

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201412019

周丽, 胡春根. 送春与多花兰种间杂交后代的 ISSR 分析 [J]. 广西植物, 2016, 36(8):949-955

ZHOU L, HU CG. ISSR analysis of interspecific hybrids descendants of *Cymbidium cyperifolium* var. *szechuanicum* and *C. floribundum* [J]. *Guihaia*, 2016, 36(8):949-955

送春与多花兰种间杂交后代的 ISSR 分析

周 丽^{1,2}, 胡春根^{1*}

(1. 华中农业大学 园艺林学学院, 教育部园艺植物生物学重点实验室, 武汉 430070; 2. 兴义民族师范学院, 贵州 兴义 562400)

摘 要: 该文使用简单重复序列间 (ISSR) 分子标记, 对送春与多花兰种间杂交后代进行了研究。结果表明: 从 80 个 ISSR 引物中筛选出 14 个扩增效果稳定的 ISSR 引物, 对两亲本和 59 个 F1 代个体进行了 ISSR 扩增, 得到 107 个扩增位点, 扩增的片段大小位于 90~2 100 bp 之间, 平均每个引物扩增 7.64 条条带, 得到 11 种类型的带。ISSR 标记在送春 × 多花兰的 F1 代中表现出一定的多态性, 分离频率为 44.86%, 分离位点有 83.33% 符合孟德尔 1:1 或 3:1 的分离规律, 产生偏孟德尔分离的位点占 12.50%, 余下的 4.17% 属于特殊分离带型。可能导致后代变异的位点为偏孟德尔分离的 6 条带、缺失的 8 条带或新生成的 2 条带。聚类图中父本和母本与 F1 代个体间的遗传距离较远, 59 个杂交后代先聚集成一组, 再同母本相聚为一组, 最后才同父本聚在一起, 59 个杂种均偏母本型。送春与多花兰的杂交后代在植株形态、染色体、遗传物质方面都具备双亲特点, 61 个个体间的 ISSR 分子量标记结果和植株形态学特征都说明, 59 个 F1 代杂种包含送春和多花兰的遗传特性是真杂种; F1 代杂种既有双亲的互补特征带, 又有双亲的重组片断即产生新的特异带, 这说明送春与多花兰的杂交后代具有遗传变异的特点。该研究结果可以有效地对杂交后代进行定向选择, 为兰花的杂交育种提供了分子依据。

关键词: 送春, 多花兰, 种间杂种, ISSR 分子量标记, 孟德尔分离, 聚类分析

中图分类号: Q943, Q341 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2016)08-0949-07

ISSR analysis of interspecific hybrids descendants of *Cymbidium cyperifolium* var. *szechuanicum* and *C. floribundum*

ZHOU Li^{1,2}, HU Chun-Gen^{1*}

(1. Huazhong Agricultural University College of Horticulture&Forestry Science, Key Laboratory of Horticultural Plant Biology Ministry of Education, Wuhan 430070, China; 2. Xingyi Normal University for Nationalities, Xingyi 562400, China)

Abstract: Interspecific hybrids descendants of *Cymbidium cyperifolium* var. *szechuanicum* and *C. floribundum* were studied by using ISSR marker. Fourteen ISSR primers were selected from 80 ISSR primers, which were used to amplify 61 individuals including paternal, maternal and 59 F1 progeny, 107 DNA fragments were produced by using these ISSR primers to amplify, every primer had 7.64 bands in average. The length of amplified DNA fragments ranged from 90 bp to 2 100 bp, and there were 11 kinds of bands. The results showed that the polymorphism of ISSR marker in the F1 progenies was high, and the segregation locus was 44.86%. And 83.33% segregation loci accorded with the segregation pat-

收稿日期: 2014-12-13 修回日期: 2015-02-29

基金项目: 贵州省教育厅项目 [2011(278)号] [Supported by the Program of Education Office of Guizhou Province 2011(278)]。

作者简介: 周丽 (1978-), 女, 贵州兴义人, 硕士, 副教授, 从事兰科植物保育与种质创新研究, (E-mail) zhouli@xynun.edu.cn。

