

张明媛, 冷 森, 孙伟娜, 等. SNP 分子标记结合表型性状鉴别小豆种质资源[J]. 江苏农业学报, 2024, 40(6): 975-983.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2024.06.003

SNP 分子标记结合表型性状鉴别小豆种质资源

张明媛, 冷 森, 孙伟娜, 柯希望, 徐晓丹, 左豫虎

(黑龙江省作物有害生物互作生物学及生态防控重点实验室/国家杂粮工程技术研究中心/黑龙江八一农垦大学, 黑龙江 大庆 163319)

摘要: 为建立科学可靠的小豆种质资源鉴定方法, 本研究利用单核苷酸多态性(SNP) 分子标记, 对 102 份小豆种质资源进行聚类分析并构建指纹图谱, 同时结合质量性状对小豆种质资源进行鉴定。结果发现, 在 102 份小豆种质资源中 26 个 SNP 分子标记表现出多态性, 平均多态信息含量为 0.28。61 份小豆种质资源的 SNP 指纹图谱具有唯一性, 可以被准确鉴别, 剩余 41 份小豆种质资源的 SNP 指纹图谱不唯一。进一步对 102 份小豆种质资源的 6 个质量性状进行遗传变异分析, 平均遗传多样性指数为 1.224 5, 6 个性状均具有丰富的多态性。结合以上 6 个性状, 可对 SNP 指纹图谱相同的种质资源进行进一步区分。本研究开发的 SNP 分子标记结合表型性状的鉴别方法, 可为小豆种质资源遗传鉴定和科学利用奠定基础。

关键词: 小豆; 指纹图谱; 质量性状; 种质资源鉴定

中图分类号: S521 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2024) 06-0975-09

Identification of adzuki bean (*Vigna angularis*) germplasm resources based on SNP molecular markers and phenotypic traits

ZHANG Mingyuan, LENG Miao, SUN Weina, KE Xiwang, XU Xiaodan, ZUO Yuhu

(Heilongjiang Provincial Key Laboratory of Crop-Pest Interaction Biology and Ecological Control/National Coarse Cereals Engineering Research Center/Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China)

Abstract: In order to establish a scientific and reliable method for identification of adzuki bean [*Vigna angularis* (Willd) Ohwi & H. Ohashi] germplasm resources, 102 adzuki bean germplasm resources were clustered and fingerprinted by single nucleotide polymorphism (SNP) molecular markers, at the same time, the germplasm resources of adzuki bean were identified combined with qualitative traits. The results showed that 26 SNP molecular markers in 102 adzuki bean germplasm resources showed polymorphism, and the average polymorphism information content was 0.28. The SNP fingerprints of 61 adzuki bean germplasm resources were unique and could be accurately identified. The SNP fingerprints of the remaining 41 adzuki bean germplasm resources were not unique. The average genetic diversity index of six qualitative traits was 1.224 5 in 102 germplasm resources through further analysis of genetic variation, and all of the six traits were highly polymorphic. Combined with the above six traits, germplasm resources with the same SNP fingerprints can be further distinguished. The identification method of SNP molecular

markers combined with phenotypic traits developed in this study can lay a foundation for genetic identification and scientific utilization of adzuki bean germplasm resources.

Key words: adzuki bean; fingerprint; qualitative traits; germplasm resource identification

收稿日期: 2023-07-05

基金项目: 黑龙江八一农垦大学校启动计划项目(2031011068); 大庆市科学技术局指导项目(zd-2020-45)

作者简介: 张明媛(1996-), 女, 河北邢台人, 硕士研究生, 主要从事植物病理学研究。(E-mail) zhangmingyuan2333 @ gmail.com

通讯作者: 徐晓丹, (E-mail) xxalice @ 163.com; 左豫虎, (E-mail) zuoyuhu @ byau.edu.cn

小豆 [*Vigna angularis* (Willd) Ohwi & H. Ohashi] 是菜豆族(Phaseoleae) 豇豆属(*Vigna*) 的栽培

种,由于种皮颜色多为红色,也被称为红豆、红小豆、赤豆等^[1]。中国是最大的小豆生产国和出口国,年种植面积约 $3\times 10^5\text{ hm}^2$,年出口量达 $4\times 10^4\sim 8\times 10^4\text{ t}$ ^[2]。由于小豆是小宗作物,相关研究较少,其种质资源与大作物相比欠缺系统规范的研究,同名异种、同种异名现象较为普遍^[3]。因此,准确鉴别小豆种质资源,对小豆种质资源管理、品种鉴定、品种追溯、学术交流、知识产权保护和科学利用等具有重要意义。

目前小豆种质资源鉴别主要包括形态学和分子生物学 2 种方法。形态学方法主要借助植物的外部形态特征,该方法操作简单、直接,因此被广泛应用于种质资源鉴别和评价领域^[4]。但形态特征尤其是数量性状遗传特征易受环境条件和其他修饰基因的影响,并且部分由多基因控制的数量性状,表现出来的并不是简单的性状差异,而是一个变化范围^[4],因此形态特征不稳定,不适合作为种质资源的鉴别指标。白鹏等^[5]连续 2 年对来自全国的 262 份小豆种质资源进行农艺性状鉴定后发现,用包括数量遗传性状的农艺性状进行品种鉴定有一定局限性。何伟锋等^[6]认为试验条件、土壤及气候条件等的不同会导致数量性状发生变化,而质量性状没有变化。分子生物学的方法主要依靠分子标记对种质资源进行鉴别,分子标记指能反映生物个体或种群间基因组中某种差异特征的 DNA 片段,直接反映基因组 DNA 间的差异,可以更准确、客观、科学地评价小豆种质的起源进化与遗传差异^[7]。其中简单重复序列(Simple sequence repeat, SSR)分子标记和单核苷酸多态性(Single nucleotide polymorphism, SNP)分子标记是国际植物新品种权保护联盟(UPOV, International union for the protection of new varieties of plants)BMT 分子测试指南中构建 DNA 指纹数据库和中国《植物品种鉴定 DNA 分子标记法 总则》(NY/T 2594-2016)仅有的 2 种推荐标记^[8]。

