

野生毛花猕猴桃雄花花器性状及 SSR 遗传多样性研究

钟敏^{1,2a}, 廖光联^{2a}, 李章云², 邹梁峰², 黄清²,
陈璐², 黄春辉², 陶俊杰², 朱博^{1,2}, 徐小彪^{1,2*}

(¹江西农业大学林学院, 南昌 330045; ²江西农业大学猕猴桃研究所, 南昌 330045)

摘要:【目的】研究江西省内野生毛花猕猴桃雄性种质的多样性。【方法】对江西省野生毛花猕猴桃雄性种质资源开展调查和收集, 分析花器表型性状变异和 SSR 遗传多样性。【结果】供试 68 份毛花猕猴桃雄性种质的雄花花器在表型性状和 DNA 分子水平上均存在明显的变异和较丰富的遗传多样性, 表型性状平均变异系数为 29.19%, 其中变异幅度最大的为花粉量(53.41%), 最小的为花冠直径(15.47%)。通过表型聚类分析, 可将该 68 份种质资源分为两大类群, 类群 A 可分为 2 个亚类, 大部分样品聚为第 1 亚类, 主要表现为花梗较短, 花冠较大, 花粉活力较高, 花冠颜色为粉红; 第 2 亚类总体表现为花梗较长, 花冠较小, 花粉活力中等。类群 B 仅有 2 份样品, 其特征为花冠大、雄蕊数多和高花粉量, 在 DNA 分子水平上, 筛选到的 15 对 SSR 有效引物共扩增出 87 个等位位点, 均为多态性位点。Shannon's 信息指数为 1.04, 多态信息含量为 46.48%。UPGMA 聚类分析可将供试种质材料分为 3 类。2 种聚类结果相似, Mantel 分析中表型性状与分子标记结果呈显著相关($r = -0.79, p < 0.05$), SSR 分子标记在一定程度上反映了不同毛花猕猴桃雄性种质表型性状的变异情况。【结论】68 份野生毛花猕猴桃雄性种质表现出较丰富的遗传多样性。其中花粉量、单花雄蕊数、花粉活力、花瓣颜色、花丝颜色、花梗长度是造成表型性状差异的主要因素。SSR 分子标记分析与毛花猕猴桃花器表型聚类结果具有显著相关性, 毛花猕猴桃雄花的多种表型性状是环境和基因共同作用的结果。

关键词: 毛花猕猴桃; 雄性种质资源; 遗传多样性; 表型性状; SSR

中图分类号: S663.4

文献标志码: A

文章编号: 1009-9980(2018)06-0658-10

Genetic diversity of wild male kiwifruit (*Actinidia eriantha* Benth.) germplasm based on SSR and morphological markers

ZHONG Min^{1, 2a}, LIAO Guanglian^{2a}, LI Zhangyun², ZOU Liangfeng², HUANG Qing², CHEN Lu², HUANG Chunhui², TAO Junjie², ZHU Bo^{1, 2}, XU Xiaobiao^{1, 2*}

(¹College of Forestry, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, Jiangxi, China; ²Kiwifruit Research Institute of Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, Jiangxi, China)

Abstract: 【Objective】Kiwifruit (*Actinidia* Lindl.) has gotten a short history of domestication since the early 20th century when its seeds were introduced into New Zealand. It is wildly distributed throughout the most area of East Asia. The center for the origin of kiwifruit has been considered to be the mountains of the Southwestern China. Jiangxi province is one of the distribution areas of the kiwifruit. *Actinidia eriantha* Benth. is recognized as a valuable species for commercial kiwifruit improvement for high content of ascorbic acid as well as being used in traditional Chinese medicine. Molecular studies have been proved to be efficient ways for the survey of fruit germplasm. The objective of this study was to

收稿日期: 2018-01-17 接受日期: 2018-03-06

基金项目: 国家自然科学基金(31760559; 31760567; 31460505); 江西省重大科技专项(20161ACF60007); 江西省现代农业产业技术体系建设专项(JXARS-05)

作者简介: 钟敏, 女, 在读博士研究生, 研究方向: 果树种质资源与生物技术。Tel: 13677004615, E-mail: chenmined@126.com。a 为共同第一作者。Tel: 18770910160, E-mail: 3118697613@qq.com

*通信作者 Author for correspondence. Tel: 13767008891, E-mail: xbxu@jxau.edu.cn

assess male *A. eriantha* genetic diversity and to determine the differences among 68 germplasms grown in Jiangxi province by examining both morphological and molecular characteristics.【Methods】We conducted a simple sequence repeat (SSR)-based analysis of 68 germplasms from 7 regions of Jiangxi province. We also conducted morphological trait association analysis with 10 important floral phenotypic characteristics and 87 SSR loci. The morphological traits were recorded based on the Guidelines for the conduct of tests for distinctness, uniformity, and stability: kiwifruit (*Actinidia* L.). 50 SSR pairs of primers even distributed on the genetic linkage map of *A. chinensis* were used to initially assess the polymorphism. Of the 50 pairs of primers tested, 15 pairs successfully amplified polymorphic fragments. The phenotypic variables were analyzed using software SPSS. SSR analysis was carried out using fifteen pairs of primers. NTSYSpc2.1 was used for estimating the level of genetic diversity according to the SSR data. The polymorphism information content (PIC) and the Shannon's information index for each SSR were calculated for measuring the informativeness of the markers. The relationship between the Euclidean distances measured using phenotypic variables and the distances measured using SSR markers was measured by software NTSYSpc2.1. Cluster analysis was performed by means of UPGMA (unweighted pair-group method using arithmetic average) clustering procedure, using the NTSYS-PC package.【Results】High levels of genetic diversity existed among the individuals of the wild male *A. eriantha* Benth.. There were significant differences in genetic variation from the average variation coefficient of 29.19%, including the main color of petal (the color of the main color inside of the petal, the other color and distribution of the other colors inside of the petal), color of filament (white to deep pink), the number of flowers per inflorescence (2–10), corolla diameter (23.86–46.23 cm), length of flower stem (5.50–18.67 cm), stamen number (85.33–424.67), pollen quantity (800–17 333) and pollen viability (22.10%–94.74%). The variation coefficient of pollen quantity was the highest (53.41%), while the variation coefficient of corolla diameter was the lowest (15.47%). Two groups could be distinguished by truncating the dendrogram at GS value of 1.49. The major group (denoted group A) consists of 66 individuals and could be separated into two subgroups: the first one is composed of 50 genotypes, including the accessions collected from MGS (22), MA (11), JGS (7), YH (4), XX(1), LS(5), the another is composed of 16 genotypes, including the accessions collected from LS(4), XX(3), JGS(3), MA(4), MGS(1), HYS(1). While two individuals coming from the LS formed another group. The distinct phenotypic features of the two accessions, including their great pollen quantity, more stamen, and big corolla made them to be classified into a separate group. The investigation revealed significant allelic richness in the selected landrace accessions, with a mean of 5.67 SSR alleles per locus and high polymorphism information content (PIC) value of 46.48%. The mean number of Shannon's information index was 1.04. It could be divided into three groups according to the cluster analysis. To ascertain the degree of correspondence between the genetic distances based on phenotypic data and molecular (SSR) data, the distance matrices were constructed and compared using the Mantel's test. The analysis revealed a positive and significant correlation between the two matrices, with $r = -0.79$, $p < 0.05$.【Conclusion】It is important to couple phenotypic analysis with genetic diversity for germplasm conservation in genebank collections. Wild male *A. eriantha* may also be regarded as a source of genetic material for plant improvement.

