

梨属野生资源遗传多样性的 SRAP 分析

梁婷婷, 马 燕, 臧德奎

(山东农业大学 林学院, 山东 泰安 271018)

摘 要:以不同地区的梨属 6 个野生种和 1 份西洋梨对照种质为试材, 运用 SRAP 技术研究梨属部分野生种的遗传多样性。结果表明: 用 14 对 SRAP 引物共检测到位点 199 个, 其中 194 个多态性位点, 多态位点百分率(PPL)为 97.29%, Nei's 基因多样性指数(H)为 0.296 1, Shannon's 信息指数(I)为 0.451 9, 表明梨属野生种质具有较高的遗传多样性水平。种间遗传分化系数(Gst)为 0.646 2, 种间遗传一致度(GS)和遗传距离(GD)分别为 0.512 6~0.920 1 和 0.083 2~0.668 3, 其中河北梨、秋子梨和褐梨两两间的遗传距离均小于与其它种间的遗传距离, 表明三者间亲缘关系密切; 崂山梨与褐梨近缘, 杜梨与褐梨近缘, 而豆梨与国产其它物种的亲缘关系较远。主坐标分析与聚类分析结果相吻合, 且所显示的种质间关系更加直观。

关键词:梨属; 遗传多样性; 河北梨; 崂山梨; SRAP

中图分类号:S 661.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)13-0001-05

我国是梨属(*Pyrus*)植物的分布中心, 丰富的野生种质资源是重要的育种材料, 对品种改良具有特殊价值^[1]。在野生种中, 河北梨(*P. hopeiensis*)被列为我国 120 种极小种群物种之一, 俞德浚^[2]根据外部形态推测它可能起源于秋子梨(*P. ussuriensis*)和褐梨(*P. phaeocarpa*)的自然杂交; 崂山梨(*P. trilocularis*)也是一个狭域分布的濒危物种, 仅见于山东崂山^[3-4], 在生物多样性保护领域具有重要价值。在该属植物的遗传多样性研究方面, 蒲富慎等^[5]根据核型分析过 5 个种的进化关系, 黄礼森等^[6]观察了部分种类的花粉形态, 李秀根等^[7]根据花粉性状研究了 7 个野生种的亲缘关系, Teng 等^[8]利用 RAPD 技术对东亚梨属原产种的亲缘关系进行了研究, 范太伟等^[9]对甘肃中部部分梨资源进行了 SSR 分析, 杨军^[10]分析了豆梨(*P. calleryana*)和杜梨(*P. betulae folia*)及其杂交后代的遗传多样性, 刘晶^[11]结合 cpDNA 单倍型和 nSSR 分析方法, 对野生豆梨和川梨(*P. pashia*)的群体遗传多样性和遗传结构进行过评价。但至今尚鲜见基于分子标记的河北梨和崂山梨等遗传多样性研究。作为一种成熟的标记手段, SRAP 分子标记^[12]在野生或珍稀植物资源遗传多样性评价方面已获得广泛应用, 如

张安世等^[13]对濒危物种太行菊的遗传多样性研究, 彭方仁等^[14]对油茶种质的遗传多样性分析, 郭大勇等^[15]对湖北海棠种内遗传变异的研究。该研究采用 SRAP 技术对包括河北梨和崂山梨在内的 6 个野生种 30 份种质和 1 份西洋梨(*P. communis*)对照种质的遗传多样性进行了分析, 以期了解河北梨和崂山梨的遗传多样性特点及其与近缘种的亲缘关系。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试梨属样品涵盖 7 个种, 即河北梨、崂山梨、秋子梨、褐梨、豆梨、杜梨、西洋梨, 于 2013—2014 年采自山东崂山、蒙山、大珠山以及河北昌黎(表 1)。凭证标本存山东农业大学标本室(SDAU)。采样间距在 100 m 以上, 采集新鲜幼嫩叶片放入密封袋中, 用变色硅胶干燥, 同时记录所采样品的地点、海拔、经纬度并编号。

