

# 鄂尔多斯高原不同降雨量梯度中间锦鸡儿( *Caragana davazamcii* Sancz) 种群的遗传结构

杨明博<sup>1,2</sup>, 杨 劼<sup>2</sup>, 杨九艳<sup>2,3</sup>, 清 华<sup>2</sup>, 臧春鑫<sup>2</sup>

(1. 北京师范大学生命科学学院, 北京 100875; 2. 内蒙古大学生命科学学院, 呼和浩特 010021;  
3. 内蒙古医学院药用植物学系, 呼和浩特 010059)

**摘要:** 为了阐明环境条件对中间锦鸡儿适应状况的影响, 在鄂尔多斯高原从东向西按照降雨逐渐减少的梯度选取了 5 个生境, 从遗传多样性的角度出发, 应用简单重复间序列 (ISSR) 方法, 对各生境的中间锦鸡儿种群进行了分子生态学研究, 结果表明随着生境由东向西的变化, 多年平均降雨量的减少, 中间锦鸡儿种群遗传多样性有所增加, 大部分变异发生在种群内 (79.95%), 属异交类型, 中间锦鸡儿群体间遗传距离缓慢增加, 遗传一致性降低, 说明生境条件的变化特别是长期形成的水分条件对中间锦鸡儿的遗传多样性有一定的影响。

**关键词:** 鄂尔多斯高原; 中间锦鸡儿; ISSR; 遗传多样性

文章编号: 1000-0933(2006)12-4027-06 中图分类号: Q143 文献标识码: A

## Genetic structure of *Caragana davazamcii* Sancz along a precipitation gradient in Erdos Plateau

YANG Ming-Bo<sup>1,2</sup>, YANG Jie<sup>2</sup>, YANG Jiur Yan<sup>2,3</sup>, QING Hua<sup>2</sup>, ZANG Chun-Xin<sup>2</sup> (1. College of Life Science, Beijing Normal University, Beijing 100875, China; 2. College of Life Science, Inner Mongolia University, Huhhot 010021, China; 3. Department of Drug Botany, Inner Mongolia Medical College, Huhhot 010059, China). Acta Ecologica Sinica, 2006, 26(12): 4027 ~ 4032.

**Abstract:** To understand the environmental effects on adaptations of *Caragana davazamcii* Sancz, we selected five habitats along a precipitation gradient from east to west of the Erdos plateau to quantitatively examine the genetic characteristics of *Caragana davazamcii* population using the ISSR markers. Fresh leaves of individual plants were collected and dried with silica gels. 20 individuals were sampled randomly from per habitat. We found that the Nei's gene index and Shannon's diversity index increased with decreasing in precipitation. The total genetic diversity of five populations ( $H_T$ ) was 0.2963; genetic diversity within populations ( $H_S$ ) was 0.2269; genetic diversity among populations ( $D_{ST}$ ) was 0.0594; genetic differentiation coefficient ( $G_{ST}$ ) was 0.2005; and gene flow was 1.9936. We also found that 79.95% of molecular variation in *C. davazamcii* existed within populations, while small among populations suggesting a strong and active hybridization. The genetic distance between five populations was small but increased gradually with changes of the habitats from east to west (i.e., high to low precipitation) while genetic identity decreased. All these indicated that precipitation that has a long-term effect on moisture may also affect genetic diversity of *C. davazamcii*.

**Key words:** Erdos Plateau; *Caragana davazamcii* Sancz; ISSR; genetic diversity

基金项目: 国家重大基础研究规划资助项目 (2002CB111507); 春晖计划资助项目 (Z2004-2-15034)

收稿日期: 2005-09-28; 修订日期: 2006-02-16

作者简介: 杨明博 (1980~), 女, 内蒙古人, 博士生, 主要从事植物生态学研究. E-mail: yasi2001@sina.com.cn

**Foundation item:** This work was financially supported by The National Key Basic Research Project (No. 2002CB111507), Program of Chunhui Plan (No. Z2004-2-15034)

