

## 栝楼 SRAP 引物筛选及遗传多样性分析

何庆元<sup>1</sup>, 刘丽<sup>1</sup>, 孙武<sup>2</sup>, 朱军军<sup>2</sup>, 惠雪<sup>1</sup>, 朱浩波<sup>1</sup>, 徐荣华<sup>1\*</sup>

1. 安徽科技学院, 安徽 凤阳 233100

2. 潜山市农业科学研究所, 安徽 潜山 246300

**摘要:** **目的** 分析不同来源栝楼 *Trichosanthes* 资源群体的遗传结构和自然亚群间基因漂移分析以及资源的遗传多样性, 为栝楼育种奠定基础。 **方法** 从 100 对相关序列扩增多态性 (sequence-related amplified polymorphism, SRAP) 引物中筛选出扩增效果好、稳定性高的 43 对引物对 13 个来源于 3 个自然亚群的栝楼资源进行扩增, 进行不同亚群间和品种之间的遗传结构和多样性分析。 **结果** 共扩增出 691 个位点, 其中多态性位点百分率达到 79.16%, 整个群体的多态性信息含量 (polymorphic information content, PIC)、观察等位基因数 (observing the number of alleles,  $N_a$ )、有效等位基因数 (effective number of alleles,  $N_e$ )、香农信息指数 (Shannon information index,  $I$ ) 和遗传距离 (genetic distance,  $H$ ) 依次为 0.495 5、1.791 6、1.374 6、0.359 4 和 0.231 6, 3 个自然亚群中其他野生类群的遗传丰富度最高, 潜山和合肥自然亚群之间的遗传相似度高, 达到 0.922 9。亲缘关系类群体间的群间分化系数 (intergroup differentiation coefficient,  $F_{st}$ ) 平均为 0.265 6, 类群间基因流 (gene flow,  $N_m$ ) 平均为 1.382 6, 遗传分化系数较大, 不同自然亚群间具有一定的基因交流, 但不同位点基因交换的差异很大。13 个品种资源被分成 2 个亚群, 2 个长萼栝楼地方品种单独组成一个亚群, 其他 11 个双边栝楼资源被聚为另一个亚类, 2 个亚群遗传相似性系数仅为 60.94%, 福建野生型与安徽育成品种相似性较低, 四川野生型相似性较高, 说明四川野生型已被大量应用于安徽栝楼育种。 **结论** 栝楼种质资源之间有一定的遗传相似性, 不同自然亚群的栝楼种质资源之间有一定的基因交流。

**关键词:** 栝楼; 长萼栝楼; 双边栝楼; SRAP; 遗传分化; 遗传多样性

中图分类号: R286.12 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)20-6813-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.20.024

## Primer screening of SRAP reaction system and analysis on genetic diversity of *Trichosanthes*

HE Qing-yuan<sup>1</sup>, LIU li<sup>1</sup>, SUN Wu<sup>2</sup>, ZHU Jun-jun<sup>2</sup>, HUI Xue<sup>1</sup>, ZHU Hao-bo<sup>1</sup>, XU Rong-hua<sup>1</sup>

1. Anhui Science and Technology University, Fengyang 233100, China

2. Qianshan Agricultural Science Research Institute, Qianshan 246300, China

**Abstract: Objective** To analyze the genetic structure, gene drift and genetic diversity of the resources from different sources within and among natural groups, so as to lay a foundation for *Trichosanthes* breeding. **Methods** A total of 43 pairs of sequence-related amplified polymorphism (SRAP) primers with good amplification effect and high stability were screened from 100 pairs of SRAP primers to amplify 13 *Trichosanthes* resources from three natural groups, the genetic structure and diversity between genetic groups and varieties were analyzed. **Results** A total of 691 loci were amplified, of which the percentage of polymorphic loci reached 79.16%. The polymorphic information content (PIC), the number of observed alleles ( $N_a$ ), the number of effective alleles ( $N_e$ ), the Shannon information index ( $I$ ) and the genetic distance ( $H$ ) of the whole population were 0.495 5, 1.791 6, 1.374 6, 0.359 4 and 0.231 6, respectively. The genetic richness of other wild groups was the highest in the three natural groups. The genetic similarity between Qianshan and Hefei natural groups was higher, reaching 0.922 9. The intergroup differentiation coefficient ( $F_{st}$ ) between the genetic groups was 0.265 6, and gene flow ( $N_m$ ) between the groups was 1.382 6. The coefficient of genetic differentiation was large. There was certain gene exchange between different groups, but the difference of gene exchange was very large in different loci. The 13 varieties resources were divided into two genetic subgroups. The two wild resources of *T. laceribractea*

