

不同种质鱼腥草总酚、黄酮含量及其抗氧化活性

蔡文国, 吴卫*, 代沙, 张平武, 邹建
(四川农业大学农学院, 四川 成都 611130)

摘要: 目的: 提取并测定16份鱼腥草材料(含1份峨眉蕺菜)叶片总酚和黄酮含量, 研究其体外抗氧化活性。方法: 以95%乙醇超声提取并测定16份综合农艺性状较好的鱼腥草材料以显色及紫外分光光度测定成分含量, DPPH、ABTS法测定抗氧化活性。结果: 16份鱼腥草总酚含量变异范围为7.01~15.0mg/g; 黄酮含量变异范围为3.56~11.0mg/g; DPPH法抗氧化值最小为84.7 μ mol/g, 最大为248 μ mol/g; 而ABTS法抗氧化能力的变幅为78.4~218 μ mol/g。以总酚和黄酮含量、DPPH法以及ABTS法抗氧化能力进行聚类分析, 按欧氏距离大于70可将16份鱼腥草材料分为两类。其中I类包含11份鱼腥草材料(含峨眉蕺菜), 其总酚和黄酮含量低, 抗氧化能力弱。II类包含5份鱼腥草材料, 其总酚和黄酮含量高, 体外抗氧化能力强。总酚、黄酮含量和体外抗氧化活性指标间相关性均达极显著水平。结论: 16份鱼腥草材料总酚、黄酮含量和抗氧化活性的不同, 主要是由于遗传背景所致; 且总酚和黄酮含量高, 体外抗氧化能力强的材料多为染色体数目大于80者。

关键词: 鱼腥草; 总酚; 黄酮; 抗氧化能力; 聚类分析

Total Phenol and Flavonoid Contents and Antioxidant Activity of *Houttuynia cordata* Thunb.

CAI Wen-guo, WU Wei*, DAI Sha, ZHANG Ping-wu, ZOU Jian
(College of Agronomy, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China)

Abstract: Leaves of sixteen *H. cordata* cultivars including *H. emeiensis* Z.Y. Zhu et S. L. Zhang were extracted with 95% ethanol by ultrasonic-assisted method. The contents of total phenolic acids and flavonoids were determined spectrometrically, and their antioxidant capacities were evaluated. The results showed that total phenol contents in dried leaves of *H. cordata* were in the range of 7.01–15.0 mg/g, and flavonoid contents varied from 3.56 to 11.0 mg/g. DPPH radical scavenging rates of the leaf extracts of *H. cordata* varied from 84.7 to 248 μ mol/g, and ABTS radical scavenging rates from 78.4 to 218 μ mol/g. Cluster analysis based on the contents of polyphenol and flavonoid as well as antioxidant activity *in vitro* indicated that 16 *H. cordata* cultivars could be classified into two subgroups. The group I included 11 *H. cordata* cultivars with relatively low total phenol content, flavonoid content, and DPPH and ABTS radical scavenging capacity, while group II showed higher contents of polyphenol, flavonoid, and antioxidant activity *in vitro*. The chromosome number did not show any significant correlation with the contents of polyphenol and flavonoid or antioxidant activity *in vitro*, while total phenolic acid and flavonoids contents had an obvious correlation with antioxidant activity.

Key words: *Houttuynia cordata* Thunb.; total phenol; flavonoid; antioxidant activity; cluster analysis

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)07-0042-05

鱼腥草原植物为三白草科蕺菜属蕺菜(*Houttuynia cordata* Thunb.), 是卫生部确定的药食两用植物资源之一。峨眉蕺菜(*H. emeiensis* Z.Y. Zhu et S. L. Zhang), 又叫白鱼腥草, 发现于四川峨眉山, 该种在当地也作为鱼腥草使用^[1]。丰富的多酚是鱼腥草发挥医药和保健作用的重

