

中国西藏芥菜型油菜遗传多样性研究

宋伟林, 许 鲲, 李 锋, 陈碧云, 蔡梦鲜, 吴金锋, 伍晓明*

(农业部油料作物生物学与遗传育种重点实验室, 中国农业科学院油料作物研究所, 湖北 武汉, 430062)

摘要: 利用 8 对 SRAP (sequence-related amplified polymorphism) 引物, 结合 20 个表型性状对 73 份中国西藏及 35 份包含中国西南地区、西北地区和印度的芥菜型油菜进行了遗传多样性分析。8 对 SRAP 引物共扩增出 139 个带谱, 34 个多态性条带, 多态性带的比例为 24.5%; SRAP 分子标记结果的聚类分析将材料分为 4 个大类, 材料按地区聚集现象明显; 中国西藏地区材料的遗传多样性指数最高。对西藏材料的 8 个重要表型性状的变异程度分析显示, 变异系数最高的性状为全株角果数, 达 41.29%。表型性状聚类结果表明除中国西北材料外, 其它材料按地区聚集现象明显。综合分子标记和表型性状分析结果表明, 中国西藏芥菜型油菜具有丰富的遗传多样性, 其程度与地理环境和气候条件有十分重要的关系。不同地区芥菜型油菜遗传多样性程度从大到小依次为: 中国西藏、中国西南地区、中国西北地区、印度。

关键词: 中国西藏; 芥菜型油菜; 遗传多样性; SRAP; 表型性状

中图分类号: S326, S565.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1007-9084(2013)02-0153-09

Genetic diversity of *Brassica juncea* from Tibet Autonomous Region of China

SONG Wei-lin, XU Kun, LI feng, CHEN Bi-yun, CAI Meng-xian, WU Jin-feng, WU Xiao-ming*

(Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Oil Crops,

Oil Crops Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430062, China)

Abstract: Genetic diversity of 73 mustard (*Brassica juncea* L.) accessions from Tibet Autonomous Region of China and 35 from southwest of China, northwest of China and India were analyzed using 8 SRAP (sequence-related amplified polymorphism) primers combinations on 20 phenotypic traits. SRAP results showed that a total of 139 bands were produced with polymorphism rate of 24.5%. Clustering result of SRAP showed that 108 accessions were divided into 4 groups, and the accessions in each group were mainly from the same region. Genetic diversity index of China Tibet accessions was higher than others. Variation degree of 8 important phenotypic traits of Tibet accessions showed the highest variation coefficient was 41.29% on silique number per plant. Clustering analysis of phenotypic traits showed that 108 materials were clearly divided into different groups based on their original regions except the accessions from Northwest. In conclusion, Tibet mustard had abundant genetic diversity. The order of genetic diversity indexes from top to bottom as follows: China Tibet, Southwestern China, Northwestern China and India. Mustard genetic diversity was mainly associated with geological and biological conditions.

Key words: Tibet of China; *Brassica juncea* L.; Genetic diversity; SRAP; Phenotypic traits

芥菜型油菜 (*Brassica juncea* L.) 是中国重要的油料作物之一, 种植区域主要分布在西南和西北地区^[1]。芥菜型油菜具有耐热、耐贫瘠、抗旱等特点^[2], 优异的芥菜型油菜种质资源在育种中应用广泛。同时也有学者通过种间杂交技术将芥菜型优异

材料中蕴藏的有利基因导入生产中主要推广的甘蓝型油菜^[3]。对芥菜型油菜遗传多样性的合理评价是种质利用的前提。早期我国学者利用 RAPD 技术对芥菜型油菜的遗传多样性进行了研究, 结果表明不同品种间有较大的遗传差异, 地域环境和生态条

件对遗传多样性有重要的影响^[4~7]。

西藏由于独特的地理分布和气候环境,其芥菜型油菜品种呈现出较为丰富的多样性,可为油菜品种改良提供丰富多样的种质资源^[8~10]。目前西藏芥菜型油菜遗传多样性分子标记主要应用 RAPD 技术^[4,5,7],缺点是重复性差,不稳定。相关序列扩增多态性标记(SRAP)由美国加州大学蔬菜系 Li 与 Quiros^[11]于 2001 年开发,是一种以 PCR 技术为基础的分子标记,具有操作简单、快速、不需预知物种序列信息和在基因组中分布均匀等特点^[12~15],比如石斛种质的遗传多样性研究中就发现 SRAP 聚类结果与基于传统形态学特征的聚类结果一致性较高^[16]。甘蓝型油菜遗传多样性和区域划分中也有 SRAP 标记的应用,结果也表明其经济性和可靠性^[17,18]。

尽管目前已有关于西藏芥菜型油菜的遗传多样性分析,如徐爱遐等^[20]对西部不同省区的芥菜型油菜的多样性研究,但涉及的材料数只有 10 份,非常少。而在国家油料作物中期库保存的西藏芥菜型材料有近百份,存在的遗传变异情况并不清楚,因此对它们开展相关分析对利用这些种质意义重大。本文旨在通过结合表型和利用 SRAP 分子标记技术深入研究西藏芥菜型油菜品种间遗传关系的远近和多样性程度及其与西部其它地区资源的遗传关系,为进一步建立芥菜型油菜核心资源打下基础,也为更好地保存利用这些资源提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

