

张安世, 司清亮, 齐秀娟, 等. 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.
doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2018.01.020

猕猴桃种质资源的 SRAP 遗传多样性分析及指纹图谱构建

张安世¹, 司清亮¹, 齐秀娟², 张中海¹

(1. 焦作师范高等专科学校理工学院, 河南 焦作 454000; 2. 中国农业科学院郑州果树研究所, 果树生长发育与品质控制重点开放实验室, 河南 郑州 450009)

摘要: 为探讨猕猴桃种质资源的遗传多样性, 利用 SRAP 标记对 32 份猕猴桃种质资源进行遗传多样性分析, 并构建其 DNA 指纹图谱。结果表明, 从 49 对 SRAP 引物中筛选出 12 对引物进行 PCR 扩增, 共扩增出 191 条带, 其中多态性条带 186 条, 多态性比率为 97.38%。各引物多态性信息含量 (PIC)、观测等位基因数 (N_a)、有效等位基因数 (N_e)、Nei's 基因多样性指数 (H) 和 Shannon's 信息指数 (I) 的平均值分别为 0.893 3、1.969 0、1.400 6、0.221 0 和 0.387 9, 说明 32 个猕猴桃品种 (系) 间具有较丰富的遗传多样性。分子方差分析 (AMOVA) 结果显示: 32 个猕猴桃种间遗传变异占总变异的 51.87%, 种内遗传变异占总变异的 48.13%。利用 UPGMA 构建 32 份猕猴桃种质资源的聚类树状图, 在遗传相似系数为 0.77 处可将 32 个猕猴桃品种 (系) 分为 4 组, 聚类结果与猕猴桃传统分类基本一致。利用 4 对引物扩增的 15 个多态性位点构建了 32 个猕猴桃品种 (系) 的 DNA 指纹图谱, 可以将 32 个猕猴桃品种 (系) 区分并准确鉴定。

关键词: 猕猴桃; SRAP 标记; DNA 指纹图谱; 遗传多样性

中图分类号: S663.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2018)01-0138-07

Genetic diversity and fingerprints of *Actinidia* germplasm resource based on SRAP markers

ZHANG An-shi¹, SI Qing-liang¹, QI Xiu-juan², ZHANG Zhong-hai¹

(1. School of Science, Jiaozuo Teachers College, Jiaozuo 454000, China; 2. Key Laboratory for Fruit Tree Growth, Development and Quality Control, Zhengzhou Fruit Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450009, China)

Abstract: In order to understand the genetic diversity of *Actinidia* germplasm, the genetic diversity of 32 *Actinidia* was analyzed based on SRAP markers, and the DNA fingerprints among them were constructed. The results showed that 12 pair of primers were screened from 49 SRAP primers and 191 SRAP bands were obtained, including 186 polymorphic bands, with a polymorphism rate of 97.38%. The average value of polymorphism information content (PIC), observed number of alleles (N_a), effective number of alleles (N_e), Nei's gene diversity (H) and Shannon's information index (I) were 0.893 3, 1.969 0, 1.400 6, 0.221 0 and 0.387 9, respectively, which indicating that there was comparatively great genetic diversity among 32 *Actinidia* cultivars. Analysis of molecular variance (AMOVA) indicated that 51.87% of total variability came among species level, while 48.13% came within species level. The cluster analysis conducted with UPGMA showed that 32 *Actinidia* cultivars were divided into four groups when the genetic similarity coefficient was 0.77, and the constructed phylogenetic trees based on SRAP were consistent with traditional classification of the *Actinidia*. The DNA fingerprints of 32

收稿日期: 2017-06-16

基金项目: 中国农业科学院科技创新工程专项经费项目 (CAAS-ASTIP-2015-ZFRI)

作者简介: 张安世 (1965-), 男, 河南博爱人, 硕士, 教授, 主要从事植物分子生物学研究。 (E-mail) aszhang1212@163.com

Actinidia cultivars were established with 15 sites from four pair of primers, and 32 *Actinidia* cultivars could be identified by SRAP fingerprints.

Key words: *Actinidia*; SRAP marker; DNA fingerprint; genetic diversity

猕猴桃(*Actinidia*)是多年生雌雄异株落叶藤本植物,是 20 世纪果树栽培史上人工驯化栽培最成功的果树之一^[1]。猕猴桃种类繁多,现有 54 个种和 21 个变种,共约 75 个分类群^[2],但生产上栽培品种多为美味猕猴桃和中华猕猴桃,软枣猕猴桃在中国部分地区也已开始商业栽培。猕猴桃栽培品种的大面积种植,导致了品种间遗传背景狭窄^[2],遗传资源多样性受到一定程度的破坏,再加上猕猴桃染色体倍性复杂,自然界种间杂交现象明显^[3],使得品种间产生各种不同变化,“同名异物”或“同物异名”现象时有发生,不利于猕猴桃种质资源的鉴定,因此,有必要对其遗传特性进行深入研究。

