

新疆核桃 4 个栽培品种及野生种的遗传多样性分析

张宏祥¹, 张明理^{1,2,①}, 桂东伟³, 姜黎¹

(1. 中国科学院新疆生态与地理研究所 中国科学院干旱区生物地理与生物资源重点实验室, 新疆 乌鲁木齐 830011;
2. 中国科学院植物研究所, 北京 100093; 3. 新疆策勒荒漠草地生态系统国家野外科学观测研究站, 新疆 策勒 848300)

摘要:以新疆地区种植的 4 个核桃(*Juglans regia* Linn.)栽培品种(包括新栽培品种‘温 185’和‘新新 2’以及老栽培品种‘新丰’和‘扎 343’)及巩留野核桃自然保护区生长的野生核桃为研究对象,对其 cpDNA 的 *psbK-psbI* 区间和 mtDNA 的 *COX2* intron I 区间以及 nrDNA 的 ITS 和 ETS 区间的 DNA 片段序列进行了比较分析,并对其 MP、ML 和 UPGMA 系统发育树进行了分析;此外,还基于 SSR 分子标记结果对其进行了遗传多样性指数、UPGMA 系统发育树和遗传分组分析。结果表明:野生种与 4 个栽培品种的 cpDNA 和 mtDNA 片段序列无碱基变异,而其 nrDNA 的片段序列却存在 3 个碱基变异,但 4 个栽培品种间无碱基变异。以麻核桃(*J. hopeiensis* Hu)为外类群,基于上述 4 个 DNA 片段序列构建的 MP、ML 和 UPGMA 系统发育树的聚类结果一致,均表现为 4 个栽培品种聚为一组,而野生种和麻核桃则分别单独聚为一组。野生种的观测杂合度、预期杂合度和固定指数分别为 0.383、0.448 和 0.153,4 个栽培品种的上述 3 个遗传多样性指数分别为 0.428~0.576、0.423~0.619 和 -0.043~0.234。基于 SSR 分子标记结果的 UPGMA 系统发育树和分组数为 5 的遗传分组结果均表明:野生种和品种‘温 185’分别单独为一组;品种‘新新 2’和‘新丰’为一组;而品种‘扎 343’也单独为一组,但与品种‘新新 2’和‘新丰’遗传关系较近。遗传分组结果还表明:分组数为 3 更利于明确品种‘扎 343’的分组地位,此时,其与品种‘新新 2’和‘新丰’为一组。综合分析结果表明:核桃 4 个栽培品种间的遗传差异较小,且老栽培品种的遗传多样性总体上高于新栽培品种;野生种与栽培品种间具有明显的遗传差异,说明在育种或栽培过程中核桃种质资源的遗传多样性可能会逐渐降低,并且,该野生种可为核桃的分子育种提供天然的基因库资源。

关键词:核桃;野生种;栽培品种;遗传多样性;DNA 片段序列;SSR 分子标记

中图分类号: Q946-33; S664.1.024 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2017)02-0010-07

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2017.02.02

Analysis on genetic diversity of four cultivars and wild species of *Juglans regia* in Xinjiang

ZHANG Hongxiang¹, ZHANG Mingli^{1,2,①}, GUI Dongwei³, JIANG Li¹ (1. Key Laboratory of Biogeography and Bioresource in Arid Land, Xinjiang Institute of Ecology and Geography, Chinese Academy of Sciences, Urumqi 830011, China; 2. Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China; 3. Cele National Station of Observation and Research for Desert-Grassland Ecosystem, Cele 848300, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2017, 26(2): 10-16

Abstract: Taking four cultivars (including newly cultivar of ‘Wen185’ and ‘Xinxin2’ and old cultivar of ‘Xinfeng’ and ‘Za343’) of *Juglans regia* Linn. planted in Xinjiang region and wild *J. regia* grown in Gongliu Wild Walnut Nature Reserve as research objects, the DNA fragment sequences of *psbK-psbI* interval of cpDNA and *COX2* intron I interval of mtDNA, and ITS and ETS intervals of nrDNA were comparatively analyzed, and their MP, ML and UPGMA phylogenetic trees were analyzed. Otherwise, based on SSR molecular marker results, their genetic diversity indexes, UPGMA phylogenetic tree and genetic cluster were also analyzed. The results show that there is no base variation of fragment sequences

