

基于成熟期的杏品种遗传多样性 SSR 分析

崔华蕾, 刘兴菊, 赵思思, 杨敏生, 梁海永

(河北农业大学 林学院, 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 168 份杏育成品种为试材, 采用 SSR 分子标记方法, 利用 16 对多态性好、稳定性强、带型清晰的特征引物, 扩增等位基因, 研究了不同杏树不同群体的遗传多样性, 以期杏种质资源鉴定和品种亲缘关系分析在分子水平上提供依据。结果表明:杏群体的 Nei's 基因多样性平均值为 0.715 8, Shannon 遗传表型指数为 1.497 3, 说明杏的总体遗传变异偏高, 品种多样性丰富。通过对杏的成熟期进行遗传分析, 结果发现, 早熟和中熟 2 个类群的遗传数据相近, 推测可能存在相近的遗传关系, 晚熟与早熟类群等位基因数据差异较大, 说明二者亲缘关系较远。

关键词:杏; 简单重复序列 (SSR); 成熟期; 遗传多样性

中图分类号:S 662.203.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)12-0106-06

杏 (*Prunus armeniaca*) 属蔷薇科李亚属。我国作为杏树的发源地之一, 有着丰富的杏种质资源, 约有 2 000 余个杏的品种和类型^[1]。杏作为第三大重要的核果类作物有着重要的研究价值。早期对杏的研究仅限于农艺学性状方面^[2-3], 但分子生物技术的发展为杏的品种选育及多态性研究提供了有力手段。

SSR 简单序列重复标记 (simple sequence repeat, SSR) 因其快速简便、多态性高、重复性好及共显性等优点, 被广泛应用于桃^[4]、水稻^[5]、葡萄^[6]等多种植物的遗传图谱构建、性状标记、遗传多样性研究^[7-9]。应用 SSR 分子标记技术对杏的分子学研究也逐步展开, 并且成果显著, ZHEBENTYAYEVA 等^[10]通过对 84 个杏品种进行 SSR 分析认为中国杏是一个独立的种; 艾鹏飞等^[11]对仁用杏 SSR 分子标记 PCR 反应体系进行了优化; 张淑青等^[12]对部分普通杏品种进行 SSR 遗传多样性分析, 证实了扁桃基因组 SSR 引物可用在杏 SSR 标记的研究中。因此, 利用 SSR 标记进行杏的分子生物学研究具有重要的实用价值和广阔的应用前景^[13]。现利用 16 对 SSR 引物对 168 份杏育成品种进行研究, 以期杏种质资源鉴定和品种亲缘关系在分子水平上分析提供理论依据。

第一作者简介:崔华蕾 (1990-), 女, 硕士研究生, 研究方向为多基因植物转化载体的构建及检测。E-mail: cuixuexizhuanyong@163.com.

责任作者:梁海永 (1973-), 男, 本科, 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:国家林业公益性行业资助项目 (201104039); 国家林业局科技发展中心资助项目 (XPC-201505)。

收稿日期:2016-03-02

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试杏样品 (表 1) 采自辽宁省果树研究所熊岳国家李杏种质资源圃。采取杏嫩叶用保鲜袋包装, 编号后低温带回, -70℃ 冰箱保存备用。

供试试剂及仪器设备: EDC-810 PCR 仪及 JY-ECP3000 电泳仪分别购自东胜创新生物科技有限公司及北京君意东方电泳设备有限公司。2×Taq Master Mix 购自北京康为世纪生物科技有限公司。所用引物由上海生物工程有限公司合成, 从杏的 6 对染色体上筛选出 16 对引物 (表 2)。

1.2 试验方法

1.2.1 DNA 的提取及纯化 利用改良的 CTAB 法提取杏叶片 DNA 并进行纯化, 用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 样品质量, 于紫外分光光度计上测定其浓度, 用双蒸水将 DNA 样品稀释成浓度为 30 ng·μL⁻¹ 冷冻, 备用。

1.2.2 PCR 扩增 PCR 反应体系 10 μL: 2×Taq Master Mix 5 μL, RNase-free water 3 μL, 正反引物各 0.5 μL, DNA 模板 1 μL。PCR 反应程序: 95℃ 预变性 5 min; 94℃ 变性 45 s, 53~60℃ 退火 45 s, 72℃ 复性 45 s, 32~35 个循环; 72℃ 延伸 8 min, 产物 4℃ 保存备用。

