

# 栽培沉香遗传多样性的 ISSR 和 AFLP 分析比较

杨春勇<sup>1</sup>, 李海涛<sup>1</sup>, 李学兰<sup>1</sup>, 高微微<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>中国医学科学院北京协和医学院药用植物研究所云南分所, 景洪 666100;

<sup>2</sup>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:** 探讨 2 种分子标记技术在沉香属药用植物遗传多样性研究中的应用。用 ISSR 和 AFLP 分子标记分析了海南、云南、广东、广西等地 17 份沉香属植物的遗传多样性。14 个 ISSR 引物、8 对 AFLP 引物分别检测到 119、919 个位点, 多态性位点百分率分别为 73.95%、86.94%。由于 AFLP 标记具有较高的多态性位点检测效率, AFLP 标记分析的遗传多样性参数高于 ISSR。虽然基于 Nei's 遗传距离的聚类分析结果存在着一定的差异, 但用 Mantel 检测对 2 种方法检测的遗传一致度进行相关性分析表明, 二者之间存在着明显的相关性 ( $r=0.7705, P=0.0003$ )。ISSR 标记与 AFLP 标记均能应用于沉香属植物的遗传多样性研究。2 种标记的研究结果均揭示出沉香属植物具有较高的遗传多样水平。

**关键词:** 沉香属; 遗传多样性; ISSR; AFLP

## Comparative Analysis of Cultivated *Aquilaria Lam.* Using ISSR and AFLP

YANG Chun-yong<sup>1</sup>, LI Hai-tao<sup>1</sup>, LI Xue-lan<sup>1</sup>, GAO Wei-wei<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>Yunnan Branch Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Jinghong 666100;

<sup>2</sup>Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100193)

**Abstract:** To discuss the application of 2 kinds of molecular markers in genetic diversity of cultivated *Aquilaria Lam.*. The genetic diversity of 17 populations of *Aquilaria Lam.* from Hainan, Yunnan, Guangdong, Guangxi et al was analyzed using ISSR and AFLP. 14 ISSR primers and 8 AFLP primer combinations detected 119 and 919 loci of which the number of polymorphic loci was 88 (73.95%) and 799 (86.94%) respectively. The results of ISSR and AFLP revealed *Aquilaria Lam.* possessed higher genetic diversity. Because of different mechanisms of ISSR and AFLP, some differences existed in the results obtained. Genetic diversity parameters based on AFLP were higher than those based on ISSR, which was probably resulted from the higher detection efficiency of AFLP. Although some differences existed between the UPGMA dendrograms of ISSR and AFLP based on the Nei's genetic distances, Mantel test revealed obvious correlation between genetic identity matrix between ISSR and AFLP ( $r = 0.7705, P = 0.0003$ ). Both methods could be used to analyzed the genetic diversity of *Aquilaria Lam.*.

**Key words:** *Aquilaria Lam.*; genetic diversity; ISSR; AFLP

沉香属 *Aquilaria* 为瑞香科植物, 共 15 种, 分布于印度、马来亚以及亚洲东南部, 我国有白木香 *A. sinensis* 和云南沉香 *A. yunnanensis* 2 种, 分布于海南、云南南部、广西、广东和台湾<sup>[1]</sup>。白木香含树脂的木材被称为沉香, 是我国传统名贵药材和名贵天

然香料<sup>[2]</sup>。白木香是中国药典药材沉香的唯一植物资源, 由于野生资源锐减, 1999 年被列为国家二级重点保护野生植物<sup>[3]</sup>, 现有野生居群及其个体数量已非常少, 保护形势严峻。

在对栽培白木香进行的研究中发现, 由引种栽

收稿日期: 2012-05-30 修回日期: 2012-08-16 网络出版日期: 2013-02-04

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20130204.0953.001.html>

基金项目: 云南省科技重大创新工程项目(2008IF018)

