

亚麻种质资源的 RAPD 分析

黄文功

(黑龙江省农业科学院 经济作物研究所,黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要:运用 RAPD 技术分析 60 份亚麻种质资源的遗传多样性。结果表明:从供试材料中筛选到具有多态性的 RAPD 引物 11 条。RAPD 引物共扩增到 71 条清晰的多态性条带,多态性比率(PPB)为 88.8%。对标记结果进行类平均法(UPGMA)聚类分析,在 GD 为 0.41 时 60 份亚麻品种聚为 7 类。

关键词:亚麻;RAPD;种质资源

中图分类号:S563.2

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2011)08-0011-02

国内学者对亚麻核心种质库中材料的形态特征、农艺性状、抗病性状及品质性状等进行了初步鉴定评价,但尚无 DNA 水平上的鉴定研究。该研究应用 RAPD 技术对 60 份亚麻材料进行分析,以便为大批量亚麻种质资源的鉴定和分类以及资源的有效利用提供理论依据和技术指导,还可以为亚麻育种亲本选配提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 材料

60 份亚麻种质资源详见表 1。

1.2 方法

1.2.1 亚麻总 DNA 提取与检测 亚麻总 DNA 提取方法参照文献[1]的方法。琼脂糖凝胶电泳方法参照文献[2]。

1.2.2 RAPD 反应条件 优化出适宜亚麻 RAPD 的 PCR 反应体系(25 μ L):10 \times Buffer, Mg^{2+} (1 mmol \cdot L $^{-1}$),dNTP(0.25 mmol \cdot L $^{-1}$), primer(1.6 μ mol \cdot L $^{-1}$),Genome DNA(50 ng),Taq 1U。通过退火温度梯度试验优化出适宜亚麻 RAPD 的 PCR 程序,确定优化后的 PCR 程序:94 $^{\circ}$ C 预变性 4 min;94 $^{\circ}$ C 变性 40 s,37 $^{\circ}$ C 退火 1 min,72 $^{\circ}$ C 延伸 90 s,40 个循环;72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。

1.2.3 条带统计 根据电泳结果记录清晰可重复的 RAPD 条带。对于同一引物的扩增产物,迁移率相同的条带记为一个位点,扩增阳性赋值为 1,阴性赋值为 0,输入 Excel 2003 中建立特征数

据矩阵用于进一步分析。

表 1 60 份亚麻种质资源明细

序号	资源	来源	序号	资源	来源
1	原 2003-20	中国	18	原 2007-17	中国
2	原 2003-43	中国	19	原 2003-76	中国
3	原 2003-22	中国	20	原 2003-39	中国
4	SXY3	中国	21	437,种皮浅黄	中国
5	原 2003-14	中国	22	原 2007-13	中国
6	原 2003-84	中国	23	原 2003-26	中国
7	K-6542	中国	24	原 2003-82	中国
8	原 2003-13	中国	25	r8744-5	中国
9	SXY2	中国	26	SXY12	中国
10	SXY15	中国	27	原 2003-24	中国
11	原 2003-42	中国	28	原 2003-85	中国
12	SXY11	中国	29	SXY10	中国
13	原 2004-10	中国	30	原 2003-67	中国
14	原 2003-25	中国	31	原 2003-43	中国
15	SXY18	中国	32	原 2003-32	中国
16	SXY14	中国	33	SXY9-1	中国
17	原 2004-5	中国	34	原 2003-79	中国
35	原 2003-62	中国	48	原 2004-6	中国
36	原 2003-46	中国	49	SXY17	中国
37	原 2003-66	中国	50	原 2004-3	中国
38	原 2003-78	中国	51	98-338 太空处理	中国
39	原 2003-28	中国	52	98-338 太空对照	中国
40	原 2003-69	中国	53	原 2006-11 白	中国
41	SXY5	中国	54	原 2006-8 白	中国
42	SXY1	中国	55	原 2005-21 褐皮	中国
43	SXY7	中国	56	TTY29 白	中国
44	TTY26	中国	57	SXY20 白	中国
45	原 2006-2	中国	58	原 2003-15 紫	中国
46	SXY8	中国	59	1-6Ha 多胚	中国
47	SXY4	中国	60	ELISE	法国

1.2.4 聚类分析 任一位点若有一个个体不同于其它个体即为一个多态性位点,根据数据矩阵计算单位引物多态性条带及多态性条带百分率(PPB)。利用类平均法(UPGMA)进行聚类分析。

收稿日期:2011-04-05

基金项目:黑龙江省青年基金资助项目(QC08C25)

作者简介:黄文功(1980-),男,黑龙江省哈尔滨市人,硕士,助理研究员,从事亚麻分子育种研究。E-mail:huangwen-gong1736@yahoo.com.cn。

