

新疆产药用植物黑果枸杞遗传多样性的 ISSR 分析

阿力同·其米克^{1,2}, 王青锋³, 杨春锋³, 陈进明^{3*}

(1. 新疆巴音郭楞职业技术学院生物工程系, 新疆库尔勒 841000; 2. 新疆巴州哈力馨蒙医药科技开发有限公司, 新疆库尔勒 841000;
3. 中国科学院武汉植物园, 中国科学院水生植物与流域生态重点实验室, 武汉 430074)

摘要: 黑果枸杞(*Lycium ruthenicum*)隶属于茄科枸杞属, 为重要的药用植物, 主要分布于中国的西北部。目前该种野生”资源逐渐减少, 开展对其居群遗传学研究有利于黑果枸杞野生种质资源的保护和可持续利用。采用 ISSR 分子标记对新疆南部黑果枸杞 6 个自然居群及甘肃 2 个自然居群共 115 个样品进行了 DNA 多态性分析。从 60 个随机引物中筛选出 7 个有效引物, 共产生 64 条 DNA 片段, 其中 50 条为多态性条带, 多态位点百分率 (PPL) 为 78.1%。相比较而言, 黑果枸杞在物种水平上具有较高的遗传多样性, Nei 基因多样性 (H) 和 Shannon 多样性指数 (I) 分别为 0.29 和 0.43。对黑果枸杞 8 个居群的 AMOVA 分析结果表明, 其遗传变异主要存在于居群内 (77.0%), 而居群间的遗传分化较小 (23%, $F_{ST}=0.23$)。黑果枸杞各居群间的遗传距离在 0.0570~0.1913 之间变化。居群间的聚类及 Mantel 检验 ($r=0.3602$, $p=0.910$) 均表明新疆黑果枸杞居群地理距离与遗传距离之间的相关性不明显; 黑果枸杞个体间 UPGMA 聚类结果表明, 同一居群的个体不能完全聚在一起, 来自新疆和甘肃两区域的黑果枸杞材料也不能完全分开。探讨了可能造成上述居群遗传结构模式的主要因素, 同时提出了今后对新疆南部黑果枸杞保护工作中需进一步解决的问题。

关键词: 药用植物; 黑果枸杞; 遗传多样性; ISSR; 新疆南部

中图分类号: Q346

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2013)05-0517-08

ISSR Analysis on Genetic Diversity of Medically Important *Lycium ruthenicum* Murr. in Xinjiang

ALITONG Qimike^{1,2}, WANG Qing-Feng³, YANG Chun-Feng³, CHEN Jin-Ming^{3*}

(1. Department of Biological Engineering, Xinjiang Bayinguoleng Vocational and Technical College, Kuerle, Xinjiang 841000, China; 2. Xinjiang Bazhou Halixin Mongolian Medicinal Technology Development Co., Ltd, Kuerle, Xinjiang 841000, China; 3. Key Laboratory of Aquatic Botany and Watershed Ecology, Wuhan Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430074, China)

Abstract: *Lycium ruthenicum* (Solanaceae) is an important medicinal plant mainly distributed in Northwestern China. In recent years, however, the distribution range of this species has been reduced greatly due to human overexploitation and deterioration of its habitat. Studying the population genetics of this species is essential for the conservation and sustainable utilization of the plant germplasm resource. In this study, we used seven ISSR markers to measure genetic diversity of 115 individuals from eight natural populations of *L. ruthenicum* in Xinjiang (six populations) and Gansu (two populations). A total of 64 DNA fragments were scored, and 78.1% of polymorphic loci (PPL) found. High level of genetic diversity was detected in *L. ruthenicum* ($H=0.29$; $I=0.43$). AMOVA analysis indicated that most variance (77.0%) resided within populations, with only a small proportion of total variation residing between populations (23%, $F_{ST}=0.23$). Results of the Mantel test ($r=0.3602$, $p=0.910$) and UPGMA

收稿日期: 2013-01-11, 修回日期: 2013-03-15。

基金项目: 新疆维吾尔自治区科技支疆指令性计划项目(201291161)。

作者简介: 阿力同·其米克(1968-), 女, 硕士, 副教授, 研究方向为植物资源学及药用植物学。

* 通讯作者(Author for correspondence. E-mail: jmchen@wbgcas. cn)。

cluster of the Xinjiang populations indicated that there was no significant relationship between geographical distance and genetic distance. UPGMA cluster of all sampled individuals showed that individuals from each population did not cluster together. The probable causes that have contributed to the current pattern of genetic structure were discussed and suggestions on future protection of the *L. ruthenicum* from southern Xinjiang were also given.

