

王惠君,王文泉,和丽岗,等. 橡胶树 SSR-SRAP-AFLP 标记遗传图谱构建[J]. 江苏农业科学,2015,43(7):41-46.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.07.012

# 橡胶树 SSR-SRAP-AFLP 标记遗传图谱构建

王惠君<sup>1</sup>,王文泉<sup>2</sup>,和丽岗<sup>3</sup>,贺军军<sup>4</sup>

(1 琼州学院,海南三亚 572022; 2. 中国热带农业科学院热带生物技术研究所,海南海口 571101;  
3. 云南省热带作物科学研究所,云南景洪 666100; 4. 中国热带农业科学院湛江实验站,广东湛江 524013)

**摘要:**利用橡胶树 GT1 与 IAN873 杂交组合 183 株实生苗的 F<sub>1</sub> 代群体作为构图群体,利用 SSR、SRAP、AFLP 等 3 种分子标记对该群体进行遗传连锁分析,构建 1 张包括 18 个连锁群、372 个标记位点的橡胶树分子遗传连锁图(LOD≥3),其中包括 19 个 SSR 标记、73 个 SRAP 标记、280 个 AFLP 标记,连锁图谱的总图距覆盖 1 735.9 cM,所有标记间的平均图距为 5.22 cM。在此连锁图谱上的标记区间为[8,46],所有连锁群长度区间为[55.3 cM,134.7 cM]。LG<sub>9</sub> 连锁群包含标记最少为 8 个;LG1 连锁群包含标记最多为 46 个;LG<sub>1</sub> 的平均图距最小为 2.80 cM;LG17 的平均图距最大为 7.92 cM。总图谱中存在图距大于 20 cM 的空隙为 5 个。

**关键词:**橡胶树;分子标记;遗传连锁图谱

**中图分类号:**S794.101 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2015)07-0041-05

橡胶树(*Hevea brasiliensis*)属大戟科橡胶树属植物<sup>[1]</sup>,原产于南美洲亚马逊河流域。具有高弹性及耐高温等特性的天然橡胶是合成橡胶不可替代的材料,也是重要的战略物资、工业原料。虽然分子标记技术在橡胶树研究方面已取得了一定进展,但关于橡胶树分子生物学研究还很欠缺。Lespinasse 等以橡胶树杂交组合(PB260×RO38 106) F<sub>1</sub> 代群体为材料,构建了第 1 张总图距为 2 144 cM 及标记间平均图距为 3 cM 的橡胶树遗传图谱,包含 18 个连锁群,由 301 个 RFLP 标记、388 个 AFLP 标记、18 个 SSR 标记、10 个同工酶标记组成<sup>[2]</sup>。和丽岗利用杂交组合(IAN873×GT1)的 195 个 F<sub>1</sub> 代群体构建了总图距为 1 455.57 cM 及标记间平均距离为 5.58 cM 的 AFLP 连锁遗传图,包含 18 个连锁群,由 261 个 AFLP 标记组成<sup>[3]</sup>。冯素萍等以杂交组合(IAN873×热研 88-13)的 94 个 F<sub>1</sub> 代群体构建了总图距为 1 937.06 cM 及标记间平均距离 21.29 cM 的连锁群,包含 18 个连锁群,由 91 个 SSR 标记组成<sup>[4]</sup>。王惠君利用杂交组合(IAN873×GT1)的 F<sub>1</sub> 代群体构建了总图距为 774 cM 及标记间平均距离为 11.38 cM 的连锁遗传图,该图包括 18 个连锁群,由 7 个 SSR 标记、61 个 SRAP 标记组成<sup>[5]</sup>。Triwitayakorn 等用 EST-SSR 分子标记构建了总图距为 842.9 cM 且包含 23 个连锁群的橡胶树连锁遗传图<sup>[6]</sup>。以上遗传图谱为进一步分析橡胶树重要性状的 QTL 定位及分子标记辅助选择育种奠定了基础。本试验应用

SSR、SRAP、AFLP 等 3 种分子标记技术对橡胶树杂交组合(IAN873×GT1)的 195 株实生苗的 F<sub>1</sub> 代群体构建高密度的橡胶遗传连锁图谱,旨在为开发利用橡胶树资源提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 作图群体的构建

