

天然片断生境中山姜 (*Alpinia japonica*) 种群遗传结构

陈克霞¹, 王 嵘¹, 陈小勇^{1,2,*}

(1. 华东师范大学环境科学系, 上海市城市化生态过程与生态恢复重点实验室, 上海 200062;

2. 浙江天童森林生态系统国家野外观测研究站, 宁波 200062)

摘要:理论和实验研究表明片断化是导致生物多样性丧失的主要因素之一,但有关研究基本上集中在人类活动引发的片断化生境体系中。由于长期气候变化以及地形等因素的影响,一些物种的种群之间天然情况下就存在隔离,对这些种群进行研究可以弥补人类活动引起的片断化体系经历时间较短的不足。山姜是一个喜湿耐荫的多年生植物,分布在热带亚热带地区,由于气候和地形原因,该物种在浙江东部呈现天然片断化状态,如在浙江天童森林公园及其周边地区,仅分布在少数几个沟谷中。以这些种群为对象,采用 RAPD 标记分析经历长期天然片断化山姜种群遗传多样性程度和遗传分化格局。7 条 RAPD 引物获得了 69 个位点,其中多态位点 68 个。种群水平遗传多样性较高,多态位点百分比、期望杂合度和 Shannon 多样性指数分别为 78.81% ~ 85.51%、0.3170 ~ 0.3430、0.4560 ~ 0.4914,这与其异交的繁殖方式有关,同时与山姜克隆生长,每个世代维持的时间长,种群更新降低也有关系。遗传变异大多分配在种群内,但种群间遗传分化达到显著程度, Φ_{ST} 为 0.297,计算的基因流中等,为 0.592,不足以克服长期遗传漂变导致的种群分化,Mantel 检验表明遗传距离与空间距离不存在相关关系,显示了长期片断化状态下遗传漂变的作用。

关键词:天然片断生境; 遗传多样性; 遗传分化; 山姜

文章编号:1000-0933(2008)06-2480-06 中图分类号:Q145, Q943, Q945, Q948 文献标识码:A

Genetic structure of *Alpinia japonica* populations in naturally fragmented habitats

CHEN Ke-Xia¹, WANG Rong¹, CHEN Xiao-Yong^{1,2,*}

1 Department of Environmental Sciences, Shanghai Key Laboratory for Ecological Processes and Restoration in Urban Areas, East China Normal University, Shanghai 200062, China

2 Tianlong State Field Observation and Research Station for Forest Ecosystems, Ningbo 315114, China

Acta Ecologica Sinica, 2008, 28(6): 2480 ~ 2485.

Abstract: Fragmentation is the process that a large continuous habitat is destructed into a couple of small, spatially isolated habitats. Theoretical and empirical studies have shown that habitat fragmentation is one of the most important threats leading to biodiversity loss. Isolated populations are prone to loss of genetic diversity and to local extinction, through genetic drift, inbreeding and decrease in rescue effect led by reduced gene flow. However, till now most studies concerning the genetic consequences of habitat fragmentation involve fragmentation systems caused by human disturbance. Long-term climatic changes or topography may also lead to habitat fragmentation and result in distinct isolation among populations. Such naturally fragmentation systems have experienced long-term fragmentation, avoiding short history in anthropogenic

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39870128);高等学校博士学科点专项科研基金资助项目(20060269018);新世纪优秀人才支持计划资助项目(NCET-05-0431)

收稿日期:2007-03-04; **修订日期:**2007-12-12

作者简介:陈克霞(1980~),江苏人,女,主要从事植物生态学研究. E-mail: chenhexia@hotmail.com

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: xychen@des.ecnu.edu.cn

Foundation item: The project was financially supported by National Natural Science Foundation of China (No. 39870128), Specialized Research Fund for the Doctoral Program of Higher Education (No. 20060269018) and Program for New Century Excellent Talents in University (No. NCET-05-0431)

