

DOI: 10.14188/j.ajsh.20250315001

基于 SSR 和 ISSR 标记的鱼腥草遗传多样性分析

肖文韬^{1,2}, 王彬^{1,2}, 杨赛³, 董先婷^{1,2}, 刘燕利^{1,2}, 鄢珊^{1,2}, 吴方华⁴, 严守雷⁵,
刁英^{1,2*}, 胡中立^{2,6*}

(1. 武汉轻工大学 生命科学与技术学院, 湖北 武汉 430023;

2. 湖北恩施富硒资源野外科学观测研究站, 湖北 恩施 445023;

3. 华中科技大学 同济医学院附属协和医院护理部, 湖北 武汉 430022;

4. 当阳市两河镇农业服务中心, 湖北 当阳 444114;

5. 华中农业大学 食品科学技术学院, 湖北 武汉 430070;

6. 武汉大学 生命科学学院, 湖北 武汉 430072)

摘要: 鱼腥草作为一种重要的药食同源植物, 其种质资源丰富, 但近五年来关于其遗传多样性的系统性研究较为匮乏, 尤其是利用 SSR 分子标记的研究相对不足, 这限制了鱼腥草品种改良和资源保护工作的进展。为解决这一问题, 采用 SSR 和 ISSR 两种分子标记, 对中国 8 个省级行政区 10 个地理居群的 140 份鱼腥草样本进行遗传多样性分析。结果显示, SSR 标记的多态性位点比例为 94.20%, ISSR 标记为 93.20%, 表明鱼腥草具有较高的遗传多样性。遗传分化与基因流表明, 鱼腥草的遗传变异主要存在于居群间, 遗传分化系数分别为 0.9508 和 0.8903, 基因流较低, 表明地理隔离可能是导致遗传分化的主要原因。聚类分析和主成分分析结果显示, 部分居群(如四川绵阳和成都、广东茂名和贵州六枝)表现出较近的遗传距离, 而其他居群的遗传距离与地理位置的关联性不明显。研究结果为鱼腥草的种质资源保护、育种提供了参考。

关键词: 鱼腥草; 简单序列重复; 简单重复序列间区; 遗传多样性

中图分类号: R282.71

文献标志码: A

文章编号: 2096-3491(2025)03-0259-11

Genetic diversity analysis of *Houttuynia cordata* Thunb. based on SSR and ISSR markers

Xiao Wentao^{1,2}, Wang Bin^{1,2}, Yang Sai³, Dong Xianting^{1,2}, Liu Yanli^{1,2}, Yan Shan^{1,2}, Wu Fanghua⁴,
Yan Shoulei⁵, Diao Ying^{1,2*}, Hu Zhongli^{2,6*}

(1. College of Life Sciences and Technology, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, Hubei, China;

2. Hubei Enshi Selenium-rich Resources Field Scientific Observation and Research Station, Enshi 445023, Hubei, China;

3. Nursing Department of Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei, China; 4. Hubei Dangyang Agricultural Service Center of Lianghe Town, Dangyang 444114, Hubei, China;

5. College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, Hubei, China;

6. College of Life Science, Wuhan University, Wuhan 430072, Hubei, China)

Abstract: *Houttuynia cordata* is an important medicinal and edible plant with abundant germplasm resources. However, systematic studies on its genetic diversity have been relatively scarce in the past five years, particularly those utilizing SSR molecular markers, which has hindered progress in variety improvement and resource conservation. To ad-

收稿日期: 2025-03-15 修回日期: 2025-04-30 接受日期: 2025-06-09

作者简介: 肖文韬(1997-), 男, 硕士生, 主要从事植物资源开发与生物技术利用, E-mail: xiaowentao63@qq.com

* 通讯联系人: 刁英(1978-), 女, 教授, 主要从事植物遗传育种、植物资源生物学与生物技术研究, E-mail: yingdiao@whpu.edu.cn; 胡中立(1961-), 男, 教授, 主要从事植物遗传育种与生物技术研究, E-mail: huzhongli@whu.edu.cn

基金项目: 武汉轻工大学人才引进科研启动基金(2021RZ099)

引用格式: 肖文韬, 王彬, 杨赛, 等. 基于 SSR 和 ISSR 标记的鱼腥草遗传多样性分析[J]. 生物资源, 2025, 47(3): 259-269.

Xiao Wentao, Wang Bin, Yang Sai, et al. Genetic diversity analysis of *Houttuynia cordata* Thunb. based on SSR and ISSR markers [J]. Biotic Resources, 2025, 47(3): 259-269.

dress this issue, this study employed both SSR and ISSR markers to analyze the genetic diversity of 140 *H. cordata* samples collected from 10 geographic populations across eight provincial-level administrative regions in China. The results revealed a high proportion of polymorphic loci, with SSR and ISSR markers showing rates of 94.20% and 93.20%, respectively, indicating high genetic diversity in *H. cordata*. Genetic differentiation and gene flow analysis demonstrated that the majority of genetic variation existed among populations, with genetic differentiation coefficients (GST) of 0.9508 (SSR) and 0.8903 (ISSR) and low number of migrants (Nm), suggesting that geographic isolation may be the primary driver of population differentiation. Cluster analysis and principal component analysis (PCA) further revealed close genetic relationships between certain populations (e. g., Mianyang and Chengdu in Sichuan; Maoming in Guangdong and Liuzhi in Guizhou), while the genetic distances of other populations showed no obvious correlation with geographic distribution. These findings provide valuable insights for the conservation and breeding of *H. cordata* germplasm resources.

Key words: *Houttuynia cordata*; simple sequence repeats (SSR); inter-simple sequence repeat (ISSR); genetic diversity

0 引言

蕺菜(*Houttuynia cordata* Thunb.)俗称鱼腥草、侧耳根等,属双子叶植物三白草科(Saururaceae)蕺菜属(*Houttuynia*)腥臭草本,喜阴凉潮湿,在山野、田间及水沟都可见其生长,广泛分布于中国中部、东南及西南地区^[1]。鱼腥草作为中草药有悠久的历史,在《本草纲目》《名医别录》等中药著作中均有记载:味辛,性微寒,有小毒;可清热解毒,利尿消肿,治肺炎,肺脓疡等^[2]。在现代研究中,人们发现鱼腥草还具有抗菌、抗炎、抗病毒、抗肿瘤、抗辐射、增强免疫功能等作用^[3]。在《中华人民共和国药典》(2020版)中有近20种以鱼腥草作为主要成分的中草药制剂^[4],甚至被称为“天然第一抗生素”^[5]。中国食用鱼腥草的历史最早可追溯到春秋战国时期,在《吴越春秋》记载,曰:“越王从尝粪恶之后,遂病口臭,范蠡乃令左右皆食苺草,以乱其气。”南北朝诗人谢灵运《山居赋》记载:“畦町所艺,含蕊藉芳,蓼蕺蓼芥,葑菲苏姜。”可见当时已有地区将鱼腥草作为一种时蔬食用^[6]。