1.2 试验方法

1.2.1 DNA 提取 基因组 DNA 提取采用改良 CTAB 法^[16]。DNA 质量检测采用琼脂糖凝胶电泳法和核酸蛋白分析仪分析法^[17-18]。

1.2.2 SRAP-PCR 反应体系 SRAP 引物设计参照 Li 等^[12]方法, 从 247 对引物组合中筛选出了 14 对可用于后续扩增的引物(表 2), 所选引物均能扩增出数量稳定、清晰的条带。经正交实验优化, 最终反应体系定为 25 μL , 其中含有 10 \times PCR buffer 2.5 μL , 2.0 mmol/L Mg^{2+} , 200 $\mu\text{mol/L}$ dNTPs, 0.4 $\mu\text{mol/L}$ 引物, 1.5 U *Taq* 酶, 60 ng 模板 DNA, 用 ddH₂O 调整使终体积为 25 μL 。PCR 扩增程序为: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 1min, 35 $^{\circ}\text{C}$ 退火

第一作者简介:梁婷婷(1989-), 女, 硕士研究生, 研究方向为园林植物种质资源及遗传育种。E-mail: liangting20092108@126.com.

责任作者:臧德奎(1966-), 男, 博士, 教授, 现主要从事植物分类和种质资源等研究工作。E-mail: zangdk@sda. edu. cn.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30972406); 山东省农业良种工程重大课题资助项目(鲁农良字[2010]6 号)。

收稿日期:2015-01-19

表 1

供试梨属样品概况

Table 1

General situation of *Pyrus* samples

编号 No.	种类 Species	学名 Scientific names	采集地 Origin	地理位置 Geographical location/(°)	海拔 Altitude/m
1	褐梨	<i>P. phaeocarpa</i>	山东大珠山	北纬 35.776 18、东经 119.993 90	150
2	杜梨	<i>P. betulaefolia</i>	山东大珠山	北纬 35.976 26、东经 120.068 49	224
3	褐梨	<i>P. phaeocarpa</i>	山东大珠山	北纬 35.780 42、东经 119.994 43	106
4	褐梨	<i>P. phaeocarpa</i>	山东大珠山	北纬 35.775 63、东经 120.006 25	50
5	西洋梨	<i>P. communis</i>	山东蒙山	北纬 35.544 40、东经 117.877 01	438
6	褐梨	<i>P. phaeocarpa</i>	山东蒙山	北纬 35.544 39、东经 117.848 50	712
7	豆梨	<i>P. calleryana</i>	山东蒙山	北纬 35.548 01、东经 117.851 92	982
8	秋子梨	<i>P. ussuriensis</i>	山东崂山	北纬 36.204 92、东经 120.105 07	429
9	秋子梨	<i>P. ussuriensis</i>	山东崂山	北纬 36.172 90、东经 120.626 42	1 013
10	褐梨	<i>P. phaeocarpa</i>	山东崂山	北纬 36.206 53、东经 120.672 22	181
11	河北梨	<i>P. hopeiensis</i>	山东崂山	北纬 36.181 32、东经 120.628 25	940
12	崂山梨	<i>P. trilocularis</i>	山东崂山	北纬 36.159 71、东经 120.662 60	520
13	秋子梨	<i>P. ussuriensis</i>	山东崂山	北纬 36.187 90、东经 120.101 67	732
14	秋子梨	<i>P. ussuriensis</i>	山东崂山	北纬 36.204 92、东经 120.635 80	844
15	秋子梨	<i>P. ussuriensis</i>	山东崂山	北纬 36.147 45、东经 120.672 55	293
16	褐梨	<i>P. phaeocarpa</i>	山东崂山	北纬 36.158 00、东经 120.664 50	224
17	褐梨	<i>P. phaeocarpa</i>	山东崂山	北纬 36.206 53、东经 120.672 22	181
18	秋子梨	<i>P. ussuriensis</i>	山东崂山	北纬 36.186 39、东经 120.612 50	802
19	秋子梨	<i>P. ussuriensis</i>	山东崂山	北纬 36.151 50、东经 120.667 37	358
20	秋子梨	<i>P. ussuriensis</i>	山东崂山	北纬 36.157 07、东经 120.663 57	453
21	秋子梨	<i>P. ussuriensis</i>	山东崂山	北纬 36.174 81、东经 120.622 63	956
22	秋子梨	<i>P. ussuriensis</i>	山东崂山	北纬 36.198 51、东经 120.654 01	606
23	河北梨	<i>P. hopeiensis</i>	山东崂山	北纬 36.181 45、东经 120.625 70	946
24	崂山梨	<i>P. trilocularis</i>	山东崂山	北纬 36.143 12、东经 120.659 31	163
25	秋子梨	<i>P. ussuriensis</i>	山东崂山	北纬 36.186 27、东经 120.614 56	794
26	秋子梨	<i>P. ussuriensis</i>	山东崂山	北纬 36.205 03、东经 120.642 94	799
27	河北梨	<i>P. hopeiensis</i>	山东崂山	北纬 36.181 01、东经 120.628 14	953
28	秋子梨	<i>P. ussuriensis</i>	山东崂山	北纬 36.141 79、东经 120.660 45	223
29	秋子梨	<i>P. ussuriensis</i>	山东崂山	北纬 36.169 55、东经 120.624 16	809
30	河北梨	<i>P. hopeiensis</i>	河北昌黎	北纬 39.764 21、东经 119.169 52	152
31	河北梨	<i>P. hopeiensis</i>	河北昌黎	北纬 39.695 74、东经 119.169 43	161

