

## 月季花、玫瑰及其近缘种 ISSR 分析与鉴定

夏至<sup>1\*</sup>, 周艳<sup>1</sup>, 王璐静<sup>1</sup>, 张天聚<sup>2</sup>, 栾德昌<sup>2</sup>, 高致明<sup>1\*</sup>

1. 河南农业大学农学院, 河南 郑州 450002

2. 南阳市卧龙区林业局, 卧龙区林业技术推广站, 河南 南阳 473056

**摘要:** 目的 基于 ISSR 分子标记技术研究药用植物月季花、玫瑰及其同属近缘种的遗传多样性, 构建它们之间系统发育关系, 为蔷薇属种质资源分子鉴定及育种提供参考。方法 应用 ISSR 分子标记技术对药用植物月季花、玫瑰及其同属近缘种的 15 个种 33 个样品进行分析, 利用 POPGEN 软件分析 Nei's 基因遗传多样性指数 ( $H$ ) 等遗传信息参数, 应用 NTSYS 软件构建亲缘关系 UPGMA 聚类图。结果 6 条引物共检测到 110 个位点, 其中多态性位点 109 个, 多态位点百分率 (PPB) 为 99.09%。药用植物月季花、玫瑰及其同属近缘种的种群间  $H$  平均值为 0.370 5, Shannon's 多样性信息指数 ( $I$ ) 的平均值为 0.546 4, 种群间基因分化系数 ( $G_{st}$ ) 的平均值为 0.886 8, 基因流 ( $N_m$ ) 的平均值为 0.063 8, 遗传距离 ( $D$ ) 的变化范围为 0.169 1~0.730 2, 聚类分析结果显示蔷薇属 15 个种, 在遗传相似系数 (GS) 0.60 处分成 6 个组。结论 药用植物月季花、玫瑰及其同属近缘种具有丰富的遗传多样性, 聚类分析与基于形态特征的蔷薇属属下的分类学研究结果相吻合, ISSR 分子标记可以有效鉴别药用植物月季花、玫瑰及其同属近缘种, 为蔷薇属植物资源的收集和种间分类提供理论依据。

**关键词:** 月季花; 玫瑰; ISSR; 遗传多样性; 鉴定

中图分类号: R282.12 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2016)24-4433-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.24.023

## ISSR analysis and identification of medicinal plants *Rosa chinensis*, *Rosa rugosa*, and their relative species

XIA Zhi<sup>1</sup>, ZHOU Yan<sup>1</sup>, WANG Lu-jing<sup>1</sup>, ZHANG Tian-ju<sup>2</sup>, LUAN De-Chang<sup>2</sup>, GAO Zhi-ming<sup>1</sup>

1. College of Agronomy, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China

2. Department of Forestry, Wolong District, Nanyang 473056, China

**Abstract: Objective** To study the genetic diversity and genetic relationship of medicinal plants *Rosa chinensis*, *R. rugosa*, and their relative species by ISSR molecular marker technique, and provide the reference for *Rosa* L. germplasm identification and breeding.

**Methods** Fifteen species (including 33 samples) of medicinal herbs *R. chinensis*, *R. rugosa*, and their relative species were studied by ISSR-PCR markers. Nei's genetic diversity index ( $H$ ) and other parameters of genetic information were calculated by POPGEN 32, and a cluster dendrogram of different samples was established based on the unweighted pair-group method with arithmetic mean (UPGMA) by NTSYS-pc software. **Results** Six ISSR primers generated 110 loci of which 109 loci were polymorphic. The average percentage of polymorphic bands (PPB) was 99.09%. Nei's genetic diversity index ( $H$ ) and Shannon's information index ( $I$ ) were 0.370 5 and 0.546 4, and the coefficient of genetic differentiation ( $G_{st}$ ) and gene flow ( $N_m$ ) were 0.886 8 and 0.063 8 between the species levels. The genetic distance ( $D$ ) varied from 0.169 1 to 0.730 2. In the cluster dendrogram, 15 species were clustered into six groups at the level of Genetic similarity coefficient (GS) 0.60. **Conclusion** The results of ISSR analysis reveal that medicinal plants *R. chinensis*, *R. rugosa* and their relative species had the plentiful genetic diversity and the genetic relationships were consistent with morphological characters of taxonomy. ISSR method is efficient for identification of *R. chinensis*, *R. rugosa*, and their relative species, which could provide a scientific basis for the resource collection and identification of the species in *Rosa* L.