GT1:天然橡胶生产国主要栽培品种的魏克汉种质,具有抗寒、中产、抗旱特点。IAN873:抗南美叶疫病无性系品种的非魏克汉种质,抗寒但不抗风,生长量、产量比 GT1 高。以云南省热带作物研究所提供的利用非近交亲本橡胶树杂交组合(IAN873×GT1)得到的 183 个 F<sub>1</sub> 代群体作为构图群体。

### 1.2 基因组 DNA 的提取

以橡胶树嫩叶片作为材料,选用改良 CTAB 法<sup>[7]</sup>提取橡胶树基因组 DNA。改良提取缓冲液的组成为:Tris/HCl(pH 值 8.0)100 mmol/L,EDTA(pH 值 8.0)60 mmol/L,NaCl 1.4 mol/L,CTAB 2%。用琼脂糖凝胶 1.5% 电泳分析检测提取的 DNA;用紫外分光光度计法检测其浓度、纯度。

### 1.3 SSR 分析

参照网站公布的信息进行 SSR 引物的合成。SSR 扩增反应参照冯素萍等的方法<sup>[4]</sup>,采用 25 μL 体系并且在 ABI-PCR 仪上进行 PCR 扩增反应,扩增反应程序为:94 ℃ 预变性 5 min;94 ℃ 变性 1 min,60 ℃ 复性 30 s,72 ℃ 延伸 1 min,34 个循环;72 ℃ 延伸 10 min,4 ℃ 保存。

### 1.4 SRAP 分析

设计 SRAP 引物序列<sup>[8]</sup>,所用引物由上海生物工程技术有限公司提供,其中 F-primer 合成 32 条,R-primer 合成 21 条。依据薛丹丹等报道<sup>[9]</sup>,设定的原初 20 μL 反应体系优化后为 DNA 模板 50 ng,10×PCR buffer(Mg<sup>2+</sup>)2.0 μL,dNTPs(20 mmol/L)0.4 μL,F-primer(50 ng/μL)0.6 μL,R-primer(50 ng/μL)0.6 μL,Taq(5 U/μL)0.4 μL,ddH<sub>2</sub>O 15.0 μL。参照 Li 等的 PCR 扩增反应程序:94 ℃ 5 min;94 ℃ 45 s,35 ℃ 45 s,72 ℃ 1 min,5 个循环;随后将退火温度

收稿日期:2015-01-04

基金项目:国家自然科学基金(编号:31261140363、31000537、31171230);中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(编号:ITBBZX0843);国家重点基础研究发展计划(编号:2010CB126601)。

作者简介:王惠君(1981—),男,山西原平人,硕士,助理研究员,从事生物多样性研究。E-mail:382494058@qq.com。

通信作者:王文泉,博士,研究员,博士生导师,从事热带生物资源、热带经济作物结构基因组学与分子育种及热带珍稀濒危野生植物的保护生物学研究。E-mail:wquanw@hainan.net。

升至 51 ℃,34 个循环;72 ℃ 延伸 9 min,4 ℃ 下保存。使用琼脂糖凝胶 1.0% 电泳对此 PCR 扩增反应产物进行检测。

1.5 AFLP 分析

参照王惠君等的方法<sup>[10]</sup>,限制性内切酶采用经典的 *EcoR* I、*Mse* I 组合。酶切程序和 DNA 片段与接头的连接同时进行。每个 DNA 样品酶切连接反应,反应体系 20 μL: DNA 500 ng, *T<sub>4</sub>* 连接酶缓冲液 2 μL, ATP 1.25 μL, *Mse* I、*EcoR* I 接头分别 1 μL, *EcoR* I 和 *Mse* I 0.3 μL, *T<sub>4</sub>* 连接酶 0.6 μL;设定的反应程序为 37 ℃ 380 min、16 ℃ 380 min。酶切链接的产物稀释后才可以使使用,选择浓度稀释到原液的 1/3 进行预扩增反应。预扩增体系 20 μL:取酶切连接稀释后 DNA 产物 5 μL,缓冲液 2 μL, *Mse* I 引物 (M00) 和 *EcoR* I 引物 (E00) 各 0.6 μL (其中 Primer E00:5′ - GACTGCGTAC-CAATT CA -3′、Primer M00:5′ - GATGAGTCCTGAG TAAC -3′) dNTPs 0.4 μL, *Taq* 酶 0.12 μL。参数设置为:94 ℃ 3 min;94 ℃ 30 s,56 ℃ 40 s,72 ℃ 80 s,31 个循环;最后 72 ℃ 5 min。预扩增引物后再增加 2 个碱基作为选择性扩增引物,进入选择性扩增阶段,用 8 对 *EcoR* I、*Mse* I 引物进行组合,即 64 个引物组合。参数设置为:94 ℃ 3 min;94 ℃ 30 s,65 ℃ 40 s (-1 ℃/循环),72 ℃ 80 s,12 个循环 (梯度 PCR);94 ℃ 30 s,56 ℃ 30 s,72 ℃ 75 s,22 个循环;最后 72 ℃ 5 min。扩增反应均在 BIOMITRA - T1 热循环仪上进行。

