

高磊, 李慧, 洪奔, 等. 葡萄品种钟山红玉与钟山红杂交后代的 SSR 鉴定及葡萄果实性状遗传倾向分析[J]. 江苏农业学报, 2023, 39(1): 187-197.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2023.01.022

葡萄品种钟山红玉与钟山红杂交后代的 SSR 鉴定及葡萄果实性状遗传倾向分析

高磊, 李慧, 洪奔, 郑焕, 陶建敏

(南京农业大学园艺学院, 江苏 南京 210095)

摘要: 以母本钟山红葡萄、父本钟山红玉葡萄及其 50 株杂交 F_1 代植株为试验材料, 通过简单重复序列(SSR)分子标记技术分析亲本与子代间的亲缘关系并绘制遗传关系聚类图, 通过测定杂交 F_1 代与父母本的果实基本品质及酚类物质含量等指标, 以进一步了解钟山红玉、钟山红及其杂交 F_1 代的遗传规律。结果表明, 通过 SSR 分子标记技术检测, 发现含有父母本特征性条带的杂交 F_1 代占比不低于 86%, 杂交 F_1 代与父母本的遗传相似系数为 0.857~1.000, 果实基本品质性状呈广泛分离的现象, 符合数量性状的遗传特点。 F_1 代果皮中的总花色苷含量呈低于双亲遗传的特点, 果肉中总类黄酮含量、原花色苷含量呈超高亲遗传的特点, 但是果实颜色的遗传受到多基因的调控, 还需要进一步研究。

关键词: 葡萄; 果实; 杂交 F_1 代; 简单重复序列(SSR)分子标记; 遗传规律

中图分类号: S663.103.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2023)01-0187-11

SSR identification and genetic tendency analysis of fruit characters of hybrid offspring of Zhongshan Hongyu and Zhongshan Hong

GAO Lei, LI Hui, HONG Ben, ZHENG Huan, TAO Jian-min

(College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: Taking the female parent Zhongshan Hong, male parent Zhongshan Hongyu and their 50 hybrid F_1 generations as experimental materials, the genetic relationship between parents and offspring was analyzed by simple sequence repeat (SSR) molecular marker technology, and the genetic similarity coefficient map was drawn. The genetic law of Zhongshan Hongyu, Zhongshan Hong and their hybrid offspring was further understood by measuring the basic fruit quality and phenolic content of F_1 hybrids and their parents. The detection results obtained by SSR molecular marker technology showed that the proportion of F_1 hybrids containing parental characteristic bands exceeded 86%, and the genetic similarity coefficient between F_1 hybrids and parents ranged from 0.857 to 1.000. The basic quality indices of fruits were widely separated, which was in line with the genetic characteristics of quantitative traits. The content of total anthocyanins in pericarp of the F_1 generation is lower than that of parental inheritance, and the content of total flavonoids and total proanthocyanidins in pulp is ultra-high. However, the inheritance of fruit color is regulated by multiple genes and needs further research.

Key words: grape; fruit; hybrid F_1 generation; simple sequence repeat (SSR) molecular markers; genetic law

收稿日期: 2022-03-20

基金项目: 国家自然科学基金项目(31901975, 31972384); 国家现代农业产业技术体系项目(CARS-29); 江苏农业产业技术体系项目[JATS(2021)450]; 江苏省农业重大新品种创制项目(PZCZ201723); 国家重点研发计划项目(2020YFD1000204)

作者简介: 高磊(1998-), 男, 山西大同人, 硕士研究生, 主要从事果树生理与分子生物学研究。(E-mail) 15909824016@163.com

通讯作者: 陶建敏, (E-mail) taojianmin@njau.edu.cn

葡萄在分类上属于葡萄科(Vitaceae)、葡萄属(*Vitis*), 在国内外广泛种植且栽培历史悠久, 世界葡萄产量更是逐年升高^[1]。葡萄不仅味道可口, 而且营养价值丰富, 可以补充人体所需的多种维生素和

矿物质元素,被称作“水果之神”^[2-4]。近年来中国的葡萄栽培和育种技术发展迅速,栽培面积逐年升高,中国的葡萄产量在 2011 年已达到世界最高,栽培面积在 2014 年达到世界第 2,中国已成为世界上主要的葡萄生产国^[5]。尽管如此,中国葡萄生产仍面临产品质量不高、生产效率落后于世界先进水平、栽培管理模式落后、市场竞争力差等诸多问题,因此提高我国葡萄的栽培育种技术水平、品种创新能力与产品竞争力是目前的当务之急^[6-7]。

优良的葡萄品质是提高鲜食葡萄和葡萄酒等产品竞争力的必要条件^[8],葡萄的品质性状包括果粒大小和质量、可溶性固形物含量、可滴定酸含量等基本品质和花色苷、类黄酮、原花色素等酚类物质含量等^[9-11],研究葡萄品质性状的遗传规律对提高葡萄育种能力和创新力具有重要意义。国内外有研究者对葡萄品质性状的遗传规律进行了相关研究,如威代尔和霞多丽杂交后代的基本品质性状表现出明显分离,呈现正态分布的遗传规律,杂交后代果皮、果肉和种子中酚类物质含量的变异系数高,且呈正态分布,其中果皮中酚类物质含量表现出明显的杂种优势,呈现超越双亲的遗传趋势^[12]。李坤^[13]发现,葡萄果实中的单宁含量在自交、杂交后代群体中个体间的差异明显且变异连续,表现出一定的趋中倾向。黑比诺和马瑟兰杂交后代的果实性状均为数量性状,呈正态分布的特点,酚类物质在果皮、果肉中的遗传规律差异较大,其中果皮中的酚类物质表现出明显的超双亲遗传的特点^[14]。毛欧杂种的杂交 F_1 代果皮、果肉中的原花色素含量高于亲本平均值,表现出超双亲遗传的趋势^[15]。火州黑玉杂交后代的果色、果粒质量、果形指数等基本品质性状在个体间的差异较大,呈现正态分布的变化规律;果实不含种子,果形、果色等性状具有明显的遗传倾向^[16]。欧亚种品种间杂交与欧美杂种品种间杂交相比,遗传效应显著下降,杂交后代的果实基本品质等指标表现出明显的超低亲遗传效应^[17]。中国野葡萄与欧洲葡萄品种杂交后代种子中单宁含量呈现正态分布的遗传特征,杂交后代种子中单宁含量接近亲本平均值,表现出趋双亲的遗传效应,此外中国野葡萄品质性状的遗传能力强于欧洲葡萄^[18]。山葡萄种内和种间杂交后代果实中的可溶性固形物、可滴定酸含量变异连续且接近亲本平均值,其中可溶性固形物含量表型受到多基因调控^[19]。此外,葡萄不同亲本杂交后代果实中的可溶性固形物、可滴定酸含量呈现不同的遗传特点且差异明显^[20]。本

研究通过对钟山红、钟山红玉及其杂交后代进行亲缘关系鉴定并对其果实基本品质性状、酚类物质遗传规律进行分析,以期葡萄杂交亲本的选择和新品种选育提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料与样本的采集

