

• 药材与资源 •

利用 DNA 特征序列标记对伊犁贝母的快速鉴定

王多梅^{1,2}, 蒲靖哲^{2,3}, 胡冲^{2,3}, 陈灵丽^{2,3}, 张亚中^{2,3*}, 袁媛^{1*}

1. 中国中医科学院, 医学实验中心, 北京 100700

2. 安徽省食品药品检验研究院, 药品检验研究所, 安徽 合肥 230051

3. 国家药品监督管理局中药质量研究与评价重点实验室, 安徽 合肥 230051

摘要: 目的 利用 DNA 特征序列 (DNA signature sequence, DSS) 标记, 建立一种快速高效的伊犁贝母特异性 DSS 标记分子鉴定方法。方法 通过植物叶绿体基因组综合数据库 (CGIR) 获取贝母属植物全部叶绿体基因组数据, 利用 DSS 鉴定软件 IdenDSS 进行序列分析、DSS 标记筛选和特异性引物对设计, 获得伊犁贝母候选 DSS 标记及相应的引物, 通过特异性引物扩增、DNA 测序及序列比对验证筛选的 DSS 标记, 检测待测样品中是否含有目标物种伊犁贝母的 DSS 或其反向互补序列进行基原鉴定。结果 通过比对验证 5 组 DSS 标记与伊犁贝母、川贝母 6 种正品来源以及《中国药典》中收录的其他 4 种药用贝母平贝母、浙贝母、湖北贝母、新疆贝母序列一致性, 最终确定 5 组 DSS 标记均可用于伊犁贝母快速鉴定, 将上述序列上传至中药分子鉴定平台 (www.herbsdna.com) 标准数据库中, 结合数据库 DSS 鉴定模块 BLAST 功能, 可实现对伊犁贝母快速、准确鉴定。结论 筛选的 5 组 DSS 标记均可用于伊犁贝母快速基原鉴定, 可有效解决伊犁贝母替代川贝母使用难题。

关键词: 伊犁贝母; DNA 特征序列标记; 川贝母; 基原鉴定; 叶绿体基因组

中图分类号: R286.12 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)15-5563-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.15.021

Identification of *Fritillaria pallidiflora* using DNA DNA signature sequence tagWANG Duomei^{1,2}, PU Jingzhe^{2,3}, HU Chong^{2,3}, CHEN Lingli^{2,3}, ZHANG Yazhong^{2,3}, YUAN Yuan¹

1. Medical Experimental Center of China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China

2. Anhui institute of Food and Drug Control, Drug Inspection and Research Institute, Hefei 230051, China

3. NMPA Key Laboratory for Quality Research and Evaluation of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230051, China

Abstract: Objective To establish a rapid and efficient DSS markers molecular identification method for *Fritillaria pallidiflora* using DNA signature sequence tags (DSS). **Methods** The complete chloroplast genome sequences of *Fritillaria* was download from the Chloroplast Genome Information Resource (CGIR) database, the IdenDSS software was used to perform sequence analysis, DSS marker screening, and specific primer design to obtain candidate DSS markers and corresponding primers for *F. pallidiflora*. The screened DSS markers were validated through specific primer amplification, DNA sequencing, and sequence alignment. The target species' DSS or its reverse complementary sequence of *F. pallidiflora* was detected in the test sample for motif identification. **Results** By comparing and verifying the consistency of five pairs of DSS markers with six authentic sources of *F. pallidiflora* and *F. cirrhosae*, as well as the other four medicinal *Fritillaria* listed in the *Chinese Pharmacopoeia*, including *F. ussuriensis*, *F. thunbergii*, *F. hupehensis*, and *F. walujewii*, it was ultimately determined that all five sets of DSS markers can be used for rapid identification of *F. pallidiflora*. The aforementioned sequences were added to the Traditional Chinese Medicine Molecular Identification Platform's standard database (www.herbsdna.com). When paired with the database DSS identification module's BLAST function, *F. pallidiflora* could be quickly and accurately identified. **Conclusion** The all five selected DSS markers could be used for rapid identification of *F. pallidiflora*, which can effectively solve the problem of using *F. pallidiflora* as a substitute for *F. cirrhosae*.

