

野生与栽培当归遗传多样性比较

朱田田^{1,2,3,4}, 晋玲^{1,2,3}, 黄得栋^{1,3}, 卢有媛^{1,3}, 李金田¹, 孙少伯¹

1. 甘肃中医药大学, 甘肃 兰州 730000

2. 甘肃省中药质量与标准研究重点实验室培育基地, 甘肃 兰州 730000

3. 甘肃中医药大学中(藏)药资源研究所, 甘肃 兰州 730000

4. 甘肃中医药大学药用植物遗传育种研究所, 甘肃 兰州 730000

摘要:目的 比较野生当归 *Angelica sinensis* 与栽培当归的遗传多样性。方法 应用 ISSR 分子标记对 48 个栽培当归居群和 7 个野生当归居群 1 038 个样本进行扩增, 利用 Popgen 1.32 软件对其 Shannon's 多样性信息指数 (*I*) 等遗传信息参数进行分析, 并利用 SPSS 19.0 中的独立样本 *t* 检验进行差异显著性检验; 运用 GenAlEx 6.5 软件对野生和栽培当归 2 个组群遗传变异进行 AMOVA 分析; 应用 NTSYS 软件构建当归野生和栽培各居群的 Nei's 遗传距离 UPGMA 聚类树状图, 并使用 GenAlEx 6.5 软件中的 Mantel test 分析遗传距离与地理距离的相关性。结果 野生当归居群和栽培当归居群的多态位点百分率 (PPB) 为 83.77% 和 96.10%, *I* 平均值为 0.221 7 和 0.282 8, Nei's 基因多样性指数 (*H*) 平均值为 0.344 4 和 0.434 3, 且存在极显著差异 ($P < 0.001$); 野生和栽培当归居群的种群间遗传分化指数 (G_{st})、基因流 (N_m) 值分别为 0.299 1、1.171 8 和 0.733 4、0.181 7, 组间变异百分比为 15.85%, 居群间变异百分比为 54.3%, 居群内变异百分比为 29.85%; 遗传距离变化范围 0.014 4~0.730 7。结论 当归野生居群的遗传多样性低于栽培居群, 野生居群间的遗传分化程度明显低于栽培居群, 当归总的遗传变异来自于居群间, 野生居群与栽培居群亲缘关系较远, 且遗传距离与地理距离存在相关性。

关键词: 当归; 野生; 栽培; 遗传多样性; ISSR

中图分类号: R282.12 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)01-0211-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.01.029

Comparative study on populations genetic diversity between wild and cultivated *Angelica sinensis*

ZHU Tian-tian^{1,2,3,4}, JIN Ling^{1,2,3}, HUANG De-dong^{1,3}, LU You-yuan^{1,3}, LI Jin-tian¹, SUN Shao-bo¹

1. Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China

2. Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Quality and Standard, Gansu Province, Lanzhou 730000, China

3. Research Institute of Chinese (Tibetan) Medicinal Resources, Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China

4. Research Institute of Medicinal Plant Genetic Breeding, Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China

Abstract: Objective To compare the populations genetic diversity between wild and cultivated populations of *Angelica sinensis*. **Methods** ISSR markers were used to analyze the genetic diversity of 1 038 samples, which included 48 cultivated populations and seven wild populations. Shannon's information index (*I*) and other parameters of genetic information were calculated by Popgen 1.32. Using independent sample *t*-test in SPSS19.0 to examine whether there was significant difference. The AMOVA analysis of the genetic variation of two groups was carried out by using GenAlEx 6.5; UPGMA dendrogram relationship between wild and cultivated populations were clustered by Ntsys, and the correlation of genetic distance and geographic distance was analyzed by using the mantel test in GenAlEx 6.5. **Results** The average percentages of polymorphic bands (PPB) of wild and cultivated populations were 83.77% and 96.10%; Shannon's information indexes (*I*) were 0.221 7 and 0.282 8; The average values of Nei's genetic diversity index (*H*) were 0.344 4 and 0.434 30, and there had extremely significant differences ($P < 0.001$). The genetic differentiation coefficient (G_{st}) and gene flow (N_m) of wild populations were 0.299 1 and 1.171 8, which of cultivated populations were 0.733 4 and 0.181 7. The variation percentage was 15.85% between groups of wild and cultivated. The variation percentage among populations was 54.3%, and the

收稿日期: 2017-06-23

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81360615); 甘肃省科技计划自然科学基金资助项目 (1308RJZA127); 中央财政引导地方科技创新平台项目“甘肃省中药资源与新产品开发平台建设”; 甘肃省科技计划基础研究创新群体 (1606RJJA323)

作者简介: 朱田田, 副教授, 硕士, 研究方向为中药资源开发与质量综合评价。Tel: (0931)8765393 E-mail: ztt0935@163.com

variation percentage within populations was 54.3%; The genetic distance varied from 0.014 4 to 0.730 7. **Conclusion** The genetic diversity of wild populations was lower than the cultivated populations; The level of genetic differentiation among wild populations was obviously lower than the cultivated populations; The total genetic variation of *A. sinensis* mainly existed among populations; It has a distant relationship between wild and cultivated populations, and has correlation between genetic distance and geographic distance.

