

鄂尔多斯高原锦鸡儿属药用植物的 ISSR 分析

杨九艳^{1,2}, 杨 勃¹, 杨明博¹, 鞠爱华², 渠 弼²

(1. 内蒙古大学生命科学学院, 内蒙古 呼和浩特 010021; 2. 内蒙古医学院药学院, 内蒙古 呼和浩特 010059)

摘要:目的 分析鄂尔多斯高原分布的8种锦鸡儿的遗传多样性。方法 采用ISSR技术进行研究。结果 8种锦鸡儿总的多态位点百分率(PPB)很高,达100%,表明它们的遗传多样性很丰富。但是在种间的分布是不均匀的,藏锦鸡儿、柠条锦鸡儿、狭叶锦鸡儿、荒漠锦鸡儿和中间锦鸡儿的遗传多样性较高,甘蒙锦鸡儿和秦晋锦鸡儿较低,短脚锦鸡儿最低。此结果与 Nei's 基因多样性和 Shannon 信息指数的遗传多样性分析结果一致。根据非加全算术平均聚类法以及 ISSR 特征图谱可以将不同种区分开来。结论 ISSR 分子标记可很好地用于锦鸡儿物种的分子鉴定和遗传背景研究,其结果为制定有效的保护策略和措施提供了科学依据。

关键词:锦鸡儿属;鄂尔多斯高原;遗传多样性;ISSR

中图分类号:R282.7 文献标识码:A 文章编号:0253-2670(2006)10-1562-05

ISSR Analysis on medicinal plants of *Caragana* Fabr. in Ordos PlateauYANG Jiu-yan^{1,2}, YANG Jie¹, YANG Ming-bo¹, JU Ai-hua², QU Bi²

(1. College of Life Science, Inner Mongolia University, Huhhot 010021, China; 2. School of Pharmacy, Inner Mongolia Medical College, Huhhot 010059, China)

Abstract: **Objective** To analyze the genetic diversity of eight species of *Caragana* Fabr. in Ordos Plateau. **Methods** To study the genetic diversity of the eight species with ISSR method. **Results** The total percentage of polymorphic bands (PPB) of the eight species was up to 100%, which was extremely high and showed an abundant genetic diversity. However, the genetic diversity of different species was not the same. The genetic diversity of *C. tibetica*, *C. korshinskii*, *C. stenophylla*, *C. roborovskyi*, and *C. intermedia* was higher, while that of *C. opulens* and *C. purdomii* was lower, and that of *C. brachypoda* was the lowest. The analytic results of the Nei's gene diversities and the Shannon's information index were similar. Different species could be differentiated through UPGMA method and characteristic banding pattern of ISSR. **Conclusion** ISSR Molecular marker could be used in molecular authentication and hereditary background study of the species of *Caragana* Fabr. These results provide the scientific basis of developing effective protection measures for these species.

Key words: *Caragana* Fabr.; Ordos Plateau; genetic diversity; ISSR

锦鸡儿为豆科落叶灌木,全草、根、花和种子入药,味甘,微辛,性平。具有滋阴养血,清热解毒,利尿,益气安神,通经下乳,祛痰止咳及祛风湿止痹痛等功效。主要用于治疗妇科疾病,头晕头痛,心慌气短,咳嗽多痰,风湿痹痛等症^[1]。锦鸡儿不仅具有药用价值,而且抗逆性强,可防风固沙保持水土,在生态建设中发挥着重要的作用。锦鸡儿目前尚属未被大量开发利用的药材。为防止滥采引起生态问题,应以保护先行的思想对其进行研究。本实验选取分布于鄂尔多斯高原的8种锦鸡儿^[2]为研究对象,结合

不同的生境,采用简单重复间序列(inter-simple sequence repeat, ISSR)标记,从分子水平分析其遗传多样性,揭示它们种间的亲缘关系,为锦鸡儿的保护、引种驯化、繁育栽培和分子鉴定提供理论依据。

1 实验材料

8种锦鸡儿采自鄂尔多斯高原。每种随机选取20株,采集幼叶,分别用变色硅胶进行快速干燥, -20℃保存备用。材料及采样地点概况见表1,实验材料由内蒙古大学赵一之教授鉴定。

