

十七份中美枸杞材料的 SSR 遗传多样性

胡秉芬, 张宝琳, 蔡国军, 王三英, 仲玲玲, 武 蕾

(甘肃省林业科学研究院 经济林研究所, 甘肃 兰州 730020)

摘 要:以 17 份中美枸杞材料为试材, 采用 SSR 分子标记技术对其进行遗传多样性分析, 探索中美枸杞的遗传多样性。结果表明:筛选的 20 对 SSR 引物扩增得到 46 个等位变异, 平均每对引物扩增得到 2.3 个等位点, 多态性比率达 75.44%, 多态性信息含量变化范围在 0.114 2 (SSR111)~0.829 1(SSR22), 平均 0.377 2, 说明中美枸杞的遗传多样性较低;聚类分析结果显示, 在相似系数 0.600 处, 所有供试材料被聚为一类;在相似系数 0.730 处, 美国枸杞和中国枸杞分别独立聚类;在相似系数 0.825 处, 兰山野生枸杞和国内其它枸杞分为 2 个类群;来自内蒙古和宁夏的枸杞也基本分组, 但相似系数很高, 说明所有供试材料遗传基础非常狭窄, 聚类分析结果与供试材料区域来源有较好的一致性, 同一栽培区域育成的品种在不同程度上聚为一类, 不同品种间的亲缘关系与地区来源基本相对应。

关键词:枸杞;SSR 标记;遗传多样性

中图分类号:S 567.1⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)01-0090-05

枸杞(*Lycium barbarum* L.)属茄科枸杞属落叶灌木, 该属有 80 余种, 主要分布于南美洲, 少数分布于欧亚大陆的温带地区。我国自然分布 7 种 3 变种, 几乎所有省份均有野生或栽培^[1]。枸杞是我国西部的优势特色中药材和保健果品树种。优良品种选育是保证枸杞生产质量的首要条件。鉴别枸杞品种一直基于传统的形态学特征, 容易受环境条件影响, 工作费时费力, 有些品种间形态差别很小, 鉴定困难。宁夏枸杞在长达数百年的生产栽培进程中, 采用自然变异选择突变单株, 然后通过无性扦插扩大繁殖^[2], 选育出的品种虽多, 但品种间亲缘关系近, 加大了传统形态学鉴定的难度。因此, 研究快速科学鉴别枸杞品种方法, 已成为当前枸杞科研和生产迫切需要解决的问题。

此前有报道用中药材化学指纹图谱来进行枸杞品种的识别和真伪的鉴定^[3], 也有用同工酶标记进行枸杞的遗传多样性检测^[4]。遗传标记的发展经过了形态标记、细胞学标记、蛋白质标记到 DNA 标记, 与其它遗传标记相比, DNA 分子标记直接反映了 DNA 水平上的遗传变异, 能稳定遗传, 信息量大, 可靠性高, 有无表型效应, 消除环境影响等优点, 随着分子生物学技术的发展,

现在 DNA 分子标记技术已有数十种, 广泛应用于作物遗传育种、基因组作图、基因定位、植物亲缘关系鉴别、基因库构建、基因克隆等方面。近年来, 利用 DNA 分子标记技术开展的枸杞遗传多样性研究取得了一定进展, 魏玉清等^[5]、尚洁等^[6]利用 RAPD 技术检测了宁夏不同地区种植的宁夏枸杞主栽品种和新育成的枸杞品系基因组 DNA 的多态性;张波等^[7]运用 RAPD 标记首次就 22 份枸杞属主要栽培品种及品系进行了聚类, 聚类结果与枸杞属形态分类基本相似, 能将种间亲缘关系划分出, 但由于 RAPD 标记多态性较低的缺点和枸杞材料杂合度高的限制, 未能明确地将枸杞属种质区分开。还有研究者采用枸杞 nrDNA ITS 测序鉴定^[8-9]及 AFLP^[10]和 ISSR^[11-12]的标记方法。而 SSR 标记技术应用于枸杞研究尚鲜见报道。