收稿日期: 2025-02-03

基金项目: 国家自然科学基金项目 (82474075)

作者简介: 王多梅, 硕士研究生, 研究方向为中药分子鉴定与质量控制。E-mail: 1052634393@qq.com

*通信作者: 袁媛, 研究员, 博士生导师, 从事中药鉴定与分子生物学研究。E-mail: y_yuan0732@163.com

张亚中, 主任中药师, 硕士生导师, 从事中药质量分析研究。E-mail: 13956985695@139.com

Key words: *Fritillaria pallidiflora* Schrenk; DNA signature sequence tag; *Fritillariae Cirrhosae Bulbus*; original identification; chloroplast genome

伊犁贝母 *Fritillaria pallidiflora* Schrenk 为百合科 (Liliaceae) 贝母属 *Fritillaria* L. 植物, 为多年生草本, 在《中国药典》2020 年版中收载于“伊贝母”项下, 鳞茎入药, 具清热润肺、化痰止咳的功效, 用于治疗肺热燥咳、干咳少痰、阴虚劳嗽、咳痰带血^[1]。伊犁贝母作为传统维药之一^[2], 主要分布于新疆西北部^[3-4], 和同类贝母相比较, 产量较高, 且生物碱含量丰富^[5]。现代药理学研究表明其具有抑菌消炎、清热祛痰、止咳润肺等生理活性^[6-7]。

贝母属药用资源丰富, 《中国药典》2020 年版中贝母属药用资源包括川贝母 *F. cirrhosae* Bulbus、平贝母 *F. ussuriensis* Maxim.、浙贝母 *F. thunbergii* Miq.、湖北贝母 *F. hupehensis* Hsiao et K. C. Hsia、伊贝母 (伊犁贝母 *F. pallidiflora* Schrenk 和新疆贝母 *F. walujewii* Regel) 11 种药用贝母来源, 然而不同种贝母药材功效差异较大, 其中川贝母、伊贝母和平贝母功效相似, 均具清热润肺、化痰止咳、散结消痈的功效; 而浙贝母偏向于解毒散结消痈、清热化痰止咳; 湖北贝母则为清热化痰、止咳、散结^[1]。其中, 川贝母作为“润肺圣药”^[8-9], 在止咳化痰类中成药中应用最为广泛, 近几年由于环境的变化及新冠疫情的影响, 市场上对含贝母类药材的止咳化痰类中成药的需求量增大, 目前市场上已经有超过 100 余种含川贝母中成药^[10], 然而与极大市场需求相反, 川贝母年需求量缺口高达 1 900 t, 供应量远不能满足市场需求^[11-12]。基于此现状, 市场上以伊贝母、平贝母等充当川贝母或混入川贝母出售的现象层出不穷。以伊犁贝母为代表, 近些年来, 新疆多地对伊犁贝母的人工培育取得较好的进展, 伊犁贝母栽培产量大, 市场流通量高。研究表明, 伊贝母与川贝母在治疗炎症和咳嗽等功效中表现出较高的一致性, 历史上存在将伊犁贝母常替代川贝母使用的情况^[13]。但伊贝母相较于川贝母, 不建议长期服用^[14]。由于川贝母人工栽培技术受限于其对海拔的特殊要求, 导致川贝母产量难以满足市场需求, 加上 1~2 年生的小伊犁贝母及平贝母鳞茎个头小, 外观性状与川贝母极其相似, 常冒充川贝母药材流通。同时, 由于产量与市场供应等原因, 药材市场中贝母属药材价格范围差异显著, 其中川贝母药材价格最为昂贵, 达到 3 500~5 200 元/公斤,

伊犁贝母仅 110 元/公斤, 二者价格悬殊, 掺伪或替代使用严重扰乱市场秩序, 影响用药安全。为此, 建立一种快速有效的伊犁贝母鉴定方法, 对解决伊犁贝母替代川贝母使用情况十分必要。

DNA 特征片段 (DNA signature sequence, DSS) 是由本团队自主研发的一类新型 DNA 分子标记^[15-16], 主要来源于叶绿体基因组, 此外还可来源于核基因组及线粒体基因组等, 长度约为 40 bp, 其与来源于其他分类单元相比, DSS 标记只出现在某个特定分类单元中, 具有准确性高和通用性强的特点。在植物类药材鉴定中, DSS 标记基于叶绿体基因组序列差异, 因其序列保守性高、结构稳定等优势相比于传统鉴定方法, 更具准确性和客观性, 是药用植物物种分子鉴定的有力工具^[17-19]。基于 DSS 标记的中药材 DNA 分子鉴定方法不依赖 DNA 序列相似度, 准确度达 100%^[20], 因其序列特点, 目前已广泛应用于多基原药材、冷背药材及配方颗粒等新型制剂的鉴定中^[21-23]。

