

• 药材与资源 •

基于叶绿体基因的药用梅群体遗传学研究

欧金梅^{1,2,3}, 杨亚洁¹, 钱程程¹, 吴 瑞¹, 王 瑞⁴, 黄璐琦^{2*}

1. 安徽中医药大学, 安徽 合肥 230012

2. 中国中医科学院 中药资源中心, 北京 100700

3. 安徽省中医药科学院 中药资源保护与开发研究所, 安徽 合肥 230012

4. 芜湖职业技术学院, 安徽 芜湖 241006

摘要:目的 对药用梅 *Prunus mume* 开展群体遗传学研究, 揭示其遗传变异情况、单倍型地理分布格局, 推测其起源和多样化中心。方法 采用叶绿体基因片段 (*psbA-trnH*、*rps16*、*trnS-trnG*、*ycf1b*) 对我国 23 个地区的药用梅野生群体进行测序, 开展群体遗传多样性、遗传结构和历史动态分析。结果 药用梅共检测出 20 个单倍型, 单倍型多样性 (H_d) 为 0.790, 核苷酸多样性 (π) 为 0.001 71。AMOVA 分析显示, 药用梅在 cpDNA 水平上的遗传变异主要发生在群体间, 表明该物种具有明显的谱系地理结构, 群体间基因流主要以花粉流为主。中性检验和失配分布分析表明药用梅群体历史是基本稳定的, 没有经历明显的快速扩张事件。单倍型中 H2 是分布最广泛的共享单倍型, H1、H15 位于单倍型网络图中心位置。结论 药用梅具有明显的谱系地理结构, 群体遗传性较高, 四川、福建作为药用梅主产区, 也是其起源和多样化中心。

关键词: 梅; 叶绿体基因; 群体遗传学; 谱系地理学; *psbA-trnH*; *rps16*; *trnS-trnG*; *ycf1b*

中图分类号: R282.12 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)17-5469-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.17.023

Analysis of population genetics of medicinal plum based on chloroplast gene

OU Jin-mei^{1,2,3}, YANG Ya-tian¹, QIAN Cheng-cheng¹, WU Rui¹, WANG Rui⁴, HUANG Lu-qi²

1. Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, China

2. National Resource Center for Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China

3. Institute of Chinese Medicine Resources Protection and Development, Anhui Academy of Chinese Medicine, Hefei 230012, China

4. Wuhu Institute of Technical, Wuhu 241006, China

Abstract: **Objective** To study the population genetics of *Prunus mume*, reveal its genetic variation, haplotype geographical distribution pattern, and speculate its origin and diversification center. **Methods** Chloroplast gene fragments (*psbA-trnH*, *rps16*, *trnS-trnG*, *ycf1b*) were used to sequence the wild populations of medicinal plum from 23 regions in China, to carry out population genetic diversity, genetic structure and historical dynamic analysis. **Results** Twenty haplotypes were detected in *P. mume* populations, with a haplotype diversity (H_d) of 0.790 and a nucleotide diversity (π) of 0.001 71. AMOVA analysis showed that the genetic variation at the cpDNA level mainly occurred among populations, indicating that the species had an obvious phylogeographical structure in *P. mume* occurred mainly between populations, which indicated that the species had a distinct distinct genealogical geographic structure and that interpopulation the gene flow was mainly dominated by pollen flow. Neutral test and mismatch distribution analysis showed that the population history was largely stable and did not experience significant rapid expansion event. Among the haplotypes, H2 was the most widely distributed shared haplotype, while H1 and H15 were located in the center of the haplotype network diagram. **Conclusion** *P. mume* has obvious pedigree geographical structure with high population heritability, and the province of Sichuan and Fujian, as the main producing areas of *P. mume*, are also the centers of their origin and diversification.

