

• 药材与资源 •

川产羌活种质遗传多样性的RAPD分析

唐学芳¹, 蒋舜媛^{2*}, 孙辉¹, 陈铁柱², 周毅², 马小军³

(1. 四川大学 环境科学与工程系, 四川 成都 610065; 2. 四川省中医药科学院, 四川 成都 610041; 3. 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)

摘要:目的 考察羌活 *Notopterygium incisum* 的遗传特征, 探讨不同产地且有形态变异的羌活种质资源的遗传多样性、遗传分化及与环境因子的相关性。方法 用RAPD方法选择15个随机引物对四川西部4个居群33株个体叶片DNA进行扩增, 从个体间遗传关系及居群间遗传分化方面对羌活的遗传结构进行分析。结果 RAPD共检测到185条谱带, 其中128个位点为多态位点, 多态性百分率为69.19%, Nei's 基因多样性为0.2237, Shannon's 信息指数为0.3375; 壤塘和九龙居群聚为一类, 理县和泸定居群聚为一类; 茎秆颜色花纹性状与遗传差异间未表现明显相关性, 不同性状的羌活个体仍主要按居群, 即产地来源聚类; 羌活居群内和居群间的变异分别占总变异的74.67%和25.33%; 羌活居群间的遗传距离与地理距离间没有明显相关性 ($r = -0.1105, P = 0.5855$); 羌活4个居群遗传多样性大小与年均温负相关, 未达到显著水平 ($r = -0.771, P = 0.229$); 与年均降雨量正相关, 但相关不显著 ($r = 0.291, P = 0.709$)。结论 本研究表明羌活遗传多样性水平较高; 羌活的遗传变异主要分布在居群内, 但居群间已形成一定的遗传分化; 壤塘和九龙羌活个体间的遗传距离较小, 各自遗传背景较为相似。产地差异对遗传变异的影响大于因其茎秆颜色花纹不同所造成的影响。

关键词: 羌活; RAPD; 遗传多样性; 环境因子

中图分类号: R282.7

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)09-1387-06

RAPD Analysis of genetic diversity of *Notopterygium incisum* in SichuanTANG Xue-fang¹, JIANG Shun-yuan², SUN Hui¹, CHEN Tie-zhu², ZHOU Yi², MA Xiao-jun³

(1. Department of Environmental Science and Engineering, Sichuan University, Chengdu 610065, China; 2. Sichuan Academy of Traditional Chinese Medicine Sciences, Chengdu 610041, China; 3. Institute of Medicinal Plant, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100094, China)

Abstract: Objective *Notopterygium incisum* is an endangered species endemic to China and is one of the Chinese and Tibetan traditional medicinal plants. The genetic diversity of germplasm resources with morphological variation of *N. incisum* from different habitats was investigated using RAPD markers and the relation of genetic differentiation to the environmental factors was also analyzed. **Methods** Thirty-three samples of four populations collected from Luding (LD), Jiulong (JL), Lixian (LX), and Rangtang (RT) in west Sichuan were DNA amplified with 15 random primers selected by RAPD method. **Results** Fifteen random primers detected 185 sites of which 128 were polymorphic. The percentage polymorphic loci (PPB) was 69.19%, Nei's gene diversity (h) was 0.2237, and Shannon's information index (H) was 0.3375 at the species level. The RT and JL for a category, LX and LD were clustered together. There is no obvious correlation between the stem character and the genetic diversity. *N. incisum* with different characters is one cluster according to the different origin. Nested analysis showed variations within populations and among populations of *N. incisum* were 74.67% and 25.33%. Nei's unbiased genetic distance matrix compared with a corresponding geographic distance matrix showed the two matrices were not significantly correlated ($r = -0.1105, P = 0.5855 > 0.05$). The negative correlation between the genetic diversity and the average annual temperature was not up to significant level statistically ($r =$

收稿日期: 2007-12-10

基金项目: 国家科技基础条件平台项目“药用植物种质资源标准化整理、整合及共享试点”(2005DKA21004); 国家环保总局“中国重点药用生物资源调查”项目资助

作者简介: 唐学芳(1981—), 女, 四川雅安人, 四川大学2005级硕士研究生, 从事环境生态和种质资源研究。

E-mail: tangxuefang123@163.com

* 通讯作者 蒋舜媛 Tel: (028)66816644 E-mail: jsy007@vip.sina.com

-0.771, $P=0.229$); The positive correlation between genetic diversity and the average annual rainfall was related, but not significantly correlated ($r=0.291, P=0.709$). **Conclusion** The primary results showed that *N. incisum* populations are characterized by high genetic diversity. Though there are obviously genetic variations between populations, genetic variability principally existed within populations. Genetic distances among the individuals of RT and JL with similar genetic background are very small. The influence of habitat where it grows on its genetic diversity is greater than the influence caused by the difference colour and figure of its stem.

