

谢波艳,孔丽静,赵文君,等. 基于形态性状和 SSR 标记的 140 份北苍术种质多样性分析[J]. 江苏农业学报,2024,40(9):1607-1616.  
doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2024.09.004

# 基于形态性状和 SSR 标记的 140 份北苍术种质多样性分析

谢波艳<sup>1</sup>, 孔丽静<sup>1</sup>, 赵文君<sup>1</sup>, 苏书乐<sup>1</sup>, 张 赛<sup>1</sup>, 张煜彬<sup>1</sup>, 孙成龙<sup>1</sup>, 赵思源<sup>1</sup>,  
张明慧<sup>1</sup>, 范圣此<sup>2</sup>, 向增旭<sup>3</sup>, 郑金双<sup>1</sup>

(1.河北科技师范学院农学与生物科技学院/河北省作物逆境生物学重点实验室,河北 秦皇岛 066004; 2.河北大学中医学院,河北 保定 071200; 3.南京农业大学园艺学院,江苏 南京 210095)

**摘要:** 本研究以 140 份北苍术种质为材料,基于 13 个形态指标进行形态多样性分析,并利用 SSR 分子标记技术对其进行遗传多样性分析。结果表明,13 个形态指标变异系数为 1.93%~63.11%,其中主茎粗变异系数最大,花展开度的 Shannon-Weiner 多样性指数最大。主成分分析结果表明,种子长度、花展开度、主茎粗、株高、主茎与分枝夹角是反映北苍术形态多样性的主要指标。基于 13 个形态指标可以将 140 份北苍术种质聚为 4 个类群。利用筛选出的 8 对 SSR 引物扩增北苍术基因组 DNA,根据特异性条带将 140 份北苍术种质聚为 3 个类群。13 个形态指标和 3 个遗传多样性指标间相关性分析结果表明,单花结籽数与多态性信息量指数(PIC)呈显著正相关( $P<0.05$ );主茎粗与 Nei's 基因多样性指数( $h$ )呈显著负相关( $P<0.05$ )。综上,140 份北苍术种质在形态指标和遗传多样性指标上均具有丰富的多样性,且形态指标与遗传多样性指标间具有一定的相关性。本研究为北苍术种质资源鉴定与利用提供了理论依据。

**关键词:** 北苍术; 形态指标; 分子标记; 主成分分析; 聚类分析; 种质多样性

**中图分类号:** S567.21<sup>+</sup>1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2024)09-1607-10

## Diversity analysis of 140 *Atractylodes chinensis* (DC.) Koidz. germplasms based on morphological traits and SSR markers

XIE Boyan<sup>1</sup>, KONG Lijing<sup>1</sup>, ZHAO Wenjun<sup>1</sup>, SU Shuyue<sup>1</sup>, ZHANG Sai<sup>1</sup>, ZHANG Yubin<sup>1</sup>,  
SUN Chenglong<sup>1</sup>, ZHAO Siyuan<sup>1</sup>, ZHANG Minghui<sup>1</sup>, FAN Shengci<sup>2</sup>, XIANG Zengxu<sup>3</sup>, ZHENG Jinshuang<sup>1</sup>

(1.College of Agronomy and Biotechnology, Hebei Normal University of Science and Technology/Hebei Provincial Key Laboratory of Crop Stress Biology, Qinhuangdao 066004, China; 2.College of Traditional Chinese Medicine, Hebei University, Baoding 071200, China; 3.College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

**Abstract:** In this study, 140 *Atractylodes chinensis* (DC.) Koidz. germplasms were used as the test materials. The morphological diversity of 140 *Atractylodes chinensis* (DC.) Koidz. germplasms was analyzed based on 13 morphological indicators, and the genetic diversity was analyzed by SSR molecular markers. The results showed that the variation coefficients of 13 morphological indicators were 1.93%–63.11%. The variation coefficient of main stem diameter was the largest, and

the Shannon-Weiner diversity index of flower spread was the largest. The results of principal component analysis showed that seed length, flower spread, main stem diameter, plant height and angle between main stem and branches were the main indicators reflecting the morphological diversity of *Atractylodes chinensis* (DC.) Koidz. Based on

收稿日期:2023-12-21

基金项目:河北省高等学校科学研究项目(ZD2022014);承德市科技计划项目(202304B054)

作者简介:谢波艳(1998-),女,江苏南通人,硕士研究生,研究方向为药用种质资源分析。(E-mail)1797491496@qq.com

通讯作者:郑金双,(E-mail)jinshuangk@163.com

13 morphological indicators, 140 *Atractylodes chinensis* (DC.) Koidz. germplasms could be clustered into four groups. The genomic DNA of *Atractylodes chinensis* (DC.) Koidz. was amplified with eight pairs of SSR primers, and 140 *Atractylodes chinensis* (DC.) Koidz. germplasms were clustered into three groups according to the specific bands. The results of correlation analysis between 13 morphological indicators and three genetic diversity indicators showed that seed number per flower was significantly positive correlated with polymorphic information content (PIC) ( $P < 0.05$ ). There was a significantly negative correlation between main stem diameter and Nei's gene diversity index ( $h$ ) ( $P < 0.05$ ). In conclusion, 140 *Atractylodes chinensis* (DC.) Koidz. germplasms had abundant diversity in morphological and genetic diversity indicators, and there was a certain correlation between morphological and genetic diversity indicators. This study provides a theoretical basis for the identification and utilization of *Atractylodes chinensis* (DC.) Koidz. germplasm resources.

