

大花蕙兰遗传多样性及亲缘关系的 AFLP 分析

朱根发^{1,2}, 李冬梅¹, 郭振飞^{2*}

(¹ 广东省农业科学院花卉研究所, 广州 510640; ² 华南农业大学生命科学学院, 广州 510642)

摘 要: 对来源于日本、韩国和美国的 42 个大花蕙兰品种和两个国产兰属原生种进行了遗传多样性和亲缘关系的 AFLP 分析, 9 对多态性引物在 50 ~ 500 bp 内共扩增出 1 597 条带, 其中多态性带 1 565 条, 多态性比率 98.0%。单引物对扩增的带数 156 ~ 193 条, 平均每对引物扩增带数 177 条。42 个品种具特征带或缺失带。大花蕙兰品种间的遗传多样性丰富, 品种间的相似系数 0.3399 ~ 0.8223, 平均相似系数 0.5783。UPGMA 聚类结果将供试品种分为 4 大类, 与根据花枝类型或花径大小、花色等形态指标分类的结果相吻合, 同一产地来源甚至同一育种公司选育出的品种能基本上聚类在一起, 反映出了品种间的亲缘关系。

关键词: 兰科; 大花蕙兰; AFLP; 遗传多样性; 亲缘关系

中图分类号: S 682.31 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2007) 02-0417-08

Genetic Diversity and Relationship of Hybrid *Cymbidium* Based on AFLP Marker

ZHU Gen-fa^{1,2}, LI Dong-mei¹, and GUO Zhen-fei^{2*}

(¹ Floricultural Research Institute of Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China; ² College of Life Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: The genetic diversity and relationship of 42 cultivars of hybrid *Cymbidium* introduced from Japan, Korea and USA, and 2 wild species from China (*C. aloifolium* and *C. floribundum*) were evaluated using AFLP molecular markers in this study. Among the 1 597 AFLP bands obtained from nine selective primer pairs, 1 565 (98.0%) were polymorphic. The average number of DNA bands per primer pair was 177, with a range of 156 - 193. All the cultivars have their characteristic bands and can be identified based on the AFLP markers. Genetic similarity based on dice coefficients among the cultivars ranged from 0.3399 to 0.8223, with an average of 0.5783. The cultivars could be divided into four groups based on the UPGMA dendrogram, and this division is in consistence with the morphological classification based on the type of flower inflorescence, flower size or flower color. Cultivars originated from the same country or the same breeding company could be clustered together in the AFLP dendrogram and this represents the genetic relationship of the cultivars.

Key words: Orchidaceae; Hybrid *Cymbidium*; AFLP; Genetic diversity; Genetic relationship

大花蕙兰为兰属植物的大花型杂交种, 因其花多、花大、花艳、花期长, 具较高的观赏价值。目前我国的大花蕙兰生产已进入迅速发展阶段, 生产的品种主要引自日本、韩国, 自主培育大花蕙兰新品种的工作则刚刚起步, 且对引进品种的亲缘关系不很了解。

对于大花蕙兰品种的遗传多样性, Ichihashi 等 (2001)、朱根发等 (2006) 对栽培品种的染色体倍性进行了分析; 日本学者利用同工酶标记 (Obara-Okeyo et al, 1997) 和 RAPD 技术 (Obara-Ok-

收稿日期: 2006 - 09 - 01; 修回日期: 2006 - 11 - 27

基金项目: 广东省科技攻关重大专项 (2003A2010401, 2006A2010401); 广州市农业局招标项目 (GK0302105)

* 通讯作者 Author for correspondence (E-mail: zhfguo@scau.edu.cn)

eyo & Kaka, 1998) 对品种鉴定和亲缘关系进行了研究, 尽管两种标记都能基本反映出品种间的亲缘关系, 但同工酶不能区分出同胞家系的品种, RAPD 标记反映出的结果不能按农艺性状聚类。本研究以引进的大花蕙兰为研究对象, 利用 AFLP 分子标记技术摸清其遗传多样性和遗传背景, 以便为大花蕙兰种质资源的保存与利用及杂交亲本的选配提供依据。

1 材料与方 法

44 个供试品种的试样采集于广东名优花卉种质库广东省农业科学院花卉研究所大花蕙兰圃, 其中 35 个品种引自日本, 4 个来自韩国, 4 个来自中国 (其中两个为原生种), 1 个来自美国。

