

彭继庆,徐志高,曹福祥,等. 绣球和圆锥绣球品种遗传多样性 ISSR 研究[J]. 江苏农业科学,2017,45(9):18-22.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.09.005

绣球和圆锥绣球品种遗传多样性 ISSR 研究

彭继庆¹, 徐志高², 曹福祥¹, 董旭杰¹, 张鹏鸿¹

(1. 中南林业科技大学生命科学与技术学院, 湖南长沙 410004; 2. 国家林业局中南林业勘察设计院, 湖南长沙 410000)

摘要:以绣球、圆锥绣球 2 个种 38 个品种为材料,利用 ISSR 分子标记技术及 PopGen32 软件对其遗传多样性进行分析,结果表明,100 条引物中筛选出 10 条引物用于 PCR 扩增,共扩增出条带 132 个,其中多态性条带 122 个,占 92.42%,绣球、圆锥绣球 2 个种的多态条带比例分别为 79.55%、67.42%;38 个绣球花品种观测等位基因数为 1.924 2,有效等位基因数为 1.676 8,Nei's 基因多样性指数为 0.378 2,Shannon's 信息指数为 0.549 7,具有较高的遗传多样性和较强的环境适应能力;绣球、圆锥绣球 2 个种的基因多样性为 0.375 8,种内基因多样性为 0.282 6,种内遗传变异占 75.20%;38 个绣球花品种间的遗传一致度变化范围为 0.454 5~0.977 3,存在很大差异,绣球、圆锥绣球的遗传一致度为 0.749 1,遗传距离为 0.288 9,两者之间亲缘关系较近;UPGMA 聚类分析将 38 个品种分成 2 类 4 个亚类,聚类结果与叶片、花的特征基本分类结果一致,可完全区分绣球与圆锥绣球 2 个种。

关键词:绣球;圆锥绣球;ISSR;遗传多样性

中图分类号:S685.990.3 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2017)09-0018-04

绣球花别称八仙花,是绣球花科绣球属(*Hydrangea*)植物的总称,为常绿或落叶亚灌木、灌木或小乔木,主要分布于亚洲东部至东南部、北美洲东南部至中美洲和南美洲西部,全球有 60 余种,我国约有 37 个种、7 个变种,是绣球花分布较多的国家之一。目前,市场上的绣球花品种繁多,花大艳丽,性状各异,形态优美,极具观赏价值,已成为世界上极具发展潜力的花卉品种之一,在花卉产业中具有重要意义。我国具有丰富的绣球花资源,对绣球花的研究主要集中在抗逆性、扦插繁殖、组培快繁、栽培管理、病虫害防治、次生代谢物质提取与检测等方面^[1-19],而在新品种培育方面的研究较少,屈连伟等虽有报道,也仅局限于绣球花品种的杂交方面^[20-21],有关绣球花品种遗传多样性的研究报道相对较少。

ISSR 分子标记技术是在 SSR 分子标记基础上发展起来的一种新型分子标记方法,具有成本低、稳定性高、操作简单、重复性高等特点^[22],近年来在园林花卉植物遗传多样性研究、亲缘关系与子代鉴定、指纹图谱构建等应用广泛。董海燕等利用 ISSR 分子标记技术,将 41 个红花檵木品种聚为 5 类,聚类结果与叶色分类结果^[23]一致;胡仲义等对重庆南山植物园中的 26 株川茶花古树进行分类研究,将 26 个品种分为 5 个类群,并获得山牡丹可能是由牡丹茶芽变的结论^[24];严华利用 ISSR 分子标记技术建立了部分国兰的指纹图谱^[25];王湘莹等成功分析了 23 个金银花品种间的遗传变异^[26];杨梅

等将 9 个武当木兰典型种群分为 3 大类群,聚类结果与地理分布和花部特征划分基本一致^[27]。此外,利用 ISSR 分子标记技术对崇明水仙、金叶女贞、芍药等品种或杂交后代进行了鉴定^[28-30]。中南林业科技大学生命科学与技术学院通过多年努力,从国内外共收集绣球花新优品种 38 个,其中 21 个绣球花品种属于绣球种,17 个绣球花品种属于圆锥绣球种,研究收集到的 38 个绣球花品种的遗传多样性,有助于了解绣球花品种间或种间的亲缘关系和遗传背景,可为绣球花新品种培育亲本的选择提供依据。

