

鸭茅种质资源遗传多样性的 SRAP 研究

曾 兵¹, 左福元¹, 张新全², 范 彦³, 王永雄⁴

(¹西南大学动物科学系, 重庆 402460; ²四川农业大学草业科学系, 雅安 625014;

³重庆市畜牧科学院, 重庆 402460; ⁴西南大学动物科技学院, 重庆 400715)

摘要:利用 SRAP (Sequence-related amplified polymorphism) 标记对来自国内外的 45 份鸭茅种质资源进行遗传多样性研究。21 对引物扩增出 438 个条带, 多态性条带为 363 条, 多态性条带比率为 82.08%, 每对引物组合的多态性带数平均为 17.29 条。GS 值范围在 0.6248~0.9686 间, 平均 GS 值为 0.7958, 显示来源广泛的鸭茅种质资源间存在着丰富的遗传变异。聚类分析及主成分分析能将所有材料聚为 4 类, 能较准确的反映材料的来源分布情况及供试材料的染色体倍性差异, 表明鸭茅的遗传多样性与染色体倍性及地理分布密切相关。同时清楚地揭示出国产鸭茅品种遗传基础较为狭窄。本研究为育种和探讨鸭茅种质资源遗传变异奠定了较好的理论基础。

关键词:鸭茅; 种质资源; 遗传多样性; SRAP

SRAP Analysis of Genetic Diversity in Orchardgrass

ZENG Bing¹, ZUO Fu-yuan¹, ZHANG Xin-quan², FAN Yan³, YU Yong-xiong⁴

(¹Department of Animal Science, Southwest University, Chongqing 402460; ²Department of Grassland Science, Sichuan

Agricultural University, Yaan 625014; ³Chongqing Academy of Animal Sciences, Chongqing 402460;

⁴College of Animal Science and technology, Chongqing 400715)

Abstract: The genetic diversity among 45 orchardgrass accessions was tested by SRAP. 21 primer combinations were used and 438 bands were produced in SRAP, of which 363 (82.08%) were polymorphic. The coefficient range of genetic similarity was 0.6248 - 0.966 with 0.7958 on average, which showed rich genetic diversity of orchardgrass germplasm, too. 45 accessions could be divided into 4 main groups by cluster and principal component analysis, which not only revealed the geographical distribution of accessions but also reflected the difference of karyotype. The result suggested that the genetic diversity of orchardgrass were correlative with karyotype and geographical distribution of accessions. In addition, the narrow genetic basic of Chinese orchardgrass cultivars were found. Overall, it is efficient to breed more excellent orchardgrass and release the genetic variation among accessions by this research.

Key words: Orchardgrass; Germplasm; Genetic diversity; SRAP

相关序列扩增多态性 (Sequence-related amplified polymorphism, SRAP) 是一种新型的基于 PCR 的标记系统, 由美国加州大学蔬菜作物系 Li 等^[1]于 2001 年提出, 也称基于序列扩增多态性 (Sequence-based amplified polymorphism, SBAP)^[2]。它最早是在芸薹属 (*Brassica* L.) 作物中开发出来的, 是一种

新型的基于 PCR 的随机引物标记系统, 除了方便可靠和经济外, 还具有中等产量、高共显性、易于分离条带及易于测序等优点。

SRAP 的原理是利用独特的引物设计对 ORFs (open reading frames, 开放阅读框架) 进行扩增, 上游引物长 17bp, 5'端的前 10bp 是一段填充序列, 紧

收稿日期: 2010-10-08 修回日期: 2011-05-31

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项资金项目 (XDJK2009C164); 科技部“十二五”科技支撑计划项目 (2011BAD36B00, 12011BAD17B03); 重庆市自然科学基金 (CSTC, 2009BB1128)

作者简介: 曾兵, 博士, 副教授。E-mail: zbin78@163.com

通讯作者: 王永雄, 教授。E-mail: yuyongxiong8@126.com

接着是 CCGG,它们组成核心序列及 3'端 3 个选择碱基,对外显子进行特异扩增,因为研究表明外显子一般处于富含 GC 区域。下游引物长 18bp,5'端的前 10~11bp 是一段填充序列,紧接着是 AATT,它们组成核心序列及 3'端 3 个选择碱基,对内含子区域、启动子区域进行特异扩增,因个体不同以及物种的内含子、启动子与间隔长度不等而产生多态性^[1]。

SRAP 已在农作物和园艺作物上有了较多成功的应用,如笋瓜^[2] (*Cucurbita maxima* Duch. et Lam.)、西葫芦^[3] (*Cucurbita pepo* L.)、陆地棉^[4] (*Gossypium hirsutum* L.)、桃^[5] (*Amygdalus persica* L.)、甘蓝型油菜^[6] (*Brassica napus* L.)、小麦^[7] (*Triticum aestivum* L.)、芝麻^[8] (*Sesamum indicum* L.) 等的遗传多样性研究;黄瓜^[9] (*Cucumis sativus* L.)、羽衣甘蓝^[10] (*Brassica oleracea* var. *acephala* Ftricolor) 等分子遗传图谱的构建;番茄^[11] (*Cyphomandra betacea* Sendt.) 等指纹图谱的绘制、拟南芥