收稿日期: 2023-02-10

基金项目: 安徽省重点研发项目 (202104a06020029); 安徽省教育厅重大项目 (2023AH040279); 国家自然科学基金项目 (32101704); 大学生创新课题 (202210879102, S202210879310)

作者简介: 何庆元 (1978—), 男, 教授, 博士, 研究方向为植物遗传育种。E-mail: heqingyuan1@163.com

\*通信作者: 徐荣华 (1979—), 男, 副教授, 博士, 研究方向为植物分子遗传。E-mail: xrh96@163.com

were clustered into one subgroup separately, and the other 11 *T. uniflora* resources were clustered into another subgroup. The genetic similarity coefficient of the two subgroups was only 60.94%. The similarity between wild resource from Fujian and Anhui resources was low, and the similarity between wild resource from Sichuan was high, indicating that Sichuan wild resource has been widely used in Anhui *Trichosanthes* breeding. **Conclusion** There is greater genetic similarity between different germplasm resources, and there is a certain gene exchange between different groups of germplasm resources.

**Key words:** *Trichosanthes kirilowii* Maxim.; *Trichosanthes laceribractea* Hayata; *Trichosanthes rosthornii* Harms; sequence-related amplified polymorphism; genetic differentiation; genetic diversity

栝楼 *Trichosanthes kirilowii* Maxim. 是葫芦科栝楼属多年生攀缘型草本植物。在我国各地均有分布和种植, 栝楼根和皮具有清热、润肺、化痰、散结、滑肠的功效, 是我国常用中药材, 栝楼籽是良好的保健休闲食品, 因此栝楼具有很高的综合开发和经济价值<sup>[1]</sup>。栝楼属植物有 80 多种<sup>[2]</sup>, 我国产约 40 多种, 多数已被栽培利用, 并且不同的栝楼以  $X=11$  为染色体基数, 有 2、4、6 和 8 倍 (22、44、66 和 88) 不同倍性, 但当前栽培栝楼主要是 4 倍体栝楼 (44), 雌雄不同株的异花授粉植物, 其遗传基础较为复杂<sup>[3-4]</sup>。而从形态学、细胞学和生化同工酶水平上虽有少量关于栝楼的遗传研究, 但分类受到环境条件影响较大。从 DNA 水平上选用一种高效的分子标记技术研究栝楼的种质资源, 将为栝楼遗传改良和育种应用打下坚实的基础。目前应用于栝楼遗传多样性评价的分子标记有随机引物扩增多态性 (randomly amplified polymorphic DNA, RAPD)<sup>[5]</sup> 和间隔简单重复多态性 (interval simple repeat polymorphism, ISSR)<sup>[6]</sup> 和 ITS 序列<sup>[7]</sup> 的鉴定。

SRAP 标记技术针对基因组的开放阅读框 (open reading frame, ORFs) 外显子富含 GC 序列和内含子富含 AT 设计正反向引物进行特异扩增,

无需基因组参考信息即可实现 PCR 扩增检测, 具有操作简便、稳定、多态性高等优点<sup>[8]</sup>, 已被广泛应用于油菜、花生、黄瓜、辣椒、结缕草、多花黑麦草和苜蓿等植物的遗传多样性和遗传图谱构建等研究<sup>[9-12]</sup>, 但应用于栝楼的研究还鲜有报道。

由于栝楼是雌雄异株植物, 长期异花授粉和无性繁殖, 导致品种退化和混杂, 不同品种之间遗传关系不清, 致使栝楼产业陷入停滞不前的困局。因此加强栝楼品种的遗传研究, 为栝楼品种选育和复壮奠定基础, 达到提质增效目的。本研究选用当前 13 个安徽地区育成品种及相关野生种质栝楼品种资源, 通过 SRAP 研究不同资源之间的遗传关系, 为明确不同品种之间的遗传关系, 促进栝楼合理引种及育种利用提供依据。

