

• 药材与资源 •

不同产地忽地笑的叶绿体基因 *psbA-trnH* 序列分析全妙华^{1,2,3}, 赵丽娟^{1,2}, 贺安娜^{2,3}, 余朝文^{1,2,3}, 向小亮¹, 蒋向辉^{2,3}

1. 怀化学院生物与食品工程学院, 湖南 怀化 418008

2. 怀化学院 民族药用植物资源研究与利用湖南省重点实验室, 湖南 怀化 418008

3. 湘西药用植物与民族植物学湖南省高校重点实验室, 湖南 怀化 418008

摘要: 目的 通过叶绿体基因 *psbA-trnH* 序列分析, 探讨我国忽地笑种质资源的系统进化关系及分子鉴定方法。方法 分别提取 15 省(市) 52 个忽地笑居群的 DNA, 经 PCR 扩增叶绿体基因 *psbA-trnH* 序列及测序, 并用 Mega 5.0 等软件对测序结果进行分析。结果 52 条 *psbA-trnH* 序列长度为 544~656 bp, GC 含量为 35.8%~37.0%, 遗传距离为 0.000 00~0.009 47; 核苷酸变异(多态性)位点数共 33 个, 其中简约信息位点 9 个, 单一突变位点 18 个, 插入/缺失片段 6 个; 单倍型数量(*H*) 10 个, 单倍型多态性水平(*H_d*) 0.749, 核苷酸多态性(π) 0.002 63, 收集的忽地笑资源具有较高的遗传多样性。最大简约法(maximum parsimony, MP)系统树中 52 个居群聚为 4 类, 并且该聚类结果与其地理分布基本一致。结论 不同产地忽地笑居群的遗传变异较大, *psbA-trnH* 序列可作为忽地笑种源分子鉴定的依据; 我国忽地笑种质资源在进化上具有明显的地域性特征。

关键词: 忽地笑; 居群; *psbA-trnH* 序列; 核苷酸多态性; 系统聚类

中图分类号: R282.12 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)02-0491-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.02.031

Sequence analysis of *psbA-trnH* gene in chloroplast of *Lycoris aurea* populations from different regionsQUAN Miao-hua^{1,2,3}, ZHAO Li-juan^{1,2}, HE An-na^{2,3}, SHE Chao-wen^{1,2,3}, XIANG Xiao-liang¹, JIANG Xiang-hui^{2,3}

1. College of Biological and Food Engineering, Huaihua University, Huaihua 418008, China

2. Key Laboratory of Hunan Province for Study and Utilization of Ethnic Medicinal Plant Resources, Huaihua University, Huaihua 418008, China

3. Key Laboratory of Hunan Higher Education for Hunan Xiangxi medicinal Plant and Ethnobotany, Huaihua University, Huaihua 418008, China

Abstract: Objective System evolution relationship and molecular identification method of the germplasm resources of *Lycoris aurea* from different regions was analyzed based on the sequence of *psbA-trnH* chloroplast gene. **Methods** DNA samples of 52 *L. aurea* populations were extracted from 15 provinces or cities in China. The *psbA-trnH* sequences of the populations were amplified by PCR, and the purified PCR products were sequenced and analyzed by Mega 5.0 software etc. **Results** The length of *psbA-trnH* sequences were 544—656 bp, and GC content of them was 35.8%—37.0%, and the genetic distances among the populations were 0—0.009 47. There were 33 variable (polymorphic) sites, including nine parsimony informative sites and 18 singleton variable sites and six insertion/deletion gaps. Ten haplotypes (*H*) were identified. Values of haplotype diversity (*H_d*) and nucleotide diversity (π) were 0.749 and 0.002 63, respectively. The genetic diversity of the populations of *L. aurea* were very high. In the maximum parsimony phylogenetic tree, 52 populations of *L. aurea* were clustered into four branches, which was almost consistent with their geographical distributions. **Conclusion** The genetic variation of *L. aurea* populations from different regions is significant and the *psbA-trnH* sequence could be used as a molecular evidence for identifying the germplasm resources of *L. aurea* from different regions. There is very obvious regional characteristics in evolution for germplasm resources of *L. aurea* in China.

Key words: *Lycoris aurea* (L'Her.) Herb.; population; *psbA-trnH* sequence; nucleotide diversity; hierarchical cluster

收稿日期: 2018-07-09

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31470403); 湖南省双一流学科建设经费资助

作者简介: 全妙华(1971—), 男, 教授, 研究方向为药用植物资源评价与利用研究。E-mail: hhqmh100@163.com

忽地笑 *Lycoris aurea* (L'Her.) Herb. 又称黄花石蒜、铁色箭等,为石蒜属多年生草本植物,是一种传统的中药材^[1]。其鳞茎内富含石蒜碱(lycorine)、加兰他敏(galanthamine)、力克拉敏(lycoramine)等多种生物碱,可用于治疗小儿麻痹后遗症、老年性痴呆症、重症肌无力等疾病,并且对癌症具有一定疗效,具有重要的药用价值^[2]。此外,忽地笑是一种良好的地被植物,其鳞茎还富含淀粉、雪花莲凝集素等成分,在园林、工业、农业等领域有广泛应用价值^[3-4]。忽地笑适应性强,生长范围广,是我国石蒜属植物分布最广的物种,多样性丰富是其他任何国家和地区所不及的^[5],主要分布在湖南、湖北、广西、贵州、四川、云南、安徽、江苏等 16 个省市^[6-7]。近年来,由于生态环境的破坏及人为地过度采挖,致使忽地笑野生资源日益短缺^[8]。因此,收集、保存及整理我国不同产地忽地笑种质资源,对该资源遗传多样性保护与利用具有重要的理论和实践参考价值。

由于忽地笑等石蒜属植物具有先花后叶以及花叶不相见的特殊生长发育特性,并且该属植物在自然界或人工培育下存在广泛的天然杂交,变异类型较多,从形态学鉴别该属植物难度较大^[5,9]。近年来,虽然采用 ISSR、RAPD、AFLP 等分子标记以

