

# 广西梨种质资源遗传多样性和群体结构分析

刘珊廷<sup>1</sup>, 易显荣<sup>1</sup>, 周民武<sup>1</sup>, 吴潇<sup>2</sup>, 齐开杰<sup>2</sup>, 徐志美<sup>1</sup>, 赵碧英<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>广西桂北特色经济作物种质创新与利用重点实验室·广西特色作物研究院, 广西桂林 541004;

<sup>2</sup>江苏省梨工程研究中心·南京农业大学园艺学院, 南京 210095)

**摘要:**【目的】阐明广西地方梨种质的遗传多样性、亲缘关系及群体结构, 加快梨种质的鉴定、评价和保护, 促进地方优质梨种质资源的合理有效利用, 助推品种改良和种质创新。【方法】利用筛选获得的15个SSR分子标记对71份广西地方梨种质和48份外地梨种质进行遗传多样性和群体结构分析。【结果】共检测出190个等位基因( $N_a$ ), 平均等位基因数( $N_a$ )为12.667, 平均有效等位基因数( $N_e$ )为5.454, 位点多态性信息指数( $PIC$ )平均值为0.762, 较好地揭示了梨的遗传多样性; 观测杂合度( $H_o$ )和期望杂合度( $H_e$ )平均值分别为0.682和0.788, 说明梨群体内存在近缘交配; 香农指数( $I$ )平均值为1.876, 反映梨群体的遗传多样性丰富。广西地方种质的平均等位基因数为11.53, 平均有效等位基因数为5.606, 香农指数( $I$ )为1.894, 均高于外地种质, 说明广西地方种质的遗传多样性更丰富。聚类分析显示大部分广西地方种质与外地种质的亲缘关系较远, 隶属两个不同类群, 但二者存在少量的相互交叉, 少数的广西梨和外地梨聚为一类, 有较近的亲缘关系。群体遗传结构分析也表明大部分广西梨和外地梨的遗传结构差异较大, 并且2个居群的近交系数( $F_{is}$ )均值都大于0, 存在近缘交配。进一步研究发现, 71份广西地方种质聚为3个类群, 从群体遗传结构上可划分为4个不同群体, 但群体间未表现明显的区域分化特征。分子方差分析结果表明, 供试梨种质的变异主要来源于个体内, 群体间和个体间的遗传分化程度较低, 应关注对群体内个体的选择和保护。【结论】广西地方梨种质遗传多样性相对丰富, 居群内普遍存在近缘交配, 没有明显的区域分化特征, 其遗传背景和外地一些栽培种或杂交种差异较大, 建议加强对广西地方梨种质的保护和利用。

关键词: 梨; 广西; SSR分子标记; 遗传多样性; 群体结构

中图分类号: S661.2

文献标志码: A

文章编号: 1009-9980(2024)03-0379-13

## Analysis of genetic diversity and population structure of pear germplasm resources in Guangxi

LIU Shanting<sup>1</sup>, YI Xianrong<sup>1</sup>, ZHOU Minwu<sup>1</sup>, WU Xiao<sup>2</sup>, QI Kaijie<sup>2</sup>, XU Zhimei<sup>1</sup>, ZHAO Biying<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Guangxi Key Laboratory of Germplasm Innovation and Utilization of Specialty Commercial Crops in North Guangxi/Guangxi Academy of Specialty Crops, Guilin 541004, Guangxi, China; <sup>2</sup>Jiangsu Engineering Research Center for Pear/College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, Jiangsu, China)

**Abstract:** 【Objective】 Pear, one of the most economically important temperate fruit trees, belongs to the genus *Pyrus*. China is one of the origin centers of *Pyrus* plants with a wide range of germplasm resources and has a long history of cultivation. As one of the important producing areas in southern China, pear cultivation area and production of Guangxi were  $2.1 \times 10^4$  hm<sup>2</sup> and  $5.08 \times 10^5$  tons in 2022, respectively. There is a rich wild pear germplasm resources in Guangxi according to the previous investigation. However, the understanding of the genetic diversity and population structure of the pear resources in Guangxi is still limited. It is of great significance for accelerating the identification, evaluation and conservation of the pear germplasm, and promoting the effective utilization of the local high-quality pear germplasm resources by clarifying the genetic diversity, population structure of the local pear

收稿日期: 2023-10-16 接受日期: 2024-01-08

基金项目: 国家梨产业技术体系专项资金项目(CARS-28); 广西农业科技自筹经费项目(Z2022122); 广西特色作物研究院科研基金项目(2022B001); 国家现代农业产业技术体系广西创新团队建设专项(nycytxgxcxtid-2023-13); 广西特色作物研究院科研基金项目(2023B009)

作者简介: 刘珊廷, 女, 硕士, 从事梨种质资源与遗传育种研究。E-mail: 377329390@qq.com

\*通信作者 Author for correspondence. E-mail: zhaobiying2011@163.com

germplasms in Guangxi, as well as its relationship with the nonlocal germplasms. **【Methods】** A total of 119 pear cultivars and landraces were collected and subjected to analyze the genetic diversity and the population structure using 15 pair of SSR primers reported in previous research. The genomic DNA was extracted by genomic DNA extraction kit of magnetic bead method, and the purity concentration and integrity of the extracts were assessed by NanoDROD and agarose gel electrophoresis. A 10  $\mu\text{L}$  PCR system was adopted, including 5.0  $\mu\text{L}$  of  $2\times\text{Taq}$  PCR Master Mix, 0.5  $\mu\text{L}$  of each of forward and reverse primers ( $10\text{ pmol}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ ), 1.0  $\mu\text{L}$  genomic DNA ( $20\text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ ), and 3.0  $\mu\text{L}$  of  $\text{ddH}_2\text{O}$ . The DNA was amplified according to the molecular weight records using capillary electrophoresis technology. According to the polymorphic bands, the data matrix was obtained. The number of alleles ( $Na$ ), the number of effective alleles ( $Ne$ ), the Shannon information index ( $I$ ), the expected heterozygosity ( $He$ ), the observed heterozygosity ( $Ho$ ), the polymorphic information content ( $PIC$ ), and the inbreeding coefficient ( $Fis$ ) were calculated using GenAlEx version 6.501 software. The Nei's genetic distance among between 119 accessions of the germplasm resources were calculated using Powermarker software. The UMPGA cluster trees of the 119 pear germplasm resources based on the Nei's genetic distance were constructed using MEGA7.0 software. The genetic structure analysis of the populations of pear was performed using STRUCTURE 2.3.4 software. The population number ( $K$ ) was set to 1-20. Each  $K$  value was simulated 20 times, and the Markov Chain Monte Carlo (MCMC) was set 100 000 times. Finally, the optimal  $\Delta K$  value was calculated using the online tool STRUCTURE HARVESTER. The genetic linkage map was constructed using CLUMMP and DISTRUCT software. The principal coordinate analysis (PCoA) was accomplished using GenAlEx software. **【Results】** A total of 190 alleles were detected in the pear germplasm resources by the 15 polymorphic SSR markers. The average number of alleles was 12.667. The average effective allele per SSR marker was 5.454. The average polymorphic information content ( $PIC$ ) was 0.762. These results showed that there was a relatively high genetic diversity within this population. The average observed heterozygosity ( $Ho$ ) and expected heterozygosity ( $He$ ) were 0.682 and 0.788, respectively, suggesting that the presence of inbreeding would exist within the pear population. The average Shannon information index ( $I$ ) was 1.876, reflecting that there was a high genetic diversity in the local pear population. Compared with the nonlocal germplasms, the genetic diversity of the local pear was higher with an average allele of 11.53, an average effective allele of 5.606, and a Shannon information index ( $I$ ) of 1.894. The cluster analysis showed that the majority of the local germplasms in Guangxi and nonlocal germplasms were divided into two different groups, with a distant genetic relationship. The analysis of population genetic structure also indicated that there was a significant difference in the genetic structure between the majority of the local germplasms in Guangxi and the nonlocal germplasms. The  $Fis$  mean values of the two populations were over 0, indicating that there would be inbreeding within the population. Further research found that the 71 local germplasms in Guangxi were clustered into three groups, which could be divided into four different populations based on population genetic structure. However, there were no obvious regional differentiation characteristics between the populations. The result of the analysis of molecular variance (AMOVA) indicated that the genetic variation in the pear germplasms mainly occurred within individuals, while the genetic differentiation between the populations and individuals was relatively small. **【Conclusion】** The fifteen SSR primers had the characteristics of clear amplification results, good repeatability and high polymorphism, and would be suitable for pear germplasm identification, genetic linkage map construction, genetic diversity, and molecular marker-assisted breeding. Furthermore, the genetic diversity of the local pear germplasms in Guangxi was relatively rich. There would be a general inbreeding and no obvious regional differentia-

tion within the populations, and the genetic background differed greatly from some cultivars or hybrids of nonlocal pear. Therefore, we proposed to strengthen the conservation and utilization of the local pear germplasm in Guangxi.

