

红肉猕猴桃种质资源果实性状及 AFLP 遗传多样性分析

岁立云^{1,2}, 刘义飞¹, 黄宏文^{1,*}

(¹中国科学院华南植物园, 植物资源保护与可持续利用重点实验室, 广州 510650; ²中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 对中国红肉猕猴桃种质资源进行收集和调查, 并对其进行果实性状变异分析和 AFLP 遗传多样性及遗传关系分析。结果表明, 红肉猕猴桃野生资源主要分布于湖南省、湖北省、河南省、江西省、四川省和陕西省等地, 共采集到 52 份野生资源和 2 份品种资源 (包括软枣猕猴桃红肉类型、中华猕猴桃红肉类型和美味猕猴桃红肉类型)。红肉猕猴桃种质资源在果实性状和 DNA 分子水平上都存在丰富的变异和较高的遗传多样性水平, 4 对 AFLP 引物共扩增出 259 个多态性位点, 多态性位点百分率为 90.56%, Nei's 基因多样性和 Shannon's 信息指数分别为 0.318 和 0.477; 资源间遗传相似性系数介于 0.568 ~ 0.883 之间, 平均为 0.714。聚类分析和主坐标分析将 54 份资源划分为 4 个组, 软枣猕猴桃红肉类型单独聚为一类; 中华猕猴桃和美味猕猴桃红肉类型亲缘关系较近且有按地理来源优先聚类的趋势。果实性状数据和 AFLP 数据之间具有极显著的相关性, 二者可结合用于红肉猕猴桃资源评价和保护利用工作中。

关键词: 红肉猕猴桃; 种质资源; 果实性状; AFLP; 遗传多样性

中图分类号: S 663.4

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2013) 05-0859-10

Genetic Diversity of Red-fleshed Kiwifruit Germplasm Based on Fruit Traits and AFLP Markers

SUI Li-yun^{1,2}, LIU Yi-fei¹, and HUANG Hong-wen^{1,*}

(¹Key Laboratory of Plant Resources Conservation and Sustainable Utilization, South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China; ²University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: The germplasm resources of red-fleshed kiwifruit in China were investigated, and the genetic diversity and genetic relationship of red-fleshed kiwifruit germplasm were evaluated by fruit traits and AFLP markers. Fifty-two wild accessions and two cultivars of red-fleshed kiwifruit germplasm belonged to three *Actinidia* taxa (*A. arguta*, *A. chinensis* and *A. deliciosa*) were collected, which were mainly distributed in Hunan, Hubei, Henan, Jiangxi, Sichuan and Shaanxi provinces. The collected accessions have rich genetic variation in both fruit traits and AFLP markers. AFLP analysis using four primer combinations gave a total of 259 polymorphic bands. The percentage of polymorphic bands was 90.56%, Nei's genetic diversity was 0.318, and Shannon's index was 0.477. Genetic similarity based on AFLP markers ranged from 0.568 to 0.883, with an average of 0.714. UPGMA cluster and principal

收稿日期: 2012-12-18; 修回日期: 2013-04-12

基金项目: 中国科学院植物资源保护与可持续利用重点实验室青年基金项目 (211006); 国家自然科学基金项目 (30900119)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: huanghw@mail.scbg.ac.cn)

coordinate analysis separated 54 accessions into four major groups. Accessions of red-fleshed kiwifruit in *A. arguta* grouped together, accessions in *A. chinensis* and *A. deliciosa* had closely genetic relationship and would be clustered preferentially related to their geographical origin. A significant though moderate correlation was observed between AFLP and phenotypic data. Both AFLP markers and phenotypic traits could be used to characterize red-fleshed kiwifruit germplasm, and would be valuable for germplasm management and utilization.

Key words: red-fleshed kiwifruit; germplasm resource; fruit trait; AFLP; genetic diversity

猕猴桃 (*Actinidia*) 自 20 世纪初由野生资源经过人工选择和驯化并进行大规模的商业化生产以来, 迄今仅有 100 多年的历史 (黄宏文, 2009)。猕猴桃栽培品种主要是通过从野生资源中选择或杂交育种而来, 与野生种在遗传上并没有太大差异, 仅代表猕猴桃野生种质资源的很小部分 (Huang & Ferguson, 2007)。中国是猕猴桃属植物的起源、进化及分布中心, 自然资源非常丰富, 为中国猕猴桃品种选育和产业的可持续发展提供了丰富的物质基础 (黄宏文 等, 2000; Huang et al., 2004; Huang & Ferguson, 2007)。现有猕猴桃品种从果肉颜色上可分为绿肉、黄肉和红肉 3 种; 前两者较为普遍, 红色果肉的猕猴桃由于具有特殊的经济性状和商品价值而广受猕猴桃育种者及消费者的青睐 (王明忠, 2003; Cheng et al., 2007)。

具红色果肉的猕猴桃主要存在于软枣猕猴桃 (*A. arguta*)、中华猕猴桃 (*A. chinensis*)、美味猕猴桃 (*A. deliciosa*) 及毛花猕猴桃 (*A. eriantha*) 等 (Montefiori et al., 2009); 红肉猕猴桃作为一种特异的野生资源, 在自然界中数量较少, 且分布区域窄 (梁畴芬, 1983; Cui et al., 2002), 是十分珍贵的科研和育种材料, 既可以通过直接选优的方法培育猕猴桃红肉品种, 也可以与其它种类的基因型杂交育成新品种。从 20 世纪 80 年代开始, 中国的猕猴桃育种工作者从野生的红肉猕猴桃种质资源入手, 对红肉猕猴桃开展了持续的研究、开发和利用, 目前已培育出一批具有生产栽培价值的品种或品系, 如 ‘红阳’ (Wang et al., 2002)、‘红美’ (王明忠 等, 2005)、‘楚红’ (Zhong et al., 2007) 等。

