

新疆栽培杏群体遗传结构的 SSR分析

何天明^{1,2} 陈学森^{1*} 高疆生² 张大海³ 徐麟³ 吴燕¹

(¹ 山东农业大学果树生物学实验室, 山东泰安 271018; ² 塔里木大学植物科技学院, 新疆阿拉尔 843300; ³ 新疆农业科学院轮台国家果树资源圃, 新疆轮台 841600)

摘要: 利用 11 对 SSR 引物对喀什、和田和库车 3 个新疆栽培杏 (*Prunus amariaca* L.) 品种亚群进行了分子系统学研究。结果表明: 各位点平均期望杂合度 ($H_e = 0.2364$) 显示新疆栽培杏群体具有较高的遗传多样性水平。根据基因分化系数 ($G_{st} = 0.1508$) 值, 新疆杏各品种亚群的遗传分化主要存在于亚群 (84.9%) 内。基于 G_{st} 测得的基因流 N_m 为 2.3666, 人为通过种子引种可能是其基因交流的主要方式。根据果实形态和地理起源对新疆杏进行传统分类并不能完全反映出新疆杏品种间的亲缘关系。

关键词: 杏; SSR; 遗传多样性; 群体遗传学; 聚类分析

中图分类号: S 662.2 文献标识码: A 文章编号: 0513-353X (2006) 04-0809-04

Using SSR Markers to Study Population Genetic Structure of Cultivated Apricots Native to Xinjiang

He Tianming^{1,2}, Chen Xuesen^{1*}, Gao Jiangsheng², Zhang Dahai³, Xu Lin³, and Wu Yan¹

(¹ Biological Lab of Pomology, Shandong Agricultural University, Taian, Shandong 271018, China; ² College of Plant Science and Technology, Tarim University, Alar, Xinjiang 843300, China; ³ Luntai National Pomology Germplasm Garden, Academy of Agricultural Science of Xinjiang, Luntai, Xinjiang 841600, China)

Abstract: Eleven *Prunus* simple sequence repeat (SSR) primer pairs have been used in the molecular characterization of 30 apricot (*Prunus amariaca* L.) varieties from south Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. A higher level of genetic diversity was revealed by Nei's gene diversity ($H_e = 0.2364$). The G_{st} (Gene Divergence) of 0.1508 indicated that genetic variation existed mainly within sub-groups (84.9%). The modest amount of gene flow ($N_m = 2.3666$) based on G_{st} was discovered. It was proposed that artificial introduction by seeds was probably the main way of gene flow. Consequently, traditional morphological and geographical classification can not completely reflect the genetic relationship between apricot varieties native to Xinjiang.

Key words: Apricot; SSR; Genetic diversity; Population genetics; Clustering analysis

1 目的、材料与方法

在前人研究^[1,2]的基础上, 基于分子系统学和群体遗传学的理论, 利用 SSR 技术, 对新疆杏品种的群体遗传结构进行了综合分析, 旨在从分子水平上进一步认识我国这一独特的杏品种群的遗传多样性和系谱关系, 以及喀什、和田、库车 3 个品种亚群^[1]间的基因流水平。

供试的 30 个新疆杏品种均采自新疆农业科学院轮台国家果树资源圃 (表 1)。样品均为幼嫩小叶, 采用硅胶干燥法保存备用。于 2004~2005 年在山东农业大学果树生物学实验室完成。基因组 DNA 的提取采用 Doyle 等^[3]的方法并稍加改进。取约 0.4 g 干燥叶片在液氮中研磨后, 加入 3 mL 的 CTAB 提取缓冲液。提取液中另加有 2% 的 β -巯基乙醇和 1% PVP。11 对用于本研究的 SSR 引物名称见表 2。引物序列、PCR 扩增和电泳数据分析参照文献 [4]。为保证聚类结果的可靠性, 只对其中

收稿日期: 2005-07-20; 修回日期: 2006-04-04

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30471196); 教育部高等学校博士学位点专项科研基金项目 (20040434011); 教育部重点科研项目 (204178)

