

黄精属植物 DNA 分子鉴定技术应用研究进展

石乃星¹, 文国松¹, 赵明富²

(¹ 云南农业大学农学与生物技术学院, 昆明 650201; ² 云南农业大学植物保护学院, 昆明 650201)

摘要: 黄精属植物分布广泛、资源丰富、类群复杂、栽培历史悠久, 具有重要的药用、经济、观赏与文化价值。在大健康的时代背景下, 黄精作为中国传统中药材, 其潜在市场和广泛用途不断受到人们的重视与发掘。随着分子生物学研究的完善与深入, 先后出现了多种基于 DNA 水平的分子鉴定技术, 加速黄精属相关领域的研究并取得了较为丰硕的成果。本文对近年来有关 DNA 分子鉴定技术(分子标记和 DNA 条形码)在黄精属植物的应用现状与进展进行了综述, 着重综述遗传多样性、种质鉴定、系统发育、分子标记辅助育种等方面的研究进展, 并对分子标记技术在黄精属应用中存在的问题及前景进行了讨论, 以期在相关领域为今后黄精属的分子标记研究提供参考和对照, 并对其资源保护及开发利用提供一定借鉴。

关键词: 黄精属; 分子鉴定; 分子标记; DNA 条形码

Application of DNA Molecular Identification Technology in *Polygonatum* Mill.

SHI Nai-xing¹, WEN Guo-song¹, ZHAO Ming-fu²

(¹ College of Agronomy and Biotechnology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201;

² Plant Protection College, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201)

Abstract: The genus *Polygonatum* Mill. represents a wide geographical distribution, abundant resources, complex taxa and a long cultivation history, and they are considered to be important with the medicinal, economic, ornamental and cultural value. Under the background of the era of the concept of great health, *Polygonati Rhizoma* as a traditional Chinese herbal medicine, its potential market and wide range of applications are constantly being valued and explored. With the improvement and development of molecular biology research, a variety of molecular identification techniques based on DNA level have emerged, which has accelerated the related research field of *Polygonatum* and achieved many fruitful results. In this paper, we review the current status and progress of the genus *Polygonatum* about DNA molecular identification techniques (such as molecular marker and DNA barcode) in recent years, especially focusing on the research of genetic diversity, germplasm identification, phylogeny, etc. The problems and prospects of molecular marker technology are discussed in the application of *Polygonatum*. We hope to provide references and comparisons for future molecular marker research of *Polygonatum* in related field and scientific references for efficient protection and utilization of plant resources.

Key words: *Polygonatum* Mill.; molecular identification; molecular markers; DNA barcode

黄精属 (*Polygonatum* Mill.) 隶属于天门冬目天门冬科多年生草本植物, 全球有 60 余种, 广泛分布于北温带地区^[1]。中国黄精属植物近 40 种, 其

中大半是特有种, 是该属植物分布与分化中心^[2]。黄精属植物集药用价值、观赏价值、经济价值、社会文化价值于一体。自黄精属成立以来, 该属属

收稿日期: 2021-03-15 修回日期: 2021-04-06 网络出版日期: 2021-05-13

URL: <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20210315005>

第一作者研究方向为药用植物资源评价与种质创新, E-mail: shi15587221483@163.com

通信作者: 文国松, 研究方向为药用植物资源评价与种质创新, E-mail: wengs@163.com

基金项目: 国家自然科学基金 (81360611)

Foundation Project: National Natural Science Foundation of China (81360611)

下分类和种的识别与鉴定是一个十分困难的问题^[3]。这是由于黄精属形态上具有过渡性、地理分布上存在重叠性而造成本属植物复杂的类群关系,亦导致同属中药材黄精和玉竹的原植物栽培与药用混乱。随着分子生物学技术的发展,基因组分子鉴定技术成为继形态鉴定、显微鉴定和理化鉴定之后较为可靠的鉴定与分类手段。该技术源于 DNA 序列水平的遗传变异,包括替换、缺失、插入等^[4]。它能够直接在 DNA 分子水平上检测生物间的差异,具有准确度高、特异性强、重复性好及快速、微量等优点^[5-6]。分子鉴定技术建立至今,已在物种遗传多样性研究、种质资源评价、亲缘关系研究、品种鉴定、遗传图谱构建和辅助育种等方面得到广泛应用,弥补了传统分类及育种方法的不足,成为经典的形态学鉴定有力的辅助工具^[7]。

本文将从 DNA 分子鉴定技术在该属的国内外应用研究现状和进展进行扼要总结,旨在推动黄精属植物资源的科学保护与合理利用。

1 分子标记技术在黄精属中的应用

在植物分类鉴定、系统发育、遗传多样性分析及育种等领域,分子标记技术已有广泛而深入的应用。它不仅是黄精属形态分类及传统育种手段的有力辅助与补充,而且还成为黄精属种质资源鉴定与遗传多样性等研究的重要支撑技术。作者根据文献,对有关黄精属植物分子标记研究应用情况进行了简单总结与归纳(表 1)。

1.1 RFLP 技术

1980 年, Botstein 等^[8]首次提出限制性片段长度多态性技术(RFLP, restriction fragment length polymorphism),它作为最早基于 DNA 分子水平的标记技术,其原理是检测基因组在限制性内切酶(Restriction endonuclease)切割后形成的特定 DNA 片段的大小。该技术已被广泛应用于物种鉴定、亲缘关系分析、种质资源遗传多样性测定、基因组遗传图谱构建等方面。但是 RFLP 技术操作繁琐,耗时长,不仅对选用的限制性内切酶要求严格,而且涉及到放射性物质的使用,对人体有一定危害,故而在一定程度上影响了该技术的应用与发展^[9-10]。而后在 PCR 基础上建立了限制性片段长度多态性聚合酶链反应(PCR-RFLP)技术,才在一定程度上打破该技术的局限,但是增加了内切酶的研究成本与酶组合筛选工作量。

关于 RFLP 技术在黄精属上的应用并不多。Wu 等^[11]运用 PCR-RFLP 技术手段对 *Polygonatum*

odoratum (Mill.) Druce 与 *Polygonatum simizu* Kitag. 叶绿体基因组 *trnK* 和 *rpl16* 两个基因片段进行比较,并结合其他证据,对 *Polygonatum simizu* Kitag. 的分类学位置提出自己的观点。他认为 *Polygonatum simizu* Kitag. 隶属于 *Polygonatum odoratum* (Mill.) Druce 是不合理的,应该将 *Polygonatum simizu* Kitag. 从 *Polygonatum odoratum* (Mill.) Druce 独立出来。吴世安等^[12]通过对黄精属中 2 个叶绿体基因片段(*trnK* 和 *rpl16*)进行 PCR-RFLP 分析,结果表明:黄精属轮生叶和对生叶种类是复系关系,互生叶种类自成一单系;通过分子生物学证据支持将金佛山黄精由鹿药属转隶黄精属的观点。Tamura 等^[13]对黄精属 17 种及 1 变种的 *trnK* 基因进行 PCR-RFLP 分析,支持将黄精属分成 sect. *Polygonatum* 和 sect. *Verticillata* 两组,其分子分类结果与之前根据染色体基数与花丝微形态特征得到的分类结论相一致^[14]。作为早期分子标记技术,在黄精属物种分类鉴定与系统发育分析已经有了一定程度应用。

