

•研究报告•

新疆准噶尔山楂不同居群的遗传多样性

盛芳¹ 陈淑英² 田嘉^{1*} 李鹏¹ 秦雪¹ 罗淑萍¹ 李疆^{1*}¹ (新疆农业大学, 乌鲁木齐 830052)² (新疆伊犁州林业科学研究院, 新疆伊宁 835000)

摘要: 为了揭示新疆准噶尔山楂(*Crataegus songorica*)不同居群的遗传多样性, 为其合理保护与利用提供科学依据, 采用表型性状变异分析和SSR分子标记相结合的方法, 对新疆霍城大西沟准噶尔山楂的5个不同居群的92个个体进行遗传多样性分析。结果表明: (1) 33个表型性状的变异系数在2.96–71.32%之间, 表型性状之间存在着丰富的变异。居群间的平均表型分化系数为13.90%, 而居群内的平均表型分化系数为86.10%, 表明新疆准噶尔山楂居群内的变异是其表型变异的主要来源。(2) 43对SSR引物共检测到739个位点, 物种水平上多态性位点比率为90.53%, Nei's多样性指数和Shannon多样性指数(H')分别为0.2377和0.3712, 居群内基因多样性(H_s)为0.1635, 总居群基因多样性(H_t)为0.2023, 居群间遗传分化系数(G_{st})为0.1916, 基因流(N_m)为2.1116。新疆准噶尔山楂总的遗传多样性水平较高, 居群间遗传分化较小。UPGMA聚类结果显示5个居群形成2个亚类, 不同居群所处的生境的不同是引起居群间差异的主要原因。研究表明, 新疆准噶尔山楂不同居群在表型和分子水平均具有较高的遗传多样性, 居群内的遗传分化较大, 并且分化趋势具有地域性, 因此可以选择就地保护。

关键词: *Crataegus songorica*; SSR; 表型性状; 遗传变异

Genetic diversity of *Crataegus songorica* in Xinjiang

Fang Sheng¹, Shuying Chen², Jia Tian^{1*}, Peng Li¹, Xue Qin¹, Shuping Luo¹, Jiang Li^{1*}¹ Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052² Academy of Forestry in Ili, Yining, Xinjiang 835000

Abstract: The aim of this study is to reveal the genetic diversity of different populations of *Crataegus songorica* and to provide a scientific basis for its protection and sustainable utilization. The experimental materials included 92 samples, which were selected from Daxigou, Huocheng County in Xinjiang and analyzed by combining the analysis of phenotypic trait variation and the SSR marker. Results showed that there was considerable genetic variation in the phenotypic traits of different *C. songorica* populations, as the variation coefficient varied from 2.96% to 71.32%, and the phenotypic variation was mainly caused by the variation within population, as the mean phenotypic differentiation coefficient was 13.90% among populations and 86.10% within population. A total of 739 loci were detected from five populations by 43 SSR primers, and the polymorphism loci ratio was 90.53% at the species level. Nei's diversity index, Shannon's diversity index (H'), the gene diversity within population (H_s), the total population genetic diversity (H_t), genetic differentiation coefficient and gene flow were 0.2377, 0.3712, 0.1635, 0.2023, 0.1916 and 2.1116, respectively. Comprehensive analysis suggested that the total genetic diversity of *C. songorica* was higher in Daxigou, and the genetic differentiation among populations was smaller. The results of UPGMA clustering showed that five populations formed two sub-types, and the differences in different habitats were the main causes of the discrepancy among populations. We conclude that the genetic diversity of *C. songorica* of different populations was high both at phenotypic and molecular levels in Daxigou, and there was a visible genetic differentiation within population, moreover differentiation trends had regional characteristics. Therefore, *in situ* conservation is supposed to be an effective method to protect *C. songorica*.

收稿日期: 2016-12-27; 接受日期: 2017-03-20

基金项目: 国家林业公益性行业科研专项课题(201304701-1)和新疆维吾尔自治区园艺学重点学科基金(2016-10758-3)

* 共同通讯作者 Co-authors for correspondence. E-mail: lijiaangxj@163.com; terrisay@163.com

Key words: *Crataegus songorica*; SSR; phenotypic traits; genetic diversity

山楂是蔷薇科山楂属(*Crataegus*)落叶乔木, 在北半球广泛分布, 其中北美种类最多(赵焕淳和丰宝田, 1996)。据记载, 中国分布有18个种6个变种(赵焕淳和丰宝田, 1996)。在中国新疆阿勒泰、伊犁、塔城、博乐、昌吉、乌鲁木齐河谷等地区分布有大面积的野山楂种质资源, 目前已鉴定的有3个种: 准噶尔山楂(*C. songorica*)、阿尔泰山楂(*C. chlorocarpa*)和红果山楂(*C. sanguinea*)。这些野生资源不仅具有很高的营养价值, 还可作栽培山楂的砧木和育种材料, 利用价值极高。长期以来, 野山楂资源在我国未得到足够重视, 另外由于人为活动的干扰, 其生态环境遭到严重破坏, 野山楂资源正在逐渐消亡。据调查, 天山野果林的实际分布面积只有50年前的30%左右(尹林克, 2006), 而野山楂作为天山野果林的主要组成树种之一, 其群落面积逐年递减, 大西沟分布的野山楂主要是准噶尔山楂(赵焕淳和丰宝田, 1996), 在大西沟的各个沟均有分布, 分布数量稍少于野杏(*Armeniaca vulgaris*)。近年来由于人畜破坏、病虫害蔓延、景区开发等, 准噶尔山楂数量不断减少。资源和遗传多样性的严重破坏, 易引起基因匮乏和种群退化, 因此, 加强野山楂种质资源的保护刻不容缓。

遗传多样性是资源保护与评价的重要指标, 而表型性状作为遗传多样性最直接的外观性状被广泛应用(于万里和张博, 2012; 黄春琼等, 2012)。表型变异是由遗传多样性和环境变异共同作用而成, 可在一定程度上反映物种的整体变异水平, 不但可以揭示植物与环境之间的关系, 而且有助于认识植物适应环境的机制、适应方式及其影响因素, 加强对自然选择、基因流和遗传漂变的理解。目前, 表型性状研究已被广泛应用于野生樱桃李(*Prunus cerasifera*) (刘崇琪等, 2008)、野苹果(*Malus sieversii*) (王昆等, 2008)、野生秋子梨(*Pyrus ussuriensis*) (安萌萌等, 2014)、野杏(曹倩等, 2016)等野生果树种质资源的研究中。

SSR作为共显性分子标记技术, 具有共显性强、多态性高、稳定性和重复性好、实验操作简单、快捷和易于分析等优点, 能够较好地满足种质资源遗传多样性研究的要求(顾钱洪等, 2011), 同时SSR

可有效地避免环境因素的干扰。与其他分子标记相比, SSR避免了AFLP标记的复杂性、RAPD标记的重复性差和ISSR显性标记等缺点, 所以成为目前分子标记中使用最多并且较为理想的标记方法, 已被广泛地应用在野杏(包文泉等, 2016)、野苹果(董研等, 2013)、野生欧洲李(*Prunus domestica*) (耿文娟等, 2012)、野核桃(*Juglans regia*) (王肇延等, 2011)等野生果树种质资源的研究中。相对而言, 野山楂的相关研究以其果实色素提取(吕海英等, 2011)、形态特征描述和花器官(刘欢等, 2014, 2015)的报道居多, 在分子水平上, 只有刘欢等(2016)用ISSR分析了新疆野山楂不同品种之间的遗传多样性和亲缘关系, 关于野山楂表型多样性的研究及SSR标记的研究尚未见报道。

本研究从新疆准噶尔山楂形态特征和遗传变异出发, 以海拔高度为分类依据, 在霍城大西沟共采集92份种质资源作为研究材料, 利用分子标记和植株表型性状的相关测定对其遗传多样性和遗传结构进行分析, 以期为进一步研究其遗传多样性提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 实验材料

