

白术遗传多样性 ISSR 分析

孙靓^{1,2}, 郑玉光³, 袁媛¹, 卜璟¹, 王雪¹, 蒋超¹, 陈敏^{1*}

(1. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700; 2. 江西中医学院, 江西 南昌 330006;
3. 河北医科大学, 河北 石家庄 050091)

[摘要] **目的:**对白术 12 个栽培居群及 3 个半野生居群的遗传多样性进行分析。**方法:**应用 ISSR 分子标记技术研究浙江、安徽、河北等省 15 个居群 356 个样品的遗传多样性;采用 POPGEN32 进行数据分析,UPGMA 绘制聚类图。**结果:**13 条 ISSR 引物共检测到 102 个清晰的扩增位点,多态性位点 94 个,多态位点百分率为 92.16%;Nei's 基因多样性指数(H_e)为 0.406 5,Shannon 多样性指数(I)为 0.590 3,基因分化系数(G_{st})为 0.202 5。居群间的遗传相似系数为 0.690 7~0.960 5,平均为 0.825 6。聚类分析可知,居群间并无明显分类。**结论:**白术具有较高的遗传多样性,遗传分化水平低,无明显地域性差异及品种差异。这与白术目前栽培及种质流通现状呈正相关。

[关键词] 白术;遗传多样性;ISSR

白术为常用中药,来源于菊科苍术属多年生草本植物白术 *Arctylodes macrocephala* Koidz. 的干燥根茎。历史上其道地产区为浙江、安徽,目前,在浙江、安徽、河北、山西等省已被普遍种植^[1],河北安国是白术种子种苗的主产区,有大白术,小白术,二性子白术等栽培品类型。由于白术有悠久的栽培历史,长期不同区域间的移植、杂交,以及种间、居群间的杂交繁殖,造成了白术的种质混乱,品种不明,药材质量参差不齐。本研究利用 ISSR 技术对白术 12 个栽培居群及 3 个野生居群的种质资源进行遗传分析,探讨国内不同产地以及不同栽培类型白术的遗传多样性及遗传变异水平,为白术的栽培、育种及种质保存和流通提供一定的参考依据。

1 材料与方 法

1.1 供试白术种子

种子于 2009 年采自于浙江、安徽、河北及山西 4 个省的 15 个不同地区的居群,用牛皮纸封装于 -4℃ 冰箱保存备用。白术种子由河北医科大学郑玉光教授鉴定(表 1)。

1.2 仪器和试剂

PCR 仪为 eppendorf Mastercycler personal;离心机为 eppendorf centrifuge 5415D;ExTaqDNA 聚合

表 1 供试材料来源及个体数

Table 1 Sources and numbers of *Arctylodes macrocephala* samples analyzed

| No. | 材料产地 | 种质类型 | 英文缩写 | 种子数 |
|-----|----------|-------|------|-----|
| 1 | 浙江临安县于潜镇 | 大白术 | ZYD | 20 |
| 2 | 浙江磐安县新渥镇 | 大白术 | ZXD | 20 |
| 3 | 浙江磐安县尚湖镇 | 大白术 | ZSD | 20 |
| 4 | 安徽宁国市 | 大白术 | AND | 20 |
| 5 | 安徽霍山县 | 大白术 | AHD | 20 |
| 6 | 安徽亳州市 | 大白术 | ABD | 20 |
| 7 | 河北安国於村 | 大白术 | HYD | 20 |
| 8 | 河北安国齐村 | 大白术 | HQD | 20 |
| 9 | 安徽潜山逆水 | 半野生白术 | ANY | 9 |
| 10 | 安徽祁门新安镇 | 半野生白术 | AXY | 9 |
| 11 | 浙江磐安新渥镇 | 半野生白术 | ZQY | 18 |
| 12 | 河北安国齐村 | 二性子白术 | HAE | 20 |
| 13 | 河北石家庄市 | 二性子白术 | HSE | 20 |
| 14 | 河北安国齐村 | 改良白术 | HAG | 20 |
| 15 | 河北定州王习村 | 改良白术 | HDG | 20 |
| 16 | 山西新绛县 | 改良白术 | SXG | 20 |
| 17 | 河北安国齐村 | 小白术 | HQX | 20 |
| 18 | 河北安国河西村 | 小白术 | HHX | 20 |
| 19 | 河北安国北七公村 | 小白术 | HBX | 20 |

