

基于ITS2序列的乌头属药材分子鉴定及亲缘关系分析

乌仁吉如拉¹, 金淑杰², 乌雅汉¹, 青格乐¹, 红鹰¹, 呼和¹, 阿如娜³, 吴七十三^{1*},
包桂花^{1,4*}, 奥乌力吉¹, 许亮⁵

- (1. 内蒙古民族大学, 内蒙古通辽 028000;
2. 内蒙古民族大学附属医院, 内蒙古通辽 028000;
3. 中央民族大学, 北京 100081;
4. 内蒙古民族大学蒙医药研发工程教育部重点实验室, 内蒙古通辽 028000;
5. 辽宁中医药大学, 辽宁大连 116000)

[摘要] 目的:应用核糖体基因内转录间隔区(ITS)2序列对乌头属12种药材进行DNA条形码(DNA barcoding)分子鉴定,并确定其亲缘关系。方法:收集乌头属12种药材共计30份,运用离心柱型植物基因组试剂盒的方法提取DNA、使用ITS2序列通用引物进行聚合酶链式反应(PCR)扩增、电泳检测后双向测序,应用CodonCode Aligner 17.0软件对测序序列和峰图进行校对拼接,利用MEGA 7.0软件进行序列变异分析,采用ITS2 Database在线工具预测其二级结构,使用邻接法(NJ)构建系统聚类树。结果:乌头属12种药材ITS2序列长度为220~221 bp,鸟嘌呤和胞嘧啶(GC)平均含量为64.09%;变异位点共140个,信息位点共137个,保守位点共81个,种内遗传距离(K2P)小于种间K2P;在ITS2序列二级结构和NJ聚类分析中,花葶乌头、西伯利亚乌头和高乌头的亲缘关系接近,其他9种药材的亲缘关系接近,其中华北乌头和阴山乌头的亲缘关系更为接近。结论:ITS2序列在乌头属12种药材分子鉴定及确定亲缘关系方面具有较好的应用价值,为民族药的资源保护、开发应用方面提供新的思路、技术和方法。

[关键词] 乌头属; 内转录间隔区(ITS)2序列; 二级结构和邻接法(NJ)聚类分析; DNA条形码; 分子鉴定

[中图分类号] R284.2;R289;R22;R2-031;R33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2022)17-0157-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20221011

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20220616.1426.005.html>

[网络出版日期] 2022-06-17 10:41

Identification of Medicinal *Aconitum* Species Based on ITS2 Sequences and Analysis of Genetic Relationship

Wurenji Rula¹, JIN Shujie², Wuyahan¹, QInggele¹, Hongying¹, Huhe¹, Aruna³, WU Qishisan^{1*},
BAO Guihua^{1,4*}, Aowuliji¹, XU Liang⁵

- (1. Inner Mongolia Minzu University, Tongliao 028000, China;
2. Affiliated Hospital of Inner Mongolia Minzu University, Tongliao 028000, China;
3. Minzu University of China, Beijing 100081, China;
4. Key Laboratory of Ministry of Education of Mongolian Medicine R&D Engineering, Inner Mongolia Minzu University, Tongliao 028000, China;
5. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116000, China)

[收稿日期] 2022-03-18

[基金项目] 国家重点研发计划项目(2018YFC1708200);内蒙古自治区科技重大专项(2019ZD004);2018内蒙古自然科学基金项目(2018MS08124);蒙药研发国家地方联合工程研究中心开放基金项目(MDK2021026);内蒙古民族大学研究生科研创新资助项目(NMDSS2104)

[第一作者] 乌仁吉如拉,在读硕士,从事蒙医病理生理学实验研究,E-mail:1214747516@qq.com

[通信作者] * 吴七十三,博士,教授,硕士生导师,从事蒙医病理生理学实验研究,E-mail:qishanwu@126.com;

