

不同产区太子参的 rDNA ITS 区序列的比较

余永邦¹, 秦民坚^{1,①}, 梁之桃¹, 余国奠¹, 谭宁华²

(1. 中国药科大学中药资源研究室, 江苏 南京 210038; 2. 中国科学院昆明植物研究所, 云南 昆明 650204)

摘要: 使用 1 对引物 18SP1 和 26SP2 对来自 14 个产区的太子参 [*Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax ex Pax et Hoffm.] 进行 ITS 基因的 PCR 扩增和测序。序列分析结果表明, 14 个产区太子参的 ITS1 片段长度为 219 ~ 222 bp, ITS2 片段长度为 235 ~ 236 bp, 5.8S 片段长度为 155 ~ 157 bp。除江苏宜兴, 江苏句容马梗, 江苏南京老鹰山和江苏溧阳等 4 个产区的 ITS 序列碱基完全一致外, 其他 10 个产区的 ITS 序列则有不同变异, 碱基变异数目(包括 5.8S 编码区)为 1 ~ 17 个。使用 UPGMA 法重建系统发生树, 从分子生物学角度说明了它们的变异程度, 为利用 ITS 区序列的差异鉴别不同产区的太子参提供了依据。

关键词: 太子参; ITS 序列; PCR

中图分类号: S567.5+3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0978(2003)04-0001-05

Ribosomal DNA ITS sequence comparisons of *Pseudostellaria heterophylla* from different geographical regions YU Yong-bang¹, QIN Min-jian^{1,①}, LIANG Zhi-tao¹, YU Guo-dian¹, TAN Ning-hua² (1. Department of TCM Material Resources, China Pharmaceutical University, Nanjing 210038, China; 2. Kunming Institute of Botany, the Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2003, 12(4): 1-5

Abstract: A pair of primers of 18SP1 and 26SP2 were used to study the ITS sequences of *Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax ex Pax et Hoffm. from 14 different geographical regions by PCR technique. Sequences analysis showed that ITS1 is 219-226 bp, ITS2 235-236 bp and 5.8S 155-157 bp. Among 14 regions, except 4 sequences of ITS of *P. heterophylla* from Yixin, Mageng of Jurong, Laoying Mountain in Nanjing and Liyang of Jiangsu showed no variation, there are 1-17 variable sites (including 5.8S coding region) in pairwise comparison of other 10 regions. Phylogenetic tree based on ITS1, ITS2 and 5.8S sequences data was reconstructed by using UPGMA methods, which shows the variation at the level of molecular biology. It provided the basis for identifying *P. heterophylla* from different geographical regions according to the variation of the ITS sequences.

Key words: *Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax ex Pax et Hoffm.; ITS sequence; PCR

太子参为石竹科 (Caryophyllaceae) 孩儿参属 (*Pseudostellaria* Pax) 植物孩儿参 [*Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax ex Pax et Hoffm.] 的干燥块根。具有益气生津, 补肺健脾之功效, 主治心悸自汗, 疲倦乏力, 脾虚食少, 气阴不足, 自汗口渴, 肺燥干咳等症^[1], 收载于中华人民共和国药典中。一般认为江苏为太子参地道产区, 近年来野生太子参资源日渐减少, 但需求量不断增大, 山东、安徽、福建和贵州等地也开始人工栽培太子参。由于栽培环境与野生状态不同, 其块根在形态上发生了部分的变异, 栽培品种较粗壮, 而野生品则较细小。随着太子参栽培地区扩大, 流通品系增多, 亟待对各品系进行质量评价研究^[2]。

核糖体 DNA 中的内转录间隔区 (Internal Transcribed Spacer, ITS) 序列的进化速率较快, 存在种内多态性^[3-5], 近年来被用于植物种内居群间的差异性研究^[6-9]。为探讨不同产区太子参分子生物学方面的差异, 给太子参的 GAP 生产提供理论依据, 作者采集了 14 个不同产区太子参栽培和野生样品, 采用 PCR 直接测序技术进行了太子参 rDNA ITS 区序列的测定, 并用 MEGA2 软件进行了分析, 从分子水平上比较不同地区太子参的差异。

