

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201511006

李霓, 蒋严妃, 苏雪, 等. 肋果沙棘北缘居群的遗传多样性与遗传结构 [J]. 广西植物, 2016, 36(5):557-563

LI N, JIANG YF, SU X, et al. Genetic diversity and genetic structure of the northern margin populations of *Hippophae neurocarpa* [J]. Guihaia, 2016, 36(5):557-563

## 肋果沙棘北缘居群的遗传多样性与遗传结构

李霓, 蒋严妃, 苏雪, 陈纹, 张辉, 孙坤\*

(西北师范大学 生命科学学院, 兰州 730070)

**摘要:** 该研究利用 SSR 分子标记, 对肋果沙棘 (*Hippophae neurocarpa*) 分布区北缘青海祁连地区 5 个自然居群进行分析, 旨在了解小地理尺度下肋果沙棘北缘居群的遗传多样性和片段化分布居群的遗传结构, 为肋果沙棘居群的资源保护提供了依据。采用 6 对微卫星引物对 107 个样本 DNA 进行扩增, 共检测到 27 个等位变异, 变幅为 2~9 个, 平均每个位点有 4.67 个, 平均观测杂合度 ( $H_o$ ) 和期望杂合度 ( $H_e$ ) 分别为 0.142 和 0.230, Shannon 信息指数 ( $I$ ) 的变幅介于 0.280~0.567 之间, 平均值为 0.374, 说明肋果沙棘北缘居群的遗传多样性较为丰富。遗传分化系数  $F_{st}$  = 0.483, 分子方差分析 (AMOVA) 表明肋果沙棘有 48.33% 的变异存在于居群间, 51.67% 存在于居群内。对 5 个居群之间的遗传距离与地理距离做 Mantel 检验, 结果表明遗传距离与地理距离相关性不显著, 对基因流检测发现居群间的  $N_m$  为 0.328, 推测遗传漂变是居群分化的关键因素之一。Structure 分析把 5 个居群分为 2 组。UPGMA 聚类分析表明 5 个居群聚为 2 个分支, 其中居群 ARX 为单独的一支, 与主坐标分析的结果一致。基于分布区北缘青海祁连肋果沙棘自然居群的遗传结构分析, 建议应尽可能地保护不同的地方居群。

**关键词:** 肋果沙棘, SSR 标记, 边缘居群, 遗传多样性, 遗传结构

**中图分类号:** Q948.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2016)05-0557-07

## Genetic diversity and genetic structure of the northern margin populations of *Hippophae neurocarpa*

LI Ni, JIANG Yan-Fei, SU Xue, CHEN Wen, ZHANG Hui, SUN Kun\*

(College of Life Sciences, Northwest Normal University, Lanzhou 730070, China)

**Abstract:** We analyzed five natural populations of *Hippophae neurocarpa* in the Qilian area of Qinghai Province with SSR molecular markers, in order to understand the genetic diversity of the northern margin populations of *H. neurocarpa* on the small geographic scales and the genetic structure of the populations which distribute fragmentally, and to provide reference for resource protection of *H. neurocarpa* populations. We used six microsatellite primers to amplify the DNA of 107 samples and detected 27 alleles, with the range of 2-9 and a mean value of 4.67 per locus. The average observed heterozygosity ( $H_o$ ) and expected heterozygosity ( $H_e$ ) of *H. neurocarpa* populations was 0.142 and 0.230 respectively, and the range Shannon information index ( $I$ ) was between 0.280-0.567 with a average value of 0.374. The results showed that the genetic diversity of the northern margin populations of *H. neurocarpa* was abundant. The coefficient of genetic differentiation ( $F_{st}$ ) was 0.483. Molecular variance analysis (AMOVA) indicated that 48.33% of the

收稿日期: 2015-11-04 修回日期: 2016-01-27

基金项目: 国家自然科学基金(31160046, 31270429) [Supported by the National Natural Science Foundation of China(31160046, 31270429)].

作者简介: 李霓 (1991-), 女, 硕士研究生, 主要从事系统与进化植物学研究, (E-mail) balloonln@163.com。

\*通讯作者: 孙坤, 教授, 博士生导师, 研究方向为植物系统学、生物多样性和植物生态学, (E-mail) kunsun@nwnu.edu.cn。

variation existed among the populations, and 51.67% existed within the populations. No significant correlation between genetic distance and geographic distance was detected by Mantel test and the detection of gene flow found that  $N_m$  was only 0.328 among populations. These results suggested that genetic drift was one of the key factors for the differentiation of populations. The 5 populations were divided into 2 groups based on the structure analysis. UPGMA clustering showed that the 5 populations were clustered into 2 branches, one of which was ARX, which was consistent with the results of the principal coordinate analysis. According to the analysis of the genetic structure, it is suggested to protect populations in situ as many as possible.

