

· 基础研究 ·

基于 ITS2 序列的朱砂根及其混伪品分子鉴定[△]

陈新连, 周建国, 马双姣, 姚辉, 林余霖, 王瑀*

(中草药物质基础与资源利用教育部重点实验室 中国医学科学院 北京协和医学院 药用植物研究所, 北京 100193)

[摘要] 目的: 应用 ITS2 序列对朱砂根及其混伪品进行鉴定研究, 为中药临床准确用药、市场规范化管理等提供依据和保障。方法: 对朱砂根及其混伪品进行 DNA 提取、PCR 扩增 ITS2 序列、双向测序, 对序列进行比对、计算遗传距离。结果: 朱砂根 ITS2 序列长度为 217 bp, 种内有 10 个变异位点, 有 9 种单倍型, 平均 G + C 含量为 59.1%, 除变种红凉伞外, 朱砂根与其各混伪品的种间最小遗传距离均大于朱砂根种内最大遗传距离, 所以利用 ITS2 序列可以鉴别朱砂根及其混伪品。结论: 实验结果表明 ITS2 序列可以鉴别朱砂根及其混伪品, 但对于其与变种的关系需进一步研究。

[关键词] 朱砂根; 鉴别; ITS2 序列; DNA 条形码; 混伪品

Molecular Identification of *Ardisiae Crenatae Radix* and Its Adulterants Based on ITS2 Sequence

CHEN Xinlian, ZHOU Jianguo, MA Shuangjiao, YAO Hui, LIN Yulin, WANG Yu*

(The Key Laboratory of Bioactive Substances and Resources Utilization of Chinese Herbal Medicine, Ministry of Education, Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100193, China)

[Abstract] **Objective:** This research aims to identify *Ardisiae Crenatae Radix* and its adulterants accurately using the ITS2 sequence. It will provide the foundation for its clinical medication and accurate market standardized management. **Methods:** *Ardisia Crenatae Radix* and its adulterants were identified and distinguished by ITS2 barcode, one marker of DNA barcoding. Genomic DNA of *Ardisia crenata* and its adulterants were extracted and then the ITS2 regions were obtained by PCR amplification and sequenced bidirectionally. The ITS2 sequences were aligned and the genetic distances were computed using MEGA 6.0 in accordance with the Kimura 2-parameter (K2P) model. **Results:** The length of *A. crenata* sequence is 217 bp and the average G + C content was 59.1%. There were ten variable sites of the ITS2 regions of *A. crenata* and 48 ITS2 sequences of *A. crenata* included nine haplotypes. Except for *A. crenata* var. *bicolor*, the maximum intra-specific K2P genetic distance of *Ardisiae Crenatae Radix* and its adulterants was less than the minimum inter-specific K2P genetic distance. **Conclusion:** The experimental results indicated that the ITS2 sequence could be a good marker to identify *Ardisia Crenatae Radix* and its adulterants. But the relationship of *A. crenata* and *A. crenata* var. *bicolor* need to be further studied.

[Keywords] *Ardisiae Crenatae Radix*; identification; ITS2 sequence; DNA barcoding; adulterants

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.2017.7.008

中药材朱砂根为紫金牛科植物朱砂根 *Ardisia crenata* Sims 的干燥根。本品根簇生于略膨大的根茎上, 呈略弯曲的圆柱形, 表面灰棕色或棕褐色, 有多数纵皱纹和横环状断裂痕, 皮部与木部易分离。质硬而脆, 易折断, 断面不平坦, 皮部厚, 约占断面的 1/3 ~ 1/2, 类白色或粉红色, 外侧有紫红色斑点散在, 习称“朱砂点”, 木部黄白色, 不

平坦。气微, 味微苦, 有刺舌感, 有解毒消肿、活血止痛、祛风除湿之功效^[1]。朱砂根为民间常用中草药之一, 根、叶可用于跌打风湿、消化不良、咽喉炎及月经不调等症。果可食, 亦可榨油, 油可供制肥皂。朱砂根也可作观赏植物, 在园艺方面的品种较多^[2]。此外, 其在抗炎抑菌、抗肿瘤、抗生育、抗 HIV、抑制血小板聚集、降低血压等方面

[△] [基金项目] 国家科技支撑计划(2011BAI07B08); 中国医学科学院医学与健康科技创新工程(2016-I2M-3-016)

