

# 北京百花山不同海拔巧玲花遗传多样性分析

王 羽, 窦德泉, 关雪莲, 郭盈添, 郑 健\*

(北京农学院 园林学院, 北京 102206)

**摘 要:**巧玲花是我国北方一种极具观赏价值的落叶花灌木,北京百花山具有丰富的巧玲花资源。调查分析表明,其分布在海拔1 200~1 800 m范围内。利用ISSR分子标记技术对百花山6个不同海拔梯度(1 200~1 300、1 301~1 400、1 401~1 500、1 501~1 600、1 601~1 700、1 701~1 800 m)的巧玲花群体进行遗传多样性分析。结果表明:百花山地区不同海拔巧玲花群体的遗传多样性差异较大,在1 500~1 600 m的中海拔地区的群体表现出较高的遗传多样性水平(75.43 %),而高海拔和低海拔地区的群体遗传多样性较低(62.82 %、73.08 %);UPGMA聚类结果表明,遗传距离与海拔呈一定的相关性。相邻海拔的巧玲花群体间遗传距离相对较近,而高山草甸与其他海拔的群体间表现出较远遗传距离,根据群体间的遗传分化系数( $G_{st}$ )的结果分析,变异主要存在于群体内(89.06%)。综合以上结果认为,海拔的不同引起了生境条件的变化,进而影响巧玲花遗传多样性,遗传多样性水平随海拔的升高呈现低-高-低的分布规律。

**关键词:**巧玲花;ISSR-PCR;遗传多样性;遗传结构;百花山

**中图分类号:**S793.9      **文献标志码:**A      **文章编号:**1001-7461(2016)04-0113-05

## Genetic Diversity of *Syringa pubescens* Populations from Different Altitudes in Baihua Mountain in Beijing

WANG Yu, DOU De-quan, GUAN Xue-lian, GUO Ying-tian, ZHENG Jian\*

(College of Landscape Architecture, Beijing Agricultural University, Beijing 102206, China)

**Abstract:** *Syringa pubescens* is a deciduous shrub species native to northern China with high potential for ornamental value. There are rich resources of *S. pubescens* in Baihua Mountain in Beijing, with altitudinal distribution ranging from 1 200 to 1 800 m. Genetic diversity and genetic structure of six different altitude gradient *S. pubescens* populations (1 200—1 300, 1 301—1 400, 1 401—1 500, 1 501—1 600, 1 601—1 700, 1 701—1 800 m) in Baihua Mountain were studied by ISSR technology. The results showed that the genetic diversity of *S. pubescens* was higher (75.43 %) in 1 501—1 600 m altitudinal population, while lower genetic diversity was observed in populations of higher and lower altitude (62.82% and 73.08% respectively). The UPGMA cluster analysis indicated that the genetic distances among populations were certainly correlated with their altitudinal distribution. The genetic distance was relative lower between the adjacent altitude of population, however, the genetic distance was relative farther between the alpine meadow and other altitudinal populations. According to the group of the coefficient of genetic differentiation ( $G_{st}$ ) analysis, the genetic variation existed in the populations (89.06%). Comprehensively, the genetic diversity of the *S. pubescens* was affected by the change of the habitat conditions caused by the altitudinal difference, and the distribution of genetic diversity level was low-high-low with the rising of altitude in Baihua Mountain.

**Key words:** *Syringa pubescens*; ISSR-PCR; genetic diversity; genetic structure; Baihua Mountain

收稿日期:2015-10-08    修回日期:2016-03-29

基金项目:国家林木(含竹藤花卉)种质资源平台建设与运行服务(2005DKA21003);北京市属高等学校高层次人才引进与培养计划项目(CIT&TCD20154043)。

