

# 云南芒果种质基因组大小测定与变异分析

柳颢, 李开雄, 孔广红, 倪书邦

(云南省热带作物科学研究所, 云南 景洪 666100)

**摘要:** 为了解云南芒果(*Mangifera indica* L.)种质资源的基因组的变异情况,采用流式细胞术对 35 份云南芒果种质资源的基因组大小进行了测定和变异分析。结果表明,云南芒果种质资源的基因组大小存在一定差异,基因组的平均 C 值是 0.445110 pg, 0.4353177×10<sup>9</sup> bp, 最小的是采自景洪的半栽培种 YSM-44 (0.434567 pg, 0.4250060×10<sup>9</sup> bp), 最大的是采自红河的野生种 YSM-25 (0.458679 pg, 0.4485881×10<sup>9</sup> bp)。基因组 C 值变异程度最大的是野生种(CV=1.65%), 其次为半野生种(CV=1.26%)、半栽培种(CV=1.21%)和栽培种(CV=0.11%)。与芒果具有相近基因组大小的多为苔藓植物,与“C 值悖论”观点相一致。因此,应用流式细胞术能准确、快捷地测定芒果基因组大小,而且云南野生、半野生及半栽培芒果种质资源遗传变异类型丰富,有较大的挖掘利用潜力。

**关键词:** 芒果; 种质资源; 基因组; 变异

doi: 10.11926/j.issn.1005-3395.2015.04.004

## Genome Size and Variation Analysis of Mango (*Mangifera indica* L.) Germplasms in Yunnan by Flow Cytometry

LIU Jin, LI Kai-xiong, KONG Guang-hong, NI Shu-bang

(Yunnan Institute of Tropical Crops, Jinghong 666100, China)

**Abstract:** In order to understand the variation of mango (*Mangifera indica* L.) germplasms in Yunnan, the genome size of 35 germplasms was determined by flow cytometry and their variation was analyzed. The results showed that the mean genome size among the 35 germplasms was 0.445110 pg and 0.4353177×10<sup>9</sup> bp, which the minimum one (0.434567 pg, 0.4250060×10<sup>9</sup> bp) was YSM-44 from Jinghong, and the maximum one (0.458679 pg, 0.4485881×10<sup>9</sup> bp) was YSM-25 from Honghe. The genome size variation of wild germplasms was the largest (CV=1.65%), followed by semi-wild germplasms (CV=1.26%), semi-cultivated germplasms (CV=1.21%) and cultivated germplasms (CV=0.11%). The bryophytes had similar genome size to mango, which is consistent with the “C-value paradox” theory. Therefore, flow cytometry method could accurately and fastly measure genome size of mango, and the genetic variation in wild, semi-wild and semi-cultivated germplasms was rich, these could be used for mango breeding.

**Key words:** Mango; Germplasms; Genome size; Variation analysis

芒果(*Mangifera indica* L.)是世界上最重要的热带和亚热带水果之一,隶属于漆树科(Anacardiaceae)芒果属常绿乔木<sup>[1]</sup>。因其在热带和亚热带地区分布广泛、栽培历史悠久、营养丰富、外形优美,深受人们喜爱,被称为“热带果王”<sup>[2-3]</sup>。芒果属全球约有

69 种,主要分布于印度、印度尼西亚、马来半岛、泰国等东南亚地区<sup>[4]</sup>,数千年前就已驯化成果树。传统上认为芒果起源于印度,但越来越多的研究表明,印度并不是唯一的野生芒果起源地<sup>[5]</sup>,我国云南和广西等地也是芒果的起源地之一<sup>[6-7]</sup>。

收稿日期: 2014-10-24

接受日期: 2014-12-26

基金项目: 农业部热带作物种质资源保护项目(14RZZY-41, 15RZZY-41)资助

\* 通信作者 Corresponding author. E-mail: sbnee@21cn.com

云南芒果已有近 100 年的种植历史,主要分布于澜沧江、怒江和红河流域,少数民族聚居地的村寨习惯于在房前屋后或田边地角栽种芒果树<sup>[8]</sup>。尼章光等将芒果种质资源分为 4 大类:野生种、半野生种、半栽培种和栽培种<sup>[9]</sup>。随着人类活动对自然环境影响的增加,对野生和半野生芒果种质资源的调查、收集、保存和深入研究显得尤为重要。

