

新疆民族药多伞阿魏挥发油成分与遗传多样性相关性研究

唐代萍^{1,2}, 盛萍^{1*}, 苗莉娟¹, 王飒¹

(1. 新疆医科大学 中医学院, 乌鲁木齐 830011; 2. 乌鲁木齐市中医医院, 乌鲁木齐 830001)

[摘要] **目的:**通过对多伞阿魏挥发油成分与其遗传多样性相关性研究,为多伞阿魏种质资源与品质评价提供重要科学依据。**方法:**测定不同产地多伞阿魏挥发油成分含量,采用 ISSR 分子标记技术和聚类分析对来自省内 8 个县 的 176 份多伞阿魏样品的遗传多样性进行研究,运用灰色关联法分析多伞阿魏遗传多样性对挥发油成分含量的影响。**结果:**用所筛选的 15 条引物对多伞阿魏样品进行 ISSR 分析,共扩增出 126 条清晰的条带,其中多态性位点 93 个。8 个居群中遗传多样性水平最高的是裕民县[多态性位点百分率(PPB) = 29.37%, Nei's 多样性指数(H) = 0.110 4, Shannon's 信息指数(I) = 0.164 3],最低的是青河县(PPB = 19.05%, H = 0.070 5, I = 0.105 4)。其中沙湾县与富蕴县的多伞阿魏居群间遗传距离最大(0.219 9),两者的遗传一致度最低(0.802 6),表明两者之间的亲缘关系最远,遗传差异较大。由 H, I, PPB 计算的多伞阿魏居群间的遗传多样性与人参新萜醇、龙脑、 γ -桉叶油醇及挥发油成分总含量关联性较大。**结论:**多伞阿魏居群间的遗传变异为 63.08%,居群内的遗传变异为 36.92%,多伞阿魏地理分布与遗传多样性具有显著关系,多伞阿魏 3 个遗传多样性因子中的 Nei's 多样性指数对多伞阿魏挥发性成分含量有着较大的影响。

[关键词] 多伞阿魏; 挥发油成分; ISSR; 遗传多样性; 灰色关联分析

[中图分类号] R282 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)08-0041-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016080041

Correlation Analysis Between Volatile Oil from *Ferula ferulaeoides* in Xinjiang Ethnic Medicine and Its Genetic Diversity

TANG Dai-ping^{1,2}, SHENG Ping^{1*}, MIAO Li-juan¹, WANG Sa¹

(1. School of Traditional Chinese Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China;

2. Urumqi Hospital of Traditional Chinese Medicine, Urumqi 830001, China)

[Abstract] **Objective:** To provide an important scientific basis for *Ferula ferulaeoides* germplasm resources and quality evaluation through the study on correlation between the volatile oil and the genetic diversity of *F. ferulaeoides*. **Method:** The content of volatile oil of *F. ferulaeoides* from different origins was determined, and the genetic diversity of 176 samples from 8 counties in Xinjiang was studied with inter-simple sequence repeat (ISSR) molecular marker technique, and then the grey relational analysis (GRA) was used to analyze the effect of genetic diversity on the volatile oil content of *F. ferulaeoides*. **Result:** The ISSR analysis of the *F. ferulaeoides* samples was carried out by using 15 primers, a total of 126 clear bands were amplified and 93 of them were polymorphic. The highest level of genetic diversity among the 8 populations was in Yumin County [percentage of polymorphic bands (PPB) = 29.37%, Shannon's information index (I) = 0.164 3, Nei's diversity index (H) = 0.110 4], and the lowest level was in Qinghe County (PPB = 19.05%, H = 0.070 5, I = 0.105 4). The genetic distance of *F. ferulaeoides* was greatest Shawan County and Fuyun County in Xinjiang (0.219 9), with the lowest genetic identity (0.802 6), indicating that these two areas had the farthest genetic relationship and great genetic differences. The genetic diversity of *F. ferulaeoides* calculated with H, I and PPB showed a strong correlation to

[收稿日期] 20150823(012)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81060364,81560633)

[第一作者] 唐代萍,在读硕士,主管中药师,从事中药学调剂工作,Tel:18199188044,E-mail:tdp3@163.com

[通讯作者] *盛萍,博士,教授,硕士生导师,从事中药资源质量标准研究工作,Tel:0991-4362253,E-mail:xjsphwy@163.com

the total contents of ginsenoside, camphor, γ -eudesmol and volatile oils. **Conclusion:** The genetic variation was 63.08% in *F. ferulaeoides* between different populations, and 36.92% within the same population. The geographic distribution of *F. ferulaeoides* was significantly correlated with its genetic diversity, and the Nei's diversity index among the three factors had a greater impact on the volatile composition and content of *F. ferulaeoides*.