**Key words:** Pear; Guangxi; SSR markers; Genetic diversity; Population structure

梨为蔷薇科(Rosaceae)梨属(*Pyrus* L.)植物,是我国乃至世界范围内的重要温带果树之一,距今已有3000余年的栽培历史<sup>[1]</sup>。一般认为梨的原种起源于第三纪甚至更古老的中国西部或者西南部的山区,经过亚欧大陆传播到中亚地区,最后到达亚洲西部和欧洲<sup>[2]</sup>。根据出身、原产地,梨可分为两大类:东方梨(Oriental pears)和西方梨(Occidental pears)。目前发现的梨属植物至少有30个种,其中原生种(基本种)大约有20个。在中国,梨产区遍布东西北中,梨的种质资源极为丰富,可以说,我国是梨属植物的起源中心,也是遗传多样性中心,形成了中国豆梨、柯汉梨或台湾豆梨、川梨、砂梨和秋子梨等基本种<sup>[3]</sup>,还有各种各样的品种资源和地方野生资源,它们形状各异,颜色多样,早、中、晚熟皆有,风味各具特色<sup>[4]</sup>。中国南疆广西广西壮族自治区地处亚热带和热带气候区,水、光、热资源充足,生态环境复杂多变,孕育了许多具有特色的梨种质资源,比如砂梨中的优质品种灌阳雪梨,被评为全国农产品地理标志。据统计,2022年广西梨栽培面积2.1万hm<sup>2</sup>,产量50.78万t,是广西重要的水果产业之一。然而,广西梨产业存在品种竞争力不强等突出问题,加快品种改良和种质资源创新利用是有效的解决方法之一。因此,对广西地方梨种质资源进行系统鉴定、遗传多样性和种群结构分析具有重要意义。

种质鉴定和遗传多样性研究是品种改良和种质资源创新的基础。在植物研究中,传统的做法是主要依据形态学、细胞学、酶学等方法来鉴定种质,但实际中仍存在许多困难,而且可靠性不高。20世纪70年代以来,以个体间核苷酸序列变异为基础的分子标记技术得到了快速发展和应用,极大地推动了植物种质鉴定和遗传多样性研究,常见的分子标记有:限制性片段长度多态性标记(RFLP)、随机扩增多态性标记(RAPD)、简单重复序列(SSR)、扩增限制性内切酶片段长度多态性(AFLP)和单核苷酸多态性(SNP)。其中,SSR分子标记符合孟德尔共显性遗传,具有数量丰富、操作技术简便、可靠性强和重复性好等优点<sup>[5]</sup>,在评价植物遗传多样性、构建遗

传连锁图谱、揭示进化历史和分子辅助育种等方面得到了广泛应用。21世纪以来,SSR分子标记技术在梨品种鉴定、遗传多样性研究和新品种选育等方面已有许多成功先例。日本学者Yamamoto等<sup>[6]</sup>最早借鉴苹果上建立的SSR分子标记,应用于梨的多态性和遗传多样性鉴定并最终取得成功。在中国,Bao等<sup>[7]</sup>利用6对SSR引物对东亚主要原生栽培种的遗传多样性和亲缘关系进行研究,结果表明,供试材料分为10个类群。其中,所有中国砂梨被划分到4个类群,具有丰富的遗传多样性,中国白梨被划分到3个类群,日本梨仅存在于1个类群中,中国砂梨和中国白梨没有形成离散群甚至亚群,此外,一些日本梨栽培种与中国砂梨栽培种的关系十分相近。Xue等<sup>[8]</sup>从筛选出的332个多态SSR标记中随机选取18个多态SSR标记,对44个梨品种进行遗传多样性分析,为鉴定梨品种的族谱基因型、系谱推断提供了重要参考。

新中国成立以来,中国学者在梨种质资源、品质发育及遗传育种研究领域取得了丰硕成果,特别是近年来对梨的起源进化、遗传多样性和亲缘关系的研究不断深入,梨的“前世今生”被逐渐揭开神秘面纱。限于多种因素,广西地方梨种质资源的鉴定、遗传多样性和群体结构的研究还比较薄弱,加上各地区之间的苗木繁育和种质交流进程加快,导致品种混杂、关系不清、同物异名等问题突出,极不利于广西梨种质资源的保护和利用。笔者在本研究中以119份梨种质作为试验材料,利用15个多态性良好的SSR标记,分析广西地方梨种质资源的遗传多样性和群体结构,及其与外地种质之间的亲缘关系和遗传差异,旨在为广西地方梨种质资源的保护和利用以及现代梨育种工作提供依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

