叶宇芸,王清明,马建伟,等.基于 SSR 标记的桃品种遗传多样性分析及遗传相似系数比较[J].华南农业大学学报,2017,38(3):39-45.

基于 SSR 标记的桃品种遗传多样性分析及 遗传相似系数比较

叶宇芸¹,王清明^{1,2},马建伟¹,张银平¹,陈其阳¹,汤浩茹¹,张 勇¹ (1四川农业大学 园艺学院,四川 成都 611130; 2 广元市农业科学研究院,四川 广元 628017)

摘要:【目的】利用 NCBI 数据库中桃的 EST 信息开发 SSR 引物,分析成都平原主栽桃品种的遗传多样性,探讨各遗传相似系数在桃 SSR 分析中的适用性,以期为桃种质资源的研究提供参考。【方法】利用来自 NCBI-EST 数据库的 100 对 SSR 引物对 12 个不同形态的桃品种进行 PCR 扩增,分析筛选 20 对多态性好、稳定性高且均匀分布于桃 8 个连锁群的引物对 40 个桃品种进行 PCR 扩增,并采用 5 个遗传相似系数分别对扩增结果进行分析。【结果】使用 20 对引物共检测出 68 个多态性等位基因位点,每对引物的等位基因数在 2~5 之间,平均为 3.4。多态信息含量在 0.36~0.73 间变化,平均为 0.54。Jaccard 相似系数为 0.106~1.000; Jaccard 系数的共表型相关系数 r_c 最高,为 0.772; Dice 系数次之,为 0.719; Jaccard 和 Dice 系数的系统树一致性最高,CI_c 为 1。Nei's 基因多样性指数在种级水平上和类群水平上分别为 0.603 和 0.374,相应的 Shannon's 信息指数分别为 1.041 和 0.591。40 个桃品种在聚类中首先分为观赏桃和食用桃 2 大类,再细分为各类群,聚类结果与传统系谱基本吻合。【结论】基于 NCBI 数据库中桃的 EST 信息开发的 SSR 引物多态性较好,可用于桃的 SSR 分析。Jaccard 和 Dice 系数适合桃的 SSR 分析。桃品种总体遗传多样性较丰富,但水蜜桃品种仍需加强种质创新。

关键词:桃;遗传多样性;遗传相似系数;EST-SSR;引物筛选

中图分类号:S662.1

文献标志码:A

文章编号:1001-411X(2017)03-0039-07

SSR analysis on genetic diversity of peach cultivars and comparison of different genetic similarity coefficients

YE Yuyun ¹, WANG Qingming ^{1,2}, MA Jianwei ¹, ZHANG Yinping ¹, CHEN Qiyang ¹, TANG Haoru ¹, ZHANG Yong ¹

(1 College of Horticulture, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China;2 Guangyuan Academy of Agricultural Sciences, Guangyuan 628017, China)

Abstract: [Objective] To develop SSR primers based on peach ESTs in NCBI database, analyze genetic diversity of the major peach cultivars in Chengdu plain, investigate the applicability of different genetic similarity coefficients in SSR analysis of peach, and provide references for research on peach germplasm resources. [Method] In total 100 pairs of SSR primers selected from NCBI-EST database were used in PCR amplification for 12 peach cultivars with various morphology. Twenty primers which had high polymorphism and stability, and evenly distributed in eight linkage groups were selected for PCR amplification of 40 peach cultivars. Five genetic similarity coefficients were used to analyze the amplification results. [Result] Using 20 SSR primers, 68 polymorphic alleles were detected. The number of alleles per locus ranged from 2 to 5, with an average of 3.4. The polymorphism information content ranged from 0.36 to 0.73, and with an average of 0.54. The Jaccard genetic similarity coefficient ranged from 0.106 to

收稿日期:2016-07-31 优先出版时间:2017-04-12

优先出版网址:http://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1110.s.20170412.1419.010.html

作者简介:叶宇芸(1994—),男,硕士研究生,E-mail:yeyuyun690653415@qq.com;通信作者:张 勇 (1981—),男,副教授,博士,E-mail:zhyong@sicau.edu.cn

