

梨砧木种质资源的 SSR 遗传多样性分析

薛 杨, 宋健坤, 李鼎立, 马春晖, 王 然
(青岛农业大学园艺学院, 青岛 266109)

摘要: 用 9 对 SSR 特异性引物对 74 份梨砧木种质资源进行遗传多样性分析。结果表明: 9 对 SSR 引物扩增得到 57 个等位基因, 平均 6.33 个, 可以区分除 K11、K12、杜梨-13 和杜梨-16 以外的 70 份梨资源样本。聚类分析结果表明, 74 份样本的相似系数变化范围为 0.41~1.00, 表现出较高的遗传多样性。供试品种在相似系数 0.67 处被分为 7 大类群, 与品种的系谱来源和地理分布基本吻合。

关键词: 梨砧木; 种质资源; SSR; 遗传多样性

SSR Analysis of Genetic Diversity in Pear Rootstock Germplasm

XUE Yang, SONG Jian-kun, LI Ding-li, MA Chun-hui, WANG Ran
(College of Horticulture, Qingdao Agriculture University, Qingdao 266109)

Abstract: Genetic diversity of 74 pear rootstocks was analyzed using nine pairs of specific SSR primers in this experiment. The results showed that nine SSR primer pairs amplified 57 alleles, and each locus amplified 6.33 alleles in average. Nine pairs of SSR primers could distinguish 70 pear rootstocks except for K11, K12, No. 13, and No. 16 of *Pyrus betulaeifolia* Bunge. UPGMA cluster analysis showed that similarity coefficient varied between 0.41–1.00, exhibiting high genetic diversity. All the cultivars were classified into 7 groups at the similarity coefficient of 0.67, which accorded with genealogical sources and geographic distribution.

Key words: pear rootstock; germplasm; SSR; genetic diversity

砧木对梨树生产非常重要, 梨砧木一般具有抗旱、抗寒、耐涝、耐盐碱和抗病虫等特性, 可以增强接穗品种对环境的适应能力, 保持或改善其特有的生物学特性和果实经济性状, 因此, 砧木被认为是果树生产的基础。

我国梨分布区域广泛, 在长期的栽培过程中, 不同地区往往形成不同的梨砧木类型。东北和华北部分地区, 常用秋子梨(*P. ussuriensis*)为砧木嫁接秋子梨或白梨系统的栽培品种, 其抗寒、抗病虫力强; 华北、华东部分地区, 多采用杜梨(*P. betulaeifolia*)作为砧木, 其特点是生长健壮, 丰产, 根系分布深, 抗旱、耐涝能力强; 西北、新疆地区栽培品种多为白梨或新疆梨系统, 常用深根抗旱的木梨(*P. xerophila*)、新疆梨(*P. sinkiangensis*)或杏叶梨(*P. armeniacaefolia*)作砧木; 华东和中南地区, 常用适生于温暖潮湿地区、生

势旺盛的豆梨(*P. colleryana*)为砧木; 西南地区常用川梨(*P. pashia*)或滇梨(*P. pseudopashia*)作为梨砧木^[1]。此外我国也曾尝试异属梨砧木选育, 如尝试用水栒子(*Cotoneaster multiflora*)和牛筋条(*Dichotomanthu stristaniaecarpa*)嫁接梨树^[2], 但都不理想, 此外, 人们还尝试用梨近缘属植物作中间砧, 取得了较好的效果, 如河北邯郸曾以云南榠椐为基砧, 哈代为中间砧嫁接中国梨, 表现出植株矮化、亲和性好、早果高产等性状, 适合梨密植栽培^[3]。

国外梨生产上以西洋梨栽培为主, 常用梨近缘属植物榠椐作为西洋梨的砧木, 并选育出很多较好的品种, 如英国东茂林实验站培育出的榠椐 A、B、C 型和 Provinces 砧木^[4], 法国选育出的 Sydo 等在生产上应用广泛。除了榠椐系砧木外, 梨属砧木选育也取得很多进展, 如 20 世纪 60 年代, 美

收稿日期: 2013-03-10 修回日期: 2013-04-23 网络出版日期: 2013-10-22

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20131022.1543.018.html>

基金项目: 国家现代农业产业技术体系(CARS-29-07); 青岛市科技发展计划(11-2-4-5-(2)-jch)