基因组大小是一个物种的独有遗传学特征,常用  $C$  值( $C$ -value)来表述,是指特定物种单倍体细胞核或配子中 DNA 的含量,通常以质量皮克(pg)或核苷酸碱基对数量(Gb)来表示,且  $1 \text{ pg} = 0.978 \text{ Gb} = 0.978 \times 10^9 \text{ bp}$ 。基因组大小既与植物的生物学性状存在较强相关性<sup>[10-11]</sup>,又与物种的进化位置有一定的关系<sup>[12-13]</sup>,尤其是近年来流式细胞术的广泛应用,使植物基因组大小测定变得更加快捷和准确,截至 2014 年,已有 8510 种植物的基因组  $C$  值<sup>[14]</sup>被准确测定或发表。

尽管芒果的育种和栽培研究历史悠久,国内也有学者对野生或半野生种质资源进行了调查,但对不同芒果种质资源基因组大小测定及变异分析的研究尚未见报道。本研究在 2014 年云南芒果种质资源调查基础上,对 30 份云南野生、半野生和半栽培芒果种质资源及 5 份栽培品种,采用流式细胞术对他们的基因组大小进行了测定,探讨不同种质资源基因组大小的变异情况,同时对与芒果具有相近基因组大小的其他物种进行了分析,为云南野生芒果种质资源的可持续利用和优特异种质的挖掘奠定基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

野生芒果(*Mangifera indica* L.)种质资源于 2014 年

5 月下旬至 6 月下旬采集,采集地点详见表 1。将各种质资源的幼嫩叶片采集后立即放入装有冰袋的密封泡沫箱,定期更换冰袋以维持低温,并在 1 周内完成样品的基因组大小测试。基因组大小流式细胞术测试的内标材料 *Zea mays* L. CE-777 由捷克共和国实验植物学研究所(奥洛摩茨)Jaroslav Dolezel 惠赠。

### 1.2 方法

根据芒果的叶片特征,在 Friedrich<sup>[15]</sup>和柳颢等<sup>[16]</sup>的基础上对流式细胞术测定方法进行了改良。每份种质上机测试 18 至 24 次重复,取其细胞核荧光强度的平均值。以基因组大小已知的 *Zea mays* CE-777 作为内标对照材料,运用 CFlow Plus 1.0.264.15 软件进行数据收集。

## 2 结果和分析

### 2.1 芒果种质资源的基因组大小

采用流式细胞术分别对 9 份云南野生芒果种质、12 份半野生芒果种质和 9 份半栽培芒果种质及 5 份栽培品种的基因组大小进行了测定,以基因组大小已知的 *Zea mays* CE-777 为内标对照。图 1 中横轴表示荧光强度,左侧的峰为芒果,右侧的峰为对照。待测样品基因组  $C$  值=内标样品基因组  $C$  值 $\times$ (待测样品荧光强度/内标样品荧光强度)<sup>[16]</sup>。通过对芒果和 CE-777 的单独流式细胞术检测,芒果细胞核的峰位于对照左侧,说明芒果的基因组大小明显小于对照(*Zea mays* CE-777)。

