

# 应用 ITS 序列分析探讨偏花报春的系统位置

朱惠芬 杨俊波 张长芹<sup>\*</sup> 李德铢

(中国科学院昆明植物研究所 昆明 650204)

## Systematic position of *Primula secundiflora* ( Primulaceae ) inferred from nuclear ribosomal DNA ITS sequence data

ZHU Hui-Fen YANG Jun-Bo ZHANG Chang-Qin<sup>\*</sup> LI De-Zhu

( Kunming Institute of Botany , the Chinese Academy of Sciences , Kunming 650204 )

**Abstract** Two views on the systematic position of *Primula secundiflora* Franch. were presented by different scholars. This species has long been treated as a member of sect. *Sikkimensis*, owing to its campanulate corolla, but recently it was moved to sect. *Proliferae* based on other characteristics emphasized. In the present paper, the ITS ( internal transcribed spacer ) regions of nuclear ribosomal DNA from eight *Primula* species ( three in sect. *Sikkimensis*, four in sect. *Proliferae* together with *P. secundiflora* ) were sequenced and analyzed. Based on the results together with evidence from morphology and cytology, we consider that *P. secundiflora* should be placed in sect. *Proliferae*.

**Key words** *Primula secundiflora*; ITS sequence; Sect. *Proliferae*; Sect. *Sikkimensis*

**摘要** 对于偏花报春 *Primula secundiflora* Franch. 的系统位置,主要有两种意见,一种认为偏花报春具有典型的钟状花冠,应置于钟花报春组 sect. *Sikkimensis*,而另一种意见则依据其他特征将其置于灯台报春组 sect. *Proliferae*。通过对偏花报春、灯台报春组 4 种植物和钟花报春组 3 种植物核糖体 DNA 中的内转录间隔区( ITS )的序列测定及分析,并结合形态学及染色体特征的比较论证,认为偏花报春应置于灯台报春组。

**关键词** 偏花报春; ITS 序列; 灯台报春组; 钟花报春组

偏花报春 *Primula secundiflora* Franch. 隶属报春花科 Primulaceae 报春花属 *Primula* ( 陈封怀 胡启明, 1990 )。从目前所见的分类系统可知,其系统位置颇有争议。不同的学者对不同的性状进行加权,从而将其置于不同的组。大多数学者,包括 Balfour ( 1913 ), Smith & Forrest ( 1928 )等据其花冠钟状将其置于钟花报春组 sect. *Sikkimensis* ; 陈封怀和胡启明认为偏花报春的花冠是介于钟状和漏斗状之间的一种中间类型,并结合株型、叶形、花色与地理分布等特征,在《中国植物志》中将其放在灯台报春组 sect. *Proliferae*; Richards ( 1993 )侧重强调花粉形态的差别,也将其置于灯台报春组。

朱慧芬等 ( 2001 )根据染色体特征将偏花报春与灯台报春组、钟花报春组植物进行了比较,结果支持偏花报春与灯台报春组植物更为相似的观点。

近年来,利用分子生物学方法获得的大量植物 DNA 序列资料应用于系统学的研究。其中,核糖体 DNA ITS 区 ( 18S-26S )的应用最为广泛,并且已经证明这一区域的 DNA 序列特征可以作为被子植物系统学研究的一个非常有用的性状 ( Baldwin et al. , 1995 )。由于

2001-04-26 收稿 2001-10-16 收最后修改稿。

基金项目: 中国科学院知识创新和云南省自然科学基金 2001C0057M 资助项目。

\* 通讯联系人 ( Author for correspondence )

ITS区具有较快的进化速率,所以可以用来解决一些较低分类阶元的问题。目前,据报道(Baldwin, 1991, 1992; Cox et al., 1997; Lee et al., 1999; Kim et al., 1999; 施苏华等, 1999; 洪亚平等, 2001), ITS区序列分析已被用于解决很多科内的系统问题,同时证明, ITS在探讨属间及属内的关系方面也很有价值。