酶、DNA marker 2 000, dNTPs 等是由 Takara 公司提供;引物由上海生物工程技术有限公司合成。

1.3 DNA 提取

采用改良的 CTAB 法^[2]提取种子中总 DNA。用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的大小和完整性,结果显示提取到的 DNA 可以用于 PCR 扩增。

[稿件编号] 20120306011

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2009ZX09308-002)

[通信作者] * 陈敏, Tel(010)64014411-2955, E-mail: cm315keke@163.com

1.4 ISSR 引物筛选

用 100 条 ISSR 引物进行扩增,筛选出 13 条多态性丰富、条带清晰且可重复性良好的引物用于 19 个白术居群 DNA 样品的扩增。

1.5 PCR 反应及电泳分析检测

扩增反应体系 25 μL :DNA 70 ng, $10 \times \text{Ex Taq}$ buffer 2.5 μL , dNTPs 1 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 引物 0.5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, Ex Taq 酶 0.75 U, ddH₂O 补足 25 μL 。

PCR 扩增程序为 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 48 ~ 58 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min, 35 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min; 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。反应产物使用 1% 琼脂糖凝胶电泳分离, 使用 GBOXHR 型凝胶成像分析仪观察、拍照。

1.6 数据统计及分析

1.6.1 条带记录

根据电泳后获得的 DNA 片段图谱, 选取电泳图谱中清晰明亮的条带为 1, 表示 1 个引物的结合位点。在凝胶同一迁移位置上 DNA 条带的有无进行统计, 有条带(包括弱条带)记为“1”, 无条带记为“0”, 形成 0/1 矩阵。对于多态性位点, 选取重复试验中能稳定重复出现的条带用于数据分析。

1.6.2 数据分析

应用 POPGENE32 软件进行遗传参数分析, 分别计算了多态位点百分率 (PPB), 有效等位基因数 (N_a), 等位基因数 (N_e), Nei's 基因多样性 (H_e), Shannon's 信息指数 (H_o), 居群内遗传多样性 (H_s) 和总遗传多样性 (H_t), Nei's 居群遗传分化指数 (G_{st}), 基因流 (N_m), Nei's 遗传距离 (D) 和遗传相似性 (I), 采用 Nei's 遗传距离进行 UPGMA 分析, 建立聚类图谱。

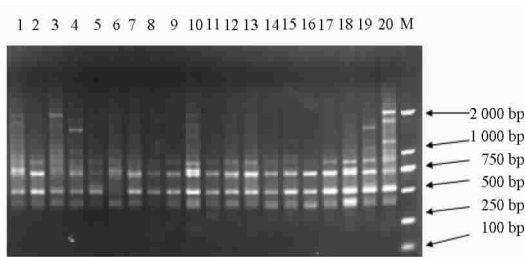
2 结果与分析

2.1 白术遗传多样性分析

从 100 个引物中筛选出 13 个 ISSR 引物, 扩增效果稳定、清晰。每个引物扩增条带 5 ~ 13 条不等, 片段大小在 200 ~ 2 200 bp (图 1)。13 条引物共扩增 102 个条带, 其中有 94 条为多态性条带占所观察到的总扩增条带的 92.16% (表 2)。

2.2 白术遗传分化水平分析

使用 POPGEN32 分析白术的总遗传多样性、居群遗传多样性, 白术居群总遗传多样性 (H_t) 为 0.383 2, 居群内遗传多样性 (H_s) 为 0.305 6, 基因流 (N_m) 为 2.214 2, 居群遗传分化指数 (G_{st}) 为 0.202 5, 即表明白术主要的遗传存在于居群内。在物种水平, 总的期望杂合度 (H_e)、Shannon's 信息