**Key words:** *Hippophae neurocarpa*, SSR markers, marginal populations, genetic diversity, genetic structure

遗传多样性和居群遗传结构是居群生物学的重要内容,对遗传多样性的研究不仅可以揭示物种或居群的进化历史,而且为进一步分析其进化潜力和未来命运及其保护策略提供重要资料(Soltis & Soltis, 1991)。空间遗传结构的形成是植物进化过程和种群动态的关键特征(杨爱红等, 2014),居群遗传结构上的差异是遗传多样性的重要体现,一个物种的进化潜力和抵御不良环境的能力既取决于种内遗传变异的大小,也有赖于居群的遗传结构(Grant, 1991; Millar & Libby, 1991)。

沙棘属(*Hippophae* L.)植物为雌雄异株、风媒传粉的多年生落叶灌木或小乔木,是重要的经济和水土保持植物,主要分布于青藏高原及其邻近地区,它是群落演替的先锋物种,具有重要的生态和经济价值。肋果沙棘(*Hippophae neurocarpa*)是一个分布于青藏高原高海拔地区且分化较晚的类群,在青海、西藏、四川和甘肃4个省份都有分布,生长在海拔2 300~4 200 m的河流沿岸、河滩及沟谷(廉永善, 2000; Sun et al, 2002)。近年来国内外学者对沙棘属植物的遗传多样性已开展了大量研究工作(Tian et al, 2004; Ruan & Li, 2005; Chen et al, 2008),但迄今为止对青藏高原东缘特有的肋果沙棘居群遗传结构和遗传多样性仍缺乏了解。边缘居群一般处于相对恶劣的条件下,对于环境气候的变化可能更为敏感,在全球气候变化的大背景下,对边缘居群的研究在制定遗传多样性保护策略时具有极高的价值(Van Rossum et al, 2003)。青海祁连地区是肋果沙棘分布区的北缘,对该区域肋果沙棘不同地方居群遗传结构和遗传多样性进行研究,对于揭示其进化和适应散布机制有重要的意义。本文应用SSR方法对该区域肋果沙棘居群的遗传多样性和遗传结构进行研究,以期解决以下问题:1.物种分布区北缘小地理尺度下肋果沙棘各居群的遗传多样性水平如何? 2.作为风媒传粉的群落演替先锋物种,片段化

分布的肋果沙棘具有什么样的空间遗传结构? 其结果将为今后进一步探讨肋果沙棘的遗传变异与进化机制提供理论基础,为肋果沙棘居群的资源保护和利用提供参考依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 样本的采集和 DNA 提取

于2012年9月在祁连山南侧的青海省祁连县进行采样,分别选取5个肋果沙棘地方居群为对象,各居群的名称、分布、生境和样本量等见表1。于野外分别采集新鲜叶片并迅速放入硅胶袋中干燥保存,带回实验室备用。肋果沙棘的基因组总DNA的提取参考改良的2×CTAB法(Doyle, 1987)。

### 1.2 微卫星分析

从Wang et al(2008)开发的9对SSR引物和许汀等(2014)合成的13对SSR引物中筛选出6对条带清晰、重复性好且有明显多态的引物(表2)。聚合酶链式反应在10 μL反应体系中进行,包括:buffer 1 μL, 2.5 mmol·L<sup>-1</sup> MgCl<sub>2</sub>, 15 mmol·L<sup>-1</sup> dNTPs (2.5 mmol·L<sup>-1</sup> each), 0.2 μmol·L<sup>-1</sup>引物, 1.5 U Taq DNA聚合酶, DNA模板50 ng,其余用3dH<sub>2</sub>O补齐。PCR反应条件为94℃预变性1.5 min; 35个循环: 94℃变性45 s, 退火45 s(退火温度见表2), 72℃延伸1.5 min; 循环结束后, 72℃延伸7 min, 4℃保存。扩增产物用6%的变性聚丙烯酰胺凝胶进行电泳,银染显色并参照25~500 bp DNA marker读取扩增片段长度。

### 1.3 数据统计与分析

采用GENEPOP 4.0(Rousset, 2008)软件检测位点间是否存在连锁不平衡。用GenAlEx 6.501软件(Peakall & Smouse, 2012)分析观测等位基因( $N_a$ )、有效等位基因( $N_e$ )、期望杂合度( $H_e$ )、观测杂合度( $H_o$ )和Shannon信息指数( $I$ )等遗传参数,其中用

