

玫瑰、月季、蔷薇等蔷薇属植物 RAPD 分析

陈向明¹ 郑国生^{2,*} 孟 丽²

(¹ 合肥教育学院, 合肥 230001; ² 山东农业大学生命科学学院, 泰安 271018)

摘 要: 对蔷薇属的玫瑰、月季、蔷薇 3 个种的 15 个品种进行 RAPD 分析, 16 个引物对受试品种 PCR 扩增共获得 202 条谱带, 其中 123 条 (60.9 %) 表现多态性。利用 UPGAMA 法构建分子系统进化树, 以相似性系数 0.5 为阈值, 玫瑰与月季为一个聚类组, 蔷薇为另一个聚类组; 以相似性系数 0.6 为阈值, 4 个蔷薇品种分为 4 个不同的聚类组, 5 个月季品种为一个聚类组, 5 个玫瑰品种为一个聚类组, 平阴紫枝玫瑰单独为一个聚类组, 表明玫瑰与月季的亲缘关系较近, 两者与蔷薇的亲缘关系较远。

关键词: 玫瑰; 月季; 蔷薇; RAPD; 相似性系数; 遗传聚类组

中图分类号: S 68 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2002) 01-0078-03

1 目的、材料与方法

玫瑰、月季、蔷薇为蔷薇属植物的 3 个种, 形态学上存在明显差异。物种的相对遗传稳定性, 决定了各自的遗传特性。利用 RAPD-PCR 技术研究了玫瑰 (*Rosa rugosa* Thunb) 6 个品种、月季 (*Rosa chinensis*) 5 个品种、蔷薇 (*Rosa*) 4 个品种共 15 个材料的亲缘关系, 为深入研究蔷薇属植物遗传多样性和系统学演化提供理论依据。

3 月下旬于山东省平阴玫瑰研究所采集玫瑰和蔷薇嫩叶, 于山东农业大学采集月季嫩叶, 参照 Racder 等^[1]的方法提取 DNA 并溶于 400 μL TE 溶液, UV-120 紫外分光光度计检测 DNA 浓度, 样品置 -20 $^{\circ}\text{C}$ 冰柜保存备用。

从上海生工公司的 180 组 10 个寡聚核苷酸随机引物中筛选扩增谱带数多且清楚的 16 个随机引物 (表 1) 用于各样品的全基因组 DNA 的 PCR 扩增和分析。参照 Williams^[2]和 Welsh 等^[3]的方法, PCR 反应体系为 20 μL , 分别含 10 mmol L^{-1} Tris-HCl (pH 8.3)、50 mmol L^{-1} KCl、2 mmol L^{-1} MgCl_2 、100 mmol L^{-1} dNTP 0.2 mmol L^{-1} 引物、1.5 单位 TaqDNA 聚合酶 (Promega 公司生产) 和 20 ng 模板 DNA, 反应混合物用 20 μL 石蜡油覆盖。扩增反应在 PTC-100 型 PCR 仪上进行, 反应程序为 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 36 $^{\circ}\text{C}$ 退火 40 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min, 45 个循环, 最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 5 min。扩增产物在含有溴化乙锭 (0.5 $\mu\text{g mL}^{-1}$) 1.2 % 的琼脂糖凝胶中电泳 4 h, 在透射紫外灯下观察电泳结果并照相。每个引物对供试品种均重复扩增 3 次, 设不加模板 DNA 的泳道为对照。样品的扩增谱带按有 (1) 和无 (0) 记录, 计算任意两样品间的遗传距离 $D = 1 - F$, 自由度 $F = 2N_{XY} / (N_X + N_Y)$, N_{XY} 为品种 X 和 Y 经 RAPD 扩增反应分子量相同的谱带总和, N_X 、 N_Y 分别代表品种 X、品种 Y 经 RAPD 扩增反应的谱带总数。根据遗传距离利用 UPGMA 法构建遗传聚类图。

2 结果分析与讨论

2.1 受试引物碱基序列及扩增结果见表 1 和图 1。受试 16 个寡聚核苷酸随机引物对供试标样共扩增出 123 条多态性谱带, 占扩增位点总数的 60.9 %, 说明 3 种蔷薇属植物个体间富含遗传多态性。玫瑰扩增出 172 条谱带, 多态性谱带 159 条, 占 92.4 %; 月季扩增出 127 条谱带, 多态性谱带 102 条,

