

不同产地中国李资源遗传多样性SSR分析

左力辉, 韩志校, 梁海永, 杨敏生*

(河北农业大学林学院, 河北保定 071000)

摘要: 利用均匀分布在 8 个染色体连锁群上的 16 对 SSR 引物对来自 3 类产区的 24 份中国李品种的遗传多样性进行分析, 结果表明: 各引物的多态信息含量 (PIC) 在 0.547 ~ 0.783 间变化, 其中引物 CPSCT005 最低, 引物 CPSCT022 最高。不同引物间有效等位基因数 (N_e)、Nei's 基因多样性 (H) 和 Shannon's 指数 (I) 分析均存在显著差异, 且均为引物 CPSCT039 最高, 引物 CPSCT031 最低。3 类产区所有引物分析表明, Nei's 基因多样性 (H)、Shannon's 指数 (I) 和有效等位基因数 (N_e) 的关系是: 南方品种和北方品种相差不大, 均大于国外品种, 且南方品种与国外品种先聚到一类。16 对 SSR 引物总共扩出条带 86 条, 其中多态性条带 81 条, 多态性比率为 94.19%, 平均每对引物扩增位点 5.38 个。品种聚类分析表明, 在遗传距离 0.35 处, 24 份中国李材料可分为 2 大类, 大部分北方品种聚为一类, 南方品种和国外品种聚为一类, 从分子水平支持了以前提出的国外品种起源于中国的说法。

关键词: 李; SSR; 引物效率; 类群; 遗传多样性

中图分类号: S 662

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2015) 01-0111-08

Analysis of Genetic Diversity of *Prunus salicina* from Different Producing Areas by SSR Markers

ZUO Li-hui, HAN Zhi-xiao, LIANG Hai-yong, and YANG Min-sheng*

(College of Forestry, Agricultural University of Hebei, Baoding, Hebei 071000, China)

Abstract: Sixteen pairs SSR primers that evenly distributed on the 8 chromosome linkage group were used to analyze the genetic diversity of 24 *Prunus salicina* varieties from different producing areas. The result showed that the PIC of each primer was ranging from 0.547 to 0.783, with the lowest primer CPSCT005 and the maximum primer CPSCT022. The effective alleles, Nei's gene diversity and Shannon's information of different primers differed significantly, in which primer CPSCT031 was the lowest while primer CPSCT039 was the maximum. According to the analysis of all primers, the relationship of effective alleles, Nei's gene diversity and Shannon's information of three producing areas were the same: Northern variety and southern variety were less different and greater than foreign variety. The populations of southern variety and foreign variety were clustered together. Sixteen pairs primers expanded 86 sites in total, while the polymorphic loci were 81 with the percentage of 94.19%, and the amplification loci of each pair of primers amplification in average was 5.38. Cluster results showed that in line 0.35, 24 species were divided into two groups, and most of the northern varieties gathered for a class whereas the southern varieties and foreign varieties gathered into a group. The results indicated in molecular level that foreign

收稿日期: 2014-09-25; 修回日期: 2014-12-29

基金项目: 国家林业局林业公益性行业专项 (201104039)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: yangms100@126.com; Tel: 0312-7528715)

varieties originated from China.

Key words: *Prunus salicina*; SSR; primer efficiency; populations; genetic diversity

近年来利用分子标记技术鉴定李种质资源取得了较大进展（曲泽洲和孙云蔚，1990）。阮颖等（2002）用 RAPD 技术分析了 9 种李属植物的亲缘关系；吴少华等（2002）通过 RAPD 分析后认为，柰不是桃和李的杂交种，而是李属的一个种；乔玉山等（2003）建立了中国李的 RAPD 反应体系，并在其基础上构建了 5 个中国李的指纹图谱；杨本芸（2006）对桃、李、杏进行了 SSR 分析，构建了品种的指纹图谱；杨迺然和陈红（2012）建立了中国李的最优 SSR 反应体系。但是将中国李按不同原产地进行 SSR 遗传多样性对比分析还未见报道。SSR（Simple Sequence Repeat）分子标记技术在多样性分析、基因定位、遗传作图、品种鉴定等方面得到了广泛的应用（乔玉山 等，2004a；冯晨静，2005；关玲 等，2011；杨文柱和焦艳，2012）。SSR 标记可作为联系遗传图谱、序列信息以及最终的表型差异三者之间的重要纽带（宪立杰 等，2013）。

本试验中选取来自不同产区的 24 份中国李（*Prunus salicina*）为材料，对位于不同染色体上的 SSR 位点进行 PCR 扩增研究，探究不同引物效率值的差异，并从分子水平上探讨中国李的亲缘关系和 3 类产区（中国北方、中国南方和国外）间的遗传多样性差异，为中国李的分类提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