2 方法

收稿日期:2006-01-25

基金项目:内蒙古自治区教育厅科学研究项目(NJ03136)

作者简介:杨九艳(1963—),女,副教授,硕士生导师,从事药用植物的教学、科研工作,现在内蒙古大学生命科学学院攻读博士学位。

Tel: (0471)6636293 E-mail: yangji1122@163.com

表 1 材料及采样地点
Table 1 Materials and sites of samples

种 名(代号)	采集地	东经/(°)	北纬/(°)	海拔/m	年降水量/mm	平均气温/℃
秦晋锦鸡儿(QJ) <i>Caragana purdomii</i>	准格尔旗	110.41	39.28	1 170	401.6	7.3
甘蒙锦鸡儿(GM) <i>C. opulens</i>	准格尔旗	111.05	39.45	1 105	401.6	7.3
中间锦鸡儿(ZJ) <i>C. intermedia</i>	乌审旗	108.42	38.36	1 348	360.4	6.7
柠条锦鸡儿(NT) <i>C. korshinskii</i>	鄂托克旗	106.45	39.58	1 076	162.4	8.2
荒漠锦鸡儿(HM) <i>C. roborovskii</i>	鄂托克前旗	107.16	38.08	1 488	194.6	6.4
狭叶锦鸡儿(XY) <i>C. stenophylla</i>	鄂托克旗	108.02	39.14	1 375	271.4	6.4
藏锦鸡儿(Z) <i>C. tibetica</i>	鄂托克前旗	107.16	38.08	1 488	194.6	6.4
短脚锦鸡儿(DJ) <i>C. brachypoda</i>	鄂托克旗	106.45	39.58	1 076	162.4	8.2

2.1 总 DNA 的提取:采用 CTAB 法^[3]并略作修改。称取 80 mg 经硅胶干燥后的样品置于研钵中,加入 50 mg PVP 粉,在液氮中迅速研磨至粉状,然后加入到 700 μL 预热到 65 ℃ 的 CTAB 提取液中,并在 65 ℃ 水浴下温浴 60 min,期间不断颠倒混匀,使其抽提完全;加入等体积(700 μL)的氯仿-异戊醇(24:1),颠倒混匀,10 000×g 离心 10 min,取上清液转入另一 1.5 mL 离心管中,用 700 μL 氯仿-异戊醇重复抽提 1 次(可重复至白色界面消失),记录,取出上清液的体积;加入 2/3 体积的-20 ℃ 异丙醇,混匀后置于-20 ℃、30 min 以上,10 000×g 离心 10 min,弃上清液,风干沉淀。用 700 μL 70%冷乙醇溶液洗涤沉淀两次,10 000×g 离心 5 min,风干沉淀;加入 20 μL TE 缓冲液融解 DNA。0.7%琼脂糖凝胶电泳检测各模板有无降解,并估计 DNA 大致的量,结合 DU-T 型紫外分光光度计测定的吸光度 A₂₆₀ 和 A₂₈₀,计算其质量浓度和纯度,配平所有模板浓度,每种优选出 11 株的 DNA 用于扩增。

2.2 引物筛选:选用羽状叶的中间锦鸡儿和假掌状叶的狭叶锦鸡儿进行预试验,采用由上海生物工程公司(Sangon)生产的随机引物进行筛选,选出 14 个扩增良好、带型清晰、稳定且具有多态性的引物用于样品的扩增。

2.3 ISSR 反应体系及扩增程序:反应体系为总体积 25 μL,其中模板 DNA 1 μL(20 ng),5 mmol/L MgCl₂ 2.0 μL,10×PCR buffer 2.5 μL,10 mmol/L dNTP 0.4 μL,Taq 酶(5 U/μL)0.2 μL,引物(10 μmol/L)1 μL,无菌双蒸水 17.9 μL,上述药品购自上海生物工程公司(Sangon)。扩增反应在美国 MJ Research Inc. 生产的 PTC-100 TM 型 PCR 热循环仪上进行。扩增程序为:94 ℃ 预变性 5 min,94 ℃ 变性 45 s,54 ℃ 退火 1 min,72 ℃ 延伸 1.5 min,进行 45 个循环,最后 72 ℃ 延伸 5 min,4 ℃ 保温。