* 包桂花,博士,教授,硕士生导师,从事蒙药鉴定与品种资源研究,E-mail:bghhtlg_123@163.com

[Abstract] **Objective:** The internal transcribed spacer (ITS) 2 region of ribosomal gene, a DNA barcode, was employed to identify 12 medicinal *Aconitum* species and the genetic relationship among the species was analyzed. **Method:** A total of 30 samples of the 12 species were collected. The DNA was extracted with spin column plant genomic DNA kit and the universal primers of ITS2 sequence were used for polymerase chain reaction (PCR) amplification, followed by electrophoresis detection and bi-directional sequencing. The yielded sequences were aligned and spliced by CodonCode Aligner 17.0 and sequence variation was analyzed by MEGA 7.0. The secondary structure was predicted by ITS2 Database and the neighbor-joining (NJ) method was applied to generate the phylogenetic tree. **Result:** The ITS2 sequences of the 12 species were 220-221 bp, with the average guanine and cytosine (GC) content of 64.09%, 140 variable sites, 137 informative sites, and 81 conservative sites. The intraspecific genetic distance (K2P) was smaller than the interspecific genetic distance. According to the secondary structures of ITS2 sequences and NJ cluster analysis, *A. scaposum*, *A. sinomontanum*, and *A. barbatum* had close genetic relationship, while the rest nine showed close kinship, particularly *A. soongaricum* and *A. yinschanicum*. **Conclusion:** ITS2 sequence is of great value for the molecular identification and genetic relationship determination of *Aconitum*, which provides a new method for the study of ethnomedicine.

[Keywords] *Aconitum*; internal transcribed spacer (ITS) 2 sequence; secondary structure and neighbor-joining (NJ) cluster analysis; DNA barcode; molecular identification

乌头属 *Aconitum* 是多年生至一年生草本,直根,茎直立或缠绕,草本开花植物,由2至数个块根组成。目前已发现品种约有350种,分布于北半球温带,主要分布于亚洲,其次在欧洲和北美洲。在我国除海南岛外,各省区均有分布,大多数分布于云南北部、四川西部和西藏东部的高山地带,在东北各省及内蒙古的东部地区亦有多数种类分布。据报道,我国乌头属品种有167种,其中36种可供药用,现在已知乌头属药用植物仅在内蒙古就有19种、6变种^[1]。该属药材均含乌头碱等多种生物碱,多数有剧毒,民间常用来制造箭毒以猎射野兽或做局部麻醉剂及土农药^[2]。现在中医临床上主要用于风寒湿痹、关节疼痛、心腹冷痛、寒疝作痛及麻醉止痛等证^[3],蒙古族医(简称蒙医)临床上主要用于瘟疫、粘痧症、急性刺痛、粘刺痛、粘奇哈、痲疔、丹毒、白喉炭疽、癭瘤、粘性脖颈僵直、图赖、合如乎(游痛病)、关节疼痛及江热,肺感冒,咽喉感冒等证^[4]。乌头各物种间形态特征相近,其茎、叶形态受遗传控制 and 环境影响且存在动态变化,同时存在很多变种。利用传统的技术方法难以准确快速进行鉴别。

国内外对于乌头属药材的研究主要集中在本草考证^[5]、研究进展^[6]、组织形态学、化学成分和炮制前后药理作用^[7-8]及其他方面等^[9],有关利用分子层面的研究甚少。因此开展乌头属药材的分子鉴定与亲缘关系研究,对于保证该药材使用安全及资

源的合理开发利用至关重要。

随着分子生物技术的快速发展,DNA条形码是目前生物分类学的热门技术,是利用一段有变异的、易扩增且相对较短的标准DNA片段对物种进行快速、准确地鉴定^[10],此技术不受植物生长发育状况、取样部位及环境因素的影响^[11]。2003年由加拿大学者HEBERT等^[12]首次提出,2009年我国的陈士林等将内转录间隔区(ITS)2序列作为物种鉴定的通用条形码序列以来,该鉴定技术已被广泛应用于药用植物及中药材的鉴别研究。2015年版《中华人民共和国药典》(简称《中国药典》)中首次收录了川贝母、蕲蛇和乌梢蛇的DNA条形码标准序列分子鉴定方法,并经查阅文献将此方法成功应用到曼陀罗属、沉香属、白及属等药材的分子鉴定及属内亲缘关系分析研究^[13-15]。但未见乌头属药材分子鉴定及亲缘关系分析研究报道。因此,本研究对12种30份乌头属药材进行ITS2序列分子鉴定,并探讨亲缘关系,为药材鉴别、资源保护、临床应用及开发利用等提供科学依据,并为民族药的发展提供新思路。