表 1 肋果沙棘居群采集信息  
Table 1 Sampling information of *H. neurocarpa*

居群 Population	海拔 Altitude (m)	纬度 Latitude 经度 Longitude	样本数 Sampling number	采集地 Location	生境 Habitat
阿柔乡 ARX	2 984	100°45.518' E 38°06.128' N	22	祁连县 Qilian County	河滩沙棘灌丛 Sea-buckthorn shrub on the beachland
冰沟 BG	3 295	100°19.403' E 38°08.963' N	20	祁连县 Qilian County	河滩沙棘灌丛 Sea-buckthorn shrub on the beachland
拱北湾 GBW	3 100	100°24.537' E 38°14.936' N	24	祁连县 Qilian County	云杉林缘 Spruce border of forest
日旭村 RXC	3 048	100°39.825' E 38°13.909' N	17	祁连县 Qilian County	河滩沙棘灌丛 Sea-buckthorn shrub on the beachland
小东索 XDS	2 940	100°32.007' E 38°08.615' N	24	祁连县 Qilian County	河滩沙棘灌丛 Sea-buckthorn shrub on the beachland

表 2 SSR 引物序列和退火温度  
Table 2 SSR primer sequences and annealing temperature

引物 Primer	重复单元 Repeat motif	引物序列 (5'-3') Primer sequence (5'-3')	退火温度 $T_a$ (°C)	条带范围 Size range (bp)
Hr-06	(CA) <sub>9</sub>	F:CAACAAAATACAATTTCGGAAAC R:AATAGGAGACACAGAGGCTTC	50	70~90
HTP-06	(A) <sub>6</sub> (CAAACA) <sub>3</sub>	F:CAATTGTTCAATACTAAATG R:ATCCTAATCAAAGAAATC	42	113~125
HTP-12	(A) <sub>8</sub>	F:TGCCAGAAGATTAGACTTTTAC R:GGAGCAGCTTATACCCATTAC	55	70~85
HTP-08	(A) <sub>10</sub>	F:CCCCCTTCTTTTCAGATAGT R:GAGAGTTGCATTTTTGCCCTTT	52	135~140
HTI-01	(A) <sub>8</sub> ...(T) <sub>6</sub>	F:GACGCTTGGCGACAATATAACA R:CAAACCCATAGCCTCTACCTCC	55	125~145
NHTP-27	(TGA) <sub>8</sub>	F:AACCACAGCAAAAACAAAAAAC R:TAAAAATACACCTCCAACCTCA	47	230~250

$H_e$  和  $I$  来估计居群的遗传多样性 (Nei, 1973; Shannon & Weaver, 1959)。

对于遗传结构的分析, 利用了 Arlequin 软件 (Excoffier et al, 2005) 计算居群之间的遗传分化系数 ( $F_{st}$ ); 并通过分子方差分析 (AMOVA) 估算肋果沙棘不同居群间遗传变异的分布情况。运用 STRUCTURE 3.0 软件 (Hubisz et al, 2009) 的贝叶斯聚类法根据每个个体的多位点基因型进行分组。本文研究了 5 个地方居群, 设  $K=1\sim 8$ , MCMC 重复值设为 100 000, burn-in 设为 1 000, 各  $K$  值独立运行 20 次, 用 Evanno et al 的方法 (2005) 计算  $\Delta K$  值, 进而对居群遗传结构进行分析和作图。另外我们还采用 GenAlEx 软件对所有个体进行了主坐标分析 (Principal Coordinate Analysis, PCoA), 利用 NTSYS-pc (Rohlf, 2000) 软件进行了聚类分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 居群遗传多样性

用 6 对引物对肋果沙棘样本进行 SSR 分析, 共检测到 27 个等位基因, 其中最多的为 9 个 (NHTP-27), 最少的为 2 个 (HTI-01)。平均每个引物扩增出的等位变异为 4.67 个, 且两两位点间不存在连锁不平衡, 各位点的 DNA 片段大小介于 70~250 bp 之间。分布区北缘肋果沙棘 5 个居群的平均观测杂合度 ( $H_o$ ) 为 0.142, 平均期望杂合度 ( $H_e$ ) 为 0.230, Shannon 信息指数 ( $I$ ) 为 0.374, 居群遗传多样性水平较为丰富。在 5 个居群中拱北湾 (GBW) 居群的遗传多样性最高 ( $H_e=0.324, I=0.567$ ), 日旭村 (RXC) 的遗传多样性最低 ( $H_e=0.188, I=0.280$ ), 总

