

· 资源与鉴定 ·

## 道地药材川麦冬和浙麦冬的生态遗传分化

刘霞<sup>1,2</sup>, 林韵涵<sup>2</sup>, 谢彩香<sup>3</sup>, 曾凡琳<sup>3</sup>, 马晓冲<sup>3</sup>, 孙伟<sup>1</sup>, 屠鹏飞<sup>4</sup>, 陈士林<sup>1\*</sup>

(1. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700; 2. 武汉理工大学 化学化工与生命科学学院, 武汉 430070; 3. 中国医学科学院 药用植物研究所, 北京 100193; 4. 北京大学 药学院, 北京 100191)

**[摘要]** 目的: 探讨川麦冬和浙麦冬的生态型差异, 为道地药材生物学实质的深入研究提供参考。方法: 选择传统道地药材麦冬为模型, 收集 75 份实验样本, 通过分子鉴定技术和生态因子分析研究川麦冬和浙麦冬的生态型差异。结果: 川麦冬和浙麦冬的 *psbA-trnH* 序列在 49 位点处存在变异, 川麦冬为碱基腺嘌呤(A), 浙麦冬为碱基鸟嘌呤(G), 此为两者序列的差异化特征; 生态因子分析显示四川、浙江两大产区呈现不同的地理生态型。其中, 浙江产区在年均日照强度、年均降水量、年均相对湿度、最热季平均温度、生长期平均温度等因子上高于四川, 而四川产区的最冷季平均温度高于浙江。结论: 川麦冬和浙麦冬的基因型和生态因子均存在明显差异。

**[关键词]** 川麦冬; 浙麦冬; DNA 条形码; *psbA-trnH* 序列; 道地性; 生态型差异

**[中图分类号]** R282; R93 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)17-0027-07

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2017170027

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170609.1449.002.html>

**[网络出版时间]** 2017-06-09 14:49

## Ecogenetic and Differentiation of Genuine Medicinal Materials: Ophiopogonis Radix in Sichuan and Zhejiang Province

LIU Xia<sup>1,2</sup>, LIN Yun-han<sup>2</sup>, XIE Cai-xiang<sup>3</sup>, ZENG Fan-lin<sup>3</sup>, MA Xiao-chong<sup>3</sup>,  
SUN Wei<sup>1</sup>, TU Peng-fei<sup>4</sup>, CHEN Shi-lin<sup>1\*</sup>

(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China; 2. School of Chemistry, Chemical Engineering and Life Science, Wuhan University of Technology, Wuhan 430070, China; 3. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100193, China; 4. School of Pharmaceutical Sciences, Peking University, Beijing 100191, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the ecotype difference between *Ophiopogonis Radix* in Sichuan and Zhejiang province, and to provide a reference for the further study of the biological essence of geoauthentic medicinal materials. **Method:** Based on the traditional Chinese medicinal herbs of *Ophiopogonis Radix*, including 75 samples, the ecological difference between *Ophiopogonis Radix* in Sichuan and Zhejiang province was studied by molecular identification and ecological factors analysis. **Result:** It can be found that a stable variation existed at

**[收稿日期]** 20170530(005)

**[基金项目]** 国家“重大新药创制”科技重大专项(2014ZX09304307001); 国家自然科学基金重点项目(8113006); 国家中药基因库建设项目(G2016001)

**[第一作者]** 刘霞, 副教授, 从事中药资源与分子鉴定研究, E-mail: lrx1125@126.com

**[通讯作者]** \* 陈士林, 研究员, 从事中药资源学研究, E-mail: slchen@icmm.ac.cn

the 49 site in the *psbA-trnH* sequence of *Ophiopogonis Radix* in Sichuan and Zhejiang province, *Ophiopogonis Radix* in Sichuan as base adenine (A) and *Ophiopogonis Radix* in Zhejiang as base guanine (G), this feature was both sequence difference. Ecological factor analysis showed that Sichuan and Zhejiang two regions had different geographical climate ecotype. **Conclusion:** There are obvious differences in genotype and ecological factors between *Ophiopogonis Radix* in Sichuan and Zhejiang province.

**[Key words]** *Ophiopogonis Radix* in Sichuan province; *Ophiopogonis Radix* in Zhejiang province; DNA barcode; *psbA-trnH* sequence; geoherbalism; ecotype differences

道地药材是中医药宝库的瑰宝,是指具有特定种质、来源于特定产地、采用特定的栽培技术和加工方法生产、品质优良疗效稳定的传统中药材<sup>[1-2]</sup>。中药材种内对不同环境生态条件长期适应与自然选择推动了中药材生态变异与生态型的分化<sup>[3]</sup>,从而形成了道地药材具有特殊品质的生物学实质。“诸药所生,皆有其境”,不同气候、地理、生境等生态条件的综合作用使得中药材生态型具有丰富的多样性,种内变异是不同生态型形成的实质<sup>[4-6]</sup>。中药材的生态型遗传分化研究是科学划分中药材生态型的基础,对阐明中药资源的品质差异、道地药材的资源保护具有重要意义。

