

相互拮抗的作用<sup>[6]</sup>,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<sup>[7]</sup>,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<sup>[8]</sup>。

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<sup>[9]</sup>。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. 刚毛柞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<sup>1</sup>, 南晓洁<sup>2</sup>, 郝媛媛<sup>1</sup>, 刘小刚<sup>1</sup>, 秦雪梅<sup>1</sup>

(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

## Genetic relationship of RAPD and AFLP among *Bupleurum* cultivars

ZHAO Gen-gui<sup>1</sup>, NAN Xiao-jie<sup>2</sup>, HAO Yuan-yuan<sup>1</sup>, LIU Xiao-gang<sup>1</sup>, QIN Xue-mei<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory of Chemical Biology and Molecular Engineering of Ministry of Education, Shanxi University, Taiyuan 030006, China; 2. College of Life Science, Shanxi Normal University, Linfen 041004, China)

**Abstract : Objective** To analyze the genetic diversity of *Radix Bupleuri* using two different molecule markers for distinguishing cultivars in *Bupleurum* L. and *Radix Bupleuri*. **Methods** Random amplified polymorphic DNA (RAPD) and amplified fragment length polymorphism (AFLP) molecular markers were used for distinguishing cultivars in *Bupleurum* L. and *Radix Bupleuri*. **Results** It showed that a total of 28 lines were amplified from nine cultivars in *Bupleurum* L. using three kinds of primers selected in RAPD analysis, and the average for each primer amplified with 9.33, 6.67 (71.43%) of them were polymorphic. In AFLP analysis, four primer pairs were chosen to characterize nine cultivars in *Bupleurum* L. A total of 107 AFLP markers were amplified. On average, each combination amplified 26.75 markers including 23.25 polymorphic markers, with a polymorphic frequency of 86.92%. The Jaccard genetic similarity coefficients were from 0.61 to 0.93 and 0.39 to 0.86 in RAPD and AFLP by statistical analysis, respectively. UPGMA Cluster analysis based on AFLP and RAPD molecular markers data was used to construct a dendrogram of these cultivars. It revealed segregations of all nine cultivars into three main clusters. The dendrograms of RAPD and AFLP were similar but not identical. **Conclusion** So the genetic diversity of cultivars in *Bupleurum* L. could be analyzed and distinguished from intra- and inter-species by means of both AFLP and RAPD. Because of a large number of loci and polymorphisms, the AFLP is better than RAPD for analysis on the genetic diversity of plants in *Bupleurum* L.

**Key words :** *Bupleurum* L. ; RAPD ; AFLP ; cluster analysis ; genetic diversity

柴胡首载于《神农本草经》,已有两千多年的药用历史<sup>[1]</sup>,具解表和里、退热、疏肝解郁等功效<sup>[2]</sup>,主治寒热往来、胸胁苦满等症<sup>[3]</sup>。《中国药典》2005年版收载柴胡药材仅有柴胡 *Bupleurum chinense* DC 和狭叶柴胡 *Bupleurum scorzonerifolium* Willd 2种,而我国已报道柴胡 42种 17变种 7变型<sup>[4]</sup>,其中有 25种 6变种 1变型在不同地区、不同程度地被药用,药材质量和药效不稳定,也造成药用柴胡市场混乱<sup>[5~7]</sup>。柴胡的质量控制主要包括形态学及柴胡皂苷的定性检验,由于柴胡皂苷量的差异也很难鉴别不同种或不同居群间柴胡。分子标记技术的快速发展及广泛应用使从 DNA 分子水平鉴别中药成为可能。目前,柴胡在 ITS 序列<sup>[8]</sup>及 RAPD 分子标记<sup>[9~11]</sup>方面已有报道,但多以鲜叶或干叶<sup>[12]</sup>作为供试材料。本研究结合柴胡以干根入药的特点,以干根为材料,应用 RAPD 和 AFLP 两种方法进行遗传多样性分析,为中药柴胡干根药材的鉴别提供方法和数据。

### 1 材料和试剂

9个柴胡属植物栽培种均为两年生干燥根,晾干或晒干,采集自山西农业大学试验田,见表1。聚乙烯吡咯烷酮(PVP K30)、琼脂糖,上海生工有限公司;限制性内切酶 *EcoR*、*Mes*, MBI公司;尿

