

· 药材与资源 ·

肉苁蓉种质资源多样性的 AFLP 分析

徐 荣¹, 陈 君^{1*}, 陈士林¹, 刘同宁², 娜 仁³

(1. 中国医学科学院 中国协和医科大学药用植物研究所, 北京 100094; 2. 宁夏永宁县本草苁蓉种植基地, 宁夏 银川 750100; 3. 内蒙古阿拉善盟药品检验所, 内蒙古 阿拉善盟 750306)

摘要:目的 分析栽培与野生肉苁蓉 *Cistanche deserticola* 种质资源多样性。方法 对 58 个种植基地和野生肉苁蓉单株进行 AFLP 分析, 利用 PopGene32 软件分析群体的遗传多样性。结果 栽培肉苁蓉多态位点百分率 79.16%, 野生居群总计多态位点百分率 89.53%, 4 个居群平均 Nei's 基因多样性指数为 0.193 8, Shannon's 多态性信息指数为 0.300 4, 基因分化系数 G_{st} 为 0.097 9。结论 栽培与野生肉苁蓉遗传多样性均较高, 遗传分化很小。说明现阶段该物种的种内丰度较高, 其濒危原因不在于此。因此, 野生抚育和人工栽培是保护肉苁蓉资源并实现可持续利用的根本方向。

关键词: 肉苁蓉; 种质资源; 遗传多样性; AFLP

中图分类号: R282.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2670(2007)11-1703-05

AFLP Analysis on diversity of germplasm resource in cultivated and wild *Cistanche deserticola*XU Rong¹, CHEN Jun¹, CHEN Shi-lin¹, LIU Tong-ning², Na Ren³

(1. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100094, China;

2. Ningxia Yongning Plantation of Herba Cistanche, Yinchuan 750100, China; 3. Inner Mongolia

Alasan League Institute for Drug Control, Alasan 750306, China)

Abstract: **Objective** To determine the genetic diversity of germplasm resource in cultivated and wild *Cistanche deserticola*. **Methods** Fifty-eight samples from three populations of cultivated and wild *C. deserticola* were analyzed by amplified fragment length polymorphism (AFLP) DNA markers, and the genetic diversity was evaluated by PopGen32. **Results** The average percentage of polymorphic loci (PPL) of cultivated *C. deserticola* is 79.16%. The PPL of wild population is 89.53%. Average Nei's gene diversity index (H_e) from four populations was 0.193 8, Shannon's genetic diversity index (I) was 0.300 4, and genetic differentiation index (G_{st}) was 0.097 9. **Conclusion** The diversities of cultivated and wild *C. deserticola* are both higher and there's no differentiation between them. It shows that genetic diversity of in-species is higher, which is not the reason for endangerment. Therefore, wild nursery and artificial cultivating are the best measures for the conservation and sustainable utilization in *C. deserticola*.

Key words: *Cistanche deserticola* Y. C. Ma; germplasm resources; genetic diversity; amplified fragment length polymorphism (AFLP)

肉苁蓉 *Cistanche deserticola* Y. C. Ma 分布于我国的内蒙古、新疆、甘肃和宁夏一带, 是我国传统的名贵中药材, 是历代补肾壮阳类处方中使用频度最高的补益药物之一, 素有“沙漠人参”之美誉。近年来, 野生肉苁蓉资源量已不足过去的 1%, 资源已濒临枯竭。肉苁蓉及寄主梭梭 *Haloxylon ammodendron* (C. A. Meyer) Bunge 已被列为二级保护植物^[1,2], 并收入《国际野生植物保护名录》, 同时被列

入濒危动植物种国际贸易公约(CITES)附录二, 国家明令禁止采挖野生肉苁蓉, 鼓励发展人工种植, 以减少对野生资源的破坏并满足国内外市场需要。

AFLP (amplified fragment length polymorphism 扩增片段长度多态性)^[3]已被广泛用于种质资源多样性分析、品种鉴定、图谱构建等研究。其特异分辨率高, 与 RAPD 等相比, 一次扩增可获得更高的位点多态性。目前尚未见到这种新方法应用于

收稿日期: 2007-02-15

基金项目: 科技部国家科技攻关项目: 濒危药材肉苁蓉种质资源评价研究(2004BA721A36)

