

# 甘蓝胞质雄性不育系育性相关线粒体 DNA 片断的克隆及序列分析

许忠民, 张恩慧, 巩振辉, 程永安, 马青山

(西北农林科技大学 园艺学院, 陕西 杨凌 712100)

**摘 要:**以甘蓝结球期叶球内叶为试材,利用 PCR 方法在甘蓝新型胞质雄性不育材料 CMS451 的线粒体基因组中扩增出与细胞质雄性不育相关的片断,并克隆测序。结果表明:该片断和 NCBI 发布的 Oguira 胞质不育系特异片段高度同源,说明 CMS451 的不育机理与 Ogu-CMS 相似,也反映了 CMS 基因的相对保守性。

**关键词:**甘蓝;CMS451;细胞质雄性不育(CMS);线粒体 DNA(mtDNA)

**中图分类号:**S 635 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)21-0106-05

植物细胞质雄性不育(CMS)是杂种优势利用的一个十分重要的途径,大量的试验证明,它是由细胞质基因控制的一种母性遗传性状,这种不育是由于细胞质中的线粒体基因(mtDNA)突变引起的<sup>[1]</sup>。近年来,人们在水稻<sup>[2]</sup>、向日葵<sup>[3]</sup>、玉米<sup>[4]</sup>、油菜<sup>[5]</sup>、白菜<sup>[6]</sup>和矮牵牛<sup>[7]</sup>等作物 CMS 不育系中发现,所有与 CMS 相关的嵌合基因都位于 mtDNA 上。

西北农林科技大学园艺学院从甘蓝引种田发现 1 株不育株,经多代回交转育,育成经济性状稳定、苗期叶片不黄化、蜜腺发达、配合力高的甘蓝雄性不育系 CMS451,经遗传分析为细胞质雄性不育遗传模式,并应用于杂种一代甘蓝品种选育和杂种生产。但关于该不育系雄性不育的分子机理尚不清楚,为了探索 CMS451 雄性不育机理,完善和丰富细胞质雄性不育的分子机理,该研究利用 PCR 扩增技术,对甘蓝细胞质雄性不育系 CMS451 及其保持系线粒体基因组 DNA 进行扩增、克隆、测序和序列分析,为进一步探讨细胞质雄性不育分子机理奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

