

中国桃亚属植物系统发育及演化关系分析

邱 蓉^{1 2} 程中平^{1 3} 王章利^{1 3}

(1. 中国科学院 武汉植物园 湖北 武汉 430074; 2. 中国科学院 研究生院 北京 100049;

3. 中国科学院 植物种质创新与特色农业重点实验室 湖北 武汉 430074)

摘要:为了弄清桃亚属中国分布植物的系统发育及演化关系,对这些种类的植物学性状以及核 ITS 序列和叶绿体 *psbA-trnH* 序列进行比对分析,植物学性状和 ITS 序列分析分别采用 SPSS 和 MEGA 构建系统树,*psbA-trnH* 序列分析采用 Network 构建进化网络。结果表明:新疆桃确为普通桃的一个亚种;陕甘山桃不是山桃的变种,而是一个独立的种;桃亚属植物的演化关系为光核桃→甘肃桃,甘肃桃通过其中一支演化为山桃→陕甘山桃,另一支演化为普通桃和新疆桃。

关键词:桃亚属;植物学性状;ITS; *psbA-trnH*; 系统发育及演化关系

中图分类号:Q662.03 文献标识码:A 文章编号:1000-7091(2011)06-0221-07

Studies on Phylogeny and Evolutionary of Subgenus *Persica* in China

QIU Rong^{1 2} ,CHENG Zhong-ping^{1 3} ,WANG Zhang-li^{1 3}

(1. Wuhan Botanical Garden ,Chinese Academy of Sciences ,Wuhan 430074 ,China; 2. Graduate University of Chinese Academy of Sciences ,Beijing 100049 ,China; 3. Key Laboratory for Germplasm Innovation and Characteristic Agriculture ,Chinese Academy of Sciences ,Wuhan 430074 ,China)

Abstract: To study the phylogeny and evolutionary path of subgenus *Persica* in China ,the botanical characters , internal transcribed spacer(ITS) of the nuclear ribosomal DNA and *psbA-trnH* of the chloroplast DNA were used , and the three data were respectively analyzed by software SPSS 13.0 ,MEGA 3.0 and Network. Results indicated that *A. ferganensis* was a subspecies of *A. persica* and suggested scientific name as *A. persica* ssp. *ferganensis*; *A. potaninii* was a independent species. The evolution sequences of subgenus *Persica* was: *A. kansuensis* evolved from the original species *A. mira* ,then evolved through two route ,one evolved to *A. davidiana* and then to *A. potaninii* ,other evolved to *A. persica* and *A. persica* var. *ferganensis*.

Key words: Subgenus *Persica*; Botanical characters; ITS; *psbA-trnH*; Phylogeny and evolutionary

桃亚属(Subgen. *Persica* L.) 植物隶属于蔷薇科 (Rosaceae) 李亚科 (Prunoideae) 桃属 (*Amygdalus* L.) 特性是果实成熟时为肉质多汁,不开裂,极少具有干燥的果皮。该亚属在中国分布有桃(*A. persica* L.) (也称普通桃),甘肃桃(*A. kansuensis* Skeels.) ,山桃(*A. davidiana* (Carr.) Yü) ,陕甘山桃(作为种 *A. potaninii* (Batal.) Yü 或作为变种 *Prunus davidiana* var. *Potaninii* Rehd) ,光核桃(*A. mira* (Koe-hne) Kov. et Kost.) 和新疆桃(作为种 *A. ferganensis* (Kost. et Riab.) Kov. et Kost. 或作为亚种 *P. persica*

ssp. *ferganensis* Kost. et Riab.)^[1]。其中桃原产中国西部,已有三千多年的栽培历史,除作果树生产外,还是绿化美化环境的优良树种^[2]。该亚属其他种如光核桃、甘肃桃和山桃虽不直接作栽培,但它们仍表现出许多优良性状,甘肃桃抗旱抗寒能力强,其中红根类型对线虫有较强的抗性^[1],有的类型对南方根结线虫免疫^[3];山桃抗寒、耐旱、耐盐碱土壤,对抗蚜虫能力强^[1];光核桃生长在高海拔地方,具有抗寒抗旱的特性;近缘种可以直接作桃和扁桃的砧木^[4];种间杂种可以用于桃和扁桃的砧木^[5]以及用于育种以进行品种的品质和抗性等方面性状的改

收稿日期:2011-07-13

基金项目:武汉市创新人才开发基金项目(2010016);武汉市科技攻关项目(200920322141)

