

# 随机扩增多态性DNA技术对湘产蛇莓种质资源的遗传多样性分析<sup>Δ</sup>

刘湘丹\*,高 昱,张亚利,蔡嘉洛,童巧珍#,张聪子(湖南中医药大学药学院,长沙 410208)

中图分类号 S567.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)19-2628-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.19.11

**摘要** 目的:研究湘产蛇莓种质资源的遗传多样性。方法:建立不同地理分布的蛇莓种质资源随机扩增多态性DNA(RAPD)反应体系,RAPD-聚合酶链反应(PCR)法检测湘产24组蛇莓样本(21个野生品,3个栽培品),琼脂糖凝胶电泳分析结果,计算等位基因数(Na)、有效等位基因数(Ne)、多态性位点百分比(PPB)、Nei's基因多样性指数(H)、Shannon's信息指数(I)。结果:筛选出多态性引物14条,共扩增出90条电泳谱带,其中多态带为81条,Na为1.900 0,Ne为1.540 1,PPB为90.0%,H为0.312 8,I为0.467 5。结论:湘产蛇莓各区域样本间遗传多样性丰富,人工栽培品与野生品之间存在遗传背景上的差异,聚类结果与地理分布表现出明显相关性。**关键词** 蛇莓;种质资源;随机扩增多态性脱氧核糖核酸;遗传多样性;聚类分析;聚合酶链反应

## Analysis of the Genetic Diversity of Germplasm Resources of *Duchesnea indica* from Hunan by Random Amplified Polymorphic DNA

LIU Xiang-dan, GAO Yu, ZHANG Ya-li, CAI Jia-luo, TONG Qiao-zhen, ZHANG Cong-zi (School of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To study the genetic diversity of germplasm resources of *Duchesnea indica* from Hunan. METHODS: The random amplified polymorphic DNA (RAPD) reaction system of germplasm resources was established and RAPD-PCR was adopted to detect the expressions of 24 groups of *D. indica* from Hunan (including 21 wild and 3 cultivated varieties in different geographical distribution). Agarose gel electrophoresis was used to analyze the results and calculate allele number (Na), effective allele number (Ne) the polymorphism points percentage (PPB), Nei's gene diversity index (H) and Shannon's information index (I). RESULTS: Totally 14 polymorphic primers were screened and 90 electrophoresis bands were amplified, including 81 polymorphic bands with Na of 1.900 0, Ne of 1.540 1, PPB of 90.0%, H of 0.312 8 and I of 0.467 5. CONCLUSIONS: The genetic diversity of *D. indica* from Hunan is rich, and there were differences in genetic background between the cultivated species and wild species; clustering results show significant correlation with geographic distribution.

**KEYWORDS** *Duchesnea indica*; Germplasm resources; Random amplified polymorphic DNA; Genetic diversity; Clustering analysis; Polymerase chain reaction

蛇莓 *Duchesnea indica* (Andr.) Focke 种质资源极其丰富,且适应性强、分布广泛。国内外现代化学研究表明,蛇莓全草中含有三萜类、黄酮类、酚酸与香豆素类<sup>[1-2]</sup>等化学成分,临床

用于抑菌、抗肿瘤及促进免疫功能<sup>[3-4]</sup>,其抗肿瘤活性也引起了广大学者的关注<sup>[5]</sup>;同时,蛇莓为观赏价值较高的园艺植物,因此进行蛇莓种质资源的开发、筛选培育优良品种具有十分广



2010,21(31):2 967.

- [7] 安明,赵国君,韦新成.人参皂苷 Rg<sub>1</sub>保护心血管和中枢神经系统的药理活性研究进展[J].中国临床药理学杂志,2012,28(1):75.
- [8] 王巧云,刘凤,吴峰阶,等.人参皂苷 Rg<sub>1</sub>对局灶性脑缺血再灌注损伤大鼠海马p-ERK1/2与p-JNK表达的影响[J].中国中西医结合杂志,2013,33(2):229.
- [9] 周晓棉.人参皂苷 Re 对脑缺血再灌注损伤的保护作用及机制探讨[D].沈阳:沈阳药科大学,2006.

