



基于 SSR 标记的彩色马铃薯亲缘关系分析及指纹图谱构建

王若秋, 赵 朋, 王冬冬, 王耀红, 陈 勤*

(旱区作物逆境生物学国家重点实验室 西北农林科技大学 农学院, 陕西杨陵 712100)

摘 要: 为了探究彩色马铃薯种质资源的遗传背景, 该试验共选用 22 对 SSR 标记引物, 对 33 份彩色马铃薯品种(系)进行遗传多样性分析以及指纹图谱构建。结果表明: (1) 22 对引物可扩增得到 95 个等位位点, 其中 82 个为多态性位点, 多态性比率达到 86.31%; 多态信息量(PIC)从 0.168 7 (STM1053) 到 0.991 9 (STI033), 平均为 0.841 1。 (2) UPGMA 聚类分析表明, 在相似系数 0.71 处, 33 份供试材料分为 4 个主要聚类群, 不同聚类群之间具有较大的遗传差异。 (3) 利用 STM0031、STM0030、STI014、STM1029、STI001 共 5 对 SSR 标记引物构建了 33 份彩色马铃薯材料的分子标记指纹图谱。该研究结果为彩色马铃薯育种亲本组配奠定了理论基础, 有助于彩色马铃薯种质资源的快速鉴定。

关键词: 彩色马铃薯; SSR 标记; 亲缘关系分析; 指纹图谱

中图分类号: Q346⁺.5; Q789 **文献标志码:** A

Genetic Relationship Analysis and Fingerprint Profile Construction of Pigmented Potato Based on SSR Markers

WANG Ruoqiu, ZHAO Peng, WANG Dongdong, WANG Yaohong, CHEN Qin*

(State Key Laboratory of Crop Stress Biology for Arid Areas and College of Agronomy, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Pigmented potato contains massive antioxidants such as anthocyanin and flavonoid, thus they can be used as nutrient and healthy foods. To investigate the genetic background of pigmented potato and provide effective information on parental combination for potato breeding, we used 22 SSR markers for genetic diversity analysis and fingerprint profile of 33 pigmented potato varieties (lines). The results indicated that 95 alleles were amplified from 22 SSR markers, and 82 alleles showed polymorphism. Polymorphism information contents (PIC) of 22 SSR markers ranged from 0.168 7 (STM1053) to 0.991 9 (STI033) with an average of 0.841 1. UPGMA method was used for clustering analysis. With the similarity coefficient of 0.71, all the pigmented potatoes were classified into four cluster groups. A significant diversity was found among four cluster groups. Five SSR markers (STM0031, STM0030, STI014, STM1029, STI001) were used to select construct the molecular fingerprint profile of 33 pigmented potato varieties (lines). The research results were useful to the parental combination during breeding for pigmented potato and rapid identification of pigmented potato germplasm resources.

收稿日期: 2017-09-14; 修改稿收到日期: 2017-11-14

基金项目: 陕西省农业厅科技创新计划 (2016CX-Y05)

作者简介: 王若秋 (1993-), 女, 在读硕士研究生, 主要从事马铃薯遗传育种研究。E-mail: wrq@nwfau.edu.cn

* 通信作者: 陈 勤, 教授, 博士生导师, 主要从事马铃薯遗传育种研究。E-mail: chenpeter2289@nwsuaf.edu.cn

Key words: pigmented potato; SSR marker; genetic relationship analysis; fingerprint

马铃薯(*Solanum tuberosum* L.)是世界四大粮食作物之一,也是菜、饲和工业原料兼用作物。由于马铃薯营养丰富,粮菜兼用,含有丰富的维生素及钙、钾等微量元素,且易于消化吸收,老少皆宜,功能齐全,颇受人们称赞。有的称誉它为“第二面包”,有的赞扬它是“植物之王”^[1]。在欧美国家特别是北美,马铃薯早就成为第二主食。2015 年 1 月中国农业部发布消息称将推动马铃薯主粮化战略^[2]。马铃薯相比三大主粮的优势在于,种植周期短、产量高^[3]。与普通马铃薯相比,彩色马铃薯含有较多的花青素、多酚、类黄酮等抗氧化活性物质,具有较高的营养价值和保健作用^[4]。彩色马铃薯含有多种花青素,使其抗氧化活性达到普通马铃薯的 2~3 倍^[5]。因此,彩色马铃薯的培育及保健作用研究成为当前科研热点。

彩色马铃薯培育中,利用亲缘关系较远的彩色马铃薯彼此杂交,发挥杂种优势,有利于培育色素含量更高的新品种。然而,中国马铃薯品种鉴定一般基于传统的形态学特征,如块茎性状、叶型、花色等^[6],这些性状容易受环境条件影响,并且对植物及块茎成熟度等都有一定的要求^[7]。如何快速准确鉴别彩色马铃薯品种,选配优良杂交亲本组合培育新品种,已成为当前马铃薯育种工作中急需解决的问题。SSR 分子标记克服了形态标记的不足,扩增结果稳定、检测手段简便易行,与 RFLP 等其它分子标记相比,具有基因组间分布广、共显性、多态性高、

