

不同产区白芷遗传多样性和品质特征

王丽赞^{1,2}, 孙 健¹, 陈梦莹³, 姚 辉¹, 周水灯³,
王海阁¹, 王 盼⁴, 徐凯玠⁴, 王志安^{1,2,3}

(1. 浙江省中药研究所有限公司, 浙江 杭州 310023; 2. 浙江中医药大学 药学院, 浙江 杭州 310053; 3. 浙江农林大学 浙江省特色中药资源保护与创新利用重点实验室, 浙江 杭州 311300; 4. 磐安县中药创新发展研究院, 浙江 磐安 322399)

摘要: 【目的】明确不同产区白芷 *Angelica dahurica* 种源遗传差异特征, 分析具有遗传差异的白芷种源在同圃栽培条件下的品质特征差异。【方法】应用相关序列扩增多态性 (SRAP) 分子标记分析不同白芷种源的遗传组成, 以同圃栽培的不同种源白芷为材料, 应用高效液相色谱法 (HPLC) 测定 7 种香豆素类化学成分, 构建 HPLC 指纹图谱, 进而分析不同种源的品质特征。【结果】非加权组平均法 (UPGMA) 聚类分析显示: 在遗传相似系数为 0.84 处, 部分河北产区的白芷种源与南方产区的白芷种源产生分离。同圃栽培下, 仅应用 7 种香豆素类化学成分不能明确区分不同白芷种源, 应用 HPLC 指纹图谱进行主成分分析 (PCA) 后, 具有遗传差异的种源之间出现品质特征的区分。【结论】不同产区白芷种源遗传相似度较大, 同圃栽培的部分浙江白芷种源的药材可以应用 HPLC 指纹图谱与其他产地种源进行区分。图 3 表 4 参 20
关键词: 白芷; SRAP; 遗传; 香豆素类; 品质

中图分类号: S718.46 文献标志码: A 文章编号: 2095-0756(2023)01-0030-08

Genetic diversity and quality characteristics of *Angelica dahurica* in different producing areas

WANG Liyun^{1,2}, SUN Jian¹, CHEN Mengying³, YAO Hui¹, ZHOU Shuideng³,
WANG Haige¹, WANG Pan⁴, XU Kaijie⁴, WANG Zhian^{1,2,3}

(1. Zhejiang Research Institute of Traditional Chinese Medicine Co., LTD., Hangzhou 310023, Zhejiang, China; 2. College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, Zhejiang, China; 3. Zhejiang Provincial Key Laboratory of Resources Protection and Innovation of Traditional Chinese Medicine, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, Zhejiang, China; 4. Pan'an Traditional Chinese Medicine Industry Innovation and Development Institute, Pan'an 322399, Zhejiang, China)

Abstract: [Objective] This study is to clarify the genetic differences of *Angelica dahurica* provenances in different producing areas in China, and analyze the quality characteristics of *A. dahurica* provenances with genetic differences under the same nursery cultivation conditions. [Method] The sequence-related amplified polymorphism (SRAP) molecular markers were used to analyze the genetic composition of different provenances of *A. dahurica*. Taking *A. dahurica* from different provenances cultivated in the same nursery as materials, the chemical components of 7 coumarins were determined by high performance liquid

收稿日期: 2022-06-27; 修回日期: 2022-11-23

基金项目: 磐安县中药材绿色发展示范项目 (磐中药发 202002); 国家现代农业产业技术体系资助; 浙江省中药材新品种选育重大科技专项 (2021C02074-4); 浙江省特色中药资源保护与创新利用重点实验室 (2021E10013); 浙江省药用植物种质改良与质量控制技术重点实验室 (2011E10015)

作者简介: 王丽赞 (ORCID: 0000-0003-1120-9961), 从事生药品种鉴定与品质评价研究。E-mail: 1062850294@qq.com。通信作者: 孙健 (ORCID: 0000-0001-6558-4260), 高级工程师, 从事中药材育种研究。E-mail: jian_sun@zju.edu.cn

chromatography (HPLC), and HPLC fingerprints were constructed to analyze the quality characteristics of different provenances. [Result] Unweighted pair-group method with arithmetic means (UPGMA) showed that some provenances of *A. dahurica* from Hebei Province and those from South China were separated at the similarity coefficient of 0.84. Under the same nursery cultivation conditions, only 7 coumarins could not be used to clearly distinguish different provenances of *A. dahurica*. After principal component analysis (PCA) by HPLC fingerprint, the quality characteristics were differentiated between provenances. [Conclusion] The genetic similarity of *A. dahurica* provenances from different producing areas is relatively large, and the medicinal materials from some Zhejiang *A. dahurica* provenances cultivated in the same nursery can be distinguished from those from other producing areas by HPLC fingerprint. [Ch, 3 fig. 4 tab. 20 ref.]

