基于 EST-SSR 标记鉴别人参、西洋参和三七的研究*

范馨元[1],王添琦[1],惠赫童[1],武伦鹏[2],林成日[3],刘丽梅[1]**

(1. 北华大学医学技术学院,吉林 132013; 2. 国家参茸产品质量监督检验中心,延边 133000;
3. 吉林省益盛汉参生物科技有限公司,白山 134521)

摘要 目的: 应用简单重复序列(SSR)标记对人参属植物人参、西洋参和三七进行鉴别。方法: 利用 EGassembler 对 NCBI 的 EST 数据库进行预处理,SSRIT 网站寻找 SSR 位点后用 Primer3 设计特异性引物。采用非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳和毛细管电泳 2 种方法筛选并验证 EST-SSR 引物的通用性。应用筛选的 SSR 引物构建标准指纹图谱并对市售商业参类产品的原材料进行鉴定。结果: 应用生物信息学的方法共筛选出 7 对EST-SSR标记可以用于人参、西洋参和三七的鉴定。在市售商业产品的检测中,以引物 P2 和 Q11 的联合检测阳性率最高。结论: SSR 标记具有较高的重复性和准确性,可以作为人参属植物可靠的分子标记。

关键词: 表达序列标签(SSR); 人参; 西洋参; 三七; 鉴别

中图分类号: R 917 **文献标识码:** A **文章编号:** 0254-1793(2022)03-0394-08

doi: 10.16155/j.0254-1793.2022.03.05

Identification of *Panax ginseng*, *Panax quinquefolius* and *Panax notoginseng* by EST-SSR markers*

FAN Xin-yuan[1], WANG Tian-qi[1], HUI He-tong[1], WU Lun-peng[2], LIN Cheng-ri[3], LIU Li-mei[1]**

(1. College of Medical Technology, Beihua University, Jilin 132013, China; 2. National Ginseng Products Quality Supervision Inspection Center, Yanbian 133000, China; 3. Jilin Yisheng Hanshen Biotechnology Co, Ltd, Baishan 134521, China)

Abstract **Objective:** Using the simple sequence repeat (SSR) markers to identify *Panax ginseng*, *Panax quinquefolium* and *Panax notoginseng*. **Methods:** The EST database of NCBI was pre-processed by using EGassembler. SSRIT website was used to identify SSR loci and Primer3 was used to design specific primers. The universality and polymorphism of EST-SSR primers were screened and verified by non-denatured polyacrylamide gel electrophoresis and capillary electrophoresis. These SSR primers were used to construct standard fingerprints and identify the raw materials of ginseng products from the market. **Results:** Through bioinformatics methods, seven pairs of EST-SSR markers were screened for identification of *Panax ginseng*, *Panax quinquefolium* and *Panax notoginseng*. The combination of primers P2 and Q11 showed the highest positive rate in the detection of commercial products. **Conclusion:** SSR molecular markers are repeatable and accurate, which can be used as reliable molecular markers for identification of *Panax* species.

Keywords: EST-SSR; *Panax ginseng*; *Panax quinquefolium*; *Panax notoginseng*; identification

* 吉林省科技发展计划项目(20190304108YY)资助

** 通信作者 Tel: 18604498518; E-mail: liulm74@163.com
第一作者 Tel: 13274486908; E-mail: fanxinyuan2020@163.com

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

五加科人参属植物人参(*Panax ginseng*)、西洋参(*Panax quinquefoliusm*)和三七(*Panax notoginseng*)是我国常用的珍贵中药材。三者在植物形态和化学成分方面均具有一定的相似性,但在药性和功效上具有很大差别。受环境因素影响依靠传统形态学和化学分析法鉴定植物品种不够精确,尤其是难以对参片及参粉等参类产品进行鉴定。随着分子生物学的发展,DNA 分子标记技术可以直接分析药用植物的遗传变异,使得中药材的鉴定更为准确、便捷。

第 2 代 DNA 分子标记物简单重复序列(simple sequence repeat,SSR)是以 1~8 个碱基为基本单元的串联重复序列。基因组中 SSR 的侧翼序列通常是保守性较强的单一序列,可以根据侧翼序列设计引物进行扩增。由于近缘物种的 SSR 核心序列串联重复数目不同就会扩增出不同长度的 PCR 产物,呈现出高度的多态性。与其他 DNA 分子标记相比,SSR 具有数量丰富,重复性好,分布均匀和多态性高的特点。

按照 SSR 的来源不同,可将其分为基因组 SSR(G-SSR)和表达序列标签 SSR(EST-SSR)。与 G-SSR相比,EST-SSR 具有开发成本低、信息量大、高效且与基因编码区密切相关等优点。随着 NCBI 数据库中 EST 序列激增,使得基于 EST 序列挖掘 SSR 标记成为可能,现已被应用到玉米、小麦、松树、莪术,茶树等多种植物的鉴别中[1-5]。本研究利用生物信息学从 EST 数据库中筛选 SSR 位点,设计并筛选 EST-SSR 引物用于人参、西洋参和三七进行种间鉴定,尝试应用 EST-SSR 标记对市售商业产品的原材料进行鉴定。

