

基于改良 RAPD 标记的花梅与果梅品种的遗传关系分析

王玉娟¹, 房经贵^{1,①}, 于华平¹, 汪诗珊², 李晓颖¹, 陈翔高¹

(1. 南京农业大学园艺学院 江苏省果树品种改良与种苗繁育工程中心, 江苏 南京 210095;

2. 南京中山陵园管理局, 江苏 南京 210014)

摘要: 为了探讨梅(*Prunus mume* Sieb. et Zucc.)的2种类型——花梅与果梅的遗传多样性,利用23条长度为11 bp的随机引物以及严格筛选退火温度的改良 RAPD-PCR 优化体系对25个花梅和21个果梅品种的基因组总 DNA 进行了分析,并在此基础上采用 UPGMA 聚类方法对46个花梅与果梅品种间的遗传关系进行了分析。结果显示:使用重复性好、条带清晰且多态性强的23条随机引物,共从46个花梅和果梅品种基因组总 DNA 中扩增出131条带,其中多态性条带107条,多态性条带百分率达81.7%,说明花梅和果梅各品种间具有丰富的遗传多样性。聚类分析结果显示:46个花梅和果梅品种的遗传相似系数为0.63~0.83;在遗传相似系数0.66处,供试的46个品种被分为5组。A组包含6个果梅品种和11个花梅品种;B组仅包含4个花梅品种;C组包含16个品种,其中15个品种为果梅;D组仅包含4个花梅品种;E组也仅包含5个花梅品种。研究结果表明:花梅和果梅具有相近的亲缘关系,遗传背景相似。

关键词: 改良 RAPD 标记;花梅;果梅;遗传多样性;遗传关系;聚类分析

中图分类号: Q946-33; S662.4 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2011)02-0028-07

Analysis of genetic relationship of flowering and fruiting mei cultivars based on modified RAPD marker WANG Yu-juan¹, FANG Jing-gui^{1,①}, YU Hua-ping¹, WANG Shi-shan², LI Xiao-ying¹, CHEN Xiang-gao¹ (1. Fruit Crop Genetic Improvement and Seedling Propagation Engineering Center of Jiangsu Province, College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2. Administration of Dr. Sun Yat-Sen Mausoleum, Nanjing 210014, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2011, 20(2): 28-34

Abstract: In order to explore the genetic diversity of two types of *Prunus mume* Sieb. et Zucc., which are flowering and fruiting mei, total genomic DNA from 25 cultivars of flowering mei and 21 cultivars of fruiting mei was analyzed by modified RAPD-PCR optimized system with strict screening of anneal temperature and using 23 random primers with the length of 11 bp. And on this basis, the genetic relationship of 46 cultivars of flowering and fruiting mei were analyzed by UPGMA cluster method. The results show that 131 bands are amplified from total genomic DNA of 46 cultivars by using of 23 random primers with good reproducibility, clear bands and rich polymorphism, in which there are 107 polymorphic bands and the percentage of polymorphic bands accounts for 81.7%. It means that there is rich genetic diversity among different cultivars of flowering and fruiting mei. The result of cluster analysis shows that the genetic similarity coefficient of 46 cultivars of flowering and fruiting mei is 0.63-0.83 and at the 0.66 point of genetic similarity coefficient, the 46 cultivars are divided into 5 groups. In which, Group A contains 6 cultivars of fruiting mei and 11 cultivars of flowering mei; Group B only contains 4 cultivars of flowering mei; Group C contains 16 cultivars in which 15 cultivars are fruiting mei; Group D only contains 4 cultivars of flowering mei; Group E also only contains 5 cultivars of flowering mei. It is suggested that flowering and fruiting mei have close relationship and similar genetic background.

收稿日期: 2010-12-10

基金项目: 国家教育部新世纪优秀人才支持计划项目(NCET-08-0796)

作者简介: 王玉娟(1985—),女,山东莒南人,硕士研究生,研究方向为果树基因组学。

①通信作者 E-mail: fanggg@njau.edu.cn

Key words: modified RAPD marker; flowering mei; fruiting mei; genetic diversity; genetic relationship; cluster analysis

梅 (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.) 为蔷薇科 (Rosaceae) 李属 (*Prunus* L.) 植物, 系中国主产的传统名花佳果。梅在中国已有 7 000 年以上的应用历史, 栽培历史也有 3 000 年以上^[1-3]。根据主要用途的不同, 可将梅分为果梅与花梅(梅花)2 种类型^[3-4]。果梅雌蕊发育充实, 多能正常受精结实, 产量较高, 花瓣以单瓣为主; 花梅的大部分品种雌蕊发育较差, 花粉量少, 花芽萌发率低, 一般不能大量结实或果实品质较差, 但仍有部分花梅品种能正常受精结实。例如, 现今很多的江梅品种仍保留着结果的习性, 成为既有观花价值又有食用价值的花果兼用梅。