Key words: *Notopterygium incisum* Ting ex H. T. Chang; RAPD; genetic diversity; environmental factors

羌活 *Notopterygium incisum* Ting ex H. T. Chang 为伞形科羌活属多年生草本植物,我国特有种^[1,2],分布于川西高山峡谷和川西北高原、青海东南部、甘肃南部及西藏东南部等区域,生长在海拔 2 500~4 000 m 的林缘、林窗、疏林、沟谷草丛和灌丛下,以海拔 3 000~3 700 m 较集中,生长环境土壤有机质量较高,一般有枯枝落叶层和深厚腐殖质层,通透性良好,土质较疏松^[3]。羌活是常用中药羌活基源植物之一,以干燥根茎和根入药,具散寒祛风、除湿止痛之功效,用于风寒感冒头痛、风湿痹痛、肩背酸痛等症^[4]。由于长期依赖采挖,野生资源及其生境破坏严重,传统道地产区资源已近枯竭,1987 年即被国务院《中国野生药材资源保护管理条例》列为Ⅲ级保护物种,2005 年又载入《中国物种红色名录》^[5]。目前,羌活植物化学、药理、地理分布、形态学、孢粉学、分类学、环境土壤学、核型和驯化栽培等方面的研究比较多,但从 DNA 分子水平上对羌活群体遗传结构、遗传分化及多样性等方面的研究,至今尚未见报道。RAPD 分子标记技术作为一种简便快

速的分子标记技术,近年来广泛应用于植物自然群体的遗传多样性研究^[6]。先前几乎所有的相关文献对羌活植物形态的描述均为茎秆(花茎)紫色,但笔者在进行羌活种质资源收集整理中观察到相同生境下,同时还存在花秆绿色,及绿色带紫纹的过渡性特征且性状稳定。为此,本研究利用 RAPD 分子标记技术,在进行川产羌活种质遗传多样性分析的同时,探讨开花植株花茎颜色这一表现型与基因型之间的关系,为良种选育与质量评价提供一定的遗传背景参考。

1 材料

2004 和 2006 年在四川甘孜州泸定、九龙和阿坝州的理县壤塘分单株采集羌活当年萌发的新鲜幼嫩叶片,用硅胶快速干燥,编号备用,并按花茎颜色的显著差异分为 10 个类群,见表 1。居群 LX 和 LD 为原产地根茎移栽收集在种质资源圃通过无性繁殖的植株,其余为野生居群,野生采样个体距离在 1 m 以上,以确保同一基因型不被重复采样。采样正值羌活开花期,资源圃的植株物候期均早于野生居群。

表 1 羌活样品的来源

Table 1 Source of *N. incisum* populations

居群	来源	地理位置	采集时间	年均温/℃	年降水量/mm	个体	茎颜色	性状类群
LX	理县米亚罗	102°44'E	2006-07	11.4	590	1~2	紫纹	I
		31°52'N				3~4	绿色	II
		海拔 3 740 m				5~6	紫色	III
LD	泸定县	102°12'E	2006-07	12.4	636	7~9	紫色	IV
		29°63'N				10~11	绿色	V
		海拔 3 600 m						
JL	九龙县洪坝乡	101°53'E	2006-08	8.8	892	12~16	紫色	VI
		29°01'N				17~20	绿色	VII
		海拔 3 200 m				21~23	紫纹	VIII
RT	壤塘县阿斯玛乡	101°07'E	2004-09	4.7	756	24~28	紫色	IX
		32°41'N				29~33	绿色	X
		海拔 3 379 m						

2 方法

2.1 羌活基因组总 DNA 的提取:采用改良 CTAB 法提取羌活基因组总 DNA^[7]。在研磨过程中加入适

量 PVP,加入提取缓冲液(-CTAB)冰浴 10 min,7 000 r/min、4 ℃离心 10 min,收集沉淀,加入提取液,65 ℃恒温水浴 30 min,氯仿-异戊醇溶液抽提两次,

纯化过程加入 Rnase 37 °C 温浴 1 h, 加入 1/2 体积 4 mol/L NaCl, 获得的 DNA 溶于适量 0.1×TE 缓冲液 (10 ng/μL), 用 0.8% 琼脂糖凝胶电泳 (0.5×TBE) 检测总 DNA 大小和完整性, 用 λ-Hind III digest (TaKaRa) 作为相对分子质量标记, 将样品质

