

基于成熟期的桃品种遗传多样性 SSR 分析

魏 姍 姍, 刘 兴 菊, 杨 敏 生, 梁 海 永

(河北农业大学, 河北省林木种质资源与森林保护重点实验室, 河北 保定 071000)

摘 要:以 95 份桃育成品种为试材, 利用 32 对 SSR 分子标记对桃育成品种进行遗传多样性分析。结果表明:筛选的 18 对 SSR 引物共检测出 93 个等位基因, 其中多态性等位基因为 50 个。桃群体的平均 Nei's 基因多样性为 0.5652, Shannon 遗传表型指数为 1.1125, 说明桃总群体遗传变异偏低。针对桃的成熟期进行遗传分析, 发现早熟和中熟类群遗传数据相似, 推测二者亲缘关系相近; 同理, 推测晚熟品种与前二者关系较远。表明桃的成熟期与其等位基因相关, 该研究结果可为进一步研究桃的遗传分析奠定基础。

关键词:桃; 简单重复序列(SSR); 遗传多样性; 成熟期

中图分类号:S 662.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)12-0088-06

桃(*Prunus persica*)属蔷薇科李亚科植物, 是起源于我国最古老的果树之一, 其种质资源极其丰富, 分布很广, 是我国重要的果树种类, 具有很高的经济价值, 其产量和质量水平在国民经济发展中占有重要地位^[1]。

DNA 指纹图谱鉴定技术具有简便、快速、准确的特点, 可供选择的 DNA 分子标记数量多、准确性高, 不受环境的影响, 无器官发育时期的特异性等优点。目前, DNA 指纹图谱鉴定技术在农业品种鉴定中已得到广泛应用, 提升了农作物品种管理工作的水平, 促进了品种

权保护工作的开展^[2]。DNA 指纹图谱鉴定技术在林木个别树种中也进行了研究, 如有在杨树、柳树、桑树及苹果、梨、桃等果树上进行品种鉴定的报道。但分子标记技术目前主要以遗传研究为主, 在生产上实际应用的还很少, 缺少公认的品种鉴定方法和相对固定的测试用核心引物, 更缺少统一的品种鉴定技术标准^[3-4]。

简单重复序列(simple sequence repeats, SSR)分析技术具有染色体上分布均匀、多态性丰富、共显性、分辨率高和易于检测等优点, 自开发以来就成为最为有效构建指纹图谱的工具^[5]。到目前为止, 果树上已经在桃、苹果、梨、葡萄、猕猴桃、香蕉、栗等树种上进行了 SSR 遗传图谱构建、基因标记和定位、倍性鉴别、种质鉴定、父系分析、变异鉴定等方面的研究^[6]; 蔬菜作物上, SSR 技术广泛用于水稻、菜豆、花生、棉花、白菜、玉米等品种的鉴定和种植资源分析^[7]。SSR 技术现已广泛用于桃的品种鉴定和种群资源分类中^[8]。桃的基因组测序现已

第一作者简介:魏姍姍(1989-), 女, 硕士研究生, 研究方向为树木分子标记及桃树指纹图库的建立。E-mail:shengfeicia@163.com.

责任作者:梁海永(1973-), 男, 副教授, 硕士生导师, 现主要从事林业生物技术等研究工作。E-mail:lianghy@hebau.edu.cn.

基金项目:国家林业局林业公益性行业科研专项资助项目(201104039)。

收稿日期:2014-01-20

Study on the Construction of Plant Expression Vector of TYLCV-CP Gene and Its Transferring Into Tomato

LI Mei-qin, PEI Hua-li, QIAO Ning, LIU Yong-guang, XUE Qi-qin, LV Jin-fu

(Biological Engineering Research and Development Center, Weifang University of Science and Technology, Weifang, Shandong 262700)

Abstract: Taking 'Tedaruiguang' tomato as material, plant expression vector 3301-CP containing TYLCV-CP genes was transferred into tomato cotyledons using Agrobacterium mediated transformation method. 13 phosphinothricin-resistant plants were constructed and were detected by PCR and Southern Blot detection. The results showed 10 transformed tomato plants were positive reaction among the 13 phosphinothricin-resistant plants, the TYLCV-CP genes had been transferred into the tomato genome, and the transformation efficiency was 76.9%. The resistance to TYLCV of transgenic tomato plants was significantly stronger than non-transgenic tomato plants.