108 份材料均由中国农业科学院油料作物研究所国家油料作物中期库提供。选用材料以来自西藏地区的芥菜型油菜为主,辅以西藏周边地区和印度的材料。其中中国西藏地区材料 73 份,中国西北地区 19 份,中国西南地区 10 份,中国安徽 2 份和印度 4 份。详细材料名称和来源见表 1。

1.2 表型性状数据的获取

20 个表型性状中农艺性状 10 个(生育日数、叶型、花色、株高、分枝高度、全株角果数、一次分枝数、每果粒数、种皮色、千粒重),抗病性性状 3 个(菌核病、病毒病、霜霉病),品质性状 7 个(含油率、棕榈酸、硬脂酸、油酸、亚油酸、亚麻酸、芥酸)。数据来源于中国油菜品种资源目录^[20],种皮色由同一个人对应每一份种子进行核对与重新确认,3 个抗病性性状参照周必文^[21]的方法进行统一鉴定。全部数

据均从油菜种质资源目录与油菜种质资源中期库数据库内调用。

1.3 DNA 提取

每份材料均取 30~40 个单株的幼嫩叶片。总 DNA 用 SDS 法大量提取^[22],并用紫外可见分光光度计检测浓度,同时用 0.8% 琼脂糖凝胶电泳观察 DNA 的完整性和质量,样品 DNA 浓度最终稀释到 50ng/ μ L 用于分子标记分析。

1.4 分子标记分析

SRAP 标记正向引物 EM01~EM10,反向引物 ME01~ME07,共有 70 对组合,从中筛选出 8 对扩增效果较好的引物用于本研究^[11,23],引物组合见表 2。PCR 体系含 1 \times PCR 反应缓冲液、200 μ mol \cdot L⁻¹ dNTPs、1.5mmol \cdot L⁻¹ MgCl₂、1U Taq DNA 聚合酶、50ng DNA 模板、引物各 30ng,加超纯水至 20 μ L。程序为 94 $^{\circ}$ C 预变性 2min,94 $^{\circ}$ C 变性 1min,35 $^{\circ}$ C 复性 1min,72 $^{\circ}$ C 延伸 1min,5 个循环;94 $^{\circ}$ C 变性 1min,50 $^{\circ}$ C 复性 1min,72 $^{\circ}$ C 延伸 1min,35 个循环;72 $^{\circ}$ C 延伸 5min,4 $^{\circ}$ C 保存。扩增产物在 6% 变性聚丙烯酰胺凝胶上分离,银染法显色。

1.5 数据分析

利用软件 NTSYS-pc 2.1 对分子标记数据进行主坐标分析以求算 DICE 相似系数矩阵,然后进行类平均法(UPGMA)聚类。利用 SPSS 软件对 20 个表型性状标准化无量纲处理,而后进行欧式距离聚类。遗传参数采用 Popgene1.32 软件对各个生态区域进行 Nei's 基因多样性 Simpson 指数(H) Shannon's 指数(I)的计算与分析。

2 结果与分析

2.1 表型性状的变异

将 73 份西藏地方资源的 7 个重要农艺性状加上含油率共 8 个重要性状予以变异程度分析。从表 3 可以看出全株角果数的变异系数最高,变幅为 109.7~713 个,变异系数为 41.29%。生育日期变幅为 130~161d,均值为 155d,变异系数为 5.08%。西藏油菜主要是春播品种,大多数品种是晚熟品种^[24],生育期变异系数较小,与西藏芥菜型油菜此特点相似,也说明西藏特殊气候和地理条件下自然选择的一致性。千粒重最大达 8.00g,平均值达 5.13g,这与西藏高海拔的地理条件有关,已有研究表明野生油菜的千粒重随海拔升高有增大的趋势^[25]。含油率普遍较高,变幅为 37.65%~51.94%,均值为 44.73%。