每份种质至少上机重复测试 18 次,内标 *Zea*

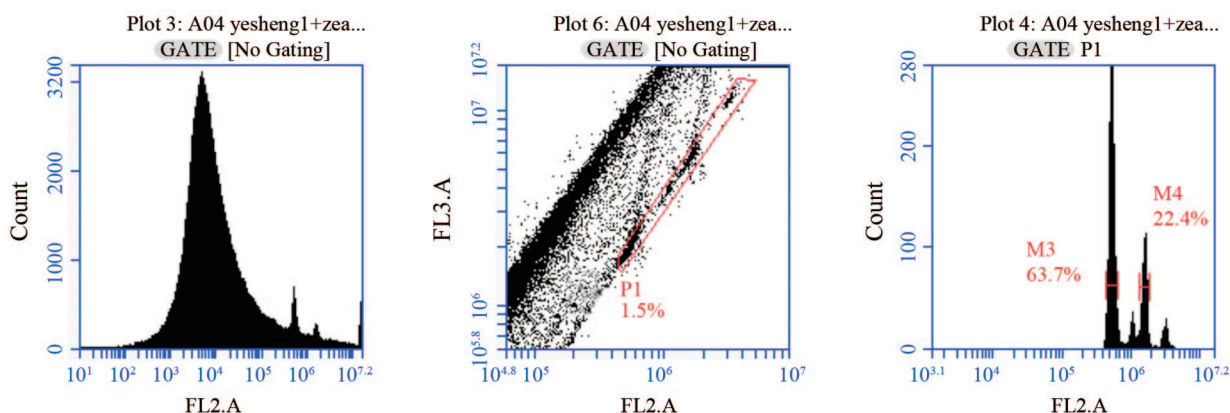


图 1 芒果种质资源 Yesheng1 的流式细胞术测定图。*Zea mays* CE-777 为内标。

Fig.1 Flow cytometry diagram of mango germplasm Yesheng1 with *Zea mays* CE-777 as interior label.

*mays* CE-777 的  $2n$  细胞核 DNA 含量为 5.43 pg。芒果为二倍体植物( $2n=40$ )<sup>[17]</sup>, 按 1 pg DNA =  $0.978 \times 10^9$  bp 对 35 份芒果种质的基因组大小(基因组  $C$  值)进行换算(表 1)。

## 2.2 野生芒果种质基因组大小的变异分析

从表 1 可见, 35 份芒果种质分别采自景洪(6 份)、

景谷(9 份)、元江(5 份)、景东(3 份)、红河(9 份)和永德(3 份)等 6 个县市, 各种质的基因组大小存在一定差异, 基因组  $C$  值最小的是采自景洪的半栽培种 YSM-44 ( $0.434567$  pg,  $0.4250060 \times 10^9$  bp), 基因组  $C$  值最大的是采自红河的野生种 YSM-25 ( $0.458679$  pg,  $0.4485881 \times 10^9$  bp), 所有芒果种质基因组的平均  $C$  值为 0.445 pg, 即  $0.4353177 \times 10^9$  bp。

表 1 35 份芒果种质资源的基因组大小

Table 1 Genome size of 35 mango germplasm

序号 No.	种质 Germplasm	$C$ ( $\times 10^9$ bp)	类型 Type	分布 Distribution
1	串芒 Chuanmang	0.4331668	栽培 Cultivated	景洪 Jinghong
2	象牙 22 号 Xiangya 22	0.4322782	栽培 Cultivated	景洪 Jinghong
3	白象牙 Bai Xiangya	0.4326929	栽培 Cultivated	景洪 Jinghong
4	YSM-44	0.4250060	半栽培 Semi-cultivated	景洪 Jinghong
5	YSM-1	0.4330775	野生 Wild	景谷 Jinggu
6	YSM-2	0.4316066	半野生 Semi-wild	景谷 Jinggu
7	YSM-3	0.4374839	半野生 Semi-wild	景谷 Jinggu
8	YSM-6	0.4330251	野生 Wild	景谷 Jinggu
9	YSM-7	0.4349543	半野生 Semi-wild	景谷 Jinggu
10	YSM-8	0.4274623	半野生 Semi-wild	景谷 Jinggu
11	YSM-10	0.4414403	半野生 Semi-wild	景谷 Jinggu
12	YSM-12	0.4351078	野生 Wild	景谷 Jinggu
13	YSM-13	0.4383851	半野生 Semi-wild	景谷 Jinggu
14	YSM-14	0.4361195	半栽培 Semi-cultivated	元江 Yuanjiang
15	YSM-15	0.4344007	半栽培 Semi-cultivated	元江 Yuanjiang
16	YSM-16	0.4332775	半栽培 Semi-cultivated	元江 Yuanjiang
17	YSM-19	0.4351186	半栽培 Semi-cultivated	元江 Yuanjiang
18	YSM-20	0.4313797	半栽培 Semi-cultivated	元江 Yuanjiang
19	YSM-21	0.4392027	半野生 Semi-wild	景东 Jingdong
20	YSM-22	0.4379792	半栽培 Semi-cultivated	景东 Jingdong
21	YSM-24	0.4441856	半栽培 Semi-cultivated	景东 Jingdong
22	YSM-25	0.4485881	野生 Wild	红河 Honghe
23	YSM-28	0.4428252	半野生 Semi-wild	红河 Honghe
24	YSM-29	0.4382022	野生 Wild	红河 Honghe
25	YSM-30	0.4262422	野生 Wild	红河 Honghe
26	YSM-31	0.4308002	野生 Wild	红河 Honghe
27	YSM-32	0.4394687	半野生 Semi-wild	红河 Honghe
28	YSM-34	0.4309528	半栽培 Semi-cultivated	红河 Honghe
29	YSM-35	0.4262589	野生 Wild	红河 Honghe
30	YSM-38	0.4268090	野生 Wild	红河 Honghe
31	YSM-39	0.4474932	半野生 Semi-wild	永德 Yongde
32	YSM-40	0.4446003	半野生 Semi-wild	永德 Yongde
33	YSM-42	0.4414760	半野生 Semi-wild	永德 Yongde
34	象牙 26 号 Xiangya 26	0.4320100	栽培 Cultivated	景洪 Jinghong
35	红象牙 Hong Xiangya	0.4330442	栽培 Cultivated	景洪 Jinghong
平均 Mean		0.4353177		

