

## 不同产地金枣柿遗传变异研究

熊春艳<sup>1</sup>, 龚榜初<sup>1\*</sup>, 应尚蛟<sup>2</sup>, 吴开云<sup>1</sup>, 江锡兵<sup>1</sup>, 赵献民<sup>1,3</sup>

(1. 中国林业科学研究院亚热带林业研究所, 浙江 富阳 311400; 2. 浙江省永康市林业局, 浙江 永康 321300;  
3. 浙江省海宁市林业果树技术服务站, 浙江 海宁 314400)

**摘要:**以浙江省内 37 份金枣柿和 3 份农家柿品种为材料, 利用 SSR 分子标记技术, 结合表型性状和果实营养成分指标, 分析不同产地金枣柿遗传多样性。结果表明:金枣柿枝、叶、芽等表型性状具有丰富的形态多样性, 14 个表型性状的变异系数为 7.23%~23.54%, 其中萼片长与柿蒂长变异系数最大, 果形指数、叶形指数变异系数最小;果实营养成分在单株间的变异丰富, 变异系数为 9.58%~66.21%, 平均变异系数为 37.89%, 变异程度高于表型性状;21 对 SSR 多态性引物可从 40 份材料中扩增出 381 个 DNA 位点, 平均多态性位点百分率为 92.89%, UPGMA 聚类分析显示, 所选 SSR 标记能将供试材料完全区分开, 在遗传相似系数 0.74 时将 40 个试验单株分为 3 类, 主坐标分析所得结果与聚类分析基本一致。该研究结果为金枣柿种质资源的科学利用提供了依据。

**关键词:**金枣柿;表型性状;SSR;遗传变异

中图分类号:S718.46

文献标识码:A

## Genetic Variation of Jinzaoshi Persimmon from Different Regions in Zhejiang Province

XIONG Chun-yan<sup>1</sup>, GONG Bang-chu<sup>1</sup>, YING Shang-jiao<sup>2</sup>, WU Kai-yun<sup>1</sup>, JIANG Xi-bing<sup>1</sup>, ZHAO Xian-min<sup>1,3</sup>

(1. Research Institute of Subtropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Fuyang 311400, Zhejiang, China; 2. Forestry Bureau of Yongkang City, Zhejiang Province, Yongkang 321300, Zhejiang, China; 3. Forestry and Fruit Technical Service Station of Agricultural Economics Bureau of Haining City, Zhejiang Province, Haining 314400, Zhejiang, China)

**Abstract:** The germplasm resources of Jinzaoshi persimmon in Zhejiang Province were investigated, so as to probe the genetic diversity of Jinzaoshi persimmon from different regions. The genetic variation of collected germplasm, including 37 Jinzaoshi and 3 local varieties, was analyzed by SSR molecular marker, together with phenotypic traits and fruit nutrients contents. The results showed Jinzaoshi persimmon possessed a rich diversity on morphology. The variable coefficient about 14 phenotypic characters ranged from 7.23% to 23.54%. The variable coefficient of sepal length and persimmon calyx length were the largest. The fruit shape index and leaf index had the least variation. The fruit nutrient contents ranged from 9.58% (soluble solid content) to 66.21% (tannin content). Twenty-one primers were used to amplify 381 SSR local in 40 test materials, with an average polymorphism rate of 92.89%. The cluster analysis conducted by UPGMA showed that the materials tested could be distinguished and divided into three major groups at the genetic similarity coefficient of 0.74, which was similar to the relationship of PCoA analysis.

**Key words:** Jinzaoshi persimmon; phenotypic character; SSR; genetic diversity

金枣柿 (*Diospyros* spp.) 是柿科 (Ebenaceae) 柿属 (*Diospyros* L.) 落叶或常绿乔木或灌木<sup>[1]</sup>, 果实成

熟时呈金黄色, 外形酷似枣, 故名“金枣柿”, 又名串柿、柿枣。金枣柿是浙江省地方特色乡土树种, 有

收稿日期: 2013-05-23

基金项目: 浙江省农业新品种选育重大科技专项项目(2012C12904-10)

