

DOI: 10.3969/j.issn.1000-3142.2014.04.021

张安世, 赵利新, 刘莹. 珍稀濒危植物太行菊遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 广西植物, 2014, 34(4): 535–540

Zhang AS, Zhao LX, Liu Y, et al. Genetic diversity of the rare and endangered plant *Opisthopapus taihangensis* detected by ISSR analysis[J]. *Guihaia*, 2014, 34(4): 535–540

# 珍稀濒危植物太行菊遗传多样性的 ISSR 分析

张安世<sup>1\*</sup>, 赵利新<sup>2</sup>, 刘莹<sup>1</sup>

(1. 焦作师范高等专科学校 生物系, 河南 焦作 454001; 2. 河南省国有焦作林场, 河南 焦作 454191)

**摘要:** 利用 ISSR 分子标记技术对太行山特有濒危物种太行菊 11 个自然居群的遗传多样性进行研究。用 10 个引物对 11 个居群的 122 个样品进行扩增, 共得到 150 个扩增位点, 其中多态性位点 149 个, 多态位点百分率(PPL)为 99.33%。POPGENE 分析显示, 太行菊具有较高的遗传多样性( $H=0.2149$ ,  $I=0.3455$ )。沁阳市大西天居群的遗传多样性水平最高( $H=0.1910$ ,  $I=0.2969$ ), 山西陵川县大双村居群的遗传多样性水平最低( $H=0.1356$ ,  $I=0.2155$ )。Nei's 遗传多样性分析表明, 11 个自然居群间出现了较高的遗传分化(基因分化系数  $Gst=0.2566$ , 基因流  $Nm=1.4488$ )。生境的片段化和基因流障碍可能是导致太行菊居群间遗传分化显著的主要原因。通过对太行菊居群遗传多样性和遗传结构的分析, 该文提出了一些保护策略。

**关键词:** 太行菊; ISSR; 遗传多样性; 遗传分化; 保护策略

中图分类号: S58 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2014)04-0535-06

## Genetic diversity of the rare and endangered plant *Opisthopapus taihangensis* detected by ISSR analysis

ZHANG An-Shi<sup>1\*</sup>, ZHAO Li-Xin<sup>2</sup>, LIU Ying<sup>1</sup>

(1. Department of Biology, Jiaozuo Teachers College, Jiaozuo 454001, China; 2. Henan Province Jiaozuo National Forestry Plant, Jiaozuo 454191, China)

**Abstract:** Using inter-simple sequence repeat (ISSR) analysis, the genetic diversity of 11 natural populations of *Opisthopapus taihangensis* were investigated. Ten ISSR primers were used to amplify 122 individuals of 11 natural populations. Using these primers, 150 DNA fragments were produced, and 149 bands were polymorphic loci (PPL = 99.33%). The result of POPGENE analysis indicated that genetic diversity of *O. taihangensis* was higher ( $I=0.2149$ ,  $H=0.3455$ ). Daxitian possessed the highest level of genetic diversity while Lingchuan population exhibited the lowest level of genetic diversity. A high level of genetic differentiation among 11 populations was detected based on Nei's genetic diversity analysis ( $Gst=0.2566$ ,  $Nm=1.4488$ ). The main factors responsible for the high degree of genetic differentiation among populations may result from habitat fragmentation and barriers of gene flow. Based on genetic information available for *O. taihangensis*, some conservation strategies proposed.

**Key words:** *Opisthopapus taihangensis*; ISSR; genetic diversity; genetic differentiation; conservation strategy

太行菊(*Opisthopapus taihangensis*)是菊科太行菊属的多年生草本植物,高 10 cm~15 cm,茎淡紫色或褐色,舌状花,粉红色或白色,花期 6~9 月

(丁宝章等,1998)。主要分布于豫、晋、冀三省交界的太行山区,多生在海拔 1 000 m 左右的山坡上及悬崖峭壁的石缝中,是我国太行山区特有珍稀物种,

收稿日期: 2013-10-14 修回日期: 2013-12-15

基金项目: 焦作市科技计划项目(201204001)

