

基于叶绿体 *rpoCl* 序列在山药分子鉴定中的应用

赵琳娜, 刘娜, 王学硕, 陈怡文, 张晓东, 崔生辉*, 路勇*

(中国食品药品检定研究院, 北京 100050)

摘要: **目的** 研究基于 *rpoCl* 序列分析, 建立山药物种鉴定的新方法。**方法** 利用 DNA 条形码技术对收集到的 7 个山药样本提取基因组 DNA, 以 *rpoCl* 基因引物进行 PCR 扩增、测序, 将所得序列在美国国家生物信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI)数据库中进行 BLAST 比对, 从 GenBank 获取薯蓣属、木薯属和番薯属 *rpoCl* 序列, 应用 MEGA 7.0 软件计算种内和种间的(K2P)遗传距离, 并构建邻接(neighbor joining, NJ)系统聚类树。**结果** 7 个山药样本 *rpoCl* 基因获得成功扩增和测序。山药样本最大种内 K2P 遗传距离为 0.009, 远远小于山药与木薯、番薯的种间 K2P 遗传距离 0.104~0.118, 也小于山药与盾叶薯蓣和穿龙薯蓣的种间 K2P 遗传距离 0.026~0.035, 构建的系统发育树显示山药与盾叶薯蓣、穿龙薯蓣、木薯和番薯单独聚为一类。**结论** *rpoCl* 序列作为 DNA 条形码候选序列, 能够实现山药和混伪品的鉴定, 同时也适用于食用山药和药用山药物种的区分, *rpoCl* 序列可为山药物种鉴定提供新的分子鉴定方法。

关键词: 山药; 薯蓣; DNA 条形码; *rpoCl*; 系统发育树; 物种鉴定

Application of chloroplast *rpoCl* sequence in molecular identification of Chinese yam

ZHAO Lin-Na, LIU Na, WANG Xue-Shuo, CHEN Yi-Wen, ZHANG Xiao-Dong,
CUI Sheng-Hui*, LU Yong*

(National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China)

ABSTRACT: Objective To establish a new molecular method to authenticate Chinese yam by using *rpoCl* sequences. **Methods** Genomic DNA was extracted from 7 Chinese yam samples and was used as templates for PCR amplification with the primers of *rpoCl* gene. The sequences were aligned in the National Center for Biotechnology Information (NCBI) database using BLAST. Based on GenBank Nucleotide Database, *rpoCl* sequences of *Dioscorea*, *Manihot* and *Ipomoea* were downloaded. K2P distances were calculated using MEGA 7.0 software and neighbor-joining (NJ) phylogenetic tree was established. **Results** *rpoCl* gene was successfully amplified and sequenced in 7 Chinese yam samples. K2P genetic distance of intraspecific genetic distance of Chinese yam was 0.009, which was far less than the interspecific K2P genetic distance between Chinese yam and *Manihot* and *Ipomoea* (0.104-0.118), and also less than the interspecific K2P genetic distance between Chinese yam and *Dioscorea zingiberensis* and *Dioscorea nipponica*

基金项目: 河北省“重大科技成果转化专项”重大专项项目(19027143Z)

Fund: Supported by the Special Program for Major Scientific and Technological Achievements Transformation of Hebei Province (19027143Z)

*通信作者: 崔生辉, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: cuishenghui@aliyun.com

路勇, 博士, 教授级高级工程师, 主要研究方向为食品安全。E-mail: luyong0560@126.com

*Corresponding author: CUI Sheng-Hui, Ph.D, Professor, National Institute for Food and Drug Control, Beijing 100050, China. E-mail: cuishenghui@aliyun.com

LU Yong, Ph.D, Professor, National Institute for Food and Drug Control, Beijing 100050, China. E-mail:

luyong0560@126.com

(0.026-0.035). The results of NJ phylogenetic tree showed that Chinese yam could be separated from *Dioscorea zingiberensis* or *Manihot*, and classified into a separate one. **Conclusion** As a candidate sequence of DNA barcoding, *rpoC1* sequence can be used to identify yam and adulterants, and it can also be used to distinguish edible and medicinal yam species. *rpoC1* sequence can provide a new molecular method for yam species identification.

