

· 中药资源 ·

不同产区黄芩SSR分子标记鉴别研究[△]

刘美娟, 郑司浩, 赵莎, 秦义杰, 曾燕*, 王继永*

中国中药有限公司, 北京 100195

[摘要] 目的: 采用简单重复序列(SSR)分子标记技术鉴定不同产区黄芩种质资源。方法: 基于黄芩基因组数据设计SSR引物, 并对来自河北、东北(辽宁、吉林地区)、内蒙古、山东、山陕(山西和陕西)地区共计5个产区的黄芩进行遗传多样性分析及聚类分析。结果: 引物组合Sb2、Sb16、Sb22、Sb23、Sb26可以对产地为辽宁、吉林的黄芩进行鉴定区分; 引物组合Sb21、Sb22、Sb28可以对产地为内蒙古的黄芩进行鉴定区分; 引物组合Sb5、Sb13、Sb16、Sb22可以对产地为陕西、山西的黄芩进行鉴定区分。结论: 研究结果可为不同产区黄芩种质资源的鉴定提供一种准确、高效的技术方法。

[关键词] 黄芩; 简单重复序列分子标记; 遗传多样性; 种质鉴定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2021)11-1876-07

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20201202004

SSR for Identification of *Scutellaria baicalensis* from Different Producing Areas

LIU Mei-juan, ZHENG Si-hao, ZHAO Sha, QIN Yi-jie, ZENG Yan*, WANG Ji-yong*

China National Traditional Chinese Medicine Co., Ltd., Beijing 100195, China

[Abstract] **Objective:** To identify the germplasm resources of *Scutellaria baicalensis* Georgi from different regions. **Methods:** Simple sequence repeats (SSR) primers were designed based on genome data of *S. baicalensis*, and genetic diversity analysis and cluster analysis were performed on *S. baicalensis* from 5 regions: Hebei, Northeast China (Liaoning, Jilin), Inner Mongolia, Shandong, Shanshaan (Shanxi and Shaanxi). **Results:** The combination of primers Sb2, Sb16, Sb22, Sb23, and Sb26 can distinguish samples from Liaoning and Jilin, and primers Sb21, Sb22, and Sb28 together can identify samples from Inner Mongolia. In addition, the combination of Sb5, Sb13, Sb16, and Sb22 can distinguish samples from Shanxi and Shaanxi. **Conclusion:** This study provides an accurate and efficient technical method for the identification of *S. baicalensis* from different regions.

[Keywords] *Scutellaria baicalensis* Georgi; SSR molecular marker; genetic diversity; germplasm identification

黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 为唇形科黄芩属多年生草本植物, 是一种广泛使用的大宗药材, 其以根入药, 味苦, 性寒, 有清热燥湿、泻火解毒、止血、安胎等功效^[1-3]。黄芩产于河北、辽宁、吉林、内蒙古、山东、山西、陕西等地, 不同产地黄芩药材的药效差异较大^[4-5]。近年来, 对黄芩的研究多集中在生理生化、药理等方面^[6-7], 不同种质鉴别多运用性状鉴别及显微鉴别等方法^[8], 通常依赖于个人经

验及主观判断, 技术可推广性欠缺。黄芩产地的鉴别一直是黄芩物种鉴定的技术难点, 也是当前中药资源产业面临的行业难题。

DNA分子标记技术具有高效、准确、不受环境条件影响、实验操作简单等优点^[9], 已广泛应用于植物品种真实性鉴定及纯度检测研究^[10-11]。简单重复序列(SSR)标记是近年来发展起来的建立在聚合酶链式反应(PCR)基础上的第二代分子标记。由于

[△] **[基金项目]** 财政部和农业农村部: 国家现代农业产业技术体系项目(CARS-21); 国家重点研发计划项目(2017YFC1701400, 2017YFC1700700); 植物品种DUS测试指南研制项目(ZY-2020-09)

* **[通信作者]** 曾燕, 副研究员, 研究方向: 中药资源研究; Tel: (010) 89259613, E-mail: zyzy1221@126.com
王继永, 研究员, 研究方向: 中药资源研究与产业化应用; Tel: (010) 89259576, E-mail: wangjiyong75@163.com

