

# 基于 SSR 标记的江苏省花生地方品种遗传多样性分析

卞能飞<sup>1</sup>, 孙东雷<sup>1</sup>, 沈 一<sup>2</sup>, 黄 莉<sup>3</sup>, 王 幸<sup>1</sup>, 徐泽俊<sup>1</sup>, 齐玉军<sup>1</sup>, 邢兴华<sup>1</sup>, 王晓军<sup>1\*</sup>

(1. 江苏徐淮地区徐州农业科学研究所, 江苏 徐州, 221131; 2. 江苏省农业科学院经济作物研究所, 江苏 南京, 210014; 3. 中国农业科学院油料作物研究所/农业部油料作物生物学与遗传育种重点实验室, 湖北 武汉, 430062)

**摘要:**为进一步了解江苏省花生地方品种的遗传多样性,用 25 对 SSR 引物评价了 133 份地方品种,共扩增出 93 个等位基因,平均 3.72 个;多态性信息量(PIC)变幅为 0.066~0.749,平均为 0.374;Shannon's 信息指数变幅为 0.161~1.385,平均为 0.671。品种间相似系数变幅为 0.416~1.000,平均为 0.830,4 种类型品种相似系数均值排序为:普通型(0.899) > 龙生型(0.776) > 珍珠豆型(0.710) > 多粒型(0.700)。采用非加权平均法(UPGMA)进行聚类分析,在遗传相似系数 0.600 时,将 133 份地方品种划分为三大类群。研究结果表明,江苏省花生地方品种遗传多样性较丰富,普通型品种的遗传多样性低于其它 3 种类型。聚类分析结果为地方品种有效利用提供重要依据。

**关键词:**江苏地方品种;花生;遗传多样性

中图分类号:S565.201 文献标识码:A 文章编号:1007-9084(2017)02-0170-08

## Genetic diversity of peanut landraces in Jiangsu Province based on SSR markers

BIAN Neng-fei<sup>1</sup>, SUN Dong-lei<sup>1</sup>, SHEN Yi<sup>2</sup>, HUANG Li<sup>3</sup>, WANG Xing<sup>1</sup>,

XU Ze-jun<sup>1</sup>, QI Yu-jun<sup>1</sup>, XING Xing-hua<sup>1</sup>, WANG Xiao-jun<sup>1\*</sup>

(1. Xuzhou Institute of Agricultural Sciences of the Xuhuai District, Xuzhou 221131, China;

2. Institute of Industrial Crops, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China;

3. Oil Crops Research Institute of the Chinese Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Oil Crops, Ministry of Agriculture, Wuhan 430062, China)

**Abstract:** In order to assess the genetic diversity of peanut in Jiangsu Province, 133 accessions of peanut landraces were evaluated by 25 SSR markers. 93 alleles were amplified, and the average number of alleles per locus was 3.72. The polymorphic information content (PIC) of each primer varied from 0.066 to 0.749 with an average of 0.374. Shannon's information index of each primer varied from 0.161 to 1.385 with an average of 0.671. The similarity coefficients of 133 peanut landraces varied from 0.416 to 1.000 with an average of 0.830. The order of average similarity coefficient of 4 types of peanut was *Arachis hypogaea* L. var. *hypogaea* (0.899) > var. *hirsute* (0.776) > var. *vulgaris* (0.710) > var. *fastigiata* (0.700). Cluster analysis with UPGMA showed that the landraces could be divided into three groups at 0.600 of genetic similarities coefficient. The results showed that there were rich genetic diversity of peanut landraces in Jiangsu Province, and the genetic diversity was significantly lower among the var. *hypogaea* than those of the other three types. The result of cluster analysis had important significance for efficiently using of these peanut landraces.

**Key words:** Jiangsu landrace; peanut; genetic diversity

花生(*Arachis hypogaea* L.)是我国重要的油料及经济作物,种植范围广,具有较强的国际市场竞争能力,同时对保障我国食用油脂安全,促进种植业结构

调整和高效农业发展均具有重要意义。我国在花生育种实践中一直以提高产量为主要目标,大量使用背景相同或相似的亲本,研究表明,我国 70% 的育

收稿日期:2016-12-10

基金项目:江苏省农业科技自主创新资金项目(CX(12)5076);国家花生产业技术体系徐州综合试验站(CARS-14)

作者简介:卞能飞(1987-),男,江苏徐州人,助理研究员,硕士,主要从事花生遗传育种研究,E-mail:biannf@163.com

\* 通讯作者:王晓军(1981-),男,河南博爱人,副研究员,硕士,主要从事花生遗传育种工作,E-mail:wangxj0516@126.com

成品种与“伏花生”和“狮头企”有亲缘关系<sup>[1]</sup>;江苏省审定(鉴定)的花生品种中,42.86%的品种含“徐州68-4”的血缘,82.14%的品种含“伏花生”的血缘<sup>[2]</sup>。我国花生育成品种的遗传基础非常狭窄,已成为制约品种改良的瓶颈因素。我国收集保存了大量的花生种质资源,但被有效利用的只有少数,对这些种质资源进行遗传多样性研究,掌握其组成、特点和规律,对选择优良亲本、拓宽育成品种遗传基础具有重要的意义。

