

户帅雅, 李斌奇, 陈孝丑, 等. 红掌遗传多样性及亲缘关系的 ISSR 分析 [J]. 福建农业学报, 2020, 35 (1): 20–27.  
HU S Y, LI B Q, CHEN X C, et al. ISSR Analysis on Genetic Diversity and Relationships among *Anthurium andraeanum* [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2020, 35 (1): 20–27.

## 红掌遗传多样性及亲缘关系的 ISSR 分析

户帅雅<sup>1</sup>, 李斌奇<sup>1</sup>, 陈孝丑<sup>2</sup>, 巫伟峰<sup>1</sup>, 张毅智<sup>2</sup>, 陈春<sup>2</sup>, 陈发兴<sup>1\*</sup>

(1. 福建农林大学园艺学院亚热带果树研究所, 福建 福州 350002;

2. 福建省林业科技试验中心, 福建 漳州 363600)

**摘要:**【目的】通过 ISSR 分子标记技术对 56 个红掌品种进行遗传多样性及亲缘关系分析, 为红掌新品种选育、品种改良、种质资源管理等研究提供参考依据。【方法】以采集到的 56 个红掌品种为试验材料, 从 100 条哥伦比亚大学 (UBC) 公布的 ISSR (inter-simple sequence repeat 简单重复序列) 分子标记引物中筛选出 10 条多态性引物, 利用筛选得到的 10 个通用引物, 构建红掌 ISSR 分子标记技术体系; 对 PCR 扩增结果进行 UPGMA (Unweighted pair-group method arithmetic average 非加权成组算术平均数) 聚类分析, 并计算其 Nei's 基因多样性指数和 Shannon's 信息指数。【结果】结果显示, 从 100 条 ISSR 引物中筛选出 10 条多态性引物, 共扩增得到 99 个基因位点, 其中多态性位点 95 个, 多态性比率为 95.96%。用 POPGENE 分析结果得: Nei's 基因多样性指数 ( $H$ ) 为 0.303 6; Shannon's 信息指数 ( $I$ ) 为 0.458 5。聚类分析结果表明 56 个红掌品种可以分为 12 类; 【结论】分类结果与火焰苞颜色存在一定的相关性, ISSR 分子标记技术可以很好地应用于红掌品种及其亲缘关系的鉴定, 罗兰公主、香妃、索米、彩霞、紫雷鸟、黑皇后、国王等 7 个品种性状独特, 且相互之间遗传距离较远, 可以作为新品种选育、品种改良的母本, 也可以作为优良的种质资源进行保存。

**关键词:** 红掌; ISSR; 遗传多样性; 亲缘关系

中图分类号: S 682.39

文献标志码: A

文章编号: 1008-0384 (2020) 01-0020-08

## ISSR Analysis on Genetic Diversity and Relationships among *Anthurium andraeanum*

HU Shuai-ya<sup>1</sup>, LI Bin-qi<sup>1</sup>, CHEN Xiao-chou<sup>2</sup>, WU Wei-feng<sup>1</sup>, ZHANG Yi-zhi<sup>2</sup>, CHEN Chun<sup>2</sup>, CHEN Fa-xing<sup>1\*</sup>

(1. Department of Horticulture, Subtropical Fruit Research Institute, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002, China; 2. Forestry Science and Technology Test Center of Fujian Province, Zhangzhou, Fujian 363600, China)

**Abstract:**【Objective】Genetic diversity and relationships of 56 species of *Anthurium andraeanum* were analyzed using the inter-simple sequence repeat (ISSR) molecular marker technology for breeding and improvement of germplasms and resource management.【Method】For the collected *Anthurium* varieties, 100 UBC primers were screened for the polymorphic ones. Using the universal primers, an ISSR molecular marker system was constructed. The UPGMA cluster analysis was performed, and the Nei's gene diversity and Shannon's information indices calculated on the PCR amplified products.【Result】Ten polymorphic primers were obtained by screening the 100 UBC primers, and 99 bands amplified. Of the amplified bands, 95 were polymorphic with a rate of 95.96%. The analysis using POPGENE indicated the Nei's gene diversity index ( $H$ ) to be 0.303 6 and the Shannon's information index ( $I$ ) 0.458 5. Thus, the genetic diversity among the *Anthurium* varieties was high. The 56 varieties were classified into 12 groups.【Conclusion】The ISSR results suggested a significant correlation between the clustered groups and sepal color of the flowering plants and the molecular marker technique applicable for the identification. Among the cultivars, Princess Alexia Violet, Fiorino, Sumi, Caixia, Thunderbird Luxury, Black Queen, and King exhibited unique traits among them with substantial genetic distances. They were considered potential candidates as female parent for breeding new varieties and should be preserved in the germplasm collection.