目前在小豆种质资源的鉴别中,SSR 分子标记的应用较少。赵波等^[9]利用 7 个 SSR 分子标记对 49 份小豆种质资源构建指纹图谱,其中 8 份小豆种质资源没有差异位点,无法区分。颜军等^[10]利用 28 个 SSR 分子标记对 182 份小豆种质资源构建 DNA 指纹图谱,其中有 9 份小豆种质资源没有被区分开,表明分子标记技术在种质资源鉴定方面存在一定局限性^[11]。本实验室利用前期开发的 6 个 SSR 分子标记对 36 份小豆种质资源进行鉴别,结果

发现仅有 16 份种质资源可以被完全区分^[12]。SNP 分子标记因在生物基因组上具有分布广、数量多、多态性丰富等优点^[13],在小豆基因定位方面的应用逐渐增加^[14-15],然而在小豆品种鉴别上还未有应用。近年来有多项研究结果表明,分子标记和表型性状可以在植物相似种的分类^[16]和品种鉴别^[17]中起到互补作用。本研究利用 SNP 分子标记对收集、保存的 102 份小豆种质资源进行鉴别,并结合质量性状进行分析,以期寻找合适的鉴定和区分小豆种质资源的方法,为种质资源管理、品种鉴定、品种保护、种质资源交流和利用提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

102 份小豆种质资源,由国家杂粮工程技术研究中心种质资源研究室提供,主要收集于黑龙江省(51 份)、吉林省(12 份)、辽宁省(23 份)、河北省(11 份)、重庆市(1 份)、北京市(2 份)和天津市(2 份)(表 1)。在同名品种后加(2)进行区分,如小丰 2 号(2)。

1.2 研究方法

1.2.1 小豆田间种植 供试小豆种植于黑龙江八一农垦大学安达市农业科技园区试验基地($N46^{\circ}24'9.42''$, $E125^{\circ}20'57.46''$)。每份小豆种质资源播种 15 行,行长 6 m,行距 0.6 m,株距 0.2 m。于 2022 年 6 月 19 日播种,9 月 18 日收获,按照当地大田模式管理。

1.2.2 小豆种质资源的基因组 DNA 提取 于人工气候室盆栽种植供试小豆,于幼苗期每个品种取 5 株,每株取真叶叶片 1 张。采用十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)法^[18]提取 102 份供试小豆的基因组 DNA。用 1%琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 完整性,使用 Nano-drop 检测 DNA 浓度。

1.2.3 小豆 SNP 分子标记的基因分型 以 102 份小豆种质资源的基因组 DNA 为模板,利用 26 个本研究团队自主设计的 SNP 分子标记引物进行分型检测,所用仪器为 BIO-RAD CFX96 荧光定量 PCR 仪。PCR 扩增体系为 DNA 模板 1 μl (30 ng/ μl),SNP Primer Mix 1.4 μl (10 $\mu\text{mol/l}$),HiGeno 2 \times Probe Mix B(北京嘉程生物科技有限公司产品)5 μl ,dd H₂O 补足至 10 μl 。PCR 反应条件为:95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 10 min;95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 20 s,61~55 $^{\circ}\text{C}$ 复性和延伸 40 s,10 个循环(每循环 1 次降低 0.6 $^{\circ}\text{C}$);95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 20 s,55 $^{\circ}\text{C}$ 扩增 40 s,30~34 个循环,最后于 25 $^{\circ}\text{C}$ 读取荧光信号数据。扩增结果利用 Bio-Rad

CFX Manager 3.0 软件 Allelic Discrimination 选项的荧光分型结果,对小豆种质资源的 SNP 位点进行基因分型,根据分型结果结合引物序列末端碱基统计每个 SNP 位点的基因型,计算缺失率和多态信息含量^[19]。

将位点信息转化为二元编码数据,利用 MEGA X64 中邻接(NJ)法进行聚类分析,利用 iTOL(<https://itol.embl.de/itol.cgi>)绘制聚类分析图^[20]。根据聚类结果结合小豆种质资源的基因型绘制 SNP 指纹图谱。