作者简介: 张安世(1965-),男,河南博爱人,教授,主要从事植物分子生物学研究,(E-mail)aszhang1212@163.com。

\* 通讯作者

与太行花、独根草一起被誉为太行山“绝壁奇花”，具有极高的观赏价值。近年来的研究表明，太行菊富含芳香油和菊糖，且体内所含的倍半萜内酯类具有强心、抗癌驱虫、镇痛等功效，药用价值很高(曾小宇等,2010)。太行菊耐旱、耐荫、耐寒，是一种宝贵的野生资源，可以作为栽培菊花很好的远缘杂交材料(胡泉等,2008)。由于太行菊分布范围狭窄，生态环境独特，繁殖能力较弱，加上人为采摘严重，已处于濒危状态，已被列入河南省珍稀濒危保护植物。

ISSR(inter-simple sequence repeat)是加拿大蒙特利尔大学 Zietkiewicz *et al.*(1994)发展起来的一种微卫星(SSR)基础上的分子标记技术。它针对真核生物基因组中的 SSR，巧妙在其 3' 或 5' 端锚定 1~4 个碱基作引物，实现 SSR 间的一段反向排列的 DNA 序列的扩增，从而检测 SSR 间的 DNA 序列差

异。ISSR 技术操作简便，多态性好，重复性高，且无需预先获知序列信息而使成本降低。目前，ISSR 标记技术在种质资源收集和鉴定、遗传多样性和亲缘关系分析、基因定位、遗传图谱构建及分子标记辅助选择等研究中已有广泛的应用(陶爱芬等,2011;林立等,2012)。本研究利用 ISSR 技术对 11 个太行菊居群的遗传多样性进行分析，旨在揭示太行菊自然居群的遗传结构和遗传多样性水平，为有效保护太行菊这一宝贵的野生资源提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料与主要试剂

2011 年 9 月，在 11 个太行菊居群共采集 122 个样本(表 1)，各采样点见图 1。取健康叶片于冰壶

表 1 太行菊各居群采样点信息

Table 1 the location information of *Opisthopus taihangensis* populations sampled

代码 Code	地点 Sampling locality	样本数 Sampling size	海拔 Altitude (m)	地理位置 Geographical location	生境特点 Habitat
DXG	山西陵川县红豆杉大峡谷 Hongdoushan Daxiagu, Shanxi	15	1054	113°26'32.0"E 35°34'31.5"N	生于阴坡、悬崖绝壁，坡度 92°，约有 300 株，多数难以到达。 About 300 <i>Opisthopus taihangensis</i> grow on a 92° shady slope of cliffs, the most of which is hard to reach.
DSC	山西陵川县大双村 Dashuang village of Lingchuan County, Shanxi	11	1175	113°26'21.0"E 35°33'31.6"N	生于阳坡、悬崖绝壁，坡度 92°，约有 100 株，多数难以到达。 About 100 <i>O. taihangensis</i> grow on a 92° tailo of cliffs, the most of which is hard to reach.
TTC	辉县市潭头村 Tantou village, Huixian City	11	1110	113°26'49.4"E 35°29'00.4"N	生于阳坡、悬崖绝壁，坡度 85°，约有 60 株，多数难以到达。 About 60 <i>O. taihangensis</i> grow on a 85° tailo of cliffs, the most of which is hard to reach.
BQC	辉县市宝泉村 Baoquan village, Huixian City	11	1130	113°27'55.7"E 35°28'44.7"N	生于阳坡、悬崖绝壁，坡度 83°，约有 80 株，多数难以到达。 About 80 <i>O. taihangensis</i> grow on a 83° tailo of cliffs, the most of which is hard to reach.
XG	辉县市西沟 Xigou, Huixian City	11	620	113°26'07.9"E 35°29'56.1"N	生于阳坡、悬崖绝壁，坡度 93°，约有 300 株，多数难以到达。 About 300 <i>O. taihangensis</i> grow on a 93° tailo of cliffs, the most of which is hard to reach.
BQSK	辉县市宝泉水库 Baoquan Reservoir, Huixian City	12	850	113°29'35.4"E 35°28'07.3"N	生于阳坡、悬崖绝壁，坡度 90°，约有 100 株，多数难以到达。 About 100 <i>O. taihangensis</i> grow on a 90° tailo of cliffs, the most of which is hard to reach.
XHS	辉县市小华山 Xiaohuashan, Huixian City	11	1576	113°29'6.1"E 35°29'6'56.6"N	生于阴坡、悬崖绝壁，坡度 93°，约有 60 株，多数难以到达。 About 60 <i>O. taihangensis</i> grow on a 93° shady slope of cliffs, the most of which is hard to reach.
JYS	焦作市净影寺 Jingyingsi, Jiaozuo City	12	840	113°10'24.0"E 35°24'01.0"N	生于阴坡、悬崖绝壁，坡度 90°，约有 300 株，多数难以到达。 About 300 <i>O. taihangensis</i> grow on a 90° shady slope of cliffs, the most of which is hard to reach.
QLX	焦作市青龙峡 Qinglongxia, Jiaozuo City	12	950	113°11'56.3"E 35°23'24.4"N	生于阳坡、悬崖绝壁，坡度 88°，约有 50 株，多数难以到达。 About 50 <i>O. taihangensis</i> grow on a 88° tailo of cliffs, the most of which is hard to reach.
SNS	沁阳市神农山 Shennongshan, Qingyang City	8	804	112°48'28.0" E 35°14'08"N	生于阴坡、悬崖绝壁，坡度 95°，约有 50 株，多数难以到达。 About 50 <i>O. taihangensis</i> grow on a 95° shady slope of cliffs, the most of which is hard to reach.
DXT	沁阳市大西天 Daxitian, Qingyang City	8	763	112°47'31" E 35°12'24"N	生于阴坡、悬崖绝壁，坡度 95°，约有 30 株，多数难以到达。 About 30 <i>O. taihangensis</i> grow on a 95° shady slope of cliffs, the most of which is hard to reach.

