

用 SRAP 分子标记分析一串红品种资源的亲缘关系

董爱香¹ 王涛¹ 徐进² 赵梁军³

(1 北京市园林科学研究所, 绿化植物育种北京市重点实验室 2 北京市农业技术推广站 3 中国农业大学观赏园艺与园林系)

摘要:应用 SRAP 分子标记对 24 个国内外优良一串红品种(系)进行了亲缘关系分析。结果表明,从 88 个引物组合中筛选到 24 个多态性较高的引物组合,共扩增出 306 个多态性条带,平均每个引物组合产生 12.8 个多态性条带,获得了较高的多态性比率。对不同样本产生的扩增产物进行聚类分析发现,在相似系数 0.72 的水平上,可以把 24 个一串红品种(系)分为 3 大类:本课题组自育品种(系)全部聚在 I 类;国外品种全部聚在 II 类,‘展望白’和‘展望鲑红’聚为 III 类,与其他花色截然分开。一串红 SRAP 分子标记的多态性与种质来源的关系密切,利用 SRAP 分子标记的聚类分析结果可为一串红杂交亲本选配、品种鉴定和知识产权保护提供依据。

关键词:一串红;多态性;SRAP

中图分类号:S681.4 文献标志码:A 文章编号:1000-1522(2012)05-0134-05

DONG Ai-xiang¹; WANG Tao¹; XU Jin²; ZHAO Liang-jun³. **Genetic relationship of germplasm resources of *Salvia splendens* using SRAP marker.** *Journal of Beijing Forestry University* (2012) 34 (5) 134-138 [Ch, 26 ref.]

1 Key Laboratory of Landscape Plants Breeding, Beijing Institute of Landscape Architecture, 100102, P. R. China;

2 Beijing Agro-Technical Extension Centre, 100029, P. R. China;

3 Department of Ornamental Horticulture and Landscape Architecture, China Agricultural University, Beijing, 100193, P. R. China.

The molecular marker system—SRAP (sequence-related amplified polymorphism) was used to study the genetic relationship to provide a theoretical basis for parent selection, cultivar identification and intellectual property protection of *Salvia splendens*. Genetic relationship of 24 *S. splendens* cultivars was analyzed using SRAP marker. Twenty-four primer pairs selected from 88 primer pairs amplified 306 polymorphic bands with an average of 12.8 polymorphic bands per primer pair. UPGMA clustering suggested that 24 cultivars could be divided into three groups as the genetic distance was 0.72. The first group mainly included *S. splendens* cultivars from Beijing Institute of Landscape Architecture, and foreign cultivars were in the second group, both ‘Vista White’ and ‘Vista Salmon’ were clustered in the third group in view of different color from other flowers. In conclusion, there is good consistency between genetic diversity of germplasm resources of *S. splendens* using SRAP marker and germplasm sources.

Key words *Salvia splendens*; polymorphism; SRAP

一串红(*Salvia splendens*)为唇型花科鼠尾草属多年生草本植物,原产于南美洲热带地区,是世界范围内广泛栽植的重要草花之一。近些年,我国一串红盆花用量剧增,但种植品种日趋单一,且大多种植不适应我国夏季高温高湿环境的国外品种,养护难度大。传统品种虽然在我国栽培历史悠久,适应性

较强;但由于植株略高、开花较晚而逐步退出市场,使得国内一串红种质资源骤减,因此,收集一串红种质资源,评价其生物特性,研究其遗传多样性及亲缘关系,对于培育适合我国气候、具有自主知识产权的一串红优良品种具有重要意义。

SRAP(sequence-related amplified polymorphism,

收稿日期:2011-12-16

基金项目:北京市科委重大项目(D070500340121)。

第一作者:董爱香,博士,高级工程师。主要研究方向:园林植物栽培育种。电话:010-64735138 Email: gooddax@sina.com 地址:100102 北京市朝阳区花家地甲7号北京市园林科学研究所。

责任作者:赵梁军,博士,教授。主要研究方向:园林植物生理及育种。电话:010-62733315 Email: zhaolj5073@163.com 地址:100193 北京市圆明园西路2号中国农业大学西校区观赏园艺与园林系。

