

• 药材与资源 •

陕西产重楼属种质资源的 SCoT 遗传多样性分析

程虎印¹, 王艳², 颜永刚¹, 杨冰月¹, 杨琳¹, 程江雪¹, 彭亮^{1*}, 张岗^{1*}

1. 陕西中医药大学药学院 陕西秦岭中草药应用开发工程技术研究中心, 陕西 西安 712046

2. 陕西省微生物研究所 陕西省科学院秦岭天然产物工程中心, 陕西 西安 710043

摘要: **目的** 对陕西产重楼属 6 个类群的遗传多样性和亲缘关系进行分析。**方法** 采用 SCoT 分子标记技术和非加权平均距离法 (UPGMA) 对陕西产重楼属 6 个类群 48 份样品进行遗传多样性和聚类分析。**结果** 从 82 条 SCoT 引物中共筛选出 12 条多态性稳定、清晰的引物, 48 份重楼样品共扩增出 152 个 DNA 片段, 多态性片段数为 135, 平均每个引物扩增出 12.67 个 DNA 片段, 其多态性为 88.82%; 重楼属植物在物种水平上具有较高的遗传多样性, Nei's 基因多样性指数 (H) 为 0.267 4, Shannon 指数 (I) 平均值为 0.404 1, 居群间遗传分化系数 (G_{st}) 为 0.517 9, 种群间基因流 (N_m) 为 0.465 4; 6 个类群重楼按遗传多样性水平排序为七叶一枝花 > 宽叶重楼 > 具柄重楼 > 狭叶重楼 > 宽瓣重楼 > 北重楼, 聚类分析可将北重楼组和其他重楼组区分开来, 当遗传距离一定时, 重楼属 6 个类群被完全区分开来。**结论** SCoT 分子标记可获得多态性丰富、清晰的条带扩增图谱, 表明该技术可用于陕西产重楼属主要类群物种分子鉴定和亲缘关系研究, 为筛选与药典收载种类近缘的可替代资源种类、指导合理利用地方种类自然资源提供了科学依据。

关键词: 重楼属; 种质资源; SCoT 分子标记; 遗传多样性; 亲缘关系

中图分类号: R282.12 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)16-3917-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.16.026

Genetic diversity analysis of germplasm resources of *Paris* genus in Shaanxi Province by SCoT molecular markersCHENG Hu-yin¹, WANG Yan², YAN Yong-gang¹, YANG Bing-yue¹, YANG Lin¹, CHENG Jiang-xue¹, PENG Liang¹, ZHANG Gang¹

1. Shaanxi Provincial Engineering Technology Research Centre for Development of Qinling Mountains Chinese Herbal Medicine Application, College of Pharmacy, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xi'an 712046, China

2. Engineering Center of Qinling Mountains Natural Products, Shaanxi Microbiology Institute, Shaanxi Academy of Sciences, Xi'an 710043, China

Abstract: Objective To study the genetic diversity and genetic structure of *Paris* genus in Shaanxi Province. **Methods** Start Codon Targeted Polymorphism (SCoT) molecular markers were performed on 48 samples from six taxa of *Paris* genus in Shaanxi. Genetic distance was calculated by POPGENE 3.2 software, and cluster analysis was generated by NTSYS 2.10 software based on unweighted mean distance method (UPGMA) method. **Results** A total of 152 bands were produced by 12 primers, among which 135 bands were polymorphic bands, and the percentage of polymorphic bands was 88.82%. The average value of Nei's genetic diversity index (H) was 0.267 4, Shannon's information index (I) was 0.404 1, genetic differentiation coefficient (G_{st}) was 0.517 9, and the gene flow (N_m) was 0.465 4. Six taxa were ranked by genetic diversity: *Paris polyphylla* > *Paris polyphylla* var. *latifolia* > *Paris fargesii* var. *petiolata* > *Paris polyphylla* var. *stenophylla* > *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* > *Paris verticillata*. Cluster analysis distinguished others from *Paris verticillata*; When the genetic distance was certain, six taxa of the genus were completely separated. **Conclusion** SCoT molecular markers can obtain polymorphic and clear band amplification map, which indicates that the technology can be used for molecular

收稿日期: 2019-02-09

基金项目: 陕西省社会发展科技攻关项目 (2016SF-360); 陕西省科学院科技计划项目 (2018nk-01); 陕西中医药大学“秦药”品质评价及资源开发创新团队 (2019-QN01)

