 726 和莆薯 53;类群 II 包括福莱薯 18、泉薯 830、福莱薯 22、川菜薯 211、宁菜 1 号、福莱薯 23、福薯 7-6、鄂菜薯 10 号和鄂菜薯 2 号;类群 III 仅有观赏甘薯黄金叶(图 2)。

3 讨论

从 16 份甘薯材料的聚类图可以看出,国内材料与国外材料的遗传关系相对较远。国内材料中,具有直接系谱关系(定向杂交)的聚在一起,例如薯绿 1 号与台农 71,福莱薯 22 和福莱薯 18 与泉薯 830 聚到一起;而通过开放授粉方式得到的品种并没有与母本聚在很近的位置,例如广菜薯 6 号与福莱薯 18,鄂菜薯 10 号与福莱薯 18 等,这可能与集团杂交中较多种类外源花粉有关。同一地区的甘薯品种也

表 4 基于 SSR 数据计算的 16 份甘薯材料间的相似系数

Table 4 Genetic similarity coefficients of 16 sweetpotato accessions based on SSR analysis

	薯绿 1 号	台农 71	黄金 叶	福菜薯 18	浙薯 726	川菜薯 211	广菜薯 3 号	广菜薯 6 号	鄂菜薯 10 号	鄂菜薯 2 号	莆薯 53	福菜薯 23	泉薯 830	福菜薯 22	宁菜 1 号	福薯 7-6
薯绿 1 号	1.000															
台农 71	0.863	1.000														
黄金叶	0.637	0.621	1.000													
福菜薯 18	0.703	0.742	0.593	1.000												
浙薯 726	0.648	0.698	0.626	0.626	1.000											
川菜薯 211	0.648	0.731	0.593	0.714	0.659	1.000										
广菜薯 3 号	0.698	0.747	0.610	0.687	0.687	0.676	1.000									
广菜薯 6 号	0.670	0.753	0.571	0.698	0.615	0.687	0.742	1.000								
鄂菜薯 10 号	0.522	0.593	0.522	0.698	0.599	0.676	0.593	0.643	1.000							
鄂菜薯 2 号	0.577	0.615	0.566	0.654	0.621	0.654	0.604	0.643	0.747	1.000						
莆薯 53	0.610	0.648	0.533	0.610	0.665	0.5880	0.615	0.648	0.681	0.615	1.000					
福菜薯 23	0.648	0.676	0.582	0.692	0.615	0.670	0.6210	0.615	0.632	0.687	0.654	1.000				
泉薯 830	0.6320	0.637	0.610	0.742	0.621	0.6100	0.659	0.659	0.681	0.648	0.714	0.720	1.000			
福菜薯 22	0.632	0.626	0.588	0.731	0.621	0.632	0.659	0.648	0.582	0.648	0.637	0.665	0.780	1.000		
宁菜 1 号	0.621	0.670	0.610	0.676	0.698	0.709	0.703	0.681	0.571	0.681	0.626	0.709	0.681	0.758	1.000	
福薯 7-6	0.544	0.582	0.533	0.610	0.555	0.665	0.560	0.593	0.648	0.692	0.659	0.742	0.681	0.604	0.703	1.000