本刊网址: <http://journal.bjfu.edu.cn>

序列相关扩增多态性)是由 Li 等^[1]开发的一种分子标记。该标记具有简便、稳定、兼有 RAPD 的操作简单和 AFLP 重复性好、多态性强的优点。目前,SRAP 在遗传多样性分析^[2-6]、遗传图谱构建^[7-12]、比较基因组学^[1,13-15]等方面得到广泛应用。在利用 SRAP 标记进行观赏植物遗传多样性评价和亲缘关系分析的研究中:Guo 等^[16]将 16 个花色不同的牡丹(*Paeonia suffruticosa*)品种归为 3 类,证明花色在很大程度上决定了品种的分组;Feng 等^[17]研究了 16 个居群的青葙(*Celosia argentea*)以及 6 个居群的鸡冠花(*Celosia cristata*)的遗传多态性,根据 UPGMA 聚类分析结果来估测居群间的遗传距离;任羽等^[18]对兰科石斛属 9 个种进行遗传关系分析,将 9 个种分为 4 类,证明密花石斛(*Dendrobium densiflorum*)和华石斛(*D. sinense*)之间的亲缘关系最近,美花石斛(*D. loddigesii*)和海南石斛(*D. hainanense*)之间亲缘关系最远;蹇黎等^[19]对 37 个中国寒兰(*Cymbidium kanran*)和 14 个日本寒兰品种进行多态性聚类分析,根据起源和生物学特性划分为中国寒兰和日本寒兰 2 大类群;张西西等^[20]根据遗传多态性分析结果,将 48 个万寿菊(*Tagetes erecta*) F1 品种分为 2 大类;徐进等^[21]对 58 个矮牵牛(*Petunia hybrida*)品种进行亲缘关系分析,将 58

个品种分为 4 个类群,第 1 类群主要为暖色系列的品种,第 2 类群为黄色花品种,第 3、4 类群为冷色花品种,白色花品种聚类较散。关于一串红遗传多样性及亲缘关系的研究,田晔林等^[22]用 RAPD 分子标记技术,将 8 个一串红品种(系)按株高分为 2 大类,胡国富等^[23]同样应用该技术将 4 种花色品种划分为 2 大类,沈国正等^[24]利用 SRAP 标记对 17 个一串红品种进行了鉴定。近 20 多年以来,中国北方地区曾引进国内外众多一串红品种进行栽培,迄今尚未见到对其亲缘关系进行研究的报道。

本文作者针对已经收集整理国内外 24 个一串红品种资源,应用 SRAP 分子标记技术分析其遗传多样性及亲缘关系,旨在了解这些一串红品种的遗传背景,为一串红杂交亲本选配、品种鉴定和知识产权保护提供依据。

1 材料与方法

1.1 植物材料

选用目前国内外曾经主栽过的品种和目前主栽的 24 个一串红品种和品系为试材,其中 1~6 号材料为北京市园林科学研究所选育,7~11 号材料为国内收集,12~24 号材料是来自国外公司的商业品种(表 1)。

表 1 供试一串红品种(系)

Tab. 1 List of the experimental materials

编号	试材	株高/cm	花色	来源	编号	试材	株高/cm	花色	来源
1	1120zh	20~25	红	北京市园林科学研究所	13	莎莎	20~25	红	英国弗伦诺娃公司
2	12#-1	20~25	红	北京市园林科学研究所	14	烈火 2000	25~30	红	荷兰先正达公司
3	006-2	20~25	红	北京市园林科学研究所	15	蓝带	25~30	蓝白	美国泛美种子子公司
4	18-2	20~25	红	北京市园林科学研究所	16	国王	25~30	红	美国泛美种子子公司
5	0073	20~25	红	北京市园林科学研究所	17	火焰	30~35	红	美国泛美种子子公司
6	83sh	25~30	红	北京市园林科学研究所	18	晨鸟	30~35	红	英国弗伦诺娃公司
7	朝阳	20~25	红	内蒙古赤峰金太阳园艺	19	展望红白	20~25	红白	美国泛美种子子公司
8	1120-y	25~30	红	内蒙古赤峰塞诺园艺	20	展望白	20~25	白	美国泛美种子子公司
9	83-1	25~30	红	山西三盛园艺	21	展望紫	20~25	浅紫	美国泛美种子子公司
10	1130	30~35	红	内蒙古赤峰春禾园艺	22	展望鲑红	20~25	鲑粉	美国泛美种子子公司
11	中高	35~40	红	甘肃酒泉金秋园艺	23	展望红	20~25	红	美国泛美种子子公司
12	太阳神	20~25	红	英国弗伦诺娃公司	24	展望酒红	20~25	酒红	美国泛美种子子公司