2.4 扩增产物的检测:扩增产物在 2.0%的琼脂糖凝胶中电泳分离,JY600C 型电泳仪稳压 80 V 2.5

h,溴化乙锭染色,用 100 bp 的 DAN ladder 作为相对分子质量标记,Tanon GIS-2008 紫外凝胶成像系统成像拍照。

2.5 数据统计分析:同一引物的扩增产物中,属于同一位点的条带按有或无记录,清晰可见的强带或反复出现的弱带记为“有”,赋值 1,无带计为“无”,赋值 0,建立二元数据矩阵。重现性不好的弱带不予统计。利用 Popgen 32 软件计算基因频率,多态位点数及百分率(P),Shannon 多样性指数(I*),Nei 基因多样性指数(H),遗传一致度(I)和遗传距离(D);并用非加全算术平均聚类法(UPGMA)进行系统聚类分析,构建树状图。

3 结果与分析

3.1 遗传多态性分析:本研究 PCR 反应扩增的 DNA 片断大小一般在 300~2 000 bp(图 1),引物序列及扩增结果见表 2。14 个 ISSR 引物共扩增出 355 条带,即 355 个位点,平均每个引物扩增带数为 25.36 条,多态位点为 355 个,总的多态性条带比率(PPB)达 100%,揭示了锦鸡儿基因组具有丰富的多态性。

表 2 引物序列及扩增结果

Table 2 Sequence of primers and amplification results

引物	序列(5'→3')	位点数	多态位 点数	多态位点百 分率/%
AW64746	ACACACACACACACT	16	16	100
AW64747	ACACACACACACACAG	20	20	100
AW64749	TGTGTGTGTGTGTGTC	13	13	100
AW64750	CTCCTCCTCCTCCTCCTC	32	32	100
AW64751	TATTATTATTATTATTAT	38	38	100
AW77934	AGAGAGAGAGAGAGAGC	32	32	100
AW77935	AGAGAGAGAGAGAGAGG	27	27	100
AW77936	GAGAGAGAGAGAGAGAC	27	27	100
AW77937	CACACACACACACAG	10	10	100
AW77938	GAGAGAGAGAGAGAGAA	17	17	100
AW77939	AGAGAGAGAGAGAGAGTC	34	34	100
AW77940	GAGAGAGAGAGAGAGAGG	23	23	100
AW77941	GAGAGAGAGAGAGAGAAT	30	30	100
AW77943	GGAGAGGAGAGAGAGA	36	36	100
合 计		355	355	100

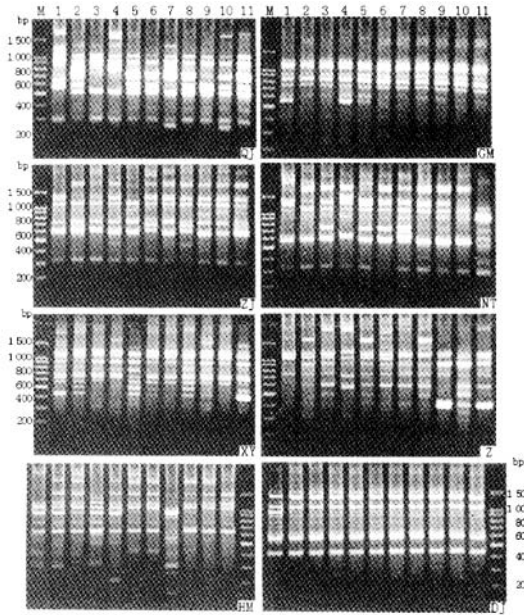


图 1 引物 AW64751 对 8 种锦鸡儿不同个体的扩增结果
Fig. 1 ISSR Amplified products generated by Primer AW64751 to different samples of eight species of *Caragana* Fabr.

