

部分栽培葱属植物叶绿体基因组的 RAPD 分析

盖树鹏 谢 震 王 美 孟祥栋 *

(山东农业大学园艺系, 泰安 271018)

摘 要: 提取我国栽培的几种主要葱属植物的叶绿体 DNA, 利用 RAPD 技术进行遗传关系分析。从 56 个 10 bp 随机引物中筛选出 18 个多态性引物进行扩增分析, 14 个材料共扩增出 270 条带, 其中 246 条具多态性。UPGMA 聚类将供试葱属品种分成 4 个组。葱属在进化上存在两个方向, 分别形成了管状叶和扁平叶两种类型。

关键词: RAPD; 葱属; 叶绿体 DNA; 亲缘关系

中图分类号: S 633; Q 755 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2001) 06-0560-02

1 目的、材料与方法

利用 RAPD 技术对我国葱属 (*Allium* L.) 9 个栽培种 (含变种) 较有代表性的 14 份材料的叶绿体基因组进行了研究, 旨在叶绿体基因组水平上揭示葱属栽培种、变种及品种间的亲缘关系, 为研究葱属植物的起源、演化提供依据。除细香葱取自安徽外, 其它材料均采自山东农业大学园艺系葱种质资源圃。取成株幼嫩心叶为试材 (取样数大于 10 株), 参照文献 [1] 的方法提取叶绿体 DNA。PCR 反应体系 20 μ L, 采用上海生工引物 S170~S226 共 56 条进行扩增^[2], 每个反应重复 2~3 次, 取重现性好的扩增带进行分析。DNA 扩增产物用 1.2% 琼脂糖凝胶电泳分离, 70 V 电压 4 h, 经溴化乙锭染色后于紫外透射仪上观察记录并照相。每个样品的扩增条带按有 (1) 或无 (0) 记录, 计算欧氏距离, 并利用 STAT-SOFT 软件进行各品种间 UPGMA (unweighted pair-group method with arithmetic mean) 聚类分析。

2 结果与分析

每个 DNA 样品取 10 μ L 混匀进行引物筛选。从 56 个 10 bp 的随机引物中筛选出谱带清晰、重现性好的引物 18 个, 共扩增出 270 条带, 其中 246 条具多态性, 占总带数的 91.1%。平均每个引物扩增出 15 条带, 每个引物扩增 6~22 条带。扩增出的 DNA 带的大小在 200~3 000 bp 之间。图 1 为引物 S182, S209 的 RAPD 图谱。

根据 DNA 扩增结果计算各品种的遗传距离在 0~13.2 之间。日本大葱与韩国大葱遗传距离最近, 为 0。两者可能有相同的起源中心, 它们与 3 个大蒜品种的遗传距离最远, 为 13.2。由遗传距离建立了葱属 UPGMA 遗传聚类图, 将葱属栽培种分为两大类: 一类包括大葱、细香葱、分葱、洋葱等, 其共同特点是管状叶, 中空; 另一类包括韭葱、大蒜、韭菜等, 叶扁平带状不中空。这种分类与形态特征相对应。可见, 葱属在进化过程中存在两个方向, 形成了管状叶和扁平叶两种类型。进一步分类可将葱属分为 4 个组, 韭菜属于根茎组, 大蒜和韭葱属于长齿组, 洋葱和胡葱划为洋葱组, 大葱、分葱、细香葱距离较近,

收稿日期: 2001-01-05; 修回日期: 2001-05-21

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (39770520)