表 1 用于 RAPD 和 AFLP 分析的柴胡属栽培种

Table 1 Cultivars in *Bupleurum* L. used in RAPD and AFLP analyses

编号	种名	原产地	缩写	栽培地
1	柴胡	山西灵丘(外地引种)	LQWY	山西太谷
2	柴胡	山西灵丘	LQ	山西太谷
3	阿尔泰柴胡	日本三岛(三岛柴胡)	SD	山西太谷
4	柴胡	山西陵川	LCH	山西太谷
5	狭叶柴胡	山西太谷(红柴胡)	HC	山西太谷
6	柴胡	山西方山(陵川引种)	FSH	山西太谷
7	柴胡	甘肃陇西	LX	山西太谷
8	柴胡	陕西商洛	SHL	山西太谷
9	柴胡	山西左权	ZQ	山西太谷

素、丙烯酰胺、甲叉丙烯酰胺, Sigma; 过硫酸铵, 北京化学试剂三厂; TEMED, 天津化学试剂三厂; 硝酸银, 北京化工厂; *Taq* 酶、*T<sub>4</sub>*DNA 连接酶、剥离硅烷、亲和硅烷, 北京鼎国生物公司。

### 2 方法

2.1 DNA 提取: 以柴胡干根为材料, 经过预处理, 然后按 CTAB 法<sup>[13]</sup>提取 DNA。样品研磨时加入 3% PVP, 以 TNE 缓冲液(即 100 mmol/L Tris、0.15 mol/L NaCl 和 20 mmol/L EDTA)于 0℃ 浸提 2 次, 每次 30 min 进行预处理。

2.2 RAPD 分析: 引物、扩增体系和反应程度按照秦民坚、付杨等<sup>[9,11]</sup>的方法进行, 引物由北京奥科生物技术公司合成, 扩增产物用 2.0% 琼脂糖凝胶电泳检测。

2.3 AFLP 分析: AFLP 分析参考 Vos 等<sup>[14]</sup>的方法,引物和接头由北京奥科生物技术公司合成。采用 *EcoR* 和 *Mse* 双酶切,预扩增采用 E+A/M+C 引物组合,选择性扩增采用 64 对 E+3/M+3 引物组合。从 64 对选择性引物中筛选出条带清晰、反应稳定的引物组合进行 AFLP 分析。

2.3.1 限制性消化与接头连接:酶切反应体系为基因组 DNA (50 ng/μL) 4 μL, *Mse* (10 U/μL) 0.4 μL, *EcoR* (10 U/μL) 0.4 μL, Buffer 4 μL, ddH<sub>2</sub>O 11.2 μL, 酶切反应条件为 37 温育 3 h, 65 温育 3 h, 80 处理 20 min。连接体系为酶切完成的 DNA 样品 10 μL, 再加 M-adapter (50 pmol/μL) 1.0 μL, E-adapter (5 pmol/μL) 1.0 μL, ATP (10 mmol/L) 2.5 μL, T<sub>4</sub>DNA 连接酶 (3 U/μL) 1 μL, Buffer 2.0 μL, ddH<sub>2</sub>O 7.5 μL, 16 过夜连接, 65 加热 10 min, 灭活 T<sub>4</sub>DNA 连接酶。

2.3.2 预扩增:以连接产物稀释 10 倍作为预扩增的模板。预扩增反应体系为模板 DNA 2.0 μL, M+C 引物 (30 ng/μL) 1.0 μL, E+A 引物 (30 ng/μL) 1.0 μL, 10 ×PCR Buffer 2.5 μL, *Taq* 酶 (2 U/μL) 0.5 μL, dNTP (10 mmol/L) 0.5 μL, ddH<sub>2</sub>O 18.5 μL; 反应条件为: 94 2 min; 94 30 s, 56 30 s, 72 80 s; 29 个循环; 72 5 min, 4 保存, 扩增产物在 1.4% 琼脂糖检测。

2.3.3 选择性扩增:以预扩增产物稀释 80 倍作为选择性扩增的模板。扩增反应体系为模板 2.0 μL, *Mse* 引物 (30 ng/μL) 1.0 μL, *EcoR* 引物 (5 ng/μL) 1.0 μL, 10 ×PCR Buffer 2.5 μL, *Taq* 酶 (2 U/μL) 0.5 μL, dNTP (10 mmol/L) 0.5 μL, ddH<sub>2</sub>O 17.5 μL, 混合后进行选择性扩增; 反应条件为: 94 2 min; 94 30 s, 65 30 s (每个循环降低 1), 72 80 s, 9 个循环; 94 30 s, 55 30 s, 72 80 s, 22 个循环; 72 5 min, 4 保存, 1.4% 琼脂糖凝胶电泳检测。