**Received date:** 2005-09-28; **Accepted date:** 2006-02-16

**Biography:** YANG Ming-Bo, Ph.D. candidate, mainly engage in plant ecology. E-mail: yasi2001@sina.com.cn

鄂尔多斯高原因处于典型草原同荒漠化草原以及荒漠的过渡地带,灌木群落在景观中占主导地位,森林只在高原的东南部有零星分布。灌木种类是鄂尔多斯高原的优势生活型植物<sup>[1]</sup>,在鄂尔多斯高原分布的 14 个主要灌木群落中,其中有 4 个重要的锦鸡儿群落,即中间锦鸡儿群系 Form. *Caragana davazamcii*;狭叶锦鸡儿群系 Form. *Caragana stenophylla*;柠条锦鸡儿群系 Form. *Caragana korshinskii*;藏锦鸡儿群系 Form. *Caragana tibetica*<sup>[2]</sup>。在鄂尔多斯高原地区,气候是影响灌木适应性的主要因素,温度和降水又是决定植被分布的最主要的气候因子,然而在该地区纬度跨度不大,经度跨度比较大,因此降雨量对灌木的适应性起着举足轻重的作用。中间锦鸡儿是位于四个重要锦鸡儿群系之首,在鄂尔多斯高原的固定和半固定沙丘上成为建群种,形成沙地灌丛群落,也常散生于沙质荒漠草原群落中,组成灌丛化草原群落,中间锦鸡儿植物因具有抗旱、抗寒、耐瘠薄、繁殖性强等特点<sup>[3]</sup>,可防风固沙、保持水土、改善局部小环境,因此受到了广泛的关注。目前,关于中间锦鸡儿的研究主要集中在以下几个方面<sup>[4~9]</sup>:(1)小叶锦鸡儿、中间锦鸡儿和柠条锦鸡儿的地理替代分布研究(2)系统遗传研究(3)化学成分分析。关于中间锦鸡儿的研究还处在初步阶段,研究内容和深度有限,鉴于鄂尔多斯高原自东向西出现的降水梯度逐渐减少,选择一个合适的梯度来研究中间锦鸡儿遗传特征揭示中间锦鸡儿的过渡分布特性和适应性是十分必要的,本文在鄂尔多斯高原由东向西按照降水量逐渐减少的梯度进行选点,运用近几年发展起来的用于种质资源鉴定、遗传作图、基因定位、遗传多样性等的简单重复间序列(Inter simple sequence repeat, ISSR)分子标记技术<sup>[10~13]</sup>研究中间锦鸡儿在遗传特征上对降水梯度变化的表现,也许能从更大的尺度和更深的层次上理解生态过渡性与植物物种遗传结构过渡性的联系,从而揭示中间锦鸡儿的分子生态适应机制,为黄土丘陵地区大面积种植中间锦鸡儿用以固沙提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 野外取样

于 2004 年 7 月在鄂尔多斯高原由东至西按照水分逐渐减少的梯度选 5 个点采集了中间锦鸡儿植株的叶片,这 5 个点分别位于典型草原带、荒漠草原带的及其间分布的沙地上,5 个采样点的多年平均降雨量逐渐减少,湿润系数也逐渐降低,各生境描述见表 1,基本可以代表一个由东向西水分减少系列,其中各生境年均降雨量取自近 30a 平均降雨量。在每个生境中分别随机选取 20 株中间锦鸡儿个体的叶片,用变色硅胶干燥,进行 ISSR 分析。

### 1.2 DNA 提取与 ISSR 扩增

植物总 DNA 的提取采用 CTAB 法<sup>[14]</sup>抽提,ISSR 扩增反应条件经优化实验确定为 25 $\mu$ l 体系,各反应成分用量分别为:10  $\times$  PCR buffer (100mM KCl, 80mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 100mM Tris-HCl, pH9.0) 2.5 $\mu$ l, 25mmol/L MgCl<sub>2</sub> 2.0 $\mu$ l, 2.5mmol/L dNTP 2.0 $\mu$ l, Taq 酶 1U,引物 1 $\mu$ l,模板 DNA 20ng, d<sub>3</sub>H<sub>2</sub>O 补足 25 $\mu$ l,上述药品全部购自上海生物工程公司(Sangon)。ISSR 反应程序:首先 94  $^{\circ}$ C 预变性 5min,然后进行 45 个循环为:94  $^{\circ}$ C 45s, 54  $^{\circ}$ C 1min, 72  $^{\circ}$ C 1.5min; 72  $^{\circ}$ C 终延伸 5min,之后于 4  $^{\circ}$ C 保存。反应在美国 MJ Research Inc. 生产的 PTC-100TM 型 PCR 热循环仪上进行。