Key words: *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels; wildness; cultivation; genetic diversity; ISSR

当归为伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根, 具有补血活血、调经止痛、润燥滑肠之功效^[1-2]。当归是我国较早栽培的药用植物之一, 历朝历代均以甘肃产当归为佳品, 距今已有 1 700 多年的栽培历史, 由于栽培历史悠久导致其野生资源逐渐萎缩, 研究表明^[3-4]野生当归种质资源目前在中国的分布十分稀少, 仅限于甘肃、四川、西藏等省部分高寒地区人迹罕至的高山丛林中。这些保存下来的珍贵野生当归与栽培当归相比遗传多样性和亲缘关系如何, 其遗传距离与地理分布有没有相关性, 均是当归种质资源保护与利用过程中需要解决的问题。本实验利用 ISSR 分子标记技术比较当归野生居群和栽培居群的遗传多样性和遗传分化状况, 明确野生当归与栽培当归的亲缘关系, 旨在为当归优良品种选育提供宝贵野生种质材料, 以期解决困扰当归生产的品质退化等问题。

1 材料与仪器

1.1 材料

野生当归来源于甘肃岷县、迭部等地的野外丛林中, 栽培当归为甘肃、云南、湖北、四川等当归主要栽培产区代表性居群样品, 其中甘肃产栽培当归样本信息已在课题组前期研究中列出^[5], 野生和其余省份栽培样品采集信息见表 1。采样时每个居群随机取样 10~20 株, 每个植株采新鲜嫩叶, 采集时株间距离尽量相隔 10 m 以上, 硅胶迅速干燥保存。全部样品由甘肃中医药大学中药资源教研室晋玲教授鉴定为伞形科(Umbelliferae)当归属 *Angelica* L. 植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels。

1.2 仪器与试剂

PCR 扩增仪 (德国 Biometra 公司); 凝胶成像系统 (美国 Bio-Rad); DYY-7 型电泳仪 (北京市六一仪器厂); 电泳槽 (北京六一仪器厂); 台式高速

表 1 材料信息

Table 1 Information of plant materials

居群编号	采集地	地理位置		海拔/m	样本数	类型
		E	N			
1~41 ^[5]	渭源县麻家集乡	103°55'4.927"	35°6'11.362"	2 519	20	栽培
42	四川茂县沟口乡色巴村	103°39'13"	31°56'22"	2 753	12	栽培
43	湖北恩施红土乡 1	109°56'46"	30°08'35"	1 821	20	栽培
44	湖北恩施红土乡 2	109°56'06"	30°08'15"	1 798	19	栽培
45	云南沾益播乐乡 1	104°06'46"	25°49'31"	2 061	20	栽培
46	云南剑川甸南镇	100°01'52"	26°32'10"	3 031	19	栽培
47	云南沾益播乐乡 2	104°06'38"	25°49'40"	2 074	17	栽培
48	云南鹤庆草海镇	100°05'02"	26°27'44"	3 088	20	栽培
49	甘肃岷县寺沟乡青草滩	103°56.864'	34°16.568'	2 964	17	野生
50	甘肃岷县寺沟乡马坪林场	103°56.873'	34°16.583'	2 936	13	野生
51	甘肃岷县马坞乡下什字村	104°49.563'	34°20.492'	2 180	18	野生
52	甘肃岷县马坞乡繁荣村	104°49.565'	34°20.494'	2 179	9	野生
53	甘肃岷县马坞乡沙金村	104°47.898'	34°20.090'	2 335	21	野生
54	甘肃迭部县腊子口	103°50.845'	34°12.171'	2 569	11	野生
55	甘肃迭部县旺藏乡旺藏林场	103°36.219'	33°53.040'	2 602	18	野生
合计					1 038	

冷冻离心机 (eppendorf centrifuge 5430 R, 德国 eppendorf 公司)。植物基因组 DNA 提取试剂盒 (北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司); ISSR 随机引物 (根据 British Columbia 大学公布的序列设计, 由生工生物工程股份有限公司合成); Tris、PVP、 β -巯基乙醇、RNaseA、Agarose 琼脂糖、Gold View 核酸染料、TaqDNA 聚合酶等 PCR 试剂 (西安科昊生物工程有限责任公司); 其他化学试剂均为国产分析纯。