1.2 SRAP 分析

试验于 2009 年在北京市园林科学研究所进行。SRAP 引物参考 Ferriol 等^[25]与 Budak 等^[26]的引物,由 8 条正向引物(me)和 11 条反向引物(em)构成 88 对引物组合。

DNA 提取参考 Li 等^[1]的方法,提取具有 1 对真叶时期的幼苗叶片 DNA,并进行检测。PCR 扩增反应体系和反应程序参考 Ferriol 等^[25]的方法并进行优化。PCR 反应在 PTC-100 温度循环仪(美国产)上进行。

1.3 数据分析

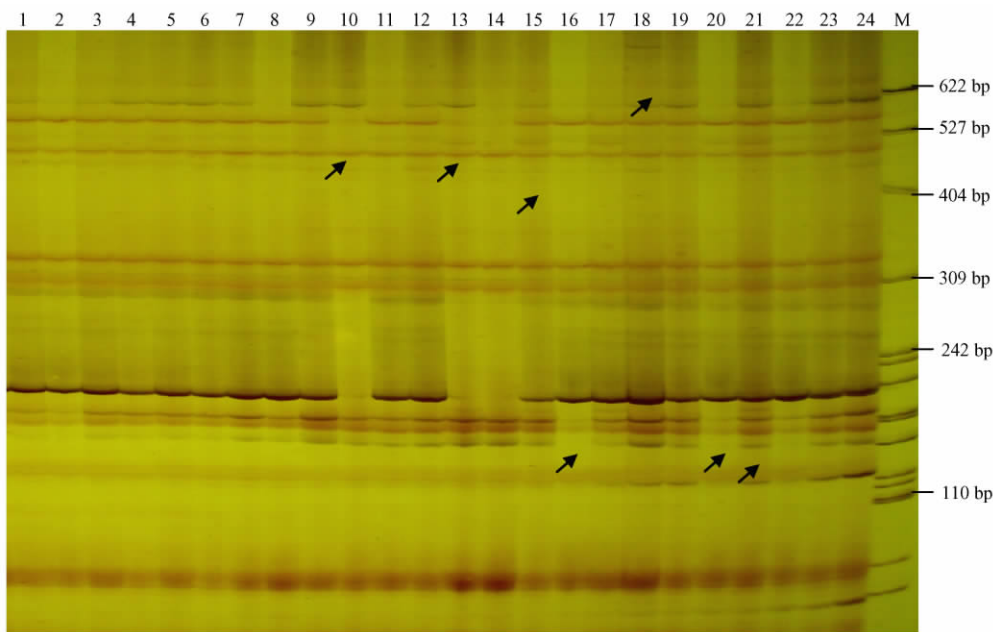
每个引物组合的多态性比率 = 引物组合扩增的多态性条带数 / 总条带数 × 100%; 每个引物的鉴别能力 = 此引物组合可鉴别的品种类别数 / 总品种数 × 100%。采用 Jaccardp's 相似系数,使用 NTSYS2pc 2.0 软件,非加权组平均法(UPGMA)聚类。相似系数计算公式为 $S_j = a / (a + b + c)$,其中 a 表示 2 份样品共有条带数, b 表示 i 样品特有的条带数, c 表示 j 样品特有的条带数。

2 结果与分析

2.1 SRAP 标记多态性分析

用 88 对引物对 24 个一串红品种(系) DNA 进

行 SRAP 扩增,有 24 对引物的扩增产物具有多态性,带型稳定,重复性好。其中多态性较高的引物组合有 ME-3/EM-9(图 1)、ME-8/EM-9、ME-7/EM-11、ME-6/EM-7 和 ME-1/EM-8 等。



1~24. 对应表 1 中 24 个供试一串红品种(系); M. DNA marker (pBR322); 箭头表示多态性条带

图 1 引物组合 ME-3/EM-9 对 24 个一串红品种(系)的扩增结果

Fig. 1 Amplification results of 24 *Sabia splendens* cultivars by the primer pair ME-3/EM-9

24 个引物组合共产生 435 条谱带,其中有 306 条多态性条带,平均每个组合产生 12.8 个多态性条带。每个组合的多态性条带数为 5~23,多态性比率在 26.3%~95.8% 之间(表 2)。这说明 SRAP 多态性较高,适于鉴别一串红植物。

