

尾叶紫薇与紫薇 F_1 代群体 主要表型性状与 SSR 标记的连锁分析

贺 丹 唐 婉 刘 阳 蔡 明 潘会堂 张启翔

(北京林业大学园林学院, 国家花卉工程技术研究中心)

摘要: 以母本尾叶紫薇与父本紫薇‘香雪云’及杂交 F_1 代 192 株为试材, 对株高、地径、叶长、叶宽及叶面积 5 个性状在群体中的遗传变异进行了统计和分析。结果表明: 150 对 SSR 引物筛选出 F_1 群体亲本有多态性的引物对 50 个; 5 个表型性状在群体中呈连续分布, 与其正态分布曲线拟合较好, 并且彼此之间具有相关性。采用单因素方差分析法进行 SSR 分子标记和性状的连锁分析得到: SSR3-153、SSR40-131、SSR40-137 与紫薇的叶宽显著性相关, 贡献率分别为 25.5%、12.1%、11.6%; SSR34-158、SSR34-161 与紫薇的叶长显著性相关, 贡献率分别为 7.8%、9.1%; SSR10-172 与紫薇的株高和地径显著性相关, 贡献率分别为 15.7%、10.3%。

关键词: 紫薇; SSR; 表型性状; 连锁分析

中图分类号: S685.99 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-1522(2012)06-0121-05

HE Dan; TANG Wan; LIU Yang; CAI Ming; PAN Hui-tang; ZHANG Qi-xiang. **Linkage analysis of phenotypic traits of *Lagerstroemia caudata* and *L. indica* F_1 population using SSR markers.** *Journal of Beijing Forestry University* (2012) 34 (6) 121-125 [Ch, 29 ref.] National Engineering Research Center for Floriculture, College of Landscape Architecture, Beijing Forestry University, 100083, P. R. China.

Hereditary variations of plant height, caliper diameter, leaf length, leaf width, and leaf area of 192 F_1 individuals generated from a cross between female *L. caudata* and male *L. indica* ‘Xiang Xueyun’ were measured and analyzed. Fifty pairs of SSR primers, which were selected from 150 pairs, showed the polymorphisms on both parents and F_1 populations and were used to analyze F_1 generation. The results indicated that above five phenotypic traits showed a continuous distribution, fitted better with normal distribution curve, and significantly correlated with each other. Using the single factor variance analysis, linkage between phenotypic traits and SSR markers showed that SSR3-153, SSR40-131 and SSR40-137 significantly correlated with leaf width and the contributions were 25.5%, 12.1% and 11.6%; SSR34-158 and SSR34-161 significantly correlated with leaf length and the contributions were 7.8% and 9.1%. SSR10-172 significantly correlated with plant height and diameter, and the contributions were 15.7% and 10.3%.

Key words crape myrtle; SSR; phenotypic traits; linkage analysis

植物的大部分性状都是数量性状, 掌握数量性状的基因型和表型是育种工作的基础^[1]。开展数量性状位点 (quantitative trait locus) 的定位分析首先要建立一个分离群体。由于林木世代周期较长, 难以获得像农作物那样的 F_2 群体、回交群体、加倍单倍体群体和重组近交系群体, 为了节省时间, 避开高

世代分离群体的建立, 提出了利用 F_1 群体的拟测交作图理论进行遗传图谱构建。目前拟测交 F_1 代作图群体已被广泛应用于果树类、林木类等多年生植物^[2-4]。数量性状属多基因控制且受环境影响较大, 所以传统的育种方法改良植物表型性状往往周期长, 效果不明显。利用分子标记技术, 能够有效分

收稿日期: 2011-12-30

基金项目: “十二五”国家科技支撑计划课题(2012BAD01B07)、北京市园林绿化局计划项目(YLHH201100112)、北京市共建项目专项资助“森林质量升级及高效利用产学研联合研究生培养基地建设”。