收稿日期: 2016-08-30

基金项目: 中国科学院西部之光项目(XBBS-2014-18); 中国科学院科技服务网络计划(STS)项目(KFJ-SW-ST5-176); 中国科学院西部之光项目(XBBS-2014-12); 国家自然科学基金资助项目(31500271)

作者简介: 张宏祥(1986—),男,湖南沅陵人,博士,助理研究员,主要从事干旱区植物资源保护与植物地理研究。

①通信作者 E-mail: zhangml@ibcas.ac.cn

of cpDNA and mtDNA among wild species and four cultivars, while there are three base variations of fragment sequences of their nrDNA, but there is no base variation among four cultivars. Taking *J. hopeiensis* Hu as an outer group, the cluster results of MP, ML and UPGMA phylogenetic trees constructed based on above four DNA fragment sequences are identical, all appear that four cultivars are clustered into one group, while wild species and *J. hopeiensis* are clustered into independent group, respectively. The observed heterozygosity, expected heterozygosity and fixation index of wild species are 0.383, 0.448 and 0.153, respectively, and the above three genetic diversity indexes of four cultivars are 0.428–0.576, 0.423–0.619 and –0.043–0.234, respectively. The results of UPGMA phylogenetic tree based on SSR molecular marker results and genetic cluster with cluster number of 5 both show that wild species and cultivar ‘Wen185’ are independent group, respectively, and cultivar ‘Xinxin2’ and ‘Xinfeng’ are one group, while cultivar ‘Za343’ is also an independent group, but it has a closer genetic relationship with cultivar ‘Xinxin2’ and ‘Xinfeng’. The genetic cluster results also show that cluster number of 3 is more suitable for defining the cluster status of cultivar ‘Za343’, right now, it is one group with cultivar ‘Xinxin2’ and ‘Xinfeng’. The result of comprehensive analysis indicates that the genetic difference among four cultivars of *J. regia* is small, and in general, the genetic diversity of old cultivars is higher than that of newly cultivars. In addition, there are obvious genetic differences between wild species and cultivars, meaning that genetic diversity of germplasm resource of *J. regia* might decrease gradually during breeding or cultivation processes, and the wild species can provide natural gene pool resource for molecular breeding of *J. regia*.

Key words: *Juglans regia* Linn.; wild species; cultivar; genetic diversity; DNA fragment sequence; SSR molecular marker

核桃(*Juglans regia* Linn.)又名胡桃,隶属胡桃属(*Juglans* Linn.),为“世界四大坚果”树种之一,拥有悠久的栽培历史。在选育过程中,核桃新品种通常较老品种具有更高的经济价值^[1]。但是,随着核桃新品种的不断选育,为了达到形态和遗传的一致性,各品种间的遗传多样性却逐渐丧失。这种现象已经在一些动物的育种过程中得到实验验证^[2-4]。然而,从种质资源角度来看,被替代的一些核桃老品种的某些特殊遗传特性仍可用于培育核桃新品种或改良已有的核桃品种,因此,对于选育核桃新品种而言,保护和利用好新、老品种的种质资源十分重要。相关研究人员已经对核桃与其同属近缘种间的亲缘关系^[5-6]、野生种群间的遗传多样性^[7-8]以及栽培品种间的亲缘关系^[9-11]等进行了研究,认为核桃与泡核桃(*J. sigillata* Dode)间存在遗传渗入^[5],且其栽培品种存在多个属于不同地理和生态类型的遗传组^[10-11]。但是,这些研究并没有对核桃新品种与老品种间的亲缘关系及其与野生种间的亲缘关系进行分析,而明确上述关系对于培育核桃新品种及其品种改良均具有重要作用。

新疆是中国重要的核桃种植区和野生核桃分布地,具有丰富的核桃种质资源。目前,新疆地区种植了多个优良的核桃品种,尤以‘温 185’(‘Wen185’)和‘新新 2’(‘Xinxin2’)等薄皮核桃品种为代表。另

外,在新疆巩留野核桃自然保护区还分布有原始野生核桃种群。鉴于此,作者对新疆地区种植的 4 个核桃栽培品种(包括 2 个新栽培品种和 2 个老栽培品种)和巩留野核桃自然保护区生长的野生核桃 cpDNA 的 *psbK-psbI* 区间和 mtDNA 的 *COX2* intron I 区间以及 nrDNA 的 ITS 和 ETS 区间的 DNA 片段序列进行比较分析和系统发育树分析,并对上述 5 个供试材料进行 SSR 分子标记分析,在 SSR 分子标记结果基础上进行遗传多样性指数、系统发育树和遗传分组分析,以期明确供试核桃野生种与 4 个栽培品种间的亲缘关系,并评估其遗传多样性,以揭示人工选育对核桃种质资源遗传多样性的影响,为核桃遗传育种研究提供参考资料。

