

5种苍术属药用植物的 *trnL-F* 序列测定及种间遗传关系分析

葛燕芬, 杭悦宇^①, 夏冰, 韦阳连

[江苏省·中国科学院植物研究所(南京中山植物园)江苏省植物迁地保护重点实验室, 江苏南京 210014]

摘要: 采用 PCR 技术对 5 种苍术属 (*Atractylodes* DC.) 药用植物的 *trnL-F* 序列进行测定及比较分析。结果表明, 扩增获得的序列长 886~902 bp, 经排序并两端切平后, 序列长 816 bp, G+C 含量为 34.4%; 当空位始终做缺失处理时, 产物有 5 个变异位点。利用 *trnL-F* 序列可准确鉴别出朝鲜苍术 [*A. koreana* (Nakai) Kitam.], 北苍术 [*A. chinensis* (DC.) Koidz.] 和白术 (*A. macrocephala* Koidz.); 而茅苍术 [*A. lancea* (Thunb.) DC.] 与关苍术 (*A. japonica* Koidz. ex Kitam.) 的 *trnL-F* 序列则完全一致, 相互之间无法区分。采用邻接法和 UPGMA 法得到的 5 种苍术属药用植物的分子系统树有一定的差异, 表明这 5 种苍术属药用植物的物种分化不完全, 序列进化不一致。

关键词: 苍术属; 叶绿体基因组; *trnL-F*; 遗传关系; 分子鉴别

中图分类号: Q344+.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0978(2007)02-0012-05

Sequencing of *trnL-F* and analysis of interspecific genetic relationship of five medicinal species in *Atractylodes* DC. GE Yan-fen, HANG Yue-yu^①, XIA Bing, WEI Yang-lian (Jiangsu Provincial Key Laboratory for Plant *Ex-situ* Conservation, Institute of Botany, Jiangsu Province and the Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2007, 16(2): 12-16

Abstract: The *trnL-F* sequences of five medicinal species in *Atractylodes* DC. were analyzed by PCR technique. The results showed that the length of *trnL-F* sequence was 886-902 bp, and the length became to 816 bp after aligned these sequences and cut the overhanging terminals. The percentage of G+C content was 34.4%. When the gaps were always treated as missing, there were five variable sites. Based on *trnL-F* sequences, *A. koreana* (Nakai) Kitam., *A. chinensis* (DC.) Koidz. and *A. macrocephala* Koidz. could be identified accurately. But no difference between the *trnL-F* sequences of *A. lancea* (Thunb.) DC. and *A. japonica* Koidz. ex Kitam., so these two species could not be distinguished from each other. The molecular phylogenetic trees of these five species which constructed by N-J and UPGMA methods were considerable discrepant. It is suggested that species differentiation of these five medicinal species in *Atractylodes* DC. are incomplete and the evolution of DNA sequence is not identical.

Key words: *Atractylodes* DC.; cpDNA; *trnL-F*; genetic relationship; molecular identification

药材苍术为菊科 (Compositae) 苍术属 (*Atractylodes* DC.) 植物茅苍术 [又称南苍术, *A. lancea* (Thunb.) DC.] 和北苍术 [*A. chinensis* (DC.) Koidz.] 的干燥根茎^[1]; 药材白术为同属植物白术 (*A. macrocephala* Koidz.) 的根茎^[1], 而朝鲜苍术 [*A. koreana* (Nakai) Kitam.] 和关苍术 (*A. japonica* Koidz. ex Kitam.) 的根茎在商品市场上也作为苍术入药^[2], 虽然这 5 种植物根茎的药用功能各异, 但它们在形态上却难以区分, 存在药用误区。

选择不同的基因组序列进行 DNA 测序, 可获得不同分类水平上的区分特征。近年来, 该方法已广

泛应用于植物系统进化和物种鉴别的研究^[3-6]。由于 *trnL-F* 基因的非编码区受外界选择压力小, 进化速率较快, 因此已被广泛应用于药用植物种间的鉴别研究^[7,8]。目前, 许多学者将 DNA 序列分析应用于苍术类药材原植物的鉴定。如 Shiba 等^[9] 对茅苍术、北苍术、朝鲜苍术、关苍术和白术 5 种苍术属