作者简介:邱 蓉(1985-),女,湖南荆门人,在读硕士,主要从事桃属植物系统发育及演化关系的研究。

通讯作者:程中平(1963-),男,湖北鄂州人,研究员,主要从事果树栽培、育种及种质资源收集、保护、利用及其遗传多样性研究。

良^[4]。因此,开展桃亚属植物系统及其演化关系研究对于种质资源的保存与利用有重要意义。

关于桃亚属植物的系统学与演化途径,在许多方面开展了相关研究工作。从形态学上,对于桃亚属种的分类比较一致的是普通桃、光核桃、甘肃桃、山桃,然而对于新疆桃和陕甘山桃的分类学地位存在异议,有的认为新疆桃和陕甘山桃应分别为独立一种^[1,6],有的认为新疆桃是普通桃内一个变种^[7-9],陕甘山桃是山桃一个变种^[2,10,11]。周建涛等^[12]从形态学上推断桃亚属植物演化关系时指出西南地区的普通桃直接起源于光核桃,汪祖华等^[1]从地理分析上也支持这一观点。孢粉学研究上,高锁柱等^[13]指出新疆桃和普通桃近缘,汪祖华等^[14]认为普通桃、山桃和新疆桃起源于甘肃桃。在细胞学上,郭振怀^[15-17]发现新疆桃和普通桃,山桃和甘肃桃近缘,并发现核型的不对称性为甘肃桃>山桃>新疆桃>普通桃,甘肃桃原始性最强。在生物化学方面,高锁柱等^[18]和 Mowrey 等^[19,20]主张将新疆桃作为普通桃的一个变种对待。周建涛等^[21]认为桃起源于光核桃,从其演生出甘肃桃,再从甘肃桃演生出山桃、新疆桃、普通桃。宗学普等^[22]认为桃亚属植物的演化顺序为:光核桃→甘肃桃(含山桃)→山桃→陕甘山桃(含普通桃)→新疆桃(含普通桃)→普通桃(含新疆桃)。至于分子生物学方面,张春英等^[23]、程中平等^[24]、杨新国等^[25]以及杨英军等^[26]通过 RAPD 分析发现新疆桃与普通桃亲缘关系最近,与俞明亮等^[27]及 Yoon 等^[28]的分析结果一致,刘艳玲等^[29]通过 ITS 分析也支持这一结论,并发现陕甘山桃与山桃不近缘。Martínez-Gómez 等^[30]和 Shaw 等^[31]的分子分析研究结果均支持普通桃和光核桃近缘,但是 Uematsu 等^[32]通过对桃叶绿体 DNA 的限制性酶切片段分析,发现桃不直接起源于光核桃,Ohta 等^[33]的研究结果也显示桃和甘肃桃的亲缘关系比与光核桃更近。此外 Wen 等^[34]和王化坤等^[35]的 ITS 分析结果显示桃和山桃亲缘关系相近,由于试材不完全一样得出的结论不尽相同。

从以上的研究来看,桃亚属植物的分类地位上,比较一致认为以独立种存在的有光核桃、普通桃、甘肃桃和山桃。新疆桃的分类地位虽然在形态学上存在分歧,但从细胞学、孢粉学、生物化学及核 DNA 的分子生物学研究上,揭示其与普通桃近缘,大部分研究者支持其为普通桃的一个变种,陕甘山桃分类地位在形态学上存在分歧,在其他方面的研究上,宗学普等^[22]的花粉蛋白 SDS 电泳研究并未发现与山桃有重叠交叉,而与普通桃有交叉,俞明亮等^[27]和

刘艳玲等^[29]采用核 DNA 分析也得到了与山桃不聚在一起的结果,但从细胞质 DNA 开展新疆桃和陕甘山桃与其他种类关系的研究工作未见报道。关于桃亚属植物的演化上,比较一致认为原始种应为光核桃,上述前人研究看出山桃和甘肃桃有一定的亲缘关系,但二者与光核桃的关系如何还有待进一步从核质 DNA 进行分析。由于陕甘山桃只有花粉蛋白的 SDS 电泳分析提出从山桃演化而来,且与普通桃有交叉关系,同样缺乏核质 DNA 的分子生物学证据。关于普通桃的演化关系,孢粉学、生物化学及 RAPD 的研究结果均支持由甘肃桃演化而来,而形态学和地理分布又支持有一部分普通桃直接起源于光核桃,因而存在“西南地区的普通桃,是处于西北地区由光核桃经甘肃桃演化成的普通桃再返回至西南地区形成的,还是由在西南本地区产生的呢?”的科学问题。在分子生物学分析上,Martínez-Gómez 等^[30]和 Shaw 等^[31]的试材中无甘肃桃,在对蔷薇科植物分析中采用的桃亚属植物只有光核桃与桃,因而二者聚在一起;王化坤等^[35]的研究试材中无重要种类光核桃和甘肃桃,竟提出从山桃演化而来,存在科学与合理性问题,日本 Uematsu 等^[32]研究普通桃与光核桃和山桃在母系遗传的叶绿体基因上无联系,而其试验中缺少通常认为直接起源的甘肃桃,因此有待进一步分析。

本研究针对上述分析存在的科学问题,采用植物学性状从宏观性状聚类分析,运用核 ITS 采用较全面试材对前人研究进行补充,以及对还未开展的叶绿体 DNA 分析采取序列比对的方法对桃亚属中国分布植物种类进行全面综合分析,旨在探讨桃亚属植物的亲缘关系及演化。

