



新疆枸杞种质资源遗传多样性的 SRAP 分析

查美琴¹,赵玉玲²,李 疆^{1*},朱 瑜¹,罗淑萍¹,胡 月¹

(1 新疆农业大学林学与园艺学院,乌鲁木齐 830052;2. 新疆精河县枸杞管理中心,新疆精河 833300)

摘要:利用 SRAP 分子标记技术对新疆枸杞种质资源遗传多样性及亲缘关系进行研究,为新疆枸杞种质资源分类和杂交育种提供理论依据。结果显示:(1)筛选出的 12 对 SRAP 引物共扩增出 310 个位点,其中多态性位点 264 个,多态性比率平均为 84.61%,引物多态性信息含量(PIC)变化范围为 0.76~0.93,平均为 0.83;观测等位基因(Na)、有效等位基因数(Ne)、Nei's 基因多样性指数(H)、Shannon 信息指数(I)平均值分别为 1.846 1、1.386 9、0.228 0 和 0.352 0。(2)聚类分析表明,供试材料间的遗传相似系数为 0.590 3~0.903 2,在遗传相似性系数为 0.70 和 0.76 时,可将 30 份样品分别分为 2 大类和 5 个亚类;主坐标分析结果和聚类结果基本一致。研究表明,新疆枸杞种质资源遗传多样性较丰富,且野生种与栽培品种(系)间的遗传差异较大,表现出较远的亲缘关系,而栽培品种(系)间的遗传差异相对较小,表现出较近的亲缘关系。

关键词:枸杞;相关序列扩增多态性(SRAP);聚类分析;主坐标分析;遗传多样性

中图分类号:Q346+.5 文献标志码:A

Analysis of Genetic Diversity of Germplasm Resources of *Lycium barbarum* L. Revealed by SRAP in Xinjiang of China

ZHA Meiqin¹, ZHAO Yulin², LI Jiang^{1*}, ZHU Yu¹, LUO Shuping¹, HU Yue¹

(1. College of Forestry Science and Horticulture, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China; 2. Management Center of Jinghe County Wolfberry, Jinghe, Xinjiang 833300, China)

Abstract: SRAP markers were used to study the genetic diversity and phylogenetic relationship for providing a theoretical basis for identification and crossbreeding of genetic resources of *Lycium barbarum* L. in Xinjiang of China. The results are: (1) a total of 310 loci were produced by 12 pairs of SRAP primers, and polymorphic loci were 264 which accounted for 84.61% in the total amplified fragments. The polymorphism information content (PIC) values of these markers varied from 0.76 to 0.93 with an average of 0.83. Mean values of observed number of alleles(Na), effective number of alleles (Ne), Nei's gene diversity (H) and Shannon's information index(I) were 1.846 1, 1.386 9, 0.228 0 and 0.352 0. (2) Range of genetic similarity (GS) was 0.590 3 to 0.903 2 among 30 wolfberry samples. Cluster analysis showed that samples could be divided into 2 groups and 5 subgroups accordingly at the GS of 0.70 and 0.76. The principal coordinate analysis and clustering results are basically consistent. Research shows the genetic diversity of germplasm resources of *L. barbarum* L. in Xinjiang was relatively abundant. The genetic difference be-

收稿日期:2015-10-12;修改稿收到日期:2016-03-24

基金项目:国家林业公益性行业科研专项(201304701-1);新疆自治区果树学重点学科基金资助

作者简介:查美琴(1981—),女,在读硕士研究生,主要从事林木生物技术研究。E-mail:zhamq2016@126.com

* 通信作者:李疆(1959—),男,教授,博导,主要从事林木种质资源研究。E-mail:lijiangxj@163.com

tween wild species and cultivars (lines) was relatively large, show a distant relationship, and the genetic difference among cultivars (lines) was relatively small, show a close relationship.

Key words: *Lycium barbarum* L.; sequence-related amplified polymorphism (SRAP); cluster analysis; principal coordinates analysis; genetic diversity;

枸杞(*Lycium barbarum* L.)是茄科(Solanaceae)枸杞属(*Lycium* L.)的一种多年生落叶灌木^[1]。枸杞作为一种药食同源植物,具有抗肿瘤、软化血管、防衰老及增强免疫力等药理作用^[2]。全球枸杞属植物约有 80 多种,多分布在南美洲南部和北美洲西南部,少数分布于欧亚大陆的温带^[3],中国野生自然分布的有 7 种和 3 变种,主要分布于西北和华北^[4],新疆作为中国枸杞主产区之一^[5],拥有的种质资源十分丰富。因枸杞属于常异花授粉植物,多数自交不亲和,基因型高度杂合,种子繁育后代容易发生性状分离,通过营养繁殖方式培育出的无性系新品种(系)在形态上极为接近^[6],加之基因组信息研究薄弱,使得遗传信息缺乏,遗传关系模糊不清^[7],优良种质的特性难以在品种(系)间杂交被有效遗传利用^[8]。因此,从 DNA 水平研究新疆枸杞种质资源的遗传多样性,对枸杞种质资源分类、有效利用及优良品种选育具有重要意义。相关序列扩增多态性(Sequence-related amplified polymorphism, SRAP)是 Li 等开发的一种针对外显子区域进行扩增的新型分子标记技术^[9],克服了 RAPD、RFLP、AFLP 等标记技术的一些局限性,具有技术简便、高效、重复性好、多态性明显等优点。目前已成功应用于植物种质资源遗传多样性和亲缘关系分析、图谱构建、核心种质库的构建、种质鉴定等方面研究,如中国灌木辣椒^[10]、不结球白菜^[11]、山药^[12]、南瓜^[13]等。近年来,国内外学者对枸杞种质资源遗传多样性的研究

