

粉枝莓 ISSR 遗传多样性和果实香气成分多样性分析

刘瑜¹ 钟政昌^{1,2} 袁雷^{2,3*} 谢博¹ 曹东星¹

(1. 西藏农牧学院 食品科学学院, 西藏 林芝 860000;

2. 西藏森林资源天然产物研究中心, 西藏 林芝 860000;

3. 西藏农牧学院 生物技术中心, 西藏 林芝 860000)

摘要 为明确西藏粉枝莓的多样性和亲缘关系,利用 ISSR 分子标记技术和 HS-SPME/GC-MS 技术,对粉枝莓 7 个居群的遗传多样性和果实香气成分多样性进行研究。结果表明:11 条引物共得到 102 个清晰的扩增条带,其中多态性条带 99 个,PPB 达到 97.06%,香农信息指数 I 为 0.490 9,表明粉枝莓具有较高的遗传多样性水平。Nei's 遗传结构(G_{ST} , 0.287 2)和分子变异分析(AMOVA)的结果表明大部分的遗传变异分布在居群内(71.28%)。通过遗传分化系数 GST 估计的基因流为 1.241 1。45 个粉枝莓果实共检测出 28 种挥发性成分,基于果实香气成分的欧式距离为 0.028 6~0.144 6。利用 Mantel 检验结果表明粉枝莓 ISSR 遗传距离和果实香气成分欧式距离无显著相关性($r = -0.153 2, P = 0.676 0$)。采用 28 种香气成分对 45 个样本进行主成分分析,前 4 个主成分的累积贡献率达到 74.20%,较好的反映了粉枝莓果实香气成分的组成情况。研究表明,粉枝莓存在较丰富的遗传多样性,为西藏粉枝莓资源的进一步研究和利用提供参考。

关键词 粉枝莓; ISSR 标记; 香气成分; 主成分分析

中图分类号 S665.2

文章编号 1007-4333(2018)08-0050-09

文献标志码 A

Genetic and phytochemical diversities of *Rubus biflorus* Buch revealed by ISSR markers and fruit aroma components

LIU Yu¹, ZHONG Zhengchang^{1,2}, YUAN Lei^{2,3*}, XIE Bo¹, CAO Dongxing¹

(1. Food Science College, Tibet Agricultural & Animal Husbandry University, Linzhi 860000, China;

2. Tibet Natural Products Research Center of Forest Resources, Linzhi 860000, China;

3. Biotechnology Center, Tibet Agricultural & Animal Husbandry University, Linzhi 860000, China)

Abstract To clarify the diversity and relationship of *Rubus biflorus* Buch, the genetic and phytochemical diversities of 7 populations of *Rubus biflorus* Buch were investigated using ISSR and HS-SPME/GC-MS. The results showed that: Among 102 clear amplified bands obtained by 11 pairs primers, 99 were polymorphic. The number of polymorphic bands accounted for 96.07% of total bands, the Shannon index of diversity I was 0.490 9, indicating that *Rubus biflorus* Buch had abundant genetic diversity. The coefficient of gene differentiation (G_{ST} , 0.365 2) and AMOVA analysis revealed that most genetic diversities were distributed within populations (71.28%). The estimate of gene flow based on G_{ST} was 1.241 1. 28 aromatic compounds were detected among 45 *Rubus biflorus* Buch in total. The Euclidean distance among the seven populations varied from 0.028 6 - 0.144 6. The Mantel test showed that there was no significant correlation between the genetic distance and Euclidean distance ($r = -0.153 2, P = 0.676 0$). Principal component analysis was used to evaluate the 28 aromatic components. The results indicated that the former 4 principal components accounted for 74.20% of the cumulative contribution value. In conclusion, PCA could simplify the complicate original data to principal components, which reflected the aroma constitution preferably. This study showed that there existed a rich genetic diversity providing references for further research and utilization of *Rubus biflorus* Buch resources.

Keywords *Rubus biflorus* Buch; ISSR marker; aroma components; principal component analysis

收稿日期: 2017-10-19

基金项目: 西藏自治区自然科学基金项目(2015ZR-13-30); 西藏野生特色生物资源开发平台建设项目(PT2015-01)

