

## • 专 论 •

## 进化生态学在药用植物种质资源评价中的应用与展望

徐燕玲, 王振宇, 杨淑达, 陆 露\*

昆明医科大学药学院 云南省天然药物药理重点实验室, 云南 昆明 650500

**摘 要:** 药用植物种质资源是用于天然药物研究和开发的植物遗传资源, 是我国中医药大健康产业发展的物质基础, 对其进行准确评价是中药材发挥疗效以及药用植物开发利用的关键。进化生态学是生态学、遗传学、进化生物学等多学科交叉融合的产物, 用于探索物种为适应所处环境的进化机制。近 20 年来, 随着进化生态学的学科技术不断革新与发展, 物种地理分布区预测、物种鉴定、遗传多样性检测、亲缘关系分析、化学生理过程对气候变化的响应、生物多样性保护与栽培育种等研究手段也相继用于药用植物的种质资源评价, 并为其不断提供新思路。介绍了分子标记技术、分子谱系地理分析、景观遗传分析、生态位模型分析、性状关联分析等几种进化生态学主要的研究方法在药用植物种质资源评价中的应用案例, 并概述了进化生态学在药用植物种质鉴定、种质多样性评估、资源调查与预测、道地性研究、保护与栽培育种等方面取得的研究进展。未来通过结合基因组和大数据时代的前沿技术, 以期健全更加完善的药用植物种质资源评价体系, 为中药物质基础的深度挖掘提供重要的理论指导。

**关键词:** 药用植物; 种质资源; 进化生态学; 环境适应; 生物多样性

**中图分类号:** R282.23      **文献标志码:** A      **文章编号:** 0253 - 2670(2021)05 - 1221 - 13

**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.05.001

## Application and prospect of evolutionary ecology in evaluation of germplasm resources of medicinal plants

XU Yan-ling, WANG Zhen-yu, YANG Shu-da, LU Lu

Yunnan Key Laboratory of Pharmacology for Natural Products, College of Pharmacy, Kunming Medical University, Kunming 650500, China

**Abstract:** Germplasm resources of medicinal plants, which are plant genetic resources used for natural drugs research and development, are the material basis for the development of the massive health industry of Chinese medicine. Accurate evaluation can crucially guarantee the therapeutic effects of Chinese medicinal materials, and the development and utilization of medicinal plants. Evolutionary ecology is the integration of ecology, genetics, evolutionary biology and other disciplines, which is used to explore the evolutionary mechanism of species adapting to their environment. Over the past twenty years, with the development and the innovation of new technology added into evolutionary ecology, species distribution prediction, species identification, genetic diversity detection, phylogenetic analysis, the chemical and physiological processes response to climate change, and biodiversity conservation and cultivation of breeding have been employed in the evaluation of medicinal plant germplasm resources, and have provided new insights constantly. Several major analysis methods of evolutionary ecology, including molecular markers, phylogeographical analysis, landscape genetics, niche modeling, and association mapping in the evaluation of medicinal plant germplasm resources are introduced in this paper, and the research advances of evaluation of evolutionary ecology on medicinal germplasm identification, germplasm diversity, resource investigation and prediction, geo-authentic research, and conservation and cultivation of breeding etc are also summarized. The evaluation of germplasm resources of medicinal plants will be well completed under the era of genome and big data

收稿日期: 2020-12-11

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31960080); 国家自然科学基金资助项目 (41671052); 云南省中青年学术和技术带头人后备人才项目 (202005AC160020); 云南省创新团队培养项目 (202005AE160004)

作者简介: 徐燕玲 (1995—), 女, 硕士研究生, 研究方向为药用植物种质资源评价。Tel: 17862954481 E-mail: 759293332@qq.com

\*通信作者: 陆 露, 研究员, 博士, 硕士生导师, 主要从事药用植物学与进化生态学的教学及科研工作。E-mail: lulukmu@163.com

in the future, which will provide important theoretical guidance for the in-depth exploration of the material basis of traditional Chinese medicine.

**Key words:** medicinal plants; germplasm resources; evolutionary ecology; environmental adaptability; biodiversity

植物种质资源是指一切具有遗传物质或基因的各类植物的总称,包含所有可利用的遗传载体<sup>[1]</sup>。植物种质资源评价主要涉及对植物学性状、外观品质、内部经济性状、农艺性状、营养价值、抗逆性和病虫害、活性成分、种质资源鉴定、种类与空间分布、遗传多样性分析、亲缘关系、基因流模式、育种栽培与保护等多方面的评价<sup>[2-8]</sup>。药用植物种质资源是中药生产的源泉,药用植物种质质量是中药材品质的重要影响因素之一,评价核心指标以临床效果和中药材道地性研究为主,同时兼顾药用植物资源分布与蕴藏量、药用植物种质鉴定、遗传多样性检测、亲缘关系分析、药用植物有效成分含量测定、濒危药用植物保护以及药用植物栽培和育种等方面<sup>[9-10]</sup>。

药用植物种质资源传统评价方法主要有以下几种:(1)药用植物的资源调查,即药用植物资源的分布、种类、蕴藏量与种质资源多样性<sup>[11-12]</sup>,采用样方调查、访问调查、踏查及统计报表等方法<sup>[13]</sup>;(2)中药材基原与品质鉴定,传统上常采用性状鉴别、显微鉴别、粉末鉴别、理化鉴别等方法<sup>[14]</sup>;(3)药用植物化学成分定性定量分析,评价药用植物种质资源。随着科技进步与发展,高效液相色谱法(HPLC)、薄层色谱法(TLC)、紫外-可见分光光度法(UV-VIS)、近红外分光光度法(NIR)、中药指纹图谱、X射线衍射等现代分析技术相继被应用,该类技术主要通过对目标化学成分提取、分离,然后进行定性和定量分析,开展药用植物的物种鉴定和质量评价<sup>[15-16]</sup>。以上几种方法在药用植物种质资源评价中得到广泛应用,但在一些方面具有局限性:(1)传统调查药用植物资源特别是野生资源蕴藏量,主要根据中药材产地收购量进行推算,容易受主观因素影响,缺乏客观科学性<sup>[17]</sup>;(2)性状及显微鉴别等方法对鉴定人员的经验要求高且主观性强<sup>[18]</sup>,而精准性较低;(3)中药是在中医理论指导下发挥治疗疾病的作用,而HPLC等化学分析方法多以单一或单类成分的含量为参考指标,与中医理论的多种成分整体作用理论思想不一致<sup>[19]</sup>;(4)传统的资源普查方法难以反映植物多样性和环境因子在多维空间上的内在联系<sup>[20]</sup>;(5)药用植物化学成分(药物活性)与其遗传、生态环境关联性不明

晰,传统评价方法不涉及解析药用植物资源的遗传背景及优质中药材(道地药材)的进化机制,未能将药用植物品质特征与地理结构、生态环境进行关联并揭示规律性,不利于药用植物的产地评价。

进化生态学是研究生态系统各级组成之间及其与生态环境背景之间生态规律的学科,主要研究生物多样性和种群结构问题的生态与遗传基础,生物群落和生态系统的多样性及系统演化;是20世纪60年代产生的一门综合性学科;是生态学与遗传学、进化生物学等多学科的融合产物,用于探索物种为适应所处环境的进化机制<sup>[21-23]</sup>;它的出现为解决上述问题提供了有效的交叉学科方法与技术。进化生态学学术理念启示了药用植物资源研究者将药用植物表型特征与生态因子、基因位点相关联,分析药用植物表型-基因型-化学型-环境因子之间的动态关系<sup>[6]</sup>,植物的次生代谢产物是植物在长期进化过程中与环境相互作用的结果<sup>[24]</sup>,药用植物化学成分的种类与含量受到了遗传和环境的共同影响。因此环境多样性与遗传多样性影响了药用植物化学成分多样性,进而导致中药临床疗效的多样性、影响药用植物的开发利用与中药材的生产加工等。采用进化生态学手段研究环境或遗传因素在药用植物生长过程中对其性状、品质、蕴藏量、分布等方面的影响,可从动态发展的角度对药用植物资源进行更综合、更科学的评价,进一步完善药用植物种质资源的评价体系。进化生态学的研究方法可以将植物的生存环境参数与其分布地点相关联,用于预测在全球环境变化下资源的动态分布状况;将药用植物的进化史、植物学性状、中药材品质与地理变异、生态环境进行关联分析,评价其遗传多样性,为药用植物的分类、鉴定、开发利用、引种栽培提供理论基础;将药用植物的质量和数量性状进行关联分析,定位目标基因,为药用植物分子育种和性状改良提供理论基础。