作者简介: 程虎印 (1963—), 男, 学士, 副教授, 研究方向为药用植物资源。Tel/Fax: (029)38184828 E-mail: Huyin_Cheng@126.com

*通信作者 彭亮, 男, 博士, 副教授, 研究方向为中药资源评价与开发利用、中药材质量控制研究。

Tel/Fax: (029)38185165 E-mail: ppengliang@126.com

张岗, 男, 博士, 教授, 研究方向为中药资源与分子生药学。Tel/Fax: (029)38185165 E-mail: jay-gumling2003@aliyun.com

identification and genetic relationship of major taxa in *Paris* genus in Shaanxi Province, providing a scientific basis for screening alternative resource types close to the Pharmacopoeia collection and guiding the rational use of local species.

Key words: *Paris* L.; germplasm resources; SCoT molecular markers; genetic diversity; genetic structure

重楼属 *Paris* L. 植物系百合科 (Liliaceae) 多年生草本, 全世界共有 24 个种, 分布于亚欧大陆的热带及温带地区, 我国有 19 个种, 主要分布在云南、贵州、四川等西南地区^[1]。《中国药典》2015 年版记载为云南重楼或七叶一枝花的干燥根茎, 功能主治为“清热解毒, 消肿止痛, 凉肝定惊等, 用于疔疮痈肿, 咽喉肿痛, 虫蛇咬伤, 跌扑伤痛, 惊风抽搐”^[2]。现代研究表明其主要化学成分为甾体皂苷类、黄酮类、三萜类、脂肪酸类等, 具有抗肿瘤、抗菌、止血、驱虫等药理作用^[3]。重楼属具有极高的药用价值, 其粗壮根茎均含有重楼皂苷类成分, 具有止血、镇痛、抗炎、抑菌、收缩子宫和抗肿瘤等活性, 临床上常用于治疗子宫出血、泌尿系统感染、外科炎症、癌症、避孕等^[3-5], 在我国许多地区, 多个类群的根茎在民间一直混作中药重楼使用^[6-9], 资源利用受到广泛关注。近年来, 国内外学者对该属植物从系统分类、化学成分和药理作用等方面进行了广泛研究, 但关于重楼属种质资源遗传多样性的 DNA 分子标记分析较少。本课题组在前期的陕西省分布重楼属资源调查及生态研究过程中, 采集了陕西境内不同分布区域重楼属 6 个类群的种质资源, 现从遗传学的角度探讨陕西重楼属植物的遗传多样性。

分子标记技术发展迅速并用于研究药用植物种质的遗传多样性, 有利于科学评价药用植物种间、种内的遗传多样性以及亲缘关系的远近, 对后续药用植物种质资源的保护、育种等有重要的应用价值^[10]。目标起始密码子多态性分子标记 (start codon targeted polymorphism, SCoT) 是 Collard 等^[11]于 2009 年在水稻中建立的一种基于单

引物扩增反应的新型分子标记方法, 具有操作简单、稳定性和重复性好、引物可在物种间通用、多态性高、遗传信息量丰富等优点, 引起了研究人员的极大兴趣, 并已成功应用于栀子^[12]、射干^[13]、白芍^[14]、川续断^[15]、茜草^[16]等多种药用植物的遗传多样性研究。本实验采用 SCoT 分子标记技术, 以分布于陕西省 5 个不同地区的 6 个类群重楼属植物为研究对象, 初步揭示重楼属种质的遗传多样性及亲缘关系, 从分子水平为重楼属药用植物的鉴定、种质资源保护和寻求药典收载种类近缘类群替代资源以期合理利用等提供参考。

1 材料与仪器

1.1 材料

本研究所用的重楼属 6 个类群的材料采集份数及样品信息见表 1, 采样时选取无病虫害的幼嫩叶片, 放入硅胶中迅速干燥, 编号后带回实验室, 样品标本及凭证信息保存于陕西中医药大学药实验中心。样品由陕西中医药大学程虎印副教授和颜永刚教授鉴定为七叶一枝花 *Paris polyphylla* Sm.、宽瓣重楼 *Paris polyphylla* Sm. var. *yunnanensis* (Franch.) Hand. -Mzt.、北重楼 *Paris verticillata* M. -Bieb.、具柄重楼 *Paris fargesii* Franch. var. *petiolata* (Baker ex C. H. Wright) Wang et Tang、宽叶重楼 *Paris polyphylla* Sm. var. *latifolia* Wang et Chang、狭叶重楼 *Paris polyphylla* Sm. var. *stenophylla* Franch.。

