

李辉玲, 张建文, 李守明. 基于 SSR 标记的新疆大蒜及其野生蒜种遗传多样性及聚类分析[J]. 江苏农业科学, 2022, 50(18): 158-163.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2022.18.024

基于 SSR 标记的新疆大蒜及其野生蒜种遗传多样性及聚类分析

李辉玲¹, 张建文¹, 李守明²

(1. 巴音郭楞蒙古自治州农业科学研究院, 新疆库尔勒 8410001; 2. 石河子农业科学研究院, 新疆石河子 832000)

摘要:在充分利用基因图谱和分子标记技术的基础上,以常规无性繁殖选育为主、生物技术育种为辅,结合传统的表型选择与现代技术的基因型选育,旨在为品种鉴定、遗传改良提供依据,从而缩短育种年限,提高育种效率。利用 50 对简单重复序列(SSR)引物对 63 份新疆大蒜及其野生蒜种材料的基因组 DNA 进行 PCR 扩增,用 NTSYS - pc (Version 2.10e)对电泳后的多态性条带进行聚类分析及遗传多样性评价。结果表明,最终检测出 33 对特异性引物,将 63 份新疆大蒜及其野生蒜种材料进行有效区分,并分为 6 类,不同地理来源大蒜材料的多样性指数为 0.41~0.90,从而相对精确地鉴定出大蒜资源间的亲缘关系。

关键词:大蒜;种质资源;SSR;遗传多样性;聚类分析

中图分类号:S633.403 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2022)18-0158-06

大蒜(*Allium sativum* L.)别称胡蒜,是百合科葱属中重要的蔬菜植物,兼有药用价值,被誉为“植物黄金”,在我国山东、河南、江苏、河北以及新疆等地广泛种植。其生长时间短、病虫害较轻,并且其精、深加工产业已初步形成,使其走俏欧洲、美国^[1]。但是一直以来,大蒜品种的筛选鉴定工作还不深入,品种资源存在同名异物或同物异名现象,另外大蒜长年无性繁殖所产生的品种退化严重、相互引种但背景资料缺失等问题不利于优异大蒜品种的推广和应用。

遗传变异是指不同个体或不同种类之间的变异之和^[2-3],本质上是遗传物质的碱基对排序和结构排序变化。遗传多样性工作的开展可以直观地了解种质资源的遗传结构和多样性水平,为育种工作中的品种区分、分组、父母本选择、野生稀有物种的保护等提供依据^[4-6]。通过传统的形态学鉴定方法来研究遗传多样性具有简单、直观的优点,但表观形态受基因、外部环境共同影响,只能间接反映

其遗传物质的本质特征,并且可检测的信息量也较少,存在一定的缺陷和局限性^[7-10]。分子标记技术是基于 DNA 多态性建立起来的方法, DNA 碱基双螺旋结构排列的顺序就是作物的遗传信息,因此直接分析和比较 DNA 的碱基序列结构是最优的遗传多样性分析方式^[11-12]。简单重复序列(SSR)标记广泛分布于植物基因组上,呈现共显遗传特性,具有丰富的多态性,目前被广泛应用于构建遗传连锁图谱、遗传多样性分析、数量性状座位(QTL)定位分析和品种纯度鉴定等领域^[13]。

综上所述,明确大蒜的遗传背景信息和种质资源多样性,不仅可为评价与鉴定大蒜品种提供科学依据、为育种工作提供理论支持,而且也为优异品种实现种子繁殖奠定了理论基础,并能加速优良品种的大面积推广。本研究以 63 份不同地区来源的大蒜为材料,运用 50 对 SSR 引物分析供试大蒜种质资源的遗传多样性,以期解决大蒜品种存在的同名异物问题,最终为大蒜资源的品种评价与鉴定提供一定的理论依据。