江苏省花生种植历史悠久,地方品种资源丰富,从20世纪50年代即开始征集和评选,部分地方品种对新品种选育做出巨大贡献,例如徐州68-4的亲本徐州402即是从地方品种沭阳大站秧中系统选育而成。王晓军等<sup>[3,4]</sup>对江苏省地方品种进行了农艺性状和品质性状的分析,初步确定了品种间农艺性状和品质性状遗传差异,并发现了一批高蛋白和高油等特殊种质,但花生表型区别差异不明显,且易

受环境的影响,从传统的表型鉴定方法进行遗传多样性研究有很大局限性。随着生物技术的发展,SSR等分子标记技术因其不受环境影响、位点多、易于检测、稳定性好等优点被广泛应用于花生遗传多样性研究,姜慧芳、徐日荣、崔顺立等学者分别对中国花生核心种质库以及各省份的地方品种资源进行了遗传多样性研究,取得了较多的研究成果<sup>[5-19]</sup>。为了更好地揭示江苏花生地方品种在分子水平上的差异,本研究利用SSR标记对其进行遗传多样性分析,为地方品种资源有效利用和花生新品种选育提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

133份江苏省花生地方品种资源由徐州市农业科学院油料室保存提供,其编号、名称及类型见表1。

表1 江苏省花生地方品种资源信息  
Table 1 Information of peanut landraces in Jiangsu Province

编号 No.	品种名称 Name	所属类型 Type	编号 No.	品种名称 Name	所属类型 Type
001	丰县蔓花生 Fengxianmanhuasheng	龙生 <i>Hirsute</i>	076	盐城岗门生 Yanchenggangmensheng	普通 <i>Hypogaea</i>
002	丰县大二混子 Fengxiandaerhunzi	龙生 <i>Hirsute</i>	077	涟水小三洋-乙 Lianshuixiaosanyang - Yi	普通 <i>Hypogaea</i>
004	沛县大麻花 Peixiandamahua	龙生 <i>Hirsute</i>	078	涟水小秃头 Lianshuixiaotoutou	普通 <i>Hypogaea</i>
008	如皋西洋生 Rugaoxiyangsheng	龙生 <i>Hirsute</i>	079	涟水小麻果 Lianshuixiaomaguo	普通 <i>Hypogaea</i>
009	海门麻壳花生 Haimenmakehuasheng	龙生 <i>Hirsute</i>	080	启东大平果 Qidongdapingguo	普通 <i>Hypogaea</i>
010	泰兴和尚头 Taixingheshangtou	龙生 <i>Hirsute</i>	081	启东翌头花生 Qidongyitouhuasheng	普通 <i>Hypogaea</i>
012	涟水四粒洋 Lianshuisiliyang	龙生 <i>Hirsute</i>	082	如皋灯笼花生 Rugaodenglonghuasheng	普通 <i>Hypogaea</i>
015	涟水小花生 Lianshuixiaohuasheng	龙生 <i>Hirsute</i>	083	徐州二窝-甲 Xuzhouerwo - Jia	普通 <i>Hypogaea</i>
016	海门圆头花生 Haimenyuantouhuasheng	龙生 <i>Hirsute</i>	084	徐州半站秧大花生-甲 Xuzhoubanzhanyangdahuasheng - Jia	普通 <i>Hypogaea</i>
017	涟水大洋果 Lianshuidayangguo	普通 <i>Hypogaea</i>	085	徐州半站秧大花生-乙 Xuzhoubanzhanyangdahuasheng - Yi	普通 <i>Hypogaea</i>
018	启东光皮 Qidongguangpi	普通 <i>Hypogaea</i>	087	东海二麻壳 Donghaiermake	普通 <i>Hypogaea</i>
019	启东大光果 Qidongdaguangguo	普通 <i>Hypogaea</i>	088	赣榆小花皮 Ganyuxiaohuapi	普通 <i>Hypogaea</i>
021	泰兴大花生 Taixingdahuasheng	普通 <i>Hypogaea</i>	089	邳县小果子 Pixianxiaoguozi	普通 <i>Hypogaea</i>
022	仪征大籽 Yizhengdazi	普通 <i>Hypogaea</i>	090	邳县小二秧 Pixianxiaoeryang	普通 <i>Hypogaea</i>
023	江都大花生 Jiangdongdahuasheng	普通 <i>Hypogaea</i>	091	邳县站果 Pixianzhanguo	普通 <i>Hypogaea</i>
024	扬州大花生 Yangzhoudahuasheng	普通 <i>Hypogaea</i>	092	睢宁二窝 Suiningerwo	普通 <i>Hypogaea</i>
025	邗江大花生 Ganjiangdahuasheng	普通 <i>Hypogaea</i>	093	睢宁头窝 Suiningtouwo	普通 <i>Hypogaea</i>
026	淮安头洋 Huaiantouyang	普通 <i>Hypogaea</i>	094	东海二站秧 Donghaiierzhangyang	普通 <i>Hypogaea</i>
027	淮阴大花生 Huaiyindahuasheng	普通 <i>Hypogaea</i>	095	东海大站秧-甲 Donghaidazhangyang - Jia	普通 <i>Hypogaea</i>
028	淮阴大乌 Huaiyindawu	普通 <i>Hypogaea</i>	096	东海大站秧-乙 Donghaidazhangyang - Yi	普通 <i>Hypogaea</i>
029	涟水二窝大睡秧 Lianshuierwodashuiyang	普通 <i>Hypogaea</i>	097	铜山二窝花生 Tongshanerwohuasheng	普通 <i>Hypogaea</i>
030	涟水二窝大站秧 Lianshuierwodazhangyang	普通 <i>Hypogaea</i>	098	铜山站秧花生 Tongshanzhangyanghuasheng	普通 <i>Hypogaea</i>
031	涟水小三洋-甲 Lianshuixiaosanyang - Jia	普通 <i>Hypogaea</i>	099	沛县半站秧 Peixianbanzhangyang	普通 <i>Hypogaea</i>
032	涟水大麻果 Lianshuidamaguo	普通 <i>Hypogaea</i>	100	海门大光果 Haimendaguangguo	普通 <i>Hypogaea</i>
033	泗阳小秕顶 Siyangxiaobiding	普通 <i>Hypogaea</i>	101	六合大麻壳 Liuhedamake	普通 <i>Hypogaea</i>
034	涟水二洋 Lianshuieryang	普通 <i>Hypogaea</i>	102	盐城花生 Yanchenghuasheng	普通 <i>Hypogaea</i>
035	涟水大洋 Lianshuidayang	普通 <i>Hypogaea</i>	103	沛县长秧子 Peixianchangyangzi	普通 <i>Hypogaea</i>

