

· 中药资源 ·

华东地区掌叶覆盆子的表型特征
和基于 ISSR 标记的遗传分析[△]孙健¹, 任江剑^{1a}, 华金渭^{2*}, 沈晓霞¹, 王志安¹

1. 浙江省中药研究所有限公司, 浙江 杭州 310023; 2. 丽水市农林科学研究院, 浙江 丽水 323000

[摘要] 目的: 主产区掌叶覆盆子表型特征和遗传组成调查。方法: 对华东地区 24 份掌叶覆盆子野生资源的表型进行观察并记录。基于简单重复间序列 (ISSR) 标记信息对 24 份掌叶覆盆子和 5 份悬钩子属近缘植物材料进行遗传分析。结果: 24 份掌叶覆盆子的表型变异丰富, 通过茎干颜色、皮刺密度、叶形、幼叶色苷、花瓣长、果柄长、果型 7 个性状可以对华东地区主要的掌叶覆盆子资源进行区分; 应用 8 条适于掌叶覆盆子研究的 ISSR 标记共检测到 90 个位点, 其中多态性位点 58 个, 占比 64.44%; 基于 NTSYS-pc 2.10 软件的相似性分析, ISSR 标记可以明确地区分掌叶覆盆子与近缘悬钩子植物; 在相似系数为 0.67~0.70 处, 来自浙北、浙南和闽北 3 个区域的种质资源分别聚为 1 组; 掌叶覆盆子物种内基因多样性指数 (H) 为 0.272 0、Shannon's 信息指数 (I) 为 0.412 7、遗传相似系数为 0.536 6~0.878 0; 3 个区域群体间的遗传分化不明显, 区域间群体的遗传距离 <0.253 8、遗传一致度 >0.775 9、基因分化系数 (G_{st}) 为 0.320 3、基因流 (N_m) 为 1.061 2。结论: 华东地区掌叶覆盆子种质具有丰富的遗传多样性, 可以应用 ISSR 标记对掌叶覆盆子进行遗传和系谱分析。

[关键词] 掌叶覆盆子; 遗传多样性; 表型; 分子标记

[中图分类号] R282.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2021)03-0426-07

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20200321003

Phenotype Characteristics and Genetic Analysis Based on ISSR Markers of *Rubus chingii* in East ChinaSUN Jian¹, REN Jiang-jian^{1a}, HUA Jin-wei^{2*}, SHEN Xiao-xia¹, WANG Zhi-an¹

1. Zhejiang Research Institute of Traditional Chinese Medicine Co., Ltd., Hangzhou 310023, China;

2. Lishui Institute of Agricultural Sciences, Lishui 323000, China

[Abstract] **Objective:** To investigate the phenotypic characteristics and genetic composition of *Rubus chingii* Hu in main producing area. **Methods:** The phenotype of 24 wild accessions of *R. chingii* in East China were observed and recorded. The genetic composition of 24 resources of *R. chingii* and the other 5 kinds of relative plant materials of *Rubus* were analyzed based on inter-simple sequence repeat (ISSR) marker data. **Results:** The phenotypes of 24 accessions of *R. chingii* were performed rich variation. Seven phenotypes including stalk color, stab density, leaf shape, anthocyanin of young leaf, petal length, fruit stalk length and fruit type, could be used to differentiate the main *R. chingii* accessions in East China. Eight ISSR markers were screened to research the genetic composition of *R. chingii*. Amplification from the accessions of the ISSR primers yielded 90 genetic loci, of which 58 loci was polymorphic, the percentage of polymorphic bands was 64.44%. Based on the similarity analysis by NTSYS-pc 2.10, *R. chingii* and the other relative plant materials of *Rubus* could be differentiated by ISSR makers; all of 24 accessions of *R. chingii* were divided into three subgroups, while the genetic similarity coefficient reached 0.67 to 0.70. The accessions from the region of Zhebei, Zhenan and Minbei clustered into one branch, respectively. Among accessions, the gene diversity index (H) was 0.272 0; the Shannon's information index (I) was 0.412 7; the genetic identity were ranged 0.536 6-0.878 0. Among three subgroups, the genetic distance was less than 0.253 8; the genetic identity was more than 0.775 9; the genetic differentiation coefficient (G_{st}) among subgroups was 0.320 3; Gene flow (N_m) was 1.061 2, meaning that genetic differentiation among 3 regional populations was not obvious. **Conclusion:** The germplasm of

[△] [基金项目] 浙江省基础公益研究计划项目 (LGN18C020002); 浙江省中药材新品种选育重大科技专项 (2016C02058)

* [通信作者] 华金渭, 研究员, 研究方向: 中药材育种; Tel: (0578)2028399, E-mail: hjwls@126.com

^a 并列第一作者

R. chingii in East China had rich genetic diversity, and the genetic and pedigree analysis of *R. chingii* could be researched by using ISSR markers.

