

基于 SSR 标记的荔枝种质遗传多样性分析

曾 淇^{1,2}, 李明芳¹, 郑学勤¹

(¹中国热带农业科学院热带生物技术研究所,海口 571101;²海南大学农学院,海口 571101)

摘要:从 53 对本课题组自主开发设计的 SSR 特异引物对中筛选出 22 对多态性引物,对 46 份荔枝材料的基因组 DNA 进行扩增,共得到 54 个等位基因,其中每对引物的平均等位基因数为 2.4,共获得 23 个特异性标记,各标记的平均观察杂合度值、平均期望杂合度和 PIC 值分别为 0.451、0.355 和 0.507。其中 Lit6 位点各数值最高,是最理想的选择标记。利用 22 对多态性引物对 46 份荔枝种质进行聚类分析,构建树状图,结果表明:大多数种质相似系数在 0.63~0.95 之间,说明它们之间的亲缘关系较近,并发现淮枝(广东)与淮枝(海南)两者可能为同名异物品种。

关键词:荔枝;SSR 标记;遗传多样性

Analysis of Genetic Diversity within Litchi Varieties based on SSR Markers

ZENG Qi^{1,2}, LI Ming-fang¹, ZHENG Xue-qin¹

(¹Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences,
Haikou 571101; ²Hainan University of Agriculture, Haikou 571101)

Abstract: Twenty-two polymorphic primer pairs were selected from 53 SSR special primer pairs developed and designed by our laboratory to amplify genomic DNA of 46 litchi. 23 locus-specific SSR markers were obtained, and 54 alleles were found and the average alleles per marker was 2.4. The average observed heterozygosity, expected heterozygosity and PIC of all markers were 0.451, 0.355 and 0.507 respectively. Locus Lit6 had the highest number showed that it was an optimal marker. Then the selected polymorphic SSR markers were used to detect the genetic diversity of 46 litchi germplasm and to cluster them. The results revealed that similarity coefficients of most of litchi germplasm were among 0.63-0.95, which indicated that the genetic relationships between them were closer related. In addition, it was identified that Huaizhi (Hainan) and Huaizhi (Guangdong) were not the same cultivar but the different one which used the same name.

Key words: *Litchi chinensis* Sonn.; SSR marker; Genetic diversity

微卫星 (microsatellites) 或简单序列重复 (simple sequence repeats, SSRs) 是以 1~6 个碱基为基本单元的串联重复序列^[1], 普遍存在和随机分布于大多数真核生物的基因组中, 重复数具有高频率的变异。这种专化位点的多态性可以十分容易地通过设计特异引物进行 PCR 扩增检测。SSR 具有多态性高, 呈共显性遗传, 遵守孟德尔式分离规律, 在数量上没有生物学的限制, 实验操作简单, 对样品质量要求不高

等特点, 是品种鉴定和遗传分析的有用工具。

将 SSR 技术用于荔枝亲缘关系鉴定及遗传多样性研究已有很多报道^[2-5], 但所开发出来的特异性标记很少, 本研究采用自主研发的引物, 对 46 份荔枝材料进行遗传多样性分析, 旨在为荔枝种质资源研究提供更多的实验依据, 也为下一步构建荔枝功能基因遗传连锁图谱、实现分子标记辅助育种打下一定的基础。

收稿日期: 2009-04-14

修回日期: 2009-05-25

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务项目 (ITBBZD0631)

作者简介: 曾淇, 在读硕士, 研究方向为植物分子遗传学。E-mail: saarahqiay@163.com

通讯作者: 李明芳, 博士, 副研究员, 主要从事分子育种研究。E-mail: mingfangl@126.com

1 材料与amp;方法

1.1 材料

本试验以 32 个广东荔枝栽培品种、10 个海南

荔枝栽培品种和 4 个海南野生荔枝单株共计 46 份荔枝种质为试验材料,选取健壮、无病虫害的嫩叶,每份样品以保鲜薄膜袋包装,置于冰壶中带回,放在 -70℃ 冰箱内保存。具体情况见表 1。