**Key words:** *Rosa chinensis* Jacq.; *Rosa rugosa* Thunb.; ISSR; genetic diversity; identification

收稿日期: 2016-06-11

基金项目: 河南省高等学校重点科研资助项目 (15A360018); 科技部国家星火计划项目 (2012GA750004)

\*通信作者 夏至 (1974—), 男, 河南固始人, 副教授, 博士, 研究方向为中药资源的分子鉴定。

Tel/Fax: (0371)63554995 E-mail: xiazhimail@126.com

高致明, 教授, 从事中药资源的规范化种植研究。E-mail: gaozhiming672@shou.com

药用植物月季花 *Rosa chinensis* Jacq. 和玫瑰 *Rosa rugosa* Thunb. 均为蔷薇科 (Rosaceae) 蔷薇属 *Rosa* L. 植物<sup>[1]</sup>, 在《中国药典》中均以花入药, 中药材名为月季花 *Rosae Chinensis Flos* 和玫瑰花 *Rosae Rugosae Flos*<sup>[2]</sup>。月季花具有活血调经、疏肝解郁之功效, 用于气滞血瘀、月经不调、痛经、闭经、胸胁胀痛。玫瑰花具有行气解郁、和血、止痛的功效, 用于肝胃气痛、食少呕恶、月经不调、跌仆伤痛<sup>[2]</sup>。此外, 月季花和玫瑰经常作为园林观赏植物、天然芳香植物及重要的鲜切花资源, 具有极高的商业价值<sup>[3]</sup>。由于大量的人工选育和自然杂交, 药用植物月季花、玫瑰栽培品种变异较大, 形态特征差异显著, 品种较为混杂, 二者与同属其他物种也很难区分, 影响鉴定的准确性。同属的一些近缘种类的花与月季花和玫瑰极为相似如城口蔷薇 *Rosa chengkouensis* Yu et Ku、刺梗蔷薇 *Rosa setipoda* Hemsl. et Wils., 且部分也具有芳香味<sup>[1]</sup>, 经常作为伪混品入药, 容易与月季花和玫瑰花混淆, 直接影响临床用药的安全。目前, 有关药用植物月季花和玫瑰的遗传多样性及亲缘关系的鉴定主要集中在种下栽培品种间<sup>[4-5]</sup>, 药用植物月季花和玫瑰及其同属的近缘种类 (易混品) 遗传多样性及亲缘关系的 (inter simple sequence repeat, ISSR) 分子鉴定研究鲜见报道。

ISSR 技术是 Zietkeiwitz 等<sup>[6]</sup>于 1994 年发展起来的一种分子标记, 结合了 SSR<sup>[7]</sup>和 RAPD<sup>[8]</sup>标记手段的优点。具有 RAPD 的操作简单, 所需 DNA 量少, 不需预知研究对象的基因组序列等优点, 并具有 SSR 的稳定性, 同等条件下可揭示出比 RFLP、RAPD、SSR 更多的多态性<sup>[9]</sup>。该技术已经成功地应用于贝母<sup>[9]</sup>、人参<sup>[10]</sup>、菘蓝<sup>[11]</sup>和菊花<sup>[12]</sup>等药用植物及其近缘种的亲缘关系和遗传多样性分析。为确保中药材月季花和玫瑰花的正确和安全用药, 探讨药用植物月季花和玫瑰及其近缘种类的遗传多样性、亲缘关系及分子鉴定, 本实验利用 ISSR 分子标记技术对栽培的月季花、玫瑰及其近缘种类 (易混品) 进行系统分析, 旨在为蔷薇属药用植物资源的收集、鉴定、保护和人工栽培育种等方面提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

