



## 研究报告

### Research Report

# SRAP 分子标记分析体系的建立及白筋资源亲缘关系分析

林春华<sup>1</sup>, 李兆龙<sup>2</sup>, 乔燕春<sup>1</sup>, 林伟君<sup>3</sup>, 刘自珠<sup>1</sup>, 谭雪<sup>1</sup>

1 广州市农业科学研究院, 广州, 510308;

2 仲恺农业工程学院生命科学院, 广州 510225;

3 广东省农科院科技情报研究所, 广州, 510640

✉ 通讯作者: [linweijun\\_gz@163.com](mailto:linweijun_gz@163.com); 作者

植物药与药理学杂志, 2012 年, 第 1 卷, 第 2 篇

收稿日期: 2012 年 10 月 05 日

接受日期: 2012 年 10 月 16 日

发表日期: 2012 年 10 月 28 日

本文首次发表在《基因组学与应用生物学》(2012 年 31 卷第 5 期 498-504 页)上。现依据版权所有人授权的许可协议, 采用 Creative Commons Attribution License 对其进行授权, 再次发表与传播。只要对原作有恰当的引用, 版权所有人允许并同意第三方无条件的使用与传播。建议最佳引用格式:

引用格式(中文):

林春华等, 2012, SRAP 分子标记分析体系的建立及白筋资源亲缘关系分析, 基因组学与应用生物学, 31(5): 498-504 (doi: [10.3969/gab.031.000498](https://doi.org/10.3969/gab.031.000498))

引用格式(英文):

Lin et al., 2012, Optimization of SRAP-PCR System for Phylogenetic Analysis of *Acanthopanax trifoliatum* Species, Genomics and Applied Biology, 31(5): 498-504 (doi: [10.3969/gab.031.000498](https://doi.org/10.3969/gab.031.000498))

**摘要** 本实验对影响 SRAP-PCR 体系中的 Mg<sup>2+</sup>、dNTPs 和引物浓度等因子进行了体系优化, 建立了一套适合白筋 SRAP 检测的 25μl 反应体系: 1.5 mmol/l Mg<sup>2+</sup>, 1.5 mmol/L dNTPs, 1 μmol/L 引物, 10 ng 模板 DNA, 1.5 U Taq DNA 聚合酶; 进一步以白梗筋菜为模板, 利用优化的体系进行多态性标记引物组合分析, 共筛选出 17 对引物; 利用这些引物对 7 个白筋品种进行 SRAP 遗传多样性分析, 共扩增出 461 条谱带。其中多态性谱带 155 条, 多态性谱带比率为 33.6%, 白筋品种间的相似系数为 0.7077~0.9474。经 UPGMA 聚类分析结果显示, 所检测的 7 个白筋品种分为两大类, 其中亲缘关系较近的青梗筋菜和细叶密刺筋菜聚成了一组; 而其余的四个种, 包括白梗筋菜、细叶小刺筋菜、紫柄筋菜、大叶大刺筋菜和红梗筋菜, 聚成另一组。

**关键词** 白筋, SRAP 反应体系, 生长调控, 优化, 系统分析

## Optimization of SRAP-PCR System for Phylogenetic Analysis of *Acanthopanax trifoliatum* Species

Lin Chunhua<sup>1</sup>, Li Zhaolong<sup>2</sup>, Qiao Yanchun<sup>1</sup>, Lin Weijun<sup>3</sup>, Liu Zizhu<sup>1</sup>, Tan Xue<sup>1</sup>

1 Guangzhou Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou, 510308;

2 College of Life Sciences, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou, 510225;

3 Sci-tech information institute, GAAS, Guangzhou, 510640

✉ Corresponding author, [linweijun\\_gz@163.com](mailto:linweijun_gz@163.com); Authors

**Abstract** The genomic DNA of *Acanthopanax trifoliatum* was extracted by using modified CTAB method. The uniform design was used to optimize the sequence-related amplified polymorphism (SRAP) reaction system for phylogenetic analysis of *Acanthopanax trifoliatum*. The present study showed that an optimal SRAP-PCR system was established. The reaction volume of the system is 25 μl which consists of 1.5 mmol/L Mg<sup>2+</sup>, 1.5 mmol/L dNTPs, 1 μmol/L primer, 10 ng template DNA and 1.5 U Taq DNA polymerase. SRAP-PCR markers were used to study the genetic diversity of 7 *Acanthopanax trifoliatum* resources. Using Bai-geng *Acanthopanax trifoliatum* as template to screen polymorphic primer combinations and 17 SRAP primers were selected for the present study. Total bands amplified were 461. Of these bands, 155 were polymorphic, and the percentage of polymorphic bands was 33.6%. The similarity coefficient among the seven species of *Acanthopanax trifoliatum* are 0.7077~0.9474. The result of UPGMA analysis showed that seven species of *Acanthopanax trifoliatum* were clustered into two groups. Qing-geng *Acanthopanax trifoliatum* and Xi-ye-mi-ci *Acanthopanax trifoliatum* have close relationship and clustered into one group. And other five species including Bai-geng *Acanthopanax trifoliatum*, Xi-ye-xiao-ci *Acanthopanax trifoliatum*, Zi-bing *Acanthopanax trifoliatum*, Da-ye-da-ci *Acanthopanax trifoliatum* and Hong-geng *Acanthopanax trifoliatum* clustered into another group.