主要侧重于形态分类学^[14]、染色体核型分析^[15]、同工酶水平^[16]等方面,后来,随着分子生物学的快速发展,分子标记技术成为枸杞种质资源遗传多样性研究主要技术手段之一,已有基于 PCR 的 RAPD^[17]、ISSR^[18]、SSR^[19]、SRAP^[20]等标记技术的枸杞种质资源遗传多样性分析。传统的枸杞种质资源遗传多样性研究方法具有一定的局限性,分子标记直接反映基因组 DNA 的遗传变异信息,且该技术的种类日趋完善,检测范围日趋扩大,但目前利用 SRAP 标记技术针对新疆枸杞种质资源遗传多样性方面的分析鲜见报道,尤其在分子水平上的研究报道甚少。本试验以新疆枸杞种质资源圃栽培品种(系)和野生种共 30 份样品为试材,拟采用 SRAP 标记技术对其遗传多样性进行分析,旨在从分子水平上确定新疆枸杞种质间遗传变异信息及亲缘关系,为新疆枸杞种质资源分类、保护和利用枸杞野生资源以及新品种选育提供分子生物学依据。

1 材料和方法

1.1 供试材料

该试验所用材料(表 1)于 2014 年 7 月采自新疆精河县枸杞管理中心枸杞种质资源圃,共计 30 个样品,采摘一年生枝条上的鲜嫩叶片置于写好编号且放有变色硅胶的自封袋中,带回实验室,放室温下保存备用。

表 1 试验材料编号及名称

Table 1 Number and name of the materials

编号	Code	名称	Names	编号	Code	名称	Names	编号	Code	名称	Names
1		精杞 1 号	Jingqi 1	11		1021		21		宁杞 7 号	Ningqi 7
2		精杞 3 号	Jingqi 3	12		1101		22		宁菜 1 号	Ningcui 1
3		精杞 4 号	Jingqi 4	13		1102		23		大麻叶枸杞	Hemp leaf wolfberry
4		精杞 5 号	Jingqi 5	14		1103		24		蒙杞 1 号	Mengqi 1
5		精杞 7 号	Jingqi 7	15		1104		25		柱筒枸杞	<i>Lycium cylindricum</i>
6		精杞 8 号	Jingqi 8	16		1202		26		白刺枸杞	White thorn wolfberry
7		1012		17		1407		27		野红果枸杞	Wild red fruit wolfberry
8		1016		18		0901		28		野黑果枸杞	Wild black fruit wolfberry
9		1017		19		宁杞 1 号	Ningqi 1	29		野生雪青色果	Wild lilac color fruit wolfberry
10		1018		20		宁杞 5 号	Ningqi 5	30		野生黄果枸杞	Wild yellow fruit wolfberry

表 2 供试 SRAP 引物序列

Table 2 SRAP primer sequences used in the experiment

编号 Code	序列 Sequence(5'→3') Primer sequence (5'→3')	编号 Code	序列 Sequence(5'→3') Primer sequence (5'→3')
me1	5'-TGAGTCCAAACCGGATA-3'	em1	5'-GACTGCGTACGAATTAAA-3'
me2	5'-TGAGTCCAAACCGGAGC-3'	em2	5'-GACTGCGTACGAATTAAAC-3'
me4	5'-TGAGTCCAAACCGGACC-3'	em3	5'-GACTGCGTACGAATTAAAG-3'
me5	5'-TGAGTCCAAACCGGAAG-3'	em5	5'-GACTGCGTACGAATTACA-3'
me6	5'-TGAGTCCAAACCGGTAA-3'	em6	5'-GACTGCGTACGAATTACC-3'
me7	5'-TGAGTCCAAACCGGACG-3'	em8	5'-GACTGCGTACGAATTACT-3'
		em9	5'-GACTGCGTACGAATTAGA-3'
		em10	5'-GACTGCGTACGAATTAGC-3'

1.2 方法

1.2.1 基因组 DNA 的提取与检测

采用改良 CTAB 法提取供试材料基因组 DNA^[21], 用核酸蛋白仪检测 DNA 浓度, 1% 琼脂糖凝胶电泳检测其完整性和纯度, EB 染色后, 凝胶成像系统观察并摄影记录, 用 ddH₂O 将 DNA 浓度稀释至 50 ng/μL 后分装, 保存-40 ℃冰箱中备用。

