

DOI:10.14188/j.ajsh.20240322002

基于SSR分子标记的盐肤木遗传多样性分析

蔡彦君¹, 吴雯雯¹, 杨冰冰¹, 张霞¹, 刘文¹, 何正权¹, 桑子阳^{1,2*}

- 三峡大学 生物技术研究中心 三峡区域植物遗传与种质创新重点实验室, 湖北 宜昌 443002;
- 五峰土家族自治县林业局, 湖北 五峰土家族自治县 443400)

摘要: 利用筛选出的14对SSR引物,对4省5个地区的153份盐肤木种质资源进行遗传多样性分析,并进行遗传关系及聚类分析。结果显示,14对SSR引物在153份样本中扩增出105个等位位点,平均每对引物扩增到的等位位点数为7.5个。盐肤木Nei's多样性指数(H)为0.206~0.413,平均值为0.316;Shannon多样性信息指数(I)为0.356~0.600,平均值为0.484。5个居群间的有效等位基因数(N_e)为1.335~1.556,Nei's多样性指数(H)0.197~0.316,Shannon多样性信息指数(I)为0.302~0.467,居群的遗传分化系数(G_{st})变化范围0.122~0.489,平均值为0.257,基因流的变化范围(N_m)为0.522~3.594,平均值为1.445($N_m > 1$)。结果表明,盐肤木在物种水平上遗传多样性丰富,居群间遗传多样性存在一定差异,25.7%的总体变异发生在居群间,74.3%的遗传变异发生在居群内,即盐肤木的遗传分化主要存在于居群内部,居群间存在着较频繁的基因交流。遗传多样性系数及聚类分析结果显示,5个居群被聚为两类,盐肤木优先以居群聚类,盐肤木的遗传关系与地理位置之间有一定的相关性。该研究结果可以对盐肤木后期优良种质的选育提供参考依据。

关键词: 盐肤木;简单重复序列;遗传多样性;聚类分析

中图分类号: Q341

文献标志码: A

文章编号: 2096-3491(2024)05-0478-09

Genetic diversity analysis of *Rhus chinensis* based on SSR markers

CAI Yanjun¹, WU Wenwen¹, YANG Bingbing¹, ZHANG Xia¹, LIU Wen¹, HE Zhengquan¹,
SANG Ziyang^{1,2*}

- Key Laboratory of Plant Genetics and Germplasm Innovation in the Three Gorges Region, Biotechnology Research Center of Three Gorges University, Yichang 443002, Hubei, China;
- Forestry Bureau of Wufeng Tujia Autonomous County, Wufeng Tujia Autonomous County 443400, Hubei, China)

Abstract: In order to study the genetic diversity of *Rhus chinensis* Mill. population and lay a theoretical foundation for the rational management, protection and utilization of its germplasm resources, the genetic diversity of 153 germplasm resources from 5 regions in 4 provinces was studied using 14 pairs of SSR primers. Genetic diversity parameters were calculated, and the genetic relationship and cluster analysis were carried out. 14 pairs of SSR primers amplified 105 alleles in 153 samples, with an average of 7.5 alleles amplified by each primer pair. Nei's diversity index (H) ranged from 0.206 to 0.413, with an average value of 0.316. The Shannon diversity information index (I) ranged from 0.356 to 0.600, with an average value of 0.484. The effective alleles (N_e), Nei's diversity index (H) and Shannon diversity information index (I) were 1.335–1.556, 0.197–0.316 and 0.302–0.467, respectively. The genetic differentiation coefficient (G_{st}) of the population was 0.257, and the inter-population gene flow was 1.445 ($N_m > 1$). The coefficient of genetic diversity and cluster analysis showed that the 5 populations were clustered into two categories, with *Rhus chinensis* priori-

收稿日期: 2024-03-22 修回日期: 2024-05-20 接受日期: 2024-10-14

作者简介: 蔡彦君(1998-),男,硕士,研究方向:表观遗传学。E-mail: 1151075183@qq.com

* 通讯联系人: 桑子阳(1980-),男,博士,高级工程师,研究方向:林木育种。E-mail: sangziyang@21cn.com

基金项目: 湖北省中央引导地方科技发展专项(2022BGE265);国家自然科学基金面上项目(32370393)

引用格式: 蔡彦君, 吴雯雯, 杨冰冰, 等. 基于SSR分子标记的盐肤木遗传多样性分析[J]. 生物资源, 2024, 46(5): 478-486.

Cai Y J, Wu W W, Yang B B, et al. Genetic diversity analysis of *Rhus chinensis* based on SSR markers [J]. Biotic Resources, 2024, 46(5): 478-486.

tizing clustering based on population. The results show that the genetic diversity of *Rhus chinensis* is high, the genetic variation mainly exists within the population, and there are frequent gene exchanges among the populations. The genetic relationship of *Rhus Chinensis* is related to the geographical location. This study can provide reference for the breeding of excellent germplasm of *Rhus chinensis* in later period.

