

DOI: 10.3969/j.issn.1000-3142.2014.03.007

李壮, 辛本华, 杨华, 等. 重楼属植物遗传多样性的 SCOT 标记[J]. 广西植物, 2014, 34(3): 315-319

Li Z, Xin BH, Yang H, et al. SCOT genetic diversity of plants in *Paris*[J]. *Guihaia*, 2014, 34(3): 315-319

## 重楼属植物遗传多样性的 SCOT 标记

李 壮<sup>1</sup>, 辛本华<sup>1</sup>, 杨 华<sup>2</sup>, 刘 晨<sup>3</sup>, 田孟良<sup>3\*</sup>

(1. 四川农业大学农学院, 四川 成都 611130; 2. 四川农业大学科技管理处, 四川 雅安 625014;

3. 四川农业大学新农村发展研究院, 四川 雅安 625014)

**摘 要:** 为评估重楼属植物的基因资源开发前景, 初步探讨了 SCOT 标记技术在重楼属植物遗传多样性研究上的应用。采用目标起始密码子多态性(Start codon targeted polymorphism, SCOT)技术, 对重楼属 9 个种 40 份材料进行基因组 DNA 多态性分析。结果表明: 四川地区重楼属植物具有丰富的遗传多样性, 40 份供试材料可聚为 4 类: 狭叶重楼单独聚为第一类; 球药隔重楼、卵叶重楼、金线重楼及滇重楼聚为第二类; 黑籽重楼与七叶一枝花聚为第三类; 五指莲与毛重楼聚为第四类。说明 SCOT 标记能够对重楼属植物进行准确的分子鉴定, 为重楼属植物的种类鉴定和种间的分类地位提供分子生物学依据, 同时也为深入探究重楼皂苷合成关键酶基因定位研究提供重要参考。

**关键词:** 重楼; SCOT 标记; 多态性; 聚类分析

**中图分类号:** Q949 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2014)03-0315-05

## SCOT genetic diversity of plants in *Paris*

LI Zhuang<sup>1</sup>, XIN Ben-Hua<sup>1</sup>, YANG Hua<sup>2</sup>, LIU Chen<sup>3</sup>, TIAN Meng-Liang<sup>3\*</sup>

(1. Agricultural college of Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China; 2. Science and technology management office in Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China; 3. Research institute of new rural development in Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China)

**Abstract:** Gene resources and development prospects of plants in *Paris* were evaluated. Applied researches in genetic diversity of plant in *Paris* were carried out based on SCOT markers. Genomic DNA polymorphic analysis in total forty individuals of nine species in *Paris* were performed by the approach of start codon targeted polymorphism (SCOT). The genetic diversity of the nine species in *Paris* was high in Sichuan Province. Clustering analysis could be used to study the classification of *Paris*, which indicated that forty individuals were clustered 4 classes. *P. polyphylla* var. *stenophylla* was clustered alone. *P. fargesii*, *P. delavayi* var. *petiolata*, *P. delavayi* var. *delavayi*, *P. polyphylla* var. *yumaensis* were clustered. *P. tibetica* and *P. polyphylla* var. *chinesis* were clustered. *P. axiparis* var. *axialis* and *P. mairei* were clustered. In conclusion, plant in *Paris* was identified accurately in molecular by SCOT markers and molecular evidences were provided on the taxonomic status of species and interspecific. It is helpful to further study on gene mapping of *P. polyphylla* saponin biosynthesis key enzyme.

**Key words:** *Paris*; SCOT markers; polymorphism; clustering analysis

重楼属(*Paris*)是瑞典植物学家 Carl von Linne 于 1753 年以分布于欧洲的 *Paris quadrifolia* 为模式建立的, 由于本属植物的外貌一致: 一个茎, 一轮

叶, 顶生一朵花, 不容易确定划分种以上各级单位的指标, 所以属的分类系统学范围一直存在争论, 曾被归于 5 个不同的科中, 置于 7 个不同的目下(杨永红

收稿日期: 2014-01-27 修回日期: 2014-03-07

基金项目: 国家“十二五”科技支撑计划项目(2011BAI13B02-6)

作者简介: 李壮(1980-), 男, 重庆江津人, 博士, 讲师, 从事药用植物栽培及分子生物学研究, (E-mail)lizhuang2006@sina.com。