收稿日期: 2003-05-18

基金项目: 江苏省自然科学基金资助项目 (BK200176)

作者简介: 余永邦 (1976-), 男, 广东台山人, 硕士研究生, 主要从事药用植物种质资源与质量关系研究。

① 通讯作者

1 材料与方 法

1.1 材 料

用于提取总 DNA 的材料除采自贵州施秉的样品为太子参干燥药材外,其他样品均为 2002 年 7 月和 11 月采集的新鲜太子参块根,经中国药科大学秦民坚博士鉴定,存放于冷冻箱备用。各样品采集地见表 1。

表 1 太子参采集地

Table 1 The locations of *Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax et Hoffm.

| 样号 No. | 采集地 Collecting location |
|--------|---|
| 1 | 山东临沂 Linyi, Shandong |
| 2 | 江苏南京紫金山 Zijin Mountain in Nanjing, Jiangsu ¹⁾ |
| 3 | 江苏句容长湾 Changwan in Jurong, Jiangsu |
| 4 | 贵州施秉 Shibing, Guizhou |
| 5 | 江苏溧阳 Liyang, Jiangsu |
| 6 | 江苏南京 Nanjing, Jiangsu |
| 7 | 江苏镇江宝华山 Baohua Mountain in Zhenjiang, Jiangsu ¹⁾ |
| 8 | 山东文登 Wendeng, Shandong |
| 9 | 安徽滁州琅琊山 Langya Mountain in Chuzhou, Anhui ¹⁾ |
| 10 | 福建柘荣 Zherong, Fujian |
| 11 | 江苏南京老鹳山 Laoying Mountain in Nanjing, Jiangsu ¹⁾ |
| 12 | 江苏宜兴 Yixing, Jiangsu |
| 13 | 江苏句容马梗 Mageng in Jurong, Jiangsu |
| 14 | 安徽宣城 Xuancheng, Anhui |

¹⁾野生样品 Wild plant

1.2 仪器与试剂

温热混匀仪 (Eppendorf Thermomixer Comfort, Germany), PCR 仪 (Eppendorf Mastercycler Gradient, Germany), 电泳仪 (DDY-III, 北京六一仪器厂), 凝胶成像系统 (上海四星生物技术公司), 离心机 (Eppendorf Centrifuge5417R, Germany), CTAB (上海 Sangon 公司), Tris 碱 (南京格瑞生物有限公司), TaqDNA 聚合酶, dNTP (上海 Sangon 公司), PCR 扩增引物 (上海申友生物技术有限公司), 琼脂糖 (上海 Sangon 公司), PCR 产物纯化试剂盒 (杭州维特洁生化技术有限公司), 溴化乙锭 (SIGMA 公司), 其他溶剂均为分析纯。

1.3 总 DNA 提取

根据参考文献 [10] 中的总 DNA 提取方法,并稍加改动,具体步骤如下:取样品块根,用冷蒸馏水清洗干净,经液氮研磨后,加入预热的总 DNA 提取缓冲液 2 × CTAB (2% CTAB, 100 mmol/L Tris-HCl, 20

mmol/L EDTA, 1.4 mol/L NaCl) 1.5 mL, 混匀, 65℃ 水浴保温 90 min, 不时振摇; 取出放至室温, 9 000 r/min 离心 10 min, 吸取上清液, 加入等体积氯仿-异戊醇 [V(氯仿): V(异戊醇) = 24:1] 混合, 轻轻摇匀, 9 000 r/min 离心 10 min, 重复以上步骤 1 次; 吸取上清液, 用 2/3 体积的异丙醇沉淀 DNA 30 min 或更长时间, 9 000 r/min 离心 5 min, 倾出液体, 将沉淀物用 70% 乙醇洗涤 2~3 次, 室温风干, 加入 50 μL ddH₂O 重悬 DNA; 经纯化试剂盒纯化后置于 -20℃ 保存备用。

