

红花檵木的 AFLP 分析及分类

李达, 于晓英*, 熊兴耀, 彭尽晖, 李炎林, 吕长平, 张宏志, 陈海霞

(湖南农业大学 园艺园林学院, 湖南 长沙 410128)

摘要: 采用荧光 AFLP 技术, 对所收集的 22 个红花檵木材料和变异类型进行分类与亲缘关系研究. 从 64 对引物组合中筛选出 8 对引物组合进行扩增, 共扩增出 1 226 条带, 多态条带 1 085 条, 多态性比率为 88.5%. 冬艳紫红、大圆叶双面红的多态性比率最高, 达 100%, 其同源性最低. 基于 AFLP 分析的 UPGMA 聚类分析得到, 供试材料的遗传相似系数为 0.744 2~0.920 7. 以 0.817 1 的相似系数为阈值, 所有供试材料被分为 6 大组群, 第一组群内以 0.848 4 为阈值, 又可分为 4 组. 通过 AFLP 标记发现冬艳红 5 个类型中冬艳玫红、冬艳亮红、冬艳卷瓣玫红聚在一起, 冬艳紫红、冬艳卷瓣红与其他类型存在的遗传差异通过分子标记可以鉴定出来. 通过标记发现大圆叶双面红并没有与大叶玫红、大叶红、大叶卷瓣红、大红伏划分在双面红类型中, 其外部形态相似, 但遗传距离有较大差异. 与形态标记相比, 基于 AFLP 标记的红花檵木分类体系更能反映红花檵木品种间的亲缘关系.

关键词: 红花檵木; 扩增片段长度多态性; 遗传多样性; 亲缘关系; 分类

中图分类号: S793.9 文献标志码: A 文章编号: 1007-1032(2010)02-0169-07

Classification of *Loropetalum chinense* var. *rubrum* based on AFLP analysis

LI Da, YU Xiao-ying*, XIONG Xing-yao, PENG Jin-hui, LI Yan-lin, LÜ Chang-ping, ZHANG Hong-zhi, CHEN Hai-xia

(College of Horticulture and Landscapes, HNAU, Changsha 410128, China)

Abstract: 22 *Loropetalum chinense* var. *rubrum* were subjected to fluorescent AFLP(amplified fragment length polymorphism) analysis and its classification of variation types and kinship were investigated. Eight primer combinations selected from 64 primer combinations produced a total of 1 226 strips, of which 1 085 were polymorphic with a polymorphism percentage of 88.5%. The polymorphism percentage of Dongyanzihong, Dayuanyeshuanmianhong are 100%, their homology were the lowest. An UPGMA dendrogram based on the AFLP alleles showed that genetic similarity coefficients among *Loropetalum chinense* species was between 0.744 8 and 0.920 7. All the materials were divided into 6 groups with the threshold of 0.817 1 of similarity coefficient. At the same time, the first group was divided into 4 subgroups with the threshold of 0.848 4 of similarity coefficient. The AFLP result showed that Dongyanhong including 5 types, only Dongyanmeihong, Dongyanlianhong, Dongyanjuanbanmei was grouped together as the morphologic markers classified, the genetic differences of Dongyanzihong and Dongyanjuanbanhong could be appraised by the molecular marker from the other 3 types. The AFLP result also showed that Dayuanyeshuanmianhong was not grouped together with Dayemeihong, Dayehong, Dayejuanbanhong and Dayehong as the morphologic markers classified. Thus, they have morphological similarity but presented great differences in the genetic distance. Compared with morphologic markers, the classification system based on AFLP markers could reflect relationship *Loropetalum chinense* var. *rubrum* cultivars more efficiently.

