

基于 SCoT 标记的栽培栀子种质资源遗传多样性研究

潘媛^{1,2,3}, 陈大霞^{1,2,3*}, 宋旭红^{1,2,3}, 王钰^{1,2,3}, 李隆云^{1,2,3*}

1. 重庆市中药研究院, 重庆 400065

2. 中国中医科学院中药资源中心 重庆分中心, 重庆 400065

3. 重庆市中药良种选育与评价工程技术研究中心, 重庆 400065

摘要: 目的 利用 SCoT 标记对 47 份栀子种质资源的亲缘关系及遗传多样性进行了研究。方法 采用 NTSYS version 2.1 软件计算遗传相似性系数, 利用 UPGMA 法构建聚类树状图。结果 从 36 条引物中筛选出 20 条多态性丰富的引物对供试材料进行 PCR 扩增, 共获得 154 条谱带, 其中多态性条带 120 条, 多态性条带所占的比率 (PPL) 达 78.14%, Nei-Li 相似系数 (GS) 在 0.655 8~0.980 5, 平均值为 0.784 1; 聚类结果显示栀子遗传多样性丰富且亲缘关系复杂。结论 研究表明 SCoT 标记技术可以很好地应用于栀子种质资源的遗传多样性分析, 研究结果可为栀子育种、分类、保存和利用提供可靠的理论依据。

关键词: SCoT; 栀子; 遗传多样性; PCR 扩增; UPGMA 法

中图分类号: R282.12 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)14-3376-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.14.025

Genetic diversity of cultivated *Gardenia jasminoides* germplasms detected by SCoT markers

PAN Yuan^{1,2,3}, CHEN Da-xia^{1,2,3*}, SONG Xu-hong^{1,2,3}, WANG Yu^{1,2,3}, LI Long-yun^{1,2,3}

1. Chongqing Academy of Chinese Material Medica, Chongqing 400065, China

2. Chongqing Sub-center of National Resource, Center for Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Science, Chongqing 400065, China

3. Chongqing Engineering Research Center for Fine Variety Breeding Techniques of Chinese Materia Medica, Chongqing 400065, China

Abstract: Objective The genetic variation and relationship of 47 pieces of *Gardenia jasminoides* germplasms were analyzed by SCoT molecular markers. **Methods** The genetic similarity coefficient was calculated by NTSYS version 2.1 software and the dendrogram was constructed by UPGMA method. **Results** More than 20 polymorphic primers were screened from 36 primers and PCR amplified to test materials. The primers generated totally 154 bands among which 120 bands were found to be polymorphic, with an average of 78.14%. The genetic similarity coefficient among the germplasms ranged from 0.655 8 to 0.980 5, and the average content was 0.784 1. The clustering results showed that the genetic diversity of *G. jasminoides* was rich and the genetic relationship was complex. **Conclusion** SCoT markers were feasible and effective to analyze the genetic diversity of *G. jasminoides* germplasm resources. The results provide a reliable theoretical basis for breeding, classification, preservation and utilization of *G. jasminoides*.

Key words: SCoT; *Gardenia jasminoides* Ellis; genetic diversity; PCR; UPGMA method

SCoT (start codon targeted polymorphism) 分子标记, 即目标起始密码子多态性标记^[1], 是一种依据植物基因中的 ATG 翻译起始位点侧翼序列的保守性, 设计单引物并对基因组进行扩增的新型目的基因分子标记。有别于 RAPD、SSR、ISSR、AFLP

等传统意义上的随机分子标记, 它得到的位点可能是目的基因的一部分或与目的基因紧密连锁, 更利于分子标记辅助育种^[2], 并且单引物扩增可获得丰富的多态性条带。近些年该种标记以其易操作、重复性好、成本低、引物通用性强等多方面优势

收稿日期: 2018-01-04

基金项目: 重庆市基础与前沿研究计划项目 (cstc2018jcyjAX0553); 重庆市重点产业共性关键技术创新专项资助 (cstc2016zdcy-ztx10003); 国家中药材产业技术体系资助 (CARS-21); 重庆市中药材产业技术体系建设项目资助 (2017 [5] 号); 中央本级重大增减支项目“名贵中药资源可持续利用能力建设项目”资助 (2060302)