重复性好、扩增结果稳定及操作简单等优点,被广泛应用于植物亲缘关系分析、指纹图谱构建等方面。王绍鹏等^[8]利用 4 对引物对黑龙江省 7 个主栽品种进行 SSR 标记,通过相似度分析区分出 6 个马铃薯品种。段艳凤等^[9]利用 SSR 标记构建了中国在 2000~2007 年之间审定的 88 个马铃薯品种的指纹图谱并进行了遗传多样性分析,聚类分析结果与供试材料系谱来源具有较好一致性,同一栽培区域育成的品种在不同程度上聚在一类。张自强等^[10]从 90 对 SSR 引物中筛选出 10 对多态性好、重复性强的引物将 36 个马铃薯品种划分成 7 类,从 DNA 分子水平揭示出各供试品种间的亲缘关系。目前,国内彩色马铃薯品种并不丰富,因此关于彩色马铃薯种质资源遗传多样性的报道仍比较少见。

本研究旨在利用 SSR 分子标记技术,对 33 份彩色马铃薯种质材料进行遗传多样性分析,构建分子标记指纹图谱,为彩色马铃薯新品种的选育提供科学指导并为彩色马铃薯种质资源的快速鉴定提供技术依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

试验选用 33 份国外引进和西北农林科技大学马铃薯课题组自主培育的彩色马铃薯品种(系)进行遗传多样性分析,各品种(系)薯皮和薯肉颜色见图 1 和表 1。

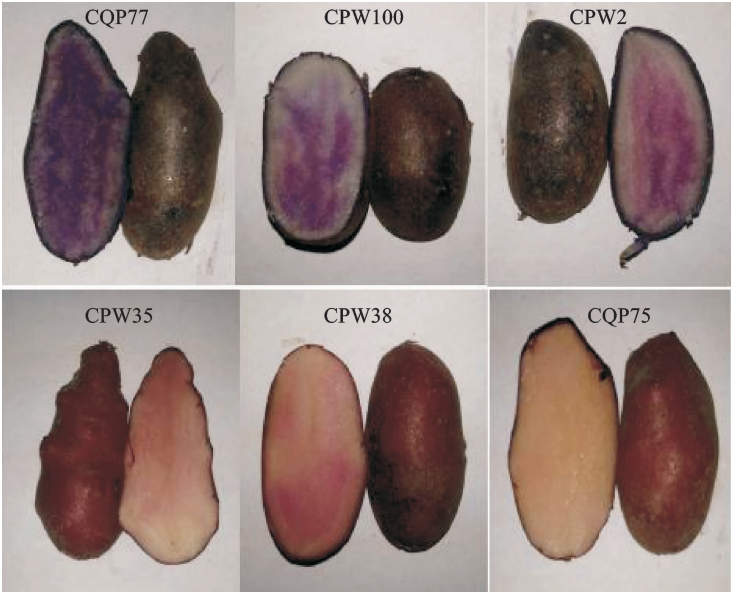


图 1 部分彩色马铃薯原原种块茎
Fig. 1 Tuber traits of some pigmented potato varieties

表 1 供试彩色马铃薯品种(系)

Table 1 Pigmented potato varieties (lines) used in the research

编号 Number	材料 Material	薯皮颜色 Potato skin color	薯肉颜色 Flesh color	编号 Number	材料 Material	薯皮颜色 Potato skin color	薯肉颜色 Flesh color
1	CQP46	白 White	白 White	18	CPW19	红 Red	红 Red
2	CQP67	紫 Purple	浅紫 Light purple	19	CPW199	紫 Purple	紫 Purple
3	CQP69	红 Red	红 Red	20	CPW2	紫 Purple	花紫 White and purple
4	CQP70	紫 Purple	紫 Purple	21	CPW29	红 Red	红 Red
5	CQP71	浅红 Light red	黄 Yellow	22	CPW35	浅紫 Light purple	淡红 Aarnation
6	CQP72	紫 Purple	紫 Purple	23	CPW36	浅紫 Light purple	淡红 Aarnation
7	CQP75	红 Red	白 White	24	CPW37	红紫 Reddish violet	红紫 Reddish violet
8	CQP77	紫 Purple	紫 Purple	25	CPW38	浅紫 Light purple	淡红 Aarnation
9	CQP82	黄 Yellow	黄 Yellow	26	CPW45	红 Red	红 Red
10	CQP85	红紫 Reddish violet	红 Red	27	CPW47	紫 Purple	紫 Purple
11	CPW10	紫 Purple	紫 Purple	28	CPW48	紫 Purple	紫 Purple
12	CPW100	紫 Purple	花紫 White and purple	29	CPW55	紫 Purple	紫 Purple
13	CPW11	紫 Purple	紫 Purple	30	CPW6	红紫 Reddish violet	红紫 Reddish violet
14	CPW12	红 Red	红 Red	31	CPW8	紫 Purple	紫 Purple
15	CPW14	红 Red	红 Red	32	CPW84	浅紫 Light purple	浅紫 Light purple
16	CPW15	红 Red	红 Red	33	CPW99	紫 Purple	紫 Purple
17	CPW16	红 Red	红 Red				