大花蕙兰基因组 DNA 提取采用 CTAB 法并加以改良 (李冬梅 等, 2006)。AFLP 扩增反应按照鼎国公司 AFLP 操作手册进行。利用 *Pst* I/Mse I 系统对大花蕙兰基因组 DNA 酶切, 37 保温 5 h, 8 保温 4 h, 4 过夜。从 PE 公司试剂盒中的 64 对引物组合里筛选出 9 对多态性好的组合用于正式扩增。预扩增反应按下列参数进行: 94 预变性 2 min; 94 变性 30 s, 56 复性 30 s, 72 延伸 2 min 20 s, PCR (Gene Amp PCR System 9600, Perkin Elmer, USA) 扩增循环 30 轮; 72 延伸 5 min。选择性扩增体系: 将上述 PCR 产物按 1:20 稀释, 作为选扩模板。94 预变性 2 min; 第 1 轮扩增参数: 94 30 s, 65 30 s, 72 1 min 20 s; 以后每轮循环温度递减 0.7 , 扩增 12 轮; 接着按下列参数扩增 23 轮: 94 30 s, 55 30 s, 72 1 min 20 s; 最后 72 延伸 5 min。取 2 μ L 选择性扩增产物, 与 2 μ L 上样缓冲液涡旋混匀, 95 变性 5 min 后置于冰上直到上样。对照 (Marker) 为 2 μ L Gel company 红色荧光标记的标准 DNA 与 2 μ L 上样缓冲液涡旋混匀。在 ABI 377 测序仪上进行电泳: 4% 变性聚丙烯酰胺凝胶, 10 \times IB, 恒压 220 V, 室温下电泳 2.5 h。电泳结束后用 Genescan 3.1 从原始胶图中提取数据, 然后用 Binthere 将片段的大小提取出来, 再用 Excel 将数据转换成 0, 1 数据, 最后用 Ntsys 2.10 聚类。用 Maxcomp 程序对聚类结果和相似系数矩阵之间的相关性进行 Mantel 检验。引物的多态性比率 (%) = 多态性带数 / 总带数 \times 100; 品种的多态性比率 (%) = 该品种的多态性带数 / 所有供试品种扩增出的总带数 \times 100 (易干军 等, 2003)。

2 结果与分析

2.1 多态性分析

从 64 对 *Pst* I/Mse I 引物中筛选出的多态性较好的 9 对引物 (表 1), 分别以 44 个品种的 DNA 为模板, 在 50 ~ 500 bp 内共扩增出 1 597 条带, 其中多态性带 1 565 条, 多态性比率 98.0%。单引物对扩增出的带数为 156 ~ 193 条, 多态性比率 96.1% ~ 99.4% (表 1、图 1)。平均每对引物扩增带数 177 条, 平均多态性带数 174 条。供试的 44 个品种中, 除 HC24、HC30 外, 42 个品种具特征带或缺失带 (表 2)。

表 1 9 个引物组合对大花蕙兰品种扩增的多态性

Table 1 Selective amplification results of nine AFLP primer pairs in 42 cultivars and two native *Cymbidium* species

引物对 Primer pairs	扩增带数 Amplified bands	多态性带 Polymorphic bands	
		带数 Number	%
<i>Pst</i> I GAC / <i>Mse</i> I CTA	166	163	98.2
<i>Pst</i> I GAC / <i>Mse</i> I CTT	193	189	97.9
<i>Pst</i> I GAG / <i>Mse</i> I CAG	156	155	99.4
<i>Pst</i> I GAG / <i>Mse</i> I CTC	188	186	98.9
<i>Pst</i> I GAG / <i>Mse</i> I CTT	193	190	98.4
<i>Pst</i> I GAT / <i>Mse</i> I CAG	186	182	97.8
<i>Pst</i> I GTG / <i>Mse</i> I CAG	158	155	98.1
<i>Pst</i> I GTG / <i>Mse</i> I CTG	181	174	96.1
<i>Pst</i> I GTT / <i>Mse</i> I CAG	176	171	97.2
平均 Mean	177	174	98.0