表 2

SRAP 扩增引物组合序列

Table 2

Sequences of primer combinations used for SRAP analysis

引物组合 Primer combination	正向引物 Forward primer	反向引物 Reverse primer
ME1-EM3	5'-TGAGTCCAAACCGGATA -3'	5'- GACTGCGTACGAATTCCA -3'
ME2-EM3	5'-TGAGTCCAAACCGGAGC -3'	5'- GACTGCGTACGAATTCCA -3'
ME2-EM10	5'-TGAGTCCAAACCGGAGC -3'	5'- GACTGCGTACGAATTCAA -3'
ME3-EM10	5'-TGAGTCCAAACCGGACC -3'	5'- GACTGCGTACGAATTCAA -3'
ME4-EM1	5'-TGAGTCCAAACCGGAAT -3'	5'- GACTGCGTACGAATTTCG -3'
ME5-EM10	5'-TGAGTCCAAACCGGTAA -3'	5'- GACTGCGTACGAATTCAA -3'
ME5-EM11	5'-TGAGTCCAAACCGGTAA -3'	5'- GACTGCGTACGAATTGAC -3'
ME6-EM10	5'-TGAGTCCAAACCGGTCA -3'	5'- GACTGCGTACGAATTCAA -3'
ME6-EM13	5'-TGAGTCCAAACCGGTCA -3'	5'- GACTGCGTACGAATTGCC -3'
ME6-EM16	5'-TGAGTCCAAACCGGTCA -3'	5'- GACTGCGTACGAATTTCG -3'
ME7-EM3	5'-TGAGTCCAAACCGGAAG -3'	5'- GACTGCGTACGAATTCCA -3'
ME7-EM10	5'-TGAGTCCAAACCGGAAG -3'	5'- GACTGCGTACGAATTCAA -3'
ME9-EM14	5'-TGAGTCCAAACCGGTGC -3'	5'- GACTGCGTACGAATTGAG -3'
ME13-EM6	5'-TGAGTCCAAACCGGCGT -3'	5'- GACTGCGTACGAATTTCG -3'

1min,72℃延伸 1min,进行 5 个循环;94℃变性 1min,50℃退火 1min,72℃延伸 1min,进行 30 个循环;72℃延伸 7min,4℃保存。

1.3 数据分析

根据扩增条带结果,在相同迁移率位置上,有记为 1,无记为 0,得到原始数据矩阵。采用 POPGENE 1.32 软件统计:NPL、PPL、Na、Ne、H、I、GS、GD、Ht、Hs 等信息指数;采用 Nei's 基因多度法计算种间遗传分化系数 $G_{st}=D_{st}/H_t$,其中 $H_t=H_s+D_{st}$, D_{st} 为种间遗传多样性。