2 方法

2.1 基因组 DNA 提取与 ISSR-PCR 扩增

DNA 提取和 ISSR-PCR 扩增程序同笔者前期研究中的实验方法^[5-6], 采用试剂盒法提取基因组 DNA, 扩增体系为 20 μ L, 内含 1.5 mmol/L 10 $\times$ PCR Buffer (Mg^{2+} Plus), 0.3 μ mol/L ISSR 随机引物, 0.6 U TaqDNA 聚合酶, 0.375 mmol/L dNTPs 及 42 ng DNA 模板; 扩增程序为 94 $^{\circ}$ C 预变性 4 min, 94 $^{\circ}$ C 变性 45 s (根据不同引物的退火温度), 复性 45 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 2 min, 40 个循环, 72 $^{\circ}$ C 延伸 7 min, 4 $^{\circ}$ C 保存结束反应。

2.2 扩增产物电泳检测与统计

用 8 条 ISSR 随机引物^[5-6]对 55 个当归居群的 1 038 个样本基因组 DNA 进行扩增, 反应结束后用 1.2% 琼脂糖凝胶 (溶胶时加入适量 Gold View 核酸染料) 进行 TBE 电泳检测, 凝胶成像系统下

检测并拍照保存。采用人工读带法, 在相同迁移率位置上, 有带记为 “1”, 无带记为 “0”, 建立数据矩阵。

2.3 数据分析

利用 Popgen 32 软件分析野生和栽培当归各居群多态位点百分率 (PPB)、Nei's 基因多样性指数 (H)、Shannon's 多态性信息指数 (I)、Nei's 遗传距离 (D), 总基因多样性 (H_t)、种群内基因多样性 (H_s)、种群间遗传分化指数 (G_{st})、基因流 (N_m), 并利用 SPSS 19.0 中的独立样本 t 检验对野生当归群体和栽培当归群体遗传多样性指标进行差异显著性检验; 运用 GenAlEx 6.5 软件对野生和栽培当归 2 个组群遗传变异进行 AMOVA 分析; 应用 NTSYS 软件构建当归野生和栽培各居群的 D 值 UPGMA 聚类树状图, 并使用 GenAlEx 6.5 软件中的 Mantel test 分析遗传距离与地理距离的相关性。

3 结果与分析

3.1 当归野生居群与栽培居群遗传多样性比较

用 8 条 ISSR 引物对 7 个野生居群和 48 个栽培居群的 1 038 个样本进行扩增和电泳检测, Popgen 1.32 软件统计结果见表 2。由表 2 可知, 55 个当归居群共检测到 154 个位点, 其中多态性位点 152 个, 居群 PPB 为 98.07%, I 平均值为 0.312 3, H 平均值

表 2 野生与栽培当归居群遗传信息参数

Table 2 Parameters of genetic information for all populations of *A. sinensis*

居群编号	居群类型	样本数	总位点数	多态性标记位点数	PPB/%	H	I
1~41	栽培	20	154	46	29.87	0.120 1	0.174 5
42	栽培	12	154	61	39.61	0.109 5	0.170 3
43	栽培	20	154	76	49.35	0.115 7	0.187 3
44	栽培	19	154	71	46.10	0.116 6	0.185 7
45	栽培	20	154	75	48.70	0.103 6	0.172 7
46	栽培	19	154	62	40.26	0.111 3	0.173 5
47	栽培	17	154	68	44.16	0.093 7	0.153 9
48	栽培	20	154	73	47.40	0.122 4	0.192 1
49	野生	17	154	74	48.05	0.167 6	0.251 8
50	野生	13	154	74	48.05	0.127 1	0.201 7
51	野生	18	154	75	48.70	0.167 1	0.250 7
52	野生	9	154	78	50.65	0.159 3	0.243 2
53	野生	21	154	97	62.99	0.164 1	0.260 2
54	野生	11	154	65	42.21	0.124 2	0.191 5
55	野生	18	154	76	49.35	0.162 4	0.244 0
总计		1 038	154	152	98.07	0.312 3	0.472 8

为 0.472 8, 各指数均显示出当归在物种水平上具有较高的遗传多样性, 这与课题组前期研究结果一致^[5]。55 个当归居群的 PPB 在 4.55%~62.99%, H 范围为 0.019 1~0.167 6, I 范围为 0.027 7~0.260 2, 无论野生还是栽培当归, 其各居群内的 PPB、 H 和 I 均低于居群间的值, 说明当归居群内遗传多样性水平明显低于居群间。

利用 SPSS 19.0 对野生当归群体和栽培当

归群体的遗传多样性指标进行独立样本进行 t 检验 (表 3), 结果显示野生当归群体的遗传多样性指标 PPB、 H 、 I 分别为 83.77%、0.221 7、0.344 4, 都低于栽培当归群体的 96.10%、0.282 8、0.434 3, 野生当归群体和栽培当归群体的遗传多样性存在极显著差异 ($P<0.001$), 表明在全基因组水平上栽培当归具有比野生当归高的遗传变异。

表 3 野生与栽培当归群体遗传多样性比较

Table 3 Comparison on genetic diversity between wild and cultivated populations of *A. sinensis*