Received date: 2007-03-04; **Accepted date:** 2007-12-12

Biography: CHEN Ke-Xia, mainly engaged in plant ecology. E-mail: chenhexia@hotmail.com

fragmentation systems. However, genetic structure populations of natural fragmentation has not been well checked. *Alpinia japonica* (Thunb.) Miq. (Zingiberaceae) is a perennial clonal species of tropical and subtropical areas. It is hermaphroditic, but it has two floral phenotypes and has a mechanism to decrease probability of pollination of the same floral phenotype. This species grows in wet and close forest habitats. In the subtropical area of eastern China, for example in eastern Zhejiang Province, the habitats are naturally patchy and restricted. We studied the genetic structure of naturally fragmented populations in Tiantong Forest Parks using RAPD markers. Seven primers revealed 69 bands, among them 68 were polymorphic. High genetic diversity was found within populations. The percentage of polymorphic loci, expected heterozygosity and Shannon information index were 78.81% – 85.51%, 0.3170 – 0.3430, 0.4560 – 0.4914, respectively. Relatively high genetic diversity in *A. japonica* is coincided with its life history characteristics, i. e., outcrossing, long-lived perennial. Within population genetic variation is slightly higher than those of species of Zingiberaceae and means of outcrossers or long-lived perennial, indicating that genetic diversity has not apparently affected by fragmentation. This situation is due to the strong clonality, which prolongs the parental generation and reduces the turnover of generation. However, there is a signal of the consequences of long-term fragmentation on genetic differentiation. Although fine scale in the present study, moderate and significant differentiation has been found among populations ($\Phi_{ST} = 0.297$, $p < 0.01$). The differentiation is much higher than those with similar spatial scale. Furthermore, no isolation-by-distance pattern was found using Mantel test, indicating that genetic drift had overcome the impact of gene flow (0.592).

Key Words: naturally fragmented habitats; genetic diversity; genetic differentiation; *Alpinia japonica* (Thunb.) Miq.

生境片断化是指大而连续的生境变成空间相对隔离小生境的现象^[1~4]。这一过程中,生境面积减小、隔离程度增加带来的系列生态后果是导致生物多样性丧失的最主要因素之一^[5]。理论研究表明,种群变小、隔离增加降低种群有效大小和种群间基因流,遗传漂变的效应以及近交程度增加,其结果导致片断种群遗传多样性降低、种群间遗传分化增加^[4],再加上挽救效应(rescue effect)降低,增加了局域种群的绝灭风险^[6]。许多研究证实了这一预测,引起了人们的广泛关注。

目前,绝大多数片断化相关研究针对由于人类活动引起的生境片断化,这类系统经历片断化的时间有限。除人类活动能够导致生境片断化以外,由于物种合适生境分布的不连续性,不少物种天然就处于片断化状态。天然片断化由自然过程控制,往往经历了很长的时间。例如,第四纪冰期后气温升高导致的海平面上升造就了舟山群岛,使原来连续分布的陆生生境成为岛屿生境^[7]。对天然片断化种群的研究不仅可以揭示长期处于片断化状态下的生态后果,为预测人类活动引发的片断化后果提供依据;同时,对这类系统的研究,可以揭示物种在片断化状态下的适应进化格局。然而片断化对植物种群遗传结构的研究几乎都集中在人类影响导致的片断化体系^[4,8~10],对天然片断化体系中植物种群遗传组成的了解不多^[11~17]。

山姜(*Alpinia japonica* (Thunb.) Miq.)是姜科(Zingiberaceae)山姜属多年生草本植物,两性花,但存在花柱卷曲的避免相同表型的自交^[18,19],传粉动物为蜂类。山姜喜湿耐荫,分布在热带、亚热带地区。在我国中亚热带东部地区其生境基本上位于终年流水的沟谷林下。该区域季节性强,夏季往往较干旱,因此合适的生境往往与植被保存较好的大山体联系在一起,而浙江东部多为平原、低丘,少有中高山,山姜分布存在明显的间断性。本文以浙江东部天童地区的山姜天然片断化种群为对象,研究其种群遗传组成,了解长期处于片断化状态下植物种群遗传结构特征及其维持机制。

1 材料和方法

天童国家森林公园(29°48'N, 121°47'E)位于浙江省宁波市鄞县境内,面积 349hm²^[20]。这里保存有我国东部少见的成熟常绿阔叶林,主要优势种包括栲树(*Castanopsis fargesii*)、米槠(*C. carlesii*)、苦槠(*C. sclerophylla*)、石栎(*Lithocarpus glaber*)、云山青冈(*Cyclobalanopsis nubium*)、青冈(*Cy. glauca*)、木荷(*Schima superba*)等^[20]。