材料主要来源于南阳独山月季园蔷薇属种质资源圃, 部分野蔷薇 *Rosa multiflora* Thunb. 样品来源南阳紫山, 金樱子 *Rosa laevigata* Michx. 实验

材料来源信阳固始。共收集蔷薇属植物 15 个种, 其中包括月季花 8 个栽培品种, 玫瑰 6 个栽培类型, 野蔷薇 7 个类型及同属 12 个近缘种, 共 33 个样品。实验材料由河南农业大学生命科学院植物科学系朱长山教授鉴定, 凭证标本保存于河南农业大学农学院标本馆。实验材料来源植物新鲜叶片, 硅胶快速干燥后保存于 -80 °C 冰箱, 实验材料信息见表 1。

表 1 材料及来源

Table 1 Sources of materials

编号	中文名	拉丁名	采集地
A1	野蔷薇	<i>Rosa multiflora</i>	南阳紫山
A2	野蔷薇		南阳紫山
A3	野蔷薇		南阳独山月季园
A4	野蔷薇		南阳独山月季园
A5	野蔷薇		南阳独山月季园
A6	野蔷薇		南阳独山月季园
A7	野蔷薇		南阳独山月季园
B1	玫瑰	<i>R. rugosa</i>	南阳独山月季园
B2	玫瑰		南阳独山月季园
B3	玫瑰		南阳独山月季园
B4	玫瑰		南阳独山月季园
B5	玫瑰		南阳独山月季园
B6	玫瑰		南阳独山月季园
C1	月季花	<i>R. chinensis</i> cv. Maddy.	南阳独山月季园
C2	月季花	<i>R. chinensis</i> cv. Orchid Masterpiece	南阳独山月季园
C3	月季花	<i>R. chinensis</i> cv. Caprice de Meilland	南阳独山月季园
C4	月季花	<i>R. chinensis</i> cv. Lv Xing	南阳独山月季园
C5	月季花	<i>R. chinensis</i> cv. Sunshine	南阳独山月季园
C6	月季花	<i>R. chinensis</i> cv. Charisma	南阳独山月季园
C7	月季花	<i>R. chinensis</i> cv. Japan No. 1	南阳独山月季园
C8	月季花	<i>R. chinensis</i> cv. Gallivarda	南阳独山月季园
D	钝叶蔷薇	<i>R. sertata</i>	南阳独山月季园
E	刺梗蔷薇	<i>R. setipoda</i>	南阳独山月季园
F	全针蔷薇	<i>R. setipoda</i>	南阳独山月季园
G	山刺玫	<i>R. davurica</i>	南阳紫山
H	法国蔷薇	<i>R. gallica</i>	南阳独山月季园
I	光叶蔷薇	<i>R. wichuraiana</i>	南阳独山月季园
J	伞花蔷薇	<i>R. maximowicziana</i>	南阳独山月季园
K	木香花	<i>R. banksiopsis</i>	南阳紫山
L	城口蔷薇	<i>R. chengkouensis</i>	南阳独山月季园
M	白蔷薇	<i>R. xalba</i>	南阳独山月季园
N	突厥蔷薇	<i>R. damascena</i>	南阳独山月季园
O	金樱子	<i>R. laevigata</i>	信阳固始

## 1.2 仪器与试剂

采用北京天根生化植物 DNA 提取试剂盒 (Tiangen Biotech Co., 中国) 提取样品 DNA, PCR 扩增应用 PTC0200PCR 仪 (BIO-RAD 公司), 样品 DNA 和 PCR 扩增产物采用 DYYIII 型电泳仪 (北京六一仪器厂), 凝胶紫外成像系统 (BIORAD) 检测, ISSR 引物参照高蕾<sup>[4]</sup>和赵倩<sup>[5]</sup>筛选的引物序列 (上海 Sangon 合成), 用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 质量, EB (上海 Sangon 公司) 染色, 其余试剂均为分析纯。