作者简介: 熊春艳(1986—), 女, 湖北随州人, 硕士研究生, 主要从事经济林培育研究。

\* 通讯作者: 研究员, 主要从事经济林育种和栽培技术研究。E-mail: gongbc@126.com

200 余年栽培历史,目前处于野生或半野生状态。金枣柿果实富含维生素 C,具有较高的营养价值,是理想的保健食品<sup>[2]</sup>。

研究人员先后进行了金枣柿生物学特性调查<sup>[2]</sup>,发现其形态与其它柿属植物具有较大差异;郭大龙、Hu、Du 等<sup>[3-5]</sup>利用 IRAP、SRAP、REMAP、SSAP、cpDNA PCR-RELP 不同分子标记技术研究金枣柿的分类地位,取得一定进展。胡燕<sup>[6]</sup>从形态学、染色体倍性和 rDNA 的 ITS 区方面分析确立金枣柿的分类地位,进一步完善柿属植物的系统发育研究,同时都认为金枣柿应该是柿属植物中的一个新种,若不作为新种,至少是国内外首次报道的柿(*D. Kaki* Thunb.)种下的一个二倍体变种<sup>[7]</sup>。赵献民等<sup>[8]</sup>从数量分类上对 5 个金枣柿系列进行 Q 聚类,也佐证了金枣柿可能是柿属植物另外一个新种的推测。李根有等将其定名为浙江光叶柿(*Diospyros zhejiangensis* G. Y. Li, Z. H. Chen & P. L. Chiu)<sup>[9]</sup>。但目前对金枣柿作为一新种的佐证不十分充足,对种内的变异也未见报道,一定程度上阻碍了金枣柿地方乡土品种推广、开发和利用。

前人对金枣柿在柿属植物中的分类地位研究侧重于不同物种间的亲缘关系分析,偏向于将金枣柿作为一个新种<sup>[10]</sup>。目前除浙江外,未见有金枣柿分布的报道,本试验在现有研究的基础上,全面调查了浙江省金枣柿种质资源,利用 SSR 分子标记并结合表型性状和果实营养成分指标研究金枣柿不同产地单株间的遗传多样性,以期进一步阐明乡土树种金枣柿的遗传变异情况,为其分类和开发利用提供科学依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 资源调查及指标测定

采取与群众座谈访问、实地调查测定的方式在浙江省各地区进行金枣柿资源调查,所调查的金枣柿树龄在 60~150 a 以上,其中编号 1~37 为金枣柿单株,编号 38~40 为农家柿品种(表 1)。从树冠外围中上部东、南、西、北 4 个不同方向随机采集 30 个以上成熟果实、1 年生枝条,在枝条中部采集典型成熟叶片 30 片以上。带回室内测定叶片长、叶片宽、叶柄长、叶柄粗、果实纵径、果实横径、果柄长、萼片长、萼片宽、柿蒂长、柿蒂宽、单果质量等形态指标。按照《柿种质资源描述规范和数据标准》<sup>[11]</sup>和《植物新品种特异性、一致性、稳定性测试指南:柿》<sup>[12]</sup>的方法和标准,目测法观察枝、叶、芽等 26 个

表型描述性状。

表 1 40 份柿种质材料的名称及采集地

编号	名称	采集地点	编号	名称	采集地点
1	金优 2 号	浙江永康	21	金优 36 号	浙江永康
2	金优 3 号	浙江永康	22	金优 26 号	浙江永康
3	金优 5 号	浙江永康	23	金优 33 号	浙江永康
4	磐安 8 号	浙江磐安	24	金优 35 号	浙江永康
5	磐安 9 号	浙江磐安	25	金优 9 号	浙江永康
6	庆元 5 号	浙江庆元	26	金优 32 号	浙江永康
7	缙云 3 号	浙江缙云	27	金优 34 号	浙江永康
8	缙云 6 号	浙江缙云	28	永嘉 7 号	浙江永嘉
9	遂昌 2 号	浙江遂昌	29	永嘉 8 号	浙江永嘉
10	松阳 3 号	浙江松阳	30	庆元 7 号	浙江庆元
11	松阳 6 号	浙江松阳	31	庆元 8 号	浙江庆元
12	金优 22 号	浙江永康	32	丽水 1 号	浙江丽水
13	金优 19 号	浙江永康	33	丽水 2 号	浙江丽水
14	金优 25 号	浙江永康	34	丽水 3 号	浙江丽水
15	金优 18 号	浙江永康	35	丽水 4 号	浙江丽水
16	金优 10 号	浙江永康	36	丽松 2 号	浙江丽水
17	金优 20 号	浙江永康	37	永康 3 号	浙江永康
18	金优 14 号	浙江永康	38	永康 5A	浙江永康
19	金优 15 号	浙江永康	39	永康 5B	浙江永康
20	金优 31 号	浙江永康	40	松阳鸡蛋柿	浙江松阳

### 1.2 营养成分测定

取 8~10 个金枣柿果实,剔除种子和去皮后,只取除髓质外的中间果肉部分,匀浆后,立即进行维生素 C 测定,以防止氧化降解。采用同样的方法取 10~20 个果实进行匀浆,并于 -20℃ 冰箱保存,用于可溶性糖、可溶性单宁、粗纤维、粗蛋白、含水量及钙、钾营养指标的测定。在果实去皮、匀浆取样前,用糖度计测定可溶性固形物含量。各指标测定参照赵献民<sup>[13]</sup>的方法。

### 1.3 DNA 提取及引物分析

提取 DNA 所用叶片来自中国林科院亚热带林业研究所富阳柿资源圃嫁接而成的柿种质幼苗。采集新鲜幼嫩健康叶片,存于冰盒中,当天带回实验室,将叶片用纯净水冲洗干净,液氮处理后,置于 -70℃ 冰箱中备用。

