

山东省黄瓜地方品种资源亲缘关系的 AFLP 分析

王志峰¹ 孙日飞² 孙小镭¹ 顾兴芳² 曹齐卫¹ 曲士松¹

(¹ 山东省农业科学院蔬菜研究所, 济南 250100; ² 中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081)

摘要: 利用 AFLP 技术对包括 80 份山东黄瓜地方品种和 24 份其他地区品种的遗传亲缘关系进行了研究。用 11 对引物进行选择性地扩增, 21 % 的扩增条带表现多态性。聚类分析结果显示: 山东黄瓜地方品种与日本品种和欧美品种分属不同类群或亚类群, 山东地方品种分为 8 组, 各组内生态类型基本一致。试验得到不同生态型黄瓜的特征差异带和它们之间的遗传距离。

关键词: 黄瓜; 种质资源; AFLP; 亲缘关系; 聚类分析

中图分类号: S 642.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2004) 01-0103-03

Studies on Genetic Relationship among Local Cucumber Germplasm of Shandong Province by AFLP Analysis

Wang Zhifeng¹, Sun Rifei², Sun Xiaolei¹, Gu Xingfang², Cao Qiwei¹, and Qu Shisong¹

(¹ Institute of Vegetables of Shandong Academy of Agricultural Sciences, Ji'nan 250100, China; ² Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: AFLP analysis was applied to study the genetic relationship among 80 local cucumber (*Cucumis sativus* L.) cultivars from Shandong province and 24 cultivars collected from other regions. 11 pair of primers were screened from 128 pair of primers and generated 559 bands, 21 % of which were polymorphic. Cluster analysis showed that the accessions cultivated in Shandong, Japan, Europe and America were divided into different groups or sub-groups. While local cultivars of Shandong province were divided into 8 sub-groups. In addition, specific markers of four ecotypes and the genetic distance between them were also obtained.

Key words: Cucumber; Germplasm; AFLP; Genetic relations; Cluster analysis

1 目的、材料与方法

山东黄瓜地方品种资源丰富, 占全国黄瓜品种资源的 15 %。目前对山东地方品种资源的鉴定只停留在表形性状、抗病性等方面^[1], 未进行过系统的亲缘关系分析。本研究旨在应用 AFLP 技术研究山东黄瓜品种资源间的遗传差异和亲缘关系及其分类地位, 为种质资源评价鉴定和有效利用提供依据。试验黄瓜材料共 104 份, 其中山东地方品种 80 份, 由山东农科院蔬菜所品种资源室提供 (表 1), 其它省市及日本和欧美地区的不同生态型黄瓜品种 24 份 (表 2)。提取基因组 DNA 参照 Steenkamp 等^[2]的方法, 银染 AFLP 实验程序参考 Vos 和 Echt 的方法进行。样品间的相似系数为简单匹配系数^[3], 即 $M = a / (a + b)$, a 为两个样品相匹配的条带数, b 为两个样品不匹配的条带数, 遗传距离 $D = 1 - M$ 。采用 UPGMA 法进行聚类分析。引物对供试品种的分辨率 = 该引物所能区分的材料数 / 全部材料数。

2 结果分析与讨论

2.1 AFLP 选择性扩增结果

收稿日期: 2003 - 01 - 10; 修回日期: 2003 - 09 - 25

基金项目: 农业部重点开放实验室蔬菜遗传与生理实验室资助项目

由于黄瓜的多态性低^[4], 我们采用 3 + 2 引物组合进行引物筛选, 即 *Eco*I 引物有两个选择性碱基, *Mes*I 引物有三个选择碱基。从 128 个引物中筛选出 11 对引物对全部试材进行扩增, 共扩增出 559 条带, 其中多态性带 117 条, 占总扩增带的比率平均为 20 %; 每对引物扩增出 6 ~ 18 条多态性带, 平均为 10.63 条; 引物对供试品种的分辨率在 10 % ~ 20 % 之间。

2.2 聚类分析

聚类分析结果 (图 1) 显示, 在阈值 0.373 处可将 104 份品种分为两大类群, 类群 包括各欧美品种, 类群 包括参试的中国和日本品种。两个类群遗传差异大, 亲缘关系远。类群 在 0.354 处聚为一类, 来自俄罗斯和波兰的 8 个品种亲缘关系较近, 聚为此类。类群 在阈值 0.288 处又分为 4 个亚类, 山东品种和部分外省品种聚为一亚类, 日本华北型黄瓜 (237) 和甘肃白皮矮生黄瓜 (259) 各自单独为一亚类, 4 个日本华南型品种 (235、234、254、250) 聚为一亚类。