1.2 RAPD 技术

1990 年, Williams 等^[15]在 PCR 技术的基础上开发随机扩增多态性 DNA 分子标记技术(RAPD, random amplified polymorphic DNA),它以整个基因组 DNA 为模板进行多态性检测,目前此技术已广泛应用于物种鉴别、亲缘关系分析及抗性基因的研究上。其优点是操作简便,自动化高,所需样品 DNA 量少、纯度低,并且不需要 DNA 序列信息。但是该技术存在显性遗传问题,不能区分纯合型与杂合型,而且结果影响因素(温度、反应物影响、污染问题)较多,从而导致试验的稳定性与重复性不佳^[16]。

RAPD 技术在黄精属的研究主要体现在遗传多样性研究与种质资源鉴定 2 个方面。朱艳等^[17]采用 RAPD 分子标记方法,通过对黄精属 6 种药用植物进行亲缘关系分析,验证了该属植物在同科属级分类上特征明显,但属内物种分类存在交叉现象。林丽美^[18]采用 RAPD 方法鉴别中药材玉竹及其同属的混伪品,并对湖南道地产地玉竹与其他地区玉竹进行分析,建立玉竹亲缘关系树型图,该图的 UPGMA 聚类结果与用经典分类研究一致,可将同属植物玉竹和黄精明显地区分开来。2002 年,刘塔斯等^[19]对玉竹及其混淆品进行了 RAPD 分析,结果表明,玉竹、黄精遗传差异显著,道地药材玉竹和其他产地玉竹已发生遗传分化,表明 RAPD 技术可以应用于药材玉竹的鉴定以及成为玉竹品质评价的有效工具。从以上研究成果可以看出 RAPD 技

术在一定程度上能够解决黄精属的属级分类关系以及对种间甚至种内进行鉴别,但是依然不能很好地解决黄精属内系统分类问题。

1.3 SSR 分子标记

简单序列重复 (SSR, simple sequence repeats) 又称微卫星 (Microsatellite)^[20],是指广泛存在于真核生物整个基因组中简短串联重复的核苷酸序列,最早由 Tautz (1989) 发现^[21]。该技术是根据 SSR 序列重复单位、数目、程度的多态性以及自身两端序列相对保守的特性,以基因组内 SSR 序列为基础开发的。

作为目前应用最广泛的分子标记技术之一,SSR 分子标记在黄精属植物中亦多有应用。朱巧等^[22]采集 60 份黄精属植物材料,利用 SSR 分子标记产生的多态性数据进行遗传差异性和群体结构的分析,结果表明黄精属植物遗传多样性丰富,变异幅度大,种的界限相对模糊,互生叶系与轮生叶系的某些植物存在差异减小的现象;西部地区的遗传多样性较其他地区高,可能是我国黄精属植物的起源中心。王世强等^[23]采用 12 对 SSR 引物对 32 个野生黄精种质材料进行相关分析发现,SSR 聚类结果能够反映供试黄精材料的亲缘关系。基于相关数据构建的 DNA 指纹图谱,试验的所有种质材料都能得到高效区分。随着高通量测序技术发展以及测序成本的降低,基于转录组数据衍生的 EST-SSR 技术在多花黄精 SSR 位点分析、标记开发、功能基因挖掘等方面已经得到相关验证与应用^[24-25]。陈友吾等^[26]通过对多花黄精转录组测序数据鉴定与分析发现,其转录组 SSR 位点出现频率高,重复单元类型丰富,多态性较高,为黄精属内种间物种的分子鉴别、多花黄精优良品种的分子辅助育种提供技术手段。

1.4 ISSR 分子标记

ISSR (Inter-simple sequence repeat) 即简单重复序列区间,由加拿大蒙特利尔大学学者 Zietkiewicz 等^[27]于 1994 年提出,该技术是基于真核生物基因组微卫星的特性与 PCR 技术的基础上建立与发展起来的,同 RFLP 分子标记技术一样,具有无需预先克隆和测序,成本相对较低;操作流程简便、快捷;多为显性标记,稳定性强;退火温度较高,重复性好;产物多态性丰富,特异性强等优点^[28-30]。但是 PCR 反应条件要求较高,无法区分纯合和杂合^[31]。

目前,ISSR 技术广泛应用于黄精属种质资源的鉴定、遗传多样性及亲缘关系分析、指纹图谱构建。徐惠龙等^[32]利用 ISSR 技术鉴别两种闽产易混黄精属植物:多花黄精与长梗黄精,发现这两种植

物遗传多样性较高,种质资源丰富,种质间分化差异大,认为 ISSR 技术可为黄精属种质鉴别提供新的方法与参考依据。周晔等^[33-35]通过试验证实 ISSR 技术适用于玉竹、多花黄精、小玉竹、黄精、卷叶黄精等黄精属植物分子水平的区分与鉴定。卜静等^[36]通过对野生居群玉竹与栽培居群玉竹的 ISSR 分析比较发现:野生居群玉竹遗传多样性高于栽培玉竹,地理来源相同的野生居群与栽培玉竹亲缘关系更加接近。就目前相关资料文献来看,此项技术依然缺乏优质基因的发掘和定位等相关方面的深入研究与利用。

1.5 SCoT 分子标记

2009 年 Collard 等^[37]共同开发一种基于单引物扩增反应的新型目的基因标记技术:目标起始密码子多态性分子标记 (SCoT, start codon targeted polymorphism)。该技术是通过 DNA 序列中 ATG 翻译起始位点侧翼的保守性设计单引物,具有操作简便、重复性与稳定性好、引物设计简单且通用性强、能产生和性状连锁的标记等优点。

SCoT 分子标记作为一种新型分子标记技术,在黄精属的应用上起步较晚,相关研究报道较少。刘跃钧等^[38]以 19 份不同种源的黄精 (*Polygonatum* Mill.) 为试材,利用 SCoT 分子标记技术对材料进行遗传多样性研究,结果显示验证筛选出的 15 个 SCoT 引物,一共扩增出 500 条 DNA 片段,其中 498 条具有多态性,多态性比率为 99.6%,供试黄精种质间的遗传相似系数范围为 0.5540~0.7340,说明不同种质资源黄精有着较丰富的遗传多样性,SCoT 标记可以为黄精的分类及鉴别提供一定的依据。焦劼^[39]从 85 条 SCoT 引物中筛选出 10 条扩增效率高、多样性与重复性好的引物进行种质资源的分子标记实验。UPGMA 系统聚类分析显示,种质资源间的相似性系数的范围为 0.67~0.93,其聚类方式可以对黄精种质资源进行分类鉴定,但与通过 ISSR 分子标记得到的结果差异较大。

