

徐 君,尹江海,李 欣,等. 基于 SSR 标记的野生荷花遗传多样性分析及指纹编码构建[J]. 江苏农业科学,2020,48(19):35-40.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.19.007

基于 SSR 标记的野生荷花遗传多样性分析及指纹编码构建

徐 君¹,尹江海²,李 欣³,李 军¹,靖 晶¹,王 欢¹,姜红卫¹

(1. 苏州市农业科学院,江苏苏州 215000; 2. 苏州市农业职业技术学院,江苏苏州 215000; 3. 苏州市湿地保护管理站,江苏苏州 215000)

摘要:为进一步了解野生荷花资源的遗传特征,明确荷花育种亲本的遗传背景,以苏州市农业科学院荷花种质资源圃收集的 15 个野生荷花资源为材料,选择 17 对引物,包括 15 对 SSR 引物和 2 对 cpSSR 引物进行扩增,将扩增获得的结果用于构建野生荷花 DNA 指纹图谱,并开展遗传多样性分析。结果显示,15 对 SSR 引物在 15 个野生荷花中共扩增位点 72 个,平均每对引物 4.8 个,其中多态性位点有 72 个,PPL 为 100%,PIC 介于 0.371~0.834 之间;2 对 cpSSR 引物共检测到 9 个单倍型位点,平均每对引物 4.5 个,其中多态性位点有 8 个,PPL 为 88.9%。野生荷花材料间遗传相似系数介于 0.530 9~0.925 9 之间,平均值为 0.676 2,采用 UPGMA 聚类,以系数 0.669 6 为依据,可将供试的 15 个野生荷花分为 3 组。

关键词:野生荷花;SSR;指纹编码;UPGMA 聚类;遗传多样性分析

中图分类号:S682.320.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2020)19-0035-05

荷花(*Nelumbo nucifera* Gaertn.)是睡莲科(Nymphaeaceae)莲属(*Nelumbo* Adans.)多年生水生草本花卉,现存莲属植物有 2 个种,分别为亚洲莲和美洲黄莲。我国是亚洲莲的原产地之一,北至黑龙江省富锦市,南至海南岛,东至上海、台湾等地区,西至新疆天山地区,都有荷花的分布^[1]。由于荷花具有较高的观赏、经济、文化和生态价值^[2],一直深受育种专家和消费者的喜爱。从 20 世纪 80 年代开始,我国的育种专家通过引进美洲黄莲,并与亚洲莲杂交,结合辐照等育种手段,创制了大量的荷花新品种^[3]。而分布于各地原生境的野生荷花蕴藏着丰富的优质性状,是极好的荷花育种亲本材料。因此搜集野生荷花资源,并对资源进行鉴定和分类,对于进一步利用好野生荷花资源服务于荷花育种工作有着重要的现实意义。

野生荷花一般为原始的单瓣品种,仅仅通过形态学很难完全区分,且形态学鉴定具花费周期较长、结果易受人为因素干扰等缺点^[4]。相对于形态

学鉴定,分子标记鉴定是一种快速、简便、经济的方法。目前,扩增片段长度多态性(AFLP)^[5]、随机扩增多态性 DNA 标记(RAPD)^[6]、简单重复序列间扩增(ISSR)^[7]等分子标记都有被应用于荷花亲缘关系分析的报道。此外,薛建华等采用开发的简单重复序列(SSR)标记,建立了荷花品种 DNA 指纹图谱构建方法^[8]。虽然分子标记在荷花资源分类中已有较多应用,但现有报道多见于栽培品种,对野生荷花的系统研究几乎没有。本研究拟采用文献报道多态性较好的 SSR 引物,对供试的 15 个野生荷花进行 SSR 扩增,利用扩增位点信息构建指纹编码,并对这些材料进行非加权组平均法(UPGMA)聚类分析,旨在能够从分子水平对野生荷花材料进行分类和鉴定,为野生荷花亲缘关系研究及分子标记辅助育种提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试的 15 个野生荷花材料(表 1)采集于各地原生境,保存于苏州市农业科学院荷花资源保存圃,采用盆栽方式栽培保存。于 2018 年清明节前后对所有材料进行翻盘并采用健康的种藕繁殖,同年 4 月采集植株嫩叶,取样时采用 0.5 cm 打孔器,在叶片四周、中部各打 1 孔,每个材料取 3 张叶片,样本洗净后直接放入离心管用液氮处理,置于 -20 ℃