(*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynt.) 和甘蓝 (*Brassica oleracea* L.) 的比较基因组研究及大白菜 (*B. pekinensis* L.)、芹菜 (*Apium graveolens* L.)、柿 (*Diospyros kaki* L.)、黄瓜^[12-13] 等的重要性状基因的标记。但 SRAP 在草种质资源上的应用还非常少,美国内布拉斯加州立大学的 Budak 博士将其应用于野牛草 (*Buchloe dactyloides* (Nutt.) Englem) 遗传多样性分析^[14-15]。SRAP 标记在牧草和草坪草遗传育种研究中具有非常广阔的应用前景。为此,本研究首次将其引入鸭茅的遗传多样性研究,以获得更全面的关于鸭茅遗传变异方面的信息,为鸭茅遗传育种服务。

1 材料与方法

1.1 供试材料

所有资源来源如表 1。鸭茅植株通过温室盆栽后取样。

表 1 分子标记供试鸭茅资源

Table 1 *D. glomerata* accessions for molecular markers

序号 No.	材料编号 Code	材料来源地 Origins	材料名称 Name	序号 No.	材料编号 Code	材料来源地 Origins	材料名称 Name
1	YA 02-107	四川宝兴	野生材料	24	02123	湖北省畜牧所	Portorn
2	YA 02-108	四川宝兴	野生材料	25	01-104	美国纽约	-
3	YA 02-109	四川宝兴	野生材料	26	00737	荷兰	-
4	YA 90-70	四川康定	野生材料	27	02683	瑞典	-
5	YA 02-111	云南中甸	野生材料	28	01819	丹麦	Mucoli
6	YA 02-106	四川宝兴	野生材料	29	96011	德国	-
7	YA 90-130	四川茂县	野生材料	30	01996	瑞典	Datuoce
8	YA 02-114	云南曲靖	野生材料	31	01824	中国农科院畜牧所	PG693
9	YA 00850	新疆	野生材料	32	01993	中国农科院畜牧所	Daketa
10	YA 02-105	四川达州	野生材料	33	02684	英国	Sparta
11	YA 05-362	四川达州	川东	34	01823	中国农科院畜牧所	2060
12	YA 01-101	贵州毕节	野生材料	35	01995	瑞典	Dtus 2
13	YA 91-103	四川越西	野生材料	36	01076	西安植物园	81-Justus
14	YA 91-7	四川汉源	野生材料	37	01767	湖北省畜牧所	Trode
15	YA 02-101	贵州	野生材料	38	02682	瑞典	Tamus
16	YA 02-116	云南昆明	野生材料	39	02122	湖北省畜牧所	Wana
17	YA 79-9	江西庐山	野生材料	40	01821	丹麦	P-6
18	YA02-117	丹麦	安巴	41	02681	丹麦	-
19	YA 02685	四川古蔺	古蔺	42	01472	美国	-
20	YA91-2	四川农业大学	宝兴	43	YA 01-103	美国纽约	-
21	01071	西安植物园	Justus	44	01475	澳大利亚	-
22	79-118	荷兰	-	45	00937	美国	Zunuo
23	01822	丹麦	-				

1.2 鸭茅基因组 DNA 的提取

试验取生长正常的鸭茅幼嫩植株的心叶采用 CTAB 法提取鸭茅 DNA^[16]。

1.3 鸭茅 SRAP 反应体系的建立及优化

本研究在鸭茅研究中没有任何可供借鉴的试验技术资料,同样需先做预备试验建立鸭茅的 SRAP

反应体系并进行优化。

试验以 Li 等^[1]的反应体系为基础,对 SRAP 的影响因素,如 Mg^{2+} 、dNTP、Taq 酶、引物浓度、模板 DNA 等进行了研究,对其逐个作以梯度(最终浓度或最终加入量),再进行 PCR 扩增分析。在研究每个影响因素时,严格控制其他条件,依据前期预备试验结果固定不变,确保试验的准确性和可比性。通过预备试验获得鸭茅 SRAP 分子标记的 25 μ l 最优

化反应体系(最终浓度): Mg^{2+} 为 1.6mmol/L、dNTP 为 200 μ mol/L、Taq 酶为 1.0U、引物浓度为 0.3 μ mol/L、模板 DNA 量为 60ng。

PCR 反应在 Thermo Hybaid PCR 仪上进行,程序同样依据 Li 等^[1]的报道如下:94℃ 变性 1min;35℃ 退火 1min,72℃ 延伸 1min,5 个循环;94℃ 变性 1min,35℃ 退火 1min,72℃ 延伸 1min,35 个循环;72℃ 延伸 10min;4℃ 保存。