**Key words:** *Anthurium andraeanum*; ISSR; genetic diversity; genetic relationship

收稿日期: 2019-08-08 初稿; 2019-10-27 修改稿

作者简介: 户帅雅 (1995-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 花卉与观赏园艺 (E-mail: 1959720480@qq.com)

\* 通信作者: 陈发兴 (1967-), 男, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 园艺植物生理与分子生物学 (Emai: cfaxing@126.com)

基金项目: 福建省林业厅项目 (闽林科 [2015]2 号)

## 0 引言

**【研究意义】**红掌 *Anthurium andraeanum* 又称花烛、安祖花, 系天南星科花烛属多年生草本植物, 原产哥伦比亚, 是现今最为名贵的切花品种之一, 具有较高的观赏价值和经济价值, 很具市场开发前景<sup>[1-3]</sup>。新品种的选育是红掌产业可持续发展的动力, 是提高产业竞争力的关键。国外从 20 世纪 40 年代开始红掌的育种, 到 2000 年已选育出 600 多个新品种, 而国内的红掌育种工作 2001 年才开始, 迄今共选育出新品种 42 个, 新品种的选育进展缓慢<sup>[3-5]</sup>。通过 ISSR 分子标记的手段, 对红掌的遗传背景进行研究, 从而获得红掌更多的遗传资料, 探索红掌种质资源的亲缘关系、遗传多样性, 为下一步红掌育种、品种改良、种质资源管理等研究提供理论参考。**【前人研究进展】**红掌种质间的亲缘关系、种质的遗传多样性等相关遗传背景是红掌育种工作顺利开展的基础, 长期以来中国对红掌的研究大多在栽培技术、病虫害防治、组培快繁等方面。栽培技术主要集中在栽培基质的选择及提高炼苗成活率几个方面, 病虫害防治主要是根腐病、青枯病、枯萎病等病害的鉴定与防治, 组培快繁则在激素配比及外植体选择等方面进行优化, 而目前红掌相关的遗传学研究较少, 王呈丹等<sup>[6]</sup>通过 SRAP ( Sequence-related amplified polymorphism 相关序列扩增多态性) 技术对 33 个红掌品种进行扩增, 将 33 个品种分为 5 个类群; Nowbuth 等<sup>[7]</sup>通过 RAPD ( Random Amplified Polymorphism DNA 随机扩增多态性 DNA) 技术将 25 个品种分为 5 个类群, 并且指出其聚类分析结果与佛焰苞不存在相关性; 康黎芳等<sup>[8]</sup>利用 ISSR 技术对情人红、阿里桑娜、阿拉巴马及其杂交后代进行扩增, 从而证明了 ISSR 分子标记在红掌亲缘关系分析中的可行性。**【本研究切入点】**红掌品种遗传背景复杂, 前人研究也仅对几个品种进行亲缘关系分析, 本研究利用从国内外引种的红掌品种共 56 个, 通过 ISSR 分子标记技术, 绘制聚类分析图, 分析 56 个红掌品种之间的亲缘关系。再通过与苞片颜色性状的对比, 将宏观的性状聚类与微观的分子聚类对应起来。**【拟解决的关键问题】**本研究通过开展红掌 DNA 提取, PCR 反应体系, 通用引物筛选、红掌 DNA 指纹图谱构建等试验, 分析了红掌种质资源亲缘关系和遗传多样性, 从而对红掌新品种的选育具有重要参考价值。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

2017 年 10 月开始, 试验材料采自福建省林业科技试验中心红掌种质资源圃, 共收集 56 个品种 (表 1), 花色有红色、白色、粉色、紫色以及混合色等, 其中红花系列品种 32 个, 所占比例为 57.1%; 白花系列品种 6 个, 占 10.7%; 粉花系列品种 8 个, 占 14.3%; 紫花系列品种 3 个, 占 5.35%; 混合花色系列品种 4 个; 其他颜色 3 个, 所占比例分别为 7.14% 和 5.35%, 其中包括 2 个福建省林业科技试验中心新选育品种: 新星、白鸽。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 试剂和仪器** 选择加拿大英属哥伦比亚大学 (University of British Columbia) 公布的 100 个 (Set No. 9, No. 801-900) 引物作为本试验的筛选引物<sup>[9-13]</sup>, 由华大基因合成。2×EasyTaq PCR SuperMix (由 EasyTaq DNA Polymerase、dNTPs 和优化的反应缓冲液组成) 购自北京 TansGen Biotech 有限公司。主要仪器设备: 离心机 (Eppendorf AG)、电泳仪 (BIO-RAD PowerPac Universal)、电泳凝胶成像仪 (z)、超微量核酸测定仪 (Thermo NANODROP ONE)、PCR 仪 (BIO-RAD T100TM) 等<sup>[14]</sup>。