1.2.2 引物筛选

所用 SRAP 正反向引物参照 Li 等公布的引物序列(表 2), 由上海生工生物工程有限公司合成, SRAP 正反向引物各 12 条, 两两组合成 144 个引物组合, PCR 反应相关试剂 10×Buffer (含 Mg²⁺)、Taq DNA 聚合酶、dNTPs、100 bp DNA marker 和 ddH₂O 均购自天根生化科技(北京)有限公司。从供试材料中抽取形态性状差异较大的枸杞 DNA 模板 5 个对 144 对 SRAP 引物进行筛选, 最终筛选出清晰易辨认、稳定性好、多态性丰富的 SRAP 引物用于所有 DNA 样品扩增。

1.2.3 PCR 扩增

PCR 反应在 Bio-Rad PCR 仪上进行。在 25 μL SRAP-PCR 反应体系中, 含 10×Buffer (含 Mg²⁺) 2.5 μL, dNTP (10 mmol/L) 0.5 μL, DNA 模板 (50 ng/μL) 1 μL, Taq DNA 聚合酶 (2.5 U/μL) 0.4 μL, 正反引物 (10 μmol/L) 各 0.5 μL, 加 ddH₂O 至 25 μL。PCR 反应程序为: 94 ℃预变性 5 min, 94 ℃变性 1 min, 35 ℃复性 1 min, 72 ℃延伸 1 min 反应 5 个循环, 94 ℃变性 1 min, 50 ℃复性 1 min, 72 ℃延伸 1 min 反应 35 个循环, 72 ℃延伸 7 min, 4 ℃保存。

1.2.4 PCR 扩增产物的检测

PCR 扩增产物与 2 μL 6×Loading Buffer 混匀后, 在 6% 非变性聚丙烯酰胺凝胶上电泳分离, 电极缓冲液为 1×TBE, 200 V 恒电压电泳约 50 min, 电泳结束后, 银染法染

色显影, 在荧光灯上观察分析条带并照相记录, 试验设定 3 个重复。

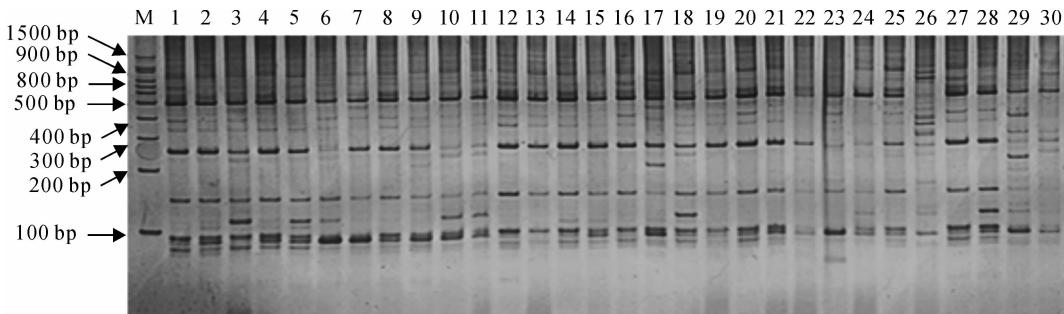
1.3 数据的处理与分析

对清晰且易于辨认的谱带根据分子标记的迁移率及其有无, 统计所有的二元数据, 按条带有无赋值, 同一位点有带记为“1”, 无带记为“0”, 建立二元原始数字矩阵; 利用 PIC_CALC Version 0.6 软件计算多态信息含量 (PIC) 值; 运用 POPGENE1.32 软件计算扩增产物的多态位点数、多态性百分率 (PPB)、观察等位基因数 (Na)、有效等位基因数 (Ne)、Nei's 基因多样性指数 (H) 和 Shannon 信息指数 (I) 等遗传多样性参数; 利用 NTSYS-pc2.1e 软件计算不同枸杞种质间的 Jaccard 相似性系数 (GS), 按非加权成组配对算术平均法 (UPGMA) 进行聚类分析, 通过 Tree plot 模块生成亲缘关系聚类图, 最后, 根据遗传相似系数进行主坐标分析及绘制三维空间图和二维平面散点图以检验聚类结果。

2 结果与分析

2.1 SRAP 引物扩增结果分析

利用形态性状差异较大的枸杞 DNA 模板进行引物筛选, 从 144 对 SRAP 引物中筛选出扩增条带清晰、稳定且多态性丰富的 SRAP 引物 12 对, 分别对 30 份枸杞样品进行 SRAP-PCR 扩增, 扩增位点的分子量主要分布在 100~1 500 bp 之间, 其中 SRAP 引物 me4-em8 的扩增图谱见图 1。对 12 个 SRAP 多态性引物组合在所有试材上扩增的位点进行统计分析, 位点统计结果见表 3。12 对 SRAP 多态性引物共检测出 DNA 位点 310 个, 具有多态性位点 264 个, 每对引物检测的位点数为 14~34 个不等, 平均为 25.83 个, 多态位点数为 11~34 个不等,



