

基于 ISSR 和 SCoT 分子标记的丹参遗传多样性评价及生境因子对丹酚酸和丹参酮的影响

钟明志^{1,2}, 毛莉¹, 姜媛媛^{1,2}, 廖进秋^{2,3}, 王龙^{1,2}, 柴松岳^{1,2}, 曹如君¹, 邓雪雪^{1,2}, 杨瑞武^{2,3}, 张利^{1,2*}

1. 四川农业大学理学院, 四川 雅安 625000
2. 特色药用植物四川省科技资源共享服务平台, 四川 雅安 625000
3. 四川农业大学生命科学学院, 四川 雅安 625000

摘要: **目的** 基于遗传、环境因子与丹参 *Salvia miltiorrhiza* 品质性状之间的相关性, 探究影响丹参品质的主导因子。**方法** 收集不同产区 22 个丹参居群 (每个居群 3 个单株)、种植土壤以及气候因子数据。基于简单重复序列间区 (inter-simple sequence repeat, ISSR) 和目标起始密码子多态性 (start codon targeted polymorphism, SCoT) 标记分析了丹参不同居群遗传多样性和亲缘关系, 利用高效液相色谱法 (HPLC) 测定了不同产区丹参中隐丹参酮、丹参酮 I、丹参酮 II_A、丹酚酸 B 含量。利用原子吸收分光光度法、火焰光度计测定法、电感耦合等离子体原子发射光谱法 (ICP-OES) 等技术测定了土壤的理化指标及矿质含量。**结果** ISSR 和 SCoT 标记分析结果表明, 四川丹参居群单独聚为一类, 山东丹参居群分布在不同的聚类组中。经相关性分析, 气压、风速与丹参酮类物质的含量呈显著正相关, 日降水量 ≥ 0.1 mm 日数与丹参酮 I 含量以及等位基因数 (number of alleles, N_a)、有效等位基因数 (effective number of alleles, N_e)、Nei 氏基因多样性指数 (Nei's gene diversity index, H)、香农信息指数 (Shannon information index, I) 等遗传指数呈显著负相关; 水汽压、相对湿度、日降水量 ≥ 0.1 mm 日数等与丹酚酸 B 含量呈显著正相关, 与 N_a 、 N_e 、 H 、 I 显著负相关; 日照时数与丹酚酸 B 含量呈显著负相关, 与 N_a 、 N_e 、 H 、 I 显著正相关。隐丹参酮含量与土壤质地、矿质元素 Cu、Mg 含量显著相关; 丹酚酸 B 含量与土壤有机质、K、碱解 N、速效 K 含量显著相关。**结论** 遗传与环境因子互作作用影响了丹参的品质。四川丹参居群间遗传变异小, 山东丹参遗传变异大, 降水、湿度、日照是影响丹参遗传变异以及丹参酮和丹酚酸 B 积累的主要气候因子。土壤质地能影响隐丹参酮的积累, N 肥能促进丹酚酸 B 积累。

关键词: 丹参; 丹参酮; 丹酚酸 B; 遗传多样性; 环境因子

中图分类号: R286.12 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)12-4171-14

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.12.024

Genetic diversity assessment of *Salvia miltiorrhiza* based on ISSR and SCoT markers and effects of habitat factors on salvianolic acid and tanshinone

ZHONG Mingzhi^{1,2}, MAO Li¹, JIANG Yuanyuan^{1,2}, LIAO Jinqu^{2,3}, WANG Long^{1,2}, CHAI Songyue^{1,2}, CAO Rujun¹, DENG Xuexue^{1,2}, YANG Ruiwu^{2,3}, ZHANG Li^{1,2}

1. College of Science, Sichuan Agricultural University, 625000 Ya'an, China
2. Featured Medicinal Plants Science and Technology Sharing and Service Platform of Sichuan Province, Sichuan Agricultural University, 625000 Ya'an, China
3. College of Life Sciences, Sichuan Agricultural University, 625000 Ya'an, China

Abstract: Objective Based on the correlation between genetic, environmental factors and quality traits of *Salvia miltiorrhiza*, the main factors affecting the quality of *S. miltiorrhiza* were explored. **Methods** A total of 22 *S. miltiorrhiza* populations (three single plants per population), planting soil and climate factors data were collected from different producing areas. Genetic diversity and genetic relationships of different populations of *S. miltiorrhiza* were analyzed based on inter-simple sequence repeat (ISSR) and start codon targeted polymorphism

收稿日期: 2024-01-02

基金项目: 国家现代农业产业技术体系四川省创新团队建设专项资金 (SCCXTD-2020-19); 四川省科技计划项目 (2021YFYZ0012, 2022NSFSC1718, 2023NSFSC1269, 2023NSFSC0663); 省级大学生创新创业训练计划项目 (S202310626021); 特色药用植物四川省科技资源共享服务平台

作者简介: 钟明志 (1993—), 男, 博士研究生, 研究方向为药用植物化学。E-mail: 2020115001@stu.sicau.edu.cn

***通信作者:** 张利 (1969—) 女, 教授, 博士生导师, 研究方向为药用植物化学。E-mail: zhangli@sicau.edu.cn

(SCoT) markers. The contents of cryptotanshinone, tanshinone I, tanshinone IIA and salvianolic acid B in different regions of *S. miltiorrhiza* were determined by HPLC. The physicochemical index and mineral content of soil were determined by atomic absorption spectrophotometry, flame photometer method and inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-OES). **Results** The results of ISSR and SCoT analysis showed that the *S. miltiorrhiza* populations in Sichuan were grouped into a single cluster, which in Shandong were distributed in different cluster groups. The correlation analysis showed that air pressure and wind speed were significant positively correlated with tanshinone content, and the number of days with daily precipitation ≥ 0.1 mm was significant negatively correlated with tanshinone I content and number of alleles (N_a), effective number of alleles (N_e), nei's gene diversity index (H), shannon information index (I). Air pressure, relative humidity and the number of days with daily precipitation ≥ 0.1 mm were significant positively correlated with salvianolic acid B content, and negatively correlated with N_a , N_e , H and I , while sunshine hours were significant negatively correlated with salvianolic acid B content and positively correlated with N_a , N_e , H and I . The content of cryptotanshinone was significantly correlated with soil texture and the content of Cu and Mg. The content of salvianolic acid B was significantly correlated with the content of soil organic matter, K, alkaline hydrolysis N and available K. **Conclusion** The interaction between genetic and environmental factors influenced the quality traits of *S. miltiorrhiza*. The genetic variation of *S. miltiorrhiza* populations was small in Sichuan and large in Shandong. Precipitation, humidity and sunshine were the main climatic factors affecting genetic variation and accumulation of tanshinone and salvianolic acid B in *S. miltiorrhiza*. Soil texture can affect the accumulation of cryptotanshinone, and N fertilizer can promote the accumulation of salvianolic acid B.

Key words: *Salvia miltiorrhiza* Bge.; tanshinone; salvianolic acid B; genetic diversity; environmental factor

优良的遗传基因是决定优质药用植物形成的基础和内在因素^[1]。DNA 分子标记可以从居群及分子的水平上来阐明优质药用植物产生的生物学本质^[2]，已有大量报道表明基于 DNA 分子标记的遗传多样性分析揭示了厚朴、肉苁蓉、甘草等道地药材独特药材品质是由当地独特的环境与药材基因型相互作用所产生的^[3-6]。目前，已开发出包括扩增片段长度多态性（amplified fragment length polymorphism, ALFP）、简单重复序列（simple sequence repeats, SSR）、相关序列扩增多态性（sequence related amplified polymorphism, SRAP）、简单重复序列间区（inter-simple sequence repeat, ISSR）、目标起始密码子多态性（start codon targeted polymorphism, SCoT）、单核苷酸多态性（single nucleotide polymorphisms, SNP）在内的大量分子标记可用于药用植物研究^[7-9]，其中，ISSR 和 SCoT 由于具有引物通用性、随机性、设计简单、重复性好等优势而更加适用于药用植物遗传多样性及亲缘关系分析^[10, 11]。

《神农本草经》中提出“土地所出，真伪新陈，并各有法”。特定的大气、水文、土壤等环境条件造就了不同的药材特性^[12]。因此，为了增加药用植物中有效成分的含量，提高药材的品质，需要探索分析药用植物的品质与赖以生存的环境之间的联系^[13]。例如，年平均气温、年日照时数、pH、Sr、Ca、S 和交换性 K 等生态因子都是影响远志有效成分和生物活性的主要因素^[14]。日照时数、相对湿度是影响黄芪中黄芪甲苷和黄芪多糖及黄

酮类成分的关键因子^[15]。除遗传因素和环境因素的影响外，药材的栽培、采收技术和产地的初加工等人文因素都会对药用植物的次生代谢产物有影响^[16]，近年来，随着野生资源的逐渐减少。栽培的中药材已经成为了常用中药的主要来源。大多药材栽培产区的药农在长期栽培过程中结合实践，积累了丰富的种植生产经验，有效的控制了药材的质量^[17-18]。

丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 隶属唇形科（Labiatae）鼠尾草属 *Salvia* L.，为多年生草本植物^[19]，以其干燥根及根茎入药，用于治疗胸痹心痛、月经不调、疮瘍肿痛等病症^[20]。丹参酮 I、丹参酮 II_A、隐丹参酮等是丹参中主要的二萜类有效成分^[21-22]。迷迭香酸、丹酚酸 A、丹酚酸 B 等则是主要的酚酸类成分^[23-24]。现代药理学认为，丹参酮类和丹酚酸类化合物（尤其是丹酚酸 B）均具有较强的抗肿瘤、抗菌消炎、心脏保护等多种药理作用，临床上广泛应用于心脑血管疾病的治疗^[25-26]。丹参一般栽种在海拔较低的丘陵地带，野生丹参常见于草丛、林下、山坡及溪谷旁^[27]。其对环境的适应性较强，广泛的分布于我国华东、华中、华北、华南等地区，西北、西南的部分省区也有分布。四川、山东、陕西、河南是丹参栽培的传统道地产区，其中，四川中江所产丹参在各产区丹参中品质较佳，一直作为中药丹参出口的优质道地药材，大量出口于中国周边东南亚国家。

近年以来，由于丹参长期的只种不选导致栽培品种退化，质量下降，使得道地性丧失。另一方

面, 由于过度采挖, 导致野生资源遭到破坏, 而临
床需求量不断增大使得丹参资源日益紧缺、丹参
的药材市场混杂, 药材质量和数量难以保证, 严
重影响其疗效, 制约其产业发展。因此, 本研究以
采自四川中江、陕西商州(镇安、山阳)、山东蒙
阴(临朐、济阳、新泰、平邑)、河南伊川、山西
曲沃等丹参主要栽培区的丹参样品以及栽培区土
壤气候为研究对象, 利用 ISSR 和 SCoT 标记对不
同产区丹参进行遗传多样性评价, 并结合有效成
分、生态环境的分析, 明确影响丹参品质的主导
因子以及丹参种植的适宜环境, 以期对丹参的高
产稳产、优质及后续丹参扩大种植的产区选择提
供理论依据。

1 仪器与材料

T100 PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司)、GelDoc XR
凝胶成像系统(美国 Bio-Rad 公司)、DYY-7C 型电
泳仪(北京六一生物科技有限公司)、BCD-
532WDPT 型超低温冰箱(青岛海尔股份有限公司)、
LC-20A 型高效液相色谱(日本岛津公司)、CR22N
型高速冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司)、Thermo
Scientific™ iCAP™ PRO XP ICP-OES(美国 Thermo
Fisher 公司)等。本研究共采集 22 个丹参 *S.
miltiorrhiza* Bge. 居群, 每个居群随机选取 3 株植株
分别取适量幼嫩叶片, 用于丹参遗传关系的分析。
选择部分产地丹参为代表测定丹参有效成分, 同时
采集丹参根际土壤, 材料采集信息如表 1、2 所示。

表 1 不同丹参采集地信息
Table 1 Information table of different collecting places of *S. miltiorrhiza*

序号	居群编号	省份	居群采集地	生长状态	年限/年
1	SCZJ-1	四川	德阳市中江县瓦店乡	栽培	2
2	SCZJ-2	四川	德阳市中江县瓦店乡	栽培	2
3	SCZJ-3	四川	德阳市中江县杰兴乡	栽培	2
4	SCZJ-4	四川	德阳市中江县合兴乡	栽培	2
5	SCZJ-5	四川	德阳市中江县合兴乡	栽培	2
6	HNYC-1	河南	洛阳市伊川县平等乡	栽培	2
7	HNYC-2	河南	洛阳市伊川县平等乡	栽培	2
8	HNSX-Y	河南	洛阳市嵩县车村镇	野生	2
9	SXQW	山西	临汾市曲沃县北董乡	栽培	2
10	SDXT	山东	泰安市新泰县郝家峪	栽培	2
11	SDMY-1	山东	临沂市蒙阴县刘关庄	栽培	2
12	SDMY-2	山东	临沂市蒙阴县联城镇	栽培	2
13	SDLQ	山东	潍坊市临朐县辛寨镇	栽培	2
14	SDJN	山东	济南市济阳县郑家镇	栽培	2
15	SDPY	山东	临沂市平邑县羊城乡	栽培	2
16	SXSZ	陕西	商洛市商州区杨峪河镇	栽培	2
17	SXSY-Y	陕西	商洛市山阳县杨地镇	野生	2
18	SXZA-Y	陕西	商洛市镇安县高峰镇	野生	2
19	SXSN-Y	陕西	商洛市商南县金丝峡镇	野生	2
20	SXDF-Y	陕西	商洛市丹凤县竹林关镇	野生	2
21	SXSZ-Y	陕西	商洛市商州区三十里铺	野生	2
22	SXZS-Y	陕西	商洛市柞水县凤凰镇	野生	2

表 2 不同丹参产地土壤采集信息
Table 2 Soil collection information table of different
producing areas of *S. miltiorrhiza*

序号	居群编号	省份	居群采集地	生长状态
1	SCZJ	四川	德阳市中江县	栽培
2	HNYC	河南	洛阳市伊川县	栽培
3	SXQW	山西	临汾市曲沃县	栽培
4	SDXT	山东	泰安市新泰市	栽培
5	SDMY	山东	临沂市蒙阴县	栽培
6	SDLQ	山东	潍坊市临朐县	栽培
7	SDJN	山东	济南市济阳县	栽培
8	SDPY	山东	临沂市平邑县	栽培
9	SXSZ	陕西	商洛市商州区	栽培
10	SXSY-Y	陕西	商洛市山阳县	野生
11	SXZA-Y	陕西	商洛市镇安县	野生

2 方法

2.1 ISSR 和 SCoT 分子标记分析

使用植物 DNA 提取试剂盒(浙江兰博生物科技有
限公司)提取四川、山东、陕西、河南、山西 5 个省 22
个居群 66 份材料的 DNA。由擎科生物技术有限公司
合成 UBC 加拿大哥伦比亚大学设计的 ISSR 引物和
Collard & Mackill 开发的 36 条 SCoT 引物^[28-29]。2 种分
子标记的 PCR 反应体系均为 10 μL 2×Taq PCR Master
MIX II(北京天根生物科技有限公司)、引物 1 μL、模
版 DNA 1 μL、ddH₂O 补齐至总体积 20 μL。ISSR 标记

的 PCR 扩增步骤为: 94 °C 预变性 10 min, 39 个循环下 94 °C 变性 30 s, 48~59 °C 退火 1 min、72 °C 延伸 1 min, 最后再设置 72 °C 继续延伸 10 min。SCoT 标记的 PCR 扩增步骤为: 94 °C 预变性 5 min, 36 个循环下 94 °C 变性 30 s, 52.9~59.7 °C 退火 90 s、72 °C 延伸 1 min, 最后 72 °C 继续延伸 10 min。

2.2 丹酚酸和丹参酮类成分测定

按照《中国药典》2020 年版^[20]所规定的提取方法及色谱条件, 提取不同居群丹参中的丹参酮 I、丹参酮 II_A、隐丹参酮和丹酚酸 B, 并利用高效液相色谱法 (HPLC) 进行含量测定。

2.3 气象指标调查

在中国气象数据网 (<http://data.cma.cn>) 上查询极大风速、最低气压、最高气压、最高温度、平均气温、平均最高气温、平均气压、平均水气压、平均 2 min 风速、平均相对湿度、日降水量 ≥ 0.1 mm 日数、日照时数、最大风速、最大日降水量和最小相对湿度等 15 个气象指标。

2.4 土壤理化检测

参照《土壤分析技术规范》(第二版)^[30]中土壤样品的采集、处理与贮存, 采用五点取样法, 收集丹参种植土壤, 混合均匀, 自然风干, 过筛备用。并参照其中方法测定土壤有机质 (油浴加热重铬酸钾氧化-容量法)、颗粒组成 (比重计法)、阳离子交换量 (乙酸钙法)、全 N (凯氏蒸馏法)、全 P (氢氧化钠熔融-钼锑抗比色法)、全 K (原子吸收分光光度法)、水解 N (碱解扩散法)、有效 P (碳酸氢钠法)、速效 K (火

焰光度计测定法^[31]、全量铜、锰、锌、钠、钙、镁、硼、铝 (电感耦合等离子体原子发射光谱法)。

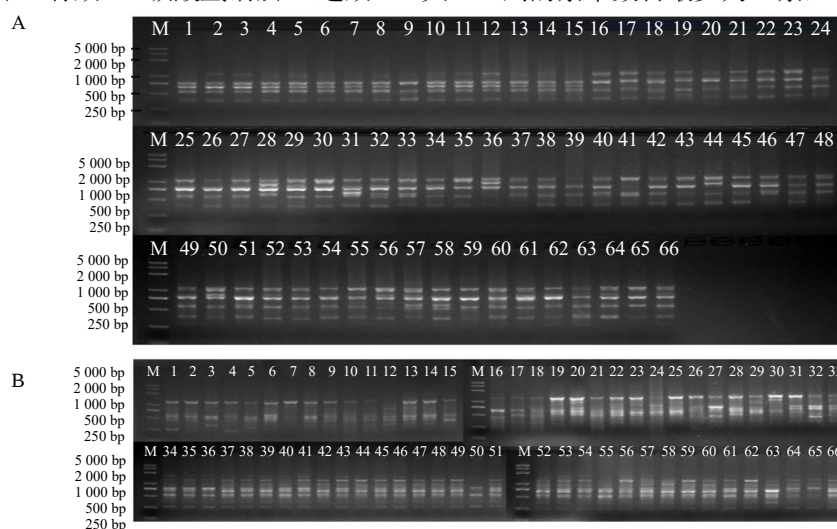
2.5 数据处理与分析

利用 Excel 2019、SPSS 19.0 进行数据的统计和分析, 本研究所有数据均保证 3 个生物重复和 3 个技术重复。对于扩增产物的电泳结果, 有条带的记为“1”, 无条带的记为“0”, 通过 Excel 2019 统计扩增位点总数 (total number of amplification bits, TB) 和多态性位点数 (number of polymorphic bits, PB)。采用非加权组算术平均法 (UPGMA) 进行聚类分析。使用 POPGENE 1.32 分析得到的存在/不存在数据矩阵, 计算等位基因数 (number of alleles, N_a)、有效等位基因数 (effective number of alleles, N_e)、Nei 氏基因多样性指数 (Nei's gene diversity index, H)、香农信息指数 (Shannon information index, I)、多态性百分比 (percentage of polymorphic bits, PPB) 等遗传参数。