1.2 仪器

S1000 Thermal Cycler PCR 仪、Gel Doc XR 型凝胶成像系统 (美国 BIO-RAD 公司); DYY-6C 型电泳仪、DYCP-31F 型琼脂糖水平电泳槽 (北京六一仪器厂); AG 22331 型离心机 (Eppendorf 公司)。

表 1 样品信息

Table 1 Details of *Paris* samples collected in Shaanxi Province

类群名称	采样地点	样本数	编号	纬度 (N)	经度 (E)	海拔/m
七叶一枝花	宝鸡市太白县塘口镇	8	1~8	34°01'27.42"	107°25'35.40"	1 869
宽瓣重楼	汉中市镇巴县巴山镇	8	9~16	32°61'33.17"	107°24'96.30"	1 131
北重楼	渭南市华阴市华阳管区	8	17~24	34°23'49.26"	109°55'54.13"	1 754
具柄重楼	宝鸡市眉县营头镇	8	25~32	34°02'48.40"	107°47'32.45"	1 751
宽叶重楼	宝鸡市太白县鹦鸽镇	8	33~40	34°03'48.36"	107°39'23.90"	1 038
狭叶重楼	铜川市耀州区	8	41~48	35°07'25.68"	108°42'00.63"	1 267

2 方法

2.1 DNA 提取和检测

采用康为世纪新型植物基因组 DNA 提取试剂盒提取重楼叶片基因组 DNA, 基因组 DNA 提取完毕后, 取 2.0 μL DNA 样品, 加入 0.5 μL loading Buffer, 混匀。用琼脂糖凝胶(1.0%)电泳分离 DNA, 电泳时间 45 min, 电泳完用凝胶成像分析仪检验, 检测是否可得到一条完整、明亮、清晰的 DNA 条带, 若有则可以使用进行下一步实验。将检验合格的所有供试 DNA 样品储存在 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱里备用。

2.2 SCoT 引物合成、扩增与检测

SCoT 引物的合成根据已有文献报道整理和自己设计的合计 82 条引物序列, 由生工生物工程(上海)有限公司合成。对 SCoT-PCR 反应各组分别进

行优化, 最终确定重楼属 SCoT-PCR 最佳反应体系: 在总体积 20 μL 的反应体系中, 包括 2 $\times$ PCR Mix (康为) 10 μL 、SCoT 引物(10 $\mu\text{mol/L}$) 1 μL 、稀释至一定质量浓度的模版 DNA 1.0 μL (约 40 ng)、 ddH_2O 8.0 μL 。PCR 扩增程序为 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 50 $^{\circ}\text{C}$ 退火 1.5 min, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min, 32 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 6 min。PCR 产物用 1.5% 的琼脂糖凝胶电泳分离, 用 DL5000 DNA Marker 作对照, 以 1 $\times$ TBE 作为缓冲液, 凝胶成像系统观察、照相并保存。

本实验最终从 82 条 SCoT 引物中选出 12 条条带清晰、扩增效果良好、重复性好的引物用于重楼属种质资源的多样性分析, SCoT 引物编号和序列见表 2。

表 2 SCoT 实验所用的引物
Table 2 SCoT primers used in this experiment

SCoT	引物序列 (5'→3')	SCoT	引物序列 (5'→3')
SCoT5	ACGACATGGCGACCATCG	SCoT48	ACCATGGCTACCACCGTG
SCoT8	CCATGGCTACCACCGCAC	SCoT68	ACAATGGCTACCACTAGG
SCoT9	CAACAATGGCTACCAGCA	SCoT70	ACAATGGCTACCACCACA
SCoT24	CACCATVVCTACCACCAT	SCoT72	ACAATGGCTACCACCAGC
SCoT27	ACCATGGCTACCACCGTG	SCoT75	ACCATGGCTACCAGCGGC
SCoT38	ACGACATGGCGACCAACG	SCoT78	CCATGGCTACCACCGCCC