随着分子生物学的发展,新的分子标记技术不断被开发与应用,已经成为遗传领域重要的研究工具。相关序列多态性扩增(Sequence-related amplification polymorphism, SRAP)是由 Li 等^[4]开发的一种针对真核基因开放阅读框(Open reading frames, ORF)而扩增的新型分子标记技术。由于真核基因 ORF 本身可能是目的基因的一部分或与目的基因

紧密连锁,因而能有效对性状进行跟踪^[5]。SRAP 具有简便、快速、稳定等优点,现已广泛应用于植物遗传多样性分析、品种鉴定、遗传图谱绘制等研究^[6-10]。目前,SRAP 标记在猕猴桃种质资源研究上的应用仅有井赵斌等^[2]的报道,还未见到利用 SRAP 标记进行猕猴桃种质分子指纹构建的相关研究。本试验采用 SRAP 标记在对 32 份猕猴桃种质进行遗传多样性分析的基础上,进一步构建猕猴桃种质材料的 DNA 指纹图谱,为猕猴桃种质资源的保护、鉴定和新品种选育等提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料全部来源于中国农业科学院郑州果树研究所猕猴桃选种圃,包括应用于生产的 4 个种中的 32 份品种或优系材料(表 1)。所有材料均为 7 年树龄,每个品种随机选取 3 株,每株采集 2 片健康、幼嫩叶片,置于-80 ℃超低温冰箱保存备用。

表 1 供试猕猴桃材料

Table 1 *Actinidia* materials used in this study

编号	品种(系)	种	学名	编号	品种(系)	种	学名
1	徐香	美味猕猴桃	<i>A. deliciosa</i>	17	早金	中华猕猴桃	<i>A. chinensis</i>
2	金魁	美味猕猴桃	<i>A. deliciosa</i>	18	金艳	中华猕猴桃	<i>A. chinensis</i>
3	金魁♂	美味猕猴桃	<i>A. deliciosa</i>	19	琼浆	中华猕猴桃	<i>A. chinensis</i>
4	翠玉	中华猕猴桃	<i>A. chinensis</i>	20	豫皇 1 号	中华猕猴桃	<i>A. chinensis</i>
5	皖翠	美味猕猴桃	<i>A. deliciosa</i>	21	湘吉红	中华猕猴桃	<i>A. chinensis</i>
6	金硕	美味猕猴桃	<i>A. deliciosa</i>	22	红宝石星	软枣猕猴桃	<i>A. arguta</i>
7	中猕 2 号	美味猕猴桃	<i>A. deliciosa</i>	23	红宝石星♂	软枣猕猴桃	<i>A. arguta</i>
8	海艳	美味猕猴桃	<i>A. deliciosa</i>	24	软红	软枣猕猴桃	<i>A. arguta</i>
9	米良 1 号	美味猕猴桃	<i>A. deliciosa</i>	25	红贝	软枣猕猴桃	<i>A. arguta</i>
10	海沃德	美味猕猴桃	<i>A. deliciosa</i>	26	红贝♂	软枣猕猴桃	<i>A. arguta</i>
11	布鲁诺	美味猕猴桃	<i>A. deliciosa</i>	27	华红 1 号	软枣猕猴桃	<i>A. arguta</i>
12	红阳	中华猕猴桃	<i>A. chinensis</i>	28	华红 2 号	软枣猕猴桃	<i>A. arguta</i>
13	黄阳	中华猕猴桃	<i>A. chinensis</i>	29	魁绿	软枣猕猴桃	<i>A. arguta</i>
14	黄阳♂	中华猕猴桃	<i>A. chinensis</i>	30	桓优 1 号	软枣猕猴桃	<i>A. arguta</i>
15	晚红	中华猕猴桃	<i>A. chinensis</i>	31	华特♂	毛花猕猴桃	<i>A. eriantha</i>
16	楚红	中华猕猴桃	<i>A. chinensis</i>	32	华特	毛花猕猴桃	<i>A. eriantha</i>