### 1.3 扩增产物的分离和检测

DNA 扩增产物在 0.5  $\times$  TBE (0.45M Tris-硼酸, 0.01mM EDTA, pH8.0) 缓冲系统中,用含有 EB (0.5g/L) 的 1.5% 琼脂糖电泳分离,用 100bp 的 DNA ladder 作为分子量标记,电压 5V/cm,时间 2h, WFH-701 型多功能紫外投射反射仪上观察并照相。

### 1.4 数据统计分析

ISSR 扩增产物以 0 或 1 统计建立二元数据矩阵,扩增带存在时赋值 1,否则赋值 0。使用 Popgen32 软件,计算多态位点比率, Nei's 遗传多样性指数, Shannon 信息指数,总群体的基因多样性 ( $H_T$ ),群体内基因多样性 ( $H_S$ ),群体间基因多样性 ( $D_{ST}$ ),基因分化系数 ( $G_{ST}$ ),遗传距离 ( $D$ ),遗传一致度 ( $I$ )。采用 SPSS12.0 软件做差异显著性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 ISSR 产物多态性

本实验选用两个来自不同生境中间锦鸡儿个体进行引物筛选,通过 19 条引物的筛选,选定 13 条可产生多态性且重复性好的引物进行 ISSR 扩增。13 条引物扩增的结果见表 2,从表中可以看出扩增共产生 151 条带,平均每条引物产生 11.6 条,在 151 条带中,有 148 条多态性带,平均每条引物产生 11.4 条,多态位点百分率达 98.01 %。绝大多数位点集中在 300 ~ 2000bp (图 1),也有一些少数特异性位点在此范围以外,虽然多态位点是对遗传多样性的一个粗略估计,但从中间锦鸡儿丰富的遗传多样性,这也是中间锦鸡儿在鄂尔多斯高原地区广泛分布的遗传学基础(表 2)。

表 1 中间锦鸡儿样品采集地概况

Table 1 The general situation of the sampling sites

| 采样点<br>Sampling sites | 纬度<br>Latitude (N) | 经度<br>Longitude (E) | 海拔<br>Altitude (m) | 年均降水量 Annual<br>precipitation (mm) | 湿润系数<br>Moisture coefficient | 生境特点<br>Habitat character                                          |
|-----------------------|--------------------|---------------------|--------------------|------------------------------------|------------------------------|--------------------------------------------------------------------|
|                       | 39°23'47"          | 110°22'42"          | 1217               | 322                                | > 0.4                        | 典型草原区的覆沙地 Land Covered with sand in typical steppe region          |
|                       | 39°23'24"          | 109°48'25"          | 1372               | 286                                | 0.4 ~ 0.35                   | 典型草原区的覆沙硬梁 Solid girder covered with sand in typical steppe region |
|                       | 39°02'01"          | 109°22'44"          | 1309               | 262                                | 0.35 ~ 0.3                   | 毛乌素沙地半固定沙丘梁上 Semi-fixed sand dune in Mu Us sandland                |
|                       | 38°36'55"          | 108°42'58"          | 1348               | 251                                | 0.25 ~ 0.23                  | 毛乌素沙地覆沙硬梁 Solid girder covered with sand in Mu Us sandland         |
|                       | 39°14'30"          | 108°02'27"          | 1375               | 221                                | 0.23 ~ 0.2                   | 荒漠草原平缓的沙质地 Flat sandland in desert steppe                          |

