第七章 珍稀濒危中药资源的遗传多样性分析和保护策略

主讲人：药学院　欧阳臻、魏渊、闻崇炜

内容 CONTENTS

1 珍稀濒危中药资源的现状

2 物种濒危与保护等级划分标准概况

3 珍稀濒危中药资源遗传多样性研究的理论基础

4 珍稀濒危中药资源遗传多样性的研究方法

5 珍稀濒危中药资源保护策略研究

6 药用植物种质资源分子育种研究

7.1 珍稀濒危中药资源的现状

当前全世界正掀起一场声势浩大的生物多样性保护运动。我国是北半球生物多样性最丰富的国家，也是全球生物多样性最丰富的国家之一。

我国是地球上种子植物区系起源中心之一，

- ✓ 高等植物30000余种，居世界第三位，
- ✓ 药用植物有11146种，占全世界25000种药用植物的40%以上。

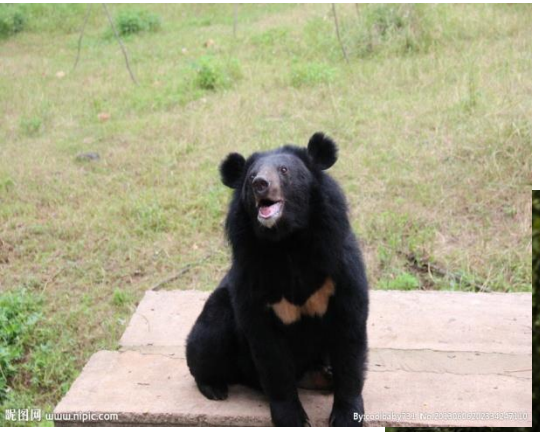
因此，药用植物在我国生物多样性中占有独特的地位。我国药用植物和动物的种类之多，开发应用历史的悠久，在医疗界的作用之大，在全世界都是无与伦比的。

- 长期以来对合理开发利用中药资源的认识不足，使得一些地区不同程度上对中药资源进行了掠夺式的过度采收；

- 又由于违反自然规律的垦殖和其他一些原因，使一些药用动、植物丧失了合适的生态环境，减弱了中药资源的再生能力，造成中药资源的下降和枯竭，致使许多种类趋于衰退或濒危灭绝。

在400-500种常用中药材中应保护的有112种，其中濒危10种，稀有38种，渐危64种。

药用动物，如黑熊、马鹿、林麝、大（小）灵猫、中国林蛙、蛤蚧、玳瑁等40个种类的资源显著减少，已影响了近30种动物药材的市场供应；



黑熊

马鹿

小灵猫

林麝

药用植物，如甘草、光果甘草、羌活、单叶蔓荆、黄皮树、银柴胡、肉苁蓉、三叶半夏等100多种资源量普遍下降，影响60多个药材品种的医疗用药。

甘草

单叶蔓荆

羌活

肉苁蓉

黑长臂猿

原麝

黑长臂猿、原麝、海南坡鹿等近20种动物和见血封喉、峨嵋野连、八角莲、凹叶厚朴、杜仲等30多种植物，因野生资源稀少，以致无法提供商品或只能提供少量商品；

见血封喉

凹叶厚朴

高鼻羚羊、印度犀、野马和厦门文昌鱼4种野生动物资源几近绝迹。

高鼻羚羊

印度犀

野马

厦门文昌鱼

- 为此，我国自20世纪80年代以来，在保护濒危野生药用植物方面做了大量工作，制订了一系列的法令法规。
- 1984年我国公布了第一批珍稀濒危保护植物名录
- 1987年国务院发布了“国家重点保护野生药材物种名单”
- 1988年国家环境保护局主持编写《中国珍稀濒危植物》一书，于1989年在国内出版，共收保护物种388种，药用植物约102种，其中属于常用中药约33种。
- …

- 我国“十五”期间，重点开展了肉苁蓉、冬虫夏草以及紫草的人工繁育研究。

冬虫夏草的人工繁育

- 目前，我国家种的大宗药用植物已达150多种，种植面积44多万亩，如防风、龙胆、柴胡、甘草、辽细辛、五味子、半夏等，引种国外药用植物30余种，主要有颠茄、丁香、毛花洋地黄、安息香、大风子等。

- 在大量人工种植的同时，还采取就地保护的措施保护了大量的中药资源。例如：长白山自然保护区受到保护的药用植物有900多种，峨眉山国家公园受保护的药用植物有1655种。
- 同时还有专门针对药用植物的保护区，如黑龙江省先后建立了五味子、防风、龙胆、黄柏、黄芩等药材的36个保护区。
- 发展珍稀濒危中药资源的保护事业已成为传统中医药可持续发展的基础和保障。

7.2 物种濒危与保护等级划分标准概况

7.2.1 物种濒危等级划分标准

- 1942年美国国际野生动物保护委员会《绝灭与濒于绝灭的旧大陆》
- 1945年美国国际野生动物保护委员会《新大陆哺乳动物》
- 1966年国际自然保护联盟（IUCN）出版一系列濒危物种的红皮书和红色名录，随后被IUCN组织和包括我国在内的国家地区应用，出版了一系列红皮书和保护植物名录
- 1994年IUCN组织制定并通过了《国际濒危物种等级新标准》

已评估
Evaluated
数据足够
Adequate data
低危
Lower Risk
灭绝 extinct
野生灭绝 extinct in the wild
极危 critically endangered
濒危 endangered
易危 vulnerable
依赖保护 conservation dependent
接近受危 near threatened
略需关注 least concern
数据不足 data deficient
未评估 not evaluated