收稿日期:2019-12-30

基金项目:江苏省农业科技自主创新资金[编号:CX(19)3119];苏州市应用基础研究项目(编号:SNG2018058)。

作者简介:徐 君(1982—),男,江苏苏州人,硕士,副研究员,主要从事水生植物分子生物学研究。E-mail:sacxujun@163.com。

通信作者:尹江海,硕士,副教授,主要从事农业经济管理研究。E-mail:yjh721218@126.com。

表 1 供试的 15 个野生荷花编号、名称及其来源

编号	品种名称	来源	编号	品种名称	来源
1	南埂野生莲	安徽省	9	西湖红莲	浙江省
2	山庙前野生莲	安徽省	10	汶溪红莲	福建省
3	清塘野生莲	安徽省	11	济宁野生红莲	山东省
4	微山湖红莲	安徽省	12	普者黑白荷	云南省
5	洞庭湖野生莲	湖南省	13	普者黑红荷	云南省
6	莲湖野生莲	湖南省	14	苏州青莲子	江苏省
7	东湖红莲	湖北省	15	太湖红莲	江苏省
8	白洋淀红莲	河北省			

冻存。

1.2 DNA 的提取与验证

全基因组 DNA 提取采用经典十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)法^[9],提取的 DNA 样本采用 120 V 电压 1% 琼脂糖凝胶电泳检验。并用 Nano drop 2000 对 DNA 的纯度和浓度进行检测,将所提 DNA 浓度稀释至 20 ng/μL,置于 4 ℃ 保存备用。

1.3 荷花 SSR 标记

参考 Yang 等基于我国古代莲全基因组开发的核微卫星(nSSR)引物^[10],选择 12 对(SSR016、SSR030、SSR040、SSR045、SSR049、SSR064、SSR067、SSR074、SSR088、SSR285、SSR472 和 SSR482);参考 Tian 等筛选的 SSR 引物^[11],选择 2 对(Nelumbo13 和 Nelumbo14);参考 Kubo 等筛选的 SSR 引物^[12],选择 1 对(ns034);参考 Xue 等从莲叶绿体全基因组中开发的单倍标记叶绿体基因组微卫星标记(cpSSR)引物^[13],筛选 2 对(Lotus12 和 Lotus17)。一共有 15 对 SSR 引物和 2 对 cpSSR 引物(序列信息详见表 2)用于野生荷花指纹编码构建及亲缘关系鉴定。正向引物 5'端用 4 种荧光修饰[羧基荧光素(FAM)、六氯-6-甲基荧光素(HEX)、羧基-X-罗丹明(ROX)和羧基四甲基罗丹明(TAMRA)],所有引物均由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