1.4 ITS 区片段的 PCR 扩增

PCR 扩增的引物为 18SP1: CGT AAC AAG GTT TCC GAT GGT GAA; 26SP2: TTA TTG ATA TGC TTA AAC TCA GCG GC。以扩增 3'-18S-ITS-26S-5' (包括 5.8S 编码区) 片段。反应体积为 30 μL, 其中含 10 × PCR buffer 3 μL, MgCl₂ (2.5 mmol/L) 2 μL, dNTP mix (2.5 mmol/L) 1.8 μL, Template DNA 1.0 μL, Primer 1 (10 mmol/L) 1.0 μL, Primer 2 (10 mmol/L) 1.0 μL, ddH₂O 20 μL, TaqDNA polymerase (10 pmol/L) 0.2 μL。扩增条件为: (1) 95℃ 预变性 4 min, (2) 95℃ 变性 1 min, (3) 58℃ 复性 45 s, (4) 72℃ 延伸 2 min, (5) 重复 (2) - (4) 步骤共 30 个循环, 循环完成后, 反应结束。产物置 4℃ 保存。

1.5 ITS 序列测序

用 BigDye™ 测序试剂盒进行测序反应, 测序反应参数为: Mix 1 μL, 纯化后的 DNA 片段 10~40 pmol, buffer 1.2 μL, ddH₂O 适量。测序反应条件为: 95℃ 预变性 5 min, 95℃ 30 s, 50℃ 20 s, 60℃ 4 min, 共 30 个循环。扩增产物纯化后用 10 μL TSR 溶解, 热循环仪上变性 2 min, 移入全自动测序专用管。用 ABI310 全自动仪 (南京百赛生物有限公司) 进行序列测定, 为保证序列测定的精度, 使用了双向测序。

1.6 序列的对位排列与分析

用 CLUSTALX (1.8) 软件对 14 个产区太子参 ITS 序列进行对位排列, 然后手工校正, 以尽量减少排列所需缺失的数目。得到的序列用 MEGA2 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 2.0) 软件进行系统发生分析。

2 结果与讨论

2.1 不同产区太子参 ITS 碱基序列的长度

江苏为太子参的地道产区, 江苏宜兴产太子参

的 ITS 序列见图 1。太子参的 ITS 序列为首次报道,其核糖体 DNA 内转录间隔区 ITS1 和 ITS2 与 3 个编码区 18S、5.8S 和 16S 的界限参照石竹科近缘属蝇子草属植物 *Silene aegaea*^[11] 的序列资料确定,并测定了 14 个产地样品的 ITS1、5.8S 和 ITS2 全序列,其中 ITS1 序列长为 219~222 bp, 5.8S 为 155~157 bp, ITS2 为 235~236 bp。

2.2 不同产区太子参 ITS 碱基的异同

14 个产地样品 ITS 全序列的具体变异位点见图 2。江苏宜兴、江苏句容马梗、江苏南京老鹰山和江苏溧阳等产区太子参样品 ITS 全序列完全一致;江苏南京紫金山、江苏句容长湾、贵州施秉和山东临沂等产区样品的 ITS1 和 5.8S 序列与江苏宜兴完全一致,碱基变异只存在于 ITS2 中;江苏南京、山东文登和福建柘荣等产区样品 5.8S 和 ITS2 序列与江苏宜

兴的完全一致,碱基变异只存在于 ITS1 中;江苏镇江宝华山样品的 5.8S 序列与江苏宜兴的一致,变异存在于 ITS1 与 ITS2 中;安徽琅琊山样品的 ITS1、5.8S 和 ITS2 序列与江苏宜兴的均有不同的变异;安徽宣城产区的样品与其他 13 个产区样品的序列相比均有较大的变异。

