

# 利用 SSR 和 SRAP 技术分析 广西柑橘种质遗传多样性

刘通<sup>1</sup> 邓崇岭<sup>2</sup> 程玉芳<sup>1</sup> 李秋景<sup>1</sup> 陈传武<sup>2</sup> 刘冰浩<sup>2</sup> 伊华林<sup>1</sup>

1. 华中农业大学园艺林学学院/园艺植物生物学教育部重点实验室, 武汉 430070;  
2. 广西特色作物研究院/广西柑橘生物学重点实验室, 桂林 541004

**摘要** 利用 SSR 和 SRAP 2 种分子标记技术对 11 份广西野生柑橘种质、13 份广西地方品种和 10 份对照品种, 共计 34 份柑橘类材料进行遗传多样性分析, 结果表明: 选用 22 对 SSR 和 11 对 SRAP 引物组合进行 PCR 扩增, 依次获得 221 和 215 条多态性条带, 平均每对引物获得 10.1 和 19.5 条多态性条带; SSR 聚类图显示 34 份柑橘种质两两之间的遗传相似系数为 0.78~0.96, SRAP 聚类显示遗传相似系数为 0.60~0.92; 2 种分子标记基本上能有效地区分宽皮柑橘类、枸橼类、柚类、大翼橙类、宜昌橙类和马蜂柑; 同时, 广西地区宽皮柑橘类与道县野橘、皱皮柑类与元橘、印度野橘与枸橼类的尤力克柠檬、大种橙与大翼橙类和阳朔金柑、柚类与大翼橙类亲缘关系紧密。

**关键词** 柑橘; 种质; 遗传多样性; SSR; SRAP

**中图分类号** S 666 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2016)02-0023-07

广西位于北纬 20°54' ~ 26°24' 之间, 兼含南亚热带和中亚热带季风气候, 雨热同季, 冬短夏长, 气候温暖, 自古以来就是柑橘生长的适宜区<sup>[1]</sup>。广西地区的柑橘栽培历史悠久, 品种资源丰富, 分布有金柑属、枳属和柑橘属的枸橼类、宜昌橙类、柚类、橙类和宽皮柑橘类等种质资源, 已发展成为中国柑橘主产区之一, 过去限于分析手段, 很多柑橘资源特别是部分原生种质资源演化来源不明, 现代分子标记技术及基因组技术的发展为这些资源的系统分类奠定了基础。

SSR (simple sequence repeat) 是一类由 1~6 个碱基组成的基元串联重复而成的 DNA 序列, 其标记需要的 DNA 量少, 对 DNA 质量要求不高, 共显性遗传, 多态性高及在基因组中丰富且分布广泛, 易于 PCR 检测, 适合进行高通量分析。自开发以来, SSR 被广泛应用于种质鉴定、遗传多样性研究、QTL 分析、遗传图谱构建、分子辅助育种等领域<sup>[2-7]</sup>。

SRAP (sequence-related amplified polymorphism) 是根据基因外显子富含 G、C, 而启动子和内

含子中富含 A、T 的特点设计 2 套引物(上游引物和下游引物)对开放阅读框(open read frames)进行扩增, 因其简单有效而被广泛应用于柑橘、水稻、油菜、棉花、小麦等植物的基因标签、基因组合 cDNA 指纹、遗传图谱构建、品种鉴定、遗传多态性研究、图位克隆等领域<sup>[8-13]</sup>。

基于此, 本研究利用 SSR 和 SRAP 技术分析广西地区柑橘种质的来源和演化关系, 旨在为更好地利用其进行柑橘育种提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

本研究于 2011—2013 年共采集试验材料(叶片)34 份, 见表 1。

### 1.2 样品 DNA 提取

采用 CTAB 大量法提取柑橘叶片核基因组 DNA, 具体方法参照文献 [14], 稍作改动。DNA 提取后用超微量紫外分光光度计(Nanodrop 2000)检测质量及浓度, 并以高浓度保存于 -80 °C 超低温冰箱。

收稿日期: 2015-09-30

基金项目: 国家自然科学基金项目(31160388); 国家现代农业(柑橘)产业技术体系专项(CARS-27); 国家科技支撑计划项目(2013BAD02B02-3); 广西自然科学基金项目(2013GXNSFDA019014); 广西柑橘生物学重点实验室开放基金项目

