

郭媛贞, 黄强, 叶新如, 等. 基于形态标记与 SRAP 标记的菜豆种质资源遗传多样性分析 [J]. 福建农业学报, 2023, 38 (2): 166–173.
GUO Y Z, HUANG Q, YE X R, et al. Morphological and SRAP Markers-based Genetic Diversity Determination on *Phaseolus lunatus* L. Germplasms [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2023, 38 (2): 166–173.

基于形态标记与 SRAP 标记的菜豆种质资源遗传多样性分析

郭媛贞¹, 黄强¹, 叶新如², 陈芝¹, 黄枝¹, 陈海玲¹, 颜墩炜¹, 薛珠政^{2*}

(1. 莆田市农业科学研究所, 福建 莆田 351100; 2. 福建省农业科学院作物研究所, 福建 福州 350013)

摘要:【目的】探明菜豆种质资源遗传多样性和亲缘关系, 为菜豆种质资源优良基因深度发掘和新品种选育提供科学依据。【方法】利用形态标记和 SRAP 分子标记两种方法对 22 份菜豆资源的 26 个数量性状和 18 个质量性状进行测定、分析。【结果】筛选出的 28 对 SRAP 引物扩增多态性条带 158 条, 平均多态性比率为 77.75%。两种标记方法聚类结果显示, 根据菜豆荚果大小可以将 22 份菜豆资源分为三大类群体。其中, “上横山 10-2-6”和“下横山 10-3-3”亲缘关系较近, 推测可能存在频繁的基因交流。【结论】22 份菜豆资源遗传多样性丰富, 形态标记和 SRAP 分子标记两种聚类方法基本支持根据荚果大小划分菜豆资源, 为菜豆种质资源的创新利用奠定基础。

关键词: 菜豆; 形态标记; SRAP 分子标记; 遗传多样性; 亲缘关系

中图分类号: S643

文献标志码: A

文章编号: 1008-0384 (2023) 02-0166-08

Morphological and SRAP Markers-based Genetic Diversity Determination on *Phaseolus lunatus* L. Germplasms

GUO Yuanzhen¹, HUANG Qiang¹, YE Xinru², CHEN Zhi¹, HUANG Zhi¹,
CHEN Hailing¹, YAN Dunwei¹, XUE Zhuzheng^{2*}

(1. Putian Institute of Agricultural Science, Putian, Fujian 351100, China; 2. Crops Research Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou, Fujian 350013, China)

Abstract: 【Objective】Genetic diversity and relationship of *Phaseolus lunatus* L. germplasms were determined using the morphological and SRAP markers. 【Method】Twenty-six quantitative and 18 quality traits of 22 lima bean germplasms were analyzed based on the morphological as well as the SRAP molecular markers. 【Result】Twenty-eight pairs of SRAP primers were selected to obtain 158 amplified polymorphic bands with an average polymorphism ratio of 77.75%. The two methods applying different markers clustered the 22 varieties into 3 categories. Genetically, Shanghengshan10-2-6 and Xiahengshan 10-3-3 were relatively close. They might have gone through numerous gene exchanges in the past. 【Conclusion】The 22 lima bean germplasms were rich in genetic diversity. The morphological and SRAP molecular markers-based clustering essentially agreed with the classification by the pod size.

Key words: *Phaseolus lunatus* L.; morphological markers; SRAP molecular markers; genetic diversity; genetic relationship

0 引言

【研究意义】菜豆 (*Phaseolus lunatus* L.) 是五种被驯化的菜豆作物之一, 原产地为热带美洲^[1], 英文名叫利马豆^[2-3], 又称香豇豆^[4]、状元豆^[5]、洋扁豆^[6]。菜豆鲜粒大, 种皮有特殊的花纹, 商品性好,

口感风味独特, 清香味美, 且具滋补、调养之功效; 富含 16 种氨基酸、蛋白质、多种维生素、可溶性糖等^[7]; 菜豆所含的黄酮化合物 (具有广谱的药理活性) 比普通菜豆的含量高^[8]; 其蛋白质含量是禾谷类作物籽粒的近 3 倍, 是重要的膳食蛋白来源^[9]。有研究表明^[10], 食用菜豆后不会使人体内的血糖浓度升

收稿日期: 2022-09-01 初稿; 2022-11-21 修改稿

作者简介: 郭媛贞 (1968-), 女, 硕士, 副研究员, 研究方向: 蔬菜育种、栽培 (E-mail: ptnksygz@163.com)

* 通信作者: 薛珠政 (1971-), 男, 研究员, 研究方向: 蔬菜育种与栽培技术研究 (E-mail: 369654817@qq.com)

基金项目: 福建省科技计划引导性项目 (2020N0044)

高，能降低 II 型糖尿病人、肥胖人群代谢疾病的发生率，是一种深受消费者喜爱的药食同源型蔬菜。近年来随着消费者膳食结构的优化、速冻青豆粒产品的研发成功，菜豆的市场需求量剧增，很多地方菜豆从房前屋后的零星种植发展为成片的规模化种植。与普通菜豆相比，菜豆对瘠薄、炎热和干旱胁迫等不利生态环境具有更广泛的适应性，在那些普通菜豆生长不好的地区，为人类饮食提供蛋白质的重要来源^[11]。菜豆作为地方常规品种，经过长期的人工选择和自交留种，其遗传背景逐渐狭窄；同时农户之间自发串种或异地交流种植，产生菜豆资源“系谱来源不详”的问题，亟需开展遗传多样性和亲缘关系的研究，为品种选育与推广应用奠定基础。

