

# 芥菜类作物的遗传多样性

付 杰 张明方\* 王 涛

(浙江大学园艺系蔬菜研究所, 杭州 310029)

**摘要** 芥菜类是我国重要的经济作物,遗传资源十分丰富。现就目前国内国外芥菜类作物遗传多样性研究的现状进行综述,并着重阐述了芥菜类作物的分类、分布以及遗传多样性研究方法,如形态学分析法、同工酶分析法、RAPD法和RFLP法。同时对芥菜类作物遗传多样性研究存在的问题和今后的研究方向进行了探讨。

**关键词** 芥菜; 遗传多样性; 同工酶; RAPD; RFLP

芥菜(*Brassica juncea* Coss)是我国十字花科芸薹属的一类作物,其栽培历史可以追溯到公元前六世纪。芥菜在我国有广泛的分布。鉴于芥菜类作物的经济价值,对其起源、分类和遗传学方面的研究很有必要。过去受技术水平限制,仅能对芥菜类作物的遗传现象进行传统的统计学分析,而随着分子生物学实验技术的发展,现在已经能在分子水平上对芥菜类作物的遗传多样性进行研究。芥菜类作物的遗传变异的类型很多,要了解芥菜类作物,就有必要对该物种的各个分支的亲缘关系进行系统和深入的研究。

## 1 芥菜的分布、分类和变异

陈材林等<sup>[1]</sup>对我国20个省的近1000份芥菜材料的栽培学调查表明:除高寒地区和干旱地区以外,全国各省都有芥菜栽培,不存在分布边界,并且不同地区分布的集散程度、类型和品种数量也有较大差异。同时,我国的芥菜类作物对生态条件的要求既有相对的一致性又有显著的差异性;在地域的分布上表现出广泛性也表现出区域性<sup>[2]</sup>。

芥菜分布的区域有3个:秦岭淮河以南,青藏高原以东到东南沿海地区是我国芥菜的主要栽培地区;秦岭淮河以北,大兴安岭以南,呼和浩特-长城-兰州一线以南以东的地区是我国芥菜的次要栽培地区;呼和浩特-长城-兰州一线以北、以西的地区和青藏高原是我国芥菜零星分布的区域<sup>[1]</sup>。

我国的栽培芥菜主要分布在华南以及长江中下游各省区,其中,四川省无论在变异类型的丰富程度还是在品种资源数量的分布方面都居全国各省之

首,并主要集中于四川盆地内,在芥菜的类型、变种、品种和数量的分布上,盆地内占四川全省的95%以上<sup>[2]</sup>。

根据陈材林等<sup>[1]</sup>的观察,并根据芥菜类作物形态结构的稳定性和显著的差异性,可将芥菜种分为根芥、茎芥、薹芥、叶芥四类,共16个变种<sup>[3]</sup>。经检验发现各类群的染色体数目均为 $2n=36$ ,这16个变种类群之间不存在中间类型,并且相互之间不存在生殖隔离,所以这16个芥菜的分类群体均属于“种”以下的范畴,应该划分为芥菜的变种<sup>[4]</sup>。这些变种的分类结果见表1。

芥菜类作物在自然选择和人工选择的共同影响下形成了一系列变异类型。在所有栽培作物中,芥菜变异的程度之大是少见的,是芸薹属植物在进化上的一个典型种类。陈材林等<sup>[1]</sup>的调查表明,芥菜的遗传变异主要表现在根、茎、叶和花器官的变异。芥菜根器官在进化过程中,主根特化成肉质的营养储藏器官;茎器官变异主要有3类:(1)茎增大,增粗,加长形成莴笋状的肉质茎;(2)茎上着生瘤状突起,突起的瘤和肉质茎都可以食用;(3)腋芽在茎膨大的时候膨大,与肉质茎共同构成可食用部分。叶芥的变异主要是叶形态变化,叶柄加长,变肥厚,可食用性增强,叶柄中部或下部着生瘤状突起,肥厚多汁的肉瘤可以食用。叶器官的变异种类是芥菜的器官变异中最丰富的;结球芥菜变种叠抱的心叶是可食用部分。花器官的变异主要