表 2 17 对 SSR 引物序列及荧光标记信息

引物编号	引物序列(5'→3')	5'端修饰	退火温度(℃)
SSR016	F:CCCTTAAATGTCACTACCCCAAAA;R:AGGCTTACCTACCCTGAAACTTG	FAM	54
SSR030	F:TTCGACCTGTGACGTCAAAAATAA;R:GGAAGTTTGGAACCATTGAACAAG	HEX	52
SSR040	F:AAAAGTGCAGGCTGGAATGTTATC;R:TCAAAATGAGAGAGTAATAGCGATGAGA	ROX	54
SSR045	F:TTCCAAAATGCCTTAAACATCTCC;R:TTTGTCTGTAGACGATGACGTTT	TAMRA	52
SSR049	F:TGTCCGAAATCTGGAAGAAGAA;R:GGCATTTTCATCCAAGAGAAAATTG	FAM	52
SSR064	F:TGAGTTGTTTTCTATTTGGTGCC;R:CGATATTAGAGTTGTGCCTAAATGTTTT	HEX	52
SSR067	F:TGATGTAATCTTGGTTATGTGCCG;R:CAGATAAGATGCCTTTTACAGAGCG	ROX	54
SSR074	F:TGAGACTCTTGGGCTTCTCAGTTC;R:GAAGAGAGCAGATCAATGGAAAGC	TAMRA	57
SSR088	F:TAATGCATACGCTAACCAATGGAA;R:ATGTCCTTTTGTGGGTGATTCTA	FAM	52
SSR285	F:GTGTTGTGGTCTCGTTTTCGTAG;R:GCCCCCTTTTACTTTTCTTTTCT	HEX	57
SSR472	F:TGTGGCCAAGATTTAGAGTCAACA;R:CAGAACACAGAATGTTTCAGCACC	ROX	52
SSR482	F:TTAGCGAACGAAGTTTGATTGT;R:ACTAAGCTCCCATGAACAACAAGAA	TAMRA	54
Nelumbo13	F:CGGCTAGAAACCCTAGATTCTATA;R:ACACTCTTCAGTTCACTCTTCACCT	FAM	54
Nelumbo14	F:ATTTCAATTTTGATCTTTGATTCT;R:GACTGGATTGTACTTCTGAGTTCTA	HEX	54
ns034	F:AAAGCCAAGACATCCTCGAG;R:CGATTTCGACCTGATCGTGT	ROX	52
Louts12	F:GCCTTGATCCACTTGGCTACAT;R:CGTAATGCTCACAACTCCCTC	TAMRA	55
Lotus17	F:CTAAGCGGGCTTACATAACAG;R:CCTTCCAAACAAAATGAAATT	FAM	52

PCR 反应试剂采用 TOYOBO 公司的 KOD-Plus 试剂盒。PCR 反应体系:10×KOD buffer 2.5 μL;2 mmol/L dNTPs 2 μL;25 mmol/L MgSO₄ 0.5 μL;10 μmol/L Forward Primer 1 μL;10 μmol/L Reverse Primer 1 μL;Template DNA 1 μL;KOD-Plus 1 U;补水至 25 μL。PCR 反应参数:95 ℃ 5 min;95 ℃ 30 s,适宜退火温度(各引物的退火温

度见表 2)30 s,72 ℃ 30 s 共 35 个循环;72 ℃ 延伸 5 min。扩增反应完成后产物置于 4 ℃ 保存备用。

荧光引物扩增后产物利用 ABI 3730 测序仪进行毛细管电泳,并对毛细管电泳结果采用 GeneMarker 进行标准化分析,内参大小依次为 51. 11、75. 71、100. 73、139. 81、149. 80、160. 75、200. 81、250. 78、300. 79、340. 78、350. 78、400. 80、

450.78、490.82、500.90 bp。

1.4 数据统计分析

统计各引物扩增得到的扩增峰数量,采用人工读取的方法,对照内参在相同迁移位置上,有峰的计为 1,无峰的计为 0,每个峰相当于 1 个等位基因位点。使用 Excel 软件建立供试野生荷花材料与等位基因位点之间的 0/1 矩阵图,统计每对引物扩增出的总位点数(T)、多态性位点数(N),记录每个位点扩增片段的长度及每对引物扩增的多态性位点百分率(PPL)。PPL 计算公式: $PPL = (N/T) \times 100\%$ 。利用 Cervus 3.0.7 软件计算 15 对 SSR 引物的多态性信息含量(PIC);利用 NTSYS 2.0.1 软件计算供试材料间的遗传相似性,构建 UPGMA 聚类图。将 15 个荷花材料通过不同引物扩增获得的等位基因位点,按照扩增片段长度从小到大的顺序依次用阿拉伯数字编码,位点超过 9 个以上,用个位数带下划线表示,构建野生荷花指纹编码。