在报春花科中,Anderberg et al.(2000)利用ITS区的序列资料对仙客来属 *Cyclamen* 的系统发育进行了研究。

本文试图利用ITS区的序列分析来探讨报春花属中偏花报春在两个组之间的系统位置。分别对偏花报春、灯台报春组4种植物和钟花报春组3种植物的核糖体DNA ITS区首次进行了序列测定和分析,并结合有关形态性状、染色体特征,探讨了偏花报春的系统位置。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料来源

分别选取了偏花报春 *P. secundiflora*、灯台报春组4种植物,即海仙花报春 *P. poissonii*、霞红灯台报春 *P. beesiana*、粉被灯台报春 *P. pulverulenta*、桔红灯台报春 *P. bulleyana*以及3种钟花报春组植物,即网叶钟报春 *P. reticulata*、巨伞钟报春 *P. florindae*、钟花报春 *P. sikkimensis*作为研究对象。材料来源(表1)除特别注明的种类采用腊叶标本叶片外,其余材料均来自野外用硅胶快速干燥的新鲜叶片。凭证标本保存于中国科学院昆明植物研究所标本馆(KUN)。

表1 材料来源

Table 1 Source of material and Genbank Accession No. used

分类群 Taxa		凭证标本 Voucher	序列号 Genbank Accession No.
Sect. <i>Proliferae</i>	<i>P. secundiflora</i> ?	Zhongdian, Yunnan. H.F. ZHU200034	AF396695
	<i>P. poissonii</i>	Zhongdian, Yunnan. H.F. ZHU200033	AF396692
	<i>P. beesiana</i>	Kunming Botanic Garden, Cultivated. H.F. ZHU 200042	AF396689
	<i>P. pulverulenta</i>	Kunming Botanic Garden, Cultivated. H.F. ZHU 200025	AF396693
	<i>P. bulleyana</i>	Kunming Botanic Garden, Cultivated. H.F. ZHU 200006	AF396690
Sect. <i>Sikkimensis</i>	<i>P. sikkimensis</i>	Zhongdian Yunnan. H.F. ZHU 200035	AF396696
	<i>P. reticulata</i> *	Nepal 873275 (Anonyms)	AF396694
	<i>P. florinda</i> *	Linzhi, Tibet. J.X. YANG 2357	AF396691
<i>Lysimachia azorica</i> *	Sequence downloaded from Genbank		AF164017

\* Leaves from herbarium specimens kept in KUN.

### 1.2 DNA的提取

分别取各种植物的硅胶干燥叶片或腊叶标本叶片0.1 g左右,采用改良CTAB法(Doyle & Doyle, 1987)提取总DNA。

### 1.3 ITS区的扩增

聚合酶链式反应(PCR)在PERKIN ELMER 9600型PCR仪上进行,用White et al. (1990)描述的引物(见下文)进行ITS区的扩增。对于由硅胶干燥叶片提取的DNA,采用ITS5和ITS4一对引物扩增DNA ITS区(5'-18S rDNA-ITS1-5.8S rDNA-ITS2-26S rDNA-3')。对

于由腊叶标本叶片提取的 DNA ,用 ITS5 ,ITS2 一对引物扩增 5'-18S rDNA-ITS1-5.8S rDNA-3'区 ,ITS4 ,ITS3 一对引物扩增 5'-5.8S rDNA-ITS2-26S rDNA-3'区的序列。PCR 程序为 : 97℃预变性 4 min , 94℃变性 1 min , 50℃退火 1 min , 72℃延伸 1 min , 30 个循环 ; 由于腊叶标本长期存放 ,DNA 降解为稍短的片段 ,故其 PCR 的预变性、变性及退火时间均稍为缩短 循环数增至 35 个。PCR 的引物为 : ITS5 5'-GGAAGTAAAGTAACAAAGG-3' ; ITS4 5'-TCCTTCCGCTTATTGATATGC-3' ; ITS2 5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3' ; ITS3 5'-GCATCGAT-GAAGAACGGCAGC-3'。