**Keywords** *Acanthopanax trifoliatum*; SRAP markers; Optimum design; Phylogenetic analysis

菊白筋(*Acanthopanax trifoliatum* (Linn.) Merr.), 别名鹅掌筋、禾掌筋, 三加皮, 三叶五加。为五加科(Araliaceae)攀援状灌木。广泛分布于我国中部及南部, 生于村落、山坡路旁、林缘和灌丛中, 垂直分布于海平面以上至 3200 米。筋菜在印度、越南、菲律宾也有分布(中国植物志, 1978)。白筋为民间常用草药, 有舒筋活络、祛风除湿、理气、止咳之效(林春华等, 2009)。白筋也是一种营养和保健价值都很高的野生蔬菜, 在广东



恩平等地人们习惯将其叶和嫩茎炒食, 或者鲫鱼汤, 做消除暑气的食疗汤水, 还被加工成筋菜干和筋菜茶, 颇受人民的喜爱。目前, 国内外对白筋的研究重点在其化学成分分析和活性研究(倪娜等, 2006; 张秋燕等, 2004; 杜江等, 1992; 蔡凌云等, 2009; Phan Van et al, 2003; 蔡凌云等, 2009; 倪娜等, 2009; Kang et al, 1998; Park et al, 2004; Cai et al, 2003; 刘红波等, 2007; 中华人民共和国药典, 2005; 明·李时珍; 安士影等; 2009)。在白筋种质资源收集、引种、利用等研究鲜有报导, 白筋人工栽培尚处于起步阶段, 但生产上已出现品种混杂、优良资源逐渐贫乏的现状, 这在很大程度上制约了白筋产业的发展。

本研究通过优化 SRAP 分子标记, 建立了适合白筋资源的 SRAP 分析体系, 开展了白筋植物的遗传多样性及亲缘关系研究, 以期对白筋种质资源的保存、优良品种纯化以及杂交育种等工作提供参考依据; 同时为有效鉴定白筋的种类、构建白筋资源的遗传图谱, 及重要性状的标记定位等奠定基础。