Key words: *Angelica dahurica*; SRAP; genetic; coumarins; quality

白芷药材为伞形科 Apiaceae 植物白芷 *Angelica dahurica* 或杭白芷 *A. dahurica* var. *formosana* 的干燥根, 具有解表散寒、祛风止痛、宣通鼻窍、燥湿止带、消肿排脓的功效^[1]。白芷含有香豆素类、挥发油类、苷类、生物碱类、多糖类、氨基酸类等多种化学成分^[2], 香豆素是白芷中含量较多的一大类活性成分。已有研究表明^[3-5]: 水合氧化前胡素、白当归素、佛手柑内酯、氧化前胡素、欧前胡素、异欧前胡素、花椒毒酚等主要标志性成分可以反映白芷药材的质量差异。在遗传方面, 刘倩倩等^[6]和侯凯等^[7]分别应用分子标记对不同白芷资源遗传组成开展研究, 结果显示 SSR 和 ISSR 标记均可以应用于白芷资源的遗传组成研究。然而已有研究的取样范围较窄, 大多未包括传统的北方白芷产区。同时, 白芷资源存在产地变迁和引种栽培行为, 但近 10 a 对白芷的研究集中在品质成分、栽培技术和药理等方面, 而有关白芷遗传的研究却较少。相关序列扩增多态性 (SRAP) 是基于 PCR 技术的经典标记系统^[8], 多应用于药用植物群体遗传组成分析^[9-10]。

遗传组成和产地环境的差异均有可能引起白芷药材品质和化学组成变异, 已有研究多是通过采集不同产地材料分析不同产区的白芷药材品质差异^[4, 11], 没有系统地分析不同白芷主产区样品的遗传组成及其与品质变异的相关性。本研究收集中国白芷主产区种源, 栽培于同一个资源圃内, 应用 SRAP 分子标记对收集的白芷样品进行遗传组成分析, 从遗传背景上对不同种源进行区分, 同时, 通过测定 7 种香豆素化学成分对白芷进行品质评价, 探究不同产地间白芷遗传组成与品质差异的相关性, 为白芷药材开发及新品种选育提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

2019 年 10 月, 在四川、浙江、安徽、河北、河南等白芷主产区省份收集 25 份白芷资源 (表 1), 栽培于杭州市原种场。2020 年 9 月, 在叶片枯萎时对同圃种植的 25 份白芷资源进行采收, 取白芷根部, 55 °C 烘干后打粉, 编号后置于 4 °C 冰箱密封保存。

1.2 仪器和试剂

实验仪器主要包括 Agilent 1260 高效液相色谱仪 (Agilent 公司, 美国)、色谱柱 (Agilent Eclipse XDB-C18 4.6 mm×250 mm)、Veriti 96 Well Thermal Cycler 型 PCR 仪 (Thermo Fisher Scientific 公司, 美国)、Power Pac™-Basic/HV 型电泳仪、GelDoc™ XR + 型凝胶成像仪 (美国 Bio-Rad 公司)。欧前胡素 (批号: HS19326S1)、异欧前胡素 (批号: HS9499S1)、白当归素 (批号: HR19108W3)、氧化前胡素 (批号: HR71244W5)、佛手柑内酯 (批号: HR1141W8)、水合氧化前胡素 (批号: HS91011B1) 对照品均购自于宝鸡市辰光生物科技有限公司; 花椒毒酚对照品 (批号: nk1211109006) 购自于成都钠钨锂生物科技有限公司; 甲醇 (批号: 20210322)、乙醇 (批号: 20200710) 为分析纯, 购自于上海凌峰化学试剂有限公司; 流动相甲醇为色谱纯 (批号: U9OG1H), 水为重蒸馏去离子水。三羟基甲基氨基甲烷 (批号: T57320)、核酸染料 YeaRed、2×HiEff™ PCR Master Mix 等均购自于上海翊圣生物科技有限公司; SRAP 引物委托上海生工生物公司合成, 置 4 °C 冰箱保存。所有试剂均为分析纯。