表 1 荔枝供试材料

Table 1 Plant materials of litchi for test

编号 Code	材料名称 Name	采集地 Locality	编号 Code	材料名称 Name	采集地 Locality
1	攀谷子	广东农科院国家荔枝种质资源圃	24	糖驳	广东农科院国家荔枝种质资源圃
2	糯米糍	广东农科院国家荔枝种质资源圃	25	雪怀子	广东农科院国家荔枝种质资源圃
3	将军荔	广东农科院国家荔枝种质资源圃	26	勾背	广东农科院国家荔枝种质资源圃
4	尚书杯	广东农科院国家荔枝种质资源圃	27	麻雀春	广东农科院国家荔枝种质资源圃
5	黑叶	广东农科院国家荔枝种质资源圃	28	中山状元红	广东农科院国家荔枝种质资源圃
6	赤叶	广东农科院国家荔枝种质资源圃	29	桂味	广东农科院国家荔枝种质资源圃
7	八宝香	广东农科院国家荔枝种质资源圃	30	红荔	广东农科院国家荔枝种质资源圃
8	脆肉	广东农科院国家荔枝种质资源圃	31	孟田山枝	广东农科院国家荔枝种质资源圃
9	野生荔枝 17	海南坝王岭森林	32	黑叶圆	海南省陆侨公司荔枝生产基地
10	焦核三月红	广东农科院国家荔枝种质资源圃	33	南岛无核	海南省陆侨公司荔枝生产基地
11	陈紫	广东农科院国家荔枝种质资源圃	34	兰竹	广东农科院国家荔枝种质资源圃
12	三月红	广东农科院国家荔枝种质资源圃	35	野生荔枝 20	海南坝王岭森林
13	新兴香荔	广东农科院国家荔枝种质资源圃	36	野生荔枝 22	海南坝王岭森林
14	淮枝	广东农科院国家荔枝种质资源圃	37	海星 18 号	海南省农科院荔枝基地
15	四季荔	广东农科院国家荔枝种质资源圃	38	海星 13 号	海南省农科院荔枝基地
16	布袋	广东农科院国家荔枝种质资源圃	39	小丁香	海南省农科院荔枝基地
17	水东	广东农科院国家荔枝种质资源圃	40	农美 7 号	海南省农科院荔枝基地
18	玫瑰露	广东农科院国家荔枝种质资源圃	41	黑叶窄	海南省陆侨公司荔枝生产基地
19	水晶球	广东农科院国家荔枝种质资源圃	42	淮枝	海南省农科院荔枝基地
20	野生荔枝 21	海南坝王岭森林	43	秤砣	广东农科院国家荔枝种质资源圃
21	蟪蛄红	琼山市永兴镇儒吴村	44	妃子笑	广东农科院国家荔枝种质资源圃
22	牛心荔	琼山市永兴镇儒吴村	45	增城挂绿	广东农科院国家荔枝种质资源圃
23	七月熟	广东农科院国家荔枝种质资源圃	46	甜岩	广东农科院国家荔枝种质资源圃

1.2 DNA 的提取及浓度调整

以荔枝嫩叶为试材,采用改良 CTAB 法^[2]提取基因组 DNA。调整样品 DNA 含量至 100ng/μl。

1.3 SSR 引物

实验所用 SSR 引物由本课题组开发,引物由上海生工合成。引物的核苷酸序列及理论退火温度见表 2、表 3。表 2 中左引物是特殊引物,右引物为简便引物,左引物与右引物共同配成 1 个引物对。

1.4 引物的筛选

以无核荔枝 A4 号的基因组 DNA 为模板,更换不同的特异引物,建立以下 PCR 反应体系。

扩增反应体系总体积为 20μl,依次加入 10 ×

buffer 2μl、25mmol/L MgCl₂ 1.2μl、dNTP Mixture (各 10mmol/L) 0.4μl、特异引物(5mmol/L) 各 1μl、DNA (100ng/μl) 1μl、1U Taq DNA 聚合酶。

反应程序为:94℃,5min(预变性);94℃,0.5min(变性),51~59℃,1min(退火);72℃,2min(延伸)(35 个循环);72℃,10min(后延伸)。

利用变性聚丙烯酰胺凝胶电泳分离扩增产物并银染照相保存。具体方法参照李明芳^[2]的方法。

以 46 份荔枝种质的基因组 DNA 为模板,反应体系及 PCR 反应程序同上,进行多态性引物的筛选。利用筛选出来的多态性引物构建所有被研究种质的 SSR 指纹图谱。

表 2 荔枝特殊 SSR 引物的 PCR 参数一览表

Table 2 The PCR parameters of special SSR primer in the study

引物 Primer	左引物序列 Left primer sequence	右引物序列 Right primer sequence	片段长度 (bp) Length	重复序列 Repeat type	退火温度 (°C) Tm
T2	5' CAAGCGTGGTTGTGAGGA 3'	D5, D6	95	(ATC) ₅	57°C
T6	5'GTCCTGACATTGAAGATTCCT3'	D5, D6	149	(CAT) ₇	57°C
T7	5'CAGGGGTGATATTCCTTCTTTAT3'	D3, D4	162	(TTC) ₅ T	57°C
T8	5' GGCCACTTCTTCCCTTTAT 3'	D3, D4	115	(TTC) ₅ TCTTC	57°C
T10	5' TTCTGCTCTGGGTTCTTT 3'	D3, D4	128	(TTC) ₅	57°C
T20	5' TGGGAAACGCAGCCAAGC 3'	D3, D4	142	(CTT) ₅	57°C
T27	5' CGAAAGATGCCCTGCATA 3'	D3, D4	177	(CTT) ₅	53°C
T28	5' AAGCTGGAACCTCGTGAGACA 3'	D3, D4	94	(TTC) ₅	53°C
T31	5' GTGGGAAAAGTAATGCGACA 3'	D5, D6	104	(ATC) ₅ AT	57°C
T32	5' CGCCATTTCGATATGAGTGT 3'	D3, D4	158	(CTT) ₅	51°C
T35	5' CAAGCCTTCCATCCTCACT 3'	D3, D4	162	(TTC) ₅ T	53°C
T37	5' CGGGAGAACAAAGCTGAA 3'	D3, D4	141	(TTC) ₅	57°C
T42	5' ACGCTCGGAGGTTAGTGAATG 3'	D3, D4	136	(CTT) ₆ CT	53°C
T45	5' CCTCCAAGCAATGCAGCAAC 3'	D5, D6	162	(CAT) ₅ CA	59°C
T50	5' GCCAAAGACAAAAGCAATCAG 3'	D3, D4	105	(CTT) ₅	53°C
T52	5' TGCCGTCATAGATGCTGGAC3'	D5, D6	89, 88, 92	(ATC) ₅ A(ATC) ₆ A	57°C
T61	5' CCAGGAGCAATGGAAGAGTAG 3'	D5, D6	78	(CAT) ₅	57°C

