

川明参种质资源遗传多样性的 SRAP 分析

杨玉霞, 胡平, 夏燕莉, 周先建, 张美, 曹柳, 郭俊霞

四川省中医药科学院, 四川 成都 610041

摘要:目的 利用 SRAP 分子标记技术对川明参 *Chuanmingshen violaceum* 种质资源进行遗传多样性研究, 为不同来源的川明参亲缘关系及其优良种质资源的筛选提供依据。方法 采集 5 个不同生态区域的 63 份川明参种质资源, 利用 SRAP 分子标记构建其 DNA 指纹图谱, 从分子水平检测其遗传多样性。结果 37 对 SRAP 引物组合共得到 374 条扩增条带, 其中有 283 条呈现多态性, 占 75.67%。供试材料的遗传相似系数的变化范围 0.726 7~0.923 9, 平均值为 0.815 0, 整个群体的遗传相似程度差异较大。基于 SRAP 的聚类分析可将 63 份材料完全分开, 并划分为 7 类, 聚类结果与材料的地理分布有一定关系, 来源于阆中和金堂的材料多样性相对较为丰富。结论 川明参种质资源在分子水平上确实存在较大遗传差异, SRAP 分子标记是评价川明参资源遗传多样性的有效方法。

关键词: 川明参; SRAP 分子标记; 遗传多样性; 聚类分析; 种质资源

中图分类号: R282.12 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2016)11-1943-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.11.022

Genetic diversity of *Chuanmingshen violaceum* by SRAP markers

YANG Yu-xia, HU Ping, XIA Yan-li, ZHOU Xian-jian, ZHANG Mei, CAO Liu, GUO Jun-xia

Sichuan Academy of Traditional Chinese Medicine Sciences, Chengdu 610041, China

Abstract: **Objective** In order to correctly identify the different germplasm resources of *Chuanmingshen violaceum* and gain the excellent germplasm resources, SRAP molecular marker was used to analyze the genetic diversity of *C. violaceum*. **Methods** *C. violaceum* was collected from seven different areas, which included 24 samples, the DNA fingerprint of *C. violaceum* was constructed with SRAP molecular marker, and the genetic diversity was analyzed. **Results** Totally 374 bands were amplified by 37 primer pairs, of which 283 bands were polymorphic, and the polymorphic percentage was 75.67%. The SRAP-based genetic similarity coefficient of all samples ranged from 0.726 7 to 0.923 9, with a mean of 0.815 0. The analysis of molecular variance showed higher percentages of genetic variation within population. All the accessions could be distinguished by SRAP markers. The cluster analysis results showed that 63 accessions were classified into seven groups, which were correlated with the geographical distribution of the accessions to some degree. The accessions from Langzhong and Jintang had higher diversity. **Conclusion** There actually exists plentiful genetic diversity among the genetic resources of *C. violaceum*. SRAP marker is a useful method for analyzing the genetic diversity among *C. violaceum* accessions.

Key words: *Chuanmingshen violaceum* Sheh et Shan.; SRAP molecular marker; genetic diversity; cluster analysis; germplasm resource

川明参俗称明参或明沙参, 为伞形科川明参属植物川明参 *Chuanmingshen violaceum* Sheh et Shan 的干燥根, 是中国特有的单属植物, 亦是四川道地药材, 具有润肺化痰、和胃、生津、解毒等功效, 为滋阴要药^[1], 主产于四川阆中、巴中、苍溪、金堂等地, 近年来种植面积呈逐年增加趋势, 经济效益

十分显著。但由于长期以来农户自选、自繁而不加选择, 导致各地川明参种源十分混杂、种性退化严重。目前对川明参的研究多侧重于有效成分^[2-9]、药理作用^[10-11]及其与明党参的系统演化关系^[12-14]等方面, 对其遗传多样性研究至今未见报道。因此, 对川明参资源进行广泛调查和收集, 研究其生物学特

收稿日期: 2015-09-14

基金项目: 四川省科技厅科技支撑计划 (2013SZ0114); 四川省中医药管理局应用基础研究项目 (2012-E-054); 四川省省级公益性科研院所基本科研业务专项 (A-2011N-35, A-2010N-39)

