

陕西省柿种质资源遗传多样性分析

关长飞, 胡超琼, 王孟珂, 阮小凤, 王仁梓, 杨 勇
(西北农林科技大学园艺学院, 陕西杨凌 712100)

摘要: 以陕西柿栽培种 (*Diospyros kaki* Thunb.) 113 份为主要试验试材, 陕西君迁子 (*D.lotus* L.) 16 份及河南柿栽培种 10 份为对照, 选用 10 个多态性强、重复性好的 SCoT 标记引物, 对 139 份柿属种质资源的 DNA 进行扩增, 通过多态位点统计、聚类分析、主坐标分析、群体结构分析、不同地区遗传多样性分析等方法对陕西省柿种质亲缘关系进行解析。结果表明, 10 个 SCoT 引物共获得 99 个多态性标记位点, 聚类分析显示 16 份君迁子单独聚为一类, 与柿栽培种有较远的遗传距离; 河南省及陕西省的柿栽培种交织在一起, 遗传距离较近。遗传结构分析、遗传多样性分析等结果表明, 陕西省各地区的 113 份柿栽培种存在着较强的基因交流, 且它们之间的遗传距离均较小, 亲缘关系较接近。其中, 宝鸡市和西安市的遗传多样性最高, 陕南地区最低。试验结果为陕西省柿资源遗传分布、调查收集、品种鉴定提供科学理论依据。

关键词: 柿; 种质资源; 遗传多样性; SCoT; 陕西省

Genetic Diversity Analysis of Persimmon Germplasm Resources in Shaanxi Province

GUAN Chang-fei, HU Chao-qiong, WANG Meng-ke, RUAN Xiao-feng, WANG Ren-zi, YANG Yong
(College of Horticulture, Northwest A&F University, Yangling Shaanxi 712100)

Abstract: In order to decipher the genetic diversity of persimmon germplasms, a total of 113 persimmon cultivars (*Diospyros kaki* Thunb.) collected from Shaanxi province, 16 date plums (*D.lotus* L.) from Shaanxi and 10 persimmon cultivars from Henan province were investigated by using ten SCoT markers with high polymorphism and qualified reproducibility. The statistical assessments including polymorphisms, cluster analysis, principal coordinate analysis, population structure analysis and genetic diversity analysis was analyzed according to the geographic regions of genotypes. A total of 99 polymorphic marker loci were obtained from 10 pair SCoT primers. By cluster analysis, 16 date plums were assigned to an independent cluster, differing with the persimmon cultivars. Persimmon cultivars from Henan province and Shaanxi province are clustered together and have a close genetic distance. Although the genetic structure analysis implied an exchange on genetic components among 113 persimmon cultivars in various regions of Shaanxi province, the genetic diversity remained limited. The cultivars from both Baoji and Xi'an cities represented the highest genetic diversity, while the lowest diversity was observed in these of Southern Shaanxi. Thus, the results could facilitate better understanding of genetic contributions in varieties, and provide a scientific theoretical basis for further investigating the persimmon resources in Shaanxi province.

Key words: persimmon; germplasm resources; genetic diversity; SCoT; Shaanxi province

收稿日期: 2018-12-13 修回日期: 2019-01-06 网络出版日期: 2019-02-02

URL: <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20181213001>

第一作者研究方向为柿种质资源收集评价、柿脱涩及抗炭疽病机理探究, E-mail: guanchangfei@nwafu.edu.cn

通信作者: 杨勇, 研究方向为柿种质资源调查、收集、保存、鉴定及经济性状评价, E-mail: yang.yong521@163.com

基金项目: 国家自然科学基金青年项目 (31701877); 农业部种质资源保护项目 (2018NWB035); 陕西省自然科学基金基础研究计划 - 青年项目 (2017JQ3018)

Foundation project: National Natural Science Foundation of China (31701877), Project for Crop Germplasm Conservation from China Agriculture Ministry (2018NWB035), Natural Science Basic Research Plan in Shaanxi Province of China (2017JQ3018)

柿 (*Diospyros kaki* Thunb.) 是多年生的果树, 属于柿科 (Ebenaceae) 柿属 (*Diospyros* L.)。我国地域辽阔, 生态环境各异, 经长期的自然选择和人工选育, 形成了丰富的柿种质^[1]。陕西省柿资源丰富, 作为涩柿五大产区之一, 在我国涩柿分布区中占据重要地位, 拥有丰富的柿种质资源, 全省 10 个市 (地), 107 个县 (市、区) 均有栽培柿分布^[2]; 同时陕西省有着较为悠久的柿栽培历史, 在唐代段成式的《酉阳杂俎》及韩愈的《游青龙寺赠崔大补阙》中, 对长安地区栽培的柿均有描述。然而, 陕西省柿品种在各地区的分布情况、不同品种间的亲缘关系尚不完全清楚, 各省柿品种混杂, 存在非常严重的同名异物或同物异名现象, 关于柿遗传资源存在多方面的问题亟需解决, 加强这方面的研究显得十分必要。20 世纪 80 年代以来, 随着分子标记的发展, 为研究生物遗传多样性提供了新的技术平台, 在种质资源鉴定、遗传图谱构建、基因定位及分子标记辅助选择等研究领域有重要作用, 因此对于生物种质资源研究和品种的选育有着十分积极的意义。