第一作者: 贺丹, 博士生。主要研究方向: 园林植物种质资源与育种。电话: 010-62337106 Email: dandan990111@163.com 地址: 100083 北京市清华东路 35 号 北京林业大学园林学院。

责任作者: 张启翔, 教授, 博士生导师。主要研究方向: 园林植物种质资源与育种。电话: 010-62338005 Email: zqx@bjfu.edu.cn 地址: 同上。

本刊网址: <http://journal.bjfu.edu.cn>

析表型性状与相关基因的关系,为在短时间内进行表型性状改良提供理论基础。

SSR (simple sequence repeat) 标记是 20 世纪 90 年代发展应用的第 2 代分子标记,具有共显性、多态性丰富、重复性好、检测技术操作简便等优点,已经被广泛应用于遗传图谱的构建、DNA 指纹图谱构建、基因定位、分子标记辅助育种等研究。刘杨等^[9]应用 SSR 标记构建了番茄 (*Lycopersicon esculentum*) 的遗传连锁图谱并检测到 2 个与每序花数有关的 QTLs。李卫华等^[10]以小麦 (*Triticum aestivum*) 173 个后代重组自交系 (RIL) 为作图群体,利用 906 对 SSR 引物进行筛选,构建了小麦的遗传连锁图谱。

紫薇 (*Lagerstroemia indica*) 隶属于千屈菜科 (Lythraceae) 紫薇属,落叶灌木或小乔木,是我国夏季重要的观赏花木,与其他观赏花木相比,它具有花期长,花色艳丽且种类繁多,树干光滑,枝条柔软,以及抗污染等优点^[7]。目前对紫薇的研究多集中在种质资源评价、杂交育种、栽培繁殖、遗传多样性及花色研究^[8-13],对表型性状还没有进行较深入研究。紫薇的表型性状是紫薇育种的重要组成部分,其中叶型、株高、地径和观赏性状紧密相关。本实验选用了叶型、株高差别较大,且均具有香味的尾叶紫薇和紫薇‘香雪云’作为亲本,在 F_1 代 1 年生表型性状研究的基础上,进行了 SSR 分子标记与表型性状的连锁分析,寻找与叶型、株高、地径等性状显著连锁的 SSR 分子标记,以期对紫薇表型性状的 QTL 定位分析和分子标记辅助选择提供理论依据,为以后构建作图群体,进行花色、花型、花香等观赏性状的研究及探索它们的遗传规律奠定基础,从而加快紫薇新品种的培育过程。

1 材料与方法

1.1 材料

母本尾叶紫薇和父本紫薇‘香雪云’于 2009 年 7 月杂交,从得到的 F_1 代分离群体中随机选取了 192 株作为分析材料。

1.2 实验方法

1.2.1 表型性状调查

供试材料于 2010 年种植在国家花卉工程技术研究中心小汤山实验基地,行距 0.5 m,株距 0.3 m,每行 30 株。在植株生长旺盛期测量叶长、叶宽、叶面积 (每株重复 3 次) 以及株高、地径,叶面积使用 CI-203 Laser Area Meter 进行测量。

1.2.2 DNA 提取

采用新型植物基因组 DNA 提取试剂盒 (天

根)。

1.2.3 SSR 反应

选用 150 对 SSR 引物 (本实验开发的 30 对及已公布的 120 对) 首先对亲本及 4 个子代进行扩增,筛选出群体亲本表现多态性的引物 50 对。利用筛选出的多态性引物对分离群体进行基因型检测。采用的 SSR 引物上游序列经 5' 端进行荧光标记。

PCR 反应总体积为 10 μ L, 包含 20 ng DNA, $2 \times$ Taq PCR Master Mix 5 μ L (Biomiga), 50 ng 上下游引物,最后添加 3 μ L ddH₂O。PCR 程序为 94 $^{\circ}$ C 预变性 3 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 48 ~ 60 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s, 30 个循环; 72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min, 4 $^{\circ}$ C 保存。使用 DNA 自动测序仪 (ABI3730) 对 PCR 产物进行 STR 分析。

