

# 马铃薯新型栽培种资源遗传多样性的 RAPD 分析

邸 宏<sup>1</sup> 金黎平<sup>2\*</sup> 陈伊里<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 东北农业大学农学院, 哈尔滨 150030; <sup>2</sup> 中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081)

**摘 要:** 对马铃薯 17 份新型栽培种和 7 份普通栽培种材料进行了 RAPD 分析, 14 条随机引物共扩增出 170 个位点, 其中 130 个位点表现为多态性, 占 75.26%, 表明新型栽培种材料具有广泛的遗传基础。利用 UPGMA 法进行聚类分析, 24 份材料被分成 4 个组, 新型栽培种与普通栽培种分别划为不同的组。

**关键词:** 马铃薯; 新型栽培种; 遗传多样性; RAPD

**中图分类号:** S 532 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2004) 03-0384-03

## Genetic Diversity Analysis of Neo-tuberosum by RAPD Markers in Potato

Di Hong<sup>1</sup>, Jin Liping<sup>2\*</sup>, and Chen Yili<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China; <sup>2</sup> Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

**Abstract:** With 14 random primers, the RAPD analysis was used to determine the genetic relationships between 17 Neo-tuberosum clones and 7 common cultivars of potatoes (*Solanum tuberosum* ssp. *andigena*). The results indicated that the Neo-tuberosum clones were with abundant genetic diversity. One hundred and seventy unambiguous bands were observed, in which 130 were polymorphic bands. The average polymorphism rate was 75.26%. Phylogenetic relationships of 24 genotypes were discovered based on phylogenetic tree by use of UPGMA method, which were divided into 4 groups. The Neo-tuberosum and the common cultivars were clustered into different groups respectively.

**Key words:** Potato; Neo-tuberosum; Genetic diversity; RAPD

## 1 目的、材料与方法

马铃薯新型栽培种 (Neo-tuberosum) 是从起源于南美的马铃薯安第斯栽培种 (*Solanum tuberosum* ssp. *andigena*) 中经人工轮回混合选择而创造的类群, 遗传变异基础丰富。含有许多有用基因, 如高淀粉、低还原糖、高抗晚疫病、食用品质好等性状的基因<sup>[1]</sup>。目前国内外对新型栽培种的研究还只局限于杂交选育亲本材料。本研究对来源不同的 17 份新型栽培种材料 (由南方马铃薯中心提供薯块) 进行了 RAPD 分析, 并与 7 份普通栽培种 (由克山马铃薯研究所和中国农业科学院蔬菜花卉研究所提供脱毒试管苗) 对比, 旨在寻找各材料特异的分子标记, 为今后开发利用提供科学的依据。

新型栽培种材料的薯块发芽后, 剥取茎尖, 转移到试管培养基上, 获得脱毒试管苗。试管苗移栽至日光温室中的草炭蛭石培养基上, 待叶片充分伸展, 采用 CTAB 小量法提取叶片的 DNA。将各材料的 DNA 浓度调整至 20 ng/μL。RAPD 反应在 MJ PTC-200 型扩增仪上进行。RAPD 随机引物和 dNTPs 来自上海生工生物工程公司。对 110 条随机引物进行筛选, RAPD 反应体系为 25 μL, 含 Tris-HCl 10 mmol/L (pH 8.3), KCl 50 mmol/L, MgCl<sub>2</sub> 2.1 mmol/L, dNTP 0.1 mmol/L, 引物 0.32 μmol/L, 模板 DNA 40 ng, Taq DNA 聚合酶 (Promega 公司生产) 0.5 单位, ddH<sub>2</sub>O 补足体系。反应混合物用

收稿日期: 2004-01-17; 修回日期: 2004-03-25

基金项目: 农业部蔬菜遗传与生理重点开放实验室课题; 国家十五 '863' 课题

\* 通讯作者 Corresponding author

20  $\mu$ L 石蜡油覆盖。反应程序为: 94 $^{\circ}$ C 4 min, 94 $^{\circ}$ C 30 s, 37 $^{\circ}$ C 40 s, 72 $^{\circ}$ C 60 s, 扩增 40 个循环, 最后 72 $^{\circ}$ C 10 min。PCR 扩增产物在 1.5% 琼脂糖凝胶上电泳分离, 使用凝胶成像系统拍照记录结果。统计 PCR 扩增的条带数, 谱带按 0/1 系统记录, 有带记为 1, 无带记为 0, 利用 STATISTICA 软件进行 UPGMA 聚类分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 多态性分析