1 材料与amp;方法

1.1 供试材料

供试 63 份大蒜种质资源分别由巴音郭楞蒙古自治州农业科学研究院特色作物室、新疆维吾尔自治区农业科学研究所收集并提供,其中来自

收稿日期:2021-10-18

基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金(编号:2021D01B27)。

作者简介:李辉玲(1988—),女,甘肃兰州人,硕士研究生,助理研究员,主要从事特色作物的育种与栽培工作。E-mail:12354399@qq.com。

通信作者:李守明,硕士,高级农艺师,主要从事加工番茄新品种选育、农业技术推广及应用研究。E-mail:41176268@qq.com。

新疆的种质 11 份,来自云南的种质 10 份,来自甘肃、山东的种质各 6 份,来自河南的种质 5 份,来自河北的种质 4 份,来自辽宁、四川的种质各 3 份,来自安徽、湖南、陕西的种质各 2 份,来自贵州、江苏的种质各 1 份,野生资源 7 份(表 1)。将 63 份大蒜种质资源于 2021 年 4 月初种植于巴音郭楞蒙古自治州农业科学研究院试验田及新疆维吾尔自治区农业科学研究院试验田内,按照常规田间管理。2021

年 6 月每个品种随机采集 5 株嫩叶,未出苗的品种以鳞茎为材料,放置于液氮罐中处理后及时存贮于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 超低温冰箱内备用。试验时称取 200 mg 左右叶片,用天根生化科技(北京)有限公司生产的新型植物基因组 DNA 提取试剂盒抽提材料的 DNA,80 mg 左右鳞茎用传统的十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)手提法提取 DNA。

表 1 63 份大蒜种质的资源信息

序号	名称	来源	鳞茎结构	序号	名称	来源	鳞茎结构
1	山东大蒜 1 号	山东潍坊	规则二轮	33	辽宁独头 2 号	辽宁铁岭	独头
2	金乡紫皮	山东金乡	规则二轮	34	辽宁独头 3 号	辽宁鞍山	独头
3	金乡白皮	山东金乡	规则二轮	35	安徽大蒜	安徽阜阳	规则二轮
4	石河子白皮大蒜	新疆石河子	规则二轮	36	湖南独头 1 号	湖南长沙	独头
5	石河子红皮大蒜	新疆石河子	规则二轮	37	山东大蒜 2 号	山东聊城	规则单轮
6	山东白皮	山东青岛	规则二轮	38	四川大蒜 1 号	四川自贡	规则二轮
7	山东紫皮	山东枣庄	规则单轮	39	四川大蒜 2 号	四川内江	不规则
8	河南紫皮	河南开封	规则二轮	40	湖南大蒜 1 号	湖南茶陵	规则单轮
9	河南白皮	河南开封	规则二轮	41	皮山县大蒜	新疆皮山	规则二轮
10	河北大蒜 2 号	河北秦皇岛	不规则	42	阿合奇县大蒜	新疆阿合奇	规则单轮
11	酒泉白皮大蒜	甘肃酒泉	规则二轮	43	安徽白皮大蒜	安徽宿州	不规则
12	民乐白皮大蒜	甘肃民乐	规则单轮	44	四川紫皮大蒜	四川汉源	规则二轮
13	民乐红皮大蒜	甘肃民乐	不规则	45	霍城大蒜	新疆霍城	规则二轮
14	平凉紫皮大蒜	甘肃平凉	规则单轮	46	塔城大蒜	新疆塔城	不规则
15	云南大蒜 3 号	云南大理	不规则	47	新源大蒜	新疆伊犁	规则二轮
16	河北大蒜 1 号	河北秦皇岛	规则单轮	48	天水红皮蒜	甘肃天水	规则单轮
17	河南紫皮 2	河南周口	规则单轮	49	吉木萨尔白皮蒜	新疆吉木萨尔	规则单轮
18	河北大蒜 3 号	河北邯郸	规则单轮	50	且末白皮蒜	新疆且末	规则单轮
19	河北大蒜 4 号	河北张家口	规则单轮	51	陕西大蒜	陕西西安	不规则
20	阿克苏紫皮大蒜	新疆阿克苏	规则二轮	52	云南独头 2 号	云南大理	独头
21	阿克苏白皮大蒜	新疆阿克苏	规则二轮	53	新乡大蒜	河南新乡	规则二轮
22	辽宁独头 1 号	辽宁黑山	独头	54	张掖白皮大蒜	甘肃张掖	规则二轮
23	云南独头 1 号	云南曲靖	独头	55	河南大蒜 1 号	河南洛阳	规则二轮
24	陕西独头	陕西汉中	独头	56	贵州毕节蒜	贵州毕节	规则一轮
25	云南独头 3 号	云南大理	独头	57	野生蒜 1	新疆乌鲁木齐	独头
26	云南独头 4 号	云南丽江	独头	58	野生蒜 2	新疆乌鲁木齐	独头
27	云南独头 5 号	云南文山	独头	59	野生蒜 3	新疆乌鲁木齐	不规则
28	云南独头 6 号	云南大理	独头	60	野生蒜 4	新疆乌鲁木齐	独头
29	云南独头 7 号	云南西双版纳	独头	61	野生蒜 5	新疆乌鲁木齐	不规则
30	江苏大蒜	江苏邳州	不规则	62	野生蒜 6	新疆乌鲁木齐	不规则
31	云南大蒜 1 号	云南大理	规则单轮	63	野生蒜 7	新疆乌鲁木齐	不规则
32	云南大蒜 2 号	云南昆明	规则单轮				

