

# 黑龙江省野生秋子梨群体遗传结构的荧光 AFLP 分析

安萌萌<sup>1</sup>, 刘 畅<sup>2</sup>, 何天明<sup>3</sup>, 张艳敏<sup>1</sup>, 冀晓昊<sup>1</sup>, 王艳廷<sup>1</sup>, 李 敏<sup>1</sup>, 王传增<sup>4</sup>, 陈学森<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>山东农业大学园艺科学与工程学院/作物生物学国家重点实验室, 泰安 271018; <sup>2</sup>黑龙江省农业科学院牡丹江分院, 牡丹江 157041;

<sup>3</sup>新疆农业大学林学与园艺学院, 乌鲁木齐 830052; <sup>4</sup>山东省果树研究所, 泰安 271000)

**摘要:**以来自黑龙江省海林市、东宁县和孙吴县 3 个居群的 90 个野生秋子梨株系为试材, 利用荧光 AFLP 标记技术对野生秋子梨群体遗传多样性及遗传结构进行了分析, 旨在为野生秋子梨种质资源的保护和利用提供科学依据。结果表明: 野生秋子梨 3 个居群种群水平多态性位点百分比 ( $P$ ) 为 82.95%, Nei's 基因多样性 ( $H$ ) 为 0.1467, Shannon 信息指数 ( $I$ ) 为 0.2397, 野生秋子梨遗传多样性水平较低; 3 个居群的多态性位点百分比、基因多样性及 Shannon 信息指数比较, 东宁居群 > 海林居群 > 孙吴居群, 居群水平上东宁居群的遗传多样性较丰富; 基因分化系数 ( $G_{ST} = 0.1008$ ) 显示, 野生秋子梨的遗传变异主要发生在居群内; 野生秋子梨居群间存在较大的基因流动 ( $N_m = 4.4603$ ), 说明 3 个野生秋子梨居群间存在着较频繁的基因交流; UPGMA 聚类分析结果表明, 3 个居群是相对独立的孟德尔群体, 且海林居群和东宁居群的遗传关系较近。3 个居群中东宁居群遗传多样性最丰富, 是进行原生境保护优先考虑的居群。

**关键词:** 野生秋子梨; 荧光 AFLP; 遗传多样性; 群体遗传结构

## Genetic Structure Analyses Based on Fluorescent-AFLP Markers of Wild Populations of *Pyrus ussuriensis* Maxim. in Heilongjiang Province

AN Meng-meng<sup>1</sup>, LIU Chang<sup>2</sup>, HE Tian-ming<sup>3</sup>, ZHANG Yan-min<sup>1</sup>, JI Xiao-hao<sup>1</sup>, WANG Yan-ting<sup>1</sup>,  
LI Min<sup>1</sup>, WANG Chuan-zeng<sup>4</sup>, CHEN Xue-sen<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>College of Horticulture Science and Engineering, Shandong Agricultural University/State Key Laboratory of Crop Biology, Tai'an 271018;

<sup>2</sup>Mudanjiang Agricultural Research Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Mudanjiang 157041;

<sup>3</sup>College of Forestry and Horticulture, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052; <sup>4</sup>Shandong Institute of Pomology, Tai'an 271000)

**Abstract:** Using fluorescent AFLP marker, we analyzed population genetic diversity and genetic structure of wild *Pyrus ussuriensis* to provide scientific foundation for wild *Pyrus ussuriensis* germplasm conservation and utilization. 90 accessions from Hailin, Dongning, and Sunwu country of Heilongjiang province were selected as the research materials. The results showed that the percentage of polymorphic loci ( $P$ ) was 82.95% at species level, Nei's gene diversity ( $H$ ) was 0.1467, and Shannon information index ( $I$ ) was 0.2397. And the genetic diversity of wild *Pyrus ussuriensis* was low. The polymorphic loci ( $P$ ), Nei's gene diversity ( $H$ ), and Shannon information index ( $I$ ) at population level were sequenced from high to low as Dongning population > Hailin population > Sunwu population, which meant that genetic diversity of Dongning population was the richest in the three populations. The genetic differentiation coefficient ( $G_{ST} = 0.1008$ ) of the three populations showed that genetic variation mainly occurred within populations. There was higher level of gene flow among the three populations ( $N_m = 4.4603$ ) which indicated that there were frequent gene exchange among populations. The UPGMA cluster analysis indicated that the three populations were Mendelian relative independent population, and the closer genetic relationship existed between Hailin and

收稿日期: 2013-11-07 修回日期: 2013-11-17 网络出版日期: 2014-06-09

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20140609.1428.022.html>

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31171932); 国家重点基础研究发展计划课题 (2011CB100606)

第一作者研究方向为种质资源与生物技术育种。E-mail: anmm6627@163.com

通信作者: 陈学森, 研究方向为果树种质资源、遗传育种及品质形成与调控。E-mail: chenxs@sdau.edu.cn

Dongning population. Dongning population had the most abundant genetic diversity and also was the preferential population for the implementation of in-situ conservation strategies.

