

基于超高效液相色谱法和色差仪法的 黄芩药材质量评价

袁杰^{1,2} 李钹¹ 周利¹ 蒋待泉¹ 梁玖雯¹ 杜用玺¹ 曾燕³ 王升¹ 郭兰萍¹

(1 中国中医科学院中药资源中心/道地药材国家重点实验室培育基地,北京,100700;

2 南京中医药大学药学院,南京,210023; 3 中国中药有限公司,北京,100195)

摘要 目的:通过对不同黄芩药材的化合物含量和色度的测定,评价药材质量。方法:采用超高效液相色谱法(UPLC)测定黄芩化合物含量,同时采用色差仪法测定药材色度。结果:不同产地和等级黄芩的黄芩苷含量存在一定的差异,并且黄芩粉末颜色与其等级有较明显关系。结论:超高效液相色谱法和色差仪法可为评价黄芩药材质量提供参考。

关键词 黄芩;超高效液相色谱;色差仪法;质量评价

Quality Evaluation of *Scutellaria baicalensis* Georgi Based on UPLC and Colorimetry

Yuan Jie^{1,2}, Li Tan¹, Zhou Li¹, Jiang Daiquan¹, Liang Jiuwen¹, Du Yongxi¹, Zeng Yan³, Wang Sheng¹, Guo Lanping¹

(1 State Key Laboratory of Dao-di Herbs Breeding Base, National Resource Center for Chinese Meteria Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China; 2 School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China; 3 China National Traditional Chinese Medicine Co., Ltd., Beijing 100195, China)

Abstract Objective: To evaluate the quality of *Scutellaria baicalensis* Georgi by determining the content of different bathes and its colorimetry compounds. **Methods:** Ultra performance liquid chromatography (UPLC) was used to determine the contents of *Scutellaria baicalensis* Georgi and the chromaticity of *Scutellaria baicalensis* Georgi was determined by colorimetry. **Results:** The content of baicalin in *Scutellaria baicalensis* Georgi from different areas and grades were different, and the chromaticity of *Scutellaria baicalensis* Georgi powder was obviously related to its grades. **Conclusion:** The method of UPLC and Colorimetry can provide reference for evaluating the quality of *Scutellaria baicalensis* Georgi.

Key Words *Scutellaria baicalensis* Georgi; UPLC; Colorimetry; Quality evaluation

中图分类号:R284.1 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2019.11.006

黄芩(*Scutellaria baicalensis* Georgi),为唇形科黄芩属植物黄芩的干燥根,主要分布在山西、河北、河南、内蒙古等地,具有清热燥湿、泻火解毒、止血、安胎的功效,常应用于治疗暑湿、胸闷呕恶、黄疸泻痢、肺热咳嗽、臃肿疮毒、胎动不安等。现代研究显示,黄芩中含有黄酮类、氨基酸类、有机酸类等多种活性成分,其中主要以黄芩苷为主^[1-5]。

近年来,随着黄芩新的药效作用的不断发现,市场对其需求量不断增大,当前,黄芩的种植范围逐步扩大,但是由于环境或是技术的限制,其质量参差不齐,直接影响到与黄芩有关的中药产品疗效^[6-8]。因此,采用一些手段对不同来源黄芩的质量进行评价显得尤为重要。许多研究都认为优质黄芩外观具有根条粗长、体质坚实、内色鲜黄的特征,2018年由中华中医药学会发布的《中药材商品规格等级》中将

黄芩分为栽培和野生2个规格,其中一等选货栽培黄芩:直径 ≥ 1.5 cm,长度 ≥ 10 cm;二等选货栽培黄芩:直径范围1.0~1.5 cm,长度 ≥ 10 cm;三等选货栽培黄芩:直径范围0.7~1.0 cm,长度范围5~10 cm;选货黄芩为除去一等、二等、三等以外的选货栽培黄芩;统货黄芩为不分大小的栽培黄芩;野生统货黄芩为枯芩,表面粗糙,棕黄色或深黄色,中心枯朽状或已成空洞,气微、味苦^[9-11]。

基于此,本研究认为可根据黄芩的性状并结合其有效成分的含量作为评价黄芩质量优劣的依据,即采用分光测色仪^[12]和超高效液相色谱(UPLC)^[13-14]分别检测不同产地和等级黄芩色度以及7种黄酮类化合物含量,以期评价不同产区等级黄芩药材质量,同时为建立高品质黄芩药材道地产区提供参考。

