

福建省野牡丹属种质资源的ISSR分析

郑涛, 陈振东*, 林秀香, 郑少缘, 何雪娇, 苏金强

(福建省热带作物科学研究所, 福建 漳州 363001)

摘要: 为探讨福建省野牡丹属(*Melastoma* L.)植物的亲缘关系, 运用 ISSR 分子标记技术对源自福建省的野牡丹属野生种质及部分实生后代共 34 份材料进行分析。结果表明, 11 条多态性引物对 34 份种质 DNA 进行扩增, 共获得 112 条完整、清晰的谱带, 其中多态性条带 104 条, 多态性比率为 92.9%, 表明野牡丹属种质资源具有较高的遗传多样性。34 份种质材料的相似系数为 0.55~0.93, 平均相似系数为 0.71, 表明这些材料间的亲缘关系较近。聚类分析表明 34 份材料可划分为 3 个类群 5 个亚类, 主坐标散点分析可分为 4 个类群, 这与亲缘关系分析的结果基本一致。这从分子水平上揭示了福建省野牡丹属野生种质及部分具备优良园艺性状实生后代的亲缘关系, 为该属植物的良种选育工作提供了理论依据。

关键词: 野牡丹属; 亲缘关系; 分子标记; 种质资源; 福建省

doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2013.05.003

ISSR Analysis of *Melastoma* Germplasm in Fujian Province

ZHENG Tao, CHEN Zhen-dong*, LIN Xiu-xiang, ZHENG Shao-yuan, HE Xue-jiao, SU Jin-qiang
(Fujian Institute of Tropical Crops, Zhangzhou 363001, China)

Abstract: In order to understand the relationship of *Melastoma*, the DNA fingerprints of 34 *Melastoma* germplasm collected from different regions of Fujian Province were studied by using ISSR markers. Eleven primers selected from 116 ISSR primers could obtain high polymorphism and reproducibility bands. The results showed that total of 112 DNA bands were amplified, and 104 polymorphic bands, counting for 92.9%. Genetic similarity analysis showed that for 34 *Melastoma* germplasm the Nei's coefficient of 34 *Melastoma* germplasm ranged from 0.55 to 0.93, with the average of 0.71. It was suggested that there were close genetic relationships and high genetic diversity among *Melastoma* germplasm resources. These 34 germplasm resources could divided into 3 groups and 5 subgroups by UPGMA analysis, and 4 groups by principal coordinate scatter analysis. These results had high consistency with that of genetic relationship analysis. Therefore, it was suggested that ISSR markers could be used to reveal genetic diversity of *Melastoma* at molecular level, and provided a theoretical basis for breeding of *Melastoma* in Fujian.

Key words: *Melastoma*; Genetic relationship; Molecular marker; Germplasm; Fujian Province

野牡丹科(Melastomaceae)植物全世界约有 240 属 3000 余种^[1], 福建省有 12 属 25 种 5 变种^[2], 其中野牡丹属(*Melastoma* L.)植物全世界约有 100 种, 我国有 9 种 1 变种, 分布于长江以南各省区^[3]。野

牡丹属植物不仅具有优良的观赏价值, 可被选育用于城市环境绿化, 而且具有较高的药用价值。目前, 大部分野牡丹属植物处于野生状态, 国内各省区对该属的资源分布及利用情况曾做了一些调查。陈

收稿日期: 2012-12-25 接受日期: 2013-03-14

基金项目: 福建省自然科学基金项目(2011J01122); 福建省公益类科研专项(2011R030-1)资助

作者简介: 郑涛(1982~), 男, 硕士, 助理研究员, 研究方向为植物生理生化与分子生物学。E-mail: JAGY1203@163.com

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: Czdz89@126.com

红锋等^[4]对广东省该属资源进行了野外调查、标本查证,基本查清广东野牡丹属的种类、地理分布;魏升华等^[5]对贵州该属药用植物的种类和分布进行了调查研究;马国华等^[6]对华南地区野牡丹属野生花卉种质进行了收集和繁育研究;林秀香等^[7]初步调查了福建省野牡丹属植物资源的分布特点,同时提出了开发利用的建议。目前对野牡丹属的研究大多局限于系统进化、传统分类、药用价值、观赏价值等方面^[8-12],尚未有运用分子标记技术研究该属种内遗传变异和种间亲缘关系的报道。许多种质从形态学上难以分清所属类别,这给该属优良园艺品种的选育带来极大的困难,人工杂交工作存在盲目性。

ISSR (Inter-simple sequence repeat, 简单重复序列)分子标记具有操作简单、快速、高效,遗传多态性丰富、稳定性和重复性好,且无需知道基因序列