## 1.3 基因组 DNA 提取与检测

本研究是采用改良的 CTAB 法提取 DNA, 取样约 10 mg, 研磨 1 min 后, 利用植物 DNA 提取试剂盒提取总 DNA。用浓度为 1% 琼脂糖凝胶电泳筛选出 DNA 主带清晰, 无弥散带, 无明显的 RNA 带, 且经 DNA 质量检测仪 Nandrop2000 微量分光光度计检测 260 nm 和 280 nm 吸光度 ( $A$ ),  $A_{260}/A_{280}$  值均在 1.8~2.0 的 DNA 样品进行实验。

## 1.4 PCR 扩增及产物检测

PCR 反应体系: 基因组 DNA 1.0  $\mu$ L(约 40 ng), 1.2  $\mu$ L 引物 (10  $\mu$ mol/L), 2.5  $\mu$ L (2×Taq PCR Master Mix), 加灭菌双蒸水至 25  $\mu$ L, 总反应体系为 25  $\mu$ L。PCR 扩增程序如下: 94 °C 预变性 5 min 1 个循环; 94 °C 变性 30 s, 50~54 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 1 min; 35 个循环后, 72 °C 完全延伸 5 min; 最后 4 °C 保存。PCR 产物用 2% 的琼脂糖凝胶电泳检测, EB 染色, 凝胶成像系统成像, 用 DL2000 Marker 作相对分子质量标记, 观察记录结果, 分析扩增谱带。PCR 扩增引物及每条引物扩增的退火温度见表 2。

## 1.5 数据的统计分析

每一条引物均重复扩增、电泳 3 次, 选取稳定

表 2 ISSR 引物及扩增的退火温度

Table 2 ISSR primers and annealing temperature of PCR reaction

引物	序列 (5'→3')	实际退火温度/°C
F-1	(CA) <sub>8</sub> T	50
F-2	(GAC) <sub>6</sub>	54
F-3	(GA) <sub>8</sub> YC	54
F-4	(GA) <sub>8</sub> YG	54
F-5	(AC) <sub>8</sub> T	50
F-6	(AC) <sub>8</sub> G	52

Y 为简并碱基 (C 或 T)

Y as degenerate bases (C/T)

清晰的条带进行统计分析。采用人工读带和 Gel-pro32 软件读带相结合的方法, 根据分子标记的迁移率及其有无统计所有的二元数据, “有”赋值为“1”(包括强带和重复性好的弱带), “无”赋值为“0”, 从而得到原始数据矩阵, 计算多态性条带比率。利用软件 POPGEN (Version 1.32) 对数据进行遗传多样性统计, 分析各种群多态位点百分率 (PPB)、Nei's 基因多样性指数 ( $H$ )、Shannon's 多态性信息指数 ( $I$ )、基因分化系数 ( $G_{st}$ )、基因流 ( $N_m$ )、Nei's 遗传距离 ( $D$ ), 并应用 NTSYS (Version 2.10e) 软件采用基于遗传相似性系数 (GS) 的 UPGMA 法构建系统树状图。

## 2 结果与分析

### 2.1 扩增结果

用选取的 6 个 ISSR 引物对 33 份材料进行扩增, 结果显示每个样品均能扩增出清晰、数量较多的条带。共扩增出 110 条带, 每条引物平均能扩增出 18.3 条带。其中引物 F-1 对栽培月季花、玫瑰及野蔷薇部分样品的扩增结果见图 1。