在阈值 0.206 处, 可将山东品种分为 8 组: 组 1: 大部分为华北型品种, 共 56 份, 也包括天津 (223、245) 和长春 (257) 品种、北京品种 (258); 组 2: 大部分为华南型品种, 共 16 份, 包括天津品种 (224); 组 3: 华北型品种 (181, 89, 68); 组 4: 华北型品种 (245, 76, 58); 组 5: 华南型品种 (34, 24, 132) 和上海品种 (249); 组 6 ~ 组 8 分别为 216, 228, 257 单独聚为一组。

表 1 参试山东地方黄瓜品种

Table 1 Cucumber accessions used in the experiment

编号 No.	品种名称 Name	生态型 Ecotype	编号 No.	品种名称 Name	生态型 Ecotype	编号 No.	品种名称 Name	生态型 Ecotype
6	海洋白皮 Haiyang baipei	SC	5	胶县地黄瓜 Jiaoxian dihuanggua	NC	8	荣成大粗秋瓜 Rongcheng dachuqigua	SC
9	荣成秋瓜 Rongcheng qiugua	NC	7	乳山白黄瓜 Rushang baihuanggua	SC	34	黄县秋黄瓜 Huangxian qiuhuaggua	SC
14	福山四叶 Fushan siye	SC	36	诸城一窝蜂 Zhucheng yiwofeng	NC	37	诸城大刺瓜 Zhucheng dacigua	NC
20	栖霞四叶 Qixia siye	SC	42	潍城大刺瓜 Weicheng dacigua	NC	40	诸城春黄瓜 Zhucheng chunhuanggua	NC
24	平度叶儿三 Pingdu yeersan	SC	52	金乡秋黄瓜 Jinxiang qiuhuaggua	NC	58	济宁小长把 Jining xiaochangba	NC
27	莱阳黄瓜 Laiyang huanggua	SC	55	济宁春到秋 Jining chundaoqiu	NC	59	济宁市郊叶儿三 Jining shijiaoyeersan	NC
30	黄县苇花 Huangxian weihua	SC	60	济宁秋黄瓜 Jining qiuhuaggua	NC	72	历城朱庄秋瓜 Licheng zhuzhuangqigua	M
46	益都黄瓜 Yidu huanggua	NC	65	博山线黄瓜 Boshan xianhuanggua	SC	122	高唐白刺线瓜 Gotang baicixiangua	SC
47	曲阜叶儿三 Qufu yeersan	SC	67	张店春到秋 Zhangdian chundaoqiu	NC	169	崂山春叶儿三 Laoshan chunyeersan	M
54	嘉祥线瓜 Jiaxiang xiangua	NC	68	张店丝瓜青 Zhangdian siguaqing	NC	173	胶南刺黄瓜 Jiaonan cihuaggua	SC
66	博山大八杈 Boshan dabacha	NC	70	张店地线瓜 Zhangdian dixiangua	M	175	文登地黄瓜 Wendeng dihuanggua	SC
89	平邑刺瓜 Pingyi cigua	NC	76	苍山黄瓜 Cangshan huanggua	NC	182	莱西秋黄瓜 Laixi qiuhuaggua	SC
102	冠县线瓜 Guanxian xiangua	NC	87	郯城象鼻子 Tancheng xiangbizi	NC	185	蓬莱地黄瓜 Penglai dihuanggua	SC
129	莱芜大八杈 Laiwu dabacha	NC	90	沂源地黄瓜 Yiyuan dihuanggua	NC	192	广饶黄瓜 Guangrao huanggua	NC
132	肥城刺瓜 Feicheng cigua	SC	94	菏泽早架刺瓜 Heze zaojiacigua	NC	194	广饶大八杈 Guangrao dabacha	M
156	兖州叶儿三 Yanzhou yeersan	NC	97	梁山伏黄瓜 Liangshan fuhuaggua	NC	197	昌乐地黄瓜 Changle dihuanggua	SC
157	高密叶儿三 Gomi yeersan	NC	104	聊城春到秋 Liaocheng chundaoqiu	NC	206	惠民刺地黄瓜 Huimin cidihuaggua	NC
162	临淄大八杈 Linzi dabacha	NC	105	新泰麦黄瓜 Xintai maihuaggua	NC	210	平原小八杈 Pingyuan xiaobacha	SC
181	莱西八大杈 Laixi dabacha	NC	109	枣庄五爪龙 Zaozhuang wuzhaolong	NC	211	平原黄瓜 Pingyuan huanggua	M
183	莱西叶儿三 Laixi yeersan	SC	110	章丘黄瓜 Zhangqiu huanggua	NC	212	桓台地黄瓜 Huantai dihuanggua	NC
188	蓬莱黄瓜 Penglai huanggua	SC	115	商河大八杈 Shanghe dabacha	NC	213	桓台春黄瓜 Huantai chunhuanggua	M
195	利津黄瓜 Lijin huanggua	SC	116	济阳春黄瓜 Jiyang chunhuanggua	NC	215	昌邑地黄瓜 Changyi dihuanggua	M
225	莱阳 104 Laiyang 104	NC	118	莘县秋黄瓜 Xinxiang qiuhuaggua	NC	216	费县线黄瓜 Feixian xianhuanggua	NC
226	蓬莱及早 Penglai jizao	NC	120	茌平白黄瓜 Chiping baihuanggua	NC	221	临清金棒锤 Linqing jinbangchui	SC
227	莱早一号 Laizao 1	NC	125	泰安地黄瓜 Tai'an dihuanggua	NC	228	苍山油皮 Cangshan youpi	SC
255	山东密刺 Shandong mici	NC	141	临沂秋黄瓜 Linyi qiuhuaggua	SC	248	烟台地黄瓜 Yantai dihuanggua	SC
256	新泰密刺 Xintai mici	NC	142	临沂黄瓜 Linyi huanggua	NC			