表 3 肋果沙棘居群的遗传参数  
Table 3 Genetic parameters of *H. neurocarpa* populations

居群 Population	观测等位基因 Average number of alleles ( $N_a$ )	有效等位基因 Number of effective alleles ( $N_e$ )	期望杂合度 Expected heterozygosity ( $H_e$ )	观测杂合度 Observed heterozygosity ( $H_o$ )	Shannon 信息指数 Shannon's information index ( $I$ )
拱北湾 GBW	2.833	1.753	0.324	0.160	0.567
日旭村 RXC	1.500	1.320	0.188	0.166	0.280
小东索 XDS	1.667	1.357	0.211	0.132	0.319
阿柔乡 ARX	2.167	1.446	0.225	0.129	0.377
冰沟 BG	1.833	1.345	0.202	0.125	0.327
平均 Mean	2.000	1.444	0.230	0.142	0.374

表 4 肋果沙棘各居群间遗传分化系数

$F_{st}$  值 (对角线上) 和遗传距离 (对角线下)

Table 4 Pairwise genetic differentiation  $F_{st}$  (above diagonal) and genetic distances (below diagonal) among *H. neurocarpa* populations

项目 Item	拱北湾 GBW	日旭村 RXC	小东索 XDS	阿柔乡 ARX	冰沟 BG
拱北湾 GBW	—	0.348 **	0.414 * *	0.565 * *	0.306 * *
日旭村 RXC	0.278	—	0.500 **	0.465 **	0.345 **
小东索 XDS	0.333	0.421	—	0.655 **	0.442 **
阿柔乡 ARX	0.743	0.293	0.867	—	0.509 **
冰沟 BG	0.208	0.272	0.285	0.442	—

注: \* 表示  $P < 0.05$ , \*\* 表示  $P < 0.001$ , 无星号表示  $P > 0.05$ 。

Note: \* represents  $P < 0.05$ , \*\* represents  $P < 0.001$ , absents of asterisk stands for  $P > 0.05$ .

表 5 肋果沙棘居群的分子变异分析 (AMOVA)

Table 5 Analysis of molecular variance (AMOVA) for *H. neurocarpa* populations

变异来源 Source	自由度 df	方差和 Sum of squares	变异组分 Variance compon- ents	占变异 比例 Percentage of variation (%)	显著性 检验 Signifi- cance tests
居群间 Among populations	4	128.375	0.734	48.33	$P < 0.001$
居群内 Whithin populations	209	164.050	0.785	51.67	$P < 0.001$
总和 Total	213	292.425	1.519	100	

体多样性水平为  $GBW > ARX > BG > XDS > RXC$  (表 3)。

## 2.2 居群遗传结构

肋果沙棘两两居群间的遗传分化系数  $F_{st}$  的变

幅为 0.306~0.655, 平均值为 0.483, 遗传分化 ( $F_{st}$ ) 在居群间表现为显著 ( $P < 0.001$ ); 5 个居群间的平均遗传距离为 0.414, 其中 XDS 和 ARX 之间为最大值, GBW 和 BG 之间的值最小 (表 4)。居群间的平均基因流为 0.328。分子方差分析 (AMOVA) 表明, 青海祁连肋果沙棘居群之间存在显著性差异 ( $P < 0.001$ ), 48.33% 的变异存在于居群间, 51.76% 的变异发生在居群内的个体间 (表 5)。Mantel 检验结果表明, 虽然青海祁连 5 个肋果沙棘居群的遗传距离与地理距离有一定的正相关, 但相关性不显著 ( $r = 0.330$ ,  $P = 0.170$ )。

## 2.3 Structure 分析

Structure 软件分析的  $\Delta K$  峰值出现在  $K = 2$ , 当  $K = 5$  时,  $\ln P(D)$  达到最高水平且此时  $\Delta K$  值也较高。 $K = 2$  时, 分配到第 1 组的个体主要来自居群 GBW 和 XDS, 第 2 组的来源主要是 ARX、RXC 和 BG;  $K = 5$  时, 5 个居群基本上被分配到不同的组中, 其中 XDS 和 ARX 的全部个体被分至单独的组, RXC 除 1 个个体外的其他个体也都被分至独立的一个组, GBW 和 BG 的个体有一部分被分至 RXC 的组内, 其它大部分个体则也被归到单独的组内 (图 1)。

## 2.4 聚类分析与主坐标分析

UPGMA 聚类分析表明 5 个居群聚为 2 个分支, 其中居群 GBW 与 BG 先聚为一支, 后依次与 RXC 和 XDS 聚为一支, 居群 ARX 为单独的一支 (图 2)。主坐标分析的结果与 UPGMA 聚类结果一致 (图 3)。

