

文章编号: 1674-7054(2015)02-0204-019

肾茶种质资源遗传多样性的 ISSR 分析

罗 灿¹, 于旭东^{1,2,3}, 吴繁花², 高 鑫³, 王童欣²

(1 海南大学 园艺园林学院/热带作物种质资源保护与开发利用教育部重点实验室, 海南 海口 570228;

2 海南大学 农学院/热带珍稀植物资源开发与利用实验室, 海南 海口 570228;

3 海南大学 应用科技学院, 海南 儋州 571737)

摘 要: 为了探讨中国肾茶种质资源的遗传多样性, 本研究采用 100 条 ISSR 引物对 87 份肾茶种质资源进行试验分析, 发现 20 条引物能扩增出清晰条带。在 87 份供试材料中, 20 个 ISSR 引物共产生 144 条扩增条带, 其中多态性条带 120 条, 多态率 83.3%, 平均每个 ISSR 标记能产生 6.0 条多态性片段。87 份材料间的遗传相似系数变化范围为 0.48~0.98, 但 6 份栽培品种间遗传相似系数为 0.88~0.98, 显示出栽培种的遗传基础相对狭窄。利用 UPGMA 聚类分析, 供试材料可聚为 2 类, 其中栽培品种单独聚成 1 类, 野生材料聚为 1 类。结果显示, 中国野生肾茶种质资源遗传多样性丰富, 具有较高的开发利用价值。

关键词: 肾茶; CTAB 法; ISSR; 遗传多样性

中图分类号: S 326

文献标志码: A

肾茶 [*Clerodendranthus spicatus* (Thunb.) C. Y. Wu] 为唇形科肾茶属植物, 别名猫须草、猫须公, 云南傣族称肾茶为“雅糯妙”。文献中的 *Orthosiphon aristatus* 或 *Orthosiphon stamineus*, 也均为肾茶^[1]。肾茶属有 5 种, 主要分布在热带地区, 原产于印度尼西亚、印度、缅甸、菲律宾、澳大利亚等^[2], 我国福建、台湾、广东、广西、云南西双版纳、香港、四川米易等地均有引种栽培^[3-4]。肾茶全草入药, 全年采收, 味甘、淡、微苦、性凉, 具有清热利湿, 通淋排石的功效, 有 2 000 多年的使用历史^[5-7]。民间认为其全草具有利尿、抗菌、消炎、溶石、排石和抗肿瘤作用^[8-9], 尤其对肾结石、尿路结石、胆结石、胆囊炎、风湿性关节炎及咽炎有特殊疗效^[10]。其主要化学成分有: 黄酮类、酚性化合物、二萜类、三萜类、木脂素类、色原烯类、烷基糖苷类、甾体皂苷类、蒽醌类、氨基酸、多肽、蛋白质及维生素、矿物质和有机酸等^[11-14]。简单重复序列区间 (inter-simple sequence repeats, ISSR) PCR 技术是 Zietkiewicz 等^[15]提出的一种 DNA 分子标记, 由于其在 SSR 的 3'端或 5'端锚定 1~4 个简并碱基, 所用的引物序列比 RAPD 的引物序列长, 退火温度较高^[16-18], 该技术不但具有 RAPD 技术的优点, 又可克服 SSR 和 RAPD 技术的某些缺点, 已应用于黄麻^[19]、小麦^[20]、银杏^[21]等植物遗传多样性与亲缘关系的研究。王英等^[22]采用 ISSR 分子标记技术对 96 份甘蔗种质资源的遗传多样性进行了分析, 结果表明其种质的遗传相似系数在 0.15~0.19 之间, 证明 ISSR 标记能够很好揭示种质的遗传多样性。Behera 等^[23]用 15 个 ISSR 引物对 38 份印度苦瓜 (*Momordica charantia* var. *charantia*, and var. *muricata*) 进行遗传多样性分析, 结果表明, 苦瓜栽培品种与野生材料的起源不同, 这为苦瓜种内遗传分析和育种提供了依据。目前, 肾茶在我国的种类尚不确定, 海南植物志^[24]记载肾茶中国约有 2 种, 海南有 1 种。我国肾茶分子方面的研究尚未见报道, 笔者通过对收集的 87 份肾茶种质资源

收稿日期: 2015-02-01

基金项目: 海南省星火产业带专项“海南肾茶高效栽培与示范”(HNXH201319), 海南省产学研一体化专项“海南木棉产业发展关键技术集成与示范”(CXY20140027), 国家级大学生创新创业训练计划项目“爱吾园生物除醛创艺坊”(201421), 海南省中西部高校提升综合实力工作资金项目“农艺应用型本科实践教学创新团队”(201417), 海南大学应用科技学院(儋州校区) 基金项目“裂掌榕种质资源调查及资源圃的建立”(HYK1524)

作者简介: 罗灿(1988-), 男, 硕士研究生; 研究方向: 植物资源与利用. E-mail: wadmrlc@126.com

通信作者: 于旭东(1973-), 男, 副教授, 博士研究生, 研究方向: 资源植物学. E-mail: doeast@163.com

源进行 ISSR 分子标记,以期揭示其遗传特性,为肾茶的种类鉴定、品种选育、产品的开发和应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试材料 实验材料来自海南大学儋州校区农学院教学科研基地迁地保育的肾茶种质资源圃。将收集的 87 份肾茶(表 1)资源进行繁育,2 个月后长出新的嫩叶作为供试材料,选取健康无病斑的嫩叶若干,装入编号袋,−80 ℃条件下保存备用。

表 1 供试材料的来源

Tab. 1 Sources of *C. spicatus* accessions used in this study

序号	采集号	采集时间	采集地	经度	纬度	海拔/m
S1	BW1-1	2013-08-05	海南霸王岭	109°6'33.25"	19°6'34.56"	225
S2	BW1-2	2013-08-05	海南霸王岭	109°6'33.35"	19°6'34.97"	245
S3	BW1-3	2013-08-05	海南霸王岭	109°6'33.48"	19°6'24.58"	263
S4	BW1-4	2013-08-05	海南霸王岭	109°6'34.28"	19°6'38.29"	274
S5	BW1-5	2013-08-05	海南霸王岭	109°6'31.29"	19°6'34.60"	308
S6	BW1-6	2013-08-05	海南霸王岭	109°6'33.20"	19°6'36.41"	313
S7	BW1-7	2013-08-05	海南霸王岭	109°6'38.31"	19°6'37.62"	323
S8	BW1-8	2013-08-05	海南霸王岭	109°6'33.32"	19°6'67.43"	334
S9	BW1-9	2013-08-05	海南霸王岭	109°6'53.83"	19°6'87.22"	347
S10	BW1-10	2013-08-05	海南霸王岭	109°6'33.94"	19°7'34.15"	366
S11	BW1-11	2013-08-05	海南霸王岭	109°6'35.35"	19°7'34.36"	388
S12	BW1-12	2013-08-05	海南霸王岭	109°6'33.26"	19°7'37.14"	405
S13	BW1-13	2013-08-05	海南霸王岭	109°6'43.17"	19°7'44.25"	422
S14	BW1-14	2013-08-05	海南霸王岭	109°6'43.98"	19°7'54.33"	456
S15	BW2-1	2013-08-06	海南霸王岭	109°6'52.95"	19°5'41.12"	269
S16	BW2-2	2013-08-06	海南霸王岭	109°6'55.18"	19°5'57.20"	282
S17	BW2-3	2013-08-06	海南霸王岭	109°6'53.87"	19°5'65.20"	305
S18	BW2-4	2013-08-06	海南霸王岭	109°6'52.45"	19°5'89.31"	316
S19	BW2-5	2013-08-06	海南霸王岭	109°6'52.99"	19°5'12.25"	333
S20	BW3-1	2013-08-08	海南霸王岭	109°11'33.12"	19°2'16.09"	528
S21	BW3-2	2013-08-08	海南霸王岭	109°11'33.64"	19°2'23.10"	497
S22	BW3-3	2013-08-08	海南霸王岭	109°11'33.33"	19°2'12.24"	532
S23	BW3-4	2013-08-08	海南霸王岭	109°11'33.15"	19°2'15.12"	488
S24	BW3-5	2013-08-08	海南霸王岭	109°11'34.10"	19°2'19.54"	557
S25	BW3-6	2013-08-08	海南霸王岭	109°11'34.17"	19°2'22.14"	540

续表 1 Continued tab. 1

S26	BW3 - 7	2013 - 08 - 08	海南霸王岭	109°11'33.88"	19°2'38.67"	511
S27	BW3 - 8	2013 - 08 - 08	海南霸王岭	109°11'34.67"	19°2'15.95"	489
S28	BW4 - 1	2013 - 08 - 10	海南霸王岭	109°11'30.11"	19°2'1.92"	427
S29	BW4 - 2	2013 - 08 - 10	海南霸王岭	109°11'30.15"	19°2'2.12"	398
S30	BW4 - 3	2013 - 08 - 10	海南霸王岭	109°11'30.56"	19°2'1.45"	388
S31	BW4 - 4	2013 - 08 - 10	海南霸王岭	109°11'30.84"	19°2'1.35"	443
S32	BW4 - 5	2013 - 08 - 10	海南霸王岭	109°11'30.32"	19°2'1.46"	450
S33	BW4 - 6	2013 - 08 - 10	海南霸王岭	109°11'30.65"	19°2'1.66"	427
S34	BW4 - 7	2013 - 08 - 10	海南霸王岭	109°11'31.17"	19°2'2.38"	422
S35	BW4 - 8	2013 - 08 - 10	海南霸王岭	109°11'30.74"	19°2'2.78"	435
S36	BW4 - 9	2013 - 08 - 10	海南霸王岭	109°11'30.43"	19°2'2.34"	439
S37	BW4 - 10	2013 - 08 - 10	海南霸王岭	109°11'31.55"	19°2'2.99"	427
S38	BW5 - 1	2013 - 08 - 12	海南霸王岭	109°11'29.18"	19°2'4.08"	444
S39	BW5 - 2	2013 - 08 - 12	海南霸王岭	109°11'29.15"	19°2'4.12"	447
S40	BW5 - 3	2013 - 08 - 12	海南霸王岭	109°11'29.25"	19°2'4.15"	436
S41	BW5 - 4	2013 - 08 - 12	海南霸王岭	109°11'29.22"	19°2'4.18"	434
S42	BW5 - 5	2013 - 08 - 12	海南霸王岭	109°11'29.35"	19°2'4.24"	430
S43	BW5 - 6	2013 - 08 - 12	海南霸王岭	109°11'29.63"	19°2'4.44"	426
S44	BW5 - 7	2013 - 08 - 12	海南霸王岭	109°11'29.54"	19°2'4.88"	422
S45	BW5 - 8	2013 - 08 - 12	海南霸王岭	109°11'29.14"	19°2'5.15"	418
S46	BW5 - 9	2013 - 08 - 12	海南霸王岭	109°11'29.26"	19°2'5.36"	414
S47	BW5 - 10	2013 - 08 - 12	海南霸王岭	109°11'30.27"	19°2'5.39"	410
S48	BW5 - 11	2013 - 08 - 12	海南霸王岭	109°11'29.18"	19°2'5.48"	406
S49	BW5 - 12	2013 - 08 - 12	海南霸王岭	109°11'28.15"	19°2'5.07"	402
S50	BW5 - 13	2013 - 08 - 12	海南霸王岭	109°11'28.34"	19°2'5.20"	398
S51	BW5 - 14	2013 - 08 - 12	海南霸王岭	109°11'28.47"	19°2'5.28"	394
S52	YG1 - 1	2013 - 09 - 13	海南鹦哥岭	109°18'47.90"	18°59'59.50"	445
S53	YG1 - 2	2013 - 09 - 13	海南鹦哥岭	109°18'47.44"	18°59'59.65"	432
S54	YG1 - 3	2013 - 09 - 13	海南鹦哥岭	109°18'47.67"	18°59'59.62"	423
S55	YG1 - 4	2013 - 09 - 13	海南鹦哥岭	109°18'47.91"	18°59'59.64"	467
S56	YG1 - 5	2013 - 09 - 13	海南鹦哥岭	109°18'47.97"	18°59'59.76"	456
S57	YG1 - 6	2013 - 09 - 13	海南鹦哥岭	109°18'47.87"	18°59'59.71"	482
S58	YG1 - 7	2013 - 09 - 13	海南鹦哥岭	109°18'47.53"	18°59'59.86"	463
S59	YG1 - 8	2013 - 09 - 13	海南鹦哥岭	109°18'47.58"	18°59'59.97"	465
S60	YG2 - 1	2013 - 09 - 15	海南鹦哥岭	109°18'48.91"	18°59'59.13"	453
S61	YG2 - 2	2013 - 09 - 15	海南鹦哥岭	109°18'48.34"	18°59'59.16"	451
S62	YG2 - 3	2013 - 09 - 15	海南鹦哥岭	109°18'48.65"	18°59'59.32"	446
S63	YG2 - 4	2013 - 09 - 15	海南鹦哥岭	109°18'48.55"	18°59'59.10"	441
S64	YG2 - 5	2013 - 09 - 15	海南鹦哥岭	109°18'48.85"	18°59'59.90"	436

