

中国黄芪属药用植物 DNA 条形码 (ITS2) 鉴定*

□高 婷** 姚 辉 马新业 朱英杰 宋经元**

(中国医学科学院北京协和医学院药用植物研究所 北京 100193)

摘 要 中国黄芪属植物种类繁多,具有重要的药用及生物学价值。本文采用了植物 DNA 条形码候选序列之一的 ITS2 片段来探讨在黄芪属药用植物中的鉴定能力。结果显示,ITS2 基因区通用性强,序列在黄芪属物种间的差异较大,具有明显的 Barcoding Gap,能够正确鉴定 41 个黄芪属植物物种,仅 6 个物种不能鉴定。此外,ITS2 的二级结构也具有一定的系统学及分类学意义。本研究表明 ITS2 能够作为黄芪属药用植物鉴定的 DNA 条形码序列,具有重要的应用价值。

关键词 ITS2 序列 黄芪属 鉴定 DNA 条形码

doi: 10.3969/j.issn.1674-3849.2010.02.016

Astragalus L. 黄芪属,属于豆科蝶形花亚科,全世界约有 1600 个物种。我国黄芪属资源分布广泛,品种繁多,据中国植物志记载为 400 余种^[1]。药用黄芪主要分布于黄芪亚属 (*Subgen. Phaca* Bunge)、华黄芪亚属 (*Subgen. Astragalus*)、簇毛黄芪亚属 (*Subgen. Pogonphace* Bunge)、裂萼黄芪亚属 (*Subgen. Cercidothrin* Bunge) 和密花黄芪亚属 (*Subgen. Hypoglottis* Bunge) 等 5 个亚属^[2]。2005 版《中华人民共和国药典》收录的黄芪属植物包括蒙古黄芪 *A. mongholicus*、膜荚黄芪 *A. membranaceus* 和扁茎黄芪 (*A. complanatus*)^[3]。膜荚黄芪和蒙古黄芪均为国家三级保护植物,属渐危种^[2]。该属一些植物如紫云英 *A. sinicus*、笔直黄芪 *A. strictus* 等含有植物毒素^[5]。

黄芪属中药材品种较混乱^[2],直接影响到药材质量。除中药黄芪(膜荚黄芪、蒙古黄芪)外,其他很多

黄芪属植物均可作为黄芪代用品,如多花黄芪、单体蕊黄芪、金翼黄芪、东俄洛黄芪、贺兰山黄芪、川黄芪、秦岭黄芪、白芪等,或一些地方习用品,如直立黄芪、背扁黄芪等。市场上曾出现了约 4 科 10 种植物的种子作为沙苑子(扁茎黄芪)的伪品,常见的有独尿豆、凹叶野百合、尾州野百合、田皂角、紫云英、直立黄芪的种子,前 3 种种子均含生物碱,误服后出现中毒症状,甚至致人死亡^[6]。对黄芪属药用植物进行准确鉴别是开展相关研究的基础,对植物资源保护和药用植物安全合理利用具有重要意义。

有关黄芪属植物的鉴定,已有形态学、细胞学(包括核型和染色体多态性)、孢粉学、化学和 RAPD,PCR-RFLP,AP-PCR,SSCP 等 DNA 分子多态性方面^[7-14]的研究,5S rRNA、ITS 和 18S rRNA 等的序列差异也曾被用于鉴定黄芪属某些植物^[15-18]。但是这些分类方法均存在种种局限性^[19],已不能满足日益复杂的分类需求。因此,急需一种快速准确的

收稿日期:2010-04-02

修回日期:2010-04-19

* 科技部卫生行业科研专项(200802043) 药用植物 DNA barcoding(条形码)鉴定研究,负责人 陈士林。

** 联系人 高婷,博士研究生,主要研究方向 药用植物 DNA 条形码,Tel 010-62899729,E-mail 1gao@implad.ac.cn 宋经元,副研究员,硕士生导师,主要研究方向 药用植物功能基因组及 DNA 条形码,Tel 010-62811448,E-mail jysong@implad.ac.cn。

