

茄子种质资源的 ISSR 遗传多样性分析

肖熙鸥[†], 王 勇[†], 李冠男, 曹必好, 雷建军, 陈国菊, 陈清华

(华南农业大学 园艺学院, 广东 广州 510642)

摘要:利用 ISSR 分子标记分析茄子种质多样性,从 100 条引物中筛选出 20 条能够扩增出多态性条带稳定清晰的 ISSR 引物,对 48 份茄子材料的 DNA 进行扩增,共获得了 186 条谱带,其中多态性带 153 条(占有谱带的 82.2%)。利用 UPGMA 法建立了 48 份茄子及其近缘野生种间的遗传关系聚类图。聚类结果表明,48 份供试种质间的遗传相似系数分布在 0.52~0.98 之间,可将其分为 5 大类群。其中又将 44 份栽培品种分为 5 组,其品种间相似遗传系数在 0.84~0.98 之间,表明栽培品种的遗传背景比较窄。聚类结果与茄子的果形以及地理来源有一定的相关性,而与果色呈现不完全相关。

关键词:茄子; ISSR; 遗传多样性; 相关分析

中图分类号: S571.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-411X(2012)03-0296-05

ISSR Analysis of Genetic Diversity Among Cultivated Eggplant and Wild Relatives

XIAO Xi-ou[†], WANG Yong[†], LI Guan-nan, CAO Bi-hao, LEI Jian-jun, CHEN Guo-ju, CHEN Qing-hua

(College of Horticulture, South China Agricultural University, Guangzhou 501642, China)

Abstract: The genetic relationship and diversity of 44 eggplants, *Solanum melongena* L., germplasms and 4 wild relatives were analyzed by ISSR method. One hundred and fifty-three of 186 bands were amplified by 20 ISSR primers, about 82.2% being polymorphisms. Fourty-eight germplasms were clustered into 5 groups by genetic similar index from 0.52 to 0.98, and the wild species were different from eggplants. Also 44 eggplant cultivars had a high genetic similarity and a narrow genetic diversity. At the same time, the results showed that the cluster was related to the fruit shape of eggplants and origin areas, but not to the fruit colour.

Key words: eggplant; ISSR; genetic diversity; correlation analysis

茄子 *Solanum melongena* L. 为茄科 Solanaceae 茄属 *Solanum* 中以浆果为产品的一年或多年生草本植物,是我国的一种重要蔬菜。中国是世界上最大的茄子生产国,2009 年茄子种植面积达到 74 万 hm^2 ,产量 2 591 万 $\text{t}^{[1]}$ 。茄子的杂种优势普遍存在^[2],分析茄子的遗传多样性对于培育新品种和改良现有品种有着重要作用。形态学分类在一定的程度上能够反映茄子的亲缘关系,但容易受到环境条件的影响,并且不能从本质上反映出亲缘关系。近年来,分子标记技

术在茄子遗传多样性分析方面得到了广泛应用,已经有不少的国内外研究者开展过相关研究,其中包括利用 RAPD^[3-5]、AFLP^[6-8]、ISSR^[9-10]、SSR 和 RAPD^[11] 等分子标记,这些研究为茄子资源的鉴定和利用提供了一些参考依据。大多数研究表明,栽培茄子品种的遗传背景比较狭窄,有的存在命名混乱的问题,有的茄子近缘种含有一些有用的性状(抗病、抗逆强等),而开展茄子的种质资源遗传多样性分析,对于利用和拓宽种质资源的遗传基础具有重要的意义。

收稿日期:2011-10-17

作者简介:肖熙鸥(1988—),男,硕士研究生;王 勇(1982—),男,硕士研究生;†对本文贡献相同;通信作者:曹必好(1970—),男,教授,博士,E-mail: caobh01@163.com

基金项目:广东省自然科学基金(9151064201000063);国家自然科学基金(30972005);广东省自然科学基金研究团队项目(S2011030001410)

本研究利用 ISSR 技术对收集到的茄子栽培品种及其野生种开展遗传多样性研究,为更好地利用这些种质资源开展茄子优势育种提供参考依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