表 2 ISSR 扩增引物、序列及扩增结果

Table 2 List of ISSR primer labels, primer sequences and amplification results

| 引物编号<br>No. primer | 序列(5' → 3')<br>Sequence (5' → 3') | 总扩增带数<br>Total number of bands | 多态性带数<br>Number of polymorphic bands | %      |
|--------------------|-----------------------------------|--------------------------------|--------------------------------------|--------|
| AW64747            | ACACACACACACACAG                  | 13                             | 13                                   | 100.00 |
| AW64749            | TGTGTGTGTGTGTGC                   | 6                              | 6                                    | 100.00 |
| AW64750            | CTCCTCCTCCTCCTC                   | 15                             | 15                                   | 100.00 |
| AW64751            | TATTATTATTATTAT                   | 14                             | 14                                   | 100.00 |
| AW77934            | AGAGAGAGAGAGAGC                   | 13                             | 13                                   | 100.00 |
| AW77935            | AGAGAGAGAGAGAGG                   | 12                             | 12                                   | 100.00 |
| AW77936            | GAGAGAGAGAGAGAC                   | 11                             | 11                                   | 100.00 |
| AW77937            | CACACACACACACAG                   | 6                              | 6                                    | 100.00 |
| AW77938            | GAGAGAGAGAGAGAA                   | 6                              | 6                                    | 100.00 |
| AW77939            | AGAGAGAGAGAGAGTC                  | 14                             | 13                                   | 92.86  |
| AW77940            | GAGAGAGAGAGAGAGG                  | 11                             | 11                                   | 100.00 |
| AW77941            | GAGAGAGAGAGAGAAAT                 | 14                             | 13                                   | 92.86  |
| AW77943            | GAGAGAGAGAGAGA                    | 16                             | 15                                   | 93.75  |
| 总计 Total           |                                   | 151                            | 148                                  | 98.01  |

5 个生境的中间锦鸡儿种群随着生境由东向西的变化水分逐渐的变少,多态位点有增加的趋势(表 3),典型草原区的中间锦鸡儿种群的多态位点为 98,多态位点比率为 64.9 %,到了荒漠草原区则达到 117,多态位点比率达到 77.48 %。差异显著性分析说明随着降雨量自东向西递减,中间锦鸡儿在遗传上产生了一定的适应性分化,向着遗传多样性增加的趋势发展。

2.2 遗传多样性指数

从表 4 中可以看出,中间锦鸡儿种群总的 Nei 遗传多样性指数为 0.2963,总的 Shannon 信息指数为

表 3 不同生境中间锦鸡儿种群多态位点的差异

Table 3 Difference of polymorphic loci of *C. davazamcii* populations in different habitats

| 种群<br>Population | 多态位点<br>Polymorphic loci | 多态位点百分比<br>Percent of polymorphic loci |
|------------------|--------------------------|----------------------------------------|
|                  | 98                       | 64.90a                                 |
|                  | 113                      | 74.83b                                 |
|                  | 109                      | 72.19ab                                |
|                  | 107                      | 70.86a                                 |
|                  | 117                      | 77.48b                                 |