**Key words:** wild *Pyrus ussuriensis* Maxim. ; fluorescent-AFLP; genetic diversity; genetic structure

世界梨属总计 60 余种,原产于我国的有 13 种,梨种质资源丰富。同时,在我国也存在着广泛的野生梨资源,其中野生秋子梨主要分布在东北、华北、西北各省,以辽宁、吉林、黑龙江、甘肃陇中和河西最多<sup>[1]</sup>。有研究表明,野生果树资源与环境 and 病虫害协同进化过程中,不仅形成了丰富的遗传多样性,而且具有了抗性强的特性,有些种类果实营养成分较为丰富,是进行抗性 with 品质育种的珍贵基因库<sup>[2-3]</sup>。野生秋子梨具有根系发达,生长势、抗病性强及与栽培品种嫁接亲和力优等特点,是我国极其宝贵的抗寒种质资源,其果实后熟后酸甜可口,具有独特香味,可鲜食也可酿酒和加工成其他食品,并具有较高的药用价值<sup>[4-5]</sup>。开展野生秋子梨资源的保护策略研究、对野生秋子梨种质开展系统评价、挖掘优异种质并进行利用研究,对有效扩大现有梨树品种的遗传基础,支撑我国梨树产业的可持续发展具有重要意义。

遗传多样性 (genetic diversity) 及遗传结构 (genetic structure) 等不仅是近年来国内外研究的热点问题,亦是保护生物学、遗传育种的重要基础。近 20 年来,植物系统学、分子生物学、数学及群体遗传学等学科的相互交叉与渗透产生的分子系统学及其配套的分子方差分析等各种数据处理分析软件,为植物分类、系统发育、分子进化、遗传多样性评价、核心种质构建等方面的研究提供了灵敏而有效手段,显示出巨大的潜力,并已取得较大进展<sup>[6-11]</sup>。近几年国内的一些学者利用分子系统学的原理与技术,从表型和分子两个层面先后对新疆野苹果<sup>[12-16]</sup>、野生樱桃李<sup>[17]</sup>、野生核桃<sup>[18]</sup> 以及野生樱桃<sup>[19]</sup>、野生板栗<sup>[20]</sup> 等野生果树资源的遗传

多样性及群体遗传结构进行了研究。这一系列研究为野生果树资源的科学保护与持续高效利用奠定了重要基础。

野生秋子梨是黑龙江省重要的经济野生树种。近几年,由于农田开发、过度放牧和人为砍伐以及病虫害等因素,黑龙江地区的野生秋子梨资源遭到严重破坏<sup>[21]</sup>,保护野生秋子梨这一宝贵资源迫在眉睫。虽然国内一些学者对野生秋子梨进行了不同层面的研究<sup>[22-25]</sup>,但系统地对黑龙江地区野生秋子梨遗传多样性和遗传结构的研究亦未见报道。因此,本研究从分子系统学水平对黑龙江省 3 个地区的野生秋子梨群体遗传结构和遗传多样性进行研究,旨在更好地对黑龙江地区的野生秋子梨资源进行较为系统的评价研究,为野生秋子梨种质资源的保护和利用提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

于 2012 年 5 月初采集黑龙江省 3 个地区的野生秋子梨居群,即海林居群(1~30)、东宁居群(31~60) 以及孙吴居群(61~90),共 90 个实生株系(图 1);按照野生植物随机定点取样原则,每个居群选取 30 个单株,株间距至少 50 m;样品为幼嫩小叶,采用硅胶干燥法保存备用;试验于 2012-2013 年在山东农业大学作物生物学国家重点实验室进行。

### 1.2 方法

**1.2.1 基因组 DNA 提取** 基因组 DNA 的提取采用改良 CTAB 法<sup>[26]</sup>。

**1.2.2 AFLP-PCR 分析** AFLP 试验采用北京鼎国生物技术有限责任公司 AFLP 试剂盒(*EcoR* I/*Mse* I 型),



图 1 3 个居群的地理位置

Fig. 1 The geographical locations of three populations

选择性扩增引物 *MseI* 为 FAM 荧光标记引物, AFLP 扩增步骤按照操作指南进行。扩增产物的检测方法参照 Z. H. Yuan 等<sup>[7]</sup>的方法。

