

网络出版时间:2013-03-27 15:49

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20130327.1549.014.html>

荷花遗传多样性的 ISSR 标记分析

刘艺平¹, 李 创², 李 娜¹, 李立升¹, 孔德政¹

(1 河南农业大学 林学院, 河南 郑州 450002; 2 新郑市南龙湖管委会 市政建设环保局, 河南 郑州 451100)

【摘要】【目的】探讨荷花(*Nelumbo nucifera* Gaertn.)资源的遗传多样性和亲缘关系,为荷花资源的保护利用、品种鉴定及育种效率提高提供参考。【方法】利用 ISSR 分子标记技术,对 6 份野生半野生荷花品系和 27 份荷花栽培品种进行遗传多态性分析,从 40 条引物中筛选扩增效果较好的 5 条引物用于试验。采用 POPGEN32 软件计算供试材料的等位基因数(N_a)、有效等位基因数(N_e)、Nei's 基因多样性(H_e)和 Shannon 多态性信息指数(I),利用 UPGMA 方法进行聚类分析。【结果】用筛选出的 5 条引物(UBC807、UBC811、UBC836、UBC840、UBC880)分别对 33 份荷花材料基因组 DNA 进行扩增,共扩增出 54 条清晰条带,其中多态性条带 25 条,多态性条带比例为 46.3%。应用引物 UBC811、UBC840 和 UBC880 的 15 个特异性位点绘制了 33 份荷花的 DNA 指纹图谱,这些位点组合后可以将 33 份荷花材料逐一区分开。33 份荷花资源的 N_e 为 1.276 6, H_e 为 0.192 0, I 为 0.323 7,且野生半野生品系的各项参数值均低于栽培品种。利用 UPGMA 法将供试荷花资源分为 4 个类群,6 个野生半野生荷花品系均在第 I 类群,3 个中、美杂种莲种系和 13 个中国莲种系的品种聚在第 II 类群,藕莲和花莲分属于第 I 类群和第 II 类群,第 III 和第 IV 类群分别仅包括 1 个和 2 个品种。【结论】供试 33 份荷花资源的遗传多样性水平较低。聚类结果显示,荷花资源间的亲缘关系与地理分布距离相关,中、美杂种莲种系品种与中国莲种系品种的亲缘关系较近。加强对全国各地荷花资源的调查与保护,是荷花遗传多样性保护的重要工作。

【关键词】 荷花; ISSR; 遗传多样性

【中图分类号】 S682.320.2

【文献标志码】 A

【文章编号】 1671-9387(2013)04-0139-08

ISSR markers based on genetic diversity analysis of *Nelumbo nucifera* Gaertn.

LIU Yi-ping¹, LI Chuang², LI Na¹, LI Li-sheng¹, KONG De-zheng¹

(1 College of Forestry, Henan Agricultural University, Zhengzhou, He'nan 450002, China; 2 Bureau of Municipal Construction and Environmental Protection, Xinzheng Nanlong Lake Management Committee, Zhengzhou, He'nan 451100, China)

Abstract: 【Objective】The research was conducted to explore the genetic diversity and phylogenetic relationship of *Nelumbo nucifera* Gaertn. and improve protection and utilization of the lotus accessions, cultivar identification and breeding efficiency. 【Method】The DNA polymorphism of 6 wild and semi-wild lotus stains and 27 lotus cultivars were analyzed using inter-simple sequence repeat (ISSR) markers. 5 out of the 40 primers subjected to screening were used. By POPGEN32, the average values of alleles, effective number of alleles, the average Nei's gene diversity and the average Shannon's information index were analyzed. The cluster analysis was conducted by UPGMA (unweighted pair group method with arithmetic average). 【Result】Using 5 selected primers (UBC807, UBC811, UBC836, UBC840, and UBC880), 54 DNA bands

【收稿日期】 2012-07-30

【基金项目】 河南省重大科技专项(072102150001)

