

基于 SSR 标记的余甘子遗传多样性分析与核心种质构建

王建超, 张小艳, 张立杰, 李 韬, 谢丽雪*

(福建省农业科学院果树研究所, 福州 350013)

摘要:【目的】利用 SSR 分子标记开展余甘子遗传多样性分析和核心种质构建研究, 为余甘子种质资源保存、遗传育种和高效利用提供科学依据。【方法】利用余甘子 SSR 分子标记分析 192 份余甘子 (*Phyllanthus emblica* Linn.) 与 1 份近缘种小果叶下珠 (*P. reticulatus* Poir.) 的遗传多样性和亲缘关系; 从聚类方法、取样策略和取样比例筛选构建余甘子核心种质最佳方案, 并检验其有效性。【结果】10 对 SSR 引物在 193 个样本中共检测到 85 条多态性条带, 多态信息含量 0.77, 余甘子遗传距离范围 0~0.958 3, 余甘子种质资源间的遗传分化水平高, 多样性丰富。经聚类分析, 192 份余甘子可分为 3 个组别, 相同生态分布区的种质亲缘关系相对较近。筛选出构建余甘子核心种质最佳方案为 Jaccard 遗传距离+类平均法+优先取样策略+10%取样比例, 经检验, 构建出的初级核心种质既有效排除了原种质遗传冗余, 又确保了代表性和异质性。【结论】余甘子种质资源的遗传分化水平高, 遗传多样性丰富; 利用余甘子 SSR 多样性数据构建核心种质最佳方案为 Jaccard 遗传距离+类平均法+优先取样策略+10%取样比例, 构建包含 20 份余甘子的核心种质, 为种质资源收集保存及创新利用提供了科学依据。

关键词: 余甘子; 简单重复序列; 遗传多样性; 核心种质

中图分类号: S667.9

文献标志码: A

文章编号: 1009-9980(2025)08-1672-15

Genetic diversity analysis and core collection construction of *Phyllanthus emblica* based on SSR markers

WANG Jianchao, ZHANG Xiaoyan, ZHANG Lijie, LI Tao, XIE Lixue*

(Fruit Research Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350013, Fujian, China)

Abstract: 【Objective】The genetic diversity and core collection construction of *Phyllanthus emblica* were investigated using SSR molecular markers, in order to provide a scientific basis for preservation, genetic breeding and efficient utilization of the germplasm resources. 【Methods】The experimental materials were collected from *P. emblica* Germplasm Resource Sub-Center, National Tropical Plants Germplasm Resource Center. The genetic diversity and genetic relationship among 192 accessions of *P. emblica* and a related species *P. reticulatus* were analyzed using the previously developed SSR molecular markers. The primers used were 10 pairs of highly polymorphic primers screened in the previous study. Subsequently, based on the SSR molecular marker data, the best scheme for constructing the core collection of *P. emblica* was selected. The SM genetic distance, Jaccard genetic distance, and Nei & Li genetic distance were used to select the appropriate clustering method. The priority sampling strategy and random sampling strategy were evaluated. The core collection was constructed based on the sampling ratios of 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35% and 40%, and the optimal sampling ratio was screened. After the core collection was constructed, the differences of the genetic diversity parameters between the core collection and original collection were analyzed. Additionally, the principal component analysis was car-

收稿日期: 2025-02-19

接受日期: 2025-04-05

基金项目: 科技部、财政部国家科技资源共享服务平台 (NTPGRC2024-011); 福建省属公益类科研院所专项 (2022R1028004, 2024R1027002); 福建省人民政府与中国农业科学院农业高质量发展超越“5511”协同创新工程项目 (XTCXGC2021019-GSS01)

作者简介: 王建超, 男, 助理研究员, 博士, 研究方向为果树生理生化与资源保护利用。E-mail: 447327289@qq.com

*通信作者 Author for correspondence. E-mail: xielx_faas@126.com

ried out to evaluate the representativeness and heterogeneity of the core collection. **【Results】** A total of 85 polymorphic bands were detected in 193 samples by 10 pairs of SSR primers. The effective number of alleles (N_e) was 1.321 6, the heterozygosity (h) was 0.194 6, the Shannon's information index (I) was 0.325 7, the polymorphic information content (PIC) was 0.77, and the genetic distance of *P. emblica* ranged from 0 to 0.958 3, indicating a high level of genetic differentiation among *P. emblica* germplasm resources, significant genetic differences, and substantial genetic diversity. The genetic distance between No. 107 and No. 108 was 0, while the distances between No. 116 and No. 115 was 0.001, and the distance between No. 20 and No. 19 was 0.006, indicating that the genetic relationships among these groups were very similar, and the genetic variation were small. They might represent the same or similar germplasm, which could be further judged by the phenotypic analysis. The cluster analysis revealed that the 192 accessions of *P. emblica* were categorized into three groups. The first group, comprising 170 resources, was primarily sourced from Fujian, Guangdong and Guangxi. The second group included 21 resources from Yunnan and abroad, indicating that the germplasms in different ecological distribution areas were separated from each other, and the germplasms in the same ecological distribution area had relatively close genetic relationships. The third group was No. 158, a wild resource from Fujian, which was far from other resources. It could be used as a potential experimental material for the study of the origin and genetic evolution of *P. emblica*. The results of the PCA principal component analysis and UPGMA cluster analysis were consistent. The resources from different ecological distribution areas were separated from each other, and the genetic relationship of the resources in the same ecological distribution area was relatively close. The core collection of *P. emblica* was constructed using the optimal scheme of Jaccard genetic distance, class average method, and priority sampling strategy. The effective alleles (1.339 6), Nei's gene diversity index (0.2238) and Shannon's information index (0.363 7) of the core collection were the highest at a sampling ratio of 10 %, indicating that the genetic diversity of the core collection was well preserved at this ratio. The primary core collection containing 20 resources was constructed. The retention rates of polymorphic loci, percentage of polymorphic loci, alleles, effective alleles, Nei's gene diversity index and Shannon's information index were 95.25%, 95.29%, 97.65%, 102.70%, 112.41% and 110.48%, respectively, shown by inspecting the primary core collection. The effective alleles, Nei's gene diversity index and Shannon's information index were higher than those of the original germplasms and the reserved germplasms. The PCA score scatter plot, performed on the SSR molecular data of 20 core germplasms and 192 original germplasms of *P. emblica*, showed that the scatter distribution area and shape of the core germplasm had a high degree of coincidence with the scatter distribution area and shape of the original germplasms. The peripheral individuals were also selected into the core germplasms. This finding indicated that the core germplasm effectively eliminated genetic redundancy, thereby ensuring the representativeness and heterogeneity of the original germplasms. **【Conclusion】** The level of genetic differentiation among *P. emblica* germplasm resources was high, exhibiting a wide range of genetic variation and rich genetic diversity. The developed SSR molecular marker technology effectively captured the genetic differences and relationships within *P. emblica*, which would offer reliable tools and foundational data for the identification of *P. emblica* germplasm resources, core germplasm construction, and genetic breeding. The optimal scheme for constructing the core collection of *P. emblica* was determined to be the combination of Jaccard genetic distance, UPGMA clustering, a priority sampling strategy, and a 10% sampling ratio. Consequently, a core collection of 20 *P. emblica* was constructed to provide scientific basis for the collection, preservation and innovative utilization of germplasm resources.

Key words: *Phyllanthus emblica* Linn.; SSR; Genetic diversity analysis; Core collection

余甘子(*Phyllanthus emblica* L.)属大戟科(Euphorbiaceae)叶下珠属(*Phyllanthus*)多年生灌木或乔木^[1],是中国卫生部颁布的药食同源植物,也是世界卫生组织在全世界推广种植的3种保健植物之一^[2],并载入《中国药典》。现代药理学研究表明余甘子具有抗氧化、抗血脂异常、抗胆固醇、抗糖尿病、抗病毒、肝保护、心脏保护和抗腹泻等作用^[3-5]。中国余甘子分布于东经98.5~122.0°,北纬18.0~29.0°,包括福建、广东、云南、广西、四川、贵州、海南和台湾等省份的热带或亚热带区域^[1,6],种质资源储量十分丰富。遗传多样性研究是生物保护学的核心,也是植物遗传变异、品种选育和性状改良研究的基础^[7],中国余甘子分布区域广阔,野生资源丰富,表型性状复杂,遗传变异丰富,开展遗传多样性和核心种质研究对其资源保护、新品种创制和遗传改良具有重要意义。随着现代分子生物技术的发展,分子标记技术已广泛应用于植物遗传多样性的鉴定^[8]。目前,国内外学者先后利用少量余甘子种质资源开展了RAPD^[9-13]、SRAP^[14]和ISSR^[15-16]等DNA分子标记,但简单重复序列(SSR, simple sequence repeat)在余甘子种质资源的遗传多样性鉴定中鲜有报道,有较广阔的研究空间。SSR广泛存在于基因组序列中,具有重复性好、数量丰富、共显性和操作简单等特点,是开展遗传多样性研究的可靠工具。此外,利用分子标记数据开展余甘子核心种质构建研究亦未见报道。福建省农业科学院果树研究所建立了中国第一个国家级余甘子种质资源保护平台国家热带植物种质资源库-余甘子种质资源分库,收集保存了中国大部分地方品种和国内外重要的遗传材料,可为余甘子的遗传多样性和核心种质研究提供丰富研究材

料,为余甘子种质资源保护和优良种质筛选利用提供保障;前期项目组已开发余甘子SSR分子标记技术,筛选高多态性SSR引物10对,为余甘子遗传多样性研究奠定了基础^[17]。笔者在本研究中利用10对高多态性SSR引物,对193份国家热带植物种质资源库-余甘子种质资源分库保存的资源材料开展遗传多样性分析,明确余甘子的遗传差异程度和亲缘关系远近,并进一步利用SSR分子标记数据探讨余甘子核心种质的构建方法,为余甘子种质资源的保存、遗传育种和高效利用提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 植物材料