参考 Doyle 等<sup>[14]</sup>的方法提取柿总基因组 DNA。本试验从已公布的柿 genomic-SSR 引物中<sup>[3, 15-16]</sup>筛选出 21 对多态性较高的引物,进行后续样品的 SSR 单株变异分析。引物由上海生工生物工程技术服务有限公司合成。在 ABI Veriti 梯度 PCR 仪上进行 PCR 扩增。反应体系为:模板 DNA (50 ng · μL<sup>-1</sup>) 2 μL, *Taq* 酶(天根生化科技有限公司)为 0.5 U, 10 × *Taq* Buffer (含 Mg<sup>2+</sup>) 2.0 μL, dNTP (2.5 mmol · L<sup>-1</sup>) 2 μL, 各 0.5 μL 的双向引物 (100 pmol · μL<sup>-1</sup>), 加 ddH<sub>2</sub>O 补至 20 μL。反应程序为:94℃ 预

变性3 min;94℃ 变性 30 s,复性 30 s,退火温度为 50~57℃(详见表5),72℃延伸 1 min,30个循环;72℃延伸 5 min,4℃保存。扩增产物经 6% 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳、固定、银染、显影,胶片用数码相机拍照保存以供分析。

统计各描述性状在总试验数中所占比例,用 SPSS 18.0 软件分析表型性状和营养成分指标。对电泳条带结果采用“0/1”系统记录谱带,在相同迁移率位置上,有带记为“1”,无带记为“0”,生成“0”和“1”组成的原始矩阵。利用 NTSYS-pc 2.10e 软件进行聚类分析和主坐标分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 金枣柿分布情况

金枣柿具有较强的适应性,对土壤要求不严,喜温暖气候。浙江省地处亚热带地区,在此次调查中发现,金枣柿在浙江省 3 个地区 7 个县(市)都有分布,与当地柿品种混生,处于野生或半野生状态。其中以永康、松阳、缙云三地分布最多和集中,每县(市)树龄 100 a 左右的金枣柿大树有 100 多株,树高 9~14 m,树冠 7~10 m,盛产期株产量可达 200~300 kg 以上,100 年生的老树株产量仍在 100 kg 以上。永嘉、庆元、遂昌、磐安等地有零星分布。作为浙江省的特有种,目前在永康已建立了

13.3 hm<sup>2</sup> 金枣柿人工栽培示范基地。

### 2.2 金枣柿表型多样性分析

2.2.1 主要描述性状形态多样性 金枣柿果实果皮网纹、果实纵沟、果顶十字沟、果实缢痕、果肩皱褶、柿蒂形状、心室数、髓形状、心皮数、蒂隙、果顶裂果、果顶同心圆裂痕、萼片形状这些细微稳定性状上没有区别,而仅在果顶形状、蒂部花纹及柿蒂凹凸上有细微的差别。

从表 2 中金枣柿枝、叶、芽等描述性状可以看出,浙江省内金枣柿单株间具有丰富的形态多样性。金枣柿单株除叶尖扭曲与否和皮孔大小两个描述性状表现单一外,其余 24 个描述性状呈现丰富的多样性,如金枣柿叶片形状有 7 种,主要以长椭圆形、阔椭圆形、梭形为主,占 85.8%,其它叶形阔卵形、长卵形、披针形、椭圆形所占比例仅为 14.2%。

金枣柿在形态上具有独特的性状,易与其它柿属物种区分开来,其叶片光滑,枝条褐色,皮孔小。由表 2 可以看出,金枣柿枝条以 3 种不同梯度的褐色呈现,褐色、暗赤褐色、黑褐色所占比例分别为 77.8%、11.1%、11.1%。叶片中肋边毛少或无的达 88.9%,叶尖扭曲的达 100%,叶基部形状楔形、窄楔形、心形占 71.4%,而圆形仅占 28.6%。芽大小中等,芽尖几乎不裸露在外,不裸露度达 96.3%。