1 材料

从2017年5月至2017年9月采集到的30份新鲜植物叶片和药材,均经专家鉴定,鉴定结果真实、可靠。本实验在内蒙古民族大学蒙医药学院完成。试验材料采集详细信息见表1。

JY200C型电泳仪、JY-SPC型电泳槽(北京君意公司),Multigene Gradient型聚合酶链式反应(PCR)

表1 乌头属样本信息

Table 1 Statistics table of 12 *Aconitum* samples

No.	样品及拉丁学名	采集地	经度	纬度	海拔高度/m	鉴定人及单位
1	草乌(1~11) <i>Aconitum kusnezoffii</i>	内蒙古特金罕山保护区	45°12'12"	119°50'16"	927	内蒙古民族大学包桂花教授
2	川乌(12~14) <i>A. carmichaelii</i>	四川省江油县	31°10'12"	102°55'07"	1 905	辽宁中医药大学康廷国教授
3	黄花乌头(15~17) <i>A. coreanum</i>	辽宁省千山保护区	41°01'02"	123°06'59"	506	辽宁中医药大学许亮教授
4	阴山乌头(18~19) <i>A. yinschanicum</i>	内蒙古赛罕乌拉保护区	44°11'35"	118°42'31"	929	内蒙古赛罕乌拉林业局向常林高级工程师
5	华北乌头(20~21) <i>A. soongaricum</i> var. <i>angustius</i>	内蒙古赛罕乌拉保护区	44°14'12"	118°46'14"	930	内蒙古民族大学布和巴特尔教授
6	松潘乌头(22) <i>Aconitum sunpanense</i>	陕西省太白山保护区	34°01'39"	107°21'09"	1 839	陕西中医药大学胡本祥教授
7	毛叶乌头(23) <i>A. carmichaelii</i> var. <i>pubescens</i>	陕西省太白山保护区	34°03'40"	107°17'06"	1 810	陕西中医药大学胡本祥教授
8	瓜叶乌头(24~25) <i>A. hemslayanum</i>	湖北省神农架保护区	33°99'99"	107°51'27"	1 976	湖北纪药师中医药股份公司季少波教授
9	花葶乌头(26) <i>A. scaposum</i>	湖北省神农架保护区	31°35'15"	110°23'36"	1 410	中南民族大学万定荣教授
10	高乌头(27~28) <i>A. sinomontanum</i>	湖北省神农架保护区	31°03'27"	107°32'32"	2 140	湖北纪药师中医药股份公司季少波教授
11	川鄂乌头(29) <i>A. henryi</i>	湖北省神农架保护区	31°26'15"	110°26'29"	1 040	湖北纪药师中医药股份公司季少波教授
12	西伯利亚乌头(30) <i>A. barbatum</i> var. <i>hispidum</i>	陕西省太白山保护区	34°03'42"	107°17'57"	1 806	陕西中医药大学胡本祥教授

仪(Labnet International Inc), QUANTUM 凝胶成像系统(北京五洲东方公司), BS224S型电子分析天平(德国 Sartorius 公司), SIGMA 3K15型高速冷冻离心机(北京五洲东方公司), Midea M3-232B型微波炉(广州美的公司), HJ-2A型恒温水浴锅(江苏科析公司), 明澈-D型超纯水机(上海墨客密理博公司), XH-D型旋涡混匀器(上海科哲生化公司), BCD-575WDBI型冰箱(青岛海尔公司), Brand型移液器(德国普兰德公司)。

离心柱型植物基因组DNA提取试剂盒(北京天根生化科技有限公司, 批号R6718), *Taq* Master Mix(北京康为世纪生物公司, 批号33320), ITS2序列上下游引物(北京六合华大基因科技公司, 批号170614), Trans5k DNA Marker(北京全式金生物公司, 批号S7116), 琼脂糖(上海易恩化学公司, 批号R096780), 去RNA酶水(北京康为世纪生物公司, 批号33120), 液氮(内蒙古通辽市冷冻精液站, 批号20200321), 无水乙醇和三氯甲烷(分析纯, 天津市天力试剂公司, 批号分别为20200215、20200409)。