作者简介: 杨玉霞 (1980—), 女, 副研究员, 主要从事中药材遗传育种、资源评价与利用等研究。

Tel: (028)85255011 E-mail: yangyuxia-7@163.com

性、亲缘关系和遗传多样性已成为其资源保护与利用的首要任务,而遗传多样性研究是资源保护和有效利用的关键环节。

相关序列扩增多态性(sequence-related amplified polymorphism, SRAP)分子标记针对基因组中的特殊序列设计引物,同时使用较高退火温度和较长的引物,不仅重复性高、稳定性好,且具有无需预知受试基因组 DNA 序列、多态性和信息量丰富等特点^[15],已广泛应用于多种药用植物种质资源遗传多样性的研究^[16-20]。本实验以

具代表性的 63 份川明参种质资源为材料,利用 SRAP 分子标记技术研究其遗传多样性,可为川明参种质资源的合理利用及新品种选育提供一定参考。

1 材料与方法

1.1 材料

样品主要采自川明参主产区四川阆中、广元、巴中、金堂和青白江各乡镇(表 1)。经四川省中医药科学院舒光明研究员鉴定为川明参 *Chuanmingshen violaceum* Sheh et Shan。

表 1 供试材料及来源

Table 1 Name and source of materials in this study

序号	来源	资源类型	叶型	序号	来源	资源类型	叶型
1	阆中五马乡川明参选种地	栽培	宽叶	33	巴中巴州渔溪镇太吉村	栽培	宽叶
2	阆中五马乡川明参选种地	栽培	宽叶	34	巴中巴州酒店乡方池垭	栽培	细叶
3	阆中五马乡川明参选种地	栽培	宽叶	35	巴中巴州酒店乡凤鸣村	栽培	细叶
4	阆中五马乡川明参选种地	栽培	宽叶	36	巴中巴州酒店乡太阳村 1 组	栽培	细叶
5	阆中五马乡川明参选种地	栽培	宽叶	37	巴中巴州酒店乡凌云村 1 组	栽培	细叶
6	阆中五马乡川明参选种地	栽培	宽叶	38	巴中巴州酒店乡凌云村 1 组	栽培	细叶
7	阆中五马乡川明参选种地	栽培	宽叶	39	成都金堂赵镇云顶村 8 组	栽培	细叶
8	阆中五马乡川明参选种地	栽培	宽叶	40	成都金堂赵镇云顶村 11 组	栽培	细叶
9	阆中五马乡川明参选种地	栽培	宽叶	41	成都金堂赵镇云顶寺	栽培	宽叶
10	阆中五马乡川明参选种地	栽培	细叶	42	成都金堂赵镇云顶寺	栽培	宽叶
11	阆中五马乡川明参选种地	栽培	细叶	43	成都金堂赵镇云顶寺	栽培	细叶
12	阆中五马乡川明参选种地	栽培	细叶	44	成都金堂淮口镇团结村 12 组	栽培	宽叶
13	阆中五马川明参良种繁育基地	栽培	细叶	45	成都金堂淮口镇团结村 12 组	栽培	宽叶
14	阆中五马川明参良种繁育基地	栽培	细叶	46	成都金堂淮口镇光荣村 6 组	栽培	宽叶
15	阆中峰占乡园宝岭村 4 组	栽培	宽叶	47	成都金堂淮口镇光荣村 6 组	栽培	宽叶
16	阆中峰占乡园宝岭村 7 组	栽培	宽叶	48	成都金堂淮口镇光荣村 6 组	野生	宽叶
17	阆中峰占乡大垭村 1 组	栽培	宽叶	49	成都金堂淮口镇光荣村 6 组	栽培	宽叶
18	阆中峰占乡红瓦村 3 组	栽培	宽叶	50	成都金堂淮口镇光荣村 6 组	栽培	宽叶
19	阆中鹤峰乡川主庙村 7 组	栽培	宽叶	51	成都青白江清泉镇牌坊村 3 组	栽培	宽叶
20	阆中三庙乡重石村	野生	宽叶	52	成都青白江清泉镇牌坊村 3 组	栽培	宽叶
21	阆中三庙乡重石村	野生	宽叶	53	成都青白江清泉镇红岩村 10 组	栽培	宽叶
22	阆中三庙乡重石村	野生	宽叶	54	成都青白江清泉镇红岩村 10 组	栽培	宽叶
23	阆中三庙乡罗汉山村	野生	宽叶	55	成都青白江清泉镇桔丰村 6 组	栽培	宽叶
24	广元苍溪分水岭村	栽培	细叶	56	成都青白江清泉镇桔丰村 6 组	栽培	宽叶
25	广元苍溪九镇乡	栽培	宽叶	57	成都青白江清泉镇桔丰村 6 组	半野生	细叶
26	广元苍溪九镇乡	野生	宽叶	58	成都青白江清泉镇桔丰村 6 组	半野生	细叶
27	广元苍溪龙山镇龙角村 3 组	栽培	细叶	59	成都青白江清泉镇桔丰村 6 组	半野生	细叶
28	广元苍溪龙山镇印池村 4 组	栽培	细叶	60	成都青白江人和乡三元村 16 组	栽培	细叶
29	广元苍溪龙山镇新场村 3 组	栽培	宽叶	61	成都青白江人和乡三元村 16 组	栽培	细叶
30	广元苍溪龙山镇真人庙	栽培	宽叶	62	成都青白江人和乡三元村 14 组	栽培	细叶
31	广元苍溪龙山镇文柏村	栽培	宽叶	63	成都青白江人和乡三元村 14 组	栽培	细叶
32	巴中巴州渔溪镇太吉村	栽培	宽叶				