表 2 金枣柿主要描述性状多样性观察

描述性状	多样性特征
枝条皮色	褐色(77.8%)、暗赤褐色(11.1%)、黑褐色(11.1%)
皮孔密度	疏(11.2%)、中(44.4%)、密(44.4%)
皮孔明显度	不明显(11.1%)、较明显(40.7%)、明显(48.2%)
皮孔数量	少(11.2%)、中(44.4%)、多(44.4%)
皮孔大小	小(100%)
皮孔外形	长椭圆(57.7%)、椭圆(38.5%)、圆形(3.8%)
皮孔平凸	平(15.4%)、微凸(84.6%)
芽正面形状	等边三角形(3.7%)、长三角形(92.6%)、短三角(3.7%)
芽侧面形状	短三角形(3.7%)、长三角形(3.7%)、圆锥形(92.6%)
芽侧棱线有无	无(77.8%)、有(22.2%)
芽大小	极小(3.8%)、中(92.4%)、极大(3.8%)
芽尖裸露度	微露(3.7%)、不露(96.3%)
芽角大小	中(37.0%)、大(55.6%)、极大(7.4%)
叶枕高低	低(77.8%)、中(14.8%)、高(7.4%)
叶痕形状	盾形(14.8%)、半月形(85.2%)
叶痕大小	小(88.9%)、中(11.1%)
叶痕凹凸	微凹(3.7%)、平(92.6%)、微凸(3.7%)
叶痕朝向	斜上(63.0%)、平(29.6%)、向上(7.4%)
维管束痕迹	扁圆形(96.3%)、椭圆形(3.7%)
叶片形状	长椭圆形(42.9%)、阔椭圆形(17.9%)、梭形(25%)、阔卵形(3.5%)、长卵形(3.6%)、披针形(3.5%)、椭圆形(3.6%)
叶顶端形状	尖(89.3%)、钝尖(10.7%)
叶尖头长短	长(37.0%)、中(55.6%)、短(7.4%)
叶尖扭曲与否	扭曲(100%)
叶基部形状	楔形(64.2%)、心形(3.6%)、圆形(28.6%)、窄楔形(3.6%)
叶肋边毛多少	中(11.1%)、少或无(88.9%)
叶背网脉明显度	较明显(3.6%)、明显(96.4%)

注:括号内的数字表示描述性状各多样性特征所占百分率。

2.2.2 单株间表型性状变异 金枣柿单株间表型性状变异系数在 7.23%~23.54% 之间(表 3)。除果形指数和叶形指数外,其它表型性状变异系数均大于或接近 10%。果形指数、叶形指数变异系数最小,两者都低于 10%,说明金枣柿果实形状较单一。萼片长与柿蒂长变异系数最大,约为 24%。叶片长与叶片宽的变异系数几乎相等,为 16% 左右。果实横径与果实纵径变异系数也相差不大,接近 10%,

说明虽然两两间的变异程度没有什么差别,但果实的变异程度要小于叶片的变异程度。萼片长、柿蒂长的变异系数都分别略高于萼片宽、柿蒂宽的变异系数。鲜果质量大小平均为  $26.49 \pm 4.85$  g,最小为 13.75 g,最大为 34.92 g,极差为 21.18 g,单株之间鲜果质量大小变异较大,变异系数为 18.31%。表型性状分析结果说明金枣柿在叶片和果实上的变异较为丰富。

表 3 金枣柿单株间表型性状变异分析

数量性状	均值	极小值	极大值	极差	标准差	变异系数/%
单果质量/g	26.49	13.75	34.92	21.18	4.85	18.31
果实横径/mm	31.17	22.70	37.09	14.39	3.08	9.88
果实纵径/mm	45.78	35.45	53.00	17.55	4.38	9.57
果形指数	1.48	1.17	1.72	0.55	0.13	8.78
果柄长/mm	6.94	5.08	9.14	4.06	1.24	17.87
萼片长/mm	10.34	7.21	14.55	7.34	2.42	23.40
萼片宽/mm	11.86	8.63	14.29	5.66	2.07	17.45
柿蒂长/mm	14.70	8.06	19.14	11.08	3.46	23.54
柿蒂宽/mm	14.53	10.84	17.06	6.22	2.19	15.07
叶片长/cm	12.36	9.76	20.28	10.52	1.93	15.61
叶片宽/cm	7.54	5.41	11.82	6.41	1.25	16.58
叶形指数	1.66	1.48	1.95	0.47	0.12	7.23
叶柄长/mm	13.52	8.49	19.2	10.71	2.03	15.01
叶柄粗/mm	1.90	1.06	2.22	1.16	0.32	16.84

2.2.3 单株间果实营养成分变异 金枣柿单株间果实可溶性单宁含量、含水量、维生素 C 含量的变异系数较大,分别为 66.21%、62.60% 和 57.17% (表 4),含水量的极差最大。可溶性固形物含量、钙含量、钾含量、粗蛋白含量的变异系数相对较小,分别

为 9.58%、24.95%、26.29% 和 31.37%;粗蛋白含量和钾含量的变异系数相差不大,但钙含量的极差最小。说明不同产地金枣柿果实的可溶性单宁含量、含水量、维生素 C 含量差异很大,而可溶性固形物含量、钙含量、钾含量、粗蛋白含量差异较小。

表 4 金枣柿单株间果实营养成分变异分析

营养成分	均值	极小值	极大值	极差	标准差	变异系数/%
可溶性固形物含量/%	26.53	18.20	29.10	10.90	2.54	9.58
可溶性糖含量/%	31.30	12.86	48.00	35.14	13.45	42.97
可溶性单宁含量/(mg·g <sup>-1</sup> )	10.51	2.38	23.83	21.45	6.96	66.21
含水量/%	33.93	18.13	68.41	50.28	21.24	62.60
维生素 C 含量/(mg·g <sup>-1</sup> )	0.14	0.02	0.25	0.23	0.08	57.17
粗纤维含量/(mg·g <sup>-1</sup> )	18.34	7.82	25.00	17.18	6.16	33.61
粗蛋白含量/(mg·g <sup>-1</sup> )	7.21	2.99	9.26	6.27	2.26	31.37
钙含量/(mg·g <sup>-1</sup> )	0.16	0.05	0.23	0.18	0.04	24.95
钾含量/(mg·g <sup>-1</sup> )	1.97	1.40	3.07	1.67	0.52	26.29