当归群体	居群数	样本数	PPB/%	H	I
野生当归群体	7	107	83.77	0.221 7	0.344 4
栽培当归群体	48	931	96.10	0.282 8	0.434 3
P 值			<0.001	<0.001	<0.001

3.2 当归野生与栽培居群遗传分化比较

通过 Popgen 软件分析得到野生和栽培当归居群的 H_t 、 H_s 、 G_{st} 、 N_m 值分别为 0.218 5、0.153 1、0.299 1、1.171 8 和 0.286 2、0.076 3、0.733 4、0.181 7, 结果说明野生当归居群有 29.91% 的变异存在于居群间, 70.09% 的变异存在于居群内, 居群间的遗传分化程度低, 遗传变异主要存在于居群内, 居群间有一定的基因交流; 栽培当归居群有 73.34% 的变异存在于居群间, 26.66% 的变异存在于居群内, 居群间的遗传

分化程度较高, 遗传变异主要存在于居群间, 居群间基本无基因交流。对野生和栽培当归 2 个群体进行分子方差分析 (AMOVA), 以检测野生居群和栽培居群各群体内、群体间遗传变异情况。由表 4 可知, 所有野生和栽培当归居群总的遗传变异来自于居群间, 变异百分比为 54.3%, ($F_{SC}=0.645\ 29$, $P<0.01$), 野生居群和栽培居群组间变异百分比为 15.85% ($F_{CT}=0.158\ 47$, $P<0.01$), 居群内变异百分比为 29.85% ($F_{ST}=0.701\ 50$, $P<0.01$)。

表 4 当归群体分子变异分析结果

Table 4 Analysis of molecular variance (AMOVA) for *A. sinensis*

遗传变异来源	自由度	平方和	方差分量	变异百分比/%
野生居群和栽培居群 2 大组群间	1	64.157	0.256	15.85
组群内居群间	53	903.397	0.876	54.30
居群内	983	473.346	0.482	29.85
总计	1 037	1 440.899	1.613	100.00

3.3 当归野生与栽培居群亲缘关系

利用 POPGENE1.32 软件计算出 55 个居群间的 D 值, 见表 5。其中, 40 号 (甘肃省武山县沿安乡居群) 和 47 号 (云南沾益播乐乡 2 号居群) 的遗传距离最大 ($D=0.730\ 7$), 说明它们的亲缘关系最远, 而 45 号 (云南沾益播乐乡 1 号居群) 和 46 号 (云南剑川甸南镇居群) 的遗传距离最小 ($D=0.014\ 4$), 说明它们的亲缘关系最近。

为了进一步分析当归野生与栽培居群间的亲缘关系, 利用 NTSYS 软件构建 55 个当归居群的 Nei's 遗传距离 UPGMA 聚类图 (图 1)。由图 1 可知, 在

遗传距离 0.55 处, 全部甘肃栽培的当归居群聚为一类, 云南、四川、湖北的栽培当归居群和野生当归居群聚为一类; 在遗传距离 0.19 处云南、四川、湖北的全部栽培当归居群聚为一类, 全部野生当归居群聚为一类。

3.4 野生与栽培当归居群遗传距离与地理距离相关性分析

遗传距离与地理距离的相关性分析 (Mantel test) 结果显示, 无论是野生当归居群 ($R=0.065$, $P<0.01$, 图 2) 还是栽培当归居群 ($R=0.384$, $P<0.01$, 图 3), 其遗传距离和地理距离均存在显著相