收稿日期: 2007-01-15

基金项目: 江苏省自然科学基金重点项目 (BK2005206) 和国家自然科学基金资助项目 (30370292)

作者简介: 葛燕芬 (1981-), 女, 江苏常熟人, 硕士研究生, 主要从事植物分子生物学研究。

^① 通讯作者 E-mail: hangyueyu@21cn.com

植物的252个样品进行了核基因组 ITS 区的测序分析,得到37个变异位点,但由于北苍术和朝鲜苍术的 ITS 区序列一致而无法区分; Mizukami 等^[10]对上述5种苍术属植物进行叶绿体 *trnK* 序列分析,得到了4个变异位点,其中关苍术和茅苍术的 *trnK* 基因1区和 *matK* 序列完全一致,表明茅苍术与关苍术的亲缘关系较近;而且关苍术和茅苍术的 *rbcL* 全基因序列也一致^[11]。以上研究表明,利用 ITS 及 *trnK* 等序列均不能完全区别这5种苍术属植物。为此,作者对苍术属5种药用植物的 *trnL*-F 序列进行了测定和比较,以期对苍术药材原植物的鉴别提供有效的分子标记系统,同时对苍术属植物种间遗传关系

的探讨及系统学研究奠定基础。

1 材料和方法

1.1 材料

供试的茅苍术、北苍术、朝鲜苍术、关苍术和白术的来源见表1,凭证标本存放于江苏省·中国科学院植物研究所。野外采集这5个种的活植物并引种至江苏省·中国科学院植物研究所种质圃中。选取生长状况良好的植株中部的健康嫩叶,去掉主脉后,用70%乙醇擦去叶片表面灰尘,用于总DNA的提取。

表1 供试的5种苍术属药用植物的来源

Table 1 The origins of five medicinal species in *Atractylodes* DC.

样号 No.	种类 Species	采集地 Locality	采集号 Voucher	序列登录号 Accession No.
1	关苍术 <i>A. japonica</i> Koidz. ex Kitam.	辽宁抚顺 Fushun, Liaoning	Xu'enguo 200605010	-
2	朝鲜苍术 <i>A. koreana</i> (Nakai) Kitam.	山东昆嵛山 Kunyushan, Shandong	Geyanfen 200607011	EF028336
3	北苍术 <i>A. chinensis</i> (DC.) Koidz.	北京阳台山 Yangtaishan, Beijing	Liuyuehui 200607009	EF028335
4	茅苍术 <i>A. lancea</i> (Thunb.) DC.	江苏湖山 Hushan, Jiangsu	Xuxiaolan 200311002	EF028337
5	白术 <i>A. macrocephala</i> Koidz.	江苏射阳(栽培) Sheyang, Jiangsu (Cultivated)	Zhouyifeng 200511012	EF028334

1.2 方法

1.2.1 总DNA的提取 总DNA提取参照 Paterson 等的CTAB法^[12]并加以改进。取1~3g叶片,加液氮磨成粉,加入预热至65℃的体积分数2%的CTAB提取缓冲液(含体积分数5%的β-巯基乙醇)650 μL,65℃恒温1h,每隔10min轻轻摇动1次;加入等体积的氯仿-异戊醇(V/V,24:1)混合液抽提1次,轻轻颠倒摇动至提取液上层出现白色浊状物且下层呈深绿色时为止,12 000 r·min⁻¹离心12min;取上清液,加入2倍体积无水乙醇沉淀DNA,-20℃冰箱内放置2h;挑出DNA,用70%乙醇洗涤2次,烘干后,将DNA溶解于灭菌双蒸水中。将提取的DNA粗样用DNA纯化回收试剂盒(北京莱博生物实验材料研究所生产)进行纯化,然后溶解于灭菌双蒸水中,-20℃贮藏备用。