物种濒危等级体系

IUCN濒危物种现行等级系统各等级定义

☞ **(1)灭绝(extinct，EX)——俗称“绝种”**

一分类单元内，如果有足够理由确认最后的个体已经死亡，即可列为灭绝。

如：生存于远古时代的所有恐龙、分布于欧亚大陆和北美大陆的猛犸象、分布于马达加斯加的体重达500公斤的巨大鸟类——巨隆鸟、分布于北美大陆且数量达几十亿只的旅鸽等。

旅鸽：地球上曾经数量最多的鸟儿

☞ **(2)野生灭绝(extinct in the wild，EW)**

一分类单元内如果已知仅生活在栽培和圈养条件下或仅作为一个（或多个）驯化种群远离其过去的分布区生活时，即为野生灭绝。

如：分布于我国的麋鹿在野外灭绝了，但在世界许多国家圈养和半野生环境下生存良好。我国特有的百山祖冷杉野生个体仅存3株，分布于浙江庆元，不能自然繁殖。

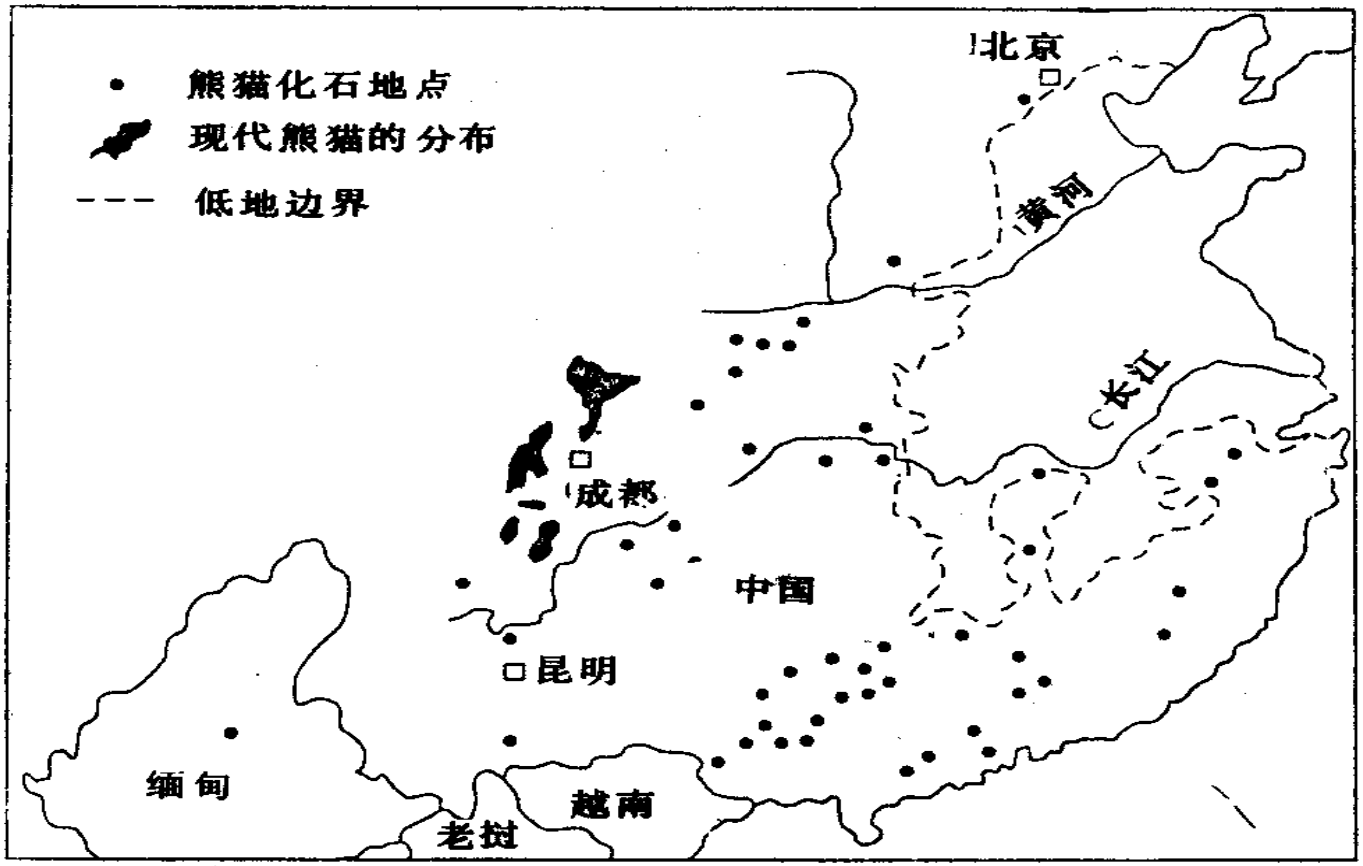
麋鹿

百山祖冷杉——我国特有种

附：灭绝的另外二种含义

- 局部灭绝(local extinct)：多数物种如此。
- 生态灭绝(ecological extinct)：如华南虎。虽然近年来证明有野生个体存在，但专家认为其难逃野外灭绝厄运。

大熊猫——局部灭绝



熊猫曾一度在中国广泛分布并延至缅甸，现仅局限分布于成都市附近的少数地点。（根据 Roberts 1988）

(3)极危(criticallyendangered，CE)

一分类单元在野外随时灭绝的概率极高，符合IUCN关于“极危”的标准，即可列为极危。

(4)濒危(endangered，EN)

一分类单元虽未达到极危，但在不久的将来野生灭绝的概率很高，符合IUCN关于“濒危”的标准，即可列为濒危。

(5)易危(vulnerable，VU)

一分类单元虽未达到极危或濒危，但在未来的中期内野生灭绝的概率较高，符合IUCN关于“易危”的标准，即可列为易危。

(6)近危(near threatened，NT)

当一分类单元未达到极危、濒危或者易危标准，但是在未来一段时间后，接近符合或可能符合受威胁等级，该分类单元即列为近危。

(7)无危(least concern，LC)

当一分类单元被评估未达到极危、濒危、易危或者近危标准，该分类单元即列为无危。广泛分布和种类丰富的分类单元都属于该等级。

(8)数据缺乏(datadeficient，DD)

对分类单元无足够的资料，但根据其分布和种群现状对其灭绝的危险进行直接或间接的评估，即可列为数据不足。列入该等级的分类单元可能已得到较好的研究，但某些数据缺乏。

未予评估（**not evaluated,NE**）

如果一分类单元未经应用本标准进行评估，则可将该分类单元列为未予评估。

7.2.2 物种保护等级划分标准

物种保护等级即植物的优先保护次序的划分则以植物受威胁的情况为基础，同时兼顾人类对于物种保护的目标。

例如，应用《世界自然资源保护大纲》所确定的应予优先保护的植物的图解公式可以解决单型科属的优先保护，而我国则将重点保护的物种主要从科学和经济意义上划分为三个保护级别。

在定性评价的基础上，国内外已有不少学者尝试用数量评价等级的方法对受威胁植物的濒危和保护等级进行划分。

例如，以“濒危系数”确定植物的受威胁程度

以“急切保护值”确定植物须急切保护的序列

以二级模糊综合评价法评价濒危度与保护等级等。

7.2.3 物种濒危与保护等级之间的关系

- 濒危等级是对现有环境下一个物种绝灭的危险性的评估，评估绝灭危险性的目的是对分类单元绝灭的可能性做出定量的估计。

- 绝灭危险的评估（如IUCN红色名录濒危等级的分配）一般在优先权确定之前，而评估保护行动优先权除了经常考虑绝灭危险外，也涉及其他许多相关的因素，如经费开支、开展保护行动的人员、受威胁物种保护的法律框架或一些物种相对于其他物种的生态的、系统发生的、历史的及文化的优先考虑。

7.2.4 药用植物濒危与保护等级划分现状

- 《中国珍稀濒危保护植物名录》和《中国植物红皮书》将收载得到药用植物分为濒危种、渐危种和稀有种三类。
- 《野生药材资源保护管理条例》中，将保护等级分为三种。

➢ 一级：濒临绝灭状态的稀有珍贵野生药材物种。

➢ 二级：分布区域缩小、资源处于衰竭 状态的重要野生药材物种。

➢ 三级：资源严重减少和主要常用野生药材物种。

药用植物濒危及保护等级划分标准没有形成独立体系，认识方面存在以下误区：

- 濒危等级与保护等级的关系
- 地区性濒危与全球性濒危的关系
- 野生与栽培的关系

濒危与保护等级的关系

- 濒危等级：对现有环境下一个物种灭绝的危险性的评估，评估绝灭危险性的目的是对分类单元绝灭的可能性做出定量的评估。
- 保护等级：评估保护行动优先权的问题。
- 绝灭危险的评估一般在优先权确定之前，评估保护行动优先权考虑
  - 绝灭危险
  - 经费开支、开展保护行动的人员、受威胁物种保护的法律框架…

地区性濒危与全球性濒危的关系

- 在地区或国家水平上使用濒危等级划分时，必须认识到对于一个特定的分类单元，其全球性的受威胁等级不一定与其他地区或国家的等级一致。
- 例如：莲的问题，莲在印度被列为濒危物种，而在我国分布很广不会被列为濒危植物。
- 这里存在一个地理尺度的问题，在全球被定为无危的一个分类单元，在某个特定区域，由于其数量很少或正在衰退，可能被划为极危。
- 地区或国家特有的分类单元在任何地区或国家的标准应用上，都需要进行全球评估，避免出现认识的误区。

野生与栽培的关系

- 在IUCN红色名录中，明确提出物种濒危等级标准只适用于在自然范围以内的野生种群和由良性引种而产生的种群。

- 有大量栽培面积的物种，其野生资源的保护应该更有优先权。

（1）从种质方面考虑，栽培种群不具备野生种群所蕴涵的诸多优良特性。

例：普通野生稻是栽培稻的始祖，蕴藏着高产优质、耐寒抗旱、抗病虫害等基因。

- 1973年，“杂交水稻之父”袁隆平培育出三系杂交水稻品种。
- 2000年，袁隆平等通过分子技术从普通野生稻发现两个增产基因，可比现在的高产杂交稻增产36%。

没有野生稻资源培育优良栽培稻品种，就会成为无源之水、无本之木。

（2）栽培种群并不能全面有效的缓解野生资源的压力

野生资源 → 经济 文化 社会

- 由于人们对“天然”的极大热情而引发了片面强调野生的局面，加之市场予以“配合”所造成的高价，对中药野生资源产生了极为严重的破坏。
- 例：栽培人参与野山参价格的天壤之别极好说明了在名贵药材的保护上，栽培品的多少有时并不能减轻野生资源的压力。

7.2.5 药用植物濒危与保护等级划分标准的探讨

随着经济和医疗保健事业的飞速发展，中药资源的需求出现了空前的增长，从中药中提取有效成分应用于化妆品、食品及工业原料的研究也越来越深入，这些原因在不同程度上加大了中药资源的压力。

加之，长期以来，对开发利用中药资源的认识不足，一些地区不同程度上对中药资源进行了掠夺式的过度采收，致使很多中药资源蕴涵量下降，甚至耗竭，一些种类濒临灭绝，因此，对珍稀濒危中药资源进行保护已迫在眉睫。

提到中药资源的保护，首先必须确定其保护对象，由于中药资源的绝大部分来源于药用植物，其保护的重点是药用植物的保护。

为此，制定评价药用植物濒危及优先保护的量化体系尤为重要。

7.2.5.1 药用植物濒危及优先保护综合评价方法的制定原则及其体系

■药用植物濒危及优先保护综合评价方法的制定原则

药用植物资源

- **价值系数：** 药用价值、经济价值、学术价值、潜在价 值
- **分布系数：** 药用植物地域性特征、特有种情况、药材道地性特征
- **生物学系数：** 种型分类学特征、可再生能力特征、生长周期特征
- **资源现状系数：** 野生资源量、栽培现状、药材来源现状、保护现状

