

• 药材与资源 •

金钗石斛的位点特异性 PCR 鉴别研究

徐 红^{1,2}, 王峰涛^{1,2*}, 丁小余¹, 徐璐珊¹

(1. 中国药科大学 生药学研究室, 江苏 南京 210038; 2. 上海中医药大学中药研究所, 上海 201203)

摘 要:目的 建立一种简便、实用的金钗石斛的 DNA 分子鉴别方法。方法 根据金钗石斛及其他黄草类、枫斗类石斛的 rDNA ITS 序列数据库, 寻找金钗石斛特异性的序列位点, 设计专用于金钗石斛鉴别的 PCR 引物, 用该引物在不同条件下扩增石斛属植物的模板 DNA, 建立只有金钗石斛具有阳性扩增的 PCR 鉴别条件。结果 在 66 ℃、40 s 的复性条件下进行鉴别 PCR, 金钗石斛的模板 DNA 扩增出约 300 bp 的阳性扩增带, 而其他 39 种石斛的模板 DNA 在同样条件下无扩增产物。结论 运用位点特异性 PCR 能有效地从其他石斛属植物中鉴别出金钗石斛, 该方法具有高效、准确、简便、省时的特点, 应用前景广泛。

关键词:金钗石斛; 位点特异性 PCR; 鉴别

中图分类号:R282.71

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2005)10-1540-05

Authentication of *Dendrobium nobile* by allele-specific diagnostic PCRXU Hong^{1,2}, WANG Zheng-tao^{1,2}, DING Xiao-yu¹, XU Luo-shan¹

(1. Department of Pharmacognosy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210038, China; 2. Institute of Chinese Materia Medica, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

Abstract: **Objective** To develop a convenient and effective molecular authentication method for identifying *Dendrobium nobile* from other species of *Dendrobium* Sw. **Methods** Based on rDNA ITS sequences of *D. nobile* and other species of *Dendrobium* Sw. of Huangcaos and Fengdous, unusual sequence sites were confirmed and an allele-specific diagnostic primer pair was designed for *D. nobile*. Diagnostic PCR was performed using the primers with the total DNA of *D. nobile* and other species of *Dendrobium* Sw. as templates to establish the positive PCR condition for *D. nobile*. **Results** An about 300 bp DNA positive fragment was amplified from *D. nobile* with anneal temperature at 66 ℃ and anneal time at 40 s, whereas no any DNA fragment was amplified from the rest 39 species of *Dendrobium* Sw. **Conclusion** *D. nobile* could be effectively distinguished from other species of *Dendrobium* Sw. by diagnostic PCR with allele-specific diagnostic PCR, which is not only effective and specific, but also simple and timesaving, and has a comprehensive application prospects.

Key words: *Dendrobium nobile* Lindl.; allele-specific diagnostic PCR; authentication

石斛是我国传统贵重中药材, 药用历史悠久。为兰科石斛属 (*Dendrobium* Sw.) 植物铁皮石斛 *D. candidum* Wall. ex Lindl.、金钗石斛 *D. nobile* Lindl.、束花石斛 *D. chrysanthum* Lindl.、美花石斛 *D. loddigesii* Rolfe 或流苏石斛 *D. fimbriatum* Hook. 的新鲜或干燥茎。金钗石斛 (药材又称为金钗石、扁金钗、扁黄草、扁草、黄草等) 是历史上记载最早的石斛习用种类, 也是药用石斛的最重要品种

之一, 始载于《神农本草经》, 被列为上品, 具有滋阴清热、益胃生津等功效, 是传统中成药石斛液光丸、石斛明目丸、石斛清目丸及现代中成药脉络宁注射液、复方“清咽宁”的重要配伍成分^[1,2]。

金钗石斛化学成分种类丰富多样, 其中活性成分生物碱的量也比较高, 因此它不但具有较高的药用价值而且药用前景十分广阔。在植物分布上, 金钗石斛虽然是石斛属植物中分布最广泛的品种之一,

收稿日期: 2005-01-13

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30171144, 30472150); 上海市科委中药现代化科技专项项目 (04DZ19835)

作者简介: 徐 红 (1966—), 女, 上海中医药大学中药研究所副研究员, 2001 年获中国药科大学药学博士学位, 主要从事生药学领域的科研工作。 Tel: (021) 51322511 E-mail: xuhongTCM@hotmail.com