## 3 讨论与结论

遗传多样性是物种长期进化的产物, 它的水平决定了物种适应进化的潜力。沙棘属植物主要分布

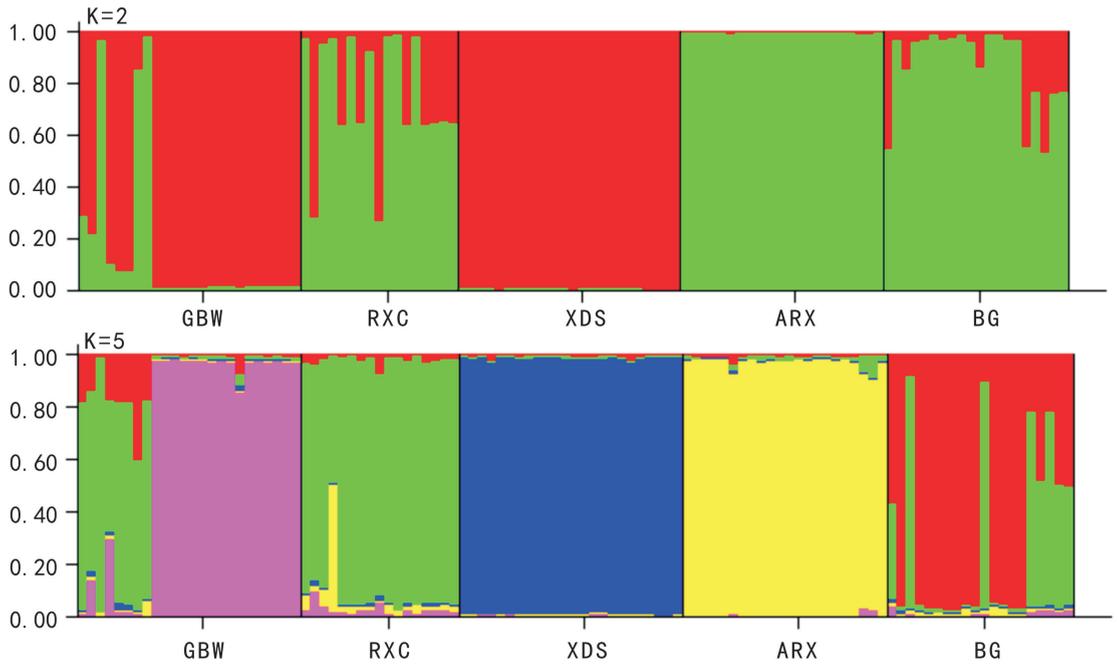


图 1 对遗传结构的 Structure 分析结果

Fig. 1 Result of structure analysis on genetic structure

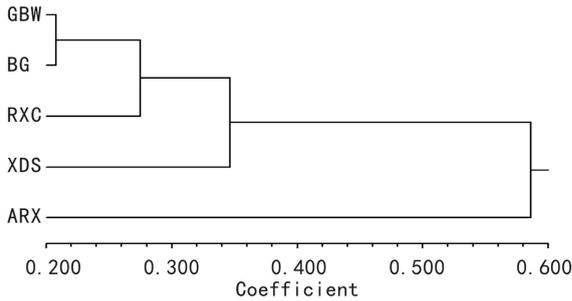


图 2 肋果沙棘 5 个居群的 UPGMA 聚类分析

Fig. 2 UPGMA clustering for 5 populations of *H. neurocarpa*

于青藏高原及其边缘地区,作为群落演替的先锋物种,如中国沙棘、云南沙棘、江孜沙棘等在适应高原不同生境条件的过程中,形成了丰富的遗传多样性, Shannon 信息指数从 0.197 到 0.410(孙坤等, 2004; Tian et al, 2004; 张辉和苏雪, 2006)。孟丽华等(2008)利用叶绿体 DNA 对肋果沙棘谱系地理学的研究发现,其单倍型多样性指数可达 0.300。沙棘属植物较高遗传多样性的形成和维持与其雌雄异株、风媒异交的繁育系统特点一致。本研究利用 SSR 分子标记对肋果沙棘的研究表明,位于其分布区北缘青海祁连地区的居群遗传多样性虽然略低于我们对大地理尺度下肋果沙棘遗传多样性的研究结果

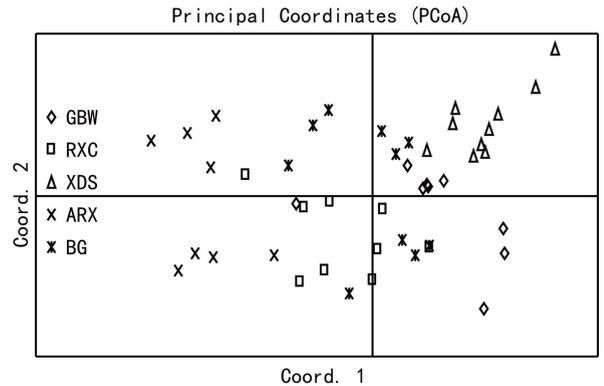


图 3 肋果沙棘 5 个居群 107 个个体的主坐标分析 (PCoA) Coord. 1 和 Coord. 2 分别代表 39.33% 和 17.26% 的整体遗传变异。居群代号同表 1。

Fig. 3 Principle coordinate (PCoA) plot for the 107 individuals from 5 populations of *H. neurocarpa* Coord. 1 and Coord. 2 account for 39.33% and 17.26% of total genetic variation, respectively. Population codes see Table 1.