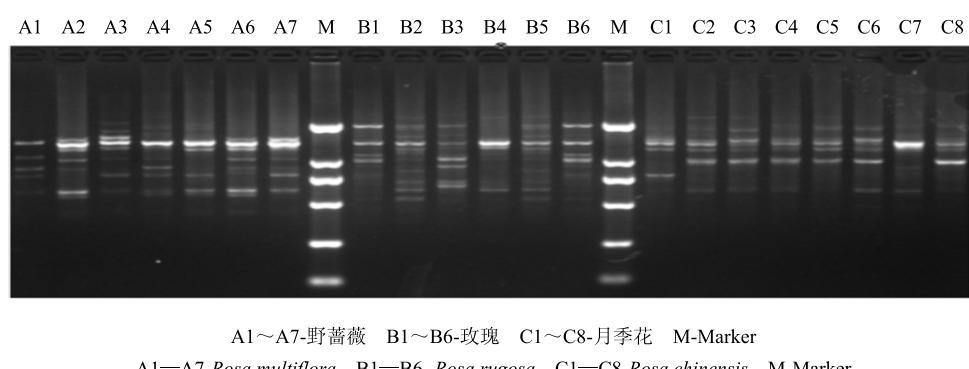


图 1 引物 F-1 对部分样品的 ISSR 扩增

Fig. 1 Amplification results of partial samples by primer F-1

## 2.2 遗传多样性分析

**2.2.1 栽培月季花、玫瑰及野蔷薇 3 个种群的遗传多样性分析** 选取 6 条 ISSR 引物对栽培月季花、玫瑰和野蔷薇 3 个种群的 21 份个体进行了 PCR 扩增, 通过 POPGEN (Version 1.32) 软件处理分析, 结果显示 3 个物种种群间共检测到 110 个位点, 其中多态性位点为 104 个, 多态性位点

百分率 (PPB) 平均为 94.55%,  $I$  平均值为 0.4777,  $H$  平均值为 0.3172, 各指标均高于 3 个物种种群内的遗传信息参数见表 3, PPB 在 49.09%~70%,  $I$  在 0.2580~0.3710,  $H$  值在 0.1724~0.2491。说明栽培月季花、玫瑰和野蔷薇在物种间水平上具有较高的遗传多样性, 种群内遗传多样性水平明显低于种群间。

表 3 月季花、玫瑰和野蔷薇 3 个种群的遗传信息参数

Table 3 Parameters of genetic information on three species of *R. chinensis*, *R. rugosa*, and *R. multiflora*

种群	样本个数	总位点数	多态性位点数	PPB/%	$H$	$I$
月季花	8	110	76	69.09	0.2491	0.3710
玫瑰	6	110	54	49.09	0.1724	0.2580
野蔷薇	7	110	77	70.00	0.2309	0.3511

**2.2.2 栽培月季花、玫瑰与同属近缘种 15 个种群的遗传多样性分析** 选取 6 条 ISSR 引物对 15 个种群的 33 份个体进行 PCR 扩增, 利用 POPGEN (Version 1.32) 软件分析, 结果显示检测到 110 个位点, 其中多态性位点 109 个, PPB 为 99.09%,  $H$  平均值为 0.3705,  $I$  平均值 0.5464。各个指数均显示栽培月季花、玫瑰及其同属近缘种在物种水平上具有较高的遗传多样性。种群间的  $G_{st}$  平均值为 0.8868, 这表明有 88.68% 的变异存在于种群间, 而 11.32% 的变异存在于种群内。种群的遗传分化表明, 种群间的分化程度较大, 而种群内的分化程度较低。 $N_m$

平均值为 0.0638, 表明不同种群间几乎没有基因交流。Nei's 遗传距离在 0.1691~0.7302, 见表 4, 说明种间遗传距离变异幅度较大。

## 2.3 聚类分析

**2.3.1 栽培月季花和玫瑰的种内 ISSR 聚类分析** 月季花栽培品种聚类分析结果如图 2 中 II 组所示。结果表明以相似系数 0.65 为标准, 8 份栽培月季花品种聚在一枝, 可将其分为 2 组, 其中第 1 组包括 C1 和 C7, 二者的花较小, 且均为低矮的微型月季; 第 2 组包括 C2、C3、C5、C4、C8、C6, 这一组的月季花栽培品种的花较大, 植株相比 C1 和 C7 较高。

表 4 栽培月季花、玫瑰及其同属近缘种的遗传距离

Table 4 Nei's genetic distance of *R. chinensis*, *R. rugosa*, and their relative species in *Rosa* L.