Key words: coat protein gene; tomato yellow leaf curl virus(TYLCV); tomato; genetic transformation

全部完成,其微卫星序列在染色体中的位置已完全确定,研究表明根据这些序列设计的微卫星引物在桃的种间具有很好的保守性^[9]。该研究通过均匀分布在不同连锁群的 SSR 位点,对 95 份桃育成品种进行高效遗传分析,以期更好的揭示桃不同品种的遗传关系。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料主要来源于保定满城县林业局分院果树种子苗木站,所取材料及编号见表 1。采集桃幼嫩叶片,以保鲜袋包装,编号后低温下带回实验室,于-70℃冰箱中保存备用。

表 1 供试桃品种材料

Table 1 Species or varieties of peach for SSR analysis

编号 No.	品种 Variety	编号 No.	品种 Variety	编号 No.	品种 Variety
1	“朱红垂直碧桃”	33	“霞晖 6 号”	65	“莱山蜜”
2	“早露蟠”	34	“霞晖 2 号”	66	“绿化 9 号”
3	“庆丰”	35	“瑞光 2 号”	67	“久:A10-31”
4	“金花露”	36	“雨花 1 号”	68	“瑞光 11 号”
5	“久:B1-14”	37	“久:C10-2”	69	“京春”
6	“金辉”	38	“久:B18-35”	70	“未央 2 号”
7	“朝晖”	39	“久:B12-35”	71	“霞晖 1 号”
8	“金童 6 号”	40	“菊花桃”	72	“瑞光 5 号”
9	“杂种实生苗 1104”	41	“久:C2-5”	73	“有明白桃”
10	“满天红”	42	“久:A10-37”	74	“华玉”
11	“金童 8 号”	43	“久:12”	75	“久:B30-49”
12	“南方金蜜”	44	“久:B9-43”	76	“久艳”
13	“阿布白桃”	45	“瑞光 18 号”	77	“金保”
14	“雨花 2 号”	46	“瑞蟠 2 号”	78	“早凤凰”
15	“沙红”	47	“早霞露”	79	“晚久保”
16	“霞晖 5 号”	48	“红叶碧桃”	80	“寒露蜜”
17	“久玉”	49	“双丰”	81	“雪桃”
18	“瑞蟠 10 号”	50	“瑞蟠 3 号”	82	“新川中岛”
19	“雨花 3 号”	51	“久:c2-5”	83	“毛桃”
20	“晖雨露”	52	“宝露”	84	“2 行 43-45”
21	“久:55-2”	53	“瑞光 7 号”	85	“桃王 99”
22	“瑞蟠 4 号”	54	“久硕”	86	“北京 14(无毛)”
23	“早美”	55	“瑞光 3 号”	87	“秋妃”
24	“雪雨露”	56	“早魁”	88	“晚秋妃”
25	“瑞光 19 号”	57	“北京晚蜜”	89	“西妃”
26	“久翠”	58	“满城雪桃”	90	“二十一世纪”
27	“瑞红”	59	“玫瑰露”	91	“中华圣桃”
28	“大京红”	60	“红岗山”	92	“北京 14 号”
29	“晶玉”	61	“秋红”	93	“秋红蜜”
30	“久:5”	62	“秦王”	94	“蓬仙十”
31	“红垂直碧桃”	63	“大团蜜露”	95	“蓬仙七”
32	“新百花”	64	“久:C2-27”		

试剂及设备:2×Taq Master Mix(是由 Taq DNA Polymerase、PCR buffer、Mg²⁺、dNTPs 以及 PCR 稳定剂和增强剂组成的预混体系)购自北京世纪生物科技有限公司。所有 PCR 引物由上海生工生物工程公司合成。PCR 反应使用 Biometer 公司的 TG 型 PCR 循环仪。引物分别从桃的 8 对染色体上各选取 4 个 SSR 位点,从中筛选出 18 对引物。其序列如表 2 所示。

