

蓖麻栽培品种的遗传多样性及蓖麻籽脂肪酸组分分析

魏婷婷¹, 刘祥华², 邢超¹, 刘春林², 阮颖^{1*}

(1.湖南农业大学 生物科学技术学院,湖南 长沙 410128 ;2.湖南省作物种质创新与资源利用重点实验室,湖南 长沙 410128)

摘要: 收集 20 份蓖麻栽培品种,以湖南永州野生种为对照,利用 RAPD 标记和 GC-MS 法分析亲缘关系,并测定蓖麻籽脂肪酸组分。结果显示:①21 条有效引物 RAPD-PCR 扩增获得的总谱带数为 75 条,多态性谱带数为 45 条,多态性谱带比例为 54.27%,利用 UPGMA 类平均法对扩增出的谱带进行遗传聚类分析,当遗传距离为 0.146 8 时,21 份材料能较好地聚类;②蓖麻籽油主要含蓖麻油酸、油酸、亚油酸和少量的棕榈酸、硬脂酸、亚麻酸;在蓖麻籽脂肪酸中,蓖麻油酸含量为 72.82%~89.54%、油酸 2.97%~8.54%、亚油酸 3.47%~10.55%,棕榈酸、硬脂酸含量约为 1%,亚麻酸含量约为 0.5%,品种间蓖麻油酸的含量差别较大。

关键词: 蓖麻;栽培品种;亲缘关系;脂肪酸组分

中图分类号: S565.602 文献标志码: A 文章编号: 1007-1032(2012)04-0373-04

Phylogenetic relationships of cultivars (hybrids) of *Ricinus communis* and analysis of fatty acid components

GUO Ting-ting¹, LIU Xiang-hua¹, XING Chao¹, LIU Chun-lin², RUAN Ying^{1*}

(1.College of Bioscience and Biotechnology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 2.Hunan Provincial Laboratory for Germplasm Innovation and Utilization of Crop, Changsha 410128, China)

Abstract: Phylogenetic relationship and fatty acid components of 21 cultivars (hybrids) and 1 wild Yongzhou variety of *Ricinus communis* were investigated. The results showed that: twenty RAPD primers were picked out from 296 10-mer primers for RAPD analysis; and 73 bands were obtained by use of the 20 primers, among the bands, 42 had polymorphism, accounting for 57.7%; the result of cluster analysis by use of UPGMA method showed that 21 genotypes could be classified together with genetic distant value of 0.1468. The castor oil contained mainly ricinoleic acid, oleic acid and linoleic acid, the contents of which were 72.82%~89.54%, 2.97%~8.54%, 3.47%~10.55%, respectively; there was little palmitinic acid, stearinic acid and linolenic acid in castor oil; the respective content of the palmitinic acid and stearinic acid was about 1%, and the content of the linolenic acid was around 0.5%. The content of ricinoleic acid among different cultivars of *Ricinus communis* showed big differences.

Key words: *Ricinus communis*; commercialized castor varieties (hybrids); phylogenetic relationship; fatty acid components

蓖麻(*Ricinus communis* L.)种植范围广,具有抗干旱、耐盐碱的特点^[1]。蓖麻籽油脂含量高达 60%以上,被认为是重要的高蓄能植物^[2]。1985 年以前,蓖麻主产区大都种植农家品种;开展蓖麻良种系统

选育工作后,据不完全统计,1994—2002 年全国已育成并通过认定的蓖麻杂交种共有 8 个^[3]。目前蓖麻主要栽培品种包括中国农业科学院油料所的油蓖系列等 10 多个系列^[4]。

收稿日期: 2012-02-05

基金项目: 国家“973”计划项目(2011CB111514)

作者简介: 魏婷婷(1987—),女,湖南长沙人,硕士研究生,主要从事植物分子生物学研究,68208347@qq.com; *通信作者, yingruan@hotmail.com