1.2.3 电泳检测 利用 8% 非变性聚丙烯酰胺凝胶对 PCR 产物进行电泳检测, 产物中加入 1/2 体积的 6×loading buffer, 点样孔中加样 1~2 μL, 220 V 电压下电泳 40 min, 用 1% AgNO₃ 染色 10 min, 显色液 (2% NaOH, 0.6% 甲醛) 显色, 待图像清晰照相保存。

表 1

供试杏品种材料

Table 1

Species or varieties of apricot for SSR analysis

编号 No.	品种 Variety	成熟期 Maturity	编号 No.	品种 Variety	成熟期 Maturity	编号 No.	品种 Variety	成熟期 Maturity
1	“二白杏”	中熟	57	“串枝白”(河北昌黎)	中熟	113	“李光杏”	晚熟
2	“意大利杏”	极早熟	58	“盘山杏梅”	极晚熟	114	“兰州金妈妈”	早熟
3	“极品”	早熟	59	“商州白沙杏”	中熟	115	“金州大杏梅”	晚熟
4	“无名杏”	极早熟	60	“大山后”	中熟	116	“云白”	中熟
5	“沙金红”(延庆)	晚熟	61	“麦黄”	极早熟	117	“银香”(西丰)	中熟
6	“欺天杏”	中熟	62	“房山大红杏”(北京延庆)	早熟	118	“银白”(昌黎)	中熟
7	“大白杏”(昌黎)	中熟	63	“金刚拳”	中熟	119	“西山麦黄”	早熟
8	“小面黄”	早熟	64	“沙金红”	晚熟	120	“海棠红”(怀来)	中熟
9	“房山桃杏”	晚熟	65	“凯特”	晚熟	121	“北镇红袍”	早熟
10	“酸梅子杏”	晚熟	66	“银白”(法库)	早熟	122	“桃杏”	晚熟
11	“锦西红杏”	早熟	67	“熊岳小红杏”	中熟	123	“杂杏”	极晚熟
12	“胭脂红”	早熟	68	“官厅二黄杏”	晚熟	124	“真核香白”	中熟
13	“日本杏”	中熟	69	“北镇白杏”	中熟	125	“银香白”(189)	早熟
14	“肉杏”	极晚熟	70	“白果杏”(昌黎)	中熟	126	“熊岳关爷脸”	早熟
15	“麦红杏”	极早熟	71	“黄甜核”	中熟	127	“法国杏”	中熟
16	“菜籽黄”(23)	极早熟	72	“早大黄”	早熟	128	“小红袍”(苦仁)	中熟
17	“梅杏”(熊岳)	早熟	73	“黄口外”(甜仁)	晚熟	129	“浙江杏”	中熟
18	“白果杏”(前所)	中熟	74	“白杏”	中熟	130	“早橙”	早熟
19	“克孜克苦买提”	晚熟	75	“平黄”	中熟	131	“牛心杏”	中熟
20	“二转子”	早熟	76	“龙泉务香白”	早熟	132	“蓟县香白”	中熟
21	“柿子杏”	中熟	77	“挂甲峪苦核白”	晚熟	133	“蓟县荷包”	早熟
22	“鸡蛋杏”	中熟	78	“崂山红杏”	晚熟	134	“昌黎金妈妈”	中熟
23	“二黄”	中熟	79	“野银白”	晚熟	135	“锦西大红杏”	晚熟
24	“香白”(怀来)	早熟	80	“惠阳白杏”	中熟	136	“昌黎大红杏”	早熟
25	“草滩曹杏”	中熟	81	“佳娜丽”(566)	晚熟	137	“秋白”	极晚熟
26	“小红杏”(眉县)	早熟	82	“圣红”	晚熟	138	“红花接”(河北昌黎)	中熟
27	“真核香白”(前所)	早熟	83	“友谊白杏”	晚熟	139	“白仁”	中熟
28	“香白”(建平)	晚熟	84	“占屯红杏”	早熟	140	“巴斗”	中熟
29	“白玉杏”	极晚熟	85	“金杏”	早熟	141	“黑叶杏”(325)	晚熟
30	“鸡蛋杏”(延庆)	中熟	86	“二窝接杏”	极晚熟	142	“串枝红”	晚熟
31	“迟黄杏”	中熟	87	“叶里藏”	中熟	143	“硬条”	中熟
32	“孤山杏梅”	早熟	88	“朝鲜白杏”	早熟	144	“熊岳大红杏”	晚熟
33	“香白”(延庆)	早熟	89	“太谷白水”	中熟	145	“红银杏”	早熟
34	“黄尖嘴”(延庆)	中熟	90	“鸡蛋杏”(昌黎)	中熟	146	“北安河苹果白”	中熟
35	“车头一号”	早熟	91	“金黄杏”	早熟	147	“黄真核”	中熟
36	“白桃杏”	早熟	92	“熊岳大杏梅”	早熟	148	“597-5”	极早熟
37	“中白”	中熟	93	“头窝接杏”	中熟	149	“金太阳”	极早熟
38	“酸梅子杏”	中熟	94	“临潼银杏”	早熟	150	“泽红”	早熟
39	“白杏”(友谊)	晚熟	95	“辽阳红杏”	中熟	151	“大核白”	早熟
40	“小红袍”(甜仁)	中熟	96	“菜籽黄”(334)	极早熟	152	“晚白”	早熟
41	“双仁杏”	极晚熟	97	“梅杏”(286)	晚熟	153	“白水”	中熟
42	“张公园”	中熟	98	“法 4”	早熟	154	“金丝甜仁”	晚熟
43	“密陀罗”	极晚熟	99	“北安河大黄杏”	早熟	155	“李蜜杏”	晚熟
44	“玛瑙杏”	中熟	100	“红金棒”	晚熟	156	“红花山杏”	晚熟
45	“英红一号”	晚熟	101	“红甜核”	中熟	157	“克孜克西米西”	中熟
46	“银白”(葫芦岛)	早熟	102	“沙金红”(太谷)	晚熟	158	“海东杏”	晚熟
47	“拳杏”	早熟	103	“红玉”	早熟	159	“杨继元”(200)	中熟
48	“红真核”	早熟	104	“法 1”	早熟	160	“兰州大接杏”	晚熟
49	“香白”(熊岳)	早熟	105	“水白杏”	中熟	161	“美杂”(美国)	极晚熟
50	“金林杏”	晚熟	106	“锦州大白杏”	早熟	162	“骆驼黄”	极早熟
51	“康定二号”	中熟	107	“拳杏 2”	早熟	163	“麦子黄”	早熟
52	“土香白”	中熟	108	“建平金妈妈”	中熟	164	“青皮烂”	早熟
53	“杨继元”(260)	中熟	109	“黄尖嘴”(340)	中熟	165	“美农”	早熟
54	“麦黄杏”	极早熟	110	“白胡外娜”	早熟	166	“菜籽黄”(626)	极早熟
55	“梅桃杏”	晚熟	111	“大红袍”(大荔)	中熟	167	“麦黄二号”	早熟
56	“金奎”	中熟	112	“馍馍杏”	中熟	168	“串铃”	晚熟