1 材料与试剂

1.1 材料

供试人参、西洋参和三七样品由吉林省益盛汉参生物科技有限公司提供,储存于-80 ℃冰箱用干冰保持样品新鲜(表 1)。50 份市售产品购自当地及线上销售处,其中包括 30 份人参产品(10 份人参片、10 份人参粉和 10 份红参片),10 份西洋参产品(西洋参切片)和 10 份三七产品(三七粉)。

表 1 样品名称及产地表

Tab. 1 Name and habitat of samples

编号(No.)	材料名称(material name)	产地(habitat)	样品数量(number of samples)
1	人参(*Panax ginseng*)	吉林省通化市(Tonghua city, Jilin province)	4
2	人参(*Panax ginseng*)	辽宁省丹东市(Aandong city, Liaoning province)	13
3	人参(*Panax ginseng*)	辽宁省本溪市(Benci city, Liaoning province)	6
4	人参(*Panax ginseng*)	黑龙江省哈尔滨市(Harbing city, Heilongjiang province)	1
5	人参(*Panax ginseng*)	黑龙江省牡丹江市(Mudanjiang city, Heilongjiang province)	6
6	西洋参(*Panax quinquefolius*)	吉林省(Jilin province)	8
7	三七(*Panax notoginseng*)	云南省(Yunnan province)	10

1.2 试剂

Premix Taq Hot Start Version、D2 000 bp DNA ladder、6×DNA Loading Buffer 均购自宝生物工程有限公司,琼脂糖购自 BIOWEST 公司,丙烯酰胺、甲叉双丙烯酰胺、四甲基乙二胺、过硫酸胺、巯基乙醇、十六烷基三甲基溴化铵、聚乙烯吡咯烷酮、异戊醇、异丙醇、无水乙醇、碳酸钠、乙酸钠、氢氧化钠、乙二胺四乙酸、三羟甲基氨基甲烷、5×TBE 电泳缓冲液均购自生工生物工程股份有限公司。

1.3 仪器

JA5002Q 千分之一电子分析天平(沈阳龙腾电子有限公司);Micro21 高速离心机(Thermo Fisher 公司);H-2050R 低温高速离心机(长沙高新技术产业开发区湘仪离心机仪器有限公司);ETC811 型 PCR 基因扩增仪(苏州东胜兴业科学仪器有限公司);WD-9406型胶片观察灯(北京市六一仪器厂);ZF 型紫外透射反射分析仪(上海嘉鹏科技有限公司);Qsep1 生物片段分析仪(台湾光鼎生物科技有限公司);DS-11 分光光度计(DeNovix 公司);JY300E 水平电泳分析仪(济南君意生物科技有限公司);LX-100手掌型离心机(海门市其林贝尔仪器制造有限公司)。

2 方法

2.1 人参 EST-SSR 查找及引物设计

登录 NCBI(http://www.ncbi.nlm.nih.gov/)在 dbEST 数据库中下载人参、西洋参和三七所有 EST

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

序列。利用 EGassembler(https://www.genome.jp/tools/egassembler/)网站进行预处理,其中包括 3 个部分序列清洁、重复掩盖和载体掩蔽。EST-trimmer 可以去除小于 100 bp 的序列、polyA 和 polyT。Seq-clean 可以去除散布重复和长末端重复。Repeat Masker 可以与 NCBI 的 UniVec 数据库进行比对,以便于去除接头和载体。应用 CAP3 软件进行序列拼接后在 SSRIT(http://www.gramene.org/db/searches/ssrtool)网站上搜索 SSR 位点,统计标准为:二核苷酸、三核苷酸、四核苷酸、五核苷酸、六核苷酸、七核苷酸和八核苷酸的最少重复次数在 6、5、4、3、3、3 和 3 次以上。EST-SSR 引物用 Primer3 设计,由生工生物工程股份有限公司合成,P 编号为杨成君等[6]设计引物,其余为自行设计,表 2。引物设计的原则:退火温度 40~60 ℃,GC 含量为 40%~60%,引物长度 18~23 bp,产物大小 100~400 bp。

