

# 香石竹品种的 RAPD 标记

苏友波<sup>1</sup> 林春<sup>2</sup> 毛静<sup>1</sup> 莫锡君<sup>3</sup> 杨明<sup>3</sup>

(<sup>1</sup> 云南农业大学资源与环境学院, 昆明 650201; <sup>2</sup> 云南农业大学农学与生物技术学院, 昆明 650201; <sup>3</sup> 云南省农业科学院园艺所, 昆明 650201)

**摘要:** 用随机扩增多态 DNA (RAPD) 技术, 选用 4 个随机引物, 对 87 个大花型香石竹品种总 DNA 进行随机扩增。4 个引物均得到了稳定的 RAPD 图谱。扩增出的片段分子量在 500~4300 bp 之间, 每个随机引物扩增出的条带数在 8~12 条之间, 共扩增出 2113 个条带, 平均每个引物扩增的 DNA 条带数为 9.5 条。根据 DNA 谱带计算品种间遗传距离, 对 87 个品种进行了聚类分析, 分为 10 个组群, 组群间差异较大, 组群内差异较小。

**关键词:** 香石竹; RAPD; 遗传多样性

**中图分类号:** S 68 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2004) 01-0109-03

## RAPD Identification of Different Carnation Cultivars

Su Youbo<sup>1</sup>, Lin Chun<sup>2</sup>, Mao Jing<sup>1</sup>, Mo XiJun<sup>3</sup>, and Yang Ming<sup>3</sup>

(<sup>1</sup> College of Resources and Environment, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China; <sup>2</sup> College of Agriculture and Biologic Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China; <sup>3</sup> Horticultural Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650201, China)

**Abstract:** The technique of random amplified polymorphic DNA (RAPD) was used to amplify the genomic DNA fragments of 87 carnation cultivars by 4 selected arbitrary 10-mer primers, 2113 bands were obtained, and the size range was 500 - 4300 bp. The average number of DNA bands amplified by each primer was 9.5 cluster analysis showed that the extensive genetic variation existed among 87 cultivars of carnation. The 87 cultivars were divided into 10 groups at DNA level. This result has significance for the genetic breeding and identification of cultivars of carnation.

**Key words:** Carnation (*Dianthus caryophyllus* L.); RAPD; Genetic diversity

### 1 目的、材料与方法

目前国内引进的香石竹 (*Dianthus caryophyllus* L.) 品种在 100 种以上, 但无自己培育的品种<sup>[1]</sup>。本研究采用 RAPD 技术, 鉴定香石竹品种间的遗传关系, 以便为杂交育种中亲本选择、品种注册以及植物新品种保护提供基础资料<sup>[2]</sup>。

供试香石竹品种共 87 个 (表 1), 均为大花型, 全部取自云南省农业科学院园艺所。每个品种采 10 株幼叶混合作为提取 DNA 的样品。

采用的引物为美国 Operon Technologies 公司生产的 10 碱基随机引物。使用筛选出的 4 个引物, 分别为 E - 15 (5'ACGCACAACC3'); E - 18 (5'GGACTGCAGA3'); I - 07 (5'CAGCGACAAG3'); I - 11 (5'ACATGCCGTG3')。香石竹总 DNA 的提取采用 CTAB 法 (微量提取法)。PCR 反应体系: 采用 20  $\mu$ L 反应体系, 引物浓度为 0.20  $\mu$ mol L<sup>-1</sup>, dNTP 为 200  $\mu$ mol L<sup>-1</sup>, TaqDNA 聚合酶为 2 U, 模板 DNA 为 40 ng, 镁离子为 2  $\mu$ mol L<sup>-1</sup>。反应热循环程序为: 预变性 94 4 min; 变性 94 1 min; 退火 34 1 min,

收稿日期: 2003 - 05 - 09; 修回日期: 2003 - 10 - 30

基金项目: 云南省科技攻关资助项目 (95A2 - 7)

72 延伸 1 min 30 s, 循环 40 次; 72 延伸 5 min。取全部反应产物与 5  $\mu$ L 溴酚蓝混匀, 点入含 EB 的 1.6% 琼脂糖凝胶中, 用 1  $\times$ TBE 缓冲液以 5 V/cm 的电压电泳 1 h 30 min, 取出凝胶在成像系统中成像分析。聚类分析: 首先将扩增的 RAPD 片段的多态性信息转化成计算机语言。记录电泳后清晰有多态的扩增带, 有扩增带用“1”表示, 没有扩增带或者扩增带极弱用“0”表示。得到的原始数据输入计算机, 利用美国 Statsoft 公司的 Statistica 软件按照非加权配对算术平均法构建聚类图。