1 材料和方法

1.1 材料来源及 DNA 提取

本试验所用材料的来源见表 1,采集干叶或鲜叶通过硅胶进行干燥后,采用改良的 CTAB^[36]法提取总 DNA,然后将提取的 DNA 放入 -20℃ 的冰箱存放备用。

1.2 PCR 扩增及测序

聚合酶链式反应(PCR)在 MJ PTC-225 型 PCR 仪上进行,PCR 反应体系为 25 μL 体系,包含 10 × Buffer 2.5 μL,2.5 mmol/L dNTP 2 μL,25 mmol/L Mg²⁺ 2 μL,10 μmol/L 上下引物各 1 μL,模板 DNA 5 μL,Taq 酶 0.24 μL。

ITS 区扩增所用引物为 White 等^[37]描述的一对通用引物 ITS4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')

和 ITS5 (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3') , 扩增的 PCR 反应程序为: 94℃ 预变性 4 min; 94℃ 变性 1 min 50℃ 退火 1 min 72℃ 延伸 2 min 30 个循环; 最后 72℃ 保温 7 min^[29]。

表 1 材料来源及 GeneBank 序列号

Tab. 1 Source of materials and GeneBank accession numbers

编号 No.	分类群 Taxon	来源 Sources	GeneBank 登录号 GeneBank accession No.	
			ITS	psbA-trnH
M01	光核桃	西藏乃东县	-	-
M02	光核桃	西藏乃东县	-	-
M03	光核桃	西藏芒康县	-	-
M04	光核桃	西藏加查县	DQ003551	-
K01	甘肃桃	陕西佛坪县	-	-
K02	甘肃桃	陕西佛坪县	-	-
K03	甘肃桃	甘肃景泰县	DQ003552	-
T01	陕甘山桃	河南郑州果树所	DQ006276	-
D01	山桃	陕西太白县	-	-
D02	山桃	陕西太白县	-	-
D03	山桃	山西交城县	-	-
D04	山桃	甘肃合水县	-	-
D05	山桃	河南济源	DQ006281	-
D06	山桃	GeneBank	AF318744	AY500626
D07	山桃	GeneBank	-	GQ435261
D08	山桃	GeneBank	-	GQ435362
D09	山桃	GeneBank	-	GQ435263
F01	新疆桃	河南郑州果树所	DQ006277	-
F02	新疆桃	湖北武汉植物园	DQ006280	-
F03	新疆桃	新疆南疆	-	-
F04	新疆桃	GeneBank	EF211086	-
P01	桃	湖北孝感	-	-
P02	桃	湖北孝感	-	-
P03	桃	湖北孝感	-	-
P04	桃	重庆金佛山	DQ003548	-
P05	桃	湖北神农架	DQ003549	-
P06	桃	美国	DQ006272	-
P07	桃	湖北武汉植物园	DQ006273	-
P08	桃	湖北武汉植物园	DQ006274	-
P09	桃	湖北武汉植物园	DQ006275	-
P10	桃	湖北武汉植物园	DQ006278	-
P11	桃	云南	-	-
P12	桃	长江流域	-	-
P13	桃	GeneBank	EF211087	AY500628
P14	桃	GeneBank	AF143535	GQ435256
P15	桃	GeneBank	AF185621	GQ435268
P16	桃	GeneBank	AF318741	GQ435269

psbA-trnH 区扩增所用引物为 Shaw 等^[31]描述的一对通用引物 trnH2R(GUG) (5'-CGCGC ATG-GTGGATTCACAATCC-3') 和 psbA(5'-GTTATGCAT-GAACGTAATGCTC-3') , 扩增的 PCR 反应程序为: 94℃ 预变性 2 min; 94℃ 变性 30 s 50℃ 退火 30 s , 72℃ 延伸 1 min 30 个循环; 最后 72℃ 保温 7 min。

所得 PCR 产物送到武汉博道生物技术有限公司进行测序, 为了保证测序的准确性, 对序列的正、反链进行测定并加以校准。

1.3 植物学性状和序列的比对分析及聚类

1.3.1 植物学性状的比对分析及聚类 根据《中国植物志》^[2]、《中国果树分类学》^[10] 及《中国果树

志—桃卷》^[1]对桃亚属所有种的植物学观察记载, 选取从树性到枝、叶、花、果的 38 个植物学性状, 分为二态和多态, 采用二元编码和多元编码将性状编码(表 2) , 构成分析原始数据。所得数据用 SPSS 13.0 软件进行处理, 采用分层聚类中的变量聚类构建系统进化树。