2021年11月10日,在国家卫生健康委发布“关于印发《按照传统既是食品又是中药材的物质目录管理规定》的通知”中,鱼腥草作为一种药食同源植物,包含在既是食品又是药品的中药名单中^[7]。湖北省当阳市被誉为“中国鱼腥草之乡”,其种植面积达到2.5万亩、年产量约13万吨,年产值超过5亿元^[8-9]。近年来,贵州省遵义市鱼腥草种植面积达到1.4万亩,每亩经济效益约为9千到1.2万元^[10]。在广西壮族自治区全州县,通过与制药公司合作,来加快当地鱼腥草产业的发展,目前全村集体收入共计10万元^[11]。然而目前鱼腥草栽培以地方农家品种为主,关于鱼腥草种质资源的基础研究较为滞后,阻碍了鱼腥草品种的选育。

DNA分子标记是一种基于DNA序列遗传变异的技术,将生物体内遗传物质的差异(DNA长度、序列差异)作为一种用于检测的标记,从而实现对种质资源的鉴定或育种^[12]。该技术的发展历程可追溯至20世纪80年代,随着分子生物学领域的突破性进展,分子标记技术经历了从简单到复杂、从低效到高效的显著演变。其中,简单序列重复(simple sequence repeats, SSR)是一种由1~6个核苷酸组成的短串联重复序列,由于不同物种基因组中重复单元数量的变化,使其具有高度多态性,目前常用于遗传图谱的构建、亲缘关系及遗传多样性分析等^[13]。简单重复序列间区(inter-simple sequence repeat, ISSR)是一种基于微卫星的分子标记技术,其引物设计无需基因组序列信息,因其操作方便、多态性好、重复性好的优点,目前也常被用于种质资源鉴定、遗传图谱的构建及遗传多样性分析等领域^[14]。

因此,本研究利用SSR与ISSR分子标记,解析不同省份的鱼腥草种质资源群体内及群体间的遗传关联及亲缘关系,为鱼腥草种质资源育种栽培、品种鉴别及保护提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究样本涵盖中国8个省级行政区(包括云南、四川、贵州等主产区)的10个地理居群。采样点覆盖中国东、中、西部三大地理区域,所选居群分布于平原、丘陵、山地等多种地形单元,以确保样本具有广泛的地理及生态代表性;同时优先选择鱼腥草传统种植区(如四川和贵州地区)以及具有地方特色的栽培品种(如湖北当阳“长坂坡1号”)。采用系统抽样,以3m为最小采样间距设置采样点,降低采集到克隆样本的概率,每个地理居群按14份个体样本

($n=14$)进行采集,共获取140份鱼腥草试验材料(表1),将其新鲜叶片装于硅胶中干燥,贴好标签,记录备用。

1.2 方法

1.2.1 DNA提取

利用天根生化科技(北京)有限公司植物基因组提取试剂盒(DP305-03)对充分干燥的鱼腥草叶片进行DNA提取,提取步骤按说明书进行。将提取所得的DNA溶液利用1%的琼脂糖凝胶电泳(JY-CX2B型测序电泳槽及JY-300C型通用电泳仪电源,北京君意东方电泳设备有限公司)检验质量,同时通过分光光度计(NanoDrop 2000)检测DNA的质量和浓度。检验合格的DNA溶液存放在 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的冰箱中备用。

1.2.2 SSR分子标记扩增

根据实验室对长坂坡1号鱼腥草测序结果进行分析,以Krait 1.5^[15]设计SSR引物,引物由奥科生物科技(武汉)有限公司合成。随机挑选50对引物,最终筛选出6对具备良好重复性且条带清晰的SSR引物(详见表2),以供后续分析使用。PCR扩增使用的2×TSINGKE Master Mix购于北京擎科生物科技股份有限公司。PCR反应(A200,杭州朗基科学仪器有限公司)在10 μL 反应体系中进行,包括:模板DNA 1.5 μL (20 ng/ μL),正向引物0.5 μL (10 mmol/L),反向引物0.5 μL (10 mmol/L),2×TSINGKE Master Mix 5.0 μL , ddH₂O 2.5 μL 。扩增程序:94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性5 min,94 $^{\circ}\text{C}$ 变性30 s,52~60 $^{\circ}\text{C}$ 退火50 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸1 min,共循环36次,然后72 $^{\circ}\text{C}$ 后延伸10 min,最后在4 $^{\circ}\text{C}$ 下保温。将PCR产物用6%的聚丙烯酰胺凝胶电泳(JY-CX2B型测序电泳槽及JY-300E型通用电泳仪电源,北京君意东方电泳设备有限公司)进行分离,采用银染法

染色。

针对SSR扩增片段展开统计工作,当存在条带时,将其标记为“1”;而当不存在条带时,便标记为“0”。将这些标记加以整理,构建出二元矩阵(1/0)。此二元矩阵中一共包含了69个条带(表2),后续将利用二元矩阵开展数据分析工作。

1.2.3 ISSR分子标记扩增

选用哥伦比亚大学(University of British Columbia Biotechnolgy, UBC)设计的100条ISSR引物进行PCR扩增,引物由奥科生物科技(武汉)有限公司合成,最终筛选出7条具备良好重复性且条带清晰的ISSR引物(详见表3),以供后续分析使用。PCR扩增使用的2×TSINGKE Master Mix购于北京擎科生物科技股份有限公司。PCR反应(A200,杭州朗基科学仪器有限公司)在10 μL 反应体系中进行,包括:模板DNA 1.5 μL (20 ng/ μL),ISSR引物1.0 μL (10 mmol/L),2×TSINGKE Master Mix 5.0 μL , ddH₂O 2.5 μL 。扩增程序:94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性5 min,94 $^{\circ}\text{C}$ 变性30 s,46~50 $^{\circ}\text{C}$ 退火50 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸1 min,共循环36次,然后72 $^{\circ}\text{C}$ 后延伸10 min,最后4 $^{\circ}\text{C}$ 下保温。将PCR产物用6%的聚丙烯酰胺凝胶电泳(JY-CX2B型测序电泳槽及JY-300E型通用电泳仪电源,北京君意东方电泳设备有限公司)进行分离,采用银染法染色。

针对ISSR扩增片段进行统计,当存在条带时,将其标记为“1”;不存在条带时,标记为“0”。将这些标记加以整理,从而构建出二元矩阵(0/1)。此二元矩阵中一共包含了103个条带(表3),后续将利用二元矩阵开展数据分析工作。

1.2.4 数据分析

将0/1矩阵转化为文本格式后,使用POP-GENE 1.32和Excel 2021进行遗传多样性分析,包

表1 鱼腥草采样信息

Table 1 Sampling information of *Houttuynia cordata*

序号	编号	采样地点	采样时间	经纬度	样本数
1	DY	湖北省当阳市两河镇长坂坡1号鱼腥草	2024-08-01	30°41'51.62"N, 111°55'55.52"E	14
2	CD	四川省成都市新津区鱼腥草	2024-06-16	30°24'58.89"N, 103°49'2.77"E	14
3	HS	安徽省黄山市歙县鱼腥草	2024-10-22	29°59'59.93"N, 118°19'44.27"E	14
4	MY	四川省绵阳市安州区鱼腥草	2024-10-22	31°32'26.71"N, 104°34'24.80"E	14
5	JY	广东省揭阳市揭东区鱼腥草	2024-10-21	23°34'20.92"N, 116°25'6.44"E	14
6	TN	福建省三明市泰宁县鱼腥草	2024-10-22	26°54'20.35"N, 117°10'57.35"E	14
7	GH	四川省德阳市广汉市鱼腥草	2024-10-23	30°58'56.69"N, 104°17'18.31"E	14
8	CZ	江苏省常州市钟楼区鱼腥草	2024-10-24	31°46'51.63"N, 119°55'0.98"E	14
9	LZ	贵州省六盘水市六枝特区鱼腥草	2024-10-29	26°12'53.54"N, 105°30'29.59"E	14
10	MM	广东省茂名市高州市鱼腥草	2024-10-28	21°57'2.40"N, 110°52'4.62"E	14