试验材料来源于国家热带植物种质资源库-余甘子种质资源分库(并被选认为福建省特色果树种质资源圃-余甘子圃)(图1)的192份余甘子和1份余甘子的近缘种材料小果叶下珠(*P. reticulatus* Poir.)(样品信息见表1,样品编号No. 1~No. 193)。国家热带植物种质资源库-余甘子种质资源分库地址位于福建省漳州市龙文区朝阳镇福建省农科院闽南分院(E: 119°19'59", N: 26°07'48", 海拔20 m),该地区属亚热带海洋性季风气候,平均气温21.4℃,平均降水量1453 mm,平均相对湿度82%,年平均日照2 185.2 h。于2022年4月采集193份种质资源的新鲜幼嫩叶片冷冻保存备用。

1.2 试验方法

1.2.1 DNA的提取与检测 提取余甘子基因组DNA参考CTAB法^[18]。选择DNA质量浓度为100~200 ng·μL⁻¹、A260/A280比值为1.8~2.2、1%琼脂糖凝胶电泳条带完整性较好的DNA样品,将DNA浓度



图1 国家热带植物种质资源库-余甘子种质资源分库俯视图与植株生长情况

Fig. 1 *Phyllanthus emblica* Germplasm Resource Sub-Center, National Tropical Plants Germplasm Resource Center top view and plant growth situation

表 1 样品信息

Table 1 The sample information

序号 No.	种质名称 Germplasm name	来源 Origin	序号 No.	种质名称 Germplasm name	来源 Origin
1	青皮实生 01 Qingpi seeding 01	广东 Guangdong	50	广东野生 16 Guangdong wild 16	广东 Guangdong
2	青皮 01 Qingpi 01	广东 Guangdong	51	广东野生 17 Guangdong wild 17	广东 Guangdong
3	广东野生 01 Guangdong wild 01	广东 Guangdong	52	福建野生 13 Fujian wild 13	福建 Fujian
4	青皮实生 02 Qingpi seeding 02	福建 Fujian	53	福建野生 14 Fujian wild 14	福建 Fujian
5	揭西种 01 Jiexizhong 01	广东 Guangdong	54	福建野生 15 Fujian wild 15	福建 Fujian
6	广东野生 02 Guangdong wild 02	广东 Guangdong	55	福建野生 16 Fujian wild 16	福建 Fujian
7	广东野生 03 Guangdong wild 03	广东 Guangdong	56	广东野生 18 Guangdong wild 18	广东 Guangdong
8	广东野生 04 Guangdong wild 04	广东 Guangdong	57	广玻甘 05 Guangbogan 05	广东 Guangdong
9	广东野生 05 Guangdong wild 05	广东 Guangdong	58	福诏野生 Fuzhao wild	福建 Fujian
10	广东野生 06 Guangdong wild 06	广东 Guangdong	59	福建野生 17 Fujian wild 17	福建 Fujian
11	广玻甘 01 Guangbogan 01	广东 Guangdong	60	福建野生 18 Fujian wild 18	福建 Fujian
12	广东野生 07 Guangdong wild 07	广东 Guangdong	61	甜甘实生 02 Tiangan seeding 02	福建 Fujian
13	广东野生 08 Guangdong wild 08	广东 Guangdong	62	甜甘实生 03 Tiangan seeding 03	福建 Fujian
14	福建野生 01 Fujian wild 01	福建 Fujian	63	福建野生 19 Fujian wild 19	福建 Fujian
15	甜甘 Tiangan	广东 Guangdong	64	广玻甘实生 01 Guangbogan seeding 01	福建 Fujian
16	甜种 01 Tianzhong 01	广东 Guangdong	65	甜种 03 Tianzhong 03	广东 Guangdong
17	饼甘 05 Binggan 05	广东 Guangdong	66	福建野生 20 Fujian wild 20	福建 Fujian
18	广东野生 09 Guangdong wild 09	广东 Guangdong	67	福建野生 21 Fujian wild 21	福建 Fujian
19	福建野生 02 Fujian wild 02	福建 Fujian	68	福建野生 22 Fujian wild 22	福建 Fujian
20	福建野生 03 Fujian wild 03	福建 Fujian	69	广玻甘 06 Guangbogan 06	广东 Guangdong
21	广东野生 10 Guangdong wild 10	广东 Guangdong	70	广玻甘实生 02 Guangbogan seeding 02	福建 Fujian
22	甜甘实生 01 Tiangan seeding 01	福建 Fujian	71	福建野生 23 Fujian wild 23	福建 Fujian
23	广东野生 11 Guangdong wild 11	广东 Guangdong	72	福建野生 24 Fujian wild 24	福建 Fujian
24	广东野生 12 Guangdong wild 12	广东 Guangdong	73	广东野生 19 Guangdong wild 19	广东 Guangdong
25	饼甘实生 01 Binggan seeding 01	福建 Fujian	74	福饼 5 号 Fubing 5 hao	福建 Fujian
26	广玻甘 02 Guangbogan 02	广东 Guangdong	75	广玻甘 07 Guangbogan 07	广东 Guangdong
27	广玻甘 03 Guangbogan 03	广东 Guangdong	76	广玻甘实生 03 Guangbogan seeding 03	福建 Fujian
28	福建野生 04 Fujian wild 04	福建 Fujian	77	饼甘 02 Binggan 02	广东 Guangdong
29	饼甘 01 Binggan 01	广东 Guangdong	78	福建野生 25 Fujian wild 25	福建 Fujian
30	赤皮 Chipi	广东 Guangdong	79	福建野生 26 Fujian wild 26	福建 Fujian
31	青皮 02 Qingpi 02	广东 Guangdong	80	福建野生 27 Fujian wild 27	福建 Fujian
32	特甜 Tetian	广东 Guangdong	81	狮头 01 Shitou 01	广东 Guangdong
33	福建野生 05 Fujian wild 05	福建 Fujian	82	福建野生 28 Fujian wild 28	福建 Fujian
34	福建野生 06 Fujian wild 06	福建 Fujian	83	福建野生 29 Fujian wild 29	福建 Fujian
35	福建野生 07 Fujian wild 07	福建 Fujian	84	福建野生 30 Fujian wild 30	福建 Fujian
36	青皮 03 Qingpi 03	广东 Guangdong	85	福建野生 31 Fujian wild 31	福建 Fujian
37	广东野生 13 Guangdong wild 13	广东 Guangdong	86	福建野生 32 Fujian wild 32	福建 Fujian
38	福建野生 08 Fujian wild 08	福建 Fujian	87	福建野生 33 Fujian wild 33	福建 Fujian
39	印引 01 India introduce 01	印度 India	88	泰引 01 Thailand introduce 01	泰国 Thailand
40	青皮实生 03 Qingpi seeding 03	福建 Fujian	89	福建野生 34 Fujian wild 34	福建 Fujian
41	广东野生 14 Guangdong wild 14	广东 Guangdong	90	甜种 04 Tianzhong 04	广东 Guangdong
42	甜种 02 Tianzhong 02	广东 Guangdong	91	缅引 01 Myanmar introduce 01	缅甸 Myanmar
43	福建野生 09 Fujian wild 09	福建 Fujian	92	福建野生 35 Fujian wild 35	福建 Fujian
44	广东野生 15 Guangdong wild 15	广东 Guangdong	93	大玉子 Dayuzi	广西 Guangxi
45	福建野生 10 Fujian wild 10	福建 Fujian	94	福莆 1 号 Fupu 1 hao	福建 Fujian
46	广玻甘 04 Guangbogan 04	广东 Guangdong	95	福建野生 36 Fujian wild 36	福建 Fujian
47	福建野生 11 Fujian wild 11	福建 Fujian	96	福建野生 37 Fujian wild 37	福建 Fujian
48	福建野生 12 Fujian wild 12	福建 Fujian	97	广玻甘 08 Guangbogan 08	广东 Guangdong
49	青皮 04 Qingpi 04	广东 Guangdong	98	福建野生 38 Fujian wild 38	福建 Fujian

表 1 (续) Table 1 (Continued)