2 方法

2.1 DNA提取 选取试验样本各约30 mg, 加液氮充分研磨转置预热好的700 μ L缓冲液GP1离心管中, 在65 $^{\circ}$ C水浴加热20 min, 加入三氯甲烷

700 μ L, 混匀, 12 000 $r \cdot \min^{-1}$, 离心半径20 cm(下同), 离心5 min, 上清液转移至1.5 mL离心管中, 加入缓冲液GP2 700 μ L, 混匀, 混匀液转至吸附柱CB3管中, 加入缓冲液GD 500 μ L, 12 000 $r \cdot \min^{-1}$ 离心30 s, 弃掉离心液, 加入漂洗液PW 600 μ L, 12 000 $r \cdot \min^{-1}$ 离心30 s, 弃掉离心液, 该步骤重复2次, 吸干液体, 沉淀干燥30 min, 再加入洗脱缓冲液TE 100 μ L, 室温放置5 min之后12 000 $r \cdot \min^{-1}$ 离心2 min, 即得总DNA并备用^[16]。

2.2 PCR扩增体系及反应条件 ITS2序列扩增上游、下游引物分别为5'-ATGCGATACT TGGTGTGAAT-3'、5'-GACGCTTCTCCAGACTA CAAT-3'。PCR扩增体系为50 μ L, 含有上游、下游引物各2.0 μ L(2.5 μ mol \cdot L⁻¹), 稳定剂和溴酚蓝燃料(*Taq* MasterMix)25 μ L, 总DNA 4.0 μ L(约40 ng), 加去RNA酶水17 μ L。扩增程序为94 $^{\circ}$ C预变性5 min; 94 $^{\circ}$ C变性1 min, 55 $^{\circ}$ C退火1 min, 72 $^{\circ}$ C延伸1.5 min(35个循环); 72 $^{\circ}$ C延伸7 min^[17], 预期扩增长度450~500 bp。

2.3 电泳检测DNA质量 使用1.5%的琼脂糖凝胶液倒入电泳槽中, 静置30 min, 用移液枪精密吸取PCR扩增产物5.0 μ L、Marker 2.0 μ L, 在120 V电压下电泳25 min, 取出放置凝胶成像系统中进行

分析,与Marker比较后无杂带并且清晰时拍照保存图像。

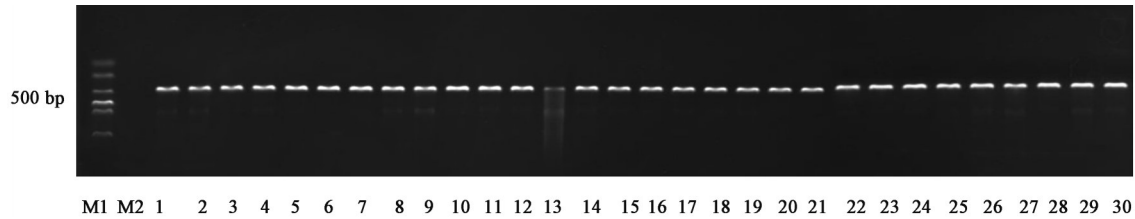
2.4 测序 扩增成功的PCR产物委托北京六合华大基因科技公司进行测序,测序产物为PCR反应物,测序前PCR扩增产物经纯化再进行双向测序,获得双向测序原始序列碱基及峰图。

2.5 数据处理 测序所得的原始序列利用CodonCode Aligner 17.0软件进行查看、拼接校对,去除低质量的序列及引物区,以碱基质量 ≥ 20 为标准。运用美国国家生物信息中心(NCBI)的BLAST在线工具对获得的序列进行比对分析,应用ITS2在线工具获取ITS2间隔区序列,并预测其二级结构。

使用MEGA 7.0软件对二级结构进行对比分析,获得样本序列的变异位点、保守位点、信息位点及遗传距离(K2P),利用邻接法(NJ)构建系统聚类树并分析样本间的亲缘关系^[18-19]。

