

基于 ISSR 标记的西藏 22 份葱属材料的遗传多样性分析

王怀凤^{1,2}, 唐 懿³, 许琳玉³, 王陆州¹, 永 毛^{1,①}

(1. 西藏自治区农牧科学院蔬菜研究所, 西藏 拉萨 850000; 2. 广西生态工程职业技术学院, 广西 柳州 545004;
3. 四川农业大学园艺学院, 四川 成都 611130)

摘要: 采用 ISSR 标记对收集自西藏多地的 22 份野生和地方葱属 (*Allium* Linn.) 材料进行遗传多样性分析, 并探讨了材料间的遗传关系。结果显示: 基于筛选出的 20 个引物, 22 份葱属材料共扩增出 211 个条带 (位点), 其中多态性位点 208 个, 多态性比率达到 98.6%, 平均每个引物扩增出 10.6 个位点; 每个位点的观测等位基因数均值为 2.0, 其中有效等位基因数均值为 1.6, Nei's 基因多样性指数均值为 0.37, Shannon's 信息指数均值为 0.54, 表明供试 22 份葱属材料具有较高的遗传多样性水平。供试 22 份葱属材料的遗传相似系数在 0.43~0.87 之间, 遗传距离在 0.14~0.84 之间, 其中, 15 号香葱 (*A. schoenoprasum* Linn.) 与 18 号香葱、12 号青甘韭 (*A. przewalskianum* Regel) 与 13 号青甘韭以及 13 号青甘韭与 14 号青甘韭间的亲缘关系较近。聚类分析结果显示: 在遗传相似系数 0.35 处, 供试 22 份葱属材料可聚为 6 组, 青甘韭和韭葱 (*A. porrum* Linn.) 与韭菜 (*A. tuberosum* Rottler ex Spreng.) 和香葱间的亲缘关系较近, 遗传相似系数在 0.83~0.86 之间, 遗传距离在 0.15~0.19 之间; 粗根韭 (*A. fasciculatum* Rendle) 与韭菜、10 号香葱和大花韭 (*A. macranthum* Baker) 间的亲缘关系较远, 遗传相似系数在 0.64~0.68 之间, 遗传距离在 0.39~0.44 之间。综合研究结果表明: 供试 22 份葱属材料间的变异程度较大, 具有较丰富的遗传多样性, 部分材料体现出一定的来源地域一致性特征, 其遗传关系基本符合传统分类结果。

关键词: 葱属; ISSR 标记; 遗传多样性; 聚类分析

中图分类号: Q946-33; S633 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2024)05-0083-07
DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2024.05.08

Analysis on genetic diversity of 22 *Allium* materials from Xizang based on ISSR marker WANG Huaifeng^{1,2}, TANG Yi³, XU Linyu³, WANG Luzhou¹, YONG Mao^{1,①} (1. Institute of Olericulture, Xizang Academy of Agriculture and Animal Husbandry Sciences, Lhasa 850000, China; 2. Guangxi Eco-Engineering Vocational & Technical College, Liuzhou 545004, China; 3. College of Horticulture, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2024, 33(5): 83-89

Abstract: Analyses on genetic diversity of 22 wild and local *Allium* Linn. materials collected from various regions in Xizang were conducted by using ISSR marker, and the genetic relationship between the materials was also discussed. The results show that based on the 20 selected primers, a total of 211 bands (loci) are amplified from the 22 *Allium* materials, among which there are 208 polymorphic loci, the polymorphism ratio reaches 98.6%, and each primer amplifies 10.6 loci on average; the average of observed number of alleles per locus is 2.0, among which the average of effective number of alleles is 1.6, the average of Nei's gene diversity index is 0.37, and the average of Shannon's information index is 0.54, indicating that 22 test *Allium* materials have a relatively high level of genetic diversity. The genetic similarity coefficients between 22 test *Allium* materials are within the range of 0.43-0.87, and the genetic

收稿日期: 2023-10-07

基金项目: 西藏自治区重点研发计划项目 (XZ202101ZY0001N); 第二次青藏高原综合科学考察研究项目 (2019QZKK0502)

作者简介: 王怀凤 (1981—), 女, 四川南充人, 硕士, 副研究员, 主要从事蔬菜种质资源评价与利用方面的研究。

①通信作者 E-mail: yongmao.hi@163.com

引用格式: 王怀凤, 唐 懿, 许琳玉, 等. 基于 ISSR 标记的西藏 22 份葱属材料的遗传多样性分析 [J]. 植物资源与环境学报, 2024, 33(5): 83-89.

distances are within the range of 0.14–0.84, among which, the relationships between No. 15 and No. 18 of *A. schoenoprasum* Linn., No. 12 and No. 13 of *A. przewalskianum* Regel, as well as No. 13 and No. 14 of *A. przewalskianum* are relatively close. The cluster analysis result shows that at the genetic similarity coefficient of 0.35, 22 test *Allium* materials can be clustered into six groups, the relationships of *A. przewalskianum* and *A. porrum* Linn. with *A. tuberosum* Rottler ex Spreng. and *A. schoenoprasum* are relatively close, the genetic similarity coefficients are within the range of 0.83–0.86, and the genetic distance are within the range of 0.15–0.19, the relationship of *A. fasciculatum* Rendle with *A. tuberosum*, No. 10 of *A. schoenoprasum* and *A. macranthum* Baker are relatively distant, the genetic similarity coefficients are within the range of 0.64–0.68, and the genetic distance are within the range of 0.39–0.44. The comprehensive research results indicate that the variation degree among 22 test *Allium* materials is relatively large, the genetic diversity is relatively abundant, some of the materials exhibit certain characteristics of regional consistency in their sources, and their genetic relationships are generally in accordance with traditional classification results.