■药用植物受威胁及优先保护综合评价体系

（1）价值系数（coefficience of value,Cv）

A. 药用价值

a. 常用种类，被中国药典收载……3分

b. 较常用种类，被中国药典收载……2分

c. 不常用种类，被中国药典收载，或被地方药典收载，已形成商品……1分

d. 一般民间药，未被中国药典收载，未形成商品……0分

B. 经济价值

a. 除药用外，用于化妆品、食品和工业原料……3分

b. 除药用外，用于化妆品、食品和工业原料三者之二……2分

c. 除药用外，用于化妆品、食品和工业原料三者之一……1分

d. 仅供药用……0分

C. 学术价值

a. 孑遗植物或在研究系统发育等方面有重要价值……1分

b. 无明显学术价值……0分

D. 潜在价值

a. 已通过研究，有价值，待开发……2分

b. 正在进行研究，价值待明确……1分

c. 目前尚未进行研究，或已经研究过，未发现其价值……0分

D. 潜在价值

a. 已通过研究，有价值，待开发……2分

b. 正在进行研究，价值待明确……1分

c. 目前尚未进行研究，或已经研究过，未发现其价值……0分

（2）分布系数（ coefficience of distribution，Cd）

A. 药用植物地域性特征

a.分布于一个或相邻的两个省某山地局部区域内，生境特殊……3分

b.分布于3~6个省或某一大区域内……..2分

c.6个以上省内有分布，但不超过全国省份的一半……..1分

d.全国广泛分布，分布省份超过全国省份的一半…….....0分

B.药用植物特有种情况

a.某省特有……3分

b. 区域特有……2分

c. 中国特有……1分

d. 非中国特有……0分

C.药材道地性特征

a. 道地产区仅为一个区域……3分

b. 道地产区为2个区域……2分

c. 道地产区为2个以上区域……1分

d. 无道地性……0分

（3）生物学系数（ coefficience of biology，Cb）

A. 种型分类学特征

a. 单种科型　　科内仅一属一种植物……4分

b. 单种属型　　属类仅一种植物……3分

c. 少种科型　　科内仅2-3种植物……2分

d. 少种属型　　属内仅2-3种植物……1分

e. 多种属型　　属内种数多，一般4种以上……0分

B.可再生能力特征

a. 主要依靠有性繁殖的木本或寄生植物……3分

b. 主要依靠有性繁殖的草本……2分

c. 主要依靠无性繁殖……1分

d. 有性繁殖和无性繁殖均可……0分

C. 生长周期特征

a.生长3年以上才可供利用……2分

b.生长2-3年可供利用……1分

c.生长1年内可供利用……0分

（4）资源现状系数（ coefficience of present situation，Cs）

A.野生资源量

a.极少……3分
b.少……2分
c.尚多……1分
d.多……0分

B.栽培现状

a.栽培种不能替代野生种，现无栽培技术……3分
b.栽培技术不稳定，没有推广应用……2分
c.栽培技术成熟，但只有1省为栽培基地……1分
d.栽培技术成熟，2省或以上设有栽培基地……0分

C. 药材来源现状

Ⅰ原植物来源

a. 1种来源……3分

b. 2种来源……2分

c. 3种来源……1分

d. 3种以上来源……0分

Ⅱ药材商品来源

a. 药材商品主要来源于野生……2分

b. 药材商品主要来源于野生和栽培……1分

c. 药材商品主要来源于栽培……0分

D. 保护现状

a. 目前未受到保护……2分

b. 自然保护区内有分布……1分

c. 有专题保护区已做重点保护……0分

将上述4项系数中的各项指标进行评分，再将4个系数分布按比例计算后相加，可以对各种药用植物受威胁及优先保护程度进行评价，从而确定受威胁级别，同时为各种药用植物保护的迫切性和重要性提供依据。分值越高，受威胁程度越严重，需要保护的迫切性也越强。

将4个系数相加后的值定为级别系数（ coefficience of grade,Cg）来计算评价结果。

$$Cg=Cv\times0.25+Cd\times0.25+Cb\times0.25+Cs\times0.25$$

Cg=0.70~1.00,受威胁级别；一级；保护等级：I级，急待加以保护

Cg=0.55~0.69,受威胁级别；二级；保护等级：II级，积极加以保护

Cg=0.40~0.54,受威胁级别；三级；保护等级：III级，需注意保护

7.3 珍稀濒危中药资源遗传多样性研究的理论基础

7.3.1 遗传多样性的概念和科学含义

广义：地球上所有的生物所携带的遗传信息总和。

狭义：种内不同居群（**Population**，又称居群、群体）之间和同一居群不同个体之间的遗传变异的总和，包括

- 变异水平的高低
- 变异的分布格局，即种群的遗传结构

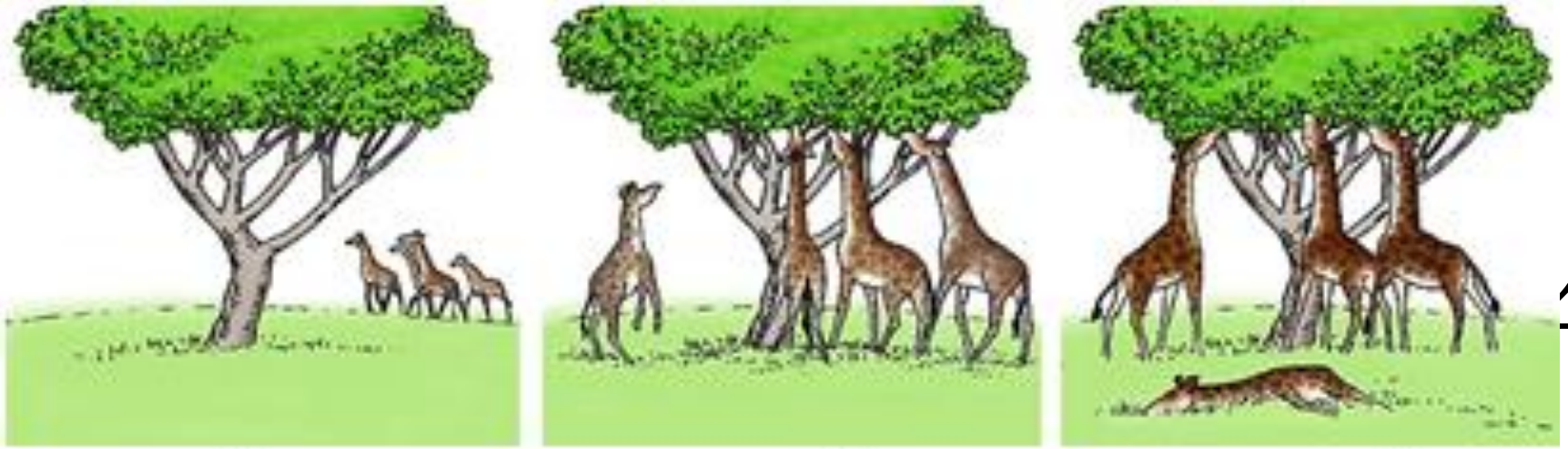
种内的多样性是物种以上各水平多样性的最重要来源。遗传变异、生活史特点、种群动态及其遗传结构等决定或影响着一个物种与其它物种及其环境相互作用的方式。而且，种内的遗传变异程度也决定其进化的潜势。

遗传多样性具有广泛性、特异性和适应性等特点。

遗传变异广泛存在于各种生物体内，是生物进化和物种分化的根本动力。遗传多样性的特异性体现在任何物种都具有不同的基因序列和遗传结构，即使同一物种的

而

和



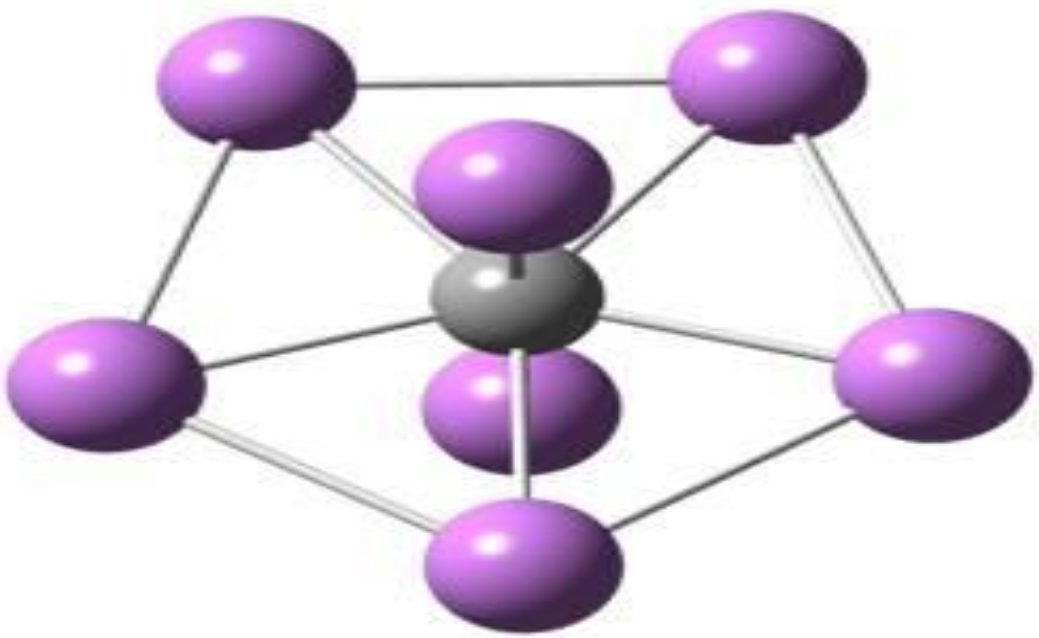
①　②　③

bbbp.com

所有的遗传多样性都发生在分子水平。自然界中存在的变异源于突变的积累，这些突变都经受过自然选择。一些中性突变通过随机过程整合到基因组中，上述过程形成了丰富的遗传多样性。

