

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201706027

引文格式: 张安世, 骆扬, 范定臣, 等. 皂荚种质资源 SCoT 遗传多样性分析及指纹图谱的构建 [J]. 广西植物, 2017, 37(11):1378-1385
ZHANG AS, LUO Y, FAN DC, et al. Genetic diversity and fingerprints of *Gleditsia sinensis* germplasm resource based on SCoT [J]. *Guihaia*, 2017, 37(11):1378-1385

皂荚种质资源 SCoT 遗传多样性分析及指纹图谱的构建

张安世¹, 骆扬¹, 范定臣^{2*}, 张中海¹

(1. 焦作师范高等专科学校 理工学院, 河南 焦作 454000; 2. 河南省林业科学研究院, 郑州 450008)

摘要: 采用 SCoT 标记分析了 18 个皂荚种质的遗传多样性, 并采用 UPGMA 法对 18 个皂荚种质进行了聚类分析。在此基础上, 通过筛选出的多态性条带构建了 18 个皂荚种质的 SCoT 指纹图谱。扩增结果表明: 从 51 个 SCoT 引物中筛选了 15 个引物进行 PCR 扩增, 共扩增出 226 条带, 其中多态性条带 216 条, 多态性比率为 96.61%。各引物多态性信息含量 (PIC)、观测等位基因数 (N_a)、有效等位基因数 (N_e)、Nei's 基因多样性指数 (H) 和 Shannon's 信息指数 (I) 的平均值分别为 0.875 9、1.964 9、1.440 1、0.272 6、0.426 1。18 个皂荚种质的遗传相似系数在 0.491 4~0.938 1 之间, 表明供试材料之间具有较丰富的遗传多样性。聚类分析结果表明: 在遗传相似系数为 0.60 处可将 18 个皂荚种质分为 3 组, 其中野皂荚单独为一组, 山皂荚和皂荚-T 聚为一组, 其它皂荚材料聚为一组。利用 3 个引物扩增的 8 个多态性位点构建了 18 份皂荚种质资源的 DNA 指纹图谱, 可以将其区分并精准鉴定。该研究结果为皂荚种质的鉴定和新品种选育提供了一定的理论依据。

关键词: 皂荚, SCoT, DNA 指纹图谱, 遗传多样性

中图分类号: Q949.9, S718.46 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2017)11-1378-08

Genetic diversity and fingerprints of *Gleditsia sinensis* germplasm resource based on SCoT

ZHANG An-Shi¹, LUO Yang¹, FAN Ding-Chen^{2*}, ZHANG Zhong-Hai¹

(1. School of Sciences, Jiaozuo Teachers College, Jiaozuo 454000, Henan, China; 2. Henan Academy of Forestry, Zhengzhou 450008, China)

Abstract: Genetic diversity of eighteen *Gleditsia sinensis* germplasms was analyzed based on SCoT markers, the cluster analysis on eighteen *G. sinensis* germplasms was carried out by UPGMA method, and the SCoT fingerprints of eighteen *G. sinensis* germplasms were constructed by the polymorphic bands. The results of amplification showed that, 226 SCoT

收稿日期: 2017-07-21 修回日期: 2017-08-24

基金项目: 河南省科技攻关项目 (14210221100850); 2015 年河南省林业厅科技兴林项目 [Supported by Science and Technology Program of Henan (14210221100850); Program of Forest Initiated by Technology from Forestry Department of Henan Province in 2015]。

作者简介: 张安世 (1965-), 男, 河南博爱人, 硕士, 教授, 主要从事植物分子生物学研究, (E-mail) aszhang1212@163.com。

* 通信作者: 范定臣, 高级工程师, 主要从事园林绿化及林木育种研究, (E-mail) fdclky@139.com。

bands were obtained from fifteen primers selected from 51 SCoT primers, including 216 polymorphic bands, with a polymorphism rate of 96.61%. The average of the polymorphism information content (PIC), observed number of alleles (N_a), effective number of alleles (N_e), Nei's gene diversity (H) and Shannon's information index (I) were 0.875 9, 1.964 9, 1.440 1, 0.272 6 and 0.426 1, respectively. The genetic similarity coefficients of these samples were between 0.491 4 and 0.938 1. Therefore, it indicates that there are rich genetic diversities among these materials. The results of cluster analysis showed that, eighteen *G. sinensis* germplasms could be divided into three groups when the genetic similarity coefficient was 0.60. *G. heterophylla* formed the first group, *G. melanacantha* and Zaojia-T formed the second group, and the others formed the third group. DNA fingerprints of eighteen samples were constructed from eight polymorphic loci amplified by three primers, and these materials could be distinguished and identified accurately. All these results provide the important information for the identification and breeding for new cultivars of *G. sinensis*.