**1.2.2 DNA 提取和检测** 在参考李金璐等<sup>[15]</sup>方法的基础上进行适度的改良, 具体方法如下:

a. 称取 100 mg 的植物材料, 迅速置于液氮中, 加入少量石英砂, 碾磨成细粉末, 将粉末转移到 2.0 mL 的离心管中; 加入 1 mL 预冷的提取缓存液, 混匀后冰预 15 min, 冰预过程中颠倒混匀 2~3 次; 12 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min, 弃上清。

b. 重复步骤 2~3, 直至上清液不黏稠。

c. 加入 0.7 mL CTAB 提取液, 混匀后 60℃ 水浴 60 min, 水浴过程中颠倒混匀数次 (颠倒混匀的时候操作需轻缓); 12 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min, 吸上清置于 2.0 mL 的离心管中。

d. 加入 0.7 mL 的酚: 氯仿: 异丙醇=25:24:1 混合液, 轻柔地来回翻转颠倒 50 次左右; 12 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min, 吸取上清液置于新的的 1.5 mL 的离心管中; 加入 0.7 mL 的氯仿: 异戊醇=24:1 的混合液中, 轻柔地来回翻转颠倒 50 次左右。

e. 取上清转入新的离心管中, 加入 250 μL 的 NaAc (3 mol·L<sup>-1</sup>), 加入 1 mL 预冷的乙醇-80℃ 放置 30 min; 12 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min, 弃上清液, 在短暂的离心收集剩余液体, 用移液枪吸取剩余液体。

表1 红掌品种名目  
Table 1 List of *Anthurium* varieties

序号 Serial number	品种名(代号) Variety name (Code)	花色 Color	来源 Source	序号 Serial number	品种名(代号) Variety name (Code)	花色 Color	来源 Source
1	大哥大 Dakota	红 Red	安祖园艺有限公司 Anthura	22	潘多拉 Pandola	粉 Pink	安祖园艺有限公司 Anthura
2	阿拉巴马 Alabama	红 Red	安祖园艺有限公司 Anthura	23	夏之恋 Summer Love	粉+绿 Pink+Green	瑞恩花卉有限公司 Ryan
3	粉冠军 Pink Champion	粉 Pink	安祖园艺有限公司 Anthura	24	红国王 Red King	红 Red	瑞恩花卉有限公司 Ryan
4	维他 Vita	红 Red	广州市花卉科学研究所 Guangzhou Institute of Flower Science	25	第一红 First Red	红 Red	瑞恩花卉有限公司 Ryan
5	广州红 Guangzhou Red	红 Red	广州市花卉科学研究所 Guangzhou Institute of Flower Science	26	迷你红 Nano Red	红 Red	瑞恩花卉有限公司 Ryan
6	旭日 Rising sun	粉 Pink	广州市花卉科学研究所 Guangzhou Institute of Flower Science	27	红宝贝 Red Baby	红 Red	瑞恩花卉有限公司 Ryan
7	朝霞 Asaka	红 Red	广州市花卉科学研究所 Guangzhou Institute of Flower Science	28	甜冠军 Sweet Champion	粉 Pink	安祖园艺有限公司 Anthura
8	彩霞 pink clouds	粉 Pink	广州市花卉科学研究所 Guangzhou Institute of Flower Science	29	红唇 Princess Amalia Elegance	红+白 Red + White	瑞恩花卉有限公司 Ryan
9	热情 Tropical	红 Red	安祖园艺有限公司 Anthura	30	梦幻 Fantasy Love	白+绿 White + Green	瑞恩花卉有限公司 Ryan
10	皇冠 royal crown	红 Red	安祖园艺有限公司 Anthura	31	白马王子 Prince Charming	白 white	三明市农科院花卉所 Sanming Agricultural Science Research Institute
11	阿瑞博 Arebo	红 Red	安祖园艺有限公司 Anthura	32	Adios pink	粉 Pink	三明市农科院花卉所 Sanming Agricultural Science Research Institute
12	维多 Vito	红 Red	安祖园艺有限公司 Anthura	33	粉爱 Pink Love	粉 Pink	安祖园艺有限公司 Anthura
13	香妃 Fiorino	紫 purple	安祖园艺有限公司 Anthura	34	布加迪威龙 Bugatti Veyron	红 Red	广州市花卉科学研究所 Guangzhou Institute of Flower Science
14	索米 Sumi	白 white	安祖园艺有限公司 Anthura	35	罗兰公主 Princess Alexia Violet	白 white	安祖园艺有限公司 Anthura
15	国王 Arrow	墨绿 Dark green	安祖园艺有限公司 Anthura	36	紫雷鸟 Thunderbird Luxury	紫 purple	安祖园艺有限公司 Anthura
16	白冠军 White Champion	白 white	安祖园艺有限公司 Anthura	37	洋葱 VR990	紫 purple	安祖园艺有限公司 Anthura
17	阿瓦托 Avento	红 Red	安祖园艺有限公司 Anthura	38	唇彩 Lipstick Red	红 Red	瑞恩花卉有限公司 Ryan
18	特伦萨 Turenza	红 Red	安祖园艺有限公司 Anthura	39	红布加迪 Bugatti Red	红 Red	瑞恩花卉有限公司 Ryan
19	特仙 Special fairy	红 Red	广州市花卉科学研究所 Guangzhou Institute of Flower Science	40	黑皇后 Black Queen	黑 black	瑞恩花卉有限公司 Ryan
20	马都拉 Madural	红 Red	安祖园艺有限公司 Anthura	41	红成功 Red Success	红 Red	瑞恩花卉有限公司 Ryan
21	红赢家 Red Winner	红 Red	安祖园艺有限公司 Anthura	42	橙布加迪 Bugatti Royal	橙 Orange	瑞恩花卉有限公司 Ryan

