

潘磊,宋丽娟,高桐,等.菜豆种子遗传变异的InDel分子标记分析[J].江西农业大学学报,2020,42(2): 250-258.



菜豆种子遗传变异的InDel分子标记分析

潘磊,宋丽娟,高桐,郭瑞,王红波,陈禅友

(江汉大学 生命科学学院/湖北省食用豆类植物自然资源中心/湖北省豆类(蔬菜)植物工程技术研究中心,湖北武汉 430056)

摘要:【目的】InDel(insertion/deletion,插入/缺失)在基因组上数量多、分布广。InDel标记是近年来发展的一种新型共显性分子标记,以PCR技术为基础,检测方便、经济有效,且准确性高、稳定性好。因此,InDel标记已经广泛应用于动植物的基因型鉴定、遗传多样性分析、基因定位以及功能标记开发等。但是,目前菜豆资源遗传变异的InDel分子标记研究尚知之甚少。【方法】利用已报道的菜豆InDel序列,合成InDel引物,通过普通PCR扩增,检测25份菜豆种质资源的InDel多态性位点,分析遗传多样性参数,进行UPGMA聚类分析,结合菜豆籽粒农艺性状评价,研究菜豆种子遗传变异特点。【结果】25份菜豆的种子表型差异明显,包括单粒长度、单粒宽度、单粒厚度、百粒质量等。种皮的颜色大致可划分为纯色和花色两个系列。纯色主要包括为黄色(7份)、黑色(5份)、白色(4份)和红色(1份);种皮花色的类型包括红色带黄斑(4份)、黄色带红斑(2份)、红色带白斑(1份)和黄色带白斑(1份)。12对InDel多态性引物在25份菜豆中,共检测到26个InDel位点,平均位点数是2.17个。引物的平均有效等位位点数为1.78个,多态信息含量PIC平均值是0.33,期望杂合度(H_e)平均值为0.42,观察杂合度(H_o)平均值为0.52,群体的遗传多样性指数 I 为0.63。UPGMA聚类分析表明,在遗传相似性系数为0.54时,25份菜豆资源可分为5个类群,聚类结果与其种皮颜色存在一定相关性。【结论】12个InDel标记检测出25份供试菜豆资源的中等遗传多样性水平,并揭示其种皮颜色的遗传分化特点。这将有助于菜豆遗传资源的评价、鉴定和保护利用等分子生物学研究。

关键词:菜豆;InDel标记;种子;遗传变异

中图分类号:S643.14 文献标志码:A 文章编号:1000-2286(2020)02-0250-09

Analysis of Genetic Variation of Common Bean Seeds Using InDel Molecular Markers

PAN Lei, SONG Li-juan, GAO Tong, GUO Rui,
WANG Hong-bo, CHEN Chan-you

(School of Life Sciences, Hubei Province Engineering Research Center of Legume Plants, Hubei Natural Science Resources Center for Edible Legumes, Jiangnan University, Wuhan 430056, China)

Abstract: [Objective] InDel(insertion/deletion) exists widely in genome with a large number. InDel is a

收稿日期:2019-07-29 修回日期:2019-10-08

基金项目:湖北省自然科学基金项目(2017CFB442)、湖北省技术创新专项(重大项目)(2017ABA147)、湖北省食用豆类自然资源中心主任基金项目(2017-ZR01)和武汉市教学研究项目(2015071)

Project supported by Natural Science Foundation of Hubei province(2017CFB442), Major Project of Technological Innovation of Hubei province(2017ABA14), Director fund of Hubei Natural Science Resources Center for Edible Legumes(2017-ZR01) and Wuhan Teaching Research Projects(2015071)

作者简介:潘磊,副教授,博士,主要从事植物种质资源与分子育种研究,orcid.org/0000-0001-9563-0766,leipan@jhu.edu.cn。