续表 1

编号 No.	品种名称 Name	所属类型 Type	编号 No.	品种名称 Name	所属类型 Type
036	泗阳大鹰咀 - 乙 Siyangdayingju - Yi	普通 <i>Hypogaea</i>	104	启东麻果 Qidongmaguo	普通 <i>Hypogaea</i>
037	沭阳小乌子 Shuyangxiaowuzi	普通 <i>Hypogaea</i>	106	丹徒半蔓性 Dantubanmanxing	普通 <i>Hypogaea</i>
038	沭阳大乌 Shuyangdawu	普通 <i>Hypogaea</i>	107	崇明大花生 Chongmingdahuasheng	普通 <i>Hypogaea</i>
039	宿迁拖秧 - 乙 Suqiantuoyang - Yi	普通 <i>Hypogaea</i>	108	睢宁站秧 Suiningzhan yang	普通 <i>Hypogaea</i>
040	宿迁拖秧 - 甲 Suqiantuoyang - Jia	普通 <i>Hypogaea</i>	109	如皋灯笼生 Rugaodenglongsheng	普通 <i>Hypogaea</i>
041	宿迁二窝 - 丙 Suqianerwo - Bing	普通 <i>Hypogaea</i>	110	如皋洋花生 Rugaoyanghuasheng	普通 <i>Hypogaea</i>
042	宿迁二窝三窝三洋杂 Suqianerwosanwosanyangza	普通 <i>Hypogaea</i>	111	六合大果子 Liuhedaguozhi	普通 <i>Hypogaea</i>
043	睢宁拖秧 - 乙 Suiningtuoyang - Yi	普通 <i>Hypogaea</i>	112	沭阳大站秧 Shuyangdazhan yang	普通 <i>Hypogaea</i>
044	东海大麻壳 Donghaidamake	普通 <i>Hypogaea</i>	113	睢宁大花生 Suiningdahuasheng	普通 <i>Hypogaea</i>
045	赣榆大花生大扑秧 Ganyudahuashengdapuyang	普通 <i>Hypogaea</i>	114	太仓大壳花生 Taicangdakehuasheng	普通 <i>Hypogaea</i>
046	赣榆大扑秧 Ganyudapuyang	普通 <i>Hypogaea</i>	115	赣榆二站秧 - 甲 Ganyuerzhan yang - Jia	普通 <i>Hypogaea</i>
047	新沂大麻花 Xinyidamahua	普通 <i>Hypogaea</i>	116	赣榆大站秧 Ganyudazhan yang	普通 <i>Hypogaea</i>
048	邳县大麻花 Pixiandamahua	普通 <i>Hypogaea</i>	117	铜山雄来 Tongshanxionglai	普通 <i>Hypogaea</i>
049	铜山拖秧花生 Tongshantuoyanghuasheng	普通 <i>Hypogaea</i>	118	铜山佟村站秧 Tongshantongcunzhan yang	普通 <i>Hypogaea</i>
050	徐州蔓生 Xuzhoumansheng	普通 <i>Hypogaea</i>	119	铜山对圩子站秧 Tongshanduiyuzizhan yang	普通 <i>Hypogaea</i>
051	徐州蔓生 - 乙 Xuzhoumansheng - Yi	普通 <i>Hypogaea</i>	120	铜山站秧 - 乙 Tongshanzhan yang - Yi	普通 <i>Hypogaea</i>
052	徐州蔓生 - 甲 Xuzhoumansheng - Jia	普通 <i>Hypogaea</i>	121	铜山站花生 Tongshanzhanhuasheng	普通 <i>Hypogaea</i>
053	徐州大麻壳 - 甲 Xuzhoudamake - Jia	普通 <i>Hypogaea</i>	122	徐州半站秧 - 乙 Xuzhoubanzhan yang - Yi	普通 <i>Hypogaea</i>
054	沛县大拖秧 Peixiandatuoyang	普通 <i>Hypogaea</i>	123	徐州把子花生 Xuzhoubazihuasheng	普通 <i>Hypogaea</i>
055	丰县二混子 Fengxianerhunzi	普通 <i>Hypogaea</i>	124	沛县站秧 Peixianzhan yang	普通 <i>Hypogaea</i>
056	丰县大花生 - 乙 Fengxiandahuasheng - Yi	普通 <i>Hypogaea</i>	125	沛县半站秧 - 甲 Peixianbanzhan yang - Jia	普通 <i>Hypogaea</i>
057	丰县大花生 - 甲 Fengxiandahuasheng - Jia	普通 <i>Hypogaea</i>	126	丰县站秧小麻皮 Fengxianzhan yangxiaomapi	普通 <i>Hypogaea</i>
058	启东小光果 Qidongxiaoguangguo	普通 <i>Hypogaea</i>	127	丹徒半站秧 Dantubanzhan yang	普通 <i>Hypogaea</i>
059	丰县大毛露 Fengxiandamaolu	普通 <i>Hypogaea</i>	128	泗洪站秧二窝 Sihongzhan yangerwo	普通 <i>Hypogaea</i>
060	涟水二洋花生 Lianshuieryanghuasheng	普通 <i>Hypogaea</i>	129	宿迁站秧 Suqianzhan yang	普通 <i>Hypogaea</i>
061	泗洪大花生 Sihongdahuasheng	普通 <i>Hypogaea</i>	130	睢宁站花生 Suningzhanhuasheng	普通 <i>Hypogaea</i>
062	泗洪二窝 Sihongerwo	普通 <i>Hypogaea</i>	131	溧阳站生种 Liyangzhan shengzhong	普通 <i>Hypogaea</i>
063	睢宁拖秧 - 甲 Suiningtuoyang - Jia	普通 <i>Hypogaea</i>	132	东海三仁子 Donghaisanrenzi	多粒 <i>Fastigiata</i>
064	东海睡花生 Donghaishuihuasheng	普通 <i>Hypogaea</i>	133	沛县小站秧 Peixianxiaozhan yang	珍珠豆 <i>Vulgaris</i>
065	新沂小二窝 Xinyixiaerwo	普通 <i>Hypogaea</i>	134	赣榆小站秧 Ganyuxiaozhan yang	珍珠豆 <i>Vulgaris</i>
066	新沂大花生 Xinyidahuasheng	普通 <i>Hypogaea</i>	135	太仓拔藤花生 Taicangbatenghuasheng	珍珠豆 <i>Vulgaris</i>
067	邳县小二窝 Pixianxiaerwo	普通 <i>Hypogaea</i>	136	破皮风 Popifeng	普通 <i>Hypogaea</i>
068	丰县洋花生 Fengxianyanghuasheng	普通 <i>Hypogaea</i>	137	如东破皮风 Rudongpopifeng	普通 <i>Hypogaea</i>
069	仪征小籽 Yizhengxiaozhi	普通 <i>Hypogaea</i>	138	如东莲子花生 Rudonglian zihuasheng	普通 <i>Hypogaea</i>
070	江浦大花生 Jiangpudahuasheng	普通 <i>Hypogaea</i>	139	如东豌豆青 Rudongwanerqing	普通 <i>Hypogaea</i>
071	铜山千万性 Tongshanqianwanxing	普通 <i>Hypogaea</i>	140	东海小红仁 Donghaixiaohongren	多粒 <i>Fastigiata</i>
072	宿迁二窝 - 乙 Suqianerwo - Yi	普通 <i>Hypogaea</i>	141	泗洪四粒洋 Sihongsiliyang	多粒 <i>Fastigiata</i>
073	宿迁大窝 Suqiandawo	普通 <i>Hypogaea</i>	142	启东赤豆花生 Qidongchidonghuasheng	珍珠豆 <i>Vulgaris</i>
074	赣榆二站秧 - 乙 Ganyuerzhan yang - Yi	普通 <i>Hypogaea</i>	143	射阳油果 Sheyangyouguo	珍珠豆 <i>Vulgaris</i>
075	徐州大麻壳 - 乙 Xuzhoudamake - Yi	普通 <i>Hypogaea</i>			

