

# 利用 SCoT 分子标记分析 85 个猕猴桃品种(系)及野生近缘种的遗传结构

王悦星<sup>1</sup>, 周婉莹<sup>2</sup>, 张文慧<sup>3</sup>, 吴婉婉<sup>4</sup>, 张晓娟<sup>2\*</sup>, 于月华<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>新疆农业大学农学院, 乌鲁木齐 830052; <sup>2</sup>陕西理工大学生物科学与工程学院, 陕西汉中 723000;

<sup>3</sup>安康市农业科学研究院, 陕西安康 725000; <sup>4</sup>陕西果业集团有限公司汉中猕猴桃研发中心, 陕西汉中 723000)

**摘要:**【目的】中国是猕猴桃属植物资源的原生地, 秦巴地区是中华猕猴桃原变种和美味猕猴桃变种复合体的主要分布地区, 对其主要种质资源群体结构进行分析, 为该地区猕猴桃资源的保护及开发利用提供理论支撑。【方法】利用筛选的 20 个多态性丰富的 SCoT 分子标记, 采用 Beiyes 算法、UPGMA 法和 PC 方法对秦巴地区 85 份主要猕猴桃种质资源进行群体遗传基础分析。【结果】20 个多态性 SCoT 标记共扩增产生 108 个等位位点, 92 个多态性位点。平均每个 SCoT 标记检测出 5.4 个位点和 4.6 个多态性位点, 每个 SCoT 位点的遗传多态性信息含量在 0.46~0.96, 平均值为 0.70。从 6 个猕猴桃材料中筛选到了特异 SCoT 引物。Beiyes 和 UPGMA 聚类结果不同, 三元主成分分析不能将 85 个材料明确分组。85 份猕猴桃品种(系)及野生近缘种的遗传相似系数为 0.54~0.94, 平均为 0.74。生产中栽培的 36 份猕猴桃品种(系)的遗传相似系数为 0.63~0.90, 平均为 0.74。46 份雌性资源的遗传相似系数为 0.57~0.90, 平均为 0.74。36 份雄性资源材料的遗传相似系数为 0.60~0.94, 平均为 0.77。20 份野生近缘种的遗传相似系数为 0.56~0.91, 平均为 0.73。【结论】Beiyes 算法分析的群体遗传结构比 UPGMA 和 PC 分析与实际更接近。秦巴地区中华猕猴桃复合体内遗传资源较丰富。野生近缘种间遗传差异较大, 雌性资源的遗传差异较雄性资源大。

关键词: 猕猴桃; SCoT 标记; 遗传多样性; 群体结构

中图分类号: S663.4

文献标志码: A

文章编号: 1009-9980(2021)07-1044-11

## Genetic structure analysis of 85 kiwifruit varieties (lines) and wild relatives by SCoT molecular markers

WANG Yuexing<sup>1</sup>, ZHOU Wanying<sup>2</sup>, ZHANG Wenhui<sup>3</sup>, WU Wanwan<sup>4</sup>, ZHANG Xiaojuan<sup>2\*</sup>, YU Yuehua<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>College of Agronomy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, Xinjiang, China; <sup>2</sup>School of Biological Science and Engineering, Shaanxi University of Technology, Hanzhong 723001, Shaanxi, China; <sup>3</sup>Ankang Municipality Agricultural Sciences Research Institute, Ankang 725000, Shaanxi, China; <sup>4</sup>Hanzhong Kiwifruit R & D Center of Shaanxi Fruit Industry Group Co., Ltd, Hanzhong 724200, Shaanxi, China)

**Abstract:** 【Objective】Kiwifruit, as a dioecy plant, is a kind of wild fruit tree, native to China. It was introduced into New Zealand in the early 20th century. Frankly speaking, kiwifruit has received attention in the worldwide now. It has been reported that more than 100 varieties were bred since the 1970s in China, most of which were made from seedling breeding of wild relatives, and few varieties were produced by sexual crossbreeding. The heterosis of interspecific or subspecies was not well utilized, which resulted in the serious homogeneity between varieties. In our previous research, we found that the polymorphism of start codon targeted polymorphism (SCoT) markers was higher than that of other second generation DNA molecular markers. Qinba region is the main distribution area of *Actinidia chinensis* var. *chinensis* and *A. chinensis* var. *deliciosa* that are the two most valuable varieties of *A. chinensis*, which has seriously restricted the exploration and utilization of excellent kiwifruit germplasm resources

收稿日期: 2020-12-31 接受日期: 2021-06-10

基金项目: 陕西省科技厅项目(2021NY-085)

作者简介: 王悦星, 在读硕士研究生, 研究方向为果树遗传育种。E-mail: 2541223346@qq.com

\*通信作者 Author for correspondence. E-mail: yuyuehua1213@sina.com; E-mail: zyxj12162001@163.com

due to lack of comprehensive research on kiwifruit in this region. The population structure analysis can provide the basis for protection and development of kiwifruit resources.【Methods】85 kiwifruit samples collected from Qinba region were analyzed using 20 SCoT markers to access genetic diversity and population structure.【Results】In this study, a total of 108 alleles were obtained, with an average of 5.4 loci per primer and that of 4.6 polymorphic loci, and the percentage of polymorphic bands (PPB) ranged from 66.67% to 100%, with an average of 83.77%. And the polymorphism information content (PIC) ranged from 0.46 to 0.96, with an average of 0.70. Among these, SCoT16, 25, 30, 32, 33, and SCoT 34 possessed the highest PPB in 20 SCoT markers. SCoT16 showed the highest PIC. Specific primers were found that may be used to identify six samples. The 85 kiwifruit samples could be divided into two sub-populations based on Beiyes algorithm, and the results from  $K = 2$  to  $K = 5$  revealed the occurrence of gene introgression among 85 samples, accounting for approximately 83.53% of the observed variations (calculated by  $K=2$ ). And the Beiyes results were inconsistent with the unweighted pair-group method with arithmetic means (UPGMA) algorithm clustering and principal component analyses (PCA). The lowest genetic similarity coefficient appeared between Qihong ♀ N and wild 22 ♂ A, while that of the highest was found between Qihong2 ♂ A and Qihong5 ♂ A by UPGMA clustering, in which the average number of genetic similarity coefficient of 85 samples were 0.74 ranging from 0.54 to 0.94, and the density distribution of genetic similarity coefficient of 85 samples was in 0.75~0.78, accounting for 31.83%. The 36 cultivars (lines) planted in production were 0.74 ranging from 0.63 to 0.90, the 46 female samples were 0.74 ranging from 0.57 to 0.90, the 36 male samples were 0.77 ranging from 0.60 to 0.94, and the 20 wild relatives were 0.73 ranging from 0.56 to 0.91. The first three principal components accounted for 13.24%, 7.68% and 0.65% of the population variation, respectively. The 85 samples were not grouped clearly, indicating that there was no significant difference in the principal components among 85 samples.【Conclusion】All three clustering methods have the trend of clustering firstly by subspecies rather than gender. The population genetic structure analyzed by Beiyes algorithm is closer to reality than UPGMA and PC analysis, which can be visualized of homogeneity or heterogeneous level of each sample. The phenomenon that different varieties may have the same name, or one variety may have two and even more names, exists. A higher level of genetic background was observed in 85 kiwifruit varieties (lines), in which the genetic differences among wild related species were larger, the six wild resources including Wild17 ♀ A, Wild22 ♂ A, Wild16 ♀ A, Wild18 ♀ A, Wild21 ♂ A and Wild19? can be used as parents for breeding new varieties or improving cultivated varieties. And the genetic differences among female resources are more abundant than those among male resources. The simple genetic basis occurs among commercial male plant fields as a source of pollen. Several varieties used in production have closer relationship, some germplasm resources of wild relatives are far from being developed and utilized, which are expected to be used as raw materials for breeding new varieties.