1.6 数据转换及作图软件应用

记录的分离谱带是由作图的 *F<sub>1</sub>* 群体亲本谱带所决定的,SRAP 标记、大多数的 AFLP 标记属于显性标记,母本、父本有的谱带记录为 1,无谱带记录为 0;SSR 标记和少数的 AFLP 标记属于共显性标记,记录谱带时只要与父本谱带一致的记录为 A,与母本谱带一致的记录为 B,如果是杂合的记录为 H;此外不管显性标记还是共显性标记,只要谱带缺失或者模糊

的均记为“-”;估计多态性谱带的分子量大小是依据与标准分子量 DI2 000 标准带型的相对位置。对于一些引物,假如 1 对引物同时可以检测到几个位点,依据扩增出分子量大小排序,按从大到小的原则标记。在其所用引物后加“-1、-2、-3”和“-a、-b、-c”符号进行区别标记。作图之前,按照 JoinMap3.0 要求的数据格式将 A、B、H 或者 0、1 转换成原始矩阵所要求的数据格式 a、c;不同水平偏分离的标记在其后面用“\*”表示;输入所需数据后,用 LOD groupings 进行计算并获得连锁群,输出遗传连锁图谱<sup>[11-12]</sup>。

2 结果与分析

2.1 筛选引物及多态性标记

利用 SSR、SRAP、AFLP 等 3 种分子标记技术对橡胶树进行遗传图谱构建。选择来自 NCBI 的 30 对 SSR 引物分别进行多态性筛选,对 2 个亲本进行筛选,其中有 13 对引物多态性丰富且谱带稳定。从 13 对引物中扩增出 37 条带,其中 35 条为多态性带,多态性比率高达 94.59%。在显著水平 (5%) 上共发现 18 个标记表现为偏分离,比率达 51.43%。对 96 对引物组合双亲进行 SRAP 筛选分析,从中筛选出 20 个扩增比较好且存在明显多态性引物的组合,共获得 166 条带,经过分析,其中有 113 条为多态性谱带,多态性比率为 68.07%,SRAP 多态性、重复性较好。在显著水平 (5%) 上发现共有 51 个标记表现为偏分离,频率达 45.13%。用 64 对 AFLP 组合引物双亲本进行筛选分析,从中筛选出具有明显多态性的标记 13 对。总共获得 675 个多态性位点,对这些遗传位点的标记分离比进行统计分析,剔除不用于作图的异常分离标 165 个,在显著水平 (5%) 上发现 198 个标记表现为偏分离。其中符合作图要求的以 3:1 分离模式比例的标记共有 162 个,符合 1:1 分离模式比例的标记共有 150 个 (表 1)。

表 1 构建遗传图谱的分子标记

分子标记	总带数 (条)	多态性带数 (条)	多态性带比率 (%)	偏分离标记数 (个)	偏分离标记频率 (%)	连锁标记数 (个)	连锁标记比率 (%)	未连锁标记数 (个)	未连锁标记比率 (%)
SSR	37	35	94.59	18	51.43	19	54.28	16	45.71
SRAP	166	113	68.07	51	45.13	73	64.60	40	35.40
AFLP	1 606	675	42.03	198	29.33	280	41.48	230	34.07
总计	1 809	823	45.49	267	32.44	372	45.20	286	34.75