2.3 不同产区太子参的遗传距离

各产区太子参样品的 ITS 序列之间的遗传距离见表 2。其中遗传距离(p-distance)范围为 0.000 0~0.024 7,标准误差范围为 0.000 0~0.005 9。

2.4 重建系统发生树

由于 ITS1 和 ITS2 片段的长度有限,各自所能提供的信息有限,因此将这 2 个片段及 5.8S 片段综合起来分析,以 UPGMA 法重建系统树,如图 3 所示。

```
(ITS1)TCGAAACTGCCAGCAGAACGACCAGCGAACATGTTTTACACTCGAGCGTTGGGGTACTTGCTCC
TCGGTTCGAGCCAAGGGGTGACCACCTGTGGGCCTTCCCTTTGGCATCTAAACGAACCCCGCGCGAAAAG
CGTCAAGGAAATTAACATAATATGAGCTCCCTCCCTTTTCCCGGTTTCCGGTGCCTGGGTGTGGTCCCAT
GTCTTAACATT(5.8S)AAACGACTCTCGGCAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGA
AATGCCATACTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCCCGGAGG
CCTTTGGCTGAGGGCACGCTCGCTGGGCG(ITS2)TCACGCATCGCAGCCCCCTCACTCCCACCCTTAGTGG
GATGGGGAGGAAGATGGTTTCCCGTGCCTCACCGGGCACGGTTGGCCTAAAATTGGAGCCTAAGGCATTG
AGTTGTCGCGGCAATAGGTGGTGAACAAGCCCTTGGCCGTGCAAGCAACCAGTCTGCAACCCTTTGACA
ATCGAAGCTCGTAGGAGACCCTATGATGTTGCCCTTTTGGTGACACAAACTGTTGCCGAC
```

图 1 江苏宜兴产太子参的 ITS 序列
Fig. 1 ITS sequence of *Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax ex Pax et Hoffm. in Yixing, Jiangsu

| | 0000000002 | 2344555555 | 5556666666 | 666666 |
|---|------------|------------|------------|--------|
| 江苏宜兴 Yixing, Jiangsu | 0001112786 | 6701457778 | 8890000000 | 111112 |
| 江苏句容马梗 Mageng in Jurong, Jiangsu | 3671684345 | 8817460364 | 8911234689 | 012680 |
| 江苏南京老鹰山 Laoying Mountain in Nanjing, Jiangsu | GA-C-A--CG | G---CGGGG | -TGCACAAAC | T--GG- |
| 江苏溧阳 Liyang, Jiangsu | | | | |
| 山东临沂 Linyi, Shandong | | | -C.....TA | ----- |
| 江苏南京紫金山 Zijin Mountain in Nanjing, Jiangsu | | |T. | |
| 江苏句容长湾 Changwan in Jurong, Jiangsu | | |TA | C----- |
| 贵州施秉 Shibing, Guizhou | | |C.A | CCT..A |
| 江苏南京 Nanjing, Jiangsu | CTAG--G... | | | |
| 江苏镇江宝华山 Baohua Mountain in Zhenjiang, Jiangsu | --G-..... | | C...ACT | |
| 山东文登 Wendeng, Shandong | ..C-..... | | | |
| 安徽滁州琅琊山 Langya Mountain in Chuzhou, Anhui | ..C.-T--T- |A.. | | |
| 福建柘荣 Zherong, Fujian | ..C-...T. | | | |
| 安徽宣城 Xuancheng, Anhui | ...A.-C.T | ATTCCIT.AC | ..TT..C... | ..-TA- |

“.”代表与第 1 行相同的碱基 indicates the same base as the first row; “-”代表缺失 indicates a gap; 数字表示变异位点 Numbers indicate variable sites.

