

中国新疆野苹果天然群体遗传多样性 SSR 分析

董 研, 张 军, 任亚超, 韩志校

(河北农业大学/林木种质资源与森林保护重点实验室, 保定 071000)

摘要:以新疆巩留、新源、霍城、托里 4 个居群下的 12 个新疆野苹果天然群体为材料, 应用涉及 12 个连锁群的 17 对 SSR 引物进行了群体微卫星位点等位基因和基因型差异分析, 从地理居群、海拔高度、引物类型角度对新疆野苹果天然群体遗传多样性和遗传结构进行了探索。结果表明: 17 对 SSR 引物在新疆野苹果中种内多态性位点百分率达 100%; XY1、HC2 群体的基因多样性较高。聚类结果显示, 同一居群下的群体分在相同的组中; 巩留居群与霍城居群的遗传关系最近, 新源居群次之, 托里居群最远。不同地区间遗传多样性, 霍城居群最高, 托里居群最低。海拔高度对群体遗传结构影响较小, 除了观测杂合度与海拔存在弱正相关外, 大多数遗传参数与海拔无正相关性。新疆野苹果群体内变异大于群体间, 群体间分化很小, 基因流较高。

关键词:新疆野苹果; 遗传多样性; SSR

Study on Genetic Diversity of Natural Population in *Malus sieversii* with Microsatellite

DONG Yan, ZHANG Jun, REN Ya-chao, HAN Zhi-xiao

(Agricultural University of Hebei/The Key Laboratory of Germplasm Resources of
Forest Trees and Forests Protection, Baoding 071000)

Abstract: In the study, 12 wild apples groups of Xinjiang were used which included the four populations of Xinjiang Gongliu, Xinyuan, Huocheng, and Tuoli as materials, involving in group microsatellite allele and genotype differences analysis of 12 linkage groups with 17 pairs of SSR primers, exploring genetic diversity and genetic structure of natural populations of Xinjiang wild apples from geographic populations, the altitude and the type of primer perspective. The results showed that the percentage of intraspecific polymorphic loci in Xinjiang wild apples with 17 pairs of SSR primers was up to 100%. And the genetic diversity of group XY1 and HC2 were higher. Clustering results showed that the groups of the same population were divided in the same group. The genetic relationships of the Gongliu population and the Huocheng population were nearest, the Xinyuan population was followed, the Tuoli population was the farthest. The Huocheng population was the highest, while the Tuoli population was the lowest on genetic diversity in the different regions. The impact on the population genetic structure of altitude was smaller, excepting between the observed heterozygosity and altitude there existed weak positive correlation, most genetic parameters had no positive correlation with altitude. The variation within Xinjiang wild apples populations was greater than among populations, the differentiation among populations was small, and the gene flow was higher.

Key words: *Malus sieversii*; genetic diversity; SSR

新疆野苹果 [*Malus sieversii* (Ledeb.) Roem.] 属于第三纪孑遗物种, 仅分布于中国新疆的伊犁和塔城地区, 是珍贵的种质资源, 长期的自然选择形成了许多变异, 例如果实形态、着色、风味, 植株高矮, 树

形等性状变异较多, 且环境适应能力强, 具有抗寒性强、耐虫、耐病、耐旱等优良性状, 能够为果树生产和遗传育种提供大量的抗逆性强的种苗和基因资源, 并在栽培苹果的起源演化中占有重要地位。近年

收稿日期: 2012-12-25 修回日期: 2013-05-09 网络出版日期: 2013-08-09

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20130809.1448.031.html>

基金项目: 林业公益性行业科研专项(201104039); 河北农业大学青年科学基金

第一作者主要从事林木遗传育种研究。E-mail: dy_rigid@126.com

来,由于各种原因,其分布面积急剧减少,有效保护新疆野果林,保护新疆野苹果的遗传多样性已迫在眉睫。

关于野苹果的研究已有一些报道。例如,2009年 C. M. Richards 等^[1]对来自哈萨克斯坦,8个采样点中,88个半同胞家系的949野苹果个体进行了遗传多样性分析。2007年 C. Y. Zhang 等^[2]对新疆野苹果4个居群的109个个体进行了遗传多样性分析。均表明野苹果具有丰富的遗传多样性。另外,在新疆野苹果同工酶分析^[3]、抗寒性评价^[4]等方面均有报道。

由于新疆野苹果的分布面积较大,同一居群内的环境因子亦有较大差别,这就要求在分布面积广的居群内进行多个群体的采集,才能较为全面地评价其遗传多样性。前人的研究中,普遍存在取样群体少,样本量不足,引物数量少、代表性较差等缺陷。为更加全面、准确弄清新疆野苹果群体遗传多样性和遗传结构,本研究从新疆野苹果集中分布的4个

