

基于 ITS2 条形码鉴别半枝莲及其混伪品

郭梦月 任 莉 陈新连 庞晓慧

(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:运用 Internal Transcribed Spacer 2(ITS2)条形码对半枝莲及其混伪品进行鉴别研究,为该药材的安全用药提供依据。方法:提取样品基因组 DNA,对 ITS2 序列进行 PCR 扩增和双向测序,所得序列经 CodonCode Aligner V5.0.2.0 拼接,采用 MEGA6.0 软件进行序列比对,计算种内和种间遗传距离。采用最近距离法(Nearest Distance)和构建邻接树(NJ Tree)分析 ITS2 条形码对半枝莲的鉴定能力。结果:半枝莲 ITS2 序列种内遗传距离为 0~0.008 4,与其混伪品半边莲、韩信草和荔枝草的种间遗传距离分别为 0.354 7~0.369 6,0.044 2~0.054 2,0.271 9~0.301 8。半枝莲种内最大遗传距离小于其与混伪品的种间最小遗传距离,表明 ITS2 条形码可以准确鉴定半枝莲与其混伪品。基于 ITS2 序列构建的 NJ 树也可将半枝莲及其混伪品明显区分开。结论:ITS2 序列可以快速、准确鉴别半枝莲与其混伪品,是鉴别半枝莲、保障其药材质量的有效条形码。

关键词 半枝莲;ITS2;DNA 条形码;分子鉴定

Identification of *Scutellariabarbata* and its adulterants using ITS2 barcode

Guo Mengyue, Ren Li, Chen Xinlian, Pang Xiaohui

(Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences&Peking Union Medical College, Beijing 100193, China)

Abstract **Objective:** To discriminate between *Scutellariabarbata* and its adulterants using ITS2 barcode to provide evidence for its clinic safety. **Methods:** The DNA was extracted from the samples and the second internal transcribed spacer(ITS2) was amplified and sequenced. Sequence assembly was performed using the CodonCode Aligner V5.0.2.0. The genetic distances and variable sites of ITS2 region were analyzed using MEGA6.0 after sequence alignment. Nearest distance and neighbor-joining tree(NJ-tree) methods were used to test the identification efficiency of the ITS2 barcode. **Results:** The intraspecific genetic distances of *S. barbata* were 0~0.0084, while the interspecific genetic distances between *S. barbata* and its adulterants were 0.3547~0.3696, 0.0442~0.0542, and 0.2719~0.3018, respectively. The maximum intraspecific genetic distance of *S. barbata* was lower than the minimum interspecific genetic distance between *S. barbata* and its adulterants, which indicates that ITS2 barcode could discriminate *S. barbata* and its adulterants accurately. The NJ tree based on ITS2 sequences also reveals that *S. barbata* and its adulterants could be obviously identified. **Conclusion:** *S. barbata* could be accurately distinguished from its adulterants using ITS2. The ITS2 region is an efficient barcode to guarantee the quality of medicines.

Key Words *Scutellariabarbata*; ITS2; DNA barcode; Molecular identification

中图分类号:R282.5 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2016.01.010

半枝莲为常用中药,具有清热解毒,化瘀利尿的功效,用于治疗疔疮肿毒、咽喉肿痛、跌扑伤痛、水肿、黄疸及蛇虫咬伤^[1]。现代药理学研究表明,半枝莲具有抗肿瘤、抗氧化、抗菌等多种药理活性作用^[2-6],在临床上可用于治疗肺癌、乳腺癌、直肠癌等^[7-9]。半枝莲药材来源为唇形科植物半枝莲 *Scutellariabarbata* D. Don 的干燥全草,然而其常见混伪品半边莲 *Lobelia chinensis* Lour.、韩信草 *Scutellaria indica* L. 和荔枝草 *Salvia plebeia* R. Br. 常与其混用^[10],导致用药安全存在隐患。其混伪品韩信草、荔枝草和半枝莲同属唇形科植物,具有茎方形相似形态,易于混淆^[11]。混伪品半边莲来源为桔梗科植

物半边莲的干燥全草,二者虽亲缘关系较远,形态差异相对较大,但由于其名称和功效都相近,药用部位也相同,在实际应用中经常发生混淆^[12]。这些混伪品与半枝莲的功效和化学成分都存在差异,若在临床使用中混用或错用,将对临床用药安全构成威胁。为了将半枝莲及其混伪品更好的区分开,保证临床用药的安全有效,急需一种准确快速的鉴定方法。