相关资料表明^[5]: 花梅是从果梅或野梅演化而来的, 而且, 花梅的实生选种以及杂交育种也是以果梅为材料。在植物分类系统中花梅与果梅都属于同一类群, 并没有进行进一步区分。Li 等^[6]和 Hayashi 等^[7]曾分别利用 SNP 和 SSR 分子标记技术对花梅和果梅进行研究, 并都得出这 2 类梅在遗传上是同一种植物的结论。它们的区别主要是花器官的形态差异与利用目的的不同, 花梅与果梅是栽培过程中依据不同的园艺性状得出的分类结果。经过长期的自然选择和人工选育栽培, 花梅与果梅形成了品种繁多、表型性状丰富、遗传进化关系复杂的重要植物类群。

尽管在实际利用与研究中有花梅与果梅之分, 但是由于长期自然进化、天然杂交、实生选种以及杂交育种等原因, 现存的梅种质资源和人工栽培品种的遗传背景较为复杂。例如: 花梅实生选种来自天然杂交的果核, 杂交育种需要果梅亲本; 很多花梅品种具备不同能力的结果习性; 有些果梅品种具有很高的观赏性, 这些现象的存在使得有关花梅与果梅遗传关系的研究成为梅研究的重要内容。关于梅品种资源的遗传基础研究已有不少^[8-12], 但尚未见利用不同 DNA 分子标记技术同时对花梅和果梅不同品种资源的遗传关系进行分析的研究报道。

20 世纪 90 年代后期发展起来的随机扩增多态性 DNA (random amplified polymorphic DNA, RAPD) 技术是由 Williams 等^[13]和 Welsh 等^[14]建立的基于 PCR 技术的一种分子标记技术。RAPD 分子标记技术检测的多态性位点是无限的, 且不需要预知基因组序列, 所用引物为随机引物, 扩增条带的多态性受引

物结合位点碱基变化以及引物扩增序列的长短或有无等因素影响。RAPD 技术被广泛应用于许多植物种类的品种分类研究、种质资源的遗传基础研究、基因连锁标记、遗传图谱的构建等方面^[15-18], 对于研究植物种内亲缘关系具有重要意义。

作者采用改良的 RAPD 标记技术对 25 个花梅品种和 21 个果梅品种的遗传关系进行了研究, 以期为梅的科学分类以及品种资源的遗传基础研究提供更丰富的理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

供试的 25 个花梅品种分属于 9 个品种群, 各品种的叶片均采自江苏省南京市中山陵园的梅园; 21 个果梅品种的叶片均采自南京农业大学梅资源圃。随机采集各品种健康完整的嫩叶, 采集后置于液氮中速冻, 放置在 -40 ℃ 冰箱中保存、备用。供试花梅及果梅的品种名、类型及原产地见表 1。

1.2 方法

1.2.1 基因组总 DNA 的提取方法 利用 DNeasy Plant Mini Kit 试剂盒 (Qiagen Sciences 公司生产) 分别提取各品种的基因组总 DNA, 采用核酸蛋白测定仪 (德国 Eppendorf 公司生产) 测定 DNA 浓度, 用质量体积分数 1.3% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 质量。

1.2.2 扩增引物的筛选及 PCR 方法 实验用 RAPD 随机引物由上海 Invitrogen 生物技术公司合成, PCR 扩增参照 Shimada 等^[12]的方法。在前期研究中已知增加引物长度及严格选择 PCR 退火温度可以克服 RAPD 分析过程中的不稳定性^[19], 因此, 经过预实验从 100 个长度为 11 bp 的随机引物中筛选出 23 个引物进行 RAPD 分析。筛选条件为: 连续 2 次梯度 PCR 条带清晰且不弥散、PCR 产物重复出现、有质量好的条带指纹; 温度以偏高为佳, 对于适宜温度范围较大的引物则选择中间温度。

反应体系总体积为 15 μL , 包括 0.2 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ dNTPs、1.5 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Mg^{2+} 、0.8 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 引物、90 ng 模板 DNA、0.4 U *Taq* DNA 聚合酶和 1 \times PCR buffer, 用双蒸水补足至 15 μL 。扩增反应程序为:

表1 供试花梅及果梅的品种名、类型及原产地¹⁾Table 1 Name, type and origin of tested cultivars of flowering and fruiting mei (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.)¹⁾