1.2 猕猴桃叶片基因组 DNA 的提取

每个猕猴桃品种取 3 片不同植株的幼嫩叶片等

量混合,采用改良 CTAB 法^[11]提取猕猴桃幼嫩叶片基因组 DNA,所得 DNA 用紫外分光光度法和琼脂

糖凝胶电泳法检测其质量及完整性。将模板 DNA 浓度稀释至 20 ng/ μ l, 保存于 -20°C 备用。

1.3 SRAP-PCR 扩增反应

选用 49 对 SRAP 引物组合对供试材料进行扩增。反应体积 10.0 μ l, DNA 1.0 μ l, 正反引物各 0.7 μ l (引物浓度为 10 μ mol/L), $2\times\text{Taq}$ MasterMix 5.0 μ l (含有 Taq DNA Polymerase, $2\times\text{Taq}$ PCR Buffer, 3 mmol/L MgCl_2 和 400 μ mol/L dNTP mix), RNase-Free water 2.6 μ l。SRAP-PCR 扩增程序为: 94°C , 5 min; 94°C 1 min, 35°C 1 min, 72°C 1.5 min, 5 个循环; 94°C 1 min, 55°C 1 min, 72°C 1.5 min, 35 个循环; 72°C 7 min, 4°C 保存。扩增产物用 1.5% 琼脂糖凝胶分离。SRAP 引物采用张捷等^[12] 公布的引物序列 (包括 7 个正向引物 Me1~Me7 和 7 个反向引物 em1~em7), 由金唯智生物科技 (北京) 有限公司合成。 $2\times\text{Taq}$ MasterMix 和 RNase-Free water 购自北京康为世纪生物科技有限公司。

1.4 数据统计与分析

根据电泳结果统计扩增的条带, 以 1 和 0 的方式代表扩增条带的有和无, 构建 1,0 矩阵。

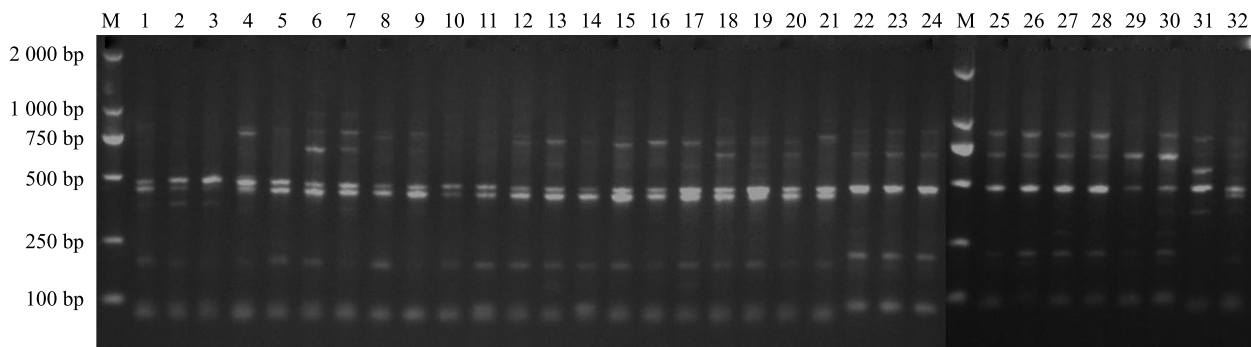
利用 POPGENE1.32 软件^[13] 进行遗传多样性参数分析, 计算多态性百分率 (PPL)、观测等位基因数 (N_a)、有效等位基因数 (N_e)、Nei's 基因多样性

(H)、Shannon's 多样性指数 (I)、基因流 (N_m) 和遗传分化系数 (G_{st}), 并通过 GenALEx6.5 软件^[14] 进行分子方差分析 (AMOVA)。参照黄秀等^[15] 方法计算引物多态性信息含量 (PIC), 用 NTSYS-pc 2.0 软件^[13] 构建 UPGMA 聚类图, 同时, 参照张林等^[16] 方法构建 34 个猕猴桃品种的 DNA 指纹图谱, 并通过 G:BOX-HR 凝胶成像系统中的 Genetool 软件计算各位点的分子量。

2 结果与分析

2.1 猕猴桃 SRAP 扩增与引物筛选

利用 7 个正向引物 (Me1~Me7) 与 7 个反向引物 (em1~em7) 两两配对, 组成 49 对 SRAP 引物组合, 以供试的 32 份猕猴桃材料对 49 对 SRAP 引物进行筛选, 最终筛选出条带清晰、多态性高的 12 对引物。所用引物序列及多态性统计结果见表 2。12 对引物共扩增出 191 个条带, 其中多态性条带 186 个, 多态性比率为 97.38%, 说明所选引物在 32 个猕猴桃品种 (系) 间具有很高的多态性。在被统计的 12 对引物中, 引物组合 Me3-em7 扩增的位点数最多, 为 19 个, 引物组合 Me6-em6 扩增的位点数最少, 为 12 个, 平均每对引物扩增的位点数为 15.92 个。引物组合 Me6-em6 的扩增结果见图 1。



M: 分子量标准; 1~32 供试猕猴桃材料见表 1。

图 1 引物组合 Me6-em6 对猕猴桃的 SRAP 扩增

Fig.1 The SRAP amplification of *Actinidia* with primer combination of Me6-em6

2.2 猕猴桃遗传多样性分析

通过 POPGENE1.32 软件分析得到各引物的遗传多样性参数 (表 2), 多态性信息含量 (PIC) 的变化范围为 0.864 9~0.917 0, 平均为 0.893 3; 观测等位基因数 (N_a) 的变化范围为 1.916 7~2.00 0, 平均为 1.969 0; 有效等位基因数 (N_e) 的变化范围为