表 2 鸭茅 SRAP 标记引物序列

Table 2 Sequence of primer for SRAP Markers in *D. glomerata*

引物 Primers	序列 Sequence(5'-3')	引物 Primers	序列 Sequence(5'-3')
me10 + em2	-TGAGTCCAAACCGGTTG-3 GACTGCGTACGAATTTGC-3	me11 + em9	TGAGTCCAAACCGGTGT GACTGCGTACGAATTCGA
me11 + em14	TGAGTCCAAACCGGTGT GACTGCGTACGAATTACG	me2 + em6	TGAGTCCAAACCGGAGC GACTGCGTACGAATTGCA
me11 + em15	TGAGTCCAAACCGGTGT GACTGCGTACGAATTTAG	me8 + em12	TGAGTCCAAACCGGTGC GACTGCGTACGAATTATG
me10 + em10	TGAGTCCAAACCGGTTG GACTGCGTACGAATTCAG	me1 + em2	TGAGTCCAAACCGGATA GACTGCGTACGAATTTGC
me10 + em9	TGAGTCCAAACCGGTTG GACTGCGTACGAATTCGA	me2 + em16	TGAGTCCAAACCGGAGC GACTGCGTACGAATTTGC
me10 + em4	TGAGTCCAAACCGGTTG GACTGCGTACGAATTTGA	me10 + em14	TGAGTCCAAACCGGTTG GACTGCGTACGAATTACG
me10 + em13	TGAGTCCAAACCGGTTG GACTGCGTACGAATTAGC	me2 + em2	TGAGTCCAAACCGGAGC GACTGCGTACGAATTTGC
me1 + em4	TGAGTCCAAACCGGATA GACTGCGTACGAATTTGA	me2 + em14	TGAGTCCAAACCGGAGC GACTGCGTACGAATTACG
me2 + em4	TGAGTCCAAACCGGAGC GACTGCGTACGAATTTGA	me1 + em3	TGAGTCCAAACCGGATA GACTGCGTACGAATTGAC
me10 + em15	TGAGTCCAAACCGGTTG GACTGCGTACGAATTTAG	me4 + em4	TGAGTCCAAACCGGACC GACTGCGTACGAATTTGA
me11 + em4	TGAGTCCAAACCGGTGT GACTGCGTACGAATTTGA		

1.4 鸭茅 SRAP 标记引物的设计和筛选

引物序列源自 Li 等^[1]的报道,共有上游引物 12 条,下游引物 19 条,可自由组合为 228 对引物。试验选取 4 个经电泳检测质量较高且生境和田间试验性状表现差异较大材料的 DNA(分别为 YA91-2、YA 00850、YA02-117 和 02123)开展鸭茅的引物筛选工作。从电泳图中选择条带清楚、多态性好的引物用作 SRAP 研究,从中筛选出能产生清晰扩增产物、多态性较好的引物 21 对,筛选出的引物如表 2。

1.5 鸭茅 SRAP-PCR 扩增产物的检测

扩增产物采用 6% 的变性聚丙烯酰胺凝胶电泳
万方数据

分离和银染检测^[16]。在 PCR 产物中加入 1/2 体积的 loading buffer(98% 甲酰胺,10mmol/L EDTA,0.25% 溴酚蓝,0.25% 二甲苯青),产物分离在 6% 聚丙烯酰胺凝胶上(丙烯酰胺:甲叉 = 19:1,7.5mol/L 尿素,1 $\times$ TBE 缓冲液)进行。样孔中每样品点样 16 μ l,以博瑞克公司的 D2000Marker 为对照,先在北京六一电泳仪厂的 DYY-6C 电泳仪上进行 200V 恒定电压下 30min 的预电泳,然后在 400V 恒定电压下电泳 2h,再用 0.1% 的 $AgNO_3$ 进行银染色和在 NaOH 液中显色,凝胶在灯光下用数码相机照相保存以供分析。

1.6 数据统计与分析

将 SRAP 扩增产物每个条带视为一个位点,统

计位点总数和多态位点数。按条带有或无分别赋值,有带记为 1,无带记为 0。按 Nei 和 Li 的方法计算材料间遗传相似系数(GS)。计算公式为: $GS = 2N_{ij} / (N_i + N_j)$ 计算,其中 N_{ij} 为材料 i 和 j 共有的扩增片段数目, N_i 为材料 i 中出现的扩增片段数目, N_j 为材料 j 中出现的扩增片段数目。根据 GS 值按不加权重成对群算术平均法(UPGMA)进行遗传相似性聚类,并依据 GS 值进行主成分分析。统计分析在 NT-SYS2.1 软件下进行。

