

## • 药材与资源 •

## 白芷种质资源遗传多样性的 ISSR 研究

郭 丁丁<sup>1</sup>, 马逾英<sup>1\*</sup>, 唐 琳<sup>2</sup>, 陈要臻<sup>2</sup>, 吕 强<sup>1</sup>

(1. 成都中医药大学药学院, 四川 成都 610075; 2. 四川大学生命科学学院, 四川 成都 610064)

**摘要:** 目的 应用 ISSR 分子标记技术分析中药白芷的遗传多样性。方法 对 4 大类商品白芷及白芷近缘野生种兴安白芷共 20 个居群的白芷种质进行 ISSR 分析, 利用 NTSYS2 1e 软件分析遗传相似系数, UPGMA 方法聚类, 构建亲缘关系系统图。结果 9 条引物共得到 97 条扩增条带, 其中多态性条带 37 条, 占 38%; 20 个居群的样品聚为两大类。结论 不同产地栽培白芷的遗传多样性水平较低, 种质间的亲缘关系较近; 而兴安白芷与 4 大类商品白芷存在遗传差异。

**关键词:** 白芷; ISSR; 种质资源; 遗传多样性

中图分类号: R282.7

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2009)10-1627-04

Genetic diversity of *Radix Angelicae Dahuricae* germplasmic resource based on ISSR analysisGUO Ding-ding<sup>1</sup>, MA Yu-ying<sup>1</sup>, TANG Lin<sup>2</sup>, CHEN Ya-zhen<sup>2</sup>, LÜ Qiang<sup>1</sup>

(1. College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, China;

2. College of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu 610064, China)

**Abstract: Objective** To determine the genetic diversity of *Radix Angelicae Dahuricae* by ISSR. **Methods** The 20 populations of germplasmic resources of *Radix Angelicae Dahuricae* including four commodity varieties and *Radix Angelicae Dahuricae* were analyzed by ISSR. To make up the systematic diagram of genetic relationship by NTSYS2 1e software and cluster by UPGMA method. **Results** A total of 97 ISSR bands from nine primers were obtained, among which 37 were polymorphic bands. The average percentage of polymorphic bands was 38%. The 20 populations of germplasmic resources of *Radix Angelicae Dahuricae* were classified into two large groups. **Conclusion** The level of germplasm diversity of *Angelica dahurica* from various habitats is lower and the affinity relationship of *Radix Angelicae Dahuricae* is closer. But there is genetic difference between *Angelica dahurica* and the four commodity varieties.

**Key words:** *Radix Angelicae Dahuricae*; ISSR; germplasmic resources; genetic diversity

白芷为一常用中药, 具有驱风散寒、燥湿排脓、止痛等功效, 临床应用广泛, 目前国内外市场需求量大。传统商品药材主要分为川白芷、杭白芷、祁白芷和禹白芷 4 大类, 分别主产于四川、浙江、河北及河南, 均为栽培品。白芷由于适应性较强, 近年来不少地区对其进行引种栽培, 有的地区已经形成一定规模, 成为了新的白芷主产区, 如安徽亳州等。关于白芷的基源植物及分类地位, 历来争议较多, 《中国药典》2005 年版收载白芷为伞形科植物白芷 *Angelica dahurica* (Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Hook. f. 或杭白芷 *A. dahurica* (Fisch. ex Hoffm.) Benth.

et Hook. f. var. *formosana* (Boiss.) Shan et Yuan 的干燥根, 近些年来, 在有关白芷种质资源多样性、亲缘关系等的研究报道中, 多认为川、杭、祁、禹 4 大类商品白芷不应做分类上的区分<sup>[1-3]</sup>。

ISSR 标记技术由加拿大蒙特利尔大学的 Zietkiewicz 等于 1994 年提出<sup>[4]</sup>, 它与之前广泛采用的 RAPD 方法相比具有更多的扩增片段, 能产生足够的多态位点, 更容易捕捉到具有该品种特有的标记指纹片段, 同时克服了 RAPD 法重复性和稳定性差的缺点, 目前已被广泛应用于植物遗传多样性分析、DNA 指纹图谱绘制及分子生态学研究等方面<sup>[5-9]</sup>。

\* 收稿日期: 2009-03-23

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30572337)