M. DNA maker 2 000。

图 1 引物 835 扩增安国齐村居群 20 个样品的扩增

Fig. 1 ISSR band profile of primer 835 in population HAG

表 2 引物序列及多态性比较

Table 2 List of ISSR primes used and their polymorphism

| 引物 | 5'-3' 序列 | 退火 温度/ $^{\circ}\text{C}$ | 扩增 带数 | 多态性 带数 | PPL / % |
|-----|----------------------|---------------------------|-------|--------|---------|
| 807 | (AG) ₈ T | 50 | 10 | 10 | 100 |
| 809 | (AG) ₈ G | 50 | 6 | 5 | 83.33 |
| 813 | (CT) ₈ T | 50 | 10 | 9 | 90.00 |
| 816 | (GA) ₈ T | 49 | 5 | 5 | 100 |
| 822 | (TC) ₈ A | 50 | 11 | 10 | 90.91 |
| 823 | (YC) ₈ A | 55 | 5 | 4 | 80.00 |
| 824 | (TC) ₈ G | 52 | 8 | 7 | 87.50 |
| 834 | (AG) ₈ YT | 53 | 9 | 8 | 88.89 |
| 835 | (AG) ₈ YC | 50 | 13 | 11 | 84.62 |
| 840 | (GA) ₈ YT | 55 | 8 | 8 | 100 |
| 853 | (TC) ₈ RT | 49 | 6 | 6 | 100 |
| 873 | (GACA) ₄ | 49 | 6 | 6 | 100 |
| 881 | (GGGT) ₄ | 50 | 5 | 5 | 100 |

注: Y = (C, T), R = (A, G)。

指数 (H_o) 分别为 0.406 5, 0.590 3。表明白术种群具有很高的遗传多样性 (表 3)。

2.3 居群间遗传距离及聚类分析

通过 13 条引物扩增的 102 条稳定条带做 0/1 矩阵, 利用 Nei's 遗传相似度进行 UPGMA 聚类, 得到树状聚类图 (图 2)。第一支河北与浙江聚在一起, 第二支河北与安徽、浙江分别优先聚在一起。只有一支安徽和浙江的 3 个野生品种白术聚在一起。山西省白术混杂于各居群之间。从此可知, 各产地及不同栽培类型间没有产生明显的遗传分化, 也没有产生明显的地域性差异。

各产地白术的遗传距离和遗传相似性表明, 白术居群间的遗传距离在 0.040 3 ~ 0.370 0, 遗传相似性在 0.690 7 ~ 0.960 5; 其中浙江的居群 ZYD 和山西的居群 SXG 之间的遗传距离最大, 而河北省境内的居群 HHX 和居群 HQX 之间的遗传距离最小 (表 4)。

表 3 不同居群白术遗传多样性比较分析($\bar{x} \pm s, n = 19$)

Table 3 Genetic diversity of *Atractylodes macrocephala* ($\bar{x} \pm s, n = 19$)