1 材料和方法

1.1 材料

供试的 2 个核桃新栽培品种‘温 185’和‘新新 2’以及 2 个核桃老栽培品种‘新丰’(‘Xinfeng’)和‘扎 343’(‘Za343’)植株均种植在新疆温宿核桃林场,并且均从温宿木本粮油林场核桃园的早实核桃实生群体中选育而来^[12],供试的核桃野生种植株则生长在新疆巩留野核桃自然保护区内,5 个材料依次编号为 1、2、3、4、5,采样植株数分别为 25、25、18、17、

19. 每个植株选取 1 枚嫩叶,共采集 104 枚叶片,将采集的叶片立即放入装有硅胶的自封袋中干燥并带回实验室,于室温条件下保存、备用。

扩增反应使用的所有试剂均购自生工生物工程(上海)股份有限公司,所有引物合成和序列分析也均由该公司完成;使用的 PCR 仪为 ABI Verit96 梯度 PCR 仪(美国 ABI 公司)。

1.2 方法

1.2.1 基因组总 DNA 的提取 每个单株取经硅胶干燥的叶片约 50 mg,采用 CTAB 法^[13]提取叶片中的基因组总 DNA。

1.2.2 DNA 片段序列的扩增和分析 每个材料随机选取 5 个单株的基因组总 DNA 样品,对 mtDNA 的 *COX2* intron I 区间、cpDNA 的 *psbK-psbI* 区间以及 nrDNA 的 ITS 和 ETS 区间的 DNA 片段序列进行 PCR 扩增,扩增体系总体积为 30 μ L,扩增体系的具体组分和扩增程序均按照 Zhang 等^[14]的条件完成,4 个 DNA 片段扩增使用的引物序列见表 1。对扩增出的所有 DNA 片段进行测序,将所有原始序列进行人工校正和 Clustal X 比对^[15],并将获得的 DNA 片段序列上传至 GenBank 数据库(GenBank 登录号为 KY809038 至 KY809057)。

表 1 用于新疆核桃 4 个栽培品种和 1 个野生种不同 DNA 片段扩增的引物序列

Table 1 Sequences of primers used for amplifying different DNA fragments of four cultivars and one wild species of *Juglans regia* Linn. in Xinjiang

DNA 片段 DNA fragment	引物序列(5'→3') Primer sequence (5'→3')	
	正向引物 Forward primer	反向引物 Reverse primer
<i>COX2</i> intron I 区间 <i>COX2</i> intron I interval	GTTTACTATGGTCAGTCCAGTG	CCGCTTAAGCTTCCCCTGGTT
<i>psbK-psbI</i> 区间 <i>psbK-psbI</i> interval	TTAGCCTTTGTTTGGCAAG	AGAGTTTGAGAGTAAGCAT
ITS 区间 ITS interval	AGAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGC	TCCTCCGCTTATGTGATATGC
ETS 区间 ETS interval	GTATGCAACACAGGAACCC	GGTATTCCGATGATGTTGGC

1.2.3 SSR 分子标记分析 根据相关文献^[16-17]设计 SSR 引物,经过预实验,最终筛选出具有多态性且容易扩增的 5 对 SSR 引物,并在引物序列的 5'端添加荧光信号,各引物序列见表 2。对供试所有单株的基因组总 DNA 样品分别进行 PCR 扩增,扩增体系总

体积为 30 μ L,扩增体系的具体组分和扩增程序也按照 Zhang 等^[14]的条件完成。对所有扩增出的 DNA 片段进行测序,并通过 GeneMapper 软件对测定的序列进行校正。

表 2 用于新疆核桃 4 个栽培品种和 1 个野生种 SSR 分子标记分析的引物序列

Table 2 Sequences of primers used for SSR molecular marker analysis of four cultivars and one wild species of *Juglans regia* Linn. in Xinjiang

引物编号 Primer code	引物序列(5'→3') Primer sequence (5'→3')	
	正向引物 Forward primer	反向引物 Reverse primer
WGA001	ATTGGAAGGGAAGGAAATG	CGGGCACATACGTAAATCAC
WGA004	TGTTGCATTGACCCACTTGT	TAAGCCAACATGGTATGCCA
WGA032	CTCGGTAAGCCACACCAATT	ACGGCCAGTGTATGCATGTA
WGA321	TCCAATCGAAACTCCAAAGG	GTCCAAAGACGATGATGGA
WGA376	GCCCTCAAAGTGATGAACGT	TCATCCATATTTACCCTTTCCG