刘通, 硕士研究生, 研究方向: 果树生物技术。E-mail: 525690922@qq.com

通信作者: 邓崇岭, 研究员, 研究方向: 果树育种。E-mail: cldeng88168@126.com

表 1 试验材料

Table 1 Materials for the experiment

编号 Code	样品名称 Name	拉丁名 Latin name	类型 Type	编号 Code	样品名称 Name	拉丁名 Latin name	类型 Type
1	红河大翼橙 Honghe Papeda	<i>C. hongheensis</i>	C	18	广西扁柑 Guangxi biangan	<i>C. reticulata</i> Blanco	B
2	大翼厚皮橙 Kerrii Swing	<i>C. macropera</i> var. <i>kerrii</i> Swingle	C	19	短枝浦北扁柑 Pubei short-branch biangan	<i>C. reticulata</i> Blanco	B
3	马蜂柑 Mafenggan	<i>C. hystrix</i> DC.	C	20	皱皮柑 1 号 Rough-peel mandarin No. 1	<i>C. speciosa</i> Hort. ex Tseng	A
4	田林 1 号 Tianlin No. 1	<i>C. ichangensis</i> Swingle	A	21	皱皮柑 2 号 Rough-peel mandarin No. 2	<i>C. speciosa</i> Hort. ex Tseng	A
5	大种橙 Dazhongcheng	<i>C. macrosperma</i> T. C. Guo et Y. M. Ye	A	22	皱皮柑 3 号 Rough-peel mandarin No. 3	<i>C. speciosa</i> Hort. ex Tseng	A
6	黄柠檬 Yellow limonia	<i>C. limonia</i> Osbeck	A	23	腊月柑 Layuegan	<i>C. reticulata</i> Blanco	B
7	大化白柠檬 Dahua white lemon	<i>C. limon</i> (L.) Burm. f.	A	24	阳朔金柑 Yangshuo kumquat	<i>Fortunella crassifolia</i> Swingle	B
8	尤里克柠檬 Eureka lemon	<i>C. limon</i> (L.) Burm. f.	C	25	道县野橘 Daoxian wild tangerine	<i>C. daoxianensis</i> S. W. He et G. Liu	C
9	凭祥土柠檬 Pingxiangtuningmeng	<i>C. limonia</i> Osbeck	A	26	贺州野橘 Hezhou wild tangerine	<i>C. reticulata</i> Blanco	A
10	沙田柚 Shatianyou	<i>C. grandis</i> Osbeck	B	27	印度野橘 Indian wild tangerine	<i>C. indica</i> Tan.	C
11	岭南沙田柚 Lingnan Shatianyou	<i>C. grandis</i> Osbeck	B	28	广西橘 Guangxi tangerine	<i>C. reticulata</i> Blanco	B
12	砧板柚 Zhenbanyou	<i>C. grandis</i> Osbeck	B	29	元橘 Yuanju	<i>C. reticulata</i> Blanco	A
13	酸橙 Sour orange	<i>C. aurantium</i> Linn.	C	30	岑溪酸橘 Cenxi sour tangerine	<i>C. reticulata</i> Blanco	B
14	新会橙 Xinhui orange	<i>C. sinensis</i> O (Linn.) sbeck cv.	B	31	凭祥红皮酸橘 Pingxiang red-peel sour tangerine	<i>C. reticulata</i> Blanco	B
15	莽山野柑 Mangshanyegan	<i>C. mangshanensis</i> S. W. He et G. F. Liu	C	32	广西红皮酸橘 Guangxi red-peel sour tangerine	<i>C. reticulata</i> Blanco	B
16	半野生柑 Semi-wild mandarin	<i>C. reticulata</i> Blanco	A	33	枳壳 Trifoliate orange	<i>Poncirus trifoliata</i> (L.) Raf.	C
17	广西沙柑 Guangxi <i>Citrus nobilis</i>	<i>C. nobilis</i> Lour.	B	34	酒饼筋 Jiubingle	<i>Atalantia buxifolia</i> (Poir.) Oliv	C

注: A. 广西野生柑橘资源; B. 广西特有地方品种; C. 对照材料品种。Note: A. The wild citrus resources of Guangxi; B. The unique local varieties of Guangxi; C. The control varieties of experiment.