**Key words:** Kiwifruit; SCoT marker; Genetic diversity; Population structure

猕猴桃是原产于中国的一种野生果树<sup>[1]</sup>, 20世纪初被引入新西兰, 在新西兰率先被驯化开发成一种大规模种植果树。中国从20世纪70年代开始进行猕猴桃育种工作, 已培育出100余个优良猕猴桃品种(系)<sup>[2]</sup>。中华猕猴桃原变种(*Actinidia chinensis* var. *chinensis*)、美味猕猴桃变种(*Actinidia chinensis* var. *deliciosa*)、软枣猕猴桃(*Actinidia arguta*), 紫果

猕猴桃变种(*Actinidia arguta* var. *purpurea*)等在中国栽培面积较大, 主要分布在秦岭山脉以南和横断山脉以东地区, 对其主要种质资源的遗传多样性研究具有重要意义。早期资源研究的方法多依赖于育种人员的经验, 很多不易被传统的测量方法发现的性状易被忽视。利用分子标记方法对植物种质资源进行评价、开发及利用已成为种质资源工作的重要

方法之一。张慧等<sup>[3]</sup>应用扩增片段长度多态性(AFLP)技术对采自湖南、四川、贵州和海南的33份猕猴桃种质资源的遗传多样性和遗传差异进行分析并得出,33份种质资源之间的相似系数在0.51~0.95,遗传差异性显著。张安世等<sup>[4]</sup>利用11对SC-SSR(Start Codon-Simple Sequence Repeats)标记对32份猕猴桃种质材料进行了遗传多样性分析,利用6对引物扩增的13个多态性位点构建了32份猕猴桃种质的DNA指纹图谱,可对材料进行区分并准确鉴定。杨海健等<sup>[5]</sup>用SSR分子标记将79份中华猕猴桃资源完全区分开,79份野生猕猴桃材料的遗传相似系数变异范围为0.52~0.98,平均值为0.71。沈国正等<sup>[6]</sup>通过SSR标记对杭州地区种植的中华猕猴桃品种红阳、美味猕猴桃品种海沃德、徐香、金魁及11份本地野生猕猴桃试材进行遗传多样性及其亲缘关系分析和评价,遗传相似系数变异范围为0.58~0.91。王斯好等<sup>[7]</sup>用筛选的14对扩增条带清晰、具高多态性且重复性好的SSR引物,对33份不同来源猕猴桃属核心雄性种质材料进行指纹图谱构建及遗传多样性分析,得出仅用5对高多态性SSR引物即可将33份猕猴桃雄性种质材料全部区分开。迄今为止,作为二代分子标记代表的SSR标记在生物遗传资源分析中的应用很广,研究结果显示中国境内的猕猴桃种质资源遗传结构较丰富,为进一步开发和利用这些资源奠定了基础。课题组在前期的研究过程中发现,在茶叶的遗传多样性分析中,SCoT(Start Codon Targeted polymorphism)标记比其他二代DNA分子标记多态性比率高<sup>[8]</sup>。在油菜的遗传资源分析中,SCoT标记也显示出优于SSR和SRAP标记<sup>[9]</sup>。张安世等<sup>[10]</sup>利用筛选的11个SCoT标记对32个猕猴桃品种进行了遗传多样性分析,多态性比率达97.30%,在遗传相似系数为0.78处将32个猕猴桃品种分为5组,聚类结果与形态学分类基本一致。陈伯伦等<sup>[11]</sup>用42条SCoT标记分析了17份猕猴桃品种(系)的遗传多样性,其遗传距离在0.15~0.69,平均值为0.49。

秦巴地区处长江流域上游,气候湿润,雨量充沛,是中华猕猴桃原变种和美味猕猴桃变种复合体最适生长区之一,但目前对种植于秦巴地区猕猴桃种质资源的遗传基础研究还不深入,特别是从分子水平上的研究鲜见报道,目前尚未见利用SCoT标记对该地区猕猴桃种质资源的遗传基础研究。对现

有种质资源缺乏深度鉴定,严重制约了优异种质和基因资源的发掘和开发利用。笔者利用SCoT分子标记对秦巴地区85份猕猴桃品种(系)及野生近缘种的种质资源进行遗传基础分析,为秦巴地区猕猴桃资源保存和开发利用提供参考。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

85份材料由陕西省不同猕猴桃试验地采集(表1)。20对SCoT引物(表2)为笔者设计筛选,引物由北京奥科鼎盛生物科技有限公司合成。

### 1.2 方法

1.2.1 基因组DNA提取 由于猕猴桃叶片多酚含量较高,常规SDS提取效果不理想,因此采用植物基因组DNA提取试剂盒提取(天根生化科技有限公司生产),具体操作参照说明书。用0.8%的琼脂糖凝胶检测猕猴桃基因组DNA质量。

1.2.2 PCR体系 采用复性变温的方法进行PCR扩增。PCR反应体系为10 μL:2×Taq Master Mix 5 μL, 10 μmol·L<sup>-1</sup> SCoT单引物 2 μL, DNA模板 1 μL, ddH<sub>2</sub>O 2 μL。反应程序为:94.0℃预变性4 min, 94.0℃变性1 min, 50.0℃退火1 min, 72.0℃延伸1 min, 10个循环;94.0℃变性30 s, 35.0℃退火30 s, 72.0℃延伸1 min, 35个循环;最后72.0℃延伸10 min, 4.0℃保存。

1.2.3 凝胶电泳 采用8%聚丙烯酰胺凝胶电泳分离PCR产物,银染、显色直到出现清晰的条带为止。

1.2.4 条带统计 电泳图谱中每条扩增带代表引物的一个结合位点,将电泳图谱中清晰的条带赋值为“1”,无带时赋值为“0”,缺失时为“9”。根据Smith等<sup>[12]</sup>报道的方法计算PIC(polymorphism index content)值,多态性信息指数PIC的计算公式为: $1 - \sum_{j=1}^n P_{ij}^2$ ,其中PIC表示位点i的pic值, $P_{ij}$ 表示位点i的第j个等位位点出现的频率,位点i的带型为1-n, PIC值为0~1,0表示位点无多态性,1表示位点有许多等位位点。每个标记的多态性程度根据Botstein等<sup>[13]</sup>提出的衡量基因变异程度高低的多态性含量指标,当PIC>0.5时,该基因座为高度多态基因座,0.25<PIC<0.5时为中度多态基因座, PIC<0.25时为低度多态基因座。

