

DNA 条形码在水生动物物种鉴定中的应用

余海军^{1,2}, 王茜²

(1. 碧江区农业农村局畜牧水产中心, 贵州铜仁 554300; 2. 天津农学院水产学院, 天津市水生生态及养殖重点实验室, 天津 300384)

摘要 水生动物是一类主要生活于水中的动物类群, 其具有种类多样、分布广泛、复杂难辨等特点, 但是对于水产动物的物种鉴定长期以来一直困扰着相关方面的专家和学者。随着 DNA 条形码技术的提出, 其已被成功地应用于水生动物的物种鉴定。整理总结了国内外使用 DNA 条形码在水生动物物种鉴定中的应用。

关键词 水生动物; DNA 条形码; 物种鉴定; 应用

中图分类号 S917.4 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2021)16-0001-03

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2021.16.001



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Application of DNA Barcoding for Species Identification in Aquatic Animal

YU Hai-jun^{1,2}, WANG Qian² (1. Center of Animal Husbandry and Fisheries, Bijiang Agriculture and Rural Affairs Bureau, Tongren, Guizhou 554300; 2. Key Laboratory of Aquatic-Ecology and Aquaculture of Tianjin, College of Fishery, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384)

Abstract Aquatic animals are a group of animals that mainly live in water, with the characteristics of diverse species, wide distribution, complex and difficult to distinguish. However, the identification of aquatic animal species has long troubled experts and scholars in related fields. With the advancement of DNA barcoding technology, it has been successfully applied to species identification of aquatic animals. This study summarized the application of DNA barcodes in the identification of aquatic animal species at home and abroad.

Key words Aquatic animal; DNA barcodes; Species identification; Application

中国是世界上内陆水域面积最大的国家之一, 内陆水域面积约 2 700 万 hm^2 , 占土地总面积的 2.8%; 其中江河面积约为 1 200 万 hm^2 , 湖泊面积约为 800 万 hm^2 , 水库 8 万余座。江河、湖泊及水库等既是渔业生产的捕捞场所, 又是增殖、养殖的基地, 内陆水域可供渔业养殖的面积约为 560 万 hm^2 , 从而构成了中国水生动物种质资源丰富、鱼类栖息环境多样、物种多样性高等一系列特点。由于大量特有鱼类资源野生种群濒危且水产养殖品种繁多, 导致水产市场混乱, 常出现鱼龙混杂、以坏充好的现象^[1]。为此, 需要一种快速、简便、高效的鉴定方法, 快速定位濒危物种, 并及时采取保护措施。

虽然国内有关水生动物的研究在近年来层出不穷, 且不断得到国外相关学者的认可, 但是较国际研究水平, 该类群研究还是相对薄弱, 原因在于国内形态学鉴定的缺陷, 而且大多数传统分类学家因年龄等关系均已退出相关研究^[2]。由于缺乏基础研究, 在相当长的时期内, 国内对于水生动物缺乏准确的种类鉴定能力, 同时也作为一种制约因素严重阻碍了与之相关的水产养殖、渔业资源、环境生物学等其他学科的研究和发展。

总而言之, 国内水生动物研究工作者要面对的工作任重而道远, 还有大量艰苦的基础研究任务需要完成, 并需要更多的研究人员参与; 目的是为生物科学、农业科学和环境科学等学科提供有效且可信的科研资料, 而且这些研究成果必将有益于中国渔业资源的合理开发利用以及为中国和国际水生动物研究的深入交流奠定基础。为此, 笔者在现有文献的基础上, 对水生动物物种鉴定的研究现状进行综述。

1 DNA 条形码简介

DNA 条形码^[3-4]最简单的定义是从基因组中标准部分提取一个或几个相对较短的基因序列, 用于识别物种。其与形态学鉴定相比, 优势表现在: 不受制于物种雌雄和不同生命阶段的影响, 不受表型可塑性和遗传可变性的影响^[5]; 可以鉴定一些群体中的隐存分类单元, 并能快速且可靠的识别所有生命形式的物种层次, 包括动物、植物、真菌、微生物; 因而可利用其对物种进行有效鉴别。DNA 条形码由 Hebert 于 2003 年首次提出, 提出之后发展迅速, 现已成功用于分类鉴定和生物多样性评估; 在论证物种群落组成、食物链和种内遗传变异方面也有所研究^[6-8]; 同时也扮演着生物安全和淡水生态监测中一个不可缺少的角色^[9-12]。