表1 供试白芷种源信息

Table 1 Information of tested materials of *A. dahurica*

编号	来源	种质类型	基原	纬度(N)	经度(E)	海拔/m
HBQ-1	河北省保定市安国市祁州镇-1	本地栽培	白芷	38°25'11.79"	115°18'54.12"	33
HBQ-2	河北省保定市安国市祁州镇-2	本地栽培	白芷	38°25'11.79"	115°18'54.12"	32
HBQ-3	河北省保定市安国市祁州镇-3	本地栽培	白芷	38°25'11.79"	115°18'54.12"	33
HBQ-4	河北省保定市安国市祁州镇-4	本地栽培	白芷	38°25'11.79"	115°18'54.12"	32
HBY-1	河北省保定市安国市易州镇-1	本地栽培	白芷	39°20'43.56"	115°30'06.04"	50
HBY-2	河北省保定市安国市易州镇-2	本地栽培	白芷	39°20'43.56"	115°30'06.04"	45
HBD-1	河北省保定市安国市大五女镇-1	本地栽培	白芷	38°22'16.83"	115°12'54.73"	37
HBD-2	河北省保定市安国市大五女镇-2	本地栽培	白芷	38°22'16.83"	115°12'54.73"	36
HB-B	河北省保定市安国市北段村乡	本地栽培	白芷	38°28'13.34"	115°17'48.67"	30
HN-G	河南省许昌市禹州市古城镇	本地栽培	白芷	34°13'37.53"	113°33'44.31"	169
JS-X	江苏省宿迁市沭阳县新河镇	引种栽培	白芷	34°10'55.57"	118°39'35.60"	16
SD-X	山东省烟台市莱阳市穴坊镇	引种栽培	白芷	36°40'02.15"	120°43'52.90"	37
HN-L	湖南省邵阳市邵东县廉桥镇	引种栽培	白芷	27°19'25.00"	111°50'56.70"	208
ZJ-F	浙江省杭州市淳安县枫树岭镇	本地栽培	杭白芷	29°22'04.26"	118°42'34.62"	370
ZJ-Y	浙江省金华市磐安县新渥镇(仰头村)	本地栽培	杭白芷	28°58'28.49"	120°25'47.97"	560
ZJ-M	浙江省金华市磐安县新渥镇(麻车下村岩岗)	本地栽培	杭白芷	28°59'27.89"	120°23'13.20"	570
ZJ-L	浙江省金华市磐安县冷水镇	本地栽培	杭白芷	28°53'59.36"	120°20'59.61"	303
ZJ-B	浙江省台州市仙居县白塔镇	本地栽培	杭白芷	28°44'59.86"	120°36'04.52"	78
SC-Q	四川省遂宁市蓬溪县群利镇	本地栽培	杭白芷	30°22'59.82"	105°58'30.98"	338
SC-B	四川省遂宁市蓬溪县宝梵镇	本地栽培	杭白芷	30°40'58.73"	105°41'06.79"	408
SC-Y	四川省遂宁市船山区永兴镇	本地栽培	杭白芷	30°33'51.02"	105°36'27.35"	293
CQ-T	重庆市大足区铁山镇	本地栽培	杭白芷	29°41'10.54"	105°34'01.12"	417
AH-S	安徽省亳州市谯城区十九里镇	引种栽培	杭白芷	33°48'38.23"	115°47'15.30"	39
AH-H	安徽省亳州市谯城区华佗镇	引种栽培	杭白芷	33°56'03.63"	115°46'48.82"	39
AH-Q	安徽省亳州市谯城区谯东镇	引种栽培	杭白芷	33°50'53.42"	115°52'33.24"	37

1.3 醇溶性浸出物含量检测

取供试样品粉末2 g, 置于100 mL锥形瓶中, 加入50 mL水, 密塞, 称质量, 静置1 h后, 连接回流冷凝管, 加热至沸腾, 并保持微沸1 h。放冷后, 取下锥形瓶, 密塞, 再称质量, 用水补足减失的质量, 摇匀, 用干燥滤器滤过, 量取滤液10 mL, 置于已干燥至恒量的蒸发皿中, 在水浴锅上蒸干, 于105 °C干燥3 h, 置干燥器中冷却30 min, 迅速称质量。以供试样品的干燥品计算供试样品中的醇溶性浸出物质量分数(%), 每个供试样品重复3次。

1.4 香豆素类化合物检测

1.4.1 色谱条件 色谱柱为Agilent Eclipse XDB-C18 (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相为甲醇(B)-水(A), 梯度洗脱百分值为体积分数, 洗脱程序为: 0~25 min, 40%~45%B; 25~45 min, 45%~60%B; 45~50 min, 60%~80%B; 50~60 min, 80%B; 60~70 min, 80%~90%B; 70~75 min, 90%~40%B; 75~80 min, 40%B; 流速为1.0 mL·min⁻¹; 柱温为25 °C; 进样量为10 μL; 检测波长设定为300 nm。