Key words: Medicinal plant; *Lycium ruthenicum*; Genetic diversity; ISSR; Southern Xinjiang

黑果枸杞(*Lycium ruthenicum* Murr.)为茄科(Solanaceae)枸杞属(*Lycium* L.)多年生灌木植物。黑果枸杞是我国西北荒漠地区一种特有的野生植物, 主要分布于山西北部、宁夏、甘肃、青海、新疆、西藏等省区^[1]。该种耐盐、抗旱, 多分布于盐碱土荒地、池地或路旁, 对盐渍土壤有很强的适应性^[2,3]。黑果枸杞花果期7~9月, 成熟浆果紫黑色, 球状, 中医以成熟的果实入药。据《晶珠本草》记载, 黑果枸杞味甘、性平, 清心热, 用于治疗心热病、心脏病、月经不调、停经等病症。黑果枸杞成熟果实色素含量高, 优于果汁色素; 其色素颜色鲜艳、稳定性好, 着色力强, 是理想的食用天然花色苷^[4,5]。黑果枸杞含有较多的还原糖, 高于宁夏产的红果枸杞(*L. barbarum*), 是理想的免疫增强剂, 具有重要的药用开发价值^[6~8]。

由于巨大经济价值的存在, 黑果枸杞的市场需求量巨大。同时, 与宁夏红果枸杞相比, 黑果枸杞在繁育手段、栽培规模以及产量提高等方面存在明显的差距, 优质种质资源的培育和推广明显不够, 相较而言市场供应量十分有限。野生黑果枸杞资源因而成为市场重要供应来源之一。黑果枸杞的野生资源正遭受着巨大的开采压力。目前, 野生资源的自我恢复与开采利用之间已经明显失衡, 黑果枸杞野生居群的规模以及分布区域正在迅速减小^[1], 采取相应的保育措施已迫在眉睫。

揭示物种的遗传多样性水平及其居群遗传结构特点, 有助于我们了解物种的进化历史及其适应性, 从而帮助我们对濒危物种制定有效的保护措施^[9~12]。然而, 相比宁夏红果枸杞^[13~16], 目前对黑果枸杞的遗传多样性及其居群遗传结构的研究还较少^[17]。Liu等^[17]采用SRAP(Sequence-related amplified polymorphism)分子标记对分布在甘肃、宁夏、青海和新疆的黑果枸杞的代表居群进行了遗传多样性研究, 揭示了该种在上述地区的遗传多样

性水平及其遗传结构, 为该区域的黑果枸杞的保护提供了重要资料。新疆是黑果枸杞的主要分布区, 主要分布在塔里木盆地及天山山麓。黑果枸杞也是在新疆利用较早的传统中草药之一。传统的采摘利用等已导致新疆野生黑果枸杞资源急剧减少, 对该种的保护已逐渐引起了当地政府的重视。但 Liu等^[17]对黑果枸杞居群遗传多样性的研究仅涵盖了分布在新疆西部及北部的代表地区, 而对黑果枸杞主要分布区的新疆南部地区的研究仍是缺乏。

本研究在前人研究的基础之上采用ISSR(Inter-simple sequence repeat)分子标记对分布在新疆南部(库尔勒地区)的黑果枸杞进行居群遗传多样性及其遗传结构分析, 同时与来源于甘肃的黑果枸杞的代表材料进行比较, 揭示南疆产黑果枸杞的遗传变异模式, 以期为该地区的黑果枸杞野生资源的保护和可持续利用提供可依据的资料。

1 材料与方法

1.1 实验材料

根据新疆南部地区黑果枸杞分布的地理状况, 作者于2012年7月在库尔勒地区共采集了6个野生黑果枸杞居群, 其中3个居群来自焉耆县焉耆盆地(居群XJ1~XJ3), 另3个居群来自和静县(XJ4~XJ6), 共采集85个植株, 其中在XJ2居群取10个样品, 其余居群均取15个样品。作者于2012年9月在甘肃永靖县黑果枸杞保护区采集了2个居群共30株黑果枸杞材料(GS7和GS8)作为对照。采样地点的地理位置、经纬度及各居群内所采集样品数见表1。本研究共采集了115个植株的幼叶样品, 样品用硅胶快速干燥, 带回实验室用于DNA提取。

1.2 DNA 提取与 ISSR-PCR 扩增

利用植物基因组DNA提取试剂盒提取参试材料的DNA, 试剂盒购于天根生物公司(提取方法参

表 1 研究材料的来源及每一居群的样品数目

Table 1 Locations and sample size of each studied population

居群 Population	地点 Location	经纬度 Latitude (N)/Longitude (E)	样品数目 Sample size
XJ1	新疆, 焉耆 Yanqi, Xinjiang	42°04'/86°05'	15
XJ2	新疆, 焉耆 Yanqi, Xinjiang	42°05'/86°17'	10
XJ3	新疆, 焉耆 Yanqi, Xinjiang	42°14'/86°28'	15
XJ4	新疆, 和静 Hejing, Xinjiang	42°27'/86°14'	15
XJ5	新疆, 和静 Hejing, Xinjiang	42°25'/86°51'	15
XJ6	新疆, 和静 Hejing, Xinjiang	42°18'/86°13'	15
GS7	甘肃, 永靖 Yongjing, Gansu	36°06'/103°17'	15
GS8	甘肃, 永靖 Yongjing, Gansu	36°05'/103°18'	15

