

薏苡种质资源的 SRAP 分子标记研究

王 硕¹, 何金宝², 农民英², 赵继训³, 杨志清^{3*}

1. 云南省保山市农业研究所, 云南 保山 678000

2. 云南文山州农业科学研究所, 云南 文山 663000

3. 云南农业大学, 云南 昆明 650201

摘要: 目的 对 25 个薏苡种质资源进行序列相关扩增多态性 (SRAP) 分子标记研究。方法 采用改良 CTAB 法提取的薏苡叶片基因组 DNA 为模板, 利用优化的 SRAP-PCR 反应体系, 从 88 对引物中筛选出 6 对理想的引物组合, 对 25 个薏苡种质资源进行 SRAP-PCR 扩增。结果 获得 66 条清晰可重复的多态性条带, 多态率达 93%, 根据 SRAP 扩增结果, 运用 NTSYPC2.1 分析软件计算各品种间的遗传相似系数, 结果表明这些材料间的遗传相似系数在 0.48~0.82。结论 聚类结果发现, 25 个薏苡居群可分为 4 个类群。

关键词: 薏苡; 序列相关扩增多态性标记; 遗传多样性; 聚类分析; PCR

中图分类号: R282.12 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2015)01-0112-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.01.022

Research on SRAP molecular markers in germplasm resources of *Coix lacryma-jobi*

WANG Shuo¹, HE Jin-bao², NONG Min-ying², ZHAO Ji-xun³, YANG Zhi-qing³

1. Baoshan Reserch Institute of Agricultural Sciences, Baoshan 678000, China

2. Wenshan Reserch Institute of Agricultural Sciences, Wenshan 663000, China

3. Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China

Abstract: Objective To study the 25 germplasm resources of *Coix lacryma-jobi* by the technique of SRAP molecular markers. **Methods** Taking genome DNA in the leaves of *C. lacryma-jobi* extracted by modified CTAB method as template. Six ideal primer pairs were selected from 88 primer pairs by using the optimized SRAP-PCR reaction system and the amplification of 25 germplasm resources by SRAP-PCR were carried out. **Results** The total 66 clear and repeatable polymorphic bands were obtained, and the polymorphic rate was up to 93%. The coefficient of genetic similarity among each species was calculated by using NTSYPC 2.1 software. The results indicated that the coefficient of genetic similarity of these materials ranged from 0.48 to 0.82. **Conclusion** The 25 populations of *C. lacryma-jobi* could be clustered into four groups.

Key words: *Coix lacryma-jobi* L.; SRAP markers; genetic diversity; cluster analysis; PCR

薏苡 *Coix lacryma-jobi* L. 为禾本科薏苡属植物, 全世界约 10 种, 主产热带亚洲^[1], 原产于东南亚的热带和亚热带地区, 以及中国的广西或云贵高原一带。根据考古资料表明, 薏苡是华夏民族最早开发利用的禾本科植物之一, 至少有 6 000 年以上的栽培历史。薏苡 *Coix lacryma-jobi* L. 是我国最早开发利用的禾本科 (Gramineae) 薏苡属 *Coix* Linn. 植物之一, 有悠久的栽培历史。薏苡子实营养丰富, 被誉为禾谷类“保健滋补之王”, 是世界范围内备受

青睐的保健粮食, 是中国传统药食兼用作物。薏苡的蛋白质量平均比水稻、玉米、小麦、高粱等作物高 5%~8%, 脂肪量也高 2%~5%, 多数氨基酸和不饱和脂肪酸也比其他粮食作物稍高, 其茎秆是家畜良好的饲料, 薏苡脱壳后的糠壳副产品, 富含维生素 E, 也用于酿造, 薏苡的茎、叶、糠壳及酿造副产品又是良好的菇类培养料, 研究其营养价值并提高产量, 具有重要的现实意义。同时薏苡仁 *Coicis Semen* 又具有健脾利湿、清热解毒、除痰止

收稿日期: 2014-05-28

基金项目: 云南省科技厅基金项目 (2011FB055); 云南省科技计划项目 (2014RE002)

