

基于叶绿体基因组 SSR 分子标记开发鉴定 5 种生态型天麻

胡艺镭¹, 李胜男¹, 徐 娇^{1,2}, 周 涛^{1,2}, 江维克¹, 欧小宏^{1,2*}

1. 贵州中医药大学 中药民族药资源研究院, 贵州 贵阳 550025

2. 贵州省道地药材种质创新与资源高效利用全省重点实验室, 贵州 贵阳 550025

摘 要: **目的** 建立不同生态型天麻 *Gastrodia elata* 叶绿体 SSR (chloroplast SSR, cpSSR) 分子标记鉴定方法, 为天麻分子标记辅助育种提供理论依据。**方法** 利用天麻叶绿体基因组序列获取 cpSSR 位点, 分析比较位点特征并筛选多态性 cpSSR, 通过聚类分析、主成分分析和遗传结构分析对不同生态型天麻遗传多样性进行分析与鉴定。**结果** 天麻叶绿体基因组中筛选到 166 个 cpSSR 位点, 其中单核苷酸为主要类型, A/T 重复基序占比最高。筛选得到 6 对 cpSSR, 共扩增出 18 个条带, 等位基因平均数 (number of allele, N_a)、有效等位基因数目 (effective number of alleles, N_e)、Shannon 多样性指数 (Shannon index, I)、多态性信息含量指数 (polymorphism information content, PIC) 分别为 3、2.084 5、0.511 0、0.511 0, 表明 cpSSR 多态性较高。通过聚类分析、主成分分析和遗传结构分析均可将不同生态型天麻分为 2 个类群, 其中乌天麻、绿天麻和血红天麻为一类, 红天麻和黄天麻为一类。进一步根据 CH15 和 CH20 2 对 cpSSR 的电泳特异性条带, 可以将血红天麻、乌天麻、绿天麻、红天麻和黄天麻进行准确的鉴定。**结论** 利用 CH15 和 CH20 两对 cpSSR 鉴定不同生态型天麻具有效率高、适应性广的优点, 对天麻种质鉴定具有重要意义。

关键词: 天麻; 生态型; cpSSR; 遗传多样性; 鉴定

中图分类号: R286.12 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)05-1747-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.05.023

Identification of five ecotypes of *Gastrodia elata* based on chloroplast genome SSR molecular marker

HU Yipu¹, LI Shengnan¹, XU Jiao^{1,2}, ZHOU Tao^{1,2}, JIANG Weike¹, OU Xiaohong^{1,2}

1. Resource Institute for Chinese & Ethnic Materia Medica, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China

2. Guizhou Key Laboratory for Germplasm Innovation and Resource-Efficient Utilization of Dao-di Herbs, Guiyang 550025, China

Abstract: Objective To establish a chloroplast SSR (cpSSR) molecular marker method for identifying different ecotypes of *Gastrodia elata*, so as to provide a theoretical foundation for molecular marker-assisted breeding of *G. elata*. **Methods** The cpSSR loci were identified from the chloroplast genome sequence of *G. elata*, followed by the analysis and screening polymorphic cpSSRs. Cluster analysis, principal component, and genetic structure were used to compare and identify the genetic diversity of different ecotypes of *G. elata*. **Results** The chloroplast genome of *G. elata* contained 166 cpSSR loci, with mononucleotide being the most common and A/T repeats motifs being the most frequent. Six pairs cpSSR were selected, which were amplified 18 bands in total. The average number of allele (N_a), effective number of allele (N_e), Shannon index (I), and polymorphism information content (PIC) were 3, 2.084 5, 0.511 0, and 0.511 0, respectively, that indicating high polymorphism in the selected cpSSRs. Genetic diversity analyses, including clustering, principal component analysis, and genetic structure analysis, successfully grouped the *G. elata* ecotypes into two clusters. One group included the forms of *G. elata* Bl. f. glauca S. Chow, *G. elata* Bl. f. viridis Makino, and dark red *G. elata* Bl., the other one group included *G. elata* Bl. f. elata and *G. elata* Bl. f. flavida S. Chow. Using the cpSSR markers CH15 and CH20, these five *G. elata* forms could be distinguished by specific bands. **Conclusion** The cpSSR method utilizing CH15 and CH20 for *G. elata* ecotype identification is efficient and adaptable, which provides a useful tool for germplasm identification of *G. elata*.

Key words: *Gastrodia elata* Bl.; ecotypes; cpSSR; genetic diversity; identification