24 个常用的中国李品种来自辽宁果树研究所熊岳种质资源圃。其中 1~8 是原产中国北方地区的品种，9~16 是原产于中国南方的品种，17~24 是原产自外国的品种（表 1）。2013 年 5 月底采集各李品种幼嫩叶片，低温下带回实验室，于超低温冰箱中保存备用。

表 1 供试的中国李品种
Table 1 *Prunus salicina* varieties for test

编号 品种 No. <i>Prunus salicina</i> varieties	产地 Origin	编号 品种 No. <i>Prunus salicina</i> varieties	产地 Origin
1 绥棱红（实生；北方）Suilinghong (Seedling; North)	吉林 Jilin	13 水李（南方）Shuili (South)	四川 Sichuan
2 离核小黄李（北方）Lihexiaohuangli (North)	黑龙江 Heilongjiang	14 金蜜李（南方）Jinmili (South)	香港 Hong Kong
3 大青稞（北方）Daqingke (North)	山东 Shandong	15 芙蓉李（南方）Furongli (South)	福建 Fujian
4 大头李（北方）Datouli (North)	辽宁 Liaoning	16 紫红五月里（南方）Zihongwuyueli (South)	贵州 Guizhou
5 奎丰（北方）Kuifeng (North)	新疆 Xinjiang	17 黑琥珀（国外）Black Amber (Abroad)	美国 American
6 大叶砧木（北方）Dayezhenmu (North)	辽宁 Liaoning	18 美国大李（国外）Black Plum (Abroad)	美国 American
7 昌黎大紫李（北方）Changlidazili (North)	河北 Hebei	19 百班克（国外）Baibanke (Abroad)	美国 American
8 美丽（实生；北方）Meili (Seedling; North)	辽宁 Liaoning	20 大石早生（国外）Dashizaosheng (Abroad)	日本 Japan
9 广丰红心李（南方）Guangfenghongxinli (South)	江西 Jiangxi	21 莫尔特尼李（国外）Moriteni (Abroad)	美国 American
10 红美人（南方）Hongmeiren (South)	浙江 Zhejiang	22 红叶太阳李（国外）Red Sun (Abroad)	日本 Japan
11 空心李（南方）Kongxinli (South)	湖北 Hubei	23 安哥诺（国外）Angeleno (Abroad)	美国 American
12 红李（南方）Hongli (South)	江西 Jiangxi	24 拉罗达（国外）Laroda (Abroad)	美国 American

1.2 DNA提取及引物选择

采用改良 CTAB 法（乔玉山 等，2004b）提取基因组 DNA，所提取的 DNA 使用 Nanodrop2000 核酸测定仪检测合格并稀释到 30 ng · μL⁻¹，用于 PCR 反应。SSR 引物序列参考在 NCBI 上查询到的李基因组序列，分别从中国李的 8 对染色体上选择 16 个 SSR 位点（表 2），所有 SSR 引物由生工生

物工程（上海）股份有限公司合成。

表 2 选用的引物及特征
Table 2 The characteristics of primers

编号 No.	引物 Primer	正向引物序列 (5' - 3') Forward primer sequence	反向引物序列 (5' - 3') Reverse primer sequence	染色体连锁群 Group
1	CPSCT005	CTGCAAGCACTGCGGATCTC	CCCATAITCCCAACCCATTA	4
2	CPSCT006	ACAAACCAAGCACCGTCTC	GGGCAAATGCTTACCTGTTC	5
3	CPSCT011	ATTTGGGTTTGCGACTCAAG	ACTCATCCCTTGCCCTTTCT	5
4	CPSCT012	ACGGGAGACTTCCCAGAAG	CTTCTCGTTTCCTCCCTCCT	6
5	CPSCT018	AGGACATGTGGTCCAACCTC	GGGTTCCTCGTTACTTTCAT	8
6	CPSCT021	GCCACTTCGGCTAAAAGAGA	TCCATATCTCCTCCTGCTTGA	2
7	CPSCT022	TGTTGCCTCTCATCTTAACCA	TTCTTGAGCAGCCCATTCTT	5
8	CPSCT023	CGGGTTGACTCAGTTCCTTC	ATTGAGCAGAAGCCAGAA	2
9	CPSCT024	TGGGTCTGTTCTTTATCGTG	CCTCACCAAAACGGTAGTCAG	1
10	CPSCT026	TCTCACACGCTTTCGTCAAC	AAAAAGCCAAAAGGGGTGT	7
11	CPSCT031	TTCAGATGAAAAAGAAAAAGAAAGT	AAAGAAACGCTTGTCTTGAC	2
12	CPSCT032	CATCATCATCTCACCCAAA	TGCTGATCCGTGAGATCTTG	3
13	CPSCT033	TCCTCATTTGAGTGTGTGGA	TGCCAATTGAAAACCTTGT	7
14	CPSCT034	AGGTGGACAATAGCCGTGAT	TTTCCAGACCTGAGAAAGC	2
15	CPSCT036	TCGAAGACAGACCAGACAAAGA	TTGCCTTATGCCGGTAATT	1
16	CPSCT039	GCCGCAACTCGTAAGGAATA	TCCACCGTTGATTACCCTTC	4