1.3 数据分析

利用 SPSS 17.0 软件对 F_1 代群体表型性状进行遗传变异统计和分析。统计参数包括平均值、最大值、最小值、方差、标准差、偏度、峰度及变异系数,并绘制频率分布图。

通过 GeneMarker V1.71 软件对数据进行统计,每对 SSR 引物扩增的多个等位位点上有带的赋值为“1”,无带的赋值为“0”。采用 SPSS17.0 对紫薇 SSR 标记基因型与叶长、叶宽、叶面积、株高和地径进行连锁分析,利用 Pearson 相关系数判断 SSR 标记与叶长、叶宽、叶面积、株高和地径的关联度是否显著。

2 结果与分析

2.1 紫薇 F_1 代群体表型性状遗传变异

表 1 列出了表型性状在群体个体间的平均值、标准差、方差、偏度、峰度、最大值、最小值及变异系数。由表可知: 叶长的最大值为 7.47 cm, 最小值为 4.22 cm, 标准差为 0.62 cm, 变异系数为 10.82%; 叶宽的最大值为 3.63 cm, 最小值为 1.70 cm, 标准差为 0.39 cm, 小于叶长的标准差, 变异系数为 14.89%; 叶面积最大值为 13.42 cm², 最小值为 2.76 cm², 变异系数为 29.77%; 地径的最大值为 1.97 cm, 最小值为 0.85 cm, 标准差为 0.20 cm, 变异系数为 14.29%; 株高的最大值为 167.00 cm, 最小值为 55.00 cm, 标准差为 20.33 cm, 变异系数为 17.21%, 群体个体间差异显著。不同表型性状的变异系数在 10.82% ~ 29.77% 之间, 变异程度最小的是叶长, 最大的为叶面积。各个性状的变异均超过 10%, 说明个体间的表型值变异较大。

结合图 1 表型性状的分布频率图分析可知: 叶宽、地径和株高的偏度均为负值, 分别为 -0.07、

表 1 F₁ 群体表型性状描述性统计

Tab.1 Descriptive statistics of phenotypic characters in F₁ population

表型	平均值	标准差	方差	峰度	偏度	最小值	最大值	变异系数/%
叶长/cm	5.73	0.62	0.38	-0.31	0.03	4.22	7.47	10.82
叶宽/cm	2.62	0.39	0.15	-0.22	-0.07	1.70	3.63	14.89
叶面积/cm ²	7.86	2.34	5.46	-0.78	0.19	2.76	13.42	29.77
地径/cm	1.40	0.20	0.04	0.18	-0.11	0.85	1.97	14.29
株高/cm	118.14	20.33	413.12	0.13	-0.20	55.00	167.00	17.21