表 2

引物序列与名称

Table 2

Primer sequences and the name

引物名称 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
PaCITA5	1	TTGTGTTTACTTTTCTTAACGG	GTATCACAAGTGAGAACATAAGAGG
PacA18	1	TCCAAACCTACCGTTTCTCAT	CAACAGCACAAACAGAACCCAC
aprigms24	1	ATCTGCTCTTTCCTCACCT	GATTATCCCTCAAACCCATCC
PdavW3	1	GAGGGCTGGATCATGACG	AACCCAGTGGCACAATCGTA
PacB26	1	CCAATCATGAAATCATAAAGCAA	TGGGATGTCTATTGTTTTC
PaCITA17	1	CACGGGGAGAATTGGGTGGCCTTAG	GGAGTCTATAAATAATGGTTGCGC
BPPCT001	2	AATTCCCAAAGGATGTGTATGAG	CAGGTGAATGAGCCAAAGC
MA007a	2	GTGCATCGTTAGAACTGCC	GCCCTGAGATACAACCTGCA
BPPCT013	2	ACCCACAAATCAAGCATATCC	AGCTTCAGCCACCAAGC
PacC25	3	GTGTTTGGACAAGAAATGAATTG	TCCATTGCGAGTAAATTAAC
BPPCT010	4	AAAGCACAGCCATAATGC	GTACTGTTACTGCTGGGAATGC
PacC3	5	TGACTTGATCAGACTCGACA	TTGCATTGCAATTACAAATAGA
PacA58	5	GACATTGCGATTTCGGTC	TCCATCCCAAATTGCTTAT
PacB35	5	ATTGACATTTCGGTCTGTT	CCATCCCAAATTGCTTACTT
MA010a	5	ACCTGTTTCTACACTCACA	CCCACACCACTACTCTACAC
PacA33	6	TCAGTCTCATCTGCATACG	CATGTGGCTCAAGGATCAAA