Key words: *Prunus mume* Sieb. et Zucc.; chloroplast gene; population genetics; phylogeography; *psbA-trnH*; *rps16*; *trnS-trnG*; *ycf1b*

梅 *Prunus mume* Sieb. et Zucc., 蔷薇科李属多年生木本, 我国特有的药食同源植物, 其果实、花作中药乌梅、梅花使用, 均收录于《中国药典》2020年版中, 乌梅可敛肺涩肠、生津安蛔, 具有抗癌、

收稿日期: 2021-12-06

基金项目: 名贵中药资源可持续利用能力建设项目 (2060302-2201-23); 中央财政林业科技推广示范资金项目 (Z175070050002)

作者简介: 欧金梅 (1980—), 女, 博士, 副教授, 研究方向为中药资源与质量评价。E-mail: ojm@ahtcm.edu.cn

*通信作者: 黄璐琦, 研究员, 中国工程院院士。E-mail: huangluqi01@126.com

抗氧化、抗肝纤维化等药理活性^[1-2]。梅在我国已有 2000 多年的药用历史，四川、云南、福建等地为药用梅的主产区，其自然群体分布于长江流域和整个江南地区^[3]。课题组调查发现，药用梅主产区栽培品种近百余种，产地盲目引种造成品种多而复杂，对药材质量和临床疗效产生很大影响^[4-5]。药用梅优良种质选育是目前亟待解决的问题。

叶绿体基因 (cpDNA) 具有单亲遗传、相对保守的特点。被子植物多为母系遗传，依靠种子流进行基因交流，其基因编码区和非编码区的变异速率差异较大，能真实反映出物种的遗传分化、谱系结构和扩散情况^[6-7]。近年来，基于 cpDNA 的分子谱系地理学早期主要集中研究珍稀濒危植物的进化历史和保护，如十齿花、绵参、红豆杉等^[8-11]。近年来，分子谱系地理学在药用植物遗传多样性、地理分布格局、濒危机制等方面研究广泛深入，如姜丹^[12]应用 3 个 cpDNA 序列 *ycf4-cemA*、*petA-psbJ* 和 *psbA-trnH* 对 28 个黄芩野生居群和 1 个甘肃黄芩野生居群进行分子谱系研究，表明黄芩和甘肃黄芩之间存在显著的遗传分化，种间没有基因渗透和杂交。张玉君^[13]利用 *trnH-psbA*、*trnL-trnF*、*MatK* 序列对 31 个山药居群进行分析，得

出山药的遗传多样性主要在群体间，并推测出栽培薯蓣和参薯的驯化起源。

遗传多样性是生物多样性的重要组成部分，是物种能够长期生存且保持进化能力的物质基础。野生群体大都保留着较高的遗传多样性^[14-16]，是栽培育种的种质资源库。本研究利用课题组前期从梅的叶绿体全基因组中筛选出的 4 对引物 *trnS-trnG*、*psbA-trnH*、*ycf1b*、*rps16*，用于药用梅野生群体的遗传多样性和遗传结构分析，为药用梅的种质资源保护和品种选育提供分子依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究共采集到 23 个地区的药用梅野生群体样品，分布于中国四川、云南、贵州、安徽、福建、西藏、江西地区，经安徽中医药大学俞年军教授鉴定为梅 *P. mume* Sieb. et Zucc.，凭证标本保存在安徽中医药大学中药资源中心。每个群体采集 10 个以上个体（生境中不足 10 个个体全部采集），个体之间的间隔不小于 10 m，采集新鲜健康叶片，用硅胶干燥后储存在 -70 °C 下超低温冰箱备用。采集信息见表 1。