1.4.2 对照样品溶液的制备 称取水合氧化前胡素、白当归素、佛手柑内酯、氧化前胡素、欧前胡素、异欧前胡素、花椒毒酚适量, 加甲醇溶解, 转移至10 mL容量瓶, 将其配置成1 mL分别含有0.728、0.659、0.699、0.639、0.721、0.747、0.639 mg标准品的单一对照样品溶液; 吸取上述储备液适量, 混合后加甲醇稀释, 使最终制成质量浓度分别为12.760、4.482、5.768、35.649、37.856、14.498、6.390

mg·L⁻¹ 的混合对照样品溶液。

1.4.3 供试样品溶液的制备 取供试样品粉末(过 3 号筛) 1.0 g, 置于 50 mL 量瓶中, 加 45 mL 甲醇, 超声处理(功率 300 W, 频率 50 kHz) 1 h, 取出, 放冷, 加甲醇至 50 mL 量瓶刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液过 0.45 μm 的微孔滤膜, 即得供试样品溶液。

1.5 PCR 扩增及电泳检测

每份样品随机剪取新鲜幼嫩的叶片, 采用 CTAB 法^[12] 提取白芷 DNA, 基因组 DNA 用 1×TE 缓冲液将样品 DNA 浓度调至 100 mg·L⁻¹, 并置于 4 °C 冰箱保存。筛选出扩增结果稳定, 重复性好的 8 对 SRAP 引物。PCR 扩增反应体系为 10 μL: 模板 DNA(100 mg·L⁻¹) 1 μL, 5'端引物 (10 μmol·L⁻¹) 0.8 μL, 3'端引物 (10 μmol·L⁻¹) 0.8 μL, Mix-Taq 6 μL, 滴加 ddH₂O 至 10 μL。参考岑晓霞等^[13] 的方法进行扩增后, 置于 4 °C 冰箱保存。PCR 扩增结束后, 进行凝胶电泳, 获取条带信息。

1.6 数据分析方法

利用 NTSYSpc 2.10e 软件对样本进行聚类分析并绘制树状图。通过 SPSS 23.0 软件对数据进行整理分析, 采用单因素方差分析法 (one-way ANOVA) 检验差异显著性; 通过 Origin 软件, 采用主成分分析法 (PCA)^[14] 以降维方式提取主成分; 通过中药指纹图谱相似度评价系统 2004 软件建立对照指纹图谱, 计算样品的指纹图谱相似度。

2 结果与分析

2.1 遗传组成分析

2.1.1 SRAP 扩增产物多态性分析 筛选的 8 对 SRAP 引物共扩增 82 条条带, 其中多态性条带有 41 条, 多态性百分率为 27.27%~80.00%, 平均为 50.00%, 多态性最好的引物组合为 Me4+Em8 (表 2)。

表 2 不同 SRAP 引物扩增结果

Table 2 Statistical amplification results of different SRAP primers

引物组合	上/下游引物(5'→3')	扩增条带数/条	多态性条带数/条	多态性百分率/%
Me2+Em10	TGAGTCCAAACCGGAGC/GACTGCGTACGAATTTAG	8	4	50.00
Me2+Em15	TGAGTCCAAACCGGAGC/GACTGCGTACGAATTCTG	11	4	36.36
Me4+Em8	TGAGTCCAAACCGGACC/GACTGCGTACGAATTAGC	13	8	61.54
Me6+Em9	TGAGTCCAAACCGGTAG/GACTGCGTACGAATTACG	10	8	80.00
Me7+Em1	TGAGTCCAAACCGGTTG/GACTGCGTACGAATTAAT	7	2	28.57
Me8+Em5	TGAGTCCAAACCGGTGT/GACTGCGTACGAATTAAC	12	8	66.67
Me9+Em4	TGAGTCCAAACCGGTCA/GACTGCGTACGAATTTGA	11	3	27.27
Me11+Em1	TGAGTCCAAACCGGTA/GACTGCGTACGAATTAAT	10	4	40.00

2.1.2 基于分子标记的聚类分析 利用分子标记扩增的条带信息, 以非加权组平均法 (UPGMA) 对 25 份白芷种源进行聚类。从图 1 可见: 所有样本分为 2 个大类群, 在遗传相似系数为 0.84 处, 5 个河北产区样本聚为一类。在遗传相似系数为 0.87 处, 湖南、江苏、山东 3 个产区的样本单独聚为一类; 四川、重庆、浙江和部分河北种源共同聚为一类。总体而言, 浙江、四川和部分河北产区的样本基本各自聚为一类。本研究在河北和安徽产区采集的样本散布在浙江或四川产区的分类中, 推测可能存在白芷种质资源引种行为。

