

状与质量性状是一对矛盾,要达到效益的最大化,生产上就要追求最大的经济产量,从本实验结果看,密度 1.8×10^5 株/hm²、P₂O₅ 540 kg/hm²、纯氮 225 kg/hm²经济产量最高。

References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2000.
- [2] Xu X Q, Hu G L, Shen J C, *et al.* Determination of andrographolide and dehydroandrographolide in andrographis paniculata Nees materials and related patent medicines by RP-HPLC [J]. *Chin J Chromatogr* (色谱), 2002, 20(5): 446-448.
- [3] Chen X, Din W L, Chen J, *et al.* The major characteristics of cultivating technology of Chinese medicinal herbs [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2001, 26(1): 68-70.
- [4] Zhao B. Cultivation, harvest and process of medicinal herbs (药用植物栽培、采收与加工) [M]. Beijing: China Agricultural Press, 2000.

金铁锁种质资源的遗传多样性分析

戴住波¹, 朱常成¹, 钱子刚^{1,2*}, 普春霞^{1,2}

(1. 云南中医学院, 云南 昆明 650200; 2. 中国科学院昆明植物研究所, 云南 昆明 650204)

摘要:目的 研究中国西南特有濒危药用植物金铁锁的遗传多样性。方法 应用 AFLP 分子标记技术对具有代表性的 7 个金铁锁居群,共 137 个个体进行分析。结果 在金铁锁的物种水平上,Nei's 基因多样性指数(*He*)、Shannon's 信息指数(*I*)、多态位点百分率(*PPB*)分别为 $0.243 4 \pm 0.179 1$ 、 $0.373 5 \pm 0.248 5$ 、82.30%;在其居群水平上分别为 $0.091 8 \pm 0.161 0$ 、 $0.140 2 \pm 0.236 2$ 、30.48%。居群间 Nei 遗传分化指数(*Gst*):0.624 4;Shannon's 多样性基因遗传分化系数(*Ist*):0.624 6。聚类表明:地理距离相对远的丽江居群与个旧居群遗传距离最近;昆明居群与其他居群遗传距离较远。统计获得 9 条可区分各地方居群的特征指纹带。结论 金铁锁种内的遗传多样性水平丰富,而居群内遗传多样性水平较低,居群间遗传分化显著;各居群间亲缘关系与地理距离无明显相关性;其种内特征带与各居群特征带结合,可以为 AFLP 分子标记技术用于其种质资源的鉴定、遗传育种提供重要的依据。

关键词:金铁锁;种质资源;遗传多样性;AFLP

中图分类号:R282.7

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2007)07-1070-05

Genetic diversity analysis of germplasm resources of *Psammosilene tunicoides*

DAI Zhu-bo¹, ZHU Chang-cheng¹, QIAN Zi-gang^{1,2}, PU Chun-xia^{1,2}

(1. Yunnan College of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650200, China; 2. Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China)

Abstract: **Objective** To analyze the genetic diversity of *Psammosilene tunicoides*, an endangered and endemic medicinal plant, in southwest China. **Methods** The genetic diversity of seven representational populations of *P. tunicoides* including 137 individuals had been investigated by amplified fragment length polymorphisms (AFLP) marker technique. **Results** The genetic diversity had been revealed as follow: the Nei's genetic diversity index (*He*), Shannon's information index (*I*), percentage of polymorphic loci (*PPB*) were $0.243 4 \pm 0.179 1$, $0.373 5 \pm 0.248 5$, and 82.30%, respectively at the species level; and $0.091 8 \pm 0.161 0$, $0.140 2 \pm 0.236 2$, and 30.48%, respectively at population level. The genetic differentiation index (*Gst*) was 0.624 6 and genetic differentiation coefficient by Shannon's diversity (*Ist*) was 0.624 6. The result of dendrogram of seven populations indicated that Lijiang and Gejiu of Yunnan populations shared the maximum genetic identity, though they distributed in a relatively great geographical distance; Kunming population of Yunnan had the greater genetic distance from other populations. Nine characteristic fingerprint bands that can distinguish the different populations had been acquired. **Conclusion** The genetic diversity of *P. tunicoides* is relatively higher at the species levels, while lower within population levels, and a significant degree of genetic differentiation occurs among the populations. There is little relativity between the relationship of populations and geographical distance. The combination of character-