- [10] 吕爽.人参皂苷 Re 的抗休克作用[D].沈阳:沈阳药科大学,2006.
- [11] Gao XQ, Yang CX, Chen GJ, et al. Ginsenoside Rb<sub>1</sub> regulates the expressions of brain-derived neurotrophic factor and caspase-3 and induces neurogenesis in rats with experimental cerebral ischemia[J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, 132(2):393.
- [12] Huang F, Li YN, Li F, et al. Ginsenoside Rb<sub>1</sub> inhibits neuronal apoptosis and damage, enhances spinal aquaporin 4 expression and improves neurological deficits in rats with spinal cord ischemia-reperfusion injury[J]. *Molecular Medicine Reports*, 2015, 11(5):3 565.
- [13] 李相鹏,王鹏,李英霞.原人参二醇型皂苷活性代谢物 Compound K 药理活性的研究进展[J].中国药理学与毒理学杂志,2011,25(1):97.

Δ 基金项目:国家中医药管理局“药用植物学”重点学科资助项目(No.国中医药发[2009]30号);湖南省教育厅项目(No.10C1029);湖南中医药大学优秀教师培养项目(2013);湖南省“中药学”重点学科建设项目(No.湘教通[2011]76号)

\* 讲师,博士。研究方向:中药资源与质量。电话:0731-88458233。E-mail:paeonia\_dd@126.com

# 通信作者:教授,硕士生导师。研究方向:中药资源与质量。E-mail:qztong88@126.com

(收稿日期:2015-01-08 修回日期:2015-03-06)

(编辑:邹雨娟)

阔的前景和意义。

随机扩增多态性 DNA (Random amplified polymorphic DNA, RAPD) 具有技术简单、检测迅速、灵敏度高、特异性强、检测容易、DNA 模板用量少的特点<sup>[6-7]</sup>。本研究应用 RAPD 技术对湖南省不同产地的 24 组蛇莓样本进行分析, 鉴别了不同产地间样本的亲缘关系, 结合课题组前期对湖南省不同产地蛇莓有效成分熊果酸含量差异的分析结果<sup>[8]</sup>, 提示蛇莓种质亲缘关系与其内在化学成分含量存在相关性。本研究可为蛇莓种质资源的保护、开发和利用提供理论依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

TGL-18M 型台式离心机 (湖南赛特湘仪离心机仪器有限公司); MGL96G 型聚合酶链反应 (PCR) 仪 (杭州朗基科学仪器有限公司); GIS-1000B 型核酸蛋白测定仪 (德国 Eppendorf 公司); 1600R 型全自动数码凝胶成像分析系统、EPS300 型电泳仪、VE-180 型电泳槽 (上海天能科技有限公司); Fuhe501 型数显恒温水箱 (江苏金坛医疗仪器有限公司)。

### 1.2 药材

试验所用材料为湖南省不同产地蛇莓新鲜叶片 (见表 1), 采样后洗净, 剪下叶片吸干表面水分, 置封口袋中于 -70 °C 贮藏, 经湖南中医药大学周日宝教授鉴定为真品。

表 1 蛇莓样本

Tab 1 List of *D. indica* samples

序号	编号	采集地	来源
1	隆回1号	邵阳市隆回县小沙江镇金竹山	W
2	隆回2号	邵阳市隆回县小沙江镇岩背	W
3	隆回3号	邵阳市隆回县金石桥镇	W
4	隆回4号	邵阳市隆回县司门前镇	W
5	邵东	邵阳市邵东县南冲水库	W
6	常德1号	常德市安乡	W
7	常德2号	常德市柳叶湖	W
8	常德3号	常德市澧县	W
9	大围山1号	湖南省浏阳市大围山森林公园五指石	W
10	大围山2号	湖南省浏阳市大围山森林公园船底窝	W
11	平江1号	岳阳市平江县冬塔乡黄桥	W
12	平江2号	岳阳市平江县石浆乡	W
13	平江3号	岳阳市平江县幕阜山	W
14	平江4号	岳阳市平江县冬塔乡江青	W
15	衡山	衡阳市南岳区	W
16	湘西	湖南省永顺县西岐乡	W
17	浏阳	浏阳市	W
18	株洲	株洲市	W
19	娄底	娄底市新化县	W
20	植物园	长沙市植物园	C
21	含浦1号	长沙市含浦街道湖南中医药大学药植园	C
22	含浦2号	长沙市含浦街道湖南中医药大学实验楼	C
23	望城	长沙市望城县	W
24	长沙县	长沙市长沙县白山镇	W