\*通讯作者: 田孟良, 博士, 教授, 长期从事药用植物栽培及分子生物学研究, (E-mail)secondat@sicau.edu.cn。

表 1 供试材料  
Table 1 List of materials used

编号 No.	种名 Materials	采集点 Source	份数 Copies	编号 No.	种名 Materials	采集点 Source	份数 Copies
1	球药隔重楼 <i>Paris fargesii</i>	天全、宝兴 Tian quan, Bao xing county	12	21	狭叶重楼 <i>P. polyphylla</i> var. <i>stenophylla</i>	天全、宝兴 Tian quan, Bao xing county	12
2	球药隔重楼 <i>P. fargesii</i>	天全、宝兴 Tian quan, Bao xing county	12	22	狭叶重楼 <i>P. polyphylla</i> var. <i>stenophylla</i>	天全、宝兴 Tian quan, Bao xing county	12
3	球药隔重楼 <i>P. fargesii</i>	天全、宝兴 Tian quan, Bao xing county	12	23	狭叶重楼 <i>P. polyphylla</i> var. <i>stenophylla</i>	天全、宝兴 Tian quan, Bao xing county	12
4	球药隔重楼 <i>P. fargesii</i>	天全、宝兴 Tian quan, Bao xing county	12	24	狭叶重楼 <i>P. polyphylla</i> var. <i>stenophylla</i>	天全、宝兴 Tian quan, Bao xing county	12
5	球药隔重楼 <i>P. fargesii</i>	天全、宝兴 Tian quan, Bao xing county	12	25	狭叶重楼 <i>P. polyphylla</i> var. <i>stenophylla</i>	天全、宝兴 Tian quan, Bao xing county	12
6	球药隔重楼 <i>P. fargesii</i>	天全、宝兴 Tian quan, Bao xing county	12	26	狭叶重楼 <i>P. polyphylla</i> var. <i>stenophylla</i>	天全、宝兴 Tian quan, Bao xing county	12
7	球药隔重楼 <i>P. fargesii</i>	天全、宝兴 Tian quan, Bao xing county	12	27	狭叶重楼 <i>P. polyphylla</i> var. <i>stenophylla</i>	天全、宝兴 Tian quan, Bao xing county	12
8	球药隔重楼 <i>P. fargesii</i>	天全、宝兴 Tian quan, Bao xing county	12	28	狭叶重楼 <i>P. polyphylla</i> var. <i>stenophylla</i>	天全、宝兴 Tian quan, Bao xing county	12
9	球药隔重楼 <i>P. fargesii</i>	天全、宝兴 Tian quan, Bao xing county	12	29	狭叶重楼 <i>P. polyphylla</i> var. <i>stenophylla</i>	天全、宝兴 Tian quan, Bao xing county	12
10	黑籽重楼 <i>P. tibetica</i>	天全、宝兴 Tian quan, Bao xing county	12	30	狭叶重楼 <i>P. polyphylla</i> var. <i>stenophylla</i>	天全、宝兴 Tian quan, Bao xing county	12
11	黑籽重楼 <i>P. tibetica</i>	天全、宝兴 Tian quan, Bao xing county	12	31	狭叶重楼 <i>P. polyphylla</i> var. <i>stenophylla</i>	天全、宝兴 Tian quan, Bao xing county	12
12	黑籽重楼 <i>P. tibetica</i>	天全、宝兴 Tian quan, Bao xing county	12	32	七叶一枝花 <i>P. polyphylla</i> var. <i>chinensis</i>	天全、宝兴 Tian quan, Bao xing county	12
13	黑籽重楼 <i>P. tibetica</i>	天全、宝兴 Tian quan, Bao xing county	12	33	七叶一枝花 <i>P. polyphylla</i> var. <i>chinensis</i>	天全、宝兴 Tian quan, Bao xing county	12
14	毛重楼 <i>P. mairei</i>	天全、宝兴 Tian quan, Bao xing county	12	34	七叶一枝花 <i>P. polyphylla</i> var. <i>chinensis</i>	天全、宝兴 Tian quan, Bao xing county	12
15	金线重楼 <i>P. delavayi</i> var.	天全、宝兴 Tian quan, Bao xing county	12	35	七叶一枝花 <i>P. polyphylla</i> var. <i>chinensis</i>	天全、宝兴 Tian quan, Bao xing county	12
16	金线重楼 <i>P. delavayi</i> var.	天全、宝兴 Tian quan, Bao xing county	12	36	七叶一枝花 <i>P. polyphylla</i> var. <i>chinensis</i>	天全、宝兴 Tian quan, Bao xing county	12
17	卵叶重楼 <i>P. delavayi</i> var.	天全、宝兴 Tian quan, Bao xing county	12	37	七叶一枝花 <i>P. polyphylla</i> var. <i>chinensis</i>	天全、宝兴 Tian quan, Bao xing county	12
18	卵叶重楼 <i>P. delavayi</i> var.	天全、宝兴 Tian quan, Bao xing county	12	38	五指莲 <i>P. axiparis</i> var. <i>axialis</i>	天全、宝兴 Tian quan, Bao xing county	12
19	卵叶重楼 <i>P. delavayi</i> var.	天全、宝兴 Tian quan, Bao xing county	12	39	五指莲 <i>P. axiparis</i> var. <i>axialis</i>	天全、宝兴 Tian quan, Bao xing county	12
20	卵叶重楼 <i>P. delavayi</i> var.	天全、宝兴 Tian quan, Bao xing county	12	40 *	滇重楼 <i>P. polyphylla</i> var. <i>yunnaensis</i>	天全、宝兴 Tian quan, Bao xing county	6