中带回实验室置于 -80 °C 超低温冰箱保存备用。

2×TaqMasterMix(含有 Taq DNA Polymerase, 2×Taq PCR Buffer, 3 mmol/L MgCl<sub>2</sub> 和 400

μmol/L dNTP mix)购自北京康为世纪生物科技有限公司,ISSR 引物参照加拿大哥伦比亚大学(UBC)公布的 ISSR 引物序列,由金唯智生物科技(北京)

有限公司合成。

## 1.2 实验方法

太行菊总 DNA 提取采用改良 CTAB 法(张安世等,2009)。ISSR 扩增在 PTC-200 PCR 仪上进行,在 10  $\mu$ L 反应体系中,DNA 1.2  $\mu$ L(浓度为 20 ng/ $\mu$ L),引物(浓度为 30 mmol/ $\mu$ L) 0.8  $\mu$ L,2 $\times$  Taq Master Mix 4.6  $\mu$ L,不足部分用 RNase-Free water 补齐。扩增程序:94  $^{\circ}$ C,5 min;94  $^{\circ}$ C,1 min,复性(复性温度依引物而定)1 min,72  $^{\circ}$ C,1.5 min,40 个循环;72  $^{\circ}$ C,10 min。4  $^{\circ}$ C 保存。扩增产物用 1.5% 琼脂糖凝胶分离。

## 1.3 引物筛选及数据处理

选用 UBC 系列引物 40 条,以 122 个太行菊样品进行扩增,从中选取条带清晰、多态性好的引物进行统计分析。根据扩增产物的电泳结果,统计每个引物扩增的条带数,处于相同迁移位置上的条带计为 1,无则计为 0,构建(0,1)矩阵。利用 POPGENE1.32 软件计算多态性百分率( $PPL$ )、Nei's 遗传一致性和遗传距离、Nei's 基因多样性( $H$ )、Shannon's 多样性指数( $I$ )、群体内基因多样性( $H_s$ )、总群体基因多样性( $H_t$ )、遗传分化系数( $Gst$ )和基因流( $Nm$ )。用 NT-SYSpC 2.10e 软件依据各居群 Nei's 遗传一致性构建居群间 UPGMA 聚类图。



图 1 太行菊居群分布示意图 (居群代码同表 1,下同)

Fig. 1 Schematic diagram of populations of *Opisthoppappus taihangensis* (codes of the populations coincident with those in Table 1,the same below.)