续表1 Continued tab. 1

S65	YG2-6	2013-09-15	海南鹦哥岭	109°18'48.34"	18°59'59.87"	459
S66	YG2-7	2013-09-15	海南鹦哥岭	109°18'48.39"	18°59'59.67"	444
S67	HNRDZWY1-1	2013-07-22	海南热带植物园	109°30'10.42"	19°30'44.02"	137
S68	HNRDZWY1-2	2013-07-22	海南热带植物园	109°30'10.43"	19°30'44.03"	137
S69	GXYYZWY1-1	2013-11-21	广西药用植物园	108°22'11.23"	22°51'29.32"	87
S70	GXYYZWY1-2	2013-11-22	广西药用植物园	108°22'11.24"	22°51'29.33"	87
S71	XSBN1-1	2013-10-09	云南西双版纳植物园	101°19'27.71"	21°52'17.23"	864
S72	XSBN1-2	2013-10-09	云南西双版纳植物园	101°19'27.71"	21°52'17.24"	864
S73	YG3-1	2013-09-20	海南鹦哥岭	109°18'60.31"	18°59'58.57"	456
S74	YG3-2	2013-09-20	海南鹦哥岭	109°18'60.23"	18°59'58.48"	445
S75	YG3-3	2013-09-20	海南鹦哥岭	109°18'60.67"	18°59'58.55"	467
S76	YG3-4	2013-09-20	海南鹦哥岭	109°18'60.89"	18°59'58.53"	453
S77	YG3-5	2013-09-20	海南鹦哥岭	109°18'60.13"	18°59'58.22"	459
S78	YG4-1	2013-09-22	海南鹦哥岭	109°18'60.90"	18°59'58.44"	460
S79	YG4-2	2013-09-22	海南鹦哥岭	109°18'60.75"	18°59'58.80"	461
S80	YG4-3	2013-09-22	海南鹦哥岭	109°18'59.46"	18°59'58.90"	462
S81	YG4-4	2013-09-22	海南鹦哥岭	109°18'59.97"	18°59'58.14"	464
S82	YG4-5	2013-09-22	海南鹦哥岭	109°18'59.91"	18°59'59.56"	487
S83	YG4-6	2013-09-22	海南鹦哥岭	109°18'59.89"	18°59'59.07"	449
S84	YG4-7	2013-09-22	海南鹦哥岭	109°18'59.80"	18°59'59.78"	435
S85	YG4-8	2013-09-22	海南鹦哥岭	109°18'59.85"	18°59'59.79"	478
S86	WZ1-1	2013-08-17	海南五指山	109°31'41.08"	18°48'2.58"	561
S87	WZ1-2	2013-08-17	海南五指山	109°31'41.23"	18°48'2.30"	553

1.1.2 试剂与引物 氯化钠、醋酸钠、 β -巯基乙醇、Tris-平衡酚、无水乙醇、异戊醇和氯仿等均为国产分析纯; CTAB, EDTA, Mark2 000, Mark15 000, RNA 酶和琼脂糖均购于北京 Trangen company; $10\times$ buffer, MgCl_2 ($25\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), dNTP ($10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), *Taq* 酶 ($2.5\text{ U}\cdot\text{uL}^{-1}$) 无菌水均购于北京 TianGen; ISSR 引物由上海英雄捷基合成。提取液配制根据 Chaudhry 等^[5]的方法进行改良, 包括 $0.45\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 葡萄糖, $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris-HCl (pH 8.0), $5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDTA (pH 8.0), 2% (W/V) 聚乙烯吡咯烷酮 (PVP-36), 2% (V/V) 巯基乙醇。裂解液的配制根据 Vrohbi 等^[6]的方法改良而来, 包括 2% (W/V) CTAB, 2% (W/V) PVP-36, $1.4\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl, $20\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDTA (pH 8.0), $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris-HCl (pH 8.0), 2% (V/V) 巯基乙醇。TE 缓冲液为: $10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris-HCl, $1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDTA (pH 8.0)。 $V_{\text{酚}}:V_{\text{氯仿}}:V_{\text{异戊醇}}=25:24:1$, $V_{\text{氯仿}}:V_{\text{异戊醇}}=24:1$, 乙醇 70%, 100%, 醋酸钠 (pH 5.2) 为 $3\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 异丙醇为 100%。

1.1.3 主要仪器 德国 EPPENDROF 冷冻离心机、德国 EPPENDROF Biophotometer plus 核算蛋白测定仪、德国 TGRADIENT 梯度 PCR 仪、德国 BiotraPCR 仪、北京百亿新凝胶成像系统 (Tanon4100) 等。

1.2 方法

1.2.1 基因组 DNA 的提取 将 CTAB 法改良用于提取肾茶的 DNA。(1) 选取 4~6 片嫩叶, 放入预冷的研钵中, 用液氮研磨至粉状, 将粉末迅速装入灭菌的 2 mL 离心管中, 加入细胞提取液 (改良) $1\,000\text{ }\mu\text{L}$ ($4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存) 和 $20\text{ }\mu\text{L}$ 的 β -巯基乙醇混匀, 在冰上放置 15 min, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, $4\,500\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min; (2) 弃上清, 加入预热 $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的 CTAB 裂解液 (改良) $800\text{ }\mu\text{L}$ 和 $20\text{ }\mu\text{L}$ 的 β -巯基乙醇混匀, 将离心管放置于 $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴锅中, 每 5 min 上下翻转 30 次, 40 min 后取出, 冷却至常温; (3) 加入等体积酚-氯仿-异戊醇混合液, 摇晃至浑浊, 在常温

下放置 5 min, 15 °C, 12 000 r · min⁻¹ 离心 15 min; (4) 取上清(约 900 μL), 加入等体积的氯仿 - 异戊醇混合液, 轻摇混匀, 在冰上放置 5 min, 4 °C, 12 000 r · min⁻¹ 离心 10 min; (5) 重复步骤(4); (6) 取上清(约 600 μL), 加入 2 μL RNA 酶, 在 37 °C 水浴 30 min; (7) 加入 1/10 体积 NaAC, 加入 2 倍体积无水乙醇混匀, 在 -20 °C 静置 60 min, 4 °C, 9 000 r · min⁻¹ 离心 10 min; (8) 弃上清, 用 75% 的乙醇洗涤沉淀, 常温 10 000 r · min⁻¹ 离心 5 min; (9) 重复步骤(8); (10) 弃上清, 置于超净工作台里对 DNA 进行风干 20 ~ 30 min; (11) 加入 50 μL TE 缓冲液溶解沉淀, 4 °C 保存待测。

1.2.2 ISSR 引物筛选 ISSR 引物为加拿大哥伦比亚大学公布的 100 条引物序列, 由英潍捷基(上海)贸易有限公司合成。选用 S2(海南霸王岭)、S59(海南鹦哥岭)、S72(云南西双版纳) 3 份材料作为 DNA 模板, 并从中筛选出 20 条扩增条带清晰, 多态性较好的引物。用这 3 份材料 DNA 模板对引物进行退火温度的筛选, 退火温度设定为 49 ~ 59 °C, PCR 仪自动生成 12 个退火温度, 分别为 49.0, 49.2, 49.0, 51.0, 52.3, 53.4, 54.6, 55.8, 57.0, 58.1, 58.8, 59.0 °C, PCR 产物用 1.0% 的琼脂糖凝胶电泳检测。

1.2.3 ISSR 扩增反应体系的确立 ISSR 扩增反应体系经过优化^①后确定为 20 μL, 反应体系如下: 10 × buffer 2.0 μL, MgCl₂ 2.0 μL, dNTPs 1.4 μL, ISSR 引物(10 μmol · L⁻¹) 1.0 μL, Taq 酶(2.5 U · μL⁻¹) 1.0 μL, DNA 模板(50 ng · μL⁻¹) 2.0 μL, 无菌水 10.6 μL。PCR 反应程序为 94 °C 预变性 7 min; 94 °C 变性 30 s; 49 ~ 59 °C(依据 1.2.2 结果确定) 退火 30 s, 72 °C 延伸 90 s, 35 个循环; 72 °C 延伸 10 min; 4 °C 保存。PCR 产物在含 TBE 的琼脂糖凝胶中电泳 45 min, 电压 120 V。以 Marker2000 相对分子质量为标准对照, 用凝胶成像系统观察拍照记录, 见图 1。