收稿日期: 2024-09-02

基金项目: 国家重点研发计划 (2023YFC3503803); 中央本级重大增减支项目 (2060302); 贵科合学术新苗[2023]-45

作者简介: 胡艺镭 (1999—), 女, 贵州水城人, 在读硕士研究生, 主要从事中药材分子生理研究。

E-mail: 3181059488@qq.com

*通信作者: 欧小宏 (1986—), 男, 重庆大足人, 博士, 讲师, 主要从事药用植物栽培技术研究工作。

E-mail: ogh1986@163.com

天麻来源于兰科植物天麻 *Gastrodia elata* Bl. 的干燥块茎, 具有息风止痉、平抑肝阳、祛风通络的功效^[1], 现代研究表明, 天麻具有镇痛、镇静、安眠、抗惊厥、降压等药理作用, 在临床上可用于头痛晕眩、小儿惊风、癫痫等^[2]。目前天麻来源于人工栽培, 主要是乌天麻 *G. elata* Bl. f. *glauca* S. Chow、绿天麻 *G. elata* Bl. f. *viridis* Makino、红天麻 *G. elata* Bl. f. *elata* S. Chow、黄天麻 *G. elata* Bl. f. *flavida* S. Chow^[3], 以及近年来因其茎色呈血红色且在云贵地区种植的血红天麻^[4]。乌天麻、绿天麻和血红天麻块茎外观形态相似, 具有块茎含水量低、折干率高、干品品质好等特点, 适宜种植在海拔 1 000 m 以上的地区; 黄天麻和红天麻块茎在外观结构上相似, 具有含水量高、折干率低、产量高、适应性广等特点, 适宜在全国大部分地区种植^[5]。随着市场的需求增加, 天麻种植范围和面积越来越大, 造成了天麻市场种质混乱、药材质量参差不齐等问题。由于传统的天麻市场采用辩状论质的方法鉴别不同生态型天麻, 只有等到天麻抽薹后才能准确区分不同生态型, 严重制约了天麻的市场规范。因此, 建立一种准确、快速鉴定不同生态型天麻的方法, 对规范天麻药材市场、保障药材质量和良种繁育, 具有重要的意义。

分子标记是一种可靠的遗传分析方法, 在 DNA 水平揭示植物的遗传和变异。简单重复序列 (Simple sequence repeats, SSR) 分子标记具有重复性好、多

态性高及稳定性强等特点, 是育种研究中重要的遗传标记方法之一^[6], 在种质资源评价和鉴定、种群遗传多样性分析、分子标记辅助育种等领域广泛使用^[7]。叶绿体 SSR (chloroplast SSR, cpSSR) 分子标记作为 SSR 分子标记的一种, 除了具有 SSR 分子标记的多态性高、操作简单、共显性等优点, 相比于其他 SSR 分子标记还有基因组小、结构简单具有保守性和非编码区进化速度快等特点^[8]。因此, 利用 cpSSR 准确鉴定物种具有明显的优势, 目前已在山药^[9]、丹参^[10]等药用植物遗传多样性分析和资源鉴定中广泛使用。虽然天麻 SSR 分子标记已有研究, 但大多数是利用全基因组或转录组^[11-12], 而利用叶绿体基因组设计开发 SSR 却鲜见报道。

因此, 本研究利用天麻叶绿体基因组开发 cpSSR 分子标记, 以收集得到的不同生态型天麻为材料, 筛选多态性引物, 通过遗传多样性和结构分析特异鉴定位点, 建立不同生态型天麻特异性 PCR 鉴别方法, 以期为天麻种质资源的发掘与利用、优良品种选育、鉴定提供理论指导。

1 材料与仪器

从贵州、云南、湖北、安徽等不同产地地收集 44 份不同生态型天麻, 由贵州中医药大学江维克教授鉴定为血红天麻 *G. elata* Bl., 乌天麻 *G. elata* Bl. f. *glauca* S. Chow、绿天麻 *G. elata* Bl. f. *viridis* Makino、红天麻 *G. elata* Bl. f. *elata* S. Chow、黄天麻 *G. elata* Bl. f. *flavida* S. Chow, 样品信息见表 1。

表 1 样品信息

Table 1 Information of sample

样品编号	天麻类型	采集地点	样品编号	天麻类型	采集地点
1	血红天麻	贵州省毕节市七星关区	23	绿天麻	贵州省毕节市七星关区
2	血红天麻	贵州省毕节市七星关区	24	绿天麻	贵州省毕节市大方县
3	血红天麻	贵州省毕节市七星关区	25	绿天麻	贵州省毕节市大方县
4	血红天麻	贵州省毕节市七星关区	26	绿天麻	云南省昭通市彝良县
5	血红天麻	贵州省毕节市七星关区	27	绿天麻	云南省昭通市彝良县
6	血红天麻	贵州省毕节市七星关区	28	绿天麻	云南省昭通市彝良县
7	血红天麻	贵州省毕节市大方县	29	绿天麻	西藏自治区林芝市波密县
8	血红天麻	贵州省毕节市大方县	30	红天麻	安徽省六安市金寨县
9	乌天麻	贵州省毕节市七星关区	31	红天麻	安徽省六安市金寨县
10	乌天麻	贵州省毕节市七星关区	32	红天麻	云南省曲靖市会泽县
11	乌天麻	贵州省毕节市七星关区	33	红天麻	云南省曲靖市会泽县
12	乌天麻	贵州省毕节市七星关区	34	红天麻	陕西省汉中市宁强县
13	乌天麻	贵州省毕节市大方县	35	红天麻	陕西省汉中市宁强县
14	乌天麻	贵州省毕节市大方县	36	红天麻	陕西省汉中市勉县
15	乌天麻	云南省昭通市彝良县	37	红天麻	陕西省汉中市勉县
16	乌天麻	云南省昭通市彝良县	38	红天麻	贵州省铜仁市德江县
17	乌天麻	湖北省宜昌市五峰县	39	红天麻	贵州省铜仁市德江县
18	乌天麻	湖北省宜昌市五峰县	40	红天麻	贵州省毕节市七星关区
19	乌天麻	湖北省宜昌市五峰县	41	红天麻	贵州省毕节市七星关区
20	乌天麻	西藏自治区林芝市波密县	42	黄天麻	陕西省汉中市宁强县
21	乌天麻	西藏自治区林芝市波密县	43	黄天麻	陕西省汉中市宁强县
22	绿天麻	贵州省毕节市七星关区	44	黄天麻	陕西省汉中市宁强县