3 结果与分析

3.1 DNA提取和扩增效率及测序成功率分析 在电泳检测结果中,扩增条带单一明亮且完整清晰则DNA质量较好,即总DNA提取成功、扩增成功率为100%,见图1。对符合标准的序列在NCBI上进行BLAST在线比对分析^[20]。结果表明,所获得的序列为乌头属药材的ITS2序列,测序成功率为100%,序列获得率均为100%。



注: M1. 分子标记物Marker; M2. 阴性对照; 1~30. 对应样本

图1 基于ITS2序列PCR扩增电泳

Fig. 1 Electropherogram of PCR amplification based on ITS2 sequence

3.2 种内和种间变异分析 应用ITS2 Database在线工具分析30份样本的ITS2序列,结果GC含量为44.5%~64.6%;采用MEGA 7.0软件分析后得到种间

K2P为0.000~4.463,种内K2P为0.000~0.005,共获得变异位点140个、信息位点137个、保守位点81个,结果见表2和图2。

表2 乌头属12种药材ITS2序列种间K2P

Table 2 Interspecific K2P table of ITS2 sequence of 12 species of *Aconitum*

No.	拉丁	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	<i>Aconitum kusnezoffii</i>												
2	<i>A. carmichaelii</i>	0.005											
3	<i>A. sinomontanum</i>	4.463	4.443										
4	<i>A. hemsleyanum</i>	0.010	0.010	4.463									
5	<i>A. scaposum</i>	4.392	4.373	0.058	4.392								
6	<i>A. soongaricum</i> var. <i>angustius</i>	0.026	0.020	4.443	0.031	4.373							
7	<i>A. coreanum</i>	0.005	0.000	4.443	0.010	4.373	0.020						
8	<i>A. carmichaelii</i> var. <i>pubescens</i>	0.005	0.000	4.443	0.010	4.373	0.020	0.000					
9	<i>A. sungpanense</i>	0.005	0.000	4.443	0.010	4.373	0.020	0.000	0.000				
10	<i>A. barbatum</i> var. <i>hispidum</i>	4.443	4.424	0.015	4.443	0.041	4.424	4.424	4.424	4.424			
11	<i>A. yinschanicum</i>	0.026	0.020	4.443	0.031	4.373	0.000	0.020	0.020	0.020	4.424		
12	<i>A. henryi</i>	0.005	0.000	4.443	0.010	4.373	0.020	0.000	0.000	0.000	4.424	0.020	

3.3 预测ITS2序列二级结构 乌头属12种药材ITS2序列的二级结构非常相似,均由一个中心环和4个螺旋区构成,其中I、II、IV为保守区,西伯利亚乌头、高乌头、花萼乌头二级结构中III区近中心环

