

# 基于 AFLP 标记的 山东省 5 个野核桃群体的遗传多样性分析

王东升, 辛红, 邢世岩<sup>①</sup>, 刘晓静, 吴岐奎

(山东农业大学林学院, 山东 泰安 271018)

**摘要:** 利用 AFLP 分子标记, 对分布于山东省内 5 个样地(泰山鸢鸽崖、鲁山核心区边缘、崂山北九水、昆嵛山南天门和泰山佛爷寺)的 46 个野核桃(*Juglans cathayensis* Dode)单株的遗传多样性进行了分析, 并采用聚类分析方法探讨了它们的遗传关系。结果表明: 用 8 对 *PstI/MseI* 系列引物组合从 46 个单株中共扩增出 1 034 条条带, 其中多态性条带 1 005 条, 多态性条带百分率达 97.20%; 每对引物可扩增出 113~154 条多态性条带, 平均每对引物可扩增出 125.6 条多态性条带。在这些条带中包含 174 条特异性条带(其中有 19 条缺失条带), 通过特异性条带可鉴别出 91.3% 的野核桃单株。5 个野核桃群体的多态性条带百分率(PPB)、观测等位基因数( $N_a$ )、有效等位基因数( $N_e$ )、Nei's 基因多样性( $H$ )和 Shannon's 信息指数( $I$ )分别为 50.57%~63.51%、1.505 7~1.635 1、1.273 5~1.300 4、0.163 2~0.181 9 和 0.249 1~0.281 3, PPB、 $N_a$ 、 $N_e$ 、 $H$  和  $I$  的平均值分别为 55.23%、1.552 3、1.284 3、0.169 6 和 0.259 4, 表明野核桃群体遗传多样性较高、遗传变异较为丰富。46 个单株的遗传相似性系数为 0.536 8~0.864 5, 平均值为 0.624 9。聚类分析结果显示: 在遗传相似性系数 0.66 处, 可将 46 个单株分成 7 组, 其中部分来源于同一产地的单株没有聚在同一组中, 表明这些野核桃单株的遗传关系与其地理分布不完全一致。

**关键词:** 野核桃; AFLP 标记; 遗传多样性; 聚类分析; 多态性条带

中图分类号: Q346+.5; S792.13.01 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2013)03-0063-07

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2013.03.10

**Genetic diversity analysis on five populations of *Juglans cathayensis* from Shandong Province based on AFLP marker** WANG Dongsheng, XIN Hong, XING Shiyan<sup>①</sup>, LIU Xiaojing, WU Qikui (College of Forestry, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2013, 22(3): 63-69

**Abstract:** The genetic diversity of forty-six individuals of *Juglans cathayensis* Dode collected from five plots (i. e. Boge Cliff of Taishan Mountain, edge of core zone of Lushan Mountain, Beijiushui Area of Laoshan Mountain, Nantianmen of Kunyushan Mountain and Foye Temple of Taishan Mountain) in Shandong Province was analyzed by means of AFLP marker, and the genetic relationship among these individuals also was discussed by cluster analysis method. The results show that 1 034 bands are amplified by using eight pairs of *PstI/MseI* primer combinations, in which, there are 1 005 polymorphic bands with 97.20% of percentage of polymorphic band. Each pair of primer can amplify 113-154 polymorphic bands with the average of 125.6 polymorphic bands. There are 174 specific bands (including 19 absent bands) in these bands, and 91.3% of *J. cathayensis* individuals can be distinguished based on these specific bands. Percentage of polymorphic band (PPB), observed number of alleles ( $N_a$ ), effective number of alleles ( $N_e$ ), Nei's gene diversity ( $H$ ) and Shannon's information index ( $I$ ) of five populations of *J. cathayensis* is 50.57%-63.51%, 1.505 7-1.635 1, 1.273 5-1.300 4, 0.163 2-0.181 9 and 0.249 1-0.281 3, respectively, the averages of PPB,  $N_a$ ,  $N_e$ ,  $H$  and  $I$  is 55.23%, 1.552 3, 1.284 3, 0.169 6 and 0.259 4, respectively, meaning that there are high genetic diversity and rich genetic variation among *J. cathayensis* populations. The genetic similarity

收稿日期: 2013-01-16

基金项目: 山东省农业良种工程重大课题(鲁农良字[2011]7号)

作者简介: 王东升(1987—),男,山东济南人,硕士研究生,主要研究方向为森林培育。

<sup>①</sup>通信作者 E-mail: xingsy@sdau.edu.cn

coefficient of forty-six individuals is 0.536 8–0.864 5 with an average of 0.624 9. The cluster analysis result shows that forty-six individuals can be divided into seven groups at 0.66 of genetic similarity coefficient, in which, some individuals collected from the same plot are not gathered into the same group, indicating that genetic relationship of these individuals is not completely consistent with their geographical distribution.