**Key words:** *Atractylodes chinensis* (DC.) Koidz.; morphological indicators; molecular markers; principal component analysis; clustering analysis; germplasm diversity

北苍术 [*Atractylodes chinensis* (DC.) Koidz.] 为菊科苍术属多年生草本植物,其干燥根茎可入药,具有燥湿健脾、祛风散寒、明目等功效<sup>[1]</sup>。随着苍术药材在保肝<sup>[2]</sup>、抗肿瘤<sup>[3]</sup>、镇痛<sup>[4]</sup>、抗溃疡<sup>[5]</sup>等方面的应用,市场需求量逐渐增加,野生北苍术资源濒临枯竭,近年来,华北和东北地区北苍术人工栽培面积逐年增加<sup>[6]</sup>。河北省是北苍术的道地产区,北苍术已被列入“十大冀药”<sup>[7]</sup>。但驯化时间短,并且北苍术属于异花授粉植物,具有较强的天然混杂特性,其地上部分茎叶特征复杂多样<sup>[8]</sup>,目前尚未形成质量稳定的优良品种。

研究北苍术种质资源形态和遗传的多样性,对其种质资源综合分析和新品种培育具有十分重要的参考价值。目前,关于北苍术的研究多集中于药理药化<sup>[9-10]</sup>、种子质量<sup>[11-12]</sup>、种苗繁育与栽培技术<sup>[13-15]</sup>、开花结实特性<sup>[16]</sup>、组织培养<sup>[17-18]</sup>、质量评价与遗传性状比较<sup>[19-20]</sup>等方面。对北苍术种质资源的研究较少。郭欣慰等<sup>[21]</sup>分析河北省青龙满族自治县北苍术叶型,发现其叶型差异大,叶片有完整型、浅裂型、深裂型,且存在大量浅裂型至深裂型的过渡型;姜雨昕等<sup>[22]</sup>利用 ISSR 分子标记技术分析 22 份不同来源的北苍术种质资源,发现其遗传多样性丰富;Zhao 等<sup>[23]</sup>基于北苍术转录组数据库,开发 10 对 SSR 多态性引物,并用于燕山地区 19 个北苍术野生居群遗传多样性分析,发现不同居群间遗传变异丰富;尹光耀等<sup>[24]</sup>利用叶绿体基因组开发 2 个特异 DNA 条形码,发现北苍术在物种水平上有较高的遗传多样性。北苍术具有丰富的形态和遗传多样性,从单一指标分析种质资源较片面。因此,本研究基于形态指标和遗传指标综合分析 140 份北苍术种质资源,为北苍术种质资源鉴定和优良品种选育提

供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验所用北苍术种子来源于秦皇岛市同盛医药有限公司北苍术野生资源圃,为天然混合授粉种子,试验地位于河北省秦皇岛市青龙满族自治县六道河乡。2017 年春,将采集的北苍术种子播于河北科技师范学院农学与生物科技学院综合试验站,培育野生驯化一代种苗;2018 年春,移栽定植,高畦栽培,畦高约 20 cm,畦宽约 80 cm,每畦双行种植,行距约 30 cm,株距约 25 cm,至 2020 年北苍术旺盛生长期,对四年生北苍术进行地上部分植物学特征分析,按照茎、叶分化特征,选取 140 份不同植物学特征的北苍术单株,移栽定植,分别用 S1~S140 编号,建立种质资源圃。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 北苍术形态性状分析** 于 2021 年 4 月—2021 年 10 月,分别于旺盛生长期、开花期、结籽期调查 140 份北苍术种质的 13 个形态指标,包括株高、主茎粗、主茎与分枝夹角、花序直径、花序长度、花开展度、小花数量、果实长度、果实宽度、单花结籽数、种子长度、种子宽度、千粒重。

**主茎粗:**用游标卡尺测量主茎基部离地面 5 cm 处的直径;**主茎与分枝夹角:**用量角器测量植株地上部分分枝与主茎之间的夹角;**花序直径:**用游标卡尺测量头状花序最宽部位的直径;**花序长度:**用游标卡尺测量花序顶端到花轴基部的距离;**花开展度:**用量角器测量花轴与花朵两边边缘形成的角度;

**1.2.2 北苍术遗传多样性分析** 于北苍术生长旺盛期,取幼嫩叶片,迅速置于液氮中速冻,−80 °C 保

存。利用植物基因组 DNA 提取试剂盒(北京华越洋生物科技有限公司产品)提取 140 份北苍术种质的基因组 DNA。参考 Zhao 等<sup>[23]</sup>报道的北苍术转录组数据库筛选 SSR 位点,筛选标准参考李锦超<sup>[25]</sup>等的方法,利用 Primer 5.0 设计 SSR 引物,选择 100 对引物,由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

利用 100 对引物扩增随机选择的 5 份北苍术种质基因组 DNA,筛选出清晰、多态性好的条带以及对应的引物。利用筛选出的 SSR 引物扩增 140 份北苍术种质的基因组 DNA。15.0  $\mu\text{L}$  PCR 反应体系:DNA 模板 1.0  $\mu\text{L}$ 、PAGE Taq PCR Mix (TaKaRa MF047-01) 6.0  $\mu\text{L}$ 、10  $\mu\text{mol/L}$  正、反向引物各 1.0  $\mu\text{L}$ 、ddH<sub>2</sub>O 6.0  $\mu\text{L}$ 。SSR-PCR 扩增程序为:94  $^{\circ}\text{C}$  预变性 4 min;94  $^{\circ}\text{C}$  变性 30 s,55  $^{\circ}\text{C}$  重复 30 s,72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 1 min,共 35 个循环;最终 72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 10 min。DNA Marker 为 TaKaRa DL 1 000。利用 8% 聚丙烯酰胺凝胶电泳检测扩增情况。

### 1.3 数据分析

利用 Microsoft Excel 2019 统计 140 份北苍术种质的 13 个形态指标数据,计算平均值、最大值和最小值。采用 SPSS 26.0 计算变异系数(CV)、Shannon-Weiner 多样性指数( $H$ ),并进行主成分分析<sup>[26]</sup>、聚类分析<sup>[27]</sup>和相关性分析<sup>[28]</sup>。绝对值大于 0.5 的载荷,可作为该主成分中的主导变量<sup>[29]</sup>。

根据 SSR 扩增结果,构建(0,1)矩阵,有条带记为“1”,无条带记为“0”,利用 POPGENE 32 软件计算遗传多样性指标:Nei's 遗传多样性指数( $h$ )和 Shannon's 多样性指数( $I$ );利用 PIC-CALC 软件计算多态信息量(PIC);通过 NTSYS 2.1 的非加权组平均法(UPGMA)计算遗传相似系数,并利用 MEGA 软件构建遗传多样性聚类图;利用 Origin 2021 软件分析形态指标和遗传指标的相关性。