SSR(Simple Sequence Repeat)标记也称为微卫星 DNA(Microsatellite DNA), 是以特异引物 PCR 为基础的分子标记技术, 由几个核苷酸(一般为 1~6 个)为重复单位组成的长达几十个核苷酸的串联重复序列。与其它分子标记相比, SSR 标记在基因组间广泛分布, 具有共显性、重复性好、多态性高、扩增结果稳定、检测手段简便易行等优点。微卫星标记丰富的多态性信息, 能准确高效地鉴别出大量的等位基因, 因而适合品种的鉴定, 特别是亲缘关系非常近而用其它方法无法区分的品种。目前, SSR 已经被广泛应用于植物的遗传多样性研究^[13-15]。该研究采用 SSR 分子标记对 17 份中美枸杞材料进行遗传多样性分析, 以期对枸杞品种鉴定、遗传育种研究等方面提供科学依据。

第一作者简介:胡秉芬(1969-), 女, 甘肃景泰人, 博士, 副研究员, 现主要从事经济林育种等研究工作。E-mail:bf9134hu@163.com.

责任作者:张宝琳(1968-), 女, 硕士, 高级工程师, 现主要从事经济林等研究工作。E-mail:530139563@qq.com.

基金项目:国家林业局“948”资助项目(2011-4-39)。

收稿日期:2015-07-24

1 材料与方法

1.1 试验材料

17 份供试材料中 4 份是美国野生枸杞;11 份由甘肃省林业科学研究院枸杞示范研究园提供,其中 5 个品

种(品系)来自内蒙古园艺研究所,6 个品种来自于宁夏枸杞工程研究中心;还有 2 份国内野生枸杞,分别采集于甘肃省兰州市兰山、甘肃省景泰县枸杞示范园附近(表 1)。

表 1 17 份供试枸杞材料

Table 1			Lycium materials used in this study		
编号	品种名称	来源地	编号	品种名称	来源
Code	Variety name	Origin	Code	Variety name	Origin
1	‘0901’	内蒙古	10	‘07-2’	内蒙古
2	“先锋 1 号” ‘Xianfeng 1’	内蒙古	11	“宁杞菜 1 号” ‘Ningqicai 1’	宁夏
3	“宁杞 4 号” ‘Ningqi 4’	宁夏	12	景泰野生枸杞 Jingtai wildgouqi	甘肃省景泰县
4	“宁杞 5 号” ‘Ningqi 5’	宁夏	13	兰州野生枸杞 Lanshan wildgouqi	甘肃省兰州市
5	“宁杞 1 号” ‘Ningqi 1’	宁夏	14	短柄枸杞 <i>L. brevipes</i>	美国
6	“蒙杞 1 号” ‘Mengqi 1’	内蒙古	15	突萼枸杞 <i>L. exsertum</i>	美国
7	“宁杞 3 号” ‘Ningqi 3’	宁夏	16	桶果枸杞 <i>L. cooperii</i>	美国
8	“扁果枸杞” ‘Bianguogouqi’	内蒙古	17	宁夏枸杞 <i>L. andersonii</i>	美国
9	“宁杞 7 号” ‘Ningqi 7’	宁夏			

1.2 试验方法

1.2.1 枸杞基因组 DNA 的提取 采集幼嫩、新鲜的枸杞叶片,利用 TIANGEN 植物基因组 DNA 提取试剂盒提取样本 DNA,IMPLEN 纳米光度计检测 DNA 浓度和纯度,置-20℃冰箱保存待用。

1.2.2 SSR 引物 102 对 SSR 引物序列信息来源于公开发表的 5 种近缘茄科植物^[16-23](表 2),包括番茄、辣椒、马铃薯、烟草和茄子,其中来自番茄 32 对、辣椒 21 对、马铃薯 22 对、烟草 20 对、茄子 7 对。引物均由上海生工生物工程技术有限公司合成。