## 1.2 方法

选取饱满的花生种子,避光培育黄化苗,摘取嫩叶液氮速冻研磨,采用 DNA 提取试剂盒(天根,北京)提取总基因组 DNA,用无水乙醇洗涤,DNA 样品经风干后溶于 TE 缓冲液,并用纯水稀释到 50ng/ $\mu$ L 作为工作液。SSR 引物根据文献合成<sup>[20]</sup>,PCR 反应体系采用 PCR 扩增试剂盒(生工,上海),反应程序为 94 $^{\circ}$ C 3min;94 $^{\circ}$ C 30s,57 $^{\circ}$ C 50s,72 $^{\circ}$ C 1min,33 个循环;72 $^{\circ}$ C 10min;4 $^{\circ}$ C 保存。扩增产物经 10% 聚丙烯酰胺凝胶电泳及银染后拍照存档。

## 1.3 统计分析

胶片人工读带,在同一迁移率上,有条带记为“1”,无条带记为“0”,不易分辨或缺失记为缺失,影子带不统计,建立数据矩阵。标记的多态性信息量(PIC)计算公式为  $PIC = 1 - \sum P_i^2$ ,其中: $P_i$  为  $i$  位点的基因频率。运用 Popgen Ver. 1.32 软件分析观测等位基因数( $N_a$ )、有效等位基因数( $N_e$ )、Shannon - Weaver 信息指数( $I$ )、遗传多样性指数( $Nei$ )、植物学类型间  $Nei$ 's 遗传距离。采用 NTSYS - pc 2.10e 软件计算品种间遗传相似系数,并采用非加权平均法(UPGMA)对品种遗传相似系数以及植物学类型

之间  $Nei$ 's 遗传距离进行聚类分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 SSR 标记多态性分析