收稿日期:2006-10-22

基金项目:云南省中青年学术技术带头人后备人才项目(2004PY01-18)

作者简介:戴住波(1981—),男,湖南双峰人,云南中医学院 2004 级中药资源开发与利用方向在读硕士研究生。

* 通讯作者 钱子刚 Tel: (0871)6212605 Fax: (0871)6212608 E-mail: qianzig@yahoo.com.cn

istic fingerprint bands between intraspecies and populations provide important basis data for germplasm resources diagnostics and plant breeding by AFLP maker technique.

Key words: *Psammosilene tunicoides* W. C. Wu et C. Y. Wu; germplasm resources; genetic diversity; amplified fragment length polymorphism (AFLP)

濒危药用植物金铁锁 *Psammosilene tunicoides* W. C. Wu et C. Y. Wu 系石竹科 (Caryophyllaceae) 单种属植物^[1], 主要分布于我国云南的大部分地区、贵州西北部、四川西南部和西藏东南部, 为分布区狭窄的西南特有种。以根入药, 具有散瘀痛、止血、消肿排脓的功效, 主要用于治疗跌打损伤、风湿痛、胃痛、痢疮疮疥、创伤出血等^[2], 现代药理研究证明金铁锁总苷具有显著的镇痛、抗炎、对小鼠细胞免疫功能的促进和调节等多种作用, 为“云南白药”的主要组成药材之一, 具有较高药用和经济价值, 但其药材来源靠野生采挖, 使得有限药材资源逐渐减少, 在《中国植物红皮书》中已被列为稀有濒危物种, 属国家二级保护植物。

为解决金铁锁所面临的资源问题, 已对该品种进行野生变家种初步研究和其生态环境、生态适用性、繁殖生物学、形态学、组织培养等多方面的研究;

同时应用了 RAPD 分子标记技术对金铁锁昆明、鹤庆、中甸等 3 个居群进行了遗传多样性研究^[3]。在遗传多样性研究方面, 虽然 RAPD 分析提供了部分资料, 但由于 RAPD 技术本身重复性差、可靠性低的技术缺点和分析的居群数代表性不足的原因, 因此有必要对金铁锁遗传多样性进行更全面、深入的研究。本研究应用 AFLP 技术分析具有代表性的 7 个金铁锁居群的遗传多样性水平、遗传结构及各地方居群亲缘关系和 DNA 分子水平的特征指纹带, 为金铁锁种质资源的现状评估、保护策略制定、种质的鉴定、遗传育种提供较全面、可靠的遗传学资料。

1 材料和方法

1.1 实验材料: 采集云南、贵州、四川等地的 7 个具有代表性的地方居群共 137 个个体 (表 1), 每个居群采集最大范围内隔离明显的成年个体的干净健康叶片用变色硅胶干燥, -20℃ 保存。

表 1 居群取样特征

Table 1 Characteristic descriptions of all sampled populations

居 群	采 样 数	采 集 地	地 理 位 置	海拔/m
四川木里居群 (ML)	20	四川木里乔瓦	27°54' N, 101°15' E	2 550
云南丽江居群 (LJ)	20	云南丽江牦牛坪	26°51' N, 100°15' E	2 460
云南保山居群 (BS)	18	云南保山金鸡	25°08' N, 99°11' E	2 050
云南昆明居群 (KM)	19	云南昆明西山	25°02' N, 102°43' E	2 320
云南宣威居群 (XW)	20	云南宣威西泽	26°42' N, 104°05' E	2 100
贵州威宁居群 (WN)	20	贵州威宁秀水	26°52' N, 104°28' E	2 400
云南个旧居群 (GJ)	20	云南个旧老厂	23°18' N, 103°12' E	2 100
总计	137			

