

基于 RAPD 标记的南苍术居群遗传多样性分析

郭建林, 葛燕芬, 孙小芹, 李密密, 夏冰, 杭悦宇^①

[江苏省·中国科学院植物研究所(南京中山植物园)江苏省植物迁地保护重点实验室, 江苏南京 210014]

摘要: 采用 RAPD 标记技术对分布于江苏小九华山、小汤山和湖山, 安徽金寨和芜湖以及湖北保康和英山的 7 个南苍术 [*Atractylodes lancea* (Thunb.) DC.] 野生居群的 28 个单株基因组总 DNA 进行 PCR 扩增, 在此基础上分析居群的遗传多样性及遗传分化, 并采用聚类分析法对居群的遗传关系进行分析。结果表明: 用 18 条 RAPD 引物共扩增出 193 条带, 其中多态性条带 111 条, 多态性条带百分率 (PPB) 为 57.51%; 平均每条引物扩增出 10.72 条带, 其中多态性条带 6.17 条。从省级水平看, 安徽居群的 PPB、有效等位基因数 (N_e)、Nei's 基因多样性指数 (H) 和 Shannon 信息指数 (I) 均最低, 而湖北居群的 N_e 、 H 和 I 均最高, 但江苏居群的 PPB 最高; 从居群水平看, 湖北保康居群的 PPB、 N_e 、 H 和 I 均最高, 而安徽金寨居群均最低。7 个居群的基因分化系数和基因流分别为 0.206 5 和 1.921 5, 说明 7 个居群总遗传变异的 20.65% 存在于居群间, 79.35% 存在于居群内。7 个居群间的遗传距离为 0.150 7~0.252 1, 其中, 安徽金寨和芜湖居群间最小 (0.150 7), 江苏湖山和安徽芜湖居群间最大 (0.252 1)。基于遗传距离的聚类分析结果表明: 7 个居群可分为 2 组, 湖北保康居群单独成组, 其他 6 个居群聚为另一组; 来自同一居群的单株均聚在一起。研究结果提示: 南苍术居群间的遗传多样性较低, 居群间无明显的遗传分化。

关键词: 南苍术; 居群; RAPD 标记; 遗传多样性; 聚类分析; 遗传分化

中图分类号: Q946-33; S567.21⁺3 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2012)04-0035-06

Analysis on genetic diversity of *Atractylodes lancea* populations based on RAPD marker GUO Jian-lin, GE Yan-fen, SUN Xiao-qin, LI Mi-mi, XIA Bing, HANG Yue-yu^① (Jiangsu Province Key Laboratory for Plant *Ex-situ* Conservation, Institute of Botany, Jiangsu Province and the Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2012, 21(4): 35-40

Abstract: By means of RAPD marker, PCR amplification of genomic total DNA of 28 individuals in seven wild populations of *Atractylodes lancea* (Thunb.) DC. distributing in Xiaojiuhuashan, Xiaotangshan and Hushan of Jiangsu Province, Jinzhai and Wuhu of Anhui Province and Baokang and Yingshan of Hubei Province was carried out. On this basis, genetic diversity and genetic differentiation of these populations were analyzed, and their genetic relationship was also analyzed by cluster analysis method. The results show that 193 bands are amplified by 18 RAPD primers, in which there are 111 polymorphic bands with a polymorphic band percentage (PPB) of 57.51%. Average band number amplified by one primer is 10.72 bands, in which there are 6.17 polymorphic bands. On provincial level, PPB, effective alleles number (N_e), Nei's gene diversity index (H) and Shannon's information index (I) of populations of Anhui Province all are the lowest, while N_e , H and I of populations of Hubei Province all are the highest, but PPB of populations of Jiangsu Province is the highest. On population level, PPB, N_e , H and I of Baokang population of Hubei Province all are the highest, while those of Jinzhai population of Anhui Province all are the lowest. Gene differentiation coefficient and gene flow of seven populations is 0.206 5 and 1.921 5, respectively, indicating that 20.65% of overall genetic variation of seven populations exists among populations and 79.35% within populations. Genetic distance among seven populations is 0.150 7-0.252 1, in which, that between populations of Jinzhai and Wuhu of Anhui Province is the smallest (0.150 7) and that between populations of Hushan of Jiangsu Province and