及 ITS、*trnL-F*、*psbA-trnH* 等序列片段研究石蒜属种间关系或分子鉴定等报道较多^[10-15],但系统地研究忽地笑种质资源的遗传多样性及其演化关系尚未见报道。叶绿体基因 *psbA-trnH* 片段是进化速率最快的叶绿体间隔区片段之一,可提供较为丰富的变异位点和信息位点^[16];近些年来,叶绿体 DNA 在植物遗传结构评价和居群遗传多样性研究等领域得到广泛应用^[17]。本实验采用叶绿体基因 *psbA-trnH* 序列探讨不同产地忽地笑居群的遗传变异程度及其进化关系,为忽地笑种质资源鉴别、遗传多样性保护和遗传育种提供重要的分子依据。

1 材料与方法

1.1 材料

2014—2016 年在忽地笑开花期(8 月)进行采样,从湖南、湖北、四川、贵州、广西等 15 个省(市)共采集 52 个忽地笑居群材料,每 2 个居群之间至少相隔 50 km 以上;每个居群采集 10~20 个样品,植株间距 20 m 以上,样品分布覆盖我国忽地笑的主要产区,实验材料基本信息见表 1。实验时,每个居群随机选取 3 个植株,52 个不同产地忽地笑居群共 156 个样本数;采取忽地笑新鲜叶片,放在保鲜袋中,用硅胶干燥,带回实验室后置于 -70 °C 冰箱中保存备用。

表 1 忽地笑居群的基本信息

Table 1 Basic information of *L. aurea* populations

居群编号	来源地	居群类型	经度 (E)	纬度 (N)	海拔/m
1	湖南洪江 (HNHJ)	野生	110°14'	27°10'	687
2	湖南怀化 (HNHH)	野生	109°87'	27°05'	418
3	湖南吉首 (HNJS)	野生	109°19'	28°12'	365
4	湖南邵阳 (HNSY)	野生	110°79'	26°34'	457
5	湖南永州 (HNYZ)	野生	111°35'	26°27'	323
6	湖南城步 (HNCB)	野生	110°37'	26°24'	371
7	湖南郴州 (HNCZ)	野生	113°19'	25°44'	259
8	湖南资兴 (HNZX)	野生	113°38'	25°84'	377
9	湖南通道 (HNTD)	野生	109°47'	26°09'	415
10	湖南衡阳 (HNHY)	野生	112°75'	27°35'	373
11	湖南娄底 (HNLD)	野生	111°21'	27°64'	278
12	湖南张家界 (HNZJJ)	野生	110°49'	29°14'	346
13	湖北十堰 (HBSY)	野生	110°85'	32°84'	415
14	湖北荆门 (HBJM)	栽培	113°02'	31°02'	425
15	湖北恩施 (HBES)	野生	109°18'	30°42'	824
16	湖北巴东 (HBBD)	野生	110°19'	31°10'	151
17	贵州安顺 (GZAS)	野生	105°95'	26°24'	607
18	贵州贵阳 (GZGY)	栽培	106°72'	26°54'	538

续表 1

居群编号	来源地	居群类型	经度 (E)	纬度 (N)	海拔/m
19	贵州铜仁 (GZTR)	野生	108°20'	27°96'	535
20	贵州丹寨 (GZDZ)	野生	107°86'	26°39'	656
21	贵州独山 (GZDS)	野生	107°57'	25°87'	751
22	贵州三都 (GZSD)	野生	107°77'	25°92'	447
23	贵州榕江 (GZRJ)	野生	108°51'	26°09'	465
24	四川广元 (SCGY)	野生	105°22'	32°57'	617
25	四川雅安 (SCYA)	野生	102°89'	30°15'	675
26	四川宣汉 (SCXH)	野生	108°15'	31°40'	705
27	四川都江堰 (SCDJY)	野生	103°49'	30°93'	973
28	四川乐山 (SCLS)	野生	103°44'	29°56'	751
29	重庆武隆 (CQWL)	野生	107°39'	29°24'	419
30	重庆丰都 (CQFD)	野生	107°42'	30°11'	433
31	重庆城口 (CQCK)	野生	108°19'	31°74'	557
32	重庆开县 (CQKX)	野生	107°89'	30°44'	601
33	云南蒙自 (YNMZ)	栽培	103°28'	23°54'	1 301
34	云南昆明 (YNKM)	栽培	102°75'	25°01'	1 839
35	云南晋宁 (YNJN)	野生	102°44'	24°39'	1 915
36	云南玉溪 (YNYX)	野生	102°45'	24°03'	1 767
37	广西百色 (GXBS)	野生	105°42'	24°35'	793
38	广西河池 (GXHC)	野生	107°05'	24°14'	320
39	广西桂林 (GXGL)	野生	110°12'	25°54'	302
40	广东清远 (GDQY)	野生	113°12'	24°94'	404
41	福建惠安 (FJHA)	野生	118°89'	24°77'	257
42	江西赣州 (JXGZ)	野生	114°35'	24°47'	265
43	浙江湖州 (ZJHZ)	野生	119°51'	30°33'	73
44	江苏镇江 (JSZJ)	野生	119°05'	32°08'	78
45	江苏南京 (JSNJ)	栽培	118°48'	32°03'	21
46	江苏常州 (JSCZ)	野生	119°21'	31°50'	105
47	安徽芜湖 (AHWH)	野生	118°22'	31°20'	23
48	河南信阳 (HNXY)	野生	114°05'	31°48'	406
49	河南罗山 (HNLS)	野生	114°20'	31°92'	187
50	河南南阳 (HNNY)	野生	113°34'	32°35'	230
51	陕西西安 (SXXA)	野生	108°69'	34°01'	476
52	陕西宝鸡 (SXBj)	野生	107°42'	34°05'	1 088