Key words: *Allium* Linn.; ISSR marker; genetic diversity; cluster analysis

葱属 (*Allium* Linn.) 隶属于广义百合科 (Liliaceae), 是被子植物中较大的属^[1-2]。葱属植物具有预防心血管疾病、抗氧化、抗癌护肝、抗菌消炎、提高机体免疫能力、预防糖尿病和肠胃疾病等作用^[3-6]。葱属植物全球各地均有分布, 主要分布在北半球, 约 800 种^[7], 且不断有新种报道^[8-11]。中国葱属植物约有 138 种, 集中分布在西北、西南、华北和东北地区^[12]。西藏气候类型复杂, 地貌类型多样, 葱属植物广泛分布。葱属植物在西藏深受当地居民喜爱, 既当作食用蔬菜, 也经简单加工对外销售^[13-14]。

遗传多样性分析可为研究物种起源、品种分类、亲本选配和品种保护等提供依据, 是研究、保护和利用现有种质资源的重要基础^[15]。传统的形态学观察是检测遗传变异最直接的方法^[16-17], 但存在一定的局限性, 目前遗传多样性的研究已深入到分子标记水平^[18]。已有研究者采用同工酶^[19]、AFLP 分子标记技术^[20]、DNA 原位杂交技术^[21]、形态学特征和 RAPD 标记^[22]对葱属植物进行了遗传多样性研究。ISSR 标记具有模板 DNA 用量少、多态性丰富、无需试剂盒、实验成本低、重复性好、专一性强等优点^[23], 可作为研究葱属植物种质资源的有效分子标记方法^[24]。

作者所在课题组依托西藏特色香辛类蔬菜种质资源的评价与利用项目, 从西藏多地实地考察并收集了 22 份葱属材料, 使用 ISSR 标记对收集的葱属材料进行遗传多样性和遗传关系分析, 旨在为葱属植物种质资源的管理、利用及亲缘关系分析提供科学依据, 并为葱属蔬菜的开发、利用和新品种选育提供理论基础。

1 材料和方法

1.1 材料

供试 22 份葱属材料包括地方种质资源和野生种质资源, 分别为 12 份青甘韭 (*Allium przewalskianum* Regel)、5 份香葱 (*A. schoenoprasum* Linn.)、2 份韭菜 (*A. tuberosum* Rottler ex Spreng.)、1 份韭葱 (*A. porrum* Linn.)、1 份大花韭 (*A. macranthum* Baker) 和 1 份粗根韭 (*A. fasciculatum* Rendle); 材料来源地海拔 1 707~4 809 m, 跨度较大。22 份葱属材料由王怀凤副研究员鉴定, 所有材料均保存于国家青藏高原作物种质资源圃的蔬菜圃, 基本信息见表 1。

2021 年 4 月 5 日, 从蔬菜圃取 22 份葱属材料的带土植株活体, 定植到四川农业大学试验现代农业研发基地 (东经 103°39'、北纬 30°03')。该基地地处亚热带湿润气候区, 四季分明、雨水充足、热量丰富, 土壤为黄壤土。22 份葱属材料引种成功后, 于次年 4 月份采样。每份材料随机选取 3 株, 每株采集 2 枚顶端长势相对一致的健康幼叶, 置于 -20 °C 冰箱中保存、备用。

1.2 方法

1.2.1 总 DNA 提取 采用改良 CTAB 法^[24]提取叶片总 DNA, 采用微量核酸蛋白浓度测定仪 (美国 Thermo 公司) 检测总 DNA 的浓度及纯度, 于 -20 °C 冰箱中保存、备用。

1.2.2 ISSR 引物筛选 ISSR 引物由生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成, 其序列来源为 100 个加拿大不列颠哥伦比亚大学 (UBC) 公布的通用引物。

表 1 西藏 22 份葱属材料的基本信息
Table 1 Basic information of 22 *Allium* Linn. materials from Xizang