表 2 EST-SSR 引物序列及扩增产物大小

Tab. 2 EST-SSR primers sequence and amplification product size

引物编号 (primer number)	重复基元 (repetitive motif)	引物序列(5'-3') (primer sequence)	产物大小 (product size)/bp	退火温度 (annealing temperature)/℃	多态性 (polymorphism)
P2	(TA)10	F: ACTACCGGAGTCAAGCCTCA R: ACGGCCATCATTAATCCAAA	209	55	*
P4	(TA)11	F: ACTGCCGTTATAGGTGCTGC R: ACGGCCATCATTAATCCAAA	261	55	*
P17	(TA)7	F: AGCAAGCTTCTGATTCTGTGG R: ATGCACCTGACTCGTAGGCT	250	55	*
P22	(AC)8	F: AGTGCCAGAGAAGCAACCAT R: ATGTTCACCACACCACTGGA	219	55	*
P29	(AGC)10	F: CAACGTGCCTTGTGTTGGTA R: CGTCCTCTTGCTCTTTCCAC	158	55	-
P30	(AGC)7	F: AGGGATGCTAGTGCGTCAAT R: CCATGGGTATGGGTGTCACT	238	55	*
P35	(GCT)9	F: AAAGCAGGGTGTGCTCACTT R: AGGGAGACCGGAGCATTATT	198	55	*
P42	(ATC)8	F: CGCACAGTGAGGAAGAAGAA R: CGTTCTTAGCCTTGATTGCC	202	55	*
P46	(CGA)6	F: TGCGCAGATACCTACTCGTG R: TCCACGGTCTCAAATCCTTC	207	55	*
Q1	(AT)6	F: GGGGTTTGTTATTGCGGCTG R: AACCTGCGCTAGACTTGAGG	287	46	-
Q2	(AT)7	F: TCCAAAGACCCCTCCTCCAA R: TGGTGAGTGGCTGAATCTGG	160	46	*
Q3	(CT)7	F: GCTGGTCCCCTCTACAACAC R: GCCATCGTTTTGTCCTCGTC	352	46	*
Q4	(AG)8	F: ACAGACAGAGAGAGTGCAAC R: GCCGTCTTCAAATCCAGAGAAAG	222	46	-
Q5	(TA)9	F: GCAGGTGTTCACATACTTCGC R: AGGAATCAGAAGAAGGAGCCC	300	46	*
Q6	(TC)9	F: GCTGGTCCCCTCTACAACAC R: GCCATCGTTTTGTCCTCGTC	352	46	-
Q7	(GAT)6	F: GTGGAAAAGGTAGCGTGAGGA R: CCATGGACAAGTTCTGGGACA	397	46	-
Q8	(TAA)6	F: CAATAGCCTAGCCTCGGACC R: AACCCCAGATCGTTGTGTCA	158	46	*
Q9	(CTA)6	F: TTGGTACCCCGGGAAATTCG R: GTGAGTTGCATGAAGGTCGC	151	46	-
Q10	(AT)7	F: TCCGGATTATGGCGCTTTCT R: CCCCATAGCAAGCACAACAG	190	46	-
Q11	(TG)8	F: CCGGGGATTGAAGCAGGAAT R: CACCCGGCCCACACATATAT	208	46	*

注(note):* . 有多态性(with polymorphism);-. 无多态性(no polymorphism)

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2.2 DNA 提取和 PCR 扩增

本研究应用改良的 CTAB 法提取植物 DNA[7]，用微量核酸蛋白质检测仪检测 DNA 的纯度及浓度。以人参的 DNA 为模板对 20 个引物进行筛选。PCR 反应体系为：10 μmol·L^{-1}SSR 上下引物 1 μL，10 ng·μL^{-1}模板 DNA 4 μL，Premix Taq Hot Start(TaKaRa) 10 μL，去离子水 4 μL，反应在基因扩增仪上进行。反应程序：94 ℃预变性 5 min；94 ℃变性 30 s；合适的退火温度 30 s；72 ℃延伸 30 s，30 次循环；72 ℃延伸 10 min，4 ℃保存。

2.3 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳及银染

PCR 产物用 8%的非变性聚丙烯酰胺凝胶(双蒸水 7.9 mL，30%丙烯酰胺溶液 4 mL，5×TBE 3 mL，10%过硫酸铵 110 μL 和四甲基乙二胺 10 μL)进行鉴定，将 PCR 产物 5 μL 与 6×Loading buffer 1 μL 混合均匀加入点样孔，在含有 1×TBE 缓冲液的电泳槽中进行电泳。120 V 电泳 15 min，以便将样品下压跑出较为整齐的条带，再用 90 V 电泳 60 min 后结束电泳。硝酸银进行染色，置于胶片观察灯上拍照并记录条带[8]。

2.4 PCR 产物的纯化及毛细管电泳

在 PCR 产物 20 μL 中加入乙酸钠溶液 2 μL 和无水乙醇 40 μL 在-80 ℃的条件下放置 1 h，以 12 000 r·min^{-1}离心 10 min。向 EP 管中加入 70%乙醇 750 μL，以 12 000 r·min^{-1}离心 2 min，弃去上清，充分晾干。加入适量双蒸水溶解 DNA，测浓度并将其稀释到 2 ng·μL^{-1}。毛细管上样为 15 μL，当检测到 20 bp 内参时开始记录样品条带数据，当 1 000 bp 内参被检测到时，系统停止记录数据，电泳结束。

