

果用石榴品种的 ISSR 遗传多样性分析

马 丽¹, 郝兆祥², 周玉亮¹, 侯乐峰², 罗 华², 尹意芝¹

(1. 枣庄学院 生命科学学院, 山东 枣庄 277160; 2. 枣庄市石榴研究中心, 山东 枣庄 277300)

摘 要:果用石榴果实营养丰富, 具有鲜食和加工价值。以 65 个果用石榴品种为试材, 采用 ISSR 标记分析果用石榴类群品种的亲缘关系和遗传多样性。结果表明:10 条 ISSR 引物对 65 个石榴品种进行 PCR 扩增, 共扩增出 186 个位点, 其中 161 个是多态性位点, 多态性位点比率为 (PPB)86.56%, 等位基因数(Na)为 1.865 6, 有效等位基因数(Ne)为 1.311 9, Nei's 的基因多样性指数(He)为 0.209 2, Shannon 信息指数(I)为 0.338 9, 品种间遗传相似系数(Gs)介于 0.478~0.995, 65 个果用石榴品种的遗传多样性丰富。UPGMA 聚类在 GS 为 0.78 时, 65 个石榴品种分为三大类。聚类结果表明, 果用品种间遗传关系与地理环境、籽粒硬度性状有相关性, 与果皮颜色、果实风味无相关性。

关键词:果用石榴; ISSR; 遗传多样性; 亲缘关系

中图分类号:S 665.403.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)21-0106-05

石榴为小浆果, 果实营养丰富, 含有多种人体所需的营养成分, 同时还具有药用价值, 是一种高档的珍稀水果。随着人民生活水平的不断提高, 石榴作为保健果品的认识也逐步深入, 因此市场上对石榴的需求日益剧增。石榴品种资源丰富, 根据用途石榴可分为果用品种、观赏品种和药用品种, 果用品种又分为加工品种和鲜食品种^[1]。不同果用品种的果实品质差异较大, 优异品种的果实以籽粒大、皮薄、糖分高、色泽鲜艳而深受人们喜爱。但由于石榴资源的长期无性扦插、嫁接繁殖和人为的偏好选择, 使石榴的基因型趋向单一, 导致遗传多样性降低, 品种退化现象严重, 直接影响到果实的产量和品质。为拓宽果用品种的遗传基础, 有效开展远源杂交育种进行种质创新, 很有必要开展果用品种的亲缘关系及遗传多样性研究。

目前, 用 DNA 分子标记研究石榴资源的遗传关系及遗传多样性已有报道^[2-5]。多数研究表明, 从 DNA 水

平研究石榴资源比形态学更准确, 能有效检测品种在基因水平的微小差异^[3-5]。但前人多应用 RAPD 标记, RAPD 标记的稳定性和重复性较差^[4-7]。ISSR 标记是在 SSR 标记基础上发展起来的一种新型标记, 结合了 SSR 和 RAPD 的优点, 克服了 RAPD 标记的缺点, 已广泛用于葡萄、芒果和柑橘等果树的亲缘关系研究^[8-10]。但此技术在果用石榴研究中鲜见报道^[11-12]。该研究用 ISSR 研究果用石榴品种的遗传关系, 评价其遗传多样性, 以期果用品种的基因保存、新品种选育及果实品质改良提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试 65 个石榴品种均种植于山东省枣庄市峄城区中国石榴种质资源圃, 编号及性状见表 1。取每个品种的嫩叶, 液氮速冻后 -70 °C 冰箱保存。

1.2 试验方法

1.2.1 基因组 DNA 的提取与检测 参考马丽等^[13]改良的 CTAB 方法提取石榴基因组 DNA。DNA 的浓度和纯度检测用德国的 IMPLEN P300 超微量紫外分光光度计测定, 用 1.0% (g · mL⁻¹) 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的完整性。DNA 稀释到浓度为 50 ng · μL⁻¹, 保存于 -20 °C 冰箱。

1.2.2 ISSR-PCR 扩增引物 ISSR 随机引物由北京康为世纪生物科技有限公司合成。用筛选的扩增稳定、谱带清晰、多态性好的 10 条 ISSR 引物对供试品种进行遗传多样性分析。引物名称及序列见表 2。

第一作者简介:马丽(1980-), 女, 博士, 副教授, 研究方向为植物分子生物学与基因工程。E-mail: mary1976816@163.com.