DYY-6C 型电泳仪 (北京市六合一仪器厂); NanoDrop 2000 (美国 Thermo Scientific 公司); PCR 扩增仪 (美国 BioRad 公司)。

2 方法

2.1 DNA 提取

采用改良的 CTAB 法提取天麻基因组 DNA^[13], 通过 0.8% 琼脂糖凝胶电泳和 NanoDrop 2000 (美国 Thermo Scientific) 对 DNA 完整性和浓度进行检测后, 稀释至 20~30 ng/μL, -20 °C 保存, 备用。

2.2 cpSSR 引物筛选

通过 CGIR 叶绿体基因组数据库 (<https://ngdc.cncb.ac.cn/cgir/>)^[14], 下载天麻叶绿体基因组 SSR 位点及 SSR 引物信息, 随机筛选完全型和复合型 SSR, 选择长度为 15~30 bp, GC 含量 40%~60%, 溶解温度 (melting temperature, T_m) 值 55~65 °C 的 SSR 引物 60 对, 引物由武汉金开瑞生物工程有限公司合成, 通过 PCR 扩增仪进行 SSR-PCR 扩增对合成的引物进行筛选, PCR 反应体系: PCR 反应体系 20 μL, 10×PCR Buffer 2 μL, dNTP Mixture 0.6 μL, EasyTaq DNA 聚合酶 0.1 μL, 引物各 0.4 μL (浓度为 10 μmol/L), DNA 模板 2 μL, ddH₂O 补齐; PCR 扩增程序为: 95 °C 预变性 5 min; 33 个循环 (95 °C 变性 30 s, 58 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 45 s); 72 °C 延伸 5 min。

2.3 聚丙烯酰胺凝胶电泳结果统计

PCR 产物通过 8% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳,

电压 380 V, 2 h 后染显影, 采集图像, 将 SSR 扩增谱带信息以数字方式呈现, 根据分离谱带的相对位置, 有条带计为 “1”, 无条带计为 “0”, 形成 0/1 矩阵。

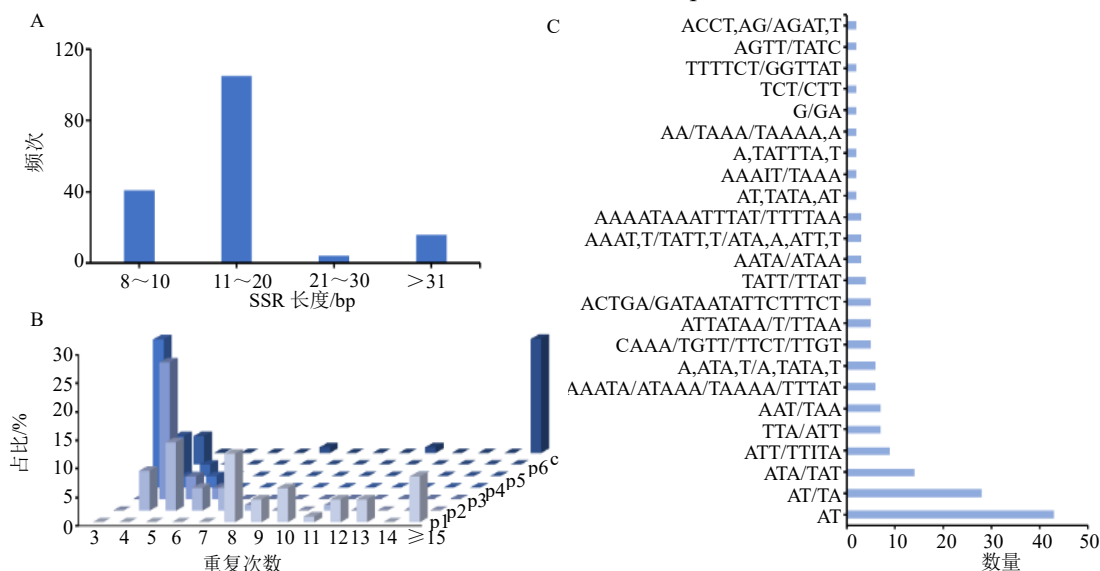
2.4 数据统计分析

参照邓绍勇等^[15]利用 POPGENE 32 软件, 计算观察等位基因平均数 (number of allele, N_a)、有效等位基因数目 (effective number of alleles, N_e)、Shannon 多样性指数 (Shannon index, I) 等。参照 Mahfooz 等^[16]计算多态性信息含量指数 (polymorphism information content, PIC)。参照 Ribeiro 等^[17]利用 NTSYS 12.0 软件计算遗传相关系数、遗传距离, 非加权平均法对样本进行 UPGMA 聚类分析, 绘制树状聚类图。基于 GenAIEx 6.5 软件^[18]获得主坐标分析 (principal coordinate analysis, PCoA) 图。采用 Structure 2.3.4^[19]的贝叶斯聚类方法对群体的遗传结构进行分析。

3 结果与分析

3.1 天麻叶绿体基因组 SSR 基序比较分析

在天麻叶绿体基因组中共筛选得到 166 个 SSR 位点。其中, 长度为 11~20 bp 的 SSR 占比最高, 为 63.25%; 长度为 8~10 bp、21~30 bp 以及大于 31 bp 的 SSR 分别占 24.70%、2.40%、9.63% (图 1-A)。SSR 类型包括 7 种, 单核苷酸重复基序 (p1) 所占比例最高, 为 23.49%; 二核苷酸 (p2)、三核苷酸 (p3)、四核苷酸 (p4)、五核苷酸 (p5)、六核苷酸 (p6) 与复合型核苷酸重复基序 (c), 分别为



A-SSR 的长度; B-SSR 基序类型及其重复次数; C-SSR 重复基序信息。

A-SSR length; B-SSR motif type and replicate number; C-SSR repeat motif.