3 结果和分析

3.1 EST-SSR 标记的生物信息学分析

在 NCBI 数据库中下载 17 773 条人参属的 EST 序列，通过 EGassembler 进行预处理后得到有效的 EST 序列 17 273 条。使用 CAP3 软件进行序列的聚类与拼接，获得 2 541 条 contigs 和 7 919 条 singletons。用 SSRIT 搜索出 950 个 SSR，其中二核苷酸和三核苷酸最多，占总数的 58%(表 3)。

3.2 EST-SSR 标记的筛选及通用性检测

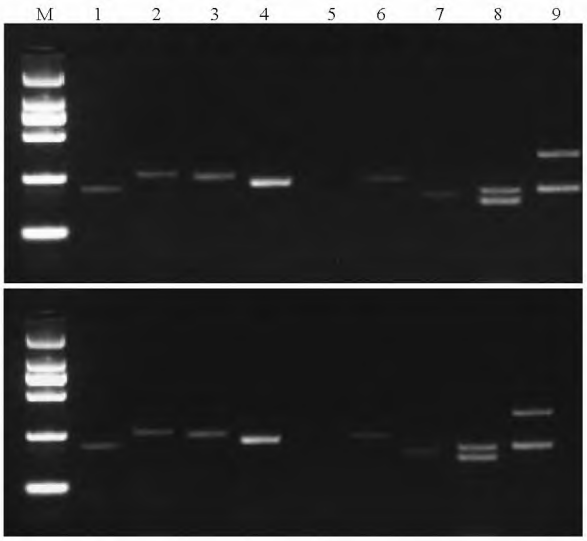
用人参对 20 对 EST-SSR 标记进行筛选(图 1)，其中有 17 对 EST-SSR 标记出现了扩增产物。有 15 对 EST-SSR 标记在人参中有特异扩增条带，与设计引物时预期扩增产物的片段大小相符，其中有 2 对 EST-SSR 标记扩增出非特异性条带。

表 3 SSR 不同重复类型的出现频率

Tab. 3 Frequency of different repeat unit types of SSR

重复类型 (repetitive type)	数量 (number)	百分比/% (percentage)
二核苷酸(dinucleotide)	333	35.05
三核苷酸(trinucleotide)	214	22.53
四核苷酸(tetranucleotide)	63	6.63
五核苷酸(pentucleotide)	151	15.89
六核苷酸(hexanonucleotide)	162	17.05
七核苷酸(heptanucleotide)	21	2.21
八核苷酸(octanonucleotide)	6	0.63
合计(total)	950	/

用筛选出有预期片段大小的 15 对 EST-SSR 标记检测其在近缘植物西洋参和三七中的通用性(图 2)，15 对标记在三七中均有特异性条带，仅有 13 对标记在西洋参中有目的条带。



M. D 2 000 bp DNA ladder 1~9. 引物 P2、P4、P17、P22、P29、P30、P35、P42 和 P46 的扩增条带图(band profiles which were amplified by primer pairs P2, P4, P17, P22, P29, P30, P35, P42 and P46)