| 居群 | 等位基因数 | 有效等位基因数 | Nei's 基因多样性 | Shannon's 信息指数 | 多态条带数 | 多态条带百分比/% |
|----|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------|-----------|
| 1 | 1.818 2 ± 0.387 9 | 1.598 8 ± 0.367 6 | 0.333 2 ± 0.185 0 | 0.483 5 ± 0.256 2 | 72 | 70.59 |
| 2 | 1.761 4 ± 0.428 7 | 1.519 3 ± 0.389 0 | 0.292 2 ± 0.198 4 | 0.428 4 ± 0.275 3 | 67 | 65.69 |
| 3 | 1.813 7 ± 0.391 3 | 1.590 8 ± 0.375 8 | 0.327 6 ± 0.189 7 | 0.475 5 ± 0.261 7 | 83 | 81.37 |
| 4 | 1.735 3 ± 0.443 4 | 1.487 3 ± 0.384 1 | 0.277 8 ± 0.198 0 | 0.409 2 ± 0.277 4 | 75 | 73.53 |
| 5 | 1.764 7 ± 0.426 3 | 1.499 2 ± 0.359 9 | 0.289 2 ± 0.187 3 | 0.427 7 ± 0.263 1 | 78 | 76.47 |
| 6 | 1.833 3 ± 0.374 5 | 1.621 5 ± 0.375 0 | 0.341 0 ± 0.186 9 | 0.493 1 ± 0.255 7 | 85 | 83.33 |
| 7 | 1.794 1 ± 0.406 3 | 1.499 5 ± 0.372 8 | 0.286 8 ± 0.190 9 | 0.425 0 ± 0.264 0 | 81 | 79.41 |
| 8 | 1.814 4 ± 0.390 8 | 1.551 5 ± 0.380 8 | 0.309 7 ± 0.191 2 | 0.454 0 ± 0.262 2 | 79 | 77.45 |
| 9 | 1.921 6 ± 0.270 2 | 1.637 7 ± 0.315 2 | 0.360 7 ± 0.153 0 | 0.527 7 ± 0.203 6 | 94 | 92.16 |
| 10 | 1.852 9 ± 0.355 9 | 1.642 8 ± 0.364 1 | 0.352 6 ± 0.179 0 | 0.509 5 ± 0.244 0 | 87 | 85.29 |
| 11 | 1.833 3 ± 0.374 5 | 1.409 8 ± 0.280 2 | 0.261 2 ± 0.152 6 | 0.404 6 ± 0.216 6 | 85 | 83.33 |
| 12 | 1.808 5 ± 0.395 6 | 1.600 6 ± 0.370 2 | 0.333 1 ± 0.186 8 | 0.482 6 ± 0.259 1 | 76 | 74.51 |
| 13 | 1.823 5 ± 0.383 1 | 1.543 0 ± 0.373 5 | 0.307 6 ± 0.187 6 | 0.452 7 ± 0.257 6 | 84 | 82.35 |
| 14 | 1.738 6 ± 0.467 2 | 1.509 4 ± 0.388 4 | 0.287 1 ± 0.200 5 | 0.421 7 ± 0.283 2 | 64 | 62.75 |
| 15 | 1.862 7 ± 0.345 8 | 1.647 8 ± 0.349 7 | 0.357 4 ± 0.173 1 | 0.516 5 ± 0.237 1 | 88 | 86.27 |
| 16 | 1.911 8 ± 0.285 0 | 1.652 3 ± 0.340 6 | 0.361 6 ± 0.165 2 | 0.525 3 ± 0.221 1 | 93 | 91.18 |
| 17 | 1.882 4 ± 0.323 8 | 1.547 5 ± 0.329 9 | 0.319 9 ± 0.163 6 | 0.476 4 ± 0.221 9 | 90 | 88.24 |
| 18 | 1.813 7 ± 0.391 3 | 1.527 8 ± 0.381 7 | 0.298 9 ± 0.191 1 | 0.440 9 ± 0.261 5 | 83 | 81.37 |
| 19 | 1.823 5 ± 0.383 1 | 1.565 8 ± 0.341 6 | 0.323 9 ± 0.176 2 | 0.474 9 ± 0.245 9 | 84 | 82.35 |

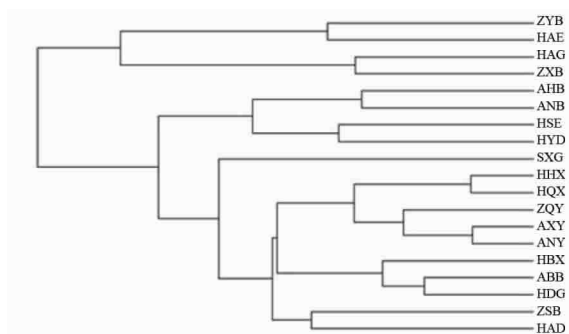


图 2 基于 ISSR 的不同品种和产区白术 Nei's 遗传相似度 UPGMA 聚类

Table 2 UPGMA dendrogram of *Atractylodes macrocephala* based on Nei's genetic distance

3 讨论

3.1 白术的遗传多样性

白术物种水平的多态位点百分率为 92.16%，说明白术具有较高的遗传多样性。白术 (PPB = 92.16%, $H_e = 0.406 5$) 比同属植物苍术 (PPB = 81.91%, $H_e = 0.274 3$) 的遗传多样性高^[3]。植物的遗传多样性水平与其生物学特性、生境以及起源进化密不可分,其中繁育系统、分布范围、生活型以及

花粉和种子传播方式影响最大^[4]。白术是异花授粉植物,生长适应性极强,在各省都有种植,在繁殖、培育过程中杂合程度较高。

3.2 白术的遗传结构

本研究依据 Nei's 基因多样性指数 (H_e) 为 0.406 5, Shannon 多样性指数 (I) 为 0.590 3, 这表明白术的居群内变异较大。而 Nei's 遗传分化指数估算 15 个居群间的遗传分化系数 (G_{st}) 为 0.202 5, 基因流 (N_m) 为 2.214 2; Wright^[5] 认为, $N_m < 1$ 时, 则由于遗传漂变可导致居群间明显的遗传分化; 而不同地区白术居群的基因流的数值大于 1, 说明居群间有基因的交流, 由此推测明白术居群间分化不明显。