作者简介: 杨春勇, 助理研究员, 硕士, 主要从事药用植物栽培研究。E-mail: ycy350@163.com

通信作者: 高微微, 研究员, 博士, 主要从事药用植物分子生态学研究。E-mail: wwgao@implad.ac.cn

培而形成的白木香群体,其表型性状在群体间和群体内均存在广泛的变异,群体内的表型变异高于群体间,同时还受到海拔、年均气温和年降雨量等因素的影响<sup>[4]</sup>。对多个白木香表型类群的形态学研究显示,白木香栽培类群的形态性状在不同表型之间和同一表型内,均表现出显著差异,展现出了丰富的多样性<sup>[5]</sup>。可以看出,白木香群体内的表型差异较大并受环境影响,不利于根据表型特征对白木香种质进行准确的种质分类。结合分子标记的方法进行分析,可以在一定程度上区分环境因素或遗传因素对表型特征的影响,在引种栽培过程中对优良品种的选育起到辅助作用。

ISSR(inter-simple sequence repeat)技术是一种以微卫星为基础的分子标记<sup>[6]</sup>,以微卫星 DNA 序列的 3'端或 5'端加上 1~4 个随机核苷酸构成锚定引物,在 PCR 反应中,锚定引物可引起特定位点退火,导致与锚定引物互补的间隔不太大的重复序列间 DNA 片段进行 PCR 扩增。AFLP(amplified fragment length polymorphism)技术使用限制性内切酶对基因组 DNA 进行酶切<sup>[7]</sup>,然后将双链接头连接到 DNA 片段的末端,接头序列和相邻的限制性位点序列,作为引物结合位点,通过不同引物组合进行预扩增和选择性扩增。两者可分别通过琼脂糖凝胶电泳或聚

丙烯酰胺凝胶电泳对 PCR 产物进行检测和分析。这 2 种技术在植物种质资源研究中均有广泛的应用<sup>[8-9]</sup>。ISSR 试验操作简单、快速、高效,试验成本低,但容易受到反应条件的影响,采用不同的 PCR 参数和体系可能会产生不同的结果。AFLP 检测效率高、多态性高、结果稳定、重复性好,但试验成本高、技术繁琐、耗时较长,对样本 DNA 的纯度和内切酶的质量要求较为严格。

本研究通过采用不同分子标记方法,以采自海南、云南、广东、广西等地区的栽培白木香为对象,分析 ISSR 和 AFLP 2 种技术在沉香遗传多样性研究中的可行性及相关性,揭示不同白木香种质之间的内在亲缘关系,为白木香资源的研究和利用提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

样品采自云南、福建、海南、广东和广西的 13 个沉香栽培基地,其中云南省西双版纳地区 7 份,福建省漳州地区 1 份,海南省万宁和海口地区 3 份,广西省南宁地区 2 份,广东省广州和茂名地区 3 份,越南河内地区 1 份(表 1)。所有样本均为野生沉香种子繁育并生长 2~3 年的实生苗。

表 1 17 份沉香种质及采集地点

Table 1 17 samples of *Aquilaria Lam.* and the collection places

序号 Code	拉丁名 Latin name	样品采集地 Location	经度 Longitude	纬度 Latitude
B1	<i>A. sinensis</i>	福建省漳州市	117°41'46"	24°33'19"
B2	<i>A. sinensis</i>	海南省万宁市兴隆镇	110°12'58"	18°46'58"
B3	<i>A. sinensis</i>	海南省万宁市兴隆镇	110°11'39"	18°44'01"
B4	<i>A. sinensis</i>	海南省海口市	110°32'08"	19°56'48"
B5	<i>A. sinensis</i>	广西省南宁市扶绥县	110°06'12"	19°21'06"
B6	<i>A. sinensis</i>	广西省南宁市	108°22'56"	22°51'02"
B7	<i>A. sinensis</i>	云南省景洪市勐养镇	107°57'48"	22°41'31"
B8	<i>A. sinensis</i>	云南省景洪市勐养镇	110°12'19"	21°56'35"
B9	<i>A. sinensis</i>	广东省广州市	113°21'28"	23°11'22"
B10	<i>A. sinensis</i>	广东省茂名市电白县观珠镇	111°14'36"	21°40'37"
B11	<i>A. sinensis</i>	广东省茂名市电白县观珠镇	111°13'25"	21°39'40"
B12	<i>A. sinensis</i>	云南省景洪市嘎洒镇	110°38'22"	21°39'50"
B13	<i>A. sinensis</i>	云南省景洪市嘎洒镇	110°38'22"	21°39'50"
B14	<i>A. yunnanensis</i>	云南省景洪市勐养镇	100°49'23"	22°16'18"
B15	<i>A. Sinensis</i>	云南省景洪市	100°47'13"	22°00'10"
B16	<i>A. Sinensis</i>	云南省景洪市普文镇	101°05'40"	22°25'38"
B17	<i>A. Sinensis</i>	越南河内	105°51'01"	21°02'00"