采用 NTSYS pc version 2.10e 软件,利用 UPGMA 方法进行样品遗传相似性聚类,并绘聚类图,利用

Dcenter 程序进行 Nei's 标准遗传距离的矩阵转换,并用 Eigen 程序和 3D plot 生成主坐标^[19]。

2 结果与分析

2.1 SRAP 引物扩增多态性分析

经筛选出的 14 对引物扩增,31 份样品共扩增出 199 个位点,其中多态性位点 194 个,多态性位点百分率(PPL) 97.29%(表 3),表明梨属野生种质资源的遗传多样性较高。每对引物扩增的位点数最小为 8,最大为 16;平均每对引物可扩增 14.21 个位点,其中多态性位点 13.86 个。共有 10 对引物的 PPL 为 100%,其 Nei's 基因多样性指数 H 和 Shannon's 信息指数 I 均较高。

表 3 14 对 SRAP 引物组合的扩增结果

Table 3 Amplification results by 14 pairs of SRAP primer combinations

引物组合 Primer combination	总位点 Total number of loci	多态位点数(NPL) Number of polymorphic loci	多态比率(PPL) Percentage of polymorphic/%	Nei's 基因多样性指数(H) Nei's gene diversity	Shannon's 信息指数(I) Shannon's information index
ME1-EM3	13	13	100.00	0.350 2	0.523 2
ME2-EM3	10	9	90.00	0.302 2	0.455 8
ME2-EM10	16	16	100.00	0.319 4	0.483 9
ME3-EM10	16	15	93.75	0.289 0	0.443 9
ME4-EM1	18	18	100.00	0.284 4	0.443 3
ME5-EM10	8	8	100.00	0.308 9	0.478 4
ME5-EM11	14	14	100.00	0.252 5	0.402 9
ME6-EM10	16	15	93.75	0.369 3	0.539 4
ME6-EM13	14	14	100.00	0.365 3	0.536 6
ME6-EM16	19	19	100.00	0.311 4	0.477 4
ME7-EM3	12	12	100.00	0.220 4	0.354 7
ME7-EM10	14	14	100.00	0.285 2	0.441 3
ME9-EM14	16	16	100.00	0.273 9	0.417 5
ME13-EM6	13	11	84.62	0.194 9	0.304 1
Average	14.21	13.86	97.29	0.294 8	0.450 2

2.2 种间遗传距离与遗传一致度分析

遗传结构分析表明,总遗传多样性(H_t)高达 0.305 3,其中种内遗传多样性(H_s)0.108 0,种间遗传多样性(D_{st})0.197 3;种间遗传分化系数(G_{st})0.646 2,即种间遗传变异占 64.62%。Nei's 遗传距离(GD)和遗传一致度(GS)分析表明,种间遗传距离差异较大,GD 最小值 0.083 2,最大值 0.668 3,遗传一致度变化范围 0.512 6~0.920 1(表 4),说明梨属野生种在分子水平上遗传多样性丰富。

表 4 种间遗传一致度和遗传距离

Table 4 Nei's genetic identity and genetic distance among different species of *Pyrus*

物种	秋子梨	褐梨	河北梨	崂山梨	杜梨	豆梨	西洋梨
秋子梨	—	0.918 0	0.920 1	0.857 2	0.702 7	0.689 4	0.807 7
褐梨	0.085 6	—	0.892 8	0.876 1	0.733 1	0.732 7	0.780 1
河北梨	0.083 2	0.113 4	—	0.854 9	0.699 0	0.681 0	0.775 8
崂山梨	0.154 0	0.132 3	0.156 7	—	0.618 1	0.674 7	0.817 7
杜梨	0.352 8	0.310 5	0.358 1	0.481 1	—	0.572 9	0.512 6
豆梨	0.372 0	0.311 0	0.384 2	0.393 5	0.557 1	—	0.688 4
西洋梨	0.213 5	0.248 3	0.253 9	0.201 3	0.668 3	0.373 3	—

注:对角线上方为遗传一致度,对角线下方为遗传距离。

Note: Nei's genetic identity (above diagonal) and genetic distance (below diagonal).