Key words: *Loropetalum chinense* var. *rubrum*; amplified fragment length polymorphism(AFLP); genetic diversity; kinship; classification

红花檵木(*Loropetalum chinense* var. *rubrum*)为金缕梅科(*Hamamelidaceae*)檵木属檵木的变种, 常

绿灌木或小乔木, 是湖南本土特有资源, 具有极大的观赏价值和经济价值^[1-2]. 因自然变异, 其遗传多

收稿日期: 2009-11-26

基金项目: 湖南省自然科学基金项目(04JJ3024); 湖南省教育厅省高等学校产业化培育项目(07CY001)

作者简介: 李达(1983—), 男, 湖南长沙人, 硕士, 主要从事观赏植物生物技术研究, 107213499@qq.com; *通讯作者, yuxiaoying1578@hunau.net

样性突出,已发现许多突变类型.红花檵木的分类以传统的形态学分类为主.因形态与表型是基因组与环境相互作用的结果,所以,基因与环境相互作用的程度不同,使得不同年代和不同地点收集品种的形态分类数据存在不准确性,其界定标准难以统一,导致市场上存在同物异名和同名异物现象.AFLP分析具有反应灵敏度高、揭示多态性效率高、可以区分杂合体与纯合体、信息量大等特点,其在园艺植物品种鉴定、系谱分析、遗传多样性检测、基因定位与遗传图谱绘制等方面的运用取得了显著的成效.笔者用筛选出的8对AFLP引物对22个红花檵木变异材料的基因组DNA进行分析,并比较其与形态学分类的异同,旨在从分子水平上认识红花檵木的遗传变异关系.

1 材料与方法

1.1 材料

选取2003年侯柏鑫先生对红花檵木进行品种分类时所用模式标本植株(表1中1~16号,取自湖南林业科学院红花檵木资源圃)和目前广泛用于园林绿化的红花檵木品种(表1中17~22号,取自湖南农业大学园艺园林学院资源圃).

北京鼎国生物技术有限责任公司 AFLP 试剂盒.

1.2 方法

1.2.1 DNA提取

取红花檵木新梢嫩叶,用蒸馏水洗净,吸干水后取1g装入离心管中,放入-70℃冰箱备用.基因组DNA提取参考于晓英^[3]的方法,并稍作改动,在加入裂解液前对粉碎的材料进行Tris-HCl缓冲液洗涤,在首次沉淀DNA之前用氯仿-异戊醇抽提2次,以便有效消除红花檵木叶片中色素和部分多糖、酚类物质对DNA的影响.基因组DNA质量通过Eppendorf Biophotometer检测OD值,通过1%的琼脂糖凝胶进行电泳检测.将符合要求的DNA样品稀释至质量浓度200 ng/μL,待用.

1.2.2 AFLP反应

荧光 AFLP 分析体系反应条件、试剂用量均按 AFLP 试剂盒说明.用 *EcoR* I/*Mse* I 系统对红花檵木基因组 DNA 酶切,37℃保温 5 h,8℃保温 4 h,

表1 供试材料的多态性比率

Table 1 The Polymorphism of tested materials

编号	材料	多态性带数	扩增带数	多态性比率/%	特有带(缺失带)
1	玫红长叶青	163	173	94.2	2
2	野生红花檵木变异材料	172	180	95.6	(1)
3	玫红圆叶清	171	178	96.1	1(12)
4	野生红花檵木变异材料	180	193	93.3	3(18)
5	玫红细叶青	176	190	92.6	(11)
6	冬艳紫红	156	156	100	4(1)
7	冬艳玫红	175	181	96.7	3(5)
8	冬艳亮红	162	172	94.2	(1)
9	冬艳卷瓣玫	172	179	96.2	2(2)
10	冬艳卷瓣红	176	177	99.4	1
11	大叶玫红	168	173	97.1	0
12	大叶红	172	184	93.5	3(7)
13	大叶卷瓣红	166	183	90.7	0
14	大红伏	176	184	95.7	9(9)
15	大叶卷瓣红(花叶变异)	177	185	95.8	3(1)
16	卷瓣伏	172	180	95.6	(1)
17	圆叶型	175	182	96.2	1(7)
18	疏枝紫红	134	139	96.4	12
19	密枝亮红	155	156	99.4	10
20	大圆叶双面红	162	162	100	6
21	尖叶型	177	182	97.3	1(7)
22	长叶型	174	185	94.1	2(8)

4℃过夜.从试剂盒中64对引物组合中筛选出8对多态性好的引物组合用于正式扩增.