收稿日期: 2012-03-05

基金项目: 江苏省自然科学基金重点项目 (BK2005206)

作者简介: 郭建林 (1974—), 男, 河南林州人, 博士, 助理研究员, 主要从事植物分子生物学研究。

^①通信作者 E-mail: hangyueyu@21cn.com

Wuhu of Anhui Province is the biggest (0.252 1). Cluster analysis result according to genetic distance shows that seven populations can be divided into two groups, only population of Baokang of Hubei is alone in a group and the other six populations are clustered in another group. And all of individuals from the same population can be clustered together. It is suggested that genetic diversity among *A. lancea* populations is lower and there is no obvious genetic differentiation among populations.

Key words: *Attractylodes lancea* (Thunb.) DC.; population; RAPD marker; genetic diversity; cluster analysis; genetic differentiation

中国传统中药材苍术为菊科(Compositiae)苍术属(*Attractylodes* DC.)植物南苍术[*A. lancea* (Thunb.) DC.]和北苍术[*A. chinensis* (DC.) Koidz.]的干燥根^[1]。迄今为止,对苍术原植物的分类处理仍有一定的争议。《中国高等植物图鉴》^[2]将药材苍术的原植物定为南苍术和北苍术;而《中国植物志》^[3]和《Flora of China》^[4]则将南苍术和北苍术合并为苍术[*A. lancea* (Thunb.) DC.]。

南苍术又称茅苍术,主要分布于江苏、浙江、安徽和湖北等狭小区域内,传统认为江苏茅山地区为南苍术的道地产区。由于没有进行规模性栽培,南苍术的野生资源遭到掠夺式采挖,使得南苍术特别是茅山的南苍术野生资源濒临枯竭^[5]。因而,有研究者建议将野生茅苍术列入珍稀濒危保护植物名录中^[6]。

已有研究表明:道地与非道地南苍术在挥发油含量及组成上有明显不同,江苏分布的南苍术挥发油的主成分是苍术酮和苍术素,而湖北分布的南苍术挥发油的主成分则是苍术醇和 β -桉叶醇^[7-11];王鸣等^[12]的研究结果显示:江苏产南苍术水溶性成分中主要含有苍术苷 A,与湖北产茅苍术水溶性成分中的主成分有一定差异;但张贝贝等^[13]综合考虑南苍术中苍术素、 β -桉叶醇、苍术素醇和苍术内酯 II 含量指标,认为主产地南苍术的质量优于道地产区。为明确苍术的遗传变异状况,任冰如等^[14]采用 RAPD 标记对 10 个苍术居群的遗传关系进行了分析,结果显示供试的 7 个南苍术居群和 3 个北苍术居群均具有较近的遗传关系,南苍术和北苍术之间的差异较小,支持将北苍术定为变种;郭兰萍等^[15]也采用 RAPD 方法对南苍术和北苍术进行了研究,结果表明苍术的化学成分和遗传分化与其地理分布均有一定的相关性,以地域为界划分南苍术和北苍术有一定的道理。由此可见,不同产地南苍术的有效成分均具有一定的变异,其药材质量与产地存在一定的相关性,对其药材道地性的确认难以有统一的标准,且对中药苍术原植物分类地位的确认为仍较为混乱。

为了进一步明确苍术种下遗传变异状况,了解不同产地南苍术的遗传差异,作者利用 RAPD 分子标记技术对南苍术主要分布区(包括江苏、湖北和安徽)7 个野生居群的遗传多样性和遗传分化水平进行了比较,并采用聚类分析法对居群的遗传关系进行了分析,以期对中药苍术原植物的确定及其药材道地性的研究提供分子水平的实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料

于 2003 年 11 月、2006 年 4 月和 6 月分别在湖北、江苏和安徽 7 个南苍术野生居群中确定 28 个样株,样株间距离不小于 20 m;分别采集每一样株的新鲜幼嫩叶片,用硅胶快速干燥后常温密封保存、待用。采集样品均经江苏省·中国科学院植物研究所杭悦宇研究员鉴定,基本采集信息见表 1。

