

· 研究报告 ·

茄子种质遗传多样性及群体结构的SRAP分析

谢立峰¹, 李宁^{2*}, 李烨^{1*}, 姚明华²

¹哈尔滨市农业科学院, 哈尔滨 150028; ²湖北省农业科学院经济作物研究所, 武汉 430064

摘要 采用SRAP标记法对183份茄子(*Solanum melongena*)种质资源的遗传关系和群体结构进行分析。结果表明, 33对多态性SRAP引物组合共扩增出215条清晰稳定的多态性条带, 平均每对引物组合产生7条多态性条带。183份茄子种质的遗传相似系数介于0.276–0.813之间, 平均值为0.623, 表明茄子种质资源间遗传背景存在一定的差异。在遗传距离为0.345 6处可将183份茄子种质分为4组。通过群体结构分析可将种质划分为4个群体, 不同群体间的界限十分明显, 且群体间的基因渗透较高。

关键词 茄子, 遗传多样性, 群体结构, SRAP分析

谢立峰, 李宁, 李烨, 姚明华 (2019). 茄子种质遗传多样性及群体结构的SRAP分析. 植物学报 54, 58–63

茄子(*Solanum melongena*)是茄科(Solanaceae)茄属(*Solanum*)中重要的蔬菜作物之一。茄子起源于印度及东南亚热带地区, 古印度是其最早的驯化地, 中国是茄子的次生起源中心(李宁等, 2014)。我国是世界上茄子栽培面积最大的国家, 占世界茄子种植面积的50%以上。种质资源是种质创新、遗传改良和品种选育的基础, 资源评价是种质资源有效利用的前提。许多研究表明, 茄子栽培种遗传基础比较狭窄, 在一定程度上限制了茄子基础研究和育种工作的进程(李涛等, 2014)。因此, 开展茄子种质资源的收集及遗传多样性分析, 明确茄子种质的遗传结构, 对茄子遗传育种及其相关工作具有重要的指导意义。

1 材料与方法

1.1 实验材料

183份国内外茄子(*Solanum melongena* L.)种质由哈尔滨市农业科学院及湖北省农业科学院经济作物研究所提供。其中145份(编号为1–145)茄子种质为国内种质, 来源于东北、华北、华南和华中不同省市; 38份(编号为146–183)茄子种质是通过国际合作项目从日本、泰国及非洲引进。183份茄子种质来源见附录。

于2016年3月在哈尔滨市农业科学院试验基地播种, 待茄子幼苗长至4–5片真叶时, 采集幼嫩叶片置于2.0 mL EP管中, 用液氮速冻后置于–20°C冰箱保存。

1.2 方法

SRAP分析在东北农业大学番茄课题实验室进行。DNA提取采用CTAB法, 用1%琼脂糖凝胶电泳检测DNA的完整性。SRAP分析参照Li和Quiros (2001)的方法, 并略有改动。SRAP-PCR反应总体积为20 μ L, 其中包含1 μ L DNA模板(30 ng), E引物和M引物各1 μ L, 0.2 μ L dNTP, 2 μ L Taq buffer, 0.2 μ L Taq酶。SRAP-PCR扩增程序: 95°C预变性3分钟; 94°C变性1分钟, 35°C退火1分钟, 72°C延伸1分钟, 5个循环; 94°C变性1分钟, 50°C退火1分钟, 72°C延伸1分钟, 35个循环; 72°C延伸7分钟。SRAP-PCR产物的检测采用12%非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳, 上样量为2.0 μ L, 电泳上槽缓冲液为1×TBE, 恒功率为30 J·s⁻¹, 电泳1小时。使用10%硝酸银染色。

将每条SRAP引物组合扩增的每条带视为1个位点, 条带清晰可辨记为1, 缺失记为0; 统计位点总数和多态性位点数, 不具多态性的条带不统计。应用NTSYS 2.2软件(Rohlf, 1997)计算遗传相似系数。用

收稿日期: 2017-12-06; 接受日期: 2018-08-21

基金项目: 国家重点研发计划(No.2016YFD0101703)、哈尔滨市应用技术与开发项目(No.2016RQYY0020)和黑龙江省应用技术与开发计划(No.CA15B103-1)

