

· 资源与鉴定 ·

基于 ITS2 序列的茄科酸浆属植物的 DNA 分子鉴定

吴亚男, 许亮*, 陈靓, 蔡振娇, 王冰, 赵容, 康廷国
(辽宁中医药大学, 辽宁大连 116600)

[摘要] 目的:利用内转录间隔区 2(internal transcribed spacer 2, ITS2)序列对茄科酸浆属植物进行分子鉴定。方法:对酸浆属与散血丹属植物样本的 ITS2 序列进行逆转录-聚合酶链式反应(RT-PCR)扩增和测序。为扩大研究范围,从 GenBank 中下载了上述 2 个属植物样本的 ITS2 序列。所有序列经 CodonCode Aligner V3.0.1 软件拼接, DNAMAN 软件比对分析,采用 MEGA 5.10 计算相关数据,基于 K2P 模型构建邻接聚类树。从 ITS2 数据库中获得所测样本及下载序列的 ITS2 二级结构信息,分析各样本间 ITS2 序列二级结构的差异。结果:从邻接聚类树分析可知,所有样本被聚为两大支。酸浆属植物自成 1 支,散血丹属植物为 1 支,且除极个别样本外,2 个属的各物种内样本可各为 1 支,表现出单系性;且每 2 支之间的 Bootstrap 支持率均很高。结论:ITS2 序列在近缘物种间的系统学研究、品种的鉴定方面具有较大的应用潜力,适用于酸浆属植物的分子鉴定。

[关键词] 内转录间隔区 2; DNA 水平; 酸浆属; 二级结构; 散血丹属; 聚类分析

[中图分类号] R282.5; R931.5; Q523+.4 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)08-0022-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016080022

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160311.1040.012.html>

[网络出版时间] 2016-03-11 10:40

DNA Molecular Identification of *Physalis* Medicinal Plants in Solanaceae by ITS2 Barcode Sequence

WU Ya-nan, XU Liang*, CHEN Liang, CAI Zhen-jiao, WANG Bing, ZHAO Rong, KANG Ting-guo
(Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China)

[Abstract] **Objective:** To identify *Physalis* plants in Solanaceae by internal transcribed spacer 2 (ITS2) sequence. **Method:** ITS2 sequence of *Physalis* and *Physaliastrum* medicinal plant samples was amplified by RT-PCR and sequenced. In order to expand scope of research topic, ITS2 sequences of related species were downloaded from GenBank. All sequences were spliced by CodonCode Aligner V3.0.1, ITS2 sequences were compared and analyzed by DNAMAN software. Related data analysis and processing was performed by MEGA 5.10 software and neighbor-joining tree was constructed. ITS2 secondary structure information was predicted by ITS2 database and its differences of samples was analyzed. **Result:** All samples were clustered into two branches, *Physaliastrum* was clustered into a single branch and the same as *Physalis*. Except a few samples, all species of both genus were clustered into a branch where all intra-species samples were clustered to one branch respectively and obviously distinguished, which showed monophyletic. Bootstrap support rates between each two were very high. **Conclusion:** ITS2 sequences have great potential in terms of systematic research and species identification

[收稿日期] 20150719(001)

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81173499);辽宁省高等学校杰出青年学者成长计划项目(LJQ2014101);辽宁中医药大学杰出青年基金项目(20121228);“我国水生、耐盐中药资源的合理利用研究”项目(201407002)

[第一作者] 吴亚男,在读硕士,从事中药分子鉴定研究, Tel:15698882407, E-mail:1254654378@qq.com

[通讯作者] *许亮,博士,教授,硕士生导师,从事中药资源与质量研究, Tel:15998541918, E-mail:861364054@qq.com

between related species.