DNA 纯化回收试剂盒购自北京莱博生物实验材料研究所;RAPD 引物由上海 Invitrogen 生物技术公司合成;10×PCR buffer(含 Mg^{2+})、dNTPs 和 *Taq* DNA 聚合酶均购自上海申能博彩生物科技有限公司;100 bp DNA ladder 为 Fermentas 公司产品。使用的主要仪器有 PE-9600 型 PCR 扩增仪(美国 Perkin Elmer 公司)和 WV-BP330 型凝胶扫描分析系统(江苏捷达科技发展有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 总 DNA 提取及纯化 参照 Paterson 等^[16]的 CTAB 法提取基因组总 DNA,并加以改进。取 1~3 g 叶片,置入液氮中研磨至粉末状,加入 65 °C 提取缓冲液 650 μ L,65 °C 温育 1 h,期间每隔 10 min 轻轻摇晃 1 次;加入 *V*(三氯甲烷):*V*(异戊醇)=24:1 混合液 650 μ L,轻轻颠倒摇晃后于室温下静置 5~10 min;于 4 °C、12 000 $r \cdot \min^{-1}$ 离心 12 min,取上清液,加入 2 倍体积的无水乙醇,于 -20 °C 冰箱中放置 2 h;4 °C、12 000 $r \cdot \min^{-1}$ 离心 12 min,取沉淀;用体积分数 70%

乙醇洗涤沉淀,于 4 °C、12 000 r·min⁻¹离心 5 min,弃上清液,DNA 沉淀自然风干;将获得的 DNA 粗样用

DNA 纯化回收试剂盒进行纯化后溶解于无菌双蒸水中,-20 °C 贮藏、备用。

表 1 供试南苍术 7 个居群的基本采集信息

Table 1 Basic collection information of seven populations of *Atractylodes lancea* (Thunb.) DC. tested

居群 Population	样株数 Number of sample individual	采集人 Collector	采集号 Collection number
湖北保康 Baokang of Hubei	5	徐晓兰 XU Xiao-lan	200311004, 200311006, 200311007, 200311013, 200311016
湖北英山 Yingshan of Hubei	5	徐晓兰 XU Xiao-lan	200311020, 200311021, 200311022, 200311024, 200311027
江苏小九华山 Xiaojiuhuashan of Jiangsu	5	葛燕芬 GE Yan-fen	200606001, 200606002, 200606003, 200606005, 200611006
江苏小汤山 Xiaotangshan of Jiangsu	5	周义峰 ZHOU Yi-feng	200604004, 200604005, 200604007, 200604010, 200604013
江苏湖山 Hushan of Jiangsu	4	徐晓兰 XU Xiao-lan	200311002, 200311003, 200311005, 200311007
安徽金寨 Jinzhai of Anhui	3	葛燕芬 GE Yan-fen	200606021, 200606022, 200606023
安徽芜湖 Wuhu of Anhui	1	葛燕芬 GE Yan-fen	200606031

1.2.2 PCR 扩增反应及产物检测 以江苏湖山居群 3 个单株的基因组总 DNA 为模板进行 RAPD 引物筛选,从 80 条 RAPD 引物中选取 18 条扩增条带丰富、信号强且稳定性高的引物对所有单株的基因组总 DNA 进行 PCR 扩增。

PCR 反应在 PE-9600 型 PCR 扩增仪上进行。反应体系总体积为 20 μL,包括模板 DNA 30 ng、10×PCR buffer(含 Mg²⁺)2.0 μL、10 mmol·L⁻¹ dNTPs 0.3 μL、5 μmol·L⁻¹引物 2.0 μL 和 5 U·μL⁻¹ *Taq* DNA 聚合酶 0.2 μL,用灭菌双蒸水补足至 20 μL。

扩增反应程序为:94 °C 预变性 3 min;94 °C 变性 45 s,38 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 90 s,共 38 个循环;最后于 72 °C 延伸 5 min。反应结束后将产物置于 4 °C 保存。

