DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201402009
林乐静,林立,祝志勇. 25份槭属优良种质资源亲缘关系的ISSR分析[J]. 广西植物,2015,35(1):9－14
Lin LJ,Lin L,Zhu ZY. ISSR analysis of the genetic relationships among 25 *Acer* plants germplasm resources[J]. Guihaia,2015,35(1):9－14

25份槭属优良种质资源亲缘关系的ISSR分析

林乐静, 林 立, 祝志勇*
(宁波城市职业技术学院 景观生态环境学院 宁波市园林植物开发重点实验室, 浙江 宁波 315502)

摘 要: 槭属植物是世界园林绿化中的重要植物种类,种质资源丰富且大多数种类具有重要的观赏价值。针对目前我国槭属植物杂交育种工作中面临的品种混杂不清、亲缘状况不明等情况,该研究采用ISSR分子标记对槭属25份植物材料进行了亲缘关系分析。结果表明:选用12条扩增带型清晰且重复性好的引物共获得84条谱带,其中81条呈多态性,多态性比例(*PPB*)达96.43%,表明槭属植物遗传多样性较高。25份槭属植物材料的遗传相似性系数介于0.405与0.952之间,平均值为0.627,表明不同品种或物种之间遗传相似性系数变化较大。根据Nei遗传相似性系数,在0.578处,UPGMA结果将25份植物材料分为2个类群,其中鸡爪槭品种(或变种)聚为一类,显示了各品种(或变种)之间具有较高的亲缘关系,其余槭属植物则聚为类群II;在0.646处,可进一步分为6个亚类群,部分鸡爪槭品种间表现出了叶形、叶色等表型形状与其遗传关系的相关性。研究未发现鸡爪槭品种(或变种)的亲缘关系与地理分布存在相关性。我国槭树资源丰富,但目前我国对槭树新品种的开发及选育工作仍十分薄弱,建议采取自行选育结合国外引进新品种的方式,丰富我国的槭树种质资源。

关键词: 槭树植物; ISSR; 亲缘关系
中图分类号: Q943; S687.9 **文献标识码**: A **文章编号**: 1000-3142(2015)01-0009-06

ISSR analysis of the genetic relationships among 25 *Acer* plants germplasm resources

LIN Le-Jing, LIN Li, ZHU Zhi-Yong*
(*Ningbo Key Laboratory of Landscape Plant Development*, *School of Landscape and Ecological Environment*, *Ningbo City College of Vocational Technology*, Ningbo 315502, China)

Abstract: *Acer* plants are important landscape trees around the world wide,and most of which have high ornamental value. But few of the germplasm resources was utilized,and much problem also existed in these plants' crossbreeding work ,such as confusion of the hybrid varieties,less information of the genetic relation between different cultivars,etc. In this study,we analyzed the genetic relationships among 25 samples of *Acer* plants by inter-simple sequence repeat (ISSR) molecular-marked technique,and twelve ISSR primers were screened to assess the genomes of 25 samples of *Acer* plants. The result showed that a total of 84 DNA bands were amplified and 81 of which (96.43%) were polymorphic. The genetic identities among 25 plants varied from 0.405 to 0.952 with an average of 0.627,indicating that the genetic similarity coefficient between different cultivars or species were relatively different. According to the Nei-Li genetic similarity of 0.578,UPGMA method cluster analysis indicated that these 25 samples were classified into 2 cluster groups,and they were classified into 6 subcluster groups with the genetic similarity of 0.646. The result

收稿日期: 2014-04-26 **修回日期**: 2014-10-22
基金项目: 国家星火计划重大项目(2011C11012);浙江省(花卉新品种选育)重大科技专项重点项目(2012C12909-20);宁波市(农业社会发展)重大项目(2011C11012);宁波市(农业社会发展计划)重大专项(2014C11002);宁波城市职业技术学院校内重点项目(ZZX14100)。
作者简介: 林乐静(1983-),女,浙江乐清人,硕士,实验师,主要从事植物资源开发及利用研究,(E-mail)linlejing@nbcc.cn。
*通讯作者: 祝志勇,教授,主要从事植物资源开发及利用研究,(E-mail)zhuzhiyong@nbcc.cn。

showed that the genetic relationship among 18 *A. palmatum* cultivars were close, and a correlation was found between genetic relationship and phenotype, such as leaf shape and leaf colour. Economic values of *Acer* plants were concluded as important ornamental trees. In future, people should paid more attention to collect and protect the gene resources, introduction and domestication, integrative research and development utilization, and in order to realize rational utilization and detailed research of plant resources.

Key words: *Acer* plants; ISSR; genetic relationships

槭属(*Acer*)隶属于槭树科(Aceraceae),有 200 余种,主要分布于北温带地区。我国约有 151 种,分布于全国各地,其中长江流域及以南各省区分布较为集中(方文培等,1981)。槭属植物多为小乔木,偶灌木或大乔木,植物树姿优美、叶形秀丽,秋季叶渐变为红色或黄色,还有青、紫色,为著名的秋色叶树种。我国虽为槭属植物分布中心,但由于一些野生种质资源数量稀少,且研究较晚,导致我国槭属植物开发力度较低,开发出的种类也较少(刘静波等,2012)。鸡爪槭(*A. palmatum*)是其中开发程度较高的一个树种,国内外现有鸡爪槭品种不少于 300 个,其中多为日本所选育。我国由于对槭属植物的研究起步较晚,研究尚不深入,新品种选育能力还相对较弱,国内所栽植的新品种多以引进为主。在引进新品种的过程中也出现了一些品种混杂不清、嫁接成活率低等问题。因此,开展槭属植物遗传多样性及亲缘关系分析对槭属优良品种的鉴定、选育、嫁接繁殖等工作具有重要意义。