1.2.5 遗传结构分析 用STRUCTURE v2.3.4软

表 1 供试材料信息  
Table 1 Information of samples

编号 样本 No. Samples	形态学观察 Morphologically observations	编号 样本 No. Samples	形态学观察 Morphologically observations	编号 样本 No. Samples	形态学观察 Morphologically observations
1 红阳 1Y Hongyang1Y	Ch.	30 金魁♂ A Jinkui♂ A	De.	59 脐红 2A Qihong2A	Ch.
2 红阳 2Y Hongyang2Y	Ch.	31 秦美♂ 3C Qinmei♂ 3C	De.	60 袖珍香 A XiuzhenxiangA	Ch.
3 徐香 1Y Xuxiang1Y	De.	32 野♂ N Wild♂ N	Ch.	61 脐红 4A Qihong4A	Ch.
4 金龙 2号 1Y JinlongNo.2 1Y	Ch.	33 秦美♂ 6C Qinmei♂ 6C	De.	62 脐红 1A Qihong1A	Ch.
5 红阳 N HongyangN	Ch.	34 秦美♂ 7C Qinmei♂ 7C	De.	63 脐红 3A Qihong3A	Ch.
6 红阳♂ Y Hongyang♂ Y	Ch.	35 秦美♂ 4C Qinmei♂ 4C	De.	64 翠香 A Cuixiang A	De.
7 金龙 2号 2Y JinlongNo.2 2Y	Ch.	36 野 22♂ A Wild22♂ A	De.	65 野 3♂ A Wild3♂ A	Ch.
8 金龙 2号 3Y JinlongNo.2 3Y	Ch.	37 秦美♂ 10C Qinmei♂ 10C	De.	66 秦美♂ 5C Qinmei♂ 5C	De.
9 翠香 Y CuixiangY	De.	38 秦美 1♂ C Qinmei1♂ C	De.	67 农大金猕♂ A Nongda Jinmi♂ A	Ch.
10 野 17♀ A Wild17♀ A	Ch.	39 雷♂ 2X Lei♂ 2X	De.	68 野 6♂ A Wild6♂ A	Ch.
11 野 14♀ A Wild14♀ A	De.	40 秦美♂ A Qinmei♂ A	De.	69 野 21♂ A Wild21♂ A	Ch.
12 农大郁香 N Nongda Yuxiang N	De.	41 野 26♂ A Wild26♂ A	De.	70 华优♂ A Huayou♂ A	Ch.
13 野 25♀ A Wild25♀ A	De.	42 野 16♀ A Wild16♀ A	Pr.	71 金桃♂ A Jintao♂ A	Ch.
14 徐香 2Y Xuxiang2Y	De.	43 野 15♀ A Wild15♀ A	De.	72 秦美♂ 2C Qinmei♂ 2C	De.
15 野 1♀ A Wild1♀ A	De.	44 软枣猕猴桃 X Actinidia arguta X	Ar.	73 袖珍香♂ A Xiuzhenxiang♂ A	Ch.
16 金五 X JinwuX	Ch.	45 野 18♀ A Wild18♀ A	Pr.	74 农大猕猴桃♂ A Nongda Mixiang♂ A	De.
17 野 23♀ A Wild23♀ A	De.	46 华优 A Huayou A	Ch.	75 脐红 1♂ A Qihong1♂ A	Ch.
18 野 24♀ A Wild24♀ A	De.	47 农大郁香 A Nongda Yuxiang A	De.	76 翠香♂ A Cuixiang♂ A	De.
19 黄心猕猴桃 1X Yellow flesh Kiwifruit1X	Ch.	48 黄心猕猴桃 3X Yellow flesh Kiwifruit 3X	Ch.	77 脐红 4♂ A Qihong4♂ A	Ch.
20 徐香 2X Xuxiang 2X	De.	49 黄金果 N Hort16AN	Ch.	78 脐红 5♂ A Qihong5♂ A	Ch.
21 臆红 N Tenghong N	Ch.	50 野 12♀ A Wild12♀ A	Ch.	79 脐红 2♂ A Qihong2♂ A	Ch.
22 金魁 A JinkuiA	De.	51 瑞玉 X RunyuX	De.	80 脐红 3♂ A Qihong3♂ A	Ch.
23 徐香 A Xuxiang A	De.	52 秦美 A QinmeiA	De.	81 海沃德♂ A Hayward♂ A	De.
24 红阳 3Y Hongyang3Y	Ch.	53 金桃 A JintaoA	Ch.	82 雷♂ 3X Lei♂ 3X	De.
25 野 4♂ A Wild4♂ A	Ch.	54 徐香 1X Xuxiang1X	De.	83 野 19? A Wild19?A	Pr.
26 野 7♂ A Wild7♂ A	Ch.	55 农大金猕 1A Nongda Jinmi 1A	Ch.	84 野 20? A Wild20?A	Pr.
27 秦美♂ 9C Qinmei♂ 9C	De.	56 海沃德 A Hayward A	De.	85 红阳? N Hongyang?N	Ch.
28 黄金果♂ A Hort16A♂ A	Ch.	57 农大金猕 2A Nongda Jinmi 2A	Ch.		
29 秦美♂ 8C Qinmei♂ 8C	De.	58 脐红 5A Qihong5A	Ch.		

注:野代表不同近缘野生材料;♀代表雌性材料;♂代表雄性材料;?代表雌雄不详;A代表陕西省安康地区取样;C代表陕西省城固县取样;N代表陕西省汉台区取样;X代表陕西省西乡县取样;Y代表陕西省洋县取样。Ch.代表中华猕猴桃变种;De.代表美味猕猴桃变种;Ar.代表软枣猕猴桃;Pr.代表紫果猕猴桃变种。

Note: The wild stands for different wild relatives; ♀ and ♂ represents female and male materials; ? represents did not know the gender; A represents the sampling in Ankang; C represents the sampling in Chenggu County; N represents the sampling in Hantai district; X represents the sampling in Xixiang County; and Y represents the sampling in Yangxian county. Ch. stands for *Actinidia chinensis* var. *chinensis*; De. stands for *Actinidia chinensis* var. *deliciosa*; Ar. stands for *Actinidia arguta*; Pr. stands for *A. arguta* var. *purpurea*.

表 2 SCoT 标记扩增结果

Table 2 Amplification results of SCoT primers

SCoT 引物 SCoT Primer	序列(5'-3') Sequence(5'-3')	总条带数 Total number of bands(TNB)	多态性条带数 The number of polymorphic bands(NPB)	多态性条带比率 Percentage of polymorphic bands(PPB)/%	多态性信息含量 Polymorphism information content(PIC)
1	CAACAATGGCTACCACCA	4	3	75.00	0.48
4	CAACAATGGCTACCACCT	5	4	80.00	0.75
7	CAACAATGGCTACCACGG	6	5	83.33	0.64
11	AAGCAATGGCTACCACCA	5	4	80.00	0.72
12	ACGACATGGCGACCAACG	5	4	80.00	0.68
16	ACCATGGCTACCACCGAC	6	6	100.00	0.96
17	ACCATGGCTACCACCGAG	7	5	71.43	0.65
18	ACCATGGCTACCACCGCC	5	4	80.00	0.68
20	ACCATGGCTACCACCGCG	3	2	66.67	0.48
23	CACCATGGCTACCACCAG	5	4	80.00	0.46
25	ACCATGGCTACCACCGGG	6	6	100.00	0.93
26	ACCATGGCTACCACCGTC	6	4	66.67	0.61
27	ACCATGGCTACCACCGTG	6	4	66.67	0.64
28	CCATGGCTACCACCGCCA	5	4	80.00	0.75
29	CCATGGCTACCACCGCC	7	6	85.71	0.52
30	CCATGGCTACCACCGCG	6	6	100.00	0.85
31	CCATGGCTACCACCGCCT	5	4	80.00	0.62
32	CCATGGCTACCACCGCAC	4	4	100.00	0.87
33	CCATGGCTACCACCGCAG	3	3	100.00	0.89
34	ACCATGGCTACCACCGCA	9	9	100.00	0.82

件<sup>[14]</sup>Beiyes算法的混合模型模拟 85 个猕猴桃种质资源(108 个等位位点)的群体结构, K 值设 1~10, 将 MCMC(Markov chain Monte Carlo)开始时的不作数迭代(Length of burn-in period)设置为 10 000 次, 再将不作数迭代后的 MCMC 设置为 100 000 次, 每个 K 运行 10 次, 依据  $\Delta K$  值最大的原则选取一个合适的 K 值。运行结果上传 Structure Harvester 平台 (<http://taylor0.biology.ucla.edu/structureHarvester/>) 获得结果图。用 NTSYS-pc2.10e 系统软件<sup>[15]</sup>的 SM 法计算遗传相似系数、进行 UPGMA 聚类及二元主成分分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 SCoT 标记效率分析

20 个 SCoT 标记共扩增出 108 个条带, 91 个多

态性条带。SCoT34 扩增的条带数最多, SCoT33 最少。6 个 SCoT 标记的多态性条带比率达 100%。多态性信息含量值为 0.46~0.96(表 2), 平均值为 0.70。