分子标记技术应用于猕猴桃属植物资源遗传多样性和品种鉴定 (Zhen et al., 2004)、系统关系及进化 (Huang et al., 2002; Chat et al., 2004)、群体遗传和杂交渐渗 (刘亚令 等, 2006; 张田 等, 2007; Liu et al., 2010) 等方面已有不少的研究报道, 但对红肉猕猴桃这一特异种质资源的鉴定评价及遗传多样性分析等却很少涉及。

本研究在前期对中国现有红肉猕猴桃地理分布进行实地调查和资源收集的基础上, 采用果实性状分析和 AFLP 标记技术相结合的方法, 对红肉猕猴桃种质资源进行遗传多样性分析和资源评价, 为红肉猕猴桃优质基因型发掘利用和新品种选育提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

于 2010 年 8—10 月和 2011 年 9—10 月猕猴桃果实成熟、红色性状稳定后, 对河南、湖北、湖南、江西、陕西、四川等省的 13 个县市的猕猴桃野生资源进行调查。收集到 52 份野生红肉猕猴桃野生资源和两个红肉猕猴桃栽培品种 (‘红阳’和 ‘楚红’), 共 54 份材料 (表 1)。

每份材料采集成熟叶片 2~3 片, 硅胶干燥保存备用。每份材料收集 10~20 个成熟果实进行果实性状分析。

表 1 红肉猕猴桃材料所属种类、来源和代号
Table 1 Plant materials, geographical origin and code for red-fleshed kiwifruit accessions

| 种类 Taxon | 来源 Origin | 代号 Accession | 种类 Taxon | 来源 Origin | 代号 Accession |
|------------------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------------|---------------------|--------------|
| 中华猕猴桃 <i>A. chinensis</i> | 湖南隆回 Longhui, Hunan | Achn01 | 美味猕猴桃 <i>A. deliciosa</i> | 湖南石门 Shimen, Hunan | Adhn01 |
| | | Achn02 | | | Adhn02 |
| | | Achn03 | | | Adhn03 |
| | | Achn04 | | | Adhn04 |
| | 湖南麻阳 Mayang, Hunan | Achn05 | | Adhn05 | |
| | | Achn06 | | Adhn06 | |
| | | Achn07 | | Adhn07 | |
| | | Achn08 | | Adhn08 | |
| | 湖南溆浦 Xupu, Hunan | Achn09 | | Adhn09 | |
| | | Chuhong | | Adhn10 | |
| | 河南西峡 Xixia, Henan | Achx01 | | Adhn11 | |
| | | Achx02 | | Adhn12 | |
| | | Achx03 | | Adhn13 | |
| | | Achx04 | | Adhn14 | |
| | | Achx06 | | Adhn15 | |
| | | Achx07 | | 湖北建始 Jianshi, Hubei | Adhb01 |
| | | Achx08 | | | Adhb02 |
| | | Achx09 | | 湖北利川 Lichuan, Hubei | Adhb03 |
| | | Hongyang | | | Adhb04 |
| | | 江西永修 Yongxiu, Jiangxi | | Acjx01 | Adhb05 |
| 江西武宁 Wuning, Jiangxi | Acjx02 | | 湖北五峰 Wufeng, Hubei | Adhb06 | |
| | 湖南麻阳 Mayang, Hunan | | | Aahn01 | Adsc01 |
| <i>A. arguta</i> | | | 河南西峡 Xixia, Henan | | |
| | | | | | |
| | 湖北五峰 Wufeng, Hubei | Adsc02 | | | |
| | | Aahb01 | Adsc03 | | |
| | | Aahb02 | Adsx01 | | |
| | | | | | |
| | Aahb03 | | | | |
| | Aahb04 | | | | |
| | 陕西眉县 Meixian, Shaanxi | Aasx01 | | | |
| | | Aasx02 | | | |

1.2 果实性状分析

果实性状测定和评价标准按照 UPOV[*Actinidia* Lindl. (Kiwifruit) (Revision), <http://www.upov.int/meetings/en/doc>]进行。分析的性状包括果实大小、果实形状、果实毛被（类型和密度）、果面颜色、果肉颜色（内果皮及外果皮颜色）以及内果皮红色范围和红色程度，根据 UPOV 标准进行分级和赋值（表 2）转换得到表型数据矩阵。