量浓度稀释至 3~10 ng/μL, 4 °C 保存备用。

2.2 RAPD 扩增: 引物筛选出 15 个扩增良好、条带清晰、稳定性和重复性好且相对较多条带的引物 (由上海生工生物工程技术有限公司合成) 用于全部 DNA 样品的 RAPD 扩增 (表 2)。

表 2 15 个随机引物序列及扩增结果

Table 2 Sequence and amplification of 15 random primers

引物编号	引物序列 5'-3'	条带总数	多态性条带数	多态性条带率/%
S22	TGCCGAGCTG	12	7	58.33
S24	AATCGGGCTG	7	4	57.14
S28	GTGACGTAGG	17	16	94.12
S29	GGGTAACGCC	12	9	75.00
S30	GTGATCGCAG	18	13	72.22
S31	CAATCGCCGT	13	8	61.54
S43	CTCGCCGTCA	7	5	71.43
S65	GATGACCGCC	14	8	57.14
S142	GGTGCGGGAA	4	2	50.00
S193	GTCGTTCTCTG	16	11	68.75
S406	CTGGGCAACT	16	11	68.75
S467	GTCCATGCCA	14	10	71.43
S502	CACAGCTGCC	14	8	57.14
S503	ACACAGAGGG	11	11	100.00
S1127	TCGCTGCGGA	10	5	50.00
总计	15	185	128	69.19

反应在 PTC-200 Thermocycler PCR 仪 (MJ Research 公司) 上进行, 重复一次。RAPD-PCR 反应体系经比较和优化确定为: 20 μL 体系中含 10~30 ng 模板 DNA, 20 μL 10×PCR buffer (-Mg²⁺), 2.0 mmol/L MgCl₂, 0.15 mmol/L dNTPs, 引物 0.05 μmol/L, 1 U TaqDNA 聚合酶。扩增程序: 94 °C 预变性 4 min, 94 °C 变性 45 s, 36 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 2 min, 循环 35 次, 72 °C 最后延伸 5 min, 4 °C 保温, 终止反应。扩增产物检测: PCR 扩增产物用 1.4% 的琼脂糖凝胶于 4 V/cm 的电压下电泳, 电泳缓冲液为 0.5×TBE 或 1×TAE, 0.5 μg/μL 溴化乙锭 (EB) 中染色 30 min, 用 DL2000 和 Marker I (清华天为时代) 作为标准相对分子质量标记, 在 Gene genius Bioimaging System 凝胶成像系统 (SYNGENE) 上拍照记录。

2.3 数据分析

2.3.1 RAPD 多样性表型带计数: 用 DL2000 和 Marker I 做相对分子质量标记, 对照反应产物在凝胶上的位置, 电泳图谱的每 1 条带记为 1 个位点, 只记录可辨认、两次扩增结果一致的条带。用“1”和“0”记录同一位点的“有”和“无”, 得到 0/1 矩阵输入计算机。

2.3.2 遗传结构分析: ①用 POPGENE Version 1.32^[8] 软件对羌活居群进行遗传参数分析, 分别计

算多态位点比率 (PPB)、观测等位基因数 (N_o)、有效等位基因数 (N_e)、总的基因多样性 (H_t)、居群内基因多样性 (H_s)、Shannon 多样性指数 H' (在物种水平上为 H'_s , 在居群水平上为 H'_{pop})、Nei's 基因多样性指数 (h)、Nei's 遗传分化系数 [$G_{st} = (H_t - H_s) / H_t$] 和基因流 [$N_m = (1 - G_{st}) / 2G_{st}$]、Nei's 遗传距离 (D) 和遗传相似性 (I)。②个体间遗传关系分析: 根据表征矩阵, 用 SPSS13.0 软件计算各样品间的 Jaccard 相似系数, 然后使用 Within groups linkage 进行聚类分析。③居群间遗传分化程度考察: 由 Shannon's 居群分化系数 [$(H_{sp} - H_{pop}) / H_{sp}$] 来估测居群间的遗传变异; 同时运用 AMOVApre 1.01 (Miller, 1998)^[9] 对 RAPD 表型数据矩阵进行计算, 得到表型间的距离系数, 组成 WINAMOVA 所需要的距离系数 (δ^2) 矩阵文件, 即距离文件 (.dis), 用 WINAMOVA155 (Excoffier, 1993)^[10] 进行分子方差分析 (AMOVA), 计算居群内和居群间的变异方差分布, 并利用 Nei's (1972) 计算各居群间遗传距离并按 UPGMA 聚类分析。