基金项目:四川省教育厅重点项目(12ZZ011)

1.000. The Cophenetic correlation coefficient ($r_{\rm c}$) of Jaccard coefficient was the highest being 0.772, followed by Dice coefficient being 0.719. The consistency of consensus trees between Dice and Jaccard coefficients were the highest with $CI_{\rm c}$ being 1.000. Nei's gene diversity index was 0.603 and 0.374 respectively at the species level and the level of different classified groups, the corresponding Shannon's information index was 1.041 and 0.591 respectively. The 40 peach cultivars were firstly divided into two major categories which were ornamental peach and edible peach, and then subdivided into different types of groups. The clustering result basically coincided with the traditional pedigree. [Conclusion] The SSR primers developed based on peach ESTs in NCBI database have high polymorphism and can be used for SSR analysis of peach. Jaccard and Dice coefficients are the most appropriate for SSR analysis of peach. In general, the genetic diversity of peach is abundant, but variation of the honey peach group is relatively low, and germplasm innovation of this group needs to be improved.

Key words; peach; genetic diversity; genetic similarity coefficient; EST-SSR; primer screening

桃 Prunus persica 为薔薇科桃属重要果树,在长期的人工驯化和选择中形成了适应不同生态条件、满足不同需求的类型,这些资源为进一步改良桃的相关性状提供了基础,了解这些资源是利用的前提。中国的桃种质资源十分丰富,目前国内各种园圃共收集保存了2000余份桃种质资源^[1],桃作为全世界栽培最广泛的落叶果树之一,已遍布全球。《中国果树志·桃卷》^[2]中,桃品种按形态学、品种类群和生态类群等进行分类,这有助于栽培生产和果品利用,但部分品种仅依靠形态特征很难识别,而形态学标记位点较少且易受环境因素的影响^[3],开展桃树分子标记辅助分类具有重要意义。

简单序列重复(Simple sequence repeat, SSR)标记因多态性丰富、重复性好、检测方便、共显性、标记覆盖整个基因组且均匀分布等特点,已成为分子育种中最重要的遗传标记之一^[4]。然而,桃的可用SSR 引物较少,蔷薇科其他植物的SSR 引物更为稀少。2013 年,Verde 等^[5]基于桃不同器官转录组数据研究后上传至 NCBI 共 80 797 条 ESTs 序列,为挑选更好的桃 SSR 引物提供了丰富的资源。

聚类分析是应用于种质资源亲缘关系鉴定、新品种鉴定和遗传多样性分析等研究的一种方法。Bouhadida等^[6]利用聚类分析鉴别了 94 份西班牙桃品种;张俊佳等^[7]完成了桃新品种'保佳红'亲缘关系的鉴定;廖安红等^[8]分析了 71 份桃资源的遗传多样性。聚类分析因用途广泛而在桃种质资源的研究工作中占有非常重要的地位。遗传相似系数的选择为聚类分析的重要一环,过去的研究中对于遗传相似系数的选择多基于默认设置或惯性,而基于不同的遗传相似系数进行聚类分析,其结果存在较大差异^[9],故选择一个合适的遗传相似系数对于后续各种基于聚类分析进行的工作显得尤为重要。

本研究以成都平原主栽的 40 个桃品种为研究 http://xuebao.scau.edu.cn

对象,根据现有 EST 序列设计 100 对 SSR 引物,从中挑选出 20 对可用引物,分析了成都平原主栽桃品种的遗传多样性,利用 SSR 标记探讨了不同的遗传相似系数在桃的 SSR 分析中的适用性,以期为桃种质资源的研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

基于《中国果树志: 桃卷》^[2]中的各品种类群对成都平原桃的主栽品种进行取材,本试验所用 40 份材料(表 1)分别来自四川省农业科学院龙泉资源圃、华阳资源圃和四川农业大学临济资源圃。