作者简介:王 羽,女,在读硕士,研究方向:林木种质资源与育种研究。E-mail:wangyu20126@163.com

\*通信作者:郑 健,男,硕士生导师,副教授,研究方向:林木种质资源与利用研究。E-mail:zhengjian@bua.edu.cn

巧玲花(*Syringa pubescens*)为木犀科丁香属植物,落叶灌木,生于海拔 900~2 100 m。圆锥花序直立,侧芽抽生,花序轴与花梗、花萼略带紫红色花冠,花药紫色,植株秀丽多姿,花序细密,花朵细小,盛开时花团锦簇,淡紫色后渐近白色,香气四溢,沁人肺腑,花期 5—6 月,果期 6—8 月。产于中国河北、山西、陕西东部、山东西部、河南。生长在山坡丛林、林下或林缘,或沟边、山谷灌丛中。秋天叶子会呈现不同的颜色,群体花期很长,新枝的萌发强度大,耐修剪,可塑性强,使得其可以修剪成各种造型,制作成各种盆景。无论是宅院、居住区或绿地群植都是优良的观赏绿化树种,是发展北方园林绿化的重要一条重要途径。

木犀科丁香属植物约 27 种,其中 20 余种起源于我国,我国是丁香属植物种质资源的世界分布中心和栽培起源中心,但育种工作起步较晚,从 20 世纪 50 年代才开始对丁香花进行引种栽培、品种选育和开发利用工作<sup>[1]</sup>。近几年来关于木犀科丁香属植物的研究多集中在药理、化学成分、形态特征、解剖学等研究上,而很少有对丁香属植物种质资源和遗传多样性方面的研究<sup>[2-5]</sup>。欧丁香系和巧玲花系是丁香属植物中观赏价值较高的 2 个系<sup>[6]</sup>,然而长期以来人们对巧玲花的资源价值关注很少。北京百花山具有丰富的巧玲花资源,长期以来处于山野,其资源价值尚未被充分利用。随着近几年旅游业的开发,巧玲花的生境受人类活动的影响较大,其资源也受到一定程度的破坏,因此巧玲花种质资源的收集、

保存、评价和利用已经刻不容缓。

与其他标记技术相比,ISSR(inter-simple sequence repeat,简单重复序列区间扩增多态性)技术以试验成本低、模板需求量少、快速灵敏、操作简单、多态性丰富等优点而倍受学者的青睐<sup>[7-8]</sup>。目前该技术已应用于品种鉴定,分类系统学比较,遗传多样性检测、基因定位、亲缘关系分析、遗传作图、以及植物育种等方面的研究<sup>[9-11]</sup>。本研究利用 ISSR 分子标记技术对北京百花山不同海拔巧玲花的遗传多样性及其遗传结构进行分析,初步了解其变异的来源及其空间分布,为今后百花山巧玲花资源的遗传多样性保护以及其资源的保存和利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

所用试验材料于 2014 年 6 月采集于北京百花山自然保护区,在巧玲花的海拔分布范围内,从其海拔分布下限开始,以海拔每升高 100 m 选择 1 个群体,直至其海拔分布上限,共划分为 6 个群体,分别记为 Pop1(1 200~1 300)、Pop2(1 301~1 400)、Pop3(1 401~1 500)、Pop4(1 501~1 600)、Pop5(1 601~1 700)、Pop6(1 701~1 800)。每个群体随机选择生长正常、无病虫害的植株,采集幼嫩叶片,置于装有硅胶的塑封袋中,带回实验室后立即放入-80℃冰箱保存,待用。共选择了 132 个单株,各取样群体的生境条件详见表 1。

表 1 采集样地及生境描述

Table 1 Sample collection and habitat description

| 居群    | 海拔/m        | 取样数 | 坡度/(°) | 生境类型                  | 伴生植物             |
|-------|-------------|-----|--------|-----------------------|------------------|
| Pop 1 | 1 200~1 300 | 13  | 10~30  | 以蒙古栎、椴树、桦树、油松为主的针阔混交林 | 以绣线菊、胡枝子为主       |
| Pop 2 | 1 301~1 400 | 33  | 10~30  | 以落叶松、桦木为主的针阔混交林       | 以六道木、大花溲疏、毛榛为主   |
| Pop 3 | 1 401~1 500 | 27  | 0~30   | 以白蜡、五角枫、落叶松为主的针阔混交林   | 以胡枝子、毛榛、忍冬为主     |
| Pop 4 | 1 501~1 600 | 12  | 10~40  | 以落叶松、蒙古栎为主的针阔混交林      | 以北京山梅花、大果榆为主     |
| Pop 5 | 1 601~1 700 | 20  | 10~40  | 以桦树、落叶松为主的针阔混交林       | 以山楂叶悬钩子、铁线莲、小檗为主 |
| Pop 6 | 1 701~1 800 | 27  | 10~40  | 半阳坡草甸                 | 蒲公英、紫丁香、绒毛绣线菊为主  |

