

· 中药资源研究 ·

不同产地巴戟天叶绿体基因组比较研究

蔡苗苗¹, 刘梦云¹, 刘红¹, 罗振华¹, 陈子恩¹, 钟镜堂², 丁平¹(1. 广州中医药大学, 广东 广州 510006; 2. 广东呀依山珍稀药材种植有限公司, 广东 河源 517428)

摘要: **目的** 以来自道地药材产区规范化种植基地的巴戟天叶绿体基因组为参考, 通过对比不同产地巴戟天叶绿体基因组的碱基变异和遗传距离的差异, 探讨巴戟天药材的道地性。**方法** 利用 Illumina Hiseq 2500 测序平台进行高通量测序, 利用 CMA V1.1.1 软件进行分析和组装叶绿体基因组, 在基因注释的基础上, 比对广东、福建、广西和海南不同产地巴戟天叶绿体基因组碱基突变情况和遗传差异情况。**结果** 与参考基因相比, 广东巴戟天群体叶绿体基因组相同, 碱基差异数和遗传距离为 0; 福建巴戟天群体叶绿体基因组碱基差异数为 4~16 个, 遗传距离为 0.026~0.126; 广西巴戟天群体和海南巴戟天群体叶绿体基因组差异主要为集中在大单拷贝区的单碱基突变和插入缺失突变, 叶绿体基因组碱基差异数为 71~81 个, 遗传距离为 0.470~0.536。**结论** 优良的种质资源是形成道地药材的重要遗传因素, 种质资源包含的特定基因是形成道地药材的关键, 该研究从基因水平上证明了广东巴戟天种源稳定, 广东巴戟天群体叶绿体基因变异少, 显示出广东为巴戟天道地产区具有科学性。不同产地的巴戟天叶绿体基因组碱基存在突变差异, 这些差异可以为巴戟天的分子标记、遗传背景、种质资源保护及植物系统发育进化等研究奠定基础。

关键词: 巴戟天; 产地; 道地性; 叶绿体基因组; 高通量测序

中图分类号: R282.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2021)05-0709-07

doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2021.05.016

Comparison Analysis of Chloroplast Genomes of *Morinda officinalis* How from Different Habitats

CAI Miaomiao¹, LIU Mengyun¹, LIU Hong¹, LUO Zhenhua¹, CHEN Zien¹, ZHONG Jingtang², DING Ping¹
(1. School of Pharmaceutical Sciences, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006 Guangdong, China; 2. Yayishan Chinese Herbs Plantation Ltd, Heyuan 517428 Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To explore the authenticity of *Morinda officinalis* How by comparing the base variation and genetic distance of the complete chloroplast genomes of *Morinda officinalis* How from different habitats, the complete chloroplast genome of *Morinda officinalis* How from the standardized planting base of the authentic area is considered as a reference. **Methods** The Illumina Hiseq 2500 sequencing platform was used for high-throughput sequencing, and the CMA V1.1.1 software was used to analyze and assemble the chloroplast genomes. The base mutations and genetic differences of the chloroplast genomes of *Morinda officinalis* How from different habitats in Guangdong, Fujian, Guangxi and Hainan were compared based on the results of gene annotation. **Results** Compared with the reference genome, the chloroplast genomes of the *Morinda officinalis* How populations from Guangdong were identical, and the number of base differences and genetic distance were 0. The number of base differences was 4-16 and the genetic distance was 0.026-0.126 among samples from Fujian. Differences between chloroplast genomes of the *Morinda officinalis* How populations from Guangxi and Hainan were mainly single-base mutations and indel

收稿日期: 2020-11-27

作者简介: 蔡苗苗, 女, 硕士研究生, 研究方向: 中药资源与质量评价。Email: caimiao1412@126.com。通信作者: 丁平, 女, 研究员, 博士研究生导师, 研究方向: 中药资源与质量评价。Email: dingpinggz@126.com。

基金项目: 国家重点研发计划项目(2017YFC1701104); 广东省应用型科技研发专项(2015B020234002)。

mutations concentrically distribute in the large single copy (LSC) region. Among samples from Guangxi and Hainan, the number of base differences and the genetic distances were 71–81 and 0.470–0.536, respectively. **Conclusion** Excellent germplasm resources are an important genetic factor for the formation of authentic herbs. The specific genes contained in the germplasm resources are essential to the formation of authentic medicinal materials. This research proves the stable provenance and the population of *Morinda officinalis* How in Guangdong at the gene level. Barely chloroplast gene mutations of *Morinda officinalis* How in Guangdong confirms its authenticity. The mutational differences in the chloroplast genome bases of *Morinda officinalis* How from different producing areas can lay the foundation for the research on molecular markers, genetic background, germplasm resource protection and plant phylogeny and evolution of *Morinda officinalis* How.