Key words: *Gleditsia sinensis*, SCoT, DNA fingerprint, genetic diversity

皂荚属 (*Gleditsia* Linn.) 系豆科苏木亚科, 全世界约 12 种, 主要分布于亚洲、美洲和热带非洲 (顾万春等, 2003)。中国产 8 种, 引进 1 种, 其中中国皂荚是分布在我国的特有种, 广泛分布于我国东北、华北、华东、华南等地, 多生长于平原、山谷及丘陵地区。皂荚能抗旱、耐盐、耐高温, 具有多种多样的生态属性, 遗传多样性程度高, 是经济林、用材林、防护林及园林绿化的理想树种 (顾万春等, 2003; 杨海东, 2003)。皂荚具有很高的药用价值, 皂荚、皂刺、皂根、皂叶均可入药, 特别是棘刺是中医治疗乳腺癌、肺癌等多种癌症的常用配伍药之一, 被列为抗癌中草药 (蒋建新等, 2003)。同时, 皂荚还是优良的城市抗污染剂和日用化工原料 (王蓟花等, 2008), 杀虫、杀鼠效果也非常好 (张宏利等, 2013)。目前国内外对皂荚的研究主要集中在皂荚果实与皂刺中活性成分 (张宏利等, 2013; 余俐佳等, 2016)、引种栽培 (范定臣等, 2015) 及生态属性 (杨海东, 2003) 等方面, 并开展了相关的遗传学研究 (兰彦平和顾万春, 2006; 李伟等, 2013)。最近, 分子标记技术也已开始在皂荚研究中得到应用。邢俊连等 (2017) 成功地对皂荚 EST-SSR 引物的开发与筛选, 且证实这些引物在其近缘种间具有很高的通用性, 为以后开展皂荚种质资源的遗传多样性研究提供有效的分析方法和手段。李伟等 (2017) 利用 AFLP 分子标记技术对 10 个南方皂荚群体进行了遗传多样性分析, 结果表明群体内的变异是皂荚遗传变异的主体, 皂荚群体的遗传多样性与遗传结构的形成

不仅与其分布广泛、种子特性及生活史有关, 而且与人为的砍伐、引种、生境片段化等因素有重要关系, 并由此提出了皂荚的保护策略。就目前而言, 分子标记技术在皂荚的系统进化、种质资源鉴定、指纹图谱构建等方面还缺乏有效利用。

随着分子生物学的发展, 大量的分子标记技术被开发利用, 每种分子标记技术都各有其特点。目标起始密码子多态性 (start codon targeted polymorphism, SCoT) 是由 Collard & Mackill (2009) 开发的新目的基因分子标记技术, 并首先在水稻上得以应用, 是一种基于单引物扩增反应的分子标记技术。SCoT 具有操作简单、通用性良好、多态性丰富、成本低廉等优点, 同时又能对性状进行跟踪, 有利于分子辅助育种, 已在多种植物上得到成功应用 (杨祥燕等, 2013; 王健胜等, 2015; 王发明等, 2017)。因此, 本试验采用 SCoT 标记对河南省 18 份皂荚种质资源进行遗传多样性分析, 并构建 DNA 指纹图谱, 以为皂荚种质资源的鉴定和优良品种的选育等研究提供科学依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料和试剂

材料包括 3 个种共 18 份, 具体见表 1。除野皂荚、山皂荚和皂荚-T 为实生苗外, 其余的 15 份材料是以单株产量高、单刺 (或单果) 平均重量重的皂荚植株为接穗、野皂荚为砧木 (济科除外) 嫁接而获得的无性系, 其中部分品种已经通过河南省