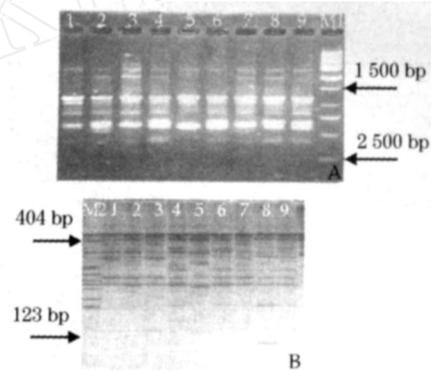
2.3.4 扩增产物的电泳及银染检测:扩增产物在 6% 变性聚丙烯酰胺凝胶上电泳分离,银染检测<sup>[15,16]</sup>。

2.4 数据分析:统计扩增条带,在相同迁移位置有带记为“1”,无带记为“0”,建立数据库。按公式  $P = (K/N) \times 100\%$  计算多态性条带百分比,其中 *K* 为多态位点数目, *N* 为所测位点总数。用 NTSYS-pc 软件计算 Jaccard 遗传相似系数,按非加权配对算术平均法 (UPGMA) 建立 9 个柴胡栽培种的聚类图。

### 3 结果与分析

3.1 遗传多样性分析:利用北柴胡 (LCH)、日本三岛

柴胡 (SD) 和红柴胡 (HC) 3 个种混合提取 DNA 进行 RAPD 和 AFLP 分析,从 10 条 RAPD 随机引物中选出 3 条引物,从 64 对 E+3/M+3 AFLP 引物组合中,筛选出 4 对引物,进行凝胶电泳,所得结果见图 1,仅显示了一条 RAPD 引物和一对 AFLP 引物的扩增结果,所用引物见表 2,其序列见文献数据<sup>[9,11,14]</sup>。对 9 个柴胡栽培种的 RAPD 分析,结果见表 2,筛选出的 3 条引物共扩增出 28 条谱带,多态性条带为 20 条,多态性比率为 71.43%。平均每条引物扩增出 9.3 条,多态性条带为 6.7 条。不同引物扩增的多态率分布于 63.64%~83.33%。AFLP 分析,筛选的 4 对引物共可获得 107 条清晰谱带,其中 93 条具有多态性 (86.97%),平均每对引物组合产生 26.75 条带,多态性条带为 23.25 条 (表 2)。结果表明, RAPD 和 AFLP 两种分子标记均能呈现各自有效的多态性条带,但多态性水平及检测水平各不相同,从每条 (对) 引物扩增出的总条带数、多态性条带以及多态性比率来看, AFLP 标记比 RAPD 标记的检测效率明显要高,要适合于多态性检测。



1~9-柴胡栽培种编号  
M1-1 kb DNA 标准  
M2-*Msp* 酶切质粒 pBR 322 质粒 DNA  
A-以 OPC-7 为扩增引物的 RAPD 图谱  
B-以 E-AAG/M-CTG 为扩增引物的 AFLP 图谱  
1-9-samples of 1 to 9 from cultivars in *Bupleurum* L.  
M1-1 kb plus DNA Ladder  
M2-pBR322 DNA (*Msp*I) markers  
A-RAPD Fingerprinting amplified by OPC-7  
B-AFLP Fingerprinting amplified by E-AAG/M-CTG

图 1 9 个柴胡栽培种的 RAPD 和 AFLP 图谱

Fig. 1 RAPD and AFLP fingerprint of cultivars in *Bupleurum* L.

3.2 柴胡属栽培种的遗传关系:统计结果表明,9 个柴胡属栽培种 RAPD 分析的 Jaccard 遗传相似系数为 0.606 1~0.933 3,栽培种 LQWY 与 LX 之间的遗传相似性系数最大为 0.933 3,栽培种 HC 与 SHL

表 2 筛选的 RAPD 引物和 AFLP 引物组合及其扩增

Table 2 Primers used and amplification results by RAPD and AFLP analysis of cultivars in Bupleurum L.

