

[文章编号] 1000-2782(1999)04-0019-04

用 RAPD 再探核果类果树间亲缘关系

沈 向¹, 郭卫东¹, 任小林¹, 李嘉瑞¹, 郑学勤²

(1. 西北农业大学园艺系, 陕西杨陵 712100)

(2. 热带作物生物技术国家重点实验室, 海南儋州 571737)

[摘 要] 应用随机扩增多态性 DNA (Random amplified polymorphic DNA, RAPD) 技术, 对核果类果树 (桃、杏、李、樱桃等) 间的亲缘关系进行了研究。结果表明, 杏与李间有着较大的遗传差异, 具有不同的发育过程, 中国樱桃和桃是由李分化形成的, 杏与甜樱桃间有一定亲缘关系。

[关键词] 核果类; RAPD; 亲缘关系

[中图分类号] S662.2 [文献标识码] A

桃、杏、李、樱桃等核果类果树在植物分类学上相似性很高, 因此, 长期以来, 对其亲缘关系一直存在不同看法。根据形态学分类的结果, 主要有两种观点, 一是将其归为 1 个属或 1 个亚属, 二是将其分为 2 个属或 2 个亚属; 应用同工酶和花粉孢粉学研究的结果多倾向于第一种观点^[1, 2]。RAPD 自问世以来, 在植物分类学上得到广泛的应用^[3-5], 由于它直接以遗传物质 DNA 为研究对象, 同时多态性位点远超过同工酶, 基本不受植物发育阶段的影响, 因此, 应用这一分子生物学新技术对核果类果树的亲缘关系可以进行较深层次的研究。

1 材料与方 法

1.1 材 料

核果类果树枝条: 1. 杏 (陕西小曹杏), 2. 桃 (砂子早生桃), 3. 油桃 (NJN 72), 4. 李 (辽宁盖县紫李), 5. 中国樱桃 (实生), 6. 甜樱桃 (那翁) 于 1996 年 9 月 5 日采自西北农业大学资源圃, 取嫩芽于体积分数 70% 乙醇中消毒, 液氮冷冻 1.5 min 后移至 -70℃ 冰箱保存。

1.2 方 法

基因组 DNA 提取方法及 RAPD 扩增程序见文献 [6]。根据 PCR 产物照片计算其相似系数 (SC) 和遗传距离 (ID): $SC = 2N_{ab} / (N_a + N_b)$ (N_a, b 为 2 样本共有带数, $N_a + N_b$ 为 2 样本所有带数); $ID_1 = 1 - SC$, $ID_2 = -\ln(SC)$ 。数据聚类采用欧氏距离 UPGMA (unweighted pair group arithmetic average) 法^[6]。

[收稿日期] 1998-08-25

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (39470501)

[作者简介] 沈 向 (1966-), 男, 讲师, 博士

2 结果与分析

2.1 RAPD扩增效果

共用 26 个经过筛选的引物对上述 6 个样本进行 RAPD 分析,有 22 个引物在 6 个样本上均获得扩增带,扩增带总数 623 条,平均每引物可获带 4.7 条,最少的可获 1 条扩增带,最多的达 12 条,扩增带长度 0.4~2.6 kb.其中 O PB06 扩增结果见图 1 和表 1.

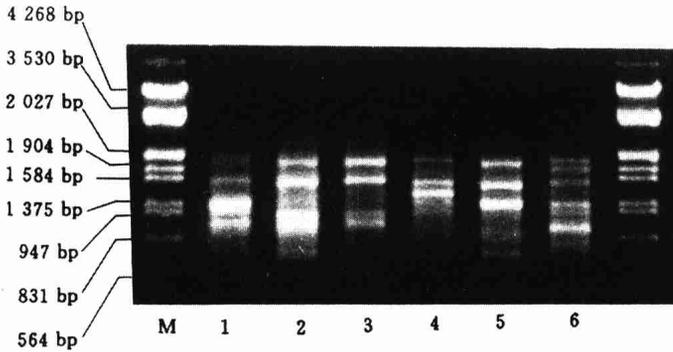


图 1 随机引物 O PB06 扩增结果电泳图谱

表 1 随机引物 O PB06 扩增结果统计

遗传片段 /bp	样本号					
	1	2	3	4	5	6
2 673	0	1	1	0	0	1
2 245	0	1	1	1	1	0
2 027	0	1	1	0	0	1
1 904	1	1	1	1	1	1
1 584	0	0	0	0	0	0
1 508	0	1	1	1	0	0
1 316	0	0	0	0	1	1
1 246	1	1	1	1	1	0
1 135	0	0	0	1	0	1
932	1	1	1	1	1	1
869	1	0	0	1	0	1
840	0	1	1	0	0	0
811	0	0	0	0	0	1
712	1	1	1	0	0	1
662	0	0	0	0	1	0
514	0	0	0	0	0	1
415	0	1	0	1	0	0

注: 1 示有带, 0 示无带。

2.2 不同数据类型的聚类结果

根据 22 个随机引物 RAPD 扩增多态性带的统计,分别计算了相似系数 (SC)、遗传距离 (ID),其原始数据见表 2、表 3.