表 1 野生样本采集信息

Table 1 Detailed information of samples in this study

序号	群体编号	数量	采集地点	经度	纬度	海拔/m
1	AHSW	4	安徽宁国市仙霞镇	E119°18'27"	N30°25'11"	220
2	AHHS	4	安徽黄山市汤口镇	E118°08'47"	N30°04'59"	550
3	FJSD	11	福建上杭县临城镇	E116°26'53"	N24°57'40"	230
4	FJXY	5	福建永泰葛岭镇	E119°00'95"	N25°83'55"	150
5	GZZJ	12	贵州赫章县六曲河镇	E104°04'23"	N27°16'15"	1760
6	GZNZ	12	贵州赫章县农庄村	E104°51'25"	N27°08'58"	1720
7	GZTJ	10	贵州赫章县孙家院乡	E104°40'07"	N27°08'57"	1530
8	GZML	13	贵州荔波县茂兰镇	E108°01'26"	N25°18'09"	570
9	GZBK	18	贵州荔波县茂兰镇	E108°00'20"	N25°16'33"	570
10	GZWZ	10	贵州荔波县茂兰镇	E108°01'24"	N25°19'45"	610
11	JXBS	4	江西景德镇瑶里镇	E117°35'58"	N29°33'35"	150
12	JXML	10	江西景德镇瑶里镇	E117°38'38"	N29°32'24"	210
13	SCRZ	22	四川宝兴县硃砂乡	E102°43'47"	N30°41'60"	2150
14	SCCJ	20	四川达州市蔡家坡村	E107°29'51"	N30°59'60"	510
15	SCDZ	10	四川德昌县德州镇	E102°10'26"	N27°24'22"	1375
16	SCLD	6	四川甘孜藏族自治州泸定县	E102°12'58"	N29°41'52"	1680
17	SCHL	15	四川会理县	E102°12'54"	N26°34'25"	1811
18	SCXY	10	四川平武县平通镇	E104°40'23"	N32°05'13"	1040
19	SCMZ	10	四川马边县梅子坝乡	E103°21'45"	N 28°53'32"	1274
20	SCSH	10	四川马边县三河口乡	E103°22'32"	N 28°53'32"	1377
21	YNTC	5	云南宁蒗县大兴镇	E100°53'11"	N27°15'46"	2370
22	YNDY	5	云南丽江得一公司种质资源圃	E100°15'09"	N26°49'31"	2390
23	XZLZ	10	西藏林芝县	E94°25'04"	N29°23'05"	2940

1.2 基因组 DNA 提取

样品叶片采用改良 CTAB 法提取基因组总 DNA。经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测质量和浓度后, 调整浓度为 50 ng/μL, 保存于 -20 °C 冰箱待用。

1.3 cpDNA 引物筛选及群体扩增

采用课题组前期筛选的 *psbA-trnH*、*rps16*、*trnS-trnG*、*ycf1b* 序列 (表 2), 每个群体选 10 个样品 (不足 10 个全选) 进行扩增。用 1% 的琼脂糖

凝胶电泳检测扩增产物, 送至上海生工生物工程有限公司 (上海, 中国) 进行双向测序。

PCR 反应体系: 模板 DNA 1 μL, 正反引物 10 μmol/L 各 0.5 μL, MIX 酶 5 μL, 补加 ddH₂O 至总体系为 10.00 μL。扩增程序: 95 °C 预变性 4 min, 95 °C 变性 30 s, 55 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 1 min, 共 35 次循环, 72 °C 延伸 6 min。扩增产物置于 -20 °C 冰箱保存。

表 2 叶绿体片段引物信息

Table 2 Information of polymorphic cpDNA prime pairs

编号	引物名称	引物序列 (5'-3')	退火温度/°C	序列长度/bp
1	<i>psbA</i>	GGAAGTTATGCATGAACGTAATG	55	380
	<i>trnH</i>	TGGTGGATTCAACAATCCACTG		
2	<i>rps16</i> -1F	TTTGCCCTGAATCATTGGGT	55	420
	<i>rps16</i> -1D	CGATGTGGTAGAAAGCAACG		
3	<i>trnS</i>	CTTAGTCCACTCAGCCATCT	55	672
	<i>trnG</i>	CTATACCCGCTACAATCC		
4	<i>ycf1b</i> F	TCTCGACGAAAGTCCGGTTGTTGTGA	55	890
	<i>ycf1b</i> R	ATACATGTCAAAGTGATGGAAAA		

1.4 群体单倍型和遗传多样性分析

测序的原始数据, 用 GENEIOUS 10.2.6 软件进行编辑、比对和校正, 最后将 4 个 cpDNA 片段按照相同的样品名拼接成一条序列。群体中具有多态性位点的序列数目 (k) 可以简单反映群体的遗传多样性大小。利用 DnaSP 5.10 软件^[17]进行单倍型个数 (Hap)、核苷酸多态性 (π)、单倍型多样性 (H_d) 和多态性位点的统计。在考虑缺失的情况下将群体单倍型分布以及共享情况, 利用 POPART v.4.8.4 软件^[18]进行单倍型网络图构建, 在 ArcGIS10.5 软件中绘制单倍型地理分布图。利用 RAXML8.2.4 软件, 以最大似然法 (maximum likelihood estimation, ML) 构建系统进化树。