表 2 SSR 引物序列与名称

Table 2				SSR primer sequences used in this study	
编号	正向引物	反向引物	引物来源		
Code	Forward primer(5'-3')	Reverse primer(5'-3')	Primer origin		
S118	AGAGATCGATGTAAAACACG	GTGGCATTTTGATGGATT	GHISLAIN 等 ^[16]		
STM3012	CAACTCAAAACAGAGAGGCAAA	GAGAAATGGGCACAAAAAACA	滕长才等 ^[17]		
A21	TCATGGTAGGTGGAGACAGAACCA	GTTTGGATTAGCATGTGGAGGACTGAA	NUNOME 等 ^[18]		
PT20189	AAAGGTTCGGTATCCAG	ATTGGACGATGAGAACGA	BINDLER 等 ^[19]		
PT30151	AGTCACAGCCAATGAAAGGG	TGCCACTACAATGGAAGTCC	同上		
PT30361	AACCGACCACTCCCTATCT	GTGGTTTAGTGGGAGCTTCG	同上		
PT30351	GGAGGCTTTCTTGGGCATTA	TGCACGAAATAATGAGGGAA	同上		
PT20306	CCGAGTCTGTTTGGTTG	GCGAGCATCTCTCATTTTC	同上		
Hpms1-148	GGCGGAGAAGAAGTAGACGATTAGC	CCACCCAATCCACATAGACG	罗玉娣等 ^[20]		
Hpms1-155	ACGAGGCCAAGCTGTTATGTC	TTGTCCCGACTCTCCATTGACC	同上		
CAN130829	GCTAATTACTTGCTCOGTTTTG	AAITGGGGAGTTTGTGTTTGG	同上		
TOM47	CAAGTTGATTGCATTACCTATTG	TACAACAACATTCTTCTTCTCTT	WANG 等 ^[21]		
TOM168	GTAATAATAGTGGGACAGATAA	AAGGTGGCTAATAAAGAATGAT	同上		
TOM180	ACGGTCCAGTAAGTTGATG	ATATGAAGATTGGGTTGTAACA	同上		
SSR306	ACATGAGCCCAATGAACCTC	AACCAATCCGACGTACATA	王柏柯等 ^[22]		
SSR111	TTCTTCCCTTCCATCAGTTCT	TTTGCTGCTATACTGCTGACA	同上		
SSR22	GATCGGCAGTAGGTGCTCTC	CAAGAAACACCCATATCCGC	同上		
SSR63	CCACAAACAATTCCATCTCA	GCTTCGGCATACTGATACG	同上		
Tom61-62	GGCAAGAAGGACCCAGAGC	GGTGCTAAAAAAGTTAAAT	许向阳等 ^[23]		
Tom300-301	TTCTTTATTTTGGAGGTA	ATCACAAATTCAAATCAC	同上		

1.2.3 PCR 扩增与电泳检测 PCR 扩增体系为(25 μL):模板 DNA 1 μL(约 45 ng);2× Taq PCR MasterMix 12.5 μL;正向 Primer 和反向 Primer 各 1.5 μL(10 μmol/L);ddH₂O 8.5 μL。PCR 反应程序为:94℃预变性 4 min;94℃变性 30 s;53~61℃退火 30 s;72℃延伸 1 min,30 个循环;72℃延伸 10 min,4℃保存。扩增产物用 7.9%的聚丙烯酰胺凝胶电泳检测。电泳结束后用硝酸银染色

观察结果,照相保存图片。DNA marker 为 pBR322。

1.3 数据分析

SSR 扩增谱带在相同迁移率位置上有带记为 1、无带记为 0,组成原始矩阵。多态性位点百分率 $p(\%) = (k/n) \times 100$,其中 k 是多态位点数目; n 为所测位点总数。多态性信息量 $PIC = 1 - \sum_{i=1}^i f_i^2$,其中, f_i 为基因座