1.3 PCR反应体系与扩增程序

PCR 反应采用 10 μL 体系（梁海永 等, 2011; 孙萍 等, 2013），各成分及比例如下：2× *Taq* MasterMix 4 μL；前引物、后引物各 0.5 μL；DNA 模板 1 μL；去离子水 4 μL。PCR 扩增 94 ℃预变性 5 min 后，开始 95 ℃变性 50 s，52 ~ 55 ℃退火 50 s，72 ℃延伸 1 min，30 个循环，最后一个循环结束，然后 72 ℃延伸 7 min，4 ℃保存 20 min，得扩增产物。

1.4 电泳与银染显色

用 8%非变性聚丙烯酰胺凝胶进行电泳，PCR 反应产物中加入 5 μL 的 6× Loading Buffer，样孔上样量 2 μL，电泳液为 1× TBE，加样后，在 230 V 电压下电泳 30 ~ 40 min，直至溴酚蓝条带距离底部 1 cm，停止电泳。采用的 Marker 为 TaKaRa 公司生产的 20 bp DNA Ladder Marker。将 8%非变性聚丙烯酰胺凝胶取出，用 1%的 AgNO₃ 染色 10 min，再用显色液（1.5%NaOH，0.4%甲醛）显色，直至条带清晰为止，照相并记录。

1.5 数据统计分析

将得到的扩增图片进行 SSR 标记数据统计，数据编码采用 2 进制，即有带记为 1，无带记为 0，形成 0/1 数据矩阵。用 DPS 7.05 和 MEGA 5.0 软件，采用类平均法进行 MPGMA 聚类分析。用 POPGENE32 软件对不同类群的多态位点百分率 (*P*)、Nei's 基因多样性 (*H*)、Shannon's 指数 (*I*) 和有效等位基因数 (*N_e*) 等进行遗传多样性数据计算和对比分析。

2 结果与分析

2.1 不同SSR引物扩增结果

本研究所选引物均能扩增出清晰、多态性高的条带，图 1 为采用引物 CPSCT018 在 24 个中国李品种的扩增结果。

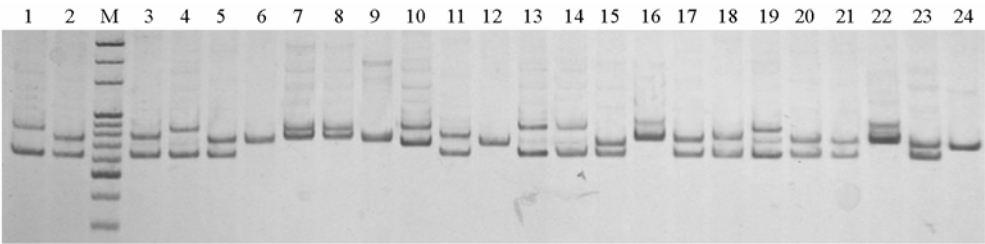


图1 引物 CPSC018 在 24 个中国李品种的扩增结果
1 ~ 24 品种名见表 1。

Fig. 1 SSR-PCR profiles of 24 *Prunus salicina* of CPSC018 primer
The names of 1 - 24 varieties were shown in Table 1.

不同引物对所有品种扩增总条带数为 3 ~ 7 条, 平均为 5.38 条, 其中多态性条带所占比例为 80% ~ 100%, 各引物的多态信息含量 (PIC) 在 0.547 ~ 0.783 之间, 其中 1 号引物最低, 7 号引物最高 (表 3)。

2.2 不同引物遗传多样性分析

由表 4 可见, 不同引物平均检测到的有效等位基因数 (N_e) 为: 1.254 ~ 1.611, 其中 16 号引物最高, 11 号引物最低。由表 5 和表 6 可见, 不同引物间 Nei's 基因多样性 (H) 存在显著差异, 16 号引物显著高于其他引物, 为 0.347, 11 号引物最低, 仅为 0.181; 3 个产区的 Shannon's 指数 (I) 在不同引物间均存在显著差异, 其中 16 号引物最高, 为 0.518, 11 号引物最低, 仅为 0.305。

表 3 16 对 SSR 引物在中国李品种中的扩增结果
Table 3 Amplification efficiency of 16 pairs of SSR primers on *Prunus salicina*