* 通讯作者: 胡春根, 教授, 博士生导师, 主要从事果树重要经济性状相关基因克隆与转基因遗传改良研究, (E-mail) chungen@mail.hzau.edu.cn。

terns of Mendelian segregation model with the segregation ratio nearly 1 : 1 or 3 : 1. 12.50% segregation loci deviated from Mendelian segregation model, 4.17% segregation loci belonged to special bands. Six deviated from Mendelian segregation model bands, eight deficiency bands and two new genetic character bands would cause some new variation. Cluster analysis showed that the genetic distances of both parental and 59 F1 progeny is further, fifty-nine F1 progeny in one group, then fifty-nine F1 progeny and female plant were in one group, at last 59 F1 progeny and female plant and male plant were in one group, this result indicated that 59 hybrids were partial female type. The hybrids of *Cymbidium cyperifolium* var. *szechuanicum* and *C. floribundum* had some common characteristics of their parents, such as leaves, chromosomes and hereditary material. Sixty-one materials were identified by ISSR markers and morphological characters that 59 F1 progeny obtained the genetic characteristics of *Cymbidium cyperifolium* var. *szechuanicum* and *C. floribundum*, so they were true hybrids. Fifty-nine F1 hybrids had mutually complementary bands of both parents, the F1 hybrids also produced some new specific bands which were recombinant fragment of parents. This experiment showed that 59 F1 progeny had both genetic and variation. Therefore, ISSR markers can be used as an effective molecular technique for directional selection of the interspecific hybrid and the study of orchid cross-breeding.

Key words: *Cymbidium cyperifolium* var. *szechuanicum*, *Cymbidium floribundum*, interspecific hybrid, ISSR markers, Mendelian segregation, cluster analysis

送春(*Cymbidium cyperifolium* var. *szechuanicum*), 又名绿兰、春绿兰,为兰科(Orchidaceae)兰属(*Cymbidium* SW.)的重要观赏植物。送春开花时间2-4月,具花9~12朵,花香淡雅,在春兰花期过后的晚春时节送来缕缕清香。但送春花色不亮、叶薄革质、易外弯,欲改良这些性状,用多花兰(*C. floribundum*)与送春杂交,使相关性状互补,可选育出新的杂交品种。然而,由于国兰类经种子繁育的试管苗从栽培到开花所需时间较长。因此,通过对两亲本及F1代的分子标记,探寻杂交后代的遗传规律,为其杂种后代的鉴定提供早期分子辅助选择依据。

ISSR分子标记是在SSR标记基础上发展起来的,现已形成成熟的技术,具有操作简便、重复性好等特点,可揭示比RFLP、RAPD、SSR更多的多态性,在遗传作图、基因定位、遗传多样性分析、进化、系统发育等研究方面被广泛应用(王健波,2002)。前人采用ISSR标记对多种物种的遗传多样性进行标记,如束花石斛(包音华等,2008)、华顶杜鹃(颜士辉等,2012)、夏蜡梅(汪琼等,2013)、太行菊(张世安等,2014)、油茶(考安都等,2014)。

1 材料与方 法

1.1 材料

以送春为母本,多花兰为父本,得到杂交F1代果实,采用组培播种方法得到F1代59个个体(确保每个来源于一粒种子),F1代材料直接从组培瓶中取出,两亲本取幼嫩叶片,所有备用材料在超低温

冰箱保存。引物参照加拿大哥伦比亚大学公布的ISSR引物序列合成,购自上海生工;Taq酶、dNTP、Mg²⁺购自天根生化科技(北京)有限公司;Marker DL2000购自西宝生物公司。

1.2 方法

用改良CTAB法提取各材料总DNA。20 μL反应体系各组分的浓度分别为1 × PCR buffer(不含Mg²⁺),2.5 mmol · L⁻¹ Mg²⁺,0.25 mmol · L⁻¹ dNTPs, Taq DNA聚合酶1 U,引物0.6 μmol · L⁻¹, Template DNA 2.5 ng · μL⁻¹,去离子甲酰胺2%。ISSR-PCR扩增程序为94 °C预变性5 min 1个循环;94 °C变性35 s,47~58 °C(依引物不同而不同)退火45 s,72 °C延伸90 s共40个循环;72 °C保温10 min 1个循环,保存温度4 °C。PCR产物用1.5%琼脂糖凝胶分离,TBE(1 ×)缓冲液,120 V电泳2 h,EB液染色10 min。

1.3 数据统计与分析

从扩增结果中选择多态性好的清晰条带进行分析,在电泳图谱中同位点上有条带的记为“1”,无带的记为“0”,建立(0,1)矩阵。用NTsys-pc2.02软件进行Nei's遗传相似系数计算并UPGMA法构建聚类树状图,根据骆建霞和孙建设的方法进行分离符合度的卡平方测试。