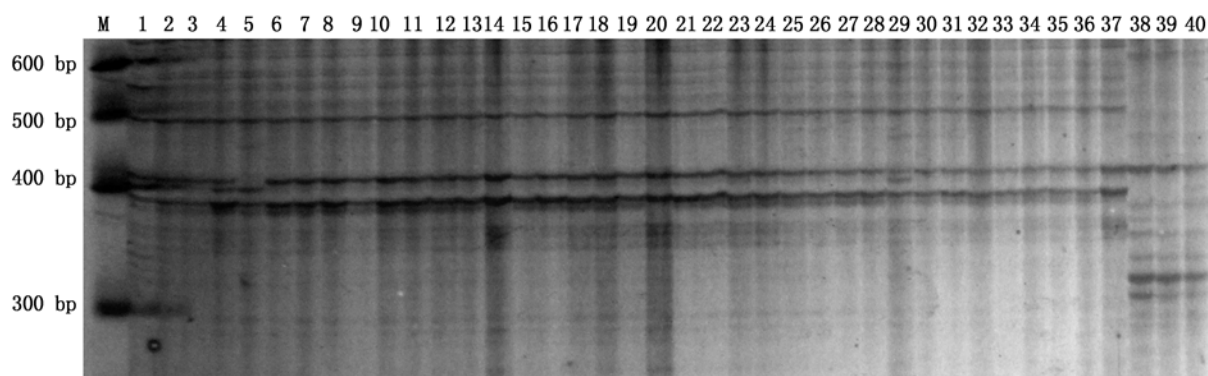
## 2.3 柿种质 SSR 多样性分析

2.3.1 SSR 特定引物扩增结果 21 对特异引物对 40 份供试柿种质材料共扩增出 381 条谱带,引物多态性位点百分率从 69.23% 至 100.00% 不等,平均多态性位点百分率为 92.89% (表 5)。多数金枣柿单株间表现多态性,不同引物扩增位点数不同,其中

扩增位点数最多的引物为 DKMP7/DQ204618,为 28 个,多态性位点数为 25 个;位点数最少的是引物 mDP16/EF567409,共 7 个,多态性位点仅为 5 个,平均每对引物可扩增 17 个多态性位点。图 1 为引物 DKMP13/DQ222479 对供试柿种质材料进行 PCR 扩增的电泳图谱。

表5 21对SSR引物扩增结果

引物名/GenBank 编号	退火温度/℃	总位点数	多态性位点数	多态性位点百分率/%
DKMP1/DQ204606	56	13	9	69.23
DKMP4/DQ204605	56	20	19	95.00
DKMP5/DQ204605	56	11	10	90.91
DKMP7/DQ204618	56	28	25	89.29
DKMP8/DQ204618	56	22	22	100.00
DKMP13/DQ222479	56	22	19	86.36
DKMP15/DQ222481	50	19	17	89.47
DKMP17/DQ222483	56	16	14	87.50
DKMP18/DQ222484	50	22	22	100.00
mDP13/EF567406	56	20	20	100.00
mDP08/EF567403	56	16	14	87.50
mDP16/EF567409	55	7	5	71.43
mDP17/EF567410	56	19	18	94.74
mDP18/EF567411	56	15	14	93.33
mDP20/EF567413	57	13	13	100.00
mDP21/EF567414	56	15	15	100.00
ssrDK30/DQ097498	56	24	23	95.83
ssrDK36/DQ097504	56	9	9	100.00
ssrDK11/DQ097479	56	23	23	100.00
ssrDK26/DQ097494	54	27	27	100.00
DP1/AB073009	56	20	20	100.00
总计/平均数		381	358	92.89



M:表示600bp的Marker;1~40:分别为40份柿种质材料编号,下同

图1 引物DKMP13/DQ222479对供试柿种质材料扩增的电泳图谱

2.3.2 UPGMA 聚类分析 根据PAGE胶片图获得由“0”和“1”组成的原始矩阵,利用NTSYS-pc 2.10e软件进行UPGMA聚类分析并生成聚类图(图2)。聚类图显示:供试柿种质材料两两间的遗传相似系数变化范围为0.35~0.90之间,在遗传相似系数为0.74时,40份供试柿种质材料大致可划分为3个类群,前两个分类类群主要为横跨浙江3个地区的金枣柿单株,第3类群为3个农家柿品种。

前两个类群的亲缘关系较近,而与第3类群农家柿品种的亲缘关系相对较远。单株中金优2号与

松阳鸡蛋柿遗传相似系数最小,为0.35,表明两单株间的变异程度最大;庆元7号与庆元8号的遗传相似系数最大,为0.90,表明两单株间的变异程度最小,可能为同一个母株的实生后代。