[Key words] internal transcribed spacer 2; DNA level; *Physalis*; secondary structure; *Physaliastrum*; cluster analysis

酸浆属植物属于茄科,广泛分布于全世界,约有 120 种^[1]。据《中国植物志》记载,我国有 5 种酸浆属植物及 2 个变种^[2]。由于该属植物均具有较好的药用价值,有的还可以药食两用,尤其是该属植物酸浆,应用历史悠久,《唐本草》记载“灯笼草,所在有之……根、茎、花、叶并入药用”、“主上气咳嗽,风热,明目”等^[3]。

内转录间隔区 2 (internal transcribed spacer 2, ITS2) 序列作为分子系统进化研究中最为重要的组成部分之一,在种及种以下水平均具有明显的变异性^[4]。因其二级结构可为更高水平的物种分类方面提供重要信息,加之其序列短、易扩增、鉴定能力佳、操作简便等优点而倍受关注,从而被广泛应用于植物类的鉴别^[5]。酸浆及其同属植物在经济、医疗等方面具有较高的应用价值,且酸浆属植物与同科的散血丹属植物日本散血丹在无花、无果期进行原植物鉴定时,是较难区分的^[2],故本实验选用酸浆属和散血丹属植物作为研究材料,运用分子生物学

方法进行物种间的亲缘关系比较研究。

1 材料

Fresco17/21 型台式冷冻离心机(上海巴玖实业有限公司),MG96G 型聚合酶链反应(PCR)仪(杭州朗基科学仪器有限公司),EPS-600 型电泳仪和 Tanon-4100 型凝胶图像处理系统(上海天能科技有限公司),ABI 3730XL 型测序仪(美国 Applied Biosystems 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),引物(上海生物工程股份有限公司),Trans5K DNA Marker(北京全式金生物技术有限公司),2 × Taq MasterMix(北京康为世纪生物科技有限公司),琼脂糖和溴化乙锭(EB)均购自上海 Sangon 公司,试剂均为分析纯。

药材来源见表 1,包括实验样本和下载于 GenBank 中的序列,共 2 个种属 15 个物种 29 个样本,其中酸浆属植物有 14 个种,散血丹属植物有 1 个种,均经辽宁中医药大学王冰教授鉴定。

表 1 样品来源及 ITS2 序列的 GenBank 登录号

Table 1 Source of samples and GenBank accession numbers of ITS2 sequences

No.	药材	拉丁名	采集地	GenBank 登录号	序列长度/bp	碱基 GC 质量分数/%
1	酸浆	<i>Physalis alkekengi</i> var. <i>franchetii</i>	FC	KP893949	211	72.9
2	酸浆	<i>P. alkekengi</i> var. <i>franchetii</i>	FC	KP893950	211	72.9
3	酸浆	<i>P. alkekengi</i> var. <i>franchetii</i>	SY	KP893951	211	72.9
4	酸浆	<i>P. alkekengi</i> var. <i>franchetii</i>	SY	KP893952	211	72.9
5	酸浆	<i>P. alkekengi</i> var. <i>franchetii</i>	KD	KP893953	211	72.9
6	酸浆	<i>P. alkekengi</i> var. <i>franchetii</i>	KD	KP893954	211	72.9
7	酸浆	<i>P. alkekengi</i> var. <i>alkekengi</i>	GenBank	AY665850	207	72.9
8	酸浆	<i>P. alkekengi</i> var. <i>franchetii</i>	GenBank	GQ434666	211	72.9
9	毛酸浆	<i>P. pubescens</i>	SY	KP893970	215	71.1
10	毛酸浆	<i>P. pubescens</i>	SY	KP893971	215	71.1
11	毛酸浆	<i>P. pubescens</i>	SY	KP893972	215	71.1
12	毛酸浆	<i>P. pubescens</i>	KD	KP893973	215	71.1
13	毛酸浆	<i>P. pubescens</i>	KD	KP893977	215	71.1
14	毛酸浆	<i>P. pubescens</i>	FC	KP893978	215	71.1
15	毛酸浆	<i>P. pubescens</i>	FC	KP893979	215	71.1
16	灯笼果	<i>P. peruviana</i>	GenBank	AY665914	211	72.5
17	小酸浆	<i>P. minima</i>	GenBank	AY665904	211	72.9
18	-	<i>P. cordata</i>	GenBank	AY665886	211	70.6
19	毛酸浆	<i>P. pubescens</i>	GenBank	AY665917	214	71.4

