

基于 SSR 分子标记的面包果资源遗传多样性分析

伍宝朵¹, 高效梅^{1,2}, 胡丽松^{1,3}, 谭乐和^{1,3}, 闫林¹, 吴刚^{1,3*}

1. 中国热带农业科学院香料饮料研究所, 海南万宁 571533; 2. 云南农业大学热带作物学院, 云南普洱 665000; 3. 国家热带植物种质资源库, 海南海口 570100

摘要: 面包果被认为是最有潜力解决热带饥荒的粮食作物, 具有较高的经济价值。我国面包果资源引种于多个国家, 来源较丰富, 目前未对其进行系统的分类和遗传多样性分析。为明确面包果资源间遗传距离, 揭示其亲缘关系, 本研究从 75 对 SSR 标记中筛选出 33 对扩增条带清晰、多态性高、稳定性好的标记, 用于面包果资源的遗传多样性分析。对面包果资源进行 PCR 扩增, 使用 8% 变性聚丙烯酰胺凝胶检测 PCR 扩增产物, 利用 NTSYS 软件进行遗传多样性相关分析。结果表明: 33 个 SSR 标记的扩增条带多态性比率为 94.57%, 共检测出 199 个多态性位点, 平均每个标记检测出 6.030 个; SSR 标记的 *PIC* 值在 0.623~0.940 之间, 平均为 0.865; 面包果资源间遗传相似系数在 0.517~0.951 之间, 平均遗传相似系数为 0.685, 且硬面包果 I 型 ZYP 资源内个体间差异最大, 平均遗传相似系数为 0.626, 无核型面包果 XYS1-3 资源内个体间差异最小, 平均遗传相似系数为 0.723; 遗传相似系数为 0.713 时, 将 30 份面包果资源聚成 5 类, XBL (*Artocarpus odoratissimus*) 和园林栽培硬面包果 I 型种质 (ZYP、LX、STH、HJ5) 聚为一类, 无核型面包果 (SLLK、XYS2、XYS3、XYS5、XYS6、YN) 聚为一类, 硬面包果 II 型 (SLM2、YDNXY1、G1、G2) 聚为一类, 硬面包果 II 型 (W1、W3、SMY、8-4、8-3、5-5、5-6) 聚为一类; 三维图能较好地 XBL 和园林栽培硬面包果 I 型与食用价值较大的无核型面包果和硬面包果 II 型区分开。依据聚类分组情况, 可推测 XYS2、XYS3、XYS5 和 XYS6 可能引种于越南, XYS1-3、YBG 和 XYS1 可能引种于印度尼西亚, FJ 可能是无核型面包果。该研究阐明了 30 份面包果资源间的亲缘关系, 为面包果品种选育、鉴别提供理论依据。

关键词: 面包果; 种质资源; SSR 分子标记; 亲缘关系; 遗传多样性

中图分类号: S667.9 文献标识码: A

Genetic Diversity Analysis of Breadfruit Complex Based on SSR Molecular Markers

WU Baoduo¹, GAO Xiaomei^{1,2}, HU Lisong^{1,3}, TAN Lehe^{1,3}, YAN Lin¹, WU Gang^{1,3*}

1. Spice and Beverage Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Wanning, Hainan 571533, China; 2. College of Tropical Crop Science, Yunnan Agricultural University, Pu'er, Yunnan 665000, China; 3. National Tropical Plants Germplasm Resource Center, Haikou, Hainan 570100, China

Abstract: Breadfruit is considered as the most potential food crop to solve tropical famine with high economic value. Breadfruit was introduced from several countries, and there are no research on the systematic taxonomic and genetic diversity analysis about it. The objective of this study was to specify the genetic distance and relationship among breadfruit and its closest wild relatives. For genetic diversity analysis, 33 pairs of SSR primers with clear amplified bands, high polymorphism and good stability were selected from 75 pairs of SSR primers. PCR amplification was performed, and the products were detected by 8% denaturing polyacrylamide gel. Genetic diversity correlation analysis was performed by NTSYS software. The results showed that the polymorphism ratio of amplified bands of the 33 SSR markers

收稿日期 2022-06-21; 修回日期 2022-08-31

基金项目 海南省重点研发计划项目 (No. ZDYF2020049); 国家热带植物种质资源库木本粮食种质资源分库项目 (No. NTP-GRC2023-018); 中国热带农业科学院基本科研业务费专项资金 (No. 1630142022001)。

作者简介 伍宝朵 (1984—), 女, 硕士研究生, 助理研究员, 研究方向: 遗传学。*通信作者 (Corresponding author): 吴刚 (WU Gang), E-mail: Wugang6170@163.com。

was 94.57%. 199 number of polymorphic sites were detected, with an average of 6.030 per marker. The PIC values of the SSR markers ranged from 0.623 to 0.940, with an average of 0.865. The genetic similarity coefficients among the breadfruit resources ranged from 0.517 to 0.951, with an average genetic similarity coefficient of 0.685. Furthermore, germplasm ZZZ possessed the greatest variation among individuals, with an average genetic similarity coefficient of 0.626. Germplasm YYS1-3 possessed the least variation among individuals, with an average genetic similarity coefficient of 0.723. At the genetic similarity coefficient of 0.713, the 30 breadfruit resources were clustered into five groups, with XBL and breadnut type I (ZZZ, LX, STH, HJ5) which used for landscaping clustered into one group, breadfruit SLLK, YYS2, YYS3, YYS5, YYS6 and YN clustered into one group, breadnut type II SLM2, YDNXY1, G1 and G2 clustered into one group, breadnut type II W1, W3, SMY, 8-4, 8-3, 5-5 and 5-6 clustered into one group. The three-dimensional diagram could better distinguish XBL and breadnut type I ZZZ, LX, STH, HJ5 from the breadfruit and breadnut type II resource with edible value. Based on the cluster analysis, we speculated that YYS2, YYS3, YYS5 and YYS6 might be introduced from Vietnam, YYS1-3, YBG and YYS1 might be introduced from Indonesia. Furthermore, FJ was regarded as a breadfruit germplasm. The present study reported the genetic diversity of breadfruit resources in China firstly, and elucidated the genetic relationship among breadfruit resources. In addition, the results could provide theoretical basis for variety breeding and identification of breadfruit complex.

