

邢啸林, 陈丹, 况勇, 等. 水芹 SSR 分子标记开发与遗传多样性分析[J]. 江苏农业学报, 2024, 40(7): 1285-1296.  
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2024.07.015

## 水芹 SSR 分子标记开发与遗传多样性分析

邢啸林<sup>1</sup>, 陈丹<sup>1</sup>, 况勇<sup>1</sup>, 徐文娟<sup>1</sup>, 黄然<sup>2</sup>, 甘德芳<sup>1</sup>

(1. 安徽农业大学园艺学院, 安徽 合肥 230036; 2. 安徽正泽生态农业科技发展有限公司, 安徽 定远 233230)

**摘要:** 水芹是伞形科水芹属多年生草本植物, 是一种重要的药食两用蔬菜作物。在中国, 水芹的种植区域十分广泛, 然而目前对其种质资源的鉴定、培育及遗传信息的研究较少。本研究利用溧阳白芹基因组开发水芹简单重复序列(SSR)分子标记, 分析 55 份水芹的遗传多样性并用非加权组平均法(UPGMA)构建系统进化树, 同时用 SSR 扩增条带数据构建 DNA 指纹图谱。结果显示, 共鉴定到 325 699 个 SSR 位点, 其中单核苷酸 SSR 重复单元、二核苷酸 SSR 重复单元、三核苷酸 SSR 重复单元、四核苷酸 SSR 重复单元、五核苷酸 SSR 重复单元、六核苷酸 SSR 重复单元的出现频率分别为 33.94%、54.62%、9.31%、1.66%、0.17%、0.29%, 其中二核苷酸 SSR 重复单元数最多, 有 177 887 个, 且 A/T (占比为 29.98%) 和 AT/AT (占比为 35.70%) 是较丰富的重复类型。UPGMA 分析结果表明, 33 对高多态性引物[多态信息含量(PIC)>0.25]可将 55 份水芹材料分为 4 组。利用筛选出的 4 对引物(Oj-084、Oj-110、Oj-112、Oj-156)可以将 55 份水芹材料完全区分开, 并且可构建指纹图谱。研究结果可为水芹种质资源鉴定、保护及分子遗传育种提供有力依据。

**关键词:** 水芹; 简单重复序列(SSR)分子标记; 聚类分析; 遗传多样性

**中图分类号:** S645.901 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2024)07-1285-12

## Development of SSR molecular markers and genetic diversity analysis of *Oenanthe javanica*

XING Xiaolin<sup>1</sup>, CHEN Dan<sup>1</sup>, KUANG Yong<sup>1</sup>, XU Wenjuan<sup>1</sup>, HUANG Ran<sup>2</sup>, GAN Defang<sup>1</sup>

(1. School of Horticulture, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China; 2. Anhui Zhengze Ecological Agriculture Science and Technology Development Co., Ltd., Dingyuan 233230, China)

**Abstract:** Dropwort is a perennial herbaceous plant of *Oenanthe* genus in the Apiaceae family, which is an important vegetable crop for both food and medicine. In China, the planting area of dropwort is very extensive. However, there are few studies on the identification and cultivation of its germplasm resources and the genetic information. In this study, we used the genome of Liyang Baiqin to develop simple sequence repeat (SSR) molecular markers for dropwort, and analyzed the genetic diversity of 55 samples. The phylogenetic tree was constructed by unweighted pair group method with arithmetic means (UPGMA), and the DNA fingerprint was constructed with SSR amplified band data. The results showed that a total of 325 699 SSR

loci were identified. The frequencies of single nucleotide SSR repeat units, dinucleotide SSR repeat units, trinucleotide SSR repeat units, tetranucleotide SSR repeat units, pentanucleotide SSR repeat units and hexanucleotide SSR repeat units were 33.94%, 54.62%, 9.31%, 1.66%, 0.17% and 0.29%, respectively. Among them, the number of dinucleotide SSR repeat units was the largest (177 887), and A/T (29.98%) and AT/AT (35.70%) were the more abundant repeat types. The results of UPGMA analysis in-

收稿日期: 2023-08-26

基金项目: 安徽省良种攻关项目(22805003); 安徽省自然科学基金项目  
重点项目(2023AH051056); 安徽省自然科学基金项目  
(2008085MC80)

作者简介: 邢啸林(1998-), 男, 安徽凤阳人, 硕士研究生, 主要从事蔬菜种质资源与遗传育种研究。(E-mail) 1697027498@qq.com

通讯作者: 甘德芳, (E-mail) gandf@ahau.edu.cn

indicated that 55 *Oenanthe javanica* materials could be divided into four groups by 33 pairs of highly polymorphic primers (polymorphic information content > 0.25). Four pairs of primers (Oj-084, Oj-110, Oj-112, Oj-156) were used to completely distinguish 55 *Oenanthe javanica* materials, and the fingerprint could be constructed. The results can provide a strong basis for the identification, protection and molecular genetic breeding of *Oenanthe javanica* germplasm resources.

**Key words:** dropwort; simple sequence repeat (SSR) molecular markers; cluster analysis; genetic diversity

水芹 [*Oenanthe javanica* (Bl.) DC.] 别称水芹菜、水英、蜀芹、野芹菜等,是伞形科水芹属多年生湿生草本蔬菜<sup>[1]</sup>。长期以来,水芹一直被视为药食同源的保健蔬菜,其富含蛋白质、维生素、纤维素等营养物质及钾、钙、硒等多种矿质元素<sup>[2-3]</sup>,并且含有类黄酮、多酚、香豆素等功能活性物质<sup>[4-5]</sup>,具有清热、利尿、降血脂和血压、抗炎、抗氧化等功效<sup>[6-7]</sup>,深受人们的喜爱。近年来,随着人们生活水平的不断提高,对水芹的需求量也不断增加。水芹的种植方式多种多样,有深水栽培、浅水栽培、湿润栽培等,其软化方式也呈现多样化,有培土软化、深栽软化、深水软化、覆盖软化等。近年来,研究者培育出一些耐高温的水芹品种,配合夏季遮阳网进行覆盖栽培,可以实现水芹的周年生产和均衡供应<sup>[8]</sup>。

水芹种质资源十分丰富,在世界各地均有种植,目前主要分布于中国长江流域、日本北海道、印度尼西亚爪哇岛及菲律宾等地区,多分布在沼泽地带<sup>[9-10]</sup>。目前,有关水芹的研究主要集中在栽培技术<sup>[11]</sup>、净化水体的作用<sup>[12-13]</sup>、药理活性及功能研究等方面<sup>[14-16]</sup>。近年来,科研工作者也开始对水芹进行基因组学及功能基因的研究<sup>[17-18]</sup>,而有关水芹种质资源分类的研究较少<sup>[1,19-20]</sup>。目前,水芹资源大多以产地命名,如江苏的常熟白芹、玉祁红芹、宜兴圆叶芹、溧阳白芹、丹阳水芹,安徽的桐城水芹、庐江的高梗水芹等。由于品种间的形态差异较大,加上各地间的互相引种,使得水芹品种的命名比较混乱,亟需一种快速准确鉴定水芹品种的方法,用于水芹资源的遗传多样性分析,对于水芹种质资源的鉴定保护、有效利用和创新具有十分重要的意义。赵书花<sup>[19]</sup>利用随机扩增多态性 DNA 标记 (RAPD) 技术对中国的 20 份水芹种质资源进行了亲缘关系分析,认为地理因素对水芹品种的影响较大,但也有来自不同地区的材料的遗传距离相近,说明遗传距离相近的材料可能具有相同的起源或相近的环境条件亦或受到相似的人工选择。傅劭<sup>[20]</sup>采用 DNA 测序技术及光学显微镜及扫描电镜对 170 份东亚水芹野生种质资源进行了分子系统学、微形态及孢粉学等研究,认