续表 1

No.	药材	拉丁名	采集地	GenBank 登录号	序列长度/bp	碱基 GC 质量分数/%
20	苦蕒	<i>P. angulata</i>	GenBank	AY665875	214	72.4
21	-	<i>P. carpenteri</i>	GenBank	AY665852	207	68.1
22	-	<i>P. coztomatl</i>	GenBank	AY665887	211	72.5
23	-	<i>P. crassifolia</i>	GenBank	AY665890	211	70.6
24	-	<i>P. ignota</i>	GenBank	AY665897	211	71.0
25	-	<i>P. longifolia</i>	GenBank	AY665901	211	74.8
26	-	<i>P. minimaculata</i>	GenBank	AY665906	211	70.6
27	-	<i>P. aff. philadelphica</i>	GenBank	AY665868	206	71.3
28	日本散血丹	<i>Physaliastrum japonicum</i> 1	KD	KP894007	219	69.8
29	日本散血丹	<i>P. japonicum</i> 2	KD	KP894008	219	69.8

注:采集地 FC 为辽宁省丹东市凤城市,SY 为辽宁省沈阳市,KD 为辽宁省丹东市宽甸县;“-”表示中国无此种植物分布,无中文名。

2 方法与结果

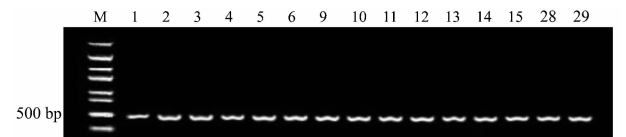
2.1 DNA 提取 选取硅胶干燥的植物叶片(干燥前使用 75% 乙醇反复擦拭)约 30 mg, -86 °C 超低温冷冻,研磨粉碎,使用植物基因组 DNA 提取试剂盒提取总 DNA,具体步骤按照试剂盒操作说明进行。

2.2 PCR 扩增及产物测序 扩增的 ITS2 序列的引物包括正、反 2 个方向,正向引物 ITS2F 为 5'-ATGCCGATACTTGGTGTGAAT-3',反向引物 ITS3R 为 5'-GACGCTTCTCCAGACTACAAT-3'。PCR 反应体系 50 μL,含有正反引物各 2.0 μL(2.5 μmol·L⁻¹),Taq MasterMix 25 μL,总 DNA 4.0 μL(约 40 ng),加去 RNA 酶水补足至 50 μL。扩增程序为 94 °C 变性 5 min;94 °C 变性 30 s,56 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 45 s(40 个循环);72 °C 延伸 10 min。PCR 扩增产物经纯化后进行测序。

2.3 数据处理 测序后所得序列峰图可利用 CodonCode Aligner V3.0.1 软件进行校对拼接,去除质量较低的序列及引物区。对于那些从网上获得的 ITS2 序列,可使用基于隐马尔可夫模型的 HMMER 注释方法去除两端 5.8S 和 28S 区段(从 GenBank 下载)获得 ITS2 间隔区序列^[6]。将所有序列用 MEGA(molecular evolutionary genetics analysis)5.10 软件进行分析比对,计算遗传距离(K2P)并对其及其他数据进行分析 and 处理^[7-9]。利用邻接法(neighbor-joining,NJ)构建系统进化树和相似性搜索法 BLAST 进行序列的比对,构建系统聚类树,鉴定分析各物种^[10-11]。

2.4 PCR 扩增分析 2 个属植物 ITS2 序列的琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 扩增结果的凝胶成像见图 1。2 个属植物样本 ITS2 序列的 PCR 扩增效率 100%;