(温江波, 2010),但仍具有较为丰富的遗传多样性,期望杂合度和 Shannon 信息指数分别为  $He = 0.230$ ,  $I = 0.374$ 。这一结果支持了边缘居群与核心居群相比也能维持相对高遗传多样性的观点(Eckstein et al, 2006; 刘军等, 2013)。Van Rossum et al(1997)认为多年生、远交繁育和长距离的基因散布是边缘居群遗传多样性较高的重要原因。Thomas et al

(2001)提出物种分布区边缘居群遗传多样性较高可能与其面临更大生存压力,使得居群营养繁殖机会减少有关。肋果沙棘为风媒异交的多年生灌木或小乔木,种子可通过鸟类长距离散布(Lu et al, 2005),这可能是青海祁连地区肋果沙棘居群遗传多样性较高的原因。另外,在分析的5个居群中,GBW居群的遗传多样性最高,其原因可能与该居群分布范围大、个体数量多,且与中国沙棘混生,种间可能存在基因渐渗等有关。

植物居群的遗传结构受到多个内外因素影响,其中繁育系统、基因流、演替阶段等显著影响了居群的遗传分化,是影响遗传结构的最重要因素(葛颂, 1994)。而“核心-边缘假说”认为与核心居群相比,边缘居群较小,在遗传漂变和选择压力下,其遗传分化会增大(Hampe & Petit, 2005)。本研究中,青海祁连地区的肋果沙棘自然居群有很高程度的遗传分化( $F_{st}=0.483$ ),AMOVA结果表明居群间的变异占总变异的48.33%。从Structure分析可以看出,各居群间的分化较为明显。风媒植物遗传变异大部分存在于居群内,居群间的分化往往很小,但风媒传粉的肋果沙棘却存在有很高的居群间遗传分化(文亚峰和韩文军, 2010)。我们以前的研究发现,肋果沙棘虽然为风媒传粉,但其花粉的最远传播距离仅为125 m(张玉娜, 2009),而在青海祁连地区肋果沙棘呈片段化分布,居群之间地理距离都远大于花粉传播的有效距离,通过花粉传播基本无法进行居群间的基因交流。对基因流检测发现居群间的Nm仅为0.328,小于1,远低于风媒,异交植物的平均基因流水平,不足以抵制居群内遗传漂变引起的分化。此外,克隆繁殖也会使肋果沙棘各个居群间的遗传分化加剧。

肋果沙棘作为青藏高原的特有种、群落建群种和演替先锋物种,具有重要的生态和经济价值。由于肋果沙棘较丰富的居群内遗传多样性和显著的居群间遗传分化,在肋果沙棘利用和保护中,应尽可能多地保护不同的地方居群,才能最大限度地保存肋果沙棘的遗传多样性。

## 参考文献:

CHEN G, WANG Y, ZHAO C, et al, 2008. Genetic diversity of *Hippophae rhamnoides* populations at varying altitudes in the wolong natural reserve of China as revealed by ISSR markers [J]. *Silv Genet*, 57: 29-36.  
CHEN W, SUN K, ZHANG H, 2007. RAPD analysis of natural pop-