表2 试验所用SSR引物信息
Table 2 Information of SSR primers used in this study

编号	引物	序列(5'-3')	退火温度/°C	条带数	多态性条带数	多态性条带百分比/%
1	Y6F-8-F	CAT GGT CTC CCT TCG CTA CG	58	10	10	100.00
	Y6F-8-R	AGG AGA GAA TTT GAG GCG GG	58			
2	Y6F-14-F	TCC ATC CCG AAT GTC AAC CC	52	11	11	100.00
	Y6F-14-R	GTT GAT ACC GGG GTT CCA GC	52			
3	Y6F-15-F	TCC CGC AGT GTC TTT TCC C	58	13	13	100.00
	Y6F-15-R	GAA CTT TGC CAG CTG ACA GG	58			
4	Y6F-25-F	AAT TTC TGA CAG CCT GCC CG	54	9	9	100.00
	Y6F-25-R	AGA AAA AGT GGG TCT GCG GG	54			
5	Y6F-27-F	AGC TGA TCC GCC ATT TCT CC	54	11	11	100.00
	Y6F-27-R	TTT CCC CTT CTT TCG AGC CG	54			
6	Y6F-34-F	CGA TCT CTT TTG GCG CTT CC	58	15	15	100.00
	Y6F-34-R	GGA CGA ACA TGT TTC TGA GAG G	58			
平均				11.50	11.50	100.00
总计				69	69	

表3 试验所用ISSR引物信息
Table 3 Information of ISSR primers used in this study

编号	引物	序列(5'-3')	退火温度/°C	条带数	多态性条带数	多态性条带百分比/%
1	UBC-807	AGA GAG AGA GAG AGA GT	48	19	19	100.00
2	UBC-812	GAG AGA GAG AGA GAG AA	48	19	18	94.74
3	UBC-813	CTC TCT CTC TCT CTC TT	48	7	6	85.71
4	UBC-822	TCT CTC TCT CTC TCT CA	48	9	8	88.89
5	UBC-835	AGA GAG AGA GAG AGA GYC	50	23	22	95.65
6	UBC-844	CTC TCT CTC TCT CTC TRC	50	15	15	100.00
7	UBC-868	GAA GAA GAA GAA GAA GAA	46	11	11	100.00
平均				14.71	14.14	95.00
总计				103	99	

括多态性位点比例(proportion of polymorphic loci, PPL)是衡量群体遗传多样性的基础指标之一,其计算公式为:

$$PPL = \frac{n_p}{n} \quad (1)$$

式中, n 为所检测的位点总数; n_p 为其中呈现多态性的位点数。该指标通过量化多态位点的相对丰度反映遗传多样性水平,PPL值域范围与遗传多样性呈正相关关系。

观测等位基因数(observed number of alleles, N_o),通过计算群体内各基因座等位基因数的算术均值来表征等位基因多样性(allelic diversity, \bar{N}_a),其计算公式为:

$$N_a = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n a_i \quad (2)$$

式中, a_i 代表第*i*个位点的等位基因数。当 \bar{N}_a 的值越

大,表明群体内各基因座可检测的等位基因数量增加,进而显示更高的遗传多样性水平。

有效等位基因数(effective number of alleles, N_e),通过修正频率偏差提供了更精确的遗传多样性评估,其计算基于群体纯合度的倒数原理,其计算公式为:

$$N_e = \frac{1}{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^{a_i} P_{ij}} \quad (3)$$

式中, P_{ij} 表示第*i*个等位基因的频率。 N_e 的值趋近 \bar{N}_a 时,意味着各等位基因频率越接近,说明该群体具有更高的遗传多样性水平。

Nei氏遗传多样性指数(Nei's gene diversity index, H),通过等位基因频率的平方和计算遗传变异程度其计算公式为:

$$H = 1 - \sum_{i=1}^n P_i^2 \quad (4)$$

式中, P_i 表示特定等位基因的频率; n 为群体中基因座的总数。该指标的取值范围在 0 到 1 之间, 数值越大表明其遗传多样性水平越高。

香农多样性指数 (Shannon's information index, I) 基于信息熵理论构建, 适用于显性标记数据的遗传多样性评估, 其计算公式为:

$$I = - \sum_{i=1}^r p_i \ln p_i \quad (5)$$

式中, r 表示群体中所有基因座的总等位基因数, 当各等位基因频率均等时 (即 $p_i = \frac{1}{r}$), 此时 I 有最大值

$I_{\max} = -\ln \frac{1}{r}$ 。 I 越大, 其遗传多样性越高。

后续再评估群体遗传分化程度时, 计算群体间遗传分化指数 (fixation index, F_{ST}), 当物种存在具有基因交流的亚群体时, 基于单一位点双等位基因模型, 定义 $q_{k(i)}$ 为第 k 个亚群体中第 i 个等位基因的实际频率 ($i=1, 2$), ω_k 为各亚群体在总群体中的权重系数 ($\sum \omega_k = 1$), 则总群的等位基因频率均值可表达为:

$$\bar{q}_i = \sum_{k=1}^s \omega_k q_{k(i)}^2 \quad (6)$$

在此基础上, 分别构建亚群体内杂合度期望值 (H_S) 与总群体杂合度期望值 (H_T):

$$H_S = 1 - \sum_{i=1}^2 \sum_{K=1}^s \omega_K q_{K(i)}^2, H_T = 1 - \sum_{i=1}^2 \bar{q}_i^2 \quad (7)$$

遗传分化指数 F_{ST} 通过量化群体结构对杂合度的影响来表征遗传分化强度, 其公式为:

$$F_{ST} = \frac{H_T - H_S}{H_T} \quad (8)$$

当 F_{ST} 趋近于 0 时, 表明亚群体间遗传同质化程度高 ($H_S \approx H_T$), 当 F_{ST} 趋近于 1 时, 则反映亚群体间存在显著的遗传隔离。

遗传分化系数 (differentiation index, G_{ST}), 假设某物种存在 s 个亚群体, 目标基因座具有 r 个等位基因, 定义 q_{ki} 为第 k 个亚群体中第 i 个等位基因的实际频率 ($k=1, 2, \dots, s; i=1, 2, \dots, r$), 表示各亚群体权重 ($\sum \omega_k = 1$)。基于此, 亚群体内杂合度期望值 (H_S) 与总群体杂合度期望值 (H_T) 可分别表示为:

$$H_S = 1 - \sum_{k=1}^s \omega_k \left(\sum_{i=1}^r q_{k(i)}^2 \right) \quad (9)$$

$$H_T = 1 - \sum_{i=1}^r \left(\sum_{k=1}^s \omega_k q_{k(i)} \right)^2 = H_S + D_{ST} \quad (10)$$

