

## 党参线粒体和叶绿体微卫星标记的开发及应用

张丹, 杜晨晖, 裴香萍, 刘晓丽, 詹海仙\*

(山西中医药大学 中药与食品工程学院, 山西 晋中 030619)

**[摘要]** 目的: 由于不同基原和产地的党参有效成分差异较大, 开发党参特异分子标记对于党参种质资源准确鉴定意义重大。方法: 该研究应用生物信息学软件 Primer 5.0, NTSYS-pc 2.10e, PopGene 32, 对小党参 *Codonopsis minima* 叶绿体、秦岭党参 *C. tsinlingensis* 叶绿体和轮叶党参 *C. lanceolata* 线粒体基因组序列进行简单重复序列标记 (SSR) 位点搜索, 利用 Primer 5.0 软件设计出 120 对 SSR 引物, 筛选效果好且多态性高的 16 对 cpSSR 引物和 10 对 mtSSR 引物对 20 份党参材料进行种间通用性分析。结果: 结果显示, 分别从基因组序列中搜索到 66 个 cpSSR 位点和 26 个 mtSSR 位点, 其中小党参叶绿体中单核苷酸 (86.20%), 二核苷酸 (6.9%), 三核苷酸 (6.9%); 秦岭党参叶绿体中单核苷酸 (83.78%), 二核苷酸 (13.51%), 三核苷酸 (2.71%); 轮叶党参线粒体中单核苷酸 (46.15%), 二核苷酸 (53.85%)。聚合酶链式反应 (PCR) 鉴定结果表明开发的 26 对 SSR 引物在党参属内具有很好的适用性。NTSYS-pc 2.10e 软件分析显示 20 份党参材料的遗传相似系数在 0.38~1.00, 在阈值 0.53 处分为 2 个亚群。运用 PopGene 32 软件对 20 份党参进行多样性分析并筛选出 4 对多态性引物, 分析发现观测等位基因数 ( $N_a$ ) 共为 12 个, 有效等位基因数 ( $N_e$ ) 为 1.362 9~2.605 9 个, 各位点多态性位点百分率 (PPL) 均为 100%, 遗传学参数  $H_o$ ,  $H_e$ , 香浓指数 ( $I$ ) 的平均值分别为 0.555 8, 0.444 2, 0.753 2, 说明各位点的多态性水平较高。以筛选出的 4 对引物对 20 份党参材料进行 DNA 指纹图谱绘制, 发现 DNA 指纹图谱可将 20 份材料进行鉴别。结论: 该研究可为党参属种间的亲缘关系和种内遗传分化研究提供分子依据。

**[关键词]** 党参; 叶绿体; 线粒体; 微卫星; 开发及应用

**[中图分类号]** R284.2; R289; R22; R2-031; R33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)23-0153-10

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20211419

**[网络出版地址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.r.20211015.1619.005.html>

**[网络出版日期]** 2021-10-18 15:41

### Development and Application of Mitochondrial and Chloroplast Microsatellite Markers for *Codonopsis* Plants

ZHANG Dan, DU Chen-hui, PEI Xiang-ping, LIU Xiao-li, ZHAN Hai-xian\*

(School of Chinese Medicine and Food Engineering, Shanxi University of Traditional Chinese Medicine, Jinzhong 030619, China)

**[Abstract]** **Objective:** To develop the specific molecular markers of *Codonopsis* plants and better identify their germplasm resources considering the significant difference in active ingredients of *Codonopsis* Radix from various origins and producing areas. **Method:** Such bioinformatics software as Primer 5.0, NTSYS-pc 2.10e, and PopGene 32 were used for searching the simple sequence repeat (SSR) markers of *C. minima* chloroplast genome, *C. tsinlingensis* chloroplast, and *C. lanceolata* mitochondrial sequences, and 120 pairs of SSR primers were designed by Primer 5.0. Then 16 pairs of cpSSR primers and 10 pairs of mtSSR primers with good screening effect and high polymorphism were selected for analyzing the interspecific versatility of 20 samples. **Result:** The results showed that 66 cpSSR primer sites and 26 mtSSR sites were identified from the

**[收稿日期]** 20210903(003)

**[基金项目]** 山西省重点研发计划项目(201903D221053); 山西中医药大学博士科研启动基金项目(2020BK05)

**[第一作者]** 张丹, 硕士, 从事中药资源开发与利用, E-mail: 1368546556@qq.com

**[通信作者]** \* 詹海仙, 博士, 副教授, 从事药用植物资源开发, E-mail: zhan030006@126.com

genome sequences, with 86.20% of single nucleotide, 6.9% of dinucleotide, and 6.9% of trinucleotide for *C. minima* chloroplast, 83.78% of single nucleotide, 13.51% of dinucleotide, and 2.71% of trinucleotide for *C. tsinlingensis* chloroplast, and 46.15% of single nucleotide and 53.85% of dinucleotide for *C. lanceolata* mitochondria. As demonstrated by polymerase chain reaction (PCR) identification results, the developed 26 pairs of SSR primers had good applicability in the genus *Codonopsis*. The analysis by NTSYS-pc 2.10e revealed that the genetic similarity coefficients of 20 samples were within the range of 0.38-1.00, and they were divided into two subgroups at a threshold of 0.69. Four pairs of polymorphic primers were screened out in the diversity analysis of 20 samples using PopGene 32. The number of observed alleles ( $N_a$ ) was 12, and the effective number of alleles ( $N_e$ ) ranged from 1.362 9 to 2.605 9. The percentage of polymorphic loci (PPL) at each site was 100%, and the average values of genetic parameters  $H_o$ ,  $H_e$ , and  $I$  at each site were 0.555 8, 0.444 2, and 0.753 2, respectively, indicating high polymorphism at each site. The screened four pairs of primers were utilized for DNA fingerprinting of the 20 samples, and it was found that the DNA fingerprints enabled the identification of these 20 samples. **Conclusion:** This study has provided a molecular basis for the study of the genetic relationship between plants in species *Codonopsis* and the intraspecific genetic differentiation.