1.2 方法

1.2.1 样品 DNA 的提取与扩增 采用改良的 CTAB 法与 PCR 产物纯化试剂盒相结合来提取忽地笑样品 DNA。*psbA-trnH* 区扩增使用引物 5'-GTTATGCATGAACGTAATGCTC-3' 和 5'-CGC-GCATGGTGGATTCAATCC-3'。其 PCR 扩增反应体系为 50 μL。扩增程序: 94 °C 预变性 4 min,

94 °C 变性 45 s, 54 °C 退火 45 s, 72 °C 延伸 1 min, 35 个循环, 最后 72 °C 延伸 10 min^[14]。

1.2.2 叶绿体基因 *psbA-trnH* 序列测定 叶绿体基因 *psbA-trnH* 序列的 PCR 扩增产物经 1.5% 琼脂糖电泳检测, 确定达到测序要求后, 再委托上海生工生物技术有限公司进行双向测序。

1.2.3 数据处理 对测序结果用 ClustalX 2 软件进

行校对拼接,再采用 Mega 5.0 软件对序列长度、变异位点、信息位点以及 GC 含量等序列特征进行分析;采用 Mega 5.0 软件中的 Kimura-2-parameter (K2P) 模型和最大简约法(maximum parsimony, MP) 分别构建遗传距离矩阵和系统发育树;并且采用 DnaSP 5.10 计算群体的单倍型数量(number of haplotypes, H)、单倍型多样性(haplotype diversity, H_d)、核苷酸多样性(nucleotide diversity, π)、单倍型多样性方差(variance of haplotype diversity, V_h)、单倍型多样性标准差(standard deviation of haplotype diversity, S_h) 和 Tajima's D 值等^[18]。

2 结果与分析

2.1 不同产地忽地笑居群叶绿体基因 *psbA-trnH* 序列差异分析

通过对我国 52 个不同产地忽地笑居群的叶绿体基因 *psbA-trnH* 序列进行测序,进行比对后发现序列长度变化范围为 544~656 bp,核苷酸构成富含 AT

碱基,其含量为 63.0%~64.2%,GC 含量为 35.8%~37.0%,远低于 AT 含量;当空位(gap)作为缺失处理时,52 个居群序列检测到变异(多态性)位点数共 33 个,其中简约信息位点 9 个,单一突变位点 18 个,插入/缺失片段 6 个(表 2),分别占序列总数的 1.35%、2.70%和 0.90%。由表 2 可知,9 个简约信息位点分别出现在第 17、41、54、58、136、189、499、650、651 位点;在第 138~228 位点之间出现多个碱基缺失/插入或突变,该序列的 6 个插入/缺失片段均出现该片段区域,分别在第 138~140、141~145、157~159、161~188、190~226、227~228 位点;同一区域(省市)或地理分布较近的居群样品之间序列变化相同或相近,如 12 个湖南居群中除湖南城步(HNCB)在第 227~228 位点插入 CT 2 个碱基外,其余 11 个居群均缺乏第 138~228 bp 位点之间 91 bp 碱基片段,并且分布在周边的贵州、湖北等省份也表现出相似的序列特点等。

表 2 忽地笑居群的 *psbA-trnH* 序列特征

Table 2 Characteristics of *psbA-trnH* sequences of *L. aurea* populations

编号	居群代码	变异(多态性)位点														
		15 bp	16 bp	17 bp	19 bp	24 bp	25 bp	41 bp	54 bp	58 bp	136 bp	138~140 bp	141~145 bp	146 bp	148 bp	150~156 bp
1	HNHJ	C	T	A	C	G	T	A	A	T	C	-	-	-	-	-
2	HNHH	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	-	-	-	-	-
3	HNJS	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	-	-	-	-	-
4	HNSY	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	-	-	-	-	-
5	HNYZ	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	-	-	-	-	-
6	HNCB	•	•	•	•	•	•	•	•	•	-	-	-	-	-	-
7	HNCZ	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	-	-	-	-	-
8	HNZX	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	-	-	-	-	-
9	HNTD	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	-	-	-	-	-
10	HNHY	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	-	-	-	-	-
11	HNLD	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	-	-	-	-	-
12	HNZJJ	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	-	-	-	-	-
13	HBSY	•	•	•	•	•	•	•	G	G	A	TAG	-	G	T	+
14	HBJM	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	-	-	-	-	-
15	HBES	•	•	•	•	•	•	•	•	•	-	-	-	-	-	-
16	HBBB	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	-	-	-	-	-
17	GZAS	T	C	T	G	A	•	•	G	•	•	-	ATAAG	G	T	+
18	GZGY	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	-	-	-	-	-
19	GZTR	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	-	-	-	-	-
20	GZDZ	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	-	-	-	-	-