## 1.2 方法

**1.2.1 样本的采集及保存** 采集幼嫩或处于生长旺盛期且无病虫害的叶片,用去离子水冲洗数次,经吸水纸吸干叶面上的水分后,放入装有变色硅胶的自封袋中,于  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  进行保存。

**1.2.2 基因组 DNA 的提取** 分别取适量保存的叶片,经液氮冷冻并进行研磨后,用 OMEGA E. Z. N. A. SP Plant DNA Kit 试剂盒提取 DNA。

**1.2.3 ISSR 扩增产物的检测** 参照加拿大哥伦比亚大学公布的 ISSR 引物,根据电泳结果选择条带清晰、重复性好的引物进行 PCR 扩增。20  $\mu\text{L}$  反应体系包括:1  $\mu\text{L}$  模板 DNA (40  $\text{ng}/\mu\text{L}$ ), 0.5  $\mu\text{L}$  引物 (10  $\mu\text{mol}/\text{L}$ ), 2  $\mu\text{L}$  10  $\times$  PCR Buffer ( $\text{Mg}^{2+}$  Plus), 1.6  $\mu\text{L}$  dNTP Mixture (各 2.5  $\text{mmol}/\text{L}$ ), 0.1  $\mu\text{L}$  Dream Taq<sup>TM</sup> DNA polymerase (5  $\text{U}/\mu\text{L}$ )。PCR 反应程序为:94  $^{\circ}\text{C}$  预变性 5 min;94  $^{\circ}\text{C}$  变性 30 s, 52 ~ 54  $^{\circ}\text{C}$  退火 45 s, 72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 1.5 min, 40 个循环;72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 7 min。扩增反应结束后,以 100 bp DNA ladder 为参照,在 1  $\times$  TAE、含 0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  溴化乙锭的 2% 琼脂糖凝胶浓度下,100 V 恒压电泳 1.5 h。电泳结束后,用凝胶成像系统进行照相和观察。

**1.2.4 AFLP 扩增产物的检测** 根据文献合成引物<sup>[7]</sup>,筛选出条带清晰、反应稳定的引物组合进行 AFLP 分析。总 DNA 用 *EcoR* I 和 *Mse* I 双酶切,酶切产物用 T4 连接酶与接头连接,然后用无选择性碱基的引物进行预扩增,预扩增程序为:94  $^{\circ}\text{C}$  预变性 2 min; 94  $^{\circ}\text{C}$  变性 30 s, 56  $^{\circ}\text{C}$  退火 30 s, 72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 1 min, 30 个循环;72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 5 min。取 10  $\mu\text{L}$  预扩增产物用 0.1  $\times$  TE 溶液稀释 10 倍,作为选择性扩增反应模板,采用降落 PCR 进行扩增,反应程序为:94  $^{\circ}\text{C}$  预变性

2 min;94  $^{\circ}\text{C}$  变性 30 s, 65  $^{\circ}\text{C}$  退火 30 s (每个循环降低 0.7  $^{\circ}\text{C}$ ), 72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 1 min, 12 个循环;94  $^{\circ}\text{C}$  变性 30 s, 60  $^{\circ}\text{C}$  退火 30 s, 72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 1 min, 23 个循环;72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 5 min。取 4  $\mu\text{L}$  变性后的选择性扩增反应产物在 1  $\times$  TBE、6% 聚丙烯酰胺凝胶浓度下,1200 V 恒压电泳 2.5 h。电泳结束后,测序仪附带软件根据测序仪激光管收集的条带信息自动生成胶图。