* 通讯作者。E-mail: n.li@msn.com; eggplant_2010@163.com

DARwin 6.0软件(Perrier et al., 2003)进行主成分分析。利用Structure 2.3软件(Pritchard et al., 2007)分析供试材料的群体结构, 将MCMC (Markov Chain Monte Carlo)开始时的不作数迭代(length of burn-in period)设为10 000次, 不作数迭代后的MCMC迭代设为50 000次, 群体数目(K)设定为1–10, 重复运行3次。根据Flint-Garcia等(2003)的方法计算 ΔK 值, 并通过 ΔK 值的第1个峰值所对应的K值确定最佳组群数。

2 结果与讨论

2.1 引物多态性分析

利用筛选出的33对多态性高且重复性好的SRAP引物组合, 对供试的183份茄子种质进行扩增, 共扩增出215条清晰稳定的多态性条带, 多态性条带的比例为100%。平均每对引物组合产生7条多态性条带; 其中引物组合Me2Em5扩增出的多态性条带最多, 为13条; 引物组合Me1Em3、Me1Em4、Me1Em7、Me1Em9、Me5Em1和Me5Em8扩增出的多态性条带最少, 为4条。等位基因频率、基因多样性和多态性信息(PIC)指数变化范围分别为0.273 2–0.879 8、0.221 0–0.855 6和0.213 3–0.841 3, 平均值分别为0.552 8、0.592和0.549 8 (表1)。引物组合Me1Em8对183份茄子种质扩增的结果见图1。

2.2 遗传相似系数

利用NTSYS 2.2软件对茄子种质资源的遗传相似系数进行计算, 结果表明, 183份茄子种质的遗传相似系数介于0.276–0.813之间, 平均值为0.623。相似系数越大, 遗传距离越小。由此可见, 茄子种质资源间存在一定的遗传背景差异。

2.3 基于SRAP标记的聚类分析

利用DARwin 6.0软件通过邻接法对183份茄子材料进行聚类 and 主成分分析(图2)。从聚类结果可以看出, 茄子材料间的亲缘关系比较复杂, 在遗传距离为0.345 6处可以划分为4组。第I组包含38份材料, 主要为长条形茄子材料, 占20.8%; 第II组包含51份材料, 主要为长棒形茄子材料, 占27.9%; 第III组包含27份材料, 主要为卵圆形茄子材料, 占14.8%; 第IV组包含67份材料, 均为卵圆形和圆球形茄子材料。不同

表1 33对引物组合的多态性扩增结果

Table 1 The results of polymorphic amplification of 33 pairs of primer combination

Primer combinations	Allele frequencies	Number of polymorphic bands	Genetic diversity	PIC
Me1Em3	0.6721	4	0.4962	0.4486
Me1Em4	0.5519	4	0.5896	0.5215
Me1Em7	0.8798	4	0.2210	0.2133
Me1Em8	0.5792	5	0.5838	0.5283
Me1Em9	0.7432	4	0.4176	0.3839
Me2Em3	0.2732	11	0.8556	0.8413
Me2Em4	0.5246	7	0.6770	0.6492
Me2Em5	0.3525	13	0.7619	0.7295
Me2Em6	0.6393	6	0.5606	0.5349
Me3Em1	0.7268	6	0.4511	0.4289
Me3Em2	0.3060	8	0.7718	0.7368
Me3Em3	0.3060	8	0.7823	0.7509
Me5Em1	0.4973	4	0.6209	0.5525
Me5Em2	0.3333	12	0.7877	0.7598
Me5Em7	0.3607	7	0.7106	0.6571
Me5Em8	0.4208	4	0.6791	0.6205
Me5Em9	0.4754	6	0.6854	0.6412
Me5Em11	0.6120	5	0.5774	0.5400
Me6Em7	0.4262	8	0.7518	0.7247
Me6Em8	0.4590	6	0.6636	0.6035
Me6Em9	0.5738	5	0.6127	0.5723
Me6Em11	0.7268	6	0.4363	0.3987
Me7Em3	0.6557	5	0.4901	0.4211
Me7Em5	0.7486	7	0.4237	0.4058
Me7Em8	0.6557	5	0.5184	0.4733
Me7Em9	0.3224	7	0.7684	0.7338
Me7Em11	0.5464	5	0.5994	0.5368
Me7Em12	0.7486	7	0.4210	0.4001
Me9Em1	0.6011	5	0.5344	0.4582
Me9Em3	0.6284	6	0.5377	0.4839
Me9Em13	0.6667	8	0.5197	0.4874
Me8Em6	0.6885	12	0.5055	0.4860
Me8Em7	0.5410	5	0.5252	0.4185
Mean	0.5528	7	0.5920	0.5498