第一作者研究方向为梨砧木育种。E-mail: seven8796@126.com

通信作者: 王然, 主要从事梨砧木育种研究。E-mail: qauwr@126.com

国俄勒冈州立大学选出 9 个矮化、半矮化、半乔化的 OH × F 系列砧木^[5]; 法国选育出梨属矮化砧木 Brossier 系与 Retuziere 系; 德国育种学家从 Old Home × Bonne Louise d' Arranche 选育出矮化型砧木 Pyrodwarf 等^[6]。我国是梨的原产地之一, 梨砧木种质资源丰富, 但梨砧木品种选育起步较晚, 育成优良矮化砧木较少。中国农业科学院果树研究所姜淑苓等^[7-9]从 20 世纪 80 年代初开展培育适合我国梨树矮化密植栽培的梨属矮砧的研究工作, 从秋子梨和西洋梨系统的种间杂种后代中选出 PDR54 和 S1 ~ S6 等 7 个梨属矮化砧木, 其中已经正式命名的中矮 1 号、中矮 2 号和中矮 3 号砧木表现出抗病、能促使品种矮化、早结果、早丰产的优良特性。继 S 系矮化砧木之后, 山西省农科院果树研究所李登科等^[10]在 1980 - 1981 年以久保、身不知、朝鲜洋梨、二十世纪、菊水、象牙梨等 10 多个具矮化倾向的品种(系)为亲本进行杂交, 在其杂种实生苗中选育出 K 系砧木, K 系砧木在生产上表现矮化、砧穗亲和性好、抗性且能早期丰产, 提升果实品质等作用^[11]。除了引进和选育的砧木品种外, 我国各地还存在较多的野生梨砧木资源, 由于这些野生砧木种质资源在自然界多实生繁殖, 以及不同区域间相互引种传播, 导致各地的梨砧木种质资源具有丰富的遗传多样性, 因此, 对梨砧木和野生种质资源进行调查研究对进一步开展砧木育种工作具有重要意义。

近年来, 以 PCR 为基础的 DNA 标记技术被广泛应用于梨种质资源遗传多样性的研究。如范太伟等^[12]、蔡丹英等^[13]分别用 SSR、AFLP 分子标记技术对甘肃中部梨种质资源的遗传多样性进行了研究; 朱立武等^[14]用 AFLP 技术对安徽砀山酥梨自然保护区梨种质资源进行了研究, 表明其遗传多样性非常丰富; 曹玉芬等^[15]利用 SSR 技术对白梨、砂梨、秋子梨、西洋梨、新疆梨以及种间杂交类型共 41 个栽培品种进行了梨品种鉴别、遗传多样性以及亲缘关系研究; L. Bao 等^[16-17]利用 SSR、AFLP 引物对亚洲梨的遗传多样性和亲缘关系进行了研究; 路娟等^[18]利用 8 对 EST-SSR 标记对 48 份梨种质资源进行遗传多样性研究, 证明苹果的 EST-SSR 标记在梨上具有高度可转移性, 可应用于梨属植物的资源评价及遗传多样性研究。

目前, 对梨种质资源的研究主要集中在栽培品种上, 关于梨砧木种质资源遗传多样性的研究相对

较少。本研究运用 SSR 分子标记技术, 对 74 份不同来源的梨砧木品种及野生资源进行了遗传多样性分析, 以期对砧木新品种选育和种质资源保护等方面提供更多的依据。

1 材料与方法

1.1 材料

74 份梨砧木资源采自青岛农业大学胶州基地砧木种质资源圃及部分野生资源原生地(表 1)。2011 年 4 月 16 日采集梨幼嫩叶片, 液氮处理后 -70 °C 保存备用。

1.2 方法

1.2.1 基因组 DNA 提取 采用 TIANGEN 生化科技有限公司的 TP-305 型离心柱式植物 DNA 提取试剂盒提取。获得的 DNA 模板经 1% 琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测合格后, 调节质量浓度至 20 ng/μL 备用。

1.2.2 SSR-PCR 体系 SSR 引物序列: SSR 引物参考已知序列^[19-25], 由上海英潍捷基生物技术有限公司合成。引物序列如表 2 所示。SSR 反应体系: 采用 20 μL PCR 体系, 其中 10 μL Dream Taq Green PCR Master Mix(2 ×), 6 μL ddH₂O, 2 μL DNA 模板(浓度约 20 ng/μL), 正反向引物各 1 μL。PCR 扩增程序: 94 °C 预变性 5 min, 94 °C 变性 45 s, 48 ~ 55 °C 退火 45 s, 72 °C 延伸 1 min, 37 个循环, 72 °C 延伸 10 min。PCR 扩增结束后加入溴酚蓝指示剂 7 μL, 95 °C 变性 5 min。