利用 DNA 条形码技术进行物种分类和鉴定已经成为近年来的研究热点^[13]。较传统经验鉴别而言,DNA 条形码鉴定技术不受药材性状、鉴别经验的影响,可直接从基因水平快速准确地区分药材及其混伪品,具有高效、操作简单的优点^[14]。Chen 等

经过大量样本研究建立的以 ITS2 为核心, *psbA-trnH* 为补充序列的植物类药材 DNA 条形码鉴定体系已被纳入中国药典(2010 年版)增补本^[15]。ITS2 序列具有适宜扩增和测序的长度,且鉴定成功率高,其鉴定能力已在豆科^[16]、蔷薇科^[17]、菊科^[18]、芸香科^[19]等多个科属中得到验证。目前,ITS2 条形码已广泛应用于中药材鉴定^[20-40]。本研究采用 ITS2 条形码对半枝莲及其易混淆品进行 DNA 条形码鉴别研究,为半枝莲的准确鉴定提供依据。

1 材料

本研究共收集实验材料 34 份,其中半枝莲样品 26 份,包括药材 16 份,种子 10 份;其混伪品样品 8 份,包括半边莲 7 份,韩信草 1 份。样品收集于河北、安徽、四川、江苏、北京等地,凭证标本经中国医学科学院药用植物研究所林余霖研究员鉴定,并保存于中国医学科学院药用植物研究所。另外,从 GenBank 下载 ITS2 序列 6 条,分别为半边莲 2 条,韩信草 2 条,荔枝草 2 条。样本信息详见表 1。

2 方法

2.1 DNA 提取、PCR 扩增及测序 半枝莲及其混伪品药材各挑选叶片部分,称取约 30 mg;半枝莲种子称取 60 mg,加入样本量 10% 的聚乙烯吡咯烷酮(PVP),用 DNA 提取研磨仪(Retsch MM400,德国)研磨 2 min(30 次/s),采用植物基因组 DNA 提取试剂盒(Tiangen Biotech Co., China)提取总 DNA。扩增 ITS2 序列,正向引物:ITS2F:5'-ATGCGATACTTG-GTGTGAAT-3',反向引物:ITS3R:5'-GACGCTTCTC-CAGACTACAAT-3'。扩增体系及程序参照“中药材 DNA 条形码分子鉴定指导原则”^[14],PCR 扩增产物委托中国农业科学院进行双向测序。

2.2 数据处理 测序峰图利用 CodonCode AlignerV5.0.2.0(CodonCode Co., USA)校对拼接。所得序列及 GenBank 下载序列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。将所有序列用软件 MEGA6.0 分析比对,并基于 K2P 模型进行遗传距离等分析。所得序列采用最近距离法(nearest distance)、构建邻接树(NJ Tree)对序列鉴定能力进行评估。

3 结果

3.1 半枝莲及其混伪品 ITS2 序列特征分析 半枝莲 25 条 ITS2 序列的长度均为 241 bp,GC 含量为 68.9%~69.3%,半枝莲种内序列间存在 2 个变异点,分别为 59 位点 G-A 变异,229 位点 G-A 变异,分为 3 个单倍型。混伪品半边莲、韩信草和荔枝草

ITS2 序列长度分别为 246bp、234bp 和 228bp,GC 含量分别为 66.3%~67.2%、67.1%~67.9% 和 61.4%~62.3%。半枝莲与半边莲、韩信草及荔枝草存在较多变异位点。见图 1。