统计分析表明,不同地点的芒果种质基因组  $C$  值依次为:永德( $0.4445232 \pm 0.0030093$ ) $\times 10^9$  bp > 景东( $0.4404558 \pm 0.0032875$ ) $\times 10^9$  bp > 景谷( $0.4347270 \pm 0.0040984$ ) $\times 10^9$  bp > 红河( $0.4344608 \pm 0.0081217$ ) $\times 10^9$  bp > 元江( $0.4340592 \pm 0.0018217$ ) $\times 10^9$  bp > 景洪( $0.4313664 \pm 0.0031469$ ) $\times 10^9$  bp。同一采集地的不同种质基因组  $C$  值的变异程度最大的是红河(CV=1.87%),其次是景谷(CV=0.94%)、景东(CV=0.75%)、景洪(CV=0.73%)、永德(CV=0.68%),变异程度最小的是元江(CV=0.42%)。

在不考虑采集地的情况下,不同类型芒果种质的基因组  $C$  值依次为半野生种( $0.4388665 \pm 0.0055357$ ) $\times 10^9$  bp > 半栽培种( $0.4342688 \pm 0.0052726$ ) $\times 10^9$  bp > 野生种( $0.4331234 \pm 0.0071470$ ) $\times 10^9$  bp > 栽培种( $0.4326384 \pm 0.0004928$ ) $\times 10^9$  bp; 同一类型的不同

种质基因组  $C$  值变异程度最大的是野生种(CV=1.65%),其次为半野生种(CV=1.26%)、半栽培种(CV=1.21%)和栽培种(CV=0.11%)。

### 2.3 具有相近基因组大小的其他物种

物种基因组大小是一个常数,代表着一个物种的特征。在 Royal Botanic Garden, Kew 的植物基因组  $C$  值数据库(Plant DNA  $C$ -values Database)<sup>[14]</sup> 中对单倍体基因组大小为 0.42~0.46 pg 的植物进行了检索,结果与芒果具有相近基因组大小的植物至少有 41 种,隶属于 13 科 22 属,且大多为苔藓植物。其中,皱蒴藓科 1 种,青藓科 11 种,万年藓科 1 种,大帽藓科 1 种,灰藓科 5 种,白齿藓科 2 种,蔓藓科 1 种,平藓科 3 种,棉藓科 1 种,金发藓科 1 种,泥炭藓科 13 种,羽藓科 1 种(表 2)。

表 2 与芒果基因组大小相近的部分植物<sup>[14]</sup>

Table 2 Genome size of some plants similar to mango

科 Family	种数 Number of species	$C$ (pg)
皱蒴藓科 Aulacomniaceae	1	0.45
青藓科 Brachytheciaceae	11	0.43~0.46
万年藓科 Climaciaceae	1	0.46
大帽藓科 Encalyptaceae	1	0.45
灰藓科 Hypnaceae	5	0.42~0.43
白齿藓科 Leucodontaceae	2	0.45~0.46
蔓藓科 Meteoriaceae	1	0.44
平藓科 Neckeraceae	3	0.45~0.46
棉藓科 Plagiotheciaceae	1	0.43
金发藓科 Polytrichaceae	1	0.42
泥炭藓科 Sphagnaceae	13	0.42~0.46