图 2 不同产地太子参 ITS 序列变异位点比较

Fig. 2 Comparisons of variable sites in ITS sequences of *Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax ex Pax et Hoffm. from different locations

表 2 不同产地太子参遗传距离¹⁾Table 2 The genetic distance of *Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax ex Pax et Hoffm. from the different locations according to ITS sequences¹⁾

| 产地 Location | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 |
|----------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 1 | | 0.002 3 | 0.001 6 | 0.002 9 | 0.002 9 | 0.004 0 | 0.004 4 | 0.002 9 | 0.004 0 | 0.003 3 | 0.002 9 | 0.002 9 | 0.002 9 | 0.005 9 |
| 2 | 0.003 3 | | 0.002 3 | 0.003 3 | 0.001 6 | 0.003 3 | 0.003 7 | 0.001 6 | 0.003 3 | 0.002 3 | 0.001 6 | 0.001 6 | 0.001 6 | 0.005 8 |
| 3 | 0.001 7 | 0.003 3 | | 0.002 3 | 0.002 8 | 0.004 0 | 0.004 3 | 0.002 8 | 0.004 0 | 0.003 3 | 0.002 8 | 0.002 8 | 0.002 8 | 0.006 3 |
| 4 | 0.005 0 | 0.006 6 | 0.003 3 | | 0.002 8 | 0.004 0 | 0.004 3 | 0.002 8 | 0.004 0 | 0.003 3 | 0.002 8 | 0.002 8 | 0.002 8 | 0.006 3 |
| 5 | 0.005 0 | 0.001 6 | 0.004 9 | 0.004 9 | | 0.002 8 | 0.003 3 | 0.000 0 | 0.002 8 | 0.001 6 | 0.000 0 | 0.000 0 | 0.000 0 | 0.005 6 |
| 6 | 0.009 9 | 0.006 6 | 0.009 8 | 0.009 8 | 0.004 9 | | 0.003 3 | 0.003 3 | 0.004 3 | 0.003 6 | 0.002 8 | 0.002 8 | 0.002 8 | 0.006 3 |
| 7 | 0.011 6 | 0.008 2 | 0.011 5 | 0.011 5 | 0.006 6 | 0.006 6 | | 0.003 3 | 0.004 3 | 0.003 7 | 0.003 3 | 0.003 3 | 0.003 3 | 0.006 3 |
| 8 | 0.005 0 | 0.001 6 | 0.004 9 | 0.004 9 | 0.000 0 | 0.006 5 | 0.006 6 | | 0.002 8 | 0.001 6 | 0.000 0 | 0.000 0 | 0.000 0 | 0.005 6 |
| 9 | 0.009 9 | 0.006 6 | 0.009 9 | 0.009 9 | 0.004 9 | 0.011 5 | 0.011 6 | 0.004 9 | | 0.002 3 | 0.002 8 | 0.002 8 | 0.002 8 | 0.006 1 |
| 10 | 0.006 6 | 0.003 3 | 0.006 6 | 0.006 6 | 0.001 6 | 0.008 2 | 0.008 2 | 0.001 6 | 0.003 3 | | 0.001 6 | 0.001 6 | 0.001 6 | 0.005 8 |
| 11 | 0.005 0 | 0.001 6 | 0.004 9 | 0.004 9 | 0.000 0 | 0.004 9 | 0.006 6 | 0.000 0 | 0.004 9 | 0.001 6 | | 0.000 0 | 0.000 0 | 0.005 6 |
| 12 | 0.005 0 | 0.001 6 | 0.004 9 | 0.004 9 | 0.000 0 | 0.004 9 | 0.006 6 | 0.000 0 | 0.004 9 | 0.001 6 | 0.000 0 | | 0.000 0 | 0.005 6 |
| 13 | 0.005 0 | 0.001 6 | 0.004 9 | 0.004 9 | 0.000 0 | 0.004 9 | 0.006 6 | 0.000 0 | 0.004 9 | 0.001 6 | 0.000 0 | 0.000 0 | | 0.005 6 |
| 14 | 0.021 5 | 0.021 3 | 0.024 6 | 0.024 6 | 0.019 7 | 0.024 6 | 0.024 7 | 0.019 7 | 0.023 0 | 0.021 3 | 0.019 7 | 0.019 7 | 0.019 7 | |

