

基于 RAPD 标记的薄荷属 (*Mentha* L.) 植物亲缘关系分析

房海灵¹, 李维林^{1,①}, 梁呈元¹, 郭巧生²

[1. 江苏省·中国科学院植物研究所(南京中山植物园), 江苏 南京 210014; 2. 南京农业大学中药材研究所, 江苏 南京 210095]

摘要: 应用 RAPD 标记方法分析了薄荷属 (*Mentha* L.) 7 个种 38 个种源间的遗传多样性, 并采用 UPGMA 聚类分析方法探讨了 38 个种源间的亲缘关系。结果表明, 用 20 条随机引物从 38 个种源的总 DNA 中共扩增出 111 条带, 其中多态性条带 91 条, 多态性条带百分率达 81.98%, 表明薄荷属植物种间和种内存在丰富的遗传多样性。聚类分析结果表明, 在遗传相似系数 0.43 处, 供试的 38 个种源被分为 2 大类, 其中第 1 大类包含日本薄荷 (*M. arvensis* L.)、灰薄荷 (*M. vagans* Boriss.)、留兰香 (*M. spicata* L.)、皱叶留兰香 (*M. crispata* Schrad. ex Willd.)、椒样薄荷 (*M. × piperita* L.) 和薄荷 (*M. haplocalyx* Briq.) 的 37 个种源, 第 2 大类仅包含唇萼薄荷 (*M. pulegium* L.) 1 个种源。在遗传相似系数 0.74 处, 38 个种源被分为 6 组: A 组仅包含日本薄荷 1 个种源; B 组包含灰薄荷的 4 个种源; C 组包含留兰香的 2 个种源和皱叶留兰香的 6 个种源; D 组包含椒样薄荷的 5 个种源和留兰香的 2 个种源; E 组包含薄荷的 17 个种源; F 组仅包含唇萼薄荷 1 个种源。在遗传相似系数 0.83 处, B 组、C 组、D 组和 E 组可各自进一步划分为不同的亚组。研究结果显示, 基于 RAPD 标记分析的聚类分析结果与传统形态学分类结果基本相吻合; 同一种类来源相同或相近的种源聚在一起, 说明薄荷属植物种内的遗传关系与地理分布和环境差异有一定的相关性。

关键词: 薄荷属; RAPD; 遗传多样性; 亲缘关系; 聚类分析

中图分类号: Q523+.8; S567.23+5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-7895(2010)01-0014-06

Relationship analysis of *Mentha* species based on RAPD marker FANG Hai-ling¹, LI Wei-lin^{1,①}, LIANG Cheng-yuan¹, GUO Qiao-sheng² (1. Institute of Botany, Jiangsu Province and the Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014, China; 2. Institute of Chinese Medicinal Materials, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2010, 19(1): 14-19

Abstract: Genetic diversity of thirty-eight provenances belonging to seven species of *Mentha* L. was analyzed by RAPD marker method, and their relationship was also analyzed by UPGMA cluster method. The results show that 111 bands are amplified from total DNA of thirty-eight provenances by twenty random primers, in which there are 91 polymorphic bands and the percentage of polymorphic bands reaches 81.98%. It means that there is rich genetic diversity among interspecies or intraspecies of *Mentha* L. The results of cluster analysis show that thirty-eight provenances are divided into two categories at the point of genetic similarity coefficient 0.43, in which, the first category contains thirty-seven provenances belonging to *M. arvensis* L., *M. vagans* Boriss., *M. spicata* L., *M. crispata* Schrad. ex Willd., *M. × piperita* L. and *M. haplocalyx* Briq., the second category contains only one provenance of *M. pulegium* L. Also, thirty-eight provenances are divided into six groups at the point of genetic similarity coefficient 0.74, the six groups are as follow: Group A including one provenance of *M. arvensis*, Group B including four provenances of *M. vagans*, Group C including two provenances of *M. spicata* and six provenances of *M. crispata*, Group D including five provenances of *M. × piperita* and two provenances of *M. spicata*, Group E including seventeen provenances of *M. haplocalyx*, Group F

收稿日期: 2009-04-22

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30600051); 江苏省高新技术研究项目(BG2005317); “十一五”国家科技支撑计划项目(2006BAI06A12-12)

作者简介: 房海灵(1983—), 女, 山西晋中人, 博士研究生, 主要从事药用植物资源的研究。

①通信作者 E-mail: lwlcnb@mail.cnbg.net

including only one provenance of *M. pulegium*. Otherwise, Groups of B, C, D and E are further divided into different subgroups at the point of genetic similarity coefficient 0.83. It is suggested that the result of cluster analysis based on RAPD marker is generally near to morphological taxonomic result. And in the same species, the provenances which originate from the same or close locations are clustered together, it means that there are a certain correlation of intraspecies genetic relationship to geographical distribution and environment differentiation.