1.2 马铃薯 DNA 提取

取苗期马铃薯植株幼嫩、健壮且新鲜的叶片,置于保鲜袋中在液氮中速冻,于-80℃低温冰箱保存,用于基因组 DNA 的提取。采用 CTAB 小量法^[11]提取基因组 DNA,用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 质量,微量分光光度计 NanoDrop 2000 测定提取 DNA 浓度,然后将样品稀释为 100 ng/μL,置于一20℃冰箱中保存。

1.3 SSR 标记分析

本试验参考其他相关研究文献^[12],选择了马铃薯染色体组上的 22 个 SSR 标记,引物序列等相关信息见表 2。引物均由武汉金开瑞生物工程有限公司合成。

扩增反应体系为 15 μL: ddH₂O 为 4.50 μL, 2×Es Taq MasterMix(Dye)为 7.50 μL, 10 μmol/L 正向引物为 0.75 μL, 10 μmol/L 反向引物为 0.75 μL, DNA 模板为 1.50 μL。

扩增反应程序: 94℃模板预变性 2 min; 94℃变性 30 s, 58℃退火 30 s, 72℃延伸 15 s, 重复 30 个循环; 72℃终延伸 2 min, 4℃保存。PCR 产物用 8% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测, 电泳结束后用硝酸银染色观察结果^[13]。

1.4 数据统计及聚类分析

根据 SSR 位点上银染带型的有无, 转换为二进制数据, 有条带的赋值为“1”, 无条带的赋值为“0”。利用 NTSYS-pc 2.10 软件分析试验材料的遗传多样性。其中, 以 Qualitative data 模块计算试验材料间的遗传相似系数, SAHN 模块采用非加权类平均法(UPGMA)进行聚类分析, Tree plot 模块用于绘制树状聚类图。

多态信息量(Polymorphism information content, PIC)的计算依照公式^[14] $PIC = 1 - \sum P_i^2$, 表征 SSR 标记多态性信息含量(遗传多样性指数)。对某一特定 SSR 标记引物扩增出的多态性片段, P_i 为第 i 个等位基因在所有品种中出现的频率。

2 结果与分析

2.1 DNA 提取结果

将 33 份彩色马铃薯品种(系)提取的 DNA 各取 5 μL, 分别与 1 μL Loading buffer 混匀, 用 1% 琼脂糖凝胶, 120 V 电压, 电泳 30 min, 用紫外凝胶成像仪观察电泳结果。从电泳结果(图 2)可以看出, 本试验所提取的马铃薯 DNA, 电泳条带清晰无拖尾, 只有 1 条带, 片段大亮度高, 说明提取的基因组

表 2 SSR 标记引物名称及序列

Table 2 Primer sequences used for SSR markers

SSR 标记 SSR marker	正向引物序列 Forward primer sequence	反向引物序列 Reverse primer sequence	染色体 Chr.
STI060	ACTTCTGCATCTGGTGAAGC	GGTCTGGATTCCCAGGTTG	III
STI005	ACAGGAATCACACCTGCACA	TTCAACATCCGCCTGTCATA	III
STI025	CTGCCGCAAAAAGTGAAAAC	TGAATGTAGGCCAAATTTTGAA	VII
STI032	TGGGAAGAATCCTGAAATGG	TGCTCTACCAATTAACGGCA	V
S038	AAACCTGCTACAAATAAGGC	CAGAAATAATTGGAGGAGATG	VIII
S102	TTTAAGTTCTCAGTTCTGCAGGG	GTCATAACCTTTACCATTGCTGGG	—
STM0031	CATACGCACGCACGTACAC	TTCAACCTATCATTTTGTGAGTCG	VII
STI044	GAGAACCCCAACCACAA	GGTATTGTGCTTGAACAGCCA	VIII
STM1053	TCTCCCATCTTAATGTTTC	CAACACAGCATCAGATCATC	III
STI018	CCACTACTGCTTCCTCCACC	GCAGCAACAACAAGCTCAAC	XI
STI048	CGAGTCCGTGGATCTCACG	GATTCCC GCCGTAAAGC	VIII
S072	TAGGCTCGGGTCATTACAATAA	GCTCGCTGTGTTTGTGTGT	VII
STI001	CAGCAAAATCAGAACCCGAT	GGATCATCAAATTCACCGCT	IV
STM0030	GTTCATTCCGATAGACTTGAGACA	TGCAAATACTCTAGAGCAAGAAGG	XII
STI005	CTAATTTGATGGGGAAGCGA	CGGAGATAAAACCCAAGTCC	III
STM0019	AATAGGTGTACTGACTCTCAATG	TTGAAGTAAAAGTCCTAGTATGTG	VI
STI029	GACTGGCTGACCCTGAACTC	GACAAAATTACAGGAAGTCAAA	II
STI033	TGAGGGTTTTTCAGAAAGGGA	CATCCTTGCAACAACCTCCT	VII
STM2022	GCGTCAGCGATTTTCAGTACTA	TTCAGTCAACTCCTGTTGCG	II
STM0028	CATAAATGGTTATACACGCTTTGC	TAATGGAGTTCTGAAAAGAAAGG	VII
STI014	AGAAACTGAGTTGTGTTTGGA	TCAACAGTCTCAGAAAACCTCT	IX
STM1029	AGGTTCACCTACAATCAAAGCA	AAGATTTCCAAGAAATTTGAGGG	I