编号 No.	品种 Cultivar	类型 Type	原产地 Origin	编号 No.	品种 Cultivar	类型 Type	原产地 Origin
1	复粉垂枝 Semi-double pink pendant	I	中国江苏南京 Nanjing of Jiangsu Province in China	24	早花梅 Zaohuamei	X	中国江苏 Jiangsu Province in China
2	皱瓣垂枝 Wrinkle-petalled pendant	I	中国江苏南京 Nanjing of Jiangsu Province in China	25	綦江杏梅 Qijiangxingmei	X	中国四川 Sichuan Province in China
3	早花夏衣 Early flower summer clothes	II	中国江苏南京 Nanjing of Jiangsu Province in China	26	双套梅 Shuangtaomei	X	中国云南 Yunnan Province in China
4	淡边单朱砂 Light-edged single cinnabar	II	中国江苏南京 Nanjing of Jiangsu Province in China	27	丰后 Bungo	X	日本 Japan
5	红花晚跳 Late versicolor	III	中国江苏南京 Nanjing of Jiangsu Province in China	28	玉英 Gyokuei	X	日本 Japan
6	鬼桂花 Kikeika	III	日本 Japan	29	东青 Dongqing	X	中国浙江 Zhejiang Province in China
7	小绿萼 Small green calyx	IV	中国江苏南京 Nanjing of Jiangsu Province in China	30	卫山种 Weishanzhong	X	中国浙江 Zhejiang Province in China
8	久观绿萼 Long-time watching green calyx	IV	中国江苏南京 Nanjing of Jiangsu Province in China	31	信依小梅 Sinnokoume	X	日本 Japan
9	异味绿萼 Different smell green calyx	IV	中国江苏南京 Nanjing of Jiangsu Province in China	32	桃形梅 Taoxingmei	X	中国福建 Fujian Province in China
10	宇治里 Ujinosato	V	日本 Japan	33	甲州最小 Koushuu Saisyuu	X	日本 Japan
11	三轮玉蝶 Three-whorled jade butterfly	V	中国江苏南京 Nanjing of Jiangsu Province in China	34	古城 Gojirou	X	日本 Japan
12	小花丰后 Syougahougo	VI	中国江苏南京 Nanjing of Jiangsu Province in China	35	太湖3号 Taihu No.3	X	中国江苏 Jiangsu Province in China
13	月宫殿 Gekkyuden	V	日本 Japan	36	软条红梅 Ruantiaohongmei	X	中国浙江 Zhejiang Province in China
14	睿山白 Eizanhaku	V	日本 Japan	37	小叶猪肝 Xiaoyezhugan	X	中国江苏 Jiangsu Province in China
15	多萼黄香 Multi-calyx flavescens	VII	中国江苏南京 Nanjing of Jiangsu Province in China	38	莺宿 Oushuku	X	日本 Japan
16	内裹 Dairi	VIII	日本 Japan	39	雪梅 Snowdrift	IX	未知 Unknown
17	寒红 Cold red	IX	中国江苏南京 Nanjing of Jiangsu Province in China	40	月世界 Gessekai	X	日本 Japan
18	红雀 Benisuzume	IX	日本 Japan	41	南京红 Nanjing red	VIII	中国江苏南京 Nanjing of Jiangsu Province in China
19	烈公梅 Rekkobai	IX	日本 Japan	42	细叶青 Xiyeqing	X	中国浙江 Zhejiang Province in China
20	白加贺 Shirokaga	X	日本 Japan	43	黄小犬 Huangxiaoda	X	中国浙江 Zhejiang Province in China
21	虎丘宫粉 Huqiu palace pink	VIII	中国江苏南京 Nanjing of Jiangsu Province in China	44	粉瓣果梅 Pink-petalled fruiting Mei	IX	未知 Unknown
22	早扣宫粉 Early button palace pink	VIII	中国江苏南京 Nanjing of Jiangsu Province in China	45	奉化李梅 Fenghualimei	X	中国浙江 Zhejiang Province in China
23	报春粉 Harbingered spring pink	VIII	中国江苏南京 Nanjing of Jiangsu Province in China	46	太湖1号 Taihu No.1	X	中国江苏 Jiangsu Province in China

¹⁾ I: 花梅垂枝品种群 Pendant cultivar group of flowering mei; II: 花梅朱砂品种群 Cinnabar cultivar group of flowering mei; III: 花梅洒金品种群 Flush golden cultivar group of flowering mei; IV: 花梅绿萼品种群 Green calyx cultivar group of flowering mei; V: 花梅玉蝶品种群 Jade butterfly cultivar group of flowering mei; VI: 花梅杏梅品种群 Apricot mei cultivar group of flowering mei; VII: 花梅黄香品种群 Flavescens cultivar group of flowering mei; VIII: 花梅宫粉品种群 Palace pink cultivar group of flowering mei; IX: 花梅江梅品种群 Yangtze mei cultivar group of flowering mei; X: 果梅 Fruiting mei.