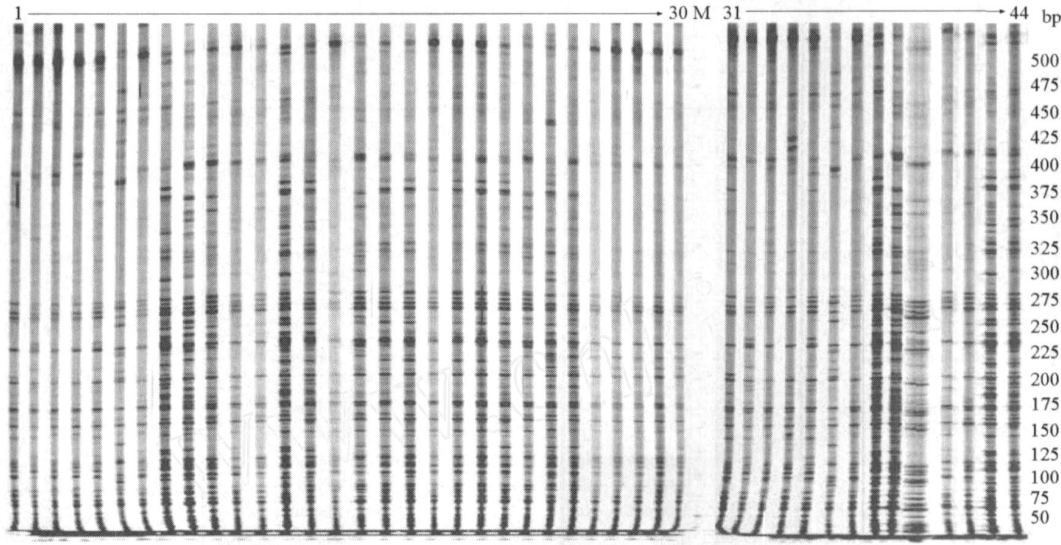


图 1 大花蕙兰 AFLP指纹图谱 (引物组合: Pst IGTG/Mse ICTG)

Fig 1 The AFLP patterns of 42 *Cymbidium* cultivars and two native *Cymbidium* species obtained with primer pair Pst IGTG/Mse ICTG

表 2 供试大花蕙兰品种与原生种的多态性分析

Table 2 42 cultivars and 2 native *Cymbidium* species used in the present study

编号 No	品种与原生种 Cultivars and native <i>Cymbidium</i> species	类型 Type	花色 Color	花径 Flower Size	来源 Origin	倍性 Ploidy level	多态率 Ratio of polymorphic bands (%)	特有带 (缺失带) (Distinctive or delete bands)
HC01	瀑布 <i>C. Sarah Jean</i> 'Ice Cascade'	垂花 Pendent	白 White	小 Small	日本 Japan	2X	26.8	5
HC02	开心果 <i>C. Dorothy Stockstil</i> 'Forgotten Fruit'	垂花 Pendent	砖红 Dark brick red	小 Small	日本 Japan	4X + 1	25.9	7 (2)
HC03	红宝石 <i>C. Ruby Shower</i> 'Murasakin Okimi'	垂花 Pendent	深紫红 Dark purple	小 Small	日本 Japan	2X	27.4	8
HC04	武士 <i>C. Toriston</i>	垂花 Pendent	深紫红 Dark purple	小 Small	日本 Japan	-	27.5	3
HC05	红瀑布 <i>C. Mistque</i>	直立 Upright	红 Red	小 Small	日本 Japan	2X	32.2	4
HC06	金桃 <i>C. Sarah Jean</i> 'Peach'	垂花 Pendent	黄绿 Yellow and green	小 Small	日本 Japan	4X	28.2	3
HC07	奶油球 <i>C. Sunshine Falls</i> 'Butter Ball'	垂花 Pendent	黄绿 Yellow and green	小 Small	日本 Japan	-	33.9	12
HC08	新月 <i>C. Lovely Moon</i> 'Crescent'	直立 Upright	黄花红唇 Yellow with red lips	大 Large	日本 Japan	3X	27.8	1
HC09	金色海滩 <i>C. Lovely Fantasy</i> 'Luna Beach'	直立 Upright	黄花红唇 Yellow with red lips	大 Large	日本 Japan	-	29.6	10
HC10	金杯 <i>C. Hiroshima Golden Cup</i> 'Sunny Moon'	直立 Upright	黄花红唇 Yellow with red lips	大 Large	日本 Japan	2X	25.9	1
HC11	钢琴家 <i>C. Fortissimo</i> 'Pianist'	直立 Upright	淡绿 Pale green	大 Large	日本 Japan	3X	22.8	(1)
HC12	幸运阿里 <i>C. Lucky Gloria</i> 'Aguri'	直立 Upright	粉红 Pink	大 Large	日本 Japan	3X	28.2	4
HC13	幸运星 <i>C. Lucky Gloria</i> 'Fukunokami'	直立 Upright	粉红 Pink	大 Large	日本 Japan	3X	28.1	5
HC14	幸运之花 <i>C. Lucky Flower</i> 'Anmitsu Hime'	直立 Upright	粉红花 Pink	大 Large	日本 Japan	4X	30.4	5 (1)
HC15	绿河 <i>C. Sakaki River</i> 'Tonton Tomoe'	直立 Upright	黄 Yellow	大 Large	日本 Japan	-	26.9	2