编号 No.	种类 Species	类型 Type	海拔/m Altitude	来源地 Origin	采集号 Collection number
1	青甘韭 <i>A. przewalskianum</i>	野生 Wild	3 680	昌都市江达县 Jomda County in Qamdo City	2018009
2	青甘韭 <i>A. przewalskianum</i>	野生 Wild	3 548	日喀则市江孜县 Gyangze County in Xigaze City	2019542039
3	青甘韭 <i>A. przewalskianum</i>	野生 Wild	3 752	昌都市左贡县 Zogang County in Qamdo City	2018013
4	青甘韭 <i>A. przewalskianum</i>	野生 Wild	3 840	山南市洛扎县 Lhozhang County in Shannan City	2018002
5	青甘韭 <i>A. przewalskianum</i>	野生 Wild	3 422	昌都市江达县 Jomda County in Qamdo City	2018007
6	青甘韭 <i>A. przewalskianum</i>	野生 Wild	4 108	日喀则市江孜县 Gyangze County in Xigaze City	2018005
7	青甘韭 <i>A. przewalskianum</i>	野生 Wild	4 720	阿里地区改则县 Gerze County in Ngari Prefecture	2019-Z2
8	青甘韭 <i>A. przewalskianum</i>	野生 Wild	4 680	阿里地区改则县 Gerze County in Ngari Prefecture	2019-Z1
9	香葱 <i>A. schoenoprasum</i>	地方 Local	1 707	林芝市察隅县 Zayu County in Nyingchi City	P540425038
10	香葱 <i>A. schoenoprasum</i>	地方 Local	4 809	阿里地区改则县 Gerze County in Ngari Prefecture	SC2019063
11	香葱 <i>A. schoenoprasum</i>	地方 Local	2 696	林芝市波密县 Bomi County in Nyingchi City	P540424035
12	青甘韭 <i>A. przewalskianum</i>	野生 Wild	4 656	阿里地区改则县 Gerze County in Ngari Prefecture	BI05
13	青甘韭 <i>A. przewalskianum</i>	野生 Wild	4 657	阿里地区改则县 Gerze County in Ngari Prefecture	BI06
14	青甘韭 <i>A. przewalskianum</i>	野生 Wild	3 695	阿里地区普兰县 Burang County in Ngari Prefecture	BI023
15	香葱 <i>A. schoenoprasum</i>	地方 Local	3 073	林芝市巴宜区 Bayi District in Nyingchi City	BI085
16	韭葱 <i>A. porrum</i>	野生 Wild	4 520	那曲市色尼区 Seni District in Nagqu City	SC2021066
17	大花韭 <i>A. macranthum</i>	野生 Wild	3 378	山南市隆子县 Lhunze County in Shannan City	SC2021039
18	香葱 <i>A. schoenoprasum</i>	地方 Local	3 884	山南市乃东区 Nedong District in Shannan City	SC2021055
19	粗根韭 <i>A. fasciculatum</i>	野生 Wild	3 076	山南市隆子县 Lhunze County in Shannan City	SC2021047
20	韭菜 <i>A. tuberosum</i>	地方 Local	3 295	山南市隆子县 Lhunze County in Shannan City	SC2021050
21	韭菜 <i>A. tuberosum</i>	地方 Local	2 804	山南市错那县 Cona County in Shannan City	SC2021016
22	青甘韭 <i>A. przewalskianum</i>	野生 Wild	3 076	山南市隆子县 Lhunze County in Shannan City	SC2021046

利用 5 份形态特征差异较大的葱属材料 2 号青甘韭、7 号青甘韭、10 号香葱、14 号青甘韭和 20 号韭菜对 100 个引物进行初筛、复筛,挑选出多态性好、条带清晰、重复性高的引物作为核心引物,用于 PCR 扩增反应。

1.2.3 PCR 扩增反应程序及电泳检测 PCR 扩增反应体系总体积为 25.0 μL ,包括 60 $\text{ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ 模板 DNA 1.0 μL 、10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 引物 1.2 μL 、 $2 \times \text{Taq}$ PCR MasterMix 12.5 μL 、 ddH_2O 10.3 μL 。PCR 扩增反应程序:94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 4.0 min;94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 1.0 min、55 $^{\circ}\text{C}$ 退火 1.0 min、72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1.5 min,共 35 个循环;72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 5.0 min。扩增产物于 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存、备用。

使用质量体积分数 1.5%琼脂糖凝胶电泳检测扩增产物。点样量为 3 μL ,用 D1500 II DNA marker 作为标准分子量,在电压 120 V 下电泳 30 min。在紫外凝胶成像系统(美国 ProteinSimple 公司)上拍照。

1.3 数据处理和分析

根据扩增电泳图谱结果,同一引物在相同迁移位置上,有条带记为“1”,无条带记为“0”。对每个样品的扩增电泳条谱带进行统计,构建“0”、“1”矩阵数据库。使用 POPGENE 1.32 软件计算遗传多样性参数,

包括观测等位基因数、有效等位基因数、Nei's 基因多样性指数、Shannon's 信息指数、遗传相似系数和遗传距离。使用 NTSYSpc 2.10 软件,根据非加权配对算术平均法(UPGMA)对 22 份葱属材料进行聚类分析以及亲缘关系分析。

2 结果和分析

2.1 ISSR 扩增多态性分析

选取的 5 份葱属材料共筛选出 20 个 ISSR 引物(表 2)。将 20 个 ISSR 引物用于 22 份葱属材料的 PCR 扩增,扩增出的条带稳定且清晰,以引物 UBC828 为例(图 1)。