[Key words] *Ferula ferulaeoides*; volatile oil; ISSR; genetic diversity; grey correlation analysis

多伞阿魏 *Ferula ferulaeoides* 为伞形科植物,是新疆维吾尔族人民常用的重要药材资源。普遍生长在新疆古尔班通古特沙漠南缘地区的沙丘、沙地和砾石质的蒿属荒漠中^[1]。其药用部位为树脂和根,挥发油成分是多伞阿魏的主要有效成分,在临床上主要用于治疗心腹冷痛、慢性肠胃炎、胃溃疡、风湿性关节炎等疾病^[2]。

多年来,国内外学者在多伞阿魏化学成分分析^[3-4],药理作用^[5-6],提取工艺^[7-8],DNA 分子技术^[9]及生物学特性^[10-11]等方面都进行了大量的研究工作,但有关多伞阿魏挥发油成分含量与其遗传多样性方面的研究未见报道。而挥发油成分的组成和含量作为药材物质基础的表现形式之一,应是遗传变异和环境饰变之间相互作用的结果^[12-13]。目前国内在中药材 DNA 分子水平上的研究取得了许多进展。如李贝宁等^[14]研究了不同产地丹参功能基因表达水平与挥发油成分积累之间的关系,从而得出丹参酮类成分的积累受 SmAACT, SmCMK 基因调控作用明显。席培宇等^[15]研究表明,不同产地甘草 β -AS 基因多态性的差异以及表达量的差异,可能是导致甘草道地性形成的原因之一。肖承鸿等^[16]对栽培太子参的遗传多样性与药材质量进行综合评价,为合理利用太子参种质资源及优良品种选育提供理论依据。因此,本试验利用 ISSR 标记技术对不同产地多伞阿魏资源的遗传多样性进行分析,从 DNA 分子水平上揭示多伞阿魏的遗传多样性,并利用灰色关联度分析法探讨遗传多样性指数与其挥发油成分的相关性,为综合分析不同地理分布区域野生多伞阿魏资源的遗传特性及其品质评价提供重要科学依据。

1 材料

1.1 仪器 Agilent 7890A-5975C 气相色谱质谱联用仪(美国 Agilent), HP-5MS 石英毛细管色谱柱(0.25 mm \times 30 m, 0.25 μ m), AL204 型称量天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司), DRT-SX 智能恒温电热套, KQ3200 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试剂 乙醚(分析醇, 东莞市双德化工有限公司), 无水硫酸钠(分析醇, 廊坊鹏彩精细化工有限公司)。

1.3 材料 于 2011 年 5—6 月分别从新疆富蕴县、青河县、木垒县等 8 个产地采集了 42 份多伞阿魏样品, 经新疆医科大学盛萍教授鉴定为伞形科植物多伞阿魏 *F. ferulaeoides* 的干燥根。根阴干, 粉碎, 过 10 目筛, 密封, 备用, 多伞阿魏 GC-MS 试验样品信息见表 1。

表 1 多伞阿魏样品采集信息

Table 1 Collecting information of *Ferula ferulaeoides* samples

产区	产地	样品编号	海拔/m
I	富蕴县	1~6	2 287~3 294
II	青河县	7~13	3 287~3 878
III	木垒县	14~17	2 549~2 726
IV	奇台县	18~19	2 385~3 560
V	吉木萨尔县	20~24	1 965~2 018
VI	沙湾县	25~29	1 893~2 306
VII	裕民县	30~36	1 906~3 622
VIII	托里县	37~42	2 651~2 999

植物样品为每个产地随机选取 22 株植株, 每株随机采集其幼嫩叶置于硅胶袋中迅速干燥, 然后置 -20 $^{\circ}$ C 冰箱中保存, 备用, ISSR 试验样品信息见表 2。