Keywords: breadfruit; germplasm resources; SSR molecular markers; genetic relationship; genetic diversity

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2023.07.008

面包果属于桑科 (Moraceae) 菠萝蜜属 (*Artocarpus*), 起源于南太平洋岛国, 被认为是最有潜力解决热带地区饥荒的粮食作物, 具有较高的经济价值^[1-2]。我国海南、广东、云南、广西、福建等地均有零星种植。果实营养价值丰富, 富含淀粉、蛋白质、维生素和矿物质等, 树姿美, 可作行道树、庭院树等^[3-5]。JONES 等^[6]通过形态鉴定将其分为 *A. camansi* Blanco、*A. altilis* (Parkinson) Fosberg 和 *A. mariannensis* Trécul, 早期 *A. altilis*×*A. mariannensis* 杂交种和驯化 *A. altilis*×*A. mariannensis* 杂交种。中国热带农业科学院香料饮料研究所自 20 世纪 90 年代开始面包果试种和种质资源保存相关研究, 目前已收集保存面包果种质资源 50 余份, 其中无核型面包果 30 余份。根据有无种子将面包果分为无核型面包果和有核型面包果, 有核型面包果通称硬面包果, 硬面包果包括硬面包果 I 型和硬面包果 II 型^[7]。

简单重复序列 (simple sequence repeats, SSR) 具有共显性、多态性高、重复性好、种属间有良好的通用性、技术难度低等特点。已广泛应用于基因定位、遗传图谱构建、指纹图分析、品种鉴定和遗传多样性评价等^[8-11]。国外学者有一些关于面包果分子标记开发和遗传多样性相关研究报告。ZEREGA 等^[12]利用扩增片段长度多态性 (amplified fragment length polymorphism, AFLP) 对 200 多个面包果品种之间的关系进行研究, 绘制了 DNA 指纹图谱, 发现太平洋岛屿的面包果资源遗传多样性最丰富。WITHERUP 等^[13]从面包

果基因组文库中分离出 25 个微卫星位点, 并在 *A. altilis*、*A. camansi*、*A. mariannensis* 和 *A. altilis*×*A. mariannensis* 共 354 份样本中检测出等位基因的平均数为 2~9。ZEREGA 等^[14]利用 19 个微卫星位点对 225 份面包果种质资源进行了评估, 等位位点数为 2~24 个, 平均 11.63 个。GARDNER 等^[15]从面包果 *A. camansi* 和 *A. altilis* 的转录组中开发出 15 个叶绿体 SSR 标记, 在 *A. odoratissimus*、*A. altilis*、*A. camansi* 和 *A. altilis*×*A. mariannensis* 中均能扩增, 所有标记在 *A. camansi* 中均具有多态性。BELLIS 等^[16]从面包果基因组 DNA 文库中共获得 47 607 个简单序列重复位点, 并开发了 50 个 SSR 标记, 所有的位点在 *A. altilis* 均具有多态性, 每个标记的等位位点数为 2~19。

遗传多样性是生物多样性的重要组成部分, 可以揭示物种或居群的进化历史, 对种质资源的收集、保存、评价和利用具有十分重要的意义^[17-19]。目前, 暂未见我国面包果资源遗传多样性的研究报道。本研究基于前人已开发的 SSR 分子标记对我国收集的不同生态区域面包果种质资源开展系统的遗传多样性分析, 明确资源间遗传相似系数, 揭示其亲缘关系, 为品种选育和利用奠定良好基础。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为保存于木本粮食种质资源分库的 30 份面包果资源, 采集健康嫩叶, 用密封袋密封,

带回实验室置于-80 °C 冰箱保存备用。

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取 按照 OMEGA DNA 试剂盒

(HP Plant DNA Kit) 说明书提取基因组 DNA, 并用微量分光光度计 (NanoDrop 2000c) 检测其浓度。30 份面包果种质资源信息见表 1。

表 1 30 份面包果种质资源信息
Tab. 1 Information of 30 accessions of breadfruit

编号 No.	类型 Type	来源地 Region	编号 No.	类型 Type	来源地 Region
G1	硬面包果 II 型	哥斯达黎加	FJ	未知	斐济
G2	硬面包果 II 型	哥斯达黎加	KML	无核型面包果	科摩罗
8-3	硬面包果 II 型	汤加	HJ5	硬面包果 I 型	兴隆
8-4	硬面包果 II 型	汤加	XYS1-3	无核型面包果	兴隆
5-5	硬面包果 II 型	汤加	LX	硬面包果 I 型	兴隆
5-6	硬面包果 II 型	汤加	STH	硬面包果 I 型	兴隆
XYS6	无核型面包果	兴隆	ZZP	硬面包果 I 型	兴隆
XBL	<i>A. odoratissimus</i>	马来西亚	SMY	硬面包果 II 型	萨摩亚
SLLK	无核型面包果	斯里兰卡	XYS1	无核型面包果	兴隆
YBG	无核型面包果	兴隆迎宾馆	W3	硬面包果 II 型	瓦努阿图
XYS5	无核型面包果	兴隆	W1	硬面包果 II 型	瓦努阿图
SJBE	无核型面包果	桑给巴尔	XYS3	无核型面包果	兴隆
SLM2	硬面包果 II 型	所罗门	YDNXY1	硬面包果 II 型	印度尼西亚
SLM1	硬面包果 II 型	所罗门	XYS2	无核型面包果	兴隆 Xinglong
YN	无核型面包果	越南	YDNXY2	无核型面包果	印度尼西亚

注：筛选引物种质为粗体。

Note: The screening primer germplasm is bold.