引物	RAPD 引物			引物	AFLP 引物		
	扩增条带数	多态性条带数	多态性比率/ %		扩增条带数	多态性条带数	多态性比率/ %
OPC-2	11	7	63.64	E-AGC/ M-CAC	22	19	86.36
OPC-7	11	8	72.73	E-ACT/ M-CTC	29	26	89.66
OPC-8	6	5	83.33	E-AAG/ M-CTG	30	27	90.00
				E-AAG/ M-CTA	26	21	80.77
总计	28	20	—		107	93	—
平均	9.33	6.67	71.43		26.75	23.25	86.92

之间的遗传相似性系数最小为 0.606 1 (表 3)。AFLP 分析,它们之间的遗传相似性系数在 0.391 3 ~ 0.857 1,栽培种 LCH 与 FSH 之间的遗传相似性系数最大为 0.857 1,栽培种 HC 与 SD 间最小为 0.391 3 (表 4)。从两种分子标记的遗传相似性系数可看出,HC 与其他 8 个栽培种间的遗传相似性系数均较小,而这 8 个栽培种两两间存在着不同程度的遗传相似性,表明 9 个柴胡属栽培种间存在着一定程度的遗传差异,但是 RAPD 和 AFLP 这两种分子标记揭示的结果有一定的差异。

表 3 根据 RAPD 标记计算的遗传相似系数

Table 3 Genetic similarity of cultivars on basis of RAPD markers

栽培种	LQWY	LQ	SD	LCH	HC	FSH	LX	SHL	ZQ
LQWY	1.000 0								
LQ	0.866 7	1.000 0							
SD	0.848 5	0.800 0	1.000 0						
LCH	0.812 5	0.823 5	0.810 8	1.000 0					
HC	0.666 7	0.628 6	0.631 6	0.648 6	1.000 0				
FSH	0.896 6	0.903 2	0.764 7	0.848 5	0.705 9	1.000 0			
LX	0.933 3	0.875 0	0.914 3	0.882 4	0.628 6	0.838 7	1.000 0		
SHL	0.785 7	0.800 0	0.848 5	0.821 5	0.606 1	0.758 6	0.866 7	1.000 0	
ZQ	0.814 8	0.827 6	0.687 5	0.838 7	0.625 0	0.928 6	0.758 6	0.814 8	1.000 0

表 4 根据 AFLP 标记计算的遗传相似系数

Table 4 Genetic similarity of cultivars on basis of AFLP markers

栽培种	LQWY	LQ	SD	LCH	HC	FSH	LX	SHL	ZQ
LQWY	1.000 0								
LQ	0.707 3	1.000 0							
SD	0.790 1	0.651 7	1.000 0						
LCH	0.439 6	0.646 5	0.469 4	1.000 0					
HC	0.447 1	0.451 6	0.391 3	0.451 0	1.000 0				
FSH	0.469 1	0.674 2	0.500 0	0.857 1	0.434 8	1.000 0			
LX	0.769 2	0.627 9	0.800 0	0.505 3	0.427 0	0.564 7	1.000 0		
SHL	0.657 9	0.642 9	0.650 6	0.537 6	0.436 8	0.602 4	0.700 0	1.000 0	
ZQ	0.538 5	0.697 7	0.588 2	0.757 9	0.427 0	0.800 0	0.585 4	0.625 0	1.000 0

用 UPGMA 法对测定的柴胡栽培种进行聚类分析,RAPD 和 AFLP 两种标记分别得到了相似但不完全相同的聚类图(图 2)。RAPD 和 AFLP 聚类结果均明显将 9 个柴胡属栽培种划分为 3 个类群:即 LQWY、LX、SD、SHL 聚为 类,FSH、ZQ、LQ、LCH 聚

为 类,HC 单独聚为 类。在 RAPD 分析中(图 2-A),表明 LQWY 和 LX 的亲缘关系较近,ZQ 和 FSH 的亲缘关系较近,而在 AFLP 分析中(图 2-B),SD 和 LX、LCH 和 FSH 的亲缘关系分别较近。对该 9 个栽培种而言,RAPD 和 AFLP 分析均可将其区分或鉴别,可用于种及种下的鉴别,但 AFLP 遗传相似性范围更宽(0.43 ~ 1.00),约在 0.862 时可将 9 个栽培种区分开,而 RAPD 不能完全分开。