* [通信作者] 王瑀, 副主任技师, 研究方向: 中药资源; Tel: (010)57833199, E-mail: ywang@implad.ac.cn

也有很好的疗效^[3-7]。

在第四次全国中药资源普查中发现,朱砂根野生资源目前较为丰富,主要分布于长江中、下游的重庆、四川、贵州、云南、广东和广西等地,药用方面基本全部来源于野生朱砂根^[8]。朱砂根常与其同属植物混在一起使用^[9-10],同时,由于牡丹皮和山豆根市场价格较高,三者的外部形态相似,有不法商贩将朱砂根混在牡丹皮、山豆根中使用^[10-12],牡丹皮是毛茛科植物牡丹 *Paeonia suffruticosa* Andr. 的根皮,为清热凉血、活血化瘀之药^[1],山豆根是豆科植物越南槐 *Sophoraton kinensis* Gagnep. 的根及根茎,有清热解毒、消肿利咽的作用^[1]。此混伪现象严重影响了临床的安全用药和药材的规范化管理、流通。中药材的传统鉴别方法较难区分此类混伪品,且过度依赖专业人员的主观判断,而 DNA 条形码鉴定技术是利用基因组中一段公认相对较短的序列进行特异性物种识别鉴定,可有效弥补传统鉴别的局限,其自 2003 年被提出后就受到国际广泛关注^[13]。该技术物种鉴定效率高,且技术方法简单,稳定性

好、可重复性强,不受外界环境以及样品形态和材料部位的限制,显著提高了鉴定的效率与准确性。其中,对于植物类药材,ITS2 序列具有很高的通用性,易于扩增、测序,且长度适宜,约 230 bp,同时也具有足够的变异以区分不同的物种,绝大多数中药材可以通过 ITS2 序列进行鉴定^[14-15]。本研究应用 ITS2 序列对朱砂根及其混伪品进行鉴定研究,以期为其临床用药安全提供依据。

1 材料

朱砂根样品包括基原植物样本、药材样本、种子样本、复核样本和对照药材等,采自广东、江西、湖北、安徽、四川等地,种子样本来自国家药用植物种质资源库。此外,还从 GenBank 下载了部分物种的 ITS2 序列,所有下载序列应用 BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) 方法在 NCBI (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>) 和中药材 DNA 条形码鉴定系统 (<http://www.tcmbarcode.cn/china/>) 进行验证,确保准确可靠。具体的样本信息见表 1。

表 1 朱砂根及其混伪品样品信息表

样品名	拉丁学名	样本分类	样本编号/GenBank 登录号	样品来源
朱砂根	<i>Ardisia crenata</i>	基原植物样本	PS1658MT01 ~ 02	广西南宁
		药材样本	YC0571MT01 ~ 02、YC0571MT11	江西赣州
			YC0571MT03 ~ 04	武汉植物园
			YC0571MT05 ~ 06、YC0571MT08 ~ 09	广东广州
			YC0571MT07、YC0571MT10	安徽亳州
		种子样本	ZHSG0001 ~ 05、ZHSG0007 ~ 10	重庆、四川凉山、云南西双版纳、云南普洱、江西九江
		复核样本	RC_ YC0571MT08、RC_ YC0571MT09	广东广州
		对照药材	FDC324	中国食品药品检定研究院
红凉伞	<i>Crenata</i> var. <i>bicolor</i>		JN645180 ~ 86、KT602381 ~ 83、KJ491066 ~ 70、JN252985 ~ 90、KP092625、KF186451、JF416242	GenBank
矮地茶	<i>A. japonica</i>		KT602386 ~ 87	GenBank
圆果罗伞	<i>A. depressa</i>		KT602402 ~ 03	GenBank
铜盆花	<i>A. obtusa</i>		JN645199、KT602391	GenBank
束花紫金牛	<i>A. botrysa</i>		KT602415 ~ 16	GenBank
牡丹	<i>Paeoniasu ffruticosa</i>	药材样本	KT602375 ~ 76	GenBank
越南槐	<i>Sophoraton kinensis</i>	药材样本	YC0061MT05	安徽亳州
			EU369007、JN572149	GenBank
			YC0104MT02 ~ 03	四川成都
			JX495449	GenBank