119份供试梨种质采自自治区级农作物种质资源圃—广西梨种质资源圃(桂林),其中原产于广西的种质有71份,外地种质48份。详细信息见表1。

表 1 供试梨种质来源  
Table 1 Pear germplasm used for analysis

编号 No.	资源名称 Name of cultivar	原产地或亲本 Origin or parent	编号 No.	资源名称 Name of cultivar	原产地或亲本 Origin or parent	编号 No.	资源名称 Name of cultivars	原产地或亲本 Origin or parent
1	爱甘水 Aikansui	长寿×多摩 Chouju×Tanla	21	灌阳大把子雪梨 Guanyang Dabazixueli	广西灌阳 Guanyang, Guangxi	41	靖西5号 Jingxi No. 5	广西靖西 Jingxi, Guangxi
2	秋月 Akizuki	(新高×丰水)×幸水 (Nittakaa×Hosui)×Kosui	22	灌阳黄蜜 Guanyang Huangmi	广西灌阳 Guanyang, Guangxi	42	金骑士 Jinqishi	广西阳朔 Yangshuo, Guangxi
3	板峡梨 Banxiali	广西永福 Yongfu, Guangxi	23	灌阳1号 Guanyang No. 1	广西灌阳 Guanyang, Guangxi	43	金水1号 Jinshui No. 1	长十郎×江岛 Choujuurou×Enoshima
4	饼子梨 Bingzili	广西永福 Yongfu, Guangxi	24	灌阳2号 Guanyang No. 2	广西灌阳 Guanyang, Guangxi	44	喜水 Kisui	明月×丰水 Meigetsu×Hosui
5	岑溪黄梨 Cenxi Huangli	广西岑溪 Cenxi, Guangxi	25	灌阳青皮梨 Guanyang Qingpili	广西灌阳 Guanyang, Guangxi	45	幸水 Kosui	菊水×早生幸藏 Kikusui×Wascokhzo
6	岑溪黄砂梨 Cenxi Huangshali	广西岑溪 Cenxi, Guangxi	26	灌阳清香梨 Guanyang Qingxiangli	广西灌阳 Guanyang, Guangxi	46	乐业1号 Ley No. 1	广西乐业 Leye, Guangxi
7	岑溪墨烟梨 Cenxi Moyanli	广西岑溪 Cenxi, Guangxi	27	灌阳水南梨 Guanyang Shuinanli	广西灌阳 Guanyang, Guangxi	47	乐业青皮梨 Leye Qingpili	广西乐业 Leye, Guangxi
8	岑溪沙梨 Cenxi Shali	广西岑溪 Cenxi, Guangxi	28	灌阳小把子雪梨 Guanyang Xiaobazixueli	广西灌阳 Guanyang, Guangxi	48	良渚30-46 Liangzhu30-46	翠冠×西子绿 Cuiguan×Xizili
9	岑溪铁砂梨 Cenxi Tieshali	广西岑溪 Cenxi, Guangxi	29	桂花梨 Guihuaili	广西柳江 Liujiang, Guangxi	49	良渚31-22 Liangzhu31-22	长二十世纪×翠冠 Osa Nijisseiki×Cuiguan
10	岑溪雪梨 Cenxi Xueli	广西岑溪 Cenxi, Guangxi	30	桂清梨 Guiqingli	清香芽变 Budding of Qingxiang	50	良渚31-31 Liangzhu31-31	Osa Nijisseiki×Cuiguan
11	岑溪早梨 Cenxi Zaoli	广西岑溪 Cenxi, Guangxi	31	横山梨 Hengshanli	中国台湾 Taiwan, China	51	良渚8-81 Liangzhu8-81	长二十世纪×Cuiguan Osa Nijisseiki×Cuiguan
12	种花梨 Chengtuoli	广西乐业 Leye, Guangxi	32	横县蜜梨 Hengxian Mili	广西横县 Hengxian, Guangxi	52	凌云1号 Lingyun No. 1	翠冠实生后代 The actual offspring of Cuiguan
13	赤花梨 Chihuaili	广西柳江 Liujiang, Guangxi	33	红酥脆 Hongsucui	幸水×火把梨 Kosui×Huobali	53	凌云2号 Lingyun No. 2	广西凌云 Lingyun, Guangxi
14	翠冠 Cuiguan	幸水×(杭青×新世纪) Kosui×(Hangqing×Shinseiki)	34	红早酥 Hongzaosu	早酥芽变 Budding of Zaosu	54	荔浦黄皮糖梨 Lipu Huangpitangli	广西荔浦 Lipu, Guangxi
15	翠玉 Cuiyu	西子绿×翠冠 Xizili×Cuiguan	35	黄皮梨 Huangpili	广西乐业 Leye, Guangxi	55	荔浦绿皮糖梨 Lipu Lupitangli	广西荔浦 Lipu, Guangxi
16	粗皮梨 Cupili	广西龙胜 Longsheng, Guangxi	36	华酥 Huasu	早酥×八云 Zaosu×YakuYakumo	56	六月梨 Liuyueli	广西龙胜 Longsheng, Guangxi
17	大板袍梨 Dafanbaoli	广西永福 Yongfu, Guangxi	37	葫芦梨 Huluili	广西平乐 Pingle, Guangxi	57	六月爽 Liuyueshuang	伏梨×金水梨 Fuli×Jinshuili
18	东兰1号 Donglan No. 1	广西东兰 Donglan, Guangxi	38	井冈山1号 Jinggangshan No. 1	江西井冈山 Jinggangshan, Jiangxi	58	六月酥 Liuyuesu	早酥芽变 Budding of Zaosu
19	鄂梨2号 Eli No. 2	中香梨(伏梨×启发) zhongxiangli(Fuli×Beurre Giffard)	39	靖西3号 Jingxi No. 3	广西靖西 Jingxi, Guangxi	59	龙胜大砂梨 Longsheng Dashedi	广西龙胜 Longsheng, Guangxi
20	富川蜜梨 Fuchuan Mili	广西富川 Fuchuan, Guangxi	40	靖西4号 Jingxi No. 4	广西靖西 Jingxi, Guangxi	60	龙胜1号 Longsheng No. 1	广西龙胜 Longsheng, Guangxi

表 1 (续) Table 1 (Continued)

编号 No.	资源名称 Name of cultivars	原产地或亲本 Origin or parent	编号 No.	资源名称 Name of cultivars	原产地或亲本 Origin or parent	编号 No.	资源名称 Name of cultivars	原产地或亲本 Origin or parent
61	龙胜2号 Longsheng No. 2	广西龙胜 Longsheng, Guangxi	81	钦州大糖梨 Qinzhou Datangli	广西钦州 Qinzhou, Guangxi	101	夏清 Xiaqing	新高×西子绿 Nittaka×Xizili
62	龙胜糖梨 Longsheng Tangli	广西龙胜 Longsheng, Guangxi	82	钦州小糖梨 Qinzhou Xiaotangli	广西钦州 Qinzhou, Guangxi	102	兴安梨 Xinganli	广西灌阳 Guanyang, Guangxi
63	禄峒1号 Ludong No. 1	广西靖西 Jingxi, Guangxi	83	钦州中糖梨 Qinzhou Zhongtangli	广西钦州 Qinzhou, Guangxi	103	新梨7号 Xinli No. 7	库尔勒香梨×早酥 Ku'erlexiangli pear×Zaosu
64	禄峒2号 Ludong No. 2	广西靖西 Jingxi, Guangxi	84	全州蜜梨 Quanzhou Mili	广西全州 Quanzhou, Guangxi	104	新玉 Xinyu	长二十世纪×翠冠 Osa Nijisseiki×Cuiguan
65	鹿寨1号 Luzhai No. 1	广西鹿寨 Luzhai, Guangxi	85	新世纪 Shinseiki	新世纪×长十郎 Nijisseiki×Choujuurou	105	新杂3 Xinza 3	翠冠实生后代 The actual offspring of Cuiguan
66	满丰 Manpoong	丰水×晚三吉 Kousui×Okusankichi	86	十月梨 Shiyue	广西永福 Yongfu, Guangxi	106	西子绿 Xizili	新世纪×(八云×杭青) Shinseiki×(Yakumo×Hangqing)
67	满天红 Mantianhong	幸水×火把梨 Kosui×Huobali	87	苏翠1号 Suci No. 1	华酥×翠冠 Huasu×Cuiguan	107	永福青皮梨 Yongfu Qingpi	广西永福 Yongfu, Guangxi
68	麻砣梨 Matuoli	广西灌阳 Guanyang, Guangxi	88	苏翠2号 Suci No. 2	西子绿×脆冠 Xizili×Cuiguan	108	永福椭圆形早禾梨 Yongfu Tuoyuanxingzaoheli	广西永福 Yongfu, Guangxi
69	美人酥 Meirensu	幸水×火把梨 Kosui×Huobali	89	苏翠3号 Suci No. 3	丰水×爱甘水 Hosui×Aikansui	109	永福圆形早禾梨 Yongfu Yuanxingzaoheli	广西永福 Yongfu, Guangxi
70	米珠山假雪梨 Mizhushan Jiaxueli	广西灌阳 Guanyang, Guangxi	90	苏翠4号 Suci No. 4	西子绿×早酥 Xizili×Zaosu	110	云和粗花雪梨 Yunhe Cuhua xueli	浙江云和 Yunhe, Zhejiang
71	南山梨 Nanshanli	广西龙胜 Longsheng, Guangxi	91	苏翠5号 Suci No. 5	翠冠×西子绿 Cuiguan×Xizili	111	早冠 Zaoguan	鸭梨×青云 Yali×Qingyun
72	新高 Nittaka	天之川×今村秋 Amanogawa×Imamuraaki	92	秋水 Syusui	祇圆×西子绿 Gion×Xizili	112	早禾梨 Zaoheli	广西灌阳 Guanyang, Guangxi
73	宁霞 Ningxia	满天红×丰水 Mantianhong×Hosui	93	铜板梨 Tongbanli	广西龙胜 Longsheng, Guangxi	113	早美酥 Zaomeisu	新世纪×华酥 Shinseiki×Huasu
74	宁早蜜 Ningzaomi	爱甘水×丰水 Aikansui×Hosui	94	若光 Wakahikari	杭青×新世纪 Hangqing×Shinseiki	114	早酥蜜 Zaosumi	七月酥×砺山酥梨 Qiyuesu×Dangshan Suli
75	牛卵梨 Niuluanli	广西岑溪 Cenxi, Guangxi	95	黄金梨 Whangkeumbae	新高×二十世纪 Nittakaa×Nijisseiki	115	中梨4号 Zhongli No. 4	早美酥×七月酥 Zaomeisu×Qiyuesu
76	平乐砣梨 Pingle Chengtuoli	广西平乐 Pingle, Guangxi	96	圆黄 Wonhwang	早生赤×晚三吉 Waseaka×Okusankichi	116	朱安冲假雪梨 Zhuanchong Jiaxueli	广西灌阳 Guanyang, Guangxi
77	平乐黄皮糖梨 Pingle Huangpi'eli	广西平乐 Pingle, Guangxi	97	夏露 Xialu	新高×西子绿 Nittaka×Xizili	117	资源1号 Ziyuan No. 1	广西资源 Ziyuan, Guangxi
78	平乐糖梨 Pingle Tangli	广西平乐 Pingle, Guangxi	98	香蜜顺 Xiangmishun	广西岑溪 Cenxi, Guangxi	118	资源3号 Ziyuan No. 3	广西资源 Ziyuan, Guangxi
79	清水梨 Qingshui	广西灌阳 Guanyang, Guangxi	99	象州龙保梨 Xiangzhou Longbaoli	广西象州 Xiangzhou, Guangxi	119	资源4号 Ziyuan No. 4	广西资源 Ziyuan, Guangxi
80	清香 Qingxiang	新世纪×三花 Shinseiki×Sanhua	100	象州沙梨 Xiangzhou Shali	广西象州 Xiangzhou, Guangxi			