Keywords: *Morinda officinalis* How; producing area; authenticity; chloroplast genome; high-throughput sequencing

巴戟天药材为茜草科(Rubiaceae)植物巴戟天(*Morinda officinalis* How)的干燥根,具有补肾阳,强筋骨,祛风湿的功效^[1],主要分布在广东、福建、广西和海南地区,为“四大南药”之一。近年来,随着人们生活水平的提高,人们对巴戟天的需求也急剧增加,巴戟天供不应求,市场上流通的巴戟天往往鱼龙混杂,真假难辨,质量参差不齐,影响巴戟天的药材品质及用药安全^[2],因此,亟待加强对道地产区巴戟天资源的保护、开发和利用。本课题组前期通过对巴戟天的种质资源进行调查,并对其化学成分进行研究,发现不同产地的巴戟天不仅存在多种类型,而且化学成分如水晶兰苷、寡糖的含量及蒽醌类成分的指纹图谱等均存在较大差异^[3-5]。核糖体 rDNA 内转录间隔区(ITS)作为一种遗传标记,被广泛应用于中药材鉴定、遗传多样性、亲缘关系等方面的研究。通过对不同产地巴戟天核糖体 rDNA-ITS 序列分析发现,巴戟天群体间的亲缘关系与地理分布呈现较好的相关性^[6]。以上研究均为巴戟天道地性提供了可靠的研究基础。

叶绿体是植物进行光合作用的重要细胞器,在植物进化过程中发挥了不可替代的作用。大多数植物叶绿体基因组呈典型的 4 段式结构,由一对反向重复区(IR),一个大单拷贝区(LSC),一个小单拷贝区(SSC)组成^[7]。相对于核基因组,叶绿体基因组结构相对较小、便于测序分析,且具有序列相对保守、变异度适中和遗传重组率低等特点,被广泛用于药材种质的鉴定、分子育种、遗传进化、系统发育等方面研究。叶绿体基因组可反映不同居群间的地理分化,从叶绿体全基因组中筛选有效的高多态性片段,更能反映母系遗传 DNA 在道地和非道地居群间

的分化程度^[8-9]。道地药材的形成是生态因子、遗传变异和人文特征共同作用的结果^[10],不同产地的同一物种通过遗传分化,与其他产地同种药材出现差异,差异性越明显,则道地性也就越突出^[11]。基于叶绿体基因组和核糖体 rDNA-ITS 揭示药材的道地性有过不少报道^[12-13],但未曾有基于巴戟天叶绿体基因组探讨巴戟天药材道地性的报道。因此本研究以不同产地 15 份巴戟天样品为材料,利用二代测序技术测定叶绿体基因组,拟通过对不同产地巴戟天叶绿体基因组的组装、注释、序列分析及比较研究,探讨巴戟天药材的道地性,为后续开展巴戟天的分子标记、遗传背景、种质资源保护及植物系统发育进化等研究奠定基础。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Sigma 3K30 高速冷冻离心机,德国 Sigma 公司; Retsch MM400 组织破碎仪,德国 Retsch 公司; ABI 9700 PCR 仪,美国 ABI 公司; Beckman Z1 颗粒计数仪,美国 Beckman 公司; Covaris S2 核酸超声破碎仪,美国 ABI 公司; Nanodrop 2000 分光光度计,美国 Thermo 公司; Agilent 2100 生物芯片分析仪,美国 Agilent 公司; Illumina Hiseq 2500 测序平台,美国 Illumina 公司; IBM X3650M4 刀片服务器集群,美国 IBM 公司。

1.2 样品与试剂 2019 年 4 月至 6 月,收集了广东省(7 份)、福建省(4 份)、广西壮族自治区(2 份)和海南省(2 份)的巴戟天样品,每份 5~10 株,样品信息见表 1。巴戟天样品经广州中医药大学丁平研究员鉴定为巴戟天药材 *Morinda officinalis* How,取 15 种样品的新鲜叶片保存于液氮中。