1.3 数据处理及分析

首先,基于测定的 DNA 片段序列确定核桃 4 个栽培品种和 1 个野生种间的碱基变异信息;然后,以麻核桃(*J. hopeiensis* Hu)为外类群,基于测定的 4 个 DNA 片段序列数据,使用 MEGA 6.0 软件^[18]、采用 MP、ML 和 UPGMA 3 种方法构建系统发育树,并采用靴带检验法计算各分支的靴带支持率,重复计算

1 000 次。

基于 SSR 分子标记结果,运用 GenAlEx 6.5 软件^[19]计算每个核桃栽培品种和野生种的遗传多样性指数,包括差异等位基因数、观测杂合度、期望杂合度和固定指数;根据 SSR 分子标记数据计算不同样品间的遗传距离,运用 MEGA 6.0 软件构建 UPGMA 系统发育树。

基于 SSR 分子标记结果, 运用 STRUCTURE 2.3 软件^[20]进行 Bayesian 遗传结构分析。分组数 (K) 设为 1~8, 分别进行 10 次独立运算; Burn-in 指数设为 100 000, 并执行 500 000 步的 Markov Chain Monte Carlo 模拟; 依据估算模型的后验概率 [$\ln P(D)$], 按照 Evanno 等^[21]的方法计算 ΔK 值, 并根据 ΔK 值的最大值来确定供试核桃 4 个栽培品种和 1 个野生种的最优分组数。运用 CLUMPP 1.1.2 软件^[22]将 STRUCTURE 2.3 软件的 10 次运算结果进行合并, 并采用 DISTRUCT 1.1 软件^[23]制图。

2 结果和分析

2.1 DNA 片段序列的扩增结果及系统发育树分析

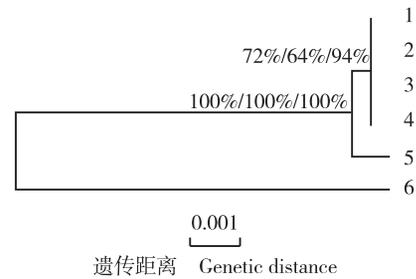
在基于新疆核桃 4 个栽培品种和 1 个野生种的 4 个 DNA 片段序列比对后构建的联合数据矩阵中, 序列总长度为 2 678 bp。在母系遗传的 cpDNA 和 mtDNA 片段序列中, 4 个栽培品种与野生种间无碱基变异; 而在双亲遗传的 nrDNA 片段序列中, 野生种与 4 个栽培品种间存在 3 个碱基变异, 但 4 个栽培品种间无碱基变异。

比较结果显示: 基于上述 4 个 DNA 片段序列的联合数据矩阵, 运用 MP、ML 和 UPGMA 方法构建的新疆核桃 4 个栽培品种和 1 个野生种的系统发育树

(图 1) 的聚类结果完全一致。由图 1 可见: 供试核桃的 4 个栽培品种聚为一组, 而野生种和外类群麻核桃则分别单独聚为一组, 并且, 系统发育树中各分支的靴带支持率均很高。

2.2 基于 SSR 分子标记的相关分析

2.2.1 遗传多样性指数分析 新疆核桃 4 个栽培品种和 1 个野生种 4 个遗传多样性指数(包括等位基因数、观测杂合度、预期杂合度和固定指数)的比较结果见表 3。



1: ‘温 185’ ‘Wen185’; 2: ‘新新 2’ ‘Xinxin2’; 3: ‘新丰’ ‘Xinfeng’; 4: ‘扎 343’ ‘Za343’; 5: 野生种 Wild species; 6: 麻核桃 *Juglans hopeiensis* Hu. 每个分支上的 3 个数据依次代表 MP、ML 和 UPGMA 系统发育树的靴带支持率 Three datums above each branch successively indicate bootstrap values of MP, ML and UPGMA phylogenetic trees.