* 通讯作者 王峰涛 Tel: (021) 51322507 Fax: (021) 51322519 E-mail: wangzht@hotmail.com

但是由于目前药用石斛来源仍以野生资源为主,过度采收使其野生资源遭到严重破坏,分布区域急剧缩小。野生资源量的逐年减少使供需矛盾日趋突出并造成药材使用的混乱。据文献记载和实地调查,金钗石斛常与30多种石斛属、少量金石斛属(*Flickingeria* Hawkes)、石仙桃属(*Pholidota* Lindl.)和石豆兰属(*Bulbophyllum* Thou.)共计40余种植物混在一起采收加工。在进行种类鉴定时,依靠传统的形态方法将金钗石斛与其他属的兰科植物区分比较容易,而与同属的植物区分鉴别就比较困难,特别是没有花和叶的植物体,或者经过加工干燥后形态发生变化的药材。虽然已有利用rDNA ITS区序列对石斛属种类进行DNA序列分析鉴别的报道^[3-5],然而由于DNA测序技术复杂、成本高,目前在我国各级药检部门应用有一定的局限性。为此,本实验根据所测得黄草类、枫斗类石斛rDNA ITS序列数据,设计了一对用于金钗石斛专属性鉴定的PCR引物,对金钗石斛进行位点特异性PCR鉴定研究,以期建立其简便易行的DNA分子鉴别方法。

1 材料与方法

1.1 材料:实验用金钗石斛及其他石斛属植物共计40种,分别自1999—2003年采自我国石斛产区云南、广西、贵州、海南、河南等地的原始森林,我国台湾地区以及浙江乐清的枫斗类石斛加工地、江苏南京金陵制药厂、南京药材公司,活体材料栽种于中国药科大学植物园,标本存放于中国药科大学药学研究室,材料经中国科学院植物研究所吉占和研究员及笔者鉴定原植物学名,见表1。

1.2 DNA提取、扩增和序列测定:部分黄草类、枫斗类石斛rDNA ITS区序列见文献报道^[3,4],本研究继续对陆续采集到的12种石斛及一些居群材料的原植物(表1注“*”的材料)进行了rDNA ITS区序列,DNA提取、扩增和测序方法见文献报道^[6]。

1.3 序列分析及位点特异性鉴别引物的设计:用Clustal W软件对所测石斛属植物的rDNA ITS区序列进行对位排列,用分子进化遗传分析软件MEGA分析各物种间DNA序列差异。根据金钗石斛与其他石斛属植物间的序列差异位点,设计一对能特异性扩增金钗石斛的鉴别引物,分别为上游引物PJ-NF与下游引物PJ-NR(引物序列已申请专利,申请号:01127062.4)以用于金钗石斛位点特异性鉴别研究。

1.4 鉴别反应条件及鉴定:鉴别性PCR反应条件与文献报道^[3,4]相似,退火温度设定为52~70℃、时

间40 s~1 min,以寻找合适的鉴别反应参数。PCR反应中设无DNA模板的阴性对照,反应结束后,取5 μL反应液经1.2%琼脂糖凝胶电泳,EB染色,凝胶成像系统下检测并拍照。

2 结果

2.1 序列分析:用引物P18S3':5'-ATT GAA TGG TCC GGT GAA GTG TTC G-3';P26S5':5'-AAT TCC CCG GTT CGC TCG CCG TTA C-3'对后续采集到的石斛原植物DNA进行了rDNA ITS区序列的扩增和测序,连同以前的35种合计40种黄草类、枫斗类石斛的rDNA ITS区序列进行对位排列与遗传差异分析,结果表明石斛属种间的序列差异为8.79%~31.58%,居群间为0%~6.58%,rDNA ITS区序列在石斛居群间表现出相对稳定性,在种间表现出显著的差异。