结果(表 2)显示:基于 20 个 ISSR 引物共检测到 211 个条带(位点),各引物扩增出的位点数在 6~14 之间,平均每个引物扩增出 10.6 个位点;其中,多态性位点 208 个,多态性比率为 98.6%。20 个引物对应的观测等位基因数、有效等位基因数、Nei's 基因多样性指数和 Shannon's 信息指数的均值分别为 21.0、17.4、3.89 和 5.75。

进一步的统计结果显示:每个位点的观测等位基

表2 基于西藏5份葱属材料筛选的20个ISSR引物序列及扩增结果¹⁾
Table 2 Sequence and amplification results of 20 ISSR primers selected based on 5 *Allium* Linn. materials from Xizang¹⁾

引物名称 Primer name	引物序列(5'→3') Primer sequence (5'→3')	T/°C	n_1	n_2	N_a	N_e	H	I
UBC811	GAGAGAGAGAGAGAGAC	55.0	11	11	22	18.2	4.15	6.14
UBC817	CACACACACACACAAA	60.0	10	10	20	16.3	3.62	5.37
UBC818	CACACACACACACAG	52.3	11	11	22	17.7	3.97	5.95
UBC820	GTGTGTGTGTGTGTGTC	58.1	9	9	18	15.2	3.50	5.14
UBC821	GTGTGTGTGTGTGTGTT	58.1	9	9	18	14.8	3.36	4.97
UBC826	ACACACACACACACC	59.0	9	9	18	15.0	3.46	5.11
UBC827	ACACACACACACACG	55.0	8	8	16	15.0	3.71	5.27
UBC828	TGTGTGTGTGTGTGTA	58.1	10	9	19	16.5	3.67	5.36
UBC835	AGAGAGAGAGAGAGAYC	54.0	13	13	26	19.4	4.04	6.22
UBC840	GAGAGAGAGAGAGAYT	55.2	11	11	22	18.2	4.07	6.00
UBC842	GAGAGAGAGAGAGAYG	55.2	10	10	20	15.4	3.17	4.78
UBC846	CACACACACACACART	56.3	11	11	22	18.8	4.35	6.38
UBC847	CACACACACACACARC	55.0	11	11	22	18.6	4.31	6.32
UBC848	CACACACACACACARG	54.9	11	11	22	18.3	4.26	6.29
UBC856	ACACACACACACACYA	54.9	6	6	12	8.8	1.72	2.66
UBC857	ACACACACACACACYG	54.9	11	11	22	18.8	4.48	6.57
UBC861	ACCACCACCACCACC	58.0	14	13	27	21.4	4.31	6.48
UBC864	ATGATGATGATGATG	54.9	12	11	23	20.2	4.41	6.38
UBC873	GACAGACAGACAGACA	55.0	13	13	26	22.1	5.08	7.47
UBC885	BHBGAGAGAGAGAGA	55.0	11	11	22	18.8	4.13	6.04
总计 Total			211	208	419	347.5	77.77	114.90
均值 Average			10.6	10.4	21.0	17.4	3.89	5.75

¹⁾ T: 退火温度 Annealing temperature; n_1 : 位点数 Loci number; n_2 : 多态性位点数 Polymorphic loci number; N_a : 观测等位基因数 Observed number of alleles; N_e : 有效等位基因数 Effective number of alleles; H : Nei's 基因多样性指数 Nei's gene diversity index; I : Shannon's 信息指数 Shannon's information index.

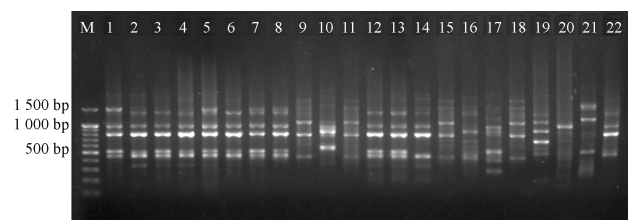


图1 引物 UBC828 对西藏 22 份葱属材料的扩增图谱
Fig. 1 Amplification map of primer UBC828 on 22 *Allium* Linn. materials from Xizang

M: 1 500 bp DNA marker; 1-8, 12-14, 22: 青甘韭 *Allium przewalskianum* Regel; 9-11, 15, 18: 香葱 *A. schoenoprasum* Linn.; 16: 韭葱 *A. porrum* Linn.; 17: 大花韭 *A. macranthum* Baker; 19: 粗根韭 *A. fasciculatum* Rendle; 20, 21: 韭菜 *A. tuberosum* Rottler ex Spreng.

