

蒲公英遗传多样性的 ISSR 分析

李喜凤¹, 邱天宝², 张红梅^{3*}, 胡春月¹, 胡利欣¹, 郑楠楠¹, 唐露¹

1. 河南中医学院药学院, 河南 郑州 450008

2. 河南省兽药监察所, 河南 郑州 450008

3. 郑州大学医药科学研究院, 河南 郑州 450052

摘要:目的 分析蒲公英的遗传多样性。方法 采用 ISSR 分子标记对 21 个居群蒲公英遗传多样性进行分析, 用软件 Popgen 32 分析 Nei's 基因多样性指数 (H) 和 Shannon 信息指数 (I), 采用 NTSYS 2.10e 软件进行聚类分析和主坐标分析。结果 16 条 ISSR 引物共扩增出 166 条条带, 其中多态性条带 152 条, 平均多态性百分率为 90.4%, 平均 H 为 0.286 5, 平均 I 为 0.437 0; 遗传距离和遗传一致度分别为 0.156 2~0.590 2 和 0.554 2~0.855 4; UPGMA 法进行聚类分析显示, 聚类结果与地理来源有较强的一致性, 可以看出来源于同一地区的蒲公英种质聚在一起, 呈现出一定的地域性分布规律。结论 采用 ISSR 分析蒲公英遗传多样性, 蒲公英表现出丰富的多态性, 表明可以用 ISSR 标记技术对蒲公英进行分子水平的遗传多样性分析。

关键词: 蒲公英; ISSR; 聚类分析; 遗传多样性; Nei's 基因多样性指数 (H); Shannon 信息指数 (I)

中图分类号: R282.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2012)10-2025-05

ISSR analysis on genetic diversity of *Taraxaci Herba*

LI Xi-feng¹, QIU Tian-bao², ZHANG Hong-mei³, HU Chun-yue¹, HU Li-xin¹, ZHENG Nan-nan¹, TANG Lu¹

1. School of Pharmacy, Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China

2. Henan Institute of Veterinary Drug Control, Zhengzhou 450008, China

3. Academy of Medical and Pharmaceutical Sciences, Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China

Abstract: Objective To analyze the genetic diversity of *Taraxaci Herba*. **Methods** Genetic diversity of 21 populations of *Taraxaci Herba* was analyzed by ISSR. Nei's genetic diversity index (H) and Shannon's information index (I) were calculated by Popgen 32. Cluster and principal coordinate analyses were completed by NTSYS 2.10e software. **Results** A total of 166 bands were amplified by 16 ISSR primers, among which 152 were polymorphic bands (PPB). The percentage of PPB was 90.4%. The average H and I were 0.286 5 and 0.437 0, respectively. The genetic distance and genetic similarity were 0.156 2—0.590 2 and 0.554 2—0.855 4, respectively. UPGMA cluster analysis showed that the geographical distribution was mutually related to the cluster results. It also showed that some of *Taraxaci Herba* from the same region were in the same group which presented the rule of the geographical distribution. **Conclusion** ISSR analysis reveals that *Taraxaci Herba* has high genetic diversity. The ISSR analysis could be used to study of the genetic diversity of *Taraxaci Herba* at molecular level.

Key words: *Taraxaci Herba*; ISSR; cluster analysis; genetic diversity; Nei's genetic diversity index (H); Shannon's information index (I)

蒲公英是临床常用的清热解毒药, 全国有 200 余种, 常用于药物的有蒲公英 *Taraxacum mongolicum* Hand. -Mazz.、碱地蒲公英 *Taraxacum borealisinense* Kitam.、白缘蒲公英 *T. platyepidum* Diels.、红梗蒲公英 *T. erthropodium* Kitag.、芥叶蒲公英 *T. brassicaefolium* Kitag.、异苞蒲公英 *T.*

Heterolepis Nakai et Koidz. ex Kitag.^[1]。由于蒲公英品种繁多, 分布广泛, 有的地区还出现大面积栽培, 使得药材质量参差不齐, 严重影响蒲公英的研究开发与临床应用。近年来对蒲公英的研究多集中于其化学成分的分析^[2]、营养成分分析^[3]、有效成分量测定^[4]及药理作用^[5]等方面, 但对其分子生物学方

