

基于 ITS 序列研究当归属、前胡属间的关系  
与紫花前胡的分类地位

薛华杰<sup>1</sup>, 闫茂华<sup>1,3</sup>, 王年鹤<sup>2</sup>, 王蔓丽<sup>1</sup>, 陆长梅<sup>1</sup>, 吴国荣<sup>1</sup>

(1. 南京师范大学生命科学学院, 江苏 南京 210097)  
(2. 江苏省中国科学院植物研究所, 江苏 南京 210014)  
(3. 连云港师范高等专科学校, 江苏 连云港 222006)

**[摘要]** 采用 PCR 直接测序的方法, 测定了当归属 (*Angelica*)、前胡属 (*Peucedanum*) 等 2 属 23 种的核糖体 DNA ITS (不含 5.8S) 序列, 并结合 GenBank 中 2 属 6 种的 ITS 序列, 以羌活属的羌活 (*Notopterygium incisum*) 作为外类群, 根据 ITS 序列, 应用遗传距离值与系统发生树分析法对当归属、前胡属之间的亲缘关系及紫花前胡 (*Angelica decursiva*/*Peucedanum decursivum*) 的系统地位进行了研究. 结果表明: (1) 当归属与前胡属的亲缘关系很近; (2) 结合形态学与化学等其它学科证据支持将紫花前胡归属到当归属.

**[关键词]** 当归属, 前胡属, 亲缘关系, 紫花前胡, 分类地位, ITS 序列

**[中图分类号]** Q949 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1001-4616 (2007) 03-0097-05

Relationship Between *Angelica* and *Peucedanum* and the Phylogenetic  
Position of *Angelica decursiva*/*Peucedanum decursivum* Based  
on the Evidences From ITS Sequences

Xue Hua-jie<sup>1</sup>, Yan Mao-hua<sup>1,3</sup>, Wang Nian-he<sup>2</sup>, Wang Man-li<sup>1</sup>, Lu Chang-mei<sup>1</sup>, Wu Guo-rong<sup>1</sup>

(1. School of Life Science, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, China)  
(2. Institute of Botany, Jiangsu Province and the Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014, China)  
(3. Lianyungang Teacher's College, Lianyungang 222006, China)

**Abstract:** The sequence divergences and phylogenetic tree analysis methods based on the ITS sequence of ribosomal DNA (excluding 5.8 S) were applied to resolve the relationship between the two genera of *Angelica* and *Peucedanum* and the phylogenetic position of *Angelica decursiva*/*Peucedanum decursivum*. *Notopterygium incisum* Ting ex H. T. Chang was used as the outgroup. The results demonstrated that: (1) there was a relative close relationship between *Angelica* and *Peucedanum*; (2) being associated with results from morphology, chemistry and others, results in this paper supported the view that *A. decursiva*/*P. decursivum* should be classified into *Angelica*.

**Key words:** *Angelica*, *Peucedanum*, relationship, *A. decursiva*/*P. decursivum*, taxonomy, ITS sequence

0 引言

伞形科 (Umbelliferae) 芹亚科 (Apioideae) 是植物界中的一个古老的、形态变异较大的复合属亚科, 其分类一直困扰着全世界植物学家. 基于形态等经典分类学指标构建的芹亚科分类系统 (如《中国植物志》<sup>[1]</sup>) 分别将当归属 (*Angelica*) 和前胡属 (*Peucedanum*) 归属到前胡族 (Peucedaneae) 的当归亚族 (An-