要活性成分之一^[2-3]。植物多酚(包含黄酮), 广泛存在于植物中, 既可影响食物的风味(多酚味酸、涩), 同是也与抗氧化、抗心血管疾病、抗肿瘤等生物活性密切相关。川渝地区鱼腥草资源丰富, 在野生环境下经长期演变形成了遗传背景不同、化学成分有差异的生态类型。本课

收稿日期: 2012-01-07

基金项目: 教育部留学回国人员科研启动基金资助项目

作者简介: 蔡文国(1987—), 男, 硕士研究生, 主要从事药用植物研究。E-mail: wenguo.cai@gmail.com

*通信作者: 吴卫(1970—), 女, 教授, 博士, 主要从事药用植物育种学研究。E-mail: ewuwei@gmail.com

课题组曾对主要在这一地区收集的鱼腥草资源从细胞学、分子标记等方面开展过遗传多样性研究,进行过挥发油成分以及槲皮素含量分析等^[4-8]。形态、化学成分、染色体数目和分子标记研究都揭示了这些材料间的丰富变异,并且研究表明遗传背景与其化学组成和含量间存在一定的关系^[9-10],但尚未对这些资源的多酚和黄酮含量及其抗氧化活性进行过探讨。本实验进一步对16份综合农艺性状较好的鱼腥草材料的多酚和黄酮含量及其抗氧化活性进行比较,以期选育抗氧化能力强、营养价值高的鱼腥草品种提供一定科学依据和参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

鱼腥草材料为16份综合农艺性状好(通过多年的田间栽培实验,选育的生长旺盛,产量较高,抗病性、抗逆性较强的材料)。的鱼腥草材料,含1份峨眉蕺菜,其基源由四川农业大学生命科学与理学院植物教研室杨瑞武教授鉴定。材料的来源及染色体数目见表1。自2001年收集后,种植保存于四川农业大学教学科研实习场,栽培条件一致,常规水肥管理。2009年10月将根挖出,将每份材料种植于3个重复小区内,小区面积为(4×2.5)m²,每个小区用种量为3kg根。2010年6月采集,自然阴干,粉碎。

表1 材料来源及染色体数目^[11]

Table 1 Source and chromosome number of materials^[11]

序号	原采集地	染色体数目
W01-4	四川省乐山市五通桥	36
W01-5	四川省犍为县清溪	36
W01-16	四川省宜宾市宜宾县	80
W01-34	重庆市秀山县	86
W01-37	重庆庆酉阳县中都区	82
W01-39	重庆彭水县汉邻区	54
W01-45	四川汶川县漩口镇	84
W01-46	四川都江堰市紫坪	84
W01-52	四川省绵阳市游仙区	82
W01-71	四川巴中市磨子乡	81
W01-86*	四川峨眉山	36
W01-92	四川资阳	84
W01-94	四川雅安望渔乡	90
W01-98	四川雅安和龙乡	86
W01-99	四川资阳	88
W01-100	四川邛崃	90

注:*,峨眉蕺菜。

Folin-Ciocalteu试剂、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)、β-胡萝卜素、水溶性VE(Trolox)、2,2'-连氮基-双-(3-乙基苯并二氢噻唑啉-6-磺酸)(ABTS)均为分析纯 西陇化工公司;没食子酸、芦丁 美国Sigma-Aldrich公司。

1.2 仪器与设备

RE-2000旋转蒸发仪 上海亚荣生化仪器厂; 7200型分光光度计 尤尼科(上海)食品有限公司; KQ-100B

型超声波清洗器 昆山市超声仪器有限公司; HH-4恒温水浴锅 国华电器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 鱼腥草多酚提取液制备

分别取阴干的不同鱼腥草材料,粉碎,过0.315mm筛。准确称取3.00g鱼腥草粉末,用50mL体积分数95%的乙醇超声提取3次,将3次所得提取液旋转蒸发至近干,用95%的乙醇溶解,定容到100mL容量瓶,即得鱼腥草提取液(以下简称提取液)。