## 1.3 数据处理

**1.3.1 种群遗传多样性及遗传结构分析** 按扩增产物在相对迁移位置的有无,有赋以 1,无赋以 0,构成数据矩阵,应用 POPGENE 1.32 软件对 17 个样本进行遗传参数分析,计算多态性位点百分率 (PPB, percentage of polymorphic bands),有效等位基因数 ( $N_e$ , effective number of alleles)、Nei's 基因多样性 ( $H$ , Nei's gene diversity)、Shannon's 信息指数 ( $I$ , Shannon's information index) 和遗传一致度 (genetic identity) 等参数。

**1.3.2 聚类分析及相关性分析** 采用非加权配对算术平均法 (UPGMA, unweighted pair group method using arithmetic average) 对 Nei's 遗传距离进行聚类分析;用 TFPGA 软件的 Mantel 检验进行相关性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 遗传多样性分析

用于沉香属植物遗传多样性分析的 ISSR 引物及 AFLP 引物组合见表 2。部分扩增结果见图 1 和图 2。2 种标记的扩增结果均表明,沉香属植物具有丰富的遗传多样性。ISSR 和 AFLP 分析结果中的遗传多样性参数 PPB、 $N_e$ 、 $H$  和  $I$  见表 3。

表 2 用于沉香属植物遗传多样性分析的 ISSR 引物及 AFLP 引物组合及扩增结果

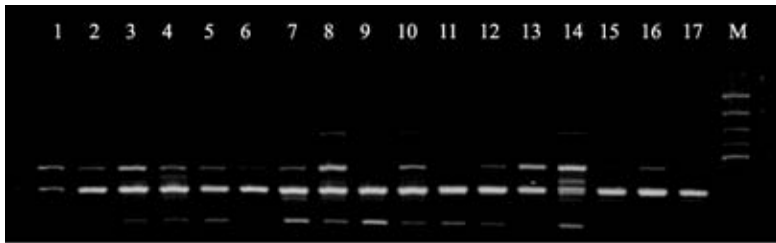
Table 2 ISSR primers and AFLP primer combinations used in analysis of genetic diversity of *Aquilaria Lam.* and their amplification results

编号 Code	ISSR			AFLP		
	引物名称 Primer name	扩增位点 Amplification sites	多态性位点 Polymorphic loci	引物组合 Primer combination	扩增位点 Amplification sites	多态性位点 Polymorphic loci
807	(AG) <sub>8</sub> T	8	7	E-AAC/M-CAC	71	65
808	(AG) <sub>8</sub> C	10	6	E-AAC/M-CTC	101	85
809	(AG) <sub>8</sub> G	14	8	E-ACT/M-CAC	211	176
812	(GA) <sub>8</sub> A	6	5	E-ACT/M-CTC	100	83
816	(CA) <sub>8</sub> T	9	8	E-ACT/M-CTG	122	112
817	(CA) <sub>8</sub> A	10	9	E-ACT/M-CTT	111	99
822	(TC) <sub>8</sub> A	4	1	E-ACG/M-CTA	96	81

表 2(续)

ISSR				AFLP		
编号 Code	引物名称 Primer name	扩增位点 Amplification sites	多态性位点 Polymorphic loci	引物组合 Primer combination	扩增位点 Amplification sites	多态性位点 Polymorphic loci
825	(AC) <sub>8</sub> T	8	5	E-ACG/M-CTC	107	94
831	(AG) <sub>8</sub> YA	9	7			
834	(AG) <sub>8</sub> YT	4	4			
840	(GA) <sub>8</sub> YT	7	4			
843	(CT) <sub>8</sub> RA	15	14			
846	(CA) <sub>8</sub> RT	7	3			
860	(TG) <sub>8</sub> RA	8	7			

R;A/G,Y;C/T,E;5'-GACTGCGTACCAATTC-3',M;5'-GATGAGTCTGAGTAA-3'