1.2.2 引物的合成与筛选 查阅面包果引物开发、遗传多样性研究相关英文文献, 参考 BELLIS 等^[16]开发的 50 对 SSR 引物 (mAaCIR) 和 WITHERUP 等^[13]开发的 25 对 SSR 引物 (MAA), 共 75 对。引物由上海立菲生物技术有限公司合成。

1.2.3 PCR 扩增及聚丙烯酰胺凝胶电泳 PCR 扩增采用 20 μL 体系: DNA 模板 2 μL, 10×Buffer 2 μL, 正反向引物各 0.4 μL, dNTPs 0.4 μL, Taq 酶 0.3 μL, ddH₂O 补足。扩增程序为: 94 °C 5 min; 94 °C 30 s, 50~62 °C 45 s, 72 °C 45 s, 35 个循环; 72 °C 10 min; 12 °C 30 min。PCR 扩增产物电泳检测方法参照吴刚等^[20]的方法, 用 8% 变性聚丙烯酰胺凝胶检测, 在 150 U、2500 mA、500 W 条件下电泳 40~60 min。电泳结束后立即进行银染显影, 将胶板放入硝酸银染液 (1 g 硝酸银+2 mL 甲醛+1 L ddH₂O) 中银染 25 min, 胶板银染后再放入氢氧化钠显影液 (15 g 氢氧化钠+5 mL 甲醛+1 L ddH₂O) 中显影至出现清晰条带。

1.3 数据处理

根据扩增条带的位置, 有条带的读为“1”, 无条带的读为“0”。构建 (0,1) 矩阵表。采用 NTSYSpc

2.1 软件对 30 份面包果资源进行聚类、主成分、遗传相似系数分析, 以非加权组平均法 (unweighted pair-group method with arithmetic means, UPGMA) 进行聚类分析, 绘制系统聚类图, 并绘制三维散点图。同时计算多态信息含量 (polymorphic information content, PIC) 值, PIC 值等于 1 减去所有等

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n P_i^2$$

为等位基因频率, n 为等位基因数。

2 结果与分析

2.1 SSR 标记筛选

选取 5 份代表性面包果资源 (XYS1、XYS6、KML、LX、STH) 用于引物筛选 (部分引物筛选见图 1)。从 75 对引物中筛选出 33 对 (表 2) 扩增条带清晰、具有多态性的引物用于供试面包果资源群体扩增。图 2 为选取的代表性 SSR 引物 MAA251 和 mAaCIR141 的扩增结果。

2.2 SSR 标记多态性分析

筛选出的 33 对 SSR 引物在 30 份面包果资源

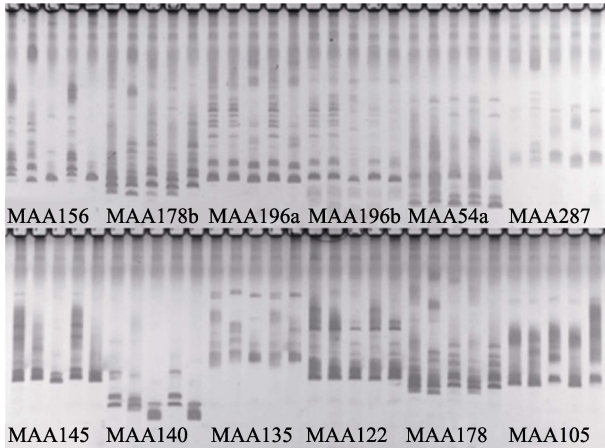
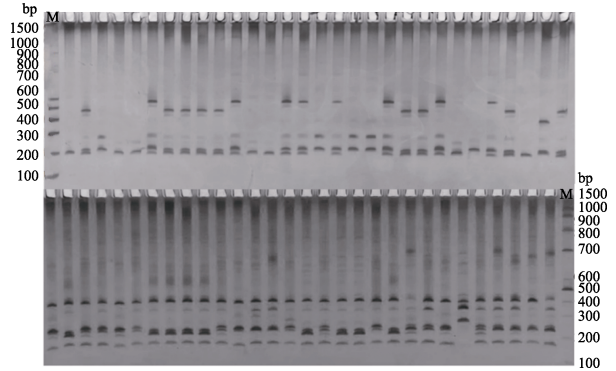


图 1 部分标记筛选电泳图

Fig. 1 Partially markers screening electropherogram



M: 100 bp DNA ladder.

图 2 MAA251 (上) 和 mAaCIR141 (下) 群体扩增电泳图

Fig. 2 Amplification electrophoresis of MAA251 (top) and mAaCIR141 (bottom) populations