鉴定方法。

DNA 条形码 (DNA barcoding) 是一种通过短的标准 DNA 序列作为标记来实现物种快速准确鉴定的方法,具有操作简易、可重复性强、结果稳定可靠等优点^[20],成为近几年国际生物鉴定及多样性研究的一个热点。在动物界,线粒体细胞色素 c 氧化酶亚基 1(Cytochrome oxidase I, CO I) 被公认为 DNA 条形码序列^[21]。然而植物界的标准条形码序列,各专家众说纷纭(如 *psbA-trnH*、ITS、*matK*、*rbcL* 等^[22-26])。其中 ITS2 序列正在逐步引起广大学者的关注。本课题组在 2010 年比较了 7 条热门条形码序列,通过对 6000 余个样本的分析^[27],依据各条形码评价指标,筛选出 ITS2 序列是药用植物鉴定最优的序列,且物种水平的鉴定成功率高达 92.7%。此外,多位学者已提出 ITS2 具有很多优点^[27-28],其序列长度较短,易于扩增,甚至适用于已降解的药材^[29]。ITS2 作为 ITS 一部分,一直受到广大系统进化专家青睐,被广泛用于系统进化研究^[28-30]。ITS2 的二级结构研究也具有一定的系统分类价值^[30,37]。然而 ITS2 在黄芪属的鉴定能力相关研究较少,因此,本文采用 ITS2 序列来鉴定黄芪属植物,探索该属植物的 DNA barcoding 鉴定方法,为植物保护和利用提供数据基础和科学依据。

一、材料与方法

1. 材料

2007 年 7 月至 2008 年 9 月,自北京、陕西、湖北等地采集了黄芪属 7 种重要药用植物的 14 份样品,经中国医学科学院药用植物研究所林余霖副研究员鉴定。同时我们在 GenBank 数据库下载中国植物志电子版及

EFOLRA 中收录的中国全部黄芪属植物(下载日期是 2009 年 10 月),共获得序列 70 条,黄芪属植物 47 种,材料详见表 1。3 个药典种及多个药用植物物种都收集在内。研究材料中不少于 2 个样本数的物种有 11 个,样本总数为 34 个。样本涵盖了中国黄芪属全部 8 个亚属^[1]。

2. 样品 DNA 的提取、PCR 扩增和测序

表 1 本研究采用的黄芪属植物样本的序列

Species	Accession Number	Species	Accession Number
<i>A. adsurgens</i>	AF121674	<i>A. hoantchy subsp. dshimensis</i>	AF359755
<i>A. adsurgens</i>	L10757	<i>A. lehmannianus</i>	AF359756
<i>A. adsurgens</i>	GU217639	<i>A. lepsensis</i>	AF359752
<i>A. adsurgens</i>	GU217640	<i>A. leucocephalus</i>	AB231135
<i>A. adsurgens</i>	GU217641	<i>A. masanderanus</i>	AB051969
<i>A. agrestis</i>	L10759	<i>A. membranaceus</i>	AF121675
<i>A. aksuensis</i>	AB231091	<i>A. membranaceus</i>	AF359749
<i>A. aksuensis</i>	AF359753	<i>A. membranaceus</i>	EF685968
<i>A. alopecias</i>	AB051949	<i>A. membranaceus</i>	EU852042
<i>A. alopecias</i>	U50509	<i>A. membranaceus</i>	FJ572044
<i>A. alpinus</i>	L10761	<i>A. membranaceus</i>	GU217642
<i>A. arpilobus</i>	AB051913	<i>A. milingensis</i>	AF521954
<i>A. austrosibiricus</i>	AF359758	<i>A. mongholicus</i>	AF359750
<i>A. bakaliensis</i>	AB051924	<i>A. mongholicus</i>	EF685969
<i>A. balfourianus</i>	AF521951	<i>A. mongholicus</i>	GU217643
<i>A. bisulcatus</i>	L10767	<i>A. monticola</i>	EU282982
<i>A. campylorrhynchus</i>	AB051914	<i>A. oophorus</i>	AB051993
<i>A. capillipes</i>	GU217636	<i>A. ophiocarpus</i>	AB051927
<i>A. capillipes</i>	GU217637	<i>A. oxyglottis</i>	AB051932
<i>A. capillipes</i>	GU217638	<i>A. persepolitanus</i>	AB051920
<i>A. chinensis</i>	AF121681	<i>A. polycladus</i>	AF121676
<i>A. chinensis</i>	FJ980292	<i>A. pseudonobilis</i>	AB231117
<i>A. chinensis</i>	GQ434365	<i>A. scaberrimus</i>	AB051988
<i>A. chinensis</i>	GQ434366	<i>A. sesamoides</i>	AB051921
<i>A. commixtus</i>	AB051925	<i>A. sieversianus</i>	AF359757
<i>A. complanatus</i>	AF521950	<i>A. sinicus</i>	AB051965
<i>A. complanatus</i>	U50501	<i>A. sinicus</i>	U50503
<i>A. cysticalyx</i>	AF121682	<i>A. tanguticus</i>	AF521956
<i>A. dahuricus</i>	GU217635	<i>A. tribulifolius</i>	AF521953
<i>A. filicaulis</i>	AB051919	<i>A. tribuloides</i>	AB051922
<i>A. frigidus</i>	AB231092	<i>A. tribuloides</i>	L10795
<i>A. hancockii</i>	GQ434364	<i>A. uliginosus</i>	EF685970
<i>A. hendersonii</i>	AF521957	<i>A. variabilis</i>	GQ422821
<i>A. hoantchy</i>	AF359754	<i>A. vicarius</i>	AB051934
<i>A. hoantchy</i>	AF521952	<i>A. yatungensis</i>	AF521955