2 结果与分析

2.1 SSR 扩增结果

利用筛选的 17 对引物,对 15 个野生荷花样本基因组 DNA 进行扩增,扩增位点数、多态性位点数、PIC 见表 3。15 对 SSR 引物在 15 个野生荷花中共扩增位点 72 个,平均每对引物 4.8 个,其中多态性位点有 72 个,PPL 为 100%。15 对 SSR 引物扩增 15 个野生荷花的 PIC 介于 0.371~0.834 之间,平均值为 0.605,其中 12 对 SSR 引物的 PIC 大于 0.5,说明 15 个野生荷花材料具备一定的多态性。2 对 cpSSR 引物共检测到 9 个单倍型位点,平均每对引物 4.5 个,其中多态性位点 8 个,PPL 为 88.9%。引物扩增位点片段的长度有较大差异。SSR 引物中,ns034 扩增的片段最短,为 102~124 bp,引物 SSR088 扩增的片段较长,为 285~301 bp。此外,cpSSR 引物中 Lotus12 扩增的片段最长,为 380~434 bp。

2.2 15 个野生荷花材料的遗传差异分析

根据 SSR 标记位点扩增结果计算 15 个野生荷花材料之间的遗传相似系数(表 4),发现 15 个材料两两间的遗传相似系数为 0.530 9~0.925 9,相似系数平均值为 0.676 2,遗传相似系数越大说明材料间的遗传差异越小。南埂野生莲和汶溪红莲的遗传相似系数最小,为 0.530 9,说明二者遗传差异较大。同样采集于云南文山普者黑地区的野生荷花普者黑红荷和普者黑白荷之间的遗传相似系数最

表 3 15 个野生荷花材料 SSR 引物扩增结果

引物	类型	扩增位点数(个)	多态性位点数(个)	PIC	片段长度(bp)
SSR016	SSR	8	8	0.756	215~254
SSR030	SSR	10	10	0.834	130~169
SSR040	SSR	7	7	0.706	211~235
SSR045	SSR	5	5	0.411	204~224
SSR049	SSR	4	4	0.689	223~248
SSR064	SSR	4	4	0.550	187~208
SSR067	SSR	3	3	0.584	244~253
SSR074	SSR	5	5	0.553	163~193
SSR088	SSR	3	3	0.590	285~301
SSR285	SSR	4	4	0.632	262~276
SSR472	SSR	2	2	0.371	223~229
SSR482	SSR	3	3	0.456	172~203
Nelumbo13	SSR	5	5	0.718	142~163
Nelumbo14	SSR	4	4	0.683	142~151
ns034	SSR	5	5	0.540	102~124
Lotus12	cpSSR	8	8		380~434
Lotus17	cpSSR	1	0		242

大,为 0.947 4,二者遗传差异最小。对表 4 中 15 个野生荷花材料两两间共 105 个相似系数进行 UPGMA 聚类分析,结果如图 1 所示,以遗传相似系数 0.669 6 为依据,可将 15 个材料分为 3 个组,其中 I 组有 2 个野生荷花材料,分别为南埂野生莲和莲湖野生莲;II 组有 6 个野生荷花材料,分别为山庙前野生莲、微山湖红莲、东湖红莲、白洋淀红莲、西湖红莲、太湖红莲;III 组有 7 个野生荷花材料,分别为清塘野生莲、洞庭湖野生莲、汶溪红莲、济宁野生红莲、普者黑白荷、普者黑红荷、苏州青莲子。由此可见,同省份的荷花并未完全分在一组。