图 1 基于 4 个 DNA 片段序列的新疆核桃 4 个栽培品种和 1 个野生种的系统发育树
Fig. 1 Phylogenetic tree of four cultivars and one wild species of *Juglans regia* Linn. in Xinjiang based on four DNA fragment sequences

表 3 新疆核桃 4 个栽培品种和 1 个野生种遗传多样性指数的比较 ($\bar{X} \pm SD$)

Table 3 Comparison on genetic diversity indexes of four cultivars and one wild species of *Juglans regia* Linn. in Xinjiang ($\bar{X} \pm SD$)

编号 ¹⁾ Code ¹⁾	等位基因数 Allele number	观测杂合度 Observed heterozygosity	预期杂合度 Expected heterozygosity	固定指数 Fixation index
1	24	0.428±0.184	0.423±0.121	0.074
2	24	0.576±0.159	0.539±0.074	-0.043
3	17	0.555±0.148	0.569±0.094	0.103
4	16	0.516±0.125	0.619±0.086	0.234
5	18	0.383±0.078	0.448±0.076	0.153

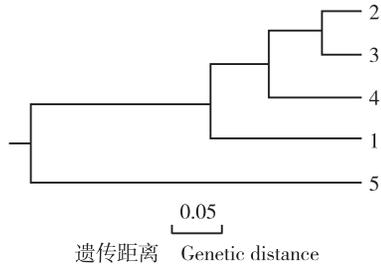
¹⁾ 1: ‘温 185’ ‘Wen185’; 2: ‘新新 2’ ‘Xinxin2’; 3: ‘新丰’ ‘Xinfeng’; 4: ‘扎 343’ ‘Za343’; 5: 野生种 Wild species.

由表 3 可见: 新栽培品种‘温 185’和‘新新 2’的等位基因数最多, 均为 24; 老栽培品种‘新丰’和‘扎 343’的等位基因数较少, 分别为 17 和 16; 野生种的等位基因数居中, 为 18。‘新新 2’的观测杂合度最高(0.576), 野生种最低(0.383), ‘新丰’和‘扎 343’较高, 而‘温 185’较低; ‘扎 343’的预期杂合度最高(0.619), ‘温 185’最低(0.423), ‘新丰’和‘新新 2’较高, 而野生种较低; ‘新新 2’的固定指数为-0.043,

其余 3 个栽培品种和野生种的固定指数均为正值, 其中, ‘扎 343’的固定指数最高(0.234), 野生种和‘新丰’次之(分别为 0.153 和 0.103), 说明‘扎 343’、‘新丰’和野生种具有较高水平的近交繁殖特征。

2.2.2 UPGMA 系统发育树分析 基于 SSR 分子标记构建的新疆核桃 4 个栽培品种和 1 个野生种的 UPGMA 系统发育树见图 2。

由图 2 可见: 在构建的 UPGMA 系统发育树中, 野

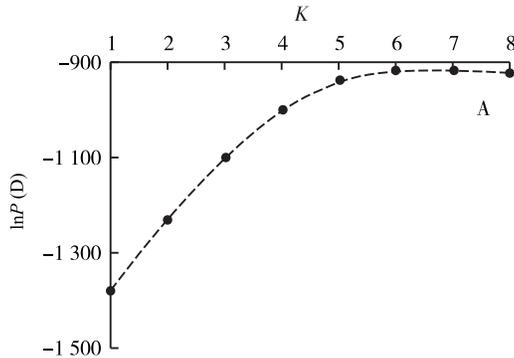


1: ‘温 185’ ‘Wen185’; 2: ‘新新 2’ ‘Xinxin2’; 3: ‘新丰’ ‘Xinfeng’; 4: ‘扎 343’ ‘Za343’; 5: 野生种 Wild species.

图 2 基于 SSR 分子标记的新疆核桃 4 个栽培品种和 1 个野生种的 UPGMA 系统发育树

Fig. 2 UPGMA phylogenetic tree of four cultivars and one wild species of *Juglans regia* Linn. in Xinjiang based on SSR molecular marker

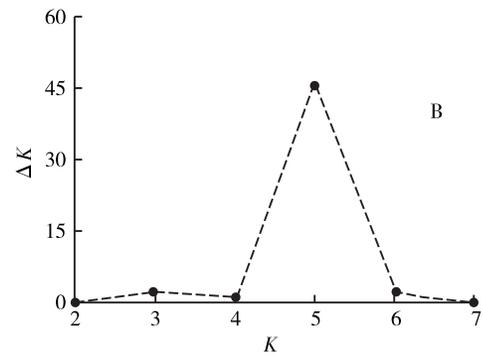
生种和新栽培品种‘温 185’分别单独为一组;新栽培品种‘新新 2’与老栽培品种‘新丰’为一组;老栽培品种‘扎 343’也单独为一组,但是其与‘新新 2’和‘新丰’的遗传关系较近。



