

基于 DNA 条形码鉴别缘毛紫菀及狭苞紫菀

赵日杂, 张英秀, 王君军, 苏学燕, 张绍山, 张志锋*

西南民族大学药学院 四川省羌彝药用资源保护与利用技术工程实验室, 四川 成都 610225

摘要: 目的 基于 ITS2 和 rbcL 序列对来自不同地理环境的缘毛紫菀 *Aster souliei* 及狭苞紫菀 *A. farreri* 进行分子鉴定。方法 以 ITS2 和 rbcL 的特异性引物, 扩增缘毛紫菀及狭苞紫菀的 ITS2 和 rbcL 的序列并测定, 运用 MEGA7.0 软件进行多重比对分析和种间种内遗传距离分析, 构建邻接法 (neighbor-joining, NJ) 系统发育树。结果 ITS2 序列在缘毛紫菀及狭苞紫菀的变异位点较 rbcL 序列丰富, 且种间与种内的变异位点数无交叉; ITS2 序列的 NJ 树可将缘毛紫菀及狭苞紫菀样品进行有效区分, 而 rbcL 序列构建的系统发育树无法使缘毛紫菀及狭苞紫菀样品得到有效的区分; ITS2 及 rbcL 序列的遗传距离结果显示缘毛紫菀之间的遗传距离很近, 而狭苞紫菀之间的遗传距离较远。结论 ITS2 较 rbcL 序列更适合用于不同产地的缘毛紫菀及狭苞紫菀样品的鉴定; 狭苞紫菀的种内差异较大。

关键词: 缘毛紫菀; 狭苞紫菀; ITS2 序列; rbcL 序列; 分子鉴定

中图分类号: R286.12 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)19-6167-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.19.022

Identification of *Aster souliei* and *Aster farreri* based on DNA barcode

ZHAO Ri-za, ZHANG Ying-xiu, WANG Jun-jun, SU Xue-yan, ZHANG Shao-shan, ZHANG Zhi-feng

Sichuan Provincial Qiang-Yi Medicinal Resources Protection and Utilization Technology Engineering Laboratory, School of Pharmacy, Southwest Minzu University, Chengdu 610225, China

Abstract: Objective Based on the ITS2 and rbcL sequences to do molecular identification of *Aster souliei* and *A. farreri* samples from different geographical sources. **Methods** ITS2 and rbcL sequences of *A. souliei* and *A. farreri* were amplified and sequenced with specific primers of ITS2 and rbcL, MEGA7.0 software was used for multiple comparison analysis and intraspecific genetic distance analysis to construct neighbor-joining (NJ) phylogenetic tree. **Results** The variation sites of ITS2 sequences in *A. souliei* and *A. farreri* samples were richer than those of rbcL sequences, and there was no cross between interspecific and intraspecific. The NJ tree of ITS2 sequence can effectively distinguish the samples of *A. souliei* and *A. farreri*, while the phylogenetic tree constructed by rbcL sequence cannot effectively distinguish the samples of *A. souliei* and *A. farreri*. The genetic distance of ITS2 and rbcL sequences showed that the genetic distance among *A. souliei* samples were very close, while the genetic distance among *A. farreri* samples were far. **Conclusion** ITS2 sequence is more suitable for the identification of *A. souliei* and *A. farreri* samples from different habitats than rbcL sequence. And the intraspecies of *A. farreri* samples are quite different.

Key words: *Aster souliei* Franch.; *Aster farreri* W. W. Sm.; ITS2 sequence; rbcL sequence; molecular identification

藏紫菀是藏族、维吾尔族、蒙古族等少数民族常用草药, 具有清热解毒、镇咳祛痰的功效。因藏紫菀特殊的生长环境, 使其拥有独特的药理作用。现代药理学及化学成分研究揭示藏紫菀具有多种成分及药理活性, 包括抗氧化及抗缺氧等作用^[1-5]。目前作为藏紫菀使用的药材为菊科紫菀属植物中的

缘毛紫菀 *Aster souliei* Franch., 然而在藏医经典著作《晶珠本草》和《藏药志》中, 紫菀属多种植物均能作为藏紫菀入药, 而狭苞紫菀 *Aster farreri* W. W. Sm. et J. F. Jeffr. 作为其中的一种, 分布较广, 产量较大, 在藏医药中较为常用, 但缘毛紫菀及狭苞紫菀形态特征相近, 利用传统的基原鉴定和性状