表 1 巴戟天样品信息

Table 1 Sample information of *Morinda officinalis* How

序号	样品来源(种质)	产地	经纬度/°	海拔高度/m	叶型	土壤 pH 值
1	广东(栽培品)	德庆县高良镇 GAP 基地	N23.20, E111.59	253	小叶	3.83
2		德庆县高良镇	N23.20, E111.51	234	大叶	3.92
3		德庆县高良镇	N23.21, E111.54	235	柳叶	3.92
4		高要市河台镇	N23.23, E112.21	201	小叶	4.65
5		高要市河台镇	N23.23, E112.20	205	大叶	4.65
6		德庆县武垄镇	N23.21, E111.46	281	大叶	4.32
7		云浮市郁南县	N24.53, E117.15	373	小叶	4.73
8	福建(栽培品)	南靖县和溪镇	N24.52, E117.15	579	小叶	4.92
9		南靖县和溪镇	N24.22, E116.15	439	小叶	5.09
10		南靖县和溪镇	N24.23, E116.25	444	大叶偏圆	5.09
11		南靖县和溪镇	N24.23, E116.25	428	大叶	5.09
12	广西(野生品)	防城港那梭镇	N20.36, E107.28	420	未知	5.27
13		防城港那梭镇	N20.36, E107.28	420	未知	5.27
14	海南(野生品)	儋州市那大镇	N19.50, E109.50	100	未知	6.09
15		乐东县尖峰镇	N18.44, E108.52	620	未知	5.78

DNA 提取试剂盒, 康为世纪生物科技有限公司, 型号: CW2298M; β -巯基乙醇, 上海麦克雷生化科技有限公司; 氯仿, 分析纯, 广州化工有限公司; 无水乙醇, 分析纯, 天津富宇精细化工有限公司; 水为去离子水。

2 方法与结果

2.1 DNA 提取 参照康为世纪植物基因组 DNA 提取试剂盒(CW0553)说明书提取 DNA。

2.2 Illumina 文库构建与测序 按照 Illumina DNA 文库构建要求构建双端 DNA 测序文库(插入片段大小为 500 bp)。经过片段大小的选择和接头序列片段的测序, 按以下方法进行 PCR 扩增: 98 °C 聚合酶活化 2 min; 98 °C 热变性 30 s, 65 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 60 s, 该过程重复 10 个循环; 最后于 72 °C 延伸 4 min。DNA 库通过磁珠纯化, 实时荧光定量 PCR 进行定量。通过 Illumina HiSeq 2500 测序平台, 使用 Pair-End 125 bp 测序策略对 DNA 进行测序。每个样品得到约为 3 G 的原始序列数据, 共包含 180 M 测序片段。

2.3 基因组序列组装与验证 去除低质量碱基(超过 3 个“N”的碱基)和接头序列, 高质量的碱基通过 CMA V1.1.1 软件进行分析和组装。根据测序序列的 overlap 和双末端关系, 将测序片段组装成基因组。组装完成后, 通过序列比对的方式检测基因组组装的完整性和准确性, 要求测序序列 100% 覆盖组装的

叶绿体基因组, 且序列间的距离与测序文库构建的插入片段大小相符合。为了进一步确认基因组组装的正确性, 以测序深度均一性、覆盖度和插入片段大小为准进行确认。

2.4 基因注释与分析 通过在线注释软件 DOGMA 和 CPGAVAS 进行初步的基因注释, 并通过 Blast (V 2.8.1+) 软件在 nt 数据库和 nr 数据库比对, 检验注释的正确性。基因通过 tRNAscan-SE 和 tRNADB-CE 软件进行 tRNA 预测。通过 OGDRAW V1.2 工具绘制环状的叶绿体基因组。

2.5 巴戟天参考基因组的构建 巴戟天的主要产区位于广东、福建、广西和海南, 其中广东德庆、云浮、高要为巴戟天主要栽培地。此次收集的巴戟天样品涵盖了广东省 90% 以上的主产地, 具有较高的代表性。以来源于广东省德庆县巴戟天道地产区规范化种植基地的巴戟天样品为参考, 对其进行叶绿体全基因组的测序, 得到巴戟天叶绿体基因组长度、GC 含量、基因数量和类型等数据^[14]。将 NCBI 上登录号为 KR869730 的巴戟天叶绿体基因组序列作为参考基因组。

2.6 不同产地巴戟天叶绿体基因组与参考基因组对比分析 采用 MUSCLE (V 3.8.31) 多序列比对软件, 将广东、福建、广西与海南不同产地的巴戟天类群样品叶绿体基因组与参考基因组进行比对分析, 得到不同产地巴戟天叶绿体基因组变异图, 见图 1。