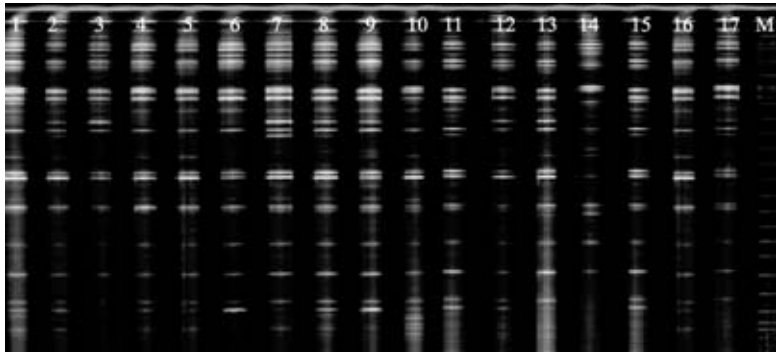


1~17 依次对应 B1~B17;M 为 100 bp DNA 条带

1-17;B1-B17,M;100 bp DNA ladder

图 1 引物 (AC)<sub>8</sub>T 的扩增结果

Fig. 1 Amplified results of ISSR with primer: (AC)<sub>8</sub>T



1~17 依次对应 B1~B17;M 为 100 bp DNA 条带

1-17;B1-B17,M;100 bp DNA ladder

图 2 E-ACT/M-CTC 扩增所得片段电泳结果

Fig. 2 Amplified results of AFLP with primer combinations: E-ACT/M-CTC

表 3 沉香属植物的遗传多样性比较

Table 3 Comparison of genetic diversity of *Aquilaria Lam.* revealed by ISSR and AFLP

比较项 Comparative item	ISSR	AFLP
引物数量 No. of primer	14 条	8 对
扩增位点 Amplification sites	119	919
多态性位点 Polymorphic loci	88	799
多态性比例 (%) PPB	73.95	86.94
有效等位基因数 $N_e$	1.3269(0.3218)	1.4357(0.3374)
Nei's 基因多样性指数 $H$	0.2059(0.1715)	0.2647(0.1682)
Shannon's 信息指数 $I$	0.3237(0.2424)	0.4076(0.2259)

## 2.2 白木香居群间的遗传差异

根据 ISSR 分析表明, Nei's 遗传一致度介于 0.6134~0.9160 之间, 17 份种质的平均遗传距离为 0.7188。白木香和云南沉香种间水平的平均遗传一致度为 0.6508, B13、B14 遗传相似度最大(为 0.6891), B6、B7 与 B14 相似度最小(均为 0.6134)。白木香种内水平的平均遗传一致度为 0.7987, B12 与 B13 之间的遗传相似度最大(为 0.9160), B10 与 B12、B13 种质之间遗传相似度最小(均为 0.6891)。AFLP 分析得到的 16 个白木香种质的遗传距离在

0.5571~0.8150 之间,平均遗传距离为 0.7188,白木香和云南沉香种间水平的平均遗传一致度为 0.6028,B11 与 B14 遗传相似度最大(为 0.6442),B14 与 B15 相似度最小(为 0.5571)。白木香种内水平的平均遗传一致度为 0.7342,B13 与 B16 之

间的遗传相似度最大(为 0.8150),B11 和 B15 种质之间遗传相似度最小(为 0.6518)(表 4)。2 种标记的结果均说明,白木香种群间存在着相当程度的遗传分化,但是二者揭示的结果有一定的差异。