**1.2.3 数据分析** 扩增产物的电泳结果采用 0、1 二维数据矩阵的方法进行统计, 有带记为 1, 无带记为 0。数据分析采用 NTSYSpc-2.10e (Exeter Software, Setauket, N. Y.)、POPGENE version 1.32 软件。

AFLP 引物的多态性信息用多态性位点数  $A$  (number of polymorphic loci) 和多态性位点百分比  $P$  (percentage of polymorphic loci) 估计。居群的遗传多样性信息用 Shannon 信息指数  $I$  (Shannon information index)<sup>[27]</sup> 和 Nei's 基因多样性  $H$  估计 (Nei's gene diversity)<sup>[28]</sup>。居群间的遗传分化采用遗传分化系数  $G_{ST}$  和基因流  $N_m$ <sup>[29]</sup> ( $N_m = 0.5(1 - G_{ST})/G_{ST}$ ) 来估算。居群间的聚类分析根据 Nei's 遗传距离  $D$  和遗传一致度  $I_N$ , 采用非加权算术平均聚类法 (UPGMA, unweighted pair-group method with arithmetic means) 进行<sup>[30]</sup>。居群内的聚类分析则根据 SM 相似系数矩阵采用 UPGMA 聚类法进行<sup>[31]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 荧光 AFLP 扩增片段的多态性分析

从 64 对引物中筛选出条带清晰、多态性较好的 8 对引物组合对 90 个株系的基因组 DNA 进行荧光 AFLP 扩增, 平均每个引物扩增的多态性位点数为 179.17, 多态性位点百分比为 82.95% (表 1, 图 2)。由表 1 数据看出, 同一引物下不同居群以及不同引物下同一居群扩增的多态性位点数和多态性位点百分比明显不同, 如在同一引物 E-GAC/M-CAA 下海林居群扩增的多态性位点数 ( $A = 181$ ) 和多态性位点百分比 ( $P = 83.80\%$ ) 是最高的, 而孙吴居群中扩增的多态性位点数 ( $A = 73$ ) 和多态性位点百分比 ( $P =$

33.80%) 最低; 对于东宁居群, 在引物 E-GAA/M-CTG 扩增出的多态性位点数 ( $A = 175$ ) 和多态性位点百分比 ( $P = 81.02\%$ ) 是最高的, 而在引物 E-GAT/M-CTA 扩增出的多态性位点数 ( $A = 142$ ) 和多态性位点百分比 ( $P = 65.74\%$ ) 是最低的。3 个居群的平均多态性位点数和平均多态性位点百分比进行比较: 东宁居群 ( $A = 161.88, P = 74.94\%$ ) > 海林居群 ( $A = 141.25, P = 65.39\%$ ) > 孙吴居群 ( $A = 76.12, P = 35.24\%$ )。

### 2.2 群体遗传多样性、遗传分化及基因流动分析

由表 2 看出, 野生秋子梨种群水平观测等位基因数 ( $N_a = 1.8443$ )、有效等位基因数 ( $N_e = 1.2326$ )、Nei's 基因多样性 ( $H = 0.1467$ ) 及 Shannon 信息指数 ( $I = 0.2397$ ) 均高于居群水平。3 个居群中东宁居群观测等位基因数 ( $N_a = 1.7494$ )、有效等位基因数 ( $N_e = 1.2313$ ) 显著高于孙吴居群, 但与海林居群差异不显著。居群水平 Nei's 基因多样性和 Shannon 信息指数相比较, 东宁居群 ( $H = 0.1440, I = 0.2384$ ) 最高, 海林居群 ( $H = 0.1352, I = 0.2189$ ) 次之, 孙吴居群 ( $H = 0.1007, I = 0.1562$ ) 最低。从各参数的统计分析可以看出, 东宁居群各遗传多样性参数值均高于其他 2 个居群, 可以作为种质保护和育种材料的优先考虑居群。

群体间的遗传分化系数  $G_{ST} = 0.1008$ , 这表明居群间的遗传变异占总变异的 10.08%, 居群内遗传变异占总变异的 89.92%, 野生秋子梨遗传变异主要来自居群内的变异。通过遗传分化系数  $G_{ST}$  计算得到的基因流  $N_m = 4.4603$ , 说明 3 个野生秋子梨居群间存在着较频繁的基因交流。

