

文章编号: 1007-4627(2008)02-0201-03

当归新品系“DGA2000-02”与对照品种的遗传差异分析*

刘 敬¹, 颀红梅¹, 刘效瑞², 李文建^{1, #}, 贾婕楠²,

尚虎山², 荆彦明², 刘青芳¹, 董喜存¹

(1 中国科学院近代物理研究所, 甘肃 兰州 730000;

2 甘肃省定西地区旱农科研推广中心, 甘肃 定西 743000)

摘 要: 当归新品系“DGA2000-02”是利用兰州重离子加速器研究装置(HIRFL)对“岷归 1 号”进行重离子束辐照选育出来的。与岷归 1 号相比, DGA2000-02 表现出更强的抗病性, 产量也有较大提高。对这两个品种的表型、品质及遗传差异进行了系统的分析。为将来进一步选育产量高、品质好及抗逆性强的新品种提供研究基础。

关键词: DNA 随机扩增多态性分析; 重离子辐照; 表型

中图分类号: Q691

文献标识码: A

1 引言

甘肃省岷县、渭源、漳县、宕昌一带有 1 700 多年的当归栽培历史, 在这漫长的栽培过程中, 田间栽培种分离出紫茎、绿茎、大叶型、小叶型、植株开张型和植株紧凑型等多种类型^[1]。DGA2000-02 是对当归的优良品种“岷归 1 号”种子进行重离子束辐照选育出的新品系。与岷归 1 号相比, DGA2000-02 表现出更强的抗病性, 产量也有较大提高, 因此本文将对这两个品种进行比较鉴别。DNA 随机扩增多态性分析(RAPD)^[2]是利用一系列不同的碱基顺序随机排列的寡聚核苷酸单链为引物, 通过 DNA 多聚酶链式反应(PCR)技术, 以目标植物基因组 DNA 为模板扩增出 DNA 片段, 最后利用琼脂糖凝胶电泳进行分离。具有遗传差异的品种可以通过 RAPD 分析表现出不同的差异电泳条带, RAPD 扩增产物的多态性反映了基因组 DNA 的多态性。在本项研究中将利用 RAPD 技术对 DGA2000-02 和岷归 1 号进行遗传差异分析。

2 材料与方法

当归新品系“DGA2000-02”是采用兰州重离子加速器研究装置(HIRFL)提供的不同能量重离子

束处理当归“岷归 1 号”干种子, 然后按作物新品种选育程序进行逐级选择选育出的当归新材料^[3]。本选育工作在定西地区旱农科研推广中心进行。

2.1 形态学分析

2006 年 6 月 2 日将 DGA2000-02 和岷归 1 号的种子分别撒播在按相同条件处理的苗床上, 9 月 6 日观测两个品种的地上形态特征: 叶片的长和宽、叶脉的色泽和绒毛、叶柄的色泽及长、株高等。10 月 21 日挖苗储藏, 此时检测两个品种的根部特征, 它在一定程度上能够反映 3 年后当归的产量高低。

2.2 RAPD 分析

采用 CTAB 法提取两个当归品种幼嫩叶片中的 DNA。20 μl PCR 体系: 缓冲液, 2 μl ; dNTP, 0.5 μl ; 引物, 1.0 μl ; Taq 酶, 0.2 μl ; MgCl_2 , 1.8 μl ; H_2O , 12.5 μl ; 模板, 2 μl 。

PCR 扩增程序: 94 $^\circ\text{C}$ 预变性 3 min; 94 $^\circ\text{C}$ 30 s, 36 $^\circ\text{C}$ 60 s, 72 $^\circ\text{C}$ 90 s, 40 个循环; 72 $^\circ\text{C}$ 延伸 5 min; 4 $^\circ\text{C}$ 终止反应。

扩增完成后在 1% 琼脂糖凝胶上电泳, 利用凝胶成像系统记录实验结果。

采用的 4 条随机引物(上海生工生物工程公司

* 收稿日期: 2008 - 01 - 04; 修改日期: 2008 - 03 - 17

* 基金项目: 中国科学院近代物理研究所所长基金资助项目(06040ZY0)