试验材料为来源于南京汤山翠谷葡萄种植基地的母本晚熟葡萄钟山红、父本两年生红肉葡萄钟山红玉以及由二者杂交得到的 50 株杂交 F_1 代葡萄,在 2019 年获得杂交后代的杂交种子并播种,在 2020 年进行定植,杂交植株于 2021 年开始结果。栽培模式选择水平棚架下的避雨栽培,亲本的株行距为 $3.0\text{ m}\times 8.0\text{ m}$,杂交 F_1 代的株行距为 $2.0\text{ m}\times 2.0\text{ m}$ 。亲本与杂交 F_1 代采用常规栽培管理措施,植株长势接近且生长良好。自 6 月 20 日盛花后 40 d 开始,每隔 20 d 分别采集亲本与杂交 F_1 代的果实样品,取样时选取每株 20~30 粒发育良好且无病害的葡萄果实,满足 3 次生物学重复。将样品的果皮、果肉分别装于冻存管中,于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存,以供后续试验使用。

1.2 测定指标与方法

1.2.1 葡萄果实品质与色泽参数 用电子游标卡尺分别测量葡萄亲本、杂交 F_1 代植株单个果实的纵径、横径;用电子天平测定 5~10 个亲本与杂交 F_1 代的单个果实质量,剥皮后分别测量果肉、果皮质量;榨汁后用 pH 计测量果汁 pH 值;用酸碱滴定法测定每个果实中的可滴定酸含量;用 PAL-1 迷你数显折光仪测定每个果实的可溶性固形物含量。

选取亲本与子代中色泽明显且均匀的果实,用清水洗净并晾干后,用高精度色差仪测定每个果实直径最大部位随机 3 个点的明暗度(L^*)、红绿色值(a^*)、黄蓝色值(b^*)、色彩纯度(C)、综合色值(h)等。其中 L^* 代表果实亮度,取值范围是 0~100,数值越大表示果实亮度越高; a^* 的取值范围是-60~60,代表颜色由绿到红的转变; b^* 的取值范围也是-60~60,代表颜色由黄到蓝的变化; $C = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$, $h = \arctan(b^*/a^*)$, h 由 a^* 、 b^* 计算得到。以上数据均使用 10 个以上随机果粒进行测量并设置 3 次生物学重复。

1.2.2 葡萄果皮与果肉的酚类物质含量 对采样的葡萄果实进行果皮与果肉分离,用滤纸吸掉多余的汁液后,分别取 3 g 果皮、6 g 果肉于 100 ml 棕色容量瓶中,

在避光条件下用 70%乙醇溶液处理 1 d 后过滤,即得到酚类物质提取液。称取 0.5 g 果皮于 100 ml 棕色容量瓶中,在避光条件下用 1%盐酸-甲醇混合液提取 12 h 后过滤,即得到总花色苷提取液。分别用福林-肖卡法测定总酚、单宁含量^[21],用三氯化铝显色法测定总类黄酮含量^[22],用正丁醇盐酸法测定原花色素含量^[23],用分光光度法测定果皮总花色苷含量^[24]。

1.2.3 简单重复序列(SSR)引物合成与 PCR 扩增 参考季晨飞等^[25]的方法合成 24 对简单重复序列(SSR)引物,用于父母本与杂交 F₁代亲缘关系的鉴定。采集亲本与 50 株杂交 F₁代实生苗的幼嫩叶片,用植物 DNA 提取试剂盒提取 DNA,所有操作均按照说明书的步骤进行。取 2 μl DNA 样品,用 1%琼脂糖凝胶电泳、紫外分光光度计(Nanodrop ND-1000 Spectrophotometer)对 DNA 样品进行质量浓度检测。将 DNA 质量浓度稀释至 100 ng/μl,在-80 ℃冰箱中保存。

PCR 扩增总体积为 25 μl,其中含有 12.5 μl 2× Rapid Taq Master Mix,各 1 μl SSR 上游、下游引物,1 μl DNA,9.5 μl ddH₂O。反应程序:95 ℃ 3 min;95 ℃ 30 s,55 ℃ 30 s,72 ℃ 1 min,35 个循环;72 ℃ 10 min。将 PCR 扩增产物通过 5%聚丙烯酰胺凝胶电泳进行鉴定,在银染液中染色 15 min 后在显色液中浸泡 5 min(其间不断轻轻晃动),将显色好的凝胶用蒸馏水冲洗 2 次后在胶片灯上拍照记录。

1.2.4 杂交 F₁代葡萄真实性的鉴定 从 24 对 SSR 引物中筛选出在父母本间有明显差异和特征性条带的多态性 SSR 引物,用于 50 株杂交 F₁代葡萄真实性鉴定。杂交 F₁代的扩增结果中包含父母本差异性条带的为真杂种,没有父母本差异性条带的或只含有母本差异性条带的可能为假杂种。对于条带模糊不清或偶然出现新条带的样本,需要通过 PCR 克隆 3 次来进行真实性验证。

1.2.5 杂交 F₁代葡萄遗传多样性分析 对亲本与

杂交 F₁代葡萄扩增的特征性条带进行分析,对扩增清晰且易于辨认的特征性条带进行统计,在聚丙烯酰胺凝胶相同的移动位置上有明显条带的记录为“1”,否则记录为“0”,建立数字矩阵。用分子生物学分析软件 NTSYS-pc2.10e 计算杂交 F₁代葡萄的遗传相似性系数,并进行聚类分析,建立树形图。

1.2.6 数据处理 统计亲本的中亲值(父母本的平均值)、子代平均值、变异系数(CV)[计算公式:CV=S/F×100%。式中,S 代表亲本与杂交后代的标准差,F 表示杂交后代各项生理指标数据的均值]、优势率(H_a)[计算公式:H_a=(F-MP)/MP×100%。式中,MP 代表双亲均值]和组合传递力(T_a)[计算公式:T_a=F/MP×100%]。用 Graph Pad Prism 5.0 软件制作试验数据的标准差、标准曲线,用 SPSS 25.0 软件进行单因素方差分析。

2 结果与分析

2.1 葡萄亲本与杂交 F₁代在不同发育时期果实品质的比较

本试验从钟山红玉、钟山红和杂交 F₁代葡萄盛花后 40 d 开始测量果实不同发育时期的基本品质数据。从表 1、表 2、表 3 可以看出,父本钟山红玉自盛花后 40 d 开始,单果质量、纵横径和可溶性固形物含量显著升高,到盛花后 80 d 开始趋于稳定,随后开始下降;可滴定酸含量从盛花后 40 d 开始迅速下降,到盛花后 100 d 趋于稳定。母本钟山红和杂交 F₁代葡萄自盛花后 80 d 开始,单果质量与纵横径整体上明显增加;可滴定酸含量自盛花后 80 d 开始下降,到盛花后 120 d 达到最低值,其中杂交 F₁代的可滴定酸含量与亲本相比显著降低,仅为 0.39 g/L;可溶性固形物含量在盛花后 100 d 趋于稳定,在盛花后 120 d 达到最大值,钟山红、杂交 F₁代的可溶性固形物含量分别为 19.50 °Bx、19.47 °Bx。

表 1 钟山红玉果实发育过程中品质性状的变化

Table 1 Changes of quality indices during fruit development of Zhongshan Hongyu

盛花后时间 (d)	单果质量 (g)	纵径 (mm)	横径 (mm)	果形指数	可溶性固形物含量 (°Bx)	可滴定酸含量 (g/L)
40	2.77±0.34b	19.14±1.07ab	15.79±0.79c	1.21±0.21a	4.4±0.1d	3.49±0.15a
60	4.19±0.80a	20.33±1.33a	17.66±1.66b	1.15±0.25b	15.0±0.1b	1.35±0.10b
80	4.73±0.32a	20.53±0.95a	18.93±0.26a	1.09±0.47c	16.3±0.1a	1.28±0.25c
100	3.18±0.21b	18.64±0.22b	16.36±0.64c	1.14±0.30b	14.6±0.2c	0.68±0.01d
120	3.11±0.17b	17.60±0.20b	15.76±0.61c	1.12±0.29b	14.7±0.1c	0.68±0.01d