【前人研究进展】随着现代分子生物学的发展，传统的形态学标记、细胞学标记、生化标记等已不能满足作物品种资源研究的需求。分子标记以 DNA 多态性为基础，能从 DNA 水平上反映遗传变异及其变异规律^[12]。SRAP 标记是 Li 等^[13]提出的一种基于 PCR 的

新型显性标记，具有操作方便、稳定、产率高和容易得到选择条带序列的特点，目前已广泛应用于种质鉴定^[14,15]、遗传图谱构建^[16,17]、遗传多样性分析^[18,19]、指纹图谱^[20,21]等研究领域。【本研究切入点】前人对菜豆的研究多是关于栽培技术方面的，对菜豆种质资源表型评价或者结合表型性状和 SRAP 分子标记对菜豆遗传多样性研究有待深入探讨。【拟解决的关键问题】对福建省收集的 22 份菜豆资源进行遗传多样性研究，分析其在形态学水平和分子水平上种质资源间亲缘关系，为菜豆种质资源分类、优良基因的深度挖掘和新品种选育提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为从福建菜豆主产区（莆田市和龙岩市）征集保存的 22 份品种资源，详见表 1。选取各个品种新鲜嫩叶 3~4 片，用锡箔纸包好，置于冰盒带回实验室，液氮冷冻后于-80 ℃ 保存备用。

表 1 供试菜豆种质资源
Table 1 *P. lunatus* germplasms studied

编号 Code	材料名称 Name	原产地 Origin	编号 Code	材料名称 Name	原产地 Origin
1	铁灶本	莆田市城厢区霞林办铁灶村	12	DJ-11-3-1-1	莆田市仙游县大济镇
2	莆1046	莆田市荔城区新度镇渠桥村	13	FT-08-2-5-3	莆田市仙游县枫亭镇
3	JD-1603	莆田市荔城区黄石镇清前村	14	DW17-1-5	莆田市仙游县度尾镇
4	莆菜1号	莆田市农科所选育	15	14LD-5-2-7	莆田市仙游县赖店镇
5	龙菜1号	龙岩市龙津作物所选育	16	DW15-6-1	莆田市仙游县度尾镇
6	QC12-1-17-3	莆田市荔城区新度镇青垵村	17	小菜豆16-5-6	莆田市城厢区常太镇
7	QC12-2-6-5	莆田市荔城区新度镇青垵村	18	小菜豆16-21-11	莆田市城厢区常太镇
8	横山10-1—1	莆田市荔城区新度镇横山村	19	中菜16-12-5	莆田市新度镇渠桥村
9	上横山10-2-6	莆田市荔城区新度镇横山村	20	武平黑花籽扁豆	龙岩市武平县
10	下横山10-3-3	莆田市荔城区新度镇横山村	21	PLQQ-08-2-6	莆田市荔城区新度镇渠桥村
11	新周13-6-2-7	莆田市仙游县园庄镇新周村	22	PLQQ-08-5-3	莆田市荔城区新度镇渠桥村

1.2 植物学性状调查

将 22 份菜豆材料穴盘育苗后定植在莆田市农业科学研究所农作物试验基地。小区面积 8.8 m²，3 次重复，每小区选取 10 株生长状况优良一致的菜豆单株，使用游标卡尺、卷尺、天平、比色卡等测量工具，进行性状调查、考种。调查方法参照《菜豆种质资源描述规范和数据标准》^[22] 共调查 44 个性状指标，包括 26 个质量性状（子叶颜色、下胚轴颜色、小叶叶形、株型、叶色、叶柄色、叶片脱落

性、主茎色、花冠色、结荚部位、荚壁软硬、荚形、结荚习性、鲜荚主色、荚面、荚喙位置、荚喙方向、鲜荚弯曲度、鲜荚弯曲形式、种荚色、种子大小、种皮光泽、种皮色、种皮斑纹、种皮斑纹色、种脐颜色）和 18 个数量性状（真叶长、真叶宽、叶片长、叶片宽、叶柄长、叶柄粗、主蔓长、主蔓粗、鲜荚的长、宽、重和每荚粒数、鲜豆百粒重、干荚的长、宽、重和每荚粒数、干籽粒百粒重）。

1.3 菜豆 DNA 提取

取菜豆的嫩叶 80 mg 置于 1.5 mL 离心管，液氮冷冻，研磨机磨致粉状，采用 DNA 提取试剂盒提取供试菜豆基因组 DNA，用 1% 琼脂糖凝胶电泳和分光光度计检测其纯度和浓度，DNA 稀释成质量浓度 50 ng·μL⁻¹，-20 ℃ 保存备用。

1.4 SRAP 扩增体系

SRAP 标记引物由 15 个上游引物和 20 个下游引物组合组成，共 300 对（表 2）。

SRAP 标记 PCR 扩增体系为 25 μL，包含 10×PCR buffer（含 MgCl₂）2.5 μL，10 mmol·L⁻¹ dNTP 0.5 μL，Taq DNA 聚合酶 0.4 μL，上下游引物各 1 μL，模板 DNA 1.5 μL，ddH₂O 18.1 μL。

反应体系程序为：94 ℃ 预变性 5 min；94 ℃ 变性 1 min，37 ℃ 退火 1 min，72 ℃ 延伸 1 min，循环 5 次；94 ℃ 变性 1 min，50 ℃ 退火 1 min，72 ℃ 延伸 1.5 min，循环 35 次；最后 72 ℃ 延伸 7 min，4 ℃ 保存备用。