SSR分子标记具有数量丰富、多态性高、遗传共显性、谱带扩增稳定、精度高、检测时间短、技术成熟等特点,已应用于作物遗传学研究^[12-13]。文苗苗等^[14]对6个野生或栽培产区共147份黄芩种质进行遗传多样性分析和评价,分子聚类结果表明,不同产区黄芩种质间存在一定的遗传分化和基因交流,遗传变异主要存在于产区内。张红瑞等^[15]利用简单序列重复区间扩增多态性(ISSR)分子标记技术分析得到,黄芩种源间的亲缘关系与地理位置存在一定的联系。本研究基于黄芩全基因组设计SSR引物,鉴别河北、辽宁、吉林、内蒙古、山东、山西和陕西地区黄芩种质资源,以期为黄芩产区鉴定、资源的保护和开发及分子标记辅助育种等提供参考。

1 材料

黄芩样本分别采于河北,辽宁、吉林(以下简称“东北”),内蒙古,山东,山西、陕西(以下简称“山陕”)地区共计5个产区的黄芩各12、12、10、11、13株,所采样品均为当年萌发的鲜叶,样品信息见表1。经中国中药有限公司曾燕副研究员鉴定为黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi。

T100型PCR仪、GelDocXR+型凝胶成像仪(美国Bio-Rad公司);DYY-6D型电泳仪(北京六一生物科技有限公司);1-14型离心机(德国Sartorius公司);NanoDrop One型超微量分光光度计(美国Thermo公司)。

表1 黄芩样品采集信息

产区	采集地	编号	产区	采集地	编号
河北	河北省承德市围场县	HBCD102	内蒙古	内蒙古自治区乌兰察布市	NMWL104
	河北省承德市隆化县	HBCD103		内蒙古自治区锡林浩州市正镶白旗	NMXL101
	河北省承德市隆化县	HBCD104		内蒙古自治区锡林浩州市正镶白旗	NMXL102
	河北省承德市围场县	HBCD105		内蒙古自治区锡林浩州市	NMXL103
	河北省承德市围场县	HBCD106		内蒙古自治区锡林浩州市	NMXL104
	河北省承德市围场县	HBCD107	山东	山东省文登市	SDWD101
	河北省承德市隆化县	HBCD108		山东省文登市界石镇后	SDWD103
	河北省张家口市赤城县	HBZJ101		山东省潍坊市临朐县	SDWF101
	河北省张家口市康保县	HBZJ105		山东省潍坊市临朐县	SDWF103
	河北省张家口市康保县	HBZJ106		山东省烟台市福山区	SDYT101
	河北省张家口市赤城县	HBZJ107		山东省烟台市福山区	SDYT102
	河北省张家口市康保县	HBZJ108		山东省烟台市	SDYT103
东北	吉林省四平市双辽市	JLSP101		山东省淄博市博山区	SDZB101
	吉林省四平市双辽市	JLSP103		山东省淄博市博山区	SDZB102
	吉林省四平市双辽市	JLSP104		山东省淄博市博山区	SDZB103
	吉林省松原市乾安县	JLSY101		山东省淄博市	SDZB104
	吉林省松原市乾安县	JLSY102	山陕	山西省临汾市浮山县	SXLF101
	吉林省松原市乾安县	JLSY103		山西省临汾市浮山县	SXLF102
	吉林省松原市乾安县	JLSY104		山西省临汾市浮山县	SXLF103
	辽宁省朝阳市北票大黑山特别保护区	LNCY101		山西省榆次市	SXYC101
	辽宁省朝阳市北票大黑山特别保护区	LNCY102		山西省榆次市	SXYC102
	辽宁省葫芦岛市建昌县	LNHL101		山西省榆次市	SXYC103
	辽宁省葫芦岛市建昌县	LNHL102		陕西省榆林市佳县	SXYL101
	辽宁省葫芦岛市建昌县	LNHL103		山西省阳泉市郊区	SXYQ101
内蒙古	内蒙古自治区赤峰市阿鲁科尔沁旗	NMCF103		山西省阳泉市	SXYQ102
	内蒙古自治区呼伦贝尔市鄂温克旗	NMHL101		山西省阳泉市郊区	SXYQ103
	内蒙古自治区呼伦贝尔市鄂温克旗	NMHL102		陕西省咸阳市淳化县	SXYY101
	内蒙古自治区呼伦贝尔市鄂温克旗	NMHL103		陕西省咸阳市淳化县	SXYY102
	内蒙古自治区乌兰察布市卓资县	NMWL103		陕西省咸阳市淳化县	SXYY103