第一作者: 刘瑜, 硕士研究生, E-mail: 464124137@qq.com

通讯作者: 袁雷, 副教授, 主要从事西藏特色资源天然产物研究, E-mail: 249901708@qq.com

粉枝莓是蔷薇科悬钩子属植物中的一种落叶性野生果木,广泛分布在西藏拉萨、林芝等地,资源量较为丰富。其果实营养成分含量丰富,远高于普通水果,除可生食外,也可以酿酒,制作果汁和果酱等^[1],具有较高的开发利用价值。目前,对粉枝莓的研究主要集中在资源调查、营养成分和活性成分分析方面^[2-5],关于粉枝莓遗传多样性研究、资源鉴定和分类工作尚未有报道,严重阻碍了这一野生果树资源的开发利用。ISSR 技术是研究遗传多样性常用的方法,ISSR 技术目前在研究物种的遗传多样性^[6-9]、品种鉴定^[10-11]等方面获得了广泛应用。果实香气成分作为植物果实中一种重要的次生代谢产物,是评价果实风味品质的重要指标,果实香气成分可用于果木多样性和优良品种的选育工作^[12-13]。

Korbin 等^[14]利用 ISSR 技术研究了 36 个悬钩子栽培品种间的亲缘关系,确定了它们育种的稳定性,在这些分析中 ISSR 能准确估计品种间的亲缘关系。Hong 等^[15]用 ISSR 技术研究红树莓和黑树莓的遗传多样性,并取得很好的效果,表明 ISSR 技术可以用于遗传多样性保护和育种等方面的研究。刘崇琪等^[6]的研究发现新疆野生樱桃李各实生株系挥发性化合物总含量、挥发性化合物种类及其含量以及主要挥发性化合物分离比率与含量等存在广泛

的遗传变异,遗传多样性较为丰富。周莉等^[7]的研究表明不同变种类型的甜瓜果实香气成分组成差异很大,其中酯类作为主要香气物质含量差异最大,薄皮类型甜瓜因其他类香气物质含量较高而区别于厚皮类型甜瓜。

本研究以西藏自治区林芝市色季拉山 7 个不同居群的粉枝莓为材料,在用 ISSR 分子标记技术探讨其遗传多样性的基础上,进一步比较分析其果实香气成分多样性,旨在为这一野生果木资源的遗传结构、资源鉴定等方面提供理论依据,以期能更广泛地应用于农业生产,且有助于对优秀基因资源进行深入的评价、挖掘和利用,提高果实产量和改善品质。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以西藏自治区林芝市色季拉山东坡(DP)和东坡(XP)不同海拔的粉枝莓嫩叶和成熟果实作为试验对象。采集的嫩叶直接放入带有硅胶的自封袋内干燥,带回实验室置于 $-85\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱供 DNA 提取用,成熟果实采摘后置于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 环境带回实验室备用(样品采集于 2015 年 8—9 月)。粉枝莓各居群采样点详细信息见表 1。

表 1 粉枝莓居群采样信息

Table 1 Information of collected *Rubus biflorus* Buch populations

居群 Population	海拔/m Elevation	纬度(N) Latitude(N)	经度(E) Longitude(E)	采样量 Sample size	编号 Code
DP1	2 519	29°59.347	94°56.054	6	1~6
DP2	2 234	29°57.146	94°50.058	4	7~10
DP3	3 015	29°50.293	94°45.307	7	11~17
DP4	3 244	29°47.451	94°45.204	5	18~22
XP1	3 208	29°33.469	94°31.372	8	23~30
XP2	3 046	29°33.521	94°29.547	6	31~36
XP3	2 990	29°37.353	94°21.541	9	37~45

1.2 仪器与试剂

980A 凝胶成像仪(上海复日科技有限公司); T100 PCR 仪(Bio-Rad); 5424 离心机(Eppendorf); DYY-6C 电泳仪(北京六一生物科技有限公司); QP2010 plus GC-MS 气质联用仪(Shimadzu); 固相

微萃取装置、 $85\text{ }\mu\text{m}$ 聚丙烯酸酯(PA)纤维头(Supelco)。

本研究所用的 ISSR 引物为加拿大哥伦比亚大学(UBC)公布的第 9 套引物,由华大基因科技有限公司负责合成。Taq DNA 聚合酶、dNTPs 混合液、

10×PCR Buffer(Mg²⁺ free)购自 NEB 公司。琼脂糖购自 biowest 公司。RNase A 购自 Amresco 公司。异戊醇、三氯甲烷、CTAB、异丙醇、无水乙醇等试剂均为国产分析纯。

1.3 粉枝莓 ISSR 遗传多样性分析

1.3.1 粉枝莓基因组 DNA 的提取与检测

粉枝莓基因组 DNA 的提取采用改良的 CTAB 法^[16]。DNA 浓度和质量通过分光光度计测定,并取适量样品于 0.8% 的琼脂糖电泳检测,其余 DNA 样品于 -20 °C 冰箱中保存备用。