麦冬始载于《神农本草经》,列为上品<sup>[7]</sup>。四川省和浙江省自古以来为其主要道地产区,产自四川绵阳三台县的麦冬习称川麦冬,为川药道地药材;产自浙江杭州、余姚、慈溪等地的麦冬习称浙麦冬、笕麦冬,为传统“浙八味”道地药材之一<sup>[8-10]</sup>。2015年版《中国药典》规定麦冬为单基原药材,有养阴生津、润肺清心之功效<sup>[11]</sup>。据文献报道,同一物种的川麦冬、浙麦冬在药效学、化学成分、生长周期等方面表现不同,例如在药效学研究中,童菊华等<sup>[12]</sup>基于代谢组学技术发现,浙麦冬较川麦冬对正常大鼠血浆内源性代谢产物的干预作用更明显。在化学成分及含量研究中,川麦冬主要含有麦冬皂苷 D 和少量麦冬皂苷 B,而浙麦冬主要含有麦冬皂苷 B,另含少量或不含麦冬皂苷 D;浙麦冬的二氢高异黄酮含量高于川麦冬<sup>[13-15]</sup>。川麦冬和浙麦冬的生长周期也有所不同,浙麦冬栽培期为 2~3 年,而川麦冬仅需 1 年即可采收<sup>[16]</sup>。目前关于麦冬类植物遗传分化的研究主要在麦冬与沿阶草属其他种以及山麦冬属湖北麦冬、短葶山麦冬、阔叶山麦冬等属间种进行比较<sup>[17-18]</sup>,而关于川麦冬与浙麦冬的生态型差异及分化的研究未见报道。近年来,DNA 条形码技术以其卓越的操作简便性和高效性在中药材鉴定领域中迅速发展,在大量中药材鉴定中表现出优异的鉴定能力<sup>[19-24]</sup>。本实验从道地药材麦冬入手,运用 DNA

条形码技术,采用 *psbA-trnH* 序列,结合川麦冬和浙麦冬道地产区生态和土壤因子的分析,探讨不同产区道地药材在遗传和生态方面的差异性,为道地药材生物学实质的进一步研究提供参考。

## 1 材料

DH-101 型电热恒温鼓风干燥箱(天津市中环实验仪器厂),BRA124S 型分析天平(赛多利斯科学仪器北京有限公司),Scientz-48 型高通量组织研磨仪(宁波新芝生物科技股份有限公司),DK-34 型台式离心机(丹麦 Labogene 公司),2720 型 PCR 扩增仪[赛默飞世尔科技(中国)有限公司],DYY-8C 型电泳仪和 DYC-33A 型电泳槽(北京六一仪器厂),MLS-3750 型高压灭菌锅(创博环球北京生物技术有限公司),JS-680 型凝胶成像系统(上海培清科技有限公司)。

三羟甲基氨基甲烷(Tris), $\beta$ -巯基乙醇,乙二胺四乙酸二钠( $\text{Na}_2\text{EDTA}$ )(上海泰坦科技股份有限公司);植物基因组 DNA 提取试剂盒(DP305,北京天根生化科技有限公司),聚合酶链式反应(PCR)扩增引物(上海生工生物工程股份有限公司), $2 \times \text{Taq}$  PCR Master Mix(北京艾德莱生物科技有限公司),GoldView I 型核酸染色剂(北京鼎国昌盛生物技术有限公司),DL2000 DNA Marker[宝生物工程(大连)有限公司],西班牙琼脂糖(上海泰坦科技股份有限公司)。

75 份麦冬样本来源和凭证标本号见表 1。产地样本由北京大学药学院屠鹏飞教授采集,所有样本均经中国医学科学院药用植物研究所林余霖研究员鉴定为百合科植物麦冬 *Ophiopogon japonicus*,凭证样本保存于中国中医科学院中药研究所。

## 2 方法

### 2.1 基于 *psbA-trnH* 序列的基因鉴别

**2.1.1 总 DNA 提取** 样品干燥后,用 75% 乙醇轻拭表面,分别取块根 60~80 mg,叶片 30~40 mg,用混合型球磨机将样品粉碎,加入核分离液离心并弃掉上清液,除去块根中的多糖类成分,按植物 DNA

表 1 麦冬样品信息

Table 1 Informations of *Ophiopogonis Radix* samples

| 药材名 | 部位 | 数量 | 样品编号                                  | 样品来源      |
|-----|----|----|---------------------------------------|-----------|
| 川麦冬 | 块根 | 13 | YC0020MT08 ~ YC0020MT17 <sup>1)</sup> | 浙江三门      |
|     |    |    | YC0020MT07, YC0020MT60                | 四川新荷花药材市场 |
|     |    |    | YC0020MT59                            | 安徽亳州药材市场  |
| 浙麦冬 | 叶片 | 29 | YC0020MT18 ~ YC0020MT31 <sup>1)</sup> | 浙江三门      |
|     |    |    | YC0020MT06, 38, 40, 42, 44 ~ 53, 55   | 四川三台      |
|     |    |    | YC0020MT62                            | 浙江余姚      |
| 浙麦冬 | 块根 | 15 | YC0020MT63, 67                        | 福建福州      |
|     |    |    | YC0020MT69, 75, 79, 83, 85            | 浙江慈溪      |
|     |    |    | YC0020MT76 ~ 78, 81 ~ 82, 86 ~ 87     | 浙江杭州      |
|     | 叶片 | 18 | YC0020MT64 ~ 66 <sup>1)</sup>         | 四川三台      |
|     |    |    | YC0020MT88 ~ 90, 92, 95 ~ 96          | 浙江慈溪      |
|     |    |    | YC0020MT93 ~ 94, 97 ~ 102, 104        | 浙江杭州      |