[**Keywords**] *Rubus chingii* Hu; genetic diversity; phenotype; molecular marker

覆盆子为掌叶覆盆子 *Rubus chingii* Hu 的干燥未成熟果实, 具有益肾固精缩尿、养肝明目之功效^[1], 临床上常用于治疗遗精滑精、遗尿尿频、阳痿早泄、目暗昏花^[2], 主要分布于我国华东地区的浙江、广西、江西和福建等省。现代药理研究表明, 其具有抗肿瘤、抗氧化、调节血糖和血脂、抗衰老和抗炎等药理作用^[3-4]。分子鉴定技术在中药材基原的区分和伪品鉴别中可以起到定性判别的作用^[5], 其中以核糖体内部转录间隔区(ITS)序列和叶绿体 *psbA-trnH* 应用最多^[6-7]。物种内部不同地理宗、居群或品种的区分需要更多的基因信息进行区分, 对于无参考基因组的植物, 往往采用随机引物进行初步的研究, 如相关序列扩增多态性(SRAP)、简单重复间序列(ISSR)、扩增片段长度多态性(AFLP)等标记体系。其中, ISSR 分子标记是全基因组多样性分析的通用标记, 具有多态性高、操作简便等优点, 至今仍用于植物群体遗传组成的初步分析^[8-11]。近年, 浙江及周边省份覆盆子产业发展迅速, 人工引种栽培面积超过 8 万亩(1 亩 $\approx 666.67\text{ m}^2$), 而有关覆盆子资源的系统分析未见报道。本研究系统记录了华东地区 24 份掌叶覆盆子资源的主要表型, 利用 ISSR 标记对华东产区掌

叶覆盆子与其近似种进行遗传分析, 明确了掌叶覆盆子与悬钩子属近缘植物红树莓 *R. idaeus* L.、茅莓 *R. parvifolius* L.、山莓 *R. corchorifolius* L. f.、三花悬钩子 *R. trianthus* Focke、盾叶莓 *R. peltatus* Maxim. 的亲缘关系和掌叶覆盆子种内的遗传多样性特征, 为掌叶覆盆子的基原鉴定和新品种选育提供参考。

1 材料

1.1 样品

2017 年收集华东各地的野生掌叶覆盆子资源 24 份, 收集近缘的悬钩子属植物 5 份。其中, 1 份树莓样品为国外引种的红树莓 *R. idaeus* 栽培种, 山莓和茅莓采集自于杭州市西湖区, 三花悬钩子采集于台州市石梁镇, 盾叶莓采集于杭州市藻溪镇。各样品统一栽培于丽水市农科院试验基地。2019 年开花后, 植物基原由丽水市农林科学研究院华金渭研究员鉴定, 结合花器官表型^[12]和 ITS 序列信息(分子鉴定参考吕群丹等^[13]方法)鉴定为掌叶覆盆子 *Rubus chingii* Hu、红树莓 *R. idaeus* L.、茅莓 *R. parvifolius* L.、山莓 *R. corchorifolius* L. f.、三花悬钩子 *R. trianthus* Focke、盾叶莓 *R. peltatus* Maxim.。24 份掌叶覆盆子材料来源和表型见表 1。