Key words: *Mentha* L.; RAPD; genetic diversity; genetic relationship; cluster analysis

唇形科 (Labiatae) 薄荷属 (*Mentha* L.) 植物为多年生或稀一年生草本, 全世界约有 30 种, 广泛分布于北半球的温带地区, 少数种见于南半球; 据记载^[1], 中国有薄荷属植物 12 种, 分布于全国各地, 尤以江苏和安徽等地种类最多。薄荷的用途很广, 可用于医药、食品、化妆品、香料及烟草等领域; 作为中药材, 薄荷具有宣散风热、清头目和透疹的功效, 用于治疗风热感冒、风温初起、头痛、目赤、喉痹、口疮、风疹、麻疹和胸胁胀闷等症^[2]。由于薄荷属植物分布广、生态适应幅度大、自然杂交现象普遍以及有性和无性繁殖并存, 造成该属植物在形态和化学上都产生很多变异, 给薄荷属植物种间及种内亲缘关系的研究和系统分类带来了一定的困难。目前, 有关薄荷属植物种间及种内遗传多样性的研究较少^[3-5]。

作者以 RAPD 分子标记技术为检测手段, 在分子水平上分析了薄荷属 7 个种 38 个种源间的遗传多样性, 旨在探讨薄荷属植物不同种源间的亲缘关系, 为薄荷属植物的引种栽培、资源保护和选种育种提供一定的理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

供试薄荷属 7 种 38 个种源均于 2004 年至 2005 年引种, 并栽种于南京中山植物园薄荷种质资源圃, 由江苏省·中国科学院植物研究所郭荣麟研究员鉴定, 种类名称及原产地见表 1。于 2006 年 5 月, 分别采集每个种源多个植株的新鲜幼嫩新叶, 混匀, 用于总 DNA 提取。

实验所用仪器包括 Biometra 公司生产的 T1 Thermocycler 型 PCR 仪、Sigma 公司生产的 3K 18 型高速冷冻离心机、北京六一仪器厂生产的 DYY-III 33A 型水平电泳槽、Amersham Pharmacia Biotech 公司生产的 EPS 30 型电泳仪和 EPS 601 型凝胶成像系统、上海光学仪器厂生产的 752 型紫外可见分光光度

表 1 供试薄荷属 38 个种源的种类名称及来源
Table 1 Species and origins of thirty-eight provenances of *Mentha* L. tested

编号 No.	种名 Species	来源 Origin
1	日本薄荷 <i>M. arvensis</i>	中国广西南宁 Nanning of Guangxi, China
2	灰薄荷	中国广西南宁 Nanning of Guangxi, China
3	<i>M. vagans</i>	中国广西南宁 Nanning of Guangxi, China
9	'	中国广西南宁 Nanning of Guangxi, China
38	'	中国新疆伊犁 Yili of Xinjiang, China
4	薄荷	中国安徽颖上 Yingshang of Anhui, China
5	<i>M. haplocalyx</i>	中国湖北十堰 Shiyan of Hubei, China
6		中国安徽太和 Taihe of Anhui, China
14		中国浙江杭州 Hangzhou of Zhejiang, China
8		中国广西南宁 Nanning of Guangxi, China
10		中国广西南宁 Nanning of Guangxi, China
11		中国广西南宁 Nanning of Guangxi, China
7		中国江苏东台 Dongtai of Jiangsu, China
15		中国安徽阜阳 Fuyang of Anhui, China
16		中国江西大余 Dayu of Jiangxi, China
17		中国安徽安庆 Anqing of Anhui, China
18		中国山东潍坊 Weifang of Shandong, China
19		中国甘肃张掖 Zhangye of Gansu, China
24		中国江苏六合 Luhe of Jiangsu, China
25		中国江苏镇江 Zhenjiang of Jiangsu, China
26		澳大利亚纽卡斯尔 Newcastle, Australia
27		澳大利亚昆士兰 Queensland, Australia
20	椒样薄荷	美国印第安纳 Indiana, USA
21	<i>M. × piperita</i>	美国马里兰 Maryland, USA
22		中国新疆伊犁 Yili of Xinjiang, China
23		中国台湾 Taiwan, China
28		中国新疆伊犁 Yili of Xinjiang, China
12	皱叶留兰香	中国广西南宁 Nanning of Guangxi, China
13	<i>M. crispata</i>	中国广西南宁 Nanning of Guangxi, China
30		中国广西南宁 Nanning of Guangxi, China
31		菲律宾马尼拉 Manila, Philippines
33		中国云南昆明 Kunming of Yunnan, China
34		中国西藏林芝 Linzhi of Tibet, China
32	留兰香	中国江苏东台 Dongtai of Jiangsu, China
35	<i>M. spicata</i>	英国曼彻斯特 Manchester, UK
36		英国伯恩茅斯 Bournemouth, UK
37		中国江苏镇江 Zhenjiang of Jiangsu, China
29	唇萼薄荷 <i>M. pulegium</i>	中国广东深圳 Shenzhen of Guangdong, China