* 通讯作者 陈 君, 研究员, 研究方向为药用植物栽培与保护。Tel: (010)62899731 E-mail: junzichen@263.net

肉苁蓉种质资源研究的报道。

本实验应用 AFLP 分子标记技术分析了栽培与野生肉苁蓉种质资源多样性,为肉苁蓉的资源保护和可持续利用指明方向;同时为肉苁蓉核心种质库的建立及野生抚育和规范化种植中优良种质的选育提供分子依据。

1 材料与方法

1.1 材料:栽培样品采自宁夏永宁县本草苁蓉种植基地,共采集 30 个单株。野生样品采自肉苁蓉道地产区内蒙古阿拉善盟左旗的吉兰泰、右旗塔木苏和额济纳旗。采样点均为主产区,各居群间相距 200 km 以上,每居群随机取样约 10 个单株。所有样品均由本所陈君研究员鉴定。

实验材料均于 2005 年 5 月初取自刚出土的新鲜肉苁蓉茎尖及周围新鲜鳞片,每株取样 2 g 左右置硅胶中并于 -22 ℃ 下快速干燥,用于 DNA 提取。

1.2 方法:AFLP 方法的酶切和连接采用一步法^[4]进行,扩增反应参照鼎国生物技术有限公司 FISH—AFLP 试剂盒说明。引物筛选选择栽培和野生样品各一个进行。

1.2.1 模板 DNA 的提取:采用鼎国生物技术有限公司植物基因组 DNA 提取试剂盒,用 CTAB 法提取;0.8% 琼脂糖检测 DNA 纯度、完整性及产量。

1.2.2 模板 DNA 的限制性酶切与连接:在 0.5 mL 离心管中加入 (20 μL 体系):4 μL DNA 模板,1 μL Adapter, 2 μL *EcoRI*/*MseI*, 2.5 μL 10×Reaction buffer, 2.5 μL 10 mmol/L ATP, 1 μL T4 酶, 7 μL H₂O;混匀离心数秒,37 ℃ 保温 5 h, 8 ℃ 保温 4 h, 4 ℃ 过夜。接头和 AFLP 引物序列见表 1。

1.2.3 AFLP 预扩增反应:在 0.2 mL 离心管中加入 (25 μL 反应体系): 2 μL 模板 DNA, 1 μL Pre-ampmix, 1 μL dNTPs, 2.5 μL 10×PCR buffer, 0.5 μL *Taq* 酶, 18 μL H₂O;混匀离心数秒,扩增用 Gene Amp RCR System 9600 (Perkin Elmer, 美国),首先 94 ℃ 预变性 2 min, 然后进行 30 个循环 (94 ℃ 变性 30 s, 55 ℃ 复性 30 s, 72 ℃ 延伸 80 s), 最后 72 ℃ 延伸 5 min。

1.2.4 AFLP 选择性扩增反应:采用 3+3 引物组合;*EcoRI* 和 *MseI* 选择性扩增引物均含 3 个选择性碱基。用 AFLP-TE 将预扩增产物按 1:20 稀释,作为选扩模板;在 0.2 mL 离心管中,按下列方式加入 2 μL 模板, 2.5 μL 10×PCR buffer, 0.5 μL dNTPs, 1 μL *EcoRI* 引物, 1 μL *MseI* 引物, 0.5 μL *Taq* 酶, 17.5 μL H₂O;混匀,离心数秒,采用梯度

PCR 法进行扩增:首先 94 ℃ 预变性 2 min (94 ℃ 预变性 30 s, 65 ℃ 复性 30 s, 72 ℃ 延伸 80 s) 循环一次;以后每次循环温度递减 0.7 ℃, 扩增 12 轮;接着进行 23 个循环 (94 ℃、30 s, 55 ℃、30 s, 72 ℃、80 s);最后 72 ℃ 延伸 5 min。