基金项目:国家自然科学基金项目(81891014,81703648);国家重点研发计划项目(2017YFC1700701,2017YFC1701405);中国中医科学院重点领域(ZZ10-027);财政部中央本级专项(2060302);中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金资助项目(ZZ13-YQ-084)

作者简介:袁杰(1995.10—),男,硕士研究生,研究方向:中药资源,E-mail:1458251186@qq.com

通信作者:王升(1988.04—),女,博士,助理研究员,研究方向:中药资源,E-mail:mmcniu@163.com;郭兰萍(1969.08—),女,博士,研究员,研究方向:中药资源,E-mail:glp01@126.com

1 仪器与试药

1.1 仪器 ACQUITY UPLCTM I-CLASS 系统(Waters 公司,美国,型号 UPLC I-class);SB-800 DTD 型超声波清洗器(宁波新芝生物科技股份有限公司,型号 SB-800-DTD);New Classic MS-S 电子天平(梅特勒-托利多上海有限公司,型号 XS105);Eppendorf 5810R 离心机(Eppendorf 公司,德国,型号 5810R);CM-700D 便携式分光测色仪(也称色差仪)(Konica Minolta,日本,型号 CM-700D)。

1.2 试药 于上海源叶生物科技有限公司购买黄芩苷对照品、汉黄芩苷对照品、黄芩素对照品、汉黄芩素对照品、野黄芩苷对照品、千层纸素对照品,批号分别为 P20A9F59353、R27M10F89336、C04D8Y49741、W30M10Z84622、Z01M10X81701、Y31M9H62597。于中国食品药品检定研究院购买芹菜素对照品,批号为 111901-201102。于美国默克公司购买色谱纯甲醇,批号为 I1003307913。于赛默飞世尔科技(中国)有限公司购买甲酸试剂,批号为 186260。实验室自制蒸馏水。

1.3 分析样品 河北、内蒙古、山西、山东、陕西,5 个省区 21 个产地(县/市)药材收购商/合作社样本

48 份样品。见表 1。

2 方法与结果

2.1 色度检测方法 取不同产地和等级的黄芩粉末样品(过 2 号筛),平铺于粉末测试盒内,用色差仪的测试口对准粉末测试盒,测定粉末的颜色,随机扫描 10 次,取平均值。

2.2 色谱条件 色谱柱:ACQUITY UPLC BEH C₁₈(2.1 mm×100 mm,1.7 μm);流动相 A:0.2% 甲酸水,流动相 B:甲醇;流速:0.3 mL/min;进样量:1 μL;柱温:40 ℃;检测波长:254 nm;梯度洗脱:0~5 min,流动相 B 20%→31%;5~6 min,流动相 B 31%→32%;6~8 min,流动相 B 32%→32.5%;8~9 min,流动相 B 32.5%→37%;9~10 min,流动相 B 37%→40%;10~17.5 min,流动相 B 40%→44%;17.5~18 min,流动相 B 44%→45%;18~18.5 min,流动相 B 45%→50%;18.5~22.5 min,流动相 B 50%→63%;22.5~26 min,流动相 B 63%→80%;26~27 min,流动相 B 80%→20%;27~29.5 min,流动相 B 20%→20%。在这个色谱条件下获得黄芩样品 UPLC 图谱和混合对照品 UPLC 图谱。见图 1、图 2。

