

张 林,高 敏,倪红梅,等. 96 份桑树地方品种农艺性状的关联分析[J]. 江苏农业科学,2018,46(13):125-131.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.13.030

96 份桑树地方品种农艺性状的关联分析

张 林^{1,2}, 高 敏¹, 倪红梅¹, 方荣俊^{1,2}, 潘 刚^{1,2}, 赵卫国^{1,2}, 刘 利^{1,2}

(1. 江苏科技大学生物技术学院,江苏镇江 212018; 2. 中国农业科学院蚕业研究所,江苏镇江 212018)

摘要:利用 SPSS 17.0 软件对 96 份地方桑树种质资源 21 个农艺性状进行分析,结果显示,该 21 个农艺性状的变异幅度存在较大差异。利用 ISSR 分子标记对 96 份桑树种质资源进行遗传多样性和群体结构分析,10 个 ISSR 引物共扩增出 93 条清晰的带,其中 73 条带具有多态性,多态性条带百分率为 78.49%。基于遗传系数的 UPGMA 聚类分析结果与基于贝叶斯数学模型的群体结构聚类分析结果完全一致,均将 96 份供试桑树种质地方品种分为两大类。分析结果显示,参试的 10 个 ISSR 标记共 93 个多态性位点中,在 $P < 0.01$ 的极显著情况下,与叶长、节间距等 15 个农艺性状相关的标记位点共有 28 个,变异解释率为 5.42% ~ 16.35%,其中有 3 个位点同时与 3 个农艺性状相关联。研究结果对桑树种质资源重要农艺性状基因的发掘和利用以及遗传育种都具有重要意义。

关键词:桑树;ISSR 分子标记;农艺性状;关联分析

中图分类号: S888.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)13-0125-06

桑树(*Morus alba* L.)为桑科(Moraceae)桑属(*Morus* L.)落叶乔木或灌木,原产中国中部和北部,叶为桑蚕饲料,桑树品种、桑叶产量及叶质是养蚕的决定性因素。因此作为蚕业生产基础资料的桑树品种,其经济性状的改良对促进蚕业发展有着巨大的作用。不断提高桑树品种的产量、品质、抗病性和适应性是现代桑树育种家追求的主要目标^[1]。但是桑树的多数经济性状与农艺性状,例如产量、品质、抗逆性、抗病性等都是数量性状。与质量性状的遗传特性不同,数量性状受多基因的数量性状位点控制,遗传基础比较复杂,而且容易受环境因素影响,且呈连续性变异,表现型与基因型的对应关系也不明确,对其遗传基础的研究比较困难^[2],了解和研究这些数量性状的遗传规律对农作物的遗传改良具有重要意义。

本研究拟采用以 PCR 技术为基础的 ISSR 技术探讨供试材料的遗传多样性。ISSR 技术具有遗传多态性高、重复性好、使用范围广、操作简单、试验成本低等优点,ISSR 技术因其简便快速、稳定可靠的特性已在一些农作物和经济作物的遗传性研究上获得了广泛的应用并取得了理想的结果,该技术在研究桑树种质资源的品种鉴定和亲缘关系分析、群体遗传结构和遗传多样性研究方面也是一种行之有效的工具。Prevost 等采用 4 个 ISSR 引物对 34 个马铃薯品种进行分析研究,并将这 34 个品种区别开来^[3]。Vijayan 等用 17 个 ISSR 引物对印度桑属野生品种进行了遗传多样性分析^[4]。

关联分析是建立在连锁不平衡的基础上,能够识别群体

内目标性状与候选基因或遗传标记之间的关系,从而鉴定群体内目标性状与遗传标记或候选基因关系的分析方法^[5]。该方法近期开始在植物数量性状研究和植物育种中应用,其利用的是自然变异,不需要花费过多的时间和精力去构建作图群体,可以广泛地检测遗传变异,具有较高的分辨率^[1]。本研究拟对我国桑树地方品种及创新桑种质的性状进行关联分析,从而寻找与其表型相关的优异基因,从分子水平解释桑树表型性状的遗传变异规律,进而为桑树数量性状遗传改良研究提供理论基础,为桑树杂交育种寻求新途径。Thornberry 首次将关联分析引入到植物复杂性状研究中,发现了与玉米花期性状呈显著性相关的 Dwarf8 基因序列的多态性^[6],被广泛应用于拟南芥^[7]、水稻^[8]和大豆^[9]等作物中。总之,关联分析将成为研究植物数量性状的强有力工具,为更深刻地认识和了解植物数量性状的遗传规律及品种的遗传改良提供了新的方法和途径。本研究利用 ISSR 分子标记技术,对黄河流域鲁桑、太湖流域湖桑 2 种类型共 96 份桑树品种的 21 个农艺性状进行调查,并利用 10 个 ISSR 标记的多态性对供试材料进行遗传多样性和群体结构分析,从而分析遗传标记与表型性状的相关性。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为取自中国农业科学院蚕业研究所江苏镇江国家桑树种质资源圃的 96 份桑树种质,其中包括 34 份黄河下游鲁桑桑树种质和 62 份太湖流域湖桑桑树种质,供试的 96 份桑树试验材料的来源见表 1。