续表 2

编号 No	品种与原生种 Cultivars and native <i>Cymbidium</i> species	类型 Type	花色 Color	花径 Flower Size	来源 Origin	倍性 Ploidy level	多态率 Ratio of polymorphic bands (%)	特有带 (缺失带) Distinctive or delete bands
HC16	浪漫 C. Stellar Festival ' Sherry Romance '	直立 Upright	桃红 Pink	大 Large	日本 Japan	3X	29.1	4
HC17	美丽红唇 C. Fire Starter ' Perfect Rouge '	直立 Upright	深紫红 Dark purple	大 Large	日本 Japan	4X	29.3	2
HC18	微笑 C. Joy Polis ' Smile Shower '	直立 Upright	深红 Dark red	大 Large	日本 Japan	3X	28.4	(1)
HC19	金融家 C. Financier ' Odette '	直立 Upright	黄绿 Yellow and green	大 Large	日本 Japan	4X	28.7	1
HC20	月神 C. Palm Line ' Luna '	直立 Upright	绿 Green	大 Large	日本 Japan	4X	28.1	1 (1)
HC21	新世纪 C. Rose Wine ' Sinseiki '	直立 Upright	红 Red	大 Large	日本 Japan	3X	27.0	3
HC22	红公主 C. Princes ' Nobuko '	直立 Upright	红 Red	大 Large	日本 Japan	3X	22.5	(1)
HC23	亚历山大 C. Blooming ' Alexander '	直立 Upright	红 Red	大 Large	日本 Japan	3X	24.4	1
HC24	仙境 C. Harf Moon ' Wanderland '	直立 Upright	橙红 Red and orange	大 Large	日本 Japan	2X	26.7	0
HC25	UFO C. UFO Color	直立 Upright	黄花红唇 Yellow with red lips	大 Large	日本 Japan	3X	27.2	2
HC26	黄金虎 C. Moming Moon ' Great Tiger '	直立 Upright	黄 Yellow	大 Large	日本 Japan	-	21.7	(1)
HC27	一级棒 C. Mini Sarah ' Ichilian '	直立 Upright	绿 Green	大 Large	日本 Japan	4X	29.6	1
HC28	欲望 C. Lura Song ' Aphrodite '	直立 Upright	绿 Green	大 Large	日本 Japan	3X	25.5	3
HC29	大风 C. Maureen Carter ' Dafeng '	直立 Upright	黄绿 Yellow and green	大 Large	中国 China	2X	27.7	2
HC30	阿瑟王 C. King Arthur	直立 Upright	绿花红唇 Green with red lips	大 Large	美国 U. S. A	3X	18.4	0
HC31	春山 C. Lucky Gloria ' Chusane '	直立 Upright	红 Red	大 Large	日本 Japan	3X	24.2	8
HC32	阿尔比 C. Enzan Sarah ' Allion '	垂花 Pendent	绿 Green	大 Large	日本 Japan	4X	20.0	1
HC33	小沙拉 C. Mini Sarah ' Jillian '	直立 Upright	绿 Green	大 Large	日本 Japan	4X	18.7	2 (2)
HC34	向往 C. Pleiades ' Memory '	直立 Upright	绿 Green	大 Large	日本 Japan	3X	20.1	6
HC35	绿宝石 C. ' Queen Emeraldns '	直立 Upright	绿 Green	大 Large	日本 Japan	4X	23.5	2
HC36	纹瓣兰 (原生种) C. aloifolium	垂花 Pendent	粉红 Pink	小 Small	中国 China	2X	15.8	16 (7)
HC37	燕子小姐 C. Lady Bird	直立 Upright	黄 Yellow	大 Large	日本 Japan	2X	24.7	4
HC38	宝石 C. Ruby Sarah ' Gem Stone '	垂花 Pendent	红 Dark magenta	大 Large	日本 Japan	4X	35.9	2
HC39	金凤 C. ' Jinfeng '	直立 Upright	黄绿 Yellow	大 Large	中国 China	2X	39.6	27
HC40	韩国夫人 C. ' Lady Korea '	直立 Upright	粉红 Pink	小 Small	韩国 Korean	2X	29.6	4
HC41	韩国小姐 C. ' Miss Korea '	直立 Upright	暗红 Purple	小 Small	韩国 Korean	2X	22.6	3
HC42	韩国桃花 C. ' Korea Peach '	直立 Upright	粉红 Pink	小 Small	韩国 Korean	2X	26.9	9 (1)
HC43	青云 C. ' Qingyun '	直立 Upright	绿 Green	小 Small	韩国 Korean	-	44.1	43
HC44	多花兰 (原生种) C. floribundum	直立 Upright	红 Red	小 Small	中国 China	2X	37.1	11