## 1 进化生态学分析方法与应用

进化生态学的研究手段涉及了大量的基于进化生物学和生态学模型的统计分析方法,用以将物种内在特质(多样性)与生态环境相关联,探索二者间的相互影响与动态变化。进化生态学的基本分

析方法包括基于普通生态学数据的数量分析（如相关性分析、方差分析、聚类分析）、基于分子生物学数据的遗传分析（如多变量模型、数量性状位点分析、遗传多样性检测）和计算机遗传建模等<sup>[25]</sup>，这些分析方法可进一步组合为综合分析方法，其中，

分子标记、分子谱系地理分析、景观遗传分析、生态位模型分析、性状关联分析等综合分析方法在药用植物种质资源研究与评价中应用较多，本文主要介绍这几种方法的概念与应用，阐释药用植物种质资源的综合评价体系（图1）。

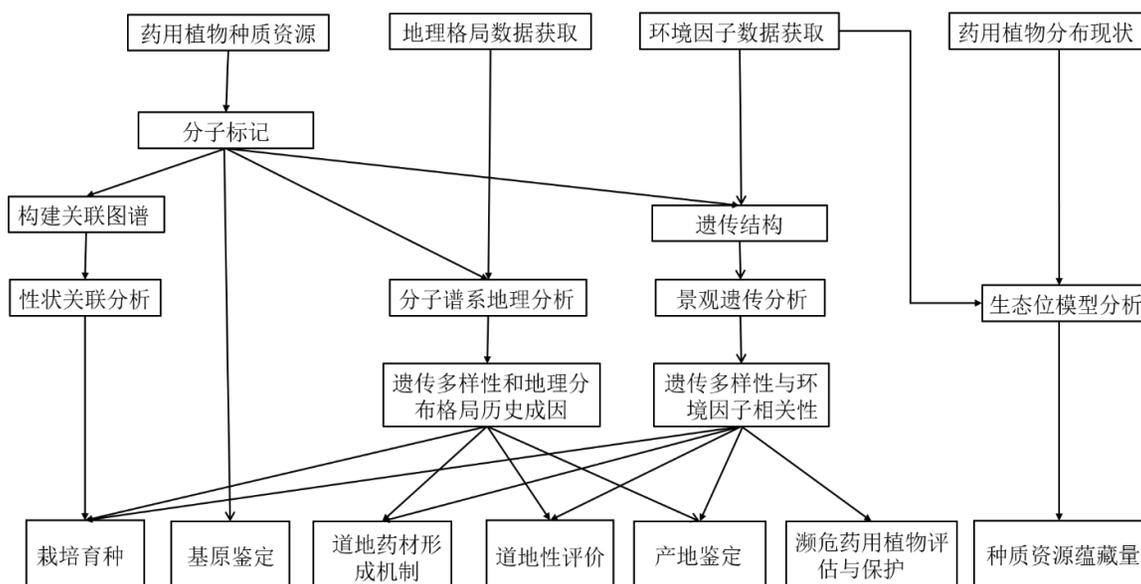


图1 基于进化生态学的药用植物种质资源综合评价体系

Fig. 1 A comprehensive evaluation system for germplasm resources of medicinal plants based on evolutionary ecology

### 1.1 分子标记

分子标记是反映生物个体或种群间基因组中某种差异特征的核苷酸序列<sup>[26]</sup>，这些序列相互之间由于碱基的变异、缺失、插入、易位、倒位、重排导致碱基组成和长度不一，从而产生多态性，分子标记技术用来检测这些多态性<sup>[27]</sup>。分子标记技术具有速度快、灵敏度好、特异性强、准确度高优点，获取的基因数据用来进行建立系统发育树、获取遗传标记、构建连锁不平衡图谱，是进行分子谱系地理分析、景观遗传分析、性状关联分析的数据基础，被广泛应用于药用植物遗传多样性检测、亲缘关系分析、濒危药用植物的保护、药用植物的栽培与性状改良的研究<sup>[9,28-29]</sup>。同时，由于不受生物体生长发育阶段、供试部位、背景信息与形态等方面的限制，分子标记技术（广义上包括DNA条形码技术）被广泛应用于药用植物种质资源（特别是基原）的物种鉴定<sup>[30]</sup>。

常用的DNA分子标记技术主要有限制性片段长度多态性（restriction fragment length polymorphism, RFLP）、随机扩增多态性DNA（randomly amplified polymorphic DNA, RAPD）、扩

增片段长度多态性（amplified fragment length polymorphism, AFLP）、简单重复序列（simple sequence repeat, SSR）、单核苷酸多态性（single nucleotide polymorphism, SNP）、内部简单重复序列（inter-simple sequence repeat, ISSR）、基因芯片、单片段DNA条形码、多片段DNA条形码、迷你条形码、超级条形码和宏条形码技术等<sup>[31-32]</sup>。RFLP是较早开发的分子标记技术，被应用于药用植物鉴定、遗传多样性检测、亲缘关系分析以及构建基因连锁图谱等研究<sup>[9]</sup>。RAPD多用于药用植物的基因多态性与遗传多样性分析<sup>[9,33]</sup>。AFLP多用于遗传结构和地理分布关系、物种起源和药用植物种属间系统发育关系分析<sup>[34-36]</sup>。SSR和SNP分子标记具有稳定性好、多态性高、共显性且易于高通量检测等优点，成为目前遗传多样性分析的重要手段<sup>[37]</sup>。SNP基因位点检测可将植物的表型性状相关基因与环境变化相互联系，用于药用植物的道地性评价与形成机制研究<sup>[38-39]</sup>。ISSR也通常用于药用植物遗传多样性的研究，因开发成本低、实验程序简单而广为使用<sup>[40]</sup>，但因其不能区分显性纯合和杂合基因型具有研究局限性。近年来，DNA条形码技术飞速发展，

因其鉴定能力强,快捷高效,在鉴定没有背景信息的中药材样品以及在方法通用性和可数字化方面具有一定的优势<sup>[41]</sup>,已经在中药材鉴定方面得到广泛的认同和应用<sup>[42]</sup>。

随着测序技术的革新和生物信息学的发展,单片段 DNA 条形码、多片段 DNA 条形码(如植物国际通用条形码 *matK*、*rbcL*、*psbA-trnH*、ITS 及其组合)、迷你条形码等已经远远不能满足鉴定需求<sup>[43]</sup>,超级条形码和宏条形码技术相继推出,分别在药用植物困难类群(引物通用性不高、扩增效率低、近缘种间差异小、进化机制复杂)或非标准材料(DNA 降解严重的材料),与多物种混合材料(复方中成药)的基原/物种鉴定展现了强大的生命力。基于叶绿体全基因组的超级条形码能够准确鉴定砂仁(豆蔻属物种)<sup>[44]</sup>、石斛(不同产地的铁皮石斛)<sup>[45]</sup>等药用植物,且在鉴定近缘物种方面有良好的应用前景<sup>[41]</sup>。通过宏条形码技术,学者们开展了对九味羌活丸<sup>[46]</sup>、龙胆泻肝丸<sup>[47]</sup>等中成药药用植物物种组成的相关研究,提出了利用宏条形码技术鉴定市售混合中药材种子的方法<sup>[48]</sup>。目前,转录组测序(RNA-seq)是研究生物体在特定时期和特定组织基因表达的重要方法,也逐渐用于道地药材的品质鉴定<sup>[49]</sup>、挖掘参与活性成分生物合成途径的功能基因以及开发分子标记<sup>[50]</sup>等研究中,在丹参<sup>[51]</sup>、花椒<sup>[49]</sup>等药用植物中得到应用。

## 1.2 分子谱系地理分析

谱系地理学的概念是由 Avise<sup>[52]</sup>提出,即通过遗传信息来研究地质结构与变化对物种地理分布的影响,用于探讨物种的基因谱系在当前地理分布格局的历史成因以及解释物种进化和生态进程。溯祖理论是谱系地理学的重要理论基础,根据种群中现有的中性遗传变异回溯变异的历史过程,以探讨物种的进化机制<sup>[53]</sup>。借助 DNA 分子标记技术和嵌套分析,描述单倍型的地理分布、估计基因分化时间、对涉及种群的历史事件进行数学模拟,全面地反映种群的进化历史<sup>[54]</sup>。分子谱系地理在揭示遗传多样性的地理结构(药用植物地理分布成因)等方面有重要作用,可用于濒危药用植物资源保护、栽培起源、道地药材形成机制以及植物有效成分的地理分布等评价。