照试剂盒说明)。

ISSR-PCR 反应体系 (25 μ L) 含有 15.5 μ L 双蒸水、2.5 μ L (2.5 mmol/L) dNTPs、2.5 μ L 10 \times PCR buffer (含 Mg^{2+})、0.5 μ L (2 U/ μ L) *Taq* Polymerase、1 μ L 引物 (25 pmol)、3 μ L 模板 (20 ng/ μ L)。PCR 反应在 PTC-100TM 扩增仪上进行, 反应参数为: 94°C 预变性 5 min; 94°C 变性 30 s, 55°C 复性 1 min, 72°C 延伸 2 min, 共 35 个循环; 72°C 延伸 10 min。反应产物在 1.5% 的琼脂糖凝胶上, 100 V 稳压电泳, 溴化乙锭处理后置于紫外光灯下检测, 用凝胶成像系统拍照, 将图像存入计算机待分析。

十聚体寡核苷酸随机引物购自上海生工生物工程公司(引物序列由加拿大 British Columbia 大学提供), PCR 试剂购于武汉益帆公司。本实验共选用了 60 个引物。随机选取 8 个(新疆 6 个和甘肃 2 个)DNA 样品进行引物筛选, 每个引物对 8 个 DNA 样品重复扩增 2 次。依据扩增结果, 对比可重复性、多态性后, 筛选确定出扩增效果良好的 7 个引物, 其序列见表 2。

1.3 数据统计分析

以 ISSR-PCR 产物电泳图谱中的每条 DNA 谱带作为 1 个单位, 如果有带则定为“1”, 没有带则

表 2 用于检测黑果枸杞遗传变异的 7 个有效引物名称及其碱基序列

Table 2 Name and base sequences of seven effective primers used for detecting genetic variation in *Lycium ruthenicum*

引物 Primers	序列 Sequences (5'-3')
822	(TC) ₈ A
823	(TC) ₈ C
824	(TC) ₈ G
843	(CT) ₈ (A/G)A
845	(CT) ₈ (A/G)G
853	(TC) ₈ (A/G)T
854	(TC) ₈ (A/G)G

定为“0”。采用 POPGENE Version 1.31 软件^[18]对黑果枸杞各个居群以及物种水平分别计算多态位点百分率 (percentage of polymorphic loci, *PPL*)、基因多样性 (*H*) 以及 Shannon 指数 (*I*)^[19]。

对黑果枸杞居群间、居群内以及区域间(新疆与甘肃)的分子变异进行分析(AMOVA)。以上分析采用 WINAMOVA 1.55 软件^[20]。该软件的输入文件由 AMOVA-PREP 软件^[21]制作。显著性检验是通过 1000 次置换。基于遗传分化系数 F_{ST} , 根据公式 $Nm \approx 0.5(1-F_{ST})/F_{ST}$ ^[22] 来估算居群的历史基因流。

利用 IBD 软件^[23]进行 Mantel 检验, 分析新疆居群间遗传距离与地理距离之间的相关性, 在分析中设定 10000 次数据随机选择。地理距离根据采样点的经纬度, 利用 PASSAGE 软件^[24]计算居群间的球面距离 (km)。采用 POPGENE Version 1.31 软件计算居群间 Nei 氏^[25]遗传距离。

根据 Nei 氏^[25]遗传距离系数, 利用 POPGENE 软件对黑果枸杞所有居群及利用 NTSYSpc 2.02 软件^[26]对所有样品分别进行 UPGMA (Unweighted pair-group method with arithmetic means, 非加权配对算数平均法) 聚类。

2 结果

2.1 ISSR 的扩增结果及居群遗传多样性

对从 60 个随机引物中筛选出的 7 个引物进行扩增, 共得到 64 条带, 其中 50 条表现出多态性, 占总条带数的 78.1%, 平均每个引物扩增的 DNA 条带数为 9.0 条。位点分子量范围均在 200 ~

1800 bp之间。在黑果枸杞的8个居群中,多态位点百分比率(*PPL*)在48.4%~71.9%之间变化,XJ1居群的多态位点百分比率最高,为71.9%;XJ2居群的多态位点百分比率最低为48.4%(表3)。Shannon多样性指数(*I*)结果显示在物种水平上的多样性指数为0.43,各居群的多样性指数在0.25~0.37之间变化,其中最高的为XJ1居群(0.37),最低为XJ2居群(0.25);黑果枸杞各个居群及物种水平上的基因多样性与其Shannon指数的结果基本相符(表3)。