1.3 AFLP 分析

采用改良 CTAB 法 (Doyle, 1987) 提取基因组总 DNA，在 CTAB 提取液中加入适量的 β - 巯基乙醇和 PVP 以除去多糖和酚类物质，用紫外分光光度计测定 DNA 的浓度和质量，稀释成 50 ng · μL⁻¹ 后 - 20 ℃ 保存备用。AFLP 分析按照 Vos 等 (1995) 的方法进行，采用 *EcoR* I / *Mse* I 酶切组合系统进行基因组限制性酶切，并从 32 对引物组合中挑选出 4 对多态性高且稳定的引物组合（E-ACC/M-CTG; E-ACA/M-CTG; E-ACT/M-CAT; E-ATC/M-CAC。其中 E-代表 GACTGCGTACCA ATTC，M-代表 GATGAGTCCTGAGTAA）进行扩增分析。对 *EcoR* I 引物 5'端采用 6-FAM 荧光染料标记后进行选择性扩增，扩增产物采用 ABI 3730XL 自动测序仪进行荧光检测，检测结果用 GeneMarker V1.75 软件 (Hulce et al., 2011) 进行分析，并将结果转化为 0/1 数据矩阵用于统计分析。

1.4 数据统计与分析

果实性状赋值转换后的数据采用 Excel 2007 进行频率分布分析，并采用 NTSYS-PC 2.1 软件

(Rohlf, 2000) 计算欧式距离矩阵, 采用非加权配对类平均法 (UPGMA) 根据欧式距离对红肉猕猴桃资源进行聚类分析。各类型间的多态性位点百分比 (*PPB*)、Shannon's 信息指数 (*I*)、Nei's 基因多样性 (*H*) 等遗传多样性参数采用 POPGENE 32 软件 (Yeh et al., 1997) 计算。类型间的遗传相似性矩阵和遗传距离矩阵采用 NTSYS-PC 2.1 软件计算得到, 并进行 UPGMA 聚类分析和主坐标分析 (PCoA) 以了解红肉猕猴桃资源间的遗传关系。对 AFLP 数据和果实形态数据采用 NTSYS-PC 2.1 软件进行 Mantel 相关性检验, 并做显著性分析。

2 结果与分析

2.1 果实性状分析

54 份红肉猕猴桃种质资源分别属于软枣猕猴桃 (8 份)、中华猕猴桃 (21 份) 和美味猕猴桃 (25 份) (图 1)。野生红肉猕猴桃主要分布在湖南、湖北、河南、四川、陕西和江西等地。



图 1 不同类型红肉猕猴桃果实

Ac: 中华猕猴桃; Ad: 美味猕猴桃; Aa: 软枣猕猴桃。

Fig. 1 The fruit characteristics of different types of red-fleshed kiwifruit

Ac: *A. chinensis*; Ad: *A. deliciosa*; Aa: *A. arguta*.

红肉猕猴桃资源果实性状变异较大, 9 个果实性状分级描述和频率分布分析结果见表 2。所调查的红肉猕猴桃资源果实形状变化多样, 有卵圆形、圆柱形、椭圆形、圆形等; 果实一般偏小 (10~30 g, 约占 33%) 或中等大小 (30~50 g, 约占 43%); 除了软枣猕猴桃果实无毛外 (8 份资源, 约占 15%), 其它为柔毛 (31%) 和糙毛 (42%); 外果皮颜色多为棕绿色 (30%) 和棕黄色 (30%), 少数为黄色或红色; 内果皮颜色类型有红色、紫红色和紫色, 但以红色居多 (91%); 内果皮红色程

度一般为浅（31%）及中等（36%），部分红色程度较深（33%）；红色范围也较小（63%）。所调查的红肉猕猴桃除了软枣猕猴桃和 2 个美味猕猴桃个体（Adhn15 和 Adsc03）外，果肉红色范围广且颜色较深的个体并不多。

根据果实性状数据对红肉猕猴桃资源进行聚类分析，结果如图所示（图 2）。UPGMA 聚类分析将 54 份红肉猕猴桃资源划分成两个大组。I 组包括软枣猕猴桃红肉类型个体，该组内猕猴桃果实较小、无毛，果实内果皮和外果皮颜色一致，为红色或紫色，红色范围遍布整个果实内部。II 组由中华和美味猕猴桃红肉类型组成，又可分成 3 个亚组：亚组 1 由两个美味猕猴桃个体组成（Adhn15

| 表 2 红肉猕猴桃资源果实性状描述及频率统计 | | |
|--|----------------------|-----------|
| Table 2 The description and frequency of fruit traits for red-fleshed kiwifruit accessions | | |
| 果实性状 | 性状分级描述 | 频率/% |
| Fruit trait | Description | Frequency |
| 果实形状 | 1 卵圆 Ovate | 16 |
| | 2 圆柱 Oblong | 16 |
| | 3 椭圆 Elliptic | 35 |
| | 4 圆 Circular | 28 |
| | 5 扁圆 Oblate | 5 |
| 果实大小 | 1 很小 Very small | 15 |
| | 3 小 Small | 33 |
| | 5 中等 Medium | 43 |
| | 7 大 Large | 9 |
| 果面颜色 | 1 绿色 Green | 12 |
| | 2 棕绿色 Greenish brown | 30 |
| | 3 棕黄 Brown | 30 |
| | 4 黄色 Dark brown | 15 |
| | 5 红色 Red | 15 |
| 毛被类型 | 1 无 Downy | 15 |
| | 2 柔毛 Tomentose | 31 |
| | 3 糙毛 Hirsute | 42 |
| | 4 刚毛 Bristly | 12 |
| 毛被密度 | 1 无 None | 15 |
| | 3 稀疏 Sparse | 35 |
| | 5 中等 Medium | 21 |
| | 7 密被 Dense | 29 |
| 外果皮颜色 | 1 绿 Green | 49 |
| | 2 黄绿 Greenish yellow | 16 |
| | 3 黄 Yellow | 20 |
| | 4 红或紫色 Red or purple | 15 |
| 内果皮颜色 | 1 红 Red | 92 |
| | 3 紫红 Purple red | 4 |
| | 5 紫色 Purple | 4 |
| 内果皮红色程度 | 1 浅 Light | 31 |
| | 3 中等 Medium | 36 |
| | 5 深 Strong | 33 |
| 内果皮红色范围 | 1 很小 Very small | 16 |
| | 2 小 Small | 47 |
| | 3 中等 Medium | 21 |
| | 4 全部 All | 16 |