【作者简介】 刘艺平(1977—),女,河南温县人,讲师,在读博士,主要从事园林植物栽培生理、分子生物学研究。
E-mail:lyp_163@163.com

【通信作者】 孔德政(1964—),男,江苏高淳人,教授,博士,主要从事园林植物遗传育种研究。E-mail:kdz217@sohu.com

were amplified, of which 46.3% were polymorphic. Based on the 15 polymorphic loci from the primers UBC811, UBC840, and UBC880, the ISSR fingerprints were constructed and the 33 lotus accessions were separated. The average value of effective number of alleles, Nei's gene diversity and Shannon's information index were 1.276 6, 0.192 0 and 0.323 7, respectively. The indexes of the 6 lotus strains were lower than those of cultivars. The 33 lotus accessions were divided into four groups by UPGMA. The 6 lotus strains belonged to the first group and the second group included the 3 cultivars of Sino-American hybrids species constitution and the 13 cultivars of Chinese lotus species constitution. The rhizome cultivars and the flower cultivars belonged to the first and second group, respectively. 【Conclusion】 The tested 33 lotus accessions exhibited a low level of genetic diversity, which may result from their asexual mode of reproduction, survival environment and the studied accessions. The genetic relationship of lotus accessions is related to their geographic distribution. Sino-American hybrids species constitution and Chinese lotus species constitution are genetically close. It is the important work of lotus genetic diversity protection to strengthen investigation and protection of the lotus resources around China.

Key words: *Nelumbo nucifera* Gaertn.; ISSR; genetic diversity

荷花(*Nelumbo nucifera* Gaertn.)原产中国,又名莲花、芙蕖、芙蓉、水芙蓉等,是睡莲科莲属的多年生水生草本花卉,是我国十大传统名花之一,栽培历史悠久。在形态学分类上,《中国荷花品种图志》(2005)^[1]中按观赏植物“二元分类法”原则将荷花分为 3 系(中国莲种系、中国莲亚种莲种系及中、美杂种莲种系),6 群,16 类,48 型,分别以种系、株型、花型和花色为分类标准。而在《中国荷花新品种图志 I》(2011)^[2]中将荷花分为 14 个品种群,采用了 4 级分类标准:温/热带型、种系、株型和花型,既保留了中国花卉品种“二元”分类法的框架,又符合国际栽培植物命名法规的要求。在实际应用中,人们常根据产品的利用价值将荷花分为子莲、藕莲和花莲 3 大类,其间也有一些中间类型的兼用品种。目前,中国已记载收编的荷花品种资源有 811 个^[1-2],众多的荷花品种资源及野生莲资源为荷花遗传多样性研究提供了丰富的材料。遗传多样性是物种长期适应环境与进化的产物,其本质是物种在遗传物质上的差异^[3]。遗传多样性研究可以揭示物种或居群的进化历史,有助于正确地理解不同分类群间的亲缘演化关系,也可为生物的分类和进化研究提供依据。近年来,随着分子生物技术的迅速发展,各种 DNA 分子标记技术已广泛应用于作物及园林植物的遗传多样性研究和种质鉴定^[4-9]。莲属植物中也有相关报道,早在 1998 年,邹喻苹等^[10]对古代‘太子莲’以及哈尔滨、河北、江西、湖南等地区的红花中国莲野生居群或农家栽培品种的基因组 DNA 进行了 RAPD 和微卫星(SSR)DNA 多态检测;Han 等^[11-12]分别用 ITS 序列分析、ISSR、RAPD 技术对

荷花资源的亲缘关系、遗传变异等进行了研究;Chen 等^[13]利用 ISSR 标记对中国莲种系、中国莲亚种莲种系及中、美杂种莲种系的 92 个品种进行了遗传多样性分析;Nakao 等^[14]对 16 个荷花品种进行了 SSR 分析,证明了 SSR 标记在分类、遗传多样性研究中的优势;孔德政等^[15]对荷花中的小型品种“碗莲”进行了 RAPD 指纹鉴定。

河南位于中国中东部,黄河中下游,横跨黄河、淮河、海河、长江四大水系,境内 1 500 多条河流纵横交织。河南栽培荷花的历史悠久,郑州“仰韶文化”遗址上发现的两粒碳化莲子可以为证。为了解河南荷花遗传资源现状,有效地利用和保护这些资源,孔德政^[16]于 2009—2010 年对河南荷花地方品种(系)、引种栽培的主要品种及各品种的地理分布进行了详细调查,确定在河南已引种成功、性状稳定的荷花品种有 96 个;地方品种(系)有 31 个,其中野生、半野生品系 15 个,主要分布在黄河以南各地市乡村的水域和湿地;调查还发现,河南地区的荷花资源欠缺,类型较少,且各类型分布很不均衡。本研究在此调查基础上,利用 ISSR 技术对 27 份栽培品种及河南的 6 个野生半野生荷花品系进行了比较分析,旨在客观地评价这些荷花资源的遗传多样性,了解其遗传变异的地理分布规律,为荷花遗传多样性的保护、品种鉴定及育种效率的提高提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料共包括 33 份荷花(*N. nucifera* Gaertn.)资源,其中有 6 个野生、半野生荷花品系,