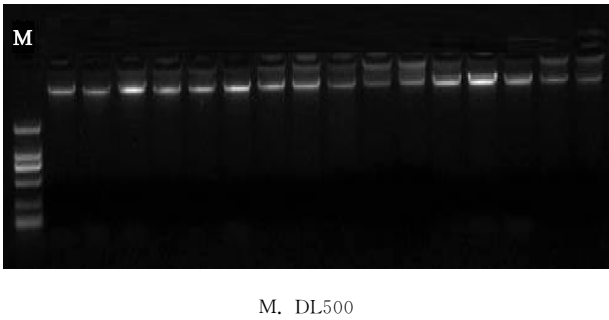


图 2 马铃薯基因组 DNA 琼脂糖电泳

Fig. 2 Agarose electrophoresis of potato genome DNA

DNA 没有降解,浓度较高。经微量分光光度计测定,DNA 浓度多在 800~1 000 ng/ μ L 之间,在质量与数量上均满足后续试验要求。

2.2 SSR 标记多态性分析

试验采用 22 对 SSR 标记引物(表 2),对 33 份彩色马铃薯材料进行 PCR 扩增,结果如表 3 所示。

由表 3 可知,22 对引物组合共检测到 95 个等位位点,其中 82 个为多态性位点,多态性比率达

86.31%,并且 DNA 片段的长度多在 50~400 bp 之间,表明供试材料的 SSR 多态性丰富。每对引物扩增出的等位位点数为 1~12 个,平均每对引物扩增出的等位位点数为 4.31 个。其中,引物 STI005 多态性条带最多,为 12 条;引物 STM1053 多态性条带最少,仅有 1 条。多态信息量(PIC)为 0.168 7 (STM1053)~0.991 9(STI033),平均为 0.841 1。图 3 为引物 STM2022 在部分彩色马铃薯材料中的扩增结果。

2.3 彩色马铃薯亲缘关系聚类分析

由表 4 可知,33 份彩色马铃薯材料之间遗传相似系数在 0.53~0.91 之间。其中,CPW15 与 CPW16 遗传相似系数最大,为 0.91,CQP75 与 CPW100 遗传相似系数最小,为 0.53。

按照 UPGMA 方法进行聚类分析^[15],得到 33 份供试材料的遗传关系聚类图(图 4)。通过共表型相关(cophenetic correlation)分析得出相关性系数

(*r*)为 0.72,说明聚类结果较好。在相似系数 0.71 处,33 份供试材料分为 4 个主要聚类群。其中,类群 I 包括 7 个材料,4 个材料为红紫色薯皮红紫色薯肉,其余 3 个都是浅紫色或淡红色马铃薯品种(系);类群 II 最大,包括 17 个材料,除 CQP71 为浅红色薯皮黄色薯肉之外,其余材料均为紫色或红色

表 3 SSR 标记扩增结果

Table 3 Amplification results of SSR markers			
SSR 标记 SSR marker	等位位点 Alleles	多态性位点 Polymorphic alleles	多态性信息量 <i>PIC</i>
STI060	4	3	0.907 8
STI005	4	4	0.971 7
STI025	2	1	0.723 8
STI032	3	2	0.721 2
S038	3	2	0.881 2
S102	6	6	0.949 7
STM0031	4	4	0.978 2
STI044	3	2	0.788 5
STM1053	1	1	0.168 7
STI018	4	3	0.817 5
STI048	2	2	0.781 6
S072	3	2	0.871 6
STI001	6	6	0.948 3
STM0030	3	3	0.917 5
STI005	12	11	0.979 3
STM0019	3	2	0.817 2
STI029	4	2	0.837 3
STI033	11	11	0.991 9
STM2022	7	7	0.969 0
STM0028	4	3	0.866 0
STI014	4	3	0.848 5
STM1029	2	2	0.767 3

马铃薯品种(系);类群 III 包括 7 个材料,4 个材料为均紫色或浅紫色马铃薯品种(系),CQP46 和 CQP75 为白色薯肉,CQP82 薯皮薯肉均为黄色;类群 IV 只有 CPW2 和 CPW100,均是花紫色马铃薯(花紫色是指薯肉白紫相间)。

2.4 指纹图谱分析

依据 22 对引物扩增条带的统计分析,综合考虑条带读取难易程度^[16]、重复性高低、多态性信息含量等^[17],筛选出 STM0031、STM0030、STI014、STM1029、STI001 共 5 对引物用于构建 33 份彩色马铃薯材料的分子标记指纹图谱。STM0031 扩增出的条带大小分别是 210、195、175 和 120 bp; STM0030 扩增出的条带大小分别是 160、140 和 133 bp;STI014 扩增出的条带大小分别是 140、132、

