

基于 SSR 标记的中国花魔芋种质资源遗传多样性研究

殷斯, 高羽彤, 解淑波, 高永*

(曲靖师范学院生物资源与食品工程学院, 云南 曲靖 655011)

摘要: 为了解花魔芋(*Amorphophallus konjac*)种质资源的遗传特性, 对我国完整栽培区域的花魔芋地方种质进行采样, 利用 SSR 标记分析了群体的遗传多样性和遗传分化格局。结果表明, 花魔芋的群体内遗传多样性较高, 有效等位基因数为 0.995~2.545, Shannon 信息指数为 0.304~0.964, 表观杂合度和预期杂合度平均值分别为 0.652 和 0.476。但群体间的遗传分化较低, 平均为 0.090, 且群体间的遗传分化与地理距离间的关联性很低。这可能与魔芋栽培过程中的种质资源交流有关。云南省的花魔芋遗传多样性最高, 与云南省为栽培起源中心的理论一致。群体遗传结构分析将云南省西部的 3 个群体聚为一类, 这可能与本地区尚未跟其他地区进行大规模的种质交换有关。该研究为花魔芋的合理利用和遗传改良提供了理论参考。

关键词: 花魔芋; 种质资源; SSR 标记; 遗传多样性; 遗传分化

doi: 10.11926/jtsb.4892 CSTR:32235.14.jtsb.4892

Genetic Diversity Analysis of *Amorphophallus konjac* Germplasm Resources in China Based on SSR Markers

YIN Si, GAO Yutong, XIE Jiaobo, GAO Yong*

(College of Biological Resource and Food Engineering, Qujing Normal University, Qujing 655011, Yunnan, China)

Abstract: In order to understand the genetic characteristics of *Amorphophallus konjac* germplasm resources, local germplasm samples were collected from intact cultivation areas in China. The genetic diversity and genetic differentiation patterns of *A. konjac* population were analyzed by using SSR markers. The results showed that the genetic diversity among populations was high, the number of effective alleles was 0.995–2.545, the Shannon information index was 0.304–0.964, and the average apparent heterozygosity and expected heterozygosity were 0.652 and 0.476, respectively. However, the genetic differentiation between populations was low, with an average of 0.090, and the correlation between genetic differentiation and geographical distance was very low, which might be related to the exchange of germplasm resources during cultivation. Yunnan Province had the highest genetic diversity of *A. konjac*, which was consistent with the theory that Yunnan province was the center of cultivation origin. The analysis of population genetic structure showed that three populations in western Yunnan were grouped into one cluster, which might be related to the lack of large-scale germplasm exchange between this region and other regions. So, these would provide theoretical reference for rational utilization and genetic improvement of *A. konjac*.

收稿日期: 2023-12-23 接受日期: 2024-04-10

基金项目: 国家自然科学基金项目(31760103); 云南省教育厅科学基金项目(2024J0937); 云南省地方本科高校(部分)基础研究联合专项(202101BA070001-011); 云南省兴滇人才计划项目资助

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No. 31760103), the Project for Science Research in Department of Education in Yunnan (Grant No. 2024J0937), the Cooperative Special Program for Basic Research in Yunnan Provincial Undergraduate Universities (Grant No. 202101BA070001-011), and the Project for Revitalization Talents in Yunnan.

作者简介: 殷斯(1991 年生), 女, 硕士研究生, 讲师, 研究方向为植物谱系地理学。E-mail: 1114996463@qq.com

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: 562698574@qq.com

Key words: *Amorphophallus konjac*; Germplasm resource; SSR marker; Genetic diversity; Genetic differentiation

花魔芋(*Amorphophallus konjac*)是天南星科(Araceae)魔芋属多年生草本植物,具有球状地下茎和伞状叶片^[1]。花魔芋的地下茎富含可溶性膳食纤维葡甘露聚糖,对人体降血脂、降血糖、减肥等都具有潜在作用,是一种绿色健康食品^[2-3]。作为药用植物及食物,花魔芋在我国的栽培历史可追溯到晋代。因其产量高、适应性好,当前在我国的秦岭以南各省市的山区和高原地区被大面积栽培。

我国的魔芋种植业存在一些亟待解决的问题,例如,虽然花魔芋种植广泛,但当前对花魔芋种质资源的发掘利用不够,未对种质资源进行完整调查和收集,缺乏系统的育种工作。另外,由于深受软腐病等病害侵扰,花魔芋种植出现了球茎缩小、产量下降等现象,迫切需要品种改良^[4-5]。在未来的农业增长中,品种的贡献率将由现在的30%提高到50%^[6],为推动花魔芋种植业的进一步发展,需要加快品种创新。基于此,对我国的花魔芋资源进行完整收集,结合分子标记对各地种质资源进行评估,是遗传改良的有效举措之一。

我国对魔芋的科学研究主要集中于栽培方法、品种选育等方面。刘佩瑛等^[2]以农家品种花魔芋为材料,选育出国内第一个审定的花魔芋品种“万源花魔芋”。近年在分子生物学方面,殷斯等^[7]利用cpDNA片段对6个魔芋属野生种进行了遗传多样性和系统发育分析,认为魔芋属野生种内遗传多样