Key words: *Actinidia eriantha* Benth.; Male germplasm resources; Genetic diversity; Morphological descriptors; SSR

猕猴桃 (*Actinidia* Lindl.) 是雌雄异株的多年生藤本果树, 由于异花授粉, 野生种质遗传多样性极为丰富, 蕴含着大量未认知和利用的优异基因。种质资源遗传多样性的调查和评价是对优异资源保护和开发利用的前提。前人利用形态学标记^[1-2]和分子标记 (RAPD^[3-4]、AFLP^[5]、ISSR^[6]和 SSR^[7-8]) 对猕猴桃种质资源多样性进行了研究, 绝大多数的报道集中于猕猴桃果实品质及野生群体的遗传多样性分析, 对雄株的研究相对薄弱。

表型性状多样性是衡量物种多样性的重要指标, 是了解遗传变异的重要线索^[9-11]。在猕猴桃的表型特征中, 雌株的关注点为果实性状^[2, 12-14], 而雄株叶片和花器变异是遗传变异的重要特征。花作为植物的繁殖器官, 与营养器官相比, 受环境的影响较小, 因此可以通过花器的花色、花冠直径、花梗长度、雄蕊数等表型特征来评价植物遗传多样性的水平。这些表型性状已被广泛应用于芍药^[15]、香石竹^[16]、梨^[17]、甜樱桃^[18]、杜鹃^[19]和芭蕉^[20]等园艺植物的多样性评价中, 目前尚未见到对猕猴桃雄性种质资源表型性状遗传多样性的报道。由于植物表型是遗传因素和环境因素共同作用的结果, 不能完全反映遗传变异, 要考察猕猴桃雄性种质资源还需采用分子标记的手段, 从DNA分子水平进行分析。在各种类型的分子

标记中, 微卫星 DNA 分子标记 SSR (simple sequence repeats) 由于呈共显性遗传、分布广、稳定性和重复性好等特点, 成为目前广泛使用的分子标记技术之一^[21-22]。

毛花猕猴桃 (*A. eriantha* Benth.) 是中国特有的野生种质, 江西是其主要分布区之一^[7]。毛花猕猴桃果实维生素 C 含量为中华猕猴桃的 3~4 倍, 备受研究者关注^[23], 其雄株花朵为双歧聚伞花序, 花色艳丽, 枝蔓可任意造型, 可作为授粉树, 也可用于观赏栽培, 在休闲观光农业方面具有潜在的应用价值。笔者通过对收集于江西省境内各地区的 68 份野生毛花猕猴桃雄性种质进行花器表型性状、SSR 遗传多样性分析, 以期了解江西地区毛花猕猴桃遗传多样性的特征, 为合理开发、保护和利用我国毛花猕猴桃雄性资源提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

2016年4—5月, 于猕猴桃初花到盛花期对野生毛花猕猴桃雄株进行资源调研, 从江西省境内 7 个不同的地区随机采集共 68 份野生毛花猕猴桃雄株花器 (表 1), 用冰盒保存并运回实验室。每份毛花猕猴桃雄性花器样品中随机选取 10 朵大蕾期的花,

表 1 野生雄性毛花猕猴桃群体采样信息

Table 1 Geographical localities of wild male *A. eriantha* Benth.

采样地点 Sampling region	样品数 Number	产地 Locality	地理位置 Geographical location	海拔 Altitude/m	生境 Habitat
睦安 Muan	14	江西省抚州市南城縣株良鎮 Zhuliang township, Nancheng county, Fuzhou city, Jiangxi province	E116°31'35" N27°25'36"	300~400	路旁山坡 Hillside next to road
麻姑山 Magu mountain	23	江西省抚州市南城縣麻姑山 Magu mountain, Fuzhou city, Jiangxi province	E116°32'54" N27°31'46"	600~1 000	路旁山坡 Hillside next to road
庐山 Lushan mountain	11	江西省庐山 Lushan mountain, Jiangxi province	E115°58'10" N29°32'42"	500~700	林中山坡 Hillside under forests
浔溪 Xunxi	4	江西省抚州市南城縣浔溪鄉 Xunxi township, Nancheng county, Fuzhou city, Jiangxi province	N27°36'30.92" E116°47'16.95"	120~150	路旁山坡 Hillside next to road
井冈山 Jinggang mountain	10	江西省井冈山 Jinggang mountain, Jiangxi province	E114°10'39.73" N26°35'31.75"	800~900	林中山坡 Hillside under forests
宜黄 Yihuang	4	江西省抚州市宜黄县 Yihuang county, Fuzhou city, Jiangxi province	E116°23'52.37" N27°35'21.32"	400~500	路旁山坡 Hillside next to road
怀玉山 Huaiyu mountain	1	江西省上饶市怀玉山 Huaiyu mountain, Shangrao city, Jiangxi province	E118°11'52" N28°47'43"	500~600	路旁山坡 Hillside next to road

将雄蕊剥出, 计算雄蕊数后, 测定花粉量及花粉活力。

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取 选取野生猕猴桃雄株幼嫩叶片,

放入自封袋中, 用有色硅胶迅速脱水干燥, 于常温下保存备用。采用 CTAB 法提取野生猕猴桃雄株叶片 DNA, 利用 1% (ω) 琼脂糖凝胶电泳进行 DNA 的质量检测。DNA 样品保存在 -20 °C 冰箱中备用。