表3 黑果枸杞的遗传多样性(括号内为标准误)

Table 3 Genetic diversity in populations of *Lycium ruthenicum* (numbers in parentheses are standard deviations)

居群 Population	多态位点百分率 <i>PPL</i> (%)	基因多样性 <i>H</i>	Shannon 指数 <i>I</i>
XJ1	71.9	0.25 (0.20)	0.37 (0.27)
XJ2	48.4	0.17 (0.19)	0.25 (0.28)
XJ3	62.5	0.24 (0.21)	0.35 (0.29)
XJ4	70.3	0.22 (0.18)	0.34 (0.26)
XJ5	59.4	0.22 (0.21)	0.32 (0.30)
XJ6	60.1	0.22 (0.21)	0.33 (0.30)
GS7	68.8	0.23 (0.19)	0.35 (0.27)
GS8	59.3	0.19 (0.19)	0.29 (0.27)
Species level	78.1	0.29 (0.19)	0.43 (0.27)

2.2 居群遗传分化

采用AMOVA对黑果枸杞8个居群的分析结果表明,居群间的基因分化系数 $F_{ST} = 0.230$,即总的变异中有23.0%的变异存在于居群间,居群内的遗传变异占总遗传变异的77.0%(表4)。黑果枸杞各居群间和居群内的变异均极显著($p < 0.001$)。基于遗传分化系数 F_{ST} 估算的居群历史基因流 $Nm = 1.67$ 。

2.3 居群间的遗传距离及其聚类

黑果枸杞8个居群间的遗传一致度在0.8184~0.9446之间变化,其中居群XJ1和XJ2间的遗传相似性最大,为0.9446;居群XJ5和GS8间的遗传相似性最小,为0.8184。8个居群的遗传距离在0.0570~0.1913之间变化(表5)。Mantel检验发现遗传距离和地理距离没有显著的相关性($r = 0.3602$, $p = 0.910$)(图1)。

采用POPOGENE软件对8个居群的遗传关系进行的UPGMA聚类结果表明:新疆6个居群聚为一支,甘肃2居群聚为另一支;新疆6个居群的遗传差异与实际的地理位置无关(图2)。采用NT-SYSpC软件对采集的115个黑果枸杞个体进行UPGMA聚类,结果表明:同一居群的个体不能完

表4 黑果枸杞分子变异的AMOVA分析结果

Table 4 AMOVA analyses of the genetic variances among populations of *Lycium ruthenicum*

变异来源 Source of variation	自由度 d. f.	标准差 SSD	变异组分 Variance component	占总变异百分率(%) Total variation	<i>p</i>
Among populations	7	279.1	2.254	23.0	< 0.001
Within populations	107	805.7	7.530	77.0	< 0.001

表5 黑果枸杞种群间遗传相似度(对角线上)和遗传距离(对角线下)

Table 5 Genetic identity (above diagonal) and genetic distance (below diagonal) between different populations of *Lycium ruthenicum*

Population	XJ1	XJ2	XJ3	XJ4	XJ5	XJ6	GS7	GS8
XJ1	****	0.9446	0.9202	0.9159	0.9147	0.9112	0.8771	0.8803
XJ2	0.0570	****	0.9295	0.9076	0.8611	0.8906	0.8698	0.8834
XJ3	0.0832	0.0731	****	0.9170	0.9067	0.9388	0.8259	0.8521
XJ4	0.0879	0.0970	0.0867	****	0.9191	0.9078	0.8637	0.8774
XJ5	0.0891	0.1496	0.0980	0.0843	****	0.9292	0.8353	0.8184
XJ6	0.0930	0.1159	0.0631	0.0968	0.0734	****	0.8432	0.8391
GS7	0.1311	0.1395	0.1913	0.1465	0.1800	0.1706	****	0.9383
GS8	0.1275	0.1239	0.1600	0.1308	0.2004	0.1754	0.0637	****

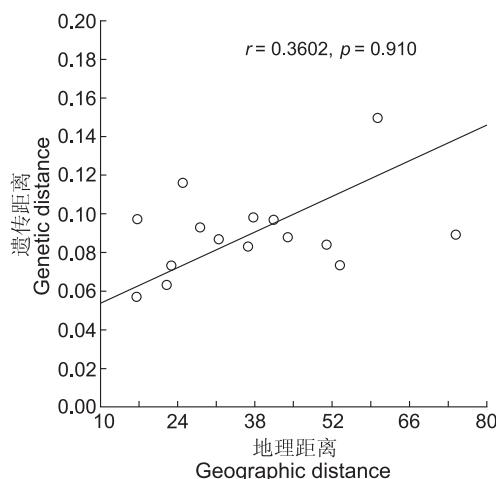


图 1 新疆黑果枸杞居群地理距离与遗传距离相关性的 Mantel 检验

Fig. 1 Correlation between geographical distance and genetic distance revealed by Mantel test