注：各表型的单位只针对平均值、标准差、最大值、最小值。

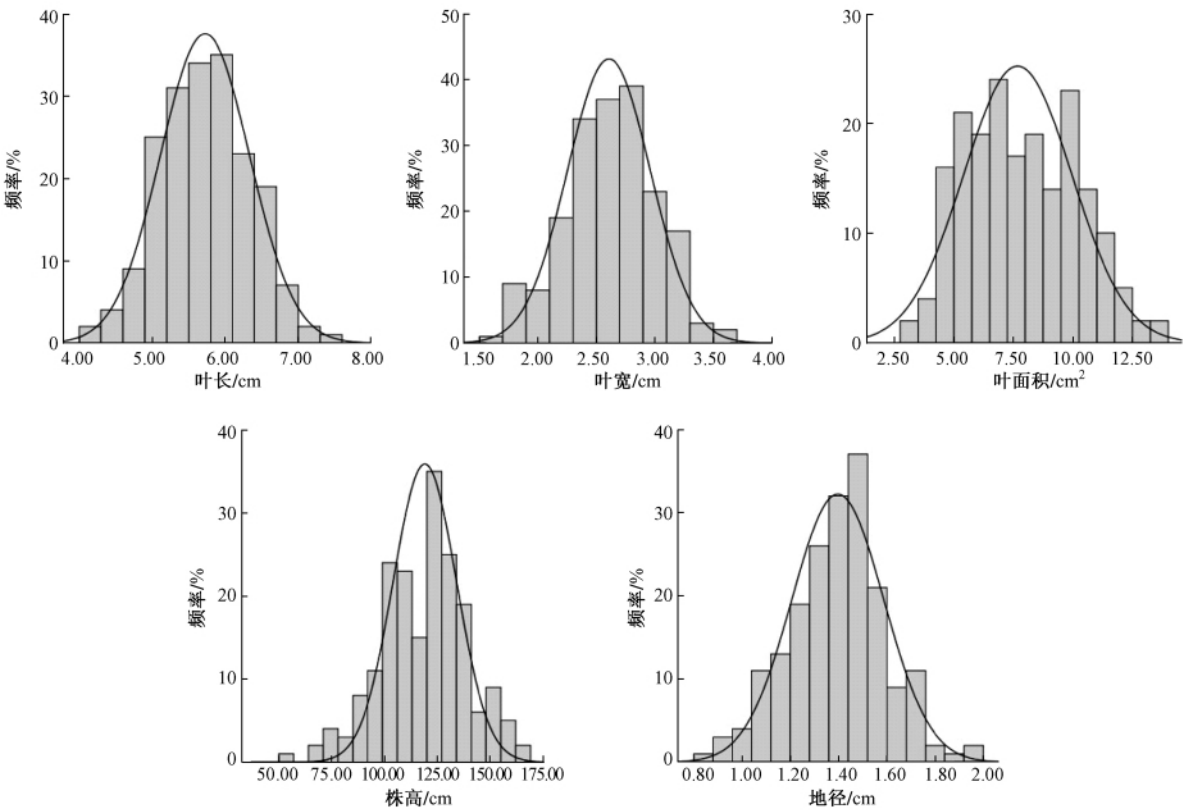


图 1 F₁ 群体表型性状的分布频率图

Fig.1 Frequency distribution of phenotypic characters in F₁ population

-0.11、-0.20,表示柱形图向正态分布区域右侧偏斜;叶长、叶面积的偏度为正值,分别为 0.03 和 0.19,表示柱形图向正态分布区域的左侧偏斜;叶长、叶宽和叶面积的峰度均为负值,分别为 -0.31、-0.22、-0.78,表示正态分布平缓;地径和株高的峰度均为正值,分别为 0.18 和 0.13,表示正态分布比较陡峭。由图 1 可见,5 个表型性状的偏度和峰度的绝对值均小于 1,符合正态分布的特点^[14]。

由表 2 中 5 个表型性状间的相关性分析得知,叶长、叶宽与叶面积呈极显著正相关,株高与叶长、叶宽呈极显著正相关;地径与株高呈极显著正相关,地径与叶长、叶宽不相关。

2.2 SSR 标记多态性分析

利用亲本及 4 个子代对引物进行筛选,150 对引物中有 50 对在亲本间具有多态性,多态性比例为

表 2 F₁ 代群体表型性状的相关性分析

Tab.2 Correlation analysis of phenotypic characters in F₁ population

性状	叶长	叶宽	叶面积	地径
叶宽	0.536 **			
叶面积	0.205 **	0.210 **		
地径	0.123	0.120	0.046	
株高	0.222 **	0.196 **	0.084	0.466 **

注: ** 表示在 0.01 水平(双侧)上显著相关。表 3 同此。

33.33%,如图 2 所示引物 CI3F 在亲本与 F₁ 子代中的分离情况。对这些多态性位点的标记分离进行统计,符合孟德尔分离比例($\chi^2 < 0.01$)的有 46 对,有 4 对产生了偏分离,偏分离比例为 8%。46 对 SSR 引物共产生了 133 个多态性位点,平均每对引物产生 2.9 个位点。