表1 参试材料编号、名称及来源

Table 1 List of codes, names and origins of *B. juncea* accessions in this study

编号 Code	品种名称 Name	来源 Origin	编号 Code	品种名称 Name	来源 Origin
1	日油-2 Riyou-2	中国西藏日喀则 Rikaze, Tibet of China	55	桑拉 Sangla	中国西藏日喀则 Rikaze, Tibet of China
2	2620	中国西藏拉萨市 Lasa, Tibet of China	56	白鉴 Baijian	
3	农牛 Nongniu		57	黄辣芥 Huanglajie	
4	江孜 Jiangzhi	中国西藏日喀则 Rikaze, Tibet of China	58	油菜 Youcai	
5	德庆芥 Deqingjie	中国西藏拉萨市 Lasa, Tibet of China	59	油菜白 Youcaibai	
6	堆龙中油菜 Duilongzhong		60	日农家种-20 Rinongjiazhong-20	
7	丁青大油 Dingqingdayou		中国西藏丁青县 Changdu, Tibet of China	61	
8	达孜小油菜 Dazhixiaoyoucai	中国西藏拉萨市 Lasa, Tibet of China	62	日农河 9042 Rinonghe9042	
9	错那油 Cuonayou	中国西藏山南地区 Shannan, Tibet of China	63	波密素通 Bomisutong	中国西藏林芝 Linzhi, Tibet of China
10	曲多 Quduo		64	德庆大粒 Deqingdali	中国西藏拉萨市 Lasa, Tibet of China
11	壳拉-1 Qiaola-1		65	234	
12	新巴社 Xinbashe		66	84103	
13	山油 5 号 Shanyou 5		67	藏油一号 Zangyou 1	
14	长腿油 Changtuiyou		68	拉红 Lahong	
15	小粒黄油 Xiaolihuangyou		69	84178	
16	江孜油芥 Jiangziyoujie		70	拉芥 Lajie	
17	马朵白子 Maduobaizi		71	195	
18	当地无名 Unknown		72	408	
19	拉王 Lawang		73	三筒油菜 Sangtongyoucai	
20	油菜刚目 Youcaigangmu		74	克图红辣芥 Ketuhonglajie	中国青海门源县 Menyuan, Qinghai of China
21	黄籽芥 Huangzjie		75	都兰牛尾梢 Dulanniuweishao	中国青海都兰县 Dulan, Qinghai of China
22	管松 Guansong		76	天祝野生小油菜 Tianzhuyeshengyoucai	中国甘肃天祝县 Tianzhu, Gansu of China
23	山长 Shanchang		77	黄芥油菜 Huangjieyoucai	中国内蒙兴和县 Xinhe, Neimeng of China
24	沙加 Shajia		78	Kranti	印度 India
25	充堆三队 Chongduisandui		79	Krishna	
26	觉拉队 Jueladui		80	Dusa Bold	
27	东噶社 Donggashe		81	RH-30	中国安徽宿松县 Susong, Anhui of China
28	扎洞 Zhadong		82	宿松野芥 Susongyejie	
29	觉拉油 Juelayou		83	合肥芥菜 Hefei jiecail	中国安徽合肥市 Hefei, Anhui of China
30	曲卡 Quka		84	安康牛蹄芥菜 Ankangniutijiecail	中国陕西安康县 Ankang, Shanxi of China
31	90-5		85	宝鸡芥菜 Baojijiecail	中国陕西宝鸡市 Baoji, Shanxi of China
32	绒巴 Rongba		86	子洲周硷黄芥 Zizhouzhoujianhuangjie	中国陕西子洲县 Zizhou, Shanxi of China
33	程巴 Chengba		87	台怀黄芥 Taihuaihuangjie	中国山西五台县 Wutai, Shanxi of China
34	山株 1 Shanzhu1		88	大同南郊大芥 Datongnanjiaodajie	中国山西大同市 Datong, Shanxi of China

续表1

编号 Code	品种名称 Name	来源 Origin	编号 Code	品种名称 Name	来源 Origin
35	昂白油 Angbaiyou		89	安康荻风满园花 Ankangjianfengman yuanhua	中国陕西安康县 Ankang, Shanxi of China
36	江孜芥 Jiangzijie		90	鄢陵芥菜油菜 Yanlinjiecaiyoucai	中国河南鄢陵县 Yanling, Henan of China
37	曲阳火艳梢 Quyanguoyanshao		91	南充油菜子 Nanchongyoucaizi	中国四川南充县 Nanchong, Sichuan of China
38	年河一号 Nianhe I		92	会理高足子 Huilibgaozuzi	中国四川会理县 Huili, Sichuan of China
39	江孜301 Jiangzi301		93	甘孜拖坝野生油菜 Ganzhituobayeshngyoucai	中国四川甘孜州 Ganzhi, Sichuan of China
40	7202		94	黄芥籽 Huangjiezi	中国甘肃榆中县 Yuzhong, Gansu of China
41	仁油 Renyou		95	康乐大黄芥 Kangledahuangjie	中国甘肃康乐县 Kangle, Gansu of China
42	曲宝 Qubao		96	红油菜 Hongyoucai	中国贵州铜仁县 Tongren, Guizhou of China
43	桑日 Sangri	中国西藏日喀则 Rikaze, Tibet of China	97	芥菜油菜子 Jiecaiyoucaizi	中国贵州毕节县 Bijie, Guizhou of China
44	白乐 Baile		98	威宁大黑油菜 Weiningdahaiyoucai	中国贵州威宁县 Weining, Guizhou of China
45	隆一号 Longyihao		99	曲靖芥菜 Qujingjiecai	中国云南曲靖县 Qujing, Yunnan of China
46	江D JiangD		100	泾阳油菜 Jinyangyoucai	中国陕西泾县 Jingxian, Shanxi of China
47	日油-1 Riyou-1		101	丽江祥云乡黄菜子 Lijiangxiangyunhuangcaizi	中国云南丽江市 Lijiang, Yunnan of China
48	龙马芥不油 Longmajiebuyou		102	威信大金黄 Weixindajinhuang	中国云南威信县 Weixin, Yunnan of China
49	德林 Delin		103	保山黄油菜 Baoshanhuangyoucai	中国云南保山县 Baoshan, Yunnan of China
50	芥子 Jiezi		104	玛纳斯黄油菜 Malasihuangyoucai	中国新疆玛纳斯县 Malasi, Xinjiang of China
51	黄油菜 Huangyoucai		105	乌鲁木齐油菜 Urumqiyoucai	中国新疆乌鲁木齐 Urumqi, Xinjiang of China
52	几单曲芥 Jidanquqi		106	巴里坤黄油菜 Balikunhuangyoucai	中国新疆巴里坤县 Balikun, Xinjiang of China
53	多落 Duoluo	107	疏附油菜 Shufuyoucai	中国新疆疏附县 Shufu, Xinjiang of China	
54	措果 Cuoguo	108	198		中国西藏拉萨市 Lasa, Tibet of China