续表 2

编号	居群代码	变异 (多态性) 位点														
		15 bp	16 bp	17 bp	19 bp	24 bp	25 bp	41 bp	54 bp	58 bp	136 bp	138~140 bp	141~145 bp	146 bp	148 bp	150~156 bp
21	GZDS	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	—	—	—	—	—
22	GZSD	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	—	—	—	—	—
23	GZRJ	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	—	—	—	—	—
24	SCGY	•	•	•	•	•	•	•	G	G	A	TAG	—	G	T	+
25	SCYA	•	•	•	•	•	•	•	G	G	A	TAG	—	G	T	+
26	SCXH	•	•	•	•	•	•	•	G	G	•	TAG	—	G	T	+
27	SCDJY	•	•	•	•	•	•	•	G	G	A	TAG	—	G	T	+
28	SCLS	•	•	•	•	•	•	•	G	•	•	TAG	—	A	A	※
29	CQWL	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	—	—	—	—	—
30	CQFD	•	•	•	•	•	•	•	G	G	•	TAG	—	G	T	+
31	CQCK	•	•	•	•	•	•	•	G	G	•	TAG	—	G	T	+
32	CQKX	•	G	T	•	•	•	•	G	G	•	TAG	—	G	T	+
33	YNMZ	•	•	•	•	•	•	•	G	•	•	TAG	ATAAG	G	T	+
34	YNKM	•	•	•	•	•	•	•	G	•	•	TAG	ATAAG	G	T	+
35	YNJN	•	•	•	•	•	•	•	G	•	•	TAG	ATAAG	G	T	+
36	YNYX	•	•	•	•	•	•	•	G	•	•	TAG	ATAAG	G	T	+
37	GXBS	•	•	•	•	•	•	•	G	•	•	TAG	ATAAG	G	T	+
38	GXHC	•	•	•	•	•	•	•	G	•	•	TAG	ATAAG	G	T	+
39	GXGL	•	•	•	•	•	•	•	G	•	•	TAG	—	G	T	+
40	GDQY	—	—	—	—	•	A	•	G	G	•	TAG	—	G	T	+
41	FJHA	•	•	•	•	•	•	•	G	G	•	TAG	—	G	T	+
42	JXGZ	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	—	—	—	—	—
43	ZJHZ	•	•	•	•	•	•	•	G	G	•	TAG	—	G	T	+
44	JSZJ	•	•	•	•	•	•	T	•	G	•	TAG	—	G	T	+
45	JSNJ	•	•	•	•	•	•	T	•	G	•	TAG	—	G	T	+
46	JSCZ	•	•	•	•	•	•	T	•	G	•	TAG	—	G	T	+
47	AHWH	•	•	•	•	•	•	T	•	G	•	TAG	—	G	T	+
48	HNXY	•	•	•	•	•	•	•	•	•	—	—	—	—	—	—
49	HNLS	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	—	—	—	—	—
50	HNNY	•	•	•	•	•	•	•	•	•	—	—	—	—	—	—
51	SXXA	—	—	—	—	•	•	•	G	G	A	TAG	—	G	T	+
52	SXBJ	•	•	•	•	•	•	•	G	G	A	TAG	—	G	T	+

编号	居群代码	变异 (多态性) 位点												GC/%
		157~159 bp	161~188 bp	189 bp	190~226 bp	227~228 bp	250 bp	256 bp	499 bp	648 bp	650 bp	651 bp	652 bp	
1	HNHJ	—	—	—	—	—	G	T	A	T	C	A	C	36.6
2	HNHH	—	—	—	—	—	•	•	•	•	—	—	—	35.6
3	HNJS	—	—	—	—	—	•	•	•	•	•	•	•	36.5
4	HNSY	—	—	—	—	—	•	•	•	•	•	•	•	36.5
5	HNYZ	—	—	—	—	—	•	•	•	•	A	C	—	36.0
6	HNCB	—	—	—	—	CT	•	•	•	•	•	•	•	36.4

续表 2

编号	居群代码	变异 (多态性) 位点											GC/%	
		157~159 bp	161~188 bp	189 bp	190~226 bp	227~228 bp	250 bp	256 bp	499 bp	648 bp	650 bp	651 bp		652 bp
7	HNCZ	—	—	—	—	—	•	•	•	•	A	C	—	35.8
8	HNZX	—	—	—	—	—	•	C	•	•	•	C	•	36.6
9	HNTD	—	—	—	—	—	•	•	•	•	A	C	•	36.2
10	HNHY	—	—	—	—	—	•	•	•	•	A	C	—	35.8
11	HNLD	—	—	—	—	—	•	•	•	•	•	C	—	36.1
12	HNZJJ	—	—	—	—	—	•	•	•	C	•	C	—	36.4
13	HBSY	CCA	∴	A	∴	CT	•	•	•	•	A	C	•	36.1
14	HBJM	—	—	—	—	—	A	•	•	•	•	C	•	36.4
15	HBES	—	—	—	—	CT	•	•	•	•	•	•	•	36.6
16	HBBD	—	—	—	—	—	•	•	•	•	•	C	•	36.6
17	GZAS	CCA	∴	A	∴	CT	•	•	•	•	•	—	•	36.3
18	GZGY	—	—	—	—	—	•	•	•	•	•	•	•	36.6
19	GZTR	—	—	—	—	—	•	•	•	•	A	C	—	36.2
20	GZDZ	—	—	—	—	—	•	•	•	•	•	C	•	37.0
21	GZDS	—	—	—	—	—	•	•	•	•	A	C	•	36.8
22	GZSD	—	—	—	—	—	•	•	•	•	•	C	•	37.0
23	GZRJ	—	—	—	—	—	•	•	•	•	•	C	•	36.9
24	SCGY	CCA	∴	A	∴	CT	•	•	•	•	A	C	•	36.2
25	SCYA	CCA	∴	A	∴	CT	•	•	•	•	A	C	•	36.3
26	SCXH	CCA	∴	C	∴	CT	•	•	•	•	A	C	—	36.1
27	SCDJY	CCA	∴	A	∴	CT	•	•	•	•	•	•	•	35.8
28	SCLS	—	∴	A	∴	CT	•	•	•	•	•	C	•	35.9
29	CQWL	—	—	—	—	—	•	•	•	•	•	C	•	36.6
30	CQFD	CCA	∴	A	∴	CT	•	•	•	•	•	C	•	36.7
31	CQCK	CCA	∴	C	∴	CT	•	•	•	•	A	C	—	36.3
32	CQKX	CCA	∴	C	∴	CT	•	•	•	•	•	—	•	36.9
33	YNMZ	CCA	∴	A	∴	CT	•	•	•	•	•	C	•	36.7
34	YNKM	CCA	∴	A	∴	CT	•	•	•	•	•	C	•	36.2
35	YNJN	CCA	∴	A	∴	CT	•	•	•	•	•	•	•	36.1
36	YNYX	CCA	∴	A	∴	CT	•	•	•	•	•	•	•	36.2
37	GXBS	CCA	∴	A	∴	CT	•	•	•	•	A	•	•	36.1
38	GXHC	CCA	∴	A	∴	CT	•	•	•	•	•	•	A	36.0
39	GXGL	CCA	∴	A	∴	CT	•	•	•	•	•	•	•	36.0
40	GDQY	CCA	∴	A	∴	CT	•	•	T	•	•	•	•	36.4
41	FJHA	CCA	∴	A	∴	CT	•	•	T	•	A	C	—	35.8
42	JXGZ	—	—	—	—	—	•	•	•	•	•	—	•	36.7
43	ZJHZ	CCA	∴	A	∴	CT	•	•	T	•	A	C	—	36.1
44	JSZJ	CCA	∴	A	∴	CT	•	•	•	•	•	•	•	36.4
45	JSNJ	CCA	∴	A	∴	CT	•	•	•	•	•	C	•	36.6
46	JSCZ	CCA	∴	A	∴	CT	•	•	•	•	•	•	•	36.5
47	AHWH	CCA	∴	A	∴	CT	•	•	•	•	•	•	•	36.4
48	HNXY	—	—	—	—	CT	•	•	•	•	•	C	•	36.4
49	HNLS	—	—	—	—	—	•	•	•	•	•	C	•	36.7
50	HNNY	—	—	—	—	CT	•	•	•	•	•	•	•	36.4
51	SXXA	CCA	∴	A	∴	CT	•	•	•	•	A	—	•	35.9
52	SXBJ	CCA	∴	A	∴	CT	•	•	•	•	A	C	—	36.0