## 1 材料与试剂

材料为 13 个安徽育成及相关野生栝楼品种, 由安徽科技学院徐荣华副教授鉴定为长萼栝楼 *Trichosanthes laceribractea* Hayata 和双边栝楼 *T. rosthornii* Harms, 其来源、产地和自然群、种类和主要形态特征见表 1。SRAP 分析引物 (上下游各 10 个) 由通用生物 (安徽) 股份有限公司合成 (表 2)、Taq 酶和 dNTPs 等购自索莱宝生物有限公司。

表 1 供试的栝楼品种及产地和类群

Table 1 Varieties, origin and populations of *Trichosanthes*

序号	品种名	产地来源	自然群	种类	主要形态特征
1	天宝 2 号雌 TB2	安徽潜山	潜山 (QS)	双边栝楼	叶心形浅裂, 边缘具疏齿, 果肉黄红色, 籽粒长, 大, 褐色
2	天宝 2 号雄 TB2X	安徽潜山	潜山 (QS)	双边栝楼	叶心形浅裂, 边缘具疏齿, 果肉黄红色, 籽粒长, 大, 褐色
3	潜山野生 QSW	安徽潜山	潜山 (QS)	双边栝楼	叶心形浅裂, 边缘具疏齿, 果肉黄红色, 籽粒长, 小, 椭圆, 褐色
4	皖筊 9 号 WL9	安徽合肥	合肥 (HF)	双边栝楼	叶心形浅裂, 边缘具疏齿, 果肉黄红色, 籽粒长, 大, 扁平, 褐色
5	皖筊 17 号 WL17	安徽合肥	合肥 (HF)	双边栝楼	叶心形浅裂, 边缘具疏齿, 果肉黄红色, 籽粒长, 大, 扁平, 褐色
6	皖筊 18 号 WL18	安徽潜山	潜山 (QS)	双边栝楼	叶心形浅裂, 边缘具疏齿, 果肉黄红色, 籽粒长, 大, 扁平, 褐色
7	皖筊 20 号 WL20	安徽合肥	合肥 (HF)	双边栝楼	叶心形浅裂, 边缘具疏齿, 果肉黄红色, 籽粒长, 大, 扁平, 褐色
8	皖筊 18 号籽生 WL18S	安徽潜山	潜山 (QS)	双边栝楼	叶心形浅裂, 边缘具疏齿, 果肉黄红色, 籽粒长, 大, 扁平, 褐色
9	四川野生 SCW	四川广元	其他野生 (OW)	双边栝楼	叶心形深裂, 边缘具疏齿, 果肉黄红色, 籽粒长, 小, 扁平, 褐色
10	福建野生 FJW	福建三明	其他野生 (OW)	双边栝楼	叶心形深裂, 边缘具疏齿, 果肉黄红色, 籽粒长, 小, 扁平, 褐色
11	皖筊 9 号籽生 WL9S	安徽合肥	合肥 (HF)	双边栝楼	叶心形浅裂, 边缘具疏齿, 果肉黄红色, 籽粒长, 大, 扁平, 褐色
12	吊瓜小粒 TGX	安徽凤阳	其他野生 (OW)	长萼栝楼	叶纸质, 深裂, 卵形, 裂片卵形, 果肉黑色, 籽粒长方状, 小, 黑色
13	吊瓜大粒 TGD	安徽凤阳	其他野生 (OW)	长萼栝楼	叶纸质, 深裂, 卵形, 裂片卵形, 果肉黑色, 籽粒椭圆形, 大, 黑色