来源于世界各地的 48 份茄属种质资源,由华南

农业大学园艺学院蔬菜系曹必好教授提供(表 1)。

1.2 DNA 提取

利用改良 CTAB 法^[12]提取茄子叶片的总 DNA。DNA 的质量和浓度分别用核酸蛋白测定仪和 8 g/L 琼脂糖凝胶电泳进行检测,以保证用于 ISSR 分析时 DNA 样品的质量。将经过准确定量的 DNA 样品用 ddH₂O 稀释成 5 ng/μL 的工作液,4 ℃ 条件保存备用。

表 1 供试材料及其来源¹⁾

Tab. 1 Numbers and the sources of eggplants and wild species

代号	材料	果形	果色	来源地	代号	材料	果形	果色	来源地
1	长丰一号	长棒形	紫红色	广东	25	E-37	圆球形	紫黑色	辽宁
2	丰宝紫红茄	长棒形	紫红色	广东	26	大茛	圆球形	紫黑色	天津
3	贝司特二号	长棒形	紫红色	广东	27	E-39	圆球形	紫黑色	辽宁
4	引茄一号	长棒形	紫红色	江苏	28	快圆	圆球形	紫黑色	天津
5	湘杂 2 号	长棒形	紫红色	湖南	29	E-31	小椭圆形	浅紫黑色	马来西亚
6	墨茄	长棒形	紫红色	四川	30	农夫长茄	长棒形	紫红色	广东
7	早红茄	长棒形	紫红色	广东	31	E-3-1-4	小椭圆形	紫红色	广东
8	紫荣一号	细长棒形	紫红色	湖南	32	早丰	长棒形	紫红色	广东
9	9138	长棒形	紫黑色	北京	33	华育二号	长棒形	紫红色	广东
10	E-9-2	短棒形	紫红色	广东	34	早茄 12 号	长棒形	黑色	四川
11	紫荣二号	细长棒形	紫红色	广东	35	全兴 5 号	长棒形	黑色	四川
12	渝早茄 1 号	长棒形	紫黑色	四川	36	春喜 14 号	长棒形	黑色	四川
13	白玉	细长形	白色	广东	37	台湾长茄	长棒形	紫红色	台湾
14	E-47-1	长棒形	紫黑色	四川	38	粤丰紫红茄	长棒形	紫红色	广东
15	丰宝 2 号	长棒形	深紫红色	广东	39	贝司特三号	长棒形	深紫红色	广东
16	长丰二号	长棒形	紫红色	广东	40	大丰紫长茄	长棒形	紫红色	广东
17	九叶茄	圆球形	紫黑色	北京	41	白茄	长棒形	白色	日本
18	紫光红茄	长棒形	紫红色	广东	42	金蛋茄	椭圆形	黄色	泰国
19	E-17	椭圆形	红色	泰国	43	水茄	小球形	绿色	广东
20	红丰	棒形	紫红色	广东	44	刺茄	圆形	白色	泰国
21	北京三叶茄	圆球形	紫黑色	北京	45	红茄	卵圆形	红色	印尼
22	惠宝茄	短棒形	紫红色	广东	46	刚果茄	球形	黄红色	非洲
23	E-38	圆球形	紫黑色	辽宁	47	周茄	长棒形	紫红色	广东
24	E-36	圆球形	紫黑色	辽宁	48	Franchi	长椭圆形	紫黑色	法国

1) 6 和 12 号果顶尖,16 号果顶钝圆。

1.3 引物筛选

以金蛋茄、墨茄的 DNA 作为模板,参照加拿大哥伦比亚大学(UBC)公布的序列,对 100 条 ISSR 引物进行初步筛选,初选出能扩增出多态性好、条带亮、清晰无弥散谱带的引物。再用筛选出的 ISSR 引物对所有样品进行 ISSR-PCR 扩增。所用引物序列由上海生物工程有限公司合成。

1.4 数据分析

根据电泳结果记录清晰可重复的条带,将电泳图谱清晰且可重复的 DNA 条带赋值为“1”,同一位置上的弱带且不重复或未出现带的赋值为“0”,形成“1”、“0”的数据矩阵,计算其扩增带总数和特异带