表 5 野生与栽培当归居群的遗传距离

Table 5 Genetic distance for wild and cultivated populations of *A. sinensis*

居群编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1~41	****										
42	0.458 4	0.527 2	0.560 9	0.458 1	0.531 0	0.513 5	0.580 1	0.662 1	0.577 2	0.546 8	0.497 6
43	0.438 5	0.494 4	0.536 7	0.461 1	0.524 3	0.490 8	0.570 6	0.637 9	0.549 1	0.531 1	0.483 3
44	0.427 4	0.475 8	0.514 4	0.448 2	0.509 0	0.475 7	0.547 9	0.617 5	0.534 9	0.516 0	0.479 7
45	0.460 0	0.496 4	0.553 3	0.472 3	0.543 9	0.512 6	0.596 5	0.630 5	0.552 1	0.566 0	0.506 4
46	0.433 9	0.484 1	0.525 4	0.442 7	0.512 9	0.485 3	0.576 7	0.621 7	0.531 0	0.537 2	0.483 3
47	0.458 6	0.502 6	0.556 5	0.470 1	0.547 9	0.505 6	0.610 6	0.657 1	0.575 2	0.566 5	0.500 9
48	0.414 6	0.448 7	0.501 2	0.441 1	0.515 6	0.470 5	0.545 5	0.587 1	0.504 1	0.494 0	0.451 9
49	0.386 1	0.447 5	0.516 8	0.434 1	0.540 6	0.455 6	0.496 1	0.508 6	0.496 5	0.505 4	0.457 0
50	0.439 9	0.453 5	0.542 0	0.462 9	0.558 2	0.499 2	0.574 1	0.608 1	0.514 7	0.529 5	0.490 2
51	0.389 4	0.439 3	0.483 6	0.460 2	0.539 2	0.433 2	0.500 0	0.502 9	0.468 7	0.550 6	0.452 4
52	0.400 4	0.417 0	0.520 2	0.447 9	0.556 2	0.499 2	0.519 8	0.552 4	0.480 2	0.505 4	0.471 1
53	0.407 6	0.416 3	0.506 8	0.430 5	0.522 5	0.476 4	0.527 4	0.566 7	0.472 4	0.482 1	0.446 6
54	0.441 4	0.468 4	0.544 3	0.461 4	0.549 4	0.472 1	0.581 1	0.626 2	0.546 3	0.556 8	0.509 7
55	0.437 0	0.445 9	0.527 1	0.473 8	0.555 1	0.482 9	0.547 1	0.581 0	0.523 9	0.511 3	0.489 6
居群编号	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
42	0.650 2	0.660 6	0.554 6	0.459 9	0.549 3	0.633 7	0.553 5	0.539 8	0.653 8	0.667 4	0.625 3
43	0.627 1	0.638 5	0.530 0	0.433 5	0.540 8	0.615 0	0.517 4	0.530 8	0.646 0	0.633 5	0.603 3
44	0.603 0	0.610 0	0.512 9	0.425 4	0.537 9	0.592 1	0.500 2	0.519 9	0.640 2	0.616 9	0.581 6
45	0.639 7	0.666 5	0.550 2	0.444 6	0.558 5	0.623 3	0.513 9	0.531 4	0.671 0	0.642 8	0.603 4
46	0.623 4	0.639 3	0.531 5	0.420 9	0.517 5	0.607 1	0.496 2	0.517 2	0.644 8	0.621 6	0.594 7
47	0.646 6	0.671 9	0.549 0	0.455 3	0.562 2	0.636 5	0.539 4	0.557 7	0.698 8	0.671 9	0.629 3
48	0.592 5	0.598 6	0.490 2	0.390 3	0.501 2	0.580 2	0.479 3	0.499 6	0.605 8	0.583 2	0.564 6
49	0.575 5	0.539 5	0.464 9	0.431 9	0.510 1	0.554 2	0.494 4	0.502 7	0.554 1	0.542 8	0.538 2
50	0.619 2	0.619 8	0.506 6	0.409 0	0.527 8	0.588 4	0.490 8	0.524 6	0.646 2	0.613 1	0.580 9
51	0.558 5	0.533 7	0.448 7	0.413 5	0.500 9	0.553 5	0.470 2	0.507 1	0.585 0	0.543 9	0.523 1
52	0.582 3	0.568 0	0.460 8	0.398 4	0.513 7	0.566 4	0.462 0	0.511 0	0.613 4	0.587 0	0.564 7
53	0.579 5	0.569 2	0.462 4	0.375 4	0.476 5	0.546 3	0.458 9	0.489 5	0.592 8	0.574 8	0.549 9
54	0.633 5	0.645 9	0.521 1	0.456 4	0.547 6	0.627 9	0.527 3	0.531 5	0.685 2	0.651 8	0.599 5
55	0.605 0	0.596 3	0.495 9	0.423 7	0.535 8	0.586 4	0.477 6	0.513 3	0.614 7	0.601 9	0.556 9
居群编号	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33
42	0.633 6	0.652 4	0.537 1	0.498 2	0.588 8	0.689 7	0.576 7	0.672 7	0.673 1	0.629 9	0.620 2
43	0.625 7	0.646 7	0.534 1	0.486 6	0.575 0	0.677 2	0.569 7	0.669 7	0.671 0	0.613 2	0.607 0
44	0.614 7	0.644 4	0.538 9	0.492 8	0.567 2	0.651 2	0.546 3	0.653 1	0.649 7	0.588 1	0.591 0
45	0.642 0	0.668 9	0.568 8	0.511 3	0.605 1	0.690 2	0.585 1	0.692 4	0.700 9	0.638 5	0.635 9
46	0.614 5	0.644 4	0.545 9	0.493 1	0.576 7	0.669 6	0.577 7	0.656 9	0.664 7	0.610 4	0.604 9
47	0.654 4	0.676 7	0.566 2	0.508 5	0.602 1	0.695 1	0.596 2	0.699 0	0.718 7	0.647 4	0.641 4
48	0.583 0	0.624 2	0.519 8	0.479 6	0.564 4	0.634 2	0.553 5	0.615 4	0.667 3	0.609 3	0.618 4
49	0.508 8	0.514 0	0.439 8	0.420 5	0.441 4	0.483 7	0.539 4	0.505 1	0.573 2	0.546 3	0.541 0
50	0.625 5	0.640 5	0.551 4	0.505 8	0.568 3	0.670 1	0.604 3	0.666 0	0.695 8	0.624 3	0.632 9
51	0.533 7	0.548 9	0.465 9	0.439 1	0.465 3	0.534 1	0.575 9	0.547 1	0.593 9	0.559 7	0.549 1
52	0.586 6	0.607 1	0.521 9	0.486 1	0.522 6	0.619 6	0.596 1	0.604 5	0.660 0	0.582 9	0.586 0
53	0.581 9	0.581 6	0.507 8	0.469 5	0.515 0	0.615 5	0.568 1	0.611 6	0.652 3	0.578 6	0.585 2
54	0.622 0	0.645 1	0.539 5	0.478 9	0.556 1	0.645 4	0.643 5	0.680 7	0.688 3	0.596 3	0.628 1
55	0.595 2	0.617 9	0.523 8	0.483 0	0.544 4	0.635 8	0.584 2	0.636 7	0.654 4	0.607 3	0.611 1