遗传多样性 → 体现在

- 种群水平
- 个体水平
- 组织和细胞水平
- 分子水平



遗传多样性最直接的表达形式就是遗传变异性的高低。在自然界，由于个体生命的有限性，有其特定分布格局的种群或种群系统（宗、亚种、种）才是进化的基本单位，故遗传多样性不仅包括遗传变异高低，也包括遗传变异分布格局，即种群的遗传结构。

种群遗传结构上的差异是遗传多样性的一种重要体现。一个物种的进化潜力和抵御不良环境的能力取决于种内遗传变异的大小，也有赖于遗传变异的种群结构。

遗传多样性是指种内可遗传的变异，亦即遗传物质的改变，包括编码遗传信息的核酸（**DNA**或**RNA**）在组成和结构上的变异。那些由于发育或环境引起的、不可遗传的变化应排除在遗传多样性范围之外。

研究遗传多样性有助于进一步探讨生物进化的历史和适应潜力，有助于推动保护生物学研究，有助于种质资源的保存和利用。

7.3.2 遗传多样性的测度方法与指标

7.3.2.1遗传多样性的测度指标

几乎在各个领域都会碰到多样性的度量问题，用于群体遗传学的指标主要有以下几个方面。

1）基因频率（gene frequency）

基因频率（gene frequency）是指在一个种群基因库中，某个基因占全部等位基因数的比率。群体中某一特定基因的频率可以从基因型频率（genotype frequency）来推算。基因型频率是某种特定基因型的个体占群体内全部个体的比例。

种群中某一基因位点上各种不同的基因频率之和以及各种基因型频率之和都等于1。

对于一个种群来说，理想状态下种群基因频率在世代相传中保持稳定，然而在自然条件下却受基因突变、基因重组、自然选择、迁移和遗传漂变的影响，种群基因频率处于不断变化之中，使生物不断向前发展进化。

通过计算某种群的基因频率有利于理解该种群的进化情况。

呈共显性遗传的标记，其基因型直接反映表型。

群体中频率最高的等位基因是该物种中最原始、最保守的等位基因，其余等位基因是进化过程中由该等位基因突变形成，因此标记多态性能够反映物种的进化历史。

其他指标的计算主要以等位基因频率为基础，故如果等位基因频率（**allele frequencies**）的计算出现错误或误差，将会影响到其他指标的准确性。

$$P_i = \frac{2n_i i + n_{ij_1} + n_{ij_2} + \ldots + n_{ij_n}}{2N}$$

P_i为第i个等位基因的频率；$n_i i$为第i个等位基因纯合的个体数；j_n为与i共显的第n个等位基因；n_{ij_n}为含有i与j_n共显等位基因的个体数；N为群体中的个体数。

有些等位基因只在某一品种中出现，而且该等位基因频率在该品种中较高，则可以作为该品种的标记。

有些等位基因在某一品种中未检测到，是否与品种特性有关就有待进一步研究。

由此，需要关注的问题是无效等位基因的存在，这会导致低估等位基因频率、杂合度及遗传距离。

2）有效等位基因数（effective number of alleles ,ne）

有效等位基因数等于基因纯合度的倒数，是衡量群体遗传变异的指标。又称等位基因均衡度（Evenness of allele frequencies）。

等位基因在群体中分布的越均匀，n_e越接近实际检测到的等位基因的个数。群体的平均有效等位基因数（Ne）等于各个位点上的n_e的算术平均数。

$$N_e = \sum_{i=1}^{n} \frac{n_e}{n} = \sum_{i=1}^{n} \frac{(1/\sum_{j=1}^{m} p_{ij}^2)}{n}$$

$$n_e = \frac{1}{\sum_{j=1}^{m} p_{ij}^2}$$

式中P_{ij}为第i个位点上第j个等位基因的频率；m为第j个位点的等位基因数；n_e为第i个位点上的等位基因的有效数目；n 为所测定位点的总数。

3）等位基因丰度（allelic richness，rs）

等位基因丰度是独立于样本大小的一个等位基因数的度量，因而可用来比较不同样本大小下的等位基因数。

4）多态位点百分率（percentage of polymorphic loci）

即所测定的位点中多态位点占总位点数的百分比。一般规定Pi在0.95以下为多态位点。

5）杂合度（heterozygosity，H）

杂合度是度量群体遗传变异的一个最适参数，平均基因杂合度的大小可反映遗传变异程度的高低。

群体内某一位点的预期杂合度：$$h = 1 - \sum_{i=1}^{n} p_i^2$$

平均每个位点的预期杂合度：$$H = \sum_{j}^{r} h_j / r$$

另外，还有其他采取不同的计算方式的杂合度，如观测杂合度,即某位点实际观测到的杂合子在样本中所占的比值；平均每个位点的观察杂合度Ho；群体内平均杂合度及总群体的平均杂合度等。

6）基因多样性（gene diversity）

多根据Nei提出的无偏估计量来估计每个群体的各基因位点的基因多样性（Nei’s unbiased gene diversity）。该无偏估计量既考虑了观察杂合度和期望杂合度，同时还考虑了样本的大小。

$$H_{sk} = \frac{nk}{nk-1}(1-\sum p_{ik}^2 - \frac{H_0 k}{2nk})$$

式中nk 为第k个群体的个体数，pik 为第k个群体中Ai的等位基因频率，Hok 为第k个群体的观察杂合度。

7）多态信息含量（polymorphism information content，PIC）

多态信息含量是表示标记变异程度高低（位点多态性）的一个指标。

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^{n} P_i^2 - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^{n-1} 2P_i^2 P_j^2$$

式中P_i、P_j分别为群体中第i、j个等位基因频率，n为等位基因个数。当PIC>0.5 时，该位点为高度多态性位点；当0.25<PIC<0.5 时，该位点为中度多态性位点；当PIC<0.25 时，该位点为低度多态性位点。PIC和H都能反映群体内个体遗传变异的程度，数值高说明遗传变异就大，反之则群体内的遗传变异小。

7.3.2.2群体间遗传分化度量

1）F–统计量（F-statistics）

F-统计量是指杂合性基因多样性的比率，可以看作是估计近交的参数，用来测量亚群体间的分化程度（基因频率偏离预期Hardy-Weinberg平衡的程度）。

①Wright’s F-统计量

近交系数（FIS）衡量因亚群内的非随机交配引起的个体杂合度降低；

固定指数（FST）衡量群体再分效应，表示因遗传漂变引起的一个亚群的杂合度降低程度。

总体近交系数（FIT ）即相对于总群体一个个体的总体近交系数，包括来自亚群内的非随机交配（FIS）造成的和因群体再分（FST）造成的近交系数两部分。

三者的关系是：$1-F_{IT}=(1-F_{IS})\times(1-F_{ST})$

$$F_{IT}=\frac{H_t-H_0}{H_t} \qquad F_{ST}=\frac{H_t-H_s}{H_t} \qquad F_{IS}=\frac{H_s-H_0}{H_s}$$

式中H_0为观察杂合度，H_s为平均的期望杂合度，H_t为总的期望杂合度。如果不同群体组合的F_{ST}值均较低，说明种群间可能存在大量的基因迁移或有较近的亲缘关系。而F_{IS}值较高，说明群体内近交程度较高。

②Nei’s F-统计量

$$G_{IT} = \frac{H_t - H_0}{H_t} \qquad G_{ST} = \frac{H_t - H_s}{H_t} \qquad G_{IS} = \frac{H_s - H_0}{H_s}$$

G_{ST}也称为基因分化系数（coefficient of gene differentiation），用来衡量各群体内的基因分化。当各群体的所有等位基因几乎相同时，G_{ST}的值接近0，各群体间几乎没有分化；当各群体的遗传多样性在HT中所占比例减小，群体间的遗传分化增大时，说明遗传多样性几乎存在于各群体之间，G_{ST}的值接近1。