将 PCR 扩增产物用质量体积分数 1.4% 的琼脂糖凝胶(含 0.5 μg·mL⁻¹ 1×EB)电泳 1.5 h,用 WV-BP330 型凝胶扫描分析系统进行观察和拍照。电泳时以 100 bp DNA ladder 作为分子量标记。

1.3 数据分析

将重复性好、清晰且迁移率相同的条带作为同源位点进行处理,有条带的位点记为“1”、无条带的位点记为“0”,转化为二元数据矩阵;应用 POPGENE v1.31 软件计算有效等位基因数(N_e)、Nei's 基因多样性指数(H)、Shannon 信息指数(I)、基因分化系数(G_{st})和基因流(N_m);采用 UPGMA 法对 7 个居群 28 个单株间的遗传关系进行聚类分析;居群内单株间和地区间、居群间的变异通过 DCFA 1.1 软件和 AMOVA 法进行计算^[17]。

2 结果和分析

2.1 RAPD 扩增结果分析

利用筛选出的 18 条 RAPD 引物、以南苍术 7 个居群 28 个单株的基因组总 DNA 为模板进行 PCR 反应,扩增结果详见表 2。由表 2 可见:引物 E-04 扩增

表 2 用于南苍术 RAPD-PCR 反应的引物序列及其扩增结果¹⁾
Table 2 Primer sequences used for RAPD-PCR reaction of *Atractylodes lancea* (Thunb.) DC. and their amplification results¹⁾

引物 Primer	5'→3'序列 5'→3' sequence	TNB	NPB	PPB/%
AB-02	GGAAACCCCT	10	4	40.00
AB-04	GGCACGCGTT	9	7	77.78
AB-05	CCCGAAGCGA	15	8	53.33
AD-19	CTTGGCACGA	14	12	85.71
AH-12	TCCAACGGCT	11	4	36.36
AH-13	TGAGTCCGCA	10	4	40.00
AH-15	CTACACGGAG	10	9	90.00
AU-10	GGCGTATGCT	11	7	63.63
B-01	GTTTCGCTCC	13	7	53.84
B-08	GTCCACACGG	15	13	86.67
B-10	CTGCTGGGAC	9	1	11.11
E-04	GTGACATGCC	4	0	0.00
F-04	GGTGATCAGG	11	6	54.55
L-09	TGCGAGAGTC	9	3	33.33
N-03	GGTACTCCCC	10	3	30.00
N-07	CAGCCCAGAG	9	6	66.67
N-13	AGCGTCACTC	10	7	70.00
L-17	AGCCTGAGCC	13	10	76.92
总计 Total		193	111	
平均 Average		10.72	6.17	57.51

¹⁾ TNB: 条带总数 Total number of band; NPB: 多态性条带数 Number of polymorphic band; PPB: 多态性条带百分率 Percentage of polymorphic band.

出的条带数最少,仅有 4 条,且没有扩增出多态性条带;引物 AB-05 和 B-08 扩增出的条带数最多,达到 15 条,且引物 B-08 扩增出的多态性条带数最多,达到 13 条;引物 AH-15 扩增出的多态性条带百分率最高,达到 90.00%。28 个单株 18 条引物共扩增出 193 条重复性好且清晰的条带,其中多态性条带有 111 条;平均每条引物扩增出 10.72 条带,其中多态性条带 6.17 条;多态性条带百分率的平均值为 57.51%,表明南苍术种内遗传多样性及遗传变异程度较低。

2.2 居群遗传多样性分析

南苍术 7 个居群的遗传多样性指数见表 3。结果表明:从省级水平看,多态性条带百分率最高的为江苏(45.60%),湖北次之(44.04%)、安徽(19.17%)