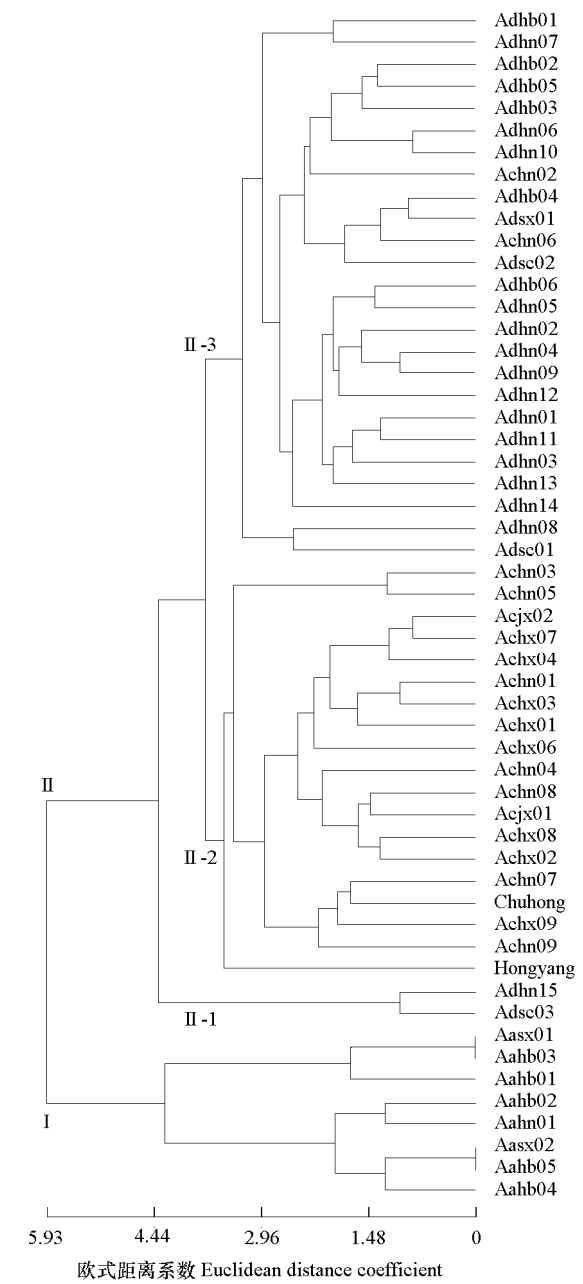


图 2 红肉猕猴桃资源果实性状 UPGMA 聚类图（代号见表 1）

Fig. 2 UPGMA Dendrogram of red-fleshed kiwifruit accessions based on fruit traits (Code see Table 1)

和 Adsc03), 果实颜色为紫红色, 红色程度较深, 范围也较广; 亚组 2 主要由中华猕猴桃红肉类型组成(包括两个栽培品种‘红阳’和‘楚红’), 果实毛被稀疏, 多为短柔毛; 亚组 3 由主要美味猕猴桃红肉类型组成, 果实毛被较多, 且多为糙毛或刚毛, 外果皮颜色多为绿色。

2.2 AFLP 遗传多样性

选用 32 对引物组合对供试样品进行 AFLP 扩增, 从中筛选出 4 对多态性高且表现稳定的引物组合对所有 54 份红肉猕猴桃材料进行扩增(部分结果见图 3)。4 对引物组合共扩增出 286 个位点, 扩增片段大小范围在 60~500 bp 之间, 其中多态性条带为 259 条, 平均每对引物组合扩增多态性条带 64.75 条, 多态性百分率(PPB)为 90.56%(表 3)。软枣猕猴桃、中华猕猴桃及美味猕猴桃红肉类型多态性条带分别为 42.75 条、57.25 条和 54.50 条, 多态性位点百分率分别为 60.84%、78.67%和 76.22%(表 4)。

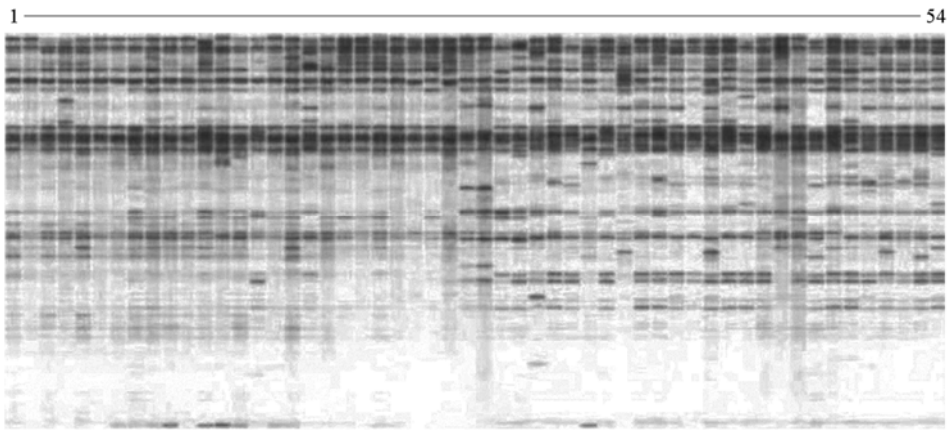


图 3 引物组合 E-ACC/M-CTG 对 54 份红肉猕猴桃资源的荧光 AFLP 扩增图谱
Fig. 3 Fluorescent AFLP patterns of 54 red-fleshed kiwifruit accessions by E-ACC/M-CTG