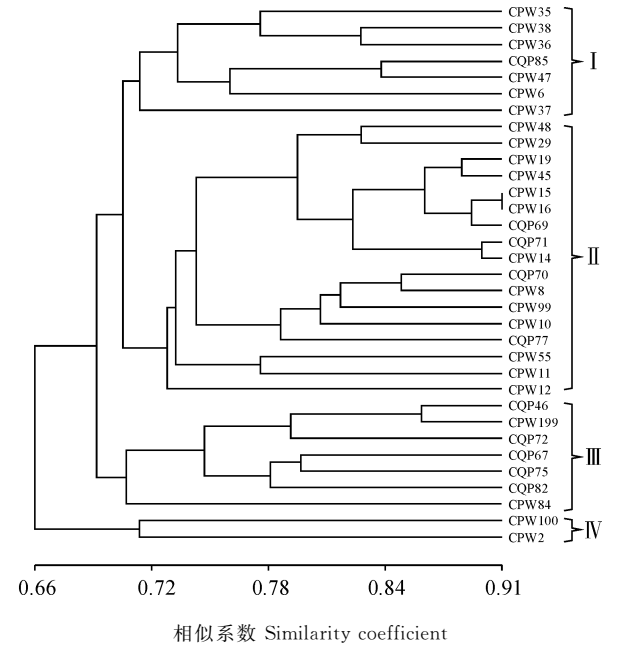
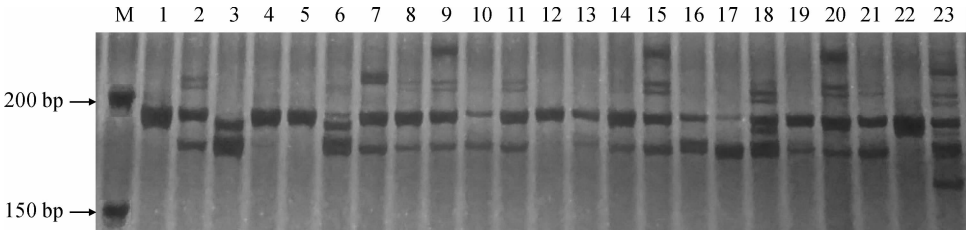


图 4 彩色马铃薯遗传关系聚类图

Fig. 4 Genetic clustering tree map of pigmented potato



M. DL500;1~23 分别为马铃薯品种 CQP46、CQP67、CQP69、CQP70、CQP71、CQP72、CQP75、CQP77、CQP82、CQP85、CPW10、CPW100、CPW11、CPW12、CPW14、CPW15、CPW16、CPW19、CPW199、CPW2、CPW29、CPW35、CPW36

图 3 引物 STM2022 扩增结果

M. DL500; 1 to 23 are CQP46, CQP67, CQP69, CQP70, CQP71, CQP72, CQP75, CQP77, CQP82, CQP85, CPW10, CPW100, CPW11, CPW12, CPW14, CPW15, CPW16, CPW19, CPW199, CPW2, CPW29, CPW35, CPW36

Fig. 3 Amplification results of primer STM2022

表 4 马铃薯材料之间遗传相似系数

Table 4 Genetic similarity coefficient among potato varieties (lines)