## 2 结果与分析

### 2.1 北苍术种质的形态多样性分析

2.1.1 形态指标的变异分析 如表 1 所示,140 份北苍术种质的 13 个形态指标的变异系数为 1.93%~63.11%,其中千粒重的变异系数最小,为 1.93%,主茎粗的变异系数最大,为 63.11%。13 个形态指标变异系数由大到小依次为主茎粗>单花结籽数>花序直径>果实宽度>小花数量>主茎与分枝夹角>株高>花序长度>花展开度>种子宽度>果实长度>种子长度>千粒重。种子长度的 Shannon-Weiner 多样性指数最小为 1.03,花展开度的 Shannon-Weiner 多样性指数最大为 2.08,13 个形态指标的 Shannon-Weiner 多样性指数由大到小依次为花展开度>果实长度>果实宽度>株高>千粒重>种子宽度>花序长度>主茎粗>单花结籽数>小花数量>主茎与分枝夹角>花序直径>种子长度。

表 1 北苍术种质的 13 个形态指标的变异分析

Table 1 Variation analysis of 13 morphological indicators of *Atractylodes chinensis* (DC.) Koidz. germplasms

形态指标	最大值	最小值	平均值	标准差	形态指标	变异系数(%)	Shannon-Weiner 多样性指数
株高(cm)	118.30	36.65	68.55	13.48	株高	19.66	1.61
主茎粗(mm)	75.83	1.03	3.47	2.19	主茎粗	63.11	1.13
主茎与分枝夹角( $^{\circ}$ )	65.00	25.33	43.46	8.71	主茎与分枝夹角	20.04	1.10
花序直径(mm)	26.00	0.90	10.37	4.31	花序直径	41.56	1.04
花序长度(mm)	25.91	5.21	19.51	3.80	花序长度	19.48	1.15
花展开度( $^{\circ}$ )	67.00	21.00	44.00	8.00	花展开度	18.18	2.08
小花数量(个)	70.00	13.00	24.23	7.00	小花数量	28.89	1.11
果实长度(mm)	24.84	8.13	18.52	2.65	果实长度	14.30	2.06
果实宽度(mm)	23.89	6.59	7.30	2.71	果实宽度	37.12	1.92
单花结籽数(个)	17.30	3.45	4.09	2.37	单花结籽数	57.94	1.12
种子长度(mm)	8.75	5.25	6.19	0.83	种子长度	13.41	1.03
种子宽度(mm)	4.74	2.00	2.32	0.41	种子宽度	17.67	1.33
千粒重(g)	24.06	4.35	10.19	19.71	千粒重	1.93	1.51

2.1.2 13 个形态指标的主成分分析 如表 2 所示,对 140 份北苍术种质的 13 个形态指标进行主成分分析,提取特征值大于 1 的特征向量作为主成分,共获得 5 个主成分,累计贡献率达 76.800%,包含了形态指标的绝大部分信息。第 1 主成分特征值为 4.313,贡献率为 33.176%,其中千粒重、花序直径、花展开度、种子长度、种子宽度、果实长度、果实宽度、花序长度和单花结籽数的载荷值的绝对值大于 0.5,说明主成分 1 主要受这 9 个形态指标影响,其中种子长度的正向载荷值最大。第 2 主成分特征值为 2.083,贡献率为 16.020%,仅花展开度的载荷值的绝对值大于 0.5,说

明主成分 2 主要受花展开度影响。第 3 主成分特征值为 1.359,贡献率为 10.456%,主茎粗和主茎与分枝夹角载荷值的绝对值大于 0.5,说明主成分 3 主要受这 2 个指标影响,其中主茎粗载荷值最大。第 4 主成分特征值为 1.222,贡献率为 9.403%,仅株高载荷值的绝对值大于 0.5,说明主成分 4 主要受株高影响。第 5 主成分特征值为 1.007,贡献率为 7.745%,主茎与分枝夹角的载荷值大于 0.5,说明主成分 5 主要受主茎与分枝夹角影响。综上,北苍术种质间形态指标差异主要体现在种子长度、花展开度、主茎粗、株高、主茎与分枝夹角上。

表 2 北苍术种质 13 个形态指标的主成分分析

Table 2 Principal component analysis of 13 morphological indicators of *Atractylodes chinensis* (DC.) Koidz. germplasms

形态指标	主成分 1	主成分 2	主成分 3	主成分 4	主成分 5
千粒重	0.838	-0.397	-0.037	0.067	-0.073
花序直径	0.549	0.496	-0.368	0.036	0.256
花展开度	0.509	0.758	-0.009	-0.115	-0.057
种子长度	0.865	-0.365	-0.007	-0.188	0.035
主茎粗	0.099	-0.140	0.830	0.166	-0.188
株高	0.115	-0.207	-0.007	0.863	-0.124
种子宽度	0.847	-0.354	0.122	-0.195	-0.055
果实长度	0.768	0.125	0.045	-0.141	-0.105
果实宽度	0.539	0.128	-0.181	0.329	-0.458
花序长度	0.549	0.496	-0.368	0.036	0.256
主茎与分枝夹角	0.118	0.205	0.562	0.103	0.638
小花数量	0.405	0.474	-0.062	0.421	0.261
单花结籽数	0.640	-0.368	-0.067	0.154	0.212
特征值	4.313	2.083	1.359	1.222	1.007
贡献率(%)	33.176	16.020	10.456	9.403	7.745
累计贡献率(%)	33.176	49.196	59.652	69.055	76.800