M. DL1500; 编号 1~30 同表 1

图 1 引物组合 me4—em8 对枸杞所有试材的 SRAP 扩增

No. 1—30 are the same as Table 1

Fig. 1 SRAP amplification of *Lycium barbarum* L. germplasm by primer combination me4-em8

表 3 供试枸杞遗传多样性的统计

Table 3 The statistics of genetic diversity of *L. barbarum*

引物 Primer	扩增总带数 Total bands	多态性条带 Polymorphic bands	多态百分率 Polymorphic rate PPB / %	多态性信息含量 Polymorphism information content (PIC)	观测等位基因数 Observed number of alleles (Na)	有效等位基因数 Effective number of alleles (Ne)	Nei's 基因多样性 Nei's gene diversity (H)	香农指数 Shannon's information index (I)
me2-em6	27	27	100.00	0.79	2.000 0	1.455 0	0.260 3	0.396 3
me4-em2	27	16	59.26	0.88	1.592 6	1.334 6	0.189 8	0.283 4
me4-em3	23	16	69.57	0.85	1.695 7	1.319 6	0.194 4	0.300 5
me4-em6	25	17	68.00	0.93	1.680 0	1.369 8	0.209 3	0.312 1
me4-em8	23	21	91.30	0.82	1.913 0	1.432 8	0.250 4	0.382 9
me4-em10	33	27	81.28	0.86	1.812 8	1.373 3	0.217 8	0.344 0
me5-em5	30	24	80.00	0.78	1.800 0	1.205 6	0.134 0	0.224 5
me7-em10	29	28	96.55	0.77	1.965 5	1.452 2	0.261 3	0.399 6
me2-em1	34	34	100.00	0.78	2.000 0	1.360 9	0.237 7	0.387 4
me2-em9	14	11	78.57	0.88	1.785 7	1.486 0	0.275 4	0.416 0
me1-em5	18	17	94.44	0.76	1.944 4	1.324 2	0.199 6	0.319 5
me6-em5	27	26	96.30	0.86	1.963 0	1.528 5	0.305 5	0.457 8
平均 Mean	25.83	22	84.61	0.83	1.846 1	1.386 9	0.228 0	0.352 0

平均为 22 个。不同引物组合扩增多态性百分率存在较大差异, 从 59.26% ~ 100% 不等, 平均为 84.61%。其中, me2-em6 和 me2-em1 引物组合多态性百分率最高, 均达到 100%; me4-em2 引物组合多态性百分率最低, 为 59.26%。12 对引物检测位点的多态信息含量 (PIC) 值变化范围在 0.76 ~ 0.93 之间, 平均为 0.83。说明大部分引物组合扩增多态性较丰富, SRAP 标记适合于新疆枸杞种质资源遗传多样性研究, 具有较高的多态性检测力。

2.2 遗传多样性分析

利用 POPGENE1.32 软件对 30 份枸杞样品扩增的 310 个位点进行分析, 获得数据表明: 观测等位基因 (Na) 介于 1.592 6 ~ 2.000 0, 平均为 1.846 1; 有效等位基因 (Ne) 介于 1.205 6 ~ 1.528 5, 平均为 1.386 9; Nei's 基因多样性指数 (H) 介于 0.134 0 ~ 0.305 5, 平均为 0.228 0; Shannon 信息指数 (I) 介于 0.224 5 ~ 0.457 8, 平均为 0.352 0。这些研究结

果表明, 新疆枸杞种质资源遗传差异较大, 遗传多样性水平较高。

2.3 遗传相似性分析

利用 NTsys-pc2.10e 软件计算 SRAP 引物产生的所有位点的遗传相似系数 (GS), 30 份枸杞样品两两间的遗传相似系数介于 0.590 3 ~ 0.903 2 之间, 平均 (GS) 值为 0.736 1; 遗传相似系数最小的是 ‘野黑果枸杞’ 和 ‘宁杞 5 号’, 相似系数为 0.590 3, 表明亲缘关系最近; 遗传相似系数最大的是 ‘1101’ 和 ‘1102’, 为 0.903 2, 表明亲缘关系最近。总体来说, 30 份枸杞样品间遗传相似系数较低, 存在较高的遗传差异。

2.4 聚类分析

基于 30 份枸杞样品间的遗传相似系数, 用 UPGMA 法对 30 份枸杞样品进行聚类分析, 获得亲缘关系聚类图 (图 2), 在遗传相似性系数为 0.70 时, 可将供试材料分成 2 大类。第 I 大类包括野红果枸