1.2.3 电泳 电泳分析使用 6% 聚丙烯酰胺凝胶电泳, 采用 1 × TBE 作为电极缓冲液。电泳条件为: 恒定电压 160 V, 电流 100 mA, 预电泳 30 min。加入变性后 PCR 产物 3 μL, 电泳 2 h。

1.2.4 凝胶银染显色 固定银染: 电泳结束后将凝胶放入染色液(10% 乙醇, 1% 乙酸, 0.2% AgNO₃)中轻摇 3 ~ 5 min; 显色: 将银染后凝胶用双蒸水快速冲洗 2 遍后, 放入显色液(1.5% NaOH, 0.5% 甲醛)轻摇至条带显色后, 用双蒸水漂洗, 置于背景灯上拍照记录。

1.2.5 统计分析 记录每个 SSR 位点上重复性好且清晰的条带, 以 1 和 0 分别代表等位基因的有无, 采用 UPGMA 法利用软件 NTSYS-pc 2.10e^[26]计算 SM 相似系数并进行聚类分析。统计每对 SSR 引物的扩增条带数和多态性条带数目, 计算多态率。

表 1 供试品种

Table 1 Pear and quince varieties in the study

序号 Code	名称 Name	所属种或亲本 Specie/Parentage	采集地点 Region	序号 Code	名称 Name	所属种或亲本 Specie/Parentage	采集地点 Region
1	K1	久保、身不知等	青岛农业大学梨砧木种质资源圃	38	豆梨-2	<i>P. colleryana</i>	青岛市惜福镇少山村
2	K2	久保、身不知等	青岛农业大学梨砧木种质资源圃	39	杜梨-5	<i>P. betulaeifolia</i>	山东省潍坊市临朐县
3	K3	久保、身不知等	青岛农业大学梨砧木种质资源圃	40	豆梨-3	<i>P. colleryana</i>	烟台市长岛县黑山岛
4	K4	久保、身不知等	青岛农业大学梨砧木种质资源圃	41	豆梨-4	<i>P. colleryana</i>	烟台市长岛县黑山岛
5	K5	久保、身不知等	青岛农业大学梨砧木种质资源圃	42	豆梨-5	<i>P. colleryana</i>	烟台莱阳市沐浴店镇
6	K6	久保、身不知等	青岛农业大学梨砧木种质资源圃	43	杜梨-6	<i>P. betulaeifolia</i>	龙口市七甲镇姜家沟村
7	K7	久保、身不知等	青岛农业大学梨砧木种质资源圃	44	杜梨-7	<i>P. betulaeifolia</i>	龙口市七甲镇姜家沟村
8	K8	久保、身不知等	青岛农业大学梨砧木种质资源圃	45	杜梨-8	<i>P. betulaeifolia</i>	河南省郑州市
9	K9	久保、身不知等	青岛农业大学梨砧木种质资源圃	46	杜梨-9	<i>P. betulaeifolia</i>	山东枣庄滕州市
10	K11	久保、身不知等	青岛农业大学梨砧木种质资源圃	47	杜梨-10	<i>P. betulaeifolia</i>	山东省聊城市冠县
11	K12	久保、身不知等	青岛农业大学梨砧木种质资源圃	48	杜梨-11	<i>P. betulaeifolia</i>	山东烟台莱阳市
12	K15	久保、身不知等	青岛农业大学梨砧木种质资源圃	49	杜梨-12	<i>P. betulaeifolia</i>	山东莱阳龙口市
13	OH × F ₄₀	Old Home × Farmingdale	青岛农业大学梨砧木种质资源圃	50	豆梨-6	<i>P. colleryana</i>	青岛农业大学梨砧木种质资源圃
14	OH × F ₅₁	Old Home × Farmingdale	青岛农业大学梨砧木种质资源圃	51	杏叶梨-1	<i>P. armeniacaefolia</i>	青岛农业大学梨砧木种质资源圃
15	OH × F ₇₁	Old Home × Farmingdale	青岛农业大学梨砧木种质资源圃	52	柳叶梨-1	<i>P. salicifolia</i>	青岛农业大学梨砧木种质资源圃
16	OH × F ₈₇	Old Home × Farmingdale	青岛农业大学梨砧木种质资源圃	53	豆梨-7	<i>P. colleryana</i>	青岛市惜福镇少山村
17	OH × F ₉₇	Old Home × Farmingdale	青岛农业大学梨砧木种质资源圃	54	豆梨-8	<i>P. colleryana</i>	青岛市惜福镇少山村
18	OH × F ₃₃₃	Old Home × Farmingdale	青岛农业大学梨砧木种质资源圃	55	杜梨-13	<i>P. betulaeifolia</i>	青岛市惜福镇少山村
19	中矮1号	锦香梨(南果梨 × 巴梨)	青岛农业大学梨砧木种质资源圃	56	杜梨-14	<i>P. betulaeifolia</i>	青岛市惜福镇少山村