## 1 结果与分析

### 1.1 DNA 提取与检测

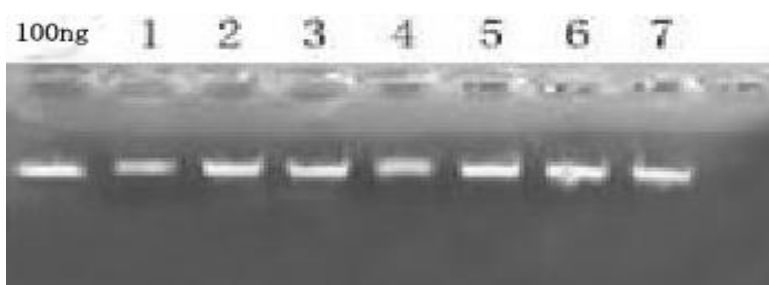


图 1 DNA 电泳检测图

注: NO.1-7 同表 1

Figure 1 The genomic DNA of *Acanthopanax trifoliatum* species

Note: Samples of no.1 to no.7 were the same as those indicated in table 1

由图 1 可见, 利用改良 CTAB 法对筋菜资源进行基因组 DNA 提取, 获得的条带清晰, 杂质较少。完全可以满足进一步分子标记和 PCR 扩增的需要。

### 1.2 均匀设计结果分析

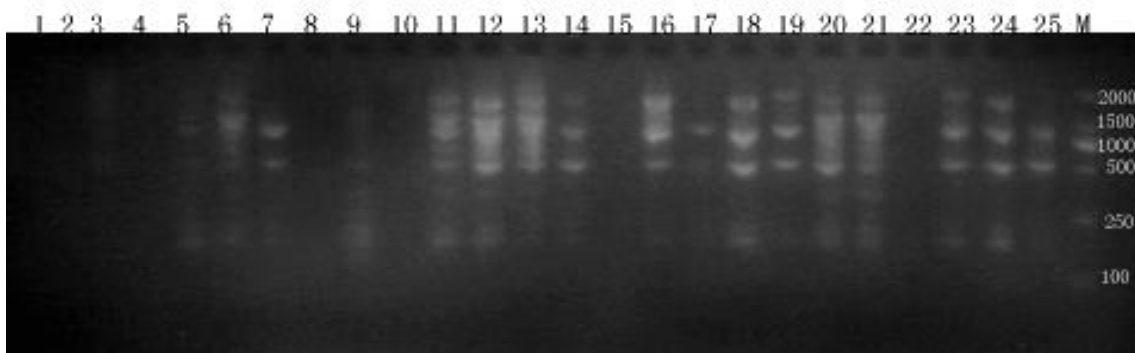


图 2 应用均匀设计方案得到的各处理扩增结果

注: 引物 me5em5 组合

Figure 2 The result of amplification of every treatment according to uniform design

Note: 1 to 25 means 25 treatments same in Table 1 each taking twolan. (The primer was a combination of me5 and em5)

由图 2 可见, 在 25 个处理中, 各处理 Taq 酶、模板 DNA、dNTPs、引物、Mg<sup>2+</sup>浓度的组成不同, 扩增结果表现出显著差异。其中 1、2、4、8、10、15、21 组合基本上扩增不出谱带。其它组合有扩增结果, 从 2 次的重复结果来看, 以 11、12、13、20、21 号处理的扩增结果相对较好, 亮度和重复性好, 其中以 11 号组合的带型清晰且稳定。11 号组合的浓度为 1.5 mmol/l Mg<sup>2+</sup>, 1.5 mmol/l dNTPs, 1 μmol/L 引物, 10 ng 模板 DNA, 1.5 U Taq DNA 聚合酶。利用该优化体系可进一步做分子标记分析。



### 1.3 SRAP 引物筛选与分析

从 99 组 SRAP 引物组合中筛选出 17 个多态性较好的组合对 7 份材料进行分析, 共扩增到 461 条谱带, 其中多态性谱带 155 条, 多态性谱带比率为 33.6%, 不同引物的扩增条带为 7~12 条, 每个引物平均 10 条。

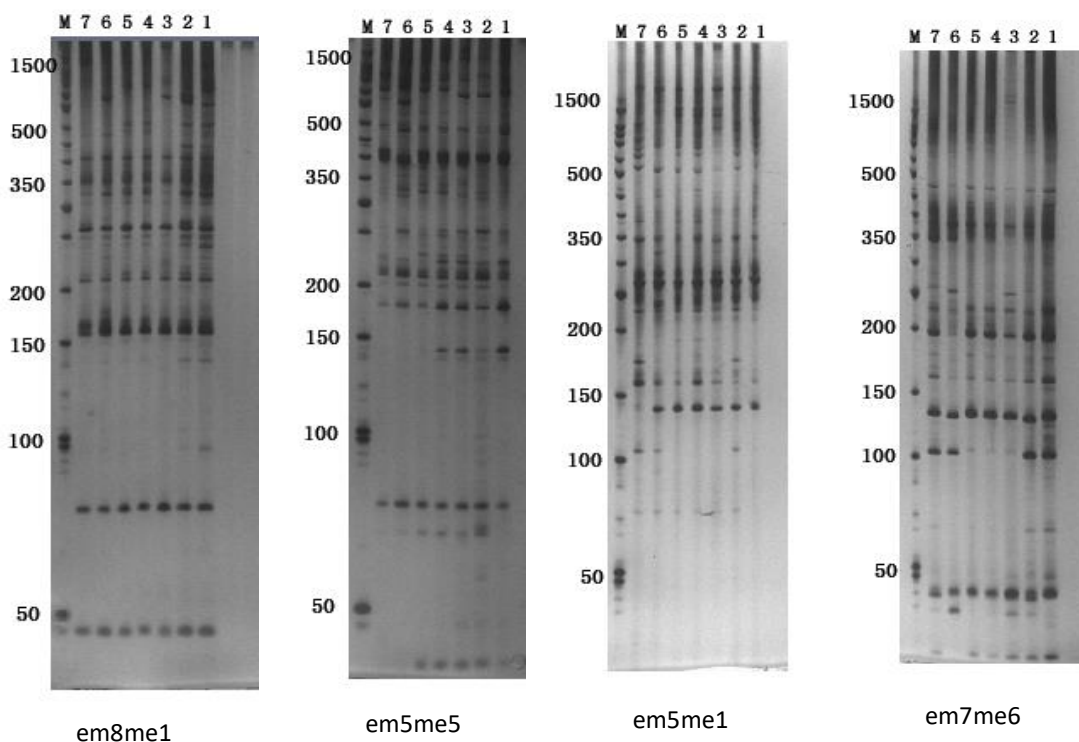


图 3 部分引物组合垂直电泳图

Figure 3 Polyacrylamide gel (4%) patterns of *Acanthopanax trifoliatum* SRAP with primer pairs of em8me1, em5me5, em5me1 and em7me6