### 2.3 居群间遗传一致度和遗传距离分析

进一步对野生秋子梨居群间的遗传分化程度进行分析, 计算 Nei's 遗传一致度  $I_N$  和遗传距离  $D$  (表 3)。结果表明, 各居群间的遗传一致度在 0.9682 ~ 0.9887

表 1 不同引物组合下野生秋子梨居群荧光 AFLP 扩增多态性位点数与其百分比

Table 1 Fluorescent AFLP polymorphic locus and their percentages among different wild populations of *Pyrus ussriensis* Maxim by different primer combinations

Eco R I / Mse I	种群水平		海林居群		东宁居群		孙吴居群	
	Specieslevel		Hailin population		Dongning population		Sunwu population	
	A	P (%)	A	P (%)	A	P (%)	A	P (%)
GAA/CTG	186	86.11	138	63.89	175	81.02	88	40.74
GAC/CAA	198	91.67	181	83.80	165	76.39	73	33.80
GAT/CAG	173	80.09	143	66.20	152	70.37	59	27.31
GAT/CTA	159	73.61	113	52.31	142	65.74	70	32.41
GTA/CTA	185	85.65	118	54.63	178	82.41	75	34.72
GTG/CTA	180	83.33	133	61.57	165	76.39	80	37.04
GTT/CAC	190	87.96	140	64.81	173	80.09	89	41.20
GTT/CTA	188	87.04	164	75.93	145	67.13	75	34.72
平均 Average	179.17	82.95	141.25	65.39	161.88	74.94	76.12	35.24

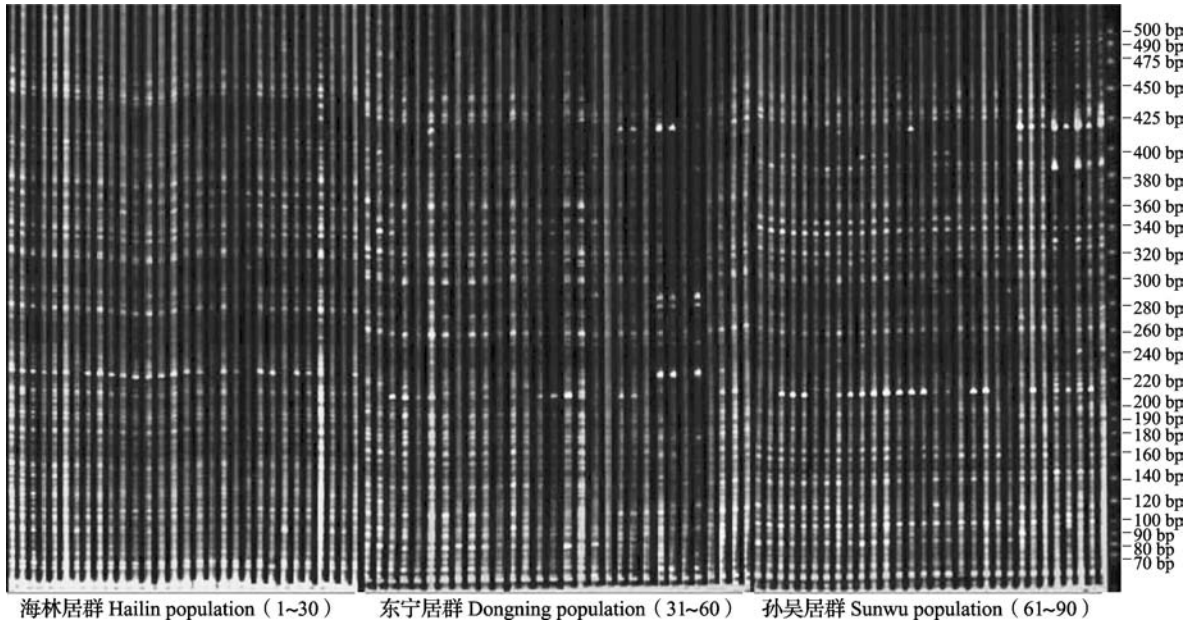


图 2 AFLP 引物 E-GAA/M-CTG 对野生秋子梨的扩增图谱

Fig. 2 AFLP amplified result of *Pyrus ussuriensis* Maxim using primer combination E-GAA/M-CTG

表 2 野生秋子梨 AFLP 所有基因位点变异统计

Table 2 Statistics of genetic variation for all locus of wild populations of *Pyrus ussriensis* Maxim