同列数据后标有不同小写字母的进行表示差异显著(P<0.05)。

表 2 钟山红果实发育过程中品质性状的变化

Table 2 Changes of quality indices during fruit development of Zhongshan Hong

盛花后时间 (d)	单果质量 (g)	纵径 (mm)	横径 (mm)	果形指数	可溶性固形物含量 (°Bx)	可滴定酸含量 (g/L)
40	5.11±0.17b	23.29±0.33a	18.54±0.34b	1.36±0.32a	3.90±0.10e	2.98±0.25a
60	5.40±0.23b	24.73±1.75a	18.80±0.91b	1.32±0.16a	9.50±0.10d	1.78±0.10b
80	5.84±0.23b	24.26±1.47a	19.31±0.26b	1.26±0.67a	18.10±0.10c	0.88±0.14c
100	9.10±0.30a	28.23±3.63a	21.49±0.70a	1.31±0.14a	19.30±0.10b	0.58±0.00d
120	8.17±0.71a	27.85±3.06a	21.12±0.89a	1.32±0.10a	19.50±0.10a	0.57±0.12d

同列数据后标有不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。

表 3 钟山红玉与钟山红杂交 F_1 代果实发育过程中品质性状的变化Table 3 Changes of quality indices during fruit development of hybrid F_1 generation

盛花后时间 (d)	单果质量 (g)	纵径 (mm)	横径 (mm)	果形指数	可溶性固形物含量 (°Bx)	可滴定酸含量 (g/L)
40	3.47±0.12c	20.96±0.50d	16.93±0.23d	1.25±0.41ab	3.76±0.57d	2.92±0.10a
60	5.10±0.17b	23.20±0.73c	18.31±0.75c	1.29±0.26a	11.10±0.10c	1.81±0.15b
80	5.63±0.28b	23.57±0.30bc	19.30±0.26b	1.22±0.26b	17.93±0.88b	0.63±0.01c
100	6.80±0.46a	26.89±1.41a	20.33±0.55a	1.26±0.11ab	19.46±0.35a	0.40±0.01d
120	6.90±0.53a	24.97±0.59b	19.96±0.56ab	1.25±0.10ab	19.47±0.25a	0.39±0.11d

同列数据后标有不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。

2.2 葡萄亲本与杂交 F_1 代在不同发育时期果实色泽的变化规律

经过田间观察发现,父本钟山红玉果肉在盛花后 5~7 d 开始转色,果皮在盛花后 35~40 d 开始转色,母本钟山红、杂交 F_1 代果皮在盛花后 45~50 d 开始转色。分析表 4、表 5 和表 6 可知,随着果实发育的进行,果实颜色逐渐加深,父母本和 F_1 代的 L^* 从盛花后 40 d 开始逐渐上升,到盛花后 120 d 达到最大值并趋于稳定,其中母本、 F_1 代的 L^* 较为接近,父本在盛花后 40~60 d 的 L^* 要高于母本、 F_1 代。父本的 a^* 、 b^* 在盛花后 40 d 达到最大值,到盛花后 80 d 开始转为负值; c^* 在盛花后 40 d 最高,之后开始下降并趋于平稳;综合色值(h) 在盛花后 60 d 显著下降,之后开始升高,至盛花后 120 d 达到最大值。

表 4 钟山红玉发育过程中果实色泽的变化规律

Table 4 Changes of fruit color during the development of Zhongshan Hongyu

盛花后 时间(d)	L^*	a^*	b^*	C	$h(^{\circ})$
40	22.99±0.44c	2.41±0.32a	5.15±2.42a	6.39±0.95a	0.95±0.67a
60	23.86±0.11c	0.23±0.20b	-1.74±0.40b	1.76±0.40b	-1.44±0.44b
80	27.29±0.95b	-1.81±0.11d	-0.84±1.73b	2.43±0.38b	0.32±0.78a
100	28.75±0.63a	-1.25±0.12c	-1.94±0.25b	2.31±0.25b	0.99±0.45a
120	29.23±0.96a	-1.31±0.15c	-1.99±0.51b	2.37±0.27b	1.12±0.62a

L^* : 明暗度; a^* : 红绿色值; b^* : 黄蓝色值; C : 色彩纯度; h : 综合色值。同列数据后标有不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。

表 5 钟山红发育过程中果实色泽的变化规律

Table 5 Changes of fruit color during the development of Zhongshan Hong

盛花后 时间(d)	L^*	a^*	b^*	C	$h(^{\circ})$
40	17.40±0.45d	5.70±1.71b	2.46±1.19b	5.81±0.15b	1.07±0.25a
60	19.99±0.24c	5.27±1.36b	2.64±0.53b	5.93±0.26b	0.47±0.13c
80	28.17±0.44b	4.58±0.79b	4.64±0.91a	6.59±0.36b	0.79±0.18ab
100	30.51±0.40a	8.18±0.25a	2.63±0.15b	8.61±0.92a	0.55±0.23ab
120	30.57±0.34a	2.63±0.35c	3.27±0.35b	8.76±1.25a	1.05±0.26a

L^* : 明暗度; a^* : 红绿色值; b^* : 黄蓝色值; C : 色彩纯度; h : 综合色值。同列数据后标有不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。

表 6 钟山红玉与钟山红杂交 F_1 代发育过程中果实色泽的变化规律Table 6 Changes of fruit color during the development of hybrid F_1 generation of Zhongshan Hongyu and Zhongshan Hong

盛花后 天数(d)	L^*	a^*	b^*	C	$h(^{\circ})$
40	19.65±0.34c	1.24±0.25c	5.51±3.64ab	5.84±2.57a	1.07±0.25a
60	20.06±1.47b	-3.39±0.18d	8.11±0.79a	5.13±0.38ab	-1.53±0.10c
80	25.28±0.11b	5.50±0.67a	1.62±1.47b	3.30±0.95b	0.47±0.10b
100	32.75±0.52a	2.96±1.07b	4.96±1.05ab	5.54±0.26ab	0.46±0.20b
120	32.77±0.50a	4.57±0.24a	5.99±0.14ab	5.66±0.15ab	0.63±0.15b

L^* : 明暗度; a^* : 红绿色值; b^* : 黄蓝色值; C : 色彩纯度; h : 综合色值。同列数据后标有不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。

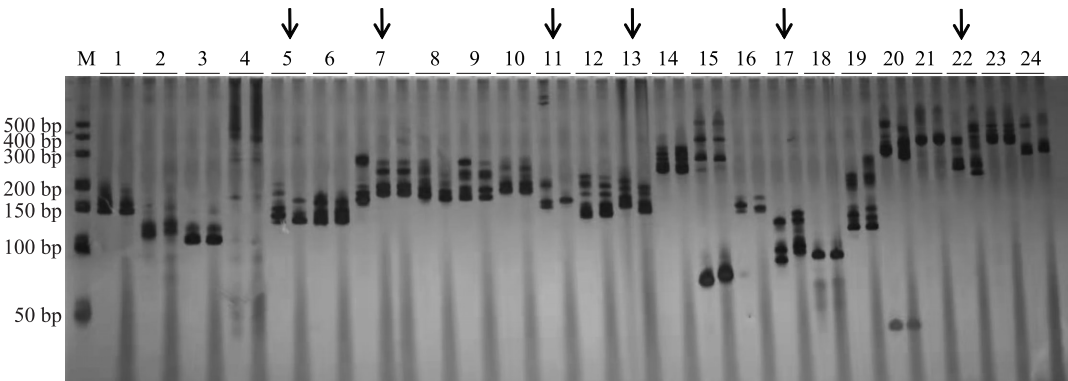
母本钟山红、杂交 F_1 代的 a^* 、 b^* 总体呈波动变化的趋势, h 总体呈先下降后升高的趋势, 母本钟山