经单因素方差分析同一列字母不同者差异显著 ( $p < 0.05$ ),下同 the same below

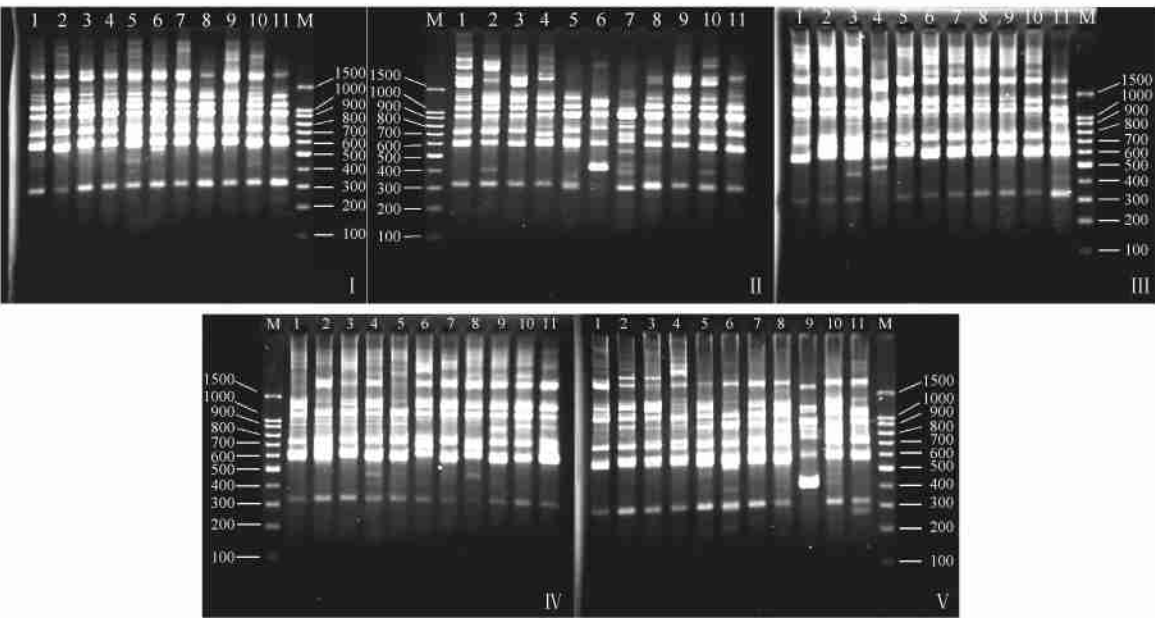


图 1 引物 AW64751 在 5 个生境中间锦鸡儿种群的扩增谱带

Fig. 1 PCR-amplified fragment patterns with AW64751 primer in *Caragana. davazamcii* populations in different habitats

0.4542,随着生境由东向西的变化,鄂尔多斯高原各生境种群两种指数均有所升高。由 Nei 指数估算各引物检测到的基因多样性中, 号生境种群最高为 0.2529, 号生境种群最低为 0.2093,按顺序排列如下: > > > ;由 Shannon 信息指数估算各引物检测到的基因多样性中,同样是 号生境种群最高为 0.3789, 号生境种群最低为 0.3177,按顺序排列如下: > > > > ,和 Nei 指数估算的中间锦鸡儿各群体的遗传多样性的顺序相同(表 4)。

2.3 中间锦鸡儿种群的遗传结构和基因流

从表 5 中可以看出,5 个生境的中间锦鸡儿种群总的基因多度  $H_T = 0.2963$ ,其中存在于种群内的基因多度  $H_S = 0.2369$ ,那么种群间的基因多度  $D_{ST} = 0.0594$ 。不同生境种群间遗传分化系数  $G_{ST} = 0.2005$ ,即种群间的遗传变异占种群总的遗传多样性的 20.05%,绝大部分变异(79.95%)存在于种群内。根据中间锦鸡儿种群间的遗传分化系数,计算出中间锦鸡儿种群的基因流  $Nm^* = 1.9936$ 。说明中间锦鸡儿种群大部分变异存在于种群内,种群间存在着基因交流,通过种群内的变异来适应恶劣的环境,通过种群间的基因交流来扩展分布区。

2.4 中间锦鸡儿种群间的遗传距离与聚类分析(UPGMA 法)

通过中间锦鸡儿种群的遗传距离分析结果可知(表 6),随着生境由东向西的变化,降水量逐渐减少,

表 4 不同生境中间锦鸡儿种群 Nei's 遗传多样性指数、Shannon 信息指数

| Table 4 Nei's gene diversity index and Shannon information index of C. davazamcii populations in different |                                               |                                                    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|----------------------------------------------------|
| 种群<br>Population                                                                                           | Nei 遗传多样性指数<br>Nei's diversity index<br>$h^*$ | Shannon 信息指数<br>Shannon information index<br>$I^*$ |
| Mean                                                                                                       | 0.2093                                        | 0.3177                                             |
| St. Dev                                                                                                    | 0.1937                                        | 0.2743                                             |
| Mean                                                                                                       | 0.2529                                        | 0.3789                                             |
| St. Dev                                                                                                    | 0.1966                                        | 0.2719                                             |
| Mean                                                                                                       | 0.2397                                        | 0.3595                                             |
| St. Dev                                                                                                    | 0.2007                                        | 0.2776                                             |
| Mean                                                                                                       | 0.2355                                        | 0.3545                                             |
| St. Dev                                                                                                    | 0.1976                                        | 0.2748                                             |
| Mean                                                                                                       | 0.2469                                        | 0.3758                                             |
| St. Dev                                                                                                    | 0.1847                                        | 0.2562                                             |
| Total Mean                                                                                                 | 0.2963                                        | 0.4542                                             |
| St. Dev                                                                                                    | 0.1031                                        | 0.1966                                             |

