

基于 SSR 标记分析蓝莓品种‘蓝美 1 号’自由授粉子代遗传多样性及群体遗传结构

王亮¹, 韦继光¹, 葛春峰¹, 於虹¹, 姜燕琴¹, 杨曙方², 曾其龙¹, 田亮亮^{1,①}

[1. 江苏省中国科学院植物研究所(南京中山植物园), 江苏 南京 210014; 2. 浙江蓝美技术股份有限公司, 浙江 绍兴 312000]

摘要: 基于 SSR 标记对蓝莓品种‘蓝美 1 号’(*Vaccinium corymbosum* ‘Lanmei 1’) 217 个自由授粉子代和 26 个现有蓝莓(*Vaccinium* spp.)栽培品种的遗传多样性和群体遗传结构进行了分析。结果显示:243 个供试材料中,23 对引物共检测出 113 个等位基因。多态性信息含量指数(PIC)为 0.507 5~0.833 0,均值为 0.686 6;所有引物的 PIC 值均在 0.5 以上,表明 SSR 引物的多态性较高。217 个自由授粉子代的 Nei’s 遗传多样性指数和 Shannon’s 多态性信息指数的均值分别为 0.733 4 和 1.439 4,自由授粉子代较现有栽培品种具有较高的遗传多样性水平。UPGMA 聚类分析中,26 个品种聚为一类;217 个自由授粉子代的遗传相似系数为 0.70~0.99,除少数自由授粉子代外,其余子代划分为 3 个类群。STRUCTURE 分析将 217 个自由授粉子代划分为 4 个亚群,亚群内子代遗传背景相对单一。比较 UPGMA 聚类分析和 STRUCTURE 分析的结果,STRUCTURE 分析的分群效果更佳,亚群内子代间遗传相似性高。综合分析结果表明:筛选出的 23 对引物具有高度多态性;‘蓝美 1 号’自由授粉子代的遗传多样性较高,同现有栽培品种亲缘关系较远,可为蓝莓品种的改良提供丰富的遗传资源。

关键词: ‘蓝美 1 号’; 蓝莓; SSR 标记; 遗传多样性; 群体遗传结构

中图分类号: Q949.9; S663.9; S718.46 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2022)03-0035-09
DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2022.03.05

Analysis on genetic diversity and population genetic structure of open-pollinated progenies of *Vaccinium corymbosum* ‘Lanmei 1’ based on SSR marker WANG Liang¹, WEI Jiguang¹, GE Chunfeng¹, YU Hong¹, JIANG Yanqin¹, YANG Shufang², ZENG Qilong¹, TIAN Liangliang^{1,①}
(1. Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014, China; 2. Zhejiang Lanmei Technology Co., Ltd., Shaoxing 312000, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2022, 31(3): 35-43

Abstract: Genetic diversity and population genetic structure of 217 open-pollinated progenies of *Vaccinium corymbosum* ‘Lanmei 1’ and 26 existing cultivated cultivars of blueberry (*Vaccinium* spp.) were analyzed based on SSR marker. The results show that among 243 test materials, 113 alleles are detected with 23 pairs of primers. The polymorphic information content index (PIC) is 0.507 5–0.833 0, with an average of 0.686 6; the PIC values of all primers are greater than 0.5, indicating the polymorphisms of SSR primers are relatively high. The averages of Nei’s genetic diversity index and Shannon’s polymorphic information index of 217 open-pollinated progenies are 0.733 4 and 1.439 4 respectively, and the genetic diversity levels of open-pollinated progenies are relatively higher than those of existing cultivated cultivars. In the UPGMA cluster analysis, 26 cultivars are clustered into one category; the genetic similarity coefficient of 217 open-pollinated progenies are 0.70–0.99, and expect for a few open-pollinated progenies, the other progenies can be divided into three groups. The STRUCTURE

收稿日期: 2022-01-11

基金项目: 所企合作项目(‘蓝美 1 号’高效栽培技术与新品种选育)

作者简介: 王亮(1997—),男,江苏南通人,硕士研究生,主要从事蓝莓分子遗传和育种方面的研究。

①通信作者 E-mail: tl6132000@163.com

引用格式: 王亮, 韦继光, 葛春峰, 等. 基于 SSR 标记分析蓝莓品种‘蓝美 1 号’自由授粉子代遗传多样性及群体遗传结构[J]. 植物资源与环境学报, 2022, 31(3): 35-43.

analysis divides 217 open-pollinated progenies into four subgroups, and the genetic background of progenies within subgroups are relatively simple. Comparing the results of UPGMA cluster analysis and STRUCTURE analysis, the grouping effect of STRUCTURE analysis is better, and the genetic similarity among progenies within subgroups is high. The comprehensive analysis result shows that 23 pairs of selected primers are highly polymorphic; the genetic diversity of open-pollinated progenies of 'Lanmei 1' is relatively high and they have relatively far genetic relationships with existing cultivated cultivars, which can provide rich genetic resources for improvement of blueberry (*Vaccinium* spp.) cultivars.

Key words: 'Lanmei 1'; blueberry (*Vaccinium* spp.); SSR marker; genetic diversity; population genetic structure

蓝莓(*Vaccinium* spp.)为杜鹃花科(Ericaceae)越橘属(*Vaccinium* Linn.)落叶灌木,其果实中花青素含量较高,具有保护视力和增强人体免疫力等功效^[1-3]。蓝莓原产北美,杂交育种是其品种培育的主要手段。目前,科研工作者已经选育出一批品质优良的品种^[4-6],并从生理特性^[7]和化学成分^[8]等方面对蓝莓进行了研究,促进了蓝莓产业的发展。但是,目前绝大多数蓝莓品种对中国的黏重土壤和夏季高温适应性较差,不能达到高产稳产;且国内现有引进栽培品种的遗传多样性较低、遗传基础较狭窄^[9-11],应该加强野生资源在育种中的利用。中国越橘属种质资源丰富,特有种有51种^[12],但缺少可以直接利用的品种,特别是现有栽培品种所属的蓝浆果组(*Sect. Cyanococcus*)在中国没有分布。因此,除了引进野生资源,在现有栽培品种中发掘遗传背景相对复杂的品种为育种材料,开展针对中国生态特点的育种工作对中国蓝莓的产业化具有重要意义。