位上第 I 等位基因的频率。

用 NTSYS-pc V2.10 软件计算品种间遗传相似系数(GS),用 SAHN 程序和 UPGMA 方法进行聚类分析,并通过 Tree plot 模块生成聚类图。

2 结果与分析

2.1 SSR 标记多态性分析

以 102 对 SSR 引物对“宁杞 1 号”的基因组 DNA 进行 PCR 扩增、聚丙烯酰胺凝胶电泳检测,获得 38 对在枸杞中有效表达的引物。进一步从 38 对 SSR 引物中挑选

出 20 对扩增产物带型清晰稳定的引物(表 2),用于 17 份枸杞试材的亲缘关系分析。共检测到 46 个等位变异,多态率占 75.439%,每对引物检测出的等位变异数为 1~8,平均为 2.3 个等位变异。在 20 对多态性引物中,PIC 值最高为 SSR22 (0.829 1),最低为 SSR111 (0.114 2),平均多态性信息量为 0.377 2(表 3)。根据 20 对引物扩增产物的数据矩阵,计算出的 17 份供试材料间 SSR 标记遗传相似系数变异范围为 0.521 7~0.978 3,平均值为 0.741 7(表 4)。

表 3

SSR 引物扩增情况

Table 3

The result of amplifying by selected primers

引物编号 Primer code	退火温度 Annealing temperature/℃	等位位点数 No. of alleles	多态性位点数 No. of polymorphic alleles	多态性比率 Ratio of polymorphic alleles/%	扩增片段范围 Range of allele size/bp	多态性信息量 PIC
S118	52.6	1	0	0	100~200	0
STM3012	55.0	2	1	50.00	200~300	0.308 4
A21	62.0	4	4	100.00	100~200	0.693 3
PT20189	54.0	2	2	100.00	200~300	0.482 9
PT30151	58.0	3	2	66.67	100~200	0.656 6
PT30361	61.0	2	2	100.00	200~300	0.494 7
PT30351	56.0	1	1	100.00	200~300	0.321 8
PT20306	55.0	2	2	100.00	100~300	0.320 0
Hpms1-148	62.0	1	0	0	100~200	0
Hpms1-155	62.0	2	2	100.00	100~200	0.197 5
CANI30829	57.4	2	2	100.00	100~300	0.387 8
TOM 47	54.0	3	3	100.00	100~300	0.665 7
TOM 168	54.0	1	1	100.00	200~300	0.501 7
TOM 180	56.0	4	3	75.00	100~300	0.593 2
SSR306	58.0	1	0	0	200~300	0
SSR111	57.4	1	1	100.00	100~200	0.114 2
SSR22	61.0	8	6	75.00	100~200	0.829 1
SSR63	58.0	3	2	66.67	100~200	0.568 4
Tom61-62	56.0	2	2	100.00	200~300	0.408 2
Tom300-301	47.0	1	0	0	100~200	0
合计 Total	—	46	36	—	—	—
平均 Average	—	2.3	1.8	75.439	—	0.377 2

2.2 基于 SSR 的枸杞亲缘关系分析

利用 NTSYS-PC2.10 软件,以 20 对 SSR 引物的 0、1 统计数据使用 UPGMA 法进行聚类分析,得到 17 份供试材料的遗传关系树状图(图 1)。在相似系数 0.600

处,所有供试材料分为 2 个类群,I类和II类,3 个美国枸杞短柄枸杞(*L. brevipes*)、突萼枸杞(*L. exsertum*)和桶果枸杞(*L. cooperii*)聚为I类,其中短柄枸杞和突萼枸杞的遗传关系较近,相似性系数达 0.785,美国的宁夏枸杞(*L. andersonii*)和国内 13 份枸杞材料聚为II类;在相似系数为 0.725 水平,美国的宁夏枸杞(*L. andersonii*)独立聚类,国内 13 份枸杞材料全部聚为一类。至此,美国枸杞与国内枸杞完全分类。