#### 1.4 纯化

扩增产物均经 Watson 公司纯化试剂盒进行纯化。

#### 1.5 ITS 区 DNA 测序

测序反应依据双脱氧链终止法( Sanger *et al.* , 1977 )原理 ,在上述 PCR 仪上进行 ,反应程序为 : 64℃变性 50 s , 50℃退火 10 s , 60℃延伸 4 min , 30 个循环 ,反应体系为 10  $\mu$ l 。产物经热变性后于 ABI310 型自动测序仪进行序列测定。为保证所测序列的准确性 ,分别对每一种类的 ITS 序列的正、反链进行测序并校准。

#### 1.6 外类群选择

根据陈封怀和胡启明( 1989 )的研究 ,珍珠菜属 *Lysimachia* 是报春花科中最原始的一个属 ,本研究选取了珍珠菜属的 1 种植物 ,即 *Lysimachia azorica* 作为外类群。

#### 1.7 数据分析

所得序列采用 SeqEdv 1.03 及 Clustal X 进行排序 ,利用 PAUP 4.0b.4a 软件对序列进行统计分析及分支分析 ,计算各类群间的核苷酸差异值及差异矫正值 ,以 *Lysimachia* 为外类群 ,采用最大简约法( maximum parsimony method )获得最大简约树( MPTs ) ,用自展法( bootstrap 法 )检验系统树 ,自展数据集为 1000 次。

### 2 实验结果

排列后的 ITS 序列( 含 5.8s )总长为 640 ~ 647 bp 排列后的序列经 PAUP 4.0b.4a 分析得到各类群间的绝对遗传距离和相对遗传距离( 表 2 )。对 715 个位点进行了分析 ,其中稳

表 2 类群间的遗传距离  
Table 2 Pairwise distance between taxa in the present study

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	-	0.193	0.008	0.143	0.014	0.145	0.050	0.149	0.013
2	116	-	0.203	0.220	0.188	0.231	0.197	0.236	0.188
3	5	155	-	0.152	0.010	0.145	0.052	0.149	0.012
4	91	132	91	-	0.148	0.017	0.155	0.015	0.143
5	9	113	6	94	-	0.150	0.053	0.154	0.011
6	85	128	85	10	88	-	0.156	0.017	0.145
7	32	118	31	99	34	92	-	0.160	0.049
8	89	133	89	9	92	10	96	-	0.149
9	8	113	7	91	7	85	31	89	-

Below diagonal : Absolute distances ; Above diagonal : Mean distances

Note 1. *Primula beesianae* ; 2. *Lysimachia azorica* ; 3. *P. bulleyana* ; 4. *P. sikkimensis* ; 5. *P. secundiflora* ; 6. *P. reticulata* ; 7. *P. pulverulenta* ; 8. *P. florindae* ; 9. *P. poisonii* .

定位点 385 个,变异位点 335 个(包括 184 个信息位点)。用最大简约法寻找得到 5 棵最简约树,简约树长度为 444 步,一致性指数(*CI*)和维持性指数(*RI*)分别为 0.876 和 0.815。最大简约树用 bootstrap 分析各分支的支持强度(图 1),其中 *Lysimachia azorica* 为外类群。

结果显示,所研究的 8 个种类分为两大支:*Primula florindae*,*P. reticulata*,*P. sikkimensis* 同为一支,bootstrap 值为 100%。这 3 个种均属于钟花报春组;*P. poissonii*,*P. pulverulenta*,*P. bulleyana*,*P. secundiflora*,*P. beesiana* 为另一支,bootstrap 值为 100%,其中 *P. poissonii*,*P. pulverulenta*,*P. bulleyana*,*P. secundiflora*,*P. beesiana* 均属于灯台报春组。这一结果支持偏花报春 *P. secundiflora* 与 *P. poissonii*,*P. pulverulenta*,*P. bulleyana*,*P. beesiana* 在同一组,即灯台报春组 sect. *Proliferae*。

