

利用基于 SSR 标记的 MCID 法鉴定 72 个柿地方品种

戚建锋, 李晓鹏, 王文然, 贾海锋

(南京农业大学园艺学院, 南京 210095)

摘要:应用基于 SSR 分子标记的人工绘制植物品种鉴别图法(MCID, manual cultivar identification diagram)对来源于中国各地的 72 个柿地方品种进行了鉴定。结果表明,利用筛选出的 6 对引物进行 PCR 扩增、再统计凝胶电泳特征性谱带,最后人工绘制出品种树形鉴别图,可将 72 个柿地方品种在分子水平上进行快速区分。同时利用 NTSYS-2.10e 软件进行聚类分析,通过聚类分析树状图直观了解各品种间的遗传关系,在遗传相似系数为 0.62 左右时,可以分为 3 个类群。所得的 MCID 图比聚类树更具直观性与实用性,通过查阅 MCID 图可以快速获得鉴别这些地方品种所需要的引物以及依据的多态性谱带。这对柿种质资源的鉴定及促进柿产业的持续发展具有积极意义。

关键词:柿;地方品种;SSR;人工绘制植物品种鉴别图法(MCID);品种鉴定

Identification of 72 Persimmon Landraces by Using SSR Markers-based MCID Method

QI Jian-feng, LI Xiao-peng, WANG Wen-ran, JIA Hai-feng

(College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095)

Abstract: A method for variety identification using a manual cultivar identification diagram (MCID) based on SSR molecular markers was deployed in order to clarify 72 persimmon landraces in China. By using six pairs of simple sequence repeats (SSR) markers, we were able to clarify the persimmon landraces at the molecular level through, and also manually figured out the tree-based identification charts. The cluster analysis by using NTSYS-2.10e software revealed the genetic relationship among varieties. Three subgroups were assigned with the genetic similarity coefficient of ca. 0.62. The obtained MCID map is intuitive and user-friendly in contrast to the clustering tree. By referring to the MCID map, the primers and fingerprints were available. Thus, this work provided a solution to identify the persimmon accessions, which might be helpful in sustainable development of persimmon industry.

Key words: persimmon; landrace; SSR; manual cultivar identification diagram (MCID) method; cultivar identification

柿属于柿科 (Ebenaceae) 柿属 (*Diospyros* L.), 是柿属植物中作为果树利用的代表种^[1]。我国是柿属植物的分布和起源中心之一,据历史记载早在 2000 多年之前,我们的祖先就开始了柿的种植栽培。柿分布范围很广,我国除黑龙江、青海、新疆等个别省份外,各地都有栽培^[2]。柿种质资源丰富,遗传多样性程度高,很容易产生芽变。随着对柿种质资源的调查以及柿新品种培育工作的不断深入,

越来越多的柿新品种需要被鉴定和保存。

在柿种质资源调查过程中,绝大多数地方品种都是自然实生的,或是在选择性状固定后再通过嫁接无性繁殖保留下来的,同时在长期引种、栽培过程中,发生混乱,各地果农对于同一个品种可能有不同的命名,或用地名或用果实形状等对柿进行命名,导致同名异物和同物异名现象非常严重,各品种之间亲缘关系不清^[3]。这给柿育种亲本的选配和优良

收稿日期:2017-12-26 修回日期:2018-02-06 网络出版日期:2018-07-09

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20180706.1658.001.html>

基金项目:中央高校基本科研业务费专项基金项目(kyz201736)

第一作者主要从事果树分子遗传育种。E-mail:825350053@qq.com

通信作者:贾海锋,研究方向为果实发育分子生物学。E-mail:jiahaidfeng@njau.edu.cn

品种的推广工作造成了很大的影响。因此,建立有效的柿品种快速可靠的鉴定技术体系对于柿种质资源评价、苗木早期鉴定以及生产中对于柿品种的区别与命名等工作具有极其重要的意义。

DNA 分子标记是一种建立在分子水平上的遗传标记形式,与传统的生化标记和形态标记相比较,具有不受外界环境的干扰、作物的组织类别或发育阶段等因素影响的优点,同时鉴定结果有可靠性高、重复性好、鉴别力强的特点^[4]。因此 DNA 分子标记技术在品种鉴定研究中被广泛应用。在众多分子标记技术中,SSR(Simple Sequence Repeat,简单重复序列)分子标记是目前应用最广泛的分子标记技术之一,其长度大多 100~200 bp,具有含量丰富、多态性高、共显性等优点^[5-6]。SSR 虽然多态性高,但序列两端往往是相对保守和专一的,利用这一特点,可设计 1 对特异性引物,通过 PCR 技术扩增 SSR,再利用聚丙烯酰胺电泳获得其长度多态性^[7]。本研究

采取的方法就是利用 SSR 分子标记技术,根据同一种引物下不同柿品种 DNA 序列长度的多态性人工绘制植物品种鉴别图(MCID)^[8-11],通过查找图上的内容来鉴定品种。本研究利用筛选出的 6 对 SSR 引物,对待鉴别的柿地方品种的 DNA 进行 PCR 扩增,以期将 72 个柿品种在分子水平准确地区分。