蓝莓品种'蓝美1号'(*Vaccinium corymbosum* 'Lanmei 1')是目前国内利用引进育种材料选育出的惟一个国家级林木良种(编号:国R-ETS-VC-006-2018),该品种源自20世纪90年代引入的美国蓝莓育种体系的育种资源,是复杂的种间杂交实生子代,除了蓝莓品种常含有的遗传基础外,还含有常绿越橘(*V. darrowii* Camp)和依利越橘(*V. elliottii* Chapm.)的遗传基础^[13]。该品种既继承了野生越橘抗旱、耐热和耐瘠薄的优点,对中国长江流域黏重土壤和夏季高温有较好的适应性,又有野生越橘的高级保健功能,果实花青素含量高^[14],是良好的加工品种。因此,充分开发利用'蓝美1号'的抗性基因资源,对中国蓝莓种质资源创新具有重要意义。

SSR(simple sequence repeats)标记是一种以特异引物PCR为基础的分子标记技术,具有良好的保守性、多态性高、共显性等优点,且实验过程中所需样本

量少、分辨率高、可重复性强^[15]。目前,SSR标记在蓝莓遗传多样性、亲缘关系、指纹图谱构建以及群体遗传结构等方面得到广泛应用,如:崔建民等^[9]利用22对SSR引物,明确了93份蓝莓材料的亲缘关系,发现现有栽培品种遗传多样性较低,遗传基础狭窄;刘有春等^[10]采用EST-SSR标记对越橘属84份材料的群体遗传结构进行了分析,发现大多数蓝莓品种的遗传背景较单一;徐国辉等^[16]利用SSR分子标记技术鉴定了蓝莓优良品系的父本,并通过2对引物构建了8个蓝莓优良品系的指纹图谱;张春红等^[17]利用25对SSR引物对66个蓝莓品种进行了分析,揭示了不同栽培类型蓝莓种质的差异。

本研究以'蓝美1号'217个自由授粉子代为研究材料,采用SSR分子标记分析自由授粉子代的遗传多样性和群体遗传结构,以期对'蓝美1号'自由授粉子代选育、评价及育种工作提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

供试材料为'蓝美1号'217个自由授粉子代和26个现有蓝莓栽培品种,共243份材料。'蓝美1号'217个自由授粉子代由浙江省诸暨市青山村青山基地苗圃(东经120.07°、北纬29.65°,海拔103 m)中'蓝美1号'自由授粉获得的种实经播种育苗后得到,子代种植于青山基地苗圃,苗圃周围无其他蓝莓品种存在。26个品种包括:'粉蓝'('Powderblue')、'巨丰'('Delite')、'园蓝'('Gardenblue')、'精华'('Choice')和'奥斯汀'('Austin')5个兔眼蓝莓品种;'绿宝石'('Emerald')、'春高'('Springhigh')、'奥尼尔'('O'Neal')、'阳光蓝'('Sunshine Blue')、'薄雾'('Misty')、'夏普蓝'('Sharpblue')、'明星'('Star')、'珠宝'('Jewel')

和‘库帕’(‘Cooper’)9个南高丛蓝莓品种;‘日出’(‘Sunrise’)、‘蓝金’(‘Bluegold’)、‘康维尔’(‘Coville’)、‘公爵’(‘Duke’)、‘伯克利’(‘Berkeley’)、‘齐佩瓦’(‘Chippewa’)、‘布里吉塔’(‘Brigitta’)、‘达柔’(‘Darrow’)、‘钱德勒’(‘Chandler’)、‘莱格西’(‘Legacy’)、‘晚蓝’(‘Lateblue’)和‘蓝丰’(‘Bluecrop’)12个北高丛蓝莓品种。26个品种均种植于江苏省中国科学院植物研究所苗圃(东经118.84°、北纬32.06°,海拔30 m)。于2020年5月,采集217个自由授粉子代单株和26个品种新梢顶端刚长出的嫩叶,每株采集3~5枚,置于-80℃冰箱保存、备用。

1.2 方法

1.2.1 DNA提取 用AG501C新型植物基因组DNA提取试剂盒(上海浦迪生物科技有限公司)提取217个自由授粉子代和26个品种植株叶片的基因组DNA,用质量体积分数1%琼脂糖凝胶电泳检测DNA质量,用Berthold Colibri超微量分光光度计(德国Berthold Technology公司)测定DNA的浓度和纯度,置于-20℃冰箱中保存、备用。

1.2.2 SSR引物的扩增筛选 用TC1000-G PCR仪(美国Scilogex公司)进行PCR扩增反应。PCR扩增体系总体积10.0 μL,包括50 ng·μL⁻¹ DNA 1.0 μL、2×3G Taq Master Mix for PAGE (Red Dye)混合液5.0 μL、100 μmol·L⁻¹上游和下游引物各0.1 μL以及ddH₂O 3.8 μL。扩增程序为:94℃预变性5 min;94℃变性30 s、56℃退火30 s、72℃延伸30 s,共35个循环;最后72℃延伸10 min。PCR反应结束后,在质量体积分数8%的非变性聚丙烯酰胺凝胶上进行电泳分离,用质量体积分数0.2% AgNO₃染色后置于灯箱上拍照。从200对SSR引物中,筛选出23对多态性好的引物用于供试材料基因组DNA的PCR扩增,根据条带扩增情况进行统计分析。

1.3 数据处理和分析

1.3.1 遗传多样性分析 记录引物的多态性位点,某一位点上有条带记为“1”,无条带记为“0”,使用EXCEL 2013软件构建“1”“0”矩阵。基于多态性条带,使用POPGENE软件计算Nei's遗传多样性指数和Shannon's多态性信息指数;使用PIC-CALC软件计算各引物的多态性信息含量指数(PIC),PIC值越高,表明SSR分子标记的多态性越丰富,PIC>0.50表示引物有高度多态性^[18,19];使用NTSYS-pc Ver.2.10e