2015–2016年多次对新疆霍城县大西沟的准噶尔山楂进行野外实地调查, 发现准噶尔山楂主要分布在海拔1,000–1,500 m之间。按照不同的海拔高度取样, 相邻样地相隔约100 m的海拔高度, 每个采样地作为1个居群处理, 共有5个居群。选取每个居群中生长正常、无病虫害的植株, 每株之间相隔至少50 m, 共选取了92份种质。对所选定的植株进行GPS定位并挂牌标记。同时采集幼叶, 硅胶干燥后保存备用。各居群材料的采样地信息见表1。

1.2 表型性状的测量

在准噶尔山楂新梢基本停止生长的6–7月, 在每个植株树冠的4个方位选取5片完好叶片, 用游标卡尺测量叶片长、叶片宽、叶柄长、叶柄粗等指标, 用Win FOLIA测量叶片面积; 并从树冠的4个方位选取一年生枝和新梢对其枝长进行测量和外部性状记录。在果实成熟期, 从已标号树体四围随机选

表1 准噶尔山楂各居群采样地的地理信息及样本数
Table 1 Geographic information and sample size of *Crataegus songorica* in different populations

居群代码 Population	北纬 Latitude (N)	东经 Longitude (E)	海拔 Altitude (m)	样本数 Sample size
Pop1	44°23'55.1"—44°24'73.0"	80°45'81.6"—80°46'15.1"	1,000–1,100	14
Pop2	44°23'45.5"—44°25'97.0"	80°40'15.1"—80°46'65.7"	1,100–1,200	25
Pop3	44°24'78.9"—44°26'25.2"	80°45'57.1"—80°48'31.4"	1,200–1,300	24
Pop4	44°25'86.6"—44°25'94.2"	80°45'67.0"—80°46'06.5"	1,300–1,400	19
Pop5	44°25'92.1"—44°26'17.6"	80°45'78.9"—80°46'28.3"	1,400–1,500	10

取果实样品30个, 测量其外形, 并观测记录果实品质和外部形态。共观测形态指标33个, 观测标准参照《山楂种质资源描述规范和数据标准》(吕德国和李作轩, 2006)。

1.3 表型性状的统计

对非数值性状进行赋值, 计算每个样株各性状的平均值, 利用Excel软件和SPSS中的One-Way ANOVA程序对5个居群92个个体的表型性状进行分析, 可得到每一性状的平均值、均方、标准差、标准误差、方差、*F*值和显著性水平。

表型分化系数(V_{ST})描述了性状居群间方差占居群方差的比例, 可以反映居群间的表型分化状况。参照葛颂等(1988)的方法, 计算公式为: $V_{ST} = [\delta_{bs}^2] / [\delta_{bs}^2 + \delta_s^2]$ 。其中 δ_{bs}^2 为居群间方差分量, δ_s^2 为居群内方差分量。变异系数(*CV*)衡量表型性状的离散程度, 反映表型的变异特征(王肇延等, 2011), $CV = S/X$, 其中*S*为标准差, *X*为平均值。相对极差(R_i')用来表示性状的极端差异程度, $R_i' = R_i/R_0$, 其中 R_i 表示居群内的极差, R_0 表示总极差。

1.4 SSR标记分析

采用改良的CTAB法提取植株总DNA, 用1%琼脂糖凝胶进行DNA质量检测, 采用紫外分光光度计测定DNA浓度, 将符合要求的DNA浓度稀释至30–50 ng/ μ L并置于–20℃冰箱保存备用。根据已报道的蔷薇科植物(桃、杏、梅、梨、苹果)的SSR引物, 挑选出多态性高、重复性好的引物130对; 并从NCBI数据库中搜索苹果亚科的EST序列, 利用EditPlus 3和SSR Hunter 1.3进行EST-SSR位点的搜寻, 用Primer 6.0设计91对引物, 由英潍捷基(上海)贸易有限公司合成221对引物用于本研究。20 μ L PCR反应体系: 10 \times Buffer (含 Mg^{2+}) 2 μ L, 2.5 mM dNTP 1.6 μ L, 10 mM引物各0.6 μ L, *Taq*DNA聚合酶 0.5 U, 模板DNA 50 ng, 在Biometra TProfessional Thermocycler上进行PCR扩增。PCR反应程序参照韩

志校等(2014)的山楂SSR反应程序: 94℃ 5 min; 95℃ 50 s, $T_m \pm 2^\circ C$ 50 s, 72℃ 1 min, 30个循环; 72℃ 7 min; 4℃保存。扩增产物以8%聚丙烯酰胺凝胶进行电泳分离, 硝酸银染色、显影后用于拍照并进行条带统计。

1.5 SSR图谱数据分析

统计PCR扩增图谱上清晰的SSR条带数据, 相同迁移位点上有DNA条带的记为1, 无条带的记为0, 记录长度在50–450 bp范围内, 形成0/1矩阵。数据矩阵用POPGENE 1.32进行分析, 计算多态性位点比率(*PPB*), 观察等位基因数(N_o), 有效等位基因数(N_e), Nei's基因多样性指数(*H*), Shannon多样性指数(*I*), 总居群基因多样性(H_t), 居群内基因多样性(H_s)和遗传分化系数(G_{st})。用NTSYS-pc 2.1软件进行居群内UPGMA聚类分析。

2 结果

2.1 各表型性状变异式样及变异特征

表型变异系数(*CV*)反映表型性状的离散程度: 变异系数越大, 表型性状离散程度越高, 则表型分化越大。由表2可知, 33个表型性状的平均变异系数为19.69%, 变异幅度为2.96–71.32%, 表型性状变异幅度较大, 各性状间分化较大。变异程度最大的是果实形状($CV = 71.32\%$), 最小的是果核数和果核纵径($CV = 2.96\%$), 说明果实形状在居群内的分化最大, 果核数和果核纵径在居群内较稳定。

33个表型性状在5个居群中的表现存在着一定的差异, 同一性状在不同居群中的变异程度也有很大差异(表2)。叶厚的变异系数在居群5中最大(26.86%), 在居群1中最小(15.41%); 单果重的变异系数在居群2中最大(19.94%), 在居群5中最小(5.12%)。这可能是由不同居群所处环境的差异导致。同一居群中的不同性状的变异也存在很大差别。如居群1中, 各性状的*CV*变化幅度在

2.11–79.52%之间, 果实形状的变异系数(79.52%)最高, 果核纵径的变异系数(2.11%)最低; 居群4中, 果实形状变异系数(72.54%)最大, 果核数变异系数(1.86%)最小。可见每一居群的每一性状均存在丰富的变异。

此外, 枝条的3个性状(一年生枝长、一年生枝粗、新梢长)平均变异系数(26.90%)>果实的12个性状(单果重、果实纵径、果实横径、果柄长、果柄粗、坐果数、果实硬度、可固性、果实形状、果皮颜色、果肉颜色、果实风味)平均变异系数(21.40%)>叶片的13个性状(叶厚、叶面积、叶宽、叶长、叶形指数、叶柄长、叶柄粗、叶柄指数、叶片颜色、叶基形态、

叶缘形态、叶面状态、托叶形状)平均变异系数(20.92%)>果核的4个性状(果核数、鲜核重、果核纵径、果核横径)的平均变异系数(5.03%), 说明准噶尔山楂枝条、果实和叶片性状受环境影响变异较大, 果核性状相对遗传稳定性最高。

变异系数还可以间接反映居群表型多样性的丰富程度: 变异系数大, 说明居群性状的变异幅度较高, 表型多样性丰富; 反之, 变异幅度较小, 表型多样性差。准噶尔山楂不同居群表型性状的平均变异系数(表2)从大到小的顺序为: 居群2 (22.06%) > 居群3 (20.90%) > 居群1 (20.77%) > 居群4 (19.92%) > 居群5 (14.80%), 表明高海拔居群平均变

表2 准噶尔山楂各居群表型性状变异系数统计表
Table 2 Statistic CV of phenotypic characteristics in *Crataegus songorica* populations