本研究基于叶绿体基因组综合数据 CGIR (<https://ngdc.cncb.ac.cn/cgir/>)^[24-26] 获取贝母属物种叶绿体基因组数据, 通过数据比对分析, 结合 DSS 鉴定软件 IdenDSS^[16], 筛选得到伊犁贝母物种特异性 DSS 标记, 将伊犁贝母、川贝母正品来源暗紫贝母、卷叶贝母、梭砂贝母、太白贝母、瓦布贝母、甘肃贝母以及《中国药典》中收载的其他 4 种药用贝母平贝母、浙贝母、湖北贝母、新疆贝母通过以上 DSS 标记特异性引物扩增的产物序列与 DSS 标记进行比对验证, 筛选并获得可有效应用于伊犁贝母特异性基原鉴定的标准 DSS 标记, 最终建立伊犁贝母 DNA 分子鉴定方法。并将序列上传至中药分子鉴定平台 (MSS 平台, www.herbsdna.com) 标准数据库中, 结合数据库 DSS 鉴定模块, 实现对伊犁贝母与川贝母及常见药用贝母属药材的快速鉴定, 为解决贝母药用资源混乱等难题提供了可靠的依据。

1 仪器与材料

1.1 材料

本研究共收集伊犁贝母 *F. pallidiflora* Schrenk、新疆贝母 *F. walujewii* Regel、湖北贝母 *F. hupehensis* Hsiao et K. C. Hsia、平贝母 *F. ussuriensis* Maxim.、

浙贝母 *F. thunbergii* Miq., 以及川贝母 6 个来源: 卷叶贝母 *F. cirrhosa* D. Don、暗紫贝母 *F. unibracteata* Hsiao et K. C. Hsia、甘肃贝母 *F. przewalskii* Maxim.、梭砂贝母 *F. delavayi* Franch.、太白贝母 *F. taipaiensis* P.

Y. Li、瓦布贝母 *F. unibracteata* Hsiao et K. C. Hsiavar *wabuensis* (S. Y. Tang et S. C. Yue) Z. D. Liu, S. Wang et S. C. Chen, 共计 107 批, 以上样品由安徽省食品药品检验研究院张亚中鉴定其基原, 具体信息见表 1。

表 1 样品信息

Table 1 Information of sample

| 序号 | 植物基原 | 来源 (批数) |
|----|------|--|
| 1 | 伊犁贝母 | 青海 (4)、四川松潘 (6) |
| 2 | 新疆贝母 | 新疆乌鲁木齐 (5)、四川荷花池药材市场 (3) |
| 3 | 湖北贝母 | 湖北 (5)、亳州康美药材市场 (3) |
| 4 | 平贝母 | 黑龙江 (3)、吉林 (4)、辽宁 (3) |
| 5 | 浙贝母 | 浙江 (7)、亳州康美药材市场 (3) |
| 6 | 卷叶贝母 | 四川阿坝 (4)、青海 (6) |
| 7 | 暗紫贝母 | 四川松潘 (4)、四川阿坝 (4)、青海 (3) |
| 8 | 甘肃贝母 | 青海 (10) |
| 9 | 梭砂贝母 | 青海 (8)、四川阿坝 (2) |
| 10 | 太白贝母 | 青海 (4)、四川 (3)、亳州康美药材市场 (2)、四川荷花池药材市场 (1) |
| 11 | 瓦布贝母 | 四川松潘 (5)、四川阿坝 (3)、四川达古冰川 (2) |

1.2 仪器与试剂

ME204 型分析天平[梅特勒-托利多国际贸易 (上海) 有限公司]; Xinyi-48 型高通量组织研磨仪 (宁波新艺超声设备有限公司); QIAamplifier 型 96 通道聚合酶链式反应 (PCR) 仪 (Qiagen 公司); NanoDrop One 型超微量分光光度计 (Thermo Fisher 公司); HC-2066 型高速离心机 (安徽中科中佳科学仪器有限公司); CXF96 Optics Module I 型凝胶成像仪、170-4486 型水平电泳槽、164-5050 型基础电泳仪 (Bio-Rad 公司); DP-320 型植物基因组 DNA 提取试剂盒[天根生化科技 (北京) 有限公司]; 2×M5 Super FastTaq PCR MasterMix (北京聚合美生物科技有限公司); 琼脂糖 (TaKaRa 公司); 4S GelRed 核酸染料、DL2000 DNA Marker 由生工生物工程 (上海) 股份有限公司提供。

2 方法

2.1 叶绿体基因组的获得

从叶绿体基因组综合数据库 (chloroplast genome information resource, CGIR) 中下载各个物种叶绿体基因组数据, 包括伊犁贝母、湖北贝母、平贝母、浙贝母、新疆贝母, 以及川贝母 6 个来源: 暗紫贝母、卷叶贝母、梭砂贝母、太白贝母、瓦布贝母、甘肃贝母及其他贝母属 *Fritillaria* L. 植物、通用背景物种 (常见包括水果、作物、蔬菜等)。整合上述数据为数据集, 用于伊犁贝母 DSS 组的筛选。