1.2 试验方法

1.2.1 基因组 DNA 的提取方法 参照陈永华<sup>[12]</sup>等的方法,以新鲜的巧玲花嫩叶为原料,采用改良后的 2×CTAB 法提取其基因组 DNA。

1.2.2 ISSR-PCR 引物筛选 参照杨晓霞<sup>[1]</sup>等筛选的引物(表 2),对本试验中巧玲花进行遗传多样性分析,试验中所用的引物由北京三博远志科技有限公司合成。

1.2.3 ISSR-PCR 产物的检测 取扩增产物点样于 1.2% 的琼脂糖凝胶上,100 V 条件下电泳 30

min,然后采用 Gel Doc XR 型凝胶成像分析系统进行检验。

1.2.4 数据处理与分析 参照张翠琴<sup>[13]</sup>的方法。按照扩增条带的有无,进行 0,1 标记,扩增阳性(记为 1)和扩增阴性(记为 0),形成 ISSR 表型数据矩阵。用 POPGENE 软件估算种群的多态位点百分率( $P$ )、Nei's 遗传多样性指数、Shannon's 多样性指数( $I_s$ )、群体内的遗传变异( $H_s$ )、群体总遗传变异( $H_t$ )、基因流( $N_m$ )、及遗传分化系数( $G_{st}$ ),并且采用 NTSYS-pc 软件进行聚类分析。

表 2 用于 ISSR 标记的引物以及退火温度  
Table 2 ISSR primer and annealing temperature used in this study

| 引物      | 序列(5' to 3')      | 退火温度/℃ |
|---------|-------------------|--------|
| ISSR-02 | GTGCGTGCGTGCGTGC  | 52.2   |
| UBC-811 | GAGAGAGAGAGAGAGAC | 48.2   |
| UBC-823 | TCTCTCTCTCTCTCC   | 49.0   |
| UBC-825 | ACACACACACACACT   | 46.8   |
| UBC-827 | ACACACACACACACG   | 48.2   |
| UBC-829 | TGTGTGTGTGTGTGTC  | 51.2   |
| UBC-835 | AGAGAGAGAGAGAGAYC | 51.7   |
| UBC-842 | GAGAGAGAGAGAGAYG  | 52.0   |