1 材料与方法

1.1 材料

在 2017 年 3-4 月份于全国各地对柿地方品种的样品进行采集,选取的材料为不同柿地方品种的新梢幼叶,装入冰盒之中带回实验室,之后先用蒸馏水洗干净叶片,去除叶片叶脉并用吸水纸吸干,用液氮速冻然后置于 -80 ℃ 冰箱暂时保存。

72 个柿地方品种见表 1。这些地方品种之中,有些品种同名,以品种名加数字进行区分,有些则是名称不可知,以柿某种加数字来进行编号。

表 1 试验中使用的柿品种

Table 1 The persimmon cultivars used in this study

编号 Code	品种名 Variety name	编号 Code	品种名 Variety name	编号 Code	品种名 Variety name
1	柿某种 1 号	25	莲花盘柿	49	竹竹柿
2	柿某种 4 号	26	火罐柿	50	昭宗次郎甜柿
3	成县水柿 1 号	27	皮匠娄柿	51	鸡鸣柿
4	襄垣柿 2 号	28	汾阳牛心柿	52	苏家柿
5	水柿 1 号	29	珠柿	53	野水葫芦柿
6	大门钉柿	30	小云柿	54	水柿 2 号
7	线坠柿	31	君迁子	55	南城 4 号
8	镜面柿	32	成县水柿 2 号	56	郭庄柿
9	面柿	33	柿某种 6 号	57	苗苗柿
10	面蛋柿	34	甜柿	58	大方柿
11	柿某种 5 号	35	丰年牛心柿	59	火柿 1 号
12	更名柿	36	柿某种 3 号	60	半截缸柿
13	雪花柿	37	刘沟柿 2 号	61	峪里牛心柿
14	灰柿	38	丹汾柿 1 号	62	方柿
15	胡拳头柿	39	刘沟柿 1 号	63	南城柿 1 号
16	升柿	40	丹汾柿 2 号	64	牛心柿 2 号
17	合柿	41	冻柿	65	磨盘柿
18	斤柿	42	小柿	66	襄垣柿 1 号
19	高庄柿	43	月神柿	67	八月黄
20	小红柿	44	赣县牛心柿	68	雁过红柿
21	锥把柿	45	鞍山柿	69	火柿 2 号
22	重台柿	46	水盘盘柿	70	满堂红柿
23	牛心柿 1 号	47	四盘柿	71	鸡心黄柿
24	鬼脸青柿	48	马奶子柿	72	柿某种 2 号

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取 采用 CTAB 法提取柿样品的基因组 DNA^[12],使用核酸蛋白测定仪(Eppendorf 公司产品)测定 DNA 样品浓度,用 1.2% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 样品质量。

1.2.2 引物筛选 引物构建参考 Tsujimoto 等^[13]、

孟清照等^[14]的方法,构建好的引物送由通用生物公司合成。再选择 3 个遗传差异较大的柿 DNA 样品对 26 对引物进行筛选(表 2),经过 PCR 和聚丙烯酰胺凝胶电泳,从中选取扩增条带清晰稳定、多态性好的引物用于所有 DNA 样品的扩增。

表 2 SSR 引物和退火温度

Table 2 The SSR primers used in this study

引物序号 Primer No.	基因库登记号 GenBank accession No.	重复单元 Repeat motif	引物序列(5'-3') Primer sequence(5'-3')	退火温度(℃) Tm
FR1	DC588341	(GAG)5	F:TCAGTAAAGCTGCGGGCATC R:ACGGTTCTCCTGATCCTCACG	56
FR2	DC586537	(CAT)6	F:CACCGCATCCTCTTCGACATCC R:ACGCATCCGTCAAATCACAACA	56
FR3	DC585084	(GAG)9	F:TGACTCTGCTCCACAGGCATTTC R:CTCGTCTGGCAATTCTGCTTCG	56
FR4	DC585710	(GTAGTG)3	F:CCAGTTGATGGCAATGGGAGGC R:GGTCCGATGTTGGAGGGAAGAG	56
FR5	DC585737	(CTT)7	F:ACACTCCACTCTACCCAAATACC R:GACATCATAAGTCAAAGCACGAA	55
FR6	DC592790	(TA)9	F:TGACCAACCCCAAAGTGTGGGAG R:AGGTCCCTCTGGTGAGCACATGC	60
FR7	DC592401	(GGC)4	F:TTATCCCATCAAAGCAACCCAC R:CTGCCAACTTCTTCTCCATCTCC	55
FR8	DC591591	(AT)10	F:ACACGTTTCAGTACCAGGAGGGA R:AGTACCACAAACCACCACTGG	55
FR9	DC591297	(GCAGGA)3	F:GCCACAACTTCACAGAGGACC R:AGGCGAGTGCAGTAAGACGAA	55
FR10	DC585435	(AGG)7	F:TCGGCTTCACCTATGTTG R:CGATTCCCTTGGACCTTTG	52
FR11	DC592713	(AG)7	F:CGGAAGAGGGAGAAATCG R:GAATCGGGAAGCAAGTT	55
FR12	EF567410	(GA)21	F:CCAAATCATTCTGAAGCCAAT R:CCTTCACCGATGTCCTTTGT	52
FR13	DQ097479	(GA)16	F:ATGTTTCAGGGGTTCCATTG R:TCACTCGTCTTTGCCTTTCC	53
FR14	DQ097482	(AG)16	F:GTGAAGGAACCCCATAGAA R:CCATCATCAGGTAGGAGAGA	52
FR15	DQ097484	(GA)12	F:ACTACAACGGCGGTGAGAAC R:GTCCTTCACTTCCCGCATT	55
FR16	DQ097497	(CCTTT)8	F:ATCATGAGATCAGAGCCGTC R:CACGTTAACGTTACGGAACA	53