## 2 结果与分析

### 2.1 ISSR 引物筛选及扩增结果

从 40 条 UBC 系列引物筛选出了 10 条带清晰、

多态性好的的引物,引物序列见表 2。利用筛选出的 10 个引物对 122 个太行菊样品进行 PCR 扩增,共扩增出 150 条条带(表 3),每条引物扩增出 12~18 个条带,平均每个引扩增出 15 个条带。在物种水平上共有 149 个多态性条带, $PPL$  为 99.33%。在居群水平上, $PPL$  在 51.33%~66.00%之间,平均为 58.42%,其中沁阳市大西天居群的  $PPL$  最高(66.00%),辉县市小华山居群的  $PPL$  最低(51.33%)。图 2 显示引物 UBC810 对山西陵川县红豆杉大峡谷 15 株太行菊的 PCR 扩增结果。

表 2 ISSR 引物编号与序列

Table 2 List of ISSR primers and their sequence used in the study

引物编号 List of primers	引物序列(5'→3') Sequence of primers
UBC807	(AG) <sub>8</sub> T
UBC810	(GA) <sub>8</sub> T
UBC812	(GA) <sub>8</sub> A
UBC814	(CT) <sub>8</sub> A
UBC834	(AG) <sub>8</sub> TT
UBC835(1)	(AG) <sub>8</sub> TC
UBC835(2)	AG) <sub>8</sub> CC
UBC840	(GA) <sub>8</sub> TT
UBC842(1)	(GA) <sub>8</sub> TG
UBC842(2)	(GA) <sub>8</sub> CG

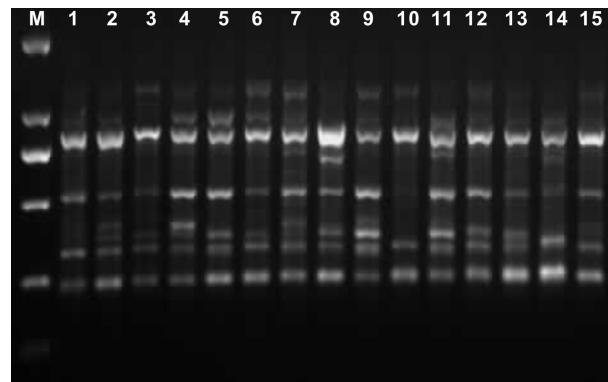


图 2 引物 UBC810 对 15 株太行菊扩增结果

M: Marker; 1-15: 红豆杉大峡谷 15 株太行菊。

Fig. 2 Amplification result of 15 *Opisthoppappus taihangensis* individuals using UBC810 M: Marker; 1-15: 15 *Opisthoppappus taihangensis* of Hongdoushan Daxiagu, Shanxi

### 2.2 各居群的遗传多样性

如表 3 所示,各居群的 Nei's 基因多样性在 0.1356~0.1910 之间,平均 Nei's 基因多样性为 0.1628。各居群的 Shannon's 指数在 0.2155~0.2969 之间,平均 Shannon's 多样性指数为 0.2543。在物种水平上,太行菊的 Nei's 基因多样性为

表 3 太行菊 11 个居群的遗传多样性参数  
Table 3 Genetic diversity parameters of 11  
*Opisthobapus taihangensis* populations

代码 Code	多态条带数 Number of polymorphic loci	多态位点 百分率 PPL (%)	Nei's 基因 多样性 (H)	Shannon's 指数 (I)
DXG	87	58.00	0.1600	0.2502
DSC	78	52.00	0.1356	0.2155
TTC	90	60.00	0.1582	0.2493
BQC	92	61.33	0.1747	0.2715
XG	96	64.00	0.1684	0.2658
BQSK	80	53.33	0.1528	0.2367
XHS	77	51.33	0.1542	0.2364
JYS	83	55.33	0.1415	0.2248
QLX	97	64.67	0.1700	0.2702
SNS	85	56.67	0.1845	0.2800
DXT	99	66.00	0.1910	0.2969
平均 Average	87.64	58.42	0.1628	0.2543
物种水平 Species level	149	99.33	0.2149	0.3455

PPL = percentage of polymorphic loci; H = Nei's gene diversity; I = Shannon's Information index.