式中, D_{ST} 表示亚群体间遗传变异对总变异的贡献度。遗传分化系数为:

$$G_{ST} = \frac{D_{ST}}{H_T}; H_T = H_S + D_{ST} \quad (11)$$

G_{ST} 和 F_{ST} 具有同源性, 当 $r=2$ 时, $G_{ST} = F_{ST}$, 其在 0 到 1 之间, 其值越接近 1, 则群体间分化程度越大。

基于岛屿模型 (island model) 的基因流估算方法, 揭示了群体间遗传交换与遗传分化间的定量关系。群体间基因流 (number of migrants, N_m) 是为不同群体间每世代迁移个体的有效数量, 其经典估算公式可表示为:

$$N_m = \frac{1 - F_{ST}}{4F_{ST}} \quad (12)$$

该公式的核心为假设无限等位基因模型与对称迁移模型。而针对复等位基因系统, 引入遗传分化系数 (G_{ST}) 推导出修正公式:

$$N_m = \frac{1 - G_{ST}}{2G_{ST}} \quad (13)$$

遗传漂流 (genetic drift) 与基因流的拮抗效应是岛屿模型的核心预测。当 $N_m=1$ 时, 迁移产生的基因交换强度恰好可平衡遗传漂流引起的群体分化。因此 $N_m=1$ 被当做确立基因流强度的分类基准, 若 $N_m > 1$, 表明群体间存在足以维持遗传同质化的强基因流; 反之, 若 $N_m < 1$, 则预示遗传漂流主导亚群体分化进程。

评估遗传分化程度^[16-18]。采用 GenAlEx 6.5 计算样本间 Nei 氏遗传距离, 利用分子方差分析量化居群间、个体间及个体内的遗传变异比例, 并获取分化系数等参数, 并对所有样本进行主成分分析 (PCA)^[19]。使用 MEGA X 软件的非加权组平均法 (unweighted pair-group method with arithmetic means, UPGMA) 进行聚类分析, 通过 iTOL 7.1 在线平台对聚类结果进行可视化处理和注释优化^[20-21]。

2 结果与分析

2.1 遗传多样性分析

本试验采用 SSR 与 ISSR 分子标记, 对 10 个居群共计 140 份样品进行基因分型, 从扩增产物中选择条带清晰且重复性好的位点进行统计, 分别得到 69 个与 103 个条带 (图 1 和图 2)。所有引物的多态性条带百分率在 85%~100%。SSR 引物的平均条带数为 11.50, 平均多态性条带数为 11.50, 平均多态性条带百分率为 100.00% (表 2); ISSR 引物的平均条带数是 14.71, 平均多态性条带数为 14.14, 平

均多态性条带百分率为95.00%(表3)。

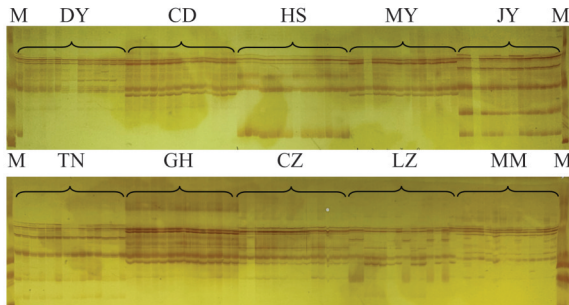


图1 引物Y6F-8扩增图谱

Figure 1 Amplification pattern of primer Y6F-8

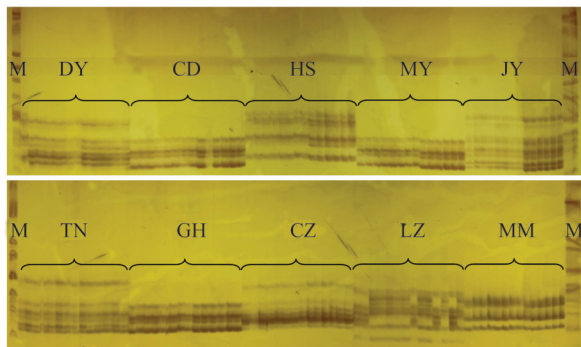


图2 引物UBC-868扩增图谱

Figure 2 Amplification pattern of primer UBC-868

将位点信息导入POPGENE 1.32中进行遗传多样性分析,其中利用SSR分子标记所获得的结果中,PPL为94.20%, N_a 为 1.9420 ± 0.2354 , N_e 为 1.6269 ± 0.3359 , H 为 0.3546 ± 0.1536 , I 为 0.5224 ± 0.1972 ;其中利用ISSR分子标记所获得的结果中,PPL为93.20%, N_a 为 1.9320 ± 0.2529 , N_e 为 1.6336 ± 0.3182 , H 为 0.3598 ± 0.1483 , I 为 0.5284 ± 0.1949 ;将SSR与ISSR两组数据整合,进行遗传多样性分析,其结果为:PPL为93.60%, N_a 为 1.9360 ± 0.2454 , N_e 为 1.6309 ± 0.3245 , H 为 0.3577 ± 0.1500 , I 为 0.5260 ± 0.1952 (表4)。 H 和 I 是研究种质资源遗传多样性中重要的参考指标^[22]。结果表明,供试的鱼腥草具有较丰富的遗传

多样性。

2.2 遗传分化与基因流

对供试的10个居群鱼腥草之间的分化程度进行分析,SSR分子标记的结果表明,在所有居群间, H_T 为 0.3546 ± 0.0236 , H_S 为 0.0174 ± 0.0006 , G_{ST} 为 0.9508 , N_m 为 0.0259 ;ISSR分子标记的结果表明,在所有居群间, H_T 为 0.3598 ± 0.0220 , H_S 为 0.0395 ± 0.0021 , G_{ST} 为 0.8903 , N_m 为 0.0616 ;将SSR与ISSR两组数据整合,所得结果表明,在所有居群间, H_T 为 0.3577 ± 0.0225 , H_S 为 0.0306 ± 0.0016 , G_{ST} 为 0.9144 , N_m 为 0.0468 (表5)。方差分析表明,无论使用哪种分子标记,供试鱼腥草的遗传变异主要存在于居群间,在不同分子标记中,其分别占总变异的93%、89%和92%(表6)。遗传分化结果表明,供试鱼腥草具有较高的遗传分化但基因流较低,这可能是不同居群的地理隔离所导致的,而方差分析进一步验证了这一猜想。

2.3 聚类分析

基于Nei氏遗传距离构建的UPGMA聚类树(图3),不同分子标记所构建的聚类树也并不一致,但从中也能发现一个共同点,不论哪种分子标记分析,MY(四川绵阳)和CD(四川成都)、MM(广东茂名)和LZ(贵州六枝)、CZ(江苏常州)和GH(四川广汉),每组都可聚类在一起,而DY(湖北当阳)、HS(安徽黄山)、TN(福建泰宁)、JY(广东揭阳)每次聚类结果都有所不同。

基于Nei氏遗传距离的PCoA分析(图4),虽然结果并不相同,但大体上每个居群基本都可以较好地聚在一起,同时MY(四川绵阳)和CD(四川成都)、MM(广东茂名)和LZ(贵州六枝)、CZ(江苏常州)和GH(四川广汉)3组展示出的结果与UPGMA聚类树类似,都是成组聚集在一起。综合以上结果,尽管MY(四川绵阳)和CD(四川成都)、MM(广东茂名)和LZ(贵州六枝)两组表明鱼腥草居群间遗传距离越近,其地理位置也越近,而CZ(江苏常州)和GH(四川广汉)尽管地理距离较远,但却聚为一组,