序号 No.	种质名称 Germplasm name	来源 Origin	序号 No.	种质名称 Germplasm name	来源 Origin
99	福建野生 39 Fujian wild 39	福建 Fujian	147	福建野生 64 Fujian wild 64	福建 Fujian
100	福建野生 40 Fujian wild 40	福建 Fujian	148	青皮 07 Qingpi 07	广东 Guangdong
101	福建野生 41 Fujian wild 41	福建 Fujian	149	福建野生 65 Fujian wild 65	福建 Fujian
102	缅引 02 Myanmar introduce 02	缅甸 Myanmar	150	福建野生 66 Fujian wild 66	福建 Fujian
103	福建野生 42 Fujian wild 42	福建 Fujian	151	红果实生 01 Red fruit seeding 01	云南 Yunnan
104	缅引 03 Myanmar introduce 03	缅甸 Myanmar	152	秋白 02 Qiubai 02	福建 Fujian
105	广东野生 20 Guangdong wild 20	广东 Guangdong	153	六月白 Liuyuebai	福建 Fujian
106	福建野生 43 Fujian wild 43	福建 Fujian	154	福建野生 67 Fujian wild 67	福建 Fujian
107	甜种 05 Tianzhong 05	广东 Guangdong	155	饼甘 04 Binggan 04	广东 Guangdong
108	甜种 06 Tianzhong 06	广东 Guangdong	156	福建野生 68 Fujian wild 68	福建 Fujian
109	福建野生 44 Fujian wild 44	福建 Fujian	157	福建野生 69 Fujian wild 69	福建 Fujian
110	福建野生 45 Fujian wild 45	福建 Fujian	158	福建野生 70 Fujian wild 70	福建 Fujian
111	缅引 04 Myanmar introduce 04	缅甸 Myanmar	159	缅引 08 Myanmar introduce 08	缅甸 Myanmar
112	缅引 05 Myanmar introduce 05	缅甸 Myanmar	160	扁甘 02 Biangan 02	福建 Fujian
113	福建野生 46 Fujian wild 46	福建 Fujian	161	福建野生 71 Fujian wild 71	福建 Fujian
114	福建野生 47 Fujian wild 47	福建 Fujian	162	福建野生 72 Fujian wild 72	福建 Fujian
115	缅引 06 Myanmar introduce 06	缅甸 Myanmar	163	甜种 10 Tianzhong 10	广东 Guangdong
116	缅引 07 Myanmar introduce 07	缅甸 Myanmar	164	福建野生 73 Fujian wild 73	福建 Fujian
117	广东野生 21 Guangdong wild 21	广东 Guangdong	165	福建野生 74 Fujian wild 74	福建 Fujian
118	甜种 07 Tianzhong 07	广东 Guangdong	166	云南野生 01 Yunnan wild 01	云南 Yunnan
119	福建野生 48 Fujian wild 48	福建 Fujian	167	云南野生 02 Yunnan wild 02	云南 Yunnan
120	福建野生 49 Fujian wild 49	福建 Fujian	168	盈玉 Yingyu	云南 Yunnan
121	甜种 08 Tianzhong 08	广东 Guangdong	169	福建野生 75 Fujian wild 75	福建 Fujian
122	福建野生 50 Fujian wild 50	福建 Fujian	170	福建野生 76 Fujian wild 76	福建 Fujian
123	福建野生 51 Fujian wild 51	福建 Fujian	171	福建野生 77 Fujian wild 77	福建 Fujian
124	福建野生 52 Fujian wild 52	福建 Fujian	172	小果叶下珠 <i>P. reticulatus</i>	泰国 Thailand
125	福建野生 53 Fujian wild 53	福建 Fujian	173	印引 02 India introduce 02	印度 India
126	青皮 05 Qingpi 05	广东 Guangdong	174	泰引 02 Thailand introduce 02	泰国 Thailand
127	福建野生 54 Fujian wild 54	福建 Fujian	175	福建野生 78 Fujian wild 78	福建 Fujian
128	福建野生 55 Fujian wild 55	福建 Fujian	176	饼甘实生 03 Binggan seeding 03	福建 Fujian
129	福建野生 56 Fujian wild 56	福建 Fujian	177	红河野生 02 Honghe wild 02	云南 Yunnan
130	甜种 09 Tianzhong 09	广东 Guangdong	178	红果实生 02 Red fruit seeding 02	云南 Yunnan
131	福建野生 57 Fujian wild 57	福建 Fujian	179	云南野生 03 Yunnan wild 03	云南 Yunnan
132	福建野生 58 Fujian wild 58	福建 Fujian	180	云南野生 04 Yunnan wild 04	云南 Yunnan
133	青皮 06 Qingpi 06	广东 Guangdong	181	云南大果 Yunnan Daguo	云南 Yunnan
134	福仙野生 Fuxian wild	福建 Fujian	182	福建野生 79 Fujian wild 79	福建 Fujian
135	秋白 01 Qiubai 01	福建 Fujian	183	狮头 02 Shitou 02	广东 Guangdong
136	扁甘 01 Biangan 01	福建 Fujian	184	玻璃种 Bolizhong	广东 Guangdong
137	福建野生 59 Fujian wild 59	福建 Fujian	185	土尖 Tujian	广东 Guangdong
138	饼甘 03 Binggan 03	广东 Guangdong	186	土饼 Tubing	广东 Guangdong
139	饼甘实生 02 Binggan seeding 02	福建 Fujian	187	尖屁股 Jianpigu	广东 Guangdong
140	福建野生 60 Fujian wild 60	福建 Fujian	188	缅引 09 Myanmar introduce 09	缅甸 Myanmar
141	福建野生 61 Fujian wild 61	福建 Fujian	189	广大甘 Guangdagan	广东 Guangdong
142	福建野生 62 Fujian wild 62	福建 Fujian	190	糯橄榄 Nuoganlan	云南 Yunnan
143	粉甘 Fengan	福建 Fujian	191	福建野生 80 Fujian wild 80	福建 Fujian
144	蓝丰 Lanfeng	福建 Fujian	192	广玻甘实生 04 Guangbogan seeding 04	福建 Fujian
145	枣甘 Zaogan	福建 Fujian	193	广西野生 Guangxi wild	广西 Guangxi
146	福建野生 63 Fujian wild 63	福建 Fujian			

稀释为 20 ng·μL⁻¹, -20 °C 保存。

1.2.2 PCR 扩增体系及程序 PCR 反应体系为 20 μL: 上、下游引物各 0.4 μL, DNA 模板 (20 ng·μL⁻¹) 1 μL, 10×Buffer 2 μL, dNTPs 1.6 μL, Easy Taq DNA Polymerase 0.2 μL, 用 ddH₂O 补足至 20 μL。PCR 扩增程序: 95 °C 预变性 5 min; 94 °C 变性 45 s, 55 °C 退火 1 min, 72 °C 延伸 1 min, 30 个循环; 最后 72 °C 延伸 1 min。

1.2.3 8% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳与银染 8% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳参考周雨晴等^[19]的方法。电泳结束后, 将做好标记的凝胶放入装有超纯水的保鲜盒中清洗, 微沥干水分; 加入 500 mL 银染液, 置于脱色摇床摇动 15 min 后, 超纯水漂洗并微沥干水分; 加入 500 mL 显色液置于脱色摇床直至显示出清晰的条带, 用超纯水漂洗后, 凝胶平铺于灯箱观测拍照。

1.2.4 余甘子遗传多样性分析 使用项目组前期筛选出的 10 对高多态性 SSR 引物 (表 2) 分别对 193 份样品进行 PCR 扩增, 扩增产物于 8% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳, 银染显色后拍照, 对不同引物电泳条带赋值后进行遗传多样性分析。

1.2.5 核心种质构建 根据 SSR 分子标记数据, 在

表 2 10 对多态性 SSR 引物信息

Table 2 10 Pairs of polymorphic SSR primer information

引物编号 Primer number	重复基元 Repeat motif	正向引物序列 Positive primer sequence (5'-3')	反向引物序列 Reverse primer sequence (5'-3')	产物长度 Product length/bp
PE1	(TCCCT)5	AGAAGAAGACAGCGACCAAA	GGAGATTAGGTGGCGGGATG	236
PE2	(GAAAA)6	TTGATTGTTCTGTTGGTCGGC	AGAAGGGAAAAGTTGGGACGA	238
PE3	(TTC)11	AGTCTGCCATCCGATGAAGC	GCCTCTGGCCTTAAACCTGA	127
PE4	(CT)21	CGAAGCAATTGCCCAAACCT	GGGGCAAAGAAGTTCCTGA	254
PE5	(AG)25	ACGGAGAGGGAACACAAACC	TGAGGGTCAAAAAGGGTTCTCA	255
PE6	(AG)17	ATATGATGGCCACCGTCACC	AGGTGTCTCTCTTGGACTCA	237
PE7	(AG)22	GCAGCAAAGAGAGCTTCTTCA	GAGGTTGTAAGAGGGGCTTGT	270
PE8	(TC)20	AGCACTACACCAACCTTCT	GTGGCGGTCTATGGTTTTC	265
PE9	(CT)21	TGGTTGTAGCGAACATGCTG	CAGCACAACAAGAGGCCAAC	137
PE10	(CT)20	GCCACTTGAAAAGGTGAAGCA	GAGGACGATGTGGAGTTCCC	186

25% 的取样比例下构建初级核心种质, 对聚类方法、取样策略和取样比例方法进行筛选。

(1) 合理聚类方法的选择。分别采用 SM 遗传距离、Jaccard 遗传距离和 Nei&Li 遗传距离进行类平均法 (UPGMA) 聚类。

(2) 合理取样策略的选择。优先取样策略: 在不同构建方法的逐步聚类图中, 最先聚在一起的各组株系, 优先选择具有多态位点数较多的株系进入下一轮聚类, 若各组的 2 个株系多态位点数目相等, 则随机选择株系进入下一轮聚类, 若某个组内只有一个株系, 则直接抽取, 直至最终抽取的材料数量达到核心种质取样比例标准。

随机取样策略: 在不同构建方法的逐步聚类图中, 最先聚在一起的各组株系, 随机选择某个株系进入下一轮聚类, 若某个组内只有一个株系, 则直接被选择进入下一轮聚类, 直至最终抽取的材料数量达到核心种质取样比例标准。

(3) 合理取样比例的选择。应用筛选的最佳构建方案, 分别按照 10%、15%、20%、25%、30%、35% 和 40% 的取样比例构建出 7 个核心种质组合。

(4) 评价。筛选出核心种质后, 分析核心种质与原始种质遗传多样性各参数的差异^[20], 并进行主成分分析, 评价核心种质的代表性和异质性。

1.3 数据统计

根据 PCR 扩增结果, 记录目标范围内扩增的条带, 同一水平上可清晰分辨条带记“1”, 无条带或不易分辨记“0”, Microsoft Excel 2016 软件记录。利用 POPGENE 32 计算等位基因数 (N_a)、有效等位基因数 (N_e)、杂合度 (h) 和香农信息指数 (I) 等遗传多样性参数; 利用 PIC-CAL 软件计算每对引物的多态性信息量 (PIC, polymorphism information content)。利用 DPS 7.05 多元分析系统的“0~1 系统聚类”模块计算获得各样品之间的遗传距离; 利用 MEGA 6.4 采用 UPGMA 法进行聚类分析并绘制聚类环形图。核心种质构建中 t 检验、数据标准化和主成分分析利用 SPSS 27.0, 主成分得分图根据主成分分析结果应用