编号 Number	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32
2	0.76																															
3	0.72	0.73																														
4	0.69	0.75	0.83																													
5	0.72	0.66	0.87	0.77																												
6	0.78	0.73	0.77	0.75	0.68																											
7	0.73	0.80	0.84	0.78	0.76	0.78																										
8	0.66	0.67	0.74	0.74	0.76	0.72	0.73																									
9	0.69	0.77	0.81	0.75	0.73	0.75	0.80	0.67																								
10	0.62	0.72	0.74	0.74	0.72	0.74	0.79	0.71	0.69																							
11	0.68	0.67	0.74	0.78	0.80	0.65	0.71	0.77	0.67	0.64																						
12	0.65	0.62	0.60	0.66	0.68	0.60	0.53	0.61	0.58	0.63	0.67																					
13	0.66	0.67	0.74	0.69	0.74	0.67	0.71	0.75	0.65	0.68	0.73	0.61																				
14	0.64	0.69	0.74	0.69	0.72	0.69	0.73	0.75	0.67	0.68	0.66	0.63	0.73																			
15	0.69	0.66	0.87	0.77	0.89	0.68	0.80	0.78	0.77	0.74	0.78	0.68	0.72	0.76																		
16	0.61	0.64	0.89	0.77	0.83	0.68	0.78	0.72	0.75	0.74	0.72	0.62	0.65	0.76	0.89																	
17	0.64	0.69	0.88	0.80	0.80	0.67	0.81	0.73	0.78	0.73	0.71	0.61	0.68	0.77	0.82	0.91																
18	0.64	0.74	0.86	0.80	0.76	0.69	0.79	0.73	0.80	0.75	0.68	0.65	0.68	0.77	0.82	0.86	0.87															
19	0.86	0.77	0.77	0.79	0.73	0.81	0.80	0.76	0.75	0.72	0.76	0.64	0.74	0.72	0.75	0.68	0.69	0.72														
20	0.66	0.67	0.74	0.76	0.69	0.72	0.66	0.66	0.69	0.68	0.71	0.72	0.71	0.62	0.72	0.72	0.68	0.73	0.69													
21	0.62	0.67	0.80	0.72	0.80	0.65	0.68	0.68	0.72	0.77	0.66	0.72	0.73	0.66	0.76	0.80	0.77	0.79	0.63	0.75												
22	0.61	0.73	0.71	0.68	0.66	0.64	0.69	0.59	0.68	0.78	0.63	0.58	0.67	0.74	0.66	0.71	0.74	0.74	0.62	0.63	0.76											
23	0.66	0.80	0.74	0.72	0.67	0.69	0.79	0.66	0.74	0.81	0.66	0.59	0.73	0.73	0.69	0.72	0.77	0.77	0.72	0.66	0.73	0.78										
24	0.59	0.68	0.68	0.68	0.62	0.62	0.74	0.61	0.68	0.74	0.67	0.60	0.67	0.65	0.62	0.64	0.67	0.69	0.64	0.61	0.69	0.68	0.74									
25	0.62	0.78	0.80	0.72	0.69	0.67	0.75	0.73	0.74	0.71	0.71	0.55	0.71	0.73	0.69	0.76	0.79	0.81	0.67	0.66	0.75	0.78	0.83	0.74								
26	0.67	0.73	0.87	0.81	0.77	0.68	0.74	0.69	0.81	0.72	0.74	0.62	0.72	0.76	0.83	0.87	0.84	0.88	0.73	0.74	0.82	0.75	0.76	0.71	0.78							
27	0.61	0.73	0.71	0.73	0.66	0.68	0.74	0.74	0.68	0.84	0.67	0.62	0.72	0.67	0.68	0.68	0.72	0.74	0.68	0.69	0.76	0.71	0.76	0.73	0.69	0.75						
28	0.64	0.63	0.80	0.76	0.80	0.61	0.66	0.71	0.72	0.64	0.75	0.65	0.77	0.73	0.80	0.80	0.77	0.81	0.69	0.68	0.83	0.72	0.68	0.67	0.71	0.86	0.67					
29	0.57	0.62	0.77	0.73	0.73	0.64	0.74	0.74	0.68	0.69	0.67	0.58	0.78	0.72	0.75	0.79	0.82	0.78	0.64	0.72	0.78	0.71	0.69	0.62	0.69	0.75	0.66	0.76				
30	0.62	0.67	0.76	0.76	0.69	0.72	0.73	0.75	0.63	0.77	0.75	0.65	0.77	0.66	0.69	0.69	0.73	0.68	0.69	0.75	0.73	0.74	0.73	0.67	0.71	0.69	0.76	0.64	0.74			
31	0.72	0.73	0.81	0.85	0.81	0.73	0.78	0.84	0.71	0.78	0.84	0.68	0.80	0.76	0.83	0.77	0.78	0.78	0.83	0.74	0.76	0.71	0.78	0.66	0.76	0.79	0.77	0.80	0.75	0.82		
32	0.74	0.73	0.66	0.71	0.60	0.71	0.65	0.61	0.66	0.63	0.63	0.71	0.63	0.61	0.60	0.60	0.59	0.65	0.77	0.67	0.65	0.60	0.65	0.66	0.59	0.71	0.62	0.63	0.62	0.67	0.68	
33	0.73	0.74	0.74	0.80	0.76	0.72	0.73	0.81	0.69	0.71	0.81	0.63	0.73	0.73	0.74	0.67	0.68	0.64	0.80	0.68	0.68	0.61	0.68	0.63	0.71	0.69	0.72	0.68	0.65	0.71	0.84	0.61

注：表中材料编号同表 1

Note: The material numbers in the table are the same as Table 1

表 5 彩色马铃薯基因型指纹图谱

Table 5 Fingerprint profile of pigmented potato genotypes

品种(系) Variety (line)	STM0031	STM0030	STI014	STM1029	STI001
CPW35	1100	101	1110	11	010101
CPW48	0000	101	1110	01	111101
CPW55	0001	001	1111	01	010101
CPW29	0000	001	1100	01	111101
CPW38	0100	001	1111	01	001111
CPW11	0100	001	1101	10	000111
CPW12	0101	001	1111	11	100101
CPW19	0001	001	1110	01	001111
CPW36	1100	001	1111	11	001111
CPW15	0001	001	1110	01	100101
CPW16	0001	001	1110	01	000100
CQP71	0000	100	1100	01	000101
CQP69	0000	001	1100	01	000101
CQP85	1100	001	1110	11	000110
CQP70	0000	000	1110	11	000100
CQP77	0101	001	1111	01	001100
CPW6	0100	001	1100	10	000101
CPW14	0001	001	1100	01	000101
CPW37	0100	100	1101	11	101110
CPW199	0100	011	1111	10	000101
CQP67	0110	001	1111	11	001101
CPW99	0100	001	1111	11	000100
CPW8	0100	001	1110	11	001101
CQP72	0100	001	1001	10	000001
CQP46	0010	111	1001	10	000101
CQP82	0000	001	1101	01	000101
CQP75	0101	001	1101	11	000101
CPW10	0100	100	1111	01	000101
CPW45	0000	001	1110	01	100101
CPW84	0010	010	1101	10	111101
CPW47	0100	001	1110	11	001110
CPW100	0011	000	1100	10	011111
CPW2	0000	011	1101	11	000111