1.2.2 引物的设计 扩增 *trnL* 内含子和 *trnL*-F 基因间隔区所用引物为 c 和 f^[13](图1)。引物 c 序列为 5'-CGAAATCGGTAGACGCTACG-3'; 引物 f 序列为 5'-ATTTGAAGTGGTGACACGAG-3'。

1.2.3 PCR 扩增与检测 扩增反应在 PE-9600 PCR 扩增仪上进行。反应液总体积为 50 μL,包括

80 ng DNA 模板, 2.5 mmol·L⁻¹ MgCl₂, 0.15 mmol·L⁻¹ dNTPs, 1 × Taq DNA 酶缓冲液(含 10 mmol·L⁻¹ Tris-HCl, 50 mmol·L⁻¹ KCl 及体积分数 0.1% Trion x-100, pH 8.4), 0.3 μmol·L⁻¹ 引物和 2.5 U Taq DNA 聚合酶。

扩增程序为:94℃预变性3min;然后于94℃变性45s,58℃退火30s,72℃延伸1min,共35个循环反应;最后于72℃延伸5min。

扩增产物以100bp DNA ladder 作为分子量标记,经1.4%琼脂糖凝胶电泳后,0.5 mg·L⁻¹ 溴化乙锭(EB)染色,Gel Doc 图像分析仪观察,凝胶成像系统拍照。

1.2.4 序列测定 PCR 产物的纯化和序列测定均由上海英骏生物技术有限公司完成。PCR 产物直接双向测序,测序引物为 PCR 引物。

1.3 数据处理

用 CLUSTALX 软件^[14]进行对位排列,并进行适当手工校正。对位排列后的序列用 MEGA 3.1 软件进行序列间的差异分析,并用邻接法(N-J)和UPGMA法构建分子系统树,空缺(gap)始终作缺失(missing)处理。

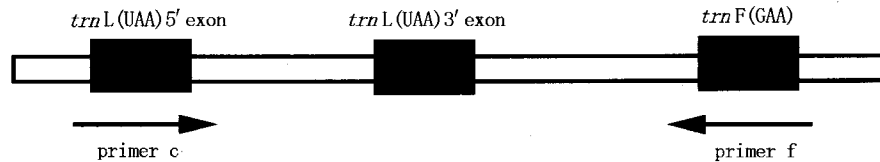


图 1 用于扩增 5 种苍术属药用植物叶绿体 DNA *trnL* 内含子和 *trnL*-F 间隔区的引物位置
Fig. 1 Primer positions used to amplify *trnL* intron and *trnL*-F intergenic spacer of cpDNA of five medicinal species in *Atractylodes* DC.

2 结果和分析

2.1 *trnL*-F 序列长度及碱基频率分析

5 种苍术属植物的 *trnL*-F 序列长 886 ~ 902

bp, 排序后两端切平, 其序列长为 816 bp, 其中关苍术的 *trnL*-F 序列见图 2。序列的碱基频率存在显著偏差, 其中 T 含量最高, G 和 C 含量最低, 平均碱基组成为 A 30.7%、G 17.2%、T 34.9%、C 17.2%, G+C 的含量为 34.4%, 显著低于 A+T 的含量。