因数均值为 2.0, 其中有效等位基因数在 1.0~2.0 之间, 均值为 1.6; Nei's 基因多样性指数在 0.00~0.50 之间, 均值为 0.37; Shannon's 信息指数在 0.00~0.69 之间, 均值为 0.54。

2.2 遗传相似系数和遗传距离

结果(表3)显示: 西藏 22 份葱属材料间的变异

程度较大, 遗传相似系数在 0.43~0.87 之间, 遗传距离在 0.14~0.84 之间。其中, 15 号香葱与 18 号香葱、12 号青甘韭与 13 号青甘韭以及 13 号青甘韭与 14 号青甘韭间的遗传相似系数较大, 分别为 0.87、0.86 和 0.85, 对应的遗传距离较小, 分别为 0.14、0.15 和 0.16, 表明这 3 组材料两两间的亲缘关系较近。

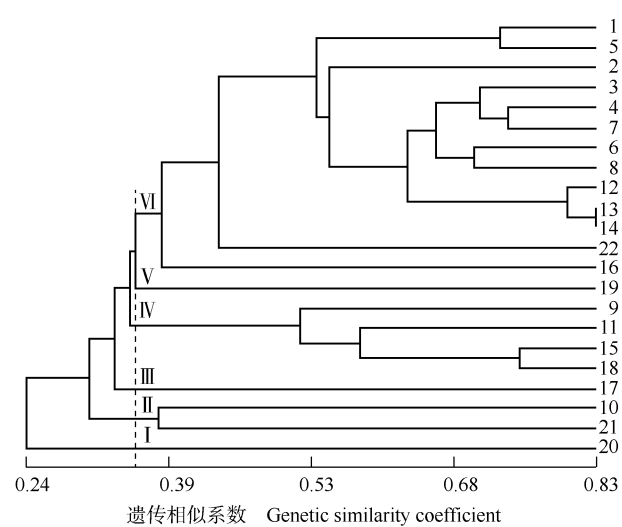
2.3 UPGMA 聚类及亲缘关系分析

聚类结果(图2)显示: 在遗传相似系数 0.35 处, 22 份葱属材料可聚为 6 组。20 号韭菜、17 号大花韭和 19 号粗根韭单独聚为一组, 分别记为 I 组、III 组、V 组; II 组包括 10 号香葱和 21 号韭菜; IV 组包括 9 号香葱、11 号香葱、15 号香葱和 18 号香葱; VI 组包含 12 份青甘韭材料和 16 号韭葱。在遗传相似系数 0.44 处, VI 组又可分为 3 个亚组, 其中 22 号青甘韭和 16 号韭葱分别单独聚为一个亚组, 其余 11 份青甘韭材料聚为一个亚组。在遗传相似系数 0.34 处, 12 份青甘韭材料与 9 号香葱、11 号香葱、15 号香葱和 18 号香葱以及 16 号韭葱和 19 号粗根韭聚在一起, 表明

表 3 西藏 22 份葱属材料间的遗传相似系数和遗传距离¹⁾
Table 3 Genetic similarity coefficient and genetic distance between 22 *Allium* Linn. materials from Xizang¹⁾

编号 No.	遗传相似系数和遗传距离 Genetic similarity coefficient and genetic distance																					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
1	—	0.35	0.39	0.31	0.19	0.44	0.35	0.48	0.56	0.62	0.54	0.51	0.54	0.52	0.55	0.45	0.45	0.46	0.52	0.44	0.72	0.45
2	0.71	—	0.35	0.44	0.39	0.47	0.46	0.40	0.52	0.73	0.54	0.43	0.48	0.46	0.53	0.45	0.47	0.49	0.62	0.47	0.64	0.45
3	0.68	0.71	—	0.26	0.35	0.33	0.32	0.36	0.61	0.63	0.72	0.30	0.28	0.30	0.58	0.48	0.50	0.59	0.54	0.48	0.74	0.52
4	0.73	0.64	0.77	—	0.29	0.33	0.28	0.38	0.60	0.70	0.71	0.44	0.44	0.42	0.59	0.48	0.56	0.63	0.60	0.57	0.75	0.59
5	0.83	0.68	0.71	0.75	—	0.41	0.35	0.42	0.48	0.63	0.54	0.46	0.43	0.46	0.47	0.38	0.41	0.42	0.57	0.35	0.61	0.45
6	0.64	0.63	0.72	0.72	0.66	—	0.31	0.29	0.58	0.64	0.55	0.29	0.34	0.35	0.49	0.52	0.51	0.52	0.62	0.49	0.71	0.51
7	0.71	0.63	0.73	0.76	0.71	0.73	—	0.35	0.62	0.62	0.62	0.42	0.43	0.40	0.56	0.54	0.50	0.56	0.62	0.56	0.84	0.55
8	0.62	0.67	0.70	0.68	0.66	0.75	0.71	—	0.61	0.67	0.66	0.39	0.43	0.43	0.67	0.52	0.53	0.61	0.59	0.55	0.74	0.52
9	0.57	0.59	0.55	0.55	0.62	0.56	0.54	0.55	—	0.58	0.30	0.57	0.57	0.57	0.35	0.48	0.45	0.30	0.49	0.44	0.56	0.52
10	0.54	0.48	0.53	0.50	0.53	0.53	0.54	0.51	0.56	—	0.62	0.65	0.69	0.73	0.64	0.52	0.56	0.56	0.53	0.49	0.53	0.57
11	0.58	0.58	0.49	0.49	0.58	0.58	0.54	0.52	0.74	0.54	—	0.57	0.62	0.68	0.26	0.49	0.56	0.23	0.43	0.44	0.54	0.48
12	0.60	0.65	0.74	0.64	0.63	0.75	0.66	0.68	0.56	0.52	0.56	—	0.15	0.21	0.58	0.56	0.56	0.49	0.59	0.47	0.66	0.42
13	0.58	0.62	0.75	0.64	0.65	0.71	0.65	0.65	0.56	0.50	0.54	0.86	—	0.16	0.62	0.61	0.56	0.54	0.64	0.50	0.66	0.44
14	0.59	0.63	0.74	0.65	0.63	0.70	0.67	0.65	0.56	0.48	0.51	0.81	0.85	—	0.62	0.62	0.56	0.61	0.68	0.56	0.70	0.50
15	0.58	0.59	0.56	0.55	0.63	0.61	0.57	0.51	0.70	0.53	0.77	0.56	0.54	0.54	—	0.45	0.56	0.14	0.52	0.40	0.52	0.42
16	0.64	0.64	0.62	0.62	0.69	0.60	0.58	0.59	0.62	0.60	0.61	0.57	0.55	0.54	0.64	—	0.56	0.42	0.43	0.33	0.52	0.47
17	0.64	0.63	0.61	0.57	0.66	0.60	0.61	0.59	0.64	0.57	0.67	0.61	0.60	0.56	0.69	0.69	—	0.33	0.44	0.30	0.47	0.43
18	0.63	0.61	0.55	0.53	0.66	0.60	0.57	0.55	0.74	0.57	0.79	0.61	0.58	0.55	0.87	0.66	0.56	—	0.48	0.35	0.49	0.38
19	0.59	0.54	0.58	0.55	0.56	0.54	0.54	0.55	0.61	0.59	0.65	0.55	0.53	0.51	0.60	0.65	0.56	0.62	—	0.40	0.64	0.56
20	0.64	0.63	0.62	0.56	0.70	0.61	0.57	0.58	0.64	0.61	0.64	0.63	0.61	0.57	0.67	0.72	0.56	0.70	0.67	—	0.45	0.46
21	0.49	0.53	0.48	0.47	0.55	0.49	0.43	0.48	0.57	0.59	0.58	0.52	0.52	0.50	0.60	0.59	0.56	0.61	0.53	0.64	—	0.56
22	0.64	0.64	0.60	0.55	0.64	0.60	0.58	0.60	0.60	0.56	0.62	0.65	0.64	0.61	0.66	0.63	0.56	0.68	0.57	0.63	0.57	—

