

· 药材与资源 ·

浙江主产区栽培浙贝母种质遗传多样性的 AFLP 分析

徐金中, 张红叶, 马喜彦, 蔡进章, 董建勇

(温州医学院药学院, 浙江 温州 325035)

摘要:目的 研究中国浙江省道地药材浙贝母的遗传多样性。方法 应用扩增片段长度多态性技术(AFLP)对具有代表性的 6 个浙贝母居群,共 32 份个体进行分析。结果 在浙贝母的物种水平上,Nei's 基因多样性指数(H_e)为 0.1690 ± 0.1757 ,Shannon's 信息指数(I)为 0.2698 ± 0.2453 ,多态位点百分率(PPB)76.85%;总遗传多样性(H_t) 0.1690 ± 0.0309 ,其居群水平上遗传多样性(H_s) 0.1508 ± 0.0240 ,Shannon's 信息指数(I) 0.2333 ± 0.2619 ,多态位点百分率(PPB)50.38%,Nei's 遗传分化指数(G_{st})为 0.1076,基因流(N_m)为 4.1470。东阳和永康种群之间的遗传距离最小(0.0150),而象山与缙云最远(0.0324)。结论 浙江省主产区栽培浙贝母物种的遗传多样性水平丰富,高的遗传多样性能够维持浙贝母的长期生存,居群间的多样性水平明显低于居群内的多样性水平,居群间遗传分化不明显,种植资源相对比较稳定,这些居群适宜作为浙贝母优良品种的选育基地。

关键词:浙贝母;种质资源;基因多样性;AFLP

中图分类号:R282.7

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2010)01-0109-05

AFLP Analysis on genetic diversity for germplasm resources of *Fritillaria thunbergii* cultivated in Zhejiang Province

XU Jin-zhong, ZHANG Hong-ye, MA Xi-yan, CAI Jin-zhang, DONG Jian-yong

(College of Pharmacy, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325035, China)

Abstract: **Objective** To study the genetic diversity of *Fritillaria thunbergii*, a traditional Chinese herb in Zhejiang Province in China. **Methods** The genetic diversity of six representational populations of *F. thunbergii* including 32 individuals was investigated by amplified fragment length polymorphism (AFLP) maker technique. **Results** The genetic diversity was revealed as follow: the Nei's genetic diversity index (H_e) 0.1690 ± 0.1757 , Shannon's information index (I) 0.2698 ± 0.2453 , percentage of polymorphic loci (PPB) was 76.85% at the species level; H_t 0.1690 ± 0.0309 , and H_s 0.1508 ± 0.0240 , I 0.2333 ± 0.2619 , PPB was 50.38% at population level. The genetic differentiation index (G_{st}) was 0.1076, N_m 4.1470. The result of dendrogram of six populations indicated that Dongyang and Yongkang populations shared the minimum genetic distance (0.0150), they were classified into a group, and Xiangshan and Jinyun populations shared the maximum genetic distance (0.0324). **Conclusion** The genetic diversity of *F. thunbergii* cultivated in Zhejiang Province is very rich, which could ensure the long-term survival of *F. thunbergii*. But the genetic diversity of *F. thunbergii* is relatively higher in population levels while lower at the species levels and the degree of genetic differentiation occurred among the populations is not significant. The germplasm resources are relatively stable among these six populations. These populations could be used to breed the fine strains of *F. thunbergii* as the bases.

Key words: *Fritillaria thunbergii* Miq.; germplasm resources; genetic diversity; amplified fragment length polymorphism (AFLP)

浙贝母 *Fritillaria thunbergii* Miq. 为大宗常用药材。原产于浙江宁波象山,是著名的“浙八味”

之一^[1]。目前,浙江省商品药材栽培基地主要分布于鄞州、磐安、永康、象山、东阳、缙云等地区。年栽

收稿日期:2009-04-12

基金项目:温州市科技局资助项目(Y2004A121)