收稿日期: 2022-03-06

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31870314); 四川省科技厅区域创新合作项目 (2020YFQ0007); 西南民族大学中央高校基本科研业务专项基金项目 (2021NYYXS19)

作者简介: 赵日杂 (1996—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药鉴定学。Tel: 13699013572 E-mail: 2490271485@qq.com

*通信作者: 张志锋, 博士, 研究员, 主要从事中药资源品质评价相关研究。E-mail: zfzhang@swun.edu.cn

鉴定难以准确快速地进行鉴别,因此,需要建立一种快速、准确鉴别缘毛紫菀及狭苞紫菀的新方法。

DNA 条形码技术因其简单高效的特点已广泛应用于药用植物的鉴别研究^[6-10],用于植物鉴定的 DNA 条形码有 ITS2、rbcL、Matk、psbA-trnH 和 ITS 等序列,其中 ITS2 (internal transcribed spacers 2) 及编码核酮糖 1,5-二磷酸羧化酶大亚基的 rbcL 序列,因具有良好的扩增成功率和物种水平的鉴定成功率,现已广泛应用于植物种与属的鉴定^[11-16],而缘毛紫菀和狭苞紫菀的 DNA 条形码尚未有相关研究,故本研究选择 rbcL 及 ITS2 序列,综合评估其对缘毛紫菀和狭苞紫菀的鉴别能力,建立缘毛紫菀及狭苞紫菀的 DNA barcoding 分子鉴定方法,为藏紫菀的品种整理和质量控制奠定基础。

1 材料与仪器

1.1 药材

本实验所收集的 18 份样品均属野外实地采集,并经西南民族大学张志锋教授鉴定为缘毛紫菀

及狭苞紫菀,其中 YM₁~YM₉ 为菊科紫菀属植物缘毛紫菀 *A. souliei* Franch., XB₁~XB₉ 为菊科紫菀属植物狭苞紫菀 *A. farreri* W. W. Sm. et J. F. Jeffr.。药材标本保存于西南民族大学民族药标本馆,样品信息见表 1。

1.2 试剂

引物(北京擎科生物科技有限公司);植物基因组 DNA 试剂盒(北京擎科生物科技有限公司);2×T5PAGEmix (Tsingke)、TSINGKE 高纯度低电渗琼脂糖 (Tsingke)、DL5000 Marker (Tsingke)。

1.3 仪器

Legend Micro17 型离心机 (Thermos 公司,德国);2720 thermal cycler 型 PCR 仪 (Applied Biosystems);JY300C 型电泳仪、JYDF 型电泳槽、JY04S-3C 型凝胶成像仪 (北京君意东方公司);DFD-700 型水浴锅 (北京中兴伟业公司);L550 型板式离心机 (cence 公司);DFD-700 型水浴锅 (北京中兴伟业公司)。

表 1 缘毛紫菀及狭苞紫菀的采集信息

Table 1 Collecting information of *A. souliei* and *A. farreri*

种名	编号	采集地	经度 (E)	纬度 (N)	海拔/m
缘毛紫菀	YM ₁	四川康定机场	101°45'04.62"	30°08'04.62"	4 290.60
	YM ₂	四川康定曾差	101°38'16.89"	30°09'41.89"	3 667.50
	YM ₃	西藏芒康拉妥乡	98°41'29.22"	29°13'59.20"	3 999.80
	YM ₄	四川康定瓦泽乡	101°40'10.99"	30°10'26.20"	3 751.90
	YM ₅	四川德格县海子山	99°37'45.84"	31°42'26.81"	4 079.40
	YM ₆	西藏贡觉县曲贡村	99°02'01.90"	32°01'06.05"	4 095.60
	YM ₇	西藏贡觉列青	95°28'54.33"	32°51'12.18"	4 183.60
	YM ₈	四川红原安曲	98°10'08.43"	31°09'07.69"	3 511.00
	YM ₉	四川茂县雅都乡	98°30'37.81"	30°30'33.06"	3 012.30
狭苞紫菀	XB ₁	四川松潘川主寺	103°30'48.82"	32°54'07.89"	4 010.90
	XB ₂	四川红原县壤口村	102°26'40.66"	32°19'51.42"	3 894.70
	XB ₃	青海夏河县完垦尔玛	102°39'10.60"	34°56'42.10"	3 272.40
	XB ₄	四川红原县查真梁子	102°36'53.01"	32°20'12.10"	3 814.70
	XB ₅	四川白玉县阿察镇	99°35'11.46"	31°01'30.22"	3 910.70
	XB ₆	四川理塘查克日	100°15'29.37"	30°14'55.84"	4 050.40
	XB ₇	四川红原县壤口村	102°26'40.66"	32°19'51.42"	3 894.70
	XB ₈	四川红原县加当村	102°34'50.52"	32°03'39.78"	3 353.70
	XB ₉	四川乡城香巴拉镇	99°45'34.26"	28°57'10.16"	3 919.70