注: <sup>1)</sup>代表引种的样品。川麦冬中有 24 份是从四川移栽至浙江台州三门麦冬基地的 1 年生样品;浙麦冬中有 3 份是从浙江移栽至四川绵阳三台麦冬基地的 1 年生样品。

提取试剂盒法提取麦冬药材及叶片的总 DNA。

**2.1.2 PCR 扩增和测序** 测序正向引物: 5'-GTTATGCATGAACGTAATGCTC-3', 反向引物: 5'-CGCGCATGGTGGATTCAATCC-3'。25 μL 反应体系包括 PCR 缓冲液 (10 ×) 2.5 μL, Mg<sup>2+</sup> 2 μL (25 mmol·L<sup>-1</sup>), 高质量脱氧核苷三磷酸 (dNTPs) 混合物 2 μL (2.5 mmol·L<sup>-1</sup>), 引物各 1.0 μL (浓度 2.5 μmol·L<sup>-1</sup>), 模板 DNA 4 μL (约 30 ng), *Taq* DNA 聚合酶 1.0 U, 加灭菌双蒸水至 25 μL, 进行 PCR 扩增。在 PCR 仪上按一定程序进行扩增反应 (94 °C 变性 5 min; 94 °C 变性 1 min, 55 °C 退火 1 min, 72 °C 延伸 1.5 min, 30 个循环; 72 °C 延伸 7 min)。PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测后, 采用 ABI3730 型测序仪双向测序。

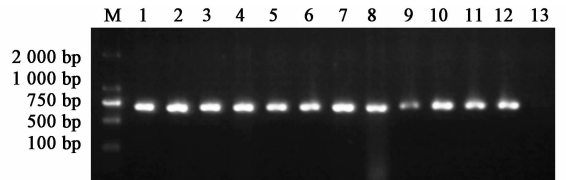
**2.1.3 数据处理** 双向测序峰图用 CondonCode Aligner v4. 2. 4 校对拼接, 去除引物区和低质量区及 *psbA* 和 *trnH* 基因区, 获得 *psbA-trnH* 序列。利用软件 MEGA 5. 2 对所得序列进行 Clustal W 序列对比, 基于 K2P 模型进行遗传距离分析, 应用邻接 (NJ) 法构建系统聚类树对浙麦冬和川麦冬进行鉴定分析。基于 SPSS 16. 0 软件和系统聚类方法对川麦冬和浙麦冬样品的采样点气候因子和土壤理化指标进行分析。

**2.2 生态因子** 生态因子包括气候因子和土壤因子。气候数据主要来源于 WorldClim 全球气候数据库, 包括年均降水量、生长期平均温度、年均日照强度、最热季平均温度、最冷季平均温度、年平均温度、年均湿度等 7 个因子。土壤数据来自于世界土壤数据库 (harmonized world soil database) v1. 2 ([World-soil-database/HTML/\), 包括土壤理化性质等 17 个因子。基于上述数据库和麦冬样品的地理采样信息, 获得麦冬采样点处 24 个生态数据。](http://webarchive. iiasa. ac. at/Research/LUC/External-</a></p>
</div>
<div data-bbox=)

### 3 结果与分析

**3.1 *psbA-trnH* 序列鉴别** 不同道地产区的浙麦冬和川麦冬 筛选内部转录间隔区 2 (ITS2) 序列和 *psbA-trnH* 序列对川麦冬和浙麦冬进行前期研究, 发现核基因上的 ITS2 序列在浙麦冬和川麦冬药材的分子鉴定中测序质量比较差, 很难获取高质量的 ITS2 序列, 而位于叶绿体基因的 *psbA-trnH* 序列质量很高, 故选用 *psbA-trnH* 序列进行鉴定。

**3.1.1 PCR 产物凝胶电泳** 42 份川麦冬和 33 份浙麦冬样本的扩增及测序成功率 100%。PCR 产物电泳后在 750 bp 附近均显示明亮的条带, 见图 1。



M. Marker; 1 ~ 3. 川麦冬叶片 YC0020MT44 ~ YC0020MT46; 4 ~ 6. 浙麦冬叶片 YC0020MT94 ~ YC0020MT96; 7 ~ 9. 川麦冬块根 YC0020MT07 ~ YC0020MT09; 10 ~ 12. 浙麦冬块根 YC0020MT75 ~ YC0020MT77; 13. 空白对照

图 1 部分川麦冬和浙麦冬 PCR 产物 *psbA-trnH* 序列的凝胶电泳  
Fig. 1 Gel electrophoresis of *Ophiopogonis Radix* in Sichuan and Zhejiang province based on *psbA-trnH* sequences