表 2 筛选出的 SSR 引物
Tab. 2 Screened SSR primers

标记 Locus	正向引物(5'-3') Forward primer (5'-3')	反向引物(5'-3') Reverse primer (5'-3')	退火温度 Annealing temperature/°C
mAaCIR33	CGGGTACAGGTATTGGT	AGGAGAGCGTTTGAGGAA	50
mAaCIR48	CGAAATCGGAACAGAAAAC	GTCCTTGACTATAATCCCT	58
mAaCIR53	GCAACACATTCATCAACA	GACTCACCAAGACTTTATTACC	60
mAaCIR75	CATTCTGGGAAGAGTTGA	ATAGCGGTGAAAATGGAA	50
mAaCIR89	CCTGAGTAGGACAAAGACTGAA	ATTGCGCTTTTCTTCCC	58
mAaCIR90	GGGTGTCCTCGCCTC	GGTGGATCATTGAGCAA	58
mAaCIR104	AAAATTGTGTTCAGCCA	CGTTTACAAAAGGGTAGGG	50
mAaCIR111	TGCAGGCATCACGAAAC	CTTCTGCATGAGCGGTG	58
mAaCIR113	CCAGTAAGCTCCTTTACTACCA	GCCAAGAGCCACGTAAA	50
mAaCIR128	CAACCACTGATGGAGATAG	ACAACACCGTTTACTGAAG	50
mAaCIR130	ACACCTACCTCTTCGGG	AGGTCTAATCCCAACCCT	50
mAaCIR134	AGCTGCCAATGATCCC	ATGTGAAAAGTTGGATTTG	50
mAaCIR141	TCAAGCCCCTCACTCAA	ATGGCATAGCACAAACAAA	50
mAaCIR146	CTTGCAACCATCGTCATT	GTTAATTGGAAGTTGTGTCTCC	50
mAaCIR147	TGGCAAGAAAAGCCAAA	GTTTCAACCACAGTCCAAA	50
mAaCIR149	CGACCGGACCTAACA	ACCTGGTGCATTATCGTTTT	50
mAaCIR152	TAGTTCTGGTATGGCATT	AAAGGCACAGGGACTAAC	55
mAaCIR172	GCTGTGAGAAATGGTGTGG	TCCGTCTTCGACTGGTG	50
mAaCIR192	TGGGCTATTAAATTGGACTTTGG	GCATCATGTTTGATTGCAGTTT	50
mAaCIR193	ACAAACCAACTCCGCCT	GCCAGGGACGCATT	55
mAaCIR204	TTAGGGTCCGTTGAAGA	GAAGTCTTGTTATTTGTGAAG	50
MAA3	TGTTCTAGCTGCACGAATTATG	CTTGAATCAAACAGGCCAATTA	60
MAA54a	AACCTCCAAACACTAGGACAAC	AGCTACTTCCAAAACGTGACA	62
MAA54b	AACCTCCAAACACTAGGA	AGCTACTTCCAAAACGTGACA	60
MAA71	TTCCTATTTCTTGCAGATTCTC	AGTGGTGGTAAGATTCAAAGTG	62
MAA85	TCAGGGTGTAGCGAAGACA	AGGGCTCCTTTGATGGAA	60

续表 2 筛选出的 SSR 引物
Tab. 2 Screened SSR primers (continued)

标记 Locus	正向引物(5'-3') Forward primer (5'-3')	反向引物(5'-3') Reverse primer (5'-3')	退火温度 Annealing temperature/°C
MAA96	GGACCTCAAGGATGTGATCTC	ACACGGTCTTCTTTGGATAGC	62
MAA105	GTTGGGACACTGTGAACTATTC	AAAAGCTAGTGGATTAGATGCA	60
MAA140	CCATCCCCCATCTTTTCCT	TCCTCGTTTGCCACAGTG	60
MAA145	CCAACGCATAGCCAAATC	AAATCCCAAACCCAACGT	60
MAA156	CTGGTGCTTCAGCCTAATG	TCAGCGTCAAAGATAACTCG	60
MAA178b	GATGGAGACACTTTGAACTAGC	CACCAGGGTTAAGATGAAAC	62
MAA196a	GAATGTGAGAGATAAACTCC	CGACAAAAAACAAGGAAGAC	60
MAA251	ATCGTCTTTGTCACCACCAC	ATAGCCGAGTAACTGGATGGA	60

中共检测出 199 个多态性位点，平均为 6.030 个。其中引物 MAA140 和 mAaCIR152 的多态性位点最多，为 11 个；引物 mAaCIR130 的多态性位点最少，为 1 个。除 MAA54b、MAA3、mAaCIR90、mAaCIR113、mAaCIR130 外，其他引物扩增条带的多态性比率均为 100%。SSR 引物的 PIC 值在 0.623~0.940 之间，平均为 0.865。PIC 值在 0.9 及以上的引物有 11 对，占比为 33.33% (表 3)。SSR 标记 MAA54b、MAA178b、mAaCIR75、mAaCIR134、mAaCIR147、mAaCIR152、mAaCIR89 和 mAaCIR90 在不同类型面包果资源中具有特异性扩增条带，扩增效果较好，具有较高的多态性。

2.3 遗传相似系数分析

由表 4 可知，30 份面包果资源的遗传相似系数在 0.517~0.951 之间，平均遗传相似系数为 0.685。根据遗传相似系数可以看出不同种质资源之间亲缘关系的远近，本研究所有供试种质资源之间均存在不同程度的遗传差异。STH 与 YN 的遗传相似系数最小 (0.517)，表明遗传距离最远，遗传差异最大；XYS3 与 YYS2 的遗传相似系数最大 (0.951)，表明遗传距离最近，遗传差异最小。同一种质资源内个体间也存在不同程度的遗传差异，其中 ZYP 个体间差异最大，个体间平均遗传相似系数为 0.626，最小遗传相似系数为 0.532，最大遗传相似系数为 0.873；而 YYS1-3 个体间差异最小，平均遗传相似系数为 0.723，最小遗传系数为 0.585，最大遗传相似系数为 0.922。

2.4 聚类分析

基于 33 对多态性标记，用 NTSYS 软件对 30 份面包果资源进行聚类，同时进行主成分分析 (principal component analysis, PCA)，绘制三维散点图。遗传相似系数聚类分析显示 (图 3)，在