2 结果与分析

2.1 ISSR引物的筛选

参考前人所使用的引物(高丽和杨波,2006),

从 80 条 ISSR 引物中筛选出扩增结果稳定、重复性强、条带清晰、多态性高的 14 条引物并优化退火温度(表 1)。用这些引物对 61 份材料进行 PCR 扩增。

表 1 ISSR 引物序列、最佳退火温度及统计位点数

Table 1 ISSR primer sequences, suitable annealing temperature and number of scored locus

引物编号 Code of primer	引物序列 (5'-3') Sequence of primer (5'-3')	T _m 值 T _m value	实验最佳 退火温度 Best annealing temperature (°C)	统计位点数 No. of scored locus
UBC807	(AG) ₈ T	51.35	54	7
UBC814	(CT) ₈ A	49.29	47.7	5
UBC815	(CT) ₈ G	51.33	47.7	6
UBC818	(CA) ₈ G	56.19	56.6	8
UBC825	(AC) ₈ YT	65.66	54.5	8
UBC827	(AC) ₈ G	58.23	54	6
UBC829	(TG) ₈ C	58.55	55.8	10
UBC835	(AG) ₈ YC	67.71	57	7
UBC836	(AG) ₈ YA	65.66	50.6	13
UBC840	(GA) ₈ YT	65.66	48.3	7
UBC857	(AC) ₈ YG	67.71	58	9
UBC862	(AGC) ₆	67.56	53.1	6
UBC864	(ATG) ₆	49.70	54	8
UBC868	(GAA) ₆	49.27	49.7	7

Y=(C,T)

2.2 PCR 扩增结果

14 条 ISSR 引物总共扩增出 107 条带,每个引物平均扩增产生 7.64 条带,所得片段大小为 90~2 100 bp,ISSR 标记在两亲本和杂交子代中表现出多态性(图 1)。

扩增结果可分为 11 种类型(表 2),后代分离方式(表 5),双亲共有型(两亲本和后代中全都有)的带,这样的位点是两亲本共有且能在后代中完全遗传,这表明在两亲本中该位点以纯结合方式存在;偏父本型(父本有母本无,后代中全有),说明该位点在父本中是纯结合的,在后代中没有发生分离;偏母本型(母本有父本无,后代中全有),说明该位点在母本中是纯结合的,在后代中没有发生分离;以上 3 类带共计 50 条,占总带数的 46.73%,它们是在

杂交后代中未发生等位基因分离的位点。缺失型带有 8 条,占总带数的 7.48%,表现为双亲缺失型(两亲本有,后代中全无)、母本缺失型(母本有父本无,后代中全无)、父本缺失型(母本无父本有,后代中全无),产生缺失型带,可能是染色体重组或断裂导致亲本特征谱带丢失。分离型带有 47 条,占总带数的 43.92%,表现为母本分离型、父本分离型共、双亲分离型(两亲本有,后代中出现分离),分离位点中,有 38 个符合孟德尔的分离中等位基因 1:1 分离模式,有 2 个符合 3:1 分离模式(表 3),有 6 个偏离孟德尔遗传模式,分离方式既不是 3:1 也不是 1:1,另有 1 个特殊位点在两亲本中均存在但是在杂交的 F1 代中,却有近一半的个体中有条带出现,属于特殊的双亲分离型。新生杂合型(两亲本无,后代中全有)、新生杂合分离型(两亲本无,后代中分离出现)各有 1 条带占总带数的 1.87%,2 新增位点可能包含重组片断,这表明在 F1 代中可能产生新的变异。

ISSR 标记在送春与多花兰杂交后代中表现多态性,并遵循呈孟德尔分离规律(表 3)。ISSR 为显性标记(有带为显性,没有带为隐性),在杂交后代没发生分离的 50 条带型中,双亲共有标记有 21 条,有 11 条是父本特有标记,18 条是母本特有标记,说明这些是没有发生遗传分离的位点,其杂交亲本的可能基因型组合为 AA×AA、AA×Aa、Aa×AA、AA×aa、aa×AA 五种类型之一;符合孟德尔分离的位点有 40 个,占总位点数的 37.38%,其中符合 1:1 分离比例的有 38 个位点,其亲本基因型可能为 Aa×aa 或 aa×Aa,有 2 条符合 3:1 分离比例,但父本为显性(有条带)母本为隐性(无条带),亲本基因型无法推断;有 6 个单亲特有的位点,在后代中发生了偏孟德尔遗传分离,分离比例既不符合 1:1 又不符合 3:1,细胞质遗传有可能导致扩增位点中产生不符合孟德尔遗传现象(表 4)。