甘蓝新型细胞质雄性不育系 CMS451 与保持系 YP03-6。试验材料种植于试验农场,按常规方法进行田间管理,在甘蓝结球期间取叶球内叶进行 mtDNA 提取。

**第一作者简介:**许忠民(1971-),男,陕西大荔人,博士,现主要从事蔬菜遗传育种研究工作。

**基金项目:**国家“十一五”科技支撑计划资助项目(2008BADB1B02);陕西省农业科技攻关计划资助项目(2009K01-24);西安市农业科技攻关计划资助项目(NC09041(1));西北农林科技大学唐仲英植物育种专项资助项目。

**收稿日期:**2011-07-18

### 1.2 试验方法

**1.2.1 mtDNA 提取与纯化** 参考 Nuzia 等<sup>[8]</sup>和张战凤等<sup>[9]</sup>的方法并加以修改。取甘蓝叶球中心幼嫩叶片(甘蓝芯),用蒸馏水冲洗 3 次,除去叶脉,称取该新鲜叶片 10 g,加入 50 mL 匀浆缓冲液 A(50 mmol/L Tris-HCl, pH 7.5; 5 mmol/L EDTA; 0.5 mol/L 蔗糖; 1.0% BSA),在冰浴中研磨,用 6 层纱布过滤,滤液在 4℃ 下(以下操作未经说明,均在 4℃ 进行),以 1 500 r/min 离心 10 min,收集上清液,继续以 1 800 r/min 离心 20 min,倒掉上清,收集沉淀,此沉淀为粗提线粒体。往沉淀中加入 5 mL 酶解缓冲液 B(1.0% BSA; 50 mmol/L Tris-HCl, pH 7.5; 0.5 mol/L 蔗糖),轻轻悬浮起沉淀,再将悬浮液以 1 500 r/min 离心,10 min 后,取上清液,再加入 1 mol/L MgCl<sub>2</sub> 50 μL 和 25 mg/mL DNase I 10 μL,放在 4℃ 下进行反应,1.5 h 后加入 0.5 mol/L (pH 8.0) EDTA 500 μL,终止 DNase I 反应。取 10 mL 提取缓冲液 C(20 mmol/L EDTA; 10 mmol/L Tris-HCl, pH 7.5; 0.6 mol/L 蔗糖)于离心管中,将上述酶解溶液小心缓慢地铺在缓冲液 C 上,以 18 000 r/min 离心 15 min,倒掉上清液,加入 5 mL 预冷匀浆缓冲液 A,用毛笔小心悬浮沉淀,再在离心管底部缓慢加入 10 mL 缓冲液 C,以 18 000 r/min 离心 15 min,弃上清,沉淀即为纯化的线粒体。在上述沉淀中加入 1 mL 裂解缓冲液 D(50 mmol/L EDTA; 50 mmol/L Tris-HCl, pH 8.0),将沉淀混匀,加入 5.5 μL 20 mg/mL 蛋白酶 K 和 110 μL 10% SDS,使其充分混匀,在 37℃ 下保温 2 h 进行裂解,每隔 10 min 振荡 1 次,裂解液用等体积异戊醇-氯仿-酚(1:24:25)和氯仿各抽提 1 次,然后以 13 000 r/min 离心 10 min,取上清,加入 10% 体积 3 mol/L NaAc 与 2 倍体积预冷无水乙醇, -20℃ 放置 2 h 进行沉淀,再以 13 000 r/min 离心 10 min,去上清,用 70% 酒精洗涤 DNA 沉淀,干燥后加入适量 TE

(pH 8.0)溶解,于-20℃冰箱中储存备用。

1.2.2 PCR 引物设计 根据 Grelon 等<sup>[10]</sup>报道和 GenBank 中 *Brassica ogura* 的 *orf138+orf158* 序列设计引物,引物由上海生物工程公司合成。

Primer1: 5' ACGGGAAGTGACAATACC 3',

Primer2: 5' ATTGGGTTTCACAAAGCAT 3'。

1.2.3 PCR 扩增 PCR 反应体系为:总反应体系:20 μL,其中,10×buffer(不含 Mg<sup>2+</sup>) 2 μL;10×dNTPs 0.4 μL;模板 DNA 15 ng;TaqDNA 聚合酶 1 U;25 mmol/L 的 MgCl<sub>2</sub> 1.8 μL;上下游引物各 0.8 μL,至终浓度 0.8 μmol/L;补加 ddH<sub>2</sub>O 至 20 μL。反应条件为:94℃预变性 4 min,94℃变性 58 s,51℃复性 55 s,72℃延伸 1 min,共进行 35 个循环,72℃延伸 10 min,4℃下保存。利用 1.0%的琼脂糖凝胶电泳对 PCR 扩增产物进行检测,参考彭婷方法。

1.2.4 扩增片段的回收与克隆测序 用 DNA 回收试剂盒(购于 Sigma 公司)回收特异片段,回收产物与 pMD18-T 载体(购于宝生物工程有限公司)连接,然后利用质粒转化到大肠杆菌中,其方法按载体操作说明进行,经蓝白斑筛选,EcoR I 酶切电泳鉴定,挑选阳性克隆进行测序,测序由上海捷瑞生物工程公司完成。

1.2.5 目的片段序列分析 将测序的核苷酸序列在 NCBI 网上应用 BLAST 程序进行同源性检索(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>),用 Vector 等软件进行分析。

2 结果与分析

2.1 甘蓝叶片 mtDNA 检测

利用核酸蛋白检测仪对不育系和保持系 mtDNA 进行检测,OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 比值在 1.7~1.9 之间;并利用 0.8%琼脂糖凝胶电泳对纯化后的不育系 CMS451 和保持系 YP03-6 mtDNA 进行检测,不育系与保持系 mtDNA 大小约为 48 kp,电泳条带清晰,没有降解拖尾现象(图 1),可以满足试验要求。

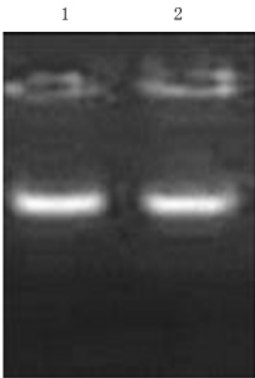


图 1 mtDNA 电泳检图  
注:1. CMS451;2. YP03-6。

Fig. 1 Electrophoresis on agarose gel of mtDNA isolated from cytoplasmic male sterile line and its maintainer line  
Note:1. CMS451;2. YP03-6.