“•”代表与湖南洪江序列位点相同；“—”代表碱基缺失；“+”代表 TCCCCG；“※”代表 GGTTATC；“∴”代表 TGAATGATAAGTATCTTTTTTTTGATTC；“∴”代表 AAATTAACGACGAGATTTATTATCGTTTCTCGCATGT

“•”: The base is same with site of Hongjiang population in Hunan; “—”: absence; “+”: TCCCCG; “※”: GGTTATC; “∴”: TGAATGATAAGTATCTTTTTTTTGATTC; “∴”: AAATTAACGACGAGATTTATTATCGTTTCTCGCATGT

2.2 不同产地忽地笑居群间遗传距离分析

采用 Mega 5.0 软件中的 K2P 模型计算我国不同产地忽地笑居群 *psbA-trnH* 序列的遗传距离并构建序列距离矩阵 (表 3)。由表 3 可知, 供试的 52 个忽地笑居群间的遗传距离变化范围为 0~0.009 47, 平均遗传距离为 0.002 63。在同一区域 (仅 1 个居群的省份除外) 内各居群相比, 云南、广西、江苏、河南和陕西共 5 个省份居群的遗传距离最小, 均为 0; 四川居群次之, 其遗传距离

为 0~0.001 88; 湖南除资兴与张家界居群遗传距离为 0.003 77 外, 其他 10 个居群之间遗传距离为 0~0.001 88; 湖北居群之间遗传距离最大, 为 0~0.005 65。在不同区域 (省市) 间各居群相比, 广东清远与其他居群的遗传距离均较大, 为 0.003 77~0.009 47; 其他居群间的遗传距离较小, 为 0~0.007 56。可见, 分布在同一区域 (省市) 或地理分布较近的忽地笑种质资源之间遗传距离较小, 相反, 其遗传距离较大。

表 3 52 个忽地笑居群遗传距离

Table 3 Genetic distances among 52 populations of *L. aurea*

编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
2	0.000 00																	
3	0.000 00	0.000 00																
4	0.000 00	0.000 00	0.000 00															
5	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00														
6	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00													
7	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00												
8	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88											
9	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.001 88										
10	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.001 88	0.000 00									
11	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.001 88	0.000 00	0.000 00								
12	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.003 77	0.001 88	0.001 88	0.001 88							
13	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.005 66	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.005 66						
14	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.003 77	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.003 77	0.005 65					
15	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.001 88	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.001 88	0.003 76	0.001 88				
16	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.001 88	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.001 88	0.003 76	0.001 88	0.000 00			
17	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.005 65	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.005 65	0.003 76	0.005 64	0.003 76	0.003 76		
18	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.001 88	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.001 88	0.003 76	0.001 88	0.000 00	0.000 00	0.003 76	
19	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.001 88	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.001 88	0.003 76	0.001 88	0.000 00	0.000 00	0.003 76	0.000 00
20	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.001 88	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.001 88	0.003 76	0.001 88	0.000 00	0.000 00	0.003 76	0.000 00
21	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.001 88	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.001 88	0.003 76	0.001 88	0.000 00	0.000 00	0.003 76	0.000 00
22	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.001 88	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.001 88	0.003 76	0.001 88	0.000 00	0.000 00	0.003 76	0.000 00
23	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.001 88	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.001 88	0.003 76	0.001 88	0.000 00	0.000 00	0.003 76	0.000 00
24	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.005 66	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.005 66	0.000 00	0.005 65	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76
25	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.005 66	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.005 66	0.000 00	0.005 65	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76
26	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.005 66	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.005 66	0.000 00	0.005 65	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76
27	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.005 66	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.005 66	0.000 00	0.005 65	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76
28	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.003 77	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.003 77	0.001 88	0.003 76	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88
29	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.001 88	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.001 88	0.003 76	0.001 88	0.000 00	0.000 00	0.003 76	0.000 00
30	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.005 66	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.005 66	0.000 00	0.005 65	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76
31	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.005 66	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.005 66	0.000 00	0.005 65	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76