收稿日期: 2006-10-12 修回日期: 2007-01-08  
基金项目: 国家自然科学基金 (30270097) 资助项目.  
作者简介: 薛华杰 (1982—), 硕士研究生, 主要从事植物分子生物学和植物生理学的学习与研究. E-mail: xllgod@yahoo.com.cn  
通讯联系人: 陆长梅 (1969—), 女, 副教授, 主要从事植物学的教学与研究. E-mail: luchangmei@njnu.edu.cn

gelicinae)和阿魏亚族 (Ferulinae). 由于以上分类系统采用的基于经典形态指标的 Drude 分类系统,而近 20 年来有关植物的化学成分和分子分类学等的研究表明,它们并不是一个自然的分类系统,如狭义当归属植物还可以进一步划分为多个组,而这些组又分别与前胡属中的某些种类有比较近的亲缘关系. 因此当归属与前胡属之间的亲缘关系值得进一步探讨<sup>[2-3]</sup>. 在当归属与前胡属中,还有一些种类的系统位置仍存在争议,如紫花前胡 (*Angelica decursiva*/*Peucedanum decursivum*)<sup>[1,4-6]</sup>.

近年来的植物分子系统学,已被广泛应用于植物系统学的重建以及探讨用经典分类学难以确定的分类问题. 而其中的 ITS 区 (包括 ITS1 和 ITS2)具有长度保守性和核苷酸序列的高度变异性,而相对其它片段的高度变异性又使得该序列较适合于属内及属间不同层次的分类学研究. 但迄今为止,尚未有运用 DNA 分子序列对当归属、前胡属以及紫花前胡的系统地位进行研究的报导.

1 材料与方法

1.1 材料

实验所用材料包括 3 个属 23 个种,分别来自中国和日本. 这些材料 (幼嫩叶片)均由江苏省中国科学院植物研究所的王年鹤研究员于 2003 ~ 2004 年间采集并鉴定,凭证标本保存在江苏省中国科学院植物研究所标本馆 (NAS),以备查验. 材料采集地等信息详见表 1. 另有 1 个当归属、5 个前胡属的 ITS 序列来自 GenBank 以羌活作为外类群.

表 1 用于核糖体 DNA ITS 序列分析的植物材料来源、凭证标本与 GenBank 登录号  
Table 1 Taxa and voucher numbers used for this study and their GenBank accession numbers

编号	分类群	中文名	来源	凭证标本 / GenBank 登录号
1	<i>Angelica decursiva</i> (Miquel) Franchet & Savatier/ <i>Peucedanum decursivum</i> (Miquel) Maximowicz	紫花前胡	日本大阪药科大学	NHW 200427/DQ263563
2	<i>A. decursiva</i> f. <i>albiflora</i> (Maxim.) Nakai/ <i>P. decursivum</i> var. <i>albiflorum</i> Maxim.	鸭巴前胡	中国吉林长白山	NHW 200405/DQ263574
3	<i>A. acutiloba</i> (Sieb. & Zucc.) Kitagawa	东当归	日本大阪药科大学	NHW 200424/DQ278165
4	<i>A. amurensis</i> Schischk	黑水当归	中国吉林长白山	NHW 200404/DQ263581
5	<i>A. biserrata</i> Yuan & Shan	重齿当归	中国浙江天目山	NHW 200501/DQ270207
6	<i>A. cartilaginosa arginata</i> var. <i>foliosa</i> Yuan & Shan	骨缘当归	中国江苏省植物研究所	NHW 200425/DQ263589
7	<i>A. dahurica</i> (Fischer ex Hoffmann) Benth. & Hook. f. ex Franch. & Sav.	白芷	日本大阪药科大学	NHW 200426/DQ278167
8	<i>A. furciculga</i> Kitagawa	-	日本大阪药科大学	NHW 200423/DQ278164
9	<i>A. genuflexa</i> Nuttall in Torrey & A. Gray	毛珠当归	日本北海道津顿别	NHW 200430/DQ263566
10	<i>A. gigas</i> Nakai	朝鲜当归	中国吉林长白山	NHW 200407/DQ263580
11	<i>A. japonica</i> A. Gray	日本当归	日本大阪药科大学	NHW 200425/DQ278166
12	<i>A. Keiskei</i> Koidz	明日叶	日本八丈岛	NHW 200422/DQ263562
13	<i>A. koreana</i> Maxim.	-	GenBank	AF455749
14	<i>A. laxifoliata</i> Diels	疏叶当归	中国四川九寨沟	NHW 200419/DQ263586
15	<i>A. morii</i> Hayata	福参	中国福建武夷山	NHW 200402/DQ263573
16	<i>A. meiensis</i> Yuan & Shan	峨嵋当归	中国四川峨嵋	NHW 2000316/DQ263571
17	<i>A. polymorpha</i> Maxim.	拐芹	中国江苏省植物研究所	NHW 200426/DQ263590
18	<i>A. pubescens</i> f. <i>biserrata</i> R. H. Shan & C. Q. Yuan	毛当归	日本大阪萩谷	NHW 200431/DQ263567
19	<i>A. sachalinensis</i> Maxim.	库页当归	日本北海道津顿别	NHW 200428/DQ263564
20	<i>A. tsinlingensis</i> K. T. Fu	秦岭当归	中国陕西华山	NHW 200319/DQ263572
21	<i>A. ursina</i> (Rupr.) Maxim.	虾夷当归	日本北海道津顿别	NHW 200429/DQ263565
22	<i>Peucedanum bourgaei</i> Regel	-	GenBank	AH012689
23	<i>P. cervaria</i> Cusson & Lapeyre Hist	-	GenBank	AF008608 (ITS1), AF009087 (ITS2)
24	<i>P. japonicum</i> Thunb.	滨海前胡	日本大阪药科大学	NHW 200333/DQ270201
25	<i>P. ledebourielloides</i> K. F. Fu	华山前胡	中国陕西华山	NHW 200320/DQ270200
26	<i>P. morisonii</i> Bess	准噶尔前胡	GenBank	AF077903
27	<i>P. officinale</i> Bess	-	GenBank	AH012690
28	<i>P. terebinthaceum</i> (Fischer ex Treviranus) Ledebour	石防风	GenBank	AY548216
29*	<i>Notopterygium incisum</i> Ting ex H. T. Chang*	羌活	中国四川康定	NHW 200410/DQ278168