表 1 掌叶覆盆子来源和表型特征($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

编号	取样地	茎干颜色	皮刺密度	叶形	幼叶色苷	花瓣长/cm	果柄长/cm	果型	果质量/g
1	福建南平	红色	中等	5 裂	无	2.5 $\pm$ 0.1	2.6 $\pm$ 0.2	渐尖	0.53 $\pm$ 0.03
2	福建霞浦	绿色	中等	5 裂	有	2.8 $\pm$ 0.1	2.9 $\pm$ 0.2	截屏	0.63 $\pm$ 0.05
3	江西德兴	红色	稀疏	5 裂	无	2.7 $\pm$ 0.1	3.4 $\pm$ 0.3	渐尖	0.32 $\pm$ 0.08
4	安徽黄山	红色	中等	5 裂	有	2.2 $\pm$ 0.1	2.8 $\pm$ 0.2	渐尖	0.34 $\pm$ 0.02
5	安徽绩溪	红色	中等	7 裂	无	3.1 $\pm$ 0.2	3.4 $\pm$ 0.3	截屏	0.35 $\pm$ 0.10
6	浙江武义	红色	中等	5 裂	无	2.7 $\pm$ 0.1	3.3 $\pm$ 0.3	截屏	0.49 $\pm$ 0.03
7	浙江松阳	红色	密集	5 裂	无	3.1 $\pm$ 0.3	4.0 $\pm$ 0.4	渐尖	0.44 $\pm$ 0.10
8	浙江江山	红色	中等	5 裂	无	2.5 $\pm$ 0.1	3.1 $\pm$ 0.2	渐尖	0.29 $\pm$ 0.02
9	浙江仙居	红色	密集	5 裂	有	2.6 $\pm$ 0.1	2.5 $\pm$ 0.2	截屏	0.30 $\pm$ 0.03
10	浙江安吉	红色	中等	5 裂	无	2.9 $\pm$ 0.2	3.6 $\pm$ 0.3	渐尖	0.31 $\pm$ 0.05
11	浙江青田	红色	中等	5 裂	无	1.9 $\pm$ 0.2	3.2 $\pm$ 0.2	截屏	0.28 $\pm$ 0.05
12	浙江临岐	红色	稀疏	7 裂	无	2.3 $\pm$ 0.1	2.9 $\pm$ 0.2	渐尖	0.37 $\pm$ 0.08
13	浙江建德	红色	稀疏	5 裂	无	2.2 $\pm$ 0.1	2.3 $\pm$ 0.2	截屏	0.16 $\pm$ 0.02
14	浙江庆元	绿色	中等	5 裂	无	2.7 $\pm$ 0.1	2.9 $\pm$ 0.3	渐尖	0.27 $\pm$ 0.03
15	浙江浦江	绿色	中等	5 裂	无	2.9 $\pm$ 0.2	3.9 $\pm$ 0.4	截屏	0.38 $\pm$ 0.08
16	浙江缙云	红色	中等	5 裂	无	2.7 $\pm$ 0.1	2.6 $\pm$ 0.3	渐尖	0.34 $\pm$ 0.09
17	浙江遂昌	红色	稀疏	5 裂	无	2.5 $\pm$ 0.2	2.0 $\pm$ 0.1	截屏	0.35 $\pm$ 0.11
18	浙江云和	红色	中等	5 裂	无	2.4 $\pm$ 0.1	3.6 $\pm$ 0.4	渐尖	0.32 $\pm$ 0.07
19	浙江开化	红色	密集	7 裂	无	2.3 $\pm$ 0.1	3.0 $\pm$ 0.2	渐尖	0.37 $\pm$ 0.05
20	浙江新昌	绿色	密集	5 裂	无	3.1 $\pm$ 0.1	3.8 $\pm$ 0.2	渐尖	0.41 $\pm$ 0.06
21	浙江昌化	红色	中等	5 裂	有	2.9 $\pm$ 0.1	2.7 $\pm$ 0.2	渐尖	0.51 $\pm$ 0.09
22	浙江磐安	红色	中等	5 裂	无	2.8 $\pm$ 0.3	2.2 $\pm$ 0.1	截屏	0.45 $\pm$ 0.08
23	浙江临安	红色	中等	5 裂	无	2.7 $\pm$ 0.1	3.8 $\pm$ 0.2	渐尖	0.26 $\pm$ 0.01
24	浙江永康	红色	中等	5 裂	无	2.5 $\pm$ 0.1	2.6 $\pm$ 0.1	渐尖	0.33 $\pm$ 0.04

1.2 试药

聚合酶链式反应 (PCR) 扩增试剂为 $2 \times$ Hieff™ PCR Plus Master Mix (上海翊圣生物科技有限公司)。三羟甲基氨基甲烷 (Tris)、 β -巯基乙醇、三氯甲烷、异戊醇均为分析纯, 均购于国药集团化学试剂有限公司。

1.3 仪器

Veriti 96 Well Thermal cycler 型 PCR 仪 (美国 Applied Biosystems 公司); Gel Doc™ XR⁺ 型凝胶成像仪、PowerPac Basic 型电泳仪 (美国 Bio-Rad Laboratories 公司); Legend Micro 17 型高速离心机 (美国 Thermo 公司); M200 Pro 型多功能酶标仪 (美国 Tecan 公司); Tissue Lyser II 型组织研磨器 (德国 Qiagen 公司)。

2 方法

2.1 表型记录

参考同属植物树莓和月季的表观性状分类体系^[14-15], 结合掌叶覆盆子生物学特征, 选取 8 个表观性状进行观察记录。每份样品随机选取 5 个单株, 群体内质量性状出现变异的以多数个体表现的性状为准。于 2019 年 3 月观察孕蕾期 2 年生枝条主干的颜色, 定义茎干颜色为绿色和红色; 统计 2 年生枝条主干离地 40~55 cm 处皮刺数量 (N), 定义皮刺密度为密集 ($N \geq 30$)、中等 ($30 > N \geq 15$)、稀疏 ($N < 15$) 3 个级别; 定义叶形为 7 裂叶、5 裂叶 2 种; 根据果期幼叶尖端是否为红色, 定义幼叶色苷类型为有、无 2 种; 定义花瓣基部至外缘顶端的距离为花瓣长; 定义连接枝干和果实之间的果柄的距离为果柄长; 根据果实顶端形态, 定义果型为渐尖、截平 2 种类型; 定义药材采收期, 即绿转黄期果实的干质量为果质量。