1 材料与方法

1.1 植物材料

绣球花材料来源于中南林业科技大学植物园绣球花品种资源库,包含绣球、圆锥绣球 2 个种,共计 38 个品种(表 1),其中 25 个绣球花品种引自美国,12 个品种源自荷兰,1 个为中国原生种。

1.2 DNA 提取与检测

每个绣球品种采集 3~5 株新鲜叶片,直接带回实验室,采用天根生物科技(北京)有限责任公司的植物基因组 DNA 提取试剂盒提取绣球基因组总 DNA;采用浓度为 1% 的琼脂糖凝胶电泳进行检测,溴化乙锭(EB)核酸染料浓度为 0.5 mg/mL,缓冲液为 1×TAE,电泳电压为 5 V/cm,电泳时间 30 min;电泳成像采用凝胶成像系统,DNA 纯度及浓度用核酸蛋白分析仪测定;将 DNA 条带明亮清晰、无拖带现象、无 RNA 和蛋白质污染的样品于 -70℃ 冰箱保存,备用。

1.3 ISSR-PCR 扩增反应体系与程序

以绣球基因组总 DNA 样品为模板,利用引物 UBC855 通过单因素试验和正交试验对 Mg^{2+} 、*Taq* DNA 聚合酶、引物、dNTPs、模板 DNA 浓度等影响因素进行 ISSR-PCR 扩增体系优化^[31],确定绣球品种的 ISSR-PCR 扩增体系为(20 μL): 10×PCR Buffer 2.0 μL, DNA 30 ng, Mg^{2+} 2.0 mmol/L, ISSR

收稿日期:2016-11-11

基金项目:国家林业局 948 项目(编号:2013-4-35);湖南省科技厅重点研发项目(编号:2016NK2143);湖南省教育厅一般项目(编号:15C1433)。