2.3 数据处理

对 SCoT 分子标记产生的条带采用人工计数法, 即观察所有引物产生的所有条带, 在同一位置上, 若存在条带则计为“1”, 无条带计为“0”, 最终形成 0/1 矩阵。利用 POPGENE 3.2 软件计算下列参数: 等位基因观察值(N_a)、等位基因有效值(N_e)、Nei's 基因多样性指数(H)、Shannon 指数(I)、多态性百分比(PPB)、Nei's 遗传相似系数及遗传距离。利用 NTSYS 2.10 软件根据 POPGENE 3.2 得到的 Nei's 遗传相似系数按非加权组平均法(UPGMA)进行聚类分析。

3 结果与分析

3.1 SCoT-PCR 扩增结果分析

本研究利用从 82 条 SCoT 引物中选出的 12 条扩增谱带清晰, 多态性较好的 SCoT 引物, 对供试的 6 个类群重楼属植物 48 份材料进行 PCR 扩增和电泳检测。结果显示, 所有样本均能扩增出清晰、稳定的条带, 扩增条带片段大小范围为 200~3 500 bp。引物 SCoT38 对所有重楼属样本的

扩增图谱见图 1。

3.2 SCoT 标记的多态性分析

统计 SCoT 所有引物产生的条带数、多态性条带数以及 PPB, 见表 3。从表中可以看到, 12 条 SCoT 引物共扩增得到 152 条条带, 其中 135 条为多态性条带, 每个引物平均扩增得到 12.67 条条带, 平均 PPB 为 88.82%。引物 SCoT 27 扩增得到条带数目最多, 有 16 条, 多态性条带为 16 条, PPB 为 100%。12 条引物的 PPB 在 80.00% (SCoT9、SCoT70、SCoT78)~100% (SCoT27、SCoT75)。

3.3 遗传多样性分析

利用 POPGENE 3.2 软件对 SCoT 扩增结果进行参数统计分析, 结果见表 4。所有样本的 N_e 为 1.450 4, H 为 0.267 4, I 为 0.404 1, 表明 6 个类群重楼属植物在物种水平上具有较高的遗传多样性。6 种重楼属植物的多态性条带数范围为 53 (宽瓣重楼)~70 (七叶一枝花); PPB 为 31.55% (宽瓣重楼)~46.05% (七叶一枝花)。重楼属总体的 N_a 、 N_e 、 H 、 I 、多态性条带数、PPB 均高于单一种的相应数值。属内 H

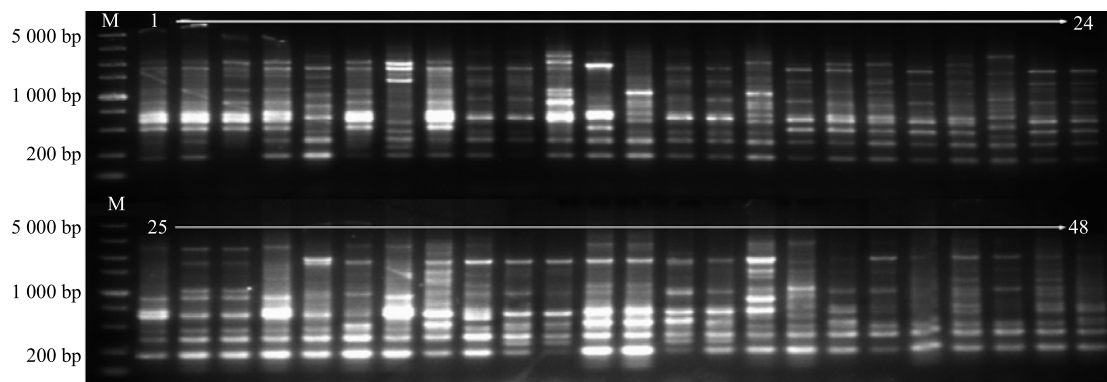


图 1 引物 SCoT38 对陕西重楼属所有样品的 SCoT 扩增结果

Fig. 1 PCR amplification products of all samples of *Paris* genus in Shaanxi Province produced with primer SCoT38