性水平低。利用扩增片段长度多态性(amplified fragment length polymorphism, AFLP)、简单重复序列(simple sequence repeat, SSR)等分子标记手段对野生花魔芋进行的群体遗传学研究^[8-9],为探究魔芋属内种间和栽培品种间的亲缘关系提供了证据^[10-12]。

作为唯一能大量合成葡甘聚糖的植物类群,花魔芋在我国逐渐发展为新兴经济作物,但病害盛行、品种缺乏等因素严重制约了种植业的健康发展^[5]。本研究对我国完整栽培区域的花魔芋进行采样,利用SSR标记进行群体基因分型,分析种质资源的遗传多样性、遗传分化模式及地理分布格局,为花魔芋的合理利用和品种改良提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

于2020—2022年对中国主要的花魔芋栽培区域进行了地方种质的调查采集,覆盖云南、广西、湖北、甘肃等10个省、市、自治区。选取的样本以村民房前屋后和菜园种植的农家本地种为主,共采集23个群体的230株样本(表1)。每个样本取约1 g叶片保存于-20 ℃冰箱,采用植物基因组DNA提取试剂盒(天根,北京)提取样本DNA,并用1%的琼脂糖凝胶电泳检测DNA的质量。

表1 花魔芋地方种质资源的地理分布

Table 1 Geographic information of *Amorphophallus konjac* populations collected from China

群体 Population	样本量 Sample number	经度(E) Longitude	纬度(N) Latitude	地理位置 Location
LUOP	8	104°15'37"	24°52'36"	云南罗平县 Luoping County, Yunnan
HUIZE	5	103°32'11"	26°25'7"	云南会泽县 Huize County, Yunnan
FUY	8	104°5'32"	25°35'36"	云南富源县 Fuyuan County, Yunnan
WENSHAN	5	104°17'37"	23°38'24"	云南砚山县 Yanshan County, Yunnan
HTXG	7	100°3'56"	27°1'49"	云南香格里拉市 Xianggelila City, Yunnan
LLDSJ	6	98°50'58"	24°48'44"	云南龙陵县 Longling County, Yunnan
MDNJ	19	100°43'7"	24°58'56"	云南弥渡县 Midu County, Yunnan
GSWX	10	105°24'39"	32°46'27"	甘肃文县 Wen County, Gansu
GXGL	7	110°29'29"	25°22'29"	广西灵川县 Lingchuan County, Guangxi
GZDZ	4	107°35'29"	28°53'15"	贵州道真县 Daozhen County, Guizhou
GZDS	7	106°25'59"	25°20'1"	贵州独山县 Dushan County, Guizhou
GZXW	8	106°35'13"	26°48'41"	贵州修文县 Xiuwen County, Guizhou
HBXF	20	109°03'32"	29°38'6"	湖北咸丰县 Xianfeng County, Hubei
HBXE	12	109°24'18"	29°56'33"	湖北宣恩县 Xuanyi County, Hubei

续表(Continued)

群体 Population	样本量 Sample number	经度 (E) Longitude	纬度 (N) Latitude	地理位置 Location
HBBB	29	110°19'18"	30°54'51"	湖北巴东县 Badong County, Hubei
HBSNJ	10	110°26'35"	31°26'19"	湖北神农架 Shennongjia, Hubei
HNTD	6	109°45'1"	26°27'47"	湖南通道县 Tongdao County, Hunan
JXCY	12	115°48'44"	24°56'94"	江西寻乌县 Xunwu County, Jiangxi
SXYX	10	107°40'46"	33°24'43"	陕西洋县 Yang County, Shaanxi
SCYA	11	102°47'57"	30°20'40"	四川宝兴县 Baoxing County, Sichuan
SCEM	8	103°16'35"	29°34'21"	四川峨眉山 Emei County, Sichuan
SCDC	12	102°10'15"	27°22'58"	四川德昌县 Dechang County, Sichuan
JFSSMG	6	107°12'48"	29°8'27"	重庆金佛山 Jinfoshan, Chongqing

1.2 PCR 扩增及 SSR 产物毛细管电泳

基于前人研究开发的花魔芋、白魔芋(*A. albus*)和疣柄魔芋(*A. paeonifolius*)的 SSR 引物, 筛选出 8 对多态性良好的引物用于花魔芋的群体样本扩增(表 2)^[8,10,13]。由于荧光标记引物的合成价格较贵, 研究采用优化的三引物 PCR 扩增方法^[14]。扩增引物包括 5'端加 M13 尾巴(5'-CACGACGTTGTAAAAC-GAC-3')的特异正向引物、特异反向引物和带有荧光标记的通用型 M13 引物(5'-CACGACGTTGTAA-AACGAC-3')。PCR 扩增分为 2 轮, 首先基于正、反向特异引物扩增得到 SSR 产物, 第 2 轮利用荧光标记的 M13 引物和反向引物扩增得到带荧光标记的产物。该方法要求加 M13 尾的正向引物用量要低于不带尾反向引物的 1/4 以上, 而 M13 引物的用量要与反向引物相等^[14]。PCR 反应总体积为 25 μL, 包含 10 ng/μL 模板 DNA 1 μL, 2×PCR 反应预混液(GenStar, 北京) 12.5 μL, 0.5 μL 加 M13 尾的正向引