SCoT 标记因其在基因组中扩增的区域不同而产生出不同的多态性, 从而被广泛应用在植物遗传多样性上。目前, SCoT 分子标记在柑橘^[3]、菊花^[4]、芒果^[5]、桂花^[6]、兰花^[7]等园艺植物上已经得到广泛应用。近年来, 我们课题组也建立了 SCoT-PCR 体系并成功应用于柿属种质资源遗传多样性的分析^[8-9]。夏乐晗等^[8]以 24 个牛心柿和 22 个野柿为试验材料, 建立了最适合 SCoT 的 PCR 反应体系与扩增程序, 并在分子标记的基础上用形态学加以佐证, 得出使用 SCoT 标记分析的结果与形态学相一致, 从而证明 SCoT 适合用于柿种质资源的研究中。Yang 等^[9]为了阐释君迁子在柿中的分类学地位, 通过将形态学标记与分子标记相结合的方式对君迁子的遗传多样性进行了遗传分析, 发现与 SRAP、SSR 标记相比具有较高的多态性, 并表明君迁子可分为 5 种类型, 分别是雄性君迁子、圆形无核君迁子、圆形有核君迁子、椭圆形无核君迁子和扁圆形有核君迁子。Deng 等^[10]利用 SCoT 标记对 95 个来自广西的不同种群的柿属品种进行了遗传多样性分析, 通过聚类分析将其分为 3 大类, 同时用 SSR 标记对其结果进行比较, 发现结果大体一致, 说明 SCoT 标记具有一定的稳定性。此外, 唐冬兰等^[11]报道 SCoT 也可用于鉴定金枣柿实生后代遗传变异。

本研究选用陕西柿栽培种 113 份为主要试验材料, 陕西君迁子 16 份及河南柿栽培种 10 份用作对照。利用 SCoT 标记首先构建了 139 份柿属种质的亲缘关系树状图, 同时对陕西省不同地区内的 113 份柿种质进行了群体结构分析、地区间遗传距离评价等, 旨在对陕西省柿种质资源的遗传多样性进行全面准确的评估, 从分子方面为陕西省柿品种种植、种质创新利用与生产、品种鉴定提供理论和实践依据。

1 材料与方法

1.1 材料

2016 年于国家柿种质资源圃采集生长健康枝条上刚展开的幼叶, 放入冰盒带回实验室, 用液氮处理后置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温保存备用。试验所用样品原始采集地为陕西省的种质有 129 份 (包括 16 份君迁子), 来源于河南省的有 10 份, 现保存于国家柿种质资源圃^[12]。其中, 16 份君迁子及河南的 10 份柿种质作为本次试验的对照 (表 1)。

1.2 引物

在已发表的部分柿属植物 SCoT 引物中^[8], 筛选出 10 条多态性高、稳定性好的引物用于试验 (表 2)。所有引物均由上海生工生物工程有限公司合成。

1.3 方法

1.3.1 DNA 提取与检测 采集 139 份柿品种的新鲜叶片利用改良过的 CTAB 法^[13]提取 DNA, 用 RNaseA 纯化 DNA 以得到纯度更高的 DNA, 随后分别使用紫外光光度法和琼脂糖凝胶电泳法检测 DNA 的纯度和浓度, 如 DNA 质量达到试验要求, 取适量 DNA 母液稀释至 $40\text{ ng}/\mu\text{L}$, 置于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存备用。

1.3.2 PCR 扩增 PCR 反应体系: $5\text{ }\mu\text{L}$ $2\times\text{ Es Taq}$ Master Mix (含染料), $0.2\text{ }\mu\text{mol/L}$ 引物, DNA 模板 $25\sim 50\text{ ng}$, 总体积 $10\text{ }\mu\text{L}$ 。PCR 扩增程序: $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min , $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ 变性 1 min , 复性退火 $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ 1 min , $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸 2 min , 36 个循环; 最后 $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸 5 min 。扩增反应结束后, 取 $6\text{ }\mu\text{L}$ 扩增产物在 1% 的琼脂糖凝胶中电泳, 电极缓冲液为 $1\times\text{ TAE}$, 利用凝胶成像系统采集图像后保存。