注: W 为野生种, C 为栽培品种。12 号样本植株叶深裂, 与其他样本存在差异

Note: W was wild species; C was cultivated varieties. The leaves of sample No.12 were deeply lobed, and was different from other samples

### 1.3 试剂

植物基因组 DNA 提取试剂盒 (北京天根生化科技有限公

司); dNTPs、Taq DNA 酶、10×PCR 缓冲液 (含 Mg<sup>2+</sup>)、RAPD 随机引物均购自生工生物工程 (上海) 股份有限公司; λDNA/Hind III、DL2000 蛋白标准品均购自北京鼎国生物技术有限公司; 无水乙醇、氯仿均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 基因组 DNA 的提取

蛇莓植物基因组 DNA 采用试剂盒法提取。通过核酸蛋白测定仪测得各样本 DNA 纯度: 1.534 < 光密度 (OD)<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> < 2.040, 琼脂糖凝胶电泳检测呈完整谱带, 符合 RAPD-PCR 要求<sup>[8-9]</sup>。

### 2.2 蛇莓种质资源 RAPD-PCR 反应体系的确定

2.2.1 RAPD-PCR 反应体系的建立 结合前期正交试验与单因素试验对影响 RAPD-PCR 体系的 5 个因素水平 (Mg<sup>2+</sup>、dNTPs、TaqDNA 聚合酶、引物及 DNA 模板) 进行优化, 蛇莓种质资源 RAPD-PCR 最优体系 (20 μl): Mg<sup>2+</sup> 1.5 mmol/L, dNTPs 250 μmol/L, Taq DNA 酶 1 u, 引物 0.2 μmol, DNA 模板 60 ng, 双蒸水补齐至 20 μl<sup>[10]</sup>。

2.2.2 引物筛选与退火温度确定 采取快速筛选方式, 选出两个产地来源有较大差异的样本, 对 50 个随机引物进行 2 次重复筛选, 从中选出 14 条带型清晰、多态性高的引物。在 30~45 °C 之间设置 12 个退火温度梯度, 对其进行筛选。通过研究, 筛选出 14 条清晰、条带稳定的多态性引物, 最优退火温度为 37 °C。14 条多态性引物序列及扩增结果见表 2。以引物 P25、P33 为代表对 24 组蛇莓样本进行扩增, 见图 1、图 2。

表 2 14 条多态性引物序列及扩增结果

Tab 2 Primer sequences and amplification results of 14 polymorphic primers

引物	序列 5'-3'	扩增带数	多态带数	多态带的百分比, %
P3	GGGGTCTTT	6	6	100
P8	GAACGGACTC	6	6	100
P9	GTGTGCCCCA	6	5	83.3
P19	AGGGCGTAAG	6	6	100
P25	CCCGGCATAA	7	5	71.4
P27	GTGCCTAACC	6	5	83.3
P32	AGGGCCGTCT	8	8	100
P33	TGTAGCTGGG	11	10	90.9
P42	ACGCAGGCAC	6	4	66.7
P57	GTGACAGGCT	5	3	60.0
P73	CTCCAGCGGA	5	5	100
P86	GGCTGCAATG	7	7	100
P88	TCCGAGAGGG	6	6	100
P99	GTCCTGGGTT	5	5	100