作者简介:彭继庆(1986—),男,山东菏泽人,博士,讲师,从事植物分子生物学研究。E-mail: pengjiqing17@126.com。

通信作者:曹福祥,博士,教授,从事生物学研究。E-mail: csfucuo@163.com。

表 1 38 个绣球花品种来源及花序形态

序号	品种名称	拉丁名	来源地	花序特征
pop 1	魔幻水晶	<i>H. macrophylla</i> ‘Magical Crystal’	荷兰	球形花序,不育花多数
pop 2	精灵	<i>H. macrophylla</i> ‘Pillnitz’	荷兰	球形花序,不育花多数
pop 3	无尽夏	<i>H. macrophylla</i> ‘Forever Summer’	荷兰	球形花序,不育花多数
pop 4	魔幻紫水晶	<i>H. macrophylla</i> ‘Magical Crystal’	荷兰	球形花序,不育花多数
pop 5	红宝石绣球	<i>H. macrophylla</i> ‘Cardinal’	美国	球形花序,不育花多数
pop 6	粉色回忆	<i>H. macrophylla</i> ‘Meissen’	荷兰	球形花序,不育花多数
pop 7	变叶绣球	<i>H. macrophylla</i> ‘Variegata’	美国	花序顶端平,不育花少,可育花多
pop 8	彭妮马克绣球	<i>H. macrophylla</i> ‘Penny Mac’	美国	球形花序,不育花多数
pop 9	罗斯	<i>H. macrophylla</i> ‘Rose’	荷兰	球形花序,不育花多数
pop 10	梦幻蓝	<i>H. macrophylla</i> ‘Rathen’	荷兰	球形花序,不育花多数
pop 11	史欧尼	<i>H. macrophylla</i> ‘Masja’	荷兰	球形花序,不育花多数
pop 12	塞尔玛	<i>H. macrophylla</i> ‘Selma’	荷兰	球形花序,不育花多数
pop 13	新娘	<i>H. macrophylla</i> ‘Bride’	荷兰	球形花序,不育花多数
pop 14	南丁格尔绣球	<i>H. macrophylla</i> ‘Nightingale’	美国	花序顶端平,不育花少,可育花多
pop 15	绣球	<i>H. macrophylla</i>	中国	球形花序,不育花多数
pop 16	拉维布兰	<i>H. macrophylla</i> ‘Lav Blaa’	荷兰	球形花序,不育花多数
pop 17	塔贝	<i>H. macrophylla</i> ‘Taube’	荷兰	花序顶端平,不育花少,可育花多
pop 18	蓝尼康绣球	<i>H. macrophylla</i> ‘Nikko Blue’	美国	球形花序,不育花多数
pop 19	伊米莉亚绣球	<i>H. macrophylla</i> ‘Emile Mouillere’	美国	球形花序,不育花多数
pop 20	富士瀑布	<i>H. macrophylla</i> ‘Fuji Waterfalls’	美国	球形花序,不育花多数
pop 21	妖姬	<i>H. macrophylla</i> ‘Enchtreess’	美国	球形花序,不育花多数
pop 22	石灰灯	<i>H. paniculata</i> ‘Limelight’	美国	圆锥花序
pop 23	惊艳	<i>H. paniculata</i> ‘Bombshell’	美国	圆锥花序
pop 24	杜尔马	<i>H. paniculata</i> ‘Dhurma’	美国	圆锥花序
pop 25	大花圆锥绣球	<i>H. paniculata</i> ‘Floribunda Peegee’	美国	圆锥花序
pop 26	艾玛丽	<i>H. paniculata</i> ‘Lime Lamb’	美国	圆锥花序
pop 27	小柠檬	<i>H. paniculata</i> ‘Little Lime’	美国	圆锥花序
pop 28	幻影绣球	<i>H. paniculata</i> ‘Phantom’	美国	圆锥花序
pop 29	粉宝石绣球	<i>H. paniculata</i> ‘Pink Diamond’	美国	圆锥花序
pop 30	粉色精灵	<i>H. paniculata</i> ‘Pinky Winky’	美国	圆锥花序
pop 31	被证明的赢家	<i>H. paniculata</i> ‘Proven Winner’	美国	圆锥花序
pop 32	银元	<i>H. paniculata</i> ‘Silver Dollar’	美国	圆锥花序
pop 33	草莓圣代	<i>H. paniculata</i> ‘Strawberry Sundae’	美国	圆锥花序
pop 34	夏之雪	<i>H. paniculata</i> ‘Summer Snow’	美国	圆锥花序
pop 35	晚花圆锥绣球	<i>H. paniculata</i> ‘Tardiva’	美国	圆锥花序
pop 36	唯一	<i>H. paniculata</i> ‘Unique’	美国	圆锥花序
pop 37	香草草莓	<i>H. paniculata</i> ‘Vanillaawberry’	美国	圆锥花序
pop 38	韦伯绣球	<i>H. paniculata</i> ‘Webb Peegee’	美国	圆锥花序

引物 0.6 μmol/L, dNTPs 0.2 mmol/L, *Taq* DNA 聚合酶 1.5 U, 用 ddH₂O 补足到 20 μL。扩增程序为: 94 ℃ 预变性 5 min; 94 ℃ 变性 30 s, 52 ℃ 退火 45 s, 72 ℃ 延伸 90 s, 共 36 个循环; 72 ℃ 总延伸 420 s, 4 ℃ 保存^[32]。

1.4 引物筛选及扩增

利用最优 ISSR-PCR 反应体系, 以任意一个绣球品种总 DNA 样品为模板, 从 100 条随机引物中筛选出扩增条带多、条带清晰、能扩增出高质量条带的引物用于 38 个绣球花品种遗传多样性检测, 并经 1% 琼脂糖电泳分离、凝胶成像系统成像。

1.5 数据统计与分析

根据 DNA 指纹图谱和条带位置, 确定样品图谱中扩增条带的位置和大小, 清晰、可辨认的条带记为“1”, 模糊不清或没有条带的记为“0”, 建立数据库; 利用 PopGen32 统计分析