85 份样本有 6 个样本筛选到了其各自区别其他样本材料的特异性标记(表 3)。

### 2.2 群体遗传结构分析

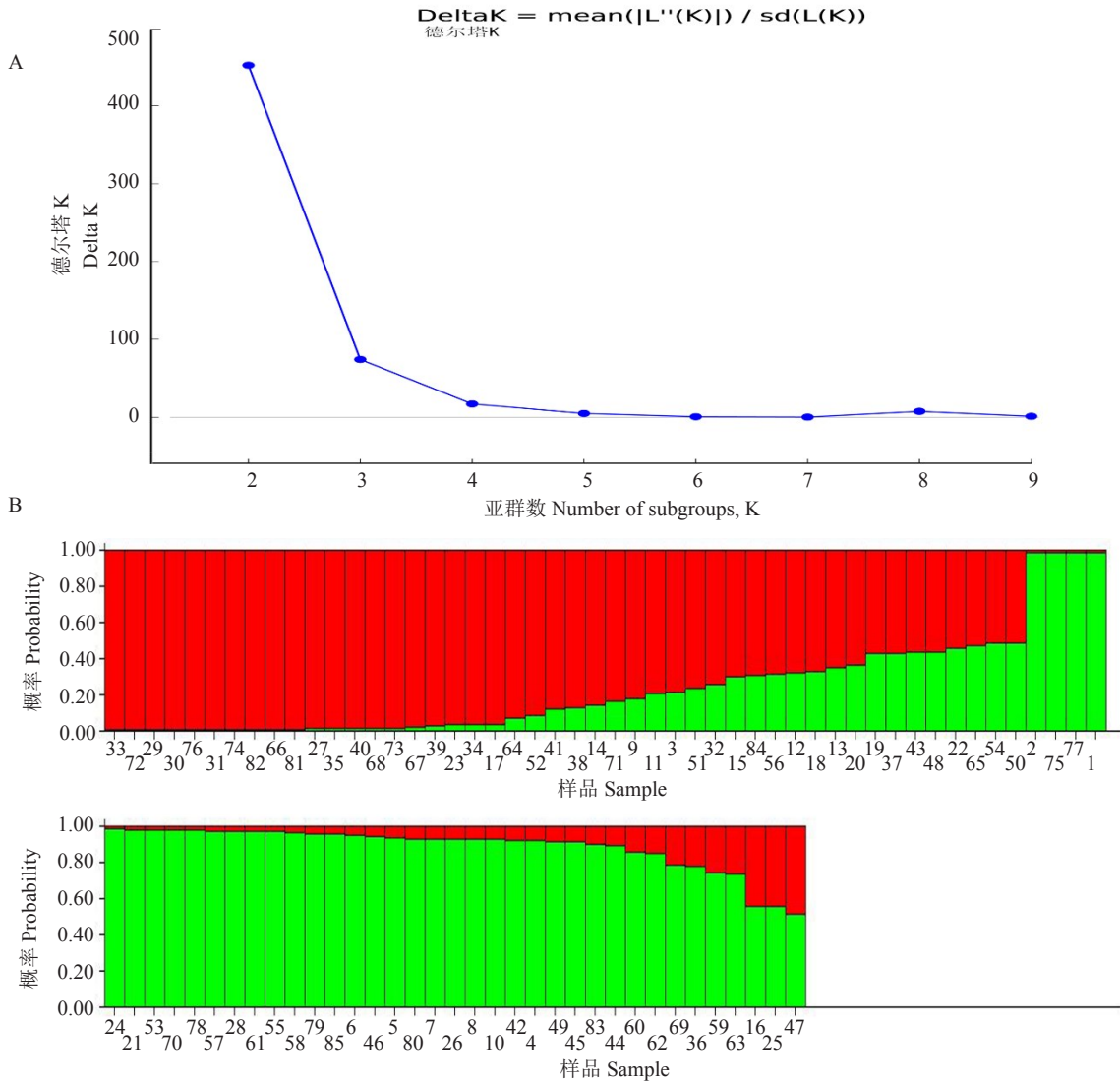
2.2.1 贝叶斯聚类 次等位位点 0.05 过滤后, 有 108 个条带估计 85 份猕猴桃种质的群体结构, 本研究中, 用 Bayesian 算法, Delta K 在 K=2 时达到最大, 表明 85 材料聚类为 2 个亚类最合适(图 1-A), 分别为 46 和 39 份材料(图 1-B)。从图 1-B 中看出美味猕猴桃亚种和中华猕猴桃亚种间发生了基因流, 占观察到变异的 83.53%(按 K=2 计算)。

2.2.2 UPGMA 聚类 基于 SCoT 标记数据的 85 份材料两两间的遗传相似系数变异范围在 0.53~0.94,

表 3 品种特异性引物

Table 3 Specific primers for variety identification

样本 Samples	脐红 ♂ 24A Qihong ♂ 24A	野 ♀ 14A Wild ♀ 14A	黄心猕猴桃 1X Yellow flesh Kiwifruit 1X	秦美 ♂ 1C Qinmei ♂ 1C	红阳 1Y Hongyang 1Y	脐红 3A Qihong 3A
特异性引物 Specific primers	SCoT27	SCoT4	SCoT17	SCoT25	SCoT30	SCoT34



红色代表第一组;绿色代表第二组。X 轴上的垂直线指的是每个样本。每种颜色的比例代表基因型属于每个组的概率。

Red. Group I; Green. Group II. Vertical lines on the X-axis refer to each sample. The proportion of each color represents probability rate with which a given genotype belongs to each group.

图 1 基于 SCoT 标记的 85 份猕猴桃材料群体遗传结构

Fig. 1 Population structure of 85 kiwifruit materials based on SCoT markers

平均为0.74。其中滕红N与野22♂A间的相似系数最小,而脐红2♂A与脐红5♂A间的遗传相似系数最大。对供试材料的两两遗传相似系数共计5253个数值进行次数分布分析,得出遗传相似系数在0.75~0.78处分布密度最大(1672/5253),占31.83%,小于0.75的占48.47%(2546/5253)(图2)。经卡平方测验,不符合正态分布(p < 0.01),由图可知供试材料中两两材料间的遗传相似性分布范围较广。

在遗传距离0.17处将85份样本分为2亚类(图3),第一亚类有79份材料,包含了目前主要推广的雌性中华猕猴桃和美味猕猴桃品种和作为花粉来源的雄性资源及部分野生资源。第二亚类有6份材

料,都为野生资源材料。

2.2.3 PC分析 前3个主成分对群体变异的解释率分别为13.24%、7.68%和0.65%(图4),解释总变异的26.98%。从分析结果看,前3个主成分并没有把85份样本明显分组,表明85个样本之间的主成分差异不明显。

2.3 不同类别资源遗传结构分析

2.3.1 生产中栽培的36个猕猴桃品种(系) 在遗传相似系数0.71处将生产中栽培的36个猕猴桃品种(系)聚为2类(图5),在安康农科院取样翠香品种与其他地区的翠香品种单独聚类,不同地区取样的翠香与徐香品种(目前种植面积较大的两个美味猕

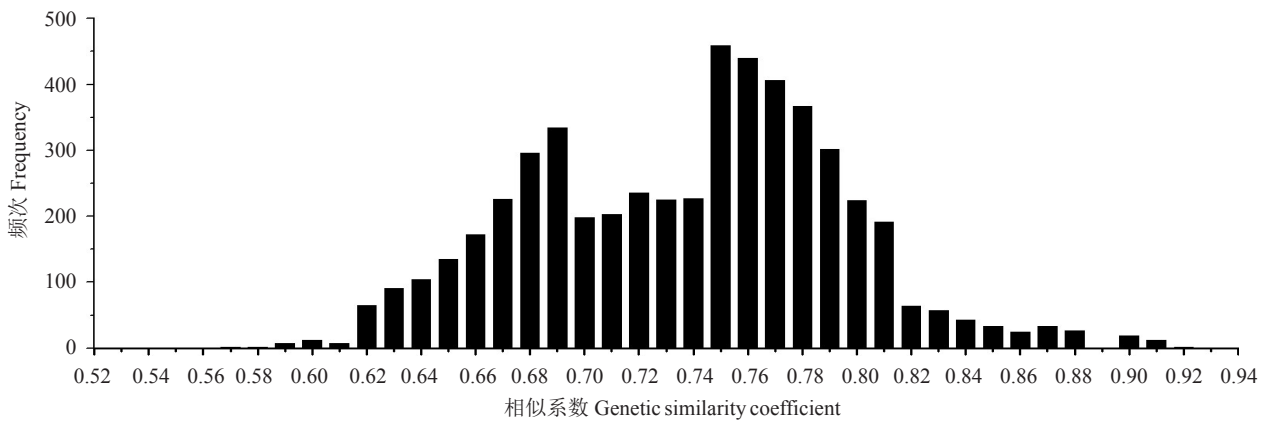


图 2 SCoT 分析的 85 份猕猴桃材料间遗传相似系数的频次分布

Fig. 2 Frequency distribution of genetic similarity among 85 kiwifruits materials based on SCoT data