责任作者:侯乐峰(1962-), 男, 本科, 研究员, 研究方向为石榴种质资源收集及保存与创新利用。E-mail: houlefeng@126.com.

基金项目:山东省高等学校科技计划资助项目(J14LF02); 国家林业局林木种苗工程资助项目([2012]1888 号); 枣庄学院校级基金预研究资助项目(2015YY01); 国家级大学生创新创业训练计划资助项目(201510904028)。

收稿日期:2016-08-04

表 1

65 个石榴品种的编号及主要性状

Table 1

Codes and major characteristics of 65 cultivars

序号 Code	名称 Name	来源 Origin	花色 Flower color	果皮颜色 Peel color	风味 Flavor	籽粒性状 Seed characteristics
1	“紫粒青皮甜”‘Ziliqingpitian’	山东峰城	红花	青皮	甜	硬籽
2	“峰城多刺”‘Yichengduoci’	山东峰城	红花	青皮	酸	硬籽
3	“大红皮酸”‘Dahongpisuan’	山东峰城	红花	红皮	酸	硬籽
4	“超红”‘Chao hong’	山东峰城	红花	红皮	甜	硬籽
5	“超青”‘Chaoqing’	山东峰城	红花	青皮	甜	硬籽
6	“三白甜”‘Sanbaitian’	山东峰城	白花	白皮	甜	硬籽
7	“白皮马牙甜”‘Baipimayatian’	山东峰城	白花	白皮	甜	硬籽
8	“半口青皮谢花甜”‘Bankouqingpixiehuatian’	山东峰城	红花	青皮	甜	硬籽
9	“小青皮酸”‘Xiaqingpisuan’	山东峰城	红花	青皮	酸	硬籽
10	“小红皮酸”‘Xiaohongpisuan’	山东峰城	红花	红皮	酸	硬籽
11	“红皮马牙甜”‘Hongpimayatian’	山东峰城	红花	红皮	甜	硬籽
12	“超大青皮甜”‘Chadaqingpitian’	山东峰城	红花	青皮	甜	硬籽
13	“红皮大籽”‘Hongpidazi’	山东峰城	红花	红皮	甜	硬籽
14	“峰红 1 号”‘Yihong No. 1’	山东峰城	红花	红皮	甜	硬籽
15	“半口红皮酸”‘Bankouhongpisuan’	山东峰城	红花	红皮	酸甜	硬籽
16	“胭脂红”‘Yanzhihong’	山东峰城	红花	红皮	甜	硬籽
17	“大红皮甜”‘Dahongpitian’	山东峰城	红花	红皮	甜	硬籽
18	“薛城无刺”‘XuechengWuci’	山东薛城	红花	红皮	甜	硬籽
19	“竹叶青”‘Zhu yeqing’	山东峰城	红花	青皮	甜	硬籽
20	“青皮马牙甜”‘Qingpimayatian’	山东峰城	红花	青皮	甜	硬籽
21	“红厚皮”‘Honghoupi’	山东峰城	红花	红皮	甜	硬籽
22	“大粒青皮肉榴”‘Daliqingpigangliu’	山东峰城	红花	青皮	甜	硬籽
23	重瓣红花紫皮酸‘Chongbanhonghuazipisuan’	山东峰城	红花	紫皮	酸	硬籽
24	“青皮谢花甜”‘Qingpixiehuatian’	山东峰城	红花	青皮	甜	硬籽
25	“大青皮酸”‘Daqingpisuan’	山东峰城	红花	青皮	酸	硬籽
26	“冰糖冻”‘Bingtangdong’	山东峰城	红花	青皮	甜	硬籽
27	“秋艳”‘Qiuyan’	山东峰城	红花	青皮	甜	硬籽