表 1 样本信息

名称	实验编号/ GenBank 登录号	拉丁名	来源
半枝莲药材	BAZL0001	<i>Scutellaria barbata</i>	河北安国药材市场
半枝莲药材	BAZL0002	<i>S. barbata</i>	河北安国药材市场
半枝莲药材	BAZL0003	<i>S. barbata</i>	河北安国药材市场
半枝莲药材	BAZL0004	<i>S. barbata</i>	河北安国药材市场
半枝莲药材	BAZL0005	<i>S. barbata</i>	河北安国药材市场
半枝莲药材	BAZL0006	<i>S. barbata</i>	河北安国药材市场
半枝莲药材	BAZL0007	<i>S. barbata</i>	河北安国药材市场
半枝莲药材	BAZL0008	<i>S. barbata</i>	中日友好医院(北京)
半枝莲药材	BAZL0009	<i>S. barbata</i>	京芝堂(北京)
半枝莲药材	BAZL0010	<i>S. barbata</i>	金象大药房(北京)
半枝莲药材	BAZL0011	<i>S. barbata</i>	北京同仁堂
半枝莲药材	BAZL0012	<i>S. barbata</i>	四川荷花池市场
半枝莲药材	BAZL0013	<i>S. barbata</i>	绿野公司(江苏)
半枝莲药材	BAZL0014	<i>S. barbata</i>	河北安国药材市场
半枝莲药材	BAZL0015	<i>S. barbata</i>	安徽亳州药材市场
半枝莲药材	BAZL0016	<i>S. barbata</i>	安徽亳州药材市场
半枝莲种子	BAZL0017	<i>S. barbata</i>	重庆
半枝莲种子	BAZL0018	<i>S. barbata</i>	重庆
半枝莲种子	BAZL0019	<i>S. barbata</i>	重庆
半枝莲种子	BAZL0020	<i>S. barbata</i>	山东
半枝莲种子	BAZL0021	<i>S. barbata</i>	河北
半枝莲种子	BAZL0022	<i>S. barbata</i>	湖南
半枝莲种子	BAZL0023	<i>S. barbata</i>	安徽亳州市
半枝莲种子	BAZL0024	<i>S. barbata</i>	安徽亳州市
半枝莲种子	BAZL0025	<i>S. barbata</i>	湖南
半枝莲种子	BAZL0026	<i>S. barbata</i>	河北安国市
半边莲药材	BABL0001	<i>Lobelia chinensis</i>	河北安国药材市场
半边莲药材	BABL0002	<i>L. chinensis</i>	河北安国药材市场
半边莲药材	BABL0003	<i>L. chinensis</i>	河北安国药材市场
半边莲药材	BABL0004	<i>L. chinensis</i>	中日友好医院(北京)
半边莲药材	BABL0005	<i>L. chinensis</i>	京芝堂(北京)
半边莲药材	BABL0006	<i>L. chinensis</i>	北京同仁堂
半边莲药材	BABL0007	<i>L. chinensis</i>	广西某药店
半边莲	KC441031	<i>L. chinensis</i>	GenBank
半边莲	KC441032	<i>L. chinensis</i>	GenBank
韩信草药材	HAXC0001	<i>Scutellaria indica</i>	河北安国药材市场
韩信草	GQ434320	<i>S. indica</i>	GenBank
韩信草	FJ883535	<i>S. indica</i>	GenBank
荔枝草	KT074400	<i>Salvia plebeia</i>	GenBank
荔枝草	KC473255	<i>S. plebeia</i>	GenBank

3.2 半枝莲及其混伪品种内及种间遗传距离分析

半枝莲 ITS2 序列种内最小遗传距离 0,最大遗传距离为 0.008 4。半边莲、韩信草和荔枝草 ITS2 序列种内遗传距离分别为 0~0.012 4、0~0.004 3、0.008 8。半枝莲与半边莲、半枝莲与韩信草以及半枝莲与荔枝草之间的遗传距离分别为 0.354 7~