2 结果与分析

2.1 筛选出适宜亚麻 RAPD 的引物

试验从 70 条引物中筛选出适宜亚麻 RAPD 的引物 11 条,其中 A 系列引物参照加拿大学者 Yong-Bi Fu^[3-5],其序列见表 2。

表 2 筛选出的引物序列

标号	序列	标号	序列	标号	序列
A2	GAGTAAGCGG	A10	GGTCAGGGCT	S7	GGTGACGCAG
A5	GCCACGGAGA	A11	GTACATGGGC	S10	CTGCTGGGAC
A7	TAGACAGAGG	A12	CCGGTTCCAG	S24	AATCGGGCTG
A8	GAATGCGAGG	A13	CCGCCCCACTG		

2.2 利用筛选出的 11 条 RAPD 引物对入国家库的 60 份亚麻种质资源进行分类

用 RAPD 标记方法对 60 份亚麻种质资源 DNA 的遗传多样性进行检测。11 个引物共检测到 80 条带,平均每个引物扩增出 7.3 条带,有 71 条具多态性(占 88.8%),平均每个引物扩增出 6.5 条多态性带(见表 3)。

表 3 60 份亚麻 RAPD 标记的扩增产物统计

位点	特征带	共有带	合计
A2	9	0	9
A5	6	2	8
A7	4	1	5
A8	5	1	6
A10	6	1	7
A11	8	0	8
A12	8	1	9
A13	5	2	7
S7	6	0	6
S10	7	1	8
S24	7	0	7
合计	71	9	80

由图 1 可知,RAPD 扩增结果的遗传距离处于 0~0.69,最大值为 0.69。在 GD 为 0.41 时 60 份亚麻品种聚为 7 类。

3 结论

该试验筛选出适宜亚麻 RAPD 的引物 11 条;优化出适宜亚麻 RAPD 的 PCR 条件;利用 RAPD 方法鉴定出了 60 份亚麻种质资源的亲缘关系,并对这 60 份资源进行了聚类分析,在 GD 为 0.41 时 60 份亚麻品种聚为 7 类。

参考文献:

- [1] 王美林,方宏筠.植物基因工程原理与技术[M].北京:科学出版社,1998.

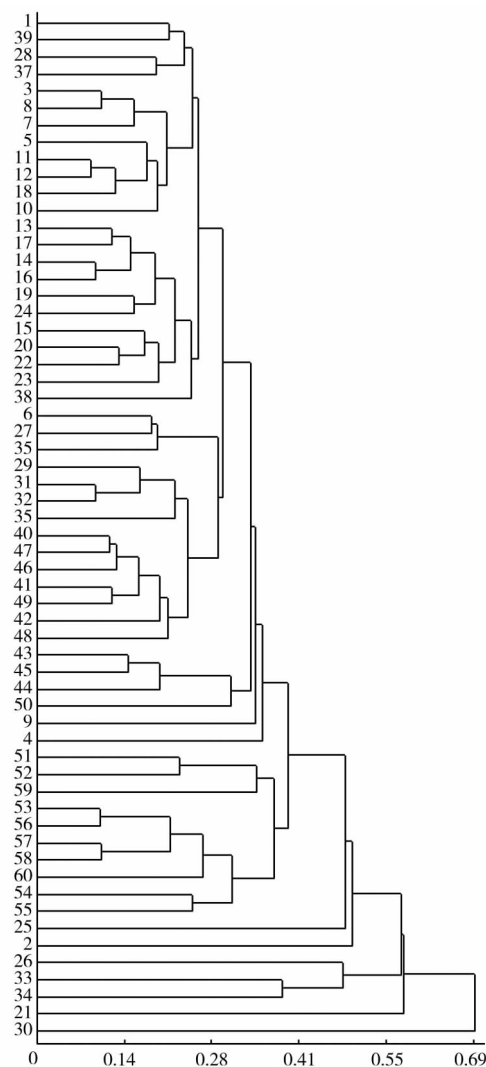


图 1 60 份亚麻的 RAPD 聚类分析

- [2] 萨姆布鲁克 J,拉塞尔 D W.分子克隆实验指南[M].北京:科学出版社,2002.
- [3] Fu Yongbi. Effectiveness of bulking procedures in measuring population-pairwise similarity with dominant and co-dominant genetic markers[J]. Theor. Appl. Genet, 2000, 100:1284-1289.
- [4] Fu Yongbi, Gordon G Rowland, Scott D, et al. RAPD Analysis of 54 North American Flax Cultivars[J]. Crops Sci., 2003, 43:1510-1515.
- [5] Fu Yongbi. Geographic Patterns of RAPD Variation in Cultivated Flax[J]. Crops Sci., 2005, 45:1084-1091.

RAPD Analysis of Flax Germplasm

HUANG Wen-gong

(Industrial Crops Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086)

Abstract: RAPD methods were used to detect the genetic diversity of 60 flax germplasm. The result showed that a total of 11 RAPD primers were identified with polymorphism among the entries. For RAPD marker, 71 polymorphic bands were generated, PPB was 88.8%. The cluster analysis by UPGMA showed that seven groups could be clustered when GD was given as 0.41.

Key words: flax; RAPD; germplasm