	表 A-1																	
编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
32	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.005 66	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.005 66	0.000 00	0.005 65	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76
33	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.003 77	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.003 77	0.001 88	0.003 76	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88
34	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.003 77	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.003 77	0.001 88	0.003 76	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88
35	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.003 77	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.003 77	0.001 88	0.003 76	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88
36	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.003 77	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.003 77	0.001 88	0.003 76	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88
37	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.003 77	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.003 77	0.001 88	0.003 76	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88
38	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.003 77	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.003 77	0.001 88	0.003 76	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88
39	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.003 77	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.003 77	0.001 88	0.003 76	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88
40	0.007 56	0.005 76	0.007 56	0.007 56	0.007 56	0.007 56	0.007 56	0.009 47	0.007 56	0.007 56	0.007 56	0.009 47	0.003 77	0.009 45	0.007 56	0.007 56	0.007 56	0.007 56
41	0.005 66	0.005 66	0.005 66	0.005 66	0.005 66	0.005 66	0.005 66	0.007 56	0.005 66	0.005 66	0.005 66	0.007 56	0.001 88	0.007 55	0.005 66	0.005 66	0.005 66	0.005 66
42	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.001 88	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.001 88	0.003 76	0.001 88	0.000 00	0.000 00	0.003 76	0.000 00
43	0.005 66	0.005 66	0.005 66	0.005 66	0.005 66	0.005 66	0.005 66	0.007 56	0.005 66	0.005 66	0.005 66	0.007 56	0.001 88	0.007 55	0.005 66	0.005 66	0.005 66	0.005 66
44	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.005 67	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.005 67	0.003 76	0.005 66	0.003 77	0.003 77	0.007 55	0.003 77
45	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.005 67	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.005 67	0.003 76	0.005 66	0.003 77	0.003 77	0.007 55	0.003 77
46	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.005 67	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.005 67	0.003 76	0.005 66	0.003 77	0.003 77	0.007 55	0.003 77
47	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.005 67	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.005 67	0.003 76	0.005 66	0.003 77	0.003 77	0.007 55	0.003 77
48	0.000 00	0.																

续表 3

编号	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36
39	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.000 00	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00
40	0.007 56	0.007 56	0.007 56	0.007 56	0.007 56	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.005 66	0.007 56	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.005 66	0.005 66	0.005 66	0.005 66
41	0.005 66	0.005 66	0.005 66	0.005 66	0.005 66	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.003 77	0.005 66	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.003 77
42	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.001 88	0.000 00	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88
43	0.005 66	0.005 66	0.005 66	0.005 66	0.005 66	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.003 77	0.005 66	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.003 77
44	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.005 66	0.003 77	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.005 66	0.005 66	0.005 66	0.005 66
45	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.005 66	0.003 77	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.005 66	0.005 66	0.005 66	0.005 66
46	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.005 66	0.003 77	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.005 66	0.005 66	0.005 66	0.005 66
47	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.005 66	0.003 77	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.005 66	0.005 66	0.005 66	0.005 66
48	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.001 88	0.000 00	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88
49	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.001 88	0.000 00	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88
50	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.001 88	0.000 00	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88
51	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.001 88	0.003 76	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88
52	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.001 88	0.003 76	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.001 88
编号	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51			
38	0.000 00																	
39	0.000 00	0.000 00																
40	0.005 66	0.005 66	0.005 66															
41	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.001 88														
42	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.007 56	0.005 66													
43	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.001 88	0.000 00	0.005 66												
44	0.005 66	0.005 66	0.005 66	0.007 56	0.005 66	0.003 77	0.005 66											
45	0.005 66	0.005 66	0.005 66	0.007 56	0.005 66	0.003 77	0.005 66	0.000 00										
46	0.005 66	0.005 66	0.005 66	0.007 56	0.005 66	0.003 77	0.005 66	0.000 00	0.000 00									
47	0.005 66	0.005 66	0.005 66	0.007 56	0.005 66	0.003 77	0.005 66	0.000 00	0.000 00	0.000 00								
48	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.007 56	0.005 66	0.000 00	0.005 66	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.003 77							
49	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.007 56	0.005 66	0.000 00	0.005 66	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.000 00						
50	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.007 56	0.005 66	0.000 00	0.005 66	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.003 77	0.000 00	0.000 00					
51	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.003 77	0.001 88	0.003 76	0.001 88	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76				
52	0.001 88	0.001 88	0.001 88	0.003 77	0.001 88	0.003 76	0.001 88	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.003 76	0.000 00			

2.3 倍型多态性分析和中性检验

在 DNA 序列研究中,一般采用 H 、 H_d 和 π 等来衡量群体的遗传多样性。本研究对 *psbA-trnH* 序列进行单倍型多样性分析,结果表明,52 个忽地笑居群的序列共产生 H 10 个, H_d 值 0.749, V_h 值 0.002 21、 S_h 值 0.047, π 值 0.002 63, 居群遗传分化系数 (G_{st}) 0.604 07, 基因流 (N_m) 0.16。可见,供试的忽地笑群体具有较高的遗传多样性。中性检验表明,*psbA-trnH* 序列的 Tajima's D 值、Fu and Li's D^* 值、Fu and Li's F^* 值检验均为负值,在 $P>0.10$ 水平上均不显著,都未达到显著水平,符合中性进化模式,表明从物种水平上忽地笑的 *psbA-trnH* 序列进化模式符合中性进化的假设。

2.4 基于 *psbA-trnH* 序列忽地笑种质资源的聚类分析

依据遗传距离和序列差异,采用 MP 法对我国

52 个居群忽地笑种质资源进行聚类分析,并且构建系统发育树(图 1)。由图 1 可知,我国忽地笑种质资源可聚为 4 类,即第 1 分支包括广东清远(GDQY)、福建惠安(FJHA)和浙江湖州(ZJHZ)共 3 个居群聚为一类,主要分布在华南或东南部;第 2 分支包括江苏镇江(JSZJ)、江苏南京(JSNJ)、江苏常州(JSCZ)和安徽芜湖(AHWH)共 4 个居群聚为一类,主要分布在华东地区;第 3 分支包括广西河池(GXHC)、桂林(GXGL)、百色(GXBS),云南玉溪(YNYX)、晋宁(YNJN)、昆明(YNKM)、蒙自(YNMZ),四川乐山(SCLS)、广元(SCGY)、雅安(SCYA)、宣汉(SCXH)、都江堰(SCDJY),重庆丰都(CQFD)、城口(CQCK)、开县(CQKX),陕西南部的西安户县(SXXA)、宝鸡(SXBJ),湖北西北部的十堰(HBSY)以及贵州西部的安顺(GZAS)共 19 个居群聚为一类,主要分布在我国