2 结果与分析

2.1 SRAP 标记多态性

用 21 对筛选出的引物组合对 45 份鸭茅进行 PCR 扩增,共扩增出 438 条清晰的带,其中多态性带 363 条;平均每个引物的总扩增带数为 20.86 条,扩增条带数目变幅为 12~36 条,其中平均每个引物多态性带 17.29 条,变幅为 9~32 条,多态性条带比率(PPB)为 82.08%(表 3)。SRAP 引物所扩增出的鸭茅 DNA 片段长度大小约在 50~2000bp 间。SRAP-PCR 扩增图片较为清晰,多态性较好(图 1)。

表 3 SRAP 标记引物扩增结果

Table 3 The amplification results of SRAP primers

引物组合 Primer combinations	扩增总数 Total bands	多态带 polymorphic bands	多态性比率(%) Percentage of polymorphic bands
me10 + em2	20	17	85.00
me11 + em14	18	15	83.33
me11 + em15	21	16	76.19
me10 + em10	22	18	81.82
me10 + em9	22	17	77.27
me10 + em4	25	23	92.00
me10 + em13	15	13	86.67
me1 + em4	36	32	88.89
me2 + em4	22	20	90.91
me10 + em15	17	13	76.47
me11 + em4	19	15	78.95
me11 + em9	20	16	80.00
me2 + em6	24	20	83.33
me8 + em12	20	16	80.00
me1 + em2	16	12	75.00
me2 + em16	17	13	76.47
me10 + em14	12	9	75.00
me2 + em2	34	29	85.29
me2 + em14	27	23	85.19
me1 + em3	18	16	88.89
me4 + em4	13	10	76.92
mean	20.86	17.29	82.08
合计 Total	438	363	—

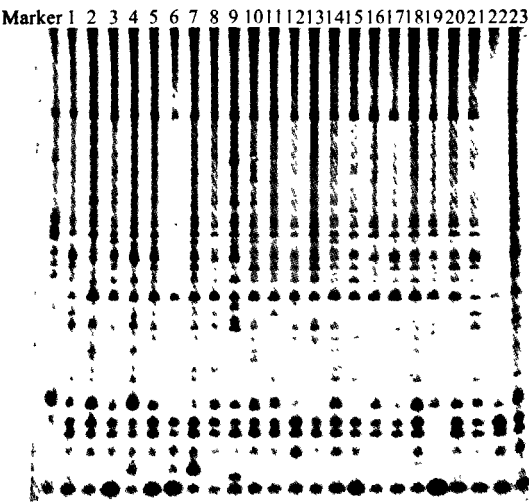


图 1 SRAP 引物 M2 + E14 扩增的指纹图谱
Fig. 1 SRAP fingerprinting patterns amplified by primer combination M2 + E14

2.2 遗传相似性分析

对扩增结果采用 Nei-Li 相似系数(GS)的计算方法,得到供试材料相似性矩阵。鸭茅 SRAP 分析中各品种(系)的 GS 值在 0.6248~0.9686 间,平均 GS 值为 0.7958。研究结果显示了鸭茅种质资源具有丰富的遗传多样性。

由相似系数矩阵可以看出,在 45 份鸭茅材料中,来自四川达州的 YA02-105(10 号)与四川农业大学培育的材料编号为 YA91-2 的品种宝兴(20 号)鸭茅材料的遗传相似系数最大为 0.9686,其次为来自四川宝兴夹金山的 YA02-107(1 号)与四川宝兴烧鸡窝的 YA02-109(3 号)鸭茅材料的遗传相似系数为 0.9254,其遗传距离次小,遗传相似性次大。相反的,遗传相似系数最小的为来自贵州的 02-101(15 号)与来自澳大利亚的 01475(44 号)的 0.6248。

较低的遗传相似系数显示来自不同地域和不同育种背景的鸭茅种质资源间存在丰富的遗传多样性。

在供试的 19 份来自国内的种质材料中,包括 16 份野生材料和 3 个国家级登记品种。16 份鸭茅生态型间的遗传相似系数范围在 0.7269~0.9686 间,这意味着它们间存在丰富的遗传变异。

我国仅有的 3 个鸭茅品种宝兴(20 号)、古蔺(19 号)和川东(11 号)间的 GS 值范围为 0.8512~0.8863,显得非常狭小,说明其遗传相似性较高。