* 通讯作者 Author for correspondence (E-mail: chenxs@sdau.edu.cn)

扩增数据完整的 22 份样品、9 对引物进行了聚类分析。

2 结果分析与讨论

2.1 新疆杏种质的遗传多样性

引物 BPPCT034 对供试的 30 份新疆杏种质 (表 1) 的扩增图谱见图 1。

表 1 供试新疆杏品种名录及所属亚群

Table 1 The origin of apricot gemplasm native to Xinjiang

| 编号 Code | 种质名称 Gemplasm name | 原始采集地点 Original collection site | 亚群分类类别 Sub-group classification | SSR 组别 SSR group |
|------------|------------------------|------------------------------------|------------------------------------|---------------------|
| 01 | 大油杏 Dayouxing | 叶城 Yecheng | 喀什 Kashi | |
| 02 | 奎克皮曼 Kuikepiman | 和田 Hetian | 和田 Hetian | |
| 05 | 洛甫 2 号 Luopu 2 | 洛甫 Luopu | 和田 Hetian | |
| 06 | 大果胡安娜 Daguohuanna | 和田 Hetian | 和田 Hetian | |
| 07 | 皮乃孜 Pinaizi | 洛甫 Luopu | 和田 Hetian | |
| 08 | 大优佳 Dayoujia | 和田 Hetian | 和田 Hetian | |
| 09 | 贾格达玛依桑 Jiagedamayisang | 疏附 Shufu | 喀什 Kashi | |
| 10 | 克孜郎 Kezilang | 柯坪 Keping | 库车 Kuche | |
| 11 | 赛买提 Saimaiti | 英吉莎 Yingjisha | 喀什 Kashi | |
| 13 | 洛甫洪待克 Luopuhongdaike | 洛甫 Luopu | 和田 Hetian | |
| 14 | 毛拉肖 Maolaxiao | 柯坪 Keping | 库车 Kuche | |
| 15 | 索格佳娜丽 Suogejianali | 疏附 Shufu | 喀什 Kashi | |
| 16 | 晚佳娜丽 Wanjianali | 和田 Hetian | 和田 Hetian | |
| 18 | 卡巴克西米西 Kabakeximixi | 库车 Kuche | 库车 Kuche | |
| 19 | 胡安娜 Huanna | 喀什 Kashi | 喀什 Kashi | |
| 21 | 旦杏 Danxing | 阿克苏 Akesu | 库车 Kuche | |
| 22 | 卡巴克玉吕克 Kabakeyuluke | 阿克苏 Akesu | 库车 Kuche | |
| 25 | 冬杏 Dongxing | 阿克苏 Akesu | 库车 Kuche | |
| 26 | 卡拉玉吕克 Kalayuluke | 喀什 Kashi | 喀什 Kashi | |
| 27 | 脆油佳娜丽 Cuiyoujianali | 洛甫 Luopu | 和田 Hetian | |
| 28 | 洪待克 Hongdaike | 库车 Kuche | 库车 Kuche | |
| 29 | 图乃斯坦 Tunaisitan | 和田 Hetian | 和田 Hetian | |
| 30 | 库尔勒托永 Kuerletuoyong | 库尔勒 Kuerle | 库车 Kuche | |
| 31 | 早大油杏 Zaodayouxing | 和田 Hetian | 和田 Hetian | |
| 32 | 托户地库都 Tuohudikudu | 沙雅 Shaya | 库车 Kuche | |
| 34 | 阿克托永 Aketuoyong | 库车 Kuche | 库车 Kuche | |
| 36 | 赛来克玉吕克 Sailakeyuluke | 喀什 Kashi | 喀什 Kashi | |
| 37 | 小树上干 Xiaoshushanggan | 喀什 Kashi | 喀什 Kashi | |
| 38 | 阿克玉吕克 Akeyuluke | 阿克苏 Akesu | 库车 Kuche | |
| 40 | 阿克西米西 Akeximixi | 库车 Kuche | 库车 Kuche | |