2 方法

2.1 样品 DNA 的提取、PCR 扩增及测序

分别取缘毛紫菀及狭苞紫菀的干燥组织约 20 mg,加液氮充分研磨,研磨后置于 1.5 mL 离心管中,然后用植物基因组 DNA 试剂盒(北京擎科生物科技有限公司)进行总 DNA 的提取,用 2% 琼脂糖凝胶电泳和 Nanodrop 检测 DNA 的提取结果。ITS2、

rbcL 序列扩增所用引物及 PCR 反应条件见表 2。所用 PCR 反应试剂为北京擎科生物科技有限公司所生产的 2×I5Mix,总反应体系为 30 μL:2×I5Mix 15 μL;DNA 模板 1 μL;上游引物 1 μL;下游引物 1 μL;ddH₂O 12 μL。扩增产物用凝胶成像系统观察并采集图片,将电泳条带单一、清晰、明亮的 PCR 扩增产物送至北京擎科生物科技有限公司进行测序。

表2 PCR扩增引物与扩增程序

Table 2 PCR amplification primers and amplification procedures

条形码序列	引物名称	碱基序列 (5'→3')	扩增条件
ITS2	2R	GACGCTTCTCCAGACTACAAT	98 °C变性 3 min; 98 °C变性 10 s; 56 °C, 退火 20 s,
	2F	ATGCGATACTTGGTGTGAAT	72 °C延伸 20 s (38 个循环); 72 °C延伸 5 min
rbcL	R	CTTTTAGTAAAAGATTGGGCCGAG	98 °C变性 3 min; 98 °C变性 10 s; 58 °C, 退火 20 s;
	F	ATGTCACCACAAACAGARACTAAAGC	72 °C延伸 20 s (38 个循环); 72 °C延伸 5 min

2.2 数据分析

运用 MEGA 7.0 软件^[17]对缘毛紫菀及狭苞紫菀的 ITS2 及 rbcL 序列做 ClustalW 多序列比对, 并计算种内和种间的 Kimura 2-parameter (K2P) 遗传距离、分析变异位点及构建 (neighbor joining, NJ) 树, 以评价 ITS2 及 rbcL 序列的鉴别能力。

3 结果与分析

3.1 缘毛紫菀及狭苞紫菀的 PCR 扩增

利用 ITS2 及 rbcL 序列对 18 份缘毛紫菀及苞紫菀样本进行 PCR 扩增, 并采用凝胶电泳对序列进行检验, 结果见图 1, 其表明 2 对引物均能够成功扩增出目标条带, 条带扩增效果良好, 条带清晰, 无拖尾; 缘毛紫菀和狭苞紫菀的 ITS2 序列和 rbcL 序列的平均长度为 411 bp 和 906 bp, 这些样品的 ITS2 序列和 rbcL 序列在 G+C 含量方面具有一定差异, 结果见表 3。

3.2 种内、种间的遗传距离分析

运用 MEGA 7.0 软件基于 K2P 遗传距离模型计算 18 个缘毛紫菀及狭苞紫菀样品的 ITS2 和 rbcL 序列的种间和种内遗传距离, 计算结果见图 2。对于 ITS2 序列, 不同产地的缘毛紫菀样品间的遗传距离为 0~0.01, 种内亲缘关系很近, 不同产地狭苞紫菀之间的遗传距离为 0.84, 其中 XB₁、XB₂、XB₄、