1.3.2 总酚含量的测定

测定方法参考文献[12]。取7个50.0mL容量瓶,向其中加入0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、1mL的500μg/mL没食子酸溶液,然后依次加入2.0mL 20%碳酸钠缓冲液和1.5mL Folin-Ciocalteu显色剂,蒸馏水定容。在55℃保温1.5h,测定波长760nm处的吸光度。线性回归方程为: $y=1.7332x-0.0692(R^2=0.9987)$,式中,x为没食子酸溶液质量浓度/(μg/mL),y为 A_{760nm} 。吸取提取液0.5mL,按标准曲线步骤反应后,测定吸光度,将结果单位换算为每克干鱼腥草中所含的多酚相当于没食子酸的毫克数(mg/g)。

1.3.3 黄酮含量的测定

测定方法参照参考文献[13]。分别加入芦丁标准溶液(1.0mg/mL的75%乙醇溶液)0、1、2、3、4、5mL于6支15mL刻度试管中,然后加入0.3mL 0.5%的NaNO₂,静置6min。加入0.3mL 10% Al(NO₃)₃,再静置6min。加入4mL NaOH,最后用蒸馏水定容到10mL,在室温条件下反应15min后,于510nm波长处测定吸光度。最后根据反应液中芦丁的质量浓度(x, mg/mL)与吸光度 A_{510nm} 制作标准曲线($y=1.0332x+0.014$, $R^2=0.999$)。吸取1mL鱼腥草提取液,按上述步骤反应后,测定吸光度。将结果单位换算为每克干鱼腥草中所含的多酚相当于没食子酸的毫克数(mg/g)。

1.3.4 DPPH法测定抗氧化活性

参照参考文献[14]测定。将总提取液稀释10倍,取0.1mL稀释液加入10mL的试管中,加入3.9mL DPPH反应液。用相同体积的95%的乙醇作空白对照。在暗处反应30min后测定在波长为515nm处测定吸光度。

标准曲线的制备:取浓度为0、200、400、600、800、1000μmol/L的Trolox标准液(精密称取0.0626g的Trolox标准品用无水乙醇定容到50mL,浓度为5mmol/L,制成母液。使用前再用蒸馏水稀释)加入10mL试管中,加入3.9mL DPPH反应液(12.5mg DPPH溶解到甲醇溶液中,定容到100mL,使用时再稀释到25mg/mL,并现配现用)。用相同体积的95%的乙醇作空白对照。在暗处反应30min后测定在波长为515nm处测定吸光度。得到线性回归方程: $y=-0.0004x+0.634(R^2=0.9986)$,式中:x为Trolox标准液浓度/(μmol/L),y为 A_{515nm} 。

最后按制作的标准曲线将鱼腥草的抗氧化能力值表示为每克鱼腥草(干质量)所具有的抗氧化能力相对于多少微摩尔Trolox即为 $\mu\text{mol/g}$ 。

1.3.5 ABTS法测定抗氧化能力

参照参考文献[15]测定。将0.1mL鱼腥草提取液的稀释液(体积比1:10)加入10mL的试管中,加入ABTS反应溶液(5mL 7mmol/L ABTS溶液和88 μL 140mmol/L的过硫酸钾溶液避光反应12h,用时用乙醇稀释到在波长732nm处吸光度为(0.70 \pm 0.02))1mL,反应30min后,测定在波长为734nm处的吸光度。

标准曲线的制备:取0、200、400、600、800、1000 $\mu\text{mol/L}$ 按上述反应并测定吸光度。按Trolox浓度(x , $\mu\text{mol/L}$)和吸光度(y , $A_{734\text{nm}}$)绘成标准曲线: $Y=-0.0007x+0.7081(R^2=0.9994)$ 。