作者简介: 潘媛, 助理研究员, 主要从事中药材栽培与分子生物学研究。Tel: (023)89029013 E-mail: pypanpanpy@163.com

***通信作者** 陈大霞, 研究员, 主要从事药用植物栽培与分子生物学研究。Tel: (023)89029108 E-mail: 371831507@qq.com

李隆云, 研究员, 主要从事药用植物栽培与质量评价研究。Tel: (023)89029118 E-mail: lilongyun8@163.com

逐渐被专家学者所青睐。现已成功应用于柑橘^[3]、玄参^[4]、柳枝稷^[5]、黄连^[6]、籽用南瓜^[7]、猕猴桃^[8]等植物材料的遗传多样性研究上。

栀子 *Gardenia jasminoides* Ellis 是茜草科 (Rubiaceae) 栀子属 *Gardenia* Ellis 一种常绿灌木, 主产于江西、湖南、福建、四川、重庆等省市, 以果实入药, 栀子药材中含有环烯醚萜类、黄酮类、色素类等化学成分, 具有护肝利胆、清热利尿、凉血解毒、消肿止血等作用, 广泛应用于中医临床治疗^[9]。栀子已有 2000 多年的栽培历史, 该品种适应性强, 适宜种植区域广泛。随着对栀子药材需求量的增大, 栀子栽培范围逐步扩大, 各地区间的引种逐渐频繁, 这就造成相同产区栀子表观性状差异较大, 质量参差不齐, 病虫害发生较为严重。为了深入了解栀子种质资源特点, 仅仅依靠形态学上的分类是远远不够的, 必须借助分子生物学手段, 从遗传多样性及亲缘关系入手开展研究。目前栀子的研究主要集中在栽培技术、药理、药化等方面, 仅采用 ISSR、RAPD 2 种分子标记技术开展了少量栀子遗传多样性研究^[10-12]。到目前

为止, 尚未见采用 SCoT 新型标记探讨栀子遗传多样性的研究报道。本研究选用 SCoT 引物对 47 份栀子种质资源的基因组 DNA 进行 PCR 扩增, 分析其遗传多样性, 旨在探讨 SCoT 引物用于栀子的可行性, 并揭示部分现有栀子种质的亲缘关系, 为栀子优良种质筛选提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

栀子样品于 2015 年 10~11 月采自广西、湖南、江西、福建、浙江、湖北、河南、四川、重庆等省市, 共 47 份材料, 见表 1。根据均匀分布、随机取样的原则, 在每个栽培群体中选取 10 个单株, 尽量覆盖该群体的分布范围。采集每个单株新鲜幼嫩的叶片, 洗净、晾干后放入装有硅胶的自封袋内, 快速干燥后备用。栀子样品均由重庆市中药研究院李隆云研究员鉴定为茜草科植物栀子 *Gardenia jasminoides* Ellis 的叶片。

1.2 仪器

S1000 Thermal Cycler PCR 仪 (美国 BIO-RAD 公

表 1 供试材料

Table 1 Materials used for SCoT analysis

编号	采样地	经度 (E)	纬度 (N)	海拔/m	样品数
1	广西柳州鹿寨县波井村龙兴屯	109°46'53"	24°33'18"	130	10
2	广西桂林荔浦县大寨村	110°15'14"	24°23'22"	252	10
3	湖南武冈落子铺村	110°36'1"	26°41'28"	360	10
4	湖南邵阳邵东县斫曹乡檀树村	111°52'52"	27°25'9"	285	10
5	湖南长沙长沙县黄兴镇沿江山村	113°12'30"	28°4'29"	89	10
6	江西吉安吉水县乌江镇新田村	115°16'44"	27°12'2"	52	10
7	江西吉安永丰县瑶田镇水心村	115°36'45"	27°8'46"	159	10
8	江西吉安新干县神政桥乡向阳村	115°27'9"	27°42'5"	69	10
9	江西宜春黄土岗镇泉塘岭	115°40'1"	27°55'32"	45	10
10	江西宜春昌傅镇太平村	115°15'28"	27°55'40"	42	10
11	江西南昌市进贤县张公镇渣兰村	116°11'16"	28°19'40"	40	10
12	江西南昌市进贤县张公镇老王村	116°12'5"	28°19'5"	60	10
13	江西抚州金溪县合市镇上堡	116°39'5"	27°56'49"	106	10
14	江西抚州金溪县合市镇崇麓村	116°40'2"	27°57'9"	106	10
15	江西抚州金溪县秀谷镇刘家源村	116°43'45"	27°54'43"	98	10
16	江西抚州市金溪县双塘镇阳光村	116°44'37"	27°59'38"	92	10
17	福建福鼎镇头镇平阳新村	120°10'2"	27°17'36"	170	10
18	福建福鼎贯岭镇从底村	120°13'35"	27°24'16"	219	10
19	福建福鼎贯岭镇鹿角村	120°13'31"	27°24'34"	232	10
20	福建福鼎贯岭镇茗洋村	120°13'24"	27°25'19"	295	10
21	浙江温州苍南县五凤乡田垟免	120°16'38"	27°25'27"	378	10