软件进行UPGMA聚类分析。

1.3.2 群体遗传结构分析 参照黄宇宁^[20]的方法,使用STRUCTURE 2.3.4软件对217个自由授粉子代进行群体遗传结构分析,分组数(K)设置为2~10,每个K值重复运算10次,100 000次马尔科夫链蒙特卡罗(MC)重复之后进行100 000次burn-in,使用STRUCTURE Harvester在线工具^[21]对获得的结果进行分析。参照Evanno等^[22]的方法,用ΔK确定合适的K值。ΔK为|L''(K)|的平均数除以L'(K)的标准差,其中L'(K)=L(K)-L(K-1),|L''(K)|=|L'(K+1)-L'(K)|,L(K)是STRUCTURE 2.3.4运行结果中的最大似然值对数lnP(K)。使用CLUMPP 2.0软件^[23]将运算结果合并,绘制群体遗传结构分析图。计算各子代相应的Q_i值(各子代归入某一亚群的概率,i为子代所属亚群),对子代的遗传背景进行分析,其中,Q_i≥0.6表示遗传来源单一,Q_i<0.6表示具有混合遗传来源^[24,25]。

2 结果和分析

2.1 扩增结果及遗传多样性分析

基于SSR引物扩增结果,‘蓝美1号’217个自由授粉子代和26个蓝莓品种的遗传多样性分析结果见表1。结果显示:23对引物在243个供试材料中共检测出113个等位基因,等位基因数均值为4.9,其中,引物FLS-3和GVC-C179_213扩增出的等位基因数最多(8),引物CHI-2、KAN-1007、KAN-2133、KAN-453和KAN-628扩增出的等位基因数最少(3);有效等位基因数(N_e)为2.6~6.7,均值为4.4;多态性信息含量指数(PIC)为0.507 5~0.833 0,均值为0.686 6。23对引物的PIC值均在0.5以上,表明筛选出的SSR引物的多态性高,其中引物FLS-3、GVC-C179_213、GVC-C66a_306、KAN-2584和PrO32475744b的PIC值均高于0.8。

217个自由授粉子代的Nei's遗传多样性指数(H)为0.591 1~0.850 9,均值为0.733 4;Shannon's多态性信息指数(I)为0.968 5~1.978 9,均值为1.439 4。26个品种的H值为0.195 8~0.813 0,均值为0.479 1;I值为0.346 5~1.728 0,均值为0.851 8。217个自由授粉子代的H和I值均大于26个品种,表明自由授粉子代群体存在丰富的遗传多样性,且遗传多样性优于现有栽培品种。

表1 供试 SSR 引物的扩增结果及‘蓝美1号’217个自由授粉子代和26个蓝莓品种的遗传多样性分析¹⁾Table 1 Amplification results of test SSR primers and analysis on genetic diversity of 217 open-pollinated progenies of ‘Lanmei 1’ and 26 cultivars of blueberry (*Vaccinium* spp.)¹⁾

引物编号 No. of primer	等位 基因数 Number of alleles	有效等位 基因数 Effective number of alleles	多态性信息 含量指数 Polymorphic information content index	217个自由授粉子代的遗传多样性参数 Genetic diversity parameters of 217 open-pollinated progenies		26个品种的遗传多样性参数 Genetic diversity parameters of 26 cultivars	
				<i>H</i>	<i>I</i>	<i>H</i>	<i>I</i>
CA23F	4	3.0	0.581 2	0.647 3	1.147 2	0.563 8	0.904 5
CER6-2	4	3.7	0.682 8	0.732 1	1.350 1	0.654 0	1.171 8
CHI-2	3	3.0	0.551 2	0.622 5	1.034 6	0.492 8	0.685 9
COPI-1	5	4.7	0.739 1	0.776 4	1.539 8	0.195 8	0.346 5
CVC-C668	4	3.6	0.650 3	0.707 2	1.282 2	0.307 8	0.486 2
FLS-3	8	6.6	0.821 7	0.839 4	1.927 3	0.754 2	1.386 3
GVC-C179_213	8	6.7	0.833 0	0.850 9	1.978 9	0.808 8	1.717 9
GVC-C66a_306	7	6.3	0.808 8	0.831 5	1.845 3	0.719 4	1.322 6
GVC-NA172	5	4.9	0.738 8	0.773 9	1.548 8	0.240 8	0.405 0
GVC-SL247	6	4.6	0.749 9	0.783 4	1.632 6	0.813 0	1.728 0
IP5PII-1	4	3.6	0.668 0	0.719 3	1.322 5	0.255 0	0.422 7
IP5PII-2_286	5	4.2	0.709 6	0.751 4	1.477 9	0.623 2	1.036 1
KAN-1007	3	2.6	0.507 5	0.591 1	0.968 5	0.427 8	0.619 1
KAN-11281	6	5.1	0.763 4	0.794 9	1.658 9	0.364 8	0.551 1
KAN-16471_282	4	3.5	0.657 0	0.710 1	1.304 0	0.226 2	0.386 4
KAN-2133	3	2.6	0.509 2	0.592 3	0.971 1	0.282 2	0.455 9
KAN-2584	7	6.6	0.816 3	0.836 8	1.877 6	0.685 4	1.218 8
KAN-319	5	4.4	0.716 6	0.756 7	1.495 1	0.659 5	1.183 5
KAN-453	3	2.9	0.549 1	0.621 0	1.031 6	0.331 8	0.514 0
KAN-628	3	2.7	0.518 5	0.599 0	0.985 7	0.343 2	0.526 9
KAN-656	5	4.6	0.735 7	0.773 9	1.529 0	0.343 2	0.526 9
KAN-718	4	3.6	0.668 9	0.720 1	1.325 3	0.492 8	0.685 9
PrO32475744b	7	6.5	0.814 2	0.837 2	1.871 1	0.715 0	1.308 6
均值 Average	4.9	4.4	0.686 6	0.733 4	1.439 4	0.479 1	0.851 8

¹⁾ *H*: Nei's 遗传多样性指数 Nei's genetic diversity index; *I*: Shannon's 多态性信息指数 Shannon's polymorphic information index.