1.3.2 PCR 扩增与电泳检测

PCR 反应体系 20.0 μL,包含 dNTPs 0.25 μL、Taq DNA 聚合酶 0.15 μL、引物 2 μL、Mg²⁺ 0.5 μL、40 mg/L DNA 1 μL、10×buffer 2 μL。PCR 扩增程序:94 °C 3 min,94 °C 30 s,50~56 °C 退火 45 s,68 °C 1 min(35 个循环),68 °C 5 min,12 °C 保存。PCR 产物用 1.5% 的琼脂糖凝胶电泳检测,EB 染色,凝胶成像系统成像。

1.4 粉枝莓果实香气成分多样性分析

1.4.1 顶空固相微萃取

称取 5.0 g 粉枝莓匀浆,装入 15 mL 带有聚四氟乙烯密封的顶空瓶中,密封。将 PA 萃取纤维头的固相萃取针穿过密封塞插入顶空瓶中,推出萃取头,60 °C 水浴萃取 30 min,然后将纤维头插入气相色谱-质谱联用仪进样口,240 °C 解析 3 min,同时进行 GC-MS 检测。

1.4.2 色谱-质谱条件

参照文献[17-18]方法,略作修改。色谱柱:RTX-5MS(30 m×0.25 mm×0.25 μm)弹性石英毛细管柱;进样口温度:240 °C;载气:He,纯度≥99.999%,柱流速 0.9 mL/min,不分流;程序升温:初始温度 60 °C,保持 1 min,以 6 °C/min 升至 180 °C,保持 1 min,再用 1 min 升至 200 °C,保持 5 min。离子源温度 220 °C;传输线温度 250 °C;离子化方式:EI;电子能量:70eV;扫描方式:全扫描;扫描质量:35~500 m/z。

1.4.3 香气成分的定性与定量分析

各组分通过 NIST05 和 NIST05s 质谱数据库检索,根据质谱的匹配度和文献已报道物质进行核对,同时采用峰面积归一化法计算粉枝莓果实香气成分的相对含量。

1.5 数据分析

ISSR 电泳图谱中的每一条带记作一个分子标

记,作 ISSR 的 0、1 二元数据矩阵。应用 Popene version 1.31 软件计算多态位点百分率(PPB)、Shannon's 信息指数(I)、Nei's 基因多样性(H_e)、有效等位基因数(N_e)、观测等位基因数(N_a)、Nei's 遗传距离与遗传相似性、遗传分化系数(G_{ST})、基因流(N_m)。粉枝莓居群间的果实香气成分变异采用欧氏距离进行计算。基于欧氏距离矩阵,利用 NTSYS pc 2.10e 的 SHAN 程序进行 UPGMA 聚类分析,数据标准化后采用 SPSS 16.0 软件进行主成分分析。利用 TFPGA 软件对 ISSR 和果实香气成分的遗传距离矩阵进行 Mantel 检验,检测两者之间的相关性及其显著性水平。

2 结果与分析

2.1 粉枝莓 ISSR 遗传多样性分析

2.1.1 引物筛选

从 80 条 ISSR 引物中筛选出 11 条电泳条带清晰,重复性好,且多态性丰富的引物用于粉枝莓群体的 ISSR 分析,筛选出的引物信息见表 2。11 条引物共扩增出 102 个条带,其中多态性条带为 99 条,多态性位点百分率(PPB)97.06%。

2.1.2 粉枝莓居群的遗传多样性分析

用 Popene version 1.31 对 7 个粉枝莓居群的遗传多样性进行统计分析,结果见表 3。根据香农信息指数(I),各居群遗传变异由高向低为居群 DP4($I=0.4462$)>DP3($I=0.4020$)>DP2($I=0.3779$)>XP1($I=0.3669$)>XP3($I=0.3419$)>DP1($I=0.2899$)>XP2($I=0.2395$),其平均值为 0.3520,全部样品香农信息指数(I)为 0.4909。各居群 PPB 为 49.02%(XP2)~81.37%(DP3),其大小顺序为 DP3>XP1>DP4>DP2>XP3>DP1>XP2。 N_a 与 PPB 对粉枝莓 7 个居群遗传多样性评价结果是一致的; H_e 代表了基因多样性的程度,与 N_e 评价结果基本一致,居群遗传变异由高向低为居群 DP4>DP3>DP2>XP1>XP3>DP1>XP2,与香农信息指数(I)评价结果基本一致。

2.1.3 粉枝莓居群的遗传分化

Popene 结果表明,Nei's 遗传结构(G_{ST} , 0.2872)和分子变异分析(AMOVA)的结果表明居群内和居群间均存在显著的遗传分化,但是种内变异对整体变异的贡献较大。基于公式 $N_m = 0.5(1 - G_{ST})/G_{ST}$,所计算的居群间基因流为 1.2411。

表 2 11 条用于 ISSR 分析的引物及引物扩增产物的多态性

Table 2 Eleven primers using for ISSR analysis and their polymorphism of amplified bands