地点收集了12个群体为材料,应用涉及12个连锁群的17对SSR引物进行了群体微卫星位点等位基因和基因型差异分析,从地理居群、海拔高度、引物类型角度对新疆野苹果天然群体遗传多样性和遗传结构进行了探索,为新疆野苹果的保护、合理开发利用、科学研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 植物材料

用于SSR分析的新疆野苹果天然群体共有12个,其中新疆伊犁地区巩留县不同海拔高度群体为7个(GL1~GL7)、新源县2个(XY1、XY2)、霍城县2个(HC1、HC2)、塔城地区托里县1个(TL)。每个群体中分别取30株左右的个体采样,收集材料为叶片,个体之间距离大于30m,选择生长正常、无明显缺陷、在群体中处于亚优势地位、未发现病虫害的个体。叶片采集后利用硅胶干燥,实验室低温保存备用^[5-6]。详细采样数量及采样地情况见表1。

表1 新疆野苹果天然群体采样地地理位置

Table 1 Sampled site geographical position of natural populations in *Malus sieversii* (Lebed.) Roem.

编号 No.	群体 Population	经度(E) Longitude	纬度(N) Latitude	海拔(m) Altitude	地形 Terrain	采样个体数 Sample size
1	巩留(GL1)	82°49'23"	43°15'20.9"	1189	河床	28
2	巩留(GL2)	82°43'14.6"	43°13'6.2"	1242	半阴坡	30
3	巩留(GL3)	82°45'16.9"	43°13'23"	1299	阴坡	30
4	巩留(GL4)	82°46'13"	43°14'3.1"	1327	阴坡	30
5	巩留(GL5)	82°51'37.2"	43°15'44.4"	1338	平地	31
6	巩留(GL6)	82°46'56.9"	43°12'6.5"	1419	阴坡	30
7	巩留(GL7)	82°42'59.4"	43°11'35.7"	1674	半阴坡	30
8	新源(XY1)	83°35'7.1"	43°22'38.1"	1370	阴坡	30
9	新源(XY2)	83°36'52.4"	43°22'34.2"	1448	阴坡	30
10	霍城(HC1)	80°48'24.4"	44°27'52.1"	1401	阴坡	30
11	霍城(HC2)	80°59'51.5"	44°22'28.0"	1320	阴坡	30
12	托里(TL)	83°20'1.4"	45°59'7.9"	1366	阴坡	30

括号中的字母、数字为相应群体名称的缩写

Letters and digital in bracket are abbreviation of corresponding population names

1.2 试验方法

1.2.1 DNA提取 在新疆野苹果的叶片中含有较多的酚类和多糖等物质,用常规的CTAB法得到的DNA质量达不到进一步试验的要求,因此在CTAB法基础上略作改进,先破碎组织与细胞,通过溶解与离心除去细胞中影响总DNA质量的可溶性物质,收

集细胞后,再进行进一步的裂解、分离^[7-9]。

1.2.2 SSR标记分析 SSR引物来自文献^[10-11]及相关引物查询网站(<http://www.hidras.unimi.it>),从苹果基因组17个连锁群上共挑选30对SSR引物,经过筛选,最终确定17对多态性高、谱带清晰、重复性好的SSR引物(表2)。