表 3 33 对 SSR 标记多态性分析
Tab. 3 Polymorphism analysis of 33 pairs of SSR markers

标记 Locus	扩增位点数 Number of amplification sites	多态性位点 Number of polymorphic sites	多态性比率 Polymorphism ratio/%	多态信息含量 PIC
MAA105	3	3	100.00	0.769
MAA85	7	7	100.00	0.906
MAA140	11	11	100.00	0.935
MAA251	7	7	100.00	0.914
MAA54b	11	10	90.91	0.931
MAA178b	4	4	100.00	0.837
MAA196a	6	6	100.00	0.862
MAA156	5	5	100.00	0.861
MAA54a	8	8	100.00	0.904
MAA145	6	6	100.00	0.880
MAA71	6	6	100.00	0.897
MAA3	3	1	33.33	0.706
MAA96	7	7	100.00	0.900
mAaCIR90	5	4	80.00	0.863
mAaCIR111	10	10	100.00	0.940
mAaCIR89	3	3	100.00	0.826
mAaCIR48	5	5	100.00	0.849
mAaCIR53	4	4	100.00	0.821
mAaCIR75	6	6	100.00	0.895
mAaCIR128	10	10	100.00	0.925
mAaCIR134	6	6	100.00	0.892
mAaCIR141	6	6	100.00	0.879
mAaCIR33	3	3	100.00	0.785
mAaCIR104	10	10	100.00	0.937
mAaCIR113	3	2	66.67	0.769
mAaCIR130	2	1	50.00	0.623
mAaCIR146	6	6	100.00	0.890
mAaCIR147	7	7	100.00	0.899
mAaCIR152	11	11	100.00	0.928
mAaCIR172	5	5	100.00	0.842
mAaCIR192	5	5	100.00	0.874
mAaCIR193	8	8	100.00	0.922
mAaCIR204	6	6	100.00	0.887
平均值	6.212	6.030	94.57	0.865

表 4 种质资源内个体间遗传相似系数
Tab. 4 Genetic similarity coefficients among individuals within germplasm resources

种质编号 Germplasm No.	最大遗传相似系数 Maximum genetic similarity coefficient	最小遗传相似系数 Minimum genetic similarity coefficient	平均遗传相似系数 Mean genetic similarity coefficient	种质编号 Germplasm No.	最大遗传相似系数 Maximum genetic similarity coefficient	最小遗传相似系数 Minimum genetic similarity coefficient	平均遗传相似系数 Mean genetic similarity coefficient
ZZP	0.873	0.532	0.626	YDNXY1	0.873	0.585	0.691
SLLK	0.922	0.571	0.699	YDNXY2	0.883	0.605	0.706
W1	0.766	0.605	0.687	G1	0.932	0.659	0.708
W3	0.771	0.580	0.689	G2	0.932	0.649	0.705
LX	0.927	0.522	0.634	FJ	0.932	0.532	0.696
XYS1	0.922	0.595	0.710	YN	0.859	0.517	0.680
XYS2	0.922	0.529	0.691	SMY	0.844	0.610	0.688
XYS3	0.951	0.522	0.683	KML	0.932	0.551	0.693
XYS5	0.951	0.541	0.698	HJ5	0.902	0.532	0.641
XYS6	0.927	0.546	0.690	XBL	0.756	0.551	0.633
XYS1-3	0.922	0.585	0.723	SJBE	0.873	0.576	0.701
STH	0.927	0.517	0.632	5-5	0.810	0.610	0.699
SLM1	0.761	0.605	0.674	5-6	0.810	0.610	0.693
SLM2	0.756	0.561	0.679	8-3	0.820	0.605	0.700
YBG	0.917	0.595	0.718	8-4	0.844	0.590	0.690

遗传相似系数为 0.713 时, 硬面包果 I 型 (ZZP、LX、STH、HJ5) 和 XBL 聚为一类; 无核型面包果 SLLK、XYS2、XYS3、XYS5、XYS6 和 YN 聚为一类; 硬面包果 II 型 (SLM2、YDNXY1、G1、G2) 聚为一类; 来源于南太平洋岛国的硬面包果 II 型 (W1、W3、SMY、8-4、8-3、5-5、5-6) 聚为一类; 无核型面包果 (XYS1、XYS1-3、YBG、KML、SJBE、YDNXY2) 和 FJ 为 1 个小组。面包果 PCA 三维散点图 (图 4) 将面包果资源分为 5 个组, 与聚类图一致。三维图能较好地将园林栽培硬面包果 I 型 (ZZP、LX、STH、HJ5) 和 XBL 与食用价值较大的无核型面包果和硬面包果 II 型区分开。

3 讨论

面包果起源于南太平洋岛国, 它的传播历程与南太平洋地区人类的迁徙历史密切相关。种质资源遗传多样性研究是保护、研究和创新利用面包果的重要步骤。WITHERUP 等^[13]利用从面包果基因组文库中开发的 25 对 MAA 引物评估了 354 份样本, 不同种中检测到平均等位位点数为 1.90~7.86, 平均观察杂合度 (H_o) 和期望杂合度 (H_e) 分别为 0.15~0.55 和 0.20~0.62。ZEREGA 等^[14]利用 19 对 MAA 引物评估 225 份面包果种质