2.3 聚类分析

基于遗传相似系数,利用 UPGMA 法对供试材料进行聚类分析(图 2)。

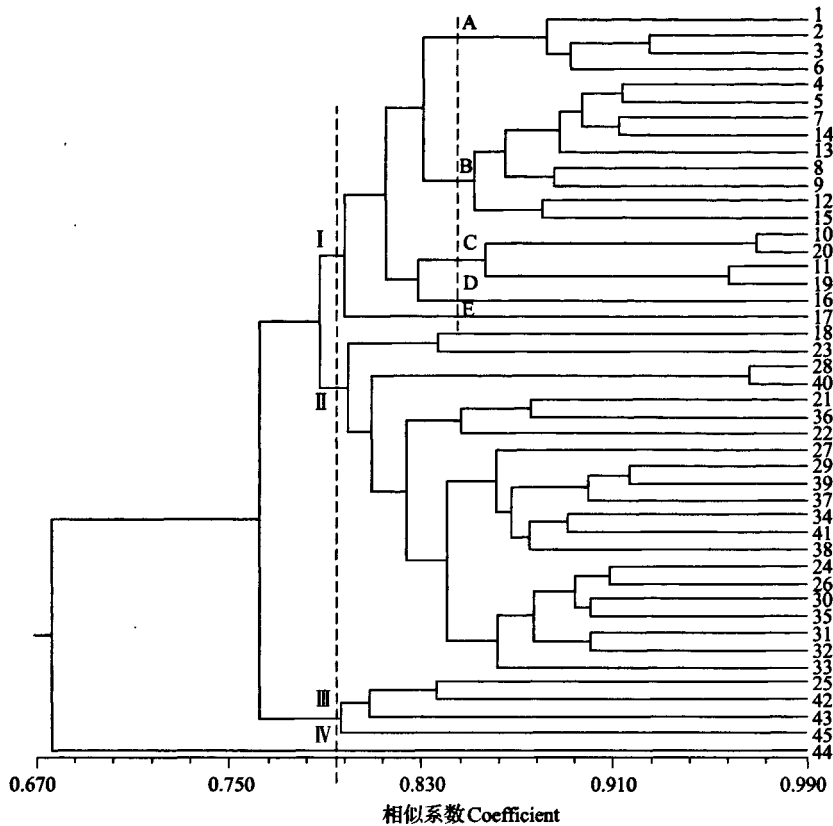


图 2 鸭茅 SRAP 标记的 UPGMA 聚类图

Fig. 2 UPGMA dendrogram for SRAP of *D. glomerate*

通过鸭茅 SRAP 分析做遗传距离聚类,在遗传系数为 0.7958 处将 45 份鸭茅材料分为 4 大类。国内所有材料全聚为 I 类,所有来欧洲的材料能聚在 II 类,聚为 III 类的全为来自美国的材料,来自澳大利亚的野生材料 01475 (44 号) 与其余材料差异非常明显聚为 IV 类。SRAP 的聚类结果与材料的地理分布非常符合,来自相似地理气候条件地区的材料遗传相似性均较高。

所有材料除了聚为 4 个主要类群外,聚为 I 类的来自中国的材料又可聚为 A-E 5 个亚类。材料序号为 1、2、3、6 的 4 个材料聚为 A 亚类;聚为 B 亚类的材料包括序号为 4、5、7、14、13、8、9、12、15 的共 9 个材料;10 号、20 号、11 号、19 号材料聚为 C 亚类;16 号和 17 号材料分别单独聚为 D 亚类和 E 亚类。结合课题组以前已完成^[12]及现在正在开展的对所收集的鸭茅种质材料的染色体倍型分析,我们发现亚类的聚类划分恰好与染色体倍性状况相符合。B 亚类的材料均为 2 倍体鸭茅,A、C、D、E 亚类的材料则为 4 倍体鸭茅。

进一步分析发现,A 亚类的 4 份材料均采自四川省宝兴县,其聚类状况与地理分布非常一致,但 B 亚类材料却来自四川、云南、新疆等不同的省份,材

料的地理分布不规范,C 亚类材料也同样如此。由此可见在中国这一地域范围内,染色体倍性状况是鸭茅种质聚类的首要影响因素,其次才是材料的地理分布状况。D、E 亚类的两份材料经田间农艺性状观察和生产性能评估发现其表现较好,尤其是 E 亚类的 17 号材料(YA02-116)鲜草产量最高且生态适应性非常好。即聚类关系能反映田间农艺性状和生产性能的差异。聚类结果显示我国 3 个鸭茅品种的遗传距离非常相近,证明它们的遗传亲缘关系也较为相近。

2.4 主成分(PCA)分析

基于遗传相似系数,在 NTSYS2.1 软件上对不同鸭茅材料进行主成分分析,并根据第一、第二主成分进行作图,所形成的各野生鸭茅材料的位置分布如图 3 所示,位置相靠近者表示关系密切,远离者表示关系疏远。将位置靠近的鸭茅材料划归在一起,共得到 4 个主要类群。聚类结果表明主成分分析结果与聚类分析结果基本一致,同一地区的大部分鸭茅材料聚在一起,主成分分析结果更直观地表明了不同鸭茅材料之间的亲缘关系,但不能像聚类图一样将种质材料间的染色体倍性区分开来。