作者简介:徐金中(1982—),男,浙江温州人,温州医学院硕士研究生,研究方向为新药研究与开发。

Tel: (0577) 86689369 E-mail: fengzhongjin@163.com

*通讯作者 董建勇 Tel: (0577) 86689369 E-mail: jianyd163@163.com

培面积达 $3.97 \times 10^5 \text{ hm}^2$ 。其中鄞州种植约 $1.2 \times 10^5 \text{ hm}^2$, 磐安种植约 $7.5 \times 10^4 \text{ hm}^2$, 年产量 600 多 t。但各地栽培的浙贝母种质资源关系不明确, 地理环境对长期栽培品种生物遗传性状的影响也未见系统报道。为了分析浙江省道地种植区浙贝母种质资源遗传性状, 建立特异、分辨率高的 DNA 分子标记生物学鉴定方法及选育优良品种提供实验依据, 采用 AFLP 分子标记法对省内商品栽培基地 6 个居群的浙贝母遗传多样性进行了分析, 现报道如下。

1 材料与方法

1.1 试验材料: 植物标本收集于浙江鄞州、磐安、东阳、象山、永康、缙云等种植区, 均为人工栽培。根据均匀分布, 随即取样原则进行采样, 尽量覆盖该地区栽培范围。每种植区收集 4~6 个种植乡镇, 样品共 32 份(表 1)。经温州医学院药学院蔡进章副主任药师鉴定为浙贝母 *Fritillaria thunbergii* Miq。每份样品收集种子 10~50 g, 快速干燥后带回实验室, 存放在 -78°C 冰箱中备用。

表 1 浙贝母主要种植区 6 个不同居群采样表

Table 1 Characteristic descriptions of six sampled populations of *F. thunbergii* from main cultivated areas

编号	品种	采集地区	样本数
1	浙贝母	鄞州	6
2	浙贝母	象山	4
3	浙贝母	东阳	6
4	浙贝母	磐安	6
5	浙贝母	永康	5
6	浙贝母	缙云	5

1.2 仪器、试剂: DGL—16 台式离心机、DG—暗箱式紫外透箱、DG—3D 大型水平电泳槽、DG—双稳数显电泳仪(北京鼎国), 9600 PCR 扩增仪、ABI Prism 377 DNA Sequencer(美国 Perkin Elmer 公司), Sigma 3 K18 型低温冷冻离心机(美国 Sigma 公司)。采用北京鼎国生物技术有限公司 FISH-AFLP 试剂盒。

1.3 方法

1.3.1 种子总 DNA 的提取: 每份样品称取 50 mg, 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% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 纯度、完整性及产量。置于 -20°C 贮存备用。

1.3.2 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 *EcoR* / *Mse*, 2.5 μL 10 $\times$ Reaction buffer, 2.5 μL 10 mmol/L ATP, 1 μL T4 酶, 7 μL

AFLP- H_2O 。混匀离心数秒, 37 $^\circ\text{C}$ 保温 5 h, 8 $^\circ\text{C}$ 保温 4 h, 4 $^\circ\text{C}$ 过夜。接头和 AFLP 引物序列见表 2。

1.3.3 AFLP 预扩增: 按试剂盒说明, 0.2 mL 离心管中加入 (25 μL 体系): 2 μL 模板 DNA, 1 μL Pre-ampmix, 2.5 μL 10 $\times$ PCR buffer, 0.5 μL *Taq* DNA 酶; 18 μL AFLP- H_2O 。按下列参数进行 PCR 扩增: 预变性 94 $^\circ\text{C}$, 2 min; 按 94 $^\circ\text{C}$, 30 s, 56 $^\circ\text{C}$, 30 s, 72 $^\circ\text{C}$, 80 s 参数扩增 30 轮; 72 $^\circ\text{C}$ 下延伸处理 5 min。引物序列见表 2。