new type of co-dominant molecular markers developed in recent years. Based on PCR technology, it is easy to be detected cost-effectively, and shows high accuracy and good stability. Therefore, InDel markers have been widely used in animal and plant studies, including genotyping, genetic diversity analysis, gene mapping, and functional marker development. However, knowledge is limited in the current InDel molecular marker studies on the genetic variation of kidney bean germplasm resources. **[Method]** Using the published InDel sequences in kidney bean, a set of InDel primers were synthesized and amplified by ordinary PCR. 25 kidney bean accessions were analyzed by the InDel primers and their genetic diversity were evaluated base on several genetic diversity parameters. Then, UPGMA clustering analysis was carried out to investigate the genetic variation characteristics of kidney bean seeds, combining with kidney bean grain agronomic traits. **[Result]** The seed phenotypes of 25 kidney bean accessions showed obvious difference, including single grain length, single grain width, single grain thickness, and 100 grain weight. The seed coat colors can be generally divided into two types: singular color and mosaic color. Singular color types mainly included yellow (7 accessions), black (5 accessions), white (4 accessions) and red (1 accession); and the types of seed mosaic colors include red with yellow spots (4 accessions), yellow with red spots (2 accessions), red with white spots (1 accession) and yellow with white spots (1 accession). Twelve pair primers detected 26 polymorphic InDel loci in 25 kidney bean accessions, with an average of 2.17 loci/InDel. The average number of effective alleles of the primers was 1.78, the average polymorphic information content *PIC* was 0.33, the expected average heterozygosity (*He*) was 0.42, the average observed heterozygosity (*Ho*) was 0.52, and the population genetic diversity index *I* was 0.63. UPGMA cluster analysis showed that at the genetic similarity coefficient value of 0.54, 25 kidney bean accessions can be divided into five groups, and a certain correlation was observed between the clusters and the seed coat colors. **[Conclusion]** Twelve InDel markers were applied successfully to detect the moderate level of genetic diversity within 25 kidney bean accessions, and revealed the genetic differentiation of their seed coat colors. The results will be helpful for the evaluation, identification, protection and utilization of kidney bean germplasm resources in future investigations.

Keywords: kidney bean; InDel marker; seed; genetic variation

【研究意义】菜豆(*Phaseolus vulgaris* L.)($2N=2X=22$)为豆科菜豆属的一年生草本植物,是主要的食用豆类蔬菜之一。目前学术界认为菜豆有两个独立起源中心,分别是“南墨西哥及中美中心”和“南美洲中心”^[1]。菜豆又被称为四季豆、芸豆、玉豆等,在世界范围内广泛种植,而我国的菜豆栽培面积和产量居于世界前列^[2]。据记载,菜豆在15世纪传入中国,栽培历史较长,类型丰富,分布广,种植面积大。截至2016年3月,经过中国农业科学院编目入库的菜豆(粒用类型为主)约有5 677份^[3]。在农业生产中,依据生长习性,可将菜豆划分为直立型和蔓生型^[4];依据用途,又可分为粒用菜豆和荚用菜豆。随着市场需求的变化,培育高产优质抗性好的菜豆品种,一直是菜豆育种的主攻方向。对不同种质资源的遗传背景进行分析,区分种质间的差异,鉴定亲缘关系,遗传多样性评价等,对于育种具有重要意义。因此,利用分子标记技术进行辅助育种成为当前育种的研究焦点之一。**【前人研究进展】**插入/缺失(InDel, insertion/deletion)标记是指在近缘种或者同一个物种不同个体之间的基因组同一位点的序列发生的不同大小核苷酸片段的插入或缺失,是同源序列比对产生的空位现象^[5-6]。InDel在基因组上数量多,分布广。InDel分子标记本质上仍然属于DNA序列长度多态性的标记。InDel标记作为一种共显性的分子标记,准确性高、稳定性好,而且以PCR扩增技术为基础,检测方便,经济有效。目前,InDel标记已经广泛应用于农作物的分子基础研究中,进行基因型鉴定、遗传多样性分析、基因定位以及功能标记开发等。杨双娟等^[7]采用甘蓝InDel标记进行种子纯度鉴定分析。魏利斌等^[8]利用InDel分子标记进行芝麻遗传多样性分析,可将国内和国外芝麻资源划分为两大类,且绝大多数芝麻材料的亲缘关系较远。利用番茄粉红色果实相关基因的InDel标记,能有效区分红色、粉红色和杂合基因型,可以用于番茄苗期分子标记辅助选择^[9]。在水稻中,采用InDel标记能判别水稻的籼粳属性,鉴别不同品种类型^[10-12]。基于19个多态性InDel标

记,构建了42个绿豆主栽品种的DNA指纹图谱,能鉴定绿豆品种真伪^[13]。【本研究切入点】然而,在菜豆的InDel分子标记研究与应用方面,目前知之甚少,在为数不多的研究报道中,Moghaddam等^[14]基于二代测序技术在菜豆中开发了2 687InDel分子标记,并对24个国外菜豆品种进行检测,筛选获得了172个多态性InDel标记。【拟解决的关键问题】本研究尝试将InDel标记应用于我国菜豆种质资源,分析其遗传多样性和遗传关系,从而为菜豆遗传资源的保护和遗传改良等提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本研究中供试的25份菜豆种质材料,均由湖北省食用豆类植物自然科技资源中心和湖北省豆类(蔬菜)植物工程技术中心提供(表1)。

表 1 供试 25 份菜豆种质资源信息列表
Tab.1 Information of 25 common bean accessions used in this study