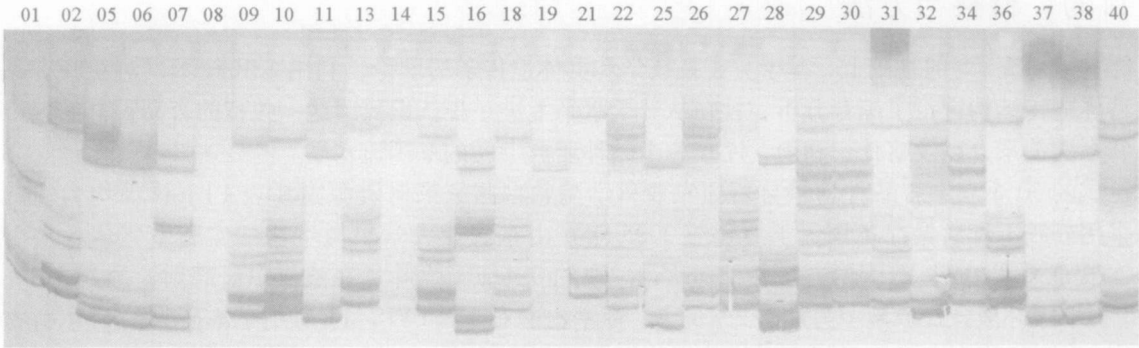


图 1 引物 BPPCT034 对 30 个新疆地方杏品种的扩增图谱
种质编号、名称见表 1, 08 扩增未成功。

Fig 1 SSR patterns amplified by primer BPPCT034

No. and name of gemplasm available in Table 1, no amplification in 08.

除了‘大优佳’未能扩增出条带外，其余 29 份材料皆得到了理想的扩增结果。在供试的 11 对引物中，每对引物平均扩增出 19.6 条多态性带，多态性带的平均检出率为 97.9%。各位点平均期望杂合度 (H_e) 为 0.1696~0.3123，平均为 0.2364 (表 2)。新疆栽培杏群体这种较高的遗传多样性水平可能与当地维吾尔先民多年习惯于对杏树进行实生繁殖有关。

2.2 亚群的群体分化与基因流

基因分化系数 (G_{st}) 的变幅为 0.0458~0.3304，均值为 0.1508。方差分析显示， G_{st} 在各基因位点上差异极显著。从 G_{st} 可知，新疆杏品种群 84.9% 的遗传分化存在于亚群内，亚群间的遗传变异约为 15.08%。在品种群的水平上，基于 G_{st} 测得的基因流 N_m 为 2.3666 (表 2)。与其它自然种群用

表 2 新疆杏的多样性指数与基因流

Table 2 The diversity indexes and gene flow of apricot native to Xinjiang

| 引物 Primer | 取样规模 Sample size | 总带数 Total amplified bands(A) | 多态性带数 Polymorphic bands(P) | 多态性带比 率 R | 平均期望杂合度 H_e | 基因分化系 数 G_{st} | 基因流 N_m |
|--------------|---------------------|---------------------------------|-------------------------------|--------------|------------------|---------------------|--------------|
| Pchgns2 | 23 | 24 | 24 | 100.0 | 0.2666 | 0.3304 | 1.0134 |
| Pchgns4 | 25 | 38 | 36 | 94.7 | 0.1696 | 0.0978 | 4.6134 |
| Pchgns5 | 25 | 19 | 18 | 94.7 | 0.1748 | 0.1847 | 2.2068 |
| UDP96-019 | 27 | 25 | 25 | 100.0 | 0.2776 | 0.2096 | 1.8859 |
| UDP97-402 | 28 | 15 | 15 | 100.0 | 0.1943 | 0.0499 | 9.5109 |
| UDP98-409 | 29 | 28 | 28 | 100.0 | 0.2652 | 0.1456 | 2.9350 |
| Pchcns4 | 20 | 8 | 7 | 87.5 | 0.2720 | 0.0859 | 5.3206 |
| Pchgns24 | 30 | 8 | 8 | 100.0 | 0.2278 | 0.2710 | 1.3451 |
| BPPCT025 | 30 | 8 | 8 | 100.0 | 0.2195 | 0.1014 | 4.4324 |
| BPPCT034 | 29 | 24 | 24 | 100.0 | 0.3123 | 0.0458 | 10.4278 |
| BPPCT042 | 20 | 23 | 23 | 100.0 | 0.2215 | 0.1372 | 3.1440 |
| 平均 Mean | 26 | 20 | 19.6 | 97.9 | 0.2364 | 0.1508 | 2.3666 |

