

甘蔗属不同种及优良甘蔗栽培品种的 SSR 标记遗传多样性分析

梁俊^{1,2,3,4}, PAN Yong-Bao⁶, 李杨瑞^{1,2,4,5*},
方锋学^{2,3,4}, 吴凯朝^{1,2,3,4}, 游建华^{2,3,4}

(1. 广西大学 广西亚热带生物资源保护利用重点实验室, 南宁 530004; 2. 中国农业科学院甘蔗研究中心/广西甘蔗研究所, 南宁 530007; 3. 农业部甘蔗品质监督检验测试中心, 南宁 530007; 4. 国家糖料改良中心广西甘蔗品种改良分中心, 南宁 530007; 5. 广西作物遗传改良生物技术重点开放实验室, 南宁 530007; 6. USDA-ARS, Sugarcane Research Unit, 5883 USDA Road, Houma, LA 70360, USA)

摘要: 应用 21 对 SSR 引物与毛细管电泳技术, 分析了 52 个甘蔗属品种的遗传多样性。共检测出 327 个 SSR 标记, 平均每对引物检测 15.6 个。选择 141 个共显性标记构建 SSR 标记指纹图谱数据库, 利用 DNAMAN 软件与 UPGMA 统计方法分析参试材料遗传多样性。DNAMAN 软件同源分析显示, 新台糖 16 号与台优 1 号之间的同源性最高(87%), 品种之间最小的同源性为 55%; 利用 UPGMA 统计方法可把参试材料分成 4 个遗传相似性较高的类群。结果表明, SSR 标记与毛细管技术的结合, 可构建甘蔗种质资源 SSR 标记指纹图谱、分析甘蔗种质资源遗传多样性。聚类分析显示参试甘蔗材料的遗传基础相近, 为了提高甘蔗选育种效率, 应拓宽甘蔗选育种亲本的遗传基础, 提高杂交栽培品种的抗虫、抗病等特性。

关键词: 简单重复序列(SSR); 甘蔗属; 指纹图谱; 毛细管电泳; 遗传多样性

中图分类号: Q943 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2010)05-0594-07

Genetic diversity assessment of *Saccharum* species and elite cultivars from China using SSR Markers

LIANG Jun^{1,2,3,4}, PAN Yong-Bao⁶, LI Yang-Rui^{1,2,4,5*},
FANG Feng-Xue^{2,3,4}, WU Kai-Chao^{1,2,3,4}, YOU Jian-Hua^{2,3,4}

(1. Guangxi Key Laboratory of Subtropical Bioresources Conservation and Utilization, Guangxi University, Nanning 530004, China; 2. Sugarcane Research Center, Chinese Academy of Agricultural Sciences/Guangxi Sugarcane Research Institute, Nanning 530007, China; 3. Sugarcane Quality Inspection and Test Center in Nanning, Ministry of Agriculture, Nanning 530004, China; 4. Guangxi Sugarcane Variety Branch, National Sugar Crops Improvement Center, China; 5. Guangxi Crop Genetic Improvement and Biotechnology Lab, Nanning 530007; 6. USDA-ARS, Sugarcane Research Laboratory, 5883 USDA Road, Houma, LA 70360, USA)

Abstract: Genetic diversity amongst 52 sugarcane clones including *Saccharum* species and cultivars(used for breeding

收稿日期: 2009-08-21 修回日期: 2010-08-30

基金项目: 国家科技支撑计划(2007BAD30B00); 广西基本科研专项(G2009001); 广西区回国基金(桂科回 0991011); 广西自然科学基金(桂科基 0639009); 广西农业科学院科技发展基金(201002Z)[Supported by the National Science and Technology R & D Program of China(2007BAD30B00); Special Fund for Basic Scientific Research of Guangxi(G2009001); Science Foundation of Guangxi(0991011,0639009); Foundation for Scientific and Technological Development of Guangxi Academy of Agricultural Sciences(201002Z)]

The work was conducted at the USDA-ARS, Sugarcane Research Laboratory, Houma, LA, U. S. A. under a Non-funded Cooperative Agreement between the Sugarcane Research Center, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007 and the USDA-ARS, Sugarcane Research Laboratory, Houma, LA 70360, U. S. A.