最后按制作的标准曲线将鱼腥草的抗氧化能力值表示为每克鱼腥草(干质量)所具有的抗氧化能力相对于多少微摩尔Trolox,即为 $\mu\text{mol/g}$ 。

1.4 数据处理

实验数据采用DPS软件进行统计分析;并将材料进行系统聚类,数据不转换,聚类距离采用欧氏距离,聚类方法选择类平均法。

2 结果与分析

2.1 活性成分含量与体外抗氧化活性

2.1.1 总酚含量

表2 不同鱼腥草材料总酚和黄酮含量及体外抗氧化活性
Table 2 Contents of polyphenol and flavonoid and antioxidant activities in vitro of different *H. cordata* cultivars

编号	总酚含量/(mg/g)	黄酮含量/(mg/g)	抗氧化能力/($\mu\text{mol/g}$)	
			DPPH法	ABTS法
W01-4	10.50 ^{CD}	5.80 ^{DE}	149.00 ^{AD}	168.00 ^{ABC}
W01-5	8.59 ^{DEDEFG}	3.67 ^{HHI}	103.00 ^E	125.00 ^{ADDE}
W01-16	9.15 ^{cdDEFG}	4.26 ^{HHI}	95.90 ^{FE}	122.00 ^{cdDE}
W01-34	8.12 ^{deFG}	3.84 ^{HHI}	91.90 ^{FE}	112.00 ^{cdDEF}
W01-37	10.30 ^{cdCDE}	5.33 ^{DEF}	128.00 ^{AD}	139.00 ^{CD}
W01-39	8.12 ^{deFG}	4.93 ^{FG}	139.00 ^{BCD}	102.00 ^{cdDEF}
W01-45	7.82 ^{efFG}	4.32 ^{GHI}	127.00 ^{AD}	97.00 ^{deEF}
W01-46	9.32 ^{cdDEFG}	6.41 ^D	179.00 ^{BC}	127.00 ^{cdDE}
W01-52	15.00 ^{AA}	8.35 ^{CC}	177.00 ^C	196.00 ^{ABAB}
W01-71	10.20 ^{cdCDEF}	5.52 ^{DEF}	136.00 ^{BCD}	111.00 ^{cdDEF}
W01-86	7.01 ^{FG}	3.56 ^{HI}	102.00 ^{FE}	78.40 ^F
W01-92	8.67 ^{deDEFG}	3.66 ^{HHI}	84.70 ^{FE}	103.00 ^{cdDEF}
W01-94	13.60 ^{ABAB}	7.98 ^{CC}	202.00 ^{BB}	218.00 ^{AA}
W01-98	10.60 ^{CD}	11.00 ^{AA}	248.00 ^{AA}	186.00 ^{ABAB}
W01-99	12.20 ^{ABC}	9.07 ^{BB}	198.00 ^{ABC}	186.00 ^{ABAB}
W01-100	13.60 ^{ABAB}	11.00 ^{AA}	242.00 ^{AA}	184.00 ^{ABAB}

注:同列中不同的小写字母表示有显著性差异($P<0.05$);大写字母表示有极显著性差异($P<0.01$)。

本实验所测定的各鱼腥草资源材料叶片中,多酚含量差异很大。由表2可见,最小值出现在峨眉蕺菜W01-86

为7.01mg/g,最大值为蕺菜W01-52,为15.0mg/g。参试的16份材料中,共有8份材料多酚含量达到10mg/g。还可以看出,峨眉蕺菜总酚含量与其他材料有一定差异。但峨眉蕺菜总酚含量与W01-5、W01-16、W01-34、W01-39、W01-45、W01-46、W01-92未达到极显著差异。

2.1.2 黄酮含量

供试的16份鱼腥草资源材料黄酮含量在3.56~11.0mg/g之间。以W01-100和W01-98中含量最高;峨眉蕺菜W01-86含量最低。

2.1.3 DPPH法测定抗氧化能力结果

16份鱼腥草材料的DPPH实验抗氧化值差异很大。其中有W1-94、W01-98和W01-100的DPPH法抗氧化能力超过200 $\mu\text{mol/g}$,分别为202、248、242 $\mu\text{mol/g}$ 。3份材料DPPH法抗氧化能力小于100,分别是W01-16为95.9 $\mu\text{mol/g}$,W01-34为91.1 $\mu\text{mol/g}$,W01-92为84.7 $\mu\text{mol/g}$ 。其余10个居群的DPPH法抗氧化能力在100~200 $\mu\text{mol/g}$ 之间。