续上表

序号 Serial number	品种名(代号) Variety name (Code)	花色 Color	来源 Source	序号 Serial number	品种名(代号) Variety name (Code)	花色 Color	来源 Source
43	绿国王 Greed King	绿 green	安祖园艺有限公司 Anthura 三明市农科院花卉所	50	马蒂兹 Matiz	红 Red	瑞恩花卉有限公司 Ryan
44	满天星 Gypsophila	红 Red	Sanming Agricultural Science Research Institute	51	彩虹冠军 Rainbow champion	红 Red	瑞恩花卉有限公司 Ryan
45	莱尼 Lenny	红 Red	瑞恩花卉有限公司 Ryan	52	白骄阳 White Sierra	白 White	三明市农科院花卉所 Sanming Agricultural Science Research Institute
46	阿美拉 Amera	红 Red	瑞恩花卉有限公司 Ryan	53	甜梦 Sweet Dreams	红 Red	三明市农科院花卉所 Sanming Agricultural Science Research Institute
47	红班比诺 Red bandino	红 Red	安祖园艺有限公司 Anthura	54	白鸽 White pigeon	白 White	福建省林业科技试验中心 Forestry Science and Technology Test Center of Fujian Province
48	轰动 Sensation	红 Red	安祖园艺有限公司 Anthura	55	红衣少女 Red girl	红 Red	瑞恩花卉有限公司 Ryan
49	朱莉 Julie	粉 Pink	瑞恩花卉有限公司 Ryan	56	新星 New star	红 Red	福建省林业科技试验中心 Forestry Science and Technology Test Center of Fujian Province

f. 加入  $0.1 \text{ mL} 100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的 RNase,  $37^\circ\text{C}$  放置 30 min。

g. 加入  $0.1 \text{ mL}$  去离子水,  $0.1 \text{ mL} 5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaCl,  $0.8 \text{ mL}$  预冷乙醇, 轻轻混匀;  $12000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 min, 弃上清; 加入  $0.5 \text{ mL}$  75% 的乙醇, 轻轻弹起沉淀,  $10000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 2 min, 弃上清。

h. 重复以上步骤: 加入  $0.5 \text{ mL}$  75% 的乙醇, 轻轻弹起沉淀,  $10000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 2 min, 弃上清; 风干乙醇, 加入  $0.1 \text{ mL}$  TE 溶解 DNA。

i. 测定 DNA 的浓度和纯度。DNA 如需立即使用贮存于  $4^\circ\text{C}$ 。短期贮存于  $-20^\circ\text{C}$ , 长期贮存于  $-80^\circ\text{C}$ 。

然后, 超微量核酸测定仪测定 DNA 浓度与质量, 凝胶电泳检测 DNA 完整性。最后将样品浓度稀释至  $50 \text{ ng}$ , 置于  $-20^\circ\text{C}$  备用。

**1.2.3 引物筛选** 4 个样品 DNA (大哥大、热情、皇冠、国王), 取等量混合成基因池, 以基因池为 DNA 模板对 100 个 UBC 通用引物进行筛选, 选取带清晰、多态性丰富的引物用于下一步 DNA 指纹图谱的构建。

**1.2.4 ISSR-PCR 扩增体系** 反应体系为:  $1 \mu\text{L}$  DNA 模板,  $1 \mu\text{L}$  引物,  $12.5 \mu\text{L}$  mix,  $10.5 \mu\text{L}$  无菌水。PCR 程序设置为: 预变性  $94^\circ\text{C}$  5 min, 变性  $94^\circ\text{C}$  45 s, 退火温度根据引物说明设置, 延伸  $72^\circ\text{C}$  2 min, 45 个循环, 终延伸  $72^\circ\text{C}$  6 min。

### 1.3 数据分析

根据照片显示, 仅清晰、可重复的并且长度为  $200\sim2000 \text{ bp}$  的扩增带才被记录, 对于同一引物的

扩增产物, 迁移率相同的条带记为 1 个位点, 扩增阳性 (有条带出现) 记为“1”, 扩增阴性 (无条带出现) 记为“0”, 所得数据输入 Excel2003 建立原始表征数据矩阵。

根据表征矩阵, 对扩增产物的条带总数和多态性条带数量进行统计, 计算多态条带所占比例和单个引物多态条带数。扩增的 DNA 片段出现频率小于或等于 0.99 的位点即为多态性位点。

使用 NTSYS 软件对原始矩阵用 SimQual 程序计算种质间的 Nei-Li 相似系数, 获得遗传相似系数 (Genetic similarity, S)。再用 SHAN 程序中的 UPGMA (Unweighted pair-group method arithmetic average 非加权成组算术平均数) 法进行聚类分析, 最后 treeplot 过程生成聚类图。再使用 POPGENE 软件分析得出 Nei's 基因多样性指数和 Shannon's 信息指数。