2 结果与分析

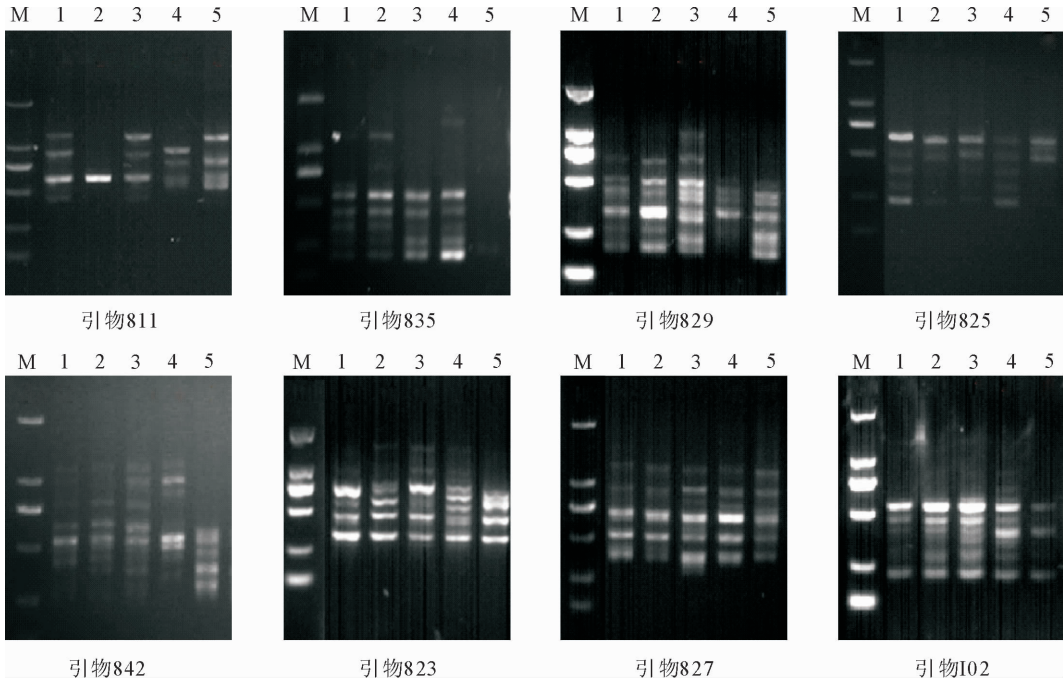
2.1 ISSR 结果分析

基于优化的 ISSR-PCR 扩增体系<sup>[1]</sup>,用选定的 8 条引物分别对 6 个不同海拔群体的巧玲花基因组进行 PCR 扩增,共检测出 78 条多态性高、稳定性好的条带。扩增片段的分子量大小在 100~2 000 bp

之间,其中多态性条带为 67 条,平均每个引物扩增出 8.25 个位点,多态性位点百分率为 85.9% (表 3)。表明百花山巧玲花不同群体间的基因位点多态性丰富,遗传变异较高。部分引物 PCR 扩增结果见图 1。

表 3 不同 ISSR 引物扩增结果  
Table 3 The amplification results of different primers

| 引物      | 退火温度/℃ | 扩增带数/条 | 多态性带/条 | 多态性比率/% |
|---------|--------|--------|--------|---------|
| ISSR-02 | 52.2   | 10     | 9      | 90.0    |
| UBC-811 | 48.2   | 7      | 6      | 85.7    |
| UBC-823 | 49     | 8      | 6      | 75.0    |
| UBC-825 | 46.8   | 12     | 11     | 83.3    |
| UBC-827 | 48.2   | 7      | 6      | 85.7    |
| UBC-829 | 51.2   | 11     | 10     | 90.9    |
| UBC-835 | 51.7   | 11     | 9      | 81.8    |
| UBC-842 | 52     | 12     | 10     | 83.3    |
| 合计      |        | 78     | 67     | 85.9    |



注:M;DL2000 DNA Marker;泳道 1~5 为供试巧玲花种质材料的扩增图谱。

图 1 8 条引物对巧玲花材料的部分扩增结果

Fig. 1 Amplification profiles of partial *S. pubescens* samples based on eight ISSR primers

2.2 遗传多样性分析

北京百花山 6 个不同海拔巧玲花群体间存在一定遗传变异。Nei's 遗传多样性指数及 Shannon's 多样性指数与多态性位点百分率的结果相一致,即海拔 1 401~1 700 m 群体(Pop3、Pop4、Pop5)显示出较高的遗传变异水平,而低海拔 1 200~1 400 m 群体 (Pop1、Pop2)和高海拔 1 701~1 800 m 群居 (Pop6)遗传变异水平相对较低,不同海拔间巧玲花群体的遗传变异水平由高到低的顺序为 Pop5 > Pop4 > Pop3 > Pop1 > Pop2 > Pop6(表 4)。以上结

果表明,海拔的变化对巧玲花遗传多样性水平有一定的影响,中海拔地区巧玲花群体具有相对较高水平的遗传多样性,而低海拔和高海拔巧玲花群体的遗传多样性水平较低。

2.3 群体遗传分化及遗传结构

根据 Nei's 指数,估算群体间的遗传分化系数 ( $G_{st}$ ) 为 0.109 4 (表 5),表明总的遗传变异有 89.06% 来自群体内,10.94% 来自群体间,同时也反映出 6 个不同海拔巧玲花群间的遗传差异较小,变异主要存在于群体内。由  $G_{st}$  计算出群体间的基因

