

核桃早实性状的 RAPD 分析

杨克强¹ 王跃进¹ 张银东² 郑学勤²

(¹西北农林科技大学园艺学院, 杨凌 712100; ²热带作物分子生物学国家重点实验室, 海口 571101)

摘要: 用 BSA (Bulked Segregant Analysis) 法获得了与核桃早实性状相关的 RAPD 标记 OPB208₉₀₀。混合分离群体的混合样来自早实品种辽 1 的自然授粉实生后代。用 220 个随机引物扩增早实和晚实混合样, 只有引物 OPB208 (5. GTCCACACGG 3.) 在早实混合样及其个体上扩增出了约 900 bp 的特异带 OPB208₉₀₀, 而在晚实混合样及其个体上无此特异带。用 OPB208 为引物, 以 19 个品种和 3 个株系的 DNA 为模板进行扩增, 特异带 OPB208₉₀₀ 在 17 个早实品种中的 12 个个体上出现, 而 5 个晚实品种 (系) 上均无此带。

关键词: RAPD; 早实性状; 核桃

中图分类号: S 664.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2002) 02-0573-02

1 目的、材料与方法

RAPD 技术已用于核桃的遗传作图^{1,2}、亲缘关系鉴定^{1,2}和与目标性状连锁的遗传标记寻找^{1,3,2}。作者用 BSA 法^{1,2}就与核桃 (*Juglans regia L.*) 早实性状相关的 RAPD 标记进行了研究。供试的 22 份材料保存于甘肃省天水农校试验园; 辽 1 实生后代样品由西北林学院高绍棠教授提供。1997 年 10 月剪取成熟枝条和幼叶进行 RAPD 分析^{1,2}。随机引物购自 Operon 公司, Taq DNA 聚合酶、PCR buffer 为华美公司产品, dNTPs 为 Promega 公司产品。PCR 仪为 Perkin Elmer2480 型。CTAB 法提取 DNA。

2 结果与分析

取早实亲本辽 1 的早实后代 GE1、GE2 和晚实后代 GL1、GL2 的 DNA 样, 分别等量混合, 构建早实和晚实 DNA 池, 用 220 个随机引物分别对两个池进行筛选。引物 OPB208 (5. GTCCACACGG 3.) 在早实 DNA 池中扩增出了一条大小约 900 bp 的特异条带。再以辽 1 及 GE1、GE2、GL1、GL2 的 DNA 为模板, OPB208 为引物进行 RAPD 反应, 结果在早实的辽 1、GE1、GE2 上出现大小约 900 bp 的特异条带, 而晚实的 GL1、GL2 上未出现 (图 1)。初步确定特异条带 OPB208₉₀₀ 是与核桃早实基因相关的 RAPD 标记。

用 OPB208 为引物, 以 22 个品种 (系) 个体的 DNA 为模板进行 RAPD 检测, 结果在 17 个早实品种 (系) 中有 12 个出现 OPB208₉₀₀ 条带。具体而言, 在辽 1 @新疆纸皮 (早实) ②河北昌黎大薄皮 (晚实) 2、辽 3 @河北昌黎大薄皮 (晚实) ②新疆纸皮 (早实) 2、辽 4 @辽宁大麻皮 (晚实) ②新疆纸皮 (早实) 2 上均出现; 在 1 山西汾阳串子 (晚实) ②润 92723 (早实) 2 杂交后代的中林 3 上出现, 而在该组合后代中林 1 上未

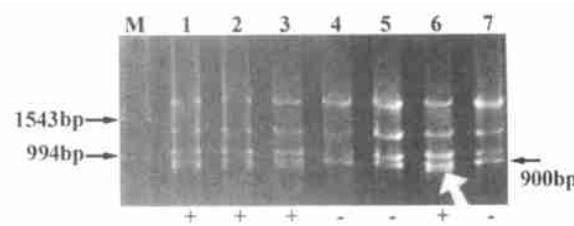


图 1 用随机引物 OPB208 对两个 DNA 池和辽 1 及其实生后代个体 RAPD 扩增的结果

- M. PCR marker, 1. 辽 1 (早实), 2. GE1 (早实), 3. GE2 (早实), 4. GL1 (晚实), 5. GL2 (晚实), 6. 早实 DNA 池, 7. 晚实 DNA 池; + . 存在, - . 不存在。
Fig. 1 Schematic showing of the polymorphisms of bulks, individuals from bulks and Liao 1 with primer OPB208
M. PCR Marker, 1. Liao 1 (Precocious), 2. GE1 (Precocious), 3. GE2 (Precocious), 4. GL1 (Backward), 5. GL1 (Backward), 6. Precocious DNA pool, 7. Backward DNA pool;
+ . Presence, - . Absence.

收稿日期: 2001-12-17; 修回日期: 2002-07-25

基金项目: 甘肃省重点科技推广项目

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

出现; 在 1早实涧 921125 (早实) @早实涧 92112 (早实)2 后代中林 5 上出现; 在 1上宋 5 (早实) @阿 9 (早实)2 后代香玲、丰辉上未出现; 在 1卡孜孜 (晚实) @上宋 6 (早实)2 后代鲁光上未出现; 在一些实生早实品种如扎 343、元丰、西扶 2、西林 2、西林 3、西扶 1 上出现, 在另外一些实生早实品种如阿 7 上未出现。但 OPB208₉₀₀ 在供试的 4 个晚实品种 (系) 陇 11、陇 32、陇 15、西洛 3 和一个晚实杂株上都没有出现 (图 2)。RAPD 标记 OPB208₉₀₀ 可作为核桃早实与晚实性状的区分性标记。