收稿日期:2003-10-21 接受日期:2004-02-17

\*通讯作者。Tel: 0571-86971123, E-mail: mfzhang@zju.edu.cn

表1 芥菜的16个变种类型

分类	变种名	拉丁名以及分布地区
根芥	大头芥	<i>var. megarrhiza</i> Tsen et Lee 在我国的大部分地区均有栽培
藁芥	藁芥	<i>var. utilis</i> Li 该变种在四川、浙江、广东等省都有栽培,按照花茎和侧藁的肥大程度可以分为多藁型和单藁型两个主要类型 <sup>[3]</sup>
茎芥	笋子芥	<i>var. crassicaulis</i> Chen et Yang 主要分布在四川和江西
	茎瘤芥	<i>var. tumida</i> Tsen et Lee 主要分布于四川和浙江
	抱子芥	<i>var. gemmifera</i> Lee et lin 主要分布在四川
叶芥	大叶芥	<i>var. rugosa</i> Bailey 分布在我国黄河以南地区
	小叶芥	<i>var. foliosa</i> Bailey 主要在我国西南有栽培
	白花芥	<i>var. leucanthus</i> Chen et Yang 仅在四川有发现
	花叶芥	<i>var. multisecta</i> Bailey 在上海、江苏、浙江都有栽培
	长柄芥	<i>var. longepetiolata</i> Yang et Chen 主要分布在四川
	凤尾芥	<i>var. linearifolia</i> Sun 在四川有少量栽培
	叶瘤芥	<i>var. strumata</i> Tsen et Lee 在四川、浙江、江苏等省有一定的栽培面积
	宽柄芥	<i>var. latipa</i> Li 在四川、湖南、湖北、贵州、江苏、浙江、陕西都有栽培
	卷心芥	<i>var. invduta</i> Yang et Chen 在四川普遍栽培
	结球芥	<i>var. capitata</i> Hort 主要在广东、福建有栽培
	分蘖芥	<i>var. multiceps</i> Tsen et Lee 全国各省都有栽培

指花藁的变异,经过低温春化后,花藁提前抽出并且形成肥大的肉质结构。另外,芥菜的变异还包括植株或叶片颜色的变异<sup>[2]</sup>。

## 2 遗传多样性研究

研究芥菜类作物的遗传多样性的方法很多,一般可以通过品种间的形态学比较、生物化学、分子生物学和细胞遗传学分析的方法来进行。

### 2.1 形态学分析

从形态学角度对芥菜类作物的变异类型之间的相似性和差异性进行调查研究可以获得芥菜种内分类群体之间的亲疏关系。陈材林等<sup>[1]</sup>从形态学角度进行了调查比较分析,对一般的植物学性状如株高、开展度、叶形、叶长、叶宽、叶色、叶柄的长宽厚、分蘖的多少,以及花、果、种子和各种变异类型的特殊性状,比如根芥肉质根的形状和大小、叶芥的叶的形状和大小等进行了调查研究,分析表明,在16个具有典型性状的变种之间存在许多中间过渡类型,从这些过渡类型可以看清芥菜种内从一个变种到另一个变种的演化过程。

### 2.2 同工酶分析

2.2.1 酯酶同工酶 同工酶多态性分析是调查生

物群体的遗传多样性的一条有用的生化途径<sup>[5]</sup>。由于同工酶受基因控制,并且在进化过程中有一定的稳定性,因此可以用于对植物不同分类群间进行比较,为分类学提供生物化学证据<sup>[6]</sup>。目前,同工酶分析已经广泛用于各种遗传多样性和遗传距离的指数和杂合性水平等遗传参数的研究<sup>[7]</sup>。陈学群等<sup>[6]</sup>对芥菜四大类群16个变种的44个代表品种的成熟花蕾和种子进行了酯酶同工酶的研究,结果种子和花蕾的酶带类型基本相同。研究中将各变种和类群间相互比较最终得到的酶谱距离作为变种间和类群间的区分的指标<sup>[2]</sup>,通过对酯酶的同工酶分析以及酶谱距离测定得到四个类群内和类群间的平均酶谱距离,平均酶谱距离的实质是类群间遗传差异和亲缘关系在生物化学水平上的量化,反映的是生物类群间的遗传距离。分析结果表明根芥、茎芥、藁芥均可能是从叶芥演化而来的。藁芥类群与其他的类群相比较,其酯酶同工酶的距离相差最大,并且其酶谱的表现类型也与其他类群差异较大,这表明藁芥与其他类群的亲缘关系最远,由此推断藁芥可能是芥菜物种演化过程中产生的一个独立的分支<sup>[2]</sup>。同时,四大类群间的平均酶谱的距离要大于类群内的平均酶谱距离,这说明各类群间的亲缘关系要比各类群内的变种间的亲缘关系远,应该在芥菜种以下和变种以上再定为四个芥菜亚种,即根芥亚种,叶芥亚种,茎芥亚种和藁芥亚种<sup>[6]</sup>。