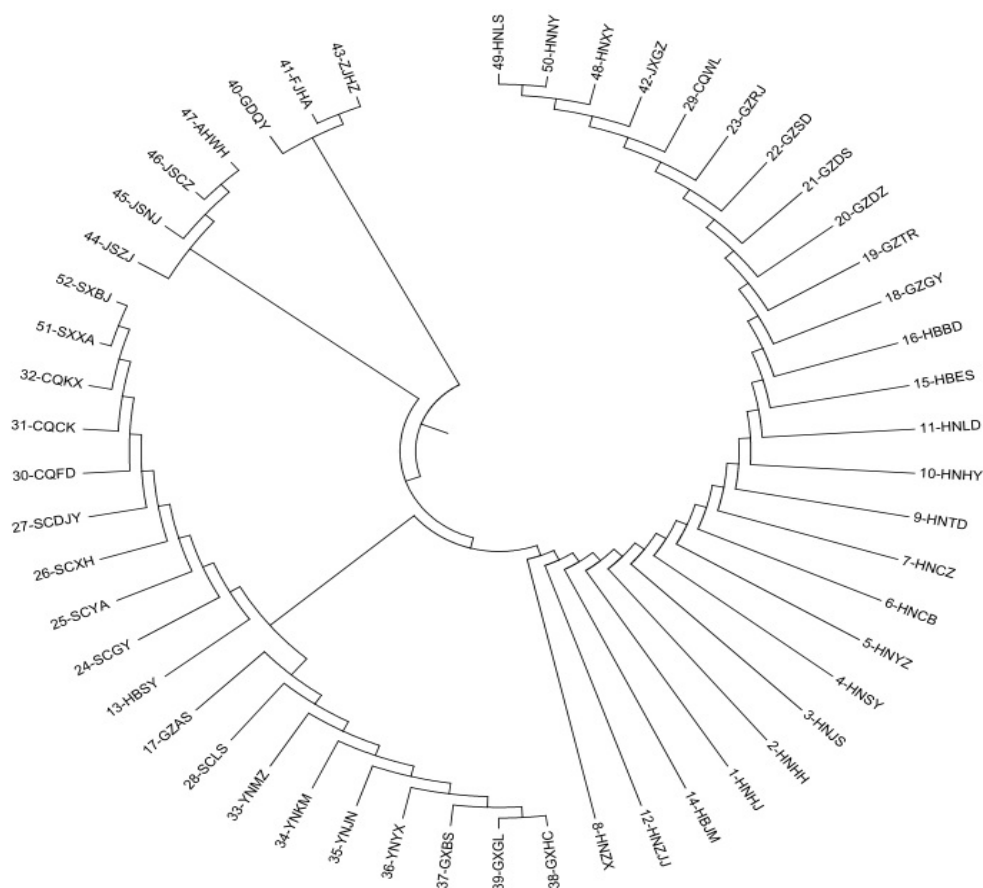


图 1 基于 *psbA-trnH* 序列构建忽地笑种质资源的系统发育树

Fig. 1 Maximum parsimony phylogenetic tree of germplasm resources of *L. aurea* based on *psbA-trnH* sequence

西南部地区；第四分支包括湖南洪江（HNHJ）、怀化（HNHH）、吉首（HNJS）、邵阳（HNSY）等 12 个居群，湖北荆门（HBJM）、恩施（HBES）、巴东（HBBD），贵州贵阳（GZGY）、铜仁（GZTR）、丹寨（GZDZ）等 6 个居群，河南南部的信阳（HNXY）、南阳（HNNY）、罗山（HNLS），重庆东南部的武隆（CQWL）以及江西南部的赣州（JXGZ）共 26 个居群聚为一类，主要分布在华中地区。

3 讨论

植物的遗传多样性受其生活史特性、繁育方式、种子或花粉的传播能力、地理分布、居群生境、物种的进化地位等很多因素的影响。统计分析表明，长寿命、广域分布、远交、动物取食传播的物种具有较高的遗传多样性^[19]。本研究收集的 15 省市 52 个不同产地忽地笑居群材料，几乎覆盖了忽地笑在我国自然分布的所有区域和生态环境，包含华东、华南、华西、华中及西南等地区，经度为 102°44′~114°20′，纬度为 23°54′~34°05′，海拔高度 21~1 915 m。在测定的 52 个叶绿体基因

psbA-trnH 序列中，序列长度变化范围为 544~656 bp，核苷酸变异多态性位点数共 33 个，其中简约信息位点 9 个，单一突变位点 18 个，插入/缺失片段 6 个；该序列共产生 H 10 个， H_d 值 0.749， V_h 值 0.002 63， G_{st} 值 0.604 07， N_m 值 0.16。其中，在第 15 bp 位点，贵州安顺居群发生 T/C 转换单一突变；在第 138~226 bp 位点，分布在湖南、湖北（十堰除外）、贵州（安顺除外）、河南南部等华中地区的忽地笑居群大部分均缺失这 89 bp 碱基片段；在第 41 bp 位点，江苏和安徽居群与其他的相比，发生 A/T 颠换；在第 499 bp 位点，广东清远、福建惠安和浙江湖州居群与其他的相比，也发生 A/T 颠换；在第 150~156 bp 位点，除四川乐山为 GGTTATC 7 个碱基特殊情况外，供试的其他样品为 TCCCCCG 7 个碱基插入或缺失等。这些结果表明，我国忽地笑种质资源的遗传变异较大，遗传多样性较丰富，但在同一区域或地理分布较近的居群间序列相近或相同，该序列存在明显的地域性特征，其原因可能与忽地笑的地理分布范围广、生境条件复杂等因

