

猕猴桃分子标记、遗传图谱及QTL定位应用研究进展

李思凯, 王 然, 齐秀娟*

(中国农业科学院果树生长发育与品质控制重点开放实验室·中国农业科学院郑州果树研究所, 郑州 450009)

摘要: 猕猴桃属植物共有54个种和21个变种, 我国是原产地, 种质资源极为丰富。由于猕猴桃属植物具有雌雄异株、丰富的倍性变异及实生苗童期较长等特征, 使得传统育种工作周期长、效率低。随着现代生物技术发展, 开发了较多分子标记应用于猕猴桃研究领域, 利用分子标记也构建了一些猕猴桃遗传图谱并进行了部分重要性状的QTL定位, 为后续猕猴桃分子辅助育种奠定了基础。综述了猕猴桃遗传连锁图谱构建的基础, 归纳了已发表的猕猴桃遗传连锁图谱和定位到的数量性状遗传位点, 梳理出当前QTL定位技术在猕猴桃育种中的研究进展, 最后提出了猕猴桃分子标记、遗传图谱构建及QTL定位技术在研究和育种应用中存在的问题和展望, 以期对猕猴桃分子辅助育种更好的服务于实践奠定基础。

关键词: 猕猴桃; 遗传图谱; 分子标记; 数量性状定位

中图分类号: S663.4

文献标志码: A

文章编号: 1009-9980(2022)04-0662-12

Recent advances in research on the molecular markers, genetic map and QTL mapping in kiwifruit

LI Sikai, WANG Ran, QI Xiujian*

(Key Laboratory for Fruit Tree Growth, Development and Quality Control/Zhengzhou Fruit Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450009, Henan, China)

Abstract: As one of the four most successful fruit crops domesticated from the wild in the 20th century, the kiwifruit accounts for an important place in the development of the fruit industry. It is an ancient plant and also an emerging fruit, and is often referred to as the “king of fruits” due to its rich vitamin content and unique taste. There are 54 species and 21 varieties of the *Actinidia* Lindl., and they are widely distributed throughout the world. China is the origin of the *Actinidia*, so our country has rich germplasm resources. The *Actinidia* is characterized as a dioecious plant with a long juvenile period, resulting in long and inefficient breeding cycle. Since hybrid breeding can achieve combination of superior traits, the breeding route for the *Actinidia* is increasingly shifting from traditional selection directly from the wild to hybrid breeding. The selection of superior genotypes from the hybrid offspring is the most critical step in the hybrid breeding process. The traditional method mainly relies on phenotypic selection for targeted traits. It is time-consuming and difficult, which usually takes 10-15 years to develop a new cultivar. Most phenotypic traits are quantitative traits, which are susceptible to environmental influences and unstable in performance, thus reducing the accuracy of phenotypic selection. With the development of PCR technology and modern sequencing techniques, marker-assisted selection (MAS) breeding techniques have emerged, which can greatly reduce breeding period and improve breeding accuracy as the trait selections are based on genotypes rather than phenotypes. Molecular marker technology is based on individual nucleotide sequence variation, which is a direct reflection of individual genetic variation, allowing differences between organisms to be detected at the nucleotide sequence level. It

收稿日期: 2021-09-29 接受日期: 2021-12-13

基金项目: 国家重点研发专项课题(2019YFD1000802); 国家自然科学基金项目(32001995)

作者简介: 李思凯, 在读硕士研究生, 研究方向为猕猴桃遗传育种。Tel: 15634412669, E-mail: 15634412669@163.com

*通信作者 Author for correspondence. Tel: 13903865864, E-mail: qixiujian@caas.cn

has many advantages over traditional morphological and cytological markers: it is not affected by climate or environment, it can be detected in all tissues and organs of plants and at all stages of development, and it is highly polymorphic. With advances in modern biotechnology, the construction of a genetic map is improved from a low-density genetic map constructed by morphological, physiological and biochemical markers to a high-density genetic map constructed from molecular markers. The density of the genetic map is higher, making it more favorable to QTL mapping for important agronomic traits. The population used for the construction of the genetic map is usually a segregated population for the target trait and the genetic differences between the parents should be contrast. In principle, parents with large morphological differences and distant relationship should be selected so that there is a high level of DNA polymorphism between the parents, facilitating segregation analysis and the construction of genetic linkage maps. However, if the parents are too different and too distantly related, chromosome pairing and recombination will be inhibited, resulting in a lower rate of recombination between linked loci; too little difference between parents will reduce DNA polymorphism between parents, affecting mapping density and the accuracy of subsequent QTL mapping. The genus of *Actinidia* Lindl. is highly heterozygous, with a large number of trait segregations being generated in the F1 generation. Due to long juvenile period of the *Actinidia*, it is difficult to generate mapping populations with more generations, so most of the *Actinidia* populations currently commonly used for mapping are F1 populations. Many traits in plants are quantitative, the basic principle of QTL mapping is to map the QTL of traits by linked molecular markers of known positions on the genome. The QTL mapping is usually carried out by a comprehensive analysis combining different methods, including QTL composite interval mapping and multiple interval mapping. Theoretically, the accuracy of mapping increases as the generations of the mapping population increase; in addition, the accuracy of QTL mapping is higher as more complex mathematical model is used for QTL mapping analysis. With the improvement of the genetic map, QTL mapping has been widely used in the field of the *Actinidia*. This paper reviews the application of molecular markers in kiwifruit breeding. For example, molecular markers like SCAR and SSR can be used for early sex identification of the *Actinidia* before flowering. As the *Actinidia* is dioecious and heterozygous, contamination is likely to appear in the hybrid offspring due to mechanical and biological mixing during crosses, the use of InDel molecular markers with polymorphism can be effective in identifying the authenticity of hybrid offspring. In addition, an increasing number of *Actinidia* genetic maps have been constructed using molecular markers. This article lists 10 genetic linkage maps that have been constructed for the *Actinidia*. High density of genetic linkage map is a prerequisite for QTL mapping. This paper summarizes the genetic loci that have been located for quantitative traits and compares the current research advances in QTL mapping with regard to kiwifruit breeding. For example, QTL mapping has successfully been used to identify two male-specific genetic regions in diploid and tetraploid *Actinidia*, which are now used to predict sex at the juvenile period. A number of QTL loci associated with fruit quality traits were also located. Although quantitative traits in tetraploid *Actinidia*, have been studied for a long time, and the development of molecular marker technology in recent years has created the conditions for in-depth studies on the inheritance patterns of quantitative traits, however, research on quantitative traits in tetraploid *Actinidia*, is still in the exploratory stage, the main reason is that the genetic basis of polyploids is complicated than diploids, and the available analysis tools for linkage map construction and QTL mapping are generally only applicable for diploids. Therefore, in the future, emphasis should be placed on the use of more efficient gene sequencing and genotyping techniques, such as gene chip technology, the development of QTL mapping tools for dissecting genetics of polyploid kiwifruit and the establishment of sys-

tematic quantitative trait QTL mapping based on different temporal and spatial environments, so that static and dynamic mapping can be combined, etc. The construction and refinement of *Actinidia* genetic linkage maps and the rise and development of QTL mapping have provided theories and methods to improve the efficiency of selection and breeding of new kiwifruit varieties with high quality.