资源, 平均等位位点数 11.632 个, PIC 值为 0.627, H_e 为 0.441。GARDNER 等^[15]从面包果叶绿体中开发出 15 个 SSR 标记, 不同种的平均等位位点数为 2.200~2.533, 无偏单倍体多样性为 0.147~0.602。BELLIS 等^[16]从面包果基因组 DNA 文库中开发了 50 个 SSR 标记, PIC 值为 0.680。本研究采用 33 对 SSR 引物对 30 份面包果资源进行扩增, 共检测出 205 个等位位点, 平均为 6.212 个, PIC 变化范围为 0.623~0.940, 平均为 0.680, 说明选用的 33 对引物可较好地鉴定面包果种质资源的遗传差异。遗传多样性可以揭示物种或居群的进化历史, 是物种适应新环境的基础, 遗传多样性水平越高, 物种对新环境的适应能力就越强^[19, 21]。已有研究发现, 菠萝蜜属包含 70 多个种, 起源于南太平洋岛国, 香菠萝 (*A. odoratisimus*) 与 *A. altilis*, *A. camansi* 和 *A. mariannensis* 属于同一个亚属, 具有较近的亲缘关系^[22], 本研究中 XBL 和硬面包果 I 型 (ZZP、LX、STH、HJ5) 聚为一类, 说明与硬面包果 II 型和无核型面包果相比, *A. odoratisimus* 与硬面包 I 型具有较近的亲缘关系。ZEREGA 等^[12]利用 AFLP 标记绘制了 256 份面包果资源的指纹图谱, 认为面包果至少有 2 个起源中心, 大多数美拉尼面包果类型和原产地西亚和波利尼西亚面包果品种是由 *A. camansi* 经过多代无性繁殖

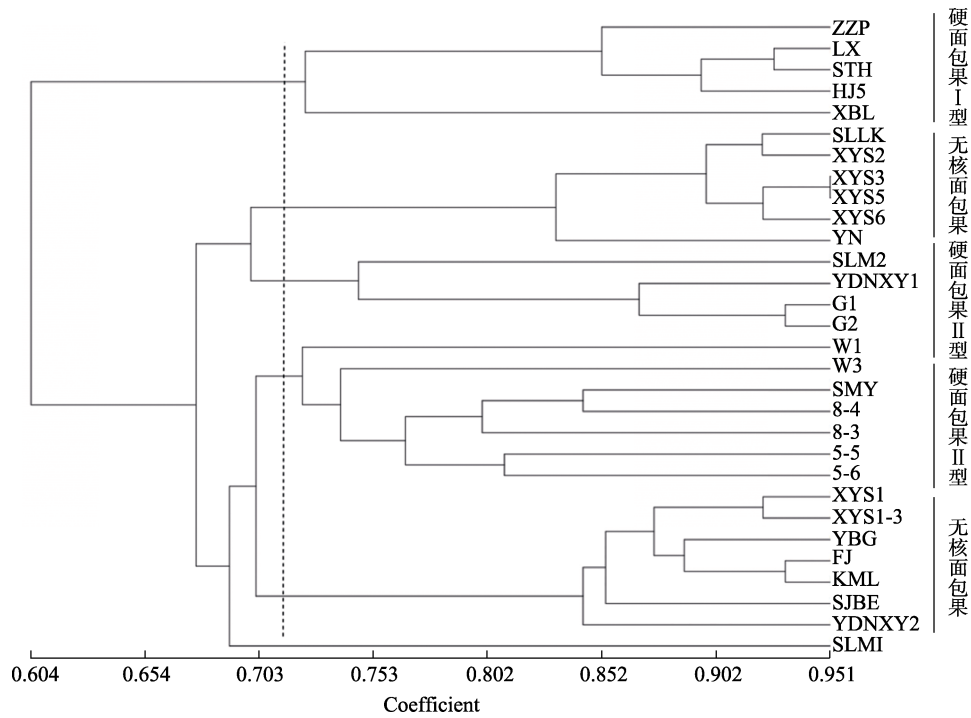


图 3 30 份面包果资源树状聚类分析
Fig. 3 Tree clustering analysis of 30 breadfruit resources

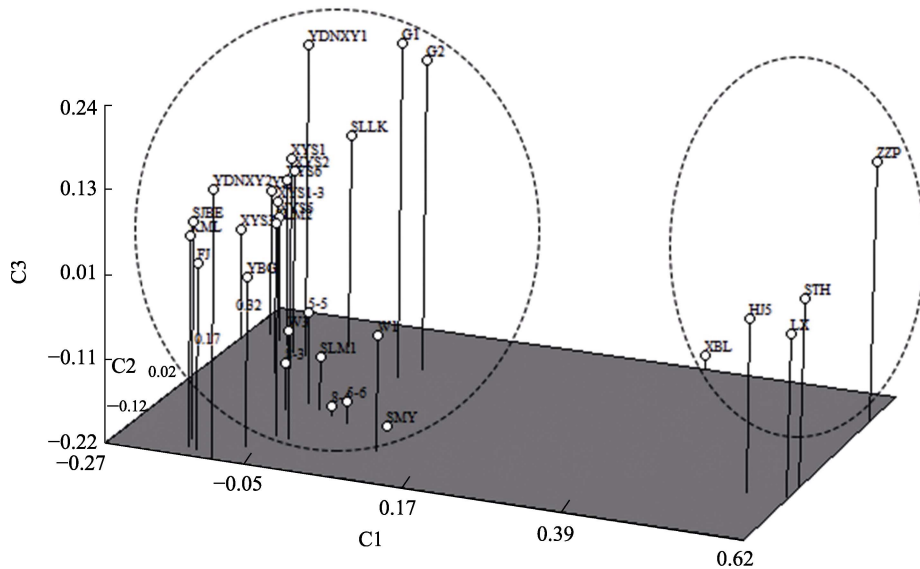


图 4 面包果 PCA 三维散点图
Fig. 4 Breadfruit PCA 3D scatter plot

和选育而来，而大多数密克罗尼西亚面包果品种由来源于 *A. camansi* 的面包果和 *A. mariannensis* 杂交而来。面包果整个驯化过程中代表性的资源分别是：2 个野生祖先种 *A. camansi* 和 *A. mariannensis*，有核二倍体 *A. altilis*，无核三倍体 *A. altilis*，早期 *A. altilis* × *A. mariannensis* 杂交种，高度驯化 *A. altilis* × *A. mariannensis* 杂交种^[23-25]。*A. camansi*、*A. mariannensis*、*A. altilis* (2n) 和早期