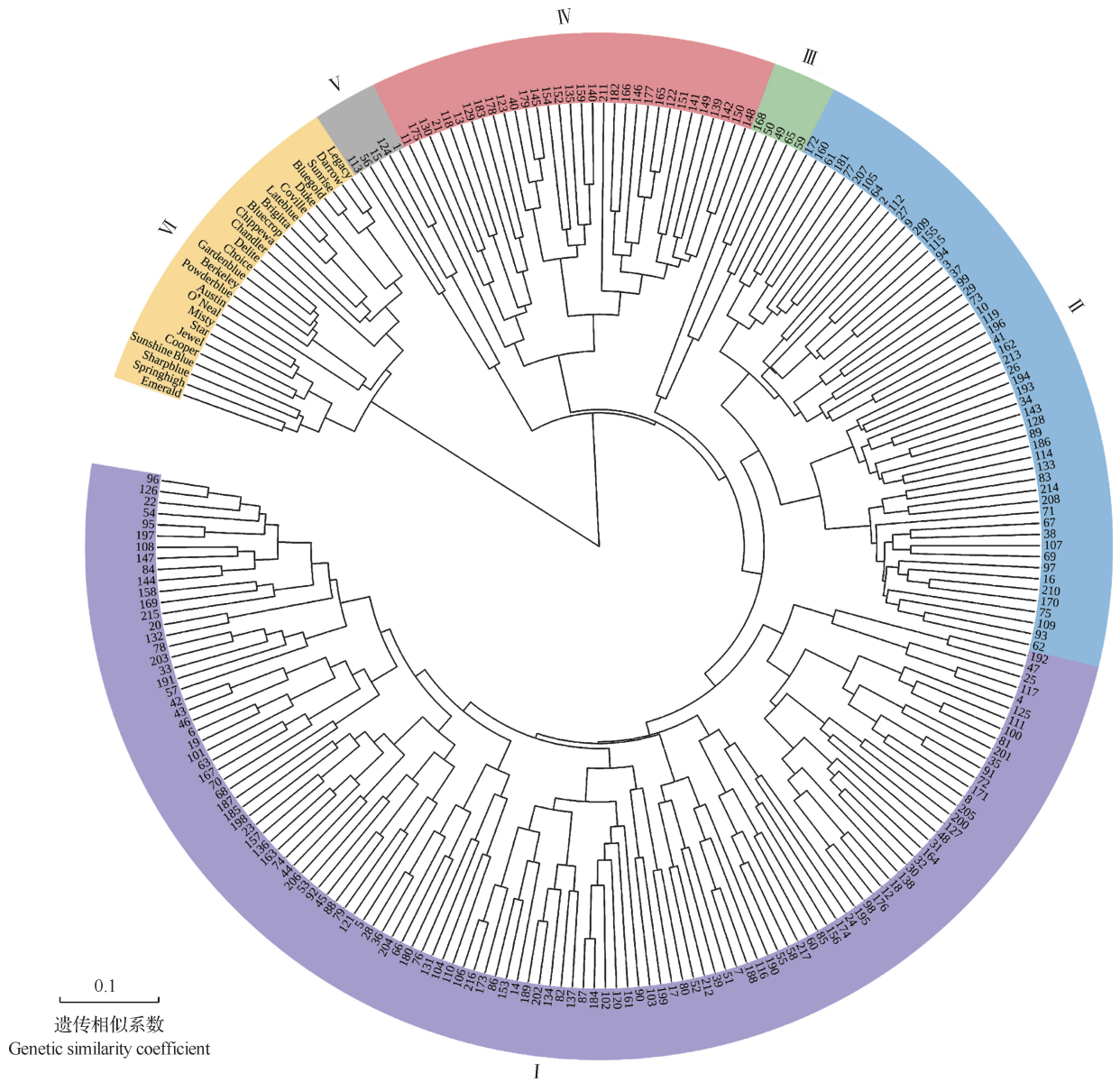
2.2 聚类分析

根据各材料间的遗传相似系数,对‘蓝美1号’217个自由授粉子代和26个蓝莓品种进行聚类分析,使用1~217对217个自由授粉子代进行编号,结果见图1。结果显示:243个供试材料的遗传相似系数为0.58~0.99,在遗传相似系数0.58处,217个自由授粉子代与26个品种被明显分为2大类,表明‘蓝美1号’自由授粉子代同现有蓝莓栽培品种亲缘关系较远。217个自由授粉子代的遗传相似系数为0.70~0.99,相似程度较高。217个自由授粉子代可聚为5个类群,其中,除编号1、15、49、50、56、59、65、113、124和168外,其余207个子代分为3类:编号2、3、9、10、16、26、27、29、34、37、38、41、61、62、64、67、69、71、73、75、77、83、89、93、94、97、99、105、107、109、112、114、

115、119、128、133、143、155、160、162、170、172、181、186、193、194、196、207、208、209、210、213和214共53个子代聚为类群II,编号11、13、21、40、118、122、123、129、130、135、139、140、141、142、145、146、148、149、150、151、152、154、159、165、166、175、177、178、179、182、183和211共32个子代聚为类群IV,其余122个子代聚为类群I。

2.3 群体遗传结构分析

用STRUCTURE 2.3.4软件分析‘蓝美1号’217个自由授粉子代的群体遗传结构,结果(图2-A)显示:当*K*=4时,Δ*K*出现峰值,此时各亚群内相似性最大;且*K*=4时,217个自由授粉子代的群体遗传结构聚类清晰(图2-B),表明最适亚群数为4,217个自由授粉子代可划分为4个亚群。



I, II, III, IV; 217 个子代 217 progenies; VI: 26 个品种 26 cultivars.

图 1 ‘蓝美 1 号’217 个自由授粉子代和 26 个蓝莓栽培品种的 UPGMA 聚类图

Fig. 1 UPGMA cluster diagram of 217 open-pollinated progenies of ‘Lanmei 1’ and 26 cultivated cultivars of blueberry (*Vaccinium* spp.)