1.2.2 PCR 扩增 从50对SSR引物中筛选出15对多态性较好的SSR引物进行扩增。扩增体系为10 μ L, 包含2 \times Taq PCR Mix(天根)5 μ L、上下游引物各0.8 μ L、模板DNA 1 μ L、ddH₂O 2.4 μ L。

PCR 扩增程序:94 $^{\circ}$ C 预变性3 min, 94 $^{\circ}$ C 变性30 s, 52~62 $^{\circ}$ C 退火30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸30 s, 共28~34个循环, 最后72 $^{\circ}$ C 延伸10 min 于12 $^{\circ}$ C 保存。PCR 扩增产物采用8%(ω)非变性PAGE电泳, 快速银染法检测, 拍照记录。

1.2.3 表型性状观测与记录 每个毛花猕猴桃单株至少选择15朵以上当天完全开放的花, 按照农业行业标准《植物新品种特异性、一致性和稳定性测试指南 猕猴桃属》^[24]对花器形态学性状进行观测和描述。共选取描述性表型性状5个: 花瓣内侧颜色(包括主色、次色及次色分布)、花丝颜色、花序上有效花数; 表型数量性状5个: 花冠直径、花梗长度、单花雄蕊数、单花花粉量^[25]、花粉活力^[25]。在Excel中进行表型性状统计及赋值。萼片性状、花药着生情况、花瓣数等无差异的性状不纳入表中。所有结果用NTSYS-pc2.1进行标准化处理, 并转换成数据矩阵后按非加权配对平均法(UPGMA)进行聚类分析。

1.2.4 SSR 标记数据处理 将每条聚丙烯酰胺凝胶电泳得到的扩增条带视为1个等位位点, 将具有相同迁移位点的条带记为1, 无条带记为0。在Excel表格中赋值统计, 分析样品包含的等位位点数、多态

性位点数、Shannon's 信息指数及多态性信息含量(PIC)参数值, 无多态性的条带不予统计。使用NTSYS-pc2.1软件计算, 按照UPGMA对野生毛花猕猴桃雄花性状进行聚类分析, 并对表型性状和SSR标记矩阵进行Mantel相关性检测^[7], 判断猕猴桃的表型与基因关联性。

2 结果与分析

2.1 野生毛花猕猴桃雄株花器表型性状分析

毛花猕猴桃雄花的描述性表型性状如图1、表2所示, 江西地区的种质变异较大, 多样性较丰富, 由各性状不同类型所占比例可以看出, 毛花猕猴桃雄花主要的表型性状特征如下: 花瓣内侧主色为深粉红(66.20%), 花瓣内侧次色浅粉红(72.10%), 次色主要在边缘分布(83.80%), 单花序上花数为6~10朵(60.30%)(说明经济性状差异明显, 优株选育的潜力较大)。变异系数均值为25.13%, 其中花瓣内侧主色的变异系数最大(29.86%), 单花序上花数目的变异系数最小(18.94%)。花瓣内侧次色及次色分布、花丝颜色的变异系数介于24.89%~25.66%之间, 均存在较大变异。

毛花猕猴桃雄性资源花器的花冠直径、花梗长度、单花雄蕊数、花粉量、花粉活力等数量性状如表3所示, 数量性状的变异系数均值为33.25%, 花粉量的变异系数最大(53.41%), 变异幅度为800~17 333粒 \cdot 花药⁻¹; 其次是单花雄蕊数(39.73%), 变异幅度为



图1 不同表型的野生毛花猕猴桃雄花

Fig. 1 Different phenotypic traits of the wild male *A. chinensis*

表2 毛花猕猴桃雄花花器描述性表型性状分析

Table 2 Descriptive phenotypic traits and recorded standard of male *A. eriantha*

编号 No.	性状 Phenotypic traits	性状数量化代码 Determination standards				均值 Mean	标准差 σ	极小值 Min.	极大值 Max.	极差 Range	变异系数 CV/%
		1	2	3	4						
1	花瓣内侧主色 The main color of the interior of the petal	浅粉红 Light pink (19.10%)	粉红 Pink (66.20%)	红 Red (14.70%)		1.96	0.58	1	3	2	29.86
2	花瓣内侧次色 The other color inside of the petal	白 White (8.80%)	粉白 Pinky white (1.50%)	浅粉红 Light pink (72.10%)	深粉红 Deep pink (17.60%)	2.98	0.74	1	4	3	24.89
3	花瓣内侧次色分布 The distribution of the other color inside	边缘 Margin (83.80%)	斑点 Spot (5.90%)	基部 Petal base (8.80%)	羽毛 Feather (1.50%)	3.60	0.95	1	4	3	26.31
4	单花序上花数 Number of flowers per inflorescence	2~5朵 2~5 flowers (39.70%)	6~10朵 6~10 flowers (60.30%)			2.60	0.49	2	3	1	18.94
5	花丝颜色 The color of filament	白 White (14.70%)	浅粉 Light pink (75.00%)	深粉红 Deep pink (10.30%)		1.96	0.50	1	3	2	25.66

注: 括号内数据表示在总样品中所占比例。

Note: The data in bracket means the proportion of each type of descriptive phenotypic trait.

表3 毛花猕猴桃雄花数量性状的多样性

Table 3 Diversity of male *A. eriantha* resource in quantitative traits

数量性状 Quantitative traits	均值 Mean	标准差 σ	极小值 Min.	极大值 Max.	极差 Range	变异系数 CV/%
花冠直径 Corolla diameter/mm	31.94	4.94	23.86	46.23	22.38	15.47
花梗长度 Length of flower stems/mm	9.99	2.67	5.50	18.67	13.17	26.72
单花雄蕊数/枚 Stamen number	152.88	60.75	85.33	424.67	339.34	39.74
花粉量/(粒·花药 ⁻¹) Pollen quantity	6 986.57	3 731.21	800.00	17 333.33	9 333.33	53.41
花粉活力 Pollen viability/%	63.50	19.63	22.10	94.74	72.64	30.92

