

doi : 10. 16473/j. cnki. xblykx1972. 2021. 02. 010

迪庆州核桃种质资源的遗传多样性与遗传结构*

陆婷¹, 陈少瑜^{2,3}, 吴涛², 肖良俊²

(1. 云南省林业和草原技术推广总站, 云南 昆明 650224; 2. 云南省林业和草原科学院 经济林研究所, 云南 昆明 650201;
3. 云南省林业和草原科学院/云南省森林植物培育与开发利用重点实验室/
国家林业和草原局云南珍稀濒危特森林植物保护和繁育重点实验室, 云南 昆明 650201)

摘要: 利用 SSR 分子标记技术对云南省迪庆藏族自治州 3 个群体共 161 份深纹核桃种质资源进行遗传多样性分析, 揭示资源的遗传多样性水平及遗传结构特征, 为其保护和利用提供依据。结果表明: 18 对 SSR 引物对 161 份 DNA 样本进行扩增, 共检测到 171 个等位基因, 平均每对引物 9.5 个。3 个群体的观察杂合度 (H_o) 和期望杂合度 (H_e) 的变化范围分别为 0.390~0.580 和 0.580~0.619, 平均值分别为 0.467 和 0.598; Shannon 信息指数 (I) 介于 1.153~1.313 之间, 平均为 1.231, 数据表明迪庆州核桃种质资源的遗传多样性属于中等水平。群体间的遗传分化系数 (F_{ST}) 介于 0.005 2~0.225 3 之间, 平均为 0.065 2, 表明遗传变异主要来源于群体内的个体, 仅有 6.52% 来源于群体间, 各位点的基因流 (N_m) 平均为 4.266 3 ($N_m > 1$), 群体间的基因交流阻止了群体间的分化。STRUCTURE 分析将 161 份核桃资源分成 3 个类群, 而基于 Nei's 遗传距离的 UPGMA 聚类将 3 个群体划分成 2 组, 维西和香格里拉聚为一组, 德钦单独为一组。

关键词: 深纹核桃; 种质资源; 遗传多样性; 遗传结构; SSR 分子标记

中图分类号: S 664.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-8246 (2021) 02-0071-07

Genetic Diversity and Genetic Structure of Walnut Germplasm Resources in Diqing

LU Ting¹, CHEN Shao-yu^{2,3}, WU Tao², XIAO Liang-jun²

(1. Yunnan Provincial Forestry and Grassland Technology Promotion Center, Kunming Yunnan 650224, P. R. China;

2. Yunnan Academy of Forestry and Grassland, Kunming Yunnan 650201, P. R. China;

3. Yunnan Provincial Key Laboratory of Cultivation and Exploitation of Forest Plants/Key Laboratory for Conservation of Rare, Endangered & Endemic Forest Plants of State Forestry Administration/Yunnan Academy of Forestry and Grassland, Kunming Yunnan 650201, P. R. China)

Abstract: Genetic diversity and genetic structure of walnut germplasm in Diqing Prefecture of Yunnan was analyzed using SSR molecular markers. Eighteen SSR primers were employed to amplify 161 samples from 3 populations of *Juglans sigillata* in Diqing and 171 alleles were detected with a mean value of 9.5 per locus. The range of observed heterozygosity (H_o) and expected heterozygosity (H_e) were 0.390–0.580 and 0.580–0.619 respectively with average of 0.467 and 0.598, and the range Shannon information index (I) was between 1.153–1.313 with an average of 1.231. The results indicated that the genetic diversity of walnut germplasm in Diqing was moderate. The coefficient of genetic differentiation (F_{ST}) was 0.005 2–0.225 3 with an average of 0.065 2, which meant only 6.52% of variation existing among populations. The gene flow (N_m) was 4.266 3 ($N_m > 1$) showing that gene flow prevented the differentiation among populations. 161 individuals were divided into 3 groups through STRUCTURE analysis and 3 populations were clustered into 2 branches through UPGMA clustering. Weixi and Xianggelila were clustered in

* 收稿日期: 2020-12-10

基金项目: 国家自然科学基金项目 (3166024)。

第一作者简介: 陆婷 (1972—), 女, 助理工程师, 主要从事核桃良种选育和推广工作。E-mail: 2218780081@qq.com

通信作者简介: 陈少瑜 (1968—), 女, 研究员, 主要从事林木育种及种质资源保护和利用研究工作。E-mail: sherry9872@163.com

one branch and Deqin as another branch.