1.5 数据分析

利用 SPSS 19.0 软件对菜豆主要农艺性状进行聚类分析。

根据电泳图谱进行分析，计算电泳图谱上清晰的扩增产物条带，同一位置有出现条带的标记为“1”，没有条带的标记为“0”，在 Microsoft Excel 中构建 0/1 二维数据矩阵。通过 NTSYS-pc 2.10 软件的 SAHN Clustering 分析矩阵，得到遗传相似性系数和聚类树状图。

2 结果与分析

2.1 主要农艺性状统计分析

对 22 份菜豆种质资源表型性状进行调查、汇总分析。在调查的 26 个质量性状中，鲜荚主色、种皮斑纹色、主茎色、叶色、小叶叶形、鲜荚弯曲度变异类型较多。在颜色性状中，鲜荚主色以绿色和浅绿色（27%）为主，其次是黄绿色、深绿色（5%）；主茎色和叶色分别以浅绿色和绿色为主。在叶形性状中，近圆形小叶叶形居多，占 68.2%。在鲜荚弯曲度性状中，以微弯曲为主，占 77.3%。种皮斑纹性状以宽条斑为主，占比 54.5%；其次是放射状，占比 27%；只有一个品种的种皮无斑纹，占比 4.5%。

在 18 个数量性状中（表 3），22 份菜豆资源鲜荚荚长 7.09~13.10 cm，其中，PLQQ-08-5-3 荚长最长，中莱豆 16-12-5 荚长最短；鲜荚单荚重 4.32~19.62 g，以资源 PLQQ-08-5-3 鲜荚单荚重最重

表 2 SRAP 分析所用的引物序列
Table 2 Primer sequences used in SRAP analysis

编号 Code	上游引物序列（5'-3'） Upstream primer sequences	下游引物序列（5'-3'） Downstream primer sequences
me1em20	TGAGTCCAAACCGGATA	GACTGCGTACGAATTCAG
me2em13	TGAGTCCAAACCGGAGC	GACTGCGTACGAATTGGT
me2em20	TGAGTCCAAACCGGAGC	GACTGCGTACGAATTCAG
me4em2	TGAGTCCAAACCGGACC	GACTGCGTACGAATTTGC
me4em4	TGAGTCCAAACCGGACC	GACTGCGTACGAATTTGA
me4em11	TGAGTCCAAACCGGACC	GACTGCGTACGAATTTCTG
me5em2	TGAGTCCAAACCGGAAG	GACTGCGTACGAATTTGC
me5em8	TGAGTCCAAACCGGAAG	GACTGCGTACGAATTCTG
me5em13	TGAGTCCAAACCGGAAG	GACTGCGTACGAATTGGT
me6em2	TGAGTCCAAACCGGTAA	GACTGCGTACGAATTTGC
me6em3	TGAGTCCAAACCGGTAA	GACTGCGTACGAATTGAC
me7em12	TGAGTCCAAACCGGTCC	GACTGCGTACGAATTGTC
me8em2	TGAGTCCAAACCGGTGC	GACTGCGTACGAATTTGC
me8em4	TGAGTCCAAACCGGTGC	GACTGCGTACGAATTTGC
me8em11	TGAGTCCAAACCGGTGC	GACTGCGTACGAATTTCTG
me10em2	TGGGGACAACCCGGCTT	GACTGCGTACGAATTTGC
me10em3	TGGGGACAACCCGGCTT	TGAGTCCAAACCGGAAT
me10em4	TGGGGACAACCCGGCTT	TGAGTCCAAACCGGACC
me11em4	TGGGGACAACCCGGTTC	TGAGTCCAAACCGGACC
me11em7	TGGGGACAACCCGGTTC	GACTGCGTACGAATTATG
me12em4	TGGGGACAACCCGGTAG	GACTGCGTACGAATTTGA
me13em1	TGGGGACAACCCGGTCA	GACTGCGTACGAATTAAT
me13em3	TGGGGACAACCCGGTCA	TGAGTCCAAACCGGAAT
me13em9	TGGGGACAACCCGGTCA	GACTGCGTACGAATTACG
me13em14	TGGGGACAACCCGGTCA	GACTGCGTACGAATTCAG
me13em15	TGGGGACAACCCGGTCA	GACTGCGTACGAATTCTG
me14em1	TGGGGACAACCCGGTGT	GACTGCGTACGAATTAAT
me14em3	TGGGGACAACCCGGTGT	GACTGCGTACGAATTGAC

（19.62 g），中莱豆 16-12-5 鲜荚单荚重最轻（4.32 g）；鲜豆平均百粒重 93.97~417.11 g，以资源 PLQQ-08-2-6 最重（417.11g），中莱豆 16-12-5 鲜豆百粒重最轻（93.97 g）。