由地形起伏造成的地理障碍是生物多样性的主要成因之一,我国西南地区植物显著的遗传多样性及差异,与该地区因板块运动造成的青藏高原、云

贵高原、喜马拉雅山及横断山脉抬升等密切相关,地理障碍形成了基因流屏障,影响了种群遗传结构和分布,促使了遗传分化与物种多样性的形成<sup>[55-56]</sup>。该类研究对深入了解药用植物的种质遗传背景与地理分布的相关性具有重要的指导意义。刘玉萍等<sup>[57]</sup>揭示了广藿香叶绿体基因遗传分化与产地(道地性)有良好的相关性;Wang 等<sup>[58]</sup>阐明了银杉濒危机制是由于生境破碎化导致的基因流阻断,并提出了迁地保护的建议;Xu 等<sup>[59]</sup>揭示了野生菘和栽培菘的谱系关系并推测了太湖以北是菘的栽培起源地;袁庆军等<sup>[60]</sup>综合论述了分子谱系地理分析在道地药材研究中的理论、方法和案例等应用。另外,通过物种现存遗传分布格局和谱系关系可推测药用植物冰期进化历史,揭示气候和环境变化对其地理分布格局的影响<sup>[61]</sup>。药用植物遗传多样性的地理分布也深受第四纪冰期波动影响,如露蕊乌头<sup>[62]</sup>、麻栎<sup>[63]</sup>、唐古特虎耳草<sup>[64]</sup>。亚洲季风的增强亦可为植物遗传多样性的增加提供重要保障<sup>[65]</sup>。四川季风气候明显为该地药用植物多样性提供了良好生境<sup>[66]</sup>。季风气候适合浮萍科植物生长,积累了紫萍等药用植物的遗传多样性<sup>[67]</sup>。

## 1.3 景观遗传分析

景观遗传学由 Manel 等<sup>[68]</sup>提出,是生态学、遗传学与地理学交叉产生的新领域,主要分析量化景观格局变化与物种微观进化(如基因流、遗传漂变、选择)的相互影响,评估生态环境因子(如气候、温度、光照等)对迁移、传播和基因流的影响效果,用以分析种群遗传结构与遗传多样性成因<sup>[69]</sup>。景观遗传分析是通过遗传标记(如分子标记、生化标记、细胞遗传标记、形态标记等)确定种群的遗传结构,然后将遗传结构与环境特征进行耦合分析<sup>[70]</sup>。谱系地理学主要以群体遗传学和系统发育学的分析方法探讨物种的历史动态,与景观遗传学的融合特别是应用地理信息系统,可将地理空间数据和遗传数据结合,更加有助于推断和检验物种的进化过程<sup>[71]</sup>。基于分子标记方法(微卫星、扩增片段长度多态性)构建的遗传学框架,直接将环境数据与基因组区域内选择下的基因位点相关联,景观遗传学可用于分析药用植物遗传多样性与环境因子的相关性,在研究环境与道地药材的形成机制、濒危药用植物保护、栽培育种最适环境因素检测等方面有着重要作用<sup>[68]</sup>。

Gao 等<sup>[72]</sup>研究表明,相比于地理距离,土壤盐

度是黄河三角洲芦苇种群间的遗传距离形成的主要原因。主要分布于北方和中原地区的连翘是我国暖温带地区具有代表性的药用植物,研究发现,由于人类对连翘果实的过度采摘,连翘的遗传多样性比中国其他种子植物的遗传多样性低,地理距离和温度对连翘种群的遗传分化起到显著的促进作用。基于景观遗传学分析,可以将具有较高水平遗传多样性和大量稀有等位基因的种群优先进行保育<sup>[73]</sup>。Zhang等<sup>[74]</sup>解析了导致香果树群体局域适应的环境因素,发现其扩增片段长度多态性的部分离群位点受到了环境因子选择,与每日平均温差、季节温度、最热月的最高温、年降水和季节降水5个环境因子具有最强的相关性。

#### 1.4 生态位模型分析

生态位模型是指基于生态位理论所建立的数学统计或预测模型,在实际工作中以已知样本点的野外调查和标本记录为基础,分析物种在生态位空间和环境空间中的特征来研究物种对环境的耐受能力,用于推测物种的分布<sup>[75-76]</sup>。生态位模型包括最大熵模型<sup>[77]</sup>、基于规则集的遗传算法(genetic algorithm for rule-set production, GARP)生态位模型<sup>[78]</sup>、生物气候分析系统<sup>[79]</sup>、生态位因子分析模型<sup>[80]</sup>、Grinnell生态位模型<sup>[81]</sup>。生态位模型的构建原理主要基于已有物种的分布资料和环境数据,探索物种已知分布区的环境特征以及预测潜在分布区域<sup>[82]</sup>,建模过程可以解释物种在此环境下的生存原因,预测物种可能的生存环境条件。生态位模型根据物种实际分布范围和环境变量,通过一定的算法来预测物种能否在该区域生存,并推测或预测植物在全球过去和未来气候变化下的潜在分布<sup>[77]</sup>。在药用植物资源调查(资源蕴藏量)与物种多样性保护中有着良好的应用与前景。

最大熵生态位模型目前运用较广,吕汝丹等<sup>[83]</sup>对羽叶铁线莲的潜在分布区和适宜等级进行了预测。张海龙等<sup>[84]</sup>发现连翘的核心分布区主要位于我国中部和东部地区,推测了影响连翘分布的主导环境因子以及最适宜生长的生态位参数,为连翘分布的研究、大范围推广种植等经济价值挖掘提供了理论指导。陈博等<sup>[85]</sup>综合55个生态因子分析了肉苁蓉在甘肃省的生态适宜性分布区域。此外,遥感与地理信息系统技术也被应用到生态位模型分析中对物种适生区进行预测,如方清茂等<sup>[86]</sup>在对四川省地理环境、生态因子(海拔、气候、土壤)等研究

的基础上,将四川省道地药材划分为4个区,并确定了86种川产道地药材的适宜区与最适宜区,服务于四川省中药材生产的合理布局与中药材品质提升。结合高分辨率的遗传分化格局、地理分布、环境气候变量推测物种的生态需求,揭示最适生长环境,并预测资源蕴藏量,是药用植物种质资源评价的一种重要方式。

#### 1.5 性状关联分析

关联分析也称关联作图、连锁不平衡作图,是以连锁不平衡为基础,鉴定某一群体内目标性状与遗传标记或候选基因关系的分析方法<sup>[87]</sup>。关联分析通常从具有广泛遗传多样性的自然群体中选择个体,对目标性状进行完整和准确的表型分析,基于分子标记技术确定植物的群体结构与亲缘关系,利用统计软件程序将表型与基因型数据联系起来<sup>[26]</sup>,可用来挖掘药用植物关键性状的功能基因、开发功能标记,在品系育种、改良性状和品质安全保障等方面具有良好的应用潜力,该分析一般分为基于候选基因与基于全基因组的2种类型。

药用植物种质资源有丰富的基因资源,如抗病性、抗逆性以及一些特殊用途的基因等,利用关联作图可定位这些优良性状的基因位点,为药用植物品种改良以及寻找药用植物的新资源提供理论基础<sup>[88]</sup>。研究发现,黄芩中与总皂苷和总黄酮含量发生关联的基因位点共61个,其中16个是2个性状共同的关联位点,有5个是与总黄酮和甲苷含量性状同时关联的位点<sup>[89]</sup>;刘颖等<sup>[90]</sup>发现甘草的3个功能基因拷贝数的组合多态性与其产地、形态及甘草酸量具有关联性,可能成为解释药材道地性形成机制的关键因素之一。*Cu/Zn-SOD*基因与*Mn/Fe-SOD*基因分别为吴茱萸的亲水性酸性氨基酸与亲水性碱性蛋白的编码基因,该成果为提高吴茱萸抗旱能力以及抗旱新品种选育奠定了重要的理论基础<sup>[91]</sup>。

## 2 进化生态学在药用植物种质资源评价中的应用及前景分析

### 2.1 药用植物种质鉴定

药用植物种质鉴定是种质资源评价的关键环节,对于确定原植物、确保药效、合理保存利用现有种质、寻找开发新的药用植物等研究工作具有重要意义<sup>[92]</sup>。鉴定是在资源类群中鉴别目标优质种质材料,在药用植物资源的保存中去伪存真,提高保存效率。传统上药用植物种质鉴定主要存在2个问题:首先,对于形态相似的易混淆种或近缘种(遗

