

# 野生杏和栽培杏的遗传多样性和遗传结构分析

包文泉, 乌云塔娜, 王 淋, 赵 罕, 杜红岩

(国家林业局泡桐研究开发中心/中国林业科学研究院经济林研究开发中心, 郑州 450003)

**摘要:** 利用 SSR 分子标记结合荧光毛细管电泳检测技术, 研究了野生杏和栽培杏的遗传多样性和遗传结构, 结果显示: 27 个 SSR 位点, 平均每个位点检测到 17.82 个等位基因 ( $N_a$ ) 和 7.44 个有效等位基因 ( $N_e$ ), 平均 Shannon's 信息指数 ( $I$ ) 为 2.23, 平均期望杂合度 ( $H_e$ ) 和观察杂合度 ( $H_o$ ) 分别为 0.70 和 0.52。基于 SSR 位点, 群体水平上平均等位基因数、有效等位基因数、期望杂合度、观察杂合度和 Shannon's 信息指数分别为 6.59、4.15、0.70、0.53 和 1.50, 说明我国杏种质资源遗传多样性丰富, 其中野生杏资源遗传多样性明显高于栽培杏资源, 野生杏中西伯利亚杏种质遗传多样性最高且具有较多的特异等位基因, 而栽培杏中仁用杏遗传多样性最低, 特有等位基因较少。聚类分析将供试 159 份种质分为 4 组。群体遗传结构分析将 159 份种质划分为 5 个类群, 分类情况与传统形态指标划分基本一致。通过本研究可知, 我国杏资源遗传多样性丰富, 遗传结构较为复杂; 西伯利亚杏与栽培杏亲缘关系较远; 野生普通杏与栽培杏具有类似的遗传结构, 推测野生普通杏为栽培杏原始种; 仁用杏遗传多样性较低, 遗传背景狭窄。本研究结果可为杏资源新品种选育及持续利用提供重要的理论依据。

**关键词:** 杏; 遗传结构; 遗传多样性; SSR

## Genetic Diversity and Population Structure of the Wild Apricot and Cultivation Apricot

BAO Wen-quan, WuYun Tana, WANG Lin, ZHAO Han, DU Hong-yan

(China Paulownia Research Center, State Forestry Administration/Non-Timber Forest Research and Development Center, Chinese Academy of Forestry, Zhengzhou 450003)

**Abstract:** SSR (simple sequence repeat) markers were chosen for analyzing the genetic diversity and genetic structure of wild apricot, cultivation apricot by the capillary electrophoresis with fluorescence detection. The results were obtained as follows: 17.82 alleles ( $N_a$ ) and 7.44 effective alleles ( $N_e$ ) per locus were identified using 27 SSR molecular markers; the average Shannon's information index ( $I$ ), expected heterozygosity ( $H_e$ ) and observed heterozygosity ( $H_o$ ) were 2.23, 0.70 and 0.52, respectively. At the population levels, average number of alleles, effective number of alleles, expected heterozygosity, observed heterozygosity and Shannon's information index were 6.59, 4.15, 0.70, 0.53, and 1.50, respectively, which indicated that a high level of genetic diversity existed in apricot resources in China. The genetic diversity of wild apricot resources were significantly higher than cultivation apricot resources, the highest genetic diversity was Siberian apricot population that had the largest number of private alleles in wild apricot resources, however, the lowest genetic diversity was kernel-using apricot population, which had a few of private alleles in the cultivation apricot resources. The clustering result showed that 159 individuals could be divided into four clusters. Genetic structure analysis showed that 159 individuals divided into five groups, this result was line with the classification of the traditional morphology. At this present study, a high level of genetic diversity and complex population structure existed in apricot resources of our country, wild common apricot germplasm and cultivation

收稿日期: 2016-04-20 修回日期: 2016-06-12 网络出版日期: 2017-02-17

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20170217.1116.008.html>

基金项目: 国家“十二五”课题(2013BAD14B02)

第一作者主要从事经济林育种方面的研究。E-mail: 48369742@qq.com

通信作者: 乌云塔娜, 主要从事经济林育种和林业生物技术方面的研究。E-mail: tanatanann@163.com

杜红岩, 研究方向为杜仲育种栽培与综合利用。E-mail: dhy515@126.com

apricot had a close relatives and a similar genetic structure, it speculated that the wild common apricot was the original species of the cultivation apricot; on the contrary, the kernel-using apricot had a narrow genetic base, and had a low level of genetic diversity. These results also could provide important theoretical basis for the new variety breeding and sustainable utilization of apricot resources.

**Key words:** apricot; genetic structure; genetic diversity; SSR

杏 (*Armeniaca vulgaris* Lam.) ( $2n = 16$ ) 属于蔷薇科 (Rosaceae) 杏属 (*Armeniaca* Scop) 植物, 是我国重要的生态经济型树种之一。杏分布广泛, 适应性强, 除南部沿海及台湾省外, 其余地区均有栽培和分布, 杏属植物有 10 个种, 9 个变种, 种质资源极为丰富<sup>[1]</sup>, 其树形、果实、果核和叶子等性状具有丰富的遗传多样性, 挖掘利用潜力巨大<sup>[2]</sup>。我国栽培杏主要以普通杏 (*A. vulgaris* Lam.) 和仁用杏 (kernel-using apricot) 为主, 而天然杏资源主要以野生普通杏 (野杏) 和西伯利亚杏 (*A. sibirica* (L.) Lam.) 为主。普通杏是品种最多、分布最广泛且经济价值较高的一个种<sup>[3]</sup>; 其中新疆野生普通杏被认为是世界栽培杏的起源种群, 主要分布于伊犁河北岸天山野果林地区, 具有果实大、果肉厚、口味香甜等特点<sup>[4-6]</sup>。仁用杏 (kernel-using apricot) 又称‘大扁杏’是我国特有经济林树种, 以甜杏仁产品为主的杏属植物总称, 典型特征为果实长而扁、核仁大而甜; 目前有关仁用杏分类地位没有准确定位, 部分学者将仁用杏归于普通杏<sup>[7]</sup>, 也有一部分学者认为仁用杏是普通杏与西伯利亚杏天然杂交种<sup>[8]</sup> 或一个新种<sup>[9]</sup>。西伯利亚杏又称野山杏, 主要分布于我国蒙古高原山区, 其主要特征是果实和核仁小, 果肉食用性差<sup>[10-11]</sup>。