表 2 接头和引物序列

Table 2 Adapters and primers sequences

接头和引物	碱基序列	
<i>EcoR</i> 接头	接头 1 5' > CTCGTAGACTGCGTACC < 3'	
	接头 2 5' > AATTGGTACGCACTCTAC < 3'	
<i>Mse</i> 接头	接头 1 5' > GACGATGAGTCTCTGAG < 3'	
	接头 2 5' > TACTCAGGACTCAT < 3'	
<i>EcoR</i> 引物预扩增引物	5' > GACTGCGTACCAATTCA < 3'	预扩增
<i>EcoR</i> -1	5' > GACTGCGTACCAATTAACC < 3'	选择性扩增
<i>EcoR</i> -2	5' > GACTGCGTACCAATTAAGG < 3'	
<i>EcoR</i> -3	5' > GACTGCGTACCAATTACAA < 3'	
<i>EcoR</i> -4	5' > GACTGCGTACCAATTACTT < 3'	
<i>EcoR</i> -5	5' < GACTGCGTACCAATTACCC < 3'	
<i>EcoR</i> -6	5' > GACTGCGTACCAATTACGG < 3'	
<i>EcoR</i> -7	5' > GACTGCGTACCAATTAGCC < 3'	
<i>EcoR</i> -8	5' > GACTGCGTACCAATTAGGG < 3'	
<i>Mse</i> 引物选择性扩增	5' > GATGAGTCTCTGAGTAAC < 3'	预扩增
FAM-标记 <i>Mse</i> -1	5' > GATGAGTCTCTGAGTACAAA < 3'	选择性扩增
FAM-标记 <i>Mse</i> -2	5' > GATGAGTCTCTGAGTACAAC < 3'	
FAM-标记 <i>Mse</i> -3	5' > GATGAGTCTCTGAGTACAAG < 3'	
FAM-标记 <i>Mse</i> -4	5' > GATGAGTCTCTGAGTACAAT < 3'	
FAM-标记 <i>Mse</i> -5	5' > GATGAGTCTCTGAGTACAAA < 3'	
FAM-标记 <i>Mse</i> -6	5' > GATGAGTCTCTGAGTACAAC < 3'	
FAM-标记 <i>Mse</i> -7	5' > GATGAGTCTCTGAGTACAAG < 3'	
FAM-标记 <i>Mse</i> -8	5' > GATGAGTCTCTGAGTACAAT < 3'	

1.3.4 选择性扩增: 用 AFLP-TE 将预扩增产物按 1:20 稀释, 作为选扩模板。使用 3+3 引物组合, 引物序列见表 2。0.2 mL 离心管中加入 (25 μL 体系): 2 μL 预扩增稀释样品, 2.5 μL 10 $\times$ PCR 缓冲液, 0.5 μL dNTP, 1 μL *EcoR* / *Mse* 引物, 0.5 μL *Taq* DNA 酶, 17.5 μL AFLP- H_2O 。按下列参数 PCR 循环: 预变性 94 $^\circ\text{C}$, 2 min。第一轮扩增参数: 94 $^\circ\text{C}$, 30 s, 65 $^\circ\text{C}$, 30 s, 72 $^\circ\text{C}$, 80 s。以后每轮循环退火温度递减 0.7 $^\circ\text{C}$, 扩增 12 轮。接着按 94 $^\circ\text{C}$, 30 s, 55 $^\circ\text{C}$, 30 s, 72 $^\circ\text{C}$, 80 s 参数扩增 23 轮。延伸

加时 72 5 min。将 1 μL PCR 产物、1 μL 内标、1 μL 变性液混合,95 2 min,冰浴,上样。

1.3.5 扩增产物的凝胶电泳:用 ABI377 测序仪进行 AFLP 分析。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,设置相关参数后开始电泳 4 h。得到清晰的 AFLP 胶图。

1.3.6 数据处理与分析:胶图用 GENESCAN3.1 软件进行数据提取及 EXCEL 转换,生成由“1”和“0”组成的原始矩阵。用 NTSYSpC-2.11F 软件进行数据分析,将原始矩阵用 SimQual 程序求 DICE 相似系数矩阵。遗传相似系数 (G_s) 按公式 $G_s = 2N_{ij} / (N_i + N_j)$ 计算,式中 N_{ij} 表示在 i 和 j 材料中共有的带, N_i 、 N_j 分别是材料 i 、 j 的带的数量,选用 DICE 相似系数。用 POPGENE1.32 软件计算居群总遗传多样性 (H_t)、居群内遗传多样性 (H_s)、遗传分化系数 (G_{st})、基因流 (N_m)、Nei 遗传多样性指标 (h)、Shannon 信息指数 (I)、遗传距离。

2 结果与分析

2.1 模板 DNA 提取:用 CTAB 法提取植物基因组 DNA,速度快,条带清晰,无污染,无 RNA 污染,纯度较高,能满足 AFLP 分析的要求,结果见图 1。