2.2 不育相关片段扩增

分别以甘蓝不育系 CMS451 及其保持系 YP03-6 的 mtDNA 为模板,进行 PCR 扩增,结果在甘蓝不育系 CMS451 上扩增出 1 条长度为 600 bp 左右的特异条带,而在保持系 YP03-6 没有出现扩增产物(图 2)。

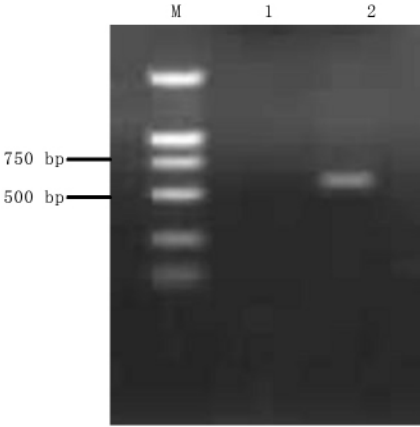


图 2 PCR 扩增产物琼脂糖凝胶电泳分析  
注:M;DNA Marker;1. Y03;2. CMS451。  
Fig. 2 Agrose gel electrophoresis analysis on amplified specific fragment  
Note:M;DNA Marker;1. Y03;2. CMS451.

2.3 阳性克隆的酶切鉴定

对甘蓝不育系 CMS451 扩增条带进行回收,与载体连接,然后转化感受态细胞,重组质粒 DNA 经 EcoR I 和 Hind III 双酶切,获得了 1 条和目的片段大小一致的片断(图 3),证明目的片段已连接到载体上。

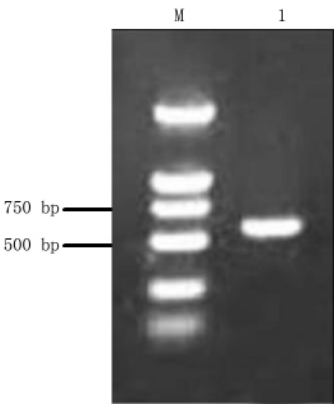


图 3 重组质粒的酶切鉴定  
注:M;DNA Marker;1. PCR 产物。

Fig. 3 Digestion identification of recombinant plasmid by restriction enzyme EcoR I and Pst I  
Note:M;DNA Marker;1. product of PCR.

2.4 序列测定和结构分析

测序结果表明,该特异序列片段大小为 594 bp,编码 198 氨基酸,上传 GenBank 编号为 Eu760643。与 NCBI 核酸数据库进行同源性比较发现,该序列为 Z12626 的一部分,而且序列完全吻合(图 4、5)。Z12626 为 Ogura 胞质不育系特异片段,其大小为

2 427 bp, 包含有 *orf138* 和 *orf158* 开放阅读框。进一步分析表明, CMS451 特异片段上游序列 (1-228) 与 *orf138* 下游序列 (189-417) 完全相同; CMS451 特异片段的下游序列 (452-596) 与 *orf158* 上游序列 (1-144) 完全一致 (图 4, 5), 说明从甘蓝不育系 CMS451mtDNA 中扩增的特异片段是 *orf138* 基因的下游序列到 *orf158* 基因上游序列之间的序列, 这与 Grelon 等<sup>[11]</sup> 报道的 Ogu-CMS 一致, 表明甘蓝不育系 CMS451 来源于 Ogu-CMS。

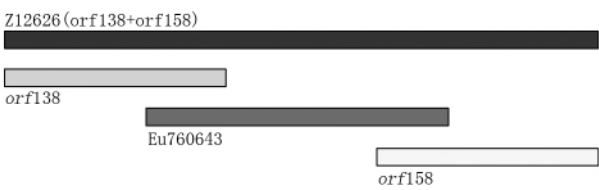


图 4 CMS451 特异片段与 *orf138* 和 *orf158* 同源性比较示意图  
Fig. 4 The sketch map compared specific fragment in CMS451 with *orf138* and *orf158*