1.6 SCAR 标记

1993 年,Paran 等^[40]在 RAPD-PCR 分子标记基础之上提出并建立特异性片段扩增区域 (SCAR, sequence characterized amplified region) 新型分子标记技术。它的原理是将分子标记 (RAPD、AFLP、ISSR 等) 的未知 DNA 片段序列克隆并测序,根据序列两端设计引物,随后对基因 DNA 片段再进行 PCR 特异性扩增,便可得到序列特异扩增区域 (SCARs)。该技术扩增位点单一,退火温度较高,对反应条件不

敏感,一般表现为长度的多态性,为共显性标记,有时也表现为扩增片段的有无,为显性标记。SCAR 分子标记技术已被广泛应用于基因定位、辅助育种、种质鉴定和遗传连锁图谱构建等方面的研究^[41]。

转化为 SCAR 标记的分子标记还需进一步验证筛选方可成功。DNA 无法扩增、特异加长引物无法保持基因的多态性、转化后 PCR 无法进一步扩增或是 PCR 产物的多态性消失等原因都会限制着 SCAR 标记技术的发展和应^[42]。

叶碧欢等^[43]通过 ISSR、SRAP-PCR 2 种分子标记技术对多花黄精与长梗黄精的基因组进行种间多态性分析,获得 DNA 差异片段,经测序设计,而后筛选出 3 种特异性的特征性片段扩增区域(SCAR)引物,能够有效地对这 2 种黄精属植物进行准确快速鉴别。目前来看,黄精属植物相关 SCAR 引物比较缺乏,有待后续相关研究人员进一步设计与挖掘。SCAR 分子标记技术在黄精属的应用依然浅薄,没有得到深入研究与利用。

表 1 分子标记在黄精属研究应用情况一览表

Table 1 Application of molecular markers in research and use of *Polygonatum* Mill.

| 方法 Methods | 物种 Species | 应用 Application | 主要结果 Main results | 参考文献 Reference |
|---------------|-----------------------------|--------------------|--|-------------------|
| RFLP | <i>Polygonatum simizu</i> | 分类学修订 | 建议将 <i>Polygonatum simizu</i> 从 <i>Polygonatum odoratum</i> | [11] |
| | <i>Polygonatum odoratum</i> | | 分离,独立成种。 | |
| | 黄精属 13 个物种 | 系统发育关系、 分类学修订 | 轮生叶与对生叶种类是复系关系,互生叶种类为单系; 金佛山黄精转隶黄精属。 | [12] |
| | 黄精属 17 个物种及 1 个 变种 | 系统发育分析 | 支持黄精属分成 Sect. <i>Polygonatum</i> 和 Sect. <i>Verticillata</i> 两组的观点。 | [13] |
| RAPD | 黄精属 6 个物种 | 亲缘关系 | 属级之间分类特征明显,属内种间分类有交叉。 | [17] |
| | 黄精属 10 个物种 | 种质资源鉴定 | 成功鉴别玉竹及其混淆品同属植物黄精; 道地药材的玉竹在 DNA 分子水平上已产生了遗传变异。 | [18] |
| | 玉竹、多花黄精、狭叶黄精 | 种质资源鉴定、 遗传多样性分析 | 遗传多态性丰富; 道地药材玉竹和其他地区玉竹产生了遗传分化。 | [19] |
| SSR | 黄精属 6 个物种共 60 份 种质资源 | 遗传多样性分析、 亲缘关系鉴定 | 黄精属植物具有丰富的遗传多样性; 西部地区遗传多样性高于其他地区。 | [22] |
| | 黄精、多花黄精、滇黄精 | 遗传图谱构建 | 聚类分析能精准反映实验材料亲缘关系; 构建的 DNA 指纹图谱能对供试种质材料实行高效区分。 | [23] |
| | 多花黄精 | 标记开发 | 测序得到 12317 个符合条件的 SSR 位点,随机挑选的 50 对 SSR 引物中有 29 对扩增出预期条带。 | [26] |
| | 多花黄精、长梗黄精 | 种质资源鉴定、 遗传多样性分析 | ISSR 引物对样品 PCR 扩增的多态性高;该分子标记适用于 多花黄精与长梗黄精的种质鉴别及遗传多样性分析。 | [32] |
| ISSR | 玉竹、小玉竹 | 种质资源鉴定 | 运用该技术并辅以显微鉴定,有效地对玉竹及其掺伪品 (小玉竹)进行鉴别。 | [33] |
| | 玉竹、小玉竹、黄精、 长梗黄精、多花黄精 | 亲缘关系鉴定 | 筛选出 5 种适用于供试材料的 ISSR 引物,其产生的多态性 谱带可用于区分黄精属药用植物。 | [34] |
| | 黄精、多花黄精、 卷叶黄精 | 种质资源鉴定 | 筛选的 2 个 ISSR 引物能够产生足够的多态性谱带, 用于中药黄精和卷叶黄精的区分。 | [35] |
| | 玉竹 | 遗传多样性分析、 亲缘关系分析 | 野生玉竹遗传多样性高于栽培居群; 玉竹的遗传变异与地理分布相关性不明显。 | [36] |
| | 多花黄精、黄精、 滇黄精 | 遗传多样性分析 | 不同种源的黄精种质有较为丰富的遗传多样性。 | [38] |
| SCoT | 黄精属 6 个物种 | 种质资源鉴定与评价 | 对黄精种质具有较强的鉴定能力, 筛选和确定黄精初级核心种质。 | [39] |
| SCAR | 长梗黄精、多花黄精 | 种质资源鉴定 | 3 对 SCAR 引物在长梗黄精能扩增出特异性片段, 而在多花黄精中无法扩增出特异性片段。 | [43] |
| SNP | 玉竹 | 种质资源鉴定与评价 | 基于 RAD-seq 技术所获得 SNP 标记能够为不同地区玉竹 种质资源分类与鉴定提供较高的物种分辨率支持 | [46] |

1.7 SNP 标记

1996 年, Lander 等^[44]提出了第三代 DNA 分子标记技术: 单核苷酸多态性 (SNP, Single-Nucleotide Polymorphism)。该技术是基于基因组水平上出现的单个核苷酸变异情况 (碱基的转换、颠换、缺失和插入等) 而导致 DNA 序列产生遗传多态性的原理, 在分子水平上对单个核苷酸的差异进行检测, 从而达到区分遗传物质差异的目的。SNP 标记具有位点数量丰富、分布广泛、多态性高、遗传稳定、易于自动化检测与统计等优点, 目前此技术已得到广泛研究与应用。

Kim 等^[45]基于 DNA 条形码技术对黄精属叶绿体 DNA 片段中 SNP 位点进行统计发现: *rpoC1*、*rpoB2*、*matK*、*psbA-trnH* 分别存在 25、1、7、2 个 SNP 位点。根据这些位点的多态性, 可为黄精属的物种鉴定提供分子生物学方面的相关信息。Lee 等^[46]通过 SNP 标记对不同地区的玉竹种质资源进行分析, 基于最大似然法构建的系统发育树将 27 份玉竹样本分为 3 大支, 而基于贝叶斯法的系统发育分析更倾向于将玉竹样品分为 4 组。这些 SNP 位点开发和研究能够为玉竹种质资源的鉴定和遗传多样性分析提供理论依据。