表 1 102 份小豆种质资源信息

Table 1 Information of 102 adzuki bean germplasm resources

序号	种质资源	来源	序号	种质资源	来源	序号	种质资源	来源
1	京农 6 号	北京	35	ZC01	黑龙江	69	白红 4 号	吉林
2	品红 2011-18	北京	36	ZC02	黑龙江	70	白红 8 号	吉林
3	极旱红小豆	河北	37	ZC03	黑龙江	71	白红 9 号	吉林
4	冀红 0001	河北石家庄	38	ZC04	黑龙江	72	吉红 6 号	吉林
5	冀红 0001(2)	河北保定	39	ZC05	黑龙江	73	吉红 8 号	吉林
6	冀红 0007-5	河北	40	ZC06	黑龙江	74	吉林 362	吉林
7	冀红 0015	河北	41	ZC07	黑龙江	75	吉林 373	吉林
8	冀红 12	河北	42	ZC08	黑龙江	76	吉绿 5 号	吉林
9	冀红 352	河北石家庄	43	ZC09	黑龙江	77	LZX022	辽宁
10	冀红 352(2)	河北保定	44	宝清红	黑龙江	78	LZX051	辽宁
11	冀红 9218	河北	45	宝清红系选	黑龙江	79	LZX066	辽宁
12	唐红 2010-12	河北	46	赤小豆	黑龙江	80	XD11	辽宁
13	唐红 2010-23	河北	47	大红袍	黑龙江	81	保 876-16	辽宁沈阳
14	012-27	黑龙江	48	富硒红小豆	黑龙江	82	保 876-16(2)	辽宁营口
15	012-8	黑龙江	49	红豆 XD04-02	黑龙江	83	保 M908-15	辽宁
16	GN01	黑龙江	50	红豆 XD04-07	黑龙江	84	北 10	辽宁
17	GN02	黑龙江	51	红豆 XD04-09	黑龙江	85	北 12 B-1	辽宁
18	GN03	黑龙江	52	红珍珠	黑龙江	86	北 13 F015	辽宁
19	GN04	黑龙江	53	建 265	黑龙江	87	北 23	辽宁
20	GN05	黑龙江	54	垦鉴红 1 号	黑龙江	88	北 25 F174	辽宁
21	GN06	黑龙江	55	龙 11-203	黑龙江	89	北 4 NL8	辽宁
22	LJ01	黑龙江	56	龙垦早红	黑龙江	90	北 6 JN003	辽宁
23	LJ02	黑龙江	57	龙小豆 2 号	黑龙江	91	辽 V2 白红 1 号	辽宁
24	LJ03	黑龙江	58	龙小豆 4 号	黑龙江	92	辽 V5	辽宁
25	QH1	黑龙江	59	农安红	黑龙江	93	辽红 08712	辽宁
26	QH2	黑龙江	60	品红 23129-1	黑龙江	94	辽红 1 号	辽宁
27	QH3	黑龙江	61	小丰 2 号	黑龙江林甸	95	辽红 3 号	辽宁
28	QH5	黑龙江	62	小丰 2 号(2)	黑龙江甘南	96	辽红 7	辽宁
29	TL01	黑龙江	63	珍珠红	黑龙江	97	辽红 7 号	辽宁
30	TL02	黑龙江	64	珍珠红(2)	黑龙江	98	湾选 1 号	辽宁
31	TL03	黑龙江	65	JHPX01	吉林	99	系选大红袍-1	辽宁
32	TL04	黑龙江	66	JHPX02	吉林	100	天津红	河北石家庄
33	TL05	黑龙江	67	白红 2 号	吉林	101	天津红(2)	河北保定
34	TL06	黑龙江	68	白红 3 号	吉林	102	渝红 2 号	重庆

多态信息含量 PIC 计算公式如下:

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^l P_i^2 - \sum_{i=1}^{l-1} \sum_{j=i+1}^l 2P_i^2 P_j^2$$

式中, P_i 和 P_j 分别为第 i 个和第 j 个等位基因的频率。

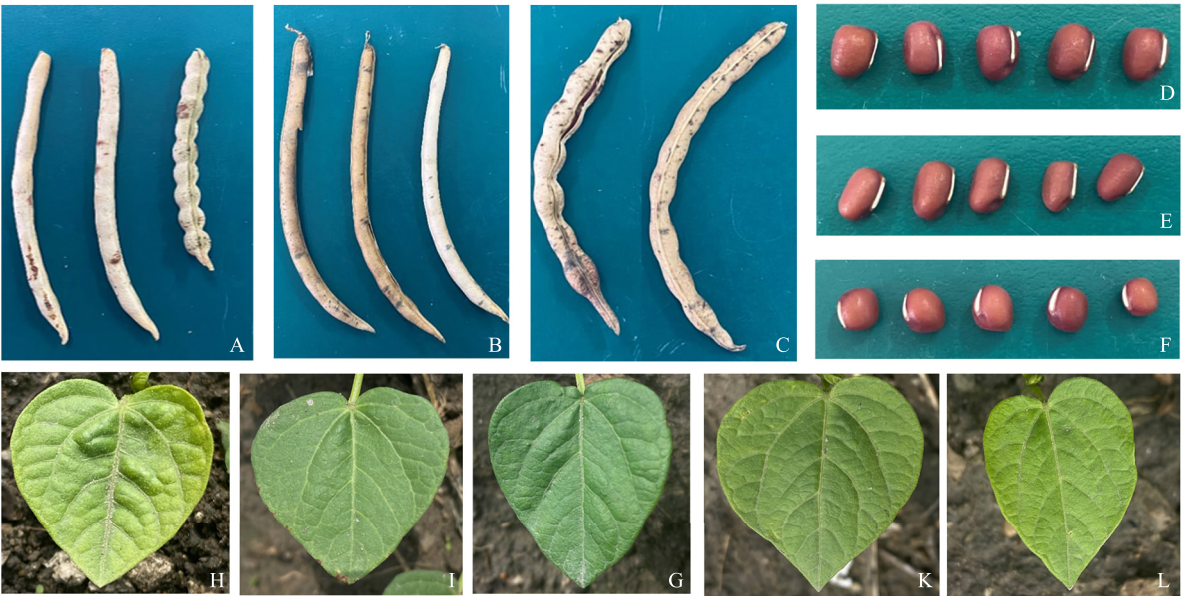
1.2.4 小豆质量性状调查及聚类分析 小豆质量性状调查参照《小豆种质资源描述规范和数据标准》^[21], 随机选取成熟期小豆种质资源 15 株, 调查生长习性、结荚习性、荚形、粒形、单叶叶色、单叶叶形, 部分小豆质量性状表型见图 1, 共计 6 个