信息以及消耗资源少等特点,在植物遗传多样性、近缘物种的亲缘关系分析、遗传图谱构建和基因定位等方面均有广泛的应用^[13-14]。本研究应用 ISSR 标记技术,分析福建省野牡丹属 34 份野生种质的遗传多样性,从分子水平上揭示这些种质的亲缘关系,以为该属植物的分类、优良农艺性状的选择、杂交育种亲本选配及其优良品种或单株的选育提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

本研究所用的 34 份野牡丹属野生种质资源包括部分野生种质资源和具备优良变异性状的实生种质(表 1),涵盖了《福建植物志》第 4 卷中记

表 1 供试野牡丹属种质材料

Table 1 34 germplasm accessions of *Melastoma* tested

序号 No.	植物 Species	种质编号 Germplasm code	采集地点 Location	序号 No.	植物 Species	种质编号 Germplasm code	采集地点 Location
1	多花野牡丹 <i>Melastoma affine</i>	1	福州鼓山 Gushan, Fuzhou	18	<i>Melastoma</i> sp.	SP-5	资源圃 Resources nursery
2		2	厦门同安 Tong'an, Xiamen	19		SP-6	资源圃 Resources nursery
3		3	厦门同安 Tong'an, Xiamen	20		SP-7	资源圃 Resources nursery
4		4	漳州 Zhangzhou	21		SP-8	资源圃 Resources nursery
5		5	漳州 Zhangzhou	22		SP-9	资源圃 Resources nursery
6	野牡丹 <i>Melastoma candidum</i>	1	福州鼓山 Gushan, Fuzhou	23		SP-10	资源圃 Resources nursery
7		2	漳州长泰 Changtai, Zhangzhou	24		SP-11	资源圃 Resources nursery
8		3	漳州五峰 Wufeng, Zhangzhou	25		SP-12	资源圃 Resources nursery
9	细叶野牡丹 <i>Melastoma intermedium</i>	1	龙岩梅花山 Meihuashan, Longyan	26		SP-13	资源圃 Resources nursery
10		2	龙岩武平 Wuping, Longyan	27		SP-14	资源圃 Resources nursery
11	地荃 <i>Melastoma dodecandrum</i>	1	漳州华安 Hua'an, Zhangzhou	28		SP-15	资源圃 Resources nursery
12		2	龙岩永定 Yongding, Longyan	29		SP-16	资源圃 Resources nursery
13	展毛野牡丹 <i>Melastoma normale</i>	1	龙岩永定 Yongding, Longyan	30		SP-17	资源圃 Resources nursery
14	<i>Melastoma</i> sp.	SP-1	资源圃 Resources nursery	31		SP-18	资源圃 Resources nursery
15		SP-2	资源圃 Resources nursery	32		SP-19	资源圃 Resources nursery
16		SP-3	资源圃 Resources nursery	33		SP-20	资源圃 Resources nursery
17		SP-4	资源圃 Resources nursery	34		SP-21	资源圃 Resources nursery

SP: 实生后代。

SP: Seedling progeny.

载的野牡丹属 6 种中的 5 种,即地蕊(*Melastoma dodecandrum*)、细叶野牡丹(*M. intermedium*)、展毛野牡丹(*M. normale*)、多花野牡丹(*M. affine*)、野牡丹(*M. candidum*)。这些野生种质采自福建省的福州、漳州、厦门、龙岩地区。这些野生资源在福建省热带作物科学研究所的种质资源圃经长期自然杂交或自交产生了大量实生后代,不少株系在花色、花期、株型、叶形等方面出现了许多优良的变异性状。采集每一份种质材料的嫩叶用于 DNA 提取及 ISSR 标记。

1.2 方法

仪器与试剂 仪器采用 Eppendorf BioPhorometer Plus (核酸蛋白仪)、Biometra 梯度 PCR 仪,引物采用 UBC801 ~ 900、CW32436 ~ 32506 (上海生工)部分供筛选, *Taq* DNA 聚合酶等 PCR 试剂均购自 TAKARA。

DNA 样品的制备与检测 采用改良 CTAB 法^[15]提取基因组 DNA,提取后的样品用紫外分光光度计测定 260 nm、280 nm 处的吸光值(OD),再用核酸蛋白仪测定进行核对,计算 DNA 样品的纯度和精确浓度。通过优化实验建立反应体系:DNA 模板($30 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$) $0.7 \mu\text{L}$, $10 \times \text{buffer}$ $2 \mu\text{L}$, dNTPs (10 mmol L^{-1} each) $0.6 \mu\text{L}$,引物($10 \mu\text{mol L}^{-1}$) $0.8 \mu\text{L}$, *Taq* DNA 聚合酶($5 \text{ U } \mu\text{L}^{-1}$) $0.1 \mu\text{L}$,用 ddH₂O 定容至 $20 \mu\text{L}$,退火温度为 53°C 。