种群数	A1~A7	B1~B6	C1~C8	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O
A1~A7	****														
B1~B6	0.2365	****													
C1~C8	0.1691	0.2176	****												
D	0.5360	0.3811	0.5603	****											
E	0.4406	0.4200	0.3217	0.4810	****										
F	0.3177	0.2845	0.3182	0.4378	0.3830	****									
G	0.4238	0.3131	0.4168	0.4238	0.4238	0.3310	****								
H	0.5286	0.5382	0.4386	0.6400	0.4520	0.6574	0.6061	****							
I	0.3346	0.4623	0.3425	0.6400	0.5416	0.5261	0.6061	0.5108	****						
J	0.2435	0.3802	0.3005	0.5733	0.5416	0.5573	0.6061	0.5416	0.2007	****					
K	0.4159	0.5002	0.5130	0.6400	0.6751	0.5896	0.6061	0.5733	0.6400	0.5416	****				
L	0.4026	0.4321	0.4021	0.5108	0.3964	0.4378	0.3964	0.5108	0.4520	0.4810	0.5108	****			
M	0.4188	0.6104	0.4633	0.7302	0.5261	0.5416	0.5896	0.3060	0.4100	0.4378	0.5573	0.5261	****		
N	0.4867	0.6114	0.4972	0.6061	0.3964	0.5896	0.6400	0.3438	0.5108	0.5108	0.7115	0.5416	0.2578	****	
O	0.3509	0.4375	0.3077	0.7115	0.5733	0.4958	0.5416	0.6751	0.4810	0.4810	0.5733	0.4520	0.6229	0.7115	****

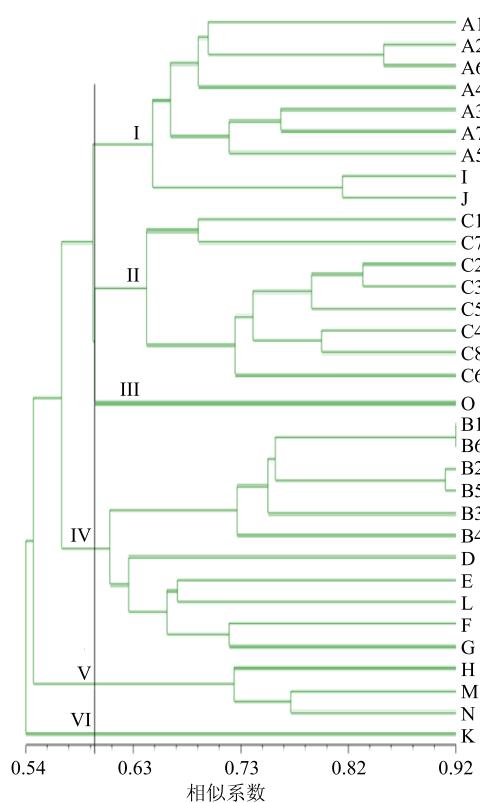


图 2 蔷薇属 15 个种群的 UPGMA 聚类树

Fig. 2 UPGMA dendrogram for 15 species of *Rosa* L.

聚类结果表明,栽培月季花的不同品种能完全聚在一起,它们的遗传距离又相对较近,表明月季花的不同栽培品种间亲缘关系较近。

玫瑰不同栽培类型的聚类分析结果如图 2 中 VI 组所示,结果表明以相似系数 0.73 为标准,6 份不同玫瑰栽培类型聚在一枝,可将其分为 2 组,B4 独立为一组。另一组所包括的玫瑰栽培类型 B1、B2、B3、B5、B6 为一亚组。聚类结果表明,玫瑰的不同栽培类型能完全聚在一起,它们的遗传距离又相对较近,表明玫瑰的不同栽培类型间的亲缘关系较近。

