

与蓖麻果刺性状连锁的 RAPD 标记

黄凤兰^{1,2}, 赵永¹, 彭木¹, 张智勇^{3,4}, 陈晓凤¹, 包春光^{3,4}, 邹千稳¹, 吴春桃¹

(1. 内蒙古民族大学 生命科学学院, 内蒙古 通辽 028000; 2. 内蒙古自治区高校蓖麻产业工程技术研究中心, 内蒙古 通辽 028000; 3. 内蒙古民族大学 农学院, 内蒙古 通辽 028000; 4. 内蒙古通辽市农业科学研究院, 内蒙古 通辽 028000)

摘要:为探讨蓖麻果刺性状相关分子机理,以9个果实有刺和5个果实无刺的蓖麻为研究对象,对蓖麻果刺性状进行 RAPD 分析,结果表明:用单因素法优化后的蓖麻果刺相关性状的 RAPD-PCR 反应体系为 *Taq* polymerase 0.9 μ L、10 \times Buffer 2.5 μ L、dNTP 2.5 μ L、 Mg^{2+} 1.3 μ L、SBS126 号 Primer 1.4 μ L、DNA 1.4 μ L、ddH₂O 15.0 μ L, Total 25 μ L; 优化后的反应条件为 94 $^{\circ}$ C 4 min 30 s; 94 $^{\circ}$ C 45 s, 38 $^{\circ}$ C 45 s, 72 $^{\circ}$ C 45 s, 35 个循环; 72 $^{\circ}$ C 5 min; 4 $^{\circ}$ C 保存。利用优化后的反应体系与反应条件,在果实有刺材料中得到了约 1 800 bp 的片段,测序结果表明,9 个材料的条带上游同源性非常差,但是距离下游约 28 bp 之前有长度为 112 bp 的序列完全相同,推断蓖麻果实有刺性状的发育可能与包含组氨酸的磷酸转移蛋白 2 有关。

关键词:蓖麻; 果刺; RAPD; 磷酸转移蛋白

中图分类号:S565.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-7091(2014)01-0083-06

The RAPD Marker of Fruit Thorn Traits for Castor

HUANG Feng-lan^{1,2}, ZHAO Yong¹, PENG Mu¹, ZHANG Zhi-yong^{3,4},
CHEN Xiao-feng¹, BAO Chun-guang^{3,4}, ZOU Qian-wen¹, WU Chun-tao¹

(1. College of Life Science, Inner Mongolia University for Nationalities, Tongliao 028000, China; 2. Inner Mongolia Industrial Engineering Research Center of Universities for Castor, Tongliao 028000, China; 3. Agricultural College, Inner Mongolia University for Nationalities, Tongliao 028000, China; 4. Tongliao Academy of Agricultural Science, Tongliao 028000, China)

Abstract: We selected nine fruit thorns and five fruit non-thorns of castor as the research object using the RAPD marker for the thorn traits analysis. The results were as follows: the RAPD-PCR reaction system with optimized by single factor was 0.9 μ L of *Taq* polymerase, 2.5 μ L of *Taq* polymerase 10 \times Buffer, 2.5 μ L of each dNTP, 1.3 μ L of Mg^{2+} , 1.4 μ L of 10 pmol/L primer SBS126, 1.4 μ L of DNA, ddH₂O 15.0 μ L, Total 25 μ L; And the related amplification condition was 1 cycle of 4 min 30 s at 94 $^{\circ}$ C; 35 cycles of 45 s at 94 $^{\circ}$ C, 45 s at 38 $^{\circ}$ C and 45 s at 72 $^{\circ}$ C, followed by a final cycle of 5 min at 72 $^{\circ}$ C, then save in 4 $^{\circ}$ C. Using the optimized reaction system and condition, several 1 800 bp fragments amplified by SBS126 was found in all the fruit thorn material, and sequencing results showed that the upstream homology of fragment was very low, whereas the downstream has the identical sequence with about 112 bp length. Basing on these results, we deduced that the development of fruit thorn may be associated with histidine-containing phosphotransfer protein 2, and this laid a foundation for research on the molecular mechanism of fruit thorn traits for castor.