### 1.3 SSR-PCR 和 SRAP-PCR 扩增程序

SSR-PCR 扩增体系和程序参考刘勇等<sup>[15]</sup>的方法,并加以修改。扩增体系 20  $\mu\text{L}$  包括 2  $\mu\text{L}$  DNA 模板,正反引物各 0.2  $\mu\text{L}$ , 2.0  $\mu\text{L}$  反应缓冲液, 2.0  $\mu\text{L}$  dNTPs, 1.2  $\mu\text{L}$   $\text{MgCl}_2$ , 0.2  $\mu\text{L}$  *Taq* DNA 聚合酶,其余为灭菌过的双蒸水。PCR 反应程序: 95  $^\circ\text{C}$  预变性 5 min; 95  $^\circ\text{C}$  变性 1 min, 55  $^\circ\text{C}$  退火 1 min, 72  $^\circ\text{C}$  延伸 1 min, 35 个循环; 72  $^\circ\text{C}$  延伸 10 min, 4  $^\circ\text{C}$  储存。

SRAP-PCR 扩增体系为: 2.4  $\mu\text{L}$  DNA 模板,

2.4  $\mu\text{L}$  10 $\times$ Buffer, 0.4  $\mu\text{L}$  *Taq* 酶, 正反引物各 0.6  $\mu\text{L}$ , 1.6  $\mu\text{L}$  dNTPs, 12  $\mu\text{L}$  双蒸水。PCR 反应程序: 94  $^\circ\text{C}$  预变性 5 min; 94  $^\circ\text{C}$  变性 1 min, 35  $^\circ\text{C}$  退火 1 min, 72  $^\circ\text{C}$  延伸 1 min, 5 个循环; 94  $^\circ\text{C}$  变性 1 min, 55  $^\circ\text{C}$  退火 1 min, 72  $^\circ\text{C}$  延伸 1 min, 35 个循环; 72  $^\circ\text{C}$  延伸 7 min, 4  $^\circ\text{C}$  储存。

扩增产物均在 0.6% 的聚丙烯酰胺凝胶中进行电泳检测,染色,拍照。

### 1.4 统计分析方法

根据聚丙烯酰胺凝胶电泳后分子标记扩增条带

的有无进行统计,有带记为 1,无带记为 0,构建 (0,1)矩阵。构建的矩阵应用 NTSYS 2.10e 软件采用简单匹配系数 (simple matching coefficient, SM) 计算遗传相似系数,由此得到相似性系数  $S_{ij}$  矩阵,并根据 SM 相似性矩阵进一步进行 UPGMA 聚类分析,构建亲缘关系树图。

## 2 结果与分析

### 2.1 SSR 标记结果

从 48 对 SSR 引物中筛选出 22 对扩增效果较好的引物,图 1 为 SSR 引物 AAT12 扩增后聚丙烯酰胺凝胶电泳后获得的结果,显示 SSR 多态性好,

不同类型材料差异明显。统计清晰的条带 221 条,平均每对引物 10.1 条(表 2),其中 CMS8 最少为 2 条,TAA15 最多为 15 条。

### 2.2 SRAP 标记结果

从 99 对 SRAP 引物组合中选出 11 对扩增效果较好的引物对 34 份广西柑橘材料进行遗传多态性研究。图 2 为 me4f-Em10r 引物组合扩增产物聚丙烯酰胺凝胶电泳后的成像胶图,可以看出 SRAP 分子标记多态性很好,获得条带很多,且不同材料之间差异比较明显。11 对引物共获得 215 条清晰度佳的差异性条带,平均每对引物扩增得到 19.54 条多态性条带。

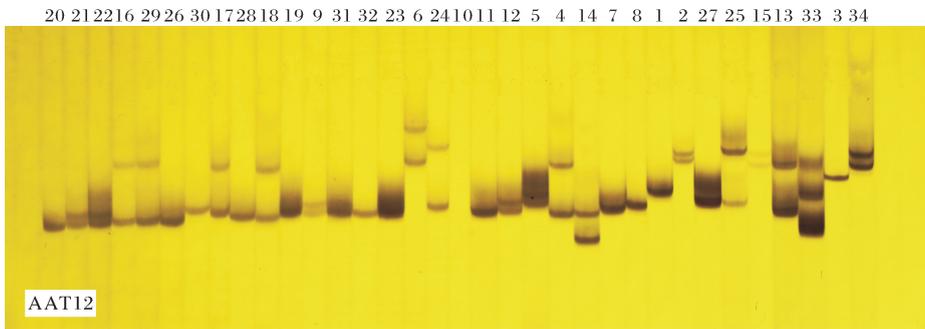


图 1 SSR 引物 AAT12 对 34 份试验材料扩增结果(图中材料编号及名称见表 1,下同)

Fig. 1 The amplification results of AAT12 primer in 34 materials(Code and name see table 1, the same as follows)

表 2 分子标记扩增结果

Table 2 Results of the molecular markers

标记技术 Marker technique	引物数 Numbers of the primer	多态性条带 Total polymorphical bands	平均每对引物多态性条带数 Average Polymorphical bands
SSR	22	221	10.1
SRAP	11	215	19.5