预扩增反应程序:94℃变性2 min;94℃变性30 s,56℃复性30 s,72℃延伸80 s,PCR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,作为选择扩增模板,94℃预变性2 min,第一轮扩增参数为94℃持续30 s,65℃持续30 s,72℃持续80 s,以后每轮循环温度递减0.7℃,扩增12轮,然后按参数94℃持续30 s,55℃持续30 s,72℃持续80 s扩增23轮,最后72℃延伸5 min.其中*Mse* I引物用荧光染料标记.

1.2.3 反应产物检测与数据分析

将选择性扩增产物6 μL载于4%聚丙烯酰胺凝胶上,在ABI377测序仪上进行电泳,10×TBE,恒压220 V,室温电泳2.5 h.电泳结束后用Genescan

3.1 从原始胶图中提取数据，用 Binthere 将片段大小提取出来，再用 Excel 将数据转换成 0、1 数据，用 Ntsys2.10 聚类。

品种多态性比率=(该品种的多态性带数/所有供试品种扩增出的总带数)×100%。

引物多态性比率=(该引物扩增的多态性带数/该引物扩增出的总带数)×100%。

2 结果与分析

2.1 红花檵木 AFLP 选择性扩增结果

用供试品种中的 3 号、8 号、11 号对 *EcoR* I 和 *Mse* I 的 64 对引物组合进行筛选，筛选出带型完整、清晰、多态性丰富的引物组合共 8 对。利用筛选出的 8 对引物组合对 22 个红花檵木属材料进行 AFLP 扩增，结果如表 2 所示。不同的引物组合扩增出的总带数差异较大。8 对引物组合共扩增出 1 226 条

带，其中多态性条带比率为 88.5%，平均每对引物扩增 136 条带，平均多态性带数为 135 条。单引物 E-ACA/M-CTA，扩增条带 126 个，多态带 117，多态性条带比率最高为 92.8%，可见，AFLP 检测红花檵木种质资源分子标记多态性的效率高(图 1)。

表 2 8 对引物组合的扩增结果

Table 2 Amplified results of 8 pairs of primers combination

引物对	扩增带数	多态性带	
		带数	比率/%
E-AAC/M-CAC	153	132	86.2
E-AAC/M-CAG	159	139	87.4
E-AAC/M-CTC	154	136	88.3
E-AAG/M-CAT	170	148	87.1
E-ACA/M-CAC	135	120	88.9
E-ACA/M-CTA	126	117	92.8
E-AGC/M-CAA	163	142	87.1
E-AGC/M-CAC	164	148	90.2
合计	1 226	1 085	