目前,有关槭属植物亲缘关系分析的研究很少,所涉的植物种类也有限。程小毛等(2011)通过 AFLP 分子标记方法揭示了三翅槭(*A. trialatum*)与三角枫(*A. buergerianum*)的遗传关系;张强等(2008)利用 ITS 分子测序方法探讨了挪威槭'皇家红'(*A. platanoides* 'Crimson King')与河南 8 种槭属植物的亲缘关系,为该品种嫁接砧木的选择提供了理论依据;李倩中等(2010)收集了 31 份槭属植物材料并通过 SRAP 分子标记对其遗传多样性及亲缘关系进行了分析,发现槭属植物存在较高的遗传多样性;刘旭等(2010)对长白山地区 9 种主要槭属植物进行的 ISSR 分析表明 ISSR 分子标记适合于槭属植物亲缘关系的分析。ISSR 是由 Zietkiewiez *et al.*(1994)提出在植物的品种鉴定(Fernandez *et al.*,2002)、基因定位(Linus *et al.*,2006)、遗传作图(Cho *et al.*,2002;Duran *et al.*,2004)、居群遗传学(Lai *et al.*,2001;Mondal *et al.*,2002;林立等,2012)和亲缘关系研究(Han *et al.*,2007)等方面应用广泛。本研究旨在利用 ISSR 分子标记技术从分子水平上探讨 25 份槭属植物之间的亲缘关系,研究结果可为槭属植物种质资源的鉴定和新品种的开发、选育工作提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

25 份槭属植物的嫩叶样本(表 1)采自杭州植物园和宁波市四明山地区的槭树种植基地。采集嫩叶样本后立刻运回实验室进行处理,后放入-60 ℃冰箱保存直至提取 DNA。

1.2 DNA 的提取

采用改良 CTAB 法(Doyle *et al.*,1987),提取 25 份植物材料的基因组 DNA。DNA 浓度和纯度通过琼脂糖凝胶电泳和超微量分光光度计(NanoDrop 2000)进行检测。样品稀释至 50 ng·L^{-1}后放入-20 ℃冰箱中保存备用。

1.3 引物筛选与 PCR 扩增

从加拿大哥伦比亚 UBC 公司公布的 100 条引物序列中筛选出 12 条特异性强、条带清晰,且结果稳定的引物用于槭属植物材料亲缘关系的研究(表 2)。ISSR-PCR 反应体系确定为 10×Buffer 缓冲液 2 μL,25 mmoL·L^{-1} $MgCl_2$ 1.6 μL,2 U *Taq* 酶 0.7 μL,10 mmoL·L^{-1} dNTPs 0.5 μL,10 μmoL·L^{-1}引物 0.6 μL,50 ng·L^{-1} DNA 模板 1.2 μL,无菌水补充至 20 μL。PCR 扩增按照胡仲义等(2013)的条件进行,扩增产物进行电泳检测并保存数据。

1.4 数据处理与分析

统计条带时"1"表示电泳图谱中较清晰的条带(包括弱带),"0"表示无带,并将其转化成 0/1 二元矩阵(林立等,2012)。分析数据采用 POPGEN 1.32 软件(Yeh *et al.*,1997),计算多态性条带百分比(*PPB*)、有效等位基因数(*Ne*)、Nei's 基因多样性指数(H_E)、Shannon's 信息指数(H)和 Nei's 遗传相似性系数(I)。利用 NTSYSpc 2.10e 软件(Rohlf,1994)按 UPGMA 法通过获得的遗传相似性系数构建聚类图。