85.33~424.67 枚·朵⁻¹; 花冠直径最小(15.47%), 变异幅度为23.855~46.23 mm。

将毛花猕猴桃雄株花器表型性状进行UPGMA聚类分析(图2), 在遗传相似系数为2.26处可将68份野生毛花猕猴桃资源分为A、B两个类群。A群在遗传相似系数1.49处可分为A-1、A-2两个亚组。麻姑山(22)、睦安(11)、井冈山(7)、宜黄(4)、浔溪(1)和庐山(5)样品共50个单株都聚在A-1组, 花冠大小居中, 花粉活力较高, 花梗较短, 花瓣颜色较深; 构成A-2组的单株主要来自庐山(4)、浔溪(3)、井冈山(3)、睦安(4)、麻姑山(1)和玉山(1)的16个单株, 花冠较小, 花梗较长, 单花雄蕊数居中。B群仅有2份样品(61和65号), 均来自庐山, 由于花冠大, 单花雄蕊数多, 花粉量大而聚为一类。

2.2 SSR标记分析

用筛选的15对多态性高的SSR引物分析68份野生毛花猕猴桃雄性种质资源(表4)。15对SSR引物扩增出87个等位位点, 平均每对引物检测到等位位点5.67个。引物扩增出的条带数为3~13。有效

等位基因数为1.04~8.06, 均值为3.00。其中, 引物UDK99-143多态性位点最多(13); 4号、11号、22号、53号和61号引物仅检测到3个等位位点变异。PIC值的变化范围为11.51%~81.01%, 平均值为46.48%。Shannon's信息指数为0.12~2.25, 均值为1.04, 表明68份毛花猕猴桃雄性材料遗传多样性丰富。

2.3 遗传相似系数及聚类分析

利用SSR分析获得0、1矩阵和遗传相似系数(coefficient of genetic similarity), 采用UPGMA法构建68份毛花猕猴桃雄株聚类分析图(图3)。GS值在0.75处将所有材料分为3组。I组包括55份雄性种质, 分别来自宜黄(4)、浔溪(4)、睦安(15)、井冈山(5)、麻姑山(22)、玉山(1)和庐山(3), 雄花花梗较长、雄蕊数较多, 花色粉红。II组包括9份雄性种质, 分别来自井冈山(5)和庐山(4), 其花粉量较大, 花瓣颜色艳丽, 可能从中选育出观赏授粉兼用型的雄株。III组中4份雄性种质均来自庐山, 其花冠较大, 花梗较短, 花粉量大, 花色为深粉红。

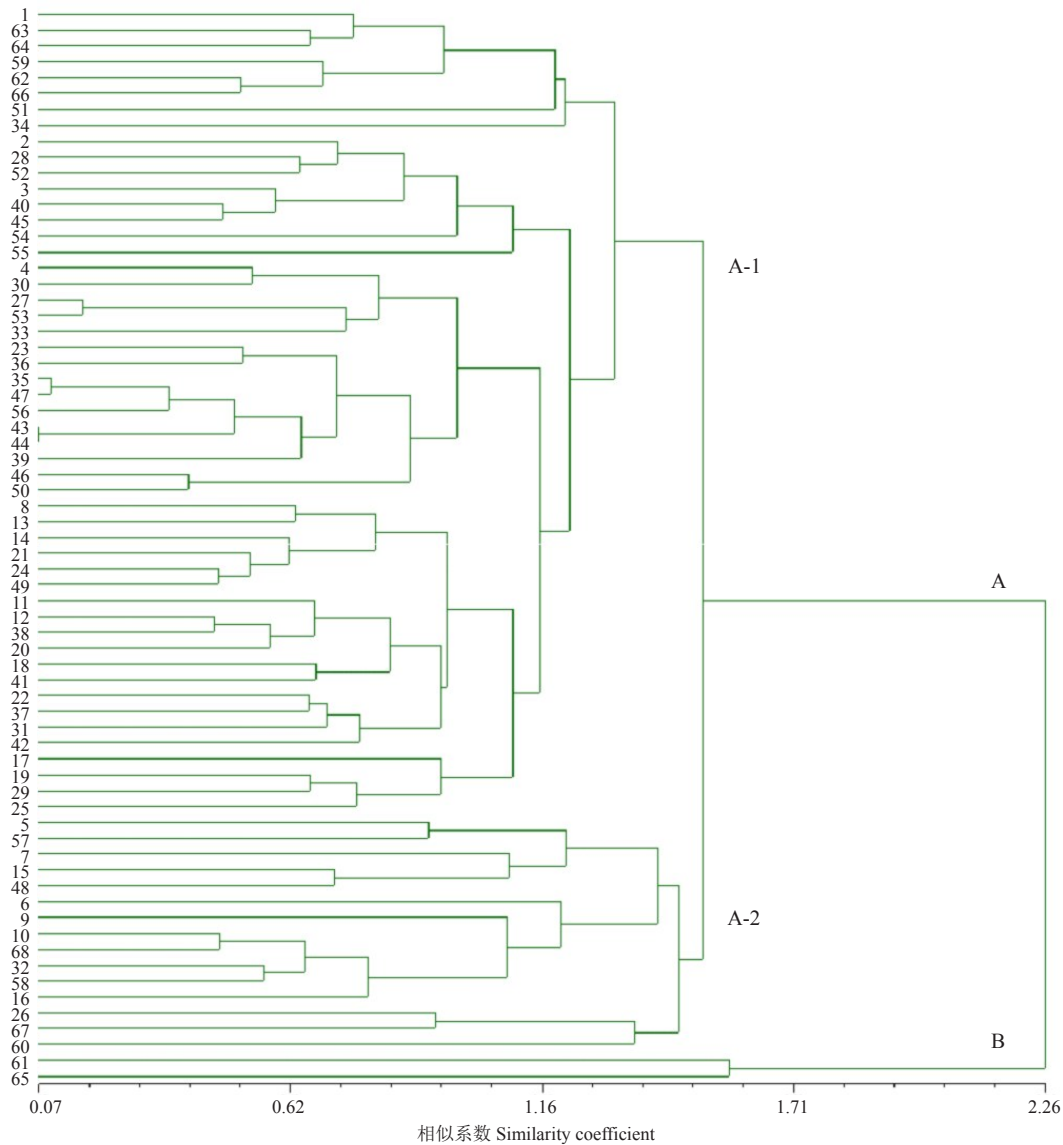


图2 野生毛花猕猴桃雄花表型性状 UPGMA 聚类分析

Fig. 2 UPGMA analysis of 68 wild male *A. eriantha* accessions based on phenotypic traits