在线粒体基因中, 细胞色素氧化酶亚单位 I (COI) 是分子量较大、保守且存在变异的基因^[13-15]; 据王茜^[16]所述, COI 基因不适合用于分类阶元较高的科、亚科及族间的系统发育关系研究, 而适用于属、种及种下阶元的系统发育关系。其次, COI 基因易被通用引物扩增, 很少有外源基因插入或基因缺失^[17], 具有高突变率^[18]; Hebert 等^[4]通过分析动物界 11 门物种超过 13 320 条序列, 结果支持 COI 作为 DNA 条形码分子标记基因。因此 Hebert 等^[19]选取 COI 基因中 658 对碱基对 (bp) 的短 DNA 序列, 作为一个实际化、标准化的动物 DNA 条形码标准序列。

2 DNA 条形码在鱼类物种鉴定中的应用

鱼类是一类广泛分布于全球各种水体中的低等脊椎动物, 现已发现的鱼类约 32 000 种。其在水系生态系统中扮演着不可或缺的角色, 世界分布广泛, 品种繁多, 只依据外部形态特征对其进行准确鉴别存在一定的难度。近年来, 随着分子生物技术的不断发展, 分子系统学在鱼类系统学领域也得

作者简介 余海军(1994—), 男, 贵州雷山人, 硕士, 从事水生生物及昆虫分子系统学研究。

收稿日期 2020-11-26

到了广泛的应用,其中DNA条形码就在鱼类的分类鉴定中发挥着重要作用。柳淑芳等^[20]通过DNA条形码对石首鱼科19属30种进行了系统分类研究,结果证明了DNA条形码能有效对石首鱼科鱼类进行物种鉴定,同时提出了将其用于石首鱼科的属、种分类单元系统发育的探讨。马春艳等^[21]采用COI基因作为DNA条形码分子标记,对棱鳃属6种鱼类进行系统分类研究,结果证明了DNA条形码能对棱鳃属鱼类进行有效的物种鉴定。柳淑芳等^[22]对鲈形目8科12属13种进行了DNA条形码分析,结果表明DNA条形码用于鲈科鱼类鉴定具有一定的可行性。张稚兰等^[23]基于DNA条形码技术对蛇鳗科7属10种进行了分类鉴定研究,结果表明DNA条形码可以有效鉴定蛇鳗科鱼类。唐楚林等^[24]通过对中国沿海19个地点11种笛鲷属鱼类73个样本进行DNA条形码分析,表明DNA条形码技术能够对笛鲷属绝大部分鱼类进行有效的区分。贾程豪等^[25]对中国大陆近海葛鲯属鱼类新记录种三色葛鲯(*Sebastes tertius*)进行DNA条形码研究,结果显示该种单独聚为一支,与形态学鉴定其为新记录种的研究结果相符。王楠等^[26]基于DNA条形码技术对17种市区售鲑科鱼类进行物种检测,结果证实了DNA条形码技术可用于鲑科鱼类的物种鉴别。刘红艳等^[27]通过对鳅科鱼类3亚科18属61种进行DNA条形码研究,探讨其在鳅科鱼类物种鉴定中的有效性,结果显示COI条形码可以鉴定鳅科鱼类75.41%的物种。