2.2 分子标记分离分析及遗传图谱的构建

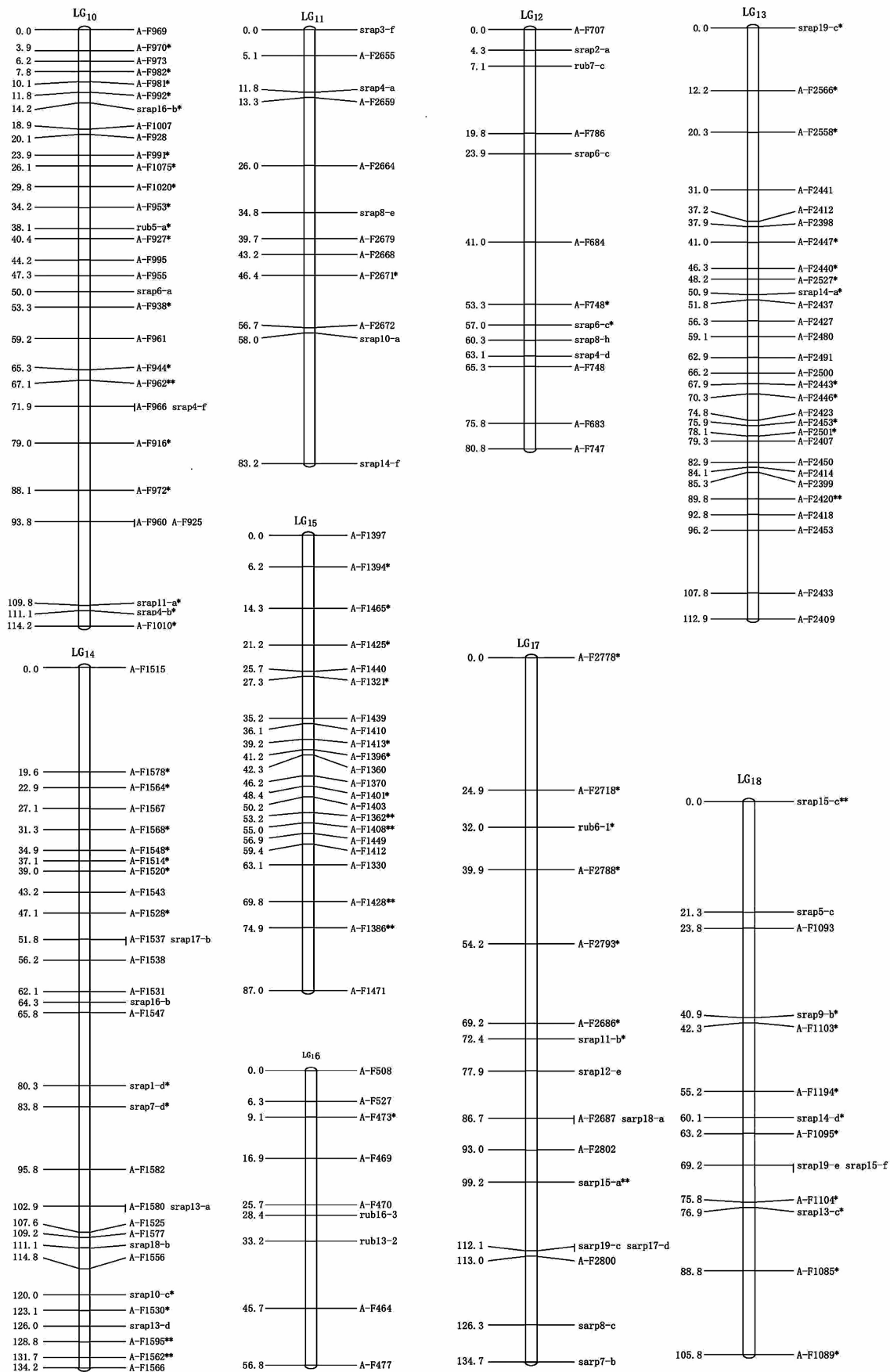
利用 JoinMap3.0 对 823 个多态性标记进行遗传连锁分析作图,在 LOD≥3 条件下获得包含 372 个标记 (其中 SSR 标记 19 个,SRAP 标记 73 个,AFLP 标记 280 个)、18 个连锁群的橡胶树遗传图谱 (图 1),连锁群数目与橡胶树 18 对染色体数目相一致。其中 SSR、SRAP 及 AFLP 标记的比例分别为 5.1%、19.3%、75.3%。获得最终的遗传连锁图谱覆盖总长度为 1 735.9 cM,标记间的平均图距为 5.22 cM。连锁群上的标记数区间范围为 [4,46],连锁群的长度区间范围为 [55.3 cM,134.7 cM],群内平均图距区间 [1.27 cM,17.02 cM] (表 2)。用于连锁分析的 823 个标记当中,首先剔除掉异常分离标 165 个 AFLP 标记,其中 286 个标记未构建入连锁群,占 34.75%,286 个标记中包括 230 个 AFLP 标记、40 个 SRAP 标记、16 个 SSR 标记。构建的 18 个连锁群中,LG<sub>9</sub> 包含标记数最少,为 8 个;LG<sub>1</sub> 包含的标记数最多,达 46 个。整个遗传连