软件对数据进行计算、分析, 利用 Mega 6 进行聚类分析。

2 结果与分析

2.1 绣球花品种 ISSR-PCR 扩增多态性

多态位点比率是衡量一个群体内遗传变异水平高低的重要指标, 比值越高, 该群体变异水平越大, 环境适应性越强, 反之则越弱, 在进化过程中越易被淘汰。由表 2 可见, 从 100 条引物筛选出 10 条引物对 38 个绣球花品种进行 PCR 扩增, 共扩增出 132 个位点, 其中多态性位点 122 个, 每个引物平均扩增 13.2 个位点、多态位点 12.2 个, 多态位点比率为 92.42%, 说明绣球花品种间具有较大的遗传变异, 环境适应能力较强, 这可能与绣球花新品种的培育方式有关。由表 3 可见, 绣球种群体包含 21 个绣球花品种, 多态性位点为 105 个, 多态位点比率为 79.55%, 圆锥绣球群体包含 17 个绣球花品种, 多

表 2 ISSR 引物的扩增情况

引物编号	引物序列	熔解温度 (℃)	退火温度 (℃)	位点数 (个)	多态性位点 (个)	多态位点比率 (%)
UBC815	CTCTCTCTCTCTCTCTG	52	50	14	12	85.71
UBC824	TCTCTCTCTCTCTCTCG	50	50	11	11	100.00
UBC835	AGAGAGAGAGAGAGAGYC	52	50	12	11	91.67
UBC841	GAGAGAGAGAGAGAGAYC	52	51	11	9	81.82
UBC844	CTCTCTCTCTCTCTCTRC	50	50	13	13	100.00
UBC855	ACACACACACACACACYT	50	53	13	12	92.31
UBC856	ACACACACACACACACYA	52	54	12	11	91.67
UBC876	GATAGATAGACAGACA	52	53	15	14	93.33
UBC895	AGAGTTGCTAGCTCTTGATC	50	53	17	17	100.00
UBC899	CATGCTGTTGCTCATTGTTCCA	50	53	14	12	85.71
总计				132	122	92.42

态性位点为 89 个,多态位点比率为 67.42%,说明这 2 个绣球种群具有较高的遗传多样性,圆锥绣球品种多态性略低于绣球品种。

2.2 绣球花品种的遗传多样性

由表 3 可见,38 个绣球花品种的观测等位基因数为 1.924 2,有效等位基因数为 1.676 8,Nei's 基因多样性指数为 0.378 2,Shannon's 信息指数为 0.549 7,这表明该群体具有较高的遗传多样性;绣球种群的观测等位基因数为 1.795 5,有效等位基因数为 1.560 7,Nei's 基因多样性指数为 0.315 5,

Shannon's 信息指数为 0.460 2;圆锥绣球种群的观测等位基因数为 1.674 2,有效等位基因数为 1.435 1,Nei's 基因多样性指数为 0.249 8,Shannon's 信息指数为 0.368 8。统计结果表明,2 种绣球群体总的基因多样性为 0.375 8,种内基因多样性为 0.282 6,种内遗传变异占 75.20%,种间遗传变异占 24.80%,这说明 2 个绣球群体之间存在遗传变异,并主要存在于种内,绣球与圆锥绣球之间的杂交亲和性相对较低,二者通过杂交培育新品种难度较大;2 个种群之间的基因流为 1.517 4(大于 1),这表明二者之间存在明显的基因流。

表 3 绣球花品种遗传变异分析

绣球花种群	品种数量 (个)	多态性位点 (个)	多态性位点比率 (%)	等位基因 观测数	有效等位 基因数	Nei's 基因 多样性指数	Shannon's 信息指数
绣球	21	105	79.55	1.795 5	1.560 7	0.315 5	0.460 2
圆锥绣球	17	89	67.42	1.674 2	1.435 1	0.249 8	0.368 8
小计	38	122	92.42	1.924 2	1.676 8	0.378 2	0.549 7

2.3 绣球花品种的遗传一致性

采用 PopGen 32 软件对 38 个绣球花品种进行遗传距离和遗传一致性度分析,结果表明,38 个绣球花品种间的遗传一致性度变化范围为 0.454 5~0.977 3,其中绣球花品种梦幻蓝(pop10)与绣球花品种史欧尼(pop11)之间的遗传一致性度相对最高,为 0.977 3,二者亲缘关系相对较近,绣球花品种史欧尼(pop11)与绣球花品种小柠檬(pop27)的遗传一致性度相对最低,为 0.454 5,二者之间亲缘关系相对较远,彼此间存在较大的差异;2 个种群之间的遗传一致性度为 0.749 1,遗传距离为 0.288 9,这说明 2 个种群之间的亲缘关系相对较近。