2.3.3 用 TFPGA 1.3 (Miller, 1997)^[11] 软件的 Mantel 检验 (置换 3 000 次) 分析 4 个居群间的遗传距离和地理距离的相关性。

2.3.4 环境参数 (年均温、年降水量) 与遗传多样性 (Shannon's 多样性指数) 相关性分析及显著性检验用 SPSS13.0 统计软件进行分析。

3 结果与讨论

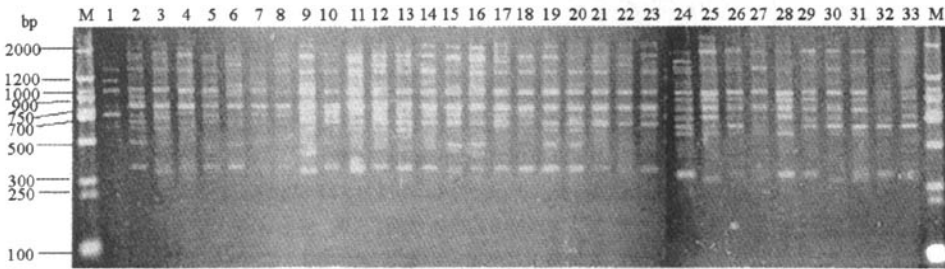
3.1 羌活种内多态性水平:RAPD 共检测到 185 条谱带,扩增片断长度介于 300~2 000 bp,其中 128 个为多态性位点,羌活多态性百分率 PPB 为 69.19%, H_{sp} 为 0.337 5, h 为 0.223 7(表 3)。各项多态性指标表明羌活的遗传多样性水平较高。图 1 为引物(S30)的扩增结果。本实验结果表明,利用 RAPD 标记检测到的羌活种质资源多态性水平,与其他濒危、狭域、特有种相比^[12~15],处于中等偏上水平。

在居群水平上,各个居群的 PPB 相差不大(40.54%~49.73%),平均多样性水平的多态条带比率为 45.00%;各个居群的 H 为 0.230 7~0.249 5,平均值 H_{pop} 为 0.241 9,Shannon's 信息指数显示各居群的遗传变异由高到低依次为:RT>LX>JL>LD;Nei's 基因多样性指数的变化规律为:LX>RT>JL>LD。LX 和 RT 居群的基因多样性相对较高,甘孜 LD 居群的遗传多样性最低(PPB = 40.54%, $N_e=1.276 9$, $h=0.156 9$, $H=0.230 7$)。

表 3 羌活遗传多样性统计

Table 3 Patterns of genetic diversity for *N. incisum*

物种	居群	多态位点数	PPB/%	N_e	N_s	h	H
羌活	LX	79	42.70	1.431 7	1.293 1	0.166 7	0.244 9
	LD	75	40.54	1.407 6	1.276 9	0.156 9	0.230 7
	JL	87	47.03	1.470 3	1.284 9	0.163 0	0.242 6
	RT	92	49.73	1.497 3	1.289 8	0.166 3	0.249 5
平均		83.3	45.00	1.451 7	1.286 2	0.163 2	0.241 9
物种水平		128	69.19	1.691 9	1.381 4	0.223 7	0.337 5



M-DNA 分子量标准(DL2000 和 Marker I) 图中 1~33 顺序与表 1 中个体编号顺序对应
M-DNA marker (DL2000 and Marker I) No. 1~33 corresponding to order of individual No. in Table 1

图 1 引物 S30 的扩增结果

Fig. 1 Amplified products of primer S30 from 33 individuals

3.2 羌活居群间的遗传分化:在假设遗传平衡时,计算出的遗传变异结果表明羌活居群间存在一定的遗传分化。4 个羌活居群总的遗传多样性 $H_t=0.207 3$,居群内的遗传多样性 $H_s=0.162 5$,居群间的遗传多样性度 ($D_n=H_t-H_s$) 为 0.044 8,Nei's 遗传分化系数 $G_{st}=0.215 8$,表明有 21.58% 的变异来自居群间,78.42% 的遗传变异存在于居群内。居群间基因流估计值 (N_m) 为 1.817 0,表明羌活居群之间的基因流水平较高。