注: \*表示外类群.

1.2 实验方法

1.2.1 植物总 DNA 的提取与 ITS 区片段扩增、纯化、测序与 ITS 序列确定

基因组 DNA 的提取采用上海申能博采公司的 3S Spin Plant 基因组提取试剂盒. 提取的基因组 DNA 用 ITS 通用引物 ITS4 和 ITS5<sup>[7]</sup> 直接进行 PCR 扩增. PCR 扩增产物经纯化后直接测序. 所测各属各种类的 ITS 序列始末端的决定, 均参考了 GenBank 中各相关属植物的 ITS 序列.

1.2.2 数据分析

所得序列用 ClustalX 程序进行对位排列, 并经手工校正. 利用 Mega 3.1 软件对序列进行分析, 计算各类群间的核苷酸差异值及差异矫正值, 最后用 PAUP4.0 beta 10 win 软件分别应用邻接法、最大简约法与最大似然法构建 ITS 系统树.

2 结果与分析

2.1 不同种类 ITS 的长度与 GC 质量分数比较

文中所涉及的当归属、前胡属植物以及紫花前胡 (包括其变种鸭巴前胡) 的 ITS 各区段长度以及它们的 GC 含量分数具体见表 2. 由表 2 可见, 所测当归属与前胡属植物的两段 ITS 序列的长度与 GC 含量非常接近, 两者之间并无明显的区别; 紫花前胡 (原变种以及变种鸭巴前胡) 的 ITS 序列长度与 GC 含量也均在当归属与前胡属植物的变化范围.