Key words: Castor; Fruit thorn; RAPD; Phosphotransfer protein

蓖麻(*Ricinus communis* L.)是大戟科蓖麻属植物,为世界十大油料作物之一。蓖麻种子中所含的油为不干性油,黏度大、质量比高,因此,蓖麻成为特殊工业油源作物^[1-2],蓖麻油是唯一可以替代石油

收稿日期:2013-12-18

基金项目:国家自然科学基金项目(30760123;31160290;31060194);国家民委项目(10NM02);内蒙古自然科学基金项目(2010BS0511);内蒙古人才基金项目;内蒙古民族大学市校合作项目(SXZD2012018);内蒙古自治区高校蓖麻产业工程技术研究中心开放基金项目(BMYJ2011009)

作者简介:黄凤兰(1973-),女,山东菏泽人,教授,博士,主要从事蓖麻分子育种研究。

在生产生活中广泛应用的植物油^[3-8]。蓖麻的果实为蒴果,分有刺和无刺 2 种类型,有研究者认为有刺品种易炸裂^[9]。蓖麻的果刺性状属数量性状遗传。印度 Anjanik 的研究结果表明,蓖麻蒴果有刺为显性,无刺为隐性;菲律宾 Aranez 研究指出,不完全显性基因控制蒴果果刺^[10]。但是,关于蓖麻果刺性状的分子生物学研究尚未见报道。

随机扩增 DNA 多态性(Random amplified polymorphic DNA, RAPD) 技术以其操作简单、快速、花费少、DNA 用量少、无放射性等优点,广泛应用于种质资源亲缘关系、遗传多样性研究等方面^[11-16]。

因此,本试验的目的是研究与蓖麻果刺性状连锁的 RAPD 标记,为进行蓖麻果刺性状的分子机理研究奠定基础。

1 材料和方法

1.1 试验材料

本研究所用的蓖麻材料有:有刺材料 2129、2030、1991、2012、1966、2038、1916、1944、1952 共 9 个材料,无刺的材料 1987、2109、2073、2106、2052 共 5 个材料。这 14 个材料,除了在高秆性状和矮秆性状上有差别外,其他性状都是随机的。由内蒙古通辽市农业科学研究院提供。

克隆载体 pGEM-T Easy Vector 购自 Promega (北京)公司,植物基因组 DNA 提取试剂盒、胶回收试剂盒、大肠杆菌 *E. coli* 菌株 DH5 α 、质粒提取试剂盒、10 \times PCR Buffer、*Taq* polymerase 2.5 U/ μ L、MgCl₂ 2.5 mmol/L、dNTP 2.5 mmol/L、DNA Marker 购自北京庄盟生物科技有限公司;随机引物购自上海赛百盛公司,使用时溶解成 10 pmol/ μ L。

LB 培养基:胰蛋白胨 10 g/L,酵母粉 5 g/L, NaCl 10 g/L, pH 值 7.0, 固体培养基含 1.0% 的琼脂;抗性筛选培养基:在 LB 液体或固体培养基中含氨苄(Amp)60 mg/L;蓝白斑筛选培养基:在每升 LB 固体培养基中加 0.8 mg/L 的 X-Gal 和 0.8 mg/L 的 IPTG。

1.2 试验方法

1.2.1 蓖麻基因组 DNA 的提取 蓖麻基因组 DNA 提取参照植物基因组 DNA 提取试剂盒,并加以改进^[17],琼脂糖电泳检测。

DNA 样品用紫外分光光度计测定其在 260 nm 和 280 nm 的 OD 值,计算 OD_{260/280} 的比值,来评判 DNA 样品的纯度。并根据 OD₂₆₀ 及稀释倍数计算出 DNA 样品的浓度。双链 DNA 浓度(μ g/mL) = OD₂₆₀ 值 \times 50 \times 稀释倍数。

1.2.2 基因池 DNA 的构建 将 14 个材料的 DNA 样品等量混合成基因池,基因池中 DNA 浓度为 1 ng/ μ L。

1.2.3 随机引物的筛选 参照白建明^[18]的基准反应程序和反应体系并进行调整,对 200 条随机引物进行初步筛选。基准反应程序:94 $^{\circ}$ C 2 min;94 $^{\circ}$ C 45 s,39 $^{\circ}$ C 45 s,72 $^{\circ}$ C 45 s,35 个循环;72 $^{\circ}$ C 5 min;4 $^{\circ}$ C 保存。基准反应体系:10 \times Buffer 2.5 μ L、Primer 1.0 μ L、dNTP 2.4 μ L、*Taq* polymerase 0.25 μ L、DNA 1.0 μ L、Mg²⁺ 1.2 μ L、ddH₂O 16.65 μ L, Total 25 μ L。扩增产物用 1.0% 琼脂糖凝胶,以 120 V 缓冲电压,1 \times TAE 缓冲液电泳分离,EB 染色,使用凝胶成像系统检测结果。