本研究先选取了覆盖 4 个花生植物学类型、且表型差异较大的 6 个地方品种,对分布于花生全部 20 条染色体的 118 对引物进行标记的初步筛选,共筛选到 25 对多态性、重复性较好的引物,多态性百分率为 21.2%。25 对 SSR 引物在 133 个地方品种中共检测到 93 个等位基因(表 2),每个引物扩增出 2~8 个等位基因,平均每个引物为 3.72 个,其中 b5 - 5 的等位基因最多。每个引物的有效等位基因数变幅为 1.071(b5 - 1)~3.989(b9 - 2),平均 1.848 个。Shannon's 信息指数变幅为 0.161(a9 - 1)~1.385(b9 - 2),平均为 0.671。多态性信息量变幅为 0.066(b5 - 1)~0.749(b9 - 2),平均为 0.374。综合比较,Shannon's 信息指数 1.0 以上,PIC 多态性信息含量在 0.6 以上,能高效地显示江苏省地方品种遗传多样性的 SSR 引物有 a6 - 6、b6 - 2、b9 - 2 和 a10 - 1。

表 2 SSR 标记在 133 个地方品种中的等位基因数、Shannon's 信息指数和多态性信息量

Table 2 Number of alleles, Shannon's information index and PIC for 133 peanut landraces by 25 SSR primers

SSR 引物 SSR primer	等位基因数 Observed number of alleles ( $N_a$ )	有效等位基因数 Effective number of alleles ( $N_e$ )	Shannon's 信息指数 Shannon's information index ( $I$ )	多态性信息量 Polymorphic information content (PIC)
b3 - 3	6	2.191	0.903	0.544
b3 - 7	3	1.147	0.273	0.128
a5 - 5	3	1.184	0.342	0.155
b5 - 1	3	1.071	0.169	0.066
b3 - 1a	3	1.157	0.306	0.136
b3 - 1b	2	1.129	0.229	0.114
a4 - 5	3	2.242	0.878	0.554
a4 - 3	3	1.114	0.243	0.103
b4 - 2	2	1.128	0.227	0.113
b5 - 3	5	1.096	0.241	0.088
b5 - 4	5	2.357	1.005	0.576
b5 - 5	8	2.367	1.030	0.578
a6 - 2	3	1.896	0.827	0.473
a6 - 5	4	2.189	0.877	0.543
a6 - 7	4	2.323	0.960	0.570
a6 - 4	3	1.470	0.595	0.320
a6 - 6	4	2.537	1.061	0.606
b6 - 2	4	2.763	1.142	0.638
a9 - 3	3	1.321	0.487	0.243
b10 - 3	4	2.086	0.800	0.521
a9 - 2	4	2.435	1.017	0.589
a9 - 5	3	1.343	0.509	0.255
a9 - 1	2	1.079	0.161	0.073
a10 - 1	5	2.596	1.106	0.615
b9 - 2	4	3.989	1.385	0.749
平均 Mean	3.72	1.848	0.671	0.374

## 2.2 不同植物学类型的品种遗传多样性

133 份花生地方品种中, 含有普通型品种 116 份, 龙生型品种 9 份, 多粒型品种 3 份, 珍珠豆型品种 5 份, 可见江苏分布最广的地方品种类型为普通型品种。对这 4 种类型的地方品种分别进行遗传多样性分析(表 3), 结果表明各类型地方品种的遗传多样性存在差异。普通型品种的 Shannon's 信息指数和 Nei 基因多样性指数分别为 0.525、0.311, 龙生型为 0.722、0.447, 多粒型为 0.717、0.470, 珍珠豆型为 0.744、0.459, 差异显著性分析发现普通型地方品种与其它三种类型品种的 Shannon's 信息指数和 Nei 基因多样性指数差异分别达到了显著和极显著水平, 但其它三种类型之间差异均不显著。表明

普通型花生地方品种的遗传多样性显著小于龙生型、多粒型和珍珠豆型, 后三种类型内的遗传多样性处于相似水平。

计算四种植物学类型群体间的 Nei's 遗传距离, 普通型地方品种与龙生型、多粒型、珍珠豆型的 Nei's 遗传距离分别为 0.352、0.400、0.386, 龙生型与多粒型、珍珠豆型的 Nei's 遗传距离分别为 0.393、0.360, 多粒型与珍珠豆型的 Nei's 遗传距离为 0.118。基于 UPGMA 方法对四种类型间的 Nei's 遗传距离进行聚类, 结果显示(图 1)四个类型分为两组, 普通型和龙生型为一组, 多粒型和珍珠豆型为一组, 这和基于开花习性和荚果形状的植物学分类一致<sup>[21]</sup>。

表 3 不同植物学类型的遗传多样性分析  
Table 3 Genetic diversity of landraces with different botanical types

品种类型 Botanical type	品种数 No.	等位基因数 Observed number of alleles	有效等位基因数 Effective number of alleles	Shannon's 信息指数 Shannon's information index	Nei 基因多样性指数 Nei genetic diversity index
普通型 <i>A. hypogaea</i>	116	83	42.095	0.525 b	0.311 B
龙生型 <i>A. hirsute</i>	9	64	50.835	0.722 a	0.447 A
多粒型 <i>A. fastigiata</i>	3	56	52.973	0.717 a	0.470 A
珍珠豆型 <i>A. vulgaris</i>	5	62	53.965	0.744 a	0.459 A