表 1 试验种质和分类

Tab. 1 Experimental germplasm and classification

140.1	Experimental gen	impiasiii ana v	ciussification
品种类群	种质	品种类群	种质
水蜜桃	霞脆	硬肉桃	春美
	晚湖景		早春
	春蜜		春雪
	早凤王		早红不软
	北京 13		红清水
	晚 24	直枝桃	二色桃
	锦春		红菊花
蟠桃	早红蟠		单粉
白桃	千姬		洒红
寿星桃	寿红		绛桃
黄肉桃	锦香		满天红
	锦园		人面桃
	黄金美丽		菊花桃
	千丸		红叶桃
油桃	郑 3 - 8		满山红
	金山早红		报春
	贺春	垂枝桃	红叶垂枝
	761		白重瓣垂枝
	双喜红		红垂枝
	曙光		白垂枝

1.2 引物设计及筛选

利用 MISA (http://pgrc. ipk-gatersleben. de/misa/)对 NCBI 数据库 ESTs 序列处理后所得的 EST 序列进行 SSR 位点搜索,选取含 SSR 位点且最容易发生变异的二核苷酸重复 EST-SSR 引物,搜索标准为:二核苷酸重复基序的最少重复次数为 6 次,且间隔序列小于 100 bp,然后利用 Primer3 模块(http://sourceforge. net/projects/primer3/files/primer3/1.1.4/primer3-1.1.4-WINXP. zip/download)设计 EST-SSR 引物,设计标准为:产物大小 100 ~ 280 bp,引物长度 18 ~ 27 bp,复性温度 57 ~ 63 $^{\circ}$ C,上下游引物相差小于 3 $^{\circ}$ C。

利用 UltraEdit 软件对自 NCBI 下载的桃全基因组序列进行处理,具体方法为:在软件中搜索"scaffold_1"、"scaffold_2"、"scaffold_3"直至"scaffold_8",分别记录各连锁群的始末位置,再将供试引物序列在软件中搜索,以确定各引物在连锁群上的分布情况,并结合引物验证结果筛选可用引物。

1.3 DNA 提取及引物 PCR 验证

采用 CTAB 法提取 DNA。PCR 扩增在 Bio-rad DNA Engine Single bay PCR 仪(Eppendorf,德国)上进行。SSR-PCR 采用包含 10×10^{-9} mol 引物,40 ng DNA 模板,2 U Taq DNA 聚合酶,2.5 μ L $10 \times B$ uffer (含 Mg^{2+}),7.5 × 10^{-6} mol dNTPs,50 × 10^{-6} mol Mg^{2+} ± 25 μ L 反应体系。其反应程序为:94 Ω 预变性 3 min;94 Ω 变性 30 s,57 ~ 63 Ω 退火 30 s,72 Ω 延伸 1 min,32 个循环;72 Ω 延伸 5 min; Ω 4 Ω 4 Ω 4 Ω 5 Ω 6 min,得扩增产物。PCR 扩增产物使用 80 g·L⁻¹ 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳进行分离,银染至条带清晰为止,照相并记录。

1.4 数据分析

利用 PIC_CALC 软件得到 SSR 位点多态信息含量(Polymorphism information content, PIC),结合多态性条带率来评价位点的扩增情况。利用 NTsys-2. 10e 计算 5 个遗传相似系数(表 2),并用非加权组平均法(Unweighted pair-group method with arithmetic means, UPGMA)建立相应的系统树。利用 Mantel 检验 $^{[10]}$ 分析遗传相似矩阵间相关性;采用 Cophenetic 模块计算共表型相关系数 (r_c) ,此系数可检验聚类方法和原始遗传相似矩阵间的拟合优度;采用 CONSENSUS-consensus tree 模块计算聚类树状图系统树一致性指数(Consistency index, CI_c),以估计各系统树间的相对一致性 $^{[11]}$ 。

