



中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 5132—2019

肉苁蓉鉴定方法

Identification of *Cistanche deserticola* Ma

行业标准信息平台

2019-09-03 发布

2020-03-01 实施

中华人民共和国海关总署 发布

前 言

本标准依据 GB/T 1.1—2009 规则起草。

本标准由中华人民共和国海关总署提出并归口。

本标准起草单位：中华人民共和国乌鲁木齐海关、中华人民共和国呼和浩特海关、中华人民共和国重庆海关。

本标准主要起草人：李亚伟，张小菊，王翀，张祥林，张永宏，伊力亚·拜合提亚尔，张伟，孔德英。

行业标准信息平台

肉苁蓉鉴定方法

1 范围

本标准规定了肉苁蓉鉴定方法。
本标准适用于肉苁蓉植株和种子的鉴定。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

2.1

花萼 calyx

植物花冠外面的绿色被片,是花的组成部分之一,由若干萼片组成,包在花瓣外面。它在花朵尚未开放时,起着保护花蕾的作用,花开后,则退化至花的下方。

2.2

花序 inflorescence

花序轴及其着生在上面的花的通称,也可特指花在花轴上不同形式的序列。

2.3

花冠 petal

一朵花中所有花瓣的总称,位于花萼的上方或内方,排列成一轮或多轮,多具有鲜亮的色彩,花开放以前保护花的内部结构。

3 肉苁蓉基本信息

中文名:肉苁蓉。

学名:*Cistanche deserticola* Ma。

分类地位:列当科 Orobanchaceae,肉苁蓉属 *Cistanche*。我国共有 6 种分 3 个组,分别为蒙古肉苁蓉 *Cistanche mongolica* Beck,中国肉苁蓉组包括沙苁蓉 *Cistanche sinensis* Beck、兰州肉苁蓉 *Cistanche lanzhouensis* Z. Y. Zhang,肉苁蓉组包括肉苁蓉 *Cistanche deserticola* Ma,管花肉苁蓉 *Cistanche tubulosa* (Schenk) Wight、盐生肉苁蓉 *Cistanche salsa* (C.A.Mey.) Beck。肉苁蓉可能以植株、部分植株、种子等形式进出境。

4 方法原理

肉苁蓉花、种子、叶等形态特征是鉴定该种的主要依据,基于标准 DNA 条形码鉴定的分子生物学方法作为形态学鉴定的辅助手段。

5 仪器设备和主要试剂

5.1 仪器设备

体视显微镜、显微镜、电子天平、放大镜、解剖刀、解剖针、镊子、指形管、培养皿、白瓷盘、棉花、样品

袋、标本夹、标签、记录纸、标本瓶、标本盒、常规 PCR 仪、微量分光光度仪、电泳仪、凝胶成像系统、高速冷冻离心机、生物安全柜、烘箱、高压灭菌锅、研钵、摇床、水浴锅、制冰机、纯水仪、旋涡振荡器、冰箱、冷冻混合研磨仪、纯水器、离心管(1.5 mL,2.0 mL)、PCR 反应管(0.2 mL,0.5 mL)、可调微量移液器(2 L, 10 L,20 L,100 L,200 L,1 000 L)。

5.2 主要试剂

植物组织 DNA 提取试剂盒、PCR Premix、超纯水、DNA marker、琼脂糖、核酸凝胶染料、液氮、脱氧核糖核苷三磷酸(dNTPs)、Taq 聚合酶、10×PCR 缓冲液。

6 形态特征

6.1 列当科形态特征

多年生、二年生或一年生寄生草本。不含或几乎不含叶绿素。茎常不分枝或少数种有分枝。叶鳞片状,螺旋状排列,或在茎的基部排列密集成近覆瓦状。花多数,沿茎上部排列成总状或穗状花序,或簇生于茎端成近头状花序,极少花单生茎端;苞片 1 枚,常与叶同形,在苞片上方有 2 枚小苞片或无小苞片,小苞片贴生于花萼基部或生于花梗上;花近无梗或有长或短梗。花萼筒状、杯状或钟状,顶端 4-5 浅裂或深裂,偶见 6 齿裂,或花萼 2 深裂至基部或近基部,而萼裂片全缘或顶端又 2 齿裂,或花萼佛焰苞状而一侧裂至近基部,或萼片离生,3 枚,或花萼不存在。花冠左右对称,常弯曲,二唇形,上唇龙骨状、全缘或拱形,顶端微凹或 2 浅裂,下唇顶端 3 裂,或花冠筒状钟形或漏斗状,顶端 5 裂而裂片近等大。