表 1　供试材料

Table 1　Information of the plant materials

编号 No.	种名 Species	叶型 Leaf type	叶色 Leaf colour	树型 Tree type	来源地 Source
1	鸡爪槭(原变种) *A. palmatum* var. *palmatum*	叶片掌状 5-9 分裂，常 7 裂，裂片长圆卵形或披针形 Leaves palmately, 5-9-lobed, usually 7-lobed, lobes ovate-oblong or lanceolate	新叶嫩绿色，秋季变红色 Young leaves green, turn red in autumn	落叶小乔木 Small deciduous tree	宁波，中国 Ningbo, China
2	鸡爪槭(原变种) *A. palmatum* var. *palmatum*	叶片掌状 5-9 分裂，常 7 裂，裂片长圆卵形或披针形 Leaves palmately, 5-9-lobed, usually 7-lobed, lobes ovate-oblong or lanceolate	新叶嫩绿色，秋季变红色 Young leaves green, turn red in autumn	落叶小乔木 Small deciduous tree	杭州，中国 Hangzhou, China
3	血红鸡爪槭 *A. palmatum* 'Bloodgood'	叶片掌状 5-7 分裂 Leaves palmately, 5-7-lobed	三季节红色 Leaves red	落叶小乔木 Small deciduous tree	日本 Japan
4	日本红枫 *A. palmatum* 'Atropurpureum'	叶片掌状 5-7 深裂，卵状披针形 Leaves palmately, deeply 5-7- parted, lobes ovate lanceolate	三季节红色 Leaves red	落叶小乔木 Small deciduous tree	日本 Japan
5	蝴蝶槭 *A. palmatum* 'Butterfly'	叶形奇特，似蝴蝶状，叶缘呈锯齿状 Leaves butterfly-shape, margin serrated	幼叶粉红色，夏季略转青，成熟叶片带有粉边或者白边，秋天叶片红色 Young leaves pink, turn green in summer, mature leaves red with pink or white margin	落叶小乔木 Small deciduous tree	日本 Japan
6	绿羽毛枫 *A. palmatum* cv. Dissectum	叶片掌状深裂达基部，裂片狭适羽毛裂 Leaves palmatipartite, lobes feathery	春夏叶片黄绿色，秋天变红 Leaves kelly, turn red in autumn	落叶小乔木 Small deciduous tree	中国 China
7	红灯笼 *A. palmatum* 'Osakazuki'	叶片掌状 5-7 分裂 Leaves palmately, 5-7-lobed	三季节红色 Leaves red	落叶小乔木 Small deciduous tree	日本 Japan
8	金贵 *A. palmatum* 'Katsura'	叶片掌状 5 分裂 Leaves palmately, 5-lobed	春叶片边缘红色，中间黄色，秋叶片红色 Leaves red with yellow margin , turn red in autumn	落叶小乔木 Small deciduous tree	日本 Japan
9	橙之梦 *A. palmatum* 'Orange Dream'	叶片掌状 7 分裂 Leaves palmately, 7-lobed	春天叶片边缘橙红色，中间橙黄色，秋天叶片金黄色 Leaves orange with orange-red margin, turn golden in autumn	落叶小乔木 Small deciduous tree	日本 Japan
10	落日 *A. palmatum* 'Sunset'	叶片掌状 5 分裂 Leaves palmately, 5-lobed	新叶嫩绿色，秋季变黄色 Young leaves green, turn yellow in autumn	落叶小乔木 Small deciduous tree	日本 Japan
11	垂枝稻叶 *A. palmatum* 'Inaba Shidare'	叶掌状深裂几达基部，裂片狭长，裂片自身再行羽裂，叶片多 7-9 裂 Leaves palmately deeply 7-9-lobed, lobes feathery	春天新叶深红色，夏季叶片保持红色，秋季叶片鲜红色 Leaves deep red in spring, red in summer, turn bright red in autumn	落叶小乔木 Small deciduous tree	日本 Japan
12	红箭 *A. palmatum* 'Tamuke Yama'	叶片掌状深裂达基部，裂片狭适羽毛裂 Leaves palmatipartite, lobes feathery	三季节暗红色 Leaves dark red	落叶小乔木 Small deciduous tree	日本 Japan
13	金线 *A. palmatum* 'Koto No Ito'	叶片掌状深裂达基部，裂片狭适羽毛裂 Leaves palmatipartite, lobes feathery	新叶黄绿色边缘橙红色，夏叶片黄绿色，秋天变红 Young leaves kelly with orange-red margin in spring, kelly in summer, then turn red in autumn	落叶小乔木 Small deciduous tree	日本 Japan
14	朝霞 *A. palmatum* 'Tsuma Gaki'	叶片掌状 5-7 分裂 Leaves palmately, 5-7-lobed	春夏叶片黄绿色，秋天变红 Leaves kelly, turn red in autumn	落叶小乔木 Small deciduous tree	日本 Japan
15	赤枫 *A. palmatum* 'Sango Kaku'	叶形及大小似鸡爪槭，常掌状 7 分裂 Leaves palmately, 7-lobed	新叶奶黄色，夏季为黄绿色，秋季叶片呈现灿烂的金色 Young leaves cream-yellow in spring, kelly in summer, then turn golden in autumn	落叶小乔木 Small deciduous tree	日本 Japan
16	青枫 *A. palmatum*	叶片 5-9 掌状分裂，通常掌状 7 裂 Leaves palmately, 5-9-lobed, usually 7-lobed	新叶嫩绿色，秋季变红色 Young leaves green, turn red in autumn	落叶小乔木 Small deciduous tree	宁波，中国 Ningbo, China
17	青柳 *A. palmatum* 'Ao Yagi'	叶片通常掌状 7 分裂 Leaves palmately, usually 7- lobed	春夏叶片黄绿色，秋天变红 Leaves kelly, turn red in autumn	落叶小乔木 Small deciduous tree	日本 Japan