2.2.2 过氧化物同工酶 过氧化物酶标记是一种重要的同工酶分子标记,对芸薹属作物的过氧化物同工酶酶谱的比较表明,若两者的过氧化物同工酶的谱带近似,那么两者的亲缘关系就比较近<sup>[3]</sup>。对栽培芥菜、野生芥菜以及其原始亲本(黑芥与白菜)的过氧化物酶和细胞色素氧化酶同工酶的分析表明,我国西北地区也可能是芥菜的起源地,可以说,我国栽培芥菜的广泛分布是野生芥菜演化的直接结果<sup>[6]</sup>。另外,上述两种同工酶的分析表明,芥菜的酶谱是黑芥与白菜酶谱的完整叠加,而酶谱叠加现象的本质是基因的叠加,在一定程度上证明芥菜是白菜和黑芥的后代。栽培芥菜与野生芥菜在过氧化物同工酶和细胞色素氧化酶同工酶的特征酶谱上表现一致,说明它们的亲缘关系很近。

2.2.3 酸性磷酸酶同工酶 童南奎等<sup>[8]</sup>利用聚丙烯酰胺凝胶电泳法对芥菜不同类型的品种和其原始亲本种白菜(*Brassica campestris* L.)和黑芥(*Brassica nigra* Koch)的酸性磷酸酶同工酶酶谱的表现进行了

研究,结果芥菜的酸性磷酸酶同工酶酶谱表现与白菜、黑芥的酸性磷酸酶的酶谱的表现有较强的同源性。芥菜不同类型的品种与其酸性磷酸酶同工酶酶谱表现之间也有一定的联系,芥菜形态学上的划分,包括叶芥、裂叶芥、瘤叶芥、结球芥、基部分支芥、茎芥、根芥几大类型,它们的形态有明显的差异。芥菜各种变异类型在酸性磷酸酶同工酶的酶谱表现上也有一定差异,但芥菜品种在酶谱上表现的差异并不与它们在形态上的差异完全一致,仅用芥菜三叶期幼苗的酸性磷酸酶同工酶还不能区分芥菜的不同类型的品种,从同工酶角度对芥菜类型的划分可能与从形态上划分的结果不一致<sup>[8]</sup>。Sekhon等<sup>[9]</sup>研究了印度芥菜F<sub>1</sub>来自于双亲间同工酶的遗传距离的杂种优势,检验了基于同工酶的多样性的互作在预测杂种优势中的作用,结果把基于同工酶的遗传距离分为普通遗传距离和特殊遗传距离,他和其他一些作者认为把特殊遗传距离与形态特征的特殊配合力结合起来有可能提高杂种优势的预测度<sup>[9]</sup>。

### 2.3 分子标记分析

**2.3.1 RAPD 标记** 随机扩增的多态性DNA(RAPD)技术可以被用于栽培种个体间或物种范围内的分类<sup>[10]</sup>。用RAPD标记对巴基斯坦的包括6个油菜的栽培种和5个蔬菜栽培种的芥菜在内的41个芸薹属材料的多样性和亲缘关系评价结果表明,RAPD标记对亲缘关系的比较和作物材料中的遗传变异形式的比较是一项简单而快速的技术<sup>[11]</sup>。RAPD标记能快速、经济、客观地反映出多个个体间的遗传多样性和相互关系,是研究作物遗传多样性的一个有效手段<sup>[12]</sup>。通过RAPD产生的标记能为收集的遗传资源的管理提供客观的信息<sup>[10]</sup>。因为芸薹属作物每一种内有高水平的多态性,有截然不同的二倍体和天然双二倍体的基因组,并且可以获得不同的外加品系<sup>[11]</sup>,因此RAPD技术对芥菜类作物的遗传多样性分析是一个很好的选择。