## 1.2 基因组DNA提取

每份梨种质材料取嫩叶(鲜质量20~50 mg)液氮冷冻后研磨,采用磁珠法基因组提取试剂盒(武汉纳磁生物科技有限公司)提取样本DNA。获得的DNA经1%琼脂糖凝胶电泳检测合格后,用Nano-DROP™ 8000超微量分光光度计检测纯度和浓度。

## 1.3 SSR-PCR

根据相关文献中的58对SSR引物信息<sup>[9-12]</sup>,委托武汉天一华煜基因科技有限公司合成,用8个样本进行引物筛选验证,筛选出15对扩增成功、峰型良好的引物(表2)。

PCR反应体系为10 μL,包括:2×Taq Master Mix

表2 15对引物信息

Table 2 The information of 15 pairs of SSR primers

SSR位点 SSR locus	引物序列(5'-3') Sequence of primer(5'-3')	片段长度 Fragment length/bp
NAU <sub>py</sub> 57d	F:AGATTGGACCCCAACTTTAGCTTC;	R:GTCTCTCTAGACTGGCCAGGGATT
NAU <sub>py</sub> 64d	F:GATGAAGGGGTAATTTGTGATGAAAT;	R:AACCGTGGGGTGAAACTCT
NB104a	F:TCGGAGAGGAAGAGTTGGAGGA;	R:AGGTCCGTCAGTTTCTTTC
NH203a	F:TCGATACTCCACAAGACTGCTC;	R:CCACCTCAAGCTCAAGTTTC
P19	F:AACTCATTATACTTTGGACTAGC;	R:GAAATACGGAAGACAAACT
Pb2LUN23511	F:AATCTCATCCAACCGGAAAA;	R:GTGATGGGTTTTGCTTGCT
Pb2LUN24633	F:GGACGCAATTGAAGATAGCA;	R:CACCGTCGGCTGTATGTATG
Pb3L3N4999	F:GGGAGGAGTAAGCTGGGAAG;	R:CACCTGCAAATCACCAACAA
Pb3L5N1305	F:TGTTCTTGTTCCAGTGGTG;	R:ACTTGGCTTGGCTTTAGGA
Pb3LUN6569	F:CAAGGGCGTTTTAGGATTCA;	R:CCCCATACGTGTGATGTTCTT
Pb3LUN7415	F:GAGGGGTGAGGTTTATGTCC;	R:CTTGTCATGGGTACGGTTGG
Pb4L11N0673	F:TGGAAATAACGTGGATGCAA;	R:GAGTCATAATCTAACCATGGGGTA
SAAS306	F:TTTGGGCTCGTGGGAAGATA;	R:CGTCAACTGTTTCCCTTACCC
SAAS308	F:GCTTGCTGGGTATCTTCATCT;	R:ACCTAAAATACCTCCTCCCTGT
TsuENH076	F:CATTAATACGCTGCTGTTTCTGC;	R:ACTTGAATTGGGGTAGGGATTGT

(Mg<sup>2+</sup>)5.0 μL,浓度为10 pmol·μL<sup>-1</sup>的正反向引物各0.5 μL,20 ng·μL<sup>-1</sup>的DNA模板1 μL,ddH<sub>2</sub>O 3.0 μL。反应程序为:95 °C 5 min;95 °C 30 s,62~52 °C 30 s,72 °C 30 s,10个循环,每个循环下降1 °C;95 °C 30 s,52 °C 30 s,72 °C 30 s,25个循环;72 °C 20 min延伸后4 °C保存。取PCR产物1.0 μL,分子质量内标和甲酰胺混合液(0.5:8.5, v/v)9.0 μL;95 °C变性3 min,在ABI 3730XL测序仪上进行分型检测,读取扩增结果。

## 1.4 数据处理与统计

将从ABI 3730XL测序仪上得到的结果在GeneMarker软件上进行分析,导出Excel基因型数据。用GenAlEx version 6.501软件计算观测等位基因数(*N<sub>a</sub>*)、有效等位基因数(*N<sub>e</sub>*)、香农指数(*I*)、多态性信息指数(*PIC*)、观测杂合度(*H<sub>o</sub>*)、期望杂合度(*H<sub>e</sub>*)和近交系数(*F<sub>is</sub>*)。用Powermarker软件计算各群体间的遗传距离。用UMPGA方法进行聚类分析,绘制聚类图。利用STRUCTURE 2.3.4进行居群遗传结构分析,设置K=1~20,Burn-in周期为10000,MC-MC设为100 000,每个K值运行20次,并利用在线

工具STRUCTURE HARVESTER算出最佳ΔK值。根据相应的K值作图。结构分析的结果图用CLUMMP和DISTRUCT软件绘制。根据群体遗传结构分析结果,在GenAlEx version 6.501软件中计算遗传分化系数(*F<sub>st</sub>*)和基因流(*N<sub>m</sub>*)。用GenAlEx软件进行主坐标分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 引物的多态性

利用荧光毛细管电泳技术,从58对引物中筛选出15对峰型良好、特异性较高的引物。由表3可知,15对引物在119个样本中共检测出190个等位基因(*N<sub>a</sub>*),最少的5个,最多的19个,平均为12.667个。有效等位基因(*N<sub>e</sub>*)数为2.772~9.743,平均为5.454。香农指数(*I*)为1.277~2.456,平均为1.876。观测杂合度(*H<sub>o</sub>*)为0.437~0.897,平均为0.682。期望杂合度(*H<sub>e</sub>*)为0.639~0.897,平均为0.762;多态性信息指数(*PIC*)为0.602~0.889,平均为0.762。这些指标均表明15对SSR引物多态性较高<sup>[13]</sup>。