表型性状 Phenotypic traits	平均值 Mean value	变异系数 Coefficient of variance (%)					居群平均值 Average of population	
		Pop1	Pop2	Pop3	Pop4	Pop5	变异系数 CV (%)	相对极差 R_i'
一年生枝长 Annual branch length (mm)	109.09	42.64	44.92	39.57	30.81	24.69	36.53	0.68
一年生枝粗 Annual branch diameter (mm)	3.52	14.96	16.27	24.10	9.61	10.81	15.15	0.52
新梢长 New branch length (mm)	178.99	23.99	34.87	40.43	29.13	16.63	29.01	0.59
单果重 Fruit weight (g)	0.93	11.60	19.94	13.99	17.34	5.12	13.60	0.54
果实纵径 Fruit longitudinal diameter (mm)	12.46	2.68	5.57	4.03	4.47	0.71	3.49	0.51
果实横径 Fruit diameter (mm)	11.38	5.98	8.97	6.05	6.23	1.96	5.84	0.52
果柄长 Fruit stalk length (mm)	11.02	9.85	17.01	11.85	6.14	13.77	11.72	0.47
果柄粗 Fruit stalk thickness (mm)	0.63	5.76	15.01	6.70	11.71	5.38	8.91	0.41
坐果数 Fruit set number	3.21	13.22	27.39	10.35	37.67	4.33	18.59	0.45
果实硬度 Fruit hardness (kg/cm ²)	1.77	8.33	20.20	18.68	14.09	5.61	13.38	0.51
可固性 Soluble solids (%)	15.18	11.75	19.18	13.56	9.25	4.72	11.69	0.50
果实形状 Fruit shape	3.36	79.52	68.12	68.27	72.54	68.12	71.32	0.45
果皮颜色 Peel color	5.87	21.34	29.41	30.25	24.98	22.22	25.64	0.67
果肉颜色 Flesh color	4.05	18.47	25.85	26.70	21.64	14.52	21.44	0.56
果实风味 Fruit flavor	2.08	50.25	50.22	47.67	57.57	50.25	51.19	0.56
叶厚 Leaf thickness (mm)	0.27	15.41	17.74	18.22	21.10	26.86	19.87	0.67
叶面积 Leaf area (cm ²)	15.48	24.29	22.54	21.38	19.10	13.72	20.20	0.60
叶宽 Leaf width (cm)	5.18	8.89	10.55	8.67	8.10	1.85	7.61	0.53
叶长 Leaf length (cm)	5.48	13.22	10.93	11.20	8.31	1.69	9.07	0.60
叶形指数 Leaf length/leaf width	1.06	7.48	6.16	4.20	5.96	0.16	4.79	0.54
叶柄长 Petiole length (mm)	25.99	16.46	17.39	14.26	19.27	15.22	16.52	0.63
叶柄粗 Petiole thickness (mm)	1.14	32.05	15.19	16.82	13.06	7.64	16.95	0.62
叶柄指数 Petiole length/petiole thickness	23.65	32.62	25.83	25.49	28.11	22.73	26.96	0.71
叶片颜色 Leaf color	3.00	23.89	27.19	26.83	21.32	25.27	24.90	0.41
叶基形态 Leaf base morphology	2.82	55.17	35.88	36.93	41.57	47.02	43.31	0.62
叶缘形态 Leaf margin morphology	2.78	13.22	17.68	14.92	16.59	13.52	15.19	0.70
叶面状态 Status of leaf surface	1.29	50.25	41.61	52.36	43.86	34.26	44.47	0.59
托叶形状 Stipule shape	2.49	20.10	26.98	23.53	20.10	20.10	22.16	0.74
果核数 Stone number	1.99	2.24	3.74	4.07	1.86	2.89	2.96	0.48
鲜核重 Fresh stone weight (g)	0.24	9.25	10.88	13.52	13.29	2.61	9.91	0.55
果核纵径 Longitudinal diameter of stone (mm)	7.35	2.11	3.38	3.71	4.59	1.02	2.96	0.56
果核横径 Stone diameter (mm)	6.17	4.13	3.54	4.73	6.19	2.86	4.29	0.58
花序小花数 Floret number of inflorescence	12.08	34.40	27.70	26.32	11.82	0.06	20.06	0.51
平均值 Mean value	14.61	20.77	22.06	20.89	19.92	14.80	19.69	0.56

异系数相对低海拔较小, 表型变异较低。

为了使各表型性状间具有可比性, 用 R_i 来衡量居群内的极端变异程度。 R_i 最大的是托叶形状(0.74), 最小的是果柄粗和叶片颜色(0.41), 与变异系数的变化趋势并不完全相同, 说明居群中各性状的变异程度并不稳定。

2.2 不同居群表型性状差异及表型分化

表型分化系数表示居群间方差分量占遗传总变异(居群间和居群内方差分量之和)的百分比。结

果表明, 各性状居群内的方差分量均大于居群间的方差分量(表3)。居群内的平均方差分量为85.26%, 居群间的平均方差分量为14.74%, 各性状的表型分化系数变异幅度为0.16–32.67%, 其中较大的依次为单果重(32.67%)、叶长(27.67%)、果实纵径(24.31%), 较小的为托叶形状(0.16%)、果实硬度(0.73%)、叶柄长(1.99%)。33个表型性状居群间的平均分化系数为13.90%, 而居群内为86.10%, 居群内的多样性远远大于居群间, 说明居群内的变异是

表3 准噶尔山楂表型性状的方差分析
Table 3 Variance analysis of phenotypic characteristics of *Crataegus songorica*

性状 Traits	均方 Mean square		F	Sig	方差分量 Variance components		表型分化系数 $V_{ST}(\%)$
	居群内 Within population	居群间 Among populations			居群内 Within population	居群间 Among populations	
一年生枝长 Annual branch length (mm)	1,851.668	1,475.734	0.797	0.530	1,815.1961	251.5190	12.17
一年生枝粗 Annual branch diameter (mm)	0.388	0.630	1.624	0.176	0.3944	0.0421	9.64
新梢长 New branch length (mm)	3,494.973	5,356.658	1.533	0.200	3,537.9271	680.9977	16.14
单果重 Fruit weight (g)	0.026	0.180	6.936	0.000	0.0323	0.0157	32.67
果实纵径 Fruit longitudinal diameter (mm)	0.374	2.091	5.590	0.000	0.4447	0.1428	24.31
果实横径 Fruit diameter (mm)	0.770	3.012	3.914	0.006	0.8587	0.2540	22.82
果柄长 Fruit stalk length (mm)	2.534	1.831	0.723	0.579	2.4755	0.2410	8.87
果柄粗 Fruit stalk thickness (mm)	0.006	0.018	3.041	0.021	0.0065	0.0021	24.15
坐果数 Fruit setting number	0.615	1.294	2.104	0.087	0.6379	0.1156	15.34
果实硬度 Fruit hardness (kg/cm ²)	0.110	0.010	0.091	0.985	0.1046	0.0008	0.73
可固性 Soluble solids (%)	5.589	18.268	3.269	0.015	6.0793	1.2828	17.42
果实形状 Fruit shape	0.799	0.62	0.776	0.544	0.7826	0.0464	5.60
果皮颜色 Peel color	0.785	1.904	2.425	0.054	0.8253	0.1241	13.07
果肉颜色 Flesh color	0.388	0.713	1.835	0.129	0.3984	0.0486	10.88
果实风味 Fruit flavor	1.266	1.261	0.997	0.414	1.2517	0.0884	6.60
叶厚 Leaf thickness (mm)	0.002	0.003	1.265	0.290	0.0023	0.0005	16.85
叶面积 Leaf area (cm ²)	10.696	23.508	2.198	0.076	11.1369	2.9202	20.77
叶宽 Leaf width (cm)	0.246	0.557	2.262	0.069	0.2570	0.0525	16.95
叶长 Leaf length (cm)	0.333	0.900	2.705	0.035	0.3538	0.1353	27.67
叶形指数 Leaf length/leaf width	0.004	0.004	1.102	0.361	0.0035	0.0007	17.25
叶柄长 Petiole length (mm)	19.332	11.263	0.583	0.676	18.7708	0.3819	1.99
叶柄粗 Petiole thickness (mm)	0.037	0.023	0.614	0.654	0.0360	0.0015	4.11
叶柄指数 Petiole length/petiole thickness	38.335	8.692	0.227	0.923	36.6297	0.9423	2.51
叶片颜色 Leaf color	0.099	0.121	1.217	0.309	0.0990	0.0151	13.23
叶基形态 Leaf base morphology	0.405	1.033	2.552	0.045	0.4276	0.1204	21.97
叶缘形态 Leaf margin morphology	0.054	0.026	0.482	0.749	0.0518	0.0022	4.00
叶面状态 Status of leaf surface	0.077	0.177	2.296	0.066	0.0808	0.0091	10.08
托叶形状 Stipule shape	0.401	0.021	0.052	0.995	0.3803	0.0006	0.16
果核数 Stone number	0.005	0.004	0.823	0.514	0.0050	0.0008	13.69
鲜核重 Fresh stone weight (g)	0.001	0.002	1.947	0.110	0.0008	0.0001	10.85
果核纵径 Longitudinal diameter of stone (mm)	0.068	0.264	3.853	0.006	0.0762	0.0180	19.08
果核横径 Stone diameter (mm)	0.069	0.334	4.840	0.001	0.0797	0.0190	19.26
花序小花数 Floret number of inflorescence	9.265	43.064	4.648	0.002	10.6336	2.2995	17.78
平均值 Mean value	164.840	210.734	2.101	0.292	165.0436	28.5406	13.90