2.2.3 遗传分组分析 STRUCTURE 2.3 软件的分析结果表明:后验概率[$\ln P(D)$]随分组数(K)的增大而逐渐升高(图 3-A),根据 ΔK 值确定的最优分组数为 5(图 3-B)。

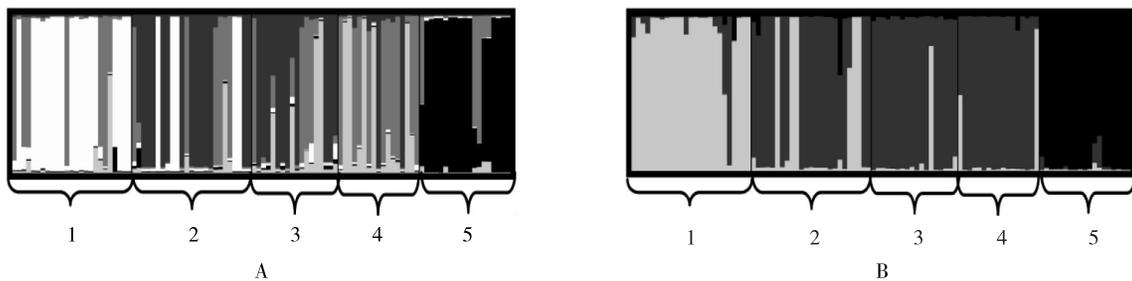
遗传分组结果表明: K 值为 5 时,新疆核桃 4 个栽培品种和 1 个野生种的分组结果(图 4-A)与其基于 SSR 分子标记结果的 UPGMA 系统发育树的聚类结果相同,即野生种单独为一组;新栽培品种‘温 185’单独为一组;新栽培品种‘新新 2’与老栽培品种‘新丰’为一组;老栽培品种‘扎 343’的分组比较混乱(内部个体形成 2 组,其中一组与品种‘新新 2’和‘新丰’一组近缘,另一组则单独为一组),或单独为一组。可见, K 值为 5 的分组结果不利于明确品种‘扎 343’的分组地位。

为了更清晰地明确品种‘扎 343’的分组地位,对 K 值为 3 时的分组情况进行了分析(图 4-B),结果表明:品种‘扎 343’、‘新新 2’和‘新丰’为一组,而野生种和品种‘温 185’分别单独为一组。



$\ln P(D)$: 后验概率 Posterior probability; K : 分组数 Cluster number.

图 3 新疆核桃 4 个栽培品种和 1 个野生种的分组分析
Fig. 3 Analysis on cluster of four cultivars and one wild species of *Juglans regia* Linn. in Xinjiang



1: ‘温 185’ ‘Wen185’; 2: ‘新新 2’ ‘Xinxin2’; 3: ‘新丰’ ‘Xinfeng’; 4: ‘扎 343’ ‘Za343’; 5: 野生种 Wild species.

图 4 分组数为 5(A) 和 3(B) 时新疆核桃 4 个栽培品种和 1 个野生种的遗传分组结果
Fig. 4 Genetic cluster results of four cultivars and one wild species of *Juglans regia* Linn. in Xinjiang with cluster number of 5 (A) and 3 (B)

3 讨论和结论

不同品种间的亲缘关系和遗传多样性差异是评估园艺植物种质资源状况的重要依据。本研究采用 cpDNA 的 *psbK-psbI* 区间、mtDNA 的 *COX2* intron I 区间以及 nrDNA 的 ITS 和 ETS 区间 4 个 DNA 片段序列和 SSR 分子标记对新疆核桃 4 个栽培品种(包括 2 个新栽培品种和 2 个老栽培品种)和 1 个野生种(生长在新疆巩留野核桃自然保护区)间的亲缘关系和遗传多样性差异进行了研究。结果表明:基于 4 个 DNA 片段序列构建的 MP、ML 和 UPGMA 系统发育树的聚类结果完全一致,4 个栽培品种直接聚为一组,说明他们具有相同的基因型,并且各栽培品种间的遗传差异较小。