表4 鱼腥草遗传多样性

Table 4 Genetic diversity of *Houttuynia cordata*

分子标记	引物数	多态位点数	PPL/%	$N_a(\pm SD)$	$N_e(\pm SD)$	$H(\pm SD)$	$I(\pm SD)$
SSR	6对	65	94.20	$1.9420(\pm 0.2354)$	$1.6269(\pm 0.3359)$	$0.3546(\pm 0.1536)$	$0.5224(\pm 0.1972)$
ISSR	7个	96	93.20	$1.9320(\pm 0.2529)$	$1.6336(\pm 0.3182)$	$0.3598(\pm 0.1483)$	$0.5284(\pm 0.1949)$
SSR+ISSR	13	161	93.60	$1.9360(\pm 0.2454)$	$1.6309(\pm 0.3245)$	$0.3577(\pm 0.1500)$	$0.5260(\pm 0.1952)$

PPL, 多态位点比例; N_a , 观测等位基因数; N_e , 有效等位基因数; H , Nei氏遗传多样性指数; I , 香农多样性指数

PPL, proportion of polymorphic loci; N_a , observed number of alleles; N_e , effective number of alleles; H , Nei's gene diversity index; I , Shannon's diversity index

表 5 鱼腥草遗传分化统计
Table 5 Statistics for genetic differentiation among populations of *Houttuynia cordata*

分子标记	样本数量	$H_T(\pm SD)$	$H_S(\pm SD)$	G_{ST}	N_m
SSR	140	0.354 6 (± 0.023 6)	0.017 4 (± 0.000 6)	0.950 8	0.025 9
ISSR	140	0.359 8 (± 0.022 0)	0.039 5 (± 0.002 1)	0.890 3	0.061 6
SSR+ISSR	140	0.357 7 (± 0.022 5)	0.030 6 (± 0.001 6)	0.914 4	0.046 8

H_T , 总遗传多样性; H_S , 居群内平均遗传多样性; G_{ST} , 分化指数; N_m , 群体间基因流

H_T , total genetic diversity; H_S , average genetic diversity within populations; G_{ST} , differentiation index; N_m , number of migrants

推测可能是两地通过人工引种或商业流通共享了相同的种质资源, 导致遗传相似性高。

3 讨论

分子标记技术主要基于 DNA 序列的遗传变异特征, 通过检测生物体内遗传物质的差异(如 DNA 长度、序列多态性)建立可识别标记, 为种质资源鉴定、指纹图谱构建及辅助育种提供技术手段^[23,24]。SSR 分子标记属于共显性标记, 其扩增产物通常具有较高分辨率, 并能提供丰富的遗传信息, 但其应用依赖于已知 SSR 位点的序列信息, 需预先开发特异性引物; 相比之下, ISSR 分子标记作为显性标记, 具有操作便捷、成本较低的优势, 其通用引物在一定程度上可跨物种使用, 但重复性易受实验条件影响^[25]。本研究采用 SSR 与 ISSR 两种分子标记对全国 10 个鱼腥草居群进行遗传多样性分析, 结果显示: SSR 标记多态性位点比例达 94.20%, 多态性条带检出率

为 100.00%; ISSR 标记多态性位点比例为 93.20%, 多态性条带百分率为 95.00%, 表明 SSR 标记对于鱼腥草具有更多的多态性。这一研究结果与苜蓿、大豆及白扁豆中的研究结果一致。有研究采用 ISSR 和 SSR 分子标记对 30 份苜蓿材料进行遗传多样性分析, 发现 SSR 标记的遗传多样性指数普遍高于 ISSR 标记, SSR 标记可能在苜蓿多态性检测中具有更高灵敏度^[26]。类似地, 另一项研究利用大豆 SSR 和 ISSR 标记对 64 份豆类材料进行分析, 数据显示, SSR 标记对崇明白扁豆亲缘关系显示出更强的区分能力^[27]。此外在印度番荔枝研究中, 其 SSR 标记多态性条带百分率(83.72%)显著高于 ISSR 标记(75.43%)^[28]。然而, 在其他部分物种中, ISSR 的多态性要高于 SSR。例如, 杂交野大麦新品系中 ISSR 标记在该物种中检测到更高的多态性水平^[29]。对菜豆的遗传多样性分析显示, SSR 与 ISSR 标记的多态性比率分别为 75% 和 82.1%, ISSR 标记可能更适用于该物种的多态性检测^[30]。值得注意的是, 在叙利亚桑属植物研究中发现, ISSR 标记检测到的多态性(90.31%)显著超过 SSR 标记(68.05%)^[31]。这些差异可能源于物种间基因组特性的不同。由于 SSR 分布密度、重复单元类型及侧翼序列保守性在不同物种中存在显著变异, 对于富含高度变异微卫星位点的物种, SSR 标记更易捕获多态性信号; 反之, 当基因组重复间隔区(ISSR 靶向区域)呈现较大变异时, ISSR 标记可能更具技术优势。与已有研究相比, SSR 标记在鱼腥草中展现出更优的多态性检测能力, 而 ISSR 标记的通用性优势为大规模资源初筛提供了成本效益方案。

目前也有许多研究利用分子标记对鱼腥草遗传多样性进行分析, 揭示了其种质资源在分子水平上的丰富变异及其与地理分布存在一定的关联。有研

表 6 鱼腥草居群内和居群间的分子方差分析(AMOVA)
Table 6 Analysis of molecular variance (AMOVA) within and among *Houttuynia cordata* populations

分子标记类型	变异来源	自由度(df)	离均差平方和(SS)	均方(MS)	估计的方差组分	变异系数/%	群体间遗传分化指数(F_{ST})	零假设概率(P)
SSR	居群间	9	781.586	86.843	6.168	93	0.926	0.001
	居群内	130	64.429	0.496	0.496	7		
	总计	139	846.014		6.663	100		
ISSR	居群间	9	1 168.521	129.836	9.196	89	0.894	0.001
	居群内	130	141.357	1.087	1.087	11		
	总计	139	1 309.879		10.284	100		
SSR+ISSR	居群间	9	2 532.793	281.421	19.979	92	0.921	0.001 0
	居群内	130	222.786	1.714	1.714	8		
	总计	139	2 755.579		21.693	100		