表 2 供试 SSR 引物

Table 2 SSR primers used in identification experiment

引物 Primers name	连锁群 Groups	正向引物序列(5'~3') Forward primer sequence	反向引物序列(5'~3') Reverse primer sequence
MAO56a	1	GTCTTGTCCTCCATTAGTCCC	GAACCTGATGGATTGGTTTG
BPPCT028	1	TCAAGTTAGCTGAGGATGCG	GAGCTTGCTATGAGAAGACC
MI6a	1	CTCTCTCTCAGCTCTCTC	TTGTGAATTGGGTTTGGA
BPPCT001	2	AATTCCTCAAGGATGTGTATGAG	CAGGTGAATGAGCCAAAGC
MAO24a	2	AACCAATCCAATATCAACC	GGGGGATCTCTCAACTCAA
MAO07a	2	GTGCATCGTTAGGAATGCC	GCCCTGAGATACAACCTGCA
BPPCT013	2	AACCACAAATCAAGCATATCC	AGCTTCAGCCACCAAGC
BPPCT039	3	ATTACGTACCTAAAGCTTCTGC	GATGTCATGAAGATTGGAGAGGGG
MAO39a	3	AGAAAGGCACCTTTATCTAGG	TTTGTTTTGGGGATGGTAGT
BPPCT007	3	TCATTGCTGCTCATCAGC	CAGATTCTGAAGTTAGCGGTA
BPPCT023	4	TGCAGCTCATTACTTTTTC	AGATGTGCTGTAGTTTCGGAC
BPPCT017	5	TTAAGAGTTTGTGATGGGAACC	AAGCATAATTAGCATAACCAAGC
BPPCT026	5	ATACTTTGCCACTTGGG	TGAGTTGGAAGAAAACGTAACA
BPPCT025	6	TCCTGCGTAGAAGAAGGTAGC	CGACATAAGTCCAAATGGC
MAO14a	6	CCATGAACCGGAGAGAGAA	CAACACGTGTCATCCGTTTG
MAO10a	7	ACCTGTTTCTACACTCACA	CCCACACCACTACTCTACAC
MAO20a	7	CTTGCCCAATTATGACTGA	TATATGCAATAATCAAGGTC
MAO35a	8	AGGATTGTTGAAGGGGAG	AACCTTCAAATTGAGCAGC

1.2 试验方法

1.2.1 桃果实成熟期的划分 根据桃果实发育期(即从开花到果实成熟需要的天数)将果实成熟期划分为 5 类,即极早熟(果实发育期≤75 d)、早熟(75 d<果实发育期≤90 d)、中熟(90 d<果实发育期≤105 d)、晚熟(105 d<果实发育期≤120 d)和极晚熟(果实发育期>120 d)。

1.2.2 DNA 提取及纯化 采用改良的 CTAB 法提取桃基因组 DNA,反应前用微量紫外进行 DNA 质量与浓度检测。并将 DNA 稀释至 30 ng/μL 备用。

1.2.3 PCR 扩增反应 PCR 反应总体积为 10 μL,包括:4 μL 2×Taq Master Mix 引物 0.5 μmol/L,1 μL 模板 DNA。SSR 反应程序为:95℃预变性 5 min,94℃变性 50 s,53~60℃退火 50 s,72℃复性 50 s,30 个循环;最后 72℃延伸 7 min。最后置于 4℃冰箱保存。扩增产物用质量分数 8%的变性聚丙烯酰胺凝胶电泳,采用银染技术检测。

1.2.4 电泳检测 扩增产物在 8%非变性聚丙烯酰胺凝胶中电泳分离,PCR 产物加入 1/2 体积的 6×Loading Buffer,每个加样孔加样量为 1.5 μL,加样后,在 230 V 电压下电泳 60 min。电泳完毕取出进行 AgNO₃ 染色:0.1% AgNO₃ 银染 10 min;水洗后用显色液(1.5% NaOH,0.4%甲醛)显色,直至条带清晰为止,照相并记录。

1.3 数据分析

假定胶上相同迁移率的条带均来自同一位点上的同一等位基因。按基因型统计,从下往上,条带依次记作 A、B、C、D、E、F、G、H、I。对每个样品的扩增电泳谱带

进行统计,构成基因型的原始数据矩阵。假设等位基因频率符合哈迪-温伯格平衡。利用 Popgene 软件,计算群体 Nei's 基因多样性(H)、Shannon 信息指数(I)、观测杂合度(Obs_Het),观测纯合度(Obs_Hom)、期望杂合度(Exp_Het *),期望纯合度(Exp_Hom *),等位基因频率及群体间遗传距离。