异的 74.67% 和 25.33%,羌活遗传变异主要存在居群内(表 4)。此结果略低于 POPGENE 的分析结果。

尽管 3 种方法分析的结果在数值上有差异,但所揭示的羌活居群间遗传分化的趋势是一致的,都表明遗传变异主要存在于居群内,居群内的遗传分化大于居群间的遗传分化。

根据 Shannon's 多样性指数的分析结果(物种水平上 $H_{sp}=0.337 5$,居群水平上 $H_{pop}=0.241 9$) (表 3),计算出 Shannon's 居群分化系数为 0.283 3,即有 28.33% 的遗传变异存在于居群间,71.67% 的遗传变异存在于居群内部。此结果略低于 POPGENE 的分析结果。

3.3 羌活个体和居群间的遗传关系:根据羌活个体

表 4 羌活居群 RAPD 数据的分子变异嵌套分析
Table 4 Nested analysis of molecular variance for *N. incisum* based on RAPD data

变异来源	自由度	方差和	平均方差	变异组分	总变异百分率/%	P
居群间	3	185.68	61.89	5.70	25.33	<0.001
居群内	29	486.87	16.79	16.79	74.67	<0.001

P 值表示比观测值的变异大的概率,这个概率是通过把居群中的样本经过 1 000 次随机排列改变计算得到的

P-values are probabilities of having a more extreme variance component than observed values alone, probabilities were calculated by 1 000 random permutations of individuals across populations

利用 AMOVA 软件,计算居群内和居群间的变异方差。结果表明,居群内和居群间变异分别占总变

间的 Jaccard 相似系数,用 Within groups linkage 进行聚类(图2),结果显示,RT 居群除 32 号个体外,其余 9 个羌活个体聚为一类;JL 居群除 22、23 号个体,其余 10 个羌活个体聚为一类,表明直接从野外采样的壤塘和九龙羌活居群内部个体间的遗传距离较小,遗传背景较为相似。LX 和 LD 居群的多个个体没有分别聚为一类,可能经长时间移栽到同一地方后,其居群内个体发生了较大的遗传变异。虽然 4 个居群羌活有紫秆、绿秆或紫纹的性状,但不同性状的羌活类群仍主要按居群,即产地来源聚为一类。本实验所用引物尚未能有效显示出茎秆颜色花纹性状与遗传差异的相关性,类似的结果在川白芷的研究中也有报道^[16]。

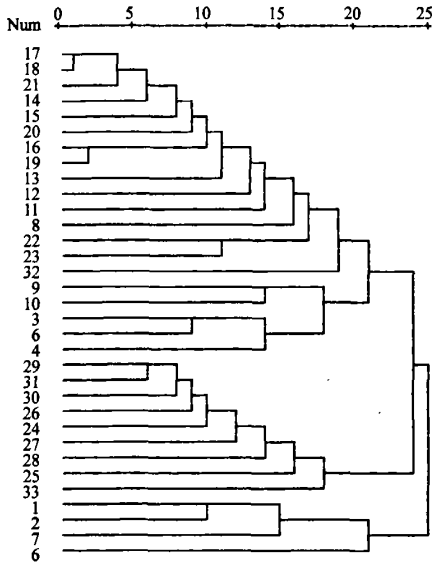


图 2 基于 Jaccard 系数及组内均联法的羌活个体 RAPD 扩增多态性聚类图

Fig. 2 RAPD Dendrogram of amplification polymorphism based on Jaccard coefficient of *N. incisum* individuals by method within groups linkage

羌活居群间的遗传距离(D)和遗传相似度(I)见表 5。泸定(LD)和理县(LX)的遗传相似度最高($I=0.9143$),遗传距离最近($D=0.0896$);壤塘(RT)和理县(LX)的遗传相似度较低($I=0.8899$),遗传距离较远($D=0.1166$)。4 个居群的遗传相似度相差不大且较高,平均为 0.8994。表明居群间遗传分化较小。

利用 Nei's 计算各类群间遗传距离并按 UPGMA 聚类的结果显示(图3),LX 和 LD 两个居群的关系较近,聚为一类,JL 和 RT 居群聚为一类。但对羌活 4 个居群的

表 5 羌活 4 个居群的遗传距离和遗传相似度
Table 5 Nei's genetic distance (below diagonal) and genetic identity (above diagonal) among four populations of *N. incisum*

居群名称	LX	LD	JL	RT
LX	—	0.9143	0.9032	0.8899
LD	0.0896	—	0.8964	0.8928
JL	0.1018	0.1094	—	0.9001
RT	0.1166	0.1134	0.1052	—