红的 C 自盛花后 40 d 开始逐渐升高,到盛花后 120 d 达到最大值,杂交 F₁代的 C 在盛花后 80 d 突然下降,之后逐渐回升并趋于稳定。

2.3 葡萄亲本间多态性引物的筛选

如图 1 所示,从 24 对葡萄基因组引物中筛选出 6 对父母本有差异的引物,占比为 25%。然后根据

杂交 F₁代中是否有父本特征性条带,从这 6 对引物中再筛选出 3 对含有父本特征性条带的 SSR 引物用于父本钟山红玉、母本钟山红与杂交 F₁代亲缘关系的鉴定。表 7 列出了 3 对含有父本特征性条带的 SSR 引物序列与筛选结果。



引物序号标注在每对引物对应的条带上方,左侧为父本,右侧为母本;箭头所指引物为 6 对父母本有差异的特异性引物。

图 1 父母本有差异的特异性引物筛选结果

Fig.1 Screening results of specific primers with different parents

表 7 钟山红玉与钟山红杂交 F₁代中含有父本特征性条带的简单重复序列(SSR)引物

Table 7 Simple sequence repeat (SSR) primers containing paternal characteristic bands in hybrid F₁ generation

引物序号	引物序列 (5'→3')		具有父本特征带的株数(株)	真杂种率 (%)
	正向引物	反向引物		
5	CTGCATAGCGGCTATAAT	TCCACCAACGACCTCTTC	48	96
11	ACGAGGTCGACGGTATCG	ATCTAGAACTAGTGGATC	46	92
22	GAGTCAACTCAACACAAG	ATCGACCTGCAGAATTCA	43	86

2.4 钟山红玉与钟山红杂交 F₁代真实性鉴定

用选出的 3 对含有父母本特征性条带的 SSR 引物对 50 株钟山红玉与钟山红杂交的 F₁代进行检测,其中引物 5 的鉴定效率最高,有 48 株杂交 F₁代含有父本特征性条带,真杂种率达到 96%;用引物 11、22 进行扩增的结果中,含有父本特征性条带的植株数分别为 46 株、43 株,真杂种率分别达到 92%、86%。图 2、图 3 和图 4 分别为 3 对 SSR 引物对父母本和部分杂交后代的扩增结果。通过 3 对引物的相互验证可知,在 50 株杂交 F₁代中,至少有 43 株得到 3 对引物的验证。

2.5 杂交后代与亲本的聚类分析

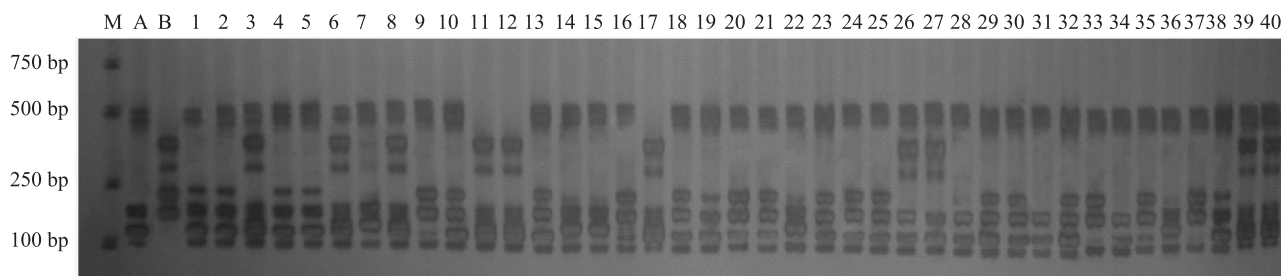
综合上述 3 对引物对母本钟山红、父本钟山红玉及其杂交后代的 PCR 扩增结果,共获得 7 个位

点,由此建立数字矩阵,用分子生物学分析软件 NT-SYSPc 2.20v 分析后代与亲本间的相似系数。结果显示,母本钟山红与父本钟山红玉间的相似度较低,遗传相似系数仅为 0.143。杂交 F₁代的遗传倾向为 0.143~1.00,其中 1 号植株与 47 号、48 号等植株之间的遗传相似性最低,为 0.143。大部分杂交 F₁代植株间的相似系数为 0.857~1.000。母本钟山红与 2 号、4 号、47 号等杂交 F₁代植株间,6 号、7 号、10 号等杂交 F₁代植株间以及 44 号、26 号、35 号等杂交 F₁代植株间的遗传相似性最高,达到 1.00。

图 5 中的非加权组平均法(UPGMA)聚类分析结果显示,在遗传相似系数 0.33 处可将父母本及 43 株杂交 F₁代植株分为 2 类,在遗传相似系数 0.857 处可进一步将其细分为 4 个亚类,其中第 i

类与母本钟山红聚在一起,共有杂交 F_1 代植株 38 株,第 ii 类有杂交 F_1 代植株 3 株,第 iii 类与父本钟

山红玉聚在一起,只有杂交 F_1 代植株 1 株,第 iv 类有杂交 F_1 代植株 6 株。



A: 钟山红玉; B: 钟山红; 1~40: 部分杂交 F_1 代植株。

图 2 5 号引物对父本钟山红玉、母本钟山红以及部分 F_1 代植株的扩增结果

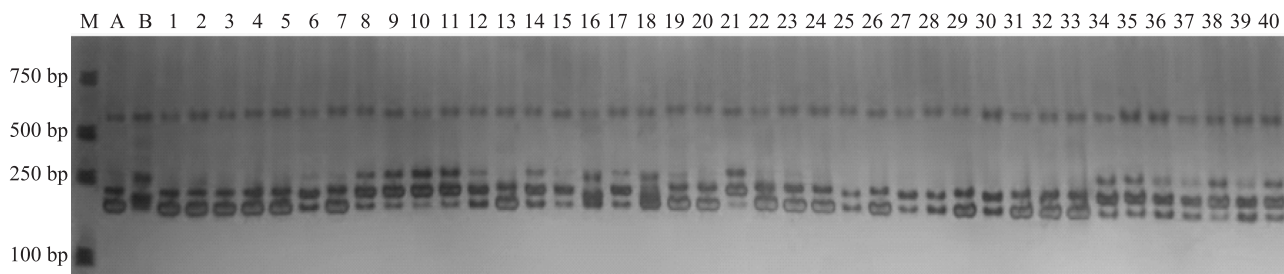
Fig.2 Amplification of male parent Zhongshan Hongyu, female parent Zhongshan Hong and some F_1 hybrids with primer 5



1~40: 部分杂交 F_1 代植株。

图 3 11 号引物对父本钟山红玉、母本钟山红及部分 F_1 代植株的扩增结果

Fig.3 Amplification of male parent Zhongshan Hongyu, female parent Zhongshan Hong and some F_1 hybrids with primer 11