图 1 cpSSR 基序特征分析

Fig. 1 Feature analysis of cpSSR motifs

17.47%、18.07%、18.07%、6.63%、3.01%和 13.25%。
p1 和 c 类型 SSR 的基序重复次数全部大于 7 次，
而 p2~p6 类型 SSR 的基序重复次数全部小于 8 次
(图 1-B)。在天麻叶绿体基因组 SSR 重复基序以
A、T 碱基为主，在所有 59 种重复基序中，占比较
高的 8 种重复基序均由 A、T 碱基组成。其中，占
比最高的是 A/T 基序，为 25.90%；其次是 AT/TA，
占比 16.87%；ATA/TAT、ATTT/TTTA、TTA/ATT 和
AAT/TAA，分别占比 8.43%、5.42%、4.21%和 4.21%

(图 1-C)。上述结果，说明天麻叶绿体基因组 SSR
位点较少，以中短长度、单核苷酸重复类型和 A/T
碱基基序为主。

3.2 SSR 引物多态性分析

将筛选得到 60 对引物分别进行 SSR-PCR 扩增，
聚丙烯酰胺凝胶电泳检测得到多态性高、条带清晰、
重复性好的 SSR 分子标记 6 对，包括以 A、T 碱基
组合变异的复合型核苷酸 SSR 标记 5 对和重复基
序为 T 碱基的单核苷酸 SSR 分子标记 1 对(表 2)。

表 2 SSR 引物信息

Table 2 Primers information of SSR markers

引物	重复类型	引物序列 (5'→3')	重复单元	退火温度/℃	预期产物大小/bp
CH9	c	F:ATTGAAGAAGGGAATCATTTTATGT R:ACGAATTAATCAATCTAGGTTAAAGGC	ATAA, ATTT, T	57.7	240
CH15	c	F:ACATGTGTTAAGCATGCCGC R:GGGTATCCCGGTGGTGTA	AT, TA	58.7	199
CH17	c	F:GTCTCCGTCCTCATTCACA R:ACATCCTCTTATGGACGTTGATTGA	A, TAT	59.9	112
CH20	c	F:ACCTATGCCTAAGATACCAGGGA R:AGCCCAATATAAGGTCGCGG	AAAT, T	59.9	277
CH32	c	F:TCTCATACGGCTCCTCACGA R:AAGGACGATATTCGCCTGCG	TA, AT	60.3	179
CH44	p1	F:ACCCAAAAAGGTTGATGCAAA R:AGGGAAAAGATTGCGGTAGGG	T	58.5	204

进一步利用筛选到的 6 对 SSR 分子标记引物，
对 44 份天麻进行遗传多样性分析，共检测出等位基
因 18 个， N_a 为 2~4 个，平均为 3 个； N_e 为 1.816 1~
2.652 1 个，平均为 2.084 5 个； I 为 0.641 6~1.064 4，
平均为 0.836 7； Nei 's 基因多样性指数 (H) 为
0.449 4~0.629 9，平均为 0.511 0； PIC 值为
0.449 4~0.622 9，平均为 0.511 0 (表 3)。上述结果
说明，筛选得到的 6 对 SSR 引物具有较高的多态性。

3.3 不同生态型天麻聚类与主成分分析

利用 NTSYS 12.0 软件进行 UPGMA 遗传距离
聚类分析，当遗传系数为 0.33 时，可以将 44 份天
麻分为 2 类，第 I 类包括乌天麻、绿天麻和血红天麻，
第 II 类包含红天麻和黄花天麻；当遗传系数为 0.878 时，
第 I 类中出现 4 个分支，绿天麻、乌天麻、血红天
麻聚为不同分支但没有明显的地理分化；第 II 类出
现 5 个分支，黄花天麻能够聚为一个分支，而红天麻