1.2 桑树种质资源农艺性状的鉴定

在国家种质江苏镇江桑树圃对桑树种质农艺性状进行田间调查,依据《桑树种质资源描述规范和数据标准》^[10]的要求确定取样方法和调查标准,参照本课题组桑树农艺性状的数据库,计算出每份桑树种质资源的所有农艺性状的平均值、变异系数和标准差,并进行方差检验分析,判断试验结果的可靠

收稿日期:2017-12-11

基金项目:“十二五”农村领域国家科技计划课题(编号:2013BAD01B03-17);农业部保种专项:桑树种质资源保护与利用(编号:1117213013540520026)。

作者简介:张 林(1964—),男,江苏镇江人,硕士,副研究员,主要从事植物种质资源与遗传育种方面的研究。E-mail:zhanglinsri@126.com。

通信作者:刘 利,博士,副研究员,主要从事植物种质资源与遗传育种方面的研究。E-mail:touhliu@163.com。

表 1 桑树种质资源材料的来源

编号	品种	来源	桑种
1	大鸡冠	山东省临朐县	鲁桑
2	青黄桑	山东省临朐县	鲁桑
3	莱芜接桑	山东省莱芜县	鲁桑
4	梧桐桑	山东省临朐县	鲁桑
5	白条瓣桑	山东省蒙阴县	鲁桑
6	银红椹鸡冠	山东省临朐县	鲁桑
7	昌潍大白条	山东省临朐县	鲁桑
8	新泰打桑	山东省新泰县	鲁桑
9	羊角弯	山东省临朐县	鲁桑
10	铁干桑	山东省临朐县	鲁桑
11	深县黄鲁	河北省邢台市	鲁桑
12	碗桑	河北省深县	鲁桑
13	红条瓣桑	山东省蒙阴县	鲁桑
14	营子桑	山东省临朐县	鲁桑
15	鸡冠一生子	山东省临朐县	鲁桑
16	大叶一生子	山东省临朐县	鲁桑
17	龙头桑	山东省临朐县	鲁桑
18	黑鲁桑	山东省临朐县	鲁桑
19	沂水黄鲁头	山东省沂水县	鲁桑
20	杨善黑鲁	山东省临朐县	鲁桑
21	打鲁桑	山东省临朐县	鲁桑
22	黑鲁头	山东省临朐县	鲁桑
23	口头黑鲁	山东省淄博市	鲁桑
24	九山黑鲁	山东省临朐县	鲁桑
25	周村黄鲁	山东省新泰县	鲁桑
26	驴耳椹	山东省淄博市	鲁桑
27	黄鸡冠	山东省临朐县	鲁桑
28	黄鲁桑	山东省临朐县	鲁桑
29	沂源黄鲁头	山东省沂源县	鲁桑
30	大鸡桑芽变	山东省临朐县	鲁桑
31	三岔黄鲁	山东省沂源县	鲁桑
32	李召桑	山东省临朐县	鲁桑
33	冀丰	河北省承德县	鲁桑
34	冀黄鲁选	河北省邢台市	鲁桑
35	湖桑 4 号	江苏省无锡市	湖桑
36	湖桑 7 号	江苏省无锡市	湖桑
37	湖桑 13 号	江苏省无锡市	湖桑
38	湖桑 35 号	江苏省无锡市	湖桑
39	淮宿桑	江苏省宿迁市	湖桑
40	新桥 1 号	江苏省丹阳市	湖桑
41	洞庭 2 号	江苏省苏州市	湖桑
42	黄海 1 号	江苏省海安市	湖桑
43	白条桑	浙江省湖州市	湖桑
44	真肚子桑	浙江省桐乡市	湖桑
45	长安大种桑 4 号	浙江省海宁市	湖桑
46	璜桑 13 号	浙江省诸暨市	湖桑
47	湖桑 96 号	江苏省镇江市	湖桑
48	长安大种桑 5 号	浙江省海宁市	湖桑
49	豆腐皮	浙江省诸暨市	湖桑
50	湖桑 103 号	江苏省镇江市	湖桑
51	周镇荷叶白 3 号	浙江省海宁市	湖桑
52	湖桑 199 号	浙江省杭州市	湖桑
53	弁南 2 号	浙江省湖州市	湖桑
54	红头桑	浙江省湖州市	湖桑