作者简介: 梁俊(1976-), 男, 广西兴业县人, 博士, 副研究员, 从事甘蔗育种研究。

* 通讯作者(Author for correspondence, E-mail: liyr@gxaas.com)

and commercial production since the beginning of 20th century) had been assessed using 21 Simple Sequence Repeat (SSR) markers and capillary electrophoresis (CE) technique. Use of 21 SSR primers resulted in amplification of 327 distinguishable SSR markers with an average of 15.6 bands per primer. A total of 141 distinctive SSR alleles were scored, which have been used for construction of fingerprinting database and assessment of the genetic diversity using DNAMAN analyzing software and UPGMA algorithm methods. The highest genetic homology was 87%, observed between ROC 16 and TY 1, the lowest genetic homology was 55%. The UPGMA algorithm with SSR markers showed four distinguishable clusters of genetically similar species and varietal clones. The results indicated that using SSR markers in combination with CE is an efficient tool for fingerprinting database construction and assessment of genetic diversity. Occurrence of most cultivated clones in just 4 clusters indicated the exploitation of similar genetic database for the breeding purposes. The breeding programs should be tailored to exploit the wide range of germplasm using *Saccharum* species to get good varieties especially for disease or insect-pest resistance.

Key words: Simple sequence repeat (SSR); *Saccharum*; fingerprinting; Capillary Electrophoresis; genetic diversity

公元前几百年, 中国人开始利用甘蔗产糖或作为园艺作物; 20 世纪 30 年代之前, 中国的主要甘蔗品种有竹蔗、芦蔗, 均属中国种 (*Saccharum sinense*)。20 世纪初在关岛等太平洋岛屿上, 利用甘蔗属割手密 (*Saccharum spontaneum*) 与热带种 (*Saccharum officinarum*) 进行“甘蔗高贵化育种” (Stevenson, 1965)。之后, 中国引进了此次杂交的一些后代材料, 并在中国大面积种植, 如 POJ2878, POJ2725 等; 这些材料也成为了各地甘蔗研究机构的主要杂交亲本。20 世纪 50 年代末, 台湾品种 F134 成为中国的主要甘蔗栽培品种, 70 年代之后, 各省陆续推出适应本地种植的甘蔗品种, 如粤糖 63-237、桂糖 11、闽糖 70-611、川蔗 13、桂糖 21 等 (邓重焘, 1990)。目前, 在中国种植的主要甘蔗栽培品种遗传胞质基本来自“甘蔗高贵化育种”过程的后代, 导致品种间生物学特性差异小、遗传多样性狭窄等问题。因此, 如何应用适当的技术进行鉴定甘蔗品种、分析遗传多样性等研究, 已成为当今甘蔗研究的主要任务之一。

DNA 分子技术广泛应用之前, 人们主要借助形态学和农艺性状、细胞核型分析、同工酶标记、染色体分析等技术, 进行鉴定甘蔗品种、遗传多样性分析等 (Chandra 等, 2001; Glaszmann 等, 1992; Srivastava 等, 2002); 这些技术受环境、甘蔗的遗传特性等因素制约, 难以广泛推广。目前 DNA 分子标记已被广泛应用于甘蔗的品种鉴定、遗传多样性分析、基因定位和辅助育种等方面。相比之下, SSR 分子标记技术具有多态性丰富、共显性遗传、分析方法简单、重复性好等优点。目前, SSR 标记的 PCR 产物检测方法主要采用聚丙烯酰胺电泳、毛细管电泳、同位素标记引物等; 毛细管电泳具有准确性高、重复性

好、费用较高等特点。Cordeiro 等 (2000) 开始利用毛细管电泳检测甘蔗 SSR 标记的 PCR 产物, Pan 等 (2006, 2007) 利用毛细管电泳与 SSR 标记建立了甘蔗种质资源数据库, 应用于鉴定甘蔗品种、检测甘蔗杂交成功率等育种工作。

本试验选择了 52 个从 20 世纪初至今在中国广泛种植的甘蔗栽培品种与甘蔗选育种主要亲本, 利用 21 对 SSR 引物与毛细管电泳技术来构建它们的指纹图谱, 分析遗传多样性。

1 材料

选用 52 个甘蔗属材料 (表 1), 材料由广西甘蔗研究所种质资源圃提供。

1.1 DNA 提取方法

从甘蔗植株取 3 片 + 1 叶, 去中脉后用剪刀剪取中间部分, 剪碎混匀后称取 2 g 用于提取 DNA。DNA 提取采用改良 CTAB 法, 液氮研磨, 加 1% CTAB 缓冲液, 65 °C 水浴 1 h, 加氯仿/异丙醇混合液, 12 000 rpm 离心 10 min, 用冷乙醇沉淀提纯, 最后用 TE 溶液稀释到工作浓度。