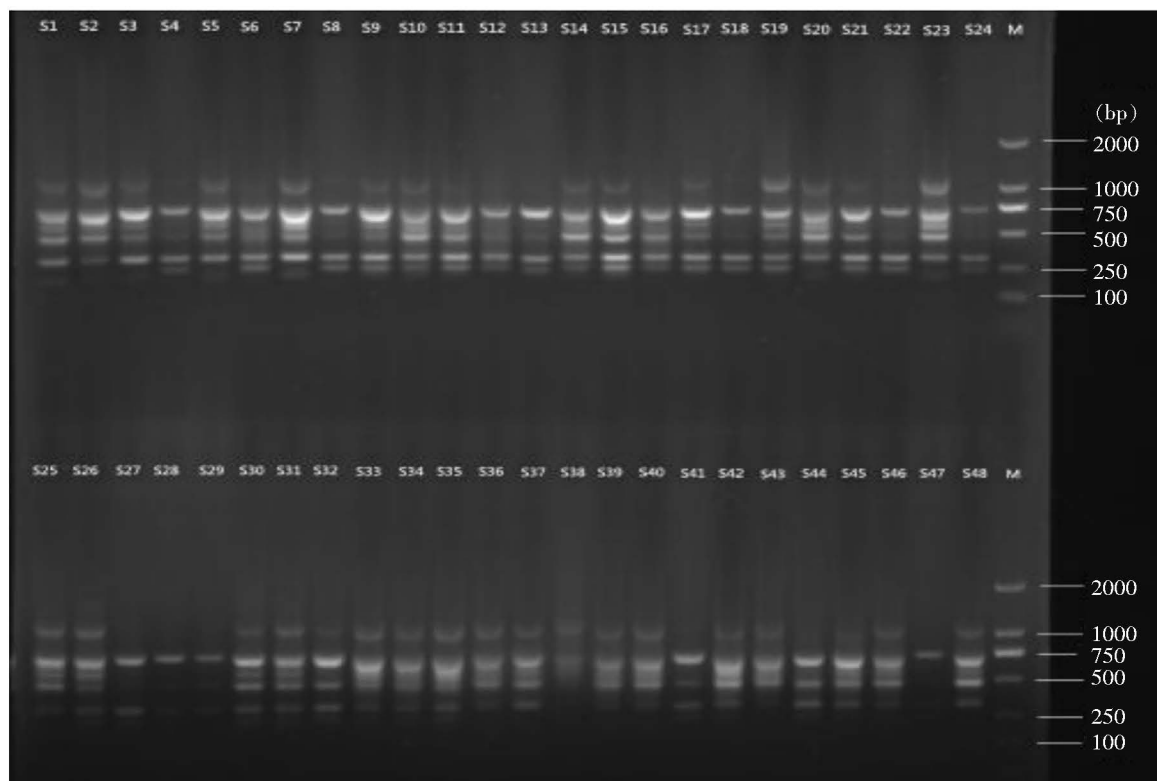


图 1 引物 UBC825 对肾茶部分材料的 ISSR 扩增电泳图

Fig. 1 The amplified results of some accessions of *C. spicatus* with primer UBC825

1.3 数据处理 根据电泳结果记录清晰可重复的 ISSR 条带。对于同一条引物的扩增产物, 迁移率相同的条带记为 1 个位点, 扩增阳性赋值为 1, 阴性赋值为 0, 根据统计条带的结果建立原始数据(0, 1) 矩阵。统计分析采用 NTSYS2.1 软件系统进行, 利用 UPGMA 聚类分析。

① 罗灿. 87 份肾茶属植物种质资源亲缘关系研究 [D], 海南大学, 2015.

2 结果与分析

2.1 基因组 DNA 的遗传多态性 从 UBC 公布的 100 条引物中筛选出 20 条能扩增出条带清晰、多态性及重复效果较好的 ISSR 引物(表 2),通过对肾茶基因组 DNA 进行 PCR 扩增,PCR 扩增条带相对分子质量一般在 100~2 000 bp(图 1)。用筛选出的 20 个 ISSR 引物共扩增出 144 条谱带,平均每个引物扩增出 7.2 条谱带,其中存在多态性的谱带有 120 条,多态性条带的比例(PPB)达 83.33%(表 2)。结果表明肾茶种质资源的遗传多样性丰富,ISSR 标记可以较好地揭示出肾茶种质资源种内的遗传差异和亲缘关系。

表 2 引物序列及其扩增结果

Tab. 2 List of primers and their sequences as well as the amplification results

引物 Primer	引物序列 5'-3' Primer sequence(5'-3')	退火温度/℃ Anneal tempera- ture	扩增条带/数 Percentage of polymorphic bands	多态性条带/数 Percentage of polymorphic bands	多态性百分率/% Percentage of poly- morphic bands
UBC808	AGA GAG AGA GAG AGA GC	52.3	8	8	100.00
UBC809	AGA GAG AGA GAG AGA GG	53.4	8	5	62.50
UBC817	CAC ACA CAC ACA CAC AA	51	7	4	57.14
UBC818	CAC ACA CAC ACA CAC AG	51	8	5	62.50
UBC825	ACA CAC ACA CAC ACA CT	52.3	8	7	87.50
UBC826	ACA CAC ACA CAC ACA CC	58.1	6	6	100.00
UBC827	ACA CAC ACA CAC ACA CG	52.3	7	6	85.71
UBC828	TGT GTG TGT GTG TGT GA	51	5	3	60.00
UBC830	TGT GTG TGT GTG TGT GG	54.6	5	5	100.00
UBC836	AGA GAG AGA GAG AGA GYA	51	9	8	88.89
UBC841	GAG AGA GAG AGA GAG AYC	49.9	6	5	83.33
UBC846	CAC ACA CAC ACA CAC ART	49	7	5	71.43
UBC847	CAC ACA CAC ACA CAC ARC	52.3	8	7	87.50
UBC848	CAC ACA CAC ACA CAC ARG	54.6	7	6	85.71
UBC849	GTG TGT GTG TGT GTG TYA	53.4	9	8	88.89
UBC851	GTG TGT GTG TGT GTG TYG	49.9	7	7	100.00
UBC856	ACA CAC ACA CAC ACA CYA	52.3	11	10	90.91
UBC857	ACA CAC ACA CAC ACA CYG	51	8	8	100.00
UBC858	TGT GTG TGT GTG TGT GRT	49	5	3	60.00
UBC866	CTC CTC CTC CTC CTC CTC	54.6	5	4	80.00
合计			144	120	
平均			7.2	6	83.33

2.2 供试材料的遗传关系

2.2.1 ISSR 遗传标记相似性分析 利用 20 条 ISSR 标记引物对 87 份肾茶种质资源所获得的 144 条扩增片段,通过软件 NTSYS2.1 分析 87 份供试材料间的 Nei-Li 遗传相似系数 (GS 值),GS 值的变化范围在 0.48 ~ 0.98,平均值为 0.73;从表 3 可见,在 87 份肾茶材料中,S29 与 S69 的遗传相似系数最小,为 0.48,表明 S29 与 S69 亲缘关系最远;81 份野生材料与 6 份栽培品种之间的遗传相似系数在 0.48 ~ 0.62 之间,表明野生材料与栽培品种之间亲缘关系较远;6 份栽培种 S67,S68,S69,S70,S71,S72 之间的遗传相似系数在 0.88 ~ 0.98 之间,表明 6 份栽培种之间亲缘关系较近;S69 与 S70 遗传相似系数最高,为 0.98,表明这 2 份材料遗传相似性最高,基因差异最小,亲缘关系最近。87 份肾茶遗传相似性分析结果表明,中国肾茶资源存在丰富的遗传多样性。基于 ISSR 数据计算的 87 份供试材料的相似系数详见附表。

表 3 基于 ISSR 数据计算的 87 份供试材料的相似系数(部分)
Tab. 3 Genetic similarity of 87 *C. spicatus* accessions based on ISSR analysis

编号	S1	S2	S23	S24	S28	S29	S57	S58	S66	S67	S68	S69	S70	S71	S72
S1	1.00														
S2	0.95	1.00													
S23	0.86	0.84	1.00												
S24	0.67	0.65	0.63	1.00											
S28	0.69	0.68	0.63	0.84	1.00										
S29	0.65	0.64	0.56	0.78	0.82	1.00									
S57	0.72	0.69	0.63	0.80	0.82	0.82	1.00								
S58	0.81	0.80	0.74	0.78	0.80	0.72	0.81	1.00							
S66	0.85	0.84	0.85	0.67	0.67	0.60	0.69	0.79	1.00						
S67	0.60	0.56	0.58	0.58	0.57	0.50	0.60	0.59	0.60	1.00					
S68	0.60	0.56	0.58	0.58	0.60	0.51	0.63	0.58	0.62	0.94	1.00				
S69	0.63	0.60	0.58	0.56	0.56	0.48	0.56	0.57	0.65	0.94	0.92	1.00			
S70	0.60	0.58	0.56	0.56	0.57	0.50	0.58	0.58	0.63	0.93	0.92	0.98	1.00		
S71	0.60	0.57	0.55	0.58	0.57	0.53	0.63	0.60	0.62	0.93	0.93	0.92	0.92	1.00	
S72	0.58	0.55	0.54	0.60	0.62	0.56	0.66	0.61	0.60	0.91	0.92	0.88	0.88	0.90	1.00

2.2.2 肾茶遗传多样性的分子聚类 图 2 可见,当遗传相似系数为 0.66 时,供试材料聚为 2 大类,第 I 大类包括 81 份材料,全部为海南野生种,它们之间的遗传相似系数变化范围为 0.57 ~ 0.95,表明野生材料之间遗传多样性较丰富;第 II 大类包含 6 份材料,全部都为栽培种,它们遗传相似系数在 0.88 ~ 0.98 之间,说明它们之间的亲缘关系很近,但这 6 份材料来自不同地域,S67 和 S68 采自海南儋州热带植物园,S69 和 S70 采自广西药用植物园,S71 与 S72 采自云南西双版纳植物园,可见肾茶的遗传多样性与生长的地域没有较大的相关性,此聚类明显突出了野生材料与栽培材料之间遗传的差异性。在遗传相似系数为 0.71 时,供试材料聚为 3 类,第 I 大类可分为 2 个亚类,第 1 亚类包括 77 份材料,47 份采自霸王岭,2 份采自五指山,分别为 S86 与 S87,28 份采自鹦哥岭;第 2 亚类包含 4 份材料,S12,S13,S14 及 S16 都为海南霸王岭采集的野生资源,结果再次表明,其遗传聚类与地域没有严格相关性。