3 结果与分析

3.1 ISSR 和 SCoT 标记多态性分析

本研究从 42 对 ISSR 引物中筛选出了 14 对扩增条带清晰, 多态性好、重复性好的引物, 用于后续 ISSR 多样性分析。共扩增出 140 条条带, 其中有 133 条多态性条带, PPB 达到 95%, 平均每对引物扩增得到 10 条条带。引物 UBC 808、UBC 823、UBC 825、UBC 834 扩增的条带数目最多, 有 12 条, 多态性条带也是 12 条, PPB 为 100%。引物 UBC 841 扩增得到的条带数目最少为 7 条, (图 1-A, 表 3)。



M-Maker; 编号顺序与表 1 材料一致 (22 个居群, 每个居群 3 个个体)。

M-Maker; The numbering sequence in the figure is consistent with the material in Table 1 (22 populations, three individuals per population).

图 1 不同居群丹参材料 ISSR (A) 和 SCoT (B) 扩增产物

Fig. 1 ISSR (A) and SCoT (B) amplified products of *S. miltiorrhiza* from different populations

表 3 ISSR 引物序列及扩增结果
Table 3 ISSR primer sequence and amplification results

引物	引物序列 (5'-3')	TB	PB	PPB/%	N_a	N_e	H	I
UBC 808	AGAGAGAGAGAGAGAGC	12	12	100.00	2.00	1.43	0.26	0.39
UBC 811	GAGAGAGAGAGAGAGAC	11	11	100.00	2.00	1.68	0.37	0.53
UBC 822	TCTCTCTCTCTCTCTCA	8	6	75.00	1.75	1.35	0.20	0.31
UBC 823	TCTCTCTCTCTCTCTCC	12	12	100.00	2.00	1.42	0.23	0.35
UBC 825	ACACACACACACACACT	12	12	100.00	2.00	1.19	0.14	0.26
UBC 826	ACACACACACACACACC	9	9	100.00	2.00	1.57	0.34	0.51
UBC 827	ACACACACACACACACG	9	7	77.78	1.78	1.40	0.25	0.38
UBC 834	AGAGAGAGAGAGAGAGYT	12	12	100.00	2.00	1.46	0.26	0.39
UBC 840	GAGAGAGAGAGAGAGAYT	9	9	100.00	2.00	1.43	0.26	0.40
UBC 841	GAGAGAGAGAGAGAGAYC	7	7	100.00	2.00	1.54	0.30	0.45
UBC 844	CTCTCTCTCTCTCTCTRC	9	9	100.00	2.00	1.27	0.18	0.29
UBC 855	ACACACACACACACACYT	10	8	80.00	1.80	1.33	0.20	0.32
UBC 856	ACACACACACACACACYA	10	9	90.00	1.90	1.25	0.17	0.27
UBC 880	GGAGAGGAGAGGAGA	10	10	100.00	2.00	1.40	0.24	0.38
总计		140	133	95.00				
平均值		10	9.5		1.95	1.41	0.24	0.37

利用 POPGENE 1.32 计算, 得到 N_a 、 N_e 、 H 和 I 。其中 UBC 811 的 N_e 、 H 、 I 各项指数最高, 分别为 1.68、0.37 和 0.53。UBC 825 的 N_e 、 H 、 I 各项指数最低, 分别为 1.19、0.14 和 0.26。 N_a 、 N_e 、 H 和 I 平均值分别为 1.95、1.41、0.24 和 0.37 (表 3)。

从 36 对 SCoT 引物中共筛选出 10 个扩增条带清晰、重复性好的引物, 用于扩增 22 个丹参居群 (66 个样本) 的 DNA。共扩增出 97 条条带, 其中 93 条为多

态性条带, 平均多态性率为 95.88% (图 1-B, 表 4)。SCOT28 引物的扩增条带数最低为 7 条, 多态性条带也是 7 条, PPB 为 100%。SCOT 3 引物的扩增条数最高 (14 条), 多态性率为 100%, 表明 SCoT 引物也具有较高的多态性和信息量。SCoT28 的 N_e 、 H 、 I 各项指数最高, 分别为 1.70、0.40 和 0.58。SCoT 14 的 N_e 、 H 、 I 各项指数最低, 分别为 1.33、0.19 和 0.31。 N_a 、 N_e 、 H 和 I 平均值分别为 1.96、1.51、0.30 和 0.45 (表 4)。

表 4 SCoT 引物序列及扩增结果
Table 4 SCoT primer sequence and amplification results

引物	引物序列 (5'-3')	TB	PB	PPB/%	N_a	N_e	H	I
SCoT 2	CAACAATGGCTACCACCC	12	12	100.00	2.00	1.52	0.31	0.46
SCoT 3	CAACAATGGCTACCACCG	14	14	100.00	2.00	1.46	0.29	0.45
SCoT 14	ACGACATGGCGACCACGC	8	8	100.00	2.00	1.33	0.19	0.31
SCoT 18	ACCATGGCTACCACCGCC	10	9	90.00	1.90	1.49	0.29	0.43
SCoT 21	ACGACATGGCGACCCACA	9	7	77.78	1.78	1.49	0.28	0.42
SCoT 22	AACCATGGCTACCACCAC	9	9	100.00	2.00	1.54	0.32	0.48
SCoT 28	CCATGGCTACCACCGCCA	7	7	100.00	2.00	1.70	0.40	0.58
SCoT 29	CCATGGCTACCACCGGCC	9	9	100.00	2.00	1.50	0.28	0.43
SCoT 31	CCATGGCTACCACCGCCT	11	10	90.91	1.91	1.53	0.31	0.47
SCoT 35	CATGGCTACCACCGCCC	8	8	100.00	2.00	1.58	0.33	0.48
总计		97	93	95.88				
平均值		9.7	9.3		1.96	1.51	0.30	0.45

3.2 不同居群丹参遗传多样性分析

结合 ISSR 和 SCoT 标记计算不同居群丹参的遗传多样性参数, N_a 范围 1.64~1.79, 平均值为 1.71, N_e 为 1.34~1.43, 平均值为 1.38. H 为 0.21~

0.26, 平均值为 0.23, I 为 0.31~0.37, 平均值为 0.35。其中, 山东产区各居群的杂合度较高, 遗传多样性较为丰富, 四川中江产区杂合度较低, 遗传多样性较低, 稳定性较强 (表 5)。

表 5 不同居群丹参遗传多样性参数

Table 5 Genetic diversity parameters of *S. miltiorrhiza* from different populations

居群编号	PB	PPB/%	N_a	N_e	H	I
SCZJ	130	64.04	1.64	1.34	0.21	0.31
HNYC	140	68.97	1.68	1.38	0.22	0.34
SXQW	149	73.40	1.73	1.41	0.23	0.36
SDXT	154	75.86	1.75	1.41	0.24	0.37
SDMY	142	69.95	1.69	1.43	0.26	0.37
SDLQ	156	76.85	1.76	1.39	0.25	0.36
SDJN	161	79.31	1.79	1.41	0.24	0.37
SDPY	150	73.89	1.73	1.38	0.24	0.35
SXSZ	140	68.97	1.68	1.37	0.23	0.34
SXSY-Y	130	64.04	1.64	1.34	0.22	0.31
SXZA-Y	144	70.94	1.71	1.37	0.22	0.34
平均值	145.09	71.47	1.71	1.38	0.23	0.35

3.3 不同丹参居群间遗传距离、PCA 及聚类分析

遗传距离是用来衡量居群之间亲缘关系的重要参数, 遗传距离越小, 代表居群间的亲缘关系越近。结合 ISSR 和 SCoT 标记, 计算了居群间的遗传距离, 如图 2-A 所示, 方格颜色越蓝代表 2 个居群间

的遗传距离越近, 越红则越远。来自四川中江的 5 个居群 (SCZJ-1、SCZJ-2、SCZJ-3、SCZJ-4、SCZJ-5) 互相之间表现出较近的遗传距离, 而其他居群间的遗传距离较远。PCA 分析和 UPGMA 聚类分析均表明 SCZJ-1、SCZJ-2、SCZJ-3、SCZJ-4、SCZJ-5 聚