表 5 不同生境中间锦鸡儿种群  $H_T$ 、 $H_S$ 、 $G_{ST}$ 、 $Nm^*$

Table 2  $H_T$ 、 $H_S$ 、 $G_{ST}$  and  $Nm^*$  of C. davazamcii populations in different habitats

| Locus   | 样本<br>Sample size | $H_T$  | $H_S$  | $G_{ST}$ | $Nm^*$ |
|---------|-------------------|--------|--------|----------|--------|
| Mean    | 55                | 0.2963 | 0.2369 | 0.2005   |        |
| St. Dev |                   | 0.0234 | 0.0171 | 1.9936   |        |

\*  $Nm^* = 0.5(1 - G_{ST}) / G_{ST}$

种群遗传距离在加大,基本上反应了一种地理距离的变化,经单因素方差分析遗传距离存在显著差异,其中典型草原区的中间锦鸡儿种群( )与荒漠中间锦鸡儿种群( )遗传距离差异显著( $p \leq 0.05$ ),典型草原区的中间锦鸡儿种群( )与毛乌素沙地中间锦鸡儿种群( )遗传距离最大(0.1314)。说明遗传分化程度在逐渐增强,表明生境条件的变化特别是降水条件的变化对中间锦鸡儿种群遗传多样性具有一定的影响。

图 2 是根据遗传距离利用 UPGMA 法进行聚类分析得到的,图中中间锦鸡儿的 5 个种群随着生境由东向西的变化,逐级聚在一起,典型草原区( 、 )的种群聚为一类;沙地生境( 、 )的种群聚为一类;荒漠草原区( )的种群另为一类。说明随着环境条件的变化,种群的分化程度逐渐增加。

3 讨论

3.1 中间锦鸡儿种群分子生态适应评价

对 5 个生境中间锦鸡儿种群 55 个个体用 13 条引物进行 ISSR 扩增,扩增共产生 151 条带,在 151 个 ISSR 扩增位点中,仅有 3 个位点上有共同的扩增片段,说明中间锦鸡儿具有极丰富的遗传多样性,这也是中间锦鸡儿能够广泛分布的原因,可以大面积种植的遗传学基础。随着降雨量自东向西递减,中间锦鸡儿遗传多样性增加。中间锦鸡儿大部分变异发生在种群内,种群间存在着基因交流,这是中间锦鸡儿适应性强的遗传基础。通常来讲一个物种的遗传多样性愈丰富,对环境变化的适应性就愈大,反之,遗传多样性贫乏的物种通常在进化上的适应性就弱<sup>[15]</sup>,这种在种群间遗传结构的差异有利于中间锦鸡儿提高抵御不良环境的能力,扩展其分布范围,增强其适应性。

3.2 中间锦鸡儿种群地理分异特点

中间锦鸡儿是锦鸡儿属在草原区形成的水份系列上地理替代类群 *Ser. microphyllae* 里的种,主要分布在蒙古南部,内蒙古中部,是典型草原区向荒漠草原区的过渡类型<sup>[16]</sup>,根据本研究中间锦鸡儿随着降雨量的梯度变化出现了一些种内变异,但中间锦鸡儿是否发生了生态型的分化还有待于进一步研究证明,生态型是种下单位即同种植物在不同分布区适应于不同生态条件所形成的遗传类群,业已证明,常见的和广布的种内常常在形态和生理特性方面具有区别明显的生态型分化,在不同生境条件下,每一个生态型在个体行为上都具有不同的反应能力,在大多数情况下生态型在不同样地仍保持它们的特征<sup>[17]</sup>,从本研究来看,虽然中间锦鸡儿在不同生境条件下发生了一些遗传上的改变,但是这种遗传上的改变是否稳定还有待于进一步研究证明,而生态型的分化并不是植物种内唯一的生态变异式样,大多数情况下,由于生境或地理因子呈梯度变化,植物呈现为梯度变异,因此很难找出各类群间的明显差异,具有广泛分布的种内的大部分变异是梯度变异所构成,一些性状随着从生境系列的一端到另一端的变化而存在着很明显的级差,称这种变异为生态梯度变异。中间锦鸡儿正是遵循生态梯度变异方式指示着一种地理过渡带的变化。

References :

[ 1 ] Li X R,Zhang X S. Biodiversity of shrub community in desert steppe and steppe desert on Erdbos Plateau. Chinese Journal of Applied Ecology,1999,10(6) : 665 ~ 669.