2.2 DSS 组的筛选及 DSS 的引物设计

基于上述基因组数据集, 运用 DSS 标记鉴定软

件 IdenDSS 识别待测物种的 DSS 标记。结合软件的索引 (index) 模块和鉴定 (identify) 模块, 设置截取片段长度为 40 bp, 获得用于伊犁贝母鉴定的特有 DSS 序列组。将筛选的 DSS 序列组按“position”列进行排序, 筛选 5 个 DSS 标记进行验证, 基于软件中的插件模块 (plugin) 的 Primer 插件设计并获取待测物种引物信息。本研究所用引物均由生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成。

2.3 基因组 DNA 的提取

取表 1 中样品适量, 依次用 75%乙醇、无菌超纯水清洗表面, 吸干表面水分, 研细, 取约 20 mg, 置 1.5 mL 离心管中, 采用植物基因组 DNA 提取试剂盒, 参照说明书项下操作提取样品总 DNA。采用微量分光光度计, 以 A_{260}/A_{280} 为 1.6~2.0 为标准检测提取 DNA 的浓度及纯度。

2.4 PCR 扩增和测序

使用上述 5 对特异性引物分别对“2.3”项提取的 DNA 模板进行 PCR 扩增, 每组样品 3 个复孔。PCR 反应体系总体积为 25 μ L, 在 200 μ L 离心管中进行, 其中包括 2×M5 Super FastTaq PCR Master Mix 12.5 μ L、正反引物 (10 μ mol/L) 各 0.4 μ L、DNA 模板 2 μ L、灭菌超纯水 9.7 μ L。将上述离心管置于 PCR 仪中, 5 对特异性引物反应参数均为 95 $^{\circ}$ C 预变性 3 min; 循环反应 40 次 (94 $^{\circ}$ C 变性 15 s, 55 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s); 72 $^{\circ}$ C 终延伸 5 min。另取灭菌超纯水同法上述 PCR 反应操作, 作为空白

对照。PCR 反应结束后，取上述反应产物各 5 μL，采用 1.5%琼脂糖凝胶 (GelRed 染色) 检测。检测合格产物通过 Sanger 测序获得样品完整 DSS 信息，测序委托生工生物工程 (上海) 股份有限公司完成。

2.5 序列分析与鉴定

通过序列比对验证样品 PCR 产物的测序结果所对应的 5 个 DSS 标记，分析待测样品中是否含有与 DSS 标记互补或反向互补的序列，从而判定筛选的 DSS 标记是否可用于伊犁贝母特异性鉴定。最终确定用于伊犁贝母基原鉴定的标准 DSS 标记，并将数据上传至安徽省食品药品检验研究院与中国中医科学院联合建立的中药分子鉴定平台 (www.herbsdna.com) 标准数据库中，结合数据库的 BLAST 功能，实现对伊犁贝母快速、准确

鉴定。

3 结果与分析

3.1 DSS 序列组

以上 CGIR 数据库中获取的叶绿体基因组数据集经 IdenDSS 软件分析计算，设定目标 DSS 长度为 40 bp，共计输出 1 263 条候选的 DSS 标记信息矩阵，包含候选序列信息 (seq)、位置 (position)、产物长度 (product size)、GC 含量等信息，见表 2。

3.2 引物

基于上述获得的 1 263 条 DSS 序列，根据实际情况，结合引物设计原则：长度 18~22 bp，GC 含量 30%~70%，退火温度 55~65 °C，产物长度 300~450 bp，筛选出的 5 组 DSS 标记用于验证，标记 DSS-1~5，DSS 及引物信息见表 3。

表 2 伊犁贝母 DSS 序列组 (仅列举 10 组)

Table 2 The DSS sequence group of *F.pallidiflora* (list only ten groups)

| 序号 | 序列 (5'-3') | 位置 | 产物长度/bp | GC/% |
|----|---|-----------------|---------|------|
| 1 | AAAGAATAAGAGTGATGAATTTATGTTTGTTCCTGAAGTA | 8 876~8 915 | 447 | 27.5 |
| 2 | ACGCTCAAATTGTGCCCAAGGGGGGATGATGAAATATTTG | 42 127~42 166 | 405 | 45.0 |
| 3 | CAATAAAGAATGGAATAAGAATTCATGATAAAATAGAGG | 42 303~42 342 | 365 | 27.5 |
| 4 | TGATCCAATCGTACCACGTAATCCTTTAAGGGGTGTTCTG | 55 992~56 031 | 424 | 45.0 |
| 5 | AGTTACAATGGTATTGTTAAACTTGCTTGAACATGAATA | 76 824~76 863 | 399 | 27.5 |
| 6 | CAAAAAAAAAATTATTATCTATTTTCATTTAGCCCTAGATA | 110 480~110 519 | 367 | 20.0 |
| 7 | TTTTGAACATAAAAAATTTTCGATCTGGTACGCTAAAAAT | 114 879~114 918 | 310 | 25.0 |
| 8 | TCGAATTTCTAAATTCTCATAGGGTCCCGGAATTCCT | 119 729~119 768 | 422 | 42.5 |
| 9 | TAATAGATAAAATGCGTCGGATTCGATGTATTGAAATTA | 122 794~122 833 | 420 | 27.5 |
| 10 | CCTCGTACCATTTCAGGAAATTGAAATAATAACATACGGCC | 124 428~124 467 | 412 | 40.0 |