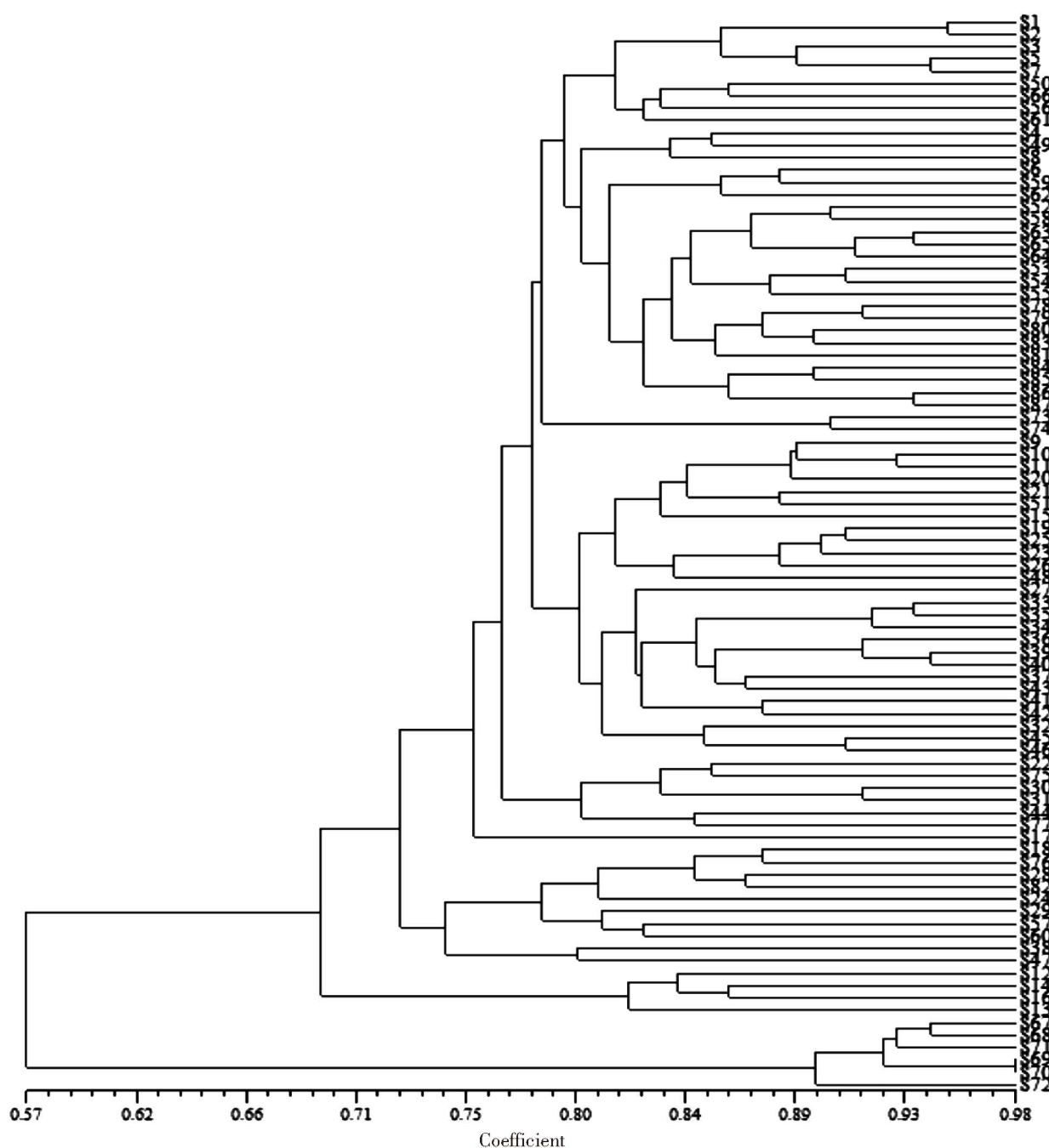


图2 基于 ISSR 数据绘制的 87 份供试材料间的聚类图
Fig. 2 Cluster dendrogram of 87 *C. spicatus* accessions based on ISSR makers

3 讨论

祁建明等^[27]应用 ISSR 标记,对烟草属(*Nicotiana*) 4 个种 30 份材料的遗传多样性进行分析,3 个野生种的遗传相似系数在 0.29 ~ 0.52 之间,结果表明,ISSR 很好地揭示出 3 个烟草野生种之间较大的遗传差异性。本研究首次采用 ISSR 对我国肾茶种质资源的遗传多样性进行分析,20 条 ISSR 引物共产生 144 条扩增条带,其中多态性条带 120 条,多态率 83.33%,87 份材料间的遗传相似系数变化范围为 0.48 ~ 0.98,平均 GS 值为 0.73,表明肾茶种质资源的遗传多样性比较丰富;这与刘伟等^[28]利用 ISSR 标记技术揭示西南地区 45 份狗牙根之间的遗传多样性分析是可行的结论一致。海南野生肾茶材料间的遗传相似系数范围为 0.57 ~ 0.95,表明野生材料具有较丰富的遗传多样性;栽培品种间遗传相似系数为 0.88 ~ 0.98,显示出栽培种的遗传基础相对狭窄。究其原因,可能是栽培肾茶为同一品种生长在不同地域而已,也可能是同

一品种植种到不同地方,再加上肾茶主要是无性繁殖为主,自然繁育比较低,因此基因交流较少,基因型的改变较难,同时 6 份材料之间的叶形、叶缘、花色等形态特征都极其相似,这与表型的观察结果也是一致的。

本试验利用 20 条引物能够将 87 份材料分开,并利用 UPGMA 法将提供的材料聚成 2 大类,进一步证实了 ISSR 分子标记对肾茶资源遗传多样性分析是可行的。Chen 等^[29]用 ISSR 分子标记对中国 92 个藕莲(*Nelumbo nucifera* Gaertn.) 进行遗传多样性分析,结果 92 个品种划分为 2 类,一类是大部分起源于我国的地方品种,另一类是引种于美国的地方品种,这与肾茶遗传多样性分析的结果类似,显示出 ISSR 对肾茶的遗传多样性分析是可行的。Joshi 等^[30]用 ISSR 标记研究稻(*Oryza L.*) 的 42 个品种,包括 28 个野生品种(9 个基因型)、1 个栽培种以及 3 个相关属的品种,发现在种间和种内均表现出很高的多态性,研究结果表明,稻属是多途径进化的,这与肾茶遗传多样性分析结果比较类似,这为肾茶的种类鉴定提供了依据。特别值得注意的是 87 份供试材料中不同区域栽培品种与野生材料之间的遗传差异性较大,野生材料之间同样表现为遗传差异性较大,可见肾茶的遗传聚类与其地理来源没有严格的一致性,这与刘建乐等^[31]对割手密种质资源遗传多样性研究结果一致。

本研究用 ISSR 标记技术对 87 份肾茶材料进行遗传聚类与遗传相似性分析,为了解中国肾茶资源地理起源和肾茶种类鉴定提供了依据。近年来,肾茶虽有大量引种栽培,但随着人们对野生肾茶资源的破坏,海南野生资源已处于濒危状态,再加上海南环境的影响,一些野生居群正在初步缩小甚至消失,这对于肾茶种质资源的研究是非常不利的,因此,加强肾茶野生资源的保护刻不容缓,这也是本研究的意义所在。

致谢:海南大学农学院戚山江、赵原森同学、霸王岭自然保护区王进强老师在实验过程中给予了帮助,特此致谢!

参考文献:

- [1] 柳丹萍,黄荣桂. 肾茶研究新进展 [J]. 海峡药学,2013,25(11):56-60.
- [2] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志(第六十六卷) [M]. 北京:科学出版社,1999:574-577.
- [3] 罗关兴,姜尚椿. 珍贵药用保健植物——肾茶 [J]. 广西热带农业,2004(6):31-32.
- [4] 李芳洲,盛国荣,许金星,等. 肾茶(大花直管草)的引种栽培和初步临床试验报告 [J]. 亚热带植物通讯,1980(1):19-24.
- [5] 张平,李伯儒. 肾茶移栽密度、荫蔽度和追肥量的研究初报 [J]. 热带作物研究,1997(3):39-41.
- [6] 陈建白,白旭华,蒋桂芝,等. 肾茶开发利用的初步研究 [J]. 云南热作科技,1988,21(3):6-8.
- [7] 许娜,许旭东,杨峻山,等. 猫须草的研究进展 [J]. 中草药,2010,41(5):848-851.
- [8] 高南南,陈慧珍,田泽,等. 肾茶药理作用的研究 [J]. 中草药,1996,27(10):615-615.
- [9] 蔡华芳,寿燕,汪菁菁,等. 肾茶的药理作用初探 [J]. 中药材,1997,20(1):38-40.
- [10] 李月婷,黄荣桂,郑兴中,等. 肾茶的研究进展 [J]. 中国中西医结合杂志,2002,22(6):470-472.
- [11] 颜文祝,吕于谋,沈文通,等. 肾茶主要化学成份初步试验 [J]. 海峡药学,1995,7(3):3-4.
- [12] 陈伊蕾,谭昌恒,谭俊杰,等. 肾茶的化学和药理研究进展 [J]. 天然产物研究与开发,2009,21(5):885-891.
- [13] DOLEČKOVÁ I, RÁROVÁ L, GRŮZ J, et al. Antiproliferative and antiangiogenic effects of flavone eupatorin, an active constituent of chloroform extract of *Orthosiphon stamineus* leaves [J]. Fitoterapia,2012,83(6):1000-1007.
- [14] AMZAD H M, ISMAIL Z. Isolation and characterization of triterpenes from the leaves of *Orthosiphon stamineus* [J], Arabian Journal of Chemistry,2013,6:295-298.
- [15] ZIETKIEWICZ E, RAFALSKI A, LABUDA D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification [J]. Genomics, 1994, 20:176-183.
- [16] GUPTA M, CHYI Y S, ROMERO-SEVERSON J, et al. Amplification of DNA makers from evolutionarily diverse genomes using single primers of simple-sequence repeats [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1994, 89: 998-1006.
- [17] NAGAOKA T, OGIHARA Y. Applicability of inter-simple sequence repeat polymorphisms in wheat for use as DNA markers in comparison to RFLP and RAPD marker [J]. Theoretical and Applied Genetics,1997,94:597-602.
- [18] TSUMURA Y, OHBA K, TRAUSS S H. Diversity and inheritance of inter-simple sequence repeat polymorphisms in Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) and sugi(*Cryptomeria japonica*) [J]. Theoretical and Applied Genetics,1996,92(1):40-45.
- [19] QI J M, ZHOU D X, WU W R, et al. Application of ISSR technology in genetic diversity detection of Jute [J]. Chinese Journal of Applied Ecology,2003,14(9):1473-1477.
- [20] WANG X Y, CHEN P D, QI Z J, et al. Preliminary study of ISSR marker technique on wheat fingerprinting [J]. Journal of Ag-

- ricultural Biotechnology, 2001, 9(3) : 261 – 263.
- [1] GE Y Q, QIU Y X, DING B Y, et al. An ISSR analysis on population genetic diversity of the relict plant ginkgo *Biloba* [J]. Biodiversity Sci, 2003, 11(4) : 276 – 287.
- [2] 王英, 庄南生, 高和琼, 等. 甘蔗种质遗传基础的 ISSR 分析 [J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2007, 33(Z1) : 176 – 183.
- [3] BEHERA T K, SINGH A K, STAUB J E. Comparative analysis of genetic diversity in Indian bitter gourd (*Momordica charantia* L.) using RAPD and ISSR markers for developing crop improvement strategies [J]. Scientia Horticulturae, 2008, 15: 209 – 217.
- [4] 广东省植物研究所编委会. 海南植物志(第四卷上) [M]. 北京: 科学出版社, 1977: 56 – 57.
- [5] CHAUDHRY B, YASMEEN A, HUSNAIN T, et al. Mini-scale Genomic DNA Extraction from Cotton [J]. Plant Molecular Biology Reporter, 1999, 17(3) : 280 – 280.
- [6] VROHBI I, HARVENGT L, CHANDELIER A, et al. Improved RAPD amplification of recalcitrant plant DNA by the use of activated charcoal during DNA extraction [J]. Plant Breed, 1996, 115: 205 – 206.
- [7] 祁建民, 王涛, 陈顺辉, 等. 部分烟草种质遗传多样性与亲缘关系的 ISSR 标记分析 [J]. 作物学报, 2006, 32(3) : 373 – 378.
- [8] 刘伟, 张新全, 李芳, 等. 西南区野生狗牙根遗传多样性的 ISSR 标记与地理来源分析 [J]. 草业学报, 2007, 16(3) : 55 – 61.
- [9] CHEN Y Y, ZHOU R C, LIN X D, et al. ISSR analysis of genetic diversity in sacred lotus cultivars [J]. Aquatic Botany, 2008, 89: 311 – 316.
- [10] 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(8) : 1311 – 1320.
- [11] 刘建乐, 白昌军, 严琳玲, 等. 割手密种质资源遗传多样性的 ISSR 分析 [J]. 热带作物学报, 2014, 35(1) : 68 – 73.