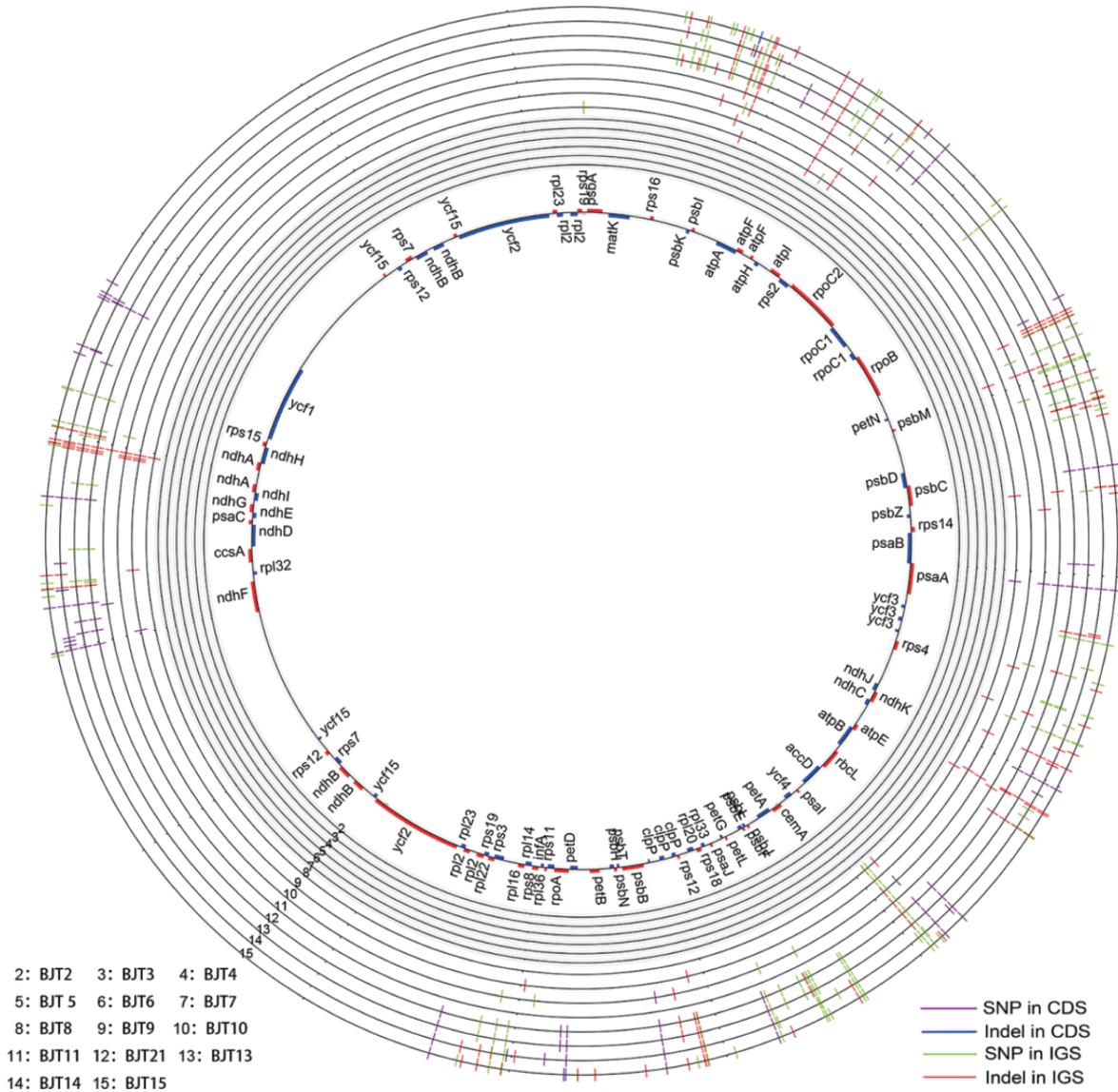


图 1 不同产地巴戟天叶绿体基因组变异图

Figure 1 Distribution map of indels and SNPs on the chloroplast genomes of *Morinda officinalis* How

从图 1 可以看出，最内侧的圆环为巴戟天道地药材产区规范化种植基地的 1 号样品的巴戟天叶绿体基因组，基因名称标注在内侧的圆环上。外侧 14 个圆环由内至外分别为广东、福建、广西和海南不同产地的巴戟天叶绿体基因组，产生的插入缺失突变 (Indel) 和单碱基突变 (SNP) 在图中以带有颜色的标记标示。与参考基因组相比，广东巴戟天群体叶绿体基因组未检测到突变基因，编码区和基因间区碱基突变个数均为 0；福建巴戟天群体叶绿体基因组检测到少许突变基因，编码区发生 14 个单碱基突变，0 个插入缺失突变，基因间区单碱基突变为 21 个，插入缺失突变为 47 个；广西巴戟天群体叶绿体基因组检测到较多突变基因，编码区单碱基突变为 38 个，插入缺失突变为 0 个，基因间区单碱基突变为 95 个，插入缺失突变为 66 个；海南巴戟天群体叶绿体基因