奚声珂¹⁶² 发现早实核桃 @早实核桃的 20 个组合中子代苗早实率为 19% ~ 56%, 早实核桃 @晚实核桃的 9 个组合中子代苗的早实率为 15% ~ 64%, 认为核桃早实性状是两对以上等位基因决定的显性性状。本研究中 RAPD 标记 OPB208₉₀₀ 在以新疆纸皮为早实亲本育成的辽 1、辽 3、辽 4 上都出现, 而在另外一些杂交育成的早实品种和实生早实品种上有的出现, 有的不出现, 这也说明核桃的早实性状受多基因控制, OPB208₉₀₀ 与控制早实性状的某一个基因相连锁。

参考文献:

- 1 Woeste K, McGranahan F H, Bernatzky R. Randomly amplified polymorphic DNA loci from a walnut backcross 1 (*Juglans hindsii* @ *J. regia*) @ *J. regia* 2. J. Amer Soc. Hort. Sci., 1996, 121 (3): 358~361
- 2 吴燕民, 裴东, 奚声珂, 等. 运用 RAPD 对核桃属种间亲缘关系的研究. 园艺学报, 2000, 27 (1): 17~22
- 3 Woeste K, McGranahan G, Bernatzky R. The identification and characterization of a genetic marker linked to hypersensitivity to the cherry leafroll virus in walnut. Molecular Breeding, 1996, 2: 261~266
- 4 Michelmore R W, Paran I, Kesseli R V. Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: A rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1991, 88: 9828~9832
- 5 Wang Y J, Lamikanra O, Lu J, et al. Identification of genetic marker linked to seedless genes in grapes using RAPD. Acta Univ. Agric. Borealis occidentalis, 1996, 24 (5): 1~10
- 6 奚声珂. 我国胡桃属 (*Juglans L.*) 种质资源与核桃 (*Juglans regia L.*) 育种. 林业科学, 1987, 23 (3): 342~349

RAPD Analysis for the Identification of the Precocious Trait in Walnuts

Yang Keqiang¹, Wang Yuejin¹, Zhang Yindong², and Zheng Xueqin²

(¹Horticultural College, Northwest Sichuan University of Agriculture and Forestry, Yangling 712100, China; ²National Key Biotechnology Laboratory for Tropical Crops, Haikou 571101, China)

Abstract: A random amplified polymorphic DNA (RAPD) marker linked to the precocious trait of walnut (*Juglans regia L.*), OPB208₉₀₀, was identified with bulked segregant analysis (BSA). Two bulks of DNA samples were created from open-pollinated Liao 1 (an precocious cultivar). The bulks were screened using 220 random primers (OP Kit). OPB208 (5. GTCCA CACGG 3.) generated a specific fragment with precocious individuals and without backward individuals. The specific fragment of approximately 900 base pairs (bp), was designated as OPB208₉₀₀. 22 DNAs from 19 cultivars and 3 clones were used as templates for RAPD analysis with primer OPB208 respectively. The specific band of OPB208₉₀₀ was present in 12 out of 17 precocious cultivars and absent in 5 backward cultivars/ clones. The RAPD marker OPB208₉₀₀ is related with precocious trait in walnut and would be used to distinguish the precocious trait and backward trait in walnut.

Key words: RAPD; Precocious trait; Walnut (*Juglans regia L.*)

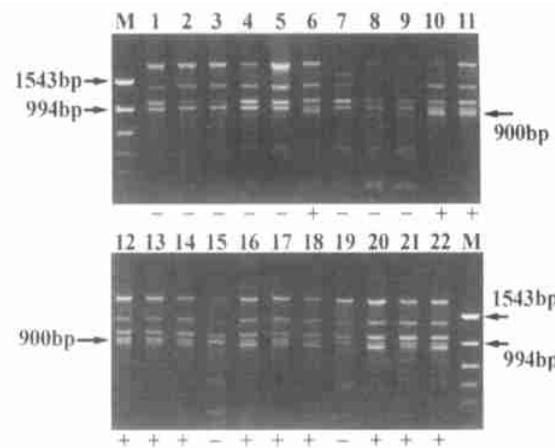


图 2 随机引物 OPB208 对供试品种 (系)
个体的 RAPD 扩增结果

M. PCR Marker; 1~5. 晚实 (1. 陇 11, 2. 陇 32, 3. 陇 15, 4. 西洛 3, 5. 杂株); 6~22. 早实 (6. 扎 343, 7. 丰辉, 8. 香玲, 9. 鲁光, 10. 元丰, 11. 西扶 2, 12. 西林 2, 13. 西林 3, 14. 阿 7, 15. 西扶 1, 16. 辽 1, 17. 辽 3, 18. 辽 4, 19. 中林 1, 20. 中林 3, 21. 中林 5, 22. 维纳)。
+ . 存在; - . 不存在

Fig. 2 Schematic showing of the polymorphisms of cultivars and clones with OPB208

M. PCR Marker; 1~5. Backward (1. Long 11, 2. Long 32, 3. Long 15, 4. Xiluo 3, 5. Unknown name); 6~22. Precocious (6. Za 343, 7. Fenghui, 8. Xiangling, 9. Luguang, 10. Yuanfeng, 11. Xifu 2, 12. Xilin 2, 13. Xilin 3, 14. A 7, 15. Xifu 1, 16. Liao 1, 17. Liao 3, 18. Liao 4, 19. Zhonglin 1, 20. Zhonglin 3, 21. Zhonglin 5, 22. Vina).
+ . Presence; - . Absence