表 2 核果类属种间相似系数对称矩阵

种类	1	2	3	4	5	6
1	1					
2	0.584 6	1				
3	0.571 4	0.811 6	1			
4	0.466 7	0.493 2	0.500 4	1		
5	0.508 5	0.555 6	0.476 2	0.626 9	1	
6	0.636 4	0.421 1	0.350 0	0.423 1	0.352 0	1

表 3 核果类属种间遗传距离 (ID_2) 对称矩阵

种类	1	2	3	4	5	6
1	0					
2	0.536 8	0				
3	0.559 7	0.208 7	0			
4	0.762 1	0.706 8	0.693 1	0		
5	0.676 3	0.587 7	0.741 9	0.467 0	0	
6	0.451 9	0.864 8	1.047 3	0.861 0	1.041 6	0

应用 UPGMA 聚类方法,采用欧氏距离,其聚类结果如图 2 所示。

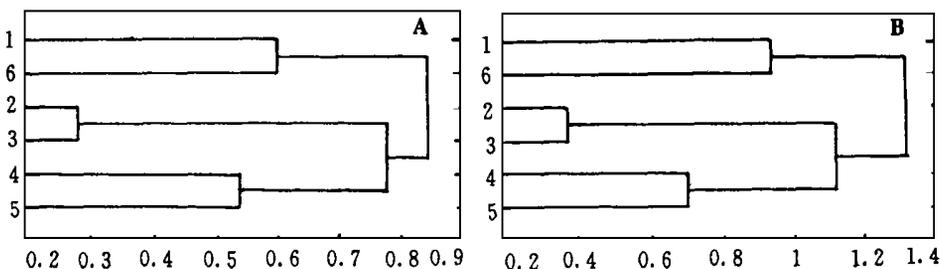


图 2 核果类 6 样本不同数据类型 UPGMA 聚类结果

A. 数据类型 SC; B. 数据类型 ID_2

不同数据类型的聚类结果是基本一致的。桃与油桃关系最近,而李与中国樱桃间距离次之,杏与甜樱桃间距离又次之。各种聚类方法都显示核果类在进化关系上可划分为李与杏 2 个分枝。由此推论,核果类的进化关系是由共同的原始材料沿 2 个方向进化,即杏与李 2 个分枝,并由李分枝进化产生桃。甜樱桃与中国樱桃分属于这 2 个主要分枝。但在进化过程中,究竟是杏或李出现的早尚难定论,从遗传距离上分析,应该是相差无几的。鉴于上述结果,原始聚类数据对聚类结果无本质性影响。

3 讨 论

3.1 杏李亲缘关系问题

核果类的亲缘关系,根本上就是杏、李的亲缘关系,这 2 个树种是核果类中最为古老的树种,也是整个核果类的来源。汪祖华等^[1]通过对核果类叶片、叶柄过氧化物酶同工酶研究认为,杏是由李直接演化,因而应为一属。这种仅用 1 个同工酶,甚至仅是 1 条同工酶

带的迁移率而推导出的结论未必可靠。本研究使用随机引物对基因组的扩增表明,杏、李在 DNA 水平上是有较明显区别的。在更换了品种进行的另一项研究中也得到了这样的结论,因此,笔者认为杏与李不一定存在直接的演化过程,而是同源树种。

3.2 RAPD 数值分析的问题

现在公认的 RAPD 分析方法是统计相似系数,然后以 UPGMA 法聚类。这种统计方法广为采用,并得出了正确的结论。但这样处理 RAPD 结果,使之得出的信息量非常有限,因此,应考虑对 RAPD 带型的位置(体现其片断长度)和亮度(体现其拷贝数多少)赋以适当权重加入到统计中去。并可广泛地开发试用一些新的数据处理模式,而不应仅局限于 UPGMA 一种聚类方法。

[参考文献]

- [1] 汪祖华,陆振翔,郭洪,李杏,梅亲缘关系及分类地位的同工酶[J].园艺学报,1991,18(2): 97~ 101.
- [2] 魏文娜,唐前瑞,杨国顺.桃李梅杏四种核果类植物亲缘关系的研究[J].湖南农业大学学报,1996,22(2): 125~ 130.
- [3] Welsh J, McClelland H. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers [J]. Nucleic Acids Research, 1990, 18(24): 7213~ 7218.
- [4] Willams J G K, Kublik A R, Livak K J, et al. DN A polymorphisms amplified by arbitrary primer are useful as genetic markers [J]. Nucleic Acids Research, 1990, 18(22): 6531~ 6535.
- [5] Muleahy D L, Cresti M, Sansavini S et al. The use of RAPD to fingerprint apple genotypes [J]. Scientia Horticulturae, 1993, 54: 89~ 96.
- [6] 沈向,魏钦平,王丽琴,等.落叶果树 RAPD 方法研究 [A].见:徐继忠,魏钦平.北方园艺学进展 [C].北京:中国林业出版社,1997. 21~ 23.

The Relationship of Drupe Fruit Trees Redetected by RAPD

SHEN Xiang¹, GUO Wei-dong¹, REN Xiao-lin¹, LI Jia-ru¹, ZHENG Xue-qin²

(1. Department of Hort., Northwestern Agricultural University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

(2. National Key Biotechnological Lab for Tropical Crops, Danzhou, Hainan 571737, China)

Abstract Random amplified polymorphic DNAs were used to research on the relationship of drupe fruit trees (peach, apricot, plum and cherry etc.). The results of UPGMA cluster proved that there existed a larger inheritance distance between apricot and plum which implied that they had different developmental experience. Chinese cherry and peach were generated by plum, and apricot and sweet cherry might have a close relationship.

Key words drupe fruit tree; RAPD; affinity relation