表 2 当归属、前胡属以及紫花前胡的 ITS (包括 ITS1 与 ITS2) 序列特征比较

Table 2 Comparison of lengths and G&C contents among Angelica, Peucedanum, and A. decursiva on different ITS regions				
	当归属	前胡属	紫花前胡 *	
ITS1	长度范围 (平均值) (bp)	215 ~ 218 (216)	216 (216)	216 - 217 (216.5)
	长度 (bp)	218	216	217
	GC 值含量范围 (平均值) / %	52.3 ~ 59.6 (55.7)	56.5 ~ 56.9 (56.7)	53.7 ~ 57.4 (56.5)
ITS2	长度范围 (平均值) (bp)	221 ~ 223 (221)	221 ~ 222 (222)	221 ~ 223 (222)
	比对长度 (bp)	223	222	223
	GC 值含量范围 (平均值) / %	54.1 ~ 58.0 (55.9)	57.5 ~ 57.7 (57.6)	55.7 ~ 58.6 (57.6)
ITS1 + ITS2	长度范围 (平均值) (bp)	437 ~ 441 (437.3)	437 ~ 438 (437.5)	437 ~ 440 (438)
	比对长度 (bp)	441	438	440
	GC 值含量范围 (平均值) / %	53.2 ~ 57.8 (55.7)	57.1 ~ 57.2 (57.2)	55.7 ~ 57.4 (57.2)

注: \* 包括紫花前胡与其变种鸭巴前胡.

2.2 基于 ITS 序列分析各种类之间的遗传距离

除羌活外, 所有分析种类的 ITS 序列经排序后其总长度为 448 bp (包括 gap, 不包括 5.8S 区). 屈良鹄等曾通过对不同植物类群的 ITS 序列分析比较得出: 被子植物大多数科属的 ITS 序列的属内种间差异值为 0.012 ~ 0.102, 属间差异值为 0.096 ~ 0.288<sup>[8]</sup>. 而基于 ITS 序列分析当归属与前胡属间以及紫花前胡与它们之间的遗传距离值可见 (具体见表 3): 当归属与前胡属之间的遗传距离值只有 0.078, 小于一般属间差异值, 显示当归属与前胡属这两属之间的亲缘关系很近; 而紫花前胡 (包括原变种和变种) 与当归属之间的遗传距离值为 0.067, 略小于紫花前胡与前胡属之间的遗传距离值 0.075.

2.3 分子系统树的比较和分析

根据 ITS 序列以羌活作为外类群通过邻接法、最大简约法和最大似然法分别构建 NJ 树 (图 1)、MP 树 (图 2) 和 ML 树 (图 3). 虽然这 3 个系统树的构建依据了不同的计算方法: NJ 树的构建依据了距离法, 而 MP 树与 ML 树的构建依据了独立元素法 (discrete character method), 但比较这 3 个系统树发现, 在拓扑结构上, 3 个系统树之间相类似, 它们具有以下共同点:

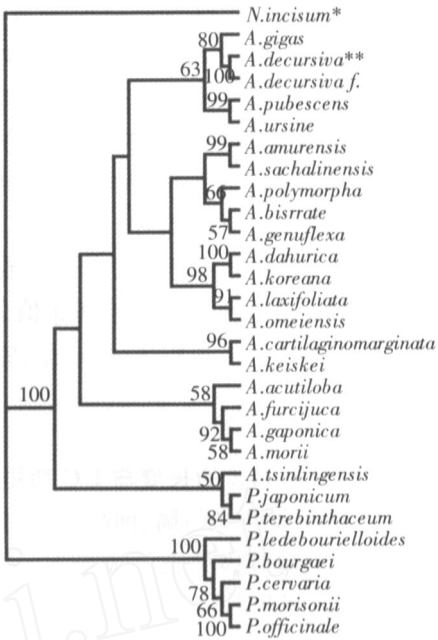
(1) 在 3 个系统树中, 虽然前胡属、当归属多数种类相对聚集, 但两者并没有完全构成 2 个并列的姐妹群; 前胡属的 7 种全部被分成两组: 滨海前胡 (*Peucedanum japonicum*) 与石防风 (*P. terebinthaceu*) 归为一组, 余下的 5 个种归到另一组; 在 NJ 与 MP 系统树中, 滨海前胡与石防风总是与当归属组合成一个大的分支, 进而与余下的 5 个前胡属种类构成姐妹群; 在 ML 系统树中, 滨海前胡与石防风以外的 5 个前胡属种类与当归属植物组合成一个大的分支, 进而与滨海前胡和石防风组成的分支构成姐妹群. 这显示虽然从系统发生角度分析, 当归属与前胡属各种类的系统分类地位还未能完全确定, 但可以看出, 当归属与前胡属