A. altilis × *A. mariannensis* 杂交种属于有核型面包果，而 *A. altilis* (3n) 和驯化 *A. altilis* × *A. mariannensis* 杂交种 (3n) 是无核型面包果^[6]，因此，面包果资源的聚类与地理分布和引种来源地有关。本研究中面包果样本引种于多个国家，样本来源较丰富，能代表我国面包果现有的种植情况和群体结构，聚类结果可将大多数资源根据区分开。其中 YYS1-3、YBG、XYS1、XYS2、XYS3、

XYS5 和 XYS6 等 7 份无核型面包果是 20 世纪 50 年代由越南、泰国、马来西亚和印度尼西亚等东南亚归国华侨携带引进。聚类结果显示 XYS2、XYS3、XYS5 和 XYS6 与 SLLK 和 YN 聚为一类, 因此推测这 4 份资源可能引种于越南; XYS1-3、YBG 和 XYS1 与 KML、SJBE 和 YDNXY2 聚为一类, 结合我国面包果引种历史, 推测 XYS1-3、YBG 和 XYS1 可能引种于印度尼西亚。FJ 与 XYS1-3、YBG、XYS1、KML、SJBE 和 YDNXY2 等无核型面包果聚为一类, 且与 KML 的遗传相似系数为 0.932, 结合本研究聚类结果与类型有关, 因此, 推测 FJ 可能是无核型面包果。

JONES 等^[6]使用 57 个形态描述符描述了 221 份面包果资源, 通过数量性状描述可以将资源分为 *A. camansi*、*A. mariannensis*、*A. altilis* (2n), *A. altilis* (3n), *A. altilis*×*A. mariannensis* (2n) 和 *A. altilis*×*A. mariannensis* (3n) 6 类, 也可以将资源分为来自美拉尼西亚、西波利尼西亚、东波利尼西亚和密克罗尼西亚 4 个地方, 置信水平均在 0.95。ZEREGA 等^[12]利用 SSR 标记也可将资源依据类型和区域分类。我国目前还没有面包果资源形态性状描述的系统研究, 因此, 为更系统全面地对我国面包果资源分类及亲缘关系鉴定, 后续需要多种表型性状结合分子标记进一步探讨。

参考文献

- [1] 吴刚, 白亭玉, 苏兰茜, 胡丽松, 谭乐和. 面包果芽接繁殖技术[J]. 林业科技通讯, 2020(11): 74-76.
WU G, BAI T Y, SU L Q, HU L S, TAN L H. Breadfruit budding propagation technology[J]. Forest Science and Technology, 2020(11): 74-76. (in Chinese)
- [2] 吴刚, 胡丽松, 朱科学, 秦晓威, 郝朝运, 谭乐和. 面包果在海南兴隆的引种调查初报[J]. 中国南方果树, 2017, 46(4): 99-101.
WU G, HU L S, ZHU K X, QIN X W, HAO C Y, TAN L H. A preliminary report on the introduction of breadfruit in Hainan Xinglong[J]. South China Fruits, 2017, 46(4): 99-101. (in Chinese)
- [3] 符红梅, 谭乐和. 面包果的应用价值及开发利用前景[J]. 中国南方果树, 2008(4): 43-44.
FU H M, TAN L H. The application value of breadfruit and the prospect of development and utilization[J]. South China Fruits, 2008(4): 43-44. (in Chinese)
- [4] 吴刚, 朱科学, 王颖倩, 白亭玉, 张彦军, 胡丽松, 郝朝运, 谭乐和. 面包果主要营养组分研究初报[J]. 中国热带农业, 2018(2): 39-44.
WU G, ZHU K X, WANG Y Q, BAI T Y, ZHANG Y J, HU L S, HAO C Y, TAN L H. A preliminary study on the main nutritional components of breadfruit[J]. China Tropical Agriculture, 2018(2): 39-44. (in Chinese)
- [5] 谭乐和. 菠萝蜜 面包果 尖蜜拉栽培与加工[M]. 北京: 中国农业出版社, 2017: 121-122.
TAN L H. Jackfruit Breadfruit Champedak cultivation and processing[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2017: 121-122. (in Chinese)
- [6] JONES A M P, MURCH S J, WISEMAN J, RAGONE D. Morphological diversity in breadfruit (*Artocarpus*, Moraceae): insights into domestication, conservation, and cultivar identification[J]. Genetic Resources and Crop Evolution, 2013, 60(1): 175-192.
- [7] 吴刚, 谭乐和. 面包果品种资源与栽培利用[M]. 北京: 中国农业出版社, 2021: 17-34.
WU G, TAN L H. Breadfruit variety resources and cultivation utilization[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2021: 17-34. (in Chinese)
- [8] 井敏敏, 黄炳钰, 戴小红, 李栋梁, 陈晶晶. 基于 SSR 标记的澳洲坚果种质资源遗传多样性分析[J]. 热带作物学报, 2022, 43(2): 262-270.
JING M M, HUANG B Y, DAI X H, LI D L, CHEN J J. Genetic diversity analysis of *Macadamia* germplasm resources by SSR markers[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2022, 43(2): 262-270. (in Chinese)
- [9] 周强. 老芒麦 EST-SSR 分子标记开发与遗传多样性分析[D]. 兰州: 兰州大学, 2016.
ZHOU Q. Development of EST-SSR markers and analyses of genetic diversity in Siberian wildrye (*Elymus sibiricus* L.)[D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2016. (in Chinese)
- [10] 陈明丽, 王兰芬, 武晶, 张晓艳, 杨广东, 王述民. 普通菜豆基因组 SSR 标记开发及在豇豆和小豆中的通用性分析[J]. 作物学报, 2014, 40(5): 924-933.
CHEN M L, WANG L F, WU J, ZHANG X Y, YANG G D, WANG S M. Development of genomic SSR markers in common bean and their transferability in cowpea and adzuki bean[J]. Acta Agronomica Sinica, 2014, 40(5): 924-933. (in Chinese)
- [11] 仇静静. 野生花生全基因组 SSR 标记的开发与应用[D]. 济南: 山东师范大学, 2018.
QIU J J. Development and application of genomic SSR markers from wild peanuts[D]. Jinan: Shandong Normal University, 2018. (in Chinese)
- [12] ZEREGA N J C, RAGONE D, MOTLEY T J. Complex origins of breadfruit (*Artocarpus altilis*, Moraceae): implications for human migrations in Oceania[J]. American Journal