### 1.4 白筋相关系数分析

分析结果表明: 各材料之间的相关系数在 0.7077~0.9474 之间, 其中材料 4、5 之间相似系数最高(0.9474), 亲缘关系最近; 材料 3 和 7 的相似系数最小(0.7077), 亲缘关系最远。

表 1 7 份白筋材料之间的相似系数

Table 4 The similarity coefficient of the *Acanthopanax trifoliatum* accessions

编号 No.	1	2	3	4	5	6	7
1	1.0000						
2	0.8148	1.0000					
3	0.7757	0.7792	1.0000				
4	0.8101	0.8293	0.8533	1.0000			
5	0.7467	0.7949	0.8169	0.9474	1.0000		
6	0.7200	0.7692	0.7887	0.7895	0.7778	1.0000	
7	0.7246	0.7500	0.7077	0.7429	0.7576	0.7879	1.0000

### 1.5 聚类分析

利用 NTSYS2.1 软件进行 UPGMA 法的聚类分析结果表明: 7 份供试材料分为 2 大类群, 第一类群又分为 2 个亚类, 第一亚类为白梗筋菜和细叶小刺筋菜, 第二亚类为紫柄筋菜、大叶大刺筋菜和红梗筋菜; 第二大类为青梗筋菜和细叶密刺筋菜。

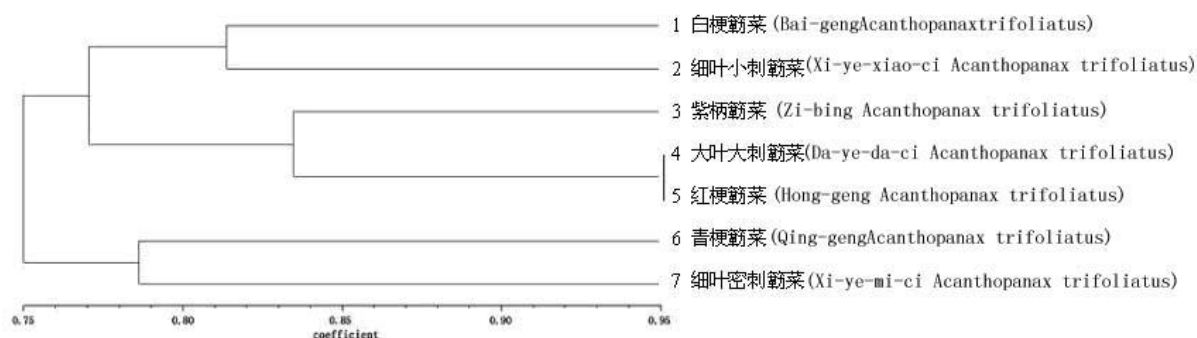


图 4 7 份白薊材料间的亲缘关系聚类分析

Figure 4 Dendrogram of 7 *Acanthopanax trifoliatum* accessions based on SRAP

## 2 讨论

利用 SRAP 分子标记对白薊资源进行遗传多样性分析, 相比 AFLP、SSR 等分子标记更易于操作, 引物利用率高, 且经济有效。本试验最终确定的白薊 25  $\mu$ L 反应体系包括 1.5 mmol/l  $Mg^{2+}$ , 1.5 mmol/L dNTPs, 1  $\mu$ mol/L 引物, 10 ng 模板 DNA, 1.5 U Taq DNA 聚合酶。优化后的体系能获得较清晰的扩增结果, 每对引物扩增总数在 10 条左右, 平均多态率为 33.6%。文雁成等(2006)利用 SRAP 分析了中国甘蓝型油菜品种的遗传多样性, 多态性比例平均为 24%, 王华忠等(2008)利用 SRAP 标记分析不同类型甜菜的遗传多样性, 多态性带的比率平均为 43.7%, 任羽等(2008)利用 SRAP 分析了石解属植物亲缘关系, 多态性比率平均为 84.07%, 可见本研究获得的多态性结果更接近于品种间 SRAP 分析的结果, 将研究材料定位于栽培品种更合适。