主要采自河南省黄河、淮海水系沿岸的湿地、水库, 园,另外 6 个采自河南省新郑市和河南农业大学林
并以采集地对其进行命名;33 份资源中的其他 27 站。供试材料相关信息见表 1 和表 2。
个栽培品种,有 21 个采自湖北省武汉市东湖植物

表 1 6 个野生、半野生荷花品系的相关信息
Table 1 The 6 wild and semi-wild lotus strains used in this study

编号 Number	样品类型 Plant type	花型 Petal type	花色 Petal color	来源 Origin	命名 Name	经纬度 Longitude,latitude
1	藕莲 Rhizome	半重瓣 Semidouble	白色 White	灵宝鼎湖湾 Lingbao Dinghuwan	鼎湖湾 Dinghuwan	N34°34′51.70″ E110°36′20.84″
2	藕莲 Rhizome	半重瓣 Semidouble	白色 White	灵宝后地 Lingbao Houdi	后地 Houdi	N34°43′13.35″ E110°55′59.46″
3	藕莲 Rhizome	半重瓣 Semidouble	淡堇紫色 Lavender	三门峡天鹅湖 Sanmenxia Tian’e hu	天鹅湖 Tian’e hu	N34°47′19.10″ E111°08′25.77″
4	藕莲 Rhizome	少瓣型 Unipetalous	淡堇紫色 Lavender	民权林七水库 Minquan Linqi Shuiku	林七水库 Linqi Shuiku	N34°40′27.00″ E115°18′50.40″
5	藕莲 Rhizome	重瓣型 Double	淡堇紫色 Lavender	虞城小乔集黑龙潭 Yucheng Xiaoqiaoji Heilongtan	小乔集黑龙潭 Xiaoqiaoji Heilongtan	N34°31′59.39″ E116°11′05.39″
6	藕莲 Rhizome	半重瓣 Semidouble	白色 White	虞城小乔集潭坑 Yucheng Xiaoqiaoji Tankeng	小乔集潭坑 Xiaoqiaoji Tankeng	N34°31′59.34″ E116°11′04.61″

表 2 27 个荷花栽培品种的相关信息
Table 2 The 27 lotus cultivars used in this study

编号 Number	品种名 Name	花型 Petal type	花色 Petal color	编号 Number	品种名 Name	花型 Petal type	花色 Petal color
1	小 3735 Small 3735	少瓣型 Unipetalous	白色 White	15	楚天祥云 Chutianxiangyun	少瓣型 Unipetalous	复色 Versicolor
2	长白藕 Changbaïou	半重瓣 Semidouble	白色 White	16	案头春 Antouchun	半重瓣 Semidouble	淡红紫色 Orchid
3	天高云淡 Tiangaoyundan	重瓣型 Double	白色 White	17	夜明珠 Yemingzhu	少瓣型 Unipetalous	白色 White
4	滴翠莲 Dicuilian	半重瓣 Semidouble	白色 White	18	翠微夕照 Cuiweixizhao	重瓣型 Double	淡堇紫色 Lavender
5	露半唇 Lubanchun	重瓣型 Double	淡堇紫色 Lavender	19	小碧莲 Xiaobilian	重瓣型 Double	白色 White
6	白鹅 Bai’e	少瓣型 Unipetalous	白色 White	20	赛佛座 Saifozuo	重瓣型 Double	淡堇紫色 Lavender
7	蝶恋花 Dielianhua	半重瓣 Semidouble	复色 Versicolor	21	露华浓 Luhuanong	重瓣型 Double	淡堇紫色 Lavender
8	笑靥 Xiaoyan	重瓣型 Double	淡红紫色 Orchid	22	黄鹂 Huangli	半重瓣 Semidouble	黄色 Yellow
9	醉梨花 Zuilihua	半重瓣 Semidouble	白色 White	23	紫玉莲 Ziyulian	重瓣型 Double	堇紫色 Purple
10	丽霞 Lixia	半重瓣 Semidouble	淡堇紫色 Lavender	24	落霞映雪 Luoxiayingxue	重瓣型 Double	淡堇紫色 Lavender
11	丽质芳姿 Lizhifangzi	重瓣型 Double	淡红紫色 Orchid	25	娇容醉杯 Jiaorongzuibei	重瓣型 Double	淡堇紫色 Lavender
12	丹顶玉阁 Dandingyuge	重瓣型 Double	白色 White	26	小梔子 Xiaozhizi	半重瓣 Semidouble	白色 White
13	白衣战士 Baiyizhanshi	少瓣型 Unipetalous	白色 White	27	霜晨月 Shuangchenyue	重瓣型 Double	淡堇紫色 Lavender
14	粉青莲 Fenqinglian	少瓣型 Unipetalous	复色 Versicolor				

注:除编号 1、2 为藕莲外,其他均为花莲;除编号 4、7、22 属中、美杂种莲种系外,其他均属中国莲种系;编号 1、2 来源地为河南新郑,3~6 为河南农业大学林站,其他来自武汉市东湖植物园。
Note:No. 1, 2 are rhizome cultivars,the others are flower cultivars;No. 4,7,22 belong to Sino-American hybrids species constitution,the others belong to Chinese lotus species constitution. No. 1,2 are from Henan Xinzheng,3—6 are from Forestry Station of Henan Agricultural University,the others are from Wuhan Botanical Garden of East Lake.