蓖麻油的产量与质量与蓖麻品种的优劣密切相关。通过对现有商品化栽培品种的研究,可以了解蓖麻育种亲本材料之间的亲缘关系,为蓖麻育种策略的制订提供有益的参考。为此,笔者从蓖麻主产区收集 20 个主要栽培品种,以湖南永州野生种为对照,采用 RAPD 标记技术^[5-7]和脂肪酸甲酯化加 GC-MS 技术^[8-10]进行了品种间亲缘关系分析和脂肪酸组分的测定。

1 材料与方 法

1.1 材 料

从蓖麻主产区内蒙古、山西、湖南、山东、北京、湖北、云南等地收集哲蓖 6 号、晋 4 号、永 2 号、2 号、永州野生种、永蓖 3 号、永蓖 6 号、航蓖 8 号、稼祥 2 号、淄蓖 5 号、新组合 189、淄蓖 3 号、稼祥 3 号、稼祥 1 号、秀蓖 1 号、秀蓖 2 号、中蓖 1 号、油蓖 5 号、T-202、T-207、2002×101-1, 编号为 RC1~RC21, 其中栽培品种 20 个, 种植于湖南农业大学蓖麻种质资源圃。

蓖麻油酸甲酯、油酸甲酯、亚油酸甲酯、棕榈酸甲酯、亚麻酸甲酯、硬脂酸甲酯标样(色谱纯)从 Sigma 和 NU-CHZK 公司购得。

1.2 方 法

1.2.1 RAPD 标记

采用改良的 CTAB 法^[11]提取蓖麻基因组总 DNA。在 CTAB 缓冲液中加入 1% 巯基乙醇, 用氯仿 异戊醇(24:1)抽提 2 次, 提高 DNA 的纯度。对 DNA 的质量和浓度进行检测后, 稀释 DNA 溶液, 使 DNA 模板质量浓度为 100 ng/μL。

以 RC6、RC10 基因组 DNA 为模板, 利用 RAPD 随机引物对其进行 PCR 扩增。供筛选用随机引物共有 10 组, 每组 20 条引物, 分别编号为 1~20。从 200 条 RAPD 引物中筛选到 3 次 PCR 重复能出现稳定条带的引物, 有多态性扩增条带的引物 21 条。利用这 21 条引物, 对 21 份蓖麻基因组 DNA 进行 PCR 扩

增, 总反应体系为 15 μL: 2×Taq MasterMix 7.5 μL, 随机引物(10 pmol/L)1 μL, 模板 DNA(100 ng/μL) 1 μL, ddH₂O 5.5 μL。反应程序: 94 °C 预变性 4 min, 94 °C 变性 40 s, 38 °C 退火 40 s, 72 °C 延伸 2 min, 反应从第二步开始循环 38 次, 72 °C 后延伸 8 min, 16 °C 保存。用 2% 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物, 运用 Gel DOC-IT 凝胶分析系统观察并照相。

根据凝胶电泳图显示的结果, 在同一位置上有扩增条带的记为“1”, 无扩增条带的记为“0”, 所有样品未共有的条带记为多态性位点^[12-13]。将所有引物的扩增结果进行记录, 编辑成“0”和“1”数据阵。利用 UPGMA 软件分析^[14], 采用聚类分析方法构建聚类图。

1.2.2 蓖麻籽脂肪酸含量测定

1) 脂肪酸的甲酯化。称取 0.2 g 蓖麻种子, 在试管中碾碎, 加入 2 mL 正己烷-乙醚(体积比 4:1)混合溶剂萃取脂肪酸, 并加入 0.8 mol/L 的氢氧化钾-甲醇溶液 2 mL, 摇匀, 静置 3 h 后, 加入适量去离子水, 取上清液待测。