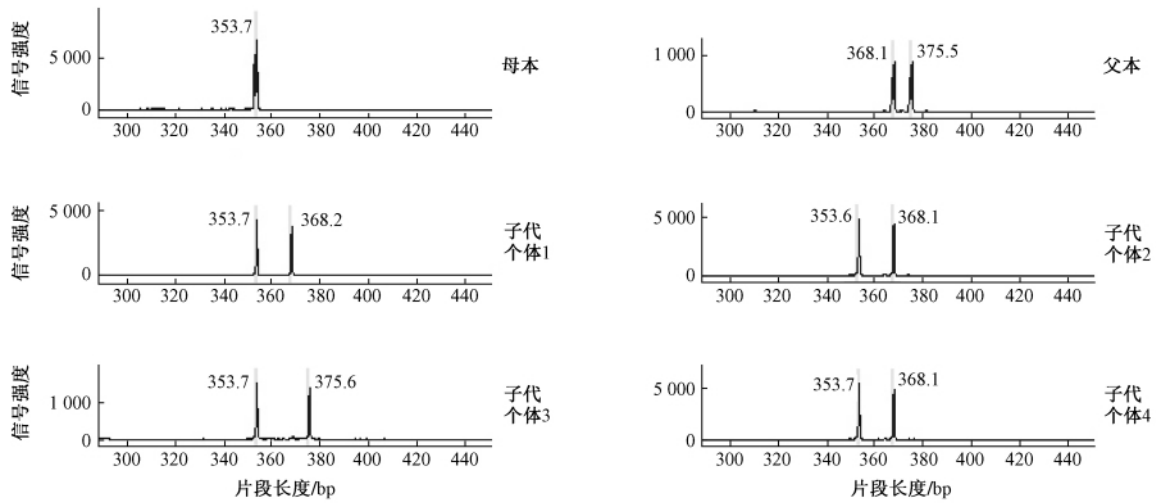


图2 引物 CI3F 在亲本及 F_1 子代中的分离检测

Fig.2 Segregation of primer CI3F in parents and F_1 population

2.3 SSR 标记与表型性状的连锁分析

共检测到与 5 个表型性状相连锁的 SSR 标记位点 6 个(表 3), 其中与叶长相关的标记 2 个, 分别是 SSR34-158 和 SSR34-161, 相关系数为 -0.205 和 0.220, 贡献率分别为 7.8% 和 9.1%。与叶宽相关的标记 3 个, 分别为 SSR3-153、SSR40-131 和 SSR40-137, 相关系数为 -0.336、-0.245 和 0.244, 贡献率分别为 25.5%、12.1% 和 11.6%。SSR10-172 分别与地径和株高呈负相关, 相关系数分别为 -0.197 和 -0.193, 贡献率分别为 10.3% 和 15.7%。

表 3 表型性状与 SSR 标记的单因素方差分析

Tab.3 One-way variance analysis on SSR markers to phenotypic characters

性状	标记	相关系数	贡献率/%
叶长	SSR34-158	-0.205 **	7.8
	SSR34-161	0.220 **	9.1
叶宽	SSR3-153	-0.336 **	25.5
	SSR40-131	-0.245 **	12.1
	SSR40-137	0.244 **	11.6
地径	SSR10-172	-0.197 **	10.3
株高	SSR10-172	-0.193 **	15.7

3 结论与讨论

尾叶紫薇与紫薇‘香雪云’表型性状差异较大, F_1 代群体个体之间叶长、叶宽、叶面积、地径和株高呈现连续性变异, 与正态分布曲线拟合较好。株高与叶长、叶宽呈正相关, 相关系数分别为 0.222 和 0.196, 说明叶片也可以作为筛选株型的一个辅助性状^[13]。 F_1 群体的 5 个表型性状均呈正态分布, 可以满足该群体对这些性状进行作图群体的 QTL 分析^[16-17], 这些性状可能为多基因控制的数量性状^[18]。