20	中矮2号	香水梨 × 巴梨	青岛农业大学梨砧木种质资源圃	57	杜梨-15	<i>P. betulaeifolia</i>	青岛市惜福镇少山村
21	中矮3号	锦香梨(南果梨 × 巴梨)	青岛农业大学梨砧木种质资源圃	58	杜梨-16	<i>P. betulaeifolia</i>	青岛市惜福镇少山村
22	川梨-1	<i>P. pashia</i>	青岛农业大学梨砧木种质资源圃	59	杜梨-17	<i>P. betulaeifolia</i>	青岛市惜福镇少山村
23	榲桲-1	<i>Cydoniaoblonga</i> Miller	青岛农业大学梨砧木种质资源圃	60	杜梨-18	<i>P. betulaeifolia</i>	青岛市惜福镇少山村
24	榲桲-2	<i>Cydoniaoblonga</i> Miller	青岛农业大学梨砧木种质资源圃	61	杜梨-19	<i>P. betulaeifolia</i>	青岛市惜福镇少山村
25	榲桲-3	<i>Cydoniaoblonga</i> Miller	青岛农业大学梨砧木种质资源圃	62	豆梨-9	<i>P. colleryana</i>	济宁市泗张镇普峪口村
26	杜梨-22	<i>P. betulaeifolia</i>	青岛农业大学梨砧木种质资源圃	63	豆梨-10	<i>P. colleryana</i>	济宁市泗张镇普峪口村
27	山梨-1	<i>P. ussuriensis</i>	青岛农业大学梨砧木种质资源圃	64	豆梨-11	<i>P. colleryana</i>	济宁市泗张镇普峪口村
28	砂梨-1	<i>P. serotina</i>	云南省白族自治州	65	砂梨-5	<i>P. serotina</i>	济宁市泗张镇普峪口村
29	山梨-2	<i>P. ussuriensis</i>	黑龙江省牡丹江市	66	豆梨-12	<i>P. colleryana</i>	济宁市泗张镇普峪口村
30	杜梨-1	<i>P. betulaeifolia</i>	淄博市沂源县南水沟村	67	豆梨-13	<i>P. colleryana</i>	济宁市泗张镇普峪口村
31	砂梨-2	<i>P. serotina</i>	淄博市沂源县南水沟村	68	杜梨-20	<i>P. betulaeifolia</i>	济宁市泗张镇普峪口村
32	豆梨-1	<i>P. colleryana</i>	淄博市沂源县南水沟村	69	豆梨-14	<i>P. colleryana</i>	济宁市泗张镇普峪口村
33	砂梨-3	<i>P. serotina</i>	淄博市沂源县南水沟村	70	豆梨-15	<i>P. colleryana</i>	临沂市平邑县天宝山林场
34	砂梨-4	<i>P. serotina</i>	淄博市沂源县南水沟村	71	杜梨-21	<i>P. betulaeifolia</i>	临沂市平邑县天宝山林场
35	杜梨-2	<i>P. betulaeifolia</i>	龙口市下丁家镇下孟家村	72	豆梨-16	<i>P. colleryana</i>	青岛市惜福镇棉花山村
36	杜梨-3	<i>P. betulaeifolia</i>	龙口市下丁家镇下孟家村	73	砂梨-6	<i>P. serotina</i>	青岛市惜福镇棉花山村
37	杜梨-4	<i>P. betulaeifolia</i>	龙口市下丁家镇下孟家村	74	豆梨-17	<i>P. colleryana</i>	山东省枣庄市市中区

表 2 引物序列

Table 2 Primer sequence

引物名称 Primer name	正向引物 Forward primer	反向引物 Reverse primer
BGA35	AGAGGGAGAAAGCCGATT	GCTTCATCACCGTCTGCT
BGT23b	CACATTCAAAGATTAAGAT	ACTCAGCCTTTTTTCCAC
NH015a	TTGTGCCCTTTTCTACC	CTTTGATGTTACCCTTGCTG
CH02d10b	GTAACCTTTGTTCGCGTG	GCCTTGAGTTTCTCAGCATTG
CH02h11a	CGTGGCATGCCTATCATTTG	CTGTTTGAACCGCTTCCTC
CH03c02	TCACTATTTACGGGATCAAGCA	GTGCAGAGTCTTTGACAAGGC
CH03d12	GCCAGAAGCAATAAGTAAACC	ATTGCTCCATGCATAAAGGG
CH04h02	GGAAGCTGCATGATGACC	CTCAAGGATTTTCATGCCAC
CH01g05	CATCAGTCTCTGCACTGAAA	GACAGAGTAAGCTAGGGCTAGGG

