

火炬松叶绿体基因组变异及遗传稳定性分析

摘要【目的】了解火炬松种群内叶绿体基因组的变异程度，鉴定叶绿体亲代遗传模式。**【方法】**对火炬松育种群体中，第二代核心育种群体的 54 个单株的叶绿体序列进行了测序，并与 NCBI 数据库中的叶绿体序列进行了比较。通过 python 程序分析每个样品的 SNP 频率，通过重测序软件获得 SNP 位点。对 32 个等位基因频率大于 5% 的 SNP 序列进行了注释。根据 SNP 位点设计 23 对引物，对测交系 45 个子代及亲本叶绿体分别进行扩增，对扩增产物进行测序和比对，检测 SNP。基于检测到的 SNP，采用 MEGA 分别采用 Neighbor-Joining 和 Maximum Likelihood 方法构建系统发育树。**【结果】**结果表明，54 个亲本共有 81 个 SNP 位点，分布不均匀，在 3990 ~ 119714 个位点之间。SNP 的注释显示，14 个 SNP 位于基因间隔区，19 个 SNP 位于 9 个基因中。其中，在 *ycf1* 中检测到 9 个 SNP，在 *ycf2* 中检测到 3 个 SNP，在 *trnG-GCC*、*atpH*、*rpoC1*、*rps11*、*rpl2*、*rrn23* 和 *chlN* 中分别检测到 1 个 SNP。所有母本与后代的 SNP 单倍体不一致，证实了红松叶绿体不具有母系遗传。19 个 SNP 中，所有母本（8 个）都与子代的 SNP 单倍体不一致。在 19 个 SNP 中，父本 N4 与 7 个子代完全一致，与另 2 个子代相差两个 SNP；W03 只与 1 个子代一致，但与其他子代不一致，其中有 5 个子代一致；222 与子代不一致，但是自身 5 个无性系分株一致，9 个子代一致；S1 的 7 个无性系一致，与子代不同，8 个子代一致。确认火炬松叶绿体不是母系遗传。本研究最理想的结果是父本无性系之间所有 SNP 一致，而且与子代一致。但是实际结果与我们的设想有一些出入。尽管如此，从父本 N4 的 7 个子代与其 19 个 SNP 一致，父本 W03、222 和 S1 各自的全部或大部分子代一致，且不同于母本，可以初步确认火炬松叶绿体为父系遗传。基于 19 个 SNP，使用 Neighbor-Joining 方法或 Maximum Likelihood 方法构建进化树都能将不同父本的单株区分，SNP 一致的个体聚在一起，且和 SNP 直接比对结果一致。在三个进化树中，圆形进化树的结果更直观。**【结论】**本研究阐明了火炬松种内种群叶绿体基因组的变异，确定了火炬松叶绿体的遗传模式，为鉴定其亲缘关系提供了一种方法。这将极大地促进火炬松的选育，为火炬松的遗传改良提供极大的便利。