引物 Primer	总扩增带数 Total amplified bands	多态性扩增带数 The number of polymorphism bands	多态性条带比例/% The percentage of polymorphism bands	引物多态信息 PIC
1	3	3	100.00	0.547
2	5	4	80.00	0.613
3	5	5	100.00	0.698
4	5	5	100.00	0.738
5	5	5	100.00	0.694
6	7	7	100.00	0.753
7	7	7	100.00	0.783
8	6	6	100.00	0.761
9	7	6	85.71	0.753
10	5	4	80.00	0.717
11	6	6	100.00	0.758
12	4	4	100.00	0.641
13	7	6	85.71	0.777
14	6	5	83.33	0.727
15	4	4	100.00	0.570
16	4	4	100.00	0.633
平均 Mean	5.38	5.06	95.65	0.698

表 4 引物平均有效等位基因数 (N_e) 分析
Table 4 Effective number alleles of all primers

引物 Primers	位点数 Locus	北方品种 North variety	南方品种 South variety	国外品种 Abroad variety	平均 Average
1	3	1.503 ± 0.374	1.638 ± 0.307	1.492 ± 0.352	1.544 ab
2	4	1.328 ± 0.290	1.464 ± 0.289	1.461 ± 0.472	1.418 cdef
3	5	1.427 ± 0.216	1.402 ± 0.443	1.458 ± 0.300	1.429 cde
4	5	1.389 ± 0.218	1.529 ± 0.393	1.350 ± 0.212	1.423 cde
5	5	1.429 ± 0.415	1.470 ± 0.251	1.404 ± 0.303	1.434 cd
6	7	1.294 ± 0.280	1.244 ± 0.193	1.272 ± 0.355	1.270 gh
7	7	1.360 ± 0.345	1.302 ± 0.309	1.292 ± 0.333	1.318 efgh
8	6	1.380 ± 0.289	1.414 ± 0.262	1.342 ± 0.381	1.379 defg
9	6	1.354 ± 0.389	1.304 ± 0.289	1.273 ± 0.361	1.310 fgh
10	4	1.328 ± 0.281	1.313 ± 0.179	1.400 ± 0.266	1.347 defgh
11	6	1.274 ± 0.285	1.287 ± 0.221	1.202 ± 0.173	1.254 h
12	4	1.626 ± 0.299	1.501 ± 0.284	1.408 ± 0.446	1.512 abc
13	6	1.398 ± 0.347	1.315 ± 0.209	1.319 ± 0.237	1.344 defgh
14	5	1.335 ± 0.367	1.389 ± 0.218	1.442 ± 0.299	1.389 def
15	4	1.434 ± 0.513	1.448 ± 0.403	1.471 ± 0.408	1.451 bcd
16	4	1.679 ± 0.287	1.569 ± 0.498	1.585 ± 0.363	1.611 a

表 5 不同引物 Nei's 基因多样性 (*H*) 分析
Table 5 Nei's gene diversity of all primers

引物 Primers	位点数 Locus	北方品种 North variety	南方品种 South variety	国外品种 Abroad variety	平均 Average
1	3	0.313 ± 0.140	0.374 ± 0.126	0.303 ± 0.170	0.330 ab
2	4	0.220 ± 0.170	0.295 ± 0.145	0.259 ± 0.237	0.258 cde
3	5	0.286 ± 0.113	0.229 ± 0.231	0.291 ± 0.140	0.269 cd
4	5	0.266 ± 0.111	0.312 ± 0.167	0.246 ± 0.106	0.275 bcd
5	5	0.253 ± 0.206	0.303 ± 0.126	0.259 ± 0.171	0.272 cd
6	7	0.203 ± 0.131	0.180 ± 0.123	0.171 ± 0.186	0.185 gh
7	7	0.226 ± 0.179	0.200 ± 0.159	0.183 ± 0.197	0.203 efgh
8	6	0.252 ± 0.135	0.272 ± 0.135	0.207 ± 0.204	0.244 defg
9	6	0.212 ± 0.202	0.203 ± 0.159	0.171 ± 0.183	0.195 fgh
10	4	0.220 ± 0.165	0.227 ± 0.105	0.262 ± 0.160	0.236 defgh
11	6	0.183 ± 0.172	0.207 ± 0.115	0.154 ± 0.114	0.181 h
12	4	0.369 ± 0.115	0.318 ± 0.115	0.238 ± 0.222	0.308 abc
13	6	0.245 ± 0.198	0.225 ± 0.107	0.223 ± 0.126	0.231 defgh
14	5	0.210 ± 0.190	0.266 ± 0.111	0.278 ± 0.173	0.251 cdef
15	4	0.244 ± 0.250	0.276 ± 0.181	0.276 ± 0.239	0.265 cd
16	4	0.390 ± 0.113	0.310 ± 0.219	0.342 ± 0.163	0.347 a