Key words: Kiwifruit; Genetic map; DNA marker; Quantitative trait locus

猕猴桃 (*Actinidia*) 为猕猴桃科 (*Actinidiaceae*) 猕猴桃属 (*Actinidia* Lindl.) 雌雄异株多年生藤本植物, 共有 54 个种和 21 个变种^[1]。它作为 20 世纪野生果树人工驯化栽培最有成就的四大果树之一^[2], 既是一种古老植物, 又是一种新兴水果, 同时由于具有丰富的维生素含量和独特的口感常被誉为“水果之王”^[3]。品种是产业发展的“芯片”, 由于杂交育种可以实现优异多基因聚合的育种目标, 从而可以培育更加符合生产者、消费者及经营者要求的优良品种, 所以猕猴桃育种途径从传统野生直接选种越来越多的转向杂交育种。在杂交育种过程中, 从杂交分离后代中挑选优良的重组基因型是其关键步骤, 传统依靠表型选择的育种方法耗时费力并且难度大, 培育一个新品种需花费 10~15 a 时间, 并且多数表型性状是易受环境影响的数量性状, 表现不稳定, 从而降低了表型选育的准确度。随着 PCR 技术和现代测序技术的发展, 产生了分子标记辅助选择 (marker-assisted selection, MAS) 育种技术, 由于该方法是基于基因型而不是表现型来选择育种所需的性状, 因此受到广大育种学家及遗传学家的青睐。猕猴桃属植物染色体倍性复杂, 从二倍体到八倍体均有发现^[4], 该属植物存在丰富的核基因组遗传多样性和叶绿体、线粒体基因组遗传变异^[5], 分子标记具有丰富的多态性, 在资源评价及早期性状鉴定等方面可产生较好的效果^[6], 因此, 可在育种工作中采用定向杂交育种与分子辅助育种相结合的方法, 将分子标记与性状进行关联分析, 从而快速筛选出具有特定优良性状的品种^[7]。标记辅助育种的关键是找到和表型连锁的标记, 构建遗传连锁图谱 (genetic linkage map) 并进行数量性状位点 (quantitative trait locus, QTL) 定位, 可有效建立起标记与表型之间的连锁关系, 是实施 MAS 的有效途径。

遗传连锁图谱, 也称遗传图谱 (genetic map) 或连锁图谱 (linkage map), 是指以遗传标记 (已知性状的基因或特定 DNA 序列) 间重组频率为基础的染色体或基因位点的相对位置线性排列图^[8]。以分子标记

技术作为基础, 猕猴桃遗传图谱的构建从由形态、生理生化标记构建的低密度遗传图谱, 转为由分子标记构建的高密度遗传图谱^[9]; 可将遗传图谱中已知位点的分子标记与未知的 QTL 进行连锁分析, 把一个或多个 QTL 定位到同一染色体上已知位点的分子标记附近, 从而确定 QTL 在基因组中的位置。遗传图谱密度越高, 越有利于后续猕猴桃重要农艺性状的 QTL 定位, 因此, 猕猴桃遗传连锁图谱的构建以及 QTL 精细定位的研究, 为提高优质猕猴桃新品种选育效率提供了理论与方法。

1 猕猴桃遗传连锁图谱构建的分子标记基础

分子标记技术以个体间核苷酸序列变异为基础, 是生物个体遗传变异的直接反映, 可以检测出生物个体之间在核苷酸序列水平上的差异^[10], 与传统的形态学标记、细胞学标记相比, 它存在诸多优点: 不受气候、环境等因素影响, 在植物的各个组织、器官以及各发育阶段都能进行检测, 多态性高^[11]。目前, 该技术被广泛应用于遗传多样性分析、种质资源鉴定、遗传图谱构建、系统进化研究及分子标记辅助育种等方面^[12]。

1.1 分子标记在猕猴桃种质资源遗传多样性评价中的应用

对猕猴桃种质资源进行准确鉴定及评价是对其合理利用的前提。SSR (simple sequence repeats) 标记, 也称为微卫星 DNA (microsatellite DNA) 是由几个核苷酸 (一般为 1~6 个) 为基本重复单位的多次串联重复 DNA 序列, 以其重复性较好、易于获取及多态性丰富等优点, 在猕猴桃资源鉴定及评价等研究领域被大量应用。前人研究表明, 共显性 SSR 标记在构建猕猴桃指纹图谱以及分析种质资源的遗传多样性方面都有较好效果^[13]。1998 年, Huang 等^[14]从富含 (AC/GT) 和 (AG/CT) 重复序列的两个小的插入型文库中分离并测序了 263 个含 SSR 的克隆, 针对其中 203 个 SSR 位点设计的引物成功在质粒和中华

猕猴桃(*A. chinensis*)基因组DNA中扩增出产物,同时报道了40对SSR引物的序列,为猕猴桃后续SSR标记开发提供了参考^[14];郑轶琦等^[15]进一步从中筛选出9对稳定性较好的引物分别在48个猕猴桃品种(品系)中进行PCR扩增,成功获得了每个品种特有的指纹图谱。姜春芽等^[16]筛查了猕猴桃EST数据库,并从中开发了SSR标记,表明该标记可对猕猴桃种质的多态性进行分析;之后,王丹丹等^[17]利用21对EST-SSR分子标记构建了常见的42份软枣猕猴桃(*A. arguta*)种质的数字指纹图谱和模式指纹图谱数据库,并进行了遗传多样性分析,将42份种质划分为4个类群,聚类结果与种质的特性及来源具有较高的一致性。汤佳乐等^[18]和邹梁峰等^[19]也先后利用SSR分子标记进行了江西省境内的猕猴桃资源遗传多样性分析。

除SSR标记外,其他类型的分子标记在分析猕猴桃遗传多样性方面也发挥着重要作用。例如利用RAPD^[20-21], AFLP^[22-23], ISSR^[24-25], SPAR^[26-28], SNP^[29], SCoT^[30]等分子标记,构建了各种猕猴桃指纹图谱并对猕猴桃种质资源进行了分类和鉴定。上述研究在分子水平上揭示了猕猴桃属植物的遗传多样性以及各品种或种质间的亲缘关系,为种质资源的合理开发及利用奠定了基础。

1.2 分子标记在猕猴桃性状早期鉴定中的应用

猕猴桃雌雄异株及染色体倍性水平多样化特征,在很大程度上阻碍其一些重要经济性状的遗传学研究。用简便易行、高效快捷的分子标记技术对猕猴桃属植物进行遗传学研究十分必要,开发出与目标性状连锁的分子标记进行标记辅助选择可以有效提高育种的效率及准确性。

猕猴桃属于功能性的雌雄异株植物^[31],在实际生产中雌株的经济价值远大于雄株,但开花以前难以从其他形态上进行性别区分,所以利用分子标记技术在童期进行性别早期鉴定一直是该树种分子辅助育种研究的最大热点。例如Harvey等^[32]和Gill等^[33]通过集团分离分析法(Bulk Segregate Analysis, BSA),利用中华猕猴桃(*A. chinensis*)实生群体,开发出雄性特异的SmY和雌性特异的SmX 2个SCAR标记;Zhang等^[34]利用山梨猕猴桃(*A. rufa*与中华猕猴桃(*A. chinensis*)的种间杂交F₁代群体,开发了A001、A002和A003等3个性别特异性SSR标记。不过,前述两个标记的开发均是以二倍体猕猴

桃为试材,由于猕猴桃倍性复杂,因此郭丹丹等^[35]对两组性别标记的通用性在已知性别的四倍体软枣猕猴桃和二倍体中华猕猴桃材料上进行了验证,结果除了SmY在中华猕猴桃中有较好的通用性,其余标记在两种猕猴桃中均未表现出良好的通用性,其进一步利用软枣猕猴桃杂交群体通过全基因组重测序及BSA分析技术,开发了2个雄性特异性性别标记,在四倍体软枣猕猴桃上验证准确率均可达97%^[12]。

另外,徐小彪等^[36]进行了中华猕猴桃矮型性状EST-SSR连锁标记的筛选,获得了鉴别矮型与普通型植株的标记引物EST-Ad042;易盼盼等^[37]获得了与猕猴桃抗溃疡病基因连锁的SSR分子标记UDK97-428116;汤佳乐等^[38]获得了野生毛花猕猴桃(*A. eriantha*)叶片及果实中与AsA含量关联的SSR标记。