表 3 伊犁贝母 DSS 及引物信息

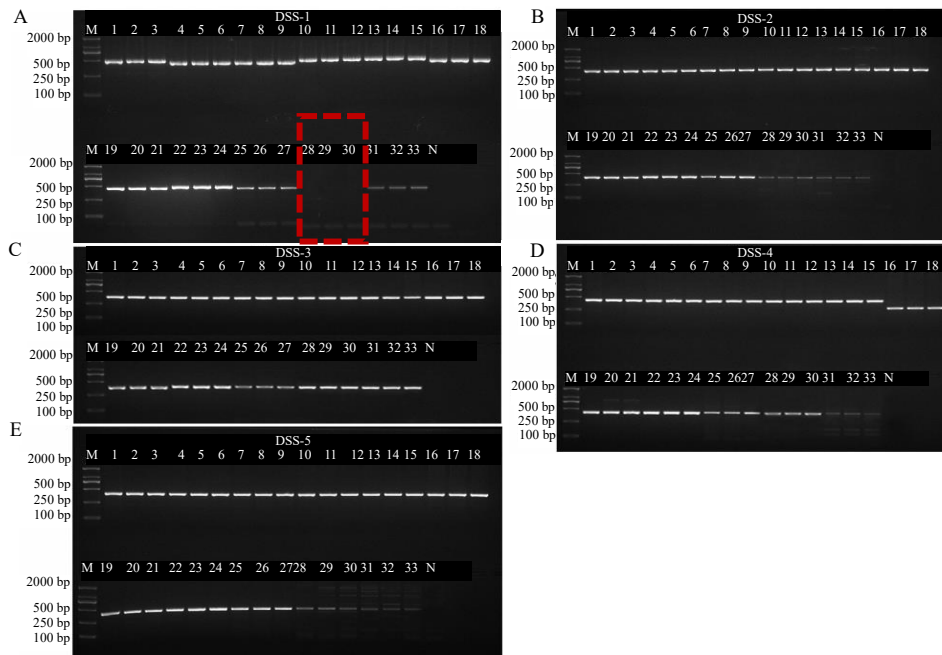
Table 3 DSS and Primer of *F. pallidiflora*

| 编号 | DSS 信息 | 引物序列 (5'→3') | 扩增产物长度/bp |
|-------|--|--|-----------|
| DSS-1 | AAAGAATAAGAGTGATGAATTTATGTTTGTTCCTGAAGTA | F1: GATTCCCGCTACCCGCTTAA R1: AAACACTCACCAAGCAAGCG | 447 |
| DSS-2 | ACGCTCAAATTGTGCCCAAGGGGGGATGATGAAATATTTG | F2: CCATTTATCCGGGATCTAGGCA R2: TCAATTGTATGACGCATACGCA | 405 |
| DSS-3 | CAATAAAGAATGGAATAAGAATTCATGATAAAATAGAGG | F3: GCTCAAATTGTGCCCAAGGG R3: TCCAGTACGAGTAGGACCCA | 365 |
| DSS-4 | TGATCCAATCGTACCACGTAATCCTTTAAGGGGTGTTCTG | F4: GGTTCACAAGCGGCTGAGTA R4: TTCCCCAATTCTCGGAAG | 424 |
| DSS-5 | AGTTACAATGGTATTGTTAAACTTGCTTGAACATGAATA | F5: TGTCCTCGTTTGTGCCTT R5: CGTAGGCGTGACGGATTAT | 399 |

3.3 DNA 提取和 PCR 扩增结果

经微量分光光度计测定所提取样品总 DNA，结果显示，各组样品 A_{260}/A_{280} 为 1.6~2.0，DNA 质量浓度大于 50 μg/mL，均符合实验要求。

经表 2 中对应的 DSS-1~5 特异性引物扩增、电泳检测，结果显示，DSS-1 引物扩增浙贝母，经多次重复验证均无扩增条带 (图 1-A 中框内 28~30 号样品)，说明该引物不适用于浙贝母与伊犁