表 6 不同引物 Shannon's 指数 (*I*) 分析
Table 6 Shannon's information index of all primers

引物 Primers	位点数 Locus	北方品种 North variety	南方品种 South variety	国外品种 Abroad variety	平均 Average
1	3	0.485 ± 0.158	0.555 ± 0.143	0.467 ± 0.209	0.503 ab
2	4	0.348 ± 0.253	0.461 ± 0.178	0.384 ± 0.323	0.398 cde
3	5	0.453 ± 0.141	0.338 ± 0.327	0.456 ± 0.169	0.416 bcd
4	5	0.429 ± 0.138	0.478 ± 0.196	0.405 ± 0.130	0.437 abcd
5	5	0.386 ± 0.280	0.471 ± 0.156	0.399 ± 0.247	0.419 bcd
6	7	0.345 ± 0.160	0.306 ± 0.183	0.268 ± 0.272	0.306 f
7	7	0.358 ± 0.242	0.328 ± 0.218	0.280 ± 0.289	0.322 ef
8	6	0.408 ± 0.165	0.433 ± 0.169	0.318 ± 0.289	0.386 cdef
9	6	0.327 ± 0.281	0.332 ± 0.219	0.275 ± 0.254	0.311 ef
10	4	0.350 ± 0.239	0.380 ± 0.137	0.405 ± 0.239	0.378 cdef
11	6	0.292 ± 0.257	0.352 ± 0.145	0.271 ± 0.173	0.305 f
12	4	0.551 ± 0.128	0.492 ± 0.130	0.361 ± 0.305	0.468 abc
13	6	0.368 ± 0.291	0.378 ± 0.135	0.372 ± 0.160	0.372 def
14	5	0.332 ± 0.261	0.429 ± 0.138	0.423 ± 0.252	0.395 cdef
15	4	0.362 ± 0.348	0.434 ± 0.217	0.403 ± 0.349	0.400 cde
16	4	0.574 ± 0.127	0.466 ± 0.262	0.513 ± 0.196	0.518 a

2.3 中国李产区间遗传多样性分析

由表 7 可知北方和南方品种多态位点百分率 (*P*) 较高, 分别达到 82.57%和 82.56%, 均高于国外品种的 80.23%; Nei's 基因多样性 (*H*)、Shannon's 指数 (*I*) 和有效等位基因数 (*N_e*) 的大小关系也表现为南方和北方品种间相差不大。说明在长期的进化过程中, 由于南北方的引种、基因交流等比较频繁, 地域性差异不明显, 其遗传多样性相差较小。原产于中国的品种的遗传多样性和丰富度均高于国外品种, 这可能与中国为李的起源地或存在某些引种关系有关。

表 7 3 个类群中国李遗传多样性参数
Table 7 The diversity of parameters of 3 producing areas of *Prunus salicina*

类群 Populations	样本数 Sample size	<i>N_a</i>	<i>N_e</i>	<i>H</i>	<i>I</i>	<i>P</i> /%
北方品种 North variety	8	1.8256	1.3623	0.2299	0.3624	82.57
南方品种 South variety	8	1.8256	1.3563	0.2289	0.3617	82.56
国外品种 Abroad variety	8	1.8023	1.3532	0.2232	0.3517	80.23
平均 Average	8	1.8178	1.3573	0.2273	0.3586	81.79

2.4 中国李产区间遗传一致度与遗传距离分析

表 8 为 3 类产区的遗传一致度与遗传距离，原产于南方和国外的中国李品种的遗传一致度最大，为 0.9711；原产北方的中国李品种和原产国外的中国李品种的遗传一致度最小，为 0.9618。同时对 3 类产区的中国李资源聚类，原产于南方和国外的最先聚到一起，再跟原产于北方地区的聚到一起。这说明了在中国李资源中，原产于南方的品种与原产于国外的品种亲缘关系较近，也印证了将中国李资源可以分为南方品种群和北方品种群的说法。

表 8 各产区中国李遗传一致度（上三角）与遗传距离（下三角）

Table 8 Nei's genetic identities and genetic distances among 3 producing areas of *Prunus salicina*

类群	北方品种	南方品种	国外品种
Populations	North variety	South variety	Abroad variety
北方品种 North variety	-	0.9643	0.9618
南方品种 South variety	0.0364	-	0.9711
国外品种 Abroad variety	0.0389	0.0293	-