表2 SRAP 标记的引物序列

Table 2 Sequence of SRAP primers used in study

正向引物	序列 (5'-3')	反向引物	序列 (5'-3')
AW75299F	TGAGTCCAAACCGGAAG	AW75291R	GACTGCGTACGAATTAAC
AW75300F	TGAGTCCAAACCGGAAT	AW75292R	GACTGCGTACGAATTACG
AW75301F	TGAGTCCAAACCGGACC	AW75293R	GACTGCGTACGAATTAGC
AW75302F	TGAGTCCAAACCGGGAC	AW75294R	GACTGCGTACGAATTATG
AW75303F	TGAGTCCAAACCGGTAG	AW75295R	GACTGCGTACGAATTGAC
AW75304F	TGAGTCCAAACCGGTCA	AW75296R	GACTGCGTACGAATTGCA
AW75305F	TGAGTCCAAACCGGTGT	AW75297R	GACTGCGTACGAATTTAG
AW75306F	TGAGTCCAAACCGGTTG	AW75298R	GACTGCGTACGAATTTGA
P0814P1B11F	TGAGTCCAAACCGGAGC	P0814P1H10R	GACTGCGTACGAATTAAT
P0814P1C11F	TGAGTCCAAACCGGATA	P0814P1A11R	GACTGCGTACGAATTTGC

## 2 方法

### 2.1 DNA 的提取

取各栝楼品种幼嫩叶片，液氮研磨成粉末，经改良 CTAB 法提取总基因组 DNA<sup>[13]</sup>，利用琼脂糖凝胶电泳检测，获得清晰条带，用紫外分光光度计测定浓度和质量，于-20℃保存备用。

### 2.2 SRAP 反应及引物筛选

PCR 体系为 10 μl，包括 25 ng 的 DNA，0.6 U 的 Taq 酶，3 pmol 上下游引物，0.6 mmol 的 dNTPs，20 pmol 的 MgCl<sub>2</sub> 和 1 μL 的 10×buffer。SRAP-PCR 反应程序按 94℃ 预变性 5 min，然后 94℃ 变性 1 min、35℃ 退火 1 min、72℃ 延伸 1 min、5 个循环，接着 94℃、1 min，50℃、1 min，72℃、1 min，再进行 35 个循环，最后 72℃ 延伸 8 min，12℃ 保存。以皖蒌 17 号和皖蒌 18 号 DNA 作为模板对 100 对引物组合进行筛选，按上述反应体系和程序进行扩增筛选，选择扩增效果好的引物进行遗传多样性鉴定。

### 2.3 凝胶电泳检测

扩增产物用 8% 非变性丙烯酰胺凝胶电泳检测，200 V 电泳约 1.2 h。电泳结束后凝胶银染显色，用 0.1% 的 AgNO<sub>3</sub> 染色约 10 min、经蒸馏水漂洗 2 次，在显影液（16 g/L 氢氧化钠+甲醛 10.8 ml/L）中显色至条带清晰可见为止。

### 2.4 数据获取与分析

**2.4.1 居群内遗传多样性分析** 将 13 个栝楼品种资源上扩增的条带按通过人工统计带型，将同一个水平线上有带的标记为“1”，无条带处标记为“0”表示进行基因分型。将 13 个品种分为 3 个自然群，分别为潜山地区自然群（5 个），合肥育成自然群（4 个）和其他野生自然群（4 个）。计算总群体和 3 个自然群的总等位点数（total number of alleles, TNB），多态性位点数（number of polymorphic loci,

NPB），多态性标记位点百分比（percentage of polymorphic alleles, PPB）。用软件 Popgene version1.31<sup>[14]</sup> 计算观察等位基因数（observing the number of alleles,  $N_a$ ）、有效等位基因数（effective number of alleles,  $N_e$ ）、多态性信息含量（polymorphic information content, PIC）、香农信息指数（Shannon information index,  $I$ ）和  $Nei$  遗传距离（ $H_j$ ）。

**2.4.2 居群间遗传变异，基因漂移分析** 用 Popgene32 软件计算不同群体之间的  $Nei$ 's 遗传距离（GD）和遗传一致度（genetic identity, GI）、基因流（gene flow,  $N_m$ ）、群间分化系数（ $F_{st}$ ）以及居群之间的遗传相关性，并用 MEGA4.0.2 转化为树状图。

**2.4.3 品种资源的遗传结构分析** 利用 NTSYSpc 2.1 软件进行相似性分析，并利用非加权组平均法（unweighted pair group with mathematic average, UPGMA）对供试栝楼品种资源进行聚类分析，将结果转化为树状图谱。