续表 1

编号	品种	来源	桑种
55	甩桑 2 号	浙江省新昌县	湖桑
56	胡桃桑	浙江省肖山县	湖桑
57	弯条桑	浙江省湖州市	湖桑
58	湖桑 3 号	江苏省无锡市	湖桑
59	湖桑 5 号	浙江省杭州市	湖桑
60	湖桑 6 号	浙江省杭州市	湖桑
61	湖桑 10 号	江苏省无锡市	湖桑
62	湖桑 20 号	江苏省无锡市	湖桑
63	湖桑 21 号	江苏省无锡市	湖桑
64	湖桑 24 号	江苏省无锡市	湖桑
65	湖桑 26 号	江苏省无锡市	湖桑
66	湖桑 31 号	江苏省无锡市	湖桑
67	溧阳红皮	江苏省南京市	湖桑
68	新桥青桑	浙江省富阳市	湖桑
69	湖桑 36 号	江苏省无锡市	湖桑
70	湖桑 37 号	江苏省无锡市	湖桑
71	湖桑 38 号	江苏省无锡市	湖桑
72	湖桑 39 号	江苏省无锡市	湖桑
73	湖实鸡冠	江苏省无锡市	湖桑
74	梅村 1 号	江苏省无锡市	湖桑
75	湖桑 60 号	江苏省无锡市	湖桑
76	无锡短节湖	江苏省无锡市	湖桑
77	湖桑 86 号	浙江省杭州市	湖桑
78	镇荷桑	浙江省湖州市	湖桑
79	洞庭 1 号	江苏省苏州市	湖桑
80	富阳青	浙江省富阳市	湖桑
81	富阳桑	浙江省富阳市	湖桑
82	石门青	浙江省桐乡市	湖桑
83	早青桑	浙江省德清县	湖桑
84	璜桑 3 号	浙江省诸暨市	湖桑
85	璜桑 14 号	浙江省诸暨市	湖桑
86	海盐面青	浙江省海盐县	湖桑
87	大种桑	浙江省富阳市	湖桑
88	海桑	浙江省鄞县	湖桑
89	白色青	浙江省海宁市	湖桑
90	望海桑	浙江省嵊县	湖桑
91	菱湖大种	浙江省湖州市	湖桑
92	璜桑 8 号	浙江省诸暨市	湖桑
93	白皮大种	浙江省湖州市	湖桑
94	猪肚桑	浙江省嵊县	湖桑
95	吴兴大种	浙江省湖州市	湖桑
96	剪刀桑	浙江省嵊县	湖桑

性和稳定性。取平均值作为该种质的最终性状值,最后统计并分析各个性状的平均值。

1.3 ISSR 引物的选取与扩增

选取加拿大哥伦比亚大学的设计并参考赵卫国博士论文中部分引物^[11]进行多态性筛选,初步选定了 22 个引物用于 ISSR 分子标记,引物由上海生物工程有限公司合成。桑树总 DNA 的提取拟采用植物基因组提取试剂盒法,PCR 程序为 94 ℃ 7 min;94 ℃ 40 s,退火 45s(根据 T_m 值而定),72 ℃ 90 s,36 个循环;72 ℃ 7 min;4 ℃ 保存。ISSR-PCR 电泳并照相记录后,进行人工读带。同一引物的扩增产物中,分子量大小及强度相近的条带被认为具同源性,属于同一位点的产物。

读带时要遵循排除模糊不清的条带、只记录清晰且易于辨认的条带的原则。对于分子量大小相同但强度不同的条带,当强带的强度大于弱带的 2 倍时,则将它们读为不同的条带。

1.4 群体结构分析

利用 Structure 2.3.4 软件对供试材料进行基于贝叶斯数学模型的聚类分析,从而估算其群体结构关系。计算材料相应的遗传成分系数(Q):当某材料在某个类群中的 Q 值 ≥ 0.5 时,该品种将被划分到相应的类群中,认为该品种的血缘相对比较单一;若某材料在任何类群中的 Q 值均 < 0.5 时,则认为该品种拥有混合来源^[12-15]。按照以上方法将群体中各材料划分至对应的亚群并绘制群体结构图。

1.5 亲缘关系系数分析

亲缘关系系数(Kinship)是衡量品种间亲缘相似性的参数,本研究采用 SPAGeDi 软件计算 96 份桑树种质个体间的亲缘关系,得到亲缘关系系数矩阵(K 矩阵)。亲缘关系是 2 个材料个体间的遗传相似度与任意材料个体间遗传相似度的相对值,因此当 Kinship 值 < 0 时,表明某 2 个材料品种间的亲缘关系低于群体中任意 2 个材料品种的亲缘关系,则直接定义此值为 0,所有系数加倍^[16-17]。

表 2 96 份供试材料 21 个农艺性状的基本描述性统计

性状	最大值	最小值	平均值	极差	标准差	变异系数 (%)
叶长(cm)	25.80	15.00	19.99	10.80	2.33	11.66
叶幅(cm)	23.80	11.30	16.64	12.50	2.42	14.52
节间长(cm)	5.40	2.90	3.88	2.50	0.52	13.52
发芽率(%)	86.00	54.00	68.25	32.00	6.88	10.07
生长芽率(%)	40.00	7.00	18.56	33.00	6.28	33.83
春米条叶(g/m)	421.00	67.00	140.88	354.00	56.58	40.17
秋米条叶(g/m)	164.00	66.00	108.45	98.00	22.26	20.53
春公斤数(片/kg)	1 100.00	236.00	581.67	864.00	163.72	28.15
秋公斤数(片/kg)	580.00	132.00	249.55	448.00	76.72	30.75
梢梗叶(%)	68.00	1.00	10.74	67.00	8.69	80.93
条梗叶(%)	56.00	7.00	40.08	49.00	9.49	23.68
叶梗叶(%)	413.00	4.00	52.22	409.00	37.95	72.66
榧梗叶(%)	14.10	0.10	1.03	14.00	1.87	180.99
株产叶量(kg)	5.74	1.20	2.84	4.54	0.91	31.96
亩产叶量(kg)	2 321.00	190.40	1 364.74	2 130.60	407.35	29.85
春万头茧量(g)	25.25	9.98	19.88	15.27	3.15	15.86
春万茧层量(g)	6.09	2.27	4.72	3.82	0.82	17.42
春担桑茧量(kg)	7.64	3.58	5.45	4.06	0.76	13.97
秋万头茧量(g)	21.51	11.17	17.98	10.34	1.68	9.32
秋万茧层量(g)	6.17	2.31	3.93	3.85	0.50	12.73
秋担桑茧(kg)	8.27	2.98	6.19	5.29	0.72	11.61