杞、野黑果枸杞、野生雪青色果和野生黄果枸杞 4 个野生种,这说明 4 个野生种间遗传差异小,亲缘关系近,并以野生雪青色果和野生黄果枸杞之间的亲缘关系最近。在相似系数为 0.76 时,第Ⅱ大类又可细分为 5 个亚类。首先,大麻叶枸杞一个品种作为第Ⅰ亚类;第Ⅱ亚类是‘宁杞 1 号’和‘宁杞 5 号’2 个品种聚在一起;第Ⅲ亚类是‘蒙杞 1 号’和‘白刺枸杞’2 个品种被分为一类;第Ⅳ亚类包括‘精杞 3 号’、

‘精杞 5 号’、0901、1016、1017 和‘宁杞 7 号’,其中的‘精杞 3 号’和‘精杞 5 号’、1016 和 1017 分别表现出遗传变异程度低、遗传背景相近的亲缘关系。第Ⅴ亚类包括剩余的 15 个品种,其中,‘精杞 1 号’和‘精杞 4 号’、‘精杞 8 号’和 1012、1407 和‘宁菜 1 号’、1018 和 1021 有较近的亲缘关系,1101、1102 和 1103 被分为一小类,说明它们遗传基础狭窄,遗传变异小,父本或母本相同。

2.5 主坐标分析

基于 30 份枸杞样品间的遗传相似性系数矩阵,利用 NTSYS-pc2.10e 软件进行主坐标分析,建立三维空间图(图 3,A)和平面散点图(图 3,B),结果表明,第 1、第 2 和第 3 主坐标分别解释了 11.67%、10.11% 和 7.76% 的样本间相关性。将位置靠近者划分为一组,30 份枸杞样品被分为 2 个大组(第Ⅰ、Ⅱ大组),其中,4 个野生种表现出较近亲缘关系被单独划分为第Ⅰ大组,剩余的 26 份枸杞样品作为第Ⅱ大组。根据供试材料在坐标图中的位置分布,第Ⅱ大组又可细分成 5 个亚组。‘宁杞 1 号’和 1104 组成第Ⅰ亚组,‘精杞 4 号’、‘精杞 8 号’、‘宁杞 5 号’和‘白刺枸杞’4 个样品被聚为第Ⅱ亚组,第Ⅲ亚组包括‘精杞 1 号’、‘精杞 3 号’、‘精杞 5 号’、‘精杞 7 号’、0901、1012、1016、‘宁杞 7 号’和‘蒙杞 1 号’,共 9 份栽培品种(系);1017 和 1102 聚在一起组成第Ⅳ亚组;第Ⅴ亚组包括 1018、1021、1101、1103、1202、1407、‘宁菜 1 号’、‘柱筒枸杞’和‘大麻叶枸杞’共 9 份枸杞样品。与 UPGMA 法聚类结果相比,

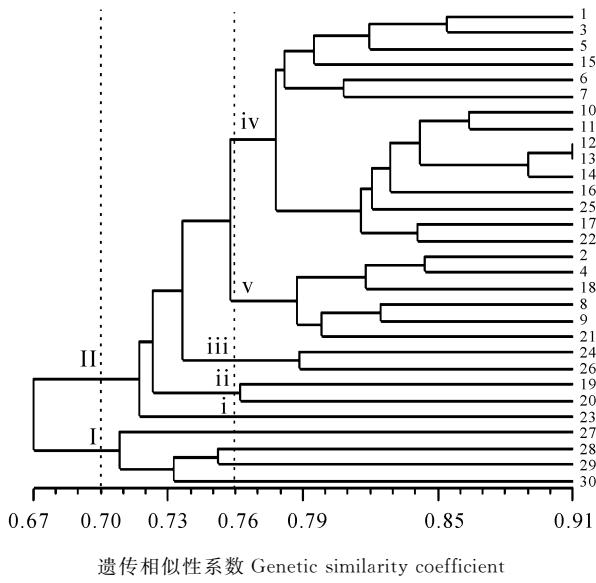
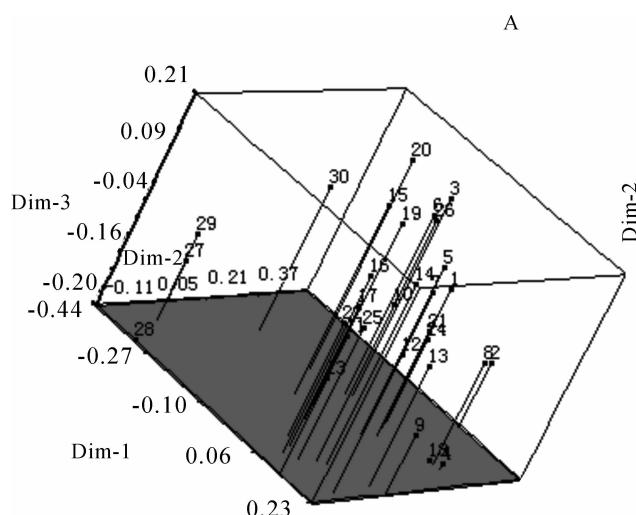