1.3 分子标记在猕猴桃种质真实性鉴定中的应用

在猕猴桃育种过程中,由于机械混杂、生物学混杂等,杂交F₁代实生群体中容易出现异型株而影响分子标记开发的准确性,因此孙世航等^[39]以软枣猕猴桃为材料,筛选了可对杂交子代进行真实性鉴定的InDel引物,为后续利用群体进行分子标记开发奠定了基础。

品种的纯度与真实性直接影响农作物的产量和品质,也是作为杂交亲本利用的前提。对种质纯度与真实性鉴定的本质就是对基因型的鉴定^[40],目前鉴定方法主要包括形态学法、生物化学法以及分子标记法,但前两种方法容易受到环境及材料本身影响,而分子标记鉴定法不受外部条件影响,相较于前两种方法准确性更高。分子标记鉴定法利用对遗传物质多态性的直接分析来判断基因的排布规律和性状的表现规律,是通过比较分析各品种间基因组DNA的差异来鉴别品种^[41]。猕猴桃产业中品种乱杂现象相对较多,田间测试鉴定难以满足时效性及准确性的要求,并且费时费力,因此王丹丹等^[42]采用SSR、EST-SSR和SRAP三种分子标记鉴定了8个软枣猕猴桃区试品种的纯度,表明EST-SSR引物多态性、稳定性好,可用于后续研究应用。目前,中国农业科学院郑州果树研究所等四家单位联合制定的农业行业标准《中华猕猴桃品种鉴定SSR分子标记法》NY/T 3639—2020^[43],已经正式颁布实施。

2 猕猴桃遗传连锁图谱构建

遗传连锁图谱的理论基础是在细胞减数分裂过程中,非同源染色体上的基因自由组合,同源染色体上的连锁基因发生交换和重组^[44]。遗传图谱的密度依赖于标记的类型,分子标记作为一种新型的标记技术,其不受环境因素影响、稳定、高效等优点在构建图谱中有较大优势,由于DNA分子标记可以从微观上检测不同个体间基因或基因型的差异来反应个体间宏观上的表型差异,因此在构建遗传图谱过程中使用分子标记不受发育阶段和环境的影响,这将大大提高图谱构建效率,并且相较于传统的形态、生物化学标记,DNA分子标记多态性高并且数量无限多,存在许多等位变异并几乎能遍及整个基因组,分子标记这些特点都使得遗传图谱的构建越来越高效、准确,并且构建的图谱密度越来越高。高密度的遗传连锁图谱是进行QTL定位的基础,也是进行图位克隆、分子标记辅助育种等的前提。目前常用的图谱构建软件有JoinMAP4.0、MapMarker/EXP3.0等。

2.1 猕猴桃作图群体的选择

用于构建遗传图谱的材料通常是目的性状分离的群体,群体亲本的选择直接影响到遗传图谱构建的难易程度及图谱的适用范围。如果亲本间差异过大、亲缘关系过远,会使染色体的配对和重组受到抑制,从而导致连锁的基因座之间重组率降低,甚至会造成后代不育,影响作图群体的构建,即使群体构建完成,也可能出现严重的偏分离现象^[45];亲本间差异过小,会使亲本间DNA多态性降低,影响图谱密度及后续QTL定位精度。因此,用于构建图谱的作图群体亲本间遗传差异要适中,选择合适的分离群体是构建遗传图谱必不可少的条件。

要构建合适的群体需要根据植物本身的特征来决定。如果作图的对象可以自交,而且能够获得纯系,那么可以选择F₂代、重组自交系(recombinant inbred lines, RIL)、回交群体(backcross, BC)或者双单倍体(doubled haploid lines, DH)来构建作图群体^[46];如果作图对象本身自交不亲和或者近交衰退,不能获得纯系,则可选择F₁代和BC群体。对于果树,由于其杂合度高、世代周期长,加上部分果树存在较严重的自交退化现象,很难获得自交纯系,因此较多的采用F₁代作图群体。猕猴桃自身高度杂合,F₁代即

可产生大量性状分离,并且童期较长,所以目前常用F₁代群体作为作图群体。

2.2 猕猴桃遗传连锁图谱构建的研究现状

随着分子标记技术的发展,自1986年来,许多作物都已经建立了分子遗传图谱,并且逐渐饱和^[47],例如Mccouch等^[48]在1988年构建出第一张水稻RFLP图谱之后,Wu等^[49]用超过6000个标记构建出一张高密度水稻遗传图谱。作物遗传图谱的发展为构建猕猴桃图谱提供了借鉴,当前猕猴桃分子育种领域也逐步构建出一些遗传连锁图谱,从2001年第一张猕猴桃遗传连锁图谱的构建,国内外至今至少构建了10个(组)猕猴桃的遗传连锁图谱(表1),这些图谱当中有的是基于父母本分别构建两张遗传图谱,有的是构建一张父母本整合遗传图谱;图谱构建所用的分子标记主要包括SSR、AFLP和SNP;随着分子标记技术不断发展,猕猴桃遗传图谱的标记数、图谱长度、标记间的平均距离等都取得了明显进步,而且在多倍体猕猴桃中也逐步开始建立较完善的遗传图谱。

最初构建的猕猴桃遗传连锁图谱是2001年Testolin等^[50]利用中华猕猴桃和硬齿猕猴桃(*A. callosa*)杂交群体,以AFLP和SSR标记为框架分别构建了父、母本两张遗传图谱,但由于当时技术所限,这两张图谱密度较低,并且连锁群(LG)数目与猕猴桃属染色体基数的29条不相同。2009年Fraser等^[51]利用644个SSR标记构建了中华猕猴桃的整合图谱,雌雄图谱均为29个连锁群,该图谱也是迄今为止构建的密度最高的SSR图谱,在该图谱中定位了SmX、SmY等性别相关的标记,利用性别连锁标记鉴定出X和Y染色体,并且认为LG17的亚末端是性别决定区域。第三张图谱是利用简化基因组测序方法构建的基于SNP标记的图谱,这张图谱辅助了基因组拼接过程^[52],但是仍然有25%的测序序列未能组装到基因组上。第四张图谱同样利用二倍体中华猕猴桃种内杂交群体建立遗传图谱,通过双酶切简化基因组测序识别出SNP位点和与限制性核酸内切酶识别位点相关的DNA(Restriction site Associated DNA, RAD)位点,并用其构建遗传图谱,辅助拼接了红阳参考基因组中未锚定的序列^[53]。第五张图谱是Zhang等^[34]、刘春燕^[54]利用RAD-seq技术构建了山梨猕猴桃和中华猕猴桃两张种间高密度遗传图谱,该图谱能将猕猴桃基因组