计和 Eppendorf 公司生产的 BioPhotometer plus 型核酸蛋白测定仪。

所用试剂琼脂糖、引物、RNAase、*Taq* DNA 聚合酶、Marker (DL2000) 及 *d*NTPs 均购自南京生兴生物技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 总 DNA 的提取与检测 分别取新鲜的幼嫩新叶 1 g, 洗净晾干后, 在液氮中研磨粉碎, 参照 Khanuja 等^[6] 的方案, 运用改良的 CTAB 法提取总 DNA, 用质量体积分数 0.8% 的琼脂糖凝胶电泳检测总 DNA 的纯度, 并用紫外分光光度计检测总 DNA 的质量浓度, 将总 DNA 质量浓度稀释至 $20 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$, 置于 $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱储存、备用。

1.2.2 引物的筛选 选取 100 个长度为 10 bp 的寡核苷酸随机引物, 对部分种源的总 DNA 进行预扩增, 从中筛选出扩增条带清晰、多态性高、重复性好且稳定性强的随机引物 20 条, 用于所有种源总 DNA 的 RAPD 扩增。

1.2.3 RAPD 扩增反应条件及扩增结果的检测 扩增反应体系的总体积为 $20 \mu\text{L}$, 包含 $2.0 \mu\text{L}$ $10 \times$ buffer、 $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ *d*NTPs、 $2.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Mg^{2+} 、 $0.2 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 引物、 0.4 U *Taq* DNA 聚合酶和 20 ng 模板 DNA, 以灭菌双蒸水补足至 $20 \mu\text{L}$ 。

RAPD-PCR 扩增程序为: $94 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 预变性 4 min; 然后于 $94 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 变性 45 s、 $35 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 退火 45 s、 $72 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min, 共 35 个循环反应; 循环反应结束后于 $72 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸 5 min。扩增产物置于 $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下保存。

采用上述 RAPD 扩增体系和扩增程序对 38 个种源的总 DNA 进行扩增, 扩增反应结束后, 用质量体积分数 1.5% 的琼脂糖凝胶 (含 $0.5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 1×EB) 进行电泳检测, 当溴酚蓝指示剂距凝胶前沿约 2~3 cm 时停止电泳, 然后用自动凝胶成像系统对扩增谱带进行观察并拍照记录。

1.3 数据记录与统计分析

按照清晰易辨、重复、稳定的原则对扩增谱带进行统计, 有条带的记为“1”, 同一位置没有条带则记为“0”, 以此形成 RAPD 表型数据矩阵。统计每个引物扩增出的总条带数和其中的多态性条带数, 并计算多态性条带百分率。用 NTYSYS 分析软件中的 SM 方法计算任意 2 个种源间的遗传相似系数; 采用 UPGMA 聚类分析方法建立不同种源间的遗传关系树状图。

2 结果和分析

2.1 RAPD 扩增产物的多态性分析

采用扩增条带清晰、多态性高、重复性好且稳定性强的 20 条 10 bp 寡核苷酸随机引物对薄荷属 7 个种 38 个种源的总 DNA 进行 RAPD 扩增, 20 条随机引物的碱基序列及扩增结果见表 2, 引物 BH-14 的扩增图谱见图 1。

表 2 随机引物的碱基序列和薄荷属 7 个种 38 个种源总 DNA 的 RAPD 扩增结果

Table 2 Base sequences of random primers and RAPD amplified results of total DNA from thirty-eight provenances belonging to seven species of *Mentha* L.