2）相关度和群体每代迁移数

相关度（r）用于衡量个体间的关联程度，取值范围为了-1～+1。-1表示没有共同基因，至少就所测定的遗传标记而言；+1表示拥有完全相同的基因，如克隆。

$$r = \frac{2F_{ST}}{1+2F_{IR}}$$

群体每代迁移数（number of migrants per generation，Nm）是测定基因流的一种方法，可以用FST方法计算。群体间基因流大于1，则能发挥均质化作用，即能有效抵制由遗传漂变引起的遗传分化。

$$N_m = \frac{1-F_{ST}}{4F_{ST}}$$

3）近交系数（inbreeding coefficient）

又称内繁育系数，是形成合子的两个配子来自同一共同祖先的概率，即一个个体接受在血缘上相同即由同一祖先的一个等位基因而成为该等位基因纯合子的概率。

根据通径系数原理，个体x的近交系数即是形成x个体的两个配子间的相关系数，用F_x表示。

$$F_x = \sum[(\frac{1}{2})^{n_1+n_2+1}(1+F_A)$$

式中，F_x表示个体x的近交系数；1/2表示各代遗传结构的半数；n_1表示父亲到共同祖先的代数；n_2表示母亲到共同祖先的代数；F_A表示共同祖先自身的近交系数；$n_1+n_2+1=N$为亲本相关通径链中的个体数。

4）遗传距离（genetic distance）

遗传距离是用基因频率的函数表示群体间的遗传变异，能反映不同品种间进化上的关系。

①Nei氏最小遗传距离（Nei’s minimum genetic distance，Dm）

$$D_m = \frac{(J_X + J_Y)}{2} - J_{XY}$$

②Nei氏标准遗传距离（Nei’s standard genetic distance，Ds）

$$D_s = -In[\frac{J_{XY}}{\sqrt{J_X J_Y}}]$$

式中J_X和J_Y分别为群体X和Y中所有基因位点的平均纯合性，且有

$$J_X=\frac{\sum_j^r\sum_i^{mj}x_{ij}^2}{r};J_Y=\frac{\sum_j^r\sum_i^{mj}y_{ij}^2}{r};J_{XY}=\frac{\sum_j^r\sum_i^{mj}x_{ij}y_{ij}}{r}$$

式中x_{ij}和y_{ij}分别为群体X和Y中第j个基因座上第i个等位基因频率；mj为第j个基因位点的等位基因数；r为考虑的基因位点数目。

③Nei氏绳距（Nei's chord distance，DA）

$$D_A=1-\frac{1}{r}\sum_j^r\sum_i^{mj}\sqrt{x_{ij}y_{ij}}$$

模拟研究表明，在得到正确的拓扑结构方面，D_A优于D_s、D_m法。

5）遗传一致度（genetic identity，I）

通常用遗传相似系数（genetic similarity coefficient）来表示。它与遗传距离的关系为D＝－ln I。遗传一致度为0时，表示两个种群完全不一样，无亲缘关系；遗传一致度为1时，表明两个种群完全一致。

7.3.2.3遗传平衡检验（test for genetic equilibrium）

①Hardy-Weinberg 平衡检验:检测基因型是否符合Hardy-Weinberg 期望分布。

②基因连锁不平衡（linkage disequilibrium）检验:成对微卫星基因座在不同群体中的连锁不平衡检验。

③突变-漂移平衡（mutation-drift equilibrium）检验:由于一个或两个群体中存在瓶颈效应时，可以影响到两群体间遗传距离估计的准确性。评定所研究群体是否经受瓶颈效应影响， 以此检验群体是否偏离突变-漂移平衡。

7.3.2.4系统树的构建

系统树的构建方法主要有：距离法、最大简约法和最大似然法。

在多态性分析中常用距离法中的非加权组对算术平均法（UPGMA）和邻接法（NJ）。

- UPGMA是一种简单的构树法，其假定条件是在进化过程中，每一世代发生突变的概率是相同的，即核苷酸或氨基酸的替代速率是均等且恒定的。
- NJ法考虑了进化分支上每代基因突变发生率有可能不等的事实，所以被广泛的应用。

7.4 珍稀濒危中药资源遗传多样性的研究方法

遗传多样性检测方法

检测遗传多样性的方法是随着生物学研究层次的提高和实验手段的不断改进而逐步发展起来的。

形态学水平

↓

细胞学（染色体）水平

↓

生理生化水平

↓

分子水平

无论在什么层次上进行研究，其**目的**都是为了揭示遗传物质的变异。

迄今为止，任何一种检测遗传多样性的方法都存在各自的优点和局限，还找不到一种可以完全取代其他方法的技术。因此，包括经典的形态学、细胞学，以及同工酶和DNA技术在内，各种方法都能从各自的角度提供有价值的信息，都有助于我们认识遗传多样性及其生物学意义。

1. 形态标记

从形态学或表型性状上来检测遗传变异是最古老也最简便易行的方法。

通常所利用的表型性状主要有两类：

一类是符合孟德尔遗传规律的单基因性状（如质量性状、稀有突变等）

另一类是根据多基因决定的数量性状（如大多数形态性状、生活史性状）

由于天然种群中，单基因性状很少，用其作为遗传标记来研究遗传多样性主要还是针对一些具有重要经济价值的农作物、林木和园艺作物及其野生近缘种，而且多利用这类单基因标记来研究交配系统、基因流和选择等进化因素。

相比之下，针对数量性状的研究则由来已久，通过对这些数量性状的研究同样能分析种群的遗传水平和遗传结构。

2. 细胞学标记

- 染色体多样性检测主要对细胞分裂时期染色体的数目和形态特征，如相对长度、臂比值、着丝点位置、臂指数等加以分析，即核型分析，得到一定的核型。

- 不同种类的生物或同种生物的核型不同。但某些种类，特别是种下水平居群间，其组型和染色体特征差别不明显，则必须对染色体进行分带处理，显示深浅不同的染色体带纹，如C带、Q 带、G带、R带、T带等等。

随着染色体研究技术的发展，如细胞原位杂交技术的应用，在染色体水平上可揭示出更加丰富的遗传多样性。

■染色体原位杂交（chromosome in situ hybridization）是细胞学方法和分子杂交技术相结合的产物，是指利用特异性核酸片段作探针，直接同染色体的DNA片段杂交，在染色体上显示特异的DNA 或RNA。

■原位杂交的优点是准确直观，在用整个基因组DNA 或基因组特异重复序列作探针时，可以明显区分不同物种的染色体组成，在鉴定染色体构型和结构变异等方面有重要作用。

3. 生化标记

等位酶（allozyme）是由同一基因位点上不同等位基因所编码的同工酶。由于等位酶谱带同等位基因之间的明确关系，使其成为一种十分有效的遗传标记。

- 以共显性方式遗传
- 广泛存在
- 材料来源丰富
- 实验技术简单
- 获得结果迅速
- 结果易于比较

4. 分子标记

由于等位酶是生化水平，主要是对功能基因的表达产物进行检测，只能反应一部分功能基因的情况，而对大部分功能基因和大量非功能DNA 区域无法检测，且其所能检测的多态性较低，逐步为分子标记所取代。

广义	分子标记是指可遗传且可检测的特异DNA、RNA 序列或蛋白质序列
狭义	分子标记专指DNA 标记

与形态标记、细胞学标记和生化标记相比，分子标记具有以下优越性：

（1）直接以核酸作为研究对象，在植物体内的各个组织、各个发育时期均可检测，不受季节、环境限制，与发育时期无关；

（2） 标记数量极多，遍及整个基因组；

（3）多态性高，由于自然界存在许多等位变异，无需专门创造特殊的遗传材料；

（4）有许多分子标记表现为共显性，能鉴别纯合和杂合基因型，可提供完整的遗传信息。

依据多态性的检测手段，分子标记可分为三大类：

（1）基于传统的Southern 杂交技术的分子标记，如限制性内切酶酶切片段长度多态性标记；

（2）基于聚合酶链式反应反应的分子标记，如随机扩增多态性DNA、DNA 扩增产物指纹分析等；

（3）PCR－RFLP 技术的结合即扩增片段长度多态性技术。依据在基因组中出现的频率，又可将分子标记分为低拷贝序列和重复序列，重复序列包括串联重复和散布重复。

分子标记技术目前已出现几十种，而且可以断定，随着分子生物学的发展，新的分子标记还会不断涌现。以下是一些常用的分子标记技术。

1）以传统的Southen 杂交为基础的分子标记技术
2）以PCR 为基础的分子标记技术
3）以重复序列为基础的标记
4）以mRNA为基础的分子标记技术
5）以单核苷酸多态性为基础的分子标记技术
6）与基因芯片结合的分子标记技术