1.2.4 反应体系及扩增程序优化

Taq polymerase 浓度的优化:采用引物 SBS126 (序列为 5'-CAGCGGGTCA-3')。设定 *Taq* polymerase 加入量为 0.15,0.20,0.25,0.30,0.35,0.40,0.45,0.50,0.55,0.60,0.65,0.70,0.75,0.80,0.85,0.90,0.95,1.00 μ L,优化 *Taq* polymerase 浓度。

10 \times PCR Buffer 浓度的优化:在 *Taq* polymerase 浓度优化结果的基础上,设定 10 \times PCR Buffer 加入量为 2.1,2.2,2.3,2.4,2.5,2.6,2.7,2.8,2.9,3.0 μ L,优化 10 \times PCR Buffer 浓度。

dNTP 浓度的优化:在 10 \times PCR Buffer 浓度优化结果的基础上,设定 dNTP 加入量为 2.1,2.2,2.3,2.4,2.5,2.6,2.7,2.8,2.9,3.0 μ L,优化 dNTP 浓度。

Mg²⁺ 浓度的优化:在 dNTP 浓度优化结果的基础上,设定 Mg²⁺ 加入量为 0.8,0.9,1.0,1.1,1.2,1.3,1.4,1.5,1.6,1.7 μ L,优化 Mg²⁺ 浓度。

引物浓度的优化:在 Mg²⁺ 浓度优化结果的基础上,设定引物加入量为 0.7,0.8,0.9,1.0,1.1,1.2,1.3,1.4,1.5,1.6 μ L,优化引物浓度。

模板浓度的优化:在引物浓度优化结果的基础上,设定基因池作为模板的加入量为 0.7,0.8,0.9,1.0,1.1,1.2,1.3,1.4,1.5,1.6 μ L,优化模板浓度。

预变性时间的优化:在模板浓度优化结果的基础上,设定预变性时间为 2 min、2 min 30 s、3 min、3 min 30 s、4 min、4 min 30 s、5 min、5 min 30 s,优化预变性时间。

变性时间的优化:在预变性时间优化结果的基础上,设定变性时间为 30 s、35 s、45 s、1 min、1 min 10 s。

退火温度的优化:在变性时间优化结果的基础上,设定退火温度为 37,38,39,40,41,42 $^{\circ}$ C,优化退

火温度。

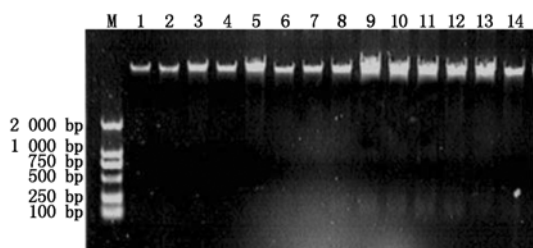
退火时间的优化:在退火温度优化结果的基础上,设定退火时间为 30 s、35 s、45 s、1 min,优化退火时间。

1.2.5 蓖麻果刺性状差异条带的回收、连接、转化、筛选、测序 利用优化后的反应体系和条件,分别用 14 种蓖麻材料的基因组 DNA 做模板进行 PCR 反应,得到有刺和无刺蓖麻材料的差异条带。差异片段胶回收后,分别与 pGEM-T Easy Vector 连接。连接产物转化大肠杆菌 *E. coli* DH5 α 的感受态细胞。重组质粒的筛选采用 PCR 的方法,反应体系和条件同优化后的条件。样品测序由上海生工完成,测序结果在 NCBI 上进行比对。

2 结果与分析

2.1 基因组 DNA 的提取结果

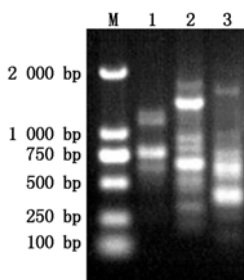
14 个蓖麻材料的基因组 DNA 提取结果见图 1。由图 1 可知,所提取的蓖麻基因组 DNA 质量较好,纯度较高。测定 OD_{260/280},比值均接近 1.8,样品浓度接近 1 ng/ μ L。



M. DL2000 Marker; 1. 2129; 2. 2030; 3. 1991; 4. 2012; 5. 1966; 6. 2038; 7. 1916; 8. 1944; 9. 1952; 10. 1987; 11. 2109; 12. 2073; 13. 2106; 14. 2052。

图 1 蓖麻基因组 DNA 提取结果

Fig.1 The extraction results of castor genomic DNA



M. DL2000 Marker; 1. SBS188 号引物 PCR 结果; 2. SBS126 号引物 PCR 结果; 3. SBS27 号引物 PCR 结果。

M. DL2000 Marker; 1. The PCR result of SBS188 primer; 2. The PCR result of SBS126 primer; 3. The PCR result of SBS27 primer.