OriginPro 2022 绘制。

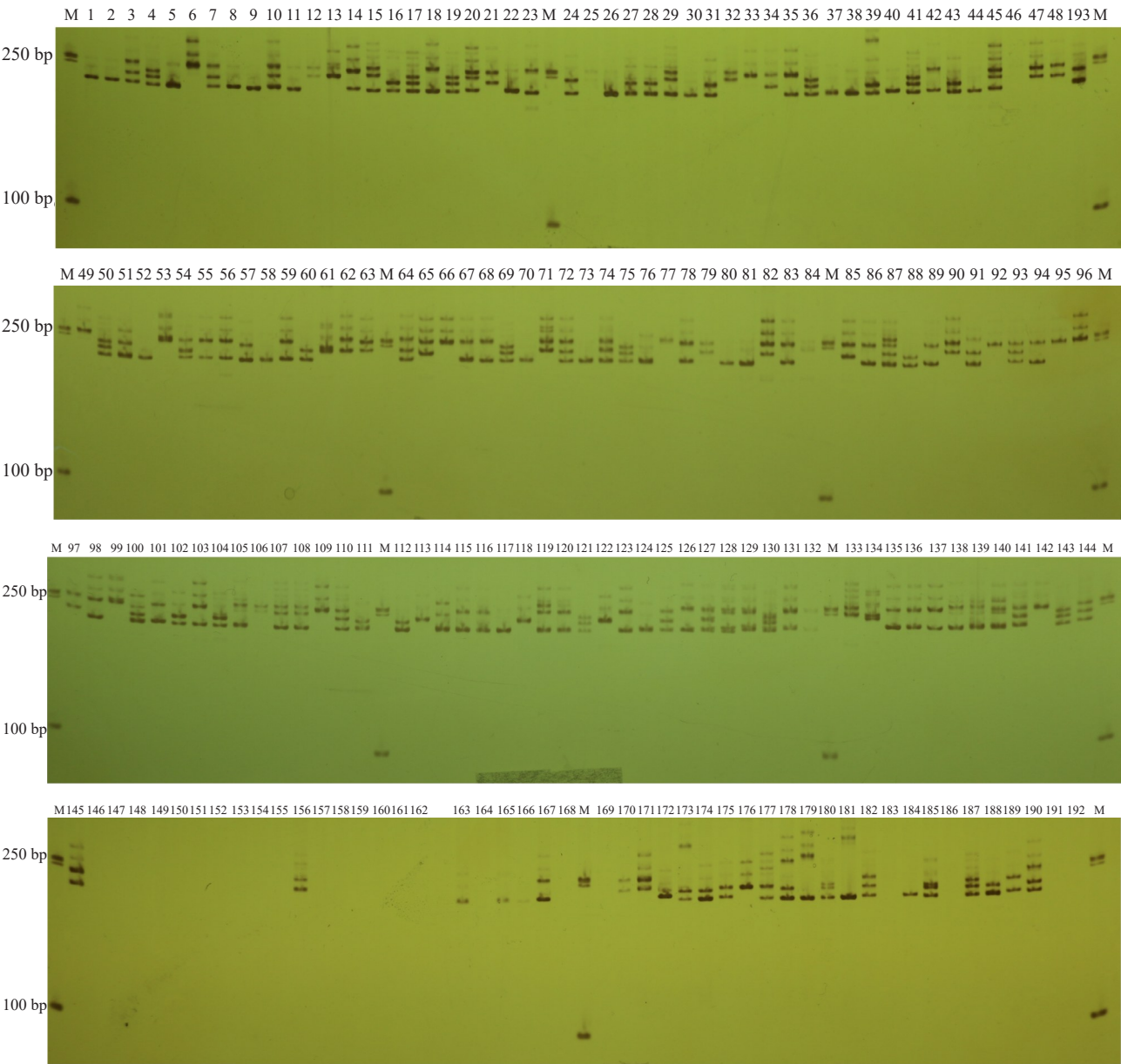
2 结果与分析

2.1 余甘子种质资源遗传多样性分析

10 对引物在 193 个样本中共检测到 85 条多态性条带(目标区域内),平均每条引物扩增 8.5 条,多态性为 100%,部分引物(PE8)对 193 份材料的扩增结果见图 2。遗传多样性相关参数可知(表 3),有效等位基因数(N_e)变化范围为 1.091 0(PE4)~1.696 5

(PE1),平均值为 1.321 6,有效率为 65.63%。杂合度(h)变化范围为 0.083 0(PE4)~0.373 8(PE1),平均值为 0.194 6。香农信息指数(I)变化范围为 0.177 5(PE4)~0.535 1(PE1),平均值为 0.325 7。多态信息含量(PIC)变化范围为 0.69(PE2 和 PE3)~0.87(PE7),平均值为 0.77;10 对引物的 PIC 均大于 0.5,表明 10 条引物的多态位点均为高度多态性,标记提供的信息合理,表现丰富的遗传多样性。

利用 10 对 SSR 引物扩增样品,根据电泳结果,



图中仅展示目标区域条带,1~193 对应样品编号 No. 1~No. 193,M 为 DNA Marker。

Only the bands in the target area were shown in the figure, and the corresponding samples from 1 to 193 were numbered No. 1-No. 193, and M was DNA Marker.

图 2 引物 PE8 对 193 份样品的扩增结果

Fig. 2 The amplification results of primers PE8 in 193 samples

表 3 10 对 SSR 引物在 193 个样本中的多样性参数

Table 3 Genetic diversity parameters of 10 pairs of SSR markers in 193 samples

引物编号 Primer number	条带数 Band numbers	多态性条带 Polymorphic bands	等位基因数 N_a Number of alleles	有效等位基因数 N_e Number of effective alleles	杂合度 h Heterozygosity	香农信息指数 I Shannon's information index	多态性信息量(PIC) Polymorphism information content
PE1	5	5	2	1.696 5	0.373 8	0.535 1	0.82
PE2	5	5	2	1.539 7	0.212 7	0.331 2	0.69
PE3	6	6	2	1.161 4	0.104 9	0.217 6	0.69
PE4	5	5	2	1.091 0	0.083 0	0.177 5	0.70
PE5	13	13	2	1.280 7	0.187 5	0.309 3	0.76
PE6	10	10	2	1.334 0	0.221 1	0.392 4	0.84
PE7	12	12	2	1.263 3	0.187 6	0.324 1	0.87
PE8	9	9	2	1.292 2	0.197 9	0.331 5	0.81
PE9	8	8	2	1.304 7	0.208 1	0.350 3	0.75
PE10	12	12	2	1.252 2	0.168 9	0.288 4	0.82
平均值 Mean	8.5	8.5	2	1.321 6	0.194 6	0.325 7	0.77

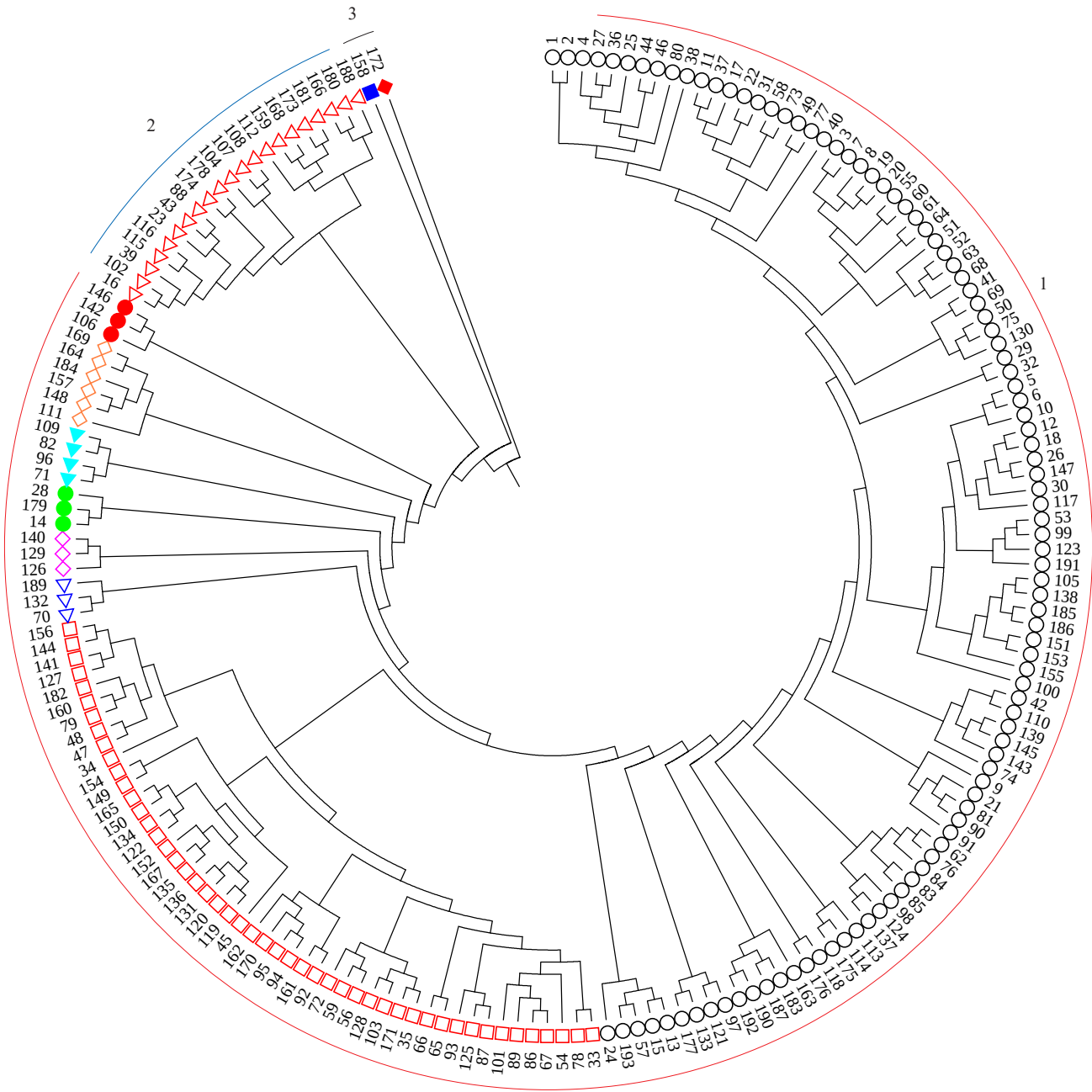
计算 193 份样品间的 Nei & Li 遗传距离,结果表明,192 份余甘子种质资源的变异范围为 0~0.958 3,表明余甘子种质资源间的遗传分化水平高,遗传变异范围大,遗传差异显著,多样性丰富。No. 107 与 No. 108 的遗传距离为 0,种质间差异为 0,结合表型可进一步判定是否为同种;No. 116 和 No. 115 遗传距离为 0.001, No. 20 和 No. 19 遗传距离为 0.006,表明这几组种质的亲缘关系非常相近,样品间的遗传变异小,可能为相同或相近种质;遗传距离较大的有 No. 158 与 No. 23(0.958 3)、No. 158 与 No. 39(0.957 4)、No. 188 与 No. 149(0.944 4)、No. 159 与 No. 121(0.904 8)说明这几份种质的亲缘关系较远;近缘种 No. 172 与 192 份余甘子种质资源的遗传距离范围为 0.818 2~1,与 No. 190(广大甘,广东)亲缘关系最近;193 份种质中近缘种 No. 172 与 66 份余甘子种质的遗传距离为 1,其中来源福建和广东的种质占 96.97%。