**3.1.2 序列差异分析** 所有试验样本得到 *psbA-trnH* 序列 75 份, 序列比对后长度 543 bp。川麦冬鸟嘌呤和胞嘧啶 (GC) 所占平均质量分数 36. 0%, 浙麦冬平均 GC 质量分数 36. 2%。川麦冬和浙麦冬 *psbA-trnH* 序列仅有一处变异位点, 为 49 位点处

稳定的腺嘌呤(A)-鸟嘌呤(G)颠换,见图2,川麦冬为碱基A,浙麦冬为碱基G,此为两者序列的差异化特征。浙麦冬和川麦冬的序列差异非常稳定,49位点处的稳定变异可作为浙麦冬和川麦冬种内鉴别的单核苷酸多态性(SNP)位点。同时,移栽至浙江台州三门县麦冬种植基地1年生的川麦冬(YC0020MT08~YC0020MT31)与采自原产地的川麦冬序列特征一致;引种至四川绵阳三台县1年生的浙麦冬(YC0020MT64~YC0020MT66)与原道地产区的浙麦冬序列特征也一致。说明短期移栽没有造成基因显著差异。

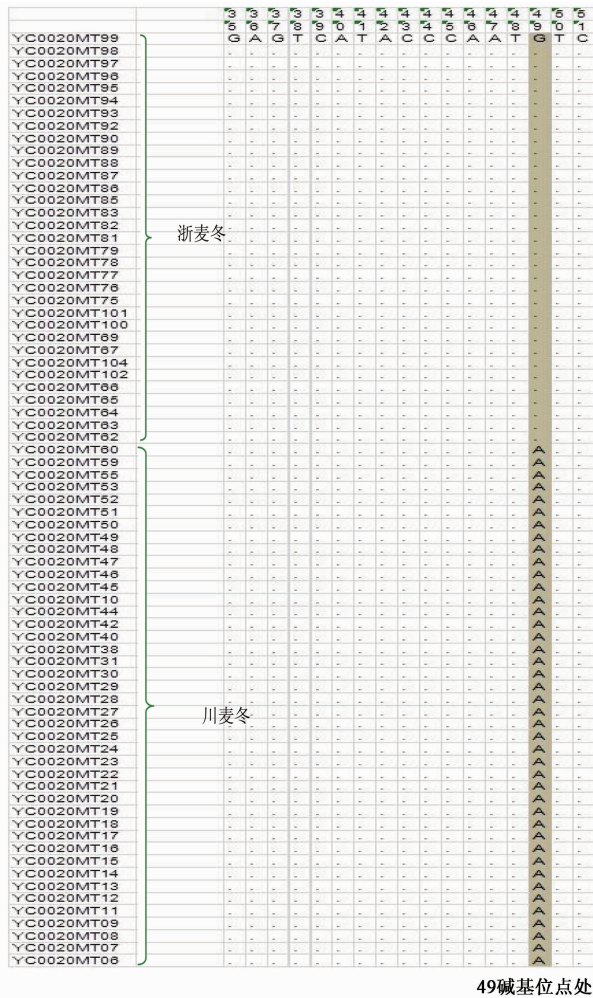
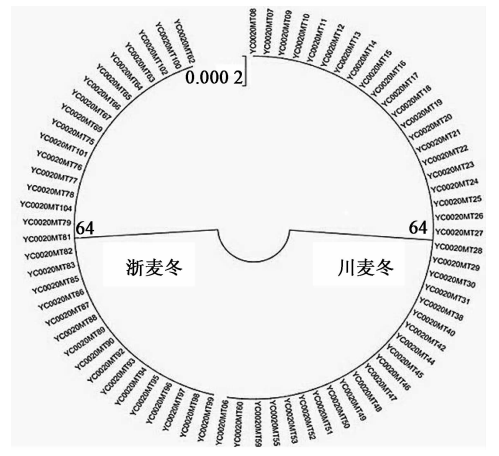


图2 川麦冬和浙麦冬的序列差异比较  
Fig. 2 Variable sites differences between *Ophiopogon Radix* in Sichuan and Zhejiang province

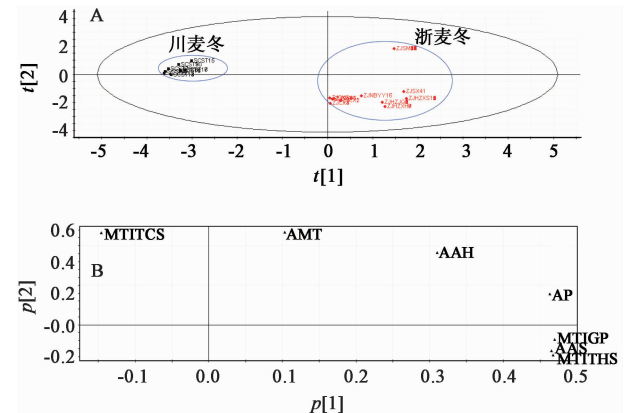
3.1.3 NJ法分析 基于 *psbA-trnH* 序列构建系统发育树,见图3。结果发现42份川麦冬样本聚为1支,33份浙麦冬聚为1支,浙麦冬和川麦冬的分支没有相互交叉,说明2个产地基因差异显著,分型明显,NJ法树状图能准确鉴定四川和浙江2个不同道地产区的麦冬。