表 2 不同遗传相似系数的计算方法

Tab. 2 Calculation methods of five genetic similarity coefficients

相似系数	计算公式 ¹⁾	区间
Simple Matching (SM)	(a+d)/(b+c)	(0,1)
Jaccard (J)	$a/\{[(a+d)+(b+c)]-d\}$	(0,1)
Russel and Rao (RR)	a/[(a+d)+(b+c)]	(0,1)
Dice	2a/(2a+b+c)	(0,1)
Phi	$(ad-bc)/\sqrt{(a+b)(c+d))(a+c)(b+d)}$	(-1,1)

1)a表示品种i、j共有条带数;b表示品种i特有条带数;c表示品种j特有条带数;d表示品种i、j共有缺失条带数。

2 结果与分析

2.1 SSR 引物筛选及扩增结果

根据已公布的80797条桃EST序列,去除低质 量和冗余的 9 965 条,剩余的 70 360 条包含 38.2 M 信息量,占桃全基因组的16.8%;共检测得12519 个 SSR 位点,位点出现总频率为 14.6%。利用 Primer3 模块从 12 519 条含有 SSR 位点的 EST 序列中设 计了1306 对二核苷酸重复的 SSR 引物。利用随机 分层抽样的方法,按照重复单位的重复数(5~10、 10~15、16~20、20~25、25~n)将二核苷酸重复引 物分为5组,分别从5组中随机抽取相同数量(各20 对)共100对引物。利用12个不同形态的桃品种 (早凤王、早红蟠、锦园、春雪、曙光、千姬、寿红、红垂 枝、白垂枝、菊花桃、红叶桃、报春)对100对二核苷 酸 SSR 引物进行了验证,扩增结果表明等位基因数 量≥3的引物占43%,扩增情况较好。利用UltraEdit 软件对自 NCBI 下载的桃全基因组序列进行处理,确 定了各引物在连锁群上的分布情况,结合引物验证 结果,筛选出20对均匀分散于8个连锁群的、等位 基因数量多、稳定性高的引物(表3)以代表全基因 组信息,对40个桃品种进行PCR扩增。

20 对 SSR 引物的扩增结果(表 3)显示,共扩增出 68 个多态性等位基因位点,单对引物扩增条带数变幅为 2~5,平均每对引物扩增出约 3.4 个多态性条带,多态信息含量(PIC)介于 0.36~0.73,平均值为 0.54,表明这些引物 PIC 值较高,可用于桃种质资源的鉴定和研究。

2.2 遗传相似系数分析

基于不同遗传相似系数的品种遗传相似度矩阵,对成对矩阵的相关系数进行计算的结果(表4)显示,各系数间成对的相关系数变幅为 0.861 ~ 0.996。SM 系数与 Phi 系数相关性最高,为 0.996;RR 系数与 SM 系数相关性最低,为 0.861。