续表 1

编号	采样地	经度 (E)	纬度 (N)	海拔/m	样品数
22	浙江温州平阳县腾蛟镇林家村	120°19'12"	27°44'4"	498	10
23	浙江杭州临安县潜川镇海龙村	119°24'27"	30°6'43"	58	10
24	江西九江湖口县文桥乡文桥村	116°19'48"	29°38'14"	20	10
25	江西九江湖口县文桥乡新庄村	116°19'33"	29°38'11"	28	10
26	湖北黄冈蕲春县官窑镇圆丰山村	115°17'37"	30°11'31"	45	10
27	湖北黄冈蕲春县官窑镇岚头矶	115°16'41"	30°9'55"	49	10
28	湖北孝感孝南区松林村	113°59'0"	31°1'26"	29	10
29	湖北宜昌长阳县磨市镇花桥村	111°10'28"	30°24'55"	319	10
30	湖北宜昌长阳县大堰乡晓麻溪村	111°8'3"	30°22'4"	238	10
31	四川万源石窝乡古社坪村	107°38'55"	31°53'6"	768	10
32	四川万源石窝乡五显庙村	107°37'3"	31°52'32"	903	10
33	四川巴中巴州区平梁乡青包山村	106°41'22"	31°56'10"	963	10
34	河南南阳唐河县祁仪乡老梁村南	112°53'7"	32°27'97"	138	10
35	河南南阳唐河县祁仪乡老梁村北	112°53'25"	32°27'58"	138	10
36	河南南阳唐河县祁仪乡寨桥村	112°54'55"	32°27'32"	156	10
37	河南南阳唐河县马振扶乡郭桥村	112°57'4"	32°31'7"	213	10
38	河南南阳唐河县马振扶乡任庄	112°57'25"	32°32'41"	197	10
39	四川泸州纳溪区天仙镇兴长村	105°24'31"	28°42'3"	554	10
40	四川内江资中县新桥镇清平村	104°42'46"	29°42'46"	647	10
41	四川广元利州区宝轮镇关山村	105°34'33"	32°26'07"	790	10
42	四川遂宁桂花乡南垭村	105°26'15"	30°34'35"	291	10
43	重庆巴南区安澜镇思林村	106°42'2"	29°15'54"	879	10
44	重庆江津区油溪镇	106°8'26"	29°15'54"	211	10
45	重庆万州区燕山	108°18'16"	30°33'11"	286	10
46	重庆南川区大观镇	106°59'7"	29°14'28"	738	10
47	重庆丰都县栗子乡	107°58'0"	29°12'21"	917	10

司); 凝胶成像系统 (Gel Doc XR, 美国 BIO-RAD 公司); 超微量分光光度计 (ND-2000, 美国 Thermo Scientific 公司); 电泳仪 (DYY-6C 型, 北京六一仪器厂); 琼脂糖水平电泳槽 (DYCP-31F, 北京六一仪器厂); Eppendorf MixMate PBC-115353 混匀仪。

植物基因组 DNA 快速提取试剂盒购自天根生化科技 (北京) 有限公司, SCoT 引物由生工生物工程 (上海) 有限公司合成。DL2000 DNA marker (美国 TakaraTrans 公司)、2×Es Taq Master Mix [生工生物工程 (上海) 有限公司]、SYBR Green 核酸染料 (北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司)、琼脂糖 (Biowest Agarose), 其他试剂均为国产分析纯。