1.299 4~1.563 6, 平均为 1.400 6; Nei's 基因多样性指数 (H) 的变化范围为 0.193 0~0.317 2, 平均值为 0.221 0; Shannon's 信息指数 (I) 的变化范围为 0.316 6~0.478 4, 平均值为 0.387 9。种间遗传分化系数 (G_{st}) 为 0.512 0, 表明在总遗传变异中有 51.20% 存在于种间, 48.80% 存在于种内。基因流

(N_m)为0.476 5,表明种间的遗传分化较高,基因交流频率较低。利用 GenALEx6.5 软件进行分子方差分析(AMOVA),结果(表3)表明,种间变异占总变异的51.87%,种内个体间变异占总变异的48.13%,与 POPGENE1.32 软件分析结果一致。上述结果表明,32 个猕猴桃品种(系)间存在较为丰富的遗传多样性。同时,利用 SPSS17.0 软件对4个主

要遗传多样性参数多态性信息含量(PIC)、有效等位基因数(N_e)、Nei's 基因多样性指数(H)和 Shannon's 信息指数(I)进行非参数 Kruskal Wallis Test 独立样本检验,结果显示,32 个猕猴桃品种(系)间遗传多样性水平存在显著性差异($P=0, <0.001$),表明上述分析得到的各参数值能很好地说明猕猴桃品种(系)间遗传多样性水平。

表2 SRAP 引物及其多态性

Table 2 SRAP primer used in this study and their polymorphism

引物组合	引物序列(5'→3')	<i>T</i>	<i>N</i>	<i>PPL</i> (%)	<i>PIC</i>	N_a	N_e	<i>H</i>	<i>I</i>
Me1-em4	TGAGTCCAAACCGGATA/GACTGCGTACGAATTTGA	14	14	100.00	0.867 7	1.973 8	1.394 7	0.234 8	0.371 4
Me3-em4	TGAGTCCAAACCGGAAT/GACTGCGTACGAATTTGA	16	16	100.00	0.906 7	2.000 0	1.371 7	0.243 1	0.392 5
Me3-em5	TGAGTCCAAACCGGAAT/TGAGTCCAAACCGGAAG	17	17	100.00	0.911 4	2.000 0	1.382 0	0.243 6	0.387 6
Me3-em6	TGAGTCCAAACCGGAAT/TGAGTCCAAACCGGTAG	17	16	94.12	0.907 8	1.941 2	1.428 9	0.259 4	0.404 8
Me3-em7	TGAGTCCAAACCGGAAT/GACTGCGTACGAATTATG	19	19	100.00	0.917 0	2.000 0	1.415 2	0.262 4	0.412 4
Me4-em2	TGAGTCCAAACCGGACC/GACTGCGTACGAATTTGC	14	13	92.86	0.864 9	1.928 6	1.358 7	0.211 9	0.328 8
Me4-em6	TGAGTCCAAACCGGACC/TGAGTCCAAACCGGTAG	15	15	100.00	0.905 2	2.000 0	1.563 6	0.317 2	0.478 4
Me4-em7	TGAGTCCAAACCGGACC/GACTGCGTACGAATTATG	18	18	100.00	0.886 4	2.000 0	1.299 4	0.193 0	0.316 6
Me5-em2	TGAGTCCAAACCGGAAG/GACTGCGTACGAATTTGC	13	12	92.31	0.871 0	1.923 1	1.405 2	0.249 9	0.389 9
Me5-em4	TGAGTCCAAACCGGAAG/GACTGCGTACGAATTTGA	18	17	94.44	0.905 0	1.944 4	1.345 3	0.226 3	0.363 4
Me6-em2	TGAGTCCAAACCGGTAG/GACTGCGTACGAATTTGC	18	18	100.00	0.892 9	2.000 0	1.332 1	0.210 6	0.342 5
Me6-em6	TGAGTCCAAACCGGTAG/GACTGCGTACGAATTGCA	12	11	91.67	0.883 3	1.916 7	1.510 6	0.309 0	0.466 5

T:位点总数;*N*:多态性位点数;*PPL*:多态性位点百分率;*PIC*:多态性信息含量; N_a :观测等位基因数; N_e :有效等位基因数;*H*: Nei's 基因多样性;*I*: Shannon 信息指数。

表3 基于 SRAP 标记的 32 个猕猴桃品种的分子方差分析

Table 3 Analysis of molecular variance (AMOVA) of 32 *Actinidia* cultivars based on SRAP marker

变异来源	自由度	平方和	均方	方差组成	方差比率(%)
种间	3	434.697	144.899	17.236	51.87
种内	28	447.740	15.991	15.991	48.13

2.3 32 份猕猴桃材料的聚类分析

利用 NTSYS-pc 软件计算品种(系)间的遗传相似系数(GS),结果表明,32 份猕猴桃材料两两间的 GS 在0.560 0至0.960 0之间,平均值为0.716 4,变幅为0.400 0,说明供试品种(系)间存在较大的遗传差异。其中金魁和金魁 δ 的 GS 最大(0.960 0),亲缘关系最近;海燕和桓优1号的 GS 最小(0.560 0),亲缘关系最远。