其表型变异的主要来源。

2.3 不同居群的表型聚类分析

对准噶尔山楂5个居群的表型性状采用UPGMA法进行聚类分析, 结果如图1所示。从图1可以看出, 以遗传距离9.97为尺度, 把5个准噶尔山楂居群分为两组。第一组包含居群1、2、3、4, 居群5另为一组。居群2和3先聚为一类, 再和居群4和1聚类, 最后和居群5聚类。在遗传距离为6.25时, 居群2、3、4首先聚为一类, 这3个居群海拔相差较近, 地理环境也较相似, 阳光充足, 比较适宜野山楂的生长, 所以有大量的野山楂分布。由于居群1和5处于野山楂分布范围的边缘地带, 其温度、水分、光照都不是野山楂生长的最适环境条件, 但低海拔相对较高海拔而言, 环境因素有所好转, 较适于准噶尔山楂的生长, 所以居群1先与居群2、3、4聚为一类。由聚类结果可知, 准噶尔山楂分布范围内地理环境因素对其生长影响较大, 其表型性状随着环境因素的变化表现出一定的规律, 这与前面分析表型变异所得结论基本吻合。

2.4 SSR标记多态性

在221对SSR引物中共筛选出43对重复性好、多态性丰富的引物, 对5个居群的92个样本扩增后共产生739个位点, 每个引物扩增总条带数在7–31之间(表4), 各引物在居群内呈现多态性, 平均每个引物扩增的DNA条带数为17.19条, 扩增片段大小在50–450 bp之间; 其中669个位点具有多态性(表5), 多态性位点比率为90.53%, 表明准噶尔山楂具有较高的遗传多样性。居群间平均Nei's遗传多样性指数为0.2377, Shannon多样性指数(I)为0.3712, 居群内多态性位点比率在13.40–89.31%之间。Nei's

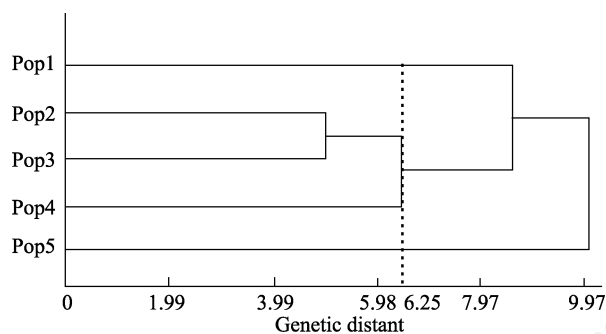


图1 基于形态特征的准噶尔山楂5个居群聚类图

Fig. 1 Dendrogram of five *Crataegus songorica* populations based on phenotypic characters

遗传多样性指数(H)在0.0569–0.2635之间, 平均为0.1635; Shannon多样性指数(I)在0.0830–0.4035之间, 平均为0.2463。所有居群中, 居群5 ($H = 0.0569$, $I = 0.0830$)的遗传多样水平最低, 居群2 ($H = 0.2635$, $I = 0.4035$)的遗传多样水平最高。Nei's遗传多样性指数、Shannon多样性指数与多态性位点比率所反映的多样性趋势完全一致, 均表明5个居群之间的SSR遗传多样性有较大差异。遗传多样性指数是衡量居群遗传多样性最常用的指标, 5个居群遗传多样性由高到低依次为: 居群2 > 居群3 > 居群4 > 居群1 > 居群5。

2.5 居群的遗传分化

遗传分化是反映居群结构的重要指标。准噶尔山楂5个居群内基因多样性(H_s)和总居群基因多样性(H_t)分别为0.1635和0.2023, 居群间遗传分化系数(G_{st})为0.1916, 表明居群内变异为80.84%, 居群间变异为19.16% (表6), 说明准噶尔山楂的遗传变异主要存在于居群内。基因流(N_m)为2.1116 > 1, 说明居群间的基因流动性较大, 居群间的分化比较小。AMOVA分析表明(表7), 居群间的遗传变异为20.37%, 远小于居群内的遗传变异, 说明变异主要存在于居群内(79.63%), 此结果和POPGENE 1.32分析结果相符合。

2.6 准噶尔山楂居群间遗传距离和遗传一致度与地理距离的相关性

利用POPGENE 1.32软件计算出准噶尔山楂5个不同居群的遗传距离(D)及遗传一致度(I) (表8), 由表8可知, 居群3的样品与来自居群2、居群4的样品遗传距离明显较小, 分别为0.0211和0.0243; 相应的遗传一致度较高, 分别为0.9792和0.9760, 这说明居群3的样品与居群2和居群4的样品亲缘关系较近。而居群5与居群1和居群2的遗传距离较大, 分别为0.1171和0.0993, 相应的遗传一致度较低, 分别为0.8900和0.9057, 说明居群5与居群1和居群2的样品亲缘关系较远。各个居群间的遗传距离变异系数为53.57%, SPSS分析显示, 居群间的遗传距离与地理距离间呈极显著相关($r = 0.798$, $P < 0.01$)。

2.7 SSR分子标记的聚类分析

基于NTSYS-pc 2.1分析92份准噶尔山楂SSR标记获得数据矩阵, 并对其进行UPGMA聚类分析, 获得92个个体的遗传相似性聚类图(图2)。由图2可知, 遗传相似性系数变化范围为0.46–0.95, 个体间