1.2 PCR 扩增与毛细管电泳

采用 21 对引物, 引物序列由国际甘蔗微卫星协会 (International Sugarcane Microsatellite Consortium, ISMC) 提供 (Cordeiro 等, 2000), 正向引物 5' 端以磷荧光染料标记, 引物相关信息见表 2。

PCR 总反应体系为 10 μ L, 其中含 DNA 样品 10 ng, 10 mmol/L Tris-HCl (pH8.3), 50 mmol/L KCl, 2.5 mmol/L MgCl₂, dATP, dTTP, dGTP 和 dCTP 各 80 mmol/L, 正反向引物各 0.2 mmol/L, Taq DNA 聚合酶 1 U (试剂购自罗氏生物药剂公

司)。PCR反应在ABI-9700型基因扩增仪(美国应用生物系统公司)上按以下程序运行:首先95℃预变性5min;随后的30个循环为:94℃变性30s,退火30s(不同引物的具体温度见表1),72℃延伸30s;最后72℃下延伸2min,4℃保温。

PCR产物在ABI-3730XL基因分析仪(ABI应

用生物公司)上利用毛细管电泳法(Capillary Electrophoresis, CE)检测。每个CE样品中含有1μL PCR产物、0.4μL Genescan-500分子量标准品和20μL去离子甲酰胺。在毛细管电泳过程中,PCR产物与Genescan-500分子量标准品的荧光信号均由基因分析仪自动检测保存。

表1 甘蔗属种质的编号及其来源

Table 1 A list of *Saccharum* clones and their origins

材料名称 Clone	编号 Code	来源 Origin	材料名称 Clone	编号 Code	来源 Origin
CO1001	CO1001	印度	桂糖 94/116	GT94/116	中国广西
CO290	CO290	印度	桂糖 94/119	GT94/119	中国广西
CO421	CO421	印度	河口红皮	HKHP	
CP28/11	CP28/11	美国	横县果蔗	HXGZ	中国广西
CP34/120	CP34/120	美国	华南 56/12	HN56/12	中国广东
CP49/50	CP49/50	美国	芦蔗	LZ	中国
CP65/357	CP65/357	美国	闽糖 86/2121	MT86/2121	中国福建
NCO310	NCO310	南非	台糖 108	F108	中国台湾
POJ2725	POJ2725	爪哇	台糖 134	F134	中国台湾
POJ2878	POJ2878	爪哇	台糖 172	F172	中国台湾
川蔗 57/416	CZ57/416	中国四川	台优 1号	TY1	中国台湾
大茎野生种	DJYSZ	中国	新台糖 10	ROC10	中国台湾
桂林竹蔗	GLZZ	中国广西	新台糖 16号	ROC16	中国台湾
桂糖 11号	GT11	中国广西	新台糖 1号	ROC1	中国台湾
桂糖 12号	GT12	中国广西	新台糖 25号	ROC25	中国台湾
桂糖 16号	GT16	中国广西	新台糖 26号	ROC26	中国台湾
桂糖 17号	GT17	中国广西	新台糖 9号	ROC9	中国台湾
桂糖 19号	GT19	中国广西	崖城 82/96	YC82/96	中国海南
桂糖 1号	GT1	中国广西	崖城 84/153	Y84/153	中国海南
桂糖 3号	GT3	中国广西	粤糖 59/65	YT59/65	中国广东
桂糖 5号	GT5	中国广西	粤糖 64/395	YT64/395	中国广东
桂糖 60/104	GT60/104	中国广西	粤糖 71/210	YT71/210	中国广东
桂糖 60/289	GT60/289	中国广西	粤糖 81/854	YT81/854	中国广东
桂糖 64/137	GT64/137	中国广西	粤糖 93/159	YT86/368	中国广东
桂糖 73/2	GT73/2	中国广西	云蔗 89/7	YZ89/7	中国云南
桂糖 93/102	GT93/102	中国广西	竹园 74/202	ZY74/202	中国

1.3 SSR 标记数据分析与遗传分析

用 GeneMapper-V3.0 软件对 ABI-3730XL 基因分析仪收集到的数据进行分析,通过人工分析与软件统计得出不同 SSR 引物对不同甘蔗属材料扩增得到的 SSR 标记片段。参照前人的研究方法(Clark, 1988; Levinson 等, 1987; Pan, 2006; Schlotterer 等, 1992; Weber 等, 1989), 软件可以通过将 SSR 标记片段与 Genescan-500 分子量标准品比较, 得到不同片段长度大小; 有 SSR 标记片段记为“A”, 无 SSR 标记片段记为“C”, 并进行二维数据统计。参照 Pan(2007)的方法, 利用 DNAMAN 软件绘制同源关系图(Homology tree)。按 Jaccard (1908)的方法计算两个甘蔗材料之间的 Jaccard 遗