Genetic Diversity in *Clerodendranthus spicatus* (Thunb.) Based on ISSR Markers

LUO Can^{1,2,3}, YU Xudong^{1,2,3}, WU Fanhua², GAO Xin³, WANG Tongxin²

(1. College of Horticulture and Landscape Architecture, Hainan University, Haikou, 570228; 2. Laboratory for Development and Utilization of Tropical Rare Plants Resources, College of Agronomy, Hainan University, Haikou, 570228; 3. College of Applied Science and Technology, Hainan University, Danzhou, 571737, China)

Abstract: In order to analyze the genetic diversity of *Clerodendranthus spicatus* (Thunb.) C. Y. Wu. in China, a total of 87 accessions of *C. spicatus* (Thunb.) C. Y. Wu were analyzed by using ISSR markers. One hundred of ISSR primers were designed to produce amplification products of the accessions, among which 20 primers produced distinct amplification products. The 20 primers yielded a total of 144 bands in the 87 accessions, of which 120 bands (83. 3%) were polymorphic (6. 0 polymorphic bands per primer). The ISSR-based genetic similarity (GS) values of the 87 *C. spicatus* accessions ranged from 0. 48 to 0. 98, but the GS values of six accessions of cultivars ranged from 0. 88 – 0. 98. This result indicated that the genetic basis was comparatively narrow among the cultivars. Moreover, the 87 accessions were clustered into two groups by UPGMA, among which the cultivars were classified into one group and the wild species into another group. It is concluded that the wild germplasm resources of *C. spicatus* in China are more genetically diverse and hence have a great potential for further exploitation and utilization.

Key words: *Clerodendranthus spicatus* (Thunb.) C. Y. Wu.; CTAB methods; ISSR; genetic diversity

附表 基于 ISSR 数据计算的 87 份供试材料的相似系数

Schedule Genetic similarity of 87 *C. spicatus* accessions based on ISSR analysis

编号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15
S1	1.00														
S1	1.00														
S2	0.95	1.00													
S3	0.85	0.85	1.00												
S4	0.79	0.77	0.81	1.00											
S5	0.84	0.85	0.88	0.76	1.00										
S6	0.83	0.83	0.83	0.75	0.83	1.00									
S7	0.87	0.89	0.90	0.74	0.94	0.87	1.00								
S8	0.78	0.76	0.80	0.85	0.75	0.76	0.76	1.00							
S9	0.85	0.85	0.81	0.78	0.80	0.85	0.84	0.77	1.00						
S10	0.82	0.84	0.81	0.76	0.81	0.85	0.84	0.77	0.90	1.00					
S11	0.81	0.83	0.79	0.76	0.78	0.86	0.84	0.76	0.88	0.93	1.00				
S12	0.65	0.64	0.66	0.73	0.61	0.70	0.63	0.74	0.72	0.70	0.72	1.00			
S13	0.73	0.72	0.76	0.76	0.71	0.76	0.72	0.75	0.80	0.73	0.77	0.82	1.00		
S14	0.69	0.69	0.70	0.72	0.65	0.73	0.68	0.72	0.78	0.78	0.80	0.83	0.83	1.00	
S15	0.77	0.78	0.78	0.74	0.79	0.76	0.81	0.75	0.81	0.84	0.85	0.64	0.75	0.78	1.00
S16	0.65	0.65	0.66	0.66	0.61	0.73	0.64	0.68	0.72	0.70	0.73	0.85	0.81	0.86	0.68
S17	0.74	0.74	0.78	0.75	0.76	0.72	0.76	0.73	0.76	0.76	0.75	0.58	0.70	0.69	0.76
S18	0.72	0.70	0.79	0.85	0.72	0.71	0.70	0.83	0.71	0.72	0.72	0.69	0.77	0.70	0.74
S19	0.82	0.78	0.79	0.69	0.81	0.78	0.84	0.74	0.81	0.83	0.82	0.58	0.67	0.69	0.83
S20	0.85	0.88	0.83	0.77	0.83	0.81	0.86	0.76	0.88	0.91	0.87	0.64	0.69	0.72	0.81
S21	0.78	0.78	0.78	0.81	0.77	0.75	0.80	0.78	0.85	0.88	0.85	0.63	0.73	0.73	0.87
S22	0.76	0.74	0.81	0.79	0.76	0.81	0.78	0.80	0.82	0.83	0.81	0.72	0.78	0.72	0.76
S23	0.86	0.84	0.82	0.71	0.83	0.81	0.84	0.72	0.82	0.85	0.81	0.59	0.65	0.67	0.74
S24	0.67	0.65	0.72	0.85	0.62	0.65	0.62	0.78	0.68	0.68	0.65	0.70	0.72	0.69	0.65
S25	0.84	0.83	0.84	0.72	0.82	0.77	0.83	0.76	0.78	0.83	0.78	0.60	0.69	0.69	0.78
S26	0.82	0.78	0.81	0.76	0.77	0.78	0.80	0.78	0.82	0.86	0.81	0.65	0.70	0.72	0.77
S27	0.76	0.75	0.80	0.84	0.75	0.77	0.78	0.81	0.78	0.81	0.78	0.69	0.74	0.71	0.76
S28	0.69	0.68	0.76	0.81	0.67	0.69	0.67	0.82	0.66	0.70	0.67	0.76	0.72	0.74	0.68
S29	0.65	0.64	0.67	0.73	0.63	0.65	0.61	0.75	0.65	0.62	0.62	0.76	0.72	0.67	0.63
S30	0.72	0.73	0.78	0.72	0.74	0.76	0.76	0.81	0.76	0.82	0.76	0.74	0.76	0.74	0.76
S31	0.75	0.74	0.81	0.71	0.80	0.79	0.80	0.77	0.75	0.81	0.76	0.67	0.74	0.72	0.77
S32	0.80	0.82	0.83	0.76	0.74	0.78	0.79	0.76	0.80	0.87	0.84	0.69	0.69	0.74	0.81

续附表 Renew schedule

编号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15
S33	0.79	0.81	0.78	0.74	0.76	0.76	0.81	0.73	0.79	0.79	0.78	0.63	0.70	0.66	0.74
S34	0.79	0.78	0.76	0.78	0.76	0.75	0.80	0.74	0.82	0.82	0.78	0.66	0.72	0.69	0.76
S35	0.80	0.79	0.80	0.77	0.76	0.77	0.81	0.75	0.78	0.80	0.77	0.63	0.71	0.65	0.75
S36	0.81	0.83	0.81	0.76	0.82	0.77	0.83	0.76	0.81	0.84	0.80	0.63	0.67	0.67	0.76
S37	0.82	0.84	0.83	0.76	0.78	0.79	0.83	0.78	0.81	0.82	0.81	0.62	0.67	0.70	0.78
S38	0.68	0.67	0.69	0.69	0.70	0.64	0.66	0.67	0.65	0.69	0.64	0.63	0.62	0.63	0.67
S39	0.79	0.81	0.83	0.76	0.78	0.75	0.78	0.78	0.79	0.82	0.76	0.67	0.73	0.73	0.74
S40	0.82	0.83	0.85	0.78	0.83	0.79	0.83	0.78	0.82	0.85	0.79	0.67	0.73	0.73	0.76
S41	0.78	0.81	0.82	0.79	0.80	0.78	0.80	0.78	0.81	0.86	0.79	0.66	0.72	0.73	0.80
S42	0.75	0.78	0.82	0.78	0.77	0.78	0.76	0.77	0.78	0.83	0.81	0.67	0.73	0.72	0.80
S43	0.78	0.78	0.83	0.80	0.79	0.78	0.79	0.78	0.78	0.81	0.78	0.67	0.75	0.72	0.76
S44	0.74	0.74	0.75	0.72	0.72	0.76	0.73	0.72	0.75	0.78	0.72	0.80	0.77	0.77	0.70
S45	0.72	0.74	0.78	0.72	0.73	0.79	0.77	0.70	0.75	0.81	0.79	0.70	0.67	0.74	0.74
S46	0.73	0.75	0.78	0.70	0.71	0.80	0.76	0.71	0.78	0.81	0.78	0.71	0.69	0.74	0.74
S47	0.66	0.67	0.70	0.70	0.67	0.67	0.68	0.68	0.65	0.70	0.65	0.68	0.67	0.68	0.67
S48	0.78	0.74	0.81	0.75	0.74	0.75	0.78	0.76	0.76	0.81	0.81	0.62	0.66	0.69	0.76
S49	0.83	0.81	0.83	0.85	0.82	0.78	0.82	0.82	0.81	0.80	0.80	0.67	0.72	0.74	0.82
S50	0.83	0.83	0.78	0.74	0.80	0.79	0.83	0.72	0.79	0.76	0.78	0.58	0.65	0.65	0.74
S51	0.78	0.81	0.78	0.76	0.75	0.81	0.79	0.76	0.80	0.85	0.84	0.65	0.71	0.74	0.82
S52	0.78	0.78	0.83	0.79	0.78	0.83	0.81	0.80	0.78	0.79	0.76	0.66	0.72	0.72	0.74
S53	0.78	0.78	0.81	0.84	0.75	0.81	0.76	0.79	0.76	0.74	0.74	0.68	0.76	0.71	0.71
S54	0.78	0.77	0.78	0.83	0.76	0.79	0.77	0.83	0.76	0.75	0.76	0.69	0.76	0.70	0.74
S55	0.77	0.75	0.77	0.83	0.76	0.76	0.74	0.79	0.76	0.74	0.73	0.68	0.75	0.69	0.74
S56	0.81	0.83	0.78	0.74	0.79	0.78	0.81	0.75	0.78	0.78	0.77	0.61	0.67	0.67	0.71
S57	0.72	0.69	0.72	0.80	0.68	0.72	0.67	0.79	0.69	0.69	0.69	0.72	0.71	0.68	0.68
S58	0.81	0.80	0.82	0.79	0.76	0.79	0.78	0.85	0.79	0.79	0.76	0.67	0.74	0.72	0.76
S59	0.84	0.82	0.81	0.80	0.78	0.88	0.79	0.79	0.81	0.78	0.80	0.69	0.76	0.69	0.74
S60	0.71	0.69	0.72	0.75	0.66	0.65	0.66	0.74	0.69	0.68	0.67	0.74	0.74	0.67	0.69
S61	0.82	0.83	0.79	0.69	0.81	0.82	0.83	0.74	0.81	0.79	0.75	0.66	0.72	0.66	0.72
S62	0.79	0.77	0.81	0.79	0.78	0.88	0.81	0.77	0.83	0.81	0.82	0.67	0.74	0.72	0.76
S63	0.81	0.80	0.82	0.76	0.81	0.82	0.83	0.81	0.81	0.82	0.81	0.67	0.73	0.73	0.78
S64	0.85	0.85	0.84	0.80	0.82	0.84	0.85	0.85	0.84	0.83	0.80	0.67	0.72	0.71	0.78
S65	0.81	0.81	0.84	0.78	0.83	0.81	0.83	0.83	0.80	0.81	0.78	0.67	0.74	0.74	0.81