选用 5 份马铃薯材料 (Ns78-2、Desiree、中薯 3 号、沙杂 15 号和东农 304) 对 110 条随机引物进行筛选, 从中选出 36 个引物, 再对 24 份 (表 1) 材料进行扩增, 取其中 14 条引物 (表 2) 扩出清晰稳定的条带进行统计分析。14 条引物对 17 份新型栽培种材料和 7 份普通栽培种材料 (表 1) 共扩增出 170 条 DNA 带, 其中 130 条为多态性带, 占总带数的 75.26%。各引物扩增出的多态性带从 5 条到 18 条不等 (表 2), 分布于 0.2 ~ 3 kb 之间, 表明供试材料间存在丰富的遗传多样性。部分材料出现特异带, 如虎头 S105<sub>1900</sub>, Ns78-32 S102<sub>800</sub>, 沙杂 15 号 S126<sub>650</sub>, Ns881705 S345<sub>350</sub>, 具有品种特异性。图 1 显示了 24 份马铃薯材料的 S87 引物扩增图谱。

### 2.2 聚类分析

根据 14 条随机引物扩增条带的统计结果进行聚类分析, 生成 24 份供试材料的亲源关系树状图 (图 2)。根据样品间的遗传距离, 以 0.72 为阈值, 将 24 份材料划分为 4 个组, 第 1 组包括新型栽培种材料 Ns78-6, Ns78-9, Ns78-14, Ns78-33, Ns78-11-1, Ns78-2, Ns78-11。第 2 组包括虎头, 东农 303,

表 1 试验材料

Table 1 The list of potato materials tested

编号 No.	材料 Materials	编号 No.	材料 Materials
1	Ns78-2	13	Ns86320122
2	Ns78-6	14	Ns881705
3	Ns78-9	15	T1800
4	Ns78-11	16	D3
5	Ns78-11-1	17	D6
6	Ns78-14	18	中薯 3 号 Zhongshu 3
7	Ns78-22	19	Shepody
8	Ns78-22-1	20	沙杂 15 号 Shaza 15
9	Ns78-31	21	Desiree
10	Ns78-32	22	东农 303 Dongnong 303
11	Ns78-33	23	虎头 Hutou
12	Ns51-5	24	东农 304 Dongnong 304

注: 1~17: 新型栽培种; 18~24: 普通栽培种。

Note: 1~17: Neo-tuberosum clones; 18~24: Common cultivars.

表 2 RAPD 扩增片段统计

Table 2 Number of RAPD bands amplified with 14 primers

引物 Primer	序列 Sequence	扩增带数 Number of amplified bands	多态性带数 Number of polymorphic bands	多态性 Rate of polymorphic loci (%)
S64	5' CCGCATCTAC 3'	9	6	66.67
S66	5' GAACGGACTC 3'	15	12	80.00
S70	5' TGTCTGGGTG 3'	21	18	85.71
S87	5' GAACCTGCGG 3'	9	8	88.89
S102	5' TCGGACGTGA 3'	12	7	58.33
S105	5' AGTCGTCCCC 3'	12	8	66.67
S126	5' GGGAATTCCG 3'	18	16	88.89
S127	5' CCGATATCCC 3'	11	8	72.73
S264	5' CAGAAGCGGA 3'	9	7	77.78
S304	5' CCGCTACCGA 3'	13	10	76.92
S343	5' TCTCCGCTTG 3'	10	7	70.00
S345	5' CTCCATGGGG 3'	11	8	72.73
S367	5' AGCGAGCAAG 3'	7	5	71.43
S368	5' GAACACTGGG 3'	13	10	76.92
总计 Total		170	130	
平均 Average		12.86	9.29	75.26



图 1 24 份马铃薯材料的 S87 引物扩增的 RAPD 图谱

M. 分子量标准; 1~24. 表 1 所列供试材料序号。

Fig. 1 RAPD Genomic DNA fingerprints of 24 potato genotypes with primer S87

M. DNA ladder; 1~24. Experimental sample numbers listed in Table 1.

Shepody, Desiree, 中薯 3 号, 东农 304 等 6 个普通栽培种。第 3 组有 Ns881705, T1800, Ns51-5, Ns86320122, D3, D6, Ns78-22, Ns78-22-1, Ns78-31, Ns78-32 等 10 份新型栽培种材料。第 4 组包括普通栽培种沙杂 15 号。