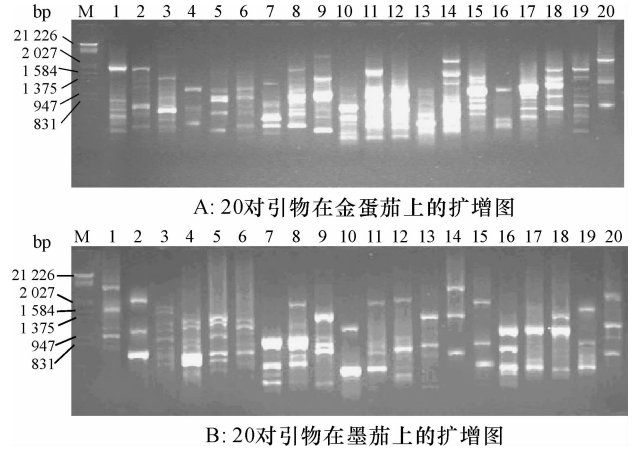
总数,统计各引物的多态性条带的比率。计算遗传相似系数(Genetic similarity, GS): $GS = 2N_{XY} / (N_X + N_Y)$,其中 N_X 和 N_Y 为品种(系)X 和 Y 的扩增片断数, N_{XY} 为 2 个品种(系)间共有的片断数。利用 NT-SY-Spc2.10e 软件进行系统聚类分析。用 SimQual 程序求 Nei-Li 相似性系数矩阵,用 SAHN 程序中的 UP-GMA 方法进行聚类分析。

2 结果与分析

2.1 ISSR 有效引物筛选及多态性分析

不同引物扩增结果在总带数、带型和亮度等方面都表现出较大的差异。100 条引物中能够扩增出条

带的引物有 67 条,能够表现出多态性的条带有 51 条,但是只有 20 条能扩增出稳定清晰的多态性条带(图 1),因此利用筛选得到的 20 条 ISSR 引物进行遗传多样性分析,20 条引物在 48 份材料中共扩增出 186 条带,平均每条引物扩增出 9.3 条带,其中多态性条带 153 条,多态性比率为 82.2%(表 2). ISSR 扩增的条带多在 750 ~ 2 000 bp 之间(图 2)



M: Marker($\lambda_{DNA}/EcoR I + Hind III$); 1 ~ 20 分别为引物 809、810、811、820、825、826、827、834、835、841、842、844、847、857、861、868、873、880、885、888.

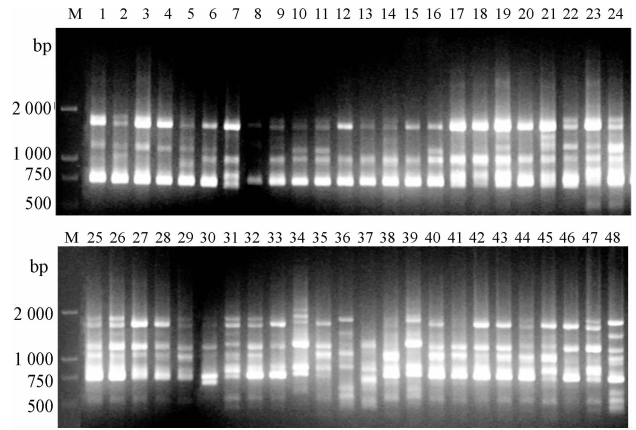
图 1 筛选的 20 条 ISSR 引物在模板中扩增结果

Fig. 1 Amplification of selected 20 primers

表 2 ISSR 分析所用的引物与扩增结果

Tab. 2 Analysis of ISSR primer amplification

引物代号	引物序列	总带数	多态性带数	多态性比率/%
809	AGA GAG AGA GAG AGA GG	14	13	92.9
810	GAG AGA GAG AGA GAG AT	11	11	100.0
811	GAG AGA GAG AGA GAG AC	5	4	80.0
820	GTG TGT GTG TGT GTG TC	6	5	83.3
825	ACA CAC ACA CAC ACA CT	9	8	88.9
826	ACA CAC ACA CAC ACA CC	12	11	91.7
827	ACA CAC ACA CAC ACA CG	15	14	93.3
834	AGA GAG AGA GAG AGA GYT	9	7	77.8
835	AGA GAG AGA GAG AGA GYC	7	6	85.7
841	GAG AGA GAG AGA GAG AYC	8	4	50.0
842	GAG AGA GAG AGA GAG AYG	7	6	85.7
844	CTC TCT CTC TCT CTC TRC	9	6	66.7
847	CAC ACA CAC ACA CAC ARC	5	5	100.0
857	ACA CAC ACA CAC ACA CYG	11	10	90.9
861	ACC ACC ACC ACC ACC ACC	9	8	88.9
868	GAA GAA GAA GAA GAA GAA	9	7	77.8
873	GAC AGA CAG ACA GAC A	10	7	70.0
880	GGA GAG GAG AGG AGA	10	4	40.0
885	BHB GAG AGA GAG AGA GA	14	12	85.7
888	BDB CAC ACA CAC ACA CA	6	5	83.3
合计		186	153	
平均		9.3	7.65	82.2



M: Marker DL2000; 1 ~ 48 分别为表 1 中的 48 份种质资源.