表1 猕猴桃遗传连锁图谱比较
Table 1 Comparison of genetic linkage map of kiwifruit

构建年份 Construction year	作图群体 Mapping parents	作图群体/代 Population/Generativ	标记类型 Markers mapping	标记数 Number of molecular markers		图谱长度 Total length of the map/ cM		连锁群 Number of Linkage groups		标记间平均距离 Mean distance between marks/cM		参考文献 Reference
				母本 Female	父本 Male	母本 Female	父本 Male	母本 Female	父本 Male	母本 Female	父本 Male	
				2001	中华猕猴桃 <i>A. chinensis</i> 'No.54.20' (2x) × 硬齿猕猴桃 <i>A. callosa</i> 'No.103' (2x)	F ₁	SSR, AFLP	203	143	1759	1104	
2009	中华猕猴桃 <i>A. chinensis</i> 'from Henan province' (2x) × 中华猕猴桃 <i>A. chinensis</i> 'from Guangxi province' (2x)	F ₁	SSR	464	365	2266	2078	29	29	5.12	6.18	[51]
2013	中华猕猴桃 <i>A. chinensis</i> 'Hongyang-MS-01' (2x) × 毛花猕猴桃 <i>A. eriantha</i> 'Jiangshanjiao' (2x)	F ₁	SNP	4301		5504		29		1.28		[52]
2015	中华猕猴桃 <i>A. chinensis</i> 'C8' (2x) × 中华猕猴桃 <i>A. chinensis</i> 'A54.19' (2x)	F ₁	SSR, SNP	6371	6244	3614	3276	29	29	0.58	0.51	[53]
2015	山梨猕猴桃 <i>A. rufa</i> 'MT570001' (2x) × 中华猕猴桃 <i>A. chinensis</i> 'Guihai 4' (2x)	F ₁	SNP	2426	4214	2651	3142	29	29	1.09	0.75	[34, 54]
2017	中华猕猴桃 <i>A. chinensis</i> 'QS1A' (2x) × 中华猕猴桃 <i>A. chinensis</i> 'CG1A' (2x)	F ₁	SNP	4112		3822		29		0.93		[55]
2019	中华猕猴桃 <i>A. chinensis</i> 'Hort16A' (2x) × 中华猕猴桃 <i>A. chinensis</i> 'P1' (2x)	F ₁	SNP	3777	3454	3499	3875	29		0.93	1.12	[56]
2020	中华猕猴桃 <i>A. chinensis</i> 'P1' (4x) × 中华猕猴桃 <i>A. chinensis</i> 'P2' (4x)	F ₁	SNP	39 322		3350		29				[57]
2021	美味猕猴桃 <i>A. chinensis</i> var. <i>deliciosa</i> 'ZE' (6x) × 美味猕猴桃 <i>A. chinensis</i> var. <i>deliciosa</i> '28' (6x)	F ₁	SNP	3686	3940	14 957	10 869	183	176	4.6	5.8	[58]
2021	中华猕猴桃 <i>A. chinensis</i> 'CK' (4x) × 黑蕊猕猴桃 <i>A. melanandra</i> 'ME' (4x)	F ₂	SNP	7568	6062	8139	5747	157	90			[59]

草图中无法组装的440个Scaffold锚定到基因组上,极大地提高了基因组组装水平。第六、七张图谱都是在二倍体中华猕猴桃种内杂交群体中,利用SNP标记构建的遗传连锁图谱,Liu等^[55]将构建的图谱与参考基因组进行比对分析,发现母本图谱与参考基因组图谱之间存在高度保守性,Tahir等^[56]将构建的图谱用于后续抗溃疡病相关的QTL定位。

随着猕猴桃遗传图谱构建的深入研究,近年来,逐步开始构建多倍体猕猴桃的高密度遗传图谱。Tahir等^[57]首次利用四倍体中华猕猴桃P1×P2为材料在杂合多倍体猕猴桃中建立了高密度SNP图谱,并表明四倍体猕猴桃多数连锁群为多倍体遗传特点、少数连锁群为二倍体遗传特点,符合节段

性异源多倍体的特征。Popowski等^[58]以六倍体美味猕猴桃(*A. deliciosa*)ZE×28杂交群体为材料,利用序列基因分型技术(GBS技术)和SNP标记构建出六倍体美味猕猴桃的高密度遗传连锁图谱,用于后续果实性状的QTL定位;母本图谱中在29条染色体中的17条上拥有6个连锁群,与预期的6个同源染色体对应,在父本图谱中29条染色体中的25条有6个同源染色体。最近,Macnee等^[59]先利用四倍体黑蕊猕猴桃(*A. melanandra*)与四倍体中华猕猴桃杂交获取F₁子代,再从中选出雌株与四倍体中华猕猴桃进行回交,并在回交群体中分别利用7568和6062个SNP标记构建出母本和父本的遗传图谱,最后进行了果实性状相关的QTL定位研究。

3 猕猴桃遗传图谱构建的 QTL 定位应用

遗传图谱的应用主要是在 QTL 的定位和分析、分子标记辅助育种、图位克隆、比较基因组研究等方面。目前,国内外猕猴桃 QTL 的定位和分析主要体现在猕猴桃的生长发育特性、细菌性溃疡病抗性和果实品质形成等研究方面。

3.1 在生长发育特性方面的应用

目前,雌雄异株植物的进化研究建立了“两突变”理论模型^[60-61],并得到了广泛认可,但人们对性别相关特定基因进化过程仍知之甚少。Akagi 等^[62]从山梨猕猴桃和中华猕猴桃种间杂交 F₁ 代群体中定位到一个猕猴桃性别决定基因 C 类型的细胞分裂素响应调节因子 (type-C cytokinin response regulator), 该基因是心皮发育的显性抑制基因, 名为 *Shy Girl* (*Sy-GI*); 该基因定位于 Y 染色体特异区域, 其特异性复制和随后顺式元件的演化在猕猴桃性别决定基因的获取中具有重要作用。之后, Akagi 等^[63]又定位到第二个 Y 编码的性别决定基因, 将其命名为 *Friendly Boy* (*FrBy*), 该基因用于维持雄性功能, 且独立于 *Sy-GI* 基因; Y 染色体编码的 *SyGI* 和 *FrBy* 在猕猴桃性别发育中, 分别作为雌性化抑制因子和雄性化维持因子独立发挥作用, 这为猕猴桃雌雄同株育种提供了一种新思路。

在前述二倍体猕猴桃研究基础上, Tahir 等^[57]利用四倍体猕猴桃群体雌雄花的表型数据, 成功定位到一个与性别关联度较高的 QTL, 位于 LG25 上臂 9.1 cM, 同时, 在 Y 染色体上识别到一个雄性特异区域, 该区域此前在二倍体猕猴桃研究中已被定位到 25 号连锁群 Y 染色体上, 目前该区域被用于性别早期预测。

3.2 在细菌性溃疡病抗性方面的应用

猕猴桃细菌性溃疡病是由丁香假单胞菌 (PSA) 引起的病害, 国内外很多猕猴桃产区均有发生, 目前最根本的预防手段是进行高抗品种选育。Tahir 等^[56]采用中华猕猴桃高感 PSA 的品种 Hort16A 与抗性优系 P1 杂交建立 F₁ 代群体, 通过高密度遗传图谱和强化表型分析法, 在 Hort16A 的 LG27 上定位到一个控制 PSA 抗性的主效 QTL, 并在该位点上发现了敏感性和抗性的候选等位基因, 在 P1 图谱中共定位到 6 个微效 QTLs, 分别位于 LG3、14、15、22、24 和 28

上; 验证了 4 个 QTLs (LG27、14、22、28) 的互作效应, 表明 Hort16A 和 P1 QTL 的加性效应增强了 F₁ 代的抗性。最近 Tahir 等^[57]进一步在四倍体群体中进行了 PSA 抗性相关的 QTL 定位, 采用中华猕猴桃中抗 PSA 的优系 P1 为母本与高抗优系 P2 杂交建立的 F₁ 代群体, 构建出一张四倍体种内杂交图谱, 定位到 4 个田间抗 PSA 的 QTLs, 分别位于图谱 LG1、2、4 和 LG7; 通过对这些 QTL 贡献的分析, 表明高抗亲本 P2 有 3 个与抗 PSA 有关的 QTLs, 分别位于 LG1、4、7 上, 而抗性弱的 P1 在 LG2 上也有一个与 PSA 抗性相关的微效 QTL; 此前研究表明, 二倍体中华猕猴桃中定位的抗 PSA 的 QTL 位于 PSA 敏感品种 Hort16A 的 LG27 上^[56], 这表明敏感亲本的等位基因对 PSA 抗性有不同程度的作用, 但在四倍体中华猕猴桃中定位的 PSA 抗性 QTL 与二倍体材料中定位的区域没有重叠, 表明四倍体中华猕猴桃中 PSA 抗性的起源与猕猴桃属中任何共同原始基因位点无关; 进一步评估了 QTL 组合的加性效应, 表明定位到的 4 个 QTLs 在子代中联合作用可对 PSA 抗性提供更强大的数量效应。