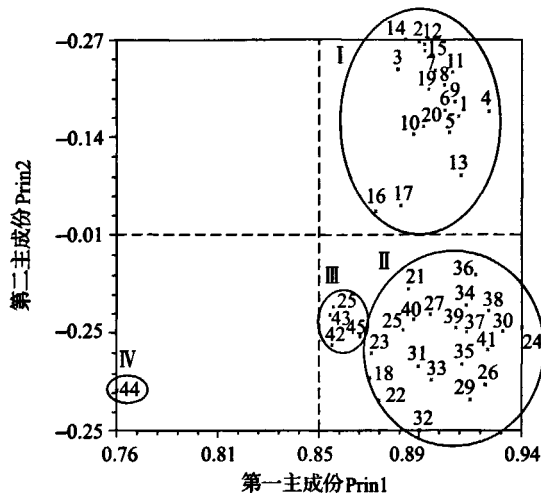


图3 基于SRAP谱型的鸭茅材料主成分分析

Fig. 3 Principal component analysis based on SRAP patterns in *D. glomerata*

3 结论与讨论

3.1 鸭茅SRAP标记的扩增多态性及遗传多样性分析

研究结果显示鸭茅SRAP标记扩增多态性较好,不同鸭茅种质资源遗传多样性较为丰富。

通过鸭茅的SRAP标记,每对引物组合的多态性带数为17.29条,高于Budak等^[14]对野牛草品种研究的8条多态性带数、Ferriol等^[2]对西葫芦种质研究的5.8条和林忠旭等^[4]对棉花研究的5.14条。而且不同研究中,扩增带的多态性比例差异较大,例如Budak等对野牛草的研究中为95%,Ferriol等对西葫芦和笋瓜的研究中为72.7%,而本研究为82.08%,与上述研究相似。这可能与所研究的材料的类型有关。本研究使用的材料为普通鸭茅这一相同种,而Budak和Ferriol等的研究中所用的材料包括不同种间的、多种倍性的、遗传关系较远的不同种质资源。

遗传多样性分析显示来源广泛的鸭茅种质资源间存在着丰富的遗传变异。进一步分析发现鸭茅的遗传多样性与染色体倍性及地理分布密切相关;同时也表明,由于世界鸭茅种质资源分布广泛,生存生境多样,可能存在地理位置相差较远的基因隔离现象和地理位置相近的基因流动现象。国内鸭茅种质聚类情况分析表明,在相对较小的地理区域内,影响鸭茅遗传变异的主要因素是染色体倍性的差异,二倍体鸭茅和四倍体鸭茅各种质内同源性较高,遗传差异较小,但不同染色体倍性材料间遗传差异则较显著,这一结论与帅素容等^[17]对二倍体和四倍体鸭

茅不同生育期的酯酶和过氧化物酶同工酶研究所获得的结论和彭燕等^[18]对国内野生鸭茅种质资源遗传多样性的AFLP标记所获得结论一致。

3.2 SRAP在鸭茅遗传多样研究中的应用

本研究显示SRAP标记体系能较好地应用于鸭茅的遗传多样性分析。

相对于RAPD和ISSR在鸭茅上的应用,SRAP标记的遗传相似性分析能检测到更多的遗传变异。此外,聚类分析不仅比前两种标记更能准确地反映材料的来源分布情况,而且能反映供试材料的染色体倍性差异。张新全、钟声等研究表明,四倍体与二倍体鸭茅在形态及部分农艺性状方面存在明显差异^[19-20]。结合田间形态和农艺性状的观测,本研究发现SRAP分子标记不仅能将二倍体和四倍体及其性状分别与之相近的种质彼此分开,而且还能将一些具有较特殊性状的种质如02-116、79-9加以区分,获得与鸭茅AFLP标记相似的分析效果^[18]。由此可见,SRAP和AFLP标记体系一样能有效检测鸭茅种质的遗传变异。

3.3 国内鸭茅品种遗传基础评估及原因分析

遗传多样性分析发现我国3个鸭茅品种具有较高的遗传相似性,即亲缘关系较近,反映出国内鸭茅品种狭窄的遗传基础。

通过查看国内鸭茅品种的育种背景和方法我们不难获得合理的解释。目前国内仅选育完成国家登记鸭茅品种3个:宝兴、古蔺和川东,它们均通过野生鸭茅资源人工驯化选育而成,且均育成于四川省。3个品种的选育材料均来自气候地理条件较为相似的四川省境内。相似的遗传背景和相同的育种方式决定了其遗传亲缘关系必然较高。鉴于我国有广大的地区适合种植鸭茅,就需要适合不同生态条件下的具有多种遗传种质的鸭茅品种。为此,面对国内外如此丰富的种质资源,我们应该利用杂交等各种育种手段,选用来自各地遗传多样性丰富的鸭茅,开展大范围的鸭茅育种工作,以获得适应更广区域的鸭茅品种。另外,结合本研究及他人研究结果,除了选用不同地域鸭茅作为育种资源外,还可以充分开展不同倍型间鸭茅种质资源的筛选和评价,以培育出遗传基础广泛的鸭茅新品种。