最低;而有效等位基因数、Nei's 基因多样性指数和 Shannon 信息指数均为湖北最高、江苏次之、安徽最低。从居群水平看(芜湖居群只有 1 个单株,无法计算各指标,因此不进行统计),各居群多态性条带百分率由高到低依次排序为湖北保康、湖北英山、江苏小九华山和湖山、江苏小汤山、安徽金寨,而各居群有效等位基因数、Nei's 基因多样性指数和 Shannon 信息指数由高到低则均依次排序为湖北保康、湖北英山、江苏湖山、江苏小九华山、江苏小汤山、安徽金寨。从 7 个居群的总水平看,南苍术的多态性条带百分率、有效等位基因数、Nei's 基因多样性指数和 Shannon 信息指数分别为 57.51%、1.317 4、0.187 2 和 0.282 7,表明南苍术居群间的遗传多样性水平较低。

表 3 南苍术 7 个居群的遗传多样性指数

Table 3 Genetic diversity indexes of seven populations of *Atractylodes lancea* (Thunb.) DC.

省份和居群 Province and population	多态性条带数 Number of polymorphic band	多态性条带百分率/% Percentage of polymorphic band	有效等位基因数 Effective number of alleles	Nei's 基因多样性指数 Nei's gene diversity index	Shannon 信息指数 Shannon's information index
湖北省 Hubei Province	85	44.04	1.289 9	0.166 2	0.245 7
湖北保康 Baokang of Hubei	66	34.20	1.243 0	0.138 4	0.202 4
湖北英山 Yingshan of Hubei	55	28.50	1.209 1	0.117 7	0.171 2
江苏省 Jiangsu Province	88	45.60	1.264 0	0.156 7	0.236 1
江苏小九华山 Xiaojiuhuashan of Jiangsu	43	22.28	1.163 5	0.092 0	0.133 8
江苏小汤山 Xiaotangshan of Jiangsu	40	20.73	1.153 8	0.086 2	0.125 2
江苏湖山 Hushan of Jiangsu	43	22.28	1.181 3	0.098 4	0.140 9
安徽省 Anhui Province	37	19.17	1.127 5	0.075 8	0.111 9
安徽金寨 Jinzhai of Anhui	24	12.44	1.099 5	0.055 3	0.079 2
安徽芜湖 Wuhu of Anhui	-	-	-	-	-
居群总水平 Total level	111	57.51	1.317 4	0.187 2	0.282 7

2.3 居群间的聚类分析

基于 RAPD 标记分析结果获得的南苍术 7 个居群的遗传距离见表 4。由表 4 可见:7 个居群间的遗传距离为 0.150 7~0.252 1,其中,安徽金寨和安徽芜湖 2 个居群间的遗传距离最小,仅为 0.150 7;江苏湖山和安徽芜湖 2 个居群间的遗传距离大,为 0.252 1。

基于 RAPD 扩增结果,应用 POPGENE v1.31 软件对 7 个居群 28 个南苍术单株进行聚类分析,结果见图 1。聚类分析结果表明:来自同一个居群的单株均聚在一起,表明南苍术同一居群单株间的遗传变异较小,遗传背景相似。根据聚类结果,7 个居群首先可分为 2 组:第 1 组仅有湖北保康居群,显示湖北保康居群与其他居群间有较远的遗传关系;第 2 组包含其

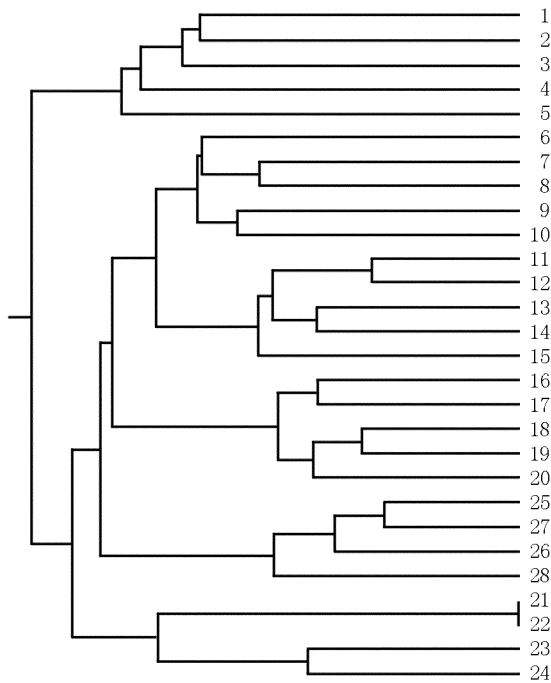
表 4 基于 RAPD 标记分析的南苍术 7 个居群的遗传距离¹⁾

Table 4 Genetic distance among seven populations of *Atractylodes lancea* (Thunb.) DC. based on RAPD marker analysis¹⁾