收稿日期: 2012-03-10

基金项目: 河南省教育厅自然科学研究项目 (2010A360010); 郑州市普通科技攻关计划 (10PTGS485-1)

作者简介: 李喜凤 (1952—), 女, 教授, 主要从事中药新药及质量标准研究。E-mail: lxf_52@yeah.net

*通讯作者 张红梅 Tel: (0371)65575823 E-mail: qtb2006@126.com

网络出版时间: 2012-09-06 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/12.1108.R.20120906.1618.005.html>

面的研究还不够深入, 仅有少量报道^[6]。

简单重复序列区间 (inter-simple sequence repeat, ISSR) 是由 Zietkiewicz 等于 1994 年发展的一种基于微卫星系列的分子标记技术^[7], 用于检测简单重复序列 (simple sequence repeat, SSR) 间 DNA 序列差异^[8], 具有不需要知道序列信息、简便、快捷、重复性好等特点。比 RAPD 具有更高的可重复性和稳定性^[9]。该技术已经广泛应用于中药材遗传多样性与亲缘关系研究^[10-13], 并取得了较好的成效。目前应用 ISSR 分子标记对蒲公英进行研究尚

未见报道。本实验采用 ISSR 分子标记技术, 从 DNA 分子水平分析了不同居群、不同品种蒲公英的遗传关系, 为蒲公英遗传多样性关系分析、合理利用和保护提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

本实验所用药材为不同产地或不同品种的蒲公英新鲜幼叶, 分别采自河南、山东、吉林, 经河南中医学院生药学教研室陈随清教授鉴定, 具体信息见表 1。

表 1 试验材料

Table 1 Materials used in test

编号	名称	采集地	编号	名称	采集地
A	蒲公英 <i>Toraxacum mongolicum</i>	河南安阳	L	蒲公英	山东青岛
B	蒲公英	河南济源	M	药用蒲公英 <i>T. officinale</i>	河南郑州
C	蒲公英	河南焦作	N	碱地蒲公英 <i>T. borealisinense</i>	河南济源
D	蒲公英	河南商丘	O	蒲公英	河南南阳
E	蒲公英	河南洛阳	P	芥叶蒲公英 <i>T. brassicaefolium</i>	吉林吉林
F	蒲公英	河南郑州	Q	异苞蒲公英 <i>T. heterolepis</i>	吉林长春
G	蒲公英	河南开封	R	红梗蒲公英 <i>T. erthropodium</i>	吉林长春
H	蒲公英	河南许昌	S	白缘蒲公英 <i>T. platypedidum</i>	河南济源
I	蒲公英	河南驻马店	T	戟叶蒲公英 <i>T. asiatica</i>	吉林长春
J	蒲公英	河南南阳	U	食用蒲公英 (栽培品种)	吉林长春
K	蒲公英	河南信阳			

1.2 基因组 DNA 的提取

参照文献方法^[6]提取蒲公英基因组 DNA, 并用 1.2% 琼脂糖凝胶电泳检查 DNA 的完整性, 选择条带清晰, 无降解, 无拖尾的样品, 用核酸蛋白质仪检测 DNA 浓度及纯度, 最后统一稀释成 10 ng/μL, 用于 ISSR-PCR 反应。

1.3 ISSR-PCR 扩增

模板 DNA 为 5 ng, Taq 酶 MIX 15 μL (Taq DNA 聚合酶 0.75 U、dNTPs 0.24 mmol/L, Mg²⁺ 1.8 mmol/L), 引物 0.3 μmol/L, 最后用 dd H₂O 补足。

扩增程序为 94 °C 预变性 5 min, 94 °C 变性 30 s, 45 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 2 min, 循环 30 次, 72 °C 延伸 7 min, 4 °C 保存。反应结束后, PCR 产物用 1.2% 琼脂糖凝胶 (含 0.05% EB) 于 5 V/cm 电泳。电泳结果在 Bio-Rad GelDoc-XR 凝胶成像仪进行观察并拍照分析。结果见图 1。