表3 15对SSR引物的多态性  
Table 3 Polymorphism of 15 pairs of SSR primers

位点 Locus	<i>Na</i>	<i>Ne</i>	<i>I</i>	<i>Ho</i>	<i>He</i>	<i>PIC</i>	<i>Fis</i>	<i>Fst</i>	<i>Nm</i>
NAUpy57d	9	3.420	1.575	0.703	0.708	0.677	-0.029	0.030	8.065
NAUpy64d	16	8.845	2.365	0.897	0.887	0.877	-0.055	0.027	8.933
NB104a	8	3.639	1.529	0.655	0.725	0.682	0.062	0.023	10.813
NH203a	9	5.039	1.748	0.437	0.802	0.774	0.461	0.026	9.200
P19	17	8.040	2.340	0.737	0.876	0.864	0.128	0.052	4.572
Pb2LUN23511	18	6.929	2.298	0.706	0.856	0.843	0.129	0.055	4.326
Pb2LUN24633	15	4.217	1.820	0.615	0.763	0.733	0.147	0.026	9.487
Pb3L3N4999	10	5.589	1.831	0.756	0.821	0.796	-0.020	0.062	3.798
Pb3L5N1305	8	2.772	1.300	0.647	0.639	0.602	-0.046	0.033	7.410
Pb3LUN6569	14	4.123	1.732	0.563	0.757	0.722	0.147	0.083	2.773
Pb3LUN7415	18	9.743	2.456	0.551	0.897	0.889	0.362	0.066	3.514
Pb4L11N0673	19	4.089	1.943	0.763	0.755	0.735	-0.055	0.043	5.589
SAAS306	11	4.904	1.761	0.739	0.796	0.767	0.002	0.075	3.069
SAAS308	13	7.346	2.166	0.832	0.864	0.850	-0.013	0.058	4.043
TsuENH076	5	3.116	1.277	0.622	0.679	0.621	0.038	0.052	4.599
均值 Mean	12.667	5.454	1.876	0.682	0.788	0.762	0.084	0.047	6.013

注:*Na*. 观测等位基因;*Ne*. 有效等位基因;*I*. 香农指数;*Ho*. 观测杂合度;*He*. 期望杂合度;*PIC*. 多态性信息指数;*Fis*. 近交系数;*Fst*. 遗传分化系数;*Nm*. 基因流。

Note: *Na*. Observed allele; *Ne*. Effective allele; *I*. Shannon index; *Ho*. Observed heterozygosity; *He*. Expected heterozygosity; *PIC*. Polymorphic information index; *Fis*. Inbreeding coefficient; *Fst*. Genetic differentiation coefficient; *Nm*. Gene flow.

## 2.2 聚类分析

基于遗传距离进行聚类,全部材料明显分为两大类群(图1),第I类群包含23份种质,其中22份原产于广西,仅1份为外地种质(横山梨,中国台湾);第II类群包含96份种质,其中广西种质49份,外地种质47份。第II类群可进一步划分为两个亚群,亚群1由38份广西种质和1份外地种质(云和粗花雪梨,产地:浙江云和)组成,亚群2由11份广西种质(灌阳2号、龙胜2号、灌阳清香梨、六月梨、富川蜜梨、铜板梨、全州蜜梨、龙胜糖梨、龙胜1号、灌阳黄蜜、南山梨)和46份外地种质组成,说明这11份广西种质与外地种质的亲缘关系较近。以上结果表明广西种质可大致划分为3种类型;总体上,广西种质和外地种质既形成了相对独立的类群,又存在少量的相互交叉,大部分广西种质与外地种质的亲缘关系较远。

## 2.3 群体遗传结构分析

由表4可知,广西居群的平均等位基因数(*Na*)为11.53,平均有效等位基因数(*Ne*)为5.606,平均香农指数(*I*)为1.894,均高于外地种质,说明广西地方种质的遗传多样性更为丰富;2个居群的观测杂合度(*Ho*)均低于期望杂合度(*He*),*Fis*>0,说明两个居群内均发生近缘交配。

利用Structure构建119份梨种质的群体遗传结构图,结果显示当K=2时, $\Delta K$ 为最大值,供试材料可分为2个不同群体。由图2可知,群体1由45份外地梨(占比81.81%)和10份广西梨(占比18.18%)构成,这10份广西梨为富川蜜梨、南山梨、灌阳黄蜜、六月梨、桂花梨、龙胜糖梨、铜板梨、龙胜1号、灌阳2号、全州蜜梨;群体2主要由61份广西梨(占比93.75%)构成,中国台湾的横山梨、浙江的云和粗花雪梨以及湖北选育的鄂梨2号也划归到群体2中,表明广西梨和外地梨在遗传结构上有较大差别,与聚类分析结果对应。

当K=3时,供试材料被划分为3个群体,原本归属群体2的19份广西梨(灌阳小把子雪梨、灌阳大把子雪梨、米珠山假雪梨、资源1号、黄皮梨、兴安梨、清水梨、早禾梨、龙胜大砂梨、灌阳清香梨、牛卵梨、资源3号、荔浦黄皮糖梨、岑溪墨烟梨、岑溪沙梨、永福青皮梨、永福椭圆形早禾梨、永福圆形早禾梨、平乐糖梨)以及外地的鄂梨2号被重新划分到群体3中。

当K=4时,供试材料被划分为4个群体,原本归属群体3的4份广西梨(资源1号、资源3号、兴安梨、龙胜大砂梨)和原本归属群体1的4份外地梨(六月酥、红早酥、新梨7号、中梨4号)被重新划分到群体4中,说明广西的资源1号、资源3号、兴安梨、龙胜



广西种质用黑色字体标注,外地种质用蓝色字体标注,图中数字为表 1 中的材料序号。下同。

Guangxi germplasm are marked in black font and nonlocal germplasm are marked in blue font, figures in the figure represent the material numbers in Table 1. The same below.

图 1 基于 Nei 遗传距离的 UPGMA 聚类分析图

Fig. 1 UPGMA clustering analysis chart based on Nei genetic distance

表 4 2 个居群的遗传多样性

Table 4 Genetic diversity of 2 pear populations

居群 Population	$N_a$	$N_e$	$I$	$H_o$	$H_e$	$F_{is}$
广西居群 Guangxi population	11.53	5.606	1.894	0.703	0.794	0.114
外地居群 Nonlocal population	8.07	3.493	1.473	0.650	0.690	0.050
均值 Mean	9.80	4.549	1.683	0.676	0.742	0.082

大砂梨和外地的六月酥、红早酥、新梨 7 号、中梨 4 号有更多相同的遗传组成。有意思的是,六月酥、红早酥、新梨 7 号、中梨 4 号都具有早酥的遗传背景,其中六月酥和红早酥为早酥的芽变品种,新梨 7 号和中梨 4 号分别是以早酥为亲本之一的二元杂交品种和三元杂交品种。由此推测广西的资源 1 号、资源 3

号、兴安梨、龙胜大砂梨与早酥有共同的遗传来源。早酥是中国农业科学院果树研究所利用苹果梨和身不知梨育成的早熟新品种,其母本苹果梨,属于白梨系统,是中国优良梨品种之一,主产于吉林省延边朝鲜族自治州,中国各地的苹果梨都发源于此,其父本身不知梨,原产日本,亲本不详,被认为是西洋梨与