3 DNA条形码在甲壳类物种鉴定中的应用

甲壳类动物为水生动物的主要类群之一,在淡水和陆地上均有分布。目前,基于DNA条形码技术对甲壳类动物进行物种分类鉴定的研究较为普遍。Bucklin等^[28]基于COI基因对40种磷虾进行DNA条形码分析,结果表明其能够有效地鉴定磷虾类物种。Radulovici等^[29]对甲壳动物39科60属87种进行DNA条形码分析,结果显示95%的甲壳类物种能通过DNA条形码显著区分,同时发现有4个种类的种内遗传距离较高(3.78%~13.60%),推断可能出现隐种。Costa等^[30]采用COI基因对甲壳动物23目150个物种进行DNA条形码研究,发现其条形码结果与传统形态分类结果一致,据此认为DNA条形码可作为甲壳类动物物种鉴别的有效手段。白俊等^[31]通过对秦岭山脉地区华溪蟹属(*Sinopotamon*)淡水蟹进行DNA条形码研究,结果显示DNA条形码能准确鉴别光泽华溪蟹指名亚种(*S. davididavidi*)、兰氏华溪蟹(*S. lansi*)、长江华溪蟹指名亚种(*S. yangtsekiense*)、凹肢华溪蟹(*S. depressum*)和福建华溪蟹(*S. fukienense*)等物种。王娜玲^[32]利用DNA条形码技术对浙江沿岸常见的6种蟹类70个个体进行DNA条形码研究,结果表明DNA条形码能够准确鉴定研究中的6种蟹类。徐武杰^[33]运用DNA条形码对鄱阳湖流域华溪蟹属淡水蟹类进行分类鉴定,结果显示DNA条形码可作为华溪蟹属淡水蟹类物种鉴定的辅助分类工具。原帅^[34]使用COI基因对甲壳动物2个类群89个个体进行DNA条形码研究,结果证明了DNA条形码在甲壳纲物种鉴定中具有可行性。

4 DNA条形码在贝类物种鉴定中的应用

贝类属于软体动物,世界分布十分广泛,种类丰富,目前已知有1.1万余种^[35],许多贝类生物由于外形差异不显著,且能随着环境的诱导而出现趋同进化的现象,从而难以区别^[36]。为此,有些学者将DNA条形码技术应用于贝类的分类鉴定。邹山梅^[37]运用DNA条形码技术对中国沿海骨螺科17个分类比较混乱的种类进行物种鉴定分析,结果显示DNA条形码技术能有效区分所有研究的种类。王琳楠等^[38]基于COI基因对中国沿海地区帘蛤目4科5属6种进行DNA条形码研究,研究结果为将DNA条形码技术应用于帘蛤目贝类的物种鉴定中提供了一定的依据。苏金荟^[39]基于COI基因作为DNA条形码的分子标记对中国蚌科14属41种进行研究,结果表明将COI基因作为DNA条形码标记有利于中国蚌科的物种鉴定。吴彪等^[40]选用COI基因对帘蛤目72种进行DNA条形码分析,结果显示DNA条形码与物种形态特征匹配的成功率为87.9%。张晓洁等^[41]运用DNA条形码技术对中国沿海蜆螺科贝类3属7种进行物种鉴定研究,结果显示种内遗传差异均小于种间遗传差异,即存在明显的条形码间隙,表明DNA条形码能有效鉴定蜆螺科贝类物种。张国武等^[42]利用DNA条形码技术对新疆地区采集的21种淡水贝类进行分类鉴定。

5 DNA条形码在其他水生动物物种鉴定中的应用

在其他水生动物物种鉴定中也有一些关于DNA条形码的报道。叶朝阳等^[43]基于COI基因对龟鳖目动物9科26属45种进行DNA条形码分析,结果表明利用条形码技术鉴定龟鳖目物种具有可行性。律迎春^[44]利用DNA条形码分析海参群体,发现海参的种间遗传距离明显大于种内遗传距离,表明DNA条形码能对海参种类进行分类鉴定。张瑄妮等^[45]以COI基因作为DNA条形码对北部湾北部的水螅水母类2亚纲5目13科19属28种进行了有效的物种鉴定。