注:0 表示该位点处无条带,1 表示该位点处有条带

Note: 0 means there is no band at this locus, while 1 means there is a band at this locus

120 和 113 bp;STM1029 扩增出的条带大小分别是 170 和 160 bp;STI001 扩增出的条带大小分别是 240、230、210、198、194 和 189 bp。这 5 对引物在所有供试材料中可检测到 19 个等位位点,多态性等位位点达 18 个,平均每对引物可以检测出 3.6 个等位

位点。利用这 5 对引物,可以完全区分 33 份供试彩色马铃薯材料(表 5)。

3 讨 论

目前,马铃薯育种仍以品种间杂交为主,亲本的

选配显得尤为重要^[18],既需要亲本携带目标性状或目的基因,又需要扩大亲本间的遗传差异。不同种质资源亲缘关系分析和指纹图谱的构建,对于杂交育种中优良亲本组合的选配及品种的快速鉴定具有重要的意义。而分子标记技术可以不受组织发育阶段和环境条件的影响^[19],从 DNA 水平上区分不同品种间的遗传差异,稳定可靠。为更好研究彩色马铃薯遗传多样性、为彩色马铃薯资源鉴定和利用提供依据^[20],本次研究中选用了 33 个表型有显著差异的马铃薯,利用 22 对引物进行亲缘关系的分析。结果表明 33 个马铃薯品种的遗传关系差异较大,可分为 4 个类群。其中,类群Ⅰ的 7 个材料均为(红)紫色薯皮(红)紫色薯肉;类群Ⅱ的 17 个材料,除 CQP71 为浅红色薯皮黄色薯肉之外,其余 16 个材料均为紫色或红色马铃薯品种(系);类群Ⅳ只有 2 个材料 CPW2 和 CPW100,均是花紫色马铃薯。上述结果说明 3 个类群内彩色马铃薯间的亲缘关系比较接近,遗传背景差异小,遗传多样性水平低,可能与杂交育种的亲本单一有关。因此在选择杂交亲本时,在满足育种目标的同时应充分考虑其遗传差异。类群Ⅲ包括 7 个材料,其中 4 个材料为(浅)紫色马铃薯品种(系),2 个材料为白色薯肉,CQP82 薯皮薯肉均为黄色。从亲缘关系来看,它们的遗传基础较为相似,可能由于控制色素合成的基因差异较大,所以薯皮薯肉颜色并不一致。

参考文献:

[1] 王佳楠. 黑龙江省马铃薯晚疫病菌群体遗传多样性 EST-SSR 分析[D]. 哈尔滨:东北农业大学,2009.

[2] 滕长才. 马铃薯亲本主要农艺性状的配合力分析及遗传距离的研究[D]. 西宁:青海大学,2009.

[3] 徐 敏. 中国马铃薯审定品种系谱分析及遗传多样性研究[D]. 北京:中国农业科学院,2007.

[4] LIU Y H, WANG K L, RICHARD V ESPLEY, *et al.* Functional diversification of the potato R2R3 MYB anthocyanin activators AN1, MYBA1, and MYB113 and their interaction with basic helix-loop-helix cofactors[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2016, **67**(8): 2 159-2 176.

[5] STUSHNOFF C, DUCREUX L J, HANCOCK R D, *et al.* Flavonoid profiling and transcriptome analysis reveals new gene-metabolite correlations in tubers of *Solanum tuberosum* L. [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2010, **61**(4): 1 225-1 238

本研究利用 22 对引物将 33 个供试材料在相似系数 0.71 处分为 4 个类群。石景等^[15]用 56 对 SSR 引物分析了 55 份彩色马铃薯供试材料,在相似系数 0.63 处可将全部材料分为三大类。段艳凤等^[9]用 10 对 SSR 引物分析了 88 个马铃薯审定品种的亲缘关系并构建了指纹图谱,在相似系数 0.652 处,81.8% 的材料仍聚类在一组,说明供试材料遗传基础非常狭窄。李先平等^[21]用 41 个 SSR 标记检测了 30 份彩色马铃薯材料的亲缘关系,供试材料分为两大类群。上述研究结果与本研究结果较为一致,马铃薯品种(系)遗传类群较少,表明中国目前的马铃薯品种及种质资源遗传背景相近,遗传基础组成较为狭窄。

本研究所用彩色马铃薯材料表现出相对较大的遗传基础差异,这可能得益于部分国外新引进种质资源,提高了彩色马铃薯的遗传多样性。虽然供试材料在 4 个主要聚类群之间表现出较大遗传差异,但是每个类群之内遗传基础比较狭窄。因此,在彩色马铃薯新品种选育中,应选择遗传差异丰富的种质资源进行杂交,以拓宽遗传基础,提高彩色马铃薯品种营养性的同时增强其对环境胁迫的抵御能力^[22-23]。通过对这 33 份彩色马铃薯材料的遗传多样性分析及指纹图谱构建,将有助于提高彩色马铃薯新品种选育效率。

[6] CANDICE N. HIRSCH, CORY D. HIRSCH, KIMBERLY FELCHER, *et al.* Retrospective view of north American potato (*Solanum tuberosum* L.) breeding in the 20th and 21st Centuries. [J] *G3 (Bethesda)*, 2013, **3**(6): 1 003-1 013.