2.3 野生荷花指纹编码的构建

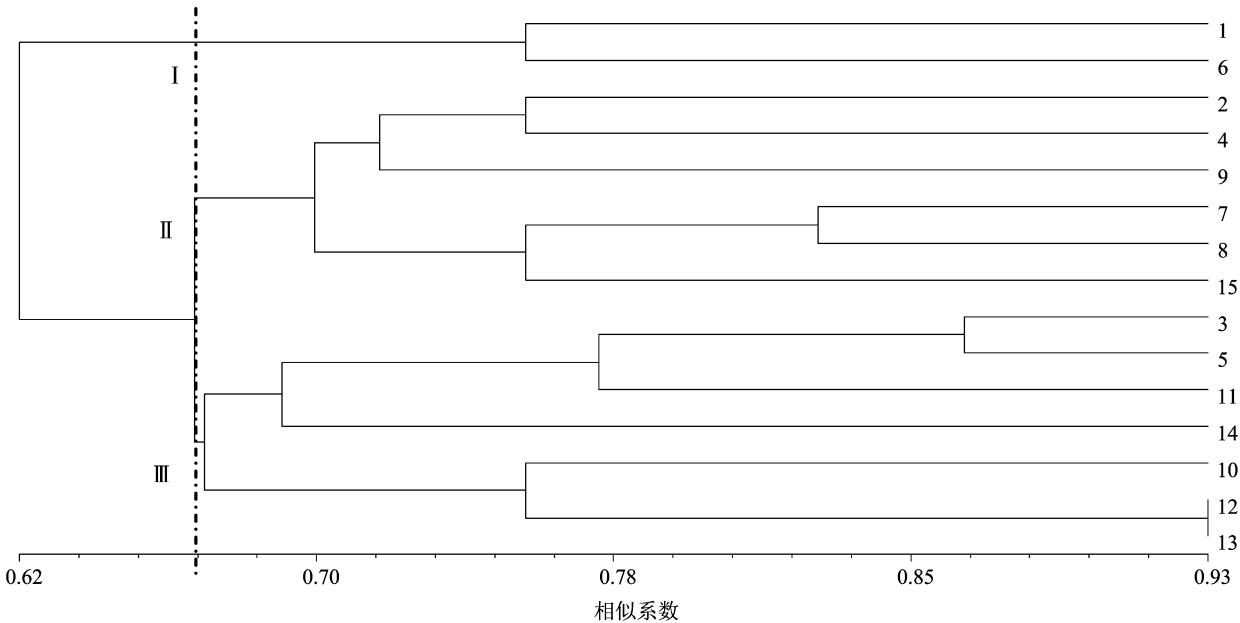
15 对 SSR 二倍体标记共有 30 位数字,2 对 cpSSR 标记共有 2 位数字,因此本试验使用的 17 对引物扩增对应每个野生荷花材料的 DNA 编码由 32 位数字组成。将每对引物对 15 个野生荷花材料扩增获得的所有位点按照片段大小从小到大进行编码,建立编码标准如表 5 所示。根据该标准,对 15 个野生荷花的扩增结果进行数据录入,构建 15 个野生荷花材料的指纹编码(表 6),结果显示该方法可以将 15 个野生荷花材料完全区分开。