D3:5' RVVVRVTTCTTCTTCTTCTTC 3' R = A 或 G, V = A 或 C 或 G
 D4:5' RVVVRVCTTCTTCTTCTTCTT 3' R = A 或 G, V = A 或 C 或 G
 D5:5' RYVRYVRATCATCATCATCATC 3' R = A 或 G, V = A 或 C 或 G, Y = C 或 T
 D6:5' RYVRYVCATCATCATCATCAT 3' R = A 或 G, V = A 或 C 或 G, Y = C 或 T

表 3 荔枝 SSR 引物的 PCR 参数一览表

Table 3 The PCR parameters of SSR primer in the study

引物 Primer	引物序列 Sequence	片段长 (bp) Length	重复序列 Repeat type	退火温度 (°C) Tm
T14-15	F - 5'TGCAGCTCACATATCCATT 3' R - 5'TGGGAAACAAGTAAGCTCATG3'	177	(TA) ₄ (CA) ₆	51°C
T18-19	F - 5' TTCTGTGCGGGCATTGAT 3' R - 5' GGCAAAGCAGCAAGACAAG 3'	135	(CT) ₄ ...(GA) ₆ G	53°C
T21-22	F - 5' GAGCGTCCAGAATGGAT 3' R - 5' TTCGCTTGCTTCGTTCC 3'	164	(TGA) ₅	53°C
T33-34	F - 5' GCCGTACATCCAC(T)CAA 3' R - 5'CACGGTCAAGAAATCCATT(A)C3'	234	(TCC) ₅	51°C
T38-39	F - 5' CTCGGCTTGCTTCTATTCT 3' R - 5' TTGGCATGAAATGAGGG 3'	167	(TC) ₅ T	51°C

F:正向引物 Forward primer; R:反向引物 Reverse primer

1.5 数据分析

1.5.1 SSR 标记的多态性分析 采用软件 POPgene3.2^[6] 分析各标记的等位基因数,平均期望杂合度 He (average expected heterozygosity)、实际观察杂合度 Ho (observed heterozygosity), 同时进行 Hardy-Weinberg 测试以及任意两个标记间的连锁不平衡测试。

根据 Botstein 等^[7] 的公式计算每一个群体每一个位点的多态信息含量。

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 - 2 \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n p_i^2 p_j^2$$

n 为等位基因数, p_i 为第 i 个等位基因的基因频率, p_j 为第 j 个等位基因的基因频率。

1.5.2 遗传多样性分析 选择扩增条带清晰且有多态性的 SSR 标记进行数据统计, 有带记为 1, 无带记为 0。根据 Nei 等^[8] 方法计算各种质间的相似系数 (genetic similarity), 进而对所测群体进行遗传多样性分析。

$$\text{相似系数 } F = \frac{2N_{xy}}{N_x + N_y} \quad (N_{xy} \text{ 是种质 } x \text{ 和 } y \text{ 共有的谱带数, } N_x \text{ 和 } N_y \text{ 分别是种质 } x \text{ 和种质 } y \text{ 各自的谱带数})$$

1.5.3 聚类分析 采用 UPGMA (unweighted pair-group method using an arithmetic average) 法, 运行 NTSYS2.10 软件^[9] 的 SHAN 程序进行聚类分析。

2 结果与分析

从 53 对引物中选出 40 对有用引物, 从 40 对引物中选出 22 对多态性引物。这 22 对多态性引物共扩增出 23 个 SSR 位点, 共检测到 54 个等位基因, 每个位点的等位基因 2~4 个; 平均每个 SSR 位点有等位基因数 2.4 个。用引物 T42 与 T14-15 扩增出来的 SSR 标记最多, 有 4 个等位基因 (表 4)。结果表明, 此 22 对特异性引物均可用于对供试材料进行基因组多态性分析, 其中 T18-19 引物扩增结果见图 1。

表 4 22 对 SSR 引物 (23 个 SSR 标记) 的多态性分析结果

Table 4 The polymorphism analysis of 22 SSR primer pairs (23 SSR locus) in *Litchi chinensis*