2 结果与分析

2.1 桃品种的等位基因分析

2.1.1 SSR 扩增等位基因的多态性 对 32 对 SSR 引物进行筛选,从中选出 18 对扩增条带清晰且多态性丰

富的引物对 95 份桃材料进行扩增。表 3 表明,18 对引物共扩增出 93 个等位基因,其中有效等位基因数为 50.8655 个,占全部等位基因的 54.69%。不同引物扩增的等位基因数从 4 到 9 个不等,平均每对引物扩增 5.1667 个。每个 SSR 标记的 H 值在 0.1283~0.8387 之间,平均值为 0.5652;I 指数在 0.3364~1.9601 之间,平均值为 1.1125。桃品种期望杂合度(0.5681)高于期望纯合度(0.4319),但其观测杂合度(0.3396)却远低于观测纯合度(0.6604),表明这 95 个桃品种的纯和基因较多,亲本自花授粉为主要方式,其遗传多样性较低。

表 3 桃品种的遗传多样性

Table 3 The genetic diversity of peach cultivars

引物位点 Locus	观测等位基因数 Observed number of alleles	有效等位基因数 Effective number of alleles	H	I	观测纯合度 Obs_Hom	观测杂合度 Obs_Het	期望纯合度 Exp_Hom *	期望杂合度 Exp_Het *
MAO56a	4	2.3742	0.5788	1.0545	0.5464	0.4536	0.4182	0.5818
BPPCT001	5	2.6330	0.6202	1.1563	0.7938	0.2062	0.3766	0.6234
MAO24a	3	1.3017	0.2317	0.4650	0.8247	0.1753	0.7671	0.2329
MAO07a	4	2.8379	0.6476	1.1644	0.5052	0.4948	0.3490	0.6510
BPPCT013	5	1.1472	0.1283	0.3364	0.9485	0.0515	0.8710	0.1290
BPPCT028	4	2.1833	0.5420	0.9978	0.9072	0.0928	0.4552	0.5448
M16a	5	3.4978	0.7141	1.3813	0.5773	0.4227	0.2822	0.7178
BPPCT039	4	2.6419	0.6215	1.0426	0.7423	0.2577	0.3753	0.6247
MAO35a	5	3.5312	0.7168	1.3619	0.6392	0.3608	0.2795	0.7205
MAO10a	4	1.3224	0.2438	0.5378	0.8866	0.1134	0.7549	0.2451
MAO39a	6	2.8281	0.6464	1.2786	0.8144	0.1856	0.3502	0.6498
BPPCT023	5	2.6143	0.6175	1.1870	0.4845	0.5155	0.3793	0.6207
MAO20a	4	1.1834	0.1550	0.3590	0.8969	0.1031	0.8442	0.1558
BPPCT007	7	4.3926	0.7723	1.5707	0.3814	0.6186	0.2237	0.7763
BPPCT025	9	6.2003	0.8387	1.9601	0.4021	0.5979	0.1569	0.8431
BPPCT017	6	2.7825	0.6406	1.2983	0.4845	0.5155	0.3561	0.6439
BPPCT026	6	3.5121	0.7153	1.3889	0.5258	0.4742	0.2810	0.7190
MAO14a	7	3.8816	0.7424	1.4838	0.5258	0.4742	0.2538	0.7462
总和 Total	93	50.8655						
平均 Mean	5.1667	2.8259	0.5652	1.1125	0.6604	0.3396	0.4319	0.5681

2.1.2 全部桃品种的等位基因频率分析 从表 4 可以看出,引物 BPPCT025 的引物多态性最好,扩增出了等位基因 A~I 共 9 种等位基因;引物 BPPCT007 和 BPPCT026 其次,各扩增出 7 种等位基因。MAO24a 的引物多态性最差,只扩增出了 A、B 和 C 3 种等位基因。

9 种等位基因中,等位基因 C 的频率最高,为 0.3121;等位基因 I 的频率最低,为 0.0103。从表 4 可以看出,等位基因频率随引物的不同而不同,同一引物中,各等位基因频率也各不相同。