表3 缘毛紫菀及狭苞紫菀的 ITS2 和 rbcL 的序列特征

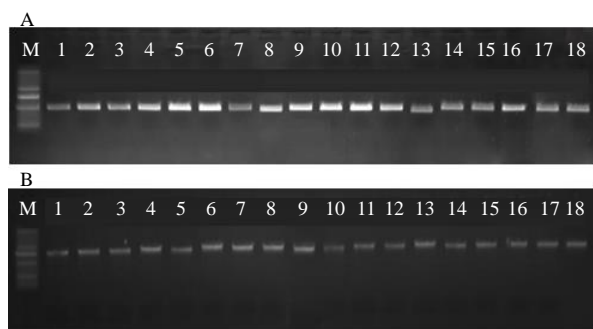
Table 3 Length and base pair frequency in ITS2 and rbcL sequences from *A. souliei* and *A. farreri*

编号	ITS2 序列		rbcL 序列	
	长度/ bp	(G+C)/%	长度/ bp	(G+C)/%
YM ₁	417	54.6	911	43.6
YM ₂	417	54.6	910	43.5
YM ₃	417	54.6	910	43.5
YM ₄	417	54.6	809	43.7
YM ₅	417	54.6	910	43.5
YM ₆	417	54.6	809	43.7
YM ₇	417	55.2	910	43.5
YM ₈	417	54.6	910	43.5
YM ₉	416	55.0	910	43.5
XB ₁	410	52.7	925	43.1
XB ₂	410	52.7	925	43.2
XB ₃	401	49.6	925	43.1
XB ₄	410	52.7	925	43.2
XB ₅	410	52.7	925	43.1
XB ₆	410	52.7	925	43.1
XB ₇	401	49.6	925	43.1
XB ₈	408	52.7	925	43.1
XB ₉	399	49.6	925	43.1

XB₅、XB₆、XB₈ 狭苞紫菀样品与缘毛紫菀样品间的遗传距离为 0.23~0.24, XB₃、XB₇、XB₉ 狭苞紫菀样品与缘毛紫菀样品间的遗传距离为 1.45~1.46, 说明 XB₃、XB₇、XB₉ 与缘毛紫菀样品亲缘关系最远; 对于 rbcL 序列, 缘毛紫菀之间的遗传距离为 0, XB₄、XB₆ 与 9 个缘毛紫菀样品间的遗传距离为 0.01, XB₁、XB₂、XB₃、XB₅、XB₇、XB₈、XB₉ 与 9 个缘毛紫菀样品的遗传距离为 1.06~1.07, 说明 XB₁、XB₂、XB₃、XB₅、XB₇、XB₈、XB₉ 与 9 个缘毛紫菀样品的种间差异较大。

3.3 种内及种间变异分析

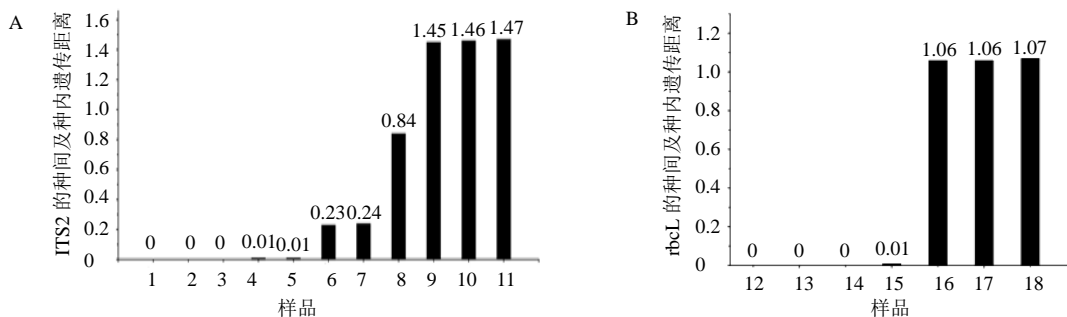
对 18 个样品的 ITS2 序列进行分析, 发现 ITS2 序列存在 247 个变异位点, XB₃、XB₇、XB₉ 与 9 个不同产地的缘毛紫菀样品间主要存在的碱基互换有



1~9-YM₁-YM₉ 10~18-XB₁-XB₉

图1 ITS2 (A) 和 rbcL (B) 扩增产物的琼脂糖凝胶检测电泳图

Fig. 1 Agarose gel electrophoresis of amplified products in ITS2 (A) and rbcL (B) sequences