续附表 Renew schedule

编号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15
S66	0.85	0.84	0.79	0.75	0.81	0.78	0.83	0.78	0.79	0.78	0.75	0.62	0.69	0.69	0.76
S67	0.60	0.56	0.52	0.58	0.54	0.53	0.57	0.56	0.55	0.55	0.53	0.53	0.53	0.56	0.54
S68	0.60	0.56	0.53	0.59	0.56	0.55	0.57	0.60	0.55	0.53	0.52	0.57	0.56	0.57	0.56
S69	0.63	0.60	0.54	0.58	0.56	0.56	0.58	0.59	0.58	0.58	0.56	0.56	0.55	0.59	0.58
S70	0.60	0.58	0.53	0.58	0.56	0.55	0.57	0.58	0.56	0.56	0.55	0.57	0.56	0.60	0.58
S71	0.60	0.57	0.53	0.59	0.57	0.58	0.60	0.61	0.59	0.58	0.56	0.58	0.57	0.58	0.58
S72	0.58	0.55	0.51	0.60	0.52	0.54	0.55	0.60	0.54	0.53	0.51	0.58	0.56	0.58	0.52
S73	0.83	0.79	0.77	0.77	0.78	0.76	0.78	0.81	0.80	0.81	0.77	0.68	0.74	0.74	0.76
S74	0.77	0.78	0.77	0.77	0.76	0.73	0.76	0.78	0.77	0.80	0.76	0.64	0.69	0.68	0.74
S75	0.76	0.74	0.78	0.80	0.79	0.78	0.76	0.81	0.81	0.78	0.74	0.68	0.76	0.72	0.72
S76	0.74	0.73	0.78	0.78	0.74	0.75	0.74	0.78	0.76	0.76	0.74	0.73	0.81	0.74	0.72
S77	0.72	0.72	0.76	0.72	0.74	0.81	0.76	0.76	0.78	0.78	0.78	0.80	0.83	0.80	0.70
S78	0.74	0.73	0.79	0.76	0.77	0.79	0.76	0.80	0.74	0.76	0.72	0.67	0.69	0.69	0.69
S79	0.75	0.76	0.81	0.78	0.74	0.78	0.74	0.81	0.74	0.76	0.74	0.70	0.70	0.67	0.69
S80	0.78	0.79	0.83	0.80	0.76	0.80	0.78	0.81	0.77	0.80	0.77	0.64	0.69	0.65	0.72
S81	0.75	0.73	0.79	0.76	0.74	0.76	0.74	0.76	0.72	0.72	0.69	0.65	0.70	0.67	0.67
S82	0.72	0.73	0.79	0.81	0.72	0.75	0.70	0.77	0.72	0.75	0.74	0.73	0.72	0.72	0.70
S83	0.78	0.80	0.81	0.75	0.77	0.76	0.77	0.78	0.74	0.78	0.74	0.65	0.65	0.66	0.70
S84	0.83	0.83	0.83	0.76	0.79	0.81	0.83	0.76	0.81	0.83	0.83	0.67	0.74	0.71	0.78
S85	0.82	0.81	0.83	0.81	0.81	0.83	0.81	0.83	0.79	0.82	0.79	0.70	0.74	0.70	0.72
S86	0.81	0.81	0.84	0.83	0.82	0.83	0.83	0.78	0.85	0.88	0.83	0.67	0.72	0.72	0.78
S87	0.83	0.81	0.85	0.81	0.81	0.83	0.83	0.78	0.85	0.86	0.81	0.70	0.74	0.74	0.77
编号	S16	S17	S18	S19	S20	S21	S22	S23	S24	S25	S26	S27	S28	S29	S30
S16	1.00														
S17	0.66	1.00													
S18	0.67	0.82	1.00												
S19	0.59	0.81	0.74	1.00											
S20	0.63	0.76	0.72	0.85	1.00										
S21	0.65	0.81	0.78	0.83	0.87	1.00									
S22	0.70	0.74	0.82	0.78	0.84	0.83	1.00								
S23	0.60	0.75	0.68	0.89	0.90	0.81	0.78	1.00							

续附表 Renew Schedule

编号	S16	S17	S18	S19	S20	S21	S22	S23	S24	S25	S26	S27	S28	S29	S30
S24	0.69	0.72	0.83	0.63	0.67	0.74	0.79	0.63	1.00						
S25	0.60	0.81	0.74	0.91	0.88	0.81	0.74	0.91	0.65	1.00					
S26	0.62	0.81	0.74	0.88	0.87	0.83	0.81	0.86	0.71	0.91	1.00				
S27	0.65	0.80	0.81	0.80	0.82	0.85	0.83	0.76	0.80	0.81	0.85	1.00			
S28	0.76	0.76	0.85	0.66	0.67	0.73	0.76	0.63	0.84	0.69	0.70	0.82	1.00		
S29	0.69	0.67	0.76	0.58	0.58	0.66	0.66	0.56	0.78	0.61	0.58	0.71	0.82	1.00	
S30	0.70	0.71	0.78	0.75	0.76	0.81	0.82	0.72	0.72	0.77	0.79	0.78	0.80	0.73	1.00
S31	0.67	0.72	0.78	0.82	0.77	0.78	0.83	0.76	0.69	0.78	0.78	0.77	0.77	0.69	0.92
S32	0.68	0.76	0.74	0.78	0.82	0.81	0.77	0.78	0.69	0.81	0.83	0.79	0.75	0.65	0.81
S33	0.66	0.75	0.75	0.78	0.81	0.81	0.81	0.78	0.69	0.78	0.78	0.83	0.74	0.65	0.75
S34	0.65	0.74	0.74	0.76	0.83	0.85	0.82	0.78	0.69	0.77	0.82	0.83	0.73	0.65	0.76
S35	0.67	0.76	0.77	0.77	0.79	0.80	0.81	0.77	0.72	0.76	0.80	0.83	0.76	0.67	0.76
S36	0.60	0.76	0.74	0.81	0.89	0.81	0.78	0.83	0.63	0.86	0.84	0.81	0.71	0.61	0.77
S37	0.60	0.75	0.74	0.82	0.87	0.79	0.81	0.82	0.68	0.84	0.85	0.81	0.72	0.62	0.74
S38	0.60	0.75	0.74	0.69	0.70	0.72	0.67	0.68	0.68	0.76	0.74	0.76	0.78	0.73	0.71
S39	0.67	0.79	0.78	0.76	0.84	0.78	0.74	0.67	0.79	0.78	0.76	0.84	0.78	0.67	0.78
S40	0.67	0.79	0.76	0.78	0.85	0.81	0.79	0.81	0.68	0.85	0.85	0.83	0.76	0.66	0.78
S41	0.65	0.78	0.76	0.81	0.81	0.85	0.78	0.79	0.72	0.84	0.83	0.83	0.76	0.70	0.83
S42	0.67	0.79	0.79	0.79	0.80	0.79	0.78	0.76	0.72	0.83	0.82	0.81	0.78	0.67	0.79
S43	0.64	0.76	0.80	0.80	0.82	0.81	0.81	0.78	0.73	0.82	0.83	0.85	0.76	0.68	0.77
S44	0.78	0.69	0.71	0.69	0.74	0.72	0.79	0.72	0.69	0.73	0.76	0.78	0.77	0.69	0.81
S45	0.72	0.72	0.68	0.72	0.76	0.78	0.74	0.75	0.67	0.74	0.76	0.80	0.76	0.69	0.75
S46	0.71	0.69	0.66	0.72	0.78	0.77	0.76	0.74	0.65	0.74	0.77	0.76	0.71	0.67	0.77
S47	0.69	0.67	0.73	0.66	0.65	0.70	0.72	0.63	0.77	0.68	0.69	0.72	0.81	0.76	0.76
S48	0.65	0.79	0.78	0.83	0.83	0.82	0.78	0.82	0.68	0.85	0.85	0.83	0.74	0.66	0.74
S49	0.68	0.78	0.80	0.77	0.81	0.81	0.78	0.76	0.73	0.78	0.76	0.79	0.76	0.74	0.70
S50	0.58	0.72	0.68	0.81	0.81	0.74	0.69	0.85	0.61	0.83	0.76	0.74	0.62	0.59	0.65
S51	0.67	0.77	0.76	0.83	0.82	0.88	0.77	0.80	0.72	0.81	0.80	0.83	0.78	0.69	0.81
S52	0.67	0.83	0.82	0.79	0.78	0.79	0.79	0.78	0.74	0.80	0.81	0.84	0.80	0.69	0.76
S53	0.67	0.76	0.84	0.72	0.76	0.78	0.81	0.73	0.80	0.74	0.73	0.81	0.81	0.74	0.73
S54	0.67	0.79	0.83	0.74	0.76	0.78	0.81	0.71	0.76	0.73	0.72	0.81	0.81	0.74	0.75
S55	0.67	0.78	0.84	0.72	0.74	0.76	0.80	0.72	0.77	0.72	0.73	0.79	0.81	0.75	0.78

