

doi: 10.3969/j.issn.0490-6756.2019.01.028

# 濒危植物五小叶槭(*Acer pentaphyllum* Diels) 天然种群遗传多样性的 ISSR 标记分析

郝云庆<sup>1</sup>, 罗晓波<sup>2</sup>, 王晓玲<sup>3</sup>

(1. 成都信息工程大学资源环境学院, 成都 610225; 2. 四川省自然资源科学研究院, 成都 610041;  
3. 凉山州劳动职业技术学校, 西昌 615000)

**摘要:** 五小叶槭(*Acer pentaphyllum* Diels)是中国四川特有野生珍稀濒危植物,仅分布于雅砻江中上游干旱河谷地带;探索其遗传多样性特征可以为遗传资源的保护和利用提供理论依据. 本文采用 ISSR 技术对五小叶槭的 5 个野生种群的 44 份材料进行遗传多样性分析,8 条引物总共检测到 38 个位点,其中多态性位点 35 个,多态位点百分率(PPL)平均为 90.21%. 应用分析软件 Popgen32 分析得出:在物种水平上,五小叶槭的香农多样性指数( $I$ )为 0.3924, Nei 氏基因多样性指数( $H_c$ )为 0.2498;种群间基因分化系数( $G_{st}$ )为 0.3722,种群间的基因流( $N_m$ )为 0.8433,这表明五小叶槭的遗传变异主要存在于种群内. 在种群水平上,香农多样性指数( $I$ )为 0.2125, Nei 氏基因多样性指数( $H_c$ )为 0.1456. 结果表明木里、九龙三垭宫和康定这 3 个种群的遗传多样性水平较高,而雅江和九龙洛莫种群遗传多样性较低. 通过 Mantel 检测,种群间遗传距离和地理距离之间没有显著相关性.

**关键词:** 五小叶槭; ISSR; 遗传多样性; 种群

**中图分类号:** Q949      **文献标识码:** A      **文章编号:** 0490-6756(2019)01-0161-06

## Genetic diversity of the endangered *Acer pentaphyllum* Diels by ISSR analysis

HAO Yun-Qing<sup>1</sup>, LUO Xiao-Bo<sup>2</sup>, WANG Xiao-Lin<sup>3</sup>

(1. College of Resources and Environment, Chengdu University of Information Technology, Chengdu, 610225, China;  
2. Sichuan Academy of Natural Resource Sciences, Chengdu 610041, China;  
3. Liangshan Vocational and Technical School, Xichang 615000, China)

**Abstract:** *Acer pentaphyllum* is rare and endangered plant endemic to Sichuan Province, China. This species is only distributed in the arid valley area of the upper and middle reaches of Yalong River. Exploring its genetic diversity characteristics can provide a theoretical basis for the protection and utilization of its genetic resources. In the paper, genetic diversity and genetic structure of 5 *Acer pentaphyllum* Diels populations from Sichuan (total about 44 individuals) were analyzed by ISSR (inter simple sequence repeat) markers. Eight highly stable and repeatable ISSR primers were used to detect a total of 38 loci, of which 35 were polymorphic sites (90.21% of the total). At the species level, the Shannon index ( $I$ ) was 0.3924, Nei's gene diversity index ( $H_c$ ) was 0.2498, the coefficient of gene differentiation ( $G_{st}$ )

收稿日期: 2018-01-01

基金项目: 四川省科技厅科技支撑计划(2014NZ0109); 成都信息工程大学科研基金项目(KYTZ201746)

作者简介: 郝云庆(1976-), 男, 副教授, 主要从事环境保护监测与生物多样性保护等研究工作. E-mail: Haoyunqing@cuit.edu.cn

通讯作者: 罗晓波. E-mail: aaaaluoxiaobo@163.com

was 0.3722, and the gene flow ( $Nm$ ) was 0.8433. The software Popgen 32 analysis of the results showed that the genetic variation mainly existed in the population. At the population Level,  $I$  and  $H_e$  were 0.2125 and 0.1456, respectively. All of these results showed that Muli, Sanyagong and Kangding population had higher levels of genetic diversity, while Yajiang and Luomo had lower genetic diversity. The mantel analysis showed no significant correlation between genetic distance and geographic distance.