2.2 基于农艺性状的聚类分析

利用 SPSS 19.0 软件对 22 份菜豆资源进行聚类分析。结果表明，当欧式距离为 5 时，22 份菜豆资源分为三大类群（图 1）。

表 3 莱豆种质资源数量性状
Table 3 Quantifiable traits of *P. lunatus*

品种编号 Variety code	第一对真叶 First pair of true leaves				顶端小叶 Top lobule		主蔓粗 Main stem		鲜荚 fresh pods				鲜豆百粒重 hundred-grain weight of fresh bean/g				干荚 Dry pods				干豆百粒重 hundred-grain weight of dry bean/g	
	真叶长 True leaf length/cm		真叶宽 True leaf width/cm		叶长 Leaf length/cm	叶宽 Leaf width/cm	叶柄长 Petiole length/cm	叶柄粗 Petiole thickness/mm	荚长 Pod length/cm	荚宽 Pod width/cm	荚重 Pod weight/g	荚粒数 pod seed number	荚长 Pod length/cm	荚宽 Pod length/cm	荚重 Pod weight/g	荚粒数 pod seed number	荚长 Pod length/cm	荚宽 Pod length/cm	荚重 Pod weight/g	荚粒数 pod seed number		
1	9.39	9.10	11.18	7.70	9.10	2.33	1.23	10.74	2.79	12.66	2.61	10.78	2.50	4.92	2.40	312.21	10.78	2.50	4.92	2.40	155.08	
2	7.75	6.43	10.82	7.02	9.47	2.22	1.39	10.14	2.75	13.45	2.62	11.15	2.32	5.55	2.60	349.17	11.15	2.32	5.55	2.60	163.73	
3	8.48	8.08	10.72	6.22	10.32	2.00	1.30	10.69	2.56	12.81	2.53	15.69	2.24	5.08	2.50	313.80	15.69	2.24	5.08	2.50	155.24	
4	8.79	7.31	12.11	6.87	11.27	2.04	1.47	11.44	2.92	19.17	3.00	11.33	2.41	7.56	2.50	374.30	11.33	2.41	7.56	2.50	175.80	
5	8.74	8.18	10.37	6.58	9.98	2.00	1.63	10.14	2.63	14.42	2.50	9.78	2.49	5.86	2.60	356.62	9.78	2.49	5.86	2.60	167.58	
6	8.57	8.83	10.38	6.12	8.95	1.84	1.26	10.77	2.72	11.49	2.35	11.68	2.37	5.62	2.90	311.38	11.68	2.37	5.62	2.90	150.83	
7	8.78	9.19	10.02	5.67	8.92	1.83	1.33	10.44	2.69	10.69	2.45	11.61	2.51	5.62	3.00	330.77	11.61	2.51	5.62	3.00	136.77	
8	7.21	8.07	12.27	6.92	11.21	1.97	1.51	11.88	2.66	15.06	2.88	11.63	2.38	6.80	3.00	373.22	11.63	2.38	6.80	3.00	179.93	
9	10.48	9.54	10.44	6.32	9.59	2.51	1.34	11.50	2.55	12.50	2.80	10.29	2.07	4.43	2.50	320.50	10.29	2.07	4.43	2.50	136.68	
10	10.17	9.20	11.61	7.28	9.93	1.99	1.35	10.42	2.94	11.19	2.40	10.10	2.38	4.05	2.40	333.05	10.10	2.38	4.05	2.40	129.67	
11	9.41	8.53	12.15	6.67	10.11	1.99	1.69	10.57	2.70	11.38	2.55	11.19	2.39	5.56	2.80	333.33	11.19	2.39	5.56	2.80	160.96	
12	8.77	9.03	11.62	6.47	11.36	1.97	1.89	11.18	2.76	12.24	2.63	11.33	2.60	6.36	3.00	364.39	11.33	2.60	6.36	3.00	170.63	
13	8.01	7.30	10.68	6.36	10.20	1.94	1.31	11.06	2.58	13.11	2.80	10.50	2.26	5.24	2.50	307.26	10.50	2.26	5.24	2.50	165.52	
14	8.40	7.77	11.75	6.78	10.32	1.88	1.66	11.34	3.00	14.17	2.42	11.12	2.42	5.19	2.50	363.45	11.12	2.42	5.19	2.50	157.92	
15	9.43	8.01	12.45	7.09	11.12	1.93	1.37	12.56	2.82	17.17	2.90	11.63	2.28	5.37	2.45	335.03	11.63	2.28	5.37	2.45	161.52	
16	5.28	8.26	11.31	6.25	9.23	1.90	1.63	11.20	2.66	14.09	2.60	10.07	2.24	7.29	2.40	351.20	10.07	2.24	7.29	2.40	136.75	
17	10.23	7.04	6.50	5.67	6.25	1.48	0.92	7.25	1.47	4.71	2.85	7.53	1.47	2.61	2.85	104.61	7.53	1.47	2.61	2.85	55.19	
18	9.79	7.58	6.94	6.08	9.37	1.69	1.03	7.23	1.44	4.67	3.05	7.39	1.45	2.66	2.80	99.61	7.39	1.45	2.66	2.80	57.20	
19	9.04	7.16	6.78	5.54	6.33	1.40	1.01	7.09	1.66	4.32	2.70	7.30	1.65	2.29	2.75	93.97	7.30	1.65	2.29	2.75	54.67	
20	9.47	7.99	9.24	6.79	8.89	1.71	1.02	7.56	1.93	6.47	3.30	6.81	1.55	2.26	2.70	128.35	6.81	1.55	2.26	2.70	57.59	
21	8.93	8.62	10.88	6.35	12.61	2.28	1.77	12.06	2.74	17.62	2.80	11.73	2.49	5.93	2.60	417.11	11.73	2.49	5.93	2.60	167.46	
22	8.98	8.38	11.19	7.10	12.54	2.15	1.85	13.10	2.77	19.62	3.09	12.02	2.33	6.72	3.00	411.34	12.02	2.33	6.72	3.00	169.70	