**Key words:** *Juglans cathayensis* Dode; AFLP marker; genetic diversity; cluster analysis; polymorphic band

野核桃 (*Juglans cathayensis* Dode) 为胡桃科 (Juglandaceae) 胡桃属 (*Juglans* Linn.) 落叶乔木, 为第三纪孑遗植物; 该种仅分布于中国大陆及台湾地区, 是中国特有的胡桃属植物<sup>[1]</sup>。其核仁可食用, 含油率高达 34%, 也是重要的中药材之一<sup>[2]</sup>。有关野核桃的相关研究尚不多见, 已有的研究结果主要集中在其药用价值分析和化学成分提取等方面<sup>[3-5]</sup>, 对其多样性特别是分子水平上的遗传多样性研究未见报道。作为中国的乡土树种, 野核桃具有重要的药用价值和经济价值, 对该种进行多学科的全面深入研究有利于进一步开发其应用潜力, 同时也可作为野核桃的遗传育种、种质资源收集及其保护策略的制定奠定基础。

AFLP 标记技术不但具备其他分子标记技术 (如 RFLP、SSRs 和 RAPD 等) 所具有的优点, 而且还具有带型丰富、用样量少、灵敏度高、快速高效及操作方便等特点<sup>[6]</sup>。作者尝试用 AFLP 标记技术对山东省内分布的野核桃资源的遗传多样性和亲缘关系进行分析, 以期了解该种的遗传变异状况, 为野核桃优良单株的鉴别以及遗传育种材料的选择提供实验依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

供试的 46 株野核桃单株叶片分别于 2012 年 5 月上旬采自泰山鹁鸽崖、鲁山核心区边缘、崂山北九水、昆嵛山南天门和泰山佛爷寺 5 个样地, 单株间隔 10 m 以上; 在每一单株上采集适量嫩叶, 迅速放入装有变色硅胶的自封袋中, 干燥保存。各样地的基本情况及取样单株数量如下:

泰山鹁鸽崖位于泰安市泰山南部, 地理坐标为东经 117°07'、北纬 36°14'; 为暖温带季风型气候, 夏季多雨、冬季干燥; 年均气温 12.9 °C, 极端最低温 -22.4 °C,  $\geq 10$  °C 年积温 3 250 °C; 年降水量 750 mm, 无霜期 186 ~ 196 d, 年均日照时数 2 893 h。选择 10 个单株采集叶片, 编号 1 至 10。

鲁山核心区边缘位于淄博市东南部, 地理坐标为东经 118°03'、北纬 36°18', 为暖温带季风型气候; 年均气温 12.4 °C, 极端最低温 -21.4 °C,  $\geq 10$  °C 年积温 4 030 °C ~ 4 500 °C; 年降水量 690.9 mm, 无霜期 180 d, 年日照时数 2 607 h。选择 9 个单株采集叶片, 编号 11 至 19。

崂山北九水位于青岛市东南部, 地理坐标为东经 120°36'、北纬 36°12'; 为暖温带季风型气候, 兼有海洋性气候; 年均气温 11.9 °C, 1 月份平均气温 -0.8 °C,  $\geq 10$  °C 年积温 3 600 °C ~ 4 200 °C; 年降水量 800 ~ 1 000 mm, 无霜期 179 d, 年日照时数 2 515.5 h。选择 6 个单株采集叶片, 编号 20 至 25。

昆嵛山南天门位于烟台市东南部, 地理坐标为东经 121°43'、北纬 37°13'; 为暖温带季风型气候, 兼有海洋性气候; 年均气温 11.8 °C, 1 月平均气温 3.6 °C, 极端最低温 -14.7 °C,  $\geq 10$  °C 年积温 3 600 °C ~ 4 100 °C; 年降水量 800 ~ 1 000 mm, 无霜期 200 ~ 220 d, 年日照时数 3 642.7 h。选择 8 个单株采集叶片, 编号 26 至 33。

泰山佛爷寺位于泰安市泰山东北部, 地理坐标为东经 117°05'、北纬 36°18'; 年均气温 13.5 °C, 极端最低温 -20.4 °C,  $\geq 10$  °C 年积温 3 248 °C; 年降水量 744 mm, 无霜期 186 ~ 195 d, 年均日照时数 2 891 h。选择 13 个单株采集叶片, 编号 34 至 46。