作者简介: 郭丁丁(1983-), 女, 山西太原人, 硕士研究生, 研究方向为中药品种、质量和资源开发研究。

\* 通讯作者 马逾英 Tel: 13678189939 E-mail: ma-yuying@126.com



分析。利用 NTSYS2.1e 软件进行 UPGMA 聚类分析,得到各居群间的遗传距离及聚类树状图,结果见图 2。

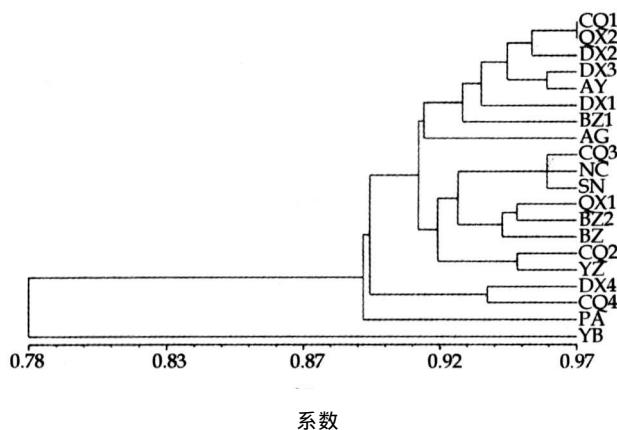


图 2 不同产地白芷 ISSR 标记遗传系数聚类图

Fig 2 Dendrogram of ISSR analysis for *Radix Angelicae Dahuricae* from various habitats

### 3 讨论

3.1 用 9 条 ISSR 引物对白芷 20 个居群的 DNA 样品进行 PCR 扩增,共扩增出 97 个清晰、稳定的位点,片段大小分布在 200~1500 bp。其中,多态性位点 37 个,平均多态位点百分率为 38%。ISSR 扩增片断的多态性因引物而异,多态性片段为 2~7 条,平均每条引物能扩增 4.1 条多态性带。

3.2 为分析各品种之间的遗传分化程度,计算了基因遗传相似度(表 3),其中川白芷样品的遗传相似度值分布在 0.969 1~0.845 4。CQ<sub>1</sub> 与 QX<sub>2</sub> 的遗传相似度值最大,为 0.969 1;HN、NC 与 DX<sub>4</sub> 的遗传相似度值最小,为 0.845 4。在分析中发现除 DX<sub>4</sub> 样品其他川白芷样品间的遗传相似度值较低外(分布在 0.845 4~0.938 1),其余所有川白芷样品间的相似度均在 0.9 以上,说明不同居群点的川白芷样品遗传相似度较高,相似性良好。