1~40: 部分杂交 F_1 代植株。

图 4 22 号引物对父本钟山红玉、母本钟山红及部分 F_1 代植株的扩增结果

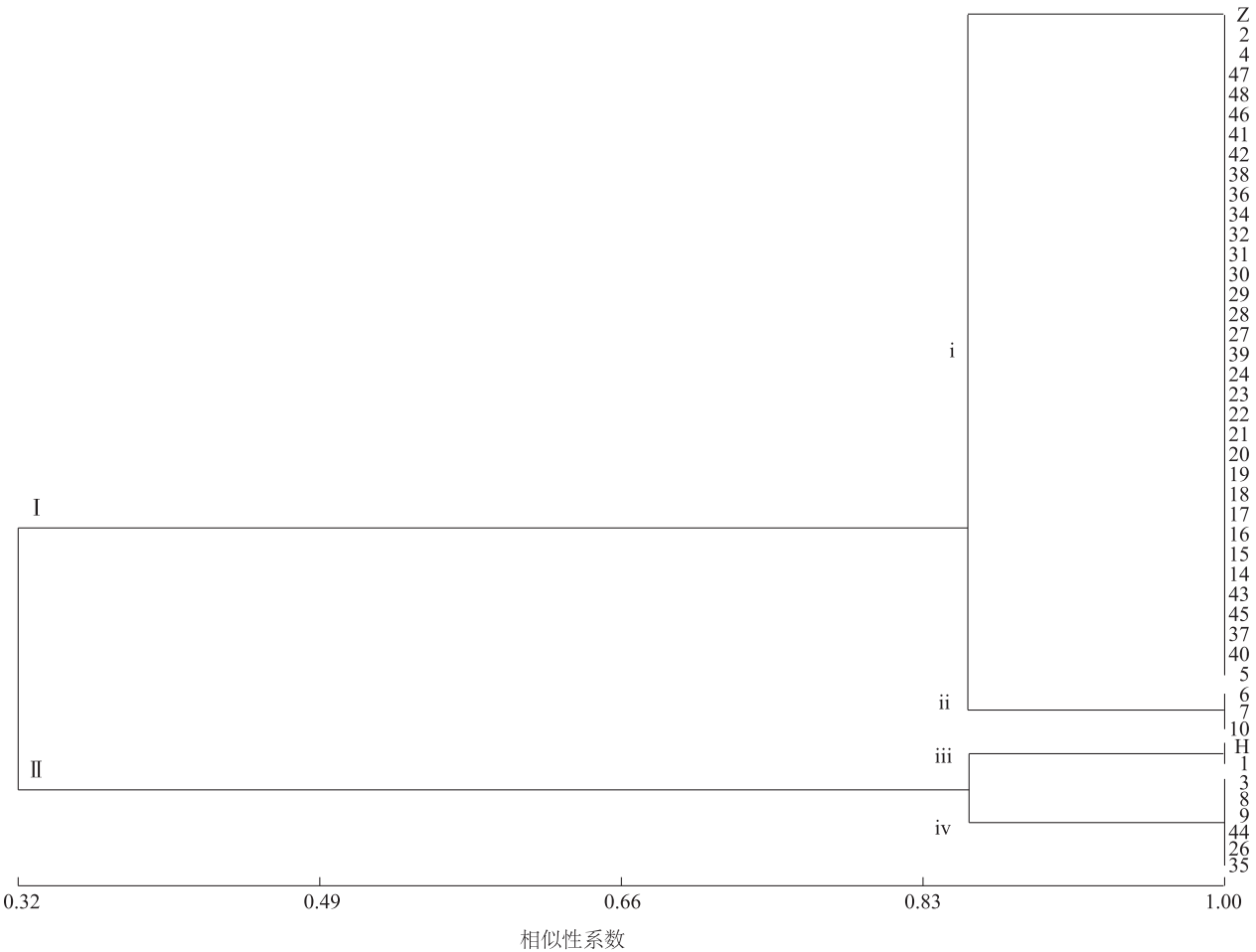
Fig.4 Amplification of male parent Zhongshan Hongyu, female parent Zhongshan Hong and some F_1 hybrids with primer 22

2.6 钟山红玉与钟山红杂交 F_1 代果实基本品质性状的遗传分析

如表 8 所示,钟山红玉与钟山红杂交 F_1 代果实成熟时的果肉比、固酸比等指标的变异系数较高,在 F_1 代中出现较广泛的分离,可溶性固形物含量、果形指数等指标表现出一定的超高亲优势,超高亲率分别为 20.58%、35.26%,果肉比、可滴定酸含量的杂种优势率为负值,分别为 -5.26%、-41.58%,且超低亲率较高,表现出低于双亲的遗传特点。平均粒质量、出汁率等 8 项指标的组合传递力为

58.42%~108.25%,表现出连续分布的特点。

由图 6 可知,钟山红玉与钟山红杂交 F_1 代果实的基本品质指标呈现广泛的分离,符合数量性状遗传特点。其中可滴定酸含量、出汁率、pH 值、果肉比等指标的平均值高于亲本平均值,而平均单果质量、可溶性固形物含量、固酸比等指标的平均值低于亲本平均值。后代的平均粒质量大部分低于双亲,呈现趋小方向分离的特点,双亲间果形指数、可溶性固形物含量相距较大,后代的相应指标大多介于双亲之间,呈现明显的趋双亲遗传趋势。



H: 钟山红玉;Z: 钟山红;1~10、14~24、26~32、34~48; 杂交 F₁ 代植株。

图 5 43 株葡萄杂交 F₁ 代与父母本间遗传关系的聚类结果

Fig.5 Clustering results of genetic relationship between 43 F₁ hybrids and their parents

表 8 钟山红玉与钟山红杂交 F₁ 代果实基本品质性状的遗传变异情况

Table 8 Genetic variation of fruit basic quality in F₁ hybrids of Zhongshan Hongyu and Zhongshan Hong

性状	变异系数 (%)	优势率 (%)	组合传递力 (%)	超高亲率 (%)	超低亲率 (%)
平均粒质量	19.17	6.49	106.49	11.85	18.94
果形指数	1.92	4.39	104.39	35.26	14.83
皮肉比	28.57	-5.26	97.11	9.89	30.25
可溶性固形物含量	9.35	4.26	104.26	20.58	12.62
可滴定酸含量	19.97	-41.58	58.42	15.64	50.02
固酸比	30.15	19.58	108.25	50.63	20.36
pH 值	8.57	5.02	105.26	30.65	18.39
出汁率	12.25	8.89	107.28	18.25	25.68

