

秦巴山区石斛属亲缘关系及金钗石斛遗传多样性 ISSR 分析

江爱明¹, 曹俊¹, 蔡高磊^{2*}

(1 汉江师范学院 生物化学与环境工程系, 湖北十堰 442000; 2 十堰市农业科学院, 湖北十堰 442000)

摘要: 为研究秦巴山区石斛属亲缘关系, 利用 5 条 ISSR 引物对秦巴地区石斛属植物 12 个居群的遗传多样性进行了初步探讨。结果表明: (1) UPGMA 聚类分析结果显示, 金钗石斛 (*Dendrobium nobile* Lindl)、曲茎石斛 (*D. flexicaule* Z. H. Tsi) 和细叶石斛 (*D. hancockii* Rolfe) 分别聚为三支, 在分子水平上出现了明显的分化, 揭示三者是独立物种。(2) 金钗石斛种下 6 个居群可明显分为 2 支, LJ、MT、YP 和 WF 遗传一致度较近聚为一支; YJ 和 PT 遗传高度一致, 遗传距离最近聚在一起。(3) 金钗石斛种下居群间 Nei's 总基因多样性 (H_t) 为 0.388, 基因分化系数 (G_s) 为 0.934, 显示金钗石斛居群间存在较高的遗传分化。研究结果揭示了秦巴山区石斛属植物的亲缘关系, 从分子水平上为其鉴定提供了依据, 并为金钗石斛的资源利用和遗传改良奠定理论基础。

关键词: 金钗石斛; ISSR; 遗传多样性

中图分类号: Q346⁺.5; Q789

文献标志码: A

Genetic Relationship of *Dendrobium* and Genetic Diversity of *Dendrobium nobile* in Qinling-Daba Mountains Revealed by ISSR

JIANG Aiming¹, CAO Jun¹, CAI Gaolei^{2*}

(1 Faculty of Biochemistry and Environmental Engineering, Hanjiang Normal University, Shiyan, Hubei 442000, China; 2 Shiyan Academy of Agricultural Science, Shiyan, Hubei 442000, China)

Abstract: To understand the genetic relationship of *Dendrobium* in Qinba, the genetic diversity of 12 populations was analyzed using five inter-simple sequence repeat (ISSR) markers. (1) The UPGMA analysis exhibited significant genetic differentiation among *D. nobile* Lindl, *D. flexicaule* Z. H. Tsi and *D. hancockii* Rolfe, which revealed that they are independent species. (2) Six populations of *D. nobile* were obviously divided into two branches, the populations of LJ, MT, YP and WF are classified as Clade I because of the close genetic consistency among them; the populations of YJ and PT are classified as Clade II due to the highest degree of genetic consistency and genetic distance. (3) The Nei's gene diversity (H_t) and coefficient of gene differentiation (G_s) of *D. nobile* were 0.388 and 0.934, respectively, which indicated that there were high diversity and gene differentiation among the populations of *D. nobile*. Our findings clearly evidenced the genetic diversity of *D. nobile* in different areas of Qinba, which will be used in identification and intellectual property protection.

Key words: *Dendrobium nobile*; inter-simple sequence repeat (ISSR); genetic diversity

收稿日期: 2016-04-10; 修改稿收到日期: 2016-10-08

基金项目: 湖北省教育厅 (Q20156001)

作者简介: 江爱明 (1982—), 男, 硕士, 讲师, 主要从事药用植物育种研究。E-mail: jiangaiming2003@126.com

* 通信作者: 蔡高磊, 硕士, 农艺师, 主要从事植物遗传育种研究。E-mail: caigaolei@163.com

秦巴山区是秦岭山脉和大巴山脉区域的总称,地形较为复杂,中心是汉中盆地,两侧为巴山山脉和秦岭山脉,地跨甘肃、四川、陕西、重庆、河南、湖北六省市,呈典型的“两山夹一江”的地势构造^[1]。该地区处于中国中西结合部和南北气候过渡带,具有温暖湿润、雨热同季的特点,独特的自然条件和地理位置为野生植物资源提供了较好的生长环境。