3.2 遗传多样性分析:由表 3 可知,8 种锦鸡儿多态位点百分率的大小顺序为:藏锦鸡儿>柠条锦鸡儿>狭叶锦鸡儿>荒漠锦鸡儿>中间锦鸡儿>秦晋锦鸡儿>甘蒙锦鸡儿>短脚锦鸡儿;根据 Nei 基因多样性分析,由高到低为:柠条锦鸡儿>藏锦鸡儿>荒漠锦鸡儿>狭叶锦鸡儿>中间锦鸡儿>甘蒙锦鸡儿>秦晋锦鸡儿>短脚锦鸡儿;由 Shannon 信息指数分析结果为:柠条锦鸡儿>藏锦鸡儿>狭叶锦鸡儿>荒漠锦鸡儿>中间锦鸡儿>秦晋锦鸡儿>甘蒙锦鸡儿>短脚锦鸡儿。3 种分析的结果基本一致,藏锦鸡儿和柠条锦鸡儿的遗传多样性最高,狭叶锦鸡儿和荒漠锦鸡儿次之,中间锦鸡儿较高,甘蒙锦鸡儿和秦晋锦鸡儿较低,短脚锦鸡儿最低。

3.3 遗传一致度和遗传距离:表 4 是 8 种锦鸡儿间的遗传一致度和遗传距离。其中藏锦鸡儿与狭叶锦鸡儿、藏锦鸡儿与柠条锦鸡儿、柠条锦鸡儿与中间锦鸡儿的遗传一致度均很高,分别达 0.891 7、0.884 7、0.881 7,遗传距离很小,分别为 0.114 6、0.122 5、0.125 9;秦晋锦鸡儿与甘蒙锦鸡儿的遗传一致度较低,为 0.793 9,遗传距离较大,为 0.230 7;短脚锦鸡儿与其他种间的遗传一致度最低,为 0.703 4~0.759 1,遗传距离最大,为 0.275 6~0.351 8。

3.4 聚类分析:根据种间的遗传距离,采用 UPG-

表 3 8 种锦鸡儿的遗传多样性比较

Table 3 Comparison of genetic diversity among eight species of *Caragana* Fabr.

种 名	位点数	多态位点 点数	多态位 点百分 率/%	位点/ 引物	Nei 基因 多样性	Shannon 多样性 指数
秦晋锦鸡儿	155	128	82.58	11.07	0.110 0	0.168 3
甘蒙锦鸡儿	148	113	76.35	10.57	0.110 9	0.165 8
中间锦鸡儿	191	165	86.39	13.64	0.135 7	0.211 4
柠条锦鸡儿	199	182	91.46	14.21	0.163 5	0.249 3
荒漠锦鸡儿	178	154	86.52	12.71	0.142 4	0.214 8
狭叶锦鸡儿	183	167	91.26	13.07	0.140 2	0.216 5
藏锦鸡儿	185	176	95.14	13.21	0.157 5	0.239 3
短脚锦鸡儿	126	54	42.86	9.00	0.046 1	0.070 4

表 4 8 种锦鸡儿的遗传一致度与遗传距离

Table 4 Genetic identity and genetic distance among eight species of *Caragana* Fabr.

品种代号	QJ	GM	ZJ	NT	HM	XY	Z	DJ
QJ	***	0.793 9	0.847 4	0.846 7	0.839 3	0.844 9	0.837 6	0.703 4
GM	0.230 7	***	0.810 7	0.815 6	0.816 0	0.817 9	0.846 4	0.722 1
ZJ	0.165 6	0.209 9	***	0.881 7	0.827 4	0.856 0	0.857 3	0.731 8
NT	0.166 4	0.203 8	0.125 9	***	0.839 8	0.853 2	0.884 7	0.728 2
HM	0.175 5	0.203 4	0.189 4	0.174 6	***	0.840 5	0.857 2	0.724 1
XY	0.168 5	0.201 0	0.155 5	0.158 7	0.173 8	***	0.891 7	0.759 1
Z	0.177 2	0.166 7	0.154 0	0.122 5	0.154 1	0.114 6	***	0.744 3
DJ	0.351 8	0.325 6	0.312 2	0.317 2	0.322 8	0.275 6	0.295 3	***