表 1 黄芩样品具体信息表

序号	药材编号	品名	规格等级	产地编号	产地	序号	药材编号	品名	规格等级	产地编号	产地
1	HQ0101	黄芩	一等	1	河北承德	25	HQ0804	黄芩	统货	8	山东莒县
2	HQ0102	黄芩	二等	1	河北承德	26	HQ0805	黄芩	选货	8	山东莒县
3	HQ0103	黄芩	三等	1	河北承德	27	HQ0904	黄芩	统货	9	山东莱芜蒙阴县
4	HQ0104a	黄芩	统货	1	河北承德	28	HQ1001	黄芩	一级	10	山东临沂
5	HQ0104b	黄芩	统货	1	河北承德	29	HQ1002	黄芩	二级	10	山东临沂
6	HQ0105	黄芩	选货	1	河北承德	30	HQ1003	黄芩	三级	10	山东临沂
7	HQ0201	黄芩	一等	2	河北围场县	31	HQ1006	黄芩	枯芩	10	山东临沂
8	HQ0202	黄芩	二等	2	河北围场县	32	HQ1104	黄芩	统货	11	山东
9	HQ0203	黄芩	三等	2	河北围场县	33	HQ1205	黄芩	选货	12	山东章丘
10	HQ0301	黄芩	一等	3	内蒙赤峰	34	HQ1301	黄芩	一等	13	山西侯马
11	HQ0302	黄芩	二等	3	内蒙赤峰	35	HQ1302	黄芩	二等	13	山西侯马
12	HQ0303	黄芩	三等	3	内蒙赤峰	36	HQ1303	黄芩	三等	13	山西侯马
13	HQ0307	黄芩	野生	3	内蒙赤峰	37	HQ1404	黄芩	统货	14	山西绛县
14	HQ0401	黄芩	一等	4	内蒙通辽	38	HQ1504	黄芩	统货	15	山西芮城
15	HQ0403	黄芩	三等	4	内蒙通辽	39	HQ1605	黄芩	选货	16	山西闻喜
16	HQ0404	黄芩	统货	4	内蒙通辽	40	HQ1705	黄芩	选货	17	山西夏县
17	HQ0501	黄芩	一等	5	内蒙乌拉特	41	HQ1806	黄芩	枯芩	18	山西乡宁
18	HQ0502	黄芩	二等	5	内蒙乌拉特	42	HQ1904	黄芩	统货	19	山西运城
19	HQ0503	黄芩	三等	5	内蒙乌拉特	43	HQ1905	黄芩	选货	19	山西运城
20	HQ0604	黄芩	统货	6	内蒙武川	44	HQ2001	黄芩	一等	20	陕西商洛
21	HQ0701	黄芩	一等	7	山东济南	45	HQ2002	黄芩	二等	20	陕西商洛
22	HQ0702	黄芩	二等	7	山东济南	46	HQ2003	黄芩	三等	20	陕西商洛
23	HQ0703	黄芩	三等	7	山东济南	47	HQ2104	黄芩	统货	21	陕西富县
24	HQ0705	黄芩	选货	7	山东济南	48	HQ2105	黄芩	选货	21	陕西渭南