作者简介: 王 硕 (1989—), 女, 云南保山腾冲人, 硕士, 主要从事作物栽培学与耕作学研究。E-mail: wangshuo1989121@163.com

*通信作者 杨志清 (1968—), 女, 云南普洱人, 副教授, 硕士, 主要从事药用植物栽培与资源评价研究。E-mail: yzq1468@126.com

泄等药理作用^[2-5]。两千多年前,中国古代医家已将薏苡仁用于临床,健脾、利湿、清热、排脓,民间亦将根、叶作药用;现代研究也证明薏苡有抗肿瘤、调节免疫、降血糖、降血压、抗病毒等方面的药理活性。近年来国内外都加快了对薏苡的开发、利用研究,特别是随着国际上“功能食品”的兴起和中医、中药国际地位的提高,使得薏苡资源的研究地位得到不断地提升。

关于薏苡属植物的分类一直有分歧,有分为薏苡和川谷 2 个种^[6-7];也有人认为薏苡是一个变种 *C. lacryma-jobi* var. *frumentacea* Makino^[8]或 *Coix lacryma-jobi* var. *ma-yuen* (Roman.) Stapf^[9];庄体德等^[8]将薏苡属植物分为 3 种 4 变种;陆平等^[9]提出广西薏苡包括 4 种 8 变种;1977 年出版的《中国植物志》将我国薏苡属植物定为 5 种 4 变种^[11];2006 年出版的 *Flora of China* 将中国薏苡属分为 2 种 4 变种。

近年来,由于各地经济结构变化,农业产业调整,一些地区如山东、江苏种植面积大量减少;河南对外出口量减少;以往传统种植地区现已很少^[10]。陈成斌^[11]报道我国水生薏苡及野生薏苡资源的原生地破坏日益严重;中国农业科学院作物品种资源研究所保存登记的薏苡种质有 284 份,其中产于广西 121 份占 42.8%,贵州 27 份占 9.5%,安徽 22 份占 7.7%,江浙地区 27 份占 9.5%,其他地区共占 30.7%,来源缺乏广泛性。我国薏苡主要产区有辽宁、浙江、江苏、安徽、江西、河南、湖南、四川、贵州、云南等地^[12]。云南是我国重要的薏苡初生中心之一,由于山区“立体气候”和复杂的地形条件,生态环境变化多样,不仅栽培薏苡在全省分布较广,而且分布着大量的野生薏苡资源^[5]。薏苡在云南主要分布在文山州、曲靖市、德宏州、西双版纳州等地^[13]。长期以来,薏苡传统种植于山区边角地块、房前屋后、稀疏林地等土壤,栽培粗放,栽培技术落后,病虫害较重,加上生产上长期沿用一些老的地方品种,而这些品种年限过长,已表现出显著的混杂、衰老、退化、丧失了优良种性。云南薏苡资源普遍存在着品种单一、品质差、产量低、生产效益低等状况,严重影响了薏苡的生产效益,进行薏苡优良品种的选育和标准化种植,是实现薏苡产业发展的根本保证,也是一项迫在眉睫的工作。

遗传多样性是种质资源的重要组成部分,也是维持种群稳定的重要因素并为种群提供适应性和进

化潜力^[14-15],种群遗传多样性的研究对种质资源保护有着重要的意义。种内遗传多样性越丰富,物种对环境变化的适应能力也就越强,育种成效的贡献也越大。目前对薏苡种质资源的研究还处在考察、收集与整理阶段,还没有进行全面深入的研究,对种属之间的亲缘关系、进化演变以及对居群间、居群内的遗传变异研究甚少。