在白术 Nei's 遗传相似度 UPGMA 聚类中出现不同地区、不同栽培类型以及半野生与栽培间未有明显区分的现象, 这与现在栽培情况、种质来源及资源分布密切相关。据调研, 浙江省和安徽省所栽种的白术种子种苗是由河北省提供的, 而据资料记载浙江省和安徽省是白术的道地产区, 河北省所栽种的白术最早是由道地产区引种过来的; 在实际生产中白术存在连作障碍, 种过 1 茬之后至少须隔 3 ~ 5



表 4 20 个白术不同群体间 Nei's 遗传相似性和遗传距离

Table 4 Nei's genetic identity (above diagonal) and genetic distance (below diagonal) in *Atractylodes macrocephala*

| popID | ZYD | HAE | HAG | ZXD | AHD | AND | HSE | HYD | HHX | HQX | ZSD | HQD | ADD | HDG | HDX | SXG | ZQY | ANY | AXY |
|-------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| ZYD | - | 0.908 1 | 0.8451 | 0.8475 | 0.762 5 | 0.766 2 | 0.765 3 | 0.767 7 | 0.741 5 | 0.743 8 | 0.740 5 | 0.761 1 | 0.773 7 | 0.744 7 | 0.731 3 | 0.690 7 | 0.701 6 | 0.795 9 | 0.730 4 |
| HAE | 0.096 4 | - | 0.809 8 | 0.817 4 | 0.779 9 | 0.782 9 | 0.790 6 | 0.775 3 | 0.775 6 | 0.792 7 | 0.782 9 | 0.794 8 | 0.785 2 | 0.764 4 | 0.763 2 | 0.729 9 | 0.764 8 | 0.810 2 | 0.790 4 |
| HAG | 0.168 3 | 0.210 9 | - | 0.921 1 | 0.805 9 | 0.794 7 | 0.773 2 | 0.738 3 | 0.738 9 | 0.759 7 | 0.712 4 | 0.764 6 | 0.771 1 | 0.760 6 | 0.716 7 | 0.718 5 | 0.732 8 | 0.807 1 | 0.768 4 |
| ZXD | 0.165 5 | 0.201 6 | 0.082 2 | - | 0.846 5 | 0.856 4 | 0.792 1 | 0.767 6 | 0.751 0 | 0.78 4 | 0.741 3 | 0.760 1 | 0.797 5 | 0.763 8 | 0.775 8 | 0.734 9 | 0.737 3 | 0.803 3 | 0.740 0 |
| AHD | 0.271 2 | 0.248 5 | 0.215 9 | 0.166 6 | - | 0.921 9 | 0.886 9 | 0.867 3 | 0.839 6 | 0.855 8 | 0.856 4 | 0.860 8 | 0.864 1 | 0.868 3 | 0.849 7 | 0.832 7 | 0.816 0 | 0.865 0 | 0.837 0 |
| AND | 0.266 4 | 0.244 8 | 0.229 7 | 0.155 0 | 0.081 3 | - | 0.897 9 | 0.871 9 | 0.831 0 | 0.848 2 | 0.836 8 | 0.835 1 | 0.854 5 | 0.832 0 | 0.827 8 | 0.795 1 | 0.784 8 | 0.819 7 | 0.797 1 |
| HSE | 0.267 5 | 0.235 0 | 0.257 2 | 0.233 1 | 0.120 0 | 0.107 7 | - | 0.912 3 | 0.878 9 | 0.877 3 | 0.879 1 | 0.858 1 | 0.854 0 | 0.860 3 | 0.839 4 | 0.807 1 | 0.798 4 | 0.843 9 | 0.824 3 |
| HYD | 0.264 4 | 0.254 5 | 0.303 4 | 0.264 5 | 0.142 3 | 0.13 7 | 0.091 8 | - | 0.861 7 | 0.868 3 | 0.836 9 | 0.843 7 | 0.854 5 | 0.830 6 | 0.846 0 | 0.812 0 | 0.816 3 | 0.840 8 | 0.814 6 |