表 4 全部桃品种等位基因频率

Table 4 Allele frequency of all peach cultivars

等位基因 Allele	MAO-56a	BPPC-T001	MAO-24a	MAO-07a	BPPC-T013	BPPC-T028	M16a	BPPC-T039	MAO-35a	MAO-10a	MAO-39a	BPPC-T023	MAO-20a	BPPC-T007	BPPC-T025	BPPC-T017	BPPC-T026	MAO-14a	平均 Mean
Allele A	0.0412	0.0206	0.0876	0.4175	0.0155	0.0412	0.0670	0.3918	0.0309	0.0515	0.0052	0.0361	0.0103	0.2474	0.2680	0.0206	0.1186	0.3402	0.1228
Allele B	0.2371	0.5258	0.0412	0.0825	0.0206	0.6289	0.2526	0.4485	0.0670	0.0309	0.1340	0.5515	0.0206	0.0052	0.1289	0.0876	0.0052	0.0052	0.1819
Allele C	0.5876	0.2938	0.8711	0.4021	0.9330	0.2216	0.0515	0.1546	0.2474	0.8660	0.0464	0.1289	0.0515	0.1701	0.0258	0.5361	0.0206	0.0103	0.3121
Allele D	0.1340	0.1237		0.0979	0.0103	0.1082	0.2216	0.0052	0.2938	0.0515	0.0567	0.2423	0.9175	0.2577	0.0773	0.0412	0.4124	0.0309	0.1813
Allele E		0.0361			0.0206		0.4072		0.3608		0.5258	0.0412		0.2629	0.0979	0.0773	0.2526	0.1186	0.2001
Allele F											0.2320			0.0412	0.1340	0.2371	0.1907	0.2010	0.1727
Allele G														0.0155	0.0773		0.2938		0.1289
Allele H															0.1804				0.1804
Allele I															0.0103				0.0103

2.1.3 桃品种聚类分析 由图1桃品种聚类结果可以看出,在遗传距离为122.0的水平上,将材料分为两大类。第一大类包括52个品种,可分为2个亚类:第1亚类是1~29号,共29个品种,这些品种大多为有毛圆形早熟品种(18和22号为蟠桃),第2亚类是30~52号,共

23个品种,这些品种中大多为观赏类中熟品种;第二大类包括43个品种,可分2个亚类:第1亚类是53~79号,共27个品种,这些品种大多为无毛圆形晚熟品种;第2亚类是80~95号,共16个品种,这些品种大多为有毛圆形晚熟品种。