Key words: *Rhus chinensis* Mill. ; simple sequence repeat (SSR); genetic diversity; cluster analysis

0 引言

盐肤木(*Rhus chinensis* Mill.)为漆树科(Anacardiaceae)盐肤木属(*Rhus*)落叶灌木或小乔木,又名五倍子树。在国内除东北、新疆和内蒙古以外,其余各个省区均有盐肤木的分布,其中云南、陕西、四川、湖北及贵州是五倍子的重要产区。盐肤木作为中国重要的经济树种,近年来,特别是在药用、观赏、水土保持方面应用广泛^[1]。

微卫星标记(microsatellites),也被称为简单重复序列(simple sequence repeat, SSR),是一类以1~6个核苷酸为重复单位串联成长达几十个核苷酸的重复序列,长度一般在100~300 bp。SSR标记具有多态性丰富、DNA用量少、呈共显性遗传及特异性强等特点,比其他分子标记更有优势。作为一种分子标记辅助工具,SSR分子标记的研究随着PCR技术的发展也更为深入,其在遗传多样性与亲缘关系评价、遗传图谱及DNA指纹图谱构建、品种鉴定与纯度分析及遗传育种等方面具有重要应用价值^[2]。用18对EST-SSR引物对采集自14个省份的26个种群的野生漆树(*Toxicodendron vernicifluum*)个体进行遗传多样性分析,发现漆树在种群水平和物种水平均具有较高的遗传多样性^[3]。通过开发位于类黄酮生物合成基因中的SSR标记,研究了种植在俄罗斯的醋栗(*Ribes burejense*)品种的遗传多样性,发现大多数醋栗品种在来源上有所不同,在此基础上将它们分为3组:欧洲品种、俄罗斯品种和种间杂交品种^[4]。应用SSR标记技术分别对10个向日葵亲代品种进行了遗传多样性分析,利用其中7个条带清晰、多态性高的标记建立了向日葵亲本SSR指纹图谱,选取了最适合杂交选育的亲本组合,以期提高向日葵种质产量^[5]。根据SSR引物具有共显性标记的特点,筛选出一个共显性SSR标记(Brg MS565),成功鉴别出花椰菜(*Brassica oleracea*)杂交种中存在的亲本株和异品种株^[6]。通过206个SSR分子标记对44个黄连木(*Pistacia chinensis* Bunge)品种进行鉴定,共扩增到135个SSR位点。其中41个位点在6个黄连木品种中存在多态性,可用于黄连木属植物的种质鉴定、遗传多样性和遗传连锁图谱的研究^[7]。

前人对于盐肤木的研究大多集中在生理生化,栽培繁殖及生物活性等方面。盐肤木的果实是重要的药材,前人发现盐肤木果实通过改善氧化应激和细胞凋亡等多种信号通路预防和治疗急慢性胃肠道疾病以及肝损伤并在小鼠体内进行验证^[8-11]。而在遗传多样性研究方面仅有采用扩增片段长度多态性(amplified fragment length polymorphism, AFLP)分子标记技术对国内12个盐肤木种群共259个个体的样本进行遗传多样性研究^[12]。基于简单重复间序列(inter-simple sequence repeat, ISSR)标记技术,对安徽省6个盐肤木居群150个样本单株进行的遗传多样性研究^[13]。这两者研究的盐肤木居群均分布在安徽省及其周边地区,然而五倍子的产地在西南地区相对集中。前人均以盐肤木居群分布建立遗传多样性研究,未从生产角度分析五倍子高产地区的盐肤木遗传多样性特点。通过转录组分析以解决同科植物黄连木苗期的性别区分^[14]。通过二代与三代测序数据组装出盐肤木参考基因组,为挖掘五倍子与盐肤木相互作用的潜在机制提供了基因组资源^[15],为后续研究表观修饰位点、单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)变异位点、基因功能以及遗传进化奠定了重要基础。SSR在盐肤木中标记丰富,覆盖整个基因组,是构建基因连锁图、辅助分子植物育种、鉴定遗传资源的理想手段。SSR分子标记因其对DNA样本质量要求低、重复性好,是主流的分子标记手段,被广泛应用于遗传连锁基因鉴定、构建基因图谱以及目标基因的标定,现已在黄连木等木本植物中广泛应用。过去对盐肤木只进行了单一地区的AFLP分子标记和ISSR标记,而五倍子产区的盐肤木SSR分子标记目前未见报道。为此,本研究以五倍子主要产区云南昭通、陕西商洛、重庆西阳、湖北五峰和建始4省5个地区的153份盐肤木材料为研究对象,利用筛选出的14对SSR引物对盐肤木进行遗传多样性分析,从而探索盐肤木居群的遗传多样性水平及遗传关系,对盐肤木后期优良种质的选育以及提高五倍子产量提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本实验材料采自云南昭通、陕西商洛、重庆西

阳、湖北五峰和恩施(表1),选取153份水培生长状况良好、嫩叶丰富的盐肤木枝条的幼嫩叶片,每个样本采集幼叶3管(1.5 mL),放入-80℃超低温冰箱保存备用。

1.2 盐肤木基因组DNA的提取

采用TakaRa公司的MiniBEST Plant Genomic DNA Extraction Kit(TakaRa, 9768)试剂盒提取盐肤木基因组DNA。使用紫外分光光度计检测盐肤木基因组DNA浓度,采用1%琼脂糖凝胶电泳检测盐肤木DNA的质量及完整性。

1.3 引物的筛选及PCR扩增

选用同科属植物已发表的100对引物(阿月浑子59对SSR引物^[16],漆树32对SSR引物^[17-19],黄连木9对SSR引物^[20])。由生工生物工程(上海)股份有限公司武汉分公司合成,参考黄连木SSR原始扩增条件^[21],基于本实验室建立的SSR反应体系^[22],经优化后适合盐肤木的扩增反应体系如下:10 ng模板DNA 1 μL,PCRMIX混合液5 μL(北京康润诚业生物科技有限公司),正反引物各0.5 μL,ddH₂O 3 μL,反应总体积10 μL。扩增程序:95℃预变性5 min;95℃变性30 s,50~57℃退火30 s,72℃延伸30 s,35个循环;最后72℃延伸5 min,16℃保存。通过聚丙烯酰胺凝胶电泳从100对引物中筛选出条带清晰、多态性好、重复性高的引物用于盐肤木样本DNA的PCR扩增及多态性分析。