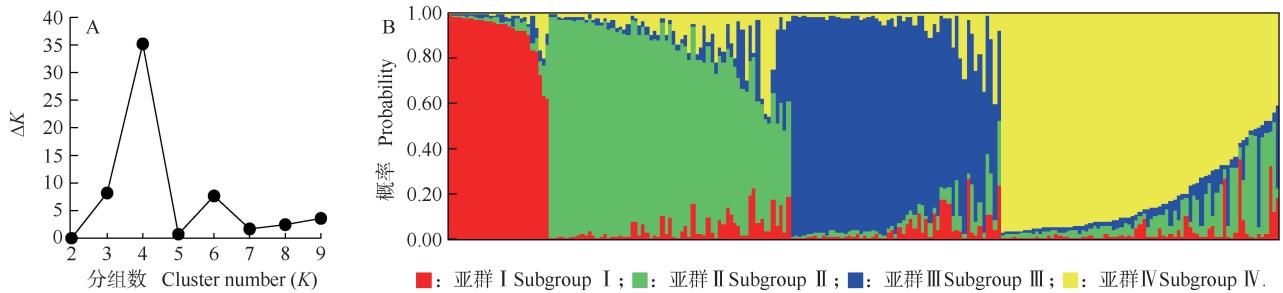


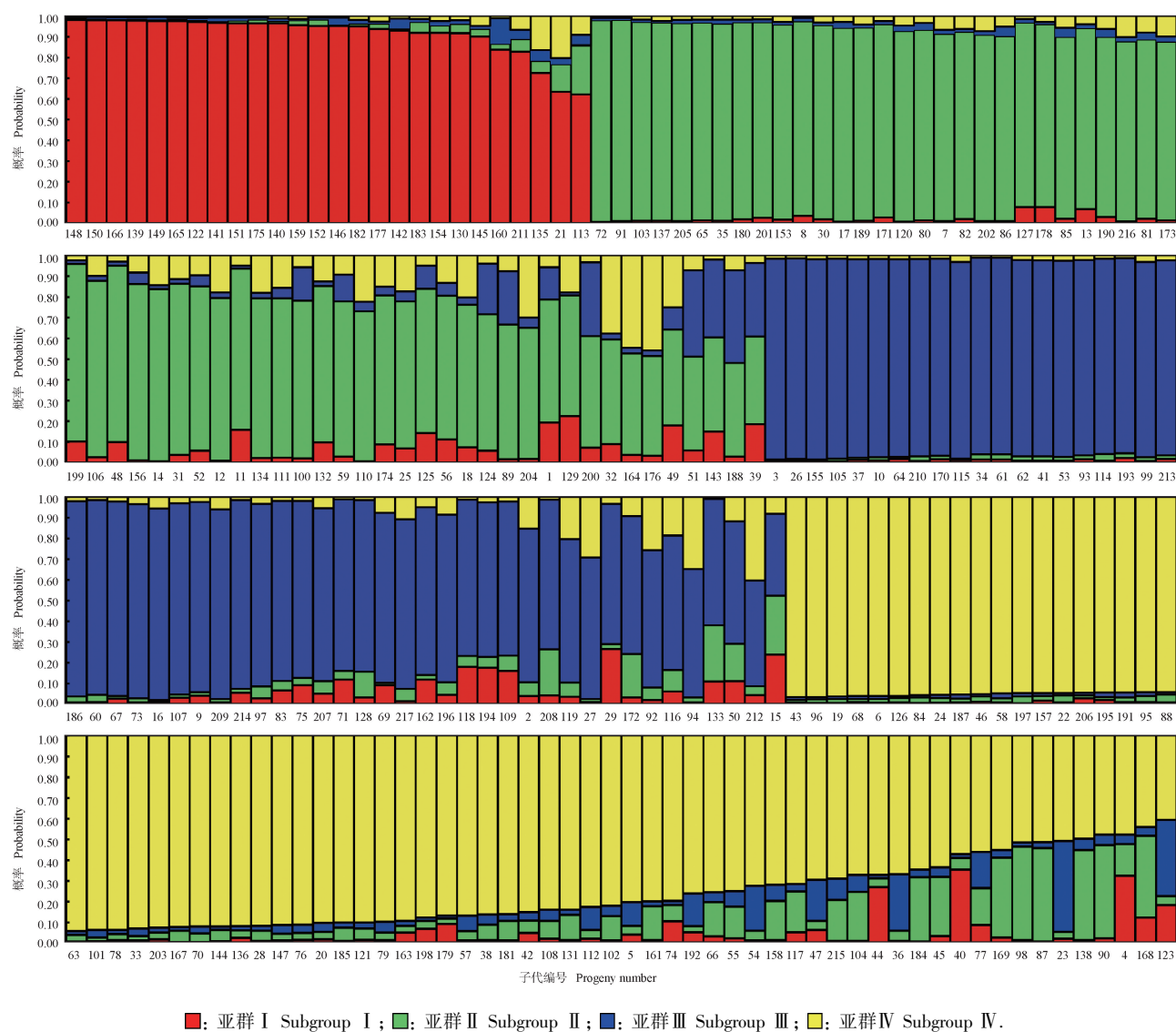
图 2 ‘蓝美 1 号’217 个自由授粉子代的分组分析 (A) 和 K=4 时的群体遗传结构 (B)

Fig. 2 Analysis on cluster of 217 open-pollinated progenies of ‘Lanmei 1’ (A) and the population structure when K=4 (B)

基于上述结果,绘制各子代归入4个亚群的概率(Q_i)图,结果(图3)显示:每个子代有4个 Q_i 值,以最大值为分类依据,可得出各亚群中包含子代的编号及数量。亚群I包括编号21、113、122、130、135、139、140、141、142、145、146、148、149、150、151、152、154、159、160、165、166、175、177、182、183和211共26个子代。亚群II包括编号1、7、8、11、12、13、14、17、18、25、30、31、32、35、39、48、49、51、52、56、59、65、72、80、81、82、85、86、89、91、100、103、106、110、111、120、124、125、127、129、132、134、137、143、153、156、164、171、173、174、176、178、180、188、189、190、199、200、201、202、204、205和216共63个子代。亚群III包括