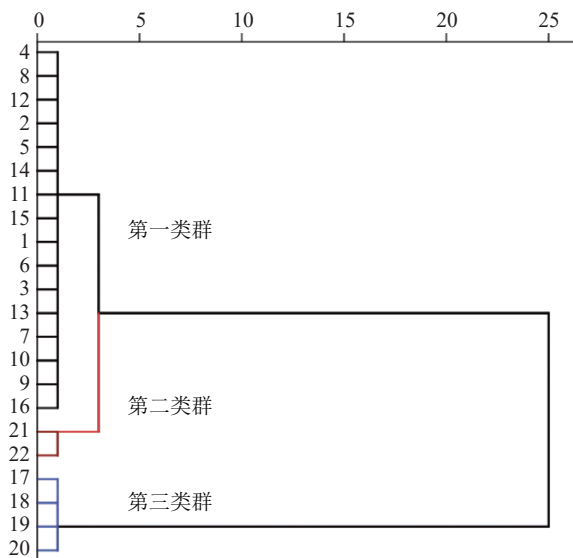


图 1 莱豆农艺性状的聚类分析

Fig. 1 Cluster analysis on agronomic traits of *P. lunatus*

第一类群包含 16 份材料，农艺性状表现为小叶叶形多为披针形；无限结荚；种荚色主要为草黄色；种皮色以紫红色为主。鲜豆百粒重在 307.26~374.30 g，群体平均值 339.36 g，鲜荚单重在 10.69~19.17 g，平均 13.47 g，每荚粒数在 2.35~3.00 粒，平均 2.63 粒。

第二类群包含 2 份材料（PLQQ-08-2-6、PLQQ-

08-5-3），农艺性状表现为无限结荚；种荚色为草黄色；种皮色为紫红色带白色宽条斑；荚长、豆粒大。鲜荚长度分别为 12.06 cm 和 13.10 cm；每荚粒数分别为 2.80 粒和 3.09 粒；鲜荚单荚重分别为 17.62 g 和 19.62 g；鲜豆百粒重分别为 417.11 g 和 411.34 g，在 3 个类群中百粒重最重。

第三类群包含 4 份材料（小莱豆 16-5-6、小莱豆 16-21-11、中莱豆 16-12-5、武平黑花籽扁豆），农艺性状主要表现为小叶叶形以近菱形为主，有限结荚习性为主，种荚色和种皮斑纹色分别以棕黄色和白色居多，且种皮带有放射性斑纹。鲜豆百粒重在 93.97~128.35 g，平均 106.63 g，是三大类类群中百粒重最轻的一类，其鲜荚和干荚的长、宽、重也低于其他两个类群。

2.3 SRAP 多态性分析

从 300 对 SRAP 引物中筛选出 28 对扩增稳定、条带清晰的引物组合（图 2）。28 对引物共获得 158 条条带，其中多态性条带 124 条，多态性比率为 77.75%，每对引物平均扩增产生条带 5.64 条。引物 me6-em3 扩增的多态性条带数最多，为 10 条。引物 me10-em3 和 me10-em3 扩增条的多态性条带数最少，为 3 条（表 4）。

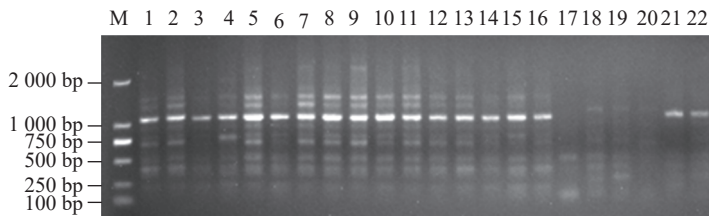


图 2 SRAP 引物对莱豆的扩增结果

Fig. 2 Amplified primer

2.4 遗传相似性分析

根据遗传相似系数矩阵表，对 22 份莱豆种质资源遗传相似系数进行比较分析，结果表明，莱豆资源平均遗传相似度范围在 0.544~0.949，平均值 0.753。其中，上横山 10-2-6 与下横山 10-3-3 之间的遗传相似系数最高（0.949），表明它们的亲缘关系最近，遗传差异最小；QC12-2-6-5 与小莱豆 16-21-11 的遗传相似系数最低（0.544），表明它们的亲缘关系最远，遗传差异最大。

2.5 基于 SRAP 分子标记的聚类分析

利用 SRAP 分子标记对 22 份莱豆资源进行聚类分析（图 3），从图中可以看出，在 0.78 遗传距离处，可以将莱豆资源分为三大类群。

第一类群包含 16 份材料，包括铁灶本、莆 1046、JD-1603、莆莱 1 号、龙莱 1 号、QC12-1-17-3、QC12-2-6-5、横山 10-1-1、上横山 10-2-6、下横山 10-3-3、新周 13-6-2-7、DJ-11-3-1-1、FT-08-2-5-3、DW17-1-5、14LD-5-2-7、DW15-6-1。农艺性状表现为小叶，叶形多为披针形，结荚习性均为无限型，种荚色主要为草黄色，种皮色以紫红色为主，鲜豆百粒重在 307.26~374.30 g，群体平均值 339.36 g，鲜荚单重在 10.69~19.17 g，平均 13.47 g，每荚粒数在 2.35~3.00 粒，平均 2.63 粒。

第二类群包含 2 份材料：PLQQ-08-2-6 和 PLQQ-08-5-3。这两份材料都是无限结荚习性；种皮色以紫红色带白色宽条斑为主；荚长、豆粒大。

表 4 28 对引物的扩增结果
Table 4 Amplicon of 28 primer pairs

引物组合 Primer combination	总带数 Total bands	差异带 Difference band	基本带 Basic bands	多态性 Polymorphism/ %
ME2EM13	9	9	0	100.0
ME4EM4	4	2	2	50.0
ME5EM8	8	8	0	100.0
ME5EM13	9	8	1	88.89
ME6EM2	7	5	2	71.43
ME6EM3	10	10	0	100.0
ME7EM12	5	4	1	80.0
ME8EM2	6	3	3	50.0
ME10EM2	5	5	0	100.0
ME10EM3	3	2	1	66.67
ME10EM4	3	3	0	100.0
ME11EM4	6	5	1	83.33
ME11EM7	6	6	0	100.0
ME8EM11	5	4	1	80.0
ME12EM4	6	4	2	66.67
ME13EM1	8	5	3	62.5
ME13EM3	5	4	1	80.0
ME13EM9	4	4	0	100.0
ME13EM14	4	4	0	100.0
ME13EM15	4	1	3	25.0
ME14EM1	4	2	2	50.0
ME14EM3	6	4	2	66.67
ME4EM2	5	4	1	80.0
ME4EM11	5	3	2	60.0
ME5EM2	5	4	1	80.0
ME8EM4	7	6	1	85.71
ME2EM20	5	5	0	100.0
ME13EM5	4	2	2	50.0
合计Total	158	126	32	
平均 Mean	5.64	4.5	1.14	77.75