5'-ATAACTTTCA	AATTCAGAGA	AACCCTGGAA	TTAATAAAAA	TGGGCAATCC	TGAGCCAAAT	CACGTTTTCC
GAAAACAAAC	AAAGTTCAG	AAA _g CGAAAA	TCAAAAAGGA	TAGGTGCAGA	GACTCGATGG	AAGCTGTTCT
AACGAATCGG	GTTGATTGTC	TIACGTGGT	AGAGGAATCC	TTCTATCGAA	ACTTCAGAAA	AGATGAAAGA
TAAACCTGTA	TACATAATAC	AGAAGAATTG	TTGTGAATCG	ATTCCCTATT	GAAGAAAGAA	TCCAATATTC
ATTGATCAAA	CCATTCACCT	CATAATCTGA	TAGATCTTTT	GAAGAACTGA	TTAATCGGAC	GAGAATAAAG
ATAGAGTCCG	GTTCTACATG	TGAATACCGG	CAACAATGAA	ATTTATAGTA	AGAGGAAAAT	CCGTCGATTT
AAAAAATCGT	GAGGGTTCAA	GTCCTCTAT	CCCCAAAAAG	ACCATGTGAC	TCCCTAATTA	TTTATCGTAT
CCTTTTTATT	TATTTATCC	TTTTTTC _g TT	AGCGGTTCAA	AATTCCTTAT	CITTTCTCATT	CACTACTCTT
TATACAAATG	GATTTGAGC _g	GAAATGCTGT	TCTCTTATCA	CATGTGATAT	ATGATACATG	TACAAATGAA
CATCTTTGAG	CAAGGAATCC	CCATTTGAAT	GATTCACGAT	CGATATTTT _t	ATTCATACTG	AAACTTACAA
ACTTGTCTTT	TTCTTTTGAC	AAATPATAGG	ACCTGGATGA	GGCTTTGTAA	TACCCTTTCA	ATTGACATAG
ACCCAAGTTA	TCTACTAAAA	TGAAAATGAG	GATGAGACAT	CAGGAA	-3'	

小写字母表示变异位点 The small letters indicate the variable sites

图 2 关苍术的 *trnL*-F 序列
Fig. 2 The *trnL*-F sequence of *Atractylodes japonica* Koidz. ex Kitam.

2.2 *trnL*-F 序列的差异分析及鉴别

当空位始终作缺失处理时, 5 种苍术属植物之间存在 5 个单核苷酸变异位点, 具体情况见表 2。由表 2 可见, *trnL*-F 序列的碱基变异类型有 T-C 和 G-A 转换及 G-T 颠换, 无插入或缺失变异。朝鲜苍术在第 94 位存在 1 个特异性碱基 T, 北苍术在第 518

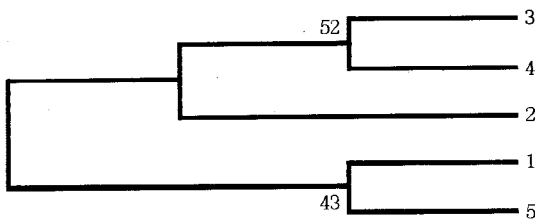
位和第 680 位分别存在特异性碱基 A 和 G, 白术在第 466 位和第 580 位存在特异性碱基 C 和 A。经反复验证, 通过 5 个碱基变异位点可以从这 5 种植物中准确鉴别出朝鲜苍术、北苍术和白术; 茅苍术与关苍术的 *trnL*-F 序列则完全一致, 二者之间无法区分, 但它们与前 3 个种有所区别。

表 2 5 种苍术属药用植物 *trnL*-F 序列的变异位点
Table 2 The variable sites of *trnL*-F sequences of five medicinal species in *Atractylodes* DC.

种类 Species	变异位点 Variable site				
	94th	466th	518th	580th	680th
茅苍术 <i>A. lancea</i>	G	T	G	G	T
北苍术 <i>A. chinensis</i>	G	T	A	G	G
朝鲜苍术 <i>A. koreana</i>	T	T	G	G	T
白术 <i>A. macrocephala</i>	G	C	G	A	T
关苍术 <i>A. japonica</i>	G	T	G	G	T

2.3 基于 *trnL*-F 序列的种间遗传关系分析

采用邻接法 (N-J 法) 和 UPGMA 法, 经 1 000 次重复抽样计算, 获得了 5 种苍术属植物的分子系统树 (图 3 和图 4)。结果显示, 利用这 2 种方法获得的树状图有很大差异。由 N-J 系统树 (图 3) 可以看出, 茅苍术与北苍术的遗传关系最近; 朝鲜苍术与茅苍术和北苍术的遗传关系较近; 而白术与关苍术的遗传关系较近, 但与其他 3 个物种的关系较远。