质量性状, 对其进行非数值型性状赋值, 记录标准和赋值数据见表 2。计算频率分布和多样性指数 (H' , 香农-维纳指数, Shannon-Wiener diversity index)^[5], 利用 Excel 绘制 SNP 分子标记结合表型性状图谱。

多样性指数 (H') 的计算公式如下:

$$H' = - \sum P_i \times \ln P_i$$

式中, P_i 为某一性状第 i 个级别出现的频次。



A: 荚形圆筒形; B: 荚形镰刀形; C: 荚形弓形; D: 粒形短圆柱形; E: 粒形长圆柱形; F: 粒形球形; G: 单叶叶色浅绿; H: 单叶叶色绿; I: 单叶叶色深绿; J: 单叶叶形圆形; K: 单叶叶形披针形。

图 1 小豆质量性状表型
Fig.1 Phenotypes of qualitative traits of adzuki bean

表 2 小豆种质资源质量性状及其记录标准、赋值数据^[21]
Table 2 Qualitative traits of adzuki bean germplasm resources and criterion for recording, assignment data^[21]

质量性状	记录标准、赋值数据
生长习性	直立记为 1, 半蔓生记为 2, 蔓生记为 3
结荚习性	有限结荚记为 1, 无限结荚记为 2
荚形	圆筒形记为 1, 镰刀形记为 2, 弓形记为 3
粒形	短圆柱形记为 1, 长圆柱形记为 2, 球形记为 3
单叶叶色	浅绿记为 1, 绿记为 2, 深绿记为 3
单叶叶形	圆形记为 1, 披针形记为 2

2 结果与分析

2.1 基于 SNP 分子标记的小豆种质资源鉴别

2.1.1 SNP 分子标记的多态性分析 本研究团队基于小豆种质资源的重测序数据, 开发了 32 个小豆 SNP 分子标记, 利用这些分子标记对供试的 102 份小豆种质资源进行基因分型, 发现其中的 26 个 SNP 分子标记表现出丰富的多态性, 占供试标记数的 81%。依据 26 个 SNP 分子标记对基因进行分型, 结果显示 26 个 SNP 分子标记的检测缺失率为 0~15.69%, 平均缺失率为 4.18%, 其中分子标记 SNP-4 和 SNP-30 的缺失率较高, 分别为 15.69% 和

11.76%(表3)。26个SNP分子标记的多态信息含量为0.06~0.36,平均为0.28,其中SNP-15、SNP-34、SNP-35标记的多态信息含量最低,SNP-19、SNP-22、SNP-30标记的多态信息含量最高。

表3 小豆单核苷酸多态性(SNP)分析结果

Table 3 Analysis results of single nucleotide polymorphism (SNP) in adzuki bean

标记	检测缺失率 (%)	多态信息含量
SNP-1	1.96	0.27
SNP-2	4.90	0.33
SNP-3	3.92	0.34
SNP-4	15.69	0.34
SNP-5	6.86	0.34
SNP-6	5.88	0.32
SNP-7	2.94	0.30
SNP-10	2.94	0.33
SNP-11	2.94	0.31
SNP-12	1.96	0.32
SNP-13	2.94	0.32
SNP-14	3.92	0.16
SNP-15	6.86	0.06
SNP-18	3.92	0.32
SNP-19	3.92	0.36
SNP-21	1.96	0.30
SNP-22	0	0.36
SNP-23	0.98	0.22
SNP-25	5.88	0.30
SNP-26	4.90	0.22
SNP-27	2.94	0.35
SNP-29	6.86	0.35
SNP-30	11.76	0.36
SNP-32	0	0.22
SNP-34	0.98	0.06
SNP-35	0.98	0.06

2.1.2 小豆种质资源 SNP 指纹图谱构建 利用 26 个 SNP 分子标记,结合 SNP 分子标记聚类结果,构建小豆种质资源的 SNP 分子标记指纹图谱(图2)。供试的 26 个 SNP 分子标记可以准确区分 61 份小豆种质资源。其中辽红 1 号和辽红 3 号的 SNP 指

纹图谱相同,辽 V2 白红 1 号、吉绿 5 号和宝清红系选的 SNP 指纹图谱相同,012-27 和天津红(2)的 SNP 指纹图谱相同,LZX051、大红袍、小丰 2 号(2)和 012-8 的 SNP 指纹图谱相同,白红 9 号和冀红 0007-5 的 SNP 指纹图谱相同,红豆 XD04-07、北 4 NL8、北 23、北 25 F174、保 M908-15、辽红 08712 和京农 6 号的 SNP 指纹图谱相同,建 265、品红 23129-1、小丰 2 号和辽红 7 号的 SNP 指纹图谱相同,QH2、GN05 和辽红 7 号的 SNP 指纹图谱相同,TL01、辽 V5 和 TL06 的 SNP 指纹图谱相同,GN02、系选大红袍-1 和吉林 362 的 SNP 指纹图谱相同,保 876-16(2)、品红 2011-18 和 JHPX01 的 SNP 指纹图谱相同,TL04、极旱红小豆、北 6 JN003、龙垦早红和北 13 F015 的 SNP 指纹图谱相同。