送春与多花兰杂交后代具备双亲的特征,ISSR 分子标记结果和植株形态学特征都说明 59 个 F1 代杂种包含双亲的遗传特性是真杂种;标记得到的位点分析结果表明,发生分离的位点母本特有标记要比父本特有标记多,不分离位点母本特有标记的也要比父本特有标记多,说明大多数杂种性状偏向母本;杂交后代不但保留着双亲的互补特征带,而且生成了新的重组片断带型,说明送春与多花兰的杂交后代既有遗传又有变异。

表 2 扩增结果统计
Table 2 Result of the amplification

带型 Pattern	母本 Female plant	父本 Male plant	后代出现频率 Frequency in F1	扩增位点 Amplified locus (bp)
新生杂合型 1 条 Uniform novel band 1	-	-	100	UBC 836-300
新生杂合分离型 1 条 Separated novel band 1	-	-	57.63	UBC 836-630
双亲缺失型 1 条 Absent of both parents 1	+	+	0	UBC 862-1100
母本缺失型 5 条 Absent of female plant 5	+	-	0	UBC 835-700; UBC 857-750; UBC 814-1400; UBC 836-660; UBC 836-350
父本缺失型 2 条 Absent of male plant 2	-	+	0	UBC 836-600; UBC 836-310
双亲分离型 1 条 Half separation 2	+	+	50.85	UBC 835-1300
双亲共有型 21 条 No separation 21	+	+	100	UBC 835-1630; UBC 835-450; UBC 825-1500; UBC 825-900; UBC 868-630; UBC 868-350; UBC 868-300; UBC 829-1200; UBC 829-500; UBC 840-720; UBC 840-270; UBC 862-1840; UBC 862-1500; UBC 862-880; UBC 827-830; UBC 836-560; UBC 836-500; UBC 836-200; UBC 864-800; UBC 814-800; UBC 835-1500
偏母型 18 条 Maternal dominant 18	+	-	100	UBC 818-200; UBC 815-1100; UBC 815-280; UBC 815-230; UBC 807-930; UBC 807-800; UBC 825-530; UBC 825-350; UBC 868-750; UBC 836-880; UBC 864-440; UBC 829-630; UBC 840-1500; UBC 857-2100; UBC 857-800; UBC 862-750; UBC 862-490; UBC 827-950;
偏父型 11 条 Parental dominant 11	-	+	100	UBC 818-1000; UBC 815-610; UBC 807-450; UBC 864-740; UBC 814-900; UBC 868-490; UBC 829-380; UBC 840-240; UBC 857-200; UBC 827-620; UBC 864-950
亲本分离型 46 条 Separated of both parent 46				表 3、表 4 分析

2.3 聚类分析

利用 UPGMA 法对两亲本及 59 个杂种进行 ISSR 聚类分析(图 2)。从图 2 可以看出,59 个杂交后代先聚集成一组,再同母本相聚为一组,最后才同父本聚在一起,59 个杂种均偏母本型,表明了大多数杂种性状偏向母本。

用 NTsys-pc2.02 软件计算亲本与杂交后代的遗传距离和遗传一致度,F1 代与送春的遗传相似系数在 0.628 6~0.756 8 之间,其中遗传相似系数大于 0.7 的有 24 个;F1 代与多花兰的遗传相似系数在 0.590 9~0.711 1 之间,其中大于 0.7 的仅有 3 个 F1 代个体;59 个杂种间的遗传一致度高,在 0.773 3~0.934 2 间,聚类时最先聚在一起是杂种 11 号和 26 号,它们的遗传相似系数达 0.934 2,为最高;两亲本间的遗传一致度最低仅为 0.333 3。送春和多花兰的遗传距离为 0.666 7 为最远,两者在花朵数、花色、叶姿等方面存在明显差异,在 F1 代中容易表现出杂

种优势。F1 代的遗传特性介于两亲本之间,各个 F1 代个体间的遗传距离较小。

3 讨论与结论

在远缘杂交中,大多数杂种是偏母本性状的(陈瑞丹和张启翔,2004)。杂交育种时因重组而导致部分同源染色体间产生大量错配,使杂交后代保留大量重组体,接着重组分离和染色体断裂,导致染色体序列变化;细胞核与细胞质的相互作用也会影响基因组变化,杂交时为了达到核质平衡,细胞质会对外源核基因提供部分选择压力。偏父性遗传的基因主要位于线粒体基因组上,其原因是叶绿体基因组受到较严格的约束混杂的 DNA 量少,线粒体基因组混杂的 DNA 量比较多(戴思兰,2005)。