0.369 6、0.044 2 ~ 0.054 2、0.271 9 ~ 0.301 8 (表 2)。半枝莲与其混伪品种间最小遗传距离大于半枝

莲种内最大遗传距离,说明采用 ITS2 序列可以将半枝莲与其混伪品准确区分开。

[	1	1111111112	2222222223	3333333334	4444444445	5555555556	6666666667	7777777778	8888888889
[	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890
#Scutellaria_barbata_BAZL0001	CGCATCGCGT	CGCCCCCGCG	ACGCAT-CGC	CTCGAGCGAC	GCCGATGTGC	GGGGGGGGAG	ATTGGCCTCC	CGTGGCGCCC	G-GCGCGCG
#S.barbata_BAZL0003									
#S.barbata_BAZL0010									
#Lobelia_chinensis_BABL0001	T.....C	GA.....-A	A.AT.TAT.T	TGC.C.G-	AA.....T	C.....T	C.....T	C.....T	C.....T
#L.chinensis_BABL0002	T.....C	GA.....-A	A.AT.TAT.T	TGC.C.G-	AA.....T	C.....T	C.....T	C.....T	C.....T
#L.chinensis_BABL0007	T.....C	GA.....-A	A.AT.TAT.T	TGC.C.G-	AA.....T	C.....T	C.....T	C.....T	C.....T
#Scutellaria_indica_HAXC0001	A.....								
#S.indica_GQ434320	A.....								
#Salvia_plebeia_KC473255	T.....C	-----A	G.AA.---	..TG.G.TG-T	A	T.....T	A-..T		
#S.plebeia_KT074400	T.....C	-----A	G.AA.---	..TG.G.TG-T	A	T.....T	A-..T		
[	1	1111111111	1111111111	1111111111	1111111111	1111111111	1111111111	1111111111	1111111111
[	9999999999	0000000001	1111111112	2222222223	3333333334	4444444445	5555555556	6666666667	7777777778
[	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890
#Scutellaria_barbata_BAZL0001	CCGGGCCAAA	TGCGATCCCC	CGCGGACGCA	CGCCCCGACA	AGTGGTGGTT	GAGCCTTCA-	-----ACTC	GCGTGTGTGC	GGGCG----
#S.barbata_BAZL0003									
#S.barbata_BAZL0010									
#Lobelia_chinensis_BABL0001	T.....	ACG..GT.....	A..GA.G	A.....	G	T.....T	C.....	CGCG	T.....
#L.chinensis_BABL0002	T.....	ACG..GT.....	A..GA.G	A.....	G	T.....T	C.....	CGCG	T.....
#L.chinensis_BABL0007	T.....	ACG..GT.....	A..GA.G	A.....	G	T.....T	C.....	CGCG	T.....
#Scutellaria_indica_HAXC0001									
#S.indica_GQ434320									
#Salvia_plebeia_KC473255	T.....	T.....	T.....	T.....	T.....	T.....	T.....	T.....	T.....
#S.plebeia_KT074400	T.....	T.....	T.....	T.....	T.....	T.....	T.....	T.....	T.....
[	1111111111	1111111111	2222222222	2222222222	2222222222	2222222222	2222222222	2222222222	2222222222
[	8888888889	9999999999	0000000001	1111111112	2222222223	3333333334	4444444445	5555555556	6666666667
[	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890
#Scutellaria_barbata_BAZL0001	-CCAAAGCGGT	CGTCCGTTGC	GGAGAA----	-ACACATCG	AT-----C	GATGTT-GGA	CCCAACGGCC	CTTAATAGAG	CCATCGACC
#S.barbata_BAZL0003									
#S.barbata_BAZL0010									
#Lobelia_chinensis_BABL0001	C.TGC.C..G	T.C.G.C..C	C.T..CCCTC	TTG.G.C..C	C-----	C.CCC-.CG	A.GG....TG	T	
#L.chinensis_BABL0002	C.TGC.C..G	T.C.G.C..C	C.T..CCCTC	TTG.G.C..C	C-----	C.CCC-.CG	A.GG....TG	T	
#L.chinensis_BABL0007	C.TGC.C..G	T.C.G.C..C	C.T..CCCTC	TTG.G.C..C	C-----	C.CCC-.CG	A.GG....TG	T	
#Scutellaria_indica_HAXC0001									
#S.indica_GQ434320									
#Salvia_plebeia_KC473255	..TTCT.T..	..CTA..AT..	..C-----	..TC....A	..GACCCAAT	..G....G.CG	..AC....TG	..CCC-----	..T.....
#S.plebeia_KT074400	..TTCT.T..	..CTA..AT..	..C-----	..TC....A	..GACCCAAT	..G....G.CG	..AC....TG	..CCC-----	..T.....