表 2 17 对苹果 SSR 引物信息

Table 2 Messages of 17 SSR primers in *Malus sieversii*

编号 No.	名称 SSR name	引物序列 Primer sequences (F and R)	重复类型 Repeat type	等位基因范围(bp) Allele range	标记类型 Type of marker	连锁群 LG
P182	MS14h03	CGCTCACCTCGTAGACGT ATGCAATGGCTAAGCATA	Perfect	114 ~ 140	Single locus	3
P184	CH02h11a	CGTGGCATGCCTATCATTTG CTGTTTGAACCGCTTCCTTC	Perfect	104 ~ 132	Single locus	4
P188	CH03d07	CAAATCAATGCAAACTGTCA GGCTTCTGGCCATGATTTTA	Perfect	186 ~ 226	Single locus	6
P195	CH05d04	ACTTGTGAGCCGTGAGAGGT TCCGAAGGTATGCTTCGATT	Perfect	174 ~ 214	Single locus	12
P199	CH01d08	CTCCGCCGTATAACACTTC TACTCTGGAGGGTATGTCAAAG	Perfect	238 ~ 290	Single locus	15
P201	CH04f10	GTAATGGAAATACAGTTTCACAA TTAAATGCTTGGTGTGTTTTGC	Perfect	144 ~ 254	Single locus	16
P288	Hi02c07	AGAGCTACGGGGATCCAAAT GTTTAAGCATCCCGATTGAAAGG	Perfect	108 ~ 150	Presumed multilocus	1
P290	Hi03a10	GGACCTGCTTCCCCTTATTC GTTTCAGGGAACCTGTTTGATGG	Imperfect	206 ~ 290	Single locus	7
P292	AJ320188SSR	AACGATGCTTGTAGGAAGAACA GCTTAACAGAAACATCGCTGA	Perfect	191 ~ 245	Single locus	9
P296	Hi02d04	TGCTGAGTTGGCTAGAAGAGC GTTTAAGTTCGCCAACATCGTCTC	Perfect	224 ~ 250	Single locus	10
P300	Hi08h12	GAAGGAAATCATCATCAAGACG GTTTCAAGACCATGGAACAACCTTGG	Perfect	151 ~ 203	Presumed multilocus	10
P302	Hi21f08	GAGAAAACGCAGAAGCATTG AGTAATGATTTTCATCGCGAGTC	Perfect	234 ~ 282	Presumed multilocus	10
P306	CN496913SSR	TGCCTTTGAGAATCGAAATG TGTTTGTCAATTTCTTGGAACCTC	Perfect	236 ~ 278	Single locus	12
P308	Hi04g05	CTGAAACAGGAAACCAATGC GTTTTCGTAGAAGCATGTTGCAG	Perfect	190 ~ 258	Presumed multilocus	13
P316	Hi07h02	CAAATTTGGCAACTGGGTCTG GTTTAGGTGGAGGTGAAGGGATG	Perfect	246 ~ 276	Single locus	17
P318	AJ001681SSR	CCTGAGGTTATTGACCCAAAA CACTCAGTTGGAAAACCCCTACA	Perfect	169 ~ 195	Single locus	17
P320	CH02g04	TTTTACCTTTTTACGTACTTGAGCG AGGCAAAACTCTGCAAGTCC	Compound	132 ~ 197	Single locus	17

PCR 反应体系参照已有的文献[10,12],并进行一定的优化改良。具体的 PCR 反应体系:1.1 μL 10 \times PCR buffer (15 mmol/L Mg^{2+}), 0.8 μL dNTP (2.5 mmol/L), 0.5 μL forward primer (10 mmol/L), 0.5 μL reverse primer (10 mmol/L), 4 μL DNA template (5 ng/ μL), 3 μL ddH₂O, 0.1 μL *Taq* enzyme (5 U/ μL), 共 10 μL 。

PCR 反应程序参考已有的文献[11,13],略有改动,具体的程序:95 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 94 $^{\circ}\text{C}$ 4 min, 4 个

循环(94 $^{\circ}\text{C}$ 50 s, 65 $^{\circ}\text{C}$ 55 s(每个循环减 1 $^{\circ}\text{C}$), 72 $^{\circ}\text{C}$ 60 s), 30 个循环(94 $^{\circ}\text{C}$ 50 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 55s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 60s), 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 5 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保温。17 对 SSR 引物的退火温度均为 60 $^{\circ}\text{C}$ 。

PCR 反应结束后,取扩增产物 1 μL 与适量 6 \times loading buffer 混合,在 10% 非变性聚丙烯酰胺凝胶上进行电泳,稳压 200 V,当溴酚蓝指示剂移动到距胶底部 1 cm 处时停止电泳,剥胶并通过银染法染色显示条带。采用的 Marker 为 TaKaRa 公司生产的

20 bp DNA Ladder Marker。

1.3 数据统计及遗传参数计算

采用 C. Lian 等^[13]的方法进行电泳图谱的判读,统计基因型数据。按照王中仁^[14]的方法计算各种群体遗传学参数与遗传多样性指标。各种参数计算在群体遗传学计算软件 POPGENE1.32 中完成。遗传学参数包括:等位基因频率(q)、每个位点的等位基因数(A)、每个位点的有效等位基因数(A_e)、Shannon's 信息指数(I_m)、平均期望杂合度(H_e)、实际杂合度(H_o)、固定指数(F)、总群体基因多样性(H_T)、亚群体内的基因多样性(H_S)以

及各亚群体之间的基因多样性(D_{ST})、基因分化系数(G_{ST})、基因流(N_m)、遗传一致度(I)、遗传距离(D)等。

2 结果与分析

2.1 新疆野苹果群体间的遗传多样性分析

17 对 SSR 引物在新疆野苹果 12 个群体 359 个个体的基因组中共得到 93 条清晰稳定的电泳条带,每对引物的条带数在 3~9 之间,平均每对引物包括 5.47 个条带,种内多态性位点百分率达 100%。部分电泳图谱见图 1。