2.1.4 ABTS法测定抗氧化能力结果

供试材料ABTS法抗氧化能力在78.4~218 $\mu\text{mol/g}$ 之间。其中最高为W01-94,最低为W01-86。

2.2 相关性分析

表3 鱼腥草资源染色体数目与总酚、总黄酮及体外抗氧化活性指标间相关系数
Table 3 Correlation analysis among chromosome number, polyphenol, flavonoid and antioxidant activity of *H. cordata*

指标	染色体数目	总酚	总黄酮	DPPH法
总酚含量	0.4468			
总黄酮含量	0.4666	0.7886*		
DPPH法	0.3983	0.7200*	0.9718*	
ABTS法	0.3657	0.9133*	0.8325*	0.7941*

注:*,差异显著($P<0.01$)。

由表3可知,鱼腥草染色体数目与总酚含量相关性系数为0.4468,未达显著水平;总酚与黄酮的相关系数为0.7886,达到极显著水平,即总酚含量高的鱼腥草材料,黄酮含量往往也较高;DPPH法与鱼腥草居群的染色体数目相关性不显著($r=0.3983$),与总酚和黄酮含量间相关性极显著,相关系数分别为0.7200和0.9718;ABTS法与鱼腥草染色体数目相关性不显著,与总酚、黄酮和DPPH等反映酚类成分和抗氧化活性的指标间呈显著正相关,相关系数分别为0.9133、0.8325和0.7941。

2.3 不同鱼腥草材料总酚及体外抗氧化活性的关系

以16份鱼腥草材料总酚含量、黄酮含量、DPPH法和ABTS法抗氧化能力为指标,进行聚类分析,其聚类结果如图1所示。以欧氏距离大于70,可以将16份材料划为两类,Ⅰ类包括W01-4、W01-37、W01-46、W01-5、W01-16、W01-34、W01-92、W01-86、W01-39、W01-71和W01-45等11个居群,该类下各居群总酚、黄酮、DPPH法和ABTS法抗氧化能力均较低;Ⅱ类包括

W01-52、W01-99、W01-94、W01-98和W01-100等5个居群,该类下总酚含量、黄酮含量、DPPH法和ABTS法抗氧化能力均较高。陈黎等^[9]按鱼腥草挥发油的成分将鱼腥草分为癸醛型(D型)和月桂烯型(M)型鱼腥草,并且M型相对于D型具有更高含量的单萜类和倍半萜类化合物。本研究中,II类5份材料全是M型,并且染色体数目都超过80;I类则包含D型和M型。此结果说明,在选育总酚和体外抗氧化活性高的鱼腥草品种时,可重点在M型且染色体数目大于80的材料中进行筛选。

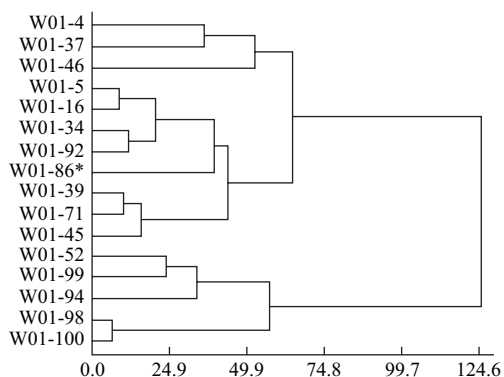


图1 不同鱼腥草材料基于总酚、总黄酮含量及体外抗氧化活性聚类分析图
Fig.1 Cluster analysis based on the contents of total polyphenol and flavonoid and antioxidant activity of different *H. cordata* cultivars