2) 脂肪酸气相质谱测定。运用 GC-QP2010 气质谱仪测定蓖麻脂肪酸组分的相对含量。进样口温度 280 °C。升温程序: 80 °C 保持 3 min, 以 3 °C/min 升至 200 °C, 保持 7 min, 以 10 °C/min 升至 290 °C, 保持 20 min。流量为 1 mL/min。

2 结果与分析

2.1 蓖麻栽培品种的亲缘关系

2.1.1 RAPD-PCR 扩增结果

21 条引物对 21 份蓖麻种质资源进行 PCR 扩增, 共扩增出 75 条 DNA 条带, 其中多态性 DNA 条带 45 条, 占总条带数的 54.27%, 每条引物扩增的 DNA 条带数为 2~6 条, 平均 3.17 条, 这些 DNA 片段大小主要集中在 100~5 000 bp。引物 D20、S9 对 21 个蓖麻材料的基因组 DNA 扩增结果见图 1。

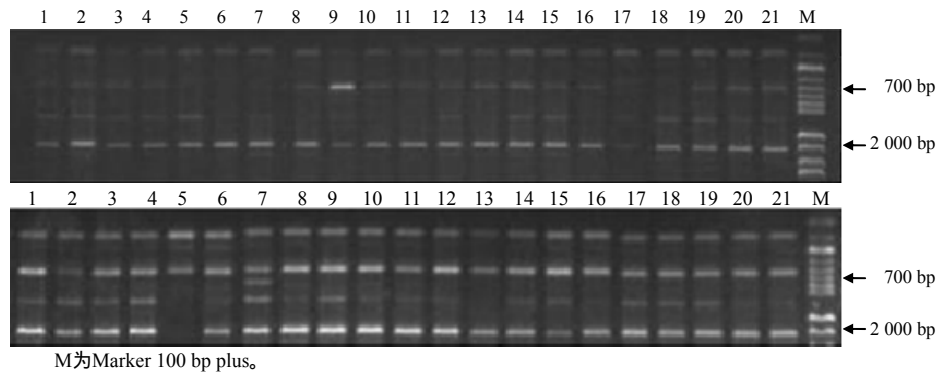


图1 引物D20和S9对21份蓖麻材料的扩增结果
Fig.1 Amplification profile of D20 and S9 RAPD primers

2.1.2 遗传距离和聚类分析

基于 RAPD 的扩增结果,将多态性条带信息转化成“0”和“1”矩阵,用 UPGAM 法进行聚类分析,得到蓖麻亲缘关系树状图(图 2)。从图 2 中可以看出,当遗传距离为 0.146 8 时,供试的 21 个材料可分为 2 类,第 1 类仅含来自湖南永州的野生种 RC6,第 2 类则包含所有其他供试的栽培品种。在栽培品种中,当遗传距离为 0.054 4 时,可分为 3 类,第 1 类有 RC12(山东)、RC19、RC21(云南);第 2 类包括 15 个品种,又可分为 3 个亚类,第 1 亚类包括 RC17(北京)、RC20(云南);第 2 亚类包括 RC2(山西)、RC7(湖南)、RC8、RC9、RC10、RC11、RC13(山东)、RC15、RC16(北京);第 3 亚类包括

RC1(内蒙古)、RC6(湖南)、RC14(山东)、RC18(湖北)。第 3 类有 2 个品种,RC3 和 RC4(湖南)。从这 3 个类群来看,不同省份来源的栽培材料聚在一起,没有明显的省份界限,说明这几个省份间商品化蓖麻品种的亲缘关系相对较近,遗传多样性不丰富。当遗传距离为 0.146 8 时,20 个栽培品种和来自湖南永州的野生种 RC5 能很好地聚类,位于遗传聚类图中的最外层,说明野生种 RC5 与 20 个栽培品种的遗传距离最大,该结果与观察到的生物学性状相吻合,如栽培品种的株高、茎秆颜色、种皮颜色、种子千粒重等生物学性状具有较高的相似性,而和野生种 RC5 有一定的差别。