编号2、3、9、10、15、16、26、27、29、34、37、41、50、53、60、61、62、64、67、69、71、73、75、83、92、93、94、97、99、105、107、109、114、115、116、118、119、128、133、155、162、170、172、186、193、194、196、207、208、209、210、212、213、214和217共55个子代。亚群IV包括编号4、5、6、19、20、22、23、24、28、33、36、38、40、42、43、44、45、46、47、54、55、57、58、63、66、68、70、74、76、77、78、79、84、87、88、90、95、96、98、101、102、104、108、112、117、121、123、126、131、136、138、144、147、157、158、161、163、167、168、169、179、181、184、185、187、191、192、195、197、198、203、206和215共73个子代。

比较各子代归入所属亚群的概率(表2)发现,



■: 亚群 I Subgroup I ; ■: 亚群 II Subgroup II ; ■: 亚群 III Subgroup III ; ■: 亚群 IV Subgroup IV.

图3 ‘蓝美1号’217个自由授粉子代归入4个亚群的概率图

Fig. 3 Probability diagram of 217 open-pollinated progenies of ‘Lanmei 1’ belonging to 4 subgroups

表2 ‘蓝美1号’217个自由授粉子代归入所属亚群的概率(Q_i)Table 2 Probability (Q_i) of 217 open-pollinated progenies of ‘Lanmei 1’ belonging to their subgroup

亚群 Subgroup	编号 No.	Q_i	亚群 Subgroup	编号 No.	Q_i	亚群 Subgroup	编号 No.	Q_i	亚群 Subgroup	编号 No.	Q_i
I	21	0.634 1	II	91	0.971 7	III	73	0.936 8	IV	57	0.866 8
I	113	0.622 5	II	100	0.759 8	III	75	0.853 3	IV	58	0.948 5
I	122	0.971 6	II	103	0.959 7	III	83	0.867 9	IV	63	0.941 1
I	130	0.918 0	II	106	0.851 9	III	92	0.661 8	IV	66	0.754 0
I	135	0.725 6	II	110	0.722 4	III	93	0.942 1	IV	68	0.961 1
I	139	0.977 9	II	111	0.768 9	III	94	0.617 7	IV	70	0.920 2
I	140	0.965 1	II	120	0.919 9	III	97	0.881 4	IV	74	0.796 4
I	141	0.967 7	II	124	0.656 9	III	99	0.941 5	IV	76	0.911 5
I	142	0.931 1	II	125	0.696 5	III	105	0.965 4	IV	77	0.559 9
I	145	0.902 3	II	127	0.890 9	III	107	0.921 4	IV	78	0.935 7
I	146	0.952 0	II	129	0.582 2	III	109	0.742 3	IV	79	0.896 4
I	148	0.981 8	II	132	0.753 4	III	114	0.942 1	IV	84	0.956 4
I	149	0.976 5	II	134	0.770 0	III	115	0.948 5	IV	87	0.514 0
I	150	0.979 7	II	137	0.956 4	III	116	0.650 0	IV	88	0.941 9
I	151	0.966 3	II	143	0.452 3	III	118	0.754 2	IV	90	0.476 9
I	152	0.952 1	II	153	0.942 2	III	119	0.692 4	IV	95	0.942 5
I	154	0.919 3	II	156	0.849 4	III	128	0.829 8	IV	96	0.965 6
I	159	0.956 4	II	164	0.490 2	III	133	0.610 0	IV	98	0.515 4
I	160	0.838 1	II	171	0.932 5	III	155	0.966 1	IV	101	0.936 0
I	165	0.976 3	II	173	0.863 0	III	162	0.809 3	IV	102	0.819 9
I	166	0.979 1	II	174	0.720 0	III	170	0.950 3	IV	104	0.671 0
I	175	0.965 8	II	176	0.480 2	III	172	0.664 4	IV	108	0.839 2
I	177	0.938 3	II	178	0.882 6	III	186	0.940 8	IV	112	0.825 7
I	182	0.950 6	II	180	0.951 6	III	193	0.941 6	IV	117	0.714 4
I	183	0.919 8	II	188	0.452 3	III	194	0.745 4	IV	121	0.899 9
I	211	0.828 8	II	189	0.933 1	III	196	0.808 3	IV	123	0.406 8
II	1	0.593 7	II	190	0.870 8	III	207	0.834 6	IV	126	0.960 2
II	7	0.904 8	II	199	0.854 8	III	208	0.722 7	IV	131	0.838 7
II	8	0.939 8	II	200	0.537 4	III	209	0.913 9	IV	136	0.918 2
II	11	0.776 7	II	201	0.943 0	III	210	0.951 1	IV	138	0.495 9
II	12	0.783 5	II	202	0.899 2	III	212	0.510 9	IV	144	0.920 2
II	13	0.872 6	II	204	0.632 1	III	213	0.941 3	IV	147	0.913 0
II	14	0.830 6	II	205	0.956 3	III	214	0.910 2	IV	157	0.946 8
II	17	0.937 1	II	216	0.869 4	III	217	0.817 4	IV	158	0.717 7
II	18	0.688 8	III	2	0.742 1	IV	4	0.476 5	IV	161	0.798 4
II	25	0.708 6	III	3	0.969 8	IV	5	0.801 6	IV	163	0.892 0
II	30	0.938 1	III	9	0.916 2	IV	6	0.960 3	IV	167	0.921 4
II	31	0.825 8	III	10	0.956 4	IV	19	0.962 8	IV	168	0.440 4
II	32	0.505 6	III	15	0.394 2	IV	20	0.901 4	IV	169	0.550 6
II	35	0.952 3	III	16	0.923 0	IV	22	0.946 4	IV	179	0.867 3
II	39	0.423 3	III	26	0.968 2	IV	23	0.508 1	IV	181	0.860 0
II	48	0.851 7	III	27	0.683 5	IV	24	0.954 9	IV	184	0.646 3
II	49	0.463 8	III	29	0.675 8	IV	28	0.917 2	IV	185	0.900 6
II	51	0.452 9	III	34	0.947 9	IV	33	0.929 2	IV	187	0.953 0
II	52	0.792 0	III	37	0.957 3	IV	36	0.667 5	IV	191	0.942 8
II	56	0.693 6	III	41	0.946 5	IV	38	0.861 6	IV	192	0.759 8
II	59	0.748 9	III	50	0.590 5	IV	40	0.570 7	IV	195	0.943 6
II	65	0.955 0	III	53	0.946 5	IV	42	0.851 2	IV	197	0.947 0
II	72	0.972 9	III	60	0.939 4	IV	43	0.966 1	IV	198	0.876 1
II	80	0.919 8	III	61	0.947 7	IV	44	0.670 4	IV	203	0.924 7
II	81	0.865 0	III	62	0.947 1	IV	45	0.635 4	IV	206	0.944 5
II	82	0.904 5	III	64	0.952 7	IV	46	0.951 4	IV	215	0.689 3
II	85	0.878 8	III	67	0.936 8	IV	47	0.695 4			
II	86	0.892 2	III	69	0.820 2	IV	54	0.723 6			
II	89	0.650 4	III	71	0.829 9	IV	55	0.748 7			