全球环境变化及人类过度开垦和放牧使杏资源数量逐年减少, 遗传多样性遭到严重破坏<sup>[12]</sup>, 因此, 研究杏资源遗传多样性、遗传结构和亲缘关系对杏资源有效保护与利用具有重要意义。随着分子生物

学技术的快速发展和不断完善, SSR (simple sequence repeat) 分子标记已被普遍应用于遗传多样性和遗传结构研究中, 其具有共显性、特异性强和多态性高等特点, 是目前较为理想的分子标记<sup>[13-15]</sup>, 基于 SSR 研究杏资源的报导较多, 如何天明等<sup>[16]</sup>、苑兆和等<sup>[17]</sup> 利用 SSR 标记对新疆普通杏研究, 刘华波等<sup>[18]</sup> 利用 SSR 标记对西伯利亚杏研究, 章秋平等<sup>[19]</sup> 利用 SSR 标记对华北生态群普通杏遗传多样性与群体结构进行分析, 但同时研究栽培杏和野生杏遗传多样性和遗传结构的报导较为罕见。本研究采用 SSR 分子标记对来自栽培杏 (普通杏和仁用杏) 和野生杏 (西伯利亚杏和野生普通杏) 的 159 份杏材料进行遗传多样性分析, 揭示其遗传多样性和遗传结构差异, 为我国杏资源的改良、有效保存及合理利用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试材料均采于 2013 年 6-7 月期间 (表 1, 表 2), 栽培杏采自中国林业科学研究院经济林研究开发中心杏种质资源圃, 其中仁用杏 18 个品种, 普通杏 39 个品种。西伯利亚杏采自内蒙古地区, 包括 7 个野生群体; 野生普通杏采自新疆伊犁新源县, 包括 3 个群体; 每个群体选取 7~16 个单株, 各单株间距为 50 m 左右。采集新鲜健康嫩叶, 迅速放入液氮, 保存于  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  低温冷藏冰箱, 备提取 DNA。

表 1 野生杏材料来源

Table 1 Origin of the wild apricot materials used in the study

群体编号 No.	群体 Population	种类 Species	样品数目 Sample size
1	新疆裕民	野生普通杏 <i>A. vulgaris</i> Lam.	16
2	新疆土尔根	野生普通杏 <i>A. vulgaris</i> Lam.	8
3	新疆野果林	野生普通杏 <i>A. vulgaris</i> Lam.	9
4	内蒙古克什克腾	西伯利亚杏 <i>A. sibirica</i> (L.) Lam.	9
5	内蒙古凉城	西伯利亚杏 <i>A. sibirica</i> (L.) Lam.	9
6	内蒙古科左后旗	西伯利亚杏 <i>A. sibirica</i> (L.) Lam.	10
7	内蒙古扎鲁特	西伯利亚杏 <i>A. sibirica</i> (L.) Lam.	15
8	内蒙古科右中旗	西伯利亚杏 <i>A. sibirica</i> (L.) Lam.	9
9	内蒙古察尔森	西伯利亚杏 <i>A. sibirica</i> (L.) Lam.	10
10	内蒙古扎赉特	西伯利亚杏 <i>A. sibirica</i> (L.) Lam.	7

表 2 栽培杏材料来源

Table 2 Origin of the culture apricot materials used in the study

群体编号 No.	种类 Species	种质名称 Germplasm name	产地 Original site	群体编号 No.	种类 Species	种质名称 Germplasm name	产地 Original site
11	仁用杏 Kernel-using apricot	80A03	河北	12	普通杏 <i>A. vulgaris</i> Lam.	膀佳娜丽	新疆
		80B05	河北			郭希玉吕克	新疆
		80D05	河北			洪特克	新疆
		白玉扁	北京			胡安娜	新疆
		超仁	河北			吉尔杏子	新疆
		国仁	辽宁			佳娜丽	新疆
		龙王帽	河北			卡巴可玉吕克	新疆
		三杆旗	河北			卡巴克胡安娜	新疆
		围选一号	河北			卡巴克西米西	新疆
		新4号	河北			卡拉胡安娜	新疆
		一窝蜂	河北			卡拉玉吕克	新疆
		优一	河北			坎及玉吕克	新疆
		薄香甜	河北			克孜托永	新疆
		油仁	河北			克孜佳娜丽	新疆
		迟梆子	河北			库车托永	新疆
		沈42	辽宁			库车小白杏	新疆
		沈82	辽宁			库尔勒托永	新疆
		丰仁	河北			辣椒杏	新疆
		12	普通杏 <i>A. vulgaris</i> Lam.			串枝红	河北
大棚王	河北			馒头玉吕克	新疆		
二转子	陕西			赛来克玉吕克	新疆		
供佛	河北			晚熟佳娜丽	新疆		
华县大接杏	陕西			细黑叶杏	新疆		
金寿	河北			新疆紫杏	新疆		
浓波力列	辽宁			亚布拉克佳娜丽	新疆		
佳丽叶	新疆			叶城黑叶杏	新疆		
阿克托永	新疆			早熟胡安娜	新疆		
阿克玉吕克	新疆			紫格佳娜丽	新疆		
阿里瓦拉	新疆						

## 1.2 DNA 提取方法

采用改良的 CTAB 法<sup>[20]</sup>,提取基因组 DNA,用 1% 的琼脂糖凝胶电泳及分光光度计检测含量及纯度后,保存于 -20 °C 冰箱备用。

## 1.3 SSR 分析

根据已开发的桃属植物 SSR 引物,筛选出多态性高、特异性强且重复性好的 27 对引物(表 3);利用 SSR 荧光标记检测技术 TP-M13-SSR(simple sequence repeat with tailed primer M13)<sup>[21]</sup>结合毛细管电泳荧光检测法对供试杏材料进行研究。SSR 正向引物和携带荧光标记 FAM、NED、VIC 或 PET 等的 M13 序列