注: 40 \* 采自云南丽江, 2008 年 4 月移栽至四川宝兴; 天全县和宝兴县属雅安市。

Note: 40 \* collected from Lijiang of Yunnan transplanting to Baoxin of Sichuan in April, 2008; Tianquan County and Baoxing County belong to Ya'an City.

等, 2008; 纪运恒, 2006)。

李恒(1998)曾基于形态特征及演化趋势、根据数量性状和质量性状数据进行聚类分析(翁周等, 2008), 利用 DNA 分子标记(陈照等, 2009)等方法建立了分类系统, 但由于各种方法都有一定的缺陷性(赵亚周等, 2009), 所以结果都还需进一步考证。随着重楼需求量的增加以及重楼研究的进展, 需要更多的从种质资源方面入手, 解决目前重楼基因资源利用率水平低、药材品质不稳定以及基源选择太过单一等问题。

在本研究中, 通过 SCOT 标记揭示了四川重楼属植物的遗传多样性, 这不仅对收集与保存优良重楼种质资源具有重要而深远意义, 而且对保障用药安全与扩大法定重楼基源具有重要参考价值。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料

2010 年 5 月分别于四川天全至泸定二郎山隧道段、宝兴至甘孜泸定段龙门山脉原始森林中荫湿

处采集完整开花植株,每个材料采集 6~12 株,采集地海拔 2 000~2 800 m。连同土壤用湿毛巾包裹,带回四川农业大学农学院人工气候室按野生条件进行栽培。供试材料编号、种名、采集点、份数见表 1,所有材料均由四川农业大学杨瑞武教授鉴定。

## 1.2 基因组 DNA 提取及检测

将每个供试材料的样本混合,采用 CTAB 法分别提取每个供试材料混合样的基因组 DNA,通过 0.8% 的琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测 DNA 的浓度和纯度,并稀释至  $10 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ 。DNA 样品保存于  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  冰箱内。