引物筛选 从 116 条 ISSR 随机引物中筛选出 11 条多态性好、条带清晰的引物,即 CW32447、CW32451、CW32488、CW32506、UBC811、UBC820、UBC821、UBC841、UBC842、UBC848、UBC857。

1.3 数据分析

用筛选出的 11 条引物及优化反应体系对 34 份 DNA 样品进行扩增。根据扩增谱带照片,将清晰、可重复且长度范围在 200 ~ 2000 bp 内的进行记录,对同一引物的扩增条带,迁移率相同的条带计 1 个位点,扩增阳性(有条带)记为“1”,扩增阴性(无条带)记为“0”,所得数据输入 Excel 表格,建成原始表征数据矩阵。

采用 POPGENE 1.32 对物种进行遗传参数分析,分别计算多态位点百分率(PPB)、每个位点的平均观测等位基因数(Na)、每个位点的平均有效等位基因数(Ne)、Nei's 基因多样性指数(He)、

Shannon's 多样性信息指数。利用 NTSYS 2.1 软件中 Similarity 程序的 SimQual 计算 SM 相似系数,然后用 Clustering 程序中的 SHAN 进行 UPGMA 聚类分析,绘制聚类图。

2 结果和分析

2.1 ISSR 多态性分析

本研究用 11 条筛选出的 ISSR 引物对 34 份野牡丹属种质资源的 DNA 多态性进行检测,共扩增出 112 条谱带,其中多态性条带 104 条,多态性条带的比率为 92.9% (表 2)。

扩增结果显示,扩增位点最多的引物是 CW32506、UBC811、UBC857,位点数均为 12,最少的是 UBC857,位点数为 7。其中引物 CW32506、UBC857 对 34 份野牡丹属种质 DNA 的扩增图谱见图 1、2。

2.2 ISSR 标记的聚类分析

34 份种质资源的多态位点百分率(PPB)为 92.9%、每个位点的平均观测等位基因数(Na)为 1.9041 ± 0.2965 、每个位点的平均有效等位基因数(Ne)为 1.5107 ± 0.3372 、Nei's 基因多样性指数(He)为 0.3025 ± 0.1641 、Shannon's 多样性信息指数为 0.4570 ± 0.2174 。

基于野牡丹属 34 份种质资源的 ISSR 标记数据矩阵,所有样品间的相似系数为 0.55 ~ 0.93,平均相似系数为 0.71,表明供试的 34 份野牡丹属种质资源间的亲缘关系较近。在所有供试样品中,地蕊 1 号与其它样品的相似系数最低,为 0.55,说明它与其他样品间的亲缘关系最远;具优良变异性状的实生后代 2 号与实生后代 5 号相似系数最高,为 0.93,说明它们的亲缘关系最近,很可能拥有相同的亲本。

利用 NTSYS 2.1 软件中的 UPGMA 聚类方法,获得了这些种质资源的聚类图(图 3)。可将所研究的野牡丹属种质资源先分为 3 个大类群,11 号样品采自华安的地蕊独立聚为 I 类群;13 号样品的展毛野牡丹 1 号和 24 号样品的实生后代 11 号聚为 II 类群;其余 31 份种质聚为 III 类群。

第 III 类群的种质较多,可进一步细分为 2 个组。a 组为 6 号、7 号、10 号、19 号、21 号、23 号、29 号样品共 7 份种质,其余的划为 b 组。a 组

中 6 号样品为采自福州鼓山的野牡丹 1 号, 7 号样品为采自漳州长泰的野牡丹 2 号, 10 号样品为采自龙岩武平的细叶野牡丹 2 号, 其余的均为实生后代。b 组可再细分为 3 个亚组, 第一亚组包含 1 号、8 号、14 号、16 号、17 号、26 号、30 号、31 号、32 号、33 号、34 号样品, 其中 1 号样品为采自福州鼓山的多花野牡丹 1 号, 8 号样品为采自漳州五峰的野牡丹 3 号, 其余均为实生后代, 可推测多花

野牡丹 1 号和野牡丹 3 号为实生后代的亲本; 第二亚组为 2 号、3 号、4 号、5 号、15 号、18 号、20 号、22 号、25 号、27 号、28 号样品, 其中 2 和 3 号样品分别为采自厦门同安的多花野牡丹 2 号和 3 号, 4 和 5 号样品为采自漳州地区的多花野牡丹 4 号和 5 号, 多花野牡丹与实生后代聚为一类; 第三亚组为 9 号(细叶野牡丹 1 号)和 12 号(地葱 2 号)样品, 均采自龙岩地区。