1.5 群体遗传结构分析

基于 cpDNA 单倍型数据, 利用 DnaSP5.10 软件计算遗传分化系数 (G_{st} 和 N_{st})。基于 1000 次置换进行 P 检验, 通过比较 G_{st} 和 N_{st} 的大小, 对药用梅群体结构进行分析。利用 ARLEQUIN v3.5.2.2 软件^[19]计算群体间遗传分化系数 (F_{st}), 采用 AMOVA 分析药用梅群体内和群体间遗传变异程度, 通过 10 000 次重复来检测遗传组成的显著性水平。

1.6 群体历史动态分析

采用 DnaSP 5.10 软件进行单倍型的失配分布分析, 绘制失配分布曲线, 以推测物种水平、谱系地理分子水平间群体是否经历过动态扩张。同时进行

Tajima's D ^[20]和 Fu's F_s ^[21]中性检验, 以推测叶绿体片段是否符合中性进化模式。

2 结果与分析

2.1 cpDNA 序列测序结果

采用 4 个叶绿体片段对 23 个群体 193 个野生个体进行扩增后, 经拼接、编辑和比对后共得到长度为 1 945 bp 的核苷酸矩阵, 共检测到 27 个变异位点, 其中有 19 个突变, 8 个插入或缺失。*psbA-trnH* 片段为 334 bp (1~334 bp), 有 1 个单点突变, 4 个插入或缺失; *trnS-trnG* 片段为 355 bp (335~689 bp), 有 6 个单点突变, 2 个插入或缺失; *rps16* 片段为 499 bp (690~1188 bp), 有 7 个单点突变, 1 个插入或缺失; *ycf1b* 片段为 757 bp (1189~1945 bp), 有 5 个单点突变, 1 个插入或缺失, 具体见表 3。

2.2 单倍型及遗传多样性

共检测出 20 个单倍型 (H1~H20)。H2 是分布最广泛的共享单倍型, 出现我国福建、四川和贵州的 10 个居群中; H1、H5 和 H14 分布次之, 其余均为特有单倍型。从居群分布来看, 江西景德镇 (JXBS)、安徽黄山 (AHHS)、福建永泰 (FJXY)、四川泸定 (SCLD)、云南宁蒗 (YNLC) 和云南丽江 (YNDY) 各含一个特有单倍型, 分别为 H6~8、H11、H12、H18。贵州赫章 (GZTJ) 和西藏林芝 (XZLZ) 各有 2 个特有单倍型。四川达

表 3 药用梅的叶绿体片段变异位点和单倍型分类
Table 3 Chloroplast DNA sequences polymorphisms detected in *P. mume*

核苷酸位点	<i>trnH-psbA</i>		<i>rps16</i>						<i>trnS-trnG</i>							<i>ycf1b</i>				
	94	114	107	117	180	255	284	203	280	306	343	346	347	479	65	372	414	589	637	
H1	T	A	A	A	A	C	A	C	T	A	A	T	T	T	T	C	G	T	G	
H2	T	A	A	A	A	C	A	C	T	A	A	T	T	T	T	C	G	T	A	
H3	T	A	A	A	A	C	A	C	T	A	A	T	T	T	T	T	G	T	G	
H4	T	A	A	A	A	C	A	C	T	A	A	A	T	T	T	C	G	T	G	
H5	T	A	A	A	A	C	A	C	T	A	A	T	T	T	T	C	G	A	G	
H6	T	A	A	A	A	C	A	T	T	A	A	T	T	T	T	C	G	A	G	
H7	T	A	A	A	T	C	A	C	T	A	A	T	T	T	T	C	G	A	G	
H8	T	A	A	A	A	C	A	T	T	A	A	T	T	T	A	C	T	T	G	
H9	T	A	A	A	A	C	A	C	T	A	A	T	T	T	A	C	G	T	G	
H10	T	A	A	A	A	C	A	C	T	A	A	T	T	T	A	C	T	T	G	
H11	T	A	A	T	A	T	A	C	T	A	A	A	T	C	T	T	G	T	G	
H12	T	T	A	A	A	C	A	C	T	A	A	A	A	C	T	C	G	T	G	
H13	G	T	A	A	A	T	A	C	T	A	A	A	T	C	T	C	G	T	G	
H14	G	T	A	A	A	T	A	C	A	A	A	A	T	C	T	C	G	T	G	
H15	T	T	A	A	A	T	A	C	T	A	A	A	T	C	T	C	G	T	G	
H16	T	T	A	A	A	T	A	C	T	A	C	A	T	C	T	C	G	T	G	
H17	T	A	A	A	A	T	A	C	T	A	C	A	A	C	T	C	G	T	G	
H18	T	T	C	A	A	T	A	C	T	A	A	A	T	C	T	C	G	T	G	
H19	T	T	A	T	A	T	A	C	T	A	A	A	A	C	T	C	G	T	G	
H20	T	A	A	A	A	T	G	C	T	G	A	T	T	C	T	C	G	T	G	