2.2 遗传多样性统计分析与聚类分析

通过筛选,从 22 个引物中选出的多态性强、条带清晰、结果稳定且重复性好的 10 个引物被用于桑树地方品种的 ISSR 分子标记多态性分析。10 个 ISSR 引物通过 PCR 反应共扩增出 93 条清晰的带,其中 73 条带具有多态性,多态性条带百分率为 78.49%,平均每个引物扩增的条带数为 9.3 条,平均每个引物扩增的多态性条带数为 7.3 条。不同引物的扩增带数从 7 到 11 不等。平均每个位点观测等位基因数为 1.795 7,有效等位基因数为 1.496 4,Nei's 遗传多样性指数为 0.286 9,Shannon's 信息指数为 0.426 8,表明 96 份供试材料

1.6 标记和农艺性状的关联分析

结合 TASSEL 2.1 软件中的 MLM 模型^[17],分析性状与标记位点之间的关联性,并计算标记位点对表型变异的贡献率(即解释率)。综合 96 份桑树材料各农艺性状的表型数据和标记位点的多态性数据,以群体结构的 Q 值作为协变量,将 96 份供试材料的亲缘关系 K 矩阵连同 21 个农艺性状表型数据,对 93 个多态性标记位点进行标记和性状间的关联分析^[17]。所得结果中当 $P < 0.01$ 时,则认为该标记与相应性状之间存在极显著的关联性。

2 结果与分析

2.1 桑树地方品种的主要农艺性状

从表 2 可见,这 21 个农艺性状变异幅度存在较大差异,其中变异系数在 30% 以上的性状为生长芽率、春米条叶、秋公斤数、梢梗叶、榧梗叶、叶梗叶和株产叶量,梢梗叶、榧梗叶和叶梗叶的变异系数甚至达到了 50% 以上。榧梗叶的变异系数最大,为 180.99%,秋万头茧量的变异系数最小,为 9.32%。结果表明,供试桑树种质资源品种间的各性状存在较大差异,多样性比较丰富,可为桑树育种提供丰富的亲本材料。

之间的 ISSR 变异大,多态性高。

2.3 品种聚类分析

利用 73 个多态性位点数据,96 个品种被聚为 2 类(图 1),Ⅰ类 34 份材料均为鲁桑品种,来自山东省的 7 个品种亲缘关系较近,被聚为一类,Ⅱ类为 62 份湖桑品种,湖桑和鲁桑亲缘关系较远。

2.4 群体结构分析

通过采用基于贝叶斯的聚类分析方法分析供试材料的遗传结构,从而确定其群体数目。利用 Structure 2.3.4 软件评估群体的 K 值,即亚群数(范围设为 2~10),依据运算的输出