除原生种外，杂交种中不同品种的多态性比率差异较大。

‘阿瑟王’的多态性比率最低，仅为 18.4%，在上述 9对引物扩增中未找到特征带，说明该品种在供试的大花蕙兰群体中同源性较高。

‘青云’的多态率最高，达 44.1%，其特征带也最多，说明该品种在供试群体中的同源性最低。

2.2 遗传多样性分析

大花蕙兰品种间的遗传多样性丰富，品种间的遗传相似系数为 0.3399 ~ 0.8223，平均相似系数 0.5783。

‘美丽红唇’和‘微笑’品种具父子关系，其相似系数最高，达 0.8223，说明具较高的同源性。

纹瓣兰与供试大花蕙兰品种的遗传相似系数都较小，与‘幸运星’的相似系数最小，只有 0.3399，说明纹瓣兰与大花蕙兰品种间的遗传距离较远，平均相似系数为 0.4050，证明了在大花蕙兰品种中较少具纹瓣兰的血统。

2.3 聚类分析

基于 AFLP的扩增结果，用 NTSYS2.10进行 UPCMA 聚类分析，得到大花蕙兰品种亲缘关系树状图（图 2）。

在 L0.56处将 44个品种分为 4大类。将聚类结果转换为协表征矩阵，对协表征矩阵和相似系数矩阵的相关性进行 Mantel检验，相关系数为 0.8843，两矩阵呈极显著相关，表明聚类结果很好地体