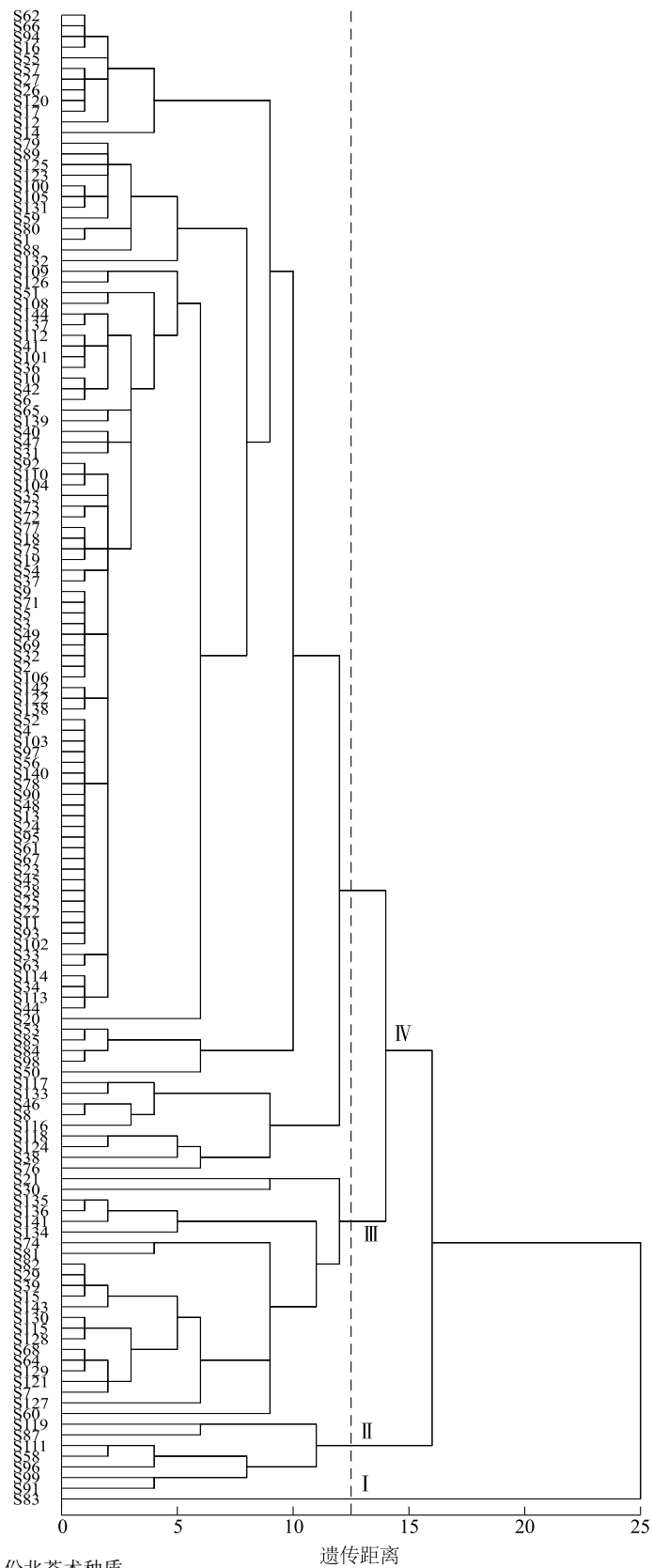
2.1.3 基于 13 个形态指标的北苍术种质聚类分析 基于 13 个形态指标数据,利用 SPSS26.0 软件对 140 份北苍术种质进行聚类分析,在欧式距离为 12.5 处,北苍术种质聚为 4 个类群(图 1)。第Ⅰ类群包括 1 份种质,为 S83,该类群的种质花冠长度、小花数量和单花结籽数均低于平均值;第Ⅱ类群包括 5 份种质,该类群的种质果实宽度、花展开度和花序长度均大于平均值;第Ⅲ类共 23 份种质,该类群的种质植株高、种子长度、果实长度、主茎与分枝夹角均较大;第Ⅳ类包括

108 份种质,该类群的种质主茎粗、花序直径、种子宽度均大于平均值。

2.2 北苍术种质的遗传多样性分析

从北苍术转录组数据库中筛选出 100 对 SSR 引物,经过有效性验证和多态性验证,获得 8 对核心引物(表 3)。

引物筛选标准为在不同种质间能够扩增出差异性条带,且扩增出的差异条带清晰、重复性好。如图 2 所示,利用 Bcz99 引物一共扩增出 11 条条带,其中 8 条存在多态性。