为东亚水芹野生种质资源的物种分类与传统菜用水芹资源的物种认定结果不相符。此外有研究者认为,同一物种内不同区域的水芹品种的孢粉学形态差别很大。王月等<sup>[21]</sup>利用低拷贝核基因 *AOX1*、*MCM5* 对太湖地区 6 个水芹地方品种进行了遗传多样性分析,并结合简单重复序列区间和特定序列扩增 (ISSR-SCAR) 技术,开发了玉祁水芹特异性分子标记,为水芹的遗传育种提供了分子基础。

简单重复序列 (SSR) 是一类以 1~6 个核苷酸为基本单元的 1 段 DNA 序列,在基因组中串联重复出现,如 (CA)<sub>n</sub>、(AT)<sub>n</sub>、(GGC)<sub>n</sub> 等重复<sup>[22-24]</sup>。由于 SSR 分子标记具有数量多、多态性好、使用成本低及操作简单等特点,已经在植物遗传图谱构建、遗传多样性分析、基因定位与克隆等方面得到广泛应用<sup>[25-26]</sup>,也是目前常用的分子标记之一。

本研究拟利用溧阳白芹基因组开发 SSR 多态性分子标记,借助琼脂糖凝胶电泳检测技术,对 55 份来源不同的水芹自然材料进行遗传多样性分析,分析其遗传差异及亲缘关系,以期为水芹种质资源鉴定、图谱构建及分子标记辅助育种等研究提供理论支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

以收集的 55 份水芹资源为试验材料,其中 13 份由扬州大学李良俊教授课题组提供。已知水芹品种为玉祁红芹 (编号为 SQ008, 序号为 1)、春晖 (编号为 SQ024, 序号为 10)、秋芹 1 号 (编号为 SQ026, 序号为 11)、伏芹 1 号 (编号为 FQ1H, 序号为 12)、扬州长白芹 (编号为 YZCBQ, 序号为 13)、鄂水芹 1 号 (编号为 ESQ1H, 序号为 20), 其余材料为从不同地区采集的自然材料 (表 1)。

### 1.2 DNA 的提取

用十六烷基三甲基溴化铵 (CTAB) 法<sup>[27]</sup>提取 55 份水芹叶片的基因组 DNA,用 Nanodrop 2000 检测 DNA 的质量和浓度,并将 DNA 原液质量浓度稀释到 50 ng/μL,再将稀释液于 -20 ℃ 冰箱保存。

表 1 55 份水芹材料的来源信息

Table 1 Source information of 55 dropwort samples

序号	材料编号	来源地
1	SQ008 *	江苏省水生作物资源圃
2	SQ009	江苏省水生作物资源圃
3	SQ012	江苏省水生作物资源圃
4	SQ014	江苏省水生作物资源圃
5	SQ015	江苏省水生作物资源圃
6	SQ019	江苏省水生作物资源圃
7	SQ020	江苏省水生作物资源圃
8	SQ021	江苏省水生作物资源圃
9	SQ022	江苏省水生作物资源圃
10	SQ024 *	江苏省水生作物资源圃
11	SQ026 *	江苏省水生作物资源圃
12	FQ1H *	江苏省水生作物资源圃
13	YZCBQ *	江苏省水生作物资源圃
14	TC-FG	安徽省安庆市桐城镇挂镇村
15	SC2H	安徽省六安市舒城县农业科学研究所
16	JZ-XHD	安徽省六安市金寨响洪甸水库
17	LA-JZ	安徽省六安市金寨高湾村下棚组
18	HF-LYDQ	安徽省合肥市庐阳区三十岗东渠村
19	SC1H	安徽省六安市舒城县农业科学研究所
20	ESQ1H *	安徽省六安市舒城县农业科学研究所
21	TC-WC	安徽省安庆市桐城文昌社区
22	CZ-LCC	安徽省池州市贵池区罗城村
23	CZ-JC	安徽省池州市贵池区姜村
24	SC-LJLZ	安徽省六安市舒城县张母桥镇刘家老庄
25	LJ-MD1H	安徽省合肥市庐江县庐城镇马店村马咀组
26	LJ-MD2H	安徽省合肥市庐江县庐城镇马店村马咀组
27	LJ-MD3H	安徽省合肥市庐江县庐城镇马店村马咀组
28	LJ-MD4H	安徽省合肥市庐江县庐城镇马店村马咀组
29	LA-SC	安徽省六安市舒城县河棚镇
30	AQ-YX1H	安徽省安庆市岳西县天堂镇杨家堰
31	XC-WXX	安徽省宣城市宣州区五星乡
32	WH-WW	安徽省芜湖市无为市泉塘镇社区焦村
33	TL-ZY	安徽省铜陵市枞阳县横埠镇官塘村
34	TL-TC	安徽省安庆市铜陵市
35	HQ1H	安徽省合肥市蜀山区合肥西站
36	HQ2H	安徽省合肥市庐阳区三十岗冯大郢
37	BH-XY	安徽省合肥市庐江县白湖镇
38	LJ-WJZ	安徽省合肥市庐江县柯坦镇王井村
39	LJ-HG	安徽省合肥市庐江县庐城镇
40	LJ-XY	安徽省合肥市庐江县庐城镇

续表1 Continued1

序号	材料编号	来源地
41	LJ-DY	安徽省合肥市庐江县庐城镇
42	HQ3H	安徽省合肥市庐阳区淝河西
43	AQ-YX2H	安徽省安庆市姚河乡马石村
44	TL-ZT	安徽省铜陵市周潭镇大山村
45	CH-MS	安徽省巢湖市坝镇姥山村
46	QJ-CJJ	安徽省滁州市全椒县程家集
47	FT-GJ	安徽省淮南市凤台县桂集镇后胡村
48	QJ-XGZ	安徽省滁州市全椒县小高庄
49	CZ-PLZ	安徽省池州市贵池区牌楼镇
50	ZJ-QZ	浙江省衢州市衢江区车塘村
51	BH-ZJYZ	安徽省合肥市庐江县白湖镇(引种自浙江)
52	CZ-WJSQ	安徽省合肥市长丰县义井镇车王组(引种自常州)
53	CZ-JJQ	安徽省合肥市长丰县义井镇车王组(常州节节芹)
54	WX-NR	安徽省合肥市长丰县义井镇车王组(引种自无锡)
55	BH-JSYZ	安徽省合肥市庐江县白湖镇(引种自江苏)

\* 表示已知的具体品种。

1.3 SSR 分子标记的开发

本研究所用溧阳白芹基因组序列由南京农业大学熊爱生教授课题组提供。用 TBtools<sup>[28]</sup> 中的 SSRminer 对水芹全基因组序列进行 SSR 位点搜索。用 TBtools 中的插件 Batch Target Region Primer Design 进行引物的批量设计,再用 TBtools 中的插件 Primer Check 进行引物的特异性检测,最后对特异性引物进行筛选。随机选取 160 对筛选到的引物,引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。PCR 扩增体系如下:10 μL 2×PCR Mix,1 μL 正向引物,1 μL 反向引物,1 μL 稀释的 DNA 工作液,7 μL ddH<sub>2</sub>O,总体积为 20 μL。PCR 反应程序如下:94 ℃ 预变性 3 min;94 ℃ 变性 30 s,55 ℃ 退火 30 s,72 ℃ 延伸 6 s,30 个循环;72 ℃ 延伸 10 min,4 ℃ 保存。用 2% 琼脂糖凝胶电泳对扩增产物进行有效性验证。