作者简介: 刘 敬(1976-), 女(汉族), 河北衡水人, 博士, 从事放射生物学研究; E-mail: liuj219@163.com

通信联系人: 李文建, E-mail: wjli@impcas.ac.cn

订购) 序列是: S180 : 5'-AAAGTGC GGC-3', S291 : 5'-AGACGATGGG-3', S396 : 5'-AGGT-TGCAGG-3' 和 S432 : 5'-CACAGACACC-3'。

3 结果与讨论

3.1 形态学分析

叶脉、叶柄的颜色及表皮毛的分布在两个品种

间无显著差异(见表 1)。从叶片表型上看,“岷归 1 号”叶片长宽比为 1.44(以平均值计算),而 DGA2000-02 为 1.19(以平均值计算),DGA2000-02 的叶片较岷归 1 号宽短,植株表现较矮壮。从根的形态特征来看(见表 2),与岷归 1 号相比,DGA2000-02 的根质量较高,根长及侧根数均比对照植株高。

表 1 岷归 1 号和 DGA2000-02 的苗期地上部形态特征

品种	叶片		叶脉		叶柄		株高/cm
	长/cm	宽/cm	色泽	柔毛	色泽	长/cm	
岷归 1 号	2.64±0.18	1.83±0.08	淡紫	较疏	紫	2.94±0.22	7.08±1.25
DGA2000-02	2.41±0.30	2.02±0.13	淡紫	较疏	紫	2.67±0.14	6.73±1.12

表 2 岷归 1 号和 DGA2000-02 的根的形态特征

品种	单株根重 /(g/plant)	根长 /cm	侧根数 (numbers/plant)
岷归 1 号	0.62±0.08	13.42±2.03	0.6±0.3
DGA2000-02	0.77±0.07	16.74±1.88	0.8±0.4

3.2 遗传多样性分析

从 RAPD 的结果(见图 1)可以看出,DGA2000-02 和其对照品种“岷归 1 号”具有一定的遗传差异。图 1 显示以上 4 条引物进行 PCR 扩增的结果,其中引物 S180 在两个品种中均没有条带;

S291 扩增的结果显示,在有 3 条共同条带出现的同时,两个品种各出现一个特异条带(分别在 600 和 200 bp 左右);S396 在两个品种中除在 250—100 bp 之间有 3 条共同的条带外,新品系 DGA2000-02 在 500—250 bp 之间有 2 条特异条带;S432 在新品系 DGA2000-02 中未出现条带,而在“岷归 1 号”中有 3 条特异条带(分别位于 600, 550 和 300 bp 附近)。这一结果说明,DGA2000-02 相对于对照品种“岷归 1 号”有一定的变异,存在遗传学差异,表现出具有遗传多态性位点。