续表 1

编号 No.	种名 Species	叶型 Leaf type	叶色 Leaf colour	树型 Tree type	来源地 Source
18	小叶鸡爪槭 *A. palmatum* var. *thunbergii*	叶片掌状 7 深裂，稀 5 裂，裂片狭窄，边缘具明显尖锐重锯齿 Leaves palmately, usually 7-lobed, seldom 5-lobed, margin biserrate	新叶嫩绿色，秋季变红色 Young leaves green, turn red in autumn	落叶大乔木 Large deciduous tree	美国 U.S.A
19	美国红枫 *A. rubrum*	叶片掌状 3-5 分裂 Leaves palmately, 3-5-lobed	新叶红色，后变绿色，秋季变红 Young leaves red then turn green, turn red in autumn	落叶大乔木 Large deciduous tree	美国 U.S.A
20	毛脉槭 *A. pubinerve*	叶片 5 裂，裂片卵形或长圆卵形 Leaves palmately, 5-lobed, lobes ovateor or long-ovate	春夏叶片绿色，秋天变红 Leaves green, turn red in autumn	落叶乔木 Deciduous tree	杭州，中国 Hangzhou, China
21	天目槭 *A. sinopurpurascens*	叶片基部心形或近于心形，3 或 5 裂，中裂片长圆状卵形，具很稀疏锯齿或全缘 Leaves base heart-shaped of or subcordate, 3-or 5-lobed, middle lobes oblong-ovate with sparse sawtooth or entire	春夏叶片绿色，秋天变红 Leaves green, turn red in autumn	落叶乔木 Deciduous tree	杭州，中国 Hangzhou, China
22	小紫果槭 *A. cordatum* var. *microcordatum*	叶片卵状长圆形 Leaves obovate-oblong	常绿，新叶呈紫红色 Young leaves purple-red ，then turn green	常绿乔木	杭州，中国 Hangzhou, China
23	三角枫 *A. buergerianum*	叶片 3 浅裂（稀不裂），裂片三角形或三角状卵形 Leaves 3-lobed, lobes triangular-ovate or lanceolate	春夏叶片翠绿，秋季转红色或老黄 Leaves verdant, turn red in autumn	落叶乔木 Deciduous tree	杭州，中国 Hangzhou, China
24	平基槭 *A. truncatum*	叶片掌状 5 分裂 Leaves palmately, 5-lobed	春夏叶片绿色，秋天变红 Leaves green, turn red in autumn	落叶乔木 Deciduous tree	杭州，中国 Hangzhou, China
25	建始槭 *A. henryi*	3 小叶复叶 3-foliolate	春夏叶片绿色，秋天变红 Leaves green, turn red in autumn	落叶乔木 Deciduous tree	杭州，中国 Hangzhou, China

2 结果与分析

2.1 扩增产物的多态性分析

25 份槭属植物材料进行 ISSR 扩增后，共得 84 条带，其中 81 条带呈多态性，*PPB* 为 96.43%（表 2）。引物 UBC811 扩增结果见图 1。

7 种槭属植物（美国红枫、毛脉槭、天目槭、小紫果槭、三角枫、平基槭、建始槭）在槭属种水平的平均有效等位基因数为 1.605 7，平均 Nei's 基因多样性指数为 0.344 0，平均 Shannon's 信息指数为 0.504 3；鸡爪槭种下水平供试材料平均有效等位基因数为 1.497 3，平均 Nei's 基因多样性指数为 0.289 9，平均 Shannon's 信息指数为 0.434 3，表明槭属植物在种间及种下水平遗传多态性水平都较高。

表 2 ISSR 分析的引物序列

Table 2 Primers sequences of ISSR analysis

引物 Primers	序列（5′-3′） Sequence (5′-3′)	退火温度 Annealing temperature (℃)	条带数 No. of bands recorded	多态性条带 No. of polymorphic bands	*PPL* (%)
UBC807	$(AG)_8T$	52.9	9	9	100
UBC808	$(AG)_8C$	55.6	7	6	85.71
UBC809	$(AG)_8G$	54.6	5	5	100
UBC811	$(GA)_8C$	56.3	9	8	88.89
UBC818	$(CA)_8G$	54.6	6	6	100
UBC821	$(GT)_8T$	52.4	6	6	100
UBC835	$(AG)_8YC$	58.1	8	8	100
UBC840	$(GA)_8YT$	54.0	7	7	100
UBC841	$(GA)_8YC$	58.1	5	5	100
UBC855	$(AC)_8YT$	55.7	8	7	87.50
UBC873	$(GACA)_4$	54.0	6	6	70
UBC876	$(GATA_2)(GACA)_2$	47.6	8	8	70
总和 Total			84	81	96.43

注：Y 为简并碱基（C 或 T），R 为简并碱基（A 或 G）。

Note: Y represents degenerate base (C or T), and R represents degenerate base (A or G).

2.2 亲缘关系分析

POPGEN1.32 软件计算得到 25 份材料间 Nei 遗传相似性系数介于 0.405 与 0.952 之间，平均遗传相似性系数为 0.627。18 份鸡爪槭品种（或变种）间的平均遗传相似性系数为 0.693，而槭属 7 种植物间的平均遗传相似性系数为 0.599（表 3）。鸡爪槭（原变种）1 号样品和 2 号样品之间的遗传相似性系数最大（$I=0.952$），两份材料皆为鸡爪槭原变种，虽取自不同地区，但仍保持了很高的亲缘关系。绿羽毛枫与平基槭之间遗传相似性系数最小（$I = 0.405$），表明两者之间亲缘关系最低。