2 方法

2.1 DNA 提取

将根类样品用 75% 乙醇棉擦拭干净, 取约 40 mg 样品, 取变色硅胶干燥基原植物叶片样品约 20 mg, 朱砂根的种子呈球形, 直径约为 6 ~ 9 mm, 在靠近种皮的位置取样约 40 mg, 磨碎, 用植物基因组提取试剂盒(北京天根生化科技有限公司)提取总 DNA, 加裂解液, 叶片样品 65 ℃ 水浴 2 h, 其余样品 56 ℃ 水浴 8 ~ 12 h, 主要原理是通过使细胞壁、细胞膜溶解破裂, DNA 暴露, 再经过多步除杂、沉淀、清洗、吹干、洗脱等过程, 去除酚类、蛋白质、RNA 等, 最终得到较为纯净的总 DNA 备用。

2.2 PCR 扩增及测序扩增

选用 25 μL 体系, 参照 Chen 等的研究方法^[16], 所用引物为正向 ITS2F: 5'-ATGCGATACTTGCTGTGAAT-3' 和反向 ITS3R: 5'-GACGCTTCTCCAGACTACAAT-3', 用 12.5 μL 2 × Taq Master Mix(北京艾德莱生物科技有限公司), 正反向引物各取 1 μL, DNA 模板 2 μL, 用 8.5 μL ddH₂O 补足体积至 25 μL。扩增程序: 94 ℃, 5 min; 94 ℃, 30 s; 56 ℃, 30 s;

72 ℃, 45 s, 40 个循环; 72 ℃, 10 min。扩增完成后, 用凝胶成像仪在紫外光下观察其电泳后在琼脂糖凝胶中的条带亮度, 并与 Marker AL2000(北京艾德莱生物科技有限公司)对比来判断扩增情况, 包括目的条带的有无、估算产物浓度及序列长度^[17]。最后将 PCR 产物送往中国农业科学院开放实验室进行双向测序。

2.3 数据处理获得的测序结果

应用 CodonCode Aligner 5.1.5 进行拼接, 去除低质量区, 然后基于隐马尔科夫进行 ITS2 序列注释, 最后用 MEGA6.0 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) 进行种内种间变异位点、遗传距离的分析。基于本课题组自行编写的代码^[18-19], 将朱砂根及其主要混伪品牡丹皮、山豆根的主导单倍型 ITS2 序列转换为 DNA 条形码和二维 DNA 条形码图片。

3 结果与分析

本研究获得朱砂根 ITS2 序列 48 条, 长度为 217 bp, G + C 含量为 58.5% ~ 60.2%, 平均 G + C 含量为 59.1%, 种内变异位点 10 个, 有 9 个单倍型, 主导单倍型占 50%, 朱砂根种内变异位点具体信息见表 2。

表 2 朱砂根 ITS2 序列种内变异位点

单倍型 类型	位置/bp										各单倍型所占比例(%)
	13	19	28	29	72	94	121	162	165	207	
Z1	C	C	C	A	C	G	G	T	C	T	50.0
Z2	*	*	*	*	T	*	*	*	*	*	14.6
Z3	*	*	*	*	*	*	*	G	*	*	10.4
Z4	*	*	*	*	*	*	A	G	T	*	8.3
Z5	*	*	*	*	*	*	*	*	*	-	6.3
Z6	*	*	T	C	*	*	*	G	*	C	4.2
Z7	T	T	T	C	*	*	*	G	*	-	2.1
Z8	*	*	*	C	*	*	*	G	*	*	2.1
Z9	*	*	T	C	*	A	*	G	*	C	2.1

注: * 表示与第一行碱基相同, - 表示碱基缺失。

朱砂根主导单倍型(以 ZHSG0005 为例)与其同属植物 ITS2 序列比对长度为 217 bp, 共有 25 个变异位点, 详细信息见图 1。朱砂根与其混伪品种间序列比对长度为 249 bp, 有 142 个变异位点。

朱砂根种内及其与各混伪品间的 K2P 距离请见表 3。由表 3 可以看出, 除变种红凉伞外, 朱砂根与其他各混伪品的种间最小遗传距离均大于种内最大遗传距离, 因此用 ITS2 序列可以区分鉴别开。

	1111111111 11222
	2235677777 0002556666 88001
	8943902457 2789251267 08015
<i>Ardisia crenata</i> ZHSG0005	CAGTTACTGG ACGTTGCTGC CTAGT
<i>A. crenata</i> var. <i>bicolor</i> KT602387	G.....
<i>A. japonica</i> KT602402	TCAC...CA. GT....G.. T...
<i>A. depressa</i> JN645199	TC....TC... ..GCA.G.T T....
<i>A. botryosa</i> KT602376	G...CG.C... ..G.. TCGTC
<i>A. obtusa</i> KT602416	TC...A...C.T...A.C.TGA. T..A.