收稿日期: 2001 - 04 - 22; 修回日期: 2001 - 10 - 10

基金项目: 山东省良种产业化工程项目

*通讯作者。

占 80.3 %；蔷薇扩增出 71 条谱带，多态性谱带 13 条，占 18.3 %，其多态性大小顺序为玫瑰 > 月季 > 蔷薇。表明玫瑰起源和遗传进化较为复杂、月季起源和遗传进化也较复杂，而蔷薇起源和遗传进化比前两者简单。图 1 还可显示玫瑰、月季、蔷薇种间扩增出的 DNA 片段长度差异显著，玫瑰个体间 DNA 片段大小为 500 ~ 900 bp，月季个体间为 700 ~ 1000 bp，蔷薇个体间为 800 ~ 1200 bp，其中各种内富集于 600 ~ 900 bp 的 DNA 片段，说明同属三种间存在较近的亲缘关系，尽管有明显的突变与变异，但种间仍具相近的遗传起源。

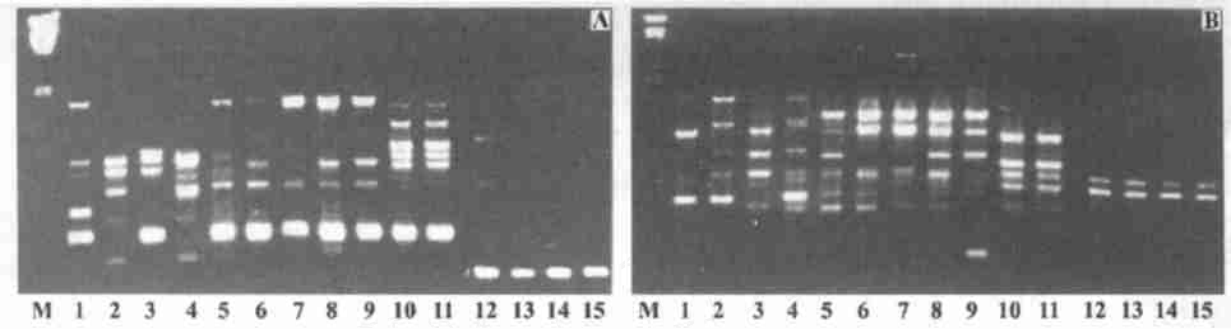


图 1 引物 S36 (A) 和 S98 (B) 扩增的全基因组 DNA 指纹图谱

Fig. 1 The genomic fingerprints of 15 Rosa genus with primer S36 (A) and S98 (B)

玫瑰：1. 平阴紫枝玫瑰，2. 河南玫瑰，3. 东北玫瑰，4. 上海玫瑰，5. 肖县玫瑰，6. 北京玫瑰；月季：7. 萨曼莎，8. 婚礼白，9. 贝拉米，10. 金徽章，11. 红衣教主；蔷薇：12. 近代月季，13. 红十姊妹，14. 山刺玫，15. 百宝香。
R. rugosa：1. Pingyinzhizhimeigui，2. Henanmeigui，3. Dongbeimeigui，4. Shanghaiameigui，5. Xiaoxianmeigui，6. Beijingmeigui；
R. chinensis：7. Samantha，8. Hunlibai，9. Beilani，10. Golden emblem，11. Cardinal；
R. davurica：12. Jindaiyueji，3. Hongshizimei，14. Shancimei，15. Baibaoxiang。

表 1 16 个引物碱基序列和扩增蔷薇属不同种植物 PCR 扩增结果

Table 1 Number of Rosa genus cultivars fragments amplified with 16 primers selected

引物 Primers	碱基序列 (5' - 3') Nucleotide sequences (5' - 3')	扩增谱带总数 Total numbers of amplified fragment	多态性谱带 Polymorphic bands	引物 Primers	碱基序列 (5' - 3') Nucleotide sequences (5' - 3')	扩增谱带总数 Total numbers of amplified fragment	多态性谱带 Polymorphic bands
S8	GGTGACGCAG	12	9	S96	GACGGATCAG	8	6
S10	GTCCACACGG	9	7	S98	AGCGTGCTGTG	12	9
S28	AGGGGTCTTG	11	8	S102	GTGCCTAACC	12	10
S36	GTGATCGCAG	11	9	S126	TCACGTCCAC	13	11
S47	GTGATCGCAG	8	6	S138	CAGCTCACGA	8	7
S63	AGCCAGCGAA	10	8	S152	AGCGTCCTCC	11	9
S75	GACCGCTTGT	11	8	S167	GGCTCATGTG	11	8
S84	CCTGCCGTCA	10	7	S178	TGTACCTGGG	9	6