代号 Code	地理来源 Origin	种皮颜色 Seed color	代号 Code	地理来源 Origin	种皮颜色 Seed color
SJ0156	广东韶关	红色	SJ0203	湖北孝感	黑色
SJ0160	广东韶关	黑色	SJ0209	湖北随州	黄色带白斑
SJ0162	广东韶关	黄色	SJ0215	湖北十堰	黑色
SJ0179	湖北武汉	黄色带红斑	SJ0222	湖北神龙架	白色
SJ0180	河北秦皇岛	白色	SJ0225	甘肃武威	红色带黄斑
SJ0181	河北秦皇岛	白色	SJ0226	湖北神龙架	红色带黄斑
SJ0182	湖南娄底	黑色	SJ0227	湖北神龙架	黄色
SJ0185	河南信阳	黄色	SJ0229	广东韶关	黄色
SJ0187	河南信阳	黑色	SJ0232	湖北武汉	黄色
SJ0192	湖北武汉	黄色带红斑	SJ0234	甘肃酒泉	黄色
SJ0193	河北邢台	红色带白斑	SJ0243	甘肃酒泉	黄色
SJ0201	湖北孝感	黄色	SJ0245	甘肃武威	白色
SJ0202	湖北武汉	红色带黄斑			

1.2 实验方法

1.2.1 菜豆基因组总DNA的提取纯化及检测 使用植物DNA提取试剂盒(北京天根生物科技有限公司),提取菜豆基因组总DNA,具体步骤方法参见试剂盒说明书。用10 g/L琼脂糖凝胶电泳检测进行DNA检测。采用mySPEC超微量分光光度计(mySPEC,奥地利)测定DNA质量和浓度。

1.2.2 引物的设计和PCR的扩增 菜豆InDel分子标记引物序列参考Moghaddam等^[14],引物序列见表2,由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

1.2.3 PCR扩增体系 采用25 μL反应体系,其中2.5 μL 10×buffer(含Mg²⁺),2.5 μL dNTP(2.5 mmol/L),0.3 μL *Taq*酶(5 U/μL),正向和反向引物各1 μL(10 μmol/L),DNA模板(50 ng/μL)1 μL,ddH₂O补足25 μL。

在Nexus gradient梯度PCR仪(Eppendorf,德国)上进行扩增,反应程序为:95℃,预变性3 min;35个循环(95℃,40 s,最适退火温度,40 s,72℃,40s);72℃延伸10 min。4℃保存备用。用20 g/L琼脂糖凝胶电泳检测PCR扩增的产物,用自动凝胶成像系统进行拍照记录。对于没有出现电泳条带的DNA样本重复进行PCR扩增。若重复3次仍无扩增产物,则认为扩增引物无效。

1.3 数据分析

1.3.1 菜豆籽粒农艺性状评价方法 对25个不同的菜豆种质,每个材料每次取50粒,重复3次,观测记录籽粒相关的农艺性状指标。用游标卡尺测量籽粒长度、籽粒宽度、籽粒厚度,观察种皮颜色,用天平称量50粒质量,再换算成百粒质量。

表 2 菜豆中 12 个多态性 InDel 分子标记
Tab.2 Twelve polymorphic InDel molecular markers in common bean

引物名称 Primer	引物序列(5'-3') Primer sequence	退火温度/℃ Annealing temperature	InDel 长度/bp InDel length	染色体 Chromosome
NDSU_IND_09_00.4358	F:ATATTTGGTAAACCGGCGGGAACAGT R:GGAGAAGTTAAAGGGATGGGGTTGCT	60	23	9
NDSU_IND_08_06.6880	F:GGTTGTATCCATCAAGATCCTCGGAAG R:GGGGAATACTCTAAAAGACTCAACTCTTACCC	60	26	8
NDSU_IND_01_05.0609	F:CACTTGTCACATACATGAGGAAGCATGA R:TCCCAATATTGAAACCGACACAAAAGG	61	27	1
NDSU_IND_07_01.0755	F:TTCAAAGGGCCTGAAGTTTGCAATTA R:GGCTTTTGATCGGTGTGGTTCCTAAG	59	17	7
NDSU_IND_07_48.4756	F:GTGAAGGCTGAAGATGCTGTGCTTC R:AGAACACGGCGGCGGAAATTAT	60	9	7
NDSU_IND_09_25.7818	F:TGAAGACCAAACACTTCAAGAACAATTAGAGG R:TCTCTTCAACGTCATAAGCTCTGCAAAA	58	27	9
NDSU_IND_07_02.6485	F:TCATACCAGCAATATGGTAGACAACGACT R:TGTAGCTGGGAAGAAAAGGTAAGAAGA	62	19	7
NDSU_IND_10_42.1355	F:TGTCCTATAATTTATGGACTCGGACGTGTCA R:CCTGATTGGTCCAAGTGCTCCATTCT	63	26	10
NDSU_IND_06_12.3324	F:CATGTAAGGCATGGGAGTGAAAAGAGC R:TGGATAGGCCCTTCTTTTCATATCCT	63	20	6
NDSU_IND_05_01.7405	F:TGAGGAGTTGGATTTTCGAGGCAGA R:CACTACCAAGGCTGCATCTGAGGTTC	62	15	5
NDSU_IND_08_36.2119	F:TGCTGCGTTTCCATTGAAGATAAAGTAATG R:AGAACACAAATGCTTGAGGTGACCAAG	60	12	8
NDSU_IND_09_07.6278	F:TGGACAATCCAAAATCACAACCTGA R:TTGGAAGTGTGAAGGTAAGAATGCTACTGATTT	59	12	9