传上)难以准确确定;其次,鉴定方法单一,没有将植物性状或化学成分的鉴定结果与产地生境相关联。进化生态学研究方法的融入很好地解决了这2个问题。

一方面,分子标记技术在易混淆种与近缘种鉴定方面具有独特优势,通过基因片段分析,从本质上反映不同个体或群体间的差异,对易混淆种与近缘种进行准确快速地鉴定。如“骨碎补”是用于治疗骨折和相关骨病的传统中药材,药材市场上存在大量形态相似的其他干燥根状茎混伪品,通过叶绿体基因组测序筛选的 *trnS-psb30*、*rbcL-accD*、*ndhB-trnR* 3个 SCAR 标记,只需通过 PCR 扩增和琼脂糖凝胶电泳即可实现对“骨碎补”准确高效的鉴定<sup>[93]</sup>。熊瑶等<sup>[94]</sup>选取了几种不同的 DNA 条形码序列对鸡血藤及其伪品做了鉴定,确定了以 ITS2 为主、*psbA-trnH* 序列为辅的快速、准确的鉴定方法。另一方面,受进化生态学的启示,不少学者将药用植物的植物学性状与产地相关联,实现了药用植物的产地鉴定,为道地药材的研究提供了理论基础。陈瑞芳等<sup>[95]</sup>将乌药的显微特征与环境相关联,发现6种不同产地的乌药粉末特征存在明显区别,可用于不同产地乌药及其伪品的鉴别。顾志荣等<sup>[96]</sup>采用主成分分析方法,实现了基于傅里叶变换红外光谱仪及化学计量学方法的不同产地锁阳药材的分类鉴别。

## 2.2 药用植物种质多样性评估

种质资源主要是指遗传资源。遗传多样性又称为基因多样性,经过长期自然选择而产生,是演化的指标之一。药用植物的遗传多样性越高,环境适应能力可能就越强<sup>[97]</sup>。种质资源多样性是药用植物种质鉴定、利用基因资源、引种栽培和资源保护的基础<sup>[98]</sup>。研究药用植物遗传多样性,了解种间及种内的遗传变异,有利于探索濒危药用植物的机制、制定科学保护措施与选育方针<sup>[99]</sup>。

DNA 分子标记可用于检测遗传多样性,相比于形态学和细胞学等传统多样性手段,分子标记直接检测 DNA 变异模式,不受植物表型与环境因素影响,更具准确性;同时,分子标记不仅可以检测种内遗传多样性,还可比较种间遗传多样性,确定优先保护顺序<sup>[100]</sup>。分子标记各类方法已被应用于栀子<sup>[101]</sup>、天麻<sup>[102]</sup>、金荞麦<sup>[103]</sup>等多种药用植物的遗传多样性与亲缘关系分析。再者,物种遗传多样性不仅与个体差异有关,而且受地理分布与环境影响<sup>[104]</sup>。分子谱系地理与景观遗传分析手段可探索地理格局与

环境因素对种群遗传结构、基因流的影响,揭示药用植物进化历史与种群间关系,为濒危药用植物的保护提供参考措施<sup>[100]</sup>。AFLP 分子标记揭示了忍冬种内存在高度遗传多样性,且遗传差异存在明显的地域性<sup>[105]</sup>;谷聪等<sup>[106]</sup>利用 AFLP 分子标记和 HPLC 技术,研究了环境对党参属不同植物遗传结构和化学成分的影响,发现党参种间遗传背景的相似性与地理空间有关,其化学成分易受栽培环境的影响;孙晓等<sup>[107]</sup>基于遗传-化学-生态策略,对西洋参转录组数据、人参皂苷含量及环境气候生态因子3者进行了相关性分析,为阐释西洋参两大生态型品质变异的形成机制提供了新思路。

## 2.3 药用植物资源调查与预测

我国药用植物种类繁多,涉及83科2309属1146种,占中药资源种类的87%<sup>[108]</sup>。然而,由于植物本身生长的生态地理环境具有差异性,致使药用植物野生资源的分布呈现一定的地域性,资源中的有效成分质量和数量也因此呈现了地域性差异<sup>[109]</sup>。进化生态学对了解药用植物的分布范围与潜在蕴藏量具有重要意义。生态位模型分析、景观遗传分析等方法可用于推测药用植物对环境因子的适应性,为预测药用植物在野外分布情况及评估中药材野生资源蕴藏量提供了有效的理论指导。地理和气候等因素所致的土壤环境异质性,以及距离及宿主选择等隔离因素所致的离散限制性,是药用植物微生态地理分异的主要成因<sup>[110]</sup>。气候因子对道地药材品质和产地产生了重要影响,通过生态位模型分析可以预测道地药材的迁移分布<sup>[111]</sup>。张海龙<sup>[112]</sup>基于 GARP 生态位模型和气候环境图层建模,定性、定量地推测了桃儿七在我国的潜在适生分布区的面积与位置,为该中药材适生区研究提供了参考。袁峰<sup>[113]</sup>通过谱系地理和生态位模型分析揭示了印度北阿肯德邦及中国西藏那曲地区南部、西藏林芝地区北部、青海环青海湖地区、川西地区、滇西北地区为冬虫夏草的适宜生长区域。

## 2.4 药用植物道地性研究

道地性可看作道地药材的特有属性,主要通过道地药材的质量性状(如外观、所含次生代谢产物)、遗传性状、生境等特性来体现,是道地药材的遗传背景、表型与环境在长期协同进化过程中产生的<sup>[114]</sup>。由于道地药材较同种其他产区中药材的品质好、疗效佳,具有重要的研究意义以及开发利用价值<sup>[60]</sup>。道地性的评价主要包括道地药材的遗传多样性与形成

机制、道地药材基原鉴定、道地药材地理变异与环境适应性研究、道地药材的栽培选育等方面。

进化生态学涉及的分析方法已在道地药材的研究中得到了广泛运用。首先,药用植物种质鉴定、遗传多样性评估对于道地药材形成机制具有重要意义。通过分子标记(如 RAPD、AFLP、ISSR、SSR),连翘<sup>[115]</sup>、对叶百部<sup>[116]</sup>、乌头<sup>[117]</sup>等道地药材的遗传多样性式样已得到相关解析。对名优道地药材的遗传信息进行比较分析,可进一步找到划分药用植物种质档次的分子标记,以促进药用植物的道地性研究<sup>[118]</sup>。其次,由于道地药材来自固定产区,所以道地药材的形成与地理、气候环境存在极大关系<sup>[119-120]</sup>。道地药材具有逆境性,是环境胁迫的结果<sup>[121]</sup>,道地药材在长期适应特定胁迫的过程中,不断积累相关遗传及表观遗传变异,成为其品质形成的重要条件<sup>[122]</sup>。表型特征尤其是次生代谢产物的种类与数量是道地药材优于其他同种药材的标志,也是其药用效果优良的主要原因<sup>[123]</sup>,采用关联分析法定位控制次生代谢产物的基因位点<sup>[88]</sup>,可从基因水平研究道地性形成机制。

### 2.5 药用植物的保护与栽培育种

我国药用植物野生资源丰富,但由于一些资源的市场需求量大、不合理采挖、生境破坏等原因,许多药用植物野生资源量逐年下降,甚至处于濒危状态<sup>[109]</sup>。因此,对药用植物尤其是濒危药用植物资源的保护迫在眉睫。药用植物遗传多样性研究可提供科学的保护措施,亲缘关系分析为寻找替代资源或药物以缓解中药材市场压力提供了有效途径。另外,药用植物的人工栽培也是缓解我国中药材资源市场压力、保护濒危中药材野生资源的有效措施,是选育高产优质品种、保证中药材质量、提高有效成分含量的可靠且有效的手段<sup>[124]</sup>。

选取优良栽培种是人工栽培的第1步,首先,通过药用植物资源调查与遗传多样性分析可判断药用植物的人工栽培需求,并选取优良性状品种。如袁庆军等<sup>[60]</sup>提出,黄芩来源多样,不同种源黄芩间具有丰富的遗传多样性,但与地理分布没有相关性,所以应注重种子的选育和管理。其次,药用植物的分子育种目标是提高药用部位的生物产量和药用成分含量<sup>[125]</sup>,而药用植物有效成分多为次生代谢产物,受地理环境影响大,通过对分子谱系地理学、景观模型与生态位建模等,可揭示野生药用植物种群进化历史、推测药用植物最适环境因子,为

选取适合栽培品种以及栽培环境提供理论指导。如气候与土壤因子会影响杜仲次生代谢产物的积累,土壤中含有碱解氮、速效钾和有机质较高的地区,杜仲品质较优,为杜仲的规范化种植提供了参考<sup>[126]</sup>。此外,药用植物的次生代谢产物主要为多基因调控,其含量多属于数量性状。Doebley<sup>[127]</sup>指出,数量性状基因都是复杂代谢过程的一个环节,很难利用转化的方法予以验证,在对候选基因的网络代谢调控系统不是很清楚的情况下,可以利用关联分析验证其功能。通过关联分析标记功能基因,选出优良基因型并使之固定,培育优良中药材。Graham 等<sup>[128]</sup>通过对黄花蒿的转录组进行深度测序,识别了控制青蒿素产量的基因和遗传标记 SNP,利于快速育种。在牛蒡<sup>[129]</sup>、远志<sup>[130]</sup>、青风藤<sup>[131]</sup>、白花丹<sup>[132]</sup>等药用植物的转录组数据中分别发现与木脂素、三萜皂苷、青藤碱和白花丹素等化合物合成相关的基因,为此类药用植物优良种质资源的筛选提供了重要的理论依据。

