

花椰菜类蔬菜自交系基因组间亲缘关系的 AFLP 分析

孙德岭¹ 赵前程² 宋文芹¹ 陈瑞阳¹

(¹南开大学生命科学学院, 天津 300192; ²天津市蔬菜研究所, 天津 300384)

摘 要: 利用 AFLP 技术对花椰菜、青花菜、紫花菜、黄花菜自交系的遗传亲缘关系进行了研究。使用 8 对选择性引物组合, 扩增出 4901 条电泳带, 并对其进行聚类分析, 根据 UPGMA 方法构建聚类树状图。结果表明: 花椰菜、青花菜、紫花菜、黄花菜明显分为四大类群; 青花菜与紫花菜亲缘关系较近, 花椰菜与其它花菜亲缘关系较远, 黄花菜居中。

关键词: AFLP; 亲缘关系; 花椰菜; 青花菜

中图分类号: S 635. 3 文献标识码: A 文章编号: 0513-353X (2002) 01-0072-03

1 目的、材料与方法

花椰菜类资源较为丰富^[1], 演化关系较复杂, 花球颜色有白、绿、紫、黄四种类型。但有关花椰菜类各种类型之间的亲缘关系研究报道较少。作者采用 AFLP 分子标记技术对花椰菜、青花菜、紫花菜、黄花菜品种的基因组 DNA 进行了遗传亲缘关系分析, 为从分子水平上研究花椰菜类品种的遗传分类及种质资源的利用探讨新的方法。27 份供试材料(表 1)均由天津市蔬菜研究所花椰菜研究室提供。

表 1 供试花椰菜类自交系
Table 1 Cauliflower self-bred line used in the experiments

编号 Num.	品种名称 Cultivar	花球颜色 Curd color	来源 Origin	编号 Num.	品种名称 Cultivar	花球颜色 Curd color	来源 Origin
1	Sb- 9- 3	绿 Green	台湾 Taiwan	15	Z- 5- 1	紫 Purple	意大利 Italy
2	Y- 6- 1	绿 Green	日本 Japan	16	Z- 8- 6	紫 Purple	意大利 Italy
3	Y- 9- 1	绿 Green	日本 Japan	17	P- 5- 7	黄 Yellow	意大利 Italy
4	Y- 10- 13	绿 Green	日本 Japan	18	S- 异- 8	白 White	日本 Japan
5	Y- 12- 6	绿 Green	日本 Japan	19	CH- 6- 8	白 White	日本 Japan
6	Y- 13- 4	绿 Green	日本 Japan	20	C- 8- 1	白 White	日本 Japan
7	Y- 18- 4	绿 Green	日本 Japan	21	CH- 4- 9	白 White	日本 Japan
8	Z- 7- 6	紫 Purple	意大利 Italy	22	C- 7- 2	白 White	日本 Japan
9	Z- 5- 6	紫 Purple	意大利 Italy	23	C- 3- 8	白 White	日本 Japan
10	Z- 3- 2	紫 Purple	意大利 Italy	24	98A- 24	白 White	日本 Japan
11	Z- 3- 10	紫 Purple	意大利 Italy	25	G- 2	白 White	法国 France
12	Z- 6- 2	紫 Purple	意大利 Italy	26	AD 白花	白 White	美国 USA
13	Z- 4- 4- 4	紫 Purple	意大利 Italy	27	C- 10- 1	白 White	日本 Japan
14	Z- 4- 4- 1	紫 Purple	意大利 Italy				

DNA 提取参照 Murray 的 CTAB 法, AFLP 试剂盒购自 GIBCO-BRL 公司, 操作参考 Vos 的方法。每个样品总 DNA 250 ng, 经限制内切酶 2UECOR1 和 2UMScl 消化后, 在消化片段末端加入人工接头。

共使用了 8 对选择性引物, 其碱基组合为: E-AAG/M-CAT、E-AGG/M-CAT、E-ACT/M-CTC、E-ACG/M-CTG、E-AAG/M-CAA、E-ACC/M-CTT、E-AGG/M-CTA、E-AGG/M-CAA。选择性扩增产物经 6% 聚丙烯酰胺凝胶电泳后利用银染法检测 (参见张峰的方法^[2])。选择清晰可辨的电泳带按带的有无

构建二进制矩阵。利用 Jaccard 方法计算种间遗传相似性系数矩阵，并用 UPGMA 法，构建聚类图。

2 结果与分析

2.1 扩增结果

试验采用 3 个选择性碱基的引物组合，获得了较好的扩增效果，电泳带数目丰富，分带清晰（图 1）。8 对引物组合扩增出 311 个遗传位点，27 份材料共获得 4901 条扩增带。各材料扩增带分布较均匀，扩增带最少的 153 条，最多的 227 条。