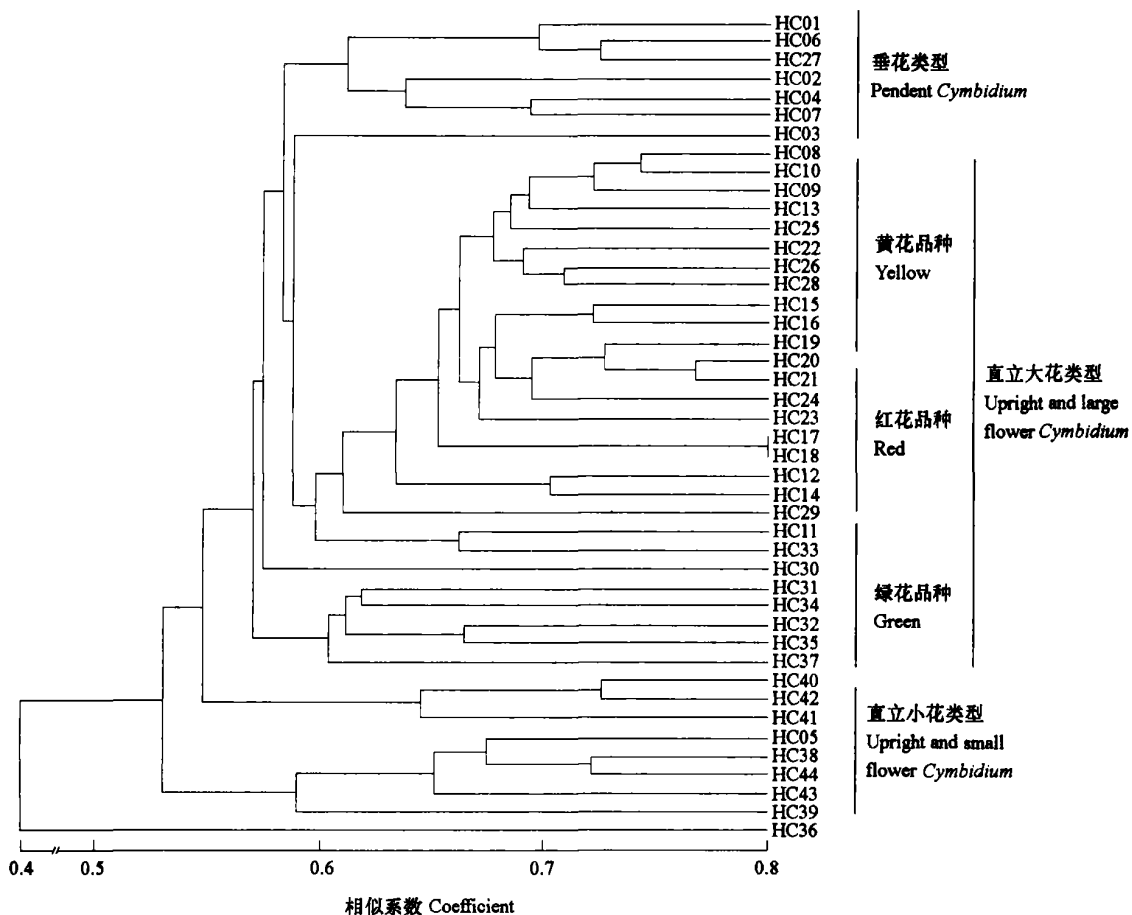


图 2 大花蕙兰品种间相似系数 NTSYS2.10聚类的树状图

Fig 2 The UPGMA dendrogram of the 44 Cymbidium samples based on AFLP markers

现了品种间的亲缘关系。

第 1 类, 包括 35 个品种, 33 个从日本引进的品种都聚在此类, 另有 1 个美国和 1 个我国台湾品种。在 L0.59 处, 又可将此类分为 5 个亚类。第 1 亚类包括 6 个日本品种, 除 HC27 外, 均为具台兰血统的垂花型品种, HC27 与 HC01 具父子关系; 第 2 亚类只有 1 个品种, 为来自日本、具德氏凤兰血统的垂花类型品种; 第 3 亚类包括 22 个直立大花品种, 除 ‘大凤’ 外都来自日本, 大部分品种能根据系谱和花色聚成不同小类; 第 4 亚类只有 1 个直立大花绿花品种, 来自美国; 第 5 亚类包括 5 个品种, 也为直立大花绿花品种, 来自日本。

第 2 类, 包括 3 个韩国品种, 直立中花型, 来自同一杂交组合, 具墨兰血统。

第 3 类, 包括 5 个品种, 与原生种多花兰聚在一起, 具多花兰血统。

第 4 类, 只有纹瓣兰 1 个原生种。

上述分类结果, 与根据花枝类型或花径大小等形态指标进行分类的结果相吻合。

2.4 亲缘关系分析

供试的品种中, 有 24 个品种可在英国皇家园艺学会兰花品种登录机构发表的兰花品种登录名册中找到其系谱来源。

聚类结果表明, 具亲缘关系的品种, 基本上 (87.5%) 能聚类在一起, 与系谱基本吻合。如垂花品种 HC01、HC06、HC27、HC02 因具 *C. pumilum* 血统聚在一起; 黄花品种 HC08、HC09、HC10、HC26、HC20、HC21、HC24 因具 *C. Hiroshima Golden Cup* 血统聚在一起, 其中 HC08 与 HC09 为半同胞家系, 均由 HC10 作亲本杂交选育而来; 具父子关系的粉红花品种 HC16、HC17、HC18 也聚在一起; 具墨兰血统的 HC40、HC41、HC42 聚在一起等。日本两大著名的大花蕙兰育种公司选育出的大花型品种基本上也能聚类一起, 说明两家公司所采用的原始亲本可能相同, 培育出的品种具较高的遗传相似系数。但全同胞家系的 HC33 与 HC27, 半同胞家系的 HC38 与 HC33、HC27, 却未能聚类一起。

3 讨论

3.1 AFLP 技术在大花蕙兰品种鉴定和分类上的准确性

关于大花蕙兰的品种鉴定, Obara-Okeyo 等 (1997) 利用天冬氨酸转氨酶、苹果酸脱氢酶、亮氨酸氨肽酶、乙醇脱氢酶、葡糖磷酸变位酶、磷酸葡糖异构酶、磷酸丙糖异构酶和莽草酸脱氢酶等 8 个同工酶对 70 个大花蕙兰品种进行了分析, 发现同工酶系统的聚类能反映品种的亲缘关系, 但只能区分其中的 68 个品种, 对两个同胞家系来源的品种区分不出来。

其后, Obara-Okeyo 和 Kako (1998) 又利用 RAPD 技术分析了其中 36 个大花蕙兰品种, 发现 RAPD 技术对所有的品种均能明显区分, 聚类结果反映的亲缘关系与同工酶结果吻合, 但不能将供试品种按农艺性状分类。本文利用 AFLP 技术对 42 个大花蕙兰和两个原生种的分析结果表明, AFLP 技术不仅能将所有品种区分出来并反映品种间的亲缘关系, 而且还能与形态上的分类相一致。

传统上根据花径和植株的形态将大花蕙兰分为标准型 (*Standard Cymbidium*) 和迷你型 (*Miniature Cymbidium*) (Easton, 1987; Moon, 1987; 陈心启和吉占和, 1998), 根据花枝类型分为直立型 (*Upright Cymbidium*) 和垂花型 (*Pendent Cymbidium*)。根据花色又分为红花系、粉红花系、橙色系、白花系、黄花系、绿花系、斑点花系和奇花系等 (朱根发, 2005)。本试验 AFLP 聚类结果, 首先能将不同花枝类型的品种区别出来, 且能按花径大小将直立型品种分出直立大花型和直立小花型, 在直立大花型品种中又能按花色的不同进行聚类 (图 2)。说明 AFLP 技术在品种的鉴定和分类上更准确可行。