引物 Primer	5'→3'序列 5'→3' sequence	扩增条带数 Number of amplified band	多态性条带数 Number of polymorphic band
BH-3	GTCCTAGCG	6	6
BH-4	TGCGGATCG	8	5
BH-5	AACGTACGCG	3	3
BH-7	CACCTGCGC	6	4
BH-8	CTATCGCCGC	4	4
BH-9	CGGGATCCGC	8	6
BH-10	GCGAATCCG	9	5
BH-11	CCCTGCAGGC	6	5
BH-12	CCAAGTTGC	4	3
BH-13	GTCCAATGAG	4	4
BH-14	AGGATACGTC	5	3
BH-15	AAGATACGGG	6	5
BH-16	GGATCTGAAC	4	2
BH-17	TTGTCTCAGG	5	5
BH-29	AAATCGGAGC	4	4
BH-33	GTCCTACTCG	5	5
BH-67	GCACGCGGGA	7	6
BH-84	CATCCGGAAC	6	6
BH-85	GACTCCACC	4	4
BH-93	AGCCTGACCC	7	6
总计 Total		111	91
平均 Mean		5.55	4.55

由表 2 可见, 20 条随机引物共扩增出 111 条带, 各引物扩增的条带数为 3~9 条, 平均每条引物扩增条带数为 5.55 条; 多态性条带总数为 91 条, 多态性条带百分率为 81.98%, 平均每条引物扩增的多态性条带数为 4.55 条。表 2 数据还显示, 用 BH-3、BH-5、BH-8、BH-13、BH-17、BH-29、BH-33、BH-84 和 BH-85 等 9 条引物扩增出的条带均为多态性条带, 多态性条带百分率均高达 100.00%。实验结果表

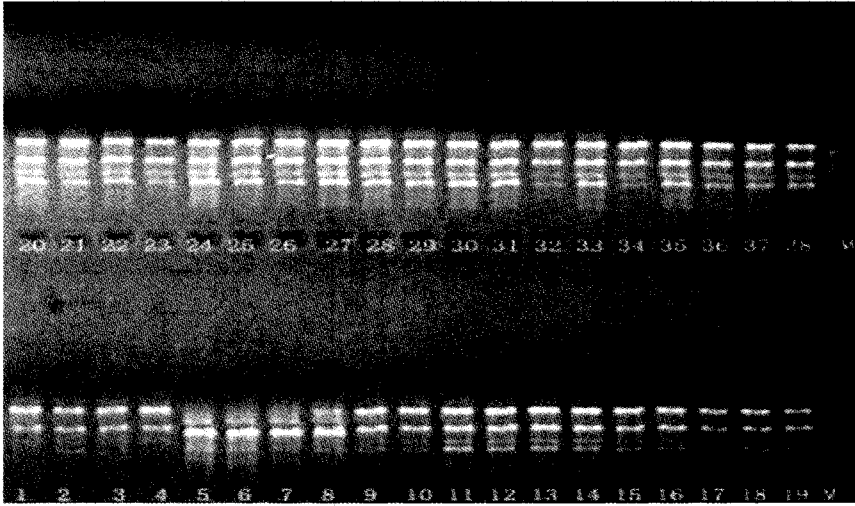


图1 引物 BH-14 对薄荷属 7 个种 38 个种源总 DNA 的 RAPD-PCR 扩增图谱

Fig. 1 RAPD-PCR pattern of total DNA from thirty-eight provenances belonging to seven species of *Mentha* L. amplified by primer BH-14

M: 分子量标记 Marker; 1: 日本薄荷 *M. arvensis* L.; 2,3,9,38: 灰薄荷 *M. vagans* Boriss.; 4-8,10,11,14-19,24-27: 薄荷 *M. haplocalyx* Briq.; 20-23,28: 椒样薄荷 *M. × piperita* L.; 12,13,30,31,33,34: 皱叶留兰香 *M. crispata* Schrad. ex Willd.; 32,35-37: 留兰香 *M. spicata* L.; 29: 唇萼薄荷 *M. pulegium* L.