2.2 位点特异性鉴别:根据测得的枫斗类、黄草类石斛的rDNA ITS区序列,设计了一对鉴别引物PJ-NR和PJ-NF,理论上该引物能够从金钗石斛的模板DNA中扩增出约300 bp的ITS区序列,包括完整的5.8S保守区以及部分ITS1与ITS2区域。进行鉴定性PCR研究时,首选运用ITS区的扩增引物P18S3'与P26S5'对金钗石斛及其39种石斛属植物进行PCR扩增,结果所有样品的模板DNA都扩增出约700 bp、具有一定亮度的rDNA ITS条带。然后,运用鉴别引物对不同产地的金钗石斛进行PCR扩增,在52~72℃、40 s~1 min的复性条件范围内,金钗石斛样品有约300 bp的PCR产物产生(图1)。接着对其他39种石斛进行了PCR扩增,当复性条件为52℃、40 s时,3个产地的铁皮石斛(表1中广西西林、贵州三都、上海)和报春石斛(表1)的模板DNA扩增出与阳性对照金钗石斛同样长度的DNA条带,其他石斛的模板DNA均无扩增产物(部分石斛的扩增结果见图2)。梯度升高复性温度以提高PCR反应特异性,结果3个来源的铁皮石斛在56℃以上、报春石斛在66℃以上时扩增结果也分别变为阴性(图3)。运用特异性鉴别引物对40种石斛属植物的模板DNA进行重复性实验,在66℃、40 s的复性条件下,除金钗石斛产生阳性扩增外,其余的枫斗类、黄草类石斛的扩增反应均为阴性。另外还扩大样本数对居群及个体样本、市场上收集的商品石斛进行了鉴别性PCR反应(材料具体详情省略),结果只有金钗石斛能够产生阳性扩增,而其他所有石斛样品均无任何PCR条带,呈阴性扩增。

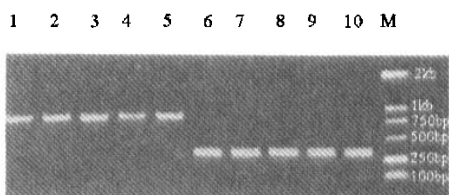
表1 石斛属实验材料

Table 1 Plants of *Dendrobium* Sw. used in study

种 名	采集地点	标本号	GeneBank 登录号
竹枝石斛 <i>Dendrobium salaccense</i>	云南西双版纳	Yun-99013	AF362026
鼓槌石斛 <i>D. chrysotoxum</i>	云南西双版纳	Yun-99014	AF362023
球花石斛 <i>D. thyrsiflorum</i>	云南景洪	Yun-99011	AF362032
* 密花石斛 <i>D. densiflorum</i>	海南乐东尖峰岭	HN-98005	AF362029
细叶石斛 <i>D. hancockii</i>	云南昆明	Yun-99042	AF362025
细叶石斛	河南西峡	He-2001-03	AF362038
线叶石斛 <i>D. aurantiacum</i>	云南昆明	Yun-99045	AF362044
* 线叶石斛	广西,地点不详	GX-2001-10	AF362042
* 叠鞘石斛 <i>D. aurantiacum</i> var. <i>denneanum</i>	云南西双版纳	Yun-99032	AF362040
* 叠鞘石斛	云南,地点不详	Yun-2001-03	AF362043
长苏石斛 <i>D. brymerianum</i>	云南西双版纳	Yun-99028	AF362036
流苏石斛 <i>D. fimbriatum</i>	云南西双版纳	Yun-99031	AF362041
短棒石斛 <i>D. capillipes</i>	云南西双版纳	Yun-99052	AF362035
* 棒节石斛 <i>D. findlayanum</i>	云南西双版纳	Yun-99015	AF362035
金钗石斛 <i>D. nobile</i>	广西,地点不详	GX-2000-10	AF372039
金钗石斛	海南海口	HN-98006	AF362037
* 金钗石斛	云南丽江	Yun-99055	AF362028
* 金钗石斛	贵州贵阳	GZ-99058	AF362045
* 金钗石斛	重庆,地点不详	CQ-99060	AF362046
* 金钗石斛	台湾台北	TW-2001-01	
反瓣石斛 <i>D. ellipsophyllum</i>	云南西双版纳	Yun-99029	AF362033
翅萼石斛 <i>D. cariniferum</i>	云南西双版纳	Yun-99050	AF362027
* 黑毛石斛 <i>D. williamsonii</i>	海南乐东尖峰岭	HN-98005	AF362030
景洪石斛 <i>D. exile</i>	云南西双版纳	Yun-99026	AF362024
剑叶石斛 <i>D. acinaciforme</i>	云南思茅	Yun-99038	AF362034
* 矮石斛 <i>D. bellatulum</i>	江苏,产地不详	Nan-2003-01	
* 黄花岗石斛 <i>D. diranthum</i>	台湾台北	Yun-2003-12	
罗河石斛 <i>D. lohohense</i>	云南勐腊	XYD99018	AF363024
串珠石斛 <i>D. falconeri</i>	云南勐腊	XYD99011	AF420246
大苞鞘石斛 <i>D. wardianum</i>	云南勐腊	XYD99017	AF420245
杯鞘石斛 <i>D. gratiosissimum</i>	云南勐腊	XYD99007	AF311780
肿节石斛 <i>D. pendulum</i>	云南勐腊	XYD99013	AF362912
美花石斛 <i>D. loddigesii</i>	云南思茅	XYD99004	AF311778
美花石斛	台湾台北	TW-2001-04	
* 美花石斛	云南文山	Yun-2000-12	
齿瓣石斛 <i>D. devonianum</i>	云南勐腊	XYD99009	AF311779
兜唇石斛 <i>D. aphyllum</i>	云南勐腊	XYD99029	AF355573
报春石斛 <i>D. primulinum</i>	云南勐腊	XYD99031	AF362913
晶帽石斛 <i>D. crystallinum</i>	云南勐腊	XYD99030	AF363023
束花石斛 <i>D. chrysanthum</i>	浙江乐清,产地不详	ZJ-2000-18	AF355572
玫瑰石斛 <i>D. crepidatum</i>	云南勐腊	XYD99008	AF355574
喇叭唇石斛 <i>D. lituiflorum</i>	云南勐腊	XYD99014	AF355571
细茎石斛 <i>D. moniliforme</i>	广西百色	XYD99005	AF311777
细茎石斛	江西南昌	XYD99006	
* 细茎石斛	台湾台北	TW-2001-05	
铁皮石斛 <i>D. officinale</i>	广西西林	XYD99001	AF311776
铁皮石斛	贵州三都	XYD99003	
* 铁皮石斛	上海,产地不详	SH-2003-04	
霍山石斛 <i>D. huoshanense</i>	安徽霍山	XYD99015	AF355569
曲茎石斛 <i>D. flexicaule</i>	河南南阳	XYD99035	AF355570
重唇石斛 <i>D. hercoglossum</i>	云南勐腊	XYD99028	AF363685
钩状石斛 <i>D. aduncum</i>	广西融江	XYD0001	AF314125
伏牛山石斛 <i>D. funishanense</i>	河南南阳		AF479761
河南石斛 <i>D. henanense</i>	河南南阳		AF359254