(5'-TGTAACACGACGGCCAGT-3') 相连组成带 M13 尾的荧光正向引物;PCR 扩增反应体系为 20 μL 的混合体系,由 1 μL 的 DNA 模板(10 ~ 20 ng/μL),0.2 μL 的 2 × Tab Master Mix,2 μL 的 10 × buffer,0.5 μL 的 dNTP(2.5 mol/L)、DMSO(10%)、荧光正向引物和反向引物(0.8 μmol/L),14.8 μL 的无菌去离子水(ddH<sub>2</sub>O);反应条件如下:95 °C 预变性 5 min,30 次循环的 95 °C 变性 30 s、55 °C 退火 30 s 和 72 °C 延伸 30 s,15 次循环的 95 °C 变性 30 s、54 °C 退火 30 s 和 72 °C 延伸 30 s,72 °C 终延伸 5 min。SSR-PCR 扩增产物经由 DNA 分析仪(ABI

3500XL)进行检测,利用 Gene-Marker 软件(SoftGenetics LLC, USA)读取结果,记录每个位点的片段大小。

#### 1.4 数据分析

利用 DataFormater 2.7.2 软件<sup>[22]</sup>将 SSR 荧光毛细管电泳原始数据转化成后期数据分析软件运行格式,应用 Popgene32 软件<sup>[23]</sup>计算等位基因数( $N_a$ , number of alleles)、有效等位基因数( $N_e$ , effective number of alleles)、Shannon's 多样性指数( $I$ , Shannon's Information Index)、期望杂合度( $H_e$ , expected heterozygosity)、观察杂合度( $H_o$ , observed heterozygosity)、群体间遗传距离( $D$ , genetic distance)和遗传相似系数( $I$ , genetic identity);利用 Excel-GenAlEx 软件<sup>[24]</sup>计算各群体私有等位基因数;多态性信息含量( $PIC$ , polymorphism information content)通过公式  $PIC = 1 - \sum f_{ij}^2$  计算( $f_{ij}$ 为第  $i$  个等位基因的频率);聚类分析利用 NTSYS pc version2.10e 软件<sup>[25]</sup>,根据 Nei's 遗传相似系数,采用 UPGMA 法完成;应用 Structure 软件<sup>[26]</sup>,进行数学模型的类群划分,并求相应的  $Q$  值(即某一材料基因组变异源于某个群体的概率),先设定群体数( $K$ )为 1~12,将 Burn-in 数和 MCMC(Markov chain monte carlo)数均设为 10000 次,重复运行 10 次,然后依据 LnP

( $D$ )值最大的原则选取一个合适的  $K$  值,绘制群体遗传结构图。

## 2 结果与分析

### 2.1 SSR 位点遗传多样性

基于 27 个 SSR 位点对 159 份杏种质进行遗传多样性检测结果(表 3),一共检测到 481 个等位基因( $N_a$ ),各位点的等位基因数从 12 个(UDP98-021、BPPCT023、ASSR71 和 ASSR72)到 27 个(Pchgms5),平均每个位点等位基因数为 17.82 个;检测到的有效等位基因( $N_e$ )共 200.91 个,其中位点 BPPCT007 检测到的有效等位基因最多(12.99),而位点 M6a 检测到的有效等位基因最少(2.78),平均每位点 7.44 个;Shannon's 信息指数( $I$ )为 1.40~2.75,均值为 2.23;期望杂合度( $H_e$ )为 0.42~0.82,均值为 0.70;观察杂合度( $H_o$ )为 0.12~0.86,均值为 0.52;以上结果均表明我国杏种质资源具有丰富的遗传多样性。多态信息含量( $PIC$ )值在 0.64~0.92 之间,均值为 0.84,其中位点 BPPCT007 的  $PIC$  值最高(0.92),而位点 M6a 的  $PIC$  值最低(0.64),表明所选引物均为高度多态性信息引物( $PIC > 0.5$ ),故较适于对供试材料进行遗传多样性分析。

表 3 SSR 位点的遗传多样性

Table 3 Genetic characteristics of SSR markers

位点 Loci	引物来源 Source	等位基因 $N_a$	有效等位基因 $N_e$	Shannon's 信息 指数 $I$	期望杂合度 $H_e$	观察杂合度 $H_o$	多样性信息 指数 $PIC$
UDP98-409 <sup>[27]</sup>	<i>Amygdalus persica</i> L.	23.00	11.00	2.69	0.75	0.43	0.91
Pchgms3 <sup>[28]</sup>	<i>Amygdalus persica</i> L.	16.00	6.12	2.14	0.76	0.57	0.84
Pchgms5 <sup>[28]</sup>	<i>Amygdalus persica</i> L.	27.00	6.93	2.51	0.65	0.38	0.86
MA020A <sup>[29]</sup>	<i>Amygdalus persica</i> L.	17.00	9.19	2.49	0.82	0.65	0.89
pchgms12 <sup>[30]</sup>	<i>Amygdalus persica</i> L.	17.00	9.53	2.42	0.73	0.40	0.90
BPPCT002 <sup>[31]</sup>	<i>Amygdalus persica</i> L.	25.00	12.16	2.72	0.73	0.66	0.90
MA007a <sup>[29]</sup>	<i>Amygdalus persica</i> L.	16.00	7.03	2.21	0.72	0.62	0.86
MA039a <sup>[29]</sup>	<i>Amygdalus persica</i> L.	23.00	9.36	2.59	0.76	0.55	0.89
aprigms24 <sup>[30]</sup>	<i>Amygdalus persica</i> L.	16.00	4.26	1.86	0.65	0.18	0.77
Pchgms4 <sup>[28]</sup>	<i>Cerasus avium</i> (L.) Moench	20.00	6.92	2.26	0.69	0.55	0.86
PMS2 <sup>[32]</sup>	<i>Cerasus avium</i> (L.) Moench	17.00	7.52	2.26	0.69	0.53	0.87
aprigms18 <sup>[30]</sup>	<i>Amygdalus persica</i> L.	18.00	4.79	2.01	0.62	0.48	0.79
PMS67 <sup>[32]</sup>	<i>Cerasus avium</i> (L.) Moench	18.00	4.18	2.01	0.62	0.42	0.76
UDP98-021 <sup>[27]</sup>	<i>Amygdalus persica</i> L.	12.00	3.04	1.56	0.42	0.12	0.67
BPPCT023 <sup>[31]</sup>	<i>Amygdalus persica</i> L.	12.00	3.16	1.46	0.52	0.21	0.68