座位名 Locus	引物名称 Primer	等位基因数 No. of alleles	等位基因大小 (bp) Length	重复类型 Repeat type	样本量 Sample size	观察杂合度 Ho	预期杂合度 He	多态信息含量 PIC
Lit1	T2	2	95 ~ 105	(ATC) ₅	32	0.781	0.504	0.534
Lit2	T6	2	145 ~ 149	(CAT) ₇	32	0.656	0.468	0.584
Lit3	T7	2	162 ~ 170	(TTC) ₅ T	34	0.706	0.464	0.543
Lit4	T8	2	115 ~ 125	(TTC) ₅ TCTTC	26	0.640	0.509	0.587
Lit5	T10	3	128 ~ 275	(TTC) ₅	38	0.579	0.459	0.686
Lit6	T20	3	105 ~ 142	(CTT) ₅	37	0.784	0.614	0.714
Lit7	T27	2	177 ~ 200	(CTT) ₅	31	0.839	0.495	0.485
Lit8	T28	2	94 ~ 130	(TTC) ₅	40	0.125	0.119	0.358
Lit9	T28	2	95 ~ 104	(TTC) ₅	37	0.865	0.507	0.428
Lit10	T31	2	195 ~ 208	(ATC) ₅ AT	36	0.528	0.394	0.570
Lit11	T32	2	130 ~ 170	(CTT) ₅	36	0.083	0.081	0.364
Lit12	T35	2	130 ~ 141	(TTC) ₅ T	37	0.324	0.400	0.623
Lit13	T37	3	80 ~ 136	(TTC) ₅	26	0.440	0.358	0.584
Lit14	T42	4	162 ~ 172	(CTT) ₆ CT	31	0.129	0.235	0.526
Lit15	T45	2	120 ~ 125	(CAT) ₅ CA	35	0.714	0.466	0.533
Lit16	T50	2	89 ~ 130	(CTT) ₅	33	1.000	0.508	0.323
Lit17	T52	2	78 ~ 82	(ATC) ₅ A/(ATC) ₆ A	37	0.405	0.328	0.553
Lit18	T61	2	177 ~ 240	(CAT) ₅	38	0.105	0.101	0.374
Lit19	T14-15	4	135 ~ 140	(TA) ₄ (CA) ₆	36	0.278	0.360	0.604
Lit20	T18-19	2	164 ~ 175	(CT) ₄ ...(GA) ₆ G	40	0.050	0.141	0.341
Lit21	T21-22	3	234 ~ 240	(TGA) ₅	34	0.235	0.553	0.687
Lit22	T33-34	2	167 ~ 170	(TCC) ₅	36	0.028	0.028	0.318
Lit23	T38-39	2	114	(TC) ₅ T	38	0.079	0.077	0.346

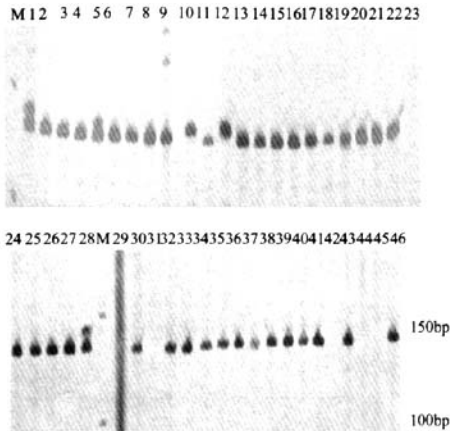


图1 特异性 SSR 引物 T18-19 的电泳图谱
Fig.1 Amplified band patterns with T18-19

2.1 SSR 标记的多态性分析

从表 4 可以看出,对于整个群体,各标记的观察杂合度值在 0.028 ~ 1.000 之间(平均 0.432),平均期望杂合度和 PIC 值分别为 0.355 和 0.507。对杂合度的分析揭示出供试材料间的遗传多样性,供试群体的观察杂合度大于期望杂合度说明了在群体内杂合子个体所占比例较大。其中 Lit22 位点的期望

杂合度和 PIC 值最低,为 0.028 和 0.318;而 Lit6 位点则拥有最高的期望杂合度和 PIC 值,为 0.614 和 0.714。

采用软件 POPgene3.2 进行单个标记的 Hardy-Weinberg 测试以及任意两个标记间的连锁不平衡测试,结果发现 Lit7、Lit9、Lit16、Lit20 和 Lit21 均表现出显著偏离 Hardy-Weinberg expectation ($p < 0.01$), Lit14、Lit19、Lit20 3 个 SSR 标记位点两两之间存在连锁不平衡($p < 0.05$)。

2.2 遗传多样性分析

用 22 对多态性引物对 46 份荔枝种质进行遗传多样性分析,结果如图 2。相似系数越高,表明亲缘关系越近。从表 4 中可以看出,46 份荔枝种质遗传相似系数在 0.292 ~ 0.954 范围内,平均 0.65。说明荔枝栽培品种的遗传多样性不够丰富。其中,新兴香荔与四季荔、海垦 13 号与海垦 18 号间的遗传相似性最大,相似系数为 0.954;其次是糯米糍与黑叶,其相似系数为 0.938;淮枝(海南)与野生荔枝 17 之间的的遗传相似性最小,相似系数仅为 0.292;其次是淮枝(广东)与淮枝(海南),其相似系数为 0.323。