28	“半口红皮酸”‘Bankouhongpisuan’	山东峰城	红花	红皮	酸甜	硬籽
29	“泰山红”‘Taishan hong’	山东泰安	红花	红皮	甜	硬籽
30	“大汶口无刺”‘Dawenkouwuci’	山东泰安	红花	红皮	甜	硬籽
31	“蒙阳红(1)”‘Mengyanghong(1)’	山东蒙阴	红花	红皮	甜	硬籽
32	“蒙阳红(2)”‘Mengyanghong(2)’	山东蒙阴	红花	红皮	甜	硬籽
33	“潍坊小红皮”‘Weifangxiaohongpi’	山东潍坊	红花	红皮	甜	硬籽
34	“小红皮”‘Xiaohongpi’	山东苍山	红花	红皮	甜	硬籽
35	“日本软籽”‘Ribon soft-seed’	日本	红花	红皮	甜	软籽
36	“伊朗软籽”‘Yilang soft-seed’	伊朗	红花	红皮	甜	软籽
37	“突尼斯软籽”‘Tunisi soft-seed’	突尼斯	红花	青皮	甜	软籽
38	“以色列软籽”‘Yiselle soft-seed’	以色列	红花	红皮	甜	软籽
39	“红皮软籽”‘Hongpi soft-seed’	淮北	红花	红皮	甜	半软籽
40	“塔山红”‘Tashan hong’	淮北	红花	红皮	甜	半软籽
41	“中农红”‘Zhongnong hong’	河南郑州	红花	红皮	甜	软籽
42	“软籽 5 号”‘Soft-seed No. 5’	淮北	红花	青皮	甜	半软籽
43	“软籽 3 号”‘Soft-seed No. 3’	淮北	红花	红皮	甜	半软籽
44	“软籽 2 号”‘Soft-seed No. 2’	淮北	红花	青皮	甜	半软籽
45	“白玉籽”‘Baiyushizi’	安徽怀远	白花	白皮	甜	半软籽
46	“玛瑙籽”‘Manaozi’	淮北	红花	青皮	甜	硬籽
47	“二白”‘Er bai’	淮北	白花	白皮	甜	硬籽
48	“三白甜”‘Sanbaitian’	淮北	白花	白皮	甜	硬籽
49	“玛瑙籽”‘Manaozi’	安徽怀远	红花	青皮	甜	硬籽
50	“青皮甜 1 号”‘Qingpitian No. 1’	淮北	红花	青皮	甜	硬籽
51	“青皮甜 2 号”‘Qingpitian No. 2’	淮北	红花	青皮	甜	硬籽
52	“青皮甜 3 号”‘Qingpitian No. 3’	淮北	红花	青皮	甜	硬籽
53	“青皮甜 4 号”‘Qingpitian No. 4’	淮北	红花	青皮	甜	硬籽
54	“红皮甜”‘Hongpitian’	淮北	红花	红皮	甜	硬籽
55	“小红皮”‘Xiaohongpi’	淮北	红花	红皮	甜	硬籽
56	“玉石籽”‘Yushizi’	安徽怀远	红花	青皮	甜	硬籽
57	“半口红皮酸”‘Bankouhongpisuan’	淮北	红花	红皮	酸甜	硬籽
58	“大青皮酸”‘Daqingpisuan’	淮北	红花	青皮	酸	硬籽
59	“一串铃”‘Yichuanling’	淮北	红花	青皮	甜	硬籽
60	“大青皮甜”‘Daqingpitian’	安徽怀远	红花	青皮	甜	硬籽
61	“红皮酸”‘Hongpisuan’	淮北	红花	红皮	酸	硬籽
62	“玛瑙”‘Manao’	淮北	白红花边	青皮	甜	硬籽
63	“小青皮酸”‘Xiaqingpisuan’	淮北	红花	青皮	酸	硬籽
64	“小红皮”‘Xiaohongpi’	淮北	红花	红皮	酸甜	硬籽
65	“半口青皮酸”‘Bankouqingpisuan’	安徽肖县	红花	青皮	酸甜	硬籽