3 结论与讨论

本实验发现,供试的综合农艺性状好的16份鱼腥草材料中总酚(含黄酮)及体外抗氧化活性变异均较大。其中,清除自由基能力最强的为W01-98和W01-94;最低的为W01-86,即峨眉蕺菜。通过聚类分析得到了5种总酚含量高并且具有较强的抗氧化活性的材料,分别为W01-98、W01-100、W01-99、W01-94、W01-52,由于鱼腥草为可食用的药用植物,所以其抗氧化物质是天然的、无毒副作用。这5份材料总酚含量均大于10mg/g,高于豆乳(2.51mg/g)^[16]和石榴皮(0.245mg/mL)^[17]中总酚含量,其中4份材料也高于Shizuo^[18]曾报道的鱼腥草总酚含量(11.4±0.2)mg/g,可作为高多酚含量的食物,也可加工成天然抗氧化剂,极具有开发利用价值。

研究表明,不同来源地鱼腥草在形态、生物产量、化学成分及抗病性指标上存在显著差异,并且将各地收集来的鱼腥草在同样环境下栽种,结果差异仍然存在,造成这种差异的原因推测主要在于鱼腥草的遗传背景^[5,19]。尽管学者们对鱼腥草染色体基数的看法不尽一致,如吴卫等^[11]推测鱼腥草染色体基数为9,Oginuma等^[20]认为 $n=8$,而袁艺等^[21]发现鱼腥草染色体基数 $n=12$ 或 $n=11$,但这些

研究恰好也为鱼腥草居群间的遗传多样性提供了充分的证据。ISSR^[22-23]、ITS^[24]、RAPD^[25]和RFLP^[26-27]等分子标记技术进一步地揭示了不同居群鱼腥草间遗传背景的差异性。本实验结果表明,供试的16份鱼腥草材料的总酚、黄酮和抗氧化活性指标间差异明显,推测也主要是因鱼腥草材料的遗传背景不同所致。尽管本实验发现,鱼腥草不同材料总酚、黄酮含量及体外抗氧化活性等指标与鱼腥草的染色体数目没有显著的相关性,但总酚、黄酮含量及体外抗氧化活性高的5份材料染色体数目都超过80。一般情况下,多倍体植株较大,产量较高,并且其中的有效成分含量也会相应的增加^[28-29]。因此,染色体数较多地鱼腥草中抗氧化活性成分含量较高,也具有一定的依据,这为进一步选育多酚、黄酮含量高,抗氧化能力强的鱼腥草新品系提供了参考。

参考文献:

- [1] 祝正银, 张士良. 峨眉山蕺菜属药用植物一新种[J]. 植物研究, 2001, 21(1): 1-2.
- [2] TODA S. Antioxidative effects of polyphenols in leave of *Houttuynia cordata* on protein fragmentation by copper-hydrogen peroxide *in vitro*[J]. Journal of Medicinal Food, 2005, 8(2): 266-268.
- [3] MANACH C, WILLIAMSON G, MORAND C, et al. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies[J]. The American Journal of Clinical Nutrition, 2005, 81(Suppl 1): 230-242.
- [4] 刘雷, 吴卫, 郑有良, 等. 峨眉山不同山峪和海拔高度鱼腥草(*Houttuynia cordata* Thunb.)居群挥发油成分的变化[J]. 生态学报, 2007, 27(6): 2239-2250.
- [5] 陈黎, 郑有良, 吴卫, 等. 不同来源鱼腥草中槲皮素含量差异比较研究[J]. 药物分析杂志, 2007, 27(8): 1232-1235.
- [6] 吴卫, 郑有良, 陈黎, 等. 川产鱼腥草种质资源的同工酶分析[J]. 中药材, 2002, 25(10): 695-698.
- [7] 刘雷, 吴卫, 郑有良, 等. 峨眉山不同海拔高度鱼腥草居群槲皮素含量变化[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(7): 1601-1603.
- [8] 吴卫, 郑有良, 陈黎, 等. 利用ISSR标记分析鱼腥草种质资源的遗传多样性[J]. 中国医药现代化, 2003, 5(1): 70-77; 85.
- [9] 陈黎, 吴卫, 赵楠, 等. 两种化学型鱼腥草挥发油的紫外吸收光谱分析[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(2): 493-495.
- [10] 黄春燕, 吴卫, 郑有良, 等. 两种化学型鱼腥草不同生育期净光合速率和蒸腾速率及挥发油化学成分的比较研究[J]. 中国农业科学, 2007, 40(6): 1150-1158.
- [11] 吴卫, 郑有良, 杨瑞武, 等. 国产蕺菜的染色体数目变异及核穿壁现象[J]. 植物分类学报, 2003, 41(3): 245-257.
- [12] 蔡文国, 吴卫, 邵金凤, 等. Folin-Ciocalteu法测定鱼腥草多酚的含量[J]. 食品科学, 2010, 31(14): 201-24.
- [13] 药典委员会. 中华人民共和国药典(第一部)[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2005.
- [14] LI Hua, WANG Xiaoyu, LI Yong, et al. Polyphenolic compounds and antioxidant properties of selected China wines[J]. Food Chemistry, 2009, 112(2): 454-460.
- [15] RE R, PELLEGRINI N, PROTEGGENTE A, et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay[J]. Free Radical Biology and Medicine, 1999, 26(9/10): 231-237.