2.3 基于遗传相似性的聚类分析

基于亲缘关系数据，利用 UPGMA 法得到 25 份植物的亲缘关系树状图（图 2）。以遗传相似性系

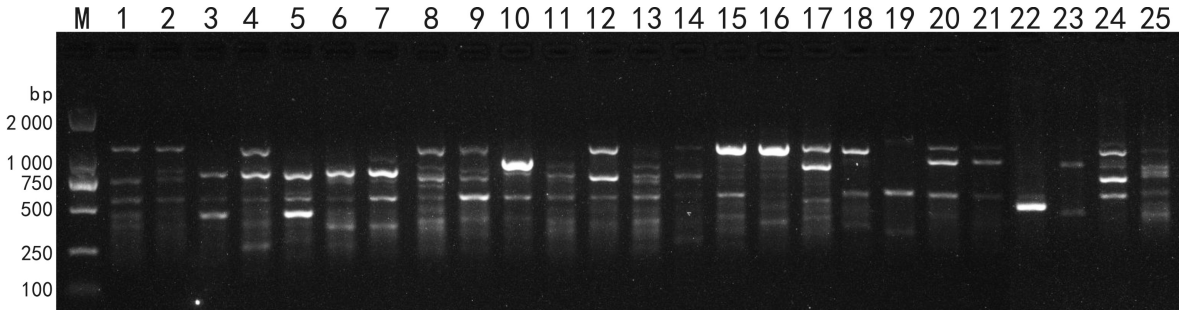

图 1　引物 UBC811 对 25 份槭属植物的 PCR 扩增图谱

Fig. 1　ISSR profiles of 25 samples of *Acer* plants with primer UBC811

表 3　25 份槭属植物材料间的遗传相似性系数

Table 3　Similarity coefficient matrix of the 25 samples of *Acer* plants

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
1	1.000	0.952	0.631	0.726	0.762	0.798	0.691	0.655	0.643	0.595	0.726	0.702	0.702	0.655	0.726	0.643	0.536	0.702	0.583	0.595	0.559	0.643	0.548	0.464	0.476
2		1.000	0.631	0.702	0.761	0.752	0.714	0.655	0.667	0.643	0.726	0.679	0.679	0.631	0.726	0.691	0.560	0.679	0.583	0.571	0.536	0.643	0.524	0.464	0.500
3			1.000	0.667	0.702	0.714	0.679	0.619	0.607	0.607	0.667	0.643	0.619	0.643	0.691	0.583	0.667	0.619	0.571	0.464	0.524	0.536	0.560	0.500	0.560
4				1.000	0.780	0.714	0.798	0.667	0.702	0.631	0.762	0.714	0.786	0.690	0.762	0.679	0.714	0.619	0.524	0.464	0.500	0.536	0.488	0.452	0.488
5					1.000	0.750	0.738	0.774	0.714	0.691	0.750	0.774	0.750	0.655	0.821	0.691	0.679	0.659	0.659	0.524	0.560	0.643	0.571	0.464	0.548
6						1.000	0.702	0.691	0.655	0.655	0.786	0.762	0.786	0.714	0.762	0.679	0.643	0.643	0.619	0.560	0.595	0.560	0.536	0.405	0.583
7							1.000	0.750	0.762	0.667	0.726	0.679	0.726	0.726	0.750	0.691	0.679	0.631	0.536	0.452	0.536	0.500	0.548	0.488	0.571
8								1.000	0.774	0.702	0.714	0.738	0.619	0.691	0.691	0.655	0.595	0.691	0.619	0.607	0.643	0.607	0.607	0.500	0.560
9									1.000	0.691	0.750	0.679	0.702	0.702	0.679	0.667	0.679	0.679	0.655	0.524	0.560	0.500	0.571	0.536	0.595
10										1.000	0.655	0.655	0.583	0.655	0.655	0.667	0.607	0.631	0.520	0.595	0.907	0.500	0.524	0.583	0.548
11											1.000	0.786	0.857	0.738	0.786	0.655	0.738	0.619	0.595	0.536	0.476	0.520	0.560	0.500	0.560
12												1.000	0.810	0.714	0.738	0.679	0.595	0.595	0.643	0.536	0.524	0.560	0.631	0.524	0.607
13													1.000	0.738	0.762	0.655	0.714	0.595	0.643	0.488	0.500	0.520	0.560	0.548	0.536
14														1.000	0.714	0.607	0.667	0.738	0.571	0.560	0.619	0.520	0.560	0.595	0.536
15															1.000	0.798	0.786	0.691	0.571	0.488	0.500	0.583	0.583	0.500	0.560
16																1.000	0.631	0.631	0.607	0.500	0.560	0.548	0.548	0.536	0.619
17																	1.000	0.595	0.571	0.441	0.476	0.520	0.536	0.571	0.536
18																		1.000	0.524	0.655	0.619	0.655	0.583	0.548	0.560
19																			1.000	0.607	0.595	0.583	0.583	0.558	0.679
20																				1.000	0.583	0.691	0.667	0.631	0.571
21																					1.000	0.607	0.536	0.571	0.583
22																						1.000	0.571	0.536	0.571
23																							1.000	0.679	0.643
24																								1.000	0.536
25																									1.000

数 0.578 为阈值，25 份植物材料可划分为两大类群。类群 II 包括毛脉槭、小紫果槭、美国红枫、天目槭、三角枫、平基槭以及建始槭，其余则聚为类群 I。进一步以遗传相似性系数 0.646 为阈值，则全部材料可归为 6 个亚类群，其中类群 I 包括亚类群 Ia(鸡爪槭、日本红枫、红灯笼、蝴蝶枫、赤枫、绿羽毛枫、垂枝稻叶、金线、红箭、青枫、金贵、落日、橙之梦、朝霞和小叶鸡爪槭)和亚类群 Ib(血红鸡爪槭和青柳)；类群 II 包括亚类群 IIa(美国红枫和建始槭)、亚类群 IIb(天目槭)、亚类群 IIc(毛脉槭和小紫果槭)和亚类群 IId(平基槭和三角枫)。