1.3 方法

1.3.1 梔子基因组 DNA 的提取 本研究将每个居群的 10 个梔子叶片材料等量混合, 用液氮冷冻研

磨后转入 2.0 mL 离心管中, 利用天根植物基因组 DNA 提取盒提取梔子 DNA 共计 47 个植株的基因组 DNA, 用超微量分光光度计和 2.0% 琼脂糖凝胶电泳检测其浓度和纯度, 检测合格均稀释至 20 ng/μL, -20 °C 冷藏备用。

1.3.2 SCoT 反应体系的建立及优化 参照韩国辉等^[3]和陈大霞等^[4]报道的 SCoT 反应体系, 利用单因素梯度组合实验的方法, 优化后 PCR 扩增体系为 20 μL, 其中 DNA 模板 1 μL (40 ng/μL), 引物 1 μL (0.4 μmol/L), Taq PCR Master Mix 混合液 10 μL (2×), 补 8 μL ddH₂O。

1.3.3 SCoT 引物的合成与筛选 SCoT 引物参照 Collard 和 Mackill 等的设计, 所有引物由生工生物工程 (上海) 有限公司合成。引物筛选实验选取 6 个 DNA 质量较高且表型性状差异较大的材料对 36 对

引物进行筛选,最终选出 21 条条带清晰、稳定性高、多态性好的引物用于 47 份栀子样品的 PCR 扩增。

1.3.4 PCR 扩增及电泳检测 PCR 扩增体系优化为 20 μL , 扩增程序为 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 4 min, 36 个循环: 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 1 min, 50 $^{\circ}\text{C}$ 退火 1 min, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 2 min, 循环结束后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。扩增完成后,在 1 $\times$ TAE 缓冲系统下,取 4 μL 扩增产物与 2 μL 6 $\times$ loading buffer 混合均匀后在 1%琼脂糖凝胶上电泳,100 V 稳定电压电泳 1 h,凝胶成像系统拍照并记录扩增情况。

1.3.5 数据统计与分析 根据上述扩增结果,对清晰、易辨、迁移率一致的 DNA 条带采用“0-1”二元数据统计方法来记录,在相同迁移率的位置有带记为“1”,无带记为“0”。根据二元数据矩阵,统计 SCoT 扩增产物的条带总数和多态性条带数,计算多态性条带所占的比率 (PPB) 和引物多态性信息含量 (PIC)。

$$\text{PIC}_i = 2f_i(1-f_i)$$

PIC_i 表示引物 i 的多态性信息含量, f_i 表示有带所占的频率, $(1-f_i)$ 表示无带所占的频率^[12]

采用 NTSYS version 2.1 软件计算材料间的遗

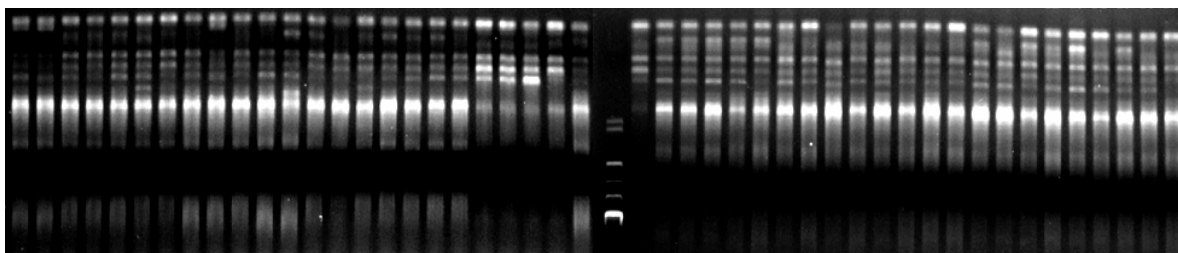
传距离,并利用 SHAN 程序中的 UPGMA (unweighted pair group method with arithmetic mean) 进行聚类分析,并通过 Treeplot 模块生成聚类图。

2 结果与分析

2.1 SCoT 引物多态性分析

以供试的 6 个栀子材料对 36 个 SCoT 引物进行筛选,最终筛选出了条带清晰、多态性高的 21 条引物。利用 21 条多态性较高的 SCoT 引物,对 47 份栀子种质 DNA 进行扩增,扩增的 DNA 片段主要集中在 100~1 000 bp (图 1),共得到 154 条清晰可辨的扩增条带,平均每条引物扩增的条带为 7.33 条,引物 SP9 和 SP27 扩增的条带数最少,为 5 条,引物 SP19 扩增的条带数最多,为 10 条。其中,多态性条带 120 条,每条引物可扩增出的多态性位点数为 3~8 个,平均每对引物扩增的多态性条带为 5.71 条,PPB 为 77.92%; 每条引物的 PPB 变幅为 55.56%~100%,多态性最高的引物是 SP7 和 SP31,均达到 100%;多态性最低的引物是 SP29,仅有 55.56% (表 2)。以上结果表明 SCoT 分子标记适用于检测栀子的多态性位点,便于分析栀子种质的遗传多样性。