州（SCCJ）和四川马边（SCMZ）居群各有 3 个单倍型，福建上杭（FJSD）和四川德昌（SCDZ）各有 4 个单倍型，表明这 4 个居群的单倍型类型比较丰富。从单倍型网络图（图 1）上看出，H1、H15 位于网络图的中心位置，推测 H1、H15 可能是药用梅的原始单倍型。H1 单倍型分布在福建、贵州和四川居群，H15 单倍型分布在四川德昌居群，因此，福建、贵州和四川地区的居群可能是药用梅的原始单倍型。

从单倍型网络图中可以反映出单倍型之间的亲缘关系。以祖先单倍型 H1、H15 为中心，H1 经过一步变异演化为 5 个单倍型（H2~5 和 H9）；H15 经过一步演化成 4 个单倍型（H13、H16、H18 和 H19），这些单倍型经过一步或多步变异又得到其他的单倍型，其中 H20 单倍型在分化进程中经历了 H1 和 H5 的多次变异，H19、H12 单倍型经历了 H4

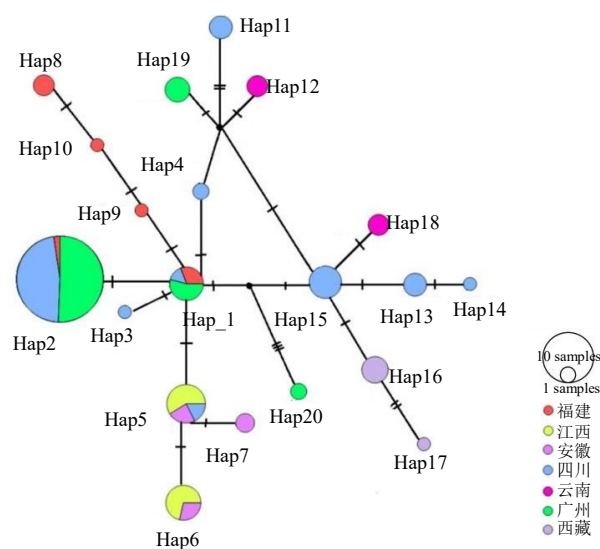


图 1 基于 cpDNA 的药用梅野生群体单倍型网络图
Fig. 1 Haplotype network of *P. mume* based on cpDNA

的 2 步变异和 H15 的一步变异,表明这些单倍型在进化过程中群体间可能经历了基因交流。以日本晚樱 *P. yedoensis* Matsum.和稠李 *P. padus* L.作为外类群,利用 Mega 软件基于 ML 法构建了 20 个单倍型的系统发育树(图 2)。结果显示 ML 树分为 2 支,以 H7、H5、H6、H3、H2、H1、H9、H8、H10 和 H4 为一支, H16、H11、H13、H14、H18、H12、

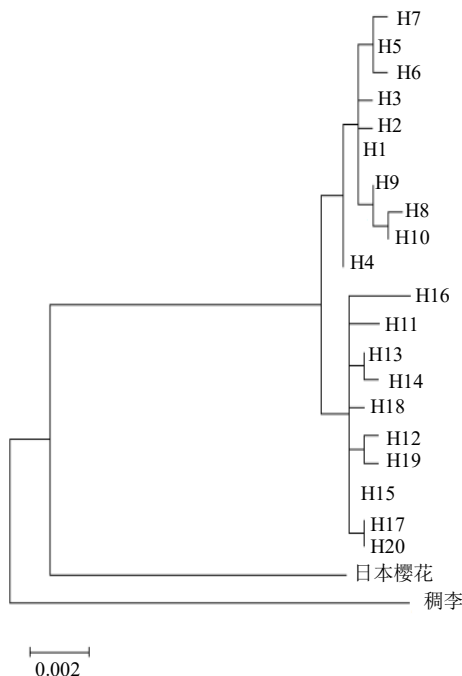


图 2 基于 20 个单倍型的 cpDNA 序列构建的系统发育树 (ML)