Key words: *Juglans sigillata*; germplasm resources; genetic diversity; genetic structure; SSR molecular markers

胡桃属 (*Juglans* L.) 植物在世界上有 23 个种, 我国有 13 个种^[1], 其中分布较广且栽培较多的是核桃 (*J. regia*) 和深纹核桃 (*J. sigillata*) 2 个种^[2]。深纹核桃广泛分布于西南地区, 为我国特有种^[3], 云南作为深纹核桃的主要分布区之一, 深纹核桃栽培历史悠久, 种质资源非常丰富。迪庆藏族自治州位于滇西北, 滇、藏、川 3 省 (区) 交界处, 世界上著名的“三江并流”腹心地带, 其间高山峡谷纵横, 境内海拔最高处是 6 740 m 的梅里雪山主峰卡瓦格博峰, 最低处海拔为 1 486 m 的澜沧江河谷, 绝对高差 5 254 m, 小范围内的巨大高差导致了境内的垂直气候和立体生态环境^[4]。经初步调查此区域核桃种质资源具有丰富的多样性, 然而, 随着近年来核桃产业的发展, 良种和无性系的推广种植, 核桃天然资源遭到破坏, 致使当地核桃种质资源遗传多样性逐渐丧失。开展核桃种质资源遗传多样性研究是对资源科学保护和利用的重要理论基础, 因此在了解迪庆州核桃种质资源的遗传多样性水平及遗传结构特征基础上, 制定并积极采取科学的保护和开发利用措施显得尤为必要。

作为评价遗传多样性的一种重要技术, DNA 分子标记广泛应用于各种植物的多样性研究中^[5]。在最为常用的几种分子标记技术中, 简单重复序列 (simple sequence repeats, SSRs) 标记是基于 PCR 的核酸多态检测技术, 具有灵敏性和稳定性高、通用性强、共显性等优点, 广泛用于植物的指纹分析、品种鉴定、遗传结构和系统进化等研究

中^[6-8], 对于核桃种质资源的遗传多样性也有一些研究报道^[9-13], 但对迪庆州核桃种质资源的遗传多样性状况仍未有了解。本研究基于 SSR 分子标记技术对云南省迪庆藏族自治州 3 个群体共 161 份深纹核桃种质资源进行遗传多样性分析, 揭示资源的遗传多样性水平及遗传结构特征, 为其保护和利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 研究地概况及材料来源

迪庆藏族自治州位于云南省西北部 (90°35' ~ 100°18' E, 26°52' ~ 29°16' N), 地处青藏高原东南边缘, 横断山南段北端, 滇、川、藏 3 省 (区) 交界处。全州土地面积 23 870 km², 平均海拔 3 380 m, 最高海拔为梅里雪山主峰卡瓦格博峰 (6 740 m), 最低海拔为澜沧江河谷 (1 486 m)。迪庆州属温带-寒温带气候, 年平均气温 10.6 °C, 年极端最高气温 25.1 °C, 最低气温 -27.4 °C, 该州辖德钦县、维西傈僳族自治县和香格里拉市, 3 个县 (市) 皆有核桃的分布。

试验分析的 161 份深纹核桃单株样品分别采自迪庆州的 3 个县 (市) (各单株相距 100 m 以上), 每个县 (市) 的资源作为 1 个群体进行遗传多样性分析, 3 个群体的地理信息及样本数量见表 1。以采集的单株穗条 (二倍体) 作为 1 个样本, 穗条采回后取韧皮提取 DNA。

表 1 核桃群体的地理信息及样本数量

Tab. 1 Geographical information of sampling sites and sample size

采样地	经度	纬度	海拔范围/m	样本数量/个
德钦县	98°43' ~ 99°32'	27°33' ~ 29°15'	1 992 ~ 2 750	37
维西县	98°54' ~ 99°34'	26°53' ~ 28°02'	1 450 ~ 2 300	54
香格里拉市	99°28' ~ 99°46'	27°24' ~ 27°52'	1 680 ~ 2 560	70
合计				161

1.2 试验方法

1.2.1 核桃基因组 DNA 的提取

核桃基因组 DNA 的提取采用改进的 CTAB 法^[14], 其浓度和纯度用 1% 的琼脂糖凝胶电泳及紫外可见分光光度计 (thermo scientific) 进行检测, 将 DNA 样品浓度用 Tris-EDTA 缓冲液调至 20

ng/μL, -20 °C 冰箱保存备用。

1.2.2 引物确定及 SSR-PCR 扩增和扩增产物的毛细管电泳检测

参照陈少瑜等^[15]的方法, 用 20 对初步筛选的引物^[16]对 3 个群体中随机抽取的 3 ~ 5 份样品进行扩增, 丙烯酰胺电泳确定有扩增结果且条带清晰稳