注:山西和陕西简称“山陕”;表3~8同。

异丙醇(批号:20190605)、无水乙醇(批号:20190507)均购自国药集团化学试剂有限公司; *Taq* DNA聚合酶(批号:W9205a)、 $10\times Taq$ Buffer(批号:U8402a)均购自天根生化科技(北京)有限公司。

2 方法

2.1 基因组DNA的提取

黄芩基因组DNA利用改良的十六烷基三甲基溴化铵法(mCTAB)提取。取黄芩叶片样品100 mg,浸入液氮冷冻研磨至细小的粉末;加入buffer A溶液1.5 mL,反复颠倒混匀,冰浴10 min, $10\,000\times g$ 离心2 min,弃上清液;加入buffer A溶液1.5 mL,反复颠倒混匀,冰浴10 min, $10\,000\times g$ 离心2 min后,弃上清液;加入预热的2% CTAB溶液800 μ L,沉淀均质悬浮后,65 $^{\circ}\text{C}$ 水浴1.5~2.0 h,其间颠倒均质溶液3~5次; $10\,000\times g$ 室温离心5 min,取DNA上清液至2.0 mL离心管中,加入等体积CI(三氯甲烷-异戊醇24:1)溶液,颠倒摇床上混合10 min; $10\,000\times g$ 离心5 min,取上清液至新的2.0 mL离心管中,加入等体积CI溶液,颠倒摇床上混合10 min; $10\,000\times g$ 离心10 min,取上清液至新的1.5 mL离心管中,加0.6倍体积冰冷的异丙醇,颠倒混合后置于-20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存1 h以上; $10\,000\times g$ 离心2 min,弃上清液,控干液滴,加入RNase溶液($100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)100 μ L,37 $^{\circ}\text{C}$ 保存0.5 h;依次加入双蒸水(ddH₂O)150 μ L、5 mol·L⁻¹ NaCl 50 μ L和无水乙醇700 μ L,充分混合, $10\,000\times g$ 离心3 min,控干液滴,加入70%乙醇600 μ L,混合后离心2 min,弃上清液;加入70%乙醇600 μ L,混合后离心2 min,弃上清液;加TE缓冲液100 μ L溶解DNA,并根据超微分光光度计测定将样品DNA稀释至50 ng· μ L⁻¹,用于后续的PCR扩增。

2.2 SSR引物筛选

基于文献研究筛选SSR引物^[16]:在SSR核心区侧翼序列中(150 bp范围),使用primer 3进行primer引物设计。引物最佳长度为24 bp;引物最小长度为20 bp;引物最大长度为28 bp;最佳退火温度为58 $^{\circ}\text{C}$;最低退火温度为55 $^{\circ}\text{C}$;最高退火温度为60 $^{\circ}\text{C}$;1对引物退火温度的最大差值为1 $^{\circ}\text{C}$ 。其他参数采用primer 3的默认参数。将得到的引物BLAST比对回基因组上,将成对引物在基因组上可以扩增得到的序列长度进行比较,与含有目标SSR

的产物长度差在2 kb以上,保留该对引物,与含SSR产物长度差在2 kb以内的,滤掉该引物,最终得到59 233对SSR引物。选择重复单元碱基数2~5 bp,重复单元5~10次的50对SSR引物进行预实验,所选择的引物长度为20~25 bp,理论退火温度为55~60 $^{\circ}\text{C}$,PCR产物长度为150~350 bp。

2.3 PCR扩增及检验

用筛选出的引物对提取的5个不同产区所有黄芩DNA样本进行PCR反应。反应体系为ddH₂O 11.8 μ L、 $10\times Taq$ Buffer 2 μ L、2 mmol·L⁻¹脱氧核糖核苷三磷酸(dNTP) 2 μ L、5 μ mol·L⁻¹正向引物(forward primer) 1 μ L、5 μ mol·L⁻¹反向引物(reverse primer) 1 μ L、*Taq* DNA聚合酶(*Taq* DNA polymerase) 0.2 μ L、50 ng· μ L⁻¹的DNA模板2 μ L。反应程序:94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性4 min;94 $^{\circ}\text{C}$ 变性0.5 min,退火0.5 min(引物Sb2、Sb5、Sb13、Sb21、Sb23、Sb26、Sb28退火温度为55 $^{\circ}\text{C}$,引物Sb16、Sb22退火温度为54 $^{\circ}\text{C}$),72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸1 min,32个循环;72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸10 min。