处茎环数量为2个、上处茎环数量为3个,其他物种近中心环处茎环数量为3个、上处茎环数量为2个,其中花萼乌头开环方式明显与其他物种不同。见图3。

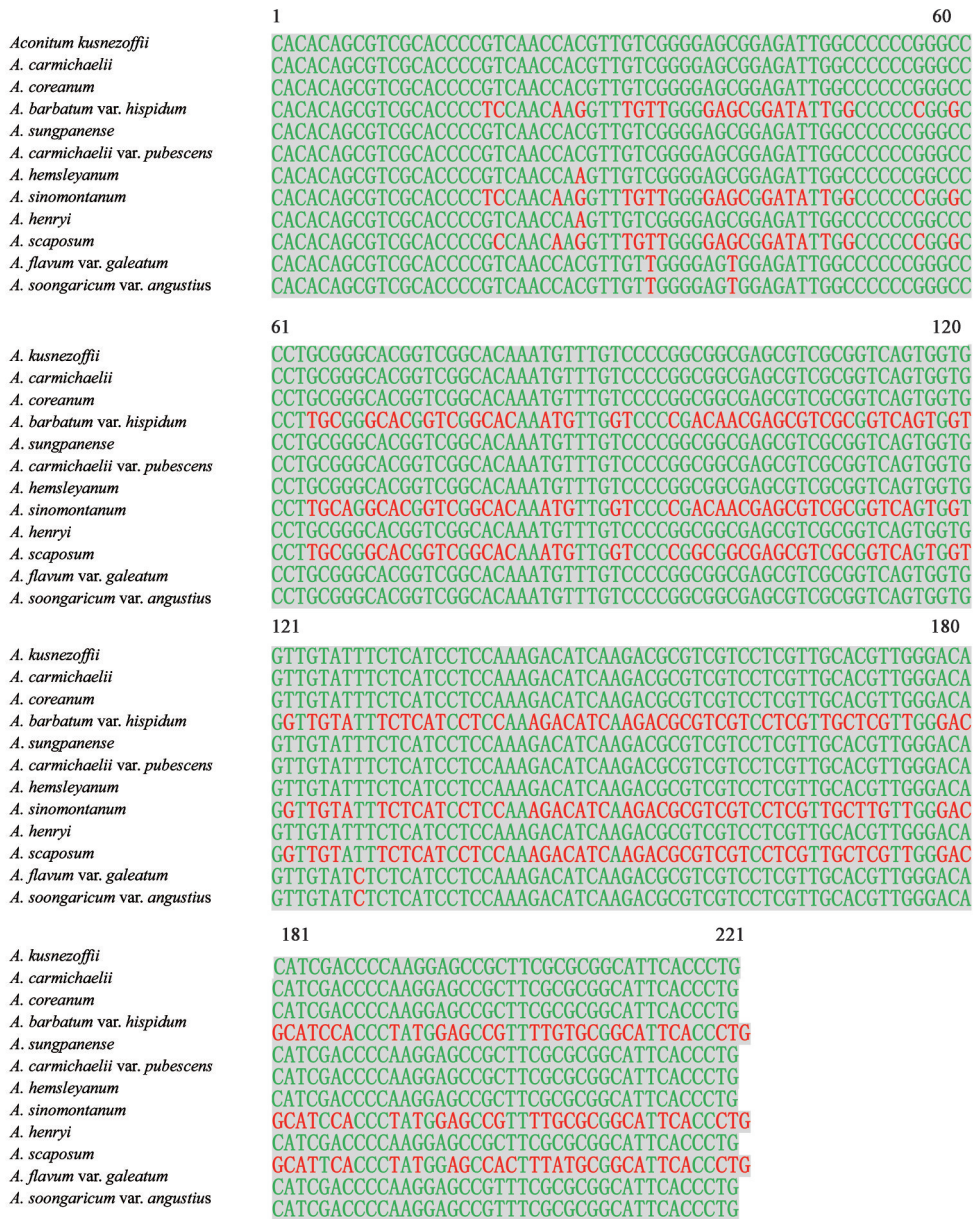


图2 乌头属12种药材ITS2序列比对

Fig. 2 ITS2 sequence comparison of 12 species of *Aconitum*

3.4 NJ树聚类分析 基于ITS2序列构建的NJ聚类分析中,30份样本被聚为两大分支。乌头亚属分为一支,与牛扁亚属分开。乌头亚属中有草乌、川乌、黄花乌头、松潘乌头、毛叶乌头、瓜叶乌头、川鄂乌头、华北乌头、阴山乌头,其中华北乌头和阴山乌头聚为一支;牛扁亚属中有花葶乌头、高乌头和西伯利亚乌头,并且其中的花葶乌头单聚为一支,见图4。

4 讨论

蒙药材鉴定的传统手段主要有基原鉴定、性状鉴定、显微鉴定、理化鉴定等,这些传统鉴定方法的缺点是表型遗传可变性,导致鉴定有误;形态学鉴

定受生物发育阶段的限制,化学方法虽有助于植物分类,但多不能用于同属物种间的鉴定。传统鉴定要求较高的专业技术,一旦操作不正确容易导致错误的鉴定。因此,比较DNA序列差异为物种鉴定、遗传多样性及亲缘关系研究等提供了依据。随着生物技术不断取得重大突破,应用DNA编码等技术鉴定蒙药物种方面取得了快速发展。

应用ITS2序列对乌头属12种药材进行分子鉴定及亲缘关系分析研究,为确保试验的准确性和可靠性,共收集样本30份,通过分子鉴定试验得到花葶乌头、高乌头和西伯利亚乌头的序列长度为221 bp,其余草乌等9种乌头属药材的序列长度为