物(1 μmol/L), 1 μL 加 5' 6-FAM 荧光标记的 M13 引物(10 μmol/L), 1 μL 反向引物(10 μmol/L), 补充灭菌 ddH₂O 至终体积。

SSR 扩增选用降落 PCR 程序(touchdown PCR): 94 °C 预变性 4 min; 然后 94 °C 变性 30 s, 60 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 30 s, 每循环退火温度降 1 °C, 5 个循环; 随后以 54 °C 退火温度进行 30 个循环; 最后 72 °C 延伸 7 min。对 PCR 产物先用 2% 的琼脂糖凝胶电泳进行检测, 然后送上海生工生物技术有限公司使用 ABI 3730 测序仪进行毛细管电泳, 用 Gene Marker V2.2 对原始峰图数据进行 SSR 扩增片段基因分型(Applied Biosystems)。

1.3 数据分析

在花魔芋种质资源的群体遗传多样性方面, 使用 Genalex V6.5 软件评估各群体的平均等位基因数(*N_A*)、有效等位基因数(*A_R*)、Shannon 信息指数(*I*)、观测杂合度(*H_O*)、期望杂合度(*H_E*)、近交系数(*F_{IS}*)

表 2 SSR 扩增所用的引物

Table 2 Primers used in SSR amplification

SSR	引物序列 (5'~3') Primer sequence	重复基序 Repeat motif	退火温度 (°C) Annealing temperature	片段大小 (bp) Allele size (bp)
AySSR71	F: GGCCTTGGGTGTATTGAT R: AATGCCTTGTGCATGTTT	(TTC) ₆	60~54	245~299
AaSSR3	F: GTTGCTGCACAATGATGGTT R: TGTGCATTGGCATGAAGATT	(GA) ₁₁	60~54	290~324
AaSSR118	F: GCCACCGTTGACCATTAGT R: ATAAGCCCCGTAATCCATC	(GA) ₇	60~54	182~218
AkSSR27	F: AAATAGGGCACCGAATTGTG R: CCATTGTCAAGCAGAGACGA	(TTCA) ₅	60~54	262~289
AkSSR15	F: CCATGTTAACAGCAGGGTCA R: CATTGTGTACCGCTCGTC	(GA) ₈	60~54	147~165
AkSSR156	F: TTGATGGACACGGAGAAACA R: GTTACTGCCTAGCCCAGGTG	(AG) ₇	60~54	218~250
AkSSR284	F: CAAGAGTGAGCCTGGTCTCC R: TGAAGGAGGTGAAGAATGGG	(AG) ₉	60~54	220~242
AkSSR232	F: CTGGTGGTGGGGTAGTG R: ATAGGTCGCCGGTACATGG	(TGC) ₅	60~54	216~237

等参数^[15]。此外, 将花魔芋样本按照所属的省份进行划分, 用 Genalex 检测各省份的遗传多样性参数。最后, 采用 Genalex 计算群体间的两两 F_{ST} 值, 并用 Arlequin V3.5 运行 1 000 次模拟运算评估群体间分化的显著性^[16]。

首先使用 STRUCTURE V2.3.3 检测花魔芋的群体遗传结构, STRUCTURE 运行的相关参数如下: $K=1\sim 15$, 采用混合祖先模型(admixture model), 将马尔可夫蒙特卡洛(MCMC)模拟运算的 burn in 和 run length 分别设为 50 000 和 100 000, 每个 K 值进行 10 次独立运算^[17]。根据 STRUCTURE Harvester V0.6 计算的 ΔK 值, 确定最优的遗传聚类数(K)^[18]。利用 CLUMPP 软件平均每次独立运算的各个体分配系数(q), 以校正不一致的运算结果^[19]。用 Distruct V2.1 将群体遗传聚类的结果以图像形式输出^[20]。然后, 利用 R 程序包“vegan”计算各样本间的 Bray-curtis 距离(Bray-curtis dissimilarity), 利用距离矩阵构建样本间的非加权组平均法(unweighted pair-group method with arithmetic means, UPGMA)聚类关系树^[21]。最后, 用 R 脚本“adegenet”对花魔芋所有样本进行主成分分析(principal component analysis, PCA), 并绘制基于主成分的样本散点图^[22]。

将花魔芋群体按照遗传聚类结构进行划分, 按照聚类间、聚类内的群体间和群体内 3 个水平进行分子方差分析(AMOVA), 以评估遗传变异在各个层次的分布。此外, 将群体按省份进行划分, 运行 AMOVA 估测遗传变异在省份间、群体间和群体内的分配情况。分子方差分析由 Arlequin V3.5 进行, 并进行 9 999 次置换检验计算其显著性^[16]。为了验证花魔芋群体间的遗传分化是否与地理距离之间存在相关性, 使用 Genalex 计算两两群体间的地理距离矩阵, 采用 Mantel 检验进行遗传距离(F_{ST})与地理距离间的关联分析, 运行 1 000 次置换检验评估显著性^[15]。