表 2 ISSR-PCR 扩增的引物及扩增结果

Table 2 ISSR primers used for ISSR-PCR amplification and their amplification results

引物名称 Primer name	序列 (5' to 3') Sequence (5' to 3')	退火温度 Tm/℃	扩增谱带数 Number of bands	多态性谱带数 Number of polymorphic bands	多态性位点比率 PPB/%
UBC834	(AG) ₈ YT	52	18	15	83.3
UBC811	(GA) ₈ C	50	20	18	90.0
UBC825	(AC) ₈ T	52	22	19	86.3
UBC 816	(CA) ₈ T	50	17	15	88.2
UBC835	(AG) ₈ YC	52	20	17	85.0
UBC827	(AC) ₈ G	50	20	17	85.0
UBC 861	(ACC) ₆	50	18	15	83.3
UBC 880	(GGAGA) ₃	50	16	14	87.5
UBC 840	(GA) ₈ YT	50	20	18	90.0
UBC 835	(AG) ₈ YA	52	15	13	86.6
总计 Total			186	161	—
平均 Average			18.60	16.10	86.56

注:Y=C或T。

1.2.3 ISSR-PCR 反应体系及条件 PCR 反应体系为 25 μ L, 包含 12.5 μ L 的 2 \times *Taq* PCR Master Mix、0.4 pmol $\cdot\mu$ L⁻¹引物、2 ng $\cdot\mu$ L⁻¹ DNA 模板。扩增反应条件为 95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 45 s, 50~52 $^{\circ}$ C 退火 1 min, 72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min, 35 次循环, 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min, 4 $^{\circ}$ C 保存。扩增产物用 5% 非变性 PAGE 电泳, AgNO₃ 染色检测, 利用 Protein Simple(Alphamager HP) 凝胶成像系统观察拍照。

1.3 数据分析

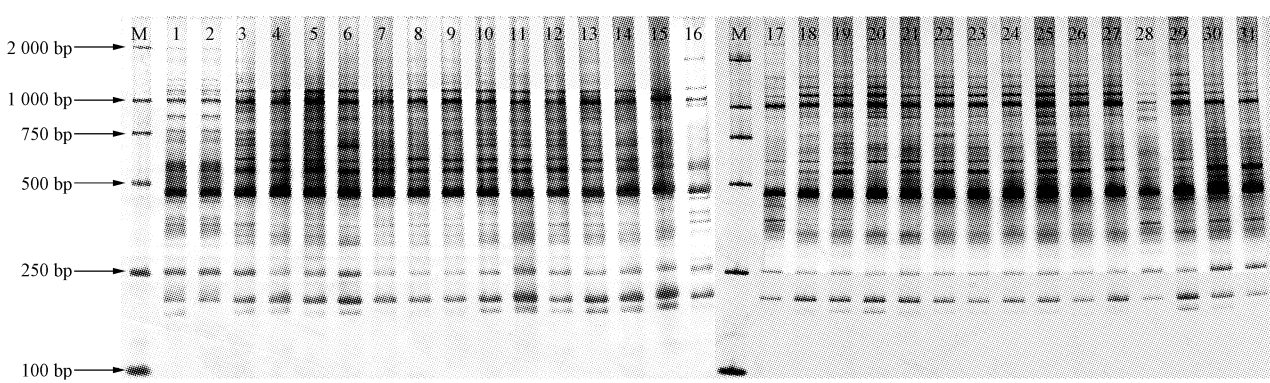
PCR 扩增试验重复 2 次, 数据处理时仅统计扩增清晰、重复出现的条带。在相同迁移率位置有条带记为“1”, 无条带记为“0”。记录 10 条引物扩增产生的电泳谱带, 构建“0,1”原始矩阵。统计 65 个品种中产生的谱带数, 多态性谱带数, 计算引物多态性百分比率(PPB)。利用

POPGENE 1.32 软件, 分别计算 Shannon 信息多样性指数(I)、Nei's 遗传多样性指数(He)、等位基因数(Na)和有效等位基因数(Ne)。利用 NTSYS 2.10 软件计算 65 个品种的遗传相似系数(GS), 在 UPGMA 条件下绘制 65 个品种的遗传关系图。

2 结果与分析

2.1 ISSR-PCR 引物的多态性分析

10 条 ISSR 引物扩增结果见表 2, 扩增电泳图见图 1。10 条引物扩增的片段介于 200~1 500 bp, 扩增谱带数目变化范围在 15~22 个, 平均每条引物扩增出 18.6 条谱带和 16.1 个多态性谱带; 引物多态性位点比率 PPB 变幅为 83.3%~90.0%, 平均 PPB 为 86.56%, 说明所选引物对 65 个品种扩增的多态性较好。



注: M, DL 2 000 DNA Marker; 数字编号与表 1 相同。

Note: M, DL 2 000 DNA Marker; the number is the same as Table 1.