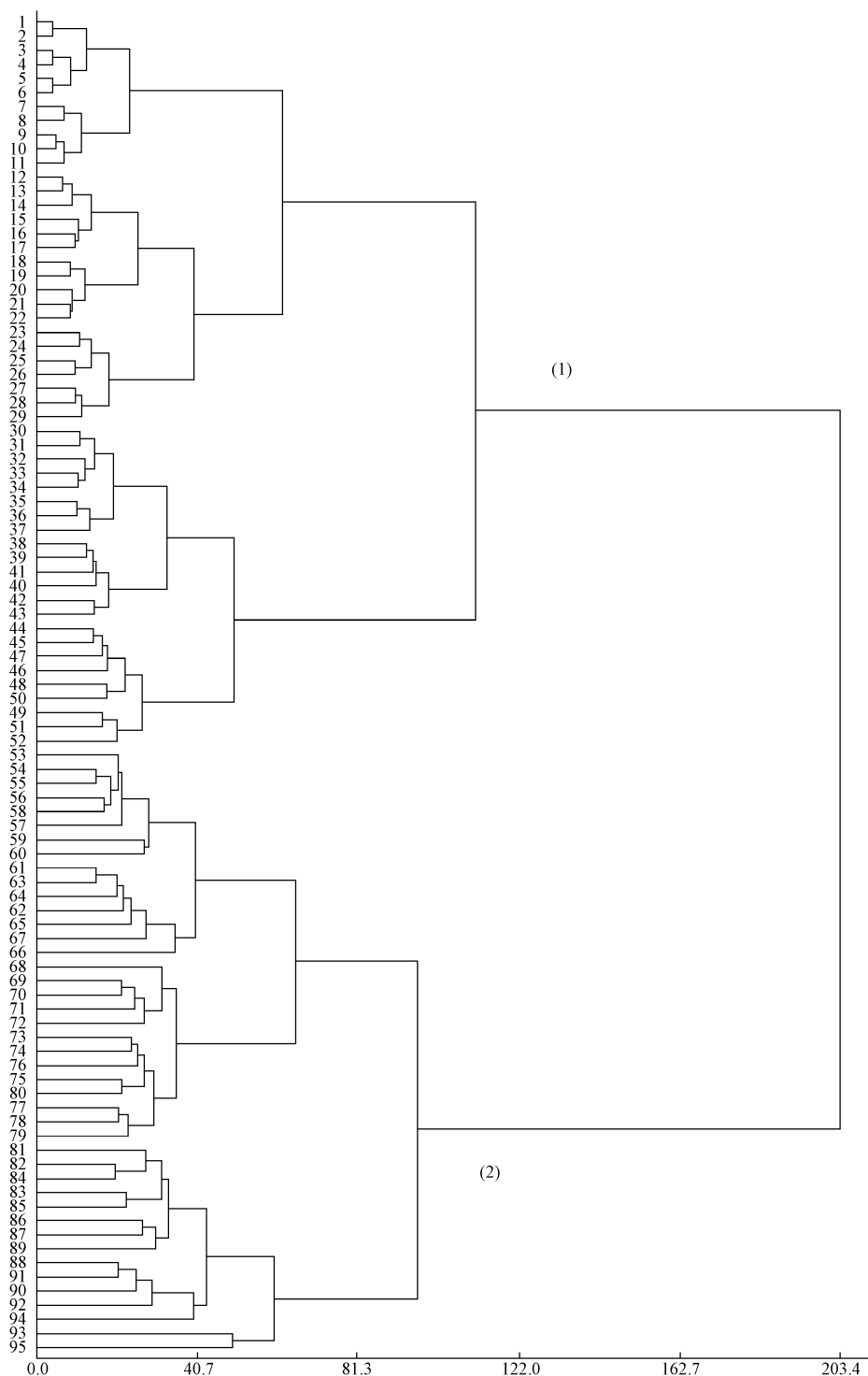


图1 基于SSR标记的品种聚类图

注:图中的数字与表1中的品种编码一致。

Fig. 1 Dendrogram of cultivars based on SSR marker

Note: The numbers in the figure are the same as that in table 1.

2.2 根据成熟期对桃群体进行遗传分析

由表 5 可知,早中晚 3 个类群观测到的等位基因数在 4~5 之间,有效等位基因数从 2.5694 到 2.9676 不等。中熟品种的观测纯合度最高,为 0.6634,晚熟的观

测纯合度最低,为 0.5952。这说明中熟品种纯合体偏多,而晚熟品种则含有较多的杂合体。表明早熟和中熟品种从数据上更为接近,二者亲缘关系可能相近。

表 5 不同成熟期桃品种的遗传多样性

Table 5 The genetic diversity of different mature peach cultivars

成熟期 Maturity	观测等位基数 Observed number of alleles	有效等位基因数 Effective number of alleles	H	I	观测纯合度 Obs_Hom	观测杂合度 Obs_Het	期望纯合度 Exp_Hom*	期望杂合度 Exp_Het*
早熟 Early maturity	4.6667	2.5694	0.5301	1.0243	0.6356	0.3644	0.4620	0.5380
中熟 Middle maturity	4.1667	2.6039	0.5379	1.0215	0.6634	0.3366	0.4458	0.5542
晚熟 Late maturity	4.2222	2.9676	0.5879	1.1222	0.5952	0.4048	0.3904	0.6096

从表 6 早中晚熟 3 个桃类群的平均等位基因频率可以看出,晚熟类群中等位基因频率分布更为均衡,说明其杂合性偏高。等位基因 C 的频率在 3 个类群中同为最高。其次,在早熟品种中等位基因 E 频率最高;在中熟品种中等位基因 H 频率最高;在晚熟品种中等位基因 D 频率最高。在早熟和中熟 2 类群中,除等位基因 E 和 H 外,其余等位基因出现频率次序一致,而等位基因 E 和 H 在这 2 类群中出现频率恰好相反,且等位基因 E

在晚熟性状中出现频率较高,等位基因 H 在晚熟性状中出现频率较低,所以推测这 2 个等位基因与桃成熟性状有一定关联,也说明早熟与晚熟品种亲缘关系较近。等位基因 I 只在晚熟品种中出现,而没在另外 2 类群中出现,说明该等位基因可能与延迟成熟期有关。综上所述可知,晚熟类群等位基因频率顺序与早中熟品种差异较大,表明前者与后二者亲缘关系较远。