且测序成功率及序列获得率均为 100%。经分析所测序列峰图可知,各个序列所有碱基的 Q 值(质量值)均 >20。



500 bp 指的是自下而上第 2 条条带所代表的序列长度;M: 分子标记物 Marker;1~6,9~15,28~29 表示表 1 中相应编号的样本

图 1 酸浆属及散血丹属植物 ITS2 正、反引物的 PCR 扩增
Fig.1 PCR consequence of ITS2 bidirectional primers of *Physalis* and *Physaliastrum*

2.5 种内和种间变异 15 个物种 29 个样本的 ITS2 序列长度 206~219 bp,碱基鸟嘌呤-胞嘧啶(GC)质量分数 68.1%~74.8%。应用 MEGA 5.10 软件对样品进行多序列比对,比对后的序列长度 216 bp,不同物种间的碱基变异位点有 62 个,信息位点有 43 个,见图 2。ITS2 序列种间变异较大,种间遗传变异(0.005~0.170 9)大于种内遗传变异[除样本 19 与同种植物样本的遗传变异较大(0.047 2)外,其他均为 0],见表 2。

2.6 NJ 树聚类分析 基于 ITS2 序列构建的 NJ 系统聚类树见图 3,结果显示 2 个属 15 个物种的 29 个样本被聚为两大支。酸浆属植物自成 1 支,散血丹属植物为 1 支。其中,酸浆属 1 支中 *P. carpenteri* 独聚为 1 支;原变种 *P. alkekengi* var. *alkekengi* 及其变种 *P. alkekengi* var. *franchetii* 聚为 1 支;此属中其他种均聚在一大支,亲缘关系相对较近。除了从 Genbank 中下载的毛酸浆样本 19 外,毛酸浆植物的其他来源样本 9~15 均聚为 1 支。

```
[
1 112222222 3333333445 6666777788 9901223334 4444555666 777788899 00]
1 1813456789 0136789151 4589012527 5705012490 4567189012 0146234545 23]
2 CACCCGG--- --TGTGCGA GCCCGGATCT ACAAGTAGC CGAACCGAG CGTTGGCACA CC
3 .....
4 .....
5 .....
6 .....
7 .....
8 .....
9 .G.TT--- --GC.CGA. .GCCGGTC .AATA. .TG.G-.A .C.TAC.G TA
10 .G...-ACT GCGC.C.A. .T.TC.GT. .AATA. .TTG.G-.A .C.....G T
11 .G...-ACT GCGC.C.A. .T.TC.GT. .AATA. .TTG.G-.A .C.....G T
12 .G...-ACT GCGC.C.A. .T.TC.GT. .AATA. .TTG.G-.A .C.....G T
13 .G...-ACT GCGC.C.A. .T.TC.GT. .AATA. .TTG.G-.A .C.....G T
14 .G...-ACT GCGC.C.A. .T.TC.GT. .AATA. .TTG.G-.A .C.....G T
15 .G...-ACT GCGC.C.A. .T.TC.GT. .AATA. .TTG.G-.A .C.....G T
16 .G...-ACT GCGC.C.A. .T.TC.GT. .AATA. .TTG.G-.A .C.....G T
17 .G...-TCA GCGC.C.A. .T.CGGT. .AACAA .TCG.GG-.A GC.C.....G TA
18 .G...-ACT GCGC.C.A. .T.TC.GT. .AATA. .TTG.G-.A .C.....G TA
19 .G..T.AGC GCGC...AR .T.C.GT. .G.AAATA. .TTG.G-.A .C...K.G TA
20 .G...-GCC GCGCT...A. .T.C.GT. .G.AATA. .TTG.G-.A .C.C.AC.G TA
21 .G..T.AGC GCGC...AG .T.C.GT. .G.AATA. .TTG.G-.A .C...T.G TA
22 T.....-A.A. .A. .T.TT.AA.A. .T.T.....T.A
23 .G...-GCC GCGC...A. .T.C.GT. .G.TATA. .TTG.G-.A GC.....G TA
24 .T...-ACC GCGC...G.TC.T. .AATA. .TTG.G-.A .T...T.G TA
25 .G...-ACT GCGC.C.A. .T.TCGGT. .AATA. .TTG.G-.A .C.....G TA
26 .G...-GCC GCGCC...T.C.G. .G.AAATA. .TTG.G-GA GCC...TG.C TA
27 .GT...-AAC GCGC...A. .T.C.GT. .AATA. .TTG.G-.A .C...G...G TA
28 .....CCAG CGC...CTA. .TA...T. .TA.A. A.C.T.C. .C...CC...C.A
29 .....CCAG CGC...CTA. .TA...T. .TA.A. A.C.T.C. .C...CC...C.A
```