送春属于兰属建兰组,地生兰,假鳞茎较小,叶 8~16 片,薄革质易弯垂,花 9~12 朵;多花兰属于兰

表 3 符合孟德尔分离位点的卡平方分析

Table 3 χ^2 analysis of segregation loci of Mendelian segregation model

扩增位点 Amplified locus (bp)	母本 Female plant	父本 Male plant	后代出 现频率 Frequency in F1	分离符合度(χ^2) Degree of separation	
				3 : 1	1 : 1
				UBC 818-1650	-
UBC 815-650	-	+	47.45	22.423 7	0.067 8*
UBC 807-870	-	+	47.45	22.423 7	0.067 8*
UBC 807-390	-	+	54.24	12.480 2	0.271 2*
UBC 829-1300	-	+	45.76	25.361 6	0.271 2*
UBC 829-550	-	+	49.15	19.666 7	0.016 9*
UBC 857-1500	-	+	49.15	19.666 7	0.016 9*
UBC 827-420	-	+	44.07	28.482	0.610 2*
UBC 857-700	-	+	44.07	28.482	0.610 2*
UBC 857-500	-	+	57.63	8.593 2	1.084 7*
UBC 836-800	-	+	55.93	10.446 3	0.610 2*
UBC 836-90	-	+	49.15	19.666 7	0.016 9*
UBC 864-1500	-	+	52.54	14.694 9	0.067 8*
UBC 840-900	-	+	54.24	12.480 2	0.271 2*
UBC 825-700	-	+	57.63	8.593 2	1.084 7*
UBC 868-950	-	+	52.54	14.694 9	0.067 8*
UBC 818-670	+	-	47.45	22.423 7	0.067 8*
UBC 818-450	+	-	52.54	14.694 9	0.067 8*
UBC 815-1200	+	-	47.45	22.423 7	0.067 8*
UBC 807-1150	+	-	49.15	19.666 7	0.016 9*
UBC 807-580	+	-	52.54	14.694 9	0.067 8*
UBC 829-300	+	-	52.54	14.694 9	0.067 8*
UBC 840-825	+	-	54.24	12.480 2	0.271 2*
UBC 857-900	+	-	50.85	17.090 4	0.016 9*
UBC 835-940	+	-	44.07	28.482	0.610 2*
UBC 825-800	+	-	47.45	22.423 7	0.067 8*
UBC 835-880	+	-	57.63	8.593 2	1.084 7*
UBC 868-900	+	-	54.24	12.480 2	0.271 2*
UBC 829-1100	+	-	57.63	8.593 2	1.084 7*
UBC 829-800	+	-	57.63	8.593 2	1.084 7*
UBC 829-700	+	-	52.54	14.694 9	0.067 8*
UBC 827-330	+	-	47.45	22.423 7	0.067 8*
UBC 836-1100	+	-	57.63	8.593 2	1.084 7*
UBC 864-700	+	-	49.15	19.666 7	0.016 9*
UBC 864-660	+	-	45.76	25.361 6	0.271 2*
UBC 864-380	+	-	45.76	25.361 6	0.271 2*
UBC 814-950	+	-	49.15	19.666 7	0.016 9*
UBC 814-630	+	-	55.93	10.446 3	0.610 2*
UBC 818-550	-	+	77.97	0.141 2*	17.355 9
UBC 827-730	-	+	27.12	0.050 8*	11.457 6

注: * 表示测试得到的卡平方值小于 $\chi^2_{0.05,1} = 3.841$ 。下同。Note: * means the table means the value $\chi^2_{0.05,1} = 3.841$. The same below.

表 4 偏孟德尔分离和两个特殊分离位点的卡平方分析

Table 4 χ^2 analysis of deviated from Mendelian segregation model and special bands

扩增位点 Amplified locus (bp)	母本 Female plant	父本 Male plant	后代出现 频率 Frequency in F1	分离符合度(χ^2) Degree of separation		类 型 Type
				3 : 1	1 : 1	
				UBC 818-330	-	
UBC 825-1580	-	+	62.71	4.118 6	3.322 0*	
UBC 818-900	-	+	69.49	0.683 6	8.203 3	
UBC 825-1650	-	+	66.10	2.039 5	5.491 5	
UBC 857-600	+	-	32.20	55.372 9	6.779 7	
UBC 840-780	+	-	66.10	2.039 5	5.491 5	
UBC 836-630	-	-	57.26	8.593 2	1.084 7*	杂合 分离型 Hybrid separation type
UBC 835-1300	+	+	50.85	17.070 4	0.016 9*	