1.4 数据统计与处理

对凝胶电泳检测结果进行带型统计,根据扩增条带的大小,从上往下读取条带,有条带的记为 1,无条带的记为 0,缺失条带的记为 9,用 Excel 2019 对获得的数据进行统计分析和作图。用 Power Marker、GenAlEx 软件分析 SSR 扩增数据,计算多态性信息含量(PIC)、次等位基因频率(MAF)、等位基因数(N<sub>a</sub>)、有效等位基因数(N<sub>e</sub>)、遗传多样性系数(GD)、期望杂合度(H<sub>e</sub>)等数据;用 NTsys-pc 计算供

试材料之间的遗传距离、遗传相似系数,用非加权组平均法(UPGMA)构建系统进化树。

1.5 SSR 指纹图谱的构建

根据扩增条带的位置,从上往下读取条带,有条带的记为 1,无条带的记为 0,缺失条带的记为 9,再根据引物多态性信息含量从大到小进行排序,用十进制数字对材料进行编码,构建 55 份水芹材料的 SSR 指纹图谱。

2 结果与分析

2.1 水芹基因组 SSR 位点的鉴定与分析

在 Linux 服务器上对溧阳白芹的基因组数据进行统计,发现基因组数据大小为 1.23 Gb,共有 199 035 条 Scaffolds(序列总长度为 1 325 692 593 bp)。用 TBtools 软件在溧阳白芹基因组序列中鉴定到 325 699 个 SSR 位点,平均每 3.97 kb 就有 1 个 SSR 位点。统计单核苷酸、二核苷酸、三核苷酸、四核苷酸、五核苷酸、六核苷酸重复序列的分布状况和数量特征发现,各类型 SSR 出现的频率依次如下:单核苷酸为 33.94%,二核苷酸为 54.62%,三核苷酸为 9.31%,四核苷酸为 1.66%,五核苷酸为 0.17%,六核苷酸为 0.29%。其中,二核苷酸 SSR 重复单元数量最多,有 177 887 个(表 2)。另外,重复次数为 5 次、6 次、7 次、8 次、9 次、10 次、11 次、12 次、13 次、≥14 次的 SSR 出现频率分别为 6.70%、



16.71%、10.27%、7.88%、5.61%、3.82%、21.84%、8.63%、4.76%、13.78%。

表 2 水芹各简单重复序列(SSR)的类型及分布

Table 2 Types and distribution of simple sequence repeats (SSR) in *Oenanthe javanica*

SSR 重复 单元	SSR 位点数(个)										SSR 数量 (个)	出现频率 (%)
	重复 5 次	重复 6 次	重复 7 次	重复 8 次	重复 9 次	重复 10 次	重复 11 次	重复 12 次	重复 13 次	重复 ≥14 次		
单核苷酸	0	0	0	0	0	0	63 131	22 141	11 013	14 274	110 559	33.94
二核苷酸	0	46 838	30 296	24 015	17 395	11 886	7 625	5 703	4 316	29 813	177 887	54.62
三核苷酸	17 528	6 273	2 630	1 409	707	441	305	203	140	691	30 327	9.31
四核苷酸	3 270	1 032	446	212	143	104	53	47	31	61	5 399	1.66
五核苷酸	426	80	18	10	8	7	0	1	0	1	551	0.17
六核苷酸	602	194	75	32	15	15	6	9	3	25	976	0.30
总计	21 826	54 417	33 465	25 678	18 268	12 453	71 120	28 104	15 503	44 865	325 699	100.00

2.2 不同类型 SSR 重复出现的频率及分布特征

溧阳白芹基因组统计数据显示,SSR 位点的重复基序类型有 1 112 种。在考虑序列互补的情况下,SSR 重复基序类型有 598 种,其中(AT/AT)<sub>n</sub>重复基序类型最丰富,约占总 SSR 位点数的 35.70%;其次是 A/T 重复基序,约占总 SSR 位点数的 29.98%;(AC/GT)<sub>n</sub>约占总 SSR 位点数的 10.23%,(AG/CT)<sub>n</sub>约占总 SSR 位点数的 8.41%,C/G 约占总 SSR 位点数的 3.99%,(AAT/ATT)<sub>n</sub>约占总 SSR 位点数的 3.80%,其他各类型 SSR 占总 SSR 位点数的比例大多低于 1.00%(表 3)。

2.3 SSR 引物筛选

选择二碱基重复 10 次、三碱基重复 6 次的 SSR 位点,用 TBtools 中的插件 Batch Target Region Primer Design 进行引物的批量设计,再用 TBtools 中的插件 Primer Check 进行引物的特异性检测,最后对特异性引物进行筛选,筛选条件如下:PCR 产物预期大小为 100~350 bp,引物退火温度(*T*<sub>m</sub>)为 58~61 ℃,且正向引物(F)和反向引物(R)的 *T*<sub>m</sub> 相差 1 ℃;引物长度为 18~22 bp,引物 5' 端最好是 G/C,3' 端最好避免出现 A;引物序列中的碱基重复次数少于 4 次,G/C 的单碱基重复次数少于 3 次。为了保证引物的特异性,用于设计引物的保守侧翼序列与 SSR 位点间至少间隔 20~23 个碱基。从筛选后的引物中随机选取 160 对引物进行合成。用 6 份不同来源地、性状差异较大的样品进行 PCR 扩增,根据条带清晰、多态性丰富的原则,最终筛选到 33 对多态性 SSR 引物(表 4)。

表 3 水芹简单重复序列(SSR)重复单元类型及出现频率

Table 3 Types and frequency of simple sequence repeats (SSR) repeat units in *Oenanthe javanica*

SSR 重复 单元	重复基序类型	重复基序 数量(个)	出现频率 (%)
单核苷酸	A/T	97 618	29.98
	C/G	12 978	3.99
二核苷酸	AC/GT	33 300	10.23
	AG/CT	27 395	8.41
	AT/AT	116 224	35.70
	CG/CG	424	0.13
三核苷酸	AAT/ATT	12 372	3.80
	AGA/TCT	1 212	0.36
	ATA/TAT	5 832	1.79
	ATC/GAT	1 069	0.33
	其他	9 778	3.00
四核苷酸	AATA/TATT	867	0.26
	ACAT/ATGT	630	0.19
	ATAC/GTAT	1 305	0.40
	CCTC/GAGG	188	0.06
	其他	2 354	0.72
五核苷酸	AACCC/GGGTT	68	0.02
	AATAT/ATATT	63	0.02
	ACCCC/GGGGT	60	0.02
	ATATA/TATAT	57	0.02
	其他	834	0.26
六核苷酸	ACATAT/ATATGT	26	0.01
	ATATAC/GTATAT	59	0.02
	CACACG/CGTGTG	17	0.01
	CCTCTC/GAGAGG	21	0.01
	其他	851	0.26

单核苷酸、二核苷酸、三核苷酸、四核苷酸、五核苷酸、六核苷酸重复基序类型数目分别为 2 个、4 个、18 个、61 个、168 个、345 个。

表 4 水芹简单重复序列 (SSR) 多态性引物的序列信息

Table 4 Sequence information of polymorphic primers of simple sequence repeats (SSR) in dropwort