续表 5

居群编号	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44
42	0.629 8	0.653 4	0.670 9	0.575 1	0.551 1	0.493 5	0.683 6	0.505 8	****		
43	0.618 5	0.628 9	0.637 7	0.533 4	0.532 9	0.451 2	0.666 3	0.506 3	0.027 6	****	
44	0.604 2	0.608 3	0.610 8	0.509 8	0.515 1	0.427 1	0.644 7	0.505 4	0.048 8	0.018 1	****
45	0.628 0	0.645 8	0.633 6	0.525 6	0.547 8	0.449 4	0.681 1	0.545 8	0.037 4	0.016 6	0.028 7
46	0.610 5	0.610 2	0.606 1	0.508 6	0.518 5	0.435 3	0.659 8	0.521 1	0.048 6	0.023 9	0.037 2
47	0.655 7	0.656 0	0.668 5	0.549 1	0.540 2	0.463 3	0.730 7	0.544 5	0.050 1	0.028 2	0.029 2
48	0.593 6	0.630 4	0.607 0	0.517 3	0.519 5	0.420 5	0.643 4	0.490 5	0.057 7	0.044 6	0.046 6
49	0.556 6	0.553 2	0.548 6	0.489 4	0.476 2	0.447 8	0.620 6	0.518 6	0.251 3	0.247 5	0.252 5
50	0.615 0	0.652 4	0.604 5	0.506 9	0.547 1	0.419 3	0.666 7	0.540 4	0.064 1	0.044 8	0.053 9
51	0.592 4	0.571 4	0.544 4	0.481 1	0.517 7	0.462 5	0.614 4	0.525 6	0.208 5	0.203 3	0.212 6
52	0.558 0	0.575 0	0.557 1	0.475 2	0.524 4	0.394 2	0.629 8	0.534 9	0.097 9	0.089 0	0.088 4
53	0.569 5	0.610 9	0.571 4	0.487 5	0.518 9	0.387 6	0.626 4	0.507 9	0.077 4	0.062 7	0.066 1
54	0.599 1	0.669 9	0.630 2	0.510 5	0.522 5	0.464 0	0.665 4	0.564 0	0.097 6	0.086 4	0.098 8
55	0.616 8	0.630 6	0.592 2	0.501 9	0.529 9	0.433 6	0.643 9	0.539 1	0.072 8	0.060 5	0.072 9
居群编号	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55
45	****										
46	0.014 4	****									
47	0.015 8	0.028 1	****								
48	0.039 8	0.044 3	0.046 6	****							
49	0.220 0	0.228 4	0.225 7	0.230 0	****						
50	0.032 5	0.045 3	0.044 0	0.051 3	0.194 4	****					
51	0.178 5	0.191 4	0.184 0	0.189 9	0.071 6	0.149 6	****				
52	0.068 1	0.083 6	0.073 6	0.074 2	0.185 5	0.036 5	0.137 1	****			
53	0.046 2	0.059 8	0.055 7	0.059 6	0.183 3	0.015 9	0.146 4	0.020 5	****		
54	0.065 7	0.083 2	0.069 3	0.093 0	0.139 9	0.059 2	0.127 2	0.090 8	0.069 0	****	
55	0.042 6	0.058 6	0.052 1	0.069 1	0.130 5	0.032 7	0.078 9	0.058 3	0.042 6	0.045 2	****