1.2 DNA 提取

DNA 提取采用 CTAB 法^[21]略加改动。同一居群取多株鲜叶混合提取 DNA。

1.3 引物设计和筛选

参考 Li 等^[15]已发表的引物并由上海生工生物工程有限公司合成, 所用引物序列见表 2。选取 3 份具有代表性的材料(3、26 和 59 号)对 156 对引物组合进行筛选, 从中选出 37 对多态性高、条带清晰、扩增稳定的引物组合对全部材料进行 PCR 扩增。

1.4 反应体系和扩增程序

SRAP 反应体系: 总体积 25 μL , 内含 10 $\times$ PCR buffer 2.5 μL , MgCl_2 2.0 mmol/L, dNTPs 200 $\mu\text{mol/L}$,

上、下游引物各 0.2 $\mu\text{mol/L}$, Taq DNA 聚合酶 1 U, 模板 DNA 40 ng, 其余用 ddH₂O 补足, 1 滴矿物油覆盖。SRAP 扩增程序: 采用复性变温法, 共 40 个循环, 即 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min; 前 5 个循环: 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 1 min, 35 $^{\circ}\text{C}$ 退火 1 min, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1.5 min; 后 35 个循环: 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 1 min, 50 $^{\circ}\text{C}$ 退火 1 min, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min; 循环结束后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

1.5 扩增产物的检测

PCR 反应结束后向扩增产物中加入 6 $\times$ loading buffer, 在含有 0.01% 溴化乙锭 (EB) 的 2.5% 琼脂糖凝胶, 1 $\times$ TAE 的缓冲液中电泳 (电压 5 V/cm)。用 BIO-RAD 公司的凝胶成像系统对凝胶板检测并照相、分析。

表 2 所用 SRAP 引物名称与序列

Table 2 Names and sequences of SRAP primers used in this study

名称	正向引物序列 (5'→3')	名称	正向引物序列 (5'→3')	名称	反向引物序列 (5'→3')
Me1	TGAGTCCAAACCGGATA	Me15	CAAATGTGAACCGGATA	Me40	TGAGTCCAAACCGGTCT
Me2	TGAGTCCAAACCGGAGC	Me17	TGAGTCCAAACCGGGTA	Me41	AGCGAGCAAGCCGGTGG
Me3	TGAGTCCAAACCGGAAT	Me18	TGAGTCCAAACCGGGGT	Me42	TGAGTCCTTTCCGGTAA
Me4	TGAGTCCAAACCGGACC	Me19	TGAGTCCAAACCGGCAG	Me47	GACCAGTAAACCGGATG
Me5	TGAGTCCAAACCGGAAG	Me21	CAGGACTAAACCGGATA	Em1	GACTGCGTACGAATTAAT
Me6	TGAGTCCAAACCGGTAA	Me24	CTTACTTAGACCGGAGT	Em2	GACTGCGTACGAATTGTC
Me7	TGAGTCCAAACCGGTCC	Me32	TGAGTCCAAACCGGAAA	Em3	GACTGCGTACGAATTGAC
Me8	TGAGTCCAAACCGGTGC	Me34	TGAGTCCAAACCGGCAC	Em4	GACTGCGTACGAATTGTA
Me9	TGAGTCCAAACCGGTAG	Me35	TGAGTCCAAACCGGAAC	Em5	GACTGCGTACGAATTAAC
Me10	TGAGTCCAAACCGGTTG	Me37	TGGGGACAACCCGGCTT	Em6	GACTGCGTACGAATTGCA
Me12	TGAGTCCAAACCGGTCA	Me38	CTGGCGAACTCCGGATG		