图 1 引物 UBC880 对部分品种的扩增结果

Fig. 1 Amplification results of some pomegranate cultivars using UBC880 primer

2.2 果用品种的遗传多样性分析

65 个品种间遗传相似系数(GS)变化范围为 0.478~0.995, 变幅较大, 说明品种间遗传差异较大。其中 6 号(“三白甜”)与 7 号(“白皮马牙甜”)遗传相似系数为

0.995, 遗传差异极小。36 号(“伊朗软籽”)和 58 号(“大青皮酸”)品种遗传相似系数最小为 0.478, 二者遗传差异最大, 遗传关系最远。遗传多样性参数统计结果表明, 等位基因数(Na)为 1.865 6, 有效等位基因数(Ne)为

1.311 9, Nei's 的基因多样性(He)为 0.209 2, 香农信息指数(I)为 0.338 9, 表明 65 个品种的遗传多样性较丰富。

2.3 果用品种的遗传聚类结果分析

利用 NTSYS 2.10 构建 65 个品种的遗传关系聚类图。由图 2 可知, 在 GS 0.78 处, 65 个品种被分成三大类。第Ⅰ类有 35 个品种。其中 29 个是山东峰城产区品种。此类品种果皮颜色有红皮、青皮、白皮、紫皮等多种, 风味有酸、酸甜、酸等口味, 籽粒硬度较高, 说明聚类结果与果皮、风味性状无相关性, 而与籽粒硬度、地理位

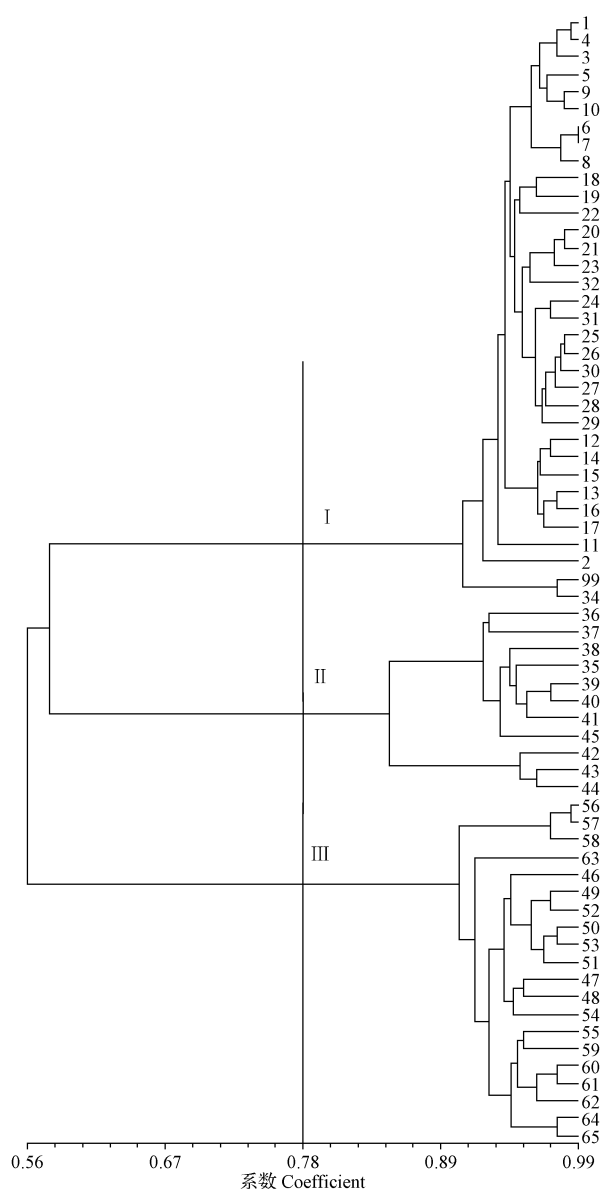
置有一定相关性。第Ⅱ类有 11 个品种。此类品种果皮颜色有红皮、白皮和青皮, 地理来源各异。4 个国外的软籽品种与国内的软籽、半软籽品种聚为一类, 说明籽粒硬度为石榴品种分类的参考依据。第Ⅲ类有 20 个品种, 此类品种均来源于安徽产区, 其中“青皮甜 1 号”“青皮甜 2 号”“青皮甜 3 号”“青皮甜 4 号”4 个品种是淮北选育的系列品种, 遗传背景相近, 亲缘关系较近。此类中果皮颜色有红皮、白皮、青皮, 口味有酸、甜、酸甜, 籽粒硬度较高, 说明遗传聚类与地理环境、籽粒硬度有关。

综上可知, 系统聚类结果显示供试品种的遗传关系与生长习性、地理来源及种子硬度相关, 与果皮颜色、风味特性不相关。三大类中, 类群内的品种遗传距离较近, 类群间遗传距离较远, 在果用石榴育种过程中, 应选择不同类群间的品种作为杂交亲本进行杂交, 以提高杂交效率, 实现品种遗传改良。