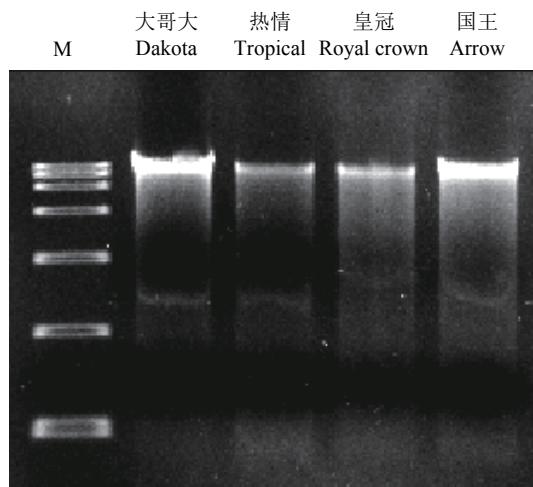
## 2 结果与分析

### 2.1 DNA 提取

利用改良的 CTAB 法提取 DNA, DNA 提取物呈白色或无色絮状沉淀, 凝胶电泳成像结果显示该方法提取的 DNA 完整, 无明显拖带及降解 (图 1)。通过超微量核酸测定仪检测 DNA A260/A280 为 1.7~2.0, 浓度为  $100\sim200 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ 。结果显示该方法提取的红掌 DNA 可以满足 ISSR 分子标记试验要求。

### 2.2 红掌 ISSR 分子标记通用引物筛选

通过对 100 条 UBC 通用引物的筛选, 筛选出 10 条条带清晰, 多态性丰富的引物, 分别为 UBC807、



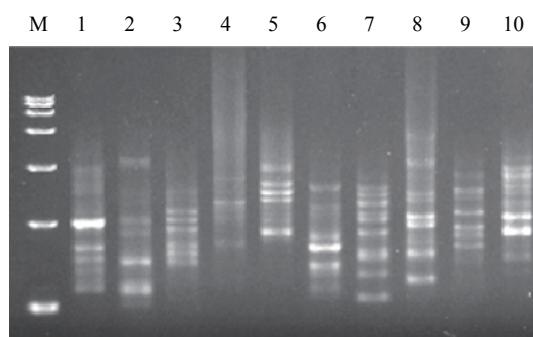
注: M: 标准分子量 marker 2 000;

Note: M:DL2 000 DNA marker

图 1 DNA 提取电泳结果

Fig. 1 DNA extraction electropherogram

UBC810、UBC811、UBC817、UBC825、UBC836、UBC840、UBC843、UBC850、UBC854, 其 PCR 扩

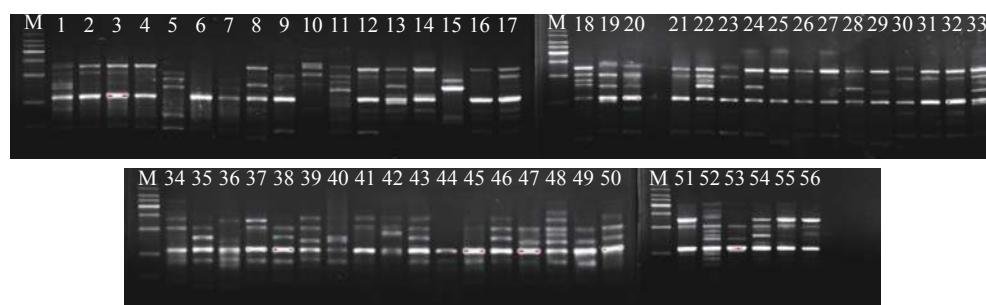


注: M: 标准分子量 marker 2000; 1:UBC807、2:UBC810、3:UBC811、4:UBC817、5:UBC825、6:UBC836、7:UBC840、8:UBC843、9:UBC850、10:UBC854

Note: M:DL2 000 DNA marker; 1:UBC807、2:UBC810、3:UBC811、4:UBC817、5:UBC825、6:UBC836、7:UBC840、8:UBC843、9:UBC850、10:UBC854.

图 2 UBC872-UBC894 引物筛选电泳结果

Fig. 2 UBC872-UBC894 primer screening electropherogram



注: M: 标准分子量 marker 2 000;

Note: M:DL2 000 DNA marker; 1~56: 56 anthurium varieties are shown in Table 1.

图 3 UBC850 对 56 种红掌品种的 ISSR 扩增结果

Fig. 3 ISSR amplification map of 56 species of *Anthurium* varieties by UBC850

增产物电泳成像如图 2。

### 2.3 多态性分析

利用筛选出的 10 个引物对 56 份红掌种质的 DNA 进行 PCR 扩增 (图 3) 共扩增得到 99 个位点, 其中多态性位点 95 个, 多态性比率为 95.96%。扩增条带数最多的是引物 UBC850, 位点数为 12, 其中多态性位点为 12, 多态性比率为 100%; 扩增条带数最少的是 UBC807, 扩增位点是 7, 其中多态性位点为 6, 多态性比率为 85.71%。用 POPGENE 分析软件进行分析结果得: Nei's 基因多样性指数  $H$  为 0.303 6; Shannon's 信息指数  $I$  为 0.458 5。利用引物 UBC850 对 56 种红掌品种的 ISSR 扩增图谱见图 3。