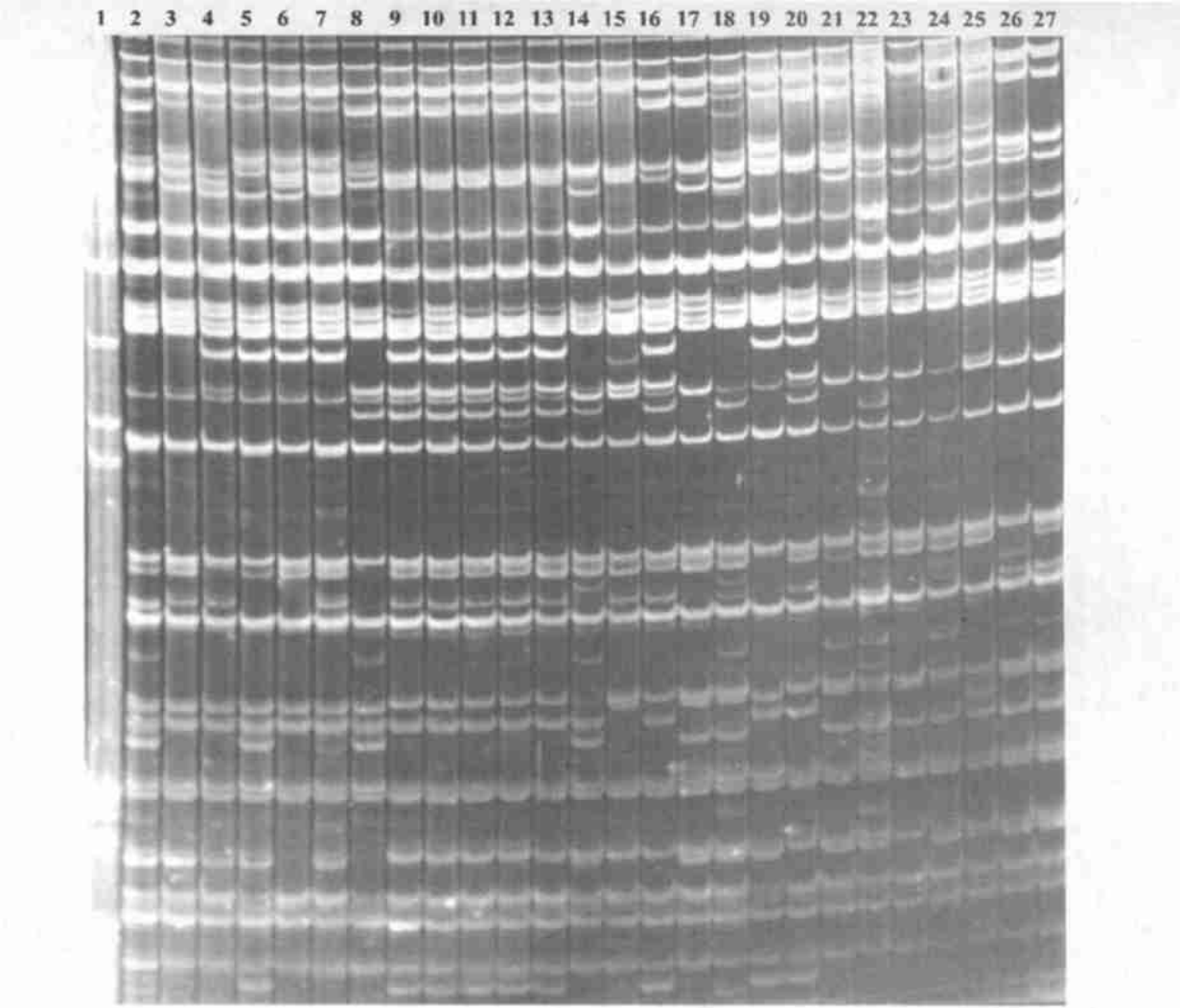


图 1 花椰菜类蔬菜 27 个样品的 AFLP 选择性扩增结果（样品号见表 1）
Fig. 1 The AFLP selective amplification result of 27 samples from Cauliflower family (Samples numbers see table 1)

2.2 聚类分析

通过 Jaccard 的方法计算出遗传相似性系数在 0.6 ~ 0.93 之间，平均值为 0.73，按 UPGMA 法进行聚类，构建聚类图（图 2）。在聚类图中，取遗传相似性系数水平 0.65 时，将聚类图中花椰菜类各自交系分为 3 个类群：I 为花椰菜（白菜花）类群，II 为紫花菜，III 为青花菜。在类群 I 中花椰菜（白菜花）的各自交系分 3 个亚群：18、20、23 和 25 号首先聚在一起，前 3 个自交系是从日本花椰菜杂交一代中分离出来，而 25 号是从法国花椰菜中分离所得，其成熟期较长，为 80~ 120 d，属晚熟自交系。在亚群 2 中 24、21、19 三个自交系来源于日本花椰菜，其熟性较早，50~ 60 d，属早熟花椰菜自交系。在类群 I 中 22、27、26 号在最外侧，22 和 27 号属中熟自交系，源于日本，而 26 号为晚熟