2.2 基于质量性状的小豆种质资源鉴别

2.2.1 小豆种质资源质量性状遗传变异分析 对易于区分小豆不同类型的 6 个质量性状(生长习性、结荚习性、荚形、粒形、单叶叶色、单叶叶形)进行多态性分析。由分布频率(表4)可以看出,102 份小豆种质资源的生长习性以蔓生为主,占比 44.12%;结荚习性以无限结荚为主,占比 76.47%;荚形以镰刀形为主,占比 60.78%;粒形以长圆柱形为主,占比 43.14%;单叶叶色以绿色为主,占比 57.84%;单叶叶形以圆形为主,占比 68.63%。6 个质量性状的遗传多样性指数为 0.787 1~1.548 7,平均值为 1.224 5。其中,生长习性的遗传多样性指数最高,结荚习性的遗传多样性指数最低。

2.2.2 SNP 分子标记结合表型性状鉴别小豆种质资源 SNP 指纹图谱相同的种质资源,可以进一步结合表型性状进行划分(图3)。SNP 指纹图谱相同的小豆种质资源在生长习性、结荚习性、荚形、粒形、单叶叶色和单叶叶形方面不完全相同。SNP 指纹图谱相同的辽红 1 号和辽红 3 号,生长习性、单叶叶色和单叶叶形不同。SNP 指纹图谱相同的辽 V2 白红 1 号和吉绿 5 号生长习性、结荚习性、粒形、单叶叶色和单叶叶形不同。SNP 指纹图谱相同的天津红(2)和 012-27 的粒形、单叶叶色和单叶叶形不同。SNP 指纹图谱相同的 LZX051、大红袍、小丰 2 号(2)和 012-8 的生长习性、结荚习性和荚形相同。SNP 指纹图谱相同的白红 9 号和冀红 0007-5 的生长习性、结荚习性和荚形不同。SNP 指纹图谱相同的保 M908-15、辽红 08712 和京农 6 号结荚习性和