图 1 半枝莲及其混伪品的种间变异位点

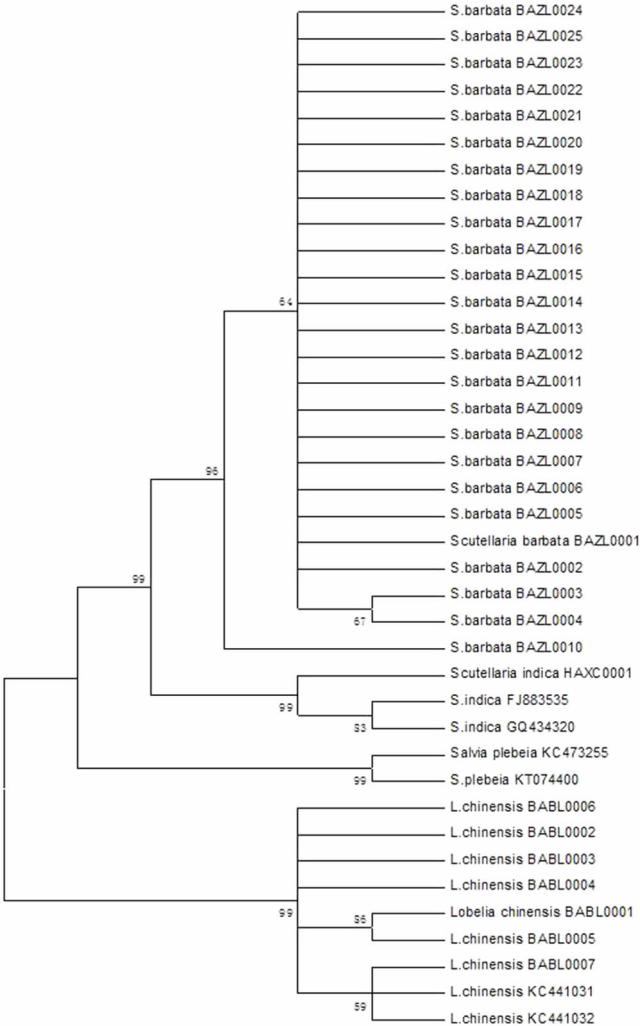


图 2 基于 ITS2 序列构建的半枝莲及其混伪品 NJ 树

表 2 半枝莲种内及与其混伪品种间 K2P 遗传距离

样品	K2P 遗传距离
半枝莲种内	0 ~ 0.008 4
半枝莲与半边莲种间	0.354 7 ~ 0.369 6
半枝莲与韩信草种间	0.044 2 ~ 0.054 2
半枝莲与荔枝草种间	0.271 9 ~ 0.301 8

3.3 构建 NJ 树鉴别半枝莲及其混伪品 从基于 ITS2 序列构建的 NJ 树图(图 2)可以看出,半枝莲单独聚为一支,支持率为 96%,表现出单系性。混伪品半边莲、韩信草及荔枝草各自聚为一支,明显与半枝莲分开。因此,ITS2 条形码可准确鉴别半枝莲药材及其混伪品。

4 讨论

4.1 半枝莲混淆现象多见 半枝莲为常用中药,在临床上有广泛应用。然而,有文献报道半边莲、韩信草和荔枝草等中药材常与其混淆使用^[10],严重影响药材质量。韩信草、荔枝草与半枝莲同来源于唇形科且药用部位相同,具有相似的茎四棱的植物学特征,在采收和使用过程中均易发生混淆。半边莲与半枝莲形态特征差异较明显,与其他混伪品相比较,易于与半枝莲进行区分。然而,我们的研究发现半边莲却是半枝莲更为常见的混伪品,本研究中收集于广西药店的 BABL0007 号样品,购买时标签注明为半枝莲,通过序列比对进行判定并经过 NJ 树验证,结果证明该样品并非半枝莲,而是半边莲,可见半枝莲和半边莲因其名称相近,在使用中的确易于发生混淆。

4.2 ITS2 条形码可从种子源头控制半枝莲质量 获得样品 DNA 以及扩增得到条形码序列是成功运用 DNA 条形码技术的前提。种子类实验材料多含有大量油脂,存在难以粉碎和裂解的问题^[36]。张娜娜等^[37]在加裂解液 GP1 后,以 65℃ 水浴 4 h 的条件对泽泻种子进行 DNA 提取。马双姣等^[38]在王不留行种子粉碎前加入相当于药材量 5% 的 PVP,粉碎后加入核分离液 700 μL 漂洗 2 ~ 3 次,65℃ 水浴 3 h 提取 DNA。本研究在提取半枝莲种子 DNA 时,在粉碎前加入样本量 10% 的 PVP,加裂解液 GP1 后 56℃ 水浴过夜,后续按照试剂盒说明书步骤进行操作,成功对所有半枝莲种子 DNA 进行提取和 PCR 扩增,说明半枝莲种子 DNA 易于提取。在收集的 10 份种子样品中,9 份样品鉴定结果为半枝莲,BAZL0026 号样品鉴定结果为旋花科的南方菟丝子,未发现常见混伪品韩信草、荔枝草和半边莲的种子。南方菟丝子不是半枝莲的常见混伪品,亲缘关系也