1.4 数据处理

对 139 份柿品种的扩增产物以“0”, “1”赋值建立数据库, 将相同的迁移位置上具有一个位点, 且清

表 1 试验材料信息

Table 1 The materials tested in this study

| 编号 No. | 名称 Name | 来源地 Origin | 编号 No. | 名称 Name | 来源地 Origin | 编号 No. | 名称 Name | 来源地 Origin |
|-----------|------------|---------------|-----------|------------|---------------|-----------|------------|---------------|
| 1 | 博爱八月黄 | 河南博爱 | 48 | 兰田水柿 | 陕西兰田 | 95 | 杂 5-2 | 陕西眉县 |
| 2 | 博爱鬼脸青 | 河南博爱 | 49 | 兰田大方柿 | 陕西兰田 | 96 | 站房后雄柿 | 陕西眉县 |
| 3 | 碾滚柿 | 河南博爱 | 50 | 兰田社黄柿 | 陕西兰田 | 97 | 圃杂 2 号 | 陕西眉县 |
| 4 | 什样柿 | 河南博爱 | 51 | 兰田火罐 | 陕西兰田 | 98 | 圃杂 3 号 | 陕西眉县 |
| 5 | 小蒂柿 | 河南博爱 | 52 | 兰田烧柿 | 陕西兰田 | 99 | 三角甜 | 陕西眉县 |
| 6 | 嘴巴柿 | 河南博爱 | 53 | 蓝田红脸 | 陕西蓝田 | 100 | 杂 08-02 | 陕西眉县 |
| 7 | 九月青 | 河南荥阳 | 54 | 礼泉红柿 | 陕西礼泉 | 101 | 杂 08-03 | 陕西眉县 |
| 8 | 大叶水柿 | 河南荥阳 | 55 | 礼泉山疙瘩 | 陕西礼泉 | 102 | 杂 08-04 | 陕西眉县 |
| 9 | 荥阳八月黄 | 河南荥阳 | 56 | 临潼尖顶柿 | 陕西临潼 | 103 | 乾县火柿 | 陕西乾县 |
| 10 | 陈沟灰柿 | 河南荥阳 | 57 | 临潼吊柿 | 陕西临潼 | 104 | 乾县木娃柿 | 陕西乾县 |
| 11 | 君迁子雌 -13 | 陕西宝鸡 | 58 | 临潼挂干柿 | 陕西临潼 | 105 | 三原鸡心黄 | 陕西三原 |
| 12 | 君迁子雄 -02 | 陕西宝鸡 | 59 | 临潼板柿 | 陕西临潼 | 106 | 三原烧柿 | 陕西三原 |
| 13 | 君迁子雄 -04 | 陕西宝鸡 | 60 | 火晶 | 陕西临潼 | 107 | 三原木娃柿 | 陕西三原 |
| 14 | 岐山水柿 | 陕西宝鸡 | 61 | 临潼方柿 | 陕西临潼 | 108 | 三原木柿 | 陕西三原 |
| 15 | 岐山火罐 | 陕西宝鸡 | 62 | 临潼牛心柿 | 陕西临潼 | 109 | 三原粘眼窝 | 陕西三原 |
| 16 | 凤翔尖顶柿 | 陕西宝鸡 | 63 | 临潼青柿 | 陕西临潼 | 110 | 三原挂干 | 陕西三原 |
| 17 | 眉县锅板柿 | 陕西宝鸡 | 64 | 临潼社黄柿 | 陕西临潼 | 111 | 干帽盔 | 陕西商县 |
| 18 | 齐镇小牛心柿 | 陕西宝鸡 | 65 | 临潼水花柿 | 陕西临潼 | 112 | 黑心柿 | 陕西商县 |
| 19 | 彬县尖顶柿 | 陕西彬县 | 66 | 泗洪磨盘柿 | 陕西临潼 | 113 | 大荔七月黄 | 陕西渭南 |
| 20 | 柏东 1(苗) | 陕西澄城 | 67 | 杂 3-9 | 陕西眉县 | 114 | 大荔大七月黄 | 陕西渭南 |
| 21 | 柏东 2(苗) | 陕西澄城 | 68 | 青化马奶头 | 陕西眉县 | 115 | 大平顶柿 | 陕西渭南 |
| 22 | 柏东 3(苗) | 陕西澄城 | 69 | 新红柿 | 陕西眉县 | 116 | 合阳镜面柿 | 陕西渭南 |
| 23 | 柏东 5(苗) | 陕西澄城 | 70 | 冬丹柿 | 陕西眉县 | 117 | 潼关莲花柿 | 陕西渭南 |
| 24 | 柏东 4 号(苗) | 陕西澄城 | 71 | 眉县牛心柿 | 陕西眉县 | 118 | 柿饼柿 | 陕西渭南 |
| 25 | 柏东 6 号(苗) | 陕西澄城 | 72 | 怀胎柿 | 陕西眉县 | 119 | 急柿 | 陕西武功 |
| 26 | 富平三角尖柿 | 陕西富平 | 73 | 君迁子雌 -14 | 陕西眉县 | 120 | 临潼鸡心黄 | 陕西西安 |
| 27 | 富平温柿 | 陕西富平 | 74 | 君迁子雌 -15 | 陕西眉县 | 121 | 四瓣柿 | 陕西咸阳 |
| 28 | 合阳八月黄 | 陕西合阳 | 75 | 君迁子雌 -16 | 陕西眉县 | 122 | 旬阳牛心柿 | 陕西旬阳 |
| 29 | 合阳牛心柿 | 陕西合阳 | 76 | 君迁子雌 -01 | 陕西眉县 | 123 | 旬阳半夜甜 | 陕西旬阳 |
| 30 | 户县马奶头 | 陕西户县 | 77 | 君迁子雌 -02 | 陕西眉县 | 124 | 壶平柿 | 陕西洋县 |
| 31 | 红面蛋 | 陕西户县 | 78 | 君迁子雌 -03 | 陕西眉县 | 125 | 耀县五花柿 | 陕西耀县 |
| 32 | 户县黄面蛋 | 陕西户县 | 79 | 君迁子雌 -04 | 陕西眉县 | 126 | 王后柿 | 陕西西安 |
| 33 | 花果柿 | 陕西户县 | 80 | 君迁子雌 -07 | 陕西眉县 | 127 | 没皮柿 | 陕西西安 |
| 34 | 户县大柿 | 陕西户县 | 81 | 君迁子雌 -09 | 陕西眉县 | 128 | 怀抱月 | 陕西西安 |
| 35 | 秤锤柿 | 陕西户县 | 82 | 君迁子雌 -10 | 陕西眉县 | 129 | 长安绵蛋柿 | 陕西西安 |
| 36 | 蒸饼柿 | 陕西户县 | 83 | 君迁子雌 -11 | 陕西眉县 | 130 | 子午镜面柿 | 陕西西安 |
| 37 | 户县铁锅柿 | 陕西户县 | 84 | 君迁子雌 -12 | 陕西眉县 | 131 | 秋尖顶 | 陕西西安 |
| 38 | 户县粉柿 | 陕西户县 | 85 | 君迁子雌 -01 | 陕西眉县 | 132 | 长安火罐柿 | 陕西西安 |
| 39 | 户县尖顶柿 | 陕西户县 | 86 | 杂 2-3 | 陕西眉县 | 133 | 伏蒸饼 | 陕西西安 |
| 40 | 户县烧娃柿 | 陕西户县 | 87 | 杂 2-4 | 陕西眉县 | 134 | 青蛙腿 | 陕西西安 |
| 41 | 迟壳郎 | 陕西户县 | 88 | 杂 2-5 | 陕西眉县 | 135 | 伏牛心 | 陕西西安 |
| 42 | 户县火罐 | 陕西户县 | 89 | 杂 2-7 | 陕西眉县 | 136 | 长安水柿 | 陕西西安 |
| 43 | 半夜串 | 陕西户县 | 90 | 杂 2-8 | 陕西眉县 | 137 | 长安烧柿 | 陕西西安 |
| 44 | 白瓣柿 | 陕西华县 | 91 | 杂 2-9 | 陕西眉县 | 138 | 长安重台柿 | 陕西西安 |
| 45 | 二尼子 | 陕西华县 | 92 | 杂 3-2 | 陕西眉县 | 139 | 一串铃 | 陕西周至 |
| 46 | 红瓣柿(苗) | 陕西华县 | 93 | 杂 4-2 | 陕西眉县 | | | |
| 47 | 华县帽盔柿 | 陕西华县 | 94 | 杂 5-1 | 陕西眉县 | | | |