1.3.2 InDel 分子标记评价方法 将扩增产物的带型录入 Excel,采用 PopGen32^[15]软件计算遗传参数分析,包括期望杂合度(H_e , expected heterozygosity)、观察杂合度(H_o , observed heterozygosity)、引物多态性信息含量(PIC , polymorphism information content)、有效等位基因数(N_e , effective number of alleles per loci)和遗传多样性指数(I , Shannon's Information index)。构建 25 个菜豆种质的 0,1 矩阵,采用 NTSYS-pc 2.11 软件^[16]进行 UPGMA 聚类分析。

2 结 果

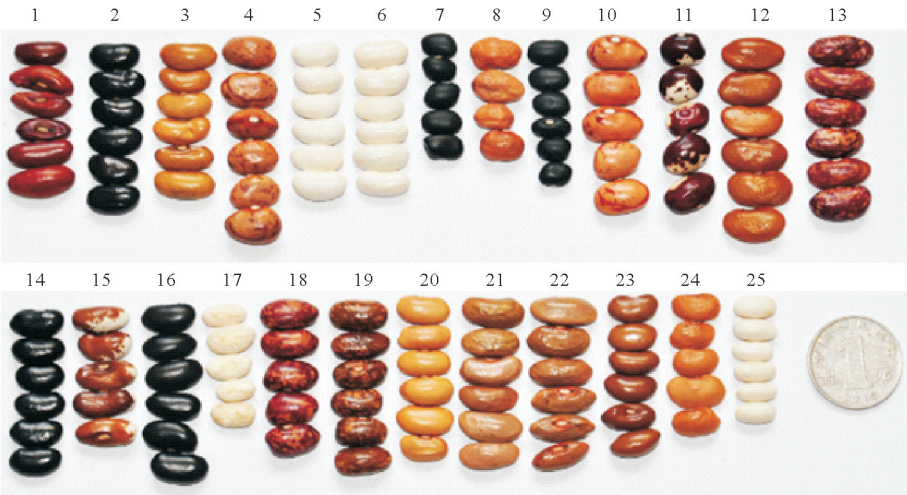
2.1 菜豆种子表型变异

供试 25 份菜豆种子表型变异比较结果(表 3),单粒长度变异区间均在 0.19 cm(SJ0182)~0.34 cm(–)(SJ0156),单粒宽度变异区间在 0.12 cm(SJ0225)~0.20 cm(SJ0193),单粒厚度变异区间在 0.10 cm(SJ0181)~0.19 cm(SJ0193),百粒质量变异区间在 19.06 g(SJ0187)~53.00 g(SJ0179)。种皮的颜色大致可划分为纯色和花色两个系列。纯色主要包括为黄色(7 份)、黑色(5 份)、白色(4 份)和红色(1 份);而种皮花色的类型包括红色带黄斑(4 份)、黄色带红斑(2 份)、红色带白斑(1 份)和黄色带白斑(1 份)。

表 3 25 份菜豆籽粒统计分析

Tab.3 Statistic analysis of seeds variation of 25 common bean accessions used in this study

代号 Code	样品 Sample	单粒长度/cm Seed length	单粒宽度/cm Seed width	单粒厚度/cm Seed thickness	百粒质量/g 100-grain weight
1	J0156	0.34	0.13	0.13	39.90
2	SJ0160	0.28	0.13	0.10	29.64
3	SJ0162	0.29	0.13	0.10	29.38
4	SJ0179	0.30	0.15	0.12	53.00
5	SJ0180	0.28	0.16	0.10	31.40
6	SJ0181	0.28	0.15	0.10	39.70
7	SJ0182	0.19	0.13	0.11	20.76
8	SJ0185	0.22	0.14	0.12	48.98
9	SJ0187	0.21	0.13	0.10	19.06
10	SJ0192	0.29	0.18	0.13	43.14
11	SJ0193	0.28	0.20	0.19	46.82
12	SJ0201	0.20	0.13	0.12	38.20
13	SJ0202	0.26	0.14	0.12	38.92
14	SJ0203	0.29	0.15	0.11	29.52
15	SJ0209	0.30	0.13	0.12	34.98
16	SJ0222	0.27	0.15	0.10	32.56
17	SJ0215	0.22	0.14	0.13	28.00
18	SJ0225	0.25	0.12	0.11	22.12
19	SJ0226	0.28	0.15	0.12	43.74
20	SJ0227	0.31	0.18	0.13	44.70
21	SJ0229	0.29	0.13	0.10	29.38
22	SJ0232	0.30	0.15	11.16	38.22
23	SJ0234	0.25	0.13	0.11	24.64
24	SJ0243	0.31	0.15	0.11	40.48
25	SJ0245	0.25	0.12	0.11	22.12



样品 1~25 的编号同表 3.“一元硬币”直径 2.5 cm.