图 2 引物 809 对 48 份茄属种质的 ISSR 扩增图

Fig. 2 Amplification of No. 809 primer in 48 germplasm

2.2 ISSR-PCR 扩增结果聚类分析

利用 186 条 ISSR 扩增条带,用 UPGMA 法建立了 48 份茄子栽培品种及其近缘野生种间的遗传关系聚类图(图 3). 聚类结果表明,48 份供试种质间的遗传相似系数分布在 0.52 ~ 0.98 之间,平均遗传相似系数 0.90. 在遗传相似系数 0.83 处可将供试的 48 份种质划分为 5 大类群.

第 1 类群包括 1 份野生茄种质,46 号(刚果茄),来源于非洲,果实球形,果皮颜色绿色,成熟果黄红色.

第 2 类群包括 1 份野生茄种质,43 号(水茄),来源于广州,果实小球形,果皮颜色绿色,成熟后呈现浅黄色.

第 3 类群包括 1 份野生茄种质,45 号(红茄),来源于印尼,果实卵圆形,嫩果浅绿色,老果红色.

第 4 类群包括 1 份野生种,44 号(刺茄),果实圆形白色,来源于泰国.

第 5 类群为剩余的 44 份栽培茄种质.

2.3 茄子栽培品种间的遗传多样性

由聚类结果可知,44 份茄子栽培品种的遗传相似系数集中分布在 0.84 ~ 0.98 之间,平均遗传相似系数为 0.92,说明栽培品种间遗传差异较小,亲缘关系较近. 在遗传相似系数 0.865 处可以把栽培品种分为 5 组:

第 1 组包括 2 份种质,47 号(周茄),果实长棒形,紫红色,来源于广东;另一份为 48 号(Franchi),果实长椭圆形,紫黑色,来源于法国. 尽管 2 份种质来源地比较远,但是仍能聚在一起,说明两者亲缘关系仍然较近.