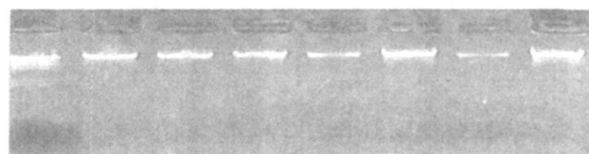


图 1 浙贝母基因组 DNA

Fig. 1 Genome DNA of *F. thunbergii*

2.2 引物筛选:取浙贝母基因组 DNA,利用 *Eco*R / *Mse* 双酶切筛选引物。在 64 对 E+3/M+3 的选择性扩增引物中筛选出 7 对 AFLP 选择性扩增引物。结果多态性好,清晰易辨,片段大小在 71 ~ 500 bp,符合 AFLP 分析对酶切片段大小的要求,数量合适,分布均匀,证明该组引物适于浙贝母基因的 AFLP 分析。

2.3 AFLP 多态性:采用 7 对筛选的 AFLP 引物组合扩增,共得到 10 665 条扩增带,其中多态性条带 7 185 条,平均每对引物得到 205 条多态性条带,多态性比率 67.37%。多态率最高的组合为 E-ACA/M-CAA (72.81%),最低的为 E-AGC/M-CAA (56.55%),相似系数范围 0.548 0 ~ 0.778 1。结果表明 AFLP 能检测到很丰富的多态性(图 2)。所用引物组合及统计结果见表 3。

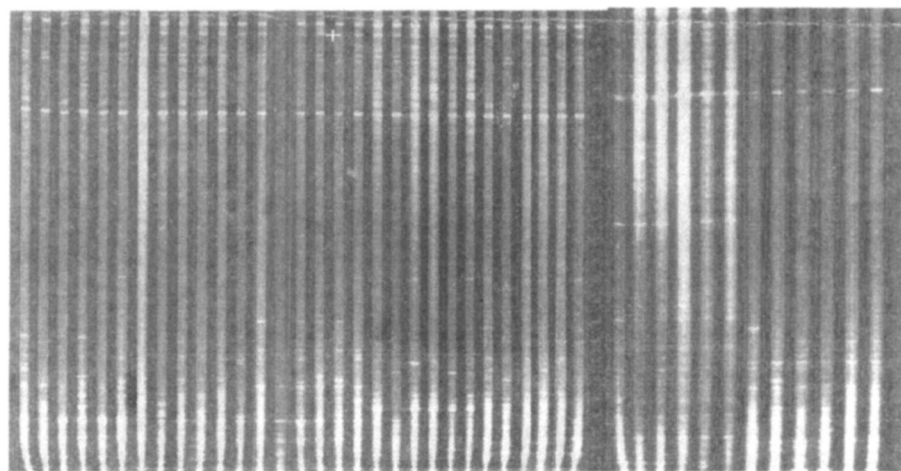


图 2 7 对引物对鄞州居群 6 个个体选择性 PCR 产物电泳图

Fig. 2 Electrophoretogram of selecting PCR products generated by seven primer pairs of six individuals in Yinzhou population

表 3 7 对引物选择性扩增结果分析表

Table 3 Analysis of selectively amplified by seven prime pairs

复合引物	碎片多态数	碎片总数	多态性百分率/ %
E-AAC/ M-CAA	1 000	1 450	68.96
E-AAG/ M-CAA	1 100	1 520	72.36
E-ACA/ M-CAA	1 125	1 545	72.81
E-ACT/ M-CAA	1 030	1 510	68.21
E-ACG/ M-CAA	940	1 510	62.25
E-AGC/ M-CAA	1 170	1 680	69.64
E-AGG/ M-CAA	820	1 450	56.55
合计	7 185	10 665	67.37

2.4 浙贝母的遗传多样性:对 6 个居群浙贝母内部的遗传多样性进行分析(表 4)。浙贝母居群间的 Nei's 基因多样性指数 (H_e) 为 0.169 0 ± 0.175 7, Shannon's 信息指数 (I) 为 0.269 8 ± 0.245 3,多态位点百分率 (PPB) 76.85%。各居群内部: H_e 介于 0.133 0 ~ 0.165 2,平均值为 0.151 4; I 在 0.204 6 ~ 0.254 9,平均值为 0.233 2; PPB 分布区间为 43.06% ~ 54.68%,平均值为 50.38%,数据分