http://xuebao.scau.edu.cn

表 3 20 对桃 EST-SSR 引物信息 Tab. 3 Information of 20 pairs of peach EST-SSR primers

Tab. 3 Information of 20 pairs of peach EST-SSR primers							
引物	引物序列(5′→3′)	重复单位1)	产物/bp	总条带数量	多态性条带数量	多态信息含量	连锁群
DW344741	GAAGCACTGTGGGATTTGGT	(TA)17	173	5	5	0.73	$scaffold_1$
	AACGTTCATCCGTTGGACA						
DW346224	TTTCTCGGATTTGGAAAACG	(GA)24	154	5	5	0.70	$scaffold_1$
	TATCACGCGCCATAATTTGA						
DW345934	CAATCGTTCAAACACGCATC	(TC)17	259	2	2	0.37	$scaffold_1$
	AGGGCTGGATTTTGGTAGGT						
DW343823	ATTCCAGAGCACGCTTTCAC	(TC)13	180	3	3	0.55	$scaffold_2$
	TGCTTCCTGTTTGGCTCTTT						
DW344625	TTTCCTCGTGATATCTGCCC	(AG)14	181	3	3	0.42	$scaffold_2$
	TCCATTTTGAGGTGGTGGTT						
DW347146	AGTGAAGATGGTGGGAGTGG	(AG)15	258	3	3	0.56	${\it scaffold_3}$
	TCTTTCGTCTCTTCCTCCCC						
AM289990	TCAGTAATTACCATTCAGAACT	(TC)27	230	4	4	0.44	${\it scaffold_3}$
	CGCAGCCCAAATAAAATGAC						
DW347571	TCCTGCAGAGATTTTGGACA	(AG)29	172	4	4	0.60	${\it scaffold_3}$
	TGCTTTCCGCAAGTTAAAGG						
DW346505	AGCGGATTTGTTTTGTTTGG	(AT)12	209	5	5	0.68	$scaffold_4$
	CAGGCTGTTACTGCCACAGA						
BU041775	CTCCTCACTCCTTCAACTCATT	(CT)18	230	3	3	0.58	$scaffold_4$
	CTTTAGCCCATGCAGAGAGG						
DT455234	CAACCCAGAAAAGCCAGAAC	(CT)15	125	4	4	0.51	$scaffold_4$
	TGCAGGGGAATTGATTTAGC						
DW342538	TTCCAACCAGTTCCTTCTGG	(CT)24	233	3	3	0.59	${\it scaffold_5}$
	GGCTGTACTAGAAGCATTCCG						
DW341234	TCGTCAGATTCAGATGCAGG	(AG)19	142	3	3	0.58	${\it scaffold_5}$
	AAAAGTTGCACCACCACCTC						
BU041198	TTGCCAGTTCATCATTGTTTG	(TC)18	200	3	3	0.52	$scaffold_6$
	ACCATTATGCCTTGGTCAGG						
AJ826975	TGTTGCTTTTTCAAGTTGCG	(AG)17	168	2	2	0.36	$scaffold_6$
	AAGGTTTACATCAGTGCCCG						
DW345117	CACCACCACTTTCACCTTCA	(GA)29	273	3	3	0.52	${\it scaffold_7}$
	CAAATTTTGGGTTCCCCCTA						
BU048891	CTTTCTGTCGTTCCGCTACC	(TC)8	147	4	4	0.68	${\it scaffold_7}$
	TCGCTTGAGACTGAATGACG						
BU040491	ACCGCAGCTGCTTAATCAAT	(AT)9	166	3	3	0.51	${\it scaffold_7}$
	GGAACAAATTGCGAAAAGGA						
DW344783	TTTGGGCCAAGAAAATCAAG	(GA)17	227	3	3	0.38	$scaffold_8$
	CTTTCACTCTCGCCTCAACC						
BU044962	TCCCGATCTGAGACTAACCC	(TC)19	195	3	3	0.59	$scaffold_8$
	ATTCGCTCCAAAAACCAATG						

¹⁾括号内的英文字符为简单重复序列,括号外的数字为该序列的重复次数。

表 4 基于不同相似系数的遗传相似性矩阵间的相关系数
Tab. 4 Correlation coefficients of genetic similarity matrix
based on different similarity coefficients

相似系数	Phi	SM	Jaccard	RR
SM	0.996			
Jaccard	0.976	0.959		
RR	0.898	0.861	0.954	
Dice	0.982	0.963	0.990	0.961

不同遗传相似系数的 UPGMA 系统树一致性分析结果(表5)显示,系统树一致性指数(CI_c)介于0.474~1.000。Dice 系数与 Jaccard 系数的系统树一致性最高,CI_c为1.000,表明2个系统树的聚类结果完全一致。最低的是 RR 系数与 SM 系数,CI_c为0.474。系统树的一致性分析结果表明不同的遗传相似系数进行聚类分析,其结果存在较大差异。

表 5 基于不同相似系数的 UPGMA 系统树的一致性指数 Tab. 5 The consistency indexes of UPGMA system trees based on different similarity coefficients

相似系数	Phi	SM	Jaccard	RR
SM	0.868			
Jaccard	0.974	0.842		
RR	0.500	0.474	0.500	
Dice	0.974	0.842	1.000	0.500

5 个遗传相似系数的建树结果表明,品种间遗传相似度在 UPGMA 聚类分析中有较良好的表现,各系数的共表型相关系数(r_c)的变幅为 0. 660 ~ 0. 772, 其中 Jaccard 系数的 r_c 最大,为 0. 772, Dice、PHI、SM 和 RR 系数的 r_c 分别为 0. 719、0. 709、0. 708 和 0. 660。