*通讯作者。

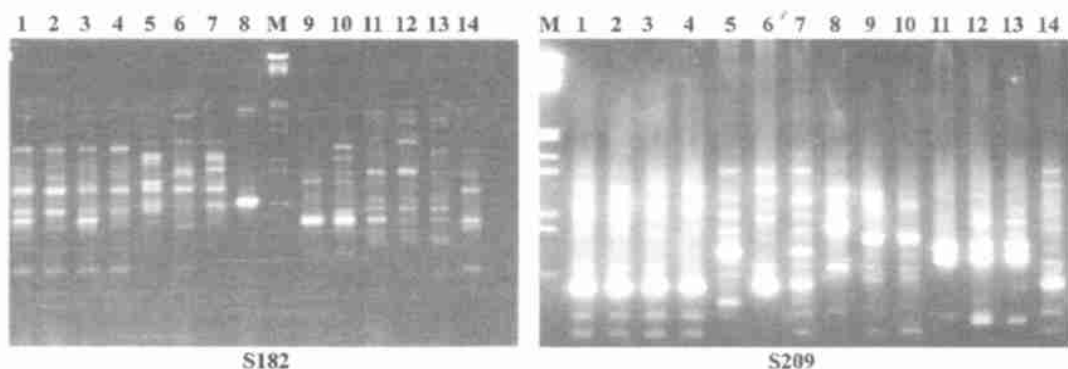


图 1 引物 S182 和 S209 扩增 14 个葱属材料叶绿体 DNA 的 RAPD 图谱

1. 章丘大葱, 2. 隆饶大葱, 3. 日本大葱, 4. 韩国大葱, 5. 洋葱, 6. 分葱, 7. 胡葱, 8. 韭葱, 9. 冬韭, 10. 雪韭, 11. 软皮蒜, 12. 苏联蒜, 13. 白皮蒜, 14. 细香葱。

Fig. 1 RAPD patterns amplified by primers S182 and S209

1. *Allium fistulosum* L. var. *gigantum*, 2. *A. fistulosum* L. var. *gigantum*, 3. *A. fistulosum* L. var. *gigantum*, 4. *A. fistulosum* L. var. *gigantum*, 5. *A. cepa* L., 6. *A. fistulosum* L. var. *caespitosum*, 7. *A. ascalonicum* L., 8. *A. porrum* L., 9. *A. tuberosum* Rottl. expr., 10. *A. tuberosum* Rottl. expr., 11. *A. sativum* L., 12. *A. sativum* L., 13. *A. sativum* L., 14. *A. schoenoprasum* L. M: Marker.

归为葱组 (图 2)。上述结果表明利用叶绿体基因组进行葱属的分类是可行的。但本研究采用的品种较少, 要想弄清整个葱属的亲缘演化关系, 还须扩大品种进一步分析。

参考文献:

- 盖树鹏, 孟祥栋. 快速简易提取大葱叶绿体 DNA、线粒体 DNA 的方法. 农业生物技术学报, 2000, 8 (3): 262, 266
- 孟祥栋, 马红, 张卫华. 利用 RAPD 技术对葱属品种遗传关系的分析. 生物多样性, 1998, 6 (1): 37 ~ 41

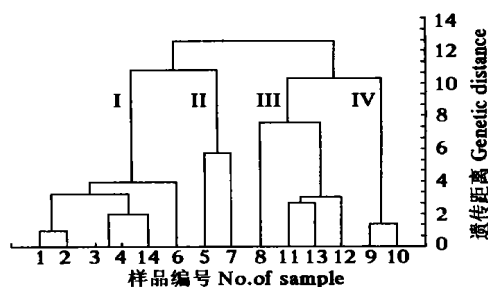


图 2 14 个葱属品种的 UPGMA 聚类图

I: 葱组; II: 洋葱组; III: 长齿组; IV: 根茎组。

Fig. 2 Tree diagram for 14 *Allium* cultivars resulted from UPGMA cluster of genetic distance

I: *Fistulosum*; II: *Cepa*; III: *Porrum*; IV: *Rhiziridium*

Phylogenetic Relationships among Cultivated *Allium* species from RAPD Analysis of the Chloroplast Genome

Gai Shupeng, Xie Zhen, Wang Mei, and Meng Xiangdong

(College of Horticulture, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018)

Abstract: Fourteen *Allium* cultivars were analyzed by RAPD technique to determine their genetic relations. Of the 56 decamer primers screened, 18 showed consistent band pattern and amplification, and produced 270 bands with 246 polymorphic bands in the chloroplast genomes. The genetic distances among the materials ranged from 0 to 13.2. Four sections were classified by UPGMA cluster analysis, which demonstrated that welsh onion chive and bunching onion should be divided into *Fistulosum*, bulb onion and shallot be clustered into *Cepa*, the others belong to *Porrum* and *Rhiziridium*. There might exist two directions in *Allium* evolution, pipy leaf type and flat leaf type of *Allium* were formed.

Key words: *Allium*; RAPD; Chloroplast DNA; Phylogenetic relations