定的引物。将确定的引物用以全部样品的扩增，扩增结果采用毛细管电泳^[17]检测记录。

1.3 统计及分析

将检测到的 SSR 片段录入 Excel 表，利用 GenAIEx 6.5^[18]及 POPGENE 1.32^[19]计算分析群体的观察等位基因数 (N_a)、有效等位基因数 (N_e)、观察杂合度 (H_o)、期望杂合度 (H_e)、Shannon 信息指数 (I) 等遗传多样性参数；群体间的遗传距离 (D)、遗传一致度 (I)、F-统计量 (F_{IS} 、 F_{IT} 、 F_{ST}) 及基因流 (N_m)^[20]等群体遗传分化参数。

基于群体的遗传距离，运用 Mega 6.06 软件进行 UPGMA 聚类并绘制各群体遗传关系树状图^[21]。

利用 STRUCTURE 2.3.2 软件分析核桃群体的遗传结构^[22]。将聚类参数 K 设置为 2~15，每个 K 值独立重复运算 10 次，运行参数“Length of Burn-in Period”为 10 000 次，“Number of MCMC Reps of Burning”设为 100 000 次。采用 ΔK 值最大原则选取最佳 K 值^[23]，结果通过 Distruct 软件^[24]绘制群体遗传结构图。

2 结果与分析

2.1 引物及扩增结果

经丙烯酰胺电泳检测最终确定 18 对引物用以 161 份样品的扩增，引物序列及相关信息参见文献^[16]，扩增结果列于表 2。由表 2 可见，18 对引物对 161 份样品扩增片段的大小为 96~250 bp，共检测到 171 个等位基因，平均每个引物检测到 9.5 个等位基因，其中引物 CUJRB103a 和 CUJRB220 检测到的等位基因最多（各 16 个），引物 JUG-13 和 ZMZ-11 的最少，分别只有 3 个。

2.2 核桃群体的遗传多样性

18 对引物对 3 群体 161 份样品的扩增结果经 POPGENE 1.32 软件分析得到群体的遗传多样性参数（表 3）。由表 3 可见，3 个群体的观察等位基

因数 (N_a) 的变化范围为 5.556~7.111，平均为 6.574；有效等位基因数 (N_e) 的变化范围为 2.862~3.174，平均为 3.030；观察杂合度 (H_o) 的变化范围为 0.390~0.580，平均为 0.467；期望杂合度 (H_e) 的变化范围为 0.580~0.619，平均为 0.598；Shannon 信息指数 (I) 介于 1.153~1.313 之间，平均为 1.231，3 个群体的多态位点百分率 (P) 均为 100%。除了多态位点百分率，各群体的其他遗传参数存在明显差异。综合比较 3 个群体的遗传参数可以发现，维西群体的 N_e 、 H_e 和 I 最高 ($N_e=3.174$ ， $H_e=0.619$ ， $I=1.313$)，德钦群体的最低 ($N_e=2.862$ ， $H_e=0.580$ ， $I=1.153$)，说明 3 个群体中维西群体拥有相对较高的遗传多样性，德钦的相对较低。

表 2 18 对 SSR 引物及扩增结果

Tab. 2 18 SSR primers and their amplified results

序号	引物名称	扩增片段大小/bp	每个位点的等位基因数/ N
1	CUJRA123	198~212	8
2	CUJRA124	165~184	15
3	CUJRA206a	200~212	15
4	CUJRB012	96~118	12
5	CUJRB103a	144~174	16
6	CUJRB218	168~174	8
7	CUJRB220	147~196	16
8	CUJRB305	133~179	12
9	CUJRB307	146~181	14
10	CUJRB317	131~151	11
11	CUJRC310	162~172	7
12	CUJRD204a	172~174	4
13	JH3753	188~212	10
14	JSI-15	180~200	7
15	JSI-63	203~208	5
16	JSI-73	160~175	5
17	JUG-13	240~250	3
18	ZMZ-11	162~175	3
总数			171
平均			9.5

表 3 迪庆州 3 个核桃群体的遗传多样性

Tab. 3 Genetic diversity of 3 walnut populations in Diqing

群体	N_a	N_e	H_o	H_e	I	P
DQ	5.556	2.862	0.580	0.580	1.153	100
WX	7.111	3.174	0.430	0.619	1.313	100
XGLL	7.056	3.054	0.390	0.594	1.226	100
平均	6.574	3.030	0.467	0.598	1.231	100