表4 SSR 多态性引物特征

Table 4 The characteristics for SSR polymorphism primer

引物 Primer	产物片段长度 Size range/bp	等位基因数 Number of alleles	有效等位基因数 Effective number of alleles	Shannon's 信息指数 Shannon's information index	多态性信息含量 Polymorphism infor- mation content/%	引物来源 Reference
1	150~200	9	6.13	1.94	81.01	[26]
4	100~150	3	1.99	0.77	37.26	[26]
5	150~200	4	1.12	0.27	26.11	[26]
11	150~200	3	2.47	0.98	45.62	[26]
13	200~250	4	1.61	0.71	57.42	[26]
14	150~200	5	1.49	0.69	15.11	[26]
15	150~200	5	1.58	0.73	40.45	[26]
22	200~250	3	2.06	0.84	54.66	[26]
27	100~150	4	1.65	0.69	56.02	笔者实验室 The author's laboratory
50	150~200	5	2.66	1.16	63.22	笔者实验室 The author's laboratory
53	250~300	3	1.92	0.70	29.45	笔者实验室 The author's laboratory
61	200~250	3	1.04	0.12	11.51	笔者实验室 The author's laboratory
UDK97-408	100~150	10	3.18	1.62	87.84	[7]
UDK99-143	100~150	13	8.06	2.25	79.92	[7]
UDK96-035	100~200	12	8.06	2.23	11.63	[7]

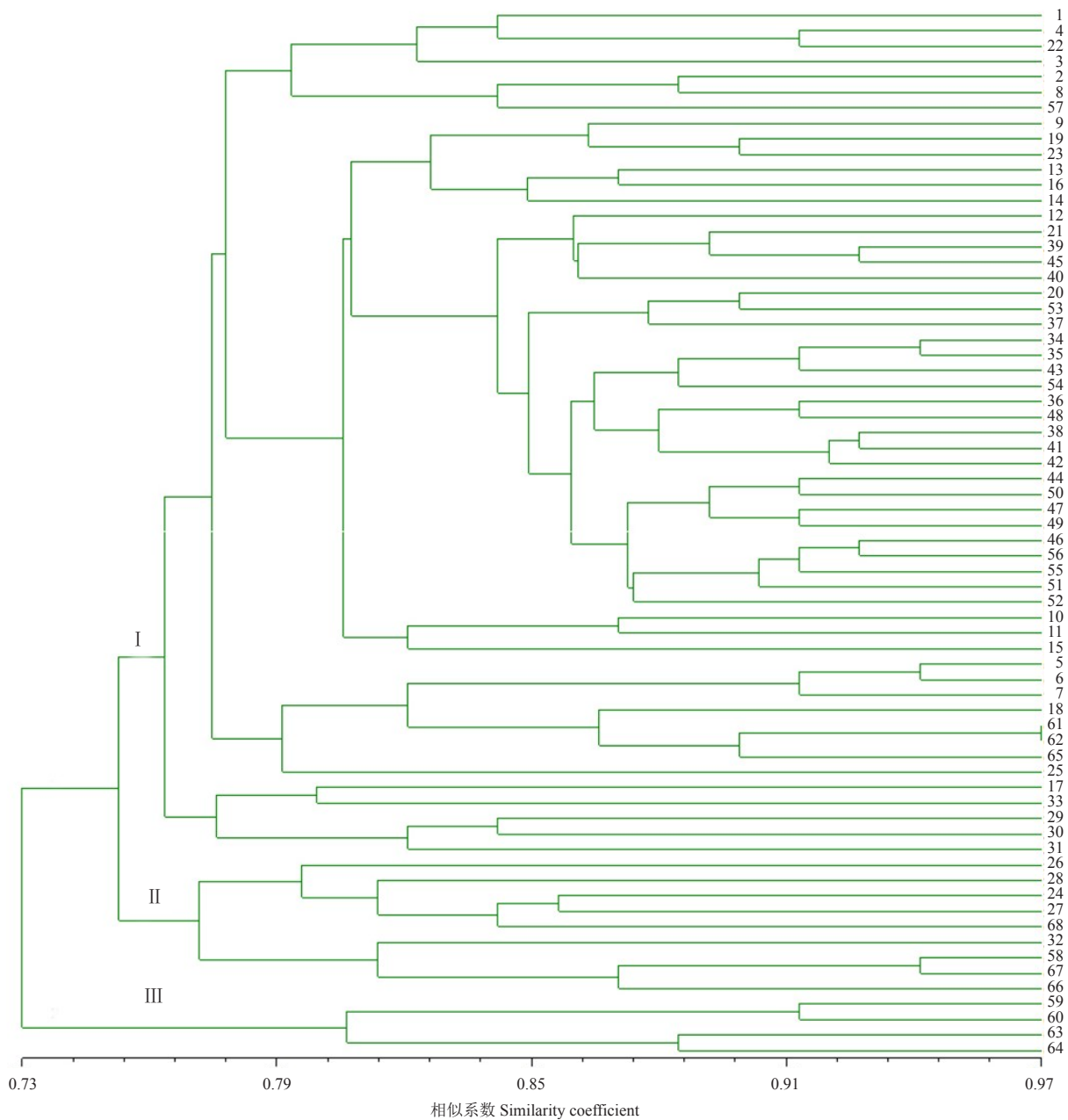


图3 野生毛花猕猴桃雄株 SSR 标记聚类分析

Fig. 3 Cluster analysis of wild male *A. eriantha* materials based on SSR markers

2.4 野生毛花猕猴桃雄花花器表型性状与 SSR 标记相关性分析

使用 NTSYS-pc2.1 软件对供试的 68 份野生毛花猕猴桃雄花材料表型性状和 SSR 标记结果进行 Mantel 相关性分析, 结果表明二者相关性达到显著水平 ($r = -0.79, p < 0.05$), 表型性状与 SSR 标记所得结果具有一定程度的重合。表型性状与 SSR 分子标记聚类分析表明, 两者聚类后, 除材料 61、63、64 和 65 不同外, 其他均聚为一类, 其亲缘关系的远近和果实性状变异的程度部分吻合。