| HHX | 0.299 0 | 0.254 1 | 0.302 7 | 0.286 3 | 0.174 8 | 0.185 1 | 0.129 1 | 0.148 8 | - | 0.960 5 | 0.885 6 | 0.903 1 | 0.907 7 | 0.902 7 | 0.910 1 | 0.858 6 | 0.914 0 | 0.923 0 | 0.885 1 |
| HQX | 0.296 0 | 0.232 3 | 0.274 9 | 0.243 4 | 0.155 7 | 0.164 7 | 0.130 9 | 0.141 2 | 0.040 3 | - | 0.902 8 | 0.918 1 | 0.899 7 | 0.895 5 | 0.904 4 | 0.859 2 | 0.928 1 | 0.920 7 | 0.892 8 |
| ZSD | 0.300 5 | 0.244 8 | 0.339 1 | 0.299 3 | 0.155 0 | 0.178 1 | 0.128 9 | 0.178 1 | 0.121 5 | 0.102 3 | - | 0.902 0 | 0.901 1 | 0.913 5 | 0.875 8 | 0.817 5 | 0.824 9 | 0.872 9 | 0.862 1 |
| HQD | 0.273 0 | 0.229 7 | 0.268 4 | 0.274 3 | 0.149 9 | 0.180 2 | 0.153 0 | 0.170 0 | 0.101 9 | 0.085 4 | 0.103 2 | - | 0.888 3 | 0.900 3 | 0.848 5 | 0.844 5 | 0.872 3 | 0.905 4 | 0.883 1 |
| ADD | 0.256 6 | 0.241 8 | 0.260 0 | 0.226 3 | 0.146 1 | 0.157 3 | 0.157 8 | 0.157 3 | 0.096 8 | 0.105 7 | 0.104 2 | 0.118 5 | - | 0.940 4 | 0.932 0 | 0.849 4 | 0.867 3 | 0.889 0 | 0.871 0 |
| HDG | 0.294 8 | 0.268 6 | 0.273 6 | 0.269 4 | 0.141 2 | 0.183 9 | 0.150 4 | 0.185 6 | 0.102 3 | 0.110 4 | 0.090 5 | 0.105 0 | 0.061 4 | - | 0.920 1 | 0.871 3 | 0.871 9 | 0.891 8 | 0.880 2 |
| HDX | 0.312 9 | 0.270 2 | 0.333 1 | 0.253 8 | 0.162 8 | 0.189 0 | 0.175 1 | 0.167 3 | 0.094 2 | 0.100 5 | 0.132 6 | 0.164 3 | 0.070 4 | 0.083 2 | - | 0.850 1 | 0.854 0 | 0.863 3 | 0.851 4 |
| SXG | 0.370 0 | 0.314 8 | 0.330 6 | 0.308 0 | 0.183 1 | 0.229 2 | 0.214 3 | 0.208 3 | 0.152 5 | 0.151 8 | 0.201 5 | 0.169 0 | 0.163 3 | 0.137 7 | 0.162 4 | - | 0.871 0 | 0.911 0 | 0.912 5 |
| ZQY | 0.354 4 | 0.268 1 | 0.310 9 | 0.304 8 | 0.203 3 | 0.242 3 | 0.225 2 | 0.202 9 | 0.089 9 | 0.074 6 | 0.192 5 | 0.136 6 | 0.142 4 | 0.137 1 | 0.157 8 | 0.138 1 | - | 0.936 7 | 0.914 4 |
| ANY | 0.228 3 | 0.210 5 | 0.214 4 | 0.219 0 | 0.145 0 | 0.198 8 | 0.169 7 | 0.173 4 | 0.080 1 | 0.082 7 | 0.136 0 | 0.099 4 | 0.117 7 | 0.114 5 | 0.147 0 | 0.093 2 | 0.065 4 | - | 0.947 0 |
| AXY | 0.314 1 | 0.235 2 | 0.263 4 | 0.301 2 | 0.177 9 | 0.226 8 | 0.193 3 | 0.205 1 | 0.122 1 | 0.113 4 | 0.148 4 | 0.124 3 | 0.138 1 | 0.127 6 | 0.160 8 | 0.091 6 | 0.089 5 | 0.054 5 | - |