居群 Populations	观测等位 基因数 $N_a$	有效等位 基因数 $N_e$	Nei's 基因 多样性 $H$	Shannon 信息指数 $I$
种群水平	1. 8443aA	1. 2326aA	0. 1467aA	0. 2397aA
海林居群	1. 6534bB	1. 2133aA	0. 1352bA	0. 2189bA
东宁居群	1. 7494bB	1. 2313aA	0. 1440abA	0. 2384aA
孙吴居群	1. 3524cC	1. 1660bB	0. 1007cB	0. 1562cB

小、大写字母分别表示在 5% 和 1% 水平上 Duncan 新复级差检测结果  
Small and capital letters indicate the results of Duncan's test at 5% and 1% level, respectively

表 3 居群间的 Nei's 遗传一致度 (对角线上方) 和遗传距离 (对角线下方) 的无偏估计

Table 3 Nei's unbiased measures of genetic identity (above diagonal) and genetic distance (below diagonal) among populations

	海林居群 Hailin population	东宁居群 Dongning population	孙吴居群 Sunwu population
海林居群	****	0. 9887	0. 9682
东宁居群	0. 0114	****	0. 9796
孙吴居群	0. 0317	0. 0207	****

之间,遗传距离在 0.0114 ~ 0.0317 之间,表明 3 个群体间的遗传一致性较高,遗传距离较近。其中东宁与海林居群间的遗传一致度  $I_N = 0.9887$  最高,遗传距离  $D = 0.0114$  最小;海林与孙吴居群间的遗传一致度最低  $I_N = 0.9682$ ,遗传距离最大  $D = 0.0317$ ;东宁与孙吴居群间的亲缘关系 ( $I_N = 0.9796$ ;  $D = 0.0207$ ) 介于

以上两组之间。根据各居群间的 Nei's 遗传距离矩阵,利用 UPGMA 法进行聚类分析结果表明,海林居群和东宁居群首先聚在一起,二者的遗传关系最近,而在地理距离上海林和东宁居群也是最小的,这进一步证明了遗传距离和地理距离成正相关性(图 3)。

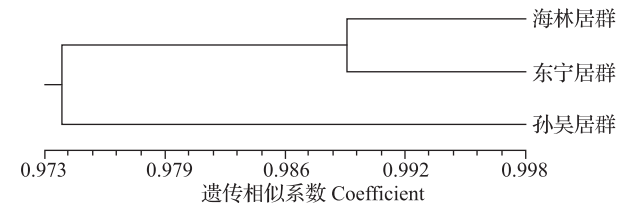


图 3 3 个野生秋子梨居群的 UPGMA 聚类分析

Fig. 3 UPGMA cluster analysis among the three wild populations of *Pyrus ussriensis* Maxim

## 2.4 供试株系的聚类分析

应用 UPGMA 聚类法对 90 个供试株系进行聚类分析,结果显示,90 个野生秋子梨株系的遗传相似系数在 0.788 ~ 0.898 之间。在遗传相似系数 0.827 处,90 个株系可以划分为 12 类(图 4),第 I 类含有 11 个株系,其中 91% 的株系来自东宁居群;第 II 类由 37 个株系组成,来自海林居群的株系 22 个,占 59%,东宁居群的株系 15 个,占 41%;第 III 类由孙吴居群的 24 个株系(96%) 和 1 个海林居群株系组成。其他几类分别由 3 个居群中某一个居群的株系单独组成。聚类结果中多数来源地相同的株系聚集在了一起,表明 3 个居群是相对独立的孟德尔群体;同时也存在来源不同的株系归入同一类群或同一来源株系归入到不同类群的现象,表明野

生秋子梨居群间存在基因交流,其中海林居群和东宁居群大部分株系相互交叉聚集在一起,显示 2 个居群间的亲缘关系较近,基因交流频繁。

### 3 讨论

#### 3.1 野生秋子梨遗传多样性与保护分析

野生果树在长期的自然选择中形成了独特的习

性,具有栽培种没有或少有的优良基因,如优质、抗逆、抗病虫等,这些优良基因可通过常规育种或基因工程转育到栽培品种中,从而提高栽培品种的产量和品质<sup>[32]</sup>。因此,保护、利用野生果树资源,对丰富栽培果树的遗传基础、保障现代农业可持续发展具有重要意义。