明,薄荷属植物种间和种内均具有较丰富的遗传多样性。

2.2 基于 RAPD 扩增结果的聚类分析

根据各种源间的遗传相似系数对薄荷属 7 个种的 38 个种源进行 UPGMA 聚类分析,并构建遗传关系树状图,结果见图 2。

由图 2 可以看出,在遗传相似系数 0.43 处(L1),供试的 38 个种源被分为 2 大类,其中第 1 大类包含日本薄荷(*M. arvensis* L.)、灰薄荷(*M. vagans* Boriss.)、留兰香(*M. spicata* L.)、皱叶留兰香(*M. crispata* Schrad. ex Willd.)、椒样薄荷(*M. × piperita* L.)和薄荷(*M. haplocalyx* Briq.)6 个种的 37 个种源,第 2 大类仅包含唇萼薄荷(*M. pulegium* L.)1 个种源。在遗传相似系数 0.74 处(L2),供试的 38 个种源被进一步细分为 6 组(A、B、C、D、E 和 F),基本上对应于各自所属的种类。各组分述如下:

A 组:仅包含日本薄荷 1 个种源。该种源植株叶脉深陷,果期萼齿闭合,现蕾期早。

B 组:包含来自中国广西和新疆的 4 个灰薄荷种源。在遗传相似系数 0.83 处(L3),该组又可分为 2 个亚组。第 1 亚组为来源于新疆的 38 号种源,其植株密被灰白绒毛,叶形为窄矩圆形,果期萼齿边缘呈暗红色;第 2 亚组为来源于中国广西的 2、3 和 9 号种

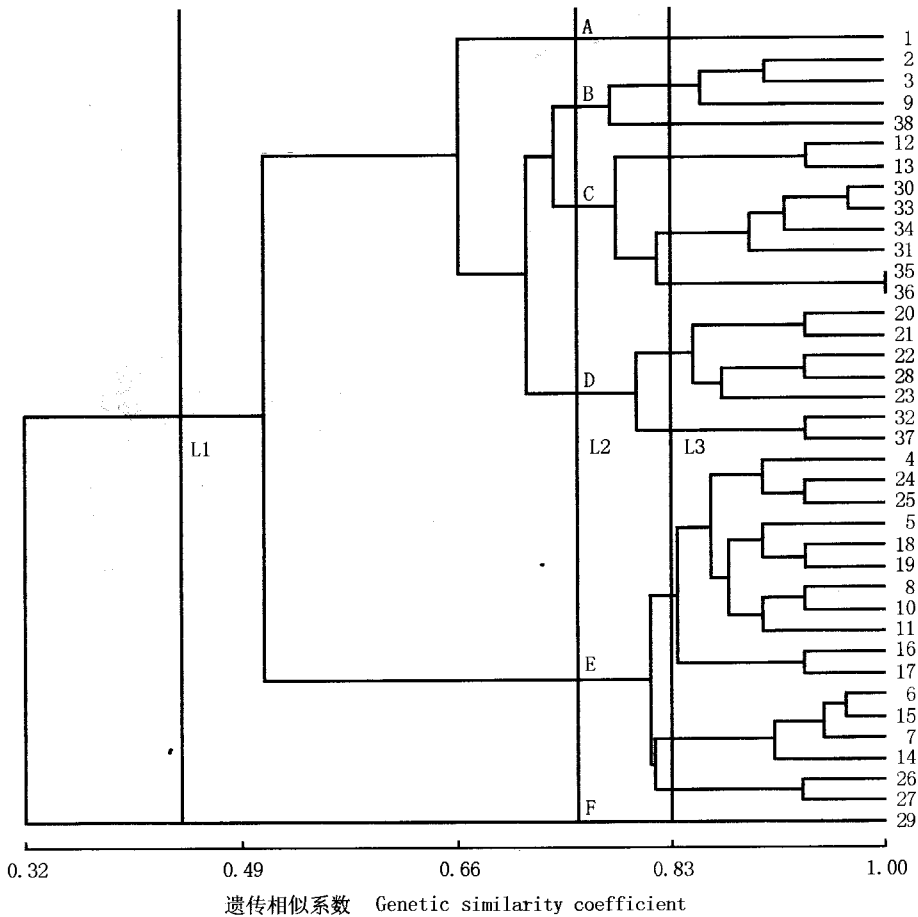
源,其植株也密被灰白绒毛,但较前者少。

C 组:包含皱叶留兰香的 6 个种源和留兰香的 2 个种源。在遗传相似系数 0.83 处(L3),该组又可进一步分为 3 个亚组。第 1 亚组和第 2 亚组为皱叶留兰香的 6 个种源,典型特征为叶片皱波状;第 3 亚组为留兰香的 2 个种源,叶片无明显皱波。