3　讨论与结论

ISSR 分子标记具有多态性高、结果稳定、操作方便以及受环境影响小等优点(Reddy *et al.*,

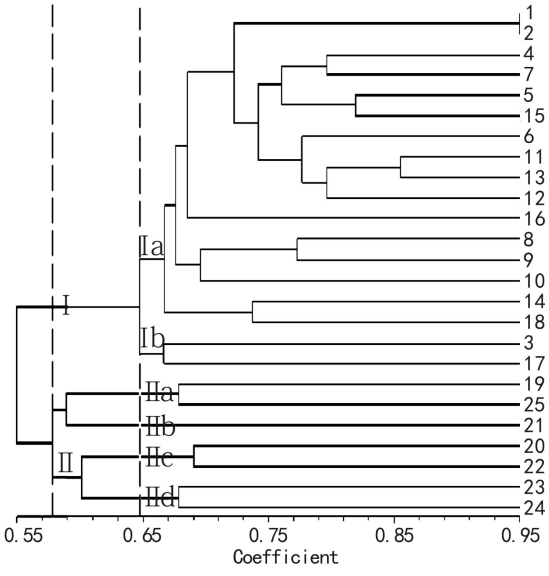

图 2 25 份植物材料的 UPGMA 聚类图

Fig. 2 UPGMA dendrogram for 25 *Acer* plants samples

2002;;石颜通等,2012),可以对常规依靠表型为主的分类方法起到一个补充作用(Nagaraju *et al*.,2002)。本研究中 18 种鸡爪槭品种(变种)的多态性比例、平均有效等位基因数、平均 Nei's 基因多样性指数、平均 Shannon's 信息指数与腊梅(赵冰等,2008)、牡丹(石颜通等,2012)研究结果相似,表明了所选鸡爪槭优良种质资源存在丰富的遗传变异。25 份槭属植物材料的遗传相似性系数介于 0.405 与 0.952之间,平均为 0.627,不同品种或物种之间遗传相似性系数变化都较大,表明 ISSR 分子标记可以较好地反映种间或种下水平槭属植物的亲缘关系。

基于 ISSR 分子标记扩增结果的聚类分析表明鸡爪槭不同品种(或变种)间的亲缘关系与其表型性状具有一定的相关性。绿羽毛枫、垂直稻叶、金线和红箭四个品种叶型为羽毛状,叶片掌状深裂达基部,裂片狭适羽毛裂,聚类结果将四个品种聚为亲缘关系较近的一类(平均遗传相似性系数为 0.798),表明这四个品种在进化上可能有相近的遗传背景。日本红枫和红灯笼的树型、叶型和叶色三种表型形状都很相似,聚类结果也将两者聚为亲缘关系较近的一个小类群(I = 0.798),显示出了表型性状与亲缘关系一定的对应性。金贵、橙之梦和落日三个品种,朝霞和小叶鸡爪槭两个品种以及青柳和血红鸡爪槭两个品种,三组品种之间的遗传相似性系(I 分别为 0.722、0.738 和 0.667)数值都证实了鸡爪槭不同品种间的亲缘关系与其叶型、叶色等表型性状具有一定的相关性。18 种鸡爪槭品种(变种)中大部分引自日本,只有 1 号、2 号和 16 号样本采自中国,研究结果并没有直接表明鸡爪槭品种(变种)间的遗传分化与地理分布之间存在相关性。

槭属植物叶型优美,秋季叶色鲜艳,具有极高的观赏价值,在世界园林绿化中的应用度逐渐增加。我国槭属资源丰富,但目前我国在槭树良种选育方面的工作仍很薄弱,对此需积极开展野生种的资源调查,针对槭属植物的观赏特性进行选种育种方面的深入研究,筛选、培育出观赏价值高的新品种。同时,对于种质资源比较稀缺的槭树植物要采取一定的保护措施,如建立种质资源基地和良种示范园,开展更多途径进行槭树保育研究。由于槭属植物的新品种多以枝条、芽体等方式从国外引进,通常采用嫁接技术进行扩繁,其嫁接砧木的选择就成了一个重要问题,因此开展槭属植物不同品种间亲缘关系的研究,进而筛选出亲和力强的砧木也就显得尤为必要,该研究可提高槭属新品种的嫁接成活率,降低引进成本,并能提升新品种的品质。

参考文献:

Cheng XM(程小毛), Yue L(岳琳), Huang XX(黄晓霞). 2011. Analysis on the genetic relationship of *Acer trialum* L. and *Acer buergerianum* Miq. by AFLP(基于 AFLP 标记技术的三翅槭与三角枫亲缘关系分析)[J]. *Chin Agric Sci Bull*(中国农学通报),**27**(16):79－83

Cho s, Kumar J, shultz JL, *et al*. 2002. Mapping genes for double podding and other morphologica1 traits in *chickpea*[J]. *Euphytica*, **128**(2):285－292

Doyle JJ, Doyle JL. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue[J]. *Phytoch Bull*, **19**:11－15

Li QZ(李倩中), Liu XH(刘晓宏), Su JL(苏家乐), *et al*. 2010. Genetic diversity of *Acer* L. germplasm revealed by Sequence-related Amplified Polymorphism(SRAP) markers(槭属种质遗传多样性及亲缘关系的 SRAP 分析)[J]. *Jiangsu J Aric Sci*(江苏农业科学),**26**(5):1 032－1 036

Lin L(林立), Hu ZY(胡仲义), Li JY(李纪元), *et al*. 2012. Analyses of genetic diversity of ten insular populations of *Camellia japonica*(10 个山茶岛屿天然居群的遗传多样性分析)[J]. *Acta Hortic Sin*(园艺学报),**39**(8):1 531－1 538

Linus I, Masumbuko, Tomas B. 2006. Inter simple sequence repeat (ISSR) analysis of diploid coffee species and cultivated *Coffea arabica* L. from Tanzania[J]. *Gen Res & Crop Evol*, **53**:357－366