3 讨 论

3.1 野生毛花猕猴桃雄花花器表型性状特点

近年来, 野生植物的遗传多样性研究日益成为国内外学者关注的热点^[27-28]。通过对野生毛花猕猴桃表型性状的研究, 有望得到有实际意义的育种群体, 并为遗传育种提供必要的基础。在猕猴桃人工栽培上, 雄性种质在授粉受精、果实性状上发挥着重要作用^[29-30]。在育种过程中, 猕猴桃雄花花器的表型性状, 特别是花粉量、花瓣颜色和花粉活力, 是很重

要的评价指标。通过对68份野生毛花猕猴桃雄花表型性状进行研究分析,发现野生状态下的毛花猕猴桃雄花的表型性状有丰富的遗传多样性,如在花冠直径、单花药花粉量、雄蕊数、花瓣和花丝颜色和花粉活力等性状上都表现出了多样性和差异性。表型性状的遗传多样性为选育毛花猕猴桃雄株品种奠定了基础。因此,发现具有优良性状的单株,培育与主栽品种相配套、适应性强、花粉量大、花粉活力高或观赏性强的毛花猕猴桃雄性品种,可作为今后研究工作的重点方向之一。

3.2 野生毛花猕猴桃SSR遗传多样性分析

目前,SSR分子标记广泛应用于个体遗传亲缘关系分析、基因连锁标记、群体遗传学等研究中^[22]。笔者采用15对SSR引物对68份野生毛花猕猴桃雄性种质资源进行扩增,得到的条带多态性较高。68份种质资源材料的PIC变化范围为11.51%~87.84%,Shannon's信息指数为0.12~2.25,均值为1.04,表明野生毛花猕猴桃雄性资源具有较丰富的遗传多样性,与汤佳乐等^[7]对毛花猕猴桃的研究结果一致。刘娟等^[31]利用ISSR分子标记对16个不同猕猴桃雄性种质进行研究,其Shannon's信息指数平均值为0.4048,说明分析材料和分子标记不同,得到的遗传多样性结果存在差异。除了本身的群体结构差异之外,随机选取的特异性引物可能是造成江西境内毛花猕猴桃雄性种质遗传多样性指标变化范围不同的原因^[32]。野生毛花猕猴桃SSR标记聚类结果有按地理位置进行聚类的趋势,在野生状态下毛花猕猴桃与中华猕猴桃以及京梨猕猴桃混杂生长,长时间的自然杂交造成不同地理来源的种质间存在一定的遗传分化,这与岁立云等^[5]的研究结果一致。

3.3 野生毛花猕猴桃花器特征与SSR标记相关性分析

野生毛花猕猴桃资源是猕猴桃新品种、新特性的资源库,表型性状受到基因型和环境的双重影响,如将表型性状与SSR分析结合,能更准确地反映出野生毛花猕猴桃雄性种质资源的遗传变异关系。野生毛花猕猴桃表现出遗传多样性,但在表型性状聚类分析中并未和SSR标记的聚类结果完全一致,仅有部分吻合。相关性分析中表型性状与分子标记结果具显著相关性($r = -0.79, p < 0.05$),说明环境因素在表型性状上起到一定作用,SSR分子标记同时可以反映不同毛花猕猴桃雄性种质表型性状的变异情

况。

4 结 论

通过对表型性状变异和SSR分子遗传多样性进行分析,68份野生毛花猕猴桃雄性种质表现出较丰富的遗传多样性。其中花粉量、单花雄蕊数、花粉活力、花瓣颜色、花丝颜色、花梗长度是造成表型性状差异的主要因素。SSR分子标记分析与毛花猕猴桃花器表型聚类结果具有显著相关性,毛花猕猴桃雄花的多种表型性状是环境和基因共同作用的结果。野生毛花猕猴桃雄性种质资源的遗传多样性可为猕猴桃育种提供广阔的空间。

参考文献 References:

- [1] 李旭,曹万万,姜丹,孙贺,朴一龙.长白山野生软枣猕猴桃资源分布与果实和叶片性状多样性[J].北方园艺,2015(15): 22-27.
LI Xu, CAO Wanwan, JIANG Dan, SUN He, PIAO Yilong. Resource distribution and character diversity of fruit and leaf of wild *Actinidia arguta* from changbai mountain area[J]. Northern Horticulture, 2015(15): 22-27.
- [2] 黄宏文,龚俊杰,王圣梅,何子灿,张忠慧,李建强.猕猴桃属(*Actinidia*)植物的遗传多样性[J].生物多样性,2000,8(1): 1-12.
HUANG Hongwen, GONG Junjie, WANG Shengmei, HE Zican, ZHANG Zhonghui, LI Jianqiang. Genetic diversity in the genus *Actinidia*[J]. Chinese Biodiversity, 2000, 8(1): 1-12.
- [3] 陈万秋,李思光,罗玉萍.分子标记技术在猕猴桃属植物中的研究进展[J].江西科学,2001,19(3): 162-165.
CHEN Wanqiu, LI Siguang, LUO Yuping. Application of molecular markers on *Actinidia*[J]. Jiangxi Science, 2001, 19(3): 162-165.
- [4] 魏艳霞,王飞,吕俊辉,姚春潮,刘利花,胡英建.秦岭山区野生猕猴桃资源遗传多样性分析[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2009,37(7): 129-134.
WEI Yanxia, WANG Fei, LÜ Junhui, YAO Chunchao, LIU Lihua, HU Yingjian. Genetic diversity analysis of wild kiwifruit from Qinling Mountain[J]. Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition), 2009, 37(7): 129-134.
- [5] 岁立云,刘义飞,黄宏文.红肉猕猴桃种质资源果实性状及AFLP遗传多样性分析[J].园艺学报,2013,40(5): 859-868.
SUI Liyun, LIU Yifei, HUANG Hongwen. Genetic diversity of red-fleshed kiwifruit germplasm based on fruit traits and AFLP markers[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2013, 40(5): 859-868.
- [6] 张安世,韩臣鹏,齐秀娟,张中海.基于ISSR标记的猕猴桃品种遗传多样性分析及指纹图谱构建[J].植物资源与环境学报,2017,26(3): 19-26.