3.3 在果实品质形成方面的应用

以果实为主要经济产品的猕猴桃, 果实的风味和品质尤为重要, 传统育种通过对成熟果实植物学、生物学等性状的调查分析达到筛选优良株系的目的。随着分子标记的发展和遗传图谱的完善, 可以将果实的表型数据与基因型数据相结合, 通过 QTL 定位技术, 直接从分子水平找到控制优良果实性状的目的基因, 从而提高育种效率和准确性。刘春燕^[54]利用中华猕猴桃和山梨猕猴桃杂交 F₁ 代群体, 构建了两张亲本高密度遗传图谱后, 对单果质量、果实纵横径以及果糖、葡萄糖、苹果酸、奎宁酸、柠檬酸含量等 12 个果实性状进行了调查和检测, 并结合基因型数据, 利用区间作图法对上述性状进行了 QTL 定位, 在山梨猕猴桃图谱中检测到 44 个 QTL 位点, 中华猕猴桃图谱中检测到 57 个 QTL 位点, 但遗憾的是定位的 QTL 都是微效 QTL, 未定位出主效的 QTL 位点。成熟的猕猴桃散发出香气是由萜类物质挥发所造成, Zeng 等^[64]在二倍体中华猕猴桃种内杂交群体中, 利用 QTL 定位技术在图谱 LG27 和 LG29a 上定位到 2 个与萜类物质产生相关的 QTL, 其中 LG29a 上的 QTL 位点与一个复杂的萜类合成酶 (TPS) 编码基因簇重合, 该研究采用感官描述的判

别分析方法在二倍体中华猕猴桃中定位到与萜类物质产生相关的QTL,为利用分子标记辅助选择育种改善猕猴桃风味提供了合理的方法和途径。

Popowski等^[58]在六倍体美味猕猴桃种内杂交群体中,构建出双亲高密度连锁图谱,并在此基础上对单株产量、单果质量、果实硬度及干物质含量进行了QTL定位;共检测到8个与果实品质相关的QTL,其中2个来自母本(其中LG5上与单果质量相关、LG6上与干物质含量相关),6个来自父本(其中LG5、6、20上与单株产量相关,LG13上与单果质量相关,LG24上与干物质含量相关,LG15上与果实硬度相关);这是首次在六倍体猕猴桃群体中构建连锁图谱并进行QTL定位,证明了利用GBS技术在六倍体群体中进行QTL定位方法的可行性,为后续多倍体猕猴桃群体遗传研究提供了借鉴。

猕猴桃属于浆果,果实外果皮性状对其抗性、货架期及贮藏性能极为重要。大多数猕猴桃外果皮由生活细胞组成,被一层由角质素组成的蜡质角质层所覆盖,而有的由单层木栓细胞组成的周皮,周皮是取代活性表皮的次生保护组织。为研究猕猴桃果皮类型的遗传特性,Macnee等^[59]以正常表皮的黑蕊猕猴桃为父本与具有周皮层的中华猕猴桃为母本杂交获得了F₁子代,由于F₁代雌株果实全部具有正常活性表皮,因此,从F₁代中选出雌株与具有周皮的中华猕猴桃回交,得到了具有周皮与正常表皮分离的回交群体,并对回交群体进行果皮相关性状的QTL定位;在父母本图谱上定位到了全果活性表皮、全果周皮、角质层厚度、角质层覆盖率、褐变等性状相关的QTL,通过对果实表皮类型分离及QTL定位分析可知,猕猴桃果皮发育不仅受角质层强度的影响还和表皮的褐变倾向有关,两者为竞争关系,坚硬的角质层可以抑制褐变,而强烈的褐变倾向可以形成连续的周皮层;另外,还对果皮被毛数量和密度、果实长度等相关性状进行了QTL定位。该项研究是目前在猕猴桃果实性状方面完成度最高的QTL定位研究,摸清了猕猴桃果皮类型的遗传规律及分子机制,并找到一个控制褐斑产生的候选基因,证明了与猕猴桃果实周皮形成相关的QTL与褐斑形成相关,也与角质层强度相关。

4 展 望

目前在猕猴桃属植物中已经发现不少与育种目

标性状紧密连锁的分子标记,但有些标记的多态性仍然较低,并且之前的研究大都将目的基因的分子标记与育种工作分开进行,无法很好地应用于实践。今后应不断提高分子标记的稳定性和多态性,加大新型分子标记的开发力度,同时应将分子标记技术的开发与常规育种相结合进行,使其尽快服务于育种工作。

相较于大田作物而言,猕猴桃遗传连锁图谱的研究起步较晚,虽已构建了一些遗传图谱,但相比之下密度低、数量少,并且构建成本较高。其中影响图谱质量的主要因素为作图群体的类型,猕猴桃染色体基数大、倍性复杂、杂合度高、世代周期长,雌雄异株而且雄株性状早期不可预见,因此构建高层次、数量较大且亲本间差异较为适合的作图群体较为困难。今后应注重雄株性状早期预判研究并应用于杂交父本选择,同时将杂交育种与图谱构建相结合,针对猕猴桃属植物特点,大规模开发具有自主知识产权的分子标记,以建立密度高、分布均匀、实用价值高的猕猴桃分子标记连锁图谱。

目前常用的基因分型平台有测序和基因芯片。基因芯片只能检测已知的序列特征,是一个“封闭”的系统;高通量DNA测序可以发现和寻找新的信息,是一个“开放”的系统。但基因芯片杂交结果快速、直观,目前已经拥有完整的标准化流程,可以检测多倍体基因型的拷贝剂量,短时间内可对大量样品进行检测。因此,今后可将两种优势互补的高通量方法联合利用,以解决目前多倍体猕猴桃基因分型难的问题,为高效构建遗传连锁图谱提供技术支撑。

近年来分子标记技术的发展为深入研究数量性状的遗传规律创造了条件,但客观讲目前关于猕猴桃数量性状的系统性研究仍处于探索阶段。除群体构建的因素,最主要的原因就是对于多倍体猕猴桃现有的作图分析方法和定位到的QTL位点不够准确,目前基于线性模型计算出的数量性状基因表达能力不够完整,即某一数量性状实际可能是多个性状的综合表现。针对上述问题,今后一段时间猕猴桃QTL研究的主要内容应该包括:选择更合理的数学遗传模型来进行QTL作图分析,开展QTL精细定位与基因测序、克隆、功能验证相结合等等。

参考文献 References:

- [1] LI J Q, LI X W, SOEJARTO D D. A revision of the genus *Actin-*

- idia* from China[C]. *Acta Horticulturae*, 2007, 753(1):41-44.
- [2] WARRINGTON I J, WESTON G C. *Kiwifruits: science and management*[M]. Auckland: Ray Riehards Publisher, 1990: 183-204.
- [3] 齐秀娟, 郭丹丹, 王然, 钟云鹏, 方金豹. 我国猕猴桃产业发展现状及对策建议[J]. *果树学报*, 2020, 37(5): 754-763.
- QI Xiujuan, GUO Dandan, WANG Ran, ZHONG Yunpeng, FANG Jinbao. Development status and suggestions on Chinese kiwifruit industry[J]. *Journal of Fruit Science*, 2020, 37(5): 754-763.
- [4] 徐小彪, 张秋明. 中国猕猴桃种质资源的研究与利用[J]. *植物学通报*, 2003, 20(6): 648-655.
- XU Xiaobiao, ZHANG Qiuming. Researches and utilizations of germplasm resource of kiwifruit in China[J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2003, 20(6): 648-655.
- [5] 李作洲. 猕猴桃属植物的分子系统学研究[D]. 武汉: 中国科学院研究生院(武汉植物园), 2006.
- LI Zuozhou. Molecular phylogeny of the genus *Actinidia* based on nuclear DNA genetic markers and cytoplasm DNA sequence analysis[D]. Wuhan: Chinese Academy of Sciences(Wuhan Botanical Garden), 2006.
- [6] 卢立媛, 刘振盼, 孙阳, 张永华, 尤文忠. 软枣猕猴桃研究进展[J]. *特产研究*, 2020, 42(5): 89-93.
- LU Liyuan, LIU Zhenpan, SUN Yang, ZHANG Yonghua, YOU Wenzhong. Research progress of kiwiberry[J]. *Special Wild Economic Animal and Plant Research*, 2020, 42(5): 89-93.
- [7] 张敏, 王贺新, 娄鑫, 赵丽娜, 闫东玲. 世界软枣猕猴桃品种资源特点及育种趋势[J]. *生态学杂志*, 2017, 36(11): 3289-3297.
- ZHANG Min, WANG Hexin, LOU Xin, ZHAO Lina, YAN Dongling. The development status and breeding trend of hardy kiwifruit cultivars in the world[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2017, 36(11): 3289-3297.
- [8] 朱德威, 陈庆富. 普通小麦遗传图谱研究现状与展望[J]. *种子*, 2010, 29(3): 64-69.
- ZHU Dewei, CHEN Qingfu. Status and prospect of common wheats' genetic maps[J]. *Seed*, 2010, 29(3): 64-69.
- [9] 张校立, 艾沙江·买买提, 薛华柏, 闫鹏, 王继勋. 梨遗传连锁图谱研究进展[J]. *果树学报*, 2018, 35(S1): 1-8.
- ZHANG Xiaoli, Aishajiang · Maimaiti, XUE Huabai, YAN Peng, WANG Jixun. Recent advances in research on the genetic linkage maps in pears[J]. *Journal of Fruit Science*, 2018, 35(S1): 1-8.
- [10] 邹自征, 陈建华, 栾明宝, 郭劲霞, 王超, 王晓飞, 许英, 孙志民. 应用 RSAP、SRAP 和 SSR 分析苧麻种质亲缘关系[J]. *作物学报*, 2012, 38(5): 840-847.
- ZOU Zizheng, CHEN Jianhua, LUAN Mingbao, GUO Jinxia, WANG Chao, WANG Xiaofei, XU Ying, SUN Zhimin. Genetic relationship of ramie germplasm revealed by RSAP, SRAP, and SSR markers[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2012, 38(5): 840-847.
- [11] 董晓莉, 汤浩茹, 甘玲, 李明章. DNA 分子标记在猕猴桃上的应用[J]. *果树学报*, 2005, 22(6): 682-686.
- DONG Xiaoli, TANG Haoru, GAN Ling, LI Mingzhang. Advances in research on application of DNA molecular markers in *Actinidia*[J]. *Journal of Fruit Science*, 2005, 22(6): 682-686.
- [12] 郭丹丹. 软枣猕猴桃(*Actinidia arguta*)性别相关分子标记的开发及应用[D]. 北京: 中国农业科学院, 2019.
- GUO Dandan. Development and application of the sex-linked molecular markers in *Actinidia arguta*[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2019.
- [13] WEISING K, FUNG R W M, KEELING D J, ATKINSON R G, GARDNER R C. Characterisation of microsatellites from *Actinidia chinensis*[J]. *Molecular Breeding*, 1997, 3(2): 159-160
- [14] HUANG W G, CIPRIANI G, MORGANTE M, TESTOLIN R. Microsatellite DNA in *Actinidia chinensis*: isolation, characterisation, and homology in related species[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1998, 97(8): 1269-1278.
- [15] 郑轶琦, 李作洲, 黄宏文. 猕猴桃品种 SSR 分析的初步研究[J]. *武汉植物学研究*, 2003, 21(5): 444-448.
- ZHENG Yiqi, LI Zuozhou, HUANG Hongwen. Preliminary study on SSR analysis in kiwifruit cultivars[J]. *Journal of Wuhan Botanical Research*, 2003, 21(5): 444-448.
- [16] 姜春芽, 徐小彪, 廖娇, 辜青青, 刘善军, 陈金印. 基于 EST 的猕猴桃 SSR 标记的建立[J]. *果树学报*, 2010, 27(4): 622-625.
- JIANG Chunya, XU Xiaobiao, LIAO Jiao, GU Qingqing, LIU Shanjun, CHEN Jinyin. Establishment of SSR markers based on EST database from *Actinidia*[J]. *Journal of Fruit Science*, 2010, 27(4): 622-625.
- [17] 王丹丹, 张彦文. 软枣猕猴桃栽培品种 DNA 指纹图谱的构建及遗传多样性分析[J]. *东北师大学报(自然科学版)*, 2017, 49(3): 104-111.
- WANG Dandan, ZHANG Yanwen. Establishment of DNA fingerprinting and analysis of genetic diversity among *Actinidia arguta* cultivars[J]. *Journal of Northeast Normal University(Natural Science Edition)*, 2017, 49(3): 104-111.
- [18] 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.
- [19] 邹梁峰, 廖光联, 李西时, 黄春辉, 钟敏, 陶俊杰, 曲雪艳, 徐小彪. 72 份猕猴桃种质基于 SSR 标记的聚类分析及指纹图谱构建[J]. *中国南方果树*, 2019, 48(1): 83-88.
- ZOU Liangfeng, LIAO Guanglian, LI Xishi, HUANG Chunhui, ZHONG Min, TAO Junjie, QU Xueyan, XU Xiaobiao. Cluster analysis and fingerprinting of 72 kiwifruit germplasm based on SSR markers[J]. *South China Fruits*, 2019, 48(1): 83-88.
- [20] 邹游, 丁建, 申瑛, 赵建, 杨志荣, 吴成. 11 个猕猴桃品种间的遗传多样性分析[J]. *应用与环境生物学报*, 2007, 13(2): 172-