本实验聚类分析表明, 7 份白薊资源共分为两大类, 其中白梗与细叶小刺种、紫柄与大叶大刺及红梗种、青梗与细叶密刺种之间相关系数均较大, 亲缘关系较近, 这与其嫩芽分别为浅绿、红绿和绿色的形态学相一致; 紫柄与青梗种、白梗和青梗种、红梗与白梗种、红梗与青梗种、细叶小刺与细叶密刺种之间的相关系数较小, 亲缘关系较远, 这与其嫩芽颜色差异悬殊也一致。说明白薊嫩芽颜色可作为白薊品种资源形态学分类的主要衡量指标之一。这为生产上单一从形态学进行分类和筛选优良品种提供理论指导, 同时为杂交育种和制定形态学分类指标奠定基础。白薊是药食两用植物, 不仅能用作蔬菜鲜食, 对于医学和药学产业都有重要的作用 (Phan et al, 2003)。因此, 加强白薊的药食兼用产品研究和开发将成为重要课题。

## 3 材料与方法

### 3.1 实验材料

试验所用 7 份材料均于 2010 年春季采自广州市农科院恩平白薊基地, 表 2 列出了七份材料的品种名及生物学性状。

表 2 白薊材料

Table 2 Samples of *Acanthopanax trifoliatum* used in this research

编号 No.	品种名 Species or cultivar	性状 The character for samples
1	白梗薊菜 Bai-geng <i>Acanthopanax trifoliatum</i>	嫩芽及成熟叶浅绿色, 中叶, 茎浅绿, 中刺, 高产, 主栽品种 Colour of young nud, mature leaf and stem is light green; the intermediate of leaf size and thorn length; heavy Prolificacy; main cultivar
2	细叶小刺薊菜 Xi-ye-xiao-ci <i>Acanthopanax trifoliatum</i>	嫩芽浅绿色、成熟叶绿色, 小叶, 茎浅绿, 低产 Colour of young nud and stem is light green; Colour of mature leaf is green; the small of leaf size; Poor Prolificacy
3	紫柄薊菜 Zi-bing <i>Acanthopanax trifoliatum</i>	成熟叶绿色、嫩芽红绿色, 中叶, 叶柄和茎紫色, 中刺, 高产 Colour of mature leaf is green; Colour of young nud is red- green; Colour of petiole and stem is purple; the intermediate of leaf size and thorn length; heavy Prolificacy
4	大叶大刺薊菜 Da-ye-da-ci <i>Acanthopanax trifoliatum</i>	成熟叶绿色, 嫩芽红绿色、大叶, 茎青色, 大刺, 高产, 不耐高温 Colour of mature leaf is green; Colour of young nud is red- green; Colour of stem is bluish-green; the large of leaf size and thorn length; heavy Prolificacy; Not resistant high temperature
5	红梗薊菜 Hong-geng <i>Acanthopanax trifoliatum</i>	成熟叶绿色、嫩芽红绿色, 中叶, 茎红色, 中刺, 高产、生长快 Colour of mature leaf is green; Colour of young nud is red- green; Colour of stem is red; the intermediate of leaf size and thorn length; heavy Prolificacy;





6	青梗筊菜 Qing-geng	Acanthopanax trifoliatus	嫩芽及成熟叶绿色, 中叶, 茎青色, 中刺, 高产, 主栽品种 Colour of young nud and mature leaf stem is green; Colour of stem is bluish-green; the intermediate of leaf size and thorn length; heavy Prolificacy; main cultural
7	细叶密刺筊菜 Xi-ye-mi-ci	Acanthopanax trifoliatus	嫩芽及成熟叶绿色, 小叶, 茎青色, 刺密, 口感甜, 易受蚜虫危害, 低产 Colour of young nud and mature leaf stem is green; Colour of stem is bluish-green; the small of leaf size; Thorn is dense; Flavor is sweat; Not resistant to Macrosiphomella sanborni; Poor Prolificacy

表 3 白筊 SRAP 反应体系的优化

Table 3 The uniformity design for *Acanthopanax trifoliatus* SRAP reaction system