表 6 不同成熟期桃品种的等位基因频率的平均值

Table 6 The average of allele frequency of different mature peach cultivars

成熟期 Maturity	Allele A	Allele B	Allele C	Allele D	Allele E	Allele F	Allele G	Allele H	Allele I
早熟 Early maturity	0.1553	0.2007	0.3348	0.1912	0.2059	0.1618	0.1691	0.1765	
中熟 Middle maturity	0.1597	0.2511	0.3686	0.2353	0.2118	0.1471	0.1763	0.3235	
晚熟 Late maturity	0.1593	0.2071	0.3524	0.2692	0.2464	0.1929	0.1309	0.1429	0.0714

从表 7 遗传一致度可以看出,各种群的遗传一致度很高(0.9726~0.9827),尤其是中熟类群与早熟类群的遗传一致度最高为 0.9827,晚熟类群与早熟类群的遗传一致度相对最低为 0.9726。从数据可反映出连续分布种群间有较小的遗传分化特点。

表 7 三类群间的 Nei 氏遗传一致度的无偏估计值

Table 7 Nei's unbiased measures of genetic identity and genetic distance between three groups

PopID	早熟品种 Early maturity cultivars	中熟品种 Middle maturity cultivars	晚熟品种 Late maturity cultivars
早熟品种 Early maturity cultivars	* * * *	0.9827	0.9726
中熟品种 Middle maturity cultivars	0.0175	* * * *	0.9762
晚熟品种 Late maturity cultivars	0.0278	0.0241	* * * *

从图 2 聚类分析可以看出,早熟类群与中熟类群首先被聚到一起,它们再与晚熟类群聚到一起。表明桃种群的遗传分化与成熟期即生长环境有一定的关系。

3 讨论

SSR 标记是继 RAPD 标记后出现的基于 PCR 反应的 DNA 标记技术之一。SSR 技术用于桃的研究已有报

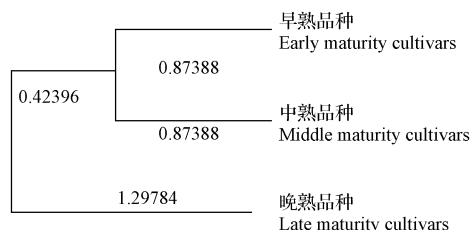


图 2 不同成熟期桃类群的聚类图

道^[10-18]。但多数研究对 SSR 位点并没有定位,SSR 位点并没有均匀分布到不同染色体中,影响了对品种的区分效率,对品种的遗传分析也具有一定的影响。该研究采用来自桃 8 对染色体、18 对核心引物,完全区分开了 95 份桃品种。更好的区分桃已有的众多品种,为桃种群分类提供了更好分子鉴定体系。

遗传多样性是物种长期进化的结果,是种群生存和发展的前提。通过基因多样度和 Shannon 信息指数指标可以看出,这 95 个桃品种群体的平均 Nei's 基因多样性为 0.5652,Shannon 遗传表型指数为 1.1125,说明这个群体中总群体遗传变异偏低。与杏^[19]同属植物相比,桃总体遗传多样性处于较低水平,可能与桃多为自交亲和

品种有关。

95个桃品种聚类结果在遗传距离为122.0的水平上,将材料分为二大类。第一大类包括52个品种,可分为2个亚类:第1亚类是1~29号,共29个品种,这些品种大多为有毛圆形早熟品种;第2亚类为30~52号,共23个品种,这些品种中大多为观赏类中熟品种;第二大类包括43个品种,可分2个亚类:第1亚类是53~79号,共27个品种,这些品种大多为无毛圆形晚熟品种,第2亚类是80~95号,共16个品种,这些品种大多为有毛圆形晚熟。这与桃的基本性状具有很大的相关性。汪祖华等^[20]利用同工酶技术分析桃品种时也发现,不同肉质类型呈现不同特征谱型。SSR分析中最重要的环节是引物的筛选,只要能开发出合适的引物,即能够广泛的覆盖不同的染色体,并对分析体系进行优化,就能挖掘SSR在种质资源研究中的巨大潜力。