非常远,仅仅是大小相似,就造成了种子混淆,说明半枝莲药材种子混淆问题存在且很严重,急需解决。中药材种类繁多,鉴别困难,对其种子进行准确鉴别更是难上加难,因此种子比药材更易混淆。然而,在种子源头发生混淆将直接导致中药材的错种和错收,会严重影响药材质量和用药安全,而且会造成经济上的大量损失。ITS2 条形码的成功应用,能有效避免半枝莲种子在流通环节混伪现象的发生,从根源上保证药材的质量。

4.3 ITS2 条形码可有效鉴别半枝莲药材及其混伪品 ITS2 条形码在多种植物类中药材及其混伪品的鉴定中显示出了较好的物种鉴定能力,涵盖根及根茎类^[20-23]、叶类^[24-25]、茎木类^[26-28]、皮类^[29-31]、全草类^[32]、花类^[33]及果实及种子类^[34-35]等中药材。本研究成功提取了半枝莲及其混伪品药材的 DNA,且所有实验样本的 PCR 扩增、测序成功率及序列获得率均为 100%。实验结果表明半枝莲的种内最大遗传距离小于与其混伪品的种间最小遗传距离,NJ 树中半枝莲及其混伪品都能很好的各自聚为一支,与其混伪品能明显分开,说明 ITS2 条形码是对半枝莲及其混伪品进行准确快速鉴定的好工具,也再次证实了 DNA 条形码对中药材物种鉴定的能力。DNA 条形码对半枝莲及其混伪品鉴别的高度准确性,为规范中药材半枝莲的市场流通,保障临床用药安全及疗效提供了参考依据,也为全草类中药材的鉴别提供了新的手段。

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,2015:118.

[2] 宋高臣,于英君,王喜军. 半枝莲多糖的抗肿瘤作用及其调节免疫的实验研究[J]. 世界科学技术-中医药现代化,2011,13(4): 641-643.

[3] Gong T, Wang C F, Yuan J R, et al. Inhibition of Tumor Growth and Immunomodulatory Effects of Flavonoids and Scutebarbatines of Scutellariabarbata D. Don in Lewis-Bearing C57BL/6 Mice[J]. Evid-Based Compl Alt, 2015.

[4] 王桂玲,房建强,边书芹,等. 半枝莲中总生物碱的提取及抑菌作用的初步研究[J]. 中成药,2013,35(6):1315-1319.

[5] Wu T Z, Wang Q, Jiang C, et al. neo-Clerodane Diterpenoids from Scutellariabarbata with Activity against Epstein - Barr Virus Lytic Replication[J]. J Nat Prod, 2015, 78(3):500-509.

[6] 赵杰,官守涛,孙设宗,等. 半枝莲多糖清除氧自由基及抗脂质过氧化作用[J]. 中成药,2012,34(7):1361-1364.

[7] 李洁,石俊英. 半枝莲对人肺巨细胞瘤细胞株 PG 细胞端粒酶活性的影响[J]. 中药药理与临床,2006,22(3,4):113-114.