2 结果和分析

2.1 花魔芋的遗传多样性与遗传分化

花魔芋种质资源的遗传多样性见表 3。在群体水平上, 平均等位基因(N_A)为 1.250 (LLDSJ) \sim 4.000 (HBBD), 有效等位基因数(A_R)为 0.995 (LLDSJ) \sim 2.545 (HBXE), Shannon 信息指数(I)为 0.304 (LLDSJ) \sim 0.964 (HBXE), 表观杂合度(H_O)为 0.292 (LLDSJ) \sim 0.800 (HUIZE), 预期杂合度(H_E)为 0.196 (LLDSJ) \sim

0.578 (HBXE)。按照省份进行划分时, 重庆市的花魔芋群体的表观杂合度最高($H_E=0.758$)。除表观杂合度外, 云南省花魔芋种质资源的其他遗传多样性参数均为最高, 在广西省的花魔芋资源中观测到最低的等位基因数和 Shannon 指数($N_A=2.250$; $A_R=2.005$; $I=0.701$), 而四川省花魔芋的预期杂合度最低($H_E=0.466$)。

花魔芋群体间的遗传分化(F_{ST})均值为 0.090, 群体间的分化系数为 0.003 (HBBD-HBX) \sim 0.457 (GXGL-L LDSJ), 只有少量的群体(20.2%)间检测到了显著的遗传分化($P<0.05$)(附录 1)。

2.2 花魔芋种质资源的遗传结构

STRUCTURE 结果表明, 在 $K=2$ 时 ΔK 值达到最大, 并在花魔芋群体中检测到 2 个遗传聚类(图 1: A)。第 1 组主要由云南西部的 3 个群体(HTXG、LLDSJ 和 MDNJ)组成, 第 2 组包含了来自云南东部地区以及其他省份的 20 个群体, 在大部分群体内检测到大量的遗传渐渗现象(图 1: B)。UPGMA 树观测到各地区之间大量的样本混合现象, 除云南西部 3 个群体的大部分个体形成一个独立支系外, 其余地区的样本均不能形成独立的遗传聚类(图 2)。PCA 分析表明(图 3), 前 3 个主成分(PC)分别解释了 10.5%、8.5% 和 5.8% 的方差, 而基于 PC1 和 PC2、PC1 和 PC3 的样点分布图也表明云南省西部的 MDNJ 群体具有较高的遗传特异性。

2.3 分子方差分析和 Mantel 检测

分子方差分析表明, 按遗传聚类划分时在聚类间检测到显著的遗传变异($P<0.001$), 聚类间的遗传变异占比为 12.16%; 而聚类内群体间的方差分析不显著($P=0.07$); 群体内的遗传变异占比最高, 为 88.34% ($P<0.001$)。按照省份划分时, 在各省的种质资源之间未检测到显著的遗传变异($P=0.40$), 遗传变异主要分布在群体内(97.13%)(表 4)。对花魔芋群体的遗传距离(F_{ST})和地理距离间的 Mantel 检测表明, 虽然遗传距离与地理距离间检测到了显著性关联($P=0.05$), 但两者间的相关性很低($r^2=0.079$)(图 4)。

3 讨论和结论

遗传多样性分析表明中国栽培花魔芋的群体内遗传多样性普遍较高, I 、 H_O 和 H_E 分别为 0.786、0.652 和 0.476, 高于湖北地区和云南地区野生花魔芋种群的遗传多样性^[8-9]。遗传多样性方面存在的

表3 花魔芋群体的遗传多样性指数

Table 3 Genetic diversity indexes of *Amorphophallus konjac* populations

省 Province	群体 Population	N	N_A	A_R	I	H_O	H_E	F_{IS}
云南 Yunnan		58	6.625	3.023	1.207	0.588	0.587	0.004
	LUOP	8	3.125	2.215	0.842	0.584	0.484	-0.171
	HUIZE	5	2.750	2.346	0.897	0.800	0.560	-0.428
	FUY	8	2.375	1.880	0.624	0.638	0.389	-0.561
	WENSHAN	5	3.000	2.320	0.916	0.731	0.553	-0.369
	HTXG	7	2.125	1.678	0.506	0.384	0.307	-0.201
	LLDSJ	6	1.250	0.995	0.304	0.292	0.196	-0.414
	MDNJ	19	3.500	2.109	0.833	0.508	0.460	-0.068
甘肃 Gansu		10	3.500	2.260	0.912	0.638	0.520	-0.195
	GSWX	10	3.500	2.260	0.912	0.638	0.520	-0.195
广西 Guangxi		7	2.250	2.005	0.701	0.726	0.469	-0.523
	GXGL	7	2.250	2.005	0.701	0.726	0.469	-0.523
贵州 Guizhou		19	3.625	2.443	0.933	0.686	0.537	-0.278
	GZDZ	4	1.875	1.645	0.511	0.625	0.352	-0.660
	GZDS	7	3.000	2.460	0.948	0.643	0.571	-0.133
	GZXW	8	3.250	2.431	0.911	0.776	0.534	-0.466
湖北 Hubei		71	4.750	2.388	0.944	0.726	0.540	-0.356
	HBXF	20	3.750	2.298	0.911	0.685	0.522	-0.316
	HBXE	12	3.250	2.545	0.964	0.797	0.578	-0.424
	HBBD	29	4.000	2.295	0.889	0.718	0.509	-0.393
湖南 Hunan		10	2.875	2.305	0.872	0.744	0.541	-0.389
	HNTD	6	2.625	2.086	0.781	0.667	0.490	-0.252
		6	2.625	2.086	0.781	0.667	0.490	-0.252
江西 Jiangxi		12	3.250	2.242	0.861	0.727	0.513	-0.362
	JXY	12	3.250	2.242	0.861	0.727	0.513	-0.362
陕西 Shaanxi		10	2.875	2.144	0.800	0.718	0.494	-0.410
	SXYX	10	2.875	2.144	0.800	0.718	0.494	-0.410
四川 Sichuan		31	3.625	2.195	0.808	0.614	0.466	-0.268
	SCYA	11	2.375	1.988	0.670	0.598	0.426	-0.381
	SCEM	8	3.000	2.239	0.862	0.575	0.506	-0.119
	SCDC	12	2.875	2.137	0.754	0.656	0.453	-0.439
重庆 Chongqing		6	2.500	2.192	0.806	0.758	0.518	-0.404
	JFSSMG	6	2.500	2.192	0.806	0.758	0.518	-0.404