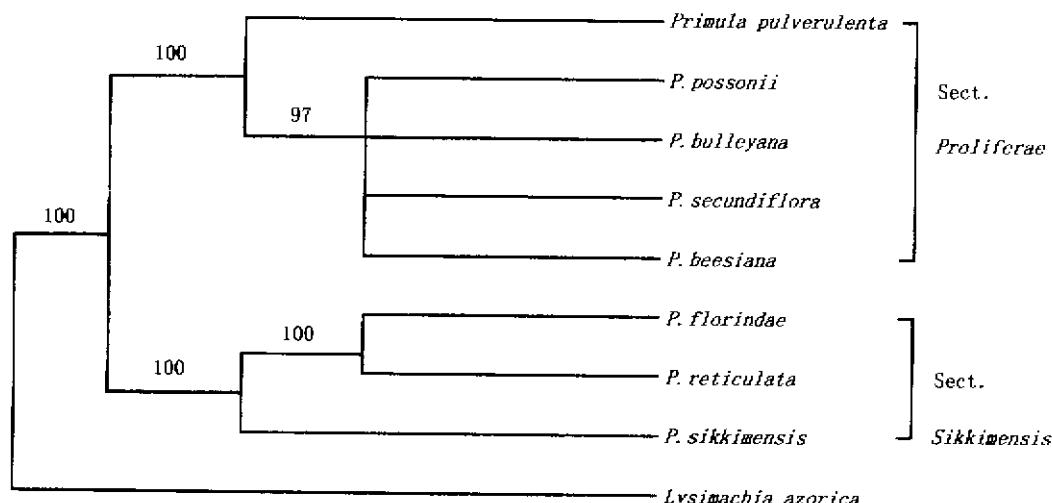


图 1 以珍珠菜属的一个种为外类群,基于 ITS 区序列分析得到的最大简约树

Fig. 1 The strict consensus tree of two most parsimonious trees generated from nrDNA ITS sequences using *Lysimachia azorica* as outgroup

### 3 讨 论

自 Balfou(1913)到 Smith & Forres(1928)历来的学者都根据偏花报春的钟状花冠将其置于钟花报春组 sect. *Sikkimensis*。陈封怀和胡启明认为偏花报春的花冠是介于钟状和漏斗状的中间类型,并结合株型、叶形、花色与地理分布等特征进而将其放在灯台报春组 sect. *Proliferae*,Richards(1993)在专著《Primula》中侧重强调花粉形态的差别,也将其置于灯台报春组。

从我们对 ITS 序列分析得到的结果来看,在分支图(图 1)中,偏花报春与霞红灯台报春、桔红灯台报春、海仙花报春构成一支,其 bootstrap 支持率为 97%;而钟花报春组的 3 个种构成一个单系类群,其 bootstrap 支持率为 100%。这一结果支持陈封怀和胡启明,以及 Richards 将偏花报春放于灯台报春组的观点。

在形态特征方面,灯台报春组与钟花报春组植物的花器官的明显区别在于,灯台组植物的花冠为漏斗状,钟花组的花冠为钟状。从这些花器官特征的比较(表 3)来看,偏花报春与钟花报春组 sect. *Sikkimensis* 植物的特征更为接近,这可能就是历来的学者将其置于

钟花报春组的原因所在。

表 3 偏花报春与钟花组报春及灯台组报春的主要形态特征比较  
Table 3 Comparision of the main morphological characteristics among *P. secundiflora*, sect. *Sikkimensis* and sect. *Proliferae*

Morphological Character	<i>P. secundiflora</i>	Sect. <i>Sikkimensis</i>	Sect. <i>Proliferae</i>
花冠 Corolla	介于钟状或漏斗状之间 Between bell-shaped and funnel-shaped	钟状 Bell-shaped	漏斗状 Funnel-shaped
花冠裂片 Corolla lobes	近直立 Nearly erect	近直立 Nearly erect	反折,与花冠筒近乎垂直 Reflexed, vertical to the corolla tube
花序 Inflorescence	伞形花序顶生,有时出现第2轮 Inflorescence umbella-like terminal, sometimes with two whorls of flowers	伞形花序顶生,或2~3轮 Inflorescence umbella-like, terminal, or with 2~3 whorls of flowers	伞形花序顶生2至多轮 Inflorescence umbella-like, terminal, with two or more than two whorls of flowers
蒴果 Capsule	筒状,稍长于花萼 Tubular, slightly longer than calyx	筒状,等长于或稍长于花萼 Tubular, as long as or longer than calyx	近球形,稍短于花萼 Subglobose, slightly shorter than calyx