1.2 DNA 质量及浓度的检测

提取 63 份大蒜资源的 DNA, DNA 浓度和纯度用核酸检测仪(NanoDrop-1000)结合琼脂糖凝胶

电泳法测定。根据测定值和前期优化的 PCR 体系所需的 DNA 模板浓度,将所有样品浓度稀释到 $30\text{ ng}/\mu\text{L}$,放置于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存。

1.3 引物设计与合成

参考 Barboza 等的研究^[14-15],共设计 50 对引物,由生工生物工程(上海)股份有限公司完成。

1.4 PCR 扩增

根据前期优化试验,确定大蒜 SSR-PCR 反应体系(10 μ L):30.0 ng 模板 DNA、各 0.5 μ mol/L 正反向引物、5.0 μ L $2 \times$ Taq PCR Mix,用 dd H₂O 补齐。扩增程序:94 $^{\circ}$ C 预变性 3 min;94 $^{\circ}$ C 变性 30 s,在不同引物的上、下游平均温度下退火 45 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 90 s;30 次循环的最后 1 个循环的延伸时间设为 10 min;4 $^{\circ}$ C 保存扩增产物。

采用 6% 非变性聚丙烯酰胺凝胶(PAGE)电泳结果分析扩增产物,电泳仪参数:120 V 恒定电压,电流 200 mA,时间 75 min。电泳结束后小心拆胶,用银染法显色至条带清晰可辨,在医用胶片观察灯下拍照。

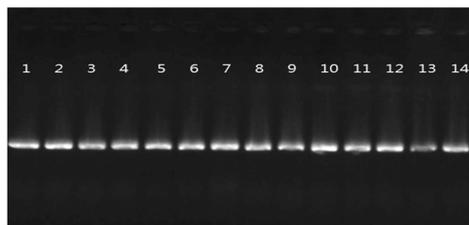
1.5 数据统计分析

根据扩增结果的重复性、扩增产物的条带数量及清晰程度、多态性表现等筛选表现较为优异的 SSR 引物。统计分析各个引物处理下每个样品扩增产物的电泳条带,同一迁移位置处有条带的记为 1,无条带的记为 0,缺失的记为 9,组成 1 和 0 矩阵,在 Excel 表中登记^[16-17]。用 NTSYS - pc (Version 2.10e)软件进行聚类分析并构建系统聚类图,计算遗传相似性系数(genetic similar coefficient,GS)和遗传距离(genetic distance,GD)^[18]。

2 结果与分析

2.1 DNA 模板的检测

用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测随机挑选的 14 份大蒜资源 DNA 的质量(图 1 中 1~9 为试剂盒提取,10~14 为传统 CTAB 法提取)。如图 1 所示,所提 DNA 条带整齐一致、带型清晰、浓度均匀。核酸检测仪测定结果显示,所提 DNA 的 $D_{260\text{nm}}/D_{280\text{nm}}$ 位于 1.85~2.00 之间,浓度为 61~93 ng/ μ L,可以稀释为 30 ng/ μ L 用于后续 SSR-PCR 分析。