取 1 μL PCR 产物加 1 μL 内标 (GENE-MARK500) 和 1 μL 变性液于 95 ℃ 放置 2 min, 冰浴, 进样。

表 1 DNA 接头和 AFLP 引物序列

Table 1 DNA Linker and AFLP primers sequence

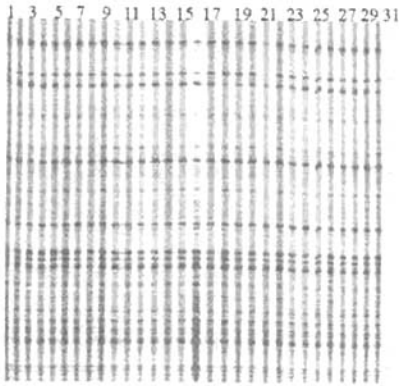
接头和引物	碱基序列
<i>EcoRI</i> 接头 1	5'>CTC GTA GAC TGC GTA CC<3'
<i>EcoRI</i> 接头 2	5'>AAT TGG TAC GCA GTC TAC<3'
<i>MseI</i> 接头 1	5'>GAC GAT GAG TCC TGA G<3'
<i>MseI</i> 接头 2	5'>TAC TCA GGA CTC AT<3'
<i>EcoRI</i> 预扩增引物序列	
	5'>GAC TGC GTA CCA ATT CA<3'
<i>EcoRI</i> 选择性扩增引物序列 (5 ng/μL):	
E1	5'>GAC TGC GTA CCA ATT CAA C
E2	5'>GAC TGC GTA CCA ATT CAA G
E3	5'>GAC TGC GTA CCA ATT CAC A
E4	5'>GAC TGC GTA CCA ATT CAC T
E5	5'>GAC TGC GTA CCA ATT CAC C
E6	5'>GAC TGC GTA CCA ATT CAG G
E7	5'>GAC TGC GTA CCA ATT CAG C
E8	5'>GAC TGC GTA CCA ATT CAG G
<i>MseI</i> 预扩增引物序列	
	5'>GAC GAG TCC TGA GTA AC<3'
<i>MseI</i> 选择性扩增引物序列 (30 ng/μL):	
M1	5'>GAT GAG TCC TGA GTA ACA A
M2	5'>GAT GAG TCC TGA GTA ACA C
M3	5'>GAT GAG TCC TGA GTA ACA G
M4	5'>GAT GAG TCC TGA GTA ACA T
M5	5'>GAT GAG TCC TGA GTA ACT A
M6	5'>GAT GAG TCC TGA GTA ACT C
M7	5'>GAT GAG TCC TGA GTA ACT G
M8	5'>GAT GAG TCC TGA GTA ACT T

1.2.5 扩增产物的凝胶电泳:利用 ABI377 自动测序仪,注射器吹打加样孔加样,预电泳 3 min 后点击 Pause 键暂停测序仪,设置后开始电泳。在 4% 的变性聚丙烯酰胺凝胶上电泳 2.4 h, 选择 Run Module: GS Run36F-2400 即可采集到清晰的 AFLP 指纹图谱。

2 结果与分析

2.1 引物筛选结果:从 64 对 AFLP *EcoRI*/*MseI* 引物中筛选出扩增图谱清晰的 8 对引物。分别为 E1/M2、E2/M3、E2/M5、E3/M3、E3/M5、E4/M7、E8/M5、E8/M7。具体序列见表 1。

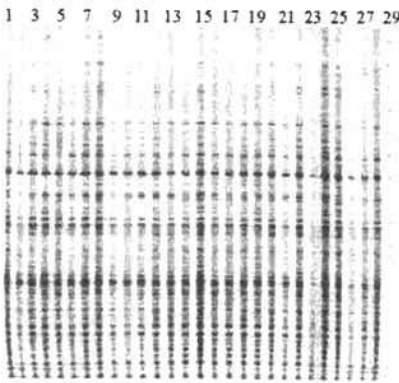
2.2 AFLP 扩增图谱分析:利用 GeneScan3.1 软件将 58 个样品、8 对引物组合扩增出的电泳图谱 (图 1、2) 转化为相对分子质量数据,再根据无带和有带



泳道1~30为宁夏肉苁蓉繁育基地样品,31为内标
Lanes—30 are from Ningxia Plantation of *Herba Cistanche*,
lane 31 is GENEMARK500

图1 栽培肉苁蓉样品用E2/M5引物对扩增DNA电泳谱图

Fig. 1 Electrophoresis for amplified total DNAs of cultivated *C. deserticola* using E2/M5 primers



泳道1~8为吉兰泰样品,9~18为额济纳样品,
19~28塔木苏样品,29为内标(0~500 bp)
Lanes 1—8 are from Jilantai of Alasan, Lanes 9—18 are
from Ejina, Lanes 19—28 are from Tamusu,
Lane 29 is GENE-Marker (0—500bp)