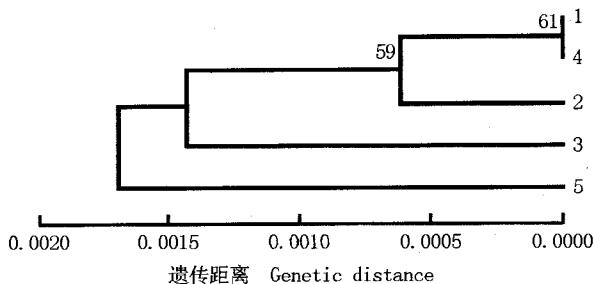


1: 关苍术 *Atractylodes japonica* Koidz. ex Kitam.; 2: 朝鲜苍术 *A. koreana* (Nakai) Kitam.; 3: 北苍术 *A. chinensis* (DC.) Koidz.; 4: 茅苍术 *A. lancea* (Thunb.) DC.; 5: 白术 *A. macrocephala* Koidz.

图3 基于叶绿体基因 *trnL*-F 序列的 5 种苍术属药用植物的 N-J 系统树

Fig. 3 The N-J tree of five medicinal species in *Atractylodes* DC. based on cpDNA *trnL*-F sequences

由 UPGMA 聚类图(图4)可以看出,茅苍术与关苍术的遗传关系最近,朝鲜苍术与它们的遗传关系较近,北苍术与其他 3 个种类的关系较远,而白术与其他 4 个种类的遗传关系更远。



1: 关苍术 *Atractylodes japonica* Koidz. ex Kitam.; 2: 朝鲜苍术 *A. koreana* (Nakai) Kitam.; 3: 北苍术 *A. chinensis* (DC.) Koidz.; 4: 茅苍术 *A. lancea* (Thunb.) DC.; 5: 白术 *A. macrocephala* Koidz.

图4 基于叶绿体基因 *trnL*-F 序列的 5 种苍术属药用植物的 UPGMA 聚类图

Fig. 4 The UPGMA dendrogram of five medicinal species in *Atractylodes* DC. based on cpDNA *trnL*-F sequences

3 讨 论

3.1 关苍术序列的认定

Hidalgo 在 Genbank 上登录了关苍术的 *trnL*-F 序列(登录号 AY772277),将本研究的测序结果与之进行对位排列,发现实验测得的 *trnL*-F 序列在第 491 位存在 1 个碱基的 A-C 颠换。有研究发现,肉桂(*Cinnamomum cassia* Presl)^[9]和花椒(*Zanthoxylum bungeanum* Maxim.)^[15]的不同居群的 *trnL*-F 序列一致;利用 33 个大麻(*Cannabis sativa* L.)居群的 *trnL*-F 间隔区序列可将大麻分成 2 种序列类型,它们之间仅存在 1 个核苷酸缺失位点的变异^[16],说明同一物种不同居群间的 *trnL*-F 序列可能存在差异,

但差异很小。因此,作者测定的关苍术 *trnL*-F 序列与 Hidalgo 的测序结果存在差异是可能的。若按照 Hidalgo 对关苍术的 *trnL*-F 的测序结果(排除测序错误),则可以通过第 491 位的 A-C 碱基差异对茅苍术和关苍术进行鉴别。

3.2 茅苍术和关苍术的遗传关系

用 *matK*^[10]、*rbcL*^[11]和 *trnL*-F 序列都无法鉴别关苍术和茅苍术。在形态上,关苍术和茅苍术的主要差别是前者中下部叶具有较长的叶柄,而后者则几乎无叶柄,但前者上部叶可无叶柄,因此,有无叶柄仅仅是 1 个过渡特征;另一个被认为具有明显差异的特征是关苍术叶片全缘或羽状全裂,而茅苍术叶片全缘、浅裂或深裂^[17],也没有明显界限。关苍术和茅苍术的绝大部分形态特征非常相似,特别是花器官形态非常一致,因此,二者在外部形态上难以区分。