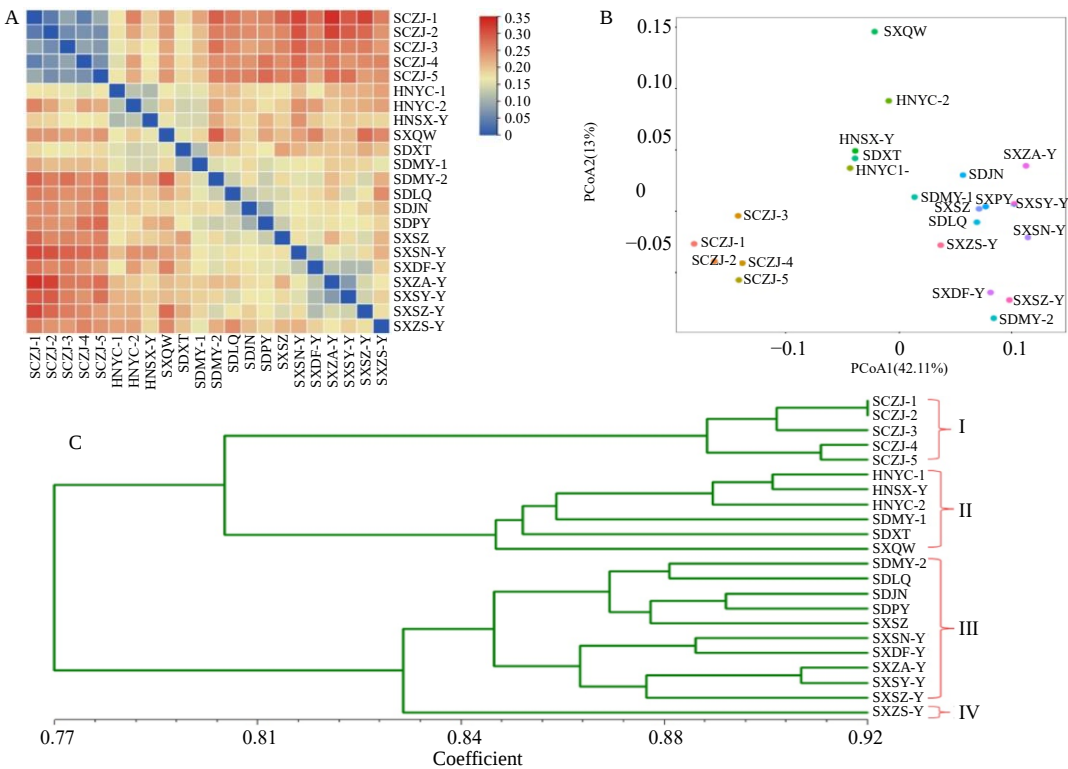


图 2 基于 ISSR 和 SCoT 标记的丹参居群遗传距离分析 (A)、PCA 分析 (B) 以及聚类分析 (C)

Fig. 2 Genetic distance analysis (A), PCA analysis (B) and cluster analysis (C) of *S. miltiorrhiza* populations based on ISSR and SCoT markers

到了一类，而山东产区的丹参居群混杂的聚到了河南、陕西产区的类群中（图 2-B、C）。总体说明四川中江各居群间的遗传稳定性较强，亲缘关系较近，而山东各居群的遗传变异性较大，亲缘关系混杂。

3.4 不同居群丹参有效成分含量测定

测定了不同产区丹参中丹酚酸 B、隐丹参酮、丹参酮I、丹参酮II_A和总丹参酮的含量。色谱图见图 3。各产地丹参的丹酚酸 B 含量均达到《中国药典》2020

年版要求，其中，四川中江（SCZJ）的丹酚酸 B 含量远高于药典规定的 3%，并且显著高于其他产区栽培丹参。陕西野生丹参（SXZA-Y、SXSX-Y）也具有较高丹酚酸 B 含量，具体结果见图 4。除了山西曲沃（SXQW）丹参酮总量未达到《中国药典》要求外，其他产地均达到《中国药典》的 0.25%。此外，2 个陕西野生丹参（SXZA-Y、SXSX-Y）的总丹参酮含量均未达到《中国药典》要求，且明显低于各产区栽培丹参。

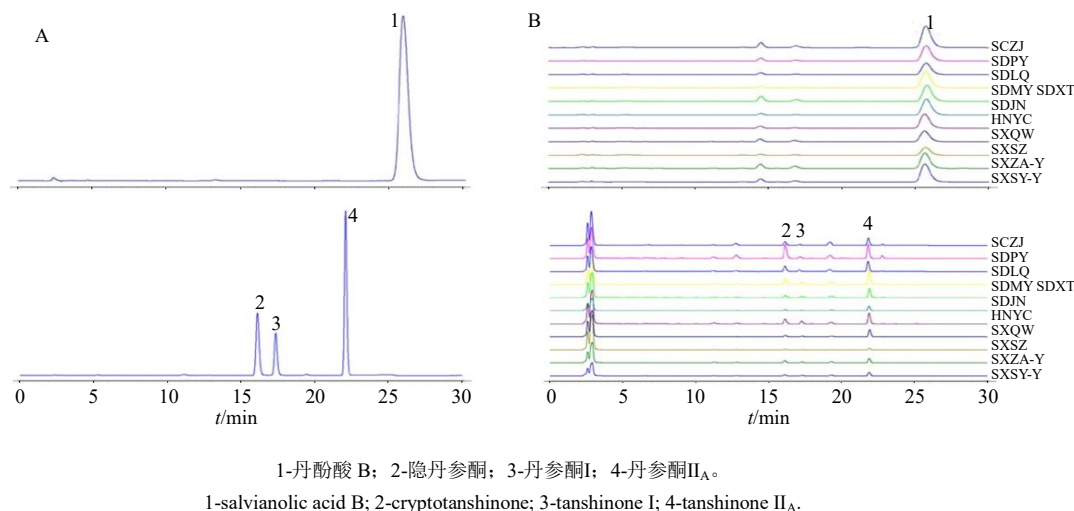
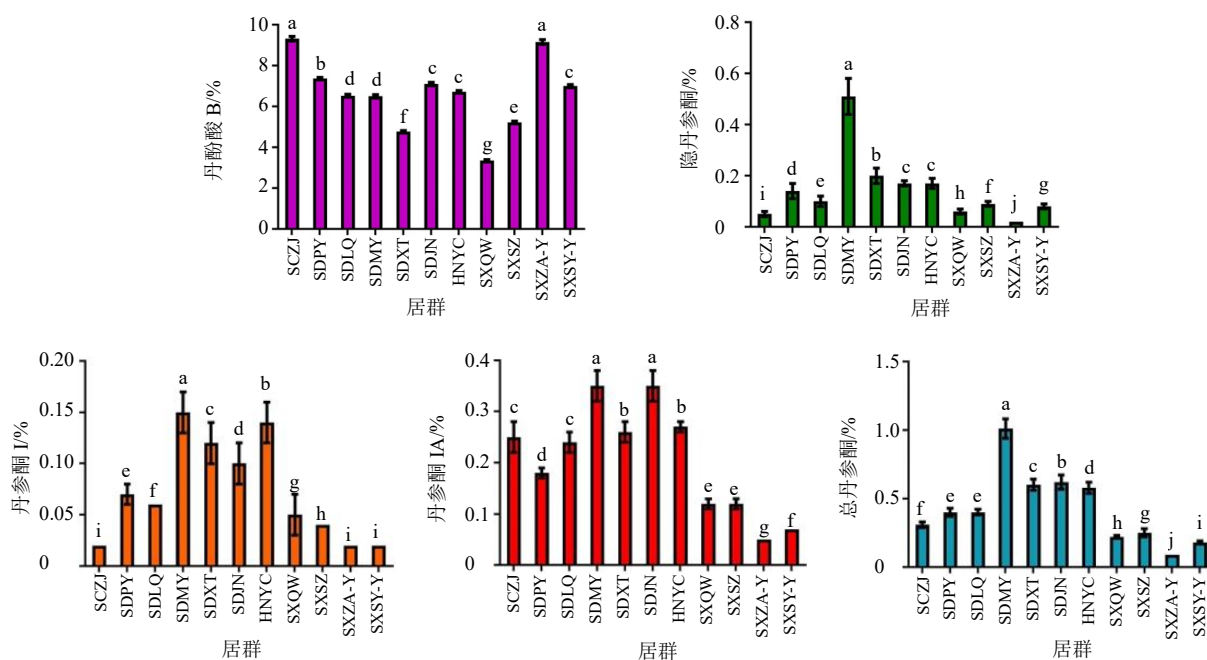


图 3 对照品 (A) 和不同居群样品 (B) 色谱图

Fig. 3 Chromatograms of reference substance (A) and samples from different populations (B)



不同字母表示差异显著, $P < 0.05$, 下同。

Different letters indicate significant differences, $P < 0.05$, same as below.

图 4 不同丹参居群的有效成分量

Fig. 4 Active ingredient contents of *S. miltiorrhiza* from different populations

山东蒙阴（SDMY）的隐丹参酮、丹参酮I以及总丹参酮含量均显著高于其他产区，并且，SDMY 和山东济南（SDJN）的丹参酮II_A 含量显著高于其他产区。此外，SCZJ、山东临朐（SDLQ）、山东新泰（SDXT）和河南伊川（HNYC）等产区也具有较高的丹参酮II_A 含量。总体而言，SCZJ 富含丹酚酸 B，山东产区丹参的丹参酮含量普遍较高，而 SXQW 的丹参酮类化合物和丹酚酸 B 均显著低于其他产区。

3.5 丹参产地气候资料收集与分析

丹参各产地间的多个气象因子均有明显差异，其中，平均相对湿度在 51.02%~80.91%，日降水量≥0.1 mm 的天数在 66~123 d，这 2 个气候因子均以四川中江最高，陕西商州次之，山西曲沃最低。最大日降水量 32.0~151.8 mm，年日照时数在 1 084.4~2 363.4 h，其中，四川中江和陕西商

州的日照时数明显低于其他几个产地。平均气温在 13.37~17.77 ℃，陕西商州最低，四川中江最高。平均最高气温（19.68~22.33 ℃）也是四川中江为最高，陕西商州为最低。山东产区最高气压、最低气压、平均气压、日照时数均高于其他产区，但其日降水量≥0.1 mm 日数低于其他产区。山西曲沃产区的降水量最少，相对湿度最低（表 6）。