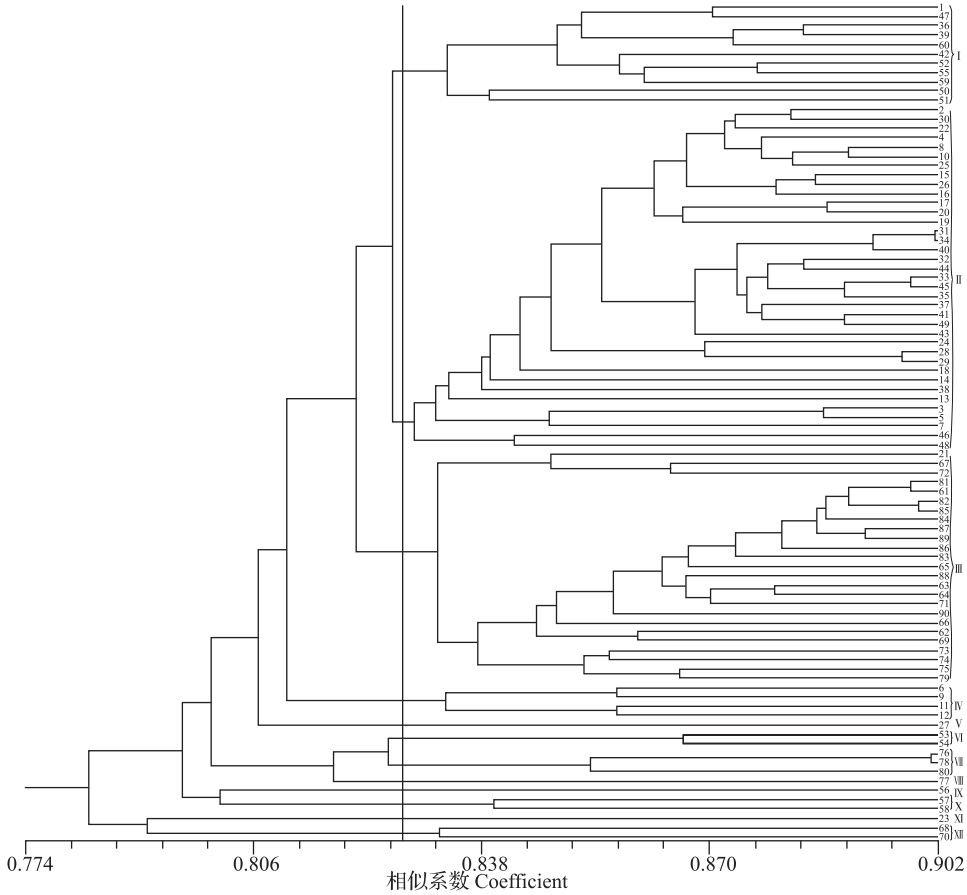


图 4 基于 AFLP 标记以 UPGMA 法构建的 90 个野生秋子梨株系的分子系统树状图

Fig. 4 Dendrogram of 90 wild *Pyrus ussuriensis* Maxim. based on AFLP bands using UPGMA cluster analysis

樊丽等<sup>[33]</sup>对 84 个梨品种进行了荧光 AFLP 分析。测得其多态性位点数为 795,多态性百分比为 92.5%;王斐等<sup>[34]</sup>利用荧光 AFLP 标记技术研究表明,20 个梨新品种及其 23 个亲本的多态性为 89.2%。本试验测得 90 个野生秋子梨种群水平多态性位点数为 179.17,多态性位点百分比为 82.95%,与普通梨品种相比黑龙江地区的野生秋子梨多态性较低,遗传基础狭窄。究其原因,可能是野生秋子梨虽然具有很强的抗寒性和抗病性,但因农田开垦等因素,90% 以上的野生秋子梨遭到砍伐,在分布地区已经很难找到不同年龄组成的野生秋子梨群体,濒临灭绝,从而导致野生秋子梨的遗传多样性最低。因此,加强野生秋子梨的资源保护已是迫在眉

睫。本研究结果表明,东宁居群的观测等位基因数、有效等位基因数、Nei's 基因多样性以及 Shannon 信息指数等遗传多样性参数均高于海林和孙吴居群。因此,在进行原生境保护时应优先考虑东宁居群。

#### 3.2 群体遗传分化及基因流动分析

无论是野生种群还是栽培种群,遗传分化大部分存在于自然居群或生态地理群内。本试验野生秋子梨基因分化系数  $G_{ST}$  为 0.1008,这表明野生秋子梨群体的遗传变异 89.92% 发生在居群内,只有 10.08% 发生在居群间,这与前人在其他植物上的结果相一致<sup>[35-36]</sup>。影响植物居群间遗传分化的因素很多,基因流动是使居群遗传结构均质化的主要因素之一,具有广泛基因流动的物种居群间往往较那