2.2 聚类分析

193 份样品的 UPGWA 聚类结果见图 3,除近缘种 No. 172 单独聚类外,其余 192 份在遗传距离为 0.6 可分为 3 个组别,第 1 组主要为福建、广东和广西等来源地的地方品种和野生种质(170 份),该区域同属相似的湿润区生态条件,最先聚在一起;第 2 组为云南种质和境外种质(21 份),同属相似的干热区生态条件,与前期表型遗传多样性研究的聚类结果一致,该区域种质表现结果枝上叶片数量多,叶面积和周长小等特点^[17];第 3 组为来自福建的 No. 158 野生种质,该种质与其他种质亲缘关系均较远,可作为

对开展余甘子起源和遗传基因历史演变等研究潜在试验材料。

根据聚类图,第 1 组别 170 份资源又可分为 8 个亚类。第 1 亚类聚集了 99 份样品,主要为来源广东(54 份)和福建(40 份)的种质,种质类型以地方品种(系)和野生种质为主,广东的甜种、青皮、狮头和饼甘等,福建的粉甘和六月白等品系在此聚类,此外还有两地的野生种质,表明生态环境相似、地理来源相近地区的余甘子种质资源遗传关系较近,存在频繁基因交流。第 2 亚类聚集了 49 份样品,主要是来源福建的野生资源和地方品种(系),占 93.88%,包括蓝丰、秋白和扁甘等地方品种(系),表明在此聚类的福建野生资源和主要的地方品种遗传差异较小、亲缘关系较近,福建地区种质表现出一定的地理区域特性。第 3 亚类聚集了 3 份样品,其中 No. 70 和 No. 132 均为福建种, No. 70 是广玻甘的实生后代与 No. 132 遗传差异较小,遗传距离为 0.379 3。第 4 亚类聚集了 3 份样品,分别为福建野生资源 2 份和广东地方品系青皮 05,3 份种质遗传差异较小,遗传距离为 0.404 3~0.647 1。第 5 亚类聚集了 3 份样品,遗传距离为 0.476 2~0.523 8,其中包括 2 份福建野生种和 1 份云南野生种,表明在漫长的自然环境发展过程中,生态条件差异大的地区种质之间也可能存在基因的交流。第 6 亚类聚集了 4 份样品,均为福建的野生资源,相互之间的遗传距离为 0.404 3~0.523 8。第 7 亚类聚集了 6 份样品,其中来源广东的 No. 184 玻璃种与 No. 148 青皮 07 的遗传距离为 0.463 4,两个品系遗传信息相似度较高。第 8 亚类福建种质 3 份,分别



序号对应种质名称同表 1。下同。
The germplasm name corresponding to the number are same Table 1. The same below.

图 3 193 份样品的遗传聚类分析
Fig. 3 Genetic clustering map of 193 samples

为福建地方品系枣甘与 2 份野生种,遗传距离为 0.523 8~0.617 0。

2.3 主成分分析

根据 SSR 分子标记结果进行主成分分析,以 PC1 和 PC2 构建 193 份样品的二维主成分散点图(图 4)。图中样品位置近则亲缘关系近、位置远则亲缘关系远^[21],从 PCA 图中可以明显地看出,193 份

材料中第 2 组类别(云南及境外种质,图中圈内种质)与其他类别分开,其他类别含有不同地理来源的余甘子种质资源,PCA 主成分分析与 UPGMA 聚类分析结果较一致,不同生态分布区的种质相互分开,相同生态分布区的种质亲缘关系相对较近。

2.4 核心种质构建方法的确定

2.4.1 聚类方法与取样策略的确定 计算不同遗传

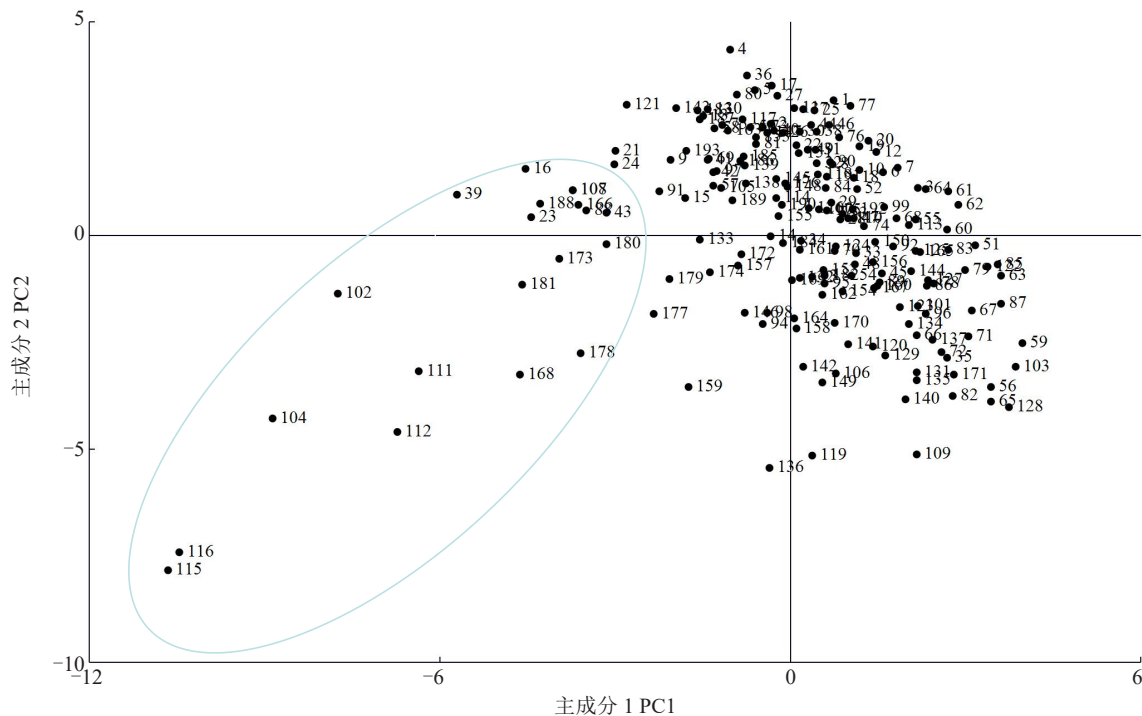


图 4 193 份样品主成分分析二维散点图

Fig. 4 Two-dimensional scatter plot of PCA of 193 samples

距离结合不同取样策略下核心种质与原种质遗传多样性参数差异(表4),结果表明,优先取样策略下,以3种遗传距离聚类时,SM遗传距离的多态位点、多态位点百分率和等位基因数均小于Jaccard和Nei & Li;以Nei & Li聚类时,其有效等位基因、Nei’s基因多样性指数和香农信息指数均小于Jaccard和SM;以Jaccard聚类的香农信息指数高于Nei&Li和SM。随机取样策略下,Jaccard和SM的多态位点、多态位点百分率、等位基因、有效等位基因、Nei’s基因多样性指数和香农信息指数均相同,且有效等位基因、Nei’s基因多样性指数和香农信息指数均高于Nei & Li遗传距离。综上所述,选择Jaccard遗传距离进行多次UPGMA聚类,取样策略则采用优先取

样策略。

2.4.2 取样比例确定 根据筛选出的最佳聚类 and 取样方案(Jaccard遗传距离UPWAG聚类,结合优先取样策略),以取样比例为10%、15%、20%、25%、30%、35%和40%共7个比例抽取核心种质,核心种质与原种质的评价参数见表5。结果可知,随着取样比例的增大,多态位点、多态位点百分率和等位基因数均呈增长趋势,多态位点81~85,多态位点百分率95.29%~100%,等位基因1.952 9~2.000 0。10%取样比例时,有效等位基因(1.339 6)、Nei’s基因多样性指数(0.223 8)和香农信息指数(0.363 7)均为最高,表明该比例下很好地保留原种质群体基因位点的情况下,较好地保留了遗传多样性,所以选择10%为最