3.4 SRAP标记特点及在草种质资源遗传多样研究中的发展前景

SRAP技术有稳定、方便快捷、经济以及可靠等优点,可以较好地应用于各种草种质资源遗传育种研究。

SRAP 标记是在总结已有的 DNA 分子标记的优缺点的基础上,开发的一种新的基于 PCR 的 DNA 分子标记技术。该标记主要是对开放阅读框(ORF)进行扩增,提高了扩增结果与表现型的相关性。PCR 扩增不要求高纯度和高浓度 DNA 和不使用放射性同位素,不需要像 SSR 标记那样花费人力物力进行引物开发,比 RAPD 标记稳定。目前 SRAP 标记已经在农作物和园艺作物上得到成功应用。

SRAP 应用于草种质资源遗传育种研究最重要的特点有以下几方面:(1)长达 17~18bp 的上下游两条引物的使用确保试验结果稳定性远高于使用较短单链引物的 RAPD 和 ISSR 标记。(2)SRAP 标记能获得与 AFLP 几乎一样丰富的遗传信息但试验方法更便捷。(3)有限数目的上下游引物可以通过不同组合形成更多的引物组合应用于研究,其试验成本得以大幅度降低。(4)基于 SRAP 自身引物设计的特点,引物 PCR 扩增成功率较 RAPD 和 ISSR 高,很少出现无扩增带的引物,其引物利用率较高。此外,引物可依据 SRAP 的原理自己设计,不需借助 Oligo 和 Primer 等专业引物设计软件,开发方便。SRAP 标记不需要预先掌握试验材料相关基因组信息,尤其适合大量目前遗传基础研究非常薄弱的草种质资源。

参考文献

- [1] 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
- [2] Ferriol M, Pico B, Nuez F. Genetic diversity of some accessions of *Cucurbita maxima* from Spain using RAPD and SBAP markers [J]. *GRCE*, 2003, 50 (3): 2372-2381
- [3] Ferriol M, Pico B, Nuez F. Genetic diversity of a germplasm collection of *Cucurbita pepo* using SRAP and AFLP markers [J]. *TAG*, 2003, 107: 271-282
- [4] 林忠旭, 张献龙, 聂以春. 新型标记 SRAP 在棉花 F₂ 分离群体及遗传多样性评价中的适用性分析 [J]. *遗传学报*, 2004, 31 (6): 622-626
- [5] Potter R D, Southwick S M. Genotyping of peach and nectarine cultivars with SSR and SRAP molecular marker [J]. *J AS HS*, 2004, 129 (2): 204-210
- [6] 文雁成, 王汉忠, 沈金雄, 等. 用 SRAP 标记分析中国甘蓝型油菜品种的遗传多样性和遗传基础 [J]. *中国农业科学*, 2006, 39 (2): 246-256
- [7] 王凤涛, 蔺瑞明, 欧阳宏雨, 等. 利用 SRAP 标记分析河南小麦栽培品种的遗传多样性 [J]. *植物遗传资源学报*, 2009, 10 (4): 517-521
- [8] 车卓一, 张艳欣, 孙建, 等. 芝麻核心收集品中育成品种(系)的遗传多样性分析 [J]. *植物遗传资源学报*, 2009, 10 (3): 373-377
- [9] Li G, Gao M, Yang B, et al. Gene for alignment between the *Brassica* and *Arabidopsis* genomes by direct transcriptome mapping [J]. *T AG*, 2003, 107: 168-180
- [10] Ho C Y, McMaugh S J, Wilton A N, et al. DNA amplification variation within cultivars of turf-type couch grasses (*Cynodon* spp.) [J]. *PCR*, 1997, 16: 797-801
- [11] 于拴仓, 柴敏, 姜立纲. 主要番茄品种的分子鉴别研究 [J]. *农业生物科学*, 2005, 21 (5): 84-89
- [12] Guo D L, Luo Z R. Genetic relationships of some PCNA persimmons (*Diospyros kaki* Thunb.) from China and Japan revealed by SRAP analysis [J]. *GR CE*, 2005, (1): 1-7
- [13] 潘俊松, 王刚, 李效尊, 等. 黄瓜 SRAP 遗传连锁图的构建及始花节位的基因定位 [J]. *科学通报*, 2005, 15 (2): 167-172
- [14] Budak H, Shearman R C, Parmaksiz I, et al. Molecular characterization of *Bufalograss* germplasm using sequence-related amplified polymorphism markers [J]. *TAG*, 2004, 108 (2): 328-334
- [15] Budak H, Shearman R C, Parmaksiz I. Comparative analysis of seeded and vegetative biotype *bufalograsses* based on phylogenetic relationship using ISSRs, SSRs, RAPDs, and SRAPs [J]. *TAG*, 2004, 109 (2): 280-288
- [16] Sun G L, Salomon B, Bothmer von R. Analysis of tetraploid *Elymus* species using wheat microsatellite markers and RAPD markers [J]. *Genome*, 1997, 40: 806-814
- [17] 帅素容, 张新全, 白史且. 不同倍性鸭茅同工酶比较研究 [J]. *草业科学*, 1998 (6): 11-16
- [18] 彭燕, 张新全, 刘金平, 等. 野生鸭茅种质遗传多样性的 AFLP 分子标记 [J]. *遗传*, 2006, 28 (7): 845-850
- [19] 张新全, 杜逸, 郑德成. 鸭茅二倍体和四倍体生物学特性的研究 [J]. *四川农业大学学报*, 1996, 14 (2): 202-206
- [20] 钟声, 杜逸, 郑德成, 等. 二倍体鸭茅农艺性状的初步研究 [J]. *草地学报*, 1997 (1): 54-61