1.6 数据处理

每份材料电泳条带按有或无记录, 采取 0/1 赋值, 电泳条带清晰存在时赋值为“1”, 否则赋值为“0”, 泳道缺失记为 9。用 NTSYS-PC (version 2.10) 软件系统计算材料间遗传相似系数 (GS)。根据 GS 值按不加权成对群算术平均法 (UPGMA, unweighted pair group method with arithmetic means cluster analysis) 进行遗传相似性聚类, 绘制树状聚类图。

2 结果与分析

2.1 川明参 SRAP 扩增结果

从 156 对引物组合中筛选出多态性好且条带丰富的 37 对引物组合, 对 63 份川明参种质进行 PCR 扩增, 共产生 374 条清晰条带, 其中多态性条带 283

条, 多态性比率达到 75.67% (表 3), 平均每对引物组合产生 7.65 条多态性带。引物组合 Me5+Em1、Me2+Em3 扩增带最多, 均为 16 条, Me34+Em2 扩增带最少, 仅为 6 条。扩增片段大小在 200~1 500 bp, 图 1 为引物组合 Me38+Em2 对 63 份供试材料的扩增结果。

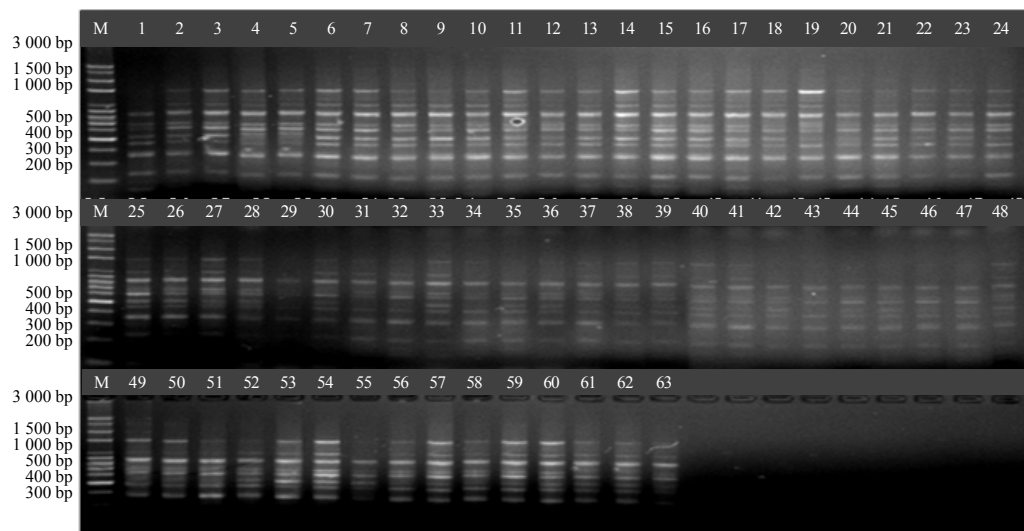
2.2 供试材料的遗传多样性与遗传差异

利用 37 对引物组合所得的 374 条扩增条带, 计算供试材料间的 GS。结果表明, 来自阆中五马川明参良种繁育基地的 13、14 材料间 GS 值最大, 为 0.923 9, 遗传差异最小; 来自阆中五马川明参选种地的材料 3 与来自成都金堂淮口镇团结村 12 组的材料 45 间 GS 值最小, 为 0.726 7, 遗传差异最大, 63 份材料的平均 GS 值为 0.815 0。