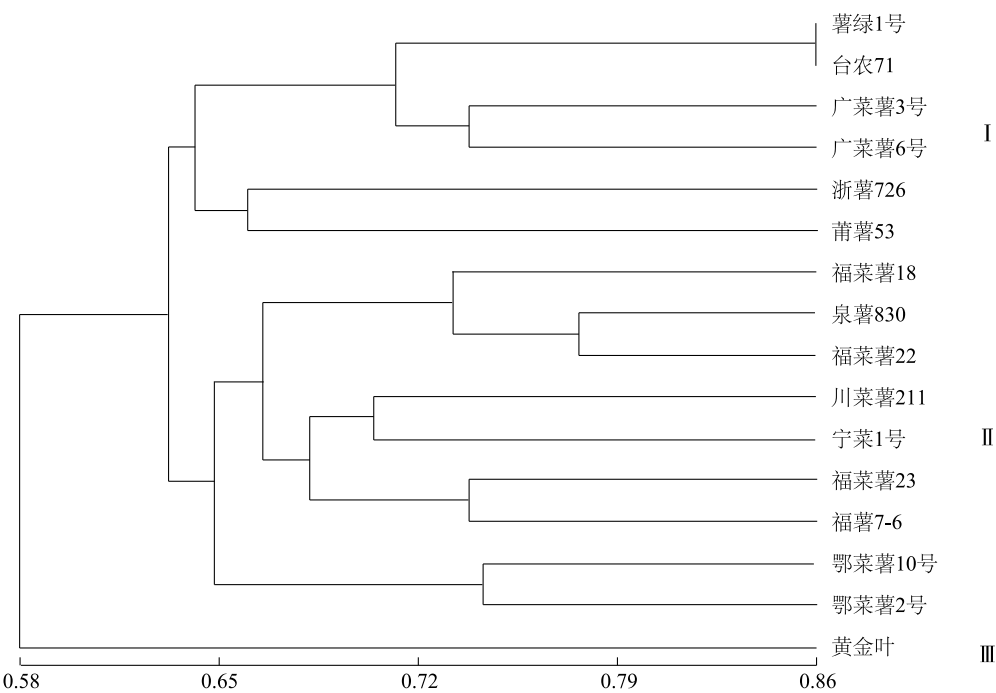


图 2 基于 SSR 分子标记的 16 份甘薯材料聚类图

Fig.2 Clustering dendrogram of 16 sweetpotato accessions based on SSR markers

表现出较近的亲缘关系,例如广菜薯3号与广菜薯6号,鄂菜薯10号与鄂菜薯2号,说明聚类分析结果也与供试材料地域来源存在密切关系。但也有例外,来自福建的莆薯53和福菜薯18被分到两个群,来自于两个区域的川菜薯1号和宁菜薯1号却聚在一起,说明系谱关系和地理来源是地上部专用品种间亲缘关系的主要决定因素。本研究发现,台农71、泉薯830和福菜薯18已经成为了中国菜用甘薯的主要亲本或骨干亲本,这也是甘薯地上部专用品种遗传资源较狭窄的主要原因。因此,建议在今后的研究中需收集来源更为广泛的引进品种作为育种亲本,或选择遗传关系较远的品种进行配组,才能选出强优势组合。

来自福建的福菜薯18、泉薯830、福菜薯22、福菜薯23、福薯7-6具有较高的遗传相似系数和较近的亲缘关系。而来自湖北的鄂菜薯10号与其他15份材料间均表现出较低的遗传相似性,说明与其他地上部专用品种间的遗传差异较大,可作为选配菜用甘薯、菜观兼用甘薯新品系的重要亲本。

参考文献:

- [1] 曹清河,刘义峰,李强,等.菜用甘薯国内外研究现状及展望[J].中国蔬菜,2007(10):41-43.
- [2] 周雅倩,陆国权,张迟,等.观赏甘薯在室内植物景观配置中的应用及推广[J].北方园艺,2012(12):82-84.
- [3] OWING A, BATES D, CRNKO S. Landscape performance of ornamental sweetpotato cultivars[C]. GARY K. SNA research conference proceedings. USA: Baltimore Convention Center, 2000: 438-440.
- [4] ARMITAGE A M. Ipomoea batatas 'Margarita' [J]. HortScience, 2001, 36:178.
- [5] 刘中华,李华伟,许泳清,等.商食兼用型甘薯及其应用前景[J].作物杂志,2006(1):7-11.
- [6] 李强,李鹏,刘庆昌,等.东亚甘薯品种 AFLP 标记遗传差异研究[J].分子植物育种,2008,6(5):905-911.
- [7] SUN M, LIU P Y, LEI J J. Genetics diversity analysis of sweet potato and related wild species with RAPD markers[J]. Journal of Southwest China Normal University (Natural Science), 2001, 26(2):191-194.
- [8] 张安世,许会才,王育水.22个甘薯品种的 ISSR 指纹图谱构建及遗传多样性分析[J].河南农业科学,2015(11):11-15.
- [9] 黄洁,甘学德,苏明,等.紫、红黄肉甘薯种质遗传多样性的 ISSR 分析[J].植物遗传资源学报,2011,12(4):646-650.
- [10] 赵冬兰,郑立涛,唐君,等.甘薯种质资源遗传稳定性及遗传多样性 SSR 分析[J].植物遗传资源学报,2011,12(3):389-395.
- [11] 罗凯,卢会翔,吴正丹,等.中国西南地区甘薯主要育种亲本的遗传多样性及群体结构分析[J].中国农业科学,2016,49(3):593-608.
- [12] 李强,刘庆昌,马代夫,等.中国甘薯主要育成品种的遗传多样性及遗传趋势[J].江苏农业学报,2009,25(2):253-259.
- [13] 贺学勤,刘庆昌,王玉萍,等.中国甘薯地方品种的遗传多样性分析[J].中国农业科学,2005,38(2):250-257.
- [14] UKOSKIT K, THOMPSON P G, WATSON C E J. Identifying a randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) marker linked to a gene for rootknot nematode in sweetpotato[J]. Journal of American Society for Horticultural Sciences, 1997,122: 818-821.
- [15] 李强,揭琴,刘庆昌,等.甘薯基因组 DNA 高效快速提取方法[J].分子植物育种,2007,5(5):743-746.
- [16] YANG X S, SU W J, WANG L J, et al. Molecular diversity and genetic structure of 380 sweetpotato accessions as revealed by SSR markers[J]. Journal of Integrative Agriculture, 2015, 4: 633-641.
- [17] 罗凯,卢会翔,吴正丹,等.中国西南地区甘薯主要育种亲本的遗传多样性及群体结构分析[J].中国农业科学,2016,49(3):593-608.

(责任编辑:张震林)