表 1 供试材料
Table 1 Materials used in this study

| 编号 No. | 种名 Species name | 品种 Cultivar | 采集地 Source |
|-----------|-----------------------------------|---------------------|----------------------|
| 1 | 野皂荚 <i>Gleditsia heterophylla</i> | | 河南修武 Xiuwu, Henan |
| 2 | 山皂荚 <i>G. melanacantha</i> | | 河南新郑 Xinzheng, Henan |
| 3 | 皂荚 <i>G. sinensis</i> | 密刺 Mici | 河南嵩县 Songxian, Henan |
| 4 | 皂荚 <i>G. sinensis</i> | 硕刺 Shuoci | 河南嵩县 Songxian, Henan |
| 5 | 皂荚 <i>G. sinensis</i> | 豫皂 1 Yuzao 1 | 河南博爱 Bo' ai, Henan |
| 6 | 皂荚 <i>G. sinensis</i> | 太行 2 Taihang 2 | 河南博爱 Bo' ai, Henan |
| 7 | 皂荚 <i>G. sinensis</i> | 豫皂 2 Yuzao 2 | 河南博爱 Bo' ai, Henan |
| 8 | 皂荚 <i>G. sinensis</i> | 怀皂王 2 Huaizaowang 2 | 河南博爱 Bo' ai, Henan |
| 9 | 皂荚 <i>G. sinensis</i> | 皂荚-H Zaojia-H | 河南新郑 Xinzheng, Henan |
| 10 | 皂荚 <i>G. sinensis</i> | 济科 Jike | 河南济源 Jiyuan, Henan |
| 11 | 皂荚 <i>G. sinensis</i> | 嵩刺 1 Songci 1 | 河南嵩县 Songxian, Henan |
| 12 | 皂荚 <i>G. sinensis</i> | 博科 Boke | 河南博爱 Bo' ai, Henan |
| 13 | 未知 Unknown | 皂荚-T Zaojia-T | 河南新郑 Xinzheng, Henan |
| 14 | 皂荚 <i>G. sinensis</i> | 焦科 1 Jiaoke 1 | 河南修武 Xiuwu, Henan |
| 15 | 皂荚 <i>G. sinensis</i> | 焦科 2 Jiaoke 2 | 河南修武 Xiuwu, Henan |
| 16 | 皂荚 <i>G. sinensis</i> | 焦科 3 Jiaoke 3 | 河南修武 Xiuwu, Henan |
| 17 | 皂荚 <i>G. sinensis</i> | 焦科 4 Jiaoke 4 | 河南修武 Xiuwu, Henan |
| 18 | 皂荚 <i>G. sinensis</i> | 焦科 5 Jiaoke 5 | 河南修武 Xiuwu, Henan |

林木品种审定委员会审定。另外皂荚-T 是从土耳其引进种子的 3 年生实生苗,曾被当做皂荚品种,但其所表现出的形态特征与皂荚有较大差异,而与山皂荚极为相似。所有材料均随机选取 3 株,每株采集 2 片健康、幼嫩叶片,置于-80 °C 超低温冰箱保存备用。

试剂为 2×Taq MasterMix (含有 Taq DNA Polymerase, 2×Taq PCR Buffer, 3 mmol · L⁻¹ MgCl₂ 和 400 μmol · L⁻¹ dNTP mix) 购自北京康为世纪生物科技有限公司, SCoT 引物根据苏亚春等(2012)公布的 40 条引物序列由金唯智生物科技(北京)有限公司合成。

1.2 皂荚基因组 DNA 的提取

每个皂荚品种取 3 片不同植株的幼嫩叶片等量混合,采用改良 CTAB 法(张安世等,2009)提取皂荚基因组 DNA,并将模板 DNA 浓度稀释至 20

ng · μL⁻¹,保存于-20 °C 备用。

1.3 SCoT-PCR 分析

选用 40 个 SCoT 单引物(SC1-SC40)和 11 个由 SCoT 单引物搭配而成的引物组合共计 51 个引物对供试材料进行扩增。反应体积 10 μL,其中 DNA 1.0 μL,引物 1.4 μL,2×Taq MasterMix 5.0 μL,RNase-Free water 2.6 μL。SCoT-PCR 扩增程序:首先 94 °C 预变性 5 min;然后进行 40 个循环,包括 94 °C 变性 1 min,50 °C 复性 1 min,72 °C 延伸 1.5 min。最后 72 °C 延伸 8 min,4 °C 保存备用。扩增产物用 1.5% 琼脂糖凝胶分离。

1.4 数据统计分析

根据电泳结果进行条带的统计分析。在电泳图相同位置上若出现 DNA 条带记为“1”,无记为“0”,形成 1,0 矩阵,将此矩阵导入 POPGENE 1.32 软件进行多态性百分率(PPL)、观测等位基因数(*N_a*)、