年才能再种,间接造成了在国内范围内白术种源的共享;此外,栽培白术的繁殖方式主要是通过种苗培育而来,很好的保持了白术基因遗传的完整性。另外,由 ISSR 分析数据得出的聚类结果中可知半野生品种与栽培品种也未有明显的区别,推测是由于本实验所用半野生品种种子很有可能是栽培品的漂移所致,据悉野生白术极难找到,在 2008—2011 年安徽、浙江和河北的实地调研中都未采集到野生白术,这也证实了这一点。

由此可知,白术在产地、物种水平上没有明显的遗传分化,这与白术目前栽培及种质流通现状呈正相关。从理论上可应用 SSR, SNP 等技术对白术居群间遗传分化问题做进一步的探讨,但由于当前白术栽培种质来源于同一处,预计结果很难有所改变;可对 4 个栽培类型进行深入研究。

3.3 对白术的栽培、种质保存及流通的建议

白术的遗传多样性水平高,而遗传分化水平低,利于白术培育出优良品种。许祥君等^[1]对 4 个栽培类型白术的有效成分含量高低作出分析,指出不同栽培类型的白术内酯含量有显著差异。据调研目前白术 4 个栽培类型,是由当地种植农户依据个体外在性状以及产量人为区分的,并未

经过严格的多指标考查及利用遗传育种手段得到的;而且 4 种类型在地上部分及种子上并无差异,只是在根的大小及颜色上有一定的差别,一般情况下难以辨别。因此,在白术的种质保存和栽培生产中,建议确定栽培类型,设立专门的种子田,制定相关的种子种苗标准;在种源提供和流通上加强管理,统一由河北提供合格的种苗在道地产区种植,以保证药材的质量。同时,进一步进行优良品种的选育,并成立专门的生产、销售渠道,从源头上控制,以达到保证白术药材高产量、优质量、安全稳定的目的。

[参考文献]

- [1] 许祥君,陈敏,宗璐,等. 不同品规白术中白术,内酯 I、Ⅲ的含量测定[J]. 中国医院药学杂志,2011,31(17):1421.
- [2] 马辉,张智俊,罗淑萍. 药用植物白术 DNA 提取方法的研究[J]. 新疆农业大学学报,2007,30(20):13.
- [3] 郭兰萍,黄璐琦,蒋有绪,等. 苍术遗传结构的 RAPD 分析[J]. 中国药学杂志,2006,41(3):178.
- [4] 王洪新,胡志昂. 植物的繁育系统、遗传结构和遗传多样性保护[J]. 生物多样性,1996,4(2):92.
- [5] Wright S. The genetical structure of populations[M] // Galton Laboratory. Annals of Eugenics. London, England: Eugenics Society, 1951:323.

Genetic diversity of *Atractylodes macrocephala* by ISSR

SUN Liang^{1,2}, ZHENG Yu-guang³, YUAN Yuan¹, BU Jing¹, WANG Xue¹, JIANG Chao¹, CHEN Min^{1*}
(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;
2. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330006, China;
3. Hei Medical University, Shijiazhuang 050091, China)

[Abstract] **Objective:** To assess the genetic diversity of *Atractylodes macrocephala* in 12 cultivated populations and 3 wild populations. **Method:** The molecular marker technique ISSR was used to investigate the genetic diversity of 365 samples from 15 populations in Zhejiang, Anhui and Hebei Provinces. Data was analyzed by POPGEN 32, and a cluster diagram was presented by UPGMA. **Result:** One hundred and two amplified fragments were obtained using 13 ISSR primers. 94 polymorphic loci were identified as 92.16%. Nei's genetic diversity index (H_e) was 0.406 5, Shannon diversity index (I) was 0.590 3, and the coefficient of gene differentiation (G_{st}) was 0.202 5. The genetic similarity coefficient among the populations ranged from 0.690 7 to 0.960 5 in an average of 0.825 6. No significant difference was found among the populations based on the clustering analysis. **Conclusion:** There is a low level of genetic differentiation in higher genetic diversity of the *A. macrocephala* populations. No obvious regional or species diversities were identified. This is consistent with current status of cultivation and gerplasm circulation in *A. macrocephala*.

[Key words] *Atractylodes macrocephala*; genetic diversity; ISSR

doi:10.4268/cjcm20122208

[责任编辑 吕冬梅]