表 1 香石竹品种材料

Table 1 Cultivars of carnation used in the experiments

编号 Code	材料 Material	引种地 Origin	编号 Code	材料 Material	引种地 Origin
1	白云 White Cloud	以色列 Israel	45	拖雷斯紫 Lilac Torres	/
2	橄榄树 Olivia	以色列 Israel	46	斯特 Staccato	荷兰 Holland
3	阿里伊端 Alighieri	德国 Germany	47	发克 Facon	荷兰 Holland
4	红贵人 Red Corse	荷兰 Holland	48	多明哥 2 Domingo 2	西班牙 Israel
5	阿尔巴 Albar	以色列 Israel	49	俏新娘 Tundra	荷兰 Holland
6	俏姑娘 White Tundra	荷兰 Holland	50	玛贝尔 Mabel	德国 Germany
7	撒哈拉 Sahara	以色列 Israel	51	卡曼 Caman	/
8	马可特 Marcoto	荷兰 Holland	52	蒙特丽沙 Mbuntelisa	/
9	红状元 Gaudina	荷兰 Holland	53	雷登 Y. Rendez	荷兰 Holland
10	(耐)奈特 Hi-lite	以色列 Israel	54	粉多娜 Pink Dona	荷兰 Holland
11	欧地诺 Odino	以色列 Israel	55	大桔黄 Dagihen	/
12	奥马 Omaggio	以色列 Israel	56	莫扩 Momoko	以色列 Israel
13	英卡 Incas	荷兰 Holland	57	成功 Success	德国 Germany
14	R610842	/	58	金黄 Orange Isac	荷兰 Holland
15	佳农 Cano	西班牙 Spain	59	白签证 White Visa	以色列 Israel
16	罗马娜 Ramona	荷兰 Holland	60	爱托 Ettore	以色列 Israel
17	思念 Yoshino	以色列 Israel	61	白红云 Tempo	荷兰 Holland
18	紫罗兰 Arevalo	荷兰 Holland	62	兰贵人 Rendez-vous	荷兰 Holland
19	伊拉克 Eroico	西班牙 Spain	63	卡普罗 Acapulco	荷兰 Holland
20	马可特的变种 Marcoto of Variance	荷兰 Holland	64	爱卡迪 Aicardi	荷兰 Holland
21	紫丽 West Pretty	荷兰 Holland	65	黄克斯 Pax	荷兰 Holland
22	红达拉斯 Vitorio	以色列 Israel	66	阿波罗 Lopazo	德国 Germany
23	红富豪 Red Rich Powerful	/	67	大拉索 Parasor	/
24	大白菜 Serriso	荷兰 Holland	68	小白菜 Bright Rendez	荷兰 Holland
25	拿破仑 Napoleon	以色列 Israel	69	神 Theo	以色列 Israel
26	精工 Reiko	以色列 Israel	70	达拉斯 Dallas	以色列 Israel
27	婚礼粉 Wedding Pink	/	71	佛朗克 Francesec	荷兰 Holland
28	绿帝王 Prado	荷兰 Holland	72	绿帝王 2 Prado 2	荷兰 Holland
29	佳丽 Galli	以色列 Israel	73	黄飞鸿 Malaga	荷兰 Holland
30	阿瑞娜 Arizona	以色列 Israel	74	印度红 Indios	/
31	多明哥 Domingo	西班牙 Spain	75	两燕 Twain Swallow	以色列 Israel
32	金刷 Golden Burst	荷兰 Holland	76	肯特 Condor	德国 Germany
33	黄自由 Yellow Liberty	荷兰 Holland	77	紫帝 Purple Emperor	荷兰 Holland
34	普莱托 Presto	以色列 Israel	78	黄星 Yellow Star	荷兰 Holland
35	拿破仑 $\times$ 佳丽 Napoleon $\times$ Galli	/	79	日出 Sunrise	荷兰 Holland
36	抓破脸 Guapo	/	80	美国 America	德国 Germany
37	红贝壳 Camba	荷兰 Holland	81	红霞 428-2827	以色列 Israel
38	橙王 Forca Lavifor	荷兰 Holland	82	奥粉 Opera	荷兰 Holland
39	马斯特 Master	西班牙 Spain	83	迪斯欧 Desio	荷兰 Holland
40	橄榄树的后代 Olivia	以色列 Israel	84	大白菜 2 Serriso 2	荷兰 Holland
41	黄冠 Dark Flipper	德国 Germany	85	飞马 Amafly	以色列 Israel
42	伊普斯 Impulse	荷兰 Holland	86	内地诺 Roderic	荷兰 Holland
43	莫扎 Moza	/	87	黄梅 Hermes	德国 Germany
44	凯西 Casper	以色列 Israel			

## 2 结果分析与讨论

### 2.1 香石竹品种的聚类分析

根据 4 个引物对 87 个香石竹品种的基因组 DNA 的扩增结果, 采用非加权平均法进行系统聚类分

析。在 3.0 阈值下可将 87 个品种划分为 10 个组群。由图 1 可看出，第 1 组群与第 2~10 组群的遗传距离相差最远，第 2 组群与第 3~10 组群的遗传距离相差较远，其余组群的遗传距离相对较近。