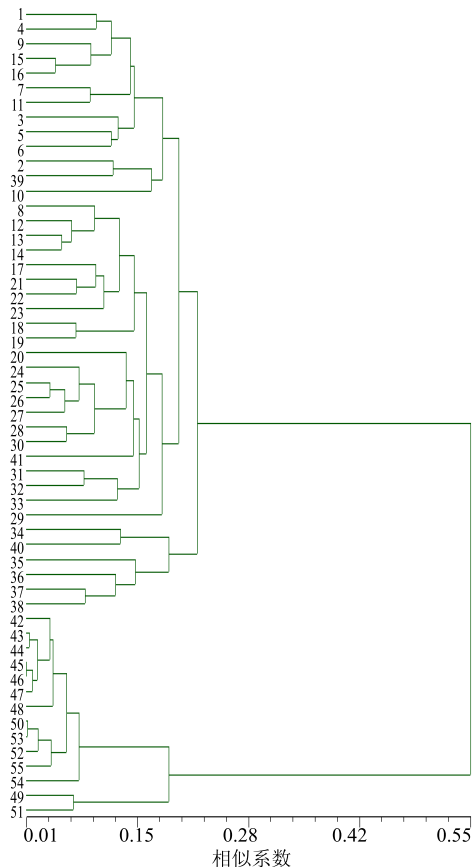


图 1 55 个当归居群的 UPGMA 聚类树

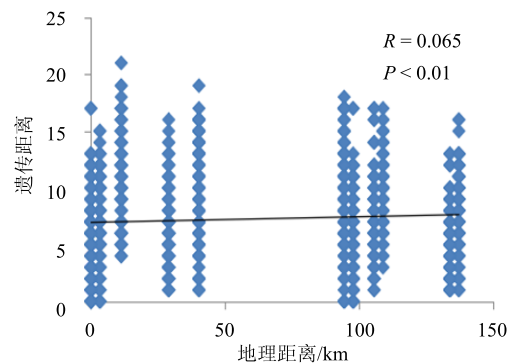
Fig. 1 UPGMA dendrogram for 55 populations of *A. sinensis*

图 2 野生当归遗传距离与地理距离 Mental test 结果

Fig. 2 Mental test results of genetic distance and geographic distance for wild populations of *A. sinensis*

关,但野生当归居群的相关系数小于栽培当归居群。对所有当归居群的遗传距离与地理距离的相关性进一步进行 Mental test 分析,由图 4 可知 55 个当归居群的总遗传距离与地理距离也存在显著相关性 ($R=0.282$, $P<0.01$, 图 4)。

4 讨论

遗传多样性是一个物种适应环境以及可被改造和利用的潜力的体现^[7],如果该物种野生资源濒危,栽培品种单一,会导致其遗传基础狭窄,容易降低该物种对环境变化的适应能力,引发病虫害的传播

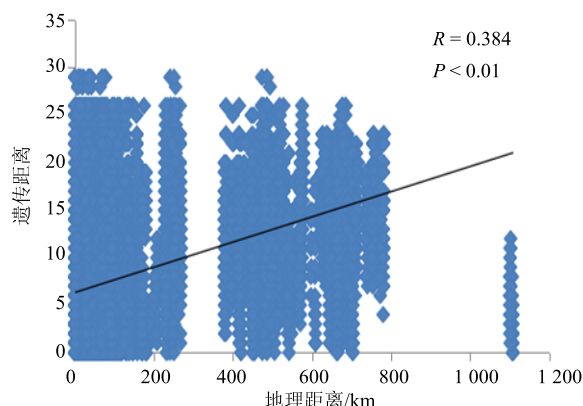


图 3 栽培当归遗传距离与地理距离 Mental test 结果
Fig. 3 Mental test results of genetic distance and geographic distance for cultivated populations of *A. sinensis*

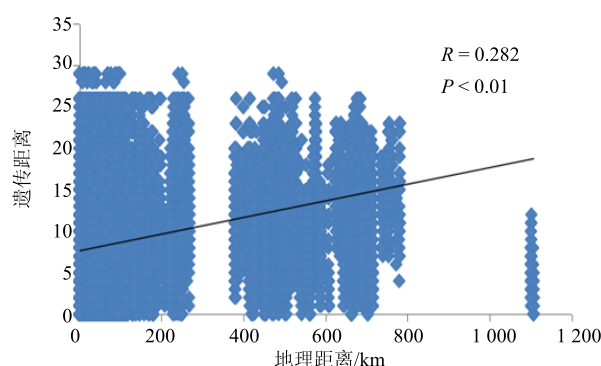


图 4 55 个当归居群遗传距离与地理距离 Mental test 结果
Fig. 4 Mental test results of genetic distance and geographic distance for 55 populations of *A. sinensis*