相关序列扩增多态性(sequence-related amplified polymorphism, SRAP)标记是目前研究遗传多样性和遗传结构最理想的标记之一。SRAP 主要检测基因的开放解读框(ORFs)区域,具有简单、高效、共显性、重复性高、易测序等优点,而且多数 SRAP 标记在基因组分布是均匀的^[16-17]。因不同个体以及物种内含子、启动子与间隔区长度不等而产生多态性,SRAP 标记较 SSR 更为丰富^[18],是比较理想的分子标记技术,在植物遗传多样性、图谱构建及重要性状基因标记研究等方面具有重要的应用价值。目前,该标记技术在植物多个研究领域得到了快速发展,而在薏苡研究相对较少,俞旭平等^[19]对薏苡 SRAP 反应体系进行了优化。本研究引用俞旭平等^[19]薏苡 SRAP 反应体系的优化中所设计引物,共合成 8 个正向引物和 11 个反向引物组合成 88 对引物对收集的 25 个薏苡种质资源进行 SRAP 标记的多样性分析,为进一步研究薏苡种质资源的分子鉴定提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究以采集于不同地方的 25 个居群为材料,由文山州农业科学研究院何金宝高级农艺师鉴定为薏苡 *Coix lacryma-jobi* L. 25 个样品信息见表 1。

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取 用改良 CTAB 法提取薏苡叶片 DNA。取新鲜叶片 0.5~1.0 g,剪碎放入干净的研钵中,立刻加入适量液氮迅速研磨,研磨 4~5 次之后转入 2 mL 的离心管,依次加入经 65 °C 水浴的 CTAB 提取缓冲液 800 μ L、PVP 200 μ L、CTAB 提取液 200 μ L、无水乙醇 100 μ L,摇匀后于 65 °C 水浴 1 h (每 15 分钟摇匀 1 次),取在离心机中 12 000 r/min 离心 5 min,吸取上清液加入等体积的氯仿-异戊醇(24:1),缓慢的摇匀(7 min)后取出 12 000 r/min 离心 15 min,再吸取上清液重复此步骤,取上清液加入等体积的提前于 -20 °C 预冷的异丙醇,缓慢地摇匀后存于 -20 °C 环境抽提 2.5 h 左右,12 000 r/min 离心 15 min,去上清,

表 1 供试材料编号及采集地

Table 1 Code number and collection place of plants

编号	采集地	编号	采集地
1	云南广南阿科	14	云南德宏梁河
2	云南广南堂上	15	云南西双版纳
3	云南广南者太	16	老挝
4	云南广南者孟	17	云南德宏
5	云南广南八达	18	云南师宗高良
6	云南广南德美	19	云南文山
7	云南瑞丽南桑	20	山西平定五谷
8	云南瑞丽项弄	21	山东临沂
9	云南瑞丽姐岗	22	陕西省农科院
10	云南瑞丽弄贤	23	中国农科院品质所
11	云南普洱宁洱	24	广西农科院
12	云南梁河大广	25	云南文山州农科所
13	越南		

加入现配的 70%乙醇 1 000 mL, 颠倒离心管 3 次, 12 000 r/min 离心 5 min, 再去上清重复此步骤, 去上清之后于室温下自然晾干, 次日加入 ddH₂O 30~60 μ L, 隔夜后用 1.5%琼脂凝胶电泳检测基因组 DNA 质量, 选取质量好的 DNA 置于-20 $^{\circ}$ C 下保存备用。

1.2.2 DNA 的检测与纯化 DNA 的纯化采用的是 Fermentas MBIDNA 纯化试剂盒。据每个样品 DNA 的体积加入等体积的 TBE conversion 缓冲液溶液, 再加入 5~10 倍的 Binding 缓冲液结合溶解液, 55 $^{\circ}$ C 水浴 3~5 min, 再加入 1/10 的 Slica susp 硅胶吸附剂, 震荡之后水浴 15 min (摇 1 次/3 min), 取出 13 000 r/min 离心 30 s, 去上清, 加入存于-20 $^{\circ}$ C 的溶解缓冲液(5 mL 溶解缓冲液、100 mL 水、100 mL 无水乙醇)震荡, 13 000 r/min 离心 30 s, 重复此步骤 3 次, 置于空气中干燥 30 min 以上, 等彻底干燥后加入适量的灭菌去离子水, 于 55 $^{\circ}$ C 温浴 5 min, 13 000 r/min 离心 30 s, 取上清液至新的离心管内, 再重复此步骤 2 次, 取上清液至离心管, 置于 4 $^{\circ}$ C 冰箱过夜溶解使用, 用 1.5%琼脂凝胶电泳检测基因组 DNA 质量。