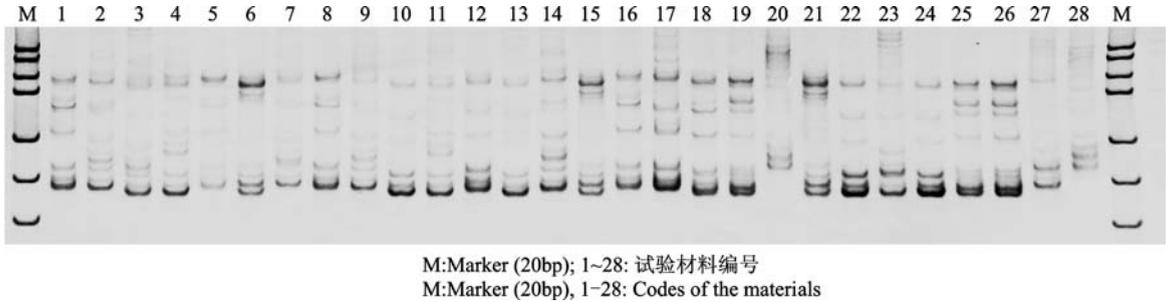


图 1 P201 引物对新疆野苹果 GL5 群体扩增的 SSR 图谱

Fig. 1 SSR profile amplified by primer P201 on GL5 populations in *Malus sieversii* (Lebed.) Roem.

新疆野苹果各个群体之间的遗传多样性参数见表 3,由表 3 可以看出遗传多样性在各群体间存在一定差异。12 个群体中,多态性带数比例(P)XY1 最高,HC2 次之,XY2、HC1 最小,同为 79.57%。观测等位基因数(A)的变化幅度为 4.2941~5.0000,其中最大的为 XY1,HC2 次之,最小的为 TL 群体。有效等位基因数(A_e)与观测等位基因数(A)的变化趋势基本保持一致, A_e 的变异幅度为 2.6886~3.3990,最高为 HC2,最低为 TL。观测杂合度(H_o)最高的群

体为 GL3,最低的群体为 XY2。预期杂合度(H_e)最高的群体为 XY1,HC2 次之,最低的群体为 GL6。固定指数(F)在所有群体中的平均值都为正值,说明所有群体中纯合子的数量比较大,平均固定指数(F)最大的群体为 GL2,最小为 GL3。12 个新疆野苹果群体的 Shannon's 信息指数(I_m)差异不大,大部分在 1.1 左右, I_m 值最大的群体为 XY1,HC2 次之,最小的为 XY2,说明 HC2、XY1 两个群体的基因多样性比较高。

表 3 新疆野苹果群体内的 SSR 遗传多样性参数

Table 3 The parameters of genetic diversity on SSR locus in populations of *Malus sieversii* (Lebed.) Roem.

群体 Population	多态性带数 比例(%) P	观测等位基因数 A	有效等位基因数 A_e	观测杂合度 H_o	预期杂合度 H_e	Shannon's 信息 指数 I_m	固定指数 F
GL1	81.72	4.4706 ± 1.4628	2.8769 ± 1.1825	0.4292 ± 0.2174	0.6076 ± 0.1705	1.1063 ± 0.3866	0.2676 ± 0.2948
GL2	82.80	4.5294 ± 1.5858	2.9048 ± 1.3820	0.3613 ± 0.2409	0.5979 ± 0.1756	1.1282 ± 0.4097	0.3922 ± 0.3287
GL3	83.87	4.5882 ± 1.6225	2.7567 ± 1.0755	0.4608 ± 0.2132	0.5920 ± 0.1676	1.1035 ± 0.3800	0.1877 ± 0.3563
GL4	84.95	4.6471 ± 1.5788	2.8338 ± 1.0532	0.4288 ± 0.2183	0.6080 ± 0.1550	1.1361 ± 0.3579	0.2842 ± 0.3068
GL5	84.95	4.6471 ± 1.7657	2.9213 ± 0.9674	0.4051 ± 0.1914	0.6248 ± 0.1490	1.1627 ± 0.3757	0.3259 ± 0.2965
GL6	84.95	4.6471 ± 1.4116	2.7344 ± 1.0845	0.4497 ± 0.2318	0.5850 ± 0.1717	1.1072 ± 0.3709	0.2360 ± 0.3116
GL7	81.72	4.4706 ± 1.5459	2.8887 ± 1.3014	0.4588 ± 0.1830	0.6041 ± 0.1576	1.1213 ± 0.3956	0.2048 ± 0.2868
XY1	91.40	5.0000 ± 1.1726	3.1630 ± 0.8869	0.3941 ± 0.1197	0.6691 ± 0.1037	1.2856 ± 0.2672	0.3836 ± 0.2313
XY2	79.57	4.4118 ± 1.3720	2.7199 ± 1.1272	0.3588 ± 0.1681	0.5880 ± 0.1571	1.0819 ± 0.3460	0.3395 ± 0.3303
HC1	79.57	4.3529 ± 1.2719	2.8883 ± 1.0550	0.3843 ± 0.1390	0.6135 ± 0.1629	1.1364 ± 0.3605	0.3540 ± 0.2187
HC2	88.17	4.8235 ± 1.7405	3.3990 ± 1.5804	0.4387 ± 0.1726	0.6558 ± 0.1615	1.2554 ± 0.4081	0.3006 ± 0.2404
TL	78.49	4.2941 ± 1.7594	2.6886 ± 0.8960	0.4209 ± 0.2317	0.5931 ± 0.1547	1.0626 ± 0.3396	0.2596 ± 0.3911
平均 Mean	83.51	4.5735	2.8980	0.4159	0.6116	1.1406	0.2946
种内水平	100	5 ± 1.5858	3.1980 ± 1.2790	0.4157 ± 0.1443	0.6358 ± 0.1506	1.2539 ± 0.3795	0.3297 ± 0.2081