组编码区单碱基突变为 46 个，插入缺失突变为 3 个，基因间区单碱基突变为 91 个，插入缺失突变为 98 个。

广东巴戟天群体叶绿体基因组相对保守，其数量及结构组成相对稳定。福建省的巴戟天群体叶绿体基因组比较保守，其数量及结构组成比较稳定。广西巴戟天群体叶绿体基因组在基因间区存在单碱基突变和插入缺失突变。海南巴戟天群体叶绿体基因组突变密集，在编码区和基因间区均存在单碱基突变和插入缺失突变。

2.7 不同产地巴戟天叶绿体基因组的单碱基突变和插入缺失突变的分布规律和数量统计 为了明确碱基在叶绿体基因组中的分布，将不同产地巴戟天样品的叶绿体基因组与参考基因组对比，得到不同产地巴戟天叶绿体基因组单碱基突变和插入缺失突变情况，分别见图 2、表 2。

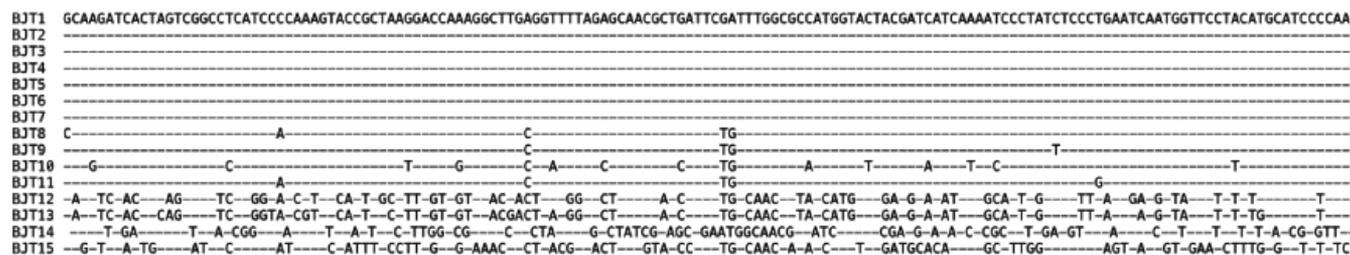


图 2 不同产地巴戟天叶绿体基因组的单碱基突变分布

Figure 2 SNP distribution of *Morinda officinalis* How chloroplast genomes from different habitats

2.7.1 不同产地巴戟天叶绿体基因组的单碱基突变的分布规律 从图 2 中可以看出, 与参考基因组相比, 广东巴戟天群体叶绿体基因组不存在单碱基突变, 单碱基突变主要发生在福建、广西和海南的巴戟天群体中。广东巴戟天群体中没有检测到单碱基突变位点; 福建巴戟天群体共检测到 30 个单碱基突变位点; 广西巴戟天群体共检测到 147 个单碱基突变位点; 海南巴戟天群体共检测到 156 个单碱基突变位点。

2.7.2 不同产地巴戟天叶绿体基因组的单碱基突变的数量统计 叶绿体基因组不同区域序列的进化速率存在着差异, 大单拷贝区的突变率高于小单拷贝区, 非编码区比编码区表现出更快的进化速率。从表 2 中可以看出, 大单拷贝区中共有 265 个单碱基突变, 包括 40 个转换和 225 个颠换; 小单拷贝区中共有 64 个单碱基突变, 包括 15 个转换和 49 个颠换; 反向重复序列(IR)只有 2 个颠换。基因间隔区位于非编码区, 不编码蛋白质, 保守性低于编码基因, 更容易发生突变。巴戟天单碱基突变主要集中在基因间隔区(IGS), 其次是编码区(CDS)和内含子区(Introns), tRNAs 和 rRNAs 几乎没有单碱基突变。

表 2 不同产地巴戟天叶绿体基因组的单碱基突变数量(个)

Table 2 Quantities SNPs in the chloroplast genome regions of *Morinda officinalis* How from different habitats(n)

区域	CDS		Introns		IGSs		tRNAs		rRNAs		合计	
	Ts	Tv	Ts	Tv	Ts	Tv	Ts	Tv	Ts	Tv	Ts	Tv
LSC	11	57	3	6	25	162	1	0	0	0	40	225
SSC	9	33	1	5	5	11	0	0	0	0	15	49
IR(x2)	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	2
合计	20	91	4	11	30	174	1	0	0	0	55	276