2.3 遗传多样性分析

利用 Jaccard 遗传相似系数对桃品种间遗传相似度进行计算,建立 UPGMA 系统树(图1)。

20 对引物在 40 份桃种质上的 Jaccard 系数变幅为 0. 106~1.000,品种'晚湖景'和'红垂枝'的遗传相似系数最小,为 0. 106; '单粉'和'洒红'的遗传相似系数最大,为 1. 000。由图 1 可知,在相似系数为 0. 300 时,40 个桃品种分为了观赏桃品种和食用桃品种 2 个大类,两者表现出了明显的界限;各品种基本表现为同一类群品种聚在一起,仅个别品种发生类群间"跳跃",聚类结果与传统系谱基本一致。在相似系数为 0. 360 时,可将供试材料分为 6 组。第 I组包括 7 个水蜜桃品种;第 III 组为 3 个黄桃品种;第 III 组则包括 6 个油桃品种和 1 个蟠桃品种;第 IV 组包括 5 个硬肉桃品种,1 个黄桃品种和 1 个白桃品种,3 个来自日本的品种('红清水'、'千丸'

和'千姬')聚在了一起;第 V 组主要由 12 个直枝型观赏桃品种组成;第 VI 组则为 3 个垂直型观赏桃品种。

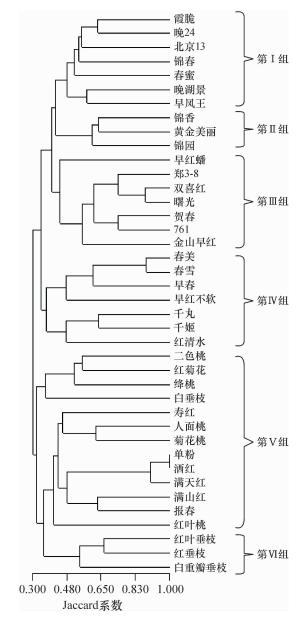


图 1 基于 Jaccard 系数的聚类分析

Fig. 1 Clustering analysis based on Jaccard coefficient

供试材料的 Nei's 基因多样性指数在种级水平和类群水平分别为 0.603 0 和 0.374 0。在类群水平上,直枝 桃品 种群的基因多样性指数最高,为 0.858 4,除仅包含 1 个品种的蟠桃类群(0.315 8)、白桃类群(0.236 8)和寿星桃类群(0.250 0)外,水蜜桃的基因多样性指数最低,为 0.369 7。水蜜桃的期望杂合度与观测杂合度也最低,分别为 0.398 7 和 0.310 7,均远低于种级水平的 0.611 0 和 0.405 0。Shannon's 信息指数与基因多样性指数呈正相关,类群的基因多样性指数越高,其 Shannon's 信息指数也越高(表 6)。

http://xuebao.scau.edu.cn

	12 0	地叫作题区多件压			ル 干	
Tab. 6	Genetic	diversity	levels	of	peach	cultivars

拟品种语传名样性水亚

分类水平	类群	观测杂合度	期望杂合度	Nei's 基因多样性指数	Shannon's 信息指数
类群水平	水蜜桃	0.3107	0.398 7	0.3697	0.622 2
	蟠桃	0.6316	0.6316	0.315 8	0.437 8
	黄桃	0.337 5	0.4464	0.390 6	0.6236
	油桃	0.4614	0.420 6	0.3849	0.6148
	硬肉桃	0.482 5	0.5190	0.4664	0.751 1
	白桃	0.473 7	0.473 7	0.236 8	0.328 3
	直枝桃	0.3864	0.523 2	0.4994	0.8584
	寿星桃	0.500 0	0.500 0	0.2500	0.346 6
	垂枝桃	0.404 2	0.5188	0.4524	0.735 0
	平均	0.443 0	0.492 0	0.374 0	0.591 0
种级水平		0.405 0	0.6110	0.603 0	1.041 0