0.2149, Shannon's 多样性指数为 0.3455。从各居群的 Nei's 基因多样性和 Shannon's 多样性指数可以

表 4 各居群 Nei's 遗传一致性(右上角)和遗传距离

Table 4 Nei's genetic identity (above diagonal) and genetic distance of *Opisthobapus taihangensis*

居群 population	DXG	DSC	TTC	BQC	XG	BQSK	XHS	JYS	QLX	SNS	DXT
DXG		0.9711	0.9503	0.9679	0.9617	0.9502	0.9335	0.9191	0.9447	0.9019	0.9145
DSC	0.0293		0.9272	0.9510	0.9309	0.9507	0.9136	0.8757	0.9104	0.8790	0.8773
TTC	0.0509	0.0755		0.9849	0.9608	0.9448	0.9437	0.9402	0.9512	0.9020	0.9122
BQC	0.0327	0.0502	0.0152		0.9715	0.9608	0.9485	0.9466	0.9623	0.9150	0.9196
XG	0.0391	0.0716	0.0399	0.0289		0.9734	0.9377	0.9671	0.9823	0.9079	0.9240
BQSK	0.0511	0.0506	0.0568	0.0400	0.0270		0.9181	0.9363	0.9517	0.8996	0.8910
XHS	0.0688	0.0903	0.0580	0.0529	0.0643	0.0854		0.9374	0.9504	0.9014	0.9182
JYS	0.0844	0.1327	0.0617	0.0549	0.0334	0.0659	0.0646		0.9838	0.9232	0.9304
QLX	0.0569	0.0938	0.0500	0.0384	0.0178	0.0495	0.0509	0.0164		0.9162	0.9350
SNS	0.1032	0.1290	0.1031	0.0888	0.0966	0.1058	0.1038	0.0800	0.0875		0.9576
DXT	0.0894	0.1309	0.0919	0.0838	0.0790	0.1154	0.0854	0.0722	0.0672	0.0433	

## 2.4 聚类分析

利用 NYTSYS 软件,依据 Nei's 的遗传一致性进行 UPGMA 聚类分析(图 3),当相似系数取 0.936 时,这 11 个太行菊居群可分为三组,其中沁阳市神农山(SNS)和沁阳市大西天(DXT)聚为一组;山西红豆杉大峡谷(DXG)和山西陵川县大双村(DSC)聚为一组;其余 7 个居群聚为一组,其中辉县市潭头村(TTC)和辉县市宝泉村(BQC)组成一个亚组,辉县市西沟(XG)、焦作市净影寺(JYS)和焦作市青龙峡(QLX)组成一个亚组,辉县市宝泉水库(BQSK)和辉县市小华山(XHS)组成另一个亚组,各居群间的

看出,沁阳市大西天、焦作市青龙峡和辉县市西沟的太行菊居群具有较高的遗传变异与遗传分化,山西陵川县大双村和焦作市净影寺的太行菊居群的遗传变异与遗传分化程度较低。

## 2.3 居群间的遗传距离与遗传分化

利用 POPGENE 计算居群间遗传距离与遗传一致度(表 4),结果显示,各居群的遗传距离在 0.0152~0.1327 之间,遗传一致度在 0.8757~0.9849 之间。其中辉县市潭头村和辉县市宝泉村两居群间遗传距离最小(0.0152),而山西陵川县大双村和焦作市净影寺居群间遗传距离最大(0.1327)。通过 POPGENE 分析,结果表明太行菊总群体基因多样性为 0.2190,群体内基因多样性为 0.1628。从居群间基因分化系数( $G_{st} = 0.2566$ )可知,有 25.66% 的遗传变异存在于居群间,74.34% 的遗传变异存在于居群内,居群内的遗传分化大于居群间的遗传分化。居群间基因流为 1.4488,处于较低水平,较低的基因流会导致居群间出现一定程度的遗传分化。

遗传关系与地理距离基本一致。

## 3 讨论与结论

### 3.1 太行菊的遗传多样性

本研究分析结果表明,11 个居群在物种水平上的 PPL 为 99.33%,高于一般的菊花栽培种(徐文斌等,2006;吴在生等,2007;缪恒彬等,2008),表明太行菊的遗传多样性较高。这与刘蕤等(2010)的研究结果相似。物种水平的 Nei's 基因多样性( $H = 0.2149$ )和 Shannon's 指数( $I = 0.3455$ )分别高于群