2.3 核桃群体的遗传分化及遗传结构

表4显示了迪庆州3个核桃群体间遗传分化状况。由表4可知,群体间的近交系数(F_{IS})介于-0.168 5~0.495 9之间,平均为0.218 7,其中1个位点(JSI-63)杂合子过剩。群体间的遗传分化系数(F_{ST})介于0.005 2~0.225 3之间,平均为0.065 2。数据表明遗传变异主要存在于群体内,来源于群体间的遗传变异只占总变异的6.52%。各位点的基因流(N_m)差异较大,变化范围在0.859 5~9.454 9之间,平均为4.266 3。

表4 迪庆州3个核桃群体的遗传分化与基因流

Tab.4 Genetic differentiation and gene flow of 3 walnut populations in Diqing

位点	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}	N_m
CUJRA123	0.285 6	0.321 5	0.050 3	4.719 7
CUJRA124	0.195 4	0.216 1	0.025 8	9.454 9
CUJRA206	0.495 9	0.516 0	0.039 8	6.030 4
CUJRB012	0.097 8	0.154 3	0.062 6	3.745 0
CUJRB103	0.429 0	0.449 3	0.035 5	6.791 5
CUJRB218	0.125 2	0.199 3	0.084 7	2.700 6
CUJRB220	0.075 6	0.082 1	0.007 0	3.547 9
CUJRB305	0.396 2	0.429 5	0.055 2	4.278 3
CUJRB307	0.273 7	0.342 3	0.094 4	2.397 1
CUJRB317	0.041 9	0.068 8	0.028 1	8.647 4
CUJRC310	0.219 2	0.250 0	0.039 5	6.082 3
CUJRD204	0.234 1	0.406 6	0.225 3	0.859 5
JH2753	0.484 9	0.523 3	0.074 6	3.101 8
JSI-15	0.194 6	0.289 5	0.117 8	1.872 9
JSI-63	-0.168 5	-0.113 8	0.046 9	5.084 1
JSI-73	0.024 5	0.040 8	0.016 8	1.465 4
JUG-13	0.049 2	0.054 2	0.005 2	4.740 9
ZMZ11	0.285 1	0.402 4	0.164 1	1.273 9
平均	0.218 7	0.269 7	0.065 2	4.266 3

注: F_{IS} 为群体内繁育系数; F_{IT} 为总群体内繁育系数; F_{ST} 为群体分化系数; N_m 为基因流。

利用STRUCTURE分析迪庆州核桃种质资源群体的遗传结构,当 $K=3$ 时 ΔK 值最大(图1),表明161份核桃资源具有3个不同类群(图2),红色、绿色和紫色分别代表3个类群,由图2可见虽然类群间存在一定的遗传混杂和基因交流现象,但仍可看出较为明显的分化,其中德钦群体遗传混杂程度相对较小,维西和香格里拉群体较为相似,3个类群的单株基本均匀分布。

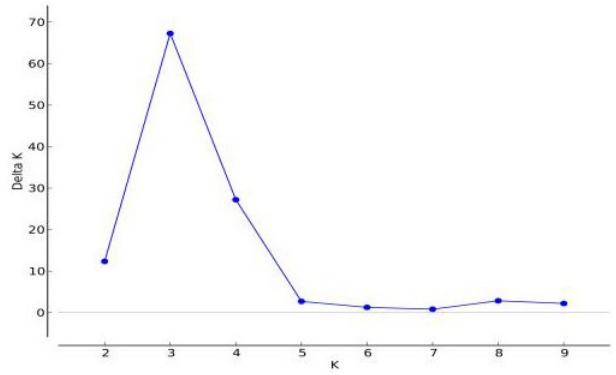


图1 最佳类群数(K)与推断值(ΔK)的关系

Fig.1 Relationship between the rational groups number K and estimated value ΔK

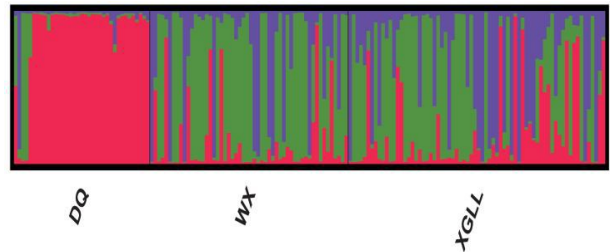


图2 基于STRUCTURE分析的迪庆州3个核桃群体的遗传结构

Fig.2 Genetic structure of 3 *J. sigillata* populations in Diqing based on STRUCTURE analysis