3 讨论与结论

荷花是我国重要的经济和观赏作物,在景观布

表 4 15 个野生荷花材料间的遗传相似系数

编号	相似系数														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	1.000 0														
2	0.666 7	1.000 0													
3	0.555 6	0.617 3	1.000 0												
4	0.716 0	0.753 1	0.642 0	1.000 0											
5	0.592 6	0.629 6	0.864 2	0.629 6	1.000 0										
6	0.753 1	0.691 4	0.580 2	0.691 4	0.691 4	1.000 0									
7	0.642 0	0.728 4	0.642 0	0.753 1	0.629 6	0.666 7	1.000 0								
8	0.691 4	0.753 1	0.592 6	0.728 4	0.629 6	0.691 4	0.827 2	1.000 0							
9	0.629 6	0.716 0	0.679 0	0.716 0	0.666 7	0.629 6	0.691 4	0.642 0	1.000 0						
10	0.530 9	0.617 3	0.703 7	0.543 2	0.666 7	0.604 9	0.740 7	0.666 7	0.604 9	1.000 0					
11	0.629 6	0.666 7	0.777 8	0.740 7	0.765 4	0.604 9	0.814 8	0.666 7	0.728 4	0.753 1	1.000 0				
12	0.617 3	0.679 0	0.642 0	0.728 4	0.654 3	0.567 9	0.703 7	0.703 7	0.617 3	0.740 7	0.691 4	1.000 0			
13	0.617 3	0.679 0	0.716 0	0.753 1	0.679 0	0.592 6	0.703 7	0.703 7	0.642 0	0.765 4	0.716 0	0.925 9	1.000 0		
14	0.629 6	0.666 7	0.654 3	0.691 4	0.691 4	0.555 6	0.666 7	0.592 6	0.604 9	0.555 6	0.728 4	0.642 0	0.642 0	1.000 0	
15	0.617 3	0.629 6	0.691 4	0.679 0	0.703 7	0.642 0	0.777 8	0.728 4	0.691 4	0.666 7	0.765 4	0.679 0	0.654 3	0.666 7	1.000 0



1—南埂野生莲；2—山庙前野生莲；3—莲清塘野生莲；4—微山湖红莲；5—洞庭湖野生莲；6—莲湖野生莲；
7—东湖红莲；8—白洋淀红莲；9—西湖红莲；10—汶溪红莲；11—济宁野生红莲；12—普者黑白荷；13—普者黑红荷；
14—苏州青莲子；15—太湖红莲

图1 基于 SSR 标记的 15 个野生荷花材料 UPGMA 聚类图及分组情况

置、水环境治理等方面也有较多的应用。从遗传多样性角度而言,荷花的遗传背景相对狭窄,要利用好荷花满足不同的产业需求,必须充分发掘现有的荷花资源。野生荷花多为单瓣型^[14],与栽培荷花相比,性状相似,观赏性不足,但野生荷花中包含有很多特殊性状,如有学者在云南普者黑地区发现的株

型超过 3 米的野生荷花,为大株型荷花新品种选育提供了非常好的亲本材料^[15]。因此,做好野生荷花鉴定工作,对引导荷花育种,尤其是特色荷花育种,全面开发荷花资源具有重要的意义。
要单独采用表型鉴定的方法区分野生荷花材料相对较困难,有报道显示,SSR 标记是一种有效、

表 5 17 对 SSR 引物扩增位点片段长度及编码标准

编码	各引物扩增位点片段长度(bp)																
	SSR016	SSR030	SSR040	SSR045	SSR049	SSR064	SSR067	SSR074	SSR088	SSR285	SSR472	SSR482	Nelumbol3	Nelumbol4	ns034	Lotus12	Lotus17
1	215	130	211	204	223	187	244	163	285	262	223	172	142	142	102	380	242
2	218	142	213	211	233	193	247	169	297	272	229	200	146	147	112	385	
3	221	145	223	214	245	202	253	172	301	274		203	156	149	114	390	
4	224	148	229	217	248	208		181		276			160	151	118	395	
5	233	151	231	224				193					163		124	400	
6	236	154	233													410	
7	242	160	235													415	
8	254	163														434	
9		166															
0		169															