传相似系数,用 UPGMA 法进行聚类分析并绘制遗传树状图,所有计算及绘图均在 NTSYS-PC 统计软件下完成。

2 结果与分析

2.1 基因组 DNA 的遗传多态性

21 对引物在参试甘蔗材料共扩增出 327 个 SSR 标记,平均每对引物扩增到 15.6 个 SSR 标记; 引物 SMC703BS 扩增到的 SSR 片段最多(24 个), mSSCIR74 扩增的 SSR 片段最少(7 个)。SSR 片段大小范围为 92~254 bp, 绝大部分 SSR 片段大小集中在 100~200 bp 之间。52 个甘蔗栽培品种共扩

增到 4 359 个 SSR 标记,每个甘蔗材料扩增至 83.8 个;桂林竹蔗(GLZZ)扩增至 109 个 SSR 标记,多态性最高;桂糖 1 号只扩增至 64 个 SSR 标记,多态性最低。

2.2 甘蔗栽培品种指纹图谱构建

参考 Pan 等(2007)的方法,在扩增产物中只统计 141 个多态性较高的 SSR 标记(表 3),有无这些特异 SSR 标记构成特定甘蔗材料的指纹图谱数据

库。此数据库可用于鉴定种质资源、检测杂交种纯度等甘蔗育种工作。表 3 是桂林竹蔗与桂糖 19 号的 SSR 标记指纹,两者只有引物 SMC486CG 扩增的 SSR 标记一致,其它引物的扩增均不一致。通过此方法,本实验建立 52 个甘蔗栽培品种的指纹图谱数据库,利用遗传软件对此数据库进行分析,绘制出这些甘蔗品种的同源关系图与遗传聚类图(图 1,图 2)。

表 2 引物编号及引物扩增信息
Table 2 Primer pairs' name and polymorphic markers' information

引物名称 Name	扩增总带数 No. of bands	条带大小 (bp) Fragment size	引物退火温度 (°C) Annealing temperature	引物序列 Primer sequence
SMC7CUQ	12	158~171	60	GCC AAA GCA AGG GTC ACT AGA(正向) AGC TCT ATC AGT TGA AAC CGA(反向)
SMC18SA	21	130~165	62	ATT CGG CTC GAC CTC GGG AT(正向) AGT CGA AAG GTA GCG TGG TGT TAC(反向)
SMC22DUQ	13	140~163	62	CCA TTC GAC GAA AGC GTC CT(正向) CAA GCG TTG TGC TGC CGA GT(反向)
SMC24DUQ	17	121~142	64	CGC AAC GAC ATA TAC ACT TCG G(正向) CGA CAT CAC GGA GCA ATC AGT(反向)
SMC31CUQ	23	138~185	62	CAT GCC AAC TTC CAA TAC AGA CT(正向) AGT GCC AAT CCA TCT CAG AGA(反向)
SMC36BUQ	10	104~254	64	GGG TTT CAT CTC TAG CCT ACC(正向) TCA GTA GCA GAG TCA GAC GCT T(反向)
SMC119CG	10	105~131	58	TTC ATC TCT AGC CTA CCC CAA(正向) AGC AGC CAT TTA CCC AGG A(反向)
SMC278CS	17	140~182	64	TTC TAG TGC CAA TCC ATC TCA GA(正向) CAT GCC AAC TTC CAA ACA GAC T(反向)
SMC334BS	15	132~165	60	CAA TTC TGA CCG TGC AAA GAT(正向) CGA TGA GCT TGA TTG CGA ATG(反向)
SMC336BS	19	141~185	62	ATT CTA GTG CCA ATC CAT CTC A(正向) CAT GCC AAC TTC CAA ACA GAC(反向)
SMC486CG	9	224~245	58	GAA ATT GCC TCC CAG GAT TA(正向) CCA ACT TGA GAA TTG AGA TTC G(反向)
SMC569CS	11	165~233	62	GCG ATG GTT CCT ATG CAA CTT(正向) TTC GTG GCT GAG ATT CAC ACT A(反向)
SMC597CS	17	144~179	64	GCA CAC CAC TCG AAT AAC GGA T(正向) AGT ATA TCG TCC CTG GCA TTC A(反向)
SMC703BS	24	203~229	62	GCC TTT CTC CAA ACC AAT TAG T(正向) GTT GTT TAT GGA ATG GTG AGG A(反向)
SMC851MS	21	127~152	58	ACT AAA ATG GCA AGG GTG GT(正向) CGT GAG CCC ACA TAT CAT GC(反向)
SMC1604SA	20	92~127	58	AGG GAA AAG GTA GCC TTG G(正向) TTC CAA CAG ACT TGG GTG G(反向)
SMC1751CL	11	134~154	60	GCC ATG CCC ATG CTA AAG AT(正向) ACG TTG GTC CCG GAA CCG(反向)
mSSCIR3	10	169~187	60	ATA GCT CCC ACA CCA AAT GC(正向) GGA CTA CTC CAC AAT GAT GC(反向)
mSSCIR43	17	168~252	52	ATT CAA CGA TTT TCA CGA G(正向) AAC CTA GCA ATT TAC AAG AG(反向)
mSSCIR66	15	122~146	48	AGG TGA TTT AGC AGC ATA(正向) CAC AAA TAA ACC CAA TGA(反向)
mSSCIR74	7	214~229	54	GCG CAA GCC ACA CTG AGA(正向) ACG CAA CGC AAA ACA ACG(反向)