## 1.3 SCOT 标记

1.3.1 SCOT 标记引物设计 试验参考 Bertrand (2009) 的研究,设计合成 36 条 SCOT 标记引物(表 2),引物由上海 Invitrogen 公司合成。

表 2 SCOT 引物  
Table 2 SCOTprimers

SCOT 引物 SCOT primer	引物序列 Sequence(5'-3')	G+C 含量 Content of G+C (%)
SCOT1	5'-CAACAATGG CTACCACCA-3'	50
SCOT2	5'-CAACAATGG CTACCACCC-3'	56
SCOT3	5'-CAACAATGG CTACCACCG-3'	56
SCOT4	5'-CAACAATGG CTACCACCT-3'	50
SCOT5	5'-CAACAATGG CTACCACGA-3'	56
SCOT6	5'-CAACAATGG CTACCACGC-3'	56
SCOT7	5'-CAACAATGG CTACCACGG-3'	56
SCOT8	5'-CAACAATGG CTACCACGT-3'	50
SCOT9	5'-CAACAATGG CTACCAGCA-3'	50
SCOT10	5'-CAACAATGG CTACCAGCC-3'	56
SCOT11	5'-AAGCAATGG CTACCACCA-3'	50
SCOT12	5'-ACGACATGG CGACCAACG-3'	61
SCOT13	5'-ACGACATGG CGACCATCG-3'	61
SCOT14	5'-ACGACATGG CGACCACGC-3'	67
SCOT15	5'-ACGACATGG CGACCGCGA-3'	67
SCOT16	5'-ACCATGGCT ACCACCGAC-3'	56
SCOT17	5'-ACCATGGCT ACCACCGAG-3'	61
SCOT18	5'-ACCATGGCT ACCACCGCC-3'	67
SCOT19	5'-ACCATGGCT ACCACCGGC-3'	67
SCOT20	5'-ACCATGGCT ACCACCGCG-3'	67
SCOT21	5'-ACGACATGG CGACCCACA-3'	61
SCOT22	5'-AACCATGGC TACCACCAC-3'	56
SCOT23	5'-CACCATGGC TACCACCAG-3'	61
SCOT24	5'-CACCATGGC TACCACCAT-3'	56
SCOT25	5'-ACCATGGCT ACCACCGGG-3'	67
SCOT26	5'-ACCATGGCT ACCACCGTC-3'	61
SCOT27	5'-ACCATGGCT ACCACCGTG-3'	61
SCOT28	5'-CCATGGCTA CCACCGCA-3'	67
SCOT29	5'-CCATGGCTA CCACCGCC-3'	72
SCOT30	5'-CCATGGCTA CCACCGCG-3'	72
SCOT31	5'-CCATGGCTA CCACCGCCT-3'	67
SCOT32	5'-CCATGGCTA CCACCGCAC-3'	67
SCOT33	5'-CCATGGCTA CCACCGCAG-3'	67
SCOT34	5'-ACCATGGCT ACCACCGCA-3'	61
SCOT35	5'-CATGGTACC CACCGGCC-3'	72
SCOT36	5'-GCAACAATG GCTACCACC-3'	55

1.3.2 SCOT-PCR 的优化 SCOT-PCR 反应的因素及用量采用  $L_{16}(4^5)$  正交试验设计,对  $\text{Mg}^{2+}$ 、dNTPs、Taq 酶、引物和模板 DNA 的用量进行 5 因素 4 水平的筛选(表 3),取引物 SCOT19 作为体系优化的引物,以编号为 1 的 DNA 作模板,建立适合重楼属植物多样性研究的最优体系。其 SCOT-PCR 产物经 2.5% 的琼脂糖凝胶电泳检测,筛选出最优 PCR 体系。

表 3  $L_{16}(4^5)$  正交试验设计

Table 3 Factors and dosage  $L_{16}(4^5)$  orthogonal design

编号 No.	因素 Factors				
	$\text{Mg}^{2+}$	模板量 Template	dNTPs	引物 Primer	Taq 酶 Taq Enzyme
1	1(1.0)	1(1.0)	1(1.2)	1(0.4)	1(0.5)
2	1(1.0)	2(1.5)	2(1.6)	2(0.8)	2(1.0)
3	1(1.0)	3(2.0)	3(2.0)	3(1.2)	3(1.5)
4	1(1.0)	4(2.5)	4(2.4)	4(1.6)	4(2.0)
5	2(1.5)	1(1.0)	2(1.6)	3(1.2)	4(2.0)
6	2(1.5)	2(1.5)	1(1.2)	4(1.6)	3(1.5)
7	2(1.5)	3(2.0)	4(2.4)	1(0.4)	2(1.0)
8	2(1.5)	4(2.5)	3(2.0)	2(0.8)	1(0.5)
9	3(2.0)	1(1.0)	3(2.0)	4(1.6)	2(1.0)
10	3(2.0)	2(1.5)	4(2.4)	3(1.2)	1(0.5)
11	3(2.0)	3(2.0)	1(1.2)	2(0.8)	4(2.0)
12	3(2.0)	4(2.5)	2(1.6)	1(0.4)	3(1.5)
13	4(2.5)	1(1.0)	4(2.4)	2(0.8)	3(1.5)
14	4(2.5)	2(1.5)	3(2.0)	1(0.4)	4(2.0)
15	4(2.5)	3(2.0)	2(1.6)	4(1.6)	1(0.5)
16	4(2.5)	4(2.5)	1(1.2)	3(1.2)	2(1.0)