2 结果与分析

2.1 引物筛选与多态性分析

以 DNA 7、8、31、39、40(表 1)为模板,对 75 对 SSR 引物进行筛选,其中 50 对能得到清晰稳定的条带,筛选率 66.7%,从 50 对引物中选择条带清晰度高、多态性好的 9 对引物(表 2)对 74 份梨砧木种质

资源进行扩增,所有引物都能扩增出清晰可辨的带型(图 1)。统计结果表明 SSR 分析共检测出 57 个等位基因位点,平均每对引物 6.33 个位点,其中多态性条带 49 个,多态性比率为 86.4%。不同引物扩增的条带数差异较大,从 3~9 个不等,平均每对引物能扩增出 5.44 个多态性条带,多态性比率在 60%~100%之间,平均多态率为 86.47%(表 3)。

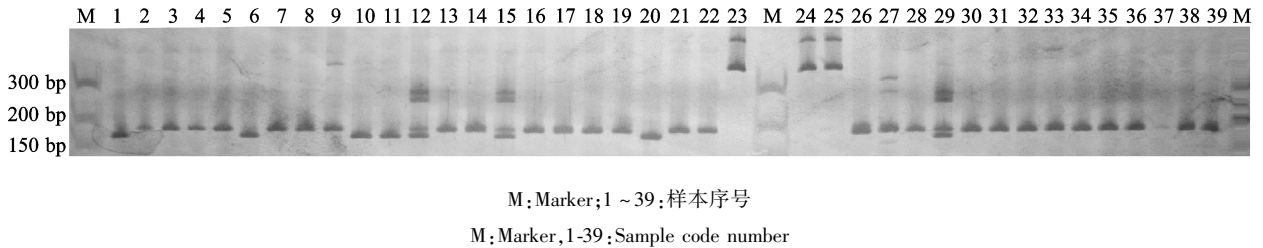


图 1 引物 BGT23b 的 SSR 扩增结果

Fig. 1 Amplification pattern of the primer pair BGT23b

表 3 9 对 SSR 引物在 74 份供试品种的扩增结果

Table 3 Amplified results of 74 cultivars with 9 SSR primer-pairs

引物 Primers	扩增带数 No. of bands	多态性条带数 No. of polymorphic bands	多态率(%) Percentage of polymorphic bands
BGA35	5	4	80.00
BGT23b	3	3	100.00
NH015a	5	5	100.00
CH02d10b	10	9	90.00
CH02h11a	7	6	85.71
CH03c02	5	5	100.00
CH03d12	9	9	100.00
CH04h02	8	5	62.50
CH01g05	5	3	60.00
合计 Total	57	49	85.96
平均 Average	6.33	5.44	85.96

2.2 梨砧木种质资源的聚类分析

用筛选出的 9 对引物对 74 份梨 DNA 进行扩增,根据 SSR 引物扩增数据,采用 UPGMA 法聚类得到的梨系统进化树(图 2)。聚类结果表明,9 对引物可以区分除 K11、K12、杜梨-13 和杜梨-16 以外的 70 份梨资源样本。供试 74 份样本的相似系数变化范围为 0.41~1.00,平均值为 0.67,表明供试样本遗传差异较大,遗传基础丰富。其中,豆梨-6 与 K4、杜梨-5、杜梨-12 以及川梨-1 与 K3 之间的相似系数最小,均为 0.41;K11 与 K12 以及杜梨-13 与杜梨-16 之间相似系数为 1.00。供试资源中相似系数小于 0.50 的组合有 83 个,占供试组合总数的 2.99%;相似系数大于 0.50 的组合有 2692 个,占供试组合总数