石斛属(*Dendrobium* Sw.)植物多为附生植物,约 1 000 种,广泛分布于亚洲热带和亚热带地区至大洋洲。中国有 74 种和 2 变种,主要分布在秦岭以南诸省区。国内种类中具细茎而花小的类群,如细茎石斛、铁皮石斛、梳唇石斛、美花石斛、钩状石斛、霍山石斛和金钗石斛等,这其中以金钗石斛(*Dendrobium nobile* Lindl)尤为珍贵^[2],以秦巴山区产量较多,质量最好^[3]。因其含有石斛碱及多糖类物质,具有较高的药用价值而名列“中华九大仙草”之首^[4]。由于近年来过度开采、生态环境破坏及自身生长缓慢等原因,野生金钗石斛愈来愈少。近几年研究人员主要进行野生金钗石斛资源的保护,但是对该地区金钗石斛遗传多样性研究还很欠缺。

ISSR(inter-simple sequence repeat,简单重复序列间扩增)是由 Zietkiewicz^[5]等于 1994 年创建的一种基于聚合酶链式反应(PCR)的新型分子标记,该技术具有 DNA 用量小、成本低、重复性好、操作简便等特点,而被广泛应用于品种鉴定、遗传关系及遗传多样性、基因标记、指纹图谱的建立等多方面的研究^[6-7]。马佳梅等^[8]建立并优化了流苏石斛 ISSR 反应体系;卢家仕等^[9]采用 ISSR 技术对云南及广西地区石斛属亲缘关系进行了研究,将 24 份不同产地石斛样品划分为 6 个类群,揭示了居群间丰富的遗传多样性,为石斛属亲缘关系的鉴定提供了依据。本研究采用 ISSR 标记,对秦巴山区不同海拔、不同

地点 12 个居群的石斛属进行基因组多态性研究,分析石斛样品的遗传多样性和亲缘关系,为更好地保护和利用本地区的石斛资源提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材 料

实验材料 12 个居群,共计 514 个个体,其中金钗石斛、曲茎石斛(图 1)和细叶石斛的居群数分别为 6、4、2 个。各居群的样地信息和采样个体数见表 1,居群采样时,每个个体间隔 50 m 以上,并将野外采集的个体引种栽培于实验室备用。

1.2 ISSR 标记

称取新鲜石斛叶片 5 g 于研钵中液氮研磨,采用 MiniBEST Plant Genomic DNA Extraction Kit (TaKaRa 公司提供)提取基因组 DNA,最后加入 100

表 1 石斛属采样基本数据

Table 1 Detailed sample information of <i>Dendrobium</i>				
物种 Species	居群代号 Population code	经/纬度 Longitude(E) /Latitude(N)	海拔 Altitude /m	样本数 Number
金钗石斛 <i>D. nobile</i> Lindl	LJ	110. 406/32. 878	782	37
	MT	110. 330/32. 907	674	38
	YJ	110. 854/32. 951	732	39
	WF	110. 858/32. 979	763	40
	YP	110. 280/32. 242	862	43
	PT	110. 258/32. 213	832	44
曲茎石斛 <i>D. flexicaule</i> Z. H. Tsi	HS	109. 676/32. 363	549	46
	QL	109. 641/32. 254	641	50
	ZJ	110. 982/32. 028	954	42
	HF	110. 979/32. 025	972	45
细叶石斛 <i>D. hancockii</i> Rolfe	BM	110. 506/31. 675	1 018	39
	CL	110. 429/31. 718	1 045	51



图 1 石斛属植物形态
Fig. 1 The morphology of *Dendrobium*

$\mu\text{L} \times 1\text{TAE Buffer (pH8.0)}$ 溶解 DNA。用紫外分光光度计检测 DNA 样品的浓度和纯度, -20°C 下贮存备用。根据哥伦比亚大学(UBC)公布的引物序列,从中筛选出稳定性好,重复性强且条带清晰的引物作为本次实验引物,引物编号及序列见表 2。