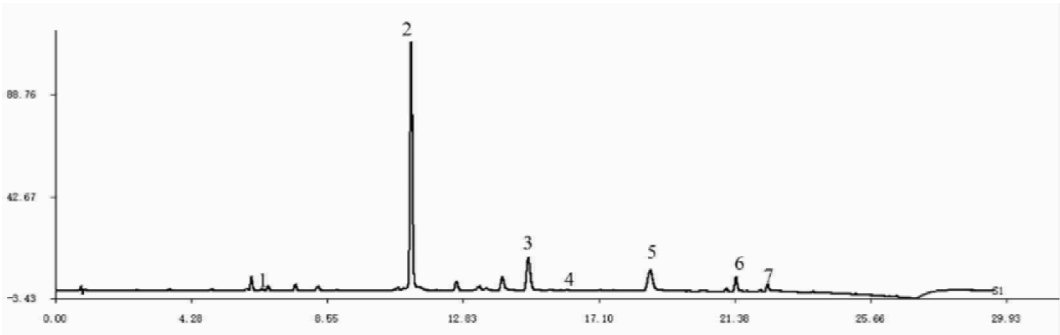


图 1 黄芩样品 UPLC 图谱

注:1~7 分别指野黄芩苷、黄芩苷、汉黄芩苷、芹菜素、黄芩素、汉黄芩素、千层纸素

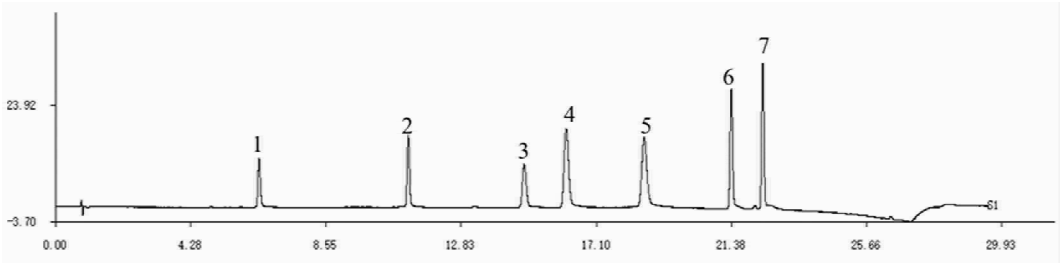


图 2 混合对照品 UPLC 图谱

注:1~7 分别指野黄芩苷、黄芩苷、汉黄芩苷、芹菜素、黄芩素、汉黄芩素、千层纸素

2.3 对照品溶液的配制 精密称取野黄芩苷、黄芩苷、汉黄芩苷、芹菜素、黄芩素、汉黄芩素、千层纸素对照品适量,分别用甲醇配成浓度为 1 mg/mL 的单一成分对照品贮备液。分别精密量取上述单一对照品贮备液适量,用甲醇稀释成含有野黄芩苷、黄芩苷、汉黄芩苷、芹菜素、黄芩素、汉黄芩素、千层纸素的混合对照品溶液。

2.4 供试品溶液的配制 精密称取样品细粉 15 mg,置于 2 mL 离心管中,精密加入 70% 甲醇 1.5 mL,95% 功率超声提取 30 min,转速 9 746 r/min 离心 10 min 后,上清液经 0.22 μm 微孔滤膜滤过,将续滤液稀释 10 倍即得供试品溶液。

2.5 线性关系考察 将各个对照品储备液稀释成不少于 5 个不同质量浓度的对照品溶液,按 2.2 项下条件测定峰面积。以色谱峰峰面积 Y 为纵坐标,进样浓度 X(μg/mL)为横坐标得到回归方程、线性范围与相关系数。见表 2。

表 2 对照品的线性关系考察结果

名称	线性范围 (μg/mL)	标准曲线	r
野黄芩苷	0.1~10	$Y = 3.847\ 55 \times 10^3 X + 3.730\ 460 \times 10^2$	0.999 8
黄芩苷	8~400	$Y = 5.750\ 971 \times 10^3 X + 8.931\ 719 \times 10^3$	0.999 9
汉黄芩苷	2~100	$Y = 5.328\ 718 \times 10^3 X + 1.499\ 577 \times 10^3$	0.999 9
芹菜素	0.1~10	$Y = 9.057\ 040 \times 10^3 X + 3.391\ 953 \times 10^2$	0.999 7
黄芩素	1~64	$Y = 7.280\ 009 \times 10^3 X - 1.252\ 874 \times 10^2$	0.999 5
汉黄芩素	0.4~40	$Y = 8.406\ 516 \times 10^3 X + 5.365\ 078 \times 10^3$	0.999 9
千层纸素	0.2~10	$Y = 9.110\ 085 \times 10^3 X + 3.523\ 396 \times 10^2$	0.999 8

2.6 精密度试验 精密吸取同一混合对照品溶液,连续重复进样 6 次,测得野黄芩苷、黄芩苷、汉黄芩苷、芹菜素、黄芩素、汉黄芩素、千层纸素的峰面积的 RSD 分别为 1.67%、1.55%、1.82%、1.60%、1.19%、1.12%、1.24%,表明仪器精密度良好。

2.7 稳定性试验 取同一份药材供试品溶液分别在放置 0 h、4 h、8 h、12 h、24 h、36 h、48 h 后进样测定,测得野黄芩苷、黄芩苷、汉黄芩苷、芹菜素、黄芩素、汉黄芩素、千层纸素的峰面积的 RSD 分别为 2.48%、2.25%、1.05%、2.40%、2.88%、2.92%、2.55%,表明各目标成分在 48 h 内稳定。

2.8 重复性试验 取同一样品 6 份,按 2.4 项下方法制备供试品溶液,测得野黄芩苷、黄芩苷、汉黄芩苷、芹菜素、黄芩素、汉黄芩素、千层纸素的峰面积的 RSD 分别为 2.98%、2.80%、2.43%、2.68%、1.99%、2.89%、2.80%,表明该实验方法重复性良好。

2.9 加样回收率试验 取同一批黄芩样品 6 份,分为 3 组,分别加入适量的高、中、低浓度混合对照品溶液,分别测定各目标成分的含量,考察各目标成分的回收率。各目标成分野黄芩苷、黄芩苷、汉黄芩苷、芹菜素、黄芩素、汉黄芩素、千层纸素的平均加样回收率分别为 98.13%、95.95%、102.85%、103.36%、104.02%、103.61%、99.75%,其 RSD 分别为 2.70%、0.69%、1.31%、0.88%、0.72%、1.06%、1.15%。