1.3 数据分析

电泳结果使用 Sequenti X Gel Quest 判读,假定凝胶图上迁移率相同的条带来自同一位点的同一等位基因,按基因型统计,从上往下,条带依次记为 J、I、H、G、F、E、D、C、B、A,进行统计后构成基因型的原始数据矩阵。假设等位基因频率符合哈迪-温伯格平衡定律。利用 Popgene 软件对群体 Nei's 基因多样性(H)、期望杂合值、Shannon 信息指数(I)、观测杂合值、等位基因频率等进行计算。

2 结果与分析

2.1 杏品种的等位基因分析

2.1.1 SSR 引物等位基因的多态性 从 22 对引物中筛

表 3

杏品种的遗传多样性

Table 3

The genetic diversity of apricot 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	基因多样性 H	Shannon 信息 指数 I	观测纯合值 Obs_Hom	观测杂合值 Obs_Het	期望纯合值 Exp_Hom	期望杂合值 Exp_Het
PacA33	9	6.677 9	0.850 3	1.987 0	0.023 8	0.976 2	0.147 2	0.852 8
PaCITA5	5	4.455 6	0.775 6	1.538 1	0.006 0	0.994 0	0.222 1	0.777 9
PacC3	8	5.631 3	0.822 4	1.829 6	0.023 8	0.976 2	0.175 1	0.824 9
PacA58	10	3.222 5	0.689 7	1.469 1	0.000 0	1.000 0	0.308 3	0.691 7
PacA18	8	4.264 1	0.765 5	1.711 9	0.059 5	0.940 5	0.232 2	0.767 8
aprigms24	8	4.512 2	0.778 4	1.696 4	0.041 7	0.958 3	0.219 3	0.780 7
PacB35	9	2.970 6	0.663 4	1.360 7	0.000 0	1.000 0	0.334 6	0.665 4
PdavW3	9	6.604 4	0.848 6	1.976 0	0.083 3	0.916 7	0.148 9	0.851 1
PacB26	6	4.195 6	0.761 7	1.552 6	0.131 0	0.869 0	0.236 1	0.763 9
PaCITA17	7	3.731 4	0.732 0	1.558 5	0.065 5	0.934 5	0.265 8	0.734 2
PacC25	4	2.303 2	0.565 8	0.954 0	0.071 4	0.928 6	0.432 5	0.567 5
BPPCT001	5	2.257 3	0.557 0	1.077 0	0.470 2	0.529 8	0.441 3	0.558 7
MA007a	7	4.091 6	0.755 6	1.641 6	0.035 7	0.964 3	0.242 1	0.757 9
BPPCT013	5	2.517 1	0.602 7	1.186 8	0.386 9	0.613 1	0.395 5	0.604 5
MA010a	9	3.164 3	0.684 0	1.398 7	0.023 8	0.976 2	0.314 0	0.686 0
BPPCT010	4	2.498 5	0.599 8	1.019 2	0.625 0	0.375 0	0.398 5	0.601 5
总和 Total	113	63.097 6						
平均 Mean	7.062 5	3.943 6	0.715 8	1.497 3	0.128 0	0.872 0	0.282 1	0.717 9

选出 16 对多态性好、稳定性强、分辨率高、带型清晰的特征引物用于研究。由表 3 可知,利用 16 对引物对 168 份杏材料进行扩增,得到 113 个等位基因,其中 63.097 6 为有效等位基因个数,占总数的 55.84%,各引物扩增等位基因数为 4~10 个,平均每对引物扩增数为 7.062 5 个。每个 SSR 标记的 H 值平均数为 0.715 8,最高值为 0.850 3,最低值为 0.557 0;I 指数平均值为 1.497 3,最高值为 1.987 0,最低值为 0.954 0。杏品种期望杂合值均高于其期望纯合值;除 BPPCT010 一个引物位点外其观测杂合值也均高于观测纯合值。说明此 168 个杏品种的杂合基因较多,推断亲本多为异花授粉,遗传多样性较高。