Nei's 遗传一致度(对角线以上数据)与遗传距离(对角线以下数据)

Nei's genetic identity (above diagonal) and genetic distance (below diagonal)

MA 法进行聚类分析,结果见图 2。由树状图可以看出,当取值水平 $D=0.114 6$ 时,狭叶锦鸡儿和藏锦鸡儿聚到一起成为第 1 类群; $D=0.125 9$ 时,中间锦鸡儿和柠条锦鸡儿聚到一起成为第 2 类群;然后这两类聚到一起成为第 3 类群;以后逐级与秦晋锦鸡儿聚成第 4 类群,与荒漠锦鸡儿聚成第 5 类群,与甘蒙锦鸡儿聚成第 6 类群;而短脚锦鸡儿自成一支。此结果揭示了狭叶锦鸡儿和藏锦鸡儿遗传基础相近、中间锦鸡儿和柠条锦鸡儿的亲缘关系最近;短脚锦鸡儿与其他种的亲缘关系较远,甘蒙锦鸡儿次之。

3.5 8 种锦鸡儿的特有带:特有带为某种所特有出现,而其他种没有出现的 ISSR 条带,8 种锦鸡儿各自的扩增带及特有带数见表 5。14 个引物在 8 种锦鸡儿中只产生 10 条特有带,占总带数的 2.82%。各种的特有带均很少或无。这说明他们之间的亲缘关系密切。

3.6 ISSR 特征图谱:将每种的 11 株个体的 DNA 等量混和,进行扩增。引物 AW64751、AW64750、AW 77934、AW 77939 的扩增结果见图 3。8 个种具

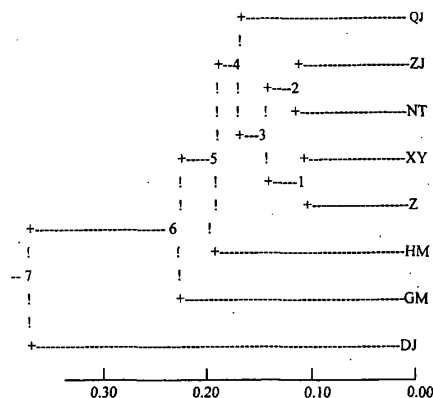


图 2 8 种锦鸡儿的 Nei's 遗传距离聚类图

Fig. 2 Dendrogram of UPGMA based on Nei's genetic distance of eight species of *Caragana* Fabr.

表 5 8 种锦鸡儿 ISSR 特有带

Table 5 ISSR Peculiar bands of eight species of *Caragana* Fabr.

品种代号	总带数	特有带数	特有带率/%
QJ	155	0	0.00
GM	148	2	1.35
ZJ	191	1	0.52
NT	199	0	0.00
HM	178	3	1.69
XY	183	2	1.09
Z	185	2	1.08
DJ	126	0	0.00
合计	355	10	2.82

有不同的特异性条带,呈现出清晰的谱带特征,利用这些引物获得的 ISSR 特征图谱可以将不同的锦鸡儿种区分开来。

4 讨论

从聚类图上可以看出,不同种的锦鸡儿属植物得到了明显的区分,表明 ISSR 分子标记可以做为其种的分子鉴定依据。在聚类图中,藏锦鸡儿和狭叶锦鸡儿首先聚在了一起,说明它们有相近的遗传基础。藏锦鸡儿和狭叶锦鸡儿的适应性均很强,都是半荒漠地带的建群植物,相似的遗传特征是它们的基础。柠条锦鸡儿和中间锦鸡儿是地理替代种^[4],两个种之间存在明显而强大的基因流^[5],削弱了种间的遗传差异,两种的亲缘关系很近。

在扩增带中,秦晋锦鸡儿、中间锦鸡儿、荒漠锦鸡儿、狭叶锦鸡儿和藏锦鸡儿均有特有带存在,将不同种的特有带进行克隆测序,转化为 SCAR 标记,可对不同种进行 DNA 分子鉴定,并在一定程度上区分其道地性^[6]。