续附表 Renew Schedule

编号	S16	S17	S18	S19	S20	S21	S22	S23	S24	S25	S26	S27	S28	S29	S30
S56	0.64	0.73	0.73	0.76	0.79	0.74	0.73	0.78	0.66	0.76	0.76	0.76	0.69	0.60	0.70
S57	0.65	0.73	0.80	0.67	0.67	0.72	0.74	0.63	0.80	0.65	0.67	0.74	0.82	0.82	0.72
S58	0.69	0.79	0.83	0.75	0.77	0.76	0.79	0.74	0.78	0.76	0.79	0.80	0.80	0.72	0.78
S59	0.69	0.73	0.74	0.74	0.76	0.72	0.76	0.76	0.69	0.75	0.78	0.72	0.71	0.64	0.74
S60	0.66	0.69	0.78	0.67	0.66	0.72	0.74	0.64	0.74	0.67	0.68	0.74	0.78	0.80	0.74
S61	0.65	0.72	0.69	0.81	0.77	0.72	0.75	0.83	0.64	0.80	0.78	0.73	0.66	0.63	0.75
S62	0.72	0.74	0.76	0.76	0.78	0.79	0.81	0.79	0.72	0.76	0.78	0.81	0.73	0.65	0.72
S63	0.67	0.76	0.78	0.82	0.83	0.78	0.82	0.81	0.71	0.81	0.82	0.83	0.73	0.65	0.76
S64	0.67	0.74	0.77	0.78	0.83	0.78	0.81	0.80	0.70	0.79	0.81	0.81	0.72	0.65	0.77
S65	0.68	0.74	0.77	0.80	0.82	0.77	0.81	0.78	0.70	0.79	0.80	0.81	0.74	0.67	0.78
S66	0.62	0.71	0.74	0.82	0.84	0.76	0.76	0.85	0.67	0.84	0.79	0.77	0.67	0.60	0.75
S67	0.50	0.53	0.53	0.62	0.58	0.56	0.58	0.58	0.58	0.58	0.60	0.61	0.57	0.50	0.55
S68	0.53	0.52	0.56	0.62	0.57	0.55	0.60	0.58	0.58	0.58	0.59	0.61	0.60	0.51	0.58
S69	0.53	0.51	0.53	0.61	0.60	0.57	0.60	0.58	0.56	0.60	0.61	0.59	0.56	0.48	0.60
S70	0.54	0.52	0.53	0.60	0.58	0.55	0.59	0.56	0.56	0.58	0.59	0.58	0.57	0.50	0.58
S71	0.54	0.52	0.55	0.60	0.58	0.55	0.60	0.55	0.58	0.56	0.60	0.60	0.57	0.53	0.59
S72	0.53	0.54	0.57	0.57	0.56	0.56	0.60	0.54	0.60	0.55	0.57	0.62	0.62	0.56	0.57
S73	0.68	0.74	0.77	0.78	0.79	0.81	0.76	0.77	0.70	0.81	0.80	0.79	0.78	0.71	0.81
S74	0.64	0.78	0.78	0.77	0.79	0.80	0.76	0.77	0.72	0.82	0.78	0.79	0.76	0.67	0.80
S75	0.67	0.76	0.80	0.76	0.78	0.77	0.85	0.76	0.77	0.76	0.80	0.76	0.75	0.67	0.84
S76	0.73	0.79	0.88	0.72	0.73	0.79	0.82	0.69	0.78	0.74	0.74	0.84	0.87	0.80	0.86
S77	0.80	0.69	0.75	0.68	0.70	0.69	0.79	0.68	0.71	0.69	0.69	0.76	0.78	0.76	0.85
S78	0.67	0.78	0.78	0.75	0.74	0.75	0.78	0.75	0.72	0.77	0.75	0.80	0.81	0.72	0.81
S79	0.69	0.75	0.78	0.71	0.74	0.72	0.75	0.69	0.72	0.73	0.72	0.77	0.83	0.74	0.78
S80	0.63	0.77	0.81	0.76	0.79	0.77	0.78	0.77	0.74	0.79	0.80	0.79	0.74	0.65	0.76
S81	0.67	0.75	0.82	0.71	0.70	0.69	0.78	0.72	0.74	0.72	0.72	0.74	0.77	0.72	0.78
S82	0.74	0.76	0.83	0.68	0.70	0.75	0.76	0.68	0.78	0.70	0.71	0.78	0.87	0.74	0.76
S83	0.65	0.74	0.75	0.74	0.76	0.74	0.74	0.75	0.68	0.77	0.75	0.76	0.74	0.67	0.76
S84	0.67	0.77	0.78	0.78	0.81	0.77	0.80	0.77	0.69	0.79	0.80	0.79	0.71	0.67	0.80
S85	0.66	0.76	0.82	0.78	0.80	0.78	0.83	0.79	0.72	0.80	0.81	0.81	0.74	0.69	0.79
S86	0.64	0.76	0.77	0.81	0.86	0.83	0.81	0.83	0.72	0.83	0.85	0.85	0.72	0.64	0.80
S87	0.67	0.69	0.75	0.79	0.84	0.79	0.83	0.82	0.71	0.81	0.82	0.80	0.73	0.63	0.82

续附表 Renew Schedule

编号	S31	S32	S33	S34	S35	S36	S37	S38	S39	S40	S41	S42	S43	S44	S45
S31	1.00														
S32	0.80	1.00													
S33	0.78	0.84	1.00												
S34	0.76	0.83	0.92	1.00											
S35	0.78	0.82	0.94	0.92	1.00										
S36	0.78	0.85	0.87	0.90	0.86	1.00									
S37	0.78	0.81	0.83	0.83	0.84	0.88	1.00								
S38	0.71	0.73	0.75	0.76	0.74	0.78	0.71	1.00							
S39	0.78	0.83	0.82	0.83	0.84	0.91	0.85	0.82	1.00						
S40	0.78	0.84	0.83	0.88	0.87	0.92	0.86	0.82	0.94	1.00					
S41	0.81	0.84	0.78	0.81	0.78	0.83	0.81	0.79	0.83	0.86	1.00				
S42	0.81	0.85	0.79	0.79	0.81	0.84	0.83	0.81	0.88	0.86	0.88	1.00			
S43	0.80	0.82	0.83	0.84	0.85	0.83	0.87	0.77	0.84	0.87	0.84	0.87	1.00		
S44	0.79	0.78	0.81	0.81	0.80	0.76	0.72	0.75	0.79	0.81	0.79	0.79	0.78	1.00	
S45	0.72	0.84	0.82	0.83	0.81	0.77	0.75	0.74	0.78	0.81	0.79	0.82	0.81	0.85	1.00
S46	0.74	0.86	0.80	0.83	0.79	0.79	0.80	0.70	0.78	0.81	0.80	0.81	0.79	0.80	0.91
S47	0.74	0.74	0.72	0.73	0.74	0.69	0.66	0.80	0.72	0.74	0.83	0.73	0.71	0.76	0.73
S48	0.72	0.80	0.81	0.79	0.80	0.83	0.79	0.74	0.82	0.81	0.76	0.78	0.81	0.71	0.82
S49	0.74	0.76	0.80	0.80	0.81	0.79	0.80	0.73	0.81	0.81	0.78	0.77	0.81	0.72	0.77
S50	0.68	0.73	0.78	0.75	0.76	0.80	0.78	0.67	0.75	0.75	0.72	0.75	0.78	0.68	0.75
S51	0.81	0.85	0.83	0.80	0.81	0.79	0.81	0.72	0.76	0.78	0.81	0.80	0.81	0.73	0.81
S52	0.81	0.80	0.82	0.81	0.83	0.81	0.82	0.74	0.79	0.82	0.81	0.79	0.81	0.76	0.78
S53	0.76	0.75	0.77	0.77	0.76	0.76	0.77	0.72	0.74	0.77	0.76	0.76	0.78	0.74	0.74
S54	0.76	0.74	0.76	0.75	0.76	0.74	0.76	0.69	0.74	0.74	0.74	0.76	0.76	0.71	0.72
S55	0.80	0.74	0.77	0.74	0.78	0.74	0.73	0.70	0.74	0.74	0.73	0.77	0.75	0.74	0.72
S56	0.73	0.74	0.77	0.74	0.76	0.78	0.78	0.65	0.74	0.74	0.73	0.74	0.75	0.70	0.73
S57	0.74	0.72	0.70	0.70	0.72	0.67	0.73	0.73	0.69	0.70	0.74	0.74	0.74	0.69	0.67
S58	0.79	0.80	0.82	0.78	0.84	0.77	0.79	0.68	0.78	0.78	0.75	0.76	0.78	0.74	0.74
S59	0.76	0.78	0.74	0.73	0.75	0.75	0.76	0.65	0.74	0.74	0.74	0.76	0.75	0.76	0.73
S60	0.71	0.73	0.74	0.75	0.76	0.69	0.69	0.71	0.72	0.72	0.72	0.74	0.73	0.74	0.72
S61	0.76	0.76	0.78	0.75	0.76	0.77	0.76	0.67	0.74	0.75	0.78	0.78	0.78	0.76	0.76
S62	0.74	0.74	0.82	0.81	0.81	0.77	0.81	0.65	0.74	0.78	0.75	0.76	0.80	0.74	0.78
S63	0.79	0.81	0.83	0.78	0.80	0.81	0.83	0.65	0.79	0.79	0.76	0.78	0.81	0.75	0.76

编号	S31	S32	S33	S34	S35	S36	S37	S38	S39	S40	S41	S42	S43	S44	S45	
S64	0.78	0.81	0.81	0.80	0.82	0.79	0.76	0.76	0.78	0.67	0.80	0.83	0.79	0.76	0.76	
S65	0.81	0.81	0.81	0.77	0.82	0.81	0.81	0.67	0.83	0.80	0.78	0.80	0.79	0.77	0.77	
S66	0.76	0.77	0.82	0.78	0.78	0.84	0.79	0.69	0.81	0.79	0.76	0.76	0.74	0.75	0.72	
S67	0.55	0.54	0.59	0.62	0.61	0.56	0.58	0.58	0.53	0.56	0.52	0.51	0.56	0.55	0.58	
S68	0.59	0.56	0.58	0.59	0.60	0.56	0.58	0.58	0.55	0.58	0.56	0.53	0.56	0.58	0.55	
S69	0.57	0.56	0.56	0.60	0.58	0.59	0.60	0.57	0.57	0.60	0.57	0.56	0.53	0.57	0.56	
S70	0.56	0.56	0.55	0.58	0.57	0.57	0.59	0.56	0.55	0.58	0.55	0.56	0.54	0.56	0.56	
S71	0.59	0.57	0.56	0.60	0.60	0.57	0.58	0.56	0.55	0.58	0.58	0.55	0.54	0.58	0.56	
S72	0.57	0.56	0.61	0.63	0.63	0.56	0.58	0.58	0.56	0.58	0.56	0.53	0.59	0.57	0.56	
S73	0.78	0.75	0.76	0.77	0.78	0.79	0.76	0.76	0.80	0.81	0.80	0.77	0.74	0.74	0.72	
S74	0.77	0.75	0.80	0.78	0.81	0.82	0.77	0.76	0.83	0.81	0.80	0.80	0.76	0.73	0.73	
S75	0.84	0.72	0.74	0.77	0.75	0.78	0.76	0.69	0.78	0.77	0.78	0.78	0.75	0.76	0.70	
S76	0.85	0.74	0.79	0.78	0.80	0.76	0.74	0.76	0.79	0.79	0.79	0.78	0.80	0.81	0.74	
S77	0.81	0.72	0.74	0.74	0.74	0.72	0.71	0.68	0.76	0.76	0.76	0.75	0.76	0.85	0.78	
S78	0.79	0.73	0.76	0.72	0.76	0.74	0.74	0.75	0.78	0.76	0.78	0.76	0.76	0.75	0.75	
S79	0.75	0.77	0.78	0.75	0.78	0.77	0.75	0.74	0.79	0.78	0.75	0.78	0.74	0.74	0.76	
S80	0.76	0.78	0.78	0.76	0.79	0.79	0.78	0.69	0.80	0.78	0.74	0.78	0.76	0.72	0.74	
S81	0.81	0.74	0.76	0.75	0.78	0.76	0.74	0.69	0.78	0.75	0.72	0.72	0.74	0.76	0.75	
S82	0.76	0.78	0.76	0.72	0.77	0.74	0.71	0.75	0.78	0.78	0.75	0.76	0.73	0.78	0.76	
S83	0.78	0.83	0.82	0.78	0.81	0.81	0.78	0.71	0.82	0.82	0.75	0.78	0.76	0.72	0.78	
S84	0.83	0.85	0.84	0.78	0.83	0.85	0.81	0.67	0.84	0.81	0.77	0.80	0.78	0.76	0.76	
S85	0.79	0.80	0.79	0.76	0.78	0.83	0.78	0.71	0.85	0.83	0.81	0.79	0.77	0.76	0.78	
S86	0.80	0.82	0.83	0.84	0.83	0.86	0.81	0.72	0.84	0.84	0.83	0.81	0.83	0.76	0.80	
S87	0.82	0.83	0.81	0.85	0.81	0.85	0.83	0.68	0.81	0.85	0.82	0.79	0.83	0.79	0.78	
编号	S46	S47	S48	S49	S50	S51	S52	S53	S54	S55	S56	S57	S58	S59	S60	S61
S46	1.00															
S47	0.74	1.00														
S48	0.80	0.67	1.00													
S49	0.74	0.71	0.83	1.00												
S50	0.72	0.58	0.82	0.83	1.00											
S51	0.81	0.71	0.80	0.81	0.76	1.00										
S52	0.76	0.73	0.78	0.81	0.79	0.85	1.00</									