A-DSS-1 特异性引物扩增凝胶图; B-DSS-2 特异性引物扩增凝胶图; C-DSS-3 特异性引物扩增凝胶图; D-DSS-4 特异性引物扩增凝胶图; E-DSS-5 特异性引物扩增凝胶图; M-Marker, 1~3-暗紫贝母, 4~6-瓦布贝母, 7~9-甘肃贝母, 10~12-梭砂贝母, 13~15-卷叶贝母, 16~18-太白贝母, 19~21-伊犁贝母, 22~24-平贝母, 25~27-湖北贝母, 28~30-浙贝母, 31~33-新疆贝母, N-空白对照, 红色区域表示无扩增条带。
 A-electrophoretogram of DSS-1 specific primers; B-electrophoretogram of DSS-2 specific primers; C-electrophoretogram of DSS-3 specific primers; D-electrophoretogram of DSS-4 specific primers; E-electrophoretogram of DSS-5 specific primers; M-DL500 DNA marker; 1—3-*F. unibracteata*; 4—6-*F. unibracteata* Hsiao; 7—9-*F. przewalskii*; 10—12-*F. delavayi*; 13—15-*F. cirrhosa*; 16—18-*F. taipaiensis*; 19—21-*F. pallidiflora*; 22—24-*F. ussuriensis*; 25—27-*F. hupehensis*; 28—30-*F. thunbergii*; 31—33-*F. walujewii*; N-blank control; The red area indicates no amplification band.

图 1 5组伊犁贝母 DSS 标记特异性引物扩增凝胶图

Fig. 1 Electrophoretogram of five groups of *F. pallidiflora* with DSS marker specific primers

贝母的鉴定,其他贝母用该引物扩增均有较明亮清晰的 DNA 条带; DSS-2~5 特异性引物扩增所提取的各贝母样品基因组 DNA, 均可获得较明亮、清晰条带; 太白贝母经 DSS-4 特异性引物扩增产物大小在 250 bp 左右, 较表 3 中软件导出数据较低, 其余各贝母在不同引物扩增产物大小均在 250~500 bp, 与表 3 中导出数据一致, 见图 1。

3.4 伊犁贝母 DSS 分子标记比对验证

对 5 对相应引物扩增的样品 PCR 产物采用 sanger 测序法测序, 获取相应的序列信息, 用 BioEdit 等分析软件将本次研究对象伊犁贝母及其他湖北贝母、平贝母、浙贝母、新疆贝母、川贝母 6 个来源: 暗紫贝母、卷叶贝母、梭砂贝母、太白贝母、瓦布贝母、甘肃贝母扩增产物的测序结果与筛选的 5 个 DSS 进行比对, 分析待测样品中是否含有 DSS 或 DSS 的反向互补序列, 见图 2。结果显示, DSS-1~5 标记均与伊犁贝母序列 100%匹配, 与川贝母 6 个来源: 暗紫贝母、卷叶贝母、梭砂贝母、太白贝母、瓦布贝母、甘

肃贝母序列及其他湖北贝母、平贝母、浙贝母、新疆贝母均无法 100%匹配。其中, DSS-1 与川贝母 6 个来源及湖北贝母、新疆贝母均存在 1 个位点差异, 与平贝母存在 2 个位点差异; DSS-2 与甘肃贝母存在 2 个位点差异, 与其他贝母均存在 1 个位点差异; DSS-3 与甘肃贝母存在 6 个位点差异, 与平贝母存在 2 个位点差异, 与湖北贝母相比 DSS-3 序列存在 1 个位点的差异和 8 个位点的缺失, 与其余贝母均存在 1 个位点的差异; DSS-4 样品间序列存在一定的差异; DSS-5 与新疆贝母均存在 2 个位点差异, 与其他贝母均存在 1 个位点差异。综合以上, 确定 DSS-1~4、DSS-5 4 组 DSS 标记均可作为伊犁贝母基原鉴定分子标记, 用于区分伊犁贝母和包括川贝母正品来源在内的 10 种其他贝母。如果待测样品序列中不含有以上 DSS 标记或其反向互补序列, 则判定该样品不为伊犁贝母。

同时结合不同的 DSS 标记信息, 基于 DSS-1 序列, 根据差异位点数量, 用于特异性鉴定平贝母; 基于 DSS-2 序列, 根据差异位点数量, 用于特异性鉴定甘肃