N: 样本量; N_A : 等位基因数; A_R : 有效等位基因数; I: Shannon 信息指数; H_O : 表观杂合度; H_E : 预期杂合度; F_{IS} : 近交系数。N: Number of individuals; N_A : Average number of alleles; A_R : Average number of effective alleles; I: Shannon information index; H_O : Observed heterozygosity; H_E : Expected heterozygosity; F_{IS} : Inbreeding coefficient.

表4 花魔芋种质资源的分子方差分析

Table 4 Analyses of molecular variance (AMOVA) of *Amorphophallus konjac* germplasms

项目 Item	变异来源 Source of variation	自由度 Degree of freedom	方差总和 Sum of square	变异组分 Variance component	变异百分率 % of variation	P
遗传聚类 Genetic cluster	遗传聚类间 Among clusters	1	3.328	0.029	12.16	<0.001
省份 Province	聚类内群体间 Among populations within cluster	21	3.884	-0.001	-0.50	0.070
	群体内 Within population	437	90.846	0.208	88.34	<0.001
遗传聚类 Genetic cluster	省份间 Among provinces	9	24.113	0.008	0.47	0.398
	省内群体间 Among populations within province	13	31.012	0.039	2.40	<0.001
	群体内 Within population	437	697.988	1.597	97.13	<0.001

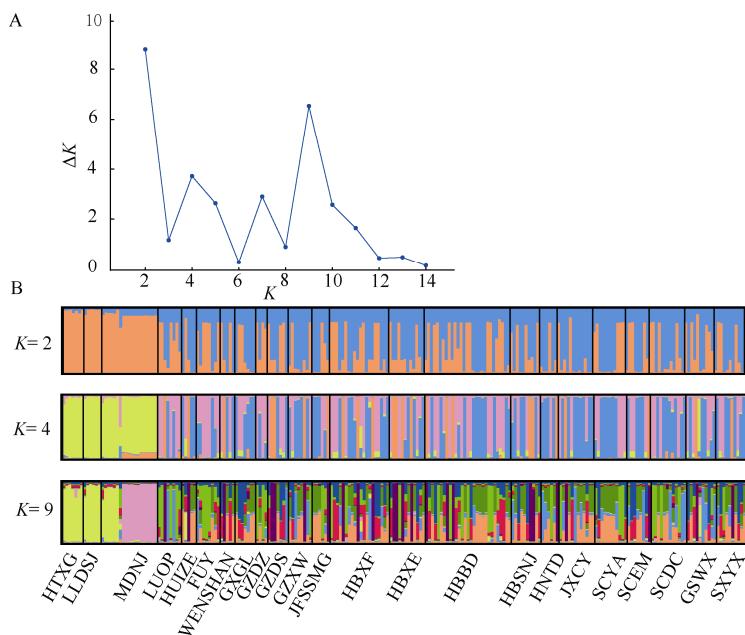


图1 基于STRUCTURE的花魔芋群体遗传结构分析。A: ΔK 后验概率分布; B: 群体遗传聚类图。群体缩写见表1. 下同

Fig. 1 STRUCTURE analysis of *Amorphophallus konjac* populations. A: ΔK posterior probability distribution; B: Population genetic cluster map. Population abbreviation see Table 1. The same below