表 2 分类性状及编码

Tab. 2 Taxonomic characters and codes

序号 No.	分类性状及编码 Taxonomic characters and codes
1	树姿: 直立(0) , 半开张(1) , 开张(2)
2	树皮颜色: 灰褐色(0) , 暗红褐色(1) , 暗紫色(2)
3	树干: 粗糙(0) , 光滑(1)
4	小枝是否具皮孔: 是(0) , 否(1)
5	叶形: 卵圆披针形(0) , 长椭圆披针形(1)
6	叶尖是否垂卷: 是(0) , 否(1)
7	叶缘: 圆钝锯齿(0) , 细锯齿(1)
8	叶片近顶端是否全缘: 是(0) , 否(1)
9	叶基: 楔形(0) , 圆形至宽楔形(1)
10	叶片是否具毛: 是(0) , 否(1)
11	叶片是否仅下面脉腋间有毛: 是(0) , 否(1)
12	叶片是否仅下面中脉基部有毛: 是(0) , 否(1)
13	叶片侧脉是否结合成网状: 是(0) , 否(1)
14	叶柄是否具腺体: 是(0) , 否(1)
15	花瓣颜色: 白(0) , 粉(1) , 白或粉(2)
16	花萼是否具毛: 是(0) , 否(1)
17	萼筒是否绿色而具红色斑点: 是(0) , 否(1)
18	萼片上部萼齿是否深裂: 是(0) , 否(1)
19	花瓣先端是否微凹: 是(0) , 否(1)
20	雄蕊是否比花瓣短得多: 是(0) , 否(1)
21	果形: 近球形或卵圆形(0) , 椭圆形或长圆形(1) , 卵圆形, 宽椭圆形或扁圆形(2)
22	果实阳面是否具红晕: 是(0) , 否(1)
23	果实缝合线是否明显: 是(0) , 否(1)
24	果顶: 圆平(0) , 尖凸(1)
25	果实颜色: 绿白(0) , 淡黄(1)
26	果肉颜色: 白(0) , 淡黄(1)
27	果肉风味: 酸(0) , 甜(1) , 干燥不可食(2)
28	果梗是否深入果洼: 是(0) , 否(1)
29	果核: 粘核或离核(0) , 离核(1)
30	核形: 卵圆形(0) , 近球形(1) , 椭圆形(2)
31	核两侧: 扁平(0) , 稍扁(1) , 不压扁(2)
32	核顶: 急尖(0) , 渐尖(1) , 圆钝(2)
33	核基: 截形(0) , 近截形(1)
34	核表面是否较光滑: 是(0) , 否(1)
35	核表面是否具孔纹: 是(0) , 否(1)
36	核表面是否具网纹: 是(0) , 否(1)
37	核表面是否具纵向平行沟纹: 是(0) , 否(1)
38	果期: 7-8 月(0) , 8-9 月(1)

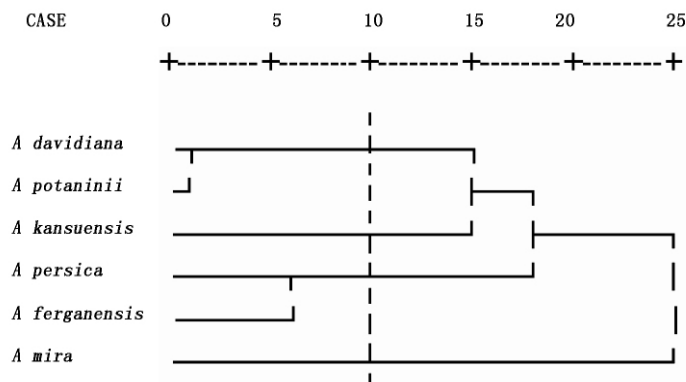
1.3.2 序列比对分析及聚类 将试验测得的正、反链序列进行整合并对个别位点做必要的人工校正, 在 NCBI 上进行核苷酸 Blast 相似性搜索, 确定所得序列为目标序列并从 GenBank 中搜索下载桃亚属的 ITS 及 psbA-trnH 序列。ITS 序列分析采用

MEGA 4.0 软件,以光核桃为根,采用邻位相接法(Neighbor-Joining ,NJ) 构建系统树。系统树的每个分支的统计学显著性分析以自展法(bootstrap) 进行检验,重复次数为 1 000 次。psbA-trnH 序列分析采用 Network 软件,基于碱基突变构建进化网络,所有突变(包括插入、删除和置换) 平均加权。