表 2 多伞阿魏 ISSR 试验样品来源信息

Table 2 Sources information of *Ferula ferulaeoides* samples for ISSR

居群	采样地	纬度	经度
FY	富蕴县	47 06. 427'	88 37. 659'
QH	青河县	46 36. 862'	89 43. 881'
ML	木垒县	44 16. 923'	90 14. 462'
QT	奇台县	44 11. 972'	89 58. 304'
JL	吉木萨尔县	44 14. 637'	89 21. 989'
SW	沙湾县	44 12. 828'	85 58. 206'
YM	裕民县	46 10. 431'	82 54. 085'
TL	托里县	46 00. 601'	83 36. 047'

2 方法

2.1 多伞阿魏挥发油成分含量测定 按照课题组

前期文献的研究方法^[17],对多伞阿魏挥发油进行提取,并测定其挥发油成分含量^[17]。

2.2 多伞阿魏 ISSR 遗传多样性分析 按照课题组前期工作的研究方法,采用试剂盒 Plant Genomic DNA Kit(离心柱型)进行多伞阿魏基因组 DNA 提取,并用所筛选的 15 条引物对多伞阿魏 8 个野生居群共 176 份样品进行 ISSR 分析^[18]。

2.3 数据分析方法 运用数据分析软件 SPSS 20.0

和 DPS 7.05 对 8 个产地多伞阿魏的 ISSR 遗传数据及相应挥发油成分含量进行分析。

3 结果与分析

3.1 不同产地多伞阿魏挥发油成分及含量 按照课题组前期文献的研究结果,选取了 α -蒎烯、右旋柠檬烯、 β -金合欢烯、橙花叔醇、愈创木醇等 12 个成分为多伞阿魏挥发油共有成分,不同产地多伞阿魏挥发油成分含量见表 3^[17]。

表 3 不同产地多伞阿魏挥发油成分含量 ($\bar{x} \pm s, \times 10^{-3}$)

Table 3 Content of volatile oils in *Ferula ferulaeoides* from different origins ($\bar{x} \pm s, \times 10^{-3}$) mL·g⁻¹

产区编号	n	α -蒎烯	蒎烯	右旋柠檬烯	龙脑	乙酸龙脑酯	β -金合欢烯
I	6	0.05 ± 0.02	0.06 ± 0.02	0.58 ± 0.26	0.27 ± 0.10	0.41 ± 0.18	0.09 ± 0.02
II	7	0.08 ± 0.04	0.04 ± 0.02	0.32 ± 0.12	0.06 ± 0.01	0.25 ± 0.10	0.72 ± 0.14
III	4	0.19 ± 0.09	0.18 ± 0.09	0.40 ± 0.19	0.32 ± 0.17	0.95 ± 0.32	0.60 ± 0.19
IV	2	0.32 ± 0.03	0.40 ± 0.01	0.91 ± 0.54	1.18 ± 1.08	2.34 ± 0.13	1.04 ± 0.39
V	5	0.13 ± 0.05	0.15 ± 0.05	0.45 ± 0.19	1.08 ± 0.51	2.01 ± 0.65	0.72 ± 0.12
VI	5	0.07 ± 0.03	0.08 ± 0.03	0.25 ± 0.12	0.18 ± 0.03	0.45 ± 0.22	0.20 ± 0.04
VII	7	0.33 ± 0.13	0.34 ± 0.08	1.18 ± 0.23	0.27 ± 0.02	0.76 ± 0.28	0.24 ± 0.10
VIII	6	0.30 ± 0.06	0.34 ± 0.10	1.09 ± 0.35	1.06 ± 0.44	1.15 ± 0.33	0.22 ± 0.11

产区	n	人参新萜醇	橙花叔醇	愈创木醇	γ -桉叶油醇	异愈创木醇	异喇叭烯
I	6	0.25 ± 0.03	0.20 ± 0.04	8.60 ± 1.00	0.22 ± 0.03	0.30 ± 0.11	0.17 ± 0.08
II	7	0.18 ± 0.02	0.97 ± 0.24	6.93 ± 0.81	0.21 ± 0.02	0.23 ± 0.06	0.13 ± 0.05
III	4	0.22 ± 0.04	0.83 ± 0.24	5.34 ± 1.13	0.22 ± 0.02	0.12 ± 0.02	0.12 ± 0.04
IV	2	0.05 ± 0.00	1.39 ± 0.06	2.52 ± 1.67	0.08 ± 0.01	0.06 ± 0.02	0.07 ± 0.03
V	5	0.09 ± 0.03	1.17 ± 0.30	5.19 ± 0.79	0.08 ± 0.02	0.06 ± 0.01	0.08 ± 0.02
VI	5	0.20 ± 0.03	0.92 ± 0.22	8.16 ± 0.37	0.26 ± 0.05	0.19 ± 0.03	0.12 ± 0.05
VII	7	0.10 ± 0.00	0.48 ± 0.15	4.40 ± 0.53	0.12 ± 0.01	0.07 ± 0.01	0.14 ± 0.02
VIII	6	0.10 ± 0.02	0.48 ± 0.16	4.52 ± 1.06	0.09 ± 0.02	0.06 ± 0.01	0.08 ± 0.04