PIC: 多态性信息 PIC: Polymorphism information content

组的分类总体上与茄子种质的果形性状相关性较高, 与茄子种质的地域来源相关性不大。

2.4 群体遗传结构分析

为揭示茄子种质的遗传背景, 我们利用SRAP引物组合对183份茄子种质进行了群体遗传结构分析。当样本的等位变异频率特征类型数K=4时, 其模型的后验概率最大, 根据K值将183份茄子种质划分为PopI、

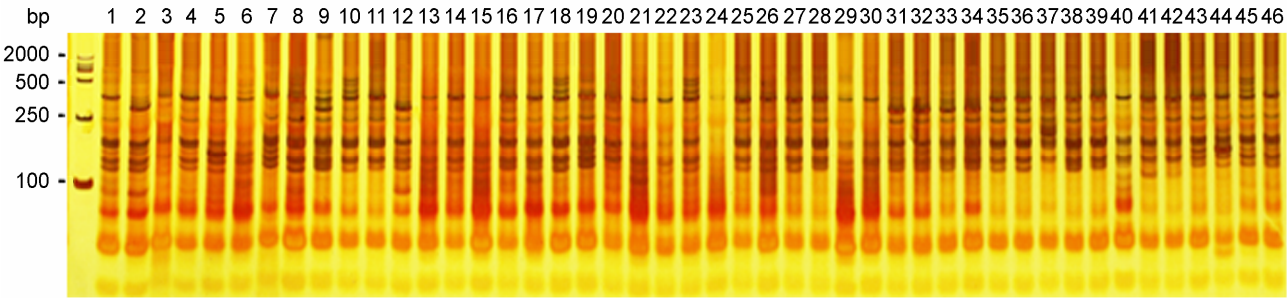


图1 引物组合Me1Em8在部分茄子种质(编号1–46同附录)中的SRAP扩增结果

Figure 1 SRAP amplification of primer Me1Em8 in some eggplant varieties (The number of 1–46 see Appendix)