1.2 实验方法

1.2.1 总 DNA 提取和检验: 应用改良 CTAB 方法提取 DNA^[3], 用紫外分光光度计和 1.0% 琼脂糖电泳检测 DNA 的质和量。

1.2.2 AFLP 分析: 基因组 DNA 200 ng, 在 20 μL 反应体系中经酶 *EcoR* I 和 *Mse* I 37℃ 水浴双酶切 4 h, 70℃、10 min 灭活酶后, 取 4 μL 加到含 *EcoR* I adapter、*Mse* I adapter、*T*₄ ligase 的连接反应体系中, 16℃ 水浴 12 h, 72℃、10 min。AFLP 扩增反应采用改良的两步扩增法^[4]: 预 PCR 引物: *EcoR* I + A; *Mse* I + C; 选择性 PCR 引物对: *EcoR* I + AAG/*Mse* I + CTG; *EcoR* I + ACA/*Mse* I + CAG; *EcoR* I + ACT/*Mse* I + CTG (表 2)。

预 PCR 反应参数: 94℃、3 min; 94℃、30 s, 56℃、30 s, 72℃、1 min, 30 个循环; 72℃、5 min; 4℃ 终止反应。选择性 PCR 反应参数: 94℃、3 min; 94℃、30 s, 65℃ (每个循环降低 0.7℃)、30 s; 72℃、1 min, 12 个循环; 94℃、30 s, 56℃、30 s, 72℃、1 min, 23 个循环; 72℃、5 min; 4℃ 终止反应。选择性 PCR 产物用 6% 变性聚丙烯酰胺电泳检测。

1.2.3 数据分析: 扩增条带采用 Labworker 4.0 软件与人工读带相结合策略: 针对某一同源带 (同一引物扩增的电泳迁移率一致的条带) 而言, “有”记作“1”, “无”记作“0”, 只判读清晰易辨的扩增带, 生成 0/1 二态性数据矩阵。使用 POPGENE32、MEGA2、NTSYSpc 2.10 等生物统计软件进行相关参数计算和聚类处理。

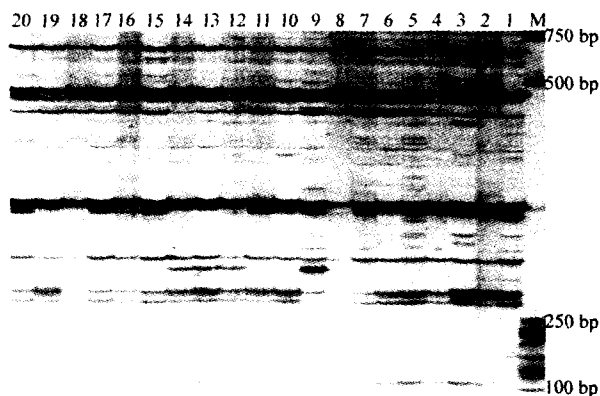
表 2 引物和接头序列

Table 2 Primers and adapter sequences

扩增引物	序 列	接 头	序 列
<i>EcoR</i> I + A	5'-GACTGCGTACCAATTCA-3'	<i>EcoR</i> I	5'-CTCGTAGACTGCGTACC-3'
<i>Mse</i> I + C	5'-GATGAGTCTCTGAGTAAC-3'		3'-CATCTGACGCATGGTTAA-5'
<i>EcoR</i> I + AAG	5'-GACTGCGTACCAATTCAAG-3'		
<i>EcoR</i> I + ACA	5'-GACTGCGTACCAATTCACA-3'	<i>Mse</i> I	5'-GACGATGAGTCTCTGAG-3'
<i>EcoR</i> I + ACT	5'-GACTGCGTACCAATTCACT-3'		3'-TACTCAGGACTCAT-5'
<i>Mse</i> I + CAG	5'-GATGAGTCTCTGAGTAACAG-3'		
<i>Mse</i> I + CTG	5'-GATGAGTCTCTGAGTAACTG-3'		