参考文献

- [1] Li T H, Li Y X, Li Z C, et al. Simple sequence repeat analysis of genetic diversity in primary core collection of peach (*Prunus persica*) [J]. Journal of Integrative Plant Biology 2008, 50(1): 102-110.
- [2] 陈昌文, 曹珂, 王力荣, 等. 中国桃主要品种资源及其野生近缘种的分子身份证构建[J]. 中国农业科学, 2011, 44(10): 2081-2093.
- [3] Sajer O, Scorza R, Dardick C, et al. Development of sequence-tagged site markers linked to the pillar growth type in peach (*Prunus persica*) [J]. Plant Breeding, 2012, 131(1): 186.
- [4] 赵剑波, 姜全, 郭继英, 等. DNA分子标记鉴定桃种质亲缘关系的研究及展望[J]. 落叶果树, 2005(4): 6-8.
- [5] 程中平, 程志伟, 胡春根. 利用分子标记对桃属植物识别及其亲缘关系分析[J]. 华中农业大学学报, 2001, 20(3): 199-204.
- [6] 杨新国, 张开春, 秦岭, 等. 桃种质亲缘演化关系的 RAPD 分析[J]. 果树学报, 2001, 18(5): 276-279.
- [7] 程中平, 黄宏文. 桃不同类群的遗传多样性及其遗传结构的 RAPD 分析[J]. 武汉植物学研究, 2004, 22(1): 27-32.

- [8] Shimada T, Yamamoto T, Yaegaki H, et al. Application of AFLP to molecular genetic analysis in peach [J]. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 1999, 68(1): 67-69.
- [9] Gianfranceschi L, Seglias N, Tarchini R, et al. Simple sequence repeats for the genetic analysis of apple [J]. Theor Appl Genet, 1998, 96: 1069-1076.
- [10] Aranzana M J, Carbo J, Arus P, et al. Microsatellite variability in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch]; cultivar identification, marker mutation, pedigree inferences and population structure [J]. Theor Appl Genet, 2003, 106(8): 1341.
- [11] Cheng H Y, Yang W C, Hsiao J Y, et al. Genetic diversity and relationship among peach cultivars based on Random Amplified Microsatellite Polymorphism (RAMP) [J]. Botanical Bulletin of Academia Sinica, 2001, 42(3): 201.
- [12] Yamamoto T, Mochid A K, Imal T, et al. Parentage analysis in Japanese peaches using SSR markers [J]. Breeding Science, 2003, 53(1): 35.
- [13] Yamamoto T, Mochid A K, Hayashi T, et al. Shanghai suimitsuto, one of the origins of Japanese peach cultivar [J]. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 2003, 72(2): 116.
- [14] Bielenberg D G, Wang Y, Fan S, et al. A deletion affecting several gene candidates is present in the Evergrowing peach mutant [J]. Journal of Heredity, 2004, 95(5): 436.
- [15] Yamamoto T, Shimada T, Iait T, et al. Characterization of morphological traits based on a genetic linkage map in peach [J]. Breeding Science, 2001, 51(4): 271.
- [16] 沈志军, 马瑞娟, 俞明亮, 等. 无锡水蜜桃品种群遗传多样性及其他群体亲缘关系的 SSR 分析[J]. 植物遗传资源学报, 2009, 10(3): 367.
- [17] 俞明亮, 马瑞娟, 沈志军, 等. 桃果肉颜色、果皮茸毛和花粉育性性状的分子标记[J]. 园艺学报, 2006, 33(3): 511.
- [18] 沈志军, 马瑞娟, 俞明亮, 等. 桃 SSR-PCR 主要因子对扩增产物的影响[J]. 江苏农业学报, 2006, 22(1): 6.
- [19] 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.
- [20] 汪祖华, 庄恩及. 中国果树志·桃卷[M]. 北京: 中国林业出版社, 2001: 14.

Genetic Diversity of SSR Analysis of *Prunus persica* Cultivars Based on Maturity

WEI Shan-shan, LIU Xing-ju, YANG Min-sheng, LIANG Hai-yong

(Key Lab of Genetic Resources of Forest and Forest Protection of Hebei Province, Hebei Agricultural University, Baoding, Hebei 071000)

Abstract: Taking 95 peach cultivars as materials, the genetic diversity of peach varieties using 32 pairs of SSR molecular markers were analyzed. The results showed that 93 bands were amplified by 18 informative and reliable primers, of which 50 bands were polymorphic loci. A relatively low level of genetic diversity (Nei's gene diversity 0.5652 and Shannon index 1.1125) was revealed at population level. For peach maturity, the experimental results for genetic analysis had been taken, and the precocious and medium groups had similar genetic data had been found. In the same way, that the late maturity varieties had more distant relationship with both could be speculated. The mature differentiation of peach associated with allele frequency could be taken, this would help for the future indepth study genetic analysis of peach.

Key words: *Prunus persica* L.; simple sequence repeats (SSR); genetic diversity maturity