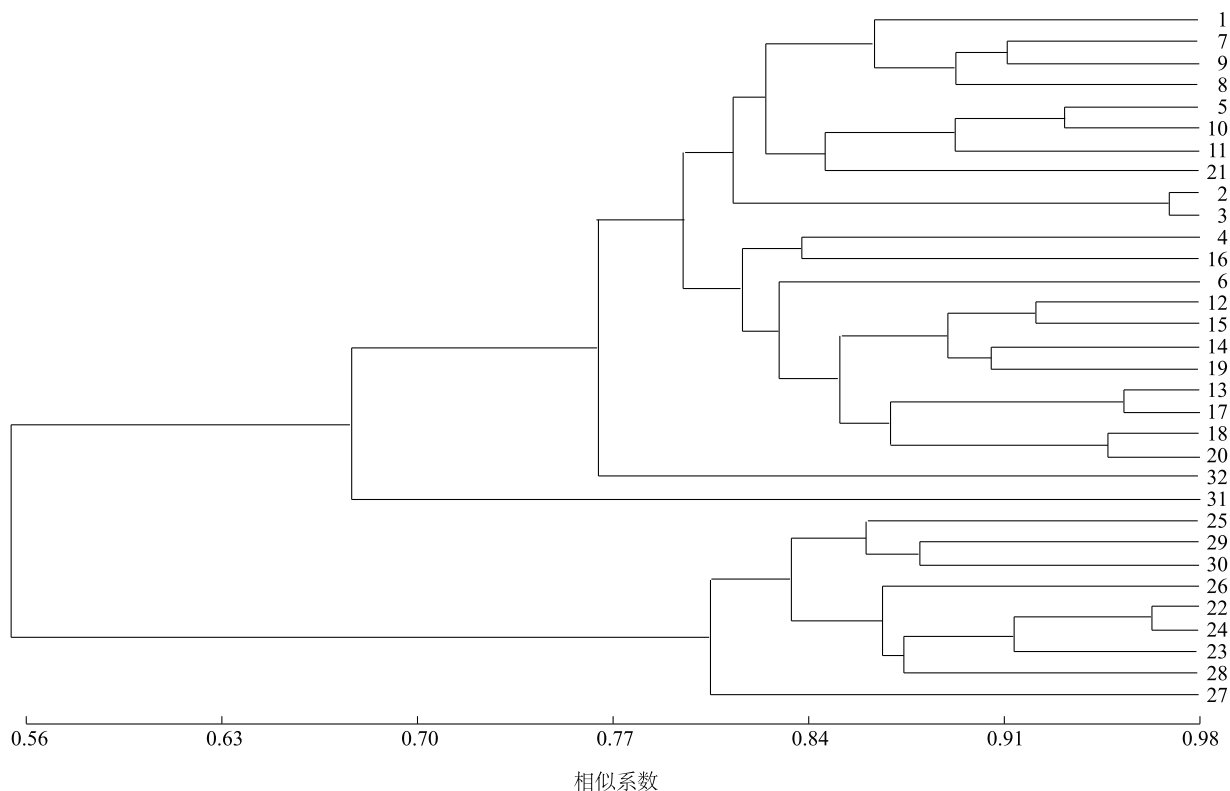
利用 NTSYS-pc 软件对32 份猕猴桃材料进行聚类分析。结果(图2)表明,在 GS 为0.77 处可将32

份猕猴桃材料分为4组。第1组包括21 份猕猴桃材料:徐香、中猕2号、米良1号、海燕、皖翠、海沃德、布鲁诺、湘吉红、金魁、金魁 δ 、翠玉、楚红、金硕、红阳、晚红、黄阳 δ 、琼浆、黄阳、早金、金艳和豫皇1号;第2组为华特;第3组为华特 δ ;第4组包括9 份猕猴桃材料:红贝、魁绿、桓优1号、红贝 δ 、红宝石星 δ 、软红、红宝石星、华红2号和华红1号。其中第1组又可分为2个小组,第1小组包括10 份猕猴桃材料:徐香、中猕2号、米良1号、海燕、皖翠、海沃德、布鲁诺、湘吉红、金魁和金魁 δ ;第2小组包括11 份猕猴桃材料:翠玉、楚红、金硕、红阳、晚红、黄阳 δ 、琼浆、黄阳、早金、金艳和豫皇1号。第1小组除湘吉红为中华猕猴桃外,其余均为美味猕猴桃,第2小组除金硕为美味猕猴桃外,其余均为中华猕猴桃。因此,在第1组内美味猕猴桃和中华猕猴桃2 大系列并未完全各自聚类,出现了少数品种(系)的互插现象。第2组和第3组的华特和华特 δ 均为毛花猕猴桃,两者也未聚为1个组。第4组的9个猕