2 结果

2.1 引物筛选、AFLP 技术重复性考察和扩增结果:本研究选用昆明居群部分样本进行引物筛选,结果从 20 对选择性 PCR 引物中筛选出 3 对多态性好、条带分布均匀、清晰易辨的引物来扩增。同时用此结果与昆明居群正式实验的结果进行对比分析表明 AFLP 技术具有很高重复性。对整个 137 个个体样本扩增结果表明 3 对引物均能得到很好的扩增效果(图 1 和表 3)。



M-DNA 分子量标准 1~20-样本编码

M-DNA marker 1-20-codes of samples

图 1 引物对:*EcoR* I + ACA/*Mse* I + CAG 宣威居群选择性 PCR 产物电泳结果图

Fig. 1 Electrophoretogram of selecting PCR products generated by primer combination of *EcoR* I + ACA/*Mse* I + CAG in Xuanwei population

表 3 3 引物对单独扩增能力

Table 3 Bands generated by three primer pairs

引物对	多态性位点数	共有扩增条带数	多态性百分位点/%
<i>EcoR</i> I + AAG/ <i>Mse</i> I + CTG	48	62	77.42
<i>EcoR</i> I + ACA/ <i>Mse</i> I + CAG	61	69	88.41
<i>EcoR</i> I + ACT/ <i>Mse</i> I + CTG	63	78	80.77

2.2 金铁锁的遗传多样性和遗传结构:金铁锁物种水平的遗传多样性丰富,Nei's 基因多样性指数(*He*)为 0.2434 ± 0.1791 ,Shannon's 信息指数(*I*)为 0.3735 ± 0.2485 、多态位点百分率(*PPB*)为

82.30%。各居群内遗传多样性水平较低:*He* 分布区间为 $0.0675 \sim 0.1262$,平均值为 0.0918 ; *I* 分布区间为 $0.1056 \sim 0.1880$,平均值为 0.1402 ; *PPB* 分布区间为 $24.88\% \sim 36.84\%$,平均值为 30.48% 。其中个旧、保山、宣威、丽江等 4 个居群各遗传多样性参数均高于平均水平,威宁、昆明、木里等 3 个居群遗传多样性水平较低,均低于平均水平(表 4)。居群间分化显著,居群总的遗传变异(*Ht*): 0.2443 ± 0.0321 、居群内遗传变异(*Hs*): 0.0918 ± 0.0070 , Nei 的遗传分化指数(*Gst*): 0.6244 、Shannon's 多样性基因遗传分化系数(*Ist*): 0.6246 ,表明金铁锁约 62% 遗传多样性分布在居群间,居群内仅占 38% 左右;同时居群间基因交流有限,基因流(*Nm*)为 0.3008 。

2.3 金铁锁各居群的遗传关系:金铁锁居群间遗传距离(表 5)经 UPGMA (unweighted pair group method with arithmetic mean) 方法聚类得到聚类图(图 2),结果表明:分布在滇西北的丽江居群与滇东南的个旧居群虽有相对远的地理距离,但此两居群具有最近的遗传距离,聚为一类,而地理距离相对较近的滇东北宣威居群与贵州西北部威宁居群也表现出很近的亲缘关系,聚为一类;滇中的昆明居群与其他居群间分化明显成为较独立的一支;Mantel Test 表明其居群间的遗传距离与地理距离无明显的相关性($r = 0.0998$)。由软件 NTSYSpc 2.10 对金铁锁 137 个个体样本计算得出 GS (genetic similarity) 值分布区间为 $0.62981 \sim 0.97712$,检测样本中无两个完全相同的个体;同时用 UPGMA 和 NJ (neighbor-joining method) 两种方法聚类的结果均表明,各居群内所有个体能聚为一小类后再进行各居群间聚集。