1-YM₁~YM₄, YM₆, YM₈, YM₉ 2-XB₃, XB₇, XB₉ 3-XB₁, XB₂, XB₄, XB₅, XB₆, XB₈ 4-YM₇~YM₁~YM₆, YM₈, YM₉ 5-YM₅~YM₇, YM₉ 6-XB₁, XB₂, XB₄, XB₆, XB₈~YM₁~YM₄, YM₆~YM₉ 7-XB₁, XB₂, XB₄, XB₆, XB₈~YM₅ 8-XB₃, XB₇, XB₉~XB₁, XB₂, XB₄, XB₅, XB₆, XB₈ 9-XB₃, XB₇, XB₉~YM₁, YM₃, YM₄ 10-XB₃, XB₇, XB₉~YM₁ 11-XB₃, XB₇, XB₉~YM₂, YM₅, YM₆, YM₈, YM₉ 12-YM₁~YM₉ 13-XB₄, XB₆ 14-XB₁, XB₂, XB₃, XB₈ 15-XB₄, XB₆~YM₁~YM₉ 16-XB₇, XB₈, XB₉~YM₁~YM₉ 17-XB₁, XB₂, XB₃, XB₅~YM₁, YM₃, YM₅~YM₉ 18-XB₁, XB₂, XB₃, XB₅~YM₂, YM₄

图2 18个缘毛紫菀及狭苞紫菀样品的 ITS2 序列 (A) 和 rbcL 序列 (B) K2-P 模型遗传距离

Fig. 2 K2-P model genetic distances of ITS2 sequences (A) and rbcL (B) among 18 samples of *A. souliei* and *A. farreri*

“C” > “T” “G” > “T”、“A” > “G” “C” > “G” “T” > “A” “C” > “A”，XB₁、XB₂、XB₄、XB₅、XB₆、XB₈和9个不同产地的缘毛紫菀样品间主要存在的碱基互换为“A” > “G” “T” > “G” “T” > “A”、“C” > “A” “C” > “T” “G” > “C”；YM₅、YM₆、YM₈与剩余的其他缘毛紫菀样品间主要存在“A” > “T”碱基互换(图3)，说明狭苞紫菀与缘毛紫菀

之间存在的变异性较大。对18个样品的rbcL序列进行分析，发现rbcL序列存在511个变异位点，XB₄、XB₆与9个缘毛紫菀样品间主要存在的碱基互换为“A” > “G”；XB₁~XB₃、XB₅、XB₇~XB₉和9个缘毛紫菀样间主要存在“T” > “C” “A” > “T” “A” > “C” “G” > “A” “G” > “C”碱基互换；YM₂、YM₄和其他缘毛紫菀样品之间主要存在“C” > “T”碱基互换(图4)，说明

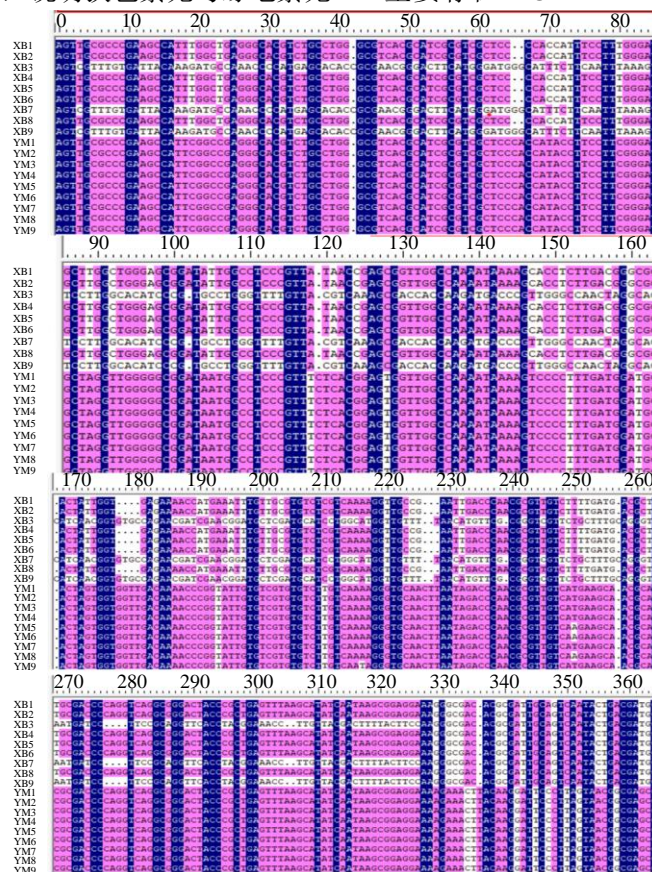


图3 18个缘毛紫菀及狭苞紫菀样品的 ITS2 序列多重比对结果

Fig. 3 Multiple alignment of ITS2 sequences from 18 samples of *A. souliei* and *A. farreri*