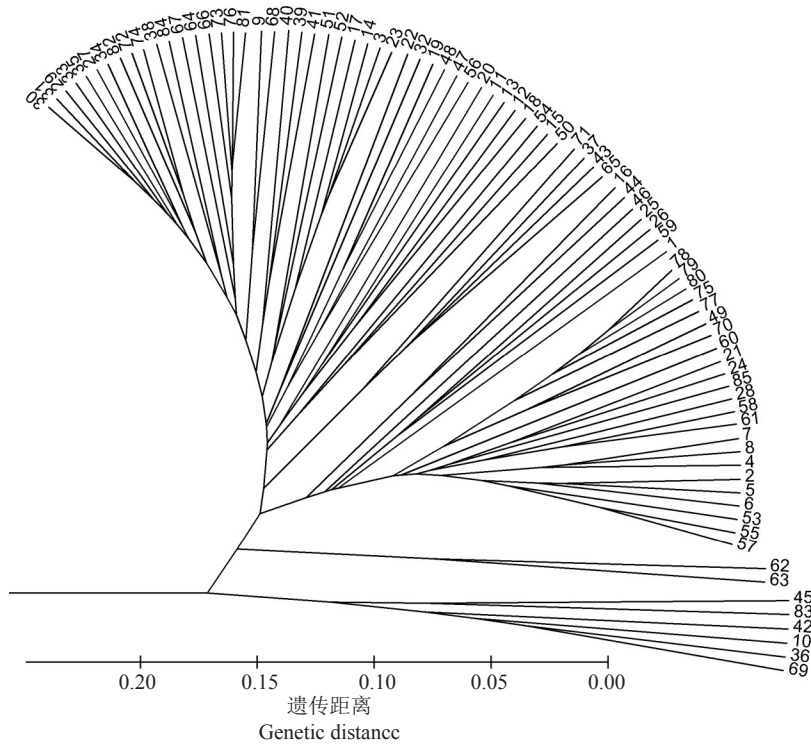


图 3 85 份猕猴桃种质遗传距离的 UPGMA 聚类

Fig. 3 UPGMA clustering based on genetic distance among 85 kiwifruit materials

猕猴桃品种)没有完全聚在一起。

2.3.2 雌性资源 考虑到目前生产中大多数猕猴桃品种从野生猕猴桃资源中实生选育而成,因此笔者把所有雌性资源放在一起分析。在遗传相似系数 0.68 处将 46 份秦巴地区主要推广的猕猴桃品种和野生近缘雌性资源聚为 2 类(图 6)。在安康采样的野 17 ♀ A 和野 16 ♀ A 单独聚为一类,与其他资源材料亲缘关系较远。大亚类中的农大金猕 A 和农大猕猴桃 A 遗传相似系数最大,为 0.90。其次为从陕西洋县和安康采样的徐香品种徐香 1Y 和徐香 A。

2.3.3 雄性资源 36 份雄性资源包括了生产中为主要猕猴桃品种授粉的雄性资源和野生雄性资源。在遗传相似系数 0.68 处聚为 2 类(图 7),野 21 ♂ A 和野 22 ♂ A 单独聚为一类,可能为同一生态地样本。在安康采样的脐红 2 ♂ A 和脐红 5 ♂ A 可能为同一材料,其之间的遗传相似系数达 0.94。在汉中地区城固县面积约为 2 hm<sup>2</sup> 的 15 年生商业雄株园随机所取材料(为秦美品种配套授粉树资源)遗传基础较相似,基本聚在一起。生产中如果考虑花粉的群体效应,这个雄株园的花粉应该与其他花粉搭配提高授