“-”表示该位点碱基缺失;“.”表示与第 1 列碱基相同;R,K 为简并碱基,分别代表 A/G,G/T

图 2 酸浆属及散血丹属植物样本 ITS2 序列的变异位点
Fig. 2 Variable sites in ITS2 sequences of *Physalis* and *Physaliastrum* samples

2.7 酸浆属与散血丹属 ITS2 序列的二级结构分析
酸浆属与散血丹属 ITS2 序列二级结构见图 4。结果显示所有物种的二级结构均为一个中心环(主环)及 4 个螺旋区(此 4 个区从中心环开口处开始,顺时针依次命名为螺旋 I, II, III, IV 区;如第 1 幅图所示,其余同此)构成。酸浆属内的主要差异位于

表 2 酸浆属及散血丹属植物样本 ITS2 序列的 K2P 遗传距离
Table 2 K2P genetic distance of ITS2 sequences of *Physalis* and *Physaliastrum* samples

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
2	0													
4	0	0												
5	0	0	0											
6	0	0	0	0										
7	0	0	0	0	0									
8	0	0	0	0	0	0								
9	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0.114 6					
10	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0				
11	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0	0			
12	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0	0	0		
13	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0	0	0	0	
14	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0	0	0	0	0
15	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0.114 6	0	0	0	0	0
16	0.113 7	0.113 7	0.113 7	0.113 7	0.113 7	0.113 7	0.113 7	0.113 7	0.036 3	0.036 3	0.036 3	0.036 3	0.036 3	0.036 3
17	0.145 4	0.145 4	0.145 4	0.145 4	0.145 4	0.145 4	0.145 4	0.145 4	0.063 8	0.063 8	0.063 8	0.063 8	0.063 8	0.063 8
18	0.120 8	0.120 8	0.120 8	0.120 8	0.120 8	0.120 8	0.120 8	0.120 8	0.010 1	0.010 1	0.010 1	0.010 1	0.010 1	0.010 1
19	0.126 2	0.126 2	0.126 2	0.126 2	0.126 2	0.126 2	0.126 2	0.126 2	0.047 2	0.047 2	0.047 2	0.047 2	0.047 2	0.047 2
20	0.113 7	0.113 7	0.113 7	0.113 7	0.113 7	0.113 7	0.113 7	0.113 7	0.036 3	0.036 3	0.036 3	0.036 3	0.036 3	0.036 3