2.2 ISSR 标记扩增

每份样品随机选取嫩叶 10 片, 采用十六烷基三甲基溴化胺 (CTAB) 法提取样品材料中的基因组 DNA, 用 $1 \times$ TE 缓冲液调整其质量浓度为 $100 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ 。扩增反应体系为基因组 DNA 模板 $1 \mu\text{L}$ (约 100 ng)、引物 $1 \mu\text{L}$ ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、 MgCl_2 溶液 ($25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) $1 \mu\text{L}$ 、Mix-Taq $10 \mu\text{L}$ 和 ddH_2O $7 \mu\text{L}$, 总体积为 $20 \mu\text{L}$ 。扩增程序为 94°C 预变性 4 min , 94°C 变性 1 min , 50°C 退火 1 min , 72°C 延伸 1.5 min , 35 个循环; 72°C 延伸 7 min 。以 24 份样品等量混样提取的总 DNA 为模板, 采用 ISSR 引物进行多态性筛选。ISSR 标记引物

为加拿大哥伦比亚大学公布的引物。以 ISSR 引物分别扩增 PCR 产物, PCR 产物在含有染料的 2% 琼脂糖凝胶中电泳后用成像仪拍照, 引物序列见表 2。

表 2 ISSR 标记及其扩增结果

标记	序列 (5'→3')	位点数/ 个	多态性 位点数/个	多态性 占比/%
UBC836	AGAGAGAGAGAGAGGYA	15	7	46.67
UBC841	GAGAGAGAGAGAGAYC	16	14	87.50
UBC842	GAGAGAGAGAGAGAYG	11	7	63.64
UBC845	CTCTCTCTCTCTCTRG	9	6	66.67
UBC855	ACACACACACACACACYT	11	7	63.64
UBC857	ACACACACACACACACYG	14	10	71.43
UBC866	CTCCTCCTCCTCCTC	7	3	42.86
UBC901	CACACACACACACARY	7	4	57.14

2.3 数据分析

应用 SPSS 16.0 软件, 将表观性状数标准化处理后进行相关性分析和聚类分析; 应用 POPGENE 1.32 软件对 ISSR 条带数据的遗传多样性进行分析; 应用 NTSYS-pc 2.10 软件基于 UPGMA 方法, 构建聚类树状图。

3 结果

3.1 掌叶覆盆子表型特征分析

24 份掌叶覆盆子资源来源覆盖覆盆子的主产区。结果表明, 掌叶覆盆子表型丰富, 8 个表观性状包括 5 个质量性状和 3 个数量性状。掌叶覆盆子的药材采收期为处于青色转黄时期的未成熟果实^[16], 记录药材采收期的果干质量。相关性分析表明, 花瓣长度和产量性状果质量有正相关关系, 其他性状之间没有显著的相关性 (表 3)。由于花瓣长和果质量性状间有相关关系, 且果质量为果实快速发育期性状, 因此, 基于表型性状的聚类分析, 选用了茎干颜色、皮刺密度、叶形、幼叶色苷、花瓣长、果柄长、果型 7 个性状。聚类结果显示, 上述 7 个表观性状可以较好地区分和描述华东地区的掌叶覆盆子资源 (图 1)。同时, 基于 7 个表观特征数据的聚类结果分析, 表型特征与地域分布无关。对比分子数据聚类结果没有呈现出显著的区域间表型分化。

3.2 ISSR 标记扩增产物多态性分析

应用 8 条扩增谱带清晰并呈多态性的 ISSR 引物 (图 2) 对 29 份材料进行扩增, 对 24 份掌叶覆盆子资源的标记多态性进行统计, 共检测到 90 个位点。其中, 多态性位点 58 个, 占比 64.44% (表 2)。

表 3 掌叶覆盆子表型性状间相关性								
表型	茎干颜色	皮刺密度	叶形	幼叶色苷	花瓣长	果柄长	果型	果质量
茎干颜色		0.364 6	0.429 8	0.642 0	0.073 4	0.634 1	0.591 1	0.237 6
皮刺密度	0.193 6		1.000 0	0.364 6	0.114 4	0.274 5	0.486 9	0.275 9
叶形	-0.169 0	0.000 0		0.429 8	0.755 7	0.750 1	0.880 1	0.953 3
幼叶色苷	-0.100 0	-0.193 6	0.169 0		0.977 4	0.265 9	0.591 1	0.092 1
花瓣长	0.372 1	0.330 7	-0.067 0	-0.006 1		0.151 8	0.909 0	0.046 5
果柄长	0.102 4	0.232 4	0.068 6	0.236 5	0.301 8		0.306 1	0.852 3
果型	0.115 5	-0.149 1	-0.032 5	-0.115 5	-0.024 7	-0.218 0		0.718 1
果质量	0.250 6	0.231 7	-0.012 6	-0.351 5	0.410 0*	-0.040 1	0.077 7	