引物名称	重复基序	染色体编号与位点	序列信息(5'→3')	预期扩增产物大小 (bp)
Oj-005	(TA) <sub>19</sub>	scaffold9967_41.1(5 453 bp,5 491 bp)	F:CGGTAGTGTATAAACGCGTGA R:TCGTGTGTGCTGCGTTTT	272
Oj-012	(TA) <sub>27</sub>	scaffold62876_23.9(16 361 bp, 16 415 bp)	F:GATGAGACACGCCTCCCG R:CGTAGTTCAGGCGAAACCG	264
Oj-013	(AT) <sub>25</sub>	scaffold82306_35.1(1 454 bp,1 504 bp)	F:TGCTAGGAACGGTTTTCTTCA R:CCCAACGAACATGTGCGC	264
Oj-031	(AT) <sub>37</sub>	scaffold32002_22.3(5 122 bp,5 196 bp)	F:TGTTTGTCTCCGTACCAACTT R:AGAGGATCGTTGCTTTGGCA	217
Oj-032	(AT) <sub>10</sub>	scaffold37954_35.5(102 511 bp,102 531 bp)	F:TGAGACTGCATCTGCTCTGA R:TGCCCAGGTCAACCAAACA	242
Oj-039	(AT) <sub>10</sub>	scaffold22521_40.0(17 058 bp, 17 078 bp)	F:TCGGGAGGGATAGAGAGAGT R:ACTCCGGTGAACAAACACGT	267
Oj-069	(AT) <sub>32</sub>	scaffold32782_25.4(1 528 bp, 1 560 bp)	F:GGTTAGGACCGGTTGAAAAGT R:CCCTTCCATCTGCTCGGG	128
Oj-071	(AT) <sub>22</sub>	scaffold43510_34.8(17 411 bp, 17 433 bp)	F:GGTGACAACCTGAAGGCC R:CGACTTCAACCTCCTTGC	143
Oj-072	(AT) <sub>31</sub>	scaffold6594_29.4(15 664 bp, 15 726 bp)	F:GGGTTGAGGTTTCATGCTGGT R:GCCACAACATGCTGCAGG	193
Oj-077	(AT) <sub>15</sub>	scaffold19048_38.6(22 575 bp, 22 605 bp)	F:GTCGCTGTTCTGAGGCTGT R:GAGCAGTCTGGCTTTCGT	236
Oj-078	(TA) <sub>30</sub>	scaffold20745_41.6(174 667 bp, 174 727 bp)	F:GAGAGCAGTGCACGGTGT R:GGCCACCAGGTTTCCGAT	220
Oj-079	(AT) <sub>13</sub>	scaffold28861_40.1(219 026 bp, 219 052 bp)	F:GCAAAGCCAGGTGCCAAG R:CGGTGTGTATCGCGCTGT	144
Oj-080	(AG) <sub>16</sub>	scaffold6275_37.7(4 568 bp, 4 600 bp)	F:GGGAGGGAGGAGGTAGGG R:GCACGCCAGAACTGAGC	196
Oj-081	(TA) <sub>12</sub>	scaffold46007_30.0(12 885 bp, 12 909 bp)	F:GTCAAAGTCGAACCCAAACCT R:CCGGGATAAAGGAAACACCG	176
Oj-084	(TA) <sub>10</sub>	scaffold59954_44.0(14 826 bp, 14 846 bp)	F:GCCTGGAGAGGTGTGCTC R:GGCAAACCTGCCGAATGC	177
Oj-085	(AT) <sub>35</sub>	scaffold10004_23.2(33 813 bp, 33 883 bp)	F:GCCTAAACTCTGTCGGTGAGT R:CCGCACTGCACAGCAATT	280
Oj-091	(AC) <sub>10</sub>	scaffold40372_29.3(15 356 bp, 15 376 bp)	F:GTCGGGTCAGGCTAACTTGG R:CGGCGAGTTGGTGTGAT	249
Oj-101	(TA) <sub>20</sub>	scaffold5345_31.4(2 093 bp, 2 133 bp)	F:TCCTTCGTCTCTGAAGTGCTC R:ATGTGCTTCTCCCGTGGT	107
Oj-108	(AT) <sub>11</sub>	scaffold70685_47.7(1 077 bp, 1 099 bp)	F:ACCCACCCATGAAGGAGTG R:TGCTCAGTTTCGGCTGCT	218
Oj-110	(AT) <sub>20</sub>	scaffold27650_27.5(30 333 bp, 30 373 bp)	F:ACCCTGCATCATCAATTCGGT R:ACCGGCATCGTGTGGTTT	244
Oj-112	(TA) <sub>30</sub>	scaffold2264_42.8(47 599 bp, 47 659 bp)	F:TGTGTCTGGGTGTGAGAGTG R:AGTGGAAGCTGATACGCGG	207
Oj-115	(CT) <sub>16</sub>	scaffold2642_42.5(195 847 bp, 195 875 bp)	F:AGACCCGGTTAGAATCAAGGT R:ATGCATGTGTCTGCCTGG	171
Oj-119	(AC) <sub>18</sub>	scaffold33441_23.8(31 067 bp, 31 103 bp)	F:TCTCCGTGTCCCAGTGGT R:ACGAAGACGAAGAGTGAGGT	256
Oj-120	(AT) <sub>27</sub>	scaffold3570_21.0(6 347 bp, 6 401 bp)	F:TGGCGATGTCAGCTAGCG R:AGCTCCCAAGTCCACCT	268
Oj-121	(AT) <sub>12</sub>	scaffold24797_33.5(10 273 bp, 10 297 bp)	F:AGGTGATCCCACTCCTCTCT R:CGAAGCACACACAGGC	104

续表4 Continued4

引物名称	重复基序	染色体编号与位点	序列信息(5'→3')	预期扩增产物大小 (bp)
Oj-125	(GA) <sub>10</sub>	scaffold18118_24.4(21 038 bp, 21 058 bp)	F:ACGGGTGAAGGCCTTTAATGT R:CGACCGGCACTGCAAATG	209
Oj-131	(CA) <sub>13</sub>	scaffold33703_18.5(35 215 bp, 35 241 bp)	F:GTTCTGCAGAGTTCATGACCT R:AGGGAGTTCCTCATGAACCT	112
Oj-140	(AT) <sub>28</sub>	scaffold1382_22.7(21 513 bp, 21 569 bp)	F:AGCCTCGTGAAGCTTAGTGT R:GGCACTACCGGCAGAAACT	258
Oj-142	(TA) <sub>18</sub>	scaffold54061_38.2(8 932 bp, 8 968 bp)	F:TCCGGTATTTTCGCACAGGT R:GTCCACGGTAGTCAGGGC	129
Oj-146	(AT) <sub>17</sub>	scaffold23938_37.1(2 436 bp, 2 470 bp)	F:GTTATCCACCGCTCCATGT R:TCTGCCCACTTTGCATCCT	249
Oj-150	(TA) <sub>27</sub>	scaffold12010_24.9(26 380 bp, 26 434 bp)	F:TGACCCGATCCTCAGCGT R:GGGAAACACTTCGGAGTCGT	262
Oj-156	(TA) <sub>17</sub>	scaffold1164_23.9(94 994 bp,95 028 bp)	F:TGCCCGTGACTTTTCGAGG R:CGAGGGTATAATTGCTCCTGC	241
Oj-159	(AT) <sub>11</sub>	scaffold20723_35.8(58 964 bp,58 986 bp)	F:TCAACCGGGACCGATCCT R:CCACGATCAAGCCAACGG	240