KEY WORDS: yam; *Dioscorea*; DNA barcoding; *rpoC1*; phylogenetic tree; species identification

0 引言

山药 (*Dioscorea opposita* Thunb., 异名 *Dioscorea polystachya* Turcz.、*Dioscorea oppositifolia* L.、*Dioscorea batatas* Dcne.), 别名薯蕷、薯药。《中国药典》(2020 版)规定^[1]: 山药为薯蕷科植物薯蕷 *Dioscorea opposita* Thunb. 的干燥根茎。前中国市场上的“山药”主要有薯蕷 (*Dioscorea opposita* Thunb.)、参薯 (*Dioscorea alata* Linn.)、褐苞薯蕷 (*Dioscorea persimilis* Prain et Burkill)、日本薯蕷 (*Dioscorea japonica* Thunb.)、山薯 (*Dioscorea fordii* Prain et Burkill) 5 种薯蕷属植物作为山药种植资源被开发利用^[2]。山药是一种药食同源的天然植物, 2002 年, 国家卫生部(现国家卫生健康委员会)在《卫生部关于进一步规范保健食品原料管理的通知》中^[3], 将山药列入《既是食品又是药品的物品名单》。现代药理研究表明, 山药含有许多活性成分, 不仅具有调理疾病的药用价值, 而且可以做成保健食品^[4]。近年来, 随着健康理念的改变, 用山药加工而成的食品消费比例逐步上升, 特别是网络售卖的需求量极大。但与此同时, 山药的掺杂使假问题也日益凸显, 有些不法企业和商贩为了提高经济利益, 在山药类食品中掺杂使用大戟科木薯 (*Manihot esculenta* Crantz) 和旋花科番薯 [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] 块茎的现象时有发生, 严重影响山药的功效与作用^[5]。

目前市售山药类食品多为加工品, 对混伪品运用表面性状、显微特征甚至化学成分进行准确鉴别难度比较大, 迫切需要灵敏、可靠的检测方法。DNA 条形码技术是利用基因组中公认标准的 DNA 片段对物种进行准确鉴定的技术。该技术提供了可信息化的有效分类学手段, 已经被成功应用于生物物种的鉴定和分类^[6-7], 尤其在中药全产业链各个环节中发挥了重要作用, 从产业链上游到中游和下游, 可实现中药种子、种苗、中药材、中药饮片的鉴定^[8]。在动物类群的鉴定和分类中, 线粒体基因细胞色素 C 氧化酶亚基 I (cytochrome oxidase subunit I, COI) 被广泛应用, 成为动物的通用 DNA 条形码^[9-10]。由于植物与动物的自然特性差异较大, 至今在植物中还未找到一个如动物中 COI 基因一样完美的 DNA 条形码能对所有植物进行区分和鉴定。在各种候选 DNA 序列中, 叶绿体片段和核基因片段被认为适用于植物物种鉴定, 但不同序列的放大效率和鉴定效率因不同植物群体而异, 因此必须通过测序和结果分析来选择最合适的 DNA 序列^[11-14]。有研究采用 *ITS*, *ITS2*,

rbcL, *matK* 和 *psbA-trnH* 5 种 DNA 条形码应用于山药及其混伪品的鉴定^[15-17], 但 *ITS* 序列扩增失败, *ITS* 序列扩增效率较低, 无法有效进行物种区分, 从而限制 2 种序列在山药鉴别中的应用; *rbcL* 和 *psbA-trnH* 序列具有较高的扩增成功率, 但物种分离度较低、种间变异较小, 分类具有一定的局限性; *matK* 序列具有较高的鉴定效率, 种间变异度高于种内变异度。*rpoC1* 是叶绿体 DNA 中的一个核糖核酸聚合酶 C1 亚基 (ribonucleic acid polymerase C1 subunit, *rpoC1*), 也是作为植物 DNA 条形码常见的候选序列, 其具有很高的扩增和测序成功率, 被用于许多药用植物的分类及鉴别^[18-19], 但利用叶绿体基因 *rpoC1* 序列进行山药掺伪分子鉴定的报道比较少。因此, 本研究以山药正伪品共 3 个科 3 个属 7 个物种的 DNA 序列以及 7 份样品为研究对象, 考察 *rpoC1* 基因对山药正伪品的鉴别能力和适用性, 为山药的准确鉴别提供客观依据。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

Bio-Rad PCR 仪、Bio-Rad 紫外凝胶成像系统(美国伯乐公司); Thermo LEGEND Micro21R 冷冻离心机、NanoDrop 2000 微量核酸蛋白测定仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)。