表 3 不同 AFLP 引物组合扩增多态性
Table 3 Polymorphism of different AFLP primers combinations

| 引物组合 Primer | 总条带数 Total bands | 多态性条带数 Polymorphic bands | 多态性百分率/% Percentage of polymorphic bands | 各类型扩增多态性条带数 Polymorphic bands of each type | | |
|----------------|---------------------|-----------------------------|---|---|------------------------------|------------------------------|
| | | | | 软枣猕猴桃 <i>A. arguta</i> | 中华猕猴桃 <i>A. chinensis</i> | 美味猕猴桃 <i>A. deliciosa</i> |
| E-ACC/M-CTG | 71 | 65 | 91.55 | 45 | 57 | 59 |
| E-ACA/M-CTG | 76 | 67 | 88.16 | 45 | 61 | 62 |
| E-ACT/M-CAT | 92 | 82 | 89.13 | 51 | 58 | 66 |
| E-ATC/M-CAC | 47 | 45 | 95.74 | 30 | 42 | 42 |
| 平均 Mean | 71.50 | 64.75 | 90.56 | 42.75 | 54.50 | 57.25 |
| 总计 Total | 286 | 259 | | 171 | 218 | 229 |

采用 POPGENE 软件计算得到红肉猕猴桃不同类型间各项遗传多样性指数(表 4)。54 份资源总的观测等位基因数(N_a)、有效等位基因数(N_e)、Nei’s 遗传多样性(H)以及 Shannon’s 信息指数(I)分别为 1.905、1.539、0.318 和 0.477。软枣猕猴桃红肉类型的各项遗传多样性指数都较低(N_e 、 H 和 I 分别为 1.376、0.217 和 0.324), 中华猕猴桃和美味猕猴桃红肉类型各项遗传多样性指数基本相同, 且都比软枣猕猴桃红肉类型要高。

表 4 不同红肉猕猴桃类型 AFLP 遗传多样性水平

Table 4 Genetic diversity level of different types of red-fleshed kiwifruit based on AFLP markers

| 种类 Taxon | 观测等位基因数 Allele number (N_a) | 有效等位基因数 Effective alleles (N_e) | Nei's 基因多样性 Nei's genetic diversity (H) | Shannon's 指数 Shannon's index (I) | 多态性位点百分率/% Percentage of polymorphic band (PPB) |
|---------------------------|---------------------------------------|---|---|--|---|
| 软枣猕猴桃 <i>A. arguta</i> | 1.602 | 1.376 | 0.217 | 0.324 | 60.84 |
| 中华猕猴桃 <i>A. chinensis</i> | 1.762 | 1.470 | 0.272 | 0.405 | 76.22 |
| 美味猕猴桃 <i>A. deliciosa</i> | 1.787 | 1.473 | 0.279 | 0.417 | 78.67 |
| 总计 Total | 1.905 | 1.539 | 0.318 | 0.477 | 90.56 |

2.3 不同类型红肉猕猴桃间的遗传关系

54 份资源两两配对遗传相似性系数在 0.568 ~ 0.883 之间，平均为 0.714；个体间配对遗传相似性系数在软枣猕猴桃红肉类型为 0.692 ~ 0.803，在中华猕猴桃和美味猕猴桃红肉类型内分别为 0.657 ~ 0.883 和 0.657 ~ 0.865。其中 Achn07 和 Achn08 之间的遗传相似性最高，达到 0.883，二者亲缘关系最近；Achx04 和 Aahb05 亲缘关系最远，二者间的相似性只有 0.568。

基于 AFLP 遗传相似性系数对 54 份材料进行 UPGMA 聚类分析，结果如图 4 所示。在相似性系数约为 0.72 的水平将所有材料划分成 A、B、C 和 D 共 4 个组。A 组包括 8 份材料，全部为软枣猕猴桃红肉类型的个体。B 组包括 8 份中华猕猴桃红肉材料，其中 7 份来自河南的野生资源和 1 个品种‘红阳’；C 组包括了中华和美味猕猴桃红肉类型共 19 份材料，主要为湖南、四川和江西的野生资源和 1 个品种‘楚红’；D 组则主要由美味猕猴桃红肉类型组成，为来自湖南、湖北及陕西的材料。中华和美味猕猴桃红肉类型有各自聚类的趋势，但二者又没有完全区分开；同时从聚类图上还可以看出红肉猕猴桃资源有按地理来源优先聚类的趋势。

基于 DICE 遗传相似性矩阵 (GS)，通过主坐标分析构建红肉猕猴桃资源的二维分布图以进一步了解材料之间的遗传关系 (图 5)。结果显示第 1 主分量特征值为 0.0892，贡献率为 20.46%；第 2 主分量特征值为 0.0605，贡献率为 13.88%，前两个主分量累计贡献率达到 34.34%。从图 5 可以看出软枣猕猴桃红肉类型