表 3(续)

位点 Loci	引物来源 Source	等位基因 $N_a$	有效等位基因 $N_e$	Shannon's 信息 指数 $I$	期望杂合度 $H_e$	观察杂合度 $H_o$	多样性信息 指数 $PIC$
UDP98-412 <sup>[27]</sup>	<i>Amygdalus persica</i> L.	13.00	7.33	2.22	0.72	0.45	0.86
M6a <sup>[29]</sup>	<i>Amygdalus persica</i> L.	13.00	2.78	1.40	0.51	0.28	0.64
ASSR71 <sup>[33]</sup>	扁桃 <i>Amygdalus communis</i> L.	12.00	4.34	1.71	0.57	0.54	0.77
ASSR72 <sup>[33]</sup>	扁桃 <i>Amygdalus communis</i> L.	12.00	6.01	2.04	0.72	0.64	0.83
BPPCT004 <sup>[31]</sup>	<i>Amygdalus persica</i> L.	24.00	9.51	2.56	0.79	0.68	0.89
BPPCT007 <sup>[31]</sup>	<i>Amygdalus persica</i> L.	21.00	12.99	2.75	0.80	0.78	0.92
BPPCT008 <sup>[31]</sup>	<i>Amygdalus persica</i> L.	15.00	8.07	2.32	0.75	0.59	0.88
PCEGA25 <sup>[34]</sup>	<i>Amygdalus persica</i> L.	24.00	10.32	2.65	0.81	0.79	0.90
UDP96-003 <sup>[27]</sup>	<i>Amygdalus persica</i> L.	19.00	8.68	2.45	0.80	0.74	0.88
UDP97-401 <sup>[27]</sup>	<i>Amygdalus persica</i> L.	13.00	6.26	2.03	0.68	0.51	0.84
UDP98-406 <sup>[27]</sup>	<i>Amygdalus persica</i> L.	22.00	11.37	2.60	0.77	0.86	0.91
UDP97-402 <sup>[27]</sup>	<i>Amygdalus persica</i> L.	16.00	8.10	2.31	0.74	0.45	0.88
均值 Mean		17.82	7.44	2.23	0.70	0.52	0.84

$N_a$ : Number of alleles,  $N_e$ : Effective number of alleles,  $I$ : Shannon's information index,  $H_e$ : Expected heterozygosity,  $H_o$ : Observed heterozygosity,  $PIC$ : Polymorphism information content. The same as below

## 2.2 群体遗传多样性

各群体遗传多样性检测结果见表 4, 12 个群体平均等位基因数 ( $N_a$ ) 为 6.59 个, 平均有效等位基因数 ( $N_e$ ) 为 4.15 个; 期望杂合度 ( $H_e$ ) 和观察杂合度 ( $H_o$ ) 分别在 0.59 ~ 0.77 和 0.43 ~ 0.61 之间, 平均值分别为 0.70 和 0.53; Shannon's 多样性指数 ( $I$ ) 为 1.14 ~ 1.73, 均值为 1.50; 依据  $N_e$ 、 $I$  和  $H_e$  可知内蒙古科左后旗西伯利亚杏群体的多样性最高, 而

新疆土尔根野生普通杏群体的遗传多样性最低。通过对野生杏和栽培杏的遗传多样性比较 (图 1), 发现西伯利亚杏遗传多样性最高, 野生普通杏次之, 仁用杏多样性最低, 因此, 我国野生杏资源遗传多样性要比栽培杏丰富; 另外, 无论是野生杏还是栽培杏群体均表现杂合子不足现象 ( $H_e > H_o$ )。西伯利亚杏作为野生种质资源具有较多的特异等位基因, 而仁用杏资源特异等位基因极少。

表 4 供试群体的遗传多样性

Table 4 Genetic diversity estimations in all populations

群体编号 No.	样品数量 Samples size	等位基因 $N_a$	有效等位基因 $N_e$	Shannon's 信息 指数 $I$	观察杂合度 $H_o$	期望杂合度 $H_e$
1	16	7.85	4.60	1.64	0.48	0.72
2	8	4.37	2.93	1.14	0.43	0.59
3	9	4.37	3.31	1.23	0.46	0.65
4	9	4.89	3.20	1.24	0.51	0.63
5	9	5.37	3.47	1.31	0.53	0.63
6	10	7.26	5.21	1.72	0.61	0.77
7	15	7.82	5.11	1.73	0.56	0.76
8	9	7.15	5.08	1.68	0.57	0.75
9	10	7.04	4.66	1.61	0.56	0.73
10	7	5.96	4.36	1.53	0.55	0.72
11	18	6.22	3.55	1.41	0.61	0.69
12	39	10.82	4.31	1.70	0.47	0.72
均值 Mean		6.59	4.15	1.50	0.53	0.70