3.6 丹参种植土壤理化性质分析

11 个不同的产地中有 6 个产地为壤质黏土，2 个产地为砂质壤土，2 个产地为黏壤土，1 个产地为砂质黏壤土。丹参种植土壤多为壤质黏土，没有过砂和过黏的土壤（表 7）。进一步对不同产地丹参种植土壤的 pH、有机质含量、阳离子交换量进行测定，结果显示 SXQW 丹参种植土壤 pH 最高（8.37），SDMY 丹参种植土壤 pH 最小（6.75），

表 6 不同产地气象资料数据

Table 6 Meteorological data of different producing areas								
编号	极大风速/(m·s ⁻¹)	最低气压/hPa	最高气压/hPa	最高气温/℃	平均气压/hPa	平均 2 min 风速/(m·s ⁻¹)	平均气温/℃	平均水汽压/hPa
SCZJ	18.8	953.1	994.0	38.5	972.44	1.41	17.77	17.74
HNYC	22.6	956.8	1004.4	38.6	977.97	3.12	15.29	12.44
SXQW	20.1	943.8	990.8	38.5	963.96	1.49	14.87	10.45
SDXT	21.9	979.9	1028.8	38.3	1 001.90	1.83	14.55	12.52
SDPY	22.9	977.6	1028.2	36.6	1 002.33	2.99	14.75	13.45
SDLQ	21.2	993.2	1041.6	36.6	1 014.6	1.98	14.23	12.63
SDJN	25.3	976.1	1024.3	37.2	996.64	2.46	15.37	12.01
SXSZ	18.3	912.1	952.1	36.7	930.80	2.00	13.37	11.74
SXZA-Y	15.9	916.9	957.3	36.9	936.22	1.44	14.15	13.38
编号	平均相对湿度/%	平均最高气温/℃	日降水量≥0.1mm 日数/d	日照时数/h	最大风速/(m·s ⁻¹)	最大日降水量/mm	最小相对湿度/%	
SCZJ	80.91	22.33	123	1 084.4	9.2	112.2	19	
HNYC	58.90	20.23	88	2 210.4	15.8	62.6	5	
SXQW	51.02	21.04	66	2 288.0	9.5	32.0	5	
SDXT	60.74	20.39	69	2 321.1	11.6	121.4	9	
SDPY	64.29	19.72	79	2 141.0	15.7	151.8	9	
SDLQ	62.38	19.78	76	2 330.3	9.6	120.1	10	
SDJN	54.43	20.43	76	2 363.4	13.5	113.8	9	
SXSZ	66.00	19.68	106	1 958.7	12.1	55.1	6	
SXZA-Y	73.02	21.33	116	1 903.3	10.7	53.5	9	

表 7 不同产地丹参种植土壤质地

Table 7 Planting soil texture of <i>S. miltiorrhiza</i> from different producing areas				
样品编号	2~0.02 mm 含量/%	0.02~0.002 mm 含量/%	<0.002 mm 含量/%	土壤质地
SCZJ	58.52±4.24	19.58±1.56	21.90±0.87	砂质黏壤土
SDJN	33.25±2.12	34.75±1.33	32.00±1.18	壤质黏土
SDMY	80.57±7.36	10.35±0.41	9.08±0.09	砂质壤土
SDXT	44.50±2.05	32.00±2.23	23.50±2.21	黏壤土
SDLQ	45.80±3.41	25.60±1.24	28.60±2.39	壤质黏土
SDPY	82.11±5.19	4.54±0.08	13.35±0.99	砂质壤土
SXQW	31.73±1.22	38.02±2.57	30.25±1.21	壤质黏土
HNYC	33.00±1.01	37.78±1.98	29.22±1.94	壤质黏土
SXSZ	31.75±1.17	38.75±2.07	30.50±2.11	壤质黏土
SXZA-Y	28.60±0.98	36.28±1.81	35.12±2.32	壤质黏土
SXSY-Y	45.24±1.29	29.82±1.53	24.94±1.67	黏壤土

不同产区土壤 pH 值介于 6.75~8.37 栽培产区丹参种植土壤 pH 值呈中性和弱碱性,由此可见,丹参在中性和微碱性的土壤中都可生长(图 5-A)。丹参种植土壤中有机质含量以 SDXT 最高,为 28.17 g/kg;以 SXZA-Y 最低,为 7.15 g/kg,除了 SDMY 和 SXZA-Y 偏低外,有机质含量大多为 10~20 g/kg(图 5-B)。土壤阳离子交换量是衡量

土壤肥力的指标和合理施肥的重要依据,本次研究表明不同采集地丹参种植土壤阳离子交换量均有显著性差异($P<0.05$)。其中 SXSY-Y 土壤阳离子交换量最高,为 20.482 cmol(+)/kg。除 SDXT 和 SDPY 2 个产地含量较低外,其他几个产地丹参种植土壤阳离子交换量均在 10~20 cmol(+)/kg(图 5-C)。

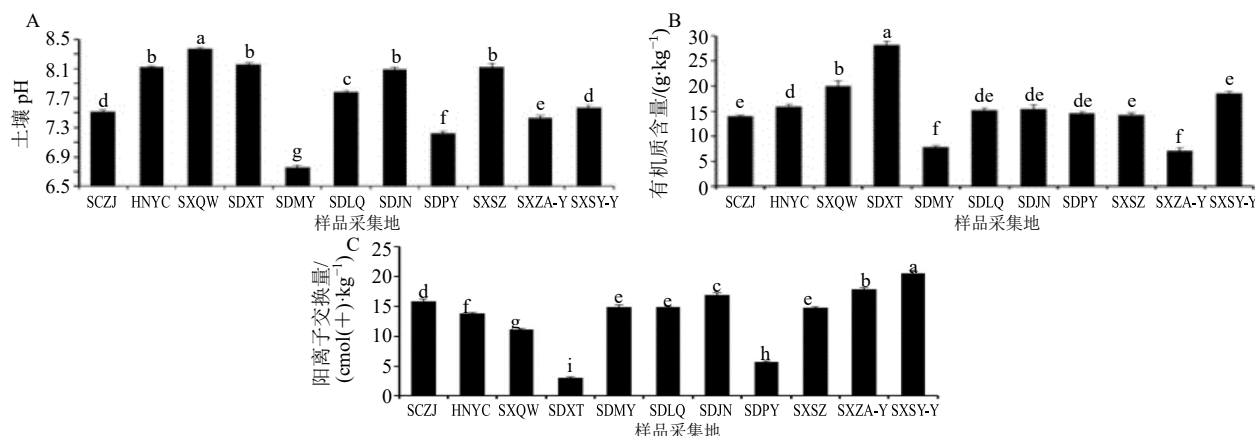


图 5 不同产地丹参种植土壤 pH (A)、有机质含量 (B) 及阳离子交换量 (C) 测定

Fig. 5 Determination of pH (A), organic matter content (B) and cation exchange capacity (C) in *S. miltiorrhiza* planting soil from different producing areas

3.7 不同产地丹参土壤中矿质元素分析

通过对丹参种植土壤速效 N、P、K 的研究发现,不同产地丹参种植土壤碱解 N 含量差别较大,含量在 3.80~66.85 mg/kg,其中, SXQW 土壤碱解 N 含量最低 (3.80 mg/kg), SCZJ 和 SDMY 2 个产地土壤碱解 N 含量较其他产地丰富。土壤速效 P 质量分数处于 27.61~63.29 mg/kg, 11 份土壤样品速效 P 含量均较丰富。土壤速效 K 研究结果表明, SXQW 土壤速效 K 量极高,达到 420.95 mg/kg。不同产地全 N 量在

1.00~4.97 g/kg 不等,全 P 量在 0.19~0.67 g/kg,全 K 量在 9.27~25.46 g/kg(表 8)。进一步对不同采集地丹参种植土壤中的微量元素进行测定,8 种无机元素中 Ca 的含量最高, Cu 的含量最低。各产地中 Na、Ca、B 和 Mg 元素的变化范围很大,这不仅与土壤的理化性质有关,而且与植物自生营养的吸收以及代谢产物的合成有关。道地产区 SCZJ 产地的丹参种植土壤中 Al、Mn、Ca、Mg 等无机元素含量明显低于其他大部分产地, B 含量高于其他产地(表 9)。

表 8 不同产地丹参种植土壤中大量元素的含量

Table 8 Contents of macroelements in planting soil of *S. miltiorrhiza* from different producing areas

样品编号	N/(g·kg ⁻¹)	P/(g·kg ⁻¹)	K/(g·kg ⁻¹)	碱解 N/(mg·kg ⁻¹)	速效 P/(mg·kg ⁻¹)	速效 K/(mg·kg ⁻¹)
SCZJ	1.59±0.04	0.51±0.03	10.22±0.22	66.85±2.12	15.48±0.31	87.62±3.26
SDPY	2.52±0.06	0.56±0.02	16.89±0.31	30.68±0.83	63.29±2.20	206.67±6.45
SDLQ	2.52±0.07	0.46±0.01	14.51±0.25	29.63±0.61	23.22±0.15	230.48±6.73
SDMY	1.00±0.04	0.67±0.02	9.27±0.22	62.07±1.51	22.31±0.21	63.81±1.86
SDXT	4.97±0.09	0.36±0.02	25.46±0.42	10.66±0.17	20.03±0.17	387.62±7.56
SDJN	2.64±0.05	0.64±0.03	13.24±0.17	21.05±0.29	18.67±0.18	173.33±6.73
HNYC	2.70±0.06	0.49±0.01	13.40±0.20	45.15±0.57	28.23±1.12	201.90±6.73
SXQW	2.61±0.03	0.56±0.02	20.70±0.33	3.80±0.06	36.42±1.20	420.95±7.96
SXSZ	2.05±0.07	0.59±0.01	16.10±0.26	33.02±0.32	48.72±1.32	282.86±7.20
SXZA-Y	1.35±0.02	0.19±0.01	14.67±0.25	55.42±1.22	17.76±0.29	182.86±5.87
SXSY-Y	2.40±0.04	0.51±0.03	17.05±0.38	49.12±1.05	33.69±1.08	311.43±7.12