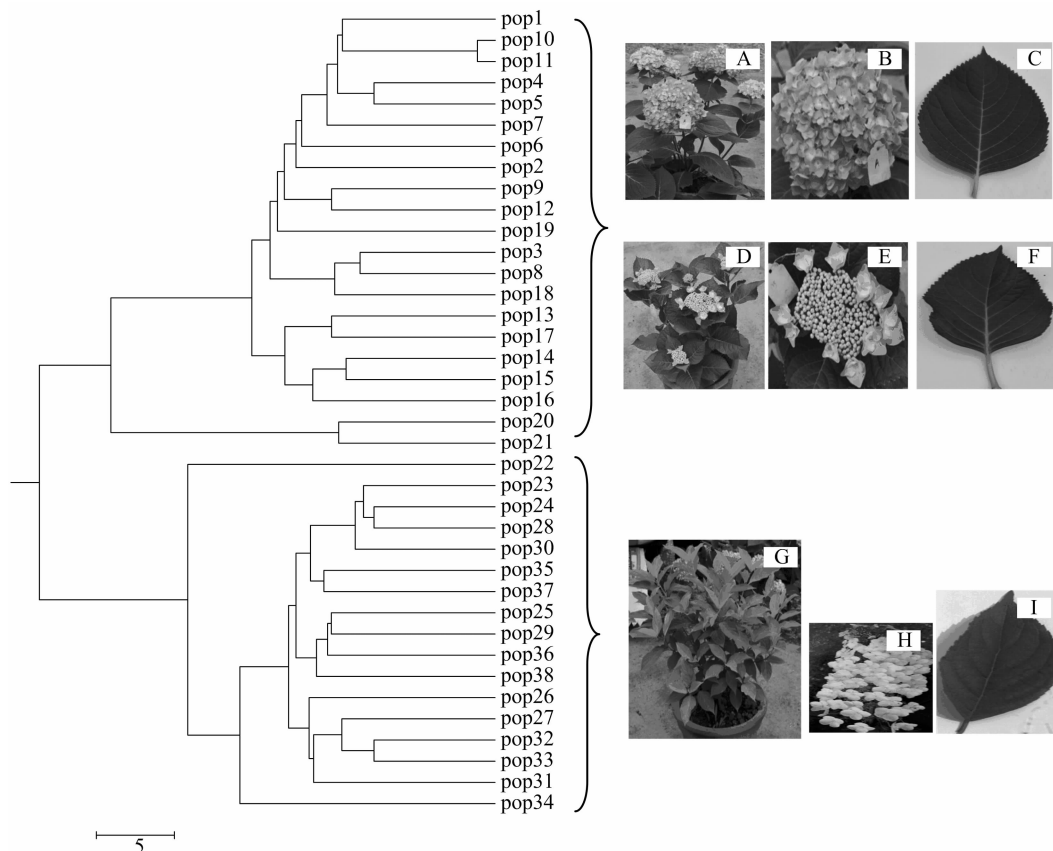
2.4 绣球花品种的亲缘关系

由图 1 可见,38 个绣球花品种聚分为两大类,第 1 类包含所有的绣球品种,第 2 类包含所有的圆锥绣球品种;每类又分 2 个亚类,第 1 亚类包括 19 个绣球品种,第 2 亚类包括 2 个绣球品种,第 3 亚类包括 1 个圆锥绣球品种,第 4 亚类包括 16 个圆锥绣球品种;绣球为伞房状聚伞花序近球状或头状,小枝粗,无毛,叶倒卵形或宽椭圆形,先端骤尖,基部钝圆或宽楔形,具粗齿,两面无毛;圆锥绣球为圆锥状聚伞花序,密被柔毛,幼枝疏被柔毛,叶纸质,卵形或椭圆形,先端渐尖或骤尖,具短尖头,基部圆或宽楔形。聚类结果与形态分类基本一致,可将绣球、圆锥绣球 2 个种完全区分。