2.3 甘蔗栽培品种之间的同源关系与遗传关系

在生物学种系发生理论中,两个或多个结构具有相同的祖先称为同源。在同源关系图中,100%同源代表着两个参试材料为相同的品种。图 1 表明,同源性最高的为 ROC16 与 TY1、ROC10 与 ROC9 (为 87%)。ROC16 与 TY1 当前在广西都被大量种植,两者的农艺性状除了叶子形态之外基本一致,推断这两个品种来自于相同亲本。本试验中最小同源性为 55%,表明了现代甘蔗栽培品种相互之间遗传距离较小,遗传基础较窄。

根据 21 对 SSR 引物所扩增得到的 141 个 SSR 标记,计算它们的遗传相似系数矩阵,利用 UPG-

MA 进行聚类分析,52 个甘蔗品种共聚成 4 类(图 2)。中国种的原种芦蔗(LZ)、POJ2878、CO421 等 6 个品种聚为 A 类。ROC9、ROC10、GT1、GT94/116 等 17 个品种聚为 B 类,其中 ROC9 与 ROC10 的相似性最大(0.88),与 DNAMAN 软件的同源性分析结果相似。CP28/11、CP34/120、CP49/50 等 19 个品种聚类为 C 类,其中的 ROC16 与台优 1 号 TY1 遗传相似性较高,与 DNAMAN 软件的分析结果相类似;此类聚集了 3 个 CP 品种,这 3 个 CP 品种亲本具较高遗传相似性。D 类聚集了 10 个栽培品种,包括 GT5 等 5 个桂糖系列品种,这些桂糖系列品种在选育过程中选择了相同或同源性较高的亲本。

表 3 甘蔗栽培品种桂林竹蔗与桂糖 19 号的 SSR 标记片段指纹
Table 3 SSR fingerprinting bands of GLZZ and GT19