基于进化生态学方法的药用植物种质资源评价指标和常用方法见表1。

### 3 进化生态学应用于药用植物种质资源评价的中文学术文献分析

本文统计了自1990年以来,基于进化生态学相关研究与分析方法开展药用植物种质资源评价的中文学术文献情况。以中药资源生态适宜性、药用植物遗传多样性、道地性研究、濒危药用植物保护、药用植物栽培育种等作为统计指标,将以上指标及其相关词汇作为关键词在中国知网、万方数据资源系统、维普中文科技期刊数据库内进行检索,检索范围限制在1990—2020年。同时,以每5年1个时间段对上述5个指标的学术文献数量趋势变化进行统计(图2)。结果发现,这5个指标在同一文献中有时会相互交叉渗透,但各有侧重。按照论文主要阐释的问题进行筛选、归类,以药用植物遗传多样性、道地性研究、中药资源生态适宜性、药用植物栽培育种、濒危药用植物保护为主题的学术文献分别有257、213、186、59、34篇。进化生态学研究方法在药用植物栽培育种和濒危药用植物保护的研究成果略少且增长趋势较为平缓;得益于分子标记技术的广泛使用,药用植物遗传多样性的相关研究较多,但在2006年以后增长一直较缓;道地性研究在2006年以后有所回落,但2011年之后又逐步上升。值得注意的是,中药资源生态适宜性自2011年

表 1 基于进化生态学的药用植物种质资源评价指标

Table 1 Evaluation indices of germplasm resources of medicinal plants based on evolutionary ecology

评价目标	评价指标	技术手段与分析方法	文献
药用植物资源鉴定与品质评价	形态特征：大小、形状、气味、表面、断面、质地	性状鉴别：眼观、手摸、口尝、火试、鼻闻、水试	133
	显微特征：组织构造、内含物、细胞形态	显微鉴别、粉末鉴别	134
	化学成分种类与含量	HPLC、TLC、UV、质谱等	15-16
	核苷酸差异性	分子标记技术	135
	产地鉴别	主成分分析、判别因子分析	136
药用植物资源分布与蕴藏量	分布范围、分布地点、蕴藏量	估量法、实测法、网上数字标本馆平台、地理信息系统的相关模型、生态位模型	10
遗传多样性	性状多样性、化学成分多样性、基因多样性	形态学性状测量、化学成分测定、分子标记技术、聚类分析、主成分分析	137-138
生态因子相关性	遗传多样性与生态因子相关性	景观遗传分析、分子谱系地理分析、分子标记技术	139-140
	资源分布与环境因子相关性	3S 技术、生态位模型分析	141-142
	次生代谢产物与生态因子相关性	分子谱系地理分析、景观遗传分析、性状关联分析	143
濒危程度	濒危、稀有、渐危	世界自然保护联盟濒危物种红皮书记载	144
栽培现状	有无栽培、栽培方式、栽培环境	文献查阅、走访调查、关联作图、景观遗传分析、分子谱系地理分析	145
道地性	道地产区评述	历史考证、基因分析、有效成分含量分析、生态环境差异分析、表型比较	146-147
抗逆性	抗旱性、抗盐性、抗病性等	分子谱系地理分析、景观遗传分析	110

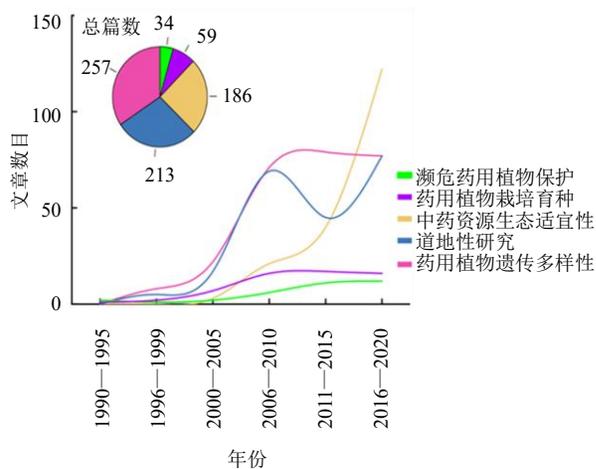


图 2 进化生态学应用于药用植物种质资源评价的中文学术文献分析

Fig. 2 Chinese academic literature analysis on evaluation of germplasm resources of medicinal plants with methodology of evolutionary ecology

之后持续上升，一定程度上反映了越来越多的国内学者关注药用植物资源与生态环境之间的相关性。

#### 4 结语与展望

基于进化生态学的药用植物种质资源评价对于中药资源的可持续利用、中药疗效发挥、中药材的生产开发等均具有重要的理论指导意义。以往的评价方式大多侧重药用植物化学成分与药效作用等方面的研究，从进化生态学的角度，将药用植物的遗传背景、化学成分与地理环境进行关联的整合性研究相对较少。进化生态学的相关研究手段为药用植物种质资源评价提供了新思路，并不断完善其评价体系。目前，分子标记、分子谱系地理分析、景观遗传分析、生态位模型等方法在基原鉴定、药材道地性、替代资源开发、濒危药用植物保护等方面的应用呈现快速增长趋势。但是，结合基因组和大数据时代的分子生物学、统计学、生物信息学等学科领域的前沿技术，利用基于多变量模型的表型和基因型的相关性分析，如包含全基因组关联分析的数量性状位点定位<sup>[148]</sup>、集团分离分析(BSA-seq)定位<sup>[149-150]</sup>和群体遗传的选择压力分析<sup>[151]</sup>，并进一步耦合生态环境因子进行性状-多环境定位分析及

数量性状位点与环境互作,开展中药材道地性形成的特定功能基因精准和深度挖掘,揭示优良的种质资源和道地药材形成的遗传因素,高效利用分子技术辅助选择育种,建立更完善的药用植物种质资源基因数据库,开展基因编辑以此提升有效成分的积累等方面,还具有巨大的研究潜力和技术改良空间。另外,随着空间技术的发展,利用地理信息和遥感系统可以更加快捷地获取药用植物野生资源的海量高分辨率生态学信息(非生物、生物、人为等因子数据),能更客观的推测药用植物的生态适宜性,可进行更精准的资源蕴藏量评估和中草药种植指导。有望通过科学调控与改良生长环境因子,改善中药材品质,从而提高疗效与产量。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

**参考文献**

[1] 王银环, 陆露, 王跃华, 等. 中国白珠树属植物种质资源调查与评价利用 [J]. 云南大学学报: 自然科学版, 2013, 35(S2): 378-389.

[2] 黄璐琦, 王永炎. 药用植物种质资源研究 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2008: 2-3.

[3] Zhang T T, Zhang N Y, Li W, *et al.* Genetic structure, gene flow pattern, and association analysis of superior germplasm resources in domesticated upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) [J]. *Plant Divers*, 2020, 42(3): 189-197.

[4] Fava W S, da Costa P C, Lorenz A P. Ecological niche modelling and genetic analyses reveal lack of geographic differentiation of *Leptolobium dasycarpum* (Leguminosae, Papilionoideae) across the Brazilian savannah [J]. *Flora*, 2020, 264: 151566.

[5] 王姗姗, 刘小娇, 靳玉龙, 等. AFLP 在植物种质资源鉴定与遗传多样性分析中的应用 [J]. 现代农业科技, 2019(4): 26-27.

[6] 张燕君, 孙伟, 何艳, 等. 白及属植物资源评价与可持续利用的现状与展望 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(22): 4397-4403.

[7] 富海江, 米福贵, 王晓龙. 冰草种质资源的评价与利用 [J]. 草原与草业, 2018, 30(4): 5-9.

[8] 周文静, 胡福初, 周瑞云, 等. 11 份黄晶果种质资源植物学特性及果实品质综合评价 [J]. 广东农业科学, 2020, 47(1): 32-38.

[9] 王刚, 曹佩, 韦学敏, 等. 分子标记技术在药用植物种质资源研究中的应用 [J]. 中国现代中药, 2019, 21(11): 1435-1444.

[10] 黄明进, 王文全, 魏胜利. 我国甘草药用植物资源调查及质量评价研究 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(8): 947-952.