国内 13 份枸杞材料包括 2 个野生种和 11 个栽培品种(系),在相似系数 0.825 处聚为 2 个亚类,兰州野生枸杞独立聚类自成为亚类I,景泰野生枸杞和 11 个栽培枸杞品种(系)聚为亚类II。在相似系数 0.915 左右处,来自内蒙古的 4 个枸杞品种(系)“0901”、“先锋 1 号”、“扁果枸杞”、“蒙杞 1 号”群聚一处;而来自宁夏的栽培品种“宁杞 1 号”、“宁杞 3 号”、“宁杞 4 号”、“宁杞 5 号”、“宁杞 7 号”、“宁杞菜 1 号”在相似系数 0.830 左右类聚一群,其中“宁杞 3 号”和“宁杞 7 号”、“先锋 1 号”和“扁果枸杞”的相似系数都高达 0.978 3(表 4)。景泰野生

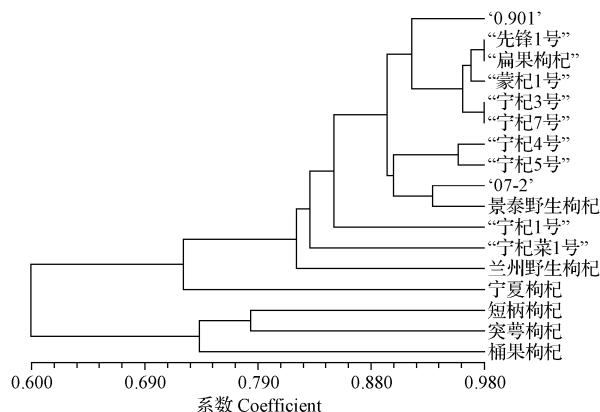


图 1 基于 SSR 标记的枸杞试材聚类图

Fig. 1 Dendrogram of *Lycium* materials based on SSR markers

枸杞和来自内蒙的‘07-2’聚为一类,相似系数高达 0.934 8。

聚类分析结果表明,在相似系数 0.600 处,从美国引进的枸杞材料与国内所有供试材料被聚为一类,这说明中美枸杞在进化上较保守,出现较少的遗传变异,试材之间遗传背景相似,亲缘关系较近,存在着遗传基础狭窄的问题;兰州野生枸杞和包括景泰野生枸杞在内的所有栽培枸杞在相似系数 0.825 处聚为 2 个类群,遗传距离为 0.175,相似系数越高,遗传距离就越小,亲缘关系越近。这是因为长期以来枸杞的选育主要采用传统的育种方式,利用自然变异选择突变单株,通过无性扦插进行扩大繁殖的结果^[9];而景泰野生枸杞与栽培品种(系)聚为一类,并且与‘07-2’的相似系数高达 0.934 8,

遗传距离为 0.065 2,这个结果估计与景泰野生枸杞的野生真实性有关,因为这份野生试材采集于枸杞园附近;来自内蒙古园艺研究所的品种(系)和来自宁夏枸杞工程研究中心的品种基本分别聚类,说明聚类分析结果与供试材料区域来源有较好的一致性,同一栽培区域育成的品种(系)在不同程度上聚在一类;内蒙古品种(系)间的相似系数达 0.915,宁夏品种间的相似性系数达 0.830,在相似性系数 0.825 处 2 个栽培区域品种(系)聚为一类,说明来自内蒙古和宁夏的栽培枸杞品种(系)间亲缘关系很近;亲缘关系最近的是“扁果枸杞”与“先锋 1 号”、“宁杞 7 号”与“宁杞 3 号”,相似系数均达 0.978 3。这个研究结果与魏玉清等^[5]“宁夏不同地区主要栽培的枸杞品种遗传上没有明显的差异”研究结果相一致。