- [16] 陈凡, 马善丽, 许颖, 等. 超高压处理对豆乳总多酚、类黄酮含量及其抗氧化性的影响[J]. 大豆科学, 2011, 30(2): 310-311.
- [17] 陈孝娟, 顾政一, 徐芳, 等. 不同产地的石榴皮总多酚的含量[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(3): 541-543.
- [18] SHIZUO T. Antioxidative effects of polyphenols in leaves of *Houttuynia cordata* on protein fragmentation by copper-hydrogen peroxide *in vitro*[J]. Journal of Medicinal Food, 2005, 8(2): 266-268.
- [19] 陈黎, 龚寒, 吴卫. 不同居群鱼腥草中As和Hg及666 • DDT的测定[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(30): 14698-14700.
- [20] OGINUMA K, SATO H, KONO Y, et al. Intraspecific polyploidy of *Houttuynia cordata* and evolution of chromosome number in the Saururaceae[J]. Chromosome Botany, 2007, 2(3): 87-91.
- [21] 袁艺, 王莲, 王小娟. 不同居群鱼腥草的核型比较[J]. 园艺学报, 2008, 35(9): 1377-1383.
- [22] PENG Shuai, WU Xianjin, LUO Yueji. Analysis of genetic relationship of 17 *Houttuynia cordata* germplasm resources with ISSR marker[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(12): 3484-3486.
- [23] 彭帅. 鱼腥草HMGR基因片段的克隆及种质亲缘关系的ISSR分析[D]. 长沙: 湖南大学, 2007.
- [24] 赵欢, 吴卫. 蕺菜rDNA ITS 序列分析的正交试验条件的初步研究[J]. 药物生物技术, 2009, 16(6): 535-539.
- [25] 蓝云龙, 吴令上, 裘波音, 等. 鱼腥草RAPD分子标记的多态性[J]. 浙江林学院学报, 2008, 25(3): 309-313.
- [26] 邹欢, 聂志姣, 贺福元, 等. 鱼腥草遗传多态性与挥发油指纹图谱变异关系的研究[C]//2009全国中药创新与研究论坛学术论文集. 运城, 2009.
- [27] WU Wei, ZHENG Youliang, CHEN Li, et al. PCR-RFLP analysis of cpDNA and mtDNA in the genus *Houttuynia* in some areas of China[J]. Hereditas, 2005, 142: 24-32.
- [28] 杨敬东, 郭露穗, 邹亮, 等. 高药用价值多倍体苦荞麦诱导及特性研究[J]. 成都大学学报: 自然科学版, 2007, 26(3): 180-183.
- [29] 田永生, 赵晓明. 蒲公英二倍体与四倍体的生理指标比较[J]. 中国农学通报, 2007, 23(6): 345-348.