素有关。采用叶绿体基因 *psbA-trnH* 序列可以区分不同产地忽地笑居群,可为准确鉴别忽地笑种源提供分子依据。

叶绿体基因 *psbA-trnH* 序列的系统发育树聚类结果与忽地笑产地的分布基本一致。12 个湖南居群、6 个贵州居群(不含安顺)、3 个湖北居群(不含十堰)等样品聚为同一支,其遗传距离为 0~0.005 65; 5 个四川居群、4 个云南居群等样品聚为另一支,其遗传距离为 0~0.003 76。这些结果表明,我国忽地笑的种内(居群)亲缘关系与地理分布存在密切关系,同一区域或地理分布越近,其亲缘关系越近。从地理分布来看,广东清远与湖南资兴 2 个居群之间地理位置相距不太远,但其分类进化地位相差较远,其遗传距离最大,为 0.009 47,可能原因为地理隔离(如南岭)等因素使这些类群之间缺乏基因交流,使其向不同进化方向演化,产生了较大变异。例如,与湖南资兴居群相比,在第 25 bp 位点,广东清远居群发生 A/T 颠换单一突变;在第 54、58 位点, A、T 碱基均突变为 G;在第 138~226 bp 位点,广东清远居群插入 TAG、TCCCCCG 等碱基片段,而湖南资兴居群缺失这 89 bp 片段等。从该系统进化树可以看出,分布在华南的广东清远、东南部的福建惠安等忽地笑居群聚在整个系统发育树的底部分支,是比较古老的类群;分布在我国华中地区的湖南、湖北以及中西部的贵州等区域的居群属较进化的类群,提示忽地笑种质资源在我国的进化顺序为华南或东南部→华东地区→西南部→华中地区,具体演化规律还有待后续深入研究。

综上所述,通过叶绿体基因 *psbA-trnH* 序列对我国忽地笑种质资源的遗传多样性进行较深入分析,发现我国不同产地忽地笑种质资源存在较大遗传变异,并且在进化上存在明显的地域性特征;在分子生物学层面,分析了 52 个不同产地忽地笑居群的系统进化关系,为忽地笑种质资源鉴别、分类学研究及杂交育种等方面研究提供了参考依据。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1985.
- [2] 季宇彬, 辛国松, 曲中原, 等. 石蒜属植物生物碱类化学成分和药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2016, 47(1): 157-164.
- [3] 季春峰. 石蒜属资源开发与利用 [J]. 中国野生植物资源, 2003, 21(6): 14-15.
- [4] 杨志玲, 谭梓峰. 石蒜资源的开发利用和繁育研究建议 [J]. 经济林研究, 2003, 21(4): 97-99.
- [5] 袁菊红. 中国原产石蒜属植物的数量分类和主成分分析 [J]. 亚热带植物科学, 2010, 39(3): 32-37.
- [6] 江 燕, 朱 炜, 章银柯. 石蒜属植物资源及其在园林中的应用 [J]. 亚热带植物科学, 2009, 38(3): 79-82.
- [7] 袁菊红, 胡绵好. 石蒜属种质资源及其开发利用研究 [J]. 亚热带植物科学, 2009, 38(2): 79-84.
- [8] Quan M H, Liang J. The influences of four types of soil on the growth, physiological and biochemical characteristics of *Lycoris aurea* (L'Her.) Herb [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: srep43284.
- [9] Kurita S, Hsu P S. Hybrid complex in *Lycoris* (Amaryllidaceae) [J]. *Am J Botany*, 1996, 83(6): 207.
- [10] 黄想安, 董美芳, 阎学燕, 等. 石蒜属种间亲缘关系 AFLP 分析 [J]. 中草药, 2011, 42(1): 148-152.
- [11] Shi S D. Interspecific relationships of *Lycoris* (Amaryllidaceae) inferred from inter-simple sequence repeat data [J]. *Sci Hortic*, 2006, 110: 285-291.
- [12] Quan M H, Ou L J, She C W, et al. rDNA internal transcribed spacer sequence analysis of *Lycoris* Hert [J]. *Afr J Biotechnol*, 2012, 11(29): 7361-7365.
- [13] 魏 磊, 庞 磊, 杨 旭, 等. 基于叶绿体 DNA *atpB-rbcL* 区序列探讨石蒜属种间系统发育关系 [J]. 热带亚热带植物学报, 2013, 21(2): 109-115.
- [14] 全妙华, 欧立军, 余朝文, 等. 中国石蒜属种间关系的 *trnH-psbA* 序列分析 [J]. 园艺学报, 2011, 38(8): 1589-1594.
- [15] 石 艳, 童再康, 高燕会. 换锦花 EST-SSR 标记开发及遗传多样性分析 [J]. 核农学报, 2018, 32(6): 1089-1096.
- [16] 张宏意, 袁林林, 饶秋红, 等. 不同产地何首乌叶绿体 *psbA-trnH* 基因序列分析 [J]. 中草药, 2018, 49(5): 1146-1149.
- [17] 赵 容, 邵 飞, 尹海波, 等. 基于 *psbA-trnH* 序列对穿龙薯蓣及同属物种的鉴别研究 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(5): 938-944.
- [18] 刘 振, 成 杨, 赵 洋, 等. 基于叶绿体 *rbcL* 和 *trnH-psbA* 序列的湖南茶树资源遗传多样性与亲缘关系研究 [J]. 热带作物学报, 2018, 39(1): 040-045.
- [19] Hamrick J L, Godt M J W. Effects of life history traits on genetic diversity in plant species [J]. *Philos T R Soc B*, 1996, 351: 1291-1298.