这些标记有不同的技术特点，各有自己的优缺点，可用于不同的检测目的

表 1　不同标记的技术特性

Table 1　The technical characteristics of different markers

标类型 Marker types	DNA 用量 DNA amount	DNA 质量 DNA quality	基因组分布 Distribution of genome	可检测基因座位数 Number of detectable loci	遗传特点 Genetic characteristics	多态性 Polymorphism
RFLP	5 ~ 10 μg	高	低拷贝编码序列	1 ~ 3	共显性	中等
RAPD	1 ~ 10 ng	低	全基因组	1 ~ 10	显性	较高
ISSR	25 ~ 50 ng	低	全基因组	1 ~ 10	共显性/显性	较高
SSR	50 ~ 120 ng	中高	全基因组	多为 1	共显性	高
VNTR	5 ~ 100 ng	高	全基因组	10 ~ 100	共显性	较高
AFLP	1 ~ 100 ng	高	全基因组	20 ~ 200	共显性/显性	较高
SNP	≥50 ng	高	全基因组	2	共显性	高
Indel	50 ng	高	全基因组	2	共显性	低
EST	1 ~ 100 ng	高	功能基因区	2	共显性	较高
DArT	5 ~ 10 μg	高	全基因组	2	显性	高

标类型 Marker types	引物/探针类型 Type of primer/probe	技术难度 Technical difficulty	同位素使用 Use of isotope	可靠性 Reliability	所用时间 Time	试验成本 Experimental cost
RFLP	特异性低拷贝探针	高	常用	高	多	高
RAPD	9 ~ 10 bp 随机引物	低	不用	低/中等	少	较低
ISSR	16 ~ 18 bp 特异引物	低	不用	高	少	较低
SSR	14 ~ 16 bp 特异引物	低	可不用	高	少	中等
VNTR	DNA 短片段	中等	常用	高	多	高
AFLP	16 ~ 20 bp 特异引物	中等	常用	高	中等	较高
SNP	AS-PCR 引物	高	不用	高	多	高
Indel	22 ~ 25 bp 特异引物	低	不用	高	少	中等
EST	24 bp 寡核苷酸引物	高	不用	高	多	高
DArT	特异性探针	高	不用	高	少	较低

表 2　不同分子标记适用不同遗传多样性检测目的

Table 2　The detection objective of different genetic diversity with different molecular markers

标记类型 Maker types	衡量遗传变异 Weighing the genetic variation	衡量群体遗传结构与分化 Weighing the population genetic structure and differentiation	估计基因渐渗、迁移、基因流 Estimating the introgression, migration and gene flow	研究系统发育和分类 Studying the phylogenesis and classification	交配系统和亲本分析 Mating system and parental analysis	个体认定和DNA指纹图谱 Individual identification and DNA fingerprint	构建遗传图谱 Constructing the genetic map
等位酶	有限	有限	有限	好,但在近源种中有限	有限	弱	弱
RFLP	有限	有限	有限	好,但在近源种中有限	有限	好	有限
SSR	好	好	好	弱	很好	很好	好
ISSR	好	好	弱	有限	弱	弱	弱
RAPD	好	好	弱	有限	弱	弱	弱
AFLP	好	好	弱	有限	弱	弱	很好
CAP	好	好	好	好	好	好	好
SNP	好	好	弱	有限	有限	好	好
DArT	好	好	弱	好	有限	好	好

表 3　不同标记的主要优缺点

Table 3　The main advantages and disadvantages of different markers

标记类型 Maker types	优点 Advantage	缺点 Disadvantage
等位酶 Allozyme	成本不贵，共显性，重复好，技术容易，相对多态性高	可用酶数量有限，酶有偏好性，隐藏等位基因，组织需要，难以自动化
RFLP	数量多，共显性，重复性好，多态性相对高	费时费力，DNA 需要量大，自动化困难
SSR	数量多，共显性，重复好，容易分析，多态性高，可以自动化	无效等位基因，引物开发难，回复突变，引物通用性低
ISSR	数量多，便宜，容易操作，多态性很高	显性，物种间通用性低，功能未知
RAPD	数量多，便宜，容易操作，多态性很高	重复性低，显性，物种间通用性低，功能未知
AFLP	数量多，花费中等，多态性很高	功能未知，显性，有一定技术要求，DNA 质量要求高，重复性有怀疑
CAP	数量多，共显性，容易操作，重复性好，多态性好	费时费力，需要 DNA 序列信息
SNP	数量多，共显性，容易分析，可重复，结合芯片技术可自动分析	位点选择费事，通用性不好
DArT	利用芯片检测技术，高通量，低成本，高自动化	显性，技术操作有一定要求

7.5 珍稀濒危中药资源保护策略研究

我国中药资源的概况

- 我国自然资源种类繁多，蕴藏量大，高等植物和脊椎动物总数占世界种类总数的10%，鸟类占 15%，兽类占18%，淡水和海洋鱼类种类居世界前列。
- 根据1984-1994年全国中药资源普查结果,我国中药资源达12807种,其中药用植物11146种,药用动物1581种 药用矿物80种。
- 我国已建立各类自然保护区926个,总面积占国土面积的7.64%，全国各地的植物园和药用植物园中引种或保存的药用植物达5000种左右。据不完全统计，我国现已建立中药材种植场5000多个,中药材种植面积达600万亩。

7.5.1 相关国际公约及协议

《濒危野生动植物国际贸易公约》
The Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora,CITES
1973 华盛顿

■**CITE**设立的目的主要在于建立野生物种输入、输出国之间合作管理，以确实防止公约指定名录内物种的非法国际贸易行为。
■公约条纹共**25**条，对于全世界濒危渐危物种贸易管制的原则，各会员国应采取的措施，会员国大会、国内立法的配合，公约的签署、修订、入会、争端解决等都有详细规定。

《国际重要湿地公约》

Convention on Wetlands of International Importance ,Especially as Waterfowl Habitat

1971 伊朗拉姆萨尔

- 公约的重点是重视特殊水鸟，加强湿地的保育及适当利用。
- 该公约共有12条条文，对于重要湿地名单的制定、管理计划的研究与执行、湿地自然保护区的设定、国际合作、会员大会的召开、会议代表的组成均有明文规定。

《世界文化及自然遗产保护公约》

Convention For the protection of the Word Cultue and Natual Heritage

1972 法国巴黎

公约共38条，主要目的在于保护世界主要遗产名册内的自然及文化地区，包括人类文化遗产、特殊生物群系、濒危动植物的栖息地。

《生物多样性公约》

Convention on Biological Diversity

1992 巴西

公约共42条，对生物多样性的保护和永续使用、监测、域内保育、域外保育、遗产资格的取得、生物技术的处理及其收益分配、缔约国会议、争端解决、签署、加入、退出等均有详细规定。

《区域性公约》

1992 布鲁塞尔

规定欧洲共同体各成员国应保育其辖内之濒临绝种的动植物及天然栖地，以维持生物多样性。

7.5.2 保护方法

中药资源的保护方法一般分为**就地保护、异地保护和离体保护**三种方法。

（一）就地保护

- 将中药资源及其自然环境就地维护起来。

可以使药用动、植物在已适应的环境中得以迅速恢复和发展，建立保护中国珍、稀、濒危和遭受严重破坏的中药资源的区域和研究、开发基地。

建立和完善中药资源保护区

- 中药资源保护区
- 中药资源综合研究保护区
- 中药资源珍稀濒危物种保护区
- 中药资源生产性保护区 →
  1. 轮采轮猎区
  2. 人工粗管散养（植）区
  3. 野转家种区

中药资源综合研究保护区

- 为中药资源绝对保护区，是供科研和教学而设置的综会性保护区。
- 要求选择未受或少受人为活动干扰的、具有国家保护意义的、中药资源丰富的地区，建立保护区。
- 其目的在于保持天然生态系统和丰富的药用种质资源，供科研和监测之用。保护面积取决于所要维护的生态系统和科研需要。保护区可单独建立，也可和自然保护区结合。
- 此类保护区一般不允许进行开发或旅游活动。

中药资源珍稀濒危物种保护区

- 为针对重要的药用物种而建立的绝对保护区。
- 保护区内可设有研究机构或研究设施。保护对象为具有国家保护意义的珍贵、稀少、濒临绝灭的重要中药资源。该区可在具有原始生态系统条件下或已开发的地区设置，保护手段除自然维护外，可结合人工种、养，借以扩大野生种群，恢复和发展中药资源。
- 此类保护区也不允许自由进行开发和旅游活动。

中药资源生产性保护区

- 这类保护区既可以在一定程度上维护自然生态系统，又能提供部分中药材产品，达到在保护中药资源的基础上，合理开发、利用中药资源的目的，实行合理控制、限量采猎，发展资源的保护原则。
- 此类保护区可分为：

1. 轮采轮猎区
2. 人工粗管散养（植）区
3. 野转家种区

1. 轮采轮猎区

根据药用动、植物资源的承受能力和中药材的合理采收季节划定的定时采猎保护地，

内容包括两个方面：

一是根据中药资源的生产能力制定合理的资源保护基数标准和开发指标。

二是根据中药材的采收季节，在保证药材质量的前提下，尽量避开药用动、植物的繁殖季节（包括动物的哺乳季节）、药用部位的成熟时间等易阻碍中药资源发展的阶段，划定的保护区。

