

乌梅类杨梅四倍体种质鉴定分析

张淑文, 戚行江*, 梁森苗, 郑锡良, 任海英 (浙江省农业科学院园艺研究所, 浙江杭州 310021)

摘要 [目的]对乌梅类杨梅四倍体种质进行鉴定分析,为杨梅育种提供材料基础。[方法]通过染色体检测、果实外观、质量和品质等表型性状的测定,对四倍体 2008X4 进行鉴定。[结果]2008X4 的染色体数目为 32 条,与‘荸荠种’(16 条)相比染色体数量加倍,为四倍体材料,且在单果质量、纵径、横径、可溶性固形物、总糖、葡萄糖、糖酸比、 V_c 等果实质量和品质性状上显著高于‘荸荠种’。[结论]该乌梅类四倍体材料可作为目标优株,也可为优质大果的倍性杂交育种提供亲本选择。

关键词 杨梅;四倍体;种质;鉴定

中图分类号 S667.6 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2019)22-0024-02

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2019.22.008



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Identification and Analysis of Tetraploid Germplasm of *Myrica rubra*

ZHANG Shu-wen, QI Xing-jiang, LIANG Sen-miao et al (Institute of Horticulture, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou, Zhejiang 310021)

Abstract [Objective] The identification and analysis of tetraploid germplasm of *Myrica rubra* were carried out to provide material basis for breeding of *Myrica rubra*. [Method] The tetraploid 2008X4 was identified by chromosome test, fruit appearance, quality and other phenotypic characters. [Result] The number of chromosomes of 2008X4 was 32, which was double as that of ‘Biqizhong’ (16) which was a tetraploid material, and it was significantly higher than that of ‘Biqizhong’ in fruit quality and quality traits such as single fruit weight, lengthwise diameter, broadwise diameter, soluble solids, total sugar, glucose, sugar acid ratio, vitamin C. [Conclusion] The tetraploid material can be used as the target excellent plant, and lay the material foundation for the new variety selection of high quality, big fruit and the parent selection of hybrid breeding.

Key words *Myrica rubra*; Tetraploid; Germplasm; Identification

杨梅(*Myrica rubra* Sieb. et Zucc.)是我国南方重要的经济作物,果实风味独特,并具有较高的药用和保健价值^[1-3],因此,杨梅作为功能性水果越来越受到广大消费者的青睐,在水果中的地位也得到大幅提升。自然界中栽培杨梅常以二倍体的形式存在($2n=16$),为小染色体物种。‘荸荠种’为浙江地方良种,属乌梅类品种,树势中庸、树姿开张、枝梢较稀疏、叶色深绿,果实中等,果形略扁圆,在浙江地区广为种植^[4]。

2002 年,笔者所在课题组对浙江种质资源开展了深入调查,在浙江仙居括苍水库北岸发现‘荸荠种’枝条变异,其果实、果核、叶片等明显增大,叶片变厚,通过染色体检测,确定其为‘荸荠种’的四倍体突变材料;随即将该枝条在兰溪等地进行嫁接观察,经二代营养系高接,进行果实外观、质量和品质等表型性状的鉴定,确认遗传表现稳定,2008 年将其命名为 2008X4,作为优质大果的备选品种。

1 材料与与方法

1.1 试验材料 2016—2017 年,于浙江仙居杨梅种植园中分别对‘荸荠种’和 2008X4 进行了果实取样和品质分析(图 1),2 年的果实取自每个材料的相同单株,每年每单株重复取成熟期果实 3 次,每次 1 kg,共 3 kg。

1.2 试验方法

1.2.1 染色体检测。剪取‘荸荠种’和 2008X4 的茎尖,利用下述方法进行固定、染色体制片和镜检。于 10:00—11:00 剪取生长旺盛的茎尖,置于冰水混合物中处理 10~12 h,卡诺氏