基于 SSR 分子标记构建的 UPGMA 系统发育树和分组数(K)为 3 时的分组结果均显示:新栽培品种‘新新 2’与老栽培品种‘新丰’和‘扎 343’为一组,而新栽培品种‘温 185’却单独为一组,说明品种‘新新 2’继承了 2 个老栽培品种的种质资源,而‘温 185’与 2 个老栽培品种间的种质资源却存在明显差异。‘扎 343’和‘新丰’是 20 世纪 70 年代至 80 年代选育出的核桃优良栽培品种,而‘温 185’和‘新新 2’则是 20 世纪 80 年代末至 90 年代基于更高标准选育出的更加优良的核桃新栽培品种^[24-25]。这就导致有些新栽培品种可能继承了老栽培品种的一些种质资源,还有些新栽培品种与老栽培品种间的种质资源可能存在一定的遗传差异。

遗传分组结果表明: K 值为 5 时,老栽培品种‘扎 343’表现出比较特殊的遗传结构,说明‘扎 343’存在特殊的种质资源,这些特殊的种质资源应该受到保护和保存,以便在日后的分子育种过程中得以利用。王国安等^[12]曾利用老栽培品种‘扎 343’二次果核桃的早实性从其实生群体中选育出优良的矮化核桃单株,从而培育出核桃矮化新品种。实际上,核桃的野生种与栽培品种同属于 1 个物种,因此,他们在母系遗传的 mtDNA 的 *COX2* intron I 区间和 cpDNA 的 *psbK-psbI* 区间的片段序列间保留了遗传同一性。而基于双亲遗传的 nrDNA 的 ITS 和 ETS 区间的片段序列以及基于 SSR 分子标记结果的系统发育树和遗传分组结果却显示新疆核桃野生种与栽培品种间具有显著的遗传差异,说明新疆核桃野生种可为其分子育种提

供天然的基因资源,这些基因资源对于核桃的品种改良和新品种培育具有重大作用。然而,本研究中,新疆核桃野生种的观测杂合度(0.383)较低,固定指数却较高(0.153),说明该野生种群的遗传多样性较低,但种群内的近交繁殖水平却较高,表明新疆核桃野生种群已经出现遗传同一性现象,急需开展保育工作。

Gunn 等^[5]认为,人类的居住环境和家族谱系关系等人类活动对核桃在地理空间上的遗传变异有较大影响。此外,为了获取较高的经济价值和遗传稳定性,人们不断开展的定向选择育种也会对核桃的种质资源造成一定的影响。本研究中,2 个核桃老栽培品种的遗传多样性水平高于 2 个核桃新栽培品种,说明在核桃育种过程中可能会逐渐降低其种质资源的遗传多样性水平。而且,供试的 3 个核桃栽培品种‘温 185’、‘新丰’和‘扎 343’的固定指数均为正值,说明这 3 个核桃栽培品种内部存在较高水平的近交繁殖现象,表明选择性育种或者栽培过程中的无性繁殖可能会增加核桃种质资源的纯合度。

本研究中, K 值为 5 时,老栽培品种‘扎 343’的内部衍生出 2 个遗传类型,其中一个类型与新栽培品种‘新新 2’和老栽培品种‘新丰’近缘,另一个类型则自成一组。这可能是由于供试的多数核桃栽培品种的观测杂合度较高,在遗传分组时若设置的 K 值较大,则会造成品种‘扎 343’内部的部分个体形成新的分组,因此,在对核桃栽培品种进行遗传分组时,应设置合适的 K 值,否则不利于探查不同核桃栽培品种间的遗传分组情况。

参考文献:

- [1] 张强, 虎海防, 李西萍. 七个新疆良种核桃品质评价分析[J]. 北方园艺, 2010, 34(19): 16-17.
- [2] 赵广泰, 刘贤德, 王志勇, 等. 大黄鱼连续 4 代选育群体遗传多样性与遗传结构的微卫星分析[J]. 水产学报, 2010, 34(4): 500-507.
- [3] 陈雪峰, 杨国梁, 孔杰, 等. 人工养殖与选育对罗氏沼虾遗传多样性的影响[J]. 水生生物学报, 2012, 36(5): 866-873.
- [4] LI Z X, LI J, WANG Q Y, et al. The effects of selective breeding on the genetic structure of shrimp *Fenneropenaeus chinensis* populations[J]. Aquaculture, 2006, 258: 278-282.
- [5] GUNN B F, ARADHYA M, SALICK J M, et al. Genetic variation in walnuts (*Juglans regia* and *J. sigillata*; Juglandaceae): species distinctions, human impacts, and the conservation of agrobiodiversity in Yunnan, China[J]. American Journal of Botany, 2010, 97: 660-671.