[8] Yeh Y C, Chen H Y, Yang S H, et al. Hedyotisdiffusa combined with

- Scutellariabarbata are the core treatment of Chinese herbal medicine used for breast cancer patients; a population-based study [J]. Evid-Based Compl Alt, 2014.
- [9] Jiang Q Q, Li Q Y, Chen H W, et al. Scutellariabarbata D. Don inhibits growth and induces apoptosis by suppressing IL-6-inducible STAT3 pathway activation in human colorectal cancer cells [J]. Exp Ther Med, 2015, 10(4): 1602-1608.
- [10] 付桂芳, 杨莲菊. 半枝莲及其混淆品的鉴定研究 [J]. 中国中药杂志, 1997, 22(5): 262-267.
- [11] 楼松青, 刘晓瑜, 徐露德. 半枝莲及其混淆品韩信草的鉴别 [J]. 江西中医药, 1988, 19(2): 46-47.
- [12] 翟铁宏, 董艳丽, 王蕾, 等. 半枝莲及其混淆品的鉴别研究 [J]. 时珍国医国药, 2003, 14(4): 223-224.
- [13] 陈士林. 中药 DNA 条形码分子鉴定 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2012: 4.
- [14] 陈士林, 郭宝林, 张贵君, 等. 中药鉴定学新技术新方法研究进展. [J] 中国中药杂志, 2012, 37(8): 1043 ~ 1054.
- [15] 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.
- [16] Gao T, Yao H, Song J Y, et al. Identification of medicinal plants in the family Fabaceae using a potential DNA barcode ITS2 [J]. J Ethnopharmacol, 2010, 130: 116 - 121.
- [17] Pang X H, Song J Y, Zhu Y J, et al. Applying plant DNA barcodes for Rosaceae species identification [J]. Cladistics, 2011, 27(2): 165.
- [18] Gao T, Yao H, Song J Y, et al. Evaluating the feasibility of using candidate DNA barcodes in discriminating species of the large Asteraceae family [J]. BMC Evol Biol, 2010, 10(1): 324.
- [18] Liu Z H, Zeng X, Yang D, et al. Applying DNA barcodes for identification of plant species in the family Araliaceae [J]. Gene, 2012, 499(1): 76-80.
- [20] 吴波, 李永波, 饶建波, 等. 基于 ITS2 条形码的桔梗药材遗传多样性研究 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(6): 1075-1078.
- [21] Xin T, Li X, Yao H, et al. Survey of commercial Rhodiola products revealed species diversity and potential safety issues [J]. Sci Rep, 2015; 5.
- [22] 余亚东, 石林春, 马晓冲, 等. 白术与苍术及其混伪品 DNA 条形码鉴定研究 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(12): 2194-2198.
- [23] 赵丹, 周涛, 江维克, 等. 基于 ITS2 序列 SNP 位点鉴定白及药材及其混伪品 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(18): 3573-3578.
- [24] 夏叶, 周红, 向丽, 等. ITS2 序列鉴定“功劳叶”药材及其近缘混伪品 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2014, 16(11): 2361-2365.
- [25] 孙稚颖, 庞晓慧. 基于 DNA 条形码技术探讨板蓝根及大青叶基原物种问题 [J]. 药学报, 2013, 48(12): 1850-1855.
- [26] 侯典云, 周红, 宋经元. 基于 ITS2 序列的降香药材及其混伪品的分子鉴定研究 [J]. 中国药学杂志, 2015, 50(15): 1273-1276.
- [27] Zhang W, Yuan Y, Yang S, et al. ITS2 Secondary Structure Improves Discrimination between Medicinal “Mu Tong” Species when Using DNA Barcoding [J]. Plos One, 2015, 10(7): e0131185.
- [28] Zhang Z L, Song M F, Guan Y H, et al. DNA barcoding in medicinal plants: Testing the potential of a proposed barcoding marker for identification of Uncaria species from China [J]. Biochem Syst Ecol, 2015, 60: 8-14.
- [29] 辛天怡, 赵莎, 宋经元. 基于 ITS2 序列鉴定市售地骨皮药材及其混伪品 [J]. 中国药学杂志, 2015, 50(15): 1286-1291.
- [30] 魏蒙, 邹兰, 涂媛, 等. 基于 ITS2 序列鉴别牡丹皮药材及其混伪品 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(12): 2180-2183.
- [31] Sun Z Y, Chen S L. Identification of cortex herbs using the DNA barcode nrITS2 [J]. J Nat Med, 2013, 67(2): 296-302.
- [32] 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.
- [33] Hou D Y, Song J Y, Shi L C, et al. Stability and accuracy assessment of identification of traditional Chinese materia medica using DNA barcoding; a case study on Flos Lonicerae Japonicae [J]. Biomed Res Int, 2013.
- [34] Hou D Y, Song J Y, Yao H, et al. Molecular identification of Corni Fructus and its adulterants by ITS/ITS2 sequences [J]. Chin J Nat Med, 2013, 11(2): 121-127.
- [35] Han J, Pang X, Liao B, et al. An authenticity survey of herbal medicines from markets in China using DNA barcoding [J]. Sci Rep, 2016, 6: 18723.

(2016-04-12 收稿 责任编辑: 洪志强)