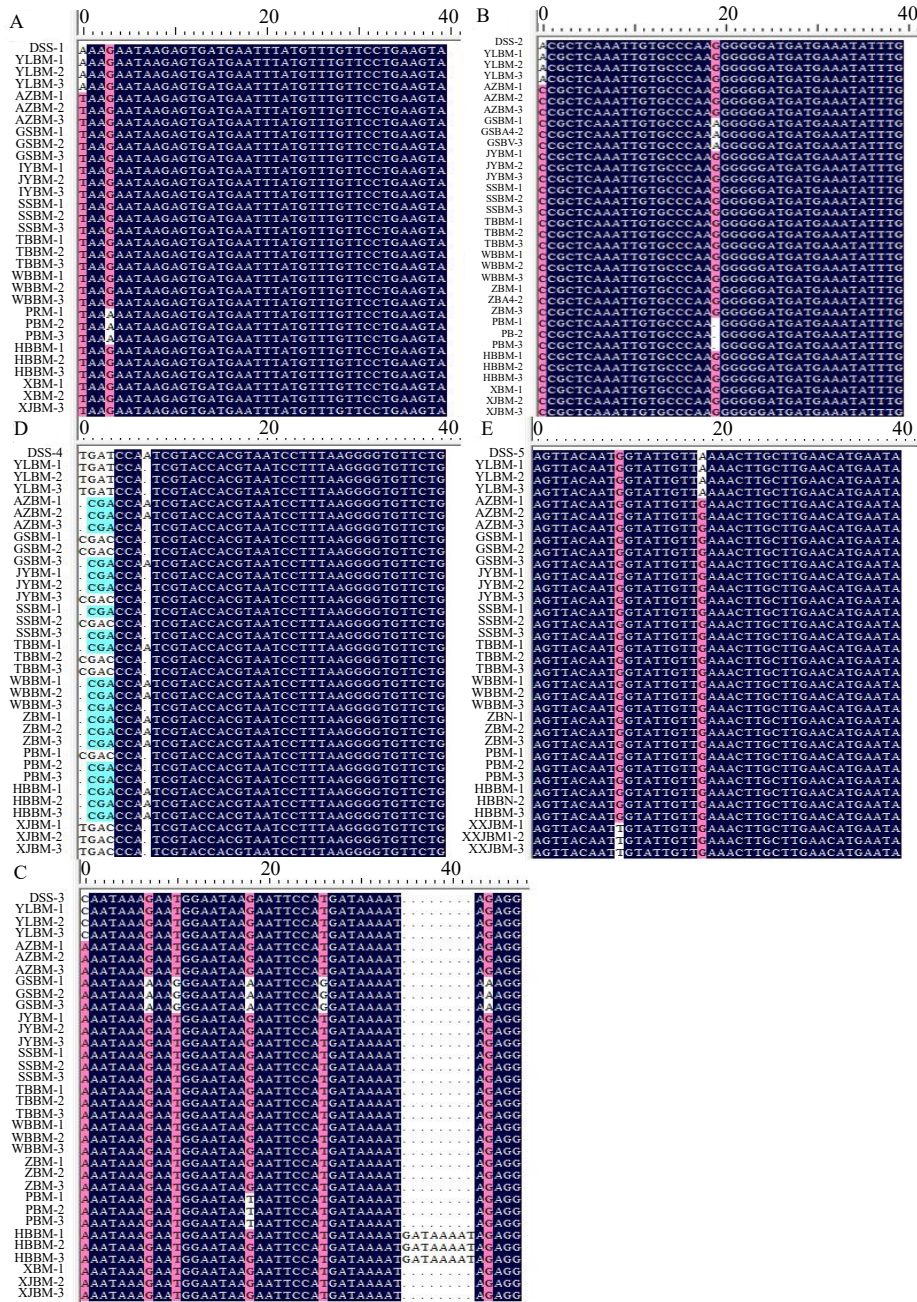


图2 DSS与扩增产物序列比对

Fig. 2 Comparison of DSS and amplified product sequences

贝母; 基于 DSS-3 序列, 根据差异位点数量, 用于特异性鉴定甘肃贝母、平贝母、湖北贝母; 基于 DSS-

5 序列, 根据差异位点数量, 用于特异性鉴定新疆贝母。

- 中国药事, 2023, 37(3): 304-311.
- [10] Lu Q X, Li R, Liao J Q, *et al.* Integrative analysis of the steroidal alkaloids distribution and biosynthesis of *Bulbs Fritillariae Cirrhosae* through metabolome and transcriptome analyses [J]. *BMC Genomics*, 2022, 23(1): 511.
- [11] 高梓童, 王晓玥, 刘杨, 等. 基于 ITS2 序列的川贝母中成药的鉴定 [J]. 中国科学: 生命科学, 2018, 48(4): 482-489.
- [12] Cunningham A B, Brinckmann J A, Pei S J, *et al.* High altitude species, high profits: Can the trade in wild harvested *Fritillaria cirrhosa* (Liliaceae) be sustained? [J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, 223: 142-151.
- [13] 卢其福. 关于药典川贝母品种来源的讨论 [J]. 中药材, 2000, 23(10): 651-653.
- [14] Xu Y, Ming T W, Gaun T K W, *et al.* A comparative assessment of acute oral toxicity and traditional pharmacological activities between extracts of *Fritillaria cirrhosae* *Bulbus* and *Fritillaria pallidiflora* *Bulbus* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2019, 238: 111853.
- [15] Hua Z Y, Jiang C, Song S H, *et al.* Accurate identification of taxon-specific molecular markers in plants based on DNA signature sequence [J]. *Mol Ecol Resour*, 2023, 23(1): 106-117.
- [16] 袁媛, 华中一, 蒋超, 等. 一种使用 DNA 特征序列鉴定植物的方法: 中国, CN113322340B [P]. 2022.09.27.
- [17] Yap J S, Rohner T, Greenfield A, *et al.* Complete chloroplast genome of the wollemi pine (*Wollemia nobilis*): Structure and evolution [J]. *PLoS One*, 2015, 10(6): e0128126.
- [18] 张欢欢, 徐金娣, 周静, 等. 基于 COI 条形码的市售蝉蜕及其混淆品 DNA 分子鉴定研究 [J]. 中草药, 2024, 55(6): 2057-2065.