十六烷基三甲基溴化铵 (hexadecyl trimethyl ammonium bromide, CTAB) 裂解液 [20 g/L CTAB, 1.4 mol/L NaCl, 0.1 mol/L Tris, 0.02 mmol/L 乙二胺四乙酸二钠 (ethylene diamine tetraacetic acid disodium salt, Na₂-EDTA), pH 8.0]、三氯甲烷、异丙醇(分析纯)(国药集团化学试剂有限公司); Ex Taq DNA 聚合酶 250 U、dNTP mixture 2.5 mmol/L、琼脂糖(宝生物工程大连有限公司); 实验室用水为 Milli-Q 超纯水。

1.2 实验材料

从 NCBI 建立的 DNA 序列数据库 GenBank 下载薯蕷、穿龙薯蕷 (*Dioscorea nipponica* Makino)、盾叶薯蕷 (*Dioscorea zingiberensis* C.H. Wright)、木薯 (*Manihot esculenta* Crantz)、番薯 [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] 的 *rpoC1* 基因序列。其中获得不同来源的薯蕷 *rpoC1* 序列 9 条, 木薯和番薯 *rpoC1* 序列 2 条。7 个不同名称山药块样品由河南省食品药品检验所提供。样品信息和 *rpoC1* 序列的 GenBank 登录号及来源见表 1。

表 1 样品采集信息及 *rpoC1* 序列的 GenBank 登录号/来源
Table 1 Samples of *Dioscorea oppositifolia* L. tested in this study

编号	名称	拉丁学名	GenBank 登录号
1	参薯	<i>Dioscorea alata</i>	MG267382.1
2	参薯	<i>Dioscorea alata</i>	NC039707.1
3	褐苞薯蓣	<i>Dioscorea persimilis</i>	MN585218.1
4	薯蓣	<i>Dioscorea polystachya</i>	MG267380.1
5	薯蓣	<i>Dioscorea polystachya</i>	NC_037716.1
6	薯蓣	<i>Dioscorea oppositifolia</i>	JF972829.1
7	薯蓣	<i>Dioscorea baya</i>	NC_039850.1
8	盾叶薯蓣	<i>Dioscorea zingiberensis</i>	KP899622.1
9	穿龙薯蓣	<i>Dioscorea nipponica</i>	GQ436196.1
10	木薯	<i>Manihot esculenta</i>	EU117376.1
11	番薯	<i>Ipomoea batatas</i>	EU047598.1
HNY-1	广西广山药	/	河南省食品药品检验所
HNY-2	芙蓉山药	/	河南省食品药品检验所
HNY-3	毛山药	/	河南省食品药品检验所
HNY-4	光山药	/	河南省食品药品检验所
HNY-5	河北光条	/	河南省食品药品检验所
HNY-6	芙蓉毛山药	/	河南省食品药品检验所
HNY-7	无硫山药	/	河南省食品药品检验所

1.3 实验方法

1.3.1 DNA 提取

将山药样本取适量至研钵中,加入液氮,充分研磨成粉末,使用改良 CTAB 方法提取总 DNA,具体步骤参照文献^[20-21]。将得到的 DNA 使用 Nano Drop 2000 测定 DNA 纯度及浓度。DNA 样品于 -20 °C 保存备用。

1.3.2 PCR 扩增及测序

扩增 *rpoC1* 所用通用引物序列^[22]由上海生工公司合成。上游引物 F: 5'-GGCAAAGAGGGAAGATTCG-3'; 下游引物 R: 5'-CCATAAGCATATCTTGAGTTGG-3'。PCR 反应总体系 25 μ L, 包括 10 \times 反应缓冲液 2.5 μ L, 模板 DNA 1 μ L, 正向引物 2 μ L (10 μ mol/L); 反向引物 2 μ L (10 μ mol/L); *Taq* 酶 0.5 μ L, 无菌水至 25 μ L。PCR 扩增程序为: 95 °C 预变性 5 min; 95 °C 变性 30 s, 52 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 30 s, 35 个循环; 72 °C 延伸 10 min。最后在 4 °C 下保温。反应结束后,取 5 μ L PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测。将扩增成功的 PCR 产物送到测序公司进行测序。