乔爱民等<sup>[13]</sup>对我国16个菜用芥菜变种进行了RAPD分析,对19个随机引物在芥菜16个变种上扩增的240条DNA带进行了UPGA聚类分析,建立了中国菜用芥菜的16个变种的亲缘关系的系统树图。该系统树图将芥菜的16个变种划分为A、B和C三组,A组包括7个变种,其中孢子芥和笋子芥的亲缘关系很接近,与形态上的表现相一致。B组又可以分为两个亚组,B组的8个变种都是叶芥并且

进化程度较高,其基本形态特征表现为叶的变异。C组的茎瘤芥是进化程度最高的一个变种,它的蛋白质以及氨基酸含量和种类都与其他变种有差异。

芥菜变种变异的复杂性和分化程度超过了同属的白菜和甘蓝<sup>[13]</sup>。从分子水平来讲,不同物种的基因组DNA的多态性程度是不同的,芥菜基因组DNA高达81.85%的多态性和平均每个引物扩增12.44条多态性条带表明,在DNA分子水平上,芥菜“种”内存在丰富的遗传变异,而这正是芥菜类作物有丰富的品种和变种的分子基础。

对芸薹属作物进行的RAPD分析表明,要充分反映其亲缘关系,至少需要10个引物的大约100个RAPD标记<sup>[12]</sup>。采用RAPD标记分析芥菜类作物品种间的遗传关系时,为了使分析结果更加客观,至少要用13个引物进行PCR反应<sup>[14]</sup>。利用2~19种引物和27~240个RAPD标记对16个芥菜变种进行UPGA聚类分析都将16个芥菜的变种分为A、B、C三组,并且C组只有茎瘤芥一个变种,A组和B组所包括的变种则略有变化。少数引物的扩增产物RAPD标记也能基本反映芥菜品种间的亲缘关系。但随着引物种数和RAPD标记数的减少,16个芥菜变种间的平均遗传距离也在减少。即从19种引物、240个RAPD标记时的7.34减少到2种引物27个RAPD标记时的2.34。而遗传距离的减少会使16个芥菜变种的亲缘关系的划分更加困难,这是因为每种随机引物在基因组DNA序列上的结合位点是随机的,而芥菜基因组DNA有丰富的多态性(高达81.85%),故其扩增的RAPD标记能独立的反映16个变种基因组DNA之间的遗传关系。若采用的引物种数过少,由于结合位点太少,其扩增的产物并不能充分揭示出芥菜不同基因组DNA之间的多态性,即难以准确反映其亲缘关系。所以,在利用RAPD技术研究芥菜不同变种之间的亲缘关系时,保证有一定种数的引物和RAPD标记很有必要<sup>[13]</sup>。用RAPD分析一定范围内的野生芥菜群体的遗传变异,用60个标记评估英国12个不同地点(包括使用过除草剂的和未使用过除草剂的地区)的芥菜的野生群体的遗传变异的程度,结果表明在那些实行轮作和使用除草剂的地方遗传变异得到了保持<sup>[7]</sup>。

Jain等<sup>[15]</sup>用34个随机寡核苷酸引物和6个双引物结合体(上述34个随机引物中的6对引物的两两结合体)探明了12个来自于印度和11个外来的芥菜基因型的内在的变异和亲缘关系,他们把所有的基因

型分成 A、B 两组, A 组仅仅包括了外来的基因型, 而 B 组包括了所有的印度基因型和其他四个外来的基因型。结果表明, 外来的基因型和印度型的杂交种有高的杂种优势。另一方面, 如果仅仅在印度型或在外来型的内部杂交, 80% 的基因型表现出负的杂种优势, 这表明尽管遗传距离和杂种优势之间缺乏直接的相关, 遗传多样性对芸薹属内的基因型的关系和优势育种工作中的亲本的选择的调查研究仍有很重要的指导作用<sup>[15]</sup>。Anand 等<sup>[16]</sup>对褐芥中的遗传多样性、配合力和杂种优势进行了分析。对 8 个与产量相关的亲本数据和 41 个两雄同雌异时交配数据的聚类分析表明, 一个品系的地理分布的多样性未必是它的遗传多样性指标, 并且在多样性估计的基础上对亲本的选择在杂交育种的程序中很重要。其特殊配合力的影响表明品系间的遗传多样性程度与育种值和一个品系的杂种优势的潜力相联系。