注: Ts 指转换 (transition); Tv 指颠换 (transversion)

2.7.3 不同产地巴戟天叶绿体基因组的插入缺失突变的分布规律 不同产地巴戟天叶绿体基因组的插入缺失突变主要集中在大单拷贝区, 其次是小单拷贝

区。插入缺失突变的分布数量统计结果显示, 不同产地巴戟天样品叶绿体基因组在简单重复区(Indels on homopolymer regions)共有 103 个插入缺失突变, 其中 54 个为插入突变, 49 个为缺失突变; 在串联重复区(Indels on tandem repeat regions)共有 47 个插入缺失突变, 其中 16 个为插入突变, 31 个为缺失突变; 在其他区域(Indels on other regions)共有 51 个插入缺失突变, 见表 3。

表 3 不同产地巴戟天叶绿体基因组的插入缺失突变数量(个)

Table 3 Indels in the chloroplast genome regions of *Morinda officinalis* How from different habitats(n)

区域	LSC		SSC		IR(x2)		合计	
	Ins	Del	Ins	Del	Ins	Del	Ins	Del
简单重复区	40	37	14	12	0	0	54	49
串联重复区	16	30	0	1	0	0	16	31
其他区域	20	22	1	8	0	0	21	30

注: Ins 指插入突变(Insertion); Del 指缺失突变(Deletion)

2.7.4 不同产地巴戟天叶绿体基因组的插入缺失突变的数量统计 广东、福建、广西和海南不同产地巴戟天叶绿体基因组的插入缺失片段大小和插入缺失突变数量分布情况, 见图 3。1 nt 片段中插入缺失突变为 76, 其中插入突变数量为 33, 缺失突变数量为 43; 2 nt 片段中插入缺失突变为 23, 其中插入突变数量为 17, 缺失突变数量为 6; 3 nt 片段和 4 nt 片段中插入突变数量分别为 4、5, 均没有缺失突变; 不同产地巴戟天样品叶绿体基因组的插入缺失突变主要是小于或等于 3 nt 片段(小片段)的插入缺失突变, 这符合种内变异的特征。

2.8 不同产地巴戟天叶绿体基因组碱基差异数和遗传距离分析 通过比较不同产地巴戟天样品的差异位点信息, 利用 MEGA 7.0 计算巴戟天样品两两之间的 Nei 氏遗传距离^[15], 从而得到不同产地巴戟天叶绿体基因组碱基差异数和遗传距离, 见表 4。

碱基差异数越多, 遗传距离越远, 两种样品的叶

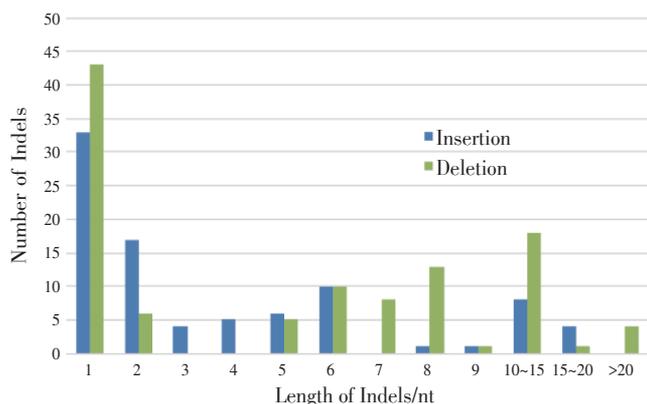


图3 不同产地巴戟天叶绿体基因组的插入缺失突变分布

Figure 3 Indel distribution of *Morinda officinalis* How chloroplast genome from different habitats

绿体基因组差异就越大。与参考基因组相比，广东巴戟天群体叶绿体基因组碱基差异数和遗传距离均为0；福建巴戟天群体叶绿体基因组碱基差异数为4~16，遗传距离为0.026~0.126；广西巴戟天群体叶绿体基因组碱基差异数分别为71和75，遗传距离分别为0.470和0.497；海南巴戟天群体叶绿体基因组碱基差异数分别为74和81，遗传距离分别为0.490和0.536。

可见，广东巴戟天群体叶绿体基因组相同，碱基差异少，可能与巴戟天的无性繁殖有关。广东巴戟天基本来源于德庆，种源稳定，长期的扦插繁殖使其基因间交流少，导致其遗传背景相似，因而符合道地药材具有稳定种源的特性。与参考基因组相