[11] 孙学军, 姬忠田, 胡秀芹, 等. 山东省临沭县中药资源分布与开发利用研究 [J]. 安徽农业科学, 2019, 47(20): 189-191.

[12] 张刘伟, 张雪梅, 李得新, 等. 陕西省千阳县中药资源多样性调查与分析 [J]. 陕西农业科学, 2020, 66(10): 63-67.

[13] 张江平, 翟传佳, 李欣柔, 等. 我国药用植物资源调查方法及资源监控机制研究进展 [J]. 亚热带植物科学, 2020, 49(3): 234-242.

[14] 胡晓宇, 杨馨玥, 姚金剑, 等. 中药现场鉴定技术研究进展 [J]. 药学研究, 2019, 38(12): 724-728.

[15] 刘涛. 现代分析技术在中药鉴定中的应用 [J]. 中国医药指南, 2020, 18(22): 151-152.

[16] 王小庆, 吕艳. 现代分析技术在中药鉴定中的应用分析 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19(13): 158.

[17] 刘金欣, 刘鑫欣, 高路, 等. 数字地球技术在中药资源研究中的应用 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36(3): 243-246.

[18] 陈士林, 郭宝林, 张贵君, 等. 中药鉴定学新技术新方法研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(8): 1043-1055.

[19] 许保海, 翟胜利. 对传统中药学与生药学的比较探讨 [J]. 中国药房, 2009, 20(15): 1121-1123.

[20] 徐蔚, 施宽伟, 姚欣, 等. 3S 技术在区域中药资源普查中的应用 [J]. 中药材, 2016, 39(4): 743-746.

[21] Orians G H. Natural selection and ecological theory [J]. *Am Nat*, 1962, 96(890): 257-263.

[22] 张大勇. 进化生态学: 生态与进化的交叉整合 [J]. 植物生态学报, 2008, 32(4): 741-742.

[23] 陶玲, 任珺. 进化生态学的数量研究方法 [M]. 北京: 中国林业出版社, 2004: 1-2.

[24] 阎秀峰, 王洋, 李一蒙. 植物次生代谢及其与环境的关 系 [J]. 生态学报, 2007, 27(6): 2554-2562.

[25] Reznick D, Travis J. *Adaptation* [M]. New York: Oxford University Press, 2001: 7-8.

[26] Nadeem M A, Nawaz M A, Shahid M Q, *et al.* DNA molecular markers in plant breeding: Current status and recent advancements in genomic selection and genome editing [J]. *Biotechnol Biotechnol Equip*, 2018, 32(2): 261-285.

[27] 管敏强, 陈锡文, 赵惠玲. 分子标记技术及其应用 [J]. 实验动物科学与管理, 2005, 22(1): 48-50.

[28] 闫志峰, 张本刚, 张昭, 等. DNA 分子标记在珍稀濒危药用植物保护中的应用 [J]. 中国中药杂志, 2005, 30(24): 1885-1889.

[29] 崔占虎, 龙平, 王颖莉, 等. DNA 分子标记技术在中成药鉴定中的应用与展望 [J]. 中药材, 2015, 38(1): 188-192.

- [30] 罗玥倩, 曾杰, 刘立鹏, 等. DNA 分析技术及其在药用植物分析中的应用 [J]. 药物生物技术, 2012, 19(1): 76-80.
- [31] 李德铎, 曾春霞. 植物 DNA 条形码研究展望 [J]. 生物多样性, 2015, 23(3): 297-298.
- [32] Dar A, Mahajan R, Sharma S. Molecular markers for characterization and conservation of plant genetic resources [J]. *Indian J Agr Sci*, 2019, 89(11): 1755-1763.
- [33] 刘双利, 王晓慧, 姜程曦, 等. 莜术种质资源的 RAPD-PCR 分析 [J]. 中草药, 2016, 47(17): 3098-3102.
- [34] Yao X H, Deng J Y, Huang H W. Genetic diversity in *Eucommia ulmoides* (Eucommiaceae), an endangered traditional Chinese medicinal plant [J]. *Conserv Genet*, 2012, 13(6): 1499-1507.
- [35] Muchugi A, Muluvi G M, Kindt R, et al. Genetic structuring of important medicinal species of genus *Warburgia* as revealed by AFLP analysis [J]. *Tree Genet Genomes*, 2008, 4(4): 787-795.
- [36] Zhang F, Chen S M, Chen F D, et al. A preliminary genetic linkage map of *Chrysanthemum* (*Chrysanthemum morifolium*) cultivars using RAPD, ISSR and AFLP markers [J]. *Sci Hortic*, 2010, 125(3): 422-428.
- [37] Pan Y Z, Wang X Q, Sun G L, et al. Application of RAD sequencing for evaluating the genetic diversity of domesticated *Panax notoginseng* (Araliaceae) [J]. *PLoS One*, 2016, 11(11): e0166419.
- [38] Mammadov J, Aggarwal R, Buyyarapu R, et al. SNP markers and their impact on plant breeding [J]. *Int J Plant Genomics*, 2012, 2012: 728398.
- [39] Jehan T, Lakhanpaul S. Single nucleotide polymorphism (SNP)-methods and applications in plant genetics: A review [J]. *Indian J Biotechnol*, 2006, 5(4): 435-459.
- [40] Barth S, Melchinger A E, Lubberstedt T. Genetic diversity in *Arabidopsis thaliana* L. Heynh. investigated by cleaved amplified polymorphic sequence (CAPS) and inter-simple sequence repeat (ISSR) markers [J]. *Mol Ecol*, 2002, 11(3): 495-505.
- [41] 杨慧洁, 杨世海, 张淑丽, 等. 药用植物 DNA 条形码研究进展 [J]. 中草药, 2014, 45(18): 2581-2587.
- [42] 张彩云, 黄珊珊, 颜海飞. DNA 条形码技术在中药鉴定中的应用进展 [J]. 中草药, 2017, 48(11): 2306-2312.
- [43] China Plant BOL Group, Li D Z, Gao L M, et al. Comparative analysis of a large dataset indicates that internal transcribed spacer (ITS) should be incorporated into the core barcode for seed plants [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(49): 19641-19646.
- [44] Cui Y X, Chen X L, Nie L P, et al. Comparison and phylogenetic analysis of chloroplast genomes of three medicinal and edible *Amomum* species [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(16): E4040.
- [45] 钟志敏. 石斛 DNA 条形码鉴定及系统分类研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2018.
- [46] Xin T, Su C, Lin Y, et al. Precise species detection of traditional Chinese patent medicine by shotgun metagenomic sequencing [J]. *Phytomedicine*, 2018, 47: 40-47.
- [47] Xin T, Xu Z, Jia J, et al. Biomonitoring for traditional herbal medicinal products using DNA metabarcoding and single molecule, real-time sequencing [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2018, 8(3): 488-497.
- [48] 赵晴, 谢红波, 赵红玲, 等. 中药材种子 DNA 条形码鉴定研究进展 [J]. 中草药, 2019, 50(14): 3471-3476.
- [49] 华桦, 严志祥, 田韦韦, 等. 川产道地药材花椒转录组及品质相关性探讨 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(4): 732-738.
- [50] Grabherr M G, Haas B J, Yassour M, et al. Full-length transcriptome assembly from RNA-Seq data without a reference genome [J]. *Nat Biotechnol*, 2011, 29(7): 644-652.
- [51] 李晓艳, 周敬雯, 严铸云, 等. 基于转录组测序揭示适度干旱胁迫对丹参基因表达的调控 [J]. 中草药, 2020, 51(6): 1600-1608.
- [52] Avise J C, Arnold J, Ball R M, et al. Intraspecific phylogeography: The mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics [J]. *Annu Rev Ecol Syst*, 1987, 18(1): 489-522.
- [53] 刘晓光, 黄璐琦, 袁庆军, 等. 基于分子谱系地理学的药用植物核心种质构建 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(5): 692-698.
- [54] 李菁, 向婷婷, 许成, 等. 分子谱系地理学在药用植物基因水平的研究进展 [J]. 中草药, 2015, 46(8): 1243-1246.
- [55] Hughes C, Eastwood R. Island radiation on a continental scale: Exceptional rates of plant diversification after uplift of the *Andes* [J]. *PNAS*, 2006, 103(27): 10334-10339.
- [56] Chaves J A, Weir J T, Smith T B. Diversification in *Adelomyia* hummingbirds follows Andean uplift [J]. *Mol Ecol*, 2011, 20(21): 4564-4576.
- [57] 刘玉萍, 罗集鹏, 冯毅凡, 等. 广藿香的基因序列与挥发油化学型的相关性分析 [J]. 药学学报, 2002, 37(4): 304-308.
- [58] Wang H W, Ge S. Phylogeography of the endangered *Cathaya argyrophylla* (Pinaceae) inferred from sequence variation of mitochondrial and nuclear DNA [J]. *Mol Ecol*, 2006, 15(13): 4109-4122.
- [59] Xu X W, Ke W D, Yu X P, et al. A preliminary study on population genetic structure and phylogeography of the