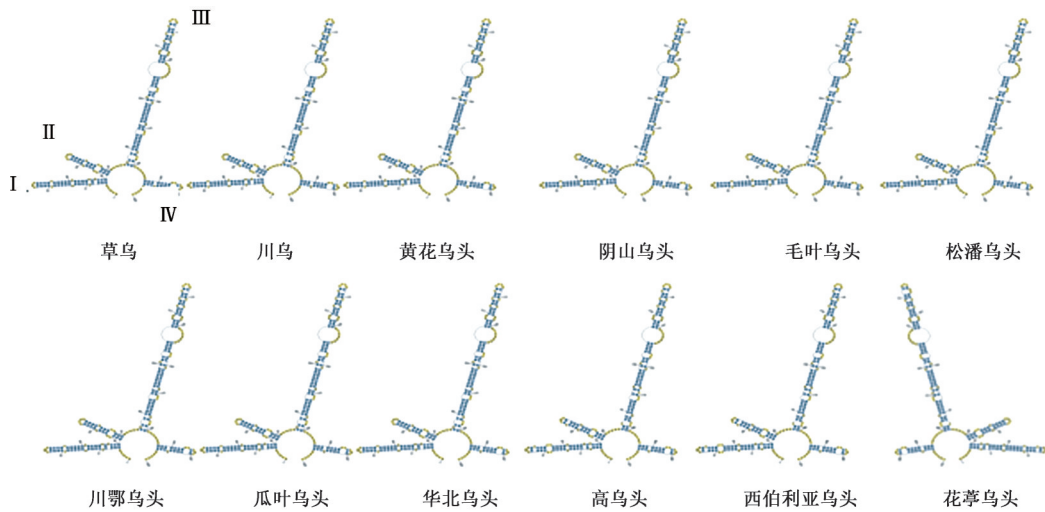


图3 乌头属12种药材ITS2序列的二级结构

Fig. 3 Secondary structure of ITS2 sequence of 12 species of *Aconitum*

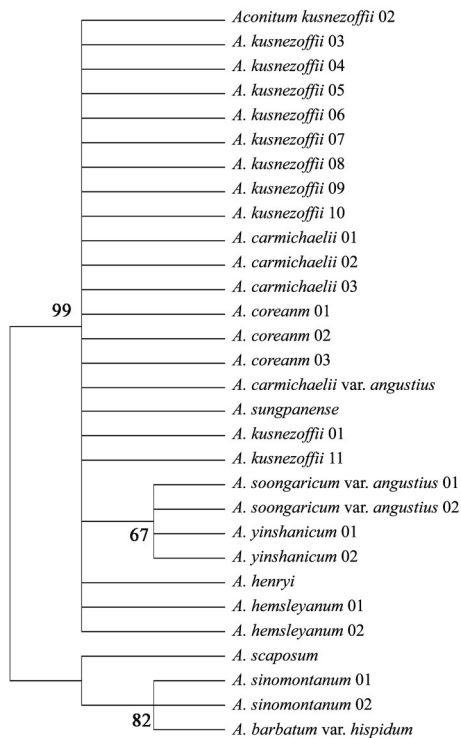


图4 基于ITS2序列的乌头属12种药材NJ树

Fig. 4 NJ trees of 12 species of *Aconitum* based on ITS2 sequences

220 bp; GC含量从低到高的顺序依次是华北乌头和高乌头为59.7%、其次是西伯利亚乌头60.2%、花葶乌头61.1%、阴山乌头63.6%、瓜叶乌头和川鄂乌头64.1%、其余5种乌头为64.6%;变异位点最多的药材是西伯利亚乌头、高乌头、花葶乌头、共有136个、属于牛扁亚属,其次是华北乌头、阴山乌头有3个变异位点、只有1个变异位点的是瓜叶乌头、上述3种药材均属于乌头亚属;GC含量高低不等和变异位点多等原因是否与种质变异类型有关还待需进一

步研究;种间平均K2P为2.232,种内平均K2P为0.0025,种间遗传距离大于种内遗传距离,所以ITS2序列保守稳定,更适合作为乌头属药材鉴定的条形码序列。通过30份乌头属药材ITS2序列碱基图分析得知西伯利亚乌头、高乌头、花葶乌头的变异位点数相等且变异位置也相等,说明该3种药材亲缘关系较近。