2 结果与分析

2.1 植物学性状的比对分析

将选取的桃亚属植物学性状编码所得的原始数据用 SPSS 13.0 进行分析,构建系统树(图 1) 。



图上方的数字是按距离比例进行重新标定的结果(标定到 0 ~ 25) 。

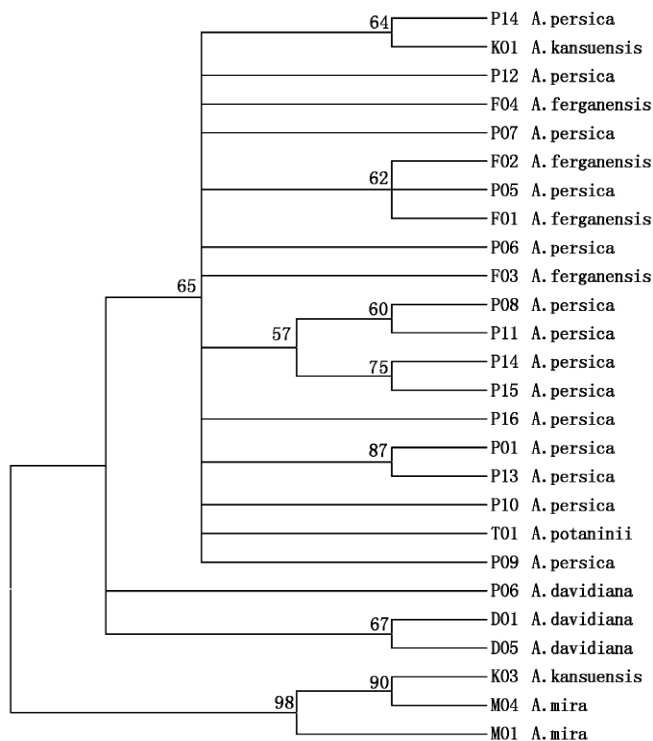
Numbers from top of the figure are based on the results of the proportion of recalibration(standardization 0 ~ 25) .

图 1 桃亚属基于植物学性状的聚类树图

Fig. 1 The clustering tree of subgenus *Persica* based on botanical characters

根据桃亚属植物学性状的聚类图来看,山桃和陕甘山桃之间的亲缘关系最接近,它们之间的相对距离最小,普通桃和新疆桃的亲缘关系也很接近。

从距离 10 处作一结合线,可以划分为 4 组,即光核桃,普通桃和新疆桃,甘肃桃,山桃和陕甘山桃。



分枝上的数值代表自展支持率,图中编号代表名称见表 1。

Numbers above branches are bootstrap values(%) with 1 000 replicates, serial numbers in the fig. represent the accessions in the Tab. 1.

图 2 基于 ITS 序列的 NJ 树

Fig. 2 The Neighbor-Joining tree of subgenus *Persica* based on ITS sequences.

2.2 核 ITS 序列的比对分析

对试验测得与 GeneBank 中下载的桃亚属种的

ITS 序列进行分析,发现桃亚属植物 ITS 区(含 5.8S) 序列的长度范围为 598 ~ 613 bp, G + C 含量

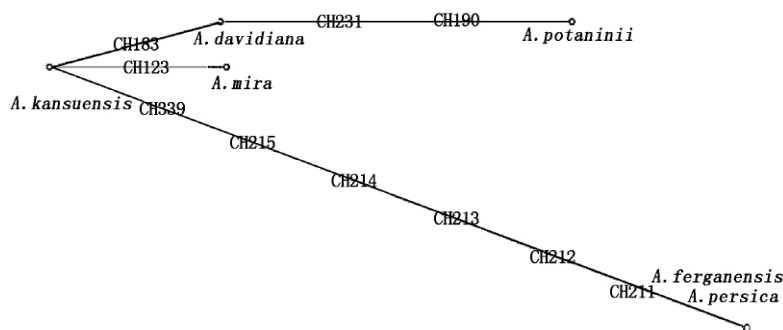
为 61.0% ~ 63.0% ,当空位 (gap) 作缺失处理时 , ITS 区全序列排序后的长度为 622 位点 ,其中有 55 个变异位点 21 个为系统发育的信息位点 ,分别占 8.8% 和 3.4% 。将上述序列用 MEGA4 进行聚类分析 ,以光核桃为根使用 NJ 法构建系统树 (图 2) 。

基于 ITS 序列构建的桃亚属植物的系统发育树 (图 2) 可以看出 ,光核桃和甘肃桃的一个样本聚为一支 ,自展值为 98% ,普通桃 ,新疆桃 ,陕甘山桃以及甘肃桃另一个样本聚为另一支 ,自展支持率为 65% 。山桃聚在光核桃分支和普通桃分支之间。甘肃桃和普通桃及光核桃聚在一起的自展支持率分别为 64% 和 90% ,表明甘肃桃分别和普通桃及光核

桃近缘。

2.3 叶绿体 *psbA-trnH* 的比对分析

对试验测得与 GeneBank 中下载的桃亚属种的 *psbA-trnH* 序列进行分析 ,在所有的 23 个样本中 ,发现 3 个光核桃 2 个甘肃桃 2 个新疆桃 ,7 个普通桃 8 个山桃的 *psbA-trnH* 序列分别 100% 相似 ,除新疆桃和普通桃之外 ,不同种类个体间的序列则存在差异 ,表明 *psbA-trnH* 序列在种内保守 种间不保守。桃亚属植物的 *psbA-trnH* 序列长度为 262 ~ 267 bp ,其中有 10 个变异位点 ,G + C 含量为 20.9% ~ 21.3% 。将上述 *psbA-trnH* 序列用 Network 进行分析 ,构建进化网络 (图 3) 。



枝上的每一个数字表示一个碱基的变异。

Each number on the branches indicates a base variation.