- ZHANG Anshi, HAN Chenpeng, QI Xiujuan, ZHANG Zhonghai. Genetic diversity analysis and fingerprinting construction of cultivars of *Actinidia* spp. based on ISSR marker[J]. Journal of Plant Resources and Environment, 2017, 26(3): 19-26.
- [7] 汤佳乐, 黄春辉, 吴寒, 郎彬彬, 曲雪艳, 徐小彪. 野生毛花猕猴桃果实表型性状及 SSR 遗传多样性分析[J]. 园艺学报, 2014, 41(6): 1198-1206.
- TANG Jiale, HUANG Chunhui, WU Han, LANG Binbin, QU Xueyan, XU Xiaobiao. Genetic diversity of wild *Actinidia eriantha* germplasm based on fruit traits and SSR markers [J]. Acta Horticulturae Sinica, 2014, 41(6): 1198-1206.
- [8] 杨妙贤, 潘伟明, 周玲艳, 刘文, 叶婵娟, 刘胜洪, 万小荣, 梁红. 3 个野生毛花猕猴桃居群的 SSR 多样性分析[J]. 华南师范大学学报(自然科学版), 2014, 46(4): 87-92.
- YANG Miaoxian, PAN Weiming, ZHOU Lingyan, LIU Wen, YE Chanjuan, LIU Shenghong, WAN Xiaorong, LIANG Hong. SSR analysis and genetic diversity in three populations of wild *Actinidia eriantha* from Heping county, Guangdong province [J]. Journal of South China Normal University (Natural Science Edition), 2014, 46(4): 87-92.
- [9] 李树发, 蔡艳飞, 张秀新, 薛璟祺, 熊灿坤, 瞿素萍. 滇牡丹天然群体的表型多样性[J]. 西南农业学报, 2016, 29(10): 2470-2478.
- LI Shufa, CAI Yanfei, ZHANG Xiuxin, XUE Jingqi, XIONG Cankun, QU Suping. Phenotypic diversity of natural populations of *Paeonia delavayi* [J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2016, 29(10): 2470-2478.
- [10] 陈玲, 张颢, 邱显钦, 蹇洪英, 李树发, 王其刚, 唐开学. 云南木香花天然居群的表型多样性研究[J]. 云南大学学报(自然科学版), 2010, 32(2): 243-248.
- CHEN Ling, ZHANG Hao, QIU Xianqin, JIAN Hongying, LI Shufa, WANG Qigang, TANG Kaixue. A study on phenotypic diversities in the natural population of *Rosa banksiae* Ait. in Yunnan[J]. Journal of Yunnan University (Natural Science Edition), 2010, 32(2): 243-248.
- [11] 周妍慧, 贾瑞冬, 杨树华, 赵鑫, 葛红, 罗文美, 赵新梅, 桑益恒. 杏黄兜兰居群表型多样性分析[J]. 园艺学报, 2016, 43(7): 1337-1347.
- ZHOU Yanhui, JIA Ruidong, YANG Shuhua, ZHAO Xin, GE Hong, LUO Wenmei, ZHAO Xinmei, SANG Yiheng. Phenotypic diversity of *Paphiopedilum armeniacum* populations[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2016, 43(7): 1337-1347.
- [12] 秦红艳, 许培磊, 艾军, 刘迎雪, 范书田, 杨义明, 王振兴, 张宝香, 赵滢. 软枣猕猴桃种质资源果实品质、表型性状多样性及主成分分析[J]. 中国农学通报, 2015, 31(1): 160-165.
- QIN Hongyan, XU Peilei, AI Jun, LIU Yingxue, FAN Shutian, YANG Yiming, WANG Zhenxing, ZHANG Baoxiang, ZHAO Ying. Diversity of Fruit quality and phenotypic traits of *Actinidia arguta* Planch germplasm resources and their principal component analysis [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2015, 31(1): 160-165.
- [13] 郎彬彬, 朱博, 谢敏, 张文标, Umot Ahmet Seyrek, 黄春辉, 徐小彪. 野生毛花猕猴桃种质资源主要数量性状变异分析及评价指标探讨[J]. 果树学报, 2016, 33(1): 8-15.
- LANG Binbin, ZHU Bo, XIE Min, ZHANG Wenbiao, SEYREK U A, HUANG Chunhui, XU Xiaobiao. Variation and probability grading of the main quantitative characteristics of wild *Actinidia eriantha* germplasm resources[J]. Journal of Fruit Science, 2016, 33(1): 8-15.
- [14] LI D, ZHONG C, LIU Y, HUANG H. Correlation between ploidy level and fruit characters of the main kiwifruit cultivars in China: implication for selection and improvement[J]. New Zealand Journal of Crop & Horticultural Science, 2010, 38(2): 137-145.
- [15] 王荣, 何智冲, 方学敏, 陈丹荔, 王琦, 孟家松, 赵大球. 扬州芍药栽培品种表型多样性分析[J]. 植物科学学报, 2016, 34(6): 901-908.
- WANG Rong, HE Zhichong, FANG Xuemin, CHEN Danli, WANG Qi, MENG Jiasong, ZHAO Daqiu. Analysis of phenotypic diversity of *Paeonia lactiflora* cultivars in Yangzhou [J]. Plant Science Journal, 2016, 34(6): 901-908.
- [16] 胡瑞, 包满珠, 吴晓庆, 谭华山, 傅小鹏. 香石竹表型多样性分析及利用[J]. 华中农业大学学报, 2015, 34(2): 16-23.
- HU Rui, BAO Manzhu, WU Xiaoqing, TAN Huashan, FU Xiaopeng. Analysis and utilization of the phenotypic diversity of carnation[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2015, 34(2): 16-23.
- [17] 张莹, 曹玉芬, 霍宏亮, 田路明, 董星光, 齐丹, 张小双. 基于花表型性状的梨种质资源多样性研究[J]. 园艺学报, 2016, 43(7): 1245-1256.
- ZHANG Ying, CAO Yufen, HUO Hongliang, TIAN Luming, DONG Xingguang, QI Dan, ZHANG Xiaoshuang. Research on diversity of pear germplasm resources based on flowers phenotype traits[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2016, 43(7): 1245-1256.
- [18] GANOPOULOS I V, KAZANTZIS K, CHATZICHARISIS I, KARAYIANNIS I, TSAFTARIS A S. Genetic diversity, structure and fruit trait associations in Greek sweet cherry cultivars using microsatellite based (SSR/ISSR) and morpho-physiological markers[J]. Euphytica, 2011, 181(2): 237-251.
- [19] 苏应雄, 张雪, 王文礼, 赵云勇, 王跃华, 申仕康. 红棕杜鹃不同海拔种群的表型多样性研究[J]. 西北植物学报, 2017, 37(2): 356-362.
- SU Yingxiong, ZHANG Xue, WANG Wenli, ZHAO Yunyong, WANG Yuehua, SHEN Shikang. Phenotypic diversity of *Rhododendron rubiginosum* populations at different altitudes[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2017, 37(2): 356-362.
- [20] 冯慧敏, 陈友, 李博, 邓长娟, 武耀廷. 中国芭蕉属野生种表型性状和 SSR 多样性分析[J]. 热带作物学报, 2011, 32(4): 708-714.

