

# 青菜品种亲缘关系 AFLP 分析

李红斌, 王世恒, 王宏

(杭州市农业科学研究院 浙江 杭州 311101)

**摘要:** 利用 AFLP 技术对市场上主栽的 10 个青菜主要品种进行了遗传多样性及聚类分析。结果表明: 最终筛选出的 5 对引物共扩增出多态性位点 454 个多态性位点占总扩增位点的比例平均为 57.5%, 系统聚类分析将供试材料分为 4 组, 基于分子标记的分类与材料的表现基本吻合, 为以后品种的鉴定和分子辅助育种提供一定的参考。

**关键词:** 青菜; AFLP; 聚类分析; 亲缘关系

**中图分类号:** S 636. 903. 6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001—0009(2008)08—0039—02

青菜 (*Brassica chinensis* L.) 是浙江地区主要的蔬菜作物之一, 在农业生产中占有重要地位。目前市场上各种青菜品种混杂, 至目前为止, 青菜种质资源的鉴别仅限于形态学性状, 对其分类研究也主要通过形态学性状。试验通过 AFLP 技术对青菜的栽培品种进行分析, 为青菜的种质资源的收集、保存及利用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试青菜品种为杭州市场上常见品种, 其名称和来源见表 1。

表 1 供试青菜品种及来源

编号	品种	来源
A	抗热 605	嘉兴市为农蔬菜种子有限公司
B	矮箕苏州青	上海长征蔬菜种子子公司
C	油冬儿	杭州市农业科学研究院
D	黑油冬儿	长沙市银田蔬菜种子实业有限公司
E	矮抗青	嘉兴市为农蔬菜种子有限公司
F	特矮青	南京绿领种业有限公司
G	黑叶五月慢	杭州三江蔬菜种子有限公司
H	迟油冬儿	杭州三叶蔬菜种苗公司
I	苏州青	杭州三叶蔬菜种苗公司
J	五月慢	杭州三叶蔬菜种苗公司

### 1.2 方法

**1.2.1 基因组 DNA 的提取** 每个品种取 30 株, 将样品分为 3 份, 10 株为一个重复, 混合后提取 DNA。参照 Murray 与 Thompson<sup>[2]</sup> 介绍的方法提取 DNA。

**1.2.2 AFLP 分析** 根据北京鼎国生物技术有限责任公司 AFLP 试剂盒进行基因组酶切、连接、预扩及选扩。采用 UPGMA 法进行聚类分析, 建立聚类树状图。

## 2 结果与分析

**第一作者简介:** 李红斌(1978-), 男, 硕士, 农艺师, 现从事园艺育种研究工作。E-mail: lhbhg@sohu.com。

**收稿日期:** 2008—02—20

### 2.1 5 对 AFLP 引物对青菜品种扩增产物多态性分析

建立 AFLP 分析体系后, 首先以 A、B、C 为试材筛选引物, 以确定合适的引物。从 64 对 AFLP 引物中筛选出 5 对多态性较高、带型质量较好、分辨率较高的引物。其引物组合为 E-AAC/M-CAG、E-AAG/M-CAC、E-AAG/M-CTC、E-AAG/M-CTT 和 E-ACA/M-CTA, 表 2 为筛选出的 5 对引物对 10 个青菜品种的扩增结果。

由表 2 可知, 5 对引物在 10 个青菜品种中共在 789 个位点上扩增出条带, 平均每对引物扩增位点 157 个, 扩增位点数量最多的 E-AAG/M-CAC 引物为 173 个; 5 对引物共扩增出多态性位点 454 个, 平均每对引物扩增位点 90 个, 多态性位点占总扩增位点的比例平均为 57.5%。

表 2 筛选出的 AFLP 引物对 10 个供试青菜品种的扩增结果

引物组合	扩增位点	多态性位点	多态性位点比例/%
E-AAC/M-CAG	169	91	53.8
E-AAG/M-CAC	173	111	64.2
E-AAG/M-CTC	145	88	60.7
E-AAG/M-CTT	156	80	51.3
E-ACA/M-CTA	146	84	57.5

### 2.2 AFLP 标记的聚类分析

从聚类图(图 1)上可以看出大多数材料的相似系数在 0.7 以上, 说明品种间的亲缘性比较近, 其中相同品种的材料相似系数大多在 0.95 以上, 只有 2 个品种的材料在 0.90~0.85 之间, 说明同一个品种间的不同材料之间差异较小, 同时说明了试验的误差较小。

品种的亲缘关系与品种的形态特征的相关性较为明显, 在相似系数 0.75 的水平上可以把供试的青菜品种分为 4 组, 第 1 组为叶色淡绿色的抗热 605, 第 2 组为苏州青和油冬儿两类为主, 第 3 组为黑叶五月慢 第 4 组为五月慢。