注: . 表示与第一行碱基相同。

图 1 朱砂根主导单倍型与其同属植物 ITS2 序列种间变异位点

表 3 朱砂根种内及其与各混伪品的 K2P 距离

样品名	K2P 距离范围	K2P 平均距离	变异位点数量
朱砂根种内	0 ~ 0.031 3	0.007 5	10
朱砂根与红凉伞	0 ~ 0.020 6	0.006 2	10
朱砂根与矮地茶	0.038 3 ~ 0.058 6	0.048 3	17
朱砂根与圆果罗伞	0.033 1 ~ 0.058 3	0.045 0	17
朱砂根与铜盆花	0.047 8 ~ 0.063 8	0.057 1	19
朱砂根与束花紫金牛	0.036 4 ~ 0.057 9	0.047 6	18
朱砂根与牡丹皮	0.547 6 ~ 0.609 8	0.574 1	93
朱砂根与山豆根	0.533 9 ~ 0.573 6	0.541 5	83

朱砂根及其主要混伪品牡丹皮、山豆根的药材饮片图片、主导单倍型 ITS2 序列 DNA 条形码和二维 DNA 条形码图片见图 2。其中 DNA 条形码和二维 DNA 条形码图片中以不同颜色代表不同的核苷酸，数字表示碱基序列长度，右侧部分二维码图片为物种拉丁名和 DNA 条形码序列转换而成，形象化展示各物种的 DNA 条形码。通过移动终端(如手机等)上的二维码扫描软件可以识读获得物种拉丁名及 ITS2 序列信息，可通过移动终端上的网页浏览器登录中药材 DNA 条形码鉴定系统(www.tcmbarcode.cn)进行物种鉴定。