之间不能截然分开,它们之间的亲缘关系很近。

(2) 虽然紫花前胡与其变种鸭巴前胡的 ITS序列有一个碱基的差异,但在系统树上它们两个以 100%的支持率紧靠在一起,并且在 3 个系统树上都无一例外地位于当归属分支的内部,而与前胡属的植物在空间位置上存在一定的距离,显示紫花前胡与当归属的关系更近,这与遗传距离值的计算结果一致。

3 讨论

虽然根据 Drude分类系统,《中国植物志》<sup>[11]</sup>等均认为当归属和前胡属分别属于伞形科芹亚科下的:当归亚族和阿魏亚族,但当归属和前胡属分生果合生面上的油管发达程度、核型与花粉类型相似(表 4),部分当归属与前胡属的化学成分相似,显示当归属与前胡属的亲缘关系应该较近<sup>[3-12]</sup>。而本文基于其 ITS序列,分析它们之间的遗传距离可以看出:当归属与前胡属两属之间的遗传距离值仅为 0.078,小于一般属间的遗传距离值;而在系统树上,虽然绝大多数当归属与前胡属的种类相对聚集,但并没有构成稳定的、独立的姐妹群,前胡属各分类群在不同系统树上位置互有不同,但总有部分分类群与当归属种类相互混杂共同组成一支。由此可见,基于 ITS的分析结果也同样提示当归属与前胡属的亲缘关系应该很近,在系统分类上可能不应该分属到不同的亚族。



(数字表示各分支自展数据支持率,\* 外类群,\*\* 紫花前胡,下同)

图 1 用邻接法构建的 ITS 系统树  
Fig.1 ITS phylogenetic tree using the neighbor-joining method

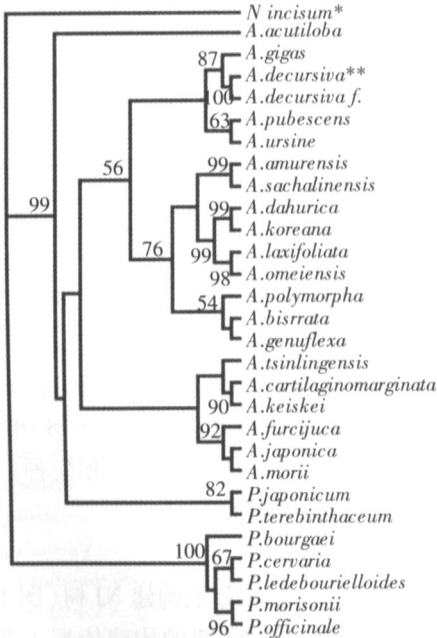


图 2 用最大简约法构建的 ITS 系统树  
Fig.2 ITS phylogenetic tree using the maximum parsimony method

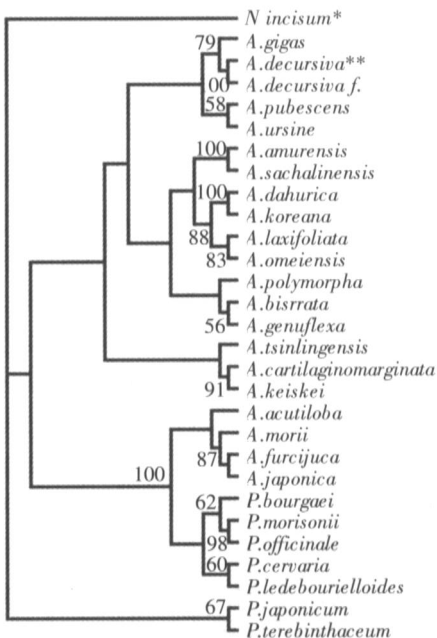


图 3 用最大似然法构建的 ITS 系统树  
Fig.3 ITS phylogenetic tree using the maximum likelihood method