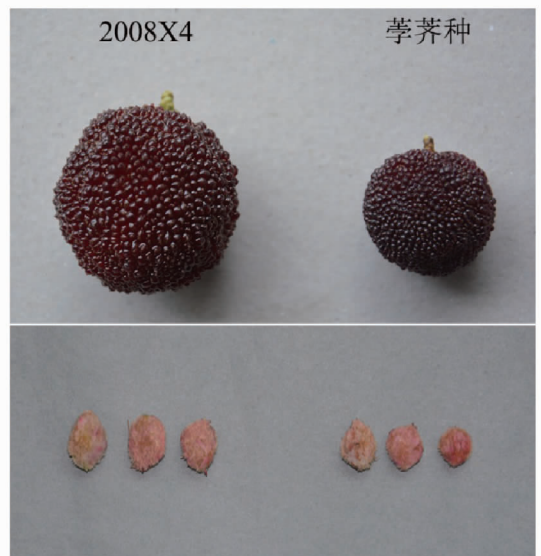


图 1 2008X4 与‘荸荠种’果实与果核

Fig.1 The fruit and stone 2008X4 and ‘Biqizhong’

1 固定液(无水乙醇:冰醋酸 = 3:1,体积比)室温下固定 24 h 以上备用。固定好的根尖用 1%的纤维素酶和 1%的果胶酶混合液 37 °C 解离 1~2 h。用于核型分析的染色体制片,直接用卡宝品红压片,显微镜下观察、拍照,进行染色体分析。

1.2.2 果实外观性状测定。用电子天平称 10 个不同果实,计算得到单果质量($n=10$,下同);同样,用电子天平每次称量 10 颗果核,计算得到果核质量;可食率=[(单果质量-果核质量)/单果质量]×100%;用电子数显游标卡尺测定其果实的横径和纵径;果形指数=纵径/横径;采用便携式色差仪(CR-400,日本柯尼卡美能达公司)进行色差测定,记录明度

基金项目 浙江省农业(果品)新品种选育重大科技专项(2016C02052-2)。

作者简介 张淑文(1987—),女,山东滨州人,助理研究员,从事果树分子育种。*通信作者,研究员,从事果树科学研究。

收稿日期 2019-11-12

(L^*)、红绿值(a^*)和蓝绿值(b^*);用 TA-XTplus 质构仪测定果实硬度,探头直径 5 mm,下压速度 1 mm/s,结果以 N 表示。

1.2.3 果实营养品质性状测定。可溶性固形物参考 GB 12295—1990 标准^[5],采用阿贝折射仪法测定($n=3$,下同)。可滴定酸参考 GB/T 12456—2008 标准^[6],用 NaOH 滴定法进行测定;柠檬酸、苹果酸和草酸含量参照胡静等^[7]的方法,利用离子色谱法进行分离测定;总糖依据 GB/T 5009.8—2009^[8],采用蒽酮比色法进行测定;葡萄糖、蔗糖和果糖含量依据 GB/T 18932.22—2003^[9]进行测定;糖酸比=可溶性固形物/可滴定酸;多酚含量参照孙勃等^[10]的方法进行测定;黄酮含量参照 Jia 等^[11]的方法进行测定; V_c 含量参考 Wang 等^[12]的方法进行测定。

1.3 数据处理 采用 Excel 对 2016 和 2017 这 2 年相同指标的多次重复数据进行均值及标准差的计算,并完成表格的绘制。

2 结果与分析

2.1 染色体检测结果 ‘荸荠种’染色体数目为 16 条(图 2A),2008X4 为 32 条染色体(图 2B),确系染色体加倍为四倍体材料。

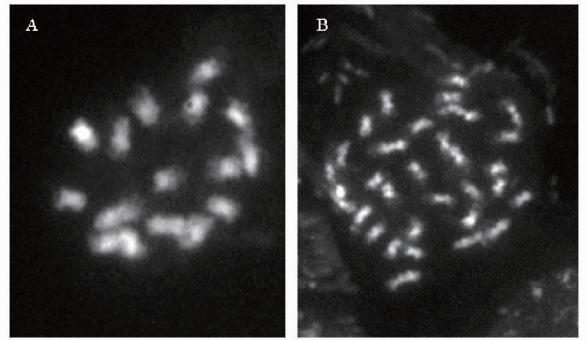


图 2 ‘荸荠种’(A)和 2008X4(B)的染色体数目

Fig.2 The chromosome number of ‘Biqizhong’ (A) and 2008X4 (B)