表4 SSR引物序列及其扩增结果

Table 4 Sequences of SSR primers and amplification results

引物名称 Primers	正向引物 Forward primer (5'-3')	反向引物 Reverse primer (5'-3')	退火 温度 TM (°C)	扩增 总带 数 Ampl- ified total bands	多态性 条带数 Polym- orphic bands	多态性位 点比率 Percentage of polymo- rphism bands (%)	多态性信息 量 Polymorphism information content (PIC)
XNDMa1	CACGGTCATGAAGTCCAT	TGGCAGATGGCTTAACTG	46	10	10	100.00	0.82
XNDMa4	GCCTTCACTGTCTGAGAG	CGGATGCTCCTGTTACAC	55	19	18	94.74	0.91
XNDMa7	CGTGTTTCATTGTGTCCTTC	TTGCCTTCTCAAGACCATC	61	14	11	78.57	0.9
XNDMa10	CACTTCAGAGCCGCATTA	GAACAACCACGACCTTCT	58	12	8	66.67	0.91
XNDMa11	CTTCAGAGCCGCATTAGG	GAACAACCACGACCTTCT	59	18	12	66.67	0.93
XNDMa14	GCCGAAGTACCGTTACCT	GCCGAAGTTGTAGATGTCC	60	17	14	82.35	0.92
XNDMa15	CTGACGACGACGATGAAG	CTGACGACGACGATGAAG	52	23	21	91.30	0.94
XNDPy03	CCCTCCCTCTTTCTCTTCT	AGTTGGACATTGCGATGG	47	16	14	88.00	0.92
XNDPy07	CGATACAACAGAGAATTGAGTC	AAGAACCAGATGGCACAC	46	16	16	100	0.91
XNDPy09	CTTACCTAACAGGACTCAATG	GAGGATGGCAGCAATCTT	48	10	9	90.00	0.86
XNDPy11	AACAGGAAGAGGAGATGGT	CAATGAAAGCGGAAACTG	47	18	17	94.44	0.92
XNDPy13	CGAAGTTTACATAGGGTTCTCT	TGGGACACTCCAGCATGA	54	17	16	94.11	0.9
XNDPy14	CGCTCACTCCTCAGAAGT	TCGCCTCGTCCATTGTGA	55	7	5	71.43	0.91
XNDPy15	AAAGTAAAGGCGGCAAATG	TCTAGGGTGCCTTTGTTG	47	12	12	100.00	0.9
XNDPy16	CTTCAAGTAGCCAACTATCAG	TGTTTCTGCAAAGTGGTCTA	52	11	10	90.91	0.88
XNDPy37	CGGGTGTGATTCTCTCT	GGTTGGACGAAGTTGATC	52	13	13	100.00	0.88
XNDPy38	GCAGCAGGAAACACAGAA	TTGGCGGTCAATTGATAGTAA	57	24	23	95.83	0.92
XNDPy40	CCCTTCCTCAACTAACAGT	GGATAAGCGTTTCTGTAGA	60	14	14	100.00	0.89
ZFRIt066	TGGCTTTAAACGGTTATGCTG	TGAGGAGGGAGGGAATACAA	46	17	17	100.00	0.93
ZFRIt067	GCAAGACCCTTATGCCAACT	TGAGGCCTAACTGCTTCGAC	62	15	15	100.00	0.9
ZFRIt084	GCTGTTGAGCTAGGCAGGTT	CCCGAGTCTCACCAGTAA	62	13	12	92.31	0.9
ZFRIt097	ACTGTTTCCAGCAGGCTTGT	GAAGATTGCCCCACAGAAAA	51	14	14	100.00	0.9
PES05	ATGGTGGGTTGGCAGAG	GGTTGGAGCAGATGGT	48	15	12	80.00	0.92
PES06	CCCCAGAAACCTTAACC	AAGAGCGATGACACCACC	51	22	19	86.36	0.94
BPPCT028	TCAAGTTAGCTGAGGATCGC	GAGCTTGCTATGAGAAGACC	54	19	17	89.47	0.92
CH02h11a	CGTGGCATGCCTATCATTTG	CTGTTTGAACCGCTTCCTTC	56	19	17	89.47	0.93
CH02b10	CAAGGAAATCATCAAGATTCAAG	CAAGTGGCTTCGGATAGTTG	53	20	20	100.00	0.92
CH05d03	TACCTGAAAGAGGAAGCCCT	TCATTCCTTCTCACATCCACT	59	14	10	71.43	0.91
CH05e06	ACACGCACAGAGACAGAGACAT	GTTGAATAGCATCCCAAATGGT	50	18	17	94.44	0.92
HI02c07	AGAGCTACGGGGATCCAAAT	GTTTAAAGCATCCCGATTGAAA	54	20	18	90.00	0.92
MS14h03	CGCTCACCTCGTAGACGT	ATGCAATGGCTAAGCATA	48	15	13	86.67	0.89
CH03a09	GCCAGGTGTGACTCCTTCTC	CTGCAGCTGCTGAAACTGG	50	31	28	90.32	0.95
CH02a04	GAAACAGGCGCCATTATTTG	AAAGGAGACGTTGCAAGTGG	58	15	12	80.00	0.9
CH01f03b	GAGAAGCAAATGCAAAACCC	CCCGGCTCCTATTCTAC	52	31	29	93.55	0.94
CH02a08	GAGGAGCTGAAGCAGCAGAG	ATGCCAACAAAAGCATAGCC	60	14	12	85.71	0.91
CH05a04	GAAGCGAATTTTGCACGAAT	GCTTTTGTTCATTGAATCCCC	58	14	14	100.00	0.92
CH01h01	GAAAGACTTGCAGTGGGAGC	GGAGTGGGTTTGAGAAGGTT	59	22	21	95.45	0.93
CN851079	ACCGCCACAACCACAATC	CTCGGGCAAGCGAAGAAT	56	23	21	91.30	0.91
CN848770	CTTATTCCTCCACTCCGATTC	AAACAGCCAAACCCAGCA	54	15	14	93.33	0.87
CN581002	TGGAGGGAAAGGAGAAGC	AAGTGGCAGGCAGCAGTA	49	26	25	96.15	0.95
CV986977	CTCAAACCCAAACCCTCC	TCTCTGACCCACGAAAA	55	22	21	95.45	0.89
CV882996	CTTCTCCACTAACGCACCA	CCATTCTCAACCAGCACC	53	20	18	90.00	0.92
CV794040	CGTGGTTCCTGGTTGTGA	AAAGCAGTTGCCTCCCTC	50	14	14	100.00	0.87
合计 Total				739	673		
平均 Mean				17.19	15.65	90.60	0.91

表5 准噶尔山楂居群的遗传多样性

Table 5 Genetic diversity of populations of *Crataegus songorica*

居群 Population	多态性位点数 Polymorphism locus number	多态性位点比率 Percentage of poly- morphism loci (%)	观测等位基因 Observed number of alleles (N_a)	有效等位基因(N_e) Effective number of alleles	Nei's 基 因 多 样 性 指 数 Nei's gene diversity index (H)	Shannon多样性指数 Shannon's diversity index (I)
Pop1	257	34.78	1.3837±0.4756	1.2386±0.3538	0.1375±0.1895	0.2050±0.2720
Pop2	660	89.31	1.9025±0.2938	1.4342±0.3325	0.2635±0.1722	0.4035±0.2350
Pop3	427	57.78	1.6061±0.4824	1.3285±0.3655	0.1938±0.1960	0.2928±0.2786
Pop4	327	44.25	1.4766±0.4908	1.2883±0.3738	0.1658±0.1996	0.2473±0.2841
Pop5	99	13.40	1.1372±0.3444	1.0971±0.2435	0.0569±0.1427	0.0830±0.2082
平均 Mean	354	47.90	1.5012±0.4174	1.2773±0.3338	0.1635±0.1780	0.2463±0.2556
物种水平 Species level	669	90.53	1.9136±0.2781	1.3843±0.3302	0.2377±0.1695	0.3712±0.2301

表6 准噶尔山楂居群内和居群间基因的 G_{st} 分析

Table 6 The G_{st} analysis of genetic differentiation among *Crataegus songorica* populations

	总居群基因多样性 Total gene diversity index (H_t)	居群内基因多样性 Gene diversity within population (H_s)	遗传分化系数 Index of genetic differentiation (G_{st})	基因流 Gene flow (N_m)
平均 Average	0.2023	0.1635	0.1916	2.1116
标准差 Standard deviation	0.0293	0.0182		

表7 居群间和居群内分子变异的方差分析

Table 7 Analysis of molecular variance(AMOVA) within and among populations

变异来源 Source of variation	自由度 df	平方和 Sum of square	均方 Mean square	方差分量 Variance component	方差分量百分率 Percentage of variance component	P
居群间 Among populations	4	0.3890	0.0972	0.0185	20.37%	<0.001
居群内 Within population	91	6.7171	0.0772	0.0723	79.63%	<0.001

表8 准噶尔山楂5个居群间的遗传一致度(对角线上)与遗传距离(对角线下)

Table 8 Nei's genetic identity (above the diagonal) and genetic distance (below the diagonal) among five populations of *Crataegus songorica*