注: NC—华北型, SC—华南型, M—中间型。

Note: NC—North-China ecotype, SC—South-China ecotype, M—Middle ecotype.

由此可见, 本研究聚类结果与根据生物学性状和分布区域的传统分类结果基本一致, 山东黄瓜地方品种与日本品种和欧美品种分属不同类群或亚类群, 各类群生态类型基本一致。同时有个别华南或华北型品种与其它类群聚为一类, 还有一些中间型分别被聚在华南类群或华北类群中。与生态分类方法产生

差异的主要原因是分子标记方法可反映基因组本质的差异，并且标记位点较多。

2.3 品种间亲缘关系分析

全部试材间的遗传距离为 0.015 (259 与 260) ~ 0.740 (232 与 245)。欧美品种间遗传距离在 0.176 ~ 0.444 之间，日本品种间距离在 0.106 ~ 0.439 之间，山东地方品种间距离在 0.015 ~ 0.404 之间，山东地方品种中存在一些遗传距离很小的品种，有可能是同物异名。试验同时发现除山东华南型品种在胶东地区有较集中的分布外，地理关系的远近与品种间的遗传距离没有必然的联系，可能原因有：1) 山东地域狭小，由于自然或人为原因使这些品种间发生基因交流，品种间的遗传差异减少。2) 在相同的地理纬度和生态环境条件下，黄瓜品种进化方向可能趋于一致，基因型间的相似性增加。

根据聚类分析结果分别统计欧美品种、日本品种、山东华南型和山东华北型品种 4 种生态类型黄瓜的 AFLP 标记，得到这 4 种类型黄瓜品种的特征谱带可供鉴定。山东华北型和山东华南型黄瓜分别与欧美型黄瓜有 5 条和 3 条特征差异带，分别和日本华南型黄瓜有 2 条和 1 条特征差异带，日本华南型黄瓜与欧美型黄瓜有 5 条特征差异带。把所有标记在各生态类型中出现的频率当作变量，用欧氏距离计算各类型间的距离，山东华南型和华北型间距离最近为 1.543，二者同日本华南品种的距离居中，分别为 2.693、2.856，与欧美型品种的遗传距离最远，分别为 4.038、4.461，日本华南型黄瓜与山东黄瓜地方品种的遗传距离远远小于同欧美类型黄瓜的遗传距离 4.783，说明日本黄瓜与欧美型黄瓜亲缘关系较远，这为日本黄瓜起源于中国提供了佐证。