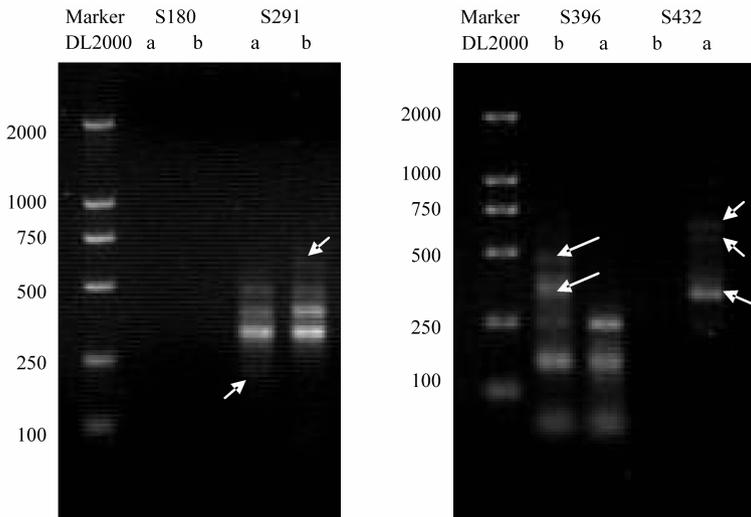


图 1 岷归 1 号与 DGA2000-02 的 RAPD 电泳图谱
箭头指示差异条带的位置; a 为岷归 1 号, b 为 DGA2000-02。

从以上结果分析可知, DGA2000-02 与“岷归 1 号”虽有一定的形态学差异, 但很难用肉眼分辨, 而利用 RAPD 可以对两个品种进行鉴别。初步结论为 DGA2000-02 是区别于“岷归 1 号”的一个重离子辐照后诱变筛选成功的新品系。

作为我国传统的重要中药之一^[4], 当归的使用历史非常悠久。但因为一直属于小物种经济作物, 并受生长环境的限制, 对于当归的遗传背景及品种鉴定等方面研究才刚刚起步。在各地收购当归时也只是简单的以单株重量作为判断品质的标准。与当归广泛的药用价值相比, 当归在种植和鉴定方面的落后现状限制了它的进一步开发和利用。因此, 利用新的诱变手段选育新品种^[5]并用新的分子生物学方法对当归进行品种鉴定和分类比单纯利用植物生理学的方法及形态学观察更有说服力。

参考文献 (References):

[1] Sheng Li. Analytical Study of *Angelica Sinensis* (Oliv.) Diels

of Gansu Province with RAPD. Lanzhou: Master's Degree Thesis of Gansu Agricultural University, 2005, 1 (in Chinese).

(盛 丽. 甘肃省当归资源的 RAPD 分析. 兰州: 甘肃农业大学硕士学位论文, 2005, 1.)

[2] Zhang Zhenzhen, Guo Meili, Zhang Jundong, *et al.* Pharm Care & Res, 2006, 6(1): 10(in Chinese).

(张阵阵, 郭美丽, 张军东等. 药学服务与研究, 2006, 6(1): 10.)

[3] Xie Hongmei, Liu Xiaorui, Li Wenjian, *et al.* Nuclear Physics Review, 2008, 25(2): 196(in Chinese).

(颀红梅, 刘效瑞, 李文建等. 原子能物理评论, 2008, 25(2): 196.)

[4] Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of People's Republic of China. Beijing: Chemical Industry Press, 2005; 89(in Chinese).

(国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 北京: 化学工业出版社, 2005, 89.)

[5] Liu Zhifang, Shao Junming, Tang Zhangxiang, *et al.* J of Nucl Agr Sci, 2006, 20(1): 1(in Chinese).

(刘志芳, 邵俊明, 唐掌雄等. 核农学报, 2006, 20(1): 1.)

Genetic Diversity Analysis between New Cultivar “DGA2000-02” of *Angelic sinensis* and Its Control Cultivar “Mingui No. 1”*

LIU Jing¹, XIE Hong-mei¹, LIU Xiao-rui², LI Wen-jian^{1, #}, JIA Jie-nan², SHANG Hu-shan²,
JING Yan-ming², LIU Qing-fang¹, DONG Xi-cun¹

(1 Institute of Modern Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China;

2 Dryland Farming Research and Extension Center of Dingxi Prefecture in Gansu, Dingxi 743000, Gansu, China)

Abstract: The new angelica cultivar, “DGA2000-02”, was selected from “Mingui No. 1” after irradiated by heavy ions on its dry seeds. “DGA2000-02” exhibits potent disease resistance and higher yield compared to “Mingui No. 1”. In this study, their phenotypes, quality and random amplified polymorphic DNA (RAPD) were analyzed, and this basic work is expected to be helpful to the coming new cultivar breeding.

Key words: random amplified polymorphic DNA; heavy ion irradiation; phenotype

* Received date: 4 Jan. 2008; Revised date: 17 Mar. 2008

* Foundation item: Director Foundation of Institute of Modern Physics of Chinese Academy of Sciences(06040ZY0)

Corresponding author: Li Wen-jian, E-mail: wjli@impcas.ac.cn