引物编号 Primer code	引物序列 Primer sequence	扩增总带数 Number of bands	多态性带数 Polymorphic bands	多态性条带百分比/% Percentage of polymorphic bands
UBC807	(AG) ₈ T	9	9	100.00
UBC834	(AG) ₈ YT	10	9	90.00
UBC836	(AG) ₈ YA	8	8	100.00
UBC844	(CT) ₈ RC	9	9	100.00
UBC846	(CA) ₈ RT	10	10	100.00
UBC848	(CA) ₈ RG	11	11	100.00
UBC849	(GT) ₈ YA	10	10	100.00
UBC856	(AC) ₈ YA	6	5	83.30
UBC864	(ATG) ₆	6	6	100.00
UBC876	(GATA) ₂ (GACA) ₂	13	12	92.30
UBC879	(CTTCA) ₃	10	10	100.00
总计		102	99	—
平均		9.27	9.00	97.06

注:R=(A,G);Y=(C,T)。

Note:R=(A,G);Y=(C,T)。

表 3 粉枝莓居群的遗传多样性

Table 3 Genetic diversity of *Rubus biflorus* Buch populations

居群 Population	指标 Index						
	N _a	N _e	H _e	I	PPB/%	G _{ST}	N _m
DP1	1.627 5	1.312 4	0.187 5	0.289 9	62.75		
DP2	1.705 9	1.423 1	0.251 4	0.377 9	70.59		
DP3	1.813 7	1.442 6	0.264 2	0.402 0	81.37		
DP4	1.774 5	1.543 2	0.304 9	0.446 2	77.45		
XP1	1.784 3	1.392 3	0.237 9	0.366 9	78.43		
XP2	1.490 2	1.265 8	0.157 2	0.239 5	49.02		
XP3	1.666 7	1.401 4	0.229 2	0.341 9	66.67		
Mean	1.694 7	1.397 3	0.233 2	0.352 0	69.47		
种级水平	1.970 6	1.550 0	0.325 2	0.490 9	97.06	0.287 2	1.241 1

2.1.4 粉枝莓的遗传相似性与聚类分析

由表 4 可以看出,7 个居群间遗传相似性的范围为 0.767 8~0.931 9。其中,DP2-DP3 的遗传相似性最大(0.931 9),DP1-XP3 居群的遗传相似性最小(0.767 8)。

根据粉枝莓居群间的遗传相似性,采用 UPGMA 进行聚类分析,结果显示,在相似系数约为 0.88 处,7 个粉枝莓居群可归为四类(图 1),其中居群 DP2-DP3 的亲缘关系近,相似系数约在 0.94 处聚成一个类群。

表4 居群间的Nei's遗传距离与遗传相似性

Table 4 Genetic distance and genetic identity among *Rubus biflorus* Buch populations

居群 Population	居群 Population						
	DP1	DP2	DP3	DP4	XP1	XP2	XP3
DP1	****	0.866 9	0.820 9	0.809 4	0.795 4	0.776 1	0.767 8
DP2	0.142 8	****	0.931 9	0.889 7	0.866 8	0.862 6	0.835 3
DP3	0.197 4	0.070 5	****	0.868 1	0.898 7	0.915 0	0.882 8
DP4	0.211 5	0.116 8	0.088 9	****	0.883 8	0.860 1	0.852 3
XP1	0.228 9	0.147 8	0.141 5	0.123 6	****	0.875 2	0.881 6
XP2	0.253 5	0.143 0	0.106 8	0.150 7	0.133 3	****	0.892 5
XP3	0.264 2	0.180 0	0.124 7	0.159 8	0.126 0	0.113 7	****

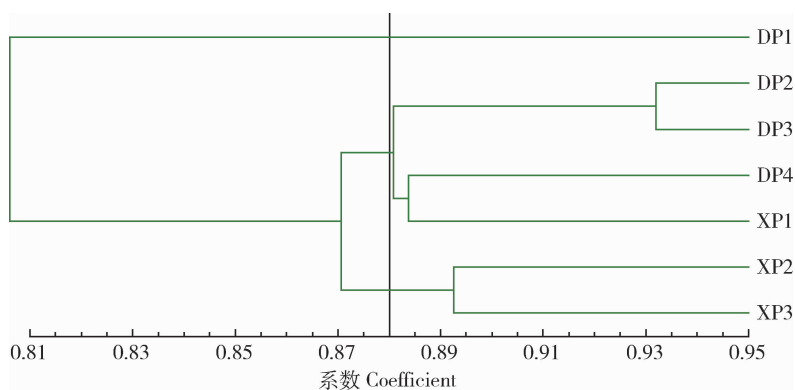


图1 粉枝莓居群遗传相似性系数UPGMA聚类图

Fig. 1 UPGMA clustering graph of different *Rubus biflorus* Buch populations based on genetic identity