2.1.2 杏品种的等位基因频率分析 从表 4 可以看出, 扩增出等位基因最多的引物为 PacA58, 其次是 PdavW3、PacB35、PacA33 和 MAO10a, 扩增出的等位基因数量分别为 10 个和 9 个。扩增出等位基因最少的引

物为 PacC25 和 BPPCT010, 其次是 PaCITA 5、BPPCT001 和 BPPCT013, 扩增出的等位基因数量分别为 4 个和 5 个。根据等位基因频率的平均值进行排序所得顺序为 J<I<G<H<D<F<C<E<B<A。

表 4 全部杏品种等位基因频率

Table 4 Allele frequency of all apricot cultivars

引物位点 Lous	Allele A	Allele B	Allele C	Allele D	Allele E	Allele F	Allele G	Allele H	Allele I	Allele J
PacA33	0.050 6	0.184 5	0.178 6	0.131 0	0.184 5	0.154 8	0.053 6	0.056 5	0.006 0	
PaCITA5	0.208 3	0.196 4	0.074 4	0.235 1	0.285 7					
PacC3	0.104 2	0.250 0	0.202 4	0.044 6	0.178 6	0.163 7	0.050 6	0.006 0		
PacA58	0.006 0	0.443 5	0.074 4	0.011 9	0.003 0	0.318 5	0.032 7	0.050 6	0.053 6	0.006 0
PacA18	0.410 7	0.169 6	0.089 3	0.125 0	0.074 4	0.056 5	0.068 5	0.006 0		
aprigms24	0.089 3	0.363 1	0.169 6	0.083 3	0.202 4	0.068 5	0.020 8	0.003 0		
PacB35	0.467 3	0.065 5	0.011 9	0.003 0	0.327 4	0.014 9	0.029 8	0.074 4	0.006 0	
PdavW3	0.211 3	0.163 7	0.193 5	0.113 1	0.104 2	0.122 0	0.041 7	0.047 6	0.003 0	
PacB26	0.276 8	0.086 3	0.285 7	0.050 6	0.261 9	0.038 7				
PaCITA17	0.151 8	0.425 6	0.062 5	0.232 1	0.047 6	0.056 5	0.023 8			
PacC25	0.511 9	0.023 8	0.410 7	0.053 6						
BPPCT001	0.119 0	0.631 0	0.113 1	0.133 9	0.003 0					
MAO007a	0.110 1	0.086 3	0.410 7	0.053 6	0.199 4	0.113 1	0.026 8			
BPPCT013	0.580 4	0.205 4	0.050 6	0.116 1	0.047 6					
MAO10a	0.455 4	0.104 2	0.011 9	0.003 0	0.300 6	0.041 7	0.006 0	0.074 4	0.003 0	
BPPCT010	0.464 3	0.416 7	0.104 2	0.014 9						
平均 Mean	0.263 6	0.238 5	0.152 7	0.087 8	0.158 6	0.104 4	0.035 4	0.039 8	0.014 3	0.006 0

2.2 根据成熟期对杏群体进行遗传分析

根据张加延等^[14]的《杏种质资源描述符—记载项目及评价标准》划分杏成熟期为极早熟、早熟、中熟、晚熟和极晚熟 5 个类群, 对应的果实发育期(开花到果实成熟)天数分别为 60 d 以内、61~70 d、71~80 d、81~90 d、90 d 以上。如表 5 所示, 5 个类群观测到的等位基因数在 4.500 0~6.187 5, 有效等位基因数从高到低依次为

极早熟>早熟>中熟>晚熟>极早熟。观测纯合值最高的为晚熟品种, 最低的为极早熟品种, 观测纯合值分别为 0.141 8 和 0.104 2。表明晚熟品种纯合体偏多, 而极早熟品种则含有较多的杂合体。从表 5 还可以看出, 早熟和中熟品种从数据上更为接近, 可能存在相近的亲缘关系。

表 5 不同成熟期杏品种的遗传多样性

Table 5 The genetic diversity of different mature apricot cultivars

成熟期 Maturity	有效等位基因数 Effective number of alleles	观测等位基因数 Observed number of alleles	基因多样性 H	Shannon 信息指数 I	期望纯合值 Exp_Hom	期望杂合值 Exp_Het	观测纯合值 Obs_Hom	观测杂合值 Obs_Het
极早熟 Earliest maturity	3.285 0	4.500 0	0.666 7	1.273 6	0.272 7	0.727 3	0.104 2	0.895 8
早熟 Early maturity	3.790 1	6.187 5	0.707 1	1.458 0	0.284 4	0.715 6	0.128 0	0.872 0
中熟 Middle maturity	3.788 1	6.062 5	0.700 0	1.432 3	0.291 4	0.708 6	0.120 4	0.879 6
晚熟 Late maturity	3.761 5	5.937 5	0.699 7	1.425 9	0.286 6	0.713 4	0.141 8	0.858 2
极晚熟 Latest maturity	4.004 2	5.312 5	0.708 5	1.441 6	0.237 0	0.763 0	0.107 1	0.892 9