表 2 SCoT 引物序列信息及其多样性

Table 2 Information of SCoT primers and results of polymorphic analysis

| SCoT 引物 Primer | 序列 Sequence | 总谱带数 Total band | 多态性条带数 Polymorphic bands | 多态性条带百分数 (%) Percentage of polymorphic bands |
|-------------------|--------------------|--------------------|-----------------------------|---|
| SCoT 7 | CAACAATGGCTACCACGG | 10 | 9 | 90.0 |
| SCoT 9 | CAACAATGGCTACCAGCA | 9 | 7 | 77.8 |
| SCoT 12 | ACGACATGGCGACCAACG | 9 | 8 | 88.9 |
| SCoT 17 | ACCATGGCTACCACCGAG | 10 | 8 | 80.0 |
| SCoT 20 | ACCATGGCTACCACCGCG | 10 | 8 | 80.0 |
| SCoT 23 | CACCATGGCTACCACCAG | 9 | 8 | 88.9 |
| SCoT 33 | CCATGGCTACCACCGCAG | 9 | 9 | 100.0 |
| SCoT 34 | ACCATGGCTACCACCGCA | 11 | 7 | 63.6 |
| SCoT 40 | CACCATGGCTACCACCAG | 12 | 10 | 83.3 |
| SCoT 42 | ACCATGGCTACCACCGTC | 10 | 6 | 60.0 |

晰、重复性好、分辨率高的条带用于分析,按条带有无分别赋值,将电泳图谱中清晰的条带赋值为“1”,无带赋值为“0”,缺失时为“9”。然后利用 NTSYS-pc 2.1 软件^[14]得到 139 种柿属植物间的遗传相似系数矩阵,经过 SHAN 程序对二进制数据矩阵进行分析后,构建其遗传进化树。使用 STRUCTURE 软件^[15]对群体进行遗传结构分析,并作出遗传结构分析图。利用 POPGENE 1.32^[16]软件计算观测等位基因数(N_a)、有效等位基因数(N_e)、观测杂合度(H_o)、期望杂合度(H_e)、Shannon 信息指数(I)、基因流(N_m)、遗传一致度(I)与遗传距离(D)等。通过聚类分析及主坐标分析,判断资源间的亲缘关系,进行种质资源鉴定。

2 结果与分析

2.1 SCoT 引物多态性及聚类分析

10 个 SCoT 引物共获得 99 个多态性标记位点,540 条多态性条带,统计所得 139 份柿种质资源的观测等位基因数(N_a)、有效等位基因数(N_e)、观测杂合度(H_o)、期望杂合度(H_e)及 Shannon 信息指数(I)的平均值分别为 1.99、1.47、0.27、0.26 和 0.45,基因流(N_m)为 4.45。

在相似系数为 0.59 处将陕西省供试材料分为五大类,第 I 类包含 82 个品种;第 II 类包含 15 个品种;第 III 类包含 25 个品种;第 IV 类仅包含 1 个品种,即三角甜;第 V 类包含 16 份材料,且皆为君迁子(图 1)。

第 I 类在相似系数为 0.60 处又可以分为 2 个亚群 I-1 和 I-2,河南省的 10 份柿品种全部分布在 I-1 亚群中。其中柿饼柿和大荔七月黄、合阳镜面柿和合阳牛心柿、柏东 2 和柏东 5、岐山火罐和凤翔

尖顶柿亲缘关系较近。

第 II 类群中兰田水柿和乾县火柿、兰田烧柿和秤锤柿遗传距离较近,聚在一起。

第 III 类群中主要是陕西省的柿品种,包含 2 个亚群。富平三角尖柿和富平温柿、泉山疙瘩和临潼水花柿、圃杂 2 号和圃杂 3 号亲缘关系较近。

第 IV 类群中包含三角甜,此品种单独聚为一类。第 V 类群中全部为君迁子,单独聚为一类。

聚类分析显示柿近缘种君迁子与柿有明显的遗传差异,SCoT 分子标记可以将其进行区分;然而陕西省与河南省的柿种质遗传距离较近,并不能被明显区分。此外,柿中可能存在同物异名现象。