1.2 供试荷花材料总 DNA 的提取及检测

采用购自上海生工生物工程有限公司的 Ezup 柱式植物基因组 DNA 抽提试剂盒,从荷花嫩叶中提取总 DNA。经 10 g/L 琼脂糖凝胶电泳检测,Alpha Imager 型凝胶成像分析仪拍照记录后,保存于-20 ℃冰箱中备用。

1.3 引物筛选及 ISSR 扩增

从上海生工生物工程有限公司生产合成的 40 条引物中,筛选出扩增效果较好的 5 条引物用于 PCR 扩增。PCR 扩增反应总体积为 20 μ L:含 10 $\times$ buffer 2.0 μ L (含 Mg^{2+}),4 nmol dNTPs (0.2 mmol/L),10 pmol 引物 (0.5 μ mol/L),1.0 U *Taq* DNA 聚合酶,60 ng 总 DNA,不足部分用无菌水补充。扩增程序为:94 ℃预变性 5 min;94 ℃变性 30 s,45~60 ℃(通过温度梯度 PCR 筛选适宜温度)退火 30 s,72 ℃延伸 90 s,30 个循环;72 ℃延伸 7 min,4 ℃保存。

1.4 扩增产物检测及数据统计分析

扩增产物经 10 g/L 琼脂糖凝胶电泳检测,在

Alpha Imager 型凝胶成像分析仪上拍照,保存凝胶图像。对 ISSR 扩增产物中清晰的可重复性条带进行记录,在相同迁移位置上有带记为 1,无带记为 0,获得“1-0”二元数据矩阵。采用 POPGEN32 软件,计算等位基因数(N_a)、有效等位基因数(N_e)、Nei's 基因多样性(H_e)和 Shannon 多态性信息指数(I)。通过 NTsys2.10e 软件中的 Qualitative data 和 SAHN Clustering,计算各供试材料间的相似性系数,采用 UPGMA 方法进行聚类分析,获得聚类分析树状图。

2 结果与分析

2.1 引物筛选及 ISSR 扩增

用筛选出的条带清晰、重复性好、多态性强的 5 条引物,对供试的 33 份荷花材料进行 PCR 扩增。由表 3 可见,从 33 份荷花中共扩增出 54 条谱带,其中多态性谱带 25 条,平均每对引物扩增出 5.0 条多态性条带,多态性条带比例为 46.3%。5 条引物中的 UBC811 扩增的 ISSR 图谱见图 1。

表 3 5 条 ISSR 引物序列及其 PCR 扩增相关信息

Table 3 List of 5 ISSR primers and polymorphic bands obtained in this study					
引物 Primer	序列 Sequence (5'→3')	退火温度/℃ Annealing temperature	扩增条带数 Total amplified bands	多态性条带数 Number of polymorphic bands	多态性条带比例/% Percentage of polymorphic bands
UBC807	(AG) ₈ T	51	7	2	28.6
UBC811	(GA) ₈ C	50	13	7	53.8
UBC836	(AG) ₈ YA	54	12	8	66.7
UBC840	(GA) ₈ YT	51	7	4	57.1
UBC880	(GGAGA) ₃	49	15	4	26.7
总计 Total			54	25	46.3