- of Botany, 2004, 91(5): 760-766.
- [13] WITHERUP C, RAGONE D, WIESNER-HANKS T, IRISH B, SCHEFFLER B, SIMPSON S, ZEE F, ZUBERI M I, ZEREGA N J C. Development of microsatellite loci in *Artocarpus altilis* (Moraceae) and cross-amplification in congeneric species[J]. Applications in Plant Sciences, 2013, 1(7): 1200423.
- [14] ZEREGA N, WIESNER-HANKS T, RAGONE D, IRISH B, SCHEFFIER B, SIMPSON S, ZEE F. Diversity in the breadfruit complex (*Artocarpus*, Moraceae): genetic characterization of critical germplasm[J]. Tree Genetics & Genomes, 2015, 11(1): 1-26.
- [15] GARDNER E M, LARICCHIA K M, MURPHY M, RAGONE D, SCHEFFLER B E, SIMPSON S, WILLIAMS E W, ZEREGA N J C. Chloroplast microsatellite markers for *Artocarpus* (Moraceae) developed from transcriptome sequences[J]. Applications in Plant Sciences, 2015, 3(9): 1500049.
- [16] BELLIS D F, MALAPA R, KAGY V, LEBEGIN S, BILLOT C, LABOUISSSE J P. New development and validation of 50 SSR markers in breadfruit (*Artocarpus altilis*, Moraceae) by next-generation sequencing[J]. Applications in Plant Sciences, 2016, 4(8): 1600021.
- [17] 彭丽娟, 牟柯滢, 张健伟, 赵兆, 山诗瑶, 薛新如, 朱丽, 许琳玉, 李焕秀. 基于 SSR 及 ISSR 标记的菜豆遗传多样性分析[J]. 分子植物育种, 2022, 20(21): 7161-7173.
PENG L J, MU K H, ZHANG J W, ZHAO Z, SHAN S Y, XUE X R, ZHU L, XU L Y, LI H X. Genetic diversity analysis of *Phaseolus vulgaris* based on SSR and ISSR markers[J]. Molecular Plant Breeding, 2022, 20(21): 7161-7173. (in Chinese)
- [18] 冷嘉文, 乔中全, 唐丽, 王晓明, 陈前欣, 邵雯雯. 基于 SSR 分子标记的紫薇遗传多样性分析[J]. 湖南生态科学学报, 2021, 8(4): 1-7.
LENG J W, QIAO Z Q, TANG L, WANG X M, CHEN Q X, SHAO W W. Genetic diversity analysis of *Lagerstroemia indica* based on SSR molecular markers[J]. Journal of Hunan Ecological Science, 2021, 8(4): 1-7. (in Chinese)
- [19] 杨梦婷, 黄洲, 干建平, 徐君驰, 庞基良. SSR 分子标记的研究进展[J]. 杭州师范大学学报(自然科学版), 2019, 18(4): 429-436.
YANG M T, HUANG Z, GAN J P, XU J C, PANG J L. Research progress of SSR molecular markers[J]. Journal of Hangzhou Normal University (Natural Sciences Edition), 2019, 18(4): 429-436. (in Chinese)
- [20] 吴刚, 胡丽松, 黄丽芳, 郝朝运, 谭乐和. 菠萝蜜种质资源遗传多样性的 SRAP 分析[J]. 热带作物学报, 2015, 36(8): 1385-1391.
WU G, HU L S, HUANG L F, HAO C Y, TAN L H. Analysis of genetic diversity in *Artocarpus heterophyllus* by SRAP[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2015, 36(8): 1385-1391. (in Chinese)
- [21] 敬丹, 骆翔, 陈利娜, 李好先, 唐丽颖, 曹尚根. 基于 SSR 分子标记的 78 份核桃种质资源遗传多样性分析[J]. 江西农业学报, 2020, 32(6): 11-16.
JING D, LUO X, CHEN L N, LI H X, TANG L Y, CAO S G. Genetic diversity analysis of 78 walnuts based on SSR molecular marker[J]. Acta Agriculturae Jiangxi, 2020, 32(6): 11-16. (in Chinese)
- [22] GARDNER E M, JOHNSON M G, PEREIRA J T, PUAD A S A, ARIFIANI D, WICKETT N J, ZEREGA N J C. Paralogs and off-target sequences improve phylogenetic resolution in a densely sampled study of the breadfruit genus (*Artocarpus*, Moraceae)[J]. Systematic Biology, 2021, 70(3): 558-575.
- [23] RAGONE D. Breadfruit *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg[M]. Rome: International Plant Genetic Resources Institute, 1997: 14-19.
- [24] RAGONE D. Chromosome numbers and pollen stainability of three species of Pacific Island breadfruit (*Artocarpus*, Moraceae)[J]. American Journal of Botany, 2001, 88(4): 693-696.
- [25] RAGONE D. Breadfruit: diversity, conservation and potential[C]//I international symposium on breadfruit research and development, 2007, 757: 19-30.