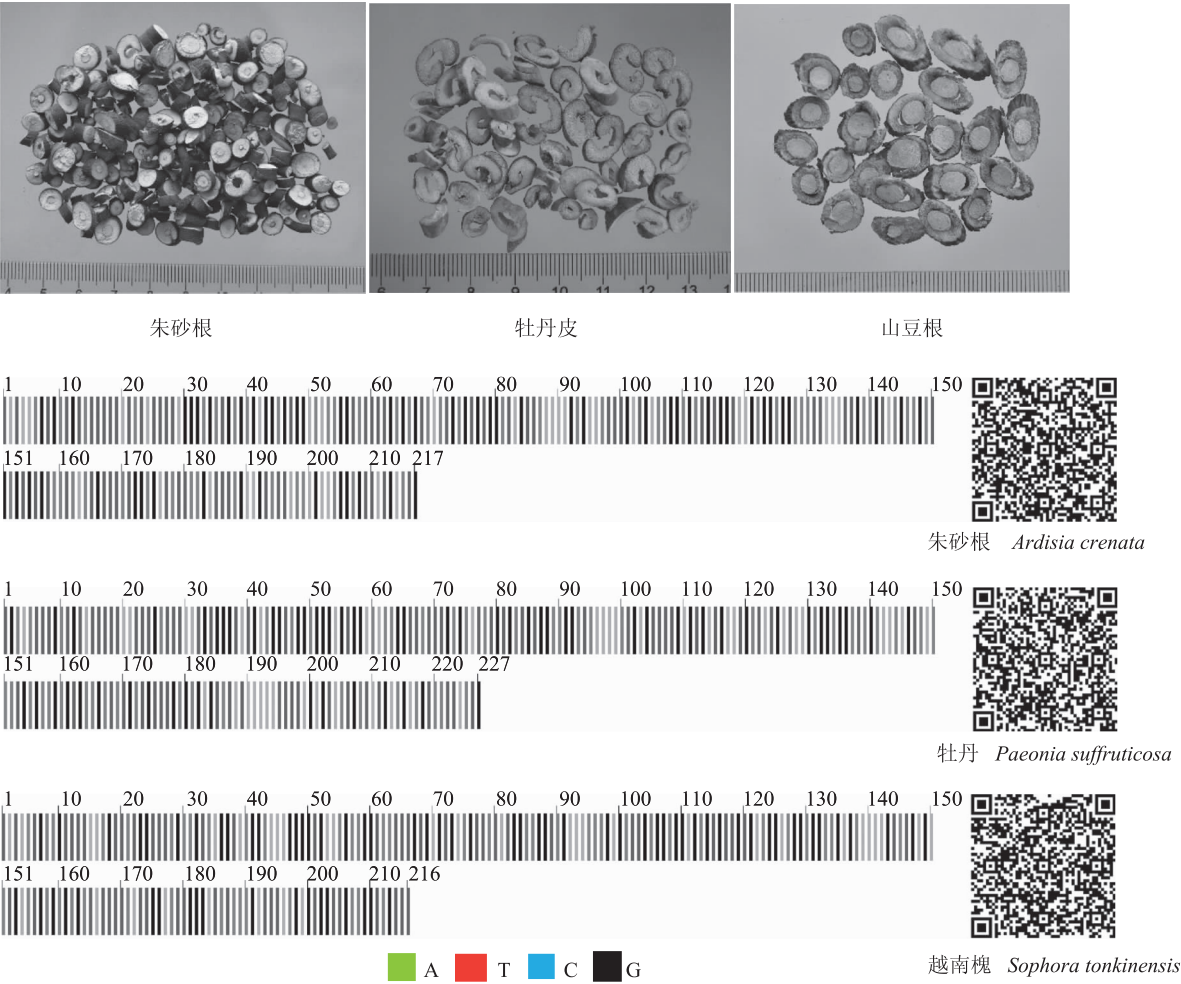


图 2 朱砂根、牡丹皮和山豆根药材图片及其对应基原的 DNA 条形码和二维 DNA 条形码图片

4 讨论

根类药材细胞中含大量次生代谢产物，如多糖和多酚，这些物质在 DNA 提取过程中与 DNA 共沉淀，形成黏稠的胶状物难以溶解或产生褐变^[20]；同

时，种子类样品富含油脂、酚类、多糖类等物质，会干扰 DNA 的提取，所以提取时应适当增大取样量，增大裂解液的用量，延长水浴时间，尽可能提取较高质量的 DNA，利于实验的进行，在研磨前加大聚乙烯吡咯烷酮(PVP-40)的用量，并在加裂解液

前用核分离液 [100 mmol·L⁻¹ Tris-HCL (pH 8.0), 20 mmol·L⁻¹ EDTA (pH 8.0), 0.7 mmol·L⁻¹ NaCl, 2% PVP-40, 0.4% β-巯基乙醇] 多次洗涤、离心至上清液不呈黏稠状。之前就有很多研究者在实验时进行过相似的处理^[21-23]。

红凉伞是朱砂根的变种, 朱砂根种内最大遗传距离(0.031 3)大于红凉伞与朱砂根的种间最小遗传距离(0), 因而无法从 ITS2 序列水平鉴别这两种植物。根据《中国植物志》记载, 二者作为单独的两个种是不恰当的, 故给予归并^[2]。《中国植物志》记录两者植物形态上的主要区别是, 变种的叶背、花梗、花萼及花瓣均带紫红色, 有的植株叶两面均为紫红色, 两者在植株外形无太大差异, 仅颜色不同, 从标本上看, 尤其是在野外采集记录不详而标本压制不得当时, 二者更是无法区别, 而活的植株中, 颜色的深浅也有过渡, 并且二者在药用性能方面基本一致^[2]。在最新版的《Flora of China》中, 红凉伞已合并至朱砂根。对于朱砂根与其变种的鉴别, 目前还没有找到合适的方法, 答国政等^[24]基于 ITS2 序列对紫金牛属矮地茶药材进行基因识别研究时, 也发现朱砂根和红凉伞在 NJ 树中混为一支, 无法鉴别分开。徐玲玲等^[25]基于核 ITS 与叶绿体 trnL-F 序列对 12 种紫金牛属植物的种间关系与变异进行的研究, 为朱砂根与其同属其他植物鉴定提供了启示。随着测序技术的发展, 应用叶绿体全基因组筛选特异性 DNA 序列^[26]对二者进行区分, 或将叶绿体全基因组作为超级条形码对二者的关系进行深入的研究。