2.2 品质特征分析

2.2.1 高效液相色谱法 (HPLC) 检测体系构建 取混合对照样品溶液 2、4、6、8、10、12、14、16、20 μL 注入液相色谱仪, 记录峰面积, 以峰面积 (y) 为纵坐标, 以进样量 (x, μg) 为横坐标, 进行线性回归, 得到水合氧化前胡素、白当归素、佛手柑内酯、氧化前胡素、欧前胡素、异欧前胡素、花椒毒酚的线性回归方程 (表 3), 判定系数 R² 均大于 0.999, 证明各化合物在线性范围内线性关系良好。对本研究建立的 HPLC 检测体系进行方法学考察, 结果显示该方法合理可行。

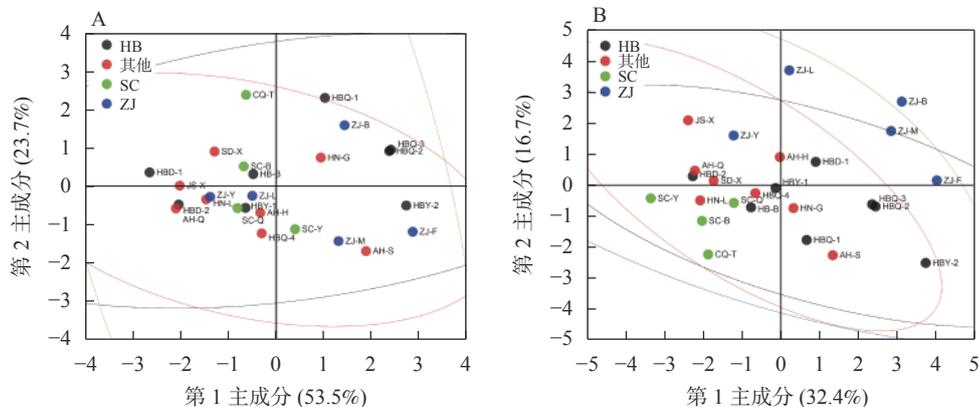
2.2.2 香豆素和浸出物成分定量分析 取 25 份同圃种植的白芷药材, 应用 HPLC 法定量 7 种香豆素类

表 4 不同种源白芷的香豆素类成分和醇溶性浸出物特征

Table 4 Contents of coumarin components and ethanol-soluble extractives in *A. dahurica*