由表 6 可知, A、B、C、E、F、G 6 个等位基因频率均属极早熟类群的最高, 说明其具有较高的杂合性。在早熟和中熟 2 类群中, 除等位基因 J 外, 其余等位基因频率均较为接近, 说明二者具有较近的亲缘关系。且在这 2 个类群中等位基因 B、C、D、H、I 的频率均较低, 表示二者具有较高的纯合性。等位基因 H 和 I 在极晚熟类群中出现频率明显比其它类群高, 说明它们可能

与延迟成熟期有关。从表 6 还可以看出, 晚熟类群与早熟品种等位基因频率差异较大, 说明二者亲缘关系较远。

如表 7 所示, 各种群的遗传一致度较高, 早熟与中熟类群的遗传一致度最高为 0.982 1, 极晚熟与极早熟类群的遗传一致度最低为 0.824 8。分析数据可得连续分布种群间的遗传分化特点较小。

表 6 不同成熟期杏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

等位基因 Allele	极早熟 Earliest maturity	早熟 Early maturity	中熟 Middle maturity	晚熟 Late maturity	极晚熟 Latest maturity
Allele A	0.283 3	0.282 5	0.281 2	0.273 1	0.229 6
Allele B	0.307 7	0.246 8	0.234 0	0.275 6	0.290 5
Allele C	0.222 2	0.157 0	0.166 4	0.170 1	0.190 5
Allele D	0.135 4	0.100 3	0.111 8	0.108 0	0.142 8
Allele E	0.250 0	0.192 5	0.194 1	0.176 0	0.184 5
Allele F	0.166 7	0.120 2	0.099 8	0.105 8	0.133 9
Allele G	0.100 0	0.030 4	0.043 4	0.045 7	0.071 4
Allele H	0.083 3	0.057 1	0.046 4	0.054 5	0.114 3
Allele I	0.083 3	0.029 8	0.018 3	0.057 7	0.142 9
Allele J		0.011 9			

表 7 5 个类群间的 Nei's 遗传一致度的估计值

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

群体编号 pop ID	极早熟 Earliest maturity	早熟 Early maturity	中熟 Middle maturity	晚熟 Late maturity	极晚熟 Latest maturity
1	* * * *	0.089 8	0.097 3	0.093 4	0.192 7
2	0.914 1	* * * *	0.018 0	0.027 2	0.146 7
3	0.907 3	0.982 1	* * * *	0.026 1	0.138 3
4	0.910 8	0.973 2	0.974 2	* * * *	0.126 0
5	0.824 8	0.863 6	0.870 9	0.881 6	* * * *

聚类分析如图 1 所示,首先早熟与中熟类群被聚到一起,然后它们再和晚熟类群聚到一起,接着被聚到一起的是极早熟类群,最后是极晚熟类群。以上结果表明,杏种群的遗传分化与成熟期有着某种关系。

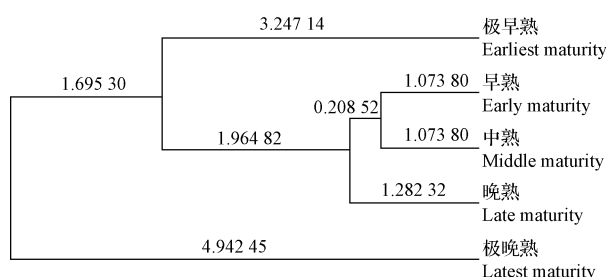


图 1 不同成熟期杏类群的聚类图

Fig. 1 Dendrogram of different mature apricot cultivars

3 结论与讨论

伴随着分子生物学的发展,DNA 标记成为了植物遗传进化和分子生态学研究的有效手段,目前被广泛应用于其研究的 DNA 标记技术有 RAPD、SCAR、SSR、ISSR、AFLP、SRAP 和 SNP 标记等^[15-18]。