2.4 金铁锁特征指纹条带:统计 3 对选择性 PCR 引物(*EcoR* I + AAG/*Mse* I + CTG; *EcoR* I + ACA/*Mse* I + CAG; *EcoR* I + ACT/*Mse* I + CTG)检测到的金铁锁基因组特征 AFLP 标记,一共得到 40 条种内共有带,同时对居群拥有的特征带进行统计获得 9 条足以区别各地方居群的特征指纹带(表 6)。

表 4 居群内部和种内的等位基因数、有效等位基因数、Nei 氏基因多样性、Shannon's 指数及多态位点比率

Table 4 Average number of alleles, effective alleles, H_e , and I of diversity and PPB within populations and intraspecies

居 群	样本数	N_a	N_e	H_e	I	PPB/%
KM	19	1.277 5±0.448 8	1.115 3±0.242 9	0.073 1±0.141 3	0.115 3±0.221 2	27.75
BS	18	1.334 9±0.473 1	1.160 8±0.301 3	0.096 4±0.165 0	0.148 6±0.240 0	33.49
GJ	20	1.368 4±0.483 5	1.221 1±0.356 2	0.126 2±0.190 6	0.188 0±0.272 8	36.84
LJ	20	1.306 2±0.462 0	1.174 0±0.319 7	0.101 4±0.174 5	0.152 3±0.252 5	30.62
XW	20	1.349 3±0.477 9	1.171 6±0.305 3	0.102 7±0.170 4	0.157 0±0.247 5	34.93
ML	20	1.248 8±0.405 2	1.109 6±0.243 2	0.067 5±0.133 8	0.105 6±0.197 3	24.88
WN	20	1.248 8±0.433 4	1.124 4±0.269 3	0.075 0±0.151 1	0.114 9±0.221 8	24.88
平均值	—	1.304 8±0.454 5	1.153 8±0.291 1	0.091 8±0.161 0	0.140 2±0.236 2	30.48
物种水平	137	1.823 0±0.382 6	1.401 2±0.343 2	0.243 4±0.179 1	0.373 5±0.248 5	82.30

N_a : 等位基因数 N_e : 有效等位基因数 H_e : Nei's 基因多样性指数 I : Shannon's 指数 PPB: 多态位点百分率

N_a : observed number of alleles N_e : effective number of alleles H_e : Nei's genetic diversity index I : Shannon's information index

PPB: percentage of polymorphic loci

表 5 7 个居群间的遗传一致性(斜上)和遗传距离(斜下)

Table 5 Nei's genetic identity (above diagonal) and genetic distance (below diagonal) within seven populations

居群	KM	BS	GJ	LJ	XW	ML	WN
KM	—	0.775 5	0.767 3	0.797 5	0.798 3	0.716 0	0.733 3
BS	0.254 2	—	0.784 9	0.773 5	0.840 8	0.760 7	0.793 1
GJ	0.264 9	0.242 2	—	0.862 0	0.844 4	0.815 7	0.819 5
LJ	0.226 3	0.256 8	0.148 5	—	0.842 1	0.831 6	0.856 8
XW	0.225 2	0.173 4	0.169 1	0.171 8	—	0.830 2	0.859 1
ML	0.333 6	0.276 5	0.205 8	0.186 5	0.188 2	—	0.842 2
WN	0.310 1	0.231 8	0.199 0	0.154 6	0.151 9	0.169 7	—

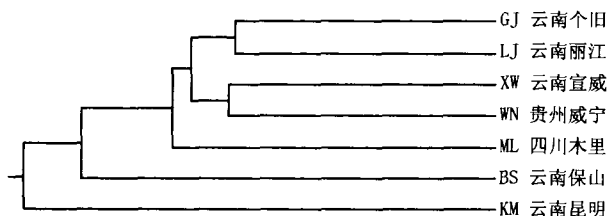


图 2 7 个居群间聚类图(经 UPGMA)

Fig. 2 Dendrogram among seven populations (by UPGMA)