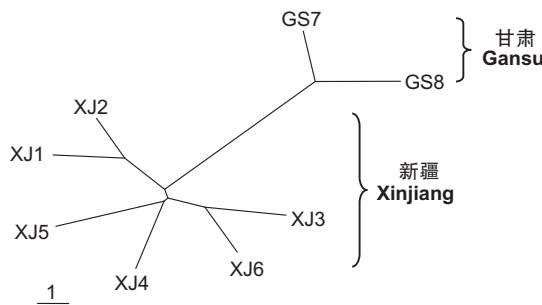


图 2 基于 Nei 遗传距离对 8 个居群进行的 UPGMA 聚类图

Fig. 2 UPGMA dendrogram of eight sampled populations of *L. ruthenicum* based on Nei's genetic distance

全聚在一起, 来自新疆和甘肃两区域的黑果枸杞材料也不能完全分开(图未显示)。

3 讨论

3.1 遗传多样性

本研究采用 7 个有效 ISSR 引物对黑果枸杞 8 个居群进行分析, 结果显示在物种水平上的多态位点百分率 (PPL) 为 78.1%, Shannon 多样性指数 (I) 为 0.43, 基因多样性 (H) 为 0.29。本研究结果与 Liu 等^[17]采用 SRAP 分子标记对来自甘肃、宁夏、青海和新疆 4 省区黑果枸杞代表居群的遗传多样性的研究结果一致 ($PPL = 85.04\%$; $H = 0.2112$; $I = 0.3329$)。通过与相关的研究进行比较^[11, 17, 27-29], 我们认为新疆南部产黑果枸杞居群目前拥有较高的遗传多样性水平。

黑果枸杞的传粉方式主要是虫媒和风媒, 其种子的传播主要靠鸟类和啮齿动物, 同时该种具有自交不亲和的特性^[17, 30, 31]。这些生活史特征使得黑果枸杞很可能具有以异交为主的繁育系统^[32, 33], 而异交的繁育系统被认为是物种维持较高遗传多样性水平的重要因素^[28, 34-36]。另外, 尽管目前黑果枸杞的野生资源渐渐减少, 但导致黑果枸杞目前野生资源减少的主要原因是人们近期过度的采摘以及生境的恶化^[1, 6], 这些干扰目前很可能只是影响该种局部地区内黑果枸杞的数量及其遗传多样性; 就该种在中国西北部分布的整体而言, 该种的分布区范围还较大^[1], 另外该种是多年生的灌木, 生命周期较长, 较大的分布区范围以及较长的生活周期有利于该物种维持一定的遗传多样性水平^[11, 28]。因此, 在物种水平上黑果枸杞的遗传多样性目前很可能还没有严重受到当前生境丧失和人为破坏的影响^[17]。

3.2 居群遗传结构与基因流

通过对黑果枸杞居群间和居群内的 AMOVA 分析, 结果发现其遗传变异主要存在于居群内(占总变异的 77.0%)。本研究结果与 Liu 等^[17]的研究一致(居群间的遗传变异仅占总变异的 15.55%), 即黑果枸杞居群间遗传分化较小。如前所述, 黑果枸杞主要由昆虫和风传粉, 其种子主要靠鸟类和啮齿动物传播^[17, 30], 而这种传粉方式及种子传播方式有利于居群间基因流的发生。一般来说木本植物基因流的大小主要决定于花粉流或种子流^[37]。基因流根据 Nm 的大小可划分为高 (≥ 1.0)、中 ($0.250 \sim 0.99$)、低 ($0.0 \sim 0.249$) 三个等级水平^[38]。基因流 Nm 的数值与居群间的基因分化呈负相关, 即基因流越大的物种, 居群之间的遗传分化越小, 大的基因流可以阻止居群间的遗传分化。根据 F_{ST} 值, 我们推算出黑果枸杞居群间的基因流 $Nm = 1.67$, 表明黑果枸杞居群间存在较高的基因流, 较高的基因流很可能防止由遗传漂变引起的黑果枸杞居群之间的遗传分化。

对新疆南部产的 6 个居群的黑果枸杞进行的 Mantel 检验发现遗传距离和地理距离没有显著的相关性 ($r = 0.3602$, $p = 0.910$), 表明地理距离在黑果枸杞新疆居群遗传分化中的作用不太明显。根