表 3 所有 SCoT 引物的扩增多态性

Table 3 Polymorphism of amplification results produced by SCoT primers

引物名称	总条带数	多态性条带数	PPB/%
SCoT5	12	10	83.33
SCoT8	15	13	86.67
SCoT9	10	8	80.00
SCoT24	11	10	90.91
SCoT27	16	16	100.00
SCoT38	14	12	85.71
SCoT48	15	14	93.33
SCoT68	9	8	88.89
SCoT70	10	8	80.00
SCoT72	14	13	92.86
SCoT75	11	11	100.00
SCoT78	15	12	80.00
总计	152	135	88.82
平均值	12.67	11.25	88.82

介于 0.115 0~0.153 5, I 在 0.171 2~0.225 6。其中, 七叶一枝花的 H 、 I 、多态性条带数和 PPB 最高, 表明七叶一枝花的遗传多样性水平最高。

3.4 遗传相似系数和遗传距离

利用 POPGENE 3.2 软件计算种群水平上的遗传距离及遗传相似系数, 结果见表 5。从表中可知, 陕西重楼属 6 个类群的遗传距离为 0.160 3~0.310 3, 遗传相似系数为 0.733 2~0.851 9。具柄重楼和宽叶重楼的遗传距离最近, 遗传相似系数最大; 北重楼和七叶一枝花的遗传距离最大, 遗传相似系数最小。

3.5 聚类分析

将 POPGENE 3.2 获得的陕西重楼属 6 个类群的遗传相似系数矩阵输入 NTSYS 2.10 软件中, 得到聚类分析结果, 见图 2。由图 2 可知, 在相似系数为 0.80 时, 6 个类群重楼可以分为 2 个类群, 类群 I 包括 5 种重楼, 依次为七叶一枝花、宽瓣重楼、具柄重楼、宽叶重楼和狭叶重楼; 北重楼单独聚为

表 4 基于 SCoT 标记的 6 个野生居群的遗传多样性分析结果

Table 4 Genetic diversity of six wild populations of *Paris* genus based on SCoT markers

居群	个数	N_a	N_e	H	I	NP	PPB/%	H_t	H_s	G_{st}	N_m
七叶一枝花	8	1.392 9±0.489 8	1.268 2±0.370 5	0.153 5±0.201 5	0.225 6±0.290 3	70	46.05				
宽瓣重楼	8	1.315 5±0.466 1	1.192 7±0.316 5	0.115 0±0.178 7	0.172 1±0.262 0	53	34.87				
北重楼	8	1.333 3±0.472 8	1.183 6±0.300 5	0.112 4±0.171 3	0.171 2±0.253 3	56	36.84				
具柄重楼	8	1.369 0±0.484 0	1.212 5±0.323 5	0.128 0±0.180 7	0.193 6±0.265 1	62	40.79				
宽叶重楼	8	1.398 8±0.491 1	1.254 6±0.357 3	0.148 3±0.195 2	0.220 4±0.282 5	67	44.08				
狭叶重楼	8	1.339 3±0.474 9	1.193 3±0.314 8	0.116 4±0.175 9	0.176 4±0.258 2	57	37.50				
总体	48	1.821 4±0.384 1	1.450 4±0.352 4	0.267 4±0.181 6	0.404 1±0.250 9	152	88.82	0.267 4	0.128 9	0.517 9	0.465 4

H_t -总遗传多样性指数 H_s -群体内多样性指数 G_{st} -遗传分化系数 N_m -基因流

H_t -total Nei's genetic diversity index H_s -intragroup Nei's genetic diversity index G_{st} -genetic differentiation coefficient N_m -gene flow

表 5 基于 SCoT 标记的 6 个重楼属类群的遗传距离 (左下) 和遗传相似系数 (右上)

Table 5 Genetic distance (below diagonal) and genetic identity (above diagonal) of six groups of *Paris* genus based on SCoT markers

居群	七叶一枝花	宽瓣重楼	北重楼	具柄重楼	宽叶重楼	狭叶重楼
七叶一枝花	****	0.829 1	0.733 2	0.806 5	0.800 0	0.808 1
宽瓣重楼	0.187 4	****	0.778 7	0.828 7	0.823 8	0.819 3
北重楼	0.310 3	0.250 1	****	0.827 3	0.813 3	0.769 8
具柄重楼	0.215 1	0.187 9	0.261 6	****	0.851 9	0.820 5
宽叶重楼	0.223 1	0.193 9	0.189 6	0.160 3	****	0.829 8
狭叶重楼	0.213 0	0.199 3	0.186 6	0.197 8	0.206 6	****