编号	香豆素成分质量分数/(mg·g ⁻¹)							醇溶性浸出物/%
	水合氧化前胡素	白当归素	佛手柑内酯	氧化前胡素	欧前胡素	异欧前胡素	花椒毒酚	
HBQ-1	0.348±0.010 a	0.178±0.009 b	0.501±0.007 e	1.866±0.014 d	1.667±0.009 m	0.521±0.019 q	—	18.59±0.23 l
HBQ-2	0.298±0.005 b	0.059±0.001 i	0.594±0.002 d	2.073±0.005 c	2.963±0.010 d	1.010±0.012 g	—	27.01±0.32 fg
HBQ-3	0.303±0.001 b	0.060±0.000 i	0.596±0.002 d	2.069±0.013 c	2.964±0.019 d	1.022±0.028 fg	—	17.79±0.27 fg
HBQ-4	0.137±0.003 j	—	0.203±0.002 l	0.882±0.010 n	2.566±0.014 g	1.393±0.024 b	—	20.12±0.23 ef
HBV-1	0.129±0.030 jk	0.031±0.002 l	0.230±0.003 k	1.212±0.009 j	2.546±0.034 g	0.774±0.006 l	—	20.13±0.65 gh
HBV-2	0.160±0.001 h	0.158±0.002 c	0.647±0.004 b	2.197±0.005 b	2.033±0.005 j	1.753±0.008 a	—	27.68±0.63 c
HBD-1	0.136±0.002 j	—	0.117±0.000 p	0.621±0.001 p	0.577±0.001 p	0.468±0.003 r	—	20.36±0.32 l
HBD-2	0.084±0.002 o	0.039±0.001 k	0.174±0.005 n	0.816±0.025 o	1.382±0.043 o	0.585±0.017 o	—	20.03±0.46 n
HB-B	0.224±0.000 e	—	0.185±0.001 m	1.150±0.014 kl	2.252±0.000 i	0.863±0.002 j	0.045±0.000 c	23.56±0.04 d
HN-G	0.270±0.001 d	0.045±0.001 j	0.260±0.001 j	1.811±0.003 e	2.797±0.005 e	0.951±0.004 i	—	22.85±0.07 m
JS-X	0.115±0.001 mn	—	0.178±0.000 n	0.934±0.010 m	1.524±0.016 n	0.348±0.003 t	—	19.83±0.02 a
SD-X	0.193±0.010 f	0.064±0.002 h	0.283±0.014 h	1.170±0.047 k	1.416±0.055 o	0.293±0.013 u	—	23.26±0.79 lm
HN-L	0.087±0.004 o	0.036±0.001 k	0.226±0.000 k	1.132±0.014 l	1.425±0.004 o	0.625±0.002 n	—	19.52±0.13 j
ZJ-F	0.180±0.002 g	0.102±0.001 d	0.795±0.007 a	1.754±0.011 f	4.401±0.013 b	1.206±0.009 c	0.050±0.001 b	23.25±0.79 de
ZJ-Y	0.110±0.001 n	—	0.129±0.000 o	1.299±0.003 i	2.466±0.000 h	0.384±0.000 s	—	21.76±0.16 l
ZJ-M	0.124±0.002 kl	0.070±0.002 g	0.275±0.003 i	1.855±0.028 d	4.342±0.055 b	1.173±0.014 d	0.068±0.001 a	22.76±0.16 ij
ZJ-L	0.158±0.004 h	0.098±0.003 e	0.340±0.004 f	1.156±0.011 kl	2.717±0.029 f	0.558±0.007 p	—	24.24±0.11 b
ZJ-B	0.288±0.005 c	0.205±0.003 a	0.313±0.003 g	2.339±0.022 a	1.844±0.019 k	0.970±0.005 h	—	21.05±0.03 n
SC-Q	0.146±0.002 i	0.029±0.001 l	0.124±0.007 o	1.140±0.094 kl	2.813±0.194 e	0.809±0.055 k	—	22.17±0.00 d
SC-B	0.222±0.007 e	0.071±0.008 g	0.334±0.005 f	0.953±0.019 m	1.746±0.012 l	0.704±0.002 m	—	24.07±0.01 l
SC-Y	0.127±0.001 kl	—	0.312±0.003 g	1.396±0.005 h	3.392±0.022 c	1.035±0.006 f	—	29.86±0.03 k
CQ-T	0.348±0.001 a	0.076±0.000 f	0.110±0.000 q	1.490±0.009 g	1.381±0.008 o	0.464±0.009 r	—	24.26±0.03 o
AH-S	0.153±0.002 hi	0.066±0.005 h	0.603±0.015 c	1.511±0.040 g	5.685±0.183 a	0.763±0.021 l	—	23.80±1.21 gh
AH-H	0.119±0.001 lm	0.044±0.001 j	0.173±0.002 n	1.393±0.002 h	2.202±0.008 i	1.115±0.002 e	—	22.45±0.01 hi
AH-Q	0.060±0.001 p	—	0.228±0.004 k	0.878±0.048 n	1.590±0.060 n	0.371±0.011 s	—	18.39±0.18 d

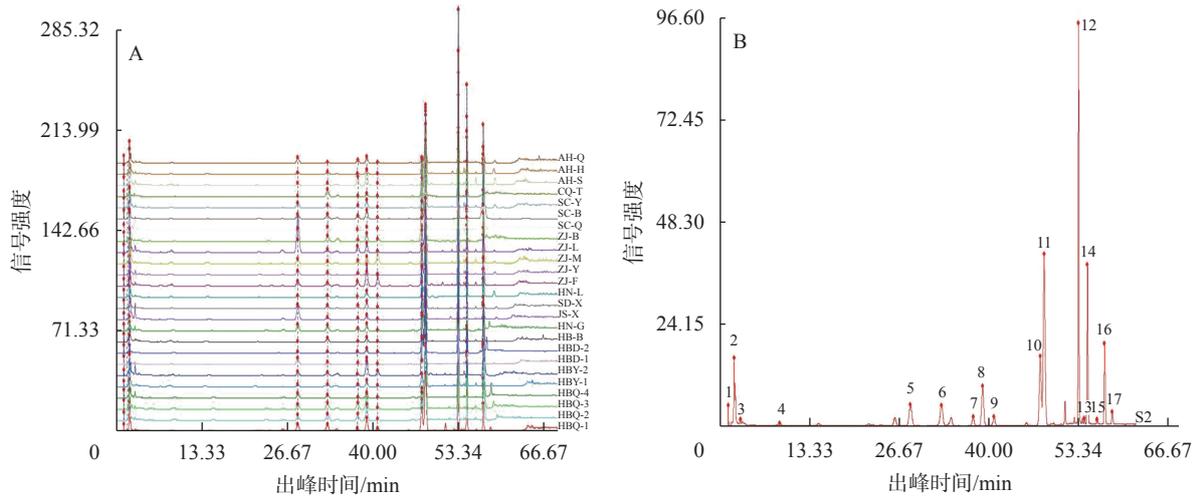
说明：编号所代表种源见表1。—表示质量分数低，未检测到。同列不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。醇溶性浸出物为质量分数