3 讨论与结论

桃 EST-SSR 基序类型从单核苷酸到六核苷酸共159 种,其中二核苷酸重复序列占比最大,达36.43%,其最容易产生变异,相应的引物多态性也均较丰富。本试验中40个桃品种在20个 SSR 位点上共扩增出68个多态性条带,每对引物平均为3.4,与史红丽等[12]在47个桃品种上报道的3.4个相同,低于俞明亮等[13]在135份桃种质中平均每对引物扩增出5.68个多态性条带。这并不代表本试验中的引物多态性低,只实践证明了供试材料种质数量越大,遗传背景越丰富,越容易扩增出更丰富的条带。本试验20对引物PIC平均为0.54,且多态率均为100%,可见其多态性均较丰富。

Murguía 等^[14] 通过假定矩阵分析,指出 Jaccard 和 Dice 系数的分类拓扑结果和矩阵结构所产生结果均一致。本研究中 Dice 和 Jaccard 系数的相关系数为 0.990,且两者的系统树一致性指数为 1.000,但 Jaccard 系数的 r_c 高于 Dice 系数,表明二者的计算原理可能相似,但 Jaccard 系数的聚类结果与其相似性结构矩阵间的相关性高于 Dice 系数。Phi 和 SM 系数的聚类结果与原始遗传相似矩阵间的拟合度则次于 Dice 系数。RR 系数不适于 SSR 标记的数据分析,其 r_c 最低,且桃等位变异数量大,使基于 RR 系数的相似性结构矩阵中种质间遗传相似度明显降低。总体上,Jaccard 和 Dice 系数适合桃的 SSR 分析。

Nei's 基因多样性指数为评价种质遗传多样性的重要指标,程中平等^[15]于 2004 报道的桃基因多样性指数在种级水平上为 0.150,2007 年陈巍等^[16]和 2014 年魏姗姗等^[17]检测出的种级水平的桃基因

http://xuebao.scau.edu.cn

多样性指数分别为 0.224 和 0.565,本研究检测出种 级水平的基因多样性指数为 0.603, 可见近年来桃的 变异程度正逐步上升,种质之间的遗传交流大,桃整 体上创新种质丰富。垂枝桃与其他类群桃品种间的 亲缘关系较远,最先聚为1组,与程中平等[15]的各类 群聚类图结果相同,表明其变异程度较大,推测其可 能较直枝桃更为进化[18]。在本研究中,供试的9个 类群的遗传多样性,由于受资源圃材料所限,垂直桃 等取样较少,可能检测到较低的遗传多样性,但是水 蜜桃在供试类群中数量仅次于直枝桃,它的遗传多 样性却比样本数少的垂枝桃等的3个类群的遗传多 样性低,与程中平等[15]的研究结果相似,表明近年来 成都平原地区水蜜桃的遗传多样性保持在较低的水 平,可能是由于其主栽品种数量较少,需要加强种质 创新。第 IV 组中的'红清水'、'千丸'和'千姬'均 为日本品种,它们互为不同的类群的桃品种,在聚类 时表现出较近的亲缘关系,表明地理因素为影响种 质基因交流的主因[19]。进行种质分析时,可能出现 同物异名的现象[20],本研究中'单粉'与'洒红'于组 V中聚在了一起,且相似系数为1.000,前人的研究 中也存在无法将二者分开的情况,但'单粉'与'洒 红'的形态特征具有较明显差异,基本排除了同物异 名现象[20],表明这2个品种可能具有相同或相近的 亲本来源,同时也说明了开发并筛选验证桃可用 SSR 引物的重要性。

桃在我国种植范围广且栽培历史悠久,本试验中所用的桃品种遗传相似系数差异较大,表明了我国为桃的遗传多样性丰富地区,另一方面由于各桃品种遗传资源背景相对比较复杂,在对桃进行分类和亲缘关系鉴定等工作时,需要借助分子标记与传统形态标记来共同完成。目前,桃的可用 SSR 标记