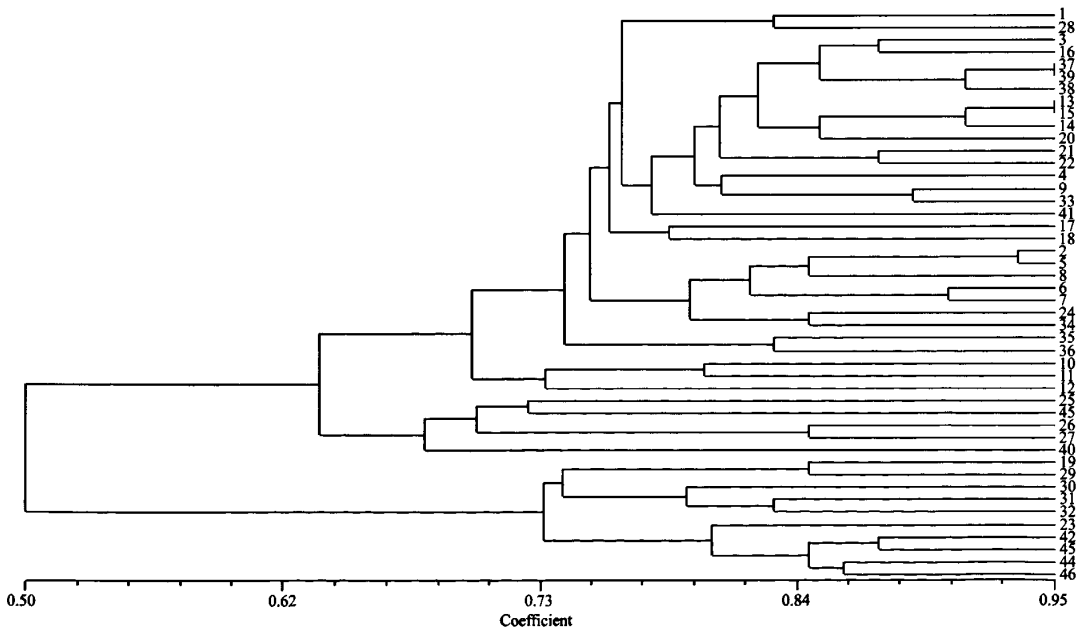


图2 聚类分析图

Fig.2 Clustering analysis

2.3 聚类分析

在相似系数为 0.631 处,供试品种被划分为三大类:第 1 类包括攀谷子、中山状元红、将军荔、布

袋、新兴香荔、四季荔、淮枝(广东)、尚书怀、水东、玫瑰露、糯米糍、黑叶、脆肉、赤叶、八宝香、糖驳、兰竹、焦核三月红、陈紫、三月红、海垦 18 号、海垦 13

号、小丁香、蟾蜍红、牛心荔、南岛无核、黑叶窄、野生荔枝 17、野生荔枝 20、野生荔枝 21 和野生荔枝 22;第 2 类包括雪怀子、秤砣、勾背、麻雀春和农美 7 号;第 3 类包括七月熟、增城挂绿、妃子笑、甜岩、黑叶圆、淮枝(海南)、桂味、水晶球、红荔、孟田山枝。而在 0.685 相似系数水平上则又可将其分成四大类,其中第 1、3 类不变,第 2 类中农美 7 号被单独划分为一类,与其他供试品种之间的相似系数均比较低,有待进一步研究。由上述结果可以看出,可能由于荔枝栽培品种的取材来源不同,相同地方的荔枝品种之间亲缘关系更近。

3 讨论

3.1 关于荔枝 SSR 多态性标记的开发及供试群体遗传结构变异的探讨

多态信息含量(PIC)是衡量基因片段多态性较好的指标,能反映出某一个遗传标记所包含的或所提供的遗传信息的容量,当 $PIC > 0.5$ 时,该座位为高度多态性座位; $0.25 < PIC < 0.5$ 时,为中度多态性座位; $PIC < 0.25$ 时,为低度多态性座位^[10]。同时多态信息含量关系到该座位可用性及使用效率,多态信息含量越大,在一个群体中,该座位杂合子比例则越大,提供的遗传信息就越高。从本研究选用的 23 个微卫星位点的多态性来看,其中有 15 个位点处于高度多态,另外 7 个位点均属于中度多态性位点,所有位点的平均 PIC 值大于 0.5,能为分析遗传多样性提供充分的信息。还有,在遗传连锁分析中,PIC 值大于 0.7 的微卫星位点为最理想的选择标记,因为在这种情况下,双亲在该位点通常是杂合的,在其后代中可以清楚地观察到等位基因的分离。本试验中 Lit6 位点的 PIC 值为 0.714,与其他 22 个标记相比,更适于荔枝遗传多样性的分析及荔枝遗传图谱的构建。