图 3 扁桃亚属基于 *psbA-trnH* 序列的进化网络

Fig. 3 The network of almond subgenus based on *psbA-trnH* sequences

基于 *psbA-trnH* 序列构建的进化网络图 (图 3) 可以看出 ,普通桃和新疆桃的亲缘关系最近 ,序列 100% 相似 ,光核桃和甘肃桃的亲缘关系相近 ,有 1 个碱基的差异 ,甘肃桃和山桃也有 1 个碱基的差异 ,和普通桃 (新疆桃) 之间则有 6 个碱基的差异 ,山桃和陕甘山桃之间有 2 个碱基差异。

3 讨论

3.1 新疆桃的分类地位

从形态学上来说 ,新疆桃叶片侧脉直出达叶缘 ,不结合成网状 ,与普通桃有明显区别 ,因此俞德浚^[2,10]、王宇霖^[11]、汪祖华和庄恩及^[1]、Lu & Bartholomew^[6] 等将其作为一个种 ,但是古田雅夫^[8]、Kost et Reib^[11]、James 等^[9] 却将其作为普通桃的一个亚种 ,许乃氏^[7] 对桃区植物的记载也并未包括新疆桃。高锁柱等^[13,18] 通过同工酶分析发现新疆桃和普通桃的同工酶酶谱极为相似 ,之后又在孢粉学研究中发现它们的花粉不仅大小相同 ,外壁饰纹也相似。郭振怀等^[17] 发现新疆桃和普通桃的核型组成基本相同 ,另有许多学者^[23-26] 通过 RAPD 技术发现新疆桃和普通桃具有极为相近的亲缘关系。这些研究都支持新疆桃为普通桃的一个亚种。

植物学性状的聚类结果显示普通桃和新疆桃具有较近的亲缘关系 ,新疆桃除了侧脉不呈网状而与普通桃相区别外 ,其他性状则比较相似 ,如叶和果均较大 ,侧脉对数均为 12 ~ 14 等。核质 DNA 的分析也显示它们近缘 ,新疆桃和普通桃的 *psbA-trnH* 序列完全一致 ,并且在以 ITS 序列对桃亚属所有物种进行构树时新疆桃聚在普通桃的变种和品种之间。故本研究支持新疆桃为普通桃的亚种。

3.2 陕甘山桃的分类地位

陕甘山桃作为山桃的变种除了形态学上的相似外没有其他方面的证据 ,在形态学上陕甘山桃除了叶片和果实与山桃有些微差异外其他基本一致^[2] ,故在对桃亚属植物的植物学性状进行聚类时它们聚在一起并且相对距离很小。宗学普等^[22] 对桃亚属植物花粉蛋白进行的 SDS 电泳谱带聚类分析结果显示陕甘山桃和山桃并没有聚在一起 ,而是和普通桃聚在一起 ;俞明亮等^[27] 的 SSR 分析和刘艳玲等^[29] 的 ITS 分析也得到同样的结果。本研究在以 ITS 序列对桃亚属所有物种进行构树时陕甘山桃和普通桃聚在一起 ,而与山桃相分离 ,另外它们的 *psbA-trnH* 序列也有差异。根据以上分析发现桃亚属植物的 *psbA-trnH* 序列在种内保守种间不保守的特

性表明陕甘山桃其内在的微观进化已到了足以区分为一个种的程度,而在宏观的外部性状上还未来得及显现。鉴于从形态学对其分类地位存在争议,而从微观研究多方证实与山桃有显著差异,因而建议还是将陕甘山桃暂单列为一个独立的种,由于供试的陕甘山桃只有一个样本,提供的信息有限,所以还需要进一步的研究。

3.3 桃亚属的演化顺序

光核桃被认为是桃亚属中的原始种^[1 21 22],从形态学上看,光核桃的核光滑无纹,与该亚属中其他种类的核几乎都有纹相比更原始。在基于 *psbA-trnH* 序列构建的进化网络图中,以光核桃为原始种,则与它亲缘关系相近的为甘肃桃。在基于 ITS 序列构建的桃亚属植物的系统发育树中也有一个甘肃桃和光核桃以 90% 的自展值聚在一起,这说明甘肃桃是直接由光核桃演化来的,而且在基于 *psbA-trnH* 序列构建的进化网络图中,山桃通过甘肃桃与光核桃相接,ITS 分析结果也显示甘肃桃与光核桃之间的亲缘关系比山桃更近,说明山桃是由甘肃桃进化而来,甘肃桃的原始性更强。该结论与汪祖华等^[1, 14]、郭振怀等^[17]及周建涛等^[21]的研究结果一致。