表 4 沉香属植物的 Nei's 遗传一致度比较

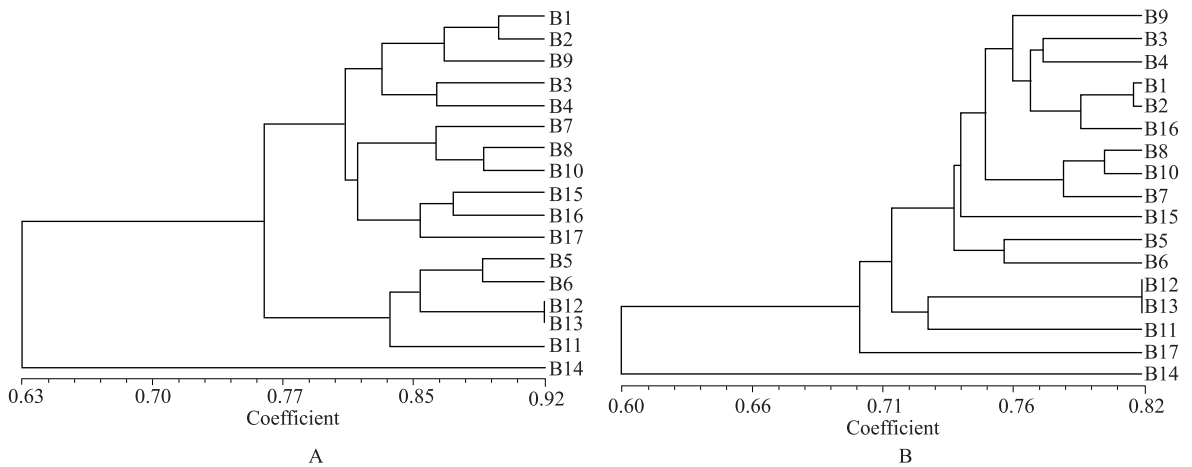
Table 4 Comparison of genetic identity of *Aquilaria Lam.* revealed by ISSR and AFLP

比较项 Comparative item	遗传一致度 Genetic identity			
	ISSR		AFLP	
	变异范围 Variation range	平均值 s	变异范围 Variation range	平均值 s
全部样本	0.6134 ~0.9160	0.7188	0.5571 ~0.8150	0.7188
白木香-白木香	0.6891 ~0.9160	0.7962	0.6518 ~0.8150	0.7301
白木香-云南沉香	0.6134 ~0.6807	0.6691	0.5571 ~0.6340	0.6442

将遗传距离分析数据综合起来列表进行分析,除全部样本的平均遗传一致度外,ISSR 标记的各项比较指标均高于 AFLP,说明分析结果中 ISSR 的遗传多态性水平低于 AFLP。

聚类结果显示(图 3),2 种标记方法中,白木香

样本 B1、B2 和 B9;B3 和 B4;B5 和 B6;B7、B8 和 B10;B11、B12 和 B13 所构成的部分关系较近,云南沉香样本 B14 与其他白木香样本相距较远,这些较为一致的聚类结果说明 2 种方法找到了供试样本的一些共性分子特征。



A: ISSR 聚类图;B: AFLP 聚类图

A: ISSR-based dendrogram, B: AFLP-based dendrogram

图 3 17 份沉香属植物种质资源的 UPGMA 聚类图

Fig. 3 UPGMA dendrograms for 17 samples of *Aquilaria Lam.* based on Nei's genetic distance

2 种标记方法也存在一定差异。在 ISSR 的聚类结果中,白木香样本 B15、B16 和 B17 聚类成为一支;而在 AFLP 的聚类结果中,B15、B16 和 B17 则较为分散,B15 和 B17 各自成为一支,B16 与 B1、B2 的关系较近;从局部聚类的结果来看,ISSR 的聚类中,B1、B2、B3、B4、B9 聚为一支,相应的 AFLP 结果中还包括 B16;ISSR 结果中 B7、B8、B10 与 B15、

B16、B17 聚为一支,AFLP 结果中 B7、B8、B10 与 B1、B2、B3、B4、B9、B16 关系更为接近;ISSR 结果中 B5、B6 与 B12、B13 关系较近,AFLP 结果中 B5、B6 介于 B11、B12、B13 和 B15 之间(图 3)。

从聚类的结果来看,除了少数样本如 B12 和 B13 的聚类结果与采集地点有较为明显的对应关系外,其余样本均无明显对应关系。相同地点采集的

样本往往不能优先聚类,如海南省万宁市兴隆镇的 B2 和 B3,云南省景洪市勐养镇的 B7 和 B8;广东省茂名市电白县观珠镇的 B10 和 B11,云南省景洪市嘎洒镇的 B12 和 B13。如按照不同省份来进行分类,可认为福建和海南地区的为一类,广西地区的为一类,广东和云南的较为分散,无法按采集地点进行归类。