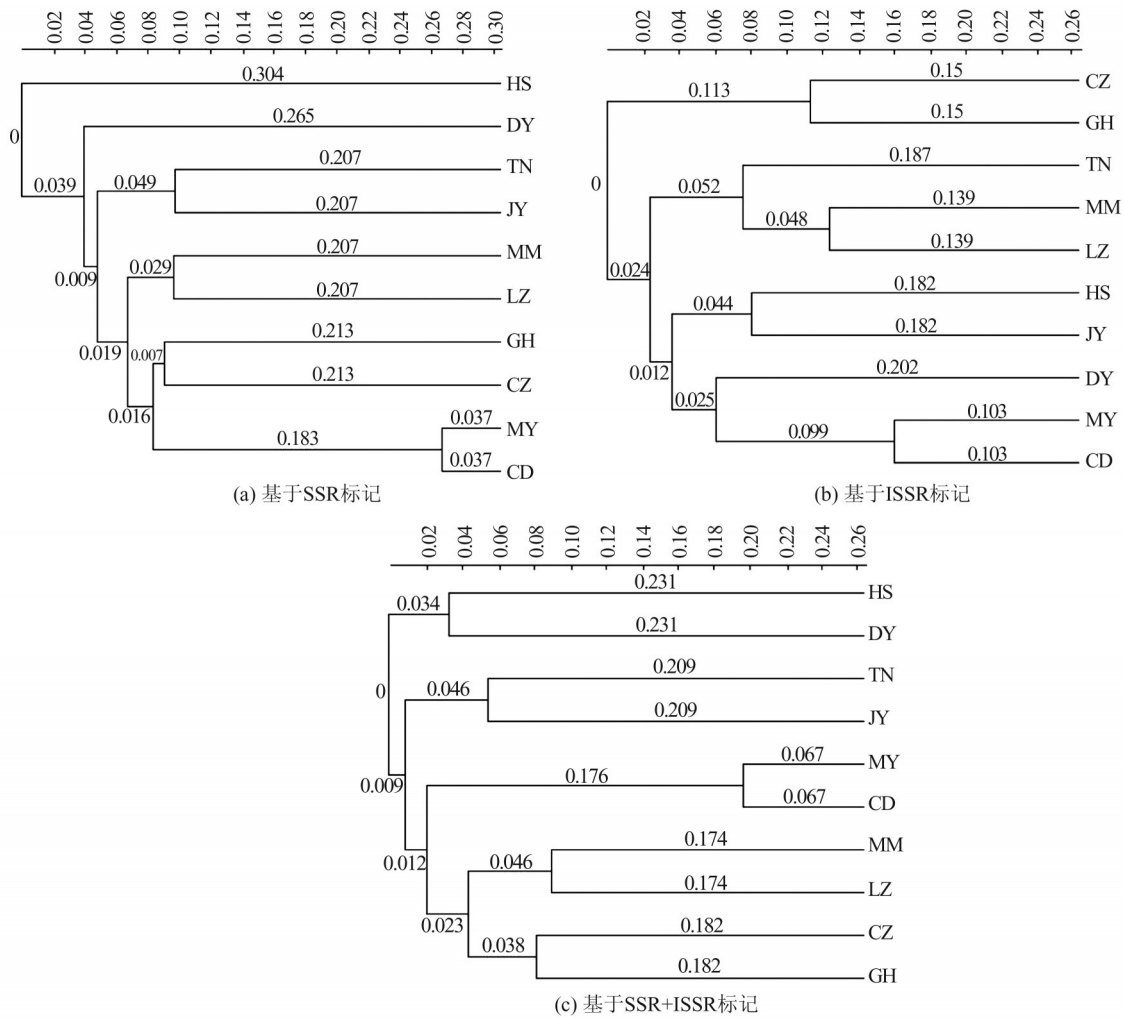


图3 鱼腥草 UPGMA 聚类树

Figure 3 UPGMA dendrograms of *Houttuynia cordata*

DY, 湖北省当阳市两河镇;CD, 四川省成都市新津区;HS, 安徽省黄山市歙县;MY, 四川省绵阳市安州区;JY, 广东省揭阳市揭东区;TN, 福建省三明市泰宁县;GH, 四川省德阳市广汉市;CZ, 江苏省常州市钟楼区;LZ, 贵州省六盘水市六枝特区;MM, 广东省茂名市高州市

DY, Lianghe Town, Dangyang City, Hubei Province; CD, Xinjin District, Chengdu City, Sichuan Province; HS, She County, Huangshan City, Anhui Province; MY, Anzhou District, Mianyang City, Sichuan Province; JY, Jiedong District, Jieyang City, Guangdong Province; TN, Taining County, Sanming City, Fujian Province; GH, Guanghan City, Deyang City, Sichuan Province; CZ, Zhonglou District, Changzhou City, Jiangsu Province; LZ, Liuzhi Special District, Liupanshui City, Guizhou Province; MM, Gaozhou City, Maoming City, Guangdong Province

究采用RAPD分子标记对来自中国11省市共24份鱼腥草种质资源样本进行了分析,并结合了形态学特征的考察,发现遗传差异与表型特征之间存在联系^[32]。另一项研究利用ISSR分子标记对来自四川、重庆、贵州、江苏等地的共70份鱼腥草进行遗传多样性分析,发现这些鱼腥草种质资源均表现出较高的多态性,尤其是在接近盆地周边和边缘地区的样本中,遗传多样性表现得更为丰富,并推测这些类别可能与染色体的数量存在相关性^[33]。此外,针对湖南、四川、云南等地地的17份鱼腥草进行ISSR分析显示,样本的聚类与其地理分布存在一定的相关

性^[34]。进一步研究利用AFLP和ISSR分子标记技术对中国13个省市的鱼腥草种质资源进行研究,结果表明所采集的鱼腥草种质资源具有较高的遗传多样性,通过聚类分析,大部分样本的遗传特征与其地理分布相符,但也有少数样本的遗传特性较为分散,难以归入特定类别^[35-36]。此外,对全国12个省份的鱼腥草样本进行SRAP分子标记分析发现,居群间的遗传相似性与地理位置密切相关,地理相近的居群在聚类分析中倾向于归为一类^[37]。在印度东北部的鱼腥草种质资源的ISSR分子标记分析中,发现所收集的材料可划分为4个大类,且居群间的遗传变

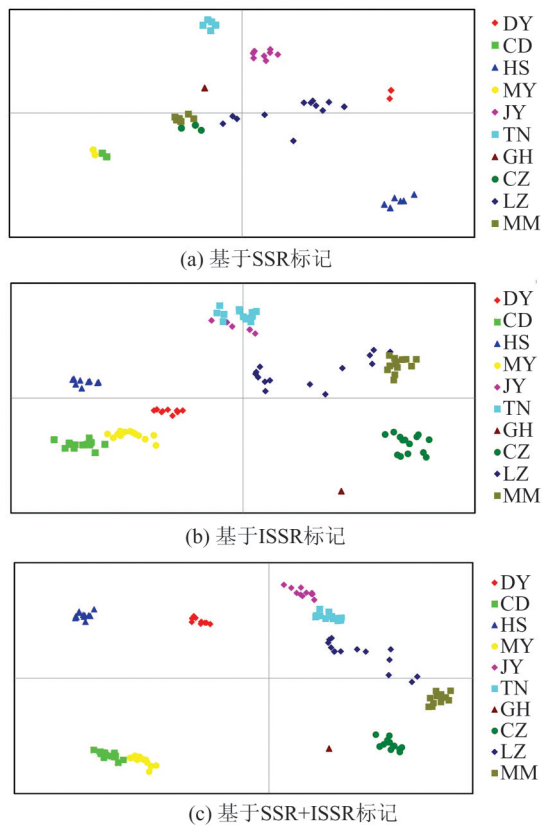


图4 鱼腥草主成分分析

Figure 4 PCA of *Houttuynia cordata*

DY, 湖北省当阳市两河镇; CD, 四川省成都市新津区; HS, 安徽省黄山市歙县; MY, 四川省绵阳市安州区; JY, 广东省揭阳市揭东区; TN, 福建省三明市泰宁县; GH, 四川省德阳市广汉市; CZ, 江苏省常州市钟楼区; LZ, 贵州省六盘水市六枝特区; MM, 广东省茂名市高州市