分别取PCR扩增产物2 μ L,用1.2%的琼脂糖凝胶电泳检测,电压160 V,时间15 min,通过凝胶成像系统观察否有条带且片段大小是否合适以确认实验成功。将检验成功的PCR扩增产物送生工生物工程(上海)股份有限公司进行毛细管电泳测序分型,得到PCR扩增产物的分型结果。

2.4 数据分析

PCR扩增产物分型结果用GeneMarker 4.0进行峰图判读^[17]。记录等位基因片段大小,得到等位基因矩阵,具体是以“0,1”二元方式来记录等位基因片段大小,即某个等位基因存在时记为1,某个等位基因不存在时记0,缺失数据记为-9,从而得到等位基因矩阵。根据上述等位基因矩阵,通过GenALEx计算黄芩在每个产区间、每个个体间的遗传多样性数据及遗传距离。基于GenALEx计算所得的个体遗传距离矩阵,通过分子进化遗传分析(MEGA)进行非加权组平均法(UPGMA)聚类分析,构建聚类树。

3 结果与分析

3.1 引物筛选

SSR是共显性标记,同一引物扩增不同产区黄

芩, 扩增产物牵引率相同的条带被认为是有同源性^[18]。从扩增成功率以及多态性(毛细管荧光电泳方式) 2个维度进行引物的选择, 最终选定9对多态性好、扩增成功率高的SSR引物。筛选引物信息见表2, 其中Sb2、Sb16、Sb22、Sb23、Sb26引物对东北地区黄芩扩增成功率高; Sb21、Sb22、Sb28引物对内蒙古地区黄芩扩增成功率高; Sb5、Sb13、Sb16、Sb22引物对山陕地区黄芩扩增成功率高。

表2 黄芩DNA样品PCR扩增筛选引物信息

编号	引物序列 (5'→3')	重复单元
Sb2	正向引物: TACTCCTGGGTAACATTTCGG 反向引物: TGCATGATCTCACTCGATTACA	(AGAAG) ×4
Sb5	正向引物: TGTCTCATTTCTCTCAGCTTCC 反向引物: CACCACCTTTTCTGCTCTTTCT	(AG) ×9
Sb13	正向引物: CCATGTAAGGGTGGGGTAAC 反向引物: CGATCCTAAGAGCAAAGATTCCG	(ATA) ×9
Sb16	正向引物: CTTGGAGCGGTAGTAGTCGC 反向引物: AACAATCCATGGCAACAACA	(TGG) ×9
Sb21	正向引物: AATCGAGCGAGGCACTAAGA 反向引物: TGCTTTGATTGAATCCCATGT	(GAT) ×8
Sb22	正向引物: TGGTATTGACCATGAGCCA 反向引物: GGTCATGGGAGTATGAGCGT	(AAT) ×8
Sb23	正向引物: TGGTGGATGGGAAAGAAGAG 反向引物: GTGGTGGTTTTGGAAGGAGA	(CAA) ×8
Sb26	正向引物: GTAAACCGCCTGATCGTTGT 反向引物: GATCCGATCCAGAAGCACAT	(CTG) ×9
Sb28	正向引物: AAAACGCATCTGAGTTTGGC 反向引物: TCGCACTTGCCTTCACTAAA	(CA) ×9

3.2 不同产区黄芩遗传多样性分析

3.2.1 基于引物Sb2、Sb16、Sb22、Sb23、Sb26的遗传多样性分析 多态性位点是衡量遗传多样性的重要参数。基于黄芩SSR引物组合(Sb2、Sb16、Sb22、Sb23、Sb26)对5个产区黄芩遗传多样性进行分析, 见表3。结果显示, 5个产区黄芩样品的观测等位基因数(N_a)为3.200~4.600, 有效等位基因数(N_e)为2.704~3.189, Shannon's指数(I)普遍较高, 为0.994~1.197, 其中东北产区的 N_e 均值相对最低, 相应的 I 也较低。同时山陕产区的样品观测杂合度(H_o) < 期望杂合度(H_e), 表明该产区可能存在一定的近交现象或者有杂合缺失未检测到的情况。