表 9 不同产地丹参种植土壤中微量元素的含量

Table 9 Contents of microelements in planting soil of *S. miltiorrhiza* from different producing areas

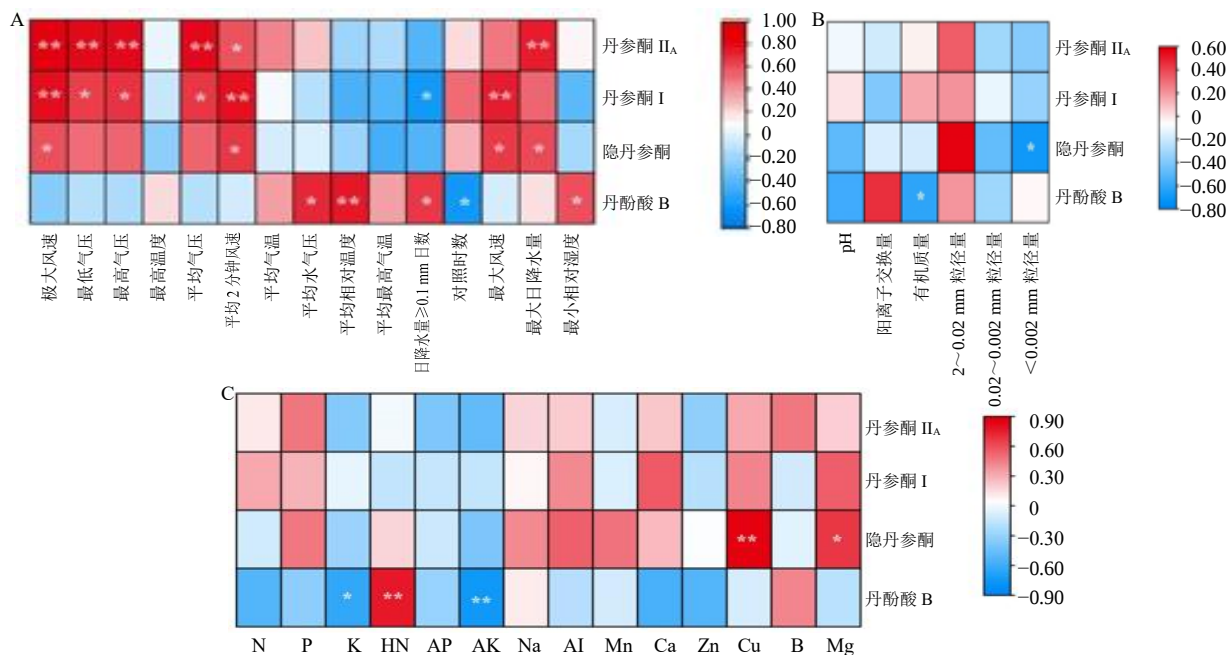
样品编号	Na/(mg·kg ⁻¹)	Al/(mg·kg ⁻¹)	Mn/(mg·kg ⁻¹)	Ca/(mg·kg ⁻¹)	Zn/(mg·kg ⁻¹)	Cu/(mg·kg ⁻¹)	B/(mg·kg ⁻¹)	Mg/(mg·kg ⁻¹)
SCZJ	6 026.9±97.5	4 344.2±108.3	318.08±10.52	842.25±19.65	57.49±1.02	7.68±0.06	1 716.64±25.29	736.67±16.89
SDPY	10 277.8±133.1	3 373.3±67.5	266.67±9.21	2 927.50±95.23	57.25±1.24	4.86±0.02	1 140.00±21.47	276.71±9.51
SDLQ	6 700.3±119.2	4 785.0±88.6	340.83±15.63	1 408.08±40.36	57.13±1.12	8.26±0.07	1 034.17±17.76	1 166.42±22.53
SDMY	8 720.5±120.4	10 423.3±201.3	802.00±24.81	13 614.17±365.56	96.52±2.85	41.56±0.89	870.58±9.96	4 463.72±82.69
SDXT	4 343.4±88.6	8 887.5±151.8	330.25±17.56	63 844.17±836.15	55.07±1.35	17.08±0.22	1 140.46±28.72	2 097.92±50.36
SDJN	5 858.6±90.2	8 388.3±126.3	393.42±12.62	6 925.83±312.50	85.12±2.28	9.23±0.42	1 576.75±34.28	1 217.33±25.78
HNYC	4 764.3±80.7	6 459.2±198.8	426.17±11.35	28 710.83±563.88	64.54±1.36	10.23±0.56	428.50±8.85	3 465.50±78.12
SXQW	5 816.5±69.8	7 135.0±185.2	455.32±9.88	15 693.33±434.26	127.83±3.68	9.13±0.08	669.38±20.88	1 730.83±33.65
SXSZ	5 984.8±77.6	6 192.5±195.6	453.83±12.02	17 355.83±222.54	110.88±2.85	8.68±0.05	615.33±10.05	1 606.42±36.58
SXZA-Y	4 932.7±59.5	8 695.0±188.4	412.08±9.61	1 459.25±18.65	77.99±1.75	11.52±0.18	892.42±12.65	1 850.50±28.54
SXSY-Y	5 690.2±66.3	6 860.8±153.8	803.33±21.75	4 845.83±132.24	91.23±2.31	19.08±0.28	596.17±7.69	2 764.17±42.76

3.8 环境因子与丹参有效成分相关性

丹参药材中的有效成分与气象因子之间呈现出不同程度的相关性，风速、气压等与丹参酮II_A、丹参酮I、隐丹参酮呈显著 ($P<0.05$) 或极显著正相关 ($P<0.01$)。日降水量 ≥ 0.1 mm 日数与丹参酮I含量呈显著负相关 ($P<0.05$)。平均水气压、平均相对湿度、日降水量 ≥ 0.1 mm 日数与丹酚酸 B 含量成显著 ($P<0.05$) 或极显著 ($P<0.01$) 正相关，日照时数与丹酚酸 B 含量成显著负相关 ($P<0.05$) (图 6-A)。同时，将土壤理化指标及矿质元素含量与丹

参有效成分进行相关性分析，发现隐丹参酮含量与土壤质地中 <0.002 mm 粒径含量显著性负相关 ($P<0.05$)，丹酚酸 B 含量与土壤有机质呈显著性负相关 ($P<0.05$) (图 6-B)。隐丹参酮含量与丹参种植土壤中的 Cu、Mg 元素含量呈极显著 ($P<0.01$) 正相关，丹酚酸类化合物中的丹酚酸 B 含量与碱解 N (HN) 含量呈极显著性正相关 ($P<0.01$)，与 K、速效 K (AK) 含量呈显著 ($P<0.05$) 或极显著负相关 ($P<0.01$) (图 6-C)。

综上所述，风速、气压以及土壤中 Cu、Mg 元



*表示显著相关 ($P<0.05$); **表示极显著相关 ($P<0.01$), 下图同。

*indicates a significant association ($P<0.05$); **indicates an extremely significant association ($P<0.01$), same as Figs below.

图 6 气候因子 (A)、土壤理化指标 (B)、土壤矿质元素含量 (C) 与丹参有效成分含量之间的相关性分析

Fig. 6 Correlation analysis of climate factor (A), soil physicochemical index (B), soil mineral element content (C) and active component contents of *S. miltiorrhiza*

素含量是促进丹参酮类成分积累的主要环境因子，气压、湿度、降水量、以及土壤中碱解 N 含量主要促进了丹酚酸 B 含量的积累。同样的，过多的降水，土壤粒径过小也会抑制丹参酮的积累。日照过长、土壤有机质含量或是钾离子含量过高则阻碍了丹酚酸 B 的积累。

3.9 遗传因子与环境因子、有效成分之间的相关性

平均水气压与 N_a 、 I 之间呈显著负相关，平均相对湿度与 N_a 显著负相关，与 N_e 和 I 极显著负相关。平均最高气温与 H 呈显著负相关，日降水量 ≥ 0.1 mm 日数与 N_a 和 H 显著负相关，与 N_e 和 I 极显著负相关。日照时数与 N_a 、 N_e 和 I 极显著正相关，与 H 显著正相关（图 7-A）。pH、阳离子交换量、

有机质含量以及土壤粒径含量等指标与遗传因子之间均不具有显著相关性（图 7-B）。土壤中的 N 与 H 呈显著正相关，而碱解氮（HN）与 H 呈显著负相关。Al 与 H 显著正相关，Ca 与 N_e 显著正相关，与 H 极显著正相关（图 7-C）。 I 与丹参酮 II_A 含量显著正相关，丹参酮 I 与 N_a 呈显著正相关，与 N_e 、 H 和 I 呈极显著正相关， I 与隐丹参酮含量显著正相关，而丹酚酸 B 含量与 H 和 I 显著负相关（图 7-D）。综上所述，水气压、湿度、气温、降水、日照等气候因子以及土壤中 N、Al 和 Ca 影响了丹参的遗传变异。不同居群丹参的遗传多样性越强可以促进丹参酮类成分的积累，而遗传稳定性越强则有助于丹酚酸 B 含量的积累。