## 3 讨论

相比于传统的化学分析法和 Feulgen 染色法,采用流式细胞术测定植物基因组大小不仅操作简单、结果精确、重现性高,而且因为所用材料为植物嫩叶,野外采集后置于冰盒中短期内即可带回实验室上机检测,无需进行种子扩繁、分生区诱导等繁琐的样品前处理,流式细胞术已逐渐成为植物基因组大小测定和倍性鉴定的首选方法。本研究组建立了一整套针对不同种类植物的基因组  $C$  值流式细胞术测定方法,已成功测定了多种重要热带作物的基因组大小。本研究首次测定了 30 份野生、半

野生和半栽培芒果种质和 5 个芒果栽培品种的基因组大小,这为云南野生芒果种质资源的调查收集、鉴定评价和创新利用提供了理论依据。

相比栽培品种而言,野生种质基因组大小的变异幅度较大。野生种、半野生种和半栽培种的云南芒果基因组大小变异系数分别达到 1.65%、1.26% 和 1.21%,而栽培种的仅有 0.11%;但同一采集地不同种质资源基因组的平均大小与该地的种质资源数量或种质资源类型没有相关关系。野生种、半野生种和半栽培种的基因组大小变异较大,说明这些种质资源遗传变异类型丰富,有较大的挖掘利用潜力;造成栽培种基因组大小变异程度较小的原因可

能是其在选育过程中经过了长时间的人工驯化,导致其遗传变异相对较小。

在本研究的野外种质资源调查中,野生种主要分布在景谷和红河两地,以红河最多;半野生种主要分布在景谷、红河和永德,以景谷最多;半栽培种主要分布在景洪、元江、景东、红河,以元江最多。目前,作为云南省芒果主产区的元江和永德则主要以栽培品种为主。这提示我们在以后的野生种质资源调查中可适当少考虑产区因素,以自然区域或河流流域为主要因素来设计调查路线。

基因组大小是一个物种的独有遗传学参数,也与物种的分类和进化位置有一定关系,植物越高等,其基因组大小也相应越大。但本研究结果表明,与芒果基因组大小类似的物种均为苔藓植物,不仅在进化位置上远低于芒果,而且在亲缘关系上也相距较远,这也与“C值悖论”观点相一致<sup>[18-19]</sup>。其原因还需进一步研究来阐明。