表 4 不同构建方法核心种质与原种质的遗传参数差异比较

Table 4 Comparison of genetic parameter between core and original germplasm based on different construction methods							
遗传距离 Genetic distance	取样策略 Sampling strategy	多态位点 Polymorphic sites	多态位点百分率 Percentage of polymorphic sites/%	等位基因数 Number of alleles	有效等位基因数 Number of effective alleles	Nei’s基因多样性指数 Nei's gene diversity index	香农信息指数 Shannon's information index
Jaccard	优先Priority	84	98.82	1.988 2	1.331 0	0.214 9	0.350 8
	随机Random	83	97.65	1.976 5	1.335 6	0.215 2	0.348 8
SM	优先Priority	83	97.65	1.976 5	1.335 6	0.215 2	0.348 8
	随机Random	83	97.65	1.976 5	1.335 6	0.215 2	0.348 8
Nei & Li	优先Priority	84	98.82	1.988 2	1.325 8	0.212 0	0.346 2
	随机Random	84	98.82	1.988 2	1.302 2	0.200 8	0.332 4

表 5 不同取样比例下核心种质与原种质遗传参数差异比较

Table 5 Comparison of genetic parameter between core and original germplasm of different sampling ratios

取样比例 Sampling ratio/%	取样数量(真实比例) Sample amount (True proportion)	多态位点 Polymorphic sites	多态位点百分率 Percentage of polymorphic sites/%	等位基因数 Number of alleles	有效等位基因数 Number of effective alleles	Nei's 基因多样性指数 Nei 's gene diversity index	香农信息指数 Shannon 's information index
10	20(10.42%)	81	95.29	1.952 9	1.339 6	0.223 8	0.363 7
15	29(15.10%)	82	96.47	1.964 7	1.329 1	0.217 1	0.354 6
20	39(20.31%)	82	96.47	1.964 7	1.333 5	0.217 5	0.354 4
25	48(25.00%)	84	98.82	1.988 2	1.331 0	0.214 9	0.350 8
30	58(30.21%)	85	100.00	2.000 0	1.320 9	0.213 4	0.351 8
35	68(35.42%)	85	100.00	2.000 0	1.322 1	0.212 0	0.348 5
40	77(40.10%)	85	100.00	2.000 0	1.320 3	0.209 5	0.344 5

适取样比例(真实比例为 10.42%),最终构建包含 20 份余甘子种质资源的初级核心种质。

2.4.3 核心种质评价 核心种质与初始种质遗传参数比较(表 6)可知,核心种质保留了原种质 10.42% 的种质,多态性位点保留率 95.29%,多态百分率保留率 95.29%,等位基因保留率 97.65%,有效等位基因保留率 102.70%,Nei's 基因多样性指数保留率

112.41%,香农信息指数保留率 110.48%,遗传多样性参数有效等位基因、Nei's 基因多样性指数和香农信息指数均高于原种质和保留种质,表明核心种质能很好地代表原种质。以 SSR 分子标记的遗传多样性数据构建余甘子初级核心种质 20 份,种质编号为 4、28、56、77、83、87、94、98、102、112、121、135、150、163、169、170、176、177、178 和 182。

表 6 核心种质与原种质遗传参数比较

Table 6 Comparison of genetic parameters between core and original germplasm

类别 Category	种质数量 Germplasm amount	多态位点 Polymorphic sites	多态位点百分率 Percentage of polymorphic sites/%	等位基因数 Number of alleles	有效等位基因数 Number of effective alleles	Nei's 基因多样性指数 Nei 's gene diversity index	香农信息指数 Shannon 's information index
原种质 Original germplasm	192.00	85.00	100.00	2.000 0	1.304 4	0.199 1	0.329 2
核心种质 Core germplasm	20.00	81.00	95.29	1.952 9	1.339 6	0.223 8	0.363 7
核心种质保留率 Core germplasm retention rate/%	10.42	95.29	95.29	97.650 0	102.700 0	112.410 0	110.480 0
保留种质 Reserve germplasm	172.00	85.00	100.00	2.000 0	1.300 2	0.195 7	0.323 3
保留种质保留率 Reserve germplasm retention rate/%	89.58	100.00	100.00	100.000 0	99.680 0	98.290 0	98.210 0

进一步分别对 20 份核心种质和 192 份余甘子原种质的 SSR 分子数据进行主成分分析,图 5 为两份种质集合的主成分得分散点图。可知,核心种质散点分布区域和形状与原种质散点分布区域和形状重合度较高,外围的个体也被选入核心种质库中,遗传相似性高的株系中仅有部分入选,排除遗传冗余,同时又确保了核心种质的代表性和异质性。综上所述,最终构建的核心种质能够很好地代表原始群体,具有很好的异质性,在一定程度上剔除了遗传重复。余甘子核心种质的建立为资源的保存评价、特异资源挖掘和高效利用提供基础和保障,在今后的种质资源保护、评价和创新

利用工作中给予充分的重视。

3 讨 论

3.1 余甘子遗传多样性分析

利用 SSR 分子标记开展余甘子遗传多样性分析的结果表明,192 份余甘子种质资源的变异范围为 0~0.958 3,余甘子种质资源间的遗传分化水平高,遗传变异范围大,表现出丰富的遗传多样性。两份云南野生种质(No. 107 和 No. 108)的遗传距离为 0,种质间差异为 0,结合前期研究结果,两份种质表型数据基本相当,可进一步判定为同种资源。聚类分析已普遍应用于植物的遗传分类、亲缘关系和遗传多样性评价

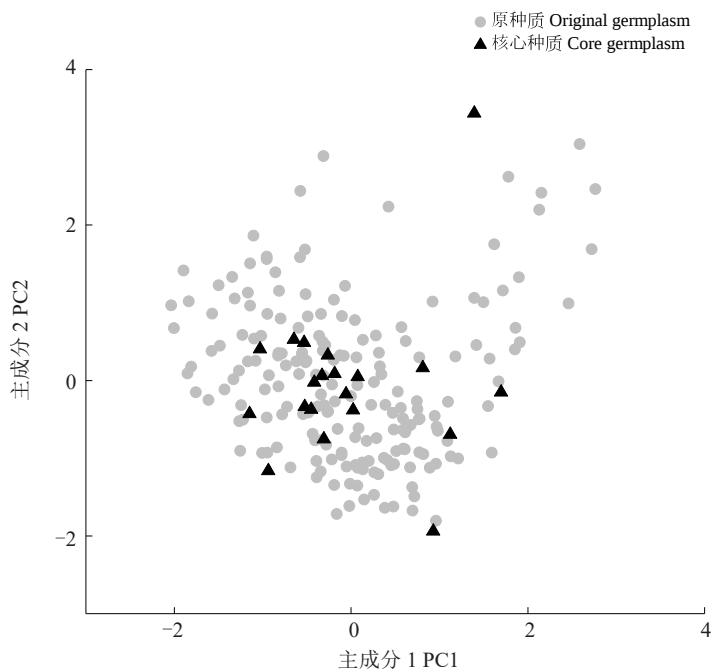


图5 核心种质与原种质主成分得分图

Fig. 5 The PCA scores of between core and original germplasm

中^[22-23],中国野生余甘子长期对多样性气候的适应,造就了资源分布的多样性^[24]。笔者在本研究中通过UPGMA聚类,将192份余甘子种质资源分为3个组别,第1组别可分为8个亚类,类群的划分与生态分布有较大关联,余甘子的湿润分布区和干热分布区得到较好区分,生态区内不同省份的种质在聚类中并没有很明显的分开,多个省份的资源分散在不同的类群中,说明相同生态分布区域内的种质分类与地域来源相关性不明显,与普天磊等^[25]研究结果一致。福建地区一部分种质单独聚为一类(第2亚类),该部分余甘子种质的亲缘关系远近与福建省的地理分布有一定的相关性,较能反映福建省的种质特点,福建省地域立体气候复杂,余甘子种子传播范围有限,而且群体间地理隔离较大,群体间进行基因交流的机会少,导致余甘子群体间存在较大遗传差异。

试验材料来源于中国云南、缅甸、泰国和印度的种质聚类在一起,前人研究将云南划分为中国余甘子的干热分布区^[13],与其生态气候类似的缅甸、泰国和印度等地区种质的亲缘关系较近,表明余甘子的遗传变异与气候的相关性高于地域分布,研究结果与余甘子分布的海拔和降水量与遗传多样性有显著相关性的结果^[26]较一致。在本研究中,两个大果余

甘子种质资源(No. 168和No. 173)的遗传距离为0.733 3,两份种质的遗传距离较大,亲缘关系较远,是不同的两份种质,与应用ISSR分析结果一致^[27]。No. 158是来源福建的野生种质,单独聚为一类,与其他191份种质的遗传距离范围为0.550 0~0.958 3,是与来源福建的种质也有较远亲缘关系的特殊资源,可能由福建省独特地理环境因素、局部地理隔离导致,可作为余甘子起源和遗传基因历史演变等方面研究的潜在试验材料。笔者在本研究中开发的SSR分子标记技术可较好地反映余甘子的遗传差异和亲缘关系,但传统SSR分析只针对微卫星区域的多态性,无法捕捉单核苷酸多态性(SNP)等其他类型变异,在今后的研究中可开发多态信息量大、自动化程度高的SNP标记,为余甘子的资源鉴定、分类和选育种提供参考。