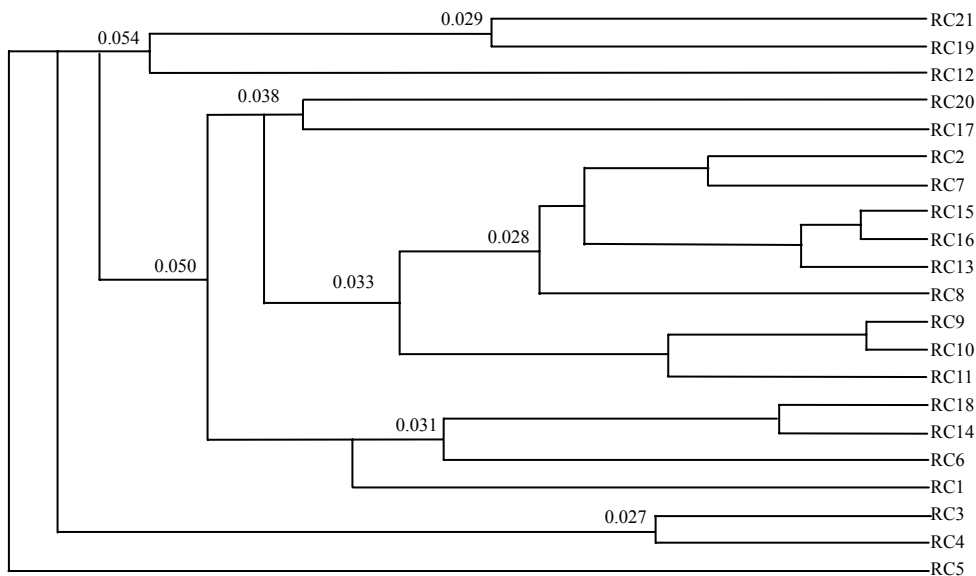


图 2 21 个蓖麻材料的聚类分析
Fig.2 Phylogenetic relationships of 21 castor bean varieties (hybrid)

2.2 蓖麻籽脂肪酸的种类及含量

GC-MS 测定结果表明,蓖麻品种之间脂肪酸组分的相对含量有一定的差异。由表 3 可知,蓖麻油脂中主要脂肪酸组分为蓖麻油酸、油酸、亚油酸、棕榈酸、硬脂酸和亚麻酸,蓖麻油酸是蓖麻油的主要成分。蓖麻籽油中蓖麻油酸含量变化范围为 72.82%~89.54%,其中,来自内蒙的 RC1 的蓖麻油酸含量为 75.26%,含量偏低;来自湖南的 5 个品种,RC3~RC7 的蓖麻油酸含量为 78.31%~87.08%;来自山东的 7 个品种 RC8~RC14 的蓖麻油酸含量为 76.48%~89.54%;来自云南的 3 个品种 RC19~RC21 的蓖麻油酸含量分别为 86.41%、84.00%和 82.16%;来自北京的 3 个品种 RC15~RC17 的蓖麻油酸含量分别为 79.06%、85.80%和 85.98%;来自山西及湖北的 2 个品种 RC2 和 RC18 的蓖麻油酸含量分别为 72.82%、85.64%。淄蓖 5 号(RC10)蓖麻油脂中蓖麻油酸含量最高,高达 89.54%。蓖麻油中油酸、亚油酸含量范围分别为 2.97%~8.54%,3.47%~10.55%。另外,蓖麻油中还含有约 5%的棕榈酸、硬脂酸和亚麻酸。