螺旋 I, II 和 III 区,与散血丹属植物相比,各部分的差异更为突出。差异的具体表现均为茎环的数目、大小、位置及螺旋发出时角度的不同。

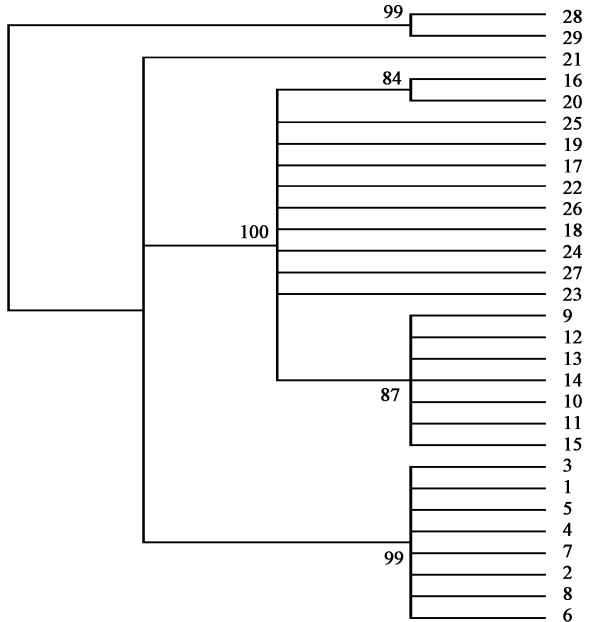


图 3 酸浆属及散血丹属植物基于 ITS2 序列构建的 NJ 系统聚类树
Fig. 3 NJ system clustering tree of *Physalis* and *Physaliastrum* based on ITS2 sequences

续表 2

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
21	0.068 5	0.068 5	0.068 5	0.068 5	0.068 5	0.068 5	0.068 5	0.068 5	0.115 3	0.115 3	0.115 3	0.115 3	0.115 3	0.115 3
22	0.120 8	0.120 8	0.120 8	0.120 8	0.120 8	0.120 8	0.120 8	0.120 8	0.036 3	0.036 3	0.036 3	0.036 3	0.036 3	0.036 3
23	0.097 5	0.097 5	0.097 5	0.097 5	0.097 5	0.097 5	0.097 5	0.097 5	0.052 7	0.052 7	0.052 7	0.052 7	0.052 7	0.052 7
24	0.126 5	0.126 5	0.126 5	0.126 5	0.126 5	0.126 5	0.126 5	0.126 5	0.015 2	0.015 2	0.015 2	0.015 2	0.015 2	0.015 2
25	0.132 9	0.132 9	0.132 9	0.132 9	0.132 9	0.132 9	0.132 9	0.132 9	0.068 8	0.068 8	0.068 8	0.068 8	0.068 8	0.068 8
26	0.120 6	0.120 6	0.120 6	0.120 6	0.120 6	0.120 6	0.120 6	0.120 6	0.031 0	0.031 0	0.031 0	0.031 0	0.031 0	0.031 0
27	0.159 1	0.159 1	0.159 1	0.159 1	0.159 1	0.159 1	0.159 1	0.159 1	0.069 6	0.069 6	0.069 6	0.069 6	0.069 6	0.069 6
28	0.086 5	0.086 5	0.086 5	0.086 5	0.086 5	0.086 5	0.086 5	0.086 5	0.122 7	0.122 7	0.122 7	0.122 7	0.122 7	0.122 7
29	0.086 5	0.086 5	0.086 5	0.086 5	0.086 5	0.086 5	0.086 5	0.086 5	0.122 7	0.122 7	0.122 7	0.122 7	0.122 7	0.122 7
	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
2														
:														
15														
16	0.036 3													
17	0.063 8	0.057 8												
18	0.010 1	0.025 6	0.052 6											
19	0.047 2	0.031 0	0.058 1	0.036 3										
20	0.036 3	0.020 5	0.057 8	0.025 6	0.031 0									
21	0.115 3	0.108 0	0.145 7	0.115 1	0.120 4	0.108 0								
22	0.036 3	0.030 8	0.046 8	0.025 7	0.041 6	0.030 8	0.120 7							
23	0.052 7	0.052 5	0.086 8	0.041 7	0.058 1	0.052 5	0.102 9	0.058 2						
24	0.015 2	0.030 8	0.047 3	0.005 0	0.041 6	0.030 8	0.120 7	0.030 8	0.047 0					
25	0.068 8	0.041 4	0.079 5	0.057 6	0.057 6	0.041 4	0.151 0	0.051 8	0.080 7	0.062 9				
26	0.031 0	0.025 6	0.052 5	0.020 5	0.030 7	0.025 6	0.114 8	0.025 6	0.052 7	0.025 6	0.057 5			
27	0.069 6	0.081 1	0.099 8	0.058 2	0.069 4	0.081 1	0.153 0	0.081 3	0.081 1	0.052 9	0.116 2	0.069 4		
28	0.122 7	0.133 6	0.147 5	0.122 4	0.134 3	0.133 6	0.080 6	0.133 9	0.122 7	0.128 2	0.170 9	0.141 0	0.141 3	
29	0.122 7	0.133 6	0.147 5	0.122 4	0.134 3	0.133 6	0.080 6	0.133 9	0.122 7	0.128 2	0.170 9	0.141 0	0.141 3	0