2012 年《中国野生植物资源》征订启事

《中国野生植物资源》系由中华全国供销合作总社主管、南京野生植物综合利用研究院主办的综合性科技期刊。报道野生经济植物最新科研成果, 介绍野生植物资源研究与开发、综合利用、栽培技术, 以普及与提高相结合的方式, 加强从事野生经济植物开发利用者的相互交流, 为我国经济建设服务。

双月刊, 大 16 K。定价 5 元, 全年 30 元, 邮发代号: 28-245

地址: (210042) 南京蒋王庙街 4 号

电话: 025-85472153, E-mail: yszw2009@163.com 网址: www.co-plant.com

作者: 曾兵, 左福元, 张新全, 范彦, 王永雄, ZENG Bing, ZUO Fu-yuan, ZHANG Xin-quan, FAN Yan, YU Yong-xiong
作者单位: 曾兵, 左福元, ZENG Bing, ZUO Fu-yuan(西南大学动物科学系, 重庆, 402460), 张新全, ZHANG Xin-quan(四川农业大学草业科学系, 雅安, 625014), 范彦, FAN Yan(重庆市畜牧科学院, 重庆, 402460), 王永雄, YU Yong-xiong(西南大学动物科技学院, 重庆, 400715)
刊名: 植物遗传资源学报 ISTIC PKU
英文刊名: Journal of Plant Genetic Resources
年, 卷(期): 2011(5)

参考文献(20条)

1. 钟卢;杜逸;郑德成 二倍体鸭茅农艺性状的初步研究 1997(01)
2. 张新全;杜逸;郑德成 鸭茅二倍体和四倍体生物学特性的研究 1996(02)
3. 彭燕;张新全;刘金平 野生鸭茅种质遗传多样性的AFLP分子标记 2006(07)
4. 帅素容;张新全;白史且 不同倍性鸭茅同工酶比较研究 1998(06)
5. Sun G L;Salomon B;Bothmer von R Analysis of tetraploid Elymus species using wheat microsatellite markers and RAPD markers 1997
6. Budak H;Shearman R C;Parmaksiz I Comparative analysis of seeded and vegetative biotype bufalograsses based on phylogenetic relationship using ISSRs, SSRs, RAPDs, and SRAPs[外文期刊] 2004(02)
7. Budak H;Shearman R C;Parmaksiz I Molecular characterization of Bufalograss germplasm using sequence-related amplified polymorphism markers[外文期刊] 2004(02)
8. 潘俊松;王刚;李效尊 黄芩SRAP遗传连锁图的构建及始花节位的基因定位 2005(02)
9. Guo D L;Luo Z R Genetic relationships of some PCNA persimmons (Diospyros kaki Thunb.) from China and Japan revealed by SRAP analysis 2005(01)
10. 于拴仓;柴敏;姜立纲 主要番茄品种的分子鉴别研究 2005(05)
11. Ho C Y;McMaugh S J;Wilton A N DNA amplification variation within cultivars of turf-type couch grasses (Cynodon spp.) 1997
12. Li G;Gao M;Yang B Gene for alignment between the Brassica and Arabidopsis genomes by direct transcriptome mapping 2003
13. 车卓一;张艳欣;孙建 芝麻核心收集品中育成品种(系)的遗传多样性分析 2009(03)
14. 王凤涛;蔺瑞明;欧阳宏雨 利用SRAP标记分析河南小麦栽培品种的遗传多样性 2009(04)
15. 文雁成;王汉忠;沈金雄 用SRAP标记分析中国甘蓝型油菜品种的遗传多样性和遗传基础 2006(02)
16. Potter R D;Southwick S M Genotyping of peach and nectarine cultivars with SSR and SRAP molecular marker 2004(02)
17. 林忠旭;张献龙;聂以春 新型标记SRAP在棉花F2分离群体及遗传多样性评价中的适用性分析 2004(06)
18. Ferriol M;Pico B;Nuez F Genetic diversity of a germplasm collection of Cucurbita pepo using SRAP and AFLP markers[外文期刊] 2003
19. Ferriol M;Pico B;Nuez F Genetic diversity of some accessions of Cucurbita maxima from Spain using RAPD and SBAP markers[外文期刊] 2003(03)
20. 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 2001

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zwyczyxb201105007.aspx