6 DNA条形码的不足

DNA条形码鉴定成功率的高低决定其是否能高效鉴别物种,其鉴定成功率很大程度上取决于DNA条形码空白区(DNA barcoding gap)的存在,即种内和种间遗传距离的差异;如果二者存在很大交叉范围(overlap),则鉴定成功率会降低^[46-48]。Hebert等^[49]基于对鸟类的研究,提出10倍的平均遗传距离可以作为最大种内变异的阈值,并提议将此阈值作为一个通用标准;但已有学者发现DNA条形码应用于同科的不同类群时,其产生的阈值存在较大差异而无法统一^[50-51];导致这样的结果据推断可能与以下原因有关,即某个种群内的物种丰富且遗传多样性高^[52],引起种内和种间遗传距离出现重叠^[48];或者DNA条形码空白区边界模糊不清^[53]。为此,Meier等^[54]通过研究提出一个观点,即物种阈值不应该是一个给定的数值,而应根据不同类群来对其进行合理划定。综上所述,在进行DNA条形码研究时,应根据其研究的类群来分析其阈值,而非人为规定一个阈值用于界定所有的水生动物。

7 展望

DNA条形码的问世,推动了物种快速鉴定的可行度。尽管DNA条形码在新种的鉴定以及隐种的发现上有显著优势,但是如果否定物种自身的形态特征,以及生态环境改变而发生的局部变异等相关因素,完全依靠条形码对物种进行鉴定和分类,仍然也会造成很多潜在的问题。此外,用于DNA条形码的标记基因为线粒体基因COI,其具有母性遗传的特点,如果某些类群中存在隐性基因(Nuclear mitochondrial DNAs)^[48],就会导致分子鉴定中出现偏差,从而影响最终的鉴定结果。总体来说,只有将DNA条形码技术与形态学研究结合起来,才能对水生动物达到快速、精确、高效、科学的鉴定。