[ 2 ] Zhang M L ,Huang Y M,Kang Y, et al. Floristics and vegetation of the genus Caragana in Erds Plateau. Bulletin of Botanical Research,2002,22(4) :497

表 6 不同生境中间锦鸡儿种群遗传距离(下三角)和遗传一致度(上三角)

Table 6 Nei's genetic distance (below diagonal) and genetic identity (above diagonal) of *C. davazamcii* populations in different habitats

| 种群<br>Population |         |          |         |         |        |
|------------------|---------|----------|---------|---------|--------|
|                  | * * * * | 0.9267   | 0.9176  | 0.9053  | 0.8948 |
| 0.0761a          | * * * * | 0.8903   | 0.8769  | 0.8874  |        |
| 0.0860a          | 0.1162b | * * * *  | 0.9384  | 0.8998  |        |
| 0.0995a          | 0.1314c | 0.0636a  | * * * * | 0.8898  |        |
| 0.1112b          | 0.1194b | 0.1056ab | 0.1167b | * * * * |        |

经单因素方差分析遗传距离后字母不同者差异显著 ( $p \leq 0.05$ )

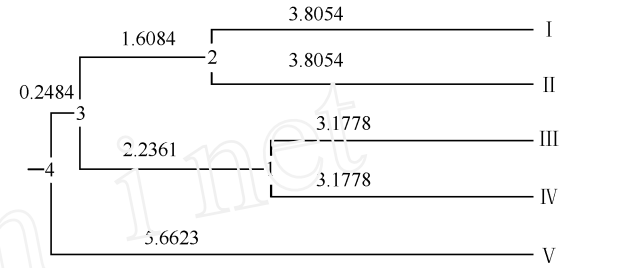


图 2 不同生境中间锦鸡儿种群 ISSR 分析的 UPGMA 聚类图  
Fig. 2 UPGMA dendrogram of *C. davazamcii* populations in different habitats

~ 502.