Liu JB(刘静波), Lin SJ(林士杰), Zhang ZJ(张忠辉), *et al*. 2012. The progress of *Acer* resources(槭属植物种质资源研究进展)[J]. *Chin Agric Sci Bull* (中国农学通报),**28**(25):1－5

Liu X(刘旭), Guo TJ(郭太君), Wang G(王刚). 2010. The study on the relationship of major *Acer* Linn in Changbai Mountain Area of China(长白山地区主要槭属植物遗传亲缘关系研究)[J]. *J An-*

(下转第 60 页 Continue on page 60)

土壤水分对荷木液流的影响)[J]. *Chin J Appl Ecol*(应用生态学报),**21**(10):2 457－2 464

Mei TT(梅婷婷),Ni GY(倪广艳),Wang Q(王权),*et al*. 2012. Effect of stem diameter at breast height on skewness of sap flow pattern and time lag(树木胸径大小对树干液流变化格局的偏度和时滞效应)[J]. *Acta Ecol Sin*(生态学报),**32**(22):7 018－7 026

Nobel PS, Jordan PW. 1983. Transpiration stream of desert species resistances and capacitances for a C^3, a C^4, and a CAM plant[J]. *J Exp Bot*,**34**(10):1 379－1 391

O'Brien JJ,Oberbauer SF,Clark DB. 2004. Whole tree xylem sap flow responses to multiple environmental variables in a wet tropical forest[J]. *Plant Cell Environ*,**27**:551－567

Phillips N, Nagchaudhuri A, Oren R, *et al*. 1997. Time constant for water transport in *loblolly pine* trees estimated from time series of evaporative demand and stem sapflow [J]. *Trees*,**11**:412－419

Phillips N,Oren R,Zimmermann R,*et al*. 1999. Temporal patterns of water flux in trees and lianas in a Panamanian moist forest[J]. *Trees*,**14**:116－123

Schäfer KVR,Oren RD,Tenhunen J. 2000. The effect of tree height on crown level stomatal conductance[J]. *Plant Cell Environ*,**23**:365－375

Scherer-Lorenzen M,Palmborg C,Prinz A,*et al*. 2003. The role of plant diversity and composition for nitrate leaching in grasslands[J]. *Ecology*,**84**(6):1 539－1 552

Schulze ED,Cermák J,Matyssek R,*et al*. 1985. Canopy transpiration and water fluxes in the xylem of the trunk of *Larix* and *Picea* trees-a comparison of xylem flow,porometer and cuvette measurements[J]. *Oecologia*,**66**:475－483

Shen LH(申李华),Zhang ZQ(张志强),Liu CF(刘晨峰),*et al*. 2007. Sap flow of *P.*×*euramericanacv* plantation trees in sandy soil(沙地杨树人工林树干液流特征)[J]. *Sci Soil Water Cons*(中国水土保持科学),**5**(1):88－92

Steinbeiss S,Beler H,Engels C,*et al*. 2008. Plant diversity positively affects short-term soil carbon storage in experimental grasslands [J]. *Glob Chang Biol*,**14**(12):2 937－2 949

Teskey RO,Sheriff DW. 1996. Water use by *Pinus radiata* trees in a plantation[J]. *Tree Physiol*,**16**:273－279

Tyree MT,Ewers FW. 1991. The hydraulic architecture of trees and other woody plants[J]. *New Phytol*,**119**:345－360

Wang H(王华),Zhao P(赵平),Cai XA(蔡锡安),*et al*. 2008. Tim e lag effect between stem sap flow and photosynthetically active radiation,vapor pressure deficit of *Acacia mangium*(马占相思树干液流与光合有效辐射和水汽压亏缺间的时滞效应)[J]. *Chin J Appl Ecol*(应用生态学报),**19**(2):225－230

Wullschleger SD,Meinzer FC,Vertessy RA. 1998. A review of whole-plant water use studies in trees[J]. *Tree Physiol*,**18**:499－512

Zhao P(赵平),Rao XQ(饶兴权),Ma L(马玲),*et al*. 2005. Application of Granier's sap flow system in water use of *Acacia magnum* forest (Granier 树干液流测定系统在马占相思的水分利用研究中的应用)[J]. *J Trop Subtrop Bot*(热带亚热带植物学报),**13**(6):457－468

Zhao P(赵平),Rao XQ(饶兴权),Ma L(马玲),*et al*. 2006a. Responses of canopy stomatal conductance of *Acacia mangium* forest to environmental driving factors(马占相思林冠层气孔导度对环境驱动因子的响应)[J]. *Chin J Appl Ecol*(应用生态学报),**17**(7):1 149－1 156

Zhao P(赵平),Rao XQ(饶兴权),Ma L(马玲),*et al*. 2006b. The variations of sap flux density and whole-tree transpiration across individuals of *Acacia mangium*(马占相思_Acaciamangium_树干液流密度和整树蒸腾的个体差异)[J]. *Acta Ecol Sin*(生态学报),**26**(12):4 050－4 058

Zhao P(赵平),Rao XQ(饶兴权),Ma L(马玲),*et al*. 2006c. Sap flow-scaled stand transpiration and canopy stomatal conductance in an *Acacia Mangium* forest(基于树干液流测定值进行尺度扩展的马占相思林段蒸腾和冠层气孔导度)[J]. *J Plant Ecol*(植物生态学报),**30**(4):655－665