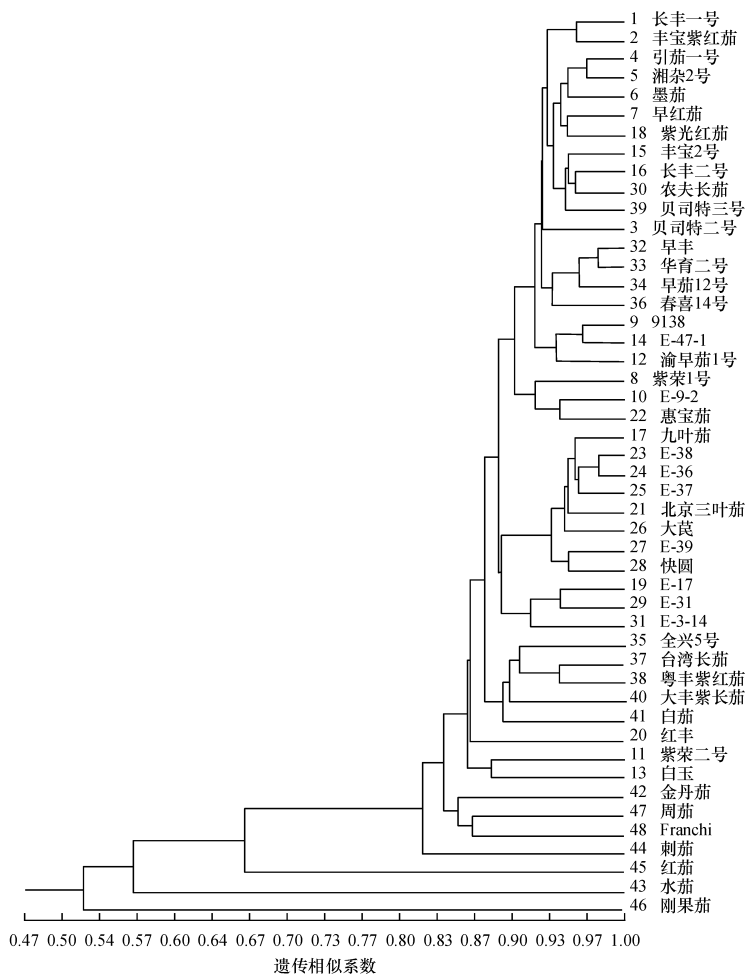


图3 48份茄子栽培品种及其近缘野生种的ISSR聚类分析图

Fig. 3 The cluster of eggplants and their related wild species

第2组包括1份种质,42号(金蛋茄),属于观赏茄,果实白色,成熟后金黄色,果形为椭圆形,来源于泰国.

第3组包括2份种质,11号(紫紫二号)和13号(白玉),紫紫二号果实细长棒形,紫红色,来源于广东;白玉果实细长形,白色,也是来源于广东.

第4组包括1份种质,20号(红丰),果实棒形,紫红色,来源于广东.

第5组包括剩余的38份种质,在遗传相似系数为0.894处,又可以把这38份种质细分为4个亚组.第1个亚组包括1号(长丰一号)、2号(丰宝紫红茄)、4号(引茄一号)等22份栽培茄种质,表现为果实长棒形;第2亚组包括17号(九叶茄)、23号(E-38)、24号(E-36)、21号(北京三叶茄)等8份种质,表现为果实圆球形,紫红或紫黑色;第3亚组包括19号(E-17)、29号(E-31)和31号(E-3-1-4),表现为果形均为椭圆形,果色包括红色[19号(E-17)]和浅紫黑色[29号(E-31)]和紫红色[31号(E-3-1-4)].第4亚组包括35号(全兴5号)、37号(台湾长茄)、38

号(粤丰紫红茄)等5份栽培茄种质,表现为果实长棒形.

同样来自广东的早丰茄与华育二号,长丰二号与农夫长茄,长丰一号与丰宝紫红茄、紫紫一号与惠宝茄亲缘关系比较近,台湾长茄与广东的粤丰紫红茄的亲缘关系比较近.来自北方的快圆茄、大茺、九叶茄、北京三叶茄、自交系E-36、E-37、E-38、E-39亲缘关系比较近.红丰茄单独归为一组,其与来源于广东的其他茄子品种亲缘关系相对较远.

从栽培茄ISSR标记的聚类结果可以看出,聚类结果与茄子种质的果形具有一定的相关性,如第5组内果形为长棒形、圆球形和椭圆形的茄子大部分都聚在一块.

比较聚类结果与果色的关系发现,聚类结果与果色在一定程度上存在相关性,但不完全相关,大多数果实表现紫黑色、紫红色的茄子材料能够聚在一起,但是2个表现白色的材料没有聚在一起.

从分类结果可以看出,参试种质的地理来源与聚类结果在总体趋势上存在一定相关性.如栽培茄

种内第5组第1亚组,大多来源于中国南方省份,如1号(长丰一号)、2号(丰宝紫红茄)、7号(早红茄)等均来源于广东,5号(湘杂2号)来源于湖南,6号(墨茄)、34号(早茄12号)来自四川;在第2亚组,大多数的圆球形栽培茄来自中国北方,如:17号(九叶茄)来自北京;23号(E-38)、24号(E-36)、25号(E-37)均来源于辽宁;另外,国外资源如来自泰国的19号(E-17)与来自马来西亚的29号(E-31)及国内材料31号(E-3-1-4)聚在一起。

3 讨论

有关茄子遗传多样性的分析有一些报道,如冉进等^[5]利用 RAPD 标记分析 53 份茄子种质资源的遗传多样性,结果表明,种质间遗传相似系数在 0.72~0.99 之间. 廖毅等^[8]利用 AFLP 标记分析了国内外 54 份栽培品种,结果是栽培种内不同自交系间的相似系数在 0.904 以上. 毛伟海等^[9]利用 ISSR 标记对我国 57 份南方长茄资源的遗传多样性进行了分析,发现品种间的遗传相似系数为 0.51~0.98. 这些研究表明茄子栽培种内品种间的遗传基础相对较狭窄. 本研究中 44 份栽培茄子资源的遗传相似系数在 0.84~0.98 之间,所得的结果与前人研究结果大致相似. 因此,寻找新的茄子种质资源,进一步拓宽茄子的遗传背景,对茄子育种尤为重要.