续附表 Renew Schedule

编号	S46	S47	S48	S49	S50	S51	S52	S53	S54	S55	S56	S57	S58	S59	S60	S61
S53	0.72	0.72	0.76	0.81	0.76	0.82	0.90	1.00								
S54	0.70	0.67	0.75	0.84	0.76	0.83	0.88	0.91	1.00							
S55	0.68	0.68	0.76	0.83	0.76	0.81	0.83	0.86	0.90	1.00						
S56	0.69	0.60	0.76	0.76	0.84	0.76	0.84	0.78	0.83	0.76	1.00					
S57	0.68	0.74	0.66	0.78	0.65	0.78	0.80	0.83	0.84	0.83	0.69	1.00				
S58	0.73	0.69	0.78	0.83	0.78	0.83	0.90	0.84	0.85	0.87	0.83	0.81	1.00			
S59	0.75	0.64	0.73	0.78	0.80	0.76	0.84	0.82	0.83	0.79	0.82	0.75	0.84	1.00		
S60	0.72	0.72	0.72	0.76	0.65	0.76	0.75	0.78	0.78	0.80	0.65	0.83	0.78	0.67	1.00	
S61	0.74	0.66	0.72	0.73	0.82	0.78	0.82	0.77	0.79	0.76	0.83	0.67	0.78	0.83	0.67	1.00
S62	0.76	0.63	0.81	0.81	0.82	0.81	0.86	0.84	0.82	0.80	0.83	0.74	0.85	0.84	0.72	0.79
S63	0.76	0.67	0.83	0.83	0.82	0.84	0.88	0.83	0.83	0.84	0.84	0.74	0.88	0.81	0.74	0.83
S64	0.78	0.67	0.80	0.83	0.80	0.81	0.87	0.85	0.87	0.82	0.88	0.74	0.88	0.88	0.72	0.83
S65	0.76	0.69	0.83	0.86	0.81	0.79	0.84	0.81	0.83	0.86	0.82	0.75	0.88	0.83	0.73	0.80
S66	0.72	0.65	0.78	0.78	0.86	0.77	0.81	0.80	0.79	0.77	0.83	0.69	0.79	0.78	0.67	0.83
S67	0.56	0.58	0.59	0.61	0.60	0.60	0.56	0.56	0.59	0.60	0.57	0.60	0.59	0.54	0.56	0.53
S68	0.56	0.63	0.55	0.61	0.56	0.57	0.58	0.57	0.60	0.60	0.54	0.63	0.58	0.56	0.56	0.55
S69	0.56	0.59	0.56	0.59	0.58	0.59	0.56	0.56	0.60	0.59	0.58	0.56	0.57	0.56	0.54	0.58
S70	0.56	0.60	0.55	0.61	0.59	0.60	0.56	0.57	0.60	0.61	0.56	0.58	0.58	0.54	0.56	0.59
S71	0.57	0.63	0.55	0.61	0.56	0.57	0.56	0.56	0.60	0.58	0.56	0.63	0.60	0.57	0.56	0.53
S72	0.56	0.65	0.56	0.62	0.56	0.59	0.60	0.59	0.61	0.62	0.52	0.66	0.61	0.52	0.58	0.53
S73	0.72	0.71	0.77	0.79	0.72	0.83	0.80	0.79	0.78	0.82	0.72	0.75	0.81	0.76	0.77	0.76
S74	0.69	0.67	0.78	0.79	0.77	0.82	0.81	0.79	0.78	0.81	0.75	0.72	0.81	0.75	0.77	0.74
S75	0.74	0.72	0.74	0.79	0.72	0.76	0.78	0.81	0.80	0.85	0.71	0.74	0.80	0.79	0.72	0.77
S76	0.72	0.76	0.76	0.78	0.68	0.83	0.85	0.84	0.83	0.87	0.73	0.78	0.83	0.74	0.82	0.74
S77	0.77	0.73	0.72	0.74	0.68	0.73	0.75	0.77	0.76	0.77	0.69	0.72	0.75	0.77	0.75	0.75
S78	0.73	0.70	0.81	0.78	0.75	0.80	0.86	0.84	0.85	0.84	0.78	0.77	0.85	0.81	0.75	0.79
S79	0.74	0.70	0.81	0.80	0.71	0.80	0.82	0.84	0.83	0.81	0.76	0.77	0.85	0.80	0.81	0.76
S80	0.71	0.63	0.81	0.79	0.80	0.81	0.85	0.86	0.85	0.83	0.85	0.75	0.88	0.83	0.74	0.80
S81	0.72	0.72	0.78	0.80	0.74	0.74	0.81	0.83	0.81	0.84	0.77	0.74	0.83	0.80	0.75	0.76
S82	0.73	0.74	0.75	0.78	0.67	0.80	0.83	0.84	0.82	0.81	0.76	0.77	0.83	0.78	0.76	0.71
S83	0.74	0.67	0.79	0.80	0.76	0.78	0.82	0.80	0.79	0.81	0.81	0.73	0.86	0.77	0.74	0.78
S84	0.75	0.68	0.80	0.79	0.74	0.79	0.80	0.78	0.77	0.79	0.76	0.71	0.83	0.79	0.73	0.78
S85	0.76	0.70	0.82	0.81	0.75	0.78	0.83	0.84	0.82	0.83	0.78	0.76	0.83	0.81	0.74	0.81
S86	0.76	0.68	0.85	0.83	0.81	0.82	0.83	0.79	0.78	0.81	0.79	0.71	0.84	0.78	0.73	0.80
S87	0.78	0.72	0.79	0.80	0.78	0.80	0.81	0.80	0.78	0.78	0.77	0.70	0.81	0.78	0.74	0.81

续附表 Renew Schedule

编号	S62	S63	S64	S65	S66	S67	S68	S69	S70	S71	S72	S73	S74	S75	S76
S62	1.00														
S63	0.85	1.00													
S64	0.85	0.91	1.00												
S65	0.83	0.94	0.92	1.00											
S66	0.76	0.86	0.85	0.87	1.00										
S67	0.56	0.58	0.56	0.60	0.60	1.00									
S68	0.56	0.58	0.57	0.61	0.62	0.94	1.00								
S69	0.56	0.58	0.59	0.62	0.65	0.94	0.92	1.00							
S70	0.55	0.60	0.57	0.63	0.63	0.93	0.92	0.98	1.00						
S71	0.56	0.58	0.60	0.63	0.62	0.93	0.93	0.92	0.92	1.00					
S72	0.56	0.58	0.56	0.60	0.60	0.91	0.92	0.88	0.88	0.90	1.00				
S73	0.78	0.78	0.81	0.81	0.78	0.60	0.61	0.63	0.63	0.60	0.59	1.00			
S74	0.78	0.77	0.78	0.78	0.78	0.57	0.56	0.59	0.58	0.56	0.55	0.90	1.00		
S75	0.77	0.80	0.81	0.82	0.78	0.58	0.61	0.62	0.61	0.61	0.60	0.81	0.79	1.00	
S76	0.78	0.79	0.77	0.78	0.74	0.53	0.55	0.53	0.53	0.53	0.57	0.87	0.85	0.84	1.00
S77	0.79	0.75	0.77	0.77	0.72	0.52	0.55	0.54	0.53	0.56	0.54	0.78	0.76	0.81	0.88
S78	0.83	0.83	0.83	0.85	0.78	0.56	0.58	0.58	0.56	0.55	0.57	0.81	0.84	0.81	0.85
S79	0.79	0.82	0.83	0.84	0.75	0.55	0.53	0.57	0.56	0.55	0.57	0.81	0.83	0.78	0.82
S80	0.83	0.87	0.88	0.86	0.83	0.57	0.54	0.58	0.56	0.56	0.53	0.78	0.82	0.79	0.78
S81	0.76	0.81	0.83	0.84	0.78	0.59	0.58	0.58	0.58	0.59	0.57	0.74	0.76	0.84	0.83
S82	0.78	0.78	0.80	0.78	0.72	0.52	0.53	0.54	0.53	0.52	0.57	0.80	0.80	0.78	0.83
S83	0.79	0.85	0.84	0.87	0.81	0.59	0.58	0.63	0.60	0.58	0.60	0.76	0.78	0.76	0.75
S84	0.78	0.84	0.85	0.85	0.80	0.51	0.53	0.53	0.53	0.54	0.52	0.79	0.79	0.81	0.81
S85	0.81	0.86	0.87	0.88	0.83	0.58	0.60	0.61	0.59	0.60	0.58	0.81	0.80	0.84	0.81
S86	0.84	0.84	0.83	0.86	0.83	0.60	0.57	0.60	0.58	0.60	0.58	0.81	0.82	0.83	0.80
S87	0.82	0.85	0.84	0.84	0.82	0.60	0.60	0.64	0.62	0.62	0.58	0.80	0.77	0.84	0.79
编号	S77	S78	S79	S80	S81	S82	S83	S84	S85	S86	S87				
S77	1.00														
S78	0.82	1.00													
S79	0.79	0.92	1.00												
S80	0.72	0.87	0.88	1.00											
S81	0.81	0.85	0.85	0.87	1.00										
S82	0.76	0.83	0.86	0.83	0.81	1.00									
S83	0.72	0.86	0.89	0.90	0.86	0.82	1.00								
S84	0.80	0.77	0.78	0.83	0.83	0.78	0.84	1.00							
S85	0.79	0.85	0.83	0.88	0.85	0.83	0.88	0.90	1.00						
S86	0.77	0.83	0.83	0.88	0.81	0.78	0.85	0.88	0.88	1.00					
S87	0.81	0.79	0.81	0.83	0.81	0.76	0.83	0.84	0.85	0.94	1.00				