表 4 不同居群浙贝母的多样性水平

Table 4 Diversity of different populations of *F. thunbergii*

居群	样本数	N_a	N_e	H_e	I	PPB/ %
鄞州	6	1.430 6 $\pm$ 0.496 3	1.219 9 $\pm$ 0.327 7	0.133 0 $\pm$ 0.179 0	0.204 6 $\pm$ 0.260 2	43.06
象山	4	1.486 1 $\pm$ 0.501 0	1.226 7 $\pm$ 0.317 8	0.140 7 $\pm$ 0.173 9	0.219 9 $\pm$ 0.254 0	48.61
东阳	5	1.504 6 $\pm$ 0.501 1	1.257 3 $\pm$ 0.346 5	0.154 3 $\pm$ 0.185 7	0.237 3 $\pm$ 0.266 8	50.46
磐安	6	1.513 9 $\pm$ 0.501 0	1.251 2 $\pm$ 0.340 7	0.152 0 $\pm$ 0.182 3	0.235 4 $\pm$ 0.262 2	51.39
永康	5	1.541 7 $\pm$ 0.499 4	1.262 8 $\pm$ 0.341 0	0.159 7 $\pm$ 0.182 8	0.247 5 $\pm$ 0.262 5	54.17
缙云	5	1.546 3 $\pm$ 0.499 0	1.273 3 $\pm$ 0.345 4	0.165 2 $\pm$ 0.185 3	0.254 9 $\pm$ 0.265 9	54.63
平均值	—	1.503 8 $\pm$ 0.499 6	1.248 5 $\pm$ 0.366 5	0.151 4 $\pm$ 0.181 5	0.233 2 $\pm$ 0.261 9	50.38
居群间	32	1.768 5 $\pm$ 0.422 8	1.272 5 $\pm$ 0.332 8	0.169 0 $\pm$ 0.175 7	0.269 8 $\pm$ 0.245 3	76.85

N_a 等位基因数 N_e 有效等位基因数 H_e 基因多样性指数 I Shannon 信息指数 PPB-多态性位点百分率

N_a observed number of alleles N_e effective number of alleles H_e Nei's gene diversity index I Shannon's information index

PPB-percentage of polymorphic loci

析结果显示鄞州和象山的遗传多样性水平低于平均水平。居群总遗传多样性 (H_t) 0.169 0 $\pm$ 0.030 9, 居群内遗传多样性 (H_s) 0.150 8 $\pm$ 0.024 0, Nei's 遗传分化指数 (G_{st}) 为 0.107 6, 表明浙贝母约 10% 遗传多样性分布在居群间, 居群内占 90% 左右; 同时居群间存在较为明显的基因交流, 基因流 (N_m) 为 4.147 0。

2.5 浙贝母各居群之间的遗传关系: 从浙贝母居群间遗传距离 (表 5) 中可以看出, 东阳和永康种群之间的遗传距离最小 (0.015 0), 而象山与缙云居群的遗传距离最远 (0.032 4)。居群间的遗传一致度和遗传距离范围分别是 0.968 1 ~ 0.985 1 和 0.015 0 ~ 0.032 4。经 UPGMA (unweighted pair group method with arithmetic mean) 方法聚类得到聚类图 (图 3), 结果表明: 地理位置距离相对较近的东阳、永康种群表现出较近的亲缘关系首先聚为一类, 再与缙云、鄞州、磐安种群分别聚类, 象山种群遗传距离较远, 单独聚为一大类。

表 5 各居群间的遗传一致度 (对角线上方) 和遗传距离 (对角线下方)

Table 5 Nei's genetic identity (above diagonal) and genetic distance (below diagonal) within six populations

种群	鄞州	象山	东阳	磐安	永康	缙云
鄞州		0.970 5	0.977 6	0.971 1	0.974 1	0.969 5
象山	0.030 0		0.969 3	0.969 3	0.973 1	0.968 1
东阳	0.022 7	0.031 2		0.973 5	0.985 1	0.978 8
磐安	0.029 3	0.031 2	0.026 9		0.978 7	0.978 3
永康	0.026 2	0.027 3	0.015 0	0.021 5		0.978 7
缙云	0.031 0	0.032 4	0.021 5	0.021 9	0.021 5	