**Keywords:** *Acer pentaphyllum* Diels; ISSR; Genetic diversity; Population

## 1 引言

五小叶槭(*Acer pentaphyllum* Diels)最早是 1929 年洛克(J. F. Rock)在木里发现的,它是中国四川的特有物种,在 1931 年由德国的 Diels 教授命名.而五小叶槭的颜色绚丽、树形优美使其成为世界上最具观赏价值的槭树种类之一<sup>[1,2]</sup>.迄今为止,四川省的雅江县、康定县、九龙县和木里县的雅鲁江河谷地带的部分区域中仅残存分布有五小叶槭.人为对五小叶槭种群的干扰较为严重,五小叶槭已满足 IUCN 濒危等级标准(IUCN 1994)中极危物种的标准,处在灭绝的边缘,急需要进行抢救性保护<sup>[3,4]</sup>.

遗传多样性是物种维持繁殖活力和适应环境变化的基础,同时也是其他所有多样性的基础和最重要的部分,濒危植物的遗传多样性的研究是揭示濒危机制的一个重要方面.对濒危植物遗传多样性的研究不仅能了解物种的进化历史以及濒危机制,而且关系到能否采取科学有效的措施来保护濒危物种,而分子标记可在分子水平上直接反应物种遗传多样性<sup>[5-9]</sup>.目前常用的分子标记有 RFLP、RAPD、SSR、CAPS 和 ISSR 等<sup>[10,11]</sup>.Zietkiewicz 等在 1994 年提出简单序列重复区间扩增多态性(Inter Simple Sequence Repeat, ISSR),是由简单重复序列(SSR)基础上发展起来的一种新型标记<sup>[12-14]</sup>.它综合了其他分子标记技术的优点,比 RFLP、RAPD 和 SSR 反映更丰富的多态性;ISSR

分子标记为显性标记,稳定性较好,无需知道物种 SSR 背景,一套 ISSR 引物可以在多个物种中共用;其操作简单、快速和高效,退火温度较高(52—55℃),保证 PCR 扩增反应的重复性<sup>[15-18]</sup>.因而,ISSR 分子标记技术已经被广泛用于品种鉴定及分类、亲缘关系鉴定和遗传多样性分析当中,尤其是针对濒危植物遗传多样性的研究<sup>[19-22]</sup>.本研究拟采用 ISSR 分子标记技术对五小叶槭 5 个自然种群进行分析,以期揭示五小叶槭自然种群的遗传结构和遗传多样性水平,揭示其濒危原因的以及保护措施的制定提供理论依据.

## 2 材料与方法

### 2.1 实验材料

材料分别来自于木里县卡拉乡,康定县普沙绒乡,九龙县三岩龙乡三垭宫和呷尔镇洛莫村,以及雅江县米龙乡 5 个五小叶槭自然种群.在野外采集的五小叶槭新鲜叶片立即放入装有硅胶的密封袋中,并记录各种群的个体数和地理位置(表 1).将采集完的五小叶槭材料带回实验室,保存于-20℃冰箱中备用.

### 2.2 实验方法

2.2.1 五小叶槭基因组 DNA 提取与检测 采用购买于北京擎科新业生物技术有限公司的植物基因组 DNA 试剂盒提取五小叶槭基因组 DNA.利用 0.8%的琼脂糖凝胶电泳检测提取的五小叶槭基因组 DNA 质量.

表 1 五小叶槭种群采样信息及样本大小

Tab.1 Materials used in the study

种群 Population	采样地点 Location	纬度 Latitude(N)	经度 Longitude(E)	海拔 Elevation/m	取样数 Sample size
木里 Muli	木里县卡拉乡卡拉村	28.35431	101.31257	2693	4
三垭宫 Sanyagong	九龙县三岩龙乡白杨坪村	28.74032	101.24645	2620	12
洛莫 Luomo	九龙县呷尔镇洛莫村	28.88139	101.58118	3070	13
康定 Kangding	康定县普沙绒乡窝吉	29.43033	101.26438	2820	7
雅江 Yajiang	雅江县米龙乡隆冬村	29.81632	101.10803	2806	8