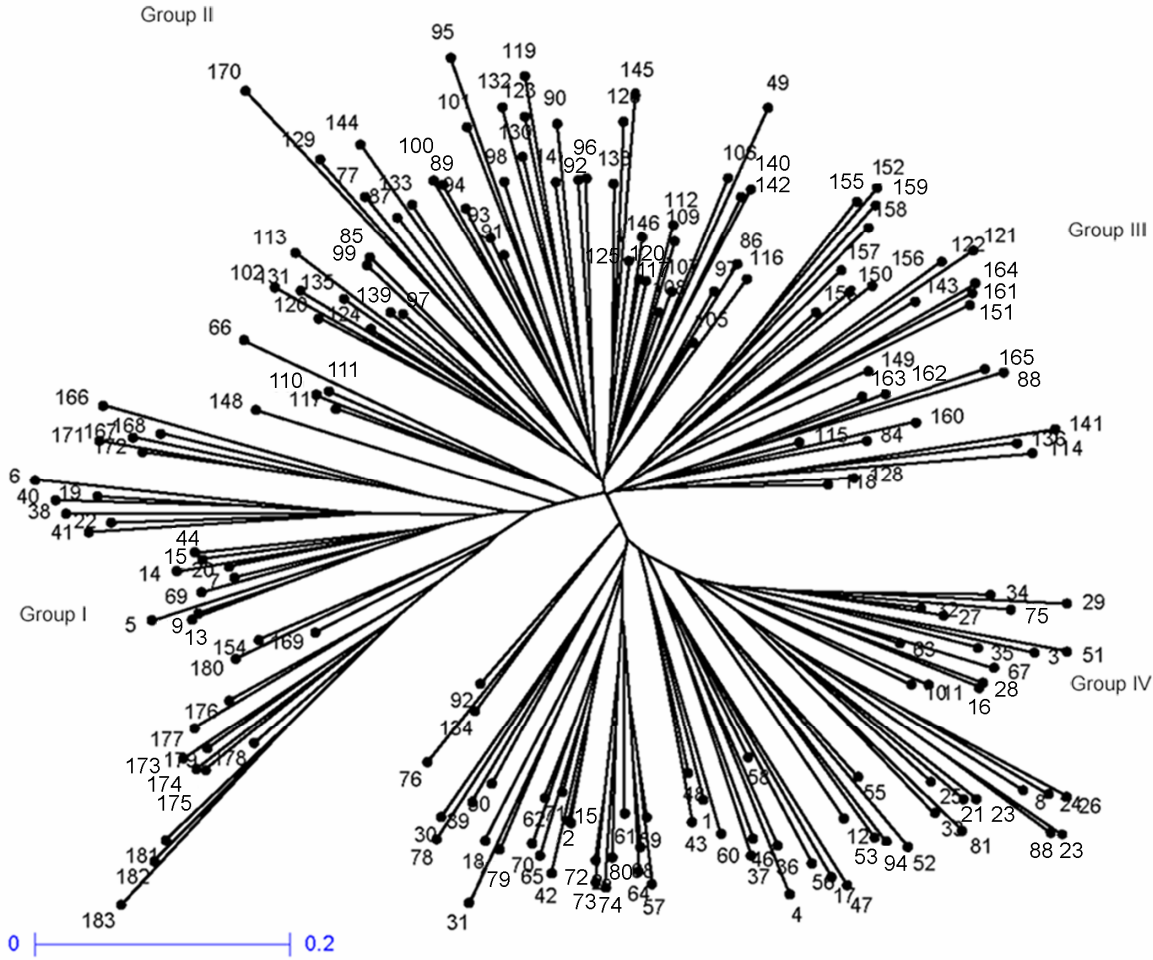


图2 183份茄子种质(详细信息见附录)的聚类分析

Figure 2 Cluster analysis for 183 eggplant varieties (See Appendix for the detailed information)

PopII、PopIII和PopIV 4个亚群(图3)。从群体结构图中可以看出,收集的茄子种质可分为4个不同的遗传群体,且存在中间类型材料,不同群体间的界限十分明显。根据每个亚类群中主要颜色所占的比例(Q值),

将 $Q>0.6$ 视为血缘单一, $Q<0.6$ 视为具有混合来源(刘丽华等, 2009)。从图3可以看出,亚群间的基因渗透较高。PopI亚群中各份材料的Q值均大于0.6,说明PopI亚群的种质遗传背景较单一,与其它亚群间的

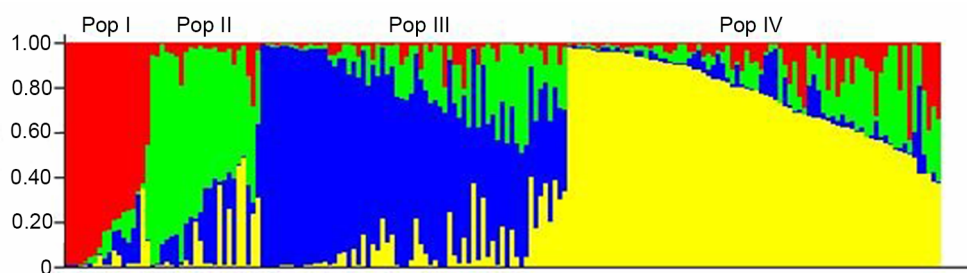


图3 183份茄子种质资源的群体结构

Figure 3 Population structure of 183 eggplant varieties

基因交流不多; Pop I 亚群主要为卵圆形、紫色或紫黑色的茄子种质, 来源主要为河北和北京, 这也印证了 Q 值的分析结果, 说明该亚群的种质来源比较单一。Pop II、Pop III 和 Pop IV 亚群部分种质的 Q 值小于 0.6, 种质资源的基因渗透较高, 表明其具有混合来源, 遗传背景较复杂; 对亚群中茄子的果形、果色、果实萼片颜色及来源地进行综合分析, 同样也印证了 Q 值的分析结果, 即茄子的果形从长条形、长棒形和圆球形等均有分布, 果色从白色、紫红色、紫色到紫黑色均有分布, 来源包括我国东北、华中和西南以及日本和泰国。