## 3 结果与分析

### 3.1 DNA 质量分析

提取的栝楼基因组 DNA 电泳检测只有 1 条带，说明所提取的 DNA 具有良好的完整性，紫外分光光度计检测，其  $A_{260}/A_{280}$  的值在 1.5~1.8，可用作为 SRAP 的模板。

### 3.2 引物的筛选结果分析

上下游各 10 个引物，组合成 100 对引物以皖蒌 17 号和皖蒌 18 号 DNA 作为模板进行 PCR 扩增，产物经凝胶电泳检测后，筛选出在 2 个品种上扩增效果好，稳定性较好的 43 对引物（图 1）。

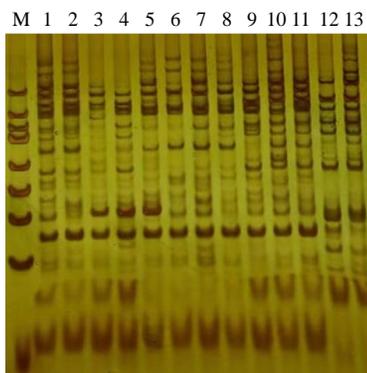
### 3.3 PCR 扩增结果

用筛选出的 43 对效果好的引物对 13 个栝楼品种资源进行扩增，产物经凝胶电泳检测后获得相应多区分度良好。其中 AW75305F~AW75295R 这对



图 1 皖蒌 17 号和皖蒌 18 号部分 SRAP 引物筛选电泳图  
Fig. 1 A part of SRAP primer screening electrophoretogram of Wanlu 17 and 18

引态性图谱，共扩增出 691 个位点，条带清晰，带型物扩增出的位点数最多，扩增出 29 个位点，其次是 AW75302F~AW75291R 这对引物能扩增出 26 个位点，最少的是 AW75303F~P0814P1H10R 这对引物仅扩增的位点数最少，仅扩增出 7 个位点。从整体看，SRAP 每对引物获得的位点数多，扩增的位点多态性高，分辨率度良好，可以作为栝楼遗传分析标记。图 2 是 AW75304F~AW75298R 扩增的图谱。



电泳图中泳道序号与表 1 序号所对应品种资源一致  
Serial number of the lane in figure is consistent with No. in table 1

图 2 引物 AW75304F~AW75298R 在 13 份栝楼品种资源的扩增产物电泳图谱  
Fig. 2 Electrophoretogram of amplification products of primers AW75304F—AW75298R in 13 varieties of *Trichosanthes*

### 3.4 类群内遗传多样性分析

将 13 个品种分为 3 类群，从表 3 中看出整个群体有较高的多态性，标记位点的多态性百分率达到 79.16%，PIC、 $N_a$ 、 $N_e$ 、 $I$  和  $H$  依次为 0.495 5、1.791 6、1.374 6、0.359 4 和 0.231 6。其中野生型品种类群资源遗传多样性最高，其标记平均 PPB 达到 57.45%、PIC 为 0.498 8、 $N_a$  为 1.574 5、 $N_e$  为 1.363 9、 $I$  为 0.317 2 和  $H$  为 0.213 1 都最高，合肥育成的品种类群的遗传多样性最低，标记位点多态性也最低。

### 3.5 类群间的遗传结构和基因漂移分析

从表 4 可以看出，自然群间具有一定的遗传一致度 ( $GI \geq 0.866 9$ )，自然群间遗传距离 (GD) 均小于 0.142 8，说明不同自然群间从进化来源一致性较高，当前所收集的栝楼不同群体间遗传相似性较高，特别是安徽合肥和潜山的类群遗传相似性达到 0.922 9。从聚类图 (图 3) 和表 4 上可知，潜山和合肥育成品种之间的遗传一致性很高，遗传距离较近，说明安徽当前栽培选育的栝楼品种遗传基础较为狭窄。而不同地区来源的野生栝楼和安徽本地的遗传距离较远，具有较大的遗传差异，能够拓宽栝楼育种的遗传基因，具有较高的育种价值。