第三类群包含 4 份材料，分别是小菜豆 16-5-6、小菜豆 16-21-11、中莱豆 16-12-5 和武平黑花籽扁豆。该类群属于中、小类型莱豆。

3 讨论

SRAP 分子标记因其具有引物通用性广、成本低

廉等优点，已成功应用于豆科植物的遗传多样性和亲缘关系研究中。刘凯等^[23]利用 SRAP 分子标记对来源地不同的豇豆遗传多样性和亲缘关系分析，结果发现，所收集的 41 份豇豆种质资源遗传多样性丰富。张春宝等^[24]利用 12 对 SRAP 引物共扩增条带 1 527 条，将 20 份大豆材料分为六大类群。对东北地区大豆种质资源进行遗传多样性分析。侯万伟等^[25]筛选出 8 对 SRAP 引物，完成了 12 份蚕豆材料进行遗传多样性分析。刘明骞等^[26]分析剑豆遗传多样性，结果发现，该试验中剑豆群体内多样性小，且群体间基因流动少。以上研究表明，SRAP 分子标记技术能够反映样本间的遗传变异，说明该标记技术应用于莱豆种质资源遗传多样性和亲缘关系检测是可行的。

本研究以 22 份莱豆种质资源为材料，从 300 对 SRAP 标记引物中筛选出 28 对多态性丰富的 SRAP 标记，对莱豆资源进行扩增，共获得 158 条条带，多态性条带 126 条，每对引物平均扩增产生条带 5.64 条，遗传相似系数 0.544-0.949，多态性比率 77.75%，这与豇豆^[23]多态性（82.14%）研究结果相近，与猕猴桃^[15]多态性（99.07%）研究结果相差较大。这可能与不同物种间遗传差异大有关。遗传距离是衡量物种间遗传差异的程度，遗传距离越大，遗传差异越大、多样性越高^[27]。结果表明，供试的 22 份莱豆资源具有较丰富的遗传多样性。

22 份莱豆 SRAP 分子标记的聚类发现，22 份莱豆资源能够聚为三大类群。第一类群中上横山 10-2-6 和下横山 10-3-3，遗传相似系数高，为 0.949，说明两者亲缘关系很近，推测是由于种间地理隔离小，存在频繁的基因交流引起的。第二类群包含 PLQQ-08-2-6 和 PLQQ-08-5-3。第三类群将资源小菜豆 16-5-6、小菜豆 16-21-11、中莱豆 16-12-5、武平黑花籽扁豆聚为一类，说明中、小型莱豆、扁豆三者间遗传关系较近。其中，资源小菜豆 16-5-6 和资源小菜豆 16-21-11 有较强的亲缘关系，遗传相似系数为 0.943。

22 份莱豆种质资源表型性状的聚类发现，第一类群莱豆资源，鲜豆百粒重平均值 339.36 g，鲜荚平均单重 13.47 g。第二类群 PLQQ-08-2-6 和 PLQQ-08-5-3，鲜荚单荚重分别为 17.62 g 和 19.62 g；鲜豆百粒重分别为 417.11 g 和 411.34 g，在三个类群中百粒重最重。第三类群小菜豆 16-5-6、小菜豆 16-21-11、中莱豆 16-12-5、武平黑花籽扁豆，鲜豆百粒重平均 106.63 g，是三大类群中百粒重最轻的一类，其鲜荚和干荚的长、宽、重也低于其他两个类群。