### 2.3 ISSR 与 AFLP 之间的相关性分析

为了检测 ISSR 与 AFLP 分析的相关程度,利用 Mantel 检验对 2 种标记的遗传一致度矩阵进行相关性分析。结果表明,2 种标记分析的遗传一致度相关性明显( $r = 0.7705$ ,  $P = 0.0003$ )。3000 次的置换中未出现置换数据超过 Z 值的情况。

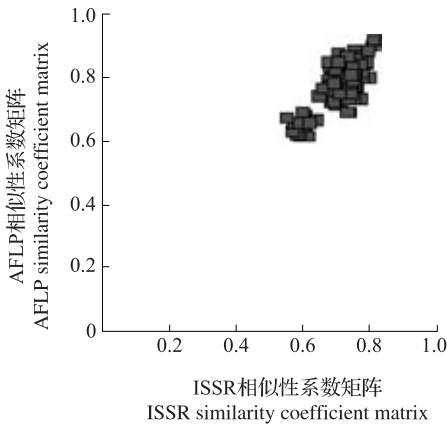


图 4 沉香属植物 ISSR 和 AFLP 遗传距离相关性  
Fig. 4 Correlation between genetic distance in ISSR and AFLP of *Aquilaria Lam.*

## 3 讨论

运用分子标记技术可以对物种的遗传多样性进行评价,由于采用的技术和材料不同,其结论往往也存在一定的差异<sup>[10-13]</sup>。采用 2 种或多种分子标记联合分析,有助于从不同角度揭示不同种质间的遗传多样性<sup>[14-16]</sup>。本试验结果表明,AFLP 对多态性位点的检出率高于 ISSR,由 AFLP 标记获得的遗传多样性指数略高于 ISSR 标记。虽然 AFLP 和 ISSR 分析的平均遗传一致度均为 0.7188,但是从计算结果可以看出,AFLP 标记在揭示白木香不同种质间的遗传水平差异能力高于 ISSR 标记。AFLP 和 ISSR 结果中的  $N_e$ 、 $H$  和  $I$  的标准差数值接近,说明这 2 种标记估算遗传多样性时的精确度相差不大。利用 Mantel 检测进行相关性分析,结果说明 2 种标记分析所得的聚类结果具有明显的相关性。2 种标记均能够有效地应用于栽培白木香的遗传多样性分析,

其分析得到的结果较为相近,均揭示栽培沉香具有较高的遗传多样性水平。

试验结果中 ISSR 分析得到的多态性位点百分率 (PPB) 73.95% 高于申彦晶等<sup>[10]</sup>得到的结果 58.8%。分析原因是由于本试验增加了 ISSR 引物和供试样本的数量,随着引物和样本数量的增加,检测到样本间所存在变异位点的可能性也在增加,由于检测到更多的遗传差异位点而提高了分析结果的多态性水平。本研究同时采用的 AFLP 标记,所得结果中检测到的总位点数以及多态性位点百分率高于 ISSR,采用 2 种分子标记进行分析,根据其不同原理从不同角度揭示种质之间的遗传差异,更为客观地对不同种质的遗传多样性进行评价。