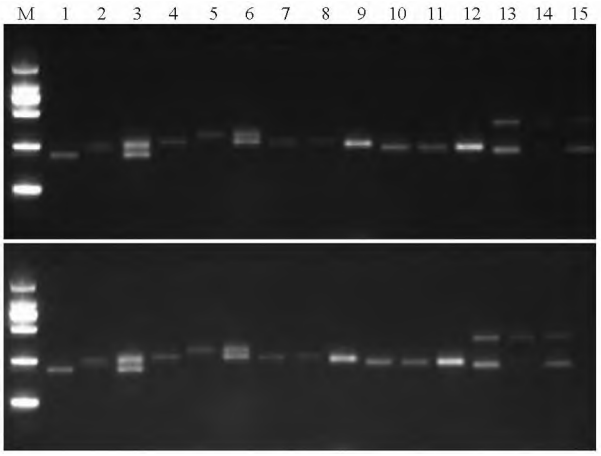
图 1 部分 EST-SSR 标记在人参中的扩增

Fig. 1 Amplification of some EST-SSR markers in *Panax ginseng*

3.3 应用 EST-SSR 对人参、西洋参和三七进行鉴定

应用生物信息学筛选 SSR 位点并设计了 20 对引物中，其中有 9 对引物在人参属植物中具有多态性。考虑了多态性信息含量、等位基因拷贝数、基因

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net



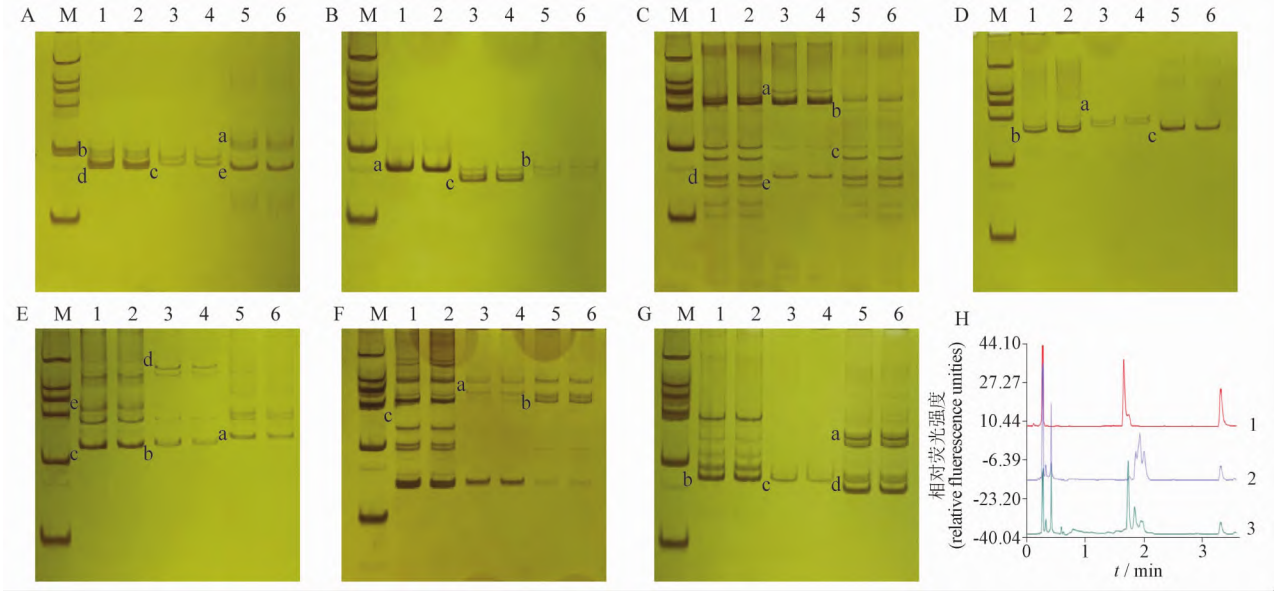
M. D 2 000 bp DNA ladder　1~3. 引物 P2(primer P2)　4~6. 引物 P4(primer P4)　7~9. 引物 P17(primer P17)　10~12. 引物 P22(primer P22)　13~15. 引物 P46(primer P46)

图 2　部分 EST-SSR 标记在人参(1,4,7,10,13)、西洋参(2,5,8,11,14)和三七(3,6,9,12,15)中的通用性检测

Fig. 2　Universal detection of some EST-SSR markers in *Panax ginseng*(1,4,7,10 and 13), *Panax quinquefolius*(2,5,8,11 and 14) and *Panax notoginseng*(3,6,9,12 and 15)

组分布均匀性、PCR 扩增效率等因素,最终选择了 7 个 EST-SSR 标记用于人参、西洋参和三七的鉴别,其中包括引物 P2、P35、Q2、Q3、Q5、Q8 和 Q11(图 3)。每对 EST-SSR 标记可以检测到不同数量的等位基因条带(范围 3~5; 平均值 4),用小写字母表示。这些条带清晰可辨,易于计数,并可相互区分。多态性信息含量介于 0.55 和 0.82 之间,平均值为 0.68(表 4)。

以引物 P2 为例,它揭示了 5 个不同的等位基因,人参和三七分别有 2 条特异性等位基因,而西洋参有 1 条等位基因 c(图 3,A)。引物 P2 的毛细管电泳图中,可以从峰形、高度和片段大小对人参、西洋参和三七进行鉴定,人参最高峰出现的最早,西洋参最高峰出峰最晚,三七片段数最多,这与非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳的结果是一致的(图 3,H)。其他 6 对引物均有能进行物种鉴定的特异性等位基因,聚合酶链反应产物都符合他们的预测大小,范围从 100~400 bp。



a~d. 同表 4(same as Tab. 4)

M. D 2 000 bp DNA ladder　A. 引物 P2(primer P2)　B. 引物 P35(primer P35)　C. 引物 Q2(primer Q2)　D. 引物 Q3(primer Q3)　E. 引物 Q5(primer Q5)　F. 引物 Q8(primer Q8)　G. 引物 Q11(primer Q11)　H. 引物 P2 毛细管电泳(capillary electrophoresis of primer P2)

图 3　应用 EST-SSR 标记鉴别人参(1,2)、西洋参(3,4)和三七(5,6)

Fig. 3　Identification of *Panax ginseng*(1 and 2), *Panax quinquefolius*(3 and 4) and *Panax notoginseng*(5 and 6) by EST-SSR markers