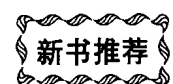
目前世界上的普通栽培种(除南美洲外)都是欧洲马铃薯的后代,是由四倍体栽培种的一个亚种——安第斯种进化来的,而新型栽培种是从秘鲁、玻利维亚广泛搜集的适应短日照条件的安第斯亚种在长日照条件下经过连续 5 代对结薯性进行选择而创造的类群,普通栽培种和安第斯种是同一个种在不同生态下经选择趋异适应的结果。

第 1 组的新型栽培种与第 2 组普通栽培种首先聚

在一起,为新型栽培种与普通栽培种具有相似的起源提供证据。同时表明这 7 份新型栽培种经过多年轮回选择,与普通栽培种更为接近,容易配制杂交组合,这与马铃薯杂交育种的研究结果相符。普通栽培种沙杂 15 号单独列为第 4 组,表明其遗传组成与其他普通品种差异较大,可能与它的亲本遗传组成有关(母本为匈牙利育成品种 Аранбалма,父本 292-20 来源于美国)。新型栽培种资源与普通栽培种聚为不同的组,聚类结果基本反应出各组材料遗传背景的一致性。我国自 70 年代中期引入新型栽培种资源,各育种单位选育出一大批综合性状好、广泛用于杂交育种的亲本材料,单纯根据亲源关系农艺性状对材料进行分类存在一定困难。以往根据形态学和生理生化指标鉴定分类,容易受到环境及发育时期的影响,国外有将 RAPD 技术应用于马铃薯种质鉴定和遗传多样性分析的报道<sup>[2,3]</sup>。本研究找到了马铃薯新型栽培种材料的特异分子标记,在实际应用中可以根据分子标记区分表型相近的材料,指导亲本选配工作,选择亲缘关系较远的材料,增加后代的遗传变异,选育出杂种优势强、综合性状好的优良品种和杂交实生种子,提高育种效率。

## 参考文献:

- 1 王凤义. 我国马铃薯新型栽培种资源的研究与利用. 作物杂志, 1999, 2: 13~16
- 2 Del Rio, Alfonso H, Bamberg, et al. RAPD markers efficiently distinguish heterogenous populations of wild potato (*Solanum*). Genetic Resources and Crop Evolution, 2000, 47 (2): 115~121
- 3 Lynch M, Milligan B G. Analysis of population genetic structure with RAPD markers. Mol. Ecol., 1994, 3: 91~99



## 新书推荐

## 《英汉生物化学及分子生物学词典》

本词典收集生物化学、分子生物学及与其相关的细胞生物学、免疫学、遗传学、微生物学及医药学等方面词条约 21 000 条,大部分词条附有简明释义。书中还收录一些缩写词和同义词,供读者查阅文献、翻译文章使用。

定价: 88 元(含邮费)。

## 《真核生物转录调控——概念、策略与方法》

本书全面介绍了真核基因转录调控的概念以及研究中所使用的策略和方法,涉及内容从证明一个基因是否在转录起始水平受到调控到分析激活因子进行联合调控生化机制策略等各个方面,重点放在进行转录调控分析时所面临的问题,及分析单一基因和调节该基因的转录因子方面的策略和概念要点,可供医学、生物化学、分析生物学、生物技术等领域的师生及科研人员参考。定价: 86 元(含邮费)

购书者请汇款至北京中关村南大街 12 号中国农科院蔬菜花卉所《园艺学报》编辑部  
邮编 100081。

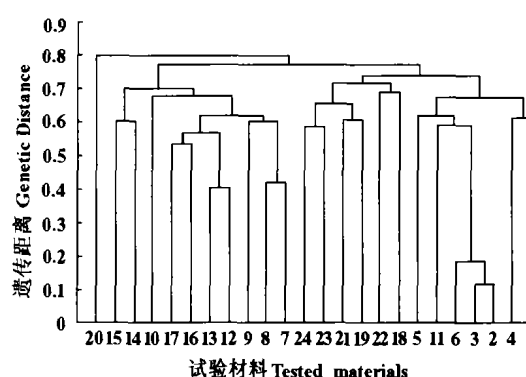


图 2 24 份马铃薯材料 RAPD 聚类树状图

样品编号见表 1

Fig. 2 The dendrogram of RAPD in 24 potato genotypes

See Table 1 for variety name