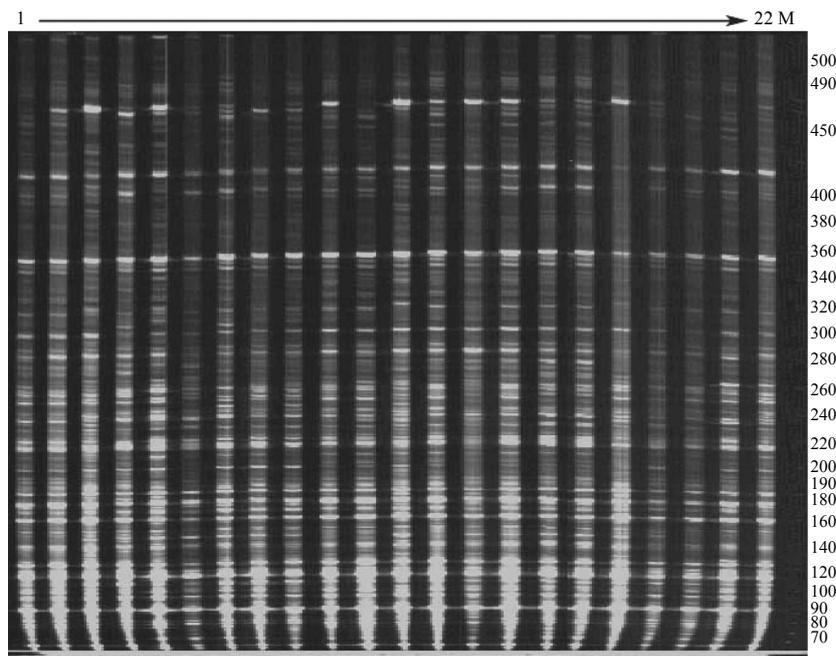


图 1 AAC/CTC 引物组合对供试材料的 AFLP 扩增结果

Fig.1 AFLP amplified results of 22 materials AAC/CTC primers combination

由表 1 可见，供试红花檵木的多态性比率均较大，因为在红花檵木品种选育时多采用物理、化学诱变结合自然变异的无性系选育技术，很少采用有性系实生选育技术，因此性状分离情况少，混杂程度小，遗传分化程度小。大叶卷瓣红多态性比率最低，为 90.7%，在所试品种中同源性最高。冬艳紫

红、大圆叶双面红的多态性比率最高，达 100%，说明该品种在供试群体中的同源性最低。

2.2 基于 AFLP 的红花檵木亲缘关系鉴定

各供试材料的遗传相似系数为 0.744 2~0.920 7 (表 3)，相似系数范围没有甜瓜^[4]、南瓜^[5]那么广，

表 3 供试材料 AFLP 分析的 SM 相似系数
Table 3 SM Similarity coefficients between materials

	c1	c2	c3	c4	c5	c6	c7	c8	c9	c10	c11	c12	c13	c14	c15	c16	c17	c18	c19	c20	c21	c22	
c1	1.000 0																						
c2	0.920 7	1.000 0																					
c3	0.814 2	0.819 4	1.000 0																				
c4	0.790 5	0.806 1	0.761 0	1.000 0																			
c5	0.803 2	0.795 7	0.811 9	0.791 7	1.000 0																		
c6	0.797 5	0.808 4	0.777 2	0.783 6	0.772 0	1.000 0																	
c7	0.804 4	0.803 8	0.761 0	0.791 7	0.810 2	0.792 8	1.000 0																
c8	0.830 4	0.834 5	0.798 6	0.813 1	0.829 3	0.810 8	0.854 7	1.000 0															
c9	0.829 9	0.823 5	0.779 5	0.797 5	0.817 1	0.821 8	0.848 4	0.881 4	1.000 0														
c10	0.828 7	0.837 4	0.805 0	0.777 8	0.797 5	0.796 3	0.817 1	0.831 6	0.822 9	1.000 0													
c11	0.843 8	0.837 4	0.798 0	0.785 9	0.799 8	0.809 0	0.829 9	0.844 3	0.833 3	0.873 8	1.000 0												
c12	0.787 6	0.791 7	0.832 2	0.755 2	0.793 4	0.763 3	0.783 0	0.796 3	0.798 0	0.795 7	0.787 6	1.000 0											
c13	0.850 1	0.853 0	0.798 6	0.805 0	0.802 7	0.792 2	0.817 7	0.832 2	0.820 0	0.888 3	0.880 2	0.798 6	1.000 0										
c14	0.785 9	0.796 9	0.810 8	0.762 7	0.783 6	0.809 0	0.762 7	0.772 6	0.782 4	0.794 0	0.770 8	0.802 7	0.789 9	1.000 0									
c15	0.842 0	0.856 5	0.797 5	0.802 7	0.813 1	0.801 5	0.820 0	0.832 2	0.816 6	0.881 4	0.867 5	0.795 1	0.902 8	0.802 7	1.000 0								
c16	0.829 3	0.824 1	0.791 7	0.801 5	0.800 3	0.858 2	0.829 3	0.838 0	0.833 9	0.820 0	0.829 3	0.792 8	0.839 1	0.831 6	0.856 5	1.000 0							
c17	0.814 2	0.820 6	0.787 0	0.793 4	0.807 3	0.838 5	0.817 7	0.826 4	0.822 3	0.821 2	0.813 1	0.777 8	0.834 5	0.817 7	0.848 4	0.916 7	1.000 0						
c18	0.792 8	0.806 1	0.792 2	0.760 4	0.777 8	0.799 8	0.803 2	0.807 3	0.806 7	0.822 9	0.819 4	0.805 0	0.813 1	0.775 5	0.814 2	0.791 1	0.786 5	1.000 0					
c19	0.789 9	0.804 4	0.751 2	0.756 4	0.745 9	0.844 3	0.789 9	0.802 1	0.805 0	0.781 8	0.811 9	0.768 5	0.780 1	0.759 8	0.788 2	0.802 1	0.787 0	0.817 7	1.000 0				
c20	0.788 8	0.794 0	0.744 2	0.757 5	0.744 8	0.811 9	0.809 6	0.795 1	0.808 4	0.815 4	0.842 0	0.747 7	0.789 4	0.745 9	0.794 0	0.784 7	0.775 5	0.814 2	0.846 1	1.000 0			
c21	0.870 4	0.865 2	0.785 3	0.767 4	0.763 9	0.804 4	0.807 9	0.808 4	0.817 1	0.824 1	0.853 0	0.791 1	0.816 6	0.760 4	0.817 7	0.801 5	0.801 5	0.822 9	0.811 9	0.821 2	1.000 0		
c22	0.836 8	0.830 4	0.803 8	0.782 4	0.790 5	0.794 0	0.807 9	0.813 1	0.821 8	0.817 1	0.839 1	0.796 9	0.821 2	0.783 6	0.818 9	0.824 7	0.821 2	0.803 2	0.789 9	0.796 9	0.847 2	1.000 0	