2.2 各群体之间的聚类分析

根据各个群体间的 Nei's 遗传距离,利用非加权算术平均聚类法(UPGMA)对 12 个新疆野苹果群体进行聚类分析(图 2),从树状图可以看出,以无偏遗传距离 0.12 为阈值,可以分为 2 大类,塔城地区的托里(TL)群体和伊犁地区的 11 个群体,与地理分布吻合。以无偏遗传距离 0.075 为阈值,可以将 12 个新疆野苹果天然群体分成 4 大类,第 1 大类包括 GL1、GL2、GL3、GL4、GL5、GL6、GL7(巩留群体);第 2 大类包括 HC1、HC2(霍城群体);第 3 大类包括 XY1、XY2(新源群体);第 4 大类包括 TL(托里群体)。结果显示,来自同一地区的群体聚在一起,与地理分布格局完全吻合,从而说明,不同地区间的新疆野苹果群体在遗传构成上有一定差异。

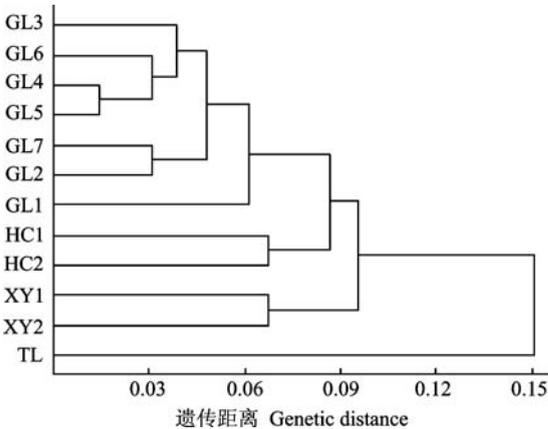


图 2 12 个新疆野苹果群体基于 Nei's 遗传距离的聚类图

Fig. 2 The cluster graph based on Nei's unbiased genetic distance in 12 populations of *Malus sieversii* (Lebed.) Roem.

2.3 不同居群间遗传多样性分析

新疆野苹果 12 个天然群体来自 4 个居群,分别为巩留居群(GL)、新源居群(XY)、霍城居群(HC)和托里居群(TL),4 个居群的遗传多样性参数列于表 4。从表 4 可以看出,观测等位基因数(A)最大的为 XY 居群,最小的为 TL 居群。有效等位基因数(A_e)的顺序为 HC 居群 > GL 居群 > XY 居群 > TL 居群。Shannon's 信息指数(I_m)最大的为 HC 居群,XY 居群(1.2432)次之,最小的为 TL 居群。GL 居群的观测杂合度(H_o)最高,XY 居群最低。预期杂合度(H_e)最高的为 HC 居群,XY 居群、GL 居群次之,TL 居群最低。综合以上各个居群的遗传多样参数可知,遗传多样性高低顺序为 HC 居群 > XY 居群 > GL 居群 > TL 居群。

表 4 4 个居群间遗传多样性参数分析

Table 4 Parameter analysis of genetic diversity of four populations

遗传参数 Genetic parameters	居群 Populations			
	巩留 GL	新源 XY	霍城 HC	托里 TL
样本数 Sample size	415	120	120	60
观测等位 基因数 A	5.1765 (1.6672)	5.2941 (1.3585)	5.0000 (1.7321)	4.2941 (1.7594)
有效等位 基因数 A_e	3.0238 (1.2588)	3.0134 (1.0083)	3.3113 (1.4449)	2.6886 (0.8960)
Shannon's 信息指数 I_m	1.1918 (0.3947)	1.2432 (0.2986)	1.2466 (0.4073)	1.0626 (0.3396)
观测杂合 度 H_o	0.4275 (0.1846)	0.3765 (0.1273)	0.4115 (0.1426)	0.4209 (0.2317)
预期杂合 度 H_e	0.6134 (0.1608)	0.6388 (0.1196)	0.6440 (0.1622)	0.5931 (0.1547)