### 1.2 方法

1.2.1 DNA 提取 参照文献[7]采用 CTAB 法提取野核桃 DNA。

1.2.2 AFLP 体系的建立 酶切与连接同时进行。以 *Pst*I 和 *Mse*I 为内切酶构建酶切连接体系。酶切连接体系总体积 20  $\mu$ L, 包含 50 ng  $\cdot$   $\mu$ L<sup>-1</sup> 模板 DNA 4  $\mu$ L、10 mmol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> Adapter 1  $\mu$ L、10 $\times$ Reaction buffer 2.5  $\mu$ L、10 U  $\cdot$   $\mu$ L<sup>-1</sup> *Pst*I/*Mse*I 2  $\mu$ L、5 U  $\cdot$   $\mu$ L<sup>-1</sup> T4 Ligase 1  $\mu$ L 和 10 mmol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> ATP 2.5  $\mu$ L 等。于 37 °C 条件下保温 5 h, 并于 8 °C 条件下放置 5 h 后于 4 °C 低温条件下过夜。

选择 *Pst*I (序列为 5'-GACTGCCTACATGCAG-3') 和 *Mse*I (5'-GATGAGTCCTGAGTAAC-3') 为预扩引物。取 2  $\mu$ L 酶切连接后的产物为模板,加入 10  $\mu$ mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> 预扩引物 1  $\mu$ L、10 mmol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> dNTPs 0.5  $\mu$ L 和 2 U  $\cdot$   $\mu$ L<sup>-1</sup> *Taq* DNA 聚合酶 0.5  $\mu$ L 等,构建 25  $\mu$ L 预扩增体系。PCR 扩增程序为:94  $^{\circ}$ C 预变性 2 min;然后于 94  $^{\circ}$ C 变性 30 s、56  $^{\circ}$ C 退火 30 s、72  $^{\circ}$ C 延伸 80 s,共 30 个循环;最后在 72  $^{\circ}$ C 条件下延伸 5 min。

选扩增反应体系总体积 25  $\mu$ L,由稀释 20 倍后的预扩增产物 2  $\mu$ L、10  $\mu$ mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> *Pst*I 扩增引物 1  $\mu$ L、10  $\mu$ mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> *Mse*I 扩增引物 1  $\mu$ L 和 2 U  $\cdot$   $\mu$ L<sup>-1</sup> *Taq* DNA 聚合酶 0.5  $\mu$ L 等构建而成。PCR 扩增程序为:于 94  $^{\circ}$ C 变性 30 s、65  $^{\circ}$ C 退火 30 s、72  $^{\circ}$ C 延伸 80 s,进行第 1 轮扩增;此后每轮扩增递减 0.7  $^{\circ}$ C,共扩增 12 轮;然后按照 94  $^{\circ}$ C 变性 30 s、55  $^{\circ}$ C 退火 30 s、72  $^{\circ}$ C 延伸 80 s 的顺序依次扩增 23 轮,最后于 72  $^{\circ}$ C 条件下延伸 5 min。选扩增产物用质量体积分数 4% 的聚丙烯酰胺凝胶电泳,获得的电泳图谱用 ABI377 PRISM 377 sequencer 测序仪(美国 ABI 公司)检测片段大小。

### 1.3 数据处理及分析

在电泳图谱上对迁移率相同的条带进行统计,有条带的记为“1”、无条带的记为“0”,构建二元数据矩阵。利用 POPGENE version 1.31 软件计算多态性条带百分率(PPB)、观测等位基因数( $N_a$ )、有效等位基因数( $N_e$ )、Nei's 基因多样性( $H$ )和 Shannon's 信息指数( $I$ )等遗传多样性指标。采用 NTSYSpc version 2.10e 软件计算各单株间的遗传相似性系数(SC),并采用 Dice 系数非加权算术平均法(UPGMA)对 46 个单株进行聚类分析。

## 2 结果和分析

### 2.1 AFLP 扩增结果分析

用扩增条带清晰、多态性较好且重复性较高的 8 对引物对 46 个野核桃单株的 DNA 进行选择扩增,各引物组合的扩增结果见表 1。由表 1 可见:不同引物组合扩增的多态性条带数均不相同。用引物组合 *P-GAA/M-CAG* 扩增获得的多态性条带最多,达 154 条;用引物组合 *P-GAC/M-CAT* 扩增获得的多态性条带最少,为 113 条;平均每对引物扩增出 125.6 条多态性条带。8 对引物共扩增出 1 034 条带,其中多态性条带 1 005 条,共有带 29 条,平均每对引物扩增出

的条带数为 129.3 条。8 对引物扩增的多态性条带百分率平均值为 97.20%;其中,引物组合 *P-GAC/M-CAT* 扩增的多态性条带百分率最低(92.62%),引物组合 *P-GAA/M-CAG* 扩增的多态性条带百分率最高(100.00%)。