第一类群中,包括了2份来自永康的试验单株,分别为金优2号和金优3号。对其表型性状观察发现,两者在芽正面形状、芽侧面形状、叶痕朝向、皮孔密度上存在差异,其它表型性状几乎完全相同。

第二类群中,共包括35份试验单株,这一类群根据遗传相似系数又可细分为5个亚类。

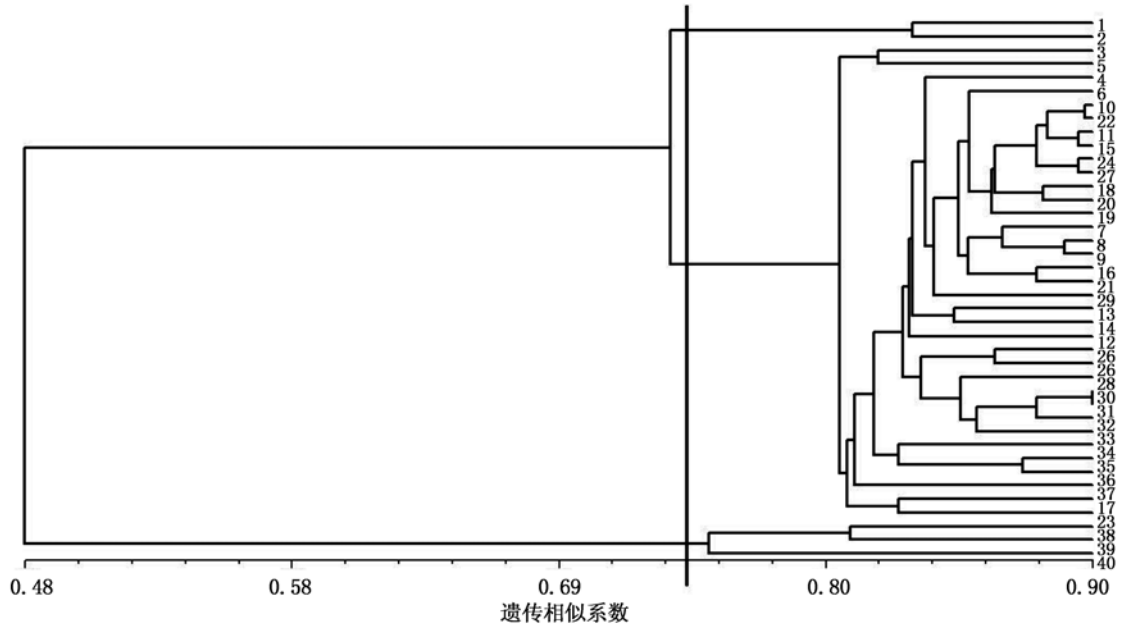


图2 40份供试柿种质材料的UPGMA聚类分析结果

第一亚类包括两份单株,为金优5号和磐安9号,两者在表型上仅是皮孔外形有差别,前者是长椭圆形,后者是圆形。第二亚类含永康14个单株和磐安8号、庆元5号、松阳3号、松阳6号、缙云3号、缙云6号、遂昌2号、永嘉8号、永嘉7号、庆元7号、庆元8号、丽水1号、丽水2号共27个单株。第三亚类包括来自丽水的3个单株,丽水4号跟丽水2号先聚在一起,后再与丽水3号聚在一起,可见虽然三者来自同一地区,但是其间仍然存在细微的差别。第四亚类仅为永康3号1个单株,为无核单株,果实纵沟和果顶十字沟不明显,果顶尖,果脐平,花柱遗迹为粒状,果肩有皱褶,柿蒂方形,柿蒂为断续环状花纹,柿蒂颜色为黄绿或褐绿色,萼片短三角形,平展。第五亚类由金优20和金优33两个单株构成。松阳3号和永康3号为目前已经确定的金枣柿,分别位于同一大类中的两个亚类。

第三类群中,由3个农家柿品种构成,分别为永康5A、永康5B和松阳鸡蛋柿,其中永康5A、永康5B聚类结果与表型观察结果相一致,其农家名均为方山柿,由图2可知,两个单株在遗传相似系数为0.81时可各自聚为一类。对果实进行观察发现,永康5A为果卵形,果顶尖,果顶纵截面形状钝尖,心皮在果内合缝呈抱蛋形的无核品种,永康5B为果圆形,果顶圆,果顶纵截面形状平直,心皮在果内合缝呈线形的有核品种。

2.3.3 主坐标分析 主坐标分析是基于相应的遗

传相似系数进行的,前2个主坐标的方差贡献率分别为22.2%、7.2%,由供试柿种质材料的第1、2主坐标二维图(图3)可知,40个试验单株在水平坐标轴上可分为3类,第I类为来自永康的2个金枣柿品种,第III类由3个柿品种构成,剩下的35个金枣柿单株组成第II类。