### 2.4 红掌种质资源的 ISSR 分子标记聚类分析

基于 ISSR 扩增结果, 用 UPGME 聚类分析方法绘制出聚类分析图 (图 4) 结果显示遗传相似系数为 0.54~0.91。其中广州红和阿瑞博遗传相似系数最大, 为 0.91; 而国王与其他所有品种遗传相似系数最小, 为 0.54, 即国王与其他品种遗传信息存在较大差异, 亲缘关系较远。

以马蒂兹为界其上的亲缘关系相对较近, 其下方品种整体来说相互之间亲缘关系相对较远, 根据聚类结果 (图 4) 在遗传相似系数 0.72 处画一条线, 从而可将 56 个红掌品种分为 12 类。如图 4 所示: 国王、黑皇后、紫雷鸟、彩霞、索米、香妃等 6 个品种单独成一类; 皇冠和轰动、红成功和满天星、白冠军和白骄阳、绿国王和阿美拉两两聚为一类; 另外特伦萨、特仙、罗兰公主 3 个品种聚为一类, 大哥大、热情等剩下的 39 个品种聚为一类。

以马蒂兹为界, 包括马蒂兹在其上的 39 个品种聚为一类, 与之对应, 这 39 个品种苞片颜色以红色粉色为主; 马蒂兹下方, 亲缘关系较远的罗兰公主、香妃、索米、彩霞、紫雷鸟、黑皇后、国王等 7 个品种各自单独聚为一类, 相应的它们各自苞片颜

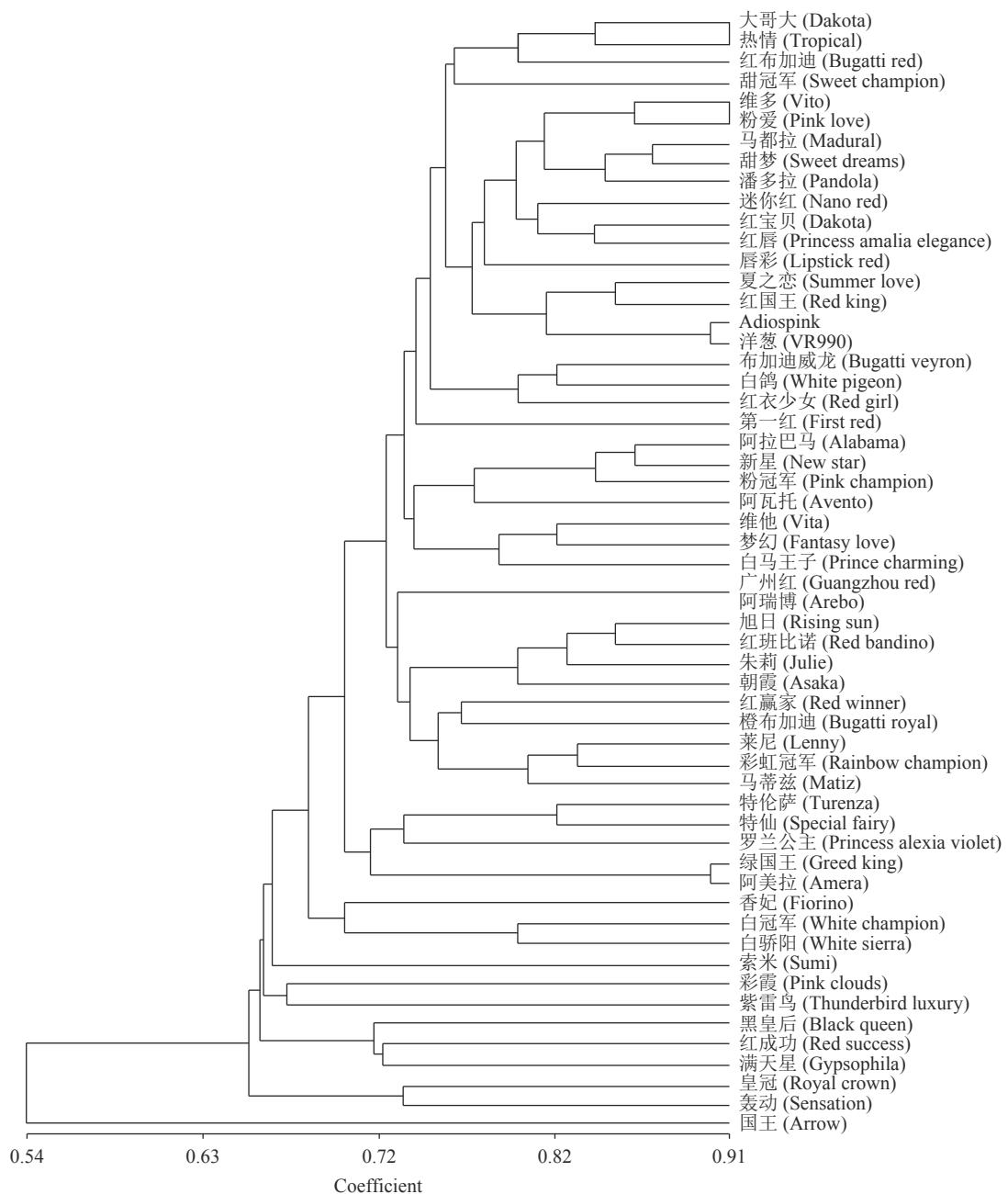


图4 56个红掌品种扩增结果聚类分析

Fig. 4 Clustering analysis on 56 *Anthurium* varieties based on amplification results