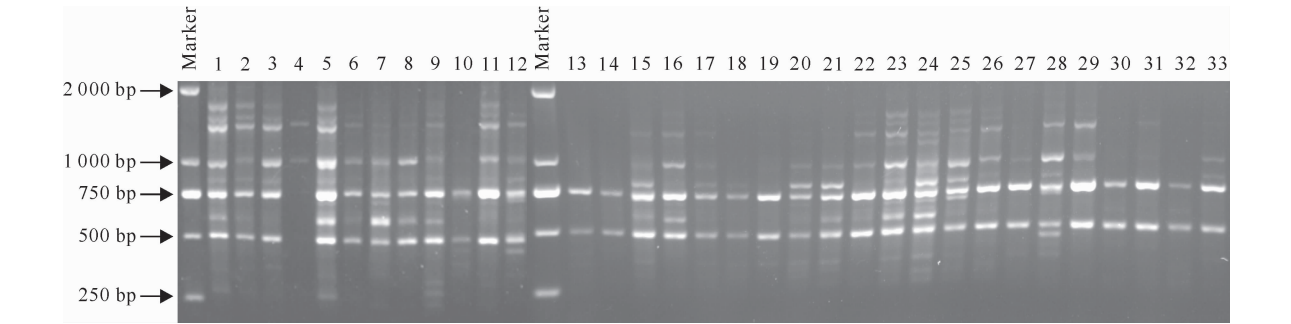


图 1 引物 UBC811 对 33 份供试荷花材料的 ISSR 扩增图谱

Fig. 1 ISSR profiles amplified by primer UBC811 for the 33 tested lotus cultivars(strains)

2.2 33 份荷花材料的 DNA 指纹图谱及遗传变异分析

ISSR 扩增结果显示,利用单一引物并不能将 33 个供试荷花品种准确区分开,但是将 UBC811、

UBC840 和 UBC880 3 个引物中的 15 个特异性位点组合后,可以对所有供试材料进行逐一区分。利用这 15 个特异性位点绘制的 33 份荷花供试材料的 DNA 指纹图谱,结果见表 4。

表 4 33 份供试荷花品种(系)的 DNA 指纹图谱

Table 4 DNA fingerprints of the 33 tested lotus cultivars(strains)

材料 编号 Number	多态性位点 Loci														
	UBC811							UBC840				UBC880			
	850 bp	710 bp	590 bp	460 bp	329 bp	283 bp	235 bp	1 235 bp	875 bp	691 bp	210 bp	1 105 bp	1 000 bp	438 bp	406 bp
1	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
2	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
3	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
5	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
7	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
8	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
9	0	0	1	0	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1	1	0
11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
12	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0
13	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0
14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
15	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0
16	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
17	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
18	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0
19	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	1	0	1
20	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
21	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
23	1	1	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
24	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0
25	1	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
26	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
27	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1
28	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0
29	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
30	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0
31	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
32	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
33	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0

利用 POPGEN32 软件,对这 15 个特异性位点的等位基因数、有效等位基因数、Nei’s 基因多样度和 Shannon 多态性信息指数进行计算。为计算河南野生半野生品系的遗传变异情况,将供试材料分为 2 组,其中第 1 组为 6 个源自河南的野生半野生品系,第 2 组为其他 27 个栽培品种,计算结果如表 5 所示。表 5 表明,33 份荷花资源的 *Ne* 为 1.276 6, *He* 为 0.192 0, *I* 为 0.323 7。各位点的遗传多样性

程度存在较大差异,Nei’s 基因多样性最大值为 0.454 2,最小值为 0.059 7;Shannon 多态性信息指数最大值为 0.646 6,最小值为 0.137 4。第 1 组 6 个河南野生半野生品系的 *Na*、*Ne*、*He* 和 *I* 分别为 1.266 7,1.221 4,0.120 3,0.171 4;而第 2 组 27 个栽培品种的对 应参数值分别为 2.000 0,1.289 8,0.200 8,0.338 3;可见野生半野生品系的各项参数 值均低于栽培品种。

表 5 33 个供试荷花品种(系)的遗传多样性分析

Table 5 Genetic diversity estimates of the 33 tested lotus cultivars(strains)by ISSR analysis

组别 Groups	<i>Na</i>	<i>Ne</i>	<i>He</i>	<i>I</i>
6 个河南野生半野生品系 6 wild and semi-wild strains	1.266 7±0.457 7	1.221 4±0.385 7	0.120 3±0.207 4	0.171 4±0.295 0
27 个栽培品种 27 cultivars	2.000 0±0.000 0	1.289 8±0.256 2	0.200 8±0.131 3	0.338 3±0.169 7
总体 Total	2.000 0±0.000 0	1.276 6±0.248 0	0.192 0±0.137 4	0.323 7±0.182 1

2.3 33 份荷花材料的聚类分析

将引物扩增结果用 NTsys2. 10e 软件进行统计分析,其聚类结果见图 2。由图 2 可见,供试的 33 个荷花品种(系)的相似系数为 0. 272 7~1. 000 0。当遗传距离为 0. 616 时,可以将 33 份材料分为 4 大类,其中,第Ⅰ类群包括 6 个野生半野生荷花品系和落霞映雪、娇容醉杯、笑靥等 8 个品种,33 份材料中