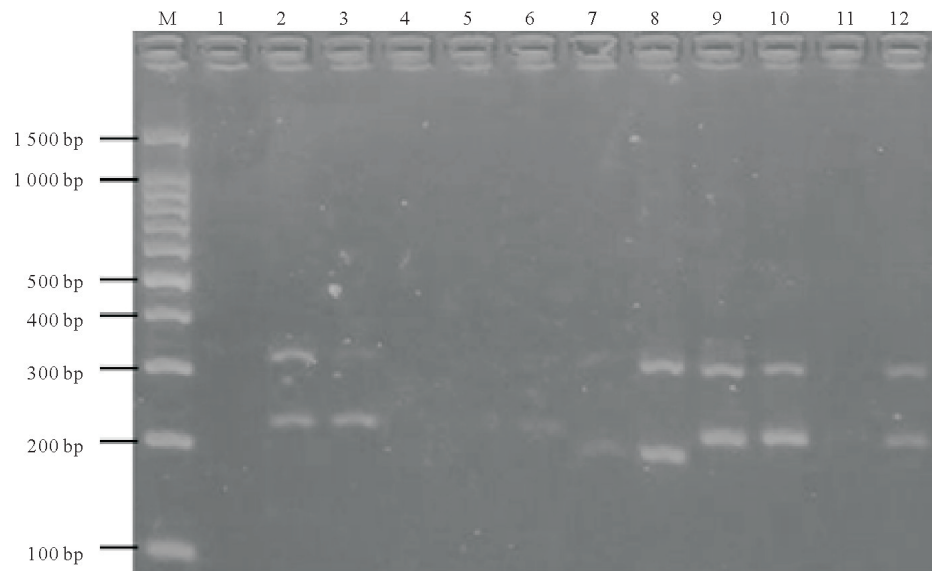
Samples 1–25 are the same codes in table 3.The diameter of the coin RMB “one YUAN” is 2.5 centimeter.

图 1 25 份菜豆种子表型

Fig.2 Seeds of 25 common bean accessions in this study.Cluster of 25 common bean accessions based on UPGMA.

2.2 菜豆 InDel 标记多态性分析

利用 12 对 InDel 多态性引物对 25 份菜豆种质资源进行了检测(图 2),共探测到 26 个 InDel 位点(表 4),平均位点数是 2.17 个。引物的平均有效等位位点数为 1.78 个,多态信息含量 *PIC* 平均值是 0.33,期望杂合度(*He*)平均值为 0.42,观察杂合度(*Ho*)平均值为 0.52,群体的遗传多样性指数 *I* 为 0.63。



M, 100 bp DNA ladder, 样品 1~12 的编号分别为 SJ0187、SJ0192、SJ0193、SJ0201、SJ0202、SJ0203、SJ0209、SJ0215、SJ0222、SJ0225、SJ0226 和 SJ0227

M, 100 bp DNA ladder, Samples 1–12 are coded as SJ0187, SJ0192, SJ0193, SJ0201, SJ0202, SJ0203, SJ0209, SJ0215, SJ0222, SJ0225, SJ0226, SJ0227

图 2 InDel 引物 NDSU_IND_09_00.4358 的多态性电泳

Fig.2 Polymorphism of the amplification products using InDel primer NDSU_IND_09_00.4358

表 4 12 个 InDel 标记在 25 份菜豆种质中的多态性信息

Tab.4 Genetic variation of twelve polymorphic InDel markers in 25 common bean accessions

InDel 标记	观察杂合度 <i>Ho</i>	期望杂合度 <i>He</i>	观察等位基 因数 <i>Na</i>	有效等位基 因数 <i>Ne</i>	引物多态性信 息含量 <i>PIC</i>	遗传多样性 指数 <i>I</i>
NDSU_IND_09_00.4358	0.87	0.67	3.00	2.83	0.57	1.07
NDSU_IND_08_06.6880	0.67	0.46	2.00	1.80	0.35	0.64
NDSU_IND_01_05.0609	0.83	0.62	3.00	2.32	0.50	0.96
NDSU_IND_07_01.0755	0.52	0.47	2.00	1.85	0.35	0.65
NDSU_IND_07_48.4756	0.23	0.21	2.00	1.25	0.18	0.35
NDSU_IND_09_25.7818	0.29	0.50	2.00	1.96	0.37	0.68
NDSU_IND_07_02.6485	0.28	0.25	2.00	1.32	0.21	0.41
NDSU_IND_10_42.1355	0.48	0.37	2.00	1.57	0.30	0.55
NDSU_IND_06_12.3324	0.80	0.49	2.00	1.92	0.36	0.67
NDSU_IND_05_01.7405	0.40	0.33	2.00	1.47	0.27	0.50
NDSU_IND_08_36.2119	0.40	0.33	2.00	1.47	0.27	0.50
NDSU_IND_09_07.6278	0.48	0.37	2.00	1.57	0.30	0.55
平均值 Average	0.52	0.42	2.17	1.78	0.33	0.63