3.4　应用 EST-SSR 标记对人参、西洋参和三七的市售产品进行鉴定

应用新鲜人参、西洋参和三七样品作为标准品构建 SSR 标准指纹图谱,将市售产品的 SSR 多态性条带与标准指纹图谱相对比从而确定产品的原材料。7 对 EST-SSR 引物均可以对市售商业产品

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

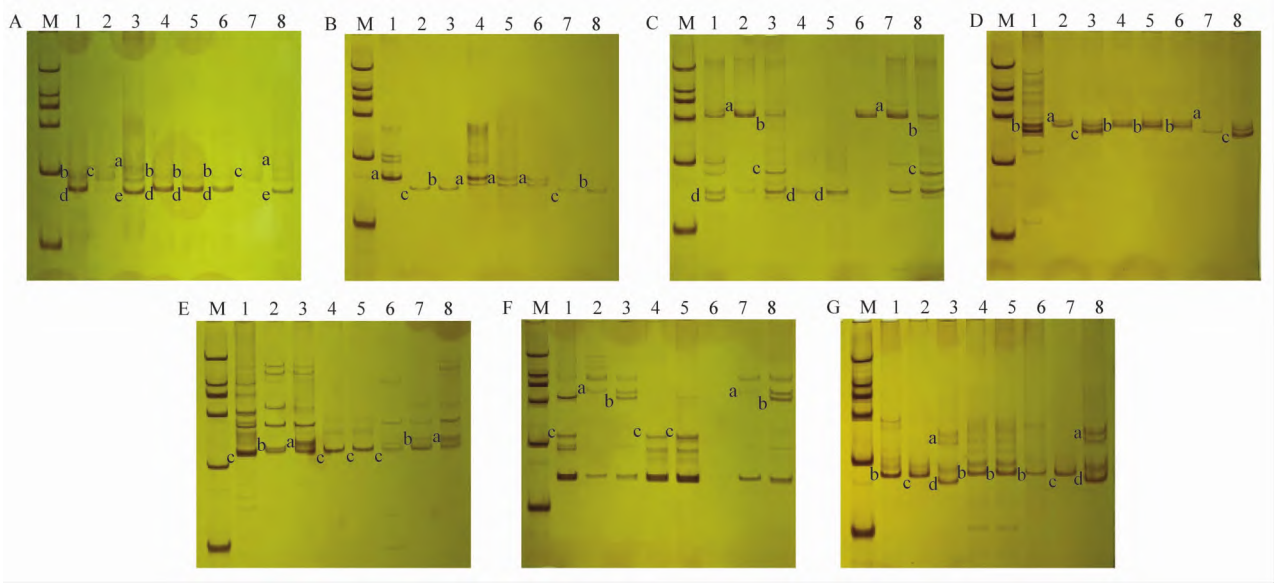
表 4 EST-SSR 标记鉴别人参、西洋参和三七

Tab. 4 Identification of *Panax ginseng*, *Panax quinquefolius* and *Panax notoginseng* by EST-SSR markers

引物 (primer)	等位基因数 (number of alleles)	多态信息含量 (polymorphism information content)	品种(species)		
			人参 (*Panax ginseng*)	西洋参 (*Panax quinquefolius*)	三七 (*Panax notoginseng*)
P2	5	0.672	b,d	c	a,e
P35	3	0.59	a	c	b
Q2	5	0.74	d	a,e	b,c
Q3	3	0.59	b	a	c
Q5	5	0.74	c,e	b,d	a
Q8	3	0.55	c	a	b
Q11	4	0.7	b	c	a,d

注(note):a~d. 等位基因(alleles)

进行检测(图 4)。与新鲜样品的 SSR 标准指纹图谱相比,商业产品的多态性条带较少,这与产品的加工与储藏方式相关。应用引物 Q2、Q5 和 Q8 对市售商业产品进行鉴定的过程中发现红参切片的扩增效率最低,这与高温处理导致 DNA 片段碎裂有关,可以适当增加 PCR 扩增循环数。在 7 对 EST-SSR 引物中,引物 P2 和 Q11 的组合鉴定效果最好,对于人参、西洋参和三七的市售商业产品检出率分别为 90%、85%和 98%。



M. D 2 000 bp DNA ladder A. 引物 P2(primer P2) B. 引物 P35(primer P35) C. 引物 Q2(primer Q2) D. 引物 Q3(primer Q3) E. 引物 Q5(primer Q5) F. 引物 Q8(primer Q8) G. 引物 Q11(primer Q11)

1~3. 人参、西洋参和三七 SSR 标准指纹图谱(standard fingerprint of *Panax ginseng*, *Panax quinquefolium* and *Panax notoginseng*) 4. 人参切片(ginseng slices) 5. 人参粉末(ginseng powders) 6. 红参片(red ginseng slices) 7. 西洋参切片(quinquefolium slices) 8. 三七粉(notoginseng powders)