对 118 个有地理差异的芥菜品系的初步多元回归分析后, 从中选择了 48 个进行深入研究, 按 9 个形态特征分别记录数据, 并且用 D2 统计分析法进行分析, 另外从一个 12 系 × 4 个测交种的杂交组合中得到了 48 个杂交组合用于研究 9 个特征和内容物的杂种优势和配合力。基于种子的产量和成分, 把这些系分成 5 个类, 并且这 5 个类在地理和遗传多样性之间没有直接的联系, 不过在亲本的遗传多样性以及杂交的杂种优势之间的确存在一定的联系, 这意味着育种的亲本的选择应该建立在多样性估计和配合力分析的两者的基础上<sup>[16, 17]</sup>。

**2.3.2 RFLP** 限制性片段长度多态性(RFLP)和 RAPD 技术同样被广泛应用于作物种质的亲缘关系的分析, 但这两种技术对芥菜类作物的遗传多样性的分析会出现不同的结果, 在评价种内的亲缘关系方面 RAPD 标记和 RFLP 比较相似, 然而这两种标记技术在评价种间亲缘关系方面却得到不完全相同的结果, 在对一个物种以上的材料亲缘关系进行评价的时候, RFLP 标记数据的可靠性要大<sup>[18]</sup>。利用 RFLP 技术可以快速、准确地进行种间或种内的遗传分析, 并依据 RFLP 的数据建立多基因图谱, 得到物种的遗传和进化的信息。宋克明等<sup>[19]</sup>利用 RFLP 从变种水平的多态性现象证明了芥菜的 6 个不同的形态特征(如: 分蘖、结球和花茎早生等)类型在 DNA 水平上与白菜平行变异的特性, 这说明芥菜种内的进化发展可以在 DNA 水平上得到反映, 同时说明两者之间的亲缘关系<sup>[20]</sup>。

## 2.4 核型分析

生物的染色体参数的变化与生物进化有直接的关系, 对生物的染色体的核型分析可以为生物的进化和遗传变异以及遗传的多样性提供细胞遗传学的证据。根据 Levitsky 提出的核型对称性与不对称性的概念可以分析物种的进化趋势, 一般来说, 对称的核型是原始的, 但核型的不对称性的增加却不总是与外部形态的进化同步。对芥菜的 6 个变种进行的染色体核型分析, 从核型进化的趋势来看, 芥菜的核型有可能是由不对称向对称发展, 这与 Levitsky 的核型进化趋势的观点不一致<sup>[2]</sup>。王建波等<sup>[21]</sup>对芥菜的 12 个变种进行分析的结果表明: 在核型水平上, 芥菜各变种的外部形态的差异与染色体的倍性和数目没有直接关系, 而与染色体结构改变、随体数目差异和位置排列的不同有关。

## 2.5 电泳、层析和血清学分析

植物种子贮藏蛋白质比较稳定, 一旦种子成熟, 它受环境及季节等外界条件影响很小, 甚至染色体的重排或加倍也很少改变其固有的蛋白质成分, 因此对种子蛋白质组成的分析已广泛应用于植物的分类、进化、遗传和变异等方面的研究。利用电泳方法能够测定种及种内水平蛋白质光谱的差异, 利用气相层析技术能够明确种以下的不同作物类型的特殊油组成的异同, 利用血清学分析的方法能够了解种内不同类型的蛋白血清学反应的变化。Vaughan 等<sup>[2]</sup>对芥菜进行了电泳, 层析以及血清学三方面的分析, 测定了 146 份材料的蛋白质光谱, 结果证明来源于印度的芥菜材料蛋白质含量的变异范围为 25%~100%, 来源于远东的芥菜材料(包括中国的叶芥的类型)蛋白质含量的变异范围为 38%~91%, 显然这些变异的范围很宽。层析分析表明, 来源于远东的材料通常仅含有挥发性油烯丙基异硫氰酸盐(AITC)或含有少量的 3-丁基异硫氰酸盐(BITC); 而来源于印度的材料只含 BITC 或同时含有少量的 AITC。通过血清学研究芥菜种子蛋白质血清学反应的差异证明除了印度系统和远东系统的差异以外以叶型划分的芥菜的 4 个变种也存在差异, 说明 Vaughan 等采用的材料划分为印度系统和远东系统是合理的。