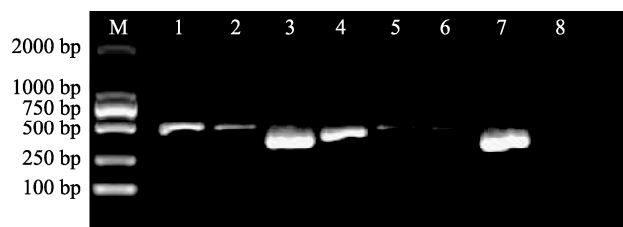
1.3.3 序列比对和数据分析

测序结果使用 CodonCode Aligner 3.0 校正和拼接,切除两端引物,将所得序列提交 GenBank 进行 BLAST 比对。使用 MEGA 7.0.26 计算 Kimura-2 参数(K2P)遗传距离,选择邻接法(neighbor joining, NJ)构建山药系统发育树,评价序列的鉴定能力。树状图中每 1 分支进行靴带分析(bootstrap),自展重复数设定为 1000 次,以评价树状图的可信度。

2 结果与分析

2.1 DNA 提取与 PCR 扩增

使用改良的 CTAB 法从 7 份样品中成功提取 DNA,浓度在 100~300 ng/ μ L 之间, A_{260}/A_{280} 的值在 2.0~2.10 之间,说明 DNA 质量良好。以 *rpoC1* 通用引物进行 PCR 扩增,无菌水作为空白对照。扩增产物以 1% 琼脂糖凝胶电泳检测,结果如图 1 所示,7 份样本的 *rpoC1* 序列得到了 100% 的扩增,扩增产物片段大小在 500 bp 左右。测序结果显示 7 份样本的 *rpoC1* 序列扩增产物测序成功率为 100%,同时 NCBI 上 BLAST 相似性检索均具有较好的匹配度(表 2),确认所测序列为目标序列。



注: M: 2000 bp DNA ladder, 1~7: HNY-1~HNY-7, 8: 空白对照。

图 1 7 个山药样品 *rpoC1* 基因 PCR 产物电泳结果

Fig.1 Electrophoretic results of *rpoC1* gene PCR products of 7 *D. oppositifolia* Thunb samples

2.2 遗传距离的分析

综合实验所得序列和 Genbank 上已提交的 5 种薯蓣相关序列, 利用 MEGA 7.0.26 软件进行遗传距离分析, 采用 K2P 模型计算遗传距离。结果(表 3)显示, 7 个山药样本和 Genbank 上提交的参薯 (*Dioscorea alata*)、褐苞薯蓣 (*Dioscorea persimilis*) 和薯蓣 (*Dioscorea polystachya*、*Dioscorea oppositifolia*、*Dioscorea baya*) *rpoC1* 序列的遗传距离为 0~0.009 之间, 显示受试山药样本和参薯及薯蓣 *rpoC1* 序列的种内变异很小。7 个山药样本和盾叶薯蓣 (*Dioscorea zingiberensis*) 和穿龙薯蓣 (*Dioscorea nipponica*) *rpoC1* 序列的遗传距离为 0.026~0.035 之间, 表明他们之间亲缘关系略远。7 个山药样本和木薯 (*Manihot esculenta*)、番薯 (*Ipomoea batatas*) *rpoC1* 序列的遗传距离为 0.104~0.118 之间, 结果表明受试山药样本与木薯、番薯的种间遗传距离远大于山药的种内遗传距离。因此, *rpoC1* 序列能够将山药与木薯和番薯区分开, 而且能够将山药和盾叶薯蓣和穿龙薯蓣进行有效区分。