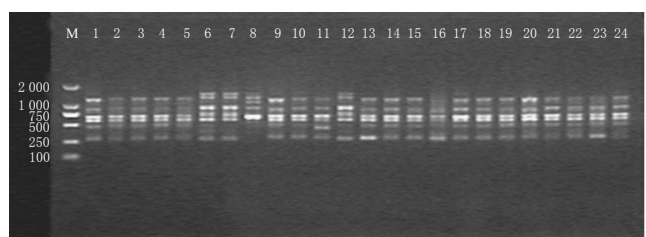


图 1 引物 P25 对 24 组蛇莓样本的扩增电泳图

M. Marker; 1~24. 24 组蛇莓样本

Fig 1 Electrophoretogram of primer P25 to 24 groups of *D. indica* samples

M. Marker; 1-24. 24 groups of *D. indica* samples

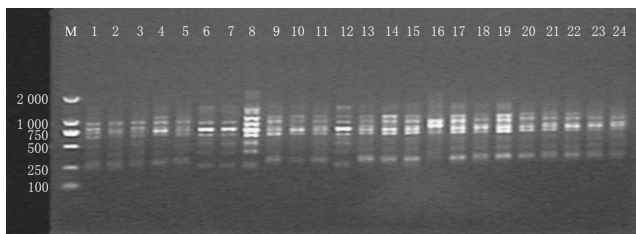


图2 引物P33对24组蛇莓样本的扩增电泳图

M. Marker; 1~24. 24组蛇莓样本

Fig 2 Electrophoretogram of primer P33 to 24 groups of *D. indica* samples

M. Marker; 1-24. 24 groups of *D. indica* samples

2.2.3 RAPD-PCR 扩增程序 优化的RAPD-PCR 扩增程序: 94 °C 预变性 5 min; 94 °C 变性 1 min, 37 °C 退火 1 min, 72 °C 延伸 1 min, 40 个循环; 72 °C 再延伸 5 min。4 °C 贮藏。扩增产物以 1% 琼脂糖凝胶分离, 在恒压下电泳 30 min, 凝胶成像。

### 2.3 数据统计分析

对 24 组蛇莓样本 RAPD-PCR 产物检测结果进行数据统计; 同一引物在迁移位点相同的位置, 有条带记为 1, 无带则记为 0, 模糊不清的条带不计入。以 0、1 格式输入 Excel 表格建立数据库。利用 POPGEN32 软件计算下列遗传参数: 等位基

因数(Na)、有效等位基因数(Ne)、Nei's 基因多样性指数(H)、Shannon's 信息指数(I)、多态性位点百分比(PPB)。采用 NTSYS 生物多态性分析软件, 进行各来源间非加权组平均法(UPGMA)聚类分析, 构建 24 组蛇莓样本的系统聚类分析树状图。

2.3.1 蛇莓种质遗传多样性分析 14 条 RAPD-PCR 引物共扩增出 90 个位点, 其中多态性位点有 81 个, PPB 为 90.0%。平均每条引物扩增出 6.43 条带, 其中 P33 号引物扩增最多, 为 11 条带, 扩增片段范围在 100~2 000 bp, 并且不同引物显示的多态性不一样, 遗传多样性较丰富。24 组蛇莓样本遗传多样性参数见表 3。

表3 24组蛇莓样本遗传多样性参数

Tab 3 Genetic diversity indexes of 24 groups of *D. indica*

样本数	Na	Ne	H	I
24	1.900 0	1.540 1	0.312 8	0.467 5

2.3.2 遗传相似性 利用 POPGEN32 软件计算遗传参数(Na、Ne、H、I)。结果表明, 不同地区间蛇莓种质遗传相似性变化范围为 0.411 1~0.944 4, 其中常德 1 号与常德 2 号遗传相似性最大为 0.944 4, 常德 2 号与植物园的遗传相似度最小为 0.411 1。遗传相似性越大, 说明亲缘关系越近; 反之则亲缘关系越远, 差异也越大。24 组蛇莓样本的遗传相似性见表 4。