表 2 SCoT 引物及多态性分析

Table 2 SCoT primers used for this study and their polymorphic analysis

| 引物名称 Primer name | 引物序列 (5'→3') Sequence for primer (5'→3') | N | T | PPL (%) | PIC | <i>Na</i> | <i>Ne</i> | <i>H</i> | <i>I</i> |
|---------------------|---|-------|-----|------------|---------|-----------|-----------|----------|----------|
| SC1 | CAACAATGGCTACCACCA | 18 | 18 | 100.00 | 0.900 7 | 2.000 0 | 1.489 8 | 0.286 7 | 0.443 2 |
| SC4 | CAACAATGGCTACCACCT | 14 | 14 | 100.00 | 0.897 5 | 2.000 0 | 1.478 2 | 0.296 3 | 0.459 6 |
| SC6 | CAACAATGGCTACCACGC | 10 | 10 | 100.00 | 0.830 5 | 2.000 0 | 1.497 6 | 0.299 4 | 0.462 5 |
| SC11 | AAGCAATGGCTACCACCA | 20 | 20 | 100.00 | 0.921 1 | 2.000 0 | 1.472 8 | 0.285 2 | 0.443 5 |
| SC13 | ACGACATGGCGACCATCG | 18 | 18 | 100.00 | 0.925 6 | 2.000 0 | 1.591 0 | 0.345 0 | 0.516 8 |
| SC23 | CACCATGGCTACCACCAG | 12 | 12 | 100.00 | 0.879 9 | 2.000 0 | 1.469 2 | 0.279 8 | 0.433 5 |
| SC27 | ACCATGGCTACCACCGTG | 20 | 20 | 100.00 | 0.899 5 | 2.000 0 | 1.371 3 | 0.247 5 | 0.400 5 |
| SC30 | CCATGGCTACCACCGGCG | 12 | 11 | 91.67 | 0.848 7 | 1.916 7 | 1.356 0 | 0.239 2 | 0.385 2 |
| SC31 | CCATGGCTACCACCGCCT | 10 | 10 | 100.00 | 0.783 0 | 2.000 0 | 1.347 0 | 0.240 1 | 0.393 9 |
| SC32 | CCATGGCTACCACCGCAC | 19 | 18 | 94.74 | 0.919 4 | 1.947 4 | 1.525 2 | 0.317 7 | 0.482 8 |
| SC10+SC11 | CAACAATGGCTACCAGCC AAGCAATGGCTACCACCA | 20 | 20 | 100.00 | 0.913 4 | 2.000 0 | 1.449 8 | 0.277 8 | 0.435 0 |
| SC21+SC22 | ACGACATGGCGAACCACA AACCATGGCTACCACCAC | 14 | 13 | 92.86 | 0.868 3 | 1.928 6 | 1.343 4 | 0.223 5 | 0.362 5 |
| SC23+SC32 | CACCATGGCTACCACCAG CCATGGCTACCACCGCAC | 13 | 12 | 92.31 | 0.855 7 | 1.923 1 | 1.426 1 | 0.260 2 | 0.405 5 |
| SC26+SC27 | ACCATGGCTACCACCGCT ACCATGGCTACCACCGTG | 10 | 9 | 90.00 | 0.809 1 | 1.900 0 | 1.319 1 | 0.215 4 | 0.352 0 |
| SC30+SC32 | CCATGGCTACCACCGGCG CCATGGCTACCACCGCAC | 16 | 14 | 87.50 | 0.885 7 | 1.812 5 | 1.358 6 | 0.221 8 | 0.349 0 |
| 总计 Total | | 226 | 216 | | | | | | |
| 平均 Mean | | 14.40 | | 96.61 | 0.875 9 | 1.964 6 | 1.440 1 | 0.272 6 | 0.426 1 |

注: **T**. 位点总数; **N**. 多态性位点数; **PPL**. 多态性位点百分率; **PIC**. 多态性信息含量; ***Na***. 观测等位基因数; ***Ne***. 有效等位基因数; ***H***. Nei's 基因多样性; ***I***. Shannon's 信息指数。

Note: **T**. Total number of loci; **N**. Number of polymorphic loci; **PPL**. Percentage of polymorphic loci; **PIC**. Polymorphism information content; ***Na***. Observed number of alleles; ***Ne***. Effective number of alleles; ***H***. Nei's gene diversity; ***I***. Shannon's information index.

有效等位基因数 (*Ne*)、Nei's 基因多样性 (*H*) 和 Shannon's 信息指数 (*I*) 等遗传多样性参数分析, 参照黄秀等 (2014) 方法计算引物多态性信息含量 (PIC), 通过 NTSYS-pc 2.0 软件依据 UPGMA 法进行聚类分析, 同时参照云天海等 (2013) 的方法构建 18 个皂荚种质 DNA 指纹图谱。

2 结果与分析

2.1 SCoT 引物筛选与多态性分析

选用 51 个 SCoT 引物对 18 份皂荚种质材料进行了 PCR 扩增, 最终筛选出了条带清晰、多态性高、重复性好的 15 个引物, 其中, 包括 10 个 SCoT

单引物和 5 个引物组合。所用引物序列及多态性统计结果见表 2。15 个引物共扩增出 226 个条带, 其中多态性条带 216 个, 多态位点百分率 (PPL) 为 96.61%。多态性信息含量 (PIC) 的变化范围为 0.783 0~0.925 6, 平均值为 0.875 9。说明所选引物在 18 个皂荚种质间具有很高的 SCoT 多态性。观测等位基因数 (*Na*) 的变化范围为 1.812 5~2.000, 平均值为 1.964 6; 有效等位基因数 (*Ne*) 的变化范围为 1.319 1~1.591 0, 平均值为 1.440 1; Nei's 基因多样性指数的变化范围为 0.215 4~0.345 0, 平均值为 0.272 6; Shannon's 信息指数的变化范围为 0.349 0~0.516 8, 平均值为 0.426 1。上述结果表明, 18 个皂荚种质间存在较