通过试验,乌头属12种药材之间ITS2序列二级结构相似,保守区的茎环数量及排序相等。虽然花葶乌头的开环方式不同于西伯利亚乌头和高乌头,但是Ⅲ区处该3种药材的茎环数量及排序一样,其他9种药材的茎环数量及排序也一样。根据ITS2序列二级结构结果证实,西伯利亚乌头、高乌头、花葶乌头的亲缘关系较近,乌头等其他9种药材的亲缘关系更为接近。

通过NJ系统进化树分析发现,乌头属12种药材的分支明显,分为二支。西伯利亚乌头、高乌头和花葶乌头分为一支、该3种的亲缘关系近,其中西伯利亚乌头和高乌头单分为1支、该二者的亲缘关系更近、花葶乌头又单分为1支、该结果恰好二级结构中花葶乌头的开环方式与其他药材的不同相吻合,表现出该药材的单系性,其余9种分为1支,此分支中又华北乌头和阴山乌头分为1支,说明该二者的亲缘关系更为接近,该结果与前人研究和传统分类标准相符合。本研究为乌头属物种的准确鉴定提供科学依据,同时为其他药用植物的鉴定提供新的思路和方法。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] 赵一之. 内蒙古乌头属植物分类研究及其生态地理分布特点[J]. 内蒙古大学学报:自然科学版, 1983(2):219-230.
- [2] 张贵君. 中药鉴定大全[M]. 哈尔滨:黑龙江科学技术出版社, 1983:587.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医学出版社, 2020:247.
- [4] 奥乌力吉, 布和巴特尔. 传统蒙药与方剂[M]. 赤峰:内蒙古科技出版社, 2013:90.
- [5] 符华林. 我国乌头属药用植物的研究概况[J]. 中药材, 2004, 27(2):149-152.
- [6] 李谦, 过立农, 郑健, 等. 乌头属药用植物的研究进展[J]. 药物分析杂志, 2016, 36(7):1129-1149.
- [7] 罗明, 李春, 林丽美, 等. 藏药榜嘎化学成分和药理作用的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(12):298-302.
- [8] 贾庆文, 闫滨, 王璐. 乌头类药物的毒性研究及唐古特乌头的研究概述[J]. 食品与药品, 2012, 14(7):299-302.
- [9] 艾嫦, 朱妍妍, 赵长琦. 乌头属植物化学成分、药理作用及其内生菌的研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2012, 24(2):248-259.
- [10] 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.
- [11] 刘宇婧, 刘越, 黄耀江, 等. 植物DNA条形码技术的发展及应用[J]. 植物资源与环境学报, 2011, 20(1):74-82, 93.
- [12] HEBERT P D, CYWINSKA A, BALL S L, et al. Biological identifications through DNA barcodes [J]. Proc Biol Sci, 2003, 270(1512):313-321.
- [13] 吴亚男, 许亮, 陈靓, 等. 基于ITS2条形码的曼陀罗属药用植物DNA分子鉴定[J]. 中药材, 2015, 38(9):1852-1857.
- [14] 朱爽, 陈闪冲, 李奇威, 等. 基于DNA条形码的三种沉香属物种鉴定研究[J]. 中药材, 2018, 41(5):1061-1065.
- [15] 宋爽, 周洋帆, 黄丽, 等. ITS2条形码对白及属植物的初步分析研究[J]. 云南农业大学学报:自然科学, 2017, 32(1):95-100.
- [16] 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.
- [17] 石乃星, 文国松, 赵明富. 黄精属植物DNA分子鉴定技术应用研究进展[J]. 植物遗传资源学报, 2021, 22(5):1209-1218.
- [18] 刘珊珊, 魏守辉, 朱晶晶, 等. 泽泻的本草考证、原植物调查及DNA条形码鉴定研究[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(7):1536-1544.
- [19] 陈玉花, 撒切尔, 肖田梅, 等. 蒙药蜀葵花HPLC指纹图谱及rbcL序列分子鉴定研究[J]. 中草药, 2020, 51(21):5607-5612.
- [20] 任保青, 陈之端. 植物DNA条形码技术[J]. 植物学报, 2010, 45(1):1-12.

[责任编辑 顾雪竹]