聚类结果与采集地点分布不能完全对应以及云南沉香单独聚类的情况,与申彦晶等<sup>[10]</sup>的研究结果相同。有研究表明<sup>[11-13]</sup>,一些物种的野生种质遗传距离与其地理位置分布、生态环境类型等存在一定的相关性,这种相关性在短期内不会因引种迁移而改变,本试验中有些样品确切种源地信息并不十分清楚,因此,对于采集地点与聚类结果不对应的情况无法给出确切的解释,对沉香种质的引种迁移和野外分布情的研究工作还有待进一步开展。白木香 (*A. sinensis*) 的不同种质间存在一定程度的遗传差异,但和云南沉香 (*A. yunnanensis*) 之间的差异更为明显,ISSR 和 AFLP 标记均能够在种上水平对样本进行区分。在 ISSR 和 AFLP 的聚类图中,白木香样本 B1、B2 和 B9; B3 和 B4; B5 和 B6; B7、B8 和 B10; B11、B12 和 B13 的遗传距离较近,聚类结果呈现出一定的对应关系。但由于标记原理及试验技术的差别,基于 ISSR 和 AFLP 标记构建的聚类图之间也存在一定的差异,例如在 ISSR 聚类结果中,河内的样本 B17 与云南地区的 B15 和 B16 较为接近,而 AFLP 的聚类结果中,B17 则显示出与其他白木香存在较大的差异而单独聚类。对于在聚类图中没有明显对应性的样本,还需结合其他技术手段以及形态学特征作进一步的分析。总体来看,2 种标记均能在一定程度上反映出试验样本的遗传变异情况,同时二者的部分聚类结果可以相互印证。

本研究结果表明,目前引种栽培的沉香仍然具有较为丰富的遗传多样性和进化潜力,为沉香遗传育种提供了较为丰富的材料。人工育苗能对沉香资源起到保护作用,但经过长期的人工选择后,其遗传结构和遗传多样性的丰富度会逐渐降低。伴随着野生沉香资源的逐年枯竭,如何保护残留的野生居群,

恢复和加强居群的生存能力,同时对沉香种质进行合理划分并开展优良品种的选育是沉香资源持续性利用过程中有待解决的问题。

#### 参考文献

- [1] 中国植物志编辑委员会. 中国植物志;五十二卷[M]. 北京: 科学出版社,1988:290
- [2] 陈树思,唐为萍. 白木香资源的开发利用[J]. 韩山师范学院学报,2003,24(3):65-68
- [3] 国家林业局,农业部令(第4号). 国家重点保护野生植物名录(第一批)[R]. 1999
- [4] 赵翮,赵树进. 白木香群体的表型多样性分析[J]. 华南理工大学学报:自然科学版,2007,35(4):117-122
- [5] 黄崇才. 白木香 *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg 种质形态学与细胞学研究[D]. 广州:广州中医药大学,2009
- [6] Zietkiewicz E, Rafalski A, Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification [J]. *Genomics*,1994,20(2):176-183
- [7] Vos P, Hngera R, Bleeker M, et al. AFLP: a new technique for DNA finger-printing [J]. *Nucl Acid Res*, 1995, 23(21): 4407-4414
- [8] 朱岩芳,祝水金,李永平,等. ISSR 分子标记技术在植物种质资源研究中的应用[J]. 种子,2010,29(2):55-59
- [9] 江梅,李小平,温强,等. AFLP 标记及其在植物中的应用[J]. 江西林业科技,2006(5):41-44
- [10] 申彦晶,谭雪梅,赵翮,等. 白木香的遗传差异及 ISSR 分子鉴定[J]. 解放军药学学报,2008,24(2):1-4
- [11] 易杨杰,张新全,黄琳凯,等. 野生狗牙根种质遗传多样性的 SRAP 研究[J]. 遗传,2008,30(1):94-100
- [12] 葛淑俊,李广敏,马峙英,等. 甘草野生种群遗传多样性的 AFLP 分析[J]. 中国农业科学,2009,42(1):47-54
- [13] 陈大霞,李隆云,彭锐,等. 黄连种质资源遗传多样性的 ISSR 研究[J]. 中国中药杂志,2006,31(23):1937-1940
- [14] 杨正安,孟平红,代贤,等. 云南黑籽南瓜种质遗传多样性的 RAPD 和 ISSR 分析[J]. 植物遗传资源学报,2011,12(6): 860-864
- [15] 高山,林碧英,许端祥,等. 苦瓜种质遗传多样性的 RAPD 和 ISSR 分析[J]. 植物遗传资源学报,2010,11(1):78-83
- [16] 贺学勤,刘庆昌,翟红,等. 用 RAPD、ISSR 和 AFLP 标记分析系谱关系明确的甘薯品种的亲缘关系[J]. 作物学报,2005, 31(10):1300-1304