表 3 不同居群点基因遗传相似度

Table 3 Genetic similarity coefficient of materials from different populations

	CQ <sub>1</sub>	QX <sub>2</sub>	CQ <sub>3</sub>	NC	CQ <sub>2</sub>	YZ	SN	BZ <sub>1</sub>	DX <sub>1</sub>	DX <sub>4</sub>	CQ <sub>4</sub>	QX <sub>1</sub>	BZ <sub>2</sub>	DX <sub>3</sub>	YB	HZ	AG	AY	DX <sub>2</sub>	PA	
CQ <sub>1</sub>	1.000 0																				
QX <sub>2</sub>	0.969 1	1.000 0																			
CQ <sub>3</sub>	0.948 5	0.938 1	1.000 0																		
NC	0.927 8	0.896 9	0.958 8	1.000 0																	
CQ <sub>2</sub>	0.917 5	0.927 8	0.927 8	0.927 8	1.000 0																
YZ	0.907 2	0.896 9	0.896 9	0.896 9	0.948 5	1.000 0															
SN	0.948 5	0.938 1	0.958 8	0.958 8	0.948 5	0.917 5	1.000 0														
BZ <sub>1</sub>	0.938 1	0.927 8	0.927 8	0.907 2	0.917 5	0.886 6	0.927 8	1.000 0													
DX <sub>1</sub>	0.927 8	0.938 1	0.896 9	0.896 9	0.907 2	0.876 3	0.938 1	0.927 8	1.000 0												
DX <sub>4</sub>	0.896 9	0.886 6	0.866 0	0.845 4	0.876 3	0.845 4	0.866 0	0.917 5	0.907 2	1.000 0											
CQ <sub>4</sub>	0.938 1	0.907 2	0.907 2	0.907 2	0.917 5	0.907 2	0.907 2	0.917 5	0.907 2	0.938 1	1.000 0										
QX <sub>1</sub>	0.927 8	0.917 5	0.917 5	0.896 9	0.927 8	0.896 9	0.938 1	0.886 6	0.896 9	0.886 6	0.907 2	1.000 0									
BZ <sub>2</sub>	0.917 5	0.907 2	0.927 8	0.907 2	0.938 1	0.907 2	0.948 5	0.938 1	0.907 2	0.896 9	0.896 9	0.948 5	1.000 0								
DX <sub>3</sub>	0.927 8	0.938 1	0.896 9	0.876 3	0.907 2	0.896 9	0.917 5	0.907 2	0.938 1	0.886 6	0.886 6	0.896 9	0.907 2	1.000 0							
YB	0.762 9	0.773 2	0.773 2	0.752 6	0.783 5	0.835 1	0.773 2	0.783 5	0.773 2	0.783 5	0.804 1	0.752 6	0.783 5	0.793 8	1.000 0						
HZ	0.927 8	0.917 5	0.938 1	0.917 5	0.948 5	0.917 5	0.958 8	0.927 8	0.896 9	0.907 2	0.927 8	0.938 1	0.948 5	0.896 9	0.773 2	1.000 0					
AG	0.917 5	0.907 2	0.907 2	0.886 6	0.896 9	0.886 6	0.927 8	0.896 9	0.907 2	0.896 9	0.896 9	0.886 6	0.896 9	0.907 2	0.783 5	0.927 8	1.000 0				
AY	0.948 5	0.958 8	0.917 5	0.896 9	0.927 8	0.896 9	0.938 1	0.927 8	0.938 1	0.907 2	0.907 2	0.896 9	0.907 2	0.958 8	0.773 2	0.938 1	0.948 5	1.000 0			
DX <sub>2</sub>	0.948 5	0.958 8	0.938 1	0.917 5	0.948 5	0.917 5	0.958 8	0.948 5	0.938 1	0.886 6	0.907 2	0.938 1	0.927 8	0.938 1	0.773 2	0.938 1	0.927 8	0.958 8	1.000 0		
PA	0.896 9	0.907 2	0.886 6	0.886 6	0.917 5	0.886 6	0.907 2	0.896 9	0.886 6	0.855 7	0.896 9	0.886 6	0.876 3	0.886 6	0.783 5	0.886 6	0.896 9	0.907 2	0.948 5	1.000 0	

3.3 由基因遗传相似度可知,杭白芷与川白芷之间的遗传相似度值分布在 0.948 5~0.855 7,该值小于川白芷栽培居群间的相似度值,而祁白芷与禹白芷样品之间的遗传相似度值为 0.886 6,该值较杭白芷与川白芷之间的遗传相似度值略低。分析原因可能是由于不同产区相距较远,气候、土壤等地理环境相差较大,在一定程度上产生了遗传分化。

3.4 山东白芷与亳白芷之间的遗传相似度值为 0.927 8 与 0.948 5,相似度较高。这与前期的产区

调查中了解到的菏泽栽培的白芷多数从亳州引种,与亳白芷是一个系列相一致。

3.5 兴安白芷与所有栽培样品的遗传相似度值分布在 0.752 6~0.835 1,相似度较差,与栽培样品之间存在显著差异,遗传关系均较远。

3.6 依据基因遗传相似度将所有样品进行 UPGMA 聚类得树状图,聚在一起的居群表明它们有较近的亲缘关系。从聚类图中可以看出 20 个居群聚成两支:栽培白芷聚成一支,兴安白芷单独为一支。

在第一类中,所有白芷样品的聚类没有表现出明显规律性,即不同产地栽培白芷间遗传差异较小,这与前人研究认为四大栽培白芷不应做类的区分相一致<sup>[1-3]</sup>。

参考文献:

[1] 黄璐琦,王敏,付桂芳,等. 中药的白芷种质资源的 RAPD 分析 [J]. 中国中药杂志, 1999, 24(8): 457.

[2] 杨滨,王敏,曹春雨,等. 中药白芷的分子遗传及其原植物分析 [J]. 中国药学杂志, 2004, 39(9): 654.

[3] 黄璐琦. 中药白芷种质资源的系统研究 [J]. 江西中医学院学报, 2004, 16(6): 5-7.