Zhou CM(周翠鸣),Zhao P(赵平),Ni GY(倪广艳),*et al*. 2011. Whole-tree water use characteristics of *Schima superba* in wet and dry seasons based on sap flow and soil leaf water potential gradient analysis(基于树干液流和土壤-叶片水势梯度分析荷木干湿季整树水分利用特征)[J]. *Chin J Ecol*(生态学杂志),**30**(12):2 659－66

Zhou CM(周翠鸣),Zhao P(赵平),Ni GY(倪广艳),*et al*. 2012. Water recharge through nighttime stem sap flow of *Schima superba* in Guangzhou region of Guangdong Province, South China:affecting factors and contribution to transpiration(广州地区荷木夜间树干液流补水的影响因子及其对蒸腾的贡献)[J]. *Chin J Appl Ecol*(应用生态学报),**23**(7):1－8

(上接第 14 页 Continue from page 14)

hui Agric Sci(安徽农业科学),**38**(20):10 580－10 581

Mondal TK. 2002. Assessment of genetic diversity of tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) by inter-simple sequence repeat polymerase chain reactinn[J]. *Euphytica*,**128**:307－315

Nagaraju J,Kathirvel M,Subbaiah EV,*et al*. 2002. FISSR-PCR: A simple and sensitive assay for high throughput genotyping and genetic mapping[J]. *Mol & Cell Prob*,**16**:67－72

Rohlf FJ. 1994. NTSYS2PC Version 2. 10. New York : Appllied Biostatistics Inc

Shi YT(石颜通),Zhou B(周波),Zhang XX(张秀新),*et al*. 2012. 2013. Assessment of Genetic Diversity and Relationship of 89 Tree Peony Cultivars from Different Provenances(牡丹 89 个不同种源品种遗传多样性和亲缘关系研究)[J]. *Acta Hortic Sin*(园艺学报),**39**(12):2 499－2 506

Zhang Q(张强),Wang HJ(王慧娟),Li YM(李艳敏),*et al*. 2008. The phylogenetic relationships of eight *Acer* species based on evidences from ITS sequences(几种槭属植物亲缘关系的 ITS 序列分析)[J].*Chin Agric Sci Bull*(中国农学通报),**24**(10):409－412

Zhao B(赵冰),Zhang QX(张启翔). 2008. Genetic diversity of germplasm resources of *Chimonanthus praecox* based on ISSR markers(蜡梅种质资源遗传多样性的 ISSR 分析)[J]. *Bull Bot Res*(植物研究),**28**(3):315－320

Zietkiewiez E,Rafalski A,Labuda D. 2012. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR) anchored polymerase chain reaction amplification[J]. *Genomics*,**20**(2):176－183

25份槭属优良种质资源亲缘关系的ISSR分析

作者： 林乐静， 林立， 祝志勇， LIN Le-Jing， LIN Li， ZHU Zhi-Yong?
作者单位： 宁波城市职业技术学院 景观生态环境学院 宁波市园林植物开发重点实验室,浙江 宁波,315502

刊名： 广西植物 ISTIC PKU
英文刊名： Guihaia
年，卷(期)： 2015(1)

参考文献(15条)

1. 程小毛,岳琳,黄晓霞 基于AFLP标记技术的三翅槭与三角枫亲缘关系分析[期刊论文]-中国农学通报 2011(16)

2. Cho s;Kumar J;shultz JL Mapping genes for double podding and other morphological traits in chickpea 2002(2)

3. Doyle JJ;Doyle JL A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue 1987

4. 李倩中;刘晓宏;苏家乐 Genetic diversity of Acer L.germplasm revealed by Sequence-re-lated Amplified Polymorphism(SRAP)markers(槭属种质遗传多样性及亲缘关系的SRAP分析) 2010(5)

5. 林立,胡仲义,李纪元,祝志勇,倪穗 10个山茶岛屿天然居群的遗传多样性分析[期刊论文]-园艺学报 2012(8)

6. Linus I,Masumbuko;Tomas B Inter simple sequence repeat(ISSR)analysis of diploid coffee species and cultivated Coffea arabica L.from Tanzania 2006

7. 刘静波,林士杰,张忠辉,谢朋,蔡群,张大伟,勾天兵,赵珊珊,赵洪伟,王志强 槭属植物种质资源研究进展[期刊论文]-中国农学通报 2012(25)

8. 刘旭,郭太君,王刚 长白山地区主要槭属植物遗传亲缘关系研究[期刊论文]-安徽农业科学 2010(20)

9. Mondal TK Assessment of genetic diversity of tea(Camellia sinensis(L)O.Kuntze)by inter-simple sequence repeat poly-merase chain reactinn 2002

10. Nagaraju J;Kathirvel M;Subbaiah EV;etal FISSR-PCR:A simple and sensitive assay for high throughput genotyping and genetic mapping 2002

11. Rohlf FJ NTSYS2PC Version 2.10 1994

12. 石颜通;周波;张秀新 Assessment of Genetic Diversity and Relationship of 89 Tree Peony Cultivars from Different Provenances(牡丹 89 个不同种源品种遗传多样性和亲缘关系研究) 2013(12)

13. 张强,王慧娟,李艳敏,王利民,孟月娥,赵秀山 几种槭属植物亲缘关系的ITS序列分析[期刊论文]-中国农学通报 2008(10)

14. 赵冰,张启翔 蜡梅种质资源遗传多样性的ISSR分析[期刊论文]-植物研究 2008(3)

15. Zietkiewiez E;Rafalski A;Labuda D Genome fingerprinting by simple sequence repeat(SSR)anchored polymerase chain re-action amplification 2012(2)