- [19] 刘晓轩, 陈思雅, 蔡煜涵, 等. 基于文献计量学的中药 DNA 条形码研究态势分析 [J]. 中草药, 2024, 55(15): 5201-5211.
- [20] 王多梅, 蒋超, 蒲婧哲, 等. 《中国药典》植物药基原鉴定 DSS 标准序列库的建立 [J]. 中国中药杂志, 2024, 49(23): 6249-6256.
- [21] 王多梅, 蒲婧哲, 胡冲, 等. 基于 DNA 特征序列标记的南沙参基原鉴定研究 [J]. 中国现代中药, 2024, 26(11): 1848-1853.
- [22] 刘亚男, 华中一, 赵玉洋, 等. 基于 DSS 标记特异性 PCR 鉴别冷背药材木槿皮基原植物及其混伪品 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(17): 133-139.
- [23] 胡力, 陈梓媛, 赵玉洋, 等. 五倍子配方颗粒的位点特异性 PCR 鉴别 [J]. 中国现代中药, 2023, 25(8): 1668-1675.
- [24] Chen T, Yang M, Cui G H, *et al.* IMP: Bridging the gap for medicinal plant genomics [J]. *Nucleic Acids Res*, 2024, 52(D1): D1347-D1354.
- [25] CNCB-NGDC Members and Partners. Database resources of the national genomics data center, China national center for bioinformatics in 2022 [J]. *Nucleic Acids Res*, 2022, 50(d1): D27-D38.
- [26] 陈梓媛, 华中一, 袁媛. 全球物种数量最多的叶绿体基因组数据库的建立及应用进展 [J]. 中国中药杂志, 2024, 49(23): 6257-6263.
- [27] 郭宇, 谢慧敏, 谢慧淦, 等. 栽培川贝母与野生川贝母的外观性状比较 [J]. 华西药学杂志, 2019, 34(6): 613-616.
- [28] 徐云, 谢慧敏, 谢慧淦, 等. 川贝母栽培品的性状分类 [J]. 华西药学杂志, 2018, 33(2): 216-218.
- [29] 李巧, 种叶敏, 陈颖馨, 等. 不同干燥方法对栽培川贝母外观性状及内在质量的影响 [J]. 天然产物研究与开发, 2022, 34(6): 916-924.
- [30] Liu C L, Liu S M, Tse W M, *et al.* A distinction between *Fritillaria Cirrhosa* *Bulbus* and *Fritillaria Pallidiflora* *Bulbus* via LC-MS/MS in conjunction with principal component analysis and hierarchical cluster analysis [J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1): 2735.
- [31] 金鑫, 李春楠, 张辉. 贝母属药材中生物碱类化学成分及其药理活性研究进展 [J]. 中药材, 2022, 45(9): 2273-2279.
- [32] 郑辉, 邓楷煜, 陈安琪, 等. 基于 DNA 条形码的川贝母及其近缘种的分子鉴定与亲缘关系研究 [J]. 药学学报, 2019, 54(12): 2326-2334.
- [33] 潘杰, 陈虹, 冯睿, 等. 杂交探针技术结合熔解曲线鉴别川贝母与伊贝母的研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2019, 30(3): 344-348.

[责任编辑 时圣明]