- [6] WANG H, PAN G, MA Q G, et al. The genetic diversity and introgression of *Juglans regia* and *Juglans sigillata* in Tibet as revealed by SSR markers [J]. *Tree Genetics and Genomes*, 2014, 11: 1-11.
- [7] 王东升, 辛红, 邢世岩, 等. 基于 AFLP 标记的山东省 5 个野核桃群体的遗传多样性分析 [J]. *植物资源与环境学报*, 2013, 22(3): 63-69.
- [8] 张捷, 李勤霞, 张萍, 等. 基于 SRAP 分子标记新疆野核桃的遗传多样性分析 [J]. *植物遗传资源学报*, 2016: 17(2): 239-245.
- [9] CHEN L N, MA Q G, CHEN Y K, et al. Identification of major walnut cultivars grown in China based on nut phenotypes and SSR markers [J]. *Scientia Horticulturae*, 2014, 168: 240-248.
- [10] 李超, 罗淑萍, 秦伟, 等. 新疆核桃亲缘关系的 ISSR 分析 [J]. *新疆农业科学*, 2010, 47(9): 1722-1727.
- [11] 刘朝斌, 张文辉. 核桃种质资源遗传多样性的 SSR 分析 [J]. *西北植物学报*, 2012, 32(6): 1118-1125.
- [12] 王国安, 张强, 阿卜杜许库尔·牙合甫. 新温 609、新温 724 等 6 个核桃矮化品种的选育 [J]. *新疆农业科学*, 2011, 48(7): 1183-1188.
- [13] DOYLE J J. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue [J]. *Phytochemical Bulletin*, 1987, 19: 11-15.
- [14] ZHANG H X, ZHANG M L, WANG L N. Genetic structure and historical demography of *Malus sieversii* in the Yili Valley and the western mountains of the Junggar Basin, Xinjiang, China [J]. *Journal of Arid Land*, 2015, 7: 264-271.
- [15] THOMPSON J D, GIBSON T J, PLEWNIAC F, et al. The Clustal X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools [J]. *Nucleic Acids Research*, 1997, 25: 4876-4882.
- [16] DANGL G S, WOESTE K, ARADHYA M K, et al. Characterization of 14 microsatellite markers for genetic analysis and cultivar identification of walnut [J]. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 2005, 130: 348-354.
- [17] WOESTE K, BURNS R, RHODES O, et al. Thirty polymorphic nuclear microsatellite loci from black walnut [J]. *Journal of Heredity*, 2002, 93: 58-60.
- [18] TAMURA K, STECHER G, PETERSON D, et al. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0 [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2013, 30: 2725-2729.
- [19] PEAKALL R, SMOUSE P E. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update [J]. *Bioinformatics*, 2012, 28: 2537-2539.
- [20] PRITCHARD J K, STEPHENS M, DONNELLY P. Inference of population structure using multilocus genotype data [J]. *Genetics*, 2000, 155: 945-959.
- [21] EVANNO G, REGNAUT S, GOUDET J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study [J]. *Molecular Ecology*, 2005, 14: 2611-2620.
- [22] JAKOBSSON M, ROSENBERG N A. CLUMPP: a cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure [J]. *Bioinformatics*, 2007, 23: 1801-1806.
- [23] ROSENBERG N A. DISTRUCT: a program for the graphical display of population structure [J]. *Molecular Ecology Resources*, 2004, 4: 137-138.
- [24] 张树信. 核桃新品种新早丰、新萃丰及新巨丰的选育 [J]. *中国果树*, 1990(3): 76-78.
- [25] 张树信. 新疆核桃良种资源 [J]. *新疆农业科学*, 1989(3): 30-31.

(责任编辑: 佟金凤)

《植物资源与环境学报》启事

为了扩大科技期刊的信息交流、充分实现信息资源共享,《植物资源与环境学报》已先后加入“中国学术期刊(光盘版)”、“万方数据——数字化期刊群”和“中文科技期刊数据库”等网络文献资源数据库,凡在本刊发表的论文将编入数据库供上网交流、查阅及检索,作者的著作权使用费与本刊稿酬一次性给付,不再另付。如作者不同意将文章收编入数据库,请在来稿时声明,本刊将做适当处理。

《植物资源与环境学报》编辑部目前仅接受网上投稿,投稿网址为 <http://zwzy.cnbg.net>。投稿咨询电话: 025-84347014; E-mail: zwzybjb@163.com; QQ: 2219161478。

《植物资源与环境学报》编辑部
2017-05