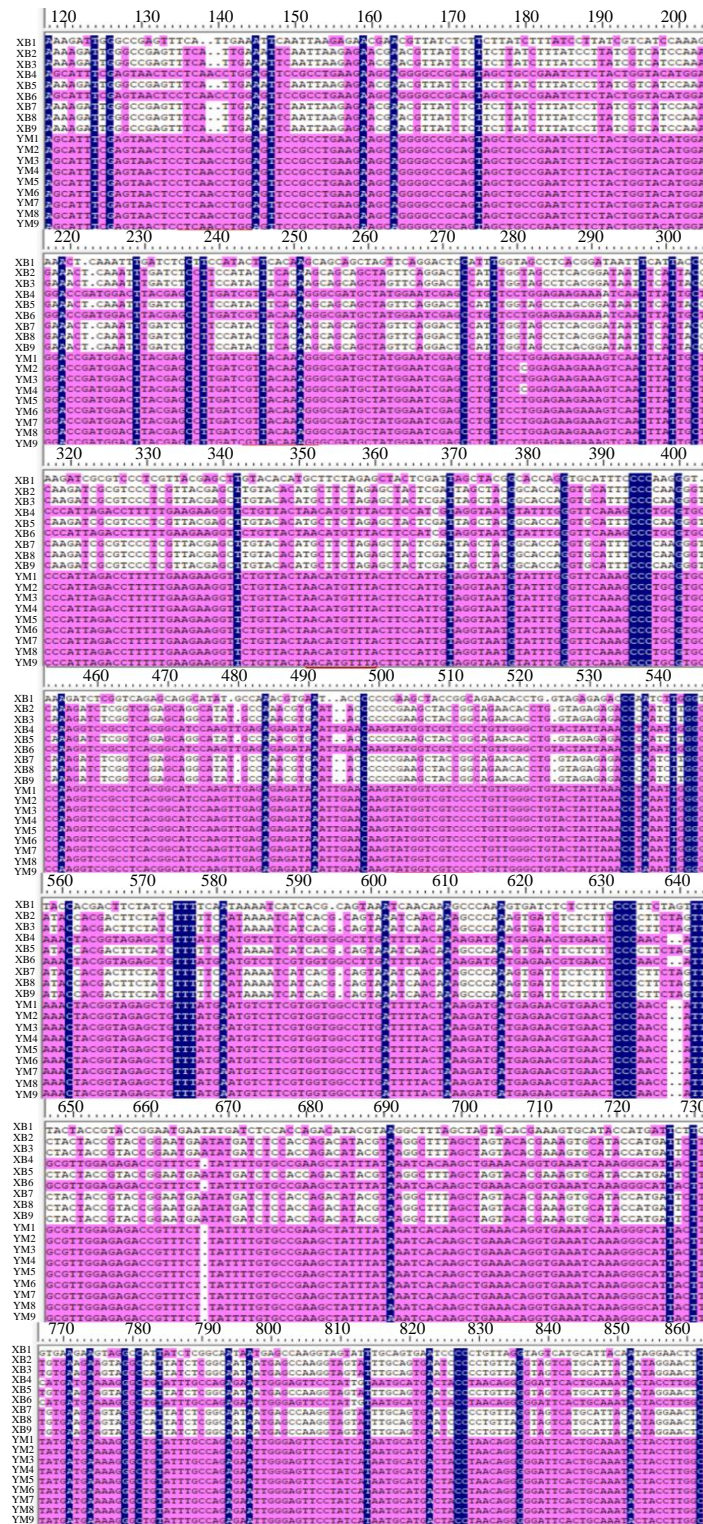


图4 18个缘毛紫菀及狭苞紫菀样品的 rbcL 序列多重比对结果

Fig. 4 Multiple alignment of rbcL sequences from 18 samples of *A. souliei* and *A. farreri*