DY, Lianghe Town, Dangyang City, Hubei Province; CD, Xinjin District, Chengdu City, Sichuan Province; HS, She County, Huangshan City, Anhui Province; MY, Anzhou District, Mianyang City, Sichuan Province; JY, Jiedong District, Jieyang City, Guangdong Province; TN, Taining County, Sanming City, Fujian Province; GH, Guanghan City, Deyang City, Sichuan Province; CZ, Zhonglou District, Changzhou City, Jiangsu Province; LZ, Liuzhi Special District, Liupanshui City, Guizhou Province; MM, Gaozhou City, Maoming City, Guangdong Province

异显著大于居群内的遗传变异^[38]。本研究发现,鱼腥草居群间遗传分化显著,而基因流较低,表明不同地理居群的鱼腥草可能已形成了独特的遗传特性。例如四川绵阳与成都、广东茂名与贵州六枝表现出最近的遗传距离,而江苏常州与四川广汉虽地理距离较远却聚为一组。后续研究中可以选择高遗传多样性居群(如四川绵阳、成都等地)进一步分析其个体的品质指标,挖掘优势基因,为培育具有抗病、高产或特定药用成分的新品种提供育种材料;同时针

对不同地理环境,选择适应性强的居群进行定向培育,可提高鱼腥草在不同生态区的种植成功率。

本研究通过SSR和ISSR标记成功区分了不同地理居群的鱼腥草。因此,可以利用SSR和ISSR引物,建立鱼腥草品种的DNA指纹图谱,为品种鉴定和知识产权保护提供技术手段,并且通过遗传标记明确不同产区鱼腥草的遗传特征,来推动地理标志产品的认证和保护,从而提升市场竞争力。在种质资源保护方面,鱼腥草遗传多样性主要集中在居群间,且基因流较低,表明其遗传资源易受地理隔离影响而丧失。因此,可以对遗传多样性丰富的地区建立自然保护区或种质资源圃,保护其原生境,收集不同地理居群的种质资源,建立基因库,避免因环境变化或人为活动导致的遗传资源流失,并定期开展遗传多样性监测,评估保护措施的有效性,及时调整保护策略。

本研究受限于样本规模(10个居群),小样本可能导致稀有等位基因漏检,影响遗传结构解析的全面性;并且未量化群体分化指数与环境因子的互作效应,限制了对多样性维持机制的深入探讨。未来研究需进一步扩大样本量并记录周围生态环境情况,从而探寻鱼腥草遗传与环境之间的规律;整合多组学技术(如GBS-SNP、表观基因组)构建多维遗传信息网络,阐明多样性形成的分子基础,为鱼腥草资源的保护和开发提供参考。

参考文献

[1] 齐帅, 查凌雁, 黄丹枫, 等. 鱼腥草种植技术创新发展[J]. 北方园艺, 2022(17): 121-128.
 Qi S, Zha L Y, Huang D F, et al. *Houttuynia cordata* plantation technology innovation and development [J]. Northern Horticulture, 2022(17): 121-128.

[2] 武营雪, 丁倩云, 刘静, 等. 鱼腥草化学成分、药理及质量控制研究进展[J]. 药物分析杂志, 2022, 42(1): 108-120.
 Wu Y X, Ding Q Y, Liu J, et al. Research progress on chemical components, pharmacology and quality control of *Houttuyniae Herba* [J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2022, 42(1): 108-120.

[3] 陈龙, 彭程琪, 樊明旭, 等. 鱼腥草药理作用及抗肺炎作用研究进展[J]. 人参研究, 2022, 34(5): 52-54.
 Chen L, Peng C Q, Fan M X, et al. Progress in the study of the pharmacological and antipneumonic effects of *Houttuynia cordata* [J]. Ginseng Research, 2022, 34(5): 52-54.

[4] 赵丹, 杨昌贵, 康传志, 等. 经典名方中鱼腥草的本草考证[J]. 中国实验方剂学杂志, 2025, 31(8):

- 250-259.
- Zhao D, Yang C G, Kang C Z, et al. Textual research on herbal medicine of *Houttuynia cordata* in classic prescriptions [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2025, 31(8): 250-259.
- [5] 洪纬. 食物、药物和景物: 鱼腥草在传统中国的利用 [J]. 中国农史, 2016, 35(6): 111-120.
- Hong W. Food, drug and landscape: shaping the history of *Houttuynia cordata* thunb in traditional China [J]. Agricultural History of China, 2016, 35(6): 111-120.
- [6] 李世平. 折耳根: 黔地“吉祥之草” [J]. 贵阳文史, 2022(1): 78-80.
- Li S P. Crocodile root: “auspicious grass” in Guizhou [J]. Guiyang Wenshi, 2022(1): 78-80.
- [7] 国家卫生健康委关于印发《按照传统既是食品又是中药材的物质目录管理规定》的通知 [J]. 中华人民共和国国家卫生健康委员会公报, 2021, (11): 7-9.
- National Health Commission. Notice on issuing the “Administrative Regulations on the Catalog of Substances That Are Both Food and Traditional Chinese Medicine” [J]. Gazette of the National Health Commission of the People’s Republic of China, 2021, (11): 7-9.
- [8] 朱林, 国青山, 袁俊权, 等. 中国鱼腥草之乡——两河镇鱼腥草产业现状与发展对策 [J]. 现代园艺, 2022, 45(12): 9-11, 20.
- Zhu L, Guo Q S, Yuan J Q, et al. The hometown of *Houttuynia cordata* in China: current status and development strategies of the *Houttuynia cordata* industry in Lianghe Town [J]. Contemporary Horticulture, 2022, 45(12): 9-11, 20.
- [9] 李丽. 粮“草”连作亩收五万 [N]. 农民日报, 2023-04-07.
- Li L. Grain-“grass” rotation earns 50,000 yuan per mu [N]. Farmers’ Daily, 2023-04-07.
- [10] 刘元士, 李正丽. 遵义市鱼腥草绿色高产栽培技术 [J]. 长江蔬菜, 2023(21): 43-45.
- Liu Y S, Li Z L. Green and high-yielding cultivation techniques of *Houttuynia cordata* in Zunyi City [J]. Journal of Changjiang Vegetables, 2023(21): 43-45.
- [11] 罗洁, 钟咏. 乡村振兴背景下村级集体经济发展问题研究: 以广西全州县为例 [J]. 市场论坛, 2023(11): 23-29.
- Luo J, Zhong Y. Research on the development of village-level collective economy under the background of rural revitalization: taking Quanzhou County as an example [J]. Market Forum, 2023(11): 23-29.
- [12] 钱润, 周骏辉, 杨健, 等. 中药材分子标记辅助育种技术研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(20): 4812-4818.
- Qian R, Zhou J H, Yang J, et al. Study progress on molecular marker-assisted breeding of Chinese medicinal materials [J]. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi, 2020, 45(20): 4812-4818.
- [13] Ouyang P Y, Kang D L, Mo X L, et al. Development and characterization of high-throughput EST-based SSR markers for *Pogostemon cablin* using transcriptome sequencing [J]. Molecules, 2018, 23(8): 2014.
- [14] Zietkiewicz E, Rafalski A, Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR) -anchored polymerase chain reaction amplification [J]. Genomics, 1994, 20(2): 176-183.
- [15] Du L M, Chen J H, Sun D L, et al. Krait2: a versatile software for microsatellite investigation, visualization and marker development [J]. BMC Genomics, 2025, 26(1): 72.
- [16] Yeh F C, Yang R C, Boyle T. Popgene Version 1.31 Quick user guide [M]. Canada: University of Alberta and Centre for International Forestry Research, 1999.
- [17] Spencer N. Molecular population genetics and evolution [J]. FEBS Letters, 1977, 74(1): 145.
- [18] 徐刚标. 植物群体遗传学 [M]. 北京: 科学出版社, 2009.
- Xu G B. Plant population genetics [M]. Beijing: Science Press, 2009.
- [19] Peakall R, Smouse P E. GenAlEx 6.5: genetic analysis in excel. population genetic software for teaching and research: an update [J]. Bioinformatics, 2012, 28(19): 2537-2539.
- [20] Kumar S, Stecher G, Li M, et al. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms [J]. Molecular Biology and Evolution, 2018, 35(6): 1547-1549.
- [21] Letunic I, Bork P. Interactive tree of life (iTOL) v6: recent updates to the phylogenetic tree display and annotation tool [J]. Nucleic Acids Research, 2024, 52(W1): W78-W82.
- [22] 陈少瑜, 李江, 陈伟, 等. 云南沟谷雨林建群种绒毛番龙眼居群的遗传多样性 [J]. 南方农业学报, 2022, 53(3): 850-858.
- Chen S Y, Li J, Chen W, et al. Genetic diversity of *Pometia tomentosa*, a major constructive species of valley rainforest in Yunnan [J]. Journal of Southern Agriculture, 2022, 53(3): 850-858.
- [23] 张蕾. SSR和ISSR分子标记技术应用研究 [J]. 农业科技与装备, 2024(4): 76-77.
- Zhang L. Research on application of SSR and ISSR molecular marker technology [J]. Agricultural Science