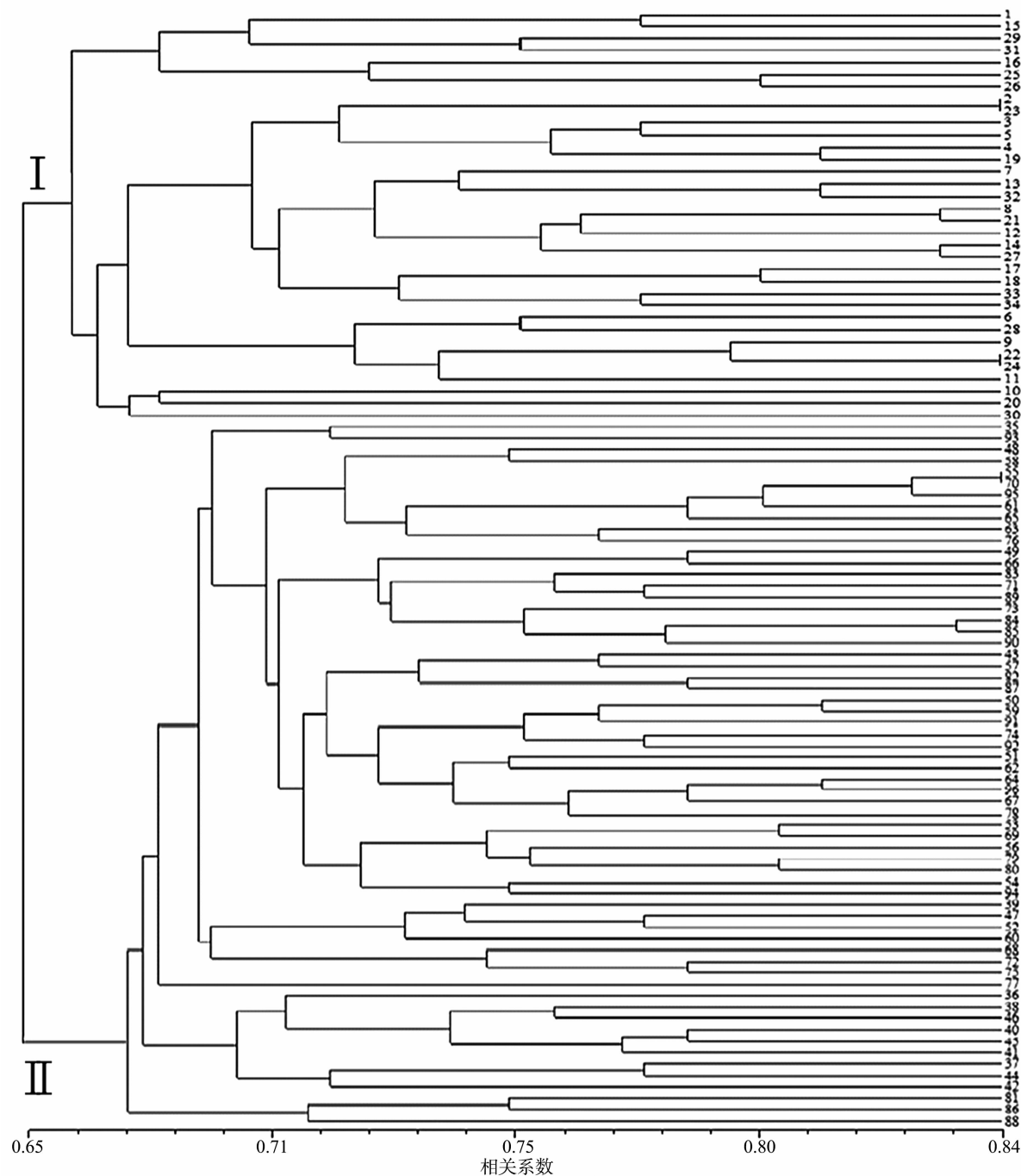


图1 基于 ISSR 标记的 96 份桑树种质的 UPGMA 聚类图(编号相对应的各品种与表 1 一致)

结果, K 与 ΔK 的关系如图 2 所示。当 $K=2$ 时,模型中的 ΔK 出现峰值。因此根据分析结果可将参试的 96 份桑树种质划分为 2 个亚群,群体结构聚类结果见图 3。各个品种在不同亚群中的 Q 值如表 3 所示,当 $Q < 0.5$ 时,亚群 1 含有的 34 份桑树材料全部为黄河下游鲁桑桑树种质,亚群 2 的 62 份供试材料为太湖流域湖桑桑树种质。96 份样本的划分与 UPGMA 聚类分析的结果完全一致,这也体现了 Structure 软件对群体结构进行聚类分析的准确性。

2.5 群体亲缘关系分析

结合 93 个 ISSR 标记位点,利用 SPAGeDi 软件对 96 份供试材料进行亲缘关系分析,品种间的平均亲缘关系 Kinship 值

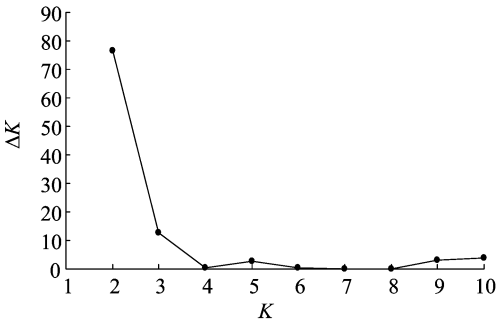


图2 似然值对数的变化率(ΔK)



图3 桑树种质群体结构分析

表3 96 份桑树材料在 2 个亚群中的 Q 值

编号	Q 值		编号	Q 值	
	Group I	Group II		Group I	Group II
1	0.974	0.026	49	0.014	0.986
2	0.942	0.058	50	0.026	0.974
3	0.947	0.053	51	0.203	0.797
4	0.641	0.359	52	0.008	0.992
5	0.834	0.166	53	0.049	0.951
6	0.943	0.057	54	0.105	0.895
7	0.964	0.036	55	0.269	0.731
8	0.842	0.158	56	0.034	0.966
9	0.732	0.268	57	0.196	0.804
10	0.948	0.052	58	0.062	0.938
11	0.831	0.169	59	0.170	0.830
12	0.895	0.105	60	0.089	0.911
13	0.807	0.193	61	0.236	0.764
14	0.792	0.208	62	0.302	0.698
15	0.894	0.106	63	0.246	0.754
16	0.849	0.151	64	0.064	0.936
17	0.970	0.030	65	0.312	0.688
18	0.953	0.047	66	0.316	0.684
19	0.979	0.021	67	0.125	0.875
20	0.959	0.041	68	0.326	0.674
21	0.969	0.031	69	0.182	0.818
22	0.899	0.101	70	0.174	0.826
23	0.966	0.034	71	0.079	0.921
24	0.996	0.004	72	0.183	0.817
25	0.979	0.021	73	0.261	0.739
26	0.997	0.003	74	0.308	0.692
27	0.986	0.014	75	0.047	0.953
28	0.995	0.005	76	0.043	0.957
29	0.958	0.042	77	0.004	0.996
30	0.946	0.054	78	0.041	0.959
31	0.912	0.088	79	0.003	0.997
32	0.957	0.043	80	0.306	0.694
33	0.985	0.015	81	0.237	0.763
34	0.949	0.051	82	0.009	0.991
35	0.298	0.702	83	0.360	0.640
36	0.186	0.814	84	0.103	0.897
37	0.074	0.926	85	0.012	0.988
38	0.059	0.941	86	0.005	0.995
39	0.124	0.876	87	0.072	0.928
40	0.045	0.955	88	0.091	0.909
41	0.032	0.968	89	0.108	0.892
42	0.005	0.995	90	0.002	0.998
43	0.007	0.993	91	0.073	0.927
44	0.039	0.961	92	0.046	0.954
45	0.047	0.953	93	0.098	0.902
46	0.024	0.976	94	0.008	0.992
47	0.003	0.997	95	0.035	0.965
48	0.004	0.996	96	0.003	0.997