图 2 随机引物第 2 次筛选结果

Fig.2 The second screening results of random primers

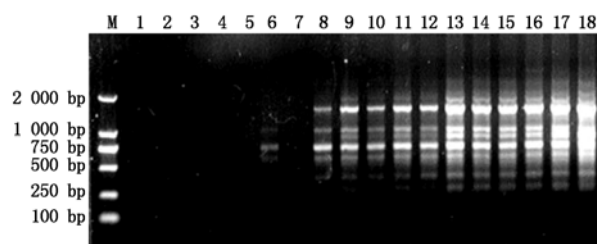
2.2 随机引物的筛选结果

对 200 对随机引物进行初步筛选,第一次筛选后确定 SBS188、SBS126、SBS27 号引物效果较好。SBS188、SBS126、SBS27 号引物序列分别为 5'-ACGG

CGATGA-3'、5'-CAGCGGGTCA-3'、5'-GGTGACGCA G-3'。随机引物第 2 次筛选结果见图 2。从图 2 可以看出,利用 SBS126 号引物进行 PCR,结果获得的 DNA 条带数最多,效果最好。

2.3 反应体系及扩增程序优化结果

2.3.1 *Taq* polymerase 浓度的优化结果 采用不同 *Taq* polymerase 浓度对 PCR 结果的影响情况见图 3。由图 3 可知,当反应体系中 *Taq* 酶的加入量为 0.90 μ L 时,PCR 扩增结果的条带数较多,而且清晰、整齐,效果好。

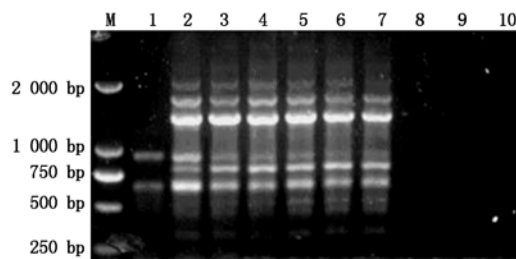


M. DL2000 Marker; 1. 0.15 μ L; 2. 0.20 μ L; 3. 0.25 μ L; 4. 0.30 μ L; 5. 0.35 μ L; 6. 0.40 μ L; 7. 0.45 μ L; 8. 0.50 μ L; 9. 0.55 μ L; 10. 0.60 μ L; 11. 0.65 μ L; 12. 0.70 μ L; 13. 0.75 μ L; 14. 0.80 μ L; 15. 0.85 μ L; 16. 0.90 μ L; 17. 0.95 μ L; 18. 1.0 μ L。

图 3 不同浓度 *Taq* polymerase 对 PCR 结果的影响

Fig.3 The PCR results of different *Taq* polymerase concentration

2.3.2 10 \times PCR Buffer 浓度的优化结果 采用不同 10 \times PCR Buffer 浓度对 PCR 结果的影响情况见图 4。由图 4 可知,当反应体系中 10 \times PCR Buffer 的加入量为 2.5 μ L 时,PCR 扩增结果的条带数较多,而且清晰、整齐,效果好。



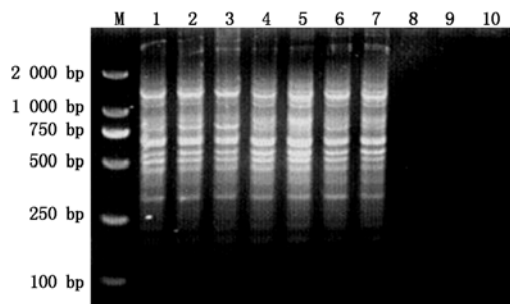
M. DL2000 Marker; 1. 2.1 μ L; 2. 2.2 μ L; 3. 2.3 μ L; 4. 2.4 μ L; 5. 2.5 μ L; 6. 2.6 μ L; 7. 2.7 μ L; 8. 2.8 μ L; 9. 2.9 μ L; 10. 3.0 μ L。