1.4 数据统计分析

依据凝胶成像结果,使用人工读带的方法进行统计,有清晰条带的标记为“1”,无条带的或者条带模糊不清的标记为“0”,所有数据信息转化为数据矩阵,使用POPGENE32软件对扩增结果进行遗传多样性及遗传分化分析,得到Nei's基因多样性指数(*H*)、Shannon多样性信息指数(*I*)、遗传距离及遗传相似系数。基于Nei's遗传相似系数,利用NTSYS

软件SAHN程序的非加权配对算数平均法(unweighted pair group with arithmetic average, UPGMA)绘制居群内及居群间的聚类树形图。

2 结果与分析

2.1 盐肤木基因组DNA检测

通过TakaRa试剂盒提取的盐肤木叶片基因组DNA经紫外分光光度计进行测定,260/280和260/230比值均在1.8左右,PCR扩增产物经1%琼脂糖凝胶电泳检测,云南昭通地区的结果如图1所示,条带清晰完整,在1 000 bp同一水平线。DNA作为SSR-PCR扩增的模板,其质量直接影响到后续SSR-PCR扩增的结果,试剂盒提取的盐肤木DNA浓度及纯度良好。陕西商洛、重庆酉阳、湖北五峰和恩施的DNA电泳结果与云南昭通地区类似,均显示DNA为连续条带。电泳结果表明DNA未发生断裂或降解且5个地区的盐肤木基因组倍型一致,满足后续遗传分析的基本要求。

2.2 SSR多态性引物的筛选

随机选取部分样品采用聚丙烯酰胺凝胶电泳,对合成的100对SSR引物对进行筛选,经过初筛和复筛得到14对条带清晰、多态性高、重复性好的SSR引物(表2),用于153份盐肤木样品DNA的PCR扩增及多态性分析。

2.3 盐肤木遗传多样性分析

采用筛选出的14对多态性引物,对云南昭通、陕西商洛、重庆酉阳、湖北五峰和建始5个地区的153份盐肤木样本进行PCR扩增,共扩增出105条DNA条带,DNA片段大小聚集在100~250 bp,每对SSR引物扩增出6~12条多态性条带,平均扩增出7.5条(图2)。各引物的多态位点百分率为100%,每对引物的多态信息含量(PIC)为0.725~0.879,平均值为0.800,条带清晰、稳定,表现出较高的多

表1 盐肤木采样信息表

Table 1 Sampling information of *Rhus chinensis*

地区	群居编码	采样地点	样本数量/个	纬度	经度
云南昭通	ZT	昭通	30	27°26'29"N	104°52'25"E
陕西商洛	SL	商洛	18	33°51'45"N	109°56'28"E
重庆酉阳	YY	酉阳	29	28°50'28"N	108°46'4"E
湖北五峰	FJY	付家堰	12	30°18'30"N	110°29'11"E
湖北五峰	BLZ	白鹿庄	10	30°11'25"N	110°44'8"E
湖北五峰	CP	长坪村	10	30°03'08"N	110°28'5"E
湖北五峰	CHT	采花台村	10	30°07'56"N	110°24'48"E
湖北五峰	LKY/HTK/AS/BNG	五峰其他	10	30°16'34"N	110°33'10"E
湖北恩施	JS	建始	24	30°36'07"N	109°43'20"E

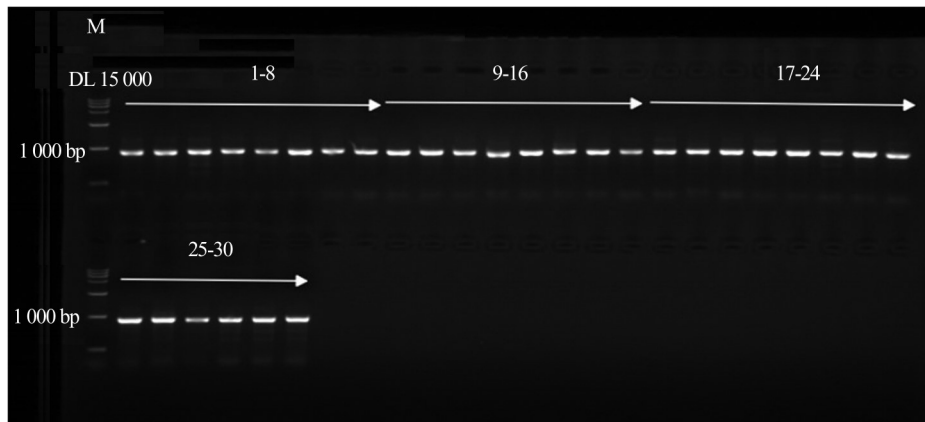


图 1 云南昭通盐肤木 DNA 扩增产物电泳结果

Fig. 1 Results of DNA amplification electrophoresis of *Rhus chinensis* from Zhaotong