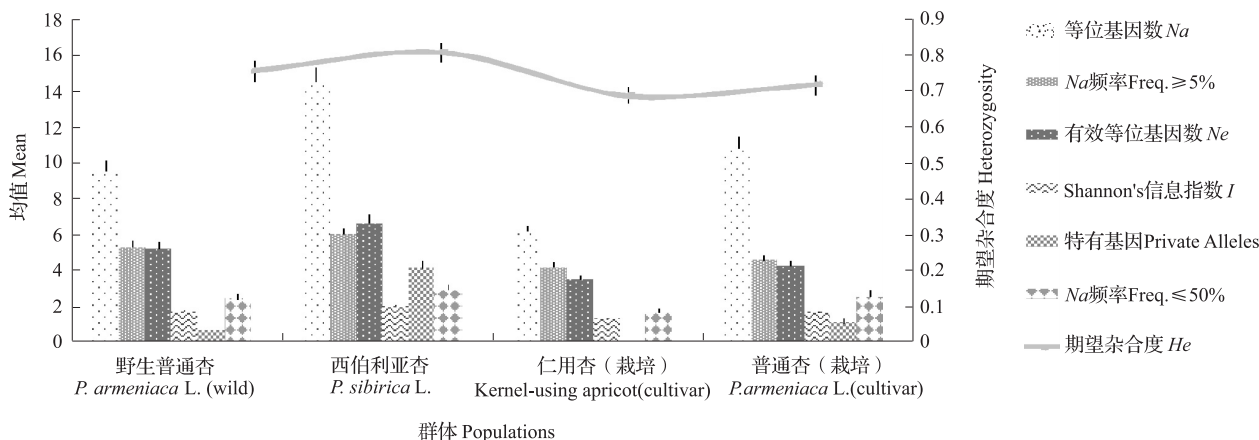


图1 杏种质资源等位基因分布情况

Fig. 1 Allelic patterns across populations

### 2.3 群体间亲缘关系

根据 Nei's 遗传距离 ( $D$ ) 和遗传相似度 ( $I$ ) (表5)可知,12个群体间遗传距离为0.196~1.463,遗传相似度为0.232~0.822,其中内蒙古察尔森西伯利亚杏群体与新疆土尔根野生普通杏群体遗传距离最大,遗传相似度最小,内蒙古科左后旗和扎鲁特西伯利亚杏群体遗传距离最小,遗传相似度最高;基于遗传相似度进行聚类分析,在遗传相似系数0.59处,

可将12个群体划分4组(图2),第I组包括新疆裕民野生普通杏、仁用杏和栽培普通杏3个群体;第II组包括新疆土尔根和野果林2个野生普通杏群体;第III组包括内蒙古克什克腾和凉城2个西伯利亚杏群体;第IV组包括内蒙古科左后旗、扎鲁特、科右中旗、察尔森和扎赉特5个西伯利亚杏群体。上述结果表明,西伯利亚杏与栽培杏(普通杏和仁用杏)亲缘关系较远,野生普通杏与栽培杏(普通杏和仁用杏)亲缘关系较近。

表5 群体间无偏遗传相似度 ( $I$ , 对角线上方) 和遗传距离 ( $D$ , 对角线下方)Table 5 Genetic identity ( $I$ , above diagonal) and genetic distance ( $D$ , below diagonal) among populations

群体 Population	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1		0.626	0.500	0.372	0.431	0.314	0.359	0.374	0.366	0.368	0.601	0.604
2	0.468		0.699	0.278	0.341	0.236	0.255	0.256	0.232	0.280	0.445	0.618
3	0.693	0.358		0.291	0.331	0.257	0.254	0.283	0.238	0.369	0.444	0.580
4	0.988	1.281	1.234		0.706	0.556	0.556	0.573	0.617	0.610	0.536	0.444
5	0.842	1.076	1.107	0.348		0.508	0.535	0.527	0.611	0.605	0.510	0.452
6	1.160	1.444	1.360	0.587	0.678		0.822	0.683	0.706	0.629	0.488	0.362
7	1.025	1.368	1.372	0.588	0.626	0.196		0.676	0.724	0.612	0.517	0.351
8	0.983	1.364	1.264	0.558	0.640	0.381	0.392		0.738	0.655	0.559	0.378
9	1.005	1.463	1.436	0.482	0.493	0.349	0.323	0.304		0.684	0.499	0.379
10	1.000	1.274	0.997	0.495	0.502	0.463	0.491	0.423	0.379		0.493	0.408
11	0.509	0.809	0.812	0.624	0.674	0.717	0.660	0.582	0.695	0.707		0.603
12	0.505	0.481	0.544	0.811	0.793	1.015	1.047	0.973	0.971	0.895	0.505	

### 2.4 群体遗传结构特点

将 Structure 分析得到的  $\text{LnP}(D)$  平均值绘制折线图(图3),群体数  $K=5$  时似然值最大。推断供试159份杏资源有5个类群(图4)。当某个体在某个类群中的  $Q$  值大于等于0.6时,则认为该个体遗传组分相对较单一<sup>[33]</sup>,对159份杏材料的  $Q$  值进行了统计分析,其中有153个(占96.2%)单株遗传组分较单一,并被划

分到相应的5个类群中。类群1(绿色基因池)是新疆裕民野生普通杏群体;类群2(红色基因池)包括新疆土尔根和野果林野生普通杏群体及栽培普通杏群体;类群3(黄色基因池)包括内蒙古克什克腾和凉城2个西伯利亚杏群体;类群4(蓝色基因池)包括内蒙古科左后旗、扎鲁特、科右中旗、察尔森和扎赉特5个西伯利亚杏群体;类群5(玫瑰红色基因池)是仁用杏群体。

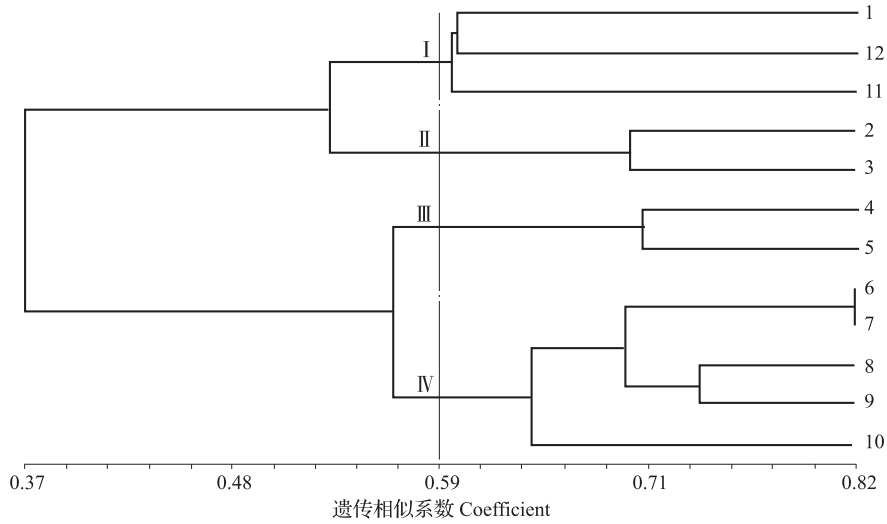


图2 杏群体间 Nei's 无偏遗传相似度 UPGMA 聚类分析

Fig.2 UPGMA dendrogram of apricot populations based on Nei's unbiased genetic identity