从自然群之间的基因流和基因分化来看，亲缘关系地方群体间的群体间分化系数 ( $F_{st}$ ) 平均为 0.265 6，说明不同自然群间存在较多的杂交，不同位点上最小为 0.001 6，最大为 1.000。自然群间  $N_m$  平均为 1.382 6，位点之间最小为 0.088 5，最大为 303.545 5。可以看到栝楼类群遗传分化系数较大，不同自然群间具有一定的基因交流，但不同位点间差异很大。

### 3.6 品种资源的遗传结构分析

13 个栝楼品种资源的聚类分析结果见图 4，从图中可以看出，13 个品种资源被分成 2 个亚群，2 个长萼栝楼品种与其他栝楼品种资源遗传相似性系数仅仅为 60.94%，它们单独组成 1 个亚群，与其他栝楼品种的遗传差异最大，但在内部 2 个长萼栝楼

表 3 栝楼类群内遗传多样性指标

Table 3 Summary of genetic diversity within three *Trichosanthes* natural populations

群体代号	样本数	多态性位点	PPB/%	PIC	$N_a$	$N_e$	$I$	$H$
QS	5	320	46.31	0.493 9	1.463 1	1.279 5	0.245 4	0.163 7
HF	4	256	37.05	0.492 7	1.370 5	1.239 2	0.204 2	0.137 5
YS	4	397	57.45	0.498 8	1.574 5	1.363 9	0.317 2	0.213 1
整体	13	547	79.16	0.495 5	1.791 6	1.374 6	0.359 4	0.231 6

表 4 类群间的 GI 和 GD  
Table 4 GI and GD between populations

群体代号	QS	HF	OW
QS	****	0.922 9	0.873 7
HF	0.080 2	****	0.866 9
OW	0.135 0	0.142 8	****

GI (上三角) 和 GD (下三角)

GI (above diagonal) and GD (below diagonal)

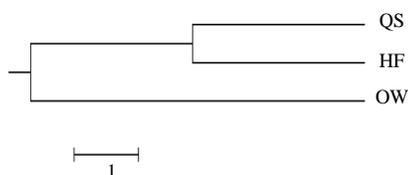


图 3 基于 Nei's 遗传距离类群聚类图

Fig. 3 Population dendrogram based on Nei's genetic distance

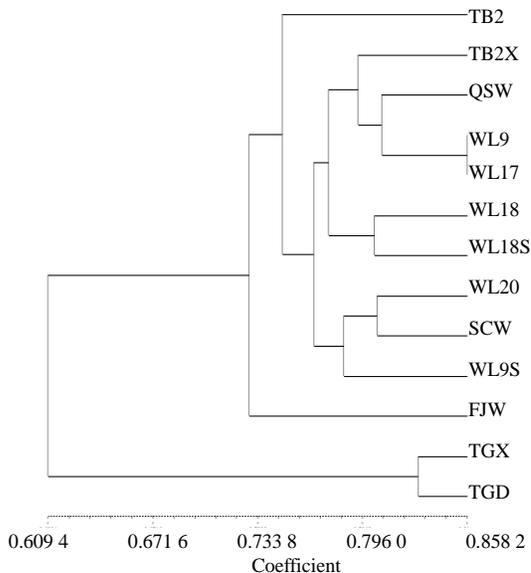


图 4 13 个栝楼品种资源的 SRAP 分析聚类树状图

Fig. 4 SRAP Dendrogram of 13 *Trichosanthes* resources

地方品种的相似性较高，两者相似性达到 82.92%。其余 11 个品种被分成另外一个亚群，其中福建野生栝楼与其他品种遗传相似系数最小，仅为 70.33%，其次是天宝 2 号与其他栝楼品种遗传相似性差异较大，相似系数为 71.92%。皖蒌 9 号和皖蒌 17 之间的遗传相似性最高，达到 85.82%。从图中可以看出，天宝 2 号雄株与皖蒌 9 号和 17 以及潜山野生型相似性更高，而四川野生型与皖蒌 20 和皖蒌 9 号籽生资源从遗传上被聚类在 1 个亚群中。天宝 2 号雌株和雄株之间也遗传差异较大，因此选育栝楼品种要同