由引物组合 *P-GAG/M-CTG* 的扩增图谱(图 1)可知:扩增获得的条带清晰、数量较多,表明所选用的引物组合多态性较好、符合实验要求。

表 1 用于山东省 5 个野核桃群体 AFLP 分析的引物组合 (*Pst*I/*Mse*I) 及扩增结果

Table 1 Primer combinations (*Pst*I/*Mse*I) used for AFLP analysis of five populations of *Juglans cathayensis* Dode in Shandong Province and amplification result

引物组合 Primer combination	条带总数 Total number of band	多态性条带数 Number of polymorphic band	多态性条带 百分率/% Percentage of polymorphic band
<i>P-GAA/M-CAG</i>	154	154	100.00
<i>P-GAA/M-CTT</i>	131	130	99.24
<i>P-GAC/M-CAT</i>	122	113	92.62
<i>P-GAC/M-CTA</i>	130	128	98.46
<i>P-GAG/M-CTA</i>	121	114	94.21
<i>P-GAG/M-CTG</i>	122	119	97.54
<i>P-GAT/M-CAA</i>	122	118	96.72
<i>P-GAT/M-CAC</i>	132	129	97.73
平均值 Average	129.3	125.6	97.20

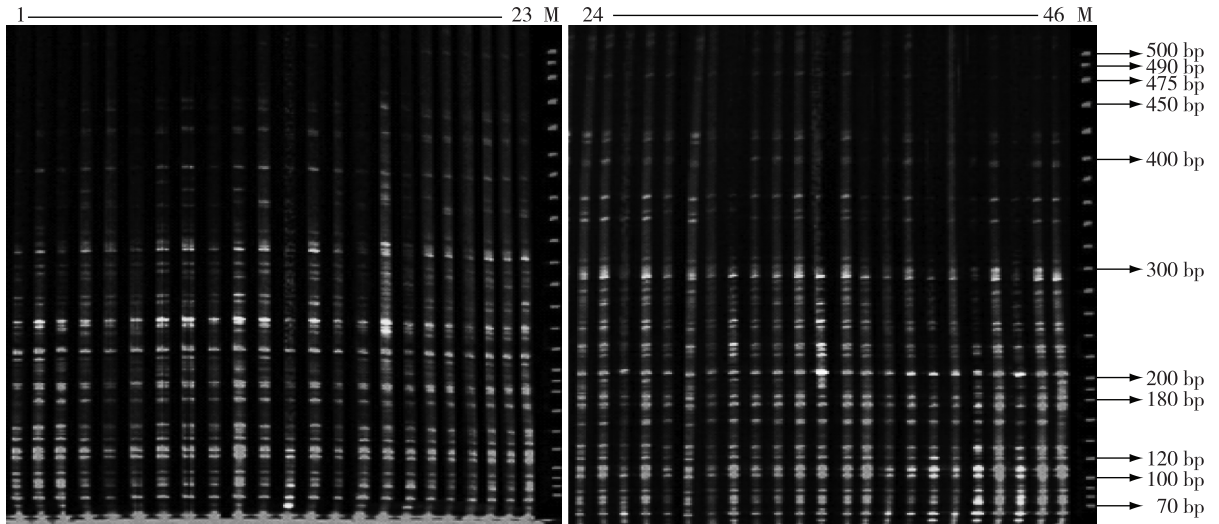
### 2.2 群体遗传多样性分析

供试 46 个野核桃单株根据其来源地可分为 5 个群体,基于 AFLP 标记对 5 个野核桃群体的遗传多样性指标进行分析,结果见表 2。

结果表明:5 个野核桃群体的多态性条带百分率为 50.57% ~ 63.51%,多态性条带百分率平均值为 55.23%;观测等位基因数( $N_a$ )为 1.505 7 ~ 1.635 1,平均观测等位基因数为 1.552 3;有效等位基因数( $N_e$ )为 1.273 5 ~ 1.300 4,平均有效等位基因数为 1.284 3;Nei's 基因多样性( $H$ )为 0.163 2 ~ 0.181 9,平均 Nei's 基因多样性为 0.169 6;Shannon's 信息指数( $I$ )为 0.249 1 ~ 0.281 3,平均 Shannon's 信息指数为 0.259 4。表明供试的 5 个野核桃群体的遗传多样性均较高。

### 2.3 特异性条带分析

刘国彬等<sup>[8]</sup>认为:在不同引物的扩增产物中,仅个别种源在某一位点有条带出现或条带缺失,这种具有差异性的条带可作为该种源的特异标记。对 46 个野核桃单株 AFLP 标记的分析结果表明:8 对引物组



1-10: 来源于泰山鹤鸽崖 Collected from Boge Cliff of Taishan Mountain; 11-19: 来源于鲁山核心区边缘 Collected from the edge of core zone of Lushan Mountain; 20-25: 来源于崂山北九水 Collected from Beijiushui Area of Laoshan Mountain; 26-33: 来源于昆嵛山南天门 Collected from Nantianmen of Kunyushan Mountain; 34-46: 来源于泰山佛爷寺 Collected from Foye Temple of Taishan Mountain; M: Marker.