括号内数字为标准差 Datas in the brackets are the standard deviation

2.4 不同海拔高度间遗传多样性的相关分析

巩留居群中 7 个不同海拔高度群体的遗传参数与海拔的相关系数列于表 5,从表 5 可以得出,多态性带数比例(P)、观测等位基因数(A)、预期杂合度(H_e)等遗传参数与海拔高度无正相关关系。观测杂合度(H_o)与海拔的相关系数为 0.5097,存在弱正相关性。说明由于地理距离较近,不同海拔群体间花粉和种子传播频繁,导致基因交流较为通畅,群体间遗传多样性差异小,没有形成规律性变异模式。

表 5 海拔与遗传参数间相关系数

Table 5 Correlation coefficient between the elevation and the genetic parameters

	多态性 带数比 例 P	观测等 位基因 数 A	有效等 位基因 数 A_e	观测杂 合度 H_o	预期杂 合度 H_e	Shannon's 信息 指数 I_m	固定 指数 F
海拔 Elevation	-0.1322	-0.1320	-0.0176	0.5097	-0.0722	0.0338	-0.4897

2.5 基因位点多样性及遗传结构分析

由表 6 可以看出,各个位点的 H_T 、 H_S 、 D_{ST} 及 G_{ST} 等参数各不相同,总的基因多样性(H_T)的平均值为 0.6349,变化幅度为 0.2650(位点 P-300) ~ 0.8241(位点 P-306)。亚群体内基因多样性(H_S)与总群体基因多样性(H_T)的变化趋势一致,其平均值为 0.6013,其变化幅度为 0.2558(位点 P-300) ~ 0.7789(位点 P-306)。由于 H_T 与 H_S 之间的差值小,

所以造成所有位点的群体间的基因多样性(D_{ST})很低(均值为0.0336),进一步导致各个位点的基因分化系数(G_{ST})很低,其平均值为0.0519,说明在总的遗传变异中,只有5.19%的变异存在于群体间,而94.81%的变异存在于群体内,即群体内的变异大于群体间,群体间分化很小,基因流(N_m)较高,均值为4.9888。

表6 群体间的17个SSR位点的遗传多样性统计参数

Table 6 The parameters of statistics on 17 SSR sites among populations

位点 Locus	总基因 多样性 H_T	群体内基 因多样性 H_S	群体间基 因多样性 D_{ST}	遗传分 化系数 G_{ST}	基因流 N_m
P-182	0.6409	0.6189	0.0220	0.0344	7.0245
P-184	0.6827	0.6264	0.0562	0.0824	2.7850
P-188	0.7864	0.7488	0.0376	0.0478	4.9804
P-195	0.7909	0.7640	0.0269	0.0340	7.1091
P-199	0.7550	0.7050	0.0500	0.0662	3.5258
P-201	0.8010	0.7400	0.0610	0.0761	3.0354
P-288	0.5431	0.5075	0.0355	0.0655	3.5694
P-290	0.5971	0.5663	0.0308	0.0515	4.6003
P-292	0.4759	0.4586	0.0173	0.0364	6.6162
P-296	0.4994	0.4720	0.0275	0.0550	4.2957
P-300	0.2650	0.2558	0.0092	0.0347	6.9636
P-302	0.5242	0.5066	0.0176	0.0336	7.2012
P-306	0.8241	0.7789	0.0452	0.0548	4.3110
P-308	0.6863	0.6518	0.0345	0.0503	4.7182
P-316	0.6784	0.6524	0.0260	0.0384	6.2646
P-318	0.7383	0.6983	0.0400	0.0542	4.3603
P-320	0.5050	0.4709	0.0341	0.0676	3.4484
平均值 Mean	0.6349	0.6013	0.0336	0.0519	4.9888

3 讨论

群体的遗传结构是指遗传多样性在群体内和群体间的分布,即遗传分化。群体的遗传结构受自然选择、基因流动、基因突变及遗传漂变等多种因素影响,同时还与物种的进化历史、分类地位、生活习性、交配系统、种子扩散机制、地理分布区、演替阶段、物候、各种不亲和机制和环境等有关^[15-17]。本研究中新疆野苹果群体遗传分化系数(G_{ST})为0.0519,说明群体间遗传分化中等,即群体间的变异占总变异的5.19%,群体内的变异显著高于群体间。2009年C. M. Richards等^[1]研究显示,不同地点间野苹果的 F_{ST} = 0.052,由于所有位点的 F_{ST} 加权平均值等于 G_{ST} ^[18],与本研究结果吻合。2007年C. Y. Zhang等^[2]研究表明,野苹果的遗传分化系数(G_{ST})为0.064,与