2.3 菜豆种质资源的聚类分析

为探寻供试菜豆资源之间的遗传关系,对 25 份菜豆种质资源进行 UPGMA 聚类分析(图 3)。聚类结果表明,遗传相似性系数在 0.5~0.95,相似系数为 0.54 时,供试的菜豆材料可分为 5 类。

第I类7份材料(SJ0156、SJ0185、SJ0160、SJ0227、SJ0201、SJ0203和SJ0243),第II类5份材料(SJ0180、SJ0209、SJ0181、SJ0182和SJ0215),第III类5份材料(SJ0179、SJ0225、SJ0192、SJ0193和SJ0222),第IV类4份材料(SJ0162、SJ0202、SJ0226和SJ0245),第V类4份材料(SJ0187、SJ0232、SJ0229和SJ0234)。

进一步分析发现,聚类结果与其种皮颜色存在一定相关性。第I类的7份材料中大多数纯色类型,其中黄色3份(SJ0227、SJ0201、SJ0243、SJ0185)、黑色2份(SJ0160、SJ0203)、红色1份(SJ0156);第II类5份材料中以纯色类型为主,籽粒多为白色,其中白色3份(SJ0180、SJ0181、SJ0215),黑色1份(SJ0182),SJ0209的种皮虽然是花色,但也存在白色斑点区域;第III类5份材料的籽粒以花色类型为主,共有4份花色材料(SJ0179、SJ0225、SJ0192、SJ0193),种皮具有红斑、黄斑或者白斑;第IV类4份材料的籽粒以花色类型为主,大多与黄色相关,其中3份材料的种皮为全黄色(SJ0162)或部分黄色(SJ0202、SJ0226);第V类的4份材料的籽粒都为纯色,多为黄色类型(SJ0232、SJ0229、SJ0234),另有一份黑色类型(SJ0187)。综上,纯色系列包括第I、II、V类(黄色、黑色、白色、红色),花色系列包括第III、IV类(黄色带红斑、红色带黄斑、红色带白斑)。这种色系的遗传差异可能是由于在进化过程中受到人工选择的影响而造成的。

此外,在遗传相似系数为0.95时,有两份菜豆材料虽然种皮颜色不同(SJ0180为白色和SJ0209为黄色带白斑),但是本研究中的InDel标记无法区分两者,可能是由于两者的亲缘关系较近,InDel标记数量不够而造成的。