¹⁾ 1: 山东临沂 Linyi, Shandong; 2: 江苏南京紫金山 Zijin Mountain in Nanjing, Jiangsu; 3: 江苏句容长湾 Changwan in Jurong, Jiangsu; 4: 贵州施秉 Shibing, Guizhou; 5: 江苏溧阳 Liyang, Jiangsu; 6: 江苏南京 Nanjing, Jiangsu; 7: 江苏镇江宝华山 Baohua Mountain in Zhenjiang, Jiangsu; 8: 山东文登 Wendeng, Shandong; 9: 安徽滁州琅琊山 Langya Mountain in Chuzhou, Anhui; 10: 福建柘荣 Zherong, Fujian; 11: 江苏南京老鹰山 Laoying Mountain in Nanjing, Jiangsu; 12: 江苏宜兴 Yixing, Jiangsu; 13: 江苏句容马梗 Mageng in Jurong, Jiangsu; 14: 安徽宣城 Xuancheng, Anhui. 左下方和右上方数据分别表示遗传距离和标准误差 The data (below-left) indicate genetic distance and the data (upper-right) indicate standard error.



1: 山东临沂 Linyi, Shandong; 2: 江苏南京紫金山 Zijin Mountain in Nanjing, Jiangsu; 3: 江苏句容长湾 Changwan in Jurong, Jiangsu; 4: 贵州施秉 Shibing, Guizhou; 5: 江苏溧阳 Liyang, Jiangsu; 6: 江苏南京 Nanjing, Jiangsu; 7: 江苏镇江宝华山 Baohua Mountain in Zhenjiang, Jiangsu; 8: 山东文登 Wendeng, Shandong; 9: 安徽滁州琅琊山 Langya Mountain in Chuzhou, Anhui; 10: 福建柘荣 Zherong, Fujian; 11: 江苏南京老鹰山 Laoying Mountain in Nanjing, Jiangsu; 12: 江苏宜兴 Yixing, Jiangsu; 13: 江苏句容马梗 Mageng in Jurong, Jiangsu; 14: 安徽宣城 Xuancheng, Anhui

图 3 基于 ITS 序列的 14 个产地太子参的系统聚类图

Fig. 3 Systematic tree based on ITS sequences of *Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax ex Pax et Hoffm. from 14 locations

从图 3 可见,不同产区的太子参 ITS 序列存在着种内的变异,其中安徽宣城的变异尤为明显,自为单系树。江苏紫金山、老鹰山、宝华山和安徽琅琊山等

4 个太子参野生样品未聚在 1 支,说明这些野生种内变异水平较高。同为栽培于江苏句容的太子参,马梗产区(黄土)与长湾产区(黑土)分化明显,且形

态差异也较大,原因可能是由于栽培土壤不同导致变异。山东文登与福建柘荣栽培太子参虽分化不明显,但其外观有较大的差异,从两地太子参的生境来看,栽培地的海拔高度有可能对其块根的形状有影响,福建柘荣位于海拔 600 m 以上,所产的太子参块根粗壮肥大;而山东文登位于平原地区,所产的太子参块根瘦小纤细。