表 2 ISSR-PCR 引物及扩增结果

Table 2 Primer sequence and amplified results by ISSR-PCR

引物编号 Primer code	引物序列 (5'~3') Primer sequence	扩增位点数 Number of scored bands	多态位点数 Number of polymorphic bands	多态性比率 % of polymorphism
CW32447	ACACACACACACACAG	11	10	90.9
CW32451	ACACACACACACACYA	8	6	75.0
CW32488	GGAGAGGAGAGGAGA	11	11	100.0
CW32506	TCTCTCTCTCTCTCC	12	11	91.7
UBC811	GAGAGAGAGAGAGAGAC	12	12	100.0
UBC820	GTGTGTGTGTGTGTGTC	11	11	100.0
UBC821	GTGTGTGTGTGTGTGTT	10	9	90.0
UBC841	GAGAGAGAGAGAGAGAYC	10	10	100.0
UBC842	GAGAGAGAGAGAGAGAYG	7	6	85.7
UBC848	CACACACACACACARG	8	6	75.0
UBC857	ACACACACACACACYG	12	12	100.0
合计 Total		112	104	
平均 Mean		10.2	9.5	92.9

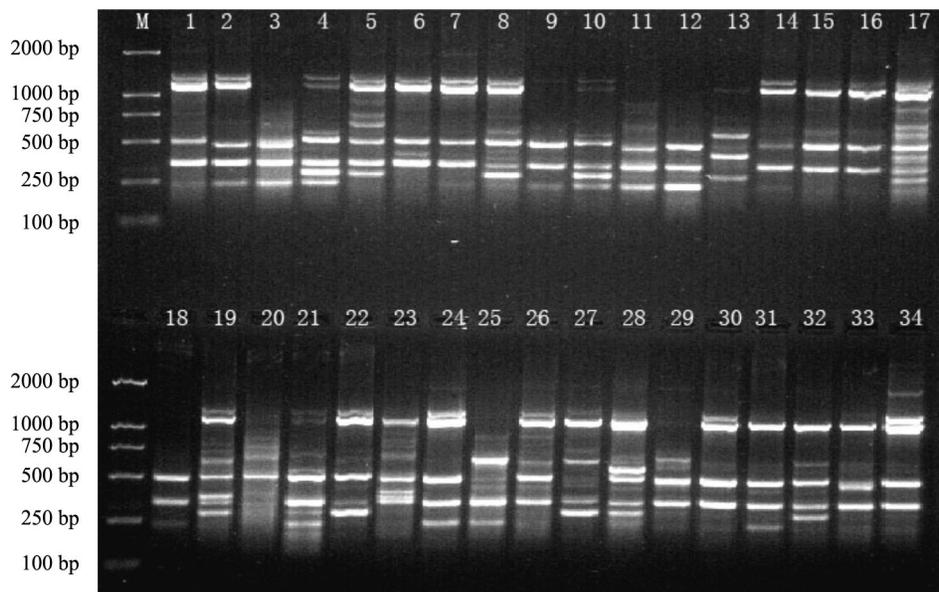


图 1 引物 CW32506 对 34 份野牡丹属种质资源的 ISSR 图谱。M: 分子量标记; 1~34 见表 1 中的序号。

Fig. 1 ISSR profiles of 34 *Melastoma* germplasms by primer CW32506. M: DNA marker; 1 – 34 see the No. in Table 1.