175.
ZOU You, DING Jian, SHEN Ying, ZHAO Jian, YANG Zhirong, WU Cheng. Analysis of random amplified polymorphic DNA in 11 *Actinidia* varieties[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2007, 13(2):172-175.
- [21] 陈延惠,李洪涛,朱道圩,胡青霞,萧蓉萍,薛淑丽,李静. RAPD 分子标记在猕猴桃种质资源鉴定上的应用[J]. 河南农业大学学报, 2003, 37(4):360-364.
CHEN Yanhui, LI Hongtao, ZHU Daoyu, HU Qingxia, XIAO Rongping, XUE Shuli, LI Jing. Application of RAPD molecular marker on identification of germplasm resources in *Actinidia*[J]. Journal of Henan Agricultural University, 2003, 37(4):360-364.
- [22] 龚俊杰. 猕猴桃属植物 AFLP 分析及其系统发育关系的研究[D]. 武汉:华中农业大学, 2003.
GONG Junjie. Phylogenetic relationships among taxa of the genus *Actinidia* based on AFLP marks[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2003.
- [23] 陈华. AFLP 及其在猕猴桃种质鉴别与分类上的应用[J]. 肇庆学院学报, 2007, 28(5):60-63.
CHEN Hua. AFLP and its application in germplasm identification and classification of *Actinidia*[J]. Journal of Zhaoqing University, 2007, 28(5):60-63.
- [24] 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 Xiujian, 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.
- [25] 邹游,黄敏,侯若彤,吴成,杨志荣. ISSR 标记技术在猕猴桃遗传研究中的运用[J]. 西南师范大学学报(自然科学版), 2008, 33(1):111-115.
ZOU You, HUANG Min, HOU Ruotong, WU Cheng, YANG Zhirong. Analysis on inter-simple sequence repeats in 14 *Actinidia* varieties[J]. Journal of Southwest China Normal University (Natural Science Edition), 2008, 33(1):111-115.
- [26] 王卫. 猕猴桃遗传多样性的 SRAP 分析及 GPX 和 cAPX 基因片段的克隆[D]. 福州:福建师范大学, 2013.
WANG Wei. Using SRAP markers to analyze genetic diversity of kiwifruit and cloning the gene of GPX and cAPX[D]. Fuzhou: Fujian Normal University, 2013.
- [27] 张安世,司清亮,齐秀娟,张中海. 猕猴桃种质资源的 SRAP 遗传多样性分析及指纹图谱构建[J]. 江苏农业学报, 2018, 34(1):138-144.
ZHANG Anshi, SI Qingliang, QI Xiujian, ZHANG Zhonghai. Genetic diversity and fingerprints of *Actinidia* germplasm resource based on SRAP markers[J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 2018, 34(1):138-144.
- [28] 井赵斌,徐明,雷玉山. 猕猴桃 SRAP-PCR 体系的建立及品种资源亲缘关系研究[J]. 园艺学报, 2016, 43(2):337-346.
JING Zhaobin, XU Ming, LEI Yushan. Construction and application of SRAP-PCR system to analyze genetic relationship of *Actinidia*[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2016, 43(2):337-346
- [29] 周锦,刘义飞,黄宏文. 基于 EST 数据库进行 SNP 分子标记开发的研究进展及在猕猴桃属植物中的应用研究[J]. 热带亚热带植物学报, 2011, 19(2):184-194.
ZHOU Jin, LIU Yifei, HUANG Hongwen. Progress on development of EST derived SNP markers and its applications in *Actinidia chinensis* species complex[J]. Journal of Tropical and Subtropical Botany, 2011, 19(2):184-194.
- [30] 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.
- [31] LI H L. A taxonomic review of the genus *Actinidia*[J]. Journal of the Arnold Arboretum, 1952, 33(1):1-61.
- [32] HARVEY C F, GILL G P, FRASER L G, MCNELIAGE M A. Sex determination in *Actinidia*. 1. Sex-linked markers and progeny sex ratio in diploid *A. chinensis*[J]. Sexual Plant Reproduction, 1997, 10(3):149-154.
- [33] GILL G P, HARVEY C F, GARDNER R C, FRASER L G. Development of sex-linked PCR markers for gender identification in *Actinidia*[J]. Theoretical and Applied Genetics, 1998, 97(3):439-445.
- [34] ZHANG Q, LIU C Y, LIU Y F, VANBUREN R, YAO X H, ZHONG C H, HUANG H W. High-density interspecific genetic maps of kiwifruit and the identification of sex-specific markers[J]. DNA Research, 2015, 22(5):367-375.
- [35] 郭丹丹,钟云鹏,方金豹,黄武权,任建杰,齐秀娟. 猕猴桃性别分子标记在软枣猕猴桃中的通用性验证[J]. 果树学报, 2019, 36(5):549-556.
GUO Dandan, ZHONG Yunpeng, FANG Jinbao, HUANG Wuquan, REN Jianjie, QI Xiujian. Validation of kiwifruit sex molecular markers in *Actinidia arguta*[J]. Journal of Fruit Science, 2019, 36(5):549-556.
- [36] 徐小彪,姜春芽,廖娇,辜青青,刘善军,陈金印. 中华猕猴桃矮型性状 EST-SSR 连锁标记的筛选[J]. 园艺学报, 2010, 37(4):553-558.
XU Xiaobiao, JIANG Chunya, LIAO Jiao, GU Qingqing, LIU Shanjun, CHEN Jinyin. Screening of EST-SSR marker linked to dwarf character in *Actinidia chinensis* planch[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2010, 37(4):553-558.
- [37] 易盼盼,樊红科,雷玉山,王飞. 猕猴桃抗溃疡病基因连锁 SSR 分子标记初步研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2015, 43(4):91-98.
YI Panpan, FAN Hongke, LEI Yushan, WANG Fei. Preliminary study on SSR marker of gene linkage against *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*[J]. Journal of Northwest A&F University