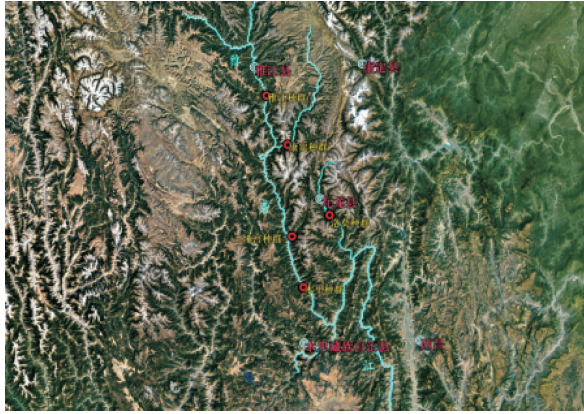


图 1 五小叶槭采集地点示意图  
Fig. 1 Collection site schematic

2.2.2 ISSR-PCR 扩增 前期实验对加拿大哥伦比亚大学(UBC)公布的第 9 套 ISSR 引物序列进行筛选和 ISSR 反应体系优化,筛选出 8 条结果稳定,扩增条带清晰的 ISSR 引物(表 2),引物由北京擎科新业生物技术有限公司合成。25 $\mu$ L PCR 反应体系为: DNA 模板(50ng/ $\mu$ L) 1 $\mu$ L, ISSR 引物 2 $\mu$ L, 2 $\times$  Taq Master Mix 13.5 $\mu$ L; PCR 反应程序为:在 94 $^{\circ}$ C 预变性 5min, 94 $^{\circ}$ C 变性 30s,  $T_m$  退火 30s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 1min30s, 总共 35 个循环, 72 $^{\circ}$ C 总延伸 5min, 8 $^{\circ}$ C 保存。扩增 PCR 产物用 2% 琼脂糖凝

胶进行电泳 1h, 在 Bio-Rad 凝胶成像系统拍照并命名保存实验数据。

2.2.3 数据处理与分析 统计各 ISSR 引物的电泳条带, 采取 0/1 记录的方法, 各位点有带记为 1, 无带记为 0, 得到所有位点“0/1”型矩阵。通过 POPGENE 32 计算扩增产物的总条带数和多态性条带数量, 计算多态性条带所占的百分比(PPL)以及 Shannon 信息指数(I)、等位基因数( $N_a$ )、有效等位基因数( $N_e$ )、Nei's 遗传多样性(H), 并采用 UPMEGA 进行聚类分析, 同时也利用分子方差分析(AMVOA)计算种内和种间遗传变异系数。

### 3 结果与分析

#### 3.1 不同引物检测的位点数和多带性

前期实验从 100 条 ISSR 引物中共筛选出 8 条扩增谱带清晰并呈多态性的引物, 对五小叶槭 5 个种群 44 个个体进行扩增(表 2)。8 条引物总共检测到 38 个位点, 其中多态性位点 35 个, 多态位点百分率(PPL)为 66.7% ~ 100%, 平均 90.21%。每条引物扩增出的位点数 3 到 7 个不等, 平均为 4.75 个, 而平均多态位点为 4.38 个。扩增产物的分子量大多在 200~1000 bp 之间。

表 2 ISSR 引物序列及其扩增结果

Tab. 2 The sequences and amplification results of 8 ISSR primers

引物 Primer	序列 Sequence(5' $\rightarrow$ 3')	扩增条带数 No. of amplified bands	多态条带数 No. of polymorphic bands	多态条带百分率(%) Percentage of polymorphic bands	退火温度 Annealing temperature( $^{\circ}$ C)
UBC807	(AG) $_8$ T	7	7	100	52
UBC809	(AG) $_8$ G	4	3	75	54
UBC812	(GA) $_8$ A	4	4	100	58
UBC817	(CA) $_8$ A	4	4	100	54
UBC826	(AC) $_8$ C	7	7	100	50
UBC829	(TG) $_8$ C	4	4	100	54
UBC840	(GA) $_8$ YT	5	4	80	52
UBC841	(GA) $_8$ YC	3	2	66.7	52
总计 Total		38	35	90.21	