表 2(续)

引物序号 Primer No.	基因库登记号 GenBank accession No.	重复单元 Repeat motif	引物序列(5'-3') Primer sequence(5'-3')	退火温度(℃) T _m
FR17	DQ097499	(CT)15	F:AGTTCCTGCGATGGGATTTC R:GATGAGATGGGCTGATTGCT	60
FR18	DQ204606	(GCCA)10	F:GGGTATCCTTGCTGCTC R:CGAACTGGTTGGTGACGG	56
FR19	DQ204606	(TCCG)5	F:GGGTAATCTTGCTGCTC R:CTTGCTGACTCTTGGGTGT	56
FR20	DQ204618	(AG)15	F:CTAAATCCCCCTTTCTTCAT R:TAGTCGCCTTCGTCTCCACC	56
FR21	DQ204618	(AG)7	F:AGAGAGACGACCAACGACAA R:CTCACCTTTCCTGACCGCTA	55
FR22	DQ222480	(GA)14... (AG)5... (GA)9 (AG)9	F:GTTACCGCATTACTCCAG R:ATCTCCGACATCCAAAGC	52
FR23	DQ222481	(AG)9	F:ACGCCAGGAACATTGAAG R:TTACCGCATTAGGACCAG	56
FR24	DQ097482	(AG)16	F:GTGAAGGAACCCCATAGAA R:CCATCATCAGGTAGGAGAGA	56
FR25	AB073008	(GA)7	F:CATCTACTGCGTGCTTGTGT R:TGGGAAACTCTGGATTGCTC	55
FR26	AB073006	(AGA)4	F:ATCGTTGTTGCTATCTTGG R:ATGGTGAATCCTACGGGGTC	52

1.2.3 PCR 扩增与检测 反应总体积为 20 μ L, 2 μ L DNA 模板,上下游引物各 1 μ L, 10 μ L 的 PCR Master Mix (TAKARA 公司生产) 和 6 μ L 的双蒸水^[15]。

PCR 反应程序:95 $^{\circ}$ C 预变性 3 min;94 $^{\circ}$ C 变性 30 s,退火 30 s(退火温度见表 2),72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min,共 32 个循环,最后在 72 $^{\circ}$ C 条件下延伸 10 min,结束后 4 $^{\circ}$ C 保存。

1.2.4 PCR 产物电泳检测 SSR-PCR 产物用 8% 的聚丙烯酰胺凝胶(PAGE)电泳检测,电泳结束后用去离子水清洗,之后用 0.2% 硝酸银液震荡染色 2 min,用 1.5% NaOH 300 ml 和 37% 甲醛 1 ml 混匀作为显色液,直到条带清晰,在灯光下观察条带,并用数码相机拍照后保存图像^[16]。

1.2.5 数据统计与分析 SSR 扩增分离结果采用的是 0,1 统计方法,先在电泳图上选取一个长度,将在同一分子量上,有特征条带的记为 1,没有条带的记为 0,数据缺失记为 9,以此得到数据库。利用 NTSYS-pc 2.10e 软件中 Similarity 选项下的 Qualita-

tive data 模块得到遗传相似系数矩阵,由遗传相似系数矩阵在 Clustering 选项中的 Shan 模块,进行 UPGMA 聚类分析,通过 Tree plot 程序得到聚类图。

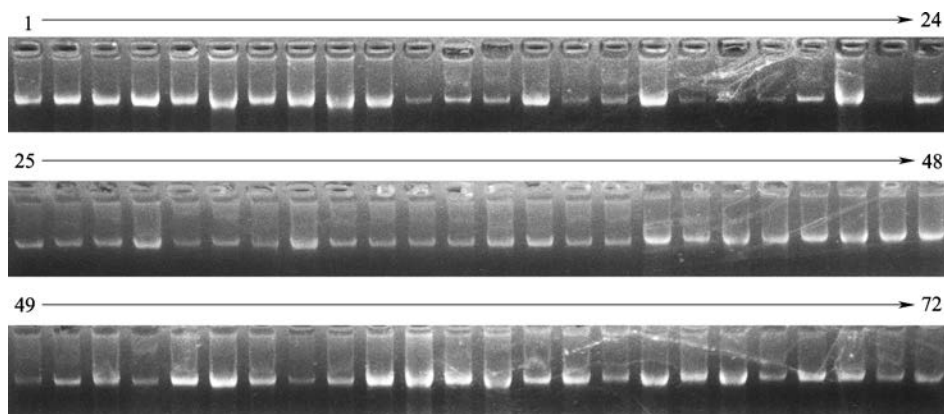
1.2.6 人工绘制植物品种鉴别图法 选取 PCR 扩增产物清晰的引物进行聚丙烯酰胺凝胶电泳,对 72 个柿地方品种进行鉴定。首先任意选择其中一个引物的电泳图,统计在相同分子量片段处的多态性,并将在该处有扩增谱带的品种归类为一类,没有谱带的品种归类为另一类。分成几组之后,每个亚组中继续采用更多的引物逐级进行分类,直到所有待鉴别的品种被单独分开。最后,根据分组的情况,人工绘制植物品种鉴别图,将每一步用到的引物及多态性谱带大小标注到树形鉴别图的相应位置上^[8-11]。人工绘制的植物品种鉴别图是基于 PCR 扩增后的谱带形态统计出的结果,以引物作为节点,以特征谱带的有无作为分类的依据,在每个节点后是该引物对不同品种的区分结果,包括区分出的类别或者是直接区分出来的单个品种。