Weight^[11]指出固定指数 $F_{st} = 0 \sim 0.05$ 说明群体间的遗传差异很小; $F_{st} = 0.05 \sim 0.15$ 说明群体间存在中等程度的遗传差异; $F_{st} = 0.15 \sim 0.25$ 说明群体间的遗传差异比较大; $F_{st} > 0.25$ 说明群体间的遗传差异很大。在本研究中,广东荔枝栽培群体和海南荔枝栽培群体的 F_{st} 值为 0.042,表明两个群体间的遗传差异很小。

等位基因数是反映群体遗传变异的另一个重要指标。本研究中的 23 个微卫星位点中,平均等位基因数为 2.4,这一方面说明本研究的样本量足够,另一方面也进一步说明这 22 对引物在荔枝种质研究

中所提供的多态信息含量较为丰富且基因频率分布较为均匀,用其分析遗传多样性具有较高的有效性和可靠性。

基因杂合度也称为基因多样性,一般认为它是度量群体遗传变异的一个最适参数,平均期望杂合度大小近似的反映出遗传结构变异程度的高低,杂合度越大,变异越大,对环境适应能力越强,本研究分析的 23 个 SSR 标记中,各位点的平均期望杂合度为 0.355,说明供试群体的遗传结构变异程度中等。供试群体的观察杂合度大于期望杂合度,也说明了在群体内杂合子个体所占比例较大,虽然两者数值并不高,但可以看出,杂合个体还是比较多的。

3.2 关于荔枝种质遗传多样性及亲缘关系的探讨

本研究以 32 个广东荔枝栽培品种、10 个海南荔枝栽培品种和 4 个野生荔枝栽培品种为材料,用本实验室自主研究开发出来的荔枝 SSR 标记进行分析,发现大多数供试荔枝品种间的遗传相似系数在 0.631 以上,平均为 0.650,说明荔枝栽培品种的遗传多样性没有形态学上表现的那么丰富,此结果与易干军等^[12]类似。

在聚类图中,依相似系数 0.73 的水平,广东品种三月红被单独聚为一类,除了与焦核三月红和陈紫之间的遗传距离比较近外,与其他广东荔枝品种间的遗传距离都比较大,这也与易干军等^[12]的结果相同,但与李明芳^[2]的结果有点差异。按照李明芳的结果,三月红与妃子笑距离最近,相似系数为 0.786,单独聚在一起,而本研究获得的结果是三月红与妃子笑差异很大,两者相似系数仅为 0.4,分别聚在不同的组。原因可能是两者所用 SSR 标记不同所致。总的来说,本研究广东荔枝分类结果与周俊辉等^[13]对广东荔枝品种进行的过氧化物同工酶分析结果基本类似;海南荔枝分类结果与陈业渊等^[14]及王家保等^[15]结果类似。

海南品种农美 7 号在相似系数 0.685 水平上即被单独聚为一组,与其他供试品种之间的相似系数均比较低,有待进一步研究。

在所有供试品种中广东荔枝栽培品种新兴香荔与四季荔、淮枝之间亲缘关系最近,其相似系数分别为 0.954、0.938,海南栽培品种海垦 13 号与海垦 18 号、小丁香之间亲缘关系最近,其相似系数分别为 0.954、0.923。可以看出,可能由于荔枝栽培品种的取材来源不同,相同地方的荔枝品种之间亲缘关系更近。本研究中两个同名品种淮枝(广东)与淮枝