ulations on Chinese endemic *Hippophae rhamnoides* ssp. *wolongensis* (Elaeagnaceae) [J]. *Guihaia*, 27(2): 152-155. [陈纹, 孙坤, 张辉, 2007. 中国特有植物卧龙沙棘自然群体的 RAPD 分析 [J]. *广西植物*, 27(2): 152-155.]  
DOYLE JJ, 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue [J]. *Phytochem Bull*, 19: 11-15.  
ECKSTEIN RL, O' NEILL RA, DANIELKA J, et al, 2006. Genetic structure among and within peripheral and central populations of three endangered floodplain violets [J]. *Mol Ecol*, 15: 2 367-2 379.  
EVANNO G, REGNAUT S, GOUDET J, 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study [J]. *Mol Ecol*, 14: 2 611-2 620.  
EXCOFFIER L, LAVAL G, SCHNEIDER S, 2005. Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis [J]. *Evol Bioinform Online*, 1: 47-50.  
GE S, 1994. Electrophoretic data and studies of plant systematics and evolution [J]. *Plant Sci J*, 12(1): 71-84. [葛颂, 1994. 酶电泳资料和系统与进化植物学研究综述 [J]. *植物科学学报*, 12(1): 71-84.]  
GRANT V, 1991. The evolutionary process: a critical study of evolutionary theory [M]. New York: Columbia University Press.  
HAMPE A, PETIT RJ, 2005. Conserving biodiversity under climate change: the rear edge matters [J]. *Ecol Lett*, 8(5): 461-467.  
HUBISZ MJ, FALUSH D, STEPHENS M, et al, 2009. Inferring weak population structure with the assistance of sample group information [J]. *Mol Ecol Res*, 9(5): 1 322-1 332.  
LIAN YS, 2000. Biology and chemistry of *Hippophae L.* [M]. Lanzhou: Gansu Scientific and Technological Press: 212-220. [廉永善, 2000. 沙棘属植物生物学和化学 [M]. 兰州: 甘肃省科技出版社: 212-220.]  
LIU J, JIANG JM, ZOU J, 2013. Genetic diversity of central and peripheral populations of *Toona ciliata* var. *pubescens*, an endangered tree species endemic to China [J]. *Chin J Plant Ecol*, 37(1): 52-60. [刘军, 姜景民, 邹军, 2013. 中国特有濒危树种毛红椿核心和边缘居群的遗传多样性 [J]. *植物生态学报*, 37(1): 52-60.]  
LU XW, SUN K, MA RJ, 2005. Fruits foraging patterns and seed dispersal effect of frugivorous birds on *Hippophae rhamnoides* ssp. *sinensis* [J], *Chin J Ecol*, 24(6): 635-638.  
MENG LH, YANG HL, WU GL, et al, 2008. Phylogeography of *Hippophae neurocarpa* (Elaeagnaceae) inferred from the chloroplast DNA trnL-F sequence variation [J]. *J Syst Evol*, 46(1): 32-40. [孟丽华, 杨慧玲, 吴桂丽等, 2008. 基于叶绿体 DNA trnL-F 序列研究肋果沙棘的谱系地理学 [J]. *植物分类学报*, 46(1): 32-40.]  
MILLAR CI, LIBBY WJ, 1991. Strategies for conserving clinal, ecotypic, and disjunct population diversity in widespread species [J]. *Genet Conserv Rare Plants*: 149-170.  
NEI M, 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations [J]. *Proc Nat Acad Sci*, 70(12): 3 321-3 323.  
PEAKALL R, SMOUSE PE, 2012. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update [J]. *Bioinformatics*, 28(19): 2 537-2 539.  
ROHLF FJ, 2000. NYSYS-pc. Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Ver. 2. 1 [M]. New York: Exeter Software Setauket.  
ROUSSET F, 2008. Genepop'007: a complete re-implementation