些具有有限基因流动的物种有较小的遗传分化。当  $N_m > 1.0$  时,表明基因流动水平较高,本试验中野生秋子梨居群间的基因流动  $N_m$  为 4.4603,接近伊犁野杏基因流动的 2 倍( $N_m = 2.684$ )<sup>[37]</sup>,3 个居群间存在的基因流动强度较大,说明群体间地理距离可能很近或有某种渠道可以发生基因流动,而较大的基因流动防止了由遗传漂变引起的居群间的遗传分化。

植物居群间的基因流动常是借助于花粉、种子、孢子以及其他携带遗传物质的物体为媒介进行的。对于种子植物而言,居群间的基因流动主要是由花粉或种子携带外来基因这两种形式产生<sup>[38]</sup>。本试验聚类分析表明在地理距离较小的东宁与海林居群,遗传关系近,基因交流频繁,而与其他居群隔着松花江以及众多的山脉,地理距离较远的孙吴居群与其他居群之间遗传关系较远,进行的基因交流也相对较少。野生秋子梨居群间存在的较大基因流动主要是由地理距离较近的海林和东宁居群间频繁的基因交流形成的,其原因可能是其果实成熟后味甜,为动物所喜欢,种子可通过重力和动物进行传播以及在春天野生秋子梨花粉被昆虫交换等途径进行近距离的基因交流,而孙吴居群与其他居群间相距较远,致使花粉及种子难以在地理距离较大的居群间有效的传播。本试验利用分子系统学的原理及 AFLP 技术分析验证了地理距离是影响居群间基因交流的主要因素,进一步证明了分子系统学以及 AFLP 技术在野生秋子梨群体遗传结构分析中具有较高的可靠性。

#### 参考文献

- [1] 蒲富慎. 我国梨的种质资源和梨的育种[J]. 园艺学报, 1979, 6(2): 69-75
- [2] 张艳敏, 何天明, 冯建荣, 等. 杏种质资源评价、创新与利用研究新进展[J]. 园艺学报, 2009, 36(5): 755-762
- [3] 王力荣. 我国果树种质资源科技基础性工作 30 年回顾与发展建议[J]. 植物遗传资源学报, 2012, 13(3): 343-349
- [4] 戴宝合. 野生植物资源学[M]. 北京: 农业出版社, 1993: 39-40
- [5] 严泽湘. 野果保健食品加工技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2011: 55-56
- [6] Zhou H F, Xie Z W, Ge S. Microsatellite analysis of genetic diversity and population genetic structure of a wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.) in China [J]. Theor Appl Genet, 2003, 107: 332-339
- [7] Yuan Z H, Yin Y L, Qu J L, et al. Population genetic diversity in chinese pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars revealed by fluorescent-AFLP markers[J]. J Genet Genomics, 2007, 34: 1061-1071
- [8] 胡尊红, 郭鸿彦, 胡学礼, 等. 大麻品种遗传多样性的 AFLP 分析[J]. 植物遗传资源学报, 2012, 13(4): 555-561
- [9] 杨庆文, 张万霞, 时津霞, 等. 广东高州普通野生稻 (*Oryza rufipogon* Griff.) 的遗传多样性和居群遗传分化研究[J]. 植物遗传资源学报, 2004, 5(4): 315-319
- [10] Iketani H, Katayama H, Uematsu C, et al. Genetic structure of East Asian cultivated pears (*Pyrus* spp.) and their reclassification in accordance with the nomenclature [J]. Plant Syst Evol, 2012, 298: 1689-1700
- [11] Asfaw A, Allison A S, Patty M S, et al. Population genetic structure of