- wild and cultivated *Zizania latifolia* (Poaceae) based on Adh1a sequences [J]. *Theor Appl Genet*, 2008, 116(6): 835-843.
- [60] 袁庆军, 黄璐琦, 郭兰萍, 等. 展望分子谱系地理学在道地药材研究中的应用 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34(16): 2007-2011.
- [61] Fernández-Mazuecos M, Vargas P. Congruence between distribution modelling and phylogeographical analyses reveals quaternary survival of a toadflax species (*Linaria elegans*) in oceanic climate areas of a mountain ring range [J]. *New Phytol*, 2013, 198(4): 1274-1289.
- [62] Wang L Y, Abbott R J, Zheng W, et al. History and evolution of alpine plants endemic to the Qinghai-Tibetan Plateau: *Aconitum gymnantrum* (Ranunculaceae) [J]. *Mol Ecol*, 2009, 18(4): 709-721.
- [63] 孟旭. 麻栎的谱系地理学和遗传多样性研究 [D]. 西安: 西北大学, 2017.
- [64] 更吉卓玛, 李彦, 贾留坤, 等. 唐古特虎耳草谱系地理学研究 [J]. 西北植物学报, 2018, 38(2): 370-380.
- [65] 叶俊伟, 张阳, 王晓娟. 中国亚热带地区阔叶林植物的谱系地理历史 [J]. 生态学报, 2017, 37(17): 5894-5904.
- [66] 张琴, 张东方, 孙成忠, 等. 气候特征与药用植物地理分布的数值分析: 以四川省为例 [J]. 中国现代中药, 2018, 20(2): 145-151.
- [67] 张震宇, 韩冰莹, 孙雪飘, 等. 典型温带季风地区浮萍科植物遗传多样性 [J]. 分子植物育种, 2018, 16(2): 656-664.
- [68] Manel S, Schwartz M K, Luikart G, et al. Landscape genetics: Combining landscape ecology and population genetics [J]. *Trends Ecol Evol*, 2003, 18(4): 189-197.
- [69] 宋有涛, 孙子程, 朱京海. 植物景观遗传学研究进展 [J]. 生态学报, 2017, 37(22): 7410-7417.
- [70] 薛亚东, 李丽, 吴巩固, 等. 景观遗传学: 概念与方法 [J]. 生态学报, 2011, 31(6): 1756-1764.
- [71] Yu H B, Zhang Y L, Gao J G, et al. Visualizing patterns of genetic landscapes and species distribution of *Taxus wallichiana* (Taxaceae), based on GIS and ecological niche models [J]. *J Res Ecol*, 2014, 5(3): 193-202.
- [72] Gao L X, Tang S Q, Zhuge L Q, et al. Spatial genetic structure in natural populations of *Phragmites australis* in a mosaic of saline habitats in the Yellow River Delta, China [J]. *PLoS One*, 2012, 7(8): e43334.
- [73] 付子真. 连翘的亲缘地理学与景观遗传学研究 [D]. 郑州: 河南农业大学, 2015.
- [74] Zhang Y H, Wang I J, Comes H P, et al. Contributions of historical and contemporary geographic and environmental factors to phylogeographic structure in a Tertiary relict species, *Emmenopterys henryi* (Rubiaceae) [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 24041.
- [75] 乔慧捷, 胡军华, 黄继红. 生态位模型的理论基础、发展方向与挑战 [J]. 中国科学: 生命科学版, 2013, 43(11): 915-927.
- [76] Elith J, Leathwick J R. Species distribution models: Ecological explanation and prediction across space and time [J]. *Annu Rev Ecol Syst*, 2009, 40(1): 677-697.
- [77] Phillips S J, Dudík M, Schapire R E. A maximum entropy approach to species distribution modeling [A] // Machine Learning, Proceedings of The Twenty-First International Conference (ICML 2004) [C]. Banff: ACM, 2004: 465-472.
- [78] Stockwell D. The GARP modelling system: Problems and solutions to automated spatial prediction [J]. *Int J Geogr Inf Sci*, 1999, 13(2): 143-158.
- [79] Busby J R. BIOCLIM: A bioclimate analysis and prediction system [J]. *PPQ*, 1991, 6: 64-68.
- [80] Hirzel A H, Hausser J, Chessel D, et al. Ecological-niche factor analysis: How to compute habitat-suitability maps without absence data? [J]. *Ecology*, 2002, 83(7): 2027-2036.
- [81] Grinnell J. The niche-relationships of the California thrasher [J]. *Auk*, 1917, 34(4): 427-433.
- [82] 曹向锋, 钱国良, 胡白石, 等. 采用生态位模型预测黄顶菊在中国的潜在适生区 [J]. 应用生态学报, 2010, 21(12): 3063-3069.
- [83] 吕汝丹, 何健, 刘慧杰, 等. 羽叶铁线莲的分布区与生态位模型分析 [J]. 北京林业大学学报, 2019, 41(2): 70-79.
- [84] 张海龙, 陈乐. 基于生态位模型的连翘产地适宜性定量分析 [J]. 山西农业科学, 2017, 45(8): 1321-1324.
- [85] 陈博, 朱田田, 成希, 等. 甘肃省 3 种肉苁蓉药材生态适宜性区划研究 [J]. 中国中医药信息杂志, 2020, 27(12): 1-5.
- [86] 方清茂, 彭文甫, 吴萍, 等. 川产道地药材生产区划研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(4): 720-731.
- [87] Flint-Garcia S A, Thornsberry J M, Buckler E S. Structure of linkage disequilibrium in plants [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2003, 54: 357-374.
- [88] 李隆云, 钟国跃, 卫莹芳, 等. DNA 分子标记及其在中药中的应用 [J]. 中国中医药科技, 2002, 9(5): 315-320.
- [89] 孟祥善. 黄芪 ISSR 和 ITS 分子标记遗传多样性及有效成分的关联性分析 [D]. 银川: 宁夏大学, 2018.
- [90] 刘颖, 刘东吉, 刘春生, 等. 基于 HMGR、SQS1、 $\beta$ -AS 基因 CNVs 的甘草道地性机制研究 [J]. 药学学报, 2012, 47(2): 250-255.
- [91] 吴波. 吴茱萸种质资源遗传多样性及抗旱生理研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2013.