引物采用俞旭平等^[19]已发表的引物组合, 对实验材料进行多态性引物筛选, 引物由晨绿科技有限公司合成(表 2)。

反应体系参照俞旭平等^[19]研究的体系进行改良, ddH₂O 8.8 μ L, 缓冲液 2 μ L, MgCl₂ 1.5 μ L, 正向引物 0.6 μ L, 反向引物 0.6 μ L、dNTP 0.3 μ L、Taq 0.2 μ L。

表 2 SRAP 标记引物

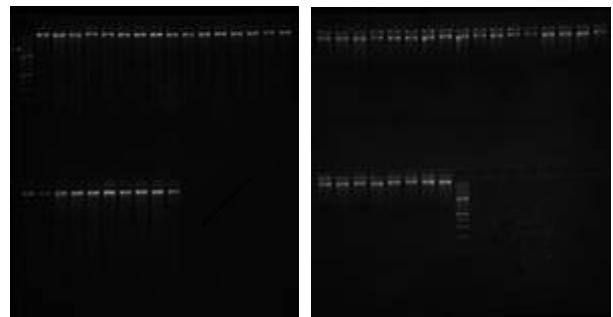
Table 2 SRAP marker primer

编号	正向 (me) 引物 (5'-3')	反向 (em) 引物 (5'-3')
1	TGAGTCCAAACCGGATA	GACTGCGTACGAATTAAT
2	TGAGTCCAAACCGGAGC	GACTGCGTACGAATTGAC
3	TGAGTCCAAACCGGAAT	GACTGCGTACGAATTGAC
4	TGAGTCCAAACCGGACC	TGAGTCCAAACCGGAGA
5	TGAGTCCAAACCGGAAG	GACTGCGTACGAATTAAC
6	TGAGTCCAAACCGGTAA	GACTGCGTACGAATTGCA
7	TGAGTCCAAACCGGTCC	GACTGCGTACGAATTCAA
8	TGAGTCCAAACCGGTGC	GACTGCGTACGAATTCTC
9	TGAGTCCAAACCGGTGC	GACTGCGTACGAATTCTC
10	TGAGTCCAAACCGGTGC	GACTGCGTACGAATTCTC
11	TGAGTCCAAACCGGTGC	GACTGCGTACGAATTCTC

2 结果与分析

2.1 基因组 DNA 的纯化

提取高质量的 DNA 是薏苡 SRAP 分子标记研究的基础, 实验采用改良 CTAB 法提取薏苡基因组 DNA, 为保证实验的高效进行, 对提取的 DNA 进行纯化合并来提高浓度与纯度。经 1.4%的凝胶电泳检测, 未纯化 DNA 检测的结果(图 1), 其拖尾明显, 表明纯度不高, 而纯化后 DNA 检测结果(图 1), 在纯化过程中进行了部分 DNA 的合并, 而溶解时适当的减少了灭菌水的量, 因此可以看出 DNA 条带更亮、更清晰且拖尾明显变淡, 说明 DNA 的纯度及浓度都得到了明显的提高, 符合后续 SRAP-PCR 的实验要求。



未纯化

纯化后

图 1 DNA 凝胶检测和纯化结果

Fig. 1 Detection and purification of DNA gel

2.2 引物和退火温度的筛选

随机选取 5 个居群, 对 88 对随机引物进行筛选, 同时每对引物设置 52、53、54、55、56 $^{\circ}$ C 退火温度, 通过分析对比薏苡基因组 DNA 的扩增产物, 逐一淘汰不理想引物组合, 筛选出扩增条带多, 具有明显特异性的理想组合(图 2), 并确定最优组合的最佳退火温度, 最终确定 6 对最优引物组合(表 3)。