括号内数据为染色体的起始位点、终止位点。

2.4 SSR 引物多态性分析

用筛选到的 33 对 SSR 引物对 55 份水芹材料进行 PCR 扩增,共检测出 164 个等位基因,平均每对引物扩增得到的等位基因数为 5 个;有效等位基因数为1.556 8~5.434 0个,平均每个位点的有效等位基因数为 3.052 3 个;Shannon's 指数为 0.595 4~2.004 3,平均值为1.225 5;多态性信息含量(PIC)为

0.323 3~0.791 2,平均值为0.541 8,33 对引物均具有较高的多态性信息含量(PIC>0.250 0)(表 5),且扩增条带清晰,图 1 为引物 Oj-125 对 55 份水芹材料的扩增结果。上述结果说明,本研究所用引物的多态性较高,可用于水芹品种的鉴定和遗传多样性分析等。

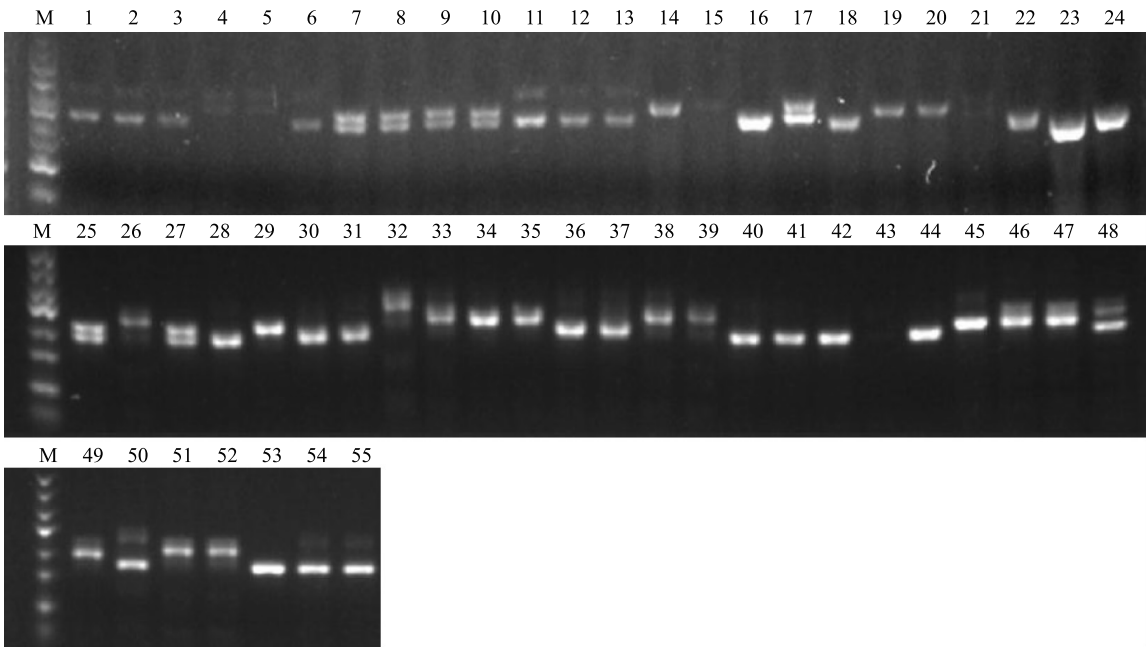
表 5 33 对引物扩增数据的统计分析结果

Table 5 Statistical analysis results of amplification data of 33 pairs of primers

SSR-Marker	次等位基因频率(MAF)	等位基因数(个)	有效等位基因数(N <sub>e</sub> )(个)	Shannon's 指数(I 值)	观察杂合度(H <sub>o</sub> )	期望杂合度(H <sub>e</sub> )	遗传多样性系数(GD)	多态性信息含量(PIC)
Oj-005	0.452 4	5	3.010 2	1.282 5	0.381	0.668	0.667 8	0.611 8
Oj-012	0.333 3	5	3.570 9	1.370 0	0.333	0.720	0.720 0	0.667 8
Oj-013	0.475 0	6	3.389 8	1.459 9	0.950	0.831	0.705 0	0.670 5
Oj-031	0.416 7	4	3.071 1	1.210 0	0.111	0.674	0.674 4	0.612 3
Oj-032	0.625 0	5	2.272 2	1.102 4	0.042	0.560	0.559 9	0.520 1
Oj-039	0.428 6	4	3.000 0	1.190 2	0.381	0.667	0.666 7	0.603 0
Oj-069	0.456 5	4	2.638 4	1.074 0	0.043	0.621	0.621 0	0.544 5
Oj-071	0.717 4	4	1.682 0	0.595 4	0.130	0.405	0.405 5	0.323 3
Oj-072	0.645 8	5	2.121 5	0.989 5	0.208	0.529	0.528 6	0.482 4
Oj-077	0.500 0	6	2.963 6	1.230 5	0.304	0.663	0.662 6	0.614 3
Oj-078	0.500 0	4	2.335 5	0.924 2	0.217	0.572	0.571 8	0.480 2
Oj-079	0.645 8	4	2.137 3	0.994 2	0.292	0.532	0.532 1	0.488 4
Oj-080	0.437 5	5	3.319 9	1.353 6	0.042	0.699	0.698 8	0.650 9
Oj-081	0.541 7	5	2.365 5	1.045 2	0.167	0.577	0.577 3	0.500 4
Oj-084	0.500 0	4	2.723 4	1.143 3	0.458	0.633	0.632 8	0.570 3
Oj-085	0.608 7	5	2.388 3	1.162 0	0.174	0.581	0.581 3	0.544 3

续表5 Continued5

SSR-Marker	次等位基因 频率(MAF)	等位基因数 (个)	有效等位基因 数( $N_e$ )(个)	Shannon's 指数 (I 值)	观察杂合度 ( $H_o$ )	期望杂合度 ( $H_e$ )	遗传多样性 系数(GD)	多态性信息 含量(PIC)
Oj-091	0.791 7	4	1.556 8	0.731 5	0.000	0.358	0.357 6	0.337 9
Oj-101	0.250 0	6	4.944 2	1.664 4	0.167	0.798	0.797 7	0.766 7
Oj-108	0.500 0	4	2.688 9	1.123 1	0.000	0.628	0.628 1	0.562 9
Oj-110	0.452 4	6	3.405 4	1.439 7	0.714	0.706	0.706 3	0.665 4
Oj-112	0.333 3	12	5.165 9	2.004 3	0.667	0.806	0.806 4	0.785 3
Oj-115	0.541 7	5	2.769 2	1.258 3	0.083	0.639	0.638 9	0.596 8
Oj-119	0.312 5	7	4.626 5	1.661 2	0.958	0.784	0.783 9	0.751 2
Oj-120	0.543 5	4	2.612 3	1.118 7	0.043	0.617	0.617 2	0.561 6
Oj-121	0.750 0	3	1.684 2	0.735 6	0.000	0.406	0.406 3	0.370 6
Oj-125	0.250 0	6	4.944 2	1.668 7	0.625	0.798	0.797 7	0.767 1
Oj-131	0.456 5	4	2.980 3	1.187 0	0.217	0.664	0.664 5	0.603 2
Oj-140	0.333 3	4	3.566 6	1.315 0	0.583	0.720	0.719 6	0.666 1
Oj-142	0.404 8	4	3.161 3	1.219 9	0.190	0.684	0.683 7	0.621 8
Oj-146	0.500 0	4	2.775 9	1.146 6	0.042	0.640	0.639 8	0.579 1
Oj-150	0.394 7	5	3.438 1	1.350 0	0.105	0.709	0.709 1	0.657 8
Oj-156	0.270 8	7	5.434 0	1.797 7	0.542	0.816	0.816 0	0.791 2
Oj-159	0.666 7	4	1.982 8	0.895 7	0.042	0.496	0.495 7	0.441 6
平均	0.485 9	5	3.052 3	1.225 5	0.279	0.642	0.603 3	0.541 8