Fig. 2 Phylogenetic relationship of 20 haplotypes based on cpDNA sequence (ML)

H19、H15、H17 和 H20 为一支,与单倍型网络图结果基本一致。从单倍型分布区域来看,云贵高原的西藏、云南居群分为一支,华东地区的福建、江西、安徽和贵州(GZTJ 除外)居群聚在一起。而四川居群则分散在 2 个分支中。四川是乌梅的主产区,分布的单倍型分布最广,分别渗透到西南的云贵高原和华东地区,说明四川可能是药用梅的起源中心。

2.3 群体遗传结构

DnaSP 分析结果显示,在群体水平上,药用梅群体总的 H_d 为 0.790, π 为 0.001 71,表明整个野生群体遗传多样性较高。在单个居群中,福建上杭,贵州赫章、荔波,四川达州、德昌和马边地区的遗传多样性较高,其中以福建上杭(FJSD)居群含有 4 个不同的单倍型而呈现出单倍型多样性最高(0.800)。安徽、江西等 15 个居群仅有一个单倍型,其单倍型多样性和核苷酸多态性均为 0,结果见表 4。

遗传变异分析表明,群体间的遗传分化系数 G_{st} 为 0.673 (0.12), N_{st} 为 0.891 (0.03), N_{st} 值大于 G_{st} 值,且群体间基因流(N_m)为 0.03。通过 AMOVA 分析群体内和群体间的变异情况,结果显示群体间的遗传分化系数(F_{st})为 0.891,群体间的遗传变异占 89.10%,群体内的遗传变异占 10.90%。以上数据表明,药用梅野生群体间存在谱系地理结构,地理区域相近的群体分布的单倍型亲缘关系也较近,群体的遗传变异主要来自于群体间,在叶绿体基因水平上几乎不存在基因流。

表 4 基于 4 个叶绿体片段联合的药用梅野生群体遗传多样性

Table 4 Genetic diversity of *P. mume* based on four cpDNA fragments

居群	样本数	单倍型	H_d	$\pi(\times 10^{-3})$	居群	样本数	单倍型	H_d	$\pi(\times 10^{-3})$
AHSW	4	H5	0	0	SCRZ	10	H2	0	0
AHHS	4	H7	0	0	SCCJ	10	H2(5)、H3(2)、H4(3)	0.778	0.76
FJSD	10	H1(4)、H2(2)、H9(2)、H10(2)	0.800	0.65	SCDZ	10	H13(6)、H14(2)、H15(2)	0.622	0.46
FJXY	5	H8	0	0	SCLD	6	H11	0	0
GZZJ	10	H2	0	0	SCHL	10	H14	0	0
GZNZ	10	H1(3)、H2(7)	0.467	0.24	SCXY	10	H2	0	0
GZTJ	10	H19(7)、H20(3)	0.467	0.12	SCMZ	10	H1(2)、H2(5)、H5(3)	0.689	0.54
GZML	10	H2	0	0	SCSH	10	H2	0	0
GZBK	10	H2	0	0	YNTC	5	H12	0	0
GZWZ	10	H1(4)、H2(6)	0.533	0.28	YNDY	5	H18	0	0
JXBS	4	H6	0	0	XZLZ	10	H16(8)、H17(2)	0	0
JXML	10	H5	0	0					

2.4 群体历史动态

利用 DnaSP5.10 进行中性检验, Tajima's D 的值为 -0.142 ($P > 0.10$), 未达到显著水平, 符合中性进化, 进化方式为负向选择。Fu and Li's D^* 和 Fu and Li's F^* 的值分别为 1.240 ($P > 0.10$) 和 0.836 ($P > 0.10$), 均未达到显著水平, 符合中性进化。结果表明, 药用梅野生群体在物种水平上未经历快速扩张等历史事件。

药用梅野生群体的失配分布分析结果见图 3, 可以看出, 实际观测的扩张曲线呈现双峰, 而期望扩张曲线则比较平滑, 实际观测曲线与期望观测曲线不吻合, 表明野生药用梅群体历史是稳定的, 没有经历明显的过快速扩张事件, 分析结果与中性检验结果一致。