M: DL 15 000 DNA marker; 编号 1~30: 云南昭通县 30 份样本的扩增电泳结果

M: DL 15 000 DNA marker; 1~30: electrophoresis of 30 samples from Zhaotong

表 2 盐肤木 14 对多态性 SSR 引物表

Table 2 14 pairs of polymorphic SSR primers of *Rhus chinensis*

序号	引物编号	正向引物(5'-3')	反向引物(5'-3')	退火温度/°C
1	YFMS-7	CAGCTCTCACTGATCCGATTC	TTCGAAAGCCAGTCTCAGGT	56
2	YFMS-10	CGTCCTAGCTAACCGTCATTG	TTAACACGCACACACACACG	56
3	YFMS-11	CAAGGCGACTGAACAATGTG	GCGCTTCCACCTACACCTAA	56
4	YFMS-15	AAAGCGACTCCTATGTCCAC	AGGGCTCCTCTCTTATTTACG	54
5	YFMS-20	GCGAATCCTACATCCATTGC	CATTTGCGGGATTGGTTAAT	52
6	YFMS-29	TCCCTTGAACTTCCCCTA	ACGAATCCTACGTCCACTGC	56
7	YFMS-46	ACAATCTTGGAACAGAACTG	GAAAAAACAGCCAACCTTCATC	51
8	YFMS-53	GGGAAACCAGACGGTGAAG	TCAATATCGGCTTCCCAAAC	54
9	YFMS-54	TTGTTCAACCACCCCTTCTTC	GTGGGTATGACGGTGAGGAG	56
10	YFMS-57	AGAGATGTTGCGGTGGGTTT	GAACAGGCGTCCATTAGGAA	56
11	YFMS-77	ATGTCACATGCAACAGAGGC	GAGATGAGTATGCTCTCGGCTT	56
12	YFMS-85	TTGGATCAAATGTTTCACGAG	TTGGTTGATCGTAGTTGGAAG	51
13	YFMS-90	TCGGCACCAACAATAACA	GCGGACTACCAACTCACA	52
14	YFMS-91	AACCTGGTCAAGGATTGCTG	TTACTTCCGTGGTCCGTCTG	56

态性。通过数据得到 153 份盐肤木样品 Nei's 基因多样性(表 3)指数(H)范围 0.206~0.413, 平均值为 0.316; Shannon 多样性信息指数(I)范围 0.356~0.600, 平均值为 0.484。结果表明, 盐肤木在物种水平上具有丰富的遗传多样性。

居群间的遗传多样性数据如表 4 所示, 每个居群的有效等位基因数(N_e)范围 1.335~1.556, Nei's 基因多样性指数(H)范围 0.197~0.316, Shannon 多样性信息指数(I)范围 0.302~0.467, 居群的遗传变异从低到高依次为云南昭通、重庆酉阳、湖北五峰、陕西商洛、湖北建始, 遗传变异最高的是湖北建始, 基因多样性指数(H)0.316。最低的云南昭通, 基因多样性指数(H)0.197。说明盐肤木居群间遗传多

样性水平存在差异, 但各居群间差异不明显。

2.4 盐肤木居群的遗传分化及基因流

5 个居群的遗传结构分析显示, 遗传分化系数(G_{st})变化范围 0.122~0.489, 平均值为 0.257。居群总体遗传变异(H_t)0.329, 居群内个体间遗传变异(H_s)0.245, 说明居群总体变异的 25.7% 发生在不同居群之间, 74.3% 的遗传变异发生在居群个体之间, 表明盐肤木的遗传分化的发生主要存在于居群内部。盐肤木居群间基因流的变化范围(N_m)0.522~3.594, 平均值为 1.445($N_m > 1$), 说明盐肤木居群间存在基因交流, 居群之间的遗传分化受到基因流的强烈影响。