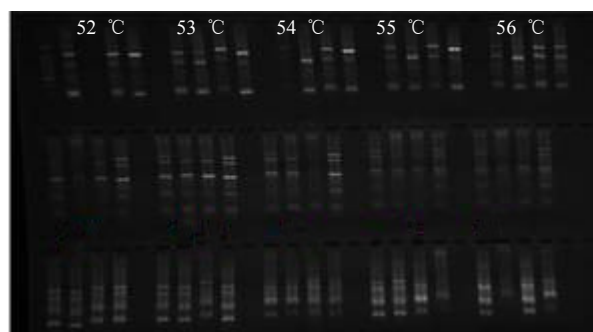


图 2 me1-em10、me5-em5、me2-em8 引物退火温度的筛选
Fig. 2 Screening of annealing temperature for me1-em10, me5-em5, and me2-em8 primers

表 3 6 对引物 SRAP 的扩增结果

Table 3 SRAP amplification for six pairs of primers

引物	扩增出的条带数	多态性条带数	多态率/%	退火温度/°C
me1-em10	17	15	88	56
me5-em5	17	15	88	54
me2-em8	12	12	100	54
me4-em4	9	8	89	55
me3-em3	7	7	100	55
me8-em1	9	9	100	54

2.3 基因组 DNA 的 SRAP 多态性

利用筛选的 6 对引物组合对 25 个薏苡居群扩增, 扩增产物经变性后, 经 8%聚丙烯酰胺电泳检测, 统计多态性条带。在 25 个薏苡居群中, 6 对引物获得 71 条清晰可重复的条带, 其中 66 条是多态性条带, 多态性条带百分率为 93%。引物 me1-em10 电泳图片见图 3。

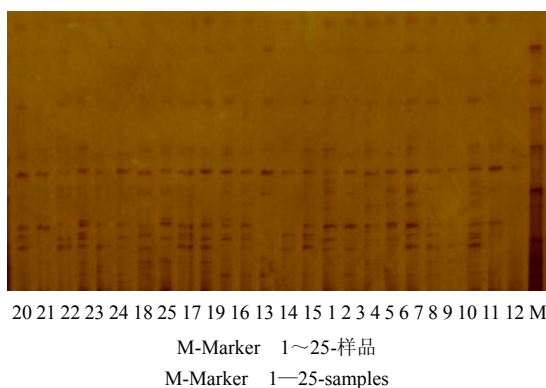


图 3 25 个薏苡品种引物对 me1-em10 SRAP-PCR 电泳图
Fig. 3 SRAP-PCR electrophoresis of primer pair me1-em10 from 25 species *C. lacryma-jobi*

2.4 遗传相似性分析

将扩增出的 DNA 条带按照有、无进行 1、0 记录, 利用 NTSYS pc 2.10 软件进行分析, 计算 25 个

薏苡品种(系)间的遗传距离在 0.60~0.82。由表 4 可知, 25 个薏苡居群的遗传相似系数在 0.48~0.82, 具有一定的差异, 其中, 5~24 号的相似系数最小, 仅 0.48, 表明这 2 个居群间的遗传距离较远; 9~12 号相似系数最大, 达 0.82, 表明这 2 个居群的遗传距离较近; 1~6、19、25 号这 8 份材料都是采集自云南文山, 遗传相似系数在 0.56~0.77。根据 25 个薏苡居群之间的遗传距离进行 UPGMA 聚类分析, 结果见图 4, 从聚类图看出, 材料 9 和 12 相似性最大, 说明居群 9 和 12 亲缘关系最为接近, 地理差异也不是很大, 也许来自同一亲本。在遗传距离 0.64 处, 可以把 25 个薏苡居群分为 4 个类群, 其中 21 单属于一类; 5、18、25、20 聚为一类; 3、4、11、6、10、13、7、14、15、16、19、17、23、22 为一类; 最后, 1、2、24、8、9、12 聚为一类。采自文山的 1、2、3、4、5、6、19、25 居群, 分布在不同类群中, 说明文山地区的薏苡资源种质遗传多样性丰富。