	居群1 Pop1	居群2 Pop2	居群3 Pop3	居群4 Pop4	居群5 Pop5
居群1 Pop1	****	0.9641	0.9595	0.9510	0.8900
居群2 Pop2	0.0366	****	0.9792	0.9678	0.9057
居群3 Pop3	0.0414	0.0211	****	0.9760	0.9315
居群4 Pop4	0.0503	0.0327	0.0243	****	0.9247
居群5 Pop5	0.1171	0.0993	0.0711	0.0785	****

遗传相似性变化较大。在遗传相似性系数为0.70时, 可将供试材料分为三大类: 第一大类包含了本实验所采样品的绝大多数, 说明样品47号和19号与其他样品间遗传相似性较小, 亲缘关系较远; 在遗传相似性系数为0.79时, 第一大类又可细分为4个亚类, 其中第一亚类中包含了86份材料。由此可知, 准噶尔山楂的遗传距离较小, 亲缘关系较近,

大部分种质表现为同一居群聚在一起, 但部分种质也存在不同居群聚在一起的现象。其中居群5的89号和90号2个体的亲缘关系最近, 其次是居群3的58号和63号。居群聚类结果显示出一定的地域相关性, 地域分布较近和处于相似地理环境的居群显示出更近的亲缘关系, 这与前面表型变异所得结论吻合。



图2 依据UPGMA法构建的准噶尔山楂92个个体的聚类图
Fig. 2 Clustering dendrogram of 92 *Crataegus songorica* individuals based on UPGMA

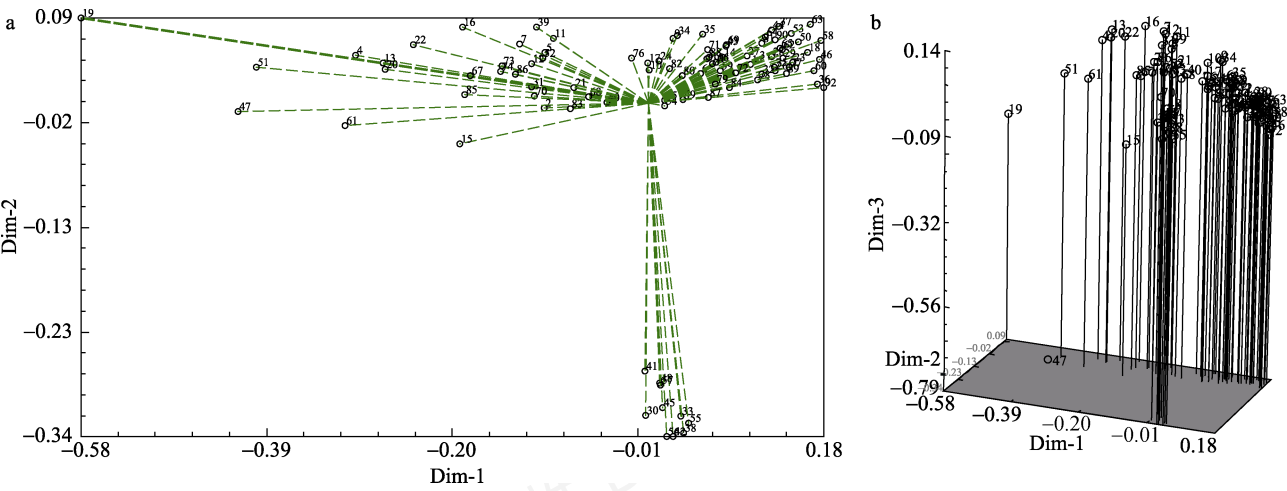


图3 92份准噶尔山楂资源SSR标记的主坐标分析图。(a)平面散点图;(b)三维空间图。
Fig. 3 Principal coordinate analysis for 92 *Crataegus songorica* resources. (a) Planar graph; (b) Three-dimensional graph.

2.8 SSR分子标记的主坐标分析

运用NTSYS-pc 2.1将92份材料进行主坐标分析, 建立起平面散点图(图3a)和三维空间图(图3b), 由图3可知, 第1、2、3主成分分别解释了12.51%、7.17%、5.91%的样本间相关性, 92份样品被分为2个大组, 其中10份野山楂资源亲缘关系较近, 被划分为第一大组(I), 余下的82份资源被分为第二大组(II)。根据供试材料在主坐标图中的分布位置, 第二大组又可分为7亚组: 19号为第一亚组, 47、51号为第二亚组, 4、13、20、22、16号为第三亚组, 61号为第四亚组, 15、67、85号为第五亚组, 2、5、7、11、12、21、31、39、40、52、68、70、73、74、83、86号为第六亚组, 其余为第七亚组。与UPGMA的聚类结果相比, 两种分析方法在准噶尔山楂亲缘关系的研究中存在部分差异: 如25号和54号在UPGMA中未聚在一起, 但在主坐标中却聚在一起。可见, 准噶尔山楂的基因型复杂。比较两种聚类结果可知, 它们的群组划分趋向一致, 但个体间的聚类结果并不相同, 主坐标可更清晰地反映92份准噶尔山楂之间的遗传分化和亲缘关系的远近。

3 讨论

3.1 不同居群的遗传多样性和遗传结构

种质资源的遗传多样性可以通过表型性状分析和分子标记进行评价, 不同种质资源的表型性状分析和遗传多样性研究也是育种研究的重要基础(Campbell, 2009; 胡标林等, 2012)。近年来, 野生种质资源的遗传多样性已成为研究的热点问题。由于人为因素, 野山楂资源破坏严重, 并且大多零星分布或多以种质资源圃的形式存在。实地调查发现, 准噶尔山楂在大西沟分布较多且较集中, 具有很好的代表性。表型变异是遗传变异的重要线索。5个居群的33个表型性状的变异系数、方差、分化系数之间均存在较大的差异, 变异程度也各不相同, 说明各居群的各个表型性状之间存在着较丰富的遗传变异。测量的33个表型性状的平均变异系数为13.75%, 变异幅度为2.96–71.32%, 显著高于新疆野生樱桃李(刘崇琪等, 2008) (CV : 2.75–9.13%)和新疆野杏(曹倩等, 2016) (CV : 0–53.99%)。说明准噶尔山楂对生境的适应范围较广, 环境的形态可塑性较大。

山楂与苹果、梨、杏等同为蔷薇科, 属于近缘种植物, 而物种间的DNA序列具有的同源性, 使得

同科属植物可以通用一些SSR引物。如张叶等(2008)利用通用引物分析了山楂属植物的遗传关系, 韩志校等(2014)用苹果SSR引物分析了不同山楂品种。本研究用筛选的43对SSR引物对92份准噶尔山楂材料进行SSR-PCR标记, 其遗传多样性($PPL = 90.53\%$ 、 $I = 0.3712$ 、 $H = 0.2377$)水平高于用SSR标记对山楂的研究($PPL = 86.42\%$) (韩志校等, 2014)和用ISSR引物标记的新疆野生山楂材料($PPL = 94.4\%$ 、 $I = 0.2331$ 、 $H = 0.1507$) (刘欢等, 2016), 稍低于利用SSR标记对新疆普通杏的研究结果($I = 0.43$ 、 $H = 0.299$) (何天明等, 2006)。由此可知, 与栽培山楂品种相比, 新疆野山楂资源具有丰富的多态性; 而霍城大西沟的准噶尔山楂多态性更为丰富, 与刘欢等(2016)的研究结果相一致。这可能与其分布有关: 不同海拔居群间生态因子的差异, 导致不同居群产生不同的表型; 不同的表型和基因型相组合, 导致大西沟居群间的遗传多样性水平增高。加之在新疆其他区域分布的野山楂多为人工引种的实生繁殖体, 而大西沟准噶尔山楂为自然生长的野生资源, 所以其多态性水平更高; 而且根据基因多样性指数得到居群2、3的遗传多样性水平明显高于居群1、5, 这符合地理分布范围是决定物种遗传多样性的主要因素之一的论点。但总体来说, 新疆准噶尔山楂的分布面积少于新疆杏, 这也是其遗传多样性稍低于新疆杏的原因之一。