ISSR 分子标记技术具有检测灵敏、多态性好、稳定、重复性高等优点。利用 ISSR 分子标记技术对国内外收集的 38 个绣球花品种进行的品种鉴定结果、聚类关系表明,ISSR 分子标记技术能很好地区分绣球花品种种群,38 个绣球花品种聚为两大类,第 1 类为绣球,第 2 类为圆锥绣球,与按照花型、叶型特征的分类结果基本一致;绣球品种史欧尼、梦幻蓝亲缘关系相对最近,在绣球花种间分类中具有较高的灵敏性;38 个绣球品种分为 4 个亚群,第 1 亚群包含 19 个绣球品种,第 2 亚群包含 2 个绣球品种,第 3 亚群包含 16 个圆锥绣球品种,第 4 亚群包含 1 个圆锥绣球品种。绣球和圆锥绣球在叶片、花形态方面差异明显,绣球叶片倒卵形,先端聚尖,基部钝圆,具粗齿,叶柄粗,叶片较厚,圆锥绣球叶片纸质,椭圆形,先端渐尖或聚尖,基部圆或宽楔形,密生小锯齿,上面无毛或疏被糙伏毛,叶片较薄;绣球花序近球形或花序顶端平,而圆锥绣球花序为圆锥形聚伞花序。试验结果表明,绣球品种之间的聚类结果与花序形态特征存在明显差异,呈近球形聚伞花序品种与花序顶端平头状花序品种相间分布的特点,如变叶绣球(pop7)、南丁格尔绣球(pop14)、塔贝(pop17)3 个绣球品种,花序为顶端平头状花序,但聚类结果并未单独聚在一起,而是与近球形花序品种聚在一起,可能与这 3 个品种属于山绣球(绣球变种)有关,具体原因还须进一步研究。

3 讨论与结论

38 个绣球花品种遗传多样性分析表明,绣球花多态位点比率为 92.42%,与大菊品种的 92.5%^[33] 基本一致,遗传多



A、B、D、E 为绣球种群的花；C、F 为绣球种群的叶；G、H 为圆锥绣球种群的花；I 为圆锥绣球种群的叶

图1 绣球花品种 UPGMA 聚类结果及 2 个绣球种群花叶形态

样性高于红花檵木品种的 72.9%^[23],但略低于李艳香的研究结论^[34],这可能与试验材料不同有关;绣球品种的多态位点比率为 79.55%,圆锥绣球品种的多态位点比率为 67.42%,介于红花檵木品种之间,远低于大菊品种;38 个绣球花品种的遗传距离介于 0~0.769 1,平均值为 0.373 5,遗传一致度介于 0.463 4~1.000 0 之间,平均值为 0.696 2,遗传距离和遗传一致度跨度较大,这可能有 2 个方面的原因:一是绣球花资源分布广泛,种类较多,分布区域跨不同气候带,适应性广,本身具有很好的遗传基础;二是绣球花新品种培育多采用杂交方式,有利于品种或种之间的基因交流;绣球、圆锥绣球 2 个种的基因多样性为 0.375 8,种内变异占 75.20%,存在一定的种间变异,但种内变异起主导作用,开展种内杂交更有利于获得杂交后代。

参考文献:

- [1] 朱安琪. 绣球属 4 个种植物铝吸收特性的研究[D]. 长沙:湖南农业大学,2009.
- [2] 种楠. 栎叶绣球(*Hydrangea quercifolia*)对铅、铜胁迫的生理响应及铅在其体内的积累特性研究[D]. 南昌:江西财经大学,2013.
- [3] 辛雅芬,石玉波. 高温对八仙花生理指标的影响[J]. 安徽农业科学,2009,37(11):5204-5206.
- [4] 彭尽晖,陈海霞,龚雯,等. 铝胁迫对八仙花离体植株质膜透性与抗氧化系统的影响[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版),2013,39(1):42-44.
- [5] 孙强,虞秀明,姚红军. 绣球属品种资源收集及扦插生根能力比较[J]. 北方园艺,2016(11):71-73.
- [6] 郭玉敏,黄银. 不同配比基质对 3 个八仙花品种根系生长的影响[J]. 林业实用技术,2013(3):52-53.
- [7] 黎雯茜,胡春梅,蔡信欢,等. 基质和激素对八仙花嫩枝扦插生根的影响[J]. 湖南农业科学,2013(15):159-160.
- [8] 张咏新. 银边八仙花的扦插繁殖试验[J]. 北方园艺,2012(21):69-70.
- [9] 王忠武,建德锋. 八仙花茎尖离体培养技术研究[J]. 北方园艺,2012(9):129-130.
- [10] 冯润东,孙宏刚. 八仙花组织培养繁殖技术[J]. 北华大学学报(自然科学版),2011,12(3):350-352.
- [11] 雷亚灵,李周岐. 八仙花茎段组织培养技术研究[J]. 西北林学院学报,2008,23(4):101-103,108.
- [12] 任叔辉. 八仙花的组织培养与快繁技术[J]. 防护林科技,2006(1):10-11.
- [13] 焦隽,梁丽君,马辉,等. 绣球种质资源引进与栽培技术[J]. 现代农业科技,2016(11):203-204.
- [14] 刘桂兰,刘宏,袁伟伟,等. 都山绣球组培苗露地栽培研究[J]. 中国园艺文摘,2014(10):30-31.
- [15] 周德旗,汉梅兰,朱亚灵,等. 大花圆锥绣球繁育及栽培技术[J]. 中国园艺文摘,2014(12):161-161,222.
- [16] 徐慧,刘超,钟汉东. 不同光照强度对八仙花开花的影响[J]. 北方园艺,2014(1):81-82.
- [17] 林丽飞,李卫芬,胡先奇,等. 绣球花短粗根病原线虫的种类鉴定[J]. 植物保护,2009,35(2):131-133.

朱姗颖,康启鑫,武亚楠,等. 杆状病毒 *ctl* 基因的进化分析[J]. 江苏农业科学,2017,45(9):22-26.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.09.006

杆状病毒 *ctl* 基因的进化分析

朱姗颖¹, 康启鑫², 武亚楠², 陈奕蓄², 王文兵³, 何华纲²

(1. 江苏大学环境与安全工程学院, 江苏镇江 212013; 2. 江苏大学食品与生物工程学院, 江苏镇江 212013;

3. 江苏大学医学院, 江苏镇江 212013)

摘要:苜蓿尺蠖核型多角体病毒(AcMNPV)芋螺毒素类似多肽(CTL)具有酚氧化酶抑制剂活性,在农业害虫的生物防治领域具有潜在的应用价值。为了揭示杆状病毒 *ctl* 基因的进化特点,对杆状病毒 CTLs 进行多序列比对分析和分类研究。结果表明,杆状病毒 CTLs 可分为 I 型、II 型,2 种类型的 CTLs 都具有相同的二硫键骨架,但涉及昆虫酚氧化酶抑制剂活性的酪氨酸残基在 2 种类型 CTLs 中的数目、位置明显不同;另外, I 型 CTLs、II 型 CTLs 的理化性质也存在明显差异,疏水性氨基酸平均含量分别为 29.7%、21.3%,净电荷平均值分别为 -3.56、+0.507,等电点平均值分别为 3.86、7.32。由此推测, I 型 CTLs、II 型 CTLs 在功能上可能存在着重要分化。

关键词:杆状病毒; *ctl* 基因; 分类; 进化

中图分类号:Q753 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2017)09-0022-05

芋螺毒素(conotoxin)是由海洋软体动物芋螺分泌的一类用于自卫和捕食的活性多肽,一般由 10~30 个氨基酸残基组成,富含半胱氨酸(C)。芋螺毒素能特异性地作用于钾、钠、钙等离子通道、细胞膜上的各种神经递质、激素的受体,从而干扰细胞或神经中的信号传递,在治疗慢性疼痛、急性疼痛、

神经保护等方面具有广泛的应用前景。根据保守的信号肽序列,芋螺毒素可分为 A、M、O、I、P、S、T 等超家族;进一步依据其半胱氨酸骨架及药理活性,又可分为 α 、 μ 、 ω 、 δ 、 Ψ 、 σ 、 λ 、 κ 、 γ 等家族^[1]。