注：* $P<0.05$ 。

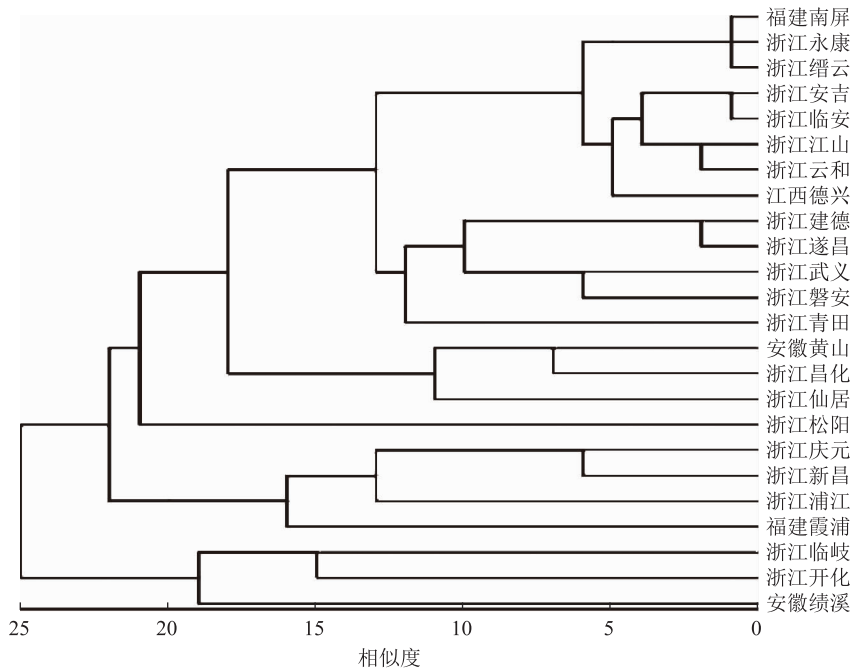
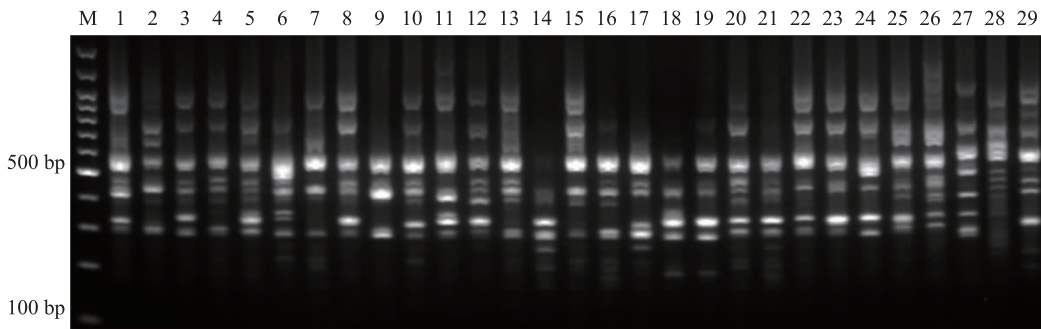


图 1 基于表型数据的掌叶覆盆子聚类分析图



注：M. DNA Maker；1~24. 掌叶覆盆子样品的带型；25~29. 山莓、茅莓、三花悬钩子、红树莓和盾叶莓样品的带型。

图 2 掌叶覆盆子与近缘植物引物 UBC841 的扩增条带

3.3 遗传距离和聚类分析

本研究中, 掌叶覆盆子种质资源间的遗传相似系数为遗传相似系数为 0.536 6 ~ 0.878 0, 平均值为 0.715 7。其中, 遂昌和南屏的材料遗传相似性系数最低, 为 0.536 6; 临岐和建德的材料遗传相似性最高, 为 0.878 0。该结果表明, 本研究中掌叶覆盆子材料的整体遗传相似性较大, 来自不同地域的材料也存在较大的差异。应用 NTSYS-pc 软件分析供试材料间的遗传相似系数, 基于 UPGMA 方法, 构建聚类树状图(图 3)。本研究的供试材料均为 ISSR 标记信息, 可以明确区分掌叶覆盆子与近缘悬钩子植物, 悬钩子属 (*Rubus*) 空心莓组 (Sect. *Idaeobatus*) 植物, 山莓和三花悬钩子与掌叶覆盆子均为单叶, 且花着生于小枝顶部, 属于球果亚组 (Subsect. *Corchorifolii*), 聚类的亲缘关系较近; 红树莓和茅莓均为复叶, 分属于绒毛叶亚组 (Subsect. *Stimulantes*) 和伞房花序亚组 (Subsect. *Idaeanthi*), 两者遗传距离较近; 而盾叶莓属于盾叶亚组 (Subsect. *Peltati*), 为单生叶, 聚类于茅莓与球果亚组植物之间。在相似系数为 0.67 ~ 0.70 处 24 份掌叶覆盆子资源又可进一步聚为浙北、浙南和闽北 3 组, 说明不同地域的掌叶覆盆子出现了一定的遗传分化。以浙北、浙南和闽北为群体, 应用 POPGEN 软件, 进一步分析可知区域间群体的遗传距离 < 0.253 8、遗传一致度 > 0.775 9、基因分