2.3 系统发育树的构建

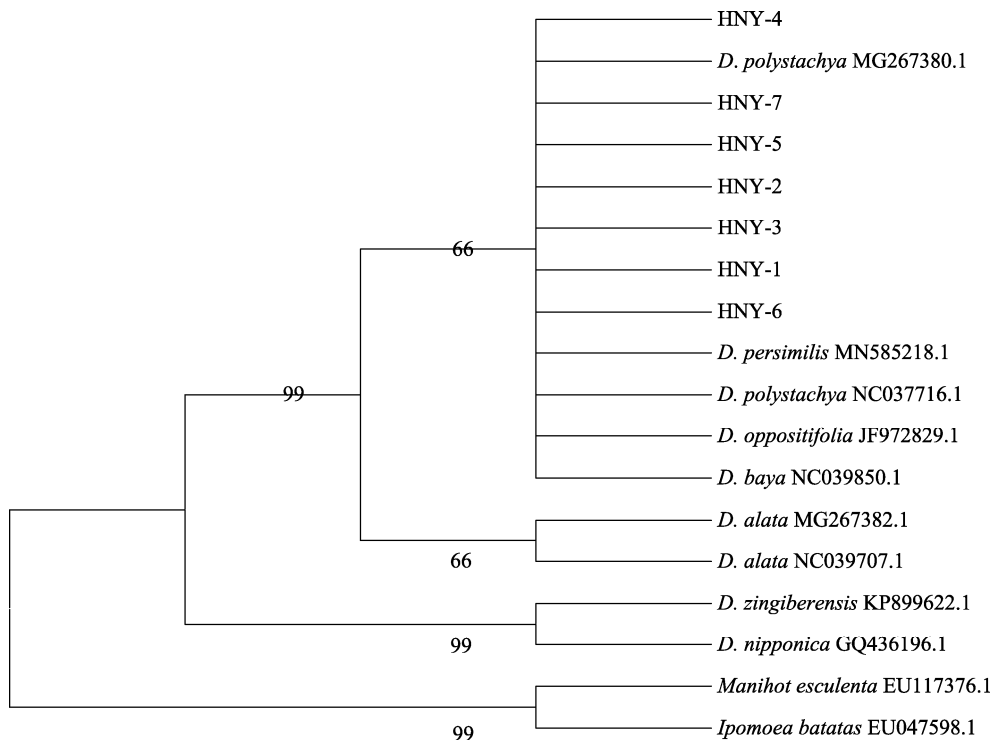
综合实验所得序列和 Genbank 上已提交的 5 种薯蓣相关序列, 利用 MEGA 7.0.26 软件构建 NJ 系统聚类树进行分析, 进一步分析其相互近缘关系, 结果见图 2。NJ 系统聚类树结果显示 7 个山药样本与参薯 (*Dioscorea alata*)、褐苞薯蓣 (*Dioscorea persimilis*) 和薯蓣 (*Dioscorea polystachya*、*Dioscorea oppositifolia*、*Dioscorea baya*) 聚为一类, 与盾叶薯蓣 (*Dioscorea zingiberensis*)、穿龙薯蓣 (*Dioscorea nipponica*) 和木薯 (*Manihot esculenta*)、番薯 (*Ipomoea batatas*) 分别单独聚为一类, 3 者之间没有交叉。以上结果表明, *rpoC1* 序列适用于山药的物种鉴别, 可以作为山药与混伪品之间鉴别的提供分子鉴定依据。

3 结论与讨论

DNA 条形码鉴定技术因其通用, 操作简单, 不受个体发育阶段和形态特征的限制等优势, 成为近年来分子鉴定的热点, 尤其对于缺乏遗传背景信息的药用植物样品具有较好的鉴别能力。在植物中相关研究者进行了大量研究, 国际生命条码联盟于 2009 年对来自 550 个物种 907 个样品的 7 个序列 (*rbcL*, *matK*, *rpoC1*, *rpoB*, *psbA-trnH*, *psbK-psbI*, *atpF-atpH*) 分析比较后, 提议将 *rbcL+matK* 组合作为植物界的通用条形码^[23]。CHEN 等^[24]经过相关研究建议将 *ITS2* 作为药用植物的通用条形码序列。中国 DNA 条形码植物工作组通过对大量样本的 *rbcL*, *matK*, *psbA-trnH*, *ITS* 以及 *ITS2* 序列进行研究, 建议将 *ITS/ITS2* 作为种子植物的核心条形码。*ITS* 虽然具有较好的稳定性和准确性, 但是在一定物种的鉴定中并不能获得有效的鉴定结果^[25]。有研究学者对 98 个科 326 个物种 400 个样品进行了分析研究, 仅获得 42.3% 的扩增成功率^[26]; 对芸香科 72 属 192 种 300 个样本进行了研究, 发现 *ITS* 序列扩增效率很低, 很难对物种进行鉴定^[27]。在本研究中, 尝试用 *ITS* 和 *ITS2* 序列扩增山药样本, *ITS* 序列扩增失败, *ITS2* 序列扩增效率低且测序失败, 从而限制这 2 种序列作为条形码在山药鉴别中的应用, 与孟啸龙等^[15]研究报道结果相一致。孟啸龙等^[15]研究结果还显示 *matK* 序列构建的系统发育树可以将木薯、褐苞薯蓣、甘薯、佛手山药和山药分别单独聚为一枝, 参薯和山薯聚为一枝。以 *rbcL* 和 *psbA-trnH* 序列构建的系统发育树显示仅将木薯和佛手山药单独聚类。本研究中, *rpoC1* 显示出很高的扩增效率和测序成功率, 并且从 *rpoC1* 序列构建的系统发育树上可以看出, 山药和褐苞薯蓣聚为一枝, 山药和木薯、番薯分别聚类, 且各近缘属物种均能聚在具有支持率较高的单系分支中。