参考文献

- [1] 陈海港.华南部分渔业动物DNA条形码信息与系统进化分析[D].南京:南京农业大学,2016.
- [2] MALLETT J, WILLMOTT K. Taxonomy: Renaissance or Tower of Babel? [J]. Trends in Ecol Evol, 2003, 18(2): 57-59.
- [3] HEBERT P D N, RATNASINGHAM S, DE WAARD J R. Barcoding animal life: Cytochrome c oxidase subunit I divergences among closely related species [J]. Proc R Soc Lond B, 2003, 270(S1): S96-S99.
- [4] HEBERT P D N, CYWINSKA A, BALL S L, et al. Biological identifications through DNA barcodes [J]. Proc Biol Sci, 2003, 270(1512): 313-321.
- [5] 闫娇, 姜丽, 郭琴, 等. DNA条形码技术在双翅目昆虫中的应用[J]. 天津师范大学学报(自然科学版), 2015, 35(3): 66-72.
- [6] BAKER C C M, BITTLESTON L S, SANDERS J G, et al. Dissecting host-associated communities with DNA barcodes [J]. Phil Trans R Soc B, 2016, 371: 1-12.
- [7] LITTLEFAIR J E, CLARE E L. Barcoding the food chain: From Sanger to high-throughput sequencing [J]. Genome, 2016, 59(11): 946-958.
- [8] ROSLIN T, MAJANEVA S. The use of DNA barcodes in food web construction-terrestrial and aquatic ecologists unite! [J]. Genome, 2016, 59(9): 603-628.
- [9] ASHFAQ M, HEBERT P D N. DNA barcodes for bio-surveillance: Regulated and economically important arthropod plant pests [J]. Genome, 2016, 59(11): 933-945.
- [10] HODGETTS J, OSTOJÁ-STARZEWSKI J C, PRIOR T, et al. DNA barcoding for biosecurity: Case studies from the UK plant protection program [J]. Genome, 2016, 59(11): 1033-1048.
- [11] BRODIN Y, EJDUNG G, STRANDBERG J, et al. Improving environmental and biodiversity monitoring in the Baltic Sea using DNA barcoding of Chironomidae (Diptera) [J]. Mol Eco Resour, 2013, 13(6): 996-1004.
- [12] CAREW M E, PETTIGROVE V J, METZELING L, et al. Environmental monitoring using next generation sequencing: Rapid identification of macroinvertebrate bioindicator species [J]. Front Zool, 2013, 10(1): 1-15.
- [13] BEARD C B, HAMM D M, COLLINS F H. The mitochondrial genome of the mosquito *Anopheles gambiae*: DNA sequence, genome organization, and comparisons with mitochondrial sequences of other insects [J]. Insect Mol Biol, 1993, 2(2): 103-124.
- [14] GENNIS R B. Site-directed mutagenesis studies on subunit I of the *aa3*-type cytochrome C oxidase of *Rhodobacter sphaeroides*: A brief review of progress to date [J]. Biochim et Biophys Acta, 1992, 1101(2): 184-187.
- [15] 闫春财, 郭琴, 赵广君, 等. 常用基因序列在摇蚊科昆虫系统发育研究中的应用进展 [J]. 天津师范大学学报(自然科学版), 2016, 36(6): 54-61.
- [16] 王茜. 直突摇蚊亚科高级阶元的分子系统学研究(双翅目: 摇蚊科) [D]. 天津: 南开大学, 2011.
- [17] LIN X L, STUR E, EKREM T. Molecular phylogeny and temporal diversification of *Tanytarsus* van der Wulp (Diptera: Chironomidae) support generic synonymies, a new classification and centre of origin [J]. Sys Entomol, 2018, 43(4): 659-677.
- [18] 聂瑞娥, 杨星科. 鞘翅目高级阶元分子系统学: 研究现状及存在的问题 [J]. 昆虫学报, 2013, 56(9): 1055-1062.
- [19] HEBERT P D N, BARRETT R D H. Reply to the comment by L. Prendini on "Identifying spiders through DNA barcodes" [J]. Can J Zool, 2005, 83(3): 505-506.
- [20] 柳淑芳, 陈亮亮, 戴芳群, 等. 基于线粒体 COI 基因的 DNA 条形码在石首鱼科(Sciaenidae)鱼类系统分类中的应用 [J]. 海洋与湖沼, 2010, 41(2): 223-232.