从每个居群选取 4 个个体进行预实验,最终确定 PCR 扩增反应体系总体积为 $25\ \mu\text{L}$: 包含 $1\ \mu\text{L}$ Tks Gflex DNA Polymerase(TaKaRa 公司提供), $12\ \mu\text{L}$ $2 \times \text{Gflex Buffer}$ (TaKaRa 公司提供), $1\ \mu\text{L}$ 基因组 DNA, $1\ \mu\text{L}$ SSR 引物, $10\ \mu\text{L}$ ddH_2O 。反应条件: 94°C 预变性 $5\ \text{min}$; 94°C 变性 $45\ \text{s}$, $53^{\circ}\text{C} \sim 57^{\circ}\text{C}$ (视引物 T_m 而定)退火 $45\ \text{s}$, 72°C 延伸 $1\ \text{min}$, 共 30 个循环; 72°C 延伸 $7\ \text{min}$, 最后 4°C 保存。用含有 Gold view 的 1.5% 琼脂糖凝胶于 $120\ \text{V}$ 恒压电泳 $45\ \text{min}$ 。最后在凝胶成像系统(北京六一 WD-9413B)上进行拍照并保存,用于后续分析。

1.3 数据统计与分析

ISSR 作为显性分子标记视每一个多态位点为一个等位基因。在同一相对迁移位置出现清晰条带的计为 1, 没有或模糊的条带记为 0, 将条带数据信息构建成 0 和 1 的原始数据矩阵。使用 POP-GENE1.32 软件分析遗传变异的各项参数: Nei's 基因多样性指数(H)、平均每个位点上的观察等位基因数(N_a)、平均每个位点的有效等位基因(N_e)、Shannon 多样性信息指数(I)、居群间遗传分化系数(G_{st})、居群内基因多样性(H_s)、总的基因多样性(H_t)、基因流(N_m)等。利用 NTSYS2.1 软件计算供试材料之间的遗传距离, 采用非加权类平均法(UPGMA)对遗传距离进行聚类分析。

2 结果与分析

2.1 基因组 DNA 纯度检测

用 TaKaRa 9770A 试剂盒提取 12 份石斛基因组 DNA 后, 经 1% Agarose 电泳检测, 结果显示: 12 个泳道都出现一条清晰的 DNA 条带, 无拖尾现象, 表明蛋白质和 RNA 的含量极少(图 2)。用紫外分光光度法检测所有 DNA 的 $\text{OD}_{260}/\text{OD}_{280}$ 值, 均在 $1.85 \sim 1.98$, 质量浓度在 $350 \sim 360\ \text{ng}/\mu\text{L}$ 。以上结果表明提取的 DNA 纯度较高, 质量浓度均匀, 符合 PCR 模板的要求。

2.2 ISSR 结果分析

图 3 为引物 UBC 900 对 12 个石斛属材料的 PCR 扩增产物琼脂糖凝胶电泳图谱。其它引物都达到很好的扩增效果, 表明选定的反应体系和 PCR

扩增程序效果较好, 扩增产物可用于下一步的数据分析。

用 ISSR 引物 UBC840、UBC 841、UBC 842、UBC 899、UBC 900 对全部石斛属样本进行扩增检测, 扩增条带清晰, 如图 3 中引物 UBC 900 对样品扩增结果所示。表 2 分析表明, 5 条引物扩增共检测到 80 个清晰的条带, 每条引物平均扩增出 16 个片段。采用 POPGENE1.32 软件进行分析, 5 条引物在 12 个石斛属居群中扩增的遗传多样性参数(表 3)显示: 共检测到 13 个等位基因, 观测的等位基因数(N_a) $3.4 \sim 8.2$, 平均等位基因数为 5.38。有效等位基因(N_e) $1.633 \sim 1.982$, 平均值为 1.852。Nei's 基因多样性指数(H) $0.388 \sim 0.495$, 平均值为 0.457。Shannon 多样性信息指数(I) $0.576 \sim 0.689$, 平均值为 0.649, 表明 5 条引物扩展产物均具有多态性, 可用于石斛属各居群的遗传多样性分析。