锁图谱最小图距为 0.5 cM,在 LG<sub>1</sub> 上,最大图距为 25.2 cM,在 LG<sub>11</sub> 上;平均图距最小为 2.80 cM,分布在 LG<sub>1</sub> 上;平均图距最大为 7.92 cM,分布在 LG<sub>17</sub> 上;遗传图谱包含 5 个空隙 (≥20 cM),LG<sub>11</sub> 上 2 个,LG<sub>15</sub>、LG<sub>17</sub>、LG<sub>18</sub> 各 1 个。

2.3 偏分离分析

构建的橡胶树遗传连锁图上包含 372 个标记位点,其中 5% 水平上包含 47 个标记位点不能满足孟德尔分离比,其偏分离水平表现显著的标记占总标记的 12.63%;在 1% 水平上包含 119 个标记位点不能满足孟德尔分离比,其偏分离水平表现极显著的标记占总标记的 32.00%。连锁群上偏分离标记占总标记的 44.62%。从偏分离位点的分布来看,每个连锁群上均有分布。其中 LG<sub>1</sub> 上偏分离标记个数最多为 23 个,占 LG<sub>1</sub> 总标记数的 50.00%;LG<sub>11</sub>、LG<sub>16</sub> 上的偏分离标记个数最少,都为 1 个,分别占 LG<sub>11</sub>、LG<sub>16</sub> 的 8.33%、11.11%,同时 LG<sub>16</sub> 上的偏分离标记在所有连锁群中所占比例也是最少的;LG<sub>9</sub> 上的偏





续图1

表 2 标记在遗传连锁图谱上的分布

连锁群	长度 (cM)	标记数 (个)	平均 图距 (cM)	最小 空隙 (cM)	最大 空隙 (cM)	偏分离 标记数 ( $\chi^2_{0.5,1}$ )	LOD 值
LG <sub>1</sub>	128.6	46	2.80	0.5	16.4	23	8
LG <sub>2</sub>	83.4	14	5.96	1.8	12.5	6	7
LG <sub>3</sub>	83.4	28	2.98	0.6	9.7	13	6
LG <sub>4</sub>	129.1	22	5.87	1.5	17.9	11	6
LG <sub>5</sub>	112.1	26	4.31	1.4	17.9	12	6
LG <sub>6</sub>	73.3	12	6.11	1.1	16.4	5	5
LG <sub>7</sub>	104.9	21	5.00	0.9	15.8	9	5
LG <sub>8</sub>	56.2	17	3.31	0.9	11.8	4	7
LG <sub>9</sub>	55.3	8	6.91	1.3	17.7	6	6
LG <sub>10</sub>	114.2	31	3.68	1.2	16	19	6
LG <sub>11</sub>	83.2	12	6.93	1.3	25.2	1	3
LG <sub>12</sub>	80.8	13	6.22	2.2	17.1	2	4
LG <sub>13</sub>	112.9	29	3.89	0.8	11.6	12	5
LG <sub>14</sub>	134.2	31	4.33	1.5	19.6	13	4
LG <sub>15</sub>	87.0	22	3.95	1.1	22.1	12	4
LG <sub>16</sub>	56.8	9	6.31	2.7	12.5	1	4
LG <sub>17</sub>	134.7	17	7.92	0.9	24.9	7	4
LG <sub>18</sub>	105.8	14	7.56	1.1	21.3	10	4
平均	96.4	20.7	5.22			9.2	
总计	1 735.9	372				166	