以最优 SCOT-PCR 体系设计进行退火温度梯度试验,取编号为 1 的 DNA 作模板,SCOT7 为引物进行试验,试验中对 PCR 扩增程序中的扩增阶段设置  $48 \text{ }^\circ\text{C}$ 、 $50 \text{ }^\circ\text{C}$ 、 $52 \text{ }^\circ\text{C}$ 、 $54 \text{ }^\circ\text{C}$ 、 $56 \text{ }^\circ\text{C}$  共 5 个温度梯度,其 PCR 产物经 2.5% 的琼脂糖凝胶电泳检测。

## 1.4 SCOT-PCR 电泳检测

扩增产物用 6% 的变性聚丙烯酰胺(PAGE)凝胶(丙烯酰胺-甲叉 19:1,  $7 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  尿素,  $1 \times \text{TBE}$  缓冲液)电泳分离。75 W 恒功率预电泳 20 min,每点样孔中点样  $3.5 \mu\text{L}$ ,75 W 恒功率电泳 110~120 min 后,经固定、银染、显影观察及记录。

## 1.5 聚类分析

对获得清晰可重复的 DNA 条带进行统计,按二元数据进行统计,有带记为 1,无带记为 0;构成遗传多样性的原始数据矩阵。用 NTSYSpc 2.10e 软件分析采集的数据计算遗传距离,进行 UPGMA 聚类分析构建聚类图。

## 2 结果与分析

### 2.1 SCOT 标记的引物筛选电泳图

在本研究中,以供试材料 QYG1 为模板,从 36 条 SCOT 标记引物中筛选出 11 条可扩增出清晰、具有多样性谱带的引物(图 1)。

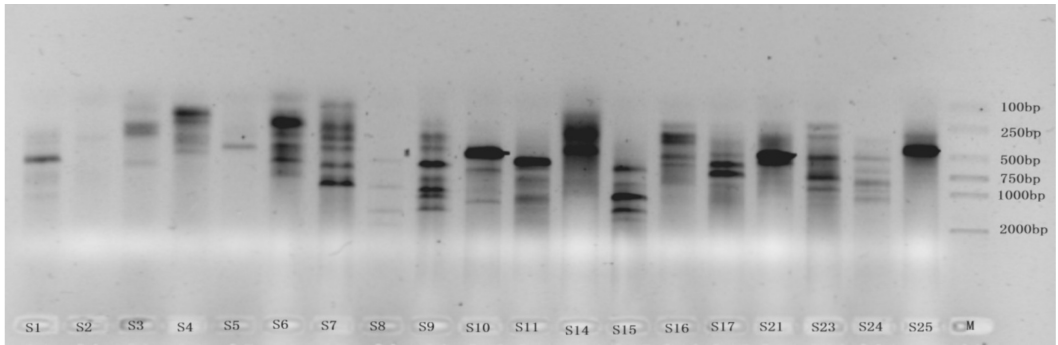


图 1 SCOT-PCR 引物筛选的电泳图

Fig. 1 Electrophoresis of primers selection in SCOT-PCR

### 2.3 扩增产物多态性分析

40 份供试重楼材料总扩增带为 127 条,其中多态性带在 17~70 条之间,平均多态性条带为 48.15 条;多态性条带百分比为 70.833%~90.909%,平均多态性百分比为 86.494%。结果表明,经 SCOT 标记研究供试的 40 份重楼均表现出丰富的多态性(表 4)。

表 4 SCOT-PCR 扩增产物多态性

Table 4 Amplification polymorphism of SCOT-PCR

编号 No.	多态性条带数 Polymorphic bands	总扩增条带数 Amplific bands	多态性百分比 Polymorphism (%)
XY(21-31)	59.73	66.73	89.510
QYG(1-9)	31.33	38.33	80.865
HZ(10-13)	55.00	62.00	88.705
WZ(38-39)	38.50	45.50	84.614
DIA(40)	39.00	46.00	84.783
LY(17-20)	44.00	51.00	86.205
QY(32-37)	53.00	60.00	88.311
JX(15-16)	51.00	58.00	87.899
MAO(14)	55.00	62.00	88.710