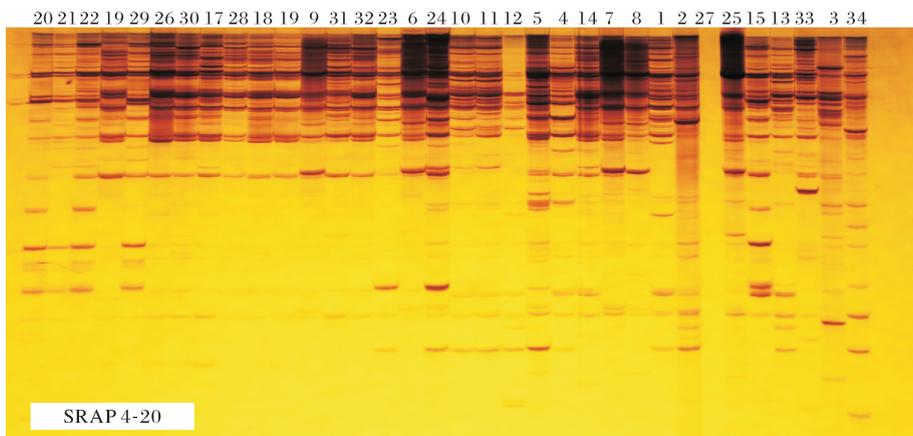


图 2 SRAP 引物 me4f-Em10r 对 34 份试验材料的标记结果

Fig. 2 SRAP marker among 34 materials me4f and Em10r

### 2.3 SSR 聚类结果

对 SSR 标记(0,1)结果应用 NTSYS 2.10e 软件分析,生成 34 份柑橘种质 SSR 聚类树形图(图 3),结果显示,34 份柑橘类材料两两之间遗传相

似系数在 0.78~0.96 之间,并在 0.775 处划分为 2 大组。其中来自广西地区的 4 份野生宽皮柑橘类材料皱皮柑 1 号、皱皮柑 2 号、皱皮柑 3 号和元橘聚为第一组(0.852)。

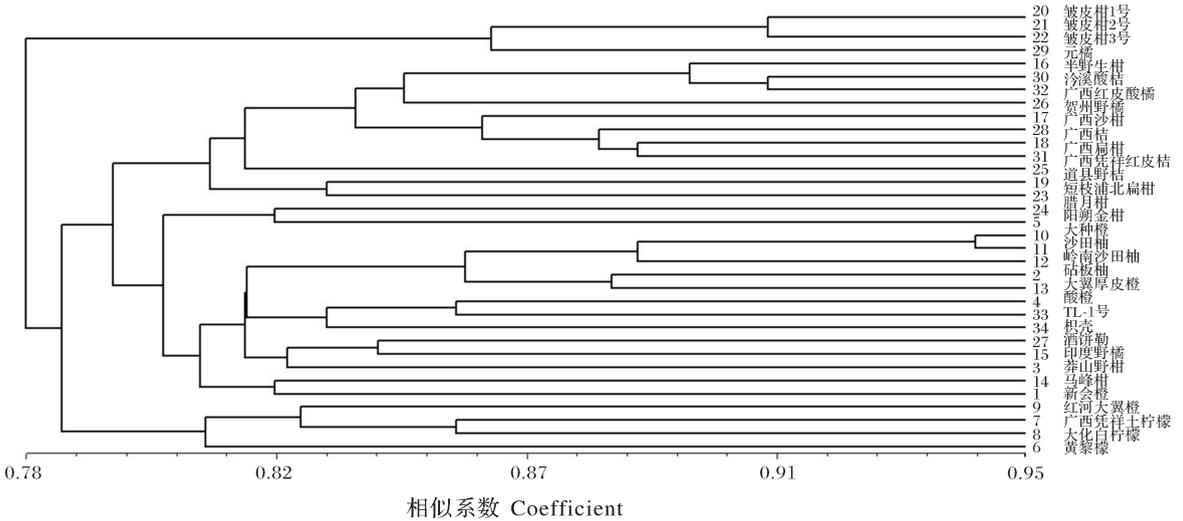


图 3 34 份柑橘材料 SSR 分析遗传相似性聚类图

Fig. 3 Genetic similarity cluster based on SSR analysis in 34 genotypes of citrus and its relatives species