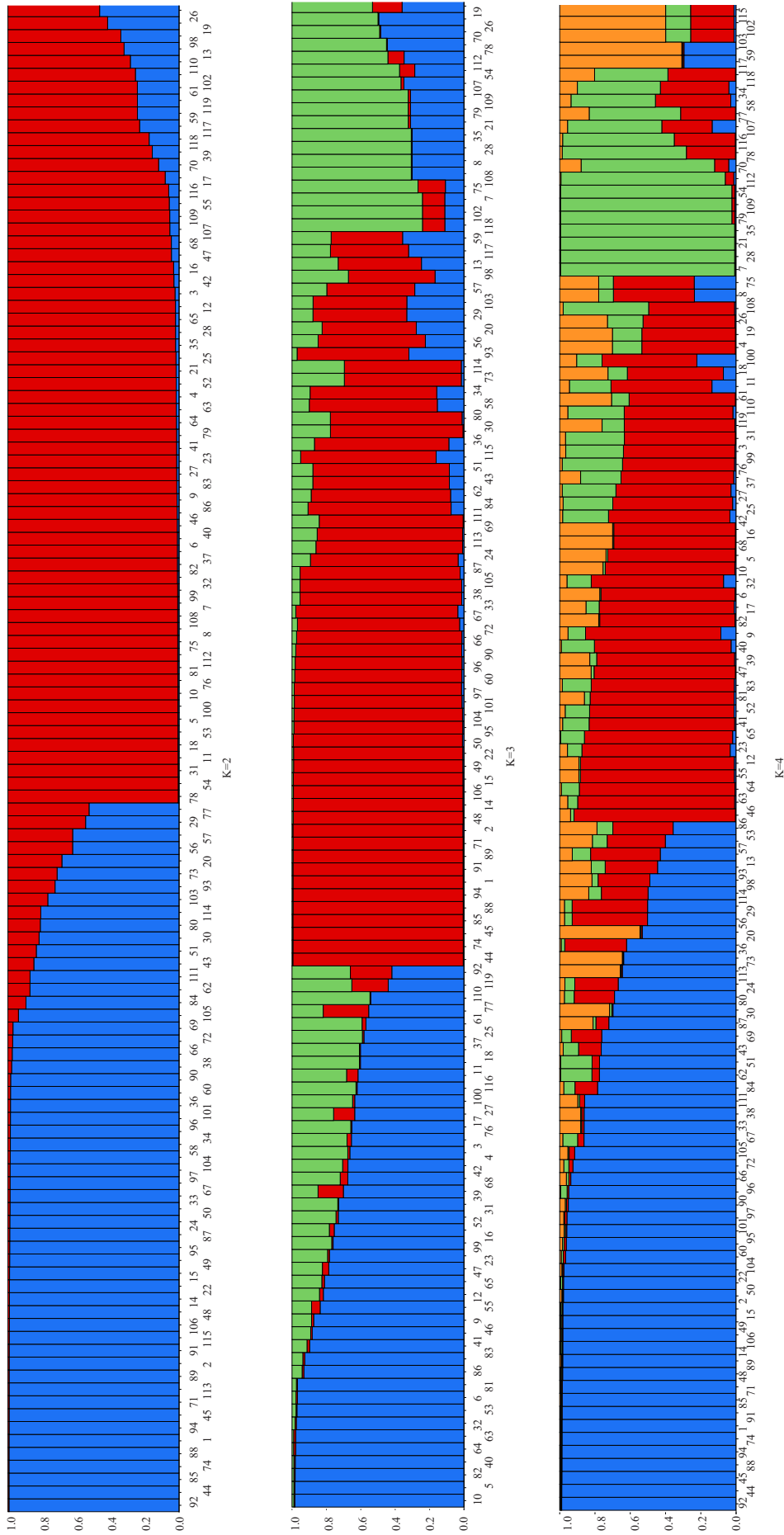


图2 119 份梨种质在 K=2、K=3 和 K=4 的遗传结构  
 Fig. 2 The genetic structure of 119 accessions with K of 2 to 4

砂梨的自然杂交后代。

为深入了解广西地方梨种质的遗传结构,对其进行独立的群体遗传结构分析。71份种质在K=4时ΔK取得最大值,可划分为4个群体(图3),群体1

包含37份材料,其地理来源有桂林、梧州、百色、柳州、贺州、钦州;群体2包含10份材料,其地理来源有桂林、梧州、来宾、河池、南宁;群体3包含10份材料,其地理来源有桂林、梧州;群体4包含14份材料,其

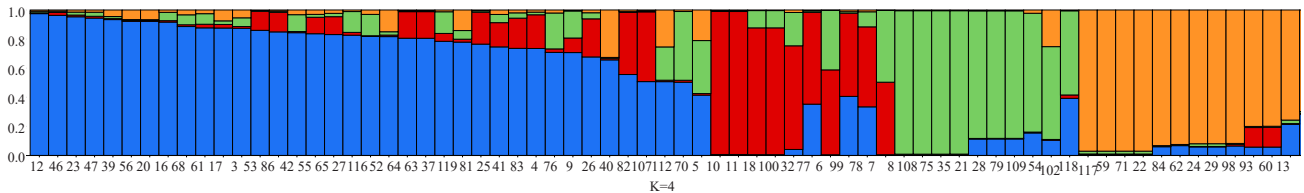


图3 71份广西地方梨种质在K=4的遗传结构

Fig. 3 The genetic structure of 71 local pear germplasm at K=4

地理来源有桂林、梧州、柳州。

### 2.4 主坐标分析

利用 GenAlEx 软件对供试材料进行主坐标分析(PCoA),绘制出二维主坐标散点图(图4),从图中可以看出,在主坐标1方向上,整个群体清晰地分为2个组群,广西材料和外地材料分别聚集成簇,同时也存在少量的相互渗透,说明二者之间亲缘关系较远,但有一定的基因交流。另外,部分材料的坐标位置几乎重叠,比如鄂梨2号和灌阳清香

(广西灌阳);岑溪烟墨梨(广西岑溪)、岑溪沙梨(广西岑溪)、牛卵梨(广西岑溪)和永福椭圆形早禾梨(广西永福);灌阳大把子雪梨(广西灌阳)、灌阳小把子雪梨(广西灌阳)和黄皮梨(广西乐业),与聚类树结果相吻合,证明它们的亲缘关系很近。结合地理位置来看,广西材料在图中的分布未表现明显的地域性特征。

### 2.5 分子方差分析

AMOVA 方差分析(表5)表明,119份梨种质的

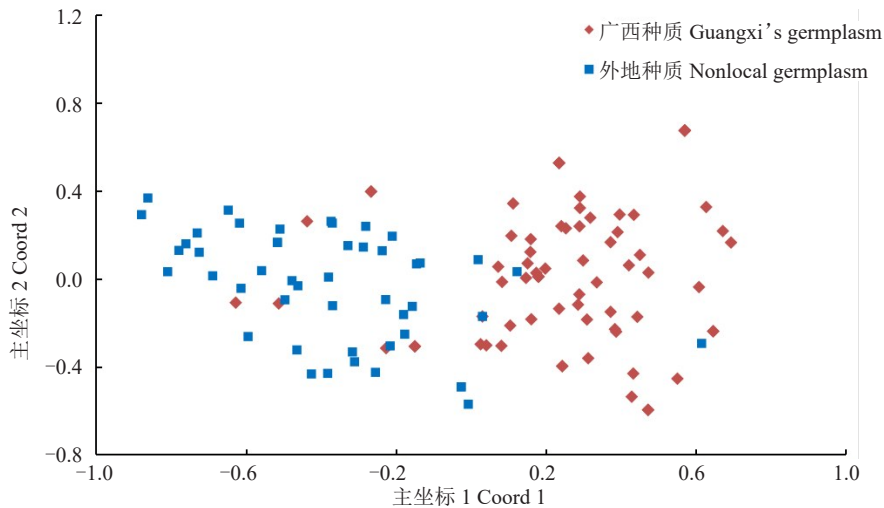


图4 基于15个SSR标记的119份梨材料的主坐标分析

Fig. 4 Principal coordinates analysis plots for 119 pear accessions based on 15 SSR markers

表5 梨群体分子方差分析表

Table 5 Molecular variance analysis of pear population

变异来源 Source of variation	自由度 v	均方和 SS	均方偏差 MS	估算的差异值 Est Var	差异值的百分比 Percentage of difference value/%
群体间 Among pops	1	63.686	63.686	0.504	8
个体间 Among individuals	117	740.701	6.331	0.621	10
个体内 Within individuals	119	605.500	5.088	5.088	82
总计 Total	237	1 409.887		6.214	100

遗传变异,8%存在于群体间,10%存在于个体间,82%存在于个体内,个体内差异是指由杂合的等位基因引起的遗传差异,大小与个体杂合位点数相关,即个体的遗传多样性,说明个体内各基因之间存在高度遗传分化,个体的遗传变异是梨变异的主要来源。