在生产实践中,由于发现紫花前胡与前胡属植物白花前胡(*P. praenuptum*)的药效相似,均具有散风热、降气化痰之功效;它们的主要药效成分香豆素含量相近<sup>[12]</sup>;《中国高等植物图鉴》<sup>[4]</sup>和《江苏植物志》<sup>[5]</sup>等将紫花前胡归属到前胡属;在 1955~2000 年间出版的《中华人民共和国药典》中<sup>[13]</sup>,紫花前胡也一直被当作前胡属植物而与白花前胡一同被收录为中药前胡的正品。因此,不少人尤其是药学工作者习惯将紫花前胡归属到前胡属也是可以理解的<sup>[13]</sup>。

但若从分类学的角度看,在果实、花粉、核型以及香豆素的类型等方面,虽然当归属与前胡属的多数分类学特征相似,但也存在细微的差别<sup>[1,5,6,12]</sup>;而紫花前胡在有些方面与前胡属相似,如侧棱与分生果的合生面等,但更多方面,如果实侧棱形状、香豆素类型等则与当归属的特征更为接近<sup>[1,5,6,12]</sup>,这可能是《中国植物志》<sup>[1]</sup>与《Flora of China》<sup>[6]</sup>将紫花前胡归类到当归属的原因。

而本实验从 ITS序列角度进一步讨论紫花前胡的系统分类地位.结果表明:虽然紫花前胡的 ITS序列长度与 GC含量均在当归属与前胡属植物的变化范围内(表 2);但紫花前胡与当归属间的遗传距离值(0.067)要略小于紫花前胡与前胡属之间的遗传距离值(0.075)(表 3),紫花前胡在 3种系统树上均无一例外地与其它当归属植物一起位于当归属分支的内部,而与前胡属的植物在系统树上存在一定的距离(图 1~3),显示紫花前胡与当归属的亲缘关系更近.因此,基于 ITS序列的分析结果,本文支持将紫花前胡归属到当归属。

### [参考文献]

- [1] 中国科学院植物研究所. 中国植物志 [M]. 北京:科学出版社, 1992: 1-123.
- [2] Downie S R, Plunkett G M, Watson M F, et al Tribes and clades within Apiaceae subfamily Apioideae: the contribution of molecular data[J]. Edinburgh Journal of Botany, 2001, 58(2): 301-330.
- [3] 王年鹤,马场 きみ江,谷口雅彦. 核磁共振氢谱法在芹亚科植物化学分类中的简便应用 [J]. 植物资源与环境, 1996, 5(2): 40-44.
- [4] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴 [M]. 北京:科学出版社, 1972.
- [5] 江苏植物志编委会. 江苏植物志 [M]. 南京:江苏人民出版社, 1982: 581.
- [6] Pan Z H, Watson M F. Angelica Flora of China[M]. Beijing: Science Press, 2005: 14-160.
- [7] White T J, Bruns T, Les S, et al Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics [M] // Innis M, Gelfand D, Sninsky J, et al PCR Protocols: a Guide to Methods and Application San Diego: Academic Press, 1990: 315-322.
- [8] 屈良鹄,陈月琴. 生物分子分类检索表——原理与方法 [J]. 中山大学学报:自然科学版, 1999, 38(1): 1-6.
- [9] 舒璞,余孟兰. 中国伞形科花粉图志 [M]. 上海:上海科学技术出版社, 2001: 1-121.
- [10] 孟德玉,周颂东,何兴金,等. 四川前胡属的花粉形态及系统学意义 [J]. 西北植物学报, 2005, 24(12): 2 341-2 345.
- [11] 潘泽惠,庄体德,姚欣梅,等. 当归属及近缘小属的核型演化及地理分布研究 [J]. 植物分类学报, 1994, 32(5): 420-424.
- [12] 王传慧,童巧珍. HPLC法测定不同品种前胡香豆素含量的初步研究 [J]. 中国药师, 2004, 7(5): 361-363.
- [13] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典 [M]. 广州:广东科技出版社, 2000.

[责任编辑:孙德泉]