就目前相关报道来看, 关于 SNP 标记在黄精属药用植物的应用尚浅。但是基于 SNP 技术众多的优点以及检测分析手段的不断进步, 相信 SNP 标记技术在黄精属应用上具有广阔前景。

2 DNA 条形码技术在黄精属的应用

DNA 条形码技术作为 DNA 分子鉴定的有力工具, 已在动物、植物以及微生物的应用上取得了显著成果, 极大促进了生物分类学、分子系统发育学等学科的发展。DNA 条形码在黄精属植物中主要应用在分类鉴定、系统进化、亲缘关系与遗传多样性分析等方面 (表 2)。

2.1 标准 DNA 条形码技术 (Standard DNA barcodes)

2003 年, 加拿大学者 Hebert 等^[47]首次提出 DNA 条形码的概念。它具有不受个体形态与发育阶段影响、准确度高, 在 DNA 分子层级提供准确可靠的分类依据等优点, 还能建立信息明确的数字化数据库, 推动分类学快速深入发展^[48]。作为一段简短并高效鉴定物种的 DNA 标准区域, 该技术在动物界已然成熟, 得到广泛应用。而植物界缺少像动物线粒体细胞色素 C 氧化酶亚基 I (COI) 一样的高效且通用的 DNA 条形码^[49]。目前, 叶绿体片段 *matK*、*rbcL*、*trnH-psb* 以及核糖体基因及其转录间

隔区 ITS/ITS2 推选作为植物标准 DNA 条形码较好解决植物属间及属以上水平的鉴定, 而对于属内近缘物种的分辨率仍然有限^[50-51]。

目前 DNA 条形码在黄精属植物的应用较多。*psbA-trnH*、ITS2 这 2 条序列在黄精属应用上比较常见。张家曾^[52]采用 ITS2、*psbA-trnH* 通用引物对不同产地的黄精与多花黄精 DNA 进行 PCR 扩增、测序, 数据分析发现 ITS2 扩增效率不佳, 而 *psbA-trnH* 序列适用于鉴定黄精与多花黄精及其遗传多样性的分析。杨培等^[53]利用通用引物对黄精属 8 个物种样品扩增发现, 核基因 (ITS2 和 ITS) 序列扩增效率低, 不能进行后续分析, 而叶绿体有关基因 (*rbcL*、*matK*、*psbA-trnH*) 序列的种内与种间变异均较小, 并不适用于该属分子鉴定。周先治等^[54]对不同地区多花黄精的 ITS2 与 *psbA-trnH* 序列比对与相关分析发现, ITS2 序列聚类结果区分部分地区多花黄精种质资源, 而 *psbA-trnH* 序列在多花黄精中较为保守, 聚类结果完全不能区分不同地域多花黄精。王家坚^[55]选用了 4 个条形码片段 (*rbcL*、*trnK*、*psbA-trnH* 和 *trnC-petN*) 推测黄精族黄精属演化关系发现: 黄精属内分为 3 个支持率较高的分支: 一分支包括分布于我国西南地区的大部分黄精属轮叶的种类; 一分支主要分布于我国东北地区, 以及部分华中地区的互叶种类; 而 *Polygonatum sibiricum* Redouté 介于以上 2 个大的分支之间。相关研究来看, 单一片段的 DNA 条形码在黄精属的应用受限, 并不能完全发挥本身技术的优势。在以后研究中应当采用 DNA 条形码组合或设计筛选适合本属的“物种条形码”。

2.2 超级条形码技术 (Ultra-barcoding)

2008 年, “超级条形码”概念在植物无国界 (Botany without borders) 会议上提出, 与会学者指出植物叶绿体全基因组存有和动物 COI 序列相媲美的信息量^[56], 同时叶绿体 DNA 为单系遗传, 与核基因组相比, 具有结构稳定、基因组保守、分子量小、突变率较低等特点^[57]。

随着测序技术的发展以及测序成本的下降, 应用二代测序技术 (NGS, next generation sequencing) 又称高通量测序技术, 获取药用植物叶绿体全基因组的方法已然成熟。将叶绿体全基因组作为超级条形码来进行物种鉴定, 或应用叶绿体全基因组筛选出种属特异的 DNA 条形码是某些近缘物种或种下分类阶元准确鉴定与划分的一个方向^[58]。

目前超级条形码在黄精属植物上的应用很少,

Lee 等^[59]、Jin 等^[60]分别简单分析了玉竹与滇黄精的叶绿体基因组结构以及系统发育位置,但是并没有做深入讨论与分析。Floden 等^[61]通过对 19 种黄精属植物、4 种异黄精属植物及 1 种竹根七属植物的完整叶绿体基因组测序发现:黄精属与异黄精属是单系的,为之前它们的边界范围调整提供了分子证据支持;另外,该研究支持了 Meng 等^[62]关于黄精属内 *Polygonatum sect. Sibirica*、*Polygonatum sect.*

Polygonatum、*Polygonatum sect. Verticillata* 系统分类的观点。超级条形码作为新兴技术,在关于黄精属系统进化关系的基础性研究较少。在今后研究工作中应加强该技术在相关方面研究,以期解决争议不断的黄精属内复杂的种间关系。基于叶绿体全基因组在其他植物上的出色表现^[63-65],相信该技术在黄精属种质资源鉴定、遗传多样性与系统进化分析等方面具有广阔前景。

表 2 DNA 条形码在黄精属研究应用情况一览表
Table 2 Application of DNA barcoding in research and use of *Polygonatum* Mill.

| 方法 Methods | 物种 Species | 应用 Application | 主要结果 Main results | 参考文献 Reference |
|-------------------------------------|---------------|--------------------|--|-------------------|
| 标准 DNA 条形码 Standard DNA barcodes | 黄精、多花黄精 | 种质资源鉴定、 遗传多样性分析 | psbA-trnH 对黄精与多花黄精具有一定鉴别能力; 黄精和多花黄精种间差异大于其种内差异。 | [52] |
| | 黄精属 8 个物种 | 种质资源鉴定 | 核基因条形码 (ITS、ITS2) 扩增及测序效果差; 叶绿体序列 (psbA-trnH、matK、rbcL) 鉴定效率低。 | [53] |
| | 多花黄精 | 遗传多样性研究 | ITS2 序列构建的系统发育树将不同地区的 25 份 多花黄精资源划分为两大类群; psbA-trnH 序列构建的 系统发育树则无法将不同地域多花黄精资源区分开。 | [54] |
| | 黄精属 21 个物种 | 系统进化分析 | 分为三大支: 1. 大部分轮叶的种类 2. <i>P. sibiricum</i> 3. 互叶种类 | [55] |
| 超级条形码 Ultra-barcoding | 小玉竹、滇黄精 | 系统发育分析 亲缘关系分析 | 两者皆属于天门冬科假叶树亚科; 滇黄精与黄精、轮叶黄精、狭叶黄精亲缘关系紧密。 | [59] [60] |
| | 黄精属 19 个物种 | 系统进化分析 | 分为三组: 1. sections <i>Verticillat</i> 2. sections <i>Polygonatum</i> 3. section <i>Sibirica</i> | [61] |