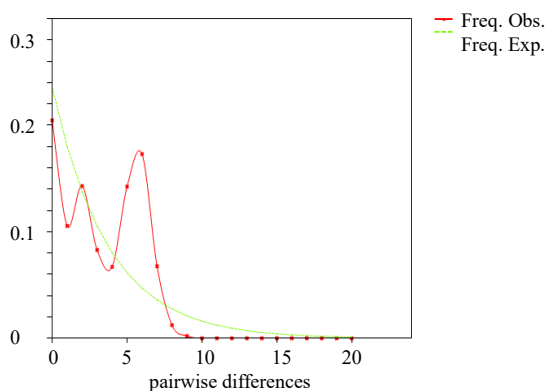


图 3 药用梅群体的失配分布曲线

Fig. 3 Mismatch distribution analysis of *P. mume* colony

3 讨论

3.1 遗传多样性

本研究利用叶绿体基因 *psbA-trnH*、*rps16*、*trnS-trnG*、*ycf1b* 联合序列对药用梅野生群体进行分析, 结果显示, 药用梅总的 H_d 为 0.790 , π 为 0.00171 , 高于平均叶绿体 DNA 单倍型遗传多样性 (0.670)^[22], 表明整个野生群体遗传多样性较高, 群体间的遗传变异高于群体内。药用梅野生群体在我国主要分布在长江流域^[3], 在四川西南部、云南西北部和西藏东部交界的地区呈连续型分布, 浙江、安徽、江西、福建等地有零散分布。20 个单倍型中, H2 是分布最广泛的共享单倍型, H1、H15 位于网络图中心位置, 福建、四川地区野生群体的单倍型类型比较丰富, 贵州、福建、四川地区是药用梅的原始单倍型。基于 4 个 cpDNA 片段构建的单倍型网络图和系统进化树结果基本一致, 将 23

个野生群体划分为 2 支, 在云贵高原周缘地区呈连续型分布的野生群体分在一组, 贵州和华东地区的安徽、江西、福建分在一组, 四川群体分散在 2 个分支中, 单倍型分别渗透到云贵高原和华东地区。

根据溯祖理论, 位于网状进化树中心的单倍型和分支是最原始的, 是其它单倍型和亚分支的祖先, 其集中分布的地区是该物种的起源中心。结合单倍型构建的进化树结果, 推断出四川、福建作为药用梅主产区, 也是其起源和多样化中心。

3.2 遗传结构

叶绿体联合片段分析结果显示, 群体间的遗传分化系数 G_{st} 为 0.673 , N_{st} 为 0.891 , N_{st} 值大于 G_{st} 值, 表明药用梅的野生群体间存在谱系地理结构, 地理区域近的群体间的亲缘关系也较近。

被子植物群体间的基因交流主要依靠花粉和种子基因流进行传播, 核基因可以通过花粉和种子两种方式进行交流^[23-24], 对于母系遗传的叶绿体基因来说只能依靠种子流来传播。群体间的基因流 N_m 为 0.03 , 群体间的遗传变异 (89.10%) 远大于群体内 (10.90%)。参考其它木本植物, 中国樱桃的野生群体间的分化低于群体内^[25], 榲桲、杨梅、杜梨等的野生群体间的分化高于群体内^[23,26-27], 推测药用梅群体间分化远远大于群体内, 表明药用梅群体间的基因流受阻, 可能是因为药用梅的果实和种子较大, 不适宜进行远距离扩散造成的。中性检验和失配分析, 常用于推测群体经历的历史事件及群体扩张时间^[28-29]。在本研究中, 中性检验和失配分析结果一致, 表明药用梅野生群体历史是基本稳定的, 没有经历明显的快速扩张事件。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 张华月, 李琦, 付晓伶. 乌梅化学成分及药理作用研究进展 [J]. 上海中医药杂志, 2017, 51(S1): 296-300.
- [2] 杨琳, 陈金文, 王兴海, 等. 乌梅本草考证 [J]. 中国现代中药, 2019, 21(2): 247-251.
- [3] 陈俊愉. 中国梅花 [M]. 海口: 海南出版社, 1996: 236.
- [4] Ou J M, Wang R, Li X L, et al. Comparative analysis of free amino acids and nucleosides in different varieties of mume fructus based on simultaneous determination and multivariate statistical analyses [J]. *Int J Anal Chem*, 2020, 2020: 4767605.
- [5] 欧金梅, 王瑞, 程庆兵, 等. ICP-MS 法测定不同产地乌梅无机元素含量 [J]. 中草药, 2020, 51(2): 482-489.