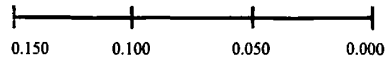


图 3 羌活 4 居群 Nei's (1972) 遗传距离的 UPGMA 聚类图
Fig. 3 UPGMA Dendrogram for four populations of *N. incisum* based on Nei's (1972) genetic distance

遗传距离和地理距离矩阵间的关系进行 Mantel 检验的结果显示,居群间的遗传距离与地理距离之间没有相关性($r=-0.1105, P=0.5855, 3000$ 次置换)。

3.4 羌活遗传多样性与环境参数的相关性分析:基于 Shannon's 信息指数的 4 个羌活居群的遗传多样性与环境参数的相关性分析显示,居群遗传多样性大小与年均温呈负相关,但未达到显著水平($r=-0.771, P=0.229$);而与年均降雨量正相关,相关性也不显著($r=0.291, P=0.709$)。羌活的居群遗传多样性与海拔、日照、积温以及植被、土壤类型等其他生态环境参数之间是否具有相关性,尚待进一步研究,以期对羌活种质资源的保护和引种选育提供理论依据。

致谢:本实验工作得到了四川大学生命科学院孙群副教授的帮助。

参考文献:

- [1] 溥发鼎,王萍莉,郑中华,等.重订羌活属的分类[J].植物分类学报,2000,38(5):430-436.
- [2] 王幼平,溥发鼎,王萍莉,等.中国特有属一羌活属的系统分类研究[J].云南植物研究,1996,18(4):424-430.
- [3] 蒋舜媛,孙辉,黄雪菊,等.羌活和宽叶羌活的环境土壤学研究[J].中草药,2005,36(6):917-921.
- [4] 中国药典[S].一部.2005.
- [5] 汪松,解焱.中国物种红色名录[M].第一卷.北京:高等教育出版社,2004.
- [6] 汪小全,邹喻苹,张大明,等.RAPD 应用于遗传多样性和系统学研究中的问题[J].植物学报,1996,38(12):954-962.
- [7] 邹喻苹,葛颂,王晓东.系统与进化植物学中的分子标记[M].北京:科学出版社,2001.

- [8] Yeh F C, Yang R C, Boyle T B J, et al. *POPGENE Version 1.31, the User-friendly Shareware for Population Genetic Analysis* [M]. Edmonton; Molecular Biology and Biotechnology Center, University of Alberta, 1997.
- [9] Miller M P. *A Program for the Preparation of AMOVA Input Files from Dominant-marker Raw Data* [M]. Flagstaff; Northern Arizona University, 1998.
- [10] Excoffier L. *Analysis of Molecular variance (AMOVA)* [M]. Geneva; University of Geneva, 1993.
- [11] Miller M P. *Tools for Population Genetics Analysis (TFPGA)* [M]. Flagstaff; Northern Arizona University, 1997.
- [12] 张颖娟, 杨 持. 中国特有种四合木种群遗传多样性的 RAPD 分析 [J]. 生态学报, 2002, 22(11): 1917-1922.
- [13] 刘登义, 储 玲, 杨月红, 等. 珍稀濒危植物天目木兰 (*Magnolia amoena*) 遗传多样性的 RAPD 分析 [J]. 应用生态学报, 2004, 15(7): 1139-1142.
- [14] 苏何玲, 唐绍清. 濒危植物资源冷杉遗传多样性研究 [J]. 广西植物, 2004, 24(5): 414-417.
- [15] 张志勇, 李德珠. 极度濒危植物五针白皮松的保护遗传学研究 [J]. 云南植物研究, 2003, 25(5): 544-550.
- [16] 马逾英, 熊 英, 贾敏如, 等. 川白芷种质的 RAPD 遗传标记研究 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2004, 6(2): 76-79.

采用 ISSR 分子标记进行草珊瑚 8 个种源的遗传多样性分析

倪开诚¹, 闵 芳¹, 郭卫东^{1*}, 斯金平², 张真真¹, 李欢津^{1*}

(1. 浙江师范大学化学与生命科学学院, 浙江 金华 321004; 2. 浙江林学院, 浙江 临安 311300)