猴桃品种(系)均为软枣猕猴桃系列。所以,该聚类结果与预期存在一定差异,但从整体上看该聚类结果与猕猴桃的传统分类基本吻合。

利用 POPGENE1.32 软件计算种间的遗传相似系数(GS)。结果表明,中华猕猴桃与美味猕猴桃亲

缘关系最近,GS 为0.968 4;毛花猕猴桃与中华猕猴桃、美味猕猴桃、软枣猕猴桃的 GS 分别为0.873 0、0.866 5和0.787 3。因此,相对于软枣猕猴桃,毛花猕猴桃与中华猕猴桃和美味猕猴桃的亲缘关系更近,与上述聚类结果基本一致。



1~32 材料编号见表 1。

图 2 基于 SRAP 标记的 32 份猕猴桃种质聚类图

Fig.2 Dendrogram of 32 *Actinidia* germplasm based on SRAP marker

2.4 32 份猕猴桃材料的 DNA 指纹图谱

在选定的 12 对 SRAP 引物中,利用其中 Me3-em4、Me3-em5、Me3-em7 和 Me4-em7 4 对引物扩增的 15 个多态性位点构建了 32 份猕猴桃材料的 DNA 指纹图谱(图 3)。每份材料都有唯一的指纹图谱,可以将 32 份猕猴桃材料区分并准确鉴定。

3 讨论

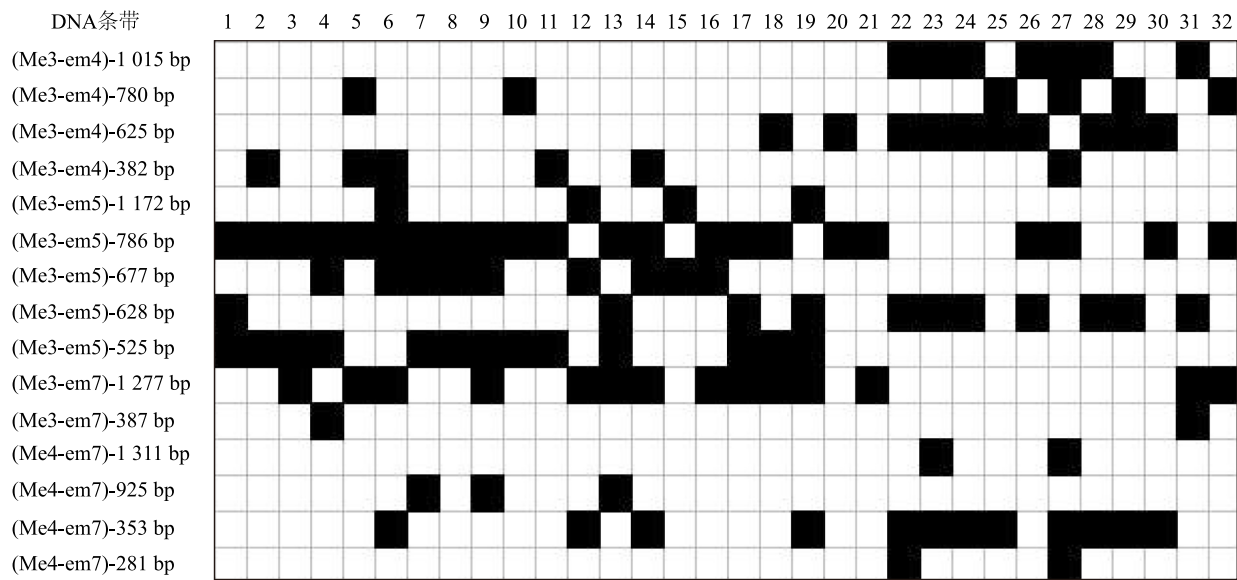
3.1 猕猴桃种质资源的遗传多样性

研究猕猴桃种质资源的 DNA 遗传变异是猕猴桃遗传改良和杂交育种的基础,可以为亲本选配和种质资源的保护提供指导。在遗传多样性研究中,多态性是评价遗传多样性的重要依据之一。在本研究中,利用 SRAP 标记分析 32 份猕猴桃种质资源,

结果表明,用于统计的 12 对引物共扩增出 191 个条带,多态性条带 186 个,多态性位点百分率(PPL 值)高达 97.38%,此结果略低于井赵斌等^[2]在猕猴桃中获得的 100%的检测结果,但高于前人利用其他分子标记在猕猴桃相关研究中的检测结果^[1,17-19],也与前人利用 SRAP 技术在其他植物中的研究结果^[12,20]一致。多态性信息量(PIC)也是衡量引物多态性信息量水平的重要指标^[21]。在本研究中,12 对 SRAP 引物的 PIC 平均值为 0.893 3,说明本试验筛选的引物具有很高的多态性,可以有效地用于猕猴桃的遗传多样性分析。同样,本研究结果还显示,观测等位基因数(N_a)、有效等位基因数(N_e)、Nei's 基因多样性(H)和 Shannon 信息指数(I)分别为 1.969 0、1.400 6、0.221 0 和 0.387 9,也