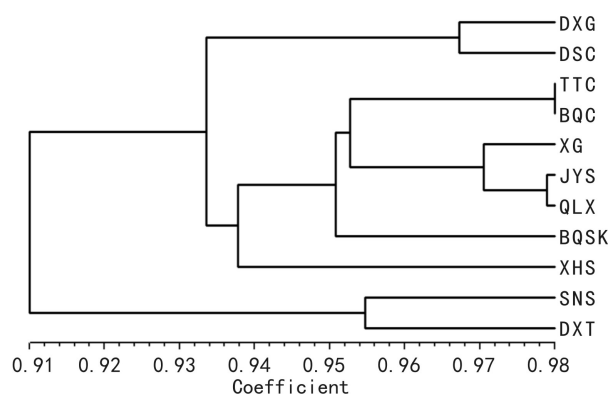


图 3 太行菊居群间 Nei's 遗传一致度的 UPGMA 聚类图

Fig. 3 UPGMA dendrogram for 11 populations of *Opisthopappus taihangensis* based on Nei's genetic identity

体水平的值 ( $H = 0.1628$ ,  $I = 0.2543$ ), 也表明太行菊的遗传多样性较高。一般认为特有种和狭域分布种与广布种相比, 其遗传多样性较低(谢国文等, 2007), 但有些特有种和濒危物种保持较高的变异水平(陈俊秋等, 2006; 杨琴军等, 2009)。本研究材料也证实了这一结论。

### 3.2 太行菊的遗传分化

11 个居群的太行菊的基因分化系数  $G_{st}$  为 0.2566, 表明太行菊不同居群间的遗传分化较大。物种的繁育系统、分布范围、基因流等因素均影响种群的遗传结构, 其中基因流对群体遗传分化具有重要影响(由永飞等, 2012)。太行菊自交亲和性较高, 但还从未观察到花粉进入花柱和子房的过程(李健, 2008)。由于太行菊只分布于太行山的河北、山西、河南等部分地区, 且多分布于悬崖峭壁的石缝中或山坡上, 在一定程度上限制了太行菊各群体间的基因交流。本研究的结果表明, 11 个太行菊居群的基因流虽然大于 1 ( $Nm = 1.4488$ ), 但基因流水平并不是特别高, 因此, 太行菊的生境特点和地理分布可能对各群体间的基因交流产生一定的隔离。

### 3.3 太行菊的聚类分析

从图 3 可以看出, 聚类结果基本上反映了各居群间的地理位置关系。如距离较近的沁阳市的两个居群(SNS 和 DXT)聚为一组(第一组), 且这两个居群距其他居群较远, 成为单独一组。在第二组中, 除焦作市的两个居群(JYS 和 QLX)外, 辉县市的 5 个居群(TTC、BQC、XG、BQSK 和 XHS)地理距离较近, 聚为一组, 且 TTC 居群和 BQC 距离最近, 首先聚在一起。同样, 距离较近的山西的两个居群

(DXG 和 DSC)聚为一组(第三组)。各居群并未严格按地理位置关系聚类, 如 JYS 和 QLX 两居群距离较近, 虽然首先聚在一起, 但并没有形成单独的一组, 而是和距离较远的 XG 聚在一起。距离较远居群间具有更近缘的关系, 可能是这些居群间存在着遗传交换(侯大斌等, 2006), 也可能是因为两者间某一个居群个体扩散到另一个地方形成新居群, 以至于它们在遗传特征上具有较多的相似性。

### 3.4 太行菊的濒危机制及保护措施

物种濒危受诸多内外因素综合作用的影响。许多学者认为, 物种的濒危是由于遗传变异的缺乏所致(Newman *et al.*, 1997)。就本研究而言, 太行菊在物种水平上 PPL 为 99.33%, Nei's 基因多样性  $H$  为 0.2149, Shannon's 指数  $I$  为 0.3455, 均属高水平, 因此, 我们认为, 太行菊濒危并非其遗传变异的缺乏所致, 在更大程度上可能是由于其特殊的生境的影响和人为因素的干扰。太行菊分布区狭窄, 多生于海拔 1 000 m 左右的山坡上以及悬崖峭壁的石缝中, 生境险峻, 这种生境特点可能对太行菊群体间基因交流产生一定的隔离。另外, 人为的干扰也是造成太行菊濒危的一个主要原因, 外界干扰等致危因素被认为是植物走向濒危的推动力(张文辉, 2002)。由于太行菊的观赏价值(许桂芳等, 2006)和药用价值(曾小宇等, 2010)逐渐被人们所认识, 致使太行菊的挖掘采摘现象严重, 生境遭到破坏, 群体范围逐步缩小。