的 97.01%。

榲桲-1、榲桲-2 和榲桲-3 为榲桲属植物,在相似系数 0.58 处这三份资源与其他梨属资源分为 2 大类群,显示了较远的遗传距离,同属类群 I。在相似系数 0.67 处又可将其余 71 份样本分为 6 个类群,类群 II 包括柳叶梨-1、杏叶梨-1 和山梨-2,这三份样本与其他样本之间的相似系数变化范围为 0.41~0.73,平均 0.57,显示了较低的遗传相似性;类群 III 包括 5 份资源,即 K7、山梨-1、杜梨-22、杜梨-4 和杜梨-8,这 5 份资源与其他资源之间的相似系数变化范围为 0.45~0.76,平均 0.62。类群 IV 包括 3 份资源,砂梨-1、砂梨-2 和砂梨-3,这三份资源与其他样本之间的相似系数变化范围为 0.45~0.73,平均 0.60,显示了较远的遗传关系,砂梨-2 和砂梨-3、砂梨-1 之间的相似系数则达到 0.82;类群 V 包括全部 OH×F 砧木和 K2、K3,共计 8 个品种,其中 OH×F 自成一组,K2 与 K3 分成一组,K2、K3 与 OH×F 各资源之间的相似系数范围为 0.63~0.82,平均 0.72,其他 K 系砧木之间的相似系数范围为 0.63~0.82,平均 0.71;类群 VI 包括 42 份样本,其中包含中矮 1、2、3 号砧木,以及绝大部分野生杜梨、豆梨资源,其谱系关系较为复杂,但采集区域较近的多份少山、普峪口资源聚类紧密,表现出了与种质资源地理分布相吻合的趋势,其中杜梨-13 与杜梨-16 相似系数为 1,可能是由于供试引物能检测到的基因位点有限,或者是这两份资源拥有极为相似乃至相同的遗传背景;类群 VII 包含 10 份资源,主要由 K 系砧木组成,3 份野生资源也包含在本组。