图 2 30 份枸杞种质的 UPGMA 聚类分析图

No. 1~30 are the same materials as Table 1

Fig. 2 UPGMA dendrogram for 30 resources of *L. barbarum* L. based on SRAP data

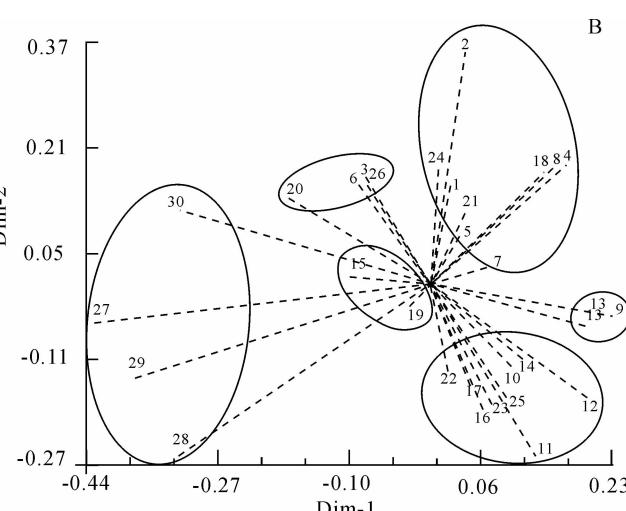


A. 三维图; B. 平面图; 1~30 材料编号表同 1

图 3 枸杞各试材的 SRAP 标记主坐标分析图

A. Three-dimensional graph; B. Planar graph; No. 1~30 are the same materials as Table 1

Fig. 3 Principal coordinates analysis of *Lycium barbarum* L. genotypes from SRAP markers



2 种分析方法在栽培品种(系)间亲缘关系研究方面存在一点差异,如‘宁杞 1 号’和‘宁杞 5 号’在聚类图中明显被聚在一起,而主坐标分析图中却没有被划分在一组,可见,栽培品种(系)基因型复杂。比较图 2 和图 3 可知,两种方法的群组划分趋向一致,但组群内分析结果相似却并不完全相同,但主坐标分析能更直观地反映出 30 份枸杞样品的遗传变异和亲缘关系远近。

3 讨 论

3.1 新疆枸杞种质资源的遗传多样性分析

DNA 是生物的主要遗传物质,DNA 水平上的遗传变异大小直接体现该物种在特定环境中遗传多样性水平的高低,只有了解种质资源 DNA 遗传变异信息及亲缘关系,才能有效并合理地利用物种的种质资源和有目的地进行品种选育中的亲本选配,从而培育出优良新品种^[22]。本试验采用 SRAP 分子标记技术对 30 份枸杞样品进行遗传多样性分析,筛选出 12 对 SRAP 引物扩增出 264 个多态性位点,占 84.61%,这充分表明新疆枸杞种质资源具有较为广泛的遗传基础。安魏等在枸杞种质资源的 SRAP 分析中多态性比率为 76.68%^[23],尹跃在枸杞品种(系)分子鉴定及亲缘关系分析中多态性比率达 87.7%^[24],和本试验的 PPB 值相当;多态信息含量(PIC)值大于 0.5 的标志基因具有高度信息,本试验平均每对引物的(PIC)值为 0.83,属于高度多态性位点;有效等位基因和 Nei's 基因多样性指数是目前遗传多样性研究中应用较为广泛的一个指数,而且,Nei's 基因多样性指数也是衡量物种遗传多样性的一个重要指标^[25],本试验供试样品 Nei's 基因多样性指数(H)介于 0.134 0~0.305 5,平均为 0.228 0,反映了新疆枸杞种质资源具有较为丰富的基因型,这可能与其常异花授粉的生物学特性有关。另外,本研究遗传相似系数介于 0.590 3~

0.903 2 之间,平均(GS)值为 0.736 1,这也充分说明供试材料间遗传差异较大,SRAP 标记可有效应用于新疆枸杞种质资源的亲缘关系分析。

3.2 聚类分析和主坐标分析

本试验采用 UPGMA 法聚类分析和主坐标分析两种方法对 30 份枸杞样品遗传多样性进行分析,两种分析方法均反映出供试的野生种与栽培品种(系)间的遗传差异较大,表现出较远的亲缘关系,而栽培品种(系)间的遗传差异相对较小,表现出较近的亲缘关系。一方面,这可能与 UPGMA 法聚类侧重于种质间关系差异的量化分析,提供丰富的数量信息,而主坐标分析则是从多个角度分析不同种质或群体间的关系有关^[26],两种方法不矛盾。另一方面,这可能与新疆枸杞种质资源在长期进化和人工选择过程有关,为保留种质的优良特性,栽培品种(系)种苗的繁育主要采用人工选育方式,如利用自然变异选择突变单株,然后通过实生、分株、硬枝和嫩枝扦插以及组织培养等方式扩大繁殖,从而使不同栽培品种(系)之间基因型类似且高度杂合,导致栽培品种(系)间产生了复杂的遗传关系,而野生种就地保存了大量的原始种质。从新疆枸杞种质资源遗传多样性研究的角度看,今后应进一步扩大分子标记技术应用的范围,筛选出更多适合于新疆枸杞种质资源遗传多样性分析的引物,从 DNA 水平上更加准确地反映出其种质间的遗传变异信息及亲缘关系远近,从新疆枸杞产业长远发展的角度来看,在以后的枸杞种苗的繁育过程中,应注重与不同基因型的野生种进行杂交亲本选配,不断增加基因型的聚合和优良基因型的选择几率,这对品种改良和优良品种选育具有较大的利用价值。从整体上看,这两种分析方法对种质资源进行遗传多样性分析是可行的,将两种方法结合起来使用能使结果更加形象直观,又更加全面,起到相互补充的作用。