(海南)相似系数为 0.323,说明两者为同名异物种。野生荔枝 17 与南岛无核的相似系数高达 0.892,说明南岛无核可能是由野生荔枝种选育而来。

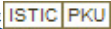
参考文献

- [1] Litt M, Lutyj A. A hypervariable microsatellite revealed by *in vitro* amplification of dinucleotide repeats within the cardiac muscle actin gene [J]. *Am J Hum Genet*, 1989, 44:397-401
- [2] 李明芳. 荔枝 SSR 标记的研究及其对部分荔枝种质的遗传多样性分析[D]. 海南儋州:华南热带农业大学, 2003
- [3] 姚庆荣. 用 SSR 标记对中国荔枝 (*Litchi chinensis* Sonn.) 野生种质资源的遗传多样性分析[D]. 海南儋州:华南热带农业大学, 2004
- [4] Viruel M A, Hormaza J I. Development, characterization and variability analysis of microsatellites in lychee (*Litchi chinensis* Sonn, *Sapindaceae*) [J]. *Theor Appl Genet*, 2004, 108 (5):896-902
- [5] Sim C H, Mahani M C, Choong C Y, et al. Transferability of SSR markers from lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) to pulasan (*Nephelium ramboutan-ake* L.) [J]. *Fruits*, 2006, 60(6):379-385
- [6] Raymond M, Rousset F. Population genetics software for exact test and ecumenicism [J]. *Journal of Heredity*, 1995, 86:248-249
- [7] Botstein D, White R L, Skolnick M, et al. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment lengths polymorphisms [J]. *Am J Hum Genet*, 1980, 32:314-331
- [8] Nei M, Li W H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonuclease [J]. *PNAS*, 1979, 76:5269-5273
- [9] Rohlf F J. NTSYS-pc: Numerical taxonomy and multivariate analysis system [P]. New York, USA, Version 2.1 Exeter Publications, 2000
- [10] Vanhala T, Tuiskula-Haavisto M, Elo K, et al. Evaluation of genetic variability and genetic distances between eight chicken lines using microsatellite markers [J]. *Poultry Science*, 1998, 77:783-790
- [11] Wright S. Evolution and the genetics of population variability within and among natural population [D]. Chicago: University of Chicago Press, 1978
- [12] 易干军, 霍合强, 陈大成, 等. 荔枝品种亲缘关系的 AFLP 分析 [J]. *园艺学报*, 2003, 30(4):399-403
- [13] 周俊辉, 罗浩南, 黄江波, 等. 广东 35 个荔枝品种资源的过氧化物酶同工酶分析 [J]. *仲恺农业技术学院学报*, 2001, 14(2):20-25
- [14] 陈业渊, 邓德生, 张欣, 等. 海南部分荔枝种质的 RAPD 分析 [J]. *园艺学报*, 2004, 31(2):224-226
- [15] 王家保, 邓德生, 徐碧玉, 等. 海南荔枝 (*Litchi chinensis* Sonn.) 主要栽培品种的 RAPD 分析 [J]. *农业生物技术学报*, 2006, 14(3):391-396
- [16] 郭蓓, 邱丽娟, 邵桂花, 等. 大豆耐盐基因的 PCR 标记 [J]. *中国农业科学*, 2000, 33(1):427-432
- [17] 郭宝生. 中野 1 号大豆耐盐生理及遗传差异分析 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2004
- [18] Harlan J R. Genetic resources in wild relatives of crops [J]. *Crop Sci*, 1976, 16:329-333
- [19] Pantalone V R, Kenworthy W J, James L H. Chloride tolerance in soybean and perennial *Glycine* accessions [J]. *Euphytica*, 1997, 97:235-239
- [20] 王克晶, 李福山. 野生大豆种质杂交导入的育种效果 [J]. *植物遗传资源科学*, 2000, 1(3):34-38
- [21] Lu J M, Liu Y L, Hu B, et al. Salt glands in *Glycine soja* L. China [J]. *Science Bulletin*, 1999, 44:923-926
- [22] 杨晓英, 章文华, 王庆亚, 等. 江苏野生大豆的耐盐性和离子在体内的分布及选择性运输 [J]. *应用生态学报*, 2003, 14(2):2237-2240
- [23] 於丙军, 罗庆云, 刘友良. 盐胁迫对盐生野大豆生长和离子分布的影响 [J]. *作物学报*, 2001, 27(6):776-780
- [24] 王洪新, 胡志昂, 钟敏, 等. 盐渍条件下野大豆群体的遗传分化和生理适应:同工酶和随机扩增多态 DNA 研究 [J]. *植物学报*, 1997, 39(1):34-42
- [25] 於丙军, 罗庆云, 曹爱忠, 等. 栽培大豆和野生大豆耐盐性及离子效应的比较 [J]. *植物资源与环境学报*, 2001, 10(1):25-29
- [26] 王敏, 朱怀梅, 苏琳婧, 等. 野生大豆耐盐性材料初步筛选 [J]. *河南农业科学*, 2005(7):31-34
- [27] Wahid A, Rao A R, Rasul E. Germination of seeds and propagules under salt stress [G]//Peessarakli M. *Hand Book of Plant and Corp Stress*. Marcel Dekker, New York, 1999:1153-1671
- [28] Abel G H, Mackenize A T. Salt tolerance of soybean varieties during germination and later growth [J]. *Crop Sci*, 1964, 4:157-161
- [29] 邵桂花, 常汝镇, 陈一舞. 大豆耐盐性研究进展 [J]. *大豆科学*, 1993, 12(3):244-248
- [30] 於丙军, 罗庆云, 刘友良. NaCl 胁迫下野生和栽培大豆幼苗体内离子的再转运 [J]. *植物生理与分子生物学学报*, 2003, 29(1):39-44
- [31] 罗庆云, 於丙军, 刘友良. 大豆苗期耐盐性鉴定指标的检验 [J]. *大豆科学*, 2001, 20(3):177-182

(上接第 297 页)