处理号 NO.	因素及水平(Factors and Levels)				
	Taq DNA 聚合酶(U) TaqDNAPolymerase	模板 DNA Template DNA(mg/L)	dNTPs(mmol/L)	C(引物)Primer ( $\mu\text{mol/L}$ )	C( $\text{Mg}^{2+}$ )(mmol/L)
1	1(0.5)	1(10)	3(0.20)	2(0.3)	1(1.0)
2	1(0.5)	2(20)	4(0.25)	5(0.6)	3(2.0)
3	1(0.5)	3(30)	2(0.15)	1(0.2)	4(2.5)
4	1(0.5)	4(40)	5(0.30)	3(0.4)	2(1.5)
5	1(0.5)	5(50)	1(0.10)	4(0.5)	5(3.0)
6	2(1.0)	1(10)	4(0.25)	3(0.4)	5(3.0)
7	2(1.0)	2(20)	1(0.10)	1(0.2)	2(1.5)
8	2(1.0)	3(30)	3(0.20)	4(0.5)	3(2.0)
9	2(1.0)	4(40)	2(0.15)	5(0.6)	1(1.0)
10	2(1.0)	5(50)	5(0.30)	2(0.3)	4(2.5)
11	3(1.5)	1(10)	2(0.15)	4(0.5)	2(1.5)
12	3(1.5)	2(20)	3(0.20)	3(0.4)	4(2.5)
13	3(1.5)	3(30)	5(0.30)	5(0.6)	5(3.0)
14	3(1.5)	4(40)	1(0.10)	2(0.3)	3(2.0)
15	3(1.5)	5(50)	4(0.25)	1(0.2)	1(1.0)
16	4(2.0)	1(10)	1(0.10)	5(0.6)	4(2.5)
17	4(2.0)	2(20)	5(0.30)	4(0.5)	1(1.0)
18	4(2.0)	3(30)	4(0.25)	2(0.3)	2(1.5)
19	4(2.0)	4(40)	3(0.20)	1(0.2)	5(3.0)
20	4(2.0)	5(50)	2(0.15)	3(0.4)	3(2.0)
21	5(2.5)	1(10)	5(0.30)	1(0.2)	3(2.0)
22	5(2.5)	2(20)	2(0.15)	2(0.3)	5(3.0)
23	5(2.5)	3(30)	1(0.10)	3(0.4)	1(1.0)
24	5(2.5)	4(40)	4(0.25)	4(0.5)	4(2.5)
25	5(2.5)	5(50)	3(0.20)	5(0.6)	2(1.5)

### 3.2 实验方法

#### 3.2.1 DNA 提取与检测

从各组材料中挑选其幼嫩叶片, 参照王丽等(2006)改良 CTAB 法提取白筊基因组 DNA; 再用 0.8% 的琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的浓度及纯度, 检测后将每个样品浓度调至 50ng/ $\mu\text{L}$ 。

#### 3.2.2 SRAP 反应体系建立

本试验为均匀设计 SRAP 反应体系, 参考郭凌飞等(2008)所用的方法, 以 1 号白筊样品为模板, 针对 25  $\mu\text{L}$  反应体系中 5 个因素(Taq DNA 聚合酶、模板 DNA、dNTPs、引物、 $\text{Mg}^{2+}$ )各设定 5 个水平, 建立 U25(55) 均匀设计表, 各因素水平详见表 3(表中所选用引物为 me5em5)。

以上所有 PCR 扩增反应在 MasterCycler Gradient 梯度 PCR 仪(Eppendorf)上完成。SRAP 扩增程序参照乔燕春等(2008)在枇杷上确定的 PCR 反应程序并略为优化, 优化的扩增程序为: 94 $^{\circ}\text{C}$  5min, 一个循环; 94 $^{\circ}\text{C}$  1min, 35 $^{\circ}\text{C}$  1min, 72 $^{\circ}\text{C}$  1.5min, 5 个循环; 94 $^{\circ}\text{C}$  1min, 50 $^{\circ}\text{C}$  1min, 72 $^{\circ}\text{C}$  1.5min, 35 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$  延伸 10 min。扩增结束后, 抽取 10  $\mu\text{L}$  的 PCR 产物, 加入 2  $\mu\text{L}$  上样缓冲液, 用 2% 琼脂糖凝胶(含 GoldView)在 0.5 $\times$ TBE 中以 120V 电压下电泳 2 h。然后在凝胶成像系统上检测并拍照。

#### 3.2.3 引物筛选

供试引物为 9 条正向引物和 11 条反向引物(序列见表 4), 每条正向引物都与 11 条反向引物配对, 组成 99 组引物组合, 以 1 号样品 DNA 为模板, 分别对 99 个引物组合进行 PCR 扩增反应, 筛选出扩增清晰的引物组合, 然后用选出的 7 组 DNA 样品进一步检验这些标记是否有多态性。