1~9—试剂盒提取;10~14—传统 CTAB 法提取

图1 大蒜基因组 DNA 电泳

2.2 SSR 扩增结果

以 6 份生物学性状差异较大、亲缘关系较远的大蒜材料为模板,利用优化后的最佳 SSR-PCR 反应体系和循环数,对 50 对 SSR 引物进行筛选,淘汰扩增效果不佳、带型不好辨认的引物,最终筛选出 33 对引物对 63 份材料有特异性条带,特异性检出率为 66%;共扩增出 353 条条带,其中多态性条带 162 条,多态性比例为 45.89%(表 2)。不同引物所得扩增产物的电泳结果存在明显差异,本试验中,每对引物可扩增出 2~22 条条带,多态性条带数共 162 条,每对前期多态性表现良好的引物平均产生 4.9 条条带。图 2 是引物 ASM072 在 63 份新疆大蒜及其野生蒜种中的扩增情况,平均每对引物能够扩增出 10.69 个位点,表明大蒜资源间的遗传多样性较为丰富,所用 SSR 标记多态性表现较好。

2.3 SSR 聚类分析

用 33 对多态性差异表现优异的引物对 63 份新疆大蒜及其野生蒜种进行聚类分析,结果表明,63 份大蒜资源的遗传相似系数位于 0.41~0.9 之间。如图 3 所示,可在遗传相似系数 0.5 处将 63 份新疆大蒜及其野生蒜种分成 4 个大类群,其中第 1 类群包含 40 份材料;第 2 类群包含 15 份材料;第 3 类群包含 7 份材料,为 7 份野生资源;第 4 类群包含 1 份材料,为贵州毕节蒜。聚类结果表明,大部分地理区域位置相近或相同的品种被聚在一起,比如第 2 类群包含 15 份材料,其中 8 份资源主要来自云南地区;第 3 类群包含的 7 份材料全部来源于乌鲁木齐,为野生蒜,但也有少部分地理区域位置较远的蒜种被聚在一起,如来自山东潍坊的大蒜(1 号)与来自新疆石河子的资源(4、5 号)被聚到第 1 类群的小亚群中;来自山东金乡的大蒜(2 号)与来自辽宁黑山、陕西汉中的资源(22、24 号)聚到了第 1 类群的小亚群中,造成这种现象的原因很可能是地区间引种,说明不同区域间的大蒜资源存在一定的基因交流情况。非加权组平均法(UPGMA)聚类分析结果表明,本研究设计的 SSR 标记引物能够有效区分不同地域及距离来源的大蒜资源并相对精确地鉴定资源间的亲缘关系。基于相似系数的结果,进一步对 SSR-PCR 反应结果进行主坐标分析,发现前 3 个主坐标的多态性贡献值分别为 20.34%、8.39% 和 6.63%。对 63 份大蒜材料在第 1、第 2 主坐标构成的二维图(图 4)、3 个主坐标构成的三维图(图 5)中进行分类,由图 4、图 5 可见,63 份大蒜材料在第 1、