3.2.2 基于引物Sb21、Sb22、Sb28的遗传多样性分析 基于黄芩SSR引物组合(Sb21、Sb22、Sb28)对5个产区黄芩遗传多样性进行分析, 见表4。5个产区黄芩样品的 N_e 为1.592~4.091, I 除了内蒙古产

表3 基于引物Sb2、Sb16、Sb22、Sb23、Sb26的黄芩遗传多样性分析

产区	N_a	N_e	I	H_o	H_e	F
河北	3.400	2.704	1.023	0.626	0.575	-0.115
东北	3.200	2.717	0.994	0.733	0.568	-0.328
内蒙古	3.400	2.705	1.042	0.680	0.589	-0.173
山东	4.400	3.189	1.181	0.679	0.623	-0.057
山陕	4.600	3.104	1.197	0.408	0.612	0.312

注: 固定指数(F) = $1 - (H_o/H_e)$, F 取值为 $[-1, 1]$, 越接近0表示群体越接近随机杂交, 越接近1表示近交越严重或杂合缺失未检测到, 越接近-1表示存在杂种选择或者远交频繁。

区外普遍较高, 为0.545~1.461, 其中内蒙古产区的 N_e 均值最低, 相应的 I 也较低。河北、内蒙古、山东产区样品的 $H_o > H_e$, 表明该产区可能存在一定的杂种选择现象或者远交现象; 东北产区与山陕产区样品的 $H_o < H_e$, 该产区可能存在一定的近交现象或者有杂合缺失未检测到的情况。

表4 基于引物Sb21、Sb22、Sb28的黄芩遗传多样性分析

产区	N_a	N_e	I	H_o	H_e	F
河北	4.333	3.634	1.247	0.821	0.660	-0.279
东北	5.333	4.091	1.461	0.639	0.720	0.127
内蒙古	2.333	1.592	0.545	0.444	0.330	-0.266
山东	4.333	2.878	1.178	0.722	0.618	-0.152
山陕	4.667	3.188	1.196	0.410	0.607	0.312

3.2.3 基于引物Sb5、Sb13、Sb16、Sb22的遗传多样性分析 基于黄芩SSR引物组合(Sb5、Sb13、Sb16、Sb22)对5个产区黄芩遗传多样性进行分析, 见表5。5个产区黄芩样品的 N_e 为2.809~4.209, I 普遍较高, 为1.127~1.537, 其中山陕产区的黄芩样品 N_e 均值最低, 相应的 I 也较低。河北产区的样品 $H_o < H_e$, 该产区可能存在一定的近交现象或者有杂合缺失未检测到的情况; 其他产区样品 H_o 接近 H_e , 说明该产区样品比较符合自然状态。

表5 基于引物Sb5、Sb13、Sb16、Sb22的黄芩遗传多样性分析

产区	N_a	N_e	I	H_o	H_e	F
河北	4.500	3.432	1.332	0.583	0.701	0.166
东北	5.250	4.209	1.537	0.750	0.762	0.015
内蒙古	4.000	3.218	1.250	0.625	0.682	0.072
山东	5.750	3.817	1.461	0.688	0.711	-0.002
山陕	4.500	2.809	1.127	0.556	0.573	0.004

3.3 聚类结果分析

3.3.1 东北产区黄芩鉴定 基于黄芩SSR引物组合(Sb2、Sb16、Sb22、Sb23、Sb26), 通过GenALEx

计算各产区黄芩样品的遗传距离(表6)。各产区样品间平均遗传距离为0.296,其中东北与山东产区样品的遗传距离最大,为0.497,说明2个产区黄芩种群关系最远;山东与河北产区样品的遗传距离最小,为0.192,说明2个产区黄芩种群关系最近。通过MEGA进行UPGMA聚类分析,构建聚类树(图1)。黄芩样品聚为5个分支,只有东北产区的聚为较纯的1个分支,其他分支都有不同程度的混杂情况,同时也说明5对SSR引物可以较好地对产地为辽宁和吉林的黄芩样品进行区分鉴定。