2 结果与分析

2.1 DNA 的提取结果

将已提取的 72 个柿地方品种叶片的 DNA,用

1.2% 的琼脂糖凝胶电泳进行检测,紫外灯下观察到 DNA 条带清晰(图 1),提取的 DNA 样品适于扩增、鉴定等后续工作。



1~72:柿地方品种编号

1-72:The number of persimmon landraces

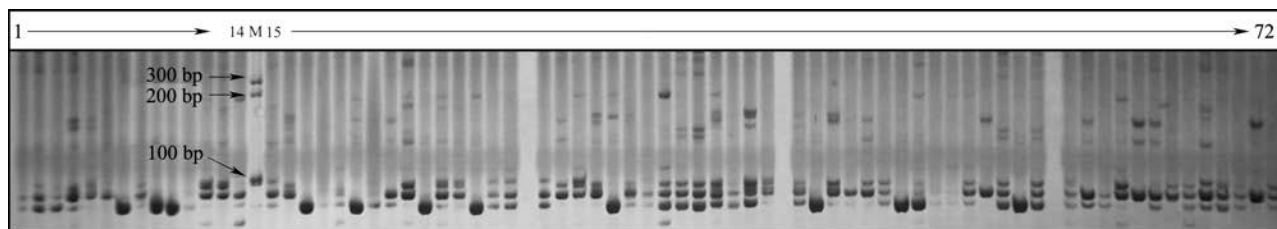
图 1 72 个柿地方品种 DNA 电泳示意图

Fig. 1 DNA quantity of 72 persimmon landraces

2.2 引物筛选结果

初步选择 10 对扩增条带清晰且多态性好的引物(FR1、2、3、4、5、11、12、13、16、17),通过统计,从中筛选出 6 对引物进行 MCID 的制作(FR1、2、4、12、

16、17)。图 2 是引物组合 FR2 对 72 个品种的扩增电泳图,分析可见,这些引物均能在供试样品中扩增出清晰、稳定、重复性和多态性较高的条带。说明对应编号的引物都可为 SSR 引物筛选提供参考。



M:DNA marker;1~72 分别对应 72 个柿地方品种

M:DNA molecular standard markers,No.1 to No.72 correspond to 72 persimmon landraces

图 2 引物组合 FR2 扩增 72 个柿地方品种

Fig. 2 Primer FR2 amplification of 72 persimmon landraces

2.3 柿地方品种鉴定

利用 SSR 建立柿地方品种的 MCID,结合筛选的 6 对引物的聚丙烯酰胺凝胶电泳图,运用 MCID 法将 72 个地方柿品种逐一单独区分鉴别出来。为了视图简洁方便,将每种柿的编号用对应的数字表示,引物组合用 FR 表示。首先根据引物 FR6 扩增的电泳图上大小为 140 bp、125 bp 和 110 bp 的 3 条特征性谱带的有无将 72 个品种分成 6 组,将有特征性谱带的用(+)表示,没有特征性谱带的表示为(-)。第 1 组是 140 bp(-)、125 bp(-)和 110 bp(-),共包括 19 个柿地方品种;第 2 组包括 13 个拥有 125 bp 和

110 bp 2 条谱带,没有 140 bp 谱带的品种;第 3 组为 140 bp(-)、125 bp(-)和 110 bp(+),共包括 20 个柿地方品种;第 4 组为 140 bp(+)、125 bp(-)和 110 bp(+),包括编号为 15、16、17、21、46、54、55、59、66、70、71 的 11 个品种;第 5 组为含有 3 条特征性谱带 140 bp、125 bp 和 110 bp 的 8 个品种,编号为 37、38、39、41、53、56、58、62;第 6 组 61 号峪里牛心柿没有特征性谱带 140 bp,因此被单独鉴定出来。

大体将 72 个品种分为 6 类之后,再利用更多的引物鉴定以上 5 个组的所有品种。其中第 4 组的 11 个品种先利用引物 FR1 扩增的大小为 220 bp 的