## 参考文献

- [1] Mo R, Luo Y H, Zhou S M, et al. Polyembryony in mango (*Mangifera indica* L.) and genetic analysis [J]. *J Trop Subtrop Bot*, 2005, 13(6): 475-479.  
莫饶, 罗远华, 周世民, 等. 几个芒果品种的胚性及多胚苗遗传分析 [J]. *热带亚热带植物学报*, 2005, 13(6): 475-479.
- [2] Ma W H, Yao Q S, Sun G M. Study on diversity of important economic traits of mango fruits in the mango gene pool [J]. *Chin J Trop Crops*, 2005, 26(3): 7-11.  
马蔚红, 姚全胜, 孙光明. 芒果种质资源果实重要经济性状多样性分析 [J]. *热带作物学报*, 2005, 26(3): 7-11.
- [3] Wang Y, Jin Z Q, Chen Y Y, et al. Construction of AFLP technological system in *Mangifera indica* L. [J]. *J Anhui Agri Sci*, 2009, 37(33): 16305-16307.  
王园, 金志强, 陈业渊, 等. 芒果AFLP分子标记体系的建立及应用 [J]. *安徽农业科学*, 2009, 37(33): 16305-16307.
- [4] Lei X T, Chen Y Y, Zhang J B, et al. Research progress on molecular markers of *Mangifera indica* Linn. germplasm resources [J]. *J Anhui Agri Sci*, 2009, 37(32): 15722-15724, 15850.  
雷新涛, 陈业渊, 张建斌, 等. 芒果种质资源分子标记研究进展 [J]. *安徽农业科学*, 2009, 37(32): 15722-15724, 15850.
- [5] Lei X T, Yao Q S, Xu X R, et al. The wild mango germplasm resources in China and their AFLP molecular markers [J]. *Chin J Trop Crops*, 2009, 30(10): 1408-1412.  
雷新涛, 姚全胜, 徐雪荣, 等. 中国野生芒果种质资源及其AFLP分子标记 [J]. *热带作物学报*, 2009, 30(10): 1408-1412.
- [6] Fan W G, Luo Y, Wu S F, et al. Morphological characteristics and distribution of wild germplasm resources of *Mangifera indica* in south and north Pan River Valley [J]. *SW China J Agri Sci*, 2012, 25(6): 2244-2247.  
樊卫国, 罗燕, 吴素芳, 等. 南北盘江河谷野生芒果种质资源的分布与形态特征 [J]. *西南农业学报*, 2012, 25(6): 2244-2247.
- [7] Zheng M, Min T L. *Anacardiaceae* [M]// *Flora Reipublicae Popularis Sinicae*, Tomus 45(1). Beijing: Science Press, 1980: 74-78.  
郑勉, 闵天禄. 漆树科 [M]// *中国植物志*, 第45卷第1分册. 北京: 科学出版社, 1980: 74-78.
- [8] Ni Z G, Xie D H, Yu Y C, et al. Present situation and suggestions of mango industry in Yunnan [J]. *Chin J Trop Agri*, 2009, 29(6): 52-56.  
尼章光, 解德宏, 俞艳春, 等. 云南芒果产业现状及对策 [J]. *热带农业科学*, 2009, 29(6): 52-56.
- [9] Ni Z G, Zhang L H, Luo X P, et al. Investigation and analysis of the wild mango (*Mangifera indica* L.) germplasm resources in Nujiang Low and Hot River Valley [J]. *SW China J Agri Sci*, 2008, 21(2): 436-439.  
尼章光, 张林辉, 罗心平, 等. 怒江低热河谷芒果种质资源调查与分析 [J]. *西南农业学报*, 2008, 21(2): 436-439.
- [10] Beaulieu J M, Leitch I J, Patel S, et al. Genome size is a strong predictor of cell size and stomatal density in angiosperms [J]. *New Phytol*, 2008, 179(4): 975-986.
- [11] Gruner A, Hoverter N, Smith T, et al. Genome size is a strong predictor of root meristem growth rate [J/OL]. *J Bot*, 2010, 2010: Article ID 390414 [2014-05-20]. <http://dx.doi.org/10.1155/2010/390414>.
- [12] Biémont C. Genome size evolution: Within-species variation in genome size [J]. *Heredity*, 2008, 101(4): 297-298.
- [13] Petrov D A. Evolution of genome size: New approaches to an old problem [J]. *Trends Genet*, 2001, 17(1): 23-28.
- [14] Royal Botanic Gardens, Kew. Plant DNA C-values Database, Ver. 6.0 [EB/OL]. (2012-12-01) [2014-07-20]. <http://data.kew.org/cvalues>.
- [15] Friedrich O. DAPI staining of fixed cells for high-resolution flow cytometry of nuclear DNA [J]. *Method Cell Biol*, 1990, 33(1): 105-110.
- [16] Liu J, Kong G H, Ni S B, et al. Estimation of genomic C value of *Macadamia integrifolia* spp. by flow cytometry [J]. *Chin Agri Sci Bull*, 2013, 29(34): 96-101.  
柳颀, 孔广红, 倪书邦, 等. 基于流式细胞术的澳洲坚果基因组C值测定 [J]. *中国农学通报*, 2013, 29(34): 96-101.
- [17] Fang J G, Liu D J, Ma Z Q. Constructing mango (*Mangifera indica* L.) genetic map using markers for double heterozygous loci [J]. *Mol Plant Breed*, 2003, 1(3): 313-319.  
房经贵, 刘大钧, 马正强. 利用双杂合位点标记资料构建芒果遗传图谱 [J]. *分子植物育种*, 2003, 1(3): 313-319.
- [18] Greilhuber J, Doležel J, Lysák M, et al. The origin, evolution and proposed stabilization of the terms 'genome size' and 'C-value' to describe nuclear DNA content [J]. *Ann Bot*, 2005, 95(1): 255-260.
- [19] Bennett M D, Leitch I J. The origin, genome size evolution in plants [M]// Gregory T R. *The Evolution of the Genome*. San Diego: Elsevier, 2005: 89-162.