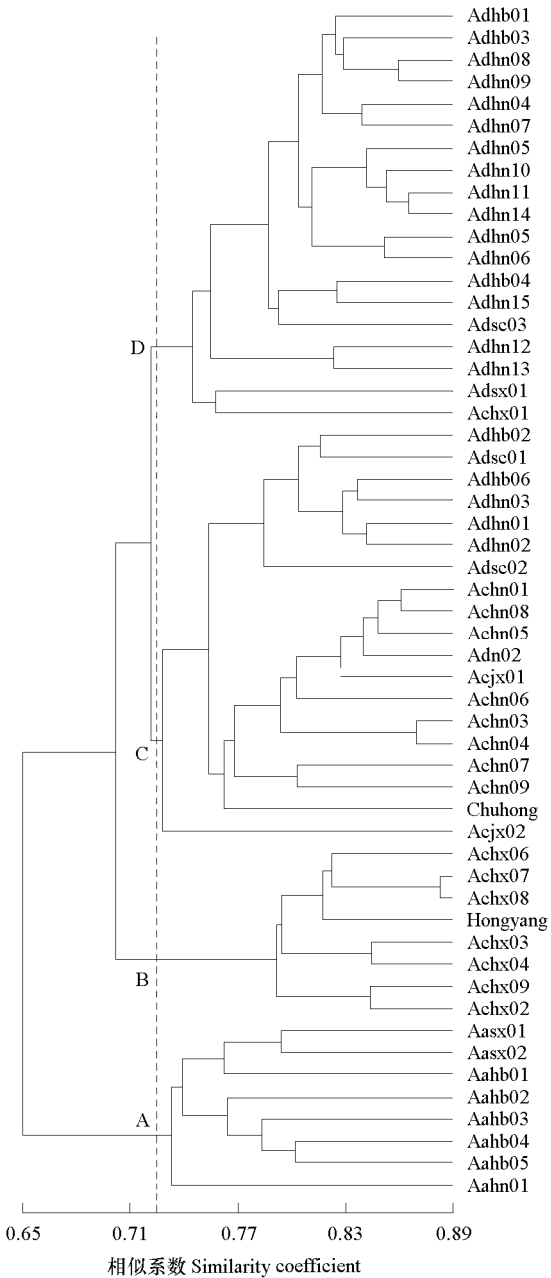


图 4 红肉猕猴桃资源 AFLP 数据 UPGMA 聚类图(代号见表 1)

Fig. 4 UPGMA Dendrogram of red-fleshed kiwifruit accessions based on AFLP markers (Code see Table 1)

单独聚为一类，与中华和美味猕猴桃红肉类型关系较远；中华猕猴桃和美味猕猴桃红肉类型虽也有按照各自的种类聚在一起的趋势，但两种类型之间并不能完全分开，存在部分重叠情况。主坐标分析结果与 UPGMA 聚类分析结果基本一致。

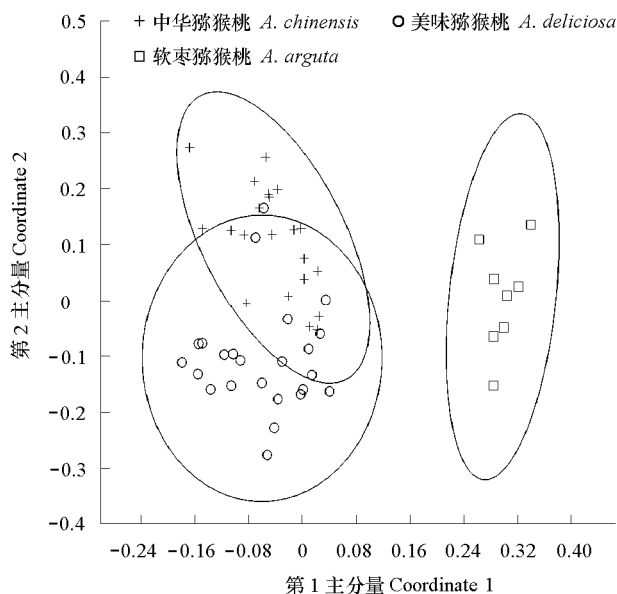


图 5 红肉猕猴桃资源主坐标分析

Fig. 5 Principal coordinate analysis of red-fleshed kiwifruit germplasm based on AFLP markers

2.4 果实性状与 AFLP 标记相关性

采用 Mantel 检测的方法对果实性状欧氏距离矩阵和 AFLP 标记的遗传距离矩阵进行相关性分析，结果表明二者之间具有中等水平的相关性，且达到极显著水平 ($r = 0.581$, $P < 0.001$)。

3 讨论

3.1 红肉猕猴桃资源分布及果实性状特点

从调查的结果来看，红肉猕猴桃野生资源分布的区域主要为湖南省和湖北省交界的武陵山区；湖南省境内的雪峰山区；河南省境内的伏牛山区，江西北部丘陵山区、四川东部山区以及陕西秦岭山区等。虽然野生红肉猕猴桃资源在中国多个省份都有分布，但处于零星分散状态，且很多地方只找到了 1~2 株，总体的资源量并不多；再加上猕猴桃资源破坏很严重，红肉猕猴桃资源的保护和评价工作就显得十分迫切和有必要。作者通过两年的实地调查和收集，共找到 52 株野生红肉猕猴桃资源；收集枝条和果实保存于武汉植物园国家猕猴桃种质资源圃，对红肉猕猴桃种质资源的迁地保护和后续的开发和利用具有十分重要的意义。