图 4 不同 10 \times PCR Buffer 浓度对 PCR 结果的影响

Fig.4 The PCR results of different 10 \times PCR Buffer concentration

2.3.3 dNTP 浓度的优化结果 采用不同 dNTP 浓度对 PCR 结果的影响情况见图 5。由图 5 可知,当反应体系中 dNTP 的加入量为 2.5 μ L 时,PCR 扩增结果的条带数较多,而且清晰、整齐,效果好。

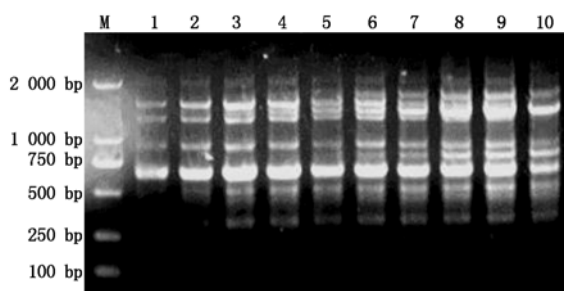
2.3.4 Mg^{2+} 浓度的优化结果 采用不同 Mg^{2+} 浓度对 PCR 结果的影响情况见图 6。由图 6 可知,当反应体系中 Mg^{2+} 的加入量为 1.3 μ L 时,PCR 扩增结果的条带数较多,而且清晰、整齐,效果好。



M. DL2000 Marker; 1. 2.1 μL ; 2. 2.2 μL ; 3. 2.3 μL ; 4. 2.4 μL ; 5. 2.5 μL ; 6. 2.6 μL ; 7. 2.7 μL ; 8. 2.8 μL ; 9. 2.9 μL ; 10. 3.0 μL 。

图5 不同 dNTP 浓度对 PCR 结果的影响

Fig. 5 The PCR results of different dNTP concentration

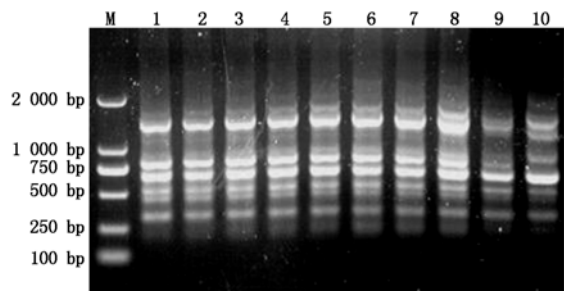


M. DL2000 Marker; 1. 0.8 μL ; 2. 0.9 μL ; 3. 1.0 μL ; 4. 1.1 μL ; 5. 1.2 μL ; 6. 1.3 μL ; 7. 1.4 μL ; 8. 1.5 μL ; 9. 1.6 μL ; 10. 1.7 μL 。

图6 不同 Mg^{2+} 浓度对 PCR 结果的影响

Fig. 6 The PCR results of different Mg^{2+} concentration

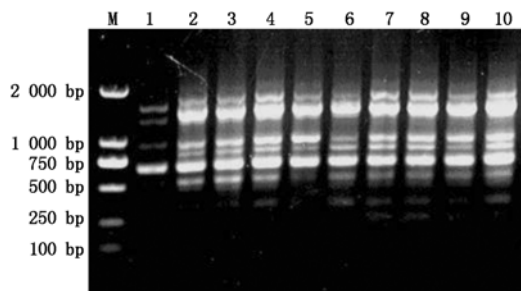
2.3.5 引物浓度的优化 采用不同引物浓度对 PCR 结果的影响情况见图 7。由图 7 可知,当反应体系中引物的加入量为 1.4 μL 时,PCR 扩增结果的条带数较多,而且清晰、整齐,效果好。



M. DL2000 Marker; 1. 0.7 μL ; 2. 0.8 μL ; 3. 0.9 μL ; 4. 1.0 μL ; 5. 1.1 μL ; 6. 1.2 μL ; 7. 1.3 μL ; 8. 1.4 μL ; 9. 1.5 μL ; 10. 1.6 μL 。

图7 不同引物浓度对 PCR 结果的影响

Fig. 7 The PCR results of different primer concentration



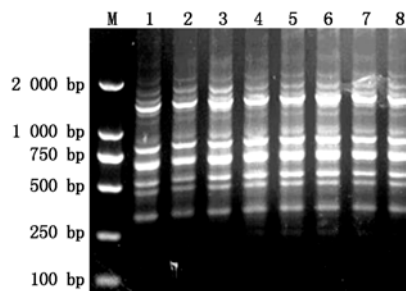
M. DL2000 Marker; 1. 0.7 μL ; 2. 0.8 μL ; 3. 0.9 μL ; 4. 1.0 μL ; 5. 1.1 μL ; 6. 1.2 μL ; 7. 1.3 μL ; 8. 1.4 μL ; 9. 1.5 μL ; 10. 1.6 μL 。