- [6] 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.
- [7] 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.
- [8] Yuan Q J, Zhang Z Y, Peng H, *et al.* Chloroplast phylogeography of *Dipentodon* (Dipentodontaceae) in southwest China and northern Vietnam [J]. *Mol Ecol*, 2008, 17(4): 1054-1065.
- [9] 拉琼, 张勇群, 扎西次仁. 青藏高原特有植物分子谱系地理学研究现状 [J]. 西藏大学学报: 自然科学版, 2013, 28(1): 12-15.
- [10] Zhang Y Z, Ma J, Yang B X, *et al.* The complete chloroplast genome sequence of *Taxus chinensis* var. *mairei* (Taxaceae): Loss of an inverted repeat region and comparative analysis with related species [J]. *Gene*, 2014, 540(2): 201-209.
- [11] 程蓓蓓. 中国红豆杉属分子谱系地理学与遗传多样性研究 [D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2016.
- [12] 姜丹. 黄岑道地性的遗传和化学物质基础研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2018.
- [13] 张玉君. 基于叶绿体分子谱系地理学的山药的系统进化和品种鉴定研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2018.
- [14] Xu J J, Zang F Q, Wu Q C, *et al.* Analysis of the genetic diversity and molecular phylogeography of the endangered wild rose (*Rosa rugosa*) in China based on chloroplast genes [J]. *Glob Ecol Conserv*, 2021, 28: e01653.
- [15] Tóth E G, Köbölkuti Z A, Pedryc A, *et al.* Evolutionary history and phylogeography of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in Europe based on molecular markers [J]. *J For Res*, 2017, 28(4): 637-651.
- [16] 石甜, 莫忠妹, 吴敏, 等. 药食同源植物薤白的谱系地理学研究 [J/OL]. 植物研究, [2022-01-03]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/23.1480.s.20211130.1419.002.html>.
- [17] Librado P, Rozas J. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data [J]. *Bioinformatics*, 2009, 25(11): 1451-1452.
- [18] Leigh J W, Bryant D. Popart: Full-feature software for haplotype network construction [J]. *Methods Ecol Evol*, 2015, 6(9): 1110-1116.
- [19] Schneider S, Roessli D, Excoffier L. Arlequin: a software for population genetics data analysis [J]. *User Manual Ver*, 2000, 2: 2496-2497.
- [20] Tajima F. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism [J]. *Genetics*, 1989, 123(3): 585-595.
- [21] Fu X Y. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection [J]. *Genetics*, 1997, 147(2): 915-925.
- [22] Petit R J, Hampe A. Some evolutionary consequences of being a tree [J]. *Annu Rev Ecol Evol Syst*, 2006, 37: 187-214.
- [23] 刘路贤. 栽培杨梅谱系地理、驯化起源及品种(系)间关系的研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2016.
- [24] 徐兴兴. 矮牡丹的遗传多样性及栽培牡丹起源研究 [D]. 北京: 北京林业大学, 2018.
- [25] Chen T, Wang X R, Tang H R, *et al.* Genetic diversity and population structure of Chinese Cherry revealed by chloroplast DNA *trnQ-rps16* intergenic spacers variation [J]. *Genet Resour Crop Evol*, 2013, 60(6): 1859-1871.
- [26] Yang J, Vázquez L, Chen X D, *et al.* Development of chloroplast and nuclear DNA markers for Chinese oaks (*Quercus* subgenus *Quercus*) and assessment of their utility as DNA barcodes [J]. *Front Plant Sci*, 2017, 8: 816.
- [27] Zong Y, Sun P, Liu J, *et al.* Chloroplast DNA-based genetic diversity and phylogeography of *Pyrus betulaefolia* (Rosaceae) in Northern China [J]. *Tree Genet Genomes*, 2014, 10(3): 739-749.
- [28] Slatkin M, Hudson R R. Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequences in stable and exponentially growing populations [J]. *Genetics*, 1991, 129(2): 555-562.
- [29] Roger AR, Harpending H. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences [J]. *Mol Biol Evol*, 1992, 9(3): 552-569.

[责任编辑 时圣明]