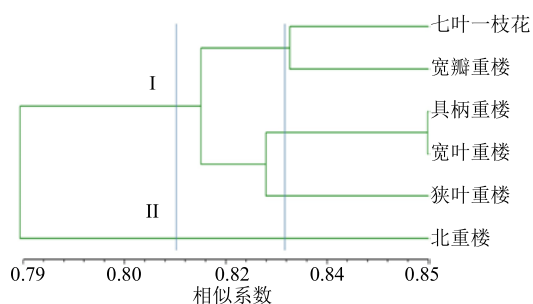


图 2 基于 SCoT 标记的重楼属 6 个类群植物聚类图

Fig. 2 Cluster analysis of six plants of *Paris* L. based on SCoT marker

一类 (类群 II)。在相似性系数为 0.83 处展开, 类群 I 可分为 3 个亚类群, 分别为 I-a (七叶一枝花、宽瓣重楼)、I-b (具柄重楼、宽叶重楼) 和 I-c (狭叶重楼)。遗传距离最近的 2 个种为具柄重楼和宽叶重楼, 遗传相似系数为 0.85 时 6 个类群重楼属植物能完全区分开来。

4 讨论

种质资源研究是药用植物遗传育种、资源保护和利用的重要基础, 而遗传多样性研究是种质资源研究的重要内容, DNA 分子标记在种质资源的收集、遗传多样性研究、种质分类研究和育种等方面发挥着重要作用, 在药用植物的遗传多样性研究中的应用也越来越普遍。目前, 关于重楼属药用植物的分子标记研究有唐荣华等^[17]采用 RAPD 分子标记将 11 种重楼属植物聚为 6 类, 其中卷瓣重楼、球药隔重楼和黑籽重楼为第 1 类; 五指莲和长柱重楼为第 2 类; 大理重楼为第 3 类; 毛重楼、禄劝花叶重楼和花叶重楼为第 4 类; 凌云重楼为第 5 类; 七叶一枝花为第 6 类。辛本华等^[18]基于 RSAP 标记对重楼属 8 种植物进行了分子鉴定, 供试材料聚为 4 类: 狭叶重楼为第 1 类; 球药隔重楼、黑籽重楼

和五指莲聚为第 2 类; 长药隔重楼为第 3 类; 滇重楼、七叶一枝花和卵叶重楼聚为第 4 类。李壮等^[19]采用 SCoT 分子标记对四川省重楼属 9 个种 40 份种质的遗传多样性分析表明, 四川地区重楼属植物具有丰富的遗传多样性, 供试材料可聚为 4 类: 狭叶重楼单独聚为第 1 类; 球药隔重楼、卵叶重楼、金线重楼及滇重楼聚为第 2 类; 黑籽重楼与七叶一枝花聚为第 3 类; 五指莲与毛重楼聚为第 4 类。然而, 重楼属植物种类众多, 不同地域分布品种差异较大, 有必要按地域分布类群进行深入研究与分析, 以为各地区重楼属药用植物的开发与保护提供基础数据。

陕西境内分布有百合科重楼属 *Paris* L. 多个类群的根茎入药^[20-23], 本研究所用到的陕西重楼属植物有重楼组的北重楼和南重楼组的七叶一枝花、宽瓣重楼、宽叶重楼、狭叶重楼和具柄重楼, 通过 12 对引物对重楼属 6 种植物 48 份样品进行 SCoT 分子标记分析, 共得到 152 个 DNA 片段, PPB 为 88.82%。遗传多样性分析结果表明, 陕西省境内分布的 6 个类群重楼属植物在物种水平上遗传多样性较为丰富, 按遗传多样性水平排序为七叶一枝花 > 宽叶重楼 > 具柄重楼 > 狭叶重楼 > 宽瓣重楼 > 北重楼。聚类分析结果显示, 重楼组北重楼单独聚为一类, 南重楼组 5 个类群聚为一类, 进一步分析表明, 宽瓣重楼和七叶一枝花聚在一起, 与辛本华等^[18]的研究结果一致, 印证了关于重楼属传统的形态地理分类的结果, 支持了北重楼与七叶一枝花为不同种群并将宽瓣重楼、宽叶重楼等划分变种的观点分类体系。

陕西重楼属 6 个类群植物的 SCoT 在种间和种内存在差异, 表明 SCoT 分子标记可以作为陕西省重楼属植物鉴定的分子标记, 对于阐明各类群之间的亲缘关系、寻求已处濒危状态的药典收载种类近