自举(bootstrap)1000次重复,枝上数值仅显示自展支持率 $\geq 50\%$   
图3 基于 *psbA-trnH* 序列构建浙麦冬与川麦冬的NJ法树状图  
Fig. 3 NJ tree of *Ophiopogon Radix* in Sichuan and Zhejiang province based on *psbA-trnH* sequence

### 3.2 川麦冬和浙麦冬产区的生态因子分析

3.2.1 气候因子分析 川麦冬和浙麦冬两大产区气候因子主成分分析(PCA)结果显示,四川、浙江两大产区气候差异显著,明显分为2大类,见图4。川麦冬分布在PCA左侧;浙麦冬分布在PCA右侧,且浙江台州市三门县与浙江省其他采样区明显分开,说明浙江台州市三门县与其他采样区气候因子间存在一定程度的差异,这与图5所示的聚类分析结果一致。PCA载荷图表明第1主成分载荷较大的因子有年均降水量、生长期平均温度、年均日照强度、最热季平均温度,而最冷季平均温度和年平均温度在第2主成分上载荷较大,是两产区气候产生差异的



SCST. 四川三台县; ZJXC. 浙江慈溪; ZJHZJQ. 浙江杭州笕桥镇; ZJHZXH. 浙江杭州西湖区; ZJHZXS. 浙江杭州萧山区; ZJNBYY. 浙江宁波余姚市; ZJSM. 浙江三门县; ZJSX. 浙江绍兴市; A. PCA散点; B. PCA载荷; AMT. 年平均温度; MTIGP. 生长期平均温度; MTITHS. 最热季平均温度; MTITCS. 最冷季平均温度; AP. 年均降水量; AAH. 年均湿度; AAS. 年均日照强度(图5~7同)  
图4 川麦冬和浙麦冬两大产区气候因子的PCA  
Fig. 4 PCA of climatic factors in main zone of *Ophiopogon Radix* in Sichuan and Zhejiang province

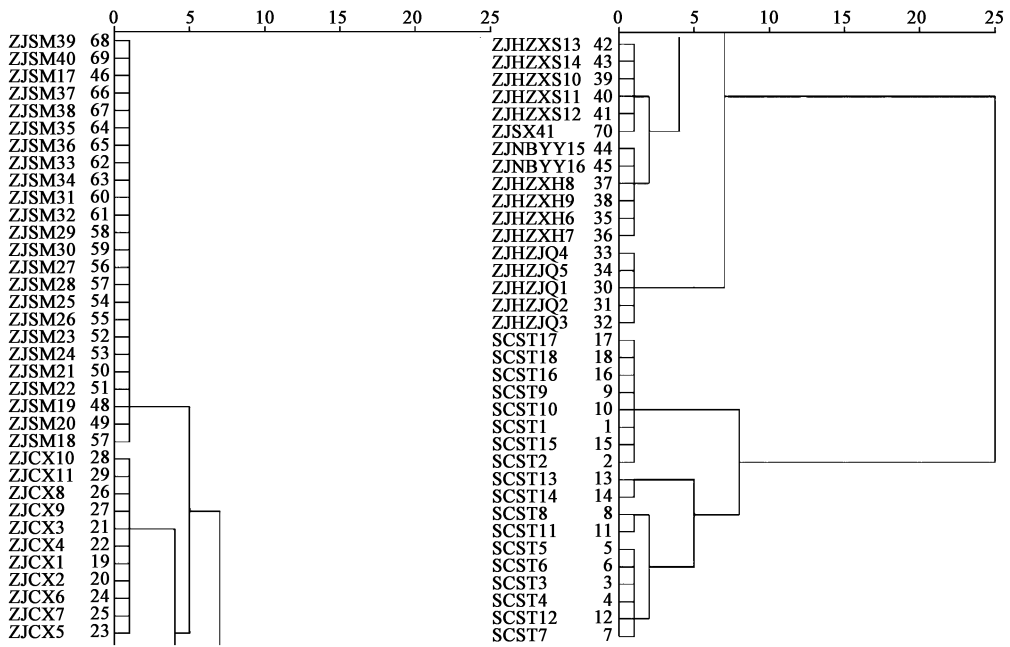


图 5 四川省和浙江省采样点气候因子聚类分析

Fig. 5 Cluster analysis of climatic factors at sampling points of *Ophiopogonis Radix* in Sichuan and Zhejiang province