对采集到的黄芪属植物(表1)进行了DNA提取,rDNA ITS2序列扩增和测序方法见文献报道^[27]。

3. 序列拼接和数据分析

测序峰图采用序列拼接软件 CodonCode Aligner V 3.5 (CodonCode Co.,USA) 校对拼接,去除低质量序列及引物区,进行多序列比对并人工校验。对于ITS2序列,拼接得到一致序列后使用基于隐马尔可夫模型的HMMer注释方法去除两端5.8S和26S区段获得ITS2间隔区序列^[31]。去掉测序质量差、不能确定具体物种的(比如含“sp.”的序列)及不完整序列。通过HMM真菌模型(Florida State University,USA)计算K2P距离。采用平均种内距离、最大种内距离、及theta值来描述种内变异,相应的采用平均种间距离、最小种间距离及theta'值来描述种间变异^[27,32-33]。用计算机Perl语言统计种间、种内遗传距离的分布频度,评价Barcoding Gap^[23,27]。通过Wilcoxon两个样本的统计检验^[22-23,27],进一步比较种间、种内变异程度的大小。最后采用相似性搜索法(BLAST1)和最小距离法(Nearest Distance)考察ITS2的鉴定成功率^[27,34]。

二、结果与分析

1. 序列通用性及种内种间差异分析

同以往的研究一样^[27,29,35-36],ITS2序列在黄芪属植物样品中也显示出很好的通用性。PCR效率为100%,测序效率为85.7%。

ITS2序列长度变异为207bp~214bp。种内变异较小,变异度为0.0%~14.8%,平均变异(All Intra-specific Distance)为1.1%,平均 θ 值(Theta)为0.0193,平均溯祖度(Coalescent Depth)为0.0243;而种间变异较大,变异度为0.0%~16.3%,平均最小变异(The Minimum Inter-specific Distance)为0.0%,平均变异(All Inter-specific Distance)为8.0%,种间变异 θ' 值(Theta Prime)为0.0797。利用Wilcoxon两个样本的统计检验,也再次证实了这个结果:ITS2序列的种间变异远大于种内变异(Wilcoxon Value=3592, $P<2.3536\times10^{-24}$)。

2. Barcoding gap 检验

以0.002为遗传距离基本单位,分析ITS2序列遗传距离分布频度,并做出Barcoding Gap(如图1)。尽管图中ITS2序列种内变异和种间变异存在少量重叠,但是ITS2的Barcoding Gap较为明显,相对来说,种内种间遗传距离有所分离,且种间遗传距离为零的样本比例仅仅占总样本的0.37%。说明研究中绝大

多数物种的ITS2序列具有唯一性,进而表示ITS2可以将绝大多数物种进行区别和鉴定。

3. 鉴定效率

我们采用比对法(BLAST1)和最小距离法(Distance)同时评估ITS2的鉴定效率,结果表明,采用比对法时,ITS2对于物种的鉴定效率(可以鉴定的物种数/总物种数)高达到87.0%,仅仅6个物种(*A. mongholicus*和*A. membranaceus*;*A. tribulifolius*和*A. tanguticus*;*A. adsurgens*和*A. austrosibiricus*)不能鉴定。使用最小距离法验证上述6个物种仍无法鉴定,此外,*A. complanatus*和*A. sinicus*也不能正确鉴定。