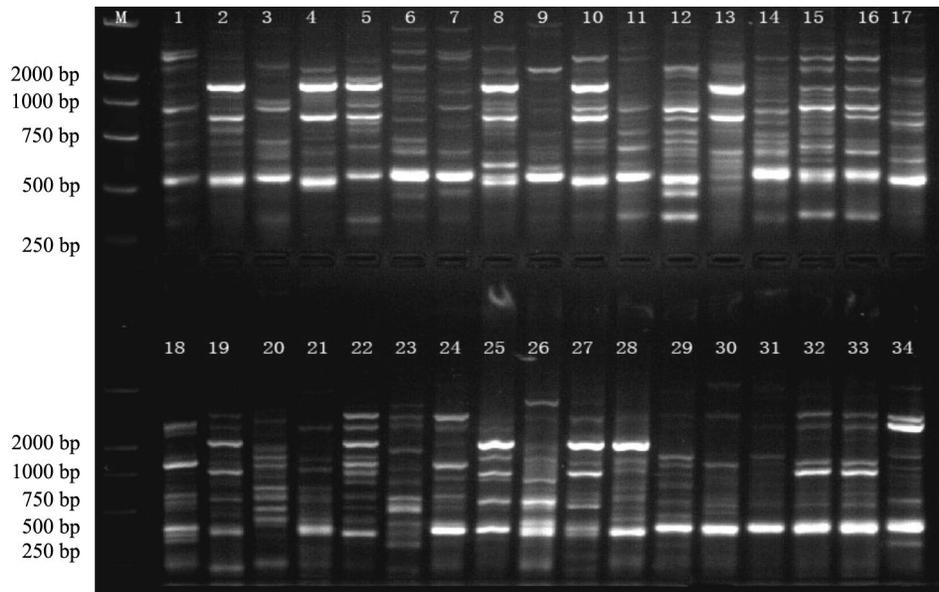


图2 引物 UBC857 对 34 份野牡丹属种质资源的 ISSR 图谱。M: 分子量标记; 1~34 见表 1 中的序号。

Fig. 2 ISSR profiles of 34 *Melastoma* germplasms by primer UBC857. M: DNA marker; 1 – 34 see the No. in Table 1.

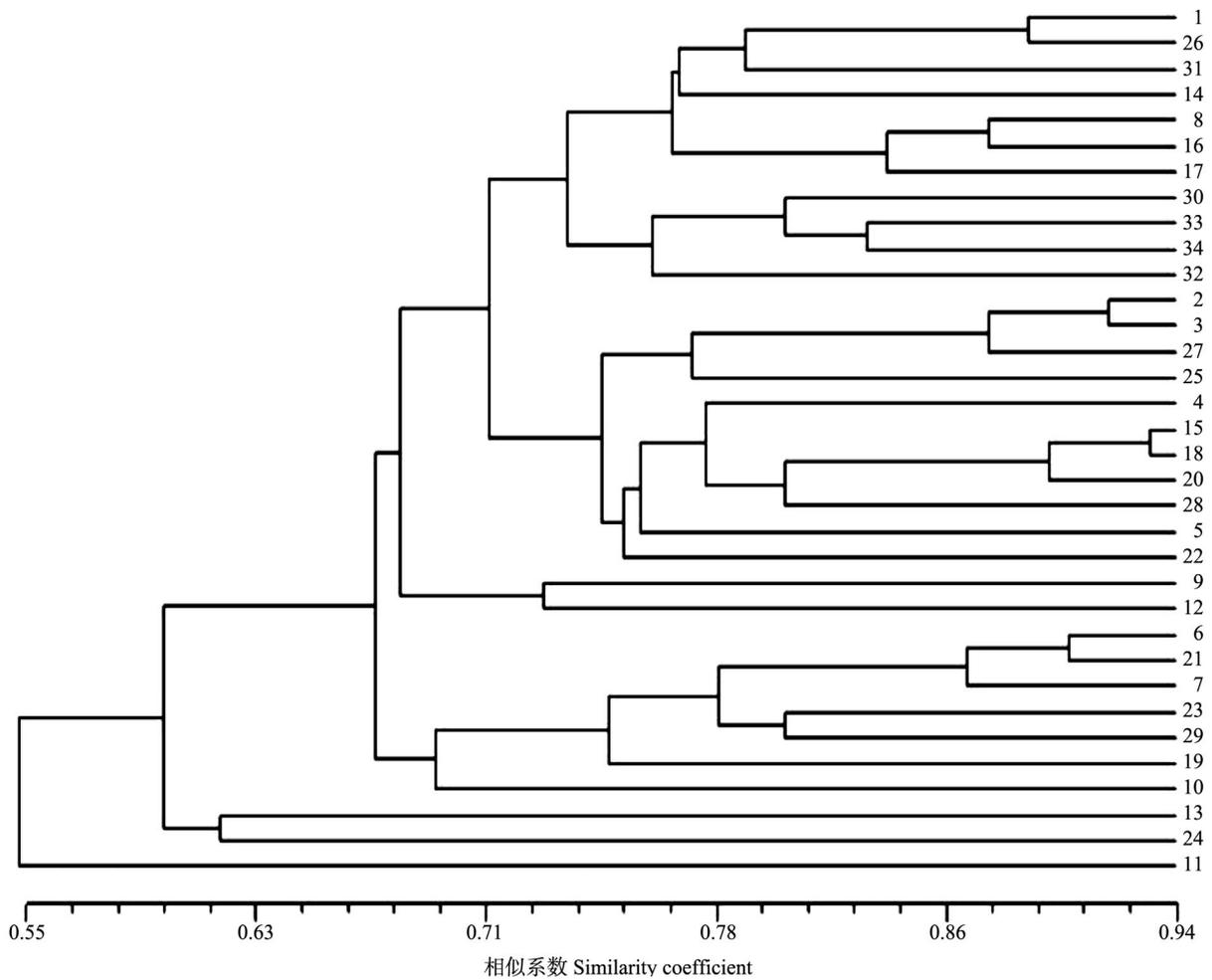


图3 基于 ISSR 标记的野牡丹属 34 份种质资源 UPGMA 聚类图

Fig. 3 UPGMA dendrogram of 34 *Melastoma* germplasm resources based on ISSR markers