表 2 7 个样品 *rpoC1* 序列 BLAST 鉴定结果
Table 2 BLAST results of *rpoC1* sequence of 7 samples

样本号	名称	拉丁名	相似度/%	登录号
HNY-1	广西广山药	<i>Discorea persimilis</i>	99.59	MN585218.1
		<i>Discorea polystachya</i>	99.59	MG267380.1
HNY-2	芙草山药	<i>Discorea persimilis</i>	99.59	MN585218.1
		<i>Discorea polystachya</i>	99.59	MG267380.1
HNY-3	毛山药	<i>Discorea persimilis</i>	99.39	MN585218.1
		<i>Discorea polystachya</i>	99.39	MG267380.1
HNY-4	光山药	<i>Discorea persimilis</i>	98.35	MN585218.1
		<i>Discorea polystachya</i>	98.35	MG267380.1
HNY-5	河北光条	<i>Discorea persimilis</i>	99.59	MN585218.1
		<i>Discorea polystachya</i>	99.59	MG267380.1
HNY-6	芙草毛山药	<i>Discorea persimilis</i>	99.80	MN585218.1
		<i>Discorea polystachya</i>	99.80	MG267380.1
HNY-7	无硫山药	<i>Discorea persimilis</i>	99.59	MN585218.1
		<i>Discorea polystachya</i>	99.59	MG267380.1



注: 分支上数字为自展值(> 60%)。

图 2 基于 *rpoC1* 序列构建的山药及其混伪品的 NJ 系统发育树

Fig.2 NJ cluster analysis of *rpoC1* sequence gene in Chinese yam and its adulterants

薯蓣科(*Dioscoreaceae*)薯蓣属包含 600 多种植物。除薯蓣(*D. opposita* Thunb)外、穿龙薯蓣(*D. nipponica* Makino)、黄山药(*D. panthaica* Prain et Burk.)、盾叶薯蓣(*D. zingiberensis*)、粉背薯蓣(*D. hypoglauca* Palibin)、福州薯蓣(*D. futschauensis* Uline ex R.Kunth)等植物根茎也为《中国药典》所收载^[1]。虽然它们来自同一个属,但是不同的植物具有不同的功效,实际应用中需要加以甄别。从本实验的遗传距离和系统发育树构建结果可见,7 个受试山药样本、薯蓣、参薯及褐苞薯蓣 *rpoC1* 序列的种内变异很小,都属于可食用山药。虽然 *rpoC1* 不能对薯蓣和褐苞薯蓣近缘种之间进行有效的区分,但能将其与穿龙薯蓣和盾叶薯蓣这 2 种药用薯蓣分别聚在具有支持率较高的单系分支中。

PENNISI^[28]认为植物 DNA 条形码技术能否得到成功应用,关键在于合适片段的选择及其相关质量评价。一个理想的条形码应该容易扩增和测序,PCR 产物大小不超过 1 kbp,同时具有高的种间变异。本研究结果显示 *rpoC1* 基因具有很高的扩增测序成功率,扩增产物大小合适。能对木薯、番薯等混伪品进行鉴定,虽然因山药与褐苞薯蓣亲缘关系更为密切^[29],不能区分山药和褐苞薯蓣,但适用于食用山药和药用山药物种的区别。本研究将 *rpoC1* 序列成功用于山药物种的鉴定,下一步将收集到更多的薯蓣属物种进行验证,这对于食用山药和药用山药的真实性,尤其是经过食品加工和药材炮制,无法辨别其明确外观形态的

山药加工品的真伪鉴定提供了科学依据,也为市场监管提供可靠的技术手段。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(第 1 部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (Part 1) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020.