#### 3.2 种群遗传多样性

在物种水平上, 五小叶槭的等位基因数( $N_a$ )为 1.9211, 有效等位基因数( $N_e$ )为 1.3965, 多态位点百分率(PPL)为 92.11%, Nei 氏基因多样性指数( $H_c$ )为 0.2498, 香农多样性指数(I)为 0.3924(表 3)。

在种群水平上, 等位基因数( $N_a$ )的变化范围为 1.2105 ~ 1.6316, 平均为 1.4211; 有效等位基

因数( $N_e$ )变化范围为 1.1361 ~ 1.5067, 平均为 1.3086; 多态位点百分率(PPL)的变化范围为 21.05% ~ 63.16%, 平均为 42.11%; Nei 氏基因多样性指数( $H_c$ )的变化范围为 0.0771 ~ 0.2755, 平均为 0.1456, 香农多样性指数(I)的变化范围为 0.114 ~ 0.3944, 平均为 0.2125。  $N_a$ 、 $N_e$ 、 $H_c$  和 I 均以木里种群的最大, 雅江种群的最小。木里、九龙三垭宫和康定这 3 个种群的遗传多样性水较高, 而雅

江和九龙洛莫种群遗传多样性较低(表 3)。

表 3 五小叶槭种群遗传多样性

Tab. 3 Genetic diversity among the population of *Acer pentaphyllum*

种群	等位基因数	有效等位基因数	Nei 氏遗传多样性	Shannon 信息指数	多态位点	多态位点百分率/%
Population	$N_a$	$N_e$	$H_e$	$I$	No. of polymorphic loci	Percentage of polymorphic loci
木里 Muli	1. 5263	1. 4019	0. 2217	0. 3202	20	52. 63
康定 Kangding	1. 6316	1. 5067	0. 2755	0. 3944	24	63. 16
三垭宫 Sanyagong	1. 4737	1. 3585	0. 2006	0. 2902	18	47. 37
洛莫 Luomo	1. 2632	1. 1396	0. 0828	0. 1256	10	26. 32
雅江 Yajiang	1. 2105	1. 1361	0. 0771	0. 1141	8	21. 05
平均 Mean	1. 4211	1. 3086	0. 1715	0. 2489	16	42. 11
物种 Species	1. 9211	1. 3965	0. 2489	0. 3924	35	92. 11

### 3.3 五小叶槭的种群遗传分化

五小叶槭种群基因多样性 Nei 氏分析结果是:总的基因多样性( $H_t$ )为 0. 2733(标准差 0. 0258),种群内基因多样性( $H_s$ )和种群间基因多样性( $D_{st}$ )分别为 0. 1715(标准差 0. 0128)和 0. 1018,种群间基因分化系数( $G_{st}$ )为 0. 3722, $H_s$  和  $D_{st}$  分别占  $H_t$  的 62. 75%、37. 25%,这表明五小叶槭的遗传变异主要存在于种群内。五小叶槭种群间的基因流( $N_m$ )为 0. 8433。

同时,运用 AMOVA 分析的结果反映出相类似的结论,在总的遗传变异中,63. 80%的变异发生在种群内,36. 20%( $\Phi_{st} = 0. 362$ )的变异发生在种群间,但种群间的遗传变异达到极显著水平( $P < 0. 01$ )。

### 3.4 种群间的遗传距离和遗传一致度

五小叶槭 5 个种群两两之间的遗传距离和遗传一致度(表 4)的范围分别 0. 0757~0. 2020 和 0. 817~0. 9271,平均值分别为 0. 1460 和 0. 8648。其中九龙三垭宫种群和洛莫种群遗传一致度最大(0. 9271),遗传距离最小(0. 0757);木里种群和雅江种群遗传一致度最小(0. 8171),遗传距离最大(0. 2020)。在 UPGMA 聚类图中(图 3),九龙三垭宫种群和洛莫种群聚在一起,木里种群和康定聚在一起,这四个种群聚成一大枝,最终才与雅江种群聚在一起。通过 Mantel 检测,种群间遗传距离和地理距离之间没有显著相关性( $r = 0. 3808$ ,  $P > 0. 05$ )。