6.2 肉苁蓉属形态特征

多年生寄生草本。茎肉质,圆柱状,常不分枝,少有自基部分(2-3)枝。叶鳞片状,在茎上螺旋状排列。穗状花序顶生茎端,具多数花;苞片 1 枚;小苞片 2 枚,稀无。花萼筒状或钟状,顶端 5 浅裂,少有斗深裂或 5 深裂,裂片常等大,稀不等大。花冠筒状钟形或漏斗状,顶端 5 裂,裂片几等大。雄蕊 4 枚,2 强,着生于花冠筒上,花药 2 室,均发育,等大,常被柔毛。子房上位,1 室,侧膜胎座 4(稀 6 或 2),花柱细长,柱头近球形,稀稍 2 浅裂。蒴果卵球形或近球形,2 瓣裂,少有 3 瓣裂,常具宿存柱头。种子多数,极细小,近球形,表面网状。

6.3 肉苁蓉形态特征

6.3.1 全株及茎

高大草本,高(40-160)cm,大部分地下生。茎不分枝或自基部分(2-4)枝,下部直径可达(5-10-15)cm,向上渐变细,直径(2-5)cm,参见附录 A。

6.3.2 叶

叶宽卵形或三角状卵形,长(0.5-1.5)cm,宽(1-2)cm,生于茎下部的较密,上部的较稀疏并变狭,披针形或狭披针形,长(2-4)cm,宽(0.5-1)cm,两面无毛。

6.3.3 花

花序穗状,长(15-50)cm,直径(4-7)cm;花序下半部或全部苞片较长,与花冠等长或稍长,卵状披针形、披针形或线状披针形,连同小苞片和花冠裂片外面及边缘疏被柔毛或近无毛;小苞片 2 枚,卵状披针形或披针形,与花萼等长或稍长。花萼钟状,长(1-1.5)cm,顶端 5 浅裂,裂片近圆形,长(2.5-4) mm,宽(3-5) mm。花冠筒状钟形,长(3-4)cm,顶端 5 裂,裂片近半圆形,长(4-6) mm,宽(0.6-1)cm,边缘常稍

外卷,颜色有变异,淡黄白色或淡紫色,干后常变棕褐色。雄蕊 4 枚,花丝着生于距筒基部(5-6) mm 处,长(1.5-2.5)cm,基部被皱曲长柔毛,花药长卵形,长(3.5-4.5) mm,密被长柔毛,基部有骤尖头。子房椭圆形,长约 1 cm,基部有蜜腺,花柱比雄蕊稍长,无毛,柱头近球形。

6.3.4 蒴果

蒴果卵球形,长(1.5-2.7)cm,直径(1.3-1.4)cm,顶端常具宿存的花柱,2 瓣开裂。

6.3.5 种子

种子椭圆形或近卵形,长约(0.6-1)mm,外面网状,有光泽。

7 鉴定方法

7.1 形态学鉴定

7.1.1 目测鉴定

依据肉苁蓉花、叶、蒴果、种子等特征,用肉眼或借助扩大镜对疑似样品种类进行鉴定。

7.1.2 镜检鉴定

依据肉苁蓉花序、花萼、花冠筒等特征,用体式显微镜对疑似样品种类进行鉴定(参见附录 B)。

7.2 分子鉴定

7.2.1 DNA 制备及 PCR 扩增

DNA 制备方法及 PCR 扩增目的片段,具体步骤见附录 C。

7.2.2 测序与序列比对

扩增产物经 1.0% 琼脂糖凝胶电泳分离,确认为单一目的条带后完成测序,测序结果利用序列拼接软件进行拼接编辑,比对峰图,判断序列方向,去除测序引物序列,两段测序质量 Q 值 < 20 的序列去除,分析获得 ITS2 序列片段,利用 BOLD 在线数据库比对待检样品的 ITS2 基因序列(<http://www.bold-systems.org/>)。