前期调查表明,山姜仅分布在天童国家森林公园部分沟谷内,而在公园以外由于森林次生性强、山体不够大,且不少为石灰岩山丘,难以维持山姜生存所需的高湿生境,未见山姜分布。在天童国家森林公园内,山姜多分布在常年流水的沟谷及近沟谷底部山坡,山脊及其附近未见分布,成为种群的天然分界。由于合适生境有限,该地区山姜种群分布面积不大,个体数少,大的种群也仅约 300 个个体,小的仅数个个体,主要伴生种类有狗脊、红凉伞以及乔木优势种的幼苗等。在前期调查基础上,选择了较大的 4 个种群(分别以 A、B、C、D 表示)采样分析,小种群中由于可用的样本量少,带来较大误差,故未用。山姜具克隆生长能力,但扩散距离较近,间隔往往仅数厘米,为避免采到同一克隆的不同分株,样株间的距离大于 1m。

DNA 提取采用改良的 CTAB 法进行^[21]。山姜种群遗传组成采用 RAPDs 进行分析,尽管 RAPD 标记是显性标记,存在无法确定杂合个体以及稳定性不如微卫星标记等的不足,但只要加以控制,可以得到很好的结果,加之不需象微卫星标记那样筛选特异性引物且多态性比等位酶标记高得多,因而 RAPD 标记在植物种群遗传组成研究中得到广泛应用^[22]。经过筛选,获得了 7 条重现性好的引物(S1200、S1233、S1379、S2077、S2100、S2077、S2159),并由上海 Sangon 合成。DNA 扩增在美国 MJ 公司生产的 PTC-220 型 PCR 仪上进行。PCR 产物经 1.5% 琼脂糖电泳分离、EB 染色后,在 Bio-Rad 凝胶成像仪上观察、拍照,记录各个体条带的有无,每个条带位置为一个位点。

由于 RAPD 标记是显性标记,采用 Lynch 和 Milligan^[23]的方法计算等位基因频率。多态位点百分比(P_{95} 、 P_{99})、期望杂合度采用 TFPGA^[24],有效等位基因数目、Shannon 多样性指数采用 Popgene^[25]进行计算。种群间遗传差异采用 Nei's^[26]无偏遗传距离和遗传一致度衡量,采用 Mantel 测试检验遗传距离与空间距离的关系^[24]。利用 AMOVA-PREP 软件^[27]产生 AMOVA 分析所需的数据文件,然后利用软件 AMOVA1.55^[28]进行 AMOVA 分析。种群间基因流强度(Nm)采用公式 $Nm = \left(\frac{1}{F_{ST}} - 1 \right) / 4$ 计算,在 RAPD 标记中,一般用 Φ_{ST} 替代 F_{ST} 进行分析。

2 结果

天童国家森林公园内山姜具有较高的遗传多样性,7 条引物得到了 69 个重现性好的位点中,其中多态位点为 68 个,有效等位基因数目为 1.7349,期望杂合度和 Shannon 多样性指数分别达到 0.4128 和 0.5948(表 1)。

表 1 天童国家森林公园山姜种群遗传多样性参数

Table 1 Measurements of genetic diversity at population and global levels of *Alpinia japonica* in Tiantong National Forest Park

种群 Population	种群大小 Estimated population size	样本数 Sample size	P_{95}	P_{99}	A_E	H_E	Shannon
A	300	25	85.51	89.86	1.5890	0.3430	0.4914
B	23	10	76.81	81.16	1.5462	0.3306	0.4592
C	100	27	85.51	91.30	1.5310	0.3239	0.4735
D	150	22	78.26	84.06	1.5402	0.3170	0.4560
平均 Mean	—	21	81.52	86.60	1.5516	0.3286	0.4700
总体 Global	—	84	98.55	98.55	1.7349	0.4128	0.5948

P_{95} : 多态位点百分比(95% 标准)(Percentage of polymorphic loci at 95% criterion); P_{99} : 多态位点百分比(99% 标准)(Percentage of polymorphic loci at 99% criterion); A_E : 有效等位基因数目(Effective number of alleles); H_E : 期望杂合度(Expected heterozygosity); Shannon: Shannon 多样性指数(Shannon's information index)