- (Natural Science Edition), 2015, 43(4):91-98.
- [38] 汤佳乐, 吴寒, 郎彬彬, 曲雪艳, 黄春辉, 徐小彪. 野生毛花猕猴桃叶片和果实 AsA 含量的 SSR 标记关联分析[J]. 园艺学报, 2014, 41(5):833-840.
TANG Jiale, WU Han, LANG Binbin, QU Xueyan, HUANG Chunhui, XU Xiaobiao. Association analysis on leaf and fruit AsA content and SSR markers of wild *Actinidia eriantha*[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2014, 41(5):833-840.
- [39] 孙世航, 林苗苗, 齐秀娟, 孙雷明, 钟云鹏, 方金豹. 应用 InDel 标记进行软枣猕猴桃杂交子代真实性鉴定[J]. 果树学报, 2018, 35(1):32-37.
SUN Shihang, LIN Miaomiao, QI Xiujian, SUN Leiming, ZHONG Yunpeng, FANG Jinbao. Application of InDel markers on progeny identification in *Actinidia arguta*[J]. *Journal of Fruit Science*, 2018, 35(1):32-37.
- [40] 郑成超, 温孚江. DNA 分子标记技术与作物品种纯度鉴定[J]. 山东农业大学学报, 1997, 28(4):499-505.
ZHENG Chengchao, WEN Fujiang. Application prospects of DNA molecular markers in identifying the purity of crop seeds[J]. *Journal of Shandong Agricultural University*, 1997, 28(4): 499-505.
- [41] 辛景树, 郭景伦, 张软斌. 几种常用分子标记技术在种子纯度和品种真实性鉴定方面的比较与分析[J]. 种子, 2005, 24(1): 58-60.
XIN Jingshu, GUO Jinglun, ZHANG Ruanbin. Comparison and analysis of several commonly used molecular marker techniques for seed purity and varietal authenticity identification[J]. *Seed*, 2005, 24(1):58-60.
- [42] 王丹丹, 杨东霞. 8 种软枣猕猴桃种质纯度鉴定[J]. 西北农业学报, 2016, 25(11): 1656-1662.
WANG Dandan, YANG Dongxia. Purity research and analysis of eight *Actinidia arguta* cultivars[J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2016, 25(11):1656-1662.
- [43] 中华人民共和国农业农村部. 中华猕猴桃品种鉴定 SSR 分子标记法. NY/T 3639—2020[S]. 北京: 中国农业出版社, 2020.
Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China. Identification of *Actinidia chinensis* cultivars using SSR markers method. NY/T 3639—2020[S]. Beijing: China Agriculture Press, 2020.
- [44] 王霖. 小麦遗传连锁图谱构建及主要农艺和品质性状 QTL 定位[D]. 泰安: 山东农业大学, 2012.
WANG Lin. Construction of wheat molecular genetic map and QTL analysis for agronomic and quantity traits[D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2012.
- [45] 张坤普. 小麦分子遗传图谱的构建及数量性状基因定位[D]. 泰安: 山东农业大学, 2008.
ZHANG Kunpu. Construction of wheat molecular genetic map and QTL analysis[D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2008.
- [46] 方宣钧, 吴为人, 唐纪良. 作物 DNA 标记辅助育种[M]. 北京: 科学出版社, 2000, 30-55.
FANG Xuanjun, WU Weiren, TANG Jiliang. Crop DNA marker trapping for breeding[M]. Beijing: Science Press, 2000, 30-55.
- [47] 周元昌, 陈启锋, 吴为人, 李维明. 作物 QTL 定位研究进展[J]. 福建农业大学学报, 2000, 29(2): 138-144.
ZHOU Yuanchang, CHEN Qifeng, WU Weiren, LI Weiming. A review of QTL research in crops[J]. *Journal of Fujian Agricultural University*, 2000, 29(2):138-144.
- [48] MCCOUCH S R, KOCHERT G, YU Z H, WANG Z Y, KHUSH G S, COFFMAN W R, TANKSLEY S D. Molecular mapping of rice chromosomes[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1988, 76(6):815-829.
- [49] WU J Z, MAEHARA T, SHIMOKAWA T, YAMAMOTO S, HARADA C, TAKAZAKI Y, ONO N, MUKAI Y, KOIKE K, YAZAKI J, FUJII F, SHOMURA A, ANDO T, KONO I, WAKI K, YAMAMOTO K, YANO M, MATSUMOTO T, SASAKI T. A comprehensive rice transcript map containing 6591 expressed sequence tag sites[J]. *Plant Cell*, 2002, 14(3):525-535.
- [50] TESTOLIN R, HUANG W G, LAIN O, MESSINA R, VECCHIONE A, CIPRIANI G. A kiwifruit (*Actinidia* spp.) linkage map based on microsatellites and integrated with AFLP markers[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2001, 103(1):30-36.
- [51] FRASER L G, TSANG G K, DATSON P M, SILVA H N D, HARVEY C F, GILL G P, CROWHURST R N, MCNEILAGE M A. A gene-rich linkage map in the dioecious species *Actinidia chinensis* (kiwifruit) reveals putative X/Y sex-determining chromosomes[J]. *BMC Genomics*, 2009, 10(1):102.
- [52] HUANG S X, DING J, DENG D J, TANG W, SUN H H, LIU D Y, ZHANG L, NIU X L, ZHANG X, MENG M, YU J E, LIU J, HAN Y, SHI W, ZHANG D F, CAO S Q, WEI Z J, CUI Y L, XIA Y H, ZENG H P, BAO K, LIN L, MIN Y, ZHANG H, MIAO M, TANG X F, ZHU Y Y, SUI Y, LI G W, SUN H J, YUE J Y, SUN J Q, LIU F F, ZHOU L Q, LEI L, ZHENG X Q, LIU M, HUANG L, SONG J, XU C H, LI J W, YE K Y, ZHONG S L, LU B R, HE G H, XIAO F M, WANG H L, ZHENG H K, FEI Z J, LIU Y S. Draft genome of the kiwifruit *Actinidia chinensis*[J]. *Nature Communications*, 2013, 4(4): 2640.
- [53] SCAGLIONE D, FORNASIERO A, PINTO C, CATTONARO F, SPADOTTO A, INFANTE R, MENESES C, MESSINA R, LAIN O, CIPRIANI G, TESTOLIN R. A RAD-based linkage map of kiwifruit (*Actinidia chinensis* Pl.) as a tool to improve the genome assembly and to scan the genomic region of the gender determinant for the marker-assisted breeding[J]. *Tree Genetics & Genomes*, 2015, 11(6):115.
- [54] 刘春燕. 猕猴桃种间高密度遗传图谱的构建及果实性状 QTLs 定位[D]. 武汉: 中国科学院研究生院(武汉植物园), 2016.
LIU Chunyan. Construction of high-density interspecific genetic maps and identification of QTLs for fruits in kiwifruit[D]. Wu-

- han: Chinese Academy of Sciences(Wuhan Botanical Garden), 2016.
- [55] LIU C Y, LI D W, ZHOU J H, ZHANG Q, TIAN H, YAO X H. Construction of a SNP-based genetic linkage map for kiwifruit using next-generation restriction-site-associated DNA sequencing (RADseq)[J]. *Molecular Breeding*, 2017, 37(11): 139.
- [56] TAHIR J, HOYTE S, BASSETT H, BRENDOLISE C, CHATTERJEE A, TEMPLETON K, DENG C, CROWHURST R, MONTEFIORI M, MORGAN E, WOTTON A, FUNNELL K, WIEDOW C, KNAEBEL M, HEDDERLEY D, VANNESTE J, MCCALLUM J, HOEATA K, NATH A, CHAGNÉ D, GEA L, GARDINER S E. Multiple quantitative trait loci contribute to resistance to bacterial canker incited by *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* in kiwifruit (*Actinidia chinensis*)[J]. *Horticulture Research*, 2019, 6(1): 101.
- [57] TAHIR J, BRENDOLISE C, HOYTE S, LUCAS M, THOMSON S, HOEATA K, MCKENZIE C, WOTTON A, FUNNELL K, MORGAN E, HEDDERLEY D, CHAGNÉ D, BOURKE P M, MCCALLUM J, GARDINER S E, GEA L. QTL Mapping for resistance to cankers induced by *Pseudomonas syringae* pv. *Actinidiae* (Psa) in a tetraploid *Actinidia chinensis* kiwifruit population[J]. *Pathogens*, 2020, 9(11): 967.
- [58] POPOWSKI E, THOMSON S J, KNÄBEL M, TAHIR J, CROWHURST R N, DAVY M, FOSTER T M, SCHAFFER R J, TUSTIN D S, ALLAN A C, MCCALLUM J, CHAGNÉ D. Construction of a high-density genetic map for hexaploid kiwifruit (*Actinidia chinensis* var. *deliciosa*) using genotyping by sequencing[J]. *G3-Genes|Genomes|Genetics*, 2021, 11(7): 142.
- [59] MACNEE N, HILARIO E, TAHIR J, CURRIE A, WARREN B, REBSTOCK R, HALLETT I C, CHAGNÉ D, SCHAFFER R J, BULLEY S M. Peridermal fruit skin formation in *Actinidia* sp. (kiwifruit) is associated with genetic loci controlling russetting and cuticle formation[J]. *BMC Plant Biology*, 2021, 21(1): 334.
- [60] CHARLESWORTH B, CHARLESWORTH D. A model for the evolution of dioecy and gynodioecy[J]. *The American Naturalist*, 1978, 112(988): 975-997.
- [61] WESTERGAARD M. The mechanism of sex determination in dioecious flowering plants[J]. *Advances in Genetics*, 1958, 9: 217-281.
- [62] AKAGI T, HENRY I M, OHTANI H, MORIMOTO T, BEPPU K, KATAOKA I, TAO R. A Y-encoded suppressor of feminization arose via lineage-specific duplication of a cytokinin response regulator in kiwifruit[J]. *The Plant Cell*, 2018, 30(4): 780-795.
- [63] AKAGI T, PILKINGTON S M, VARKONYI-GASIC E, HENRY I M, SUGANO S S, SONODA M, FIRL A, MCNEILAGE M A, DOUGLAS M J, WANG T C, REBSTOCK R, VOOGD C, DATSON P, ALLAN A C, BEPPU K, KATAOKA I, TAO R. Two Y-chromosome-encoded genes determine sex in kiwifruit[J]. *Nature Plants*, 2019, 5(8): 801-809.
- [64] ZENG Y L, WANG M Y, HUNTER D C, MATICH A J, MCATEE P A, KNÄBEL M, HAMIAUX C, POPWSKI E A, JAEGER S R, NIEUWENHUIZEN N J, YAU K Y K, ATKINSON R G. Sensory-directed genetic and biochemical characterization of volatile terpene production in kiwifruit[J]. *Plant Physiology*, 2020, 183(1): 51-66.