主要影响因子。四川省和浙江省采样点处的气候因子折线图见图 6, 结果发现两省在年均降水量和年均日照强度因子上差异明显, 同时两省采样点在最热季平均温度、最冷季平均温度、生长期平均温度等因子上也存在一定差异, 并且在浙江省采样点中, 三门县与其他浙江采样区在年均降水量、年均日照强度上也有明显差异。由此可见, 造成麦冬两大主产区四川和浙江间气候差异的主要因子为年均降水量和年均日照强度。道地药材是环境长期作用的产物, 水、光、热是植物生长的主要影响因素, 浙江地区临海, 地势普遍较低, 年降水量丰富, 日照相对较多, 最热季温度较高, 是不同于四川产区的主要气候因素。可能正是这种气候因子的差异, 使得川麦冬和浙麦冬呈现不同的地理生态型。

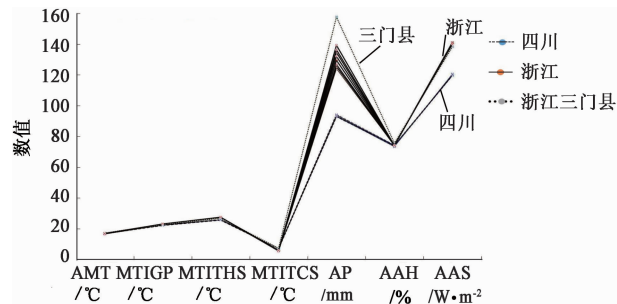


图 6 四川省和浙江省麦冬采样点处的气候因子折线

Fig. 6 Polyline of climatic factors at sampling points of *Ophiopogonis Radix* in Sichuan and Zhejiang province

### 3.2.2 土壤因子分析 基于 17 项不同产区采样点

处的土壤理化指标, 四川和浙江产区的土壤因子聚类分析见图 7。结果显示这些采样点可分为三大支, 一是浙江杭州市笕桥镇的土壤性质与浙江慈溪市采样点最接近; 二是浙江三门县、浙江宁波和浙江杭州地区的土壤性质相似; 三是四川三台县独成一支。说明传统浙麦冬种植区域和川麦冬种植区域的土壤理化性质差异明显。川麦冬和浙麦冬两大产区气候因子的 PCA 分析见图 8。结果显示第 1 公因子 (P1) 中, 载荷较大的因子为土壤基础饱和度与 pH, 土壤基础饱和度与 pH 呈线性相关关系, 反映土壤有效 (速效) 养分含量的大小, 所以可认为 P1 代表了养分因子; 第 2 公因子 (P2) 中, 载荷较大的因子是土壤中可交换钠离子百分率 (ESP) 和土壤中粘粒组的阳离子交换能力 (CEC-CLAY), 分别反映了土壤的碱化度与黏土的保肥能力; 第 3 公因子 (P3) 中, 载荷较大的因子是土壤质地。计算 P1, P2, P3 的方差贡献率分别为 39.283%, 25.185% 和 14.439%, 累计方差贡献率达 78.907%, 可认为这 3 个公因子是影响麦冬分布的主要因子, 其中土壤养分对麦冬分布的影响较大。

## 4 讨论

中国幅员辽阔, 多变的气候、地理因素使得中药材呈现丰富的生态型多样性。植物生态型是道地药材形成的生物学实质。作为多产区分布的道地药材典型代表, 麦冬为养阴润肺的上品, 同时在民间也作为膳食养生的常用品。麦冬类植物全国各地均有

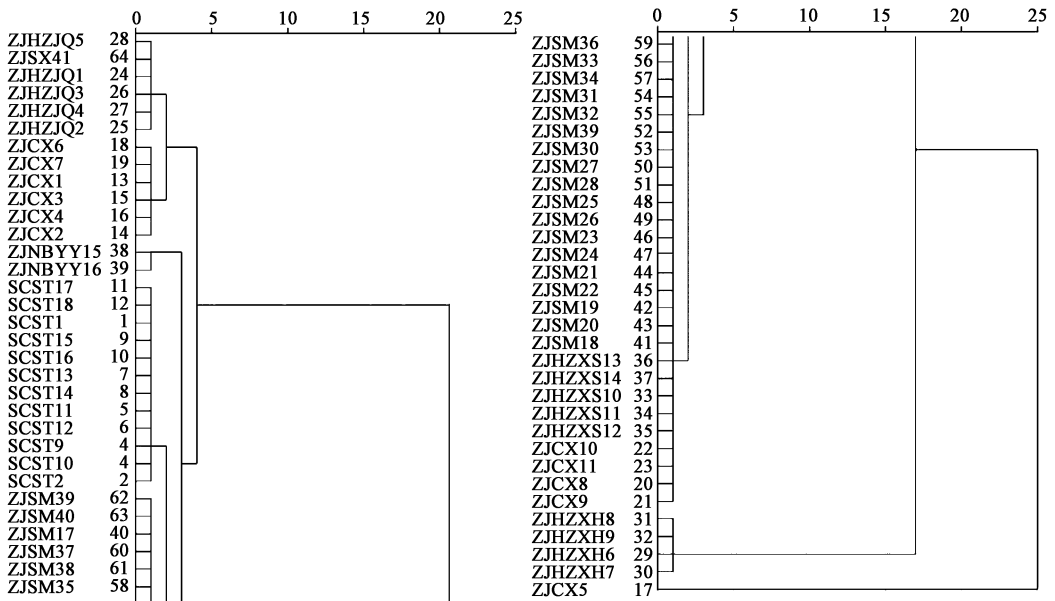
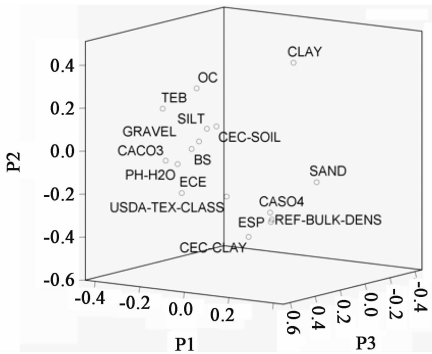