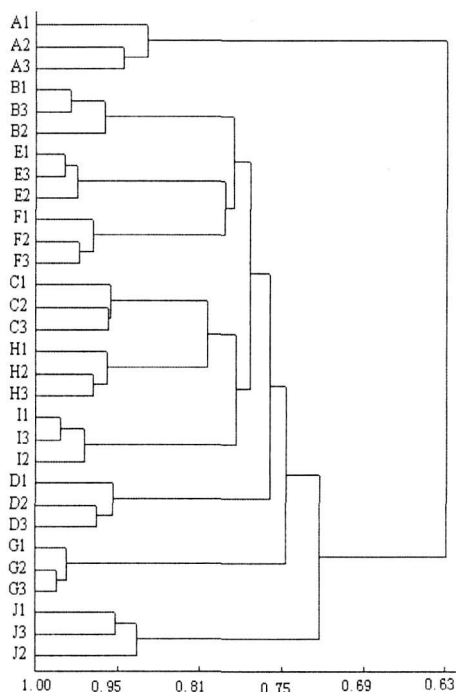


图1 引物 E-AAG/M-CAC 扩增青菜品种的部分指纹图谱

注: A1、A2、A3 为 A 样品的 3 个重复, 其它相同。

### 3 讨论

AFLP 作为一项指纹分析技术, 其显著特点是能揭示丰富的多态性和几乎覆盖整个基因组<sup>[3]</sup>。青菜虽是我国主要蔬菜栽培作物, 但对它的研究并不多, 在分子水平上的研究更是甚少。试验对青菜品种资源的 AFLP 分析, 5 对引物在 10 个品种中共扩增出了 789 条不同分子量 DNA 带, 其中多态性位点 454 个, 占 57.5%。说明应用 AFLP 标记技术能够有效地揭示栽培青菜品种中丰富的遗传多样性。通过系统聚类分析, 将参试的品种在相似系数 0.75 的水平上分为 4 组, 跟青菜的品种形态特征基本吻合。试验结果表明, 利用 AFLP 技术可从分子水平上区分不同青菜品种的差异, 3 个样品的重复差异较小, 相似系数除 A (抗热 605) 和 J (五月慢) 在 0.9 和 0.85, 其它品种都在 0.95 以上, 说明该项技术稳定可靠有较大的应用价值。

### 参考文献

- [1] Vos P, Hogers R, Bleeker M, et al. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting [J]. Nucleic Acids Res. 1995; 23: 4407-4414.
- [2] Murray M G, Thompson W F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA [J]. Nucleic Acid Res. 1980(8):4321-4325.
- [3] 孔秋生, 李锡香, 向长萍, 等. 栽培萝卜种质亲缘关系的 AFLP 分析 [J]. 中国农业科学. 2005 38(5): 1017-1023.

## AFLP Analysis on Sibship of *Brassica chinensis* L.

LI Hong-bin, WANG Shi-heng, WANG Hong

(Hangzhou Academy of Agricultural Science, Hangzhou, Zhejiang 311101, China)

**Abstract:** Phylogenesis of 10 cultivated *Brassica chinensis* L. was analyzed with amplified fragment length polymorphism (AFLP). A total of 454 bands were detected with 5 pairs of AFLP primers among the accessions tested. Of them, 54.5% were polymorphic. The 10 cultivars were clustered into 4 groups by cluster analysis, the results from molecular classification were almost coincided with germplasm phenotypes.

**Key words:** *Brassica chinensis* L.; AFLP; Cluster analysis; Phylogenesis

## 缓释肥

### 一种新的肥料品种

目前我国是世界最大的化工生产国和消费国, 单位面积化肥使用量达到 167~180 kg。根据中国农业大学资源学院的测算, 我国化肥的利用率只有 20%~30%, 在化肥使用中, 最有利的时机是结合播种季节。

作物苗期施肥量很少, 解决施肥的矛盾通常需要追肥, 但是追肥的时候如果不结合灌溉, 肥料的损失浪费很大。而缓释肥则可实现一次施肥, 作用于作物整个生育期, 不用追肥。缓释肥具有释放期长效的作用, 可大幅度提高肥料作用, 减少肥料降低成本。

近几年来, 我国缓释肥研究取得了很大成绩, 大概

可分为以下四种类型: 一是合成缓释肥有机蛋白; 二是合成缓释肥的无机蛋白; 三是包膜缓释; 四是生产抑制剂改良。缓释肥具有如下优点: 水中溶解度小, 营养元素在土壤中释放, 肥料长期稳定, 源源不断地满足在整个生产中的需要。

目前, 缓释肥作为一种新的肥料品种, 广大农民朋友对其还缺乏应用的认识, 这里建议广大农业科技工作者积极宣传、推广、普及缓释肥, 使农民真正认识缓释肥, 了解缓释肥的优点和使用方法。大力提倡和积极推广缓释肥, 提高广大农民朋友使用缓释肥的积极性。同时也建议农业部门把缓释肥纳入测土配方使用计划, 让缓释肥料在节约资源、节能增效中发挥应有的作用。