1.4 ISSR-PCR 引物筛选

所用引物参照加拿大哥伦比亚大学 UBC 公司 2006 年公布的 ISSR 引物序列, 由 Invitrogen™ 英维捷基 (上海) 贸易有限公司合成。从 100 条随机引

物中筛选出 16 条扩增条带清晰, 多态性较高, 稳定性良好的引物用于 21 个居群的 81 个个体进行扩增, 每个引物至少重复扩增 2 次。最终确定 16 条引物为 UBC808、UBC811、UBC817、UBC825、UBC826、UBC828、UBC830、UBC835、UBC840、UBC846、UBC847、UBC851、UBC855、UBC857、UBC862、UBC880。

1.5 数据统计与处理

同一引物, 同一位点, 根据扩增产物的有 (1) 无 (0) 得到二元资料, 形成 0、1 矩阵。用软件 POPGEN 32 分析 Nei's 基因多样性指数 (H) 和 Shannon 信息指数 (I)。用 NTSYS 2.10e 软件进行分析, 计算 Nei's 遗传距离, 使用 UPMGA 法进行聚类分析和主坐标分析, 构建聚类图。

2 结果与分析

2.1 蒲公英种质资源 ISSR 多态性

用 16 条 ISSR 引物对蒲公英 21 个居群的 DNA 样品进行 PCR 扩增, 共扩出 166 条清晰、稳定的条带, 片段大小在 250~2 000 bp。其中, 多态性条带 150 条, 平均多态性百分率为

90.4%。ISSR 扩增的片段在 6~14 条, 平均每条引物能扩增 10.375 条。图 1 为引物 UBC840 对 21 份蒲公英 ISSR 扩增结果, 引物序列及多态性

分析见表 2。通过软件 Popgen 32 对实验结果进行计算, 结果表明, 平均 H 为 0.286 5, 平均 I 为 0.437 0。

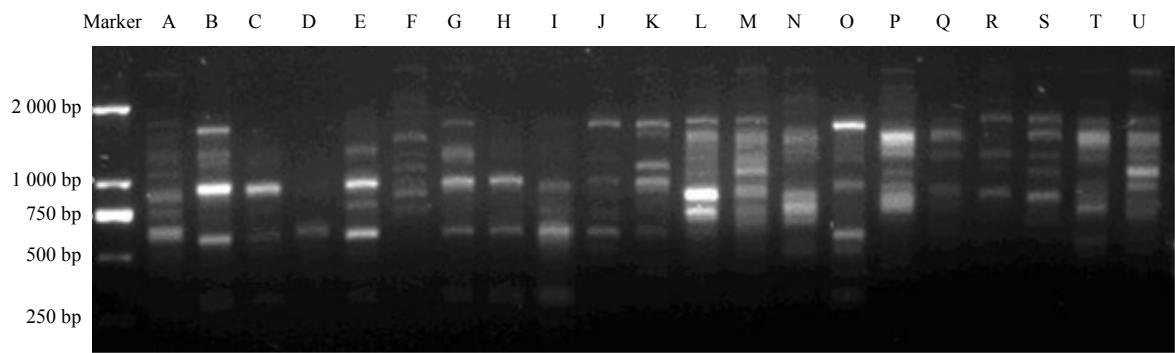


图 1 引物 UBC840 对 21 个居群的扩增结果
Fig. 1 Amplification of 21 populations by primer UBC840