2.2 构建的遗传聚类关系见图 2。相似性系数 0.5 将玫瑰与月季聚为一个聚类组，蔷薇为另一个聚类组，表明玫瑰与月季的亲缘关系较近，两者与蔷薇的亲缘关系较远，因此在选配杂交组合创造蔷薇属新种质时，可参考这一特性。相似性系数 0.6 将平阴紫枝玫瑰划为一个独立的聚类组，其他 5 个玫瑰品种为一聚类组，5 个月季品种为一个聚类组，4 个蔷薇品种各自为一个聚类组，据此认为，聚为一组的 4 个玫瑰品种可定为玫瑰种的同一亚种的不同品种。考察平阴紫枝玫瑰的起源发现，它是由平阴玫瑰为母本和蔷薇种间杂交

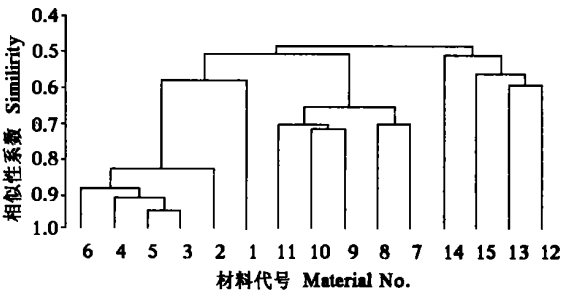


图 2 不同蔷薇属植物种质资源 RAPD 扩增的分子聚类表征图
Fig. 2 The molecular tree of three different species by RAPD amplification

而来的,其生物学特性也与其他玫瑰品种有很大差异,因此可将其定为玫瑰种单独的一个亚种。这也说明用 RAPD 方法鉴定种质的亲缘关系和起源具有较好的可靠性。

参考文献:

- 1 Racder U, Broda P. Microbiology. 1985, 1: 17 ~ 20
- 2 Williams J G K. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic marker. Nucleic Acids Res. , 1990, 18: 6531 ~ 6535
- 3 Welsh J McClell, Fingerprinting M. Genomes using PCR with arbitrary primers. Nucleic Acids Res. , 1990, 18: 7231 ~ 7218

The RAPD analysis of the Rosa genus Plant of *R. rugosa*, *R. chinensis* and *R. davurica*

Chen Xiangming¹, Zheng Guosheng², and Meng Li³

(¹ Hefei Educational College, Hefei 230001; ² College of Life Science, Shangdong Agricultural University, Tai 'an 271018)

Abstract: *Rosa rugosa*, *R. chinensis* and *R. davurica* are belonged to *Rosa* genus, 15 cultivars were amplified by 16 primers, which produced 202 bands and 123 polymorphism bands. And the genetic tree was constructed by the ways of UPQMA method. It confirmed that *R. rugosa* and *R. chinensis* belonged to the one cluster group and *R. davurica* belonged to another by the dissimilarity of 0.5. Moreover, dissimilarity of 0.65 could resulted in 4 *R. davurica* to be divided into 4 cluster groups, respectively. While 5 *R. chinensis* belonged to one group. Meanwhile, 5 *R. rugosa* were belonged to one group, and 1 *R. rugosa* was one independent group. Therefore, the genetic relationship was close between *R. chinensis* and *R. rugosa*, and they were distant to *R. davurica* in genetic relationship.

Key words: *Rosa rugosa*; *R. chinensis*; *R. davurica*; RAPD; Dissimilarity; Genetic groups

新书推荐

《中国花卉病虫害原色图鉴》 吕佩珂等主编

该图鉴共有彩版 208 页,彩色生态照片 1664 幅,病原墨线和电镜扫描图片 171 幅,文字 137 万,含花卉病虫害 1608 种,其中病害 1321 种,虫害 287 种,分上下两册。上册包括草本花卉、木本花卉、仙人掌与多浆类花卉病害 903 种,彩色照片 896 幅,彩版 112 页,文字 68 万。下册重点介绍 115 种鲜切花和草坪草病害 418 种,花木害虫 287 种,文字 69 万,含彩色生态照片 768 幅。该图鉴图文并茂、内容新颖、实用性强,是我国第一部花卉病虫害识别与防治大全,是观赏植物植保重要工具书。



《花卉资源原色图谱》 金波主编

本书以彩色照片为主体,展现花卉婀娜的姿态和绚丽的色彩。以植物学分类的科属排列,以种为单元,介绍其中名、别名、学名、科属、产地与习性、形态特征,繁殖栽培和应用等内容。全书囊括 142 个科的 699 种植物,千余幅彩图,包含部分野生植物资源,内容丰富,可供花卉园艺科研工作者、技术员、有关大专院校师生及广大花卉爱好者参阅。

本书科学性较强,彩图清晰、艳丽、逼真,文字简练流畅,深入浅出。既是工具书,又具可读性,兼有观赏功能,全彩印精装,为近年来国内少有的广谱性花卉原色图谱。

购书者请通过邮局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。