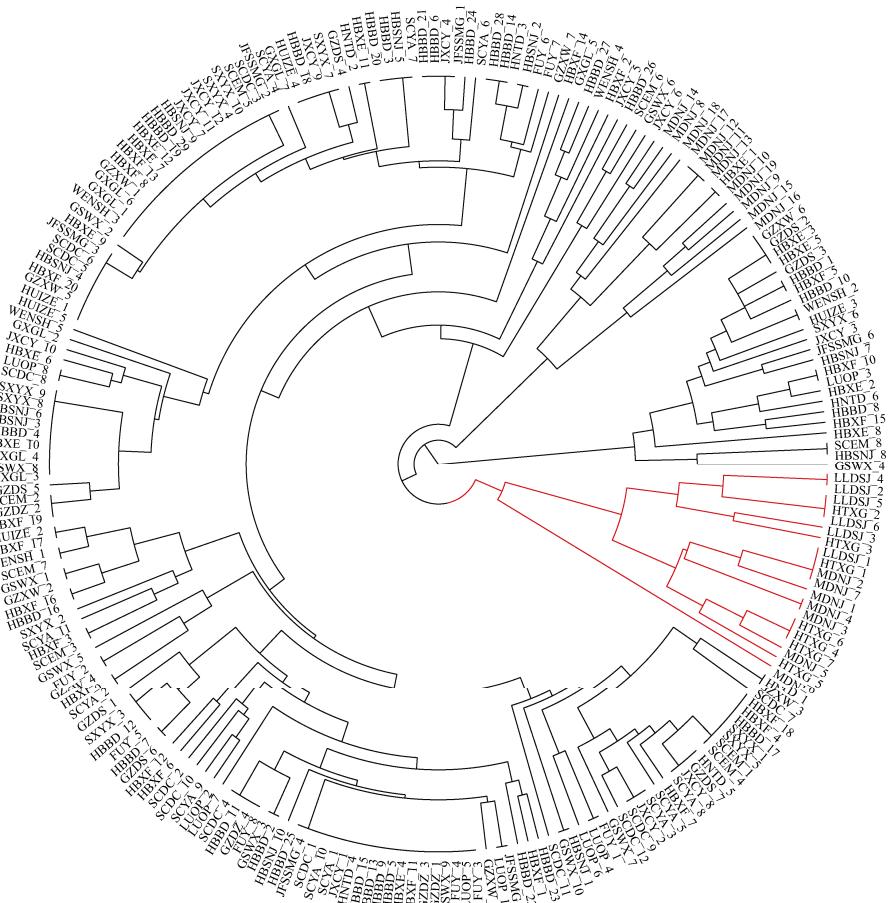


图2 花魔芋种质资源的UPGMA聚类树

Fig. 2 UPGMA cluster tree of *Amorphophallus konjac* resources

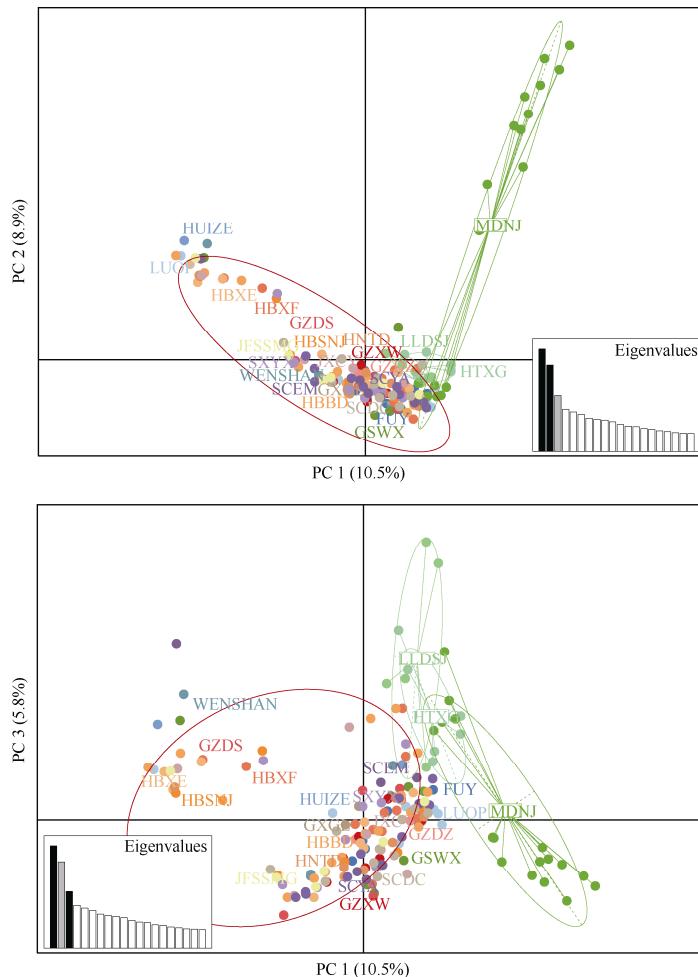
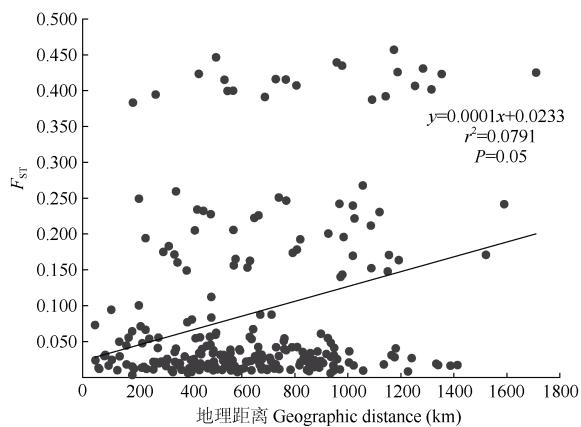


图3 花魔芋的PCA分析

Fig. 3 PCA analysis of *Amorphophallus konjac* individuals图4 花魔芋群体间遗传距离(F_{ST})与地理距离的Mantel检测Fig. 4 Mantel test between genetic distance (F_{ST}) and geographic distance of *Amorphophallus konjac* population pairs