3.2 不同居群多伞阿魏 ISSR 遗传多样性、遗传分化及聚类分析

3.2.1 不同居群多伞阿魏 ISSR 遗传多样性分析

所筛选的 15 条引物序列分别为 5'-TCTC TCTCTCTCTCA-3', 5'-TCTCTCTCTCTCTCG-3', 5'-AGAGAGAGAGAGAGAGYT-3', 5'-AGAGAGAGA GAGAGAYA-3', 5'-GAGAGAGAGAGAGAGAYT-3', 5'-CTCTCTCTCTCTCTCTRG-3', 5'-TCTCTCTCTCTC TCTCRA-3', 5'-TCTCTCTCTCTCTCTCRT-3', 5'-TGT GTGTGTGTGTGRA-3', 5'-CTCCTCCTCCTCCTCC-3', 5'-GTTGTTGTTGTTGTTGTT-3', 5'-GATAGATA GATAGATA-3', 5'-GGGGTGGGGTGGGGGTG-3', 5'-TAGATCTGATATCTGAATCCCC-3', 5'-AGAGTTGG TAGCTCTTGATC-3',对多伞阿魏 8 个野生居群共 176 份样品进行 ISSR 分析,共扩增出 126 条清晰的条带,其中多态性位点 93 个,多态性位点比率为 73.8%。平均每个引物扩增出的位点数为 8.4 条,扩增的多态性位点为 6.2 条,每个引物的多态性位点百分率为 42.9% ~ 100.0%,见表 4。

表 4 多伞阿魏 ISSR 扩增结果和遗传多样性分析

Table 4 Amplification and genetic diversity analysis of *Ferula ferulaeoides* by ISSR

引物	T _m /°C	总条带数	多态性条带	多态性 /%
UBC822	49	5	3	60.0
UBC824	51	8	7	87.5
UBC834	50	9	6	66.7
UBC836	50	6	3	50.0
UBC840	50	7	3	42.9
UBC845	52	4	3	75.0
UBC852	50	9	6	66.7
UBC853	50	9	9	100.0
UBC860	50	9	8	88.9
UBC866	58	7	4	57.1
UBC869	45	12	10	83.3
UBC872	35	11	9	81.8
UBC881	55	10	8	80.0
UBC892	51	8	5	62.5
UBC895	51	12	9	75.0

在物种水平上,多伞阿魏 Nei's 遗传多样性指数(H)为 0.216 7, Shannon's 信息指数(I)为

0.331 5。在居群水平上, H 指数为 0.091 9, I 指数为 0.136 4。其多态位点百分率为 19.05% ~ 29.37%。其中遗传多样性水平最高的居群为 YM 多态性位点百分率(PPB = 29.37%, H = 0.110 4, I = 0.164 3), 最低的居群为 QH(PPB = 19.05%, H = 0.070 5, I = 0.105 4), 见表 5。

表 5 多伞阿魏 8 个居群的 ISSR 遗传多样性

Table 5 Genetic diversity of *Ferula ferulaenides* from 8 populations by ISSR

居群	H	I	PPB/%
FY	0.084 5	0.125 4	22.22
QH	0.070 5	0.105 4	19.05
ML	0.092 6	0.140 6	26.49
QT	0.085 1	0.124 9	21.43
JI	0.096 2	0.141 6	24.60
SW	0.091 4	0.134 0	23.02
YM	0.110 4	0.164 3	29.37
TL	0.104 8	0.154 6	26.98
居群水平	0.091 9	0.136 4	24.15
物种水平	0.216 7	0.331 5	73.80