据居群间的遗传相似度的计算以及居群间的 UPGMA 聚类, 结果也表明地理距离较近的居群并不总是遗传相似性也高或聚类在一起。总体而言, 对于新疆居群, 本研究所取材料的范围还较小, 主要集中在野生资源分布相对集中的库尔勒地区(和静县和焉耆县), 各个居群间没有明显的高山或地理阻隔, 居群间的基因交流可能相对比较容易, 从而使各个居群间的地理隔离或遗传分化不明显。新疆黑果枸杞所有个体间 UPGMA 聚类结果也表明, 同一居群的个体不能完全聚在一起, 进一步支持居群间有基因流的发生。居群间的 UPGMA 聚类表明, 新疆居群和甘肃居群各自聚为一支, 体现出在较大范围上地理隔离对黑果枸杞遗传分化的影响。Liu 等^[17]通过对 4 个省区黑果枸杞代表居群的遗传距离和地理距离相关性检验中也发现两者之间有较为明显的正相关关系。由于本研究在较大范围内所取的研究材料有限, 目前只在甘肃取了 2 个居群进行遗传多样性分析, 而在 Mantel 检验中未包括甘肃居群。对所取的所有黑果枸杞样品进行的 UPGMA 聚类分析中, 我们发现来自新疆或甘肃的个体并不能完全各自聚在一起, 表明两区域间的黑果枸杞之间可能有一定的基因流, 但考虑到目前两区域间的地理距离较远, 当前阻隔基因流的因素较多^[39,40], 因此, 这两区域间可能存在的基因流很可能是历史上具有较近亲缘关系个体的扩散迁移所致。

3.3 新疆南部黑果枸杞资源的保护

综上所述, 目前新疆南部黑果枸杞居群仍维持着较高的遗传多样性水平, 居群间的遗传分化也较小。这些遗传多样性是该物种适应环境以及进化的基础, 是该种避免灭绝而长期生存的前提^[41,42], 同时也能为我们进一步开发利用黑果枸杞提供优良的种质资源。尽管目前人为的砍伐采摘活动及生境的恶化还没有严重影响到该种的遗传多样性, 但若不能有效阻止环境恶化和人为活动的破坏, 势必会加速黑果枸杞野生居群的片断化, 居群规模会进一步减小。由此也必将引起居群遗传漂变的发生, 从而会导致当前丰富的遗传多样性的大量丧失^[42], 进而会影响到该物种的生存及可利用的优异种质资源的丧失。考虑到导致黑果枸杞野生资源丧失的最主要的原因是人为的砍伐采摘及生境的破坏, 我们

建议应尽快建立黑果枸杞保护区, 禁止砍伐, 保护更多的黑果枸杞赖以生存的生境; 庆幸的是目前第一个黑果枸杞保护区已在甘肃的永靖县建立起来; 对于新疆黑果枸杞资源的保护, 也已引起了当地政府的重视, 设立了专项经费开展黑果枸杞野生资源的保护和可持续利用方面的研究, 本研究即为该专项研究工作的一部分。由于目前对黑果枸杞的生物学研究还较少, 我们也建议进一步加强对该种的繁殖生物学、保护遗传学及生理生态学等方面的研究, 为该种的保护及可持续利用提供依据。

致谢: 感谢新疆巴州哈力馨蒙医药科技开发有限公司哈希巴特尔、巴特尔和巴都木在野外调查和样品采集过程中的帮助; 感谢中国科学院武汉植物园谢双哲和孙姗姗硕士以及杜智渊博士在实验过程中给予的帮助。

参考文献:

- [1] 陈海魁, 蒲凌奎, 曹君迈, 任贤. 黑果枸杞的研究现状及其开发利用[J]. 黑龙江农业科学, 2008(5): 155-157.
- [2] 杨志江, 李进, 李淑珍, 张尧, 陵林辉. 不同钠盐胁迫对黑果枸杞种子萌发的影响[J]. 种子, 2008, 27(9): 19-22.
- [3] 姜霞, 任红旭, 马占青, 郭军战. 黑果枸杞耐盐机理的相关研究[J]. 北方园艺, 2012(10): 19-23.
- [4] 李进, 原惠, 曾献春, 韩彬, 时德红. 黑果枸杞色素的毒理学研究[J]. 食品科学, 2007, 28(7): 470-474.
- [5] 李淑珍, 李进, 杨志江, 等. 黑果枸杞类黄酮的提取和精制工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2008, 29(8): 82-87.
- [6] 甘青梅, 骆桂法, 李普衍, 卓玛东珠, 陈岳蓉, 左振常. 藏药黑果枸杞开发利用的研究[J]. 青海科技, 1997, 4(1): 17-19.
- [7] 矫晓丽, 迟晓峰, 董琦, 肖远灿, 胡凤祖. 柴达木野生黑果枸杞营养成分分析[J]. 氨基酸和生物资源, 2011, 33(3): 60-62.
- [8] 姚霞, 许利嘉, 肖伟, 彭勇, 肖培根. 不同枸杞子中枸杞多糖的含量分析[J]. 医药导报, 2011, 30(4): 426-428.
- [9] 葛颂, 洪德元. 遗传多样性及其检测方法[M]//钱迎倩, 马克平主编. 生物多样性研究的原理与方法. 北京: 中国科学技术出版社, 1994: 123-140.
- [10] Lande R. Genetics and demography in biological