A 为基于 7 种香豆素类化合物成分的 PCA 分析；B 为基于指纹图谱共有峰面积的 PCA 分析。灰色表示河北产区种源；绿色表示四川产区种源；蓝色表示浙江产区种源；红色表示其他产区种源；编号所代表种源见表 1

图 2 基于 HPLC 的不同白芷药材成分 PCA 分析

Figure 2 PCA analysis of *A. dahurica* based on HPLC



A. HPLC 指纹图谱堆叠图; B. HPLC 共有峰图谱, 数字分别代表 17 个共有峰。编号所代表种源见表 1

图 3 不同白芷药材的 HPLC 指纹图谱

Figure 3 HPLC fingerprints of *A. dahurica*

他主产区呈现出一定的差异性, 即遗传分化体现在品质特征分化上, 该结果可能是浙江的老产区多为个别农户留种小面积栽培, 不与其他产区进行品种交流而导致的。

4 参考文献

- [1] 王梦月, 贾敏如. 白芷的功效考证[J]. 上海中医药杂志, 2004, **38**(10): 56 – 57.
WANG Mengyue, JIA Minru. Herbological study on the functions of radix angelicae dahuricae [J]. *Shanghai Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2004, **38**(10): 56 – 57.
- [2] 吉庆, 马宇衡, 张焯. 白芷的化学成分及药理作用研究进展[J]. 食品与药品, 2020, **22**(6): 509 – 514.
JI Qing, MA Yuheng, ZHANG Ye. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of angelicae dahuricae radix [J]. *Food and Drug*, 2020, **22**(6): 509 – 514.
- [3] 李乾, 刘洁, 李月婷, 等. UPLC-FLD 法同时测定不同产地白芷中 5 种香豆素[J]. 中成药, 2020, **42**(9): 2357 – 2362.
LI Qian, LIU Jie, LI Yueting, *et al.* Simultaneous determination of five coumarins in angelicae dahuricae radix from different growing areas by UPLC-FLD [J]. *Chinese Traditional Patent Medicine*, 2020, **42**(9): 2357 – 2362.
- [4] 陈琳, 唐志书, 宋忠兴, 等. 不同产地白芷药材 9 个呋喃香豆素成分的含量测定及其质量评价[J]. 中国中药杂志, 2019, **44**(14): 3002 – 3009.
CHEN Lin, TANG Zhishu, SONG Zhongxing, *et al.* Quantitative determination of nine furanocoumarins for quality evaluation of *Angelica dahurica* from different habitats [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2019, **44**(14): 3002 – 3009.
- [5] YU Mingguang, LI Ting, RAZA A, *et al.* Sensory-guided identification of bitter compounds in Hangbaizhi (*Angelica dahurica*)[J/OL]. *Food Research International*, 2019, **129**: 108880[2022-05-20]. doi: 10.1016/j.foodres.2019.108880.
- [6] 刘倩倩, 叶浩婷, 李放, 等. 杭白芷种质资源遗传多样性的 SSR 分析[J]. 南方农业学报, 2018, **49**(3): 418 – 423.
LIU Qianqian, YE Haoting, LI Fang, *et al.* SSR analysis for genetic diversity of *Angelica dahurica* var. *formosana* [J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2018, **49**(3): 418 – 423.
- [7] 侯凯, 吴卫, 郑有良, 等. 川产白芷遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 四川农业大学学报, 2008, **26**(3): 237 – 240.
HOU Kai, WU Wei, ZHENG Youliang, *et al.* Genetic diversity of angelicae dahuricae accessions from Sichuan Province by inter-simple sequence repeat (ISSR) [J]. *Journal of Sichuan Agricultural University*, 2008, **26**(3): 237 – 240.
- [8] LI G, QUIROS C F. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in *Brassica* [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2001, **103**: 455 – 461.
- [9] 刘宝, 范辉华, 彭珠清, 等. 不同地理种源无患子的分子多态性分析[J]. 浙江农林大学学报, 2014, **31**(1): 151 – 155.
LIU Bao, FAN Huihua, PENG Zhuqing, *et al.* Molecular polymorphic analysis with geographic provenances of *Sapindus*