- [21] 马春艳, 倪勇, 马洪雨, 等. 基于线粒体 COI 基因的 DNA 条形码在梭鲈属鱼类系统分类中的应用 [C]//中国水产学会. 2014 年中国水产学会学术年会论文摘要集. 北京: 中国水产学会, 2014: 1.
- [22] 柳淑芳, 李献儒, 杨钰, 等. 鲈形目鱼类 DNA 条形码分析及鲈科 DNA 条形码电子芯片建立 [J]. 中国水产科学, 2016, 23(5): 1006-1022.
- [23] 张稚兰, 林汝榕, 邢炳鹏. COI 基因序列在蛇鳔科鱼类种类鉴定中的适用性研究 [J]. 应用海洋学报, 2017, 36(3): 411-416.
- [24] 唐楚林, 肖林, 章群, 等. 基于 COI 基因的中国及邻近海域部分笛鲷属鱼类 DNA 条形码研究 [J]. 海洋渔业, 2019, 41(2): 129-137.
- [25] 贾程豪, 高天翔, 徐胜勇, 等. 中国大陆近海鳘属鱼类新记录种——三色鳘(*Sebastes tertius*)的形态特征与 DNA 条形码研究 [J]. 海洋与湖沼, 2020, 51(5): 1214-1221.
- [26] 王楠, 邢冉冉, 马聪聪, 等. DNA 条形码技术在鲢科鱼类真伪鉴别中的应用 [J]. 中国食品学报, 2020, 20(9): 232-240.
- [27] 刘红艳, 蔡金, 谢仲桂, 等. 鳅科鱼类 DNA 条形码鉴定及系统进化研究 [J]. 江西农业大学学报, 2020, 42(4): 766-777.
- [28] BUCKLIN A, WIEBE P H, SMOLENACK S B, et al. DNA barcodes for species identification of euphausiids (Euphausiacea, Crustacea) [J]. J Plankton Res, 2007, 29(6): 483-493.
- [29] RADULOVICI A E, SAINTE-MARIE B, DUFRESNE F. DNA barcoding of marine crustaceans from the Estuary and Gulf of St Lawrence: A regional-scale approach [J]. Mol Ecol Resour, 2009, 9(S1): 181-187.
- [30] COSTA F O, DEWAARD J R, BOUTILLIER J, et al. Biological identifications through DNA barcodes: The case of the Crustacea [J]. Can J Fish Aquat Sci, 2007, 64(2): 272-295.
- [31] 白俊, 聂宗恒, 朱春潮, 等. 秦岭山脉华溪蟹属(*Sinopotamon*)淡水蟹 DNA 条形码 [J]. 南昌大学学报(理科版), 2016, 40(4): 372-380.
- [32] 王娜玲. 浙江沿海常见蟹类 DNA 条形码技术初步研究 [D]. 舟山: 浙江海洋大学, 2018.
- [33] 徐武杰. 鄱阳湖流域并殖吸虫宿主动物华溪蟹属淡水蟹类 DNA 条形码的初步研究 [D]. 南昌: 南昌大学, 2015.
- [34] 原帅. 围胸总目、短尾次目(甲壳动物亚门) DNA 条形码研究 [D]. 临汾: 山西师范大学, 2012.
- [35] 刘溪宁, 陈睿, 孙双祥, 等. DNA 条形码技术及其在海洋贝类分类中研究进展 [J]. 浙江农业科学, 2019, 60(7): 1244-1247.
- [36] 杨倩倩, 刘苏文, 俞晓平. DNA 条形码分析方法研究进展 [J]. 应用生态学报, 2018, 29(3): 1006-1014.
- [37] 邹山梅. 新腹足目贝类 DNA 条形码系统构建及系统发育研究 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2013.
- [38] 王琳楠, 闫喜武, 秦艳杰, 等. 中国帘蛤目 16 种经济贝类 DNA 条形码及分子系统发育的研究 [J]. 大连海洋大学学报, 2013, 28(5): 431-437.
- [39] 苏金荟. 中国蚌科的 DNA 条形码及其系统发育研究 [D]. 南昌: 南昌大学, 2016.
- [40] 吴彪, 赵庆, 刘寒苗, 等. 不同 DNA 条形码基因在帘蛤目贝类分类鉴定中的比较分析 [J]. 中国水产科学, 2018, 25(4): 880-890.
- [41] 张晓洁, 孔令锋, 李琪. 中国沿海常见蟹螺科贝类的 DNA 条形码 [J]. 海洋与湖沼, 2018, 49(3): 614-623.
- [42] 张国武, 孟庆玲, 乔军, 等. 新疆地区淡水贝类的形态学及分子分类研究 [J]. 家畜生态学报, 2019, 40(9): 72-78.
- [43] 叶朝阳, 李伟, 赵建, 等. 基于 COI 基因的龟鳖目动物鉴定与分类进化分析 [J]. 基因组学与应用生物学, 2019, 38(9): 3935-3945.
- [44] 律迎春. 基于 DNA 条形码的分子生物学方法鉴定海参种类的研究 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2012.
- [45] 张瑞妮, 郑建明, 何劲儒, 等. 基于线粒体 COI 和 16S 片段序列的北部湾北部水螅水母 DNA 条形码分析 [J]. 生物多样性, 2015, 23(1): 50-60.
- [46] ELIAS M, HILL R I, WILLMOTT K R, et al. Limited performance of DNA barcoding in a diverse community of tropical butterflies [J]. Proc Biol Sci, 2007, 274(1627): 2881-2889.
- [47] WIEMERS M, FIEDLER K. Does the DNA barcoding gap exist? - A case study in blue butterflies (Lepidoptera: Lycaenidae) [J]. Frontiers in Zoology, 2007, 4(1): 1-16.
- [48] 宋超. 中国多足摇蚊属 DNA 条形码研究 [D]. 天津: 南开大学, 2016.
- [49] HEBERT P D N, PENTON E H, BURNS J M, et al. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astrartes fulgurator* [J]. PNAS, 2004, 101(41): 14812-14817.