2.2 主坐标分析

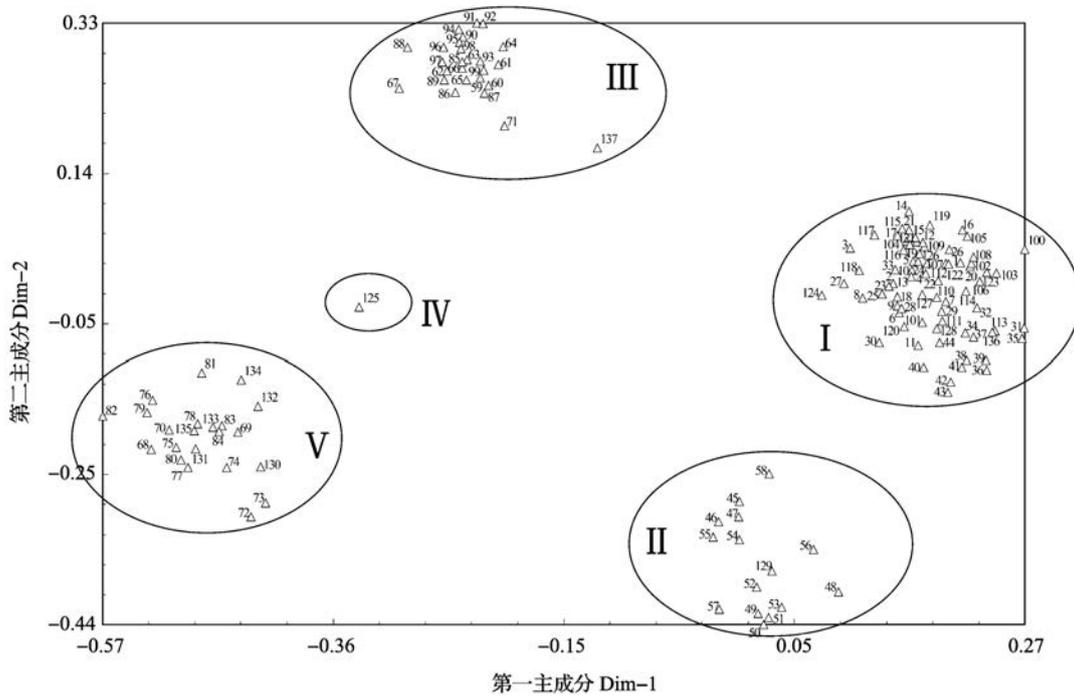
主坐标分析主要是从空间上展示不同材料,特别是不同分类群之间的关系,能够更直观地表现出类群间的亲缘关系,综合使用主坐标分析和聚类分析是研究物种遗传多样性较常用的方法。

主坐标分析结果如图 2 所示,对供试材料的原始矩阵进行主坐标分析,材料大致可分为 5 大类群,与 UPGAM 聚类结果基本一致。

2.3 STRUCTURE 分析

去掉柿近缘种君迁子 16 份,非陕西地区的 10 份,对 113 份陕西省柿品种(编号为 14~72, 86~139)(表 1)进行 STRUCTURE 分析(图 3),经计算, $\Delta K=3$ 时出现拐点为最佳值。因此,陕西省柿品种主要分为 3 类(图 3):第 I 类主要包括宝鸡、户县、临潼、礼泉等地区的样品,第 II 类主要包括渭南和咸阳地区的样品,第 III 类主要包括陕南地区的样品,同时含有咸阳、渭南地区的样品。

试验结果显示各地区柿种质的基因型无显著差异,各地区间存在着较强的基因交流。



三角形和大圈分别表示种质和分类群

Triangles and large circles represent the samples and class groups, respectively

图 2 SCoT 标记对 139 份柿品种的主坐标分析

Fig.2 Principal component analysis of 139 samples based on SCoT markers

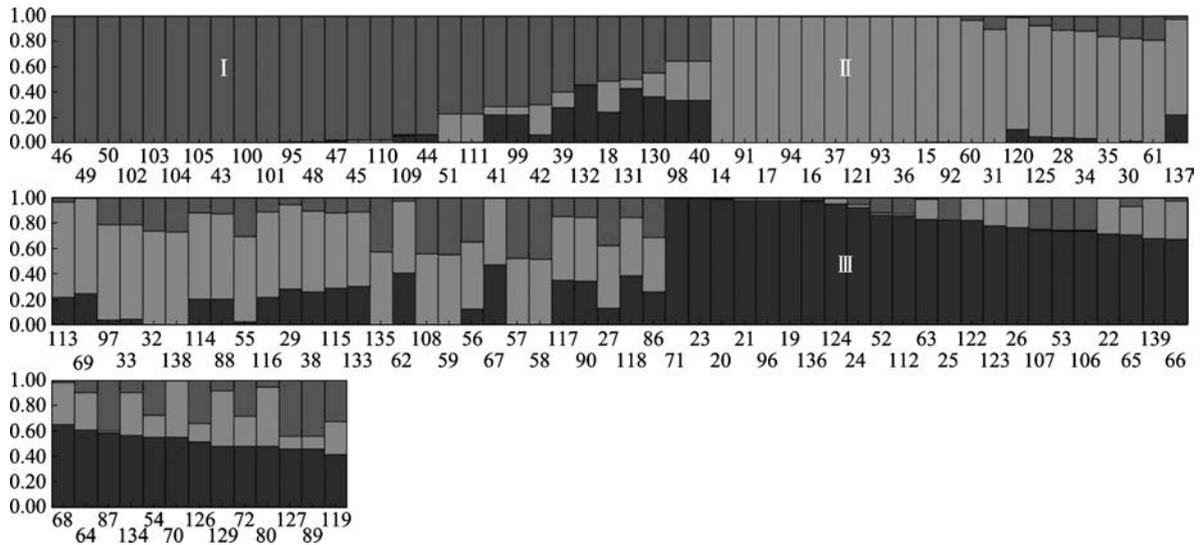


图 3 陕西省 113 份柿种质的群体结构分析

Fig.3 Genetic structure of 113 persimmon varieties from Shaanxi province using structure 2.3.4 software