处于较高水平。同时,32 个猕猴桃品种间的遗传相似系数 (GS) 在 0.565 0 至 0.968 4 之间,变幅达 0.403 4。上述结果表明,供试品种(系)间存在较丰富的遗传多样性。通过对多态性信息量(PIC)、有效等位基因数(N_e)、Nei's 基因多样性指数(H)和 Shannon's 信息指数(I)4 个主要的遗传多样性参数进行非参数 Kruskal Wallis Test 独立样本检验,发现 32 个猕猴桃品种(系)间遗传多样性水平存在显著

差异,具有较为丰富的遗传变异。另外,利用 POP-GENE1.32 软件分析得知,在猕猴桃的 4 个种间基因流(N_m)为 0.476 5,说明种间基因交流频率较低。遗传分化系数(G_{st})为 0.512 0,种间遗传变异水平(占总变异的 51.20%)略高于种内,而分子方差分析(AMOVA)结果表明,种间遗传变异水平占总变异的 51.87%,两者分析结果一致。



1~32 供试猕猴桃材料见表 1。

图 3 32 份猕猴桃种质资源的 DNA 指纹图谱

Fig.3 DNA fingerprints of 32 *Actinidia* germplasm based on SRAP marker

3.2 猕猴桃种质资源的聚类分析

聚类分析结果表明,在遗传相似系数(GS)为 0.77 处可将 32 份猕猴桃种质材料分为 4 组。在第 1 组的 21 份猕猴桃种质材料中,包含了 10 份美味猕猴桃材料和 11 份中华猕猴桃材料。这两类猕猴桃并未完全各自聚类,而是出现了少数材料的互插现象。例如,中华猕猴桃湘吉红和美味猕猴桃聚在了一起,而美味猕猴桃金硕聚在了中华猕猴桃内。这种现象进一步说明中华猕猴桃和美味猕猴桃遗传关系的复杂性。在早期的研究中,很多学者认为美味猕猴桃是中华猕猴桃的变种,这两个物种为遗传近缘种,有极高的遗传相似性^[22]。贾兵等^[18]认为可将中华猕猴桃和美味猕猴桃归为同一个种。第 2 组的华特和第 3 组华特 δ 均为毛花猕猴桃,各自成为一组,没有聚在一起。华特和华特 δ 均为野生选

种,不属于一个姊妹系,两者未能聚在一组,可能与此有关,也可能与分子标记本身的局限性有关。第 4 组共 9 份材料,均为软枣猕猴桃系列,聚为一组。因此,32 份猕猴桃种质材料基本按种的类别各自聚类,与猕猴桃的传统分类相吻合。本研究的 SRAP 聚类分析结果还显示,美味猕猴桃金魁及其雄株首先聚类,在所有被测材料中亲缘关系最近,软枣猕猴桃的红宝石星及其雄株虽没有首先聚类,但也表现了很近的亲缘关系,与龚俊杰的研究结果^[23]类似。另外,从品种选育来源分析,供试的软枣猕猴桃中,魁绿和桓优一号均为来源于东北地区的绿肉软枣猕猴桃,首先聚类;红宝石星及其雄株和华红 2 号均为来源于河南伏牛山地区的红肉软枣猕猴桃,聚在一起。美味猕猴桃中,中猕 2 号猕猴桃母本为米良 1 号^[24],因此二者优先聚类;皖翠是海沃德自然芽变

品种^[25],而布鲁诺和海沃德都是来源于新西兰人1904年从湖北宜昌引种的一批种子^[26],三者聚在了一起。这些结果都体现出部分供试材料的地域一致性来源特征。同时,本研究也对中华猕猴桃、美味猕猴桃、软枣猕猴桃和毛花猕猴桃4个种间遗传关系进行了比较分析,结果显示,中华猕猴桃与美味猕猴桃亲缘关系最近,GS值高达0.9684。相对于软枣猕猴桃,毛花猕猴桃与中华猕猴桃和美味猕猴桃的亲缘关系更近,与聚类结果相一致。

3.3 猕猴桃种质资源鉴定与DNA指纹图谱构建

分子标记具有高效、快捷、不受环境因子和时空条件影响等优点,已成为植物品种特别是那些表型极为相似的品种鉴定不可或缺的方法。SRAP标记技术自问世以来就在植物品种鉴定和DNA指纹图谱构建方面有诸多成功应用。刘君等^[27]利用2对SRAP引物构建了9个狗牙根品种的指纹图谱,依据该图谱可以将9个狗牙根品种进行鉴别;徐宗大等^[28]利用3对SRAP引物构建了玫瑰品种的标准指纹图谱,为4份野生玫瑰种质和46个玫瑰品种的鉴定提供了有力证据。本研究利用4个SRAP引物扩增的15个多态性位点构建了32份猕猴桃种质材料的DNA指纹图谱,每份材料都有唯一的指纹图谱,为猕猴桃种质鉴别提供了重要的科学方法。