**[Keywords]** *Codonopsis*; chloroplast; mitochondria; microsatellite; development and application

党参为桔梗科植物党参 *Codonopsis pilosula*, 素花党参 *C. pilosula* var. *modesta* 或川党参 *C. tangshen* 的干燥根<sup>[1]</sup>。全球有 40 余种, 我国有 39 种, 主要分布在东亚、东南亚和中亚, 大部分可入药<sup>[2]</sup>, 其根具有健脾益肺, 养血生津的功效, 用于脾肺气虚, 气血不足等。在我国传统医学中党参作为补益类中药被广泛使用<sup>[3]</sup>。在现代临床中党参常被应用于心血管系统<sup>[4]</sup>、消化系统<sup>[5]</sup>及呼吸系统疾病等<sup>[6]</sup>。随着 2018 年党参入选药食同源目录, 需求量也随之增加。研究表明, 即使同一基原党参的浸出物、多糖、杂质含量也存在差异<sup>[7]</sup>。

分子标记可对药用植物亲缘关系和遗传背景进行准确分析, 已广泛的用于药用植物资源鉴定等方面的研究。党参分子标记开发方面, 主要涉及扩增片段长度多态性 (AFLP)<sup>[8]</sup>, 简单重复序列 (SSR)<sup>[9]</sup>, 简单重复序列间扩增 (ISSR)<sup>[10]</sup>, 表达序列标签微卫星 (EST-SSR)<sup>[11]</sup>, 相关序列扩增多态性 (SRAP)<sup>[12]</sup>, DNA 条形码<sup>[13]</sup>, SSR 又称微卫星, 是一类由几个核苷酸为重复单位组成的长达几十个核苷酸的串联重复序列, 具有高度重复性、多等位基因性质, 高稳定性, 高丰度, 共同优势遗传和良好的基因组覆盖, 可以用于杂合、纯合和植物品种的鉴定<sup>[14]</sup>。但与其他物种相比, 党参的标记开发无论从标记种类还是数量上均无法满足党参资源鉴定、开发的需要。

线粒体与叶绿体标记具有单亲遗传分子标记、开发难度低、植物类群之间保持良好的共性、包含大量遗传信息、基因组小, 结构简单、耗时短、成本

低及开发难度低、广泛分布着微卫星序列 (cpSSR) 和线粒体 DNA (mtDNA) 的特点, 已广泛的应用于生物多样性、系统进化、物种鉴定和群体遗传学等研究领域。娄文睿等<sup>[15]</sup>利用山核桃属 6 个不同物种的叶绿体基因组序列信息, 进行了遗传多样性、系统发育、种质资源鉴定等研究。李鑫玉等<sup>[16]</sup>基于叶绿体微卫星标记, 研究东亚柳杉群体的遗传多样性及其谱系地理结构, 分析空间分布与现有谱系之间的关联。李祥栋等<sup>[17]</sup>从 38 对 cpSSR 引物中筛选出 33 对多态性引物, 研究了国内外 93 份蕙苡属种质资源的遗传多样性差异。殷鑫等<sup>[18]</sup>以山茶属 9 个组 9 个物种的叶绿体基因组全序列为研究对象, 建立了山茶属 cpSSR 分子标记体系, 初步筛选出在种间具有较好多态性的 cpSSR 标记。这些叶绿体和线粒体分子标记的研究结果可为资源的准确鉴定、植物区系演化和遗传资源保护提供科学依据。

目前尚无以党参叶绿体和线粒体基因组为基础设计开发分子标记的报道。为了弥补党参属物种标记的种类和数量的不足, 本研究对党参叶绿体和线粒体基因组进行分析, 并在此基础上设计开发出大量的分子标记, 这些标记的开发一方面填补了党参叶绿体和线粒体微卫星标记的空白, 另一反面又可丰富党参标记的种类, 为后续党参属的进一步研究提供一定的理论支持与铺垫。

## 1 材料

实验所用党参药材叶片分别采自山西省吕梁市、忻州市、晋城市、大同市、晋中市、江西省赣州市会昌县、甘肃省陇南市文县、定西市陇西县, 安徽省合

肥市,分别使用硅胶进行干燥保存或利用水培法获得水培苗,全部实验材料由山西中医药大学裴香萍教授鉴定,鉴定结果如下:山西省吕梁市、忻州市、晋城市、大同市、晋中市、定西市陇西县所采集的党参(其中山西晋城市的材料为潞党参,定西市陇西县的材料为白条党参),是桔梗科植物党参 *Codonopsis pilosula* 的干燥根。甘肃文县中寨镇哈

西沟村的材料为纹党参,是桔梗科植物素花党参 *C. pilosula* var. *modesta* 的干燥根。采自吉林省通化县富江乡碱厂沟、江西省赣州市会昌县右水乡轮叶党参为党参属近缘种羊乳 *C. lanceolata* (俗名轮叶党参、羊奶参、四叶参、山海螺)。材料包括15份人工栽培党参,5份野生党参(每种各5份,共100份),见表1。

表1 不同来源党参材料

Table 1 *Codonopsis* samples from different sources

编号	名称	基原	拉丁名	采样地点	生长模式	经度(N)	纬度(E)	海拔/m
1	党参	党参	<i>Codonopsis pilosula</i>	大同市旧高山村	栽培	112°53'21.01"	40°04'54.53"	1 261.0
2	潞党参	党参	<i>C. pilosula</i>	晋城市陵川县石家坡村	栽培	113°27'14.10"	35°47'40.71"	1 466.0
3	党参	党参	<i>C. pilosula</i>	交城东坡底兑九会村	野生	111°46'22.56"	37°40'27.41"	1 950.0
4	党参	党参	<i>C. pilosula</i>	大同市刘家窑村西北	栽培	112°42'43.16"	39°57'37.39"	1 415.0
5	五花芯党参	党参	<i>C. pilosula</i>	晋城市陵川黄松背村	栽培	113°25'50.30"	35°46'41.62"	1 470.0
6	党参	党参	<i>C. pilosula</i>	忻州市五台县石咀乡石咀村	野生	113°41'40.01"	38°51'45.89"	1 240.0
7	党参	党参	<i>C. pilosula</i>	大同市花豹滩村东南	栽培	112°38'57.28"	40°03'53.05"	1 417.0
8	轮叶党参	羊乳	<i>C. lanceolata</i>	吉林省通化县富江乡碱厂沟	栽培	125°52'03.16"	41°57'56.23"	537.0
9	纹党参	素花党参	<i>C. pilosula</i> var. <i>modesta</i>	甘肃文县中寨镇哈西沟村	栽培	104°22'45.87"	33°14'30.91"	1 805.0
10	党参	党参	<i>C. pilosula</i>	大同市东红崖村北	栽培	112°46'59.90"	40°02'04.67"	1 287.0
11	轮叶党参	羊乳	<i>C. lanceolata</i>	吉林省通化县富江乡碱厂沟	栽培	125°52'03.16"	41°57'56.23"	537.0
12	党参	党参	<i>C. pilosula</i>	大同市孟家堡村	栽培	112°37'48.80"	39°53'36.43"	1 454.0
13	轮叶党参	羊乳	<i>C. lanceolata</i>	江西省赣州市会昌县右水乡	野生	115°40'42.10"	25°26'34.36"	229.0
14	白条党参	党参	<i>C. pilosula</i>	定西市陇西县首阳镇	栽培	104°25'45.09"	35°04'41.93"	1 981.0
15	党参	党参	<i>C. pilosula</i>	大同市张家场村南	栽培	112°49'57.44"	40°04'48.82"	1 240.0
16	台党	党参	<i>C. pilosula</i>	忻州市前所乡	野生	111°53'06.17"	38°55'44.10"	2 012.0
17	台党	党参	<i>C. pilosula</i>	忻州市五台山	野生	113°35'20.86"	38°58'13.90"	2 204.0
18	党参	党参	<i>C. pilosula</i>	大同市杨千堡村	栽培	112°49'35.47"	39°59'55.85"	1 386.0
19	党参	党参	<i>C. pilosula</i>	山西中医药大学	栽培	112°72'32.63"	37°74'87.59"	812.0
20	党参	党参	<i>C. pilosula</i>	大同市鹊儿岭村	栽培	112°46'24.61"	39°55'54.39"	1 593.0