2.4 群体间的遗传关系及UPGMA聚类

为了进一步了解迪庆州3个核桃群体间的遗传关系,利用群体间的Nei's遗传距离(表5)进行UPGMA聚类。由表5可见,3个群体遗传距离(D)的变化范围为0.127 8~0.201 3。其中,维西和香格里拉的遗传距离最小($D=0.127 8$),维西和德钦的遗传距离最大($D=0.201 3$)。从聚类图(图3)可以看出,3个群体在遗传距离0.13处可以划分成2个组,维西和香格里拉聚为一组,德钦单独为一组。

表5 迪庆州3个核桃群体间的Nei's遗传距离(D)与遗传一致度(I)

Tab.5 Nei's genetic distances (D) and genetic identity (I) among 3 walnut populations in Diqing

	DQ	WX	XGLL
DQ	*** **	0.807 7	0.835 5
WX	0.201 3	*** **	0.880 0
XGLL	0.169 7	0.127 8	*** **

注:对角线之上数据为Nei's遗传一致度(I);对角线之下为Nei's遗传距离(D)。

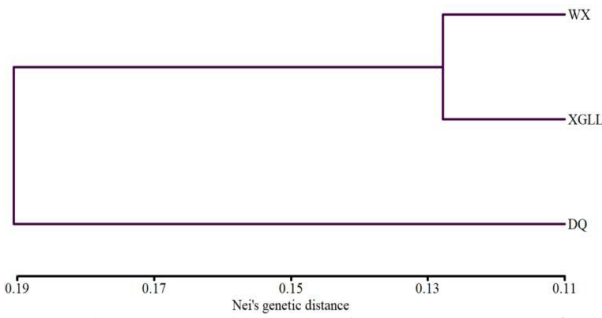


图3 基于 Nei's 遗传距离的 3 个群体的 UPGMA 聚类图

Fig. 3 UPGMA phylogenetic dendrogram of 3 walnut populations in Diqing based on Nei's genetic distance

3 讨论与结论

遗传多样性是物种长期生存和保持进化的基础^[25]。通常采用 Shannon's 信息指数 (I) 和期望杂合度 (H_e) 作为评估群体遗传多样性的重要指标, 其中 H_e 不仅可以衡量群体的遗传多样性, 还可以反映群体中等位基因的丰富度和均匀程度^[26-27]。本研究中, 3 个核桃群体 H_e 的平均值为 0.598, I 的平均值为 1.231, 高于此前刘晓丽等^[28] ($H_e = 0.282$; $I = 0.4225$), Wang H 等 ($H_e = 0.525$ ^[9]; $H_e = 0.586$ ^[11]) 以及吴涛等^[16] ($H_e = 0.591$; $I = 1.157$) 基于 SSR 分子标记的核桃群体 (*J. regia* 或 *J. sigillata*) 的遗传多样性, 低于王滑等 ($H_e = 0.617$ ^[26]; $H_e = 0.678$ ^[29]), 徐永杰等^[10] ($H_e = 0.657$; $I = 1.324$) 采用相同分子标记技术对核桃群体的遗传多样性研究结果。可见, 迪庆核桃种质资源的遗传多样性处于中等水平。

评估一个树种的遗传多样性对于这个树种的基因保存和优树选择非常重要^[30-31]。一个物种遗传多样性和它的生活史和生态特征密切相关, 通常稀有种、特有种、分布范围狭窄的物种具有较低的遗传多样性, 广布、异交、动物传播种子的物种会有较高的遗传多样性^[32]。其次, 繁育系统、遗传漂变、基因突变、基因流等内部因素, 环境变化、人为干扰等外部因素对一个物种的遗传多样性水平及分布格局有很大影响^[33]。本研究的对象深纹核桃是我国特有种, 在云南分布广泛, 全省 127 个县海拔 850 ~ 2 900 m 范围内均有栽培和分布^[34-35]。此外, 迪庆州具有垂直气候和立体生态环境, 再加之核桃的异花授粉, 实生后代遗传基础多样、变异丰富, 以上诸多因素导致了该区域核桃种质资源的遗传多样性水平较高。然而, 生境的片段化以及其他诸如种质交换、良种推广种植、野生资源砍伐等人

为干扰又降低了种质的遗传多样性水平。其中生境的片段化会减小有效种群规模, 降低物种的适应能力, 引起某些等位基因的消失, 造成群体遗传多样性的丧失^[36], 同时, 有效种群规模的下降会增加种群的近交频率, 进而降低物种的遗传多样性及生产能力^[37]。本研究分析的 18 个位点中仅有 JSI-63 位点的近交系数小于 0 ($F_{IS} = -0.1685$), 其他位点的近交系数均大于 0, 杂合子不足, 数据表明迪庆州核桃种质资源群体内存在近亲繁殖, 缺乏足够的杂合子 ($H_o = 0.467$, $H_e = 0.598$, $H_o < H_e$) 来维持群体高水平的遗传多样性。以上因素综合作用的结果使得此区域核桃资源的遗传多样性处于中等水平。