2.5 中国李品种个体的SSR聚类分析

16 对引物在这些中国李品种中共扩出条带 86 条，平均每对引物扩增 5.38 条，其中多态性位点 81 条，平均每对引物扩增 5.06 条，多态性位点所占比率为 94.19%，并且这 16 对引物对 24 个中国李样品的区分率达到了 100%。利用 DPS 和 MEGA5.0 软件采用类平均法对 3 类产区的 24 份中国李资源进行聚类分析（图 2），在遗传距离 0.35 处可将其划分为两大类：第一类是包括大头李、离核小黄李等 7 个原产于北方地区的品种和紫红五月里、红李两个来自南方地区的品种；第二类共 15 个品种，除大青稞一个为北方品种外，其余均为南方品种和国外品种。第二类又可分为两小类，第一小类包括 6 个国外品种和 4 个南方品种；第二小类，包括两个国外、两个南方品种和 1 个北方品种。其中南方地区的品种和来自国外品种的聚类结果比较混乱，没能按产区来源聚类。

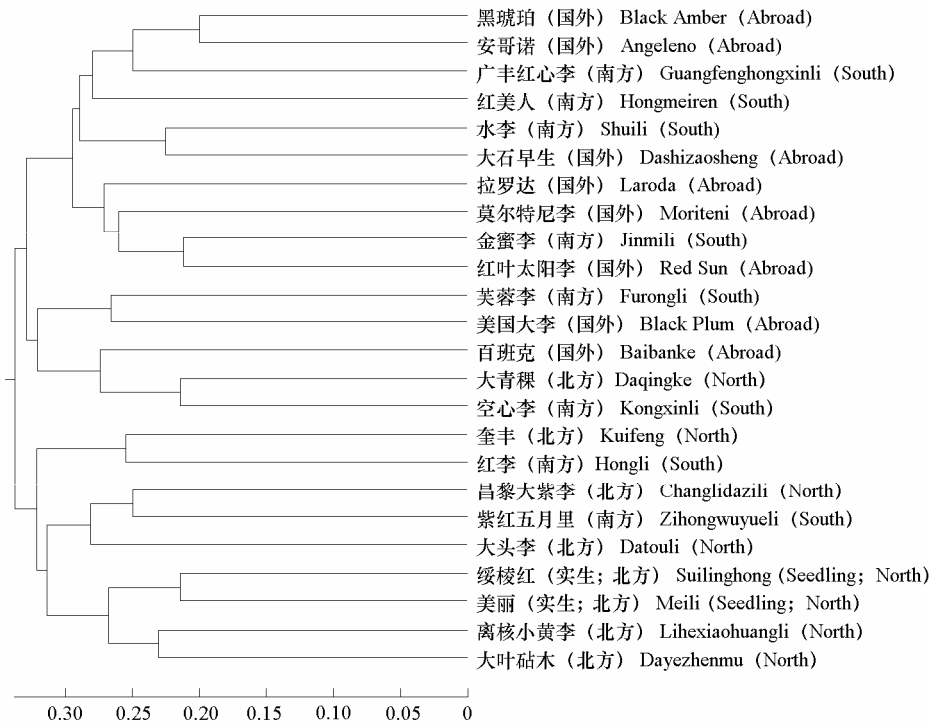


图 2 基于 SSR 标记的中国李品种聚类图
Fig. 2 Dendrogram of the *Prunus salicina* base on SSR markers

3 讨论

中国北起吉林、南至广东都有李资源分布。很多学者为中国李的分类做了探讨。在《中国果树志·李卷》中将中国李按栽培区域划分了 7 大类; 乔玉山 (2003) 首次提出将中国的中国李资源划分为南方品种群和北方品种群的构想; 刘威生 (2005) 通过对李种质资源的遗传多样性分析, 提出将中国李资源划分为东北品种群、北方品种群和南方品种群。由于中国李的栽培品种、野生半野生品种、农家品种等数量繁多, 存在同名异物或同物异名的现象, 因此对这些品种资源进行较为统一完善的分类, 将会对资源的收集、鉴定以及合理利用具有非常重要的意义。

本试验所选取的 16 对基本核心引物都具有信号强、特异性高、分布均匀、覆盖度广等特点, 能够充分揭示中国李不同品种间的亲缘关系和存在的遗传差异。品种聚类结果显示, 24 个品种聚为两大类, 其中来自北方的中国李品种绝大多数聚为了一类, 而来自南方和国外的品种聚为了一类, 说明原产于南方的中国李品种与原产于国外的中国李品种亲缘关系较近。国外品种与南方地区的品种亲缘关系比较近, 原因可能有两种: 一是所用的引物较少, 其检测的位点未能覆盖所有变异位点, 没有正确反映出品种间的亲缘关系; 二是这些品种间存在某些引种或品种间相互杂交。据史料记载, 中国李在西汉时期随着桃、杏传播到了日本和伊朗, 并进一步的传播到了欧洲和美洲, 即南方品种与国外品种存在某种引种关系 (张加延和周恩, 1998; 薛华柏, 2006; 郁香荷 等, 2011)。