河北梨与秋子梨的遗传距离最小,遗传一致度最高,表明二者间亲缘关系最近;而西洋梨与杜梨的遗传距离最大。同时,河北梨、秋子梨、褐梨 3 个野生种两两间的遗传距离均较小,由小到大分别为 0.083 2、0.085 6、0.113 4,表明三者彼此间的亲缘关系最近。崂山梨与褐梨和秋子梨的遗传距离亦较低,分别为 0.132 3 和 0.154 0,其中崂山梨与褐梨的遗传一致度略高于与秋子梨的遗传一致度。豆梨与其它国产梨的遗传距离均较大,亲缘关系较远。

2.3 聚类分析

为了阐明梨属野生种间的亲缘关系,采用 UPGMA 方法构建聚类图(图 1)。以遗传相似系数 0.59 作为划分类群的标准,31 份种质可分为 4 类。第一类为崂山梨和褐梨,第二类包括河北梨、杜梨以及大部分秋子梨和褐梨,第三类为豆梨,第四类为西洋梨,表明豆梨、西洋梨与其它种类亲缘关系均较疏远。第二类在遗传相似系数 0.67 左右又可分为 5 个亚类。第 1 亚类全部为秋子梨,以 15 号和 8 号遗传相似系数最高;第 2 亚类为 5 个河北梨样品先后相聚,其中来自河北昌黎的 2 个样品

并没有优先相聚,而是和崂山的样品交叉相聚;第3亚类中5个褐梨样品优先相聚后与杜梨相聚;第4和第5亚类分别为秋子梨和褐梨。

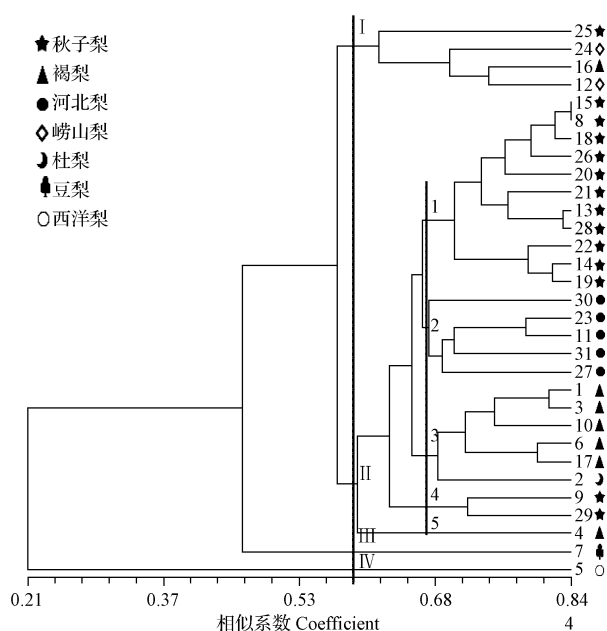


图1 31份梨属种质资源的 Nei 遗传相似系数 UPGMA 聚类图

Fig. 1 UPGMA dendrogram of 31 samples of *Pyrus* based on genetic similarity

2.4 主坐标分析

对原始矩阵的主坐标分析(图2)表明,所有样品可被分为4类:A类为全部秋子梨和河北梨,部分褐梨、杜梨样品;B类为全部崂山梨和2个褐梨样品;C类为豆梨;D类为西洋梨。聚类图和主坐标分析结果一致,且主坐标分析能从不同方向、不同层面更加直观地显示各种质资源的关系。

3 讨论

SRAP 分析表明,梨属野生资源遗传多样性较高,而且整体上同一种类的不同种质优先相聚,表明该标记能较好地揭示梨属植物的亲缘关系。因采样地点和物种成年个体数量的限制(如河北梨仅在山东崂山和河北昌黎分布,崂山梨仅在山东崂山发现2个分布点,植株有限),不同种的采样数量并不统一,但样品数量并没有影响亲缘关系的展现;同时西洋梨样品的扩增条带较少可能与 SRAP 引物有关,但对遗传距离分析未产生影响,西洋梨与杜梨和豆梨亲缘关系疏远的结果与传统观点基本一致。

在所有供试种类中,河北梨与秋子梨和褐梨的遗传一致度最高,因此俞德浚^[2]对三者关系的推测获得了分子水平的支持,且进一步明确河北梨与秋子梨的亲缘最近。虽然蒲富慎等^[20]根据染色体着丝点位置认为,河北