药用植物栽培过程中, 种子是最基础、最重要的起点^[27], 本实验对朱砂根不同产地种子进行了鉴别研究, 为朱砂根的规范化栽培、种子质量标准的制订提供了很好的依据。此外, 本实验方法简单易掌握, 适用于较多物种及其混伪品的鉴定。它从分子角度入手, 植物的遗传物质相对稳定, 较少甚至不受到材料部位、外界环境的影响, 逐渐摆脱了对于专业鉴定人员的依赖, 使物种鉴定标准化、简单化。此外, 本研究转成的二维 DNA 条形码图片, 读者可以通过多种二维码扫描软件(如微信“扫一扫”功能、“快拍二维码”等)识读到对应物种的拉丁名和 ITS2 序列。本研究利用 DNA 条形码对朱砂根及其混伪品进行鉴定, 对于物种鉴定有重要的启示与指导意义, 对于其在临床准确安全用药和规范药材市场流通等方面提供了重要依据。

致谢: 感谢中国中医科学院中药研究所对部分样品进行复核, 感谢国家药用植物种质资源库提供种子样本。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2015:27,138,172.
- [2] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京:科学出版社,2002.
- [3] 张清华. 紫金牛属植物化学成分研究概况[J]. 华西药学报,1994,9(2):99-103.
- [4] 余成龙,宋良科,吴蜀星,等. 朱砂根药用资源分布及研究进展[J]. 安徽农业科学,2012,40(28):13793-13794,13924.
- [5] 宋冬雪. 朱砂根药理作用研究进展[J]. 黑龙江医药,2014(4):887-888.
- [6] 张伟,李锐,李东,等. 朱砂根化学成分和药理作用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(11):279-282.
- [7] 邓素芳,黄焱,赖钟雄. 朱砂根的药用价值与观赏价值[J]. 亚热带农业研究,2006,2(3):176-178.
- [8] 牛小花,陈洪源. 药用植物朱砂根研究概况[J]. 亚太传统医药,2016,12(18):48-50.
- [9] 陈友爱,潘鸿森. 中药材朱砂根及其近缘种的生药学研究[J]. 福建医药杂志,1996(6):129-130.
- [10] 曾江. 牡丹皮与朱砂根、白鲜皮的鉴别比较[J]. 湖北中医杂志,2003,25(11):53.
- [11] 李勉,王毓萍,高健,等. 牡丹皮及其伪品的鉴别[J]. 河南大学学报(医学版),2002,21(2):24-26.
- [12] 张云方. 山豆根及其常见混淆品的鉴别[J]. 海峡药学,2011,23(12):50-52.
- [13] Hebert P D, Cywinska A, Ball S L, et al. Biological identifications through DNA barcodes[J]. Proceedings of the Royal Society B Biological Sciences,2003,270(1512):313-321.
- [14] Chen S L, Pang X H, Song J Y, et al. A renaissance in herbal medicine identification:from morphology to DNA[J]. Biotechnology Advances,2014,32(7):1237-1244.
- [15] Yao H, Song J Y, Liu C, et al. Use of ITS2 region as the universal DNA barcode for plants and animals[J]. PLoS One,2010,5:e13102.
- [16] 陈士林. 中药 DNA 条形码分子鉴定[M]. 北京:人民卫生出版社,2012:14.
- [17] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:四部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2015:383-385.
- [18] 陈士林.《中国药典》中药材 DNA 条形码标准序列[M]. 北京:科学出版社,2015:18-19.
- [19] 辛天怡,李西文,姚辉,等. 中药材二维 DNA 条形码流通监管体系研究[J]. 中国科学:生命科学,2015,45(7):695-702.