的 8 个藕莲均属第Ⅰ类群,花色为白色或淡堇紫色;第Ⅱ类群包括滴翠莲、蝶恋花、黄鹂 3 个属中、美杂种莲种系品种和 13 个属中国莲种系品种,全部为花莲,花色为白色、淡堇紫色或黄色;第Ⅲ类群中仅有白鹅 1 个品种;第Ⅳ类群中包括天高云淡和翠微夕照 2 个品种。



图 2 基于 ISSR 分析对 33 份荷花品种(系)构建的聚类树状图

Fig. 2 UPGMA dendrogram of the 33 tested lotus cultivars(strains)based on ISSR markers

3 讨 论

本研究结果显示,供试 33 份荷花资源的多态性条带比例为 46. 3%,这与薛建华等^[17]、Tian 等^[18]和 Chen 等^[13]的研究结果接近,但均明显低于 Li 等^[19]、汪岚等^[20]、郭宏波等^[21]多态性达 80%~90% 的研究结果。Han 等^[11]在荷花居群的遗传变异研究中得出,居群间的多态性比例达到 90. 0%,而居群内的多态性比例平均仅为 35. 8%。这些结果差异与所选材料有一定的关系,由于荷花品种众多,来源广泛,遗传背景复杂,因此所选材料的代表性非常重要。目前,关于荷花居群的遗传多样性研究较少,国内主要对黑龙江流域的野生莲遗传多样性进行了系统的研究^[17]。植物的野生型是物种的主要基因库,栽培型是野生型经人工定向选择的结果,在选择过程中遗传多样性的丧失是不可避免的。一般情况下,野生型比栽培型具有高的遗传多样性。但本研究发现,6 个野生半野生品系的遗传多样性低于栽培品种,这与薛建华等^[17]关于黑龙江野生莲遗传多样性低于栽培莲的研究结果类似,究其原因在于:野生莲的来源地较为局限,而所选栽培莲来源广泛,谱系多样,遗传背景复杂,因此遗传多样性更丰富。

从聚类分析结果可以看出,所选的 6 个野生半野生荷花品系属同一类群,且灵宝鼎湖湾与灵宝后地荷花品系、小乔集黑龙潭与小乔集潭坑荷花品系间的关系最为密切,表明这些荷花品系间的遗传关系与其采集地的地理分布距离密切相关。同属一个种的荷花,因地理位置、纬度和生态环境的差异,经过长时间的自然选择或人工选择也会形成不尽相同的生态型,如黑龙江的尚志红莲、山东的薇山红莲、浙江的西湖红莲、江苏的玄武红莲及湖北的洪湖红莲、青菱红莲等均为同一个种^[1]。地理位置相近的荷花品系被聚在同一分支中,说明同一地理分布区

内的荷花品系经过长期进化,在形态、生理、遗传、生态习性等方面出现基因漂移现象,这种现象的出现有助于荷花优良品系的选择。聚类结果显示,3 个中、美杂种莲种系品种滴翠莲、蝶恋花与其他中国莲种系品种聚在一起,证明其遗传关系密切;而另一个中、美杂种莲种系品种黄鹂,其花色为黄色,在聚类图上表现与其他品种的遗传距离较远。Chen 等^[13]研究指出,中、美杂种莲种系不能作为独立的分类单位,因为杂交种的遗传组成由来自亲本的遗传物质比例决定,而这些比例在荷花长期的人工或自然选育过程中表现是不均衡的。杂交育种是荷花育种的一个重要的品种改良途径,品种间杂交可培育出与亲本性状互补的优良品种。供试的 33 个荷花品种多数即是品种间杂交形成的。

物种的遗传多样性是其生存及进化的前提和基础。遗传多样性越丰富,在环境发生变化时生存下来的可能性就越大。近年来,由于人类活动范围不断扩大,野生荷花的生活环境遭到日益严重的破坏,导致湿地退化,破坏了野生荷花的栖息地,但目前,对野生荷花在湿地生态系统中的重要地位及保护其遗传多样性的重要性尚未得到充分认识。在调查中笔者发现,不少以前有荷花的地方,现在已经不存在了,有的甚至连荷花生长的湖沼也消失了。如三门峡市灵宝县阳平镇张村内的一处荷花湖沼,目前湖沼面积仅为原来的 1/10。因此应加强对河南野生荷花资源及稀有品种的调查与保护,积极创造有利于荷花生存和繁衍的环境条件。

[参考文献]

[1] 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.
Wang Q C,Zhang X Y. Lotus flower cultivars in China [M]. Beijing:China Forestry Press,2005. (in Chinese)
[2] 张行言. 中国荷花新品种图志 I [M]. 北京:中国林业出版社,

2011.