其余 30 份材料又分为 2 个亚组,第 1 亚组又分为 3 支,第 1 支包括半野生柑、岑溪野橘、广西红皮酸橘、贺州野橘、广西沙柑、广西橘、广西扁柑、凭祥红皮橘、道县野橘、短枝浦北扁柑、腊月柑(0.810);第 2 支包括阳朔金柑和大种橙(0.820);其他材料聚为第 3 支(0.816),包括沙田柚、岭南沙田柚、砧板柚、大翼厚皮橙、酸橙、田林 1 号、枳壳、酒饼筋、印度野橘、莽山野橘、马蜂柑、新会橙、红河大翼橙;4 份

枸橼类材料组成第 2 亚组(0.807),包括广西凭祥土柠檬、大化白柠檬、尤力克柠檬和黄黎檬。

### 2.4 SRAP 聚类结果

SRAP 标记(0,1)数据应用 NTSYS 2.10e 软件分析,生成 34 份柑橘种质 SRAP 聚类树形图(图 4),可以看出,34 份柑橘类材料两两之间遗传相似系数在 0.60~0.92 之间,并在 0.60 处划分为 2 大组。

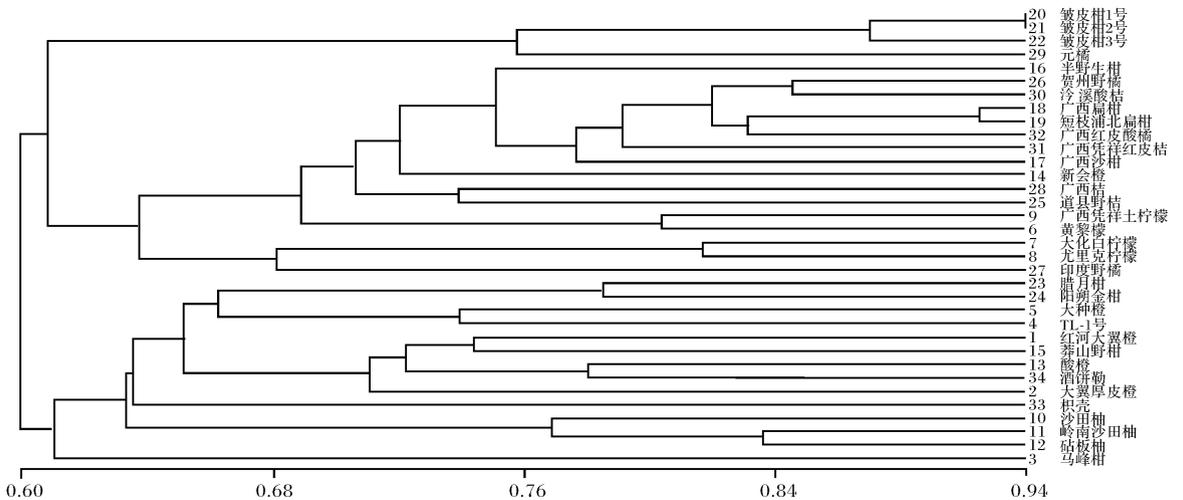


图 4 34 份柑橘材料 SRAP 分析遗传相似性聚类图

Fig. 4 Genetic similarity cluster based on SRAP analysis in 34 genotypes of citrus and its relatives species

第 1 大组将 16 份宽皮柑橘类和 4 份枸橼类材料聚为一类(0.611)。第 1 亚组包括皱皮柑 1 号、皱皮柑 2 号、皱皮柑 3 号和元橘(0.756);第 2 亚组中半野生柑、贺州野橘、岑溪酸橘、广西扁柑、短枝浦北扁柑、广西红皮酸橘、凭祥红皮酸橘、广西沙柑、新会橙、广西橘、道县野橘、广西凭祥土柠檬、黄黎檬、大化白柠檬、尤力克柠檬和印度野橘(0.635)聚为一类,其中广西扁柑、短枝浦北扁柑亲缘关系很近,遗传相似系数为 0.905,枸橼类的凭祥土柠檬和黄黎檬在 0.814 处聚为一类。

第 2 大组包括 14 份材料,腊月柑、阳朔金柑、大种橙、田林 1 号、红河大翼橙、莽山野柑、酸橙、酒

饼筋、大翼厚皮橙、枳壳、沙田柚、岭南沙田柚和马蜂柑聚为一支(0.637),其中柚类 3 份材料沙田柚、岭南沙田柚和砧板柚在 0.783 处与其他材料区分开,马蜂柑单独为一支。