从细胞学特征来看,朱慧芬等(2001)的研究指出,偏花报春的染色体较大,着丝点清晰,钟花报春组多数种类染色体较小,着丝点难于辨认。灯台报春组染色体较大,着丝点清晰。结合其他核型特征,朱慧芬等认为与钟花报春组相比,偏花报春的染色体特征与灯台报春组植物更为相似。Bruur(1932)对100多种报春花属植物的细胞学研究表明,偏花报春与钟花报春组多数报春的染色体特征有着很大的差异,偏花报春具有较大的染色体而钟花报春则具有小而相对短的染色体有明显的不同。同时指出“虽然 *P. secundiflora* 和 *P. vittata* 的染色体数目均为  $2n = 22$  但该两种的染色体明显比该组其它种类的染色体大”,并提出“*P. secundiflora* 和 *P. vittata* 应该被划作一个亚组处理”的建议。而现在,*P. vittata* 已经被归并为 *P. secundiflora*。

综上所述,核糖体 DNA ITS 区序列分析的结果和细胞学方面的特征均支持将偏花报春置于灯台报春组的观点。

致谢 承蒙中国科学院华南植物研究所胡启明教授赐信指导,中国科学院昆明植物研究所标本馆提供腊叶标本叶片材料,论文写作过程中得到中国科学院昆明植物研究所植物分子地理学开放实验室田欣、陈永燕、郭振华等同事的帮助,在此一并表示感谢。

## 参 考 文 献

- Anderberg A A, Stahl B, Källersjö M, 1998. Phylogenetic relationships in the Primulales inferred from *rbcL* sequence data. *Pl Syst Evol*, 211: 93~102
- Anderberg A A, Trift I, Källersjö M, 2000. Phylogeny of *Cyclamen* L. (Primulaceae): evidence from morphology and sequence data from the internal transcribed spacers of nuclear ribosomal. *Pl Syst Evol*, 220: 147~160
- Baldwin B G, 1991. Nuclear ribosomal DNA phylogenetics of the *Ttareeds* (Madiinae: Asteraceae). *Amer J Bot*, 78 (supplement, abstract): 165~166
- Baldwin B G, 1992. Phylogenetic utility of the internal transcribed spacers of nuclear ribosomal DNA in plants: an example from the Compositae. *Mol Phylogenet Evol*, 1: 3~16