[4] Ziekiewicz E, Rafalski A, Labuda D. Genome fingerprint by simple sequence repeat (SSr)-anchored polymerase chain re-

action amplification [J]. *Genomics*, 1994, 20(2): 176-183

[5] 倪开诚, 闵芳, 郭卫东, 等. 采用 ISSR 分子标记进行珊瑚礁 8 个种源的遗传多样性分析 [J]. 中草药, 2008, 39(9): 1392-1396

[6] 周延涛. DNA 分子标记技术在植物研究中的应用 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2005

[7] 彭帅, 伍贤进. 17 份鱼腥草种质亲缘关系的 ISSR 分析 [J]. 安徽农业科学, 2007, 35(12): 3484-3486

[8] 张春平, 何平, 王瑞波, 等. 三角叶黄连 ISSR 反应体系的建立与优化 [J]. 中草药, 2009, 40(2): 280-284

[9] 余艳, 陈海山. 简单重复序列区间(ISSR)引物反应条件优化与筛选 [J]. 热带亚热带植物学报, 2003, 11(1): 15-19

[10] 邹喻萍, 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.

### 黄连遗传多样性的 ISSR 分析

张春平<sup>1</sup>, 何平<sup>1\*</sup>, 胡世俊<sup>2</sup>, 王瑞波<sup>1</sup>, 张益锋<sup>1</sup>, 刘长坤<sup>1</sup>, 高珊<sup>1</sup>

(1. 西南大学生命科学学院 三峡库区生态环境教育部重点实验室, 重庆市三峡库区植物生态与资源重点实验室, 重庆 400715; 2. 中国科学院昆明植物研究所, 云南 昆明 650204)

摘要: 目的 对野生黄连进行遗传多样性研究。方法 通过 ISSR 技术对 7 个野生黄连居群共 78 个个体进行遗传多样性分析。结果 用 12 个随机引物共扩增出 106 条清晰条带, 其中 72 条具多态性, 平均多态性位点比率为 67.92%, Nei's 基因多样性指数  $H = 0.1803$ , Shannon 多样性指数  $I = 0.2832$ , 遗传分化指数  $Gst = 0.6815$ , 遗传距离和遗传一致度分别为:  $0.0894 \sim 0.1846$  和  $0.8321 \sim 0.9127$ 。结论 黄连种水平上具有较高的遗传多样性, 遗传变异主要存在于居群间, 遗传多样性与地理关系表现出明显的相关性, ISSR 可以作为研究遗传多样性及遗传分化的有效标记。

关键词: 黄连; 遗传多样性; ISSR; 聚类分析; 遗传分化

中图分类号: R282.7 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2009)10-1630-05

### ISSR Analysis for genetic diversity of *Coptis chinensis*

ZHANG Chun-ping<sup>1</sup>, HE Ping<sup>1</sup>, HU Shi-jun<sup>2</sup>, WANG Ruibo<sup>1</sup>, ZHANG Yifeng<sup>1</sup>,  
LIU Chang-kun<sup>1</sup>, GAO Shan<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory (Ministry of Education) of Ec-environments of Three Gorges Reservoir Region, Chongqing Key Laboratory of Plant Ecology and Resources Research for Three Gorges Reservoir Region, School of Life Sciences, Southwest University, Chongqing 400715, China; 2. Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China)

**Abstract: Objective** To discuss the genetic diversity of *Coptis chinensis*. **Methods** The genetic diversity of 78 individuals from seven populations was analyzed by inter-simple sequence repeat (ISSR). **Results** Twelve primers were selected to produce highly reproducible ISSR bands. Among 106 amplified bands, 72 showed polymorphism, the percentage of polymorphic bands reached to 67.92%. Nei's gene diversity index ( $H$ ) was 0.1803, Shannon information index ( $I$ ) was 0.2832,  $Gst$  was 0.6815. The genetic distance coefficient and genetic similarity were 0.0894) 0.1846 and 0.8321) 0.9127, respectively. **Conclusion** *C. chinensis* holds high genetic diversity and the majority of genetic variation occurs among the popula-

\* 收稿日期: 2008-11-08  
基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30070080)  
作者简介: 张春平(1982), 男, 山东潍坊人, 博士, 主要从事植物资源学与植物分子生物学方面的研究。  
Tel: 13667652727 E-mail: chunpingzhang520@163.com  
\* 通讯作者 何平 Tel: (023)68254122 E-mail: heping196373@126.com