4. 二级结构初步分析

ITS2一级结构序列可以进行RNA二级结构预测,解决高级分类阶元(如门、纲、目、科)的序列一级结构差异过大而导致的比对失真问题,在系统进化研究上具有重要意义,并且从二级结构的角度鉴定物种也具有一定的意义^[30-31,37]。如图2,选取了4个黄芪属物种的ITS2二级结构图(HMM预测模型),我们可以看到4个物种的二级结构相对保守,ABCD均具有I,II,III,IV4个颈环结构,但同时各部分又存在细节上的差异,能够为鉴定提供依据。如a和b的II部分碱基长度有所不同,II,III部分的夹角也有差异。这种依据分子形态进行的鉴定可称为Molecular Morphological Characteristic,对于今后进行更大范围的ITS2序列比对分析及鉴定具有重要启示。

三、讨论

采用DNA条形码这种快速有效准确的鉴定方法

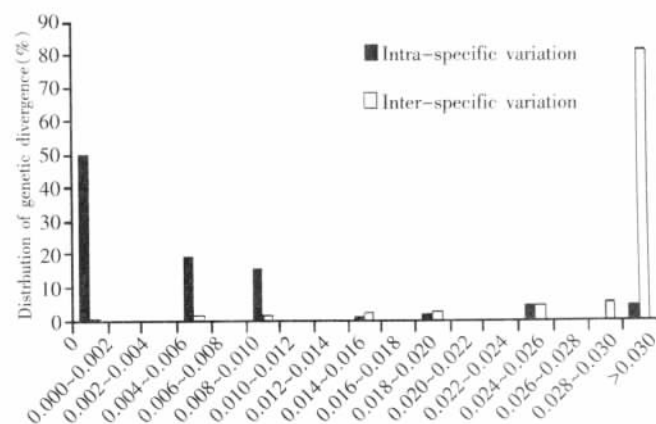


图1 黄芪属ITS2序列种内变异和种间变异分布图

对我国豆科植物大属黄芪属进行植物鉴定,对于保护濒危植物,保证药材市场安全生产及植物资源合理利用具有重要意义。本研究用 ITS2 序列鉴定我国黄芪属药用植物,是样本量最大、密切相关物种最多的研究之一。已有研究大多专注于该属的系统学研究^[18],或者仅仅对该属某一些物种^[16~17]做了鉴定分析。本研究显示在豆科黄芪属植物样品中,ITS2 序列通用性较好,变异度适合,提供的遗传信息充足,鉴定能力较强,因此 ITS2 是一个非常有效的分子鉴定序列;ITS2 序列可以进行 RNA 二级结构预测,可解决高级分类阶元的多重序列比对困难问题,其二级结构还具有一定的鉴定应用价值^[30,37]。因此对于更高分类等级鉴定来说,ITS2 序列可能具有更广泛的应用性。

ITS 序列比 ITS2 更早受到关注,其变异水平也高于 ITS2,然而 ITS 序列在某些植物类群中扩增成

功率很低^[27,38~39],不符合条形码通用性的要求。而 ITS2 在广大植物类群中的通用性较好,如 ITS2 在 98 个科 326 个物种的 400 份样本中的扩增效率仍能达到 93.8%^[27],在芸香科、重楼属植物中扩增效率都较高(95%~100%)^[36~37]。此外,ITS2 序列是系统进化研究中常用的片段之一^[28~30],网上有大量相关数据可以利用。ITS2 具有较为保守的二级结构,在高级结构上具有一致性,保证比对能够顺利进行^[30]。因此,ITS2 跟其他几个条形码序列相比,具有一些不可比拟的优势。

对于国际上提出的 ITS2 的真菌污染问题,本研究通过 HMM 真菌模型,可以去掉这部分的影响,保证数据的可靠性。对于 ITS2 的多拷贝问题,目前仍存在争议,Coleman 指出 ITS 在基因组上数百个拷贝间序列是高度相似的,在大多数物种中,PCR 扩增的 ITS2 的拷贝可以代表该个体的 ITS2 核基因信息,因此,ITS2 可以作为一个有效的单序列条形码进行使用^[40]。