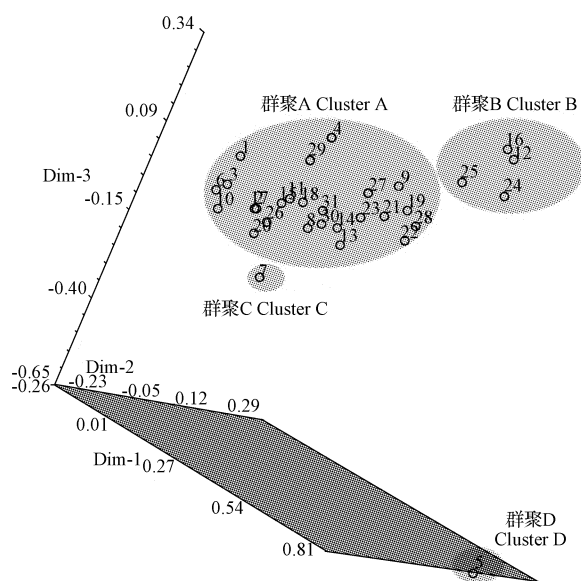


图2 梨属材料的主坐标分析图

Fig. 2 Principle coordinate analysis of 31 *Pyrus* accessions

梨与麻梨和新疆梨亲缘关系较近而与秋子梨相对较远,但结合这些物种的地理分布及表型性状(叶形、果实等)来看,河北梨与秋子梨近缘的结论更合理。聚类分析表明,来自河北昌黎和山东崂山的河北梨样品相互交叉相聚,表明河北梨居群间的遗传距离和地理位置无直接相关性,亦表明河北梨居群间存在较频繁的基因交流。

从形态上看,崂山梨因果实花萼宿存、子房3室、叶缘具有圆钝锯齿而与豆梨和木梨相近^[4],但遗传多样性分析表明本种与褐梨和秋子梨近缘,而与豆梨亲缘关系疏远。杜梨与褐梨的遗传距离均小于与其它样品的遗传距离,说明二者亲缘关系最近,与滕元文等^[21]、蒲富慎等^[5]分别通过 RAPD 分子标记以及核型分析得出结论一致。豆梨与其它国产种类的遗传距离较大,亲缘关系较远,黄礼森等^[6]通过花粉形态和蒲富慎等^[5]根据核型研究也得出相似的结论,且认为豆梨是国产种类中原始的类型。西洋梨与其它供试种类最晚聚类,亲缘关系最远,也与前人的研究结果一致^[8,22-23]。

不同野生种的居群大小差别很大,物种多态性的丰富度与此密切相关,居群较大的秋子梨和褐梨聚类并不集中,推测部分样品可能为未知的自然杂交组合,但尚有待于结合形态学标记等进行进一步研究。曹玉芬等^[24]根据 SSR 分析得出的结论也认为,梨属种类自然演化过程中存在广泛的杂交现象。

遗传多样性是物种稳定生存的重要因素,也是物种能维持繁殖活力、适应多变环境的根本原因。近年来由于人类活动频繁,梨属野生资源被破坏殆尽,河北梨因数量锐减已被列为极小种群野生物种,崂山梨生境也因旅游开发受到了极大破坏。因此,基于分子水平的河北

梨、崂山梨及其近缘种的遗传多样性分析为种质资源鉴定、保护及亲缘关系研究提供了更丰富的理论依据。

参考文献

- [1] 殷豪,吴俊,张绍铃. 梨分子遗传连锁图谱构建及重要农艺性状定位[J]. 果树学报, 2012, 29(5): 918-928.
- [2] 俞德浚. 落叶果树分类学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1984: 53-54.
- [3] Wu Z Y, Raven P H, Hong D Y, et al. Flora of China[M]. Beijing: Science Press & St. Louis: Missouri Botanical Garden Press, 2003: 177.
- [4] 臧德奎, 黄鹏成. 蔷薇科新分类群[J]. 植物研究, 1992, 12(4): 321-322.
- [5] 蒲富慎, 林盛华, 李秀兰, 等. 中国梨属植物核型研究Ⅱ[J]. 园艺学报, 1986, 13(2): 87-90.
- [6] 黄礼森, 李树玲, 李振兰, 等. 中国梨属植物花粉形态的比较观察[J]. 园艺学报, 1993, 20(1): 17-20.
- [7] 李秀根, 杨健. 花粉形态数量化分析在中国梨属植物起源、演化和分类中的应用[J]. 果树学报, 2002, 19(3): 145-148.
- [8] Teng Y W, Tanabe K. Genetic relationships of pear cultivars in Xinjiang, China as measured by RAPD markers[J]. Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 2001, 76: 771-779.
- [9] 范太伟, 蔡丹英, 滕元文, 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.
- [10] 杨军. 梨野生资源及杂交 F₁ 代的遗传多样性研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2013.
- [11] 刘晶. 中国豆梨与川梨的遗传多样性和群体遗传结构研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2013.
- [12] Li G, Quirós C F. Sequence related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in Brassica[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2001, 103

(3): 455-461.