[7] E. M. SCHONHALS, F. ORTEGA, L. BARANDALLA, *et al.* Identification and reproducibility of diagnostic DNA markers for tuber starch and yield optimization in a novel association mapping population of potato (*Solanum tuberosum* L.) [J] *Theoretical and Applied Genetics*, 2016, 129: 767-785.

[8] 王绍鹏,邱彩玲,李 勇,等. 马铃薯 DNA 提取及 SSR 标记分析[J]. 东北农业大学学报,2009,(5):7-12.

WANG S P, QIU C L, LI Y *et al.* Extraction of potato DNA and SSR molecular marker analysis. [J] *Journal of Northeast Agricultural University*, 2009,5:7-12.

[9] 段艳凤,刘 杰,卞春松,等. 中国 88 个马铃薯审定品种 SSR 指纹图谱构建与遗传多样性分析[J]. 作物学报,2009,(8): 1 451-1 457.

DUAN Y F, LIU J, BIAN C S, *et al.* Construction of finger-printing and analysis of genetic diversity with SSR markers for eighty-eight approved potato cultivars (*Solanum tuberosum* L.) in China[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2009, (8):1 451-1 457.

[10] 张自强, 于肖夏, 鞠天华, 等. 36 个马铃薯品种的 SSR 分析[J]. 华北农学报, 2012, (1):93-97.

ZHANG Z Q, YU X X, JU T H *et al.* SSR analysis on 36 potato varieties[J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2012, (1):93-97.

[11] JONES J R, WALKER R T. Isolation and analysis of the de-oxyribonucleic acid of *Mycoplasma mycoides* var. *capri* [J] *Nature*, 1963, (198): 588-589.

[12] GHISLAIN M, SPOONER D M, RODRÍGUEZ F, *et al.* Se-lection of highly informative and user-friendly microsatellites (SSRs) for genotyping of cultivated potato[J] *Theoretical and Applied Genetics*, 2004, 108: 881-890.

[13] 赵 朋, 徐 凤, 蒋文慧, 等. 春小麦旗叶长度、宽度及叶绿素含量 QTL 分析[J]. 麦类作物学报, 2015, (5):603-608.

ZHAO P, XU F, JIANG W H, *et al.* Quantitative trait loci analysis of flag leaf length, width and chlorophyll content of spring wheat[J] *Journal of Triticeae Crops*. 2015, (5):603-608

[14] NEI M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. [J] *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 1973, 70; 3 321-3 323.

[15] 石 景, 宋波涛, 金开建, 等. SSR 标记的彩色马铃薯遗传多样性分析及指纹图谱构建[J]. 农业生物技术学报, 2012, (4):362-371.

SHI J, SONG B T, JIN K J, *et al.* Genetic diversity and fin-gerprinting of 50 pigmented potato (*Solanum tuberosum* L.) genotypes with SSR markers[J] *Journal of Agricultural Bi-otechnology*, 2012, (4):362-371.

[16] 王 晨. 马铃薯晚疫病菌的表现型和 SSR 基因型分析[D]. 哈尔滨:东北农业大学, 2012.

[17] 石 景. 基于 SSR 标记的彩色马铃薯亲缘关系分析及指纹图谱构建[D]. 武汉:华中农业大学, 2011.

[18] 叶中悦. 基于 SSR 标记的马铃薯种质资源遗传评价体系的建立及遗传多样性研究[D]. 武汉:华中农业大学, 2011.

[19] 张超凡. 湖南甘薯品种遗传多样性分析[D]. 长沙:中南大学, 2010.

[20] 李芳弟. 马铃薯种质资源遗传多样性的 AFLP 分析[D]. 西 宁:青海大学, 2010.

[21] 李先平, 王冬冬, 陈秀华, 等. SSR 分子标记分析彩色马铃薯品种间的遗传关系[J]. 东北农业大学学报, 2012, (7): 61-69.

LI X P, WANG D D, CHEN X H, *et al.* Genetic diversity research of color potato cultivars by SSR molecular markers [J]. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2012, (7):61-69.

[22] 黄先群, 冉 江, 黄 团, 等. 马铃薯引进品种及变异材料的 SSR 遗传多样性分析[J]. 西南农业学报, 2014, (4):1 399-1 403.

HUANG X Q, RAN J, HUANG T, *et al.* Genetic diversity analysis of introduced varieties and mutation materials by SSR markers in potato[J]. *Southwest China Journal of Agricul-tural Sciences*, 2014, (4):1 399-1 403.

[23] 甘 霖. 马铃薯杂交种 ISSR 鉴定与高产优质株系选育研究 [D]. 呼和浩特:内蒙古农业大学, 2013.

(编辑:宋亚珍)