SSR 分子标记因其两侧位点是相对保守的单拷贝序列, 可根据两端序列设计特异性引物, 通过 PCR 扩增、电泳来构建 DNA 指纹。由于其在种间甚至属间具有很强的保守性, 使得 SSR 引物具有很好的通用性; 选择具有多态性、高效率的核心引物及建立稳定的反应体系是正确进行 SSR 分析的关键。目前, 对引物效率的研究内容比较少, 本研究对不同染色体上的 SSR 引物进行了分析, 探究其效率值间的差异。对不同引物的多样性分析表明, 不同引物所反应出的信息量不同, 其扩增总条带数、多态性条带所占比例及引物的多态信息含量 (PIC) 均存在较大差异。不同引物的平均有效等位基因数 (N_e)、Nei's 基因多样性 (H) 和 Shannon's 指数 (I) 分析均存在显著差异, 且均为 16 号引物最高, 11 号引物最低。不同的引物检测出的信息量不同, 在应用 SSR 分子标记中应注重引物的选择, 引物结合位置的突变率越高, 其检测到的信息量也就越大, 选用不同的引物可能会得到不同的结果, 进而导致其聚类结果与真实起源间出现偏差, 影响其效率与准确性。因此选用足够多的、分布均匀、多态性高及高效的引物, 才能准确反映出植物间的亲缘关系, 进而获得准确的结果。

References

- Feng Chen-jing. 2005. Phylogenetic relationships and genetic diversity revealed by RAPD, SSR, ISSR markers in *Prunus* [M. D. Dissertation]. Baoding: Agricultural University of Hebei. (in Chinese)
- 冯晨静. 2005. 李种质资源 RAPD、SSR、ISSR 亲缘关系鉴定及遗传多样性研究 [硕士论文]. 保定: 河北农业大学.
- Guan Ling, Zhang Zhen, Wang Xin-wei, Xue Hua-bai, Liu Yan-hong, Wang San-hong, Qiao Yu-shan. 2011. Evaluation and application of the SSR loci in apple genome. *Scientia Agricultura Sinica*, 44 (21): 4415 - 4428. (in Chinese)
- 关 玲, 章 镇, 王新卫, 薛华柏, 刘艳红, 王三红, 乔玉山. 2011. 苹果基因组 SSR 位点分析与应用. *中国农业科学*, 44 (21): 4415 - 4428.
- Liang Hai-yong, Liu Xing-ju, Yang Min-sheng. 2011. Analysis of *Lycium chinense* variety revealed by RAMP-PCR method. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 27 (16): 61 - 64. (in Chinese)
- 梁海永, 刘兴菊, 杨敏生. 2011. 利用 RAMP-PCR 技术对枸杞 10 个品种资源的分析. *中国农学通报*, 27 (16): 61 - 64.
- Liu Wei-sheng. 2005. Studies on the genetic diversity among plum germplasm resources and the phylogenetic relationships of main plum species [M. D. Dissertation]. Beijing: China Agricultural University. (in Chinese)
- 刘威生. 2005. 李种质资源遗传多样性及主要种间亲缘关系的研究 [硕士论文]. 北京: 中国农业大学.