c1~c22 中数字对应表 1 中材料编号。

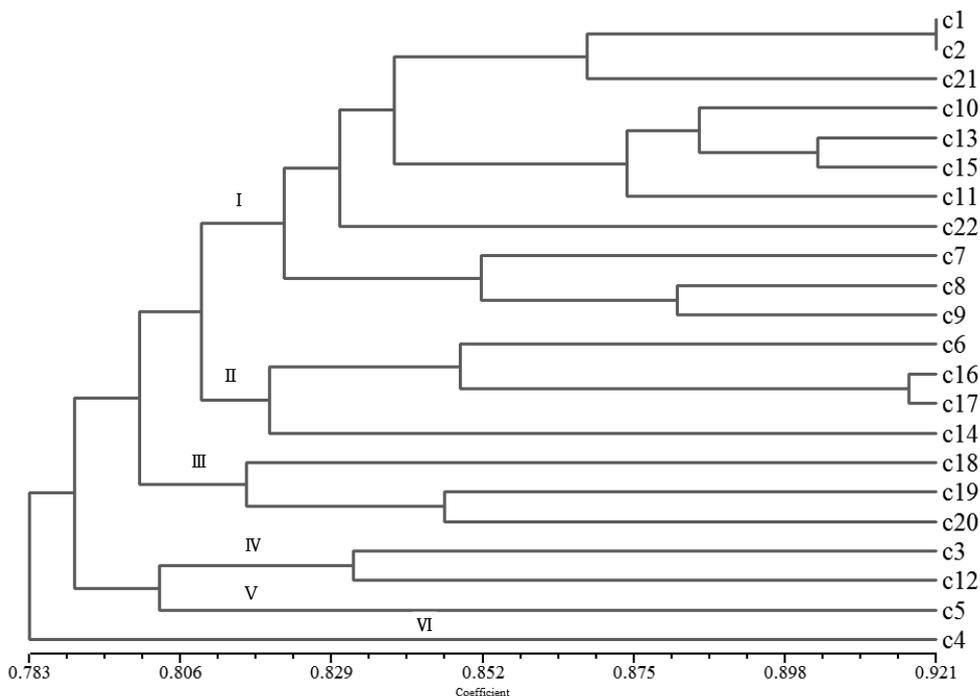
主要因为本试验研究的是品种间的遗传多样性，而前人探讨的是种间或亚种间的遗传多样性，差异远大于种内品种间的差异。试验样品采集分布地域特点也影响遗传多样性的范围。红花檵木为湖南原产，原始地理分布不广，野生资源零星分布，主要在湖南以东的浏阳、平江、醴陵和江西萍乡上栗区以及罗霄山脉海拔100~400 m的常绿阔叶林地带，本次试验所用材料均来自湖南省范围内。