4 结语

艾草作为一种常用的药用植物,在我国已有 2 000 多年的历史,艾草生长能力强且分布广泛,具有极大的利用价值。随着现代科技的进步,对于艾草有效成分和药理药性的研究已经取得了重大进展,艾草其他潜在的利用价值将会被进一步挖掘。目前由于艾草种植管理技术不规范、管理较为粗放、产量低导致我国艾草种植及加工没有形成产业化发展,今后的研究和加工应用中依然存在着诸多挑战。该研究对艾草的规范化种植、加工应用途径等方面进行概述,以期对艾草的进一步开发利用提供参考。

参考文献

- [1] 佚名.黄帝内经素问[M].北京:人民卫生出版社,1965:80.
- [2] 张甜甜,孙立立,周倩.艾叶现代研究概述[C]//2010 中药炮制技术、学术交流暨产业发展高峰论坛论文集.北京:中华中医药学会,2010.
- [3] 聂麟,刘畅,单承莹.艾草的本草考证及资源分布[J].中国野生植物资源,2019,38(4):93-95,105.
- [4] 顾海科,刘桂君,宋梅芳,等.艾草标准化人工栽培技术[J].现代农业科技,2018(4):89-90.
- [5] 林碧珍,张少华,邱珊珊,等.药用蔬菜艾草的人工栽培技术[J].福建农业科技,2017(8):41-42.
- [6] 聂宗岳,赵彬,聂红艳,等.黔西北山区艾草高产优质栽培技术初探[J].农业开发与装备,2018(7):175-176.
- [7] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:2020 年版一部[S].北京:中国医药科技出版社,2010:82-83.
- [8] 魏海胜.蕲艾化学成分的分析研究[D].武汉:中南民族大学,2013.
- [9] 游思湘,何湘容,隆雪明,等.艾叶挥发油体外抗菌作用研究[J].中兽医医药杂志,2011,30(3):18-20.
- [10] 姜文全,崔彩萍.艾叶熏蒸用于母婴同室空气消毒[J].西北药学杂志,2002,17(2):80-81.
- [11] 邱洁芬,胡遵荣.试述艾叶的药理作用及临床应用[J].实用中医药杂志,2003,19(8):446-447.
- [12] 刘延庆,戴小军,高鹏,等.艾叶提取物抗肿瘤活性的体外实验研究[J].中药材,2006,29(11):1213-1215.
- [13] 孙静芸.艾叶油新的平喘有效成分的研究[J].中草药,1982,13(6):1-5.
- [14] 林文龙.艾叶佐治哮喘型支气管炎 22 例疗效观察[J].安徽医学,2003,24(6):55-56.
- [15] 瞿燕,秦旭华,潘晓丽.艾叶和醋艾叶炭止血、镇痛作用比较研究[J].中药药理与临床,2005,21(4):46-47.
- [16] 张袁森,张琳,倪娜,等.艾叶的体外凝血作用实验研究[J].天津中医药,2010,27(2):156-157.
- [17] 赵秀玲,党亚丽.艾叶挥发油化学成分和药理作用研究进展[J].天然产物研究与开发,2019,31(12):2182-2188.
- [18] 梁坤伦,孙金豪,张瑞芳.艾叶的生物化学成分及药理作用研究[J].科技创新与应用,2015(30):80-81.
- [19] 王新芳,董岩,孔春燕.艾蒿的化学成分及药理作用研究进展[J].时珍