- Baldwin B G, Sanderson M J, Porter J M et al., 1995. The ITS region of nuclear ribosomal DNA: a valuable source of evidence on angiosperm phylogeny. *Ann MO Bot Gard*, 82: 247~277
- Balfour I G, 1913. Chinese species of *Primula*. *J Roy Hort Soc*, 39: 130
- Bruun H G, 1932. Cytological studies in *Primula*. *Symb Bot Upsal*, 1: 1~239
- Cox A V, Pridgeon A M, Albert V A, Chase M W, 1997. Phylogenetics of the slipper orchids (Cypripedioideae, Orchidaceae): nuclear rDNA ITS sequences. *Pl Syst Evol*, 208: 197~223
- Doyle J J, Doyle J L, 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf material. *Phytochem Bull*, 19:11~15
- Chen F-H(陈封怀), Hu C-M(胡启明), 1989. Primulaceae. In: *Flora Reipublicae Popularis Sinicae(中国植物志)*. Vol 59(1). Beijing: Science Press. 1~207
- Chen F-H(陈封怀), Hu C-M(胡启明), 1990. Primulaceae. In: *Flora Reipublicae Popularis Sinicae(中国植物志)*. Vol 59(2). Beijing: Science Press. 1~277
- Fujii N, Ueda K, Watano Y et al., 1999. Further analysis of intraspecific sequence variation of chloroplast DNA in *Primula cuneifolia* Ledeb. (Primulaceae): implications for biogeography of the Japanese alpine flora. *J Pl Res*, 112: 87~96
- Hong Y-P(洪亚平), Chen Z-D(陈之端), Lu A-M(路安民), 2001. Phylogeny of the tribe Menispermeae (Menispermaceae) reconstructed by ITS sequence data. *Acta Phytotax Sin (植物分类学报)*, 39(2): 97~104
- Hu C-M(胡启明), 1992. The geographical distribution of Primulaceae. In: Lu A-M ed. *The Geography of Spermatophytic Families and Genera*. Beijing: Science Press. 332~343
- Källersjö M, Bergqvist G, Anderberg A A, 2000. Generic realignment in primuloid families of the Ericales s.l.: a phylogenetic analysis based on DNA sequences from three chloroplast genes and morphology. *Amer J Bot*, 87 (9): 1325~1341
- Kim S C, Crawford D J, Tadesse M et al., 1990. ITS sequences and phylogenetic relationships in *Bidens* and *Coreopsis* (Asteraceae). *Syst Bot*, 24: 480~493
- Lee B Y, Downie S R, 1999. A molecular phylogeny of Apiaceae tribe Caucalideae and related taxa: inferences based on ITS sequence data. *Syst Bot*, 24: 461~478
- Richards J, 1993. *Primula*. London: B. T. Batsford Ltd.
- Sanger F, Nicklen S, Coulson A R, 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc. N. A. S USA*, 74: 5463~5467
- Shi S-H(施苏华), Huang Y- L(黄椰林), Zhang Q(章群) et al., 1999. Analysis of ITS sequences of nuclear ribosomal DNA from *Tetrahyrium* (Hamamelidaceae) and the related genera and the phylogenetic significance. *Acta Bot Yunnan(云南植物研究)*, 21: 87~95
- Smith W W, Forrest G, 1928. The sections of the genus *Primula*. *J R Hortic Soc*, 54: 4~114
- White T J, Bruns T, Lee S et al., 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innes M, Gelfand D, Sninsky J et al. eds. *PCR protocols: a guide to methods and applications*, 315~322. A. P. San Diego, CA.
- Zhu H-F(朱慧芬), Zhang C-Q(张长芹), Gu Z-J(顾志建) et al., 2001. A karyomorphological study on nine species of *Primula* (Primulaceae). *Acta Bot Yunnan (云南植物研究)* (in press)

(责任编辑 白羽红)

# 应用ITS序列分析探讨偏花报春的系统位置

作者: 朱惠芬, 杨俊波, 张长芹, 李德铢  
作者单位: 中国科学院昆明植物研究所, 昆明, 650204  
刊名: 植物分类学报 ISTIC SCI PKU  
英文刊名: ACTA PHYTOTAXONOMICA SINICA  
年, 卷(期): 2002, 40(2)  
被引用次数: 15次

## 参考文献(23条)

1. White T J;Bruns T;Lee S Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics 1990
2. Smith W W;Forrest G The sections of the genus Primula 1928
3. 施苏华;黄椰林;章群 Analysis of ITS sequences of nuclear ribosomal DNA from Tetrathyrium (Hamamelidaceae) and the related genera and the phylogenetic significance 1999(21)
4. Anderberg A A;Stahl B;Kallersjo M Phylogenetic relationships in the Primulales inferred from rbcL sequence data[外文期刊] 1998(1/2)
5. Doyle J J;Doyle J L A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf material 1987
6. Cox A V;Pridgeon A M;Albert V A;Chase M W Phylogenetics of the slipper orchids (Cypripediodeae Orchidaceae): nuclear rDNA ITS sequences 1997
7. Bruun H G Cytological studies in Primula 1932
8. Balfour I G Chinese species of Primula 1913
9. Baldwin B G;Sanderson M J;Porter J M The ITS region of nuclear ribosomal DNA:a valuable source of evidence on angiosperm phylogeny[外文期刊] 1995
10. Baldwin B G Phylogenetic utility of the internal transcribed spacers of nuclear ribosomal DNA in plants: an example from the Compositae[外文期刊] 1992
11. Baldwin B G Nuclear ribosomal DNA phylogenetics of the Ttareeds (Madiinae: Asteracear) 1991(78)
12. Anderberg A A;Trift I;Kallersjo M Phylogeny of Cyclamen L. (Primulaceae): evidence from morphology and sequence data from the internal transcribed spacers of nuclear ribosomal[外文期刊] 2000(3/4)
13. 朱慧芬;张长芹;顾志建 A karyomorphological study on nine species of Primula (Primulaceae) 2001
14. Sanger F;Nicklen S;Coulson A R DNA sequencing with chain-terminating inhibitors[外文期刊] 1977