3.2.2 不同居群多伞阿魏的遗传分化 由居群内遗传多样性(Hs)和总的基因多样性(Ht), 计算居群间遗传差异在总遗传变异中所占的比例(Gst), 可以反映居群间的遗传分化程度。分析结果表明, 多伞阿魏野生居群的 Hs 和 Ht 别为 0.080 4 和 0.217 7, 各个居群间的 Nei's 基因遗传分化指数 [$G_{st} = (H_t - H_s) / H_t$] 为 0.630 8。表明有 63.08% 的遗传变异存在于居群间, 而 36.92% 的遗传变异存在于居群内。说明遗传变异主要存在于居群间。居群间的基因流遗传多样性指数(Nm)为 0.292 7 < 1, 表明居群间的基因交流程度有限。

3.2.3 不同居群多伞阿魏的聚类分析和亲缘关系 遗传相似性系数或遗传距离是衡量居群间遗传分化程度的最重要指标, 8 个居群间多伞阿魏遗传距离和遗传一致度分析结果见表 6, Nei's 遗传一致度(I)为 0.802 6 ~ 0.900 1, 遗传距离(D)为 0.105 3 ~ 0.219 9。其中沙湾县与富蕴县的遗传距离最大(0.219 9), 二者的遗传一致度最低(0.802 6), 这表明两者之间的亲缘关系最远, 遗传差异最大。青河县与富蕴县的 2 个野生居群间的遗传距离最小(0.105 3), 二者的遗传一致度最高(0.900 1), 这表明两者之间的亲缘关系最近, 遗传差异较小。

用 NTSYS-PC 软件对 8 个不同野生居群的多伞阿魏进行聚类分析(图 1)。结果表明, 在遗传距离 0.15 处将 8 个居群的多伞阿魏聚成了 4 大类。第 I 组, YM(裕民县)和 TL(托里县); 第 II 组, JI(吉木

表 6 多伞阿魏 8 个野生居群遗传一致度(I 对角线以上)和遗传距离(D 对角线以下)

Table 6 Genetic identity (above diagonal I) and genetic distance (below diagonal D) of *Ferula ferulaenides* from 8 populations

居群	YM	TL	JI	SW	ML	QT	QH	FY
YM	-	0.87	0.86	0.84	0.84	0.87	0.82	0.83
TL	0.14	-	0.87	0.85	0.84	0.83	0.85	0.82
JI	0.15	0.14	-	0.85	0.86	0.87	0.84	0.83
SW	0.17	0.17	0.16	-	0.84	0.82	0.81	0.80
ML	0.17	0.17	0.16	0.17	-	0.83	0.81	0.81
QT	0.14	0.18	0.14	0.20	0.18	-	0.82	0.85
QH	0.20	0.16	0.17	0.21	0.20	0.20	-	0.90
FY	0.18	0.20	0.19	0.22	0.21	0.17	0.11	-

萨尔县), QT(奇台县), ML(木垒县); 第 III 组, SW(沙湾县); 第 IV 组, QH(青河县)和 FY(富蕴县); 聚类结果反映了不同地域不同生境下的多伞阿魏具有不同的遗传特征。

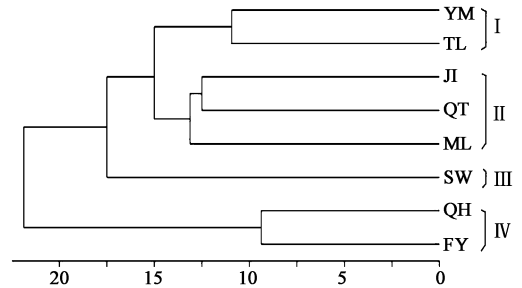


图 1 基于 Nei's 遗传距离的 ISSR 聚类分析 UPGMA

Fig.1 ISSR cluster analysis of *Ferula ferulaenides* based on Nei's genetic distance

第 I 组样本先与第 II 组样本聚在一起, 然后和第 III 组样本聚为一大类, 最后与第 IV 组聚为一类, 说明前 3 组多伞阿魏的亲缘关系较为相近, 可能是由于前 3 组具有相近的纬度, 且同处于天山北坡具有相似的生境, 而第 IV 组则具有较高的纬度, 且地理位置属于阿勒泰山南坡, 因此造成种内的遗传差异。