S1~S140 为 140 份北苍术种质。

图 1 基于形态指标的北苍术种质聚类图

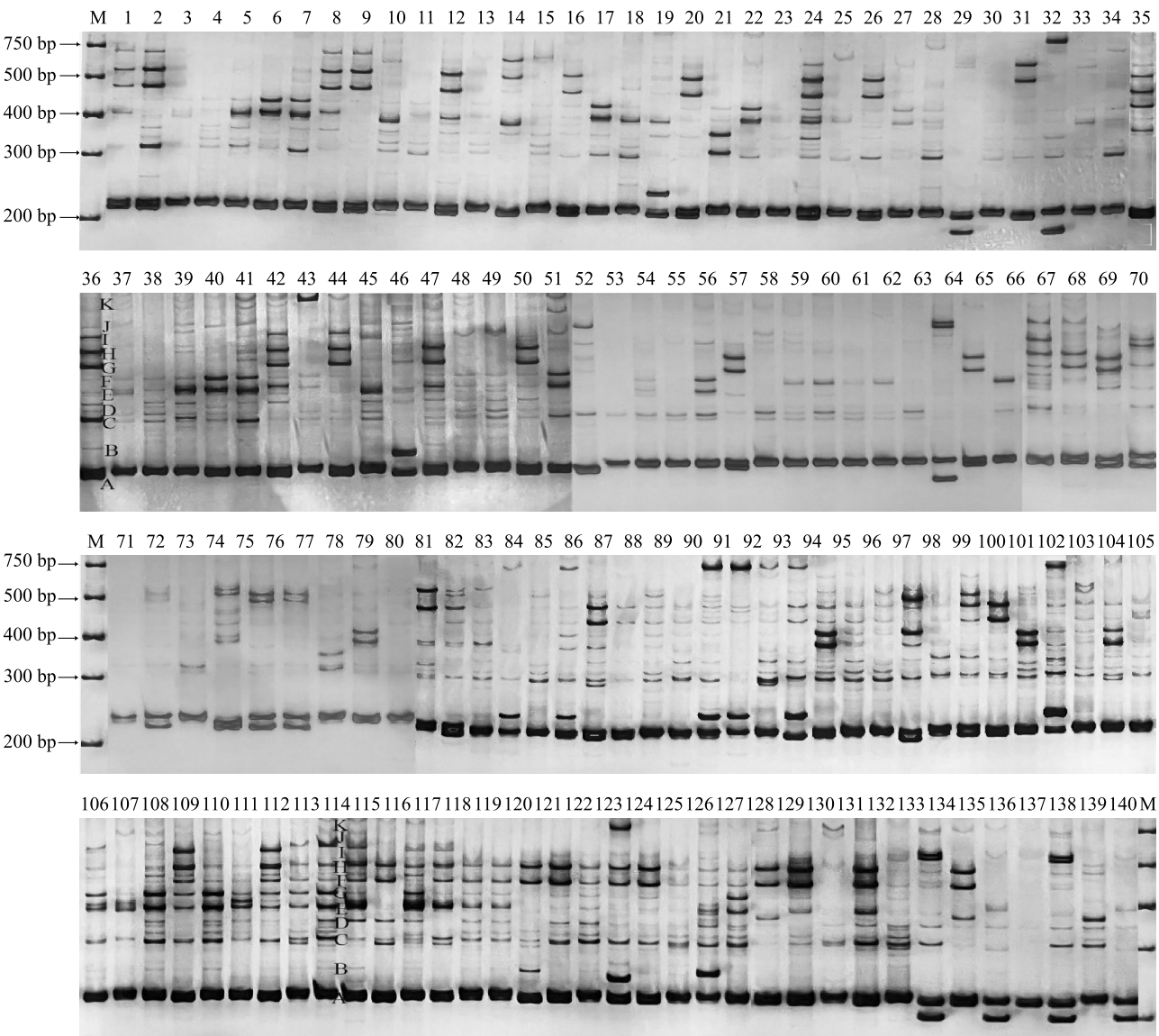
Fig.1 Clustering map of *Atractylodes chinensis* (DC.) Koidz. germplasms based on morphological indicators



表 3 8 对 SSR 引物信息

Table 3 Information of eight pairs of SSR primers

序号	引物名称	重复单元	正向引物(5'→3')	反向引物(5'→3')
1	Bcz19	(AG) <sub>7</sub>	AGGCAGATGTTCTTCCTGC	TCCTCATCTCCAAATTCCTTGA
2	Bcz21	(G) <sub>13</sub>	GATTTGCGGTGCCTCTGGAA	TCCTCATCTCCAAATTCCTTGA
3	Bcz30	(AG) <sub>7</sub>	GACCTCCTCAATGTGGTGGT	GGTGCAACTTTAATTGGATCTGC
4	Bcz53	(AG) <sub>6</sub>	CCGCCCCTGAGCTACTATCT	TGGCGACACATTTTCGTGAA
5	Bcz69	(T) <sub>10</sub>	CCAGACGCACACAATTCACG	TGGGCACTTGGGGAATATCG
6	Bcz76	(T) <sub>10</sub>	GGAAGCTCGAACCCACTACC	GCAGTGAGTCCACCATCCTC
7	Bcz99	(AGA) <sub>5</sub>	TGCGACCCACTGCATTTACT	CCCATCCCCTCCACAACCTTC
8	Bcz102	(T) <sub>11</sub>	ACATCGTCGGGTTTGACTCC	ACCAATTTCTTGAATTTCCATTCCA



M: DNA 相对分子量标准; 1~140: 140 份北苍术种质, 对应图中 S1~S140 编号北苍术种质。

图 2 SSR 引物 Bcz99 对北苍术种质的扩增条带

Fig.2 Amplified bands of *Atractylodes chinensis* (DC.) Koidz. germplasms by SSR primer Bcz99

利用表 4 中的 8 对引物对 140 份北苍术种质基因组 DNA 进行扩增,共扩增出 86 条条带,其中 79 条条带存在多态性,多态率达 92.42%(表 4)。不同引物扩增出的多态性条带的数量差异较大,其中 Bcz21 和 Bcz76 扩增出的多态性条带最多,为 13 条;Bcz53 扩增出的多态性条带最少,为 7 条。8 对引物

扩增得到的片段大小为 100~1 000 bp,Nei's 基因多样性指数为 0.24~0.39,Shannon's 信息指数为 0.37~0.56,多态性信息量指数均大于 0.5,说明这 8 对引物具有较高的多态性,可用于分析 140 份北苍术种质的遗传多样性。

表 4 基于 SSR 引物的北苍术遗传多样性分析

Table 4 Analysis of genetic diversity of *Atractylodes chinensis* (DC.) Koidz. based on SSR primers

引物	条带数	多态性条带数	多态率 (%)	长度 (bp)	Nei's 遗传多样性指数	Shannon's 多样性指数	多态性信息量指数
Bcz19	11	10	90.91	100~400	0.24	0.37	0.82
Bcz21	14	13	92.86	100~500	0.36	0.53	0.91
Bcz30	10	9	90.00	100~600	0.32	0.49	0.89
Bcz53	7	7	100.00	100~1 000	0.37	0.55	0.82
Bcz69	9	9	100.00	100~400	0.39	0.56	0.87
Bcz76	14	13	92.86	100~500	0.35	0.51	0.92
Bcz99	11	8	72.73	100~1 000	0.28	0.42	0.89
Bcz102	10	10	100.00	100~500	0.37	0.55	0.89