两种聚类方法都能将 22 份莱豆种质资源聚为三

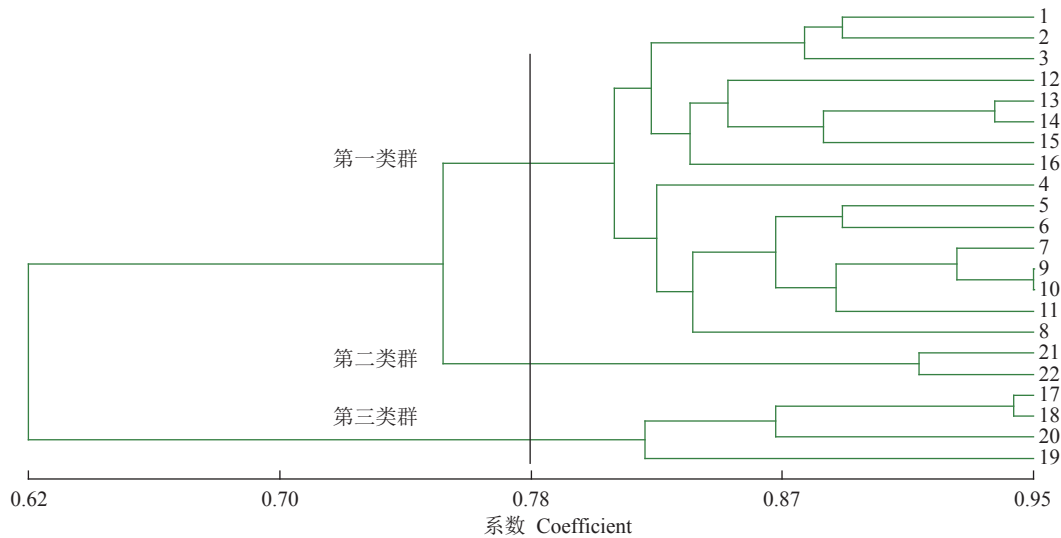


图 3 22 份莱豆聚类图

Fig. 3 Dendrogram of 22 *P. lunatus* germplasm

大类群，它们得到的第一类群资源完全相同，但细分的结果并不吻合。表型性状聚类方法只能将 16 份资源与另外的 6 份资源区分开，而 SRAP 分子标记能够将 16 份资源更加细致的区分开，从图谱上就能够看出资源间亲缘关系的远近。表型性状聚类方法第二类群是资源 PLQQ-08-2-6 和 PLQQ-08-5-3，该类群属于大莱豆类型，平均荚重远高于其他两大类群，这与 SRAP 分子标记的聚类结果相一致。表型性状聚类方法第三类群是百粒重最轻的一类莱豆资源，分子标记结果也能与之对应，但是两种方法的细分结果仍然有所差异。

两种聚类结果可以看出，22 份莱豆种质资源表型性状和分子标记结果大致相同但并非完全吻合，这可能是由于分子标记检测位点不同或表型性状受环境因素影响较大所导致的。

4 结论

本研究利用表型性状和 SRAP 分子标记，将 22 份莱豆资源划分成三大类群，结果表明，22 份莱豆资源遗传多样性丰富，两种聚类方法基本支持根据荚果大小划分莱豆资源，均对莱豆种质资源遗传多样性和亲缘关系分析提供参考，为莱豆种质资源分类、收集、评价、创新利用提供科学依据。

参考文献:

- [1] BAUDOUIN J P, ROCHA O, DEGREE J, et al. Ecogeography, demography, diversity and conservation of *Phaseolus lunatus* L. in the Central Valley of Costa Rica[M]. systematic&ecogeographic studies on crop gene pools, 2004: 1-94.
- [2] 彭葵, 李锦鸿, 李育军, 等. 华南地区利马豆绿色高产栽培技术[J]. 长江蔬菜, 2020 (22): 40-42.
- PENG K, LI J H, LI Y J, et al. Green and high-yield cultivation techniques for *Lima* bean in South China [J]. *Journal of Changjiang Vegetables*, 2020 (22): 40-42. (in Chinese)
- [3] 张德纯. 莱豆史话[J]. 中国蔬菜, 2009 (11): 15.
- ZHANG D C. H. Vegetable history of *Lima* bean [J]. *China Vegetables*, 2009 (11): 15. (in Chinese)
- [4] 郭媛贞, 黄强, 陈芝, 等. 优质莱豆新品种“莆莱1号”的选育[J]. 福建农业学报, 2014, 29 (3): 247-249.
- GUO Y Z, HUANG Q, CHEN Z, et al. Breeding of qew *Lima* bean cultivar pulai No. 1 [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2014, 29 (3): 247-249. (in Chinese)
- [5] 李广昌. 龙岩莱豆生态特性及高产栽培措施[J]. 吉林蔬菜, 2008 (5): 8-9.
- LI G C. Ecological characteristics and high-yield cultivation measures of *Leymus chinensis* in Longyan [J]. *Jilin Vegetable*, 2008 (5): 8-9. (in Chinese)
- [6] 姜永平, 宋益民, 章洪娟. 南通市地方特色蔬菜洋扁豆设施高效无公害栽培技术[J]. 现代农业科技, 2013 (15): 101-102.
- JIANG Y P, SONG Y M, ZHANG H J. Efficient and pollution-free cultivation techniques of local vegetable lentils in Nantong city [J]. *Xiandai Nongye Keji*, 2013 (15): 101-102. (in Chinese)
- [7] 翁文燊. “香菇豆”的营养成分[J]. 福建农业科技, 1990 (3): 43.
- CHEN W S. Nutritional ingredients of *Lima* bean [J]. *Fujian Agricultural Science and Technology*, 1990 (3): 43. (in Chinese)
- [8] 陈小红, 吴德武, 黎英. 超声波法提取莱豆总黄酮研究[J]. 长江大学学报(自然科学版), 2014 (12): 74-76, 8.
- CHEN X H, WU D W, LI Y. Study on extraction of total flavonoids from *Phaseolus lunatus* L. by ultrasonic wave [J]. *Journal of Yangtze University (Natural Science Edition)*, 2014 (12): 74-76, 8. (in Chinese)
- [9] 雷蕾. 普通莱豆核心种质遗传结构及多样性研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2018.