2.5 不同产区太子参的 ITS 区序列的价值

由于江苏宜兴、江苏句容马梗、江苏南京老鹰山和江苏溧阳产的太子参 ITS 序列完全一致,而江苏一向是太子参的地道产区,因此可以把这些产区的太子参 ITS 序列设为标准,而其他产地的太子参 ITS 序列的差异为各自的指纹图谱,用以作为鉴别来自不同产地太子参的参考。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典—九九五年版(一部)[M]. 广州:广东科学技术出版社,北京:化学工业出版社,1995. 54.
- [2] 余国冀,刘学平,潘红娟,等. 华东地区太子参品系的氨基酸比较分析[J]. 中国野生植物资源, 1999, 18(1): 9-11.
- [3] Ainouche M L, Bayer R. On the origins of the tetraploid *Bromus* species (Section *Bromus*, Poaceae): insights from internal transcribed spacer sequences of nuclear ribosomal DNA[J]. *Genome*, 1997, 40: 730-743.
- [4] Buckler E S, Holtorf T P. *Zea* systematics: ribosomal ITS evidence[J]. *Mol Biol Evol*, 1996, 13: 612-622.
- [5] Downie S R, Katz-Downie D S. A molecular phylogeny of Apiaceae subfamily Apioideae: evidence from nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer sequences[J]. *Amer J Bot*, 1996, 83: 234-251.
- [6] 蔡金娜,周亚开,徐璐珊,等. 中国不同地区蛇床的 rDNA ITS 序列分析[J]. 药学学报, 2000, 35(1): 56-59.
- [7] 丁小余,王峰涛,徐璐珊,等. F型、H型居群的铁皮石斛 rDNA ITS 区序列差异及 SNP 现象研究[J]. 中国中药杂志, 2002, 27(2): 85-88.
- [8] 顾京,惠东威,庄炳昌,等. 野生大豆与栽培大豆 rDNA ITS 区的研究[J]. 植物学报, 1994, 36(10): 759-764.
- [9] 王建波,张文驹,陈家宽,等. 核 rDNA 的 ITS 序列在被子植物系统与进化研究中的应用[J]. 植物分类学报, 1999, 37(2): 407-416.
- [10] Clark M S. 植物分子生物学——实验手册[M]. 顾红雅, 翟礼嘉主译. 陈章良主校. 北京:高等教育出版社,柏林:施普林格出版社, 2001. 5-6.
- [11] Popp M, Wen J, Bruns T, et al. Inferring the history of the polyploid *Silene aegaea* (Caryophyllaceae) using plastid and homoeologous nuclear DNA sequence[J]. *Mol Phylogenet Evol*, 2001, 20(3): 474-481.

欢迎订阅 2004 年《长江流域资源与环境》

国内统一刊号:CN42-1320/X, 邮发代号:38-311

《长江流域资源与环境》由中国科学院资源环境科学与技术局和中国科学院武汉文献情报中心联合主办,科学出版社出版。是专门研究长江流域各种资源的开发利用保护与生态环境建设的综合性学术刊物,是中国科技论文统计源期刊,全国中文核心期刊,中国科学引文数据库(CSCD)源期刊,中国中文社会科学引文索引源期刊。本刊立足长江流域,面向国内外,围绕长江流域资源与生态环境重大问题,报道流域资源与生态环境科学研究成果、资源综合利用与生态环境保护工作经验,介绍国内外江河流域开发整治和环境保护的最新成就。主要栏目有:资源环境与社会可持续发展;自然资源;农业发展;生态环境;自然灾害;

学术讨论·决策建议;动态信息。对从事资源与环境研究,以及广大农业、林业、气象、能源、水利、土地管理、旅游、经济、人口、生物、地理等学科部门的科技人员、决策与管理人才、高等院校师生都很有参考价值。

本刊由邮局统一发行。邮发代号:38-311。如有漏订者,可直接汇款到编辑部补订。银行汇款请寄:中国科学院武汉文献情报中心 85493892261014638,建行小洪山分理处 854938。本刊为双月刊,每期 96 页,全年定价 60 元(含邮费)。编辑部地址:武汉市武昌小洪山西区 25 号,邮政编码:430071,电话:(027)87198181,电子信箱:editoffi@public.wh.hb.cn