表 5 ISSR 标记在送春×多花兰 F1 代的分离方式

Table 5 Segregation patterns of ISSR marker in the F1 progeny from the cross of *C. cyperifolium* var. *szechuanicum* × *C. floribundum*

分离方式 Segregation pattern	双亲共 有标记 Marker shared by both parents	送春特 有标记 Marker only in <i>C. cyperifolium</i> var. <i>szechuanicum</i>	多花兰 特有标记 Marker only in <i>C. flori- bundum</i>	出现频率 Frequency (%)
不分离 No separation	21	18	11	46.73
特殊不分离带 8 条 Special separation type 8	-	-	-	7.48
孟德尔分离 (1 : 1) Mendelian segregation (1 : 1)	1	22	16	36.45
孟德尔分离 (3 : 1) Mendelian segregation (3 : 1)	0	0	2	1.87
偏孟德尔分离 Deviation Mendelian	0	2	4	5.61
特殊分离带 2 条 Special separate type 2	-	-	-	1.87

属硬叶组, 附生兰, 假鳞茎较大, 叶 5~6 枚, 带形, 坚纸质直挺, 花无香味, 10~40 朵。父本和母本在植物

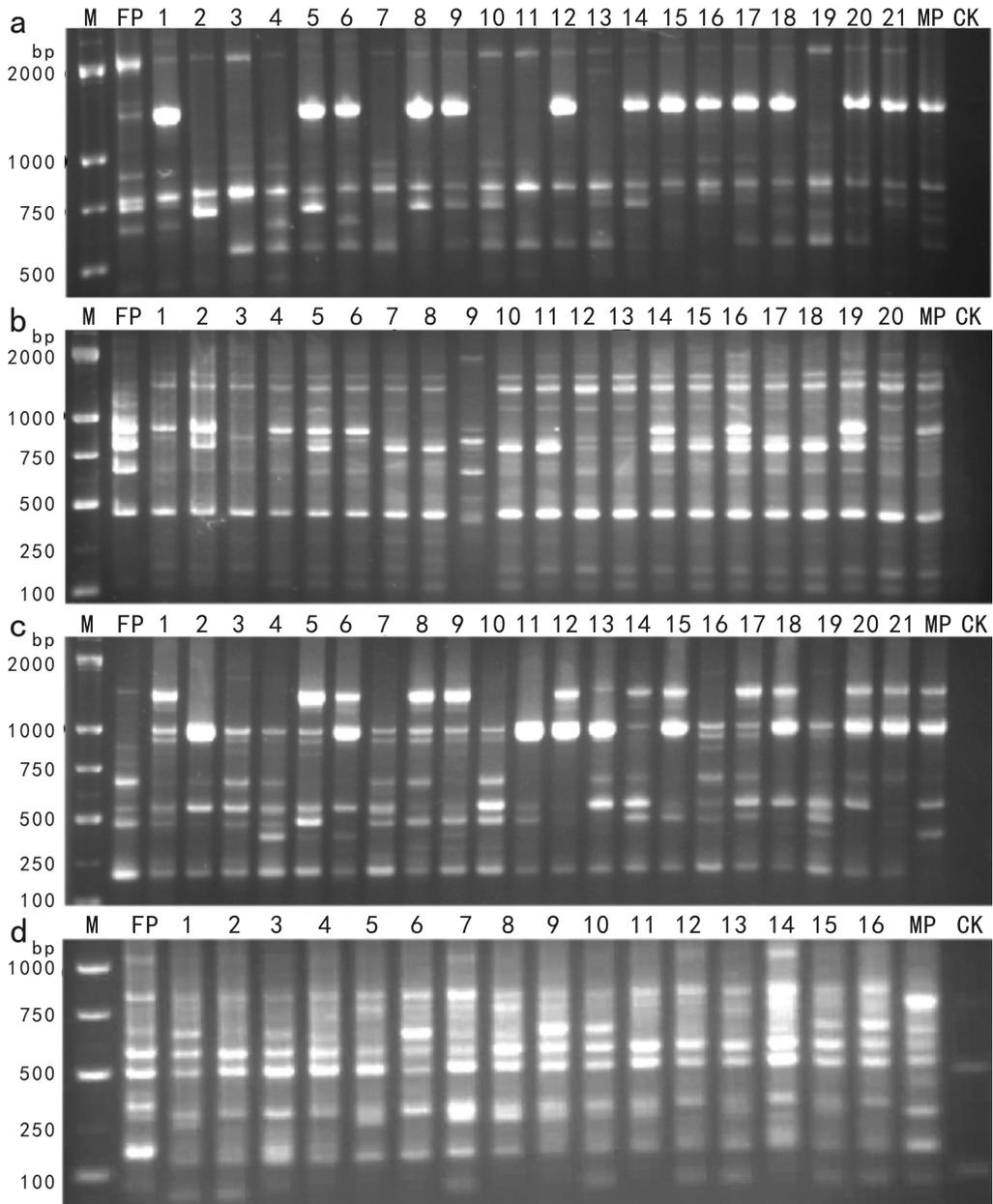


图 1 电泳照片 a. 引物 UBC857 扩增结果; b. 引物 UBC835 扩增结果; c. 引物 UBC818 扩增结果; d. 引物 UBC836 扩增结果; M. 分子量标记; FP. 母本; MP. 父本; CK. 对照; 1-21. F1 代小苗。