表 6 15 个野生荷花材料的 DNA 指纹编码

编号	品种名称	DNA 指纹编码
1	南埂野生莲	14694424331311443322112244111151
2	山庙前野生莲	38772522241111243314122255221561
3	清塘野生莲	22371212111123221211221113114411
4	微山湖红莲	44344422241122243344112225331411
5	洞庭湖野生莲	77131122111123221211221111115541
6	莲湖野生莲	55004424332211243333113333221131
7	东湖红莲	44786623241212242212111125221421
8	白洋淀红莲	44881644241211241314111244221121
9	西湖红莲	36784722124433222214112255111471
10	汶溪红莲	22571123122212131212221135241321
11	济宁野生红莲	48374422121222221212221125111421
12	普者黑白荷	22251122241123341124121225441221
13	普者黑红荷	22351122241123341124121235441421
14	苏州青莲子	48132325341333252212221225331181
15	太湖红莲	48281622114422221112111122221481

可靠的分子标记,可用于荷花亲缘关系鉴定和指纹图谱的构建^[8]。本研究采用前期研究所筛选的 17 对引物,包括 15 对 SSR 引物和 2 对 cpSSR 引物,对来源不同的 15 个野生荷花材料基因组 DNA 进行扩增,发现 15 对 SSR 引物可扩增位点 72 个,其中多态性位点有 72 个,PPL 为 100%;2 对 cpSSR 引物可扩增位点 9 个,其中多态性位点有 8 个,PPL 为 88.9%。不同来源的野生荷花虽然表型性状相似,但扩增位点多态性比例高,说明其中具有丰富的基因多样性可以被挖掘。UPGMA 分析结果显示,15 个野生荷花材料互相之间遗传相似系数平均值为 0.676 2,说明部分供试的野生荷花材料之间的相似度还是比较高的,其来源可能比较接近。尽管如

此,通过 SSR 标记可以有效地区分 15 个野生荷花,每种荷花均有其特殊的指纹编码,这为进一步明确野生荷花亲缘关系,将其用于荷花育种提供了基础。

参考文献:

[1]王其超,张行言. 中国荷花品种图志:续志[M]. 北京:中国建筑工业出版社,1999.

[2]王其超,张行言. 中国荷花品种图志[M]. 北京:中国林业出版社,2005.

[3]张行言,陈龙清,王其超. 中国荷花新品种图志 I [M]. 北京:中国林业出版社,2011.

[4]王其超,张行言. 荷花新品种性状记载项目的制定[J]. 中国园林,2012,28(1):74-77.

[5]彭欲率,韩延闯,汪 岚,等. 应用 AFLP 技术检测莲藕遗传多样性的初步研究[J]. 分子植物育种,2004,2(6):823-827.

齐香玉,陈双双,冯 景,等. 3 种瓣型茉莉基因组大小测定与比较[J]. 江苏农业科学,2020,48(19):40-44.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.19.008

3 种瓣型茉莉基因组大小测定与比较

齐香玉¹, 陈双双¹, 冯 景¹, 王华娣², 邓衍明^{1,2}

(1. 江苏省农业科学院休闲农业研究所, 江苏南京 210014; 2. 江苏大学生命科学研究院, 江苏镇江 212013)

摘要:茉莉具有较高的观赏、茶用和药用价值,但关于其基因组学的研究还相对匮乏。以单瓣、双瓣和多瓣茉莉的嫩叶为材料,选用 6 种常用的细胞解离液,利用基因组大小已知的水稻(*Oryza sativa*)日本晴、玉米(*Zea mays*)B73 和番茄(*Lycopersicon. Esculentum* L. Stupicke polni tyckove rane)为内参,以建立适合于茉莉的流式细胞术基因组大小测定方法。结果表明,WPB 细胞解离液对茉莉和内标解离效果最好,粒子清晰集中,无重叠峰且区分度良好;单瓣、双瓣和多瓣茉莉的基因组 1C DNA 含量分别为 0.809 5、0.804 5、0.592 6 pg;单瓣和双瓣茉莉间的基因组大小无显著性差异,但它们与多瓣茉莉的基因组大小有显著性差异。本研究建立了流式细胞术测定茉莉基因组大小的方法,同时测定了 3 种瓣型茉莉的基因组大小,为茉莉的基因组学及物种进化研究提供参考。