M:400 bp DNA marker;1~55;55 份水芹材料(见表 1)。

图 1 引物 Oj-125 对 55 份水芹材料的扩增结果

Fig.1 Amplification results of 55 samples of water dropwort by primer Oj-125

2.5 水芹材料聚类分析

根据 33 对引物的遗传信息数据,用软件 NTSYS-PC 计算遗传距离系数,构建 55 份水芹材料的 UPMGA

聚类图。结果(图 2)表明,55 份水芹材料的遗传距离系数为0.42~0.95,当遗传距离系数为 0.56 时,55 份水芹材料可聚为 4 组。第I组包括编号为 1、18、21、40、48



等 50 份材料;第Ⅱ组包括编号为 24、42 的 2 份材料,其中编号为 24 的材料来源于安徽省六安市,编号为 42 的材料来自安徽省合肥市;第Ⅲ组包括编号为 15、49 的 2 份材料,其中编号为 15 的材料来自安徽舒城县,编号为 49 的材料来自安徽省池州市;第Ⅳ组中仅聚类了 1 份材料,该材料来自安徽省安庆市,与其他水芹材料相比,该水芹与其他水芹间的亲缘关系较远(图 2)。当遗传距离系数为 0.63 时,第Ⅰ组中的 50 份材料被划分为 6 个亚群,编号为 1、2、3、6、11、18、7、9、10、8、12、13、4、5、21 的材料属于第Ⅰ亚类,除了编号为 18、21 的材料外,其余材料均来自江苏省水生作物资源圃;编号为 25、27、28、

33、34、29、30、50 等材料属于第Ⅱ亚类,其中多数材料的来源地均为安徽省合肥市的不同区域;编号为 14、19、20、22 的材料属于第Ⅲ亚类,其中编号为 19、20 的材料的来源地为安徽省舒城县农业科学研究所;编号为 23、17、16 的材料分别属于第Ⅳ、Ⅴ、Ⅵ亚类。综上所述,用 33 对引物可以将取自不同地区的水芹材料完全区分开。通过 UPGMA 聚类图可以明确不同地区的水芹材料与已知水芹材料间的亲缘关系,此外还可以发现,来自相同区域的多数水芹材料被聚类在一起,表明水芹群体中遗传差异与地理来源间的关系较为密切。

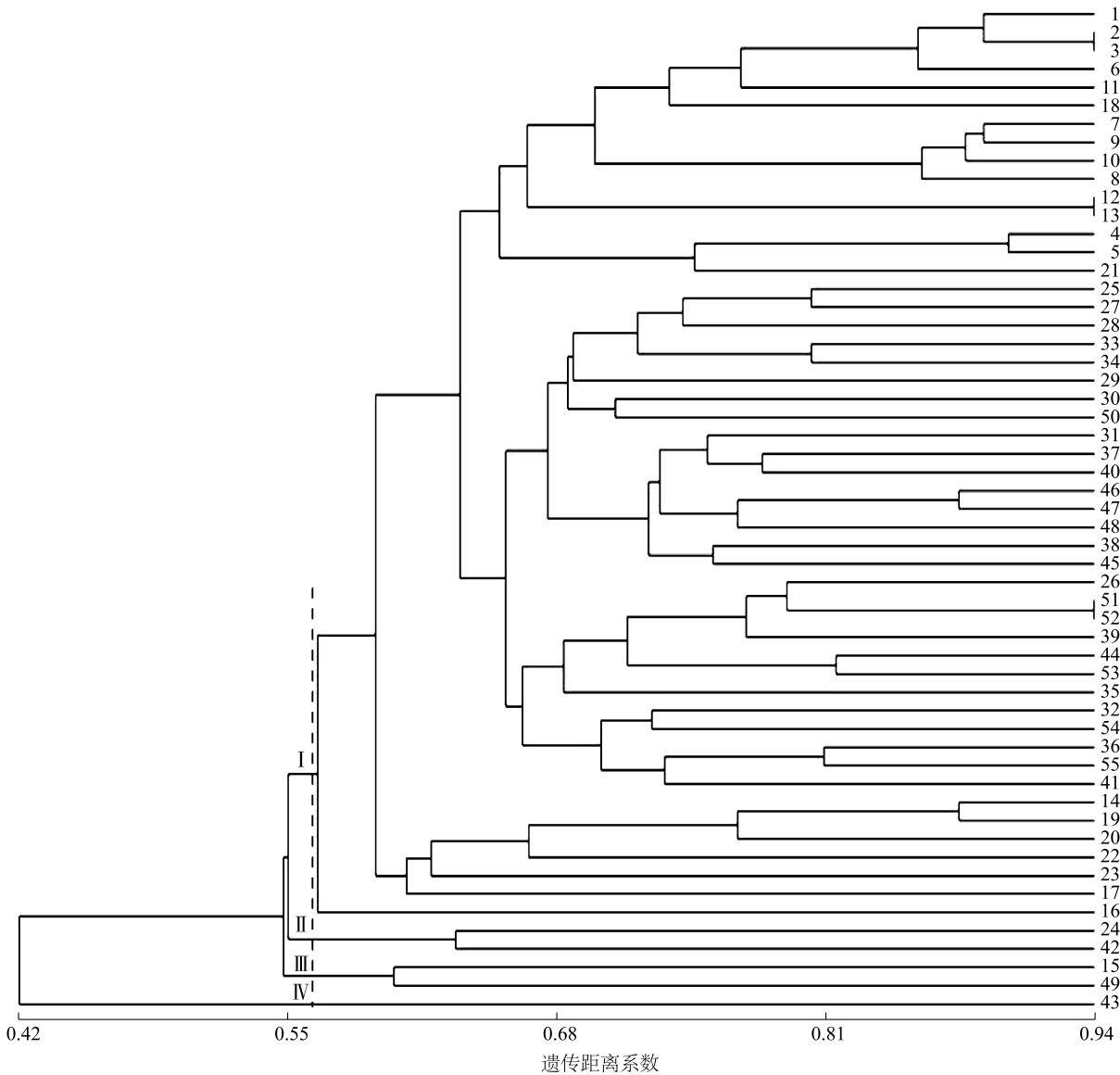


图 2 55 份水芹材料非加权组平均法 (UPGMA) 结果  
Fig.2 Unweighted pair group method with arithmetic means (UPGMA) clustering analysis of 55 water dropwort samples

## 2.6 DNA 指纹图谱构建

用 33 对多态性引物得到扩增结果后,从上往下读取条带,有条带的记为 1,无条带的记为 0,缺失条带的记为 9,准确读出条带数据。通过在线工具(<http://cloud.genepioneer.com>; 9929) 计算最小标记组合。结果表明,最少可用 4 对引物(Oj-084、Oj-110、Oj-112、Oj-156)将 55 份水芹材料完全区分开,其中引物 Oj-112 的多态性位点数达 12 个。根据上述 4 对引物的条带数据,以十进制数字构建 55 份水芹材料的 DNA 指纹图谱(表 6)。