本实验从 150 对 SSR 引物中筛选出在亲本间具有多态性的引物对 50 个, 多态性比例为 33.33%, 偏分离比例为 8%, 共产生 133 个多态性位点, 平均每对引物为 2.9 个, 表明作图群体的亲本具有较高的遗传多态性。宋健等^[19] 利用 SSR 标记对桃(*Prunus persica*) 的亲本及 90 株 F_1 代进行检测, 共产生 104 个多态性位点, 平均每对引物产生 2.3 个。韩明丽等^[20] 对梨(*Pyrus communis*) 的 F_1 代进行 SSR 引物的筛选, 共得到 197 个多态性位点, 平均每对引物产生了 2.1 个等位基因。检测 SSR 标记在亲本及子代中的分离情况时, 当标记位点数量充足, 分离群体较大时, 其结果可以应用于遗传图谱的构建^[21-23]。

目前 QTL 定位的方法很多, 本研究采用的 SPSS 关联分析不依赖于图谱进行 QTL 分析, 比较简单直观, 但是不能估计 QTL 的具体位置和相互效应^[24]。通过 SSR 标记位点与性状间的连锁分析, 本研究共获得与表型性状连锁的 SSR 标记位点 6 个。彭波等^[27] 在桑树(*Morus alba*) SSR 标记和性状的关联研究中找到了 9 个标记与 2 个性状相关联; 刘慧民等^[28] 在绣线菊(*Spiraea*) 的 RAPD 标记与观赏性状中找到了 23 个标记与 16 个观赏性状关联; 黄秦军等^[24] 在 SSR 标记与欧洲黑杨(*Populus nigra*) 材性性状的关联分析中找到了与一年生材性相关联的标记位点 10 个。本研究结果可以解释表型性状相关的内在遗传因素, 性状的相互关联是控制该性状的 QTL 相互关联造成的, 或者由于某个 QTL 的一因多效引起的, 同一标记与多个性状的关联则可用于解释数量性状之间可能存在的遗传相关^[29]。SSR3-153 对叶宽的贡献率达到了 25.5%, 该标记极有可能与控制叶宽的基因相连锁, 是否紧密连锁还需要