性好。开发的 SRAP 引物中包含 CCGG、AATT 的核心序列,保证扩增反应是针对基因组的开放阅读框区域。此种特殊性增强了扩增反应结果与表型的相关性,同时可以更多地揭示所选材料表型差异性。因此,适用于较高密度遗传图谱的构建。

3.2 作图群体及图谱构建分析

橡胶树为大戟科橡胶树属植物,属于高度杂合的高大乔木,异花授粉,世代周期较长,基因组庞大,遗传背景相关材料较少,因而很难得到像其他农作物一样的重组近交系作为遗传作图,这给橡胶树遗传图谱构建带来一定困难。大部分林木具有无性繁殖特性,这个特点对保存作图群体较为有利,作图群体建立后就可以永久性保存,同时还可以反复测定性状。以大多数林木的重要经济性性状作为数量性状,凭借这一特性进行 QTL(数量性状位点)定位分析较为容易,从而可以建立或选择 1 个较为理想的分离群体作为构建遗传图谱的首要条件。目前林木遗传作图群体较为常用的方法主要有半同胞作图群体、全同胞交配群体、单倍体作图群体(针叶树)、F<sub>1</sub> 作图群体、F<sub>2</sub> 群体、回交 1 代(BC<sub>1</sub>)群体、回 2 代群体(BC<sub>2</sub>)。依据双假测交理论<sup>[12-14]</sup>,即一方亲本的大部分杂合位点在另一方亲本呈显纯隐性或为杂合位点时,这些位点在 F<sub>1</sub> 代群体中发生分离。亲本材料遗传差异越大,多态性也就越高,越有利于丰富图谱信息量。因此,本研究以橡胶树质量性状相差较大的 IAN873×GT1 的 F<sub>1</sub> 代 183 株实生苗群体作为构建橡胶树遗传图谱材料。

在分子生物学领域,大多数学者认为,作为 1 个染色体连锁框架图最低要求为所用标记间的平均距离不能大于 20 cM。用于进行主效基因定位作为试验目的构建的连锁框架图谱的平均距离范围一般区间为[10 cM,20 cM],遇到特殊情况时平均距离要求更小。如以基因克隆作为试验目的

最低要求为所克隆基因的目标区域标记间的平均图距区间为[0 cM,1 cM]。如用于 QTL 定位分析作为试验目的的最低要求为平均距离范围区间为[0 cM,10 cM]。本试验所构建的橡胶树遗传连锁框架图谱除了有 5 个大于 20 cM 的空隙外,该图的图距和平均图距区间范围分别为[0.5 cM,19.6 cM]和[2.80 cM,7.92 cM],符合农艺性状 QTL 分析和主效基因定位的最低要求。因此,本试验可作为橡胶树农艺性状 QTL 分析的基础。

3.3 偏分离分析

生物学界普遍认为,分离现象也是生物进化的推动因素之一<sup>[13]</sup>,导致偏分离的原因很多。目前主要原因有:遗传搭车效应<sup>[14-15]</sup>,即在母本体内存在使雄配子体失活的相关基因,此类基因位点转录出来的酶或 RNA 等影响配子体的存活力、竞争力,从而调控配子体选择。染色体丢失,即当物种杂交时染色体片段可能发生丢失,在同一连锁群上所用的标记发生偏离<sup>[16]</sup>。花粉选择的结果,即在合子形成前柱头与花粉之间的相互作用抑制了部分基因漂流,当合子形成后会引起败育,很有可能是由于结构上存在差异或同源染色体遗传,或者是自交引起的不亲和性导致的主要隔离机制<sup>[17-21]</sup>。数据统计时因各种原因如试验环境、操作程序、试剂、仪器等也会引起误差,导致谱带清晰度差异,不同个体间谱带缺失、谱带辨认模糊以及操作人员的误判等也可能会导致偏分离。本试验中,1% 水平上偏分离的标记率为 32.00%,5% 水平上比率为 12.63%,未表现出有较为明显偏向亲本某一方趋势的。偏分离标记个数分布最多的在 LG<sub>1</sub> 上为 23 个,偏分离标记所占比例大于 0.6 在 LG<sub>9</sub>、LG<sub>10</sub>、LG<sub>18</sub> 上,说明在以上连锁群当中分布影响偏分离的遗传因子区域可能较为广泛存在。

参考文献:

[1]王惠君,王文泉,杨子贤,等. 橡胶综述[J]. 安徽农业科学, 2006,34(13):3049-3052.