图8 不同模板浓度对 PCR 结果的影响

Fig. 8 The PCR results of different DNA concentration

2.3.6 模板 DNA 浓度的优化结果 基因池中 DNA 浓度为 1 ng/ μL 。基因池作为模板,加入 PCR 体系中的不同量对 PCR 结果的影响情况见图 8。由图 8 可知,当反应体系中模板的加入量为 1.4 μL 时,PCR 扩增结果的条带数较多,而且清晰、整齐,效果好。

2.3.7 预变性时间的优化结果 采用不同预变性时间对 PCR 结果的影响情况见图 9。由图 9 可知,当预变性时间为 4 min 30 s 时,PCR 扩增结果的条带数较多,而且清晰、整齐,效果好。

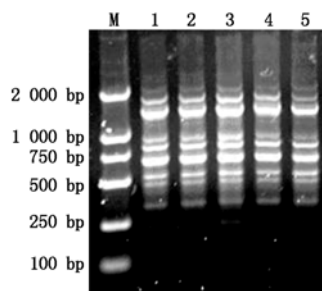


M. DL2000 Marker; 1. 2 min; 2. 2 min 30 s; 3. 3 min; 4. 3 min 30 s; 5. 4 min; 6. 4 min 30 s; 7. 5 min; 8. 5 min 30 s。

图9 不同预变性时间对 PCR 结果的影响

Fig. 9 The PCR results of different initial denaturation time

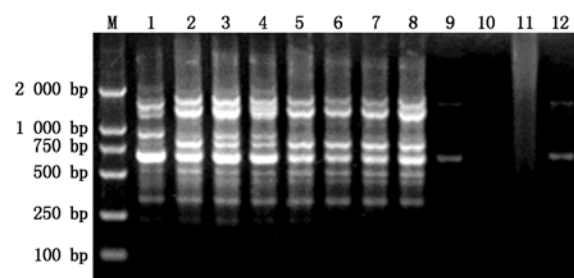
2.3.8 变性时间的优化结果 采用不同变性时间对 PCR 结果的影响情况见图 10。由图 10 可知,当变性时间为 45 s 时,PCR 扩增结果的条带数较多,而且清晰、整齐,效果好。



M. DL2000 Marker; 1. 30 s; 2. 35 s; 3. 45 s; 4. 1 min; 5. 1 min 10 s。

图10 不同变性时间对 PCR 结果的影响

Fig. 10 The PCR results of different denaturation time



M. DL2000 Marker; 1. 2.37 $^{\circ}\text{C}$; 2. 3.37 $^{\circ}\text{C}$; 3. 4.38 $^{\circ}\text{C}$; 4. 5.39 $^{\circ}\text{C}$; 5. 6.39 $^{\circ}\text{C}$; 6. 7.40 $^{\circ}\text{C}$; 7. 8.40 $^{\circ}\text{C}$; 8. 9.41 $^{\circ}\text{C}$; 9. 10.41 $^{\circ}\text{C}$; 10. 11.42 $^{\circ}\text{C}$; 11. 12.42 $^{\circ}\text{C}$ 。

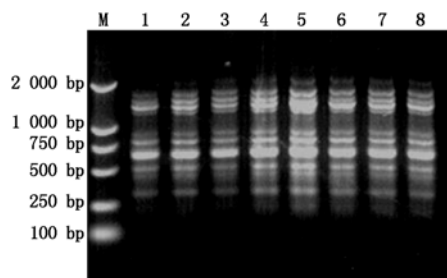
图11 不同退火温度对 PCR 结果的影响

Fig. 11 The PCR results of different anneal temperature

2.3.9 退火温度的优化结果 采用不同退火温度

对 PCR 结果的影响情况见图 11。由图 11 可知,当退火温度为 38 ℃ 时,PCR 扩增结果的条带数较多,而且清晰、整齐,效果好

2.3.10 退火时间的优化结果 采用不同退火时间对 PCR 结果的影响情况见图 12。由图 12 可知,当退火时间为 45 s 时,PCR 扩增结果的条带数较多,而且清晰、整齐,效果好。