表 4 五小叶槭 5 个种群的遗传一致度(对角线上方)和遗传距离(对角线下方)

Tab. 4 Nei's unbiased measures of genetic identity (above diagonal) and genetic distance (below diagonal)

种群 Population	木里 Muli	三垭宫 Sanyagong	雅江 Yajiang	康定 Kangding	洛莫 Luomo
木里 Muli	—	0. 8368	0. 8171	0. 8931	0. 8387
三垭宫 Sanyagong	0. 1781	—	0. 8374	0. 8947	0. 9271
雅江 Yajiang	0. 2020	0. 1775	—	0. 8737	0. 8507
康定 Kangding	0. 1130	0. 1112	0. 1350	—	0. 8784
洛莫 Luomo	0. 1759	0. 0757	0. 1618	0. 1296	—

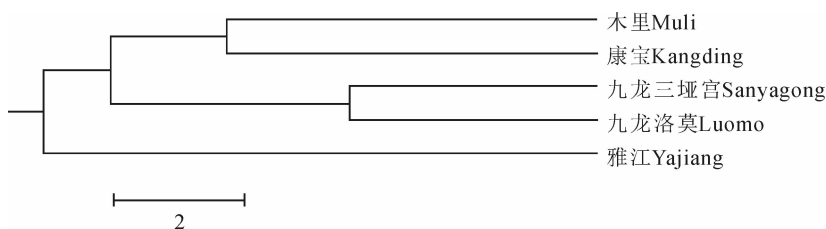


图 3 基于 Nei 氏遗传距离的五小叶槭种群 UPGMA 聚类图

Fig. 3 Dendrogram of UPGMA cluster analysis based on Nei's genetic distances among 5 population of *Acer pentaphyllum*

## 4 讨 论

### 4.1 五小叶槭的遗传多样性

遗传多样性的准确评价对种群(或物种)有助于分析其进化潜力和预测其未来命运,同时是生物生存(适应)和发展(进化)的前提,在物种种质资源的保护和利用上有重要的指导意义<sup>[23,24]</sup>. 本研究中发现,在 5 个自然分布的五小叶槭种群的遗传多样性水平差异比较大, $PPL=21.05\%-63.16\%$ , $H_e=0.0771-0.2755$ , $H_o=0.114-0.344$ . 相对而言,五小叶槭在物种水平上还保持着较高的遗传多样性( $PPL=92.11\%$ , $H_e=0.2498$ , $H_o=0.3924$ ). 改变植物种群遗传多样性是内部因素和外部因素彼此联系和协调导致的,其中内部因素包括物种的繁育系统、遗传漂变、基因突变和基因流等,而外部因素包括由于环境变化和人为干扰引起的种群隔离、生境片段化等<sup>[25,26]</sup>.

一般而言种群内遗传多样性下降是由于种群变小及隔离增加了种群内的亲缘个体之间的交配机会,使遗传漂变和近交的作用增加,进而导致种群内遗传多样性的丧失. 因此可以推断最初五小叶槭可能是具有较丰富的遗传多样性的,但是随着人类活动的不断干扰,五小叶槭生境片段化加剧,导致五小叶槭各种群的个体数目和分布范围变小从而使得种群水平的遗传多样性下降,然而在物种水平由于祖先具有较高的遗传多样性,使得五小叶槭遗传多样性在物种水平仍然还保持着较高的多样性. 当然,新种形成、繁育系统、形态突变、多次奠基者效应等也是导致物种水平上具有较高水平遗传多样性的因素<sup>[27-29]</sup>,而这些因素如何影响五小叶槭物种水平的遗传多样性则还有待于更进一步的深入研究.