表2 SRAP引物序列与名称

Table 2 Sequences of SRAP primers used in this study

引物名称 Primer name	引物序列(5'-3') Primer sequence	引物名称 Primer name	引物序列(5'-3') Primer sequence
ME01	TGAGTCCAAACCGGATA	EM01	GACTGCGTACGAATTAAT
ME03	TGAGTCCAAACCGGAAT	EM02	GACTGCGTACGAATTTGC
ME04	TGAGTCCAAACCGGACC	EM04	GACTGCGTACGAATTTGA
ME05	TGAGTCCAAACCGGAAG	EM06	GACTGCGTACGAATTGCA
ME07	TGAGTCCAAACCGGTTG	EM07	GACTGCGTACGAATTATG

2.2 依据表型性状的聚类

对全部108份材料的20个表型性状进行聚类分析,得到聚类图(图1A)。根据聚类图,所选材料可分为I、II、III、IV、V5个类群。I类群中包含3份来自中国西北地区和4份来自印度的资源,所选材料中的印度资源全部分布在这一类群中。II类群中包含75份资源,其中72份来自西藏地区,3份来自西北地区,全部西藏材料的98.6%分布在这一类

群。II类群可再分为II-I、II-II两个亚类。II-I亚类包含47份资源,全部来自西藏地区,其中包括20份日喀则地区资源、19份山南地区资源、7份拉萨地区资源和1份林芝资源;II-II亚类包含25份来自西藏地区和3份来自西北地区的资源,其中西藏日喀则10份、山南7份、拉萨7份、丁青1份,西北地区甘肃和青海资源分别1份和2份。III类群中共12份材料,所选材料中的10份西南地区

材料全部分布在这一类群,另外还包含 1 份西北地区材料和 1 份安徽地区材料。IV 类群中包含 9 份资源,其中西北地区资源 8 份、西藏地区资源 1 份。V 类群包含 3 份陕西、1 份河南以及 1 份安徽的资源。整体来看,中国西藏地区资源、西南地区资源和印度资源分别有非常明显地按地区来源聚集的现象,中国西北地区资源在 5 个类群中的分布相对分散,IV 类群中西北地区资源占 88.9%,但这一类群中西北地区资源只占全部所选西北地区材料的 42.1%。

表 3 西藏芥菜型油菜种质资源部分性状的变异情况
Table 3 Variations of partial characteristics for *B. juncea* germplasm resources in Tibet

性状 Traits	最小值 Min	最大值 Max	平均值 Mean	变异系数 CV/%
生育日数 Growth period/d	130	161	155	5.08
株高 Plant height/cm	104.00	264.00	178.35	21.62
分枝高度 Branch height/cm	32.00	115.00	56.43	37.54
一次分枝数 Primary plant branch	3.70	11.00	5.66	22.87
全株角果数 Siliques per plant	109.70	713.00	268.85	41.29
每果粒数 Seeds per pod	11.00	20.00	15.24	12.10
千粒重 Thousand seeds weight/g	2.00	8.00	5.13	20.99
含油率 Oil content/%	37.65	51.94	44.73	6.41

2.3 八对 SRAP 引物分子标记结果

8 对 SRAP 引物 (EM04/ME01、EM06/ME04、EM06/ME05、EM01/ME03、EM02/ME01、EM07/ME07、EM02/ME07、EM01/ME04) 分别记录到谱带数 22、21、17、10、21、12、16、20 条(表 4), 总共 139 条, 多态性条带共有 34 条, 占总带数的 24.5%, 多态性比例高。图 2 为引物组合 EM04/ME01 电泳谱带图片。Maker 为 Trans2K Plus DNA Marker, 条带组成依次为: 100、250、500、750、1 000、2 000、3 000 和 5 000bp。