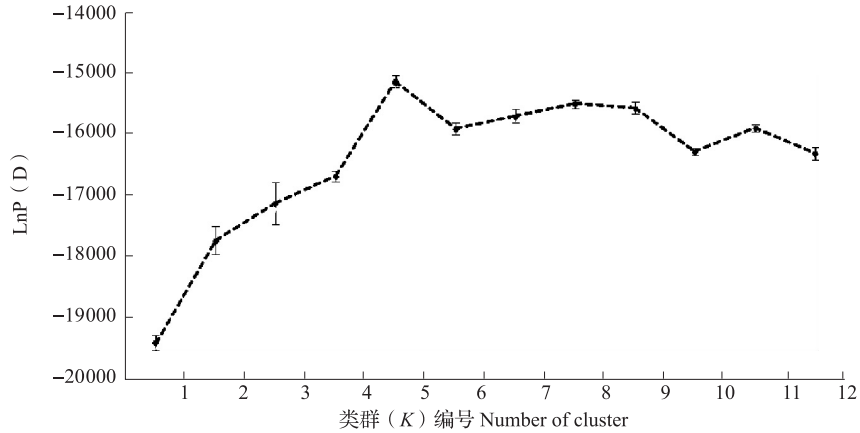


图3 利用 LnP(D) 值推断参试材料的合理组群数划分

Fig.3 Reasonable group number of tested apricot germplasms inferred by LnP(D)

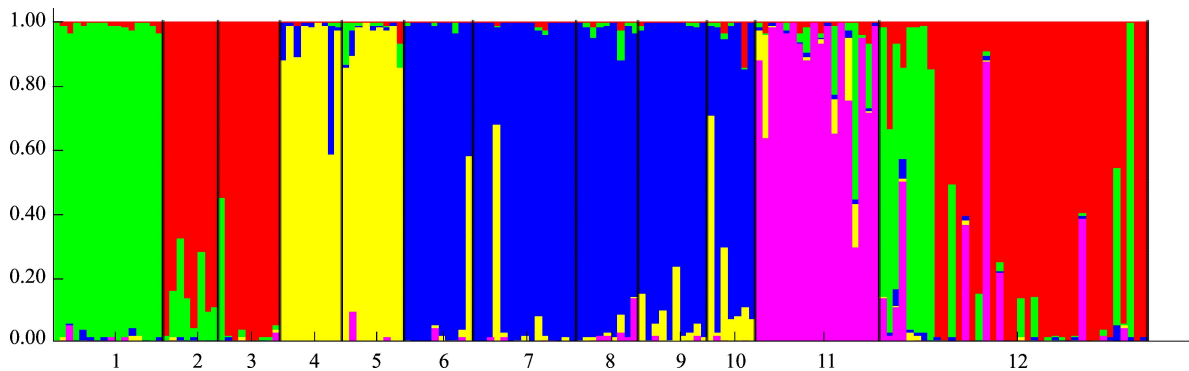


图4 杏种质资源的群体遗传结构(K=5)

Fig.4 The genetic structure of the populations of apricot(K=5)

### 3 讨论

#### 3.1 种质资源遗传多样性

本研究基于桃属植物 SSR 对 159 份杏种质进

行分析,结果显示所用 27 对引物在杏属植物中多态性高、特异性强且重复性好,这与张淑青等<sup>[35]</sup>利用扁桃和桃 SSR 引物对杏资源进行研究的结果一致。已有研究表明 SSR 引物在不同植物间具有较高的

通用性,如王彩虹等<sup>[36]</sup>曾报道苹果(*Malus pumila* Mill.)核 SSR 引物可有效用于蔷薇科内跨属的种质资源,本研究结果也充分证明了 SSR 引物在蔷薇科不同属间通用性很高,相互间利用可大大节省时间和节约成本。

27 个 SSR 位点检测到 481 个等位基因( $N_a$ )和 200.91 个有效等位基因( $N_e$ )。12 个群体平均有效等位基因数( $N_e$ )、期望杂合度( $H_e$ )和 Shannon's 多样性指数( $I$ )分别为 4.15、0.70 和 1.50,高于李明等<sup>[37]</sup>利用 SSR 对黄土高原山杏研究( $N_e = 3.8$ 、 $I = 1.33$ )、何天明<sup>[3]</sup>利用 SSR 对新疆野杏研究( $H_e = 0.29$ 、 $I = 0.43$ )和章秋平等<sup>[19]</sup>利用 SSR 对普通杏研究( $H_e = 0.67$ 、 $I = 1.44$ )的结果,与其他资源相比,陈娇等<sup>[38]</sup>利用 SSR 对我国长梗櫻桃(*Amygdalus Pedunculata* Pall.)研究( $H_e = 0.69$ 、 $I = 1.52$ )、王滑等<sup>[39]</sup>利用 SSR 对核桃(*Juglans regia* L.)研究( $N_e = 2.81$ 、 $H_e = 0.61$ )结果仍低于本研究。通过对比发现我国野生杏资源具有丰富的遗传多样性,改良潜力巨大,其中内蒙古西伯利亚杏遗传多样性最丰富,新疆野生普通杏次之,而栽培杏中仁用杏遗传多样性相对较低,这与 Z. Wang 等<sup>[40]</sup>利用 SSR 研究我国西伯利亚杏得出的内蒙古西伯利亚杏遗传多样丰富和何天明<sup>[3]</sup>研究认为伊犁河谷的野杏具有较高的遗传多样性等结果一致。仁用杏资源遗传基础狭窄、群体变异幅度小<sup>[19]</sup>,本研究结果也证明我国仁用杏种质资源遗传多样性较低。综上可知我国杏资源遗传多样性丰富,这可能与我国杏资源分布广泛、适应性强、自交不亲和以及虫媒花等生物学特征相关,另外,人为选择及野生动物取食等因素为我国杏资源快速扩散并进行远距离基因交流创造了有利条件,使表现出丰富的遗传多样性。