图 7 麦冬四川产区 and 浙江产区的土壤因子聚类分析

Fig. 7 Cluster analysis of soil factors in production areas of *Ophiopogonis Radix* in Sichuan and Zhejiang province



GRAVEL. 土壤中砂砾比例; SAND. 土壤中沙子比例; SILT. 土壤中泥沙比例; CLAY. 土壤中粘土比例; TEB. 土壤中可交换阳离子; USDA-TEX-CLASS. 土壤质地; REF-BULK-DENSITY. 土壤的容积(体积)密度; OC. 土壤中有机碳比例; PH-H<sub>2</sub>O. 土壤酸碱度; CEC-CLAY. 土壤中粘粒组的阳离子交换能力; CEC-SOIL. 土壤的阳离子交换能力; BS. 土壤基础饱和度; CACO<sub>3</sub>. 土壤中碳酸钙含量; CASO<sub>4</sub>. 土壤中硫酸钙含量; ESP. 土壤中可交换钠离子百分率; ECE. 土壤导电率

图 8 川麦冬和浙麦冬两大产区土壤因子的 PCA

Fig. 8 PCA of soil factors in main zone of *Ophiopogonis Radix* in Sichuan and Zhejiang province

分布,常见的有浙江、四川产的麦冬,湖北产的湖北麦冬以及福建产的短葶山麦冬。湖北麦冬与短葶山麦冬归属于中药材山麦冬。中药材麦冬仅有 1 种基原,在浙江、四川大量分布兼有栽培。浙江杭州笕桥镇产的“笕麦冬”古来品质上乘,但因其当地经济发展和产业调整已逐渐减产至稀少。如今,浙江慈溪、余姚为浙麦冬浙江产区的“主力军”。川麦冬以四川产区的绵阳市三台县为核心产区。长期的地理间隔以及气候地理的差异使得同一物种的麦冬围绕浙江、四川主产区形成了两类地理生态型。为探究中药材不同道地产区的生态型分化的分子机制,本文

以麦冬为模型展开研究,初步探究了不同道地产区的中药材生态型差异。

**4.1 基于 *psbA-trnH* 序列分析麦冬生态型** DNA 条形码技术是利用 1 个或少数几个 DNA 片段对物种进行识别和鉴定的一项新技术,是近年来进展最迅速的学科前沿之一。本课题组致力于药用植物 DNA 条形码序列筛选,提出了以 ITS2 为主体序列, *psbA-trnH* 为辅助序列的适用于中药材(包括药材、药材粉末及部分药材饮片)及基原物种鉴定的标准 DNA 条形码序列。通过大量中药材样本实验中发现,菝葜、百合、黄精等百合科植物的块根药材在提取 ITS2 序列时,受药材中多糖类物质的干扰较大,扩增效率低、测序质量差,而 *psbA-trnH* 序列则表现良好。预试验利用 ITS2 序列和 *psbA-trnH* 序列对川麦冬和浙麦冬进行研究,发现核基因上的 ITS2 序列在浙麦冬和川麦冬药材的分子鉴定中测序质量较差,很难获取高质量的 ITS2 序列,而位于叶绿体基因的 *psbA-trnH* 序列质量很高。故本研究选择了叶绿体基因 *psbA-trnH* 序列进行分子鉴定,通过序列分析发现浙麦冬和川麦冬具有明显的遗传变异位点,在 49 位点处川麦冬为碱基 A,浙麦冬为碱基 G。引种或移栽仅 1 年的川麦冬及浙麦冬仍旧保持原道地产区的序列特征,说明短期的引种或移栽并不能形成显著的基因差异,浙麦冬和川麦冬的基因型能够稳定遗传。*psbA-trnH* 序列可作为不同道地产区麦冬的分子标识,能够明显区分这 2 种生态型。

**4.2 基于生态因子分析麦冬生态型** 生态因子

PCA 分析表明,四川和浙江两省气候差异较大,在年均日照时数、年均降水量、年均相对湿度、最热季平均温度、生长期平均温度方面,浙江高于四川;而在最冷季平均温度方面,四川高于浙江。麦冬性喜温暖湿润,这种生态因子的差异,致使麦冬两大不同道地产区呈现明显不同的气候地理生态型。生态型可遗传,由一定的基因型决定。生态型的遗传分化是种群内基因频率变化的结果。气候地理因子的变化促使生物的遗传物质及次生代谢产物发生改变以增强环境适应性<sup>[25-27]</sup>。川麦冬和浙麦冬这2种生态型差异与长期的地理隔离与气候因子的影响密切相关,其种内基因变异、化学成分的差异是为其适应环境而发生的遗传进化。

本研究通过分子鉴定技术找到了不同道地产区麦冬的种内差异,并对生态因子的差异进行了分析和考察,发现川麦冬和浙麦冬的生态型与遗传因子存在一定的关联,为进一步研究不同产地麦冬品质变异及生态适应的相关性提供了重要的理论基础,并为不同道地药材的生态型差异及其分子机制的研究提供了新思路。

[参考文献]

[1] 廖保生,宋经元,陈士林,等. 道地药材产地溯源研究[J]. 中国中药杂志,2014,39(20):3881-3887.