遗传分化系数 (F_{ST}) 可以很好地反映群体的遗传结构^[32]。迪庆州 3 个核桃群体的遗传分化系数 $F_{ST} = 0.0652$, 数据表明遗传变异主要来自群体内的个体间。此分化系数高于 Victory E 等采用 SSR 分子标记对黑核桃居群的研究结果 ($F_{ST} = 0.017$)^[38], 低于 Wang H 等采用 SSR 标记对西藏核桃居群 ($F_{ST} = 0.103$) 和泡核桃居群 ($F_{ST} = 0.111$) 的研究结果^[11], 低于王滑等对中国 8 个核桃居群 ($F_{ST} = 0.196$) 的研究结果^[26], 比较结果表明迪庆州核桃群体间的遗传分化水平较低。

基因流 (N_m) 是影响群体间遗传变异程度的重要因素^[20], 一般来说, 大的基因流可以阻止群体间的遗传分化, 因此基因流大的物种, 群体间的遗传分化较小^[39]。Hamrick 等研究结果, 当 $N_m > 1$ 时, 基因流就足以抵制遗传漂变的作用, 阻止群体间的分化; 当 $N_m < 1$ 时, 遗传漂变便会导致群体间的遗传分化^[40]。迪庆州 3 个核桃群体 N_m 的平均值为 4.2663 ($N_m > 1$), 表明基因交流抵制了遗传漂变的作用, 降低群体的遗传分化水平, 这与陈良华等对四川核桃资源的遗传多样性研究结果相似^[41]。 N_m 一方面与物种的繁殖方式、地理分布有关, 另一方面与环境变化和人为活动密切相关。作为一种非常重要的经济林树种, 核桃尽管以异交为主, 但其风媒传粉、种子或嫁接繁殖、人为实生选种以及种质交换等因素都强化了群体间的基因交流, 这些应该是群体遗传分化较低的主要原因。

基于遗传距离的 UPGMA 聚类显示迪庆州的 3 个核桃群体, 维西群体和香格里拉群体间的遗传距离最小, 在遗传距离 0.13 处聚为一组; 德钦群体和维西群体的遗传距离最大, 另外成为单独的一组。STRUCTURE 分析将 161 份资源分成 3 个类群, 类群间存在一定的遗传混杂和基因交流, 但也存在

较为明显的分化,其中维西和香格里拉群体间的分化较小,德钦群体与二者的分化相对较大,与UP-GMA聚类结果相同。德钦核桃群体海拔为1 992~2 750 m,维西群体1 450~2 300 m,香格里拉群体1 680~2 560 m,德钦核桃群体相对于其他2个群体资源分布的海拔较高;其地理位置与深纹核桃的另一个主要分布区西藏相邻,与西藏深纹核桃种质产生基因交流,以上因素有可能是导致3个核桃群体的遗传结构和聚类结果的主要原因。

遗传多样性是资源利用的基础,本研究揭示了迪庆州深纹核桃种质资源中等水平的遗传多样性,具有进一步选育利用的价值和潜力。3个群体中,维西群体的遗传多样性相对较高,开展核桃资源选育和保护工作时,维西应作为重点选择群体,德钦群体分布海拔较高,可作为高海拔特征优株的选择群体。此外,因迪庆州深纹核桃群体间的遗传分化水平较低,应侧重于群体内单株的选择。

参考文献:

[1] 郗荣庭,张毅萍. 中国果树志:核桃卷[M]. 北京:中国林业出版社,1996:47-53.

[2] 匡可任,路安民. 中国植物志:第21卷[M]. 北京:科学出版社,1979:30-35.

[3] 王红霞,张志华,玄立春. 我国核桃种质资源及育种研究进展[J]. 河北林果研究,2007,22(4):387-392.

[4] 段志方,此永芝玛,杨迎花,等. 迪庆州夏季降水时空分布特征及其与地形关系分析[J]. 南方农业,2018,12(26):144-151.

[5] Agarwal M, Shrivastava N, Padh H. Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences [J]. Plant Cell Reports, 2008, 27(4): 617-631.