3.3 不同产地多伞阿魏挥发油成分含量与 ISSR 遗传多样性的灰色关联分析 利用数据分析软件 DPS 7.05 对 8 个产地多伞阿魏的 Nei's 多样性指数, Shannon's 信息指数及多态性位点百分率与相应挥发油成分含量进行灰色关联分析, 结果见表 7。

从表 7 中可以看出: 多伞阿魏挥发油成分总含量与 3 个遗传多样性因子 Nei's 多样性指数, Shannon's 信息指数和多态性位点百分率的关联度大小相差不大, 说明多伞阿魏挥发性成分含量受 3 个遗传多样性因子影响总体趋势较为一致。但是, 对于多伞阿魏挥发油成分总含量(Y_1), 茨烯(Y_2), 右旋柠檬烯(Y_3), 龙脑(Y_4), 乙酸龙脑酯(Y_5), 愈创木

表 7 不同居群多伞阿魏 ISSR 遗传多样性与挥发油成分含量灰色关联分析

Table 7 GRA between genetic diversity by ISSR and volatile oil content of *Ferula ferulaeoides* by different populations

关联矩阵	γ_H	γ_I	γ_{PPB}
Y_1	0.513 4	0.520 2	0.505 6
Y_2	0.633 3	0.629 8	0.621 4
Y_3	0.507 6	0.505 2	0.499 9
Y_4	0.800 7	0.796 7	0.786 8
Y_5	0.619 4	0.616 6	0.610 0
Y_6	0.637 0	0.640 4	0.650 8
Y_7	0.820 7	0.824 9	0.838 2
Y_8	0.539 1	0.540 7	0.518 5
Y_9	0.599 3	0.594 2	0.584 8
Y_{10}	0.725 5	0.731 5	0.749 8
Y_{11}	0.639 5	0.636 3	0.628 8
Y_{12}	0.595 7	0.607 0	0.589 4
Y	0.746 7	0.727 7	0.686 4

注:关联度用 γ 表示。 $\gamma_H, \gamma_I, \gamma_{PPB}$ 分别代表多伞阿魏 ISSR 遗传多样性因子 Nei's 多样性指数, Shannon's 信息指数和多态性位点百分率等 3 个 ISSR 遗传多样性因子与相应挥发油成分含量的关联度。

醇(Y_9)及异愈创木醇(Y_{11})7 个成分而言,3 个因子的关联序基本为: γ_H (Nei's 多样性指数) $\geq \gamma_I$ (Shannon's 信息指数) $\geq \gamma_{PPB}$ (多态性位点百分率);对于人参新萜醇(Y_7), β -金合欢烯(Y_6)和 γ -桉叶油醇(Y_{10})3 个成分而言, $\gamma_{PPB} \geq \gamma_I \geq \gamma_H$;对于 α -蒎烯(Y_1),橙花叔醇(Y_8)和异喇叭烯(Y_{12})3 个成分而言, $\gamma_I \geq \gamma_H \geq \gamma_{PPB}$ 。其中,与遗传多样性因子关联度最大的是人参新萜醇($\gamma_H = 0.820 7, \gamma_I = 0.824 9, \gamma_{PPB} = 8 382$),其次为龙脑($\gamma_H = 0.800 7, \gamma_I = 0.796 9, \gamma_{PPB} = 7 868$),再次是多伞阿魏挥发油成分总含量($\gamma_H = 0.746 7, \gamma_I = 7 277, \gamma_{PPB} = 6 864$),最小的是右旋柠檬烯($\gamma_H = 0.507 6, \gamma_I = 0.505 2, \gamma_{PPB} = 0.499 9$)。说明 3 个遗传因素中 Nei's 多样性指数对多伞阿魏挥发性成分含量有着较大的影响。

4 讨论

4.1 多伞阿魏的遗传多样性 通过 ISSR 分子标记对多伞阿魏 8 个野生居群的遗传多样性分析,多态位点百分率为 73.8%。在物种水平上,其遗传多样性处于较高水平,说明多伞阿魏丰富的遗传多样性使其对环境变化的适应能力增强,故能围绕古尔班通古特沙漠边缘普遍生长。但多伞阿魏居群水平上的遗传多样性相对较低,其平均 PPB 为 24.15%,H 为 0.091 9,I 为 0.136 4。原因可能是多方面的,不同居群之间有不适应生境的阻隔。本课题所研究的多伞阿魏资源围绕着中国第二大沙漠古尔班通古特沙漠边缘地区普遍分布,所涉及面积有大约 4.88 万平