### 2.5 SSR-SRAP 综合聚类结果

构建的矩阵应用 NTSYS 2.10e 软件分析,34 份柑橘及其近缘属种质相互之间遗传相似系数在 0.690~0.940 之间。其中皱皮柑 1 号和皱皮柑 2 号遗传相似系数值最大为 0.94,又与皱皮柑 3 号在相似系数 0.894 处划分为一个亚组。由 UPMGA 聚类分析(图 5)可知,在相似系数为 0.690 处可将 34 份材料分为 2 大组。

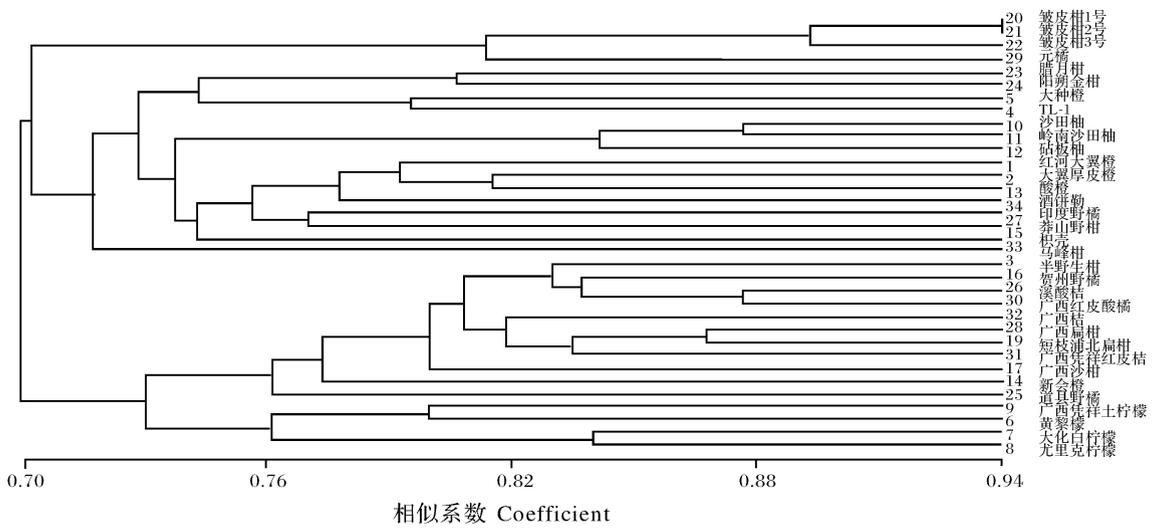


图 5 34 份柑橘材料 SSR-SRAP 综合分析遗传相似性聚类图

Fig.5 Genetic similarity cluster based on SSR and SRAP analysis in 34 genotypes of citrus and its relatives species

第 1 大组包括 19 份材料,在相似系数为 0.694 处分为 2 个亚组。皱皮柑 1 号、皱皮柑 2 号、皱皮柑 3 号和元橘,在相似系数为 0.813 处聚类为一个亚组。第 2 亚组中马蜂柑单独为一支,腊月柑、阳朔金柑、大种橙、田林 1 号、沙田柚、岭南沙田柚、砧板柚、红河大翼橙、大翼厚皮橙、酸橙、酒饼筋、印度野橘、莽山野柑、枳壳聚为另一个分支(0.725)。

第 2 大组共 15 份材料,在相似系数 0.725 处分为 2 个亚组。第 1 亚组为来自广西的 10 份柑橘材料和道县野橘在 0.763 处划分一起,显示亲缘关系较近。第 2 亚组中 4 份柠檬枸橼类材料广西凭祥土柠檬、黄黎檬、大化白柠檬和尤力克柠檬在相似系数 0.762 处聚为一类。

## 3 讨论

### 3.1 2 种分子标记比较

研究发现,由于柑橘属植物之间的杂交事件频繁,使用不同的标记系统得出的聚类结果可能会发生偏移<sup>[16]</sup>,本研究结果也验证了这一观点。因此,在对可能发生杂交事件的柑橘种质资源进行亲缘关系分析时,综合不同标记系统的结果是必要的。

SSR 和 SRAP 2 种分子标记扩增结果均显示出高多态性,两者遗传相似系数均介于 0.60~0.96 之间,说明所选用的试验材料遗传背景较宽、多样性明显。根据聚类结果可知,SSR 和 SRAP 均能揭示试验材料的遗传多样性,基本上能将 34 份材料中柑橘