2.2 聚类分析

根据 SRAP 引物扩增的 306 条多态性条带,对 24 个一串红品种(系)进行聚类分析(图 2), Jaccard's 相似系数在 0.66~0.88 之间。在相似系数 0.72 的水平上,可以将试材聚为 3 类: '1120zh' '1120-y' '12#-1' '006-2' '83sh' '18-2' '0073' '中高' '1130' '83-1' '展望红' '展望酒红' 聚为第 I 类; '莎莎' '太阳神' '烈火 2000' '晨鸟' '国王' '火焰' '朝阳' '蓝带' '展望红白' '展望紫' 聚为第 II 类; '展望白' 和 '展望鲑红' 聚为第 III 类。

3 结论与讨论

从 88 个引物组合中筛选出 24 个多态性较高、条带清晰、稳定性好的引物组合。对 24 个一串红进行扩增,共产生 306 个多态性条带,平均每个引物组合产生 12.8 个多态性条带,显示了较高的多态性比率。聚类分析结果表明,在相似系数 0.72 的水平上,把 24 个一串红品种(系)分为 3 大类。其中,北

表 2 24 对引物产生的多态性

Tab. 2 Number of polymorphic bands generated by 24 primer pairs

组合编号	组合名称	总条带数	多态性条带数	多态性比率/%	可鉴别材料数	鉴别能力/%
1	ME-1/EM-2	18	10	55.6	12	50.0
2	ME-1/EM-4	15	11	73.3	24	100
3	ME-1/EM-6	19	5	26.3	10	41.7
4	ME-1/EM-7	23	15	65.2	12	50.0
5	ME-1/EM-8	23	20	87.0	10	41.7
6	ME-1/EM-10	20	11	55.0	16	66.7
7	ME-2/EM-11	19	11	58.0	14	58.3
8	ME-3/EM-9	24	23	95.8	15	62.5
9	ME-5/EM-10	21	10	47.6	20	83.3
10	ME-6/EM-2	12	9	75.0	4	16.7
11	ME-6/EM-3	9	5	55.6	22	91.7
12	ME-6/EM-7	16	14	87.5	13	54.2
13	ME-6/EM-10	21	15	71.4	5	20.8
14	ME-6/EM-11	24	15	62.5	6	25.0
15	ME-7/EM-1	20	16	80.0	18	75.0
16	ME-7/EM-4	19	16	84.2	14	58.3
17	ME-7/EM-7	21	17	81.0	18	75.0
18	ME-7/EM-8	18	13	72.2	22	91.7
19	ME-7/EM-9	17	13	76.5	15	62.5
20	ME-7/EM-11	18	16	88.9	24	100
21	ME-8/EM-1	17	11	64.7	17	70.8
22	ME-8/EM-7	17	13	76.5	13	54.2
23	ME-8/EM-9	11	10	91.0	20	83.3
24	ME-8/EM-10	13	7	53.8	17	70.8

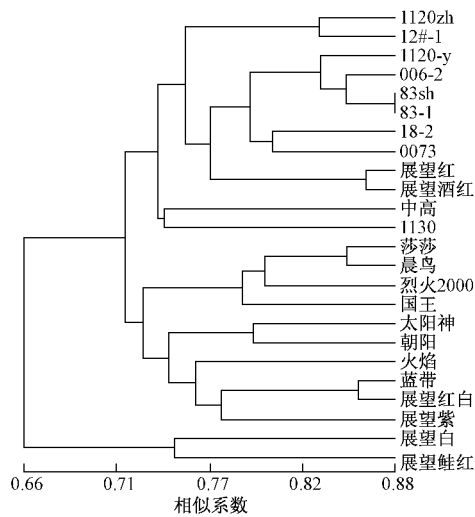


图2 24个一串红品种(系)的聚类分析结果

Fig. 2 Dendrogram of phylogenetic relationship of 24 cultivars of *Salvia splendens*

北京市园林科研所自育品种(系)全部聚在第Ⅰ类,国外品种全部聚在第Ⅱ类,白花品种‘展望白’和粉花品种‘展望鲑红’单独聚为第Ⅲ类,截然与其他花色分开。表明一串红资源遗传多样性与种质来源关系密切,白色花与粉色花的亲缘关系较近,而这2种浅色花与其他花色的亲缘关系较远。