表 2 ISSR 引物序列及多态性分析
Table 2 ISSR primer sequences and polymorphic analysis

引物编号	核苷酸序列	最适退火温度 / °C	总条带数	多态性条带数	多态性百分率 / %
UBC808	AGAGAGAGAGAGAGAGC	49.2	7	6	85.71
UBC811	GAGAGAGAGAGAGAGAC	44.2	10	9	90.00
UBC817	CACACACACACACACAA	45.9	8	7	87.50
UBC825	ACACACACACACACACT	49.2	10	9	90.00
UBC826	ACACACACACACACACC	45.9	11	11	100.00
UBC828	ACACACACACACACACC	42.5	9	8	88.89
UBC830	TGTGTGTGTGTGTGTGG	47.5	10	9	90.00
UBC835	AGAGAGAGAGAGAGAGYC	50.8	14	14	100.00
UBC840	GAGAGAGAGAGAGAGAYT	42.5	10	9	90.00
UBC846	CACACACACACACARC	43.3	9	7	77.78
UBC847	CACACACACACACARC	50.8	13	12	92.31
UBC851	GTGTGTGTGTGTGTGTYG	50.8	10	9	90.00
UBC855	ACACACACACACACACYT	50.8	6	5	83.33
UBC857	ACACACACACACACACYG	46.7	14	13	92.86
UBC862	AGCAGCAGCAGCAGCAGC	55.5	13	12	92.31
UBC880	GGAGAGGAGAGGAGA	43.3	12	10	83.33

2.2 蒲公英种质资源的遗传相似系数和遗传距离
蒲公英 21 个居群的遗传距离 (D) 为 0.156 2~0.590 2, Nei's 遗传一致度为 0.554 2~0.855 4(表 3)。其中居群 S 和居群 E 之间的 D 最大, 为 0.590 2, 两者的遗传一致度最低, 为 0.554 2, 表明这两个居群间的遗传差异性最大。居群 (H) 和居群 (I) 之间的遗传差异性最小, D 最小, 为 0.156 2, 其遗传一致性最大, 为 0.855 4。通过对表 3 遗传一致度和

遗传距离分析, 蒲公英种间差异性大于种内差异。
2.3 蒲公英居群聚类分析
利用 PCR 扩增得到的 150 条多态性条带建立遗传相似矩阵, 经 NTSYS 2.10e 软件统计分析构建亲缘关系聚类树状图 (图 2); 21 个居群蒲公英的基因遗传相似系数在 0.663 2~0.855 4。从图 2 看出, 样品 H 和 I 间的遗传一致度最高为 0.855 4, 样品 S 和 E 间的遗传一致度最低为 0.554 2。在相似系数约 0.70

表 3 蒲公英 21 个居群遗传一致度 (对角线以上) 和遗传距离 (对角线以下)

Table 3 Nei's genetic identity (above diagonal) and genetic distance (below diagonal) in 21 populations of *Taraxaci Herba*