比，福建巴戟天群体叶绿体基因组不存在明显的碱基差异，可能因为福建巴戟天群体和广东巴戟天群体基因间存在相似性，使其遗传背景差异不大。然而，广西和海南的巴戟天群体为野生品，与栽培品比碱基差异较大，可能与野生巴戟天生长于原始森林里，常要与周围的植被争夺阳光水分等资源，为了适应环境而使基因间交流增多有关，因此其与广东巴戟天群体遗传距离远，遗传背景差异较大，此结果与本课题组前期对其种质资源的调查研究结果一致^[16]。

3 讨论

叶绿体基因组基因间区变异程度大，进化速率快，不编码蛋白质，具有较高的多态性，适合种间及种以下水平的植物类群或物种的鉴定研究^[17-18]。本研究应用高通量测序技术对巴戟天的叶绿体基因组进行了组装、注释和分析，每个样品得到了约3 G的原始序列数据，共包含180 M的测序片段。通过对不同产地巴戟天叶绿体基因组的变异情况进行比较，发现叶绿体基因组中不同区域和不同数量的单碱基突变或插缺失突变是巴戟天药材产生道地性的主要原因。

与参考基因组相比，广东巴戟天群体叶绿体基因组相同，与其长期的扦插繁殖和生长环境息息相关，广东巴戟天群体种源稳定，基因间交流少，产生的变异少，导致其遗传背景相似，是其种质退化

表4 不同产地巴戟天叶绿体基因组碱基差异数和遗传距离分析

Table 4 Number of nucleotide differences and p-distances of the chloroplast genomes of *Morinda officinalis* How from different habitats

序号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1		0	0	0	0	0	0	5	4	16	6	71	75	74	81
2	0.000		0	0	0	0	0	5	4	16	6	71	75	74	81
3	0.000	0.000		0	0	0	0	5	4	16	6	71	75	74	81
4	0.000	0.000	0.000		0	0	0	5	4	16	6	71	75	74	81
5	0.000	0.000	0.000	0.000		0	0	5	4	16	6	71	75	74	81
6	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000		0	5	4	16	6	71	75	74	81
7	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000		5	4	16	6	71	75	74	81
8	0.033	0.033	0.033	0.033	0.033	0.033	0.033		1	13	1	67	71	70	77
9	0.026	0.026	0.026	0.026	0.026	0.026	0.026	0.020		13	3	68	72	71	78
10	0.106	0.106	0.106	0.106	0.106	0.106	0.106	0.099	0.093			59	62	62	68
11	0.033	0.033	0.033	0.033	0.033	0.033	0.033	0.013	0.020	0.099		67	71	70	77
12	0.470	0.470	0.470	0.470	0.470	0.470	0.470	0.450	0.457	0.417	0.450		5	34	38
13	0.497	0.497	0.497	0.497	0.497	0.497	0.497	0.477	0.483	0.430	0.477	0.053		34	36
14	0.490	0.490	0.490	0.490	0.490	0.490	0.490	0.470	0.477	0.437	0.470	0.430	0.457		39
15	0.536	0.536	0.536	0.536	0.536	0.536	0.536	0.517	0.523	0.470	0.517	0.437	0.437	0.477	

注：红色为碱基差异数，蓝色为遗传距离

的主要原因；福建巴戟天群体叶绿体基因组基本相同，单碱基突变和插入缺失突变数量少，仅存在 30 个单碱基突变，主要发生在大单拷贝区，基因间区存在 47 个插入缺失突变。福建巴戟天群体叶绿体基因组差异不大的可能原因有二，一是 ITS 序列研究表明广东和福建的巴戟天可能来源于相同的祖先群体，两个产地间的巴戟天亲缘关系近^[19]，种内基因交流少，遗传距离近，使其遗传背景单一；二是在种质资源实地调查过程中，据福建当地农户口述，当地巴戟天最早由广东引种，通过不断的扦插繁殖逐渐扩大种植面积，因此长期的无性繁殖使其发生的遗传变异少，与广东巴戟天群体相似。

叶绿体基因组的基因数量、顺序及结构组成相对稳定，但由于生长环境和遗传背景等方面的差异，不同群体间的基因组会产生插入/缺失、重复、倒位等不同形式的遗传变异现象，是物种进化的主要原因之一^[20]。广西巴戟天群体和海南巴戟天群体均为野生品，与广东巴戟天群体相比，叶绿体基因组存在显著的差异，单碱基突变和插入缺失突变主要存在于大单拷贝区，单碱基突变中包括 40 个转换和 225 个颠换，简单重复区有 103 个插入缺失突变，串联重复区为 47 个。可见野生巴戟天与栽培巴戟天之间的遗传分化程度大，遗传距离远，遗传背景差异大，具有丰富的遗传多样性，因此野生巴戟天是值得重点保护的對象，有待进行深入的基因挖掘和遗传研究，为后续新品种的开发和良种选育奠定基础。