表4 24组蛇莓样本的遗传相似性

Tab 4 Genetic similarities of 24 groups of *D. indica*

序号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
1	1.000 0																							
2	0.822 2	1.000 0																						
3	0.888 9	0.888 9	1.000 0																					
4	0.866 7	0.866 7	0.911 1	1.000 0																				
5	0.811 1	0.811 1	0.900 0	0.877 8	1.000 0																			
6	0.500 0	0.522 2	0.544 4	0.611 1	0.555 6	1.000 0																		
7	0.488 9	0.466 7	0.488 9	0.555 6	0.500 0	0.944 4	1.000 0																	
8	0.477 8	0.455 6	0.477 8	0.522 2	0.488 9	0.822 2	0.877 8	1.000 0																
9	0.711 1	0.777 8	0.822 2	0.822 2	0.855 6	0.544 4	0.511 1	0.500 0	1.000 0															
10	0.733 3	0.800 0	0.822 2	0.800 0	0.811 1	0.522 2	0.488 9	0.477 8	0.844 4	1.000 0														
11	0.755 6	0.800 0	0.844 4	0.822 2	0.855 6	0.544 4	0.511 1	0.500 0	0.866 7	0.866 7	1.000 0													
12	0.544 4	0.544 4	0.566 7	0.655 6	0.577 8	0.911 1	0.900 0	0.844 4	0.588 9	0.588 9	0.588 9	1.000 0												
13	0.755 6	0.777 8	0.777 8	0.777 8	0.788 9	0.500 0	0.466 7	0.455 6	0.822 2	0.777 8	0.844 4	0.544 4	1.000 0											
14	0.766 7	0.833 3	0.855 6	0.833 3	0.822 2	0.577 8	0.522 2	0.511 1	0.855 6	0.900 0	0.922 2	0.622 2	0.833 3	1.000 0										
15	0.811 1	0.788 9	0.833 3	0.811 1	0.822 2	0.533 3	0.477 8	0.488 9	0.811 1	0.811 1	0.900 0	0.577 8	0.877 8	0.888 9	1.000 0									
16	0.677 8	0.700 0	0.722 2	0.700 0	0.755 6	0.488 9	0.455 6	0.444 4	0.700 0	0.677 8	0.722 2	0.533 3	0.633 3	0.711 1	0.688 9	1.000 0								
17	0.800 0	0.777 8	0.822 2	0.822 2	0.788 9	0.566 7	0.511 1	0.522 2	0.822 2	0.800 0	0.844 4	0.611 1	0.800 0	0.877 8	0.877 8	0.677 8	1.000 0							
18	0.766 7	0.833 3	0.833 3	0.855 6	0.800 0	0.600 0	0.544 4	0.511 1	0.833 3	0.811 1	0.855 6	0.644 4	0.811 1	0.888 9	0.844 4	0.733 3	0.877 8	1.000 0						
19	0.755 6	0.733 3	0.777 8	0.777 8	0.744 4	0.522 2	0.466 7	0.477 8	0.777 8	0.800 0	0.800 0	0.566 7	0.777 8	0.833 3	0.811 1	0.611 1	0.866 7	0.788 9	1.000 0					
20	0.700 0	0.700 0	0.766 7	0.722 2	0.777 8	0.466 7	0.411 1	0.422 2	0.811 1	0.788 9	0.833 3	0.511 1	0.766 7	0.822 2	0.822 2	0.711 1	0.811 1	0.777 8	0.766 7	1.000 0				
21	0.788 9	0.811 1	0.877 8	0.855 6	0.844 4	0.622 2	0.566 7	0.555 6	0.833 3	0.788 9	0.855 6	0.644 4	0.788 9	0.866 7	0.866 7	0.777 8	0.877 8	0.866 7	0.811 1	0.777 8	1.000 0			
22	0.788 9	0.833 3	0.833 3	0.855 6	0.822 2	0.577 8	0.522 2	0.511 1	0.766 7	0.788 9	0.855 6	0.622 2	0.877 8	0.844 4	0.844 4	0.711 1	0.833 3	0.844 4	0.788 9	0.777 8	0.866 7	1.000 0		
23	0.755 6	0.844 4	0.822 2	0.800 0	0.833 3	0.500 0	0.444 4	0.411 1	0.822 2	0.777 8	0.822 2	0.522 2	0.800 0	0.811 1	0.811 1	0.722 2	0.800 0	0.811 1	0.755 6	0.811 1	0.811 1	0.811 1	1.000 0	
24	0.755 6	0.777 8	0.822 2	0.777 8	0.833 3	0.477 8	0.422 2	0.433 3	0.777 8	0.733 3	0.777 8	0.500 0	0.733 3	0.766 7	0.811 1	0.722 2	0.800 0	0.766 7	0.711 1	0.811 1	0.833 3	0.766 7	0.888 9	1.000 0