表6 基于引物Sb2、Sb16、Sb22、Sb23、Sb26的各产区黄芩样品遗传距离

产区	河北	东北	内蒙古	山东	山陕
河北	0				
东北	0.218	0			
内蒙古	0.344	0.269	0		
山东	0.192	0.497	0.419	0	
山陕	0.272	0.272	0.254	0.224	0

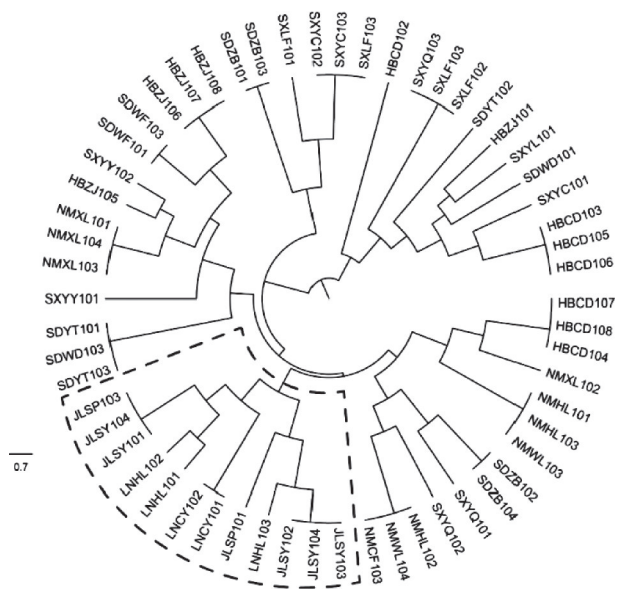


图1 基于引物Sb2、Sb16、Sb22、Sb23、Sb26的不同产区黄芩遗传聚类

3.3.2 内蒙古产区黄芩鉴定 基于黄芩SSR引物组合(Sb21、Sb22、Sb28),通过GenALEx计算各产区黄芩样品的遗传距离(表7)。各产区样品间平均遗传距离为0.255,其中山陕与内蒙古产区样品的遗传距离最大,为0.412,说明2个产区黄芩的种群关系最远;山东与河北、山陕产区样品的遗传距离相对最小,分别为0.099、0.083,说明山东与河

北、山陕产区黄芩种群关系相对更近。通过MEGA进行UPGMA聚类分析,构建聚类树(图2)。只有内蒙古产区的黄芩样品聚为较纯的1支,其他分支都有不同程度的混杂情况,同时也说明3对SSR引物可以较好地对产地为内蒙古的黄芩进行区分鉴定。

表7 基于引物Sb21、Sb22、Sb28的各产区黄芩样品遗传距离

产区	河北	东北	内蒙古	山东	山陕
河北	0				
东北	0.139	0			
内蒙古	0.299	0.376	0		
山东	0.099	0.255	0.537	0	
山陕	0.146	0.208	0.412	0.083	0