笔者所在单位从事草花育种研究近20年,收集和选育了一大批一串红材料,其中聚为第Ⅰ类(编号1~6,8~11)的品种(系)适应性较强,有的已在国内持续栽植了多年,是具有代表性的国产一串红品种类型。但是,国产品种普遍存在植株略高,开花较晚,抽穗不整齐等问题。如‘1130’和‘中高’,为国内用于地栽的中高株型品种,生长健壮,抗性强,花穗粗、长,花色艳丽,但因植株较高,不适合盆栽;而‘0073’虽抗热性好,在北京高温高湿的夏季表现良好,但花色和叶色较浅;而‘006-2’保持了国内品种抗热性好的优点,且观赏性状有了很大提升。13个国外品种(编号12~24),是10多年来国外公司在我国推广的主要品种,均具有开花早,抽穗整齐等优点,但均不太适应我国夏季高温高湿的环境。近年来,由于一串红的栽植品种单一,传统的选择育种受到了很大限制,通过品种间的杂交培育一串红优良品种越来越受到重视。本研究结果为利用国内外2类品种的优点,开展聚合优良性状育种提供了理论依据。

一串红的性状表现受栽培条件影响很大,且栽培管理中要进行1~2次摘心,因此,采用形态学特点很难鉴定一串红品种。SRAP分子标记技术在一串红上的重复试验结果稳定,能够较准确地地区分供试的24个一串红品种(系),表明SRAP技术是分析

一串红种质资源、鉴定亲缘关系、新品种保护及选配杂交亲本组合的有效工具。同时,自育品种‘1120zh’和‘12#-1’均以‘展望红’为父本,自有品种为母本杂交选育而来,它们正好与‘展望红’和‘展望酒红’的矮型品种聚为一类,进一步证实了应用SRAP技术可以判断一串红的亲缘关系。

从聚类结果看,本课题组自育的品种(系)全部聚在第Ⅰ类,国外品种全部聚在第Ⅱ类,这表明一串红SRAP分子标记的遗传多态性与种质来源一致。综合考察国内外品种的差异可以认为,2类品种的抗湿热性差异在一定程度上影响了其聚类,这为杂交育种的亲本选配提供了参考。在相似系数0.74的水平上,可将Ⅰ类中的‘中高’‘1130’和其他品种分开,‘中高’和‘1130’均为中高株型品种,其他为矮型品种,表明株高也可作为一串红分类的依据,这与田晔林等^[22]的研究结果一致。‘展望白’和‘展望鲑红’与其他花色分开,单独聚为第Ⅲ类,表明一串红的白色花与粉色花亲缘关系较近,而这2种浅色花与其他花色的亲缘关系较远。另外,聚类结果显示红色和酒红、蓝白和红白及浅紫色相似系数较高,亲缘关系较近,这与胡国富等^[23]的研究结果相近,表明一串红的花色深浅与遗传关系的远近具有一定的相关性。

由于一串红为常异花授粉植物,种源地较远的品种间交流的机会很少,加之我国传统上以选择育种为主,并以抗逆性为重要选择指标,这可能是导致国内外一串红品种聚为3类的重要原因。另外,本研究结果也显示,利用遗传关系较远的国内外品种进行杂交,是培育观赏性好且适合我国气候的一串红新品种的有效途径。2007年选育的‘奥运圣火1120’和2011年选育的‘京妍1140’一串红品种,正是利用上述品种资源而选育得到。目前,市场上应用的一串红以矮型红色品种为主,‘国王’与自育红色矮型品种‘1120y’和‘18-2’的遗传距离均较大,分别为0.629和0.626,利用‘国王’与‘1120y’和‘国王’与‘18-2’设计杂交组合,有望培育出抗湿热、植株紧凑、观赏性状优良的一串红新品种。

参 考 文 献

- [1] LI G, QUIROS C F. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: Its application to mapping and gene tagging in *Brassica* [J]. *Theoretical and Applied Genetics* 2001, 103(2-3): 455-461.
- [2] 李慧芝,尹燕桦,张春庆,等. SRAP在葱栽培品种遗传多样性研究中的适用性分析[J]. *园艺学报* 2007, 34(4): 929-934.
- [3] 韩建明,侯喜林,徐海明,等. 不结球白菜(*Brassica campestris* ssp. *chinensis* Makino)种质资源SRAP遗传分化分析[J]. *作物学报* 2007, 33(11): 1862-1868.