化系数 (G_{st}) 为 0.320 3、基因流 (N_m) 为 1.061 2, 说明 3 个区域群体间的遗传分化不明显。

3.4 遗传多样性分析

在物种水平上, 掌叶覆盆子的基因多样性指数 (H) = 0.272 0、Shannon's 信息指数 (I) = 0.412 7 (表 4), 说明该物种的基因遗传多样性较高。浙南地区的掌叶覆盆子 H 高于浙北地区, 而 I 低于浙北区域。该结果可解释为浙北地区每份资源平均的基因多样性较高, 而浙南地区不同材料间的有效等位基因数差异较大。闽北地区的供试的材料数量较少, 导致 H 和 I 较低, 不能显示区域内物种的遗传多样性, 需要加大样本做进一步研究。

表 4 基于 ISSR 标记信息的掌叶覆盆子遗传多样性参数

群体分布	样本数/ 个	观测等位 基因数/个	有效等位 基因数/个	H	I
华东地区	24	1.853 7	1.461 0	0.272 0	0.412 7
浙北地区	12	1.756 1	1.341 9	0.223 2	0.351 1
浙南地区	10	1.682 9	1.397 7	0.232 2	0.350 1
闽北地区	2	1.219 5	1.219 5	0.109 8	0.152 2

4 讨论

4.1 药用覆盆子的种源引种与选育

从物种基原的水平上分析, 中药材覆盆子基原

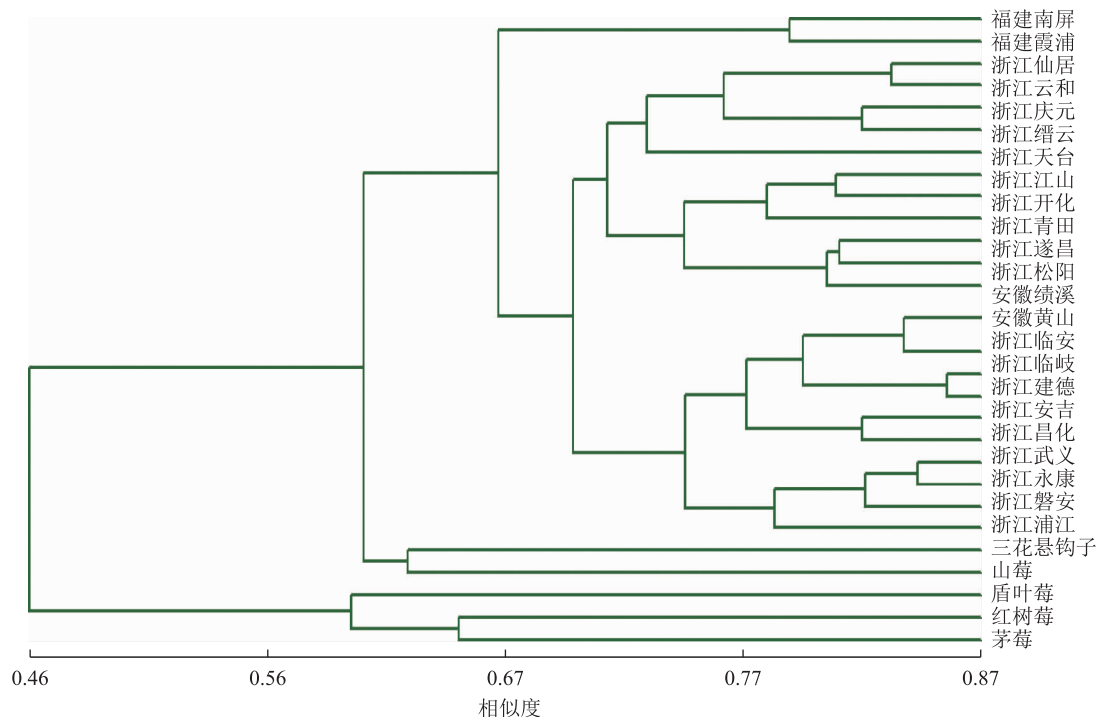


图 3 基于 ISSR 标记信息的掌叶覆盆子与近缘植物聚类分析图

植物呈现逐渐纯化的过程。传统中药材覆盆子来源丰富,历史上诸多蔷薇科(Rosaceae)悬钩子属(*Rubus*)植物的果实被当作“覆盆子”入药,传统医药书籍中记载的覆盆子基原植物名称有“蓬蘽”“插田泡”“茅莓”“覆盆子”“黄果悬钩子”“寒莓”等,随时间推移,医家逐渐明确“覆盆子”为植物掌叶覆盆子的未成熟干燥果实^[17]。目前,《中华人民共和国药典》2020年版收录的覆盆子的基原植物也只有掌叶覆盆子^[3]。本研究的全基因组的分子标记研究表明,掌叶覆盆子与近缘的悬钩子属植物有明显的物种分化。与此同时,掌叶覆盆子相对于其他悬钩子属近缘植物的药理效果系统评价还有待进一步研究。本研究基于 ISSR 标记信息对物种的区分与聚类结果与 Yan 等^[18]基于叶绿体基因(*rbcl*、*rpl20-rps12*、*trnG-trnS*)和核基因(ITS、*GBSSI-2*、*PEPC*)的悬钩子属植物聚类结果是一致的,表明 ISSR 标记体系可以较好地地区分悬钩子属近缘植物。目前,掌叶覆盆子已经形成了一定的种植规模,其种植模式仍处于原地野生资源引种繁育阶段,还没有稳定的优质药用品种育成。综上所述,掌叶覆盆子的 ISSR 标记基因多样性较高、种质区分性较好、研究效率高,可以运用于种质区分和遗传研究工作。

4.2 掌叶覆盆子的遗传结构与分化

掌叶覆盆子物种水平上 $H=0.272\ 0$ 、 $I=0.412\ 7$,高于濒危植物五小叶槭^[19]、稀有药用植物滇重楼^[20]、已经驯化的植物黄瓜^[21],与华南广布的华中五味子相当^[22],表现出中等偏高的遗传多样性。植物种群的遗传多样性变化与物种自身的繁育系统、遗传漂变、基因突变,以及外部环境变化、人类活动导致的种群隔离和生境片段化、异地引种等诸多因素相关^[23-24]。华东地区掌叶覆盆子整体呈现出较高的遗传多样性,该结果与掌叶覆盆子为虫媒花、生长年限久、可以依靠鸟类长距离传播等生物特征相关。与此同时,聚类分析结果显示,在遗传相似系数 0.67~0.70 处,供试样品呈现出区域分化的现象,导致该现象的原因可能与不同纬度地区群体的花期不遇,生长区域因人为活动产生隔离等原因相关。虽然,掌叶覆盆子的野生群体具有较高的遗传多样性,但是在掌叶覆盆子的引种驯化过程中,往往采用根蘖芽无性繁殖,该操作导致基因多样性的下降,进而加大病虫害大规模爆发的风险^[25-26]。因此,在发展掌叶覆盆子产业的同时,应注意保护野生掌叶覆盆子