¹⁾ 1-8,12-14,22: 青甘韭 *Allium przewalskianum* Regel; 9-11,15,18: 香葱 *A. schoenoprasum* Linn.; 16: 韭葱 *A. porrum* Linn.; 17: 大花韭 *A. macranthum* Baker; 19: 粗根韭 *A. fasciculatum* Rendle; 20,21: 韭菜 *A. tuberosum* Rottler ex Spreng. “—”下方为遗传相似系数,“—”上方为遗传距离 Genetic similarity coefficient is below “—”, and genetic distance is above “—”.



1-8,12-14,22: 青甘韭 *Allium przewalskianum* Regel; 9-11,15,18: 香葱 *A. schoenoprasum* Linn.; 16: 韭葱 *A. porrum* Linn.; 17: 大花韭 *A. macranthum* Baker; 19: 粗根韭 *A. fasciculatum* Rendle; 20,21: 韭菜 *A. tuberosum* Rottler ex Spreng.

图 2 西藏 22 份葱属材料的 UPGMA 聚类分析
Fig. 2 UPGMA cluster analysis on 22 *Allium* Linn. materials from Xizang

青甘韭与香葱(10 号材料除外)以及 16 号韭葱和 19 号粗根韭的亲缘关系较近。

从组间的遗传相似系数和遗传距离(表 4)看,VI 组与 I 组、II 组和 IV 组材料间的遗传相似系数较高,分别为 0.83、0.84 和 0.86,对应的遗传距离较小,

表 4 西藏 6 组葱属材料间的遗传相似系数和遗传距离¹⁾
Table 4 Genetic similarity coefficient and genetic distance between six groups of *Allium* Linn. materials from Xizang¹⁾

组 Group	遗传相似系数和遗传距离 Genetic similarity coefficient and genetic distance					
	I	II	III	IV	V	VI
I	—	0.23	0.30	0.24	0.40	0.19
II	0.79	—	0.29	0.22	0.39	0.17
III	0.74	0.75	—	0.24	0.44	0.23
IV	0.78	0.79	0.78	—	0.36	0.15
V	0.67	0.68	0.64	0.70	—	0.30
VI	0.83	0.84	0.80	0.86	0.74	—

¹⁾ “—”下方为遗传相似系数,“—”上方为遗传距离 Genetic similarity coefficient is below “—”, and genetic distance is above “—”.