为 0.111 3, 其中 52.11% 的材料间的 Kinship 值为 0, 约 39.63% 的材料 Kinship 值在 0~0.2 之间, Kinship 值小于 0.5 的情况达到了总数的 96.18%, 亲缘关系在 0.5 以上的情况只占到了 3.82% (图 4)。这说明 96 份地方桑树品种间的亲缘关系较弱, 极少数的品种之间有较近的亲缘关系, 表明参试品种之间存在着丰富的遗传变异和广泛的代表性。

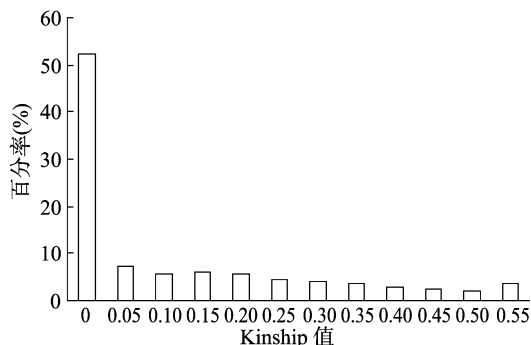


图4 桑树地方品种种质 Kinship 值分布

2.6 标记与农艺性状的关联分析

通过 TASSEL 2.1 软件的 MLM 模型, 把 Structure 软件计算出的群体结构数据 (Q 值) 作为协变量, 将 96 份供试材料的亲缘关系 K 矩阵连同叶长、叶幅、节间距等农艺性状表型数据对 93 个多态性标记位点进行标记和性状间的关联分析。标记位点对表型性状的解释率见表 4。从表 4 可以看出, 经 MLM 混合线性模型检测的 93 个位点中, 与 15 个表型农艺性状 (叶长、节间长、生长芽率、春米条叶、秋米条叶、春公斤数、秋公斤数、叶梗叶、梢梗叶、条梗叶、株产叶量、春万头茧量、春万茧层量、春担桑茧量、秋万头茧量) 相关的标记位点共有 28 个, 变异解释率为 5.42%~16.35%。其中与叶长相关的位点有 2 个, 表型变异的解释率为 11.58% 和 8.62%, 解释率最大的标记为 loci5。与节间长、生长芽率和秋万头茧量相关联的位点各有 3 个, 表型变异解释率最大的标记分别位于 loci86 (解释率为 10.87%)、loci72 (解释率为 8.62%) 和 loci45 (解释率为 10.20%)。与春米条叶、春万头茧量、春担桑茧量相关联的位点各有 5 个, 各自的表型变异解释率分别在 7.73%~10.69%、6.41%~13.73%、6.00%~11.97% 之间, 解释率最大的标记分别为 loci66、loci21 和 loci45。有 2 个标记位点与秋米条叶相关联, 位点 loci66 的表型变异解释率最大, 为 15.40%。春公斤数、条梗叶和株产叶量都有 4 个标记位点与之相关联, 其中春公斤数的最大表型变异解释率为 loci70 (解释率为 16.35%), 条梗叶和株产叶量都与 loci64 位点相关联且二者的最大表型变异解释率的标记也为 loci64。秋公斤数只有变异解释率为 9.17% 的 loci81 位点与之相关联, 叶梗叶与 6 个标记位点相关联, 最大变异解释率为 9.78%, 位于 loci59 位点。与梢梗叶和春万茧层量相关联的标记位点各有 7 个, 最大变异解释率分别为 13.92% 和 15.25%, 位于位点 loci90 和位点 loci21 处。叶幅、发芽率等 6 个农艺性状未检测出与其相关联的标记位点。在 28 个标记位点中有 1 个标记位点同时与 5 个农艺性状相关联, 有 4 个位点同时与 4 个农艺性状相关联, 有 4 个标记位点同时与 3 个农艺性状相关联, 有 10 个位点同时与 2 个农艺性状相关联。