时考虑雌株和雄株的遗传背景，从栝楼遗传相似性可以看出安徽所选育的栝楼品种遗传相似性较高，而四川和福建的野生品种同时也被聚类在一起，特别是四川野生种质资源，其基因已大量掺入，可能是其已被安徽栝楼育种广泛应用。

#### 4 讨论

##### 4.1 SRAP 用于栝楼遗传多样性分析适用性

SRAP 作为一种不需要参考基因组序列信息的高效、快速分子标记，已被广泛用于各类大田作物、园艺、草坪和中草药的遗传多样性及分子图谱的构建<sup>[9-12,15-17]</sup>，然而迄今还很少有栝楼的 SRAP 研究报告<sup>[18]</sup>。本研究选取上下游各 10 条 SRAP 引物，组成 100 对扩增引物，通过筛选，获得了 43 对稳定扩增的引物，条带清晰，带型区分度良好，标记位点在 13 个种质资源上多态性百分率达到 79.16%，说明 SRAP 标记适用于栝楼遗传多样性分析。

##### 4.2 栝楼的遗传多样性

栝楼是异化授粉，雌雄异株植物，而栝楼以无性繁殖为主，通过杂交获得种子，多采用集团选择，选育的品种具有高度的杂合性，并且品种内部不同单株之间同样存在遗传背景差异，迄今为止，对瓜蒌遗传多样性研究还不多，孙稚颖等<sup>[5]</sup>采用了 RAPD 技术研究了山东栝楼的遗传多样性、高燕会等<sup>[6]</sup>采用 ISSR 研究了 34 份瓜蒌种质资源的遗传多样性、吕泽芳等<sup>[7]</sup>采用 ITS 序列研究了湖北及西南地区瓜蒌遗传多样性，但都没有分析不同来源地的起源进化关系。本研究从每个品种资源上随机选取 3 个单株进行混合取样，建立 DNA 样品池，确保所用基因组能够代表品种资源的群体基因型。所用的 43 对 SRAP 引物所获得的 691 个等位基因信息表明 PIC 为 0.495 5，类群内的 PIC 值变化较小。说明栝楼品种资源之间具有较高的遗传多样性。并且 3 个自然群间具有较高的遗传一致性 ( $GI \geq 0.866 9$ )，较小的遗传差异 ( $GD \leq 0.142 8$ )，特别是合肥自然群和潜山自然群之间一致性很高，差异很小，这说明当前安徽所选育的瓜蒌品种其来源遗传基础还比较狭窄，而其他野生型与这 2 个自然群之间具有较高的遗传差异，可以通过引入这些野生种质资源拓宽安徽栝楼育种的种质资源遗传基础。从品种资源的遗传聚类结果看，不同地域来源的品种资源聚类结果并不在同一个遗传类群中，并且不同居群之间的基因流较大，说明不同栝楼之间存在较大的基因交换，符合异交作物的遗传特征。但 11 个双边栝楼

品种资源与 2 个长萼栝楼 (TGX 和 TGD) 之间存在较大的遗传差异, 2 个种间存在一定的生殖障碍, 鲜有将 2 个种进行杂交育种, 并获得成功的先例。当前栝楼的基因型与表型之间的关系研究还较少, 构建栝楼遗传图谱, 乃至如大田作物一样进行 QTL 定位和关联定位, 利用标记进行辅助选择是栝楼未来育种的方向, 也是分子标记利用的最终方向<sup>[19]</sup>。

### 4.3 栝楼种质资源的保护与利用

先前的育种实践表明, 异交作物, 如玉米通过自交或者近交, 获得纯合基因型, 淘汰不利等位基因, 获得优良的纯合自交或近交系, 再杂交往往能够获得巨大的产量和抗性增益<sup>[20]</sup>。然而当前, 栽培的栝楼品种大多数通过野生品种驯化选育获得, 以无性繁殖为主, 经多年栽培种植, 品种退化, 异花授粉导致品种混杂, 而育种上多采用集团选择, 还没有进行系统的系谱选育。通过分子标记鉴定栝楼种质资源遗传特性, 为创制和选育新品种奠定基础。本研究选用了 2 个类型的栝楼种, 两者之间的遗传差异较大, 利用 SRAP 分子标记鉴定了不同种质资源遗传上的相似性, 为进一步的系谱选育选择亲缘关系最近的雌雄单株构建姊妹近交系, 加快创制出纯合度高的栝楼遗传研究材料和育种中间品系, 为选育出高产、稳产和抗逆的新品种奠定基础。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