注: 同一列不同的小写字母和大写字母分别表示差异达到 0.05 和 0.01 显著性水平

Note: Different capital and lowercase letters indicate significant difference at 0.05 and 0.01 levels, respectively

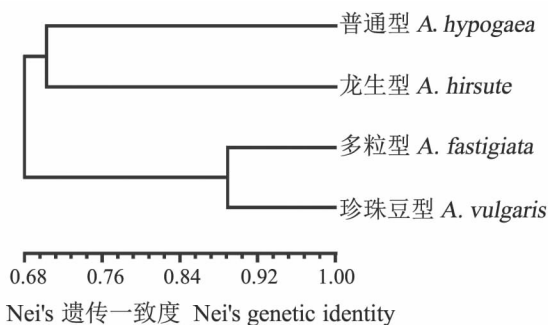


图 1 基于 Nei's 遗传距离的聚类

Fig. 1 Dendrogram based Nei's genetic distance

## 2.3 地方品种间的亲缘关系

采用 NTSYS 软件对 133 个地方品种的扩增结果进行相似分析, 共获得 8 778 组遗传相似系数, 系数值分布在 0.416 ~ 1.000 之间, 平均为 0.830, 相似系数为 0.416 的两个品种是沭阳大乌和太仓拔藤花生, 相似系数为 1.000 的共有 582 组, 全部在普通型品种之间。遗传相似系数位于 0.901 ~ 1.000 之间的组数为 411 2, 占总组数的 46.8%; 位于 0.801 ~ 0.900 之间的组数为 1 827, 占 20.8%; 位于 0.701 ~ 0.800 之间的组数 794, 占 9.0%; 位于 0.601 ~ 0.700 之间的组数为 873, 占 9.9%; 位于 0.501 ~ 0.600 之间的组数为 944, 占 10.8%; 位于 0.401 ~ 0.500 之间的组数为 228, 占 2.6% (图 2)。普通型、

龙生型、多粒型和珍珠豆型的平均相似系数分别为 0.899、0.776、0.700 和 0.710, 普通型的相似系数显著高于其它三种类型, 同上文遗传多样性分析结果一致。

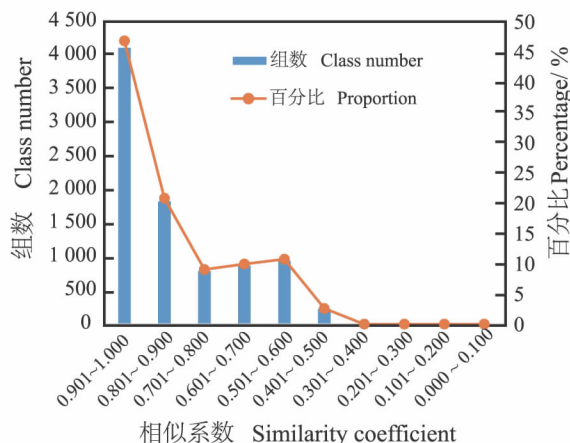


图 2 133 份地方品种相似系数区间分布

Fig. 2 Distribution of similarity coefficient for 133 landraces

采用非加权平均法 (UPGMA) 对 133 个地方品种间的遗传相似系数进行聚类分析, 建立树状聚类图(图 3)。由图 3 可知, 在相似系数约 0.600 时, 可将 133 份地方品种划分为三大类群, 第 I 大类群包含 8 个品种, 全部为龙生型品种。第 II 大类群包含 118 个品种, 其中普通型 115 个, 龙生型 1 个, 多粒

型 1 个,珍珠豆型 1 个。第Ⅲ大类群包含 7 个品种,其中珍珠豆型 4 个,多粒型 2 个,普通型 1 个。聚类结果显示,多粒型和珍珠豆型遗传距离较近,被聚类到一个类群。在第Ⅱ大类群中,分别有 31、11、11 个