2.10 样品测定结果

2.10.1 黄芩样品色度结果 48批不同产地和等级黄芩样品色度检测后对测定结果进行频率分布直方图以及相关分析,结果见图3-a、图3-b、图3-c、表3及表4。

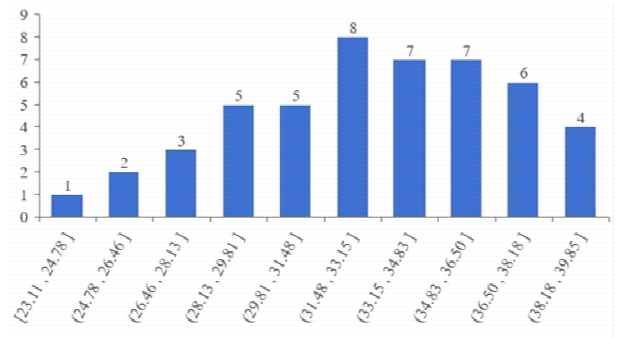


图3-a L*值分布频率直方图

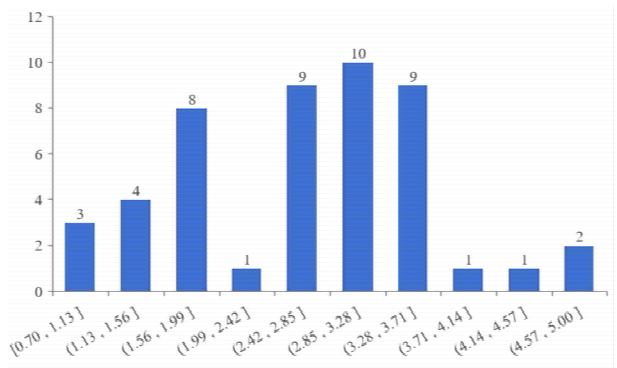


图3-b a*值分布频率直方图

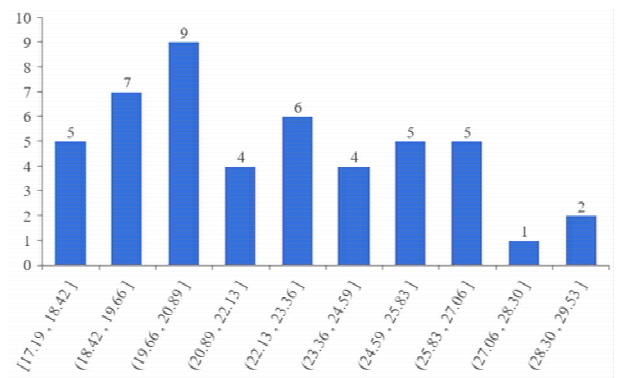


图3-c b*值分布频率直方图

表3 黄芩样品 L*、a*、b* 值的相关性分析

待测成分	L*	a*	b*
L*	1.000		
a*	-0.728**	1.000	
b*	0.586**	-0.531**	1.000

注: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

表4 黄芩样品等级与 L*、a*、b* 值的相关性分析

待测成分	L*	a*	b*
等级	0.101	0.518**	-0.431*

注:等级分为一、二、三等级; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

L* 为亮度值,L* 越大,亮度越高。由图3-a可知L* 值呈较明显正态分布曲线,在(31.48 ~ 33.15)处分布最多。其中亮度值最大的黄芩为10号样品,亮度值为39.85,来源于内蒙赤峰,亮度值最小的黄芩为27号样品,亮度值为23.11,来自于山东莱芜蒙阴县。因此可认为当我们从一批黄芩样品中随机抽取一个黄芩,该黄芩的L* 值有较大概率处于(31.48 ~ 33.15)。

a* 为红绿色轴,a* 值越大越红,越小则越绿。由图3-b可知a* 值较大部分分布在(1.56 ~ 3.71),其中可认为河北产地的黄芩粉末在a* 值上普遍偏低。而山西的黄芩粉末在a* 值一直处于中等偏上的水平。其中a* 值最大的黄芩为陕西渭南的选货黄芩,a* 值为5,a* 值最小的黄芩样品为内蒙赤峰的二等黄芩,a* 值为0.7。

b* 为黄-蓝色轴,b* 值越大越黄,越小则越蓝。由图3-c可知较多的黄芩粉末处于(19.66,20.89),且当b* 值在29.53以上时,就无黄芩粉末出现该值以上范围。其中b* 值最大的黄芩样品为山东济南的二等黄芩,b* 值为29.53,b* 值最小的黄芩样品为山东莱芜蒙阴县的选货黄芩,b* 值为17.19。