94 ℃ 预变性 5 min;94 ℃ 变性 30 s,35 ℃ ~45 ℃ 退火 70 s,72 ℃ 延伸 2 min,共 42 个循环;最后在 72 ℃ 条件下延伸 10 min。扩增反应结束后将扩增产物置于 4 ℃ 条件下保存。扩增产物用质量体积分数 1.3% 琼脂糖凝胶电泳 30 ~ 50 min,紫外灯下观察并拍照。

1.2.3 基因组总 DNA 的 RAPD-PCR 分析方法 46 个梅品种基因组总 DNA 的 RAPD-PCR 扩增反应体系总体积为 30 μ L,其组成成分及扩增反应程序与引物筛选实验相同,但不同引物退火温度略有差异,以各引物的最佳退火温度为准。扩增反应结束后将扩增产物置于 4 ℃ 条件下保存。

扩增产物用质量体积分数 1.3% 琼脂糖凝胶电泳 30 ~ 50 min,紫外灯下观察、拍照,并统计 23 个引物扩增出的电泳条带数与多态性条带数。

1.3 数据处理

在电泳图谱上,同一位点上有条带记为“1”,无条带记为“0”,将获得的 0、1 矩阵图输入 Excel 表格中,

采用 NYSYS-pc 分析软件计算遗传相似系数,并用 UPGMA 聚类法构建遗传关系树状图。

2 结果和分析

2.1 RAPD-PCR 的扩增结果分析

利用筛选出的 23 个随机引物对 46 个梅品种的基因组总 DNA 进行 RAPD-PCR 标记分析,扩增结果见表 2;图 1 所示则为引物 Y30 的 RAPD-PCR 扩增图谱。扩增结果显示:不同引物扩增条带的长度范围不同,23 个随机引物总体扩增条带的长度范围为 250 ~ 3 000 bp。23 个随机引物共扩增出 131 条清晰的 DNA 条带,平均每个引物扩增出条带 5.7 条。不同引物扩增得到的条带数不同,扩增条带最少的为引物 Y53 和 Y57,均只扩增出 2 条带;扩增条带最多的为引物 Y10 和 Y59,均扩增出 9 条带。引物 Y11、Y23、Y28、Y30、Y33、Y57 和 A4 扩增出的条带全部为多

表 2 用于 46 个花梅和果梅品种基因组总 DNA RAPD-PCR 分析的随机引物碱基序列及 RAPD-PCR 扩增结果

Table 2 Base sequences of random primers used for RAPD-PCR analysis of total genomic DNA from forty-six cultivars of flowering and fruiting mei (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.) and RAPD-PCR amplified results

引物 Primer	5'→3'序列 5'→3' sequence	退火温度/℃ Anneal temperature	扩增条带数 Number of amplified band	多态性条带数 Number of polymorphic band	多态性条带百分率/% Percentage of polymorphic band
Y6	GTTCGCTCCC	45.1	7	5	71.4
Y10	CTGCTGGGACT	43.7	9	8	88.9
Y11	CTGCTGGGACG	43.7	6	6	100.0
Y17	AGGGGTCTTGG	42.8	5	4	80.0
Y23	GGACCCAACCG	45.1	5	5	100.0
Y24	GGACCCAACCC	42.8	4	3	75.0
Y27	GTGTGCCCCAA	43.7	6	5	83.3
Y28	GTGTGCCCCAT	43.7	8	8	100.0
Y29	GTGTGCCCCAG	45.1	7	5	71.4
Y30	GTGTGCCCCAC	44.4	8	8	100.0
Y33	AAGCCTCGTCA	45.1	5	5	100.0
Y39	AGCGTCCTCCA	44.4	6	5	83.3
Y40	AGCGTCCTCCT	42.8	6	5	83.3
Y41	AGCGTCCTCCG	43.7	5	3	60.0
Y46	ACGACCGACAT	44.4	6	5	83.3
Y48	ACGACCGACAC	45.1	4	2	50.0
Y53	TGGTGGCGTTG	43.7	2	1	50.0
Y57	ACCCCGACTA	42.8	2	2	100.0
Y59	ACCCCGACTG	44.4	9	7	77.8
A3	GAAACGGGTGC	43.7	7	5	71.4
A4	GAAACGGGTGT	43.7	3	3	100.0
B3	GTCCACACGGC	42.8	5	3	60.0
D4	GTCAGAGTCCT	44.4	6	4	66.7
总计 Total			131	107	
平均 Average			5.7	4.7	81.7