在猕猴桃种质资源评价和遗传育种工作中，果实性状是一类十分重要的评价指标（黄宏文 等，2000）。本研究中所收集到的红肉猕猴桃野生资源在果实性状上变异较大，如在果实形状、大小、毛被、外果皮颜色以及果肉红色程度和范围等性状上都表现了很大的差异和多样性，这就为红肉猕猴桃新品种的选育提供了丰富的种质资源和遗传基础。但在这批资源中，果实普遍偏小、丰产性不高；而且除软枣猕猴桃的红肉类型以及 Adhn15 和 Adsc03 外，其它类型的资源果肉红色程度较浅、范围

较窄, 因此如何通过实生选择、杂交育种或其它方式的育种手段, 从中培育出适应性及抗性强、生产特性优良且果肉颜色红色性状好的红肉猕猴桃新品种, 是下一步工作的重点。

3.2 红肉猕猴桃资源遗传多样性和遗传关系

本研究中所采用的 4 对 AFLP 引物对 54 份红肉猕猴桃种质资源进行扩增, 均获得了清晰的条带指纹, 且条带多态性较高 (90.56%)。对各项遗传多样性指标 (N_e 、 H 、 I 和 PPB) 进行分析, 发现中华猕猴桃红肉类型和美味猕猴桃红肉类型的多样性相当, 但都要比软枣猕猴桃红肉类型要高。红肉猕猴桃单株之间的遗传相似性系数在 0.568 ~ 0.883 之间, 进一步说明了红肉猕猴桃资源内具有较高的多样性水平。红肉猕猴桃野生资源与其它经济作物的野生种质资源相比 (Wang et al., 2007; Tatikonda et al., 2009; Paz et al., 2012), 也具有同等水平或更高的遗传多样性水平, 可为红肉猕猴桃新品种的选育提供丰富的材料。

通过 UPGMA 聚类分析和主坐标分析, 发现软枣猕猴桃红肉类型与中华及美味猕猴桃红肉类型之间的遗传差异较大; 但中华猕猴桃和美味猕猴桃的红肉类型之间遗传分化较小, 且存在复杂的遗传关系。聚类分析进一步发现猕猴桃野生资源有按照地理来源聚在一起的趋势, 说明这些红肉猕猴桃资源除了在种类上具有较大差异差别外, 不同地理来源的资源间存在一定的遗传分化。对中华猕猴桃复合体植物的居群遗传结构和种间系统关系分析结果表明中华猕猴桃和美味猕猴桃之间具有较高的基因流、存在共祖多态和遗传渐渗现象; 说明二者具有十分密切的亲缘关系 (Chat et al., 2004; 刘亚令 等, 2006; 张田 等, 2007; Liu et al., 2010)。本文在对中华猕猴桃和美味猕猴桃内的红肉类型进行遗传关系分析时也得到相似的结果。

红肉猕猴桃资源不仅具有较高的遗传多样性和表型丰富度, 而且在对果实性状和 AFLP 遗传变异进行相关性分析时发现红肉猕猴桃资源的表型数据和 AFLP 数据之间存在极显著的相关性 ($r = 0.581$, $P < 0.001$), 因此 AFLP 分子标记可以在一定程度上反映不同猕猴桃资源果实性状的变异情况。因此在今后的红肉猕猴桃资源开发利用和保护管理过程中, 应结合表型数据和 AFLP 标记数据进行综合分析和评价。

References

- Chat J, Jäuregui B, Petit R J, Nadot S. 2004. Reticulate evolution in kiwifruit (*Actinidia*, Actinidiaceae) identified by comparing their maternal and paternal phylogenies. *American journal of botany*, 91: 736 - 747.
- Cheng C, Seal A, Murphy S, Lowe R. 2007. Red-fleshed kiwifruit (*Actinidia chinensis*) breeding in New Zealand. *Acta Horticulturae*, 753: 139 - 146.
- Cui Z, Huang H, Xiao X. 2002. *Actinidia* in China: China Agricultural Science and Technology Press.
- Doyle J J. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem Bull*, 19: 11 - 15.
- Huang Hong-wen, Gong Jun-jie, Wang Sheng-mei, He Zi-can, Zhang Zhong-hui, Li Jian-qiang. 2000. Genetic diversity in the genus *Actinidia*. *Chinese Biodiversity*, 8 (1): 1 - 12. (in Chinese)
- 黄宏文, 龚俊杰, 王圣梅, 何子灿, 张忠慧, 李建强. 2000. 猕猴桃属 (*Actinidia*) 植物的遗传多样性. *生物多样性*, 8 (1): 1 - 12.
- Huang Hong-wen. 2009. History of 100 years of domestication and improvement of kiwifruit and gene discovery from genetic introgressed populations in the wild. *Chinese Bulletin of Botany*, 44 (2): 127 - 142. (in Chinese)
- 黄宏文. 2009. 猕猴桃驯化改良百年启示及天然居群遗传渐渗的基因发掘. *植物学报*, 44 (2): 127 - 142.
- Huang H, Li Z, Li J, Kubisiak T L, Layne D R. 2002. Phylogenetic relationships in *Actinidia* as revealed by RAPD analysis. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 127: 759 - 766.
- Huang H, Ferguson A R. 2007. Genetic resources of kiwifruit: Domestication and breeding. *Horticultural Reviews*: 1 - 121.
- Huang H, Wang Y, Zhang Z, Jiang Z, Wang S. 2004. *Actinidia* germplasm resources and kiwifruit industry in China. *HortScience*, 39: 1165 -