3.2 大花蕙兰品种遗传多样性高的原因

大花蕙兰的杂交育种始于 20 世纪初, 直到 20 世纪 40 年代出现了以美花兰 (*C. insigne*) 为主体形成的杂种和多倍体后才进入发展的盛期。早期的杂交亲本主要有美花兰、碧玉兰 (*C. lowianum*)、虎头兰 (*C. hookerianum*)、独占春 (*C. ebumeum*)、黄蝉兰 (*C. iridoides*) 等, 主要培育大花型杂种即标准型大花蕙兰, 后期的育种中又将多花兰 (*C. floribundum* 或 *C. punilum*)、墨兰 (*C. sinense*)、春兰 (*C. goeringii*)、建兰 (*C. ensifolium*) 等兰属原生种引入, 用于培育杂交小花型品种。为了培育垂花型大花蕙兰又以德氏凤兰 (*C. devonianum*)、澳洲凤兰 (*C. madidum*)、冬凤兰 (*C. dayanum*)、纹瓣兰 (*C. aloifolium*) 等垂花型原生种为亲本。因此, 约有 29 个兰属原生种参与了大花蕙兰新品种的选育, 大花蕙兰的遗传基础复杂 (朱根发, 2005)。

有研究表明, 兰属植物偶尔会出现大孢子母细胞或小孢子母细胞不经减数分裂形成二倍体的花粉或雌配子, 在杂交种形成三倍体或四倍体后代植株 (Moon, 1987; 朱根发等, 2006)。不同倍性的品种间杂交又导致了倍性的多样化, 因此现代的大花蕙兰杂交种中既有二倍体, 也有三倍体、四倍体、五倍体, 甚至非整倍体 (Ichihashi et al, 2001; 朱根发等, 2006)。

本文对大花蕙兰品种 AFLP 分析的多态性比率达 98.0%, 大花蕙兰杂交亲本和品种倍性的多样化可能是大花蕙兰多态性比率高的主要原因, 也可能是由于本研究采用的品种包括了日本、美国、韩国和中国的品种, 品种来源比较广泛。Obara-Okeyo 和 Kako (1998) 只对来源于日本的 36 个大花蕙兰品种进行了 RAPD 分析, 多态性比率为 78%, 品种间的遗传距离为 0.08 ~ 0.50, 平均遗传距离为 0.29。

本研究也发现, 日本两大著名的大花蕙兰育种公司选育出的大花型品种基本上也能聚类一起, 培育出的品种具较高的遗传相似系数。

3.3 AFLP 与杂交系谱分析

在玉米、小麦、甘蔗等作物中已有报道 AFLP 聚类结果和已知系谱的亲缘关系间大多数是吻合的 (Pejic et al, 1998; Bohn et al, 1999; 袁力行等, 2000; 庄南生等, 2005)。明军和张启翔 (2004) 以 AFLP 指纹数据进行聚类排序分析显示梅的亲缘关系以及花粉可育性, 初步推测确定出‘美人’梅可能的父系。

本研究表明, 具亲缘关系的品种, 父 (母) 子关系、半同胞家系的品种基本上能聚类在一起, 与系谱基本吻合。未能根据血统关系聚类的全同胞家系如 HC33 与 HC27、半同胞家系如 HC38 与 HC33、HC27, 可能是由于杂交后代染色体倍性发生了变化所致, 或者偏向于另一杂交亲本。刘文革等 (2004) 研究发现不同倍性西瓜之间有不同的特异性片段存在, 同源四倍体和相应的二倍体相比, 也有特异性片段的消失和增加, 从而表现出基因组 DNA 的多态性。

References

- Bohn M, Friedrich H, Melchinger A E. 1999. Genetic similarities among winter wheat cultivars determined on the basis of RFLPs, AFLPs, and SSR and their use for predicting progeny variance. *Crop Science*, 39: 228 - 237.
- Chen Sing-chi, Ji Zhan-he. 1998. Chinese orchids. Beijing: China Forestry Press: 1 - 100. (in Chinese)
- 陈心启, 吉占和. 1998. 中国兰花全书. 北京: 中国林业出版社: 1 - 100.
- Easton A W. 1987. The influence of fertile tetraploids on the development of miniature and intermediate *Cymbidium*s. Saito K, Tanaka R. Proc of the 12th world orchid conference. Tokyo: 12th World Orchid Conference, Inc: 161 - 163.
- Ichihashi S, Ito H, Oguri T, Kato J. 2001. Investigation on ploidy of *Cymbidium* and *Dendrobium* cultivated in Japan using flow cytometer. The Bulletin of Aichi University of Education (Natural Science): 39 - 45.
- Li Dongmei, Zhu Gen-fa, Ye Qing-sheng. 2006. Genomic DNA extraction and RAPD protocols for *Cymbidium hybridum*. *Journal of Tropical and Subtropical Botany*, 14 (1): 25 - 30. (in Chinese)