编号	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U
A	****	0.753 0	0.734 9	0.795 2	0.801 2	0.692 8	0.753 0	0.722 9	0.722 9	0.716 9	0.680 7	0.644 6	0.680 7	0.626 5	0.668 7	0.590 4	0.638 6	0.644 6	0.572 3	0.686 7	0.674 7
B	0.283 7	****	0.813 3	0.825 3	0.819 3	0.650 6	0.819 3	0.801 2	0.801 2	0.759 0	0.710 8	0.686 7	0.686 7	0.656 6	0.710 8	0.620 5	0.692 8	0.638 6	0.614 5	0.680 7	0.704 8
C	0.308 0	0.206 7	****	0.819 3	0.789 2	0.656 6	0.716 9	0.819 3	0.807 2	0.777 1	0.704 8	0.632 5	0.632 5	0.650 6	0.680 7	0.626 5	0.722 9	0.620 5	0.596 4	0.674 7	0.662 7
D	0.229 2	0.192 0	0.199 3	****	0.789 2	0.704 8	0.741 0	0.759 0	0.783 1	0.728 9	0.704 8	0.656 6	0.656 6	0.650 6	0.704 8	0.602 4	0.710 8	0.668 7	0.572 3	0.710 8	0.698 8
E	0.221 6	0.199 3	0.236 8	0.236 8	****	0.710 8	0.819 3	0.777 1	0.801 2	0.747 0	0.734 9	0.662 7	0.698 8	0.668 7	0.734 9	0.632 5	0.680 7	0.662 7	0.554 2	0.692 8	0.704 8
F	0.367 1	0.429 9	0.420 6	0.349 8	0.341 3	****	0.686 7	0.656 6	0.692 8	0.650 6	0.650 6	0.614 5	0.662 7	0.704 8	0.614 5	0.692 8	0.668 7	0.638 6	0.602 4	0.644 6	0.668 7
G	0.283 7	0.199 3	0.332 9	0.299 8	0.199 3	0.375 8	****	0.801 2	0.789 2	0.783 1	0.698 8	0.626 5	0.698 8	0.680 7	0.710 8	0.620 5	0.620 5	0.698 8	0.590 4	0.668 7	0.716 9
H	0.324 5	0.221 6	0.199 3	0.275 7	0.252 2	0.420 6	0.221 6	****	0.855 4	0.801 2	0.704 8	0.620 5	0.668 7	0.674 7	0.728 9	0.662 7	0.662 7	0.644 6	0.572 3	0.638 6	0.650 6
I	0.324 5	0.221 6	0.214 1	0.244 5	0.221 6	0.367 1	0.236 8	0.156 2	****	0.825 3	0.716 9	0.668 7	0.741 0	0.710 8	0.765 1	0.674 7	0.698 8	0.680 7	0.608 4	0.698 8	0.710 8
J	0.332 9	0.275 7	0.252 2	0.316 2	0.291 7	0.429 9	0.244 5	0.221 6	0.192 0	****	0.722 9	0.650 6	0.686 7	0.716 9	0.819 3	0.668 7	0.716 9	0.686 7	0.650 6	0.692 8	0.704 8
K	0.384 6	0.341 3	0.349 8	0.349 8	0.308 0	0.429 9	0.358 4	0.349 8	0.339 3	0.324 5	****	0.614 5	0.638 6	0.608 4	0.698 8	0.656 6	0.704 8	0.602 4	0.638 6	0.656 6	0.656 6
L	0.439 2	0.375 8	0.458 0	0.420 6	0.411 5	0.487 0	0.467 6	0.477 3	0.402 5	0.429 9	0.487 0	****	0.783 2	0.716 9	0.734 9	0.680 7	0.692 8	0.674 7	0.650 6	0.753 0	0.632 5
M	0.384 6	0.375 8	0.458 0	0.420 6	0.358 4	0.411 5	0.358 4	0.402 5	0.299 8	0.375 8	0.448 5	0.244 5	****	0.825 3	0.734 9	0.777 1	0.741 0	0.722 9	0.686 7	0.777 1	0.753 0
N	0.467 6	0.420 6	0.429 9	0.429 9	0.402 5	0.349 8	0.384 6	0.393 5	0.341 3	0.332 9	0.496 9	0.332 9	0.192 0	****	0.741 0	0.747 0	0.674 7	0.728 9	0.716 9	0.710 8	0.710 8
O	0.402 5	0.341 3	0.384 6	0.349 8	0.308 0	0.487 0	0.341 3	0.316 2	0.267 8	0.199 3	0.358 4	0.308 0	0.308 0	0.299 8	****	0.656 6	0.692 8	0.771 1	0.638 6	0.741 0	0.704 8
P	0.527 0	0.477 3	0.467 6	0.506 8	0.458 0	0.367 1	0.477 3	0.411 5	0.393 5	0.402 5	0.420 6	0.384 6	0.252 2	0.291 7	0.420 6	****	0.734 9	0.668 7	0.692 8	0.722 9	0.698 8
Q	0.448 5	0.367 1	0.324 5	0.341 3	0.384 6	0.402 5	0.477 3	0.411 5	0.358 4	0.332 9	0.349 8	0.367 1	0.299 8	0.393 5	0.367 1	0.308 0	****	0.728 9	0.753 0	0.783 1	0.722 9
R	0.439 2	0.448 5	0.477 3	0.402 5	0.411 5	0.448 5	0.358 4	0.439 2	0.384 6	0.375 8	0.506 8	0.393 5	0.324 5	0.316 2	0.260 0	0.402 5	0.316 2	****	0.686 7	0.765 1	0.753 0
S	0.558 1	0.487 0	0.516 9	0.558 1	0.590 2	0.506 8	0.527 0	0.558 1	0.496 9	0.422 9	0.448 5	0.429 9	0.375 8	0.332 9	0.448 5	0.367 1	0.283 7	0.375 8	****	0.741 0	0.692 8
T	0.375 8	0.384 6	0.393 5	0.341 3	0.367 1	0.439 2	0.402 5	0.448 5	0.358 4	0.367 1	0.420 6	0.283 7	0.252 2	0.341 3	0.299 8	0.324 5	0.244 5	0.267 8	0.299 8	****	0.771 1
U	0.393 5	0.349 8	0.411 5	0.358 4	0.349 8	0.402 5	0.332 9	0.429 9	0.341 6	0.349 8	0.420 6	0.458 0	0.283 7	0.341 3	0.349 8	0.358 4	0.324 5	0.283 7	0.367 1	0.260 0	****