SSR 标记因其快速简便、多态性高、重复性好及共显性等优点,被广泛应用于杏的遗传图谱构建、性状标记、遗传多样性等研究。关于此类的报道已有很多,但多数是针对不同地理位置杏群体间的亲缘关系研究^[19-20]。该试验利用 SSR 标记从分子和序列 2 个水平

对 168 份杏育成品种进行差异性研究,从 22 对 SSR 分子标记引物中筛选出 16 对多态性好、稳定性强、带型清晰的特征引物,并检测出 113 个等位基因(多态性等位基因 63 个),平均等位基因数为 7.06 个,这与李振江^[21]的 6.27 个和 AKPINAR 等^[22]的 6.37 个接近,秦玥等^[23]利用 31 对 SSR 引物分析 60 份华仁杏时,平均每位点 4.5 个等位变异,低于该研究的结果;BOURGUIBA 等^[24]对 207 份环地中海地区杏品种的群体结构进行分析时平均每个位点检测到 10.28 个等位变异,高于该研究的结果。在不同成熟期的杏群体中,极早熟品种有效等位基因数量明显低于其它群体,观测杂合值明显又高于其它群体。杏群体的 Nei's 基因多样性平均值为 0.715 8,Shannon 遗传表型指数为 1.497 3。表明杏的总体遗传变异偏高,品种多样性丰富。

通过对杏的成熟期进行遗传分析,结果发现早熟和中熟 2 个类群的遗传数据相近,推测可能存在相近的遗传关系,晚熟与早熟类群等位基因数据差异较大,说明二者亲缘关系较远。通过对杏种群的成熟期进行聚类分析,首先早熟与中熟类群被聚到一起,然后它们再和晚熟类群聚到一起,接着被聚到一起的是极早熟类群,最后是极晚熟类群。这都说明了杏种群的遗传分化与成熟期有着某种关系。试验结果对杏的遗传多样性研究具有重要意义,为杏种质资源的分类和管理提供了科学依据。

参考文献

- [1] 刘海根,张露生,胡建芳. 3 个生态群杏品种遗传多样性 SSR 分析[J]. 中国果树,2013(1):13-16.
- [2] 张立彬,刘桂森. 野生山杏性状变异性及其应用的研究[J]. 河北农业技术师范学院学报,1993,7(3):1-6.
- [3] 张加延,张钊. 中国果树志-杏卷[M]. 北京:中国林业出版社,2003:32-33.
- [4] 李银霞,李天红. 桃 SSR 反应体系的优化[J]. 中国农业大学学报,2005,10(6):57-61.
- [5] 王效宁,韩东飞,云勇,等. 利用 SSR 标记分析海南普通野生稻的遗传多样性[J]. 植物遗传资源学报,2007,8(2):184-188.
- [6] SEFC K M, REGNER F, GLORS J, et al. Genotyping of grapevine and root-stock cultivars using microsatellite markers[J]. Vitis,1998,37:15-20.
- [7] 戴剑,洪德林,吴燕. 33 份杂交稻亲本的 SSR 指纹图谱构建及遗传相似性分析[J]. 西北植物学报,2011,31(8):1543-1550.
- [8] 范付华,施文娟,阮仁超,等. 23 个水稻品种(系)的 ISSR 指纹图谱及其亲缘关系[J]. 贵州农业科学,2010,38(9):5-8.
- [9] ARUS P, MESSEGUER R, VIRUEL M K, et al. The European *Prunus* mapping project progress in the almond linkage map[J]. Euphytica,1994,77:97-100.
- [10] ZHEBENTYAYEVA T N, REIGHARD G L, GORINA V M, et al. Simple sequence repeat(SSR) analysis for assessment of genetic variability in apricot germplasm[J]. Theor Appl Genet,2003,106:435-444.
- [11] 艾鹏飞,方闪闪,甄志军,等. 仁用杏 SSR 反应体系的建立与优化[J]. 北方园艺,2009(8):68-70.
- [12] 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.

[13] 刘宁, 刘威生, 赵锋, 等. 我国仁用杏主产区生产发展概述[J]. 北方果树, 2004(增刊): 48-49.

[14] 张加延, 张钊. 中国果树志·杏卷·杏种质资源描述符—记载项目及评价标准[M]. 北京: 中国林业出版社, 2003: 591-606.