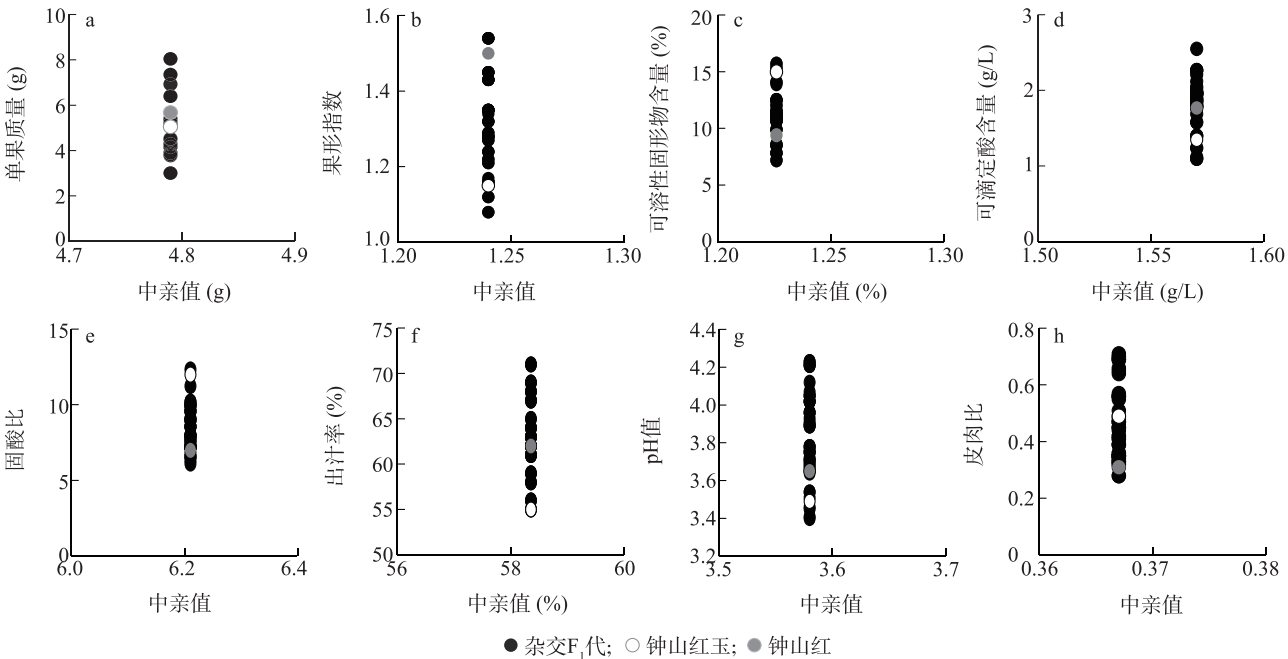
2.7 钟山红玉与钟山红杂交 F₁ 代果实酚类物质含量的遗传特点

2.7.1 钟山红玉与钟山红杂交 F₁ 代果实的果皮中

酚类物质含量的遗传特点 如表 9 所示,钟山红玉与钟山红杂交 F₁ 代果实的果皮中各酚类物质含量均表现出数量性状遗传特点,变异系数为21.79%~

31.58%,其中总类黄酮含量变异最为明显,变异系数为31.58%,后代个体间差异较大。杂交F₁代果实的果皮中5种酚类物质优势率均为负值,总花色

苷含量的组合传递力最低,为58.42%,超低亲率为30.94%~48.15%,表现出明显低于双亲的遗传特点。



a:单果质量;b:果形指数;c:可溶性固形物含量;d:可滴定酸含量;e:固酸比;f:出汁率;g:pH值;h:皮肉比。
图6 钟山红玉与钟山红杂交F₁代果实的基本品质性状遗传规律

Fig.6 Genetic law of fruit basic quality in F₁ hybrids of Zhongshan Hongyu and Zhongshan Hong

表9 钟山红玉与钟山红杂交F₁代果实的果皮中酚类物质的遗传变异

Table 9 Genetic variation of phenolic substances in peel of F₁ hybrids of Zhongshan Hongyu and Zhongshan Hong

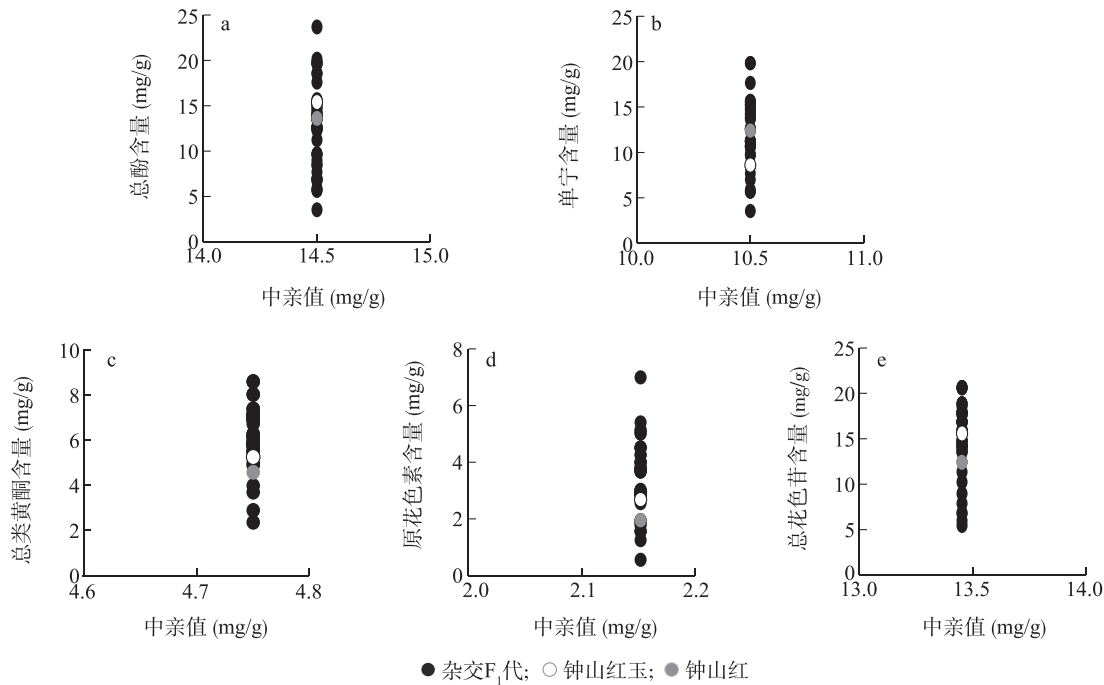
性状	变异系数 (%)	优势率 (%)	组合传递力 (%)	超高亲率 (%)	超低亲率 (%)
总酚含量	29.87	-5.78	104.49	11.85	30.94
单宁含量	22.78	-21.36	100.39	35.26	45.83
总类黄酮含量	31.58	-8.26	95.11	19.89	36.56
原花色苷含量	25.69	-15.45	108.26	24.58	45.62
总花色苷含量	21.79	-11.58	58.42	25.64	48.15

由图7可知,杂交F₁代果实的果皮中所含5种酚类物质含量均表现出较广泛的分离,符合正态分布的遗传规律。其中F₁代果皮中总酚含量的平均值低于亲本果皮中总酚含量的平均值,而F₁代果皮中单宁含量、总类黄酮含量、原花色苷含量高于亲本平均值,表现出一定的超亲优势。父母本的总酚含量、总类黄酮含量较为接近,1个杂交F₁代植株果实的果皮中总酚含量达到24.59 mg/g的,显著高于亲本。杂交F₁代中原花色苷含量的植株间差异较大,F₁代中含量最低的是0.56

mg/g,而含量最高的则达到5.89 mg/g,没有表现出明显的趋双亲遗传特点。
2.7.2 葡萄杂交F₁代果实的果肉中酚类物质含量的遗传变异分析 如表10所示,钟山红玉与钟山红杂交F₁代果肉中酚类物质含量的变异系数为19.17%~35.92%,其中单宁含量的变异较为明显,且组合传递力达到142.39%,4种酚类物质含量的优势率中除总酚含量优势率是负值外,其余均大于0,原花色苷含量的优势率最高,为40.26%,超高亲率达到59.58%,表现出明显的超双亲遗传的特点。

由图 8 可知,杂交 F_1 代果实的果肉中 4 种酚类物质含量的平均值均低于亲本平均值,其中 F_1 代果肉中单宁含量、总类黄酮含量高于母本钟山红的只有 5 个,表现出明显的杂种优势。双亲果实的果肉中原花色素含量相差较多,在杂交 F_1 代中呈现较广