### 3 讨论

梨属植物间不存在生殖隔离,种间杂交十分普遍,使得梨属种间有时缺乏明显可以区分的形态学性状,导致梨属植物的分类比较混乱<sup>[3]</sup>。SSR分子标记技术的应用,可以较好地弥补、修正和完善梨传统分类中的一些不足。引物的多态性是评估种质多样性的重要因素,笔者在本研究中使用的15个SSR标记的PIC全部大于0.50,多态性较高,可以较好地反映梨种质资源的遗传多样性和亲缘关系<sup>[14]</sup>。I和Ho是衡量种质资源遗传多样性的重要指标<sup>[15]</sup>。在本研究中,广西地方梨种质的I和Ho均高于外地种质,反映出广西地方梨种质较高的遗传多样性。相关研究认为梨起源于中国西南部的山区<sup>[2]</sup>,北上向东移动,形成了东亚种群,中国白梨、中国砂梨和日本梨可能起源于共同的野生砂梨祖先<sup>[6]</sup>。广西可能是梨的起源地之一或早期传播地区,在长期的环境适应下逐渐形成了不同遗传信息的群体。基于Nei's的遗传距离构建的聚类树中,广西梨被划分为3个聚群,而外地梨主要归于1个聚群,同时二者又有一定的相互交叉,表明存在基因交流。笔者在本研究中关注的广西梨种质基本为砂梨类型,外地种质主要为经人工驯化选择或杂交获得的栽培梨,与前者相比,后者具有更多地从早期适应发生时积累的多种遗传变异,因此在聚类关系上表现为二者的遗传距离较远。值得注意的是,中国台湾的横山梨以及浙江云和的云和粗花梨并没有与其他外地种质聚在一类,而是与大部分广西梨种质聚在一起,并且在群体结构分析和PCoA分析中也获得相似的结果,表明横山梨和云和粗花梨与广西梨有较近的亲缘关系,很可能是从广西引种到台湾和浙江的。另据文献记载,中国台湾梨系1890年由我国香港和华南一带引入种植于台湾汉溪、横山一带,主要为横山梨<sup>[17]</sup>,在一定程度上印证了本文的结果。广西的灌阳2号、龙胜2号、灌阳清香梨、六月梨、富川蜜梨、铜板梨、全州蜜梨、龙胜糖梨、龙胜1号、灌阳黄蜜、南山梨与外地种质聚在一起,同时群体结构分析和PCoA分

析也呈现相似的分组结果,提示这些材料可能是由外地梨种质杂交获得的或引种到广西而被误认为是广西地方种。

梨是典型的自交不亲和性物种,后代的繁殖依靠异花授粉<sup>[18]</sup>,这种授粉特性增加了居群间的杂交概率,因此具有较高的杂合特性。在本研究中,广西居群和外地居群的观测杂合度(Ho)均低于期望杂合度(He),且Fis>0,居群内发生近缘交配。近缘交配是一种非随机交配,如果一个群体持续进行近缘交配,那么该群体中的杂合子会快速丢失<sup>[19]</sup>。在主坐标分析图中,广西梨种质没有很明显地被分为多个类群,也反映出广西梨品种在形成过程中,或许杂交较为普遍,导致许多供试地方梨种质资源遗传组成比较复杂。本研究中的119份梨的遗传变异8%存在于群体间,10%存在于个体间,82%存在于个体内,说明梨居群间的遗传分化程度较低,遗传变异主要来源于居群内的个体。多个内外因素可影响居群遗传结构,其中基因流、突变和演替阶段等会显著影响居群遗传结构<sup>[19]</sup>。当基因流Nm>1时,说明居群间的基因流较大,居群间遗传分化程度较低;当Nm<1时,说明居群间的基因流较小,居群间遗传分化程度较高<sup>[20]</sup>。在本研究中,居群间的Nm=5.717(Nm>1),基因流主要发挥均质化作用,较大的基因流有效地阻止了遗传漂变,降低了梨居群间的遗传分化程度,频繁的基因流使得梨种群间的遗传分化程度低,因此变异主要存在于居群个体内。

梨育种的核心基础就是收集足够多具有遗传多样性的种质资源。种质资源是品种改良的基础,尤其是具有广泛遗传基础的品种资源<sup>[21]</sup>。胡春云<sup>[22]</sup>认为我国西南地区拥有最丰富的原始品种资源,是我国砂梨品种的起源中心。笔者在本研究中收集的71份广西地方梨种质遗传多样性丰富,品种间遗传距离大,涵盖了广西主要梨生产区,具有一定代表性,群体遗传结构分析将其分为4个群体,但不同群体未表现明显的区域分化,下一步可采集一些广西邻省如云南、贵州等地原产的梨种质资源,以便加深对广西梨种质的来源及传播的了解。此外,利用分子标记结合数量性状指标可以更全面地反映种质资源间的差异,张莹等<sup>[23]</sup>对梨种质资源果实若干数量性状评价指标研究的结果表明,果实中可滴定酸含量的变异系数最大,更能体现梨品种间的差异。因此,后续可进一步研究广西梨种质资源的数量性状

指标,以便对其遗传多样性进行综合评价。随着日益加快的城市化进程,地方品种会加速流失<sup>[24]</sup>。而地方品种中可能含有许多有价值的基因,如特殊性状基因、抗病虫基因、抗逆基因等,这些基因在以选择少数理想性状为目标的栽培品种中可能已经丢失<sup>[25]</sup>。因此,笔者建议各方要重视地方种质资源保护,在有条件的情况下,实行就地保护或建立种质资源圃进行迁地保护,避免一些特殊种质的永久性流失。

## 4 结 论

广西地方梨种质具有较丰富的遗传多样性,与供试的外地种质形成2个不同的遗传群体,亲缘关系较远,但二者存在一定的基因交流,此外,两个居群内普遍存在近缘交配,变异的主要来源为居群内个体的遗传变异。群体遗传结构分析表明广西地方种质可划分为4个群体,但不同群体未呈现明显的区域分化规律,后续可结合不同的个体性状进行深入探究。值得注意的是,中国台湾的横山梨以及浙江的云和粗花梨或许原产于广西,一部分广西本地梨也可能是外地梨种质杂交获得或引种到广西,有待进一步印证。