图2 野生肉苁蓉样品用E1/M2引物对扩增DNA电泳谱图

Fig. 2 Electrophoresis for amplified total DNAs of wild *C. deserticola* using E1/M2 primers

情况转化为0,1数据矩阵,采用NTSYSpc 2.11软件包进行个体聚类分析^[5]。

利用Popgene32计算各个居群的多态位点百分率PPL(Percentage of Polymorphic Loci); Nei's基因多样性指数 H_e [Nei's Gene Diversity: $H=1-(P_1^2+P_2^2+\dots)$]^[5]; Shannon's多态性信息指数 I (Shannon's information index)^[6];基因分化系数 G_{st} [the coefficient of gene differentiation among

populations within species, Nei's (1973)把总基因多样性 H_t 分解为居群内基因多样性 H_s 和种群间遗传多样性 D_{st} ,即 $H_t=H_s+D_{st}$,而 $G_{st}=D_{st}/H_t=(H_t-H_s)/H_t$]^[5]; Nei's (1978)遗传一致度 IN (genetic identity)和遗传距离 D (Genetic Distance)^[7],并采用UPGMA法进行聚类分析。

2.3 遗传多样性分析:所有样品经AFLP扩增片段长度为50~500 bp;总位点数1 022个,其中多态性位点995个,多态位点百分率97.36%, $H=0.2036$, $I=0.3270$,说明肉苁蓉在物种水平上具有较高的遗传多样性。居群间遗传多样性指标见表2(n 为样本数,PL为多态性位点数)。

表2 4个肉苁蓉居群的遗传多样性水平

Table 2 Genetic diversity level in four populations of *C. deserticola*

居群	n	PL	PPL/%	H_e	I
吉兰泰	8	682	66.73	0.2103	0.3209
额济纳	10	618	60.47	0.1612	0.2541
塔木苏	10	713	69.75	0.2121	0.3251
野生总计	28	915	89.53	0.2195	0.3464
种植基地	30	809	79.16	0.1916	0.3016
总平均			72.41	0.1938	0.3004

居群特异带和居群间共有带的不同揭示了各居群间的遗传差异和相似性,为遗传资源的保护、选择和利用提供了依据。因此,多态位点百分率PPL是应用广泛的多样性指标,栽培肉苁蓉PPL为79.16%,野生居群PPL平均值为65.65%,总计PPL为89.53%。结果显示:栽培与野生肉苁蓉遗传多样性均较高,而野生居群比种植基地的群体的多态性低,而将所有野生样本综合考虑时,其多态性明显增高。说明各野生居群仍包含着独特的基因型;而种植基地种源较混杂,多态性介于两者之间。

2.4 肉苁蓉的遗传变异分析: Nei's基因多样性指数 H_e 是衡量居群遗传分化最常用的指标之一,为总的遗传变异中居群间变异所占的比例。结果显示,所有群体中的 H_e 和 I 大小趋势一致,而只在野生居群间 H 和 L 大小与PPL的大小趋势基本一致。说明种植基地种质个体之间的差异较大,而居群间遗传分化程度不高。

再根据表3中遗传多样性水平在居群内(H_s)、居群间的分化(D_{st})和居群间遗传差异在总遗传差异中所占的比例(G_{st})可知:肉苁蓉的总基因多样性 H_t :0.2148,其中 H_s :0.1938, $G_{st}=0.0979$ 。结果表明,居群间均有较低程度的遗传变异,肉苁蓉居群间变异只占总变异的9.79%。居群间的 N_m 为4.6412($N_m=0.5(1-G_{st})/G_{st}$),为基因流强度每

表3 肉苁蓉的遗传变异分析
Table 3 Differentiation analysis of four populations of *C. deserticola*

	Ht	Hs	Gst	Nm
平均值	0.214 8	0.193 8	0.097 9	4.641 2
标准差	0.028 1	0.023 1		

代迁移数),显示较高的基因流。

2.5 居群间遗传一致度和遗传距离及其聚类分析: 4个居群的遗传一致度 *IN* 和遗传距离 *D* 见表4。*IN* 在0.955 7~0.982 8, *D* 在0.001 72~0.044 3,说明居群间的相似程度高,遗传分化小。不同居群进行UPGMA聚类分析结果表明,栽培肉苁蓉与额济纳地区野生居群最相似(图3)。