注:样品份数均为5份。

## 2 方法

**2.1 基因组DNA的提取** 以改良CTAB方法<sup>[19]</sup>提取基因组DNA。提取的DNA用0.8%琼脂糖凝胶电泳检测DNA的浓度,将合格的DNA样品稀释至50 mg·L<sup>-1</sup>用于SSR反应。

**2.2 党参基因组序列中SSR的提取** 利用MISA (<https://webblast.ipk-gatersleben.de/misa/>)软件搜索位点,搜索设置的标准为核苷酸1,2,3,4,5,6 bp,重复次数依次不少于10,6,5,5,5,5,5次,复合SSR(2个g-SSR间的距离)小于100 bp。

**2.3 党参SSR引物设计** 利用Primer 5.0软件提取含有SSR重复位点侧翼300 bp序列作为模板序列

进行标记开发。引物的设计标准为GC含量在30%~70%,产物大小为100~250 bp, T<sub>m</sub>值在55~65 °C,上下游引物T<sub>m</sub>值差异不超过5 °C,引物长度为18~22 bp,引物GC含量30%~70%。

**2.4 党参SSR引物有效性验证** PCR反应体系为10 μL, 1×Taq DNA聚合酶缓冲液, 2.5 mmol·L<sup>-1</sup> MgCl<sub>2</sub>, 1 U DNA聚合酶, 100 μmol·L<sup>-1</sup> dNTPs, 上下游引物各0.2 μmol·L<sup>-1</sup>, 模板DNA 50 ng, 加双蒸水补齐到10 μL。PCR反应条件设置为94 °C预变性5 min, 94 °C变性1 min, 55~60 °C复性45 s, 72 °C延伸1 min, 循环步骤为34个循环, 最后72 °C延伸5 min。扩增产物与6×上样液混合, 经非变性聚丙烯

烯酰胺凝胶电泳1 h,电泳结束后银染显色。

**2.5 数据分析** 采用人工读带的方法,将电泳图上可重复的、易分辨的条带记为“1”,同一位置无带计为“0”,建立原始数据矩阵。利用Excel软件统计分析数据,NTSYS软件的UPGMA进行聚类分析,运用PopGene 32软件,进行遗传多样性分析。

### 3 结果分析

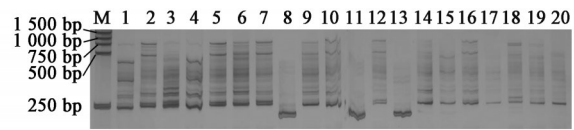
**3.1 党参 cpSSR 和 mtSSR 重复基元特征分析** 使用MISA软件搜索小党参(*C. minima*)叶绿体、秦岭党参(*C. tsinlingensis*)叶绿体和轮叶党参*C. lanceolata*线粒体基因组序列的SSR位点,共获得66个cpSSR位点,26个mtSSR位点,不同核苷酸重复基元的SSR数量间存在明显差异,见表2。(叶绿体基因组核酸序列登录号:小党参叶绿体NC036311,秦岭党参叶绿体MN122102.1;线粒体基因组核酸序列登录号:轮叶党参线粒体NC\_037949.1)其中,小党参叶绿体中,单核苷酸重复基元A/T的cpSSR位点25个,占cpSSR位点总数的86.20%;二核苷酸重复基元(AT/AT)和三核苷酸重复基元(AAG/CTT)的cpSSR位点各为2个,各占cpSSR位点总数的6.9%。秦岭党参叶绿体中,单核苷酸重复基元(A/T,C/G)的cpSSR位点共31个,占cpSSR位点总数的83.78%;二核苷酸重复基元(AT/AT)为5个,占cpSSR位点总数的13.51%。三核苷酸重复基元(AAG/CTT)的cpSSR位点为1个,各占cpSSR位点总数的2.71%。分析重复序列位点发现,小党参和秦岭叶绿体SSR中共包含66种类型重复基元,具有碱基偏好性,主要以A/T为主要重复单元,优势基元分别为A/T(86.20%)和A/T(83.78%)。而mtSSR位点的单核苷酸重复基元(A/T,C/G)共为12个,占mtSSR位点总数的46.15%,二核苷酸重复基元(AC/GT,AG/CT,AT/AT)的mtSSR位点共为14个,占mtSSR总数的53.85%。分析重复序列位点发现,党参线粒体SSR中包含26种类型重复基元,具有碱基偏好性,主要以A/T为主要重复单元,优势基元依次为A/T(83.33%),AT/AT(57.14%),AG/CT(35.71%)。

**3.2 引物的筛选及验证** 为初步筛选出可用的SSR引物,将设计的120对引物在10个党参样品中进行扩增,其中81对引物在10个样品中扩增出条带,可用于SSR标记的验证。将筛选出的81对引物对20份党参样品进行PCR扩增,产物用非变性琼脂糖凝胶电泳检测,其中的26对引物在20份材料间扩增出特异性条带。见表2,图1。

表2 党参中不同SSR重复基元的量

Table 2 Amount of different SSR repeat motifs in *Codonopsis*

序列	来源	重复类型	基序类型	数量 /个	频率/%
叶绿体	小党参	单核苷酸	A/T	25	86.20
		二核苷酸	AT/AT	2	6.90
		三核苷酸	AAG/CTT	2	6.90
秦岭党参	秦岭党参	单核苷酸	A/T,C/G	31	83.78
		二核苷酸	AT/AT	5	13.51
		三核苷酸	AAG/CTT	1	2.71
线粒体	轮叶党参	单核苷酸	A/T,C/G	12	46.15
		二核苷酸	AC/GT,AG/CT,AT/AT	14	53.85