资源,同时注意引种资源的品种更新。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:399.
- [2] YU G, LUO Z, WANG W, et al. *Rubus chingii* Hu: A review of the phytochemistry and pharmacology [J]. Front Pharmacol, 2019, 10: 799.
- [3] 程丹, 李洁, 周斌, 等. 覆盆子化学成分与药理作用研究进展[J]. 中药材, 2012, 35(11): 1873-1876.
- [4] 孙健, 沈晚霞. 覆盆子的药用研究进展与鲜食产业分析[J]. 科技通报, 2017, 33(6): 82-85.
- [5] 陈士林, 姚辉, 韩建萍, 等. 中药材 DNA 条形码分子鉴定指导原则[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(2): 141-148.
- [6] 李国园, 蔡莉, 杨继勇, 等. 基于 ITS2 和 *psbA-trnH* 序列的金钗石斛 DNA 条形码鉴定研究[J]. 基因组学与应用生物学, 2018, 37(8): 3516-3524.
- [7] 朱爽, 陈闪冲, 李奇威, 等. 基于 DNA 条形码的三种沉香属物种鉴定研究[J]. 中药材, 2018, 41(5): 1061-1065.
- [8] 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): 8-13.
- [9] MIGUAL G, PABLO A A, PARRA D S, et al. Application of inter-simple sequence repeats relative to simple sequence repeats as a molecular marker system for indexing blueberry cultivars[J]. Can J Plant Sci, 2013, 93(5): 913-921.
- [10] 肖伟, 张铭芳, 贾桂霞, 等. 百合不同杂种系品种遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 分子植物育种, 2019, 17(18): 6169-6178.
- [11] 段媛媛, 卢超, 郭杰, 等. 铁皮石斛及霍山石斛 ISSR 鉴定体系的建立与优化[J]. 分子植物育种, 2019, 17(13): 4360-4366.
- [12] 万静. 48 种悬钩子属植物表型性状数量分类研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2010.
- [13] 吕群丹, 方洁, 潘俊杰, 等. 禽药桐公扭根基原植物及其同属易混种的 ITS2 条形码鉴别[J]. 中草药, 2018, 49(13): 3102-3109.
- [14] 黄平. 月季品种分子鉴定与遗传关系分析[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2012.
- [15] 卞贵建, 周庆阳. 树莓主要经济性状的主成分分析及其优种的选择[J]. 四川林业科技, 2006, 27(2): 68-71.
- [16] ZHANG T T, YANG L, JIANG J G. Bioactive comparison of main components from unripe fruits of *Rubus chingii* Hu and identification of the effective component [J]. Food Funct, 2015, 6(7): 2205-2214.
- [17] 王惠民. 覆盆子的品种延续与变迁[J]. 中国中药杂志, 1997, 22(7): 392-394.