## 参考文献 References:

- [1] LI J M, ZHANG M Y, LI X L, KHAN A, KUMAR S, ALLAN A C, WANG K L, ESPLEY R V, WANG C H, WANG R Z, XUE C, YAO G F, QIN M F, SUN M Y, TEGTMEIER R, LIU H N, WEI W L, MING M L, ZHANG S L, ZHAO K J, SONG B B, NI J P, AN J P, KORBAN S S, WU J. Pear genetics: Recent advances, new prospects, and a roadmap for the future[J]. Horticulture Research, 2022, 9: uhab040.
- [2] RUBTSOV G A. Geographical distribution of the genus *Pyrus* and trends and factors in its evolution[J]. The American Naturalist, 1944, 78(777):358-366.
- [3] 滕元文. 梨属植物系统发育及东方梨品种起源研究进展[J]. 果树学报, 2017, 34(3):370-378.  
TENG Yuanwen. Advances in the research on phylogeny of the genus *Pyrus* and the origin of pear cultivars native to East Asia[J]. Journal of Fruit Science, 2017, 34(3):370-378.
- [4] 陈学森, 王楠, 张宗营, 冯守千, 陈晓流, 毛志泉. 仁果类果树资源育种研究进展 I: 我国梨种质资源、品质发育及遗传育种研究进展[J]. 植物遗传资源学报, 2019, 20(4): 791-800.  
CHEN Xuesen, WANG Nan, ZHANG Zongying, FENG Shouqian, CHEN Xiaoliu, MAO Zhiquan. Progress on the resource and breeding of kernel fruits I: Progress on the germplasm resources, quality development and genetics and breeding of pear in China[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2019, 20(4):791-800.
- [5] GUICHOUX E, LAGACHE L, WAGNER S, CHAUMEIL P, LÉGER P, LEPAIS O, LEPOITTEVIN C, MALAUSA T, REVARDEL E, SALIN F, PETIT R J. Current trends in microsatellite genotyping[J]. Molecular Ecology Resources, 2011, 11(4): 591-611.
- [6] YAMAMOTO T, KIMURA T, SAWAMURA Y, KOTOBUKI K, BAN Y, HAYASHI T, MATSUTA N. SSRs isolated from apple can identify polymorphism and genetic diversity in pear[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2001, 102(6):865-870.
- [7] BAO L, CHEN K S, ZHANG D, CAO Y F, YAMAMOTO T, TENG Y W. Genetic diversity and similarity of pear (*Pyrus L.*) cultivars native to East Asia revealed by SSR (simple sequence repeat) markers[J]. Genetic Resources and Crop Evolution, 2007, 54(5):959-971.
- [8] XUE H B, ZHANG P J, SHI T, YANG J, WANG L, WANG S K, SU Y L, ZHANG H R, QIAO Y S, LI X G. Genome-wide characterization of simple sequence repeats in *Pyrus bretschneideri* and their application in an analysis of genetic diversity in pear[J]. BMC Genomics, 2018, 19(1):473.
- [9] 蒋爽, 骆军, 王晓庆, 施春晖. 基于基因组重测序数据高效筛选梨 SSR 标记多态性引物[J]. 果树学报, 2019, 36(2): 129-136.  
JIANG Shuang, LUO Jun, WANG Xiaoqing, SHI Chunhui. A study on efficient screening of the primers for selecting polymorphic SSR markers based on the re-sequencing data in *Pyrus*[J]. Journal of Fruit Science, 2019, 36(2): 129-136.
- [10] 王斐, 张艳杰, 欧春青, 李佳纯, 杨冠宇, 马力, 姜淑苓. 梨品种 SSR 分子鉴定体系的建立及应用[J]. 分子植物育种, 2021, 19(22): 7499-7509.  
WANG Fei, ZHANG Yanjie, OU Chunqing, LI Jiachun, YANG Guanyu, MA Li, JIANG Shuling. SSR identification system of pear varieties and its application[J]. Molecular Plant Breeding, 2021, 19(22): 7499-7509.
- [11] 冉昆, 隋静, 王宏伟, 魏树伟, 张勇, 董冉, 董肖昌, 王少敏. 利用 SSR 荧光标记构建山东地方梨种质资源分子身份证[J]. 果树学报, 2018, 35(增刊 1): 71-78.  
RAN Kun, SUI Jing, WANG Hongwei, WEI Shuwei, ZHANG Yong, DONG Ran, DONG Xiaochang, WANG Shaomin. Using the fluorescent labeled SSR markers to establish the molecular ID of pear germplasm resources in Shandong[J]. Journal of Fruit Science, 2018, 35(Suppl. 1): 71-78.
- [12] 薛华柏, 赵瑞娟, 王磊, 杨健, 王龙, 王苏珂, 苏艳丽, 李秀根. 梨品种 SSR 特征指纹图谱与分子身份证构建[J]. 中国南方果树, 2018, 47(S1):42-49.  
XUE Huabai, ZHAO Ruijuan, WANG Lei, YANG Jian, WANG Long, WANG Suke, SU Yanli, LI Xiugen. Construction of SSR fingerprint and molecular identity card of pear varieties[J]. South China Fruits, 2018, 47(S1):42-49.
- [13] BOTSTEIN D, WHITE R L, SKOLNICK M, DAVIS R W. Con-

- struction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms[J]. *American Journal of Human Genetics*, 1980, 32(3):314-331.
- [14] WANG S Q, LIU Y, MA L Y, LIU H B, TANG Y, WU L P, WANG Z, LI Y Y, WU R L, PANG X M. Isolation and characterization of microsatellite markers and analysis of genetic diversity in Chinese jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) [J]. *PLoS One*, 2014, 9(6):e99842.
- [15] WANG H, PAN G, MA Q G, ZHANG J P, PEI D. The genetic diversity and introgression of *Juglans regia* and *Juglans sigillata* in Tibet as revealed by SSR markers[J]. *Tree Genetics & Genomes*, 2015, 11:804.
- [16] TENG Y W, TANABE K, TAMURA F, ITAI A. Genetic relationships of *Pyrus* species and cultivars native to East Asia revealed by randomly amplified polymorphic DNA markers[J]. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 2002, 127(2):262-270.
- [17] 林伯年. 世界及中国的梨生产与贸易[J]. *中国南方果树*, 2001, 30(6):64-67.
- LIN Bonian. Pear production and trade in the world and China[J]. *South China Fruits*, 2001, 30(6):64-67.
- [18] 刘清文, 宋跃, 李甲明, 张明月, 齐开杰, 张绍铃, 吴俊. 利用核心简单重复序列(SSR)标记分析西洋梨品种资源遗传多样性[J]. *农业生物技术学报*, 2015, 23(5):579-587.
- LIU Qingwen, SONG Yue, LI Jiaming, ZHANG Mingyue, QI Kaijie, ZHANG Shaoling, WU Jun. Analysis of genetic diversity of European pear (*Pyrus communis* L.) cultivars using core simple sequence repeat (SSR) markers[J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2015, 23(5):579-587.
- [19] 李胜男. 分子标记在梨传播路径及种质鉴定中的应用[D]. 南京:南京农业大学, 2019.
- LI Shengnan. Application of molecular markers in pear transmission path and germplasm identification[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2019.
- [20] 陈少瑜, 李江, 陈伟, 冯弦. 云南沟谷雨林建群种绒毛番龙眼居群的遗传多样性[J]. *南方农业学报*, 2022, 53(3):850-858.
- CHEN Shaoyu, LI Jiang, CHEN Wei, FENG Xian. Genetic diversity of *Pometia tomentosa*, a major constructive species of valley rainforest in Yunnan[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2022, 53(3):850-858.
- [21] 邓伟, 吕莹, 董阳均, 徐雨然, 杨华涛, 张锦文, 张建华, 奎丽梅, 涂建, 相罕章, 管俊娇, 董维, 谷安宇, 安华, 杨丽萍, 张笑, 李小林. 云南水稻种质资源的遗传多样性分析[J]. *植物遗传资源学报*, 2023, 24(3):624-635.
- DENG Wei, LÜ Ying, DONG Yangjun, XU Yuran, YANG Huatao, ZHANG Jinwen, ZHANG Jianhua, KUI Limei, TU Jian, XIANG Hanzhang, GUAN Junjiao, DONG Wei, GU Anyu, AN Hua, YANG Liping, ZHANG Xiao, LI Xiaolin. The genetic diversity analysis of rice germplasm resources in Yunnan Province of China[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2023, 24(3):624-635.
- [22] 胡春云. 基于叶绿体 DNA 非编码区的梨属系统发育关系及东亚栽培梨的演化研究[D]. 杭州:浙江大学, 2012.
- HU Chunyun. Studies on Phylogenetic analysis of *Pyrus* L. and evolution of east asian pear cultivar groups based on non-coding cpDNA regions[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2012.
- [23] 张莹, 曹玉芬, 田路明, 董星光, 齐丹, 霍宏亮, 徐家玉, 刘超, 王立东. 梨种质资源果实若干数量性状评价指标研究[J]. *果树学报*, 2023, 40(6):1053-1063.
- ZHANG Ying, CAO Yufen, TIAN Luming, DONG Xingguang, QI Dan, HUO Hongliang, XU Jiayu, LIU Chao, WANG Lidong. Evaluating standards of some fruit quantitative traits of pear genetic resources[J]. *Journal of Fruit Science*, 2023, 40(6):1053-1063.
- [24] FENG S G, HE R F, LU J J, JIANG M Y, SHEN X X, JIANG Y, WANG Z A, WANG H Z. Development of SSR markers and assessment of genetic diversity in medicinal *Chrysanthemum morifolium* cultivars[J]. *Frontiers in Genetics*, 2016, 7:113.
- [25] ZHOU R, WU Z, CAO X, JIANG F L. Genetic diversity of cultivated and wild tomatoes revealed by morphological traits and SSR markers[J]. *Genetics and Molecular Research*, 2015, 14(4):13868-13879.