2.5 讨论

种质资源是开展育种工作的基础, 种质资源利用的前提是要对其进行多样性分析和遗传背景研究(An et al., 2008)。本研究采用 33 对 SRAP 引物组合对供试的 183 份茄子种质进行扩增, 平均每对引物组合产生 7 条多态性条带, 等位基因频率、基因多样性和多态性指数的平均值分别为 0.552 8、0.592 和 0.549 8, 遗传相似系数平均值为 0.623。与毛伟海等(2006)、冉进等(2007)、何倚剑(2013)及冯英娜等(2014)的研究结果相比, 本研究茄子种质资源间遗传背景相对丰富。Li 等(2010)用 55 对 SRAP 引物组合对 56 份茄子种质进行了遗传多样性分析, 将供试的 56 份茄子材料分为 3 类, 即 *S. melongena*、*S. aethiopicum* 和 *S. surattense*, 较好地地区分开茄子栽培种(*S. melongena*)和野生种(*S. aethiopicum* 和 *S. surattense*), 同时进一步证明 SRAP 标记方法在茄子多样性分析中的可行性, 分析结果与供试材料的表型密切相关。本实验所

用 183 份材料均为一年生茄子栽培种, 其中 145 份为国内资源, 其余为湖北省农科院通过国际合作引进的国外茄子种质资源, 地域分布更丰富。本研究表明, 在茄子的育种工作中, 要加大种质资源的交流力度, 提高种质资源多样性, 增加野生茄子资源的利用, 扩大我国茄子育种的种质资源基因库, 为培育优良新品种提供可选择亲本。

聚类分析与群体结构分析是进行种质资源遗传多样性分析的有效手段。本研究采用邻接法将茄子种质划分为 4 类, 采用基于混合模型的群体结构分析方法同样将茄子种质划分为 4 个亚群, 划分结果基本一致。但与聚类分析方法相比, 群体结构分析能够更好地揭示材料内在的遗传结构, 有助于育种工作者更准确把握种质间的遗传关系。参照刘丽华等(2009)的描述, 本研究将 $Q < 0.6$ 视为具有混合来源以区分种质间存在基因交流。群体结构分析较直观明确地展示了种质间的遗传结构和基因渗入情况, 不同地域来源的茄子种质间存在基因渗入情况, 但基因渗入和群体结构的划分结果与地域相关性不大, 不同组的分类总体上与茄子种质的果形性状相关性较高。王秋锦等(2007)利用 RAPD 标记将 34 份茄子分为两大类型, 即圆茄类型和长茄类型, 与经典的形态学分类基本相符。孙源文等(2012)利用 SSR 标记对 34 份茄子材料进行聚类分析, 结果表明材料主要依果形归类。本研究利用 SRAP 标记方法进行聚类分析和群体结构分析, 获得类似的结果, 从分子水平上支持了以果形作为茄子品种分类指标的观点。