分别为0.19、0.17和0.15,表明青甘韭和韭葱与韭菜和香葱间的亲缘关系较近。V组与I组、II组和III组材料间的遗传相似系数较低,分别为0.67、0.68和0.64,对应的遗传距离较大,分别为0.40、0.39和0.44,表明粗根韭与韭菜、10号香葱和大花韭的亲缘关系较远。

3 讨论和结论

与形态学标记相比,ISSR标记更能揭示种质资源的遗传多样性和亲缘关系^[25-27]。贾俊香等^[28]使用ISSR标记进行了71份大葱(*Allium fistulosum* var. *giganteum* Makion)材料的遗传多样性和亲缘关系分析,基于筛选出的14个引物扩增出97个清晰的条带,平均每个引物扩增出6.93个条带,多态性比率为61.90%,说明ISSR标记能较好地分子水平揭示大葱种质资源间的亲缘关系。徐启江等^[29]使用ISSR标记对洋葱(*Allium cepa* Linn.)进行种质资源遗传多样性分析,基于筛选出的4个引物扩增出39个条带,平均每个引物扩增出9.8个条带,多态性比率为79.48%。金雪等^[30]采用ISSR标记分析了48份分蘖洋葱(*A. cepa* var. *aggregatum* G. Don)材料的遗传多样性,扩增出132个条带,其中多态性比率为82.58%。本研究筛选出20个引物用于22份葱属材料的扩增,共扩增出211个条带(位点),平均每个引物扩增出10.6个位点,多态性比率为98.6%,明显高于上述葱属材料,说明22份葱属材料的遗传多样性较为丰富,能够较好地揭示葱属材料的遗传信息。而产生差异的原因可能与本研究使用的材料丰富有关,包括香葱、韭菜和韭葱等葱属的不同种,而不是特定的一个种。

本研究结果显示:211个位点的有效等位基因数均值为1.6,Shannon's信息指数均值为0.54,Nei's基因多样性指数均值为0.37。杨天灵^[31]利用ISSR标记对新疆大蒜(*A. sativum* Linn.)及其野生近缘种进行遗传多样性分析,结果显示Nei's基因多样性指数均值为0.3873;香农信息指数均值为0.5642,与本文研究结果相似,表明ISSR标记具有较高的多态性,可有效反映葱属植物种间(内)的遗传差异。此外,本研究22份葱属材料的遗传相似系数在0.43~0.87之间,个体间的遗传变异程度较大,表明供试的葱属材料具有丰富的遗传多样性^[32]。

聚类分析结果显示:供试22份葱属材料在遗传相似系数为0.35处聚为6组。17号大花韭、19号粗根韭、20号韭菜分别聚为一组,这3组与其他组材料间的亲缘关系较远。来自林芝市的9号香葱、11号香葱和15号香葱以及来自山南市的18号香葱聚为一组,这4份材料两两间的遗传相似系数较高(在0.70~0.87之间),遗传距离较小(在0.14~0.35之间),亲缘关系较近,共同特征均为地方种质资源,叶色蓝绿,叶面蜡粉多;10号香葱未与其他香葱材料聚为一组可能是由于10号香葱来自西藏阿里地区改则县,海拔较高(4809m),而其他几种香葱来源地均在海拔4000m以下,亲缘关系较远。不同来源地的12份青甘韭材料和16号韭葱聚为一组,材料两两间的遗传相似系数普遍较高(在0.54~0.86之间),遗传距离普遍较小(在0.19~0.62之间),亲缘关系较近,共同特征是均为野生种质资源、叶色为蓝绿,大部分材料的叶面蜡粉较少,假茎基部形状多为鸡腿状,假茎横切面为圆。从组间的遗传相似系数和遗传距离看,青甘韭和韭葱与韭菜和香葱间的遗传相似系数较高(0.83~0.86),遗传距离较小(0.15~0.19),青甘韭和韭葱与韭菜和香葱间亲缘关系较近。经过多年观测和考察发现,西藏本地的农牧民有人工驯化栽培各类野生种质资源的习惯,结合组间聚类结果推测香葱类和韭菜类材料可能是青甘韭经长期的人工驯化而来。此外,粗根韭与韭菜、10号香葱和大花韭的亲缘关系较远,与作者田间观察到的表型一致。

综上所述,供试的22份葱属材料具有较丰富的遗传多样性,部分材料体现出一定的来源地域一致性特征,其遗传关系基本符合传统分类结果,ISSR标记适用于葱属不同种的遗传关系研究。

参考文献:

- [1] 张巧关,张道远,刘会良.新疆葱属植物区系地理特征[J].干旱区研究,2022,39(2):522-540.
- [2] HERDEN T, HANELT P, FRIESEN N. Phylogeny of *Allium* L. subgenus *Anguinum* (G. Don. ex W. D. J. Koch) N. Friesen (Amaryllidaceae) [J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2016; 95: 79-93.
- [3] HUANG Q, WU Z K, WU Z Q, et al. The research progress of antioxidant activity of organic sulfides in *Allium* plants [J]. Food Research and Development, 2018, 39(1): 214-220.
- [4] 李莎莉,吴琦,徐帅,等.韭菜生物活性及其药食资源开发进展[J].食品研究与开发,2018,39(9):197-202.
- [5] YAMAGUCHI Y, KUMAGAI H. Characteristics, biosynthesis,