差异,首先可能与选取的分子标记有关,Pan 等^[9]选用 AFLP 标记,不能有效区分二倍体生物的纯合和杂合状态。此外,前人采集的野生群体样本量有

限(每种群 3~20 个样本)^[8~9],采样不充分可能影响了对种群遗传多样性的评估。有研究者认为遗传多样性的高低受到种群所处的地理环境、繁育系统等多种因素的影响^[10,23~24]。从遗传结构分析来看,各地的花魔芋人工栽培群体之间存在大量的遗传渐渗,栽培群体内可能汇集了不同种源的材料,而野生群体的遗传成分较为单一,这可能是栽培种质资源的遗传多样性相对较高的原因之一。在省份水平上,云南省的种质资源遗传多样性最高,这个结果支持了中国的花魔芋栽培资源是由云南向其他省份扩散这一学说^[2]。在群体水平上,湖北省的 HBXE 群体在多个遗传多样性参数检测到最高值,这与潘程等^[9]认为湖北的野生花魔芋的遗传多样性水平较高的研究结果一致。由此可见,湖北的恩施和神农架等地区可能是我国花魔芋资源的另一个多样性中心。

相较于野生花魔芋群体间较高水平的遗传分化(F_{ST} 为 0.162)^[8],本研究的花魔芋栽培群体间的遗

传分化值很低(F_{ST} 为0.090)，且大部分群体间检测不到显著的遗传分化。在各省份之间没有检测到显著的遗传结构，群体的遗传距离与地理距离间的Mantel检测显著性比较低。近年来魔芋产业的快速发展引起了花魔芋种质的大规模流通，这可能是各地种群间低水平遗传分化的原因之一。另外需要注意的是，本研究仅采用了8对SSR引物，引物不足会使覆盖的基因组范围受到限制。有研究认为作物的驯化适应和人为选择信号只存在于基因组的少量区域，采用几个SSR标记可能无法检测出花魔芋各地群体之间的适应性分化。后续研究应该采用基因组测序等手段，综合基因组扫描和表型性状分析，提高作物遗传分化检测的精确度^[23]。

虽然花魔芋在中国有近2000年的栽培利用历史，但在近几十年才开展大规模的种植。STRCUTURE软件、NJ进化树和PCA分析均指出云南省西部的3个群体相较其他群体具有遗传特异性，形成1个单独的遗传聚类，而且这3个群体与其他群体之间大都检测到显著的遗传分化。云南西部不属于花魔芋的主要栽培区，山脉等地理阻隔也降低了种质资源的交流，这些群体可能保持着原始野生种质的遗传特异性。在进行花魔芋杂交育种实践时，可以优先选取该地区群体作为亲本。当然由于本研究的群体没有包括野生资源，存在采样不全面的缺陷，后续需要加入野生种质资源进行共同分析，以进一步评估该区域种质资源的遗传起源。

综上，本研究利用8个SSR标记对中国完整区域的花魔芋栽培资源进行了遗传多样性分析。结果表明，花魔芋群体内的遗传多样性较高，但各群体间具有低水平的遗传分化。这可能与魔芋栽培过程中的种质资源交流有关。而在群体间检测到2个遗传聚类，云南西部群体的遗传特异性可能与本地区尚未跟其它地区进行大规模的种质交换有关，杂交育种时可以将这些群体选作育种材料，为花魔芋的合理利用和将来的品种培育提供了理论参考。