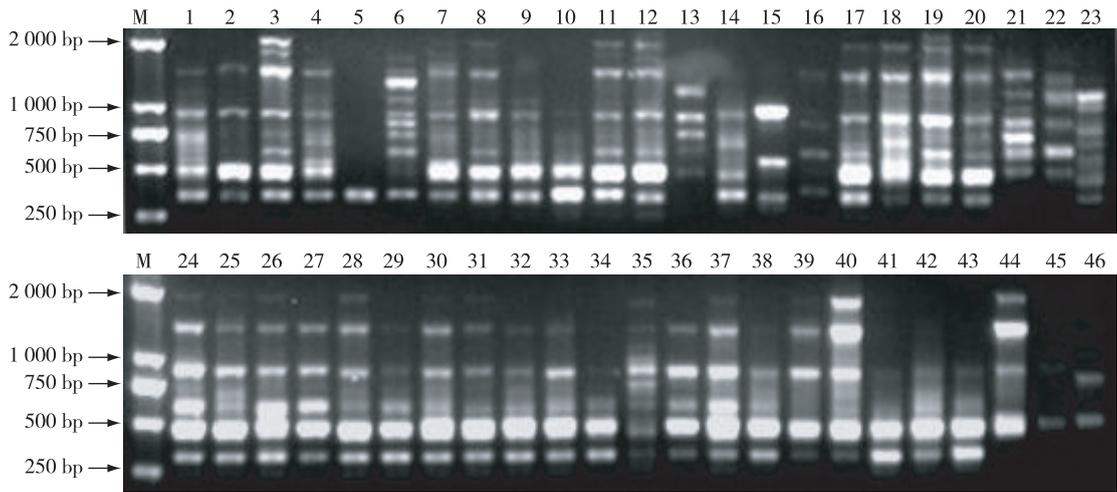


图1 引物 Y30 对 46 个花梅和果梅品种基因组总 DNA 的 RAPD-PCR 扩增图谱
Fig. 1 RAPD-PCR amplified pattern of total genomic DNA from forty-six cultivars of flowering and fruiting mei (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.) by primer Y30