2.2 果实质量和外观性状的比较 由表 1 可知,2008X4 的平均单果质量为 15.595 g,极显著高于‘荸荠种’的 11.690 g;2008X4 的纵径为 30.283 mm,极显著高于‘荸荠种’的纵径(26.860 mm);2008X4 的横径为 31.296 mm,极显著高于‘荸荠种’的横径(28.450 mm);2008X4 的果核质量为 0.955 g,极显著高于‘荸荠种’的 0.690 g;2008X4 的果实硬度显著低于‘荸荠种’。2 个材料在果形指数、可食率、明度、红绿值和黄蓝值等性状上无显著差异。

表 1 ‘荸荠种’和 2008X4 果实质量和外观性状

Table 1 Fruit quality and surface traits of ‘Biqizhong’ and 2008X4

材料 Materials	单果质量 Single fruit weight//g	纵径 Lengthwise diameter mm	横径 Broadwise diameter mm	果形指数 Fruit shape index	果核质量 Stone weight g	可食率 Edible ratio %	硬度 Hardness N	L^*	a^*	b^*
荸荠种 Biqizhong	11.690±0.487	26.860±0.512	28.450±0.505	0.944±0.020	0.690±0.055	94.098±0.273	3.285±0.324	25.105±2.501	56.426±3.249	43.285±3.865
2008X4	15.595±1.331**	30.283±0.579**	31.296±0.916**	0.967±0.220	0.955±0.029**	93.876±0.666	2.731±0.697*	22.733±1.745	57.438±4.237	39.196±4.332

注: * 表示 0.05 水平上差异显著; ** 表示 0.01 水平上差异显著

Note: * indicates significant differences at the level of 0.05; ** indicates significant differences at the level of 0.01

2.3 果实糖酸和营养性状的比较 由表 2 可知,2008X4 的可溶性固形物含量为 11.990%,显著高于‘荸荠种’的 10.410%;2008X4 的总糖含量为 8.035%,显著高于‘荸荠种’的 7.890%;2008X4 的葡萄糖含量为 1.590%,显著高于‘荸荠

种’;2008X4 的柠檬酸含量显著低于‘荸荠种’;2008X4 的糖酸比为 14.802,显著高于‘荸荠种’;2008X4 的 V_c 含量为 73.707%,显著高于‘荸荠种’。

表 2 ‘荸荠种’和 2008X4 果实糖酸和营养物质含量

Table 2 The contents of sugars, acids and nutrients in ‘Biqizhong’ and 2008X4

材料 Materials	可溶性固形物 The soluble solid//%	总糖 Total sugar %	蔗糖 Sucrose %	葡萄糖 Glucose %	果糖 Fructose %	可滴定酸 Titratable acid %	柠檬酸 Citric acid g/kg	苹果酸 Malic acid g/kg	草酸 Oxalic acid mg/kg	糖酸比 Acid-sugar ratio	V_c Vitamin C %	黄酮 Flavone mg/g	多酚 Polyphenol mg/g
荸荠种 Biqizhong	10.410±0.348	7.890±0.166	4.932±0.084	1.529±0.036	1.604±0.077	0.759±0.051	9.541±0.652	0.513±0.043	34.304±0.959	12.405±0.938	64.842±0.968	2.943±0.189	2.714±0.137
2008X4	11.990±0.792*	8.035±0.692*	4.010±0.364*	1.590±0.546*	1.570±0.479*	0.810±0.138*	8.642±1.457*	0.510±0.121	33.689±1.146	14.802±1.457*	73.707±1.579*	2.784±0.158	2.760±0.147

注: * 表示 0.05 水平上差异显著; ** 表示 0.01 水平上差异显著

Note: * indicates significant differences at the level of 0.05; ** indicates significant differences at the level of 0.01

3 结论与讨论

2008X4 是杨梅上最早发现的四倍体种质材料,也是首个选出的乌梅类四倍体优株。经过与‘荸荠种’的比较鉴定发现,其单果质量、纵径、横径等果实质量性状极显著高于

‘荸荠种’,可溶性固形物、总糖、葡萄糖、糖酸比、 V_c 等品质性状显著高于‘荸荠种’,说明其本身可作为新品种加以培育,是极其珍贵的杨梅种质资源,也可为优质大果、特别是深(下转第 51 页)