表 3 37 对引物组合的 SRAP 扩增结果

Table 3 Amplified results of SRAP with 37 pairs of primers

引物组合	总带数	多态性带数	多态性比率/%	引物组合	总带数	多态性带数	多态性比率/%
Me5+Em1	16	16	100.00	Me41+Em2	10	9	90.00
Me6+Em1	15	12	80.00	Me42+Em2	7	5	71.43
Me7+Em1	8	7	87.50	Me47+Em2	12	10	83.33
Me9+Em1	10	9	90.00	Me2+Em3	16	12	75.00
Me10+Em1	12	7	58.33	Me8+Em3	9	9	100.00
Me15+Em1	9	6	66.67	Me9+Em3	11	7	63.64
Me17+Em1	9	7	77.78	Me10+Em3	12	12	100.00
Me18+Em1	7	4	57.14	Me1+Em4	8	4	50.00
Me19+Em1	8	7	87.50	Me2+Em4	10	7	70.00
Me21+Em1	8	5	62.50	Me6+Em4	8	4	50.00
Me24+Em1	9	7	77.78	Me9+Em4	9	3	33.33
Me32+Em1	8	6	75.00	Me4+Em5	12	10	83.33
Me28+Em2	14	12	85.71	Me6+Em5	10	8	80.00
Me32+Em2	10	6	60.00	Me12+Em5	12	11	91.67
Me34+Em2	6	5	83.33	Me3+Em6	10	7	70.00
Me35+Em2	13	11	84.62	Me5+Em6	10	7	70.00
Me37+Em2	11	7	63.64	Me6+Em6	7	5	71.43
Me38+Em2	10	4	40.00	Me7+Em6	8	6	75.00
Me40+Em2	10	9	90.00	合计	374	283	75.67



M-Marker 1~63-样品编号与表 1 相同, 下同

M-Marker 1—63-numbers from 1 to 63 stand for the strains in Table 1, same as below

图 1 引物组合 Me38+Em2 对 63 份川明参的扩增结果

Fig. 1 SRAP amplification profiles of 63 *C. violaceum* with primer combinations of Me38 + Em2

2.2.1 不同产地材料的遗传差异 5 个产地内和产地间 GS 的平均值见表 4。从表 4 可看出, 5 个产地内 GS 平均值的变化范围为 0.807 7~

0.857 4, 平均值为 0.830 2。巴中材料平均 GS 值最大, 阆中材料 GS 平均值最小, 表明阆中材料的遗传分化程度较大, 遗传多样性较丰富,

表 4 基于 SRAP 标记的川明参产地内和产地间 GS 的平均值

Table 4 Means of inter-different areas and intra-different areas GS of *C. violaceum* accessions based on SRAP marker

产地	阆中	苍溪	巴中	金堂	青白江
阆中	0.807 7				
苍溪	0.813 2	0.825 8			
巴中	0.816 3	0.830 8	0.857 4		
金堂	0.810 3	0.819 4	0.832 0	0.829 3	
青白江	0.802 2	0.811 2	0.823 8	0.819 2	0.830 9

巴中材料亲缘关系较近,遗传变异程度较小。5个产地间 GS 平均值的变化范围为 0.802 2~0.832 0,平均值为 0.817 8。除巴中-苍溪、巴中-金堂材料间 GS 平均值较大外,其余各产地间 GS 平均值比较接近。其中,巴中-金堂材料间平均 GS 值最大,阆中-青白江的最小,表明阆中-青白江材料间遗传差异最大,巴中-金堂材料间遗传差异最小。综合产地内和产地间 GS 分析发现,各产地间 GS 的平均值均小于各产地内的 GS 平均值,说明各产地川明参产地间的遗传分化程度大于产地内的。

2.2.2 不同资源类型和叶型材料的遗传差异 本实验共收集到 63 份川明参种质资源,包括 54 份栽培材料和 9 份野生或半野生材料;按照叶型又可分为 41 份宽叶型材料和 22 份细叶型材料。不同资源类型和叶型材料的遗传差异。

分析结果表明,栽培川明参材料的 GS 平均值为 0.812 6,低于野生或半野生材料的 0.834 8,而栽培和野生或半野生材料间的 GS 平均值介于两者之间,为 0.820 8。这一结果表明,栽培材料的遗传差异较野生或半野生材料的大。宽叶和细叶材料间及其材料内 GS 平均值接近,表明不同叶型材料的遗传差异较小。