数量较少, 蔷薇科其他物种的 SSR 标记数量也十分 有限, 因此在进行园艺植物种质创新的同时也需加强与其重要农艺性状相关分子标记的开发与筛选工作。

参考文献:

- [1] 李雄伟, 孟宪桥, 贾惠娟, 等. 桃品种特异性荧光 SSR 分子标记数据库构建[J]. 果树学报, 2013, 30(6): 924-932.
- [2] 汪祖华, 庄恩及. 中国果树志: 桃卷[M]. 北京: 中国 林业出版社, 2001; 86-89.
- [3] 郭瑞,李晓燕,王力荣,等. 桃 SRAP 体系的优化及与 SSR 在桃品种鉴定上的比较[J]. 华北农学报,2009,24(4):102-105.
- [4] 汪国平, 牛玉, 汪文毅, 等. 番茄 SSR 标记在茄子及其 他茄科作物上的通用性分析[J]. 华南农业大学学报, 2014, 35(4): 56-60.
- [5] VERDE I, ABBOTT A G, SCALABRIN S, et al. The high-quality draft genome of peach (*Prunus persica*) identifies unique patterns of genetic diversity, domestication and genome evolution [J]. Nat Genet, 2013, 45 (5): 487-494.
- [6] BOUHADIDA M, MORENO M Á, GONZALO M J, et al. Genetic variability of introduced and local Spanish peach cultivars determined by SSR markers[J]. Tree Genet Genomes, 2011, 7(2): 257-270.
- [7] 张佳俊, 许淑芳, 张学英, 等. 桃新品种'保佳红'亲 缘关系的 SSR 鉴定[J]. 分子植物育种, 2014, 12(4): 712-719.
- [8] 廖安红,杨鑫,陈红.贵州桃种质资源 ISSR 标记体系 建立及遗传多样性分析[J].分子植物育种,2015,13 (12);2773-2781.
- [9] 黄平,崔娇鹏,郑勇奇,等.基于月季微卫星标记的7个遗传相似系数比较[J].林业科学,2013,49(1):

68-76.

- [10] MANTEL N. The detection of disease clustering and a generalized regression approach [J]. Cancer Res, 1967, 27(2): 209-220.
- [11] SOKAL R R, ROHLF F J. Taxonomic congruence in the Leptopodomorpha re-examined [J]. Syst Zool, 1981, 30 (3): 309-325.
- [12] 史红丽, 韩明玉, 赵彩平. 桃遗传多样性的 SRAP 和 SSR 标记分析 [J]. 华北农学报, 2009, 24(6): 187-192.
- [13] 俞明亮,马瑞娟,沈志军,等.应用SSR标记进行部分 黄肉桃种质鉴定和亲缘关系分析[J].园艺学报, 2010,37(12):1909-1918.
- [14] MURGUÍA M, VILLASEÑOR J L. Estimating the effect of the similarity coefficient and the cluster algorithm on biogeographic classifications [J]. Ann Bot Fenn, 2003, 40 (6): 415-421.
- [15] 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.
- [16] 陈巍, 王力荣, 张绍铃, 等. 利用 SSR 研究不同国家桃 育成品种的遗传多样性[J], 果树学报, 2007, 24(5): 580-584.
- [17] 魏姗姗, 刘兴菊, 杨敏生, 等. 基于成熟期的桃品种遗传多样性 SSR 分析[J], 北方园艺, 2014(12): 88-93.
- [18] 陈霁, 马瑞娟, 沈志军, 等. 基于 SSR 标记的观赏桃亲 缘关系分析[J]. 果树学报, 2011, 28(4): 580-585.
- [19] 葛志刚, 俞明亮, 马瑞娟, 等. 蟠桃种质 SSR 标记的遗传多样性分析[J], 果树学报, 2009, 26(3): 300-305.
- [20] 陆苏瑀, 俞明亮, 马瑞娟, 等. 硬肉桃品种群 SSR 标记 的遗传多样性分析[J]. 植物遗传资源学报, 2010, 11 (3): 374-379.

【责任编辑 庄 延】