- in situ wild *Sorghum bicolor* in its Ethiopian center of origin based on SSR markers [J]. Genet Resour Crop Ev, 2013, 60: 313-1328
- [12] Chen X S, Feng T, Zhang Y M, et al. Genetic diversity of volatile components in Xinjiang wild apple (*Malus sieversii*) [J]. J Genet Genomics, 2007, 34 (2): 171-179
- [13] Zhang C Y, Chen X S, He T M, et al. Genetic structure of *Malus sieversii* population from Xinjiang, China, revealed by SSR markers [J]. J Genet Genomics, 2007, 34: 947-955
- [14] 董研, 张军, 任亚超, 等. 中国新疆野苹果天然群体遗传多样性 SSR 分析[J]. 植物遗传资源学报, 2013, 14(5): 771-777
- [15] 张小燕, 陈学森, 彭勇, 等. 新疆野苹果酚类物质组分的遗传多样性[J]. 园艺学报, 2008, 35(9): 1351-1356
- [16] 冯涛, 张红, 陈学森, 等. 新疆野苹果果实形态与矿质元素含量多样性以及特异性状单株[J]. 植物遗传资源学报, 2006, 7(3): 270-276
- [17] 刘崇琪, 陈学森, 吴传金, 等. 新疆野生櫻桃李 (*Prunus cerasifera* Ehrh.) 部分表型性状的遗传多样性[J]. 园艺学报, 2008, 35(9): 1261-1268
- [18] 刘晓丽, 陈学森, 张美勇, 等. 普通核桃 (*Juglans regia* L.) 种下居群遗传结构的 SSR 分析[J]. 果树学报, 2008, 25(4): 526-530
- [19] 陈娇, 王小蓉, 汤浩茹, 等. 基于 SSR 标记的四川野生中国櫻桃遗传多样性和居群遗传结构分析[J]. 园艺学报, 2013, 40(2): 333-340
- [20] 马玉敏, 陈学森, 何天明, 等. 中国板栗 3 个野生居群部分表型性状的遗传多样性[J]. 园艺学报, 2008, 35(12): 1717-1726
- [21] 王洪军. 黑龙江林区山梨资源的经营及利用[J]. 中国野生植物资源, 2004, 4(8): 31-33
- [22] 许靖诗. 中国野生秋子梨群体遗传学及形态变异研究 [D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2013
- [23] Cao Y F, Tian L M, Gao Y, et al. Genetic diversity of cultivated and wild Ussurian Pear (*Pyrus ussuriensis* Maxim.) in China evaluated with M13-tailed SSR markers [J]. Genet Resour Crop Ev, 2012, 59: 9-17
- [24] 马腾. 中国野生秋子梨群体特征及遗传多样性评价 [D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2012
- [25] 张茂君, 李宝江, 王强, 等. 秋子梨野生种和部分栽培品种交配亲和性[J]. 果树学报, 2007, 24(4): 427-432
- [26] Doyle J J, Doyle J L. Isolation of plant DNA from fresh tissue [J]. BRL Focus, 1990, 12: 13-15
- [27] Shannon C E, Weaver W. The mathematical theory of communication [M]. Urbana: University of Illinois Press, 1949
- [28] Nei's M. Analysis of gene diversity in subdivided populations [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1973, 70: 3321-3323
- [29] 孙传清, 吉村淳. 普通野生稻和亚洲栽培稻核基因组的 RFLP 分析[J]. 中国农业科学, 1997, 30(4): 37-44
- [30] Nei's M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals [J]. Genetics, 1978, 89: 583-590
- [31] Romesburg H C. Cluster analysis for researchers [M]. Belmont: Life time Learning Publication, 2004: 334
- [32] 杨庆文, 秦文斌, 张万霞, 等. 中国农业野生植物原生境保护实践与未来研究方向[J]. 植物遗传资源学报, 2013, 14(1): 1-7
- [33] 樊丽, 林盛华, 王斐, 等. 梨栽培品种荧光 AFLP 分析[J]. 江苏农业科学, 2009(3): 24-27
- [34] 王斐, 林盛华, 方成泉, 等. 梨新品种及其亲本 AFLP 分析[J]. 园艺学报, 2007, 34(4): 847-852
- [35] 李莹莹, 郑成淑. 利用 CDDP 标记的菏泽牡丹品种资源的遗传多样性[J]. 中国农业科学, 2013, 46(13): 2739-2750
- [36] Gómez A, González-Martínez S C, Collada C, et al. Complex population genetic structure in the endemic Canary Island pine revealed using chloroplast microsatellite markers [J]. Theor Appl Genet, 2003, 107: 1123-1131
- [37] He T M, Chen X S, Xu Z, et al. Using SSR markers to determine the population genetic structure of wild apricot (*Prunus armeniaca* L.) in the Ily Valley of West China [J]. Genet Resour Crop Ev, 2007, 54: 563-572
- [38] Hamrick J L. Gene flow distribution of genetic variation in plant populations [M] // Urbanska K. Differentiation patterns in higher plants. New York: Academic Press, 1987: 53-55