### 2.4 基于 SCOT 标记揭示的遗传多样性

基于遗传相似系数,利用 UPGMA 法对重楼属 9 个种 40 份供试材料进行 UPGMA 聚类分析,从聚类图可以将 40 份供试材料聚为 4 类,与李恒(1998)的分类结果较为一致。狭叶重楼单独聚为第一类;球药隔重楼、卵叶重楼、金线重楼及滇重楼聚为第二类;黑籽重楼与七叶一枝花聚为第三类;五指莲与毛

### 2.2 SCOT-PCR 的优化

琼脂糖电泳检测发现,可扩增出较多清晰条带的最优 SCOT-PCR 体系为  $Mg^{2+}$  为  $2.0 \mu L$  ( $20 \text{ mmol} \cdot L^{-1}$ )、模板 DNA 为  $1.5 \mu L$  ( $10 \text{ ng} \cdot \mu L^{-1}$ )、dNTPs 为  $2.4 \mu L$  ( $2.5 \text{ mmol} \cdot L^{-1}$ )、引物为  $1.2 \mu L$  ( $10 \mu \text{ mol} \cdot L^{-1}$ )、Taq 酶为 0.5 U,退火温度为  $52 \text{ }^\circ\text{C}$ 。

重楼聚为第四类。其中遗传相似系数在 0.333~0.817,遗传距离在 0.183~0.667 之间;以七叶一枝花与狭叶重楼间的遗传距离最小,狭叶重楼与金线重楼间的遗传距离最大,表明重楼属植物遗传多样性比较丰富(图 2)。

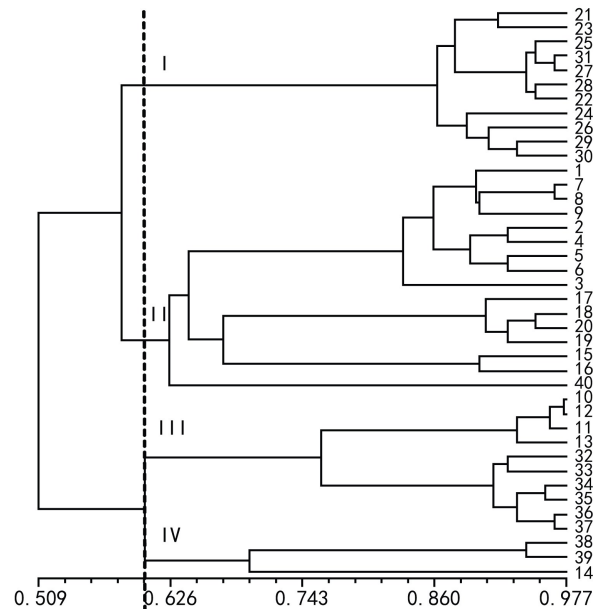


图 2 40 份重楼种质 SCOT 标记聚类图

Fig. 2 Dendrogram for 40 accessions of *Paris* based on SCOT markers



## 3 讨论与结论

### 3.1 重楼属种间系统发育关系

狭叶重楼、滇重楼、七叶一枝花为同一种下的不同变种,但这三种重楼的遗传距离较远,分别聚在了不同的类中。其中狭叶重楼单独聚在了第一类,滇重楼却与来自不同种的卵叶重楼、球药隔重楼、金线重楼一起聚在了第二类,七叶一枝花却与来自不同种的黑籽重楼聚在了第三类。滇重楼和球药隔重楼、卵叶重楼、金线重楼聚为第二类,可能是由于属于蚤休组的滇重楼、卵叶重楼和金线重楼与属于球药隔组的球药隔重楼都会出现雄蕊 2 轮的情况(李恒,1998)。金线重楼、卵叶重楼为同一种下的不同变种,二者遗传距离较近,且同时聚在了第二类。七叶一枝花属于多叶重楼,它与黑籽重楼同归于侧膜亚属种,它们都同为热带型核型(李恒,1998),这两种重楼聚为第三类。