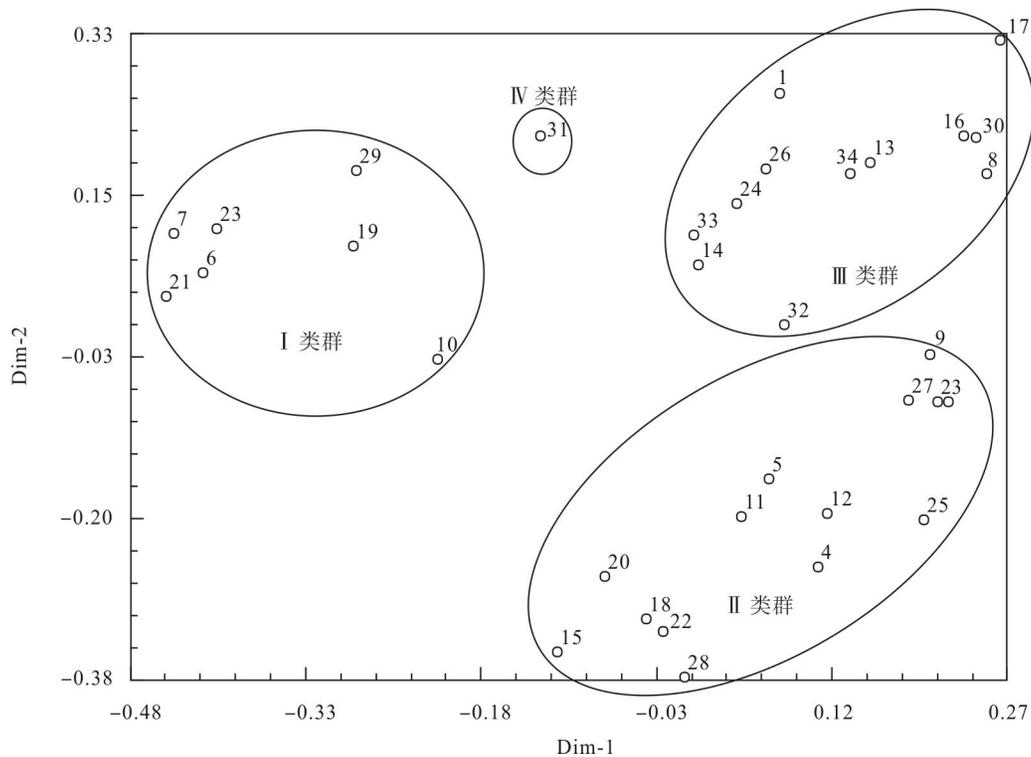


图4 基于ISSR标记的野牡丹属34份种质资源的主坐标散点图

Fig. 4 Principal coordinate scatter analysis of 34 *Melastoma* germplasm based on ISSR markers

2.3 ISSR主坐标分析

对获得的ISSR标记数据,应用NTSYS 2.1进行主坐标分析,得到福建省野牡丹属34份材料的主坐标散点图(图4)。

从图4可以看出,34份种质材料可分为4大集群。其中的I类群与图3中的III类群a组完全相同;图4中的II类群与图3中b组的第二和第三亚组+I类群基本一致,图4中的III类群与图3中b组第一亚组+II类群基本相同。图4中31号与其他种质在不同方向上都相差较远,则独立归为一个IV类群。

通过比较图3和图4可知,对34份野牡丹属种质进行的系统聚类分析和主坐标分析的结果既有一致性也有差异。说明通过系统聚类分析和主坐标不同方向、不同层面的分析相结合更能准确地分析各种质的关系。

3 讨论

3.1 遗传多样性

本研究结果表明,来自于福建省的34份野牡丹属种质资源用11条ISSR引物共扩增出112条

条带,其中多态性条带有104条,多态性比率为92.9%,表明这11条引物可以充分反映出供试样品间的遗传多样性,可以用于未来更大规模的分析。遗传相似性分析显示,相似系数为0.55~0.93,平均为0.71,表明供试的多数材料间具有一定的遗传差异,但供试材料总体上遗传基础相对比较狭窄,这可能与选材范围不够广泛及ISSR引物的筛选有关。