- FENG Huimin, CHEN You, LI Bo, DENG Changjuan, WU Yao-ting. The diversity study of wild *Musa* species in China by phenotypic characteristics and SSR molecular markers[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2011, 32(4): 708-714.
- [21] POWELL W, MORGANTE M, ANDRE C, HANAFEY M, VOGELI J, TINGEY S, RAFALSKI A. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis[J]. Molecular Breeding, 1996, 2(3): 225-238.
- [22] KALIA R K, RAI M K, KALIA S, SINGH R, DHAWAN A K. Microsatellite markers: an overview of the recent progress in plants[J]. Euphytica, 2011, 177(3): 309-334.
- [23] 钟彩虹, 张鹏, 姜正旺, 王圣梅, 韩飞, 徐丽云, 黄宏文. 中华猕猴桃和毛花猕猴桃果实碳水化合物及维生素 C 的动态变化研究[J]. 植物科学学报, 2011, 29(3): 370-376.
- ZHONG Caihong, ZHANG Peng, JIANG Zhengwang, WANG Shengmei, HAN Fei, XU Liyun, HUANG Hongwen. Dynamic changes of carbohydrate and vitamin C in fruits of *Actinidia chinensis* and *A. eriantha* during growing season[J]. Plant Science Journal, 2011, 29(3): 370-376.
- [24] 中华人民共和国农业部. 植物新品种特异性、一致性和稳定性测试指南 猕猴桃属: NY/T 2351—2013[S]. 北京: 中国标准出版社, 2013.
- Chinese Ministry of Agriculture. Guidelines for the conduct of tests for distinctness, uniformity and stability—*Actinidia*: NY/T 2351—2013[S]. Beijing: China Standards Press, 2013.
- [25] 王斯好, 钟敏, 廖光联, 陈璐, 徐小彪. 不同猕猴桃雄株花粉量及花粉活力差异研究[J]. 江西农业大学学报, 2017, 39(3): 460-467.
- WANG Siyu, ZHONG Min, LIAO Guanglian, CHEN Lu, XU Xiaobiao. Comparison of pollen quantity and pollen viability of 41 male plants in *Actinidia*[J]. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis, 2017, 39(3): 460-467.
- [26] 孟蒙, 唐维, 刘嘉, 黄胜雄, 余进德, 刘方方, 林琳, 张霞, 刘永胜. 基于中华猕猴桃‘红阳’转录组序列开发 EST-SSR 分子标记[J]. 应用与环境生物学报, 2014, 20(4): 564-570.
- MENG Meng, TANG Wei, LIU Jia, HUANG Shengxiong, YU Jinde, LIU Fangfang, LIN Lin, ZHANG Xia, LIU Yongsheng. Development of EST-SSR markers in *Actinidia chinensis* ‘Hongyang’ based on transcriptomic sequences[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2014, 20(4): 564-570.
- [27] 刘春晴, 李光庆, 姚雪琴, 蔡杰, 谢祝捷. 基于 SSR 标记的花菜类种质亲缘关系和群体遗传结构分析[J]. 分子植物育种, 2017, <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20171010.0930.002.html>.
- LIU Chunqing, LI Guangqing, YAO Xueqin, CAI Jie, XIE Zhujie. Analysis of genetic diversity and population structure of *Brassica oleracer* based on SSR markers[J]. Molecular Plant Breeding, 2017, <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20171010.0930.002.html>.
- [28] 尹明宇, 高福玲, 乌云塔娜. 内蒙古西伯利亚杏种质资源表型多样性研究[J]. 植物遗传资源学报, 2017, 18(2): 242-252.
- YIN Mingyu, GAO Fuling, WUYUN Tana. High-level genetic diversity of Siberian apricot (*Armeniaca sibirica*) in inner Mongolia revealed by phenotyping[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2017, 18(2): 242-252.
- [29] 肖艺, 何凯霞, 刘世彪, 田杨俊. 花粉直感对湘吉无籽猕猴桃坐果和果实品质的影响[J]. 湖南农业科学, 2013(19): 100-102.
- XIAO Yi, HE Kaixia, LIU Shibiao, TIAN Yangjun. Effects of xenia on fruit setting and fruit qualities of Xiangji seedless kiwifruit[J]. Hunan Agricultural Sciences, 2013(19): 100-102.
- [30] 李亮, 雷玉山, 李永武, 刘运松, 王宝, 王西锐. ‘华优’猕猴桃花粉直感效应研究[J]. 陕西农业科学, 2015, 61(9): 34-36.
- LI Liang, LEI Yushan, LI Yongwu, LIU Yunsong, WANG Bao, WANG Xirui. Study on the pollen xenia of kiwifruit[J]. Shaanxi Journal of Agricultural Sciences, 2015, 61(9): 34-36.
- [31] 刘娟, 廖明安, 谢玥, 周良强, 李明章. 猕猴桃属 16 个雄性材料遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 植物遗传资源学报, 2015, 16(3): 618-623.
- LIU Juan, LIAO Ming'an, XIE Yue, ZHOU Liangqiang, LI Mingzhang. Genetic diversity of 16 male *Actinidia* cultivars based on ISSR[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2015, 16(3): 618-623.
- [32] 刘亚令, 李作洲, 姜正旺, 刘义飞, 黄宏文. 中华猕猴桃和美味猕猴桃自然居群遗传结构及其种间杂交渐渗[J]. 植物生态学报, 2008, 32(3): 704-718.
- LIU Yaling, LI Zuozhou, JIANG Zhengwang, LIU Yifei, HUANG Hongwen. Genetics structure and hybridization introgression in natural populations of two closely related *Actinidia* species, *A. chinensis* and *A. deliciosa*[J]. Journal of Plant Ecology, 2008, 32(3): 704-718.