本研究将球药隔重楼、卵叶重楼、金线重楼、滇重楼聚为一类(第二类),虽尚无同时将这四种重楼归为一类的相关研究,但却有不少间接的支持观点。李恒(1998)根据核型结构公式均为  $K2n=2x=10=6m+4t$  而将金线重楼与球药隔重楼都归在热带核型组中,根据萼片、花瓣特点及药隔外凸等将金线重楼与卵叶重楼归为金线重楼的两个变种;丁春邦等(2009)研究发现金线重楼与卵叶重楼柱头可授性与花粉活力呈正相关;李娟等(2008)通过 POD 同工酶分析指出球药隔重楼与卵叶重楼和金线重楼按形态学差异分属于两个不同的组,但体内代谢相似程度较高;赵万顺等(2010)采用数量分类学得到了类似的聚类结果。根据本课题组资源收集后质量指标测试数据,聚为第二类的重楼所含皂苷类物质组成基本相同,含量相近,有类似的药用价值,由于上述四种重楼中除滇重楼外的其它三种还未被药典所收载,建议可将球药隔重楼、卵叶重楼、金线重楼归为药典允许使用的种,扩大基源范围,缓解重楼药用资源紧张的现状。

本研究将黑籽重楼与七叶一枝花聚在一起(第三类),在一定程度上支持了洪淑华(2009)根据薄层色谱聚类分析的观点。2012—2013 年我们在目前国内最大的野生重楼密集分布区、四川省绵阳市安县高川乡天池村的实地调查中发现,该地近  $10 \text{ km}^2$  的野生重楼中约 60% 为黑籽重楼、40% 为七叶一

花。这一结果有力地提示了这两个种在系统发育关系上的特殊性。在四川省邛崃山脉其它地区如宝兴、彭州等地的调查也有相似的结果。

此外,关于五指莲与毛重楼聚在同一支的报道,目前按李恒(1998)分类标准,毛重楼虽属侧膜亚属种,但与属于中轴亚属的五指莲的雄蕊均有 2 轮,且都为热带型核型;黄芸等(2005)以包含五指莲与毛重楼在内的 11 种重楼测定皂苷总含量百分比低于 2.300%,缺乏分子方面的依据。

### 3.2 重楼属植物遗传多样性

RSAP 分子标记基于限制性酶切位点设计引物,产物经分辨率较高的变性的 PAGE(6%)检测;而本研究所采用的 SCOT 分子标记是以起始密码子设计引物,其 PCR 同时具有单、双引物特征,加之产物由 2.5% 的琼脂糖凝胶电泳检测。PAGE 电泳结果显示,RSAP-PCR 在供试材料间能有效、重复地扩增出差异条带(杜晓华等,2006;辛本华等,2011);SCOT-PCR 同样能扩增出稳定的多样性条带,说明这两种分子标记方法都适合于研究重楼属植物遗传差异的多样性。

近年来利用分子标记进行分子系统学研究已广泛应用于生物分类学,辛本华等(2011)用 RSAP 分子标记方法研究重楼属植物,认为重楼属植物种内差异较大。本研究以 SCOT 分子标记方法,通过对电泳图谱数据矩阵进行遗传相似系数计算与聚类分析,同样表明四川地区重楼属植物具有丰富的遗传多样性。SCOT 分子标记能够对重楼属植物进行准确的分子鉴定,这为收集、保存、评价和利用重楼种质资源,对重楼属植物的种类鉴定和种间分类地位提供了分子生物学的依据,同时对深入探究重楼皂苷合成关键酶基因定位研究提供了重要参考。

### 参考文献:

- Bertrand CY, Collard David J, Mackill. 2009. Start Codon Targeted (SCOT) Polymorphism: A simple, novel DNA marker technique for generating gene-targeted markers in plants[J]. *Plant Mol Biol Rep*, **27**: 86—93
- Chen Z(陈照), Ye RC(叶睿超), ZHANG R(张瑞), et al. 2009. Analysis of genetic differentiation based on ISSR and morphological markers in *Paris thibetica* (黑籽重楼种内形态标记和 ISSR 标记的遗传分化研究)[J]. *Lishizhen Med & Mat Med Res* (时珍国医国药), **20**(10): 2 647—2 649
- Ding CB(丁春邦), Li Q(李强), Li Y(李燕), et al. 2009. Pollen viability and stigma receptivity of nine species and five variety in *Paris* (重楼属 9 种 5 变种花粉活力与柱头可授性特性研究) (下转第 368 页 Continue on page 368)