2. 人工粗管散养（植）区

- 是一种带有人工维持和发展中药资源的保护区。
- 保护区可采取人工繁育，野外放养或种植、粗管等措施发展野生中药资源，当资源量达到一定指标时，适时适量采猎和挖掘。

3. 野转家种区

一种兼有保护、研究和开发性质的保护地，在维持野生药用资源的基础上，积极开展野生转家种、家养的研究试验，试验成功逐步推广生产。

除建立保护区以外，采用积极有效的生产性保护手段，正确评估中药资源利用量与再生量的关系，研究中药资源的可持续利用，将对中药资源起到重要的保护作用。

红柳林

梭梭林

如：新疆在肉苁蓉产地大力营造红柳林和梭梭林，发展肉苁蓉的寄主资源的同时，采用边挖边育、挖大留小等科学的采收方法。

（二）异地保护

- 异地保护又称迁地保护，即将濒危种类迁出其自然生长地，保存在保护区、动物园、植物园、苗圃、种植园内，变野生种类为家种家养种类。

- 通过引种、饲养，动物园和植物园不仅保护了许多珍、稀、濒危物种，且扩大了种源。

如：华南热带作物研究所引种药用植物坡垒、沉香和海南龙血树等，都取得了显著成效。

兴隆热带药用植物园
Xinglong Tropical Medicinal Botanical Garden
Way in

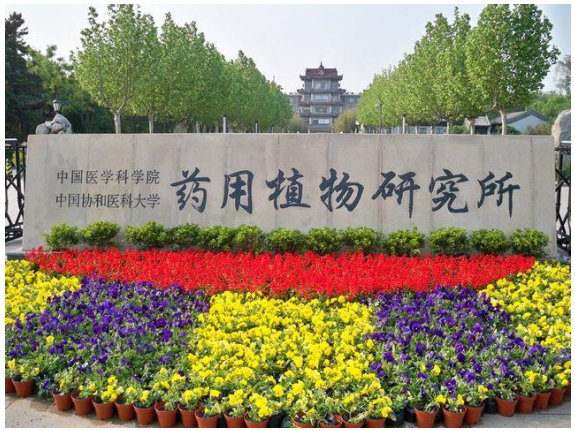
大山刘华
Dashan Liuhua
沉 香 大山苗木
www.dsmmc.com

沉香

海南龙血树

- 有些地区还建立了许多药用植物园或在植物园内设立了专门的药用植物苗圃。
- 如杭州药用植物园、中国医学科学院药用资源开发研究所植物园、四川南川药用植物场等，引种了许多有重要价值的药用植物，为研究异地引种、保护药用植物奠定了基础。

杭州药用植物园



中国医学科学院药用资源开发研究所植物园

四川南川药用植物场

- 发展大规模的种植业和养殖业，也是保护中药资源的重要途径。
- 如国内著名中药材川芎，现在江西、湖北、陕西、贵州、云南等地引种栽培，并形成了有些大的生产能力。
- 这表明中药材引种栽培、野转家种、家养的方法，不仅是发展药材生产的重要手段，也是异地保护中药资源的积极而又灵活的手段。

（三）离体保存

- 离体保护是目前生物种质保护的有些先进手段。
- 离体保护就是利用先进技术，保存并研究携带全部遗传信息的物质片段，即保存药用动、植物的某一部分器官、组织、细胞或原生质体等，以达到长时间保留药用动、植物的种质基因，巩固和发展中药资源的目的。
- 当前，采用离体保护的主要方法有：建立中药资源种质基因库和组织培养等。

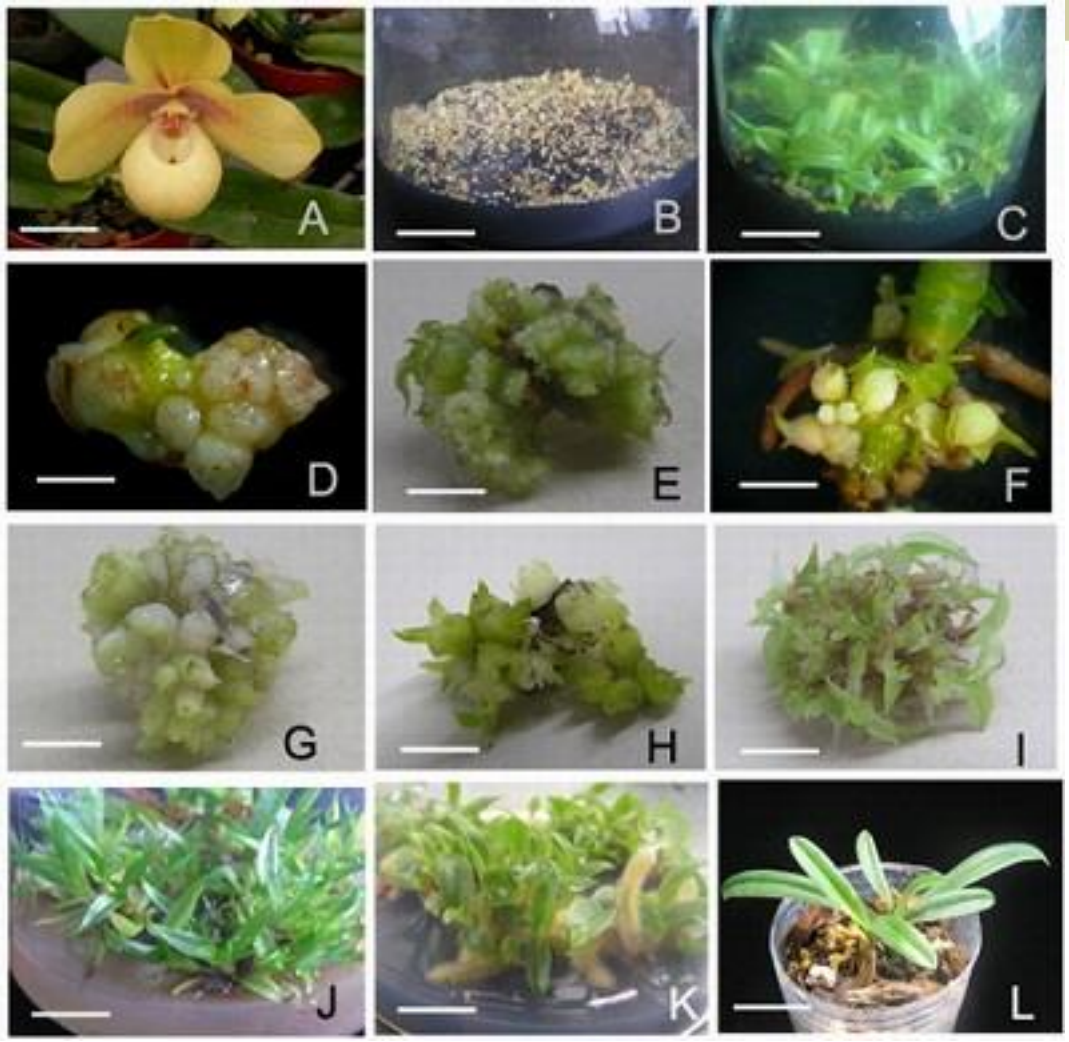
1）建立中药资源种质基因库

- 建立中药资源种质基因库，其直接作用就在于收集和保存药用动、植物遗传物质携　带体及其本身，免于毁灭性的破坏或造成基因流失。
- 建立中药资源基因库有利于保持优良药用种性和培育适合各种条件的优良品种，提供丰富的遗传资源和研究材料。
- 中国幅员广阔，多样性的地理环境，形成了各具特色的地道药材。这些药材的优良特性，主要是由内在的遗传特性所决定的。
- 长时间保存这种优良基因的载体，就可以不可以为研究和维持优良遗传种性提供先决条件。

例如，抗倒伏和抗病基因在药用植物上的应用，就是在掌握了大量优良基因的基础上，应用选育技术或高科技（如基因工程）实现的。

2）组织培养

- 组织培养是将动、植物体的某一部分器官、组织、细胞或原生质体，通过人工无菌离体培养，定向诱导分化获得产品的一种技术方法。
- 应用组织培养技术不仅使繁殖种群的速度加快，且能尽快实现野生物种的栽培养殖和人工育种。
- 应用组织培养技术，可以消除植株的病毒感染，培养无病毒植株，如山东用地黄茎尖培养无病毒植株获得成功。
- 中国非常多科研、生产单位开展了植物药的组织培养技术研究，取得了极其显著的成绩。



当归、紫背天葵（Begonia fimbristipula）、白芨、菊花、党参、延胡索、山楂、番红花、浙贝母、条叶龙胆、龙胆、绞股蓝、川芎、枸杞、厚朴、罗汉果、人参、三七、西洋参、半夏、桔梗、怀地黄、云南萝芙木、玄参、景天等药用植物的组织培养都取得了成功。