1号与2号的相似系数最高达0.9207，因2号野生红花檵木是1号玫红长叶青的母本，由2号的扦插枝条选育而来，性状相似，遗传差异小。4号与5号的形态很相似，但相似系数只有0.7917，且4号野生红花檵木缺失带最多，这很好地证明了4号为较原始的红花檵木材料，可以判定原始野生变异品种材料与其栽培品种存在一定的遗传分化。13号与15号的相似系数为0.9028，性状上存在一定差异的变异类型，其遗传关系十分接近。该变异可能为外在因素引起的适变。16号与17号的相似系数为0.9167，说明其同源性较高。

2.3 基于 AFLP 指纹图谱的红花檵木聚类分析

基于 AFLP 的扩增结果，用 NTSYSpc-2.11F 进

行 UPGMA 聚类分析，得到红花檵木亲缘关系树状图(图2)。以所得的1226个位点的谱带数据为原始矩阵，计算两两品种间的相似系数如图2所示。以0.7905为阈值可将材料划分为2个类群，其中4号单独成一个类群，其他21份材料为另一个类群，说明4号野生红花檵木与其他材料的亲缘关系比较远。以0.8171相似系数为阈值，可将材料划分为6大类群。第I类群中包括22号长叶型与其他11个亲缘关系较远的材料，1号玫红长叶青、2号野生红花檵木变异材料亲缘关系最近。在第一组群内以0.8484为阈值，又可分为4个组。第1小组为1号玫红长叶青、2号野生红花檵木变异材料、21号尖叶型；第2小组为10号冬艳卷瓣红、13号大叶卷瓣红、15号大叶卷瓣红(花叶)、11号大叶玫红；第3小组为22号长叶型；第4小组为7号冬艳玫红、8号冬艳亮红、9号冬艳卷瓣玫。第II类群为6号冬艳紫红、14号大红伏、16号卷瓣伏、17号圆叶型。第III类群为18号疏枝紫红、19号密枝亮红、20号大圆叶双面红。第IV类群为3号玫红圆叶清、12号大叶红。第V类群为5号玫红细叶青。第VI类群为4号野生红花檵木变异材料。



c1~c22 中数字对应表 1 中材料编号。

图2 22个供试材料基于 AFLP 标记的聚类图
Fig. 2 The cluster figure of 22 materials based on AFLP markers

2.3 差异带与种质鉴定

在应用 8 对引物构建的红花檵木 AFLP 指纹图谱中, 供试材料中除 11 号、13 号无特异带或缺失带外, 其他都有特异带或缺失带, 3 号、4 号、5 号、14 号、21 号等材料的特征带尤为明显, 其中 4 号缺失带达 18 条, 21 号特异带达 12 条. 根据各自的特异带或差异带可以将其区分开来, 在种质鉴定的过程中如选择其中一对引物的指纹图谱为标准图谱, 将待测样品的指纹图谱与该标准指纹图谱相比较, 可明确待测样品的真实性, 解决同物异名和同名异物的问题. 每个种质的特异带应该是与其特异性状密切相关的, 值得研究.

3 结论与讨论

3.1 供试材料的代表性与多样性

侯柏鑫先生根据不同的花色、花型、叶形、分枝疏密等主要特征, 将红花檵木划分为 3 大类 15 个类型 41 个品种. 第一类嫩叶红为较原始的品种; 第二类大叶红是在第一类基础上选育的品种; 第三类透骨红是在第二类基础上选育的品种^[6]. 本试验所用材料为分类系统确定的 3 大类 15 个类型中具有代表性的 16 个品种, 包括 13 个新选育品种, 2 个野生材料和 1 个花叶变异材料.

从湖南农业大学园艺园林学院资源圃共选用的 6 个材料中, 17~20 号材料为目前广泛用于园林绿化的红花檵木品种, 有的品种可以按侯柏鑫先生的分类系统确定品种名, 如疏枝紫红、密枝亮红; 有的品种用分类系统进行区分会出现同名现象, 如圆叶型按形态学分类将命名为玫红圆叶青; 有一个品种有自己特有的商品名大圆叶双面红. 该材料按分类系统应该划分在双面红类大叶红类型中, 但分类系统中并未提到有大圆叶双面红的品种名称, 然而该名称在市场上被广泛接受, 弄清楚该类材料的亲缘关系, 具有很大的生产实际意义.