2.2 粉枝莓果实香气成分多样性分析

2.2.1 果实香气成分GC-MS分析结果

采用HS-SPME/GC-MS对粉枝莓果实香气成分进行分析,45个粉枝莓果实共检测出28种挥发

性成分,结果见表5。其中萜类11种、醇类9种、醛类6种、羧酸类1种、酮类1种,分别占已检出香气成分总数的39.3%、32.1%、21.4%、3.6%和3.6%。

表5 粉枝莓居群果实香气成分表

Table 5 Aroma components of *Rubus biflorus* Buch fruit

编号 Code	化合物 Compound	编号 Code	化合物 Compound	编号 Code	化合物 Compound
1	2-己烯醛	11	正辛醇	21	cis-2-壬烯醛
2	1-己醇	12	2-壬酮	22	香叶醛
3	3-甲基丁烯酸	13	β -芳樟醇	23	月桂醛
4	2-庚醇	14	正壬醛	24	反-2-壬烯醇
5	苯甲醛	15	正壬醇	25	香叶酸
6	6-甲基-5-庚烯-2-醇	16	正癸醛	26	肉桂醛
7	正辛醛	17	安息香酸	27	香叶基丙酮
8	2-乙基-1-己醇	18	橙花醇	28	月桂醇
9	苯甲醇	19	橙花醛		
10	2-丁醇	20	香叶醇		

2.2.2 果实香气成分多样性分析

粉枝莓居群间的香气成分变异采用欧氏距离进行计算,基于欧氏距离矩阵(表 6),利用 NTSYS pc

2.10e 的 SHAN 程序进行 UPGMA 聚类分析,结果如图 2 所示。7 个居群的遗传相似性为 0.865 3~0.971 8。

表 6 居群间的的 Nei's 遗传距离与遗传相似性

Table 6 Genetic distance and genetic identity among *Rubus biflorus* Buch populations

居群 Population	居群 Population						
	DP1	DP2	DP3	DP4	XP1	XP2	XP3
DP1	****	0.876 1	0.930 4	0.971 8	0.948 1	0.914 0	0.938 1
DP2	0.132 3	****	0.944 0	0.865 3	0.894 6	0.876 9	0.896 1
DP3	0.072 2	0.057 7	****	0.910 0	0.938 9	0.924 4	0.915 3
DP4	0.028 6	0.144 6	0.094 4	****	0.922 7	0.895 4	0.940 2
XP1	0.053 3	0.111 4	0.063 0	0.080 4	****	0.952 9	0.965 9
XP2	0.089 9	0.131 3	0.078 6	0.110 5	0.048 3	****	0.951 2
XP3	0.063 9	0.109 7	0.088 5	0.061 6	0.034 7	0.050 1	****

利用 Popene version 1.31 计算了居群间 Nei's 遗传相似性与遗传距离,用 NTSYS pc 2.10e 中的 SHAN 对 Nei's 遗传相似性构建粉枝莓 7 个居群间 UPGMA

聚类图(图 2)。相似系数约在 0.94 处时,可将粉枝莓 7 个居群分为 3 大类,第一类包括 DP1 和 DP4 共 2 个居群,第二类为 XP1、XP2、XP3,第三类包括 DP2 和 DP3。

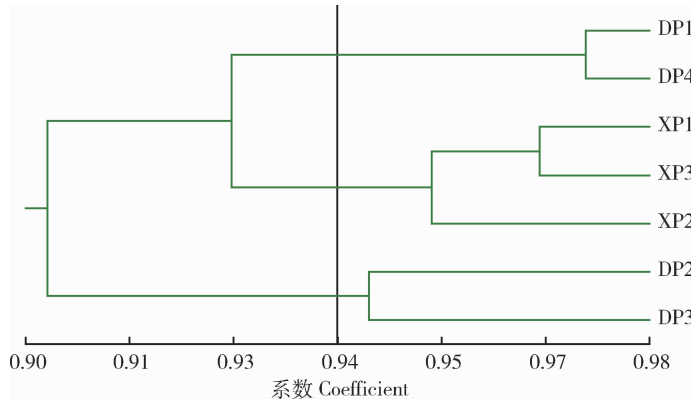


图 2 基于粉枝莓果实香气成分标记的居群间遗传相似性 UPGMA 聚类图

Fig. 2 UPGMA clustering graph of different *Rubus biflorus* Buch populations based on aroma components