- [ 3 ] Zhou D W. Plant geography research on *Caragana* genus: (Master degree paper). Huhhot: Inner Mongolia university, 1989.
- [ 4 ] Ma C C, Gao Y B, Liu H F, et al. Interspecific Transition among *Caragana microphylla*, *C. davazamcii* and *C. korshinskii* along geographic gradient . ecological and RAPD evidence. *Acta Botanica Sinica*, 2003, 45(10): 1218 ~ 1227.
- [ 5 ] Zhou H Y, Zhang J G, Zhao L. Gas Exchange characteristics and regulation mechanism of several caragana shrubs under west condition. *Journal of Desert Research*, 2002, 22(4): 316 ~ 320.
- [ 6 ] Gao L F, Deng X, Wang H X. Genetic diversity and 16S rDNA sequence of rhizobia isolated from nodules of *Caragana intermedia* in maowusu sandland. *Acta Microbiologica Sinica*, 2002, 42(6): 649 ~ 656.
- [ 7 ] Zhou Y G, Wang H X, Hu Z A. Variation of breeding systems in populations of *Caragana intermedia* (Leguminosae) in maowusu sandy grassland. *Acta Botanica Sinica*, 2001, 43(12): 1307 ~ 1309.
- [ 8 ] Sun Z H, Zhang S, Hu C Q. Preparation of carainternal a derivatives. *Chinese Journal of Pharmaceuticals*, 2004, 35(4): 197 ~ 199.
- [ 9 ] Shi J, Chen B, Sun Z H, et al. Studies on flavonoid constituents of *Caragana intermedia*. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 2003, 38(8): 599 ~ 602.
- [ 10 ] Fang D Q, Roose M L. Identification of closely related citrus cultivars with inter-simple sequence repeat markers. *Theor Appl Genet*, 1997, 95(3): 408 ~ 417.
- [ 11 ] Arcade A, Anselin F, Faivre R P, et al. Application of AFLP, RAPD and ISSR markers to genetic mapping of European and Japanese larch. *Theoretical and Applied Genetics*, 2000, 100: 299 ~ 307.
- [ 12 ] Ammiraju J S S, Dholakia B B, Santra D K, et al. Identification of inter simple sequence repeat (ISSR) markers associated with seed size in wheat. *Theor Appl Genet*, 2001, 102: 726 ~ 732.
- [ 13 ] Kantety R V, Zeng X, Bennetzen J. Assessment of genetic diversity in popcorn (*Zea mays* L.) inbred lines using inter-simple sequence repeat (ISSR) amplification. *Mol Breed*, 1995, 1: 365 ~ 373.
- [ 14 ] Doyle J. DNA protocols for plants-CTAB total DNA isolation. In: Hewitt G M, Johnston A. *Molecular Techniques in Taxonomy*. Berlin: Springer, 1991. 283 ~ 293.
- [ 15 ] Ma W L ed. Higher plants and diversity. Beijing: Higher Education Press, 1998. 186.
- [ 16 ] Zhou D W, Wang A X, Li H. Classification and distribution of Sect. Caragana of genus Caragana Fabr. *Journal of Northeast Normal University*, 1994, 2: 64 ~ 68.
- [ 17 ] Liu Z Y, Chen B G, Xie Z S, et al. Advance in plant ecotype classification. *Ecological Science*, 2004, 23(4): 365 ~ 369.

#### 参考文献:

- [ 1 ] 李新荣, 张新时. 鄂尔多斯高原荒漠化草原与草原化荒漠灌木类群生物多样性的研究. *应用生态学报*, 1999, 10(6): 665 ~ 669.
- [ 2 ] 张明理, 黄永梅, 康云, 等. 锦鸡儿属植物在鄂尔多斯高原区系和植被中的作用. *植物研究*, 2002, 22(4): 497 ~ 502.
- [ 3 ] 周道玮. 锦鸡儿属植物地理学研究: (学位论文). 呼和浩特: 内蒙古大学, 1989.
- [ 4 ] 马成仓, 高玉葆, 刘惠芬, 等. 小叶锦鸡儿、中间锦鸡儿和柠条锦鸡儿地理渐变性 . 生态学和 RAPD 证据. *植物学报*, 2003, 45(10): 1218 ~ 1227.
- [ 5 ] 周海燕, 张景光, 赵亮. 湿润条件下几种锦鸡儿属灌木的气体交换特征及调节机制. *中国沙漠*, 2002, 22(4): 316 ~ 320.
- [ 6 ] 高丽锋, 邓馨, 王洪新. 毛乌素沙地中间锦鸡儿根瘤菌遗传多样性及 16SrDNA 全序列分析. *微生物学报*, 2002, 42(6): 649 ~ 656.
- [ 7 ] 周永刚, 王洪新, 胡志昂. 毛乌素沙地中间锦鸡儿群体繁育系统的变化. *植物学报*, 2001, 43(12): 1307 ~ 1309.
- [ 8 ] 孙智华, 张, 胡昌奇. 柠条醇 A 衍生物的制备. *中国医药工业杂志*, 2004, 35(4): 197 ~ 199.
- [ 9 ] 施蛟, 陈博, 孙智华, 等. 中间锦鸡儿黄酮类成分的研究. *药学报*, 2003, 38(8): 599 ~ 602.
- [ 15 ] 马炜梁主编. 高等植物及其多样性. 北京: 高等教育出版社, 1998. 186.
- [ 16 ] 周道玮, 王爱霞, 李宏. 锦鸡儿属锦鸡儿组植物分类与分布的研究. *东北师范大学学报*, 1994, 2: 64 ~ 68.
- [ 17 ] 刘志彦, 陈北光, 谢正生, 苏志尧. 植物生态型分类研究进展. *生态科学*, 2004, 23(4): 365 ~ 369.