色也比较独特, 分别为白色、紫色、白色、粉色、紫色、黑色、墨绿色。剩下的特伦萨和特仙聚为一类, 苞片均为红色; 绿国王和阿美拉聚为一类, 苞片颜色分别为绿色和红色; 白冠军和白骄阳聚为一类, 苞片颜色分别为白色和白色加绿色; 红成功和满天星聚为一类, 苞片颜色均为红色; 皇冠和轰动聚为一类, 苞片颜色均为红色。综上可知, 红掌的ISSR聚类分析结果可能与红掌苞片颜色有关。

### 3 讨论与结论

本研究利用筛选出的10条ISSR引物从红掌

56个品种的基因组中分析得到99条条带, 其中多态性条数95条, 多态性比率为95.96%。另Nei's基因多样性指数 $H$ 为0.303 6; Shannon's信息指数 $I$ 为0.458 5, 表明红掌的遗传多样性较高。通过聚类分析图与红掌苞片颜色相对应, 发现聚类结果与红掌的苞片颜色这一性状存在较大相关性, 这与王呈丹等<sup>[6]</sup>、Khan Y J<sup>[16]</sup>、易双双等、徐世松等、尚伟等的研究结果一致<sup>[6,16-17]</sup>。从而将微观的分子鉴定与宏观的性状鉴定对应起来, 说明ISSR分子标记方法可以在分子水平较好地将红掌的不同品种区分开来。红掌品种新星和白鸽为福建省林业科技试验中心自主研发的新品

种, 其母本分别为粉冠军和红衣少女, 在聚类分析图中, 新星和粉冠军、白鸽和红衣少女也分别聚在了一起, 证明了研究结果的可靠性, 也说明ISSR分子标记也能够很好地用于红掌品种亲缘关系的鉴定。但是同时, 有多位学者的研究结果证明红掌品种的聚类与形态学标记的聚类没有相关性<sup>[7,18]</sup>, 造成这种差异的原因可能有以下几点: 一、形态学标记受环境影响较大, 因此不同表型的遗传基础可能是相同的; 二、采用的分子标记类型与表型无关; 三、选择的形态学标记少<sup>[19]</sup>。

广州红和阿瑞博遗传相似系数最大为0.91, 说明二者亲缘关系最近, 有可能来自同一品种的变种, 国王与其他品种遗传相似系数最小为0.54, 说明国王亲缘关系最远, 遗传分化较大, 且国王性状奇特, 可作为新品种培育的母本。Adiospink和洋葱及绿国王和阿美拉遗传相似系数0.86左右, 仅次于广州红和阿瑞博, 但他们的苞片颜色却差异较大: Adiospink为粉红色, 而洋葱为紫色; 同样的, 绿国王苞片为浅绿色, 而阿美拉为红色, 猜测原因可能是遗传过程中产生的变异, 使控制花青素的基因过表达或未表达, 具体原因有待进一步研究。香妃、紫雷鸟、国王、绿国王等性状奇特, 且遗传多样性丰富, 可作为优良种质资源保存。