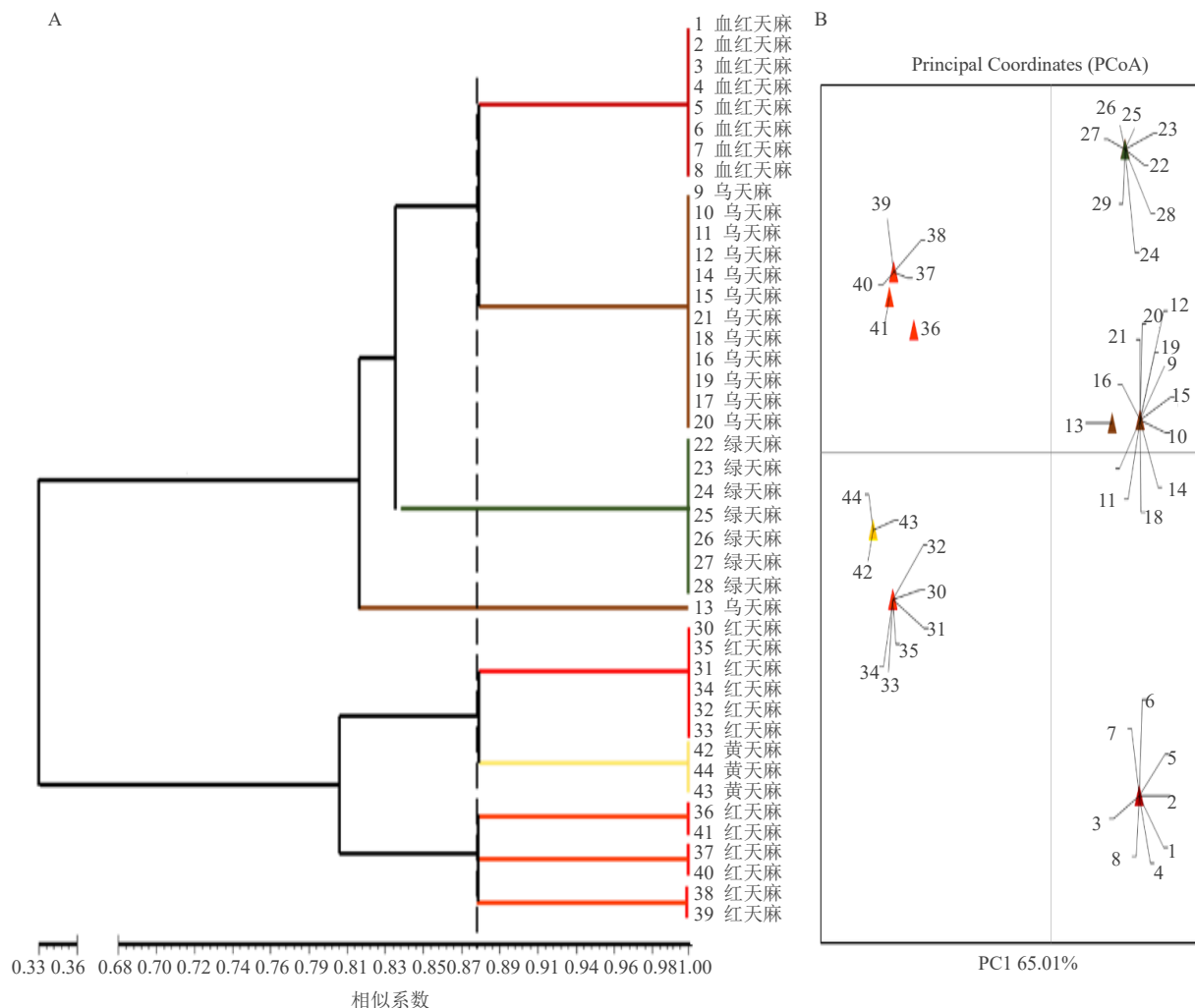
表 3 SSR 引物的多态性分析

Table 3 Polymorphic analysis of SSR markers

引物	N_a	N_e	I	H	PIC
CH9	3.000 0	1.916 8	0.740 5	0.478 3	0.478 3
CH15	3.000 0	2.652 1	1.029 8	0.622 9	0.622 9
CH17	2.000 0	1.816 1	0.641 6	0.449 4	0.449 4
CH20	4.000 0	2.310 3	1.064 4	0.567 1	0.567 2
CH32	2.000 0	1.816 1	0.641 6	0.449 4	0.449 4
CH44	4.000 0	1.995 9	0.902 3	0.499 0	0.498 9
平均值	3.000 0	2.084 5	0.836 7	0.511 0	0.511 0
标准差	0.894 4	0.332 6	0.189 1	0.070 0	0.070 0

则聚为 4 个分支且出现明显的地理分化（图 2-A）。进一步利用 GenAlEx 6.5 软件对 44 份天麻遗传距离进行主成分分析，其结果与聚类分析相似，在 PC1 上也可以将 44 份天麻划分为 2 大类（图 2-B）。上

述结果表明，利用筛选得到的 SSR 引物可以将不同生态型天麻进行区分，说明乌天麻、绿天麻和血天麻在遗传上具有更近的亲缘关系，黄天麻和红天麻具有更近的亲缘关系。



A-44 份天麻样品聚类分析；B-44 份天麻样品的主成分分析；编号同表 1。

A-cluster analysis with 44 *G. elata* samples; B-PCoA analysis with 44 *G. elata* samples. The numbering is the same as in table 1.

图 2 聚类及主成分分析

Fig. 2 Cluster and principal component analysis

3.4 不同生态型天麻遗传结构分析

利用 Structure 2.3.4 软件进行遗传结构分析，当 $K=2$ 时，44 份天麻被划分为 2 类，其中蓝色部分为 1~29，分别为血天麻、乌天麻、绿天麻，橙色部分为 30~44，分别为红天麻和黄天麻，这与聚类分析、主成分分析结果一致（图 3）。

3.5 不同生态型天麻鉴定引物组合

根据引物 CH15 的电泳结果，可以将 5 种生态型天麻划分为 3 类，乌天麻、血天麻在 199 bp 处

检测出条带，绿天麻在 199~300 bp 检测出条带，红天麻和黄天麻在 150~199 bp 检测出条带；根据引物 CH20 的电泳结果，可以将 5 种生态型天麻划分为 4 类，血天麻在 277~400 bp 检测出条带，绿天麻和乌天麻在 277 bp 处检测出条带，红天麻在 200~300 bp 检测出条带，黄天麻在 277~400 bp 检测出条带（图 4）。因此，根据上述分析综合 CH15 和 CH20 2 对引物电泳结果，可以将血天麻、乌天麻、绿天麻、红天麻和黄天麻准确地区分。