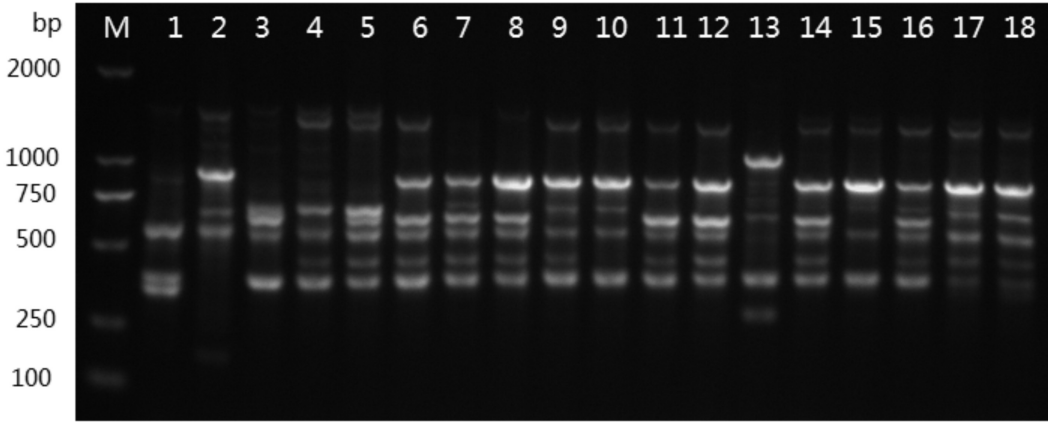


图 1 引物 SC23 扩增结果 图中数字序号同表 1。下同。

Fig. 1 Amplification result of SCoT by primer SC23 Numbers in the figure have the same orders as those in Table 1. The same below.

丰富的遗传多样性。同时,利用 SPSS17.0 软件对 4 个主要遗传多样性参数多态性信息含量、有效等位基因数、Nei's 基因多样性指数和 Shannon's 信息指数进行非参数 Kruskal Wallis Test 独立样本检验,结果显示 18 个皂荚种质之间遗传多样性水平存在显著性差异($X^2 = 49.795, P = 0.000 < 0.001$),表明上述分析得到的各参数值能很好地说明皂荚种质间遗传多样性水平。

2.2 遗传相似性和聚类分析

利用 NTSYS-pc 软件计算种质间的遗传相似系数(G_s),结果表明 18 份皂荚种质两两间的 G_s 在 0.491 4~0.938 1 之间,平均值为 0.711 4,变幅为 0.446 7,说明供试材料间存在较大的遗传差异。其中焦科 4 和焦科 5 的 G_s 最大(0.938 1),亲缘关系最近,山皂荚和豫皂 2 的 G_s 最小(0.491 4),亲缘关系最远。

利用 NTSYS-pc 软件对 18 份皂荚种质进行聚类分析。结果表明(图 2),在 G_s 为 0.60 处可将 18 份皂荚材料分为 3 组。第 1 组为野皂荚;第 2 组为山皂荚和皂荚-T;第 3 组共有 15 个皂荚种质材料:密刺、硕刺、皂荚-H、豫皂 1、怀皂王 2、博科、焦科 1、焦科 2、焦科 3、济科、嵩刺 1、太行 2、豫皂 2、焦科 4 和焦科 5。

2.3 DNA 指纹图谱的构建

通过筛选的 15 个引物对 18 份皂荚种质的扩

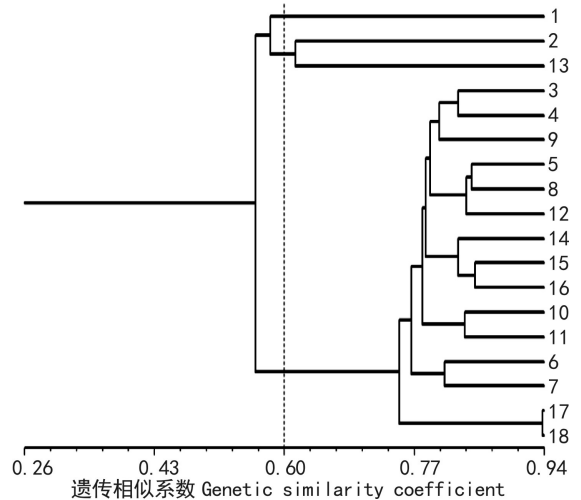


图 2 18 份皂荚种质资源的聚类图

Fig. 2 Dendrogram for eighteen *G. sinensis* germplasm based on SCoT marker

增结果分析,选取其中 SC1、SC13 和 SC23 3 个引物扩增的 8 个多态性位点构建了 18 份皂荚种质的 DNA 指纹图谱(图 3)。每份材料都有唯一的指纹图谱,可以将 18 份皂荚种质区分并准确鉴定。