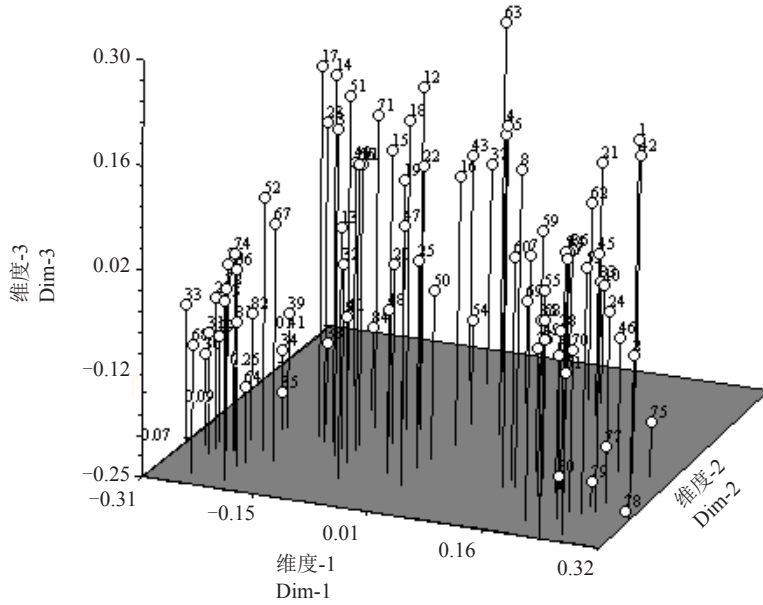


图 4 85 份猕猴桃种质资源的 PC 分析  
 Fig. 4 PC analysis of 85 kiwifruit materials

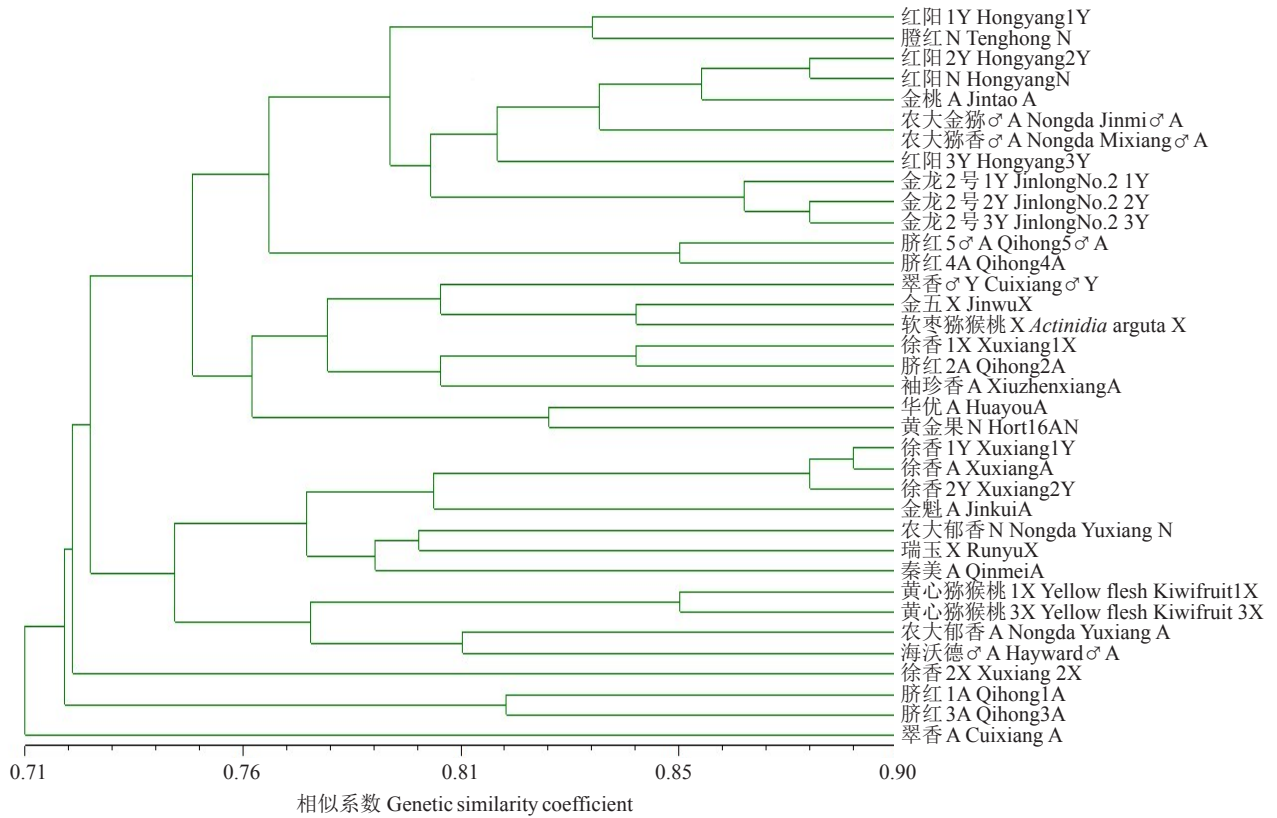


图 5 生产中栽培的 36 个猕猴桃品种(系)的遗传相似系数 UPGMA 聚类

Fig. 5 UPGMA clustering based on genetic similarity coefficient among 36 current varieties extending in large scale

粉率。

2.3.4 近缘野生资源 20 份野生近缘猕猴桃种质资源在遗传相似系数 0.70 处聚为 2 类(图 8)。其中在安康采样的编号为野 15 ♀ A 和野 3 ♂ A 的遗传相

似系数为 0.91, 可能为同一材料的雌雄后代, 可以作为雌雄性别分化研究的材料。材料野 6 ♂ A 和野 16 ♂ A 的遗传相似系数为 0.56, 亲缘关系最远。来源于汉中市农科所猕猴桃种质资源圃编号为野 ♂ N 的



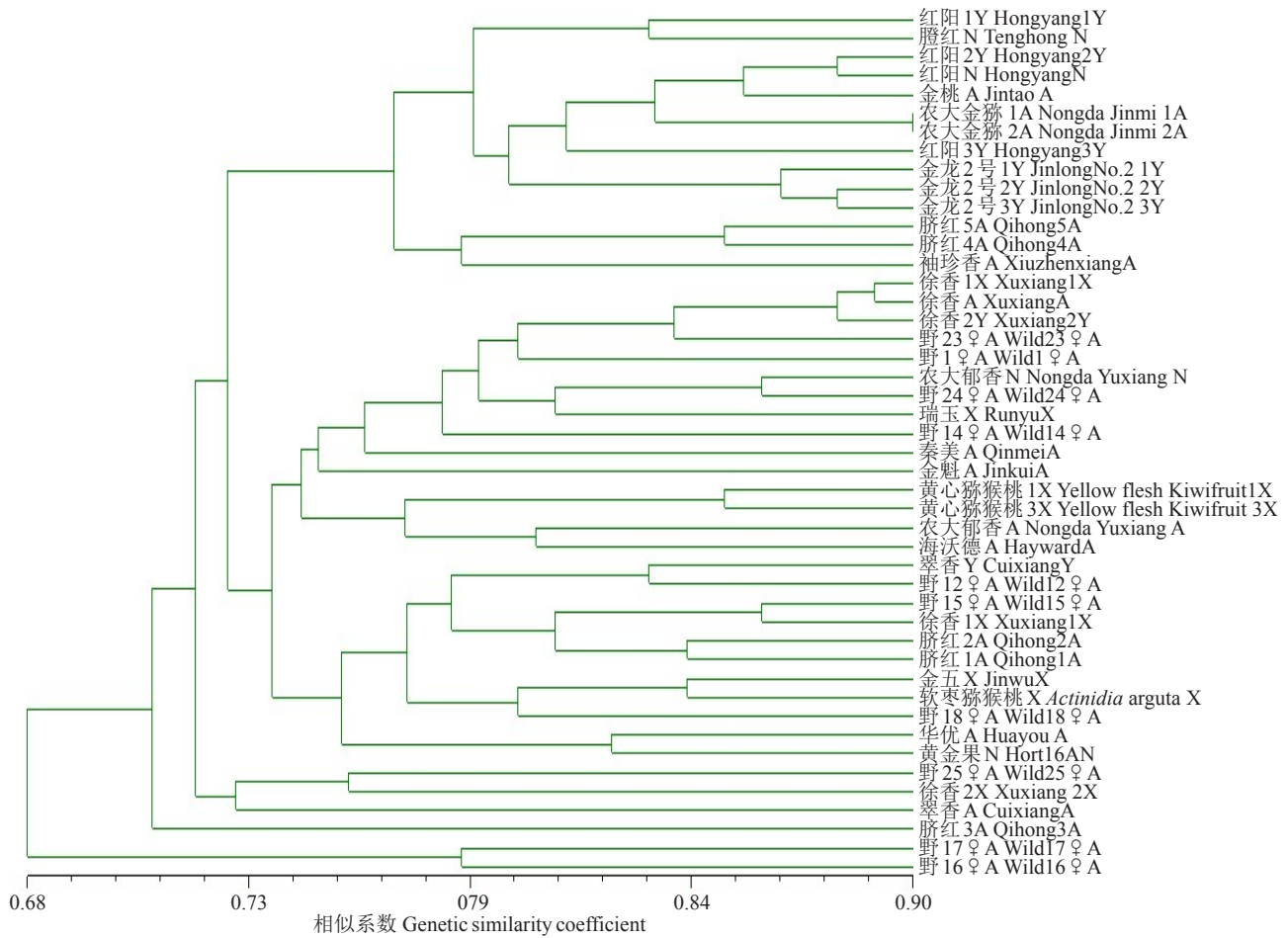


图 6 46 份雌性猕猴桃种质的遗传相似系数 UPGMA 聚类

Fig. 6 UPGMA clustering based on genetic similarity coefficient among 46 female kiwifruit materials