### 4.2 五小叶槭种群的遗传结构与分化

Nei 氏遗传多样性分析和 AMOVA 分析均表明,五小叶槭的遗传变异主要存在于种群内,其自然种群间的遗传分化程度( $G_{st}=0.3722$ , $\Phi_{st}=0.362$ )高于 Nybom<sup>[30]</sup>所统计的基于 ISSR 标记研究的植物的平均分化水平( $G_{st}=0.34$ , $\Phi_{st}=0.350$ ). 然而, Wright<sup>[31]</sup>认为分化指数( $\Phi_{st}$  相当于分化指数)介于 0~0.05 之间说明种群间分化很弱,0.05~0.15 之间表示中等分化,0.15~0.25 之间表示分化大,大于 0.25 表明分化极大,本研究结果  $\Phi_{st}$  为 0.3620,说明五小叶槭种群间遗传分化极大. 由于人类活动干扰使种群数量及规模逐渐缩

小,种群之间的地理距离增加,这也给种群间的基因交流带不利影响. 物种种群间的基因交流受到限制后,其种群间的遗传分化水平也会相应的增大. 在本研究中,九龙三垭宫种群和洛莫种群聚在一起,木里种群和康定聚在一起,这四个种群聚成一大枝,最终才与雅江种群聚在一起. 通过 Mantel 检测,种群间遗传距离和地理距离之间没有显著相关性( $r=0.3808$ , $P>0.05$ ).

### 4.3 五小叶槭的保护及利用

五小叶槭在种群水平上表现出中等偏低的遗传多样性水平,又因其分布区域狭窄且生境受到破坏而面临种群退化的威胁. 因此,对五小叶槭应保护和利用并举,两者并重,采取就地保护和迁地保护相结合等途径. 就地保护目的在于让其群落保持自然的更新演替,使之能够在自然界继续生存下去的;收集不同地理环境的五小叶槭种质资源,在适生区域开展迁地保护措施,以保证该物种绝大部分的遗传多样性得到保存. 比如九龙三垭宫种群的遗传多样性明显高于九龙洛莫种群,且两个种群的遗传分化不大(遗传距离最近),则应优先保护三垭宫种群.

## 5 结 论

本文采用 ISSR 技术对中国四川特有种野生濒危植物五小叶槭的 5 个野生种群的 44 份材料进行遗传多样性分析,研究表明:(1)五小叶槭在种群水平上表现出中等偏低的遗传多样性水平,种内遗传多样性水平较低;(2)聚类分析发现九龙三垭宫种群和洛莫种群聚在一起,木里种群和康定聚在一起,这四个种群聚成一大枝,最终才与雅江种群聚在一起;(3)对濒危植物五小叶槭要保护和利用并举,两者并重,采取就地保护和迁地保护相结合等途径.

### 参考文献:

- [1] Roh M S, Mcnamara W A, Picton D, *et al.* Assessment of genetic variation in *Acer pentaphyllum* based on amplified fragment length polymorphisms [J]. *J Hort Sci Biotech*, 2008, 83: 725.
- [2] Mark S R, William A. M, Deric P. Assessment of genetic variation in *Acer pentaphyllum* based on amplified fragment length polymorphisms [J]. *J Hort Sci Biotech*, 2008, 83:725
- [3] 沙红. 五小叶槭育苗造林技术 [J]. *农业科技与信息*, 2015(14): 100.