引物 Primer	SMC7CUQ					SMC18SA					SMC22DUQ					SMC24DUQ												
条带	162	164	165	166	169	137	140	144	147	150	165	140	147	148	151	154	156	157	160	126	128	130	131	133	135	137	142	
GLZZ	C	A	A	C	A	A	A	A	C	A	C	A	C	C	A	C	C	C	A	A	A	A	C	C	A	C	C	
GT19	C	A	C	A	C	C	A	C	C	A	C	C	C	A	A	A	A	C	C	A	C	C	A	C	C	C	A	
引物 Primer	SMC31CUQ					SMC36BUQ					SMC119CG					SMC278CS												
条带	138	150	160	162	163	165	167	171	173	179	112	118	121	254	105	112	118	128	153	165	166	168	170	174	176	182		
GLZZ	A	C	C	C	A	A	C	A	A	A	A	A	C	C	C	C	C	A	C	C	C	C	A	C	C	C	A	
GT19	C	A	A	A	C	A	A	A	C	C	A	C	C	C	C	A	C	A	A	A	A	C	A	C	A	C	C	
引物 Primer	SMC334BS					SMC336BS					SMC486CG					SMC597CS												
条带	146	151	161	162	163	154	166	167	169	171	175	177	224	237	239	241	144	148	154	157	161	164	165	168	179			
GLZZ	A	C	A	C	A	C	C	C	A	C	C	C	A	A	A	C	C	A	A	A	A	A	C	A	C	A		
GT19	A	A	C	C	A	A	A	C	A	C	A	C	A	A	A	C	A	C	C	A	A	C	A	A	C	A		
引物 Primer	SMC703BS					SMC851MS					SMC1604SA																	
条带	205	206	209	211	213	214	215	217	219	128	129	130	131	132	133	134	135	136	140	109	112	115	118	122	123			
GLZZ	A	C	A	A	A	C	A	A	A	A	A	C	A	A	C	A	C	A	A	A	A	A	C	A	C	A		
GT19	A	C	C	C	C	A	C	A	A	A	A	C	A	A	C	A	A	C	A	A	A	A	A	A	A	A		
引物 Primer	SMC1751CL					mSSCIR3					mSSCIR43					mSSCIR66												
条带	140	143	144	147	150	151	153	173	175	177	178	180	231	233	235	237	239	247	248	250	252	127	130	132	134	144	145	146
GLZZ	A	C	A	A	A	C	A	C	C	C	C	A	C	A	A	C	A	C	C	A	A	A	C	A	C	C	A	C
GT19	A	C	A	A	C	A	C	A	A	C	C	A	C	C	A	C	A	C	A	A	A	A	C	C	A	A	C	C
引物 Primer	mSSCIR74					SMC569CS																						
条带	217	220	223	226	228	229	167	212	219	222																		
GLZZ	A	A	A	A	C	A	A	C	C	A																		
GT19	A	C	A	A	C	C	A	A	C	A																		

3 讨论

本研究用 21 对荧光 SSR 引物与毛细管电泳检测了 52 个甘蔗属品种,平均每对引物扩增到 15.6 个 SSR 标记,高于 Hemaprabha (2005) 和游建华 (2008) 的 SSR 标记研究(12.3 个)。表明毛细管电

泳法与聚丙烯酰胺凝胶电泳检测法相比具有微量、分辨率高、重复性好等优点。

统计了 141 个 SSR 共显性标记,构建参试甘蔗材料指纹图谱数据库,分析品种间的遗传关系。材料之间的同源性最高为 87%,表型最为相似的 ROC16 与 TY1 也可用此方法分开。与 Pan 等 (2007) 的结果一致,基于本研究构建的 SSR 标记指

纹图谱数据库,可以鉴定现有的甘蔗栽培品种。

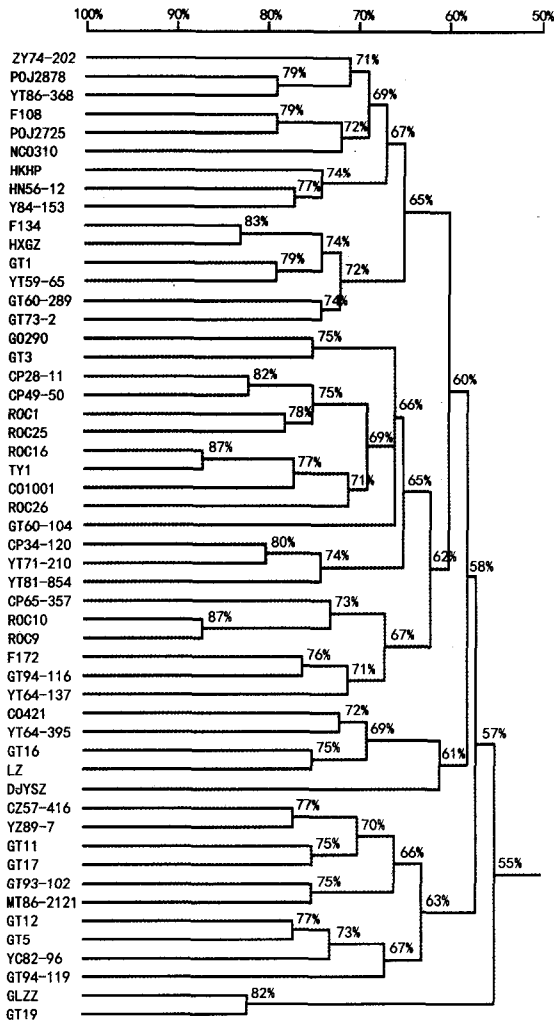


图 1 52 个甘蔗栽培品种的同源关系图

Fig. 1 Homology tree of 52 sugarcane cultivars based on 141 SSR loci

不同时期种植的甘蔗栽培品种表现出较高的同源性或遗传相似性,如 POJ2878(20 世纪 30 年代)与 YT86-368(20 世纪 80 年代)的同源性为 79%; POJ2725(20 世纪 30 年代)与 GT94/116(20 世纪 80 年代)等聚类在 B 类群。聚类分析结果也不能反映参试甘蔗材料的地域特征,如台糖、新台糖系列、桂糖系列等未按地域特性聚类为相同类群之中。上述现象可能因为这些甘蔗品种采用的亲本之间基本上来自于“甘蔗高贵化育种”后代,遗传关系相近;Nair 等(2002)利用 RAPD 标记技术也提出类似观点。