居群 Population	居群间的遗传距离 Genetic distance among populations					
	BK	YS	XJHS	XTS	HS	JZ
YS	0.162 8					
XJHS	0.206 4	0.187 5				
XTS	0.175 1	0.168 9	0.187 5			
HS	0.225 7	0.168 9	0.200 1	0.219 3		
JZ	0.238 8	0.219 3	0.225 7	0.219 3	0.219 3	
WH	0.206 4	0.175 1	0.219 3	0.187 5	0.252 1	0.150 7

¹⁾ BK: 湖北保康居群 Population of Baokang of Hubei; YS: 湖北英山居群 Population of Yingshan of Hubei; XJHS: 江苏小九华山居群 Population of Xiaojiuhuashan of Jiangsu; XTS: 江苏小汤山居群 Population of Xiaotangshan of Jiangsu; HS: 江苏湖山居群 Population of Hushan of Jiangsu; JZ: 安徽金寨居群 Population of Jinzhai of Anhui; WH: 安徽芜湖居群 Population of Wuhu of Anhui.

余的6个居群,其中,安徽芜湖居群的1个单株与安徽金寨居群聚在一起,表明它们之间可能具有较近的遗传关系;湖北英山居群与江苏小九华山居群首先聚在一起,随后依次与江苏小汤山、安徽金寨居群聚类,最后才与江苏湖山居群聚在一起,表明江苏湖山居群与江苏其他2个居群具有一定的遗传距离,而湖北英山居群与江苏小九华山居群具有较近的遗传关系,由此看出7个居群的聚类结果与居群的地理分布无明显关系。



1-5: 湖北保康居群 Population of Baokang of Hubei; 6-10: 湖北英山居群 Population of Yingshan of Hubei; 11-15: 江苏小九华山居群 Population of Xiaojiuhuashan of Jiangsu; 16-20: 江苏小汤山居群 Population of Xiaotangshan of Jiangsu; 21-24: 江苏湖山居群 Population of Hushan of Jiangsu; 25-27: 安徽金寨居群 Population of Jinzhai of Anhui; 28: 安徽芜湖居群 Population of Wuhu of Anhui.

图1 基于 Nei's 遗传距离的南苍术7个居群28个单株的聚类图
Fig. 1 Cluster dendrogram of 28 individuals of *Atractylodes lancea* (Thunb.) DC. from seven populations based on Nei's genetic distance

2.4 居群间的遗传分化分析

采用 AMOVA 法对供试南苍术7个居群进行遗传变异方差分析,结果表明:地区间、地区内居群间及居群内的变异分别占总变异的8.39%、29.88%和61.74%。而用 POPGENE v1.31 软件计算出的基因分化系数(G_{st})为0.2065,即7个居群总的遗传变异主要发生在居群内(79.35%),总变异的20.65%来自居群间,比 AMOVA 法的分析结果略低。基因流

(N_m)为1.9215,说明供试南苍术7个居群间没有产生明显的遗传分化。

3 讨 论

聚类分析结果显示:位于湖北西部罗田地区的保康居群单独成组,说明该居群的遗传分化较其他居群明显;而属于大别山区的湖北英山和安徽金寨居群与属于茅山地区的江苏小九华山、江苏小汤山和江苏湖山居群聚为一组,表明后5个居群遗传关系较近。这一结果与郭兰萍等^[18]的“湖北房县与江苏句容的南苍术居群聚为一类”的研究结论相近,但与任冰如等^[14]的“大别山区英山居群与其他各居群的遗传距离最大”的结论有较大差异。南苍术是一个外部形态多变且受地理-气候环境影响很大的类群,有很多过渡类型,例如,胡世林等^[19]报道了在大别山区邻近的湖北罗田有1个稳定的种下变异类群,定名为罗田苍术(*Atractylodes lancea* subsp. *luotlanensis* Hu et Feng);彭华胜等^[20]也认为大别山区外缘的低山地区(如桐城等地)分布的是典型的南苍术的原形态类型,而在安徽潜山、舒城、岳西和金寨等地则分布着南苍术和罗田苍术的过渡类型。而从本研究结果看,湖北保康居群也与其他居群有较大的遗传距离,存在种下变异的可能,其与其他居群的分类关系有待确定。