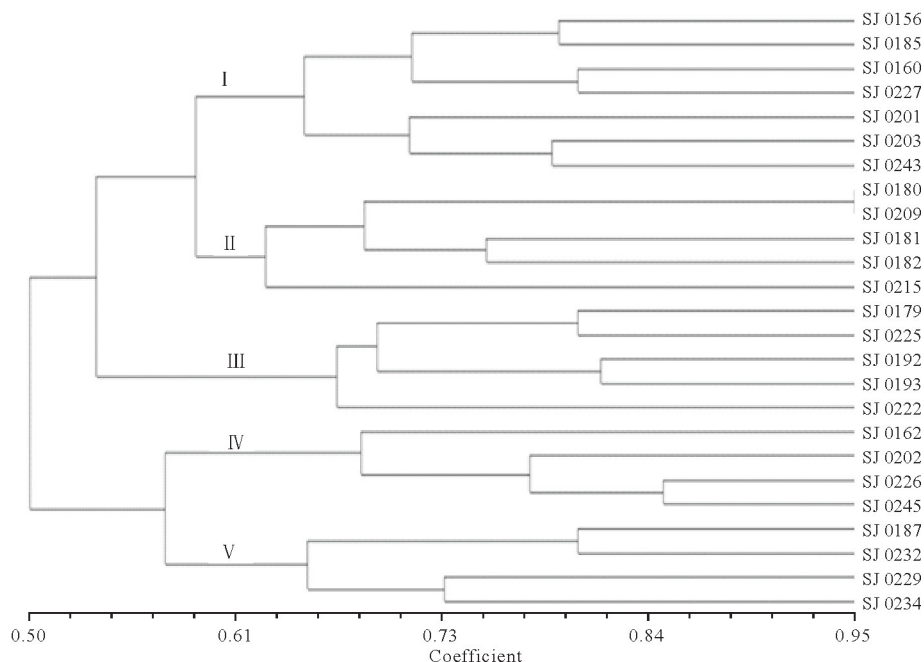


图3 25份菜豆种质资源的UPGMA聚类分析

Fig.3 Cluster of 25 common bean accessions based on UPGMA

3 讨论

InDel标记是一种共显性分子标记,在基因组上分布广泛,密度大,适宜于进行全基因组分子标记的发掘^[17]。当前随着高通量测序技术的不断进步,InDel标记开发成本逐渐降低^[18]。InDel标记的实质是一种DNA片段长度多态性遗传标记,能利用PCR扩增进行基因型分型,检测技术快捷经济,可在电泳平台上进行。因此,InDel标记是近年来一种较为热门的DNA分子标记技术,广泛应用于种质资源分析、分子辅助遗传育种、群体遗传分析、图位克隆、基因定位及遗传图谱的构建等研究^{[12][19]}。在农作物研究领域,InDel分子标记技术已在水稻^[20]、玉米^[21]、油菜^[22]、黄瓜^[23]等作物研究中进行了报道。但是,在菜豆中的InDel研究还十分有限,尤其是针对菜豆种子遗传变异的InDel标记研究尚未见报道。

然而,评价菜豆种子的遗传多样性,揭示个体间的遗传背景差异和亲缘关系,对于菜豆育种而言是十分重要而且必要的。因此,本研究引入InDel标记技术,用于分析我国菜豆种子的遗传变异特点。通

过多个遗传多样性参数(观测杂合度、期望杂合度、有效等位数、引物多态信息含量等)分析,反映出供试菜豆种质资源具有中等水平的遗传多样性。其中, PIC 值是评判基因片段多态性的重要参数之一。12对InDel引物的平均 $PIC>0.3$,多态性程度较高,能有效区分基因型之间的差异,其中两个InDel引物(NDSU_IND_09_00.4358和NDSU_IND_01_05.0609)的 $PIC>0.5$,将有利于应用在菜豆的遗传多样性分析和遗传图谱构建等研究中。为研究不同菜豆材料之间的遗传关系,基于12对InDel多态性引物对25份菜豆种质材料的结果,进行UPGMA聚类分析,可将其分为5类。聚类结果表明供试种质的地区间分类界限不明显,但是绝大多数材料的聚类与种皮颜色有关,可大致区分纯色和花色的种皮,推测这种种皮颜色的遗传差异,可能是受到人工选择的影响。此外,有两个菜豆材料无法区分开来,可能需要更多的多态性InDel分子标记。

综上,本研究将12对菜豆InDel多态性引物成功应用于25份菜豆材料的分子标记研究。研究结果不仅揭示了供试菜豆种质的中等遗传多样性水平,也反映出了不同种质之间的遗传关系,还能用于品种DNA指纹图谱的构建。因此,本研究将为菜豆遗传资源的评价、鉴定和保护利用等提供分子依据。

参考文献:

- [1] 严小龙,卢永根.普通菜豆的起源、进化和遗传资源[J].华南农业大学学报,1994,15(4):110-115.
Yan X L, Lu Y G. Origin, evolution and genetic resources of the common bean [J]. Journal of South China Agriculture University, 1994, 15(4): 110-115.
- [2] 龙静宜,林黎奋,侯修身,等.食用豆类作物[M].北京:科学出版社,1989:209-222.
Long J Y, Lin N F, Hou X S, et al. Edible legume [M]. Beijing: Science Press, 1989: 209-222.
- [3] 王兰芬,武晶,王昭礼,等.普通菜豆种质资源表型鉴定及多样性分析[J].植物遗传资源学报,2016,17(6):976-983.
Wang L F, Wu J, Wang Z L, et al. Morphological diversity and classification of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) germplasm resources [J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2016, 17(6): 976-983.
- [4] 肖靖,李斌,石晓华,等.普通菜豆种质资源研究现状及进展[J].北方园艺,2016,17(15):194-198.
Xiao J, Li B, Shi X H, et al. Research progress on germplasm resources of common beans [J]. Northern Horticulture, 2016, 17(15): 194-198.
- [5] Weber J L, David D, Heil J, et al. Human diallelic insertion/deletion polymorphisms [J]. American Journal of Human Genetics, 2002, 71(4): 854-862.
- [6] Fan Y H, Wang W J, Ma G J, et al. Patterns of insertion and deletion in mammalian genomes [J]. Current Genomics, 2007, 8(6): 370-378.
- [7] 杨双娟,原玉香,魏小春,等.利用Indel标记鉴定‘豫甘3号’结球甘蓝种子纯度[J].分子植物育种,2018,16(8):2519-2524.
Yang S J, Yuan Y X, Wei X C, et al. Identification of seed purity cabbage ‘Yugan No.3’ with InDel markers [J]. Molecular Plant Breeding, 2018, 16(8): 2519-2524.
- [8] 魏利斌,苗红梅,李春,等.芝麻SNP和InDel标记遗传多样性、群体结构及连锁不平衡分析[J].分子植物育种,2017,15(8):3070-3079.
Wei L B, Miao H M, Li C, et al. Genetic diversity, population structure and linkage disequilibrium analysis of sesame using SNP and InDel markers [J]. Molecular Plant Breeding, 2017, 15(8): 3070-3079.
- [9] 董淑芳,王孝宣,高建昌,等.番茄粉红色果实相关基因的dCAPS和InDel标记开发与应用[J].中国蔬菜,2016,1(1):24-29.
Dong S F, Wang X X, Gao J C, et al. Development and application of dCAPS and InDel markers in pink tomato fruit related genes [J]. China Vegetables, 2016, 1(1): 24-29.
- [10] 桂君梅,王林友,范小娟,等.基于InDel分子标记的籼粳杂交稻与粳粳杂交稻的杂种优势比较研究[J].中国农业科学,2016,49(2):219-231.
Gui J M, Wang L Y, Fang X J, et al. Comparison the heterosis of *Indica*-*Japonica* hybrids and *Japonica*-*Japonica* hybrids using InDel markers [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2016, 49(2): 219-231.
- [11] 徐建欣,杨洁,李美管,等.利用InDel分子标记分析海南山栏稻品种籼粳特性[J].中国农学通报,2017,33(36):7-13.