缘替代资源种类、筛选并合理利用地方种类自然资源提供了科学依据,对中国重楼属物种鉴定的分子标记研究提供了借鉴。

参考文献

- [1] 李恒. 重楼属植物 [M]. 北京: 科学出版社, 1988.
- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [3] 杨远贵, 张霁, 张金渝, 等. 重楼属植物化学成分及药理活性研究进展 [J]. 中草药, 2016, 47(18): 3301-3323.
- [4] 刘湘丹, 王朝辉, 徐玉琴, 等. 中药材重楼研究进展 [J]. 中医药导报, 2015, 20(15): 90-93.
- [5] 张亚茹, 彭献娜, 王彩虹, 等. 重楼活性化学成分与药理作用研究进展 [J]. 亚太传统医药, 2015, 11(2): 39-40.
- [6] 蒋露, 康利平, 刘大会, 等. 历代本草重楼基原考 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(18): 3469-3473.
- [7] 李恒, 陈昌祥, 丁靖凯. 重楼属植物的化学成分、地理分布及资源评价 [J]. 云南植物研究, 1988(增刊 1): 38-46.
- [8] 王跃虎, 牛红梅, 张兆云, 等. 重楼属植物的药用价值及其化学物质基础 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(5): 833-839.
- [9] 杨德全, 杨勤, 周浓. 多基源重楼的质量等同性研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(3): 91-94.
- [10] Heshmat J, Abdolkarim Z, Javad E M. Phylogeny relationship among commercial and wild pear species based on morphological characteristics and SCoT molecular markers [J]. *Sci Horticult*, 2018, 235(17): 323-333.
- [11] Collard B C, Mackill D J. Start codon targeted (SCoT) polymorphism: A simple, novel DNA marker technique for generating gene-targeted markers in plants [J]. *Plant Mol Biol Rep*, 2009, 27(1): 86-93.
- [12] 潘媛, 陈大霞, 宋旭红, 等. 基于 SCoT 标记的栽培栀子种质资源遗传多样性研究 [J]. 中草药, 2018, 49(14): 3376-3381.
- [13] 郑茜, 杨倩, 陈永钧, 等. 基于 ISSR 及 SCoT 分子标记对射干、川射干药材的分子鉴别 [J]. 中国药学杂志, 2018, 53(13): 1063-1069.
- [14] 席秀利, 胡珊, 邬龙怡, 等. SCoT 分子标记对不同产地白芍亲缘关系的研究 [J]. 中国现代中药, 2018, 20(6): 658-662.
- [15] 陈大霞, 张雪, 王钰, 等. 基于 ISSR、SCoT、SRAP 标记的川续断属药用植物亲缘关系研究 [J]. 中草药, 2018, 49(4): 903-909.
- [16] 彭亮, 黄涛, 张岗, 等. 基于 SCoT 标记的陕产茜草野生居群遗传多样性分析 [J]. 药学报, 2017, 52(10): 1621-1628.
- [17] 唐荣华, 王丽, 唐小为, 等. 十一种重楼属植物的 RAPD 分析 [J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2003, 40(4): 778-782.
- [18] 辛本华, 田孟良, 吴镔铎, 等. 重楼属植物遗传多样性的 RSAP 标记 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36(24): 3425-3427.
- [19] 李壮, 辛本华, 杨华, 等. 重楼属植物遗传多样性的 SCOT 标记 [J]. 广西植物, 2014, 34(3): 315-319.
- [20] 程虎印, 徐进, 颜永刚, 等. 陕产重楼属药用植物的研究进展 [J]. 陕西中医药大学学报, 2017, 40(1): 107-111.
- [21] 程虎印, 刘亮亮, 程江雪, 等. 华阴市产重楼属药用植物生态特点及资源状况调查 [J]. 中国现代应用药学, 2017, 34(5): 674-680.
- [22] 程虎印, 颜永刚, 程江雪, 等. 陕产重楼属南重楼组药用植物类群及资源调查 [J]. 中国中医药信息杂志, 2018, 25(3): 1-6.
- [23] 程虎印, 程江雪, 王艳, 等. 宽叶重楼的生药学研究 [J]. 中国现代中药, 2019, 21(12): 1480-1485.