M. DL2000 Marker; 1. 2. 30 s; 3. 4. 35 s; 5. 6. 45 s; 7. 8. 1 min。

图 12 不同退火时间对 PCR 结果的影响

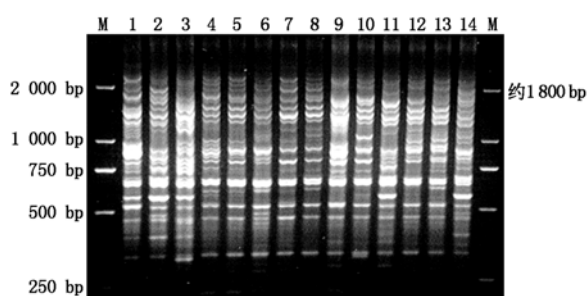
Fig. 12 The PCR results of different anneal time

所以,优化后的反应体系: *Taq* polymerase 0.9 μL、10 × Buffer 2.5 μL、dNTP 2.5 μL、 Mg^{2+} 1.3 μL、SBS126 号 Primer 1.4 μL、DNA 1.4 μL、ddH₂O 15.0 μL, Total 25 μL; 优化后的反应条件: 94 ℃ 4min 30 s; 94 ℃ 45 s, 38 ℃ 45 s, 72 ℃ 45 s, 35 个循环; 72 ℃ 5 min; 4 ℃ 保存。

2.4 蓖麻果刺性状差异条带的筛选结果

利用优化后的反应体系和反应条件,获得蓖麻果刺性状差异条带,结果见图 13。

由图 13 可知,果实有刺的蓖麻材料, RAPD 的 PCR 反应结果中均出现了一条约 1 800 bp 的条带,而果实无刺的蓖麻材料则没有出现该条带。



M. DL2000 Marker; 1. 2030 (有刺); 2. 1991 (有刺); 3. 1987 (无刺); 4. 2012 (有刺); 5. 1966 (有刺); 6. 2038 (有刺); 7. 1916 (有刺); 8. 1944 (有刺); 9. 2073 (无刺); 10. 2109 (无刺); 11. 1952 (有刺); 12. 2106 (无刺); 13. 2052 (无刺); 14. 2129 (有刺)。

M. DL2000 Marker; 1. 2030 (Fruit thorn); 2. 1991 (Fruit thorn); 3. 1987 (Fruit non-thorn); 4. 2012 (Fruit thorn); 5. 1966 (Fruit thorn); 6. 2038 (Fruit thorn); 7. 1916 (Fruit thorn); 8. 1944 (Fruit thorn); 9. 2073 (Fruit non-thorn); 10. 2109 (Fruit non-thorn); 11. 1952 (Fruit thorn); 12. 2106 (Fruit non-thorn); 13. 2052 (Fruit non-thorn); 14. 2129 (Fruit thorn)。

图 13 蓖麻果刺性状的差异条带筛选结果

Fig. 13 The differential DNA fragments screening results of fruit thorn for castor

2.5 果刺性状差异条带的测序结果及分析

对 9 个蓖麻果实有刺的材料差异条带进行测序的结果表明,9 个材料的条带上游同源性非常差,但是距离下游约 28 bp 之前有长度为 112 bp 的序列完全相同,碱基如下: 5'-TGACCCGCTGAATCACTAGTGAATTCGCGGCCGCCTGCAGGTCGACCATATGGGAGAGCTCCCAACGCGTTGGATGCATAGCTTGAGTATCTATAGTGTACCTAAATAGC-3'。将 112 bp 序列和 NCBI 中的其他序列进行 BLAST 的结果表明,该序列与以下涉及植物的序列 100% 同源,即 GenBank: AJ841794.1、HE802228.1、HE962389.1、AJ420893.1、AJ420885.1、AJ271637.1、FR744450.1、EU558534.1、EU558533.1、EU558532.1、EU558528.1、EU558522.1、EU558521.1。这 13 个序列中只有 AJ841794.1 序列明确指出其功能,因此,推断 9 个蓖麻果实有刺的材料差异条带可能为包含组氨酸的磷酸转移蛋白 2。