- Xu J X, Yang J, Li M G, et al. *Indica-japonica* differentiation of Shanlan upland rice varieties from Hainan revealed by InDel Markers[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2017, 33(36): 7-13.
- [12] 刘丹, 孙玉友, 魏才强, 等. InDel 分子标记及其在水稻研究中的应用[J]. 种子, 2017, 36(9): 47-52.
- Liu D, Sun Y Y, Wei C Q, et al. InDel molecular marker and its application in rice (*Oryza sativa*) research[J]. Seed, 2017, 36(9): 47-52.
- [13] 李群三, 陈景斌, 顾和平, 等. 基于 InDel 标记的国内绿豆品种遗传多样性分析及指纹图谱构建[J]. 植物遗传资源学报, 2019, 20(1): 122-128.
- Li Q S, Chen J B, Gu H P, et al. Genetic diversity and fingerprint analysis of mungbean varieties from china based on InDel markers[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2019, 20(1): 122-128.
- [14] Moghaddam S M, Song Q, Mamidi S, et al. Developing market class specific InDel markers from next generation sequence data in *Phaseolus vulgaris* L[J]. Frontiers in Plant Science. 2014, 5(3): 185.
- [15] Yeh F C, Yang R, Boyle T J, et al. PopGen32, microsoft windows based freeware for population genetic analysis[M]. Molecular Biology and Biotechnology Center, Edmonton. 2002.
- [16] Rohlf F J. NTSYS-pc; 2.11 Numerical taxonomy and multivariate analysis system[M]. New York: Exeter Software, 2004.
- [17] Gao Q, Yue G, Li W, et al. Recent progress using high-throughput sequencing technologies in plant molecular breeding[J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2012, 54(4): 215-227.
- [18] Varshney R K, Nayak S N, May G D, et al. Next-generation sequencing technologies and their implications for crop genetics and breeding[J]. Trends in Biotechnology, 2009, 27(9): 522-530.
- [19] 杨洁, 赫佳, 王丹碧, 等. InDel 标记的研究和应用进展[J]. 生物多样性, 2016, 24(2): 237-243.
- Yang J, He J, Wang B D, et al., Progress in research and application of InDel markers[J]. Biodiversity Science, 2016, 24(2): 237-243.
- [20] Sahu P K, Mondal S, Sharma D, et al. InDel marker based genetic differentiation and genetic diversity in traditional rice (*Oryza sativa* L.) landraces of Chhattisgarh, India[J]. PLoS One, 2017, 12(11): e0188864
- [21] Liu J, Qu J T, Yang C, et al. Development of genome-wide insertion and deletion markers for maize, based on next-generation sequencing data[J]. BMC Genomics, 2015, 16(1): 601.
- [22] Liu B, Wang Y, Zhai W, et al. Development of InDel markers for *Brassica rapa* based on whole-genome re-sequencing[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2013, 126(1): 231-239.
- [23] 李斯更, 沈镒, 刘博, 等. 基于黄瓜基因组重测序的 InDel 标记开发及其应用[J]. 植物遗传资源学报, 2013, 14(2): 278-283.
- Li S G, Shen D, Liu B, et al. Development and application of cucumber InDel markers based on genome re-sequencing[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2013, 14(2): 278-283.