- LEI L. Study on genetic structure and diversity of common bean core collection[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2018. (in Chinese)
- [10] KRUPA U. Main nutritional and antinutritional compounds of bean seeds - a review [J]. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 2008, 58 (2) : 149–155.
- [11] ALMEIDA C, PEDROSA-HARAND A. High macro-collinearity between lima bean(*Phaseolus lunatus* L.) and the common bean (*P. vulgaris* L.) as revealed by comparative cytogenetic mapping [J]. *Theor.Appl Genet*, 2013, 126 (7) : 1909–1916.
- [12] WINTER P, KAHL G. Molecular marker technologies for plant improvement [J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 1995, 11 (4) : 438–448.
- [13] LI G, QUIROS C F. Sequence- related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in Brassica [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2001, 103 (2) : 455–461.
- [14] 陈方永, 谢丽雪, 倪海枝, 等. 卵圆型软条白沙枇杷变异种质鉴定研究 [J]. *植物遗传资源学报*, 2014, 15 (5) : 986–991.
- CHEN F Y, XIE L X, NI H Z, et al. Identification of egg-shaped Ruantiao Baisha loquat mutant germplasm [J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2014, 15 (5) : 986–991. (in Chinese)
- [15] 张坤, 周源洁, 李尧, 等. 基于SRAP和SCoT标记的猕猴桃种质遗传多样性分析及变异材料鉴定 [J]. *果树学报*, 2021, 38 (12) : 2059–2071.
- ZHANG K, ZHOU Y J, LI Y, et al. Genetic diversity analysis of kiwifruit germplasm and identification of variant based on SRAP and SCoT markers [J]. *Journal of Fruit Science*, 2021, 38 (12) : 2059–2071. (in Chinese)
- [16] 李佳奇, 于卓, 杨东升, 等. 基于SRAP分子标记的冰草遗传连锁图谱构建 [J]. *西北植物学报*, 2019, 39 (1) : 76–83.
- LI J Q, YU Z, YANG D S, et al. Construction of genetic linkage map for crested wheatgrass(*Agropyron*) based on SRAP molecular markers [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2019, 39 (1) : 76–83. (in Chinese)
- [17] 张明飞, 于卓, 于肖夏, 等. 四倍体马铃薯SRAP分子遗传连锁图谱的构建 [J]. *草业学报*, 2019, 28 (8) : 190–199.
- ZHANG M F, YU Z, YU X X, et al. Construction of a genetic linkage map for tetraploid potato based on SRAP markers [J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2019, 28 (8) : 190–199. (in Chinese)
- [18] 张冬菊, 李世超, 吴鹏夫, 等. 基于表型和SRAP标记的切花菊品种遗传多样性分析 [J]. *园艺学报*, 2014, 41 (1) : 118–130.
- ZHANG D J, LI S C, WU P F, et al. Genetic diversity analysis in cut *Chrysanthemum* cultivars based on morphology and SRAP markers [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2014, 41 (1) : 118–130. (in Chinese)
- [19] 李晋华, 王少铭, 罗莉斯, 等. 基于SRAP标记的生姜种质资源遗传多样性分析 [J]. *分子植物育种*, 2021: 1–29.
- LI J H, WANG S M, LUO L S, et al. Genetic Diversity of Ginger Germplasm Resources Based on SRAP [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2021: 1–29. (in Chinese)
- [20] 陶爱芬, 魏嘉俊, 刘星, 等. 应用SRAP标记绘制88份南瓜属种质资源DNA指纹图谱 [J]. *植物遗传资源学报*, 2017, 18 (2) : 225–232.
- TAO A F, WEI J J, LIU X, et al. Construction of molecular fingerprinting map for 88 accessions of *Cucurbita* by SRAP markers [J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2017, 18 (2) : 225–232. (in Chinese)
- [21] 李慧峰, 冉昆, 王涛. 利用SRAP标记构建山东省苹果资源指纹图谱 [J]. *沈阳农业大学学报*, 2020, 51 (4) : 470–475.
- LI H F, RAN K, WANG T. Molecular fingerprinting construction of Shandong *Malus* germplasms based on SRAP markers [J]. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 2020, 51 (4) : 470–475. (in Chinese)
- [22] 王述民, 张亚芝, 魏淑红. 普通菜豆种质资源描述规范和数据标准[M]. 北京: 中国农业出版社, 2006.
- [23] 刘凯, 陈汉才, 李桂花, 等. 豇豆种质资源遗传多样性和亲缘关系的SRAP和SSR分析 [J]. *中国农学通报*, 2014, 30 (31) : 156–163.
- LIU K, CHEN H C, LI G H, et al. Genetic diversity and phylogenetic relationships analysis of cowpea germplasm resources by SRAP and SSR [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2014, 30 (31) : 156–163. (in Chinese)
- [24] 张春宝, 邱红梅, 赵洪银, 等. 东北地区大豆种质遗传多样性的SRAP标记分析 [J]. *大豆科学*, 2014, 33 (1) : 17–22.
- ZHANG C B, QIU H M, ZHAO H K, et al. Genetic diversity analysis of soybean germplasm in northeast region of China by SRAP markers [J]. *Soybean Science*, 2014, 33 (1) : 17–22. (in Chinese)
- [25] 侯万伟, 张小娟. 蚕豆SRAP标记的建立及遗传多样性分析 [J]. *分子植物育种*, 2021, 19 (10) : 3339–3343.
- HOU W W, ZHANG X J. Establishment and genetic diversity analysis of SRAP markers in *Vicia faba* [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2021, 19 (10) : 3339–3343. (in Chinese)
- [26] 刘明骞, 陈丽君, 丁美美, 等. 基于SRAP分子标记的剑豆遗传多样性分析 [J]. *中国农业大学学报*, 2015, 20 (2) : 58–66.
- LIU M Q, CHEN L J, DING M M, et al. Genetic diversity of *Canavalia ensiformis*(L.)DC. accessions revealed by SRAP markers [J]. *Journal of China Agricultural University*, 2015, 20 (2) : 58–66. (in Chinese)
- [27] MARTINS M, TENREIRO R, OLIVEIRA M M. Genetic relatedness of Portuguese almond cultivars assessed by RAPD and ISSR markers [J]. *Plant Cell Reports*, 2003, 22 (1) : 71–78.

(责任编辑: 林海清)