等^[8-9]。当归在甘肃已栽培千年，且野生资源已极其濒危^[10-12]，本研究得到的野生当归居群 PPB 为 83.77%，高于前期研究得到的甘肃省栽培当归居群的 77.27%^[5]，说明甘肃省栽培当归的遗传多样性已有所下降，近年来，甘肃省栽培当归品质退化、抽薹率较高、病虫害发病率上升等问题趋于严重，也是遗传多样性下降的表现之一。然而，通过对全国范围内的当归居群遗传多样性分析后发现，全部栽培当归居群的 PPB 为 96.10%，明显高于野生居群，这与水稻、大麦、大豆等作物的栽培现象极其相似，对于多起源、多品种及广泛的种植区域作物而言，均会表现出较高的遗传多样性^[13-15]，但当归栽培区域狭窄、栽培品种单一、野生资源濒危，分析其原因可能与当归野生居群的数量远小于栽培居群有关，所采集的野生当归不足以反映野生当归的真实遗传多样性，因此，对于野生当归的资源保护已迫

在眉睫。在今后研究中，课题组将扩大取样范围，特别是全国栽培当归所在区域范围内的野生当归居群的取样数量，使研究结果更加可靠。

自然生长的当归靠种子繁育后代，总体属于异花授粉植物，对大范围连续分布的异交植物来说，遗传变异的大部分存在于居群之内^[16]。本研究发现，野生当归的遗传变异 70.09% 来源于居群内，栽培当归的遗传变异只有 26.66% 来源于居群内，而 AMOVA 分析表明当归居群总的遗传变异来自于居群间，可能由于人工选择使得栽培当归的异交率变低，也使其种内遗传变异程度变小。研究表明^[8-9, 17]，一个物种的进化潜力和抵御不良环境的能力既取决于种内遗传变异的大小，也有赖于遗传变异的居群结构，人为的去改变当归的居群结构对当归的物种进化是不利的，应该在当归栽培过程中适当进行栽培与野生当归的杂交，以增加栽培当归的遗传多样性和居群内遗传变异率，使其优良基因得以保持和展现，而不是一味的追求经济效益完全进行人为控制，忽视了自然规律。

Nei's 遗传距离聚类图表明，野生当归居群已和栽培当归居群之间产生了显著的遗传分化，采集的野生当归居群为原始野生居群，不是栽培居群逸生而来，而当归栽培居群也并非来自采集的野生居群，且其来源单一，因此，长期生长在自然环境中的野生当归具有抗自然灾害和抗病虫害的优良基因，可为栽培居群基因库的改良及当归新品种的选育提供优良的种质。此外，当归的遗传距离和地理距离也存在显著的相关性，加强不同地区之间的当归的基因交流，对于当归新品种的选育和改良具有重要意义。

参考文献

- [1] 中科院中国植物志编委会. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1978.
- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [3] 张尚智, 贺莉萍, 韩黎明, 等. 野生当归及其当归植物资源的研究 [J]. 中国现代中药, 2012, 14(4): 33-36.
- [4] 张宏意, 罗连, 余意, 等. 当归种质资源调查研究 [J]. 中药材, 2009, 32(3): 335-337.
- [5] 朱田田, 晋玲, 张裴斯, 等. 基于 ISSR 的甘肃不同产区栽培当归遗传多样性研究 [J]. 中草药, 2015, 46(23): 3549-3557.
- [6] 朱田田, 张裴斯, 晋玲, 等. 当归简单重复序列区间-聚合酶链反应体系的建立及优化与品种(系)间遗传关系研究 [J]. 中国药房, 2014, 25(35): 3265-3269.
- [7] 王建波. 分子标记及其在植物遗传学研究中的应用

- [J]. 遗传, 2002, 24(5): 613-616.
- [8] 李典谟, 徐汝梅. 物种濒危机制和保育原理 [M]. 北京: 科学出版社, 2005.
- [9] 何平. 珍稀濒危植物保护生物学 [M]. 重庆: 西南师范大学出版社, 2005.
- [10] 寇宗爽. 本草衍义 [M]. 北京: 商务出版社, 1990.
- [11] 孙红梅, 张本刚, 齐耀东, 等. 当归药材资源调查与分析 [J]. 中国农学通报, 2009, 25(23): 437-441.
- [12] 赵锐明, 陈垣, 郭凤霞, 等. 甘肃岷县野生当归资源分布特点及其与栽培当归生长特性的比较研究 [J]. 草业学报, 2014, 23(2): 29-37.
- [13] Ram S G, Thiruvengadam V, Vinod K K. Genetic diversity among cultivars, landraces and wild relatives of rice as revealed by microsatellite markers [J]. *J Appl Genet*, 2007, 48(4): 337-345.
- [14] Rehan N, Lynn D, Bushra M. Genetic differentiation and geographical relationship of Asian barley landraces using SSRs [J]. *Genet Mol Biol*, 2011, 34(2): 268-273.
- [15] Guo J, Wang Y S, Song C, *et al*. A single origin and moderate bottleneck during domestication of soybean (*Glycine max*): implications from microsatellites and nucleotide sequence [J]. *Annals Bot*, 2010, 106(3): 505-514.
- [16] 任跃英. 药用植物遗传育种学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2010.
- [17] 施立明. 遗传多样性及其保存 [J]. 生物科学信息, 1990, 2(4): 158-164.