遗传结构是指遗传多样性在居群内和居群间的分布及遗传分化(Meeus et al, 2012; Zia et al, 2014)。本研究中5个居群的 G_{st} 为0.1916, 表明仅有19.16%的遗传变异来源于居群间, 而主要的遗传变异来自居群内的个体间。Gonzalez-Martinez等(2002)提出, 遗传分化系数(F_{st})小于0.25时, 表明居群遗传分化较低。本研究中方差分析结果显示 $F_{st} = 0.2037$, 居群间遗传分化较低, 与 G_{st} 的分析结果相一致。

基因流是促进居群间遗传分化的主要因素之一, 种子和花粉的扩散是植物居群间基因流的两种主要形式。新疆准噶尔山楂生境片段化不严重, 且山楂为异花授粉植物, 其基因流主要通过虫媒传粉、人类及野生动物对其种子的取食和贮藏等方式完成扩散。基因流大于1时能有效防止遗传漂变引起的遗传分化(Opedal et al, 2016), 5个采样地的基因流为2.1116, 居群间的基因流动性较大, 居群间的分

化较小,很可能是较高的基因流阻止了大西沟准噶尔山楂居群之间的遗传分化。

3.2 不同居群准噶尔山楂的遗传距离及聚类分析

植物居群的遗传变异与该物种的生境特征和分布格局有关(Ramos et al, 2016)。以表型性状构建的聚类树和SSR分子标记获得的UPGMA聚类图在居群间大体一致,但在各样本的遗传距离之间有差异,可能是因为表型性状受到其本身遗传组成和环境因素的影响,在居群间既具有一定的稳定性,又具有一定的变异性。并且准噶尔山楂5个居群在33个表型上的分化系数13.90%低于基因分化系数19.16%,说明不同居群之间的遗传多样性受到环境因子的影响。居群间聚类结果显示:居群2、3、4在其分布区内变异丰富,遗传多样性较高。而居群1与5海拔跨度大、环境条件复杂,居群1处于分布区的最低处,受到的人为干扰较多,加上放牧的破坏,使其分布数量减少;居群5分布在大西沟整个野山楂分布的边缘地带,在海拔1,500 m时只是零星分布,受相似环境的影响,居群内存在很大程度的近亲繁殖,使得遗传变异幅度较小。加之所处的地理区域的光照水分并不是其生长的最适宜环境,所以居群1、5与其他居群的相似性系数较小。准噶尔山楂平均遗传距离为0.0572,样本间遗传距离和地理距离之间具有显著的相关性($r = 0.798$),亲缘关系的远近与地理位置远近的格局大致吻合,地理位置较近的居群,其遗传距离也相对较小。

3.3 保护策略

本研究发现准噶尔山楂资源遗传多样性丰富,生境的破坏可能是其居群急剧衰退的主要原因,所以应最大限度地保护其遗传变异基因库。本研究中居群2和3的遗传多样性水平最高,所以应对其进行重点保护。建议尽可能就地保护准噶尔山楂的天然居群生境,禁止乱砍滥挖。

根据准噶尔山楂丰富的表型变异度及其在居群内和居群间变异的分布情况,可知其具有十分广阔的改良前景。因此就大西沟准噶尔山楂的保护和研究提出以下建议:(1)加强大西沟现有天然林的保护,禁止人畜破坏。(2)就地保护和异地保存相结合,营造野山楂种质资源收集圃。目前,新疆已有的一些种质资源圃中已收集有少量野山楂资源,如新疆伊犁地区新源县野生果树资源圃、新疆农科院轮台国家果树资源圃、新疆乌鲁木齐市植物园等。但对

于野山楂种质的异地保护工作依旧处于收集保存阶段,而且没有采用多基因库采样法,建议今后多采集具有表型特征差异及通过分子标记后鉴定的不同类型,收集尽可能多的遗传多样性。重点收集不同种源地、不同居群及垂直分布的边缘区域的样本,使其处于一个较开放的授粉环境,促进基因交流,复壮物种生活力。(3)虽然居群间各性状变异较小,但在进行野山楂遗传改良时,可将居群的改良和对居群内个体的改良结合起来,同时利用居群内和居群间的遗传变异,有助于提高野山楂的环境适应能力。这对野山楂种质资源遗传多样性的进一步研究、遗传改良及其种质资源的保护和利用具有重要的意义。

致谢: 本文的调查工作得到了新疆伊犁州林业科学研究院主管部门及相关工作人员的大力支持和协助,特此感谢!同时特别感谢《生物多样性》的审稿专家所提的宝贵意见,以及责编极度细致的修改与校正,使本文的写作更加精准与严谨,向他们致以谢意!

参考文献:

- An MM, Wang YT, Song Y, Ji XH, Liu C, Wang N, Wu YS, Liu W, Cao YF, Feng SQ, Chen XS (2014) Genetic diversity of fruit phenotypic traits of wild *Pyrus ussuriensis* Maxim. *Scientia Agricultura Sinica*, 47, 3034–3043. (in Chinese with English abstract) [安萌萌, 王艳廷, 宋杨, 冀晓昊, 刘畅, 王楠, 吴玉森, 刘文, 曹玉芬, 冯守千, 陈学森 (2014) 野生秋子梨(*Pyrus ussuriensis* Maxim)果实性状的遗传多样性. *中国农业科学*, 47, 3034–3043.]
- Bao WQ, Wuyun TN, Wang L, Zhao H, Du HY (2016) Genetic diversity and population structure of wild apricot in Xinjiang revealed by SSR markers. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 36, 1757–1763. (in Chinese with English abstract) [包文泉, 乌云塔娜, 王琳, 赵罕, 杜红岩 (2016) 基于SSR标记的新疆野杏群体遗传多样性及遗传结构. *西北植物学报*, 36, 1757–1763.]
- Campbell DR (2009) Using phenotypic manipulations to study multivariate selection of floral trait associations. *Annals of Botany*, 103, 1557–1566.
- Cao Q, Liao K, Liu J, Xu GX, Sun Q, Si HZ, Yang XF (2016) Study on the Daxigou wild apricot fruit phenotypic diversity in Huocheng County, Xinjiang. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 53, 791–798. (in Chinese with English abstract) [曹倩, 廖康, 刘娟, 徐桂香, 孙琪, 司洪章, 杨新峰 (2016) 新疆霍城县大西沟野杏果实表型多样性研究. *新疆农业科学*, 53, 791–798.]