M. D2000 DNA Marker; 1~20. 代表党参材料序号(表1)

图1 引物DSY4在20份党参的扩增

Fig. 1 PCR of the primers DSY4 in 20 *Codonopsis*

**3.3 聚类分析** 运用NTSYS-pc2.10e软件对20份党参进行聚类分析。结果显示,在阈值0.53处可分为两大类群,亚群I为大同市(1,4,7,10,12,15,18,20),吕梁市(3),定西市(14),忻州市(6,16,17),晋城市(2,5)和晋中市(19)。亚群II为吉林省轮叶党参(8,11)和江西省轮叶党参(13),见图2。聚类分析结果表明,大同市党参集中在亚群I中,表明大同党参药材遗传变异与地理分布有明显相关性,而轮叶党参单独聚为亚群II,表明轮叶党参遗传变异也与地理分布有相关性。

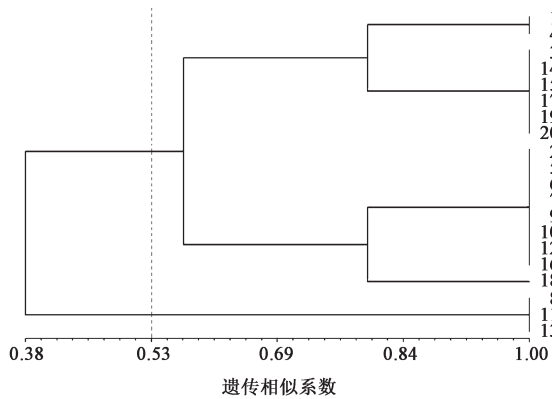
**3.4 遗传多样性分析** 运用PopGene 32软件对20份党参进行遗传多样性分析。根据26对引物的PCR预试验结果,筛选出4对引物用于遗传多样性分析,4个位点在20份个体中的观测等位基因数、有效等位基因数、观测杂合度、期望杂合度和香浓信息指数数据见表4。结果发现,观测等位基因数( $N_a$ )共为12个。有效等位基因数( $N_e$ )的范围为1.362 9~2.605 9个,平均为1.933 5个。各位点多态性位点百分率(PPL)均为100%,表明所选引物均为高度多态性引物,可以用于遗传多样性分析。各位点的遗传学参数 $H_o$ , $H_e$ ,香浓信息指数的平均值分别为0.555 8,0.444 2,0.753 2,说明各个位点的多态性水平较高。

**3.5 DNA指纹图谱代码的构建** 通过进行多态性位点的分析,结果表明,根据其中4对引物(DSY4,DSY6,DSY11,DSCp6)能够将20份来源于不同地

表 3 20 对引物信息

Table 3 Information of 20 primer pairs

编号	引物序列(5'-3')	重复单元	退火温度/°C	预期长度/bp
DSY1	上游 ACCGACGACTTACGCCTTAC	(AT)5	55	171
	下游 GCCGCTATGAGTTTACTGGAT			
DSY2	上游 TATGAGATTTATGGGCACTA	(TA)5	55	309
	下游 TTCGGTTGAGTAGGATTT			
DSY3	上游 GATAGGCTGGTTCGCTTGA	(TA)6	55	289
	下游 TTATGGTCGGGTCGGTAG			
DSY4	上游 CATCCCTTCAATTAGCCT	(AT)5	55	220
	下游 GTTCCGTTCCATCTTTCA			
DSY5	上游 GAAATAGACCCTAGAAGC	(CA)5	55	190
	下游 TAATGAACGGACGAAACC			
DSY6	上游 TGAACCGACGACTTACGC	(TA)11	56	200
	下游 GCCGCTATGAGTTTACTGGAT			
DSY7	上游 TGAGATTTATGGGCACTA	(TG)5	55	307
	下游 TTCGGTTGAGTAGGATTT			
DSY8	上游 GATAGGCTGGTTCGCTTGA	(TG)5	55	490
	下游 GGTCGGGTCGGTAGTTAG			
DSY9	上游 CATCCCTTCAATTAGCCT	(AT)5	54	220
	下游 TTCCGTTCCATCTTTTATA			
DSY10	上游 TCTTTAGCCCTATGTCTC	(TG)5	55	300
	下游 TATTCCTGGTATAGTAGATG			
DSY11	上游 CTGACAAGTCGCACTATAAAGT	(TTC)6	56	170
	下游 ATGATGCCTGTTGGTGT			
DSY12	上游 TTCTTGGGCGAAATAGAGGA	(TCT)7	55	183
	下游 CCTGTTGGTGTCCGAAAGT			
DSY13	上游 TTTATCTGCTGGGTTACGGG	(C)13	55	247
	下游 GATCCGAGCTCTTGGAATTG			
DSY14	上游 CCCATTTTAAGGCCATTTT	(A)11	55	143
	下游 CGAACAATTTGTGGTTTGATTG			
DSY15	上游 GATCTCGGTTTTTCTAGTGCAA	(T)14	55	228
	下游 GGAATTCAAATTGGGGCTTT			
DSY16	上游 GATCCGAGCTCTTGGAATTG	(G)13	55	247
	下游 TTTATCTGCTGGGTTACGGG			
DSCp1	上游 TGGAAGTCAACGGAGAAA	(AG)5	49.8	150
	下游 TCGGAGCATAAAGAAGAAC			
DSCp2	上游 AGTCCCTTTCGTCCAGTG	(AT)5	51.3	244
	下游 AGTCGGGTCCTGTCCTTCG			
DSCp3	上游 TCATAGAATCTCCGTCCT	(TA)5	49	265
	下游 CTTTTATCTTATTTTGAGCC			
DSCp4	上游 TATTCCTCTTCACGACC	(TC)5	50	213
	下游 CCTTATTCAGGCATTT			
DSCp5	上游 GGAGGTAGGATTCGGTTGA	(GA)5	52.9	261
	下游 AGCGTGGAGTTCTTACTTTCTT			
DSCp6	上游 ATTCTTTCTCGCCCTTCC	(TA)7	51.5	145
	下游 GCTCGTTGATTCCGTTTT			
DSCp7	上游 AAAGAGGCTTCGGGTTCA	(TA)5	52.2	158
	下游 TACCGTCCGCTATCCAC			
DSCp8	上游 AAAATCATCTACCCTTCTC	(AG)5	49.7	174
	下游 GTCCCTCACTTATGTCTCG			
DSCp9	上游 ACTGCCCTTAAGTCTATG	(CT)5	51.7	174
	下游 TATTCGGACCTTTCACCC			
DSCp10	上游 TTCCTATTCGCTCATTC	(GA)5	52.4	202
	下游 CCTGGTCTCCACCTTATT			



20份材料编号同表1

图2 基于遗传距离的20份党参资源聚类

Fig. 2 Cluster diagram of 20 accessions of *Codonopsis* based on genetic distance