表 4 百花山巧玲花遗传多样性 ISSR 分析

Table 4 Genetic diversity of *S. pubescens* in Baihuashan Mountain based on ISSR analysis

| 群体    | 多态基因位点 | 多态性位点百分率/% | $N_a^*$ | $N_e^*$ | Nei's 遗传多样性指数 | Shannon's 多样性指数 |
|-------|--------|------------|---------|---------|---------------|-----------------|
| Pop 1 | 57     | 73.08      | 1.730 8 | 1.397 7 | 0.238 3       | 0.361 1         |
| Pop 2 | 57     | 73.08      | 1.730 8 | 1.396 2 | 0.231 1       | 0.348 8         |
| Pop 3 | 62     | 79.49      | 1.794 9 | 1.409 5 | 0.241 3       | 0.366 5         |
| Pop 4 | 67     | 85.90      | 1.859 0 | 1.412 4 | 0.252 4       | 0.390 0         |
| Pop 5 | 61     | 78.21      | 1.782 1 | 1.463 8 | 0.271 0       | 0.405 7         |
| Pop 6 | 49     | 62.82      | 1.628 2 | 1.362 3 | 0.216 2       | 0.326 5         |
| 平均    | 58.8   | 75.43      | 1.754 3 | 1.406 9 | 0.241 7       | 0.366 4         |

注： $N_a^*$  观测等位基因数； $N_e^*$  期望等位基因数。

流(4.070 7)>1,表明相对于其他物种,百花山巧玲花群体间有较小的遗传分化。

2.4 不同海拔巧玲花群体间的 Nei's 遗传距离

用 Nei's 遗传相似度和遗传距离对各群体的遗传分化进一步分析发现海拔对各群体间的遗传距离有一定影响(表 6)。由表中数据可以看出相邻海拔 Pop1 到 Pop5 巧玲花群体间的遗传距离相对较小,而与 Pop6 群体均有较大的遗传距离。最小的遗传距离出现在 Pop3 群体与 Pop4 群体间(0.022 2)(表 6)。此外,各巧玲花种群间的遗传一致度在 0.9 024~0.9 781 之间,表明巧玲花 6 个群体间的相似程度较高。

根据 Nei's 无偏遗传距离构建群体间的 UPG-

表 6 巧玲花群居间 Nei's 遗传距离和遗传一致度

Table 6 Genetic distance (below diagonal) and genetic identity (above diagonal) among different populations of *S. pubescens* calculated by Nei's index

| Pop ID | 1       | 2       | 3       | 4       | 5       | 6       |
|--------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 1      | * * * * | 0.956 1 | 0.960 9 | 0.961 7 | 0.954 3 | 0.902 4 |
| 2      | 0.044 9 | * * * * | 0.975 9 | 0.966 6 | 0.969 2 | 0.927 2 |
| 3      | 0.039 9 | 0.024 4 | * * * * | 0.978 1 | 0.971 9 | 0.942 3 |
| 4      | 0.039 0 | 0.033 9 | 0.022 2 | * * * * | 0.975 1 | 0.921 3 |
| 5      | 0.046 7 | 0.031 3 | 0.028 5 | 0.025 2 | * * * * | 0.937 6 |
| 6      | 0.102 7 | 0.075 6 | 0.059 4 | 0.082 0 | 0.064 4 | * * * * |

注:群居间 Nei's 遗传距离(对角线下方)和遗传一致度(对角线上方)。

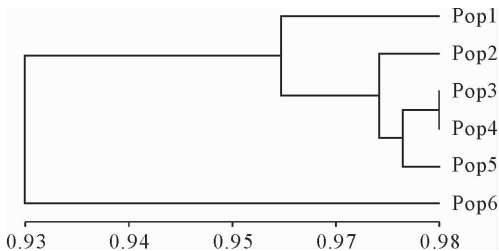


图 2 不同纬度巧玲花种群间 Nei's 遗传距离 UPGMA 聚类图(群体代号同表 1)

Fig. 2 UPGMA dendrogram of *S. pubescens* on Nei's genetic distance at different latitudes. Population codes are the same as in Table 1.