2.3.3 聚类结果分析 依据 Nei's 遗传相似度, 利用 NTSYS 软件对 24 组蛇莓样本进行聚类分析, 构建遗传聚类图, 结果进一步明确样本的遗传分化程度及相互之间遗传关系的大小。在阈值为 0.52 的条件下, 将样本划分为两大类: 常德 1 号、常德 2 号、平江 2 号、常德 3 号为一大类, 其余为第二大类, 说明不同产地样本的遗传背景存在很大差异。常德 1 号与 2 号遗

传相似性最大, 为 0.944 4, 因此聚为一类, 二者与常德 3 号都属同一产地, 亲缘关系较近。基于蛇莓 RAPD 的聚类分析树状图见图 3。

由图 3 可知, 第二大类可以进一步在不同相似系数水平上划分出几个小组。如在阈值为 0.70 处又被分为两类, 湘西单独归为一类, 但与其他组的遗传相似度也在 0.63~0.75 之间。

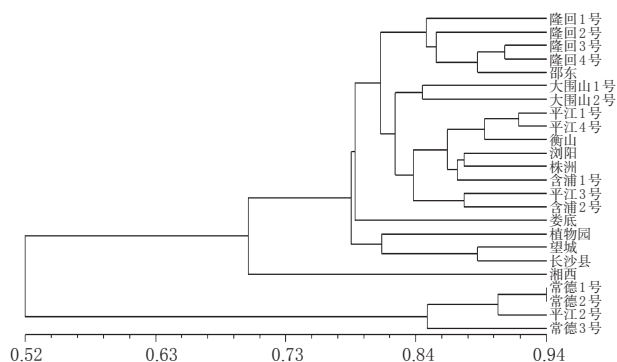


图3 基于蛇莓RAPD的聚类分析树状图

Fig 3 Clustering analysis tree diagram based on the *D. indica* RAPD

其他组可在阈值0.81处分为两小类,植物园、望城、长沙县分为一小类,剩下的16组则出现交叉聚类关系,单独成一小类。分析结果可知,湘产蛇莓种质资源存在遗传多样性。根据RAPD遗传距离系数划分类群结果分析,大部分供试样本与地理位置分布有一定相关性,体现出明显地域差异。来自相同种源地的样本大部分聚在一类,亲缘关系较近,如邵东组和隆回各组间、常德各组间、大围山各组间等;人工栽培品种与野生种之间存在遗传背景上较大的差异,如植物园组蛇莓为人工栽培品种,其与常德2号遗传相似度为0.411 1,在所有供试样本中遗传相似度最小,提示以上两样本间亲缘关系最远。

### 3 讨论

蛇莓喜生于阴湿环境,常生于沟边潮湿草地,在湖南各地均有分布。从聚类分析结果可知,蛇莓种质资源间具有明显的地域差异;如同位于湘北地区的常德、岳阳,其平均海拔在300米以下,同属中亚热带湿润季风气候向北亚热带湿润季风气候过渡地带,两地来源的样本表现出很大的遗传差异;同时,湘产蛇莓种质亲缘关系与其分布地域的海拔存在相关性,如来自中高海拔地区(包括邵阳、湘西等地)的样本间、处于平原及丘陵地区(包括常德、岳阳、长沙等地)的样本间,具有较小遗传相似系数,遗传关系较远。这种环境差异导致的遗传差异,体现了湘产蛇莓对不同环境适应及繁殖衍化的结果。