- of the genepop software for Windows and Linux [J]. Mol Ecol Res, 8(1): 103-106.
- RUAN C, LI D, 2005. AFLP fingerprinting analysis of some cultivated varieties of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) [J]. J Genet, 84(3): 311-316.
- SHANNON CE, WEAVER W, 1959. The mathematical theory of communication [M]. Illinois: University of Illinois Press: 20-29.
- SOLTIS PS, SOLTIS DE, 1991. Genetics variation in endemic and widespread plant species: examples from *Saxifragaceae* and *Polystichum* [J]. Aliso, 13: 215-223.
- SUN K, CHEN XL, MA RJ, et al, 2002. Molecular phylogenetics of *Hippophae* L. (Elaeagnaceae) based on the internal transcribed spacer (ITS) sequences of nrDNA [J]. Plant Syst Evol, 235(1-4): 121-134.
- SUN K, CHEN W, MA RJ, 2004. A study on the genetic diversity of subpopulations of *Hippophae rhamnoides* ssp. *sinensis* at Ziwuling, Gansu [J]. J Lanzhou Univ: Nat Sci Ed, 40(3): 72-75. [孙坤, 陈纹, 马瑞君, 2004. 子午岭中国沙棘亚居群的遗传多样性研究 [J]. 兰州大学学报·自然科学版, 40(3): 72-75.]
- THOMAS CD, BODSWORTH EJ, WILSON RJ, et al, 2001. Ecological and evolutionary processes at expanding range margins [J]. Nature, 411(6 837): 577-581.
- TIAN C, LEI Y, SHI S, et al, 2004. Genetic diversity of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) populations in northeastern and northwestern China as revealed by ISSR markers [J]. New forests, 27(3): 229-237.
- TIAN C, NAN P, SHI S, et al, 2004. Molecular genetic variation in Chinese populations of three subspecies of *Hippophae rhamnoides* [J]. Biochem Genet, 42(7-8): 259-267.
- VAN ROSSUM F, VEKEMANS X, MEERTS P, et al, 1997. Allozyme variation in relation to ecotypic differentiation and population size in marginal populations of *Silene nutans* [J]. Heredity, 78(5): 552-560.
- VAN ROSSUM F, VEKEMANS X, GRATIA E, et al, 2003. A comparative study of allozyme variation of peripheral and central populations of *Silene nutans* L. (Caryophyllaceae) from Western Europe: implications for conservation [J]. Plant Syst Evol, 242(1-4): 49-61.
- WANG A, ZHANG Q, WAN D, et al, 2008. Nine microsatellite DNA primers for *Hippophae rhamnoides* ssp. *sinensis* (Elaeagnaceae) [J]. Conserv Genet, 9(4): 969-971.
- WEN JB, 2010. Study on the genetic diversity of *H. tibetana* and *H. neurocarpa* ssp. *neurocarpa* in the eastern of Qinghai-Tibet Plateau and the clone fitness of hybrids and their parents of hybrid zone in *Hippophae* [D]. Lanzhou: Northwest Normal University: 57-76. [温江波, 2010. 青藏高原东缘西藏沙棘, 枹果沙棘遗传多样性 [D]. 兰州: 西北师范大学: 57-76.]
- WEN YF, HAN WJ, 2010. Plant genetic diversity and its influencing factors [J]. J Cent S Univ For Technol, 30(12): 80-87. [文亚峰, 韩文军, 2010. 植物遗传多样性及其影响因素 [J]. 中南林业科技大学学报, 30(12): 80-87.]
- XU T, XU L, WANG H, et al, 2014. Development of polymorphic microsatellite markers from *Hippophae tibetana* using 5'-anchored PCR methods and magnetic beads hybridization [J]. J Fudan Univ: Nat Sci Ed, 4: 543-549. [许汀, 许璐, 王昊, 等, 2014. 基于 5'锚定 PCR 法和磁珠富集法的西藏沙棘多态性 SSR 引物开发 [J]. 复旦学报·自然科学版, 4: 543-549.]
- YANG AH, ZHANG JJ, 2014. Microsatellite genetic diversity and fine-scale spatial genetic structure within a natural stand of *Liriodendron chinense* (Magnoliaceae) in Lanmushan, Duyun City, Guizhou Province [J]. Biodivers Sci, 22(3): 375-384. [杨爱红, 张金菊, 2014. 鹅掌楸贵州烂木山居群的微卫星遗传多样性及空间遗传结构 [J]. 生物多样性, 22(3): 375-384.]
- ZHANG H, SU X, SUN K, et al, 2006. Genetic diversities of *Hippophae rhamnoides* ssp. *sinensis* populations on both the sides of Qilianshan Mountain [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 26(4): 702-706. [张辉, 苏雪, 孙坤等, 2006. 祁连山两侧中国沙棘不同居群的遗传多样性研究 [J]. 西北植物学报, 26(4): 702-706.]
- ZHANG YN, 2009. Study of reproductive isolation to natural hybrid zone of *Hippophae* (Elaeagnaceae) [D]. Lanzhou: Northwest Normal University: 60-63. [张玉娜, 2009. 沙棘属植物自然杂交带的生殖隔离状况的研究 [D]. 兰州: 西北师范大学: 60-63.]



( 上接第 634 页 Continue from page 634 )

- CHENG YS, YANG QH, et al, 2007. Flora of China [M]. Beijing: Science Press Missouri Botanical Garden Press, 13: 72-111.
- FU PY, 1995. Plant Key of Northeast China [M]. 2 nd Ed. Beijing: Science Press: 225, 421-429. [傅沛云, 1995. 东北植物检索表 [M]. 2 版. 北京: 科学出版社, 225, 421-429.]
- LIU SE, 1977. The herb flora of Northeast China [M]. Beijing: Science Press, 6: 78-128. [刘慎谔, 1977 东北草本植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 6: 78-128.]
- LIU SE, 1980. The herb flora of Northeast China [M]. Beijing: Science Press, 4: 171-173. [刘慎谔, 1980. 东北草本植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 4: 171-173.]
- LU LIANLI, KATSUHIKO K, 2001. Flora of China 8 [M]. Beijing: Science Press; St. Louis: Missouri Botanical Garden Press: 199-201.
- WANG QR. 1991. Flora of China [M]. Bei Jing: Science Press, 51: 8-134. [王庆瑞, 1991. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 51: 8-134.]