表4 遗传一致度(左下)和遗传距离(右上)

Table 4 Similarity index (left down) and genetic distance (right up)

居 群	1 吉兰泰	2 额济纳	3 塔木苏	4 种植地
吉兰泰 1		0.044 3	0.042 3	0.036 1
额济纳 2	0.955 7		0.039 1	0.017 2
塔木苏 3	0.957 7	0.960 9		0.032 6
种植地 4	0.963 9	0.982 8	0.967 4	

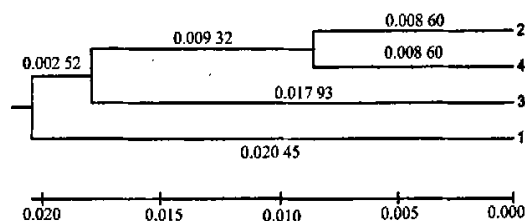


图3 4个居群基于遗传距离的UPGMA聚类图

Fig. 3 UPGMA Dendrogram of four populations with genetic distance

3 讨论

3.1 肉苁蓉的遗传多样性和遗传分化: 崔光红等^[8]应用RAPD分析了新疆吉木萨尔县和内蒙古阿拉善盟的吉兰泰地区2个野生肉苁蓉 *C. deserticola* 居群的遗传多样性,两居群PPL分别是39.47%和35.53%,总计PPL为47.37%,*Gst*=0.254 6,多样性水平极低,并已明显分化成2个生态型。而本实验测得28个野生样品的总计PPL为89.53%,*Gst*=0.097 9,他们多样性水平较高,居群间遗传分化小。李雅丽等^[9]用RAPD对内蒙古阿拉善盟和巴彦淖尔盟两个地区的肉苁蓉进行了聚类分析,得出两地区肉苁蓉存在种内分化,而同属阿拉善盟的左旗和额济纳旗相似系数为0.926,比本实验的0.955 7略低。总之,本实验中所得的遗传多样性水平和遗传分化程度与以往研究结果存在一定差异,主要原因可能有两点。首先分子标记的不同造成多样性分析结

果的差异,由于AFLP特异分辨率高,与RAPD相比,可获得更高的位点多态性;其次,取样地点的差异是造成遗传分化和聚类结果不一致的主要原因。崔光红^[8]所取实验材料跨越新疆和内蒙古两省,李雅丽^[9]的跨越了阿盟和巴盟两市,因此他们的结果是不同地区间肉苁蓉存在种内分化。而本实验的材料取自同属道地产区阿盟的3个旗(县),所以遗传分化很小。当然,这些结果也可同时说明遗传距离与地理距离存在相关性。

然而,在遗传多样性方面笔者认为肉苁蓉种内存在较高的多样性水平。首先,不仅得到肉苁蓉DNA分子的遗传多样性水平高,并且在形态特征、产量及品质性状等方面的多样性也很显著(待发表)。其次,物种的遗传多样水平与其生物学特性和生长环境密不可分,而繁育特性直接影响植物的遗传多样性水平。对其开花传粉特性也进行了全面研究,结果表明肉苁蓉为虫媒异花授粉植物^[10],而传粉昆虫多样,飞行距离较长(待发表),使得居群间基因交流较为频繁。此外,牛东玲等^[11]研究发现野生肉苁蓉的花粉生活力是比较高的,在适宜的萌发条件下,初花期花粉可达到93.6%的萌发率,这对于传粉、受精是很有利的。因此,肉苁蓉种内存在较高的多样性是可能的。

3.2 栽培与野生肉苁蓉的遗传分化: 从建立核心种质库及选育优良品种的需要出发,首次对栽培和野生肉苁蓉种质进行了细致的评价研究,希望发现栽培引种对肉苁蓉的遗传多样性及其品质等方面的影响,并从中选育出性状优良、多样性丰富的个体或群体。从品质角度考虑,主要选择历代公认的道地产区阿拉善盟进行种源引进,同时对人工种植群体和该地区的几个野生居群进行采样分析。肉苁蓉的人工种植刚刚起步,种植基地种源均来自各个野生居群,因此栽培与野生肉苁蓉的遗传分化很小。实验基地大部分种子购买于阿盟额济纳旗,少量种子来自阿盟右旗塔木苏地区,因此,栽培肉苁蓉与额济纳地区野生居群非常相似,但遗传多样性又较其高一些。AFLP分析结果与实际情况一致,这也证明了该实验的准确度。