D 组:包含椒样薄荷的 5 个种源和留兰香的 2 个种源。在遗传相似系数 0.83 处(L3),该组可细分为 2 个亚组。第 1 亚组为椒样薄荷的 5 个种源,其中来源于美国的 20 和 21 号种源和来源于中国的 22、23 及 28 号种源又各自聚为 1 类;第 2 亚组为留兰香的 2 个种源。

E 组:包含薄荷的 17 个种源。在遗传相似系数 0.83 处(L3),该组可进一步分为 3 个亚组。一个亚组中均为薄荷栽培品种,其中来源地相近的 6、7 和 15 号种源聚在一起,均为雄性不育型;来源于浙江的 14 号种源花药饱满、成熟时花药伸出花冠筒外,故单独分出。分布于中国的其他野生薄荷种源聚为一个亚组,而来自澳大利亚的 26 和 27 号 2 个种源聚为另一个亚组。聚类结果显示栽培薄荷和野生薄荷的遗传分化明显。

F 组:仅包含唇萼薄荷 1 个种源。该种源植株的显著特征为花萼上唇 3 齿、较短,下唇 2 齿、较长。



1: 日本薄荷 *M. arvensis* L.; 2,3,9,38: 灰薄荷 *M. vagans* Boriss.; 4-8,10,11,14-19,24-27: 薄荷 *M. haplocalyx* Briq.; 20-23,28: 椒样薄荷 *M. × piperita* L.; 12,13,30,31,33,34: 皱叶留兰香 *M. crispata* Schrad. ex Willd.; 32,35-37: 留兰香 *M. spicata* L.; 29: 唇萼薄荷 *M. pulegium* L.

图2 基于总DNA的RAPD标记分析结果的薄荷属7个种38个种源的聚类图

Fig. 2 Cluster dendrogram of thirty-eight provenances belonging to seven species of *Mentha* L. based on RAPD marker analysis of total DNA

3 讨 论

薄荷属植物为多年生或稀一年生草本,在形态学、细胞学和化学型等方面存在很大的变异^[1,7-9]。遗传变异的产生原因是多方面的,诸如有性生殖、体细胞突变、选择、基因流、遗传漂变及环境影响等。薄荷属植物既可以无性繁殖又可以有性繁殖,以根、茎的无性繁殖为主^[10],也可通过组织培养方式进行无性繁殖^[11-12]。而有性繁殖可以产生杂合子代,再通过杂合个体的无性繁殖将这些杂合基因位点固定下来并维持其丰富的遗传多样性。然而,薄荷属植物的有性繁殖系数较低,有性生殖引起的遗传变异有限。在高等植物中,体细胞突变是很普遍的现象,在有性生

殖能力较低的植物中,体细胞突变可能是主导其遗传变异的主要因素之一^[13]。

RAPD 分析结果表明,薄荷属植物之间的亲缘关系与其产地密切相关。在供试的6个皱叶留兰香种源中,来源于菲律宾的31号种源与来源于中国的30、33和34号种源被分开;在供试的薄荷种源中,来自澳大利亚的26和27号种源与原产中国的野生薄荷种源被分开。总体上看,同一种类地理位置相同或相近的种源首先聚在一起,分布较近的种源间遗传距离也相对较小。一般认为,地理分布与生态特征有关^[14],因此,地理环境的差异可能会在一定程度上对薄荷属植物种内的遗传变异产生影响。栽培类型和野生类型被区分开,表明它们的亲缘关系较远,同时也印证了俞桂新等^[9]的观点,即“国产野生薄荷自然种群的

特征性成分是薄荷酮和胡薄荷酮,薄荷醇是薄荷栽培品种的特征成分”。椒样薄荷是由薄荷和留兰香杂交得到的薄荷品种^[15],RAPD 标记分析的结果将椒样薄荷与留兰香聚为一类,从而印证了其较近的亲缘关系。上述分析结果表明,在薄荷属植物亲缘关系的研究中,采用 RAPD 标记分析方法具有较好的准确性。