图 4 应用 EST-SSR 标记鉴别人参(4,5,6)、西洋参(7)和三七(8)的市售商业产品

Fig. 4 Identification of commercial products of *Panax ginseng*(4,5 and 6), *Panax quinquefolius*(7) and *Panax notoginseng*(8) based on EST-SSR markers

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

4 讨论

人参、西洋参和三七在形态学上非常相似，市场上也多以粉末、颗粒、干根、切片和茶粉等形式进行销售，传统方法难以准确区分，研究者多从分子标记的角度对三者进行鉴定。Shaw 等[9] 首先采用 RAPD 法将人参属的 3 种药材人参、西洋参、三七与 4 种伪品桔梗、紫茉莉、杜兰及商陆相区分。Ha 等[10] 通过 AFLP 等技术揭示人参及西洋参间的差异。蒋超等[11] 利用 SNP 位点设计特异性引物用多重 PCR 的方法对人参、西洋参及三七进行鉴定。王志科等[12] 采用高分辨率熔解曲线技术对人参和西洋参进行鉴别。陈子易等[13] 应用 SSR 标记鉴别人参和西洋参进行鉴别，但未见有用 SSR 标记对人参、西洋参和三七进行鉴定的研究。

本研究采用生物信息学的方法从 EST 数据库中筛选 SSR 位点，根据二核苷酸和三核苷酸为重复基序的 SSR 位点设计了 11 对 EST-SSR 引物，并在人参、西洋参和三七中进行扩增。其中有 5 对引物显示出多态性，占可扩增引物的 71%，占设计引物总数的 45%，这与杨成君等[6] 利用数据库设计引物结果一致。利用人参筛选的 EST-SSR 引物在三七和西洋参中的通用性较高，分别为 100% 和 86%。吴天姝等[14] 的研究也表明 EST-SSR 引物的种间通用性要高于 G-SSR 引物。非变性聚丙烯酰胺电泳和毛细管电泳都能成功对人参、西洋参和三七进行鉴定。前者成本较低，重复性较好，而毛细管电泳更高效、快速、灵敏、省时和自动化，但是成本较高而且需要专业技术[15]。

在人参属植物的研究中，大多数文章聚集在 SSR 引物的筛选，没有应用 EST-SSR 标记对近缘物种人参、三七和西洋参进行鉴定[16-17]。本研究选取吉林、辽宁和黑龙江 3 个省份 5 个地点的人参进行试验发现人参居群间和居群内 SSR 多态性差异不大，不影响对人参、三七和西洋参进行种间鉴定。在市售产品的鉴定中，以三七为原材料的产品检出率最高，这可能是由于三七粉的处理方式较为简单，DNA 片段较少发生碎裂和降解。与人参片相比红参片的检出率要低可能是由于红参片经历了高温炮制导致基因断裂较为严重[18]。经比对发现引物 P2 和 Q11 的组合在市售商品的鉴定中取得了较好的效果。

由于人参基因组和转录组信息的缺乏使得人参遗传图谱的构建，重要性状基因定位，比较作图，遗传多样性和辅助选择育种等方面的研究相对比较滞后。EST-SSR 标记因其多态性和可转移性有望作为新一代分子标记物用于人参属植物种间鉴定。

参考文献

[1] 赵美琼，宋燕，范静华，等. 玉米 EST 序列中微卫星的频率和分布[J]. 云南农业大学学报，2008，23(5)：585
ZHAO MQ, SONG Y, FAN JH, *et al*. Frequency and distribution of different simple sequence repeats(SSRs) in the maize ESTs[J]. J Yunnan Agri Univ, 2008, 23(5): 585

[2] 刘林，孙来亮，兰茗清，等. 小麦 EST-SSR 的分析及其引物的开发[J]. 云南农业大学学报，2012，28(5)：623
LIU L, SUN LL, LAN MQ, *et al*. Analysis and exploitation of EST-SSRs in the triticum aestivum[J]. J Yunnan Agri Univ, 2012, 28(5): 623

[3] 杨雄，杨宁，袁启华，等. 白皮松 EST-SSR 分子标记的开发及应用[J]. 北京林业大学学报，2021，43(7)：1
YANG X, YANG N, YUAN QH, *et al*. Development and application of EST-SSR molecular markers in *Pinus bungeana*[J]. J Beijing For Univ, 2021, 43(7): 1

[4] 杨妮，郭嗣斌，王建，等. 广西莪术 EST-SSR 标记开发及其在遗传多样性分析中的应用[J]. 药物分析杂志，2017，37(12)：2291
YANG N, GUO SB, WANG J, *et al*. Development of EST-SSR markers and its application in genetic diversity analysis in *Curcama kwangsinesis*[J]. Chin J Pharm Anal, 2017, 37(12): 2291