表 2 筛选出的 33 对大蒜 SSR 多态性引物

编号	引物名称	上游引物序列(5'→3')	下游引物(5'→3')	扩增带数(条)	多态性条带数(条)	多态性比例(%)
1	AS437	TCGTCTGGCGTTGVAATTATC	CGCTTGTAATCGTTGATGACC	6	3	50.00
2	AS392	TFTCAACAGCATCAGTTTGTAGA	CCTTCACCATCAACCTACATTG	11	3	27.27
3	AS6389	GGCAGAAAACACCCGAGAATG	GCTGCTCCCTTATATCGTTTC	19	9	47.37
4	AS211	AGAAATGAACCGGGATAGA	GAGGTTGCTGTTGTCTGC	19	13	68.42
5	AS45944	AGAGGGTTTTTCGATCTGGA	AGTGGCATCAAAGCAAGATG	22	10	45.45
6	ASTC - MGC	GGTGCCGGAGTACTACGAGG	GGACATCTTTCCATTTCATCCTGC	10	5	50.00
7	ASM072	CACGCGAATCTTTCTTGG	TGCAAAGCAATATGGCAG	14	4	28.57
8	SSR7	ATGCCGCCATTAAGCACTTG	GCAAACAGGATTGGCACCAG	14	5	35.71
9	SSR11	AACCATTTGATGCAGTGGCG	CTGGCGGTAGAATGCGTTTG	16	4	25.00
10	ACM0318	TCCTCCTTCCAAACCACATC	GATCAGAAAACAGCAGCGTC	10	4	40.00
11	ACM326	AAACCAGCAACAACCAATG	AAAATTGGAGAGCAGGCAAA	11	3	27.27
13	ACM046	TCCTCGTACCACCACAG	CTGAAAGGGAGTAGCGGAG	10	4	40.00
14	AESSR14	CCCCTTCGGTTGTTTTTCTT	CTGGGTACGGTCTTATTGG	12	4	33.33
15	AESSR30	GCAGCAGTAGAAGAACCTGCT	AACCTCTTTTGGTGCCCTCT	11	5	45.45
16	AESSR83	CCAAAGCTCCCATCTTCATC	CGTCGGCTCTCTTATTTTGC	11	6	54.55
17	AESSR91	GTCTCCGTTGCGTCAATC	GAATTTGCATCTTTCCCTTC	10	3	30.00
18	ASa07	CTGGGAACCAACCAGCATA	CCCAAACAAGGTAGGTCAGC	7	3	42.86
19	Asa08	TGATTGAAAAGCAATCCACA	GGGGTTACCTGAACTGTTA	8	4	50.00
20	Asa59	CGTTACTATGGGTGTGTGTC	CAAGTGGGAGACTGTTGGAG	7	4	57.14
21	SSR18	GAGTGAAGCAAAACCAACTTC	GTCAGTGTATGGAAAAGAGCC	11	7	63.64
22	SSR32	ATTCCTAAGAGAGGACGAAGGC	CTACTTCTGTGTGGATAAACCGC	2	1	50.00
23	SSR34	AACTCTTTTCAAGCTCTGGACG	TCACAGGTAATGTCAGGATGG	14	10	71.43
24	SSR68	ATGTTGGATACTTCAGGCAGGT	CGTTTTCTGCTCTCCTTCTCTC	13	6	46.15
25	SSR86	AGAAGAGGCTAAAGGCCAAAGT	TTCCATCATCCCCATCATC	12	6	50.00
26	AS1722	AGCTGAGGTCTCAAAACCAAAA	ATGTTCTCTTGATTTGCCGC	10	6	60.00
27	AS6580	AACTGGATCAGCCGCTACTC	GAAGCGAGGAGGAGTGTAG	10	4	40.00
28	AS739	AACAGGGATCTTTGCTTCAGC	GATCTGTGTGGTTGGATGTTT	9	5	55.56
29	AS987	GTACCAACTCTTTCTTAACGC	TCCAATAGTTGTGATGACAGG	10	6	60.00
30	AS2655	AACTCAATGCATGACAGAAGG	AGGAGGAGGAGAATGCTGAA	7	4	57.14
31	AS981	AACATGCCCACCAACAGTC	GAGATTGTTGCGCTTAGAT	11	4	36.36
32	AS96	TCTTACCCTTTCAACAACAG	AGTAATCGAGGTCGAAAGTTG	6	3	50.00
33	AS30	GTGCTCCTCGACCTTAG	TAGAAGAACCTGCTGTGACC	10	4	40.00