2.4 遗传多样性水平分析

使用 Popgene 软件计算陕西省 113 份种质总的遗传多样性,即 Nei's 基因多样性 $H=0.29$, Shannon 信息指数 $I=0.45$ 。陕西省 5 个地区柿属品种资源的遗传多样性参数值如表 3 所示。可以看出宝鸡市和西安市的遗传多样性最高,它们的 Nei's 遗传多样性均为 0.27,渭南市和咸阳市次之,为 0.26,陕南地区即汉中、安康和商洛地区的遗传多样性最小,

为 0.23。

由 Popgene 软件计算可以得到陕西省 113 份柿属资源品种内的基因多样性 (H_s) 为 0.26,群体间遗传分化程度 (H_t) 为 0.29,群体间遗传分化系数 (G_{st}) 为 0.1,基因流 (N_m) 为 4.45。由此可以看出,品种间遗传分化程度要大于品种内遗传分化程度,且不同地区间存在着较强的基因交流。

表 3 陕西省各地区 113 份柿种质遗传多样性

Table 3 Genetic diversity of 113 persimmon varieties in various regions of Shaanxi province

| 地区 Region | 等位基 因数 N_a | 有效等位 基因 N_e | Nei's 基因 多样性 H | Shannon 信息指数 I | 多态位点数 PL | 多态位点百分率 (%) PPL |
|-----------------------|-----------------|------------------|---------------------|---------------------|---------------|----------------------|
| 宝鸡市 Baoji | 1.86 | 1.45 | 0.27 | 0.42 | 76 | 86.36 |
| 渭南市 Weinan | 1.84 | 1.42 | 0.26 | 0.40 | 74 | 84.09 |
| 西安市 Xi'an | 1.94 | 1.45 | 0.27 | 0.42 | 83 | 94.32 |
| 咸阳市 Xianyang | 1.84 | 1.44 | 0.26 | 0.40 | 74 | 84.09 |
| 陕南地区 Southern Shaanxi | 1.64 | 1.39 | 0.23 | 0.35 | 56 | 63.64 |

N_a : Number of alleles, N_e : effective number of alleles, H : Nei's genetic diversity, I : Shannon's information index, PL : Polymorphic loci, PPL : Percent of polymorphism loci

2.5 遗传一致度 (I) 与遗传距离 (D) 分析

遗传一致度和遗传距离分别是相同和相反的方面度量群体间遗传关系的指标,遗传距离的大小反映了群体亲缘关系的远近。对陕西省 113 份种质进行分析(表 4),宝鸡市和西安市的遗传距离最小只有 0.0285,最大的是西安市与陕南地区,也

只有 0.0732。遗传一致度最大的是西安市和宝鸡市,达到 0.9719,最小的是西安市和陕南地区,只有 0.9294。由此可以得出陕西省各地区的柿属品种间遗传距离都比较小,由于遗传关系较近,所以它们的亲缘关系也比较近。

表 4 陕西省各地区 113 份柿种质遗传一致度和遗传距离分析

Table 4 The genetic identity and genetic distance of 113 persimmon in various regions of Shaanxi province

| 地区 Region | 宝鸡市 Baoji | 渭南市 Weinan | 西安市 Xi'an | 咸阳市 Xianyang | 陕南地区 Southern Shaanxi |
|-----------------------|--------------|---------------|--------------|-----------------|--------------------------|
| 宝鸡市 Baoji | **** | 0.9564 | 0.9719 | 0.9476 | 0.9440 |
| 渭南市 Weinan | 0.0446 | **** | 0.9561 | 0.9633 | 0.9383 |
| 西安市 Xi'an | 0.0285 | 0.0449 | **** | 0.9706 | 0.9294 |
| 咸阳市 Xianyang | 0.0538 | 0.0374 | 0.0299 | **** | 0.9295 |
| 陕南地区 Southern Shaanxi | 0.0576 | 0.0636 | 0.0732 | 0.0731 | **** |

右上为遗传一致度,左下为遗传距离

The upper right represent genetic identity, and the lower left is genetic distance

基于各地区柿种质之间遗传距离,使用 UPGMA 方法做聚类图,将五大地区大致分为 3 大类,宝鸡市与西安市聚为一类,渭南市与咸阳市聚为一类,陕南地区为一类(图 4)。聚类图显示宝鸡市与西安市遗传距离最小而与陕南地区柿属植物遗传距离最远。此结果与 STRUCTURE 分析结果相一致(图 3)。

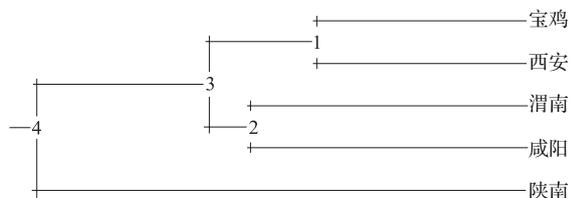


图 4 基于遗传距离构建的陕西省 113 份材料不同地区聚类分析图

Fig.4 Cluster analysis of 113 persimmon in various regions of Shaanxi province based on genetic distance

3 讨论

陕西省是我国柿主要栽培分布区之一,虽然拥有丰富的柿种质资源,在我国柿产业中占有重要地位,但是资源命名较为粗放,各地品种混杂,地区间柿种质的遗传关系尚未研究。种质资源的遗传多样性是育种工作的基础,本研究运用系统聚类分析方法,判别种质资源间的亲缘关系,简单快速,具有较强的理论和实用价值。传统的植物学分类其理论基础都是建立在形态性状分析上,这些性状都是与环境紧密相关的表现型^[17]。从分子遗传角度看,表型的差异归根到底还是基因型和基因组的差异,即在 DNA 序列上的差异^[18]。利用分子标记对柿属种质资源进行分析可以从多态性位点等独特的特征鉴定品种的亲缘关系,对遗传资源进行多样性研究,从而为陕西省柿核心种质构建、新品种选育等工作奠定