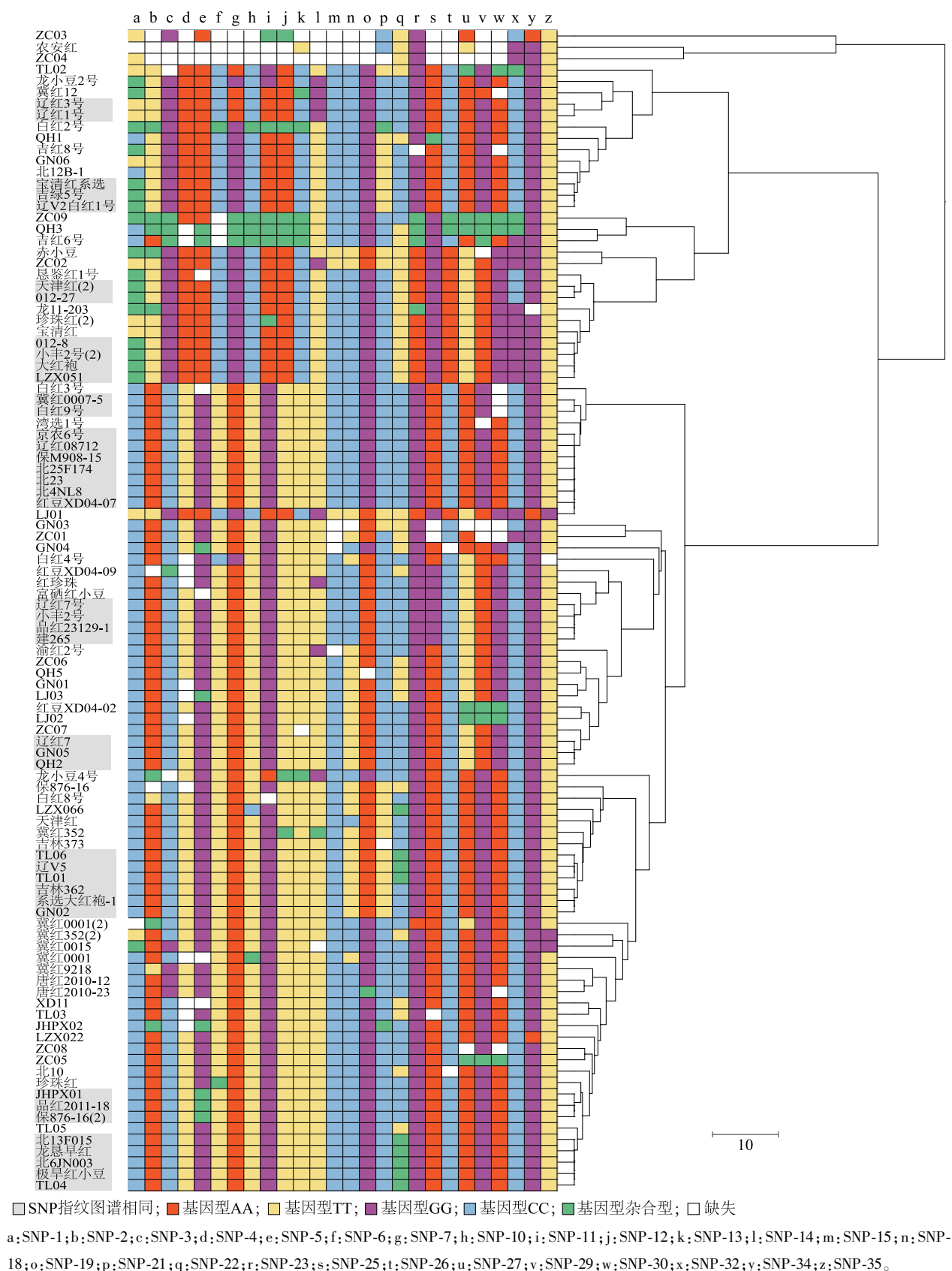
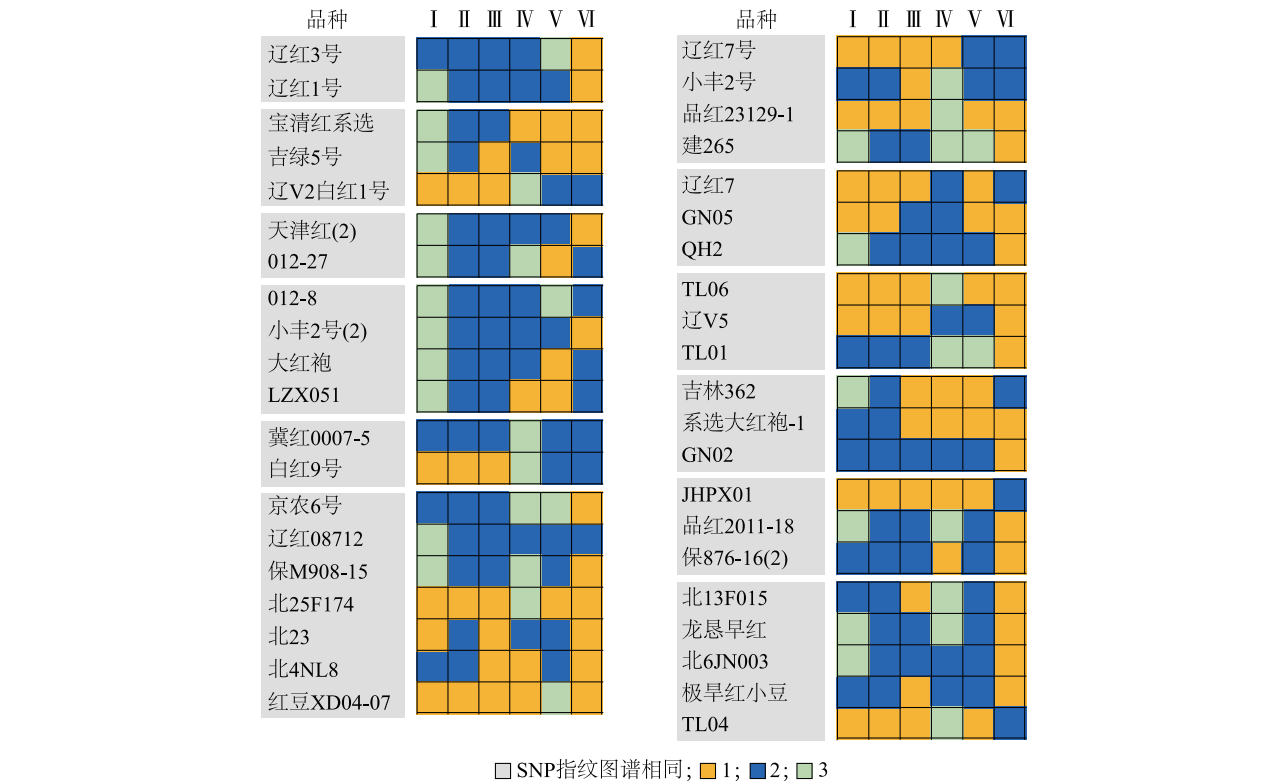


表 4 小豆种质资源中 6 个质量性状的遗传变异分析
Table 4 Genetic variation analysis of six qualitative traits of adzuki bean germplasm resources

质量性状	表型	分布频率(%)	多样性指数
生长习性	直立	28.43	1.548 7
	半蔓生	27.45	
	蔓生	44.12	
结荚习性	有限结荚	23.53	0.787 1
	无限结荚	76.47	
荚形	圆筒形	33.33	1.205 3
	镰刀形	60.78	
	弓形	5.88	
粒形	短圆柱形	23.53	1.542 7
	长圆柱形	43.14	
	球形	33.33	
单叶叶色	浅绿	28.43	1.366 0
	绿	57.84	
	深绿	13.73	
单叶叶形	圆形	68.63	0.897 4
	披针形	31.37	

荚形相同, 红豆 XD04-07、北 4 NL8、北 23 和北 25 F174 荚形和单叶叶形相同。SNP 指纹图谱相同的辽红 7 号、小丰 2 号和品红 23129-1 荚形相同, 建 265 与品红 23129-1 结荚习性和荚形不同。SNP 指纹图谱相同的辽红 7、GN05 和 QH2 粒形相同。SNP 指纹图谱相同的 TL01、辽 V5 和 TL06 的单叶叶形相同。SNP 指纹图谱相同的 GN02、系选大红袍-1 和吉林 362 结荚习性相同。SNP 指纹图谱相同的 JH-PX01 和品红 2011-18 生长习性、结荚习性、荚形、粒形、单叶叶色、单叶叶形均不相同。品红 2011-18 和保 876-16(2) 生长习性和粒形不同。SNP 指纹图谱相同的北 13 F015、龙垦早红、北 6 JN003 和极早红小豆结荚习性、单叶叶色和单叶叶形相同, 极早红小豆和 TL04 荚形相同。