3.2 亲缘关系分析

野牡丹3份种质中的1号、2号,用聚类图和主坐标散点图分析均被聚为一类且与野牡丹3号分开,表明野牡丹3号与其他两个野牡丹种质有较远的亲缘关系。形态学观察表明,野牡丹1号、2号具典型的野牡丹特征,即叶卵形,叶密被糙伏毛和短柔毛^[9],而野牡丹3号除植株形态、花色、花期等与野牡丹1号、2号类似外,其叶则具多花野牡丹的特征,即披针形或宽披针形,说明野牡丹3号可能来自于野牡丹与多花野牡丹的自然杂交。

细叶野牡丹的2份种质在聚类树状图中归为同一类群的不同亚组,两者在形态上除具细叶野牡丹典型特征叶披针形,叶片较厚,叶面、花萼密被糙

伏毛外,亦有所区别,细叶野牡丹2号为半匍匐灌木(株高0.3~0.7 m),周年开花,叶较大(长7.0~9.5 cm,宽2.0~3.0 cm),花冠较大(6.0~7.2 cm);细叶野牡丹1号为匍匐小灌木(株高0.2~0.3 m),花期为5~9月份,叶较小(长3.2~6.0 cm,宽1.2~1.5 cm),花冠较小(5.0~5.5 cm),由于二者来源地相同(均为龙岩地区),这种形态上、分子水平上的差异可能是杂交后代性状分离的结果所造成的。

多花野牡丹的5份种质在聚类树状图中聚为同一类群,而在主坐标散点图中多花野牡丹1号被聚为不同类群,采集地源自福州、厦门、漳州地区,植株形态、物候期基本相同,说明多花野牡丹在自然进化过程中表型易受环境影响发生改变,而遗传上则保持相对稳定。

地蕊的2份种质在主坐标散点图中被聚为同一类群,而在聚类树状图归为不同类群,且遗传距离较远,两份种质采集地处于不同地区,海拔、生态环境差异明显,说明供试的2份不同生态型的地蕊在遗传上已经分化。

展毛野牡丹与实生后代11号,在2个图中均被聚为同一类群,二者基茎被平展紫褐色短柔毛,株高1.0~1.5 m,叶披针形,形态上与分子水平上的近似关系说明二者具备相似的遗传背景。在主坐标散点图中二者与多花野牡丹、野牡丹聚为一类,由此判断实生后代11号系展毛野牡丹与其他种质杂交后代的可能性较大。21份实生种质通过形态学和分子标记比较,较清楚地分析其亲本源自何种种质,这为今后的育种筛选优良的亲本及培养新品种提供了理论依据。

本研究对我省野牡丹属植物的聚类分析与主坐标分析结果基本一致,表明二者可以从不同角度对数据进行分析。聚类分析与主坐标分析各有特点,互为补充,前者能够量化体现品种间的差异,后者则能从不同方向和层面提供更多的关于不同群体间关系的信息,更直观地揭示品种间的来源差异^[6]。结果显示,我省野牡丹属种质资源的遗传多样性比较丰富,为杂交育种奠定了遗传基础;形态学分析结果与ISSR分子标记结果有部分差异,产生的可能原因主要有两个:一是野牡丹属植物间的杂交较为频繁,野牡丹属植物花多、结实率高,且物种的地理分布和开花期存在部分重叠,给种间自然杂交提供了很多机会;二是地理环境的差异会造成同种植物在不同地区产生不同的表型性状,即自然

选择造成了野牡丹属植物在不同地区的遗传分化。

4 展望

本研究结果表明,利用ISSR分子标记技术,结合不同的数据分析方法,可以较为准确、快速地分析野牡丹属植物的亲缘关系,而如何利用分子标记结果和种间的生物学性状差异,通过选择亲缘关系较远、自然杂交结实率低的亲本进行人工杂交,扩大该属植物的遗传基础,为优良品种的选育打下基础是下一步研究工作的重点。未来的研究将扩大采集地至全国范围,收集更多的野牡丹属野生种质资源,尤其是《福建植物志》中记载的毛蕊物种,开展更全面的分析;同时筛选更多的分子标记,结合基因测序技术,以实现用一或少数几条引物(基因)快速鉴定本属的物种,搞清我省乃至我国野牡丹属植物的种质亲缘关系及演化进程。