### 3.2 种质资源亲缘关系

通过遗传距离( $D$ )和遗传相似度( $I$ )可知,西伯利亚杏与栽培杏遗传距离较大,遗传相似度较小;而野生普通杏和栽培杏遗传距离较小,遗传相似度较大;仁用杏与栽培普通杏遗传距离较近,这与利用 SSR、ISSR、AFLP 对 30 份仁用杏及杏属主要种进行分析认为仁用杏与普通杏亲缘关系较近的观点一致<sup>[41]</sup>,一定程度上支持仁用杏是普通杏一个变种的看法<sup>[42]</sup>。UPGMA 聚类可知,新疆野生普通杏与栽培杏亲缘关系较近,推测新疆野生普通杏是栽培杏原始种,这一结果与新疆野杏是世界栽培杏的起源种群<sup>[3]</sup>结果一致。

### 3.3 群体遗传结构与分化

利用 Structure 软件分析野生杏和栽培杏的遗传

结构,159 份杏材料最佳分组类群数为 5(图 4),分别为西伯利亚杏 2 个亚群,仁用杏单独为一亚群,野生普通杏分为 2 个亚群,其中新疆土尔根和野果林群体与栽培普通杏聚为一个亚群,具有类似的遗传结构,这与刘娟等<sup>[43]</sup>研究认为的新疆野杏与栽培杏具有相似的遗传结构吻合。遗传结构划分与传统形态指标划分有一定相关性,如类群 1(绿色基因池)是新疆裕民野生普通杏群体,这些种质树体高大,果实较小且果肉较薄,口味酸涩;类群 2(红色基因池)包括新疆土尔根和野果林野生普通杏群体及栽培普通杏群体,这些种质果实和叶片较大,果肉口味香甜;类群 3(黄色基因池)包括内蒙古克什克腾和凉城 2 个西伯利亚杏群体,这些种质树体分枝较少,叶片较大;类群 4(蓝色基因池)包括内蒙古科左后旗、扎鲁特、科右中旗、察尔森和扎赉特等 5 个西伯利亚杏群体,这些种质树体矮小,呈典型的灌木形状,树干低矮且附有粗长刺;类群 5(玫瑰红色基因池)是仁用杏群体,这些种质果肉薄,核仁香甜且较大。遗传结构分析中普通杏和西伯利亚杏都有不同的亚类出现,唯独仁用杏只有一个亚类,表明普通杏和西伯利亚杏种质遗传多样性高,遗传结构复杂;而仁用杏相比于西伯利亚杏和普通杏具有明显特异性,变异类型较少,遗传组分较单一。目前,杏分类系统常将仁用杏归为普通杏的范畴<sup>[1]</sup>,但近年来也有研究认为仁用杏是普通杏与西伯利亚杏的天然杂交种<sup>[44]</sup>,通过上述结论认为,仁用杏遗传结构较单一,不同于普通杏和西伯利亚杏,推测仁用杏属于杏属植物中的一个新种,需要进一步深入研究及试验验证。西伯利亚杏和普通杏相比仁用杏具有较多的特异等位基因,这与章秋平等<sup>[19]</sup>得到的仁用杏比普通杏占有较多的特有等位基因相反,这可能由于所用 SSR 位点的不同造成;西伯利亚杏具有较多的特异等位基因,推测与自然选择和环境因素有关,使野生资源产生了较多的自我保护变异,而栽培普通杏在人工选择,长时间驯化中产生了一系列特异遗传变异。

## 4 结论

通过有效等位基因数( $N_e$ )、期望杂合度( $H_e$ )、Shannon's 多样性指数( $I$ )可知我国杏种质资源具有丰富的遗传多样性,其中西伯利亚杏遗传变异最为丰富,普通杏次之,仁用杏遗传多样性最低。普通杏和西伯利亚杏具有较多特有的等位变异。仁用杏资源遗传背景狭窄,且具有较单一的遗传结构。西伯利亚杏与普通杏和仁用杏遗传距离较大,亲缘关系