品种在相似系数为 1.000 处聚为一类,表明这些品种的亲缘关系很近,仅用这 25 对 SSR 标记无法区别这些品种。

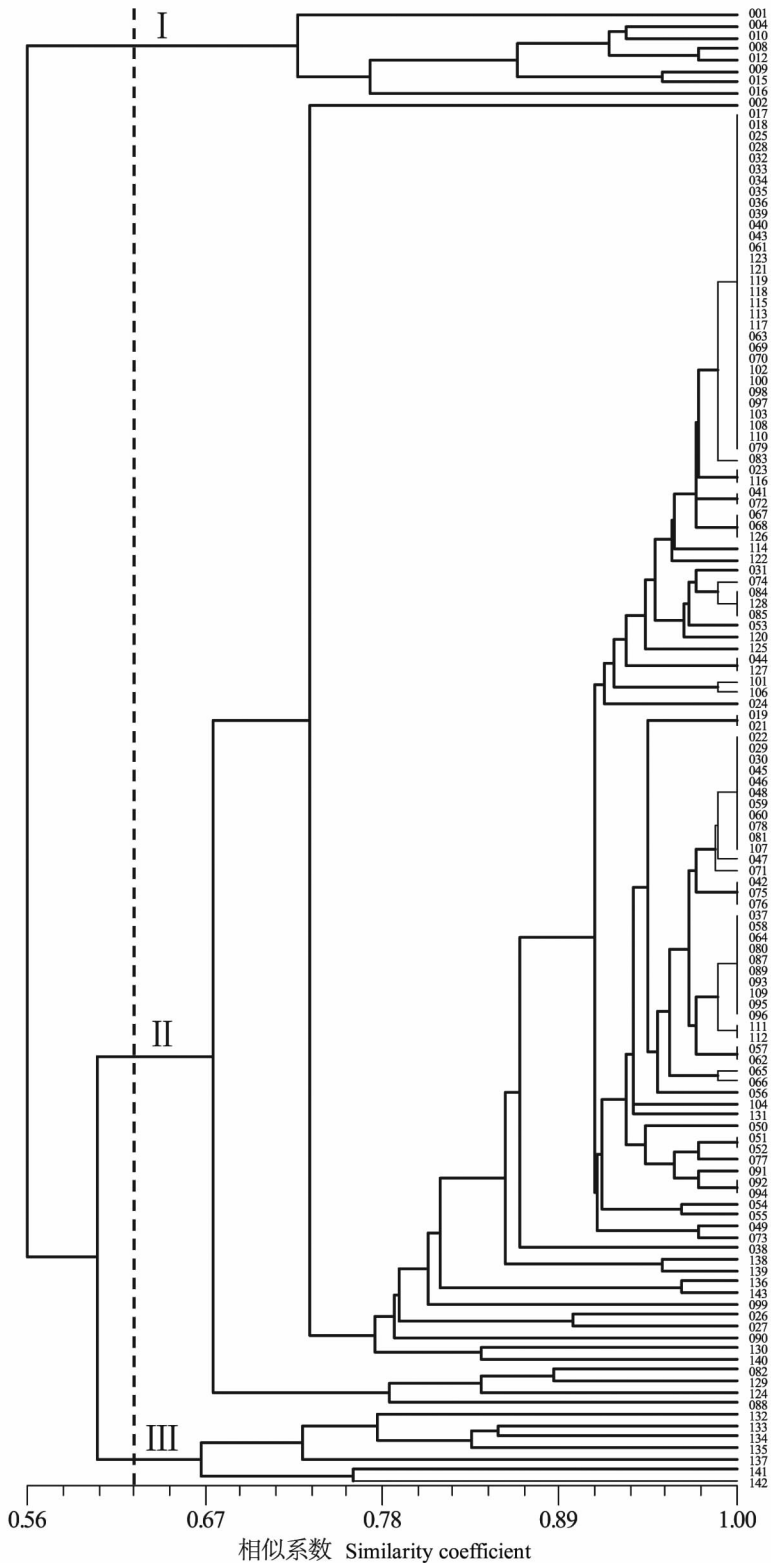


图 3 133 份江苏省花生地方品种资源的聚类分析  
 Fig. 3 Dendrogram of 133 peanut landraces in Jiangsu Province

### 3 讨论与结论

近年来,随着分子标记技术的成熟,许多学者对不同植物学类型、不同地理来源的种质资源和育成品种进行了遗传多样性的鉴定、比较和评价<sup>[5-19]</sup>,显示地方品种间遗传相似系数分布在 0.25~0.99 之间,平均值分布在 0.55~0.82 之间。本研究结果表明,江苏省花生地方品种的遗传相似系数值分布在 0.416~1.000 之间,平均为 0.830,同前人研究相比相似系数分布较宽,但平均值较高,表明江苏省地方品种存在丰富的遗传多样性,但也存在大量遗传背景相似的品种。

对于花生各植物学类型的遗传多样性比较,不同的研究存在差异。姜慧芳等<sup>[5]</sup>认为中国小核心种质中多粒型遗传多样性最大,其次是普通型,龙生型和中间型较小;徐日荣等<sup>[9]</sup>发现福建省花生地方品种中龙生型的遗传多样性最高,其次普通型和珍珠豆型,多粒型较小;崔顺立等<sup>[15]</sup>认为河北省花生地方品种中普通型遗传多样性明显大于多粒型和珍珠豆型。在本研究中,普通型品种的 Shannon's 信息指数和 Nei 基因多样性指数均显著小于龙生型、多粒型和珍珠豆型,江苏花生地方品种资源中普通型品种的遗传多样性小于后三者。这些结果表明不同地域的品种资源遗传多样性存在差异,同时,不同研究所用的分子标记不同也会对结论造成影响。

姜慧芳等<sup>[6]</sup>通过聚类分析将中国本土核心种质分为地方品种密枝亚种群、地方品种疏枝亚种群和育成品种群;崔顺立等<sup>[15]</sup>对河北省花生地方品种进行聚类分析,把珍珠豆型和多粒型归为一类,把普通型归为另一类;徐日荣等<sup>[9]</sup>对福建省花生地方品种进行聚类分析,把普通型和龙生型聚为一类,把珍珠豆型和多粒型归为一类。本研究将 133 份品种资源划分为三大类群,Ⅰ群为龙生型,Ⅱ群为普通型,Ⅲ群为多粒与珍珠豆型,与前人研究结果一致,表明基于分子标记的亲缘关系分析可以同植物学分类相对应。Ⅱ群普通型品种数量多,部分品种在相似系数为 1.000 时聚到一起,表明亲缘关系近,甚至有可能是种质资源征集之前不同区域相互引种的同一种质,例如铜山对圩子站秧和铜山佟村站秧、宿迁拖秧和睢宁拖秧等地理位置近、农艺性状相似的组合,在育种中应根据聚类结果加以利用,避免重复工作。