表 4 SRAP 引物组合、扩增带数及多态性带数

Table 4 Total and polymorphic fragments number per SRAP primer combination

引物组合 Primer combination	总带 Total fragment	多态性带 Polymorphic fragment	多态性比率 Polymorphic ratio%
EM04/ME01	22	5	22.8
EM06/ME04	21	6	28.6
EM06/ME05	17	6	35.2
EM01/ME03	11	2	18.2
EM02/ME01	21	3	14.3
EM07/ME07	12	3	25.0
EM02/ME07	16	5	31.3
EM01/ME04	20	4	20.0
合计 Total	139	34	24.5

2.4 基于 SRAP 标记的主成分分析和聚类分析

应用 NTSYS - pc 2.1 对 108 份材料进行主成分分析得到三维空间聚类图(图 3)。从主坐标分析结果看,材料主要被分割在 a、b、c 三个空间里,三个空间共包含 106 份材料,占全部材料的 98.15%,两份西藏材料游离在三个空间之外。71 份中国西藏材料被分割为 a、b 两个空间,a 空间包含 62 份,b 空间包含 7 份,总体来说,71 份中国西藏材料相对集中,与其它地区芥菜型油菜在空间上明显分离。有 35 份材料被分到 c 空间里,其中包括中国西北地区 19 份、西南地区 10 份、安徽 2 份和印度 4 份;从总体上来说,印度的材料相对集中,中国西南品种和西北材料之间也有明显分离。

利用分子标记分析结果对所选材料进行了 UP-GMA 聚类。从聚类结果看(图 1B),108 份油菜在相似系数 0.330~0.982 范围内聚类,拉王和黄油菜相似性系数最高。在相似系数 0.683 处划分为 A、B、C、D 四个大族。A 族共 99 份材料;B 族 7 份材料,全部来自西藏;C 族和 D 族各一份,分别是来自西藏拉萨市堆龙县的堆龙中油菜和西藏昌都丁青县的丁青大油。A 族在相似系数 7.858 处又可分为 A-I、A-II、A-III、A-IV 四个亚族。A-I 亚族包含 63 份材料,全部是来自西藏地区的资源;A-II 亚族共有 34 份材料,其中包括 18 份西北地区资源、10 份西南地区资源、4 份印度资源、1 份西藏资源和 1 份安徽资源;A-III 和 A-IV 亚族各包含一份材料,分别是来自安徽合肥市的合肥芥菜和来自河南鄢陵县的鄢陵芥菜油菜。4 份印度油菜聚集在一起,和其它地区材料相分离,有较近的遗传距离。中国西南地区 and 西北地区材料也有比较明显的聚集,19 份西北材料中的 17 份资源聚在同一个簇,10 份西南材料中的 8 份资源聚在同一个簇,都表现出较近的遗传距离。

2.5 不同地区多样性指数分析

根据地域分布把西藏 73 份材料分为一组;再把西藏 73 份材料按照不同地区分 3 组,西藏拉萨市 15 份为一组,西藏日喀则 30 份为一组,西藏山南地区 26 份为一组;中国西北地区 19 份为一组;中国西南地区 10 份为一组;印度 4 份为一组,共 7 组。利用 8 对 SRAP 引物分析不同组别的多样性水平,各地区多样性指数见表 5。整个西藏地区 73 份材料的整体遗传多样性指数 Simpson 指数达 0.164 8 (H),Shannon 指数 0.259 3 (I)。西藏各地区中,山南地区最高,Simpson 指数 0.124 (H)、Shannon 指数 0.191 (I)。西藏之外其它地区材料整体多样性指数