[2] 孟祥才,陈士林,王喜军,等. 论道地药材及栽培产地变迁[J]. 中国中药杂志,2011,36(13):1687-1692.

[3] 黄林芳,付娟,陈士林,等. 中药材生态变异的学术探讨[J]. 中草药,2012,43(7):1249-1258.

[4] 黄林芳,陈士林. 中药品质生态学:一个新兴交叉学科[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(1):1-11.

[5] 黄林芳,索风梅,陈士林,等. 中国产西洋参品质变异及生态型划分[J]. 药学学报,2013,48(4):580-589.

[6] 陈士林. 道地药材与生态型的相关性[J]. 中草药,1988,10(8):40-41.

[7] 清·顾观光. 神农本草经[M]. 杨鹏举,校注. 北京:学苑出版社,2007:44-46.

[8] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 上海:上海科学技术出版社,1999:122-129.

[9] 余伯阳. 从麦冬入手,探讨中药材现代系统研究的思路与方法[J]. 中国天然药物,2007,5(1):10-14.

[10] 龚亚君,张洁,陈家春,等. 中药麦冬本草溯源疑[J]. 中国药师,2017,20(2):229-231.

[11] 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,2015:26,155.

[12] 童菊华,王玉霞,孙虹,等. 基于代谢组学技术的杭麦冬和川麦冬药效差异性研究[J]. 药学学报,2014,49(10):1451-1446.

[13] 陈有根,邬国庆,李慧,等. 麦冬指纹图谱研究[J]. 中

国中医药信息杂志,2008,15(4):56-58.

[14] LIN Y, ZHU D, QI J, et al. Characterization of homoisoflavonoids in different cultivation regions of *Ophiopogon japonicus* and related antioxidant activity [J]. J Pharm Biomed Anal,2010,52(5):757-762.

[15] 王翰韬,吴帆,倪穗,等. 不同地域川麦冬几种活性成分比较[J]. 中国野生植物资源,2017,36(1):26-29.

[16] 吴发明,杨瑞山,李敏,等. 麦冬主流品种药材质量比较研究[J]. 中国药学杂志,2017,52(6):447-451.

[17] LI G, Ra W H, Park J W, et al. Developing EST-SSR markers to study molecular diversity in *Liriope* and *Ophiopogon* [J]. Biochem Syst Ecol, 2011, 39 (4/6): 241-252.

[18] XIE T, LIANG Y, HAO H P, et al. Rapid identification of ophiopogonins and ophiopogonones in *Ophiopogon japonicus* extract with a practical technique of mass defect filtering based on high resolution mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2012, 1227: 234-244.

[19] CHEN S L, PANG X H, SONG J Y, et al. A renaissance in herbal medicine identification: from morphology to DNA [J]. Biotechnol Adv, 2014, 32(7): 1237-1244.

[20] 陈士林. 中国药典中药材 DNA 条形码标准序列 [M]. 北京:科学出版社,2015:3-23.

[21] XIN T Y, YAO H, CHEN S L, et al. Super food *Lycium barbarum* (Solanaceae) traceability via an internal transcribed spacer 2 barcode [J]. Food Res Int, 2013, 54 (2): 1699-1704.

[22] HOU D Y, SONG J Y, YAO H, et al. Molecular identification of Corni Fructus and its adulterants by ITS/ITS2 sequences [J]. Chin J Nat Med, 2013, 11(2): 121-127.

[23] CHEN S L, YAO H, HAN J P, et al. Validation of the ITS2 region as a novel DNA barcode for identifying medicinal plant species [J]. PLoS One, 2010, 5 (1): e8613.

[24] 王俊,刘霞,陈士林,等. 名贵中药材血竭的 DNA 条形码鉴定研究 [J]. 中国药学杂志, 2015, 50 (15): 1261-1265.

[25] 黄林芳,郑司浩,武拉斌,等. 基于化学成分及分子特征中药材肉苁蓉生态型研究 [J]. 中国科学:生命科学, 2014, 44(3): 318-328.

[26] ZHENG S, JIANG X, CHEN S L, et al. Chemical and genetic discrimination of *Cistanches Herba* based on UPLC-QTOF/MS and DNA barcoding [J]. PLoS One, 2014, 9(5): e9806.

[27] 孟祥霄,黄林芳,陈士林,等. 三七全球产地适宜性及品质生态学研究 [J]. 药学学报, 2016, 51 (9): 1483-1493.

[责任编辑 刘德文]