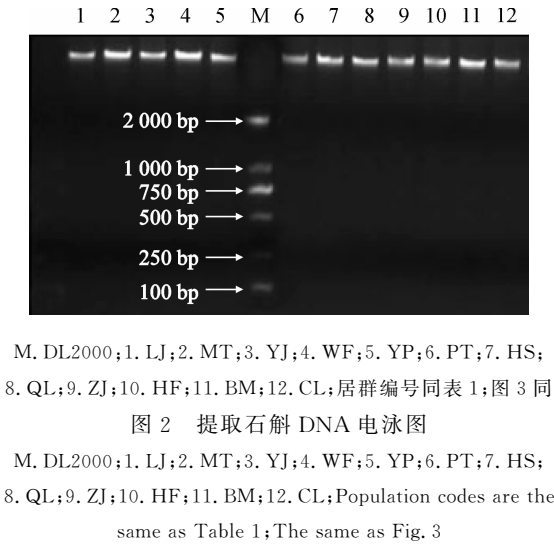


Fig. 2 DNA electrophoresis of *Dendrobium* Sw extracted with kit

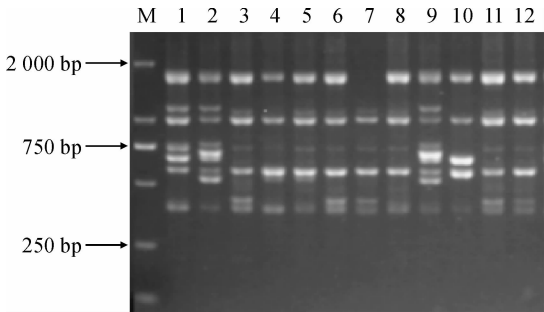


图 3 引物 UBC900 对样品的扩增结果

Fig. 3 ISSR bands of *Dendrobium* Sw amplified with primer UBC900

表 2 ISSR 引物序列及其 PCR 扩增的多态性

Table 2 Primers and polymorphism of PCR amplification

位点 Locus	引物编号 Primer	引物序列 Primer sequence	退火温度 Annealing temperature /℃	总条带数 No. of polymorphic bands
Dn1	UBC 840	(GA) ₈ YT	53	15
Dn2	UBC 841	(GA) ₈ YC	58	13
Dn3	UBC 842	(GA) ₈ YG	55	19
Df4	UBC 899	CAT GGT GTT GGT CAT TGT TCC A	52	12
Df5	UBC 900	ACT TCC CCA CAG GTT AAC ACA	50	21

Note: Y=C/T

表 3 石斛居群遗传多样性

Table 3 Genetic diversity of *Dendrobium*

位点 Locus	等位基因数 Number of alleles(<i>N_a</i>)	有效等位基因数 Effective number of alleles(<i>N_e</i>)	基因多样性指数 Gene diversity(<i>H</i>)	Shannon 指数 Shannon index(<i>I</i>)
Dn1	4.1	1.633	0.388	0.576
Dn2	3.4	1.894	0.472	0.665
Dn3	6.5	1.894	0.472	0.662
Df4	4.7	1.982	0.495	0.689
Df5	8.2	1.720	0.419	0.609
平均 Mean	5.38±0.21	1.852±0.145	0.457±0.044	0.649±0.046

表 4 石斛属居群多样性 Nei's 分析

Table 4 Nei's analysis of gene diversity in *Dendrobium* Sw

物种 Species	<i>H_i</i>	<i>H_s</i>	<i>G_{st}</i>	<i>N_m</i>
金钗石斛 <i>D. nobile</i> Lindl	0.388±0.022	0.158±0.002	0.934	0.214
曲茎石斛 <i>D. flexicaule</i> Z. H. Tsi	0.254±0.012	0.083±0.011	0.772	0.136
细叶石斛 <i>D. hancockii</i> Rolfe	0.171±0.002	0.111±0.003	0.533	0.214
物种间 Among species	0.425±0.021	0.135±0.013	1.000	0.035

2.3 石斛居群遗传分化分析

石斛属居群多样性 Nei's 分析(表 4)显示,金钗石斛 6 个居群 H_i 为 0.388, H_s 为 0.158, G_{st} 为 0.934,即 93.4%的变异存在于居群之间,6.6%的变异存在于居群内,结果显示居群间的遗传分化大于居群内的分化。居群间的基因流(N_m)为 0.214,表明居群之间的基因流水平较低。曲茎石斛 4 个居群 H_i 为 0.254, H_s 为 0.083, G_{st} 为 0.772,居群间的基因流(N_m)为 0.136,说明遗传变异主要来自于居群间。细叶石斛 2 个居群 H_i 为 0.171, H_s 为 0.111, G_{st} 为 0.533,居群间的基因流(N_m)为 0.214。物种间 N_m 为 0.035,表明物种之间的基因交流几乎不发生。