由表3来看L* 值于a* 值呈现极显著负相关,而L* 值和b* 值呈现极显著正相关,且a* 值于b* 值呈极显著负相关,即黄芩粉末亮度越高,粉末颜色越黄。由表4来看,a* 值和黄芩等级呈现极显著正相关,b* 值和黄芩等级数值呈现显著负相关关系,即可初步认为黄芩的大小与直径和其粉末颜色有较明显关系,也就是说该粉末如果越黄,越偏向红色,则可认为该黄芩等级较高,而如果该黄芩颜色偏绿,较倾向于蓝色,则可认为该黄芩等级较低。

2.10.2 黄芩样品化合物含量结果 48批黄芩样品黄酮类化合物检测后对测定结果进行分析,结果见图4、图5及图6。经检测黄芩中野黄芩苷含量范围为0.665 0 ~ 2.609 0 mg/g,平均含量为1.603 7 mg/g;黄芩苷含量范围为89.527 8 ~ 156.381 1 mg/g,平均含量为121.901 7 mg/g;汉黄芩苷含量范围为18.876 9 ~ 37.591 6 mg/g,平均含量为28.804 0 mg/g;芹菜素含量范围为0.569 7 ~ 0.861 1 mg/g,平均含量为0.715 1 mg/g;黄芩素含量范围为2.976 8 ~ 31.213 7 mg/g,平均含量为10.597 9 mg/g;汉黄芩素含量范围为0.439 2 ~ 7.004 1 mg/g,平均含量为2.539 6 mg/g;千层纸素含量范围为0.213 9 ~ 3.609 1 mg/g,平均含量为1.223 7 mg/g。

表 5 不同产地和等级黄芩中黄酮类化合物与色度综合相关性分析

待测成分	野黄芩苷	黄芩苷	汉黄芩苷	芹菜素	黄芩素	汉黄芩素	千层纸素
野黄芩苷	1.000						
黄芩苷	0.240	1.000					
汉黄芩苷	0.404 **	0.784 **	1.000				
芹菜素	0.171	0.015	0.055	1.000			
黄芩素	-0.347 *	-0.515 **	-0.773 **	0.070	1.000		
汉黄芩素	-0.259	-0.579 **	-0.739 **	0.071	0.946 **	1.000	
千层纸素	-0.238	-0.591 **	-0.738 **	-0.017	0.826 **	0.880 **	1.000
L *	-0.102	0.260	0.430 **	-0.011	-0.395 **	-0.401 **	-0.395 **
a *	0.059	-0.517 **	-0.616 **	0.116	0.519 **	0.525 **	0.604 **
b *	-0.053	0.571 **	0.690 **	-0.083	-0.569 **	-0.600 **	-0.516 **