在分子水平上,*trnK* 测序结果^[10]和 RAPD 分析^[18]及根据作者的 *trnL*-F 测序结果所得到的 UPGMA 聚类图等表明,关苍术和茅苍术之间具有较近的遗传关系;而基于 *trnL*-F 序列得到的 N-J 系统树表明,茅苍术与北苍术的遗传关系较近,关苍术与白术的遗传关系较近。从化学成分上看,关苍术主要含苍术酮,茅苍术主要含苍术素^[19-21],化学成分^[19-21]及模糊聚类分析^[22,23]的结果均表明关苍术与白术的亲缘关系较近,而与茅苍术的亲缘关系却较远。因此,有关茅苍术和关苍术亲缘关系的探讨仍需更多的实验研究。

3.3 北苍术和朝鲜苍术的遗传关系

前人的实验结果证明^[9],用 ITS 序列无法区分北苍术和朝鲜苍术。这 2 个种类在形态上非常相似,仅叶片的分裂程度略有不同,前者为全缘叶和裂叶,后者为全缘叶^[17]。刘慎鄂^[24]曾将朝鲜苍术定为北苍术的变种,也表明这 2 个种类具有非常近的亲缘关系。作者的 *trnL*-F 测序结果及据此所作的 2 种系统树与前人的研究结果相似,表明朝鲜苍术与北苍术和茅苍术的遗传关系均较近。

3.4 茅苍术和北苍术的亲缘关系

《中国植物志》^[17]将茅苍术和北苍术合并为苍术[*A. lancea* (Thunb.) DC.]。在基于 *trnL*-F 序列的 N-J 系统树中显示 2 个种类的遗传关系紧密,但这 2 个种类的 *trnL*-F 序列存在 2 个稳定的变异位点且 UPGMA 聚类图也表明二者的遗传关系较远,而

且,这2个种类在地理分布及形态特征上存在交叉^[20],化学成分上也有少许差异^[19-21]。因此,作者认为,将北苍术作为苍术变种[*A. lancea* (Thunb.) DC. var. *chinensis* (Bunge) Kitam.]的分类处理^[20]是合适的。

白术是这5个种类中比较特殊的1个种,其花器官^[17]及叶表皮细胞^[25]形态与其他种类均有很大区别,表明白术与它们的亲缘关系较远;ITS^[9]和[10]序列分析也表明,白术与苍术属其他种类间的亲缘关系较远。本实验结果也部分验证了这一点。