总的来说, 本研究证实了ISSR分子标记技术在红掌品种鉴定及遗传多样性分析中的有效性及可靠性, 为红掌后续的遗传学研究及育种实践提供了重要参考。

## 参考文献:

- [1] 文方德, 金剑平. 红掌[M]. 广州: 广东科技出版社, 2004.
- [2] 杜平, 邵小斌. 我国红掌的研究进展 [J]. 江苏农业科学, 2011, 39 (6): 325–327.
- [3] DU P, SHAO X B. Research Progress of *Anthurium* in China [J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2011, 39 (6): 325–327. (in Chinese)
- [4] 褚云霞, 邓娜, 顾可飞, 等. 红掌已知品种库的建立与应用 [J]. 中国农学通报, 2014, 30 (19): 129–136.
- [5] CHU Y X, DENG S, GU K F, et al. Development and application of cultivars bank for *Anthurium andraeanum* [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2014, 30 (19): 129–136. (in Chinese)
- [6] 牛俊海, 黄少华, 冷青云, 等. 分子标记技术在红掌研究中的应用与展望 [J]. 分子植物育种, 2015, 13 (6): 1424–1432.
- [7] NIU J H, HUANG S H, LENG Q Y, et al. Application and prospect of molecular markers in *Anthurium* research [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2015, 13 (6): 1424–1432. (in Chinese)
- [8] 易懋懋, 谢利, 郭和蓉, 等. 红掌育种方法研究进展 [J]. 中国农学通报, 2015, 31 (4): 157–161.
- [9] YI M S, XIE L, GUO H R, et al. Advancement on breeding method of *Anthurium andraeanum* [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2015, 31 (4): 157–161. (in Chinese)
- [10] 王呈丹, 牛俊海, 张志群, 等. 红掌品种亲缘关系SRAP分析 [J]. 植物遗传资源学报, 2013, 14 (4): 759–763.
- [11] WANG C D, NIU J H, ZHANG Z Q, et al. Analysis of genetic relationships of *Anthurium andraeanum* varieties using SRAP markers [J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2013, 14 (4): 759–763. (in Chinese)
- [12] NOWBUTH P, KHITTOO G, BAHORUN T, et al. Assessing genetic diversity of some *Anthurium andraeanum* Hort. cut-flower cultivars using RAPD Markers [J]. *african journal of biotechnology*, 2005, 4 (10): 1189–1194.
- [13] 康黎芳, 王云山, 张超, 等. 3个红掌品种杂交后代的部分植物学性状及分子鉴定 [J]. 西北农业学报, 2013, 22 (11): 152–157.
- [14] KANG L F, WANG Y S, ZHANG C, et al. Botanical characters and molecular identification of hybrids from three *Anthurium* varieties [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*, 2013, 22 (11): 152–157. (in Chinese)
- [15] 何予卿, 张宇, 孙梅, 等. 利用ISSR分子标记研究栽培稻和野生稻亲缘关系 [J]. 农业生物技术学报, 2001, 9 (2): 123–127.
- [16] HE Y Q, ZHANG Y, SUN M, et al. Studies on the relationship between cultivated and wild rice using ISSR markers [J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2001, 9 (2): 123–127. (in Chinese)
- [17] 王建波. ISSR分子标记及其在植物遗传学研究中的应用 [J]. 遗传, 2002, 24 (5): 613–616.
- [18] WANG J B. ISSR molecular markers and their application in plant genetics research [J]. *Genetic*, 2002, 24 (5): 613–616. (in Chinese)
- [19] 余爱丽, 张木清, 陈如凯. ISSR分子标记在甘蔗及其近缘属分类上的应用 [J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2002, 31 (4): 484–489.
- [20] YU A L, ZHANG M Q, CHEN R K. Application of ISSR molecular markers in the classification of sugarcane and its related genera [J]. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University*, 2002, 31 (4): 484–489. (in Chinese)
- [21] 周延清, 景建洲, 李振勇, 等. 利用RAPD和ISSR分子标记分析地黄种质遗传多样性 [J]. 遗传, 2004, 26 (6): 922–928.
- [22] ZHOU Y Q, JING J Z, LI Z Y, et al. Assessment of genetic diversity of *rehmanniaglutinosa* germplasm detected by RAPDs and ISSRs [J]. *Hereditas(Beijing)*, 2004, 26 (6): 922–928. (in Chinese)
- [23] 闫林, 黄丽芳, 王晓阳, 等. 咖啡种质资源遗传多样性的ISSR分析 [J]. 南方农业学报, 2019, 50 (3): 491–499.
- [24] YAN L, HUANG L F, WANG X Y, et al. ISSR Analysis of Genetic Diversity of Coffee Germplasm Resources [J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2019, 50 (3): 491–499. (in Chinese)
- [25] 黄晓慧, 巫伟峰. 中国兰ISSR-PCR反应体系优化及引物筛选 [J]. 南方农业学报, 2018, 49 (7): 1282–1288.
- [26] HUANG X H, WU W F. Optimization of ISSR-PCR Reaction System and Primer Screening in China Blue [J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2018, 49 (7): 1282–1288. (in Chinese)

- [15] 李金璐, 王硕, 于婧, 等. 一种改良的植物DNA提取方法 [J]. 植物学报, 2013, 48 (1): 72–78.
- LI J L, WANG S, YU J, et al. A modified CTAB protocol for plant DNA extraction [J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2013, 48 (1) : 72–78. (in Chinese)
- [16] KHAN Y J, PANKAJAKSAN M. Genetic Diversity Among Commercial Varieties of *Anthurium andraeanum* Linden Using RAPD Markers [J]. *Journal of Plant Genetics*, 2010, 1 (1) : 11–15.
- [17] 易双双, 杨光穗, 尹俊梅, 等. 红掌主要观赏性状遗传多样性分析 [J]. 热带作物学报, 2017, 38 (12): 2206–2214.
- YI S S, YANG G S, YIN J M, et al. Genetic diversity analysis of the Major ornamental morphological characters for *Anthurium andraeanum* [J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2017, 38 (12) : 2206–2214. (in Chinese)
- [18] GE Y, ZHANG F, SHEN X, et al. Genetic variations within a collection of anthuriums unraveled by morphological traits and AFLP markers [J]. *Biochemical Systematics & Ecology*, 2012, 45: 34–40.
- [19] 徐世松, 王呈丹, 黄素荣, 等. 红掌种质资源形态学标记与遗传多样性分析 [J]. 热带作物学报, 2014, 35 (10): 1890–1896.
- XU S S, WANG C D, HUANG S R, et al. Morphological markers and genetic diversity of *Anthurium andraeanum* germplasm [J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2014, 35 (10) : 1890–1896. (in Chinese)

(责任编辑: 黄爱萍)