在同一种源地内蛇莓种质间的亲缘关系近、遗传相似度高、差异小,如常德、岳阳、邵阳、长沙等地区内采集的样本在阈值0.80处均可单独聚成一类,说明来自同一个种源地内的样本亲缘关系近,植物的遗传特征相对稳定。聚类结果揭示了蛇莓种质地理分布区的规律,地理区域相近的样本常聚为一类,表明在蛇莓种质资源收集、保护时要尽可能考虑不同地理来源及不同的生态型。

同为人工栽培品种的植物园、含浦1号、含浦2号可在阈值为0.85处分别聚类在不同组别,反映其各自的亲缘关系与遗传分化历史;常德2号与植物园的遗传相似系数最小,亲缘关系最远,提示野生种与人工栽培品种之间存在遗传背景差异。该研究结果为湖南省蛇莓种质资源的育种、科研和生产开发提供了分子水平上的实验和理论依据。

在采集样本过程中,发现有的蛇莓植株叶形发生变异,如平江2号为野生种,其叶深裂,与其他植株存在差异。从聚类分析的结果亦可看出,其与同样来自平江的其他样本遗传多样性存在较大差异,却与常德1号、常德2号的遗传相似度很大,具体原因还有待考察。

本课题组前期对湖南省不同产地蛇莓有效成分熊果酸含量差异分析结果显示,平江2号样本熊果酸含量最高,常德1号和常德2号样本含量次之<sup>[8]</sup>;结合本试验研究结果,提示蛇莓种质亲缘关系与其内在化学成分含量存在相关性。结合项目组前期蛇莓有效成分分析结果和本试验遗传多样性试验结果,拟选取平江2号蛇莓进行人工栽培,以培育出有效成分含量高、产量高的“双高”蛇莓栽培品种。而且可通过杂交育种,选常德1号或植物园组任一样本为母本材料,杂交培育出性状优异和有效成分含量高的新品种。

结合蛇莓的地域差异对化学成分的影响,从表现型和基因型数据两方面进行阐明,可以考虑对特异性的条带DNA进行回收测序,寻找出调控有效成分累积的特定基因片断;亦可应用RAPD-PCR技术建立的蛇莓DNA指纹图谱,结合化学成分指纹图谱建立蛇莓的种质多元鉴别体系,以快速筛选蛇莓优良种质资源。

### 参考文献

- [1] 王予祺,斯建勇,刘新民,等.蛇莓中鞣花酸和短叶苏木酚羧酸的分离鉴定及含量测定[J].天然产物研究与开发,2008,20(4):667.
- [2] 许文东,林厚文,邱峰,等.蛇莓的化学成分[J].沈阳药科大学学报,2007,24(7):402.
- [3] 彭博,胡秦,王立为,等.蛇莓总酚的抗肿瘤作用及免疫学机制的初步探讨[J].中国药理学报,2007,23(8):1 007.
- [4] 庞然,张淑玲.蛇莓乙醇提取物的体外抗炎机制研究[J].华中科技大学学报:医学版,2009,38(4):481.
- [5] 吴英俊,王超男.蛇莓中齐墩果酸对肝癌细胞SMMC-7721的抑制作用[J].中国生化药物杂志,2011,32(4):306.
- [6] 王鑫,敖红,王秋玉.红皮云杉RAPD和ISSR分子标记反应体系优化和特异性检测[J].植物研究,2008,28(4):417.
- [7] 宋丽,刘友平.花椒RAPD-PCR反应体系的建立与优化[J].中国药房,2011,22(31):2 889.
- [8] 童巧珍,刘义芳,李凤娟,等.湖南省不同产地蛇莓中熊果酸含量差异分析[J].中医药导报,2013,19(6):70.
- [9] 卢圣栋.现代分子生物学实验技术[M].2版.北京:中国协和医科大学出版社,1999:742.
- [10] 张聪子,童巧珍,郭婷,等.蛇莓RAPD与ISSR-PCR反应体系优化[J].江苏农业科学,2014,42(7):50.

(收稿日期:2015-02-07 修回日期:2015-04-07)

(编辑:张 静)