3 讨论与结论

3.1 皂荚种质资源的遗传多样性分析

利用分子标记技术分析皂荚种质资源的遗传

| DNA条带 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 |
|---------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| DNA bands(bp) | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| SC1-580 | | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ |
| SC13-750 | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ |
| SC13-658 | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ |
| SC13-630 | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ |
| SC13-528 | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ |
| SC23-832 | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ |
| SC23-682 | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ |
| SC23-412 | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ |

图3 18份皂荚种质资源的DNA指纹图谱

Fig. 3 DNA fingerprintings of eighteen *G. sinensis* germplasms based on SCoT marker

多样性,了解不同皂荚种质之间的遗传差异,对于皂荚的新品种选育和种质资源鉴定具有重要意义。在遗传多样性研究中,多态性是评价遗传多样性的重要依据之一。在本研究中,通过 SCoT 标记对 18 份皂荚种质资源的遗传变异分析表明,多态性位点百分率 (PPL) 高达 96.61%,多态性信息量 (PIC) 为 0.875 9,处于高水平 (高: $PIC > 0.5$; 适中: $0.5 > PIC > 0.25$; 低: $PIC < 0.25$) (徐玉仙等, 2015),说明本研究筛选的引物在供试材料间具有很高的多态性,可以有效的用于皂荚的遗传多样性分析。同样,有效等位基因数、Nei's 基因多样性和 Shannon's 信息指数分别为 1.440 1、0.272 6 和 0.426 1,也处于较高水平。另外,18 个皂荚种质间的遗传相似系数 (G_s) 在 0.491 4 ~ 0.938 1 之间,变幅达 0.446 7,说明供试材料间存在较丰富的多样性。通过对多态性信息量、有效等位基因数、Nei's 基因多样性指数和 Shannon's 信息指数,4 个主要的遗传多样性参数进行的非参数 Kruskal Wallis Test 独立样本检验结果也证实了这一结论。

3.2 皂荚种质资源的聚类分析

本研究涉及野皂荚、山皂荚和皂荚共 3 个种 18 份材料。聚类结果表明,在 G_s 为 0.60 处可将 18 份皂荚种质分为 3 组。其中,野皂荚单独为一组,山皂荚和皂荚-T 聚为一组,其余 15 份皂荚种质材料聚为一组。在上述第 3 组的 15 份皂荚种质

中,焦科 4 和焦科 5 是以皂荚荚果为目的选育的品种,其余均以皂刺为目的选育。焦科 4 和焦科 5 的接穗均为荚果较大的不同皂荚品种,在所有供试材料中亲缘关系最近,在其 15 份皂荚种质一组聚为一个分支,其它 13 份材料聚为另一分支,与预期相符。济科是以嵩刺 1 为接穗、山皂荚为砧木的嫁接品种,两者首先聚在一起,也与实际情况相吻合。从聚类图中还能看出部分种质材料具有一定的地理来源一致性特征。如采集于河南修武的 5 份材料除焦科 4 和焦科 5 聚在一起外,焦科 1、焦科 2 和焦科 3 也聚在一起;采集于河南博爱的 5 份材料也分别聚于 2 个分支,豫皂 1、怀皂王 2 和博科为一个分支,太行 2 和豫皂 2 为另一分支;采集于河南嵩县的 3 份材料除嵩刺 1 外,其余 2 份材料密刺和硕刺聚在一起。另外,皂荚-T 是从土耳其引进种子的三年生播种苗,起初曾被作为皂荚品种,但其三年生播种苗无论从叶的形态、皮孔大小及形状以及嫩枝的颜色都与山皂荚极为相似,因此认为该种子在引进时可能鉴定有误。本研究结果显示山皂荚和皂荚-T 聚为一组,两者具有很近的亲缘关系,因此,应将皂荚-T 归为山皂荚而非皂荚品种,同时还要结合其它标记技术及其以后的生长过程中所表现出的其它形态学特征进行进一步的验证。