种群水平也具有较高的遗传多样性,多态位点百分比(P_{95})为 76.81% ~ 85.51%,平均为 81.52%。有效等位基因数目平均为 1.5516(范围为 1.5310 ~ 1.5890),期望杂合度和 Shannon 多样性指数的均值分别为 0.3286 和 0.4700,均以种群 A 最大(表 1)。尽管种群 B 的种群大小最小,但有效等位基因数目、期望杂合度和 Shannon 多样性指数并不低,表明该种群各等位基因频率分布相对较均匀。

遗传一致度和遗传距离表明种群 A 和 D 的亲缘关系最近,种群 B 和 D 之间最远(表 2)。从空间距离来

看,种群 A 和 B、种群 C 和 D 相隔较近,但它们分别与相隔较远种群先聚在一起(图 1),表明空间距离较近并不意味着遗传相似度高,Mantel 检验也表明种群间遗传距离与空间距离不存在正相关。

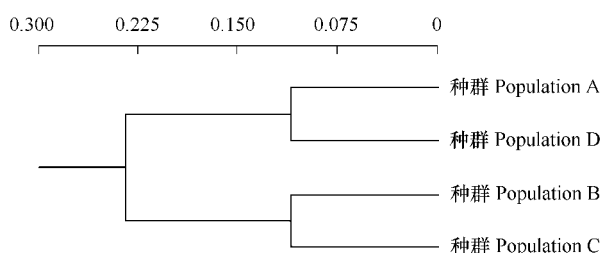


图 1 天童国家森林公园四个山姜种群 UPGMA 聚类图

Fig. 1 UPGMA of four populations of *Alpinia japonica* in Tiantong National Forest Park

表 2 天童国家森林公园 4 个山姜种群之间的 Nei 氏无偏遗传距离(上三角)和遗传一致度(下三角)

Table 2 Nei's (1978) unbiased genetic distance (above diagonal) and identity (below diagonal) between four populations of *Alpinia japonica* in Tiantong National Forest Park

种群 Population	A	B	C	D
A	—	0.1908	0.2357	0.1097
B	0.8263	—	0.1102	0.2692
C	0.7900	0.8957	—	0.2433
D	0.8961	0.7640	0.7841	—

表 3 天童国家森林公园 4 个山姜种群分子方差分析

Table 3 Analysis of molecular variance (AMOVA) for populations of *Alpinia japonica* in Tiantong National Forest Park

项目 Item	自由度 df	平方和 Sum of squares	均方 Mean squares	方差 Variance	方差百分比 % of total variance	P
种群间 Among populations	3	304.82	101.605	4.4796	29.66	<0.001
种群内 Within populations	80	850.05	10.626	10.6257	70.34	
合计 Total	93	1154.87				

山姜种群间的遗传分化程度较高,根据期望杂合度分配情况计算的种群遗传分化系数(G_{ST})为 0.204。AMOVA 分析表明,尽管大多数遗传变异(70.34%)存在于各种群内(表 3),但种群之间的遗传分化达到极显著程度($P < 0.001$)。分化程度(Φ_{ST})为 0.297,高于 G_{ST} ,据此计算的种群间基因流强度(Nm)仅为 0.592。

3 讨论

天童国家森林公园内山姜种群的遗传多样性较高,处于其他姜科植物遗传多样性的范围之内。例如,等位酶标记揭示的姜荷花(*Curcuma alismatifolia*)的遗传多样性也较高, P 达到 100%, A 为 2.86~4.00,而种群期望杂合度达 0.621~0.653^[29]。Islam 等人^[30]利用 RAPD 标记研究了孟加拉国莪术(*Curcuma zedoaria*)种群遗传多样性,种群水平上期望杂合度(H_e)平均为 0.264;印度姜黄属植物也如此^[31]。山姜中较高的遗传多样性与其生物学特性有关。尽管山姜是两性花,但通过花柱卷曲避免了相同表型内的自交^[18,19],异交率高,而异交物种的遗传多样性显著高于自交或混交种类的^[17];山姜属于蜂媒传粉多年生植物,这类物种往往也具有较高的遗传多样性^[22]。