表 4 与农艺性状极显著关联($P<0.01$)的标记位点及其对表型变异的解释率

标记位点	不同农艺性状解释率(%)															
	叶长	节间长	生长芽率	春米条叶	秋米条叶	春公斤数	秋公斤数	叶梗叶	梢梗叶	条梗叶	株产叶量	春万头茧量	春万茧层量	春担桑茧量	秋万头茧量	
loci3	11.58								9.72					7.81		
loci4				8.40		11.18										
loci5								7.27								
loci7					8.93					7.27	8.02					7.06
loci11									11.04							
loci18				9.10				11.73	7.84							
loci20								6.94				12.53	10.87			
loci21		5.46						9.16				13.73	15.25			
loci27											7.05					
loci41				7.73												
loci42						8.79										
loci45	8.62												8.92	11.97	10.20	
loci50													8.00	6.00		
loci51								5.42	7.95					10.91		
loci59								9.78								
loci61													7.85			
loci62		6.67							7.72	5.67						
loci63												11.32	8.35			
loci64										10.79	10.49					
loci66			8.55	10.69	15.40							11.37	11.35			
loci70						16.35			7.07							
loci71															5.94	
loci72			8.62	10.57								6.41	9.99			
loci80								7.72								
loci81							9.71									
loci86		10.87									7.89					
loci87			7.08											6.16		
loci90						7.29			13.92							
合计	2	3	3	5	2	4	1	6	7	4	4	5	7	5	3	

3 结论与讨论

3.1 遗传多样性与群体结构分析

本研究通过利用 ISSR 分子标记对 96 份桑树种质资源进行遗传多样性和群体结构分析,结果表明 96 份供试材料个体间存在着丰富的遗传多样性,同时基于遗传系数的 UPGMA 聚类分析结果也显示出了参试品种的遗传多样性。

在进行关联分析时,一些本不关联的等位基因会与一些目标性状之间存在着连锁不平衡(linkage disequilibrium, LD)现象,即所谓的伪关联或假阳性现象。因此在进行关联分析时必须评估群体结构,了解群体内供试材料的遗传学相关信息,这样才能尽量减少假阳性现象的出现,以保证关联分析准确有效地进行。利用 Structure 软件对供试材料进行基于贝叶斯数学模型的群体结构聚类分析,结果显示 96 份样本的划分与 UPGMA 聚类分析的结果完全一致,更准确地反映出了供试材料间的群体结构。

3.2 表型农艺性状与分子标记的关联分析

关联分析作为一种数量性状分析方法,已在植物研究领域得到广泛应用。为减少关联分析过程中存在的假阳性现象,本研究采用 MLM 模型对 96 份供试材料进行混合线性分析,该模型能有效检测出多态性标记位点与性状之间的关联

性,使关联分析的结果更精确。分析结果显示参试的 10 个 ISSR 标记共 93 个多态性位点中,在 $P<0.01$ 的极显著情况下,与叶长、节间距等 15 个农艺性状相关的标记位点共有 28 个,变异解释率为 5.42% ~ 16.35%,其中有 1 个标记位点同时与 5 个农艺性状相关联,有 4 个位点同时与 4 个农艺性状相关联,有 4 个标记位点同时与 3 个农艺性状相关联,有 10 个位点同时与 2 个农艺性状相关联,未检测出与叶幅、发芽率等 6 个农艺性状相关联的标记位点。

参考文献:

[1] 赖勇,王鹏喜,范贵强,等. 大麦 SSR 标记遗传多样性及其与农艺性状关联分析[J]. 中国农业科学,2013,46(2):233-242.
[2] 赵卫国,苗雪霞,潘一乐,等. SSR 和 ISSR 分子标记及其在桑树遗传育种研究中的应用前景[J]. 江苏蚕业,2006,28(4):1-5.
[3] Prevost A, Wilkinson M J. A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars[J]. Theor Appl Genet,1999,98(1):107-112.
[4] Vijayan K, Srivastava P P, Awasthi A K. Analysis of phylogenetic relationship among five mulberry (*Morus*) species using molecular markers[J]. Genome,2004,47(3):439-448.
[5] Flint-Garcia S A, Thomsberry J M, Buckler E S. Structure of linkage disequilibrium in plants[J]. Annu Rev Plant Biol,2003,54:357-374.

高陆旭,王 锐,李 磊,等. 增施中微量元素对酿酒葡萄和葡萄酒品质的改善效应[J]. 江苏农业科学,2018,46(13):131-134.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.13.031

增施中微量元素对酿酒葡萄和葡萄酒品质的改善效应

高陆旭,王 锐,李 磊,孙 权

(宁夏大学农学院,宁夏银川 750021)

摘要:贺兰山东麓碱性石灰性土壤中微量元素匮乏,有效性差。为研究中微量元素在酿酒葡萄和葡萄酒品质上的应用效果,以 5 年生酿酒葡萄蛇龙珠为试验材料,研究在相同水肥条件下增施钙(Ca)、镁(Mg)、锌(Zn)、硼(B)、铁(Fe)元素后,酿酒葡萄和葡萄酒单宁、花色苷、可溶性固形物含量等品质的变化。结果表明,增施 Fe 元素处理显著提高酿酒葡萄和酿造葡萄酒的花色苷含量;增施 B 元素处理酿酒葡萄总酚、单宁含量相对其他处理最高,同时明显降低酿造葡萄酒总酸含量;增施 Ca 元素处理显著提高酿酒葡萄的可溶性固形物含量,葡萄酒总酚含量明显高于其他处理;增施 Zn 元素葡萄酒单宁含量显著提高。由结果可知,增施中微量元素可显著改善酿酒葡萄和葡萄酒品质。