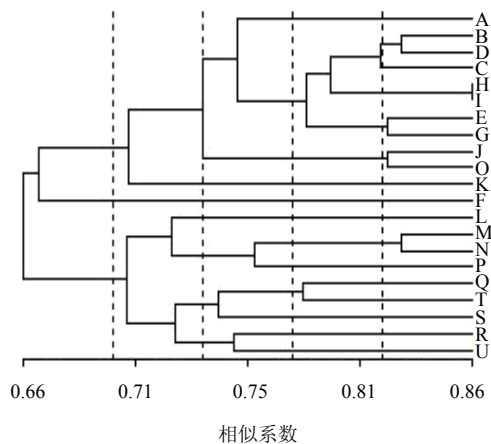


图 2 21 个居群蒲公英的 UPGMA 聚类树

Fig. 2 UPGMA dendrogram for 21 populations of *Taraxaci Herba*

处可将 21 居群蒲公英划分成 3 个类群。第 I 大类包括 A、B、C、D、E、G、H、I、J、K、O，11 个种群，其中 K 单独成为一个亚类。第 II 大类由居群 F 单独构成。原因可能为，居群 F 从法国引

进，生长于河南中医学院药苑内，故经过聚类分析与主坐标分析显示，与其他居群相似度较低，遗传距离较远。第 III 大类包括 L、M、N、P、Q、R、S、T、U，共 9 个居群，其中 L、M、N、P 构成一个亚类和 Q、T、S、R、U 构成的亚类共同组成第 III 大类。由图 2 可以看出 H 和 I 的相似性最高，遗传距离系数为 0.156 2。

2.4 ISSR 聚类结果与地理分布及品种的关系

从聚类分析的结果可以看出，相近来源的居群聚在一起，当相似系数在 0.66 时 21 个居群蒲公英被聚为两类，第 I 类中包含 A、B、C、D、E、G、H、I、J、K、O、F，共 12 个居群，均为河南省内的居群，均为蒲公英。第 II 类中包含 L、M、N、P、Q、R、S、T、U，共 9 个居群，为不同品种的蒲公英，不同种间的遗传一致性系数较小，亲缘关系较远。其中只有 M、N 产于河南，且优先聚在一起，除 L 产于山东外，其余均为吉林省居群样品，说明蒲公英种质资源根据 ISSR 标记划分的类群同地理

分布与其品种有一定关系,能够很好地区分不同地域的种群。

2.5 主坐标分析

由图3可知,主坐标分析结果与UPGMA聚类树分析结果基本一致,沿X轴划分为2类,其贡献值为18.78%,将种群划分为I组和III组。Y轴贡献值为8.12%,沿Y轴将居群结构划分成2类,将X轴和Y轴划分结果综合考虑,只有居群F分布较其他居群独立,可构成II组。