2.2.3 果实香气成分主成分分析

采用 28 种香气成分对 45 个样本进行主成分分析,从主成分特征值及贡献率表(表 7)可知,前 4 个主成分的贡献率分别为 36.65%、17.85%、11.31% 和 8.39%,它们的累积贡献率达到 74.20%,因此,提取 4 个主成分,从旋转后的因子载荷矩阵表(表 8)可知,4 个主成分包含了 11 个果实香气成分。第 1 主成分主要反映正癸醛、正辛醇、正壬醛和香叶醛等成分的信息;第 2 主成分主要反映橙花醛、香叶醇、香叶醛和橙花醇等成分的信息;第 3 主成分主要

反映香叶酸、苯甲醇、香叶醇等成分的信息;第 4 主成分主要反映香叶酸、橙花醇等成分的信息。基本反映了粉枝莓香气成分的全部信息。

2.3 粉枝莓遗传多样性与果实香气成分多样性相关性分析

利用 Mantel-test 检验粉枝莓 ISSR 分子遗传距离和果实香气成分欧式遗传距离相关性,结果表明粉枝莓 ISSR 遗传多样性和果实香气成分多样性无显著相关性($r = -0.153 2, P = 0.676 0$),果实香气成分的变化趋势与居群遗传变异趋势不一致。

表7 主成分的特征值及贡献率

Table 7 Eigenvalues and contribution rates of principal components

主成分 Principle component	特征值 Eigen-value	特征值百分比/% Percent of eigen-value	累计百分率/% Cumulative percent
1	4.398	36.653	36.653
2	2.142	17.850	54.503
3	1.357	11.305	65.808
4	1.007	8.393	74.201
5	0.837	6.979	81.180
6	0.689	5.742	86.922
7	0.477	3.974	90.896
8	0.435	3.627	94.523
9	0.328	2.731	97.254
10	0.176	1.465	98.719
11	0.123	1.029	99.747
12	0.030	0.253	100.000

表8 正交旋转的因子载荷矩阵表

Table 8 Factor matrix table of orthogonal rotation

成分 Compound	主成分 Principle component			
	1	2	3	4
苯甲醇	0.114	-0.444	0.447	0.346
正辛醇	0.837	0.115	0.252	0.253
β -芳樟醇	0.633	0.330	-0.316	-0.242
正壬醛	0.809	0.050	0.326	0.241
正葵醛	0.883	0.124	-0.007	0.138
橙花醇	-0.521	0.455	-0.246	0.362
橙花醛	-0.490	0.731	0.141	0.080
香叶醇	-0.223	-0.704	-0.445	-0.134
香叶醛	-0.689	0.565	0.143	0.068
香叶酸	-0.018	0.114	0.646	-0.696
香叶基丙酮	0.669	0.267	-0.248	-0.116
月桂醇	0.607	0.406	-0.331	-0.173

3 讨论与结论

遗传多样性,是物种进化的遗传基础及生物资源更好的开发利用和遗传育种的基础。本研究发
现,7个居群粉枝莓 PPB 为 49.02%~81.37%,

$H_e=0.1572\sim0.3049$, $I=0.2395\sim0.4462$,居群水平的遗传多样性 $H_e=0.2332$,与 Nybom^[19]基于 RAPD、AFLP 和 ISSR 等显性标记所统计的多种植物居群水平遗传多样性的平均值(0.22 或 0.23)持平,这表明粉枝莓居群遗传多样性为中等水平,比同

属的三叶悬钩子高,同时表现出在居群水平上遗传多样性偏低而在物种水平上保持较高遗传多样性的现象与三叶悬钩子和红泡刺藤遗传多样性特征相似^[20-21]。

Wright^[22]提出遗传分化系数(G_{ST})为 0~0.05,说明居群遗传分化很弱;0.05~0.15 说明居群遗传分化中等,0.15~0.25 说明居群遗传分化较大;>0.25 表明居群遗传分化极大。本研究中粉枝莓的 G_{ST} 为 0.287 2,说明粉枝莓在居群间有极强的遗传分化趋势。粉枝莓遗传多样性主要来源于居群内的变异,居群间的差异对其贡献率相对较低。

果实香气成分作为植物果实中一种重要的次生代谢产物,是评价果实风味品质的重要指标。以果实香气成分作为指标开展植物多样性研究方面有一定的报道。但是其遗传比较复杂,不同自交或杂交组合所含有的成分不同,同种成分在不同组合中的分离情况也不完全相同。本研究的分析结果显示,7 个居群的遗传相似性为 0.865 3~0.971 8,遗传距离为 0.028 6~0.144 6。通过 Mantel 检验,相关系数为-0.153 2,表明粉枝莓 ISSR 遗传多样性和果实香气成分多样性无显著相关性,果实香气成分的变化趋势与居群遗传变异趋势不一致。