不同学者利用不同基因片段序列测定结果对茅苍术、北苍术、朝鲜苍术、关苍术和白术5个种类亲缘关系的研究结果不一致,且这些种类在形态上极度相似并具有过渡性特征(白术除外),说明茅苍术、北苍术、朝鲜苍术、关苍术和白术这5种苍术属植物的物种分化不完全,序列进化不一致。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2005 年版(一部) [M]. 北京: 化学工业出版社, 2005. 111.
- [2] 邢秀芳, 王丽华, 闫刚. 苍术属三种植物叶表皮研究[J]. 黑龙江医药, 1997, 10(2): 91-92.
- [3] 李春香, 陆树刚, 杨群. 滇南桫欏的系统位置: 来自叶绿体 trnL 内含子和 DNA trnL-F 间隔区序列的证据[J]. 云南植物研究, 2004, 26(5): 519-523.
- [4] 杨俊波, 李洪涛, 杨世雄, 等. 四个 DNA 片段在山茶属分子系统学研究中的应用[J]. 云南植物研究, 2006, 28(2): 108-114.
- [5] 曹晖, 刘玉萍, 伏见裕利, 等. 三七及其伪品的 DNA 测序鉴别[J]. 中药材, 2001, 24(6): 398-402.
- [6] Zhao Z L, Zhou K Y, Dong H, et al. Characters of nrDNA ITS region sequences of *Alpinia galanga* and their adulterants [J]. *Planta Med*, 2001, 67(4): 381-383.
- [7] Yang M H, Zhang D M, Liu J Q, et al. A molecular marker that is specific to medicinal rhubarb based on chloroplast trnL/trnF sequences [J]. *Planta Med*, 2001, 67(8): 784-786.
- [8] Kojoma M, Kurihara K, Yamada K, et al. Genetic identification of Cinnamon (*Cinnamomum* spp.) based on the trnL-trnF chloroplast DNA [J]. *Planta Med*, 2002, 68(1): 94-96.
- [9] Shiba M, Kondo K, Miki E, et al. Identification of medicinal *Atractylodes* based on ITS sequences of nrDNA [J]. *Biol Pharm Bull*, 2006, 29(2): 315-320.
- [10] Mizukami H, Shimizu R, Kohjyouma M, et al. Phylogenetic analysis of *Atractylodes* plants based on chloroplast trnK sequence [J]. *Biol Pharm Bull*, 1998, 21(5): 474-478.
- [11] 清水亮辅. 苍术属植物基因碱基序列的多态性[J]. 悦悦编译. 国外医学·中医中药分册, 1998, 20(4): 59.
- [12] Paterson A H, Brubaker C L, Wendel J F. A rapid method for extraction of cotton (*Gossypium* spp.) genomic DNA suitable for RFLP of PCR analysis [J]. *Plant Mol Biol Rep*, 1993, 11(3): 122-127.
- [13] Taberlet P T, Gielly L, Patou G, et al. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA [J]. *Plant Mol Biol*, 1991, 17: 1105-1109.
- [14] Thompson J D, Gibson T J, Plewinak F, et al. The clustal-x windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools [J]. *Nucl Acids Res*, 1997, 25: 4876-4882.
- [15] 沈洁, 丁小余, 张卫明, 等. 花椒 cpDNA trnL-F 间隔区序列的特征及其在混淆品鉴别中的应用 [J]. 中国野生植物资源, 2004, 23(3): 29-32.
- [16] Kohjyouma M, Lee I J, Iida O, et al. Interspecific variation in *Cannabis sativa* based on intergenic spacer region of chloroplast DNA [J]. *Biol Pharm Bull*, 2000, 23(6): 727-730.
- [17] 林榕, 石铸. 中国植物志 第七十八卷 第一分册 [M]. 北京: 科学出版社, 1987. 23-28.
- [18] 郭兰萍, 黄璐琦, 王敏, 等. 南北苍术的 RAPD 分析及其划分的初步探讨 [J]. 中国中药杂志, 2001, 26(3): 156-158.
- [19] Kohjyouma M, Nakajima S, Namera A, et al. Random amplified polymorphic DNA analysis and variation of essential oil components of *Atractylodes* plants [J]. *Biol Pharm Bull*, 1997, 20(5): 502-506.
- [20] 傅舜谟, 方洪钜, 刘国声, 等. 苍术属药用植物的研究 [J]. 植物分类学报, 1981, 19(2): 195-201.
- [21] 马起凤, 孟宪纾, 周汉荣. 中国苍术属化学成分与分类学的研究 [J]. 沈阳药学院学报, 1982, 3: 54-61.
- [22] 陈彦, 叶崇义, 刘舞霞, 等. 高分辨气相色谱-模糊聚类分析法在术类药材分类中的应用 [J]. 药学学报, 1995, 30(3): 230-234.
- [23] 潘晔陵, 汪炜, 叶崇义. 模糊聚类分析应用于术类药材分类的基本模式 [J]. 中国药科大学学报, 1994, 25(6): 348-352.
- [24] 刘慎鄂. 东北植物检索表 [M]. 北京: 科学出版社, 1959. 410.
- [25] 彭华胜, 王德群. 4种苍术属药用植物叶表皮显微研究 [J]. 现代中药研究与实践, 2006, 20(1): 28-31.