3.3 肉苁蓉濒危原因及保护建议: 导致物种濒危的原因大致来自物种内、外两方面。内因包括物种内部的遗传、生理、发育和生殖生物学特性及居群的遗传结构和动态等;外因是指物种所处环境条件的变化,主要包括大环境生态环境因子的改变、生境的破坏以及人类的过度利用等。内、外因素共同作用往往是

物种濒危的主要原因。

本课题组多年研究结果表明,肉苁蓉种内 DNA 分子遗传多样性较丰富,并在形态特征、产量及品质性状等方面多样性显著,说明现阶段该物种的种内丰度较高,其濒危原因不在此;而肉苁蓉的生境独特、专性寄生、生长缓慢、自然繁殖率低、异花授粉、种子休眠等脆弱的生物学特性影响它们的生存和繁衍,使其在受到长期的人为干扰时自我更新困难,导致濒危。因此,在现阶段建立管理规范的自然保护区,并配合野生抚育,完全能够提高其野生资源的蕴藏量。而由于药材的需求量逐年扩大,必须同时大力发展人工种植,才能满足市场需求,实现资源的可持续利用。而核心种质库的建立、良种繁育和种植基地的规范建设应是肉苁蓉资源保护和利用过程中的重要任务。

References:

- [1] Fu L G. *The Rare and Imminent Danger Plant in China* (中国珍稀濒危植物) [M]. Shanghai: Shanghai Educational Press, 1989.
- [2] Tu P F, He Y P, Lou Z C. Herbarological study on *Cistanche deserticola* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1994, 19 (1): 3-5.
- [3] Vos P, Hoger R, Bleekett M. *et al.* AFLP, A new technique for DNA fingerprinting [J]. *Nucleic Acids Res*, 1995, 23 (21): 4407-4414.
- [4] Portis E, Acquadro A, Comino C. *et al.* Effect of farmers' seed selection on genetic variation of a landrace population of pepper (*Capsicum annum* L.) grown in North-West Italy [J]. *Genet Res Crop Evolu*, 2004, 51: 581.
- [5] Nei M. Analysis of gene diversity in subdivided populations [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 1973, 70: 3321-3323.
- [6] Shannon C E, Weaver W. *The Mathematical Theory of Communication* [M]. Urbana: Univ Illinois Press, 1949.
- [7] Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals [J]. *Genetics*, 1978, 89: 583-590.
- [8] Cui G H, Chen M, Huang L Q. *et al.* Study on genetic diversity of *Herba Cistanches* by RAPD [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2004, 29(8): 727-730.
- [9] Li Y L, Zhang K, Wang H X. Random amplified polymorphic DNA analysis of *Cistanche deserticola* Maenend Ma in two endemic areas of Inner Mongolia [J]. *J Baotou Univ Iron Steel Technol* (包头钢铁学院学报), 2005, 24(2): 185-187.
- [10] Chen J, Liu T N, Cheng H Z. *et al.* Study on the pollination characteristic of *Cistanche deserticola* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2003, 28(6): 504-506.
- [11] Niu D L, Song Y X, Guo S H. *et al.* Studies on pollen viability of *Cistanche deserticola* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2004, 35(6): 679-682.

青羊参遗传转化中组织培养系统的研究

邱璐¹, 王波¹, 范树国¹, 罗春梅², 李艳华², 陈凯¹, 周银燕¹, 杨启国¹, 杨福锁¹

(1. 云南省楚雄师范学院, 云南 楚雄 675000; 2. 云南省楚雄农业学校, 云南 楚雄 675000)