表 4 应用引物序列

Table 4 The primer sequences used in SRAP reaction



编号 Code	正向引物 Forward primers	编号 Code	反向引物 Reverse primers
me1:5'	TGAGTCCAAACCGGATA-3'	em2:5'	GACTGCGTACGAATTAAT-3'
me2:5'	TGAGTCCAAACCGGAGC-3'	em2:5'	GACTGCGTACGAATTTGC-3'
me3:5'	TGAGTCCAAACCGGAAT-3'	em3:5'	GACTGCGTACGAATTGAC-3'
me4:5'	TGAGTCCAAACCGGACC-3'	em4:5'	GACTGCGTACGAATTTGA-3'
me5:5'	TGAGTCCAAACCGGAAG-3'	em5:5'	GACTGCGTACGAATTAAC-3'
me6:5'	TGAGTCCAAACCGGTAA-3'	em6:5'	GACTGCGTACGAATTGCA-3'
me7:5'	TGAGTCCAAACCGGTCC-3'	em7:5'	GACTGCGTACGAATTCAC-3'
me8:5'	TGAGTCCAAACCGGTGC-3'	em8:5'	GACTGCGTACGAATTCTG-3'
me9:5'	TGAGTCCAAACCGGTAG-3'	em9:5'	GACTGCGTACGAATTCGA-3'
		em10:5'	GACTGCGTACGAATTCAG-3'
		em11:5'	GACTGCGTACGAATTTCA-3'

### 3.2.4 遗传多样性分析

用筛选出的引物对 7 份白筋材料进行扩增及 4% 聚丙烯酰胺凝胶电泳分析, 拍照并统计结果。采用 NTSYS2.1 软件进行 UPGMA 法的聚类分析, 并得出 7 份材料的遗传距离。

### 作者贡献

林春华为本研究的主要执行人, 负责实验设计、数据整理及撰写论文; 林伟君为本论文的通讯作者, 负责论文的修改和审核; 李兆龙和乔燕春两位作者负责大部分实验内容的操作; 刘自珠和谭雪两位作者为本研究的各项实验提供协助及建议。

### 致谢

本研究由广东省科技攻关项目(2008B021500011)、广东省教育部产学研结合项目(2010B090400492)共同资助。感谢贺立红副教授对本研究的帮助; 感谢恩平白筋基地多年的业务合作和技术支持。

### 参考文献

- An S., Qian S., Jiang J., and Wang K.. 2009. Chemical constituents in leaves of *Acanthopanax gracilistylus*. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 10(40), 1529(安士影, 钱士辉, 蒋建勤. 2009. 细柱五加叶的化学成分. 中草药, 10(40), 1529)
- Cai L., Li Y., Chen J., Tian M., and Du W.. 2009. Polysaccharide extraction technology and content of *Acanthopanax trifoliatum*. Chinese Journal of Spectroscopy Laboratory, 2: 79-80(蔡凌云, 黎云祥, 陈蕉, 田茂洁, 杜武庭. 2009. 白筋多糖的提取工艺和含量比较. 光谱实验室, 2:79-80)
- Cai Ling-yun, Li Run-xiang. Microwaveassisted technology of total flavonoids from root bark of *Acanthopanax trifoliatum*. Food Science, 2009, 30(4): 44(蔡凌云, 黎云祥. 2009. 白筋根皮总黄酮提取工艺研究. 食品科学, 30(4): 44)
- Cai X., Shen G., Nguyen T.. 2003. Inhibitory effect of kaurane type diterpenoids from *Acanthopanax koreanum* on TNF- $\alpha$  secretion from trypsin-stimulated HMC-1 cells. Archives of Pharmacol Research, 26(9): 731-734
- Chinese Academy of Sciences, China Flora Editorial Committee. 1978. Flora of China (Vol. 54). Beijing: Science Press, 112-113(中国科学院中国植物志编辑委员会. 1978. 中国植物志(第五十四卷). 北京: 科学出版社, 112-113)
- Du J and Gao L. 1992. Chemical constituents of the leaves of *Acanthopanax trifoliatum* (Linn) Merr.. China Journal of Chinese Materia Medica, 17(6):356-357(杜江, 高林. 1992. 白筋叶的化学成分研究. 中国中医药杂志, 17(6):356-357)
- Guo L., Zou M., Du L., Zeng H and Lu C.. 2008. Optimization of the sequence-related amplified polymorphism(SRAP)reaction system for macadamia by uniform design. Journal of Fruit Science, 25(2): 250-253(郭凌飞, 邹明宏, 杜丽清, 曾辉, 陆超忠. 2008. 均匀设计优化澳洲坚果 SRAP 反应体系. 果树学报, 25(2): 250-253)
- Kang H., Song H., Lee J.. 1998. Effects of acanthoic acid on TNF-alpha gene expression and haptoglobin synthesis. Mediators Inflamm, 7(6): 257-259
- Lin C., Lin W., Tan X., Li X and Qiu J. 2009. Quality and acute toxication test of a wild vegetable *acanthopanax trifoliatum*. Modern Food Science and Technology, 2 (25):201-202,171(林春华, 林伟君, 谭雪, 李雪壮, 仇洁. 2009. 野生蔬菜白筋品质及急性毒性试验研究. 现代食品科技, 2 (25):201-202 转 171)
- Liu H.. 2007. Studies on the function of mediators of inflammation HMGB1 in advanced stage of fulminant hepatic failure and screening for anti-HMGB1 drugs. Changsha: Xiangya School of Medicine, Central South University(刘红波. 2007. 晚期炎症介质 HMGB1 在暴发性肝衰竭发展中的作用及抗 HMGB1 药物的初步筛选. 长沙: 中南大学湘雅医学院)
- Ni N. and Liu X.. 2006. Advances in studies on plants of *Acanthopanax* Miq. in Araliaceae . Chinese Traditional and Herbal Drugs, 37(12): 1895, 1897(倪娜, 刘向前. 2006. 五加科五加属植物的研究进展. 中草药, 37(12): 1895, 1897)
- Ni N., Liu X and Zhang X.. 2009. Determination of acanthoic acid and kauranoic acid from root barks of eight kinds of *Acanthopanax* Miq. Plants by RP-HPLC Journal of Central South University (Science and Technology), 5 (40): 1216(倪娜, 刘向前, 张晓丹. 2009. 8 种五加属植物根皮中五加酸和贝壳烯酸的 RP-HPLC 法定量分析. 中南大学学报(自然科学版), 5 (40): 1216)
- Park E., Zhao Y. and Kim Y.. 2004. Acanthoic acid from *acanthopanax koreanum* protects against liver injury induced by tert-butyl hydroperoxide or carbon tetrachloride in vitro and in vivo. Planta Medica, 70(5): 321-327
- Phan V. and Chau V.. 2003. Two new phenylpropanoid glycosides from the stem bark of *Acanthopanax trifoliatum*. Archibes of Pharmacol Research, 26(12): 1014
- Phan V., Chau V., Cai X.. 2003. A New 24-Nor-Lupane-Glycoside of *Acanthopanax trifoliatum*. Arch Pharm Res, 26(9):706-708.
- Prepared by Chinese pharmacopoeia commission. 2005. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (first volume). Beijing: Chemical Industry Press, 44(国家药典委员会编. 2005. 中华人民共和国药典(一部). 北京: 化学工业出版社, 44)
- Qiao Y., Lin S., Liu C., Yang X.. 2008. Optimization of SRAP analysis and its application in germplasm research of Loquat (*Eriobotrya japonica*). Journal of Fruit Science, 25(3): 348-352(乔燕春, 林顺权, 刘成明, 杨向晖. 2008. SRAP 分析体系的优化及在枇杷种质资源研究上的应用. 果树学报, 25(3): 348-352.)