本研究差异不大;1996年W. F. Lamboy等^[3]对新疆野苹果进行等位酶研究显示,遗传分化系数(G_{ST})为0.15,显著高于本研究;2008年G. R. Yan等^[19]利用RAPD标记研究新疆野苹果群体变异,发现其群体间遗传变异占其总变异的16.9%,也显著高于本研究。但是总的趋势都是野苹果的变异主要存在于群体内,而不是群体间。有相关报道表明,不同分子标记在群体间的遗传分化系数不同^[20-21]。

基因流(N_m)是根据遗传分化系数推算得到的, N_m 越大, G_{ST} 就越小,与 G_{ST} 呈反比^[22]。M. Slatkin^[23-24]认为群体的基因流动可以用群体的迁移系数来度量,如果 $N_m > 1$ 则表明存在较大程度的基因流动,使各基因在不同的居群间能较广泛的分布,在一定程度上减弱了遗传漂变的作用,防止了种群分化;如果 $N_m < 1$,表明居群间的基因交流较少,遗传漂变就会成为影响群体遗传结构的主要因素。本研究表明基因流(N_m)为4.9888,说明野苹果群体间存在较为广泛的基因交流。基因流动对于植物的迁移及其进化有着重要的作用。对于种子植物来说,基因流动主要为花粉或种子携带外来基因这两种形式产生的^[25]。新疆野苹果属于异花授粉,基因流动的实现主要有以下3个途径:(1)昆虫在不同植株间的花粉传播;(2)鸟兽辅助种子传播^[26];(3)花粉风传播。

本研究利用12个新疆野苹果群体间的Nei's遗传距离,用非加权算术平均聚类法(UPGMA)进行聚类分析,结果显示,巩留的7个群体首先聚类在一起,然后与分布在霍城的2个群体聚类在一起,再与在新源采集的2个群体聚类在一起,最后与托里群体聚合,各个群体间严格按照地理位置聚在一起。说明巩留群体与霍城群体的遗传关系最近,分布在新源的群体次之,而分布在托里的群体最远。其中巩留、新源、霍城群体同处于天山的伊犁河谷中,地理位置较近,几乎没有天然阻隔,不同群体间的基因交流比较频繁,从而导致了巩留、新源、霍城3个群体间的遗传关系较近。托里群体地处塔城巴尔鲁克山地区,介于天山山脉与阿尔泰山山脉之间,由于距离和天山的阻隔,使得托里群体与其他3个区域群体间的基因交流较少,遗传关系较远。巩留的7个群体来自不同海拔高度,研究结果显示,由于地理距离较近,再加上从花序出现到花完全凋落的历期较长,而不同海拔间花期又较接近,造成了不同海拔间花期可以重合;花粉活力较高^[27],使基因交流通畅,群体间遗传多样性差异小,没有形成规律性变异模式。