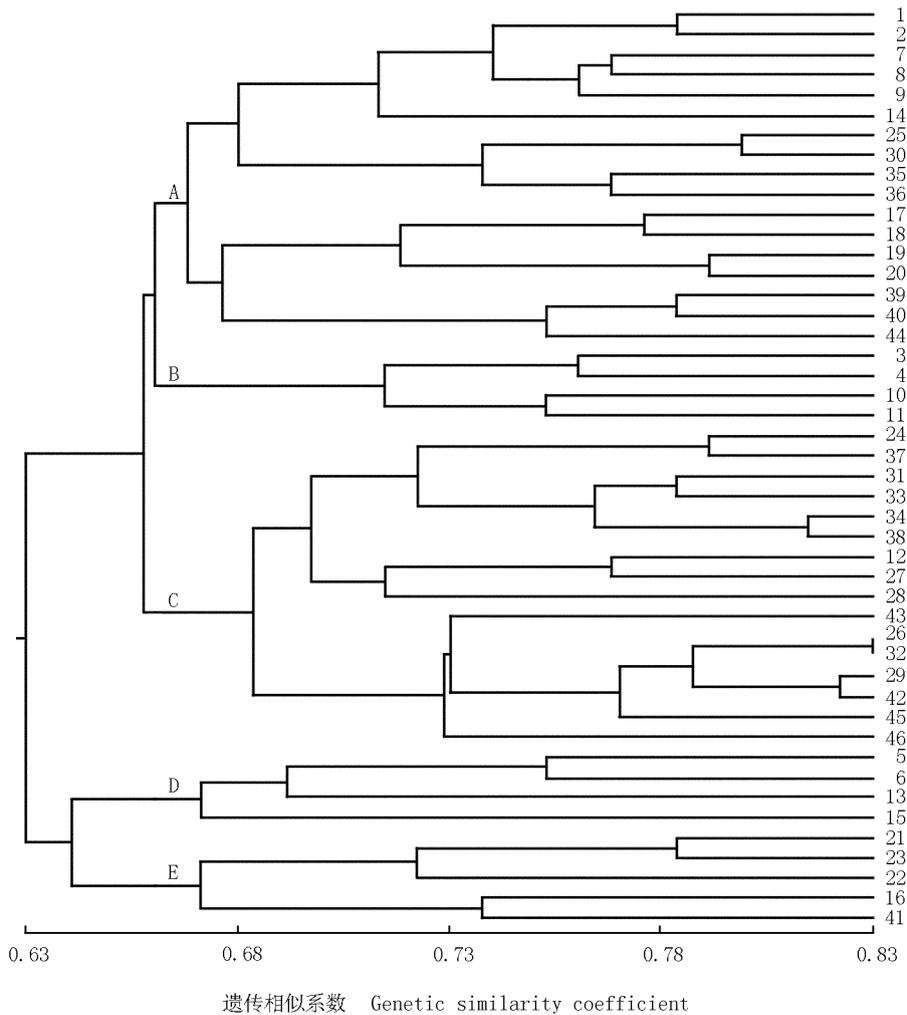
M: Marker; 1: 复粉垂枝 Semi-double pink pendant; 2: 皱瓣垂枝 Wrinkle-petalled pendant; 3: 早花夏衣 Early flower summer clothes; 4: 淡边单朱砂 Light-edged single cinnabar; 5: 红花晚跳 Late versicolor; 6: 鬼桂花 Kikeika; 7: 小绿萼 Small green calyx; 8: 久观绿萼 Long-time watching green calyx; 9: 异味绿萼 Different smell green calyx; 10: 宇治里 Ujinosato; 11: 三轮玉蝶 Three-whorled jade butterfly; 12: 小花丰后 Syougahougo; 13: 月宫殿 Gekkyuden; 14: 睿山白 Eizanhaku; 15: 多萼黄香 Multi-calyx flavescens; 16: 内裹 Dairi; 17: 寒红 Cold red; 18: 红雀 Benisuzume; 19: 烈公梅 Rekkobai; 20: 白加贺 Shirokaga; 21: 虎丘宫粉 Huqiu palace pink; 22: 早扣宫粉 Early button palace pink; 23: 报春粉 Harbingered spring pink; 24: 早花梅 Zaohuamei; 25: 綦江杏梅 Qijiexingmei; 26: 双套梅 Shuangtaomei; 27: 丰后 Bungo; 28: 玉英 Gyokuei; 29: 东青 Dongqing; 30: 卫山种 Weishanzhong; 31: 信依小梅 Sinnokoume; 32: 桃形梅 Taoxingmei; 33: 甲州最小 Koushuu Saisyuu; 34: 古城 Gojirou; 35: 太湖 3 号 Taihu No. 3; 36: 软条红梅 Ruantiaohongmei; 37: 小叶猪肝 Xiaoyezhugan; 38: 莺宿 Oushuku; 39: 雪梅 Snowdrift; 40: 月世界 Gessekai; 41: 南京红 Nanjing red; 42: 细叶青 Xiyeqing; 43: 黄小大 Huangxiaoda; 44: 粉瓣果梅 Pink-petalled fruiting Mei; 45: 奉化李梅 Fenghualimei; 46: 太湖 1 号 Taihu No. 1.

态性条带,即扩增出的多态性条带百分率为 100.0%;引物 Y48 和 Y53 扩增出的多态性条带百分率最低,仅为 50.0%;23 个引物扩增出的多态性条带百分率平均值为 81.7%。由此可见,供试的 46 个花梅和果梅品种具有较丰富的遗传多样性。

2.2 基于 RAPD 扩增结果的花梅和果梅品种间的聚类分析

根据 23 个 RAPD 随机引物对 46 个花梅和果梅品种基因组总 DNA 的 PCR 扩增结果,利用 NYSYS-pc 分析软件进行系统聚类分析,获得了 46 个花梅和果梅品种间遗传关系聚类图(图 2)。由图 2 可见,所有 46 个品种的遗传相似系数为 0.63~0.83,在遗传相似系数 0.66 处可将 46 个品种分成 A、B、C、D 和 E 组。A 组包含 6 个果梅品种和 11 个花梅品种,其中果梅品种‘白加贺’、‘月世界’与花梅品种‘寒红’、‘红雀’、‘烈公梅’、‘雪梅’和‘粉瓣果梅’聚在一起,其中‘寒红’、‘红雀’、‘烈公梅’、‘雪梅’和‘粉瓣果梅’等品种均属于花梅中的江梅品种群,鉴于其既有观花价值又有食用价值的花果兼用的特点,因此很多