类似方法测算的基因流^[5]相比，新疆杏各品种亚群的基因流在整体上处于中等水平，根据 Wright 的理论，这种适中的基因流会降低整个品种群的再分化，亚群内现存的遗传多样性水平对遗传漂变并不敏感^[6]。对新疆杏这一在特殊绿洲生境下形成的植物种群而言，人为通过种子引种可能是其基因交流的主要方式，因各绿洲之间为大漠所隔绝，花期气候干热，花粉借风力在绿洲间远距离传播的可能性较低。

2.3 SSR揭示的新疆杏系谱关系与其传统形态分类比较

对 22 份新疆杏种质的 SSR 聚类分析结果如图 2 所示。在重新调整的欧氏平方距离为 22 的水平上，22 个新疆杏种质可分为两大类，在 16 水平上，又可进一步分为 4 组 (表 1, 图 2)。第一类包含组 I、组 II，其中组 I 包括克孜郎、索格佳娜丽、晚佳娜丽、冬杏等 7 个品种，组 II 包括大果胡安娜、洛甫洪待克、图乃斯坦等 6 个品种，第二类包含组 III、组 IV，其中组 III 包括皮乃孜、洪待克、毛拉肖、贾格达玛依桑 4 个品种，组 IV 包括大油杏、早大油杏、脆油佳娜丽等 5 个品种。

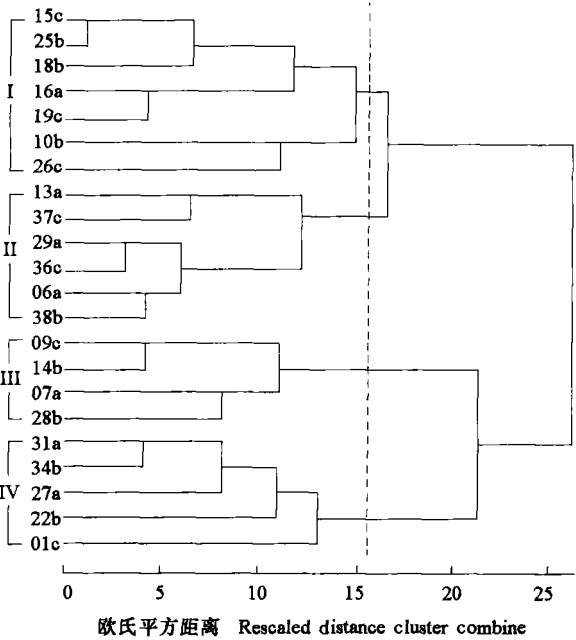


图 2 22 份新疆杏种质的 SSR 分析聚类树状图

图中编号的种质名称见表 1；a 和田亚群；
b 库车亚群；c 喀什亚群。

Fig 2 Dendrogram of cluster analysis of 22 apricot varieties native to Xinjiang

Na and name listed in Table 1; a Representing Hetian sub-group;
b Representing Kuche sub-group; c Representing Kashi sub-group.