3 讨论

采用优化的 SRAP-PCR 反应体系, 对 25 个薏苡居群进行了 SRAP-PCR 分析, 从 88 对引物中筛选出 6 对理想的引物组合, 利用这 6 对引物对 25 个材居群进行扩增, 最后获得 66 条清晰可重复的多态性条带, 多态率达 93%, 遗传多样性分析表明 25 个薏苡资源的遗传距离是 0.60~0.82, 遗传相似系数在 0.48~0.82。聚类结果发现, 25 个薏苡居群分为 4 个类。

本实验首次采用 SRAP 分子标记技术对采集自不同地方的 25 个薏苡资源进行分子水平上的遗传多样性分析, 说明具有丰富的遗传多样性, SRAP 有效的用于遗传分析, 为后续薏苡栽培、分子鉴定与分子育种等研究提供科学依据。

SRAP 标记是基于 DNA 分子标记技术的优缺点^[20]上发展起来的新的分子标记技术, 其引物设计简单, 通过独特的引物设计对 ORFs 进行扩增^[21]。其正向引物长 17 bp, 有 5'端的填充序列和 3'端 CCGG 序列组成核心序列, 3'端再设计 3 个选择性碱基对外显子进行特异性扩增; 反向引物长 18 bp, 5'端前 11 bp 为填充序列, 与后面的 AATT 组成核心序列, 3'端亦接 3 个选择性碱基, 对内含子区域、启动子区域进行特异性扩增。扩增产物因不同物种, 不同基因型的内含子、启动子与间隔长度不等而产生多个而特别适用于不同良种之间的分子遗传学研

表 4 样品间的遗传相似系数

Table 4 Genetic coefficients among samples

样品	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
1	1																								
2	0.77	1																							
3	0.70	0.65	1																						
4	0.75	0.69	0.73	1																					
5	0.61	0.61	0.56	0.69	1																				
6	0.69	0.69	0.70	0.75	0.63	1																			
7	0.65	0.65	0.72	0.73	0.59	0.76	1																		
8	0.63	0.63	0.59	0.63	0.63	0.69	0.70	1																	
9	0.76	0.73	0.63	0.68	0.65	0.62	0.63	0.68	1																
10	0.63	0.63	0.70	0.72	0.63	0.72	0.70	0.75	0.62	1															
11	0.66	0.58	0.70	0.77	0.69	0.77	0.65	0.72	0.65	0.72	1														
12	0.66	0.69	0.56	0.69	0.66	0.69	0.62	0.80	0.82	0.66	0.75	1													
13	0.59	0.54	0.63	0.68	0.65	0.70	0.70	0.65	0.58	0.76	0.76	0.65	1												
14	0.72	0.66	0.59	0.72	0.63	0.75	0.79	0.66	0.68	0.66	0.66	0.66	0.70	1											
15	0.72	0.72	0.68	0.69	0.58	0.75	0.79	0.66	0.65	0.69	0.69	0.69	0.62	0.77	1										
16	0.61	0.63	0.48	0.63	0.63	0.61	0.65	0.58	0.51	0.58	0.58	0.58	0.65	0.77	0.61	1									
17	0.66	0.61	0.59	0.58	0.61	0.66	0.62	0.69	0.56	0.72	0.58	0.63	0.68	0.61	0.58	0.66	1								
18	0.68	0.65	0.52	0.59	0.68	0.54	0.35	0.54	0.61	0.51	0.51	0.59	0.49	0.62	0.48	0.70	0.68	1							
19	0.72	0.69	0.65	0.66	0.58	0.72	0.72	0.69	0.70	0.63	0.63	0.63	0.68	0.75	0.66	0.72	0.66	0.59	1						
20	0.65	0.65	0.55	0.56	0.62	0.56	0.63	0.65	0.69	0.59	0.51	0.62	0.58	0.73	0.56	0.65	0.62	0.66	0.72	1					
21	0.55	0.61	0.59	0.63	0.63	0.61	0.54	0.55	0.54	0.55	0.72	0.58	0.56	0.58	0.52	0.66	0.58	0.62	0.61	0.56	1				
22	0.58	0.63	0.54	0.58	0.63	0.63	0.65	0.72	0.56	0.69	0.63	0.66	0.68	0.69	0.61	0.72	0.66	0.68	0.66	0.68	0.69	1			
23	0.69	0.61	0.68	0.72	0.55	0.69	0.70	0.66	0.54	0.72	0.66	0.58	0.68	0.69	0.69	0.66	0.72	0.56	0.69	0.56	0.66	0.72	1		
24	0.70	0.70	0.58	0.59	0.48	0.62	0.52	0.59	0.72	0.62	0.59	0.65	0.49	0.62	0.62	0.51	0.59	0.63	0.65	0.61	0.59	0.54	0.62	1	
25	0.70	0.65	0.61	0.68	0.68	0.68	0.66	0.68	0.66	0.70	0.62	0.68	0.61	0.73	0.70	0.68	0.76	0.77	0.68	0.66	0.56	0.65	0.65	0.72	1