2.4 石斛属聚类分析

采用 POPGENE1.32 软件分析得出,石斛属 12

个居群两两间的 Nei' 遗传一致度(H_i)范围为 0.593 3~0.911 8,遗传距离(D)为 0.092 3~0.522 0(表 5)。YJ 与 PT 居群间遗传一致度最高(H_i = 0.911 8),遗传距离最近(D = 0.092 3);通过 NT-SYSpC-2.1 聚类分析软件构建各居群间亲缘关系系统树,并计算表 5 金钗石斛居群间遗传相似系数(G_s)(图 4)。各材料间 UPGMA 聚类结果显示, G_s 范围 0.36~0.88,平均值为 0.62。 G_s 最低值存在于细叶石斛和金钗石斛之间为 0.36,这表明其亲缘关系最远;最高值 0.88 为金钗石斛 YJ 和 PT 居群之间,说明其亲缘关系最近。金钗石斛 6 个居群按照遗传距离远近以及遗传一致度高低聚为 2 个大支。其中 YJ 和 PT 遗传高度一致,遗传距离最近,首先聚在一起为 Clade II; LJ、MT、YP 和 WF 遗传一致度与地理距离较近聚为 Clade I。通过聚类分

表 5 石斛属各个居群间的 Nei's 遗传一致度(对角线上方)和遗传距离(对角线下方)

Table 5 Nei's genetic identity(above diagonal)and genetic distances(below diagonal)among the populations of *Dendrobium* Sw

编号 Pop code	LJ	HS	ZJ	QL	WF	CL	PT	MJ	HF	BM	YP	YJ
LJ	* * * *	0.742 5	0.767 7	0.699 9	0.717 8	0.832 9	0.763 4	0.878 4	0.785 1	0.786 9	0.866 7	0.827 3
HS	0.297 8	* * * *	0.678 8	0.678 9	0.624 9	0.659 4	0.806 8	0.764 8	0.715 9	0.757 9	0.773 6	0.778 8
ZJ	0.264 4	0.387 4	* * * *	0.676 9	0.662 2	0.687 7	0.680 3	0.858 6	0.760 4	0.708 5	0.796 4	0.750 3
QL	0.356 8	0.387 2	0.390 3	* * * *	0.593 3	0.618 6	0.697 6	0.705 6	0.773 9	0.731 0	0.701 3	0.763 1
WF	0.331 5	0.470 2	0.412 2	0.522 0	* * * *	0.696 0	0.713 8	0.704 5	0.720 2	0.747 7	0.756 8	0.775 2
CL	0.182 9	0.416 5	0.374 5	0.480 2	0.362 4	* * * *	0.679 3	0.740 0	0.685 0	0.691 1	0.833 6	0.744 4
PT	0.270 0	0.214 7	0.385 3	0.360 1	0.337 1	0.386 7	* * * *	0.734 8	0.680 1	0.671 9	0.756 8	0.911 8
MJ	0.129 6	0.268 2	0.152 4	0.348 7	0.350 3	0.301 2	0.308 1	* * * *	0.759 4	0.740 8	0.854 7	0.843 9
HF	0.242 0	0.334 2	0.273 9	0.256 3	0.328 2	0.378 4	0.385 6	0.275 2	* * * *	0.753 2	0.787 0	0.750 7
BM	0.239 6	0.277 2	0.344 6	0.313 4	0.290 7	0.369 5	0.397 6	0.300 1	0.283 5	* * * *	0.771 0	0.742 6
YP	0.143 1	0.256 8	0.227 6	0.354 9	0.278 6	0.182 0	0.278 7	0.157 0	0.239 5	0.260 1	* * * *	0.830 6
YJ	0.189 5	0.250 0	0.287 3	0.270 4	0.254 6	0.295 2	0.092 3	0.169 7	0.286 7	0.297 6	0.185 7	* * * *