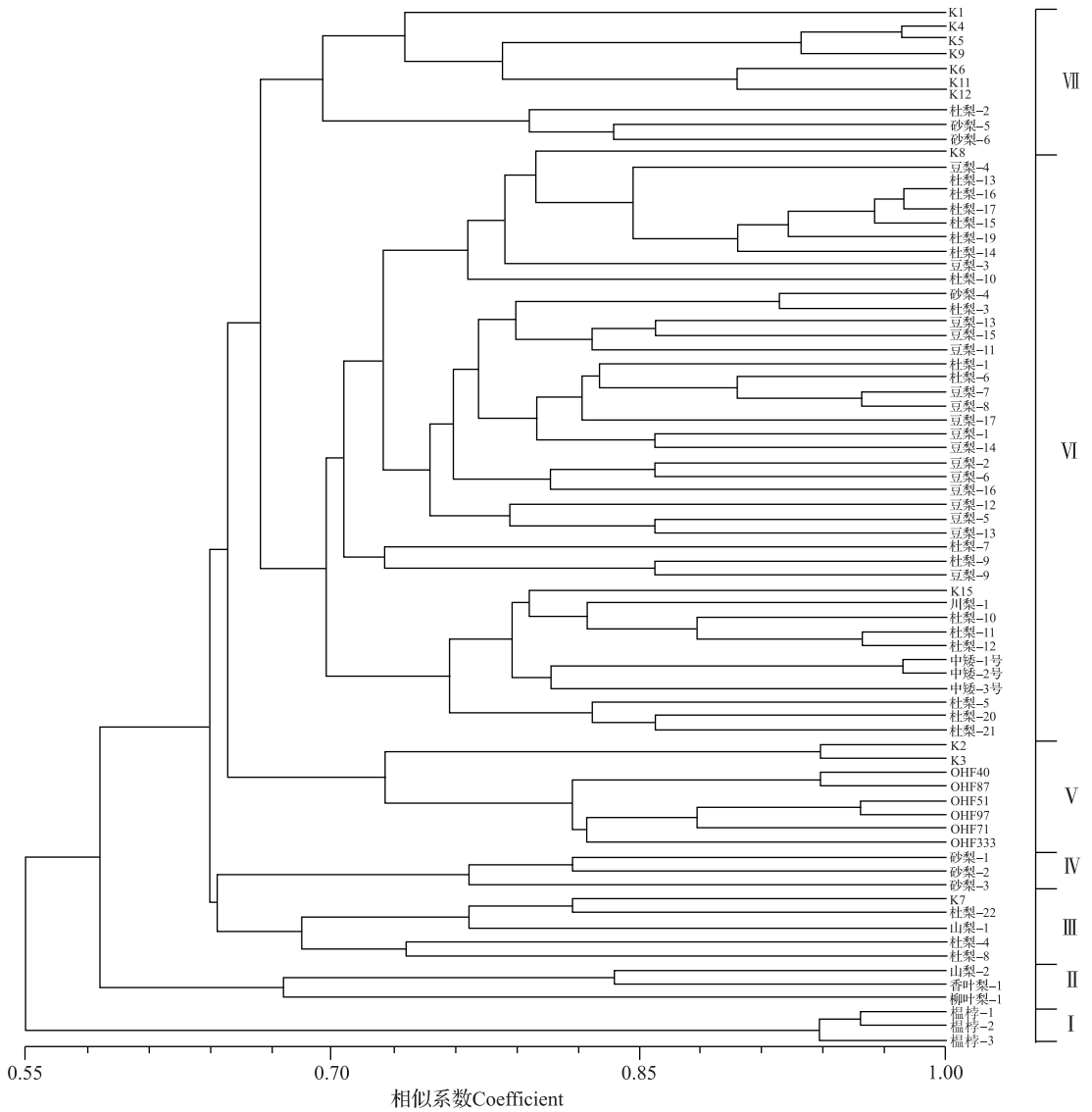


图2 基于 SSR 分析的梨砧木种质资源的聚类图

Fig.2 Dendrogram of pear rootstock germplasm based on SSR analysis

3 讨论

SSR 标记具有标记位点在基因组中分布多、多态性高、共显性等特点,在连锁图谱构建、基因定位、种质鉴定和遗传学分析中得到了广泛的应用^[27]。SSR 位点多态性是群体内遗传变异的测度,其大小反映了群体内个体的均匀度,若数值大,表明遗传变异大,反之,则群体的遗传变异就小^[28]。本试验采用优化的 SSR 反应体系,筛选出的 9 对 SSR 引物多态性较好,在 74 份梨砧木和野生资源样本中,扩增出 57 个条带,其中多态性条带 49 条,多态性比率达到 85.96%。但也有少数砧木不能完全被 9 对引物区分开,如 K11 与 K12 之间、杜梨-13 与杜梨-16 之间相似系数达到 1,原因可能是所检测的位点较

少,不能完全反映个别梨品种之间复杂的遗传多样性,或者存在地理距离相近的野生资源拥有极为接近甚至相同遗传背景的情况,需要进一步研究探讨。

聚类分析可以反映物种间遗传差异和亲缘关系。本试验中所有 74 份砧木资源可以明显分为 2 大类群,即梨属和温棒属,反映了属间植物差异大,亲缘关系较远,因此,温棒作为梨的近缘属植物,虽然在生产上也常被用来作西洋梨的砧木,但其与中国梨品种存在嫁接不亲和性的问题,只能通过中间砧与梨树嫁接^[29],这就限制了其推广和应用。在梨属类群中大部分相同来源的品种和类型被聚到一起,如 K 系砧木,OH × F 系砧木、中矮系列砧木等;但 K 系砧木中也有例外,如 K2 和 K3 在类群 V 中,与 OH × F 砧木在一组,K7 在类群 III,与杜梨-22

等在一起,K8 和 K15 都在类群 VI,与杜梨-10 等聚在一起,这可能与 K 系砧木的来源有关,因为 K 系砧木本身就是从 29 个杂交组合中选出的^[10],其亲本来源并不相同。从聚类图中可以看出,大部分相同地理来源的砧木也被聚在一起,如采自少山的 7 份杜梨、3 份豆梨资源等,说明地理起源比较近的品种遗传背景也较为相似,这与路娟等^[18]的结论基本一致。同样采自南水沟的砂梨-2 和砂梨-3 在类群 IV 中,而砂梨-4 在类群 VI,说明即使在相似的生态环境下,这些野生资源在长期驯化过程中,适当地环境或者与其他品种杂交,产生了丰富的遗传变异,具有较高的遗传多态性。

本研究表明供试的 74 份梨砧木和野生资源之间的遗传相似系数,为梨砧木选育过程中科学组合杂交亲本,提高育种效率奠定了理论基础。本研究筛选的部分 SSR 引物组合对亲缘关系较近的梨属资源多态性的检测能力还不是很强,可能与检测的 SSR 位点数不足有关,因此有必要继续开发和筛选多态性更高的梨 SSR 引物,进一步提高其对近缘梨属植物的检测能力。