ITS2 未成功区别鉴定的 6 个物种在传统分类学上多存在争议。如膜荚黄芪和蒙古黄芪在形态及化学成分上十分相似,但是分类学家对于它们的分类关系一直存在分歧。Hsiao^[41]曾把 *A. mongholicus* 定做 *A. membranaceus* 的一个变种。董婷霞^[17]曾采用 5S rRNA Spacer, ITS 和 18S rRNA 来验证,她的观点也支持二者为变种关系。蒺藜叶黄芪 *A. tribulifolius* 和甘青黄芪 *A. tanguticus* 的分类关系也十分复杂。甘肃南部的漠北黄芪和甘青黄芪十分相似,因此 Wenninger (1991 年)^[42]曾把二者合并为一个种。康云等^[18]用 ITS 序列分析也认为,二者可能是变种关系。斜茎黄芪 *A. adsurgens* 和漠北黄芪 *A. austrosibiricus* 二者关系也十分密切。Положий 曾因为二者形态近似将其并为一类^[1]。总之,ITS2 为这些物种的分类学难题提供了一个分子证据。

本研究认为 ITS2 序列比较适合做为 DNA 条形码用于黄芪属药用植物的鉴定。本研究拓宽了 DNA 条形码技术在植物界的应用,并为黄芪属分类鉴定专家、系统进化学家、种群遗传学家提供了一种新方法^[43]。DNA 条形码技术将为黄芪属濒危植物保

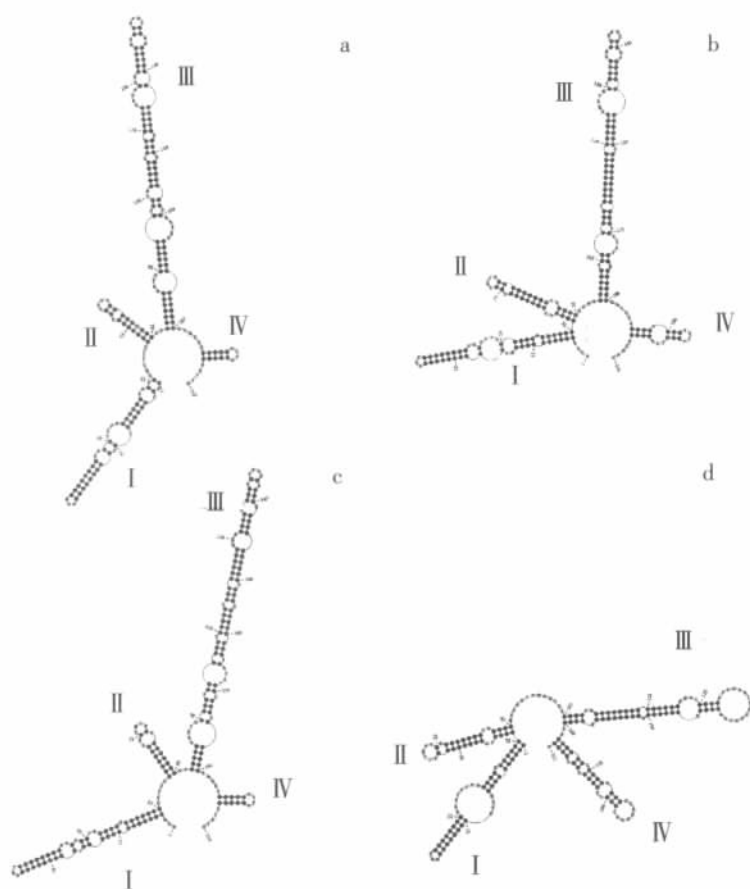


图2 黄芪属4个物种的ITS2二级结构图
a. *A. complanatus* (U50501); b. *A. chinensis* (AF121681);
c. *A. membranaceus* (EU852042); d. *A. sinicus* (AB051965)。