本研究采用 SRAP 标记方法对 183 份茄子种质资

源的遗传关系和群体结构进行分析,明确了茄子种质资源间遗传背景和群体间的基因渗透情况,对今后育种材料的选用具有指导意义。

参考文献

- 冯英娜, 柳李旺, 刘卫东, 王倩, 崔群香 (2014). 茄子SSR遗传多样性及其农艺性状的关联分析. 江苏农业学报 **30**, 839–847.
- 何倚剑, 刘卫东, 柳李旺, 王倩, 崔群香 (2013). 茄子种质资源遗传多样性和群体结构分析. 南京农业大学学报 **36**(5), 13–20.
- 李宁, 姚明华, 焦春海, 李烨, 王飞 (2014). 亚洲及非洲茄子种质资源主要农艺性状的遗传多样性分析. 湖北农业科学 **53**, 5769–5774.
- 李涛, 黎振兴, 罗少波, 李植良, 徐小万 (2014). 东南亚茄子种质资源ISSR遗传多样性分析. 中国农学通报 **30**(25), 104–110.
- 刘丽华, 王立新, 赵昌平, 姚骥, 张风廷, 张华, 叶志杰, 秦志列, 郑用璉 (2009). 光温敏二系杂交小麦恢复系遗传多样性和群体结构分析. 中国生物化学与分子生物学报 **25**, 867–875.
- 毛伟海, 杜黎明, 包崇来, 胡天华, 朱琴妹, 胡海娇 (2006). 我国南方长茄种质资源的ISSR标记分析. 园艺学报 **33**, 1109–1112.
- 冉进, 宋明, 房超, 文明玲, 刘小俊, 刘独臣, 李跃建 (2007). 茄子(*S. melongena* L.)种质资源遗传多样性的RAPD分析. 西南农业学报 **20**, 694–697.
- 孙源文, 陈钰辉, 刘富中, 张映, 连勇 (2012). 基于SSR分子标记的栽培种茄子遗传多样性分析. 中国蔬菜 (22), 17–23.
- 王秋锦, 高杰, 孙清鹏, 杨爱珍, 赵福宽 (2007). 茄子品种遗传多样性的RAPD检测与聚类分析. 植物生理学报 **43**, 1035–1039.
- An CF, Saha S, Jenkins JN, Ma DP, Scheffler BE, Kohel RJ, Yu JZ, Stelly DM (2008). Cotton (*Gossypium* spp.) R2R3-MYB transcription factors SNP identification, phylogenomic characterization, chromosome localization, and linkage mapping. *Theor Appl Genet* **116**, 1015–1026.
- Falush D, Stephens M, Pritchard JK (2007). Inference of population structure using multilocus genotype data: dominant markers and null alleles. *Mol Ecol Notes* **7**, 574–578.
- Flint-Garcia SA, Thornsberry JM, Buckler ES (2003). Structure of linkage disequilibrium in plants. *Annu Rev Plant Biol* **54**, 357–374.
- Li G, Quiros CF (2001). Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in *Brassica*. *Theor Appl Genet* **103**, 455–461.
- Li HZ, Chen HY, Zhuang TM, Chen J (2010). Analysis of genetic variation in eggplant and related *Solanum* species using sequence-related amplified polymorphism markers. *Sci Hort* **125**, 19–24.
- Perrier X, Flori A, Bonnot F (2003). Data analysis methods. In: Hamon P, Seguin M, Perrier X, eds. Genetic Diversity of Cultivated Tropical Plants. Montpellier: Enfield, Science Publishers. pp. 43–76.
- Rohlf FJ (1997). NTSYS-pc-Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System Version 2.02e. Exeter Software. New York.

Genetic Diversity and Population Structure of Eggplant (*Solanum melongena*) Germplasm Resources Based on SRAP Method

Lifeng Xie¹, Ning Li^{2*}, Ye Li^{1*}, Minghua Yao²

¹Harbin Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150028, China; ²Institute of Economic Crops of Hubei Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430064, China

Abstract The genetic diversity and the population structure of 183 germplasm resources of eggplant were analyzed by using SRAP markers. Overall, 215 bands were generated with 7 binds per primer on average. The mean genetic similarity coefficient was 0.623 among the cultivars (0.276–0.813), which suggested genetic differentiation among the germplasm resources. The germplasm resources were divided into four groups with a similarity coefficient of 0.345 6. Introgression exists in the four groups based on population structure analysis. The boundaries among different groups are obvious, and gene introgression among varieties is high.

Key words eggplant, genetic diversity, population structure, SRAP analysis

Xie LF, Li N, Li Y, Yao MH (2019). Genetic diversity and population structure of eggplant (*Solanum melongena*) germplasm resources based on SRAP method. *Chin Bull Bot* **54**, 58–63.

* Authors for correspondence. E-mail: n.li@msn.com; eggplant_2010@163.com

(责任编辑: 白羽红)

附录 183份供试茄子的材料来源

Appendix Sources of 183 eggplant varieties

<http://www.chinbullbotany.com/fileup/PDF/t17237-1.pdf>