图 1 采用引物组合 *P-GAG/M-CTG* 对来源于山东省 5 个群体的 46 个野核桃单株的 AFLP 扩增图谱  
Fig. 1 AFLP amplification pattern of forty-six individuals from five populations of *Juglans cathayensis* Dode in Shandong Province by primer combination *P-GAG/M-CTG*

表 2 基于 AFLP 标记的山东省 5 个野核桃群体的遗传多样性分析结果<sup>1)</sup>

Table 2 Analysis result of genetic diversity of five populations of *Juglans cathayensis* Dode in Shandong Province based on AFLP marker<sup>1)</sup>

群体 <sup>2)</sup>	Population <sup>2)</sup>	N	NPB	PPB/%	$N_a$	$N_e$	$H$	$I$
1	1	10	75	57.97	1.579 7(0.492 5)	1.281 2(0.349 6)	0.168 7(0.185 9)	0.260 3(0.264 4)
2	2	9	68	52.44	1.524 4(0.497 1)	1.286 1(0.362 6)	0.168 0(0.193 7)	0.254 7(0.276 1)
3	3	6	65	50.57	1.505 7(0.499 7)	1.280 5(0.359 9)	0.166 0(0.191 9)	0.252 0(0.275 3)
4	4	8	67	51.66	1.516 6(0.495 4)	1.273 5(0.347 1)	0.163 2(0.187 2)	0.249 1(0.268 7)
5	5	13	82	63.51	1.635 1(0.480 0)	1.300 4(0.347 6)	0.181 9(0.185 9)	0.281 3(0.263 8)
平均值 Average			71	55.23	1.552 3(0.492 9)	1.284 3(0.353 4)	0.169 6(0.188 9)	0.259 4(0.269 7)

<sup>1)</sup> N: 单株数 Number of individual; NPB: 多态性条带数 Number of polymorphic band; PPB: 多态性条带百分率 Percentage of polymorphic band;  $N_a$ : 观测等位基因数 Observed number of alleles;  $N_e$ : 有效等位基因数 Effective number of alleles;  $H$ : Nei's 基因多样性 Nei's gene diversity;  $I$ : Shannon's 信息指数 Shannon's information index. 括号内的数值为标准差 Datums in brackets are the standard deviation.

<sup>2)</sup> 1. 泰山鹤鸽崖 Boge Cliff of Taishan Mountain; 2. 鲁山核心区边缘 The edge of core zone of Lushan Mountain; 3. 崂山北九水 Beijiushui Area of Laoshan Mountain; 4. 昆嵛山南天门 Nantianmen of Kunyushan Mountain; 5. 泰山佛爷寺 Foye Temple of Taishan Mountain.

合共产生 174 条特异性条带,其中包括 19 条缺失带。不同引物组合扩增出的特异性条带数量有差异,特异性条带数最多的引物组合为 *P-GAT/M-CAC*,产生了 31 条特异性条带(包括 5 条缺失带);特异性条带数最少的引物组合为 *P-GAG/M-CTG*,扩增出 15 条特异性条带。特异性条带数在 46 个单株间也有明显差异,特异性条带数最多的是 6 号单株,有 23 条;其次是 24 号单株,有 18 条特异性条带(包括 3 条缺失带);特异性条带数在 10 条以上(包括 10 条)的单株还有 4 号和 44 号单株;另外有 4 个单株没有特异性条带。分析结果表明:通过特异性条带可以对 91.3%