[6] Kelkar Y D, Strubczewski N, Hile S E, et al. What is a microsatellite: A computational and experimental definition based upon repeat mutational behavior at A/T and GT/AC repeats [J]. Genome Biology and Evolution, 2010(2): 620-635.

[7] Guichoux E, Lagache L, Wagner S, et al. Current trends in microsatellite genotyping [J]. Molecular Ecology Resources, 2011(11): 591-611.

[8] Jones A G, Small C M, Paczolt K A, et al. A practical guide to methods of parentage analysis [J]. Molecular Ecology Resources, 2010, 10(1): 6-30.

[9] Wang H, Pei D, Gu R S, et al. Genetic diversity and structure of walnut populations in Central and Southwest China revealed by microsatellite markers [J]. Journal of the American Society for Horticultural Science, 2008, 133(2): 197-203.

[10] 徐永杰,韩华柏,王滑,等. 大巴山区核桃实生居群的

坚果表型和遗传多样性[J]. 林业科学, 2016, 52(5): 111-118.

[11] 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 & Genomes, 2015, 11(1): 1-11.

[12] Fatemeh S, Mehdi R, Shaneka L, et al. Genetic diversity of superior persian walnut genotypes in Azadshahr, Iran [J]. Physiology and Molecular Biology of Plants 2018, 24(5): 939-949.

[13] Uzma N S, Mir J I, Ahmed N, et al. Assessment of germplasm diversity and genetic relationships among walnut (*Juglans regia* L.) genotypes through microsatellite markers [J]. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, 2018, 17: 339-350.

[14] 杨恩, 陈少瑜, 张雨, 等. 漾濞核桃叶片基因组 DNA 的两种提取方法效果比较[J]. 西部林业科学, 2005, 34(4): 72-75.

[15] 陈少瑜, 宁德鲁, 吴涛, 等. 泡核桃 SSR 标记开发及在遗传多样性研究中的应用[J]. 西北林学院学报, 2017, 32(3): 91-96.

[16] 吴涛, 陈少瑜, 宁德鲁, 等. 怒江州深纹核桃种质资源 SSR 遗传多样性分析[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2019, 48(2): 252-258.

[17] 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.

[18] 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.

[19] Yeh F C, Yang R C, Boyle T B J, et al. POPGENE, the user-friendly shareware for population genetic analysis [M]. Edmonton: University of Alberta, 1997.

[20] Slatkin M, Barton N H. A comparison of three indirect methods for estimating average levels of gene flow [J]. Evolution, 1989, 43(7): 1349-1368.

[21] Tamura K, Stecher G, Peterson D, et al. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0 [J]. Molecular Biology and Evolution, 2013, 30(12): 2725-2729.

[22] Pritchard J K, Stephens M, Rosenberg N A, et al. Association mapping in structured populations [J]. The American Journal of Human Genetics, 2000, 37: 170-181.

[23] 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.

[24] Noah A R, Jonathan K P, James L W, et al. Genetic structure of human populations [J]. Science, 2002, 298(5602): 2381-2385.

[25] Botstein D, White R L, Skolnick M, et al. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length

polymorphisms [J]. *Am J Hum Genet*, 1980, 32(3) :314-331.

[26]王滑,郝俊民,王宝庆,等. 中国核桃 8 个天然居群遗传多样性分析 [J]. *林业科学*, 2007, 43(7) :120-124.

[27]黄勇. 基于 SRAP 分子标记的小果油茶遗传多样性分析 [J]. *林业科学*, 2013, 49(3) :43-50.

[28]刘晓丽,陈学森,张美勇,等. 普通核桃 (*Juglans regia*) 3 个群体遗传结构的 SSR 分析 [J]. *果树学报*, 2008, 25(4) :526-530.

[29]王滑. 西藏核桃种质资源遗传多样性研究 [D]. 北京:中国林业科学院, 2010.

[30]甘沛华,李旦,沈德周,等. 不同瓣型腾冲红花油茶的遗传多样性与遗传结构分析 [J]. *西南林业大学学报(自然科学)*, 2019, 39(4) :46-52.

[31]廖柏勇,王芳,陈丽君,等. 基于 SRAP 分子标记的苦楝种质资源遗传多样性分析 [J]. *林业科学*, 2016, 52(4) :48-58.

[32]Hamrick J L, Loveless M D. factors influenceing levels of genetic diversity in woody plant species [J]. *New Forests*, 1992, 6:95-124.

[33]文亚峰,韩文军,吴顺. 植物遗传多样性及其影响因素 [J]. *中南林业科技大学学报*, 2010, 30(12) :80-87.