参考文献

- [1] LI H, HETTERSCHIED W L A. *Amorphophallus* [M]// LI H, ZHU G, BOYCE P C, et al. Flora of China, Volume 23. Beijing: Science Press & St. Louis: Missouri Botanical Garden Press, 2010: 23–33.
- [2] LIU P Y. Konjac [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2004. [刘佩瑛. 魔芋学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2004.]
- [3] GONG X, XIE S F, XIA Z R, et al. Study on the effects of adding konjac refined flour on the quality of fresh wet rice noodle [J]. Food Mach, 2023, 39(7): 186–192. [龚雪, 解松峰, 夏曾润, 等. 魔芋精粉对鲜湿米粉品质的影响 [J]. 食品与机械, 2023, 39(7): 186–192. doi: 10.13652/j.spjx.1003.5788.2022.81024.]
- [4] BAI L W, NIU Y, LIU H L, et al. The germplasms and breeding progress of *Amorphophallus* [J]. S China Agric, 2016, 10(4): 48–52. [白立伟, 牛义, 刘海利, 等. 魔芋种质资源及育种研究进展 [J]. 南方农业, 2016, 10(4): 48–52. doi: 10.3969/j.issn.1673-890X.2016.04.018.]
- [5] SUN D W, CAO J F, PEI W H, et al. Identification of a new *Phytophthora* blight disease on konjac in Yunnan [J]. Acta Phytopathol Sin, 2015, 45(1): 84–87. [孙道旺, 曹继芬, 裴卫华, 等. 云南魔芋新病害——疫病病原菌的鉴定 [J]. 植物病理学报, 2015, 45(1): 84–87. doi: 10.13926/j.cnki.apps.2015.01.012.]
- [6] ZENG L Q, WU W, DUAN Y Y, et al. Strengths and countermeasures for development of konjac industry in Yunnan province [J]. Res Agric Modern, 2012, 33(6): 717–721. [曾黎琼, 武卫, 段玉云, 等. 云南高原特色农业——魔芋产业的发展优势与策略 [J]. 农业现代化研究, 2012, 33(6): 717–721.]
- [7] YIN S, HAO Z, LU F D, et al. Genetic diversity of six *Amorphophallus* species in southwest China based on cpDNA sequences [J]. Guihaia, 2023, 43(11): 2042–2051. [殷斯, 郝转, 陆飞东, 等. 西南地区六种魔芋属植物基于cpDNA序列的遗传多样性研究 [J]. 广西植物, 2023, 43(11): 2042–2051. doi: 10.11931/guihaia.gxzw202206048.]
- [8] GAO Y, YUAN G, NIU C, et al. Genetic diversity and population structure of the devil's tongue arum (*Amorphophallus konjac*) in southwestern China [J]. Pakistan J Bot, 2018, 50(3): 999–1004.
- [9] PAN C, GICHIRA A W, CHEN J M. Genetic variation in wild populations of the tuber crop *Amorphophallus konjac* (Araceae) in central China as revealed by AFLP markers [J]. Genet Mol Res, 2015, 14(4): 18753–18763. doi: 10.4238/2015.December.28.24.
- [10] YIN S, YAN Y H, YOU L G, et al. Newly developed genomic SSRs reveal genetic diversity in wild and cultivated *Amorphophallus albus* germplasms [J]. Plant Mol Biol Rep, 2019, 37(4): 365–375. doi: 10.1007/s11105-019-01162-5.
- [11] YANG Y Y. Phenotypic diversity and ITS marker analysis of *Amorphophallus* [D]. Kunming: Yunnan University, 2019. [杨雨嫣. 魔芋属植物表型多样性及ITS标记分析 [D]. 昆明: 云南大学, 2019.]
- [12] GAO Y. Development of SSR markers for molecular identification of *Amorphophallus* species [J]. J Qujing Norm Univ, 2022, 41(3): 46–52. [高永. 魔芋种间分子鉴定的SSR标记开发 [J]. 曲靖师范学院学报, 2022, 41(3): 46–52. doi: 10.3969/j.issn.1009-8879.2022.03.1007/s11105-019-01162-5.]

007.]

- [13] GAO Y, YIN S, LIU C, et al. A rapid approach for SSR development in *Amorphophallus paeoniifolius* using RAD-seq [J]. *Taiwania*, 2018, 63(3): 281–285. doi: 10.6165/tai.2018.63.281.
- [14] SCHUELKE M. An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments [J]. *Nat Biotechnol*, 2000, 18(2): 233–234. doi: 10.1038/72708.
- [15] PEAKALL R, SMOUSE P E. GenAIEx 6.5: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research: An update [J]. *Bioinformatics*, 2012, 28(19): 2537–2539. doi: 10.1093/bioinformatics/bts460.
- [16] EXCOFFIER L, LISCHER H E L. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows [J]. *Mol Ecol Resour*, 2010, 10(3): 564–567. doi: 10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x.
- [17] EVANNO G, REGNAUT S, GOUDET J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: A simulation study [J]. *Mol Ecol*, 2005, 14(8): 2611–2620. doi: 10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x.
- [18] EARL D A, VONHOLDT B M. STRUCTURE HARVESTER: A website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method [J]. *Conserv Genet Resour*, 2012, 4(2): 359–361. doi: 10.1007/s12686-011-9548-7.
- [19] JAKOBSSON M, ROSENBERG N A. CLUMPP: A cluster matching

and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure [J]. *Bioinformatics*, 2007, 23(14): 1801–1806. doi: 10.1093/bioinformatics/btm233.

- [20] ROSENBERG N A. Distruct: A program for the graphical display of population structure [J]. *Mol Ecol Notes*, 2004, 4(1): 137–138. doi: 10.1046/j.1471-8286.2003.00566.x.
- [21] OKSANEN J, BLANCHET F G, FRIENDLY M, et al. Vegan: Community ecology package [R]. 2020. doi: 10.4135/9781412971874.n145.
- [22] JOMBART T. Adegenet: A R package for the multivariate analysis of genetic markers [J]. *Bioinformatics*, 2008, 24(11): 1403–1405. doi: 10.1093/bioinformatics/btn129.
- [23] GAO Y, YIN S, CHU H L, et al. Genome-wide SNPs provide insights on the cryptic genetic structure and signatures of climate adaption in *Amorphophallus albus* germplasms [J]. *Front Plant Sci*, 2021, 12: 683422. doi: 10.3389/fpls.2021.683422.
- [24] HUANG Z Q, WU L Y, GAO X Y, et al. Genetic diversity analysis of *Handroanthus impetiginosus* populations by SSR markers [J]. *J Trop Subtrop Bot*, 2024, 32(1): 125–133. [黄稚清, 吴林源, 高筱钰, 等. 基于 SSR 标记的紫花风铃木群体遗传多样性分析 [J]. 热带亚热带植物学报, 2024, 32(1): 125–133. doi: 10.11926/jtsb.4697.]

附录 1 花魔芋群体间的遗传分化(F_{ST})

http://jtsb.iournals.cn/ajax/common/download_attach_file.aspx?seq_id=20240425172755001&file_no