XB₄、XB₆ 与缘毛紫菀样品间存在的变异性不大，而其他狭苞紫菀与缘毛紫菀差异性较大。

3.4 聚类分析

运用 MEGA7.0 构建 NJ 系统聚类树，bootstrap

1000 次重复，枝上数值仅显示自展支持率 ≥50%。

如图 5 所示，基于 ITS2 序列用邻接法构建出的系统发育树将 18 个样品大致可以分为 3 个分支。不同产地的 9 个缘毛紫菀样品聚为一支；而不同产地的狭

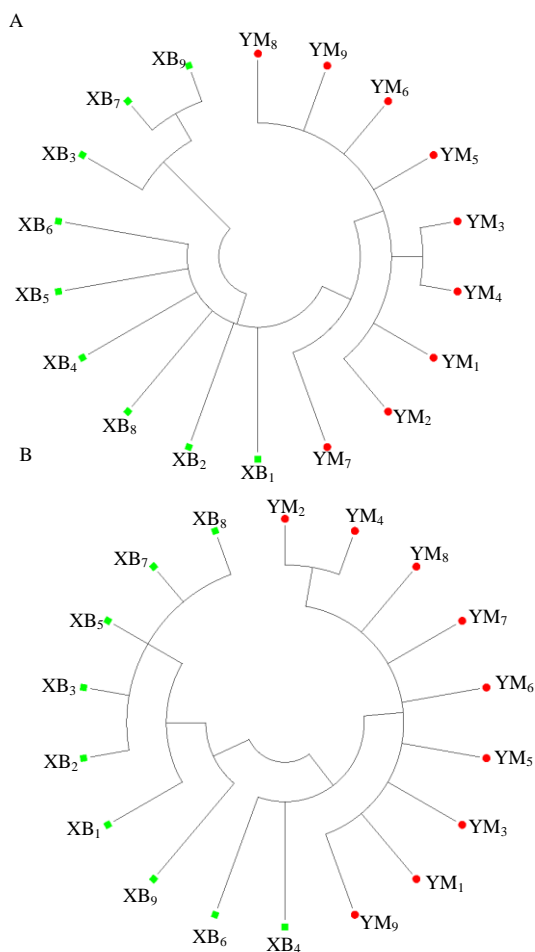


图5 基于 ITS2 (A) 和 *rbcL* (B) 序列构建缘毛紫菀及狭苞紫菀的 NJ 系统聚类树

Fig. 5 Phylogenetic trees of *A. souliei* and *A. farreri* based on ITS2 (A) and *rbcL* (B) sequences

苞紫菀聚为 2 支，分别是 XB₁、XB₂、XB₄、XB₅、XB₆、XB₈ 和 XB₃、XB₇、XB₉。如图 5 所示，用所得的 *rbcL* 序列构建的系统发育树可将 18 个缘毛紫菀及狭苞紫菀样品聚为 2 支，不同产地缘毛紫菀样品及 XB₄、XB₆ 聚为一支，其他的狭苞紫菀样品聚则为另一支。结果表明，ITS2 序列可将缘毛紫菀与狭苞紫菀有效区分，而 *rbcL* 序列中，因 XB₄、XB₆ 与缘毛紫菀之间遗传距离较近，无法与 9 个缘毛紫菀样品明显区分。

4 讨论

目前，藏紫菀虽然有相关的经典鉴定方法，如性状鉴别、薄层鉴别、显微鉴别^[18-19]，但因这些鉴别方法易受个体形态、大小等特征和完整性的影响，难以实现对中药材饮片、粉末等材料来源的准确鉴定，故本研究从分子鉴定方法入手，弥补经典

鉴定方法的不足，并建立一种快速鉴定缘毛紫菀及狭苞紫菀紫菀的方法。

本研究将 DNA 条形码技术应用于缘毛紫菀及狭苞紫菀的分子鉴定研究，从基因角度来鉴定不同区域的 18 个缘毛紫菀及狭苞紫菀样品，根据遗传距离、种内种间变异及 NJ 系统聚类树分析结果显示，ITS2 序列能使不同产地的缘毛紫菀样品和狭苞紫菀样品实现有效区分，而 *rbcL* 序列因 XB₄、XB₆ 与缘毛紫菀样品间的遗传距离很小，以 100% 的支持率与缘毛紫菀聚为一支，无法使缘毛紫菀及狭苞紫菀样品达到有效分离，故 ITS2 序列较 *rbcL* 序列更适合用于不同产地缘毛紫菀及狭苞紫菀的鉴别。