‘蓝美1号’217个自由授粉子代中,192个自由授粉子代的 Q_i 值大于0.6,占总数的88.5%。亚群I中26个自由授粉子代 Q_i 值均在0.6以上;亚群II中有11个自由授粉子代(编号1、32、39、49、51、129、143、164、176、188和200) Q_i 值在0.6以下,占亚群II子代数的17.5%;亚群III中有3个自由授粉子代(编号15、50和212) Q_i 值在0.6以下,占亚群III子代数的5.4%;亚群IV中有11个自由授粉子代(编号4、23、40、77、87、90、98、123、138、168和169) Q_i 值在0.6以下,占亚群IV子代数的15.1%。表明亚群I子代遗传来源单一,遗传背景不复杂,而亚群II、III和IV中虽具有混合遗传来源的子代,但具有混合遗传来源的子代占比不高,亚群内子代相似程度高。

2.4 2种分类方法的比较

比较UPGMA聚类分析和STRUCTURE分析的

划分结果发现,2种划分结果有相似之处,如编号21、122、130、135、139、140、141、142、145、146、148、149、150、151、152、154、159、165、166、175、177、182、183和211在STRUCTURE分析中划分到亚群I,在UPGMA聚类分析中聚为类群IV;STRUCTURE分析中划分到亚群III中的子代在UPGMA聚类分析中大部分被聚为类群II。

用POPGENE软件比较2种方法划分的亚群内子代遗传多样性参数,结果见表3。结果显示:STRUCTURE分析中得到的亚群内子代Nei's遗传多样性指数和Shannon's多态性信息指数的均值和标准差均低于UPGMA聚类分析,表明STRUCTURE分析划分亚群内子代遗传多样性水平低、相似程度高,STRUCTURE分析的分群效果优于UPGMA聚类分析。

表3 2种分类方法中各群体内子代遗传多样性分析
Table 3 Genetic diversity analysis of progenies within each group in two cluster methods

类群 Group	UPGMA 聚类分析 UPGMA cluster analysis			STRUCTURE 分析 STRUCTURE analysis			
	子代数 Number of progenies	Nei's 遗传 多样性指数 Nei's genetic diversity index	Shannon's 多态性 信息指数 Shannon's polymorphic information index	亚群 Subgroup	子代数 Number of progenies	Nei's 遗传 多样性指数 Nei's genetic diversity index	Shannon's 多态性 信息指数 Shannon's polymorphic information index
I	122	0.403 7	0.584 0	I	26	0.297 0	0.448 7
II	53	0.362 2	0.547 2	II	63	0.362 5	0.541 2
III	5	0.316 3	0.467 5	III	55	0.312 4	0.479 7
IV	32	0.330 9	0.499 8	IV	73	0.324 4	0.492 2
V	5	0.253 0	0.370 4				
\bar{X}		0.332 2	0.493 8	\bar{X}		0.324 0	0.490 5
SD		0.056 0	0.082 1	SD		0.028 0	0.038 5

3 讨论和结论

遗传标记在自然群体中的等位基因数越多,该基因座的多态性越高,而当多态性位点大于等于70个时,得到的遗传信息较为可靠^[26]。此外,多态性信息含量指数(PIC)越高,SSR分子标记的多态性越丰富,更利于区分供试材料。本研究中共检测出113个多态性位点,引物的PIC均值达0.6866,可见试验选用的SSR引物能为本研究提供可靠的遗传信息。‘蓝美1号’217个自由授粉子代与26个蓝莓品种在遗传相似系数0.58处分为2大类,表明‘蓝美1号’自由授粉子代和现有蓝莓栽培品种的亲缘关系较远,与现有结论相符,即‘蓝美1号’除通常蓝莓品种含

有的遗传基础外,还含有来自野生种的遗传基础。

遗传多样性是物种遗传潜力和适应环境变化能力的重要指标,可从基因水平上反映出群体的变异性,对亲本选配及优良子代初步筛选具有重要的指导意义^[27]。本研究中,‘蓝美1号’217个自由授粉子代具有较高水平的遗传多样性,Nei's遗传多样性指数均值为0.7334,Shannon's多态性信息指数均值为1.4394,而26个蓝莓品种的遗传多样性较低,与崔建民等^[9]的研究结果相一致。现有栽培品种遗传多样性较低,遗传基础狭窄,而‘蓝美1号’自由授粉子代具有较高水平的遗传多样性,还含有野生种的遗传基础,是非常好的育种材料,通过后期选育,筛选出优良单株,可以作为国内蓝莓品种改良的优质基因库。

在品种遗传多样性、品种进化和品种标记性状关

联分析等研究中,品种资源的群体遗传结构研究是一项最基础的工作^[28]。已有研究中划分群体遗传结构的方法主要为STRUCTURE分析和UPGMA聚类分析^[29,30]。本研究发现,相较于UPGMA聚类分析,STRUCTURE分析中亚群内子代间遗传相似性更高,分类效果更好,利于解决群体分类对后期关联分析的影响,降低伪关联出现的概率。‘蓝美1号’192个自由授粉子代的 Q_i 值大于0.6,可见供试的绝大多数子代遗传来源单一,且亚群内子代相似程度高,有利于后期优良单株筛选。