表 4

供试材料 SSR 标记遗传相似系数

Table 4

Genetice similarity of experiment materials

	‘0901’	“先锋 1 号”	“宁杞 4 号”	“宁杞 5 号”	“宁杞 1 号”	“蒙杞 1 号”	“宁杞 3 号”	“扁果 枸杞”	“宁杞 7 号”	‘07-2’	“宁杞菜 1 号”	景泰野生 枸杞	兰州野生 枸杞	短柄枸杞 <i>L. brevipes</i>	突萼枸杞 <i>L. exsertum</i>	桶果枸杞 <i>L. cooperii</i>	宁夏枸杞 <i>L. anderssonii</i>
‘0901’	1																
“先锋 1 号”	0.891 3	1															
“宁杞 4 号”	0.913 0	0.934 8	1														
“宁杞 5 号”	0.869 6	0.891 3	0.956 5	1													
“宁杞 1 号”	0.826 1	0.847 8	0.869 6	0.826 1	1												
“蒙杞 1 号”	0.934 8	0.956 5	0.934 8	0.891 3	0.891 3	1											
“宁杞 3 号”	0.934 8	0.956 5	0.891 3	0.847 8	0.847 8	0.956 5	1										
“扁果枸杞”	0.913 0	0.978 3	0.956 5	0.913 0	0.869 6	0.978 3	0.934 8	1									
“宁杞 7 号”	0.913 0	0.978 3	0.913 0	0.869 6	0.869 5	0.978 2	0.978 3	0.956 5	1								
‘07-2’	0.891 3	0.913 0	0.934 8	0.891 3	0.847 8	0.913 0	0.869 6	0.934 8	0.891 3	1							
“宁杞菜 1 号”	0.804 3	0.826 1	0.847 8	0.804 3	0.847 8	0.869 6	0.826 1	0.847 8	0.847 8	0.826 1	1						
景泰野生枸杞	0.869 6	0.891 3	0.913 0	0.869 6	0.826 1	0.891 3	0.847 8	0.913 0	0.869 6	0.934 8	0.804 3	1					
兰州野生枸杞	0.891 3	0.826 1	0.804 3	0.804 3	0.760 9	0.869 6	0.869 6	0.847 8	0.847 8	0.826 1	0.739 1	0.760 9	1				
短柄枸杞 <i>L. brevipes</i>	0.608 7	0.630 4	0.565 2	0.608 7	0.565 2	0.630 4	0.673 9	0.608 7	0.652 2	0.587 0	0.587 0	0.565 2	0.630 4	1			
突萼枸杞 <i>L. exsertum</i>	0.608 7	0.587 0	0.565 2	0.608 7	0.587 0	0.630 4	0.630 4	0.608 7	0.608 7	0.630 4	0.673 9	0.608 7	0.630 4	0.782 6	1		
桶果枸杞 <i>L. cooperii</i>	0.630 4	0.565 2	0.543 5	0.587 0	0.521 7	0.608 7	0.608 7	0.587 0	0.587 0	0.565 2	0.521 7	0.543 5	0.695 7	0.717 4	0.760 9	1	
宁夏枸杞 <i>L. anderssonii</i>	0.695 7	0.717 4	0.739 1	0.782 6	0.739 1	0.760 9	0.717 4	0.739 1	0.739 1	0.673 9	0.804 3	0.652 2	0.673 9	0.521 7	0.608 7	0.760 8	1