尽管山姜种群长期处于片断化状态,但种群内仍维持了较高的遗传多样性(表 1),这与山姜克隆生长特点有关,克隆生长延长了世代存续时间,降低了种群更新速度,遗传漂变的效应不易显现,较具相同世代长度的非克隆植物受片断化的影响要小。同时克隆生长使基因型不易从种群中丢失,有利于等位基因在种群内维持。这种通过克隆生长维持小种群中较高的遗传多样性在其他植物中也存在,甚至有的片断种群中没有实生苗的补充,在多个位点上全为杂合子^[16]。

但从山姜种群间遗传分化和基因流还是可以看出天然片断化的效应。理论上讲,蜂媒传粉、动物散布种子的物种在本文研究的尺度上不应有较大的遗传分化。然而由于长期处于片断化状态,尽管基因流、遗传漂变、近交在每个世代带来的效应可能不大,但这些效应的后果随着时间的增加逐渐累积而变得明显。主要体现在两方面:一是小空间范围上种群间较高的遗传分化程度,100hm²范围内山姜种群的遗传分化程度(0.297)高于同科植物莪术孟加拉国境内种群的分化程度(0.283)^[30],这一分化程度也比其他小空间尺度上的分化大得多^[32,33],也高于异交物种(0.27)和多年生物种(0.25)的均值^[22]。其二,距离较近种群之间的遗

传相似程度反而较相距较远种群之间的小,并且不存在距离隔离(isolation-by-distance)格局;由于不同生境之间没有明显的差异,选择所起的作用不大,因此反映了遗传漂变或近交的作用大于基因流的作用。天童及其周边地区人类活动形成的片断生境上红凉伞(*Ardisia crenata* var. *bicolor*)种群遗传结构具有类似的情形^[10]。山姜天然片断化种群遗传结构表明,长期处于片断化状态的植物种群内遗传多样性并非总是较低,不同的物种反应会有所不同^[16]。

天然片断化种群内遗传多样性的高低也与种群历史有关,如果这些种群是第四纪冰期时的避难所,则即使处于片断化状态下,往往也维持了较高的遗传多样性;相反,若是冰期后新建立起来的种群,则遗传多样性较低,甚至由一个或少数几个基因型主导,在一些克隆生长能力强的物种中尤其如此。Hughes 等人研究了南非沿海天然片断森林中两种堇兰属植物(*Streptocarpus*)种群遗传结构,呈现截然不同的格局^[34],*S. primulifolius* 种群中遗传多样性很高, H_E 平均达 0.5,表明这里是该物种的避难所,这些种群是第四纪冰期残遗下来的;而*S. rexii* 多分布在气候更凉的森林中,种群中遗传多样性很低,表明是第四纪冰期后逐渐迁移而来^[34]。濒危植物七子花(*Heptacodium miconioides*)分布我国东部较高海拔处,不同种群之间存在较大的隔离,但由于各种群仍能维持一定的大小,种群遗传多样性并不太低,并且呈现距离隔离格局^[35],但叶绿体 DNA 未发现变异。另一个极端的情形是分布在阿尔卑斯山的零余虎耳草(*Saxifraga cernua*),同一个种群或区域内的个体都具有相同的 RAPD 基因型,而不同区域间基因型不同^[36]。

4 结论

(1) 天童国家森林公园内天然片断化山姜种群内维持了较高的遗传多样性,主要与其异交的繁殖方式有关,同时与克隆生长,每个世代维持的时间长,种群更新减缓也有关系。

(2) 遗传变异大多分配在种群内,但种群间遗传分化达到显著程度,遗传距离与空间距离不存在相关关系。

(3) 山姜种群内存在较高的遗传变异,但也存在长期片断化状态下遗传漂变效应的印记。

References:

- [1] Fischer J, Lindenmayer D B. Landscape modification and habitat fragmentation: a synthesis. *Global Ecol. Biogeogr.*, 2007, 16: 265—280.
- [2] Lindenmayer D B, Fischer J. Tackling the habitat fragmentation panchreston. *Trends Ecol. Evol.*, 2007, 22: 127—132.
- [3] Fahrig L. Effects of habitat fragmentation on biodiversity. *Annu. Rev. Ecol. System.*, 2003, 34: 487—515.
- [4] Chen X Y. Effects of habitat fragmentation on genetic structure of plant populations and implications for the biodiversity conservation. *Acta Ecologica Sinica*, 2000, 20: 884—892.
- [5] Czech B, Krausman P R. Distribution and causation of species endangerment in the United States. *Science*, 1997, 277: 1116—1117.
- [6] Zhao A L, Chen X Y. Plant species diversity of fragmented forests and their values for conservation and restoration. *Chin. J. Ecol.*, 2005, 24: 691—695.
- [7] Wang Z S, An S Q, Liu H, et al. Genetic structure of the endangered plant *Neolitsea sericea* (Lauraceae) from the Zhoushan Archipelago using RAPD markers. *Ann Bot*, 2005, 95: 305—313.
- [8] Xu F H, Kang M, Huang H W, et al. Genetic diversity in fragmented populations of *Berchemiella wilsonii* var. *pubipetiolata*, an endangered plant endemic to eastern China. *J. Plant Ecol.*, 2006, 30: 157—164.
- [9] Wang Z F, Gao S H, Tian S N, et al. Genetic structure of *Cryptocarya chinensis* in fragmented lower subtropical forests in China based on ISSR markers. *Biodivers. Sci.*, 2005, 13: 324—331.
- [10] Zhao A L, Chen X Y, Zhang X, et al. Effects of fragmentation of evergreen broad-leaved forests on genetic diversity of *Ardisia crenata* var. *bicolor* (Myrsinaceae). *Biodivers. Conserv.*, 2006, 15: 1339—1351.
- [11] Wesche K, Hensen I, Undrakh R. Range-wide genetic analysis provides evidence of natural isolation among populations of the Mongolian endemic *Potentilla ikonnikovii* Juz. (Rosaceae). *Plant Species Biol.*, 2006, 21: 155—163.
- [12] Pither R, Shore J S, Kellman M. Genetic diversity of the tropical tree *Terminalia amazonia* (Combretaceae) in naturally fragmented populations. *Heredity*, 2003, 91: 307—313.
- [13] Wolf A T, Harrison S P, Hamrick J L. Influence of habitat patchiness on genetic diversity and spatial structure of a serpentine endemic plant. *Conserv. Biol.*, 2000, 14: 454—463.
- [14] Franks S J, Richards C L, Gonzales E, et al. Multi-scale genetic analysis of *Uniola paniculata* (Poaceae): a coastal species with a linear,

fragmented distribution. *Am. J. Bot.*, 2004, 91: 1345—1351.