Fig. 1 Photos of electrophoresis a. Primer UBC857; b. Primer UBC835; c. Primer UBC818; d. Primer UBC836; M. Marker; FP. Female plant; MP. Male plant; CK. Negative control without template DNA; 1-21. F1 progeny plantlets.

学形态上差异很显著,其 F1 代种子萌发后不像地生兰一样形成根状茎也不像附生兰那样形成原球茎,而是形成类似根状茎的原球茎,并且分化后,在根茎以下部分仍然存有根状茎结构。F1 试管苗栽培后大部分性状是趋母本的,在叶片宽度、叶片硬度、叶脉是否透明、有无叶关节、叶缘的情况等方面的表现介于两亲本之间,另外还有极少数叶尖有裂缺或叶

缘白化形成叶艺的,可能是突变产生或是亲本祖先类型。

偏孟德尔分离产生的原因可能是由于群体大小所致,但本实验所取样群体中的有个 40 位点卡平方分析结果表明符合孟德尔分离,可以排除群体因素造成的偏孟德尔分离;如果是由于染色体发生结构重排、缺失、插入和突变或双亲配子传递率的差异等

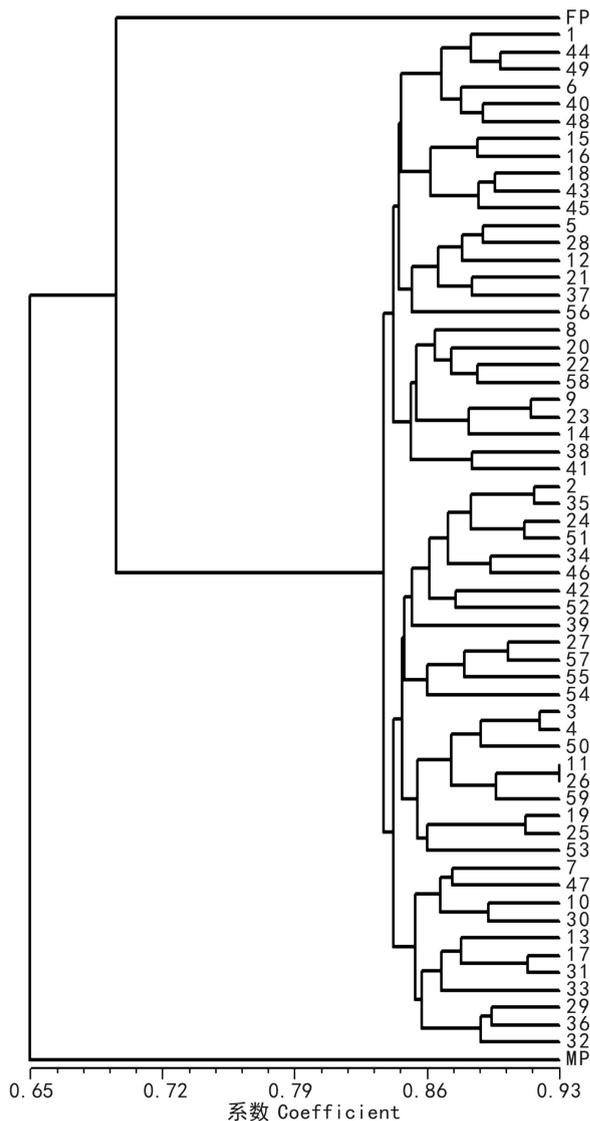


图 2 亲本及杂种的 ISSR 聚类分析树状图

FP. 母本; MP. 父本; 1-59. F1 小苗。

Fig. 2 Dendrogram for parent and hybrid progenies by cluster analysis(UPGMA) bases on ISSR markers

FP. Female plant; MP. Male plant; 1-59. F1 progeny.