3 讨论与结论

石榴是异花授粉植物, 加之地域间频繁引种交换, 使其遗传基础较为复杂, 分子生物学研究总体水平比较落后。随着研究的深入, 分子生物学技术逐渐在石榴种质资源中得到应用, 多种分子标记已逐渐用于石榴遗传多样性的研究^[2-3, 5-6, 11]。NARZARY 等^[11]、赵丽华等^[12]、马丽等^[13-14]研究均已表明, ISSR 标记是检测石榴种质资源遗传多样性的有效技术, 检测的多态性最低为 87.01%, 最高为 95.69%, 证实石榴种质资源存在丰富的遗传多样性。该研究中用 ISSR 单独对果用石榴群体进行分析, 其多态性为 86.56%, Ne 为 1.311 9, He 为 0.209 2, I 为 0.338 9, GS 介于 0.478~0.995, 充分说明 65 个石榴果用品种间也存在丰富的遗传变异, 果用品种群体的遗传多样较高。其原因可能是由于异花授粉、不同地域间品种交换导致果用品种类群与其它类群间存在基因交流, 形成基因型多样的果用品种资源。

前人根据石榴果实的品质、性状和用途, 将石榴分为果用、观赏和药用三大类^[15-16]。石榴品种的名称往往根据果皮颜色、花色、风味或籽粒硬度等命名^[17-18]。从形态学分类来看, 名称相近的品种, 性状相似, 亲缘关系应该较近。该研究中 65 个品种均属于果用品种类群, UPGMA 聚类结果又可分为 3 个亚类。分类结果中种子硬度较高的品种遗传关系较近, 软籽或半软籽品种单独成为一类, 说明种子硬度是评价遗传关系的一个重要指标。此结果与汪小飞等^[18]认为籽粒软硬作为石榴分类的次级标准的结论一致。每一亚类中果皮颜色各异、风味也多样, 说明品种分类与果皮颜色和风味相关性不大。也表明表型性状分类的结果不准确, 此结果与 ZAMANI 等^[4]、马丽等^[14]研究结果一致。因此, 今后果用石榴育种过程中, 不能单纯依靠表型的差异选择亲本, 应结合 ISSR 标记先正确评价品种的遗传关系, 然后



注: 1~65 品种名称与表 1 相同。

Note: Cultivar names of 1-65 are the same as Table 1.

图 2 65 个品种的 UPGMA 亲缘关系聚类分析

Fig. 2 UPGMA clustering analysis of 65 pomegranate cultivars

选择性状优良、遗传关系远的品种作为亲本进行遗传改良。

从聚类结果来看,该研究聚类结果有较强的地域性,山东的品种单独聚为一类,安徽的硬籽品种聚为一类。此结果与 YUAN 等^[19]、马丽等^[14] 研究结果基本一致。安徽的硬籽品种与其它亚类品种的遗传距离较大,这些品种可作为育种资源在果用品种遗传改良中加以应用。该研究中仅分析了果用品种类群间品种的遗传关系,今后可进一步研究比较果用品种类群与药用、观赏品种类群间的遗传关系,为果用品种遗传改良提供更多的优良亲本奠定基础。