利用 8 对引物扩增出清晰、多态性好的条带,采用 UPGMA 法对 140 份北苍术种质进行聚类分析,在遗传相似系数为 0.06 时,北苍术种质被分为 3 个类群(图 3)。第Ⅰ类群包含 7 份北苍术种质,此类群内的北苍术种质遗传距离较近,形态指标上表现为植株高大、单花结籽数多、种子长度和种子宽度较大;第Ⅱ类群又分为 3 个亚群(图中用Ⅱ-1、Ⅱ-2、Ⅱ-3、Ⅱ-4 表示),共 133 份种质,其中Ⅱ-1 亚群包含 28 份种质;Ⅱ-2 亚群包含 8 份种质;Ⅱ-3 亚群包含 20 份种质;Ⅱ-4 亚群包含 24 份种质。第Ⅱ类群内的种质在遗传距离上较远,出现了明显的分化,主茎与分枝夹角、花开展度较小,种子较小,单花结籽数少。第Ⅲ类群包含 53 份种质,种质亲缘关系较近,表现为主茎较粗,果实长度和果实宽度较小,花开展度大,花序直径大。

2.3 北苍术形态指标和遗传多样性指标的相关性分析

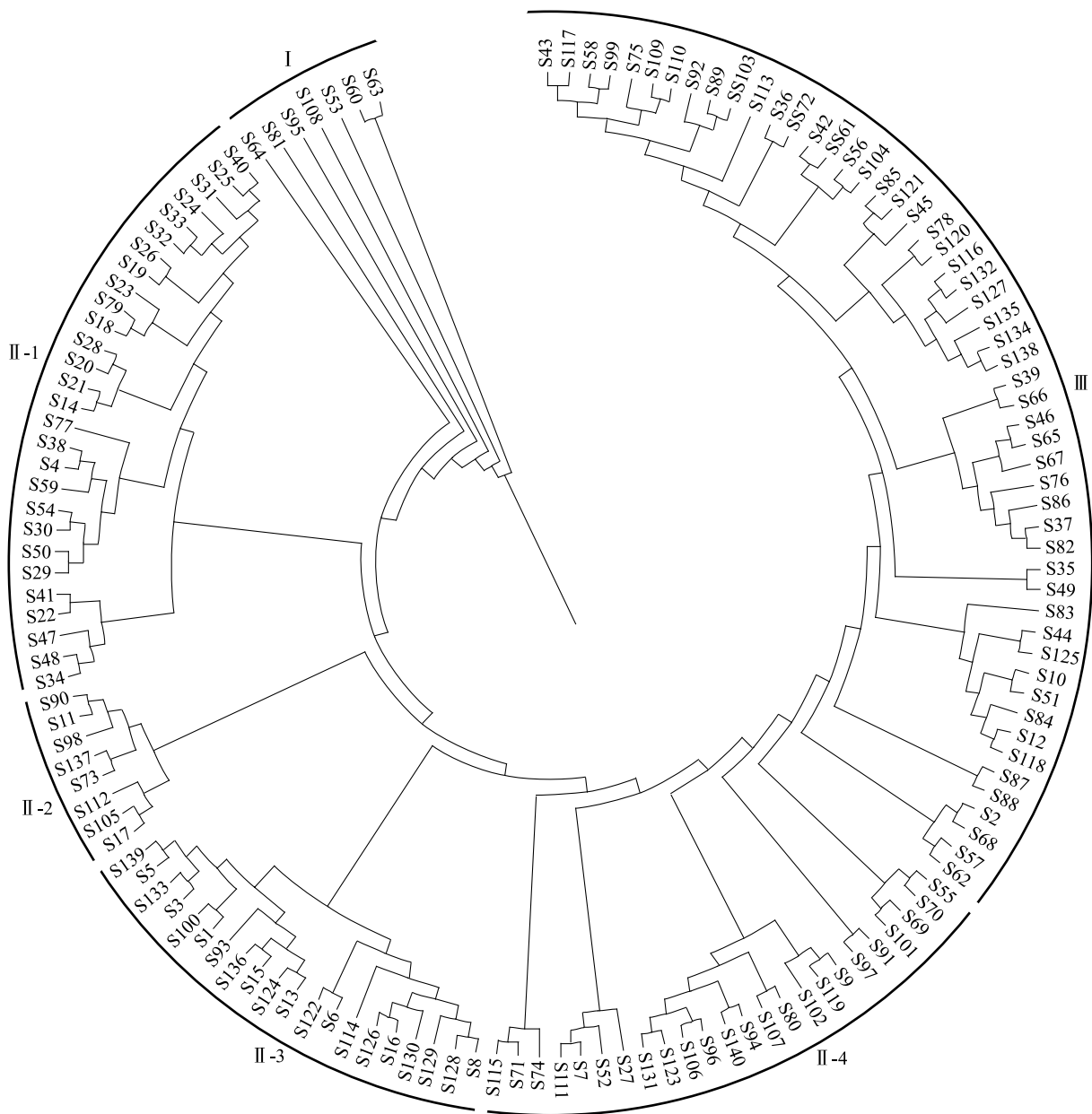
综合分析发现,形态聚类与遗传聚类一致的种质共 42 份,分别为 S57、S2、S88、S12、S84、S51、S10、S44、S37、S35、S82、S65、S67、S66、S138、S78、S45、S85、S104、S56、S42、S72、S36、S113、S89、S75、S58、S62、S118、S125、S49、S76、S46、S132、S116、S51、S103、S92、S110、S109、S117、S120。

为进一步了解 140 份北苍术种质形态性状与遗

传多样性间的关系,将 13 个形态指标与 3 个遗传多样性指标进行相关性分析。由表 5 可知,多态性信息量指数与单花结籽数呈显著正相关( $P<0.05$ ),与花序直径、花序长度和果实宽度、主茎与分枝夹角、小花数量、果实长度和种子长度呈正相关。多态性信息量指数与种子宽度、千粒重和主茎粗呈负相关;Shannon's 信息指数与花序长度、果实长度、单花结籽数、种子长度和千粒重呈正相关,与种子宽度、株高、主茎粗、花序直径、小花数量和果实宽度呈负相关;Nei's 遗传多样性指数与主茎粗呈显著负相关( $P<0.05$ ),与株高和种子宽度呈负相关,与花序长度和结籽数呈正相关。