1 条多态性谱带分成两组,其中有 220 bp 特征谱带品种有 15、16、17、21、46、70,称之为 4-1 组,没有 220 bp 特征谱带的是 54、55、59、66、71 号品种,称之为 4-2 组。再利用引物 FR4 扩增的大小为 480 bp 和 220 bp 的条带对 FR4 分的两组进行再分组,根据 480 bp 特征谱带有无,4-1 组可分为含有 480 bp 谱带的 15、16、46、70 号品种,称之为 4-1-1 组,不含 480 bp 的为 4-1-2 组,有 17、21 号 2 个品种。之后再利用引物 FR17 的特征谱带 190 bp 和 180 bp 对上一级的两组进行分组,190 bp(-)、180 bp(+)将 16 号品种鉴定出来,190 bp(+)、180 bp(+)将 46 号品种鉴定出来,同时 190 bp(+)、180 bp(-)将 15、70 号分为一组,再经过引物 FR2,最终将 15 和 70 号品种区分开来。同理,4-1-2 小组的 17 和 21 号品种也可由引物 FR17 的 180 bp 特征谱带鉴定出来。4-2 组中同样依次按照引物 FR4、FR17、FR2 将 54、55、59、66、71 分别鉴定。

另外 3 组按照此方法依次鉴定,直到将所有品种都区分开来。最后,根据所有引物及相应谱带信息绘制 72 个柿地方品种的鉴定图,即柿地方品种 MCID(图 3)。

利用 MCID 可以将任何品种简洁快速的加以分辨,具体是首先在 MCID 找到待鉴别品种进行区分所需要的引物和多态性谱带,然后利用引物进行 PCR 扩增,最后通过 PCR 扩增的多态性条带将待鉴定品种区分出来。例如:区分牛心柿 1 号(23)和牛心柿 2 号(64) 2 个柿地方品种,在 MCID 中分别找到品种对应数字 23 和 64,我们发现,用引物组合 FR16 即可区分 2 个品种,利用该引物对,牛心柿 1 号在 125 bp 处有特异性条带,而牛心柿 2 号则没有,简单快速达到区分品种的目的。同样,如果区分柿某种 1 号(1),柿某种 4 号(2)和成县水柿 1 号(3) 3 个品种时,首先在 MCID 上可以得到 3 个品种最先分支的引物为 FR2,多态性条带为 190 bp 和 200 bp,通过该引物可将 3 个品种分为柿某种 1 号(1)、柿某种 4 号(2)与成县水柿 1 号(3)两组,之后再利用 FR14 引物和 140 bp 条带将柿某种 4 号与成县水柿 1 号区分,这样 3 个品种就能完全区分。

2.4 遗传多样性分析

以从 26 对引物组合中筛选的扩增条带清晰且有明显多态性片段的 10 对引物的 SSR 扩增产物为基础,通过 NTSYS-pc 2.10e 软件得到 72 个柿地方品种的聚类图(图 4)。

由图分析得到以下结论,所用标记几乎可以有

效的将 72 份柿地方资源品种区分开。在遗传相似系数为 0.62 左右时,可以分为 3 个类群,其中,类群 I 包含 31 个品种,类群 II 包含 27 个品种,类群 III 中包含了 14 个品种,表明大多数材料之间存在着显著的遗传差异。其中,柿某种 4 号(2)和成县水柿 1 号(3),珠柿(29)和赣县牛心柿(44),刘沟柿 1 号(39)和郭庄柿(56),鬼脸青柿(24)和苗苗柿(57),甜柿(34)和鞍山柿(45)不能被有效区分开,表明这些材料对之间遗传关系较近,遗传差异不大。另外,不能被区分开也有可能标记数目较少、覆盖精度不够有关,需要更多的引物以及更多的特征性谱带。想要深入研究柿地方品种资源遗传变异,揭示更多的遗传信息就需要开发高通量的分子标记。

3 讨论

在柿产业体系中,尤其是在柿种质资源的保护以及新品种的繁育工作中,都要求能够准确鉴定出不同品种,因此找到一种兼具准确性和实用性的植物品种鉴定方法成为亟待解决的重要问题。传统的品种鉴定方法在操作时存在各种缺陷,结果往往不够准确,而 DNA 分子标记技术正好弥补了这些问题,结果准确的同时,也具有方便快捷的优点。一些 DNA 标记技术例如 SSR、ISSR、AFLP、SRAP 等因其各自的优势特点,已经被广泛应用于各类作物品种鉴定工作中。张安世等^[17]通过 ISSR 分子标记技术,筛选出 4 对引物,用扩增得到的 15 个多态性位点构建指纹图谱,完成了 32 个猕猴桃品种的鉴定工作。李丽等^[18]将 AFLP 分子标记应用于白菜品种的鉴定。王茂芊等^[19]使用 12 对 SRAP 引物组合对 25 份国内外甜菜褐斑病抗病品种进行聚类分析,将这些品种分为了 3 个类群。张好艳等^[20]利用 SSR 标记技术对 56 个梨品种进行区分。DNA 指纹图谱和聚类分析可以进行不同品种之间的遗传多样性分析,但是除了品种之间遗传差异的探究,聚类分析无法有效直观地鉴定区分品种,而且绘制聚类分析图需要大量引物组合做支撑,工作量较大。而 MCID 法很好地解决了品种鉴定的问题,在利用于柿品种鉴定之前,MCID 法已经被用于多个品种的鉴定,如利用基于 RAPD 标记的 MCID 法鉴定枇杷^[8]、萝卜^[21]、葡萄品种^[9-10]等,和基于 SSR 标记的 MCID 法鉴定花梅品种^[22]等,这些研究都表明了 MCID 法在鉴定品种上的可行性。