参考文献

- [1] Richards C M, Volk G M, Reilley A A, et al. Genetic diversity and population structure in *Malus sieversii*, a wild progenitor species of domesticated apple[J]. Tree Genet Genomes, 2009, 5: 339-347
- [2] Zhang C Y, Chen X S, He T M, et al. Genetic structure of *Malus sieversii* population from Xinjiang, China, revealed by SSR markers[J]. J Genet Genomics, 2007, 34(10): 947-955
- [3] Lamboy W F, Yu J, Forsline P L, et al. Partitioning of allozyme diversity in wild populations of *Malus sieversii* L. and implications for germplasm collection[J]. J Am Soc Hortic Sci, 1996, 121: 982-987
- [4] 张军, 杨敏生, 张钢, 等. 新疆野苹果天然群体抗寒性的电阻抗图谱分析[J]. 林业科学, 2011, 47(4): 20-26
- [5] Chase M W, Hills H H. Silica gel: An ideal material for field preservation of leaf samples for DNA studies[J]. Taxon, 1991, 40: 215-220
- [6] Xie Z W, Ge S, Hong D Y. Preparation of DNA from silica gel dried mini-amount of leaves of *Oryza rufipogon* for RAPD study and total DNA bank construction[J]. Acta Bot Sin, 1999, 41(8): 807-812
- [7] Doyle J J, Doyle J L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue[J]. Phytochem Bull, 1987, 19: 11-15
- [8] 潘晓华, 黄儒珠, 朱锦懋. 樟树 DNA 提取技术的研究[J]. 福建林业科技, 2004(1): 33-35, 43
- [9] 王经源, 郭明亮, 林文雄, 等. 高多糖含量植物——莲 DNA 的提取方法[J]. 福建稻麦科技, 2004(1): 9-10
- [10] Silfverberg-Dilworth E, Matasci C L, Van de Weg W E, et al. Microsatellite markers spanning the apple (*Malus × domestica* Borkh.) genome[J]. Tree Genet Genomes, 2006, 2: 202-224
- [11] Liebhard R, Gianfranceschi L, Koller B, et al. Development and characterization of 140 new microsatellites in apple (*Malus × domestica* Borkh.) [J]. Mol Breeding, 2002, 10: 217-241
- [12] 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
- [13] Lian C, Hogetsu T. Development of microsatellite markers in black locust (*Robinia pseudoacacia*) using a dual-suppression-PCR technique [J]. Mol Ecol Notes, 2002, 2: 211-213
- [14] 王中仁. 植物等位酶分析[M]. 北京: 科学出版社, 1996
- [15] Forcioli D. Distribution of chloroplast DNA diversity within and among populations inferred from AFLP markers [J]. Mol Ecol, 1998, 7: 975-982
- [16] Owuor E D, Fahima T, Beiles A, et al. Population genetic response to microsite ecological stress in wild barley, *Hordium spontaneum* [J]. Mol Ecol, 1997, 6: 1177-1187
- [17] Bauert M R, Kalin M, Baltisberger M, et al. No genetic variation detected within isolated relict populations of *Saxifraga cernua* in the Alps using RAPD markers [J]. Mol Ecol, 1998, 7: 1519-1527
- [18] 周世良, 张方, 王中仁. 等位酶淀粉凝胶电泳技术中的几个应引起重视的问题[J]. 植物学报, 1998, 15(5): 68-72
- [19] Yan G R, Long H, Song W Q, et al. Genetic polymorphism of *Malus sieversii* populations in Xinjiang, China [J]. Genet Resour Crop Ev, 2008, 55(1): 171-181
- [20] Maguire T L, Peakall R, Saenger P. Comparative analysis of genetic diversity in the mangrove species *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. (Avicenniaceae) detected by AFLPs and SSRs [J]. Theor Appl Genet, 2002, 104: 388-398
- [21] Freville H, Justy F, Olivier I. Comparative allozyme and microsatellite population structure in a narrow endemic plant species, *Centaurea corymbosa* Pourret (Asteraceae) [J]. Mol Ecol, 2001, 10: 879-889
- [22] Grant V. The evolutionary process: a critical study of evolutionary theory [M]. New York: CUP, 1991
- [23] Slatkin M. Rare alleles as indicators of gene flow [J]. Evolution, 1985, 39(1): 53-65
- [24] Slatkin M. Gene flow and the geographic structure of natural populations [J]. Science, 1987, 236: 787-792
- [25] Hamrick J L. Gene flow distribution of genetic variation in plant populations [C] // Urbanska K. Differentiation patterns in higher plants. New York: Academ Press, 1987: 53-57
- [26] Harris S A, Robinson J P, Juniper B E. Genetic clues to the origin of the apple [J]. Trends Genet, 2002, 18: 426-430
- [27] 刘璐, 梁凤丽, 刘萍, 等. 新疆野苹果传粉生物学的初步研究 [J]. 新疆农业大学学报, 2008, 31(6): 26-30

欢迎订阅 2014 年《植物科学学报》

《植物科学学报》是中国科学院主管、中国科学院武汉植物园主办,国内外公开发行的植物学综合性学术期刊,主要刊载植物学及各分支学科的原始研究论文。

栏目设置:特邀综述、系统与进化、生态与生物地理、遗传与育种、生理与发育、资源与植物化学、技术与方法、研究快报、学术讨论、重要书刊评介和学术动态等。

读者对象:科研院所和高等院校从事植物科学研究的科研人员、教师和研究生,以及相关学科、交叉学科的科技工作者。

本刊为中国自然科学核心期刊,已被中国科学引文数据库核心库、《中文核心期刊要目总览》等二十多种国内外检索期刊、数据库作为核心期刊或统计源期刊收录。本刊曾相继获全国优秀科技期刊奖、中国科学院优秀期刊奖、湖北省优秀期刊奖。

本刊已开通了网站和远程稿件管理系统,目前所有过刊及现刊已全部上网。

双月刊,大 16 开,国内定价 50 元,全年 300 元。邮发代号 38 - 103(国内) BM872(国外),刊号 CN 42 - 1817/Q ISSN 2095 - 0837

全国各地邮局均可订阅或直接与本刊编辑部联系订阅(免收邮挂费)。

地址:(430074)武汉市武昌磨山 中科院武汉植物园内《植物科学学报》编辑部

电话:027 - 87510755。

E-mail: editor@wbpcas.cn, zwkxjb@wbpcas.cn;

网址: <http://www.plantscience.cn>