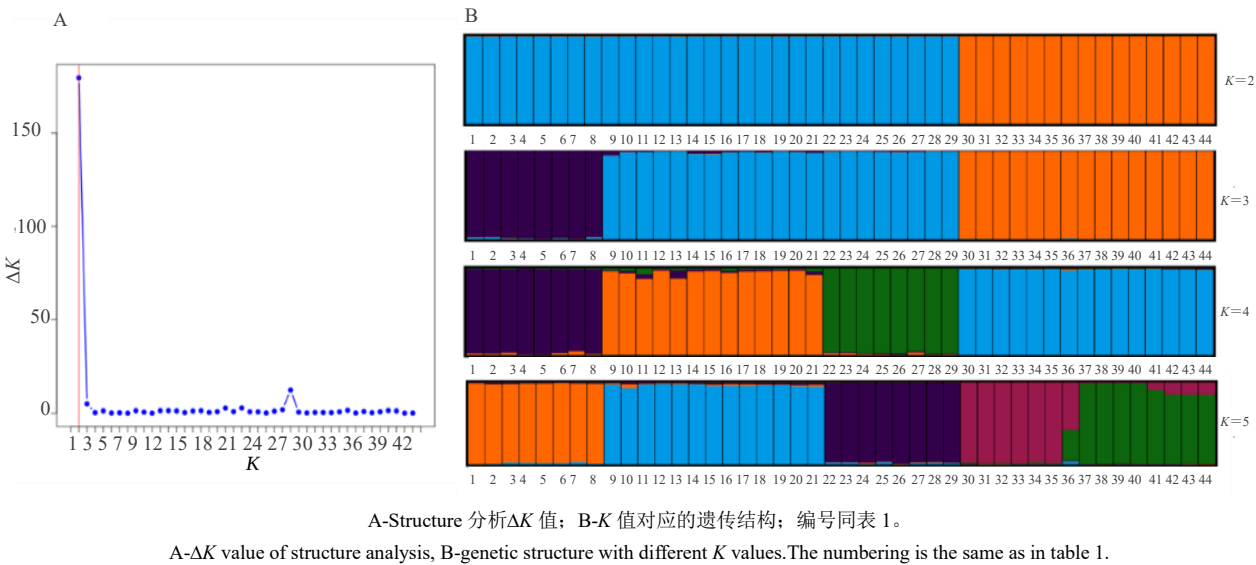
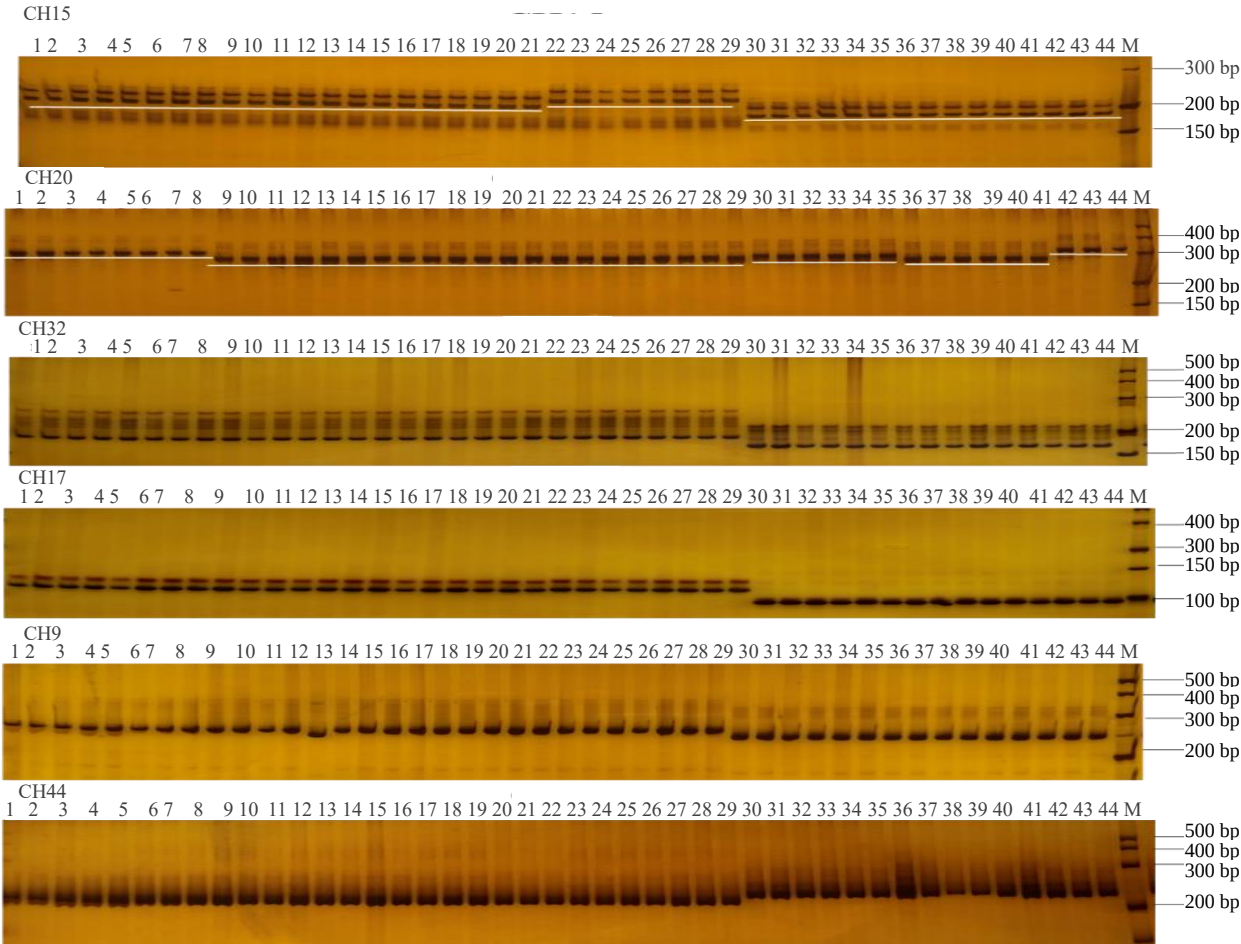