关键词:茉莉;基因组大小;流式细胞术;细胞解离液

中图分类号: S685.160.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2020)19-0040-05

基因组大小(或称 C 值)是指一个物种单倍体核的 DNA 含量,通常用质量(pg)或核苷酸碱基对数目(Mb)表示,1 pg 相当于 978 Mb^[1]。迄今为止,植物 DNA C 值数据库(plant DNA C-values database)已有 12 273 个物种的 C 值数据,其中包括 10 770 种被子植物、421 种裸子植物、303 种蕨类植

物、334 种苔藓植物和 445 种藻类^[2]。基因组反映了物种全部和特定的遗传信息^[3]。测定基因组大小可以预估物种的 DNA 含量,为植物的基因组学及其亲缘进化研究提供理论依据。目前,测定基因组大小的方法主要有 Feulgen 微光密度法^[4]、流式细胞术(flow cytometry, FCM)^[5]和基因组测序法^[6]。FCM 具有操作简单、高效、准确等优点,因而被广泛应用于不同物种基因组大小的测定,如五节芒^[7]、草莓^[8]、槭属植物^[9]等,也常被用于物种倍性鉴定,如柴胡^[10]、枣^[11]、旱柳^[12]、荔枝^[13]等。

茉莉(*Jasminum sambac*)别称茉莉花、茶叶花,属木犀科(Oleaceae)素馨属(*Jasminum* Linn.)常绿直立或攀援状灌木。茉莉原产于印度及巴基斯坦

收稿日期:2019-11-25

基金项目:国家自然科学基金(编号:31772338)。

作者简介:齐香玉(1986—),女,安徽桐城人,博士,助理研究员,主要从事观赏植物遗传育种与分子生物学研究。E-mail:409241891@qq.com。

通信作者:邓衍明,博士,研究员,主要从事花卉遗传育种与分子生物学研究。E-mail:nksdym@163.com。

[6] Li Z, Liu X Q, Gituru R W, et al. Genetic diversity and classification of *Nelumbo* germplasm of different origins by RAPD and ISSR analysis[J]. Scientia Horticulturae, 2010, 125: 724-732.

[7] 徐 君, 李 欣, 江 君, 等. 基于表型和 ISSR 标记的小株型荷花遗传多样性分析[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(19): 137-141.

[8] 薛建华, 姜 莉, 马晓林, 等. 莲品种 DNA 指纹图谱的构建[J]. 生物多样性, 2016, 24(1): 3-11.

[9] Doyle J J, Doyle J L. Isolation of plant DNA from fresh tissue[J]. Focus, 1990, 12(1): 13-15.

[10] Yang M, Han Y N, VanBuren R, et al. Genetic linkage maps for Asian and American lotus constructed using novel SSR markers derived from the genome of sequenced cultivar [J]. BMC Genomics, 2012, 13: 653.

[11] Tian H L, Chen X Q, Wang J X, et al. Development and characterization of microsatellite loci for lotus (*Nelumbo nucifera*) [J]. Conservation Genetics, 2008, 9: 1385-1388.

[12] Kubo N, Hirai M, Kaneko A, et al. Development and characterization of simple sequence repeat (SSR) markers in the water lotus (*Nelumbo nucifera*) [J]. Aquatic Botany, 2009, 90: 191-194.

[13] Xue J H, Dong W P, Cheng T, et al. Nelumbonaceae: systematic position and species diversification revealed by the complete chloroplast genome [J]. Journal of Systematics and Evolution, 2012, 50(6): 477-487.

[14] 李 娜, 黄勇琴, 刘艺平, 等. 河南省野生荷花资源的现状与保护[J]. 河南科学, 2011, 29(10): 1190-1193.

[15] 李祥志, 刘兆磊, 陈发棣, 等. 荷花耐深水评价体系及耐深水鉴定[J]. 安徽农业科学, 2014, 42(3): 679-682.