3 讨论

本试验中,9 个蓖麻果实有刺的材料同源性高的 112 bp,与以下涉及植物的序列 100% 同源,即 GenBank: AJ841794.1 (在加拿大杨栽培品种中,推断包含组氨酸的磷酸转移蛋白 2 的 mRNA)、HE802228.1 (野茶树微卫星 DNA 位点 Csin33)、HE962389.1 (鼠尾草混合基因组文库抑制差减杂交片段,克隆 P4)、AJ420893.1 (沙比利微卫星 DNA, pEcCIR247 克隆)、AJ420885.1 (沙比利微卫星 DNA, pEcCIR12 克隆)、AJ271637.1 (油棕微卫星 DNA, mEgCIR0219 克隆)、FR744450.1 (铁树微卫星 DNA 位点, Cy-Tai SSR15)、EU558534.1 (琴叶拟南芥转座子克隆 SINE9 插入到显示带的基因组序列)、EU558533.1 (琴叶拟南芥转座子克隆 SINE8 插入到显示带的基因组序列)、EU558532.1 (琴叶拟南芥转座子克隆 MITE7 插入到显示带的基因组序列)、EU558528.1 (琴叶拟南芥转座子克隆 MITE7 插入到显示带的基因组序列)、EU558522.1 (琴叶拟南芥转座子克隆 MITE7 插入到显示带的基因组序列)、EU558521.1 (琴叶拟南芥转座子克隆 MITE7 插入到显示带的基因组序列)。这 11 个序列中只有 GenBank: AJ841794.1 序列明确指出其功能,因此,推断 9 个蓖麻果实有刺的材料差异条带可能为包含组氨酸的磷酸转移蛋白 2。

参考文献:

- [1] Kabasakal O S, Guner F S, Arisian A, et al. Use of castor oil in the preparation of various oil-based binders [J].

- Journal of Coatings Technology, 1996, 68(860): 57–59.
- [2] Ogunniyi D S. Castor oil: avital industrial raw material [J]. Bioresource Technology, 2006, 97(9): 1086–1091.
- [3] Ogunniyi D S, Njikang G N. Preparation and evaluation of alkyd resin from castor oil [J]. Pak Sci Ind Res, 2000, 43: 378–380.
- [4] Trevino A S, Trumbo D L. Acetoacetylated castor oil in coatings applications [J]. Prog Org Coat, 2002, 44(11): 49–54.
- [5] Somani K P, Kansara S S, Patel N K, *et al.* Castor oil based polyurethane adhesives for wood-to-wood bonding [J]. Int J Adhesion Adhesives, 2003, 23(4): 269–275.
- [6] Xie H Q, Guo J S. Room temperature synthesis and mechanical properties of two kinds of elastomeric interpenetrating polymer networks based on castor oil [J]. Eur Polym J, 2002, 38(11): 2271–2277.
- [7] Ogunniyi D S, Fakayejo W R O. Preparation and properties of polyurethanes from toluene diisocyanate and mixtures of castor oil and polyol [J]. Iranian Polym J, 1996, 5: 56–59.
- [8] Vasishtha A K, Trivedi R K. Sebacic acid and 2-Octanol from castor oil [J]. J Am Oil Chem Soc, 1990, 67(5): 333–337.
- [9] 赵学敬. 蓖麻农艺学与籽的亩产量 [J]. 粮食流通技术, 2006(6): 29–32.
- [10] 郑 鹭, 祈建民, 陈绍军, 等. 蓖麻遗传育种进展及其在生物能源与医药综合利用潜势 [J]. 中国农学通报, 2006, 22(9): 109–113.
- [11] 刘效瑞, 杨 宁, 王春明, 等. 2 个新育成黄芪品种(系)的 RAPD 研究 [J]. 甘肃农业科技, 2013(3): 3–5.
- [12] 张永刚, 韩 梅, 刘翠晶, 等. RAPD 分析野生和栽培柴胡亲缘关系 [J]. 南京中医药大学学报, 2012, 28(6): 574–576.
- [13] 王嘉福, 雷红梅, 田松军, 等. 贵州矮马与伊犁马基因组的 RAPD 分析 [J]. 广东农业科学, 2013(2): 139–142.
- [14] 杨兆顺, 董海合, 吴俊强, 等. 利用 RAPD 分子标记法聚类分析糯玉米种质资源 [J]. 天津农业科学, 2005, 11(4): 48–49.
- [15] 柯妍柠, 刘 莉, 李秀秀, 等. 甜瓜 RAPD 反应体系的优化 [J]. 天津农业科学, 2007, 13(2): 7–10.
- [16] 武青山, 马建华, 武峻新, 等. 芹菜种质资源遗传多样性 RAPD 分析 [J]. 山西农业科学, 2013, 41(8): 774–777.
- [17] 黄凤兰, 郭志强, 孟凡娟, 等. 试剂盒法提取蓖麻基因组 DNA 的条件优化 [J]. 内蒙古民族大学学报, 2010, 25(1): 29–33.
- [18] 白建明. 蓖麻杂种优势的研究 [D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2003.