图 3 遗传结构分析

Fig. 3 Genetic structure analysis



M-Marker; 1~44-编号同表 1。

M-Marker; number is same as in table 1.

图 4 聚丙烯酰胺电泳结果

Fig. 4 Results of polyacrylamide electrophoresis

4 讨论

高通量测序技术的快速发展促进 SSR 分子标记开发,利用叶绿体基因组、转录组、核基因组等开发 SSR 分子标记越来越普遍。SSR 重复类型一般分为单核苷酸、二核苷酸、三核苷酸、四核苷酸、五核苷酸、六核苷酸及复合型等,与植物种类关系密切,如穿心莲以二核苷酸重复为主^[20],三七以三核苷酸重复为主^[21]。本研究发现天麻叶绿体基因组 SSR 重复类型主要为单核苷酸(图 1-A),结果与天麻转录组 SSR 重复类型^[12]结果相似。虽然 G/C 碱基含量是影响植物基因结构和功能的重要因素,但大多数植物优势重复基序主要为 A/T 碱基^[22-24],本研究也发现天麻叶绿体基因组 SSR 优势重复基序为 A/T 碱基(图 1-B),与天麻核基因组^[25]分析的结果相似。

SSR 长度是评价 SSR 多态性的重要指标,SSR 长度大于 20 时有较高多态性,此外复合型 SSR 较其他类型 SSR 具有更高的多态性^[26]。本研究筛选得到的 6 对 cpSSR 中有 5 个复合型 SSR,其长度为 22~135 bp, PIC 值为 0.44~0.62,具有中度以上的多态性(表 3)。利用聚类分析和主成分分析,可以将 44 份不同生态型天麻聚为 2 大类,其中红天麻和黄天麻聚为一大类,血红天麻、绿天麻和乌天麻聚为一大类(图 2),遗传结构分析也得到类似的结果(图 3),说明乌天麻、血红天麻和绿天麻具有更近的亲缘关系,黄天麻和红天麻具有更近的遗传关系。该结果与实际生产中乌天麻、血红天麻和绿天麻的块茎形态相似,黄天麻和红天麻的块茎形态相似的情况基本一致。该结果也与张俊等^[27]和王齐等^[28]利用核基因组 SSR 分析发现绿天麻和乌天麻具有较近的亲缘关系结果相似。但与张俊等^[29]采用 ITS 序列结果发现红天麻与乌天麻具有较近的亲缘关系有差异,可能是因为 ITS 序列采用通用引物进行扩增,导致其特异性较弱引起的。

王齐等^[28]研究认为不同生态型天麻因生长在不同海拔环境,其花期不同、基因渐渗较少,筛选得到的 11 对核基因组 SSR 对红天麻、绿天麻和乌天麻 3 种生态型有较高的鉴定效率。由此推测,以贵州毕节天麻产区为例,乌天麻、绿天麻和血红天麻 3 种生态型天麻的生长环境相似,必定会增加其基因渐渗的概率,从而增加其三者的鉴定难度。另外,天麻基因组含有 12 000 个 SSR 位点^[11]、转录组含有 20 855 个 SSR 位点^[12],而天麻叶绿体基因

组仅含有 166 个 SSR 位点(图 1),所以利用叶绿体基因组筛选 SSR 位点具备更高的效率、更低成本。本研究筛选得到的 2 对 cpSSR(图 4),分别为 CH15 和 CH20,均为复合型,其长度均大于 20 bp, PIC 值均大于 0.5,具有较高的多态性(表 2),能够同时准确鉴定 5 种生态型天麻。与李慧等^[30]利用天麻重测序筛选准确鉴定红天麻、乌天麻和乌红杂交天麻的方法相比,本研究得到的方法的适应性更强。