第 2 主坐标排序中可分为 6 类,其中 22(云南独头 4 号)、46(阿合奇县大蒜)距离其他材料较远,因此将它们重新单独分组。

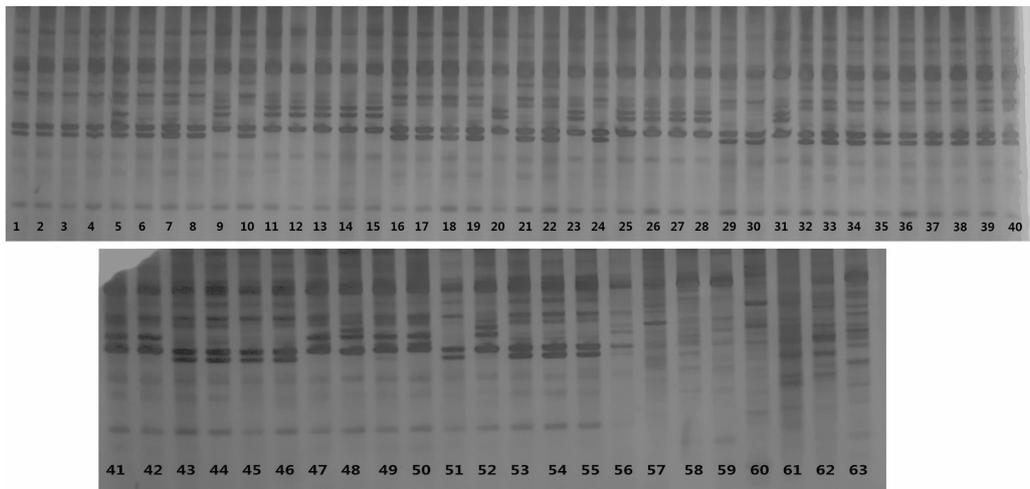
综合上述 3 个主坐标的分析结果,63 份大蒜材料可分为 6 个类群。分析比较得出,图 3、图 4、图 5 的结果与 63 份大蒜材料的聚类分析结果基本一致。在主坐标的分析中,第 2 类群基本一致,可将聚类分析结果中的第 3、第 4 类群归为 1 类,将聚类分析中的第 1 类群分为 2 个组群,主坐标分析后的分组结

果和聚类分析后的分组结果大体一致。

3 讨论与结论

3.1 不同部位 DNA 提取的比较分析

一般通过取幼嫩组织来获得较高质量的 DNA,既容易破壁又能够避免经过不同程度的发育后细胞内其他组分的干扰。在本研究中,利用大蒜鳞茎和叶片提取的 DNA 进行 SSR-PCR 得到的试验结果没有明显差别,说明 SSR 扩增反应中对模板 DNA