参考文献:

- [1] 徐小彪,廖 娇,黄春辉,等. 基于EST-SSR标记分析猕猴桃种质遗传关系[J]. 果树学报, 2012, 29(2): 212-216.
- [2] 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.
- [3] 董晓莉,汤浩茹,甘 玲,等. DNA分子标记在猕猴桃上的应用[J]. 果树学报, 2005, 22(6): 682-686.
- [4] LI G, QUIROS C F. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in Brassica[J]. Theore Appl Genet, 2001, 103: 455-461.
- [5] 龙治坚,理 璋,徐 刚,等. SCoT分子标记在植物研究中的应用进展[J]. 植物遗传资源学报, 2015, 16(2): 336-343.
- [6] 李 旭,吴松权,姜明亮,等. 软枣猕猴桃性别相关的SRAP分子标记[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(8): 69-71.
- [7] 黄 伟,鲁 敏,张 起,等. 利用SRAP标记分析贵州砂梨资源遗传多样性[J]. 西北植物学报, 2016, 36(2): 280-287.
- [8] 李志强,党志国,赵志常,等. 芒果杂交F₁代群体的遗传多样性分析及遗传图谱的构建[J]. 分子植物育种, 2016, 14(4): 953-958.

- [9] 张影波,袁 媛,庞玉新,等. 艾纳香遗传多样性的SRAP和AFLP对比分析[J]. 南方农业学报, 2016, 47(8): 1261-1267.
- [10] 孙宇明,冯丽媛,李琬玥,等. SRAP分子标记鉴定百合杂交后代[J]. 上海交通大学学报(农业科学版), 2015, 33(1): 53-58.
- [11] 张安世,邢智峰,刘永英,等. 苔藓植物DNA不同提取方法的比较分析[J]. 河南科学, 2009, 27(5): 559-562.
- [12] 张 捷,李勤霞,张 萍,等. 基于SRAP分子标记新疆野核桃的遗传多样性分析[J]. 植物遗传资源学报, 2016, 17(2): 239-245.
- [13] 唐源江,曹雯静,吴坤林. 基于SRAP标记的国兰种质资源遗传多样性分析及分子身份证构建[J]. 中国农业科学, 2015, 48(9): 1795-1806.
- [14] 黎 君,杨 恒,周天华. 白芨SRAP引物筛选及群体遗传多样性研究[J]. 西北植物学报, 2016, 36(7): 1343-1350.
- [15] 黄 秀,曾 捷,聂 刚,等. 牛鞭草品种EST-SSR指纹图谱构建及遗传多样性分析[J]. 热带亚热带植物学报, 2014, 22(2): 165-171.
- [16] 张 林,徐迎春,成海钟,等. 基于ISSR标记的62个朱顶红品种的遗传关系分析及指纹图谱构建[J]. 植物资源与环境学报, 2012, 21(4): 48-54.
- [17] 邹 游,黄 敏,侯若彤,等. 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.
- [18] 贾 兵,朱立武,余 兴,等. 猕猴桃种质资源RAPD分析[J]. 安徽农业大学学报, 2005, 32(3): 381-384.
- [19] 秦小波,高继海. 利用AFLP分析西南特色猕猴桃的遗传多样性[J]. 热带亚热带植物学报, 2013, 21(4): 315-322.
- [20] 张立杰,陈秀萍,郑 珊,等. 龙眼品种SRAP指纹检索系统的开发及遗传多样性研究[J]. 热带作物学报, 2015, 36(2): 219-223.
- [21] 徐玉仙,张微微,莫海波,等. 基于EST-SSR标记的莲属种质资源遗传多样性分析[J]. 植物分类与资源学报, 2015, 37(5): 595-604.
- [22] 黄宏文,龚俊杰,王圣梅,等. 猕猴桃(*Actinidia*)属植物的遗传多样性[J]. 生物多样性, 2000, 8(1): 1-12.
- [23] 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.
- [24] 齐秀娟,林苗苗,徐善坤,等. 美味猕猴桃新品种‘中猕2号’[J]. 园艺学报, 2015, 42(S2): 2835-2836.
- [25] 朱立武,丁士林,王谋才,等. 美味猕猴桃新品种‘皖翠’[J]. 园艺学报, 2001, 28(1): 86.
- [26] 姚家龙. 新西兰的猕猴桃育种[J]. 国外农学(果树), 1989(1): 29-31.
- [27] 刘 君,赵 琴,杨志民. SRAP分子标记对九个狗牙根品种的鉴定分析[J]. 中国草地学报, 2012, 34(4): 21-25.
- [28] 徐宗大,赵兰勇,张 玲,等. 玫瑰SRAP遗传多样性分析与品种指纹图谱构建[J]. 中国农业科学, 2011, 44(8): 1662-1669.

(责任编辑:张震林)