15. Richards J Primula 1993
16. Lee B Y;Downie S R A molecular phylogeny of Apiaceae tribe Caucalideae and related taxa: inferences based on ITS sequence data[外文期刊] 1999
17. Kim S C;Crawford D J;Tadesse M ITS sequences and phylogenetic relationships in Bidens and Coreopsis (Asteraceae) 1990(24)
18. Källersjö M;Bergqvist G;Anderberg A A Generic realignment in primuloid families of the Ericales s.l.: a phylogenetic analysis based on DNA sequences from three chloroplast genes and morphology[外文期刊] 2000(09)
19. 胡启明 The geographical distribution of Primulaceae 1992
20. 洪亚平;陈之端;路安民 Phylogeny of the tribe Menispermeae (Menispermaceae) reconstructed by ITS sequence data[期刊论文]-植物分类学报 2001(02)
21. Fujii N;Ueda K;Watano Y Further analysis of intraspecific sequence variation of chloroplast DNA in Primula cuneifolia Ledeb. (Primulaceae): implications for biogeography of the Japanese alpine flora 1999(112)
22. 陈封怀;胡启明 Primulaceae 1990
23. 陈封怀;胡启明 Primulaceae 1989

### 引证文献(15条)

1. 朱颖,董芝玉,曾少平,陈虹 基于ITS序列探讨忍冬属的系统发育关系[期刊论文]-西北植物学报 2010(2)
2. 邱建平,邓赟,彭腾,陈荟旭,李鸿翔 正交设计优化钟花报春花总黄酮提取工艺[期刊论文]-成都医学院学报 2009(4)
3. 李河 基于ITS序列对引起中毒事故蘑菇的分子鉴定[期刊论文]-生物技术 2008(6)
4. 彭腾,涂永勤,邓赟,张旭 钟花报春花的化学成分研究[期刊论文]-中药材 2008(1)
5. 李河,周国英,卢丽俐 油茶叶枯病原的形态及ITS序列分析鉴定[期刊论文]-福建林学院学报 2008(1)
6. 李河 红汁乳菇组织分离株ITS序列验证[期刊论文]-食用菌学报 2008(2)
7. 王慧敏 杂交竹枯萎病原的rDNA ITS分子鉴定[期刊论文]-中南林业科技大学学报 2007(4)
8. 赵国平,新关稳,石川隆二,钱三旗,章群,敖杰男 中日当归属药用植物ITS序列分析[期刊论文]-中草药 2006(7)
9. 庞博,潘远智,孙振元,陈文志 我国报春花属植物研究进展[期刊论文]-安徽农业科学 2006(16)
10. 管玉霞 落叶松部分cpDNA、mtDNA及ITS序列研究及其应用于落叶松种的鉴定的可行性[学位论文]硕士 2006
11. 陈生云,陈世龙,夏涛,王玉金 用nrDNA ITS序列探讨狭蕊龙胆属及其近缘属(龙胆科)的系统发

育[期刊论文]-植物分类学报 2005(6)

12. 梅新娣 新疆濒危植物盐桦组织培养的研究与系统发育分析[学位论文]硕士 2005
13. 文艺 滇西北报春花属植物资源考察及两种野生报春花的栽培研究[学位论文]硕士 2004
14. 陈随清. 王利丽 rRNA基因(rDNA)序列分析在中药品种鉴定中的应用及研究进展[期刊论文]-河南中医学院学报 2003(2)
15. 华丽. 潘伯荣 白花柽柳nrDNA的ITS序列片段研究[期刊论文]-干旱区研究 2003(2)

本文链接: [http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical\\_zwf1xb200202004.aspx](http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zwf1xb200202004.aspx)