植物学性状和分子标记的检测相结合,已经成为目前检测遗传多样性的有效手段^[13-14]. Mace 等^[6]、Furini 等^[7]和韩洪强^[15]对茄子栽培种和野生近缘种进行形态学与分子标记遗传多样性分析结果表明,植物学形状与分子标记聚类结果两者具有很高的相关性. 本研究中聚类结果与茄子的果形具有一定的相关性,但是聚类结果与果色表现不完全一致,这与冉进等^[5]的分析结论相一致. 这可能与果形性状相对保守,遗传稳定,而果色性状容易受环境因素影响,易发生变化有关. 当然,由于试验中选用的引物数量有限,对试验结果也会造成一定的差异.

从分类结果可以看出,参试种质的地理来源与聚类结果在总体趋势上存在一定相关性,但不完全一致. 如栽培茄种内第5组第1亚组,大多来源于中国南方省份,在第2亚组,大多数的圆球形栽培茄来自中国北方;另外,来自泰国的19号(E-17)、马来西亚的29号(E-31)与来自广东的31号(E-3-1-4)聚在一起,来源地同属于东南亚地区. 这可能由于不同的生态环境,形成了茄子不同的生态类型,又由于茄子为自花授粉作物,使不同类型得以保持. 同时,由于不同地区的相互引种,造成种质在来源上与聚类结果上会出现一定的不一致.

参考文献:

- [1] FAO. 2010 Data now available [EB/OL]. [2011-05-17]. <http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor>.
- [2] 刘春香,孙宝娟,张汉卿. 茄子 F_1 代杂种的性状优势研究[J]. 山东农业科学,2001(3):9-11.
- [3] 柳李旺,汪隆植,龚义勤,等. 几种茄属植物基因组 DNA 提取与 RAPD 分析[J]. 安徽农业科学,1997(3):193-195.
- [4] 封林林,屈冬玉,连勇,等. 利用 RAPD 分析部分茄子品种的亲缘关系[J]. 中国蔬菜,2002(4):37-38.
- [5] 冉进,宋明,房超,等. 茄子 (*S. melongena* L.) 种质资源遗传多样性的 RAPD 分析[J]. 西南农业学报,2007,20(4):694-697.
- [6] MACE E S, LESTER R N, GEBHARDT C G. AFLP analysis of genetic relationships among the cultivated eggplant (*Solanum melongena* L.) and wild relatives (*solanaceae*) [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1999, 99:626-633.
- [7] FURINI A, WUNDER J. Analysis of eggplant (*Solanum melongena*)-related germplasm: morphological and AFLP data contribute to phylogenetic interpretations and germplasm utilization [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2004, 108:197-208.
- [8] 廖毅,孙保娟,黎振兴,等. 茄子及其近缘野生种遗传多样性及亲缘关系的 AFLP 分析[J]. 热带作物学报,2009,30(6):781-787.
- [9] 毛伟海,杜黎明,包崇来,等. 我国南方长茄种质资源的 ISSR 标记分析[J]. 园艺学报,2006,33(5):1109-1112.
- [10] SHIRO I, IWATA N, MD-MIZANUR M R K. ISSR variation in eggplant (*Solanum melongena* L.) and related *Solanum* species [J]. Scientia Horticulture, 2008, 117:186-190.
- [11] DEMIR K, BAKIR M, SARIKAMIS G, et al. Genetic diversity of eggplant (*Solanum melongena*) germplasm from Turkey assessed by SSR and RAPD markers [J]. Genetics and Molecular Research, 2010, 9(3):1568-1576.
- [12] 黄晓丹,张云贵,应铁进. 高质量植物基因组 DNA 的提取[J]. 植物生理学通讯,2006,42(2):311-314.
- [13] JOHNS M A, SKROCH P W, NIENHUIS J, et al. Gene pool classification of common bean landraces from Chile based on RAPD and morphological [J]. Crop Science, 1997,37:605-613.
- [14] VILLAND J, BERKE T, NIENHUIS J. The characterization of jalapeno (*Capsicum annum*) germplasm based on RAPD markers and morphology [J]. Hortscience, 1998, 33(3):514.
- [15] 韩洪强. 利用形态学标记和 SSR 分子标记分析茄子种质资源遗传多样性 [D]. 上海:上海交通大学,2009.