Zhang X Y. New lotus flower cultivars in China [M]. Beijing: China Forestry Press,2011. (in Chinese)

[3] 陈灵芝,马克平. 生物多样性科学 [M]. 北京:科学出版社,2002.

Chen L Z, Ma K P. Biodiversity science [M]. Beijing: Science Press,2002. (in Chinese)

[4] 缪恒彬,陈发棣,赵宏波. 85 个大菊品种遗传关系的 ISSR 分析 [J]. 园艺学报,2007,34(5):1243-1248.

Miao H B, Chen F D, Zhao H B. Genetic relationship of 85 chrysanthemum [*Dendranthema* $\times$ *grandiflora* (Ramat.) Kitamura] cultivars revealed by ISSR analysis [J]. Acta Horticulturae Sinica,2007,34(5):1243-1248. (in Chinese)

[5] 唐开学,邱显钦,张 颢,等. 云南蔷薇属部分种质资源的 SSR 遗传多样性研究 [J]. 园艺学报,2008,35(8):1227-1232.

Tang K X, Qiu X Q, Zhang H, et al. Study on genetic diversity of some *Rosa* germplasm in Yunnan based on SSR markers [J]. Acta Horticulturae Sinica, 2008, 35 (8): 1227-1232. (in Chinese)

[6] Ranjan P, Bhat K V, Misra R L, et al. Genetic relationships of *gladiolus* cultivars inferred from fluorescence based AFLP markers [J]. Scientia Horticulturae,2010,123:562-567.

[7] 巴巧瑞,赵政阳,高 华,等. 基于 SSR 和 SRAP 标记的苹果品种亲缘关系分析 [J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2011,39(9):123-128.

Ba Q R, Zhao Z Y, Gao H, et al. Genetic relationship analysis of apple cultivars with SSR and SRAP markers [J]. Journal of Northwest A&F University: Nat Sci Ed, 2011, 39 (9): 123-128. (in Chinese)

[8] 张俊卫,毛庆山,包满珠. 梅遗传多样性的 SRAP 分析 [J]. 园艺学报,2011,38(1):117-124.

Zhang J W, Mao Q S, Bao M Z. Analysis of genetic diversity among germplasm of *Prunus mume* Sieb. et Zucc. using SRAP markers [J]. Acta Horticulturae Sinica,2011,38(1):117-124. (in Chinese)

[9] 祝朋芳,张 健,房 霞,等. 25 份羽衣甘蓝材料的亲缘关系与遗传多样性分析 [J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2012,40(5):123-128.

Zhu P F, Zhang J, Fang X, et al. Analyses of genetic relationship and diversity of 25 accessions in kale [J]. Journal of Northwest A&F University: Nat Sci Ed, 2012, 40 (5): 123-128. (in Chinese)

[10] 邹喻苹,蔡美琳,王晓东,等. 古代“太子莲”及现代红花中国莲种质资源的 RAPD 分析 [J]. 植物学报,1998,40(2):163-168.

Zou Y P, Cai M L, Wang X D, et al. RAPD analysis of germplasm in ancient “Taizi lotus” and modern Chinese lotus [J]. Acta Botanica Sinica,1998,40(2):163-168. (in Chinese)

[11] Han Y C, Teng C Z, Zhong S, et al. Genetic variation and clonal diversity in populations of *Nelumbo nucifera* (Nelumbaceae) in central China detected by ISSR makers [J]. Aquat Bot,2007,86:69-75.

[12] Han Y C, Teng C Z, Chang F H, et al. Analyses of genetic relationships in *Nelumbo nucifera* using nuclear ribosomal ITS sequence data, ISSR and RAPD markers [J]. Aquat Bot, 2007,87:141-146.

[13] Chen Y Y, Zhou R C, Lin X D, et al. ISSR analysis of genetic diversity in sacred lotus cultivars [J]. Aquat Bot,2008,89:311-316.

[14] Nakao K, Masashi H, Akio K, et al. Development and characterization of simple sequence repeat(SSR) markers in the water lotus(*Nelumbo nucifera*) [J]. Aquat Bot, 2009,90:191-194.

[15] 孔德政,刘艺平,杨秋生. 8 个碗莲品种的 DNA 指纹鉴定 [J]. 南京农业大学学报,2009,32(2):147-150.

Kong D Z, Liu Y P, Yang Q S. Identification of eight small lotus cultivars by DNA fingerprints [J]. Journal of Nanjing Agricultural University,2009,32(2):147-150. (in Chinese)

[16] 孔德政. 荷花的民族植物学及河南地区品种资源研究 [D]. 郑州:河南农业大学,2011.