- mukorossi* [J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2014, **31**(1): 151 – 155.
- [10] 赵瑞强. 基于分子标记的铁皮石斛种质资源遗传多样性研究[D]. 杭州: 浙江农林大学, 2012.
ZHAO Ruiqiang. *Study of Genetic Diversity based on Molecular Marker in Germplasm Resources of Dendrobium officinale* [D]. Hangzhou: Zhejiang A&F University, 2012.
- [11] 谢楠, 刘志荣, 张明童, 等. 高效液相色谱法测定白芷中 9 种香豆素类化学成分的含量及其多元统计分析[J]. 理化检验-化学分册, 2022, **58**(6): 657 – 663.
XIE Nan, LIU Zhirong, ZHANG Mingtong, *et al.* Determination of 9 chemical components of coumarins in *Angelica dahurica* by high performance liquid chromatography and its multivariate statistical analysis [J]. *Physical Testing and Chemical Analysis (Part B: Chemical Analysis)*, 2022, **58**(6): 657 – 663.
- [12] 王艳, 成金乐. 改进的 CTAB 法提取 32 种中药破壁饮片 DNA 及物种鉴定[J]. 中国中医药现代远程教育, 2018, **16**(22): 89 – 91, 130.
WANG Yan, CHENG Jinle. Extraction of DNA from 32 kinds of Chinese herbal pieces by improved CTAB method and species identification [J]. *Chinese Medicine Modern Distance Education of China*, 2018, **16**(22): 89 – 91, 130.
- [13] 岑晓霞, 孙健, 沈晓霞, 等. 基于 SRAP 和 ISSR 标记的栽培麦冬起源和遗传多样性研究[J]. 中药材, 2021, **44**(3): 555 – 561.
CEN Xiaoxia, SUN Jian, SHEN Xiaoxia *et al.* Study on origin and genetic diversity of cultivated of *Ophiopogon japonicus* based on SRAP and ISSR markers [J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2021, **44**(3): 555 – 561.
- [14] 尹燕, 王淼, 阳志强, 等. 化学模式识别在中药炮制中的应用[J]. 中草药, 2021, **52**(17): 5369 – 5377.
YIN Yan, WANG Miao, YANG Zhiqiang, *et al.* Application of chemical pattern recognition in processing of Chinese materia medica [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2021, **52**(17): 5369 – 5377.
- [15] 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.
Chinese Pharmacopoeia Commission. *Chinese Pharmacopoeia (Volume I)* [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020.
- [16] 周治森. 广东茶树种质资源遗传多样性的 SRAP 研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2008.
ZHOU Zhimiao. *Studies on Genetic Diversity of Tea Germplasm [Camellia sinensis (L.) O. Kuntze] in Guangdong Province by SRAP Technology*[D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2008.
- [17] 陈郡雯, 吴卫, 侯凯, 等. 川白芷与祁白芷花粉活力及柱头可授性测定[J]. 中国中药杂志, 2011, **36**(22): 3079 – 3082.
CHEN Junwen, WU Wei, HOU Kai, *et al.* Pollen viability and stigma receptivity of *Angelica dahurica* from Sichuan and Hebei Province [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2011, **36**(22): 3079 – 3082.
- [18] 王丽赟, 孙健, 沈宇峰, 等. 我国主要产区白芷的基原和群体遗传组成特征分析[J]. 中药材, 2022, **45**(4): 830 – 835.
WANG Liyun, SUN Jian, SHEN Yufeng, *et al.* Analysis of botanical origin and genetic composition of *Angelica dahurica* in China's main producing areas [J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2022, **45**(4): 830 – 835.
- [19] 周介仁, 孙健, 沈晓霞, 等. 白花前胡传统产区种质资源的遗传多样性研究[J]. 中药材, 2021, **44**(11): 2543 – 2548.
ZHOU Jieren, SUN Jian, SHEN Xiaoxia, *et al.* Study on genetic diversity of *Peucedanum praeruptorum* germplasm resources in traditional production areas [J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2021, **44**(11): 2543 – 2548.
- [20] 李嘉惠, 欧晓华, 邓文静, 等. 基于 SRAP 分子标记构建何首乌核心种质库[J]. 广西植物, 2021, **41**(11): 1920 – 1930.
LI Jiahui, OU Xiaohua, DENG Wenjing, *et al.* Construction of core germplasm bank of *Fallopia multiflora* using SRAP molecular markers [J]. *Guihaia*, 2021, **41**(11): 1920 – 1930.