Bussell^[21]基于 RAPD 数据分析了35种植物(其中29个为异交植物)的遗传结构,结果表明:异交植物基因分化系数(G_{st})的平均值为0.193,6种自交植物 G_{st} 的平均值为0.625。本研究中,各居群间的遗传变异并不大, G_{st} 为0.2065,略高于异交植物 G_{st} 的平均值,但远低于自交植物 G_{st} 的平均值(0.59)^[22]。Hogbin 等^[23]认为:异交物种的遗传变异大多分布在群体内,群体间的遗传变异通常占27%以下。本实验结果与之相符。

基因流(N_m)对居群内遗传变异的分化有重要影响,具有有限基因流的物种其遗传分化往往大于那些具有广泛基因流的物种。一般认为: N_m 大于1,说明基因流能抑制居群内遗传漂变的作用,防止居群分化; N_m 小于1,说明遗传漂变可导致居群明显的遗传分化^[24-25]。南苍术7个居群的 N_m 为1.9215,远低于异交和风媒植物 N_m 的平均水平(5.380)^[26],但略高于一般广布种的 N_m 水平(1.881)^[27]。按照 Slatkin^[24]

和 Hamrick 等^[26]的观点,若每代迁入个体数的 N_m 大于 1,说明基因流足以抵制遗传漂变的作用,同时也可防止居群分化的发生。在植物中,基因流是借助花粉、种子、孢子、植株个体以及其他携有遗传物质的物体为媒介进行的,其中花粉和种子的扩散是 2 种最主要的形式^[28]。苍术是自交不亲和植物,主要靠昆虫传粉,异花授粉的结实率约为 60%,且果实结实率受虫害及天气的影响很大,危害率达 80%~90%,种子寿命仅为 1~2 d^[29-31],因此,南苍术居群间通过花粉与种子进行基因交流的概率比较小,这也是居群间遗传分化不大的原因之一。