[5] 严伟，王婧，丁华，等. 茶树 EST 序列中微卫星标记的特征分析及应用[J]. 湖北农业科学，2013，52(24)：6178
YAN W, WANG J, DING H, *et al*. Characteristic analysis and application of microsatellites from EST sequence of camellia sinensis[J]. Hubei Agri Sci, 2013, 52(24): 6178

[6] 杨成君，王军，穆立蔷，等. 人参 EST-SSR 标记的建立[J]. 农业生物技术学报，2008，16(1)：114
YANG CJ, WANG J, MU LQ, *et al*. Development of EST-SSR marker in *Panax ginseng*[J]. J Agri Biotechnol, 2008, 16(1): 114

[7] 邵亚林，司俊波，常玮，等. 五种兜兰属植物基因组 DNA 提取方法比较[J]. 分子植物育种，2020，18(15)：4965
SHAO YL, SI JB, CHANG W, *et al*. Comparison of genomic DNA extraction methods from five species of *Paphiopedilum*[J]. Mol Plant Breed, 2020, 18(15): 4965

[8] 宋显军，张伟，曹萍，等. 大豆 SSR 标记 PAGE 银染方法的改进[J]. 安徽农业科学，2006，34(16)：3922
SONG XJ, ZHANG W, CAO P, *et al*. Improvement of PAGE silver staining method used in soybean SSR marker[J]. J Anhui Agri Sci, 2006, 34(16): 3922

[9] SHAW PC, BUT PP. Authentication of *Panax* species and their adulterants by random-primed polymerase chain reaction[J]. Planta Med, 1995, 61(5): 466

[10] HA WY, SHAW PC, LIU J, *et al*. Authentication of *Panax gin-*

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

seng and *Panax quinquefolius* using amplified fragment length polymorphism (AFLP) and directed amplification of minisatellite region DNA (DAMD) [J]. J Agric Food Chem, 2002, 50(7): 1871

[11] 蒋超，罗宇琴，袁媛，等. 多重位点特异性 PCR 鉴别人参、三七、西洋参掺杂 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(7): 1319
JIANG C, LUO YQ, YUAN Y, *et al*. Identification of *Panax ginseng*, *P. notoginseng and P. quinquefolius* admixture by multiplex allele-specific polymerase chain reaction [J]. China J of Chin Mater Med, 2017, 42(7): 1319

[12] 王志科，鲁放，熊超，等. Bar-HRM 技术在人参和西洋参药材鉴定中的应用研究 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2016, 18(2): 191
WANG ZK, LU F, XIONG C, *et al*. Application of Bar-HRM technology in identification of medicinal material of *Panax ginseng* and *Panax quinquefolium* [J]. Modern Tradit Chin Med Mater Med- World Sci Technol, 2016, 42(7): 191

[13] 陈子易，吕旭楠，程舟，等. 微卫星标记在人参和西洋参鉴别中的应用 [J]. 复旦学报(自然科学版), 2011, 50(2): 185
CHEN ZY, LÜ XN, CHENG Z, *et al*. Application of microsatellite markers to differentiate *Panax ginseng* C. A. Meyer from *Panax quinquefolius* L. [J] J Fudan Univ (Nat Sci), 2011, 50(2): 185

[14] 吴天姝，梁翠，李宏博，等. 人参单一基因微卫星标记的分析 [J]. 中国农业科学, 2011, 44(13): 2650
WU TS, LIANG C, LI HB, *et al*. Development of unigene derived microsatellite (UGMS) markers in *Panax ginseng* [J]. Sci Agri Sin, 2011, 44(13): 2650

[15] 李青竹，菜友铭，张永春，等. 基于石蒜属转录组序列的 SSR 分子标记开发应用 [J]. 核农学报, 2021, 35(9): 2002
LI QZ, CAI YM, HANG YC, *et al*. Development and application of SSR molecular markers based on transcriptome sequencing of Lycoris spp. [J]. J Nucl Agri Sci, 2021, 35(9): 2002

[16] TAHERI S, ABDULLAH TL, YUSOP MR, *et al*. Mining and development of novel SSR markers using next generation sequencing (NGS) data in plants [J]. Molecules, 2018, 23(2): 399

[17] VU DD, SHAH SNM, PHAM MP, *et al*. De novo assembly and Transcriptome characterization of an endemic species of Vietnam, *Panax vietnamensis* Ha et Grushv., including the development of EST-SSR markers for population genetics [J]. BMC Plant Biol, 2020, 20(1): 358

[18] JUNG J, KIM KH, YANG K, *et al*. Practical application of DNA markers for high-throughput authentication of *Panax ginseng* and *Panax quinquefolius* from commercial ginseng products [J]. J Ginseng Res, 2014, 38(2): 123

(本文于 2021 年 1 月 22 日收到)

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net