3 讨论与结论

为深化枸杞遗传资源的研究,许多研究者利用各种分子标记技术探讨了枸杞的遗传多样性与亲缘关系^[5-12]。该研究利用 SSR 技术对来自中美不同地区的 17 个枸杞材料进行分子标记分析,结果表明,用 102 对 SSR 引物,在枸杞中进行 PCR 扩增,筛选出 38 对有效表达的 SSR 引物,并用其中带型稳定的 20 对引物对美国 4 份野生枸杞和国内 2 份野生枸杞、11 份栽培品种(系)进行了遗传多样性分析,计算出了不同材料间的遗传距离,明确了这些材料间亲缘关系的远近,尤其是“扁果枸杞”与“先锋 1 号”、“宁杞 7 号”与“宁杞 3 号”,相似系数高达 0.978 3 均能鉴别,充分证明 SSR 标记技术可以从分子水平有效鉴别枸杞品种的差异,此结果印证了

SULIMAN 等^[24]的研究结果“用 AFLP、SSR、SNP 等技术分别对番茄品种进行多态性分析发现,SSR 标记对品种鉴定是一种很有用的标记方法”。该研究筛选出的 20 对 SSR 引物,将为枸杞品种鉴定和枸杞后续遗传育种研究提供有力技术手段。

聚类分析结果中也有与品种(系)来源不相符的情况,如“宁杞 7 号”和“宁杞 3 号”与内蒙古品种(系)聚类为一组,而源于内蒙古的‘07-2’又被分在宁夏品种类群中,其可能原因是所用引物数量少,扩增获得的多态性条带有限,不能充分表现材料本身的特异性所致,这就需要进一步丰富枸杞 SSR 引物。SSR 标记的建立首先要对微卫星侧翼序列进行克隆、测序、人工设计合成引物以及标记的定位、作图等基础性研究,因而其开发费

用相当高,各个实验室必须进行合作才能开发更多的标记。该研究所用 102 对 SSR 引物全部引自 5 个近缘茄科植物(烟草、辣椒、番茄、马铃薯和茄子)^[16-23]。

按照聚类图来判断植物之间的亲缘关系远近还是十分方便和准确的,该研究中所有供试材料的聚类分析结果与供试材料区域来源有较好的一致性,同一栽培区域育成的品种(系)在不同程度上聚为一类,不同品种(系)间的亲缘关系与地区来源基本相对应。