## 3 小结

目前, 对芥菜这一物种的研究正逐渐深入。对芥菜类作物的各变种的同工酶分析, 以及对芥菜类

作物的 RAPD 分析都有了一定的进展。但实际上目前关于芥菜类作物的有关方面还知之甚少,对芥菜类作物的研究方法还比较单调。由于近年来分子生物学技术的发展,为深入研究芥菜类作物的遗传多样性创造了条件,根据国内的情况可以尝试对芥菜类作物的细胞质基因进行多样性分析;研究芥菜类作物的遗传和进化可以对芥菜类作物的特殊物质进行品种间的对比来找出品种间的差异;可以通过观察不同品种花粉的形态差异来进行分类研究,也可以开展基础性的形态学调查工作,对各种类型的芥菜发育的不同阶段进行详细的追踪调查。总之,要想对芥菜类作物与生产有关的性状进行彻底改良还存在一些局限性,需要经过长期的摸索才会有清楚的轮廓。

#### 参考文献 (References)

- [1] 陈材林等。西南农业学报, 1990, 3: 17
- [2] 刘佩英。中国芥菜, 北京: 中国农业出版社, 1996
- [3] 吴沿友等。贵州农业科学, 1996, (2):14
- [4] 杨以耕等。园艺学报, 1989, 16:114
- [5] Diasl JS *et al.* *Euphytica*, 1994, 75: 221
- [6] 陈学群等。西南农业学报, 1993, 6: 40
- [7] Michael M *et al.* *Weed Science*, 1997, 45: 102
- [8] 童南奎等。园艺学报, 1990, 17: 293
- [9] Sekhon MS *et al.* *Theor Appl Genet*, 1995, 91: 1148
- [10] Kresovich S *et al.* *Theor Appl Genet*, 1992, 85: 190
- [11] Quiros CF *et al.* *Theor Appl Genet*, 1991, 82: 627
- [12] Demeke T *et al.* *Theor Appl Genet*, 1992, 84: 990
- [13] 乔爱民等。植物学报, 1998, 40: 915
- [14] 陈新露等。园艺学报, 1995, 22: 171
- [15] Jain A *et al.* *Theor Appl Genet*, 1994, 88: 116
- [16] Anand IJ *et al.* *Indian J Genet and Plant Breeding*, 1984, 44: 226
- [17] Gupta VP *et al.* *Indian J Genet*, 1991, 51: 448
- [18] 童南奎。西南农业大学学报, 1991, 13: 321
- [19] Song KM *et al.* *Theor Appl Genet*, 1988, 75: 784
- [20] Thormann CE *et al.* *Theor Appl Genet*, 1994, 88: 973
- [21] 王建波等。园艺学报, 1992, 19: 245

## The Genetic Diversity of Chinese Mustard (*Brassica juncea* Coss)

Jie Fu, Ming-Fang Zhang\*, Tao Wang

(Institute of Vegetable, Department of Horticulture, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

**Abstract** Economically Chinese mustard is an important crop in China. It has wide genetic background and diversity. Here the current status on the study of the genetic diversity, the taxonomy, the distribution, the approaches used for the genetic diversity study such as morphology analysis, isoenzyme analysis, RAPD and RFLP were discussed in this article, in addition the problems existing in the study of genetic diversity of Chinese mustard and the prospect of future research work were discussed also.

**Key words** Chinese mustard; genetic diversity; isoenzyme; RAPD; RFLP

Received: October 21, 2003 Accepted: February 17, 2004

\*Corresponding author. Tel: 86-571-86971123, E-mail: mfzhang@zju.edu.cn