3 讨论

酸浆属植物较为常见,全株皆可药用。经查阅资料,无论是从宏观角度还是微观角度,关于酸浆属植物的鉴别研究均较透彻。但在分子水平上对酸浆属植物的研究鲜有报道,故本文使用 DNA 条形码技术对酸浆属植物进行分析比较,以供参考。

酸浆属植物的 ITS2 序列较短,所选样本中 ITS2 序列长度 206 ~ 219 bp。因短序列更有利于获取发生降解的样本序列^[12],使得 DNA 的提取和 PCR 扩增、测序的难度大大降低,这对于 DNA 条形码在酸浆属实际鉴定中的应用具有重要意义。本文利用 ITS2 序列对酸浆属及散血丹属植物进行鉴别,通过

对种内和种间遗传距离比较, NJ 树分析并结合 ITS2 序列二级结构的比较,已将大多数物种有效的区分开。在 NJ 系统聚类树中,只有 GenBank 中的毛酸浆 (*P. pubescens*) 与此种种内其他样本聚在不同支。可能原因是前者居群与试验样本所在居群相距甚远,环境差异较大而引起了个别碱基发生变异,从而聚为不同支。且在《中国植物志》中,酸浆及其原变种的区分主要体现在果梗及果萼有毛和无毛(或近无毛)上,但这种区分无明显界限^[2]。实验中酸浆原变种 *P. alkekengi* var. *alkekengi* 及其变种 *P. alkekengi* var. *franchetii* 被聚为一支,未被分开,这说明 ITS2 序列也无法具体区分原变种和变种,此