- [13] 张安世, 司清亮, 赵利新, 等. 珍稀濒危植物太行菊遗传多样性的 SRAP 分析[J]. 分子植物育种, 2014, 12(3): 517-524.
- [14] 彭方仁, 吴莺莺, 陈永忠, 等. 利用 ISSR 和 SRAP 标记分析油茶遗传多样性[J]. 南京林业大学学报, 2012, 36(5): 19-25.
- [15] 郭大勇, 徐育海, 罗正荣, 等. 湖北海棠种内遗传变异的 SRAP 分析[J]. 果树学报, 2009, 26(6): 886-890.
- [16] Kidwell K K, Osborn T C. Simple plant DNA isolation procedures [M]// Beckman J, Osborn T C. Plant genomes: Methods for genetic and physical mapping Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1992: 1-13.
- [17] 董星光, 樊丽, 王志刚, 等. 梨 SRAP 体系的正交优化研究[J]. 江苏农业科学, 2009(2): 51-52.
- [18] 张勇杰, 朱鸿菊, 任莹, 等. 基于 SRAP 分子标记的三桠乌药遗传多样性分析[J]. 林业科技开发, 2013, 27(6): 17-20.
- [19] 赵梦然, 陈强, 郭向丽, 等. 中国野生白灵菇遗传多样性的 SCoT 分析[J]. 园艺学报, 2011, 39(12): 2475-2482.
- [20] 蒲富慎, 林盛华, 宋文芹, 等. 我国梨属植物染色体核型研究(一)[J]. 武汉植物学研究, 1985, 3(4): 381-387.
- [21] 滕元文, 柴明良, 李秀根. 梨属植物分类的历史回顾及新进展[J]. 果树学报, 2004, 21(3): 252-257.
- [22] Teng Y W, Tanabe K. Genetic relationships of *Pyrus* species and cultivars native to East Asia revealed by randomly amplified polymorphic DNA markers [J]. Journal of the American Society for Horticultural Science, 2002, 127: 262-270.
- [23] Kimura T, Shi Y Z. Identification of Asian pear varieties by SSR analysis [J]. Breeding Science, 2002, 52: 115-121.
- [24] 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.

Genetic Diversity Analysis of Wild Germplasm Resource of *Pyrus* Based on SRAP Markers

LIANG Tingting, MA Yan, ZANG Dekui

(Forestry College, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018)

Abstract: Taking six wild species of *Pyrus* from different regions as materials and one *P. communis* as control, genetic diversity of partial germplasm resource from wild species of *Pyrus* was studied by sequence-related amplified polymorphism (SRAP). The results showed that, 199 loci were identified with 14 SRAP primer combinations out of which 194 were polymorphic. The proportion of polymorphic loci (PPL) was 97.29%, Nei's gene diversity (H) was 0.296 1, Shannon's Information index (I) was 0.451 9, which showed the abundant genetic diversity in *Pyrus*. Coefficient of genetic differentiation (Gst) was 0.646 2, Nei's genetic identity and genetic distance were 0.512 6—0.920 1 and 0.083 2—0.668 3. The genetic distance between each pair of *P. hopei-hensis*, *P. ussuriensis*, and *P. phaeocarpa* was obviously smaller than any other pairs, showing the closer relationship of the three species. Also, genetic relationship of *P. trilobularis*, *P. phaeocarpa*, and of *P. betulae-folia*, *P. phaeocarpa* were close, while *P. calleryana* was more distant with other indigenous species. The analysis result of PCOA was similar with cluster analysis, and the former directly showed the relationships between all groups.

Keywords: *Pyrus*; genetic diversity; *Pyrus hopei-hensis*; *Pyrus trilobularis*; SRAP