- 1172.
- Hulce D, Li X, Snyder-Leiby T, Liu C J. 2011. GeneMarker[®] genotyping software: Tools to increase the statistical power of DNA fragment analysis. *Journal of Biomolecular Techniques*, 22 (Supplement): S35.
- Liang Chou-fen. 1983. On the distribution of *Actinidia*. *Guihaia*, 3 (4): 229 – 248. (in Chinese)
- 梁畴芬. 1983. 论猕猴桃属植物的分布. *广西植物*, 3 (4): 229 – 248.
- Liu Ya-ling, Li Zuo-zhou, Zhang Peng-fei, Jiang Zheng-wang, Huang Hong-wen. 2006. Spatial genetic structure in natural populations of two closely related *Actinidia* species (Actinidiaceae) as revealed by SSR analysis. *Chinese Biodiversity*, 14: 421 – 434. (in Chinese)
- 刘亚令, 李作洲, 张鹏飞, 姜正旺, 黄宏文. 2006. 猕猴桃自然居群 SSR 遗传变异的空间自相关分析. *生物多样性*, 14: 421 – 434.
- Liu Y, Liu Y, Huang H. 2010. Genetic variation and natural hybridization among sympatric *Actinidia* species and the implications for introgression breeding of kiwifruit. *Tree Genetics & Genomes*, 6: 801 – 813.
- Montefiori M, Comeskey D J, Wohlers M, McGhie T K. 2009. Characterization and quantification of anthocyanins in red kiwifruit (*Actinidia* spp.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57: 6856 – 6861.
- Paz E Y, Gil K, Rebolledo L, Rebolledo A, Uriza D, Martínez O, Isidró M, Díaz L, Lorenzo J C, Simpson J. 2012. Genetic diversity of Cuban pineapple germplasm assessed by AFLP markers. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 12: 104 – 110.
- Rohlf F. 2000. Ntsys-Pc Numerical taxonomy and multivariate analysis system version 2.1. Exeter Software, Setauket, NY.
- Tatikonda L, Wani S P, Kannan S, Beerelli N, Sreedevi T K, Hoisington D A, Devi P, Varshney R K. 2009. AFLP-based molecular characterization of an elite germplasm collection of *Jatropha curcas* L., a biofuel plant. *Plant Science*, 176: 505 – 513.
- Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijans M, Lee T, Hornes M, Friters A, Pot J, Paleman J, Kuiper M. 1995. AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, 23: 4407 – 4414.
- Wang M, Li M, Meng A. 2002. Selection of a new red-fleshed kiwifruit cultivar ‘Hongyang’. *Acta Horticulturae*, 610: 115 – 117.
- Wang Ming-zhong. 2003. Sustainable breeding research of *Actinidia chinensis* var. *rufopulpa*. *Resource Development & Market*, 19 (5): 309 – 310. (in Chinese)
- 王明忠. 2003. 红肉猕猴桃可持续育种研究. *资源开发与市场*, 19 (5): 309 – 310.
- Wang Ming-zhong, Li Xing-de, Yu Zhong-shu, Li Ming-zhang, He Shi-song. 2005. Selection of a new red-fleshed kiwifruit cultivar ‘Hongmei’. *China Fruit*, (4): 7 – 9. (in Chinese)
- 王明忠, 李兴德, 余中树, 李明章, 何仕松. 2005. 彩色猕猴桃新品种红美的选育. *中国果树*, (4): 7 – 9.
- Wang X L, Chiang T Y, Roux N, Hao G, Ge X J. 2007. Genetic diversity of wild banana (*Musa balbisiana* Colla) in China as revealed by AFLP markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 54: 1125 – 1132.
- Yeh F C, Yang R, Boyle T B J, Ye Z, Mao J X. 1997. POPGENE, the user-friendly shareware for population genetic analysis. *Molecular Biology and Biotechnology Centre*, University of Alberta, Canada 10.
- Zhang Tian, Li Zuo-zhou, Liu Ya-ling, Jiang Zheng-wang, Huang Hong-wen. 2007. Genetic diversity, gene introgression and homoplasy in sympatric populations of the genus *Actinidia* as revealed by chloroplast microsatellite markers. *Chinese Biodiversity*, 15 (1): 1 – 22. (in Chinese)
- 张 田, 李作洲, 刘亚令, 姜正旺, 黄宏文. 2007. 猕猴桃属植物的 cpSSR 遗传多样性及其同域分布物种的杂交渐渗与同塑. *生物多样性*, 15 (1): 1 – 22.
- Zhen Y, Li Z, Huang H, Wang Y. 2004. Molecular characterization of kiwifruit (*Actinidia*) cultivars and selections using SSR markers. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 129: 374 – 382.
- Zhong C, Wang Z, Peng D, Bu F. 2007. Selection of a new red-fleshed kiwifruit cultivar ‘Chuhong’. *Acta Horticulturae*, 753: 235 – 241.