参 考 文 献:

- 陈刚,刘津,马志刚,等.甘肃枸杞属植物的 RAPD 分析[J].安徽农业科学,2013,41(4):1 459-1 461.
CHEN G, LIU J, MA Z G, et al. Analysis of wolfberry (*Lycium* L.) in Gansu by RAPD [J]. *Journal of Anhui Agricultural Science*, 2013, 41(4): 1 459-1 461.
- 尚洁,李收,张靠稳.宁夏枸杞遗传多样性的 RAPD 分析[J].植物研究,2010,30(1):116-119.
SHANG J, LI S, ZHANG K W. Genetic diversity analysis of *Lycium barbarum* L. by RAPD [J]. *Bulletin of Botanical Research*, 2010, 30(1): 116-119.
- 董静洲,杨俊军,王瑛.我国枸杞属物种资源及国内外研究进展[J].中国中药杂志,2008,33(18):2020-2027.
DONG J Z, YANG J J, WANG Y. Resources of *Lycium* species and related research progress [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2008, 33(18): 2 020-2 027.
- 石志刚,郭文林,门惠芹.枸杞不同种质的 nrDNA ITS 序列分析研究[M].北京:中国林业出版社,2012:1-91.

- [5] 汪智军,靳开颜,古丽森.新疆枸杞属植物资源调查及其保育措施[J].北方园艺,2013,(3):169-171.
- WANG Z J, JIN K Y, GU L S. Resource investigation and conservation measures of *Lycium* L. in Xinjiang [J]. *Northern Horticulture*, 2013, (3):169-171.
- [6] 鲍红春,李小雷,王建平,等.枸杞遗传多样性的 ISSR 分析[J].华北农学报,2014,29(1):89-92.
- BAO H C, LI X L, WANG J P, et al. ISSR analysis of genetic diversity of Chinese wolfberry germplasm[J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2014, 29(1):89-92.
- [7] 曲 玲,石志刚,焦恩宁,等.枸杞遗传转化研究进展[J].北方园艺,2012,(24):187-191.
- QU L, SHI Z G, JIAO E N, et al. Advances on transformation of wolfberry[J]. *Northern Horticulture*, 2012, (24):187-191.
- [8] 李彦龙,樊云芳,戴国礼,等.枸杞种质遗传多样性的 AFLP 分析[J].中草药,2011,42(4):770-773.
- LI Y L, FAN Y F, DAI G L, et al. Analysis of genetic diversity for wolfberry germplasms by AFLP technology[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2011, 42(4):770-773.
- [9] 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]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2001, 103:455-461.
- [10] 陈学军,周坤华,等.中国灌木辣椒种质遗传多样性的 SRAP 和 SSR 分析[J].西北植物学报,2012,32(11):2201-2205.
- CHEN X J, ZHOU K H, et al. Genetic diversity of *Capsicum frutescens* in China as revealed by SRAP and SSR markers[J]. *Acta Bot. Boreal.-Occident. Sin.*, 2012, 32(11):2 201-2 205.
- [11] 单晓政,李 英,高素燕,等.不结球白菜分子遗传图谱的构建及分析[J].西北植物学报,2009,29(6):1116-1121.
- SHAN X Z, LI Y, GAO S Y, et al. Molecular genetic map of *Brassica campestris* ssp. *chinensis*[J]. *Acta Bot. Boreal.-Occident. Sin.*, 2009, 29(6):1 116-1 121.
- [12] 刘向宇,霍秀文,杨 明,等.山药种质资源的 ISSR 分析及初级核心种质库的构建[J].西北植物学报,2015,35(5):915-921.
- LIU X Y, HUO X W, YANG M, et al. Genetic diversity analysis and primary core collection construction in yam (*Dioscorea opposita* Thunb.) by ISSR marker[J]. *Acta Bot. Boreal.-Occident. Sin.*, 2015, 35(5):0915-0921.
- [13] 云天海,郑道君,谢良商,等.中国南瓜海南农家品种间的遗传特异性分析和 DNA 指纹图谱构建[J].植物遗传资源学报,2013,14(4):679-685.
- YUN T H, ZHENG D J, XIE L S, et al. Analysis of genetic specificity and DNA fingerprinting establishment for the Hainan island landraces of *Cucurbita moschata*[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2013, 14(4):679-685.
- [14] 袁海静,安 巍,李立会,等.中国枸杞种质资源主要形态学性状调查与聚类分析[J].植物遗传资源学报,2013,14(4):627-633.