3 讨论

3.1 金铁锁的遗传多样性和遗传结构分析: 遗传多样性和遗传结构是一个物种的重要特征, 遗传多样性反映一个物种适应环境的能力和对环境变迁持续进化的潜力, 遗传结构的特征与物种的繁育机制密切相关, 同时反映生态适应进化、环境变迁与自然选择的效应^[5]。在金铁锁种质资源的遗传多样性研究中, 表明金铁锁物种水平的遗传多样性丰富($PPB=82.30\%$, $H_e=0.243 4$), 但其居群水平的遗传多样性较低($PPB=30.48\%$, $H_e=0.091 8$)。根据金铁锁的居群间遗传分化系数(F_{st})的近似值: 基因分化系数($G_{st}=0.624 4$)和 Shannon's 多样性基因遗传分化系数($I_{st}=0.624 6$), 结合 Wright^[6]的观点: 当 $F_{st} \geq 0.25$ 时, 居群间遗传分化极大, 可见其居群间存在显著的遗传分化。

表 6 7 个居群特征指纹带

Table 6 Characteristic fingerprint bands of seven population

居群	特征指纹带								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
KM	A	A	A	A	A	A	B	A	A
BS	A	A	B	B	A	A	B	B	B
GJ	B	A	A	A	A	B	A	B	B
LJ	B	A	A	A	B	B	B	B	B
XW	B	A	A	A	A	A	B	B	B
ML	B	B	A	A	B	B	A	B	B
WN	B	B	A	A	B	A	B	B	B

A: 单居群内均出现的带 B: 单居群内均不出现的带 1~9: 特征指纹带编号

A: Present in all samples within population B: absent in all samples within population 1~9: codes of characteristic fingerprint bands

分析其可能成因是: (1) 金铁锁主要分布于横断山区的东部, 海拔 1 900~3 600 m, 是横断山高山深谷地形典型区域, 金铁锁居群间地理隔离明显, 基因交流严重受阻, 仅存在极小的基因流($N_m=0.300 8$), Wright^[6]指出, 如果 $N_m < 1$, 则遗传漂变可以导致居群间明显的遗传分化, 因此, 基因流受阻和遗传漂变可能是导致金铁锁居群间产生较大遗传分化的主要原因。(2) 呈岛屿分布、居群空间格局为成群型的金铁锁居群具有异花传粉的特征, 在自然条件下行有性繁殖, 种子以人畜和弹力散布, 并且种子散布后当年随即萌发, 由于其分布区自然条件环境恶劣, 人畜稀少, 种子散布距离有限, 同时居群内存在有自交、近交的可能性, 增加了居群间的遗传分化。(3) 对独立分化较为明显的昆明居群来说, 分布点生境破坏严重, 居群内个体数目少, 居群大小的有效性受到影响, 遗传多样性丧失严重 PPB 仅为 27.74%, 多样性水平低于平均水平, 因此人为干扰这一生物因素可能进一步影响其遗传结构。

3.2 金铁锁各居群的亲缘关系和特征 DNA 指纹: 基于金铁锁个体间层次和居群间层次的遗传相似系数的聚类分析, 聚类图中各个体间, 各居群间, 聚类关系明确、层次分明, 证明 AFLP 分子标记技术能很好地检测到金铁锁种内的遗传变异, 为金铁锁遗传连锁图谱的构建奠定了基础。研究表明金铁锁的地理距离和居群间的亲缘关系无明显相关性。可能是由于各居群地理阻隔明显, 以及在多样化的生境条件下各居群在各自的小环境中受不同的变异因素影响所致。对其居群的特征带进行统计得到 9 条在种内足以区别各地方居群的特征指纹带, 结合物种内共同拥有的条带可以作为鉴定药材真伪和道地种质的分子指纹, 也可进一步通过测序, 确定其序列后开发成基因芯片, 用于其真伪和种质来源地的快速鉴定。