* 本研究中测定序列的材料

* Materials for sequencing in study



1,6-云南丽江 2,7-广西 3,8-海南海口

4,9-贵州贵阳 5,10-重庆

1,6-Lijiang, Yunnan 2,7-Guangxi 3,8-Haikou,
Hainan 4,9-Guiyang, Guizhou 5,10-Chongqing

图1 金钗石斛 rDNA ITS 与 ITS 片段 PCR 扩增产物
(1~5:ITS, 6~10:ITS 部分片段)

Fig. 1 PCR Amplification of rDNA ITS and ITS fragments from *D. nobile* (1~5: ITS, 6~10: some ITS fragments)



1-罗河石斛 2-大苞鞘石斛 3-杯鞘石斛 4-肿节石斛 5-美花石斛 6-齿瓣石斛 7-兜唇石斛 8-晶瓣石斛 9-玫瑰石斛 10-阳性对照 11-鼓锥石斛 12-报春石斛 13-细紫石斛 14-矮石斛 15-霍山石斛 16-曲紫石斛 17-垂唇石斛 18-球花石斛 19-铁皮石斛(贵州三都) 20-钩状石斛 21-铁皮石斛(上海) 22-阴性对照

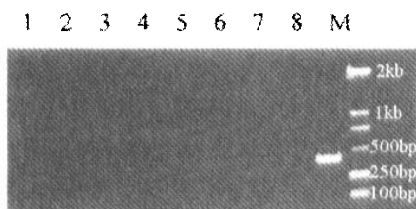
1-*D. lohohense* 2-*D. xwardianum* 3-*D. gratiosissimum* 4-*D. pendulum* 5-*D. loddigesii* 6-*D. devonianum* 7-*D. aphyllum* 8-*D. crystallinum* 9-*D. crepidatum* 10-positive control (*D. nobile*) 11-*D. chrysotoeum* 12-*D. primulinum* 13-*D. moniliforme* 14-*D. bellatulum* 15-*D. huoshanense* 16-*D. fici- caule* 17-*D. hercoglossum* 18-*D. thyrsiflorum* 19-*D. officinale* (Sandu, Guizhou) 20-*D. aduncum* 21-*D. officinale* (Shanghai) 22-negative control