3 讨论

3.1 浙贝母的遗传多样性和遗传结构分析: 遗传多样性和遗传结构是一个物种的重要生物学特征, 反映物种适应环境的能力和对环境变迁持续进化的潜力, 遗传结构的特征与物种的繁育机制密切相关, 同时反映生态适应进化、环境变迁与自然选择的效应^[2], 通过对浙江主要种植区浙贝母遗传多样性的

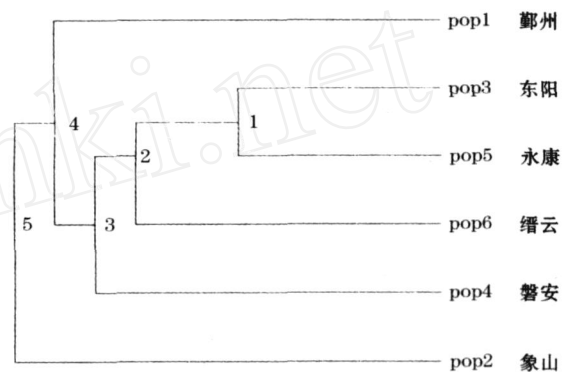


图 3 6 个居群样品的聚类图

Fig. 3 Dendrogram among six populations

分析, 发现人工栽培浙贝母具有丰富的遗传多样性 (H_e 为 0.169 0 $\pm$ 0.175 7, PPB 为 76.85%), 居群水平的遗传多样性也较高 (H_e 为 0.150 8 $\pm$ 0.024 0, PPB 为 50.38%)。浙贝母的居群间 Nei's 遗传分化指数 (G_{st}) 为 0.107 6, 说明浙贝母居群间有一定的遗传分化, 但大部分仍存在于居群内部, 约占 90%, 其居群内部个体间的遗传差异可能是遗传多样性丰富的主要因素之一。观察浙贝母生物学的特性发现浙贝母自交结实率为零, 具严格自交不亲和性^[3]。虽然其用种子繁殖比鳞茎繁殖的系数约大 10 倍, 但从贝母种子长至供药用的商品鳞茎大小约需 4 ~ 5 年^[4], 其生长周期长, 成苗率低。为缩短生长周期, 商品栽培浙贝母不采用种子繁育而是采用鳞茎繁育。商品栽培浙贝母的这种繁育特性可能对居群的遗传分化有影响。另外, 浙贝母主要产区分布于浙江东南部, 各种植区之间相距不远, 气候、土壤条件相似^[5], 地理环境因素对居群间的影响较小, 地理因素对基因交流的阻隔影响也不明显, 基因交流比较广泛, 基因流 (N_m) 为 4.147 0。Slatkin 认为基因间的相互交流会引起种内遗传变异量的增加, 维持种的均一性, 阻止种内的分化, 产生与遗传漂变

相互拮抗的作用^[6],高水平、稳定的基因流可以防止居群间的遗传分化,使居群趋向于一致^[7],浙贝母的 N_m 为 4.147 0,表明浙贝母各居群间基因流较大,从而维持种内遗传变异的多样性。在地理位置上,东阳、磐安、永康、缙云几个居群相距比较近,象山和鄞州与其他居群距离比较远,但只有象山居群与其他居群相对独立,这表明浙贝母象山居群遗传基因相对于其他居群比较原始保守,进一步说明浙贝母最初在浙江象山种植,其他居群是后期才迁徙种植的^[8]。

3.2 AFLP 分子标记技术用于浙贝母基因图谱构建:运用 AFLP 分子标记技术分析了栽培浙贝母遗传性状的变化,从实验结果可知该方法特异分辨率高,可获得较高的位点多态性。各个体、居群间聚类关系明确,层次分明。表明 AFLP 分子标记技术能很好地检测到浙贝母种内的遗传变异,为浙贝母遗传连锁图谱的构建奠定了方法学基础。

3.3 浙贝母种质资源保护与合理开发:以前对分布于江苏、浙江、安徽、湖北等不同产地浙贝母的 5S rDNA 基因间区域基序列分析表明,不同产区的基因间区具有相同的碱基序列,均为 588 bp^[9]。分析发现栽培浙贝母居群存在丰富的遗传多样性,约 90% 在居群内。居群间遗传分化不是很明显,表明在浙江省内各种植区之间的种质差别不大,而且广