原因造成偏孟德尔分离,则有可能产生突变,得到可选育新品种的新资源;如果是不同样本之间标记的清晰度差异引起的误差导致偏孟德尔分离产生,该位点则无效。缺失带型则有可能是染色体在杂交后分裂时发生了染色体缺失,造成缺失带型的原因可

能是由于双亲在染色体共线性上的差异导致形成“发卡”式结构而丢失,或是反转录转座子的激活等原因,具体原因有待进一步深入研究;新生带型发生的可能性是很小的,仅有 2 条,其产生的原因可能是染色体中插入新的片段或是染色体突变,可采用 SRAP 或 SCoT 标记进一步探究。

参考文献:

- BAO YH, BAI Y, TIAN XB, et al, 2008. Studies on germplasm resources of *Dendrobium chrysanthum* using ISSR marker [J]. *Guihaia*, 28 (4): 447-450. [包音华, 白音, 田新波, 等, 2008. 束花石斛种质资源的 ISSR 分析 [J]. *广西植物*, 28 (4): 447-450.]
- CHEN RD, ZHANG QX, 2004. Rapid identification of parentage in cross breeding of *Prunus mune* Sieb. Et Zucc [J]. *J Beijing For Univ*, 26(增刊): 64-70. [陈瑞丹, 张启翔, 2004. 梅花杂交育种中杂种 F₁ 代的早期鉴定 [J]. *北京林业大学学报*, 26(增刊): 64-70.]
- DAI SL, 2005. Genetics of gardening plants [M]. Beijing: China Forest Publish House: 81-87. [戴思兰, 2005. 园林植物遗传学 [M]. 中国林业出版社: 81-87.]
- GAO L, YANG B, 2006. Genetic diversity of wild *Cymbidium goeringii* (Orchidaceae) populations from Hubei based on ISSR analysis [J]. *Biodivers Sci*, 14 (3): 250-257. [高丽, 杨波, 2006. 湖北野生春兰资源遗传多样性的 ISSR 分析 [J]. *生物多样性*, 14(3): 250-257.]
- KAO AD, WANG SG, WANG YQ, et al, 2014. Analysis of genetic diversity among 65 wild *Camellia oleifera* based on ISSR and RAPD [J]. *Guihaia*, 34(3): 419-425. [考安都, 王述贵, 王艳芹, 等, 2014. 65 份野生油茶种质遗传多样性的 ISSR 和 RAPD 标记分析 [J]. *广西植物*, 34(3): 419-425.]
- WANG JB, 2002. ISSR markers and their applications in plant genetics [J]. *Hereditas*, 24(5): 613-616. [王健波, 2002. ISSR 分子标记及其在植物遗传学研究中的应用 [J]. *遗传*, 24 (5): 613-616.]
- WANG Q, YAO QJ, XU ZL, et al, 2013. Genetic diversity of four populations of *Calycanthus chinensis* based on ISSR and RAPD markers [J]. *Guihaia*, 33(1): 30-34. [汪琼, 姚青菊, 徐增莱, 等, 2013. 基于 ISSR 和 RAPD 标记的四个夏蜡梅种群的遗传多样性研究 [J]. *广西植物*, 33(1): 30-34.]
- YAN SH, ZHENG WH, DING BY, 2012. Optimization of ISSR reaction and analysis of phylogenetic relationship for *Rhododendron huadingense* [J]. *Guihaia*, 32(5): 593-598. [颜士辉, 郑蔚虹, 丁炳杨, 2012. 华顶杜鹃 ISSR 反应体系的优化及亲缘关系的初步分析 [J]. *广西植物*, 32(5): 593-598.]
- ZHANG AS, ZHAO LX, LIU Y, 2014. Genetic diversity of the rare and endangered plant *Opisthopapus taihangensis* detected by ISSR analysis [J]. *Guihaia*, 34(4): 535-540. [张安世, 赵利新, 刘莹, 2014. 珍稀濒危植物太行菊遗传多样性的 ISSR 分析 [J]. *广西植物*, 34(4): 535-540.]