方公里。沙漠内环境恶劣,夏季气候炎热能达摄氏 50℃ 以上,冬季气候寒冷能达摄氏 -40℃ 以下,恶劣的气候环境阻碍一切昆虫、动物在此的活动。根据短命植物(或短生植物)的生物学特性,多伞阿魏在每个生长季中,利用春天雪融后的良好土壤水分条件,迅速进行营养生长,经过 1~2 月,叶逐渐枯萎,地下根转入休眠状态,来年春天继续进行营养生长。生长数年后,直到植株发育成熟,才从簇生的叶中抽出花葶,开花结实后死亡。其种子自然条件下萌发率较低,亦会采用营养繁殖的方式生长,这都造成了居群内遗传多样性的降低。可见,多伞阿魏居群的遗传多样性水平低是物种自身生物学特性,及人为、自然等多方面因素综合作用的结果。

4.2 多伞阿魏的遗传分化 遗传分化指数 $G_{st} = 0.630 8$,说明在物种水平上,有 63.08% 的遗传变异存在于居群间,而 36.92% 的遗传变异存在于居群内。表明其居群间发生了较大程度的遗传分化。在影响植物种群间遗传分化的因素中,基因流 N_m 被视为是使种群遗传结构均质化的主要因素之一,具有有限基因流的物种往往较那些具有广泛基因流的物种有较大的遗传分化^[19]。Wright (1951) 指出,种群间 $N_m > 1$,则能发挥其均质化作用; $N_m < 1$,则由于遗传漂变可导致居群间明显的遗传分化,表明基因流成为遗传分化的主要原因^[20]。若基因流受到限制,在短距离内就可出现居群间的遗传。本研究得出多伞阿魏的 $N_m = 0.421 9$,远小于 1,较低的基因流加剧了多伞阿魏居群间的遗传分化。

4.3 多伞阿魏遗传距离与亲缘关系 本研究结果表明,多伞阿魏的地理分布与遗传多样性具有显著关系。第 I 组:青河、富蕴具有相同的纬度,遗传距离最近,遗传一致度最高为 90%。同样,第 II 组:吉木萨尔、奇台和木垒;第 III 组:沙湾;第 IV 组:裕民和托里也表现出相同的规律。在聚类树状图上的遗传距离越近,亲缘关系越近。反之,遗传距离越远,亲缘关系也越远。

4.4 多伞阿魏挥发油成分含量与 ISSR 遗传多样性的灰色关联分析 灰色系统理论是我国学者邓聚龙教授于 1980 年代初创立并发展的理论。一般情况下要判断出系统中的主要因素和次要因素,可运用简单相关分析、回归分析和主成分分析等分析方法,但该类方法不足之处在于:需要大量的数据;样本须服从某种典型概率分布,各因素数据与系统特征数据之间呈线性关系且各因素间彼此无关;计算量大;可能出现量化结果与定性分析结果不符的情况。本

文作者曾采用简单相关分析及最小二乘法对多伞阿魏挥发油成分与遗传多样性数据进行分析,由于数据量小且二者间无显著的线性关系,无法达到预期的分析目标。而基于灰色系统理论的灰色关联分析,可以从少量且不确定的数据出发,根据序列曲线几何形状的相似程度来判断其联系是否紧密,曲线越接近,关联度 γ_i 值越接近 1,说明相应序列之间的相关性就越好,反之就越小,进而找出相关关系的排序^[21]。

Nei's 多样性指数, Shannon's 信息指数, 多态性位点百分率是种群遗传多样性的重要指标,其值愈大,代表了群落中生物种类复杂程度愈高,即群落所含的信息量愈大。由遗传多样性数据与挥发油成分含量的灰色关联分析表明 8 个多伞阿魏居群的遗传多样性数据与挥发性成分含量关联度较大。其中,与居群间遗传多样性关联度最大的是人参新萜醇,其次是龙脑和多伞阿魏挥发油成分总含量,最小的是右旋柠檬烯。说明遗传因素对多伞阿魏挥发油成分含量有着一定的影响。其较高水平的遗传多样性可能是植物适应干旱环境的基础。