- decomposition, metabolism and functions of the garlic odour precursor, *S*-allyl-*L*-cysteine sulfoxide [J]. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2020, 19(2): 1528–1535.
- [6] YOSHIMOTO N, SAITO K. *S*-Alk(en)ylcysteine sulfoxides in the genus *Allium*: proposed biosynthesis, chemical conversion, and bioactivities[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2019, 70(16): 4123–4137.
- [7] CHOI H-J, OH B-U. A new species and a new combination of *Allium* sect. *Rhizirideum* (Alliaceae) from northeastern China and Korea[J]. *Brittonia*, 2010, 62(3): 199–205.
- [8] 杨传东, 苟光前. 贵州葱属一新种[J]. *云南植物研究*, 2008, 30(4): 437–438.
- [9] RAZYFARD H, ZARRE S, FRITSCH R M, et al. Four new species of *Allium* (Alliaceae) from Iran[J]. *Annales Botanici Fennici*, 2011, 48(4): 352–360.
- [10] TZANOUDAKIS D, KYPRIOTAKIS Z. *Allium brussalisii* (Alliaceae), a new species from Greece[J]. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 2008, 158: 140–146.
- [11] BOGDANOVIĆ S, BRULLO S, DEL GALDO G G, et al. A new autumn-flowering species of *Allium* (Alliaceae) from Croatia[J]. *Folia Geobotanica*, 2009, 44: 83–93.
- [12] 赵金花. 三种野生葱属植物的生态适应性及繁衍更新特性研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2010: 14–15.
- [13] 王怀凤, 永毛, 胡金鑫, 等. 西藏部分葱属种质资源无靶向性鉴定分析[J]. *西藏农业科技*, 2020(增刊): 19–24.
- [14] 朗杰, 王陆州, 关志华, 等. 青甘韭花叶开发利用现状与营养品质分析[J]. *植物遗传资源学报*, 2018, 19(1): 96–102.
- [15] MENZ M A, UNRUH N C, ROONEY W L, et al. Genetic diversity of public inbreds of sorghum determined by mapped AFLP and SSR markers[J]. *Crop Science*, 2004, 44(4): 1236–1244.
- [16] 梁勇. 辣椒材料的形态学和 RAPD 分析[D]. 成都: 四川农业大学, 2008: 7–8.
- [17] 张慧君, 王学征, 高鹏, 等. 甜瓜性别分化的研究进展[J]. *园艺学报*, 2012, 39(9): 1773–1780.
- [18] 陈星, 高子厚. DNA 分子标记技术的研究与应用[J]. *分子植物育种*, 2019, 17(6): 1970–1977.
- [19] 张光花, 徐玉芳, 李春香, 等. 胡葱与洋葱、葱过氧化物酶同工酶研究及聚类分析[J]. *植物遗传资源学报*, 2003, 4(1): 47–50.
- [20] IPEK M, IPEK A, SIMON P W. Comparison of AFLPs, RAPD markers and isozymes for diversity assessment of garlic and detection of putative duplicates in germplasm collections[J]. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 2003, 128(2): 246–252.
- [21] RICOCH A, PEFFLEY E B, BAKER R J. Chromosomal location of rDNA in *Allium*: *in situ* hybridization using biotin- and fluorescein-labelled probe[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1992, 83: 413–418.
- [22] D'ENNEQUIN M L T, PANAUD O, ROBERT T, et al. Assessment of genetic relationships among sexual and asexual forms of *Allium cepa* using morphological traits and RAPD markers[J]. *Heredity*, 1997, 78: 403–409.
- [23] HENRY A J, IKPEME E, ETUKAKPAN U U, et al. Assessment of genetic relatedness of clams (*Egeria radiata*) using inter simple sequence repeat (ISSR) markers[J]. *Journal of Agriculture and Ecology Research International*, 2018, 15(4): 1–10.
- [24] 刘宏敏, 张明, 李延龙, 等. 韭菜种质资源 DNA 指纹库构建与聚类分析[J]. *河南农业科学*, 2011, 40(8): 164–168.
- [25] 王弦云. ISSRs 在杜仲遗传多样性研究及性别鉴定中的应用[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2013: 15–16.
- [26] JOSHI S P, GUPTA V S, AGGARWAL R K, et al. Genetic diversity and phylogenetic relationship as revealed by inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism in the genus *Oryza*[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2000, 100: 1311–1320.
- [27] REDDY M P, SARLA N, SIDDIQ E A, et al. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding[J]. *Euphytica*, 2002, 128: 9–17.
- [28] 贾俊香, 李娜, 杨国栋, 等. 大葱种质资源亲缘关系的 ISSR 分析[J]. *分子植物育种*, 2019, 17(5): 1543–1550.
- [29] 徐启江, 崔成日, 贾铁金. 洋葱种质资源遗传多样性的 ISSR 分析[J]. *农业生物技术科学*, 2007, 23(6): 126–130.
- [30] 金雪, 周新刚, 刘守伟, 等. 48 份分蘖洋葱种质资源遗传多样性的 ISSR 标记和农艺性状分析[J]. *中国蔬菜*, 2013(2): 27–34.
- [31] 杨天灵. 新疆大蒜及其野生近缘种遗传多样性研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2014: 91–92.
- [32] 王丹丹. 基于 SRAP 和 TRAP 标记的新疆 10 种野生葱蒜的遗传多样性[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2018: 47.

(责任编辑: 郭严冬)