|               |       |  |  |
|---------------|-------|--|--|
| Z12626        | (1)   | 1  | 70   |
| <i>orf138</i> | (1)   | ATGATTACCTTTTTTCGAAAAATTGTCCACTTTTTGTGCATAATCTCACTCCTACTGAATGTAAAGTTAGTG |  |
| Eu76043       | (1)   | ATGATTACCTTTTTTCGAAAAATTGTCCACTTTTTGTGCATAATCTCACTCCTACTGAATGTAAAGTTAGTG |  |
| <i>orf158</i> | (1)   |  |  |
| Z12626        | (71)  | 71   | 140  |
| <i>orf138</i> | (71)  | TAATAAGTTTCTTTCTTTTAGCTTTTTTACTAATGGCCCATATTTGGCTAAGCTGGTTTTCTAACAACCA   |  |
| Eu76043       | (1)   | TAATAAGTTTCTTTCTTTTAGCTTTTTTACTAATGGCCCATATTTGGCTAAGCTGGTTTTCTAACAACCA   |  |
| <i>orf158</i> | (1)   |  |  |
| Z12626        | (141) | 141  | 210  |
| <i>orf138</i> | (141) | ACATTGTTTACGAACCATGAGACATCTAGAGAAGTTAAAAATTCATATGAATTCAGTATGGGTGGCTA     |  |
| Eu76043       | (1)   | ACATTGTTTACGAACCATGAGACATCTAGAGAAGTTAAAAATTCATATGAATTCAGTATGGGTGGCTA     |  |
| <i>orf158</i> | (1)   |  | GAATTCAGTATGGGTGGCTA   |
| Z12626        | (211) | 211  | 280  |
| <i>orf138</i> | (211) | GGTGTCAAAATTACAATAAAATCAAATGTACCTAACGATGAAGTGACGAAAAAAGTCTCACCTATCATT    |  |
| Eu76043       | (22)  | GGTGTCAAAATTACAATAAAATCAAATGTACCTAACGATGAAGTGACGAAAAAAGTCTCACCTATCATT    |  |
| <i>orf158</i> | (1)   |  |  |
| Z12626        | (281) | 281  | 350  |
| <i>orf138</i> | (281) | AAGGGGAAATAGAGGGGAAAGAGGAAAAAAGAGGGGAAAGGGGAAATAGAGGGGAAAGAGGAAAAA       |  |
| Eu76043       | (92)  | AAGGGGAAATAGAGGGGAAAGAGGAAAAAAGAGGGGAAAGGGGAAATAGAGGGGAAAGAGGAAAAA       |  |
| <i>orf158</i> | (1)   |  |  |
| Z12626        | (351) | 351  | 420  |
| <i>orf138</i> | (351) | AGAGGGGAAAGGGGAAATAGAGGGGAAAGAGGAAAAAAGAGGTGGAAAATGGACCGAGAAAAATAATGC    |  |
| Eu76043       | (162) | AGAGGGGAAAGGGGAAATAGAGGGGAAAGAGGAAAAAAGAGGTGGAAAATGGACCGAGAAAAATAATGC    |  |
| <i>orf158</i> | (1)   |  |  |
| Z12626        | (421) | 421  | 490  |
| <i>orf138</i> | (418) | TTTGTGAACCAATTGCTTTGACAAAAATAAAGAAAGAAGCAAAATCTCATTCAATTGAAATAGAAGAG     |  |
| Eu76043       | (232) | TTTGTGAACCAATTGCTTTGACAAAAATAAAGAAAGAAGCAAAATCTCATTCAATTGAAATAGAAGAG     |  |
| <i>orf158</i> | (1)   |  |  |
| Z12626        | (491) | 491  | 560  |
| <i>orf138</i> | (418) | ATCTCTATGCCCCCTGTTCTTGGTTTTCTCCCATGCTTTTGTGGTCAACAACCAACCACAACCTTTCTAT   |  |
| Eu76043       | (302) | ATCTCTATGCCCCCTGTTCTTGGTTTTCTCCCATGCTTTTGTGGTCAACAACCAACCACAACCTTTCTAT   |  |
| <i>orf158</i> | (1)   |  |  |
| Z12626        | (561) | 561  | 630  |
| <i>orf138</i> | (418) | AGTTCTTCACTACTCTAGAGGCTTGACGGAGTGAAGCTGTCTGGAGGGAATCATTGTTGAAATCAAT      |  |
| Eu76043       | (372) | AGTTCTTCACTACTCTAGAGGCTTGACGGAGTGAAGCTGTCTGGAGGGAATCATTGTTGAAATCAAT      |  |
| <i>orf158</i> | (1)   |  |  |
| Z12626        | (631) | 631  | 700  |
| <i>orf138</i> | (418) | TAATCTAATCATGCCTCAACTGGATAAAATCACTTATTTTTCACAATTCTTCTGGTTATGCCTTTTCTTC   |  |
| Eu76043       | (442) | TAATCTAATCATGCCTCAACTGGATAAAATCACTTATTTTTCACAATTCTTCTGGTTATGCCTTTTCTTC   |  |
| <i>orf158</i> | (1)   |  | ATGCCTCAACTGGATAAAATCACTTATTTTTCACAATTCTTCTGGTTATGCCTTTTCTTC |
| Z12626        | (701) | 701  | 770  |
| <i>orf138</i> | (418) | TTTACTTTCTATATTTTCATATGCAATGATGGAGATGGAGTACTTGGGATCAGCAGAATTCTAAAACCTAC  |  |
| Eu76043       | (512) | TTTACTTTCTATATTTTCATATGCAATGATGGAGATGGAGTACTTGGGATCAGCAGAATTCTAAAACCTAC  |  |
| <i>orf158</i> | (61)  | TTTACTTTCTATATTTTCATATGCAATGATGGAGATGGAGTACTTGGGATCAGCAGAATTCTAAAACCTAC  |  |
| Z12626        | (771) | 771  | 840  |
| <i>orf138</i> | (418) | GGAACCAACTGCTTTACACCGGGGGAAGACCATCCAGAGCAAGGACCCCAACAGTTTGGAAGATCTCTT    |  |
| Eu76043       | (582) | GGAACCAACTGCT  |  |
| <i>orf158</i> | (131) | GGAACCAACTGCTTTACACCGGGGGAAGACCATCCAGAGCAAGGACCCCAACAGTTTGGAAGATCTCTT    |  |