3.3 皂荚种质资源鉴定与 DNA 指纹图谱构建

分子标记是以 DNA 多态性为基础的遗传标

记,能直接反映植物间的遗传差异,具有高效、快捷、准确度高、信息量大等优点,已经成为植物种质鉴定的有效方法,也是数字化身份证构建的有效工具,已在大量的种质资源研究中得到应用。SCoT作为一种新型的DNA分子标记技术,在植物种质鉴定和DNA指纹图谱构建方面已经得到了初步应用。陈红等(2014)利用SCoT分子标记技术对71份贵州桃种质进行了分析,结果表明,来自贵阳和黔南州荔波县的两份青桃资源(20号和39号)亲缘关系较远,说明它们为同名异物。同时也证实自同一县份的血桃(31号和32号)和白花桃(16号和19号)不完全是同一样品,从而在分子水平理清了供试材料的亲缘关系,并对部分桃资源名称混乱的现象进行了纠正,为贵州桃种质资源的科学保存与利用提供了依据。林清等(2013)通过对5个SCoT引物在46份供试芥菜种质中扩增所得的16个多态性DNA谱带进行统计,初步构建了芥菜种质的指纹图谱,能够准确地鉴定这46份芥菜种质。本研究利用SCoT技术,选用3个引物扩增的8个多态性位点构建了18份皂荚种质的DNA指纹图谱,为皂荚种质间的鉴别提供了重要的科学依据。

综上所述,通过SCoT标记对18份皂荚种质资源的遗传变异分析表明,18份皂荚种质材料间具有较丰富遗传多样性;聚类分析与皂荚的传统分类基本吻合,并对可疑材料皂荚-T进行了合理归类;利用3个SCoT引物扩增的8个多态性位点构建的DNA指纹图谱具有唯一性,可以利用此图谱对供试材料进行鉴定。

参考文献:

CHEN H, YANG X, AN HM, 2014. Genetic diversity of peach accessions in Guizhou analysed by SCoT markers [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 34(8):1559-1564. [陈红,杨鑫,安华明,2014.贵州桃种质资源遗传多样性的SCoT分析[J].西北植物学报,34(8):1559-1564.]

COLLARD BCY, MACKILL DJ, 2009. Start codon targeted (SCoT) polymorphism: a simple, novel DNA marker technique for generating gene-targeted markers in plants [J]. Plant Mol Biol Rep, 27:86-93

FAN DC, MA QZ, YANG W, et al, 2015. Cultivation

techniques of *Gleditsia sinensis* in the central plains [M]. Zhengzhou: The Yellow River Water Conservancy Press:72-83 [范定臣,马群智,杨伟,等,2015.中原地区皂荚栽培技术[M].郑州:黄河水利出版社:72-83]

GU WC, LAN YP, SUN CL, 2003. Reseach advances and utilization development of *Gleditsia sinensis* in world [J]. Sci Silv Sin, 39(4):127-133. [顾万春,兰彦平,孙翠玲,2003.世界皂荚(属)的研究与开发利用[J].林业科学,39(4):127-133.]

HUANG X, ZENG J, NIE G, et al, 2014. Construction of fingerprinting and genetic diversity analysis of *Hemarthia* cultivars by EST-SSR [J]. J Trop & Subtrop Bot, 22(2):165-171. [黄秀,曾捷,聂刚,等,2014.牛鞭草品 EST-SS 指纹图谱构建及遗传多样性分析[J].热带亚热带植物学报, 22(2):165-171.]

JIANG JX, ZHANG WM, ZHU LW, et al, 2003. Chemical utilization of Chinese *Gleditsia sinensis* resources [J]. Chin Wild Plant Resourc, 22(6):9-11, 26. [蒋建新,张卫明,朱莉伟,等,2003.我国皂荚资源的化学利用[J].中国野生植物资源, 22(6):9-11, 26.]

LAN YP, GU WC, 2006. Geographical variation of morphologic characteristics of *Gleditsia sinensis* seeds and legumes in the North region [J]. Sci Silv Sin, 42(7):47-51. [兰彦平,顾万春,2006.北方地区皂荚种子及荚果形态特征的地理变异[J].林业科学, 42(7):47-51.]

LI W, LIN FR, ZHENG YQ, et al, 2013. Phenotypic diversity of pods and seeds in natural populations of *Gleditsia sinensis* in southern China [J]. Chin J Plant Ecol, 37(1):61-69. [李伟,林富荣,郑勇奇,等,2013.皂荚南方天然群体种实表型多样性[J].植物生态学报, 37(1):61-69.]

LI W, LIN FR, ZHENG YQ, et al, 2017. Genetic diversity of ten *Gleditsia sinensis* populations from Southern China [J]. For Res, 30(1):46-52. [李伟,林富荣,郑勇奇,等,2017.10个南方皂荚群体遗传多样性的 AFLP 分析[J].林业科学研究,30(1):46-52.]