- conservation[J]. *Science*, 1988, 241: 1455–1460.
- [11] Hamrick J L, Godt M J W. Effects of life history traits on genetic diversity in plant species[J]. *Philos Trans B*, 1996, 351: 1291–1298.
- [12] Meffe G K, Carroll C R. Principles of Conservation Biology [M]. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, Inc, 1997.
- [13] 李军, 郭晏海, 秦雪梅. DNA 随机扩增多态性分析技术在枸杞道地药材鉴别中的应用[J]. 中医药研究, 2002, 18(3): 48–49.
- [14] 魏玉清, 许兴. 不同地区主要栽培宁夏枸杞品种的 RAPD 分析[J]. 西北农林科技大学学报, 2007, 35(1): 91–95.
- [15] 尚洁, 李收, 张靠稳. 宁夏枸杞遗传多样性的 RAPD 分析[J]. 植物研究, 2010, 30(1): 116–119.
- [16] 尚洁, 思彬彬. 宁夏枸杞主要栽培品种的 DNA 多态性分析[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(6): 2801–2802, 2805.
- [17] Liu Z G, Shu Q Y, Wang L, Yu M F, Hua Y P, Zhang H G, Tao Y D, Shao Y. Genetic diversity of the endangered and medically important *Lycium ruthenicum* Murr. revealed by sequence-related amplified polymorphism (SRAP) markers[J]. *Biochem Syst Ecol*, 2012, 45: 86–97.
- [18] Yeh F, Yang R C, Boyle T. POPGENE. A User-Friendly Shareware for Population Genetic Analysis [M]. Edmonton: Molecular and Biotechnology Center, University of Alberta, 1997.
- [19] Lewontin R C. The apportionment of human diversity[J]. *Evol Biol*, 1972, 6: 381–398.
- [20] Excoffier L. Analysis of Molecular Variance (AMOVA) version 1.55 [M]. Switzerland: Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, 1993.
- [21] Miller M P. AMOVA-PREP. A Program for the Preparation of AMOVA Input Files from Dominant-marker Raw Data, release 1.01 [M]. Flagstaff, AZ: Department of Biological Sciences, Northern Arizona University, 1998.
- [22] McDermott J, McDonald B. Gene flow in plant pathosystems[J]. *Annu Rev Phytopathol*, 1993, 31: 353–373.
- [23] Bohonak A J. IBD (Isolation by Distance): a program for analyses of isolation by distance[J]. *J Hered*, 2002, 93: 153–154.
- [24] Rosenberg M S. PASSAGE. Pattern Analysis, Spatial Statistics, and Geographic Exegesis. Version 1.1 [M]. Tempe, AZ: Department of Biology, Arizona State University, 2001.
- [25] Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals[J]. *Genetics*, 1978, 89: 583–590.
- [26] Rohlf F J. NTSYSpc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, Version 2.02 [M]. New York: Exeter Software, Setauket, 1998.
- [27] Cheng K T, Chang H C, Huang H, Lin C T. RAPD analysis of *Lycium barbarum* medicine in Taiwan market[J]. *Bot Bull Acad Sinica*, 2000, 41: 11–14.
- [28] Nybom H, Bartish I V. Effects of life history traits and sampling strategies on genetic diversity estimates obtained with RAPD markers in plants[J]. *Perspect Plant Ecol Evol Syst*, 2000, 3: 93–114.
- [29] Zhao W G, Chung J W, Cho Y I, Rha W H, Lee G A, Ma K H, Han S H, Bang K H, Park C B, Kim S M, Park Y J. Molecular genetic diversity and population structure in *Lycium* accessions using SSR markers[J]. *C R Biol*, 2010, 333: 793–800.
- [30] Borba E L, Semir J, Shepherd G J. Self-incompatibility, inbreeding depression and crossing potential in five Brazilian *Pleurothallis* (Orchidaceae) species[J]. *Ann Bot*, 2001, 88: 89–99.
- [31] Savage A E, Miller J S. Gametophytic self-incompatibility in *Lycium parishii* (Solanaceae): allelic diversity, genealogical structure, and patterns of molecular evolution at the S-RNase locus[J]. *Heredity*, 2006, 96: 434–444.
- [32] Levin R A, Miller J S. Relationships within tribe Lycieae (Solanaceae): paraphyly of *Lycium* and multiple origins of gender dimorphism[J]. *Am J Bot*, 2005, 92: 2044–2053.
- [33] Li Y L, Fan Y F, Dai G L, An W, Cao Y L. Analysis of genetic diversity for wolfberry germplasms by AFLP technology[J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2011, 4: 770–773.
- [34] Hamrick J L. Plant population genetics and evolution[J]. *Am J Bot*, 1982, 69: 1685–1693.
- [35] Hamrick J L, Godt M J W. Allozyme diversity in