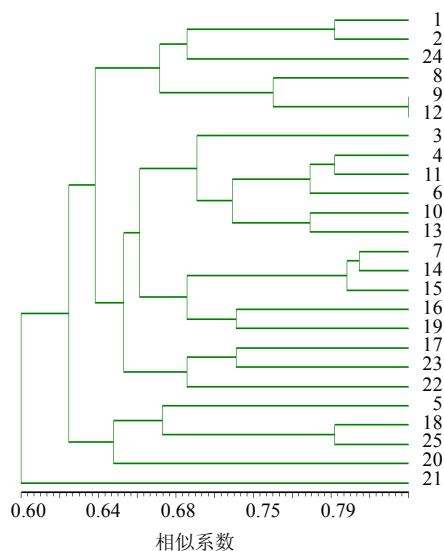


图 4 25 份供试材料的 UPMAG 聚类图

Fig. 4 UPMAG clustering diagram of 25 tested samples

究,因而在应用上体系的优化不容忽视。由于 SRAP 所获得的多态性条带大部分是与基因表达相关,该标记具有简便、高效、产率高、重复性好等特点,在作物育种上的表现优于 AFLP、ISSR 和 RAPD^[18-19]。

对候选的 8 个正向引物与 11 个反向引物随机组合成 88 对引物进行筛选,最终筛选出能够用于 25 个薏苡资源遗传多样性研究分析的引物还未见报道,在筛选出适当引物后,借助分子标记选择准确性高、速度快的特点构建出薏苡遗传图谱,为后续薏苡分子育种提供科学依据,由于 SRAP 所获得的多态性 DNA 条带大部分是以基因表达相关,因而特别适用于不同资源的分子遗传学研究。

从产地上来看,供试材料大部分采集自云南。对电泳条带的统计结果表明,6 对引物扩增出 71 条条带,66 条多态性条带,多态率达 93%,说明薏苡

资源存在着广泛的遗传差异,差异原因有待进一步的研究和探讨,但这种遗传差异为薏苡育种提供了较好的选择基础。

遗传变异和地理环境之间的关系一直是植物遗传学研究中普遍关注的问题。遗传差异的一个原因可能是地理差异,如本研究中的5与24号遗传相似系数较小,说明亲缘关系较远,9与12号遗传相似系数较大,说明亲缘关系比较近。但遗传差异不能只看地理差异,有的居群在地理差异上很大但在遗传差异上却不大,同时同一地点的材料也会有很大差异。本研究中的广南种质资源(1、2)、瑞丽种质资源(8、9)与广西种质资源(24)、梁河种质资源(12),地理差异大,却同属于一类。以上结果不仅显示出该分子标记的优越性,也说明了25个薏苡资源有着相当丰富的遗传多样性,各个地区品种并没有全部聚类在一起,说明薏苡生态区的多样性都仍然保持着其各自的多样性。