## 3 讨论与结论

近年来,随着分子标记技术的发展,DNA 指纹技术在农作物品种鉴定领域的优势与潜力越发明显<sup>[29-31]</sup>,并且弥补了形态学鉴定的不足而成为品种鉴定的重要方法。SSR 分子标记被认为是研究植物遗传多样性较有效的标记<sup>[32]</sup>,在水稻<sup>[33]</sup>、小麦<sup>[34]</sup>、玉米<sup>[35]</sup>及伞形科植物如芹菜<sup>[36]</sup>、胡萝卜<sup>[37]</sup>等作物上均有应用。中国水芹种质资源丰富,分布较广,为了充分利用水芹种质资源,就需要对水芹种质资源的遗传多样性进行全面分析。本研究首次基于溧阳白芹基因组数据挖掘 SSR 位点,随机抽取并合成 160 对引物进行筛选,利用筛选到的 33 对 SSR 引物对 55 份水芹材料进行遗传多样性分析,为水芹种质资源遗传鉴定奠定了基础。

基于溧阳白芹基因组数据,本研究共得到 1 112 种类型的 SSR,其中二核苷酸重复单元占比最高,达到 54.62%。Feng 等<sup>[38]</sup>构建了水芹长/短读转录组,从 57 743 个非冗余高质量转录本中鉴定出 28 514 个 SSR,且单核苷酸重复序列是最丰富的 SSR。本研究结果则显示,二核苷酸重复序列是最丰富的类型。在重复单元类型中,(AT/AT)<sub>n</sub>重复基序类型最丰富,约占总 SSR 位点数的 35.70%;其次是 A/T 重复基序,约占总 SSR 位点数的 29.98%,说明溧阳白芹基因组中富含 A、T 碱基,这与对苦荞<sup>[24]</sup>、芹菜<sup>[39]</sup>等植物中 SSR 基序的研究结果一致。

目前,SSR 分子标记被广泛应用于种质资源亲缘关系区分、品种鉴定及遗传多样性分析<sup>[32]</sup>,本研究开发的 33 对多态性 SSR 引物( $PIC > 0.250$ )可用于 55 份水芹材料的遗传多样性分析,且本研究共检测出 164 个等位基因,遗传距离系数为 0.42~0.95,平均遗传距离系数为 0.68。由 UPGMA 聚类分析结

表 6 55 份水芹材料的指纹图谱

Table 6 Fingerprints of 55 water dropwort samples

序号	材料编号	指纹图谱
1	SQ008	00100000010010000010100001
2	SQ009	00010000010010000010100011
3	SQ012	00100000100010000010100011
4	SQ014	00100100000010000010100001
5	SQ015	00101000000100000010100001
6	SQ019	00100000100010000010100101
7	SQ020	00100001000100001010000010
8	SQ021	00100001000010001010000010
9	SQ022	00100010000100001010000010
10	SQ024	00100100000100001010000010
11	SQ026	01000000100010000010100101
12	FQ1H	01000000000100000010000010
13	YZCBQ	01000000000010000010000010
14	TC-FG	00100000000010009999991001
15	SC2H	00100000000010001000000011
16	JZ-XHD	01000000010010000100000010
17	LA-JZ	00100000000100001010000110
18	HF-LYDQ	11000001000010000011000110
19	SC1H	00100000000100009999991001
20	EQ1H	00100000001000001000001001
21	TC-WC	00010010000010000010100100
22	CZ-LCC	00100000000101000011000010
23	CZ-JC	00100000000000010000010011
24	SC-LJLZ	01000000000100109999990010
25	LJ-MD1H	00100010000010000010000010
26	LJ-MD2H	00100000001000000100001001
27	LJ-MD3H	01100001000010000010000010
28	LJ-MD4H	11000000010010000010001000
29	LA-SC	01000000000010000001000110
30	AQ-YX1H	01000100000100000000011010
31	XC-WXX	000100010000100000001000100
32	WH-WW	00100000100010000010001000
33	TL-ZY	01000000100010001000101100
34	TL-TC	01000010100000000010101100
35	HQ1H	01000010001000000000100101
36	HQ2H	001000001000000000001001000
37	BH-XY	001000001001000000001100100
38	LJ-WJZ	000100010010000000001000010
39	LJ-HG	00100000010000000110001001
40	LJ-XY	00101001000000000010100010
41	LJ-DY	00110001000000000100001000
42	HQ3H	00010000000100009999990011
43	AQ-YX2H	9999999999999999999999999999
44	TL-ZT	00010000000100001000001001
45	CH-MS	10100001000100000010000100
46	QJ-CJJ	101000101000000000001000110
47	FT-GJ	101001010000000000001000110
48	QJ-XGZ	100100100001000000001000110
49	CZ-PLZ	100000001000000000001000100
50	ZJ-QZ	01000000100010000000101000
51	BH-ZJYZ	001000000001000000101001001
52	CZ-WJSQ	001000000001000000101001001
53	CZ-JJQ	00100000000100000101001001
54	WX-NR	00010000100010000010001010
55	BH-JSYZ	01100000100010000010001000

果可知,当遗传距离系数为 0.56 时,55 份水芹材料可聚为Ⅳ组,其中Ⅰ组有 50 份材料,且 6 份属于已知水芹材料,说明第Ⅰ组 50 份水芹材料间的亲缘关系较近;位于第Ⅱ组的 24 号(舒城县张母桥镇)和 42 号(合肥市庐阳区淝河西)以及第Ⅲ组的 15 号(舒城县农业科学研究所)和 49 号(池州市牌楼镇)水芹材料之间的亲缘关系较近;遗传差异最大的是位于第Ⅳ组来自安庆市的水芹材料。对聚类结果进一步分析可知,本研究所用水芹材料的遗传背景较为单一,多数来源于相同区域的材料被聚集在一起,可能由于地区之间引种频繁,基因交流密切,导致水芹的遗传多样性降低。因此,为了改善水芹遗传背景的狭隘性,应该开发更多分子标记,对水芹种质资源进行鉴定与保护,并加大种质创新、品种改良的力度。

中国水芹资源分布较广,品种差异较大。水芹主要是按地域命名,由于各地间相互引种,导致水芹同种异名和同名异种的现象普遍存在。目前,有关水芹种质资源的研究相对较少,赵书花<sup>[19]</sup>利用 RAPD 标记对 20 份水芹材料进行了聚类分析,认为地理因素对水芹品种的影响很大,但是也有来自不同地区水芹材料间的遗传距离相近,这与本研究 UPGMA 聚类分析结果一致。本研究以最少的 4 对引物(Oj-084、Oj-110、Oj-112、Oj-156)将 55 份水芹材料完全区分开,并根据这 4 对引物的条带数据,用十进制数字构建了 55 份水芹材料的 DNA 指纹图谱。

综上所述,本研究利用水芹全基因组开发了 33 对高多态性 SSR 分子标记,并用这些标记成功鉴定 6 份已知水芹材料和 49 份来自不同地区的自然水芹材料,并对 55 份水芹材料进行遗传多样性分析和 DNA 指纹图谱构建。但是,水芹种质资源丰富,品种间的形态差异较大,加上各地的相互引种,使得水芹品种的命名比较混乱,还需要进一步对其遗传多样性进行分析,相关工作对于水芹种质资源的鉴定保护、利用和创新具有十分重要的意义,也可为水芹的分子育种提供重要理论参考。