[2] 何海玲, 单承莺, 张卫明, 等. 山药研究进展[J]. 中国野生植物资源, 2006, 25(6): 1-6.
HE HL, SHAN CY, ZHANG WM, et al. Research progress of *Dioscorea opposita* [J]. Chin Wild Plant Resour, 2006, 25(6): 1-6.

[3] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 卫生部关于进一步规范保健食品原料管理的通知(卫法监发[2002]51 号)[EB/OL]. [2002-03-11]. <http://www.nhc.gov.cn/wjw/gfxwj/201304/e33435ce0d894051b15490aa3219cdc4.shtml> [2021-03-11].
National Health Commission of the People's Republic of China. Notice of the Ministry of health on further standardizing the management of health food raw materials (wjf [2002] No.51) [EB/OL]. [2002-03-11]. <http://www.nhc.gov.cn/wjw/gfxwj/201304/e33435ce0d894051b15490aa3219cdc4.shtml> [2021-03-11].

[4] 贡树铭. 药食同源的枸杞和山药[J]. 医古文知识, 2000, 17(3): 16-17.
GONG SM. Chinese wolfberry fruits and Chinese yam in same resource of medicinal and food stuffs [J]. Chin Med Culture, 2000, 17(3): 16-17.

[5] 谢宗万. 中药品种理论与应用[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008.
XIE ZW. Theory and application of traditional Chinese medicine [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2008.