(下转第 964 页)

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2015:89-90.
- [2] 王彩君,王智民,王维皓,等. 龙胆属植物中的化学成分及药理活性研究进展[J]. 中国中药杂志,2009,34(23):2987.
- [3] 卢彦顺. 加味龙胆泻肝汤治疗湿热浸淫型急性湿疹临床研究[J]. 中医学报,2011,26(7):888-889.
- [4] 孙毅刚. 龙胆泻肝汤加减治疗肝经郁热型带状疱疹的临床心得[J]. 当代医学,2010,16(18):146-147.
- [5] 郑永新. 中西医结合分型论治多囊卵巢综合征[J]. 上海中医药杂志,2011(1):60-62.
- [6] 任小琴. 中药治疗慢性盆腔炎 86 例[J]. 现代中西医结合杂志,2009,18(29):3594.
- [7] 杨名滨,黄爱梅. 加味龙胆泻肝汤治疗慢性前列腺炎 128 例观察[J]. 实用中医药杂志,2008(4):209.
- [8] 吴红跃. 龙胆泻肝汤治疗复发性口腔溃疡 50 例[J]. 中国民族民间医药,2011,20(2):71.
- [9] Ayers S, Graf T N, Adcock A F, et al. Cytotoxic Xanthone-Antraquinone Heterodimers from an Unidentified Fungus of the Order Hypocreales (MSX17022)[J]. J Antibiot, 2011, 65(1):3-8.
- [10] Yang B J, Chen G D, Li Y J, et al. A New Xanthone Glycoside from the Endolichenic Fungus *Sporormiella irregularis* [J]. Molecules, 2016, 21(6):2-8.
- [11] Gwendoline Cheng Lian Ee, Siow Hwa Teo, Mawardi Rahmani, et al. Artomandin, a new xanthone from *Artocarpus kemando* (Moraceae) [J]. Nat Prod Res, 2011, 25(10):1995-2003.
- [12] Tang Y X, Fu W W, Wu R, et al. Bioassay-Guided Isolation of Prenylated Xanthone Derivatives from the Leaves of *Garcinia oligantha* [J]. J Nat Prod, 2016, 79(7):1752-1761.
- [13] Alarcon A B, Cuesta-Rubio OPerez J C, Piccinelli A L, et al. Constituents of the Cuban endemic species *Calophyllum pinetorum* [J]. J Nat Prod, 2008, 71(7):1283-1286.
- [14] Wu J F, Chen S B, Gao J C, et al. Xanthone glycosides from herbs of *Polygala hongkongensis* Hemsl and their antioxidant activities [J]. J Asian Nat Prod Res, 2008, 10(7-8):673-678.
- [15] Sun Y W, Sun Z H, Yu P Z. A new xanthone from *Halenia elliptica* D. Don. [J]. J Asian Nat Prod Res, 2011, 13(13):88-92.
- [16] Na Z, Xu Y K. A new prenylated xanthone from *Garcinia xipshuanbannaensis* Y. H. Li. [J]. Nat Prod Res, 2010, 24(17):1648-1653.
- (收稿日期 2016-11-13)
-
- (上接第 943 页)
- [20] 陈士林,姚辉,韩建萍,等. 中药材 DNA 条形码分子鉴定指导原则[J]. 中国中药杂志,2013,38(2):141-148.
- [21] 马双蛟,周建国,金钱,等. 王不留行种子的 ITS2 序列分子鉴定研究[J]. 世界科学技术—中医药现代化,2016,18(1):29-34.
- [22] 周建国,马双蛟,黄玉龙,等. 种子类药材补骨脂及其混伪品的 ITS2 条形码序列鉴定[J]. 世界中医药,2016,11(5):786-790.
- [23] 张娜娜,辛天怡,金钱,等. 基于中药材 DNA 条形码系统的泽泻种子鉴别研究[J]. 世界科学技术—中医药现代化,2016,18(1):18-23.
- [24] 答国政,张秀桥,姚辉,等. 基于 ITS2 序列的矮地茶药材基因识别[J]. 中药材,2015,38(11):2277-2280.
- [25] 徐玲玲,李同建,张美云,等. 基于核 ITS 与叶绿体 trnL-F 序列分析 12 种紫金牛属植物的种间关系与变异[J]. 园艺学报,2009,37(10):1531-1537.
- [26] 李滢,姚辉,宋经文,等. 基于叶绿体全基因组的贝母属特异性 DNA 条形码的筛选[J]. 世界科学技术—中医药现代化,2016,18(1):24-28.
- [27] 马双蛟,杨培,周红,等. 鸦胆子药材及其混伪品的 ITS2 序列分子鉴定研究[J]. 中国现代中药,2015,17(10):1004-1007.
- (收稿日期 2017-03-23)