- [92] 高宁, 程玉鹏, 王振月, 等. 药用植物种质资源鉴定中的分子技术 [J]. 中医药学报, 2008, 36(3): 61-64.
- [93] Shen Z F, Lu T Q, Zhang Z R, *et al.* Authentication of traditional Chinese medicinal herb "Gusuibu" by DNA-based molecular methods [J]. *Ind Crop Prod*, 2019, 141: 111756.
- [94] 熊瑶, 金晨, 王晓云, 等. 鸡血藤及其混伪品的 DNA 条形码分子鉴定研究 [J]. 中草药, 2020, 51(12): 3274-3283.
- [95] 陈瑞芳, 曹高忠, 吴明钊, 等. 六种不同产地乌药商品的性状及显微鉴别 [J]. 海峡药学, 2011, 23(8): 53-56.
- [96] 顾志荣, 马天翔, 孙岚萍, 等. 基于傅里叶变换红外光谱及化学计量学方法的不同产地锁阳药材分类鉴别 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(22): 159-165.
- [97] 苏伟敏, 靳雅惠, 杨妮, 等. 植物形态学及 SSR 标记在药用植物遗传分析中的应用 [J]. 河北农业科学, 2016, 20(2): 48-50, 54.
- [98] 马小军, 肖培根. 种质资源遗传多样性在药用植物开发中的重要意义 [J]. 中国中药杂志, 1998, 23(10): 579-600.
- [99] 陈灵芝. 生物多样性保护现状及其研究 [J]. 植物杂志, 1993(5): 7-9.
- [100] 肖复明, 熊彩云, 刘江毅. 分子标记技术与物种多样性保护 [J]. 江西林业科技, 2002, 30(1): 25-28.
- [101] 姜武, 吴志刚, 陶正明, 等. 基于 ISSR 和 SRAP 标记的栀子种质遗传多样性研究 [J]. 中草药, 2019, 50(2): 510-516.
- [102] 柴锟, 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.
- [103] 张春平, 何平, 何俊星, 等. ISSR 分子标记对金荞麦 8 个野生居群的遗传多样性分析 [J]. 中草药, 2010, 41(9): 1519-1522.
- [104] Fang H L, Guo Q S, Shen H J, *et al.* Genetic diversity evaluation of *Chrysanthemum indicum* L. by medicinal compounds and molecular biology tools [J]. *Biochem Syst Ecol*, 2012, 41: 26-34.
- [105] 郭庆梅, 王婷, 周凤琴, 等. 忍冬种质资源遗传多样性的 AFLP 分析 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(20): 3024-3028.
- [106] 谷聪, 曹玲亚, 苏强, 等. 党参原产地及其迁地引种后 AFLP 与 HPLC 指纹图谱分析 [J]. 中药材, 2016, 39(8): 1716-1722.
- [107] 孙晓, 钱秋玉, 郑司浩, 等. 基于遗传-化学-生态特征的西洋参品质生态型研究 [J]. 药学学报, 2019, 54(9): 1695-1705.
- [108] 张晓俊, 黄伟贵, 何国杰, 等. 第四次全国中药资源普查中的创新性评述 [J]. 中国民族民间医药, 2019, 28(17): 48-54.
- [109] 杨利民. 中药资源生态学及其科学问题 [J]. 吉林农业大学学报, 2008, 30(4): 506-510.
- [110] 何冬梅, 王海, 陈金龙, 等. 中药微生态与中药道地性 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(2): 290-302.
- [111] 曾凡琳, 温美佳, 王欢, 等. 道地药材气候生态位研究 [J]. 时珍国医国药, 2016, 27(5): 1227-1230.
- [112] 张海龙. 基于 GARP 生态位模型的珍稀植物桃儿七适生区与生境分析 [J]. 江西农业学报, 2013, 25(7): 112-115.
- [113] 袁峰. 冬虫夏草居群谱系地理与适生区分布研究 [D]. 昆明: 云南大学, 2015.
- [114] 黄璐琦, 郭兰萍, 胡娟, 等. 道地药材形成的分子机制及其遗传基础 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(20): 2303-2308.
- [115] 李璐, 董诚明, 朱昀昊, 等. 基于 ISSR 的连翘遗传多样性研究 [J]. 中草药, 2019, 50(15): 3673-3680.
- [116] 王晓彤, 罗点, 陈高, 等. 对叶百部遗传多样性的 ISSR 分析 [J]. 中草药, 2017, 48(19): 4051-4056.
- [117] 杜春华, 普春霞, 刘小莉, 等. 短柄乌头遗传多样性的 AFLP 分析 [J]. 中草药, 2018, 49(2): 439-443.
- [118] 岳建萍. DNA 分子标记技术在植物种质资源鉴定中的应用 [J]. 生物学通报, 2003, 38(12): 15-16.
- [119] 孙义新, 魏源. 道地药材成因及其土壤元素基准探讨 [J]. 安徽农业科学, 2018, 46(31): 8-11.
- [120] 杨丽, 刘洋, 陈建波, 等. 道地药材“陇药”的形成与发展 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(24): 5513-5519.
- [121] 黄璐琦, 郭兰萍. 环境胁迫下次生代谢产物的积累及对道地药材形成的影响 [A] // 全国第二届中药资源生态学学术研讨会论文集 [C]. 淄博: 中药资源生态学专业委员会, 2006: 82-86.
- [122] 郭兰萍, 周良云, 康传志, 等. 药用植物适应环境胁迫的策略及道地药材“拟境栽培” [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(9): 1969-1974.
- [123] 李雁群, 吴鸿. 药用植物生长发育与有效成分积累关系研究进展 [J]. 植物学报, 2018, 53(3): 293-304.
- [124] 黄璐琦, 彭华胜, 肖培根. 中药资源发展的趋势探讨 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36(1): 1-4.
- [125] 马小军, 莫长明. 药用植物分子育种展望 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(11): 2021-2031.
- [126] 蔡萍, 刘才英, 梁雪娟, 等. 杜仲药材有效成分与环境因子的灰色关联度分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(23): 10-14.
- [127] Doebley J. Plant Genetics: A tomato gene weighs in [J]. *Science*, 2000, 289(5476): 71-72.
- [128] Graham I A, Besser K, Blumer S, *et al.* The genetic map of *Artemisia annua* L. identifies loci affecting yield of the antimalarial drug artemisinin [J]. *Science*, 2010, 327(5963):

- 328-331.
- [129] 魏俊雯, 张声祥, 施圆圆, 等. 基于转录组测序的牛蒡木质素类物质生物合成途径及关键酶基因分析 [J]. 中草药, 2020, 51(16): 4300-4307.
- [130] Tian H, Xu X, Zhang F, *et al.* Analysis of *Polygala tenuifolia* transcriptome and description of secondary metabolite biosynthetic pathways by Illumina sequencing [J]. *Int J Genomics*, 2015, 2015: 782635.
- [131] 曾茜垚, 乔克威, 李雨嫣, 等. 基于转录组测序的青风藤内青藤碱合成途径分析 [J]. 中草药, 2019, 50(22): 5537-5544.
- [132] Vasav A P, Pable A A, Barvkar V T. Differential transcriptome and metabolome analysis of *Plumbago zeylanica* L. reveal putative genes involved in plumbagin biosynthesis [J]. *Fitoterapia*, 2020, 147: 104761.
- [133] 潘幼香, 徐惠芳. 中药性状鉴定及其方法 [J]. 湖北中医杂志, 2005, 27(5): 50-51.
- [134] 孙得淼, 王欣然, 王京昆. 中药材鉴定方法概述 [J]. 中南药学, 2017, 15(4): 487-491.
- [135] 郭艳丽, 鞠爱霞. DNA 分子标记技术在中药鉴定学中的应用 [J]. 黑龙江医药, 2012, 25(4): 545-547.
- [136] 刘立轩, 冷晓红, 郭鸿雁, 等. 基于电子鼻技术的秦艽药材产地鉴别 [J]. 时珍国医国药, 2020, 31(3): 617-619.
- [137] 李文斌, 魏胜利, 罗琳, 等. 甘草种质主要形态性状和化学成分的遗传多样性分析 [J]. 中草药, 2019, 50(2): 517-525.
- [138] 胡平, 夏燕莉, 杨玉霞, 等. 乌头种质资源遗传多样性的 RAMP 分析 [J]. 西南农业学报, 2014, 27(3): 984-990.
- [139] 刘志鹏, 刘左军, 杨利云, 等. 钝裂银莲花居群遗传多样性及其与生态因子相关性 [J]. 食品工业科技, 2017, 38(17): 141-145.
- [140] 田建平, 胡远艳, 张吉贞, 等. 华南忍冬 *psbA-trnH* 基因序列特征及生态因子相关性研究 [J]. 安徽农业科学, 2015, 43(3): 38-40.
- [141] 李越, 姚霞, 李振华, 等. 3S 技术在药用植物资源领域中的应用现状 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(5): 228-233.
- [142] 郭兰萍, 黄璐琦, 阎洪, 等. 基于地理信息系统的苍术道地药材气候生态特征研究 [J]. 中国中药杂志, 2005, 30(8): 565-569.
- [143] 田红怡, 淳泽, 王刚, 等. 生态因子与金钗石斛生理指标及有效成分的相关性研究 [J]. 中药材, 2020, 43(3): 558-563.
- [144] 鲁松, 谢孔平, 李策宏. 峨眉山山区野生濒危药用植物资源评价体系的初步研究 [J]. 广西植物, 2013, 33(2): 229-235.
- [145] 黄凤, 蒋桂华. 大黄栽培研究进展 [J]. 中药材, 2019, 42(1): 230-234.
- [146] 刘方舟, 杨阳, 张一颖, 等. 栀子药材道地性系统评价与分析 [J]. 中国现代中药, 2018, 20(11): 1330-1339.
- [147] 郝耀鹏, 吴昌娟, 郭淑红, 等. 药材道地性分析方法的研究进展 [J]. 山西农业科学, 2020, 48(6): 994-996.
- [148] Elston R C, Stewart J. The analysis of quantitative traits for simple genetic models from parental, F<sub>1</sub> and backcross data [J]. *Genetics*, 1973, 73(4): 695-711.
- [149] 陈学群. 利用 BSA-seq 定位主基因的方法研究 [D]. 福州: 福建农林大学, 2016.
- [150] Michelmore R W, Paran I, Kesseli R V. Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: A rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, 88(21): 9828-9832.
- [151] Shimizu N, Ouchida R, Yoshikawa N, *et al.* HEXIM<sub>1</sub> forms a transcriptionally abortive complex with glucocorticoid receptor without involving 7SK RNA and positive transcription elongation factor B [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(24): 8555-8560.

[责任编辑 崔艳丽]