|         |         |  |  |       |
|---------|---------|--|--|-------|
|         |         | 841  |  | 910   |
| Z12626  | (841)   | GAGAAAAGGTTTTAGCACTGGTGTATCCTATATGTATGCTAGTTTATTCGAAGTATCCCAATGGTGTAAG |  |       |
| orf138  | (418)   |  |  |       |
| Eu76043 | (595)   |  |  |       |
| orf158  | (201)   | GAGAAAAGGTTTTAGCACTGGTGTATCCTATATGTATGCTAGTTTATTCGAAGTATCCCAATGGTGTAAG |  |       |
|         |         | 911  |  | 980   |
| Z12626  | (911)   | GCCGTCGACTTATTGGGAAAAAGGAGGAAAATCACTTTGATCTCTTGTTTCGGAGAAATAAGTGGCTCAC |  |       |
| orf138  | (418)   |  |  |       |
| Eu76043 | (595)   |  |  |       |
| orf158  | (271)   | GCCGTCGACTTATTGGGAAAAAGGAGGAAAATCACTTTGATCTCTTGTTTCGGAGAAATAAGTGGCTCAC |  |       |
|         |         | 981  |  | 1 050 |
| Z12626  | (981)   | GAGGAATGGAAAGAAACATATATATAATATATCGAAGTCCTCTCCTTCAAATACTGGAAGGTGGATCAC  |  |       |
| orf138  | (418)   |  |  |       |
| Eu76043 | (595)   |  |  |       |
| orf158  | (341)   | GAGGAATGGAAAGAAACATATATATAATATATCGAAGTCCTCTCCTTCAAATACTGGAAGGTGGATCAC  |  |       |
|         |         | 1 051  |  | 1 117 |
| Z12626  | (1 051) | TTGTAGGAATTGTAGGAATGACATAATGCTAATCCATGTTGTACATGGCCAAGGAAGCATAAAATGA    |  |       |
| orf138  | (418)   |  |  |       |
| Eu76043 | (595)   |  |  |       |
| orf158  | (411)   | TTGTAGGAATTGTAGGAATGACATAATGCTAATCCATGTTGTACATGGCCAAGGAAGCATAAAATGA    |  |       |

图 5 CMS451 特异片段核苷酸序列与 orf138 和 orf158 序列同源性比较

Fig. 5 Comparson nucleotide acids of 594bp fragment in CMS451 of Cabbage with orf138 and orf158