的野核桃单株进行鉴别。

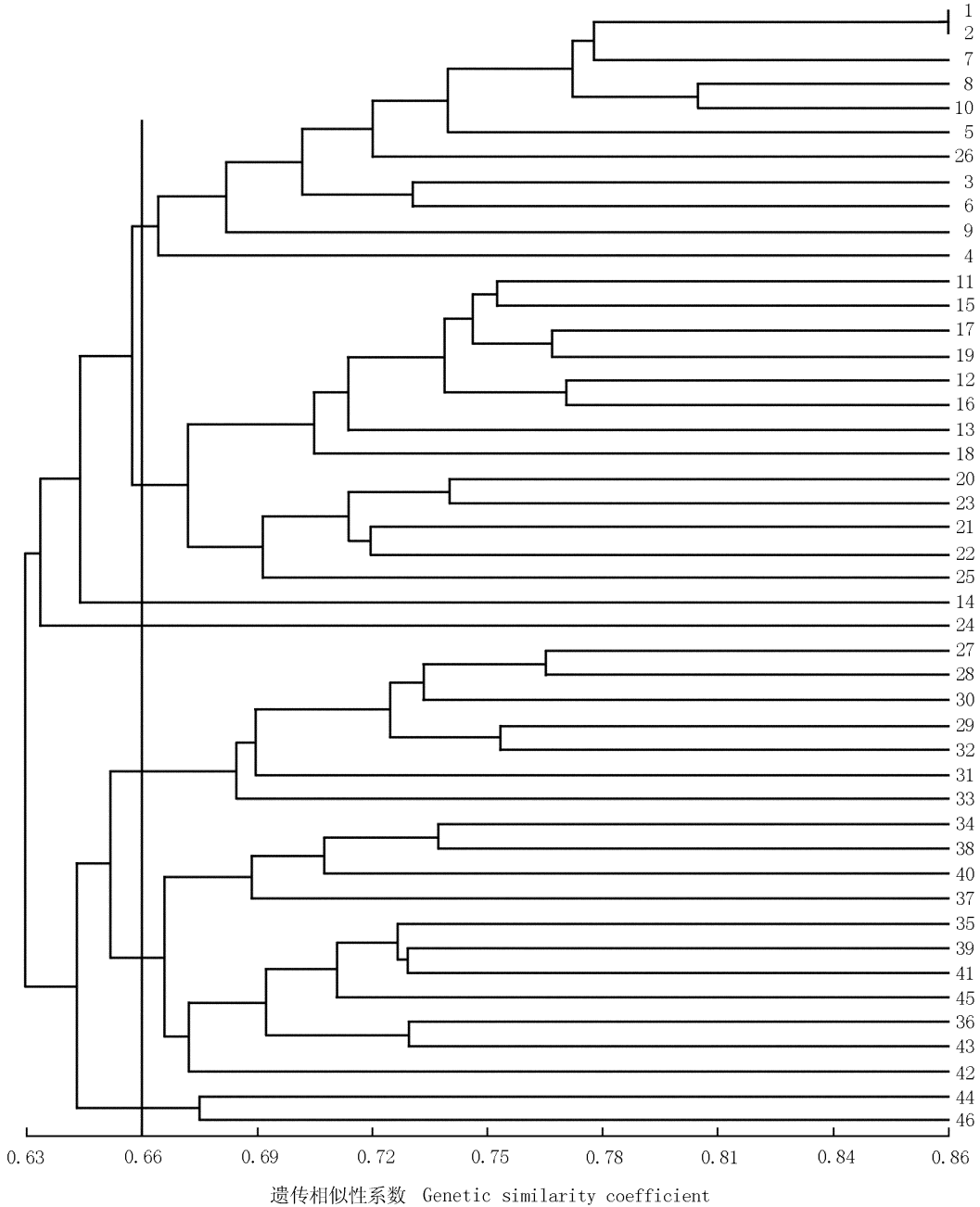
#### 2.4 遗传相似性分析和聚类分析

根据 AFLP 标记的分析结果,用 NTSYSpc version 2.10e 软件计算 46 个野核桃单株间的遗传相似性系数,结果表明:各单株间遗传相似性系数为 0.536 8 ~ 0.864 5,遗传相似性系数平均值为 0.624 9。1 号单株与 2 号单株间的遗传相似性系数最大,为 0.864 5,二者都分布于泰山鹤鸽崖,表明二者的遗传关系最近;4 号单株与 22 号单株间的遗传相似性系数最小、遗传关系最远,其中 4 号单株分布于泰山鹤鸽崖,22 号单株分布于崂山北九水,二者间遗传相似性系数较

小,可能与其分布地距离相对较远、生长环境差异较大有关。2 号单株与其他单株间的遗传相似性系数平均值最大(0.692 4),4 号单株与其他单株间的遗传相似性系数平均值最小(为 0.610 4),表明 2 号单株与其他单株间具有较高的遗传相似性,而 4 号单株与其

他单株间的遗传相似性较小。

基于遗传相似性系数、通过 UPGMA 聚类分析可以直观明了地表现不同单株间的遗传关系,46 个单株的聚类图见图 2。由图 2 可见:在遗传相似性系数 0.66 处,46 个野核桃单株可被分成 7 组。



1-10: 来源于泰山鸢鸽崖 Collected from Boge Cliff of Taishan Mountain; 11-19: 来源于鲁山核心区边缘 Collected from the edge of core zone of Lushan Mountain; 20-25: 来源于崂山北九水 Collected from Beijiushui Area of Laoshan Mountain; 26-33: 来源于昆崙山南天门 Collected from Nantianmen of Kunyushan Mountain; 34-46: 来源于泰山佛谷寺 Collected from Foye Temple of Taishan Mountain.