I : 生长习性直立记为 1, 半蔓生记为 2, 蔓生记为 3; II : 结荚习性有限结荚记为 1, 无限结荚记为 2; III : 荚形圆筒形记为 1, 镰刀形记为 2, 弓形记为 3; IV : 粒形短圆柱形记为 1, 长圆柱形记为 2, 球形记为 3; V : 单叶叶色浅绿记为 1, 绿记为 2, 深绿记为 3; VI : 单叶叶形圆形记为 1, 披针形记为 2。

图 3 单核苷酸多态性 (SNP) 分子标记结合表型性状鉴别小豆种质资源图谱
Fig.3 Graph for identification results of adzuki bean germplasm resources by single nucleotide polymorphism (SNP) markers combined with phenotypic traits

3 讨论

国际植物新品种权保护联盟(UPOV)BMT 分子测试指南中,构建 DNA 指纹数据库的标记包括 SSR 和 SNP 2 种^[8],与 SSR 相比,SNP 在基因组中含量更丰富。张昆鹏^[22]比较 SSR 分子标记与 SNP 分子标记构建的指纹图谱时发现,使用 SNP 分子标记分析品种间遗传相似系数,计算更精准,结果更可靠。2021 年 6 月 20 日全国农技中心组织专家组在北京召开农业行业标准审定会议,通过了《水稻品种真实性鉴定 SNP 标记法》(NY/T 2745-2021)和《小麦品种真实性鉴定 SNP 标记法》(NY/T 4021-2021),标志着利用 SNP 技术进行农作物品种真实性鉴定将成为今后的主流方法。王泽涵等^[23]利用 24 个 SNP 分子标记鉴别出 74 份茶树种质资源。颜廷进等^[24]利用 46 个 SNP 分子标记,鉴别出 198 份菜豆种质资源。而本研究所开发的 26 个 SNP 分子标记,可以鉴别出 61 份小豆种质资源,这可能是由于选用的标记中有些标记为功能基因相关标记,多态性相对较低。另外 41 份小豆种质资源的分子标记指纹图谱有重复,无法区别,这可能是由于亲缘关系较近或所选取的标记数量较少。在前人的研究中也有类似情况,José 等^[25]利用 48 个 SNP 分子标记对 200 个葡萄品种进行了基因分型,有 5 份亲缘关系极其相近的葡萄品种没有被区分开。Jing 等^[26]利用 40 个 SNP 标记对辣椒的栽培品种进行分析,可以鉴别出 97.5%的辣椒栽培品种以及全部的甜椒栽培品种。增加 SNP 分子标记的数量或许可以进一步区分小豆种质资源,但是 SNP 分子标记仍难以区分亲缘关系较近的小豆种质资源^[27],且成本较高^[24]。

形态性状的鉴定和描述是种质资源研究最基本的方法和途径,是种以上或种内分类的重要依据之一^[28]。小豆具有丰富的遗传多样性,本研究所选取的质量性状的遗传多样性指数为 0.787 1~1.548 7,其中生长习性、荚形、粒形、单叶叶色的多样性指数>1.000 0,可以看出这些质量性状变异幅度较大,这与龙珏臣等^[29]的研究结果一致。金文林等^[30]对小豆农艺性状的遗传参数变化规律的研究结果表明,主茎节数、单荚粒数、单株产量、株高和单株荚数等均为数量遗传性状,受环境影响大,

表现不稳定。Aoyama 等^[31]对小豆矮化突变体的研究结果表明,矮小的表型是通过有丝分裂和减数分裂遗传的,由遗传不稳定的基因座控制。鉴于表型数量遗传性状的遗传不稳定性,本研究进行表型鉴别时仅选取质量性状,未选择受环境条件影响较大的数量性状,避免在种质资源鉴定中出现误差^[5-6],保证鉴定结果的可靠性。

SNP 指纹图谱已被应用于长节耳草^[16]和漆树^[17]的分类中。SNP 指纹图谱相同的种质资源具有不同的形态学特征,这是因为所开发的分子标记所在位点与表型性状之间不具备足够的关联性^[14],这与刘洪等^[11]、吕建珍等^[32]对花生和谷子的研究结果一致。本研究采用的 SNP 分子标记结合质量性状分析可对小豆种质资源进行准确鉴别,在供试的 102 份小豆种质资源中未出现重复种质资源,并准确鉴别重名种质资源,为小豆种质资源遗传鉴定、交流和科学利用提供了技术支撑。

参考文献:

- [1] 林汝法,柴岩,廖琴.中国小杂粮[M].北京:中国农业技术科学出版社,2002:210-227.
- [2] 王丽侠,王素华,常汝镇,等.小豆种质资源研究与利用概述[J].植物遗传资源学报,2013,14(3):440-447.
- [3] 颜军,杨旭红,王雨,等.我国小豆品种选育与新品种保护进展[J].种子,2021,40(4):51-58.
- [4] 段永红,渠云芳.遗传标记在植物研究中的应用[M].北京:中国农业科学技术出版社,2010:4.
- [5] 白鹏,程须珍,王丽侠,等.小豆种质资源农艺性状综合鉴定与评价[J].植物遗传资源学报,2014,15(6):1209-1215.
- [6] 何伟锋,叶福民,乔辉,等.辽宁省小豆种质资源表型鉴定及多样性分析[J].河北农业大学学报,2022,45(1):20-29.
- [7] 贾继增.分子标记种质资源鉴定和分子标记育种[J].中国农业科学,1996,29(4):1-10.
- [8] BUTTON P. The international union for the protection of new varieties of plants (UPOV) recommendations on variety denominations [J]. Acta Horticulturae, 2008, 799:191-200.
- [9] 赵波,金文林,濮绍京,等.基于 SSR 小豆新品种(系) DNA 指纹图谱构建及亲缘分类初探[J].北京农学院学报,2008,23(3):1-6.
- [10] 颜军,焦雄飞,张凯浙,等.基于 SSR 标记的小豆品种鉴定体系建立及应用[J].分子植物育种,2023,21(2):525-543.
- [11] 刘洪,徐振江,饶得花,等.基于形态学性状和 SSR 标记的花生品种遗传多样性分析和特异性鉴定[J].作物学报,2019,45(1):26-36.
- [12] 徐晓丹,冷森,张明媛,等.基于转录组的小豆 SSR 分子标记开发及其应用[J].干旱地区农业研究,2023,41(1):13-18.

- [13] HELYAR S J, HEMMER H J, BEKKEVOLD D, et al. Application of SNPs for population genetics of nonmodel organisms: new opportunities and challenges [J]. *Molecular Ecology Resources*, 2011, 11(1): 123-136.
- [14] LI Y, YANG K, YANG W, et al. Identification of QTL and qualitative trait loci for agronomic traits using SNP markers in the adzuki bean [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8(8): 840.
- [15] MASAHICO M, KENTO M, TSUBASA K, et al. Mapping of QTLs controlling epicotyl length in adzuki bean (*Vigna angularis*) [J]. *Breeding Science*, 2021, 71(2): 208-216.
- [16] 袁明灯, 江国彬, 王瑞江. 国产耳草属长节耳草及其相似种的分类研究 [J]. *热带亚热带植物学报*, 2022, 30(3): 377-391.
- [17] 魏朔南, 赵喜萍, 田敏爵, 等. 应用植物形态学和 AFLP 分子标记鉴别陕西漆树品种 [J]. *西北植物学报*, 2010, 30(4): 665-671.
- [18] SAGHAI M A, SOLIMAN K M, JORGENSEN R A, et al. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1984, 81(24): 8014-8018.
- [19] BOTSTEIN D R, WHITE R L, SKOLNICK M H, et al. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms [J]. *The American Journal of Human Genetics*, 1980, 32(3): 314-331.
- [20] 刘欣, 程瑞, 徐兵划, 等. 基于 KASP 技术的 SNP 标记用于西瓜品种指纹图谱构建和种子纯度检测 [J]. *江苏农业学报*, 2022, 38(5): 1348-1356.
- [21] 程须珍, 王素华, 王丽侠. 小豆种质资源描述规范和数据标准 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2006: 12-75.
- [22] 张昆鹏. 利用 SNP 标记构建油菜品种指纹图谱及定位下卷叶性状基因的研究 [D]. 南京: 南京农业大学, 2013.
- [23] 王泽涵, 于文涛, 樊晓静, 等. 利用 SNP 标记构建漳州南部茶树种质资源的分子身份证 [J]. *江苏农业科学*, 2022, 50(18): 284-289.
- [24] 颜廷进, 蒲艳艳, 张文兰, 等. 基于 SNP 标记的菜豆品种真实性和纯度鉴定技术 [J]. *山东农业科学*, 2019, 51(12): 111-119.
- [25] JOSÉ A C, JAVIER I, DIEGO L, et al. A 48 SNP set for grapevine cultivar identification [J]. *BMC Plant Biology*, 2011, 11(1): 153.
- [26] JING J K, PARK S W, LIU W Y, et al. Discovery of single nucleotide polymorphism in *Capsicum* and SNP markers for cultivar identification [J]. *Euphytica*, 2010, 175(1): 91-107.
- [27] 魏中艳, 李慧慧, 李骏, 等. 应用 SNP 精准鉴定大豆种质及构建可扫描身份证 [J]. *作物学报*, 2018, 44(3): 315-323.
- [28] HOREJSI T, STAUB J E. Genetic variation in cucumber (*Cucumis sativus* L.) as assessed by random amplified polymorphic DNA [J]. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 1999, 46(4): 337-350.
- [29] 龙珏臣, 杜成章, 张晓春, 等. 重庆小豆种质资源的遗传多样性分析及白粉病抗性鉴定 [J]. *四川农业大学学报*, 2022, 40(4): 481-488.
- [30] 金文林, 陈迎春, 陈丽燕, 等. 小豆杂交后代主要农艺性状的遗传参数分析 [J]. *北京农学院学报*, 1997(2): 1-9.
- [31] AOYAMA S, ONISHI K, KATO K. The genetically unstable dwarf locus in azuki bean [*Vigna angularis* (Willd) Ohwi & Ohashi] [J]. *J Hered*, 2011, 102(5): 604-609.
- [32] 吕建珍, 王宏勇, 任莹, 等. 不同生态区谷子品种表型鉴定及 SSR 遗传多样性分析 [J]. *核农学报*, 2023, 37(3): 471-482.

(责任编辑:成纾寒)