LIN Q, LONG ZJ, HAN GH, et al, 2013. Genetic diversity and fingerprint based on SCoT markers in *Brassica juncea* (L.) Czern. et Coss. [J]. Chin Veget, (12):31-39. [林清,龙治坚,韩国辉,等,2013.基于SCoT标记的芥菜种质遗传多样性与指纹图谱[J].中国蔬菜, (12):31-39.]

SU YC, LING H, WANG HB, et al, 2012. Optimization of SCoT-PCR reaction system, and screening and utilization of polymorphic primers in Sugarcane [J]. Chin J Appl Environ Biol, 18(5):810-818. [苏亚春,凌辉,王恒波,等,2012.甘蔗 SCoT-PCR 反应体系优化与多态性引物筛选及应用[J].应用与环境生物学报, 18(5):810-818.]

WANG FM, LI JW, YE KY, et al, 2017. Comparative analysis on the genetic diversity of 41 *Vitis* germplasm resources by ISSR and SCoT molecular markers [J]. Guihaia, 37(1):1-8. [王发明,李洁维,叶开玉,等,2017.41份葡萄种质遗传多样性的 ISSR 和 SCoT 对比分析[J].广西植物, 37(1):1-8.]

- WANG JH, TANG J, LI D, et al, 2008. Chemical constituents and bioactivity of *Gleditsia* plants [J]. *Chin Wild Plant Resour*, 27(6):1-3. [王蓟花,唐静,李端,等,2008.皂荚化学成分和生物活性的研究进展 [J]. 中国野生植物资源, 27(6):1-3.]
- WANG JS, HE JH, CHEN HR, et al, 2015. Genetic diversity analysis of pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr) germplasm with SCoT molecular markers [J]. *J Plant Genet Resour*, 16(4): 848-856. [王健胜,贺军虎,陈华蕊,等, 2015. 菠萝种质目标起始密码子(SCoT) 遗传多样性分析 [J]. 植物遗传资源学报, 16(4): 848-856.]
- XING JL, MENG YQ, LIN FR, et al, 2017. Development and assessment of EST-SSR for *Gleditsia sinensis* based on transcriptome sequences [J]. *J Plant Genet Resour*, 18(1): 149-155. [邢俊连,孟艳琼,林富荣,等,2017.皂荚 EST-SSR 分子标记开发与评价 [J].植物遗传资源学报, 18(1):149-155.]
- XU YX, ZHANG WW, MO HB, et al, 2015. Genetic diversity analysis of *Nelumbo* accessions based on EST-SSR markers [J]. *Plant Divers Resour*, 37(5): 595-604. [徐玉仙,张微微,莫海波,等,2015.基于 EST-SSR 标记的莲属种质资源遗传多样性分析 [J].植物分类与资源学报, 37(5): 595-604.]
- YANG HD, 2003. Multi-function of *Gleditsia sinensis* and its application in land afforestation [J]. *Guizhou Agric Sci*, 31(4): 73-74. [杨海东, 2003.皂荚的多种功效及其绿化应用 [J]. 贵州农业科学, 31(4): 73-74.]
- YANG XY, CAI YB, HUANG QW, et al, 2013. SCoT fingerprints and genetic variations of the Papaya (*Carica papaya* L.) major cultivars [J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 33(9):1756-1761. [杨祥燕,蔡元保,黄秋伟,等, 2013. 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,33(9):1756-1761.]
- YU LJ, YANG JY, LIU CC, et al, 2016. Extraction and purification of nonionic surfactant from natural plant and the evaluation of their complex synergism [J]. *Fine Chem*, 33(3): 295-301. [余俐佳,杨江勇,刘长城,等, 2016. 从天然植物原料中提取非离子表面活性物质的方法及其复配增效评价 [J].精细化工, 33(3):295-301.]
- YUN TH, ZHENG DJ, XIE LS, et al, 2013. Analysis of genetic specificity and DNA fingerprinting establishment for the Hainan Island landraces of *Cucurbita moschata* [J]. *J Plant Genet Resour*, 14(4):679-685. [云天海,郑道君,谢良商,等, 2013. 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,14(4):679-685.]
- ZHANG AS, XING ZF, LIU YY, et al, 2009. Comparison and analysis on the different methods of DNA extraction methods from Bryophytes [J]. *Henan Sci*, 27(5):559-562. [张安世,邢智峰,刘永英,等, 2009. 苔藓植物 DNA 不同提取方法的比较分析 [J]. 河南科学, 27(5):559-562.]
- ZHANG HL, JIAN LR, HAN CX, et al, 2013. Solation, identification and toxicity of Gleditsiosides O [J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 33(6):1234-1238. [张宏利,简利茹,韩崇选,等, 2013. 皂荚果实中皂苷 O 的分离鉴定及毒性研究 [J]. 西北植物学报, 33(6): 1234-1238.]