摘要:目的 研究草珊瑚的遗传多样性及不同种源之间的遗传关系, 为保护种质资源奠定基础。方法 采用 ISSR 分子标记对 8 个种源共 51 个草珊瑚样品进行了 DNA 分子水平的分析评价, 用 Popgen32 软件计算遗传多样性和遗传距离, 通过 UPCMA 法进行聚类分析。结果 筛选出 10 条多态性 ISSR 引物用于草珊瑚不同样品的 ISSR-PCR, 检测得到 111 个位点, 其中 106 个为多态性位点, 约占 95.50%。草珊瑚不同种源间遗传距离在 0.034 7~0.185 0。8 个种源总遗传多样性主要来自种源内遗传变异, 种源间分化指数 $G_{st}=0.340 3$ 。结论 8 个草珊瑚种源大体可以分成 2 大类群。且根据遗传距离与产地海拔高度的关系, 可以将其划分为较高海拔类群 (800~900 m)、较低海拔类群 (250~300 m)、中等海拔类群 (600 m)。

关键词:草珊瑚; ISSR; 遗传多样性; 聚类分析

中图分类号: R282.7

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)09-1392-05

Analysis on genetic diversity of *Sarcandra glabra* collected from eight provenance based on ISSR markers

NI Kai-cheng¹, MIN Fang¹, GUO Wei-dong¹, SI Jin-ping², ZHANG Zhen-zhen¹, LI Huan-jin¹

(1. College of Chemistry and Life Science, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004, China;

2. Zhejiang Forestry University, Lin'an, 311300, China)

Abstract: Objective *Sarcandra glabra* is a widely-used Chinese medicinal herb, but the wild germplasm resources were decreasing. In order to protect the germplasm resources, the genetic diversity and genetic relationship among the various provenances should be analyzed. **Methods** ISSR Molecular markers were used to analyze the genetic diversity of *S. glabra* collected from eight provenances. The genetic diversity, genetic distance, and cluster analysis were performed by Popgen32 software and UPCMA method. **Results** Ten screened polymorphic primers were used in ISSR-PCR and 111 bands were amplified, among them including 106 polymorphic bands that were about 95.50%. Genetic distance of eight different provenances were ranged from 0.034 7—0.185 0. The genetic diversity of *S. glabra* mainly came from the interior variation of every provenance, for $G_{st}=0.340 3$. **Conclusion** Provenances of *S. glabra* can be divided into two groups and based on the relationship of genetic distance and altitude, the provenances can be divided as follows: correspondingly higher altitude group (800—900 m); correspondingly lower altitude group (250—300 m); middling altitude group (600 m).

Key words: *Sarcandra glabra* (Thunb.) Nakai; ISSR; genetic diversity; cluster analysis

收稿日期: 2007-12-11

基金项目: 浙江省科技计划项目 (2006C23008)

作者简介: 倪开诚 (1982—), 男, 浙江永康, 现为浙江师范大学生命科学学院植物生物技术方向在读研究生。 E-mail: nkc1982@163.com

* 通讯作者 郭卫东 E-mail: gwd@zjnu.cn

川产羌活种质遗传多样性的RAPD分析

作者: [唐学芳](#), [蒋舜媛](#), [孙辉](#), [周毅](#), [马小军](#), [TANG Xue-fang](#), [JIANG Shun-yuan](#), [SUN Hui](#), [CHEN Tie-zhu](#), [ZHOU Yi](#), [MA Xiao-jun](#)

作者单位: [唐学芳, 孙辉, TANG Xue-fang, SUN Hui \(四川大学环境科学与工程系, 四川, 成都, 610065\)](#), [蒋舜媛, 陈铁柱, 周毅, JIANG Shun-yuan, CHEN Tie-zhu, ZHOU Yi \(四川省中医药科学院, 四川, 成都, 610041\)](#), [马小军, MA Xiao-jun \(中国医学科学院中国协和医科大学, 药用植物研究所, 北京, 100094\)](#)

刊名: [中草药](#) **ISTIC** **PKU**

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

年, 卷(期): 2008, 39(9)

被引用次数: 2次

参考文献(16条)