3.2 余甘子核心种质构建

核心种质的概念是1984年澳大利亚科学家Frankle提出的,后经Brown扩展^[28],核心种质是以最小资源量和重复性反映整体的遗传多样性,未被选择的资源则作为保留资源。开展余甘子核心种质构建不仅有利于种质资源的保存与鉴定评价,而且可大大提高资源利用效率^[29]。在构建核心种质过程中,逐步聚类是常用方法^[30],聚类结果直接受遗传距

离和聚类方法的影响。构建核心种质方法中,常用的遗传距离是欧氏和马氏距离^[31]。笔者在本研究中利用 SSR 分子标记数据构建核心种质的遗传距离采用 Jaccard 遗传距离+类平均法,与显性分子标记多使用 SM 遗传距离,而共显性分子标记利用 Jaccard 和 Nei & Li 较为理想的前人研究结果较一致^[30]。徐海明等^[32]筛选出马氏距离结合最短距离法最适合构建陆地棉核心种质;高志红等^[33]利用欧氏距离和类平均法构建中国果梅核心种质;董玉慧^[34]构建枣核心种质认为欧氏距离结合类平均法和离差平方与聚类效果较好;刘遵春等^[31]采用欧氏距离结合最短距离法聚类构建新疆野苹果的核心种质,张春雨等^[35]则认为离差平方法是最适宜方法;马玉敏^[36]研究表明构建中国板栗最适宜的聚类方法为离差平方和法;刘娟^[37]构建栽培杏和野杏核心种质时,认为最短距离法和离差平方和法的构建效果较好。综上所述,因不同类型数据或物种的独特性,对遗传距离与聚类方法不能一概而论,应由具体的对象经分析研究而定。

从取样比例看,笔者在本研究中构建核心种质的真实取样比例为 10.42%,符合前人总结的大多数园艺作物构建核心种质取样比例为 10%~30%的研究结果^[38],前人总结原种质总量的 5%~10%取样比例构建核心种质可保留 70%以上的遗传变异^[39]。李秀诗等^[40]基于 248 份薏仁构建核心种质发现最适取样比例为 25%,胡建斌等^[41]构建甜瓜核心种质发现 15%的取样比例时遗传保留和原种质的代表性达到最佳。在核心种质的进一步研究中,需尽量增加表型性状的数量包括植株、叶片、花和果实品质等的数据,此外还包括诸如抗性、产量等农艺性状数据,避免重要遗传性状的种质丢失,将更多的变异类型提取至核心种质库内,对全面构建余甘子核心种质有重要意义。核心种质建成后需动态管理,在实践中进行适当调整,并及时补充稀有、有用的材料,扩大保存变异类型,确保保存的全面性、长期性和安全性,为余甘子的育种和创新利用提供保障。

4 结 论

利用 10 对 SSR 引物对 193 份样品扩增后进行遗传多样性分析,结果表明余甘子种质资源的遗传分化水平高,遗传变异范围大,遗传多样性丰富,开发的 SSR 分子标记技术,可较好地反映余甘子的遗传差异和亲缘关系。筛选出构建余甘子核心种质的

最佳方案为 Jaccard 遗传距离+类平均法+优先取样策略+10%取样比例,构建了包含 20 份余甘子的核心种质,核心种质有效地排除了遗传冗余,同时又确保了原种质的代表性和异质性。

参考文献 References:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志-余甘子[M]. 北京:科学出版社,2004.
Chinese Flora Committee, Chinese Academy of Sciences. Flora reipublicae popularis sinicae-*Phyllanthus emblica* Linn.[M]. Beijing: Science Press, 2004.
- [2] 吴玲芳,叶婷,梁林金,梁文仪,陈文静,李师,崔亚萍,亓旗,张兰珍. 藏药余甘子鞣质部位主要药效成分在人工胃肠液中的稳定性研究[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2017, 19(8): 1386-1390.
WU Lingfang, YE Ting, LIANG Linjin, LIANG Wenyi, CHEN Wenjing, LI Shi, CUI Yaping, QI Qi, ZHANG Lanzhen. Research on stability of tannin part in *Phyllanthus emblica* L. in artificial gastric and intestinal juice[J]. Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica- World Science and Technology, 2017, 19(8): 1386-1390.
- [3] ZHAO H J, LIU T, MAO X, HAN S X, LIANG R X, HUI L Q, CAO C Y, YOU Y, ZHANG L Z. Fructus phyllanthi tannin fraction induces apoptosis and inhibits migration and invasion of human lung squamous carcinoma cells *in vitro* via MAPK/MMP pathways[J]. Acta Pharmacologica Sinica, 2015, 36(6): 758-768.
- [4] CHAPHALKAR R, APTE K G, TALEKAR Y, OJHA S K, NANDAVE M. Antioxidants of *Phyllanthus emblica* L. bark extract provide hepatoprotection against ethanol- induced hepatic damage: A comparison with silymarin[J]. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2017, 2017(1): 3876040.
- [5] 王建超,张小艳,谢丽雪,张立杰,李韬. 余甘子药用价值研究进展[J]. 东南园艺, 2024, 12(6): 536-546.
WANG Jianchao, ZHANG Xiaoyan, XIE Lixue, ZHANG Lijie, LI Tao. Research progress on medicinal value of *Phyllanthus emblica* L.[J]. Southeast Horticulture, 2024, 12(6): 536-546.
- [6] 王建超,陈志峰,郭林榕. 我国余甘子种质资源生态分布区域综述[J]. 东南园艺, 2020, 8(2): 57-60.
WANG Jianchao, CHEN Zhifeng, GUO Linrong. Summary on ecological distribution of *Phyllanthus emblica* germplasm resources in China[J]. Southeast Horticulture, 2020, 8(2): 57-60.
- [7] MAO Y F, BOTELLA J R, LIU Y G, ZHU J K. Gene editing in plants: Progress and challenges[J]. National Science Review, 2019, 6(3): 421-437.
- [8] 胡文舜,陈秀萍,郑少泉. 龙眼 EST-SSR 标记开发及无患子科 5 个属种质遗传多样性分析[J]. 园艺学报, 2019, 46(7): 1359-1372.
HU Wenshun, CHEN Xiuping, ZHENG Shaoquan. EST- SSR markers developed from *Dimocarpus longan* and their application in genetic diversity analysis of five genera of Sapindaceae[J].