- Ren Y, Yin J., Yang G.. 2008. Analysis of genetic relationship of dendrobium in hainan by SRAP Markers. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 29(6):767-770  
(任羽, 尹俊梅, 杨光穗. 2008. 海南石斛属植物亲缘关系的 SRAP 分析. *热带作物学报*. 29(6):767-770)
- The Ming Dynasty • Li S., *Compendium of materia medica (last volume)*. Huaxia Publishing House: 1413-1414(明 • 李时珍. *本草纲目(下册)*. 华夏出版社: 1413-1414)
- Wang H., Wu Z., Wang X., Fang Z.. 2008. Analysis of the genetic diversity in different types of sugar beets by SRAP and SSR markers. *Acta Agronomica Sinica*. 34(1): 37-46(王华忠, 吴则东, 王晓武, 方智远. 利用 SRAP 与 SSR 标记分析不同类型甜菜的遗传多样性. *作物学报*, 2008, 34(1): 37-46)
- Wang L. Qiao A., SunY., Sun M. 2006. Extraction of Genomic DNA from flowering Chinese cabbage and optimization of RAPD reaction system. *Journal of Southwest China Normal University(Natural Science)*, 31(2): 124-128(王丽, 乔爱民, 孙一铭, 孙明. 2006. 菜心基因组 DNA 提取及 RAPD 反应体系的优化. *西南师范大学学报*, 31(2): 124-128)
- Wen Y., Wang H., Shen J., Liu G., Zhang S.. 2006. Analysis of genetic diversity and genetic basis of Chinese rapeseed cultivars (*Brassica napus* L.) by sequence-related amplified polymorphism markers. *Scientia Agrcultura Sinica*, 39(2): 246-256(文雁成, 王汉中, 沈金雄, 刘贵华, 张书芬. 2006. 用 SRAP 标记分析中国甘蓝型油菜品种的遗传多样性和遗传基础. *中国农业科学*, 39(2): 246-256)
- Zhang Q., Zhang F.. 2003. Analyzing on the health protection function of wild vegetable of *Acanthopanax trifoliatum*(L)Merr. *Food Research and Development*, 24(3): 66-67(张秋燕, 张福平. 2003. 野生保健蔬菜—白筩. *食品研究与开发*, 24(3): 66-67)