进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 文自翔,赵团结,郑永战,等. 中国栽培和野生大豆农艺品质性状与 SSR 标记的关联分析 I: 群体结构及关联标记 [J]. 作物学报,2008,34(7):1169-1178.
- [2] 孙文英,张玉星,张新忠,等. 梨分子遗传图谱构建及生长性状的 QTL 分析 [J]. 植物遗传资源学报,2009,10(2):182-189.
- [3] 曹珂,王力荣,朱更瑞,等. 桃遗传图谱的构建及两个花性状的分子标记 [J]. 园艺学报,2009,36(2):179-186.
- [4] 姜廷波,李绍臣,高福铃,等. 白桦 RAPD 遗传连锁图谱的构建 [J]. 遗传,2007,29(7):867-873.
- [5] 刘杨,陈火英,魏毓棠. 番茄 SSR 遗传连锁图谱的构建及每序花数性状的 QTL 定位 [J]. 南京农业大学学报,2005,28(4):30-34.
- [6] 李卫华,刘伟,尤明山,等. 利用多种 SSR 引物构建小麦遗传连锁图谱及其多态性分析 [J]. 麦类作物学报,2007,27(1):1-6.
- [7] 张启翔. 紫薇品种分类及其在园林中的应用 [J]. 北京林业大学学报,1991,13(4):57-66.
- [8] POOLER M R. Molecular genetic diversity among 12 clones of *Lagerstroemia fauriei* revealed by AFLP and RAPD markers [J]. *HortScience*,2003,38(2):256-259.
- [9] POUNDERS C, RINEHART T, SAKHANOKHO H. Evaluation of interspecific hybrids between *Lagerstroemia indica* and *L. speciosa* [J]. *HortScience*,2007,42(6):1317-1322.
- [10] RINEHART T A, POUNDERS C T. Estimating diversity among *Lagerstroemia* species and hybrids using SSR markers [J]. *Acta Hort*,2010,885:285-290.
- [11] WANG X W, WADL P A, POUNDERS C, et al. Evaluation of genetic diversity and pedigree within crape myrtle cultivars using simple sequence repeat markers [J]. *J Amer Soc Hort Sci*,2011,136:116-128.
- [12] 杨彦伶,张亚东,张新叶. 保康野生紫薇的遗传多样性研究 [J]. 华中农业大学学报,2004,23(6):667-670.
- [13] ZHANG J, WANG L S, GAO J M, et al. Determination of anthocyanins and exploration of relationship between their composition and petal coloration in crape myrtle (*Lagerstroemia hybrid*) [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*,2008,50(5):581-588.
- [14] 刘建超,褚群,蔡红光,等. 玉米 SSR 连锁图谱构建及叶面积
- 的 QTL 定位 [J]. 遗传,2010,32(6):625-631.
- [15] 朱蕊蕊. 糝斗菜遗传连锁图谱构建和重要观赏性状 QTLs 定位分析 [D]. 北京:北京林业大学,2011.
- [16] 赵文明,孟庆雷,王付娟,等. 玉米株型主要性状作图群体分析 [J]. 安徽农业科学,2007,35(31):9876-9877.
- [17] 张德强. 毛白杨遗传连锁图谱的构建及重要性状的分子标记 [D]. 北京:北京林业大学,2002.
- [18] 张红梅,刘小红,罗绮,等. 玉米 RIL 群体的主要株型性状调查研究 [J]. 吉林农业科学,2009,34(5):10-11,17.
- [19] 宋健,韩明玉,赵彩平,等. 桃‘秦光2号’×‘曙光’F₁ 代 SSR 遗传连锁图谱的构建 [J]. 西北植物学报,2008,28(5):895-900.
- [20] 韩明丽,刘永立,郑小艳,等. 梨遗传连锁图谱的构建及部分果实性状 QTL 的定位 [J]. 果树学报,2010,27(4):496-503.
- [21] HONG Y B, CHEN X P, LIANG X Q, et al. A SSR-based composite genetic linkage map for the cultivated peanut (*Arachis hypogaea* L.) genome [J]. *BMC Plant Biology*,2010,10:17.
- [22] KUNKEAW S, TANGPHATSORNRUANG S, SMITH D R, et al. Genetic linkage map of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) based on AFLP and SSR markers [J]. *Plant Breeding*,2010,129(1):112-115.
- [23] GUO Y, CHENG B S, HONG D L. Construction of SSR linkage map and analysis of QTLs for rolled leaf in Japonica rice [J]. *Rice Science*,2010,17(1):28-34.
- [24] TAE Y H, TAKASHI S, MASAKAZU T, et al. High-density integrated linkage map based on SSR markers in soybean [J]. *DNA Research*,2009,16(4):213-225.
- [25] 单友蛟,刘杰卞,春松,等. 马铃薯 SSR 遗传连锁图谱构建及 3 个重要农艺性状 QTLs 定位 [J]. 中国蔬菜,2010,18:10-14.
- [26] 黄秦军,丁明明,张香华,等. SSR 标记与欧洲黑杨材性性状的关联分析 [J]. 林业科学,2007,43(2):43-47.
- [27] 彭波,胡兴明,邓文,等. SSR 标记与桑树表型性状的关联分析 [J]. 中南五省区蚕桑育种协作研讨会论文集. 南宁:广西壮族自治区蚕业技术推广总站,2009:48-52.
- [28] 刘慧民,朱玉涛,车代弟,等. 绣线菊 18 份材料观赏性状与 RAPD 标记的关联分析 [J]. 园艺学报,2010,37(7):1125-1131.
- [29] 徐碧云,朱丽煌. 分子数量遗传学 [M]. 北京:中国农业出版社,1994.

(责任编辑 董晓燕)