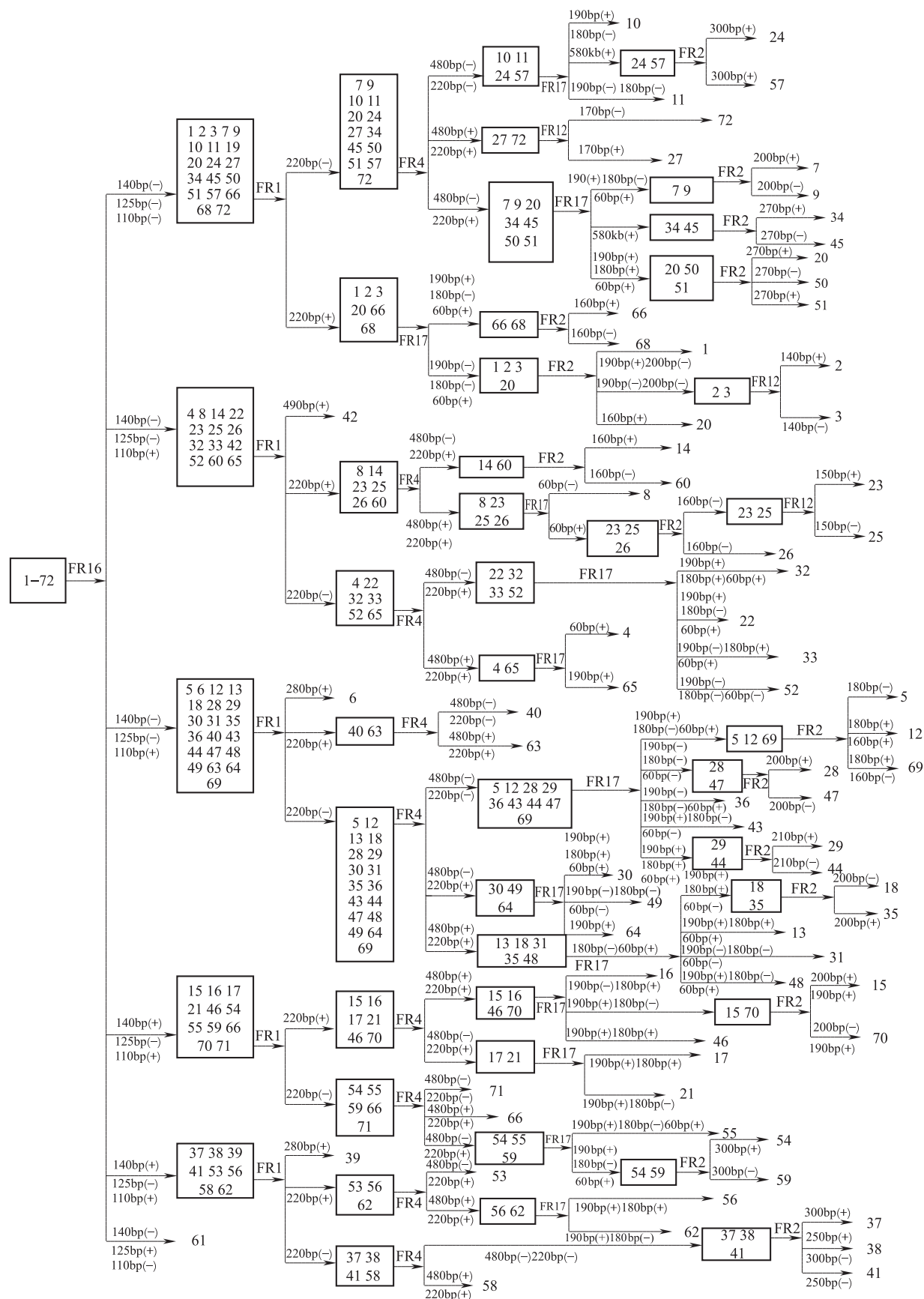


图3 6对引物鉴别区分72个柿地方品种的MCID示意图

Fig. 3 MCID of 72 persimmon landraces by using six pairs of SSR primers

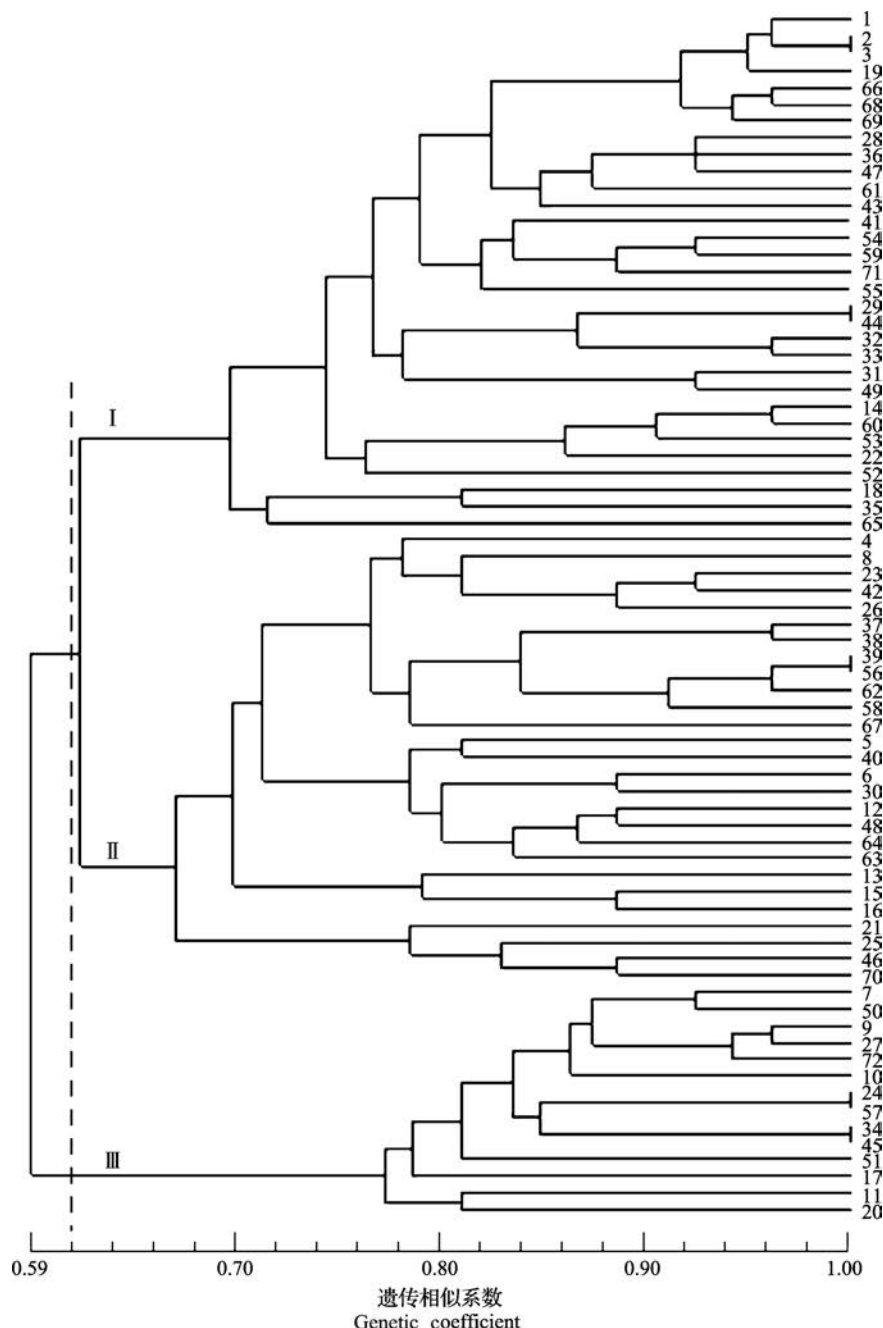


图4 72个柿地方品种基于SSR分析的聚类图

Figure 4 UPGMA dendrogram of the 72 persimmon landraces on the basis of SSR markers

本研究利用 NTSYS-2.10e 软件进行了聚类分析,把 72 个柿地方品种在遗传相似系数为 0.62 左右时分为 3 个类群,可以简单区分个别遗传关系较远的品种,但对于同一类群,遗传关系相近的无法进行有效区分,说明这种方法在品种鉴定上还有一定的不足。

本研究利用基于 DNA 标记的 MCID 方法,用 SSR 标记快速、准确地鉴别出 72 个柿地方品种,且只用了 6 对引物。这种方法可以在利用尽可能少的