[2]Lespinasse D,Rodier G M,Grivet L,et al. A saturated genetic linkage map of rubber tree(*Hevea* spp.) based on RFLP,AFLP microsatellite and isozyme markers[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2000,100(1):127-138.

[3]和丽岗. 橡胶树分子遗传图谱的构建及相关性状的初步定位[D]. 海口:华南热带农业大学,2007.

[4]冯素萍,李维国,于飞,等. 巴西橡胶树 SSR 遗传图谱的构建[J]. 遗传,2010,32(8):857-863.

[5]王惠君. 橡胶树初级分子遗传图谱的构建[D]. 海口:华南热带农业大学,2007.

[6]Triwitayakorn K,Chatkulkawin P,Kanjanawattanawong S,et al. Transcriptome sequencing of *Hevea brasiliensis* for development of microsatellite markers and construction of a genetic linkage map[J]. DNA Research,2011,18(6):471-482.

[7]王惠君. 橡胶树 AFLP 银染体系建立前期的准备[J]. 北京农业, 2012(6):175-176.

[8]Li G, Quiros C F. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction; its application to mapping and gene tagging in *Brassica*[J]. Theor Appl Genet,2001,103:455-461.

[9]薛丹丹,郑铁琦,王志勇,等. 结缕草属植物 SRAP-PCR 体系的建立和优化[J]. 草业学报,2008,17(6):93-101.

蒋向辉,刘良科,余朝文. 葛属 11 份种质基于核 rDNA ITS 序列的亲缘关系分析[J]. 江苏农业科学,2015,43(7):46-49.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.07.013

# 葛属 11 份种质基于核 rDNA ITS 序列的亲缘关系分析

蒋向辉<sup>1</sup>, 刘良科<sup>2</sup>, 余朝文<sup>2</sup>

(1. 凯里学院化学与材料工程学院, 贵州凯里 556011; 2. 怀化学院生命科学系, 湖南怀化 418008)

**摘要:**在对葛属 11 份种质核 rDNA ITS 序列克隆测序的基础上,用 MEGA 6.0 软件对 11 份种质及其近缘种进行聚类分析。结果表明,葛属 11 份种质的 ITS 序列在长度和 G + C 含量上相差较大,长度变化在 669 ~ 765 bp 之间,最大相差 96 bp, G + C 含量在 52.98% ~ 59.89%,最大相差 6.91%;藤县粉葛(*Tengxian Pueraria thomsonii*)、常德粉葛(*Changde Pueraria thomsonii*)、武隆苦葛(*Wulong Pueraria peduncularis*)这 3 个种的 ITS 序列特点相近, G + C 含量都在 53.74% 左右,长度小于 700 bp,在发育树上聚为 1 类,种质亲缘关系很近;合川粉葛(*Hechuan Pueraria thomsonii*)和蒙自粉葛(*Mengzi Pueraria thomsonii*) ITS 序列相似性较高, G + C 含量与序列长度都相差不大,在发育树上聚为 1 类;通道山葛(*Tongdao Pueraria montana*)聚为 1 类,与其他物种存在较远的距离;德兴宋氏超级粉葛(*Dexing Soong Super Pueraria thomsonii*)与常宁野葛(*Changning Pueraria lobata*) ITS 序列和 G + C 含量一样,在发育树上聚为 1 类,但与会同山葛(*Huitong Shange*)、大卫粉葛(*Dawei Pueraria thomsonii*)处于不同的分支上,亲缘关系相对较远。