- YUAN H J, AN W, LI L H, et al. The investigation and cluster analysis of main morphological characters for germplasm of Chinese wolfberry [J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2013, 14(4):627-633.
- [15] 简永兴,马英姿,彭映辉,等.枸杞的染色体核型分析[J].中国中药杂志,1997,22(9):532-533.
- JIAN Y X, MA Y Z, PENG Y H, et al. Analysis of chromosome karyotype of *Lycium chinense* Mill. [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 1997, 22(9):532-533.
- [16] 马永平,赵海燕,杨少娟.枸杞多种同工酶水平的遗传多样性分析[J].安徽农业科学,2010,38(8):4 042-4 043.
- MA Y P, ZHAO H Y, YANG S J. Analysis of the genetic diversity of Chinese wolfberry at the levels of various isozyme[J]. *Journal of Anhui Agricultural Science*, 2010, 38(8):4 042-4 043.
- [17] 张满效,陈 拓,肖 雯,等.不同盐碱环境中宁夏枸杞叶生理特征和 RAPD 分析[J].中国沙漠,2005,25(3): 391-396.
- ZHANG M X, CHEN T, XIAO W, et al. Physiological features and RAPD analysis of *Lycium barbarum* leaves in different saline habitats [J]. *Journal of Desert Research*, 2005, 25(3):391-396.
- [18] 思彬彬,王 镇. ISSR-PCR 分子标记法鉴别宁杞 1 号与雄性不育枸杞[J].安徽农业科学,2011,39(14): 8309-8310.
- SI B B, WANG Z. Identification of No. 1 and male sterility of *Lycium barbarum* L. by ISSR-PCR molecular marker technique[J]. *Journal of Anhui Agricultural Science*, 2011, 39(14):8 309-8 310.
- [19] 邵千顺,高 磊,等.利用 SSR 技术对 17 份枸杞材料进行遗传多样性分析及标准指纹图谱构建[J].北方园艺,2015,(12):91-95.
- SHAO Q S, GAO L, et al. Analysis of genetic diversity and construction of fingerprint of *Lycium barbarum* L. using SSR technology[J]. *Northern Horticulture*, 2015, (12):91-95.
- [20] 吴龙军,门惠芹,尹 跃,等.枸杞品种 SRAP 分析[J].宁夏农林科技,2014,55(12):20-22.
- WU L J, MEN H Q, YIN Y, et al. Analysis of *Lycium barbarum* varieties by using SRAP[J]. *Ningxia Journal of Agriculture and Forestry Science and Technology*, 2014, 55(12):20-22.
- [21] 腊 萍,罗淑萍,章建新,等.甜菜总 DNA 不同提取方法的研究[J].新疆农业大学学报,2006,29(2):43-46.
- LA P, LUO S P, ZHANG J X, et al. Studies on different methods of extracting sugar beet total DNA[J]. *Journal of Xinjiang Agricultural University*, 2006, 29(2):43-46.
- [22] 杨祥燕,蔡元保,黄秋伟,等.番木瓜主栽品种 SCoT 指纹图谱构建及遗传变异分析[J].西北植物学报,2013,33(9):1 756-1 761.
- YANG X Y, CAI Y B, HUANG Q W, et al. SCoT fingerprints and genetic variations of the papaya (*Carica papaya* L.) major cultivars[J]. *Acta Bot. Boreal.-Occident. Sin.*, 2013, 33(9):1 756-1 761.
- [23] 安 巍,王亚军,尹 跃,等.枸杞种质资源的 SRAP 分析[J].浙江农业学报,2013,25(6):1 234-1 237.
- AN W, WANG Y J, YIN Y, et al. SRAP analysis of wolfberry germplasms[J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2013, 25(6):1 234-1 237.
- [24] 尹 跃.枸杞品种(系)分子鉴定及亲缘关系分析[D].福州:福建农林大学,2013.
- [25] 李 超,罗淑萍,曾 斌,等.新疆核桃种质资源遗传多样性的 ISSR 分析[J].中国农业科学,2011,44(9): 1 871-1 879.
- LI C, LUO S P, ZENG B, et al. Analysis of genetic diversity of germplasm resources of walnut (*Juglans regia* L.) revealed by ISSR in Xinjiang of China[J]. *Scientia Agriculturae Sinica*, 2011, 44(9):1 871-1 879.
- [26] 杨培奎,庄东红,马瑞君,等.粤东地区橄榄种质资源遗传多样性的 ISSR 分析[J].中国农学通报,2011,27(24):86-92.
- YANG P K, ZHUANG D H, MA R J, et al. The ISSR analysis of genetic diversity of *Canarium album* L. germplasm resources in eastern Guangdong[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2011, 27(24):86-92.