- 8-Technology and Equipmen, 2024(4): 76-77.
- [24] 蔡彦君, 吴雯雯, 杨冰冰, 等. 基于 SSR 分子标记的盐肤木遗传多样性分析[J]. 生物资源, 2024, 46(5): 478-486.
Cai Y J, Wu W W, Yang B B, et al. Genetic diversity analysis of *Rhus chinensis* based on SSR markers [J]. Biotic Resources, 2024, 46(5): 478-486.
- [25] 张立荣, 徐大庆, 刘大群. SSR 和 ISSR 分子标记及其在植物遗传育种研究中的应用[J]. 河北农业大学学报, 2002, 25(1): 90-94.
Zhang L R, Xu D Q, Liu D Q. SSR marker, ISSR marker and their application to plant genetics and breeding [J]. Journal of Agricultural University of Hebei, 2002, 25(1): 90-94.
- [26] 马彪, 南丽丽, 姚宇恒, 等. 基于 ISSR 及 SSR 标记的苜蓿遗传多样性分析[J]. 华北农学报, 2023, 38(S1): 39-48.
Ma B, Nan L L, Yao Y H, et al. Genetic diversity analysis of alfalfa based on ISSR and SSR markers [J]. ACTA Agricultural Boreali-Sinica, 2023, 38(S1): 39-48.
- [27] 沈千, 陈岳, 顾立君, 等. 利用 SSR 和 ISSR 分子标记分析崇明白扁豆种质资源的遗传多样性[J]. 上海农业学报, 2020, 36(2): 6-12.
Shen Q, Chen Y, Gu L J, et al. Genetic diversity analysis of Chongming Lima beans by SSR and ISSR molecular markers [J]. Acta Agriculturae Shanghai, 2020, 36(2): 6-12.
- [28] Saitwal Y S, Musmade A M, Kale A A, et al. Characterization of *Annona* genotypes by ISSR and SSR markers [J]. Bhartiya Krishi Anusandhan Patrika, 2022, 37(1): 43-49.
- [29] 吕玉茹, 李造哲, 云岚. 杂交野大麦新品系 SSR 与 ISSR 分子标记分析 [J]. 种子, 2022, 41(6): 1-6.
Lü Y R, Li Z Z, Yun L. Analysis on SSR and ISSR molecular markers of new hybrid *Hordeum brevisubulatum* lines [J]. Seed, 2022, 41(6): 1-6.
- [30] 彭丽娟, 牟柯浓, 张健伟, 等. 基于 SSR 及 ISSR 标记的菜豆遗传多样性分析[J]. 分子植物育种, 2022, 20(21): 7161-7173.
Peng L J, Mou K H, Zhang J W, et al. Genetic diversity analysis of *Phaseolus vulgaris* based on SSR and ISSR markers [J]. Molecular Plant Breeding, 2022, 20(21): 7161-7173.
- [31] Baroudi H, Choumane W, Makhoul G. Evaluation of genetic diversity in two *Morus* species in Syria, using molecular markers ISSR and SSR [J]. Journal of Central European Agriculture, 2023, 24(3): 736-748.
- [32] 蓝云龙, 吴令上, 裘波音, 等. 鱼腥草 RAPD 分子标记的多态性[J]. 浙江林学院学报, 2008, 25(3): 309-313.
Lan Y L, Wu L S, Qiu B Y, et al. *Houttuynia cordata* analysis with RAPD markers [J]. Journal of Zhejiang Forestry College, 2008, 25(3): 309-313.
- [33] 吴卫, 郑有良, 陈黎, 等. 利用 ISSR 标记分析鱼腥草种质资源的遗传多样性[J]. 世界科学技术, 2003, 5(1): 70-77, 85.
Wu W, Zheng Y L, Chen L, et al. Analysis on genetic diversity of germplasm resources of *Houttuynia cordate* by ISSR marker [J]. Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica-World Science and Technology, 2003, 5(1): 70-77, 85.
- [34] 彭帅, 伍贤进, 罗玥倩, 等. 17 份鱼腥草种质亲缘关系的 ISSR 分析[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(12): 3484-3486.
Peng S, Wu X J, Luo Y J, et al. Analysis of genetic relationship of 17 *Houttuynia cordate* germplasm resources with ISSR marker [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2007, 35(12): 3484-3486.
- [35] 黎晓英, 魏麟, 伍贤进, 等. 中国不同地理居群鱼腥草遗传多样性分析[J]. 中草药, 2010, 41(2): 285-288.
Li X Y, Wei L, Wu X J, et al. Analysis on genetic diversity of different geographical populations of *Houttuynia cordata* [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2010, 41(2): 285-288.
- [36] 黎晓英. 鱼腥草遗传多样性及其起源分化研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2009.
Li X Y. Study on genetic diversity and origin differentiation of *Houttuynia cordata* Thunb [D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2009.
- [37] Zhong J, Wu F C, Qiu P, et al. Correlation analysis of genetic diversity and population structure of *Houttuynia cordata* Thunb with regard to environment [J]. Genetics and Molecular Research, 2016, 15(3).
- [38] Gupta S, Bharalee R. Genetic diversity and population structure of a medicinal herb *Houttuynia cordata* Thunb. of north-east India [J]. Plant Molecular Biology Reporter, 2021, 39(2): 434-442.