2.3 川明参居群的 UPGMA 聚类分析

基于 GS 矩阵,利用 UPGMA 法进行聚类分析(图 2)。结果表明,利用 SRAP 标记能将 63 份材料完全分开。以 GS 值 0.808 0 为阈值可将所有材料分为 7 大类,第 1 类包括阆中的材料 1、金堂的材料 48 共 2 份材料。第 2 类全部来自青白江清泉镇桔丰村 6 组,包括 55、56 及 59 等 5 份材料。第 3 类包括材料 2、5 及 63 等 49 份,其中,阆中 19 份、苍溪 7 份、巴中 7 份、金堂 10 份、青白江 6 份。其中来自阆中五马川明参良种繁育基地的 13、14 遗传分化最小,紧密地聚为一类。第 4 类包括苍溪九镇的 26、阆中五马川明参选种地的 11 共 2 份材料。第 5

类由青白江的 52、54 及金堂的 45 共 3 份材料组成。来自阆中五马川明参选种地的 4、3 各成一类。

以 GS 值 0.802 2 为阈值又可将第 3 类分成 6 个亚类。其中 III-1、III-2、III-3 和 III-6 除 24、25 来自广元苍溪外,其余 13 份材料均来自阆中;III-4 由 7、12 及 63 等 33 份材料组成,其中,阆中 6 份、

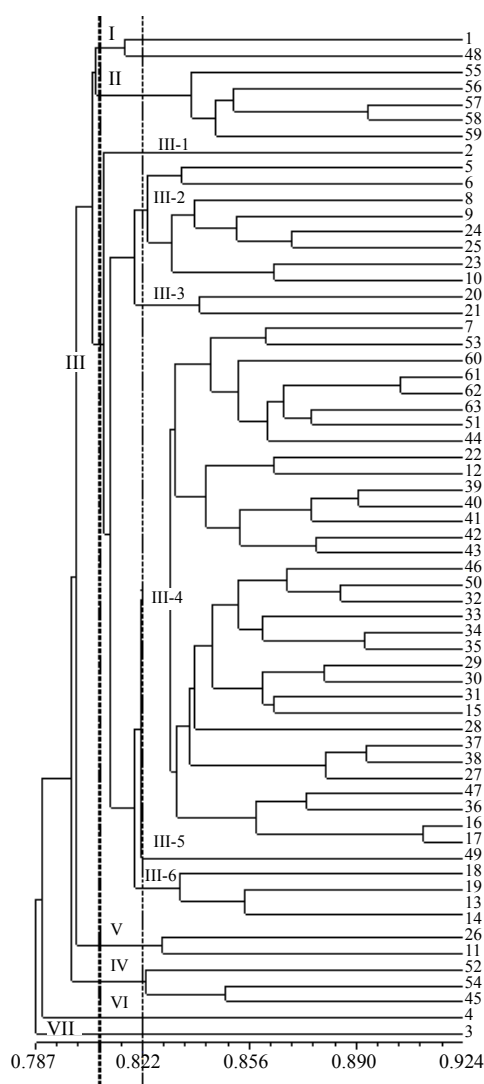


图 2 基于 SRAP 遗传相似系数的聚类图

Fig. 2 Dendrogram of *C. violaceum* in study based on SRAP genetic similarity

苍溪 5 份、巴中 7 份、金堂 9 份、青白江 6 份；来自金堂的材料 49 自成一亚类。

从聚类图中还可以看出，许多来源相同的材料聚在一起。如来自青白江清泉镇桔丰村 6 组的 5 份材料、青白江人和乡三元村的 4 份材料、金堂赵镇云顶的 5 份材料均先紧密结合在一起。但从材料来源分析看，除第 2、5 类以外，阆中的 23 份材料在各类中均有分布。苍溪的 8 份材料、巴中的 7 份材料、金堂的 12 份材料及青白江的 13 份材料均在不同大类中呈分散分布。9 份野生或半野生的材料分散在不同大类中，宽叶和细叶亦呈分散状态，此结果从另一角度证明了川明参的地理生态型确实存在。