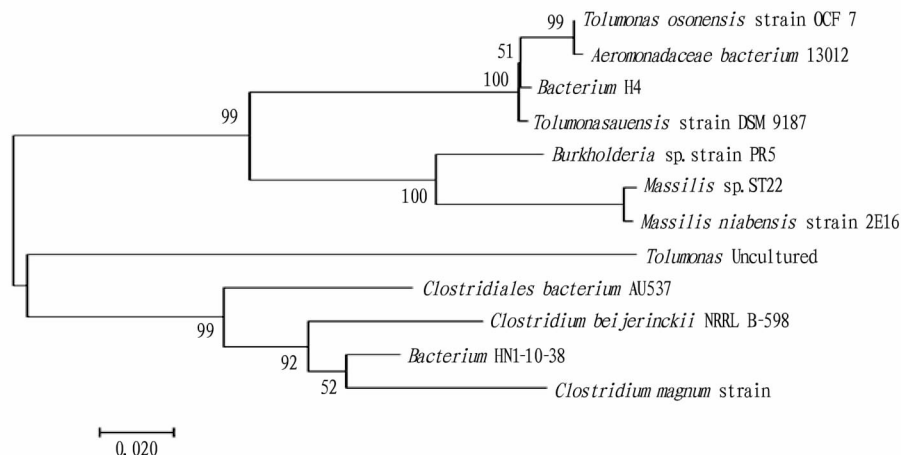


图 5 优势种群系统发育进化树

Fig.5 Phylogenetic tree of dominant population

参考文献

- [1] 吴庆庆, 邱贤华, 熊贞晟, 等. 硫酸盐还原菌处理含硫酸盐有机废水的原理及其应用[J]. 安全与环境工程, 2015, 22(1): 90-96.
- [2] 范利萍, 张雪娇, 诸立. 硫酸盐还原菌在废水厌氧治理中的应用分析[J]. 资源节约与环保, 2015(11): 68.
- [3] 梁宇. 硫酸盐还原菌的生长因子的探讨[J]. 山西建筑, 2010, 36(30): 199-200.
- [4] 万海清, 苏仕军, 朱家骅, 等. 硫酸盐还原菌的生长影响因子及脱硫性能的研究[J]. 高校化学工程学报, 2004, 18(2): 218-223.
- [5] MORI H, MARUYAMA F, KUROKAWA K. VITCOMIC: Visualization tool for taxonomic compositions of microbial communities based on 16S rRNA gene sequences[J]. BMC Bioinformatics, 2010, 11(1): 1-9.
- [6] 李彤彤, 李爱华. 应用高通量测序技术比较三种不同鱼肠道微生物的群落结构[C]//中国水产学会鱼病专业委员会 2013 年学术研讨会论文集摘要汇编. 海口: 海南大学海洋学院, 2013.
- [7] SARIA A, LUNDBERG J M. Evans blue fluorescence: Quantitative and morphological evaluation of vascular permeability in animal tissues[J]. Journal of neuroscience methods, 1983, 8(1): 41-49.
- [8] PHILIPPOT L, SPOR A, HÉNAULT C, et al. Loss in microbial diversity affects nitrogen cycling in soil [J]. The ISME Journal, 2013, 7(8): 1609-1619.
- [9] QUINCE C, LANZEN A, DAVENPORT R J, et al. Removing noise from pyrosequenced amplicons[J]. BMC Bioinformatics, 2011, 12(1): 1-18.
- [10] WANG P P, SHI L P. Positive and negative sequence phasor extraction by particle swarm optimization algorithm for induction motor stator fault detection[J]. Electric power automation equipment, 2015, 35(2): 91-96.
- [11] 周晨, 张绍武, 陈伟. 微生物分类单元聚类算法比较研究[J]. 北京生物医学工程, 2014, 33(6): 591-597.