8 结果判定

待检样品 ITS2 序列与 BOLD 数据库比对结果给出最大近似种为肉苁蓉且相似度大于 99.5%,花、种子、叶符合形态学特征,则判定为肉苁蓉。

9 样品保存与处理

保存样品按编号、中文名称、学名、进出境日期分别存放,并由经手人标识确认和样品管理员登记后,妥善保存,保存时间至少 6 个月。

附 录 A
(资料性附录)
肉苁蓉形态特征



图 A.1 全株形态图



图 A.2 全株形态图



图 A.3 花冠形态图



图 A.4 苞片形态图



图 A.5 花萼及小苞片形态图

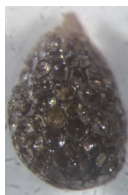


图 A.6 种子形态图

行业标准信息平台

附 录 B
(资料性附录)
肉苁蓉属检索表

- 1 花萼钟状,4-5 深裂,裂片线形或长圆状披针形,先端渐尖;花冠筒近基部雄蕊着生处有一圈长柔毛。 中国肉苁蓉组 Sect. Subcistanche G. Beck
 - 1 花萼筒状或钟状,顶端 5 浅裂,裂片卵形、半圆形或近圆形,顶端钝,极稀渐尖;花冠筒内近基部无一圈长柔毛,仅花丝基部被长柔毛。 肉苁蓉组 Sect. Cistanche
 - 2 花萼 4 深裂,裂片近等大;花冠裂片干后常变墨蓝色。 沙苁蓉 *Cistanche sinensis* G. Beck
 - 2 花萼 5 深裂,裂片不等大,后面的中间 1 枚裂片最小,两侧的裂片最大,裂片上部有时又再 2 齿裂或 2 浅裂;花冠裂片干后常变浅褐黄色。 兰州肉苁蓉 *Cistanche lanzhouensis* Z. Y. Zhang
 - 3 药室基部钝圆,不具小尖头,花药卵形或长圆形,长 4-5 毫米;花冠筒部常黄白色,裂片带紫色;常寄生于怪柳属 *Tamarix* L.植物根上。 管花肉苁蓉 *Cistanche tubulosa* (Schenk) Wight
 - 3 药室基部具小尖头。
 - 4 花序下半部或全部苞片较长,线状披针形或披针形,与花等长或稍长;花萼长度约为花的二分之一;花冠筒淡黄白色,裂片颜色有变异,淡黄白色,淡紫色或边缘紫色,干后常变棕褐色;常寄生在梭梭属 *Haloxylon* Bunge 植物根部。 肉苁蓉 *Cistanche deserticola* Ma
 - 4 花序全部苞片较短,卵状披针形,长度约等于花的二分之一;花萼长度约为花的三分之一;花冠筒淡黄白色,裂片紫色或淡紫色,干后常保持原色不变;寄主有盐爪爪属 *Kalidium* Moq.植物等。 盐生肉苁蓉 *Cistanche salsa* (C. A. Mey.) G. Beck

行业标准信息平台

附 录 C
(规范性附录)
DNA 制备及 PCR 扩增程序

C.1 核酸制备

核酸制备也可采用植物 DNA 提取试剂盒法或 CTAB 法等。

C.2 引物序列

正向引物:5'-ATGCGATACTTGGTGTGAAT -3',反向引物:5'-GACGCTTCTCCAGACTACAAT -3'

C.3 PCR 反应体系及参数

C.3.1 PCR 反应体系

PCR 反应体系见表 C.1。

表 C.1 PCR 反应体系

试剂名称	储备液浓度	加样体积(μL)
10×PCR 反应缓冲液(含 Mg ²⁺)	—	5
dNTPs 混合物(各 10 mmol/mL)	2.5 mmol/L	4
正向引物	20 pmol/L	1
反向引物	20 μmol/L	1
Taq DNA 聚合酶	2.5 U	1
DNA 模板	0.5 ug/μL ~ 1 ug/μL	1
ddH ₂ O	—	补至 50 μL

C.3.2 阳性对照和空白对照的设置

C.3.2.1 阳性对照:以肉苁蓉 DNA 核酸作为模板;

C.3.2.2 空白对照:以 ddH₂O 作为模板。

C.3.3 PCR 反应程序

94 ℃预变性 3 min;94 ℃ 变性 30 S,56 ℃退火 30 S,72 ℃延伸 45 S,35 个循环;72 ℃延伸 10 min。

C.3.4 琼脂糖凝胶电泳

每个样品取(3-5) μL 的 PCR 产物与 1 μL 的 6×上样缓冲液混合均匀,并加到含有核酸染料的 1.0%琼脂糖凝胶的点样孔中,在 120 V 下进行电泳。电泳结束后在凝胶成像系统中观察、拍照,并保存照片。

参 考 文 献

- [1] Li Y P, Huang F R, Dong J, et al. [Rapid Identification of Cistanche via Fluorescence Spectrum Imaging Technology Combined with Principal Components Analysis and Fisher Distinction]. [J].Guang pu xue yu guang pu fen xi = Guang pu, 2015, 35(3):689.
- [2] Wang T, Zhang X, Xie W. Cistanche deserticola Y. C. Ma, “Desert ginseng”: a review[J]. American Journal of Chinese Medicine, 2012, 40(6):1123.
- [3] Han J P, Song J Y, Liu C, et al. Identification of Cistanche species (Orobanchaceae) based on sequences of the plastid psbA-trnH intergenic region[J]. Yao xue xue bao = Acta pharmaceutica Sinica, 2010, 45(1):126.
- [4] 中国科学院中国植物志编辑委员会《中国植物志》第 69 卷 86 页,科学出版社 1990.
-

行业标准信息平台