在以 ITS 序列对桃亚属所有物种进行构树时还有一个甘肃桃和普通桃聚在一起,结合 *psbA-trnH* 进化网络图中普通桃和新疆桃与甘肃桃亲缘关系相近,普通桃和新疆桃应由甘肃桃进化而来。但周建涛等^[12]发现云南路南普通桃的果核大小形态与深沟型光核桃相似,是光核桃向普通桃进化的中间类型,认为西南地区的普通桃直接起源于光核桃而没有借助于甘肃桃这一中间过程。汪祖华和庄恩及^[1]根据地理分布认为光核桃主要集中在长江流域而甘肃桃、陕甘山桃、山桃等主要集中在黄河流域,两者距离较远,所以西南地区的普通桃应由光核桃演化而来。但是该结论没有得到除形态学和地理学以外的其他任何证据。虽然 Martínez-Gómez 等^[30]与 Shaw 等^[31]的分析结果显示普通桃和光核桃的亲缘关系相近,但是由于他们的供试样本中没有甘肃桃,所以无法说明普通桃是否有由光核桃直接进化这一途径。在本次研究中,ITS 聚类图显示 2 个甘肃桃分别与光核桃和普通桃聚在一起,说明甘肃桃在光核桃与普通桃的演化过程中起了桥梁作用,并且采自四川地区的普通桃样本与甘肃桃聚在一起而不是与光核桃聚在一起,说明西南地区的普通桃可能也是甘肃桃进化来的。Uematsu 等^[32]通过对桃叶绿体 DNA 的限制性酶切片分析,发现

普通桃和山桃,光核桃有不同的原质体系,表明普通桃没有从山桃和光核桃中接受细胞质。Ohta 等^[33]对桃叶绿体微卫星序列的研究结果也显示普通桃和甘肃桃之间的关系比与光核桃更近。这些研究均支持普通桃不是由光核桃直接进化而来。

从 *psbA-trnH* 进化网络图中可以看出山桃和甘肃桃的亲缘关系相近,之间仅有一个碱基差异。花粉形态观察^[14]、染色体核型分析^[17]、花粉蛋白 SDS 电泳分析^[22]及 RAPD 分析^[24 38]等也表明山桃和甘肃桃有较近的亲缘关系。虽然 ITS 聚类结果显示陕甘山桃和普通桃近缘,但是植物学性状和叶绿体 DNA 分析表明陕甘山桃和山桃亲缘关系较近,和普通桃亲缘关系较远。这可能是因为花粉基因流在近缘种间产生了基因渐渗而导致陕甘山桃和普通桃在核 DNA 上的相似性,而叶绿体属于母性遗传,更能反映植物的进化路线,故陕甘山桃应该是甘肃桃经由山桃演化而来。

结合以上分析,可得桃亚属植物的演化关系为:

光核桃 → 甘肃桃 → 山桃 → 陕甘山桃
普通桃、新疆桃

致谢:对中国农业科学院郑州果树研究所方金豹先生、牛良先生和中国科学院武汉植物园刘艳玲女士、尹载皓先生给予的支持和帮助,在此一并致谢。

参考文献:

- [1] 汪祖华,庄恩及.中国果树志—桃卷[M].北京:中国林业出版社,2001:79-85.
- [2] 俞德浚.中国植物志第三十八卷[M].北京:科学出版社,1986:11-17.
- [3] 朱更瑞,王力荣,左覃元,等.桃砧木资源对南方根结线虫的抗性[J].果树科学,2000,17(增刊):36-39.
- [4] Hesse C O. Peach[M]. In:Advances in fruit breeding. Edited by Janick J and Moore J N. Purdue University Press, West Lafayette, 1975.
- [5] Brooks R M, Olemo H P. Register of new fruit and nut varieties list-32[J]. Hortscience, 1982, 126: 205-209.
- [6] Lu L D, Bartholomew B. Amygdalus linnaeus[J]. Flora of China, 2003, 9: 391-395.
- [7] 吴耕民.中国温带果树分类学[M].北京:农业出版社,1984:136-207.
- [8] 农文协编.果树全书—毛桃[M].东京:日本农山渔村文化协会,1985:83-91.
- [9] James N M, James R, Balling T J. Genetic resources of temperate fruit and nut crops[M]. Netherlands: The International Society for Horticultural Science, 1990: 177-214.
- [10] 俞德浚.中国果树分类学[M].北京:农业出版社,1979:35-41.