鉴于以上分析, 我们认为太行菊的保护应以就地保护为主, 迁地保护为辅。由于太行菊在物种水平上的遗传多样性较高, 而在群体水平的遗传多样性较低, 在实施就地保护时要对所有种群进行必要的保护, 并对遗传多样性程度高的居群进行重点保护(李群等, 2005), 对于规模较小的居群应给予特别关注。如 QLX、SNS 和 DXT 3 个居群, 太行菊的遗传多样性均处于高水平, 且个体数较少, 分别只有 50、50 和 30 株, 这 3 个居群又处于旅游开发带, 人为的采摘行为更严重, 这些居群如不给予重点保护, 个体数将会继续减少。因此, 我们建议在有条件的地区, 由林业部门牵头在太行菊的原产地建立保护区。在迁地保护时应保证每个居群都有足够的样品, 避免在个别居群大量取样, 既要保持原居群的遗传多样性, 又给不同居群间的样品提供基因交流和重组的机会, 从而达到提高太行菊遗传多样性水平的目的, 增强太行菊对环境的适应能力。另外, 还应

加强生物多样性保护有关法规的宣传和教育力度,增强人们对生物多样性的保护意识。

## 参考文献:

- Chen JQ(陈俊秋), Ci XQ(慈秀芹), Li QM(李巧明), et al. 2006. Genetic diversity of *Litsea szemaois*, an endangered species endemic to China, detected by inter-simple sequence repeat (SRAP)(樟科濒危植物思茅木姜子遗传多样性的 SRAP 分析)[J]. *Biodiver Sci*(生物多样性), **14**(5):410—420
- Ding BZ(丁宝章), Wang SY(王遂义). 1998. Flora of Henan (part 3)(河南植物志(第三册))[M]. Zhengzhou(郑州): Henan Science and Technology(河南科学技术出版社):632
- Hou DB(侯大斌), Ren ZL(任正隆), Shu GM(舒光明). 2006. RAPD analysis of genetic diversity in the wild populations of *Aconitum carmichaeli* DEXB.(Ranunculaceae) in China(附子野生资源群体遗传多样性的 RAPD 分析)[J]. *Acta Ecol Sin*(生态学报), **26**(6):1 833—1 841
- Hu X(胡泉), Zhao HE(赵惠恩). 2008. A preliminary study on distant hybridization of *Opisthopappus* with *Chrysanthemum* and *Ajanina*(太行菊属与菊属亚菊属远缘杂交试验初报)[J]. *Modern Agric Sci*(现代农业科学), **15**(6):13—14
- Li J(李健). 2008. Studies on cytology of six species in subtribe Chrysantheminae and reproductive biology on *O. taihangensis*(菊亚族六个种的细胞学及太行菊的生殖生物学研究)[D]. Nanjing: Nanjing Agriculture University(南京:南京农业大学)
- Li Q(李群), Xiao M(肖猛), Guo L(郭亮), et al. 2005. Genetic diversity of the rare and endangered plant *Trillium tschonoskii* in Sichuan province(四川省珍稀濒危植物延龄草遗传多样性分析)[J]. *J Beijing For Univ*(北京林业大学学报), **27**(4):1—6
- Lin L(林立), Ni S(倪穗), Li JY(李纪元), et al. 2012. Study population genetic diversity of *Camellia japonica* in 5 islands between China and Japan(中日 5 个岛屿山茶种群遗传多样性研究)[J]. *Guihaia*(广西植物), **32**(3):298—303
- Liu R(刘蕤), Yang JS(杨际双). 2010. Genetic diversity of some *Dendranthema* spp. based on RAPD analysis(菊属植物遗传多样性的 RAPD 分析)[J]. *J Agric Univ Hebei*(河北农业大学学报), **33**(1):60—65
- Miao HB(缪恒彬), Chen FD(陈发棣), Zhao HB(赵宏波), et al. 2008. Genetic diversity and construction of fingerprinting of *Chrysanthemum* cultivars by ISSR markers(应用 ISSR 对 25 个小菊品种进行遗传多样性分析及指纹图谱构建)[J]. *Sci Agric Sin*(中国农业科学), **41**(11):3 735—3 740