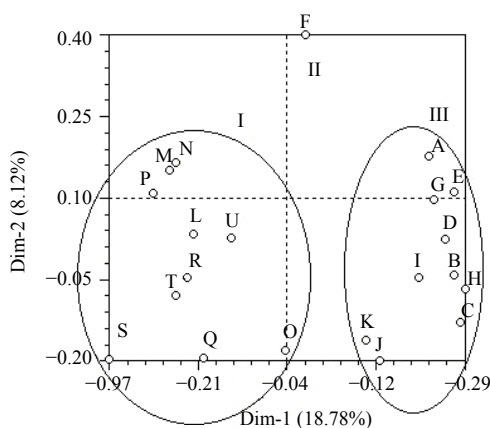


图3 蒲公英21个居群的主坐标分析图

Fig. 3 Principal coordinate analysis on 21 populations of *Taraxaci Herba*

3 讨论

ISSR分子标记技术能有效揭示不同居群产区蒲公英的遗传多样性,用16条ISSR引物对21个蒲公英居群扩增,共产生166条DNA带,其中多态性条带152条,平均多态性百分率为90.4%。这说明蒲公英的遗传多样性丰富,ISSR标记具有较好的稳定性和准确性,适于蒲公英种质资源的遗传多样性分析。聚类分析结果能够将不同地域的居群分开,有明显的地域相关性。ISSR分子标记技术可有效地区分开不同产地样品,这也为ISSR技术用于其他药材的鉴别、遗传关系及道地性研究提供了参考。通过图2和图3的比较发现,聚类分析和主成分分析的结果基本一致,主坐标分析能够更加直观地显示出不同居群间的地域和种群关系。

通过野外样本采集及生存状态观察,发现蒲公英为多年生,大多成簇出现,常生长在阳光较充足,通风之处。花多为黄色,极易吸引昆虫、蜜蜂等帮

助其传粉,种子成熟后,靠风力传播,繁殖范围广,对环境适应能力强,这些使得蒲公英在长期进化过程中保持了较高的遗传变异能力。这与Hamrick和Godt对165个属的种子植物研究结果一致,那些寿命长、地理分布广、异交为主、风媒传粉、结实率高的物种往往具有较高的遗传多样性^[14]。

参考文献

- [1] 肖培根. 新编中药志 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2002.
- [2] 姚巍, 林文艳, 周长新, 等. 蒙古蒲公英化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32(10): 926-929.
- [3] 袁荣高, 张克田, 胡玉涛. 蒲公英在食品中的开发与应用 [J]. 安徽农业科学, 2007, 35(6): 1797-1799.
- [4] 李喜凤, 余云辉, 胡亚楠, 等. 高效毛细管电泳法测定蒲公英中阿魏酸的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(16): 27-29.
- [5] 任丽平, 杜钢军, 崔新萍. 蒲公英对酒精性肝损伤的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(11): 179-181.
- [6] 李喜凤, 杜云锋, 张红梅, 等. 蒲公英总DNA的提取及其RAPD-PCR反应条件的优化 [J]. 时珍国医国药, 2010, 21(6): 1501-1503.
- [7] Ziedewicz E, Rafalski A, Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeats (SSR) anchored polymerase chain reaction amplification [J]. *Genomics*, 1994, 20: 176-183.
- [8] 许梦云, 吴沿友, 赵玉国, 等. 道地药材茅苍术的ISSR分析 [J]. 河南农业科学, 2009(7): 90-93.
- [9] Esselman E J, Li J Q, Crawford D J, et al. Clonal diversity in the rare *Calamagrostis porteri* ssp. *insperata* (Poaceae): comparative results for allozymes and random amplified polymorphic DNA (RAPD) and inter-simple sequence repeat (ISSR) markers [J]. *Mol Ecol*, 1999, 8: 443-451.
- [10] 雷栗, 王益, 赵阿曼, 等. 栀子道地药材遗传关系的ISSR证据 [J]. 中草药, 2009, 40(1): 116-120.
- [11] 张春平, 何平, 胡世俊, 等. ISSR分子标记对金荞麦8个野生居群的遗传多样性分析 [J]. 中草药, 2010, 41(9): 1519-1521.
- [12] 张忠廉, 李学兰, 杨春勇, 等. 砂仁遗传多样性的ISSR分析 [J]. 中草药, 2011, 42(3): 570-574.
- [13] 李佳, 房敏峰, 周天华, 等. 主产区远志种质资源遗传多样性的ISSR分析 [J]. 中草药, 2011, 42(11): 1881-1885.
- [14] Hamrick J L, Godt M J W. *Plant Population Genetics, Breeding and Genetic Resources* [M]. Sunderland: Sinauer, 1990.