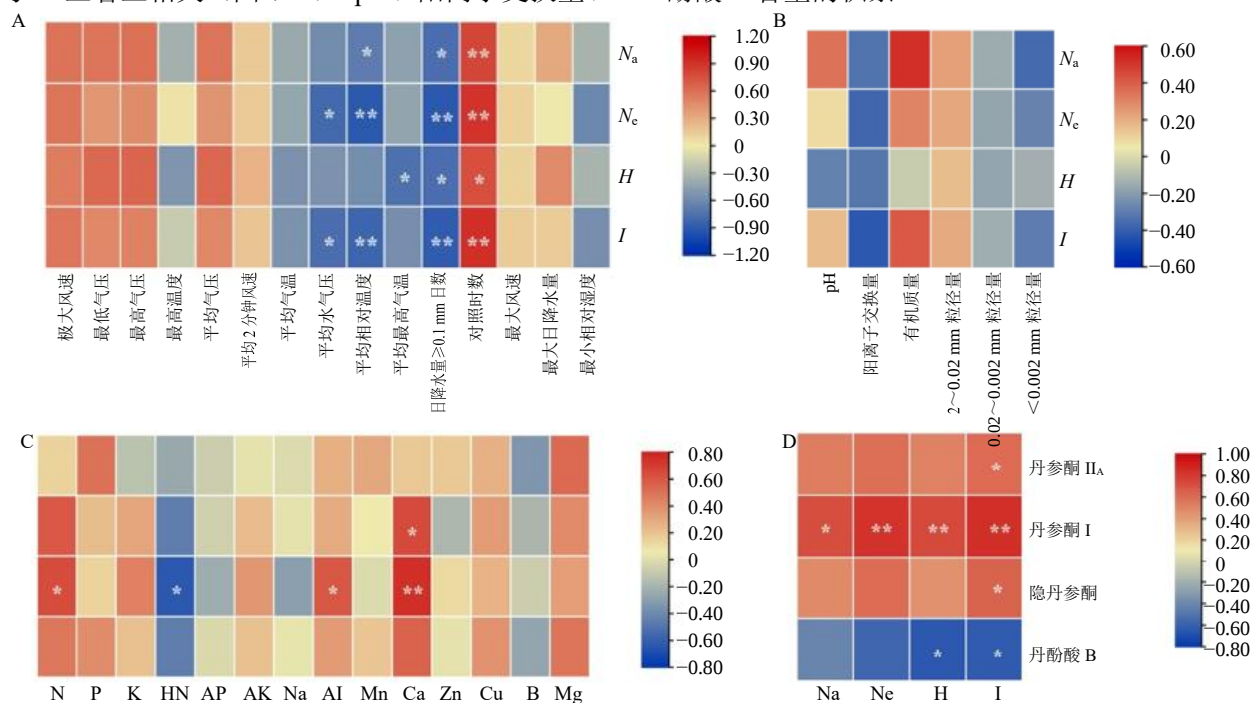


图 7 遗传因子与气候因子 (A)、土壤理化指标 (B)、矿质元素含量 (C)、有效成分 (D) 之间的相关性分析

Fig. 7 Correlation analysis of genetic factors and climatic factors (A), soil physicochemical index (B), mineral element content (C), active components (D)

4 讨论

ISSR 和 SCoT 标记由于引物设计具有随机性和通用性的特点，在以往多种药用植物的研究中均表现出高的多态性^[32-34]。本研究利用这 2 种标记对不同居群丹参遗传多样性进行分析，基于 PPB、 N_a 、 N_e 、 H 、 I 、 H_t 、 H_s 等指标发现 ISSR 和 SCoT 都具有丰富的多态性，说明了它们都是鉴别丹参亲缘关系的有力标记。结合 ISSR 和 SCoT 标记分析的不同居群丹参之间的遗传距离指数进行聚类分析，四川中江所有居群（SCZJ1~SCZJ5）单独聚到一类，在

DNA 水平和其他群体产生了较大的差异，是由于四川丹参花发育异常导致不结实，长期采取无性繁殖^[35-36]。这种繁殖方式加速了四川丹参的地理隔离进程，阻碍了与其他产区丹参之间的基因交流。而四川丹参表现出的色朱味浓、皮细而肥壮、丹酚酸 B 含量高等独特的性状，与其在基因型上与其他产区丹参的差异密切相关。但是，长期单一的无性繁殖方式会导致其种性退化，因此，想要促进四川丹参产业的可持续性发展，应加强对四川丹参的品种选育和资源保护。

温春秀等利用 AFLP 对几个丹参居群的遗传分化情况进行了研究,结果显示山东居群丹参的遗传多样性最丰富^[37]。本研究得到的分析结果与其一致,山东产区丹参居群分布在不同聚类组中,并且其遗传距离和地理分布没有直接的相关性,显示山东丹参遗传变异较大,这可能是由于山东丹参栽培主要靠种子繁殖,同时丹参在山东种植区域分布很广,人工选育和引种的手段也是导致其遗传变异大,种质资源混杂的原因之一^[38]。所以后续应加强山东丹参种植过程中的种子种苗选育过程,从而来保证其种质的稳定。

药材道地性的形成往往是生态环境与基因型相互作用的结果,不同产地之间的气候类型存在一定差异,或许是造就不同产区丹参遗传变异以及质量差异的重要原因。在本研究中,风速、气压与丹参酮类成分含量呈显著正相关,降水量 ≥ 0.1 mm 日数与丹参酮 I 含量呈显著负相关。可能是由于降水较少,植物易受到干旱胁迫,轻度的干旱胁迫能够促进丹参酮类成分的积累^[39],且降水量 ≥ 0.1 mm 日数与 N_a 、 N_e 、 H 、 I 等遗传因子均显著负相关,而这些遗传因子与丹参酮类有效成分呈显著正相关,说明降水过多会制约丹参的遗传多样性,将不利于丹参酮类成分积累。但相对湿度不足的情况下,降水量过低则导致重度干旱,同时也会抑制有效成分的积累,这可能是山西产区有效成分偏低的原因。本研究还发现,水气压、相对湿度和日降水量 ≥ 0.1 mm 日数与丹酚酸 B 含量呈显著正相关,日照时数与丹酚酸 B 含量呈显著负相关。已有研究表明,轻度的水分胁迫能显著提高丹酚酸 B 的含量,降低丹参酮的含量^[40]。丹参是喜光植物,一定的日照时数有利于有机物的合成积累,但过长的日照时数则会引起土壤水分的蒸发,抑制丹参根系生长,因此日照时数保证的情况下,较少的日照时数和充足的降水量有利于植物根系的生长,从而导致分布在整个根的丹酚酸 B 含量的积累^[41]。并且,水气压、相对湿度和日降水量 ≥ 0.1 mm 日数与 N_a 、 N_e 、 H 、 I 等遗传因子呈显著负相关,而这些遗传因子与丹酚酸 B 含量具有显著负相关关系。说明了这些气候因子可以增强丹参居群的遗传稳定性,从而促进丹酚酸 B 含量积累。总体而言,降水量、湿度和日照时数是影响丹参遗传变异和有效成分的主要气候因子,这与此前余彦鸽对野生丹参生态因子分析研究的结果相似^[31]。其中,降水量介导了丹酚酸 B 和丹参酮含

量积累的分流。因此,后期可根据当地的降水量、湿度和日照时数等条件判断是否适宜丹参种植。

除气候因素外,由于不同的土壤类型中土壤质地及理化性质差异会引起土壤水、热、养分、通透性的不同,从而影响到植物根系水分及养分吸收,最终也会对药用植物的生长发育和产量、质量造成一定影响^[42-43]。本研究中,土壤粒径 < 0.002 mm 以后将不利于隐丹参酮的积累。这可能与植物成分在根系的分布类型有一定关系,水溶性成分相对于脂溶性成分的分布在全根中比较均匀,脂溶性丹参酮主要都集中在表皮上,所以更易受到土壤质地的影响。土壤中矿质元素是影响药用植物生长发育及次生代谢物积累的生态因子^[44-46],中药材生长所需要的矿质元素主要有 N、P、K 等 10 多种^[47]。本研究发现,隐丹参酮含量与无机元素 Cu 和 Mg 含量呈显著正相关,Cu 和 Mg 是植物所需的微量元素,适量的 Cu 和 Mg 积累能促进药用植物中有效成分合成。丹酚酸 B 含量与碱解 N 呈显著性正相关,与 K、速效 K 呈显著负相关,碱解 N 含量与 H 遗传因子显著负相关,而 H 与丹酚酸 B 含量显著负相关,说明碱解 N 能促进丹参遗传稳定性,从而促进丹酚酸 B 积累。为了确保丹酚酸 B 的积累,在丹参栽培过程中,应当适当增加 N 肥,减少 K 肥的追施。

总体而言,探寻优良遗传基因,选育优良品种是保护丹参种质资源以及保证丹参产业可持续发展的重要手段。此外,选择适宜的气候土壤种植环境,合理施用肥料,也是改善丹参品质的有效方式。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 彭华胜,郝近大,黄璐琦. 道地药材形成要素的沿革与变迁 [J]. 中药材, 2015, 38(8): 1750-1755.
- [2] 肖小河,刘峰群,袁海龙,等. 中药 DNA 分子标识鉴定研究进展 [J]. 中草药, 2000, 31(8): 561-564.
- [3] 杨红兵,崔光红,詹亚华,等. 湖北恩施产厚朴 ISSR 指纹图谱构建 [J]. 中药材, 2009, 32(1): 19-22.
- [4] Zheng S H, Jiang X, Wu L B, et al. Chemical and genetic discrimination of *Cistanches Herba* based on UPLC-QTOF/MS and DNA barcoding [J]. *PLoS One*, 2014, 9(5): e98061.
- [5] 席培宇,刘颖,陈宏昊,等. 基于 β -AS 基因的甘草道地性形成机制研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(8): 153-158.
- [6] 刘颖,刘东吉,刘春生,等. 基于 HMGR、SQS1、 β -AS 基因 CNVs 的甘草道地性机制研究 [J]. 药学报, 2013, 34(12): 1750-1755.