- [13] 郭蓓, 邱丽娟, 邵桂花, 等. 大豆耐盐基因的 PCR 标记 [J]. *中国农业科学*, 2000, 33(1):427-432
- [14] 郭宝生. 中野 1 号大豆耐盐生理及遗传差异分析 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2004
- [15] Harlan J R. Genetic resources in wild relatives of crops [J]. *Crop Sci*, 1976, 16:329-333
- [16] Pantalone V R, Kenworthy W J, James L H. Chloride tolerance in soybean and perennial *Glycine* accessions [J]. *Euphytica*, 1997, 97:235-239
- [17] 王克晶, 李福山. 野生大豆种质杂交导入的育种效果 [J]. *植物遗传资源科学*, 2000, 1(3):34-38
- [18] Lu J M, Liu Y L, Hu B, et al. Salt glands in *Glycine soja* L. China [J]. *Science Bulletin*, 1999, 44:923-926
- [19] 杨晓英, 章文华, 王庆亚, 等. 江苏野生大豆的耐盐性和离子在体内的分布及选择性运输 [J]. *应用生态学报*, 2003, 14(2):2237-2240
- [20] 於丙军, 罗庆云, 刘友良. 盐胁迫对盐生野大豆生长和离子分布的影响 [J]. *作物学报*, 2001, 27(6):776-780
- [21] 王洪新, 胡志昂, 钟敏, 等. 盐渍条件下野大豆群体的遗传分化和生理适应:同工酶和随机扩增多态 DNA 研究 [J]. *植物学报*, 1997, 39(1):34-42
- [22] 於丙军, 罗庆云, 曹爱忠, 等. 栽培大豆和野生大豆耐盐性及离子效应的比较 [J]. *植物资源与环境学报*, 2001, 10(1):25-29
- [23] 王敏, 朱怀梅, 苏琳婧, 等. 野生大豆耐盐性材料初步筛选 [J]. *河南农业科学*, 2005(7):31-34
- [24] Wahid A, Rao A R, Rasul E. Germination of seeds and propagules under salt stress [G]//Peessarakli M. *Hand Book of Plant and Corp Stress*. Marcel Dekker, New York, 1999:1153-1671
- [25] Abel G H, Mackenize A T. Salt tolerance of soybean varieties during germination and later growth [J]. *Crop Sci*, 1964, 4:157-161
- [26] 邵桂花, 常汝镇, 陈一舞. 大豆耐盐性研究进展 [J]. *大豆科学*, 1993, 12(3):244-248
- [27] 於丙军, 罗庆云, 刘友良. NaCl 胁迫下野生和栽培大豆幼苗体内离子的再转运 [J]. *植物生理与分子生物学学报*, 2003, 29(1):39-44
- [28] 罗庆云, 於丙军, 刘友良. 大豆苗期耐盐性鉴定指标的检验 [J]. *大豆科学*, 2001, 20(3):177-182

基于SSR标记的荔枝种质遗传多样性分析

作者: 曾淇, 李明芳, 郑学勤, ZENG Qi, LI Ming-fang, ZHENG Xue-qin
作者单位: 曾淇, ZENG Qi(中国热带农业科学院热带生物技术研究所, 海口, 571101; 海南大学农学院, 海口, 571101), 李明芳, 郑学勤, LI Ming-fang, ZHENG Xue-qin(中国热带农业科学院热带生物技术研究所, 海口, 571101)
刊名: 植物遗传资源学报 
英文刊名: JOURNAL OF PLANT GENETIC RESOURCES
年, 卷(期): 2010, 11(3)

参考文献(15条)

1. Rohlf F J NTSYS-pc: Numerical taxonomy and multivariate analysis system 2000
2. Nei M; Li W H Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonuclease [外文期刊] 1979
3. Botstein D; White R L; Skolnick M Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment lengths polymorphisms 1980
4. Raymond M; Rousset F Population genetics software for exact test and ecumenicism 1995
5. Sim C H; Mahani M C; Choong C Y Transferability of SSR markers from lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) to pulasan (*Nephelium ramboutan-ake* L.) [外文期刊] 2006(06)
6. Viruel M A; Hormaza J I Development, characterization and variability analysis of microsatellites in lychee (*Litchi chinensis* Sonn, Sapindaceae) [外文期刊] 2004(05)
7. 姚庆荣 用SSR标记对中国荔枝(*Litchi chinensis* Sonn.)野生种质资源的遗传多样性分析 2004
8. 李明芳 荔枝SSR标记的研究及其对部分荔枝种质的遗传多样性分析 2003
9. 王家保; 邓穗生; 徐碧玉 海南荔枝(*Litchi chinensis* Sonn.)主要栽培品种的RAPD分析 [期刊论文]-农业生物技术学报 2006(03)
10. 陈业渊; 邓穗生; 张欣 海南部分荔枝种质的RAPD分析 [期刊论文]-园艺学报 2004(02)
11. 周俊辉; 罗浩南; 黄江波 广东35个荔枝品种资源的过氧化物酶同工酶分析 [期刊论文]-仲恺农业技术学院学报 2001(02)
12. 易干军; 霍合强; 陈大成 荔枝品种亲缘关系的AFLP分析 [期刊论文]-园艺学报 2003(04)
13. Wright S Evolution and the genetics of population variability within and among natural population 1978
14. Vanhala T; Tuiskula-Haavisto M; Elo K Evaluation of genetic variability and genetic distances between eight chicken lines using microsatellite markers 1998
15. Litt M; Lutyj A A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of dinucleotide repeats within the cardiac muscle actin gene 1989

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zwyczyxb201003009.aspx