- 李冬梅, 朱根发, 叶庆生. 2006. 大花蕙兰基因组 DNA 提取及 RAPD 反应条件探索. 热带亚热带植物学报, 14 (1): 25 - 30.
- Liu Wen-ge, Wang Ming, Yan Zhi-hong. 2004. AFLP analysis of the genetic diversity between diploid and autopolyploid watermelon. Journal of Fruit Science, 21 (1): 46 - 49. (in Chinese)
- 刘文革, 王 鸣, 阎志红. 2004. 西瓜二倍体及同源多倍体遗传差异的 AFLP 分析. 果树学报, 21 (1): 46 - 49.
- Ming Jun, Zhang Qi-xiang. 2004. Paternity analysis of *Prunus munie* 'Meiren'. Journal of Beijing Forestry University, 26 (Supp.): 26 - 30. (in Chinese)
- 明 军, 张启翔. 2004. '美人' 梅的父系推测分析. 北京林业大学学报, 26 (增刊): 26 - 30.
- Moon A. 1987. Standard *Cymbidium* breeding in Britain since 1945 or the triumph of the triploids. Saito K, Tanaka R. Proc. of the 12th world orchid conference. Tokyo: 12th World Orchid Conference, Inc: 164 - 168.
- Obara-Okeyo P, Fujii K, Kako S. 1997. Enzyme polymorphism in *Cymbidium* orchid cultivars and inheritance of leucine aminopeptidase. Hort Science, 32 (7): 1267 - 1271.
- Obara-Okeyo P, Kako S. 1998. Genetic diversity and identification of *Cymbidium* cultivars as measured by random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. Euphytica, 99 (2): 95 - 101.
- Pejic I, Ajmone marsan P, Morgante M, Kozumplick V, Castiglioni P, Taramino G, Motto M. 1998. Comparative analysis of genetic similarity among maize inbred lines detected by RFLPs, RAPLs, SSRs, and AFLP. Theoretical and Applied Genetics, 97: 1248 - 1255.
- Yi Gan-jun, Tan Wei-ping, Huo He-qiang, Zhang Qiu-ming, Li Jian-guang, Zhou Bi-rong. 2003. Studies on the genetic diversity and relationship of longan cultivars by AFLP analysis. Acta Horticulturae Sinica, 30 (3): 272 - 276. (in Chinese)
- 易干军, 谭卫萍, 霍合强, 张秋明, 李建光, 周碧容. 2003. 龙眼品种 (系) 遗传多样性及亲缘关系的 AFLP 分析. 园艺学报, 30 (3): 272 - 276.
- Yuan Li-xing, Fu Jun-hua, Warburton M, Li Xin-hai, Zhang Shi-huang, Khairallah M, Liu Xin-zhi, Peng Ze-bin, Li Lian-cheng. 2000. Comparison of genetic diversity among maize inbred lines based on RFLPs, SSRs, AFLPs 和 RAPDs. Acta Genetica Sinica, 27 (8): 725 - 733. (in Chinese)
- 袁力行, 傅骏华, Warburton M, 李新海, 张世煌, Khairallah M, 刘新芝, 彭泽斌, 李连城. 2000. 利用 RFLP, SSR, AFLP 和 RAPD 标记分析玉米自交系遗传多样性的比较研究. 遗传学报, 27 (8): 725 - 733.
- Zhu Gen-fa. 2004. *Cymbidium* hybrids. Guangzhou: Guangdong Science and Technology Press: 1 - 18. (in Chinese)
- 朱根发. 2004. 大花蕙兰. 广州: 广东科技出版社: 1 - 18.
- Zhu Gen-fa. 2005. Progress on cross breeding of *Cymbidium*. Guangdong Agriculture Science, (4): 25 - 27. (in Chinese)
- 朱根发. 2005. 国际兰属植物杂交育种进展. 广东农业科学, (4): 25 - 27.
- Zhu Gen-fa, L ÜFu-bing, Wang Bi-qing, Chen Ming-li. 2006. Chromosome analysis of hybrid *Cymbidium*. Acta Horticulturae Sinica, 33 (2): 417 - 421. (in Chinese)
- 朱根发, 吕复兵, 王碧青, 陈明莉. 2006. 大花蕙兰品种的染色体数目分析. 园艺学报, 33 (2): 417 - 421.
- Zhuang Nan-sheng, Zheng Cheng-mu, Huang Dong-yi, Tang Yan-qiong, Gao He-qiong. 2005. AFLP analysis for sugarcane germplasm. Acta Agronomica Sinica, 31 (4): 444 - 450. (in Chinese)
- 庄南生, 郑成木, 黄东益, 唐燕琼, 高和琼. 2005. 甘蔗种质遗传基础的 AFLP 分析. 作物学报, 31 (4): 444 - 450.