主成分分析法分析结果表明,前 4 个主成分的贡献率分别为 36.65%、17.85%、11.31% 和 8.39%,它们的累积贡献率达到 74.20%。第一主成分主要反映正癸醛、正辛醇、正壬醛、香叶醛等成分的信息;第二主成分主要反映橙花醛、香叶醇、香叶醛和橙花醇等成分的信息;第三主成分主要反映香叶酸、苯甲醇、香叶醇等成分的信息;第四主成分主要反映香叶酸、橙花醇等成分的信息。这些主成分具有较强的代表性,可以作为评价粉枝莓果实香气品质的重要指标。

本研究从分子和次生代谢产物 2 个水平对粉枝莓多样性进行了初步探讨。利用 ISSR 分子标记技术对粉枝莓的遗传多样性进行分析,从不同层次系统揭示其遗传信息,获得完整系统的遗传分类信息,从而为分子标记技术应用到粉枝莓遗传结构、资源鉴定等方面提供理论依据。同时对粉枝莓果实香气成分多样性进行了分析,可以在一定程度上对粉枝莓果实香气品质进行评价,为正确的育种和引种提供理论依据,也为粉枝莓种质资源合理开发、利用,核心种质资源的构建等奠定了基础。

参考文献 References

- [1] 罗大庆,郑维列. 西藏季拉山区野生果类资源及其利用前景[J]. 果树科学,1998,15(3):283-288
Luo D Q,Zheng W L. The wild fruit resource and its utilization in Shergyla mountain[J]. *Journal of Fruit Science*,1998,15(3):283-288 (in Chinese)
- [2] 康淑荷. 粉枝莓根挥发油化学成分研究[J]. 西北民族大学学报:自然科学版,2007,28(65):27-29
Kang S H. Study on chemical constituents of volatile oil from the roots of *Rubus biflorus* [J]. *Journal of Northwest University for Nationalities: Natural Science*,2007,28(65):27-29 (in Chinese)
- [3] 康淑荷,师永清,杨彩霞. 粉枝莓根中的三萜及甾体化合物[J]. 中药材,2008,31(11):1669-1671
Kang S H,Shi Y Q,Yang C X. Triterpenoids and steroids of root of *Rubus biflorus* [J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*,2008,31(11):1669-1671 (in Chinese)
- [4] 康淑荷,郑尚珍. 粉枝莓中的两种新黄酮成分[J]. 药学报,2007,42(12):1288-1291
Kang S H,Zheng S Z. Two new flavones from *Rubus biflorus* Buch[J]. *Acta Pharmaceutica Sinica*,2007,42(12):1288-1291 (in Chinese)
- [5] 李维林,蒋振军,蒋续银. 粉枝莓资源开发利用研究[J]. 中国水土保持,1994(6):37-39
Li W L, Jiang Z J, Jiang X Y. Study on exploitation and utilization of *Rubus biflorus* Buch resources [J]. *Soil and Water Conservation in China*,1994(6):37-39 (in Chinese)
- [6] 李钰莹,范希峰,侯新村,朱毅,赵春桥,武菊英. 利用 ISSR 和 SSR 标记分析苜蓿类植物资源遗传多样性[J]. 中国农业大学学报,2014,19(2):21-27
Li Y Y,Fan X F,Hou X C,Zhu Y,Zhao C Q,Wu J Y. Genetic diversity of *Miscanthus* & *Triarrhena* based on ISSR and SSR analysis[J]. *Journal of China Agricultural University*,2014,19(2):21-27 (in Chinese)
- [7] 戴智慧,龙骏,俞雷民,倪穗. 宁波地区野生换锦花遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 核农学报,2016,30(10):1898-1905
Dai Z H, Long J, Yu L M, Ni S. Genetic diversity of wide *Lycorisprengeri* populations from different habitats of Ningbo based on ISSR analysis[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*,2016,30(10):1898-1905 (in Chinese)
- [8] Nudin N F H, Ali A M, Ngah N, Mazlan N Z, Mat N, Ghani M N A, Alias N, Zakaria A J, Jahan M S. ISSR marker-assisted genetic diversity analysis of *Dioscorea hispida* and selection of the best variety for sustainable production[J]. *Comptes Rendus Biologies*,2017,340(8):359-366
- [9] Oliveira L A R, Machado C A, Cardoso M N, Oliveira A C A, Amaral A L, Rabbani A R C, Silva A V C, Ledo A S. Genetic diversity of *Saccharum* complex using ISSR markers [J]. *Genetics and Molecular Research*,2017,16(3):gmr 16039788