- [6] HEBERT PDN, RATNASINGHAM S, WAARD JRD. Barcoding animal life: Cytochrome oxidase subunit 1 divergences among closely related species [J]. P Biol Sci, 2003, 270: S96–S99.
- [7] KRESS WJ, ERICKSON DL, SHIU SH. A two-locus global DNA barcode for land plants: The coding *rbcL* gene complements the non-coding *trnH-psbA* spacer region [J]. PLoS One, 2007, 2(6): e508.
- [8] 娄千, 辛天怡, 宋经元. DNA 条形码技术在中药全产业链的应用进展 [J]. 药学报, 2020, 55(8): 96–103.
LOU Q, XIN TY, SONG JY. Application of DNA barcoding technology in the whole industrial chain of traditional Chinese medicine [J]. Acta Pharm Sin, 2020, 55(8): 96–103.
- [9] HEBERT PDN, CYWINSKAA, BALL SL, et al. Biological identifications through DNA barcodes [J]. P Biol Sci, 2003, 270: 313–321.
- [10] HAJIBABAEI M, SINGER GAC, HEBERT PDN, et al. DNA barcoding: How it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics [J]. Trends Genet, 2007, 23(4): 167–172.
- [11] 朱英杰, 陈士林, 姚辉, 等. 重楼属药用植物 DNA 条形码鉴定研究 [J]. 药学报, 2010, 45(3): 376–382.
ZHU YJ, CHEN SL, YAO H, et al. DNA bar-coding the medicinal plants of the genus *Paris* [J]. Acta Pharm Sin, 2010, 45(3): 376–382.
- [12] CHEN S, YAO H, HAN J, et al. Validation of the ITS2 region as a novel DNA barcode for identifying medicinal plant species [J]. PLoS One, 2010, 5(1): e8613.
- [13] GROUP CPW. A DNA barcode for land plants [J]. P Nat Acad Sci USA, 2009, 106(31): 12794–12797.
- [14] 李军, 张燃, 于淑萍, 等. 中药材银柴胡及其混伪品的 DNA 条形码鉴定研究 [J]. 药学报, 2019, 54(5): 937–943.
LI J, ZHANG R, YU SP, et al. Identification of Chinese medicinal materials *Stellariae Radix* and its adulterants using DNA barcoding [J]. Acta Pharm Sin, 2019, 54(5): 937–943.
- [15] 孟啸龙, 孟乡, 周国富, 等. DNA 条形码在山药及其混伪品鉴定中的应用 [J]. 辽宁中医杂志, 2020, 47(4): 163–166.
MENG XL, MENG X, ZHOU GF, et al. Application of DNA barcode in identification of *D. oppositifolia* and its adulterants [J]. Liaoning J Tradit Chin Med, 2020, 47(4): 163–166.
- [16] 张佳佳, 霍秀文, 王志敏, 等. 薯蓣属 28 种山药 *psbA-trnH* 序列系统学分析 [J]. 分子植物育种, 2017, 15(6): 2412–2419.
ZHANG JJ, HUO XW, WANG ZM, et al. 28 Yam (*Dioscorea*) systematics analysis based on *psbA-trnH* sequence [J]. Mol Plant Breed, 2017, 15(6): 2412–2419.
- [17] 吴志刚, 李小侠, 陶正明, 等. 山药资源叶绿体基因组 *rbcL* 区序列的比较研究 [C]. 2012 海峡两岸暨 CSNR 全国第 10 届中药及天然药物资源学术研讨会论文集, 2012.
WU ZG, LI XX, TAO ZM, et al. Sequence of the *rbcL* region of chloroplast in yam resources and its phylogenetic relationship [C]. The 10th national symposium on natural medicinal material resources proceedings and abstracts, 2012.
- [18] 罗沛宜, 罗茂, 朱焯, 等. 基于叶绿体 *trnL-F* 和 *rpoC1* 序列对当归及其混伪品的分子鉴定研究 [J]. 中国药理学杂志, 2015, 50(10): 840–845.
LUO PY, LUO M, ZHU Y, et al. Authentication of *angelica sinensis* and adulterants by analysis of plastid *trnL-F* and *rpoC1* sequences [J]. Chin Pharm J, 2015, 50(10): 840–845.
- [19] EL-SHERIF N, IBRAHIM M. Implications of *rbcL* and *rpoC1* DNA barcoding in phylogenetic relationships of some Egyptian *Medicago sativa* L. cultivars [J]. Egyt J Bot, 2020, 60(2): 451–460.
- [20] 高慧新, 包道健, 田慧. 广山药总 DNA 提取方法的比较 [J]. 中国民族民间医药, 2017, (16): 27–29.
GAO HX, BAO DJ, TIAN H. Comparison of total DNA extraction methods of *Dioscorea persimilis* Prain et Burkill [J]. Chin J Ethnomed Ethnopharm, 2017, (16): 27–29.
- [21] 赵琳娜, 胡凤月, 吴孝槐, 等. 用于转基因检测的番木瓜基因组 DNA 提取方法的比较 [J]. 现代食品科技, 2010, 26(2): 188–191.
ZHAO LN, HU FY, WU XH, et al. Study on DNA extraction from papaya for detection of genetically modified organism [J]. Mod Food Sci Technol, 2010, (26): 188–191.
- [22] RYDBERG A. DNA Barcoding as a tool for the identification of unknown plant material [D]. Sweden: Uppsala University, 2010.
- [23] CBOL Plant Working Group. A DNA barcode for land plants [J]. PNAS, 2009, 106: 12794–12797.
- [24] CHEN SL, YAO H, HAN JP, et al. Validation of the ITS2 region as a novel DNA barcode for identifying medicinal plant species [J]. PLoS One, 2010, 5: e8613.
- [25] 蔡金龙, 谢世清, 张广辉, 等. 药用植物 DNA 条形码鉴定研究进展 [J]. 植物科学学报, 2017, 35(3): 452–464.
CAI JL, XIE SQ, ZHANG GH, et al. Current advances in DNA barcoding of medicinal plants [J]. Plant Sci J, 2017, 35(3): 452–464.
- [26] CHEN S, HUI Y, HAN J, et al. Validation of the ITS2 region as a novel DNA barcode for identifying medicinal plant species [J]. PLoS One, 2010, 5(1): e8613.
- [27] 罗焜, 陈士林, 陈科力, 等. 基于芸香科的植物通用 DNA 条形码研究 [J]. 中国科学(生命科学), 2010, 40(4): 342–351.
LUO K, CHEN SL, CHEN KL, et al. Assessment of candidate plant DNA barcodes using the Rutaceae family [J]. Sci Sin Vitae, 2010, 40(4): 342–351.
- [28] PENNISI E. Taxonomy wanted: A barcode for plants [J]. Science, 2007, 318(5848): 190–191.
- [29] 吴志刚. 山药种质资源遗传亲缘关系与药材质量研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2012.
WU ZG. Study on genetic relationship and crude drugs quality of yam germplasm resources [D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine, 2012.

(责任编辑: 郑丽 张晓寒)

作者简介



赵琳娜, 博士, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全检测。
E-mail: jade_zhao@126.com



崔生辉, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品安全检测。
E-mail: cuishenghui@aliyun.com



路勇, 博士, 教授级高级工程师, 主要研究方向为食品安全。
E-mail: luyong0560@126.com