3 结论与讨论

遗传多样性是生物所携带遗传信息的总和,是

MA 聚类图,得到群体间亲缘关系树状图(图 2),6 个不同海拔的巧玲花群体的聚类情况如下,首先 Pop3 和 Pop4 聚为一组,之后与 Pop5 和 Pop2 先后聚在一起,紧接着又与 Pop1 聚在一起,最终与 Pop6 聚在一起,这一结果进一步说明 Pop6 群体与其他 5 个群体的遗传距离较远。

表 5 百花山巧玲花群体遗传分化系数和基因流

Table 5 Genetic differentiation coefficient and gene flow of *S. pubescens* in Baihuashan Mountain natural

| 样本大小 | $H_t$   | $H_s$   | $G_{st}$ | $Nm^*$  |
|------|---------|---------|----------|---------|
| 132  | 0.271 4 | 0.241 7 | 0.109 4  | 4.070 7 |

注： $H_t$ ,总的基因多样性； $H_s$ ,种群内基因多样性； $G_{st}$ ,遗传分化系数； $Nm^*$ ,基因流。

群体生存、发展和进化的基础,通常认为遗传多样性的高低反映了物种对外界环境适应能力的强弱<sup>[14]</sup>。本试验中百花山巧玲花群体的 ISSR 标记分析结果表明其多态性位点百分率平均为 75.43%(表 4),不同海拔各群体内遗传多样性存在一定差异,不同海拔巧玲花群体的遗传变异水平随着海拔的升高呈现低-高-低的分布。产生这一结果的原因可能是由于低海拔地区受人为因素影响,如植被砍伐、牲畜的啃食等致使其生境条件遭到破坏,影响巧玲花的正常生长繁殖导致种群变小,从而使其遗传多样性降低;中海拔巧玲花群体所处的生境多为阳坡,通风透光,生境条件更适合于其生长发育,而且此海拔的群落结构多样,种类组成复杂,在此生境条件下巧玲花群体表现出较高的遗传变异水平;随着海拔的升高,巧

玲花的生境趋于极端化,其群落结构及种类组成趋于单一,其花期、传粉、种子的发育都受到限制,在此生境条件下基因流动困难,最终导致遗传多样性降低。

群体遗传多样性除了能够表现出遗传变异的高低,同时还包括了遗传变异分布格局,即群体的遗传结构<sup>[15-16]</sup>。Wright<sup>[17]</sup>指出遗传分化系数( $G_{st}$ ) $>0.25$ 表明群体遗传分化极大。而本试验的  $G_{st}$  为  $0.109\ 4$ ,原因应归结于相似生境地理隔离不十分明显,巧玲花的开花时期相近,花粉可以顺利的传播,群体内基因交流较顺畅。植物群体的遗传结构不仅决定于自身遗传基础、繁育系统及其起源进化进程,而且还受到自然选择、遗传漂变和基因流等因素的影响<sup>[18]</sup>,本试验发现百花山巧玲花群体间的基因流为  $4.070\ 7$ ,因此,基因流不是百花山不同海拔巧玲花群体间遗传分化的主要原因。导致百花山不同海拔巧玲花群体间遗传分化的原因可能是:随着海拔的不断升高,气候与植被等一系列因素也呈现出垂直的变化,致使不同海拔群体微生境产生一定差异,经过长期演化,最终导致了种群间的遗传分化。

遗传相似性系数或遗传距离也是衡量群体间遗传分化程度的重要指标。本试验百花山低海拔到中高海拔区段变化比较平缓,相近的海拔差使群体遗传距离较近,而高海拔群体的位置相对于其他群体跨度较大,位于较高的草甸上,而亚高山草甸环境相对恶劣,影响了其正常生长繁殖,也影响了其与低海拔种群间的基因交流,从而产生了较远的遗传距离。本试验结果进一步表明海拔对基因交流存在一定的阻碍作用。

遗传多样性的研究可以揭示物种或群体的进化史,同时也可以进一步地分析物种的进化潜力<sup>[13]</sup>。随着人类对植物群体的遗传结构以及影响生物多样性的因素的研究不断深入,在遗传多样性研究的指导下进行种质资源的收集、保存、评价和利用是一种非常科学、可靠的方法,并逐渐被人们所接受。本试验通过对百花山不同海拔巧玲花遗传多样性的分析评价,为构建其野生种质资源保存和利用提供重要的科学依据。

**致谢:**本试验中所用的巧玲花材料均由国家林木种质资源平台提供,特此致谢!

参考文献:

[1] 杨晓霞,郑健,冷平生,等. 暴马丁香 ISSR-PCR 反应体系优化及引物筛选[J]. 分子植物育种,2014(5):1018-1026.  
YANG X X,ZHENG J,LENG P S, *et al.* Optimization of ISSR-PCR system and selection of primers for *Syringa reticulata* var. *amurensis*[J]. Molecular Plant Breeding, 2014(5):1018-1026. (in Chinese)  
[2] 温小成,谢久祥. 紫丁香根部与枝条总酚、单宁与总黄酮含量研

究[J]. 青海大学学报:自然科学版,2015,33(1):21-26.  
[3] 韩佳宏. 辽东丁香枝化学成分及药理活性的研究[D]. 长春:吉林农业大学,2014.  
[4] 杨萍,罗海燕,王瑞江. 野丁香属植物叶表皮形态特征研究[J]. 热带亚热带植物学报,2011,19(4):291-302.  
[5] 李颖慧. 丁香 4 种属植物茎和叶的比较解剖学研究[D]. 长春:吉林农业大学,2011.  
[6] 柴胜丰,庄雪影,邹蓉,等. 濒危植物毛瓣金花茶遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 西北植物学报,2014,34(1):93-98.  
CHAI S F,ZHUANG X Y,ZHOU R, *et al.* Genetic diversity analysis of endangered plant *Camellia pubipetala* Detected by ISSR [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2014, 34(1):93-98. (in Chinese)  
[7] QIAN W,GE S,HONG D Y. Genetic variation within and among populations of a wild rice *Oryza granulata* from China detected by RAPD and ISSR markers[J]. Theor Appl Genet, 2001,1(2):440-449.  
[8] 王建波. ISSR 分子标记及其在植物遗传学中的应用[J]. 遗传, 2002,24(5):613- 616.  
WANG J B. ISSR markers and their applications in plant genetics [J]. Hereditas,2002,24(5):613- 616. (in Chinese)  
[9] 雒新艳,戴思兰. ISSR 分子标记在观赏植物研究中的应用[J]. 湖北农业科学,2009,48(7):1760-1768.  
[10] TAKESHI I,TAKAYUKI K,HIDEKI T. Genetic diversity of an endangered plant, *Cypripedium macranthos* var. *rebunense* (Orchidaceae): background genetic research for future conservation[J]. Conserv Genet,2007,8:1369-1376.  
[11] 陈新露,曲武曾. 中国丁香属植物[J]. 西北林学院学报,1989, 4(1):72-79.  
CHEN X L,QU S Z. Genus *Syringa* of China[J]. Journal of Northwest Forestry University, 1989, 4(1):72-79. (in Chinese)  
[12] 陈永华,相阳,张冬林,等. 4 种不同广玉兰基因组 DNA 提取方法的比较[J]. 中南林业科技大学学报,2008,28(3):45-48.  
CHEN Y H, XIANG Y,ZHANG D L, *et al.* Comparison of 4 different extraction methods for *Magnolia grandiflora* DNA [J]. Journal of Central South University of Forestry and Technology ,2008,28(3):45-48. (in Chinese)  
[13] 张翠琴,林丽丽,王玮玲. 山西霍山五角枫不同海拔种群遗传多样性研究[J]. 生物学杂志,2014,31(5):66-70.  
[14] 黄玮,孙平,张文生,等. 北京东灵山地区不同海拔柴胡居群的遗传多样性[J]. 植物遗传资源学报,2008,9(4):453-457.  
[15] HAMRICK J L,BLANTON H M,HAMRICK K J. The genetic structure of geographically marginal populations of ponderosa pine [J]. American Journal of Botany,1989,76:1559-1568.  
[16] 葛颂,洪德元. 泡沙参复合体(桔梗科)的物种生物学研究:表型的可塑性[J]. 植物分类学报,1994,32(6):489-503.  
GE S,HONG D Y. Biosystematic Studies on *Adenophora potaninii* complex (Campanulaceae) phenotypic plasticity. [J]. Acta Phytotaxonomica Sinica,1994,32(6):489-503. (in Chinese)  
[17] WRIGHT S. Evolution and the genetics of populations. vo. 14, Variabilitywithin and among naturalpopulations[M]. Chicago: University of Chicago Press,1978.  
[18] 张春影,赵海俊,李美善,等. 不同海拔牛皮杜鹃种群遗传多样性的 RAPD 分析[J]. 延边大学农学学报,2012,34(1):46-50.