- 通过组织培养还可以直接生产药用成分或代谢中间产物，提取药用生理活性物质，开展工厂化大生产。
- 目前，已能从人参组织培养中获得有些高含量的人参皂甙；从喜树茎培养物中提取喜树碱。
- 组织培养还能从培养物中获得新的化合物或应用于生物转化。如在芸香组织培养中，发现合成和积累了芸香素（这是原植物无法检测到的新化合物）。

7.5.3 相应对策

- 正确对待国际社会的意见和批评
- 客观评价珍稀濒危中药材的疗效
- 加强科研，为保护立法和强化管理打下坚实的基础
- 坚持走可持续发展之路

- 正确对待国际社会的意见和批评

- 我国中医药记载和曾经使用过被视为野生动植物保护的物种，如犀牛角和虎骨等，招致了不同层次、不同来源的各种批评，乃至抨击。

- 诚然，在这众多的批评中，有不少是由于缺乏对我国传统医药的正确理解，缺乏基本知识及错误翻译所致。

- 对于中医药与野生动植物保护的关系，我们的态度是：我们加入和遵守CITES公约，我们现有的12000多种中草药中，有80%以上系以植物原产为基础制作而成，并且常用的种类均有栽培品种，仅有一小部分中成药含有动物药成分。
- 在利用及保护之间寻求一种平衡已成为我国传统医药事业发展的动力之一，野生动植物的保护已成为中医药发展不可缺少的重要组成部分。

- 客观评价珍稀濒危中药材的疗效

- 由于古代科学技术发展水平的局限以及目前条件的限制，部分珍稀濒危中药材缺乏必要的科学研究，对前人记载的功效不能进行客观评价。

- 我们应通过科学研究正确区分哪些是传统中医药中的精华，哪些是确有疗效，应当加以坚持开发；哪些因受眼前利益驱动，或悖谬误传，将会对未来的用药基础构成威胁。

- 遵循“保护为先，利用为后”或“保护与利益并重”的原则。

- 加强科研，为保护立法和强化管理打下坚实的基础

为了加强珍稀濒危重要资源的保护立法，健全相关的法律法规，加大执法力度，亟待开展以下科研工作。

1. 本底资料的调查工作
2. 珍稀濒危程度的量化标准
3. 中药材致濒原因的研究

- 坚持走可持续发展之路

在开展野生变家种，开发代用品的同时，积极开展以下工作，将为中药资源的可持续利用提供重要的保障。

1. 研究重点濒危物种的保护与生产技术
2. 考察评价各类自然保护区、植物园保护中药种质资源的成果和经验
3. 广泛宣传保护知识，提高全民资源保护意识
4. 编写“21世纪中药资源保护利用战略研究”文集，向国内外公开发行

7.6 药用植物种质资源分子育种研究

7.6.1 药用植物分子辅助育种概述

分子育种（molecular breeding），指在分子遗传学理论指导下，将现代生物技术手段整合于经典遗传育种方法中，进行综合表现型和基因型筛选，从而培育出优良新品种。

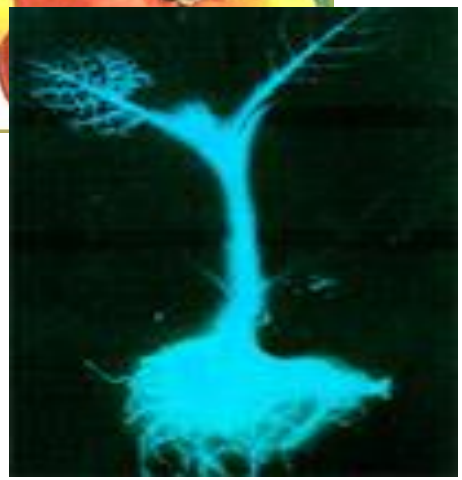
目前，植物分子育种包括基因工程育种、分子标记辅助育种和分子设计育种。其中，分子设计育种是以分子标记辅助育种为基础，结合计算机学、生物信息学、作物遗传学、生物统计学等多学科进行的系统研究。

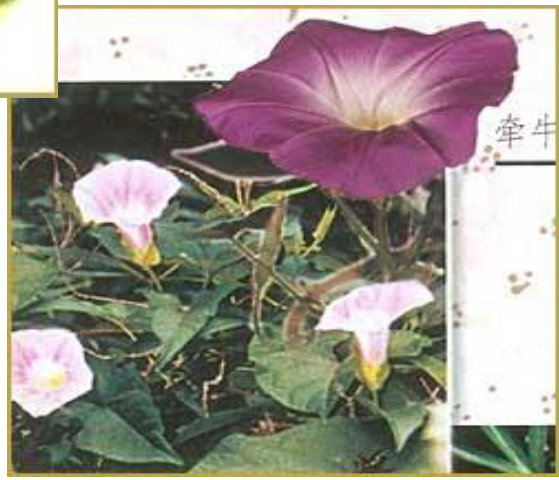
7.6.1.1 药用植物基因工程育种

基因工程又称基因拼接技术和DNA重组技术，是指将一种生物体（供体）的基因与载体在体外进行拼接重组，然后转入另一种生物体（受体）内，使之按照人们的意愿稳定的遗传并表达出新产物或新性状的DNA体外操作程序。

在植物育种中基因工程的应用主要是通过有重要经济意义的目的基因的分离、改造、利用，培育出具有改良的重要经济性状的工程植株，以及具有生物反应器功能的工程植株。

通过国家商品化生产或安全证书的有转基因耐贮藏番茄、转查尔酮合成酶基因矮牵牛、抗病毒甜椒、抗病毒番茄、抗病毒辣椒、抗虫棉花等6种我国自主研制的转基因植物。



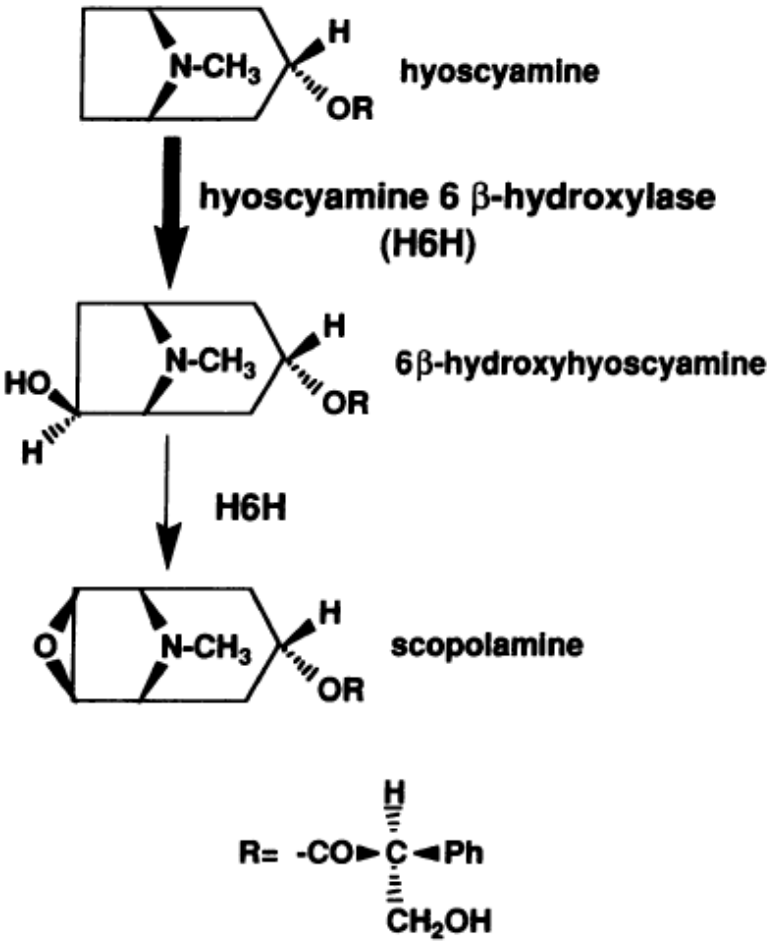


从1983年世界首例转基因植物培育成功以来，已经发展出多种转基因技术。根据转化方法是否借助载体，可以将各种外源遗传物质转移方法分为直接导入法、载体介导法两大类。

直接介导法

不需要转移载体，而是利用理化因素将外源基因直接导入植物的基因组中。

- 电激法
- 脉冲电泳法
- 离子束介导法
- 激光微束法
- 基因枪轰击法
- 微注射法

……

■1992年Yun等利用直接转化法，将莨菪（Hyos-cyamusniger L.）中分离得到的天仙子胺6B羧化酶基因（hyoscyamine 6β-hydroxylase gene）转入颠茄中，转基因植株产生了大量的东莨菪碱，改变了普通植株仅产生大量莨菪碱的情况。