护、物种资源多样性研究及维持药材市场的稳定具有重要意义。

参考文献

- 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志第 42 卷: 第一分册. 北京: 科学出版社, 1993.
- 赵明, 段金廛, 黄文哲, 等. 中国黄芪属 (*Astragalus* Linn.) 药用植物资源现状及分析. 中国野生植物资源, 2000, 19(6): 5~9.
- 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典. 北京: 化学工业出版社, 2005.
- Wei, X.; Zhang, J.; Li, J.; et al. *Astragalus mongholicus* and *Polygonum multiflorum*'s protective function against cyclophosphamide inhibitory effect on thymus. *Am. J. Chinese Med.*, 2004, 32: 669~680.
- 赵宝玉, 童德文, 葛鹏斌, 等. 我国西部草原疯草危害调查. 中国草地, 2003, 25(4): 65~68.
- 徐南平. 浅述中药质量对临床疗效的影响. 湖北中医学院学报, 2001, 3(4): 29.
- 燕玲, 宛涛, 张众, 等. 膜荚黄芪与蒙古黄芪植物学特征分析. 内蒙古农业大学学报, 2001, 4(7): 1~27.
- 马建军. 内蒙古黄芪属 (*Astragalus*) 植物的分类学研究. 内蒙古师范大学硕士学位论文, 2004, 1~82.
- 张明理, 席以珍, 康云, 等. 国产黄芪属簇毛黄芪亚属花粉形态及其系统学意义. 云南植物研究, 2003, 25: 46~54.
- 黎斌. 中国西北地区 11 种黄耆属植物的细胞学研究. 西北植物学报, 2002, 22 (3): 467~475.
- 张庆芝, 吴晓俊, 刘涤, 等. 黄芪及其民间习用品 DNA 指纹图谱和有效成分含量的比较. 中国药学杂志, 2005, 40(6): 457~459.
- Aaron Liston, Variation in the Chloroplast Genes *rpoC1* and *rpoC2* of the Genus *Astragalus* (Fabaceae): Evidence from Restriction Site Mapping of a PCR-Amplified Fragment. *Am J Bot.*, 1992, 79(8): 953~961.
- 丁士友, 顾红雅, 瞿礼嘉, 等. PCR 产物的 RFLP 分析在黄芪亚族 (豆科) 系统学研究中的应用初探. 植物学报, 1995, 37(2): 97~102.
- Cheng KT, Su BC, Chen CT, et al. RAPD analysis of *Astragalus* medicines marketed in Tai Wan. *Am J Chin Med.*, 2000, 28: 273~278.
- Wojciechowski M F, Sanderson M J, Baldwin, B G, et al. Monophyly of aneuploid *astragalus* (Fabaceae): Evidence from nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer sequences. *Am J Bot.*, 1993, 80: 711.
- Ma XQ, Duan JA, Zhu DY, et al. Species identification of Radix Astragali (Huangqi) by DNA sequence of its 5S rRNA spacer domain. *Phytochemistry*, 2000, 54: 363~368.
- Tina T. X. Dong, Xiao Q. Ma, Charles Clarke, et al. Phylogeny of *Astragalus* in China: molecular evidence from the DNA sequences of 5S rRNA spacer, ITS, and 18S rRNA. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51(23): 6709~6714.
- 康云, 张明理. 基于 ITS 序列对中国簇毛黄耆亚属 (黄耆属) 系统学问题的初步研究. *Acta Botanica Sinica*, 2003, 45(2): 140~145.
- Maddison, D.R., Schulz, K.S., Maddison, W.P. The Tree of Life Web Project. *Zootaxa*, 2007, 1668: 19~40.
- Hebert P D, Cywinska A, Ball S L, et al. Biological identifications through DNA barcodes. *Proc R Soc Biol Sci SerB*, 2003, 270 (1512): 313~321.
- Hebert P D, Ratnasingham S, deWaard J R. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proc R Soc Biol Sci SerB*, 2003, 270(Supp 1): S96~S99.
- Kress W J, Erickson D L. A two-locus global DNA barcode for land plants: The coding *rbcL* gene complements the non-coding *trnH-psbA* spacer region. *PLoS ONE*, 2007, 2(6): e508.
- Lahaye R, van der Bank M, Bogarin D, et al. DNA barcoding the floras of biodiversity hotspots. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105 (8): 2923~2928.
- Song J Y, Yao H, Li Y, et al. Authentication of the family Polygonaceae in Chinese pharmacopoeia by DNA barcoding technique. *J Ethnopharmacol*, 2009, 124(3): 434~439.
- Yao H, Song J Y, Ma X Y, et al. Identification of *Dendrobium* species by a candidate DNA barcode sequence: The chloroplast *psbA-trnH* intergenic region. *Planta Med*, 2009, 75(6): 667~669.
- CBOL Plant Working Group. A DNA barcode for land plants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(31): 12794~12797.
- Chen S L, Yao H, Han J P, et al. Validation of the ITS2 Region as a Novel DNA Barcode for Identifying Medicinal Plant Species. *PLoS ONE*, 2010, 5(1): e8613.
- Coleman, A.W. ITS2 is a double-edged tool for eukaryote evolutionary comparisons. *Trends Genet*, 2003, 19(7): 370~375.
- Chiou, S.J., Yen, J.H., Fang, C.L. et al. Authentication of medicinal herbs using PCR-Amplified ITS2 with specific primers. *Planta Med*, 2007, 73: 1421~1426.
- Coleman, A.W. Pan-eukaryote ITS2 homologies revealed by RNA secondary structure. *Nucleic Acids Res*, 2007, 35(10): 3322~3329.
- Wolf, M., Achtziger, M., Schultz, J., et al. Homology modeling revealed more than 20,000 rRNA internal transcribed spacer 2 (ITS2) secondary structures. *RNA*, 2005, 11: 1616~1623.
- Meyer C P, Paulay G. DNA barcoding: error rates based on comprehensive sampling. *PLoS Biol*, 2005, 3(12): e422.
- Meier, R., Zhang, G., Ali, F. The use of mean instead of smallest interspecific distances exaggerates the size of the "Barcoding Gap" and leads to misidentification. *Syst. Biol*, 2008, 57(5): 809~813.
- Ross H A, Murugan S, Li W L. Testing the reliability of genetic methods of species identification via simulation. *Syst Biol*, 2008, 57(2): 216~230.
- 朱英杰, 陈士林, 姚辉, 等. 重楼属药用植物 DNA 条形码鉴定研究. 药学学报, 2010, 45(3): 376~382.
- 罗焜, 陈士林, 陈科力, 等. 基于芸香科的植物通用 DNA 条形码研究. 中国科学 C 辑 生命科学 2010, 4 (in press).
- Pramod Kumar Prasad, Veena Tandon, Devendra Kumar Biswal, et al. Phylogenetic reconstruction using secondary structures and sequence motifs of ITS2 rDNA of *Paragonimus westermani* (Kerbert, 1878) Braun, 1899 (Digenea: Paragonimidae) and related species. *BMC Genomics*, 2009, 10 (Suppl 3): S25.
- Chase M W, Salamin N, Wilkinson M, et al. Land plants and DNA bar-