图2 52℃、40s 复性条件下的 PCR 扩增产物

Fig. 2 PCR Amplification in annealing condition of 52℃ and anneal time of 40 s

3 讨论

在中药材分子鉴定研究中,近年来运用较多的方法主要是以 RAPD、RFLP、AFLP 为主的对模板 DNA 质量要求较高的 DNA 指纹鉴定技术^[6~8]。但是由于中药材在加工、储存过程中,DNA 会发生不同程度的降解,影响模板质量,因此在鉴定时往往难以做出稳定的 DNA 指纹图谱,因而这些方法在中药



1~3-铁皮石斛(复性温度分别为 56, 58, 60℃)

4~6-报春石斛(复性温度分别为 66, 70, 72℃)

7-阴性对照 8-金钗石斛(复性温度 72℃)

1~3-*D. officinale* (anneal temperature each at 56,

58, and 60℃) 4~6-*D. primulinum* (anneal temperature each at 66, 70, and 72℃) 7-negative control

8-*D. nobile* (anneal temperature at 72℃)

图3 铁皮石斛(广西西林)、报春石斛鉴别 PCR 扩增产物

Fig. 3 PCR Amplification of ITS fragment from *D. officinale* (Xilin, Guangxi) and *D. primulinum*

材的鉴别应用上有一定的局限性。而后来发展的 DNA 序列分别虽然也被用于中药材的鉴定,但是由于实验技术复杂、鉴定成本高,也限制了其广泛应用。1996 年,DeSalle 等^[9]首次在 Nature 上发表了利用鉴别引物对鱼子酱中鱼卵所属鲟鱼的种类进行鉴别以后,鉴别性 PCR 在世界范围内得到推广和应用。在中药材鉴定领域,王义权等^[10]首次在金钱白花蛇及其伪品的鉴定研究中应用了位点特异性鉴别方法,后来该技术被陆续地应用于龟甲、蛤蚧、乌梢蛇、鹿类等动物药的鉴别研究中^[11~13],在植物药研究中笔者曾报道了齿瓣石斛、铁皮石斛的位点特异性鉴别研究^[14~15],而对于石斛类的珍贵品种金钗石斛还没有相关的研究。

在对金钗石斛进行位点特异性鉴别时,选择合适的具有鉴别意义的分子标记非常重要。在前期,笔者报道了 35 种枫斗类、黄草类石斛的 rDNA ITS 序列^[3~4]。结果表明 ITS 序列在石斛种间存在极其显著的差异,金钗石斛与其他各种石斛均各自特异性的序列位点,当根据石斛属植物的形态和药材性状难以鉴别种类时,rDNA ITS 序列是可靠的分子鉴别标记。在这些研究基础上,本研究又对陆续采集到的 12 种石斛的 ITS 序列进行了测定与分析,再次证明了 ITS 序列作为石斛鉴别分子标记的可靠性。因此在进行金钗石斛的位点特异性 PCR 鉴别研究时,本研究选择了 rDNA ITS 序列进行序列测定与分析,在此基础上进行鉴别 PCR 的研究。

在设计金钗石斛特异性鉴别引物时,本研究通过对黄草类与枫斗类石斛 rDNA ITS 序列的分析,

确定金钗石斛特异性的序列位点,在该位点上设计了一对与金钗石斛 ITS 序列完全互补的鉴别引物。在 52~72 °C、40 s~1 min 的复性条件下,鉴别引物均能从金钗石斛的模板 DNA 中扩增出约 300 bp 左右的 DNA 片段,说明它对金钗石斛有较高的灵敏性。以金钗石斛模板 DNA 为对照,调节 PCR 反应参数中的复性温度使反应特异性增强,在 66 °C、40 s 的复性条件下,除金钗石斛外,其他种类的石斛不产生任何扩增条带,说明在此复性条件下鉴别引物具有很强的特异性,可作为金钗石斛鉴别 PCR 反应的参数。同时,重复性和扩大样本实验也得到了同样的结果,说明金钗石斛的 PCR 鉴别反应不仅具有特异性而且具有很好的重现性。模板 DNA 的质量在 PCR 扩增时十分关键,运用 ITS 区的扩增引物 P18S3' 与 P26S5' 对各种黄草类、枫斗类石斛均能扩增出完整的 rDNA ITS 片段,表明模板 DNA 的质量符合 PCR 反应的要求,用于本研究的位点特异性鉴别 PCR 反应也是非常可靠的。