表4 20份党参个体在4个微卫星位点的遗传多样性指数

Table 4 Genetic diversity index of 20 *Codonopsis pilosula* individuals at 4 microsatellite loci

编号	Ne	Ho	He	香浓信息指数
DSY4	2.605 9	0.367 9	0.632 1	1.011 9
DSY6	1.362 9	0.726 9	0.273 1	0.526 7
DSY11	2.402 4	0.401 3	0.598 7	0.947 5
DSCP6	1.362 9	0.726 9	0.273 1	0.526 7

注:Na均为3。

理环境的党参区分开,根据4对SSR引物扩增的多态性位点,按照指纹图谱的构建方法对每一地区的党参建立DNA指纹图谱代码,见表5。

表5 20份党参DNA指纹图谱代码

Table 5 20 *Codonopsis pilosula* DNA fingerprinting codes

编号	地点	引物				指纹编码
		DSY4	DSY6	DSY11	DSCP6	
1	大同市旧高山村	0011	0001	1101	101	001100011101101
2	晋城市陵川县石家坡村	1101	0001	1101	101	110100011101101
3	交城东坡底兑九会村	0001	0101	1101	101	000101011101101
4	大同市刘家窑村西北	0011	0101	1101	101	001101011101101
5	晋城市陵川黄松背村	1101	0001	1101	001	110100011101001
6	忻州市五台县石咀乡石咀村	1101	0001	1101	001	110100011101001
7	大同市花豹滩村东南	1101	0101	1101	101	110101011101101
8	吉林省通化县富江乡碱厂沟	0000	1010	0010	010	000010100010010
9	甘肃文县中寨镇哈西沟村	1101	0101	1101	101	110101011101101
10	大同市东红崖村北	1101	0101	1101	001	110101011101001
11	吉林省通化县富江乡碱厂沟	0000	1010	0010	010	000010100010010
12	大同市孟家堡村	1101	0101	1101	101	110101011101101
13	江西省赣州市会昌县右水乡	0000	1010	0110	010	000010100110010
14	大同市旧高山村	0001	0101	1001	001	000101011001001
15	晋城市陵川县石家坡村	0001	0101	0001	001	000101010001001
16	交城东坡底兑九会村	1101	0101	1101	101	110101011101101
17	大同市刘家窑村西北	0001	0101	1001	101	000101011001101
18	晋城市陵川黄松背村	1001	0101	1101	101	100101011101101
19	忻州市五台县石咀乡石咀村	0001	0101	1001	101	000101011001101
20	大同市花豹滩村东南	0001	0101	1101	101	000101011101101

## 4 讨论

4.1 叶绿体和线粒体研究 近年来,随着测序技术的不断发展,包括木兰科五味子(146 730 bp)<sup>[20]</sup>;伞形科前胡(164 653 bp)<sup>[21]</sup>,豆科黄芪(123 582 bp)<sup>[22]</sup>,蒙古黄芪(123 582 bp)<sup>[23]</sup>,光果甘草(127 895 bp),

甘草(127 716 bp)<sup>[24]</sup>;菊科菊花(150 972 bp)<sup>[25]</sup>,青蒿(150 995 bp)<sup>[26]</sup>,白术(153 261 bp)<sup>[27]</sup>;唇形科益母草(151 610 bp)<sup>[27]</sup>,薄荷(152 050 bp)<sup>[28]</sup>;禾本科薏苡(140 745 bp)<sup>[29]</sup>;忍冬科金银花(155 078 bp)<sup>[30]</sup>;兰科球花石斛(151 686 bp)<sup>[31]</sup>,细茎石斛

(150 754 bp)<sup>[32]</sup>;石莼科浒苔(93 066 bp)<sup>[33]</sup>等药用植物的叶绿体基因组。十字花科拟南芥(366 924 bp),油菜(221 853 bp);藜科甜菜(368 801 bp);茄科烟草(430 597 bp);禾本科小麦(452 528 bp),玉米(569 630 bp),水稻(490 520 bp);葡萄科葡萄(773 279 bp);葫芦科西瓜(379 236 bp),西葫芦(982 833 bp),甜瓜(2740 000 bp),黄瓜(1 685 000 bp);石莼科浒苔(61 962 bp)<sup>[33]</sup>;银杏科银杏(346 595 bp)<sup>[34]</sup>等的线粒体基因组陆续公布。

叶绿体和线粒体分别是植物光合作用和能量制造的细胞器,以二者基因组序列为基础开发的叶绿体、线粒体标记属于单亲遗传分子标记,具有开发难度低、与植物类群之间保持良好共性的优点,在生物多样性、系统进化、物种鉴定和群体遗传学等研究领域广泛应用。基于细胞质基因组开发的分子标记数量也呈指数级增加。

本研究中党参叶绿体和线粒体 SSR 中包含 55 种类型丰富的重复单元,同一基序长度不同碱基组成的重复序列数不同。其中,党参叶绿体和线粒体微卫星 SSR 位点中,叶绿体存在 1~3 个核苷酸位点,单核苷酸重复类型最多(86.20%),其次为二核苷酸(6.9%)和三核苷酸重复单元(6.9%),优势基元为 A/T(86.20%),此结果与浒苔<sup>[33]</sup>、丹参<sup>[35]</sup>、球花石斛<sup>[36]</sup>和细茎石斛<sup>[37]</sup>等物种的碱基偏好性类似,均以 A/T 为主要重复单元。线粒体存在 1~2 个核苷酸位点,二核苷酸重复类型最多(53.85%),其次为单核苷酸重复类型(46.15%)。优势基元为 A/T(83.33%),AT/AT(57.14%),本结果与浒苔<sup>[33]</sup>、丹参<sup>[35]</sup>等物种的碱基偏好性类似,均以 A/T 为主要重复单元。通常认为,基因组中存在大量以单核苷酸和二核苷酸重复单元表明该物种具有较高的进化水平<sup>[38]</sup>。

**4.2 通用性研究** 近年来,利用植物基因组的 SSR 序列开发 SSR 引物,并在近缘或远缘物种中进行通用性分析已成为一种较为常见的引物开发手段,无论在单子叶植物还是双子叶植物中均有许多成功的报道<sup>[39]</sup>。曹玲亚等<sup>[40]</sup>采用 SSR 标记对党参属植物进行通用性及遗传相似度分析,为党参核心种质资源构建和分子标记辅助育种积累资料。刘新星等<sup>[11]</sup>随机选取 5 对 EST-SSR 引物对来 12 份材料进行党参及近缘属通用性研究,为党参种质鉴别、遗传研究及资源评价等提供了参考。