泛的分布,并且表现出趋小方向分离的特点。此外与果皮相比,杂交 F_1 代果实果肉中的酚类物质含量均显著低于果皮中的相应含量, F_1 代果肉中总酚含量最高值仅为 0.83 mg/g, F_1 代果肉中原花色素含量最高值仅为 0.039 mg/g。



a: 总酚含量;b: 单宁含量;c: 总类黄酮含量;d: 原花色素含量;e: 总花色苷含量。

图 7 钟山红玉与钟山红杂交 F_1 代果实的果皮中酚类物质的遗传规律

Fig.7 Genetic law of phenolic substances in peel of F_1 hybrids of Zhongshan Hongyu and Zhongshan Hong

表 10 钟山红玉与钟山红杂交 F_1 代果实的果肉中酚类物质的遗传变异

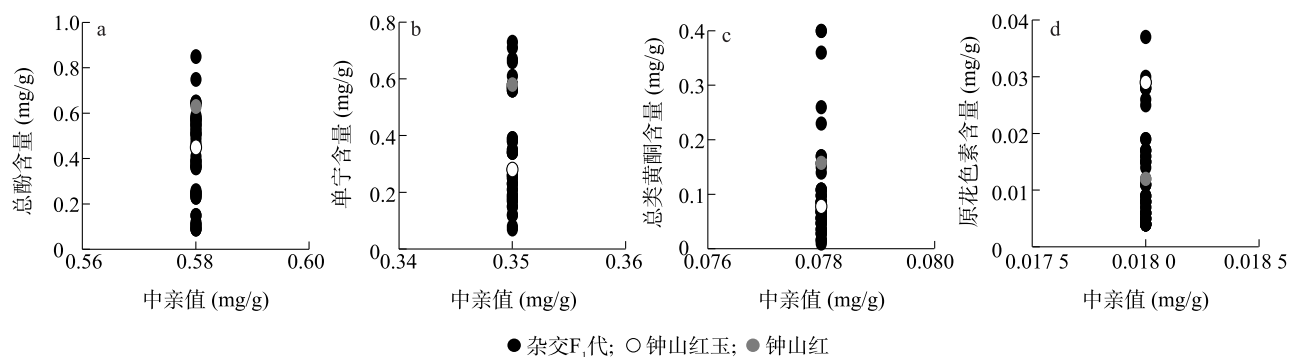
Table 10 Genetic variation of phenols in fruit pulp of F_1 hybrids of Zhongshan Hongyu and Zhongshan Hong

性状	变异系数 (%)	优势率 (%)	组合传递力 (%)	超高亲率 (%)	超低亲率 (%)
总酚含量	19.17	-8.89	90.49	11.85	38.94
单宁含量	35.92	4.39	142.39	35.26	44.83
总类黄酮含量	29.61	35.40	96.17	45.89	39.25
原花色素含量	30.26	40.26	109.26	59.58	30.62

3 讨论

目前,常规杂交育种、杂种优势育种等育种手段仍然是选育优质葡萄新品种的主要方法,如通过只含有雌花的山葡萄品种左山二与欧亚种酿酒葡萄小红玫瑰进行品种间杂交可以获得酸度低、糖度高的高品质后代^[26]。以玫瑰香作母本、巨峰作父本杂交获得的四倍体欧美杂交种葡萄巨玫瑰同时具有巨峰

葡萄的优良抗性和玫瑰香的各项优良性状^[27-28]。此外,以四倍体葡萄巨玫瑰作母本、二倍体葡萄玫瑰香作父本,可以培育出胚萌发率达到 43.74% 的三倍体的无核、大粒且有香味的优良单株后代^[29]。以玫瑰香作母本、欧亚种葡萄红地球作父本选育出的中早熟新品种金田玫瑰兼有母本浓郁的玫瑰香味和父本紫红色的果皮、多汁的果肉,极大地提高了产品的经济价值^[30]。



a: 总酚含量; b: 单宁含量; c: 总类黄酮含量; d: 原花色苷含量。

图 8 钟山红玉与钟山红杂交 F_1 代果实的果肉中酚类物质含量的遗传规律

Fig.8 Genetic law of phenolic substances in the pulp of F_1 hybrids of Zhongshan Hongyu and Zhongshan Hong

葡萄的果粒大小、质量、可溶性固形物含量和可滴定酸含量等基本品质的好坏不仅会影响鲜食葡萄的口感,也决定了葡萄是否具有优良的酿酒性能和营养价值。郭修武等^[31]对 5 个葡萄自交组合后代与 10 个杂交组合后代的果实基本品质进行分析,发现单果质量、可溶性固形物含量和可滴定酸含量均呈现连续的正态分布遗传规律,其中单果质量与可滴定酸含量呈现低于双亲遗传的现象,可溶性糖含量表现出明显的加性效应,呈现超越双亲遗传的效应,为亲本选择提供了理论基础。郭权等^[32-33]以红地球、山葡萄品种双亲为亲本,通过正反交培育杂交后代,结果显示,正交组合后代的可溶性固形物含量表现为超亲遗传,平均值高于亲本平均值,可滴定酸含量与亲本间的差异较小,其均值接近亲本平均值;反交组合后代中的可溶性糖含量平均值低于亲本平均值,呈低于双亲遗传的效应,可滴定酸含量平均值高于亲本平均值,呈超越双亲遗传的特点。正反交组合后代中均存在一定程度的母性遗传特点,可为葡萄育种亲本的选配提供理论依据。在本研究中,母本钟山红是从魏可实生系选育而来的雄性不育晚熟新品种,父本钟山红玉是两年生红肉葡萄,杂交后代的可溶性固形物含量大部分高于亲本平均值,表现出很强的超亲优势,可滴定酸含量大多数低于亲本平均值,呈低于双亲遗传的特点,后代的平均粒质量大部分低于双亲,呈现趋小方向分离的特点。这与欧美杂交种葡萄品种间杂交、欧美杂交种葡萄与欧亚种葡萄杂交、山葡萄种内杂交后代可滴定酸含量平均值高于中亲值的结果不一致^[34],表明亲本组合不同,遗传性状会出现较大差异^[17]。

酚类物质含量对葡萄的果实品质、风味和色泽

具有重要影响,其中花色苷含量是决定果实颜色的关键因素^[35]。在本研究中,钟山红与钟山红玉杂交后代果皮中的总花色苷含量大部分低于亲本平均值,超低亲比例为 48.15%,呈低于双亲遗传的特点,表明果皮中花色苷含量的遗传不具备杂种优势。此外,杂交后代中的果皮均表现为红色,而果肉为白色,说明果实颜色的遗传可能受到控制果实颜色有无的主基因和控制果色深浅的多个基因共同控制,既表现出质量性状遗传的特点,又存在一定的数量性状遗传规律^[35-36]。果肉中原花色苷含量优势率最高,达 40.26%,超高亲率达到 59.58%,表现出明显的超亲优势,单宁含量、总类黄酮含量表现出杂种优势。双亲的原花色苷含量相差较多,杂交后代呈现较广泛的分离,并且表现出趋小方向分离的特点。

通过 SSR 分子标记技术^[37-40]对母本钟山红与父本钟山红玉杂交 F_1 代进行杂交纯度鉴定,发现 50 株杂交 F_1 代中至少有 43 株得到 3 对 SSR 特异性引物的鉴定,通过对亲本和杂交后代果实基本品质和酚类物质含量的测定,得出果实基本品质性状呈现广泛分离,符合数量性状的遗传特点。果皮中总花色苷含量呈低于双亲遗传的特点,果肉中总类黄酮、原花色苷含量呈超高亲遗传的特点,但果实颜色的遗传机制尚未完全探明,还需要进一步的研究。

参考文献:

- [1] 宁克远. 葡萄栽培技术[J]. 现代种业, 2009(5): 42-43.
- [2] IVANOVA N N, KHOMICH L M, PEROVA I B, et al. Grapefruit juice nutritional profile[J]. Voprosy Pitaniia, 2018, 87(5): 85-94.
- [3] 王初田. 葡萄的营养价值及栽培技术[J]. 中国园艺文摘, 2012, 28(9): 159-160.