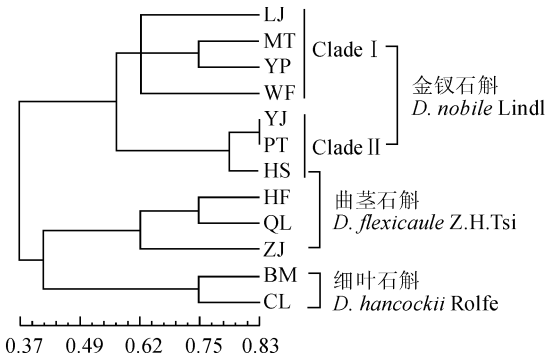


图 4 石斛属 UPGMA 聚类图

Fig. 4 UPGMA dendrogram of the genetic relationship of *Dendrobium* Sw

析也表明,细叶石斛与曲茎石斛先聚为一支,二者亲缘关系较近;金钗石斛单独聚为一支,与曲茎石斛、细叶石斛亲缘关系较远。

3 讨论

3.1 秦巴山区石斛属遗传多样性与种间亲缘关系

遗传多样性是生物多样性的的重要组成部分,一个居群遗传多样性越高或遗传变异越丰富,表明其对环境变化的适应能力就越强。因此对遗传多样性的研究可以揭示物种或居群的进化历史,也能为进一步分析其进化潜力和未来的命运提供重要的资料,尤其有助于物种稀有或濒危原因及过程的探讨。秦巴山区地处中国北亚热带向暖温带过渡地带并对中国植物区系的演化与分化研究具有重要意义,该

区域地貌类型丰富、气候温暖湿润,是中国生物多样性分布的中心地区之一^[10]。本研究中,通过 ISSR 标记显示金钗石斛(*D. nobile* Lindl)、曲茎石斛(*D. flexicaule* Z. H. Tsi)具有较高的遗传多样性。金钗石斛 6 个居群聚为 2 个大支,且 Clade I 和 Clade II 的遗传分化明显。曲茎石斛 4 个居群也聚为 2 类,但是 HS 居群和金钗石斛 Clade II 的遗传距离较近,究其原因可能是种群间还存在一定程度的基因流,针对石斛属植物的特点而言,花粉的扩散可能是植物基因流主要形式。这一发现说明,居群内和居群间存在基因交流,秦巴山区石斛属品种遗传多样性丰富,也为今后研究秦巴山区石斛属种质资源进化发展提供依据。

3.2 秦巴山区金钗石斛遗传多样性及居群间遗传分化

根据 ISSR 分析结果显示,金钗石斛种下居群间 Nei's 总基因多样性(H_t)为 0.388,基因分化系数 G_{st} 为 0.934,这说明金钗石斛居群间存在较高的遗传分化。这一较高的遗传多样性一方面可能与秦巴山区复杂的地质地貌有较大关联^[11-13]。山地的温度、湿度、光照和土壤等环境因子较复杂,生活环境多变,可能会使物种的分布展现出较高的遗传多样性。这种现象在秦巴山区药用植物群落物种多样性的研究中也发现^[14]。另一方面,长期的地理隔离导致各居群间适应不同的环境,从而产生较大的遗传变异,从 NTSYSpc-2.1 聚类分析来看 Clade I

和 Clade II 正好处在秦岭山脉的两侧,居群间基因之间正常的交流可能被山脉所阻断,基因流(N_m)较小为(0.214)也验证了这一假设。

3.3 金钗石斛可持续利用与保护策略

金钗石斛是中国传统的名贵中药,在“神农本草经”中列为上品。现代医学和中医药理研究表明,石斛在提高人体免疫能力、抗衰老、抑制肿瘤、补五脏虚劳等方面有明显的效果,具有很高的药用价值^[15]。同时它还含有丰富的蛋白质和氨基酸,并含有丰富的 Ca、Mg、P 等无机元素,具有较高的营养价值^[16-17]。秦巴山区是金钗石斛主要分布区之一,存在大量保存良好的野生资源。近年来,由于环境的破坏和人为掠夺性采挖,导致野生金钗石斛数量急剧下降。本研究通过石斛属形态、经纬度及海拔生长特性结合 ISSR 分子标记,把同名异种、同种异名或不同地方来源的品种资源进行客观的种质鉴定,弄清它们之间的遗传变化及亲缘关系,从而更好地指导科研和实践生产工作,更好地开发、利用和保护秦巴山区石斛属植物种质资源。