3 讨论

3.1 SRAP 分子标记研究川明参种质资源遗传多样性的可靠性

前人对川明参遗传关系的研究仅限于对明党参与川明参种间的遗传分化和系统关系的研究亦或是对川明参属亲缘关系及其分类地位的研究^[12-14]，而纯粹对川明参种质资源的遗传多样性及亲缘关系的研究尚是空白。本研究采用 SRAP 标记对不同产地有代表性的川明参种质资源进行研究，并从 37 对 SRAP 引物组合共扩增出川明参多态性条带 283 条，平均每对引物 7.65 条，表明川明参的遗传多样性较为丰富。由此表明，本研究建立的 SRAP 标记体系是分析川明参种质资源多样性比较可靠的工具。本研究结果表明川明参栽培种质资源的遗传差异较野生或半野生材料的大，究其可能的原因，一是由于川明参栽培历史悠久、栽培范围较广，且在栽培过程中存在人为引进野生种质和各地之间相互引种等现象。据《苍溪县志》（1783 年）《保宁府志》《巴中县志》记载，川明参已有 300 多年的人工栽培历史。在长期的生产实践中，药农们常常会在栽培群体中人为地引入野生种，从而在很大程度上丰富了川明参栽培群体的遗传多样性；当前川明参栽培过程中普遍存在异地引种现象，各地间的相互引种也可能是栽培川明参居群维持高水平遗传多样性的重要原因。其次，由于过度采挖，野生川明参居群面积缩小、个体数减少和生境退化造成个体间或居群间基因交流障碍，形成基因隔离，同时也增加了遗传漂变和近交机率，而小居群比大居群更易发生遗传漂变和近交，引起遗传多样性的丢失，居群内近交衰退，造成川明参野生或半野生居群遗传多样性降低。再次，川明参传粉媒介主要是蜂类，而异交

和接触性传粉被认为是植物保持较高遗传多样性的原因之一^[22]，而野生或半野生川明参主要生长在光照较少的灌木丛中，并不利于传粉，这也可能导致其遗传多样性水平比栽培居群的低。

3.2 川明参种质资源聚类结果与地理分布的关系

Wilson 等^[23]认为种质的地理分布与分子标记间存在相关性，在苜蓿^[24]、狗牙根^[25]、白三叶^[26]等草坪草和牧草上的遗传分析也证实了来自相似地理环境的种质可以优先聚为一类。

从本实验的聚类分析看，SRAP 标记能将所有供试材料完全区分，聚类结果能够在一定程度上反映材料的地理来源，许多相同地理来源的材料能聚在一起。如来自青白江清泉镇桔丰村的 5 份材料、青白江人和乡三元村的 4 份材料、金堂赵镇云顶的 5 份材料均先紧密结合在一起。对 5 个不同地理区域川明参群体间的遗传距离和遗传相似系数分析表明，同一地域的川明参材料间遗传距离较小，亲缘关系较近，而不同地域川明参资源群体间遗传变异相对较大，遗传多样性较高，这可能与地区间气候环境差异、物种的适应性变化及人为选择目标不同有关。这亦说明川明参在某一生态环境下，经过长期人工选择和改良后，在遗传结构上发生了能够区别于其他地域的变异。这对以后制定川明参资源遗传多样性的原位保护措施、保护范围、保护地点，以及遗传多样性的考察收集提供了重要参考，也为川明参品种改良及发掘新的优良基因提供了依据。

3.3 川明参叶型和 SRAP 遗传多样性的相关性

川明参从叶型上可分为宽叶和细叶 2 种类型。本研究聚类结果表明，宽叶和细叶呈分散状态，聚类结果与叶型并无明显的相关性。Zhang 等^[27]的研究亦发现杨梅种质资源的分类与果实大小、果实颜色等并无明显的相关性，这亦表明从 DNA 角度进行的品种鉴定相比于形态学角度更具有客观性和科学性。

参考文献

- [1] 单人骅, 余孟兰. 中国植物志 (第五十五卷第三分册) [M]. 北京: 科学出版社, 1992.
- [2] 陈胡兰, 苏筱琳, 邓 贇, 等. 川明参药效活性部位化学成分研究 [J]. 中成药, 2008, 30(9): 1334-1336.
- [3] 饶高雄, 王兴文, 刘启新, 等. 川明参的化学成分 [J]. 云南植物研究, 1996, 18(3): 359-360.
- [4] 周 燕, 彭树林, 吕发强, 等. 川明参根部的化学成分 [J]. 天然产物研究与开发, 1998, 11(6): 15-17.
- [5] 王明安, 彭树林, 王明奎, 等. 川明参茎叶中的化学成分 [J]. 高等学校化学学报, 2002, 23(8): 539-541.