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 M 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47



M-Marker

图 1 引物 SP29 扩增图谱

Fig. 1 PCR results by primer SP29

2.2 遗传多样性参数分析

对扩增结果用 Nei-Li 相似系数 (GS) 的计算方法,得到 47 份栀子材料之间的相似性矩阵。结果表明,47 个栀子种质两两间的 GS 在 0.655 8~0.980 5,平均值为 0.784 1。由相似矩阵可以看出,在供试的 47 份栀子种质中,31 和 32 之间的遗传相似系数最大,为 0.980 5,表明二者之间的亲缘关系最近;2 和 15 之间的遗传相似系数最小,为 0.655 8。实验结果表明栀子种质资源之间存在明显的差异,具有较为丰富的遗传多样性。

2.3 SCoT 聚类分析

基于 Nei-Li 遗传相似系数,利用 NTSYS Version

2.1 软件中的 UPGMA 方法对 47 份栀子种质资源进行聚类分析,构建分子系统树 (图 2)。由聚类图可知,在 GS 为 0.73 处可将 47 个栀子种质分为 2 类 (I 类和 II 类):第 I 类较为简单,包括广西柳州鹿寨 (1)、广西桂林兴安 (2) 和江西宜春黄土岗 (9) 的 3 份种质;第 II 类较为复杂,包括了来自湖南、江西、浙江、福建、湖北、四川、重庆、河南的 44 份种质。第 II 类被分为 A 和 B 2 个亚类, A 亚类包括来自湖南和江西的 12 份种质,在 GS 为 0.814 处,来自江西抚州的 4 份种质聚为一类; B 亚类又可分为 Ba、Bb 2 个小类,其中 Ba 小类包括了福建、浙江、江西九江和宜春的 10 份种质,在 GS 为 0.796 处,来自

表 2 SCoT 标记引物扩增结果

Table 2 Amplification result of SCoT primers

引物号	引物序列 (5'→3')	扩增总条带数	多态性条带数	PPB/%	PIC
SP5	CAACAATGGCTACCACGA	7	6	85.71	0.24
SP6	CAACAATGGCTACCACGC	9	8	88.89	0.20
SP7	CAACAATGGCTACCACGG	6	6	100.00	0.00
SP8	CAACAATGGCTACCACGT	7	5	71.43	0.41
SP9	CAACAATGGCTACCACGT	5	3	60.00	0.48
SP13	ACGACATGGCGACCATCG	7	6	85.71	0.24
SP14	ACGACATGGCGACCACGC	6	5	83.33	0.28
SP16	ACCATGGCTACCACCGAC	8	6	75.00	0.38
SP17	ACCATGGCTACCACCGAG	7	4	57.14	0.49
SP19	ACCATGGCTACCACCGGC	10	8	80.00	0.32
SP20	ACCATGGCTACCACCGCG	8	6	75.00	0.38
SP21	ACGACATGGCGACCCACA	8	6	75.00	0.38
SP23	CACCATGGCTACCACCAG	8	6	75.00	0.38
SP25	ACCATGGCTACCACCGGG	8	6	75.00	0.38
SP26	ACCATGGCTACCACCGTC	7	6	85.71	0.24
SP27	ACCATGGCTACCACCGTG	5	4	80.00	0.32
SP28	CCATGGCTACCACCGCCA	7	5	71.43	0.41
SP29	CCATGGCTACCACCGGCC	9	5	55.56	0.49
SP30	CCATGGCTACCACCGGCG	9	7	77.78	0.35
SP31	CCATGGCTACCACCGCCT	7	7	100.00	0.00
SP32	CCATGGCTACCACCGCAC	6	5	83.33	0.28
平均		7.33	5.71	78.14	0.32
合计		154	120	77.92	