(下转第 436 页)

- [4] 刘晓艳,徐崑,杨秀伟,等. 鸡血藤黄酮类化学成分分离与鉴定[J]. 中国中药杂志,2020,45(6):1384-1392.
- [5] 刘晓艳,徐崑,杨秀伟,等. 鸡血藤非黄酮类化学成分的研究[J]. 中国中药杂志,2020,45(5):1120-1127.
- [6] NGUYEN T H, KIM TUYEN PHAM N, PUDHOM K, et al. Structure elucidation of four new megastigmanes from *Sonneratia ovata* Backer [J]. Magn Reson Chem, 2014, 52(12):795-802.
- [7] 杨秀伟. 应用2D NMR技术研究羌活苷的结构[J]. 波谱学杂志,2006,23(4):429-442.
- [8] JO M S, LEE S, YU J S, et al. Megastigmane derivatives from the cladodes of *Opuntia humifusa* and their nitric oxide inhibitory activities in macrophages [J]. J Nat Prod, 2020, 83(3):684-692.
- [9] 杨秀伟,吴琦,邹磊,等. 芙蓉菊中艾菊素和草蒿素结构的NMR信号表征[J]. 波谱学杂志,2008,25(1):117-127.
- [10] YAMANO Y, ITO M. Synthesis of optically active vomifoliol and roseoside stereoisomers [J]. Chem Pharm Bull, 2005, 53(5):541-546.
- [11] 张丙云,何蕾,郭涛,等. 红花化学成分分离与鉴定[J]. 中国药物化学杂志,2016,26(5):409-412.
- [12] HAN M H, YANG X W, JIN Y P. Novel triterpenoid acyl esters and alkaloids from *Anoectochilus roxburghii* [J]. Phytochem Anal, 2008, 19:438-443.
- [13] TANG R N, QU X B, GUAN S H, et al. Chemical constituents of *Spatholobus suberectus* [J]. Chin J Nat Med, 2012, 10(1):32-35.
- [14] 张祎,邓岫,李晓霞,等. 鸡血藤化学成分分离与结构鉴定[J]. 沈阳药科大学学报, 2014, 31(3):174-178, 187.
- [15] 杨秀伟. 中药成分的吸收、分布、代谢、排泄、毒性与药效[M]. 北京:中国医药科技出版社,2006.
- [16] LIU X X, TIAN F F, ZHANG H B, et al. Biologically active blumenol A from the leaves of *Annona glabra* [J]. Nat Prod Lett, 1999, 14(1):77-81.
- [17] BENDJEDOU H, BARBONI L, MAGGI F, et al. Alkaloids and sesquiterpenes from roots and leaves of *Lycium europaeum* L. (Solanaceae) with antioxidant and anti-acetylcholinesterase activities [J/OL]. Nat Prod Res, 2019, doi:10.1080/14786419.2019.1666386.

(收稿日期:2020-08-23 编辑:田苗)

(上接第431页)

- [18] YAN W, QING C, TAO C, et al. Phylogenetic insights into Chinese *Rubus* (*Rosaceae*) from multiple chloroplast and nuclear DNAs [J]. Front Plant Sci, 2016, 7(968):1-13.
- [19] 郝云庆,罗晓波,王晓玲. 濒危植物五小叶槭(*Acer pentaphyllum* Diels)天然种群遗传多样性的ISSR标记分析[J]. 四川大学学报(自然科学版), 2019, 56(1):161-166.
- [20] HE J, WANG H, LI D Z, et al. Genetic diversity of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis*, a traditional Chinese medicinal herb, detected by ISSR markers [J]. Planta Med, 2007, 73(12):1316-1321.
- [21] LV J, QI J, SHI Q, et al. Genetic diversity and population structure of cucumber (*Cucumis sativus* L.) [J]. PLoS ONE, 2012, 7(10):e46919.
- [22] 闫伯前,王艇,胡理乐. 药用植物华中五味子的种群遗传多样性及遗传结构[J]. 生态学杂志, 2009, 28(5):811-819.
- [23] 文亚峰,韩文军,吴顺. 植物遗传多样性及其影响因素[J]. 中南林业科技大学学报, 2010, 30(12):80-87.
- [24] NYBOM H. Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants [J]. Mol Ecol, 2004, 13(5):1143-1155.
- [25] GRAHAM J, HACKETT C A, SMITH K, et al. Genetic and environmental regulation of plant architectural traits and opportunities for pest control in raspberry [J]. Ann Appl Biol, 2014, 165(3):318-328.
- [26] JARVIS D, MULUMBA J, PENG H, et al. A risk-minimizing argument for traditional crop varietal diversity use to reduce pest and disease damage in agricultural ecosystems [J]. Crop Prot, 2014, 61(4):70-86.

(收稿日期:2020-03-21 编辑:戴玮)