- Dong Y, Zhang J, Ren YC, Han ZX (2013) Study on genetic diversity of natural population in *Malus sieversii* with microsatellite. *Journal of Plant Genetic Resources*, 14, 771–777. (in Chinese with English abstract) [董研, 张军, 任亚超, 韩志校 (2013) 中国新疆野苹果天然群体遗传多样性SSR分析. *植物遗传资源学报*, 14, 771–777.]
- Ge S, Wang MX, Chen YW (1988) An analysis of population genetic structure of masson pine by isozyme technique. *Scientia Silvae Sinicae*, 24, 399–409. (in Chinese with English abstract) [葛颂, 王明麻, 陈岳武 (1988) 用同工酶研究马尾松群体的遗传结构. *林业科学*, 24, 399–409.]
- Geng WJ, Liao K, Diao YQ, Xu Z, Sha H (2012) Analysis of genetic relationships among different populations of *Prunus domestica* L. based on SSR marker. *Acta Horticulturae Sinica*, 39(Suppl.), 2602. (in Chinese) [耿文娟, 廖康, 刁永强, 许正, 沙红 (2012) 野生欧洲李不同居群亲缘关系的SSR分析. *园艺学报*, 39(增刊), 2602.]
- Gonzalez-Martinez SC, Alia R, Gil L (2002) Population genetic structure in a Mediterranean pine (*Pinus pinaster* Ait.): a comparison of allozyme markers and quantitative traits. *Heredity*, 89, 199–206.
- Gu QH, Xiong BX, Chen J, Huang J, Zhu YT (2011) Application of microsatellite DNA markers in population genetics studies of freshwater gastropoda. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 17, 280–286. (in Chinese with English abstract) [顾钱洪, 熊邦喜, 陈洁, 黄瑾, 朱玉婷 (2011) 微卫星标记技术在淡水腹足类种群遗传学研究中的应用. *应用与环境生物学报*, 17, 280–286.]
- Han ZX, Bi ZL, Lu FQ, Gao P, Zhang PF, Li JH, Zhang J (2014) Analysis of the relative relationship of different hawthorn cultivars by apple SSR primers. *Hebei Journal of Forestry and Orchard Research*, 29, 165–168. (in Chinese with English abstract) [韩志校, 毕振良, 陆凤勤, 高朋, 张朋飞, 李舰航, 张军 (2014) 利用苹果引物对不同山楂品种的SSR分析. *河北林果研究*, 29, 165–168.]
- He TM (2006) Study on Genetic Diversity of Chinese Common Apricot (*Prunus armeniaca*) Germplasm and Origin of Purple Apricot (*Prunus dasycarpa*). PhD dissertation, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong. (in Chinese with English abstract) [何天明 (2006) 中国普通杏(*Prunus armeniaca*)种质资源遗传多样性及紫杏(*P. dasycarpa*)起源研究. 博士学位论文, 山东农业大学, 山东泰安.]
- Hu BL, Wan Y, Li X, Lei JG, Luo XD, Yan WG, Xie JK (2012) Analysis on genetic diversity of phenotypic traits in rice (*Oryza sativa*) core collection and its comprehensive assessment. *Acta Agronomica Sinica*, 38, 829–839. (in Chinese with English abstract) [胡标林, 万勇, 李霞, 雷建国, 罗向东, 严文贵, 谢建坤 (2012) 水稻核心种质表型性状遗传多样性分析及综合评价. *作物学报*, 38, 829–839.]
- Huang CQ, Liu GD, Bai CJ, Wang WQ, Tang J, Yu DG (2012) A study on the morphological diversity of 475 accessions of *Cynodon dactylon*. *Acta Prataculturae Sinica*, 21(4), 33–42. (in Chinese with English abstract) [黄春琼, 刘国道, 白昌军, 王文强, 唐军, 虞道耿 (2012) 475份狗牙根种质资源形态多样性的研究. *草业学报*, 21(4), 33–42.]
- Liu CQ, Chen XS, Wang JZ, Chen XL, Wang HB, Tian CP, Wu CJ (2008) Studies on genetic diversity of phenotypic traits in wild myrobalan plum (*Prunus cerasifera* Ehrh.). *Acta Horticulturae Sinica*, 35, 1261–1268. (in Chinese with English abstract) [刘崇琪, 陈学森, 王金政, 陈晓流, 王海波, 田长平, 吴传金 (2008) 新疆野生樱桃李果实部分表型性状的遗传多样性分析. *园艺学报*, 35, 1261–1268.]
- Liu H, Liao K, Liu J, Zhao SR, Sun Q, Cao Q (2016) Analysis of genetic diversity and genetic relationship of wild hawthorn resources in Xinjiang by ISSR markers. *Nonwood Forest Research*, 34(2), 19–23. (in Chinese with English abstract) [刘欢, 廖康, 刘娟, 赵世荣, 孙琪, 曹倩 (2016) 新疆野生山楂资源遗传多样性及亲缘关系的ISSR分析. *经济林研究*, 34(2), 19–23.]
- Liu H, Liao K, Sun Q, Cao Q, Peng XL, Yang XF, Si HZ (2015) A study on flower bud morphological differentiation of wild hawthorn in Xinjiang. *Journal of Xinjiang Agricultural University*, 38, 36–39. (in Chinese with English abstract) [刘欢, 廖康, 孙琪, 曹倩, 彭晓莉, 杨新峰, 司洪章 (2015) 新疆野生山楂花芽形态分化的研究. *新疆农业大学学报*, 38, 36–39.]
- Liu H, Liao K, Sun Q, Yang XF, Si HZ, Cao Q (2014) Research on morphological characteristics of flower organ of wild hawthorn in Xinjiang. *Journal of Xinjiang Agricultural University*, 37, 293–297. (in Chinese with English abstract) [刘欢, 廖康, 孙琪, 杨新峰, 司洪章, 曹倩 (2014) 新疆3种野生山楂花器官形态特征研究. *新疆农业大学学报*, 37, 293–297.]
- Lü DG, Li ZX (2006) Description Criterion and Data Standard for Hawthorn Germplasm Evaluation. China Agriculture Press, Beijing. (in Chinese) [吕德国, 李作轩 (2006) 山楂种质资源描述规范和数据标准. 中国农业出版社, 北京.]
- Lü HY, Zhou LL, Li J, Zhang J (2011) The studies on extracting technology of pigments from *Crataegus songorica*. *Anhui Agricultural Science Bulletin*, 17(9), 25–27. (in Chinese with English abstract) [吕海英, 周露露, 李进, 张瑾 (2011) 准噶尔山楂果实色素提取工艺研究. *安徽农学通报*, 17(9), 25–27.]
- Meeus S, Honnay O, Jacquemyn H (2012) Strong differences in genetic structure across disjunct, edge, and core populations of the distylous forest herb *Pulmonaria officinalis* (Boraginaceae). *American Journal of Botany*, 99, 1809–1818.
- Opedal H, Falahati-Anbaran M, Albertsen E, Armbruster WS, Perez-Barrales R, Stenien HK, Pelabon C (2017) Euglossine bees mediate only limited long-distance gene flow in a tropical vine. *New Phytologist*, 213, 1898–1908.
- Ramos R, Song G, Navarro J, Zhang R, Symes CT, Forero MG, Lei F (2016) Population genetic structure and long-distance dispersal of a recently expanding migratory bird. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 99, 194–203.
- Wang K, Liu FZ, Zhao JC, Gong X, Gao Y, Liu LJ (2008) Study on partial phenotypic diversity of apple germplasm

- resources. China Fruits, (5), 20–25. (in Chinese) [王昆, 刘凤之, 赵进春, 龚欣, 高源, 刘立军 (2008) 苹果种质资源部分表型多样性研究. 中国果树, (5), 20–25.]
- Wang ZY, Dong YZ, Chen H, Wang RF (2011) Rapid DNA extraction method from Xinjiang Yili wild walnut for SSR-PCR. Northern Horticulture, (19), 100–103. (in Chinese with English abstract) [王肇延, 董玉芝, 陈虹, 王瑞芬 (2011) 适用于新疆野核桃SSR-PCR的快速提取DNA的方法. 北方园艺, (19), 100–103.]
- Yin LK (2006) Rare and Endangered Endemic Higher Plants in Xinjiang of China. Xinjiang Science and Technology Publishing House, Urumqi. (in Chinese) [尹林克 (2006) 新疆珍稀濒危特有高等植物. 新疆科学技术出版社, 乌鲁木齐.]
- Yu WL, Zhang B (2012) A study on morphological variation of pods and seeds of *Medicago falcata* collected from Zhaosu, Xinjiang. Acta Prataculturae Sinica, 21, 249–255. (in Chinese with English abstract) [于万里, 张博 (2012) 新疆昭苏野生黄花苜蓿果实形态变异研究. 草业学报, 21, 249–255.]
- Zhang Y, Dai HY, Zhang QJ, Li H, Zhang ZH (2008) Assessment of genetic relationship in *Crataegus* genus by the apple SSR primers. Journal of Fruit Science, 25, 521–525. (in Chinese with English abstract) [张叶, 代红艳, 张琪静, 李贺, 张志宏 (2008) 利用苹果SSR引物分析山楂属植物遗传关系. 果树学报, 25, 521–525.]
- Zhao HZ, Feng BT (1996) China Fruit Plant Monograph: Hawthorn (*Crataegus*) Flora. China Forestry Publishing House, Beijing. (in Chinese) [赵焕谔, 丰宝田 (1996) 中国果树志·山楂卷. 中国林业出版社, 北京.]
- Zia ZU, Sadaqat HA, Tahir MH, Sadia B, Bushman BS, Hole D, Michaels L, Malik W (2014) Estimation of genetic diversity using SSR markers in sunflower. Genetika, 50, 570–580.

(责任编辑: 周世良 责任编辑: 时意专)