- Qiao Yu-shan, Zhang Zhen, Fang Jing-gui, Guo Hong. 2003. Optimal reaction system of RAPD in Chinese plum and its preliminary use for cultivar identification. *Journal of Fruit Science*, 20 (6): 445 - 449. (in Chinese)
- 乔玉山, 章 镇, 房经贵, 郭 洪. 2003. 中国李RAPD的优化反应体系及其在品种鉴定中的应用. *果树学报*, 20 (6): 445 - 449.
- Qiao Yu-shan. 2003. Establishment of RAPD, ISSR, and SSR reaction system and analysis of genetic diversity of Japanese plum cultivars [M. D. Dissertation]. Nanjing: Nanjing Agricultural University. (in Chinese)
- 乔玉山. 2003. 中国李 RAPD、ISSR 和 SSR 反应体系的建立及其品种资源遗传多样性分析 [硕士论文]. 南京: 南京农业大学.
- Qiao Yu-shan, Zhang Zhen, Shen Zhi-jun, Fang Jing-gui, Guo Hong. 2004a. Establishment of simple sequence repeat reaction system in *Prunus salicina*. *Plant Physiology Communications*, 40 (1): 83 - 86. (in Chinese)
- 乔玉山, 章 镇, 沈志军, 房经贵, 郭 洪. 2004a. 中国李简单重复序列 (SSR) 反应体系的建立. *植物生理学通讯*, 40 (1): 83 - 86.
- Qiao Yu-shan, Zhang Zhen, Shen Zhi-jun. 2004b. Optimization of methods for genomic DNA extraction on *Prunus salicina* Lindl. *Journal of Shanghai Jiao Tong University: Agricultural Science*, 22 (2): 139 - 142. (in Chinese)
- 乔玉山, 章 镇, 沈志军. 2004b. 中国李基因组 DNA 提取方法的优化. *上海交通大学学报: 农业科学版*, 22 (2): 139 - 142.
- Qu Ze-zhou, Sun Yun-wei. 1990. China's fruit trees taxonomy. Beijing: China Agriculture Press. (in Chinese)
- 曲泽洲, 孙云蔚. 1990. 中国果树分类学. 北京: 农业出版社.
- Ruan Ying, Zhou Pu-hua, Liu Chun-lin. 2002. Phylogenetic relationship among nine *Prunus* species based on random amplified polymorphic DNA. *Acta Horticulturae Sinica*, 29 (3): 218 - 223. (in Chinese)
- 阮 颖, 周朴华, 刘春林. 2002. 九种李属植物的 RAPD 亲缘关系分析. *园艺学报*, 29 (3): 218 - 223.
- Sun Ping, Zong Yu, Liu Jing, Hu Chun-yun, Teng Yuan-wen. 2013. Study on genetic diversity of *Malus sieboldii* in Qingliangfeng region based on SSR markers. *Journal of Fruit Science*, 30 (1): 8 - 15. (in Chinese)
- 孙 萍, 宗 宇, 刘 晶, 胡春云, 滕元文. 2013. 基于 SSR 标记的清凉山地区三叶海棠遗传多样性研究. *果树学报*, 30 (1): 8 - 15.
- Wu Shao-hua, Zhang Da-sheng, Pan Dong-ming, Lai Zhong-xiong. 2002. Cultivar identification of peach, plum and nai and study on the genetic relationship of Nai (*Prunus*) cultivars by RAPD analysis. *Acta Horticulturae Sinica*, 29 (1): 66 - 68. (in Chinese)
- 吴少华, 张大生, 潘东明, 赖钟雄. 2002. 应用 RAPD 技术对奈、李、桃亲缘关系的探讨. *园艺学报*, 29 (1): 66 - 68.
- Xian Li-jie, Liu Xing-ju, Li Xue-yan, Liang Hai-yong, Yang Min-sheng. 2013. SSR analysis of genetic diversity and fingerprint database on struction of grape germplasm. *Northern Horticulture*, (1): 87 - 90. (in Chinese)
- 宪立杰, 刘兴菊, 李雪雁, 梁海永, 杨敏生. 2013. 葡萄种质遗传多样性的SSR分析及指纹库构建. *北方园艺*, (1): 87 - 90.
- Xue Hua-bai. 2006. Development of nuclear microsatellite primers and clustering analysis of germplasm resource in plum [M. D. Dissertation]. Nanjing: Nanjing Agricultural University. (in Chinese)
- 薛华柏. 2006. 李核微卫星引物开发和种质资源聚类分析 [硕士论文]. 南京: 南京农业大学.
- Yang Ben-yun. 2006. SSR fingerprinting establishment of different cultivars of peach, plum, apricot and walnut [M. D. Dissertation]. Baoding: Agricultural University of Hebei. (in Chinese)
- 杨本芸. 2006. 桃、李、杏、核桃不同品种的 SSR 指纹图谱构建 [硕士论文]. 保定: 河北农业大学.
- Yang Wen-zhu, Jiao Yan. 2012. Application of SSR molecular marker technique in the field of biogenetics. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 40 (2): 640 - 642. (in Chinese)
- 杨文柱, 焦 艳. 2012. SSR 分子标记技术在生物遗传学领域的应用. *安徽农业科学*, 40 (2): 640 - 642.
- Yang Yi-ran, Chen Hong. 2012. Optimization of SSR reaction system of Guizhou plum. *Guizhou Agricultural Sciences*, 40 (6): 6 - 8. (in Chinese)
- 杨迺然, 陈 红. 2012. 贵州李 SSR 反应体系的优化. *贵州农业科学*, 40 (6): 6 - 8.
- Yu Xiang-he, Zhang Qiu-ping, Liu Wei-sheng, Sun Meng, Liu Ning, Zhang Yu-ping, Xu Ming. 2011. Genetic diversity analysis of morphological and agronomic characters of Chinese plum (*Prunus salicina* Lindl.) germplasm. *Journal of Plant Genetic Resources*, 12 (3): 402 - 407. (in Chinese)
- 郁香荷, 章秋平, 刘威生, 孙 猛, 刘 宁, 张玉萍, 徐 铭. 2011. 中国李种质资源形态性状和农艺性状的遗传多样性分析. *植物遗传资源学报*, 12 (3): 402 - 407.
- Zhang Jia-yan, Zhou En. 1998. Chinese fruit trees · *Prunus*. Beijing: China Forestry Publishing House. (in Chinese)
- 张加延, 周 恩. 1998. 中国果树志 · 李卷. 北京: 中国林业出版社.