3.3 金铁锁种质资源有效保护与合理开发: 金铁锁种内存在丰富的遗传多样性水平 ($PPB=82.30\%$, $He=0.2434$), 其自身的遗传多样性水平不是至濒危的直接原因, 推测其可能的原因是: (1) 为古地中海残余类群。(2) 长期以来完全靠野生采挖其根作为药材, 同时狭窄的分布区和缓慢的自然生长, 加之人类的活动对生境的破坏所致。

金铁锁自然居群存在丰富的遗传和生境多样性, 为遗传分化相对很高的物种, 其 $Gst=0.6244$ 。研究表明, 对一个基因流较小, Gst 值为 0.60 的物种至少要取样 6 个有效居群才能保存其 95% 的遗传多样性^[7], Frankel 等^[8]认为: 50 个个体被认为是维持足够等位基因丰度的最小有效居群; 而有效居群大小为 500 个个体才足以维持居群内数量性状的遗传变异, 以及居群对未来环境变化的适用能力。因此对金铁锁进行就地保护和迁地保护时其涉及的有效居群数应大于 6 个; 并且金铁锁为药用植物其有效成分品质主要由数量性状变异决定, 在遗传育种

等方面显得尤为重要, 所以其居群内取样至少为 500 个个体以上。如果对其实施就地保护时, 虽然至少要设置 6 个以上的保护点, 但此策略不仅可以保护其遗传多样性, 同时可以保护其生境多样性等多方面的因素, 能使在各自的小环境中保持其特有的遗传变异性, 这样更符合自然规律。特别是分化明显的昆明居群内遗传特征明显, 人为破坏严重急需保护。对迁地保护来说主要是在其适生区内, 保持足够的取样量 ($>6 \times 500$), 在尽可能避免自交衰退、近交衰退、杂交衰退等一些遗传风险因素的同时, 选择遗传特异性强的居群进行迁地保护, 结合引种驯化、遗传育种等方面, 在金铁锁引种驯化基地建立育种种质园起到迁地保护和育种的双重效果, 同时可为选育优良种源提供依据。

References:

- [1] Delectis Florae Reipularis Sinicae Agendae Academiae. *Flora Reipublicae Popularis Sinicae* (中国植物志) [M]. Tomus 47. Beijing: Science Press, 2001.
- [2] Institute of Materia Medica. Chinese Academy of Medical Sciences. *Materia Medica China* (中药志) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1979.
- [3] Yang Y W, Xie H, Qian Z G. RAPD Analysis of three populations of *Psammosilene tunicoides* W. C. Wu et C. Y. Wu [J]. *J Yunnan Coll Tradit Chin Med* (云南中医学院学报), 2003, 26(3): 21-23.
- [4] Vos P, Hogers R, Bleeker M, et al. AFLP: A new technique for DNA fingerprinting [J]. *Nucleic Acids Res*, 1995, 23(21): 4407-4414.
- [5] Sokal R R, Jacquez G M, Wooten M. Spatial autocorrelation analysis of migration and selection [J]. *Genetic*, 1989, 121: 845-855.
- [6] Wright S. The genetical structure of populations [J]. *Ann Eugen*, 1951, 15: 323-354.
- [7] Li C S. *Advances in Plant Science* (植物科学进展) [M]. Beijing: Higher Education Press, 1998.
- [8] Frankel O H, Brown A H D, Burdou J J. *The Conservation of Plant Biodiversity* [M]. Cambridge: Cambridge University Press, 1995.

八 荣 八 耻

树立社会主义荣辱观, 坚持以热爱祖国为荣、以危害祖国为耻, 以服务人民为荣、以背离人民为耻, 以崇尚科学为荣、以愚昧无知为耻, 以辛勤劳动为荣、以好逸恶劳为耻, 以团结互助为荣、以损人利己为耻, 以诚实守信为荣、以见利忘义为耻, 以遵纪守法为荣、以违法乱纪为耻, 以艰苦奋斗为荣、以骄奢淫逸为耻。