综上所述,现有蓝莓栽培品种遗传多样性较低,遗传基础狭窄,供试‘蓝美1号’自由授粉子代与现有蓝莓栽培品种亲缘关系较远,含有野生种的遗传基础,遗传多样性优于现有栽培品种,有利于优良单株的筛选。进一步研究‘蓝美1号’自由授粉子代,从中筛选优良单株,挖掘‘蓝美1号’的抗性基因资源,对实现蓝莓种质创新和遗传基础拓宽具有重要意义。

参考文献:

- [1] 张文达,翁海龙. DNA分子标记在蓝莓遗传育种研究中的应用[J]. 林业勘查设计, 2014(3): 74-76.
- [2] BEAULIEU L P, HARRIS C S, SALEEM A, et al. Inhibitory effect of the Cree traditional medicine wiishichimanaanh (*Vaccinium vitis-idaea*) on advanced glycation endproduct formation; identification of active principles [J]. Phytotherapy Research, 2010, 24(5): 741-747.
- [3] GE Y, DUAN B, LI C, et al. γ -aminobutyric acid delays senescence of blueberry fruit by regulation of reactive oxygen species metabolism and phenylpropanoid pathway [J]. Scientia Horticulturae, 2018, 240: 303-309.
- [4] 孙海悦,李亚东. 世界蓝莓育种概述[J]. 东北农业大学学报, 2014, 45(9): 116-122.
- [5] 杨海燕,吴文龙,闫连飞,等. 蓝莓新品种‘寨选7号’[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2021, 44(3): 227-228.
- [6] 王小敏,吴文龙,闫连飞,等. 蓝莓新品种‘寨选4号’[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2021, 44(3): 225-226.
- [7] 邓家欣,韦继光,於虹,等. 不同施肥处理对高丛越橘幼苗生长和生理指标及土壤理化性质的影响[J]. 植物资源与环境学报, 2021, 30(2): 28-34.
- [8] 刘梦溪,田瑞平,曾其龙,等. 喷施茉莉酸甲酯对高丛越橘品种‘海岸’成熟果实挥发性成分的影响[J]. 植物资源与环境学报, 2021, 30(2): 71-73.
- [9] 崔建民,刘红霞,邹荣任,等. 越橘种质资源遗传多样性和亲缘关系研究[J]. 果树学报, 2010, 27(3): 373-378.
- [10] 刘有春,刘成,杨艳敏,等. 基于EST-SSR标记的越橘栽培种和几个中国野生种的遗传结构分析[J]. 果树学报, 2017, 34(8): 956-967.
- [11] 孙英新,白孝明,王丹丹. 蓝莓种质资源遗传多样性的EST-SSR分析[J]. 辽东学院学报(自然科学版), 2018, 25(1): 31-35.
- [12] 方瑞征. 中国越桔属的研究[J]. 云南植物研究, 1986, 8(3): 239-258.
- [13] 於虹,曾其龙,杨曙方,等. 中国蓝莓产业中品种资源的选用取向与创新[J]. 浙江农业科学, 2018, 59(6): 924-927.
- [14] 陈华江,陈伟平,李建华,等. 浙江省适栽蓝莓品种筛选试验初报[J]. 浙江农业学报, 2013, 25(4): 777-781.
- [15] 高志红,章镇,韩振海. SSR技术及其在果树上的应用[J]. 果树学报, 2002, 19(5): 281-285.
- [16] 徐国辉,高雄梅,赵丽娜,等. 蓝莓优良杂交品系父本鉴定及DNA指纹图谱构建[J]. 分子植物育种, 2018, 16(5): 1580-1589.
- [17] 张春红,黄正金,樊苏帆,等. 不同栽培类型蓝莓遗传多样性的SSR分析[J]. 中国南方果树, 2021, 50(2): 154-160.
- [18] 白志元,杨玉花,武国平,等. 68个大豆品种(系)遗传多样性分析[J]. 中国农业大学学报, 2020, 25(3): 17-24.
- [19] 蒋爽,张学英,安海山,等. 枇杷全基因组SSR标记开发及其多态性研究[J]. 园艺学报, 2021, 48(5): 1013-1022.
- [20] 黄宇宁. 基于表型和SSR标记的豌豆及其近缘野生种遗传多样性和群体遗传结构研究[D]. 北京: 中国农业科学院作物科学研究所, 2020: 13-18.
- [21] EARL D A, VONHOLDT B M. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method [J]. Conservation Genetics Resources, 2012, 4: 359-361.
- [22] EVANNO G, REGNAUT S, GOUDET J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study[J]. Molecular Ecology, 2005, 14: 2611-2620.
- [23] 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.
- [24] 刘丽华,王立新,赵昌平,等. 光温敏二系杂交小麦恢复系遗传多样性和群体结构分析[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2009, 25(9): 867-875.
- [25] 冯英娜. 茄子遗传多样性与主要农艺性状标记关联分析[D]. 南京: 南京农业大学园艺学院, 2014: 35-40.
- [26] 施永泰,边红武,韩凝,等. 中国江、浙地区栽培大麦遗传资源的RAPD研究[J]. 作物学报, 2004, 30(3): 258-265.
- [27] 江锡兵,章平生,徐阳,等. 粟杂交 F_1 代SSR标记遗传多样性分析[J]. 园艺学报, 2021, 48(5): 897-907.
- [28] 魏世平,刘晓芬,杨胜先,等. 中国栽培大豆群体结构不同分类方法的比较[J]. 南京农业大学学报, 2011, 34(2): 13-17.
- [29] 刘晶. 中国豆梨与川梨的遗传多样性和群体遗传结构研究[D]. 杭州: 浙江大学农业与生物技术学院, 2013: 17-25.
- [30] 包文泉,乌云塔娜,王淋,等. 野生杏和栽培杏的遗传多样性和遗传结构分析[J]. 植物遗传资源学报, 2017, 18(2): 201-209.