结果习性较好的江梅类品种也可以视为观赏性高的果梅;另外,果梅品种‘綦江杏梅’、‘卫山种’、‘太湖 3 号’和‘软条红梅’与花梅品种‘复粉垂枝’、‘皱瓣垂枝’、‘小绿萼’、‘久观绿萼’、‘异味绿萼’和‘睿山白’聚在一起,其中,‘复粉垂枝’和‘皱瓣垂枝’属于花梅中的垂枝品种群,‘小绿萼’、‘久观绿萼’和‘异味绿萼’属于花梅中的绿萼品种群,‘睿山白’属于花梅中的玉蝶品种群,表明‘綦江杏梅’、‘卫山种’、‘太湖 3 号’和‘软条红梅’与这些花梅品种群品种具有较近的亲缘关系。B 组仅包含 4 个品种,且均为花梅品种,分属于朱砂品种群和玉蝶品种群。C 组共包含 16 个品种,除‘小花丰后’为花梅品种外,其余品种均为果梅,且从日本引进的果梅品种有 6 个,其中花梅品种‘小花丰后’与从日本引进的果梅品种‘丰后’聚在一起,说明‘小花丰后’和‘丰后’可能是由于地域或一致的育种来源等原因而具有较近的亲缘关系。D 组仅包含 4 个品种且均为花梅品种,其中‘红花晚跳’和‘鬼桂花’这 2 个品种均属于花梅中的洒金品种群,虽然二者的原产地分别为中国和日本,但二者具



1: 复粉垂枝 Semi-double pink pendant; 2: 皱瓣垂枝 Wrinkle-petalled pendant; 3: 早花夏衣 Early flower summer clothes; 4: 淡边单朱砂 Light-edged single cinnabar; 5: 红花晚跳 Late versicolor; 6: 鬼桂花 Kikeika; 7: 小绿萼 Small green calyx; 8: 久观绿萼 Long-time watching green calyx; 9: 异味绿萼 Different smell green calyx; 10: 宇治里 Ujinosato; 11: 三轮玉蝶 Three-whorled jade butterfly; 12: 小花丰后 Syougahougo; 13: 月宫殿 Gekkyuden; 14: 睿山白 Eizanhaku; 15: 多萼黄香 Multi-calyx flavescens; 16: 内裹 Dairi; 17: 寒红 Cold red; 18: 红雀 Benisuzume; 19: 烈公梅 Rekkobai; 20: 白加贺 Shirokaga; 21: 虎丘宫粉 Huqiu palace pink; 22: 早扣宫粉 Early button palace pink; 23: 报春粉 Harbingered spring pink; 24: 早花梅 Zaohuamei; 25: 碁江杏梅 Qijiangxingmei; 26: 双套梅 Shuangtaomei; 27: 丰后 Bungo; 28: 玉英 Gyokuei; 29: 东青 Dongqing; 30: 卫山种 Weishanzhong; 31: 信依小梅 Sinnokoume; 32: 桃形梅 Taoxingmei; 33: 甲州最小 Koushuu Saisyuu; 34: 古城 Gojirou; 35: 太湖 3 号 Taihu No. 3; 36: 软条红梅 Ruantiaohongmei; 37: 小叶猪肝 Xiaoyezhugan; 38: 莺宿 Oushuku; 39: 雪梅 Snowdrift; 40: 月世界 Gessekai; 41: 南京红 Nanjing red; 42: 细叶青 Xiyeqing; 43: 黄小大 Huangxiaoda; 44: 粉瓣果梅 Pink-petalled fruiting Mei; 45: 奉化李梅 Fenghualime; 46: 太湖 1 号 Taihu No. 1.

图 2 基于 RAPD 分析结果的 46 个花梅和果梅品种的遗传关系聚类图
 Fig. 2 Cluster dendrogram of genetic relationship of forty-six cultivars of flowering and fruiting mei (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.) based on RAPD analysis result

有较近的遗传关系;该组中的‘月宫殿’属于玉蝶品种群,‘多萼黄香’属于黄香品种群。E 组共包含 5 个梅品种,且均属于花梅中的宫粉品种群。从聚类图中可以看到:供试的 21 个果梅品种和 25 个花梅品种并不是简单地被分成 2 类,而是根据遗传关系的远近被聚在不同的分组中,说明花梅和果梅品种具有一定的遗传相似性。此外,各分组中二类梅品种的数量差异较

大,可能与不同品种的地理来源或遗传背景以及不同品种群的取样量等因素有关。

3 讨论和结论

从 46 个花梅和果梅品种的 RAPD-PCR 扩增结果来看,用筛选出的 23 个随机引物共扩增出 131 条

带,其中多态性条带 107 条,即 46 个花梅和果梅品种基因组总 DNA 包含 107 个多态性位点,多态性条带百分率达到 81.7%,表明 RAPD 分子标记技术在梅的品种鉴定以及遗传多样性分析中具有一定的高效性。从遗传聚类分析结果看,46 个品种并没有单纯地聚为花梅和果梅 2 大类,而基本上是根据遗传相似系数互相交叉混合聚成 5 类,部分花梅品种单独成组可能与品种之间具有相似的育种系谱有关。