理论基础。

陕西按照地理位置通常被划分为陕北(榆林、延安),关中(西安、咸阳、宝鸡、渭南、铜川)和陕南(汉中、安康、商洛),陕北地区特别是榆林市因位置偏北过于寒冷,几无栽培柿分布;陕南地区处于秦岭和大巴山之间,气候较为温暖湿润,栽培柿广泛分布,但多零星分散;关中地区是栽培柿的主要分布区,也是柿的适生区域之一,成年柿园分布较多,柿资源最为丰富。因此,按照样本量及地理位置,文中将陕西省主要分为陕南、西安、宝鸡、渭南、咸阳 5 个地区,进行探讨。

SCoT 分子标记被广泛应用于植物多样性的遗传分析^[19-20]。通过对 10 个 SCoT 引物对 139 份材料的 PCR 扩增结果来看,平均每个引物得到特异性条带为 8 条,最多的是 SCoT 40,最少的是 SCoT 42,多态位点百分率为 60%~100%;陕西省 113 份种质总的基因多样性 $H=0.29$, Shannon 信息指数 $I=0.45$ 。上述结果说明 SCoT 引物多态性较好,可以用于柿样品遗传多样性的分析。139 份柿属植物样本的聚类分析显示,16 份君迁子全部聚在一起,与柿栽培种遗传距离较远;但河南省和陕西省的柿样本交织在一起,亲缘关系较近。此结果也与实际情况相符,河南和陕西相邻,此次选用的 10 份柿种质在两省均有分布。同时也反映出陕西省柿种质资源之间基因交流较强,遗传多样性较高。

从 SCoT 分子标记聚类结果可以发现陕西柿种质的聚类结果与地理来源没有明显的联系,来自同一地区的不同品种并不总是首先聚在一起,不同地区的柿种质在聚类图中也没有明显的界限,这可能是柿品种的起源和亲缘关系较为复杂所致,也可能反映了地区之间柿品种的广泛交流。同时可以发现,白瓣柿和红瓣柿、临潼板柿和火晶、富平三角尖柿和富平温柿的亲缘关系都比较接近,推测它们之间基因较为接近或者可能来自于同一祖先。

通过对陕西省柿种质资源遗传多样性分析,揭示了陕西省柿资源的遗传多样性以及不同资源之间的亲缘关系,有效补充了我国柿种质资源的分子遗传信息,为今后柿杂交育种、品种资源鉴定等工作奠定了基础。

参考文献

[1] 杨勇,阮小凤,王仁梓,李高潮.柿种质资源及育种研究进

展.西北林学院学报,2005,20(2):133-137

Yang Y, Ruan X F, Wang R Z, Li G C. Advances in research of germplasm resources and breeding of *Dispyros kaki* L. Journal of Nonhwest Forestry University, 2005, 20(2): 133-137

- [2] Wang R Z, Yang Y. Chinese persimmon germplasm resource. Acta Horticulturae, 1997, 436: 43-50
- [3] Mahjbi A, Baraket G, Oueslati A, Salhi A. Start Codon Targeted (SCoT) markers provide new insights into the genetic diversity analysis and characterization of Tunisian Citrus species. Biochemical Systematics & Ecology, 2015, 61: 390-398
- [4] Feng S G, He R F, Jiang M Y, Lu J J. Genetic diversity and relationships of medicinal chrysanthemum morifolium revealed by start codon targeted (SCoT) markers. Scientia Horticulturae, 2016, 201: 118-123
- [5] Cong L, He X H, Hu C, Ou S J, Gao M P. Analysis of diversity and relationships among mango cultivars using Start Codon Targeted (SCoT) markers. Biochemical Systematics & Ecology, 2010, 38: 1176-1184
- [6] 袁王俊,马寅峰,董美芳,韩远记,张维瑞,尚富德.桂花 SCoT 标记体系的建立及其在遗传多样性分析中的应用.园艺学报,2015,34(3):569-575
- Yuan W J, Ma Y F, Dong M F, Han Y J, Zhang W R, Shang F D. Establishment and genetic diversity analysis of SCoT molecular marker system for *Osmanthus fragrans*. Acta Horticulturae Sinica, 2015, 34(3): 569-575
- [7] 高岭,冯尚国,何仁锋,赵妙玉,王慧中.兰属植物目标起始密码子(SCoT)遗传多样性分析.园艺学报,2013,40(10):2026-2032
- Gao L, Feng S G, He R F, Zhao M Y, Wang H Z. Application of SCoT molecular marker in genetic diversity of *Cymbidium*. Acta Horticulturae Sinica, 2013, 40(10): 2026-2032
- [8] 夏乐哈,杨婷婷,杨勇,夏宏义,张永芳,王仁梓.柿 SCoT-PCR 体系优化及品种遗传多样性分析.西北植物学报,2014,34(3):473-480
- Xia L H, Yang T T, Yang Y, Xia H Y, Zhang Y F, Wang R Z. System optimization of SCoT-PCR and analysis on genetic diversity of persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.). Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2014, 34(3): 473-480
- [9] Yang Y, Yang T T, Jing Z B. Genetic diversity and taxonomic studies of date plum (*Diospyros lotus* L.) using morphological traits and SCoT markers. Biochemical Systematics & Ecology, 2015, 61: 253-259
- [10] Deng L, Liang Q, He X, Luo C, Chen H, Qin Z. Investigation and analysis of genetic diversity of *Diospyros* germplasms using SCoT molecular markers in Guangxi. PLoS One, 2015, 10(8): e0136510
- [11] 唐冬兰,胡燕,龚榜初,张青林,罗正荣.基于 SCoT 与 IRAP 标记的金枣柿实生后代遗传变异分析及其生殖特性.果树学报,2016,33(8):934-942
- Tang D L, Hu Y, Gong B C, Zhang Q L, Luo Z R. Study on the hereditary variation of Jinzaoshi persimmon (*Diospyros* sp.) seedling progeny and the reproduction characteristics analyses based on SCoT and IRAP markers. Journal of Fruit Science, 2016, 33(8): 934-942
- [12] 杨勇.国家柿种质资源圃.植物遗传资源学报,2012,13(1):165
- Yang Y. National field genebank for persimmon. Journal of Plant