3 讨论

形态指标是植物分类的重要依据,也是评价种质资源多样性的重要标志。陈慧玲<sup>[30]</sup>等分析发现 16 份野生山桐子种质资源叶片的 7 个形态指标的变异系数为 1.84%~40.54%,表明山桐子叶片的 7 个形态指标存在明显差异。本研究中,140 份北苍术种质 13 个形态指标的变异系数为 15.43%~63.62%。苍术种质形态的多样性主要体现在种子长度、花开展度、主茎粗、株高、主茎与分枝角度,这与刘庭付等<sup>[31]</sup>和张茹等<sup>[32]</sup>的结果相似。刘庭付等<sup>[31]</sup>发现,6 份野生豆腐柴种质资源的 6 个叶片形



S1~S140 为 140 份北苍术种质。

图 3 基于 SSR 分子标记的北苍术种质聚类图

Fig.3 Clustering map of *Atractylodes chinensis* (DC.) Koidz. germplasms based on SSR molecular markers

态指标中,叶片长度可以作为区分不同豆腐柴种质资源的重要指标。张茹等<sup>[32]</sup>对 42 份远志种质资源的 12 个形态指标进行主成分分析,发现茎分支、叶色、花色、根重、株高等形态指标可以反映其形态多样性。

利用植物形态指标分析种质资源具有直观、易识别等优点,但易受环境影响,SSR 分子标记具有不易受环境影响、稳定性高、试验方法相对简单、共显性等

优势,适用于植物种内遗传多样性分析。利用 SSR 分子标记技术进行种质资源遗传多样性分析已在枸杞<sup>[33]</sup>、杜仲<sup>[34]</sup>、山茱萸<sup>[35]</sup>等药用植物上广泛应用。在基于 SSR 分子标记的北苍术遗传多样性分析方面,仅见 Zhao 等<sup>[23]</sup>基于北苍术转录组数据库分析燕山地区 19 个野生居群北苍术种质资源遗传多样性,发现北苍术不同居群间遗传变异丰富。但是目前还没有关于同一居群不同种质间遗传多样性的研究。



表 5 北苍术种质形态指标与遗传多样性指标的相关性

Table 5 Correlation between morphological indices and genetic diversity indices of *Atractylodes chinensis* (DC.) koidz. germplasms

形态性状	多态性 信息量指数	Shannon's 多样 性指数	Nei's 遗传 多样性指数
株高	-0.19	-0.39	-0.88
主茎粗	-0.35	-0.57	-0.93 *
主茎与分枝夹角	0.33	-0.18	-0.47
花序直径	0.76	-0.37	-0.39
花序长度	0.52	0.87	0.64
花展开度	-0.18	-0.16	0.13
小花数量	0.36	-0.19	-0.23
果实长度	0.53	0.52	-0.39
果实宽度	0.64	-0.36	-0.13
单花结籽数	0.90 *	0.57	0.58
种子长度	0.22	0.61	0.35
种子宽度	-0.67	-0.73	-0.78
千粒重	-0.38	0.34	-0.19

\* 表示显著相关 ( $P < 0.05$ )。

种质资源是药用植物遗传育种的基础,通过形态标记和 SSR 分子标记综合分析北苍术种质资源,有利于加快优良种质的发掘,推动北苍术种质资源鉴定和良种培育工作。北苍术种质资源混杂,形态指标一定程度上可以反映植物遗传变异情况,但植物形态是由基因和环境共同决定的<sup>[36-38]</sup>。本研究发现,分别基于形态指标和分子标记的 140 份北苍术种质聚类结果大多不一致,其中基于形态指标和基于分子标记聚类结果一致的种质仅 42 份。宋江琴等<sup>[39]</sup>也发现,将 9 个万寿菊雄性不育两用系分别基于 9 个形态指标聚类 and 基于分子标记聚类,其中 6 份材料基于形态指标聚类 and 基于分子标记聚类结果一致,其余材料聚类不一致。聚类结果不一致可能是由于北苍术异花授粉的植物特性,北苍术有雌花和两性花两种类型,且自交不结实<sup>[40]</sup>。聚类结果还可能受所筛选 SSR 引物的数量和种类影响。

## 4 结论

本研究发现种子长度、花展开度、主茎粗、株高、主茎与分枝夹角是反映北苍术多样性的主要形态指标。基于北苍术转录组数据库,筛选出 8 对多态性引物,多态性信息量指数为 0.82~0.92,表明筛选出

的引物可以有效区分北苍术种质;Nei's 遗传多样性指数为 0.24~0.39, Shannon's 多样性指数为 0.37~0.56,说明 140 份北苍术种质遗传多样性丰富。本研究基于形态指标和 SSR 分子标记综合分析北苍术种质,为北苍术种质资源评价、鉴定及良种培育提供理论依据。

## 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.
- [2] 塔西斯,张洁,杭永付,等. 北苍术炮制前后水提液和多糖部位保肝部位作用比较研究[J]. 现代中药研究与实践,2011,25(3):45-47.
- [3] 许静,孟利娜,南楠,等. 北苍术多糖的酶法辅助超声提取工艺的优化及其体外抗肿瘤活性研究[J]. 现代药物与临床,2014,29(3):231-233.
- [4] 李涵秋,杜靖艳,满孜拉·吐达吉,等. 基于 HPLC 优化北苍术三种药用成分提取及测定方法[J]. 中国农学通报,2023,39(11):43-49.
- [5] HODDEVİK E H, KHAN F H, RAHMANI S. Factors determining the density of AQP4 water channel molecules at the brain blood interface[J]. Brain Structure & Function, 2017, 222(4):1753-1766.
- [6] 李涵,金香环,赵百慧,等. 北苍术的化学成分及药理活性的研究进展[J]. 吉林农业,2019(3):72-73.
- [7] 李国英. 道地好药材——青龙北苍术栽培技术[J]. 河北农业,2022(6):30-31.
- [8] 于学霖,贾琳,尹海波,等. 辽宁省北苍术生态适宜性和品质区划研究[J]. 中国中医药信息杂志,2023,30(8):1-7.
- [9] 姜雨昕,姜大成,翁丽丽,等. 北苍术种子的萌发特性及其生态适应性研究[J]. 种子,2020,39(8):158-163.
- [10] LIU Y Q, ZHANG B X, CAI Q. Study on the pharmacodynamics and metabolomics of five medicinal species in *Atractylodes* DC. on rats with rheumatoid arthritis[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2020, 131:110554.
- [11] 孙金,翁丽丽,肖春萍,等. HPLC 一测多评法结合色差原理分析不同生长年限北苍术药材的质量[J]. 中国药房,2020,31(11):1314-1319.
- [12] SHAKEEL A, ZHAN C S, YANG Y Y, et al. The transcript profile of a traditional Chinese medicine, *Atractylodes lancea*, revealing its sesquiterpenoid biosynthesis of the major active components[J]. PLoS One, 2016, 11(3):e0151975.
- [13] SHIMATO Y, OTA M, ASAI K, et al. Comparison of byakujutsu (*Atractylodes* rhizome) and sojutsu (*Atractylodes lancea* rhizome) on anti-inflammatory and immunostimulative effects *in vitro* [J]. Journal of Natural Medicines, 2018, 72(1):192-201.
- [14] 姜雨昕,曾行调,种湘歌,等. 不同因素对北苍术种子育苗的影响[J]. 人参研究,2023,35(2):47-51.