江苏省花生地方品种中,以“甲”、“乙”、“丙”标记的种质代表表型有差异,但征集时为同一品种的种质,有的通过聚类可以聚到一起,例如果型、油斑性状存在差异的宿迁拖秧-甲和宿迁拖秧-乙,

果壳网纹、种皮颜色存在差异的徐州蔓生-甲和徐州蔓生-乙,叶片大小存在差异的东海大站秧-甲和东海大站秧-乙,这些种质背景相似,表型差异猜测为自然变异所致,这些组合对研究对应表型的分子遗传机理具有很高的价值。

本研究初步弄清了江苏省花生地方品种的亲缘关系,为花生种质资源的整理、研究和利用提供重要依据和参考。下一步有必要根据其聚类结果,构建江苏省花生核心种质,并深入鉴定与分析特定优良品种的抗性 or 农艺性状。此外,近年来,江苏本地花生育种也不断吸纳山东、河南等周边地区花生资源作为亲本,创制了一批各具特色的花生品种<sup>[22,23]</sup>,研究这些外来亲本与江苏花生品种的遗传多样性,对花生育种也具有重要参考价值。

#### 参考文献:

- [1] 姜慧芳,任小平. 我国栽培种花生资源农艺和品质性状的遗传多样性[J]. 中国油料作物学报, 2006, 28(4): 421-426.
- [2] 陈志德,俞春涛,谢吉先,等. 江苏花生品种系谱分析及农艺性状的演变[J]. 花生学报, 2011, 40(2): 20-23.
- [3] 王晓军,孙东雷,王宗标,等. 江苏省花生地方品种农艺性状分析[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(9): 77-80.
- [4] 王晓军,孙东雷,张祖明,等. 江苏省花生地方品种品质性状分析[J]. 江苏农业科学, 2015(10): 116-119.
- [5] 姜慧芳,任小平,张晓杰,等. 中国花生小核心种质 SSR 遗传多样性[J]. 中国油料作物学报, 2010, 32(4): 472-478.
- [6] 姜慧芳,任小平,陈玉宁,等. 中国花生地方品种与育成品种的遗传多样性[J]. 西北植物学报, 2011, 31(8): 1551-1559.
- [7] 姜慧芳,任小平,张晓杰,等. 中国花生小核心种质与 ICRISAT 微核心种质的 SSR 遗传多样性比较[J]. 作物学报, 2010, 36(7): 1084-1091.
- [8] 任小平,张晓杰,廖伯寿,等. ICRISAT 花生微核心种质资源 SSR 标记遗传多样性分析[J]. 中国农业科学, 2010, 43(14): 2848-2858.
- [9] 徐日荣,唐兆秀. 福建省花生地方品种的遗传多样性研究[J]. 分子植物育种, 2014, 12(6): 1235-1242.
- [10] 詹世雄,郑奕雄,刘冠明,等. 基于 SSR 标记的花生品种遗传多样性分析[J]. 中国油料作物学报, 2014, 36(2): 269-274.
- [11] 林茂,李正强,郑治洪,等. 贵州省花生地方品种的遗传多样性[J]. 作物学报, 2012, 38(8): 1387-1396.
- [12] 肖宇,陈剑洪,郭陞垚,等. 福建省近年来审(认)定花生品种的遗传多样性分析[J]. 植物遗传资源学

- 报,2015,16(4):728-733.
- [13] 李东霞,石 鹏,杨伟波,等. 利用 SSR 分子标记分析海南与国内外花生种质资源的遗传多样性[J]. 广东农业科学,2015,42(20):118-124.
- [14] 胡晓辉,毛瑞喜,苗华荣,等. 山东省 46 个花生品种 SSR 指纹图谱构建与遗传多样性分析[J]. 核农学报,2016,30(10):1 925-1 933.
- [15] 崔顺立,刘立峰,陈焕英,等. 河北省花生地方品种基于 SSR 标记的遗传多样性[J]. 中国农业科学,2009,42(9):3 346-3 353.
- [16] 殷冬梅,王 允,尚明照,等. 花生优异种质的分子标记与遗传多样性分析[J]. 中国农业科学,2010,43(11):2 220-2 228.
- [17] 周金超,杨鑫雷,崔顺立,等. 花生 SSR 标记与农艺性状的相关性[J]. 作物学报,2014,40(7):1 197-1 204.
- [18] Naito Y, Suzuki S, Iwata Y, et al. Genetic diversity and relationship analysis of peanut germplasm using SSR markers[J]. *Breeding Science*,2008,58(3):293-300.
- [19] Ren X, Jiang H, Yan Z, et al. Genetic diversity and population structure of the major peanut (*Arachis hypogaea* L.) cultivars grown in China by SSR markers [J]. *PLoS One*,2014,9(2):e88091.
- [20] Gautami B, Foncéka D, Pandey M K, et al. An international reference consensus genetic map with 897 marker loci based on 11 mapping populations for tetraploid groundnut (*Arachis hypogaea* L.) [J]. *Plos One*,2011,7(7):e41213.
- [21] 山东省花生研究所. 花生栽培生理[M]. 上海:上海科学技术出版社,1990.6
- [22] 王晓军,张祖明,王 幸,等. 高产优质花生新品种徐花 13 号的选育与应用[J]. 江苏农业科学,2009(3):101-102.
- [23] 王晓军,张祖明,孙东雷,等. 高产早熟花生新品种徐花 16 号的选育与应用[J]. 江苏农业科学,2012,40(12):126-127.

(责任编辑:王丽芳)