属、金柑属、枳属及酒饼属进行有效区分,其中将柑橘属的宽皮柑橘类、枸橼类、柚类、宜昌橙类、大翼橙类材料进行有效聚类,研究结果与柑橘植物学传统分类基本吻合。2 种分子标记中 SRAP 多态性更好、信息量更加丰富、覆盖面积更广,SRAP 在遗传多样性分析中较 SSR 更为准确有效,为遗传多样性研究中更好的选择。本研究中广西姑婆山地区采集的皱皮柑 1 号、皱皮柑 2 号、皱皮柑 3 号和元橘亲缘关系极近,并与其他宽皮柑橘类明显区分开来,皱皮柑 1 号、皱皮柑 2 号地理位置更为接近,虽然两者形态学性状观察中叶基形状略有不同,但是两者应该为同一种材料。根据它们与其他材料间的遗传差异较大的特点,猜测其可能为独立的野生种。宽皮柑橘中广西地区发现的野生资源和其特有地方品种亲缘关系相近,后者应是野生资源人工驯化或杂交所获得的具有优良食用性状的品种,说明广西一些野生资源有重要的育种价值。同时广西地区发现的野生资源分别与目前已经确定的较原始种质如元橘和道县野橘亲缘关系密切。

### 3.2 广西柑橘资源亲缘关系探讨

皱皮柑为橘和橙的天然杂交种,在本研究中,皱皮柑 1 号、皱皮柑 2 号和皱皮柑 3 号在 SSR 和 SRAP 聚类图中都以较近的遗传距离与元橘聚在一起,而且广西地区的品种调查显示,皱皮柑和元橘于同一地区发现,距离极近<sup>[17]</sup>,2 个资源类型在形态学上也非常相似,猜测元橘可能是皱皮柑的亲本之一。

广西凭祥土柠檬、黄黎檬、尤里克柠檬、大化白柠檬 4 个柠檬类的材料在 2 种分子标记聚类图中与其他材料明显区分开来聚为一类,其中广西凭祥土柠檬和黄黎檬亲缘关系显示较近,大化白柠檬与尤里克柠檬亲缘关系相近。目前柠檬类的起源中心还不确定,而中国此前并未发现野生的柠檬,只在云南地区发现野生枸橼的分布<sup>[18]</sup>,而柠檬被认为是枸橼和酸橙或其他柑橘的杂种<sup>[19]</sup>,而黎檬(*C. limonia*)可能是宽皮柑橘和柠檬的杂种<sup>[20]</sup>,而广西凭祥土柠檬和黄黎檬与尤里克柠檬和大化白柠檬相对而言亲缘关系较远,可能是在柠檬类演化过程中因地域不同而形成的不同分支,若继续研究发现广西凭祥土柠檬为独立原产的野生柠檬资源,将重新审视、确定中国在枸橼类柠檬起源中的地位。

宽皮柑橘类的野生资源半野生柑、岑溪酸橘、贺州野橘、广西红皮酸橘和特色品种广西沙柑、广西橘、广西扁柑、广西凭祥红皮橘以及参考资源道县野

橘聚为一组。且半野生柑、岑溪酸橘、贺州野橘等几个野生资源亲缘关系较近,同时宽皮柑橘类中部分材料品种为红橘,它们可能起源相同。野生宽皮柑橘类材料目前主要发现于南岭山脉,南岭可能是宽皮柑橘起源地之一。

### 参 考 文 献

- [1] 沈丽娟,高克义,李志宏,等. 发挥广西柑桔优势之浅见[J]. 广西园艺,2007(1):8-10.
- [2] OLLITRAULT F, TEROL J, PINA J A, et al. Development of SSR markers from *Citrus clementina* (Rutaceae) BAC end sequences and interspecific transferability in *Citrus* [J]. American Journal of Botany, 2010, 97(11): e124-e129.
- [3] PATZAK J, PAPERSTEIN F, HENYCHOVÁ A, et al. Comparison of genetic diversity structure analyses of SSR molecular marker data within apple (*Malus × domestica*) genetic resources [J]. Genome, 2012, 55(9): 647-665.
- [4] 韩国辉. 基于 EST-SSR、Genomic-SSR 和 SCoT 标记的柑橘连锁图谱构建及杂种和多倍体遗传分析[D]. 重庆: 西南大学图书馆, 2012.
- [5] 张靖国, 田瑞, 陈启亮, 等. 基于 SSR 标记的梨栽培品种分子身份证的构建[J]. 华中农业大学学报, 2014, 33(1): 12-17.
- [6] BATTILANA J, LORENZI S, MOREIRA F M, et al. Linkage mapping and molecular diversity at the flower sex locus in wild and cultivated grapevine reveal a prominent SSR haplotype in hermaphrodite plants [J]. Molecular Biotechnology, 2013, 54(3): 1031-1037.
- [7] YUE X Y, LIU G Q, ZONG Y, et al. Development of genic SSR markers from transcriptome sequencing of pear buds [J]. Journal of Zhejiang University Science B, 2014, 15(4): 303-312.
- [8] LIN Z X, ZHANG X L, NIE Y C, et al. Construction of a genetic linkage map for cotton based on SRAP [J]. Chinese Science Bulletin, 2003, 48(19): 2064-2068.
- [9] UZUN A, YESILOGLU T, GULSEN O, et al. Genetic diversity and relationships within *Citrus* and related genera based on sequence related amplified polymorphism markers (SRAPs) [J]. Scientia Horticulturae, 2009, 121(3): 306-312.
- [10] AMAR M H, BISWAS M K, GUO W W, et al. Exploitation of SSR, SRAP and CAPS-SNP markers for genetic diversity of *Citrus* germplasm collection [J]. Scientia Horticulturae, 2011, 128(3): 220-227.
- [11] POLAT I, KACAR Y A, GULSEN O, et al. Molecular characterization of sour orange (*Citrus aurantium*) accessions and their relatives using SSR and SRAP markers [J]. Genetics and Molecular Research, 2012, 11(3): 3267-3276.
- [12] 张文, 胡威, 李大志, 等. 利用胚抢救技术获得沙田柚 × 枸橼杂