引物进行 PCR 扩增的前提下,将 DNA 指纹信息转化为能有效鉴定大量品种资源的高效信息,其操作简便、实用性和目的性强,适用于对大量品种进行快速鉴定。在柿品种一定的情况下,可以简单明了地从 MCID 图中找到特定的引物以及特异性谱带的长度,经过 1 次操作就能达到区分品种的目的。随着种质资源调查的深入,会有越来越多新的品种被发现或者培育出来,一般无须引入新的引物,只要利用现有引物进行多次 PCR 扩增和聚丙烯酰胺凝胶电

泳得到跑胶条带,即可将新品种纳入原有的 MCID 图中。

地方品种资源是对现有柿种质资源的有效补充。本研究采用分子标记技术对柿地方品种资源进行了遗传多样性分析,研究表明柿地方品种资源有较高的利用价值,在柿新品种选育及遗传研究上有很多可以利用的种质资源。利用 MCID 成功地将成县水柿、襄垣柿、水柿、火柿、丹汾柿、刘沟柿、南城柿、牛心柿这几个有重名的地方柿品种进行了鉴定区分,较好地解决了品种鉴定中各品种间亲缘关系不清,同名异物和同物异名,品种繁杂无法区分的问题,使得科研工作者能够在明确品种后进行资源保护,以及利用地方品种进行新品种的培育工作,这对于柿产业持续健康发展有着积极的意义。