- 2012, 47(2): 250-255.
- [7] Kumar A, Bisht Y, Rautela K, *et al.* Morphological and genetic diversity assessment of *Rheum australe* D. Don—A high value medicinal herb from the Himalaya, and implications for conservation strategies [J]. *S Afr N J Bot*, 2023, 163: 620-629.
- [8] Mousa M A A, Abo-Elyousr K A M, Ibrahim O H M. Evaluation of genetic variability within a collection of cumin genotypes using RAPD, ISSR, SRAP and SCoT markers and variability of *in vitro* callus induced therefrom [J]. *Horticulturae*, 2023, 9(7): 742.
- [9] Domyati F M, Younis R A A, Edris S, *et al.* Molecular markers associated with genetic diversity of some medicinal plants in Sinai[J]. *J Med Plants Res*, 2011, 5(2): 200-210.
- [10] Abd-Dada H, Bouda S, Khachtib Y, *et al.* Use of ISSR markers to assess the genetic diversity of an endemic plant of Morocco (*Euphorbia resinifera* O. Berg) [J]. *J Genet Eng Biotechnol*, 2023, 21(1): 91.
- [11] Tahseen S, Shahzad A, Wasi A. Direct organogenesis, physiochemical evaluation, chemical characterization and genetic uniformity analysis through SCoT marker in *Celastrus paniculatus* (Willd.): A medicinally important plant [J]. *Ind Crops Prod*, 2023, 206: 117664.
- [12] 高珞珞, 林锦锋, 徐万帮. 道地药材与广陈皮道地性研究进展 [J]. 中国中医药现代远程教育, 2023, 21(19): 198-200.
- [13] 王永炎, 张文生. 中药材道地性研究状况与趋势 [J]. 湖北民族学院学报: 医学版, 2006, 23(4): 1-4.
- [14] Liu J Y, Liu A L, Mao F Y, *et al.* Determination of the active ingredients and biopotency in *Polygala tenuifolia* Willd. and the ecological factors that influence them [J]. *Ind Crops Prod*, 2019, 134: 113-123.
- [15] Li L, Zheng S H, Brinckmann J A, *et al.* Chemical and genetic diversity of *Astragalus mongholicus* grown in different eco-climatic regions [J]. *PLoS One*, 2017, 12(9): e0184791.
- [16] 杨太新, 欧阳云燕, 郭玉海, 等. 栽培技术对道地药材祁菊产量和黄酮含量的影响 [J]. 中国中药杂志, 2005, 30(18): 1420-1423.
- [17] Wang S, Jiang D Q, Kang C Z, *et al.* Core position of secondary metabolism of medicinal plants in ecological planting of Chinese materia medica and its utilization [J]. *China J Chin Mater Med*, 2020, 45(9): 2002-2008.
- [18] 赵超, 郑伶俐, 胡亚刚, 等. 陕西道地药材连翘鲜品蒸煮工艺研究 [J]. 时珍国医国药, 2011, 22(2): 438-440.
- [19] 国家中药学管理局《中华本草》编委会. 中华本草: 精选本 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1998.
- [20] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 78.
- [21] Kishikawa N, Yamanouchi A, El-Maghrabey M H, *et al.* Determination of tanshinones in Danshen (*Salvia miltiorrhiza*) by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection after pre-column derivatisation [J]. *Phytochem Anal*, 2018, 29(1): 112-117.
- [22] Li P, Li S P, Yang F Q, *et al.* Simultaneous determination of four tanshinones in *Salvia miltiorrhiza* by pressurized liquid extraction and capillary electrochromatography [J]. *J Sep Sci*, 2007, 30(6): 900-905.
- [23] Ma P D, Liu J L, Zhang C L, *et al.* Regulation of water-soluble phenolic acid biosynthesis in *Salvia miltiorrhiza* Bunge [J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2013, 170(6): 1253-1262.
- [24] Ma L J, Zhang X Z, Guo H, *et al.* Determination of four water-soluble compounds in *Salvia miltiorrhiza* Bunge by high-performance liquid chromatography with a coulometric electrode array system [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2006, 833(2): 260-263.
- [25] 秦魏, 邢露, 杨智慧, 等. 丹参活性成分在抗动脉粥样硬化中的作用与机制研究进展 [J]. 陕西中医, 2021, 42(7): 977-979.
- [26] Jung I, Kim H, Moon S, *et al.* Overview of *Salvia miltiorrhiza* as a potential therapeutic agent for various diseases: An update on efficacy and mechanisms of action [J]. *Antioxidants*, 2020, 9(9): 857.
- [27] 范令刚, 李松涛, 孔青. 地形与土壤状况对丹参种植方式的影响 [J]. 齐鲁药事, 2011, 30(1): 3-4.
- [28] Kumar J, Agrawal V. Analysis of genetic diversity and population genetic structure in *Simarouba glauca* DC. (an important bio-energy crop) employing ISSR and SRAP markers [J]. *Ind Crops Prod*, 2017, 100: 198-207.
- [29] Collard B C Y, MacKill D J. Start codon targeted (SCoT) polymorphism: A simple, novel DNA marker technique for generating gene-targeted markers in plants [J]. *Plant Mol Biol Report*, 2009, 27(1): 86-93.
- [30] 杜森, 高祥照. 土壤分析技术规范 [M]. 第 2 版. 北京: 中国农业出版社, 2006: 26.
- [31] 余彦鸽. 野生丹参质量差异的生态因子分析研究 [D]. 杭州: 浙江理工大学, 2017.
- [32] Hassan F A S, Ismail I A, Mazrou R, *et al.* Applicability of inter-simple sequence repeat (ISSR), start codon targeted (SCoT) markers and *ITS2* gene sequencing for genetic diversity assessment in *Moringa oleifera* Lam [J]. *J Appl Res Med Aromat Plants*, 2020, 18: 100256.
- [33] Shekhawat J K, Rai M K, Shekhawat N S, *et al.* Start codon targeted (SCoT) polymorphism for evaluation of genetic diversity of wild population of *Maytenus emarginata* [J].

- Ind Crops Prod*, 2018, 122: 202-208.
- [34] Guan C F, Chachar S, Zhang P X, *et al.* Inter- and intra-specific genetic diversity in *Diospyros* using SCoT and IRAP markers [J]. *Hortic Plant J*, 2020, 6(2): 71-80.
- [35] Yu Y, Jiang Y Y, Wang L, *et al.* Comparative transcriptome analysis reveals key insights into male sterility in *Salvia miltiorrhiza* Bunge [J]. *Peer J*, 2021, 9: e11326.
- [36] Liao J Q, Zhang Z Z, Shang Y K, *et al.* Anatomy and comparative transcriptome reveal the mechanism of male sterility in *Salvia miltiorrhiza* [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(12): 10259.
- [37] 温春秀, 吴志明, 田伟, 等. 丹参种质资源遗传多样性的 AFLP 分析 [J]. 华北农学报, 2007, 22(S2): 122-125.
- [38] 王志芬, 刘喜民. 山东省丹参药材产业现状与发展策略 [J]. 山东农业科学, 2012, 44(8): 131-132.
- [39] 刘大会, 郭兰萍, 黄璐琦, 等. 土壤水分含量对丹参幼苗生长及有效成分的影响 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36(3): 321-325.
- [40] Liu H Y, Wang X D, Wang D H, *et al.* Effect of drought stress on growth and accumulation of active constituents in *Salvia miltiorrhiza* Bunge [J]. *Ind Crops Prod*, 2011, 33(1): 84-88.
- [41] 李倩, 梁宗锁, 董娟娥, 等. 丹参品质与主导气候因子的灰色关联度分析 [J]. 生态学报, 2010, 30(10): 2569-2575.
- [42] 夏贵菊, 何彤慧, 赵永全, 等. 不同土壤类型对芦苇生长及光合特征的影响 [J]. 西北植物学报, 2014, 34(6): 1252-1258.
- [43] Li Y Q, Kong D X, Fu Y, *et al.* The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2020, 148: 80-89.
- [44] 王升, 赵曼茜, 郭兰萍, 等. 不同产地黄芩中无机元素含量及其与根际土壤无机元素的关系 [J]. 生态学报, 2014, 34(16): 4734-4745.
- [45] Zhang C H, Li Q Q, Zhang M X, *et al.* Effects of rare earth elements on growth and metabolism of medicinal plants [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2013, 3(1): 20-24.
- [46] 孙雨默, 程林, 韩梅, 等. 不同产地桔梗皂苷生物合成与土壤元素关系的研究 [J]. 中草药, 2022, 53(15): 4844-4852.
- [47] 刘岩, 李连泰, 计小清, 等. 土壤中无机元素对不同产地黄芩中无机元素和黄芩苷量的影响 [J]. 中草药, 2017, 48(6): 1225-1228.

[责任编辑 时圣明]