- 交后代及其 SRAP 检测[J]. 果树学报, 2013, 30(3): 386-389.
- [13] AHMAD R, QUIROS C F, RAHMAN H, et al. Genetic diversity analyses of *Brassica napus* accessions using SRAP molecular markers [J]. Plant Genetic Resources, 2014, 12(1): 14-21.
- [14] 周延清. DNA 分子标记技术在植物研究中的应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 78-85.
- [15] 刘勇, 孙中海, 陶建军, 等. 柚类种质资源 AFLP 与 SSR 遗传多样性分析[J]. 中国农业科学, 2005, 38(11): 2308-2315.
- [16] BALDWIN B G, SANDERSON M J, PORTER J M, et al. The ITS region of nuclear ribosomal DNA: a valuable source of evidence on angiosperm phylogeny[J]. Annals of the Missouri Botanical Garden, 1995, 82: 247-277.
- [17] 邓崇岭, 徐志美, 邓光宙, 等. 广西贺州姑婆山野生柑桔资源的复核调查[J]. 中国南方果树, 2013, 42(5): 8-10.
- [18] 郭天池. 中国的枸橼[J]. 中国柑桔, 1993, 22(4): 3-6.
- [19] BARRETT H, RHODES A M. A numerical taxonomic study of affinity relationships in cultivated *Citrus* and its close relatives [J]. Systematic Botany, 1976, 1(2): 105-136.
- [20] SWINGLE W T. The botany of citrus and its wild relatives [M]// REUTHER W, WEBBER H J, BATCHELOR L D. The citrus industry. Riverside and Palm Desert: University of California Riverside, 1967: 190-430.

## Analyzing genetic diversity of citrus germplasm in Guangxi Province with SSR and SRAP markers

LIU Tong<sup>1</sup> DENG Chongling<sup>2</sup> CHENG Yufang<sup>1</sup> LI Qiuqing<sup>1</sup>  
CHEN Chuanwu<sup>2</sup> LIU Binghao<sup>2</sup> YI Hualin<sup>1</sup>

1. College of Horticulture and Forestry/Key Laboratory of Horticultural Plant Biology, Ministry of Education, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;
2. Guangxi Academy of Specialty Crops, Guangxi Key Laboratory of Citrus Biology, Guilin, Guangxi 541004, China

**Abstract** SSR (simple sequences repeat) and SRAP (sequence-related amplified polymorphism) markers were used to analyze the genetic diversity and relationship of 34 citrus germplasms in Guangxi Province including 11 wild citrus, 13 local varieties and 10 control varieties. Results showed that 22 primer pairs of SSR were selected to obtain 221 polymorphic bands with 10.1 polymorphic bands per primer pairs. 11 primer pairs of SRAP were screened to obtain 215 polymorphic bands with 19.5 polymorphic bands per primer pairs. The genetic similarity of SSR and SRAP for all germplasms accessions was ranged from 0.78 to 0.96 and 0.60 to 0.92, respectively. Both SSR and SRAP can efficiently identify real citrus including the lime and lemon, the pummelo, the mandarin and assorted hybrids, the *Citrus ichangensis* Swingle, and the wide leather citrus.

**Keywords** citrus; germplasms; genetic diversity; SSR; SRAP

(责任编辑: 张志钰)