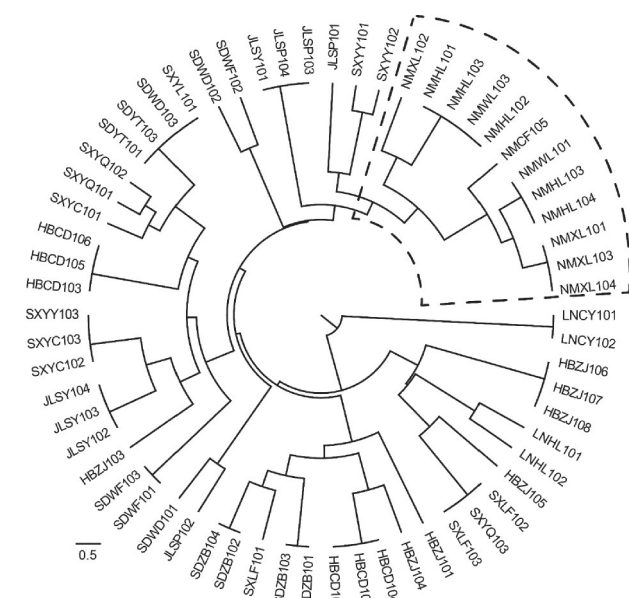


图2 基于引物Sb21、Sb22、Sb28的不同产区黄芩遗传聚类

3.3.3 山陕产区黄芩鉴定 基于黄芩SSR引物组合(Sb5、Sb13、Sb16、Sb22),通过GenALEx计算各产区黄芩样品的遗传距离(表8)。各产区样品间平均遗传距离为0.356,其中山陕与东北产区样品的遗传距离最大,为0.565,说明2个产区黄芩的种群关系最远;产区河北与产区内蒙古、东北的遗传距离相对最小,分别为0.109、0.196,说明产区河北与产区东北、内蒙古的种群关系相对更近。基于GenALEx计算所得的遗传多样性数据中的遗传距离,通过MEGA进行UPGMA聚类分析,构建聚类树,如图3所示。只有山陕产区的聚为较纯的一支,其他分支都有不同程度的混杂情况,同时也说明4对SSR引物可以较好地对山西、陕西产区的黄芩进行

区分鉴定。根据4对SSR引物多态位点结果,基于遗传距离,若待鉴别黄芩与山陕产区聚在一起则表示该黄芩产地为山西或陕西。

表8 基于引物Sb5、Sb13、Sb16、Sb22的各产区黄芩样品遗传距离

产区	河北	东北	内蒙古	山东	山陕
河北	0				
东北	0.196	0			
内蒙古	0.109	0.217	0		
山东	0.329	0.281	0.340	0	
山陕	0.483	0.565	0.559	0.486	0

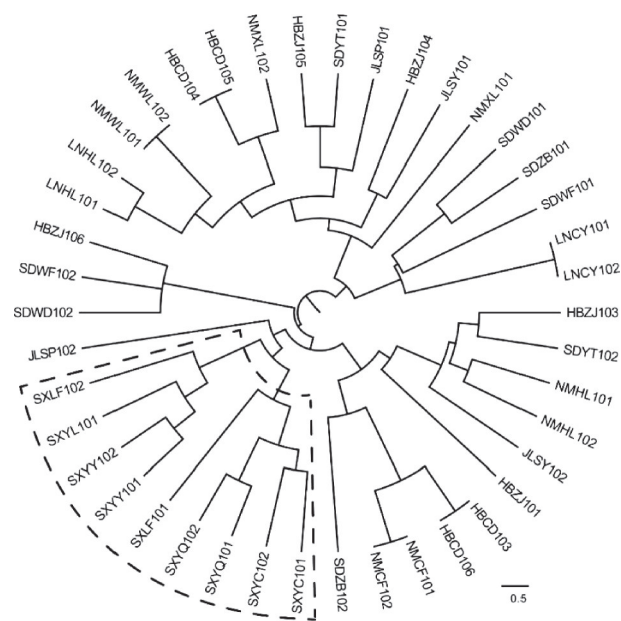


图3 基于引物Sb5、Sb13、Sb16、Sb22的不同产区黄芩遗传聚类

4 讨论

SSR分子标记在亲缘关系鉴定、遗传进化关系、指纹图谱、育种等领域应用十分广泛^[19-23]。因此,可以利用分子标记方法区分不同产区黄芩资源,并鉴定黄芩亲缘关系。本研究利用SSR分子标记的方法,筛选出9对引物,针对河北、东北(辽宁、吉林)、内蒙古、山东、山陕(山西和陕西)地区共计5个产区的黄芩进行遗传多样性分析。结果表明,不同产地的黄芩具有丰富的遗传多样性,这与齐琳洁等^[24]研究结果一致,为黄芩种质资源评价与利用提供了依据。张红瑞等^[15]采用ISSR分子标记对54个黄芩种源进行分析。聚类分析图自然聚为3类,且地域相近的种源首先聚为一类,也存在陕西佳县种源

和辽宁建昌种源聚为一类,但不同的标记得到的结果可能有差异。本研究对不同产区黄芩进行SSR分子标记鉴别,得到3个引物组合用于鉴别东北、内蒙古、山陕产区的黄芩。而河北和山东产区的黄芩种质由于混杂较为严重,目前无法根据产地将其区分开,这一研究结果与文苗苗等^[14]的研究结果一致。本研究结果可为黄芩优势种植资源收集、保存与评价提供参考。