- [6] 李邦经, 彭树林, 梁 婕, 等. 川明参须根中的化学成分 [J]. 中草药, 2004, 35(6): 616-618.
- [7] 邵承斌, 李 宏, 吴鹤麟, 等. 川明参营养化学成分的 研究 [J]. 中草药, 1997, 28(10): 590-591.
- [8] 赵 波, 李 宏, 任 波, 等. 川明参不同加工品化学 成分指纹图谱比较研究 [J]. 中成药, 2011, 33(4): 557-559.
- [9] 金滨滨, 陈朝霞, 陈 璐, 等. 川明参地上部分与根的 化学成分比较研究 [J]. 中药与临床, 2013, 4(6): 7-10.
- [10] 张 梅, 雨 田, 苏筱琳, 等. 川明参镇咳祛痰药理作 用研究 [J]. 时珍国医国药, 2006, 17(7): 1121-1122.
- [11] 张 梅, 苏筱琳, 雨 田, 等. 川明参药理作用初步研 究 [J]. 中药药理与临床, 2007, 23(2): 49-50.
- [12] 邱英雄, 傅承新, 吴斐捷. 明党参与川明参群体遗传结 构及分子鉴定的 ISSR 分析 [J]. 中国中药杂志, 2003, 28(7): 598-603.
- [13] 陶晓瑜, 桂先群, 傅承新, 等. 明党参和川明参种间遗 传分化和系统关系的分子标记和 ITS 序列分析 [J]. 浙 江大学学报: 农业与生命科学版, 2008, 34(5): 473-481.
- [14] 宋春风, 吴宝成, 周 伟, 等. 基于 *psbA-trnH* 序列变 异分析川明参属亲缘关系及分类地位 [J]. 植物资源与 环境学报, 2014, 23(2): 19-26.
- [15] Li G, Quiros C F. Sequence-related amplified polymorphism(SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in *Brassica* [J]. *Theor Appl Genet*, 2001, 103(2/3): 455-461.
- [16] 艾 强, 周 涛, 江维克, 等. 川续断种质资源遗传多样 性的 SRAP 分析 [J]. 中草药, 2013, 44(15): 2155-2159.
- [17] 马秀杰, 王冠明, 韩烈保. 不同产地麦冬遗传多样性的 SRAP 分析 [J]. 草业科学, 2012, 29(11): 1686-1691.
- [18] 刘志飞, 高 洁, 滕中华. 不同种源黑龙骨遗传关系的 SRAP 分析 [J]. 农业生物技术学报, 2014, 22(7): 862-869.
- [19] 包英华, 潘超美, 白 音, 等. 铁皮石斛种质资源遗传 多样性的 SRAP 分析 [J]. 北京中医药大学学报, 2014, 37(5): 349-353.
- [20] 柴 锬, 刘红昌, 李金玲, 等. 基于 SRAP 分子标记的 天麻遗传多样性研究 [J]. 中草药, 2014, 45(20): 2974-2981.
- [21] Murray M G, Thompson W F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA [J]. *Nucl Acids Res*, 1980, 8: 4321-4325.
- [22] Cruse-Sanders J M, Hamrick J L. Genetic diversity in harnested and protected populations of wild American ginseng, *Panax quinquefolius* L. (Araliaceae) [J]. *Am J Bot*, 2004, 91: 540-548.
- [23] Wilson B L, Kitzmiller J, Rolle W, et al. Isozyme variation and its environmental correlates in *Elymus glaucus* from the Californial Floristic Province [J]. *Cana J Bot*, 2001, 79: 139-153.
- [24] 何庆元, 吴 苹, 张晓红, 等. 不同秋眠性苜蓿 SRAP 体系优化及遗传多样性分析 [J]. 草业学报, 2011, 20(2): 201-209.
- [25] 凌 瑶, 张新全, 齐晓芳, 等. 西南五省区及非洲野生 狗牙根种质基于 SRAP 标记遗传多样性分析 [J]. 草业 学报, 2010, 19(2): 196-203.
- [26] 张婧源, 彭 燕, 罗 燕, 等. 不同产地白三叶种质遗 传多样性的 SRAP 分析 [J]. 草业学报, 2010, 19(5): 130-138.
- [27] Zhang S M, Gao Z S, Xu C J, et al. Genetic diversity of Chinese Bayberry (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc.) accessions revealed by amplified fragment length polymorphism [J]. *Hore Sci*, 2009, 44(2): 487-491.