Kong D Z. Studies on ethnobotany and cultivar resources of lotus (*Nelumbo nucifera*) in Henan province [D]. Zhengzhou: Henan Agriculture University,2011. (in Chinese)

[17] 薛建华,卓丽环,周世良. 黑龙江野生莲遗传多样性及其地理式样 [J]. 科学通报,2006,51(3):299-308.

Xue J H, Zhuo L H, Zhou S L. Wild lotus genetic diversity and geographic style in Heilongjiang Province [J]. Chinese Science Bulletin,2006,51(3):299-308. (in Chinese)

[18] Tian H L, Xue J H, Wen J, et al. Genetic diversity and relationships of lotus (*Nelumbo*) cultivars based on allozyme and ISSR markers [J]. Sci Hor,2008,116:421-429.

[19] Li Z, Liu X Q, Robert W G, et al. Genetic diversity and classification RAPD and ISSR analysis [J]. Sci Hor, 2010, 125: 724-732.

[20] 汪 岚,韩延闯,彭欲率,等. ISSR 标记技术在莲藕遗传研究中的运用 [J]. 氨基酸和生物资源,2004,26(3):20-22.

Wang L, Han Y C, Pen Y S, et al. Application of ISSR technique to genetic research of lotus root [J]. Amino Acids&Biotic Resources,2004,26(3):20-22. (in Chinese)

[21] 郭宏波,柯卫东,李双梅,等. 不同类型莲资源的 RAPD 聚类分析 [J]. 植物遗传资源学报,2004,5(4):328-332.

Guo H B, Ke W D, Li S M, et al. Cluster analysis of *Nelumbo* accessions based on RAPD markers [J]. Journal of Plant Genetic Resources,2004,5(4):328-332. (in Chinese)

- [11] Dean J F D, Gamble H R, Erson J D. The ethylene biosynthesis inducing xylanase: Its induction in *Trichoderma viride* and certain plant pathogens [J]. *Phytopathology*, 1989, 79(10): 1071-1078.
- [12] 曾凯芳. 套袋、SA 和 INA 对芒果果实采后抗病性和品质的影响 [D]. 北京: 中国农业大学, 2005.
- Zeng K F. Effects of bagging, SA and INA on postharvest quality and disease resistance of mango (*Mangifera indica* L.) fruit [D]. Beijing: China Agricultural University, 2005. (in Chinese)
- [13] 冯双庆, 周丽丽, 赵玉梅. 果蔬储运学实验指导 [M]. 北京: 中国农业大学出版社, 1991.
- Feng S Q, Zhou L L, Zhao Y M. Experiment guidance of fruit and vegetables storage and transportation [M]. Beijing: China Agricultural University Press, 1991. (in Chinese)
- [14] 郝建军, 康宗利, 于 洋, 等. 植物生理学实验技术 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2006.
- Hao J J, Kang Z L, Yu Y, et al. Experiment technology of plant physiology [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2006. (in Chinese)
- [15] Piris A, Mnlins M G. Changes in anthocyanin and phenolic content of grapevine leaf and fruit tissue treated with sucrose, nitrate and abscisic acid [J]. *Plant Physiol*, 1976, 58: 46-47.
- [16] 朱 虹. 木霉菌的生物学和生化特性及防治草莓病害的研究 [D]. 合肥: 安徽农业大学, 2005.
- Zhu H. Biological and biochemical characteristics of trichoderma species and application in the control strawberry diseases [D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2005. (in Chinese)
- [17] 李世贵. 两种木霉菌对黄瓜枯萎病菌生防作用及根际土壤微生物影响研究 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2010.
- Li S G. Biocontrol action of two trichoderma species against *Fusarium oxysporium* f. sp. cucumerinum and the effects on soil microorganisms in the rhizosphere [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2010. (in Chinese)
- [18] 李雪萍. 采前施用 BTH 防治香蕉采后炭疽病的研究 [D]. 广州: 华南农业大学, 2009.
- Li X P. Effect of preharvest BTH treatment on the control of anthracnose in harvested banana [D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2009. (in Chinese)
- [19] 杨美艳. 纳他霉素对三种水果防腐保鲜效果的研究 [D]. 广州: 华南农业大学, 2010.
- Yang M Y. Study on the effect of natamycin on controlling postharvest diseases and quality for three kinds of fruit [D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2010. (in Chinese)
- [20] Iroi M, Rossoni M, Borgo M, et al. Induction of resistance to gray mold with benzothiazole modifies amino acid profile and increases proanthocyanidins in grape: Primary versus secondary metabolism [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53(23): 9133-9139.