3 问题与展望

在植物分类学上作为公认比较自然的属,黄精属种间甚至种内的形态特征有明显的交错过渡,其中不少种类在地理分布上存在重合,变异复杂,常伴有种间杂交现象,种与种之间界限相当模糊,致使该属的系统分类与种的鉴定不甚明确,尚存争议^[66]。然而以花和果实为主要鉴定依据的传统植物形态学分类方法不能保证黄精根茎类药材安全性与可靠性。相较传统的植物鉴定方法,分子鉴定技术产生与发展也不过短短数十年时间,可它能在基因水平上反应植物的内在本质,以其客观性与准确性,迅速成为传统中药鉴定方法(基源鉴定、性状鉴定、显微鉴定和理化鉴定)的重要补充技术手段^[67]。目前分子鉴定技术已在黄精属传统分类基础上,结合基因分子水平进行了系统发育、遗传进化、系统分类等方面的研究。

现今人工栽培的黄精属品种种源主要依靠野生资源,长此以往既破坏了产业的可持续发展又制约了产业的规模。采用块茎进行无性繁殖是当今黄精药材产业的主要栽培方式。因为在自然条件下,种子繁殖存在休眠期、发芽与成苗率低、生长周期长等问题,然而生产上长期采用无性繁殖又会容易引起品种退化,导致药材产量和质量受到影响^[68-69]。由于缺乏相关研究技术人员,人为管理粗放导致种源混乱、优质品种缺乏、农残超标、抗病性、丰产性逐渐减弱等问题。而 DNA 分子鉴定技术的发展将有助于以上问题的解决。

就目前相关研究来看,分子标记技术在黄精属内缺乏与重要性状基因紧密连锁的目的基因分子标记与功能性分子标记的应用,例如调控黄精多糖、甾体皂苷等标志性成分优良性状的功能基因^[70]。另外,分子标记广泛存在植株基因组,每个分子标记反映的变异仅仅只是其基因组 DNA 变异的一小部

分,选取的分子标记不能完整地表达或准确判定遗传进化关系^[71]。故而,对于相同材料,各种分子标记所得出的结果也不尽相同^[39]。

随着生物科学技术的发展,DNA 条形码技术经历了由单一片段或少数基因组合到基因组水平的转变。传统 DNA 条形码技术进行物种鉴定的最大挑战是鉴定近缘种和最近分化的物种^[72]。而随着叶绿体作为“超级条形码”概念的提出,大大提高了物种鉴定通用性及鉴定率,为进一步开发具有广泛可用性的 SSR、SNP、SRAP、低拷贝核基因等遗传标记提供了便捷手段,为植物遗传多样性研究、物种鉴定、系统发育等研究提供了丰富的参考信息。但是叶绿体作为单系遗传,需要用双亲遗传的 rDNA 来验证用母系遗传的 cpDNA 得到的结果,揭示反映物种间的进化方向,解决高等植物中广泛存在的杂交和多倍化现象^[73]。

笔者认为:(1)在今后黄精属的分子鉴定研究发展中应该注重随机分子标记、功能性分子标记的科学系统结合。(2)完善质体在黄精属的科学系统应用,充分挖掘相关信息进行深入研究。(3)完善相关分子数据库,为探索解析黄精属重要农艺性状、加速遗传多样性研究、系统分类和分子育种提供了良好的基因组数据平台。

我国是黄精属植物遗传多样性中心,资源丰富。但是由于人类健康与社会经济发展需要,黄精属植物资源需求量不断增加,导致生境的破坏与资源掠夺式开发^[74],进而引发了药材品质下降和资源可持续利用等问题。中药的质量和资源可持续问题关乎医药质量控制与病患用药安全的命脉,利用分子鉴定技术辅助育种培育黄精优良品种,开发用于鉴别黄精相关混伪品的分子鉴定技术,揭示药材道地性的生物学本质,建立分子数据库保护黄精植物基因资源。相信随着分子鉴定技术的不断完善和研究的不断深入,黄精属植物相关领域研究必将迎来新的突破和发展。

参考文献

- [1] Tang Y C. Flora reipublicae popularis sinicae Volume 15, Liliaceae. Beijing: Science Press, 1978: 52-80
- [2] Flora of China Editorial Committee. Flora of China. Beijing: Science Press, 2000, 24: 225-235
- [3] 田启建,赵致. 黄精属植物种类识别及资源分布研究. 现代中药研究与实践, 2007, 21(1): 18-21
Tian Q J, Zhao Z. Current situation of *Polygonatum* plant in categories identification and resources distribution. Research and Practice on Chinese Medicines, 2007, 21(1): 18-21
- [4] 刘枫,赵群,戴军,陈存武,陈乃富,韩邦兴. DNA 分子标记技术在石斛属鉴别中的应用进展. 皖西学院学报, 2017, 33(2): 9-13, 31
Liu F, Zhao Q, Dai J, Chen C W, Chen N F, Han B X. The research progress of molecular identification for *Dendrobium* species. Journal of West Anhui University, 2017, 33(2): 9-13, 31
- [5] 王刚,曹佩,韦学敏,韩建萍. 分子标记技术在药用植物种质资源研究中的应用. 中国现代中药, 2019, 21(11): 1435-1444
Wang G, Cao P, Wei X M, Han J P. Applications of molecular markers in study of germplasm resources of medicinal plants. Modern Chinese Medicine, 2019, 21(11): 1435-1444
- [6] 崔占虎,龙平,王颖莉,白小荣,袁媛,李旻辉. DNA 分子标记技术在中成药鉴定中的应用与展望. 中药材, 2015, 38(1): 188-192
Cui Z H, Long P, Wang Y L, Bai X R, Yuan Y, Li M H. Application and prospect of DNA molecular marker technology in identification of Chinese patent medicine. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2015, 38(1): 188-192.
- [7] 武海,蹇黎,朱利泉. 中国兰花资源分子标记鉴定研究进展. 生物技术通报, 2010(9): 56-60
Wu H, Jian L, Zhu L Q. Current status and advances in Chinese orchids molecular markers research. Biotechnology Bulletin, 2010(9): 56-60
- [8] Botstein D, White R L, Skolnick M, Davis R W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. American Journal of Human Genetics, 1980, 32: 314-331
- [9] Tharachand C, Immanuel S C, Mythili M N. Molecular markers in characterization of medicinal plants: An overview. Research in Plant Biology, 2012, 2(2): 1-12
- [10] Biswas R, Biswas K, Kapoor A. Authentication of herbal medicinal plant-*Boerhavia diffusa* L. using PCR-RFLP. Current Trends in Biotechnology and Pharmacy, 2013, 7(3): 725-731
- [11] Wu S A, Yang J, Rao G Y. Systematic position of *Polygonatum simizui* (Convallariaceae) based on morphological, cytological and chloroplast DNA sequence data. Botanical Journal of the Linnean Society, 2001, 137: 291-296
- [12] 吴世安,吕海亮,杨继,饶广远,尤瑞麟,葛颂,钟扬. 叶绿体 DNA 片段的 RFLP 分析在黄精族系统学研究中的应用. 植物分类学报, 2000, 38(2): 97-110
Wu S A, Lv H L, Yang J, Rao G Y, You R L, Ge S, Zhong Y. Molecular systematic studies on the tribe Polygonateae (s. l.) in China based on RFLPs data of PCR-amplified chloroplast DNA fragments. Journal of Systematics and Evolution, 2000, 38(2): 97-110
- [13] Tamura M N, Schwarzbach A E, Kruse S, Reski R. Biosystematic studies on the genus *Polygonatum* (Convallariaceae) IV: Molecular phylogenetic analysis based on restriction site mapping of the chloroplast gene *trnK*. Feddes Repertorium, 1997, 108(3-4): 159-168
- [14] Tamura M N. Biosystematic studies on the genus *Polygonatum* (Liliaceae) III: Morphology of staminal filaments and karyology of eleven Eurasian species. Bot Jahrb Syst, 1993, 115(1): 1-26
- [15] Williams J G K, Kubelik A R, Livak K J, Rafalski J A, Tingey S V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are

- useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*, 1990, 18 (22): 6531-6535
- [16] Demir K, Bakir M, Sarikami G, Acunalp S. Genetic diversity of eggplant (*Solanum melongena*) germplasm from Turkey assessed by SSR and RAPD markers. *Genetics and Molecular Research*, 2010, 9 (3): 1568-1576
- [17] 朱艳, 孙伟, 秦民坚, 张朝凤. 基于 RAPD 技术探讨黄精属部分药用植物系统位置. *中国野生植物资源*, 2011, 30 (6): 34-37
Zhu Y, Sun W, Qin M J, Zhang C F. Systematic position of some medicinal plants from *Polygonatum* based on RAPD. *Chinese Wild Plant Resources*, 2011, 30 (6): 34-37
- [18] 林丽美. RAPD 技术在商品药材玉竹鉴定中的应用. 长沙: 湖南中医药大学, 2005
Lin L M. Implication of RAPD in identification of the merchandise drug *Polygonatum odoratum*. Changsha: Hunan University of Chinese Medicine, 2005
- [19] 刘塔斯, 李钟, 刘春林. 玉竹及其混淆品黄精的 RAPD 分析. *中国药志*, 2002 (10): 16-18
Liu T S, Li Z, Liu C L. Analysis of *Polygonatum odoratum* and its substitutes by RAPD. *Chinese Pharmaceutical Journal*, 2002 (10): 16-18
- [20] Weber J L, May P E. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *American Journal of Human Genetics*, 1989, 44 (3): 388-396
- [21] Taut Z D. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Research*, 1989, 17 (16): 6463-6471
- [22] 朱巧, 邓欣, 张树冰, 梅时勇, 陈小军, 张冀芳, 肖清明, 黎宇. 黄精属 6 种植物的 SSR 遗传差异分析. *中国中药杂志*, 2018, 43 (14): 2935-2943
Zhu Q, Deng X, Zhang S B, Mei S Y, Chen X J, Zhang J F, Shao Q M, Li Y. Genetic diversity of 6 species in *Polygonatum* by SSR marker. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2018, 43 (14): 2935-2943
- [23] 王世强, 王立儒, 刘帅, 牛俊峰, 冯书超, 梁晓艳, 强毅, 王喆之. 基于 SSR 标记的黄精品种 (系) DNA 指纹图谱库构建. *分子植物育种*, 2018, 16 (6): 1878-1887
Wang S Q, Wang L R, Liu S, Niu J F, Feng S C, Liang X Y, Qiang Y, Wang Z Z. Construction of DNA fingerprint database based on SSR marker for *Polygonatum* varieties (Lines). *Molecular Plant Breeding*, 2018, 16 (6): 1878-1887
- [24] 贺润丽, 尹桂芳, 李春花, 王莉花, 马颖榆, 王梦莹, 阎仕豪. 苦荞种皮转录组 SSR 位点信息分析及其分子标记的开发. *分子植物育种*, 2020, 18 (18): 6085-6092
He R L, Yin G F, Li C H, Wang L H, Ma Y Y, Wang M Y, Yan S H. Development of molecular markers and SSR loci information analysis of transcriptome in *Tartary Buckwheat* seed coat. *Molecular Plant Breeding*, 2020, 18 (18): 6085-6092
- [25] 廖荣俊, 杨阳, 叶碧欢, 李楠, 陈友吾, 翁永发, 杜国坚, 李海波. 多花黄精根茎的转录组分析与甾体皂苷生物合成相关基因发掘. *中国中药杂志*, 2020, 45 (7): 1648-1656
Liao R J, Yang Y, Ye B H, Li N, Chen Y W, Weng Y F, Du G J, Li H B. Transcriptome analysis of rhizome of *Polygonatum cyrtoneuma* and identification of candidate genes involved in biosynthetic pathway of steroidal saponin. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2020, 45 (7): 1648-1656
- [26] 陈友吾, 廖荣俊, 叶碧欢, 宋其岩, 杨阳, 李楠, 李海波. 多花黄精转录组 SSR 位点分析及分子标记开发. *中草药*, 2020, 51 (1): 182-189
Chen Y W, Liao R J, Ye B H, Song Q Y, Yang Y, Li N, Li H B. Analysis on SSR loci in transcriptome and development of molecular markers in *Polygonatum cyrtoneuma*. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2020, 51 (1): 182-189
- [27] Zietkiewicz E, Rafalski A, Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*, 1994, 20 (2): 176-183
- [28] 朴红梅, 李万良, 穆楠, 尹航. ISSR 标记的研究与应用. *东北农业科学*, 2007, 32 (5): 28-30
Piao H M, Li W L, Mu N, Yin H. Research and application of ISSR markers. *Journal of Northeast Agricultural Sciences*, 2007, 32 (5): 28-30
- [29] 任梦云, 陈彦君, 张盾, 杜乐山, 刘方, 关潇, 张银东. ISSR 标记技术在药用植物资源中的研究进展及应用. *生物技术通报*, 2017, 33 (4): 63-69
Ren M Y, Chen Y J, Zhang D, Du L S, Liu F, Guan X, Zhang Y D. Application and research progress of inter-simple sequence repeat (ISSR) marker in medicinal plants. *Biotechnology Bulletin*, 2017, 33 (4): 63-69
- [30] 刘淑芹, 吴凤芝, 刘守伟. 园艺作物的 ISSR 分子标记研究及应用. *东北农业大学学报*, 2012, 43 (4): 145-150
Liu S Q, Wu F Z, Liu S W. Inter-simple sequence repeat and its application in horticultural crop research. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2012, 43 (4): 145-150
- [31] 王刚, 曹佩, 韦学敏, 韩建萍. 分子标记技术在药用植物种质资源研究中的应用. *中国现代中药*, 2019, 21 (11): 1435-1444
Wang G, Cao P, Wei X M, Han J P. Applications of molecular markers in study of germplasm resources of medicinal plants. *Modern Chinese Medicine*, 2019, 21 (11): 1435-1444
- [32] 徐惠龙, 汪英俊, 陈鸣, 范小芳, 卓飞英, 魏艺聪, 范世明. 基于 ISSR 标记的福建省多花黄精与长梗黄精种质鉴别及遗传多样性分析. *福建农业学报*, 2017, 32 (6): 619-624
Xu H L, Wang Y J, Chen M, Fan X F, Zhuo F Y, Wei Y C, Fan S M. Identification and genetic diversity of *Polygonatum cyrtoneuma* Hua and *P. filipes* Merr. based on ISSR maker. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2017, 32 (6): 619-624
- [33] 周晔, 唐铖, 安适之, 张攻, 王润玲. ISSR 法鉴定中药玉竹与小玉竹. *中医药学报*, 2006, 34 (5): 7-9, 64
Zhou Y, Tang C, An S Z, Zhang G, Wang R L. Identification of *Polygonatum odoratum* and *P. humile* by ISSR. *Acta Chinese Medicine and Pharmacology*, 2006, 34 (5): 7-9, 64
- [34] 周晔, 唐铖, 张攻, 李佩孚, 王润玲. 随机扩增多态性 DNA 技术与简单序列重复标记法探讨部分黄精属药用植物亲缘关系的研究. *时珍国医国药*, 2008, 19 (7): 1646-1647
Zhou Y, Tang C, Zhang G, Li P F, Wang R L. Studies on the relationship of some species of *Polygonatum* by RAPD and ISSR. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, 2008, 19 (7): 1646-1647
- [35] 周晔, 王润玲, 唐铖, 安适之, 姚智. ISSR 法鉴定中药黄精与卷叶黄精. *天津医科大学学报*, 2006, 12 (2): 178-180, 189
Zhou Y, Wang R L, Tang C, An S Z, Yao Z. Identification of *Polygonatum sibiricum* and *P. cirrhifolium* by ISSR. *Journal of*