泛的基因交流保证了药材品质的均一性和质量的稳定性,也为优良品种的选育提供了良好的基地。但是鄞州和象山居群必须开始引起重视,鄞州是目前浙贝母种植和产量较大的地区,象山是浙贝母最初的种植区,两个居群的多样性水平都比平均水平低。建议在采取措施有效保护种植区资源的同时,尽快建立良好繁育基地,对广大种植户宣传优良品种的选购,尽可能地减少自交、近交等影响其遗传结构的繁育因素,从根本上解决当前浙贝母资源保护与利用的矛盾。

参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 [M]. 北京:科学出版社, 2001.
- [2] Sokal R R, Jacquez G M, Wooten M C. Spatial autocorrelation analysis of migration and selection [J]. *Genetic*, 1989, 121: 845-855.
- [3] 江建铭, 陈惠芬. 浙贝母生物学特性观察 [J]. 中草药, 1993, 24(2): 95.
- [4] 赵永华. 现代中药植物资源生产技术 [M]. 北京:化学工业出版社, 2004.
- [5] 王 瑀, 魏建和, 陈士林. 道地药材浙贝母产地适宜性的 GIS 分析 [J]. 中国现代中药, 2006, 8(6): 4-6.
- [6] Slatkin M. Gene flow in natural populations [J]. *Ann Rev Ecol Syst*, 1985, 16: 393.
- [7] 张 娟, 尹林克, 张道远. 刚毛怪柳天然居群遗传多样性初探 [J]. 云南植物研究, 2003, 25: 557-562.
- [8] 李华珍. 浙贝母药材道地性迁移的原因调查 [J]. 中国中医药信息杂志, 2006, 13(8): 37.
- [9] 蔡朝晖, 李 萍, 李松林, 等. 不同产地浙贝母的基因序列及生物碱含量比较 [J]. 中药材, 2001, 24(3): 157-159.

柴胡栽培种的 RAPD 和 AFLP 遗传关系研究

赵良贵¹, 南晓洁², 郝媛媛¹, 刘小刚¹, 秦雪梅¹

(1. 山西大学 化学生物学与分子工程教育部重点实验室, 山西 太原 030006;

2. 山西师范大学生命科学学院, 山西 临汾 041004)

摘 要:目的 应用不同的分子标记进行柴胡药材干根遗传多样性分析,为柴胡栽培种鉴别和药材鉴别奠定基础。方法 以柴胡栽培种干根为材料,采用 RAPD 和 AFLP 两种分析方法。结果 以筛选到的 3 条随机引物对 9 个柴胡栽培种进行 RAPD 分析,共扩增出 28 条 DNA 带,平均每条引物组合扩增 9.33 条带,其中多态性带为 6.67 条,多态性比率为 71.43%;而在 AFLP 分析中,筛选出 4 对特异性引物,共获得 107 条 DNA 带,平均每对引物扩增 26.75 条带,其中多态性带为 23.25 条,多态性比率为 86.92%。经统计分析,9 个柴胡栽培种 RAPD 和 AFLP 分析的 Jaccard 遗传相似系数分别介于 0.61~0.93 和 0.39~0.86。UPGMA 聚类分析,两种标记方法均可将 9 个柴胡栽培种聚为 3 大类群,聚类结果相似但不完全相同。结论 以柴胡药材干根为材料,RAPD 和 AFLP 两种分子标记均可用于植物种间及种下遗传关系分析,且 AFLP 条带较多,多样性丰富,更有利于柴胡属植物多样性的分析。

关键词:柴胡属;RAPD;AFLP;聚类分析;遗传多样性

中图分类号:R282.7

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2010)01-0113-05

收稿日期:2009-04-11

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30570174)

作者简介:赵良贵(1964—),曾用名:赵春贵,男,河北新乐县人,副教授,博士,从事药用植物及其有效成分的研究。

Tel: (0351) 7011499 Fax: (0351) 7011499 E-mail: chungui@sxu.edu.cn

*通讯作者 秦雪梅 qinxm@sxu.edu.cn