花梅和果梅在园艺学性状上具有一定的差别,在应用过程中人们主要利用花的颜色、花瓣数和果实颜色来区分梅的类型与品种。但是,基于 RAPD 标记技术的聚类分析结果显示:花梅和果梅在遗传学上是亲缘关系极近的同一类群植物,这与 Li 等^[6]和 Hayashi 等^[7]分别利用 SNP 和 SSR 分子标记得出的研究结果一致。大量花梅与果梅品种的出现与人为选择和利用以及有计划的育种密切联系。将果实与果核应用于花梅的实生选种以及杂交育种工作中,使得大量花梅品种具备一定的结实能力;花果兼用型梅品种的存在也在一定程度上证明了花梅与果梅同属于一个类群,具有相近的遗传背景。

参考文献:

- [1] 任万明,王吉怀,郑乃武. 1979 年裴李岗遗址发掘报告[J]. 考古学报,1984(1): 23-52.
- [2] 陈俊愉. 中国梅花[M]. 海口:中国海南出版社,1996: 2-5.
- [3] 褚孟嫒. 中国果树志:梅卷[M]. 北京:中国林业出版社,1999: 1-10.
- [4] 张加延. 李杏资源研究与利用进展(五)[M]. 北京:中国林业出版社,2008: 117-124.
- [5] 陈俊愉. 中国梅花品种图志[M]. 北京:中国林业出版社,2009: 1-4.
- [6] Li X, Wang Y, Wang B, et al. Genetic relationships between fruiting and flowering mei (*Prunus mume*) cultivars using SNP markers [J]. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 2010, 85(4): 329-334.
- [7] Hayashi K, Shimazu K, Yaegaki H, et al. Genetic diversity in fruiting and flower-ornamental Japanese apricot (*Prunus mume*)

- germplasms assessed by SSR markers[J]. Breeding Science, 2008, 58(4): 401-410.
- [8] Yorihiko T S, Kihachir U, Michio L. A classification technique for cultivars of *Prunus mume* Sieb. et Zucc. by isozymes[J]. Journal of Japanese Forestry Society, 1987, 69(3): 105-108.
- [9] Ozaki T, Shimada T, Nakanishi T, et al. RAPD analysis for parentage determination in *Prunus mume* Sieb. et Zucc. [J]. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 1995, 64(2): 235-242.
- [10] 陈俊愉,包满珠. 中国梅(*Prunus mume*)的植物学分类与园艺学分类[J]. 浙江林学院学报,1992, 9(2): 12-25.
- [11] 康素红,包满珠,陈龙清,等. 梅花品种分类的花粉形态学研究[J]. 园艺学报,1997, 24(2): 67-71.
- [12] Shimada T, Haji T, Yamaguchi M, et al. Classification of mume (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.) by RAPD assay[J]. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 1994, 63(3): 543-551.
- [13] Williams J G, Kubelik A R, Livak K J, et al. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful genetic markers [J]. Nucleic Acids Research, 1990, 18(22): 6531-6535.
- [14] Welsh J, Petersen C, McClelland M. Polymorphisms generated by arbitrarily primed PCR in the mouse: application to strain identification and genetic mapping[J]. Nucleic Acids Research, 1991, 19(2): 303-306.
- [15] Lin K H, Lai Y C, Li H C, et al. Genetic variation and its relationship to root weight in the sweet potato as revealed by RAPD analysis[J]. Scientia Horticulturae, 2009, 120(1): 2-7.
- [16] An N, Guo H B, Ke W D. Genetic variation in rhizome lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn. ssp. *nucifera*) germplasms from China assessed by RAPD markers[J]. Agricultural Sciences in China, 2009, 8(1): 31-39.
- [17] Yang R W, Zhou Y H, Ding C B, et al. Relationships among *Leymus* species assessed by RAPD markers [J]. Biologia Plantarum, 2008, 52(2): 237-241.
- [18] 房海灵,李维林,梁呈元,等. 基于 RAPD 标记的薄荷属 (*Mentha* L.)植物亲缘关系分析[J]. 植物资源与环境学报, 2010, 19(1): 14-19.
- [19] 于华平,房经贵,张美勇,等. RAPD 标记用于葡萄、苹果等七种果树的品种鉴定的研究[J]. 江西农业学报, 2009, 21(10): 5-9.

(责任编辑:佟金凤)