关键词:酿酒葡萄;蛇龙珠葡萄酒;中微量元素;品质

中图分类号: S663.106 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)13-0131-04

宁夏贺兰山东麓酿酒葡萄产区地理位置优越,气候、土壤特征突出,特别适宜生产优质酿酒葡萄原料。但是在碱性石灰性土壤条件下,土壤有机质较为贫瘠,矿质营养元素有效性较低,中微量营养元素亏缺^[1]。加上盲目地追求经济产量,人为投入大量氮磷钾肥而忽视了中微肥的配施,从而导致酿酒葡萄出现明显的缺素症状,严重抑制酿酒葡萄向高产、优质方向的提升^[2]。营养状况是酿酒葡萄栽植生长的基础和关键,充足的养分供应是实现葡萄高产及提高葡萄酒品质的重

要保证。因此,改变传统施肥模式,合理施用中微量元素是改善酿酒葡萄品质的关键措施。中微量营养元素能提高叶片的叶绿素含量,增强光合作用,增强树势,提高坐果率、单果质量以及产量,促进果实着色、早熟,提高含糖量,改善果实品质^[3]。钙(Ca)元素主要促进植株根系以及叶片的生长发育,可通过控制外部介质使植株的生理处于平衡,提升果实风味,增强抗病性。镁(Mg)元素可以促进植物对磷的吸收,有利于提升果实糖分含量。在干旱区沙质强碱性土壤中,Ca 元素可以减轻钠离子(Na^+)的毒害,促进植物体内铵的转化,从而调节其 pH 值^[4-6]。锌(Zn)元素参与生长素的合成,影响酿酒葡萄可溶性固形物含量,在施用氮磷钾的基础上配施微量元素 Zn 能够促进糖酸比的提高^[7-8]。硼(B)元素可促进花粉粒的萌发和子房的发育,主要参与植物体内糖的合成以及运输,在植物糖代谢中起到重要作用,并且有利于根的生长及愈伤组织形成,提高果实品质^[9]。刘昌岭等通过在大泽山葡萄产地中试验,认为钾(K)与 B 元素最有利于葡萄产量与品质

收稿日期:2017-02-16

基金项目:宁夏重点研发(编号:2015BFP02、2016WG02);宁夏科技支撑计划重大专项(编号:2015BY11101);现代农业产业技术体系建设专项(编号:nycyt-30)。

作者简介:高陆旭(1993—),女,陕西榆林人,硕士研究生,主要从事干旱区土肥水管理研究。E-mail:1017503177@qq.com。

通信作者:孙 权,博士,教授,主要从事干旱区土肥水高效利用研究。E-mail:sqnxu@sina.com。

[6] Fujioka S, Yamane H, Phinney B O, et al. The dominant non-gibberellin responding dwarf mutant (D8) of maize accumulates native gibberellins [J]. Proceedings of The National Academy of Sciences of The United States of America, 1998, 85(23): 9031-9035.

[7] Aranzana M J, Kim S, Zhao K, et al. Genome-wide association mapping in *Arabidopsis* identifies previously known flowering time and pathogen resistance genes [J]. PLoS Genetics, 2005, 1(5): 60.

[8] Agrama H A, Eizenga G C, Yan W. Association mapping of yield and its components in rice cultivars [J]. Molecular Breeding, 2007, 19(4): 341-356.

[9] 张 军,赵团结,盖钧镒. 大豆育成品种农艺性状 QTL 与 SSR 标记的关联分析[J]. 作物学报,2008,34(12): 2059-2069.

[10] 潘一乐,张 林,刘 利,等. 桑树种质资源描述规范和数据标准[M]. 北京:中国农业出版社,2006:26-41.

[11] 赵卫国. 桑种质资源的遗传多样性及分子系统学研究[D]. 镇江:中国农业科学院蚕业研究所,2005:36-37.

[12] Pritchard J K, Stephens M, Falush D. Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies [J]. Genetics, 2000, 155(2): 945-959.

[13] Pritchard J K, Stephens M, Rosenberg N A. et al. Association mapping in structured populations [J]. Am J Hum Genet, 2000, 67(1): 170-181.

[14] Liu K, Muse S V. PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis [J]. Bioinformatics, 2005, 21(9): 2128-2129.

[15] 赖恭梯,赖钟雄,刘炜嫻,等. 福建中部 3 个野生蕉自然居群基于 NTSYS 和 STRUCTURE 软件的 ISSR 分析[J]. 热带作物学报,2014,35(2): 223-231.

[16] Hardy O J, Vekemans X. SPAGeDi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels [J]. Mol Ecol Notes, 2002, 2(4): 618-620.

[17] 黄 莉,任小平,张晓杰,等. ICRISAT 花生微核心种质农艺性状和黄曲霉抗性关联分析[J]. 作物学报,2012,38(6): 935-946.