- Tianjin Medical University, 2006, 12(2): 178-180, 189
- [36] 卜静, 王冬梅, 李登武. 不同产地野生玉竹种质资源多样性与亲缘关系的 ISSR 分析. 中草药, 2012, 43(9): 1824-1828
- Bu J, Wang D M, Li D W. ISSR analysis on diversity and genetic relationship in germplasm resources of wild *Polygonatum odoratum* from different habitats. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2012, 43(9): 1824-1828
- [37] Collard B C Y, Mackill D J. Start codon targeted (SCoT) polymorphism: a simple, novel DNA marker technique for generating gene-targeted markers in plants. Plant Molecular Biology Reporter, 2008, 27(1): 86-93
- [38] 刘跃钧, 张媛, 蒋燕锋, 刘京晶. 黄精种质资源遗传多样性研究. 浙江农林大学学报, 2016, 33(6): 1085-1091
- Liu Y J, Zhang Y, Jiang Y F, Liu J J. Genetic diversity of *Polygonatum* germplasm. Journal of Zhejiang A & F University, 2016, 33(6): 1085-1091
- [39] 焦劫. 黄精种质资源研究. 杨凌: 西北农林科技大学, 2018
- Jiao J. A study on germplasm resources of *Polygonati rhizoma*. Yangling: Northwest A & F University, 2018
- [40] Paran I, Michelmore R W. Development of reliable PCR-based markers linked to downy mildew resistance in lettuce. Theor Appl Genet, 1993, 859(8): 985-993
- [41] 张凤青. 黄瓜品质性状的 AFLP 和 SCAR 标记研究. 重庆: 西南大学, 2007
- Zhang F Q. Studies on AFLP and SCAR molecular markers for Cucumber quality traits. Chongqing: Southwest University, 2007
- [42] 马丽娜, 钱路, 李健, 梁小松. SCAR 标记在植物检疫中应用的研究进展. 南方农业, 2017, 11(29): 85-86
- Ma L N, Qian L, Li J, Liang X S. Research progress in application of SCAR marker in plant quarantine. South China Agriculture, 2017, 11(29): 85-86
- [43] 叶碧欢, 陈友吾, 胡传久, 宋其岩, 廖荣俊, 翁永发, 杜国坚, 李海波. 长梗黄精的 SCAR 分子鉴别. 中国药理学杂志, 2019, 54(20): 1647-1652
- Ye B H, Chen Y W, Hu C J, Song Q Y, Liao R J, Weng Y F, Du G J, Li H B. SCAR molecular identification of *Polygonatum filipe*. Chinese Pharmaceutical Journal, 2019, 54(20): 1647-1652
- [44] Lander E S. The new genomics: global views of biology. Science, 1996, 274: 536-539
- [45] Kim J H, Seo J W, Byeon J H, Ahn Y S, Cha S W, Cho J H. Morphological characteristics and phylogenetic analysis of *Polygonatum* species based on chloroplast DNA sequences. Korean Journal of Medicinal Crop Science, 2014, 22(6): 489-496
- [46] Lee S Y, Chen Z H, Chen Z M, Chen J R, Zhang X J, Pan J W, Fan Q, Liao W B. Plastid genome sequencing, identification of nuclear SNP markers, and quality assessment of medicinal rhizomatous herb *Polygonatum odoratum* (Asparagaceae) cultivars. Ecology and evolution, 2021, 11(12): 7660-7676
- [47] Hebert P D N, Cywinska A, Ball S L, Jeremy R. Biological identifications through DNA barcodes. 2003, 270(1512): 313-321
- [48] 蔡金龙, 谢世清, 张广辉, 刘涛, 杨生超, 陈军文. 药用植物 DNA 条形码鉴定研究进展. 植物科学学报, 2017, 35(3): 452-464
- Cai J L, Xie S Q, Zhang G H, Liu T, Yang S C, Chen J W. Current advances in DNA barcoding of medicinal plants. Plant Science Journal, 2017, 35(3): 452-464
- [49] 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. 中草药, 2017, 48(11): 2306-2312
- Zhang C Y, Huang S S, Yan H F. Applications of DNA barcoding in Chinese materia medica identification. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2017, 48(11): 2306-2312
- [50] Hollingsworth P M, Li D Z, Twyford A D, Bank M. Telling plant species apart with DNA: From barcodes to genomes. Philosophical Transactions of the Royal Society B, 2016, 371(1702): 20150338
- [51] Hollingsworth P M, Graham S W, Little D P. Choosing and using a plant DNA barcode. PLoS ONE, 2011, 6(5): e19254
- [52] 张家曾. 黄精与多花黄精的 DNA 条形码研究. 长沙: 湖南中医药大学, 2013
- Zhang J Z. The study on DNA barcoding of *Polygonatum sibiricum* Red. and *Polygonatum cyrtoneura* Hua. Changsha: Hunan University of Chinese Medicine, 2013
- [53] 杨培, 周红, 辛天怡, 马双姣, 段宝忠, 姚辉. 黄精属药用植物 DNA 条形码鉴定研究. 世界中医药, 2015, 10(8): 1173-1176
- Yang P, Zhou H, Xin T Y, Ma S J, Duan B Z, Yao H. Identification study of DNA barcode sequences in the medicinal plants of *Polygonatum*. World Chinese Medicine, 2015, 10(8): 1173-1176
- [54] 周先治, 饶宝蓉, 高晖, 陈阳, 林永胜. 基于 DNA 条形码的多花黄精系统发育和变异位点分析研究. 中草药, 2020, 51(15): 4003-4010
- Zhou X Z, Rao B R, Gao H, Chen Y, Lin Y S. Phylogenetic and mutation point analysis of DNA barcoding sequences in *Polygonatum cyrtoneura*. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2020, 51(15): 4003-4010
- [55] 王家坚. 基于分子系统发育的黄精族染色体进化研究. 吉首: 吉首大学, 2016
- Wang J J. Chromosomal evolution of the tribe Polygonateae (Asparagaceae) based on molecular phylogeny. Jishou: Jishou University, 2016
- [56] Kane N C, Cronk Q. Botany without borders: barcoding in focus. Molecular Ecology, 2008, 17(24): 5175-5176
- [57] 毕毓芳, 温星, 潘雁红, 蔡函江, 钟浩, 王安可. 叶绿体 DNA 条形码在林木中的应用及研究进展. 分子植物育种, 2020, 18(16): 5444-5452
- Bi Y F, Wen X, Pan Y H, Cai H H, Zhong H, Wang A K. Application and research progress of chloroplast DNA barcoding in forest trees. Molecular Plant Breeding, 2020, 18(16): 5444-5452
- [58] 陈士林. 中药组学前沿技术发展与应用. 世界科学技术 - 中医药现代化, 2017, 19(3): 424-431
- Chen S L. Advances and applications of frontier omics technology of Chinese materia medica. Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica-World Science and Technology, 2017, 19(3): 424-431
- [59] Lee S Y, Zou Y L, Liao W B, Fan Q. The complete chloroplast genome of a traditional medicinal and food plant, *Polygonatum humile* (Asparagaceae, Asparagales). Mitochondrial DNA Part B, 2019, 4(2): 3184-3185
- [60] Jin J, Lao J, Zhong C, He W, Xie J, Hu G A, Liu H, Yan F