**2.3.2 栽培月季花、玫瑰及其近缘种 15 个种群的 ISSR 聚类分析** 根据 ISSR 扩增得到的数据矩阵,利用 NTSYS (Version 2.10e) 软件构建栽培月季花及其同属近缘种的 UPGMA 聚类图(图 2),聚类结果显示,供试材料两两间相似系数范围在 0.54~0.92。在遗传系数 0.60 处,蔷薇属的 15 个物种聚为 I、II、III、IV、V 和 VI 6 组。I 组包括蔷薇属蔷薇亚属合柱组的 3 个种,野蔷薇、伞花蔷薇 (J) 和光叶蔷薇 (I),其中野蔷薇的 7 个不同居群 A1、A2、A3、A4、A5、A6 和 A7 聚在一枝。II 组中仅包括

一个种月季花,其中月季花的 8 个不同栽培品种 C1、C2、C3、C4、C5、C6、C7 和 C8 聚在一枝,隶属于蔷薇属蔷薇亚属的月季组。III 组为金樱子组的金樱子 (O)。IV 组包括蔷薇属蔷薇亚属桂味组的 6 个种,玫瑰、钝叶蔷薇 (D)、刺梗蔷薇 (E)、全针蔷薇 (F)、城口蔷薇 (L) 和山刺玫 (G),其中玫瑰的 6 个栽培类型 B1、B2、B3、B4、B5 和 B6 聚在一枝。V 组包括蔷薇属蔷薇亚属蔷薇组的 3 个种,法国蔷薇 (H)、突厥蔷薇 (N) 和白蔷薇 (M)。VI 组为蔷薇属蔷薇亚属木香组的木香花 (K)。聚类分析的结果与传统分类相一致。

### 3 讨论

本研究利用 6 个适宜引物对蔷薇属 15 个物种 33 份供试材料进行扩增,结果显示, DNA 多态性好,条带清晰,共扩增出 110 条带,多态性条带 109 条,多态性位点百分率为 99.09%,这表明蔷薇属内,月季花、玫瑰及其近缘种间存在丰富的遗传多样性。根据 Nei's 物种间基因多样性指数计算出种间分化系数  $G_{st}$  为 0.886 8,表明栽培月季花、玫瑰及其同属近缘种的种质资源有 88.68% 变异发生在物种间,有 11.32% 变异发生在物种内,说明种间变异明显大于种内变异。月季花、玫瑰和野蔷薇 3 个种群间 21 个个体共检测到 110 个位点,其中多态性位点为 104 个。说明栽培月季花、玫瑰和野蔷薇在物种间水平上具有较高的遗传多样性,种群内遗传多样性水平明显低于种群间。这表明 ISSR 分子标记可以用于蔷薇属药用植物月季花、玫瑰与其同属近缘种类的遗传关系研究,有效地揭示蔷薇属种质资源具有丰富的多态性和遗传多样性。

一直以来,药用植物月季花、玫瑰和野蔷薇随着人们的广泛栽培,其形态特征出现大量变异,三者之间及其与同属近缘种间很难区分,从而影响鉴定的准确性,造成传统鉴定困难,影响临床用药安全<sup>[13]</sup>。本研究中 33 份材料的 UPGMA 聚类分析结果表明,在蔷薇属内,以遗传相似性系数 0.60 为截值,可将蔷薇属 15 个种分为 6 组,这与许凤<sup>[14]</sup>的研究结果相一致,表明依据 ISSR 的聚类分析与传统分类学对蔷薇属属下的分类学研究结果相吻合。栽培月季花不同品种很好的聚在一枝,且来源同一个区域,表明这些栽培品种间可能存在共同起源,具有较近的亲缘关系。玫瑰的不同栽培类型也能很好地聚在一枝,与钝叶蔷薇 (D)、刺梗蔷薇 (E)、全针蔷薇 (F)、城口蔷薇 (L) 和山刺玫 (G) 聚