综上,基于天麻叶绿体基因组筛选得到 6 对 cpSSR,能较好地将 5 种生态型天麻进行区分,通过 CH15 和 CH20 2 对引物能够同时准确鉴定 5 种不同生态型天麻。因此本研究设计开发的分子标记方法具有效率高、适应性广的优点,可以为天麻种质鉴定和市场规范提供有力的技术支撑。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 59-60.
- [2] 黄红, 刘新民, 吕光华. 天麻防治神经精神疾病的研究进展 [J]. 中草药, 2018, 49(9): 2188-2194.
- [3] 王玉悦, 陈维佳, 包海鹰. 天麻资源及其开发利用的研究进展 [J]. 人参研究, 2019, 31(4): 52-62.
- [4] 杨洋. 血红天麻种质资源评价及其化学成分研究 [D]. 贵阳: 贵州大学, 2023.
- [5] 徐博, 吴翠, 李卓俊, 等. 天麻的资源分布及采后现状调研 [J]. 中国中医药信息杂志, 2021, 28(7): 11-16.
- [6] 时圣明, 潘明佳, 王洁, 等. 分子鉴定技术在中药中的应用 [J]. 中草药, 2016, 47(17): 3121-3126.
- [7] 宋江琴, 唐楠, 唐道城, 等. 基于表型性状和 SSR 标记的 9 份万寿菊种质遗传多样性分析 [J]. 种子, 2021, 40(10): 6-11.
- [8] 倪梁红, 赵志礼, 米玛. 药用植物叶绿体基因组研究进展 [J]. 中药材, 2015, 38(9): 1990-1994.
- [9] 张静珍, 王连军, 雷剑, 等. 基于 cpSSR 标记的山药种质资源 DNA 指纹图谱构建及遗传多样性分析 [J]. 浙江农业学报, 2021, 33(7): 1222-1233.
- [10] 沙秀芬, 彭芳, 陶珊, 等. 丹参线粒体和叶绿体微卫星标记开发及多样性分析 [J]. 西北植物学报, 2018, 38(12): 2215-2223.
- [11] 周天华, 丁家玺, 田伟, 等. 天麻基因组微卫星特征分析与分子标记开发 [J]. 西北植物学报, 2017, 37(9): 1728-1735.
- [12] 徐哲, 钱华丽, 陈小磊, 等. 不同种质资源天麻转录组的 SSR、SNP 和 InDel 特征分析 [J/OL]. 分子植物育种, 1-15 [2022-11-03]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20221102.1748.006.html>.
- [13] Shahzadi I, Ahmed R, Hassan A, et al. Optimization of

- DNA extraction from seeds and fresh leaf tissues of wild marigold (*Tagetes minuta*) for polymerase chain reaction analysis [J]. *Genet Mol Res*, 2010, 9(1): 386-393.
- [14] Hua Z Y, Tian D M, Jiang C, *et al.* Towards comprehensive integration and curation of chloroplast genomes [J]. *Plant Biotechnol J*, 2022, 20(12): 2239-2241.
- [15] 邓绍勇, 祝必琴, 李康琴, 等. 基于 EST-SSR 标记的栀子品种亲缘关系分析及指纹图谱构建 [J]. 中草药, 2022, 53(9): 2795-2802.
- [16] Mahfooz S, Srivastava A, Srivastava A K, *et al.* A comparative analysis of distribution and conservation of microsatellites in the transcripts of sequenced *Fusarium* species and development of genic-SSR markers for polymorphism analysis [J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2015, 362(17): fmv131.
- [17] Ribeiro D O, Silva-Mann R, Alvares-Carvalho S V, *et al.* Genetic variability in *Jatropha curcas* L. from diallel crossing [J]. *Genet Mol Res*, 2017, 16(2): GMRvol.16.
- [18] Peakall R, Smouse P E. GenAlEx 6.5: Genetic analysis in excel. population genetic software for teaching and research: An update [J]. *Bioinformatics*, 2012, 28(19): 2537-2539.
- [19] Falush D, Stephens M, Pritchard J K. Inference of population structure using multilocus genotype data: Linked loci and correlated allele frequencies [J]. *Genetics*, 2003, 164(4): 1567-1587.
- [20] 李俊仁, 陈秀珍, 汤小婷, 等. 穿心莲转录组 SSR 位点信息分析 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(12): 2503-2508.
- [21] 孙嘉苓, 韩岩, 崔秀明, 等. 三七叶绿体分子标记的开发与应用研究 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(6): 1342-1349.
- [22] 崔亚杰, 史荷凤, 聂广楼, 等. 黄连转录组 SSR 位点信息分析及分子标记开发 [J]. 中草药, 2024, 55(19): 6713-6720.
- [23] 蒋小刚, 周武先, 王华, 等. 川党参转录组 EST-SSR 位点分析 [J]. 西南农业学报, 2023, 36(6): 1132-1140.
- [24] 富贵, 刘玉萍, 苏旭. 基于转录组数据的密花香薷 SSR 位点特征分析 [J]. 西北植物学报, 2021, 41(4): 654-663.
- [25] 袁炎, 栗忠祥, 许宇星, 等. 基于全基因组重测序的天麻多态性分子标记开发及特征分析 [J]. 分子植物育种, 2023, [2023-05-06]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20230506.1033.010.html>.
- [26] 宋岩, 王祥勤, 宋怡璇, 等. 基于棉花线粒体基因组全序列的 SSR 特征分析 [J]. 分子植物育种, 2023, [2023-09-01]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20230831.2011.016.html>.
- [27] 张俊, 于涵, 李召辉, 等. 基于 SSR-HRM 技术的 4 种药用天麻变型遗传多样性及遗传结构分析 [J]. 中草药, 2023, 54(9): 2898-2906.
- [28] 王齐, 周天华, 王佳, 等. 镇巴天麻的遗传多样性与 SSR 指纹图谱分析 [J]. 分子植物育种, 2022, 20(13): 4425-4433.
- [29] 张俊, 于涵, 李召辉, 等. 药用天麻 4 种变型的块茎性状及 ITS 序列比较 [J]. 中药材, 2024, 47(1): 62-68.
- [30] 李慧, 钱润, 田娜, 等. 红天麻、乌天麻及其杂交天麻的 PCR 鉴别 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(15): 3666-3671.

[责任编辑 时圣明]