- [4] 李莉,彭建营,白瑞霞. 中国枣属植物亲缘关系的 SRAP 分析[J]. 中国农业科学, 2009, 42(5): 1713-1719.
- [5] 窦美安,邱文武,吴青松,等. 菠萝遗传多样性的 SRAP 分析[J]. 果树学报, 2010, 27(6): 930-937.
- [6] 刘华晶,许修宏,姜廷波. 大兴安岭地区野生黑木耳菌株 SRAP 的遗传多样性分析[J]. 中国农业科学, 2011, 44(13): 2641-2649.
- [7] SUN Z D, WANG Z I, TU J X, et al. An ultradense genetic recombination map for *Brassica napus*, consisting of 13 551 SRAP markers[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2007, 114(8): 1305-1317.
- [8] 李媛媛,沈金雄,王同华,等. 利用 SRAP、SSR 和 AFLP 标记构建甘蓝型油菜遗传连锁图谱[J]. 中国农业科学, 2007, 40(6): 1118-1126.
- [9] 马红勃,祁建民,李延坤,等. 烟草 SRAP 和 ISSR 分子遗传连锁图谱构建[J]. 作物学报, 2008, 34(11): 1958-1963.
- [10] 赵玉辉,郭印山,胡又厘,等. 应用 RAPD、SRAP 及 AFLP 标记构建荔枝高密度复合遗传图谱[J]. 园艺学报, 2010, 37(5): 697-704.
- [11] 李怀志,张峻,李翔,等. 应用 SRAP 标记对茄子品种进行遗传多样性分析与指纹图谱构建[J]. 南京农业大学学报, 2011, 34(4): 18-22.
- [12] 陈晖,陈美霞,陶爱芬,等. 长果种黄麻 SRAP 标记遗传连锁图谱的构建及 3 个质量性状基因定位[J]. 中国农业科学, 2011, 44(12): 2422-2430.
- [13] 陈碧云,伍晓明,陆光远,等. 甘蓝型油菜花瓣缺失基因的图谱定位[J]. 遗传, 2006, 28(6): 707-712.
- [14] 邓晓辉,张蜀宁,侯喜林. 白菜 Pol 胞质雄性不育系和保持系蕾期基因表达差异的 SRAP 分析[J]. 园艺学报, 2007, 34(3): 655-658.
- [15] 马爱芬,李加纳,谌利,等. 甘蓝型油菜种皮色泽相关基因的 cDNA-SRAP 差异显示[J]. 作物学报, 2008, 34(3): 526-529.
- [16] GUO D L, HOU X G, ZHANG J. Sequence-related amplified polymorphism analysis of tree peony (*Paeonia suffruticosa* Andrews) cultivars with different flower colours[J]. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* 2009, 84: 131-136.
- [17] FENG N, XUE Q, GUO Q, et al. Genetic diversity and population structure of *Celosia argentea* and related species revealed by SRAP[J]. *Biochemical Genetics* 2009, 47: 521-532.
- [18] 任羽,尹俊梅,杨光穗. 海南石斛属植物亲缘关系的 SRAP 分析[J]. 热带作物学报, 2008, 29(6): 768-770.
- [19] 蹇黎,朱利泉. 寒兰品种类型的 SRAP 分子鉴定[J]. 中国农业科学, 2010, 43(15): 3184-3190.
- [20] 张西西,徐进,王涛,等. 万寿菊杂交一代遗传多态性的 SRAP 标记分析[J]. 园艺学报, 2008, 35(8): 1221-1226.
- [21] 徐进,张西西,董爱香,等. 部分矮牵牛品种亲缘关系的 SRAP 分析[J]. 园艺学报, 2008, 35(12): 1837-1842.
- [22] 田晔林,刘克锋,石爱萍,等. 一串红品种(系)遗传多样性 RAPD 分析[J]. 中国农学通报, 2006, 22(5): 76-78.
- [23] 胡国富,李凤兰,袁强,等. 四种花色一串红 RAPD 分析[J]. 黑龙江农业科学, 2007(5): 65-67.
- [24] 沈国正,李春楠,傅巧娟,等. 一串红 SRAP 标记的建立与品种鉴定[J]. 浙江农业学报, 2011, 23(1): 84-89.
- [25] FERRIOL M, PICO B, NUEZ F. Genetic diversity of a germplasm collection of *Cucurbita pepo* using SRAP and AFLP markers[J]. *Theoretical and Applied Genetics* 2003, 107(2): 271-282.
- [26] BUDAK H, SHEARMAN R C, PARMAKSIZ I. Molecular characterization of buffalograss germplasm using sequence-related amplified polymorphism markers[J]. *Theoretical and Applied Genetics* 2004, 108(2): 328-334.

(责任编辑 董晓燕)