通过聚类分析显示,金钗石斛 6 个居群可明显分为 2 支,居群间 93.4% 变异,居群内 6.6% 变异,居群间变异远大于居群内,说明具有很高的遗传分化。通过野外实地调查发现,金钗石斛各居群所处生境有很大不同。LJ、MT 和 YP 居群位于自然保护区内,居群生境破坏较少,但也遭到了人们过度的采挖。WF、YJ 和 PT 居群多位于非自然保护区,处于荒山野岭,人类开垦、砍伐等因素干扰较明显,导致这些居群的数量锐减,因此,对有巨大药用价值的金钗石斛野生资源以及遗传多样性的保护意义重大。对现存金钗石斛居群应该采取一些有效的保护措施,针对 LJ、MT 和 YP 居群,其生境破坏较少,应主要采取就地保护,禁止人们过度采挖措施;针对 WF、YJ 和 PT 居群,应采取保护居群的生存环境的措施,同时在一些具有优良种质库的地区进行育种繁殖,增加居群的数量。

参考文献:

- [1] 任志远,李 晶. 陕南秦巴山区植被生态功能的价值测评[J]. 地理学报,2003,**58**(4):503-511.
REN Z Y, LI J. The valuation of ecological services from the vegetation ecosystems in the Qinling-Daba mountains[J]. *Acta Geographica Sinica*, 2003, **58**(4):503-511.
- [2] 郎楷永,陈心启,吉占和. 中国植物志(17~19 卷)[M]. 北京: 科学出版社,1999.
- [3] 刘 霞,胡志刚,杜 巍,等. 神农架中药资源保护现状与可持续利用策略[J]. 世界科学技术-中医药现代化,2014, **16**(11): 2 331-2 335.
LIU X, HU Z G, DU W, *et al.* Conservation status of Shennongjia traditional Chinese medicine resource and its sustainable utilization strategy [J]. *World Science and Technology/Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica*, 2014, **16**(11):2 331-2 335.
- [4] 陆礼和,杜艳妮,张 艳,等. 金钗石斛营养成分分析研究[J]. 云南师范大学学报(自然科学版),2013, **33**(1):60-63.
LU L H, DU Y N, ZHANG Y, *et al.* Analysis of nutrients in *Dendrobium nobile* Lindl[J]. *Journal of Yunnan Normal University* (Nat. Sci.), 2013, **33**(1):60-63.
- [5] ZIEKIENL CZ E, RAFASHL A, LABUDA D. Genome fingerprinting by simple sequence repeats (SSR) anchored polymerase chain reaction amplification [J]. *Genomics*, 1994, 20: 176-183.
- [6] 杨 梅,周颂东,何兴金,等. 中国假百合属亲缘关系及假百合遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 西北植物学报,2016, **36**(3): 449-457.
YANG M, ZHOU S D, HE X J, *et al.* Genetic relationships of *Notholirion* and genetic diversity of *N. bulbuliferum* in China revealed by ISSR markers[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2016, **36**(3):449-457.
- [7] 刘洪博,范源洪,陆 鑫,等. 29 份云南甘蔗创新种质的 ISSR 遗传多样性分析和指纹图谱构建[J]. 西北植物学报,2015, **35**(12):2 414-2 421.
LIU H B, FAN Y H, LU X, *et al.* Genetic diversity and construction of fingerprint of 29 Yunnan germplasms of sugarcane innovation by SSR [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2015, **35**(12):2 414-2 421.
- [8] 马佳梅,殷寿华. 流苏石斛 ISSR - PCR 反应体系的优化[J]. 云南大学学报(自然科学版),2008, **30** (S1):406-410.
MA J M, YIN S H. Optimization of ISSR-PCR reaction system in *Dendrobium fimbriatum* Hook[J]. *Journal of Yunnan University* (Natural Science), 2008, **30** (S1):406-410.
- [9] 卢家仕,卜朝阳,吕维莉,等. 不同产地石斛属种质资源的 ISSR 遗传多样性分析[J]. 中草药,2013, **44**(1):96-100.
LU J S, BU C Y, LU W L, *et al.* ISSR analysis on genetic diversity of germplasms resources in *Dendrobium* SW from different habitats[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2013, **44**(1):96-100.
- [10] 江爱明,曹 婷. 秦巴山区及毗邻地区野生金钗石斛组织培养与快速繁殖[J]. 华中师范大学学报(自然科学版),2016, **50**(3):417-422.
JIANG A M, CAO T. Tissue culture and rapid propagation of

wild *Dendrobium nobile* in Qinba Mountain and its adjacent areas[J]. *Journal of Central China Normal University*(Nat. Sci.),2016,**50**(3):417-422.