- 国医国药,2006,17(2):174-175.
- [20] 李春娜,占颖,刘洋洋,等.艾蒿药理作用和开发利用研究进展[J].中华中医药杂志,2014,29(12):3889-3891.
- [21] 周英栋,费新应.艾叶的药理作用研究[J].湖北中医杂志,2010,32(11):75-76.
- [22] 王惠君,王文泉,卢诚,等.艾叶研究进展概述[J].江苏农业科学,2015,43(8):15-19.
- [23] 刘益红,周建军,王晶.HPLC 测定不同月份艾叶中绿原酸含量[J].陕西农业科学,2012,58(1):82-84.
- [24] 刘超齐,常娟,王平,等.艾草的生物学功能及在畜牧生产上的应用[J].动物营养学报,2018,30(9):3417-3422.
- [25] 陈金文,陈继岩,高宏伟,等.艾叶粉作猪饲料添加剂试验[J].饲料研究,1991(9):29-30.
- [26] HWANG Y C, JENKINS E M. Effect of acupuncture on young pigs with induced enteropathogenic *Escherichia coli* diarrhea[J]. American journal of veterinary research, 1988, 49(9):1641-1643.
- [27] 孙克年.艾叶的开发利用[J].饲料研究,1997(6):17-18.
- [28] 夏晨,邹彩霞,赵国琦.TMR 中添加艾叶对乳风味的影响[J].中国奶牛,2011(24):18-24.
- [29] 刘洪丽,左文山,王诚,等.饲料中添加艾叶粉对生长肉兔营养物质表观消化率、氮代谢和肌肉品质的影响[J].动物营养学报,2018,30(2):755-762.
- [30] 周孝琼,王华,李炳贵,等.艾叶水提液对肉兔生长性能及肉品质的影响[J].湖北农业科学,2016,55(18):4767-4770.
- [31] ZHANG P F, SHI B L, SU J L, et al. Relieving effect of *Artemisia argyi* aqueous extract on immune stress in broilers[J]. Journal of animal physiology and animal nutrition, 2017, 101(2):251-258.
- [32] 吴有华,刘力,王敬,等.艾叶粉对肉鸡免疫器官指数及生长的影响[J].江西畜牧兽医杂志,2014(6):14-16.
- [33] 黄丽华,李芸瑛.艾叶的营养成分分析[J].食品研究与开发,2014,35(20):124-127.
- [34] 何义雁.艾草米糕加工工艺及其品质改良研究[D].长沙:湖南农业大学,2015.
- [35] 姚金侠.艾叶面包的研制及保健价值[J].山东商业职业技术学院学报,2015,15(5):59-62.
- [36] 孙建,丁晓蕾,李群.中日韩艾草利用比较研究[J].中国农史,2015,34(5):131-141.
- [37] 齐威,栗晓雪,郭耀华,等.一种药食同源高纤维功能性食品的制备方法:CN202010079543.2[P].2020-06-12.
- [38] 何秀岚,李世国,聂全新.安全优质高效艾草食品的生产与加工技术研究[J].安徽农业科学,2004,32(5):995-996.
- [39] 邓志勇,吴桂容,李松玲.艾草南瓜保健蛋糕工艺的研究[J].安徽农业科学,2015,43(3):220-221,288.
- [40] 董志伟.艾灸疗法的主要作用和发展趋势[J].现代中西医结合杂志,2013,22(26):2959-2962.
- [41] 孙政,孙剑峰,时灵美.一种艾草茶的加工工艺:CN201710688406.7[P].2017-11-24.
- [42] 赖国全,赖国光.具有驱蚊止痒功能的艾草皂:CN201810939561.6[P].2018-12-07.
- [43] 骆百林.一种艾草牙膏工艺流程:CN201610525552.3[P].2016-11-23.

(上接第 3 页)

- [50] LIN X L, STUR E, EKREM T. Exploring genetic divergence in a species-rich insect genus using 2790 DNA barcodes[J]. PLoS One, 2015, 10(9):1-24.
- [51] SONG C, WANG Q, ZHANG R L, et al. Exploring the utility of DNA barcoding in species delimitation of *Polypedium* (*Tripodura*) non-biting midges (Diptera: Chironomidae)[J]. Zootaxa, 2016, 4079(5):534-550.

- [52] DESALLE R, EGAN M G, SIDDALL M. The unholy trinity: taxonomy, species delimitation and DNA barcoding[J]. Philos Trans Royal Soc Lond Ser B Biol Sci, 2005, 360(1462):1905-1916.
- [53] 金倩,武春生,陈芬,等.基于 DNA 条形码的物种界定算法比较研究:以北京周边地区舟蛾科为例[J].应用昆虫学报,2017,54(1):13-21.
- [54] MEIER R, ZHANG G Y, ALI F. The use of mean instead of smallest interspecific distances exaggerates the size of the "barcoding gap" and leads to misidentification[J]. Syst Biol, 2008, 57(5):809-813.