都低于西藏材料,印度地区材料最低。

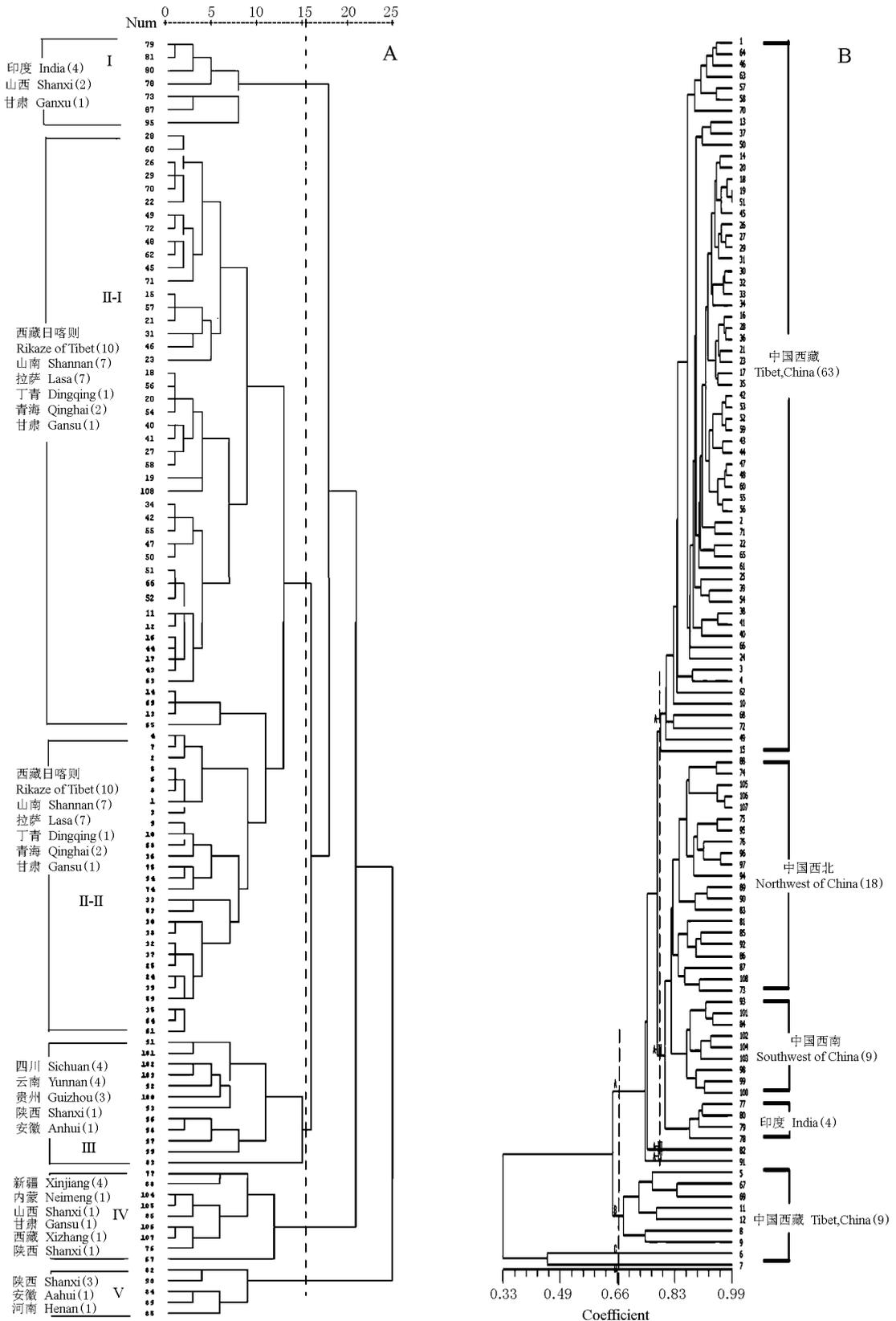


图1 表型性状分析(A)和SRAP标记分析(B)聚类图

Fig.1 Dendrogram of *B. juncea* based on phenotypic traits(A) and SRAP analysis (B)

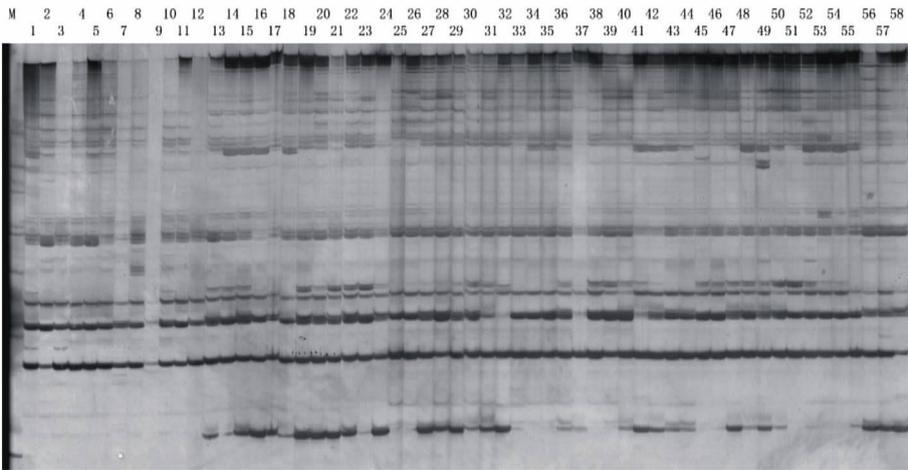


图2 引物 EM04/ME01 在 1~58 号材料中的扩增效果
Fig.2 DNA fragments amplified by primer EM04/ME01 in DNA samples No. 1 to 58

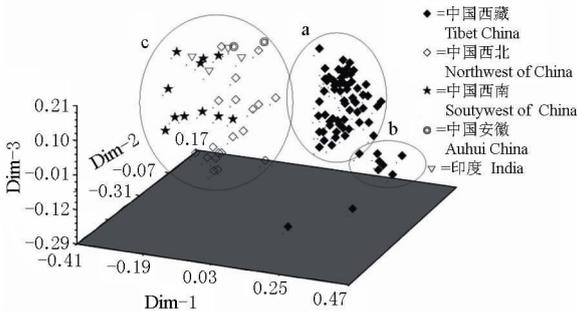


图3 基于 8 对 SRAP 引物的 108 份油菜品种三维 PCA 分析图
Fig.3 3D PCA of 108 varieties base on 8 SRAP primers

和 4 份印度地区在两种聚类分析结果中都分别全部聚集在一起。总体来看,除中国西北地区材料的分子标记分析结果与表型性状聚类分析结果存在较大差异外,中国西藏、西南和印度等地区材料在两类聚类分析中结果基本一致。