参考文献

- [1] 侯乐峰,耿道鹏,苏成. 峰城石榴种质资源研究[J]. 落叶果树, 2006(5):19-21.
- [2] MARYAM M, MEHDI Z, KHANIKI G B. Genetic diversity and population genetic structure of pomegranate (*Punica granatum* L.) in Iran using AFLP markers[J]. Scientia Horticulturae, 2010, 126:441-447.
- [3] SOLEIMANI M H, TALEBI M, SAYED-TABATABAEI B E. Use of SRAP markers to assess genetic diversity and population structure of wild, cultivated, and ornamental pomegranates (*Punica granatum* L.) in different regions of Iran[J]. Plant Systematics and Evolution, 2012, 298:1141-1149.
- [4] ZAMANI Z, ZAREI A, FATAHI R. Characterization of progenies derived from pollination of pomegranate cv. Malase-Tourshe-Saveh using fruit traits and RAPD molecular marker[J]. Scientia Horticulturae, 2010, 124:67-73.
- [5] ZAMANI Z, ADABI M, KADIVI-KHUB A. Comparative analysis of genetic structure and variability in wild and cultivated pomegranates as revealed by morphological variables and molecular markers[J]. Plant Syst Evol, 2013, 299:1967-1980.
- [6] SARKHOSH A, ZAMANI Z, FATAHI R, et al. RAPD markers reveal polymorphism among some Iranian pomegranate (*Punica granatum* L.) genotypes[J]. Scientia Horticulturae, 2006, 111:24-29.
- [7] SARKHOSH A, ZAMANI Z, FATAHI R, et al. Evaluation of genetic diversity among Iranian soft-seed pomegranate accessions by fruit characteristics and RAPD markers[J]. Scientia Horticulturae, 2009, 121:31-319.
- [8] MENEGETTI S, COSTACURTA A, MORREALE G, et al. Study of intra-varietal genetic variability in grapevine cultivars by PCR-derived molecular markers and correlations with the geographic origins[J]. Mol Biotechnol, 2012, 50:72-85.
- [9] SAMAL K C, JENAR C, SWAIN S S, et al. Evaluation of genetic diversity among commercial cultivars, hybrids and local mango (*Mangifera indica* L.) genotypes of India using cumulative RAPD and ISSR markers[J]. Euphytica, 2012, 185:195-213.
- [10] YANG Y, PANY Z, GONG X, et al. Genetic variation in the endangered Rutaceae species *Citrus hongheensis* based on ISSR fingerprinting[J]. Genetic Resources and Crop Evolution, 2010, 57(8):1239-1248.
- [11] NARZARY D, RANAL T S, RANADE S A. Genetic diversity in inter-simple sequence repeat profiles across natural populations of Indian pomegranate (*Punica granatum* L.)[J]. Plant Biology, 2009, 12:806-813.
- [12] 赵丽华, 李名扬, 王先磊, 等. 石榴种质资源遗传多样性及亲缘关系的 ISSR 分析[J]. 果树学报, 2011, 28(1):66-71.
- [13] 马丽, 马耀华, 郝兆祥, 等. 石榴基因组 DNA 的提取及 RAPD 引物筛选[J]. 中国农学通报, 2014, 30(13):142-146.
- [14] 马丽, 侯乐峰, 郝兆祥, 等. 82 个石榴品种遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 果树学报, 2015, 32(5):741-750.
- [15] 汪小飞, 周耘峰, 赵昌恒, 等. 36 个石榴 (*Punica granatum* L.) 品种的品质测定[J]. 热带作物学报, 2010, 31(1):136-140.
- [16] 秦改花, 黄文江, 赵建荣, 等. 石榴果实的糖酸组成及风味特点[J]. 热带作物学报, 2011, 32(11):2148-2151.
- [17] 陆丽娟, 巩雪梅, 朱立武. 石榴品种资源种子硬度性状研究[J]. 安徽农业大学学报, 2006, 33(3):356-359.
- [18] 汪小飞, 周耘峰, 黄埔, 等. 石榴品种数量分类研究[J]. 中国农业科学, 2010, 43(5):1093-1098.
- [19] YUAN Z H, YIN Y L, QU J L, et al. Population genetic diversity in Chinese pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars revealed by fluorescent-AFLP markers[J]. Journal of Genetics and Genomics, 2007, 34(12):1061-1071.

Analysis of Genetic Diversity of Fruit Pomegranate(*Punica granatum* L.) Cultivars by ISSR Markers

MA Li¹, HAO Zhaoxiang², ZHOU Yuliang¹, HOU Lefeng², LUO Hua², YIN Yizhi¹

(1. Department of Life Science, Zaozhuang College, Zaozhuang, Shandong 277160; 2. Pomegranate Research Center, Zaozhuang, Shandong 277300)

Abstract: Fruits of the pomegranate have rich nutrition and can be eaten fresh and processed. The genetic relationships and genetic diversity of 65 fruit cultivars of the pomegranate were analyzed by ISSR markers. A total of 186 bands were amplified from 10 ISSR primers, of which 161 were polymorphic loci. The main indexes were PPB 86.56%, Na 1.865 6, Ne 1.311 9, He 0.209 2, I 0.338 9. The genetic similarities coefficient between cultivars ranged from 0.478 to 0.995. 65 pomegranate cultivars had abundant genetic diversity. 65 pomegranate cultivars were divided into 3 groups at GS 0.78 based on UPGMA method. The results of UPGMA cluster were relevant to geographical origin and seed hardness. The cluster results were not relevant to the peel color and flavor.

Keywords: pomegranates; inter-simple sequence repeat (ISSR); genetic diversity; genetic relationship