- [15] Bossuyt B. Genetic rescue in an isolated metapopulation of a naturally fragmented plant species, *Parnassia palustris*. *Conserv. Biol.*, 2007, 21: 832—841.
- [16] Wesche K, Hensen I, Undrakh R. Genetic structure of *Galitzkya macrocarpa* and *G. potaninii*, two closely related endemics of Central Asian mountain ranges. *Ann. Bot.*, 2006, 98: 1025—1034.
- [17] Karberg JM, Gale MR. Genetic diversity and distribution of *Sarracenia purpurea* (Sarraceniaceae) in the western Lake Superior basin. *Canad. J. Bot.*, 2006, 84: 235—242.
- [18] Li Q J, Xu Z F, Kress W J, *et al.* Flexible style that encourages outcrossing. *Nature*, 2001, 410: 432.
- [19] Li Q J, Xu Z F, Xia Y M, *et al.* Study on the flexistly pollination mechanism in *Alpinia* plants (Zingiberaceae). *Acta Bot. Sinica*, 2001, 43: 364—369.
- [20] Song Y C, Wang X R. Vegetation and flora of Tiantong National Forest Park, Zhejiang Province. Shanghai: Shanghai Scientific Documentary Press, 1995.
- [21] Fan X X, Shen L, Zhang X, *et al.* Assessing genetic diversity of *Ginkgo biloba* L. (Ginkgoaceae) populations from China by RAPD markers. *Biochem. Genet.*, 2004, 42: 269—278.
- [22] Nybom H. Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants. *Mol. Ecol.*, 2004, 13: 1143—1155.
- [23] Lynch M, Milligan B G. Analysis of population genetic structure with RAPD markers. *Mol. Ecol.*, 1994, 3: 91—99.
- [24] Miller M P. Tools for population genetic analyses (TFPGA) v1.3: A windows program for the analysis of allozyme and molecular genetic data. Flagstaff: Department of Biological Sciences, Northern Arizona University, 1997.
- [25] Yeh F C, Yang R C, Boyle T. Popgene version 1.31: microsoft Window-based freeware for population genetic analysis. Edmonton, AB Canada: Department of Renewable Resources, University of Alberta, 1999.
- [26] Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 1978, 89: 583—590.
- [27] Miller M P. AMOVA-PREP, a program for the preparation of AMOVA input files from dominant marker raw data, release 1.01. Flagstaff: Department of Biological Sciences, Northern Arizona University, 1998.
- [28] Excoffier L. AMOVA: Analysis of molecular variance (ver 1.55): Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, 1993.
- [29] Paisooksantivatana Y, Kako S, Seko H. Isozyme polymorphism in *Curcuma alismatifolia* Gagnep. (Zingiberaceae) populations from Thailand. *Sci. Horti*, 2001, 88: 299—307.
- [30] Islam M A, Klopstech K, Esch E. Population genetic diversity of *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe — a conservation prioritised medicinal plant in Bangladesh. *Conserv. Genet.*, 2006, 6: 1027—1033.
- [31] Syamkumar S, Sasikumar B. Molecular marker based genetic diversity analysis of *Curcuma* species from India. *Sci. Horti.*, 2007, 112: 235—241.
- [32] Wang Z F, Wang B S, Zhang J L, *et al.* Genetic diversity in community succession for three tree species in Dinghu Mountain of Guangdong Province. *Sci. Silvae Sinicae*, 2004, 40: 32—37.
- [33] Chen X Y, Song Y C. Microgeographic differentiation in a *Cyclobalanopsis glauca* population in western Huangshan. *Journal of Plant Resources and Environment*, 1998, 7: 10—14.
- [34] Hughes M, Moller M, Bellstedt D U, *et al.* Refugia, dispersal and divergence in a forest archipelago: a study of *Streptocarpus* in eastern South Africa. *Mol. Ecol.*, 2005, 14: 4415—4426.
- [35] Lu H P, Cai Y W, Chen X Y, *et al.* High RAPD but no cpDNA sequence variation in the endemic and endangered plant, *Heptacodium miconioides* Rehd. (Caprifoliaceae). *Genetica*, 2006, 128: 409—417.
- [36] Bauert M R, Kalin M, Baltisberger M, *et al.* No genetic variation detected within isolated relict populations of *Saxifraga cernua* in the Alps using RAPD markers. *Mol. Ecol.*, 1998, 7: 1519—1527.

参考文献:

- [4] 陈小勇. 生境片段化对植物种群遗传结构的影响及植物遗传多样性保护. *生态学报*, 2000, 20(5): 884—892.
- [6] 赵爱莲, 陈小勇. 片断森林植物多样性、生态效应与保护和恢复价值. *生态学杂志*, 2005, 24(6): 691—695.
- [8] 许凤华, 康明, 黄宏文, 江明喜. 濒危植物毛柄小勾儿茶片断化居群的遗传多样性. *植物生态学报*, 2006, 30: 157—164.
- [9] 王峰峰, 高三红, 田胜尼, 傅声雷, 任海, 彭少麟. 南亚热带森林片断化对厚壳桂种群遗传结构的影响. *生物多样性*, 2005, 13: 324—331.
- [19] 李庆军, 许再富, 夏永梅, 张玲, 邓晓保, 高江云. 山姜属植物花柱卷曲性传粉机制的研究. *植物学报*, 2001, 43: 364—369.
- [20] 宋永昌, 王祥荣. 浙江天童国家森林公园的植被和区系. 上海: 上海科学技术文献出版社, 1995.
- [32] 王峰峰, 王伯荪, 张军丽, 李鸣光. 广东鼎湖山3个树种在不同群落演替过程中的遗传多样性. *林业科学*, 2004, 40(2): 32—37.
- [33] 陈小勇, 宋永昌. 安徽黄山西部青冈种群微生境遗传分化的研究. *植物资源与环境*, 1998, 7(1): 10—14.