- [4] 孙治宇, 李明富, 李八斤, 等. 四川雅江县珍稀濒危植物五小叶槭 [J]. 四川林业科技, 2010, 31: 86.
- [5] 毕泉鑫, 金则新, 李钧敏, 等. 枫香自然种群遗传多样性的 ISSR 分析 [J]. 植物研究, 2010, 30: 120.
- [6] 邓珍. 二倍体马铃薯组培苗耐旱性相关性状 QTLs 定位与分析 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2014: 23.
- [7] 金则新, 李钧敏, 顾奇萍. 云锦杜鹃自然居群遗传多样性的 ISSR 分析 [J]. 园艺学报, 2006, (06): 1263.
- [8] 邱英雄, 傅承新. 明党参的濒危机制及其保护对策的研究 [J]. 生物多样性, 2001, 9: 151.
- [9] Patel H K, Fougat R S, Kumar S, *et al.* Detection of genetic variation in *Ocimum* species using RAPD and ISSR markers [J]. *Biotech*, 2015, 5: 697.
- [10] Thul S T, Srivastava A K, Singh S C, *et al.* Genetic and chemical diversity of high mucilaginous Plants of *Sida* complex by ISSR markers and chemical fingerprinting [J]. *Mol Biotechnol*, 2011, 49: 77.
- [11] 王佳媛, 吴传芳, 唐亚. 基于 SNP 分子标记的凹叶木兰遗传多样性初步研究 [J]. 广西植物, 2012, 32: 542.
- [12] Nudin N F H, Ali A M, Ngah N. ISSR marker-assisted genetic diversity analysis of *Dioscorea hispida* and selection of the best variety for sustainable production [J]. *CR Biol*, 2017, 340: 359.
- [13] 王利, 邢世岩, 王正华, 等. 银杏分子系统学研究进展 [J]. 山东林业科技, 2005(6): 58.
- [14] 黄琼. 新疆甜瓜果实绿色条纹性状 AFLP 标记的初步筛选 [D]. 乌鲁木齐: 新疆大学, 2008: 45.
- [15] 曾艳玲, 谭晓风, 曾晓峰. 采用正交设计方法优化梨 ISSR-PCR 反应体系 [J]. 湖北农业科学, 2008, 47: 1235.
- [16] 张卿哲, 孟金贵, 张应华, 等. 用正交设计法优化辣椒 ISSR-PCR 反应体系 [J]. 西南农业学报, 2011, 24: 1034.
- [17] 李瑞, 陈少瑜, 宁德鲁, 等. 油橄榄 ISSR-PCR 反应体系优化与引物筛选 [J]. 安徽农业科学, 2012, 40: 5797.
- [18] 俞靓, 井赵斌, 魏琳, 等. 本氏针茅 ISSR-PCR 反应体系的建立及引物筛选 [J]. 中国草地学报, 2012, 34: 77.
- [19] 罗成, 熊宇婷, 顾蔚, 等. 华中五味子 ISSR-PCR 反应体系优化及引物筛选 [J]. 植物研究, 2010, 30: 588.
- [20] 冯亮亮, 唐红, 李毅, 等. 甘肃红砂不同种群遗传多样性的 ISSR 分析 [J]. 草业学报, 2011, 20: 125.
- [21] 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: 93.
- [22] 张云香, 胡灏禹, 何兴金. 珍稀濒危植物距瓣尾囊草遗传多样性的 ISSR 分析 [J]. 西北植物学报, 2013, 33: 1098.
- [23] 沈浩, 刘登义. 遗传多样性概述 [J]. 生物学杂志, 2001, 18: 5.
- [24] 陈宗游, 黄夕洋, 唐辉, 等. 广西甜茶种质资源遗传多样性的 ISSR 分析 [J]. 园艺学报, 2017, 161.
- [25] 文亚峰, 韩文军, 吴顺. 植物遗传多样性及其影响因素 [J]. 中南林业科技大学学报, 2010, 30: 80.
- [26] 梁婷婷. 山东省梨属野生种质资源调查与评价 [D]. 山东农业大学, 2016.
- [27] 解庆, 刘志红, 李周岐. 柴松遗传多样性的 RAPD 分析 [J]. 西北林学院学报, 2011, 26: 112.
- [28] Lewis P O, Crawford D J. Pleistocene refugium endemics exhibit greater allozymic diversity than widespread congeners in the genus *Polygonella* (*Polygonaceae*) [J]. *Am J Bot*, 1995, 82: 141.
- [29] Zawko G, Krauss S L, Dixon K W, *et al.* Conservation genetics of the rare and endangered *Leucopogon obtectus* (*Ericaceae*) [J]. *Mol Ecol*, 2001, 10: 2389.
- [30] Nybom H. Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants [J]. *Mol Ecol*, 2004, 13: 1143.
- [31] Wright S. The genetical structure of populations [J]. *Ann Eugenetic*, 1951, 15: 323.

#### 引用本文格式:

中文: 郝云庆, 罗晓波, 王晓玲. 濒危植物五小叶槭 (*Acer pentaphyllum* Diels) 天然种群遗传多样性的 ISSR 标记分析 [J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2019, 56: 161.

英文: Hao Y Q, Wang X L, Luo X B. Genetic diversity of the endangered *Acer pentaphyllum* Diels by ISSR analysis [J]. *J Sichuan Univ; Nat Sci Ed*, 2019, 56: 161.