表 3 蓖麻油脂中脂肪酸的种类及含量

品种编号	棕榈酸	亚油酸	亚麻酸	油酸	硬脂酸	蓖麻油酸
RC1	2.26	9.58	0.49	7.90	2.23	75.26
RC2	2.30	10.55	0.34	8.54	2.55	72.82
RC3	1.08	5.43	0.22	3.42	1.27	87.08
RC4	1.69	8.02	0.41	5.12	1.89	81.17
RC5	2.31	5.23	0.34	4.36	1.45	78.31
RC6	1.29	6.37	0.52	4.21	1.97	83.90
RC7	1.64	8.42	0.52	6.16	2.74	77.96
RC8	1.11	5.84	0.54	4.84	1.79	84.16
RC9	0.01	6.56	0.51	7.51	1.96	80.10
RC10	0.62	3.47	0.36	2.99	0.99	89.54
RC11	0.85	4.84	0.34	5.13	1.72	85.28
RC12	1.56	3.69	0.52	5.01	1.30	76.48
RC13	1.03	5.66	0.46	2.97	1.43	86.83
RC14	0.95	5.37	0.40	3.08	1.45	86.86
RC15	1.63	7.92	0.41	5.93	2.27	79.06
RC16	1.17	5.27	0.44	3.77	1.50	85.98
RC17	0.91	5.56	0.47	4.31	1.21	85.80
RC18	1.01	5.52	0.32	4.40	1.43	85.64
RC19	0.98	5.50	0.56	3.26	1.19	86.41
RC20	1.04	5.31	0.42	5.77	1.49	84.00
RC21	1.41	6.77	0.77	4.26	2.16	82.16

参考文献:

- [1] 谭美莲,姜兴华,严兴初,等.蓖麻 DNA 的提取及 SRAP 反应体系的建立[J].中国油料作物学报,2009,31(4):531-536.
- [2] 李金琴,吴国林.我国蓖麻育种现状及建议[J].中国油料作物学报,1998,20(4):99-101.
- [3] 曾祥艳,王东雪,马锦林.我国蓖麻良种选育研究现状及发展策略[J].广西热带农业,2010(6):27-29.
- [4] 白建明,刘树清.中国蓖麻杂种优势育种研究的现状及建议[J].云南农业科技,2007(1):58-61.
- [5] Williams J G K, Kubelik A R, Livak K L, et al. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers[J]. Nucleic Acid Res, 1990, 18(22): 6531-6535.
- [6] 刘春林,阮颖,官春云.油菜 RAPD 反应体系的优化研究[J].湖南农业大学学报:自然科学版,2001,27(6):432-433.
- [7] 阮颖,周朴华,刘春林.九种李属植物的 RAPD 亲缘关系分析[J].园艺学报,2002,29(3):218-223.
- [8] Christina Borch-Jensen, Benny Jensen, Kim Mathiasen. Analysis of seed oil from *Ricinus communis* and *Dimorphoteca pluvialis* by gas and supercritical fluid chromatography[J]. JAO, 1997, 74(3): 277-284.
- [9] John W, Goodrum D P, Geller. Influence of fatty acid methyl esters from hydroxylated vegetable oils on dieselfuel lubricity[J]. Bioresource Technology, 2005, 96: 851-855.
- [10] Rosana Cassia de Souza Schneider, Vanessa Zanon Baldissaralli, Fabiane Trobetta, et al. Optimization of gas chromatographic-mass spectrometric analysis for fatty acids in hydrogenated castor oil obtained by catalytic transfer hydrogenation[J]. Analytica Chimica Acta, 2004, 505(2): 223-226.
- [11] Edwards K, Johnstone C, Thomson J. A simple and rapid method for the preparation of plant genomic DNA for PCR analysis[J]. Nucleic Acid Res, 1991, 19(6): 1349-1351.
- [12] 罗军武,施兆鹏,刘春林,等.茶树品种资源遗传亲缘关系的 RAPD 分析[J].茶叶科学,2002(2):140-146.
- [13] 刘春林,阮颖,官春云.油菜分子标记图谱构建及抗细菌病性状的 QTL 定位[J].遗传学报,2000,27(10):918-924.
- [14] Peakall R. Population genetic software for teaching and research[J]. Molecular Ecology Notes, 2006(6):288-295.

责任编辑:罗慧敏