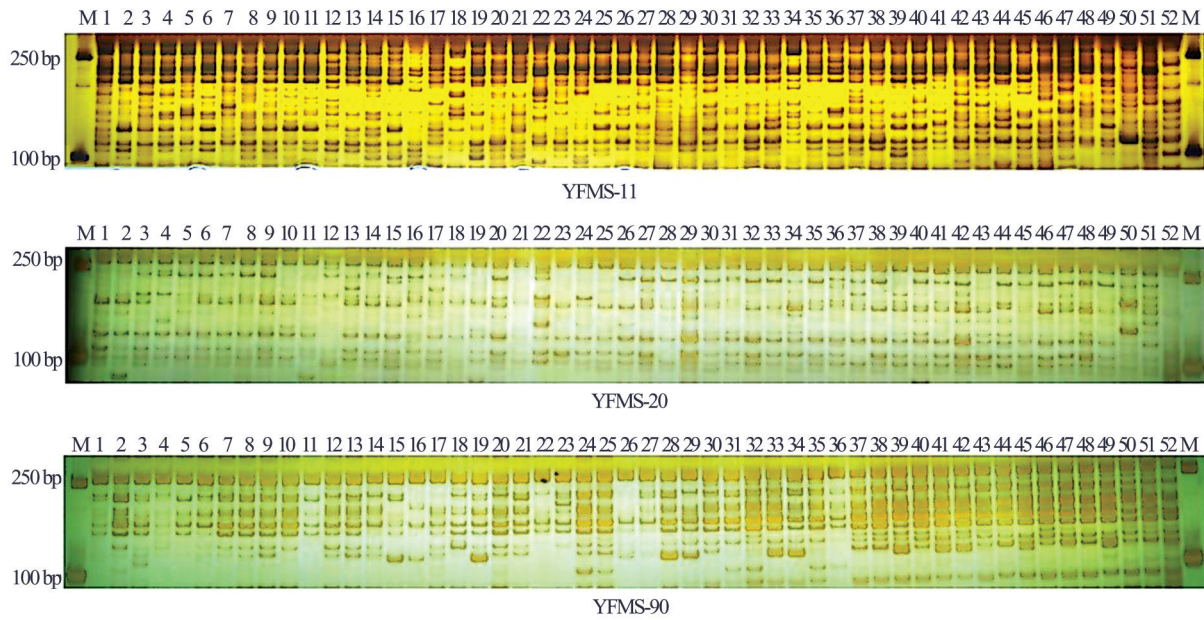


图 2 部分 SSR 引物对盐肤木样本的扩增结果

Fig. 2 Amplification results of some SSR primers on *Rhus chinensis* samples

M: DL2000 DNA marker; 编号 1~52: 52 份五峰居群盐肤木样本

M: DL 2000 DNA marker; 1~52: 52 samples of Wufeng *Rhus chinensis* population

表 3 盐肤木样本的遗传多样性分析

Table 3 Analysis of genetic diversity of *Rhus chinensis* samples

引物	样本数	等位基因数(N_a)	遗传多样性指数(H)	Shannon 信息指数(I)	多态性信息含量(PIC)
YFMS-7	153	12.000	0.206	0.356	0.849
YFMS-10	153	8.000	0.321	0.485	0.819
YFMS-11	153	12.000	0.235	0.386	0.879
YFMS-15	153	6.000	0.358	0.537	0.754
YFMS-20	153	8.000	0.300	0.472	0.847
YFMS-29	153	8.000	0.344	0.521	0.815
YFMS-46	153	7.000	0.345	0.517	0.825
YFMS-53	153	8.000	0.325	0.487	0.806
YFMS-54	153	6.000	0.360	0.541	0.756
YFMS-57	153	6.000	0.310	0.469	0.725
YFMS-77	153	6.000	0.371	0.549	0.781
YFMS-85	153	6.000	0.306	0.467	0.742
YFMS-90	153	6.000	0.413	0.600	0.803
YFMS-91	153	6.000	0.412	0.600	0.796
均值	153	7.500	0.316	0.484	0.800

表 4 盐肤木 5 个居群的遗传多样性分析

Table 4 Analysis of genetic diversity in 5 populations of *Rhus chinensis*

居群	有效等位基因数(N_e)	遗传多样性指数(H)	Shannon 信息指数(I)	多态位点百分比(PPB)/%
湖北建始(JS)	1.556	0.316	0.467	85.71
陕西商洛(SL)	1.484	0.267	0.388	67.62
湖北五峰(WF)	1.367	0.226	0.354	90.48
云南昭通(ZT)	1.335	0.197	0.302	68.57
重庆酉阳(YY)	1.355	0.217	0.338	81.90

2.5 盐肤木居群间遗传距离

5个居群间的遗传相似系数及遗传距离分析见表5,盐肤木居群的遗传相似系数范围0.803 5~0.953 3,遗传距离范围0.047 8~0.218 8。其中云南昭通和重庆酉阳的遗传距离最小(0.047 8),遗传相似系数最大(0.953 3),表明云南昭通和重庆酉阳的盐肤木遗传差异最小。陕西商洛和湖北五峰的遗传距离最大(0.218 8),遗传相似系数最小(0.803 5),表明陕西商洛居群和湖北五峰居群的盐肤木遗传差异最大。

表5 盐肤木居群间Nei's遗传相似系数(对角线上方)和遗传距离(对角线下方)

Table 5 Nei's genetic similarity coefficient (above diagonal) and genetic distance (below diagonal) between populations of *Rhus chinensis*

居群	JS	SL	WF	ZT	YY
JS		0.885 3	0.836 6	0.833 7	0.840 1
SL	0.121 9		0.803 5	0.827 3	0.829 2
WF	0.178 4	0.218 8		0.897 4	0.893 4
ZT	0.181 9	0.189 6	0.108 3		0.953 3
YY	0.174 3	0.187 3	0.112 8	0.047 8	

JS,湖北恩施建始;SL,陕西商洛;WF,湖北五峰;ZT,云南昭通;YY,重庆酉阳

2.6 盐肤木的亲缘关系聚类分析

基于居群间遗传距离及遗传相似系数,盐肤木居群聚类见图3,从图中发现5个居群在遗传相似系数0.83处分为两大类:当遗传相似度为0.95时,云南昭通与重庆酉阳聚为一支,再与湖北五峰聚为一类,在0.88处湖北建始和陕西商洛聚为另一类。结果表明,盐肤木优先以居群聚类,云南昭通与重庆酉阳居群的亲缘关系最近,与湖北五峰次之,与陕西商洛和湖北建始居群的亲缘关系最远。从地理位置分布上看,云南昭通与重庆酉阳均靠近贵州交界处,属云贵高原边沿,生存环境相近且地理位置邻近。前人研究表明,盐肤木各居群之间的遗传距离跟地理距离之间是否存在显著相关性具有一定争议,可能与不同的标记方法有关。本研究基于SSR分子标记对盐肤木居群的亲缘关系聚类结果与地理距离展开分析,结果表明云南昭通与重庆酉阳的盐肤木具有相近的地理格局和相似的气候条件,使两者有相似的遗传组成,共同组成同一聚类簇。

3 讨论

3.1 盐肤木的遗传多样性分析

居群遗传多样性是生物多样性的的重要组成部分

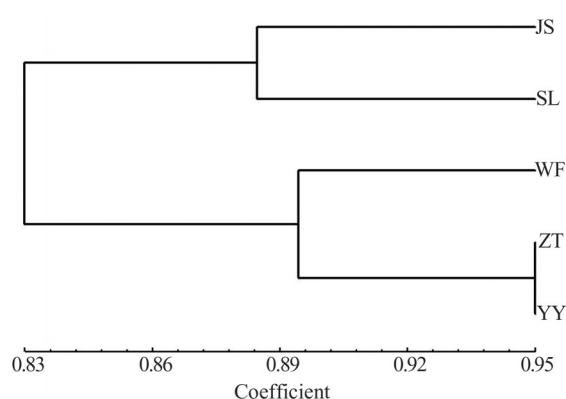


图3 盐肤木居群UPGMA聚类图

Fig. 3 UPGMA dendrogram of *Rhus chinensis* populations

JS,湖北恩施建始;SL,陕西商洛;WF,湖北五峰;ZT,云南昭通;YY,重庆酉阳

分。居群的遗传多样性高低是其生存适应及发展的前提,容易受到基因交流和人为影响。居群的遗传多样性越高,对环境变化的适应能力越强,越容易扩展分布范围和开拓新的环境。本实验得到盐肤木居群Nei's基因多样性指数(H)为0.316;Shannon多样性信息指数(I)为0.484,揭示盐肤木具有较高的遗传多样性。基于AFLP标记对6省12个种群259个盐肤木分析得到Nei's基因多样性指数(H)为0.226;Shannon多样性信息指数(I)为0.356^[13];基于ISSR标记技术对安徽省6个盐肤木居群的分析结果显示,Nei's基因多样性指数(H)为0.225;Shannon多样性信息指数(I)为0.370^[14]。