3.2 供试材料 AFLP 分子标记的有效性

AFLP 具有多态性高、重复性好、操作简便等特点, 多用于构建物种的遗传图谱、评估遗传多样性、分析品种之间的关系等, 也有用 AFLP 分析种间关系的报道^[7-9]. 本试验利用 8 对引物组合, 22

个红花檵木品种共在 1 226 个位点扩增出条带, 其中多态位 1 085 条, 平均每对引物扩增 103 条带, 平均多态性带数为 82 条, 意味着这 8 对引物对这 22 个红花檵木属材料基因组 DNA 进行了 1 226 个位点的检测. 出现多态性扩增带, 说明某个种质材料在该位点上存在变异. 多态性位点高达 1 085 个, 占 88.5%, 说明在被检测的位点中有 88.5% 的位点在品种间存在遗传多样性的变异. 这种检测的精度和效率充分显示 AFLP 技术在红花檵木种质资源研究上有着其他 DNA 指纹技术无可比拟的优越性. 本试验结果较真实地反映了 22 个材料的遗传关系.

3.3 红花檵木 AFLP 聚类分类与形态分类的比较

在红花檵木分类系统确定的 16 个品种中, 进行 AFLP 分析后, 通过与分类系统描述的形态特征进行比较, 发现供试的 16 个品种并没有完全按照形态学分类系统进行聚类. 嫩叶红类型中, 1 号玫红长叶青由 2 号野生变异材料扦插枝选育而来, 亲缘关系最近, 说明在用插穗繁殖而来的品种与原始母本遗传差异小, 遗传稳定. 嫩叶红类型中 5 号玫红细叶青由 4 号野生变异材料扦插选育而来, 但这两份材料并未聚类在一起, 可以推测栽培种与野生变异材料之间虽然外部形态相似, 但遗传上存在分化现象; 嫩叶红类型中各品种叶片长椭圆形, 叶中等大, 顶端尖; 玫红细叶青品种叶片为卵圆形, 叶型较小, 与玫红长叶青和玫红圆叶青差异明显, 说明在种内形态相似的个体之间的遗传距离有时可能较远, 但形态差别还未能明显体现. 在透骨红型中, 冬艳玫红、冬艳亮红、冬艳卷瓣玫红聚类在一起, 冬艳紫红、冬艳卷瓣红未能与前 3 个品种聚类, 冬艳紫红花为紫红色, 冬艳卷瓣红为亮紫红花色, 并且花瓣卷曲, 其他 3 个品种为玫红花色. 在所供试的双面红类中, 大叶玫红、大叶卷瓣红、大叶卷瓣红(花叶变异)聚在一起, 与形态学分类相符: 叶大, 卵圆形, 顶端尖或圆, 同属于双面红类大叶红类型; 大红伏与卷瓣伏聚在一起, 与形态学相符: 叶卵圆形, 顶端尖或圆, 分枝开张, 小枝横生, 同属于双面红类伏地红型, 而大叶红被单独划分来. 大叶红与玫红圆叶青聚类在一起, 与形态学特征比较, 发现这两个品种叶片都为卵圆形, 叶端圆.