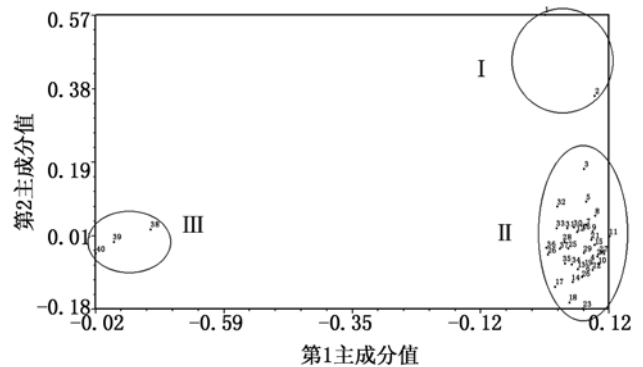


图3 40份供试柿种质材料主坐标分析散点图

通过比较图2、图3可以看出,UPGMA聚类分析和主坐标分析所得结果基本上一致,但主坐标分析能从不同方向、不同层次更加直观地显示各单株间的差异情况。

### 3 结论与讨论

通过对浙江省金枣柿分布情况进行走访调查,对37份金枣柿种质材料进行枝、叶、芽等表型性状观察,其表现出丰富的形态多样性,金枣柿具有有别

于其它柿属物种的典型形态特征。金枣柿枝条褐色;皮孔细小,分布中或密,呈椭圆或长椭圆形,微凸;成熟叶片主要为长椭圆形、阔椭圆形、梭形,叶薄革质,两面光滑,叶片中肋几乎无毛,叶尖端扭曲,基部以楔形和圆形为主,叶片略呈皱波状;芽中等大小,正面呈长三角形,侧面呈圆锥形,芽尖几乎不裸露在外。与胡燕<sup>[6]</sup>、杨勇等<sup>[7]</sup>对部分金枣柿形态观察结果一致。

广义的形态学标记以其简便、快速、直观的特点最早为人们所认识和接受<sup>[17]</sup>,邓立宝<sup>[18]</sup>根据果实大小将柿品种分为大果、中果和小果类型,赵献民<sup>[8]</sup>以单果质量进行数量性状分级,单果质量小于 81 g 为小果型,大于 123 g 为大果型,介于两者之间为中小果型。本试验中,金枣柿果实外观上都很接近,单果质量 13.75 ~ 34.92 g,平均单果质量 26.49 g,属于小果型。

金枣柿果实含有丰富的营养成分。金枣柿鲜果中富含维生素 C,维生素 C 含量为  $0.14 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,其含量是苹果 (*Malus domestica* Borkh.) 的 4.6 倍、桃 (*Prunus persica* (L.) Batsch.) 的 4.5 倍、沙梨 (*Pyrus pyrifolia* Nakai) 的 5.18 倍<sup>[19-20]</sup>。金枣柿含有多种矿质营养元素,特别是钾、钙含量丰富,鲜果中钾元素含量 ( $1.97 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ) 高于苹果 ( $1.19 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )、桃 ( $1.66 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )、火龙果 (*Hylocereus undatus* (Haw.) Britt. et Rose) ( $1.74 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ),钙元素含量 ( $0.16 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ) 分别是苹果的 4 倍、桃的 2.6 倍、火龙果的 6.7 倍<sup>[21]</sup>。

SSR 分子标记已在葡萄 (*Vitis vinifera* L.)<sup>[22]</sup>、苹果<sup>[23]</sup>、沙梨<sup>[24]</sup>等果树种质遗传多样性研究中广泛使用,且被证实较稳定和有效<sup>[25]</sup>。本试验聚类分析结果表明,不同产地金枣柿差异性较大,遗传相似系数相差较大,一部分独立成群的品种较其它品种表现出较大的利用潜力,可针对性地进行保存利用。如来自永康的金优 2 号、金优 3 号、金优 5 号、金优 20 号、金优 33 号,以及磐安 8 号、磐安 9 号、庆元 5 号,分别各自单独成群。它们在遗传相似系数为 0.48 时与柿栽培品种明显地区分开来,其结果与郭大龙和 Hu、Du 等<sup>[3-5]</sup>的研究大致一致。

胡燕<sup>[6]</sup>对金枣柿两个单株 A、B 的花期进行观察,发现金枣柿属于雌雄异株,雌株较多见,结合其果实无核或极少有核的情况,认为其可能为单性结实植物。作者在金枣柿表型调查中发现,松阳、永康的金枣柿果实大部分没有种子,只有个别树木部分