与之相比,本研究盐肤木遗传多样性相对较高,产生的原因一方面是与所选分布区域典型性有关。样本越丰富传递的遗传信息越丰富,前人对于盐肤木遗传多样性研究选取样本多为一个省份多区域,前人所选6省样本总数相对本实验样本数更多,但通过对比取材的盐肤木地区经纬度,仅有极少地域性重合区域,本实验所搜集的样本均为五倍子重要产区,具有代表性,横跨区域更大。植物的地理分布范围是导致植物遗传多样性较高的主要原因,分布越广遗传多样性越高^[23];居群样本的遗传基础及所处的地理位置也会影响遗传多样性^[24, 25]。

另一方面可能是与使用的不同分子标记方法有关,同一物种使用不同的分子标记方法产生的结果有所差异。分子标记是研究居群间或者个体基因组中某种差异的特异性DNA片段的大小、动态及变化趋势最直接和强有力的检测技术,目前被应用于紫苏属^[26](*Perilla*)、红豆杉科^[27](*Taxaceae Gray*)及櫻属^[28](*Cerasus*)等多种植物的选择育种、品种改良以

及种子纯度的鉴定研究中,为研究植物遗传多样性、划分杂种优势群提供了新方法,为品种亲缘关系、同一性鉴定提供有力依据。多种分子标记研究发现,SSR分子标记因为具有共显性,丰富多态性,可以在植物种属间通用等特点,已广泛地用于盐肤木属植物的遗传多样性分析,如黄连木、漆树等。SSR分子标记技术在研究过程中具有不受环境因素影响,传递的信息量大,效率高,对于DNA质量要求不高、用量少,技术要求低^[29]等优点,可以更加全面地揭示生物的遗传多样性。本实验得到各引物的多态位点百分率达到100%,每对引物多态信息含量(PIC)均值为0.8。PIC常用来衡量引物扩增多态性的标准,一般认为,当 $PIC < 0.25$ 时,该引物为低度多态性引物;当 $0.25 < PIC < 0.5$ 时,为中度多态性引物;当 $PIC > 0.5$ 时,为高度多态性引物。对13个省份的黄连木遗传多样性研究得到PIC均值为0.5458,得到9对引物具有高度多态性^[30]。利用10对引物对117个漆树样本进行遗传多样性分析,得到PIC均值为0.7146,显示10对引物为高度多态性引物。本实验中SSR引物属于高度多态性引物,因此,检测到盐肤木的遗传多样性效率相对更高。

3.2 盐肤木遗传分化分析

遗传分化系数是衡量群体遗传分化的重要指标,作为衡量群体分化程度及内部遗传距离的量化指标,分化系数越高,表明该群体内部遗传基础差异越大。本研究得到盐肤木居群间的遗传分化系数为0.257,25.7%是来自于居群间的差异,74.3%则来自于居群内的差异,说明盐肤木个体间存在着较高的遗传分化变异,个体间遗传变异大于居群间遗传变异。物种的进化历史、突变、重组、遗传漂变、繁育系统、基因流及自然选择等因素都是影响居群间遗传分化的因素。这些因素中繁育系统及基因流可能是影响盐肤木遗传分化的主要原因。繁育系统在物种进化过程中起着重要的作用,基因在自然选择的情况下不断变化,不同的繁育方式产生不同的基因型,进而决定遗传变异的产生在居群内还是居群间,影响整个居群的遗传结构。前人研究发现异交植物的遗传变异较大,并集中在居群内发生。盐肤木为异交植株,依靠风媒及虫媒传粉,在空气中广为传播,对居群的遗传结构造成影响,即产生遗传分化。基因流是遗传物质在种间和种内种群间的传递与交换^[31],是影响居群内及居群间遗传变异程度的重要指标,当基因流大于1时说明居群间存在一定的基因交流,可以抵制由遗传漂变造成的居群间的遗传分化,反之遗传漂变即成为居群遗传结构的主导因

素。本研究盐肤木各居群间基因流范围为0.522~3.594,平均值为1.445(>1),说明盐肤木居群间存在较频繁的基因交流,可以抑制因遗传漂变引起的居群间的分化,保持相对稳定的遗传结构。从分子生物学角度揭示了盐肤木居群遗传结构与遗传多样性,为盐肤木种质资源、选择性育种提供理论背景。