1. 溥发鼎, [王萍莉](#), [郑中华](#) 重订羌活属的分类[期刊论文]-[植物分类学报](#) 2000(05)
2. [王幼平](#), [溥发鼎](#), [王萍莉](#) 中国特有属一羌活属的系统分类研究[期刊论文]-[云南植物研究](#) 1996(04)
3. [蒋舜媛](#), [孙辉](#), [黄雪菊](#) 羌活和宽叶羌活的环境土壤学研究[期刊论文]-[中草药](#) 2005(06)
4. [中华人民共和国药典\(一部\)](#) 2005
5. [汪松](#), [解焱](#) [中国物种红色名录](#) 2004
6. [汪小全](#), [邹喻苹](#), [张大明](#) RAPD应用于遗传多样性和系统学研究中的问题 1996(12)
7. [邹喻苹](#), [葛颂](#), [王晓东](#) 系统与进化植物学中的分子标记 2001
8. [Yeh FC](#), [Yang RC](#), [Boyle T B J](#) POPGENE Version 1.31. the User-friendly Shareware for Population Genetic Analysis 1997
9. [Miller M P](#) A Program for the Preparation of AMOV A Input Files from Dominant-marker Raw Date 1998
10. [Excoffier L](#) Analysis of Molecular variance(AMOVA) 1993
11. [Mihr M P](#) Tools for Population Genetics Analysis (TFPGA) 1997
12. [张颖娟](#), [杨持](#) 中国特有种四合木种群遗传多样性的RAPD分析[期刊论文]-[生态学报](#) 2002(11)
13. [刘登义](#), [储玲](#), [杨月红](#) 珍稀濒危植物天目木兰(Magnolia amoena)遗传多样性的RAPD分析[期刊论文]-[应用生态学报](#) 2004(07)
14. [苏何玲](#), [唐绍清](#) 濒危植物资源冷杉遗传多样性研究[期刊论文]-[广西植物](#) 2004(05)
15. [张志勇](#), [李德铎](#) 极度濒危植物五针白皮松的保护遗传学研究[期刊论文]-[云南植物研究](#) 2003(05)
16. [马逾英](#), [熊英](#), [贾敏如](#) 川白芷种质的RAPD遗传标记研究[期刊论文]-[世界科学技术-中医药现代化](#) 2004(02)

本文读者也读过(10条)

1. [史静](#), [蒋舜媛](#), [马小军](#), [孙辉](#), [周毅](#), [SHI Jing](#), [JIANG Shun-yuan](#), [MA Xiao-jun](#), [SUN Hui](#), [ZHOU Yi](#) 羌活种子发芽及实生苗生长发育的研究[期刊论文]-[中国中药杂志](#)2007, 32(18)
2. [周鹤峰](#), [张桂彬](#), [邵敏](#), [唐历波](#), [李官成](#) 羌活基因组DNA提取方法[期刊论文]-[安徽农业科学](#)2008, 36(10)
3. [古松](#), [蒋舜媛](#), [唐学芳](#), [孙辉](#), [杨志荣](#), [孙群](#), [GU Song](#), [JIANG Shun-yuan](#), [TANG Xue-fang](#), [SUN Hui](#), [YANG Zhi-tong](#), [SUN Qun](#) 羌活和宽叶羌活简单重复序列区间扩增反应体系的正交优化[期刊论文]-[时珍国医国药](#)2007, 18(12)
4. [周毅](#), [蒋舜媛](#), [马小军](#), [孙辉](#), [溥发鼎](#), [吴锐](#) 羌活资源危机和保护[期刊论文]-[中草药](#)2003, 34(10)
5. [丁平](#), [刘瑾](#), [仰铁锤](#), [邱金英](#), [DING Ping](#), [LIU Jin](#), [YANG Tie-chui](#), [QIU Jin-ying](#) 巴戟天遗传多样性的RAPD研究[期刊论文]-[中草药](#)2008, 39(12)
6. [刘志刚](#), [李发美](#), [LIU Zhi-gang](#), [LI Fa-me](#) 羌活的HPLC指纹图谱[期刊论文]-[华西药科学杂志](#)2008, 23(1)
7. [不同套种作物对宽叶羌活生长的影响](#)[期刊论文]-[安徽农业科学](#)2009, 37(29)

8. 史静, 马小军, 蒋舜媛, 赵鑫, 陈震, SHI Jing, MA Xiao-jun, JIANG Shun-yuan, ZHAO Xin, CHEN Zhen 羌活种胚后熟过程中内源激素的动态变化[期刊论文]-中草药2006, 37(2)
9. 杨新杰 太白羌活的质量标准研究[学位论文]2007
10. 蒋舜媛, 孙辉, 黄雪菊, 周毅, 马小军, 杨志荣, JIANG Shun-yuan, SUN Hui, HUANG Xue-ju, ZHOU Yi, MA Xiao-jun, YANG Zhi-rong 羌活和宽叶羌活的环境土壤学研究[期刊论文]-中草药2005, 36(6)

引证文献(2条)

1. 曹亮, 李顺祥, 魏宝阳, 黄丹, 徐菲, 佟志远 吴茱萸RAPD体系构建及道地性遗传背景研究[期刊论文]-中草药 2010(6)
2. 石张燕, 陈千良, 赵宇玮, 孙文基, 赵桂仿 陕西产秦艽质量变异与遗传多样性研究[期刊论文]-中草药 2010(10)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200809036.aspx