较远;野生普通杏与栽培杏亲缘关系较近。本文可为杏资源合理保护与利用、新品种选育以及优质资源发掘等方面提供有效参考及科学依据。

#### 参考文献

- [1] 俞德俊. 落叶果树分类学[M]. 上海:上海科学技术出版社,1984
- [2] 包文泉. 内蒙古地区山杏重要性状遗传变异评价及优株选择[D]. 呼和浩特:内蒙古农业大学,2013
- [3] 何天明. 中国普通杏(*Prunus armeniaca*)种质资源遗传多样性及紫杏(*P. dasycarpa*)起源的研究[D]. 泰安:山东农业大学,2006
- [4] 廖康. 新疆野生果树资源研究[M]. 乌鲁木齐:新疆人民出版社,2013
- [5] 刁永强. 新疆野杏生殖生物学特性初步研究[D]. 乌鲁木齐:新疆农业大学,2009
- [6] 林培钧,崔乃然. 天山野果林资源 - 伊犁野果林综合研究[M]. 北京:中国林业出版社,2000
- [7] 俞德俊. 中国植物志[M]. 北京:科学出版社,1986:24-33
- [8] 吕英民,吕增仁,高锁柱. 应用同工酶进行杏属植物演化关系和分类的研究[J]. 华北农学报,1994,9(4):69-74
- [9] 傅大立,李炳仁,傅建敏. 中国杏属一新种[J]. 植物研究,2010,30(1):1-3
- [10] 张加延,张钊. 中国果树志·杏卷[M]. 北京:中国林业出版社,2003
- [11] 刘桂森,张立彬,王同坤. 野生山杏的生态、经济和社会效益[J]. 河北农业科技,1990(1):17-18
- [12] Liu W, Chen X S, Liang Q, et al. Interspecific hybridization of *Prunus persica* with *P. armeniaca* and *P. salicina* using embryo rescue[J]. Plant Cell Rep,2007,88(3):289-299
- [13] 张彩英,李喜焕,常文锁,等. 应用 SSR 标记分析大豆种质资源的遗传多样性[J]. 植物遗传资源学报,2008,9(3):308-314
- [14] 束爱萍,刘增兵,余丽琴,等. 水稻 SSR 标记的遗传多样性研究进展[J]. 植物遗传资源学报,2013,14(5):778-783
- [15] 盛岩,郑蔚虹,裴克全,等. 微卫星标记在种群生物学研究中的应用[J]. 植物生态学报,2002,26(S1):119-126
- [16] 何天明,陈学森,高疆生,等. 新疆栽培杏群体遗传结构的 SSR 分析[J]. 园艺学报,2006,33(4):809-812
- [17] 苑兆和,陈学森,何天明,等. 中国新疆栽培杏群体遗传结构的荧光 AFLP 分析[J]. 遗传学报,2007,34(11):1037-1047
- [18] 刘华波,王哲,刘君,等. 燕山山脉西伯利亚杏的遗传多样性和遗传结构[J]. 林业科学,2012,48(8):68-74
- [19] 章秋平,刘冬成,刘威生,等. 华北生态群普通杏遗传多样性与群体结构分析[J]. 中国农业科学,2013,46(1):89-98
- [20] 冯晨静,张元慧,徐秀英,等. 14 份杏种质的 ISSR 分析[J]. 河北农业大学学报,2007,28(5):52-62
- [21] Lopes M, Sefc K, Laimer M, et al. Identification of microsatellite loci in apricot[J]. Mol Ecol Notes,2002,2(5):24-26
- [22] 樊文强,盖红梅,孙鑫,等. SSR 数据格式转换软件 DataFormatter[J]. 分子植物育种,2016,14(1):265-270
- [23] 翟婉婉,李雪萍,徐返,等. 云南水稻地方品种月亮谷的群体多样性分析[J]. 植物遗传资源学报,2016,17(3):423-432
- [24] Peakall R, Smouse P E. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research[J]. Mol Ecol Notes,2006,6(1):288-295
- [25] 张成林,郭志慧,张新全,等. 利用 SSR 标记对垂穗披碱草和老芒麦进行物种鉴定和遗传变异分析[J]. 植物遗传资源学报,2016,17(3):416-422
- [26] Evanno G, Regnaut S, Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study[J]. Mol Ecol,2005,14:2611-2620
- [27] Testolin R, Marrazzo T, Cipriani G, et al. Microsatellite DNA in peach (*Prunus persica* L. Batsch) and its use in fingerprinting and testing the genetic origin of cultivars[J]. Genome,2000,43(3):512-520
- [28] Sosinski B, Gannavarapu M, Hager L D, et al. Characterization of microsatellite markers in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch][J]. Theor Appl Genet,2000,101(3):421-428
- [29] Yamamoto T, Mochida K, Imai T, et al. Microsatellite markers in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] derived from an enriched genomic and cDNA libraries[J]. Mol Ecol Notes,2002,2(6):298-301
- [30] Wang Y, Georgi L L, Reighard G L, et al. Genetic mapping of the evergrowing gene in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch][J]. J Hered,2002,93(5):352-358
- [31] Dirlwanger E, Cosson P, Tavaud M, et al. Development of microsatellite markers in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] and their use in genetic diversity analysis in peach and sweet cherry (*Prunus avium* L.)[J]. Theor Appl Genet,2002,105(6):127-138
- [32] Cantini C, Iezzoni A F, Lamboy W F. DNA fingerprinting of tetraploid cherry germplasm using simple sequence repeats[J]. JAS- HS March,2001,126(2):205-209
- [33] Xu Y, Ma R C, Xie H, et al. Development of SSR markers for the phylogenetic analysis of almond trees from China and the Mediterranean region[J]. Genome,2004,47(6):1091-1104
- [34] Lezzoni A, Schmidt H, Albertini A. Genetic resources of temperate fruit and nut crops[J]. Acta Horticult,1990,5(6):110-173
- [35] 张淑青,刘冬成,刘威生,等. 普通杏品种 SSR 遗传多样性分析[J]. 园艺学报,2010,37(1):23-30
- [36] 王彩虹,田义轲,赵静. 来自苹果的 SSRs 在蔷薇科植物资源上的通用性分析[J]. 园艺学报,2005,32(3):500-502
- [37] 李明,赵忠,杨吉安,等. 黄土高原山杏种质资源分类研究[J]. 西北林学院学报,2011,26(1):8-12
- [38] 陈娇,王小蓉,汤浩茹,等. 基于 SSR 标记的四川野生中国樱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
- [39] 王滑,郝俊民,王宝庆,等. 中国核桃 8 个天然居群遗传多样性分析[J]. 林业科学,2007,43(7):120-124
- [40] Wang Z, Kang M, Liu H B, et al. High-level genetic diversity and complex population structure of siberian apricot (*Prunus sibirica* L.) in China as revealed by nuclear SSR markers[J]. PLoS ONE,2014,9(2):1-13
- [41] 马丹慧. 杏种质资源亲缘关系及分类地位的 ISSR 和 SSR 分子标记研究[D]. 长春:吉林农业大学,2007
- [42] 刘有春,陈伟之,刘威生,等. 仁用杏起源演化的孢粉学研究[J]. 园艺学报,2010,37(9):1377-1387
- [43] 刘娟,廖康,赵世荣,等. 新疆野杏种质资源遗传多样性及亲缘关系的 ISSR 分析[J]. 新疆农业大学学报,2015,38(2):105-113
- [44] 吕英民,吕增仁,高锁柱,等. 应用同工酶进行杏属植物演化关系和分类的研究[J]. 华北农学报,1994,9(4):69-74