- [11] 王宇霖. 落叶果树种类学 [M]. 北京: 农业出版社, 1988: 243 – 268.
- [12] 周建涛, 钟永模, 王天云, 等. 川西南光核桃类型及桃的起源 [C]. 中国园艺学会首届青年学术讨论会论文集, 1994.
- [13] 高锁柱, 马德伟, 张新文, 等. 桃属植物花粉形态的观察研究 [J]. 中国果树, 1988(4): 13 – 16.
- [14] 汪祖华, 周建涛. 桃种质的亲缘演化关系研究—花粉形态分析 [J]. 园艺学报, 1990, 17(3): 161 – 168.
- [15] 郭振怀, 吕增仁, 李桂芹, 等. 山桃和甘肃桃染色体核型分析 [J]. 河北农业大学学报, 1986, 9(4): 1 – 5.
- [16] 郭振怀, 贾希有, 梁小巧. 新疆桃和新疆甜仁桃染色体核型分析 [J]. 河北农业大学学报, 1989, 12(1): 22 – 26.
- [17] 郭振怀, 葛会波, 王秀玲, 等. 桃属植物染色体核型及种间亲缘关系分析 [J]. 园艺学报, 1996, 23(3): 223 – 226.
- [18] 高锁柱, 马德伟, 刘景芬, 等. 几种桃的过氧化物酶同工酶谱分析比较 [J]. 河北农业大学学报, 1987, 10(1): 23 – 26.
- [19] Mowrey B D, Werner D J, Byrne D H. Isozyme survey of various species of *Prunus* in the subgenus *Amygdalus* [J]. *Scientia Horticulturae*, 1990a, 44: 251 – 260.
- [20] Mowrey B D, Werner D J. Phylogenetic relationships among species of *Prunus* as inferred by isozyme markers [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1990b, 80(1): 129 – 133.
- [21] 周建涛, 郭 洪, 赵密珍, 等. 桃野生种花药水溶性蛋白 IEF 电泳分析 [M]//侯喜林, 常有宏. 园艺学进展 (第 2 辑). 南京: 东南大学出版社, 1998: 143 – 145.
- [22] 宗学普, 俞 宏, 王志强, 等. 桃属植物种间亲缘关系及演化研究——花粉蛋白 SDS 电泳分析 [J]. 园艺学报, 1995, 22(3): 288 – 290.
- [23] 张春英, 林同香, 戴思兰, 等. 桃花种质资源亲缘演化关系的研究——RAPD 分析 [J]. 北京林业大学学报, 1999, 21(5): 26 – 31.
- [24] 程中平, 陈志伟, 胡春根, 等. 利用 RAPD 技术对新疆桃分类地位的探讨 [J]. 园艺学报, 2001, 28(3): 211 – 217.
- [25] 杨新国, 张开春, 秦 岭, 等. 桃种质亲缘演化关系的 RAPD 分析 [J]. 果树学报, 2001, 18(5): 276 – 279.
- [26] 杨英军, 张开春, 林 珂. 常见桃属植物 RAPD 多态性及亲缘关系分析 [J]. 河南农业大学学报, 2002, 36(2): 187 – 190.
- [27] 俞明亮, 马瑞娟, 许建兰, 等. 桃种间亲缘关系的 SSR 鉴定 [J]. 果树学报, 2004, 21(2): 106 – 112.
- [28] Yoon J H, Yang D C, Liu D C, *et al.* Phylogenetic relationships among cultivars of *Prunus persica* based on internal transcribed spacer(ITS) sequences of nuclear ribosomal DNA [J]. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 2009, 84(2): 167 – 174.
- [29] 刘艳玲, 徐立铭, 程中平. 基于 ITS 序列探讨核果类果树桃、李、杏、梅、樱的系统发育关系 [J]. 园艺学报, 2007, 34(1): 23 – 28.
- [30] Martinez-Gómez P, Arulsekaran S, Potter D, *et al.* Relationships among peach, almond, and related species as detected by simple sequence repeat markers [J]. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 2003, 128(5): 667 – 671.
- [31] Shaw J, Small R L. Addressing the “hardest puzzle in American pomology:” phylogeny of *Prunus* sect. *Prunocerasus* (Rosaceae) based on seven noncoding chloroplast DNA regions [J]. *American Journal of Botany*, 2004, 91(6): 985 – 996.
- [32] Uematsu C, Sasakuma T, Ogihara Y. Phylogenetic relationships in the stone fruit group of *Prunus* as revealed by restriction fragment analysis of chloroplast DNA [J]. *The Japanese Journal of Genetics*, 1991, 66(1): 59 – 69.
- [33] Ohta S, Nishitani C, Yamamoto T. Chloroplast microsatellites in *Prunus* Rosaceae [J]. *Molecular Ecology Notes*, 2005, 5(4): 837 – 840.
- [34] Wen J, Berggren S T, Lee C H, *et al.* Phylogenetic inferences in *Prunus* (Rosaceae) using chloroplast *ndhF* and nuclear ribosomal ITS sequences [J]. *Journal of Systematics and Evolution*, 2008, 46(3): 322 – 332.
- [35] 王化坤, 陶建敏, 渠慎春, 等. 核果类果树 ITS 序列分子进化及系统发育关系研究 [J]. 园艺学报, 2010, 37(3): 363 – 374.
- [36] Doyle J J, Doyle J L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue [J]. *Phytochemical Bulletin*, 1987, 19: 11 – 15.
- [37] White T J, Bruns T, Les S, *et al.* Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics [M]//Innis M, Gelfand D, Sninsky J, *et al.* PCR protocols: a guide to methods and application. San Diego: Academic Press, 1990: 315 – 322.
- [38] 程中平. 桃不同类群及李属近缘种植物多态信息量的比较 [J]. 华北农学报, 2008, 23(S1): 90 – 97.