[15] 王玉娟, 张彦, 房经贵, 等. 利用基于 RAPD 标记的 MCID 法快速鉴定 72 个葡萄品种[J]. 中国农业科学, 2012, 45(14): 2913-2922.

[16] 刘巧红, 程大友, 杨林, 等. 甜菜品种(系)的 ISSR 标记数字指纹图谱构建及聚类分析[J]. 农业工程学报, 2012, 28(26): 280-284.

[17] MUYS C, THIENPONT C N, DAUCHOT N, et al. Integration of AFLPs, SSRs and SNPs markers into a new genetic map of industrial chicory (*Cichorium intybus* L. var. *sativum*) [J]. Plant Breeding, 2014, 133(1): 130-137.

[18] ZALAPA J E, CUEVAS H, ZHU H, et al. Using next-generation sequencing approaches to isolate simple sequence repeat(SSR) loci in the plant sciences[J]. American Journal of Botany, 2012, 99(2): 193-208.

[19] 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.

[20] 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]. Genetic Resources and Crop Evolution, 2007, 54: 563-572.

[21] 李振江. 山杏良种资源的 RAPD 分析[D]. 保定: 河北农业大学, 2007.

[22] AKPINAR A E, KOÇAL H, ERGÜL A, et al. SSR-based molecular analysis of economically important Turkish apricot cultivars[J]. Genetics and Molecular Research, 2010, 9(1): 324-332.

[23] 秦玥, 刘梦培, 傅大立, 等. 华仁杏 SSR 标记的筛选与评价[J]. 经济林研究, 2013, 31(3): 72-76.

[24] BOURGUIBA H, AUDERGON J M, KRICHEN L, et al. Loss of genetic diversity as a signature of apricot domestication and diffusion into the Mediterranean Basin[J]. BMC Plant Biology, 2012, 12(1): 49.

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

CUI Hualei, LIU Xingju, ZHAO Sisi, YANG Minsheng, LIANG Haiyong

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

Abstract: In order to provide an evidence at the molecular level about resources identification and genetic relationship analysis of *Prunus armeniaca* L. varieties. The study which used the method of SSR molecular markers was made to analyze the genetic diversity of different apricot trees and different groups. 168 *Prunus armeniaca* L. varieties were used as experimental materials and 16 pairs of primers were used as specific primers for good polymorphism, strong stability and clear stripe. The results showed that, apricot had a relatively high level of genetic diversity and rich species diversity at population level which indicated by the average Nei's gene diversity 0.715 8 and Shannon index 1.497 3, which could be got that the genetic data of precocious and medium groups were similar and there might be a close genetic relationship between them through the genetic analysis about *Prunus armeniaca* L. maturity. On the contrary, the large data differences between precocious and serotinous groups showed that the genetic relationship were distant.

Keywords: *Prunus armeniaca* L.; simple sequence repeat(SSR); maturity; genetic diversity

“镰刀弯”政策科普系列(一)

农业部关于“镰刀弯”地区 玉米结构调整的指导意见

知识窗

河北、山西、内蒙古、辽宁、吉林、黑龙江、广西、贵州、云南、陕西、甘肃、宁夏、新疆等省、自治区农业(农牧、农村经济)、农机、畜牧、农垦局(厅、委), 新疆生产建设兵团农业局:

近年来, 中央高度重视粮食生产, 出台了一系列强有力的扶持政策, 促进粮食连年增产, 为经济社会大局起到了基础保障作用。当前, 我国粮食供求总量平衡, 但结构性矛盾日益突出。受国内消费需求增长放缓、替代产品进口冲击等因素影响, 当前玉米供大于求, 库存大幅增加, 种植效益降低。根据玉米供求状况和生产发展实际, 亟需进一步优化种植结构和区域布局, 提升农业的效益和可持续发展能力。

“镰刀弯”地区, 包括东北冷凉区、北方农牧交错区、西北风沙干旱区、太行山沿线区及西南石漠化区, 在地形版图中呈现由东北向华北—西南—西北镰刀弯状分布, 是玉米结构调整的重点地区。该地区是典型的旱作农业区和畜牧业发展优势区, 生态环境脆弱, 玉米产量低而不稳。为贯彻落实中央关于加快转变农业发展方式的部署和调整优化农业结构的要求, 发挥比较优势, 推进农牧结合, 促进产业提档升级, 实现稳粮增收、提质增效和可持续发展, 对当前“镰刀弯”地区玉米结构调整提出了意见。

(摘自: 农业部官方网站)