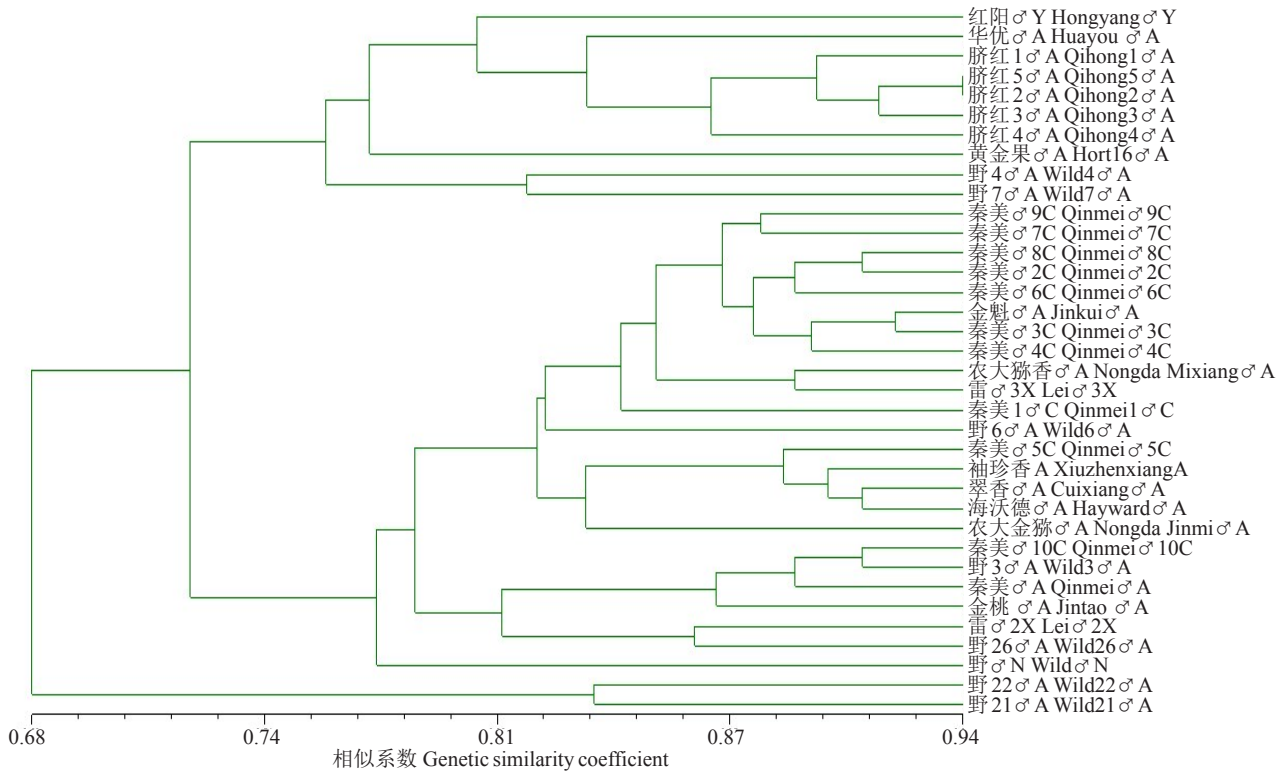


图 7 36 份雄性种质的遗传相似系数 UPGMA 聚类

Fig. 7 UPGMA clustering based on genetic similarity coefficient among 36 male kiwifruit materials

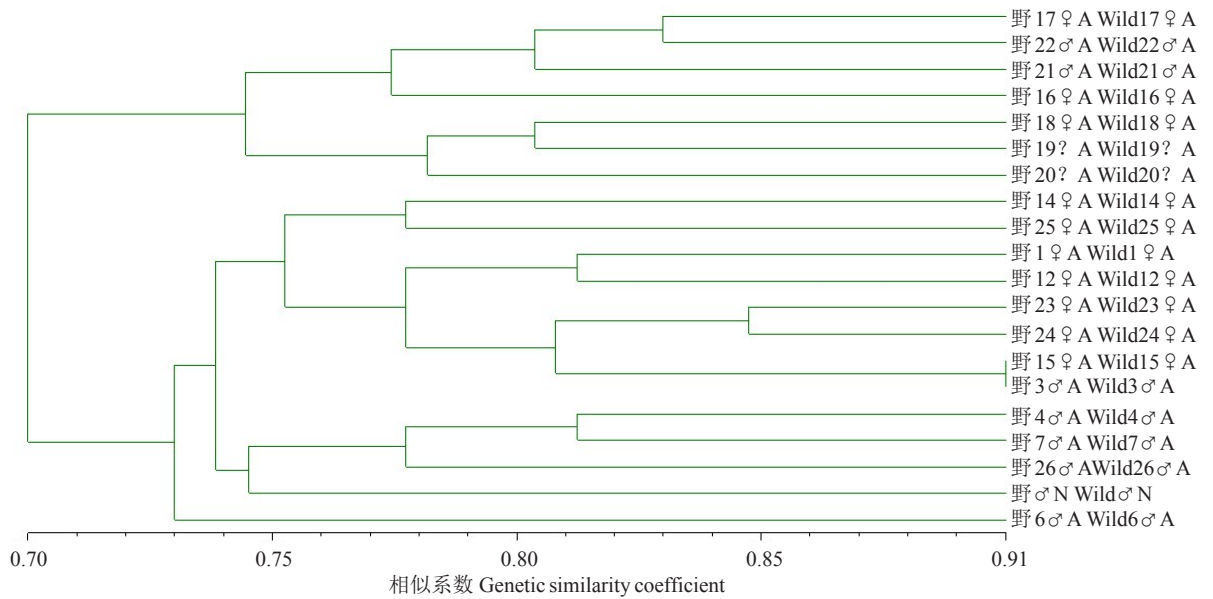


图 8 20 份野生近缘猕猴桃种质资源的遗传相似系数 UPGMA 聚类

Fig. 8 UPGMA clustering based on genetic similarity coefficient among 20 wild kiwifruit materials

材料并没有单独聚类,表明地理距离近的生态地(陕南地区)野生猕猴桃资源遗传基础差别较小。野生近缘材料中雌雄株有按性别分别聚在一起的倾向,可能与它们相似的遗传基础有关。

### 3 讨论

笔者在本研究中采用 SCoT 标记对 85 份猕猴桃种质进行遗传结构分析,结果将其样本基本聚为 2 类,该聚类结果与形态学分类基本一致,能从遗传关系上将中华猕猴桃系、美味猕猴桃系、软枣猕猴桃、紫果猕猴桃变种区分开来,紫果猕猴桃变种为软枣猕猴桃花蕊颜色的变种,因此它们的遗传基础较一致。在中华猕猴桃系和美味猕猴桃系形成的复合体内,由于没有生殖隔离,基因流发生频繁,使得中间类型很多,这可能是主成分分析不能明确聚类的主要原因。

笔者通过对目前生产栽培中常见的猕猴桃品种、配套授粉树资源以及对不同地区收集的优良野生猕猴桃种质资源进行遗传多样性分析,结果表明,中华猕猴桃脐红 1A、脐红 2A、脐红 3A 没有聚在 I 组中,而是和美味猕猴桃交叉聚在一起。两者在遗传上存在着较为复杂的关系,也可能是所用分子标记数量少造成的。翠香 A 与翠香 Y,脐红 2A、脐红 3A 与脐红 4A 和脐红 5A 同为雌性种质,却没有优先聚为一类,说明存在同名异物现象;脐红 2♂ A 和脐红 5♂ A 两个雄性材料率先聚在一起,遗传相似系数

最大,可能为同一材料;农大郁香是徐冠的实生后代,而徐冠为海沃德实生选种的后代,农大郁香与海沃德二者聚在一起,表现出很近的亲缘关系;农大金猕是以金农 2 号猕猴桃为母本、金阳 1 号雄株为父本杂交选育而成,为黄肉猕猴桃品种<sup>[6]</sup>。农大猕香、农大郁香同是徐冠猕猴桃实生选种后代的 2 个品种<sup>[7]</sup>,属美味猕猴桃变种, I 组中农大金猕 A 与农大猕香优先聚类在一起,金龙 2 号 1Y、金龙 2 号 2Y、金龙 2 号 3Y 未能优先与农大金猕优先聚类在一起,农大郁香 N 与农大猕香 A 未能聚在一组中,说明实际生产中,猕猴桃品种命名较为混乱,有同名异物或同物异名的现象存在。金五和黄心猕猴桃材料还未审定,其中金五和软枣猕猴桃聚在一起,可能在选育过程中有软枣猕猴桃的遗传背景,金五的叶片、茎秆上茸毛的状态接近于中华猕猴桃变种,说明猕猴桃叶片、茎秆及果皮上茸毛的着生状态在猕猴桃形态分类上的重要性。

从不同区域采样的生产中大面积栽培的猕猴桃品种的遗传基础基本一致。有 6 个野生资源(野 17 ♀ A、野 22 ♂ A、野 16 ♀ A、野 18 ♀ A、野 21 ♂ A、野 19? A)与其他材料亲缘关系较远,可将其作为亲本材料进行新品种选育或者对栽培品种改良。