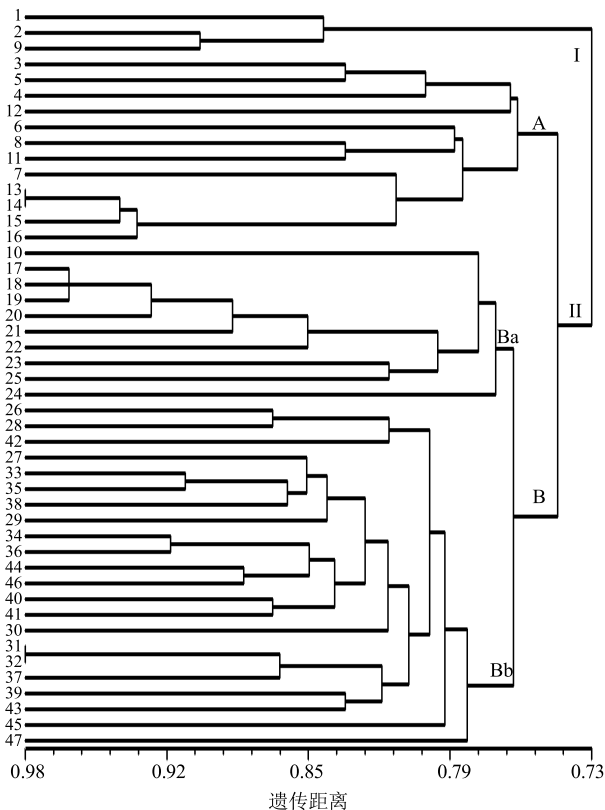


图 2 SCoT 标记对 47 份梔子种子亲缘关系的聚类分析图
Fig. 2 UPGMA cluster dendrogram of 47 *G. jasminoides* relationships based on SCoT markers

福建福鼎的 4 份种质和浙江温州的 2 份种质聚为一类，这 6 份种质在地理位置上都处于福鼎和温州交界的山区，地理位置相近；Bb 小类包括了重庆、四川、河南、湖北的 22 份种质，这一小类最为混杂，在 GS 为 0.784 处，位于重庆丰都的 1 份种质（47）独自聚为一类。从上述结果可以看出，梔子种质资源间的遗传多样性较为复杂。有的种质表现出明显的地域性分布，如江西抚州的 4 份种质（13、14、15、16）、福建福鼎和浙江温州的 6 份种质（17、18、19、20、21、22）、四川万源的 2 份种质（31、32）都各聚为一类；有的种质处于同一地区，却未完全表现出地域分布特征，如河南的 5 份种质中，34、35、36、38 的亲缘关系较相近，而 37 相对较远；有的种质无地域性分布特征，如湖北长阳的 2 份种质和湖北黄冈的 2 份种质，虽处于同一区域，但亲缘关系较远，均未聚为一类；还有的种质混杂的聚为一类，如 Bb 小类下的部分种质，聚类较为分散，无地域分布等规律可言。

3 讨论

梔子是常用药用植物，主要分布在我国长江中下游的四川、重庆、湖北、湖南、江西、浙江、福建、广西等地，我国北方地区分布较少，大部分为观赏类梔子，不作药用。20 世纪 60 年代，由于梔

子野生资源被破坏,产量急剧下降,遗传多样性遭到了严重破坏。而后由于梔子在临床上的广泛应用,各地开始大量引种植梔子,这也造成了目前药材市场上梔子品种混杂,整体药材质量难以得到控制。近年来,为了控制梔子药材质量,各地纷纷建立了梔子 GAP 种植基地,但在引种过程中是否有可能因特有生态环境和地质土壤条件的长期影响,进而使梔子出现新的遗传分化,从而影响梔子药材的质量值得深入研究^[11]。