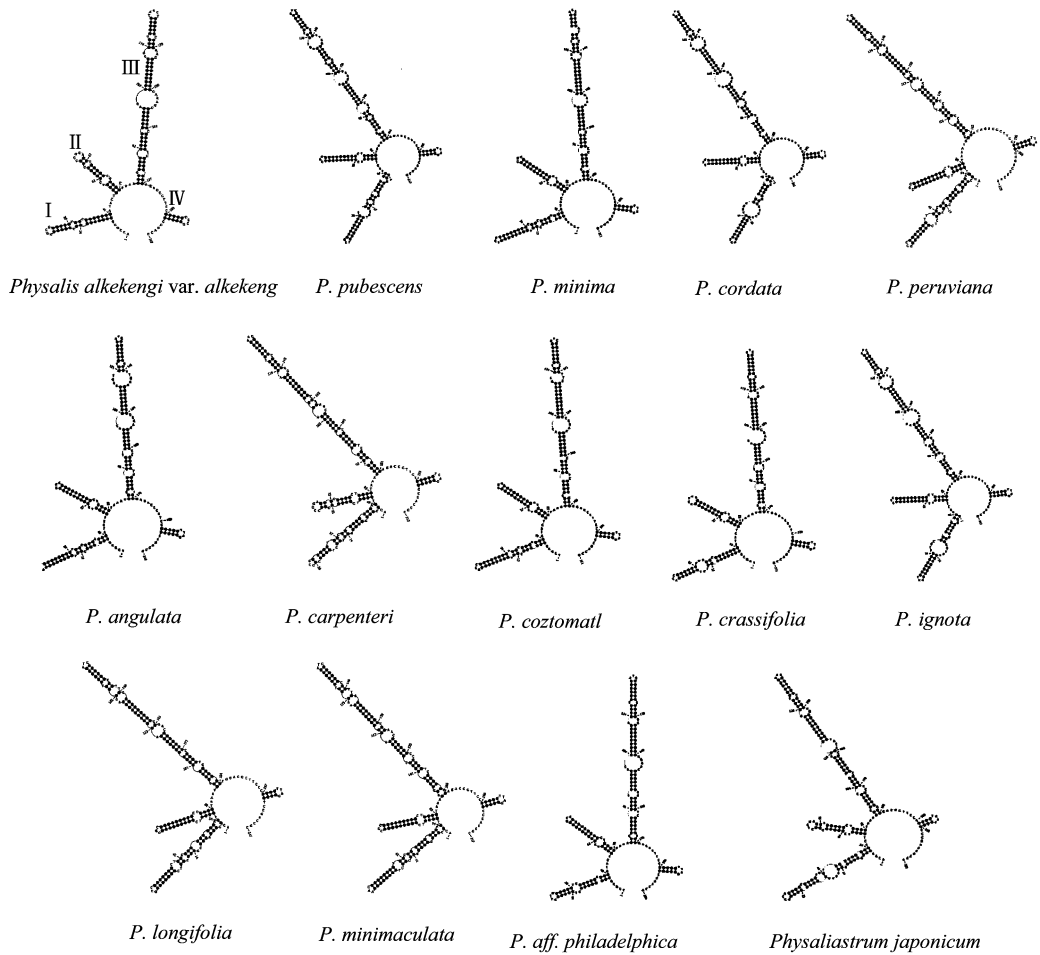


图 4 酸浆属与散血丹属 ITS2 序列的二级结构比较

Fig. 4 Comparison on ITS2 secondary structure between *Physalis* and *Physaliastrum*

物种分类有待进一步研究。

[参考文献]

[1] 许亮. 茄科酸浆属两种药用植物生药学研究 [D]. 沈阳: 辽宁中医学院, 2004.

[2] 中国科学院《中国植物志》编辑委员会. 中国植物志. 第 67 卷 [M]. 北京: 科学出版社, 1978: 53, 55-56.

[3] 苏敬. 新修本草 [M]. 合肥: 安徽科学技术出版, 1981: 224.

[4] Coleman A W. ITS2 is a double-edged tool for eukaryote evolutionary comparisons [J]. Trends Genet, 2003, 19 (7): 370-375.

[5] Chen S L, Yao H, Han J P, et al. Validation of the ITS2 region as a novel DNA barcode for identifying medicinal plant species [J]. PLoS One, 2010, 5 (1): e8613.

[6] Keller A, Schleicher T, Schultz J, et al. 5. 8S-28S rRNA interaction and HMM-based ITS2 annotation [J]. Gene, 2009, 430 (1/2): 50-57.

[7] Meyer C P, Paulay G. DNA barcoding: error rates based on comprehensive sampling [J]. PLoS Biol, 2005, 3

(12): e422.

[8] Moritz C, Cicero C. DNA barcoding: promise and pitfalls [J]. PLoS Biol, 2004, 2 (10): e354.

[9] Lahaye R, Bogarin D, Warner J, et al. DNA barcoding the floras of biodiversity hotspots [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105 (8): 2923-2928.

[10] Tamura K, Nei M, Kumar S. Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method [J]. Proc Natl Aca Sci USA, 2004, 101 (30): 11030-11035.

[11] Tamura K, Peterson D, Peterson N, et al. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods [J]. Mol Biol Evol, 2011, 28 (10): 2731-2739.

[12] Kress W J, Wurdack K J, Zimmer E A, et al. Use of DNA barcodes to identify flowering plants [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102 (23): 8369-8374.

[责任编辑 刘德文]