注：* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

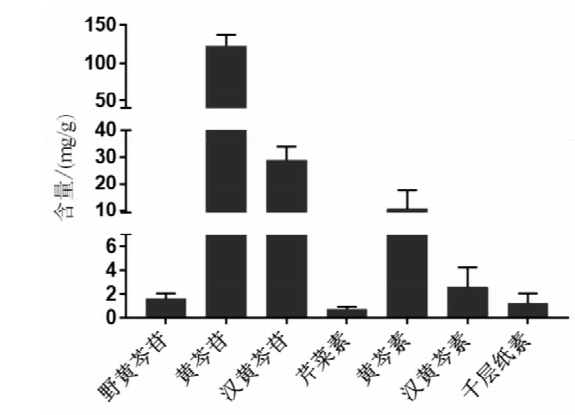


图 4 黄芩化合物含量比较

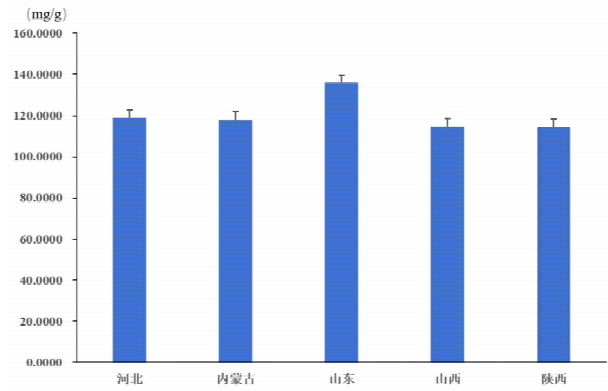


图 5 不同产地黄芩中黄芩苷平均含量比较图

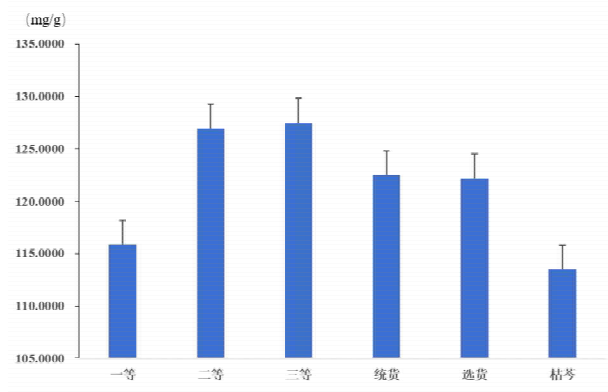


图 6 不同等级黄芩中黄芩苷平均含量比较图

图 4 可知测定的这些化合物中黄芩苷含量最

高,芹菜素不易检出且含量较低。从图 5 中可知,山东的黄芩中黄芩苷平均含量相对最高,达到 135.740 8 mg/g。从图 6 中可知,所有黄芩的黄芩苷含量普遍较高,均符合药典对黄芩苷含量的规定,其中三等黄芩的黄芩苷含量最高,枯芩中黄芩苷含量最低。

接着对黄芩中黄酮类化合物与色度进行相关性分析。见表 5。从表 5 中可知野黄芩苷含量与汉黄芩苷含量存在极显著正相关,黄芩苷含量与汉黄芩苷含量存在极显著正相关,黄芩苷含量和汉黄芩苷含量与黄芩素含量、汉黄芩素含量和千层纸素含量存在极显著负相关,黄芩素含量与汉黄芩素和千层纸素含量存在极显著正相关,汉黄芩素含量与千层纸素含量存在极显著正相关。有意思的是,野黄芩苷、黄芩苷、汉黄芩苷代表的是糖苷类化合物,而黄芩素、汉黄芩素、千层纸素代表的是一类苷元类化合物,这 2 类化合物在黄芩样品中以相反的形式增加或减少,推测可能存在着 2 类化合物的相互转化。

除此以外,在表 5 中,黄芩苷和汉黄芩苷含量与 a * 值存在极显著负相关,并且与 b * 值存在极显著正相关;汉黄芩苷含量与 L * 值存在极显著正相关;黄芩素、汉黄芩素、千层纸素含量与 a * 值存在极显著正相关,并且与 L * 值和 b * 值存在极显著负相关。表明当 a * 值一样,粉末越黄时或是当 b * 值一样,粉末越倾向于绿时,黄芩中主要黄酮类化合物黄芩苷含量越高,即含有糖苷的黄酮类化合物含量越高,不含糖苷的黄酮类化合物含量越低。

3 讨论

本研究建立了 UPLC 方法测定中药黄芩中 7 种黄酮类化合物含量的方法,由实验结果可知,虽然不同产地不同等级的黄芩药材中黄芩苷含量存在着一定的差异,但是这些黄芩药材中黄芩苷含量均符合

药典规定,特别是山东地区高等级黄芩的黄芩苷含量较高,表明可能是气候特征、土壤、光照强度、种植技术等因素的差异。

同时黄芩药材中各成分含量存在着一定的相关性,表明中药功效并不是由单一成分决定的,而是由多种成分共同相互作用的^[15]。而且结合黄芩粉末色度进行相关性分析发现,黄芩粉末外观越黄,其主要有效成分黄芩苷含量越高,因此 UPLC 法和色差仪法可作为我们评价黄芩药材质量的有效方式。

参考文献

[1]李云静,张建遼,王冰,等.不同产地黄芩药材中黄芩苷等5种黄酮类成分含量的比较[J].时珍国医国药,2016,27(12):2985-2988.

[2]侯丽丽,刘春龙,王成,等.高效液相色谱法测定七清败毒颗粒中黄芩苷含量的方法研究[J].中国兽药杂志,2019,53(9):41-48.

[3]周红潮,杜锐,王慧,等.黄芩苷药代动力学研究进展[J].中国中药杂志,2018,43(4):684-688.