ISSR 技术可以比 RFLP、SSR、RAPD 等技术更多地揭示基因组中的多态性,是一种很好的 DNA

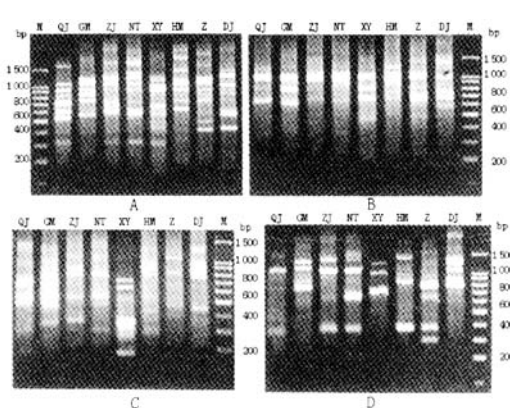


图 3 8 种锦鸡儿的 ISSR 图谱[引物 AW64751(A)、AW64750(B)、AW77934(C)和 AW77939(D)]

Fig. 3 Banding pattern of ISSR of eight species of *Caragana* Fabr. [Primer AW64751 (A), AW64750 (B), AW77934 (C), and AW77939 (D)]

分子标记,因此,该技术在种质资源方面显示出比其他方法更高的优越性,在植物种质资源鉴别中发挥越来越大的作用^[7],此法在锦鸡儿的鉴别中得到了很好的运用。

在分子标记中 PPB 值的大小代表了遗传多样性的高低^[6]。从扩增结果看出,8 种锦鸡儿属植物总的 PPB 很高,达 100%,表明该属植物遗传多样性很丰富,但在种间的分布是不均匀的。藏锦鸡儿、柠条锦鸡儿、狭叶锦鸡儿、荒漠锦鸡儿和中间锦鸡儿的遗传多样性较高,甘蒙锦鸡儿和秦晋锦鸡儿较低,短脚锦鸡儿最低。多态位点百分率对遗传多样性只是一个粗略的估计,虽然能反映所测位点中不同等位基因的位点有多少,但是它并不能反映每个位点的等位基因的丰富程度。而基于条带表型频率的 Shannon 信息指数和基于 Hardy-Weinberg 假设的 Nei 基因多样性指数则可以得到更为可信的衡量指标^[8]。对 8 种锦鸡儿的遗传多样性进行分析时,这两者的结果与 PPB 的结果基本一致。从遗传学的角度来看,丰富的遗传多样性意味着比较高的适应能力,蕴涵着比较大的进化潜能及比较丰富的育种和遗传改良能力^[9]。藏锦鸡儿、柠条锦鸡儿、狭叶锦鸡儿、荒漠锦鸡儿和中间锦鸡儿均具有很强的适应力,分布于极干旱的半荒漠地区,且为该地区的优势植物^[10],丰富的遗传多样性是它们的内在基础,具有广阔的利用前景。秦晋锦鸡儿和甘蒙锦鸡儿的遗传多样性相对较低,在鄂尔多斯高原的储量也较少,应注意保护利用。短脚锦鸡儿的遗传多样性最低,而且

与其他种的遗传相似度低、遗传距离大,加强对该种的保护显得尤为重要。

References:

- [1] Zhu Y M. *Nei Inner Monggol Medicinal Flora* (内蒙古植物药志) [M]. Vol Ⅱ. Huhhot: Inner Mongolia People's Publishing House, 1993.
- [2] Ma Y Q. *Flora Intramongolica* (内蒙古植物志) [M]. Vol Ⅱ. Huhhot: Inner Mongolia People's Publishing House, 1989.
- [3] Hewitt G M, Johnston A. *Molecular Techniques in Taxonomy* [M]. Berlin: Springer, 1991.
- [4] Ma C C, Gao Y B, Liu H F, et al. Interspecific transition among *Caragana microphylla*, *C. davazamcii*, and *C. korshinskii* along geographic gradient. 1. Ecological and RAPD evidence [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), 2003, 45(10): 1218-1227.
- [5] Wei W, Wang H X, Hu Z A, et al. Primary studies on

molecular ecology of *Caragana* spp. populations distributed over Maowusu sandy grassland: from RAPD data. [J]. *Acta Ecol Sin* (生态学报), 1999, 19(1): 16-22.