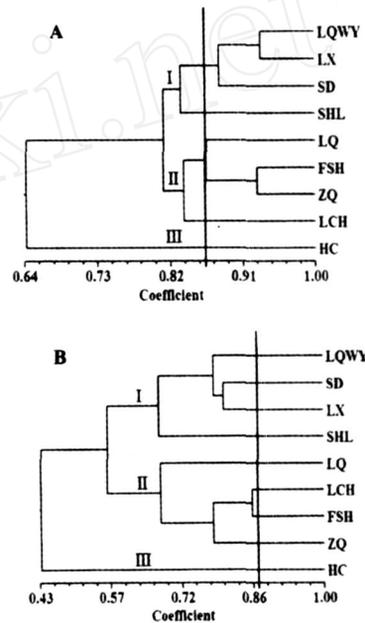


图 2 柴胡属栽培种 RAPD(A) 和 AFLP(B) 分析

Fig. 2 Dendrogram of cluster analysis based on RAPD (A) and AFLP (B) data for nine cultivars in Bupleurum L.

### 4 讨论

目前,应用分子标记对柴胡属植物种质资源遗传多样性研究的报道已有 ITS<sup>[8]</sup> 序列和 RAPD<sup>[9~11]</sup> 标记分析。而本实验以柴胡属 9 个栽培种干根为材料,比较研究了 RAPD 和 AFLP 标记的遗传多样性,为柴胡生药的快速鉴别提供参考。

从聚类结果来看,AFLP 与 RAPD 两种方法均可将 9 个柴胡栽培种聚为 3 类,其中红柴胡 HC 单独聚

为一类,表明应用 AFLP 或 RAPD 均可清晰地将北柴胡与红柴胡区分开,该结果与分类学相一致,且 HC 与其他 8 个栽培种间的遗传相似性系数最小,两者结果相吻合,表明种内差异较小,而种间差异较大。但是三岛柴胡(SD)与北柴胡 LQWY 和 LX 聚为一类。资料表明:三岛柴胡与北柴胡的外观性状及粉末特征都较为接近,三岛柴胡总皂苷和柴胡皂苷 a、d 的量与南北柴胡相近<sup>[17]</sup>,这 3 种柴胡栽培种游离氨基酸组成分析,南柴胡与北柴胡和三岛柴胡关系较远,而北柴胡和三岛柴胡关系则较近<sup>[18]</sup>,与本实验结果相一致。但是,两种分子标记聚类结果也不完全一致,表明不同的标记方法在遗传多样性研究中存在差异,这是由于分子标记所反映的不是全部遗传信息而是部分信息,况且不同方法所分析的位点数目也不尽相同,因而聚类结果会有差别。

综上所述,RAPD 和 AFLP 两种分子标记均适合于柴胡种及种下遗传关系分析,尤其在柴胡药材制成饮片或粉碎后,进行品种的快速鉴别显示出明显优势,为优良柴胡栽培种鉴别、目的基因定位以及遗传育种奠定基础。

参考文献:

[1] 森立之. 神农本草经 [M]. 上海:上海科技卫生出版社,1959.  
[2] 梁 鸿,赵玉英,邱海蕴,等. 北柴胡中新皂苷的结构鉴定

[J]. 药学报,1998,33(1):37-41.  
[3] 贾 琦,张如意. 柴胡皂苷研究进展 [J]. 药学报,1989,24(12):961-971.  
[4] 潘胜利. 中国的药用柴胡及其药理作用的研究 [A]. 第三届中药研讨会论文摘要集 [C]. 上海:中国药学会,1996.  
[5] 潘胜利,顺庆生,柏巧明,等. 中国药用柴胡原色图志 [M]. 上海:上海科学技术文献出版社,2002.  
[6] 王有志. 中药柴胡的物种调查和鉴定 [J]. 中国药学杂志,1994,29(1):16-18.  
[7] 潘胜利. 中药柴胡的药源调查及商品鉴定 [J]. 中药材,1996,19(5):231-234.  
[8] 谢 晖,晁 志,霍克克,等. 9 种柴胡属植物的核糖体 ITS 序列及其在药材鉴定中的应用 [J]. 南方医科大学学报,2006,26(10):1460-1463.  
[9] 梁之桃,秦民坚,王峰涛,等. 柴胡属 5 种植物 RAPD 分析与分类鉴定 [J]. 中草药,2002,12(33):1117-1119.  
[10] 王秀全,李玉新,李会成,等. 北柴胡种源地性的 RAPD 分析 [J]. 中药材,2003,12(26):855-856.  
[11] 付 杨,陈凤清,孙冬雪,等. 大叶柴胡愈伤组织继代培养及其 RAPD 分析 [J]. 东北师大学报:自然科学版,2005,37(2):90-92.  
[12] 刘小刚,秦雪梅,赵春贵,等. 柴胡干叶片 DNA 提取方法研究 [J]. 山西大学学报:自然科学版,2007,30(S0):158-160.  
[13] 顾红雅,瞿礼嘉,明小天,等. 植物基因和分子操作 [M]. 北京:北京大学出版社,1995.  
[14] Vos P, Hogers R, Bleeker M, et al. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting [J]. *Nucleic Acids Res*, 1995, 23(21):4407-4414.  
[15] Bassam B J, Caetano-Annoles G, Gresshoff P M. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels [J]. *Anal Biochem*, 1991, 196(1):80-83.  
[16] Chalhou B A, Thibault S, Laucou V, et al. Silver staining and recovery of AFLP amplification products on large denaturing polyacrylamide gels [J]. *Biotechniques*, 1997, 22(2):216-220.  
[17] 黄 真,毛庆秋. 甘肃陇南地区三岛柴胡与南、北柴胡的性状及显微组织特征比较 [J]. 温州医学院学报,2005,35(4):326-327.  
[18] 郭丽华. 北柴胡、南柴胡和三岛柴胡比较生物学的研究 [D]. 哈尔滨:东北农业大学,2003.

## 五种化感物质对人参根系酶活性的影响

黄小芳,李 勇,易茜茜,丁万隆

(中国医学科学院 北京协和医学院药用植物研究所,北京 100193)

**摘 要:**目的 研究 5 种化感物质对人参根系酶活性的影响,探讨化感物质对根系保护性酶活性的作用规律。方法 采用营养液培养方法,研究了苯甲酸、邻苯二甲酸二异丁酯、丁二酸二异丁酯、棕榈酸和 2,2-二(4-羟基苯基)丙烷对苗期人参根系过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)和苯丙氨酸解氨酶(PAL)酶活性的影响。结果 苯甲酸在 3 种浓度下均抑制人参幼苗根系 POD 酶活性,邻苯二甲酸二异丁酯和丁二酸二异丁酯仅在低浓度时抑制 POD 酶活性,棕榈酸和 2,2-二(4-羟基苯基)丙烷 3 种浓度下均促进 POD 酶活性,且与化感物质浓度呈正相关。除丁二酸二异丁酯和棕榈酸外,其余 3 种化感物质均表现为处理浓度与 CAT 酶活性正相关,且与对照相比,化感物质对 CAT 酶活性的影响均表现促进作用。苯甲酸和丁二酸二异丁酯在低浓度时抑制 PAL 酶活性,中浓度处理对 PAL 酶活性的促进作用大于高浓度处理,棕榈酸在低浓度时对 PAL 酶活性的促进作用最强,2,2-二(4-羟基苯基)丙烷在高浓度时对 PAL 酶活性的促进作用最强,邻苯二甲酸二异丁酯对 PAL 酶活性的促进作用与浓度呈正相关。研究还发现,对照及 5 种化感物质处理中的 POD、CAT、PAL 酶活性均随处理时间延长而变化,但酶活性与处理时间无明显相关性。结论 人参根系分泌物中 5 种化感物质对人参根系 POD、CAT 和 PAL 酶活性有显著影响。

**关键词:**人参;化感物质;酶活性;POD;CAT;PAL

中图分类号:R282.2

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2010)01-0117-05

收稿日期:2009-03-10

基金项目:国家自然科学基金项目(30672619);国家“十一五”科技支撑计划项目(2006BAI09B04-01)

作者简介:黄小芳(1985—),女,山东省滕州市人,硕士研究生,主要从事土壤生理生态学研究。E-mail:sophia325@163.com

\*通讯作者 丁万隆 Tel:(010)62899745 E-mail:wlding@mplad.ac.cn