Khanuja 对薄荷属 6 个种 11 个种源进行了 RAPD 分析,结果显示分子水平的分类结果与形态分类结果相一致^[3];Gobert 对薄荷属 62 个种源进行 AFLP 分析,其结果与传统分类一致,同时认为留兰香通过回交和自交,形成染色体基数不同的 2 种基因型: $2n=36$ 和 $2n=48$ ^[5]。本研究中,皱叶留兰香的 12 和 13 号种源与 30、31、33 及 34 号种源在外部形态上有所不同,基于 RAPD 标记的聚类结果则将这 6 个种源分成 2 个亚组,在一定程度上说明了 RAPD 标记分析结果与形态分类结果的一致性。但是,也存在一些不一致的情况,如留兰香的 35 和 36 号种源的叶片为非皱波状、果期萼齿张开,与皱叶留兰香在形态上具有显著差异,却与后者聚在一组,其原因可能与留兰香具有 2 种基因型有关。

综上所述,薄荷属植物的遗传背景较为复杂,这种复杂性与其地理分布有一定的相关性。利用分子生物学方法,从分子水平揭示薄荷属植物种内及种间遗传关系的远近,可为薄荷属植物的系统选育和引种栽培提供理论依据。

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: 第六十六卷 [M]. 北京: 科学出版社, 1977: 260.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2005 年版(一部) [M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 261.

- [3] Khanuja S P S, Shasany A K, Srivastava A, et al. Assessment of genetic relationships in *Mentha* species [J]. *Euphytica*, 2000, 111 (2): 121-125.
- [4] Fenwick A L, Ward S M. Use of random amplified polymorphic DNA markers for cultivar identification in mint [J]. *HortScience*, 2001, 36(4): 761-764.
- [5] Gobert V, Moja S, Colson M, et al. Hybridization in the section *Mentha* (Lamiaceae) inferred from AFLP markers [J]. *American Journal of Botany*, 2002, 89(12): 2017-2023.
- [6] Khanuja S P S, Shasany A K, Darokar M P, et al. Rapid isolation of DNA from dry and fresh samples of plants producing large amounts of secondary metabolites and essential oils [J]. *Plant Molecular Biology Reporter*, 1999, 17: 1-7.
- [7] 房海灵, 李维林, 梁呈元, 等. 薄荷属植物的数量分类 [J]. *安徽农业科学*, 2007, 35(26): 8181-8183.
- [8] Singh T P, Sharma A K. *Mentha*-taxonomic status as interpreted through cytology, genetics and phytochemistry [J]. *Indian Journal of Genetics*, 1986, 46(Suppl.): 198-208.
- [9] 俞桂新, 周荣汉. 国产野生薄荷挥发油化学组分变异及其化学型 [J]. *植物资源与环境*, 1998, 7(3): 13-18.
- [10] 梁呈元, 李维林, 吴菊兰, 等. 薄荷生产技术标准操作规程(草案) [J]. *现代中药研究与实践*, 2006, 20(3): 11-14.
- [11] 于 盱, 李维林, 梁呈元, 等. 两个薄荷品种叶片愈伤组织的诱导及增殖 [J]. *植物资源与环境学报*, 2009, 18(2): 84-88.
- [12] 王小敏, 李维林, 梁呈元, 等. 椒样薄荷试管苗生根的影响因素分析 [J]. *植物资源与环境学报*, 2007, 16(3): 73-75.
- [13] 康 明, 黄宏文. 湖北海棠的等位酶变异和遗传多样性研究 [J]. *生物多样性*, 2002, 10(4): 376-385.
- [14] Loveless M D, Hamrick J L. Ecological determinants of genetic structure in plant populations [J]. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 1984, 15: 65-95.
- [15] Harley R M, Brighton C A. Chromosome numbers in the genus *Mentha* L. [J]. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 1977, 74 (1): 71-96.

《植物资源与环境学报》启事

为了扩大科技期刊的信息交流,充分实现信息资源共享,《植物资源与环境学报》已先后加入“中国学术期刊(光盘版)”、“中文科技期刊数据库”和“万方数据——数字化期刊群”等数据库,因此,凡在本刊发表的论文将编入数据库供上网交流、查阅及检索,作者的著作权使用费与本刊稿酬一次性给付,不再另付。如作者不同意将文章编入数据库,请在来稿时声明,本刊将做适当处理。