为一支, 亲缘关系较近, 这一分支隶属于薔薇属薔薇亚属的桂味组。由于该组的上述部分植物(如城口薔薇和山刺玫等)花多具有芳香味, 且含有芳香的精油, 与玫瑰极为相似, 常用来作为药用植物玫瑰的替代品入药<sup>[15]</sup>, 因此深入研究其化学成分和药理学作用, 将确定这些药用植物能否在临床替代玫瑰入药。栽培的野薔薇和南阳紫山分布的野生野薔薇聚在一支, 表明野薔薇栽培类型可能来源于本地的野生居群。从 ISSR 数据分析、聚类结果来看, 选用的 6 条 ISSR 引物能很好地区分出薔薇属药用植物月季花、玫瑰及其近缘种类, 揭示了药用植物月季花、玫瑰及其近缘种类之间的亲缘关系。

薔薇属植物是世界上重要的观赏植物之一, 同时也是我国重要药用植物种类丰富的大属之一。由于该属植物长期的人工栽培和定向选择, 绝大多数是杂交后代, 遗传背景较为复杂。种间亲缘关系研究和遗传多样性分析对于该属植物育种具有重要的意义, 可以减少育种工作中亲本选配的盲目性<sup>[16]</sup>。基于 ISSR 对薔薇属的药用植物月季花、玫瑰及其近缘种的遗传多样性和亲缘关系研究进行初步探讨, 但鉴于该属植物种类较多, 栽培品种众多, 因此进一步在该属扩大取样范围, 开展多种分子标记联合的 DNA 指纹图谱研究, 方能全面构建薔薇属种质资源的遗传多样性和亲缘关系。这为我国薔薇属的药用植物的资源开发与利用、品种选育、引种栽培提供可靠的理论依据。

志谢: 中国科学院植物研究所系统与进化植物学国家重点实验室系统发育与进化课题组提供本研究分子实验平台, 南阳市卧龙区林业局协助收集实验材料。

## 参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志(第 37 卷) [M]. 北京: 科学出版社, 1985.
- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [3] 章银柯, 江 燕, 朱 炜. 我国薔薇属植物资源极其园林应用前景 [J]. 种子, 2009, 28(8): 68-70.
- [4] 高 蕾. 油用玫瑰品种遗传关系分析 [D]. 上海: 上海交通大学, 2011.
- [5] 赵 倩. 月季组织培养及利用 ISSR 标记进行遗传多态性分析 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2008.
- [6] Zietkiewica E, Rafalske A, Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplified [J]. Genomics, 1994, 20(2): 176-183.
- [7] Liu T, Zhu S, Fu L, et al. Development and characterization of 1827 expressed Sequence tag-derived simple sequence repeat markers for ramie (*Boehmeria nivea* L. Gaud) [J]. PLoS One, 2013, 8(4): e60346.
- [8] 任爱农, 秦民坚. 基于 RAPD 分子标记技术的中药材鉴定研究进展 [J]. 中南药学, 2008, 3(6): 338-341.
- [9] 王果平, 樊从照, 李晓瑾, 等. 基于 ISSR 的新疆贝母属植物遗传多样性研究 [J]. 中草药, 2013, 44(7): 887-890.
- [10] 许永华, 张爱华, 金 慧, 等. 人参种源遗传关系的 ISSR 分析 [J]. 中草药, 2010, 41(7): 1164-1167.
- [11] 孙稚颖, 姚 辉. 不同产地菘蓝 ISSR 分析与鉴定 [J]. 中草药, 2014, 45(22): 3323-3326.
- [12] 邵清松, 郭巧生, 张志远. 药用菊花种质资源遗传多样性的 ISSR 分析 [J]. 中草药, 2009, 40(12): 1971-1975.
- [13] 江菊仙, 李水福. 玫瑰花与月季花的真伪优劣检定 [J]. 中草药, 2003, 34(7): 667-668.
- [14] 许 凤. 90 份薔薇属 (*Rosa* L.) 种质资源的 SSR 遗传多样性研究 [D]. 成都: 西南大学, 2009.
- [15] 高 蕾, 姚 雷. 9 个油用玫瑰品种遗传关系的 ISSR 分析 [J]. 上海交通大学学报, 2010, 28(5): 449-466.
- [16] 王明伟, 宋振巧, 王建华. ISSR 标记技术及其在药用植物遗传育种中的应用 [J]. 中草药, 2007, 38(1): 134-137.