果实有种子,且年份间种子有无不稳定;而庆元、永嘉、遂昌等地金枣柿大多含有种子,每果种子数 1 ~ 8 粒,平均 3 ~ 4 粒,缙云的金枣柿部分有种子,部分无种子或种子发育过程中退化。永嘉 7 号是一株生长在房前屋后的孤立木,在连续多年观察中果实种子有无不一,一些年份全株果实没有一粒种子。因此,本文调查分析认为,金枣柿应是一个新种,是一个有种子的群体,由种子自行繁衍后代。在松阳、永康等地,金枣柿果实用于加工小柿饼、柿干,而带种子的果实加工小柿饼影响其经济价值,可能群众砍伐了有种子的金枣柿类型,将无核的类型保留下来并通过嫁接方法繁殖后代,导致大多数金枣柿没有种子。而在庆元、永嘉、遂昌、缙云等地,金枣柿没有得到开发利用,人为干预相对较少,从而有种子的单株占多数。但金枣柿是否存在较多的雄花,其种子主要由自花授粉形成还是柿属其它物种参与授粉,是否存在无融合生殖现象,还有待于进一步观测研究。

#### 参考文献:

- [1] 吴连海,徐象华,颜福花,等.金枣柿繁育研究初报[J].湖南农业科学,2011,50(10):2019-2021
- [2] 何小勇,何林,谢建秋.金枣柿的开发利用[J].中国林副特产,2006(2):47
- [3] 郭大龙.几种分子标记技术的建立及其在部分柿属植物亲缘关系分析中的应用[D].武汉:华中农业大学,2006
- [4] Hu D C, Luo Z R. Polymorphisms of amplified mitochondrial DNA non-coding regions in *Diospyros* spp. [J]. Scientia Horticulturae, 2006, 109(3): 275-281
- [5] Du X Y, Zhang Q L, Luo Z R. Comparison of four molecular markers for genetic analysis in *Diospyros* L. (Ebenaceae) [J]. Plant Systematics and Evolution, 2009, 281(1-4): 171-181
- [6] 胡燕.金枣柿的分类地位研究[D].武汉:华中农业大学,2009
- [7] 杨勇,王仁梓,李高潮,等.柿属植物及柿品种染色体数目研究[J].西北农业学报,1999,8(3):64-67
- [8] 赵献民,龚榜初,吴开云,等.浙江省农家柿品种数量分类研究[J].林业科学研究,2012,25(1):77-87
- [9] 李根有,陈征海,裘宝林.浙江柿属一新种[J].浙江林学院学报,2006,2(34):378-381
- [10] 徐象华,陈民管,李永强,等.金枣柿与部分柿属植物亲缘关系的 ISSR 分析[J].浙江农业学报,2010,22(6):731-735
- [11] 杨勇,王仁梓,李高潮,等.柿种质资源描述规范和数据标准[M].北京:中国农业出版社,2006
- [12] 国家林业局.中华人民共和国林业行业标准 LY/T 1870-2010 植物新品种特异性、一致性、稳定性测试指南:柿[S].北京:中国标准出版社,2010
- [13] 赵献民.浙江省农家柿品种资源多样性及分类研究[D].北京:中国林业科学研究院,2010

- [14] Doyle J J, Doyle J L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue[J]. *Phytochemistry Bulletin*, 1987, 19: 11 - 15
- [15] 阮小凤, Krczal G, 杨 勇. 磁珠富集法分离柿微卫星标记[J]. *西北农林科技大学学报: 自然科学版*, 2008, 36(5): 97 - 102
- [16] Soriano J M, Pecchioli S, Romero C, *et al.* Development of microsatellite markers in polyploid persimmon (*Diospyros kaki* L. f) from an enriched genomic library[J]. *Molecular Ecology Notes*, 2006, 6(2): 368 - 370
- [17] 颜福花. 李属植物及其近缘种的等位酶遗传多样性和种间关系研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2006
- [18] 邓立宝, 何新华, 李天文, 等. 利用表型结合目标起始密码子多态性分子标记调查广西云贵高原地区柿种质资源状况[J]. *园艺学报*, 2012, 39(2): 215 - 224
- [19] 何照范, 牛爱珍, 向显衡, 等. 刺梨果实营养及其维生素 C 含量变化的研究[J]. *园艺学报*, 1984, 11(4): 271 - 273
- [20] 李树另, 黄礼森, 丛佩华, 等. 不同种内梨品种果实维生素 C 含量[J]. *园艺学报*, 1994, 21(1): 17 - 20
- [21] 蔡永强, 向青云, 陈家龙, 等. 火龙果的营养成分分析[J]. *经济林研究*, 2008, 26(4): 53 - 56
- [22] Botta R, Scott N S, Eynard I, *et al.* Evaluation of microsatellite sequence-tagged site markers for characterizing *Vitis vinifera* cultivars[J]. *Vitis*, 1995, 34(2): 99 - 102
- [23] 巴乔瑞, 赵政阳, 高 华, 等. 基于 SSR 和 SRAP 标记的苹果品种亲缘关系分析[J]. *西北农林科技大学学报: 自然科学版*, 2011, 39(9): 123 - 128
- [24] 张 东, 舒 群, 滕元文, 等. 中国红皮沙梨品种的 SSR 标记分析[J]. *园艺学报*, 2007, 34(1): 47 - 52
- [25] 张艳芳. 利用形态学和 SSR 标记建立柿核心种质[D]. 武汉: 华中农业大学, 2010