- [10] 孙淑霞,李靖,陈栋,谢红江,涂美艳,江国良. ISSR 分子标记技术在桃品种鉴定中的应用[J]. 中国农学通报, 2011, 27(4): 173-177
Sun S X, Li J, Chen D, Xie H J, Tu M Y, Jiang G L. Molecular identification of peach germplasm by ISSR Markers [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2011, 27(4): 173-177 (in Chinese)
- [11] 戴正,陈力耕,童品璋. 香榧品种遗传变异与品种鉴定的 ISSR 分析[J]. 园艺学报, 2008(8): 1125-1130
Dai Z, Chen L G, Tong P Z. Genetic variation and fingerprinting of *Torreya grandis* cultivars detected by ISSR markers[J]. *Acta Horticulturae Sinic*, 2008(8): 1125-1130 (in Chinese)
- [12] 刘崇琪,陈学森,王金政,陈晓流,王海波,田长平,吴传金. 新疆野生樱桃李果实部分表型性状的遗传多样性分析[J]. 园艺学报, 2008, 35(9): 1261-1268
Liu C Q, Chen X S, Wang J Z, Chen X L, Wang H B, Tian C P, Wu C J. Studies on genetic diversity of phenotypic traits in wild *M. yrobalan* Plum (*Prunus cerasifera* Ehrh)[J]. *Acta Horticulturae Sinic*, 2008, 35(9): 1261-1268 (in Chinese)
- [13] 周莉,刘莉,刘翔,徐伟欣,张平,李志文. 不同变种甜瓜果实成熟性状及其香气成分的多样性分析[J]. 华北农学报, 2013, 28(3): 102-108
Zhou L, Liu L, Liu X, Xu W X, Zhang P, Li Z W. Diversity analysis of aroma and other mature fruit characters among different varieties of *Cucumis melo* L[J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2013, 28(3): 102-108 (in Chinese)
- [14] Korbin M, Kuras A, Straczynska K, Orzel A, Danek J. Biotechnological directions in polish breeding of *Rubus*[C]. In: ISHS Acta Horticulturae 585: 9th International Rubus and Ribes Symposium. Pucón: International Society for Horticultural Science, 2008(1): 133-139
- [15] Hong Y P, Kin M J, Hong K N. Genetic diversity in natural populations of two geographic isolates of Korean black raspberry[J]. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 2003, 78(3): 350-354
- [16] 李金璐,王硕,于婧,王玲,周世良. 一种改良的植物 DNA 提取方法[J]. 植物学报, 2013, 48(1): 72-78
Li J L, Wang S, Yu J, Wang L, Zhou S L. A modified CTAB protocol for plant DNA extraction [J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2013, 48(1): 72-78 (in Chinese)
- [17] 尹燕雷,苑兆和,冯立娟,招雪晴,王金政,王超. 不同栽培条件下凯特杏果实发育过程中香气成分的 GC/MS 分析[J]. 林业科学, 2010, 46(7): 92-98
Yin Y L, Yuan Z H, Feng L J, Zhao X Q, Wang J Z, Wang C. GC/MS analysis of aromatic components in Katy apricot fruit in various developmental periods under different cultivation condition[J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2010, 46(7): 92-98 (in Chinese)
- [18] 孔祥琪,施瑞城,张彦军,谭乐和,臧香. 气相色谱质谱联用技术分析热处理前后番木瓜果汁挥发性香气[J]. 食品与发酵工业, 2016, 42(1): 189-194
Kong X Q, Shi R C, Zhang Y, Tan L H, Gao X. HS-SPME/GC-MS analysis of the aromatic components of papaya juice before and after the heat treatment[J]. *Food and Fermentation Industries Editorial Staff*, 2016, 42(1): 189-194 (in Chinese)
- [19] Nybom H. Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants [J]. *Molecular Ecology*, 2004, 13: 1143-1155
- [20] 和志娇,和加卫,程在全,杨正松,杨洪涛,和文佳. 三叶悬钩子自然居群遗传多样的 ISSR 分析[J]. 园艺学报, 2012, 39(11): 2142-2150
He Z J, He J W, Cheng Z Q, Yang Z S, Yang H T, He W J. Genetic diversity in the natural populations of *Rubus delavayi* demonstrated by inter-simple sequence repeats[J]. *Acta Horticulturae Sinic*, 2012, 39(11): 2142-2150 (in Chinese)
- [21] 和志娇,和加卫,杨正松,程在全,杨燕林,李燕,黄杏娥. 红泡刺藤居群的遗传多样性研究[J]. 西北植物学报, 2011, 31(12): 2406-2411
He Z J, He J W, Yang Z S, Cheng Z Q, Yang Y L, Li Y, Huang X E. ISSR analysis of genetic diversity of *Rubus niveus* Thunb populations[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2011, 31(12): 2406-2411 (in Chinese)
- [22] Wright S. The genetical structure of populations[J]. *Annals of Eugenics*, 1951, 15(4): 323-354

责任编辑:王燕华