#### 参考文献:

- [1] 赵有为. 中国水生蔬菜[M]. 北京:中国农业出版社,1999.
- [2] AI G, HUANG Z M, LIU Q C, et al. The protective effect of total phenolics from *Oenanthe javanica* on acute liver failure induced by D-galactosamine[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2016, 100(186):53-60.
- [3] CHAN E W C, WONG S K, CHAN H T. Ulam herbs of *Oenanthe javanica* and *Cosmos caudatus*: an overview on their medicinal properties[J]. Journal of Natural Remedies, 2017, 16(4):137.
- [4] WANG W N, YANG X B, LIU H Z, et al. Effect of *Oenanthe javanica* flavone on human and duck hepatitis B virus infection[J]. Acta Pharmacologica Sinica, 2005, 26(5):587-592.
- [5] 李 瑞,王 燕,李良俊. 水芹品质研究现状[J]. 长江蔬菜, 2017(22):27-31.
- [6] WEI R R, SANG Z P, MA Q G. A new geranylated lignan from *Oenanthe javanica* and anti-inflammatory activity[J]. Chemistry of Natural Compounds, 2022, 58(5):808-811.
- [7] JO B R, KIM H S, AHN J W, et al. A novel antiviral protein derived from *Oenanthe javanica*: type I interferon-dependent antiviral signaling and its pharmacological potential[J]. Biomolecules, 2022, 12(6):835.
- [8] 尹渝来,孙芳芳,鲍忠洲,等. 不同的水芹栽培方法介绍[J]. 长江蔬菜, 2017(18):123-125.
- [9] 朱顺华,罗 庆,李梦瑶,等. 水芹雄性不育材料的鉴定及营养品质分析[J]. 植物科学学报, 2023, 41(3):343-348.
- [10] LU C L, LI X F. A review of *Oenanthe javanica* (blume) DC. as traditional medicinal plant and its therapeutic potential[J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2019: 6495819. DOI:10.1155/2019/6495819.
- [11] 吕 艳. 湿栽水芹遮光软化栽培关键技术研究[D]. 扬州:扬州大学, 2022.
- [12] YAO D R, CHANG Y J, WANG W, et al. The safety of consuming water dropwort used to purify livestock wastewater considering accumulated antibiotics and antibiotic resistance genes[J]. Antibiotics, 2022, 11(4):428.
- [13] GAO J Q, LI Q, ZHANG J S, et al. Purification of micro-polluted lake water by biofortification of vertical subsurface flow constructed wetlands in low-temperature season[J]. Water, 2022, 14(6):896.
- [14] 欧开翔,谷荣辉. 水芹的化学成分、药理活性及其功能性食品研究进展[J]. 食品工业科技, 2022, 43(1):435-444.
- [15] 程 雷,崔明晓,刘可玉,等. 水芹多糖的提取及其对巨噬细胞 RAW<sub>264.7</sub>免疫活性的初步研究[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(6):79-85.
- [16] 袁 丽,陈 欣,周龙甫,等. 水芹提取物降低高尿酸血症大鼠血尿酸水平及机制研究[J]. 中国新药杂志, 2020, 29(22):2597-2604.
- [17] ZHANG Z, DONG H Z, YUAN M, et al. The complete chloroplast genome of *Oenanthe javanica*[J]. Mitochondrial DNA Part B-Resources, 2020, 5(3):3151-3153.
- [18] LIU J X, JIANG Q, TAO J P, et al. Integrative genome, transcriptome, microRNA, and degradome analysis of water dropwort (*Oenanthe javanica*) in response to water stress[J]. Horticulture Research, 2021, 8(1):262.
- [19] 赵书花. 水芹种质资源亲缘关系分析[D]. 扬州:扬州大学,

- 2010.
- [20] 傅 劭. 水芹种质资源的系统学及繁殖生态学研究[D]. 武汉:武汉大学,2015.
- [21] 王 月,刘 佳,陈 闽,等. 基于 *AOXI* 和 *MCM5* 基因水芹地方品种的遗传关系分析及‘玉祁红芹’ISSR-SCAR 标记建立[J]. 植物资源与环境学报,2021,30(4):50-59.
- [22] 马名川,刘龙龙,刘 璋,等. 苦荞全基因组 SSR 位点特征分析与分子标记开发[J]. 作物杂志,2021,37(1):38-46.
- [23] 杜 伟,王东航,侯思宇,等. 基于苦荞全长转录组测序开发 SSR 标记及遗传多样性分析[J]. 植物生理学报,2020,56(7):1432-1444.
- [24] 蔡齐宗,王佳蕊,陈庆富,等. 苦荞全基因组 SSR 位点鉴定及分子标记开发[J]. 河南农业大学学报,2022,56(3):392-400.
- [25] 杨梦婷,黄 洲,干建平,等. SSR 分子标记的研究进展[J]. 杭州师范大学学报(自然科学版),2019,18(4):429-436.
- [26] FANG X M, HUANG K H, NIE J, et al. Genome-wide mining, characterization, and development of microsatellite markers in Tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum* Garetn.) [J]. Euphytica, 2019,215(11):183.
- [27] 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.
- [28] CHEN C J, CHEN H, ZHANG Y, et al. TBtools: an integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data[J]. Molecular Plant, 2020,13(8):1194-1202.
- [29] 仇律雯,杨 扬,范亚明,等. 国家东南区鲜食糯玉米品质及农艺性状与 SSR 标记遗传多样性分析[J]. 江苏农业科学,2022,50(18):130-135.
- [30] 周彩霞,罗培四,孔方南,等. 木奶果种质资源的遗传多样性分析及 DNA 指纹图谱构建[J]. 南方农业学报,2022,53(5):1207-1215.
- [31] 陈翠萍,刘 洋. 基于 SSR 标记的藜麦种质资源遗传多样性分析与指纹图谱构建[J]. 江苏农业科学,2022,50(13):26-31.
- [32] 王凤格,田红丽,易红梅,等. 植物品种 DNA 指纹鉴定原理及其鉴定方案[J]. 分子植物育种,2018,16(14):4756-4766.
- [33] CHAKRAVARTHI B K, NARAVANENI R. SSR marker based DNA fingerprinting and diversity study in rice (*Oryza sativa*. L) [J]. African Journal of Biotechnology, 2006,5(9):684-688.
- [34] SALEHI M, ARZANI A, TALEBI M, et al. Genetic diversity of wheat wild relatives using SSR markers[J]. ABI Genetika, 2018, 50(1):131-141.
- [35] 王凤格,杨 扬,易红梅,等. 中国玉米审定品种标准 SSR 指纹库的构建[J]. 中国农业科学,2017,50(1):1-14.
- [36] 陈昌龙,董 岩,田 宇,等. 芹菜转录组数据 SSR 标记的开发及其遗传多样性分析[J]. 农业生物技术学报,2020,28(4):616-628.
- [37] 马振国,欧承刚,刘莉洁,等. 胡萝卜品种资源遗传多样性及亲缘关系研究[J]. 中国蔬菜,2015(11):28-34.
- [38] FENG K, KAN X Y, LI R, et al. Integrative analysis of long- and short-read transcriptomes identify the regulation of terpenoids biosynthesis under shading cultivation in *Oenanthe javanica* [J]. Frontiers in Genetics, 2022,13:813216.
- [39] FU N, WANG P Y, LIU X D, et al. Use of EST-SSR markers for evaluating genetic diversity and fingerprinting celery (*Apium graveolens* L.) cultivars[J]. Molecules, 2014,19(2):1939-1955.

(责任编辑:徐 艳)