- Genetic Resources, 2012, 13(1): 165
- [13] Doyle J J, Doyle J L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, 1987, 19: 11-15
- [14] Rohlf F J. NTSYS-pc: Microcomputer programs for numerical taxonomy and multivariate analysis. *The American Statistician*, 1987, 41(4): 330
- [15] Pritchard J K, Stephens M, Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 2000, 155: 945-959
- [16] Yeh F, Boyle T. Population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits. *Belgian Journal of Botany*, 1997, 129: 157
- [17] 杨本芸. 桃、李、杏、核桃不同品种的 SSR 指纹图谱构建. 保定: 河北农业大学, 2006
Yang B Y. SSR fingerprinting establishment of different cultivars of peach, plum, apricot and walnut. Baoding: Agricultural University of Hebei Province, 2006
- [18] 王文江. 柿 (*Diospyros kaki* Thunb.) 优良品种 AFLP 指纹图谱构建及遗传多样性研究. 保定: 河北农业大学, 2004
Wang W J. Studies on the finger printing and genetic diversity in persimmon cultivars using AFLP markers. Baoding: Agricultural University of Hebei Province, 2004
- [19] 王健胜, 贺军虎, 陈华蕊, 陈业渊, 乔飞. 菠萝种质目标起始密码子 (SCoT) 遗传多样性分析. *植物遗传资源学报*, 2015, 16(4): 848-856
Wang J S, He J H, Chen H R, Chen Y Y, Qiao F. Genetic diversity analysis of pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr) germplasm with SCoT molecular markers. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2015, 16(4): 848-856
- [20] 龙治坚, 范理璋, 徐刚, 胡尚连, 韩国辉. SCoT 分子标记在植物研究中的应用进展. *植物遗传资源学报*, 2015, 16(2): 336-343
Long Z J, Fan L Z, Xu G, Hu S L, Han G H. Application advance of SCoT molecular markers in plants. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2015, 16(2): 336-343

~~~~~  
(上接 1339 页)

- [18] 赵群, 汪珍. 春蚕豆异交率的测定研究. *甘肃农业科技*, 1992(2): 17-19  
Zhao Q, Wang Z. Research of outcrossing rate of spring broad bean (*Vicia faba* L.). *Agricultural Sciences of Gansu*, 1992(2): 17-19
- [19] 马镜娣, 庞邦传, 王学军, 石美玉, 汪凯华. 蚕豆自然异交率的测定研究和利用. *江苏农业科学*, 1999(4): 41-43  
Ma J D, Pang B C, Wang X J, Shi M Y, Wang K H. Research and utilization of natural outcrossing rate of broad bean (*Vicia faba* L.). *Agricultural Sciences of Jiangsu*, 1999(4): 41-43
- [20] 杨生华. 春蚕豆异交率测定研究. *中国种业*, 2002(1): 44  
Yang S H. Research of outcrossing rate of spring broad bean (*Vicia faba* L.). *China Seed Industry*, 2002(1): 44
- [21] Pierre J, Suso M J, Moreno M T, Esnault R, Guen J. Diversity and efficiency of the pollinating entomofauna (Hymenoptera: Apidae) of faba bean (*Vicia faba* L.) in two locations in France and Spain. *Annales de la Societe Entomologique de France*, 1999, 35(S): 312-318
- [22] Suso M J, Pierre J, Moreno M T, Esnault R, Guen J. Variation in outcrossing levels in faba bean cultivars: role of ecological factors. *Journal of Agricultural Science*, 2001, 136(4): 399-405
- [23] Bishop J, Jones H E, O' Sullivan D M, Potts S G. Elevated temperature drives a shift from selfing to outcrossing in the insect-pollinated legume, faba bean (*Vicia faba*). *Journal of Experimental Botany*, 2017, 68(8): 2055-2063
- [24] Carré S, Taséi J N, Mesquida J, Le Guen J. Estimate of outcrossing rate between 2 lines of field beans (*Vicia faba*) in various conditions with isozymic markers/VI International Symposium on Pollination 1991, 288: 354-358
- [25] Suso M J, Moreno M T. Variation in outcrossing rate and genetic structure on six cultivars of *Vicia faba* L. as affected by geographic location and year. *Plant Breeding*, 1999, 118(4): 347-350
- [26] 王丽萍, 刘镇绪. 云南蚕豆品种的多样性. *云南农业科技*, 1997(4): 14-15  
Wang L P, Liu Z X. Diversification of broad bean (*Vicia faba* L.) in Yunnan province. *Agricultural Sciences of Yunnan*, 1997(4): 14-15
- [27] 马缘生, 谭富娟, 李灵芝, 柴建方, 范传珠, 马榕荫, 周红立, 周涛. 异花授粉作物大白菜和荞麦基因库种子繁殖技术研究. *中国农业科学*, 2000, 33(2): 16-22  
Ma S Y, Tan F J, Li L Z, Chai J F, Fan C Z, Ma R Y, Zhou H L, Zhou T. Reproduction technology of cross-pollinated *Brassica pekinensis* and *Fagopyrum esculentum* Moench in gene bank. *Scientia Agricultura Sinica*, 2000, 33(2): 16-22