自交系, 源于美国, 花冠为白色。类群 II 为紫花菜自交系群, 其来源均为意大利紫花菜的杂种一代, 从聚类图中可见, 15、9、14 和 13 号亲缘关系较近, 被聚在一起, 它们分别为同一单株的姊妹系, 而 10、11、8、12 号被聚在另一亚群, 其中 10、11 号为姊妹系。类群 III 为青花菜自交系群, 1 号源于台湾且自交代数较多 (12 代), 在其外侧形成独立分支, 其它 6 个自交系均为日本坂田种苗公司青花菜的分离后代, 其亲缘关系较近, 被聚在一个亚群中。值得注意的是 17 号为黄花菜, 它不属于上述三大类群, 而形成独立类群; 从聚类图上看, 它与青花菜和紫花菜的亲缘关系要近于花椰菜。

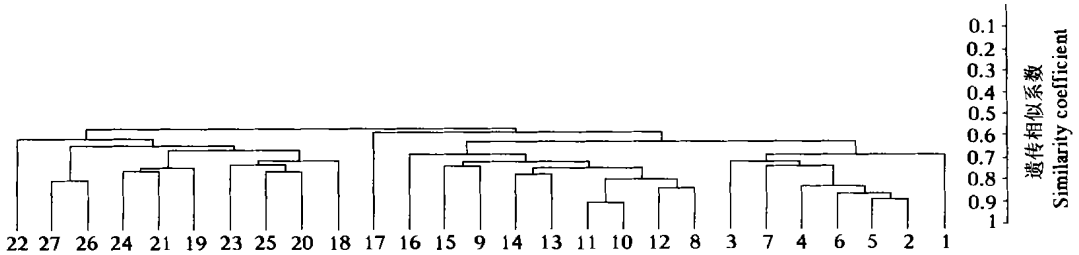


图 2 AFLP 标记花椰菜类蔬菜聚类分析图 (样品号见表 1)

Fig. 2 Clustering analysis of Cauliflower family by AFLP markers (Samples numbers see table 1)

2.3 利用 AFLP 技术对花椰菜类蔬菜自交系聚类结果

花椰菜、青花菜、紫花菜、黄花菜彼此间的形状、颜色都有明显差异, 说明其分化早、进化程度较高。Switzer (1729) 认为: 黄白色和紫色的花蕾以及绿色花蕾为白花椰菜的原型, 此后进化为今日坚实紧密白色花蕾的现代品种。从本文聚类图分析, 如果取遗传相似性系数水平为 0.61 时, 聚类图分为两大类群, 一类群为花椰菜 (白花菜) 自交系群, 另一类群包括黄花菜、青花菜、紫花菜, 这表明青花菜、紫花菜、黄花菜之间的亲缘关系较近, 而它们与白花椰菜亲缘关系稍远。从聚类图分析, 青花菜和紫花菜亲缘关系要近于黄花菜。在实际栽培中也发现如果光照弱或用叶片遮盖紫花菜的花球, 花球颜色呈绿色或浅紫色; 只有光照较强时花球才变为紫色。AFLP 作为一种新的分子标记方法, 只要我们选择足够多且具有代表性的种、亚种、类型进行深入研究, 在分析亲缘关系研究系统发育、种质资源利用等方面将发挥重要作用。

参考文献:

- 1 黄聪丽, 朱凤林, 刘景春, 等. 我国花椰菜品种资源的分布与类型. 中国蔬菜, 1999, (3): 35~38
- 2 张 峰. 利用 AFLP- 银染法筛选与抗甘蓝黑腐病性状连锁的分子标记. 细胞生物学, 1999, (2): 98~101

Analysis of Relationships of Cauliflower, Broccoli and Purple Cauliflower by AFLP

Sun Deling¹, Zhao Qiancheng², Song Wenqin¹, and Chen Ruiyang¹

(¹College of Life sciences, Nankai University, Tianjin 300192; ²Tianjin Vegetable Research Institute, Tianjin 300384)

Abstract: Genetic relationships of inbreed line of cauliflower, broccoli and purple cauliflower were examined by AFLP technology. 4901 bands were detected by using eight pairs of selective primers. Clustering analysis showed: cauliflower, broccoli, purple cauliflower and yellow cauliflower were divided into four groups, as to hereditary distance, it is close between purple cauliflower and broccoli, cauliflower is distant from others, yellow cauliflower is in midst. The article analysed relationships of cauliflower on molecular lever, and the method of analysing relationships of cauliflower with AFLP was studied.

Key words: AFLP; Relationships; Cauliflower; Broccoli