- [12] SCHLOSS P D, WESTCOTT S L, RYABIN T, et al. Introducing mothur: Open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities [J]. Appl Environ Microbiol, 2009, 75(23): 7537-7541.
- [13] FUCHS A R, BONDE G J. The availability of sulphur for *Clostridium perfringens* and an examination of hydrogen sulphide production [J]. J Gen Microbiol, 1957, 16(2): 330-340.
- [14] TAKAHASHI Y, SUTO K, INOUE C. Polysulfide reduction by *Clostridium* relatives isolated from sulfate-reducing enrichment cultures[J]. Journal of bioscience & bioengineering, 2010, 109(4): 372-380.
- [15] LAISHLEY E J, KROUSE H R. Stable isotope fractionation by *Clostridium pasteurianum*. 2. Regulation of sulfite reductases by sulfur amino acids and their influence on sulfur isotope fractionation during SO_3^{2-} and SO_4^{2-} reduction[J]. Canadian journal of microbiology, 1978, 24(6): 716-724.
- [16] ACHÁ D, PABÓN C A, HINTELMANN H. Mercury methylation and hydrogen sulfide production among unexpected strains isolated from periphyton of two macrophytes of the Amazon[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2012, 80(3): 637-645.
- [17] GIRI B S, KIM K H, PANDEY R A, et al. Review of biotreatment techniques for volatile sulfur compounds with an emphasis on dimethyl sulfide [J]. Process biochemistry, 2014, 49(9): 1543-1554.
- [18] KUMAR A, DEWULF J, LUVSANJAMBA M, et al. Continuous operation of membrane bioreactor treating toluene vapors by *Burkholderia vietnamiensis* G4[J]. Chemical engineering journal, 2008, 140(1/2/3): 193-200.
- [19] 冯思玲. 系统发育树构建方法研究[J]. 信息技术, 2009(6): 38-40, 44.
- [20] 李雪玲, 姚一建. 基于 28S rDNA 序列构建耳属系统发育树[J]. 菌物学报, 2004, 23(3): 345-350.

(上接第 25 页)

色大果型的倍性杂交育种提供亲本选择。

参考文献

- [1] SUN C D, HUANG H Z, XU C J, et al. Biological activities of extracts from Chinese bayberry (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc.): A review [J]. Plant foods for human nutrition, 2013, 68(2): 97-106.
- [2] ZHANG X N, HUANG H Z, ZHAO X Y, et al. Effects of flavonoids-rich Chinese bayberry (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc.) pulp extracts on glucose consumption in human HepG2 cells[J]. Journal of functional foods, 2015, 14: 144-153.
- [3] ZHANG X N, LV Q, JIA S, et al. Effects of flavonoids-rich Chinese Bayberry (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc.) fruit extract on regulating glucose and lipid metabolism in diabetic KK-A^m mice [J]. Food function, 2016, 7: 3130-3140.
- [4] 戚江江. 杨梅生态栽培[M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2016: 1-22.
- [5] 国家技术监督局. 水果、蔬菜制品 可溶性固形物含量的测定——折射

仪法: GB 12295—1990[S]. 北京: 中国标准出版社, 1990.

- [6] 全国食品工业标准化技术委员会. 食品中总酸的测定: GB/T 12456—2008[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [7] 胡静, 赵瑞峰, 施文庄, 等. 烟草中 9 种有机酸的梯度离子色谱法测定研究[J]. 分析测试学报, 2011, 30(10): 1171-1174.
- [8] 中华人民共和国卫生部. 食品中蔗糖的测定: GB/T 5009.8—2008[S]. 北京: 中国标准出版社, 2009.
- [9] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. 蜂蜜中果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖含量的测定方法液相色谱示差折光检测法: GB/T 18932.22—2003[S]. 北京: 中国标准出版社, 2003.
- [10] 孙勃, 许映君, 袁高峰, 等. 花椰菜主要生物活性物质及其抗氧化能力分析[J]. 核农学报, 2010, 24(2): 330-335.
- [11] JIA Z S, TANG M C, WU J M. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals [J]. Food chemistry, 1999, 64(4): 555-559.
- [12] WANG J S, ZHAO Z Q, SHENG X G, et al. Influence of leaf-cover on visual quality and health-promoting phytochemicals in loose-curd cauliflower florets [J]. LWT—Food Science and Technology, 2015, 61(1): 177-183.