- [15] 郑金双,王文颇,李彦生. 温度与基质含水量对北苍术种子萌发及幼苗形态建成的影响[J]. 中药材,2018,41(6):1282-1284.
- [16] REN C G, DAI C C. Jasmonic acid is involved in the signaling pathway for fungal endo-phyte induced volatile oil accumulation of *Atractylodes chinensis* [J]. BMC Plant Biology,2012,12(1):128.
- [17] 詹鑫,刘春莲,王燕,等. 基于能量代谢与燥性相关性考察茅苍术、北苍术药性差异[J]. 中国实验方剂学杂志,2022,28(19):139-147.
- [18] 赵楷,姚杰,于鹏程,等. 干旱提高北苍术药材质量的生物学机制[J]. 中国实验方剂学杂志,2023,29(13):180-187.
- [19] 左静静,刘少翔,闫贵云,等. 正交设计优化北苍术组织培养研究[J]. 中国农学通报,2017,33(11):21-24.
- [20] 张炜坤,赵恢,张小芳,等. 北苍术组织培养与快繁技术研究[J]. 种子,2018,37(12):136-139.
- [21] 郭欣慰,乔旭,李艾莲. 河北省青龙地区北苍术叶型变异模式初探[J]. 河北农业科学,2021,25(3):76-80.
- [22] 姜雨昕,肖春萍,孙金,等. 基于 ISSR 标记的北苍术种质资源亲缘关系分析[J]. 种子,2021,40(40):32-38.
- [23] ZHAO J H, SUN C Z, SHI F Y, et al. Comparative transcriptome analysis reveals sesquiterpenoid biosynthesis among 1-, 2-and 3-year old *Atractylodes chinensis* [J]. BMC Plant Biology,2021,21:354.
- [24] 尹光耀,袁林,王馨,等. 北苍术特异性 DNA 条形码筛选、种质资源鉴定及遗传多样性分析[J]. 药学报,2023,58(6):1693-1704.
- [25] 李锦昕,董俊美,贾凯旋,等. 基于山药转录组测序的 EST-SSR 信息分析及分子标记开发[J/OL]. 分子植物育种. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.s.20221017.1120.008.html>.
- [26] 鲁云,洪婉敏,姚晓璇,等. 麸炒北苍术饮片粉末的色度值与质量指标的相关性分析及其炮制时间研究[J]. 中国药房,2021,32(21):2605-2612.
- [27] 赵艳云,张建云,郑开颜,等. 不同产地北苍术化学模式识别及 4 种成分一测多评法的建立[J]. 中国中药杂志,2022,47(16):4395-4402.
- [28] 冯佳鑫,吴玉柱,李思雨,等. 基于色差原理分析茅苍术、北苍术有效成分含量与颜色的相关性[J]. 中国中药杂志,2023,48(8):2086-2091.
- [29] 赵慧琴. 数据处理技术与 SPSS 实验教程[M]. 广州:华南理工大学出版社,2016.
- [30] 陈慧玲,刘华,黄国伟,等. 湖北 16 个山桐子野生资源分布区叶片形态多样性分[J]. 中国农学通报,2023,39(5):63-68.
- [31] 刘庭付,周大云,缪叶旻子. 丽水市野生豆腐柴叶片形态多样性研究[J]. 中国野生植物资源,2023,42(2):45-50.
- [32] 张茹,吴昌娟,张丽君,等. 基于形态性状和指标成分的远志遗传多样性分析及综合评价[J]. 核农学报,2022,36(12):2381-2390.
- [33] 尹跃,安巍,赵建华,等. 黑果枸杞转录组 SSR 信息分析及分子标记开发[J]. 浙江农林大学学报,2019,36(2):215-221.
- [34] 黄海燕,杜红岩,乌云塔娜,等. 基于杜仲转录组序列的 SSR 分子标记的开发[J]. 林业科学,2013,49(5):176-181.
- [35] 杨丽丽,董浩,陆阳,等. 基于转录组测序的山茱萸 SSR 分子标记开发[J/OL]. 分子植物育种. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20230331.1012.006.html>.
- [36] XU H, LIU M G, DONG S J, et al. Diversity and geographical variations of *germplasm* resources of *Armeniaca mandshurica* [J]. Chinese Journal of Plant Ecology,2019,43(7):585-600.
- [37] 李长红,许海涛,孙联合. 夏玉米形态指标、氮肥利用及抗倒特性对密度与氮肥耦合效应的响应[J]. 江苏农业科学,2022,50(11):63-70.
- [38] 陈文杰,陈渊,韦清源,等. 南方大豆皱叶发生时叶片形态变化及其对产量性状的影响[J]. 南方农业学报,2022,53(2):460-468.
- [39] 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):6-11,19.
- [40] 王秋玲,郭旭,刘福清,等. 北苍术开花结实特性观察及种子分级研究[J]. 中国现代中药,2015,17(6):568-571.

(责任编辑:成纾寒)