1992 年, Eldridge 等从苜蓿尺蠖核型多角体病毒(*Autographa californica* nucleopolyhedrovirus, 简称 AcMNPV)中鉴定了 1 个基因,该基因编码的蛋白质序列与 ω -芋螺毒素具有一定的相似性且具有相同的二硫键骨架($C_1-C_2-C_3-C_4-C_5-C_6$),因此将其命名为类芋螺毒素基因(conotoxin-like, 简称 *ctl*)^[2]。但 Eldridge 等通过体内、体外试验都未能证明杆状病毒 *ctl* 基因的任何功能^[2-3]。曹青等发现, AcMNPV CTL 不仅对金黄色葡萄球菌、微球菌等具有显著的抗菌活性,还可对酚氧化酶起到抑制作用,能阻止昆虫血液的黑化^[4-5]。本研究从 GenBank 数据库中收集已知的杆状病毒 *ctl* 基因,对

收稿日期:2016-11-02

基金项目:国家自然科学基金(编号:31300138);江苏省自然科学基金(编号:BK2011491);江苏大学高级专业人才科研启动基金(编号:11JDG058)。

作者简介:朱姗颖(1978—),女,江苏常州人,博士,副教授,主要从事病毒分子生物学研究。Tel:(0511)88790931;E-mail:zhushanying@ujs.edu.cn。

通信作者:何华纲,博士,副教授,主要从事病毒分子生物学研究。Tel:(0511)88780201;E-mail:hghg@mail.ujs.edu.cn。

[18]蒋新龙. 绣球花花、叶总黄酮的提取工艺和含量测定[J]. 丽水学院学报,2007,29(5):37-41.

[19]冯卫生,张艳丽,郑晓珂,等. 绣球花的化学成分研究[J]. 中国药学杂志,2011,46(8):576-579.

[20]屈连伟. 绣球花新品种选育——种子收获和播种[J]. 中国花卉园艺,2013(8):30-32.

[21]海 风,屈连伟,赵兴华. 绣球花人工杂交技术研究[J]. 北方园艺,2014(12):72-74.

[22]Zietkiewicz E, Rafalski A, Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification[J]. Genomics, 1994, 20(2):176-183.

[23]董海燕,季孔庶,侯伯鑫,等. 基于 ISSR 标记的红花檵木品种亲缘关系分析[J]. 园艺学报,2014,41(2):365-374.

[24]胡仲义,林 立,刘 夔,等. 26 个川茶花品种亲缘关系的 ISSR 分析[J]. 植物研究,2013,33(5):629-634.

[25]严 华. 几种国兰形态学及 ISSR 分子鉴定[D]. 雅安:四川农业大学,2011.

[26]王湘莹,何 钢,王晓明,等. 金银花不同品种间遗传变异的

ISSR 分析[J]. 中南林业科技大学学报,2013,33(11):77-82.

[27]杨 梅,张 敏,师守国,等. 武当木兰种群遗传结构的 ISSR 分析[J]. 林业科学,2014,50(1):76-81.

[28]周永刚. 崇明水仙种质资源细胞学分析及 ISSR 分子鉴定[D]. 雅安:四川农业大学,2011.

[29]李延龙,张 明,曹秀敏,等. ISSR 分子标记技术在金叶女贞品种鉴定中的应用[J]. 安徽农学通报,2008,14(22):39,34.

[30]索志立. 利用 DNAISSR 分子标记技术对芍药属植物栽培品种的分类鉴定方法[J]. 生物技术通报,2008(增刊1):109-112.

[31]彭继庆,曹福祥,许若娴. 壳菜果 ISSR-PCR 反应体系的建立与优化[J]. 中国农学通报,2012,28(16):53-59.

[32]范海艳,曹福祥,彭继庆,等. 博白大果油茶 ISSR-PCR 反应体系的建立与优化[J]. 中南林业科技大学学报,2011,31(4):97-103.

[33]缪恒彬,陈发棣,赵宏波. 85 个大菊品种遗传关系的 ISSR 分析[J]. 园艺学报,2007,34(5):1243-1248.

[34]李艳香. 19 个绣球属种质资源的 SRAP 分析[D]. 长沙:湖南农业大学,2009.