参考文献

- [1] 马德滋,刘慧兰. 宁夏植物志[M]. 2 卷. 银川:宁夏人民出版社,1990:155-156.
- [2] 钟鲢元. 宁夏枸杞高产栽培与育种[M]. 银川:宁夏人民出版社,1995.
- [3] 聂国朝. 3 种枸杞的 HPLC-DAD 图谱比较[J]. 福建林学院学报,2004,24(2):162-164.
- [4] 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):4042-4043.
- [5] 魏玉清,许兴. 不同地区主要栽培宁夏枸杞品种的 RAPD 分析[J]. 西北农林科技大学学报,2007,35(1):91-95.
- [6] 尚洁,思彬彬. 宁夏枸杞主要栽培品种的 DNA 多态性分析[J]. 安徽农业科学,2010,38(6):2801-2802.
- [7] 张波,李敦,戴国礼. 22 份枸杞属种质的 RAPD 分析[J]. 广东农业科学,2012(5):112-113,127.
- [8] 石志刚,安巍,樊云芳,等. 枸杞 nrDNA ITS 测序鉴定的初步研究[J]. 安徽农业科学,2008,36(16):6687-6688,6690.
- [9] 石志刚,安巍,焦恩宁,等. 基于 nrDNA ITS 测序的 18 份宁夏枸杞资源的遗传多样性[J]. 安徽农业科学,2008,36(24):10379-10380.
- [10] 李彦龙,樊云芳,戴国礼. 枸杞种质遗传多样性的 AFLP 分析[J]. 中草药,2011,42(4):770-773.
- [11] 鲍红春,李小雷,王建平. 枸杞遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 华北农学报,2014,29(1):89-92.
- [12] 段丽君,曹有龙,周军. 枸杞 ISSR 反应体系的优化与应用[J]. 西北农林科技大学学报,2009,37(12):133-138.
- [13] 赵军海,冯国华,刘东涛,等. 小麦育种亲本材料遗传多样性的 SSR 分析[J]. 麦类作物学报,2009(6):982-985.
- [14] 高翔,庞红喜,裴阿卫. 分子标记技术在植物遗传多样性研究中的应用[J]. 河南农业大学学报,2002,36(4):356-359.
- [15] 刘列钊,林呐. 油菜简单重复序列 SSR(Simple Sequence Repeat)研究进展[J]. 生命科学,2004,16(3):173-176.
- [16] GHISLAIN M, SPOONER D M, RODRÍGUEZ F, et al. Selection of highly informative and user-friendly microsatellites (SSRs) for genotyping of cultivated potato[J]. Theor Appl Genet,2004,108:881-890.
- [17] 滕长才,张永成,张凤军,等. 青海省马铃薯主要栽培品种的 SSR 遗传多样[J]. 分子植物育种,2009,7(3):555-561.
- [18] NUNOME T, NEGORO S, KONO I, et al. Development of SSR markers derived from SSR-enriched genomic library of eggplant (*Solanum melongena* L.) [J]. Theoretical and Applied Genetics,2009,19(6):1143-1153.
- [19] BINDLER G, van DER HOEVEN R, GUNDUZ I, et al. A microsatellite marker based linkage map of tobacco[J]. Theor Appl Genet,2007,114:341-349.
- [20] 罗玉娣,李建国,李明芳. 用 SSR 标记分析辣椒属种质资源的遗传多样性[J]. 生物技术通报,2006(增刊):338-340.
- [21] WANG A X, MENG F J, XU X Y, et al. Development of molecular markers linked to *Cladosporium fulvum* resistant gene Cf-6 in tomato by RAPD and SSR methods[J]. Horticulture Science,2007,42(1):11-15.
- [22] 王柏柯,余庆辉,杨生保. 4 个加工番茄新品种 SSR 指纹图谱的构建与品种鉴定[J]. 新疆农业科学,2010,47(7):1474-1478.
- [23] 许向阳,孟凡娟,李景富. 番茄资源对叶霉病的抗性鉴定和 SSR 标记遗传变异分析[J]. 植物病理学报,2007,37(5):520-527.
- [24] SULIMAN P S, KASHKUSH K, SHAT S H, et al. Generation and mapping of AFLP, SSRs and SNPs in *Lycopersicon esculentum* [J]. Cell Mol Biol Lett,2002,7(2A):593-597.

Genetic Diversity by SSR Markers in Seventeen Chinese and American *Lycium barbarum* L.

HU Bingfen, ZHANG Baolin, CAI Guojun, WANG Sanying, ZHONG Lingling, WU Lei
(Forest Research Institute, Academy of Forestry Science, Lanzhou, Gansu 730020)

Abstract: To explore the genetic diversity of Chinese and American *Lycium*, the genetic diversity of 17 *Lycium* materials were analyzed using SSR molecular marker technique in this study. The results showed that, 46 alleles were amplified by 20 pairs of SSR primers and 2.3 alleles were amplified by per pairs, the ratio of polymorphism was 75.44%, the polymorphism information content ranged from 0.114 2(SSR111) to 0.829 1(SSR22), with an average of 0.377 2. The diversity of the 17 *Lycium* materials showed low by these parameters. All the tested materials were clustered into one group based on the UPGMA cluster at the genetice similarity(GS) 0.600; American *Lycium* and Chinese *Lycium* were clustered respectively at 0.730; Lanshan wild gouqi and other domestic *Lycium* were divided respectively into two groups at 0.825; *Lycium* from Inner Mongolia and Ningxia were grouped roughly, but the GS was very high. It was indicated that the genetic basis of all the tested materials were narrow, and the clustering analysis results of them were consistent with the regional sources of the materials, and the varieties in the same cultivation area were clustered into one category, and the relationship between the cultivars and the region was basically the same.

Keywords: *Lycium*; SSR markers; genetic diversity