但是与其他物种相比,党参分子标记不论从种类还是数量上仍不能满足党参资源鉴定的需要,本课题基于小党参、秦岭党参和轮叶党参开发的标

记,既可用于党参属近缘物种轮叶党参,又可用于党参属潞党参及党参 *Codonopsis ilosula* 等材料的鉴定,说明基于轮叶党参细胞质基因组序列开发的标记在党参属中具有较好的通用性,可将本省与外省的党参样品进行区别,为后序其他党参资源鉴定奠定基础。

**4.3 聚类分析研究** 沙秀芬等<sup>[35]</sup>将 61 份丹参材料在阈值 0.64 处成 6 个亚群。刘新星等<sup>[11,41]</sup>通过聚类分析分别将党参属及桔梗 12 份材料取为 2 类。通过分析轮叶党参 EST 序列开发出的 EST-SSR 标记对 58 份甘肃栽培党参材料进行分析,将栽培党参在阈值 0.70 处分为 2 大类。

本研究运用 NTSYS-pc2.10e 软件对 20 份党参进行聚类分析在阈值 0.53 处可分为两大类群,亚群 I 为大同市、吕梁市、定西市、忻州市、晋城市和晋中市党参药材。亚群 II 为吉林省和江西省轮叶党参药材。聚类分析结果可见,大同市党集中在亚群 I 中,表明大同党参药材遗传变异与地理分布有明显相关性,而轮叶党参单独聚为亚群 II,表明轮叶党参遗传变异也与地理分布有相关性。本研究鉴定出的党参 SSR 标记能在不同来源党参中扩增出目标条带,表明上述标记可提高党参属植物种质资源鉴定、开发和分子标记辅助选择的效率。

**4.4 DNA 指纹图谱分析研究** 筛选出的 4 对特异性引物建立了不同地理环境下党参的 DNA 指纹图谱。其中,轮叶党参 8,11(吉林省通化县富江乡碱厂沟),13(江西省赣州市会昌县右水乡)的指纹图谱代码分别是 000010100010010,000010100010010 和 000010100110010,从代码中得出材料轮叶党参 8 和 11 的代码相似,可能是因为采自于一个地区的缘故,而材料 13 的代码与 8 和 11 有明显的区别,可能是由于地理环境的差异。材料 1 和 4 的指纹图谱代码接近但存在差异分别是 001100011101101 和 001101011101101,其中 1 是大同市旧高山村材料,4 是大同市刘家窑村西北材料。材料 3(交城东坡底兑九会村),14(定西市陇西县首阳镇),15(大同市张家场村南),17(忻州市五台山),19(山西中医药大学),20(大同市鹊儿岭村)的指纹图谱代码较为接近但是各有区别(000101011101101,000101011001001,000101010001001,000101011001101,000101011001101,000101011101101),2(晋城市陵川县石家坡村),5(晋城市陵川黄松背村),6(忻州市五台县石咀乡石咀村),7(大同市花豹滩村东南),9(甘肃文县中寨镇哈西沟村),10(大同市东红崖村

北),12(大同市孟家堡村),16(忻州市前所乡),18(大同市杨千堡村)的指纹图谱代码接近但各有区别(110100011101101, 110100011101001, 110100011101001, 110101011101101, 110101011101101, 110101011101001, 110101011101101, 110101011101101, 100101011101101),上述的DNA指纹图谱分析研究与聚类分析呈现出一致的结果。同时,该指纹图谱可将党参及近缘种轮叶党参进行明显区分。赵宇<sup>[42]</sup>基于黄瓜亲本材料的DNA指纹图谱,利用引物mtSSR4对南水3号种子进行检测,结果表明67粒种子条带与父本一致为真杂种,3粒种子条带与母本一致,为假杂种,分子标记鉴定纯度为95.7%,且真、假杂种编号与田间形态鉴定结果相同。王崇等<sup>[43]</sup>基于甘薯叶绿体基因组,利用cpSSR分子标记,对甘薯栽培和地方品种的104份材料进行遗传多样性分析并构建指纹图谱,为甘薯资源的保护鉴定和遗传改良提供参考。有关DNA指纹图谱报道的文献有金线莲<sup>[44]</sup>、石斛兰<sup>[45]</sup>、益母草<sup>[46]</sup>、棉团铁线莲及同属植物<sup>[47]</sup>等。综上所述,因具有高度的特异性、稳定的遗传性、体细胞的稳定性和分析结果清晰明了等特点,使得DNA指纹图谱技术被广泛应用于各个领域<sup>[48-49]</sup>。

## 5 结论

党参属药用种质资源丰富,其属内存在药用植物种类繁多及替代混用、种间及近缘关系复杂等情况。党参分子标记方面的研究包括 AFLP, SSR, ISSR, EST-SSR, SRAP, DNA 条形码,但总体而言标记数量和种类有限,不能够满足党参属遗传多样性和亲缘关系研究的现状。

利用Primer 5.0软件成功开发出20对cpSSR, mtSSR引物标记,这些标记具有较好的稳定性和多态性。叶绿体中,小党参(A/T),秦岭党参(A/T), (C/G), (AT/AT)2。线粒体中,轮叶党参(AC/GT)2, (AG/CT)2, (AT/AT)2核苷酸重复多态性高,可作为党参SSR引物设计的首选;利用NTSYS-pc2.10e软件,引物DSY4可将山西省党参与外省江西、吉林党参区分,表明通过轮叶党参开发SSR标记在党参属种间通用性高;运用PopGene 32软件对20份党参进行遗传多样性分析,筛选出4对引物用于遗传多样性分析,4个位点在20份个体中的各个遗传学参数,说明所选引物均为高度多态性引物且各个位点的多态性水平较高,可以用于遗传多样性分析。运用多态性位点分析筛选出的4对引物构建的DNA指纹图谱可将20份党参种质资源进行单独单独鉴别。因

此,本研究开发的标记可提高党参属植物种质资源开发与鉴定、遗传多样性研究和分子标记辅助选择的效率。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