3 讨论

Ogura 细胞质雄性不育源是由日本学者小仓于 1968 年在萝卜中发现的,该不育源不育性稳定,不育度和不育率 100%。目前,这一不育源在国内外广泛传播,其不育机理也得到比较深入的研究。Vedel 等<sup>[12]</sup>报道,在研究 Ogura 油菜细胞质雄性不育系与保持系时,用限制性内切酶酶切二者的线粒体基因组,发现不育系与保持系的线粒体 DNA 片段存在差异。Grelon 等<sup>[11]</sup>报道在研究萝卜细胞质雄性不育系时发现,线粒体 DNA 片段中有 1 个 2.5 kb 的片段与细胞质雄性不育相关,这个片段包含有 2 个开放阅读框:orf138 与 orf158,进一步研究发现,这 2 个片段在不育株中均有特异性表达,但 orf158 同时在可育株中也有表达,因而认为 orf138 与细胞质雄性不育有关。Ogura 雄性不育可能是由于 orf138 导致线粒体功能紊乱,致使小孢子发育受阻,进而不能产生正常花粉粒<sup>[13]</sup>。

研究结果发现,甘蓝 CMS451 的 mtDNA 中特异片段序列与 Bonhomme 报道的 Z12626 序列的一段完全一致,该序列为 Ogura 胞质不育系特异片段,包含有 orf138 和 orf158 共 2 个开放阅读框。说明甘蓝 CMS451 不育系来源与 Ogu-CMS 不育源,其不育性均与 orf138 有关。同时,甘蓝 CMS451 与早期 Ogu-CMS 不同,CMS451 不育系具有低温叶片不黄化、蜜腺发达、不育株率与不育度均为 100%、雌蕊正常、配合力高等优良特性,使之与早期 Ogu-CMS 不同,因此,甘蓝 CMS451 不育系具有较高实际利用价值,是一个有巨大利用潜力的甘蓝细胞质雄性不育系。

参考文献

[1] Touzet P, Budar F. Unveiling the molecular arms race between two conflicting genomes in cytoplasmic male sterility [J]. Trends in Plant

Science, 2004, 9: 568-570.  
[2] Kadowakik, Suzukit, Kazame S. A chimeric gene containing the 5' portion of *atp6* is associated with cytoplasmic male sterility of rice[J]. Mol Gen Genet, 1990, 224: 10-16.  
[3] Leroy P, Bazatoux S, Quetier F. A comparison between mitochondrial DNA of an isogenic male-sterile(S) and male-fertile(F) couple (HA89) of sunflower[J]. Cur Genot, 1985(9): 245-251.  
[4] Zobala G, Gabay-laughnan S, Laughna J R. The nuclear gene *Rf3* affects the expression of the mitochondrial chimeric sequence R implicated in S-type male sterility in maize[J]. Genetics, 1997, 147: 847-860.  
[5] Wang H M, Ketela T, Kellerw A, et al. Genetic correlation of the *orf224/atp6* gene region with polima CMS in Brassica somatic hybrids[J]. Plant Mol Biol, 1995, 27: 801-807.  
[6] 张德双, 张风兰, 王永健, 等. 大白菜 CMS96 细胞质雄性不育分子特性研究[J]. 分子植物育种, 2006, 4(4): 545-552.  
[7] Yesodi V, Izhar S, Hauschner H, et al. Homologous recombination involving *coxII* is responsible for mutation in the CMS-specific mitochondrial locus of *Petunia*[J]. Mol Gen Genet, 1997, 255: 106-114.  
[8] Nuzia S, Teodoro C, Laurence M D. Mitochondrial DNA and RNA isolation from small amounts of potato tissue[J]. Plant Molecular Biology Reporter, 2001, 19: 67.  
[9] 张战凤, 张鲁刚, 王琦, 等. 大白菜线粒体 DNA 有效、快速提取方法[J]. 生物技术, 2006, 16(3): 48-50.  
[10] Handa H, Nakajinia K. Different organization and altered transcription of the mitochondrial *atp6* gene in the male-sterile cytoplasm of rapeseed (*Brassica napus* L.) [J]. Current Genetics, 1992, 21(2): 153-159.  
[11] Grelon M, Budar F, Bonhomme S, et al. Ogura cytoplasmic male-sterility (CMS)-associated *orf138* is translated into a mitochondrial membrane polypeptide in male-sterile *Brassica* cybrids[J]. Mol Gen Genet, 1994, 243: 540-547.  
[12] Vedel F, Mathieu C, Lebacq P, et al. Comparative micromolecular analysis of the cytoplasm of normal and cytoplasmic male sterile *Brassica napus*[J]. Theor Appl Genet, 1982, 62(3): 255-262.  
[13] 陈夫贵, 赵利民, 巩振辉, 等. 新型大白菜细胞质雄性不育系 RC 的不育分子机理探讨[J]. 安徽农业大学学报, 2008, 35(3): 311-314.