目前,关于梔子种质资源遗传多样性研究已有报道。基于 RAPD 标记对来自河南、湖南和江西的 8 个梔子种群种质资源进行遗传多样性分析,共得到 120 个可重复的位点,其中多态位点 75 个,PPB 为 62.5%,表明梔子遗传多样性较丰富,且种群内大于种群间^[10];基于 ISSR 标记来对 12 份梔子种质资源进行遗传多样性分析,多态性条带比率为 73.02%^[11]。本研究采用 21 条 SCoT 引物对 47 份梔子种质资源进行遗传多样性分析,共扩增得到 154 条条带,其中多态性条带 120 条,PPB 为 77.92%,高于基于 RAPD 和 ISSR 标记的 PPB。说明 SCoT 标记的多态检测效率较高,能揭示较多梔子种质间的遗传差异,因此 SCoT 标记适用于梔子种质资源遗传多样性的分子评价及下一步的分子辅助育种。本研究选取的材料来自我国梔子主要产区,材料间在梔子的果型、叶型和有效成分含量等指标上存在不同程度的差异。从表型性状上来看,广西地区梔子叶型和果型都与其他地区差异较大,从聚类上来看,广西梔子聚为一类,表明它们的亲缘关系较近。从地理分布来看,有的种质来自于同一个地区,但是未聚在一起,有的种质地理分布距离较远却聚在一类中,可见供试的部分梔子种质资源间亲缘关系较为复杂,这可能与梔子野生资源被破坏后又大面积跨地区的交叉引种有关。梔子是多年生灌木,适宜生长在长江中下游地区,由于其生长周期长,且又是雌雄同花,导致其遗传基础相似。再者由于退耕还林再加之梔子药材价格一再飙升,使得药农大面积开展梔子种植,各地区间交互引种,造成了同一地区种质亲缘关系较复杂,如 20 世纪 70~80 年代,江西是梔子的主产区,也是其他地区引种的主要地区,但是随着药材需求的增大,单是江西的种源不能满足种植的需求,各地区之间相互引种开始频繁,这使得梔子产区种源混杂。种质来源的复杂性使得遗传距离与地理来源地无明显相关性,本研

究采用 SCoT 分子标记技术从分子水平上印证了这一结果。可见,除了地理分布差异因素外,引种是造成梔子种质资源亲缘关系复杂的原因之一。

综上所述,由于我国梔子种质资源遗传多样性特点及亲缘关系的复杂性,在遗传多样性研究时不仅要尽可能地收集不同的居群和单株,还应当与不同种质资源的表型性状相结合,采用多种分子标记技术,更加全方面、多层次地对其亲缘关系远近、遗传信息相似度进行精确定位,为梔子育种、分类、保存和利用提供可靠的理论依据。

参考文献

- [1] Collard B C Y, Mackill D J. Start codon targeted (SCoT) polymorphism: A simple, novel DNA marker technique for generating gene-targeted markers in plants [J]. *Plant Mol Biol Rep*, 2009, 27(1): 86-89.
- [2] 贾巧君,朱靖环,汪军妹,等.浙江赤霉病抗性不同的大麦地方品种遗传多样性分析 [J]. *植物遗传资源学报*, 2013, 14(3): 472-478.
- [3] 韩国辉,向素琼,汪卫星,等.柑橘 SCoT 分子标记技术体系的建立及其在遗传分析中的应用 [J]. *园艺学报*, 2011, 38(7): 1243-1250.
- [4] 陈大霞,张雪,王钰,等.应用 SCoT 标记分析玄参种质资源的遗传多样性 [J]. *中国中药杂志*, 2012, 37(16): 2368-2372.
- [5] 蒋晓梅,黄琳凯,张新全,等.利用 SCoT 分析柳枝稷遗传资源的多样性 [J]. *植物遗传资源学报*, 2014, 15(1): 89-95.
- [6] 陈大霞,王钰,张雪,等.黄连属药用植物遗传多样性与亲缘关系的 SCoT 分析 [J]. *中国中药杂志*, 2017, 42(3): 473-477.
- [7] 王丰丰,王萍,杨静,等.基于 SCoT 标记分析籽用南瓜的遗传多样性 [J]. *植物生理学报*, 2017, 53(8): 1569-1576.
- [8] 张安世,张中海,齐秀娟,等.猕猴桃 SCoT 遗传多样性分析及指纹图谱的构建 [J]. *植物研究*, 2017, 37(2): 259-265.
- [9] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [10] 韩建萍,陈士林,张文生,等.梔子遗传多样性及遗传分化的 RAPD 分析 [J]. *中国药学杂志*, 2007, 42(23): 1774-1778.
- [11] 王清波,鲁耀邦,郭纯,等.梔子种质资源遗传多样性的 ISSR 研究 [J]. *湖南中医药大学学报*, 2009, 29(3): 40-43.
- [12] 何峰,唐灿,王子雯,等.巴中梔子遗传多样性的 ISSR 分析 [J]. *中国医院药学杂志*, 2014, 34(10): 782-786.