- [6] Yu H, Zhou R X, Li Y Y, et al. RAPD analysis of common medicinal plants of *Rhodiola* L. in Yunnan Province [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2005, 36(1): 96-99.
- [7] Wang J B. ISSR markers and their application in plant genetics [J]. *Hereditas* (遗传), 2002, 24(5): 613-616.
- [8] Qian W, Ge S. Analyses of population genetic structure by using dominant markers [J]. *Acta Genet Sin* (遗传学报), 2001, 28(3): 244-255.
- [9] Cao Y N, Li Q Z, Sun Y, et al. Analysis of genetic diversity in certified *Radix Gentianae* by RAPD and ISSR [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2005, 36(1): 100-103.
- [10] Li B. *Natural Resource and Environment Study of the Ordos Plateau of Mongol Province*. (内蒙古鄂尔多斯高原自然资源与环境研究) [M]. Beijing: Science Press, 1990.

鹿源类中药材 DNA 序列分析及马鹿和梅花鹿的 PCR 鉴定

白根本¹, 张林源², 刘春生¹, 程伟¹, 陈代贤³

(1. 北京中医药大学, 北京 100102; 2. 北京麋鹿生态实验中心, 北京 100076; 3. 大连市药品检验所, 辽宁 大连 221100)

摘要:目的 采用特异引物 PCR 扩增鉴定马鹿和梅花鹿源中药材。方法 从马鹿、梅花鹿等国内 11 种鹿的鹿血和鹿茸中提取 DNA, 用通用引物 L1091 和 H1478 调取细胞线粒体 12S rRNA 基因片段, 在该片段核苷酸序列比对的基础上, 设计马鹿和梅花鹿高特异性 PCR 鉴定引物对, 并进行 PCR 特异性鉴定。结果 12S rRNA 基因片段能较好地在种的水平上将不同的种区分开来; 特异引物对 (EP-1/H1478 和 EP-2/H1478) PCR 可准确地鉴定出马鹿和梅花鹿等。结论 特异引物 PCR 适宜马鹿、梅花鹿等珍贵中药材的鉴定。

关键词:鹿; DNA 序列; PCR 鉴定

中图分类号: R282.7

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2006)10-1566-04

Analysis of DNA sequence of Chinese medicinal materials deers and PCR identification of *Cervus elaphus* and *C. nippon*

BAI Gen-ben¹, ZHANG Lin-yuan², LIU Chun-sheng¹, CHENG Wei¹, CHEN Dai-xian³

(1. Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100102, China; 2. Beijing Milu Ecological Research Center, Beijing 100001, China; 3. Dalian Institute for Drug Control, Dalian 221100, China)

Abstract: Objective To identify the animal drug of *Cervus elaphus* and *C. nippon* from origin of deers.

Methods To extract DNA from deer blood and hairy antler of 11 species of deers such as *C. elaphus*, *C. nippon* and so on, and to gain the mitochondrial 12S rRNA gene fragment using the general primers of L1091 and H1478. Based on the sequence multialinement of 11 species deers above gene fragments, designing the couples of special difference primers and identifying *C. elaphus* and *C. nippon*. **Results** 12S rRNA Gene fragments can distinguish different deers well. The couple of primers (EP-1/H1478 and EP-2/H1478) PCR can effectively identify *C. elaphus* and *C. nippon*. **Conclusion** Special primer PCR is suitable for the identification of valuable Chinese medicinal materials, such as *C. elaphus* and *C. nippon*.

Key words: deer; DNA sequence; PCR identification

收稿日期: 2005-12-26

基金项目: 北京中医药大学 211 工程项目资助

作者简介: 白根本 (1958—), 教授, 博士后, 长期从事遗传学、生物技术的教学与科研工作, 主持完成 2 项国家自然科学基金等, 发表论文 40 余篇。 Tel: (010) 64219516 E-mail: baigb@263.net