- L, Zhang S H. Complete chloroplast genome of a medicinal species *Polygonatum kingianum* in China (Asparagaceae, Asparagales). Mitochondrial DNA Part B, 2020, 5(1): 959-960
- [61] Floden A, Schilling E E. Using phylogenomics to reconstruct phylogenetic relationships within tribe Polygonateae (Asparagaceae), with a special focus on *Polygonatum*. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2018, 129: 202-213
- [62] Meng Y, Nie Z L, Deng T, Wen J. Phylogenetics and evolution of phyllotaxy in the Solomon's seal genus *Polygonatum* (Asparagaceae: Polygonateae). Botanical Journal of the Linnean Society, 2014, 176: 435-451
- [63] Huang H, Shi C, Liu Y, Mao S Y, Gao L Z. Thirteen *Camellia* chloroplast genome sequences determined by high-throughput sequencing: genome structure and phylogenetic relationships. BMC Evolutionary Biology, 2014, 14(1): 151
- [64] Gao J H, Zhang D, Wang W, Peng C. Complete chloroplast genome of medicinal plant *Aconitum carmichaelii*: genome characterization and phylogenetic analysis. Mitochondrial DNA Part B, 2016, 1(1): 893-894.
- [65] Lin C P, Huang J P, Wu C S, Hsu C Y, Chaw S M. Comparative chloroplast genomics reveals the evolution of pinaceae genera and subfamilies. Genome Biology and Evolution, 2010, 2(1): 504-517
- [66] 杨崇仁, 张影, 王东, 张颖君. 黄精属植物甾体皂苷的分子进化及其化学分类学意义. 云南植物研究, 2007(5): 591-600
Yang C R, Zhang Y, Wang D, Zhang Y J. Molecular evolution of steroidal saponins in the genus *Polygonatum* (Convallariaceae) and their chemotaxonomical significance. Plant Diversity, 2007(5): 591-600
- [67] 魏晓楠, 郝铁成, 刘庆华, 谢国勇. 中药鉴别方法与技术探究. 中国野生植物资源, 2018, 37(4): 65-69
Wei X N, Hao T C, Liu Q H, Xie G Y. Research on identification methods and techniques of traditional Chinese medicine. Chinese Wild Plant Resources, 2018, 37(4): 65-69
- [68] 赵致, 庞玉新, 袁媛, 付民学, 刘顺桥, 曹定涛, 冼富荣. 药用植物黄精栽培研究进展及栽培的几个关键问题. 贵州农业科学, 2005(1): 85-86
Zhao Z, Pang Y X, Yuan Y, Fu M X, Liu S Q, Cao D T, Xian F R. Progress of cultivation study and some problems on medicinal crop *Polygonatum sibiricum*. Guizhou Agricultural Sciences, 2005(1): 85-86
- [69] 姜程曦, 洪涛, 熊伟. 黄精产业发展存在的问题及对策研究. 中草药, 2015, 46(8): 1247-1250
Jiang C X, Hong T, Xiong W. Study on problems and countermeasures in development of *Polygonati Rhizoma* industry. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2015, 46(8): 1247-1250
- [70] 苏文田, 刘跃钧, 蒋燕锋, 谢建秋, 潘心禾, 刘京晶, 斯金平. 黄精产业发展现状与可持续发展的建议. 中国中药杂志, 2018, 43(13): 2831-2835
Su W T, Liu Y J, Jiang Y F, Xie J Q, Pan X H, Liu J J, Si J P. Status of *Polygonati Rhizome* industry and suggestion for its sustainable development. China Journal of Chinese Materia Medica, 2018, 43(13): 2831-2835
- [71] 颜新林, 唐浩, 李媛媛, 马莹雪, 韩瑞玺, 饶力群. 芥菜育种现状及DNA分子标记应用进展. 分子植物育种: URL: 1-10 [2020-11-20]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20200918.1551.011.html>
Yan X L, Tang H, Li Y Y, Ma Y X, Han R X, Rao L Q. Breeding status and application progress of DNA molecular markers in *Mustard*. Molecular Plant Breeding: URL: 1-10 [2020-11-20]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20200918.1551.011.html>
- [72] Newmaster S G, Fazekas A J, Steeves R A D, Janovec J. Testing candidate plant barcode regions in the Myristicaceae. Molecular Ecology Resources, 2008, 8: 480-490
- [73] 王建波, 张文驹, 陈家宽. 核rDNA的ITS序列在被子植物系统与进化研究中的应用. 植物分类学报, 1999, 37(4): 407-416
Wang J B, Zhang W J, Chen J K. Application of ITS sequences of nuclear rDNA in phylogenetic and evolutionary studies of angiosperms. Journal of Systematics and Evolution, 1999, 37(4): 407-416
- [74] 杨紫玉, 杨科, 朱晓新, 刘新民, 胡秦, 陈颖. 黄精保健食品的开发现状及产业发展分析. 湖南中医药大学学报, 2020, 40(7): 853-859
Yang Z Y, Yang K, Zhu X X, Liu X M, Hu Q, Chen Y. Development status and industry development analysis of *Polygonati Rhizoma* health-care food. Journal of Hunan University of Chinese Medicine, 2020, 40(7): 853-859