- [4] 王心怡,赵节昌. 葡萄籽的营养功效及综合利用[J]. 农产品加工,2019(4):87-89.
- [5] 刘凤之. 中国葡萄栽培现状与发展趋势[J]. 落叶果树, 2017, 49(1): 1-4.
- [6] 罗国光. 中国葡萄栽培发展成就和需要关注的几个问题 [C]//中国农学会. 第十三届全国葡萄学术研讨会论文集. 澧县:中国农学会,2007.
- [7] 张振文,刘延琳,惠竹梅. 中国葡萄栽培发展现状分析 [C]//中国酿酒工业协会,中国食品工业协会. 第二届国际葡萄与葡萄酒学术研讨会论文集. 杨凌:中国酿酒工业协会,中国食品工业协会,2001.
- [8] 沈 甜,牛锐敏,黄小晶,等. 基于层次-关联度和主成分分析的无核鲜食葡萄品质评价[J]. 食品工业科技, 2021, 42(3): 53-60,67.
- [9] 赵玉山. 提高巨峰葡萄品质的措施[J]. 河北果树, 2013(4): 49-50.
- [10] 陈奕霖. 天津产区酿酒葡萄品质与葡萄酒质量的研究 [D]. 杨凌:西北农林科技大学,2013.
- [11] 李记明. 关于葡萄品质的评价指标[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 1999(1): 56-59.
- [12] 刘政海,董志刚,李晓梅,等. ‘威代尔’与‘霞多丽’葡萄杂交 F_1 代果实性状遗传倾向分析[J]. 果树学报, 2020, 37(8): 1122-1131.
- [13] 李 坤. 葡萄自交与杂交后代若干性状遗传特点及规律的研究 [D]. 沈阳:沈阳农业大学,2003.
- [14] 刘政海,董志刚,李晓梅,等. 酿酒葡萄‘黑比诺’与‘马瑟兰’杂交后代果实性状遗传倾向分析[J]. 中国果树, 2020(6): 29-35.
- [15] 谭 伟,李晓梅,董志刚,等. 毛欧杂种‘2-1-3’杂交 F_1 代果实性状遗传倾向分析[J]. 果树学报,2018,35(12): 1444-1454.
- [16] 王 勇,苏来曼·艾则改,李玉玲,等. ‘火州黑玉’葡萄杂交后代果实性状遗传倾向分析[J]. 西北植物学报,2015,35(2): 275-281.
- [17] 郭修武,郭印山,李铁晖,等. 葡萄杂交后代主要经济性状的遗传倾向[J]. 果树学报,2004(4):319-323.
- [18] 万怡震,王治明,周存忠,等. 葡萄种子单宁含量的遗传研究 [J]. 西北农业学报,2001,10(3): 110-111.
- [19] 宋润刚,郑永春,路文鹏,等. 山葡萄种内和种间杂交 $F_1 \sim F_4$ 代果实酸和糖含量的遗传分析[J]. 园艺学报,2007(4):813-822.
- [20] WEI X M, SYKES S R, CLINGELEFFER P R. An investigation to estimate genetic parameters in CSIRO's table grape breeding program. 2. Quality characteristics[J]. Euphytica, 2002, 128(3): 343-351.
- [21] 谭 伟,唐晓萍,董志刚,等. ‘赤霞珠’和‘梅露辄’不同营养系果实不同部位酚类物质含量的比较分析[J]. 中国农学通报, 2015,31(8): 229-234.
- [22] TIAN S F. Changes of content and antioxidant activity of pHenolic compounds during gibberellin-induced development of seedless muscat grapevines[J]. Bruce Irving Reisch, 2014, 1046(1046): 539-548.
- [23] WATERHOUSE A L, IGNEZLI S, SHIRLEY J R. A comparison of methods for quantifying oligomeric proanthocyanidins from grape seed extracts[J]. American Journal of Enology & Viticulture, 2000,51(4): 383-389.
- [24] MUNTANA N, PRASONG S. Study on total phenolic contents and their antioxidant activities of thai white, red and black rice bran extracts[J]. Pakistan Journal of Biological Sciences, 2010, 13(4): 170-174.
- [25] 季晨飞,张明月,王继源,等. 葡萄雄性不育基因的初步定位 [J]. 西北植物学报, 2014,34(11): 2165-2169.
- [26] 路文鹏,刘 燕. 山葡萄杂交育种技术要点[J]. 特种经济动植物,2013,16(5):49-50.
- [27] 王玉环,姜学品,王桂华,等. 葡萄新品种巨玫瑰的选育[J]. 中国果树,2003(1): 4-7.
- [28] 胡福荣. “巨玫瑰”葡萄优质栽培技术[J]. 上海农业科技, 2011(2): 55-56.
- [29] 郭艳芳,张 娜,田淑芬,等. 以‘巨玫瑰’葡萄为母本的胚挽救育种研究[J]. 中外葡萄与葡萄酒,2019(2):46-49.
- [30] 项殿芳,李绍星,张孟宏,等. 鲜食葡萄新品种‘金田玫瑰’[J]. 园艺学报,2008(6):926.
- [31] 郭修武,郭印山,李铁晖,等. 葡萄主要性状遗传规律研究 [C]//中国园艺学会. 中国园艺学会青年学术讨论会论文集. 杨凌:中国园艺学会,2002.
- [32] 郭 权,郭印山,郭修武. 葡萄‘红地球’与‘双优’杂交后代果实糖酸的遗传规律[J]. 分子植物育种, 2021,19(10): 3424-3431.
- [33] 刘振中,樊红科,高 华,等. 苹果杂交后代果实性状遗传变异分析[J]. 北方园艺, 2012(5): 5-8.
- [34] 路文鹏,宋润刚,李晓红,等. 山葡萄种内杂交后代浆果色素、单宁和总酸含量的遗传分析[J]. 吉林农业大学学报, 2003, 25(6): 629-633.
- [35] SUNIL L, SHETTY N P. Biosynthesis and regulation of anthocyanin pathway genes[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2022, 106(5/6): 1783-1798.
- [36] 李 坤,郭修武,谢洪刚,等. 葡萄自交与杂交后代果皮色素含量的遗传[J]. 果树学报, 2004,21(5): 406-408.
- [37] 邱炳发,梁馨元,王建忠,等. 大花序桉基因组 SSR 的分布特征及序列分析[J]. 南方农业学报,2021,52(10):2744-2750.
- [38] 王掌军,许娜丽,王新华,等. 宁春4号与河东乌麦杂交 $F_2:5$ 家系的籽粒品质性状及其 QTL 分析[J]. 南方农业学报,2021,52(9):2391-2403.
- [39] 高 阳,侯非凡,熊 雄,等. 基于候选基因开发 gSSR 标记加密黄花草和萱草种间遗传图谱[J]. 江苏农业学报,2021,37(1): 139-149.
- [40] 罗登杰,万 瑶,覃雪梅,等. 水稻细菌性条斑病抗性基因 *bls2* SSR 分子标记开发[J]. 南方农业学报, 2021, 52(5): 1167-1173.

(责任编辑:徐 艳)