表 2 参试外引黄瓜品种

Table 2 Cucumber accessions from other regions

编号 No.	品种名称 Name	来源 Region	编号 No.	品种名称 Name	来源 Region
223	津研 1 号 Jinyan 1	天津 Tianjin	245	津研 4 号 Jinyan 4	天津 Tianjin
224	津研 2 号 Jinyan 2	天津 Tianjin	257	长春密刺 Changchun mici	长春 Changchun
258	新选密刺 Xinxuan mici	北京 Beijing	259	瑞阳白皮 Ruiyang bai pi	甘肃 Gansu
232	Amigo	荷兰 Holland	241	CS	俄罗斯 Russia
233	Atlantis	荷兰 Holland	242	BO	俄罗斯 Russia
234	M13	日本 Japan	243	JB	俄罗斯 Russia
235	M12	日本 Japan	244	CL	俄罗斯 Russia
236	SW	俄罗斯 Russia	249	W3	上海 Shanghai
237	M7	日本 Japan	250	I-109	日本 Japan
238	XT-76	美国 America	251	HL12	荷兰 Holland
239	ML	俄罗斯 Russia	253	BL01	波兰 Poland
240	ZL	俄罗斯 Russia	254	TM	日本 Japan

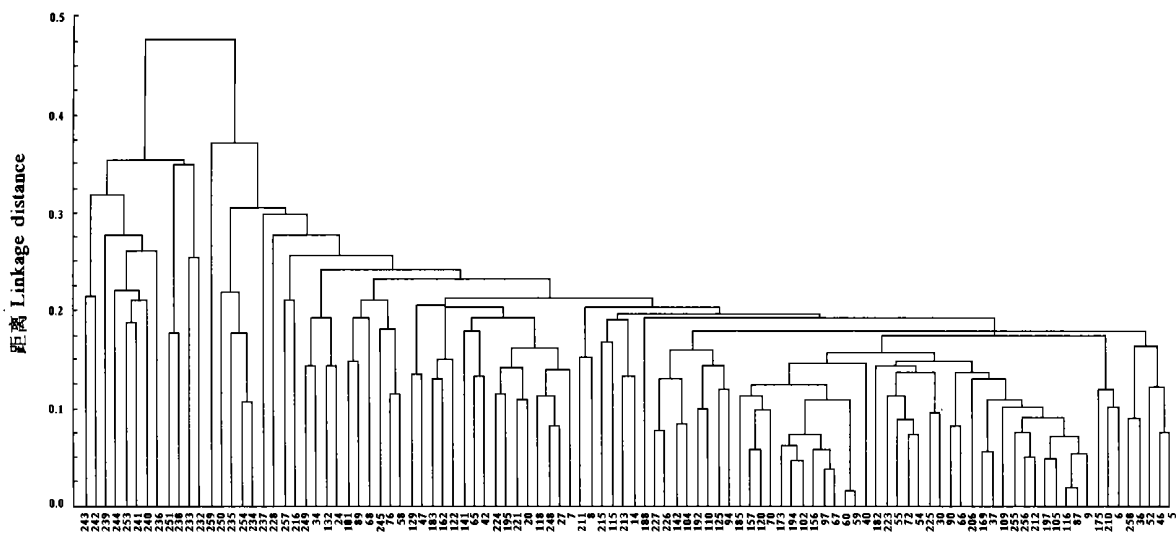


图 1 黄瓜品种 AFLP 聚类分析树状图

Fig. 1 Dendrogram for 104 variables based on AFLP data

参考文献：

- 何启伟, 苏德恕, 赵德婉. 山东蔬菜. 上海: 上海科学技术出版社, 1997. 37 ~ 40
- Steenkamp J, Wild I, A Lourens, et al. Improved method for DNA extraction from vitis unifera. Am. J. Enol. Vitic, 1994, 45 (1): 102 ~ 106
- 邹喻苹, 葛 颂, 王晓东. 系统与进化植物学中的分子标记. 北京: 科学出版社, 2001. 300 页
- 张海英, 王永健, 许 勇, 等. 黄瓜种质资源遗传亲缘关系的 RAPD 分析. 园艺学报, 1998, 25 (4): 345 ~ 349