第 1 组群包括 2 个品种，即：斯特、拖雷斯紫。第 2 组群包括 5 个品种，即：伊拉克、马可特的变异种、紫罗兰、思念、罗马娜。第 3 组群包括 17 个品种，即：玛贝尔、凯西、莫扎、伊普斯、马斯特、抓破脸、多明哥、红贝壳、橄榄树的后代、橙王、普莱托、黄自由、绿帝王 2、黄冠、拿破仑 × 佳丽、金刷、佳农。第 4 组群包括 1 个品种，即：神。第 5 组群包括 23 个品种，即：两燕、爱卡迪、卡普罗、雷登、蒙特丽沙、卡曼、俏新娘、白红云、多明哥 2、阿波罗、白签证、金黄、小白菜、莫扩、爱托、成功、粉多娜、兰贵人、大桔黄、黄克斯、婚礼粉、发克、红达拉斯。第 6 组群包括 15 个品种，即：大白菜 2、内地诺、黄飞鸿、日出、飞马、美国、黄星、紫帝、迪斯欧、黄梅、肯特、红霞、佛朗克、印度红、达拉斯。第 7 组群包括 3 个品种，即：奥粉、大拉索、红贵人。第 8 组群包括 2 个品种，即：大白菜、R610842。第 9 组群包括 16 个品种，即：紫丽、红状元、马可特、奈特、欧地诺、撒哈拉、阿瑞娜、佳丽、精工、拿破仑、红富豪、英卡、俏姑娘、奥马、阿尔巴、橄榄树。第 10 组群包括 3 个品种，即：绿帝王、阿里伊瑞、白云。

本研究利用 RAPD 技术揭示出 87 个香石竹品种间的遗传差异，组群间的差异较大，组群内的差异较小。该研究表明，RAPD 方法对香石竹基因组多态性分析是完全可行的，为香石竹品种的鉴定、配置杂交组合及遗传育种提供更多的信息<sup>[5]</sup>。试验中只选用了 4 个引物，如果应用更多的引物进行扩增，会有更为丰富的多态性条带，包括各个品种的特异带，得出更多更为可靠的遗传信息，这方面的工作有待于进一步研究。

### 参考文献：

- 1 熊 丽. 香石竹. 北京：中国农业出版社，1999. 133~135
- 2 张德水, 陈爱娟. DNA 分子标记, 基因组作图及其在植物遗传育种上的应用. 生物技术通报, 1998, 5: 15~22
- 3 陈新露, 赵祥云. 应用 RAPD 技术评价丁香品种间遗传关系. 园艺学报, 1995, 22 (2): 171~175

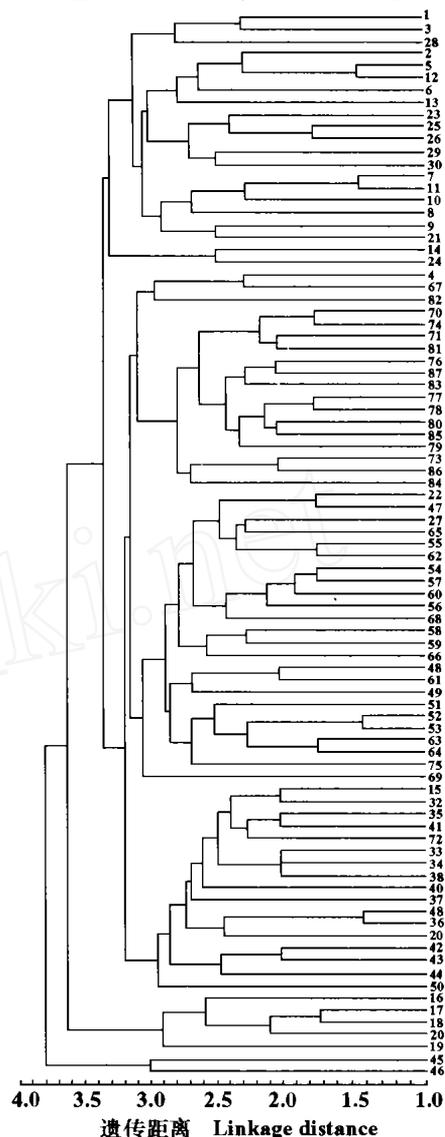


图 1 4 个引物对 87 个品种的聚类分析图

Fig. 1 Dendrogram of 87 cultivars based on 4 RAPD markers

## 更 正

由于作者疏忽，《园艺学报》第 30 卷第 3 期第 259 页图 1 和第 260 页图 2 中的横坐标代号标注发生差错，图中的 B 应为 C，而图中的 C 应为 B；特此更正。

作者 高光林，姜卫兵等