## [参考文献]

- [1] 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.
- [2] 毕红艳,张丽萍,陈震,等. 药用党参种质资源研究与开发利用概况[J]. 中国中药杂志,2008,33(5):590-594.
- [3] GAO S M, LIU J S, WANG M, et al. Traditional uses, phytochemistry, pharmacology and toxicology of codonopsis: a review [J]. J Ethnopharmacol, 2018, 219:50-70.
- [4] 李浅予,汤岐梅,侯雅竹,等. 中药党参的心血管药理研究进展[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2019,17(17):2604-2606.
- [5] 王涵,林红强,谭静,等. 党参药理作用及临床应用研究进展[J]. 世界最新医学信息文摘,2019,19(7):21-22;24.
- [6] 张葵,张培琴,陈昱江,等. 参芪补肺汤对慢性阻塞性肺疾病稳定期肺气虚证患者肺功能的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(1):213-216.
- [7] 张沙沙,高建平,张芮铭,等. 党参(潞党参)药材商品等级标准研究[J]. 中药材,2019,42(7):1503-1508.
- [8] GU C, CAO L Y, SU Q, et al. AFLP and HPLC fingerprints analysis of *Codonopsis* species from original areas and the same planting base [J]. J Chin Med Material, 2016, 39(8):1716-1722.
- [9] 王东,曹玲亚,高建平. 党参转录组中SSR位点信息分析[J]. 中草药,2014,45(16):2390-2394.
- [10] 朱田田,晋玲,刘效瑞,等. 不同黄芪和党参栽培品种(系)遗传关系的ISSR分析[J]. 中国中医药信息杂志,2015,22(2):79-82.
- [11] 刘新星,石有太,罗俊杰,等. 轮叶党参EST-SSR标记的开发及在党参属中的应用[J]. 中草药,2018,49(13):3110-3115,3121.
- [12] 陈大霞,彭锐,李隆云,等. 利用SRAP和ISSR标记分析川党参的遗传多样性[J]. 中国中药杂志,2009,34(3):255-259.
- [13] JING Y H, SHU Z, KATSUKO K, et al. Genetic polymorphism of medicinally-used *Codonopsis* species in an internal transcribed spacer sequence of nuclear ribosomal DNA and its application to authenticate *Codonopsis Radix* [J]. J Nat Med, 2014, 68(1):112-124.
- [14] 张丹,王颖莉,杜晨晖,等. 生物学技术在药用植物鉴

- 定中的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(1): 214-222.
- [15] 娄文睿, 莫正海, 杨旭风, 等. 山核桃属叶绿体基因组微卫星特征分析及分子标记开发[J]. 分子植物育种, 2021, doi: 46. 1068. s. 20210920. 0028. 004.
- [16] 李鑫玉, 戴旻峻, 王敏求, 等. 利用叶绿体微卫星标记分析东亚柳杉群体的谱系地理结构[J]. 分子植物育种, 2021, doi: 46. 1068. S. 20210820. 0855. 002.
- [17] 李祥栋, 石明, 陆秀娟, 等. 利用叶绿体基因组SSR标记揭示蕙苾属种质资源的遗传多样性[J]. 华北农学报, 2019, 34(S1): 6-14.
- [18] 殷鑫, 温强, 王建文, 等. 山茶属叶绿体全基因组微卫星特征分析及标记开发[J]. 分子植物育种, 2018, 16(20): 6761-6769.
- [19] 李明娟, 黄嫒, 金莉, 等. 枳壳类中药材干燥果实DNA提取方法的优化实验设计[J]. 实验室研究与探索, 2020, 39(3): 178-181.
- [20] GUO H, LIU J, LUO L, et al. Complete chloroplast genome sequences of *Schisandra chinensis*: genome structure, comparative analysis, and phylogenetic relationship of basal angiosperms [J]. *Sci China Life Sci*, 2017, 60: 1286-1290.
- [21] LEE H O, JOH H J, KIM K, et al. Dynamic chloroplast genome rearrangement and DNA barcoding for three apiaceae species known as the Medicinal Herb "Bang-Poong" [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(9): 2196.
- [22] LEI W, NI D, WANG Y, et al. Intraspecific and heteroplasmic variations, gene losses and inversions in the chloroplast genome of *Astragalus membranaceus* [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 21669.
- [23] 雷万钧. 蒙古黄芪叶绿体基因组研究[D]. 太原: 山西农业大学, 2016.
- [24] KANG S H, LEE J H, LEE H O, et al. Complete chloroplast genome and 45S nrDNA sequences of the medicinal plant species *Glycyrrhiza glabra* and *Glycyrrhiza uralensis* [J]. *Genes Genet Syst*, 2017, 93(3): 83-89.
- [25] XIA Y, HU Z, LI X, et al. The complete chloroplast genome sequence of *Chrysanthemum indicum* [J]. *Mitochondrial DNA A*, 2016, 27(6): 4668-4669.
- [26] SHEN X, WU M, LIAO B, et al. Complete chloroplast genome sequence and phylogenetic analysis of the medicinal plant *Artemisia annua* [J]. *Molecules*, 2017, 22(8): 1330.
- [27] 张慧. 苍术、微花藤和益母草叶绿体基因组分析及分子标记预测软件开发[D]. 北京: 北京协和医学院, 2018.
- [28] 沈立群. 唇形科三种药用植物叶绿体全基因组及科内的比较与进化分析[D]. 杭州: 浙江大学, 2018.
- [29] 李祥栋, 潘虹, 陆秀娟, 等. 蕙苾叶绿体基因组的SSR位点分析及种质亲缘关系鉴定[J]. 贵州农业科学, 2018, 46(8): 1-5.
- [30] HE L, QIAN J, LI X, et al. Complete chloroplast genome of medicinal plant *Lonicera japonica*: Genome rearrangement, intron gain and loss, and implications for phylogenetic studies [J]. *Molecules*, 2017, 22(2): 249.
- [31] 朱斌, 甘晨晨, 王洪程. 球花石斛 (*Dendrobium thyrsiflorum*) 叶绿体基因组特征及亲缘关系解析[J]. 生物技术通报, 2021, doi: 10. 13560/j. cnki. biotech. bull. 1985. 2020-1380.
- [32] 武立伟, 崔英贤, 聂丽萍, 等. 细茎石斛叶绿体全基因组序列特征及系统发育分析[J]. 药学学报, 2020, 55(5): 1056-1066.
- [33] 王灵珂. 浒苔的线粒体、叶绿体基因组研究及基于转录组数据的SSR分子标记开发[D]. 上海: 上海海洋大学, 2017.
- [34] 叶楠. 银杏线粒体基因组研究[D]. 南京: 南京林业大学, 2018.
- [35] 沙秀芬, 彭芳, 陶珊, 等. 丹参线粒体和叶绿体微卫星标记开发及多样性分析[J]. 西北植物学报, 2018, 38(12): 2215-2223.
- [36] 朱斌, 甘晨晨, 王洪程. 球花石斛 (*Dendrobium thyrsiflorum*) 叶绿体基因组特征及亲缘关系解析[J]. 生物技术通报, 2021, doi: 10. 13560/j. cnki. biotech. bull. 1985. 2020-1380.
- [37] 武立伟, 崔英贤, 聂丽萍, 等. 细茎石斛叶绿体全基因组序列特征及系统发育分析[J]. 药学学报, 2020, 55(5): 1056-1066.
- [38] TOTH G, GÁSPÁRI Z, JURKA J. Microsatellites in different eukaryotic genomes: survey and analysis [J]. *Genome Res*, 2000, 10(7): 967-981.
- [39] 张燕梅, 李俊峰, 鹿志伟, 等. 剑麻EST-SSR在丝兰麻和中美麻中的通用性分析[J]. 热带作物学报, 2021, 42(7): 1824-1830.
- [40] 曹玲亚, 谷聪, 孙海峰, 等. 基于SSR标记的党参属部分药用植物的遗传多样性和遗传结构评价[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(24): 45-52.
- [41] 刘新星, 陈玉梁, 石有太, 等. SSR标记甘肃栽培党参种质资源的遗传多样性分析[J]. 中药材, 2016, 39(8): 1742-1747.
- [42] 赵宇. 黄瓜线粒体DNA指纹图谱的构建及心腔颜色的遗传研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2017.
- [43] 王崇, 王连军, 杨新笋, 等. 104个甘薯品种的cpSSR指纹图谱构建及遗传多样性分析[J]. 热带作物学报, 2021, 42(6): 1549-1556.