# 常见观赏竹类过氧化物酶同工酶及可溶性蛋白分析

孙 婴 宁, 王 维 禹, 方 姝

(齐齐哈尔大学 生命科学与农林学院, 黑龙江 齐齐哈尔 161006)

**摘 要:**为了探讨常见观赏竹类的亲缘关系,采用聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)技术分析了竹类植物过氧化物酶同工酶和可溶性蛋白。结果表明:供试材料的过氧化物酶同工酶和可溶性蛋白的位点和数目均存在差异。相似性系数在 0.400~0.762,同一种属的金边富贵竹与青叶富贵竹相似性系数最高(0.762)。聚类结果显示,6 个供试样品聚成二大类,与形态分类结果基本一致。试验结果可以初步作出常见观赏竹类品种间亲缘关系的判定。

**关键词:**观赏竹;同工酶;过氧化物酶(POD);可溶性蛋白

**中图分类号:**S 336 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)21-0110-03

竹类植物是植物界中一个独特的类群,全世界共有木本竹类 70 余属,1 100 多种。在我国,具有较高观赏价值的竹种有 150 多种。观赏竹类植物色泽自然、竹香怡人,具有吸收紫外线的功能,能够净化空气,因此观赏价值很高。并且竹类植物比同面积的森林多放氧 35%,利用价值和生态价值极高,在室内绿化及园林景观建设中应用越来越广泛,能产生巨大的经济效益<sup>[1]</sup>。因此竹类植物研究愈来愈受到重视。

同工酶和可溶性蛋白都是基因表达的产物,对其谱带进行分析能够很好地判断基因的存在及其表达规律,能够从一定程度上揭示物种的遗传基础。同工酶

中以过氧化物酶(POD)同工酶研究最多。国内最早有关竹类植物同工酶的研究始于 1984 年,四川省林业科学研究所种质种源组研究提出竹叶的过氧化物酶同工酶分析可以用来鉴定和区分竹子的种类<sup>[2]</sup>,之后国内越来越多的同工酶研究用来分析竹类种间亲缘关系<sup>[3-6]</sup>,但这些研究大多集中在南天竹等一些南方的竹类植物上。该研究主要针对北方园艺市场中常见观赏竹类的过氧化物酶同工酶和可溶性蛋白进行分析,利用 5 个种属 6 个供试样品的可溶性蛋白和同工酶谱带差异对北方常见观赏竹类进行亲缘关系的鉴定,以期对北方园艺市场竹类植物的分类研究和品种选育提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

6 个供试样品的竹类植物全部购买自黑龙江省齐齐哈尔市龙沙区花鸟鱼市(表 1)。

**第一作者简介:**孙婴宁(1981-),女,辽宁抚顺人,硕士,讲师,现主要从事植物生理生态学研究。E-mail: progress123 @ 163.com。

**收稿日期:**2011-08-01

## Cloning and Sequencing of a Mitochondrial DNA Fragment Related to Cytoplasmic Male Sterile Line of Cabbage

XU Zhong-min, ZHANG En-hui, GONG Zhen-hui, CHENG Yong-an, MA Qing-shan

(College of Horticulture, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling, Shaanxi 712100)

**Abstract:** Taking ball leaves of cabbage in the period of ball as test materials, the special sequence related to CMS was amplified in the new cabbage CMS451 by PCR, and its homology was highly with Ogu-CMS published in NCBI. The results showed that CMS451 had the similar sterility with Ogu-CMS, but the gene related to CMS was relative conservative.

**Key words:** cabbage; CMS451; cytoplasmic male sterility(CMS); mitochondrial DNA(mtDNA)