**关键词:**葛属; ITS 序列; 亲缘关系; 聚类分析

**中图分类号:** S567.902.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)07-0046-04

葛(*Pueraria lobata*)别称葛藤、葛麻叶,系豆科蝶形花亚科(*Phaseoleae*)葛属植物,最先产于中国和日本的琉球地区<sup>[1]</sup>,中国最早关于葛的记载是在《诗经》和《神农本草经》上。世界上葛有 20 个种,我国有 12 个种,其中常被作为药用的有 8 个种,我国除新疆维吾尔自治区、西藏壮族自治区和青海回族自治区 3 个省份外,其他省份都有葛分布的相关报道,

产量高和资源比较丰富的种类有野葛与粉葛<sup>[2]</sup>。葛茎是我国南方一些省(区)的一种常食蔬菜,葛根含异黄酮成分葛根素、葛根素木糖苷、大豆黄酮、大豆黄酮苷及  $\beta$ -谷甾醇、花生酸,又含多量淀粉,有解表退热、生津止渴、止泻的功能,能改善高血压、糖尿病病人的项强、头晕、头痛等症状<sup>[3]</sup>。葛根毒性低、药源广、价格低,因此,加强对葛根的新药和保健品开发具有良好的前景。

根据 2010 版《药典》规定,野葛和粉葛都可以作为葛的正品使用,但它们是同科不同属的 2 种植物,有效成分含量差异较大,在开发利用中对其来源的均一性难以保证,因此,采用合适的标记对葛种质资源进行亲缘关系分析具有重要的意义。葛属不同种之间形态差异较小,根据形态学来判定葛属

收稿日期:2014-07-31

基金项目:贵州省材料物理与化学特色重点学科建设基金(编号:黔教高发[2011]208);贵州省特色重点实验室建设基金(编号:黔财教[2012]225)。

作者简介:蒋向辉(1974—),男,湖南安化人,博士,副教授,主要从事药用植物成分研究。E-mail: jxf789@163.com。

[10]王惠君,和丽岗,夏志强,等. 橡胶树 AFLP 银染体系的建立和优化[J]. 生物技术通讯,2007,18(4):631-634.

[11]Hemmat M, Weeden N F, Manganaris A G, et al. Molecular marker linkage map for apple[J]. The Journal of Heredity, 1994, 85(1):4-11.

[12]Testolin R, Huang W G, Lain O, et al. A kiwifruit (*Actinidia* spp.) linkage map based on microsatellites and integrated with AFLP markers[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2001, 103(1):30-36.

[13]Porceddu A, Albertini E, Barcaccia G, et al. Linkage mapping in apomictic and sexual Kentucky bluegrass (*Poa pratensis* L.) genotypes using a two way pseudo-testcross strategy based on AFLP and SAMPL markers[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2002, 104(2/3):273-280.

[14]Foisset N, Delourme R, Barret P, et al. Molecular-mapping analysis in *Brassica napus* using isozyme, RAPD and RFLP markers on a doubled-haploid progeny[J]. Theoretical and Applied Genetics, 93(7):1017-1025.

[15]Xu S J, Singh R J, Hymowitz T. Establishment of a cytogenetic map soybean: progress and prospective[J]. Soybean Genet Newslett,

1997, 24:121-122.

[16]Kinishita T. Report of the committee on gene mbolization, nomenclature and linkage group[J]. Rice Genet Newslett, 1991, 8:2-37.

[17]Lagercrantz U, Lydiate D J. RFLP mapping in *Brassica nigra* indicates differing recombination rates in male and female meioses[J]. Genome, 1995, 38(2):255-264.

[18]Zhao B, Deng Q M, Zhang Q J, et al. Analysis of segregation distortion of molecular markers in F<sub>2</sub> population of rice[J]. Acta Genet Sin, 2006, 33(5):449-457.

[19]Tzeng T H, Lyngholm L K, Ford C F, et al. A restriction fragment length polymorphism map and electrophoretic karyotype of the fungal maize pathogen *Cochliobolus heterostrophus*[J]. Genetics, 1992, 130(1):81-96.

[20]尚伟,周元昌. 利用 ILP 标记构建水稻连锁图谱[J]. 三农农业科技, 2007(3):11-16.

[21]Marra R E, Huang J C, Fung E, et al. A genetic linkage map of *Cryptococcus neoformans* variety *neoformans* serotype D (*Filobasidiella neoformans*)[J]. Genetics, 2004, 167(2):619-631.