图 2 基于 AFLP 标记的山东省 5 个野核桃群体 46 个单株的 UPGMA 聚类图  
 Fig. 2 UPGMA cluster dendrogram of forty-six individuals of five populations of *Juglans cathayensis* Dode in Shandong Province based on AFLP marker

第1组包括1~10号及26号单株,其中1~10号单株均分布于泰山鹁鸽崖,26号单株分布于昆嵛山南天门;第2组包括11、12、13、15、16、17、18、19、20、21、22、23和25号共13个单株,分别分布于鲁山核心区边缘和崂山北九水;第3组和第4组各自仅包含1个单株,分别为分布于鲁山核心区边缘的14号单株和分布于崂山北九水的24号单株;第5组包括27~33号单株,均分布于昆嵛山南天门;第6组包括34、35、36、37、38、39、40、41、42、43和45号共11个单株,均分布于泰山佛爷寺;第7组包括44和46号2个单株,也均分布于泰山佛爷寺。在遗传相似性系数0.68处还可将第2组分为2个亚组:第1亚组包括11、12、13、15、16、17、18和19号共8个单株,全部分布于鲁山核心区边缘;第2亚组包括20、21、22、23和25号共5个单株,全部分布于崂山北九水。聚类分析结果表明:46个野核桃单株的分组与其地理分布并不完全一致,部分来源于同一产地的单株被分在不同的分组中。

### 3 讨论和结论

遗传多样性是物种基因丰富度的直接反映,而分子标记技术可快速检测遗传变异水平的高低。AFLP电泳图谱上的每一条扩增条带都对应1个基因位点,出现多态性条带也就意味着某个或某些物种在该位点上存在变异<sup>[9-10]</sup>。一般情况下,如果多态性条带百分率超过50%,就可以认为该物种有较为丰富的遗传多样性<sup>[11]</sup>。本研究中,供试46个野核桃单株的多态性条带百分率平均值达到97.20%,5个群体的多态性条带百分率平均值达到55.23%,表明野核桃具有较高的遗传多样性。Hamrick等<sup>[12]</sup>指出:多数多年生木本树种平均多态位点百分数为65%,平均每个位点的等位基因数为2.22,每个位点的有效等位基因数为1.24。本研究中野核桃单株的多态性条带百分率平均值高于多年生木本植物的平均值,但平均观测等位基因数(1.5523)低于多年生木本植物的平均值,而平均有效等位基因数(1.2843)则高于多年生木本植物的平均值。一般认为<sup>[13-14]</sup>,某个物种具有分布范围广、异交率高、生命周期长等特点,也就具有较丰富的遗传变异。野核桃作为一种分布广泛的木本植物,也具有遗传多样性较高的特点。另外,大量的分子生物学研究结果<sup>[15]</sup>表明:选育品种的遗传多样性最差,

地方品种较好,而野生物种的遗传多样性最丰富。本研究涉及的野核桃植株均处于野生状态下,因而,与同科的经济作物核桃(*Juglans regia* Linn.)和山核桃(*Carya cathayensis* Sarg.)相比<sup>[16-18]</sup>,野核桃表现出了较高的遗传多样性。

伴随着对野核桃的深入研究和利用,单纯依据表型性状和地理起源对野核桃的种质资源进行分类和选择,往往不能真实反映其种质的遗传关系和遗传差异。物种不同种质的遗传差异归根到底是基因的差异,采用DNA分子标记可以检测出不同种质在分子水平上的遗传差异和遗传关系的远近,比单纯通过表型性状进行分类更为可靠,对植物亲缘关系的划分和育种亲本的选择更有意义。在本研究中,8对引物组合共扩增出174条特异性条带(包含19条缺失条带),通过这些特异性条带可将91.3%的供试野核桃单株鉴别出来,表明AFLP分子标记可用于野核桃单株的鉴定。

根据AFLP标记分析结果,计算出供试的46个野核桃单株间的遗传相似性系数为0.5368~0.8645,遗传相似性系数平均值为0.6249,其中来源于泰山鹁鸽崖的1号和2号单株遗传相似性系数最大,表明同一产地的单株具有一定的遗传相似性。但通过聚类分析将46个野核桃单株分成7组,其中部分来源于同一产地的单株并没有聚在一起,说明基于AFLP分子标记获得的46个野核桃单株的遗传关系与其地理分布并不完全一致。

本研究的实验材料取自山东省4个山区的5个样地,采样范围相对集中,并不能完全说明野核桃的全部遗传背景。因此,若要全面了解山东省野核桃的遗传背景,仍需扩大野核桃种质资源的收集范围,并应采用多种手段对野核桃进行遗传多样性和亲缘关系的研究。

#### 参考文献:

- [1] 胡钰. 野核桃叶化学成分的研究[D]. 武汉:华中科技大学同济医学院药学院, 2008.
- [2] 薛婧乐, 王克, 陈小斌. 野核桃的生长特点与价值分析[J]. 现代农村科技, 2011(7): 33.
- [3] 彭强. 厚朴混淆品——野核桃树皮的生药鉴定[J]. 中药材, 1992, 15(11): 20-23.
- [4] LI Y X, RUAN H L, ZHOU X F, et al. Cytotoxic diarylheptanoids from pericarps of *Juglans cathayensis* Dode[J]. Chemical Research in Chinese Universities, 2008, 24(4): 427-429.
- [5] 余恒毅. 野核桃根皮化学成分及抗肿瘤活性研究[D]. 武汉:华

华中科技大学同济医学院药学院, 2010.