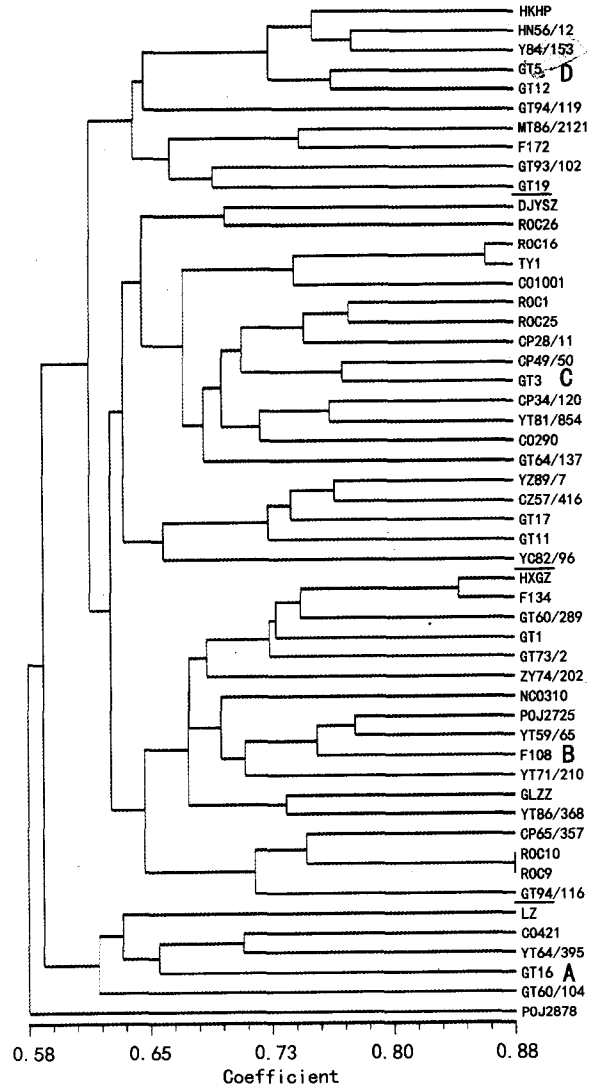


图 2 52 个甘蔗栽培品种的遗传聚类图

Fig. 2 Dendrogram of 52 sugarcane cultivars based on SSR markers

不同作物的育种实践证明,亲本遗传差异是产生杂种优势的原因。因此,如何拓宽甘蔗选育种亲本间的亲缘关系已成为甘蔗研究工作中亟待解决的问题之一。中国种桂林竹蔗、芦蔗和河口红皮与现代甘蔗栽培品种的同源性也较高,不主张利用中国种材料拓宽甘蔗选育种亲本亲缘关系。割手密是甘蔗属中分布最广、类型最多的野生种、具有高抗逆性、宿根性、适应性等优良性状,可作为提高甘蔗育种杂种优势的亲本材料,提高甘蔗选育种的效率。

本试验表明,毛细管电泳可重复性高、高多态性、有效性高等特点,通过 SSR 标记构建的指纹图

谱数据库能够灵敏、可靠、稳定地反映甘蔗种质资源的遗传特性。本研究中 21 对核心引物由 Pan (2006,2007) 从 221 对 SSR 引物中筛选而来,利用 SSR 荧光标记结合 DNAMAN 软件、NTSYS 软件,满足了构建甘蔗种质资源指纹图谱数据库和遗传分析的要求。在以后的研究中,随着甘蔗材料数量增加,可筛选增加 SSR 引物,使指纹图谱数据库满足鉴定甘蔗品种与甘蔗育种的要求。

参考文献:

- 邓重熹. 1990. 中国甘蔗品种志[M]. 广州:广东科技出版社, 1-7
- Aitken KS, Jackson PA, McIntyre. 2005. A combination of AFLP and SSR markers provides extensive map coverage and identification of homo(eo)logous linkage groups in a sugarcane cultivar [J]. *Theor Appl Genet*, **110**:789-801
- Chandra Punit, Singh RK, Singh IS, et al. 2001. Possibility of identification and characterization of sugarcane cultivars on the basis of protein profiles[J]. *Sugar Tech*, **3**(1):59-62
- Clark JM. 1988. Novel non-templated nucleotide addition reactions catalyzed by prokaryotic and eukaryotic DNA polymerases[J]. *Nucleic Acids Res*, **16**:9 677-9 686
- Cordeiro GM, Taylor GO, Henry RJ. 2000. Characterization of microsatellite markers from sugarcane(*Saccharum* spp.), a highly polyploid species[J]. *Plant Sci*, **155**:161-168
- Cordeiro GM, Pan YB, Henry RJ. 2003. Sugarcane microsatellites for the assessment of genetic diversity in sugarcane germplasm [J]. *Plant Sci*, **165**:181-189
- Glaszmann JC, Fautret A, Niyer JL, et al. 1992. Utility of isozymes in sugarcane breeding[J]. *Sugarcane*, **3**:14-21
- Hemaprabha G, Govindaraj P, Balasundaram N, et al. 2005. Genetic diversity analysis of indian sugarcane breeding pool based on sugarcane specific STMS markers [J]. *Sugar Tech*, **7**(2):9-14
- Hoarau JY, Offmann B, DHont A, et al. 2001. Genetic dissection of a modern sugarcane cultivar(*Saccharum* spp.) I. Genome mapping with AFLP markers[J]. *Theor Appl Genet*, **103**(1):84-97
- Levinson G, Gutman GA. 1987. Slipped-strand mispairing: a major mechanism for DNA sequence evolution [J]. *Mol Biol Evol*, **4**(3):203-221.
- Nair NV, Selvi A, Sreenivasan TV, et al. 2002. Molecular diversity in Indian sugarcane cultivars as reveal by randomly amplified DNA polymorphisms[J]. *Euphytica*, **127**:219-225
- Pan YB. 2006. Highly polymorphic microsatellite DNA markers for sugarcane germplasm evaluation and variety identity testing [J]. *Sugar Tech*, **8**(4):246-256
- Pan YB, Scheffler BS, Richard EP. 2007. High-throughput genotyping of commercial sugarcane clones with microsatellite(SSR) DNA markers [J]. *Sugar Tech*, **9**(4):176-181
- Schlotterer C, Tautz D. 1992. Slippage synthesis of simple sequence DNA [J]. *Nuc Acids Res*, **20**:211-215
- Srivastava S, Gupta PS. 2002. SDS and native PAGE protein profile for identification and characterization of elite sugarcane genotypes[J]. *Sugar Tech*, **4**(4):143-147
- Stevenson GC. 1965. Genetics and Breeding of Sugar Cane[M]. London: Longmans Green and Co, LTD:39-71
- Weber JL May PE. 1989. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction [J]. *Am J Hum Genet*, **44**:388-396
- You JH(游建华), Wu KC(吴凯朝), Liang J(梁俊). 2008. Assessment the genetic diversity among sugarcane cultivars by using SSR marker(利用 SSR 标记评价甘蔗品种遗传多样性)[J]. *J Anhui Agric Sci*(安徽农业科学), **36**(10):3 990-3 992, 3 998
- 张俊娥, 郭文武, 邓秀新. 2006. 柑橘愈伤组织倍性变化及其与体细胞胚胎发生能力的关系 [J]. *遗传学报*, **33**(7):647-654
- D, Amato P. 1985. Cytogenetics of plant cell and tissue cultures and their regenerants [J]. *Criti Rev Plant Sci*, **3**:73-112
- Etienne H, Bertrand B. 2003. Somaclonal variation in *Coffea arabica*: Effects of genotype and embryogenic cell suspension age on frequency and phenotype of variants [J]. *Tree Physiol*, **23**(6):419-426
- Hao YJ, Deng XX. 2002. Stress treatments and DNA methylation affect somatic embryogenesis from citrus callus [J]. *Acta Bot Sin*, **44**(6):673-677
- Murashige T, Tucker DPH. 1969. Growth factor requirements of citrus tissue culture [C]. In: Proc First Int Citrus Symp Univ California, Riverside, **3**:1 155-1 161
- Torry JG. 1967. Morphogenesis in relation to chromosome constitution in long-term plant tissue cultures [J]. *Plant Physio*, **20**:265

(上接第 685 页 Continue from page 685)