[4]孙庆宇,朱晟,胡玉霆,等.黄芩苷对急性胆道感染大鼠血清炎症反应指标及肝细胞损伤的影响[J].中华医院感染学杂志,2019,29(18):2726-2730.

[5]郭宇.中药黄芩的化学成分及药理作用的分析[J].临床医药文献(连续型电子期刊),2019,6(63):137.

(上接第 2848 页)

[3]李红叶,梅秀凤,符雨诗,等.柑橘链格孢褐斑病的发生危害风险和治理对策[J].果树学报,2015,32(5):969-976.

[4]陈昌胜,黄峰,程兰,等.红橘褐斑病病原鉴定[J].植物病理学报,2011,41(5):449-455.

[5]Wilmer Barrera, Høy Jeffrey, Li Bin. Temperature and Leaf Wetness Effects on Infection of Sugarcane by Puccinia melanocephala [J]. Journal of Phytopathology, 2012, 160(6):294-298.

[6]N-A Cobb. Letters on the disease of plants-Alternaria of the citrus tribe[J]. Agric Gaz NSW, 1903, 14955-986.

[7]张玉洁,杨续旺,张志信,等.柑橘褐斑病的病原分离和药物筛选[J].北方园艺,2010,34(14):169-171.

[8]李红叶,梅秀凤,符雨诗,等.柑橘链格孢褐斑病的发生危害风险和治理对策[J].果树学报,2015,32(5):969-976.

[9]方中达. 植病研究方法[M]. 北京:中国农业出版社,1998:122.

[10]Koichiro Tamura, Dudley Joel, Nei Masatoshi, et al. MEGA4: molec-

[6]李永杰,刘容秀,田文仓,等.不同种源黄芩(子代)药用成分含量的地理变异研究[J].中国中药杂志,2018,43(13):2664-2669.

[7]张增强. 通渭县黄芩无公害栽培技术[J]. 现代农业科技, 2019, 48(19):74-75.

[8]王婧,盛晋华,张雄杰,等.不同种植密度下施肥量对黄芩根系生长的影响[J].北方农业学报,2019,47(3):41-45.

[9]刘婷,孔铭,刘丽芳,等.黄芩药材商品规格与内在质量相关性研究[J].中医药学报,2018,46(4):41-47.

[10]郭耀武,杨瑞瑞,李晗.陕西商洛产黄芩药材的质量评价[J].陕西中医,2012,33(8):1074-1075.

[11]孙景,于浩楠,唐莎莎,等.中药饮片黄芩表里关系的研究[J].世界中医药,2019,14(8):1995-1998.

[12]杨丽,陈鸿平,李雪莲,等.不同“变色”程度枸杞子外观颜色表征与内在色素类成分变化相关性[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(8):47-50.

[13]罗朝梅,卢秋霞,贺丽波,等. UPLC 测定纤毛婆婆纳主要环烯醚萜苷成分的含量[J]. 四川大学学报:自然科学版, 2019, 56(5):971-975.

[14]李岩岩,周妍. HPLC 法测定牛黄芩连丸中黄芩苷含量[J]. 世界最新医学信息文摘, 2018, 18(61):12+14.

[15]肖红斌,刘艳秋,王莉,等.基于成分相互作用的中药复方组分配伍研究[J].世界科学技术-中医药现代化,2011,13(2):240-243.

(2019-10-15 收稿 责任编辑:王明)

ular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0 [J]. Molecular biology and evolution, 2007, 24(8):1596-1599.

[11]唐爽爽,刘志恒,余朝阁,等.辽宁省西瓜炭疽病病原菌鉴定及生物学特性研究[J].植物保护,2014,40(4):38-44.

[12]Koichiro Tamura, Dudley Joel, Nei Masatoshi, et al. MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0 [J]. Molecular biology and evolution, 2007, 24(8):1596-1599.

[13]唐淬. 柑橘黑斑病、褐斑病的分离鉴定及分子检测[D]. 重庆:西南大学,2012.

[14]梅秀凤. 柑橘褐斑病和黑腐病病原及内生型链孢菌的比较研究[D]. 杭州:浙江大学,2016.

[15]陈国庆. 中国柑橘炭疽病病原种类及种群遗传多样性研究[D]. 杭州:浙江大学,2010.

[16]赵圆. 柑橘褐斑病菌的生物学特性及遗传多态性研究[D]. 重庆:西南大学,2014.

(2019-10-15 收稿 责任编辑:王明)