本文以云南昭通、陕西商洛、重庆酉阳、湖北五峰和恩施5个五倍子高产区盐肤木为样本,筛选出的14对SSR引物进行遗传多样性分析。SSR分子标记重复性好、操作简便,为盐肤木遗传图谱的构建提供了前置条件,对提高五倍子产量和盐肤木优良品种的选育起到一定的指导作用。盐肤木种群遗传距离与地理距离之间有无相关性一直是研究人员探讨的问题,基于ISSR分子标记技术对贵州省8个种群106个盐肤木样本进行聚类分析,发现不同地域的盐肤木种群遗传距离与地理距离不相关^[32]。盐肤木各个种群间遗传距离与地理距离之间不存在相关性,王灿辉发现聚类的分组与安徽省内盐肤木的地理分布没有任何关联性^[12]。通过表型性状分析山东省5个种源盐肤木果实的聚类,显示盐肤木果实的变异以种源间变异为主且受地理位置影响明显^[33]。本研究基于SSR分子标记对盐肤木居群的遗传距离及地理距离关系的研究,发现二者之间存在一定的相关性。基于遗传距离与遗传相似度结果,运用NTSYS软件对5个盐肤木居群153份样品进行聚类分析显示,5个居群被聚为两大类:湖北建始和陕西商洛聚为一大类,湖北五峰和云南昭通、重庆酉阳聚为另一类,在0.95处云南昭通居群与重庆酉阳居群聚为一支。结合地理位置观察分析,发现各个居群之间呈现由南向北依次居群聚类。其中,湖北建始与五峰同为一个省份,地理位置相近,但因纬度不同而居群聚类表现出较远的亲缘关系,符合由南向北依次居群聚类的基本特点。

参考文献

- [1] 赵晓斌,李灵会,田卫斌,等.优良的多功能树种——盐肤木的栽培技术[J].现代园艺,2013(16):58-59.
Zhao X B, Li L H, Tian W B, et al. Cultivation techniques of *Rhus sumac*, an excellent multifunctional tree species[J]. Contemporary Horticulture, 2013(16): 58-59.
- [2] Varshney R K, Graner A, Sorrells M E. Genic microsatellite markers in plants: features and applications [J]. Trends Biotechnol, 2005, 23(1): 48-55.
- [3] 王齐. 中国漆树的保护遗传学研究[D]. 汉中: 陕西理工大学, 2022.
Wang Q. Study on conservation genetics of *Toxicoden-*

- dron vernicifluum* F. A. Barkley in China [D]. Hanzhong: Shaanxi University of Technology, 2022.
- [4] Vidyagina E O, Lebedev V G, Subbotina N M, *et al.* The development of the genic SSR markers for analysis of genetic diversity in gooseberry cultivars [J]. *Agronomy*, 2021, 11(6): 1050.
- [5] Duca M, Port A, Şestacova T, *et al.* Microsatellite marker application in sunflower (*Helianthus Annuus* L.) fingerprinting [J]. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 2013, 27(3): 3772-3775.
- [6] Pattanaik A, Lakshmana Reddy D C, Ramesh S, *et al.* Comparison of traditional grow-out test and DNA-based PCR assay to estimate F1 hybrid purity in cauliflower [J]. *Current Science*, 2018, 115(11): 2095.
- [7] Ziya Motalebipour E, Kafkas S, Khodaeiaminjan M, *et al.* Genome survey of pistachio (*Pistacia vera* L.) by next generation sequencing: development of novel SSR markers and genetic diversity in *Pistacia* species [J]. *BMC Genomics*, 2016, 17(1): 998.
- [8] 刘玉兰, 王小磊, 刘海兰, 等. 盐肤木果及其果油与籽油品质比较[J]. *食品科学*, 2018, 39(20): 197-201.
Liu Y L, Wang X L, Liu H L, *et al.* Chinese sumac (*Rhus chinensis* Mill.) fruits: proximate analysis and comparative study on the quality of whole fruit and seed oils [J]. *Food Science*, 2018, 39(20): 197-201.
- [9] Lai S T, Wang H Q, Liu J B, *et al.* Nine geranylgeranylated derivatives isolated from the roots of *Rhus chinensis* Mill [J]. *Phytochemistry*, 2023, 205: 113514.
- [10] Zhang Y, Wang O, Mi H Y, *et al.* *Rhus chinensis* Mill. fruits prevent necrotizing enterocolitis in rat pups via regulating the expressions of key proteins involved in multiple signaling pathways [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2022, 290: 115103.
- [11] Sun Y L, Zhang Y Y, Ma N, *et al.* *Rhus chinensis* Mill. fruits alleviate liver injury induced by isoniazid and rifampicin through regulating oxidative stress, apoptosis, and bile acid transport [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2023, 310: 116387.
- [12] 段立柱. 基于 AFLP 标记的盐肤木种群遗传多样性和遗传结构[D]. 太原: 山西大学, 2010.
Duan L Z. Population genetic diversity and genetic structure of *Rhus chinensis* mill. based on AFLP technology [D]. Taiyuan: Shanxi University, 2010.
- [13] 王灿辉. 基于 ISSRs 的盐肤木遗传多样性研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2020.
Wang C H. Genetic diversity of *Rhus chinensis* based on ISSRs [D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2020.
- [14] Cheng X M, Wang F, Luo W, *et al.* Transcriptome analysis and identification of a female-specific SSR marker in *Pistacia chinensis* based on illumina paired-end RNA sequencing [J]. *Genes*, 2022, 13(6): 1024.
- [15] Ni B B, Liu H, Wang Z S, *et al.* A chromosome-scale genome of *Rhus chinensis* Mill. provides new insights into plant-insect interaction and gallotannins biosynthesis [J]. *Plant J*, 2024, 118(3): 766-786.
- [16] Zaloglu S, Kafkas S, Dogan Y, *et al.* Development and characterization of SSR markers from pistachio (*Pistacia vera* L.) and their transferability to eight *Pistacia* species [J]. *Sci Hortic*, 2015, 189: 94-103.
- [17] 王佳, 周天华, 柏国清, 等. 漆树种质资源 SSR 遗传多样性分析[J]. *分子植物育种*, 2024: 22(22): 7429-7437.
Wang J, Zhou T H, Bai G Q, *et al.* Genetic diversity analysis of SSR germplasm resources of *Toxicodendron vernicifluum*[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2024: 22(22): 7429-7437.
- [18] 郭晋宏, 刘淑娇, 武艳虹, 等. 基于 SSR 标记的山西晋南漆树种群遗传结构[J]. *分子植物育种*, 2019, 17(9): 2950-2955.
Guo J H, Liu S J, Wu Y H, *et al.* Genetic structure of *Toxicodendron vernicifluum* in southern Shanxi Province based on SSR marker [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2019, 17(9): 2950-2955.
- [19] 李为民, 李思锋, 柏国清, 等. 漆树 EST-SSR 引物开发[J]. *基因组学与应用生物学*, 2018, 37(8): 3510-3515.
Li W M, Li S F, Bai G Q, *et al.* Development of EST-SSR primers for *Toxicodendron vernicifluum* [J]. *Genomics and Applied Biology*, 2018, 37(8): 3510-3515.
- [20] 吴志庄, 张志翔, 汪泽军, 等. 黄连木居群遗传多样性的 SSR 标记分析[J]. *应用与环境生物学报*, 2010, 16(6): 803-806.
Wu Z Z, Zhang Z X, Wang Z J, *et al.* SSR analysis on genetic diversity of natural populations of *Pistacia chinensis* Bunge [J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2010, 16(6): 803-806.
- [21] 任重, 白倩, 苏淑钗. 基于 SSR 分子标记的中国黄连木遗传多样性分析[J]. *西北植物学报*, 2022, 42(9): 1530-1539.
Ren Z, Bai Q, Su S C. Genetic diversity analysis of *Pistacia chinensis* Bunge based on SSR markers [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2022, 42(9): 1530-1539.
- [22] 张妹, 何正权, 马江, 等. 基于 SSR 和 SRAP 标记的红花玉兰品种遗传关系分析及分子鉴定[J]. *北京林业大学学报*, 2019, 41(9): 69-80.
Zhang M, He Z Q, Ma J, *et al.* Genetic relationship