由分析结果可知不同产地的缘毛紫菀相对较保守，亲缘性变化很小，基本保持一致，而狭苞紫菀种内存在相当高的遗传分化，且部分狭苞紫菀样品与缘毛紫菀样品亲缘性较为接近，在一定程度上可能是由紫菀属植物种间基因交流导致的，具体机制还有待深入研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 陈奕君, 吴浩, 魏紫奕, 等. 基于 UHPLC-Q-TOF-MS/MS 的紫菀药材全成分解析 [J]. 药学学报, 2019, 54(9): 1645-1654.
- [2] 何蕾, 马慧萍, 景临林, 等. 藏紫菀总黄酮对缺氧诱导的心肌损伤的保护作用 [J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(4): 1448-1451.
- [3] 赵彤, 邵瑾, 杨颖, 等. 藏紫菀不同溶剂提取物的体外抗氧化活性 [J]. 中成药, 2021, 43(4): 1103-1107.
- [4] 鲜恩英, 边巴卓玛, 格央, 等. 紫菀酮抑制 HeLa 细胞迁移侵袭的作用及机制 [J]. 高原科学研究, 2021, 5(2): 57-63.
- [5] 李兰茹, 马慧萍. 藏紫菀总黄酮及其两种黄酮成分的含量测定 [J]. 中医药导报, 2016, 22(23): 60-63.
- [6] 魏妙洁, 石林春, 赵晴, 等. 三七片 DNA 条形码分子鉴定及方法学考察 [J]. 中草药, 2020, 51(7): 1893-1900.
- [7] 方强强, 王燕, 彭春, 等. 中药 DNA 条形码分子鉴定技术的应用与展望 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(22): 197-205.
- [8] Yu J, Wu X, Liu C, et al. Progress in the use of DNA barcodes in the identification and classification of medicinal plants [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2021, 208: 111691.
- [9] Chen S L, Yao H, Han J P, et al. Validation of the ITS2

- region as a novel DNA barcode for identifying medicinal plant species [J]. *PLoS One*, 2010, 5(1): e8613.
- [10] 李井干, 吴晶, 刘晓宇, 等. 濒危龙树科植物 DNA 条形码鉴定方法 [J]. *江苏农业科学*, 2021, 49(17): 63-66.
- [11] Le D T, Zhang Y Q, Xu Y, *et al.* The utility of DNA barcodes to confirm the identification of palm collections in botanical gardens [J]. *PLoS One*, 2020, 15(7): e0235569.
- [12] Lv Y N, Yang C Y, Shi L C, *et al.* Identification of medicinal plants within the Apocynaceae family using ITS2 and psbA-trnH barcodes [J]. *Chin J Nat Med*, 2020, 18(8): 594-605.
- [13] 郝豆豆, 张勇群, 付苏宏, 等. 基于 ITS2 序列对藏药材植物的分子鉴定 [J]. *中草药*, 2019, 50(12): 2967-2975.
- [14] Sundari, Khadijah, Jayali A M, *et al.* The application of barcode DNA rbcL gene for identification of medicinal plants: Red jabon and gofasa [J]. *J Phys: Conf Ser*, 2019, 1146: 012030.
- [15] Ismail M, Ahmad A, Nadeem M, *et al.* Development of DNA barcodes for selected *Acacia* species by using rbcL and matK DNA markers [J]. *Saudi J Biol Sci*, 2020, 27(12): 3735-3742.
- [16] Han J P, Wang X Y, Chen S L, *et al.* Identification of Chinese patent medicines containing *Fritillariae cirrhosae* Bulbus using ITS2 region [J]. *Sci Sin-Vitae*, 2018, 48(4): 482-489.
- [17] Tamura K, Stecher G, Peterson D, *et al.* MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0 [J]. *Mol Biol Evol*, 2013, 30(12): 2725-2729.
- [18] 马小兵, 张英秀, 苏学燕, 等. 青藏高原产 3 种紫菀属植物的生药学研究 [J]. *华西药学杂志*, 2021, 36(6): 649-654.
- [19] 孔瑶, 金帆, 吴弢. 紫菀药材的薄层鉴别方法研究 [A] // 中华中医药学会中药分析分会第九届学术交流会论文集 [C]. 北京: 中华中医药学会, 2016: 206-213.

[责任编辑 时圣明]