从湖南农业大学园艺园林学院资源圃选用的6个红花檵木材料中,尖叶型与玫红长叶青聚类在一起,二者亲缘关系最近,相似系数为0.8704;尖叶型红花檵木与长叶型红花檵木的相似系数为0.8472,在形态上,二者的叶片都是叶顶端尖,但存在长椭圆与椭圆之分。圆叶型与卷瓣伏聚类在一起,相似系数为0.9167,其叶片为卵圆型,圆叶型品种和玫红圆叶清的相似系数为0.7870,两者关系并非最近。大圆叶双面红,叶大,卵圆型,背面紫红色,叶面星状毛少,红润光亮,形态上与大叶红、大叶玫红、大叶卷瓣红相似,划分在双面红类大叶红型中,但通过 AFLP 分析发现该品种并未与大叶红型品种聚类,其亲缘关系与大叶红、大叶玫红、大叶卷瓣红较远。大圆叶双面红与密枝亮红聚类在一起,叶片为卵圆型,背面紫红色,叶面星状毛少,红润光亮,但密枝亮红叶片明显小于大圆叶双面红,且密枝亮红分枝较密,大圆叶双面红分枝明显稀疏。嫩叶红类的玫红圆叶青与双面红类的大叶红聚类,品种特点均为叶片卵圆形,顶端圆,但大叶红新叶紫红色,老叶正面紫黑色,背面紫红色,叶型大,叶面星状毛少,红润光亮,分枝程度中等;玫红圆叶青新叶紫红色,老叶绿色,叶型小,叶面星状毛多,光泽度差,分枝程度中或密。说明种内形态差异很大的个体,遗传距离却有可能很近;也说明用形态学对红花檵木进行分类存在局限性,只适合在小的聚群中进行。

以上结论与包志毅^[10]利用 RAPD 分析红花檵木所得结论一致,进一步证明红花檵木的遗传多样性与形态特征并不完全相关。UPMGA 聚类分析图只能说明不同类型之间遗传关系的远近,而各个聚群内部所有的类型之间并不能找出一个显而易见的共同特征。从小亚群来看,各类型之所以能聚在一起,基本上能从形态学上予以解释,即他们在形态学上有明显的共同之处。

根据分类系统检索表^[6]得知玫红长叶青、玫红圆叶清为原始的品种,卷瓣伏为新选育的品种,所以可以推测湖南农业大学资源圃中的尖叶型品种,

长叶型品种同样为原始品种,圆叶型品种同样是最新选育,但用目前的形态学分类系统无法准确区分。

本试验中还发现大叶卷瓣红为大叶玫红人工诱变而来,而大叶玫红、冬艳卷瓣红的原始母来自湖南省浏阳市永和镇,相同的地理分布使得品种之间有极强的地域相关性特点,使得选育出的新品种亲缘关系也比较接近,因此能发生聚类,从另一个方面也证明了 AFLP 分析亲缘关系的准确性。

参考文献:

- [1] 祁承经. 湖南种子植物总览[M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 2002: 215.
- [2] 连芳青. 园林新秀长红檵木[J]. 植物杂志, 1996(5): 2.
- [3] 于晓英, 吴铁明, 彭尽晖, 等. 萱草种质资源扩增片段长度多态性鉴别与分类的研究 I. 萱草DNA模板的制备[J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2001, 27(1): 41-43.
- [4] Ferriol M, Pico B, Cordava P F. Molecular diversity of a germplasm collection of squash (*Cucurbita moschata*) determined by SRAP and AFLP makers[J]. Crop Science, 2004, 44: 653-664.
- [5] Ferriol M, Pico B, Nuez F. Genetic diversity of germplasm collection of *Cucurbita pepo* using SRAP and AFLP marker[J]. Theor Appl Genet, 2003, 107: 271-282.
- [6] 侯伯鑫, 林峰, 李午平, 等. 红花檵木品种分类系统[J]. 林业科学研究, 2003, 16(4): 430-433.
- [7] Aggarwal R K, Brar D S, Nandi S, et al. Phylogenetic relationships among *Oryza* species revealed by AFLP markers[J]. Theor Appl Genet, 1999, 98: 1320-1328.
- [8] Koopman W J M, Zevenbergen M. Species relationships in *Lactucasl* (*Lactuceae*, *Asteraceae*) inferred from AFLP fingerprints[J]. Amer J Bot, 2001, 88: 1881-1887.
- [9] Mace E S, Gebhardt C G, Lester R N. AFLP analysis of genetic relationships in the tribe *Datureae* (*Solanaceae*) [J]. Theor Appl Genet, 1999, 99: 634-641.
- [10] 包志毅, 张华, 包劲松. 应用 RAPD 分析红檵木变异类型的遗传多样性[J]. 浙江大学学报: 农业与生命科学版, 2003, 29(6): 665-670.

责任编辑: 王赛群

英文编辑: 罗文翠