- plant species [M]// Brown A H D, Clegg M T, Kahler A L, Weir B S, eds. *Plant Population Genetics, Breeding and Genetic Resources*. Sunderland: Sinauer Associates Inc, 1989: 43–63.
- [36] Nybom H. Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants [J]. *Mol Ecol*, 2004, 13: 1143–1155.
- [37] Ennos R A. Estimating the relative rates of pollen and seed migration among plant populations [J]. *Heredity*, 1994, 72: 250–259.
- [38] Govindaraju D R. Relationship between dispersal ability and levels of gene flow in plants [J]. *Oikos*, 1988, 52: 31–35.
- [39] Zhang H, Wu J W, Zheng Q H, Yu Y J. A preliminary study of oasis evolution in the Tarim Basin, Xinjiang, China [J]. *J Arid Environ*, 2003, 55: 545–553.
- [40] Chen Y N, Zilliacus H, Li W H, Zhang H F, Chen Y P. Ground-water level affects plant species diversity along the lower reaches of the Tarim River, Western China [J]. *J Arid Environ*, 2006, 66: 231–246.
- [41] Schaal B A, Leverich W J, Rogstad S H. A comparison of methods for assessing genetic variation in plant conservation of rare plants [M]// Falk D A, Holsinger K E, eds. *Genetics and Conservation of Rare Plants*. New York: Oxford University Press, 1991: 123–134.
- [42] Ellstrand N C, Elam D R. Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation [J]. *Ann Rev Ecol Syst*, 1993, 24: 217–242.

(责任编辑: 张平)

欢迎订阅 2014 年《植物科学学报》

双月刊 大 16 开 国内定价 50 元 全年 300 元

邮发代号 38-103(国内) BM872(国外)

刊号 CN 42-1817/Q ISSN 2095-0837

《植物科学学报》是中国科学院主管、中科院武汉植物园主办、科学出版社出版、国内外公开发行的植物学综合性学术期刊, 主要刊载植物学及各分支学科的原始研究论文。

栏目设置: 特邀综述、系统与进化、生态与生物地理、遗传与育种、生理与发育、资源与植物化学、技术与方法、研究快报、学术讨论、重要书刊评介和学术动态等。

读者对象: 科研院所和高等院校从事植物科学的研究人员、教师和研究生, 以及相关学科、交叉学科的科技工作者。

《植物科学学报》为中国自然科学核心期刊, 已被中国科学引文数据库核心库、《中文核心期刊要目总览》、中国科技论文与引文数据库、中国生物学文献数据库、中国核心期刊(遴选)数据库、中国知识资源总库《中国科技期刊精品数据库》、中国期刊全文数据库、《中国药学文摘》、美国《化学文摘》、美国《生物学文摘》、美国《剑桥科学文摘: 自然科学》、俄罗斯《文摘杂志》、日本《科学技术文献速报》、英国《国际农业与生物科学研究中心》文摘、波兰《哥白尼索引》、万方数据——数字化期刊群、中国学术期刊(光盘版)等二十多种国内外检索期刊、数据库作为核心期刊或统计源期刊收录。本刊相继获全国优秀科技期刊奖、中国科学院优秀期刊奖、湖北省优秀期刊奖、湖北省科协“科技创新源泉工程”优秀科技期刊奖。

本刊已开通了网站和远程稿件管理系统(<http://www.plantscience.cn>), 目前本刊所有过刊及现刊已全部上网, 欢迎广大新老作者和读者在线投稿、查询使用过刊, 继续关注和支持本刊。

订阅方式: ①全国各地邮局均可订阅(邮发代号: 38-103); ②直接与本刊编辑部联系订阅(免收邮挂费)。

通讯地址: 武汉市武昌磨山中科院武汉植物园内《植物科学学报》编辑部, 邮编: 430074

电话: 027-87510755, 027-87510579; **QQ:** 424353337

E-mail: editor@wbgcas.cn; zwkxbjb@wbgcas.cn

http: <http://www.plantscience.cn>

欢迎赐稿, 欢迎订阅, 欢迎刊登广告