- codes: short-term and long-term goals. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2005, 360:1889~1895.
- 39 Gonzalez M A, Baraloto C, Engel J, *et al*. Identification of Amazonian trees with DNA barcodes. *PLoS One*, 2009, 4(10):e7483.
- 40 Coleman, A.W. Is there a molecular key to the level of "biological species" in eukaryotes? A DNA guide. *Mol.Biol.Evol*, 2009, 50:197~203.
- 41 Hsiao, P.G. Studies on the original plant and pharmacognosy of traditional Chinese medicine: Huangqi. *Acta. Pharmacol Sin*, 1964, 11:117~123.
- 42 Wenninger J. Revision on *Astragalus* L. sect. *Chlorostachys* Bunge, sect. *Phyllobium* Bunge and sect. *Skythopos* Simpson (Leguminosae). *Mitt. Bot. Staatssamml. Munchen*, 1991,30:1~96.
- 43 陈士林,宋经元,姚辉,等. 药用植物 DNA 条形码鉴定策略及关键技术分析. *中国天然药物*,2009,7(5):322~327.

Identification of *Astragalus* Plants in China Using the Region ITS2

Gao Ting, Yao Hui, Ma Xinye, Zhu Yingjie, Song Jingyuan

(Institute of Medicinal Plant Development, Peking Union Medical College & Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract: *Astragalus* is a large genus in China, containing various medicinal plant species. In this study, we tested the applicability of a DNA barcode ITS2 for identifying medicinal plant species within the *Astragalus* genus. The result showed that ITS2 has great universality, proper intra- /inter-specific divergence, obvious Barcoding Gap, and strong species discrimination power. Based on the BLAST1 method, 41 of 47 *Astragalus* species have been identified by ITS2. In addition, ITS2 secondary structure is of significance for the systematic and taxonomic study. Therefore, ITS2 may be a useful barcode for *Astragalus* species, with great application value.

Keywords: ITS2, *Astragalus*, Identification, DNA barcoding

(责任编辑 李沙沙, 责任译审 张立威)