参考文献

- [1] 李高潮,杨勇,王仁梓. 中国原产柿品种资源. 中国种业,2006(4):52-53
- [2] 杨勇,阮小凤,王仁梓,李高潮. 柿种质资源及育种研究进展. 西北林学院学报,2005,20(2):133-137
- [3] 程诗明,童敏,康志雄,陈友吾,应尚姣,周长富. 浙江柿树种质资源遗传多样性的 RAPD 分析. 植物遗传资源学报,2014,15(3):668-672
- [4] 刘明,王继华,王同昌. DNA 分子标记技术. 东北林业大学学报,2003,31(6):65-67
- [5] 罗冉,吴委林,张旻,李玉花. SSR 分子标记在作物遗传育种中的应用. 基因组学与应用生物学,2010,29(1):137-143
- [6] 高志红,章镇,韩振海. SSR 技术及其在果树上的应用. 果树学报,2002,19(5):281-285
- [7] 罗兵,孙海燕,徐港明,扬志刚,沈宗根,顾雯雯,高阳,郑佳亮. SSR 分子标记研究进展. 安徽农业科学,2013,41(12):5210-5212,5246
- [8] Zhang X Y, Qian J L, Wang H K, Yuan W M, Fang J G. A novel strategy employed in identification of 25 important loquat cultivars using RAPD marker. Caryologia, 2011, 64(3):265-271
- [9] 张晓莹,张彦,宋长年,刘崇怀,房经贵,上官凌飞. 利用基于 DNA 标记的人工绘制植物品种鉴别图(MCID)法快速鉴定欧亚葡萄品种. 农业生物技术学报,2012,20(6):703-714
- [10] 王玉娟,张彦,房经贵,刘崇怀,宋长年,孙欣. 利用基于 RAPD 标记的 MCID 法快速鉴定 72 个葡萄品种. 中国农业科学,2012,45(14):2913-2922
- [11] Fang J, Twito T, Zhang Z, Chao C T. Genetic relationships among fruiting-mei (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.) cultivars evaluated with AFLP and SNP markers. Genome, 2006, 49(10):1256
- [12] Oza V, Trivedi S. A simple, rapid and efficient method for isolation of genomic DNA from plant tissue. Journal of Cell and Tissue Research, 2008, 8(2):1383-138
- [13] Tsujimoto T, Akagi T, Yonemori K, Kanzaki S. Development of EST-SSR markers derived from diospyros kaki. Acta Horticulturae, 2013, 996(996):133-138
- [14] 孟清照,李仕金,董转年,周军. SSR 引物开发方法概述. 大众科技,2007(6):116-117
- [15] 麻丽颖,孔德仓,刘华波,王斯琪,李颖岳,庞晓明. 36 份枣品种 SSR 指纹图谱的构建. 园艺学报,2012,39(4):647-654
- [16] 方连玉,王军,许雷. 15 份葡萄种质遗传多样性的 SSR 分析. 分子植物育种,2010,8(3):511-515
- [17] 张安世,韩臣鹏,齐秀娟,张中海. 基于 ISSR 标记的猕猴桃品种遗传多样性分析及指纹图谱构建. 植物资源与环境学报,2017,26(3):19-26
- [18] 李丽,郑晓鹰. AFLP 分子标记应用于白菜品种鉴定. 分子植物育种,2006,4(5):685-689
- [19] 王茂芊,张惠忠,吴则东,王华忠. SRAP 标记对甜菜抗褐斑病品种的聚类分析. 中国农学通报,2017,33(12):143-147
- [20] 张好艳,吴俊,张绍铃. 基于 SSR 标记的梨资源遗传多样性分析. 农业生物技术学报,2008,16(6):983-989
- [21] 许园园,刘哲,娄丽娜,苏小俊. 基于 MCID 法的萝卜品种快速鉴定. 江苏农业学报,2016,32(6):1384-1389
- [22] Wang Y J, Li X Y, Han J, Fang W M, Li X D, Wang S S. Analysis of genetic relationships and identification of flowering-mei cultivars using EST-SSR markers developed from apricot and fruiting-mei. Scientia Horticulture, 2011, 132(1):12-17

欢迎订阅 2019 年《植物资源与环境学报》

《植物资源与环境学报》为江苏省中国科学院植物研究所和江苏省植物学会联合主办的学术刊物。本刊为全国中文核心期刊、中国科技核心期刊、中国科学引文数据库核心期刊(CSCD)和 RCCSE 中国核心学术期刊(A⁺)。本刊围绕植物资源与环境两个中心命题,报道我国植物资源的考察、开发利用和植物物种多样性保护,自然保护区与植物园的建设和管理,植物在保护和美化环境中的作用,环境对植物的影响以及与植物资源和植物环境有关学科领域的原始研究论文、研究简报和综述等。

季刊,每期定价 20 元,全年 80 元。国内外公开发行,全国各地邮局均可订阅,邮发代号:28-213,国内统一连续出版物号:CN 32-1339/S,若错过征订时间,请直接与编辑部联系邮购。

地址:江苏省南京市中山门外 江苏省中国科学院植物研究所内

邮编:210014

电话:025-84347014

E-mail:zwzybjb@163.com

网址:http://zwzy.cnbg.net