### 参考文献

- [1] 刘鹏, 马丽, 章艺, 等. 铝胁迫下根系分泌物对栝楼光合特性及耐铝性的影响 [J]. 水土保持学报, 2016, 30(4): 288-295.
- [2] 何家庆, 何禾. 中国栝楼 [M]. 北京: 科学出版社, 2016: 26.
- [3] 黄璐琦, 乐崇熙, 李懋学. 栝楼属 8 种植物的染色体数目 [J]. 云南植物研究, 1994(1): 95-96.
- [4] 吴玉香, 杨福红, 赵晓明, 等. 秋水仙碱诱导栝楼四倍体 [J]. 核农学报, 2009, 23(3): 418-422.
- [5] 孙稚颖, 周凤琴. 山东产瓜蒌不同农家品种的 RAPD 研究 [J]. 中草药, 2006, 37(3): 426-429.
- [6] 高燕会, 李慧慧, 朱玉球, 等. 基于 ISSR 的栝楼遗传多样性分析 [J]. 中草药, 2011, 42(2): 363-366.

- [7] 吕泽芳, 于杰. 基于 ITS2 序列片段的药用植物栝楼及混淆品分子鉴定研究 [J]. 西南大学学报: 自然科学版, 2017, 39(9): 1-6.
- [8] 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(2): 455-461.
- [9] 王刚, 潘俊松, 李效尊, 等. 黄瓜 SRAP 遗传连锁图的构建及侧枝基因定位 [J]. 中国科学: C 辑, 2004(6): 510-516.
- [10] 任羽, 张银东, 尹俊梅, 等. 辣椒 31 个优良自交系的亲本类群分析 [J]. 遗传, 2008, 30(2): 237-245.
- [11] 何庆元, 吴萍, 张晓红, 等. 不同秋眠性苜蓿 SRAP 体系优化及遗传多样性分析 [J]. 草业学报, 2011, 20(2): 201-209.
- [12] 吴鑫, 雷天刚, 何永睿, 等. 柑桔 SRAP 和 ISSR 分子标记技术体系的建立与优化 [J]. 分子植物育种, 2008, 6(1): 170-176.
- [13] 王吴彬. 野生大豆(*Glycine soja sieb.et zucc.*)染色体片段代换系群体的构建及其主要性状基因/QTL 的片段定位 [D]. 南京: 南京农业大学, 2012.
- [14] Yeh F C, Yang R C, Boyle T. Popgene version 1.31 quick user guide [D]. Canada: University of Alberta and Centre for International Forestry Research, 1999.
- [15] 李成梅, 李莹莹, 刘键锤, 等. 广藿香化学诱变植株 SRAP 遗传特性及质量研究 [J]. 中国现代中药, 2023, 25(1): 107-114.
- [16] 王丽赞, 孙健, 陈梦莹, 等. 不同产区白芷遗传多样性和品质特征 [J]. 浙江农林大学学报, 2023, 40(1): 30-37.
- [17] 姜武, 李亚萍, 陈家栋, 等. 基于 ISSR 和 SRAP 分子标记的黄精种质遗传多样性研究 [J]. 中草药, 2022, 53(21): 6865-6873.
- [18] 曹亮, 黄艳宁, 谢进, 等. 籽用栝楼遗传多样性研究 [J]. 中草药, 2017, 48(20): 4316-4322.
- [19] 陈和明, 蔡文杰, 吕复兵, 等. 兰科植物遗传图谱与 QTL 定位研究进展 [J]. 中国农业大学学报, 2023, 28(6): 63-72.
- [20] 胡俏强, 谢本寿, 潘玖琴, 等. 浅述优良鲜食甜玉米自交系的选育及杂交种组配方法 [J]. 农业科技通讯, 2022(10): 163-166.

[责任编辑 时圣明]