但是,药材品质的形成是其生长发育过程中内在因素与外在因素综合作用所致。因此,不同产地多伞阿魏的挥发油成分含量的不同,除与其内在遗传因素有关外,还应与其所处的土壤、温度、气候、光照等生态环境有着密切联系。课题组前期通过研究多伞阿魏挥发油成分含量与土壤因子之间的相互关系,结果表明土壤 pH,含水量和速效钾含量对多伞阿魏挥发油成分的积累具有重要意义。所以,应综合考虑多伞阿魏挥发油成分含量与内在遗传、外在环境因子之间的关系。

[参考文献]

[1] 新疆生物土壤沙漠研究所. 新疆药用植物志. 第一册[M]. 乌鲁木齐:新疆人民出版社,1977:116-117.
[2] 中国科学院《中国植物志》编辑委员会. 中国植物志. 第 55 卷. 第 3 分册[M]. 北京:科学技术出版社,1992:115.
[3] 倪慧,姜传义,陈茂齐. 新疆多伞阿魏根中挥发油成分研究[J]. 中成药,2001,23(1):54-57.
[4] Nagatsu A, Isaka K, Kojima K, et al. New Sesquiterpenes from *Ferula ferulaeoides* (STEUD.) KOROVIN. VI. Isolation and identification of three new dihydrofuro[2,3-b]chromones[J]. Chem Pharm Bull, 2002,50(5):675-677.

[5] Meng H, Li G Y, Huang J, et al. Sesquiterpenoid derivatives from *Ferula ferulaeoides* (Steud.) Korov. [J]. Phytochemistry, 2013, 86:151-158.
[6] Liu T, Osman K, Koatz G W, et al. Antibacterial sesquiterpenoid derivatives from *Ferula ferulaeoides*[J]. Planta Med, 2013, 79:701-706.
[7] 雷林洁,滕亮,赵欣,等. 多伞阿魏挥发油提取工艺及化学成分研究[J]. 中成药,2013,35(6):1251-1256.
[8] 盛萍,王飒,苗莉娟,等. 不同方法提取的多伞阿魏挥发油化学成分及其体外抗胃癌活性比较[J]. 中成药,2013,35(11):2442-2448.
[9] 盛萍,苗莉娟,安露莎,等. 多伞阿魏简单重复序列区间-聚合酶链反应体系的建立和优化[J]. 中国药房,2014,25(15):1345-1349.
[10] 李小波,庄丽,王仲科,等. 不同生长条件下多伞阿魏光和生理特性研究[J]. 河南科学,2011,29(11):1316-1321.
[11] 刘海军,庄丽,张莉,等. 多伞阿魏生殖生物学特性的初步研究[J]. 石河子大学学报,2013,31(4):403-407.
[12] 黄璐琦,陈美兰,肖培根. 中药材道地性研究的现代生物学基础及模式假说[J]. 中国中药杂志,2004,29(6):494-496,610.
[13] 孙群,佟汉文,吴波,等. 不同种源乌拉尔甘草形态和 ISSR 遗传多样性研究[J]. 植物遗传资源学报,2007,8(1):56-63.
[14] 李贝宁,周晓丽,黄璐琦,等. 不同产地丹参功能基因表达水平对丹参酮类成分积累的影响[J]. 中国中药杂志,2011,36(24):3406-3409.
[15] 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.
[16] 肖承鸿,周涛,江维克,等. 栽培太子参的遗传多样性与质量分析[J]. 中草药,2014,45(9):1319-1325.
[17] 盛萍,唐代萍,苗莉娟,等. 不同产地多伞阿魏挥发油成分 GC-MS 指纹图谱研究[J]. 中国现代应用药学,2015,32(1):30-37.
[18] 苗莉娟. 新疆民族药多伞阿魏指纹图谱的研究[D]. 乌鲁木齐:新疆医科大学,2014.
[19] 王静,张小平,李文良,等. 濒危植物连香树居群的遗传多样性和遗传分化研究[J]. 植物研究,2010,30(2):208-214.
[20] Wright S. Evolution in *Mendelian population* [J]. Genetics, 1931, (16):91-159.
[21] 孙芳芳. 浅议灰色关联度分析方法及其应用[J]. 科技信息,2010,27(17):364-366.

[责任编辑 邹晓翠]