表型多样性分析结果和SRAP分子标记结果是密切相关的,本研究中,25个薏苡种质资源表型多样性聚类分析SRAP分子标记聚类结果相似程度较低。王林海等^[22]利用分子标记对小麦品种(系)进行研究,发现与通过农艺性状的聚类相似程度也较低,原因可能是所利用的SRAP标记与控制农艺性状的基因的连锁值较小或者基因连锁不紧密,也可能是由于分子标记的种类不同,所用引物数目有限,其分子水平揭示的遗传多样性及亲缘关系也是有限的;可能是农艺性状易受自然环境和人为因素的影响,反应的信息有限;农艺性状分析易受环境影响,因而用分子标记出的亲缘关系与农艺性状分析的亲缘关系,两者的结果可能会有一些出入,所以两者的结果可能不宜合并起来分析。随着标记数的增加,标记检测效率的提高,更多的差异位点(多样性)会被检测到,也就更能说明薏苡资源亲缘关系的丰富性和遗传的多样性,更深入、更详细的原因还有待进一步的研究和探讨。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志(第10卷第2分册). [M]. 北京: 科学出版社, 1997.
- [2] 王贞, 徐曾莱, 史云云, 等. 不同居群薏苡生物学与经济性状分析比较 [J]. 江苏农业科学, 2009(2): 148-150.
- [3] 赵笑明. 薏苡 [M]. 北京: 中国林业出版社, 2000.
- [4] 赵景辉, 崔贞淑, 王玉芳, 等. 吉林产薏苡仁化学成分测定 [J]. 特产研究, 1995(3): 56.
- [5] 高微微, 赵杨景, 和春年. 我国薏苡属植物种质资源研究概况 [J]. 中草药, 2006, 37(2): 293-295.
- [6] 徐祖荫. 薏苡栽培生物学基础的研究 [J]. 贵州农业科学, 1983(2): 18-23.
- [7] 中国农业百科全书. 农作物卷 [M]. 北京: 农业出版社, 1991.
- [8] 庄体德, 翻译慧, 姚欣梅, 等. 薏苡属的遗传变异性及核型演化 [J]. 植物资源与环境, 1994, 3(2): 16.
- [9] 陆平, 左志明. 广西薏苡资源的分类研究 [J]. 广西农业科学, 1996(2): 81-84.
- [10] 中国药材公司. 中国药材资源地图集 [M]. 北京: 科学出版社, 1996.
- [11] 陈成斌. 广西薏苡资源的保护、收集、整理与利用 [J]. 广西农业科学院, 2003(3): 10-13.
- [12] 赵晓明. 薏苡 [M]. 北京: 中国林业出版社, 2000.
- [13] Prinmer C R, Ellgren H. Patterns of molecular evolution in avian microsatellite [J]. *Mol Biol Evol*, 1998, 15(8): 997-1008.
- [14] 黄亨履, 陆平, 朱兴玉, 等. 中国薏苡的生态型、多样性及利用价值 [J]. 作物品种资源, 1995(4): 4-8.
- [15] Weigelt A, Schumacher J, Roscher C, et al. Does biodiversity increase spatial stability in plant community biomass [J]. *Ecol Lett*, 2008(11): 338-347.
- [16] Tilman D, Reich P B, Knops J M. Biodiversity and ecosystem stability in a decade-long grassland experiment [J]. *Nature*, 2006, 441(4): 629-632.
- [17] 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]. *Theor Appl Genet*, 2001, 103(3): 455-461.
- [18] 艾强, 周涛, 江维克, 等. 川续断种质资源遗传多样性的SRAP分析 [J]. 中草药, 2013, 44(15): 2155-2159.
- [19] 俞旭平, 李钧敏, 金则新. 薏苡SRAP反应体系的优化 [J]. 中草药, 2009, 40(增刊): 243-245.
- [20] 任羽, 王得元, 张银东. 序列相关扩增多态性(SRAP)——一种新的分子标记技术 [J]. 中国农学通报, 2004(6): 11-13.
- [21] Budak H, Shearman R C, Parmaksiz I, et al. Comparative analysis of seeded and vegetative biotype buffalograsses based on phylogenetic relationship using ISSRs, SSRs, RAPDs, and SRAPs [J]. *Theor Appl Genet*, 2004, 109: 280-288.
- [22] 王林海, 王晓伟, 詹克钦, 等. 黄淮麦区部分小麦种质资源农艺性状的聚类分析 [J]. 农艺科学, 2008, 24(4): 186-191.