我们对 3 个亚群所做的遗传分析表明, 亚群之间存在着极高的遗传一致度, 达到 0.9723 ~ 0.9816, 平均为 0.9759。

我们将基于 SSR 数据聚类分析的结果与前人有关新疆杏果实形态^[1]以及地理分布^[2]的分类结果进行比较, 发现分子系统学研究结果和分类结果与地理分布结果并不吻合, 说明各亚群之间存在着明显的基因流。原本采自一个亚群内的品种在 SSR 分子分类系统中分散于各组内的现象比较普遍, 这说明根据果实形态和地理起源为主要分类依据并不能完全反映新疆栽培杏的亲缘关系。这一结果迥异于我们在新疆伊犁野杏中的研究结果^[4]。如前所述, 我们认为新疆栽培杏反映出的这种差异性与人为选择和引种有关。丝绸之路各绿洲之间人为导致的遗传信息的交流是频繁的, 这可以早在汉朝始, 葡萄、胡桃、芫荽等园艺作物沿丝绸之路进入中原为佐证, 本研究中三大亚群之间颇高的遗传一致度水平也说明了这一点。由于人为选种、人为引种产生的基因流、绿洲之间为大漠所隔离等因素不同程度地介入了新疆栽培杏的演化进程, 使这一品种群呈现出复杂的群体遗传结构: 一方面, 地理隔离使大量的变异 (84.9%) 存在于绿洲内部的地理亚群内; 另一方面, 绿洲之间人为引种产生的基因流使各亚群并不表现为相对独立的孟德尔群体。可靠的结论需要对更广泛的材料进行分析。

参考文献:

- 1 张 钊, 刘明彰, 陈文淑, 包颜芳, 热衣曼牙生. 新疆杏的种质资源. 果树科学, 1985 (3): 18 ~ 23
Zhang Z, Liu M Z, Chen W S, Bao Y F, Reyman Y. Apricot germplasm resources of Xinjiang. Journal of Fruit Sciences, 1985 (3): 18 ~ 23 (in Chinese)
- 2 张加延, 张 钊. 中国果树志·杏卷. 北京: 中国林业出版社, 2003. 120 ~ 124
Zhang J Y, Zhang Z. Chinese fruit tree apricot. Beijing: China Forestry Publishing House, 2003. 120 ~ 124 (in Chinese)
- 3 Doyle J J, Doyle J L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus, 1990, 12: 13 ~ 15
- 4 He T M, Chen X S, Xu Z, Gao J S, Lin P J, Liu W, Liang Q, Wu Y. Using SSR markers to determine the population genetic structure of wild apricot (*Prunus ameriaca* L.) in Ily Valley. Genetic Resources and Crop Evolution, 2006 DOI 10.1007/s10722-006-0013-5
- 5 Wang Y H, Luo J X, Xue X M, Korpelainen H, Li C Y. Diversity of microsatellite markers in the populations of *Picea asperata* originating from the Mountains of China. Plant Science, 2005, 168: 707 ~ 714
- 6 Wright S. Variability within and among natural populations. Vol. 4. Chicago: Chicago University Press, 1978. 75 ~ 78

欢迎订阅 2007 年下列期刊

《西北农林科技大学学报 (自然科学版)》是国内外公开发行的综合性农业科学学术期刊, 主要刊登农业科学、林业科学、植物保护、资源与环境科学、园艺科学、动物科学与动物医学、食品科学、农业水利与建筑工程、农业机械与电子工程、生物技术与基础学科等方面具有创新性或适用性的学术论文、研究简报、文献综述以及反映最新科研成果的快报。读者对象为国内外农林科技工作者、高等院校教师、研究生和农林管理干部。月刊, A4 版, 164 页, 每月 25 日出版。每期定价 10 元, 全年 120 元。邮发代号为 52 - 82, 全国各地邮局均可订阅, 亦可直接向本刊编辑部订阅。国外总发行为中国出版对外贸易总公司。

编辑部地址: 陕西杨凌, 西北农林科技大学西农校区 40 号信箱, 邮编: 712100; 电话: 029 - 87092511, E-mail: xb2511@yahoo.com.cn, 网址: <http://XBNY.chinajournal.net.cn>; <http://xbnydxxb.periodicals.net.cn>