3 讨论

西藏由于其特殊的地理位置,交通不便,农业生产相对落后,受现代农业冲击较小,因此保留有许多珍贵的芥菜型油菜地方品种。不仅如此,西藏独特的地形和复杂的气候环境赋予了西藏芥菜型油菜丰富的遗传多样性^[7,9]。本研究将 73 份西藏材料的 8 个表型性状的变异程度进行分析,结果显示西藏芥菜型油菜的表型存在丰富的变异,也发现有重要利用价值的表型性状。由于受高海拔等特殊生长环境影响,西藏芥菜型油菜具有较高的千粒重和含油率^[26],在油菜育种中有重要的利用价值。优异的芥菜型油菜品种可在具有特殊环境的边远地区直接推广利用,也可作为杂交育种和品种改良中的材料^[27]。表型性状聚类将本研究的 108 份材料分为 5 个类群,中国西藏地区资源、西南地区资源和印度资源分别都有非常明显的按地区聚集现象,中国西北地区资源分布相对分散。其中西藏材料的聚集现象最明显,98.6% 的西藏材料分布在第 II 类群,与其它地区材料明显分离,显示了西藏地区芥菜型油菜在特殊生长环境下表型性状的独特性。

SRAP 分子标记结果显示所选材料的多态性非常丰富,多态性比率达 24.5%。108 份材料的 SRAP 分子标记聚类结果显示不同地区材料都有按照地区集中的现象,其中 86.3% 的西藏材料属于 A-I 亚族,西藏地区材料与其它地区材料分离明显。西藏

表 5 各个地区芥菜型油菜的多样性指数

Table 5 Genetic diversity of *B. juncea* accessions from different regions

地区 Region	H 指数 Shannon index H	I 指数 Simpson index I
中国西藏 Tibet of China	0.164 8	0.259 3
中国西藏拉萨市 Lasa, Tibet of China	0.109 9	0.169 5
中国西藏日喀则 Rikaze, Tibet of China	0.087 7	0.144 2
中国西藏山南地区 Shanman, Tibet of China	0.124	0.191
中国西北 Southwest of China	0.113	0.173 4
中国西南 Northwest of China	0.123 7	0.190 1
印度 India	0.055 3	0.083 3

2.6 分子标记与表型性状聚类分析结果的比较

西藏地区 73 份材料,在表型性状聚类分析结果中,72 份聚集在一起,均聚在类群中,占西藏材料的 98.6%;分子标记聚类分析结果中,西藏地区材料在 A-I 亚族和 B 族中有 70 份,占总数的 95.9%。表型性状聚类分析结果中,西北地区材料在 IV 类群中分布最多,也只占全部所选西北地区材料的 42.1%;分子标记聚类分析结果中西北地区材料主要聚集在 A-II 类群中,占 94.7%。10 份中国西南地区材料

地区材料在遗传上相对独立性,可能是因为西藏地处高原地带,无论是人为还是自然传播都不方便,造成西藏地区资源遗传的隔离。73份西藏芥菜型油菜相似系数差异较大,介于0.330~0.998之间。前人分析我国西部白菜型油菜和芸芥在内的108份材料,其遗传相似系数在0.378~0.936之间^[19]。主成分分析结果与聚类结果基本一致。遗传多样性指数分析显示,整个西藏地区73份材料的整体遗传多样性指数高于其它地区材料,各地区的遗传多样性指数显示芥菜型油菜遗传多样性丰富程度为中国西藏>中国西南地区>中国西北地区>印度。以上结果表明,由于西藏特殊的自然条件和长期的进化,西藏芥菜型油菜拥有丰富的遗传多样性。

安贤惠和蒲晓斌曾利用RAPD技术研究不同地区芥菜型油菜的遗传多样性,认为地理差异和生态环境对遗传多样性有重要的影响,品种分类主要遵循地域和生态环境规律^[5,6]。通过本研究结果可以看出,无论遗传还是表型方面,西藏芥菜型油菜与其它地区品种都有明显的差别,聚类分析显示西藏材料与其它地区材料有明显的分离,也验证了西藏品种遗传系统的独立^[19]。在分子标记分析和表型分析中,西藏材料都表现出了丰富的多态性,尤其在SRAP标记聚类分析中,在其它地区材料聚集处有西藏材料的出现,而西藏材料聚集处,无其它地区材料,由此推测,中国西藏可能是芥菜型油菜的起源中心。

由于表型性状是受环境和遗传两大因素所控制,分子标记分析和表型性状分析结果有可能会存在差异^[28]。本研究中西北地区材料在分子标记聚类结果中分布较为集中,而在表型性状聚类结果中分布较分散,这说明该地区的材料在遗传上相似,但由于所处的生态环境差异较大,从而导致表型上存在较大的差别。这也表明在多样性研究中,需要将分子标记分析和表型性状分析相结合。

参考文献:

- [1] 刘后利. 油菜遗传育种学[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2000. 26-31, 75-80, 82-89, 289-316.
- [2] 刘淑艳, 刘忠松, 官春云, 等. 芥菜型油菜种质资源研究进展[J]. 植物遗传资源学报, 2007, 8(3): 351-358.
- [3] 刘忠松, 官春云, 陈社员, 等. 芥菜型油菜与甘蓝型油菜种间杂种后代的RAPD分析[J]. 中国农业科学, 2002, 35(8): 1010-1015.
- [4] 李汝刚, 朱莉, 伍宁丰, 等. 我国芥菜型油菜品种遗传多样性初探[J]. 生物技术通报, 1997(5): 26-31.
- [5] 安贤惠, 陈宝元, 傅廷栋, 等. 利用RAPD标记研究中国芥菜型油菜遗传多样性[J]. 华中农业大学学报, 1999, 18(6): 524-527.
- [6] 蒲晓斌, 王茂林, 栾丽, 等. 中国西南地区芥菜型油菜资源遗传多样性分析[J]. 中国农业科学, 2007, 40(8): 1610-1621.
- [7] 王建林, 旦巴, 胡书银, 等. 西藏油菜遗传多样性和系统发生关系的RAPD分析[J]. 西藏科技, 2002(11): 17-24.
- [8] 栾运芳, 胡书银, 王建林, 等. 西藏油菜品种资源特征特性的研究与利用[J]. 西藏科技, 2002(11): 25-28.
- [9] 王建林, 胡书银, 栾运芳, 等. 西藏芥菜型油菜品种资源及其开发利用的研究[J]. 西藏科技, 2002(11): 41-43.
- [10] 胡书银, 王建林, 旦巴, 等. 西藏芥菜型油菜资源的地理分布与表型分化研究[J]. 国土与自然资源研究, 2002, 5(4): 315-319.
- [11] Li G, Quiros C F. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP) a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in Brassica [J]. Theor Appl Genet, 2001, 103: 455-461.
- [12] 李巧燕, 林瑞庆, 朱兴全, 等. SRAP分子标记及其应用概述[J]. 热带医学杂志, 2006, 6(4): 467-470.
- [13] 王从彦. SRAP标记在植物遗传多样性中的应用进展[J]. 生物技术, 2011, 21(5): 87-90.
- [14] Polat I, Kacar Y A, Yesiloglu T, et al. Molecular characterization of sour orange (*Citrus aurantium*) accessions and their relatives using SSR and SRAP markers [J]. Genet Mol Res, 2012, 11(3): 3267-3276.
- [15] Zhang Q S, Xu B L, Liu L D, et al. Analysis of genetic diversity among Chinese *Pleurotus citrinopileatus* Singer cultivars using two molecular marker systems (ISSRs and SRAPs) and morphological traits [J]. World J Microbiol Biotechnol, 2012, 28(5): 2237-2248.
- [16] 樊洪泓, 李廷春, 邱婧, 等. 石斛属几种植物遗传关系的SRAP和RAPD比较分析[J]. 2010, 41(4): 627-632.
- [17] 文雁成, 王汉中, 沈金雄, 等. 用SRAP标记分析中国甘蓝型油菜品种的遗传多样性和遗传基础[J]. 中国农业科学, 2006, 39(2): 246-256.
- [18] 邹小云, 宋来强, 陈伦林, 等. 利用SRAP标记划分甘蓝型油菜杂种优势群[J]. 江西农业学报, 2011, 23(4): 1-4.
- [19] 徐爱遐, 马朝芝, 肖恩时, 等. 中国西部芥菜型油菜遗传多样性研究[J]. 作物学报, 2008, 34(5): 754-763.
- [20] 中国农业科学院油料作物研究所. 中国油菜品种资源目录(续编一)[M]. 北京: 农业出版社, 1990.

- [21] 周必文,陈道炎,余琦,等. 油菜多抗性材料的鉴定与筛选[J]. 中国油料,1993,15(1):14-17.
- [22] 王珍,方宣钧. 植物DNA分离[J]. 分子植物育种,2003,1(2):281-288.
- [23] 许鲲,陆光远,伍晓明,等. 欧洲野生甘蓝的核质遗传多样性和群体遗传结构分析[J]. 中国油料作物学报,2011,33(2):111-117.
- [24] 栾运芳,胡书银,王建林,等. 西藏油菜生长发育规律的研究[J]. 西藏科技,2002(7):31-33.
- [25] 卓嘎,旦巴,何燕,等. 西藏野生油菜种质资源千粒重分析[J]. 种子,2008,27(12):72-76.
- [26] 王建林,次仁央金,大次卓嘎,等. 西藏及周边地区芥菜型油菜农艺性状比较研究[J]. 植物遗传资源学报,2011,12(4):562-569.
- [27] 钱秀珍,伍晓明,胡琼,等. 油菜种质资源的搜集鉴定保存和利用[J]. 中国油料,1996,18(1):60-63.
- [28] 王胜军,陆作楣,万建民,等. 采用表型和分子标记聚类研究杂交籼稻亲本的遗传多样性[J]. 中国水稻科学,2006,20(5):475-480.

(责任编辑:郭学兰)