- Acta Horticulturae Sinica, 2019, 46(7):1359-1372.
- [9] CHAURASIA A K, SUBRAMANIAM V R, KRISHNA B, SANE P V. RAPD based genetic variability among cultivated varieties of Aonla (Indian Gooseberry, *Phyllanthus emblica* L.)[J]. Physiology and Molecular Biology of Plants, 2009, 15(2): 169-173.
- [10] DNYANESHWAR W, PREETI C, KALPANA J, BHUSHAN P. Development and application of RAPD-SCAR marker for identification of *Phyllanthus emblica* Linn.[J]. Biological & Pharmaceutical Bulletin, 2006, 29(11):2313-2316.
- [11] THILAGA S, NAIR R R, KANNAN M R, GANESH D. RAPD markers for screening shoot gall maker (*Betousa stylophora* Swinhoe) tolerant genotypes of amla (*Phyllanthus emblica* L.)[J]. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology, 2017, 15(2): 323-330.
- [12] 蔡英卿, 赖钟雄, 陈义挺, 郭玉琼, 潘东明. 福建余甘子遗传资源的 RAPD 分析[J]. 热带作物学报, 2007, 28(2): 74-79.
- CAI Yingqing, LAI Zhongxiong, CHEN Yiting, GUO Yuqiong, PAN Dongming. RAPD analysis of emblic (*Phyllanthus emblica* L.) genetic resources in Fujian Province[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2007, 28(2): 74-79.
- [13] 熊仪俊. 余甘子不同生态型特征与分化初步研究[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2003.
- XIONG Yijun. Preliminary study on the characteristics and differentiations of ecological types of *Phyllanthus emblica*[D]. Beijing: Chinese Academy of Forestry, 2003.
- [14] 郭林榕, 周平, 陈志峰. 22 份余甘子核心种质资源遗传多样性的 SRAP 分析[J]. 热带作物学报, 2014, 35(7): 1382-1387.
- GUO Linrong, ZHOU Ping, CHEN Zhifeng. Analysis of genetic diversity of 22 *Phyllanthus emblica* germplasms with SRAP markers[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2014, 35(7): 1382-1387.
- [15] 刘晓生, 郑道序, 周春娟, 马瑞君, 詹潮安, 杨海东, 杨培奎, 庄东红. 潮汕余甘子种质资源遗传多样性与亲缘关系的 ISSR 分析[J]. 中国南方果树, 2014, 43(1): 18-22.
- LIU Xiaosheng, ZHENG Daoxu, ZHOU Chunjuan, MA Ruijun, ZHAN Chaoan, YANG Haidong, YANG Peikui, ZHUANG Donghong. Analysis of genetic diversity and genetic relationship of *Phyllanthus emblica* L. germplasm in Chaoshan area with ISSR[J]. South China Fruits, 2014, 43(1): 18-22.
- [16] 王建超, 何银莺, 黄旭萍, 沈朝贵, 陈发兴, 郭林榕. 响应面法优化余甘子种质资源 ISSR 反应体系[J]. 福建农业学报, 2021, 36(7): 759-765.
- WANG Jianchao, HE Yinying, HUANG Xuping, SHEN Chaogui, CHEN Faxing, GUO Linrong. Response surface optimization of ISSR-PCR reaction for genetic study on *Phyllanthus emblica*[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2021, 36(7): 759-765.
- [17] 王建超. 余甘子(*Phyllanthus emblica* L.)遗传多样性分析与核心种质构建[D]. 福州: 福建农林大学, 2024.
- WANG Jianchao. Genetic diversity analysis and core collection construction of *Phyllanthus emblica* L.[D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2024.
- [18] 李金璐, 王硕, 于婧, 王玲, 周世良. 一种改良的植物 DNA 提取方法[J]. 植物学报, 2013, 48(1): 72-78.
- LI Jinlu, WANG Shuo, YU Jing, WANG Ling, ZHOU Shiliang. A modified CTAB protocol for plant DNA extraction[J]. Chinese Bulletin of Botany, 2013, 48(1): 72-78.
- [19] 周雨晴, 戴文婧, 杨羽清, 姚森洋, 周圆, 程智慧, 潘玉朋. 基于 SSR 标记的 126 份甜瓜种质遗传多样性分析[J]. 西北农业学报, 2025, 34(1): 54-62.
- ZHOU Yuqing, DAI Wenjing, YANG Yuqing, YAO Senyang, ZHOU Yuan, CHENG Zhihui, PAN Yupeng. Genetic diversity analysis of 126 melon germplasms based on SSR markers[J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2025, 34(1): 54-62.
- [20] ESCRIBANO P, VIRUEL M A, HORMAZA J I. Comparison of different methods to construct a core germplasm collection in woody perennial species with simple sequence repeat markers. A case study in cherimoya (*Annona cherimola*, Annonaceae), an underutilised subtropical fruit tree species[J]. Annals of Applied Biology, 2008, 153(1): 25-32.
- [21] 陈越, 陈玲, 李春花, 张敦宇, 付坚, 程在全. 中国南方地区水稻资源 SSR 指纹数据库的构建及遗传多样性分析[J]. 分子植物育种, 2020, 18(19): 6502-6517.
- CHEN Yue, CHEN Ling, LI Chunhua, ZHANG Dunyu, FU Jian, CHENG Zaiquan. Construction of SSR fingerprint database and genetic diversity analysis of rice resources in Southern China[J]. Molecular Plant Breeding, 2020, 18(19): 6502-6517.
- [22] 赵青, 都真真, 李锡香, 宋江萍, 张晓辉, 阳文龙, 贾会霞, 王海平. 利用 SSRseq 分子标记的大蒜种质资源遗传多样性研究[J]. 园艺学报, 2021, 48(7): 1397-1408.
- ZHAO Qing, DU Zhenzhen, LI Xixiang, SONG Jiangping, ZHANG Xiaohui, YANG Wenlong, JIA Huixia, WANG Haiping. Genetic diversity of garlic germplasm resources based on SSRseq molecular markers[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2021, 48(7): 1397-1408.
- [23] 徐婉, 林雅君, 赵莊, 周庄. 兰属植物资源与育种研究进展[J]. 园艺学报, 2022, 49(12): 2722-2742.
- XU Wan, LIN Yajun, ZHAO Zhuang, ZHOU Zhuang. Advances in genetic resources and breeding research of *Cymbidium*[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2022, 49(12): 2722-2742.
- [24] 陈进, 陈贵清, 胡建湘, 杨坤, 李其惠. 滇南野生余甘子果实性状变异规律[J]. 福建果树, 1991(1): 63-64.
- CHEN Jin, CHEN Guiqing, HU Jianxiang, YANG Kun, LI Qihui. Variation law of fruit traits of wild *Phyllanthus emblica* in southern Yunnan[J]. Fujian Fruits, 1991(1): 63-64.
- [25] 普天磊, 金杰, 何璐, 瞿文林, 廖承飞, 袁建民, 罗会英, 赵琼玲. 基于 SNP 和 InDel 标记的余甘子群体遗传分析[J]. 果树学报, 2023, 40(5): 875-883.
- PU Tianlei, JIN Jie, HE Lu, QU Wenlin, LIAO Chengfei, YUAN Jianmin, LUO Huiying, ZHAO Qiongleng. Population and genet-

- ic analysis of *Phyllanthus emblica* by SNP and InDel markers[J]. Journal of Fruit Science, 2023, 40(5): 875-883.
- [26] LIU X F, MA Y P, WAN Y M, LI Z H, MA H. Genetic diversity of *Phyllanthus emblica* from two different climate type areas[J]. Frontiers in Plant Science, 2020, 11: 580812.
- [27] 王建超, 何银莺, 黄旭萍, 陈发兴, 郭林榕. 余甘子种质资源的遗传多样性分析[J]. 森林与环境学报, 2021, 41(4): 396-401.
WANG Jianchao, HE Yinying, HUANG Xuping, CHEN Faxing, GUO Linrong. Genetic diversity analysis of *Phyllanthus emblica* germplasm resources[J]. Journal of Forest and Environment, 2021, 41(4): 396-401.
- [28] 张咏琦, 王超, 许林林, 吴娥娇, 李天红, 赵密珍, 袁华招. 野生二倍体草莓的 SSR 分子标记开发及核心种质的构建[J]. 园艺学报, 2023, 50(11): 2365-2375.
ZHANG Yongqi, WANG Chao, XU Linlin, WU Ejiao, LI Tianhong, ZHAO Mizhen, YUAN Huazhao. Development of SSR molecular markers and construction of core collection of wild diploid strawberry[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2023, 50(11): 2365-2375.
- [29] MALOSETTI M, ABADIE T. Sampling strategy to develop a core collection of Uruguayan maize landraces based on morphological traits[J]. Genetic Resources and Crop Evolution, 2001, 48(4): 381-390.
- [30] ZIETKIEWICZ E, RAFALSKI A, LABUDA D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification[J]. Genomics, 1994, 20(2): 176-183.
- [31] 刘遵春, 张春雨, 张艳敏, 张小燕, 吴传金, 王海波, 石俊, 陈学森. 利用数量性状构建新疆野苹果核心种质的方法[J]. 中国农业科学, 2010, 43(2): 358-370.
LIU Zunchun, ZHANG Chunyu, ZHANG Yanmin, ZHANG Xiaoyan, WU Chuanjin, WANG Haibo, SHI Jun, CHEN Xuesen. Study on method of constructing core collection of *Malus sieversii* based on quantitative traits[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2010, 43(2): 358-370.
- [32] 徐海明, 邱英雄, 胡晋, 王建成. 不同遗传距离聚类 and 抽样方法构建作物核心种质的比较[J]. 作物学报, 2004, 30(9): 932-936.
XU Haiming, QIU Yingxiong, HU Jin, WANG Jiancheng. Methods of constructing core collection of crop germplasm by comparing different genetic distances, cluster methods and sampling strategies[J]. Acta Agronomica Sinica, 2004, 30(9): 932-936.
- [33] 高志红, 章镇, 韩振海, 房经贵. 中国果梅核心种质的构建与检测[J]. 中国农业科学, 2005, 38(2): 363-368.
GAO Zhihong, ZHANG Zhen, HAN Zhenhai, FANG Jinggui. Development and evaluation of core collection of Japanese apricot germplasms in China[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2005, 38(2): 363-368.
- [34] 董玉慧. 枣树农艺性状遗传多样性评价与核心种质构建[D]. 保定: 河北农业大学, 2008.
DONG Yuhui. Evaluation on genetic diversity of agronomic characters and core collection construction in *Ziziphus jujuba* Mill.[D]. Baoding: Hebei Agricultural University, 2008.
- [35] 张春雨, 陈学森, 张艳敏, 苑兆和, 刘遵春, 王延龄, 林群. 采用分子标记构建新疆野苹果核心种质的方法[J]. 中国农业科学, 2009, 42(2): 597-604.
ZHANG Chunyu, CHEN Xuesen, ZHANG Yanmin, YUAN Zhaohe, LIU Zunchun, WANG Yanling, LIN Qun. A method for constructing core collection of *Malus sieversii* using molecular markers[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2009, 42(2): 597-604.
- [36] 马玉敏. 中国野生板栗(*Castanea mollissima* Blume)群体遗传结构和核心种质构建方法[D]. 泰安: 山东农业大学, 2009.
MA Yumin. Population genetic structure and method of constructing core collection for *Castanea mollissima* Blume[D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2009.
- [37] 刘娟. 新疆杏种质资源遗传多样性及核心种质构建[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2015.
LIU Juan. Analysis of genetic diversity and establishment of core collection of apricot germplasm resources in Xinjiang[D]. Urumqi: Xinjiang Agricultural University, 2015.
- [38] 缪黎明, 王神云, 邹明华, 李建斌, 孔李俊, 余小林. 园艺作物核心种质构建的研究进展[J]. 植物遗传资源学报, 2016, 17(5): 791-800.
MIAO Liming, WANG Shenyun, ZOU Minghua, LI Jianbin, KONG Lijun, YU Xiaolin. Review of the studies on core collection for horticultural crops[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2016, 17(5): 791-800.
- [39] BROWN A H D. Core collections: A practical approach to genetic resources management[J]. Genome, 1989, 31(2): 818-824.
- [40] 李秀诗, 付瑜华, 周祥, 黎青, 刘凡值, 杨成龙, 周明强. 基于表型性状的苜蓿初级核心种质库构建[J]. 热带作物学报, 2020, 41(4): 669-675.
LI Xiushi, FU Yuhua, ZHOU Xiang, LI Qing, LIU Fanzhi, YANG Chenglong, ZHOU Mingqiang. Establishment of *Coix lacryma-jobi* L. core germplasm collection based on phenotypic characters[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2020, 41(4): 669-675.
- [41] 胡建斌, 马双武, 王吉明, 苏艳, 李琼. 基于表型性状的甜瓜核心种质构建[J]. 果树学报, 2013, 30(3): 404-411.
HU Jianbin, MA Shuangwu, WANG Jiming, SU Yan, LI Qiong. Establishment of a melon (*Cucumis melo*) core collection based on phenotypic characters[J]. Journal of Fruit Science, 2013, 30(3): 404-411.