[34]贺娜,耿树香,宁德鲁,等. 云南核桃主栽品种表型特征及主成分分析 [J]. *西部林业科学*, 2019, 48(5) :101-106.

[35]陆斌. 云南核桃的特性与品质 [J]. *经济林研究*, 2009, 27(2) :137-140.

[36]Young A, Boyle T, Brown T. The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants [J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 1996, 11(10) :413-418.

[37]Yao X, Zhang J, Ye Q, et al. Fine-scale spatial genetic structure and gene flow in a small, fragmental population of *Sinojackia rehderiana* (Styracaceae), an endangered tree species endemic to China [J]. *Plant Biology*, 2011, 13(2) :401-410.

[38]Victory E, Glaubitz J C, Rhodes O E, et al. Genetic homogeneity in *Juglans nigra* (Juglandaceae) at nuclear microsatellites [J]. *American Journal of Botany*, 2006, 93(1) :118-126.

[39]Kumar A, Rogstad S H. A hierarchical analysis of microsatellite DNA diversity in Gambel oak (*Quercus gambelii* Nutt., Fagaceae) [J]. *Molecular Ecology*, 1998, 7:859-869.

[40]Hamrick J L, Godt M J W, Sherman-broyles L S. Gene flow among plant populations: Evidence from genetic markers [C] // Hoch D C, Stephnon A G. *Experimental and Molecular Approaches to Plant Biosystematics*. Missouri Botanical Garden, 1995:215-232.

[41]陈良华,胡庭兴,张帆,等. 用 AFLP 技术分析四川核桃资源的遗传多样性 [J]. *植物生态学报*, 2008, 32(6) :1362-1372.

(编辑:李甜江)

[上接第 47 页]

[16]Guarner F, Malagelada J R. Gut flora in health and disease [J]. *Lancet*, 2003, 361(9356) :512-519.

[17]Priya N G, Ojha A, Kajla M K, et al. Host plant induced variation in gut bacteria of *Helicoverpa armigera*. [J]. *Pubmed*, 2012, 7(1) :307-368.

[18]林晓丽. 小菜蛾肠道细菌多样性分析及两株细菌的杀虫活性研究 [D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2014.

[19]李选文,熊忠平,周艺萍,等. 石林石漠化地区可培养生放线菌的多样性研究 [J]. *西南大学学报(自然科学版)*, 2021, 43(2) :70-78.

[20]黄秀梨,辛明秀. 微生物学实验指导(第 2 版) [M]. 北京:高等教育出版社, 2008:48-50.

[21]东秀珠,蔡妙英常用细菌鉴定手册 [M]. 北京:科学出版社, 2001:364-397.

[22]朱旭芬. 现代微生物学实验技术 [M]. 杭州:浙江大学出版社, 2011:269-275.

[23]周德庆,徐德强. 微生物学实验教程 [M]. 北京:高等教育出版社, 2013:350-352.

[24]王明月,陶茜,李克艳,等. 铁皮石斛内生细菌群落结构分析 [J]. *西部林业科学*, 2014, 43(5) :106-111.

[25]余仲东,唐光辉,曹支敏. 陕西小叶杨叶内生真菌

群体多样性和结构特征 [J]. *林业科学*, 2016, 52(6) :86-92.

[26]郑梅霞,朱育菁,刘波,等. 云南苍山芽胞杆菌多样性研究 [J]. *福建农业学报*, 2019, 34(1) :104-116.

[27]孙佑熊,熊智,王金华,等. 思茅松毛虫 6 龄幼虫肠道细菌的 ARDRA 分析与鉴定 [J]. *湖北农业科学*, 2012, 51(8) :1684-1686, 1690.

[28]蓝波妙. 斜纹夜蛾肠道细菌多样性及其功能研究 [D]. 福州:福建农林大学, 2016.

[29]Engel P, Moran NA. The gut microbiota of insects The gut microbiota of insects-diversity in structure and function [J]. *Microbiology Reviews*, 2013, 37(5) :699-735.

[30]Xiang H, Wei G F, Jia S, et al. Microbial communities in the larval midgut of laboratory and field populations of cotton bollworm (*Helicoverpa armigera*) [J]. *Canadian Journal of Microbiology* 2006, 52(11) :1085-1092.

[31]Wooley J C, Godzik A, Friedberg I. A Primer on Metagenomics [J]. *PLoS Computational Biology*, 2010, 6(2) :1-13.

[32]Long L L, Guo J J, Li P, et al. Bacterial diversity in *Berberis cruentata* gut described using high-throughput sequencing [J]. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, 2015, 5:479-481.

(编辑:胡光辉)