金钗石斛的位点特异性 PCR 鉴别方法具有成本小、时间短、效率高等特点,只需通过简单的 PCR 反应就可以有效地将金钗石斛从其他石斛属植物中鉴别出来,同时选用的分子标记又是多拷贝的 ITS 区,扩增出的鉴别片段是仅为 300 bp 左右的短片段 DNA,因此即使在石斛干药材 DNA 降解很严重的情况下,也能达到很好鉴别效果,应用前景广阔。

References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2000.
- [2] Bao X S, Shun Q S, Cheng L Z, et al. *The Medicinal Plants of Dendrobium (Shi-hu) in China* (中国药用石斛) [M]. Shanghai: Fudan University Press, 2001.
- [3] Xu H, Li X B, Ding X Y, et al. rDNA ITS Sequencing of

Herba Dendrobii (Huangcao) [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2001, 36(10): 777-783.

- [4] Ding X Y, Xu L S, Xu H, et al. Database establishment of the whole rDNA ITS region of *Dendrobium* species of "Fengdou" and authentication by the analysis of their sequences [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2002, 37(7): 567-573.
- [5] Tai W L, David, Shaw P C. Authentication of medicinal *Dendrobium* species by the internal transcribed spacer of ribosomal DNA [J]. *Planta Med*, 2001, 67(5): 456-460.
- [6] Ha W Y, Shaw P C, Liu J, et al. Authentication of *Panax ginseng* and *Panax quinquefolius* using amplified fragment length polymorphism (AFLP) and directed amplification of minisatellite region DNA (DAMD) [J]. *J Agric Food Chem*, 2002, 50(7): 1871-1875.
- [7] Shaw P C, But P P H. Authentication of *Panax* species and their adulterants by random-primed polymerase chain reaction [J]. *Planta Med*, 1995, 61(5): 466-469.
- [8] Um J Y, Chung H S, Kim M S, et al. Molecular authentication of *Panax ginseng* species by RAPD analysis and PCR-RFLP [J]. *Biol Pharm Bull*, 2001, 24(8): 872-875.
- [9] Desalle R, Birstein V J. PCR Identification of black caviar [J]. *Nature*, 1996, 381: 197-198.
- [10] Wang Y Q, Zhou K Y, Xu L S, et al. Sequencing of Cyt b gene fragments and PCR identification of "Jinqian Baihua She" (*Bungarus parvus*) [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1998, 33(12): 941-947.
- [11] Liu Z Q, Wang Y Q, Zhou K Y, et al. Authentication of Chinese crude drug, gecko, by allele-specific diagnostic PCR [J]. *Planta Med*, 2001, 67(4): 385-387.
- [12] Wang Y Q, Zhou K Y, Xu L S, et al. Authentication of *Bungarus parvus* and its adulterant by DNA molecular method using diagnostic primer [J]. *Chin Pharm Sci*, 2000, 9: 61.
- [13] Liu X H, Wang Y Q, Zhou K Y, et al. Study on allele-specific diagnostic PCR of the traditional Chinese medicines of the deers [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2001, 36(8): 631-635.
- [14] Ding X Y, Xu L S, Wang Z T, et al. Allele-specific diagnostic PCR authentication of *Dendrobium devonianum* from other *Dendrobium* species [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2002, 37(11): 879-901.
- [15] Ding X Y, Wang Z T, Xu L S, et al. Allele-specific primers for diagnostic PCR authentication of *Dendrobium officinale* [J]. *Planta Med*, 2003, 69(6): 587-588.

供求信息:

福建省永定县高陂中草药购销站

可供:红豆杉(家种质干),40吨,协商;石仙桃(质干),3吨,协商;穿山甲(质干无杂,常年供),协商(灸及未灸两种)。

求购:瓜子金(质干无霉变),5吨,报价;蛇足石松(蛇足草)(质干),10吨,报价;穿山甲(无肉无毛),3吨,报价;绣花针(质干无霉变),20吨,报价;阴地蕨(蛇不见)(质干),12吨,报价;人指甲(含脚指甲)(质干无杂),1吨,报价;盘龙参(质干无霉变),2吨,报价;覆盆子(质干无霉变),3吨,报价;褚实子(质干无霉变),2吨,报价;银线莲(质干无霉变),5吨,报价;龟板板(质干无肉),5吨,报价;荆三棱(质干无霉变),6吨,报价。

联系人:陈锦忠 电话:(0597)5636088 5631939 手机:13860228539 邮编:364101