综上所述,7 个南苍术居群整体的遗传多样性水平偏低,居群间遗传分化不大,但由于它们在生物学特性及次生代谢产物组成上存在一定的差异,因而,建议可根据各居群主要成分的药理作用选择使用。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2010 年版(一部) [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 150.
- [2] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴: 第 4 册 [M]. 北京: 科学出版社, 1975: 601-602.
- [3] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志: 第七十八卷第一分册 [M]. 北京: 科学出版社, 1987: 23-28.
- [4] WU Z Y, RAVEN P H, HONG D Y. Flora of China: Vol. 20/21 [M]. Beijing: Science Press, 2011: 40.
- [5] 贺善安, 贺慧生, 吕 晔, 等. 茅苍术资源的保护和利用 [J]. 植物资源与环境, 1993, 2(1): 1-6.
- [6] 宗世贤, 袁昌齐, 金九宁. 江苏省稀有濒危药用植物的现状和保护 [J]. 中国野生植物资源, 1996(1): 1-5.
- [7] TAKEDA O, MIKI E, TERABAYASLLI S, et al. Variation of essential oil components of *Atractylodes lancea* growing in China [J]. Natural Medicines, 1995, 49(1): 18-23.
- [8] 吉 力, 敖 平, 潘炯光, 等. 苍术挥发油的气相色谱-质谱联用分析 [J]. 中国中药杂志, 2001, 26(3): 182-185.
- [9] 郭兰萍, 刘俊英, 吉 力, 等. 茅苍术地道药材的挥发油组成特征分析 [J]. 中国中药杂志, 2002, 27(11): 814-819.
- [10] 欧阳臻, 杨 凌, 宿树兰, 等. 茅苍术挥发油的气相色谱-质谱指纹图谱研究 [J]. 药学学报, 2007, 42(9): 968-972.
- [11] 徐晓兰, 冯 煦, 王 鸣, 等. 野生与栽培茅苍术挥发油成分的比较分析 [J]. 植物资源与环境学报, 2007, 16(1): 28-30.
- [12] 王 鸣, 肖超成, 陈 雨, 等. 不同产地茅苍术水溶性成分的 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 植物资源与环境学报, 2009, 18(1): 12-15.
- [13] 张贝贝, 方 婧, 许海玉, 等. HPLC 测定道地产地和主产地茅苍术中 β -桉叶醇及其他成分的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(8): 116-118.
- [14] 任冰如, 贺善安, 於 虹, 等. 用 RAPD 技术评估苍术居群间的亲缘关系 [J]. 中草药, 2000, 31(6): 458-461.
- [15] 郭兰萍, 黄璐琦, 王 敏, 等. 南北苍术的 RAPD 分析及其划分的初步探讨 [J]. 中国中药杂志, 2001, 26(3): 156-158.
- [16] PATERSON A H, BRUBAKER C L, WENDEL J F. A rapid method for extraction of cotton (*Gossypium* spp.) genomic DNA suitable for RFLP or PCR analysis [J]. Plant Molecular Biology Reporter, 1993, 11(2): 122-127.
- [17] 张富明, 葛 颂. 群体遗传学研究中的数据处理方法 I. RAPD 数据的 AMOVA 分析 [J]. 生物多样性, 2002, 10(4): 438-444.
- [18] 郭兰萍, 黄璐琦, 蒋有绪, 等. 苍术遗传结构的 RAPD 分析 [J]. 中国药理学杂志, 2006, 41(3): 178-181.
- [19] 胡世林, 冯学锋, 吉 力, 等. 苍术及其异域变种 [J]. 中草药, 2000, 31(10): 781-784.
- [20] 彭华胜, 王德群. 南苍术与野生白术的开花动态研究 [J]. 现代中药研究与实践, 2007, 22(3): 20-22.
- [21] BUSSELL J D. The distribution of random amplified polymorphic DNA (RAPD) diversity among populations of *Isotoma petraea* (Lobeliaceae) [J]. Molecular Ecology, 1999, 8(5): 775-789.
- [22] NYBOM H. Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants [J]. Molecular Ecology, 2004, 13(5): 1143-1155.
- [23] HOGGIN P M, PEAKALL R. Evaluation of the contribution of genetic research to the management of the endangered plant *Zieria prostrata* [J]. Conservation Biology, 1999, 13(3): 514-522.
- [24] SLATKIN M. Gene flow and the geographic structure of natural populations [J]. Science, 1987, 236: 787-792.
- [25] 刘占林, 李 珊, 阎桂琴, 等. 华山新麦草自然居群的遗传结构和种内遗传多态性研究 [J]. 遗传学报, 2001, 28(8): 769-777.
- [26] HAMRICK J L, GODT M J W. Allozyme diversity in plant species [M] // BROWN A H D, CLEGG M T, KAHLER A L, et al. Plant Population Genetics, Breeding and Genetic Resources. Sunderland: Sinauer Assoc Inc., 1995: 43-63.
- [27] HAMRICK J L. Gene Flow and Distribution of Genetic Variation in Plant Population [M]. New York: Academic Press, 1987: 53-67.
- [28] 黄璐琦. 分子生药学 [M]. 2 版. 北京: 北京大学医学出版社, 2006: 415-416.
- [29] 徐友贵, 黄 弛. 茅苍术野生资源研究 [J]. 基层中药杂志, 1989, 3(3): 4-5.
- [30] 徐友贵, 田中联, 王小明, 等. 茅苍术生物学特性研究初报 [J]. 中国中药杂志, 1992, 17(1): 18-20.
- [31] 范瑞红, 徐 君, 刘 征, 等. 苍术人工栽培技术 [J]. 中国林副特产, 2010(5): 77-78.

(责任编辑: 佟金凤)