参考文献

- [1] 王文涛,陈瑞,曹瑶,等. 中药黄芩资源研究进展[J]. 陕西农业科学,2019,65(4):87-91.
- [2] 张甜. 黄芩主要药效成分积累与生态因子和关键酶基因表达的关系研究[D]. 长春:吉林农业大学,2019.
- [3] 刘晶晶,张贵君,彭慧,等. 黄芩清热燥湿和泻火解毒药效组分分析[J]. 辽宁中医药大学学报,2013,15(11):78-80.
- [4] 杨洋,王志强,任丽丽,等. 不同产地黄芩药材中主要药效成分含量变化规律研究[J]. 天津中医药大学学报,2020,39(3):324-329.
- [5] 周锡钦,梁鸿,赵玉英,等. 黄芩道地与非道地药材主要黄酮成分的含量测定[C]//中华中医药学会中药分析分会. 中华中医药学会中药分析分会第三届学术交流会论文集. 北京:中华中医药学会,2008:150-153.
- [6] 姜丹. 黄芩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.
- [7] 申洁. 黄芩地上部位质量评价研究及黄芩属药用亲缘学初探[D]. 北京:北京协和医学院,2018.
- [8] 崔璐. 我国黄芩种质资源的鉴别与质量评价[D]. 济南:山东中医药大学,2010.
- [9] 陈星,高子厚. DNA分子标记技术的研究与应用[J]. 分子植物育种,2019,17(6):1970-1977.
- [10] 雷洁. DNA分子检测技术在种子质量鉴定方面的应用[J]. 种子世界,2018(7):60-61.
- [11] 刘奇燕. SSR分子标记技术在种子纯度检测中的应用[J]. 现代农业科技,2017(13):49.
- [12] 王玲玲,陈东亮,黄丛林,等. SSR分子标记技术在植物研究中的应用[J]. 安徽农业科学,2017,45(36):123-126.
- [13] 杨旭,刘飞,霍秋月,等. SSR分子标记鉴定栽培茄与野生茄杂种F₁研究[J]. 东北农业大学学报,2017,48(10):20-27.
- [14] 文苗苗,李桂双,张龙进,等. 黄芩种质资源ISSR遗传多样性的分析及评价[J]. 植物研究,2012,32(1):32-37.
- [15] 张红瑞,马彦秋,高致明,等. 黄芩种质资源的ISSR分析[J]. 河南农业大学学报,2012,46(4):380-384.

- [16] XU Z, GAO R, PU X, et al. Comparative genome analysis of *Scutellaria baicalensis* and *Scutellaria barbata* reveals the evolution of active flavonoid biosynthesis [J]. *Genom Proteom Bioinf*, 2020, 18(3): 230-240.
- [17] 陈凯云, 刘巧, 王禹, 等. 基于SSR分子标记对红马银花的遗传多样性分析[J]. *云南农业大学学报(自然科学)*, 2020, 35(5): 818-825.
- [18] 张裴斯. 甘肃不同产区栽培当归群体遗传多样性和遗传结构研究[D]. 兰州: 甘肃中医学院, 2014.
- [19] 李士敏, 李强, 孙崇鲁, 等. 基于多模式识别结合指纹图谱的三叶青产地鉴别比较研究[J]. *中草药*, 2020, 51(1): 197-203.
- [20] 任重, 汪贵斌, 杨晓明, 等. 基于SSR分子标记的枸杞遗传多样性研究[J/OL]. *经济林研究*, 2020. [2020-09-12]. <https://doi.org/10.14067/j.cnki.1003-8981.2020.03.011>.
- [21] 李珂楠, 杨成龙, 范竞超. 基于SSR标记的芍药种质资源遗传多样性研究[J]. *种子*, 2020, 39(3): 57-60.
- [22] 李青竹, 许俊旭, 王楦, 等. 利用SSR荧光标记构建七十二个莲属荷花品种指纹图谱[J]. *北方园艺*, 2020(4): 65-73.
- [23] 葛亮, 袁素霞, 王春城, 等. 百合部分种及品种系统进化关系的EST-SSR标记分析[J]. *园艺学报*, 2012, 39(11): 2189-2198.
- [24] 齐琳洁, 龙平, 蒋超, 等. 黄芩基因组SSR分子标记的开发及遗传多样性分析[J]. *药学报*, 2015, 50(4): 500-505.

(收稿日期: 2020-12-02 编辑: 田苗)