[11] YAN W J,DING X Y. Isolation and characterization of 10 microsatellite markers for *Dendrobium nobile*. , a traditional Chinese tonic medicine[J]. *Conservation Genetics Resources* , 2015,**7**(1):303-304.

[12] PAROMIKB,SUMANK. Molecular characterization of *Dendrobium nobile* Lindl. , an endangered medicinal orchid,based on randomly amplified polymorphic DNA[J]. *Plant Systematics and Evolution* ,2015,**301**(1):201-210.

[13] LU S,DING X Y. Confirming the genetic identity of *Dendrobium fimbriatum* using an amplification refractory mutation system (ARMS)[J]. *Plant Molecular Biology Reporter* , 2010,**28**(4):712-716.

[14] 乔亚玲,刘政鸿,郝文芳,等. 陕南秦巴山区药用植物群落物种多样性研究[J]. *植物科学学报*,2016,**34**(2):200-210.

QIAO Y L,LIU Z H,HAO W F,*et al*. Species diversity of the medicinal plant community in the Qin-Ba Mountainous area of southern Shaanxi[J]. *Plant Science Journal* ,2016, **34** (2):200-210.

[15] 包英华,白 音,田新波. 束花石斛种质资源的 ISSR 分析[J]. *广西植物*,2008,**28**(4):447-450.

BAO Y H,BAI Y,TIAN X B. Studies on germplasm resources of *Dendrobium chrysanthum* using ISSR marker[J]. *Guihaia* ,2008,**28**(4):447-450.

[16] DING G,DING X Y,SHEN J. Genetic diversity and molecular authentication of wild populations of *Dendrobium officinale* by RAPD[J]. *Acta Pham Sic* , 2005, **40** (11): 1 028-1 032.

[17] 江金兰,叶 炜,李永清,等. 福建泰宁野生铁皮石斛种群的 ISSR 亲缘关系分析[J]. *热带亚热带植物学报*,2016, **24** (3): 259-266.

JIANG J L,YE W,LI Y Q,*et al*. Genetic relationships among wild *Dendrobium officinale* populations in Taining,Fujian by ISSR [J]. *Journal of Tropical and Subtropical Botany* , 2016, **24** (3):259-266.

(编辑:宋亚珍)

热烈祝贺《西北植物学报》入选 “百种中国杰出学术期刊”

2016 年 10 月 12 日中国科技信息研究所在北京隆重召开了“百种中国杰出学术期刊”年度新闻发布会,《西北植物学报》榜上有名。这是《西北植物学报》首次进入“百种中国杰出学术期刊”名单,说明《西北植物学报》通过多年来的持续发展,在本学科领域的学术水平和影响力又登上了一个新的台阶,这也是《西北植物学报》所有作者、审稿专家和全体编辑长期共同协作的丰硕成果。

中国科学技术信息研究所是国内科技期刊的权威评价机构。每年推出的“百种中国杰出学术期刊”是根据中国科技学术期刊综合评价指标体系,采用层次分析法,依据源期刊的十余个科学计量指标用纯数学的分析结果进行评定,不需要参评期刊提供任何材料,同时由专家打分并分学科对每一种期刊进行综合评价。“百种中国杰出学术期刊”名单是从近 5000 种科技期刊中遴选推出的,名单涵括中国出版的中英文学术期刊,代表中国学术期刊的最高水平。

在此,《西北植物学报》编辑部全体编辑对多年支持、关心《西北植物学报》的所有作者、读者、审稿专家表示最诚挚的感谢,感谢大家一直以来为《西北植物学报》的持续发展所做的无私奉献,希望各位今后一如既往地支持和关注《西北植物学报》,欢迎赐稿!!

(供稿:潘新社)