- analysis and molecular identification of *Magnolia wufengensis* cultivars based on SSR and SRAP markers [J]. *Journal of Beijing Forestry University*, 2019, 41(9): 69-80.
- [23] 宋美玲. 基于SSR分子标记的甘草属植物遗传多样性分析[D]. 太原: 山西农业大学, 2016.
Song M L. Analysis on genetic diversity of *Glycyrrhiza* by SSR molecular marker [D]. Taiyuan: Shanxi Agricultural University, 2016.
- [24] 温景辉. 基于SSR分子标记的山葡萄种质遗传多样性研究与核心种质构建[D]. 长春: 吉林农业大学, 2011.
Wen J H. Study on genetic diversity and construction of core collections about *Vitis amurensis* Rupr. germplasm resources by SSR markers [D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2011.
- [25] 毛珍. 基于ISSR和SSR标记的山蜡梅复合体遗传多样性研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2021.
Mao Z. Study on genetic diversity of the *Chimonanthus nitens* complex based on ISSR, SSR markers [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2021.
- [26] Jang S J, Sa K J, Fu Z Y, *et al.* Association mapping analysis for cultivated and weedy types of *Perilla* crop collected from South Korea using morphological characteristics and SSR markers [J]. *Heliyon*, 2024, 10(5): e26720.
- [27] Wang Q, Li M Y, Eller F, *et al.* Trait value and phenotypic integration contribute to the response of exotic *Rhus typhina* to heterogeneous nitrogen deposition: a comparison with native *Rhus chinensis* [J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 844: 157199.
- [28] 肖帅, 李鳞霞, 李海鸥. 一种高效的植物DNA提取和PCR扩增体系建立[J]. *亚热带植物科学*, 2018, 47(3): 207-210.
Xiao S, Li L X, Li H O. An efficient plant DNA extraction and PCR amplification system [J]. *Subtropical Plant Science*, 2018, 47(3): 207-210.
- [29] 郭帅, 张孝军, 王泽, 等. 基于SSR分子标记的资丘独活种质资源遗传多样性分析[J/OL]. *分子植物育种*, 2022: 1-9. (2022-04-08). <https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20220408.1519.004.html>.
Guo S, Zhang X J, Wang Z, *et al.* Genetic diversity analysis of *angelicae pubescentis Radix* from ziqiu germplasm resources based on SSR molecular markers [J/OL]. *Mol Plant Breed*, 2022: 1-9. (2022-04-08). <https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20220408.1519.004.html>.
- [30] 郝丽娟. 能源植物黄连木遗传多样性的SSR及ISSR分析[D]. 北京: 北京林业大学, 2011.
Hao L J. ISSR analysis and SSR analysis of genetic diversity in bio-diesel plant, *Pisticia chinensis* (Anacardiaceae) [D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2011.
- [31] 李忠虎, 刘占林, 王玛丽, 等. 基因流存在条件下的物种形成研究述评: 生殖隔离机制进化[J]. *生物多样性*, 2014, 22(1): 88-96.
Li Z H, Liu Z L, Wang M L, *et al.* A review on studies of speciation in the presence of gene flow: evolution of reproductive isolation [J]. *Biodiversity Science*, 2014, 22(1): 88-96.
- [32] 李继变, 任竹梅. 角倍蚜 mtDNA Cyt *b* 基因遗传多样性分析[J]. *复旦学报(自然科学版)*, 2009, 48(5): 680-686.
Li J B, Ren Z M. Genetic diversity among *Schlechtendalia chinensis* individuals revealed by *cyt b* sequences [J]. *Fudan Journal (Natural Science)*, 2009, 48(5): 680-686.
- [33] 王尧. 盐肤木和泰山盐肤木耐盐性比较研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2020.
Wang Y. The comparative study of salt tolerance of *Rhus chinensis* Mill. and *R. Taisanensis* S. B. Liang [D]. Tai'an: Shandong Agricultural University, 2020.

□

(编辑: 杨晓翠)