- [44] 王海阁,许文,张勋,等. 福建野生金线莲种质资源的遗传多样性分析[J]. 时珍国医国药, 2021, 32(2): 343-348.
- [45] 崔学强,唐璇,黄昌艳,等. 22种石斛兰遗传多样性分析及DNA指纹图谱构建[J]. 分子植物育种, 2021, 19(9):3005-3014.
- [46] 王丹丹,王鹏. EST-SSR构建益母草栽培种指纹图谱及遗传多样性[J]. 辽东学院学报:自然科学版, 2020, 27(3):165-170.
- [47] 木其尔. 14种铁线莲属植物DNA条形码分子鉴定及棉团铁线莲指纹图谱研究[D]. 通辽:内蒙古民族大学, 2020.
- [48] 许丹芸,张辉菊,李可心,等. 22种樟科植物DNA条形码分子鉴定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(16):159-166.
- [49] 方强强,王燕. 多基原民族药岩陀DNA条形码鉴定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(17):142-150.

[责任编辑 顾雪竹]

·书讯·

## 中西医结合治疗甲状腺功能亢进症的安全性分析

——评《甲状腺疾病诊断与治疗》

甲状腺功能亢进症(简称甲亢),一种常见的内分泌疾病,病因复杂多样,发病率较高,而且发病因素较为复杂,除了患者自身的免疫力外,还与遗传和感染等因素有明显的相关性。由于工作、学习、长时间的紧张情绪、不健康的饮食习惯、过度劳累等因素共同作用后,使患者血液中的甲状腺素持续增加,引起各种临床症状。中医学将甲亢归于瘰病、瘰气范畴,认为发病原因是忧愁郁怒、情志内伤及痰气瘀结等,其火旺阴伤是主要的病证,而且病情复杂,这些症状都是由于心理因素所致,导致疾病复发的原因。

《甲状腺疾病诊断与治疗》胡予主编,由上海科学技术文献出版社2020年1月出版。以医学科普读物的形式,向广大读者详细介绍了甲状腺的生理功能与甲状腺疾病的关系,简述了甲亢、甲状腺功能减退(简称甲减)、甲状腺腺瘤、甲状腺炎、单纯性甲状腺肿及甲状腺结节等方面的预防保健和防治。其内容新颖、系统、实用,适合甲状腺疾病患者、甲状腺疾病高发人群及广大群众阅读。本书理论与实践相结合,注重临床实用性和可操作性,可供临床医护人员参考学习。该书介绍了甲亢的发病原因,临床检查项目,治疗的最佳方案以及护理、预防等方面的知识。在每章节后专门介绍一些相关的小知识,力求通俗易懂,简明扼要,适宜广大读者阅读和掌握;同时注重中西医结合,便于基层医务人员在临床中使用,并且适合于医学院在校学生阅读与提高。本书叙述了甲亢在进行中西医结合治疗的临床效果与安全性分析。临床治疗,患者口服他巴唑片,45 mg·d<sup>-1</sup>,持续服用1个月之后每天的剂量减少至30 mg,每间隔15 d减少药量5 mg之后,将药物服用量维持在5~10 mg·d<sup>-1</sup>;针对中度病情患者,口服30 mg·d<sup>-1</sup>,持续服药1个月之后将服用量减到20 mg·d<sup>-1</sup>,之后的服药量维持在5~10 mg·d<sup>-1</sup>;针对病情轻微患者,口服药物20 mg·d<sup>-1</sup>,服用1个月之后改为服药10 mg·d<sup>-1</sup>。中药内服自拟汤药甲亢方,药物组成,黄芪24 g,牡丹皮12 g,熟地黄15 g,天冬12 g,甘草12 g,麦冬15 g,夏枯草1 g,太子参15 g,浙贝母15 g,柏子仁15 g;可依据患者的具体病情进行药物加减,肝郁气滞型加北柴胡12 g,郁金15 g,陈皮6 g,香附9 g;阴虚火旺型加龙胆草15 g,知母9 g,草决明9 g;气阴两虚型加生地15 g,鳖甲18 g;诸药联合水煎服,混合药液,1剂/d,分早晚服用,连续服药6个月。目前临床上治疗该病的重点是阻碍或破坏患者体内甲状腺合成甲状腺素和破坏腺体组织分泌的功能,因此多采用西药治疗,但单用西药治疗效果不理想,不良反应较大。患者发病后出现阴虚、气郁的症状,应用西药他巴唑药物治疗能有效地控制患者的免疫功能,提高机体免疫功能,且药效与剂量呈正相关,所以患者的甲状腺功能减退效果与他巴唑的用量有密切关系。中药麦冬可以养阴生津,对体内的忧患进行调节,从而使患者体内的免疫功能得到改善,从而进一步抑制甲状腺素的产生;熟地黄、天冬可根据不同的证型来治疗甲亢,而中医治疗甲亢则以养阴为重点,同时根据不同的证法对患者进行治疗,使患者的机体免疫力得到改善,同时以降低其TT<sub>3</sub>,TT<sub>4</sub>的含量为重点。

《甲状腺疾病诊断与治疗》作为医学科普读物,为读者详细介绍了各类常见疾病发病情况,疾病的预防、治疗,生活中的饮食、调养与疾病之间的关系,治疗的误区,患者的日常注意事项等。其内容新颖、系统、实用,适合患者、患者家属及广大群众阅读,对医生临床实践也具有一定的参考价值。采用一问一答的形式,逻辑严密、条理清晰,便于读者理解;方便读者获取有效信息,是可以反复阅读、随时可取的“家庭医生”。因其语言简明扼要,实用性强,可供医生、进修医生和实习医生参考。

(作者杨婷婷,浙江中医药大学附属第二医院,杭州 310005)