- [6] 周连第, 兰彦平, 韩振海. 板栗品种资源分子水平遗传多样性研究[J]. 华北农学报, 2006, 21(3): 81-85.
- [7] 洪丕征. 刺槐耐盐优良无性系初步选育及 AFLP 遗传多样性分析[D]. 泰安: 山东农业大学林学院, 2011.
- [8] 刘国彬, 龚榜初, 赖俊声, 等. 锥栗农家品种的遗传多样性及亲缘关系分析[J]. 林业科学研究, 2011, 24(6): 707-712.
- [9] MAJER D, MITHEN R, LEWIS B G, et al. The use of AFLP fingerprinting for the detection of genetic variation in fungi [J]. Mycological Research, 1996, 100(9): 1107-1111.
- [10] DEBENER T, MATTIESCH L. Construction of a genetic linkage map for roses using RAPD and AFLP markers[J]. Theoretical and Applied Genetics, 1999, 99(5): 891-899.
- [11] 陈良华, 胡庭兴, 张帆. 四川干旱干热河谷核桃资源遗传多样性分析[J]. 果树学报, 2009, 26(1): 48-54.
- [12] HAMRICK J L, GODT M J W, SHERMAN-BROYLES S L. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species[J]. New Forests, 1992, 6: 95-124.
- [13] HUH M K. Genetic diversity and population structure of Korean alder (*Alnus japonica*; Betulaceae) [J]. Canadian Journal of Forest Research, 1999, 29(9): 1311-1316.
- [14] KONNERT M, RUETZ W. Genetic variation of beech (*Fagus sylvatica* L.) provenances in an international beech provenance trial [J]. Forest Genetics, 2001, 8(3): 173-184.
- [15] 贾继增, 张正斌. 小麦 21 条染色体 RFLP 作图位点遗传多样性分析[J]. 中国科学: 生命科学, 2001, 31(1): 13-21.
- [16] 宁德鲁, 马庆国, 张雨, 等. 云南省核桃品种遗传多样性的 FISH-AFLP 分析[J]. 林业科学研究, 2011, 24(2): 189-193.
- [17] BAYAZIT S, KAZAN K, GÜLBİTTİ S, et al. AFLP analysis of genetic diversity in low chill requiring walnut (*Juglans regia* L.) genotypes from Hatay, Turkey [J]. Scientia Horticulturae, 2007, 111(4): 394-398.
- [18] 王正加, 黄有军, 郭传友, 等. 大别山核桃种群遗传多样性研究[J]. 植物生态学报, 2006, 30(3): 534-538.

(责任编辑: 惠红)

## 欢迎订阅 2014 年《植物科学学报》

邮发代号 38-103(国内), BM872(国外)

国内统一连续出版物号 CN 42-1817/Q, 国际标准连续出版物号 ISSN 2095-0837

《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、科学出版社出版、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。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》、中国科技论文与引文数据库、中国生物文献数据库、中国核心期刊(遴选)数据库、中国知识资源总库(中国科技期刊精品数据库)、中国期刊全文数据库、《中国药学文摘》、美国《化学文摘》、美国《生物学文摘》、美国《剑桥科学文摘: 自然科学》、俄罗斯《文摘杂志》、日本《科学技术文献速报》、英国《国际农业与生物科学研究中心》文摘、波兰《哥白尼索引》、万方数据——数字化期刊群、中国学术期刊(光盘版)等国内外刊库收录。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。

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。

本刊为双月刊, 大 16 开; 国内定价每期 50 元, 全年定价 300 元。全国各地邮局均可订阅, 邮发代号 38-103。也可直接与本刊编辑部联系订阅(免收邮挂费)。地址: 湖北武汉武昌磨山中国科学院武汉植物园内《植物科学学报》编辑部(邮编 430074); 电话: 027-87510755; E-mail: editor@wbcas.cn, zwxbjb@wbcas.cn。本刊已开通网站和远程稿件管理系统(<http://www.plantscience.cn>), 目前本刊过刊及现刊已全部上网, 欢迎作者和读者在线投稿和查询下载使用。请继续支持和关注本刊。

欢迎赐稿! 欢迎订阅! 欢迎刊登广告!