- Newman D, Pilson D. 1997. Increased probability of extinction due to decreased genetic effective population size: experimental population of *Clarkia pulchella*[J]. *Evolution*, **51**:354—362
- Tao AF(陶爱芬), Qi JM(祁建民), Su JG(粟建光), et al. 2011. Method comparison of using SRAP and ISSR and combination of both in origin and evolution of *Jute*(SRAP 和 ISSR 及两种方法结合在分析黄麻属起源与演化上的比较)[J]. *Acta Agron Sin*(作物学报), **37**(12):2 277—2 284
- Wu ZS(吴在生), Li HL(李海龙), Liu JH(刘建辉), et al. 2007. Analyses of genetic diversity among 65 *Chrysanthemum* cultivars based on AFLP(65 个菊花栽培品种遗传多样性的 AFLP 分析)[J]. *J Nanjing For Univ: Nat Sci Edit*(南京林业大学学报·自然科学版)[J]. **31**(9):67—70
- Xie GW(谢国文), Peng XY(彭晓瑜), Zheng YL(郑燕玲), et al. 2007. Genetic diversity of endangered plant *Monimopetalum chinese* in China detected by ISSR analysis(濒危植物永瓣藤遗传多样性的 ISSR 分析)[J]. *Sci Silv Sin*(林业科学), **43**(8):48—53
- Xu GF(许桂芳), Li XW(李孝伟), Meng L(孟丽), et al. 2006. Resources of main varieties of wild herbal flower of Taihang Mountain regions in Henan(河南太行山区主要野生草本花卉资源)[J]. *J Anhui Agric Sci*(安徽农业科学), **34**(11):2 380—2 381, 2 507
- Xu WB(徐文斌), Guo QS(郭巧生), Wang CL(王长林). 2006. RAPD analysis for genetic diversity of *Chrysanthemum morifolium*(药用菊花遗传多样性的 RAPD 分析)[J]. *Chin J Chin Mat Med*(中国中药杂志), **31**(1):18—21
- Yang QJ(杨琴军), Chen GF(陈光富), Liu XQ(刘秀群), et al. 2009. Analysis of genetic diversity of *Taiwania cryptomerioides* in Xingdoushan, Hubei Province(湖北星斗山台湾杉居群的遗传多样性研究)[J]. *Guihaia*(广西植物), **29**(4):450—454
- You YF(由永飞), Deng HP(邓洪平). 2012. Analysis of genetic diversity of the rare and endangered species *Cibotium braometz* by SRAP markers(珍稀濒危植物金毛狗的 SRAP 分析)[J]. *Acta Bot Bor-Occ Sin*(西北植物学报), **32**(4):688—692
- Zhang AS(张安世), Xing ZF(邢智峰), Liu YY(刘永英), et al. 2009. Comparison and analysis on the different methods of DNA extraction methods from Bryophytes(苔藓植物 DNA 不同提取方法的比较分析)[J]. *Henan Sci*(河南科学), **27**(5):559—562
- Zhang WH(张文辉), Zhu YG(祖元刚), Liu GB(刘国彬). 2002. Population ecological characteristics and analysis on endangered cause of ten endangered plant species(十种濒危植物的种群生态学特征及致危因素分析)[J]. *Acta Ecol Sin*(生态学报), **22**(9):1 512—1 520
- Zeng XY(曾小宇), Luo DL(罗登林), Liu SN(刘胜男), et al. 2010. Recent advance and future trend of inulin research and development(菊糖的研究与开发前景)[J]. *Chin Food Additive*(中国食品添加剂), **4**:222—227
- Zietkiewicz E, Rafalski A, Labuda D. 1994. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification[J]. *Genomics*, **20**:176—183