参考文献

- [1] Chen C. Flora Reipublicae Popularis Sinicae, Tomus 53(1) [M]. Beijing: Science Press, 1984: 137-190.
陈介. 中国植物志, 第53卷第1分册 [M]. 北京: 科学出版社, 1984: 137-190.
- [2] Lin X X, Huang A F, Lin Q J, et al. Germplasm resources of Melastomataceae medicinal plants in Fujian Province [J]. Chin J Trop Agr, 2008, 28(6): 25-28.
林秀香, 黄阿凤, 林秋金, 等. 福建省野牡丹科药用植物种质资源研究 [J]. 热带农业科学, 2008, 28(6): 25-28.
- [3] Hu S H, Jiang D S. Research progress of *Melastoma* plants [J]. Mod Hort, 2007, 37(5): 3-6.
胡松海, 蒋道松. 野牡丹属植物研究进展 [J]. 现代园艺, 2007, 37(5): 3-6.
- [4] Chen H F, Xing F W, Liu D M, et al. Resources of Melastomataceae medicinal plants of Guangdong Province [J]. J Chin Med Mat, 2003, 26(5): 321-323.
陈红锋, 邢福武, 刘东明, 等. 广东省野牡丹科药用植物资源 [J]. 中药材, 2003, 26(5): 321-323.
- [5] Wei S H, He S Z, Wang Y. Studies on the medicinal plant resources of Theaceae, Melastomataceae and other families in Guizhou [J]. Guizhou Sci, 2005, 23(4): 27-29,34.
魏升华, 何顺志, 汪毅. 贵州山茶科、野牡丹科等四科药用植物资源的研究 [J]. 贵州科学, 2005, 23(4): 27-29,34.
- [6] Ma G H, Lin Y R, Jian S G, et al. Collection and propagation of wild flower plants in Melastomataceae of south China [J]. Chin Wild Plant Res, 2001, 20(6): 72-73,49.
马国华, 林有润, 简曙光, 等. 华南野牡丹科野生花卉种质资源

- 的收集和繁育 [J]. 中国野生植物资源, 2001, 20(6): 72-73,49.
- [7] Lin X X, Shu J Q, Huang A F. A preliminary investigation and evaluation about the plant resource of Melastomaceae in Fujian [J]. Fujian Sci Techn Trop Crops, 2003, 28(4): 17-19.
林秀香, 苏金强, 黄阿凤. 福建野牡丹科植物资源初步调查及评价 [J]. 福建热作科技, 2003, 28(4): 17-19.
- [8] Lin Y R. System evolution and tropical affinity of flora geographic of Lauraceae, Melastomaceae and Compositae in Guangdong and Hainan Province [J]. Plant Res, 1996, 16(3): 250-272.
林有润. 广东、海南两省樟科、野牡丹科及菊科的系统演化与区系地理的热带亲缘 [J]. 植物研究, 1996, 16(3): 250-272.
- [9] Fujian Technology Committee, Edita of Flora of Fujianica. Flora of Fujianica, Vol. 4 [M]. Fuzhou: Fujian Science and Technology Press, 1989: 117-120.
福建科学技术委员会, 《福建植物志》编写组. 福建植物志, 第4卷 [M]. 福州: 福建科学技术出版社, 1989: 117-120.
- [10] Yang N Y, Tian L J, Meng Z M. Chemical constituents and pharmacological activity of *Melastoma* plants [J]. J Chin Clinl Med, 2003, 18(4): 58-59.
杨念云, 田丽娟, 孟正木. 野牡丹属植物的化学成份和药理活性 [J]. 中华临床医药, 2003, 18(4): 58-59.
- [11] Feng Z J, Wu Z M. New species and new geographical distribution of Melastomaceae of Guandong Province [J]. J S China Agri Univ, 1994, 15(4): 75-76.
冯志坚, 吴志敏. 广东野牡丹科新种和分布新记录 [J]. 华南农业大学学报, 1994, 15(4): 75-76.
- [12] Zhang Y. Taxonomic studies of Melastomaceae trib. Melastoma of Guandong Province [D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2005: 23-25.
张粤. 广东野牡丹科野牡丹族植物分类学研究 [D]. 广州: 华南农业大学, 2005: 23-25.
- [13] Pradeep Reddy M, Sala N, Siddiq E A. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding [J]. Euphytica, 2002, 128(1): 9-17.
- [14] Li J M, Jin Z X. Genetic structure of endangered *Emmenopterys henryi* Oliv. based on ISSR polymorphism and implications for its conservation [J]. Genetica, 2008, 133(3): 227-234.
- [15] He X J, Zheng T, Su J Q, et al. DNA extraction of the 7 species plants of Melastomaceae based on the modified methods of CTAB [J]. Guangdong Agri Sci, 2011, 38(18): 120-122.
何雪娇, 郑涛, 苏金强, 等. 改良CTAB法提取野牡丹科7种植物DNA [J]. 广东农业科学, 2011, 38(18): 120-122.
- [16] Zhou B Z. Relationship among some species and cultivars of genus *Paeonia* [D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2009: 36-38.
周宝臻. 芍药属部分种和栽培品种的亲缘关系研究 [D]. 北京: 北京林业大学, 2009: 36-38.