参考文献

- [1] 俞德凌,阎振龙,张鹏. 中国果树砧木资源[J]. 中国果树, 1979(1):1-7
- [2] 沙守峰,张绍铃,李俊才. 梨矮化砧木的选育及其应用研究进展[J]. 北方园艺,2009(8):140-143
- [3] 姜敏,蒲富慎,贾敬贤,等. “榲桲+哈代”砧嫁接中国梨的生育表现[J]. 中国果树,1987(4):25-28
- [4] 贾敬贤. 梨树矮化密植栽培[M]. 北京:金盾出版社,2003
- [5] 贾敬贤,陈长兰,龚欣. 梨属矮化中间砧选择初报[J]. 北方果树,1991(3):13
- [6] Browning G, Watkins R. Preliminary evaluation of new quince (*Cydonia oblonga* Miller) hybrid rootstocks for pears[J]. J Hortsci, 1991, 66(1):35-42
- [7] 姜淑琴,贾敬贤,纪宝生,等. 梨矮化砧木——中矮 1 号[J]. 中国果树,2000(3):4-6
- [8] 姜淑琴,陈长兰,贾敬贤,等. 梨矮化砧木新品种‘中矮 2 号’[J]. 园艺学报,2006,33(6):1402
- [9] 姜淑琴,欧春青,王斐,等. 梨矮化砧木新品种‘中矮 3 号’[J]. 园艺学报,2012,39(12):2525-2526
- [10] 李登科,邵嘉鸣,张忠仁,等. 梨 K 系矮化自根砧木的选育[J]. 中国果树,1997(3):20-21
- [11] 邵开基,李登科,张忠仁,等. SH 系苹果、K 系梨矮化砧的性

- 状特征[J]. 山西果树,2001(2):11-12
- [12] 范太伟,蔡丹英,李红旭,等. 甘肃中部梨资源遗传变异和亲缘关系的 SSR 分析[J]. 果树学报,2007,24(3):268-275
- [13] 蔡丹英,范太伟,滕元文,等. 甘肃中部梨种质资源的 AFLP 分析[J]. 果树学报,2008,25(3):298-304
- [14] 朱立武,王艳芳,贾兵,等. 安徽砀山酥梨自然保护区梨种质资源 AFLP 分析[J]. 果树学报,2009,26(2):145-150
- [15] 曹玉芬,刘凤之,高源,等. 梨栽培品种 SSR 鉴定及遗传多样性[J]. 园艺学报,2007,34(2):305-310
- [16] Bao L, Chen K, Zhang D, et al. An assessment of genetic variability and relationships within Asian pears based on AFLP (amplified fragment length polymorphism) markers [J]. Sci Hortic-Amsterdam, 2008, 116:374-380
- [17] Bao L, Chen K, Zhang D, et al. Genetic diversity and similarity of pear cultivars native to East Asia revealed by SSR (simple sequence repeat) markers [J]. Genet Resour Crop Ev, 2007, 54: 959-971
- [18] 路娟,吴俊,张绍铃,等. 基于苹果 EST-SSR 的梨种质资源遗传多样性分析[J]. 西北植物学报,2010,30(4):645-651
- [19] Yamamoto T, Kimura T, Sawamura Y, et al. Simple sequence repeats for genetic analysis in pear [J]. Euphytica, 2002, 124: 129-137
- [20] Yamamoto T, Kimura T, Shoda M, et al. Genetic linkage maps constructed by using an interspecific cross between Japanese and European pears [J]. Theor Appl Genet, 2002, 106:9-18
- [21] Khan A M, Han Y P, Zhao Y F. A multi-population consensus genetic map reveals inconsistent marker order among maps likely attributed to structural variations in the apple genome [J]. PLoS One, 2012, 7: e47864
- [22] Han Y P, Zheng D, Vimolmangkang S, et al. Integration of physical and genetic maps in apple confirms whole-genome and segmental duplications in the apple genome [J]. J Exp Bot, 2011, 62:5117-5130
- [23] James C M, Clarke J B, Evans K M. Identification of molecular markers linked to the mildew resistance gene *Pl-d* in apple [J]. Theor Appl Genet, 2004, 110(1):175-181
- [24] Mellidou I, Chagné D, Laing W A, et al. Allelic variation in paralogs of GDP-l-galactose phosphorylase is a major determinant of vitamin C concentrations in apple fruit [J]. Plant Physiol, 2012, 160(3):1613-1629
- [25] Yamamoto T, Kimura T, Saito T, et al. Genetic linkage maps of Japanese and European pears aligned to the apple consensus map [J]. Acta Hort, 2004, 663:51-55
- [26] Rohlf F J. NTSYS-pc: numerical taxonomy and multivariate analysis system, Version 2. 10 [M]. New York: Exeter Software, 2000
- [27] Takezaki I N, Nei M. Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA [J]. Genetics, 1996, 144: 389-399
- [28] Hearne C M, Gho S H S, Todd J A. Microsatellites for linkage analysis of genetic traits [J]. Trends Genet, 1992, 8:288-294
- [29] 张鲜鲜,赵静,李欣,等. 梨矮化砧木选育研究进展[J]. 河北农业科学,2009(5):42-44