摘要:目的 建立用于遗传转化的青羊参组织培养系统。方法 以不同外植体部位、不同消毒剂、不同消毒时间建立无菌苗;以不同外植体部位、不同激素种类及配比、不同质量浓度的 2,4-D 与 KT 诱导青羊参愈伤组织形成、继代、分化;测定青羊参对标记基因分解物庆大霉素(Gent.)的敏感性。结果 以青羊参的种子及茎段做外植体,以 10%次氯酸钠消毒种子 20~30 min,或以 0.2%HgCl₂ 消毒茎段 3 min 建立无菌苗具有最好效果;青羊参的种子、根、茎、叶易于形成愈伤组织;2,4-D 对青羊参愈伤组织的形成是必要的;青羊参对 KT 较为敏感,不论用 KT 诱导青羊参愈伤组织的形成,还是诱导胚芽或腋芽形成,均有较好效果;以 MS 为基本培养基,以 2,4-D 1.0 mg/L+KT 1.0 mg/L 为激素配比诱导青羊参愈伤组织的形成具有较好效果;以 MS+2,4-D 0.5 mg/L+KT 0.5 mg/L 继代愈伤组织具有较好效果;以 MS+KT 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L 诱导种子的胚芽或茎段的腋芽萌发具有较好效果;青羊参的愈伤组织不论来源于种子,还是来源于根、茎、叶,不论使用激素 6-BA,还是使用 KT、2T、2ip 均未观察到愈伤组织分化形成不定芽;100 μg/mL 的庆大霉素是青羊参转基因植株筛选的最佳压力。结论 通过基因枪介导转基因时,选择种子或茎段在 MS+2,4-D 1.0 mg/L+KT 1.0 mg/L 培养基上萌动 14 d,形成愈伤但未形成芽的材料作为基因枪轰击材料较好。

关键词:青羊参;组织培养;愈伤组织;不定芽;遗传转化;选择压力

中图分类号:R286.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2007)11-1707-06

收稿日期:2007-02-05

基金项目:云南省自然科学基金项目(水稻 RBBI2-3 基因在几种重要兽药中的表达研究,2006C0086M),云南省学术技术带头人后备人才项目资助(2006PY01-61);楚雄师范学院院级重点建设学科项目资助(05YJJSXK03)。

作者简介:邱璐(1965—),女,重庆市,云南省楚雄师范学院副教授,硕士,主要从事植物组织培养及转基因研究工作。

肉苁蓉种质资源多样性的AFLP分析

作者：[徐荣](#), [陈君](#), [陈士林](#), [刘同宁](#), [娜仁](#), [XU Rong](#), [CHEN Jun](#), [CHEN Shi-lin](#), [LIU Tong-ning](#), [Na Ren](#)

作者单位：[徐荣,陈君,陈士林,XU Rong,CHEN Jun,CHEN Shi-lin\(中国医学科学院,中国协和医科大学药用植物研究所,北京,100094\)](#), [刘同宁,LIU Tong-ning\(宁夏永宁县本草药蓉种植基地,宁夏,银川,750100\)](#), [娜仁,Na Ren\(内蒙古阿拉善盟药品检验所,内蒙古,阿拉善盟,750306\)](#)

刊名：[中草药](#) **ISTIC PKU**

英文刊名：[CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)

年, 卷(期): 2007, 38 (11)

被引用次数: 3次

参考文献(11条)

1. [Fu L G](#) [中国珍稀濒危植物](#) 1989
2. [Tu P F](#); [He Y P](#); [Lou Z C](#) [Herbalogical study on Cistanche deserticola](#) 1994(01)
3. [Vos P](#); [Hoger R](#); [Bleekett M](#) [AFLP: A new technique for DNA fingerprinting](#)[外文期刊] 1995(21)
4. [Portis E](#); [Acquadro A](#); [Comino C](#) [Effect of farmers' seed selection on genetic variation of a landrace population of pepper \(Capsicum annuum L.\) grown in North-West Italy](#)[外文期刊] 2004(6)
5. [Nei M](#) [Analysis of gene diversity in subdivided populations](#) 1973
6. [Shannon C E](#); [Weaver W](#) [The Mathematical Theory of Communication](#) 1949
7. [Nei M](#) [Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals](#) 1978
8. [Cui G H](#); [Chen M](#); [Huang L Q](#) [Study on genetic diversity of Herba Cistanches by RAPD](#)[期刊论文]-[中国中药杂志](#) 2004(08)
9. [Li Y L](#); [Zhang K](#); [Wang H X](#) [Random amplified polymorphic DNA analysis of Cistanche deserticola Maenend Ma in two endemic areas of Inner Mongolia](#)[期刊论文]-[包头钢铁学院学报](#) 2005(02)
10. [Chen J](#); [Liu T N](#); [Cheng H Z](#) [Study on the pollination characteristic of Cistanche deserticola](#)[期刊论文]-[中国中药杂志](#) 2003(06)
11. [Niu D L](#); [Song Y X](#); [Guo S H](#) [Studies on pollen viability of Cistanche deserticola](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2004(06)