编号 1~63 同表 1

图2 引物 ASM072 对 63 份新疆大蒜及其野生蒜种的 SSR 扩增结果

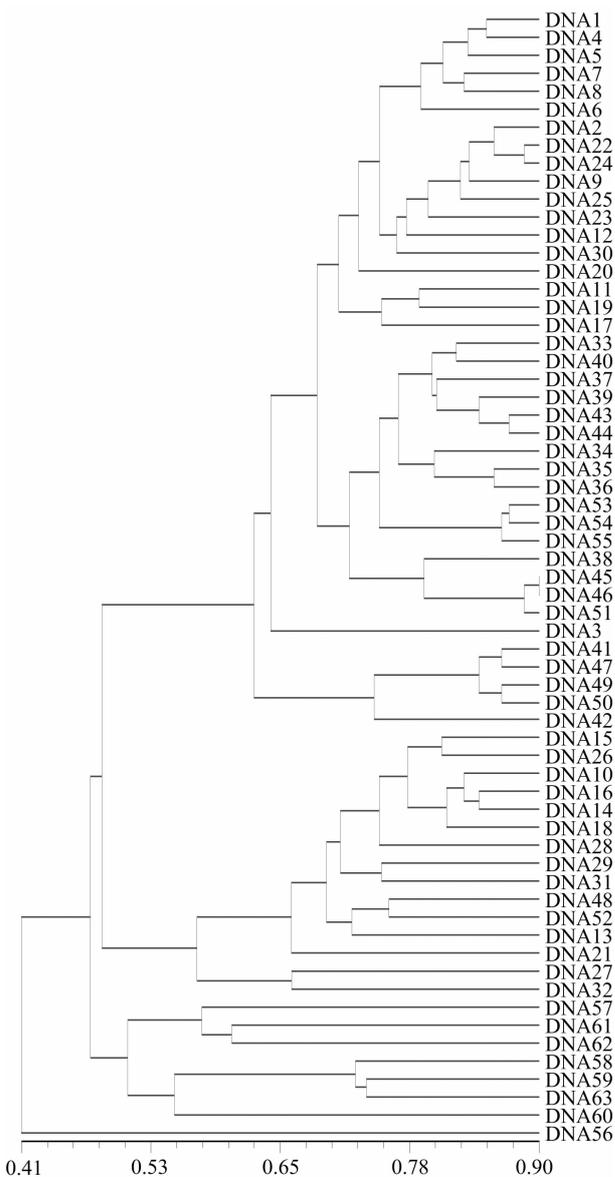


图3 聚类分析的树状图谱

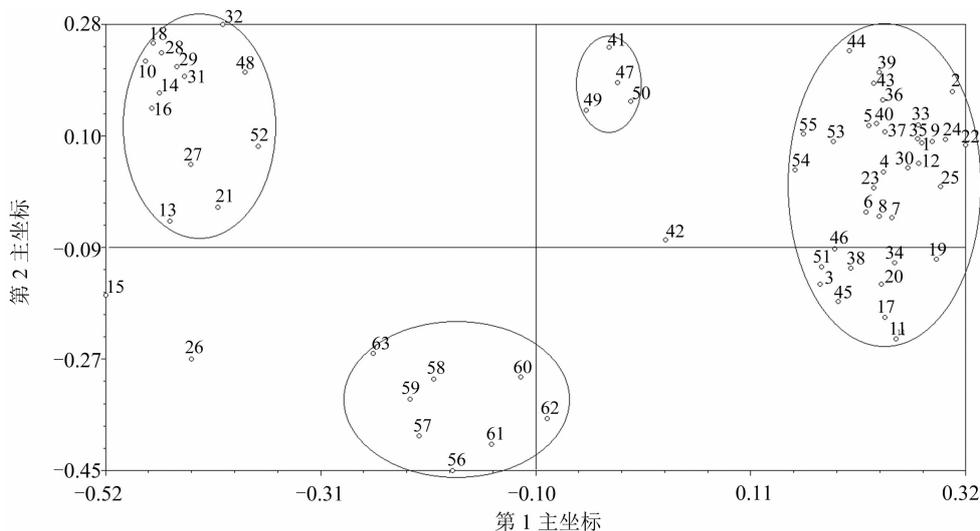
的质量没有太高要求^[19],但试验中发现,从大蒜不同部位提取的模板 DNA 浓度和质量有很大差异。大蒜鳞茎中存在大量多糖,用试剂盒抽提除杂不充分,材料的用量不宜过多,最好控制在 0.2 g 以内,否则大量多糖成分会产生很多黏液,从而干扰抽提效果。综合试验结果,用大蒜不同部位取材抽提的 DNA 对扩增效果的影响很小,可根据实际情况,在保证产率及质量的前提下合理选择取材部位。

3.2 大蒜资源间遗传多样性分析

本试验利用 33 对多态性 SSR 引物将 63 份新疆大蒜及其野生蒜种分为 6 个大类群,大多数来自同一地域的材料被聚为 1 类,说明本研究开发设计的 SSR 引物能够有效区分不同地域距离来源的大蒜资源,有一定的应用价值。也有少部分地域距离较远的大蒜材料被聚为 1 类,说明大蒜材料背景来源复杂且不同地域间存在一定的基因交流情况。因此本研究选用的 SSR 引物可以判断不同品种或材料间是否有基因交流的现象,也可以用于分析种源间的亲缘关系。

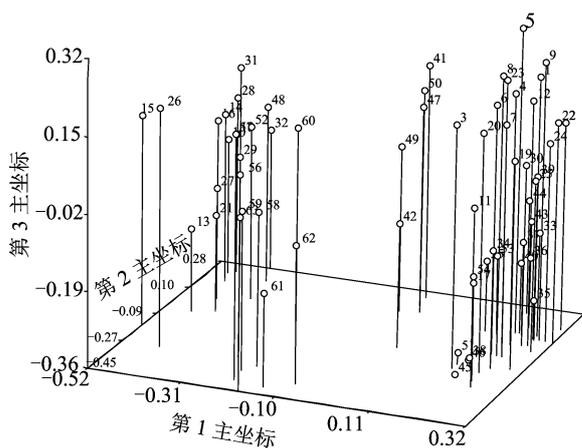
参考文献:

- [1] 都真真,李锡香,宋江萍,等. 228 份引进大蒜资源的表型多样性分析及适应性初步评价[J]. 植物遗传资源学报,2019,20(5): 1186 - 1196.
- [2] 徐宝利. 用 SSR 标记对甘肃地方油桃(*Prunus persica* L.) 种质资源遗传多样性及亲缘演化关系分析[D]. 兰州:甘肃农业大学,2006:96 - 110.
- [3] 丁燕红. 小豆种质资源 SSR 遗传多样性及其子粒色泽性状遗传参数的研究[D]. 乌鲁木齐:新疆农业大学,2006:64 - 78.
- [4] Menz M A, Klein R R, Unruh N C, et al. Genetic diversity of public inbred of sorghum determined by mapped AFLP and SSR markers



编号 1~63 同表 1

图4 聚类分析的二维坐标



编号 1~63 同表 1

图5 聚类分析的三维坐标

[J]. *Crop Science*, 2004, 44(4): 1236 - 1244.

[5] Behera T K, Singh A K, Staub J E. Comparative analysis of genetic diversity in Indian bitter melon (*Momordica charantia* L.) using RAPD and ISSR markers for developing crop improvement strategies [J]. *Scientist Horticulture*, 2008, 115(3): 209 - 217.

[6] 张雷凡. 基于观赏的石蒜属植物遗传多样性研究[D]. 杭州: 浙江林学院, 2007: 42 - 64.

[7] 夏 铭. 遗传多样性研究进展[J]. *生态学杂志*, 1999(3): 60 - 66, 82.

[8] Barone A. Molecular marker - assisted selection for potato breeding [J]. *American Journal of Potato Research*, 2004, 81(2): 111 - 117.

[9] Weeden N F, Hemmatt M, Lawson D M, et al. Development and application of molecular marker linkage maps in woody fruit crops [J]. *Euphytica*, 1994, 77(1): 71 - 75.

[10] 高 辉, 申仕康, 张金萍, 等. DNA 分子标记在茶种资源遗传多样性研究中的应用[J]. *种子*, 2011, 30(5): 57 - 60.

[11] 冯夏莲, 何承忠, 张志毅, 等. 植物遗传多样性研究方法概述 [J]. *西南林学院学报*, 2006, 26(1): 69 - 74.

[12] Virk P S, Zhu J, Newbury H J, et al. Effectiveness of different classes of molecular marker for classifying and revealing variation in rice (*Oryza sativa*) germplasm [J]. *Euphytica*, 2000, 112(3): 275 - 284.

[13] Garcia A A F, Benchimol L L, Barbosa A M M, et al. Comparison of RAPD, RFLP, AFLP and SSR markers for diversity studies in tropical maize inbred lines [J]. *Genetics and Molecular Biology*, 2004, 27(4): 579 - 588.

[14] Barboza K, Salinas M C, Acuña C V, et al. Assessment of genetic diversity and population structure in a garlic (*Allium sativum* L.) germplasm collection varying in bulb content of pyruvate, phenolics, and solids [J]. *Scientia Horticulturae*, 2019(9): 4238 - 4251.

[15] Barboza K, Beretta V, Kozub P C, et al. Microsatellite analysis and marker development in garlic: distribution in EST sequence, genetic diversity analysis, and marker transfer ability across [J]. *Alliaceae Molecular Genetics and Genomics*, 2018, 293: 1091 - 1106.

[16] 周 晶, 沈火林, 杨文才, 等. 辣椒遗传多样性的 SSR 分析 [J]. *华北农学报*, 2009, 24(增刊 1): 62 - 67.

[17] 贾 豪, 魏小春, 姚秋菊, 等. 辣椒 SSR 标记种质资源遗传多样性的分析 [J]. *分子植物育种*, 2017, 15(1): 353 - 363.

[18] Sun M. Genetic diversity in three colonizing orchids with contrasting mating systems [J]. *American Journal of Botany*, 1997, 84(2): 224 - 232.

[19] 曲世松, 刘宪华, 黄宝勇, 等. CTAB 法提取大蒜、白菜基因组 DNA [J]. *山东农业大学学报*, 2000, 31(4): 427 - 429.