### 4 结论

生物群体结构分析常用的 3 种方法中,如果结合中华猕猴桃变种的形态分类知识, Bayesian 算法

比UPGMA和PC分析更贴近真实的遗传分类,同时基于Bayesian算法的群体遗传结构图也能看出哪些样本发生了基因流。85份供试材料聚类时首先按亚种聚类而不是按雌雄性别材料聚类,可能亚种间的差异比雌雄间差异大。

笔者在本研究中构建了85份供试猕猴桃种质的DNA指纹图谱,该图谱可作为猕猴桃种质和品种鉴定与分类的依据,并可为新种质和新品种的繁育及知识产权保护提供技术支撑;通过对85份供试种质遗传多样性分析,能清楚的掌握各材料间遗传关系的远近,挖掘野生远源种的遗传潜力,这为猕猴桃杂交育种过程中亲本的选配提供了可靠依据。

### 参考文献 References:

- [1] 方金豹,钟彩虹. 新中国果树科学研究70年:猕猴桃[J]. 果树学报,2019,36(10):1352-1359.  
FANG Jinbao, HONG Caihong. Fruit scientific research in New China in the past 70 years: Kiwifruit[J]. Journal of Fruit Science, 2019, 36(10):1352-1359.
- [2] 陈启亮,陈庆红,顾霞,施桂萍,徐爱春,秦仲麒,王三明. 中国猕猴桃新品种选育成就与展望[J]. 中国南方果树,2009,38(2): 70-76.  
CHEN Qiliang, CHEN Qinghong, GU Xia, SHI Guiping, XU Aichun, QIN Zhongqi, WANG Sanming. Achievements and prospects of breeding of kiwifruit cultivar in China[J]. South China Fruits, 2009, 38(2): 70-76.
- [3] 张慧,张世鑫,吴绍华,田维敏,彭小列,刘世彪. 猕猴桃属33份种质资源的 AFLP 遗传多样性分析[J]. 生物学杂志,2018,35(2): 29-33.  
ZHANG Hui, ZHANG Shixin, WU Shaohua, TIAN Weimin, PENG Xiaolie, LIU Shibiao. Genetic diversity of 33 kiwifruit germplasms based on AFLP markers[J]. Journal of Biology, 2018, 35(2): 29-33.
- [4] 张安世,张中海,齐秀娟,方金豹,林苗苗,骆扬. 猕猴桃 SC-SSR 遗传多样性分析及指纹图谱构建[J]. 分子植物育种,2017,15(11): 4706-4714.  
ZHANG Anshi, ZHANG Zhonghai, QI Xiujian, FANG Jinbao, LIN Miaomiao, LUO Yang. Genetic diversity analysis and fingerprints construction of SC-SSR markers in kiwifruit[J]. Molecular Plant Breeding, 2017, 15(11): 4706-4714.
- [5] 杨海健,伊洪伟,韩国辉,罗友进,潘晓雪. 重庆大巴山区野生猕猴桃资源调查和遗传多样性分析[J]. 植物遗传资源学报,2018,19(2): 187-193.  
YANG Haijian, YI Hongwei, HAN Guohui, LUO Youjin, PAN Xiaoxue. Investigation and diversity analysis of wild *Actinidia* resources in Daba mountain of Chongqing[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2018, 19(2): 187-193.
- [6] 沈国正,刘辉,李白沙,张琛,黄康康,郗笃隼,裴嘉博,张青,裘劫人. 红阳猕猴桃与杭州地区部分野生猕猴桃种质的 SSR 分析[J]. 浙江农业科学,2017,58(11): 1906-1909.  
SHEN Guozheng, LIU Hui, LI Baisha, ZHANG Chen, HUANG Kangkang, XI Dujuan, PEI Jiabo, ZHANG Qing, QIU Jieren. SSR Analysis of Hongyang kiwifruit and some wild kiwifruit germplasm in Hangzhou Area[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2017, 58(11): 1906-1909.
- [7] 王斯妤,钟敏,黄春辉,陶俊杰,曲雪艳,吴寒,徐小彪. 猕猴桃属33份核心雄性种质 SSR 指纹图谱构建[J]. 分子植物育种,2018,16(5): 1598-1606.  
WANG Siyu, ZHONG Min, HUANG Chunhui, TAO Junjie, QU Xueyan, WU Han, XU Xiaobiao. Fingerprints construction of SSR markers of thirty-three core male plants in *Actinidia*[J]. Molecular Plant Breeding, 2018, 16(5): 1598-1606.
- [8] ZHANG Y, ZHANG X J, CHEN X, SUN W, LI J. Genetic diversity and structure of tea plant in Qinba area in China by three types of molecular markers[J]. Hereditas, 2018, 155:22.
- [9] 张羽,张晓娟,陈进,孙晓敏,张成兵. 43份油菜菌核病抗性资源的 SCoT、SSR 与 SRAP 标记分析[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2017,45(1):45-53.  
ZHANG Yu, ZHANG Xiaojuan, CHEN Jin, SUN Xiaomin, ZHANG Chengbing. Germplasm analysis of 43 sclerotinia resistant *Brassica napus* by SCoT, SSR and SRAP markers[J]. Journal of Northwest A & F University(Natural Science Edition), 2017, 45(1): 45-53.
- [10] 张安世,张中海,齐秀娟,刘莹,骆扬. 猕猴桃 SCoT 遗传多样性分析及指纹图谱的构建[J]. 植物研究,2017,37(2): 259-265.  
ZHANG Anshi, ZHANG Zhonghai, QI Xiujian, LIU Ying, LUO Yang. Genetic Diversity and Fingerprints with SCoT Markers in *Actinidia*[J]. Bulletin of Botanical Research, 2017, 37(2): 259-265.
- [11] 陈伯伦,张晋,黄继魁,黄诚梅,周秋娟,陶伟,唐娟. SCoT 分子标记在猕猴桃遗传多样性分析与变异鉴定上的应用[J]. 农业生物技术学报,2018,26(1): 77-86.  
CHEN Bolun, ZHANG Jin, HUANG Jikui, HUANG Chengmei, ZHOU Qiujuan, TAO Wei, TANG Juan. Application of SCoT markers on genetic diversity analysis and variation identification of *Actinidia*[J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2018, 26(1): 77-86.
- [12] SMITH J S C, CHIN E C L, SHU H, SMITH O S, WALL S J, SENIOR M L, MITCHELL S E, KRESOVICH S, ZIEGLE J. An evaluation of the utility of SSR loci as molecular markers in maize (*Zea mays* L.): comparisons with data from RFLPs and pedigree[J]. Theoretical and Applied Genetics, 1997, 95(1): 163-173.
- [13] BOTSTEIN D. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms[J]. American Journal of Human Genetics, 1980; 32(3): 314-331.
- [14] 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(8): 2611-2620.
- [15] ROHLF F J. NTSYS-pc: Numerical taxonomy and multivariate analysis system version 2.1[J/ON]. Owner Manual, 2000. <http://www.exetersoftware.com/cat/ntsyspc/ntsyspc.html>.
- [16] 姚春潮,李建军,郁俊谊,刘占德. 黄肉猕猴桃新品种‘农大金猕’[J]. 园艺学报,2017,44(9): 1825-1826.  
YAO Chunchao, LI Jianjun, YU Junyi, LIU Zhande. A new yellow flesh kiwifruit cultivar ‘Nongda Jinmi’ [J]. Acta Horticulturae Sinica, 2017, 44(9): 1825-1826.
- [17] 郁俊谊,刘占德,姚春潮,刘军禄,王林青. 猕猴桃新品种‘农大猕香’的选育[J]. 中国果树,2017(6): 74-75.  
YU Junyi, LIU Zhande, YAO Chunchao, LIU Junlu, WANG Linqing. Breeding of kiwifruit cultivar ‘Nongda Mixiang’ [J]. China Fruits, 2017(6): 74-75.