本文读者也读过(10条)

1. [徐荣](#). [王霞](#). [陈君](#). [刘友刚](#). [于晶](#). [刘同宁](#). [Xu Rong](#). [Wang Xia](#). [Chen Jun](#). [Liu Yougang](#). [Yu Jing](#). [Liu Tongning](#) [肉苁蓉种子产量构成因子分析](#)[期刊论文]-[中国农学通报](#)2010, 26(10)
2. [黄美蓉](#). [陈磊](#). [王志强](#) [肉苁蓉对败血症大鼠肺肝胸腺功能损伤的影响](#)[期刊论文]-[陕西中医](#)2009, 30(10)
3. [王凌芬](#). [赵玮](#). [王占启](#). [田翠丽](#). [李红彦](#). [毕宏观](#). [孙立新](#). [朱宁](#) [肉苁蓉保护残余肾功能的临床观察](#)[期刊论文]-[河北中医](#)2011, 33(1)
4. [赵锡安](#). [阎晓红](#). [侯金凤](#). [闫美荣](#). [刘东军](#). [ZHAO Xi-an](#). [YAN Xiao-hong](#). [HOU Jin-feng](#). [YAN Mei-rong](#). [LIU Dong-jun](#) [肉苁蓉对负荷运动小鼠肝脏保护作用的探讨](#)[期刊论文]-[内蒙古大学学报\(自然科学版\)](#) 2007, 38(3)
5. [陈德素](#). [苏世东](#). [韦健谋](#). [夏良方](#) [野生黄花蒿种源抚育技术操作规程](#)[期刊论文]-[中国农技推广](#)2009, 25(7)
6. [陈君](#). [朱兴华](#). [于晶](#). [程惠珍](#). [刘同宁](#). [Chen Jun](#). [Zhu Xinghua](#). [Yu Jing](#). [Cheng Huizhen](#). [Liu Tongning](#) [宁夏育苗肉苁蓉寄主梭梭播种期初步研究](#)[期刊论文]-[世界科学技术-中医药现代化](#)2006, 8(1)
7. [郭庆华](#). [郭美丽](#). [薛萍](#). [冯娜](#). [张汉明](#). [GUO Qing-hua](#). [GUO Mei-li](#). [XUE Qian](#). [FENG Na](#). [ZHANG Han-ming](#) [青葙SRAP体系的建立和优化](#)[期刊论文]-[中草药](#)2008, 39(2)

8. [毛新民](#), [王晓雯](#), [李琳琳](#), [王雪飞](#) [肉苁蓉总苷对大鼠心肌缺血的保护作用](#) [期刊论文]-[中草药](#)1999(2)
9. [陈君](#), [谢彩香](#), [陈士林](#), [孙成忠](#), [赵润怀](#), [徐荣](#), [于晶](#), [CHEN Jun](#), [XIE Cai-xiang](#), [CHEN Shi-lin](#), [SUN Cheng-zhong](#), [ZHAO Run-huai](#), [XU Rong](#), [YU jing](#) [管花肉苁蓉产地适宜性数值分析](#) [期刊论文]-[中国中药杂志](#)2008, 33(5)
10. [徐辉](#), [魏晓东](#), [欧芹](#), [张鹏霞](#), [XU Hui](#), [WEI Xiao-dong](#), [OU Qin](#), [ZHANG Peng-xia](#) [肉苁蓉醇溶成分对致衰大鼠肝线粒体的保护作用](#) [期刊论文]-[黑龙江医药科学](#)2007, 30(1)

引证文献(3条)

1. [李婷](#), [林文津](#), [徐榕青](#), [张亚敏](#) [ISSR技术在药用植物种质研究中的应用](#) [期刊论文]-[中国民族民间医药](#) 2010(1)
2. [李勇](#), [应益昕](#), [赵东岳](#), [晋森](#), [丁万隆](#) [人参及西洋参栽培土壤微生物种群遗传多样性的RAPD分析](#) [期刊论文]-[中草药](#) 2010(11)
3. [杨凯](#), [杨巧荷](#), [杨树青](#), [张硕](#), [罗素琴](#) [肉苁蓉属药用植物的研究进展](#) [期刊论文]-[内蒙古医学院学报](#) 2011(5)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200711038.aspx