仅仅基于巴戟天核糖体 rDNA-ITS 尚不能全面反映巴戟天道地性的本质，因此有必要从叶绿体基因组水平进一步阐明道地和非道地巴戟天药材的遗传分化程度，从而揭示巴戟天药材的道地性。目前已测序的巴戟天仅占整个物种的极小部分，未来还需对更多的巴戟天叶绿体基因组进行研究，方可更全面了解巴戟天叶绿体基因组基本特征和进化规律。

参考文献：

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：一部[S]. 北京：中国医药科技出版社，2020：84-85.
- [2] 刘秋桃，孔维军，杨美华，等. 储藏过程中易霉变中药材的科学养护技术评述[J]. 中国中药杂志，2015，40(7)：1223-1229.
- [3] 丁平，楚桐丽，徐吉银. 不同种质资源的巴戟天化学成分的指纹图谱研究[J]. 华西药理学杂志，2006，21(1)：12-14.
- [4] 刘瑾，徐吉银，罗进辉，等. 不同产地巴戟天中水晶兰苷的含量测定[J]. 中成药，2010，32(3)：517-519.
- [5] 章润菁，李倩，屈敏红，等. 不同产地、生长年限和种质的巴戟天药材寡糖含量分析[J]. 中国药理学杂志，2016，51(4)：315-320.
- [6] 丁平，刘瑾，邱金英，等. 基于核糖体rDNA ITS序列变异探讨巴戟天道地性[J]. 药学报，2012，47(4)：535-540.
- [7] 钱俊. 丹参的叶绿体和线粒体基因组研究[D]. 北京：北京协和医学院中国医学科学院，2014.
- [8] LIANG C, WANG L, LEI J, et al. A comparative analysis of the chloroplast genomes of four salvia medicinal plants[J]. Engineering, 2019, 5(5): 907-915.
- [9] NIU E, JIANG C, WANG W, et al. Chloroplast genome variation and evolutionary analysis of *Olea europaea* L. [J]. Genes, 2020, 11: 879.
- [10] 张彩云，黄珊珊，颜海飞. DNA条形码技术在中药鉴定中的应用进展[J]. 中草药，2017，48(11)：2306-2312.
- [11] 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)：2303-2308.
- [12] JIANG D, ZHAO Z, ZHANG T, et al. The chloroplast genome sequence of *Scutellaria baicalensis* provides insight into intraspecific and interspecific chloroplast genome diversity in *Scutellaria*[J]. Genes, 2017, 8: 227.
- [13] YANG Z, HUANG Y, AN W, et al. Sequencing and structural analysis of the complete chloroplast genome of the medicinal plant *Lycium chinense* Mill[J]. Plants, 2019, 8: 87.
- [14] ZHANG R, LI Q, GAO J, et al. The complete chloroplast genome sequence of the medicinal plant *Morinda officinalis* (Rubiaceae), an endemic to China[J]. Mitochondrial DNA Part A, 2015, 27(6)：4324-4325.
- [15] TAKEZAKIN N M. Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA[J]. Genetics, 1996, 144(1)：389-399.
- [16] 章润菁，李倩，屈敏红，等. 巴戟天种质资源调查研究[J]. 中国现代中药，2016，18(4)：482-487.
- [17] WEI B F, YING W, JIAO Y, et al. Comparative chloroplast genomics of dipsacales species: insights into sequence variation, adaptive evolution, and phylogenetic relationships[J]. Frontier in Plant Science, 2018, 9: 689.
- [18] INKYU P, SUNGYU Y J K W. The complete chloroplast genomes of six *Ipomoea* species and indel marker development for the discrimination of authentic Pharbitidis Semen (seeds of *I. nil* or *I. purpurea*)[J]. Frontier in Plant Science, 2018, 9: 965.
- [19] 丁平，方琴. 巴戟天与常见混伪品的rDNA ITS序列分析及其分子鉴定[J]. 中草药，2005，36(6)：908-911.
- [20] 张妍彤，黄剑，宋菊，等. 壳斗科植物叶绿体基因组结构及变异分析[J]. 植物研究，2018，38(5)：757-765.

(编辑：梁进权)