

闽楠天然种群遗传多样性的 RAPD 分析

江香梅*, 温 强, 叶金山, 肖复明, 江 梅

(江西省林业科学院省植物生物技术重点实验室, 江西南昌 330032)

摘要: 利用 RAPD 分子标记分析了闽楠主要分布区江西和福建两省的 8 个天然种群的遗传多样性和种群遗传分化。应用 12 条引物从 160 个植株中共检测到 135 个位点, 其中多态位点 134 个。RAPD 数据经 Lynch-Milligan 校正后利用 POPGENE 软件计算出种群间遗传分化系数 G_{ST} 为 0.373; 利用 Shannon 多样性表型指数估算出 46.4% 的变异存在于种群间; 分子方差分析 (AMOVA) 亦显示种群间变异占 43.3% ($P < 0.001$)。尽管遗传变异主要存在于种群内, 但闽楠种群间亦存在强烈的遗传分化, 这可能与闽楠种群生境片段化、地理隔离等有关。根据闽楠的遗传变异特点, 建议尽可能多地保护闽楠天然种群, 对遗传多样性较高的福建西芹、浦城、明溪等种群应予以重点保护, 同时收集各地闽楠遗传资源进行迁地保护, 并通过种群扩繁以及合理回归自然等方式扩大种群规模、增强种群间的基因流, 以维持其遗传多样性水平。

关键词: 闽楠; RAPD; 种群遗传分化; 遗传多样性; 保护对策

文章编号: 1000-0933(2009)01-0438-07 中图分类号: Q145, Q944.3, Q948 文献标识码: A

RAPD analysis on genetic diversity in eight natural populations of *Phoebe bournei* from Fujian and Jiangxi Province, China

JIANG Xiang-Mei*, WEN Qiang, YE Jin-Shan, XIAO Fu-Ming, JIANG Mei

Jiangxi Academy of Forestry Sciences, Jiangxi Provincial Bio-tech Key Lab. for Plant, Nanchang 330032, China

Acta Ecologica Sinica, 2009, 29(1): 0438 ~ 0444.

Abstract: Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers were used to estimate the genetic diversity and population genetic differentiation in eight natural populations of *Phoebe bournei* from Jiangxi and Fujian provinces, China. In the 160 individuals, 12 random primers generated a total of 135 reproducible and discernible loci, among which 134 were polymorphic. 37.3% of genetic variance was observed among populations, as revealed by POPGENE software after Lynch & Milligan's (1994) correction. And according to the analysis of Shannon' index of phenotypic diversity, 46.4% of genetic variation resided among populations. This was congruent with estimation of genetic variation by the analysis of molecular variance (AMOVA), which revealed that 43.3% of the total genetic diversity ($P < 0.001$) was found among populations. Although its genetic variation mainly existed within populations, strong genetic differentiation occurred among populations perhaps mainly due to habitat fragmentation and isolation by distance, these were also the main causes for its endangered situation. Based on the results presented in this study, we recommended that attentions should be paid to protect as more populations as possible of this species, especially those populations with high genetic diversity in Xiqin, Pucheng and Mingxi, Fujian Province, and to collect genetic resources in the whole distribution areas for *ex-situ* conservation. It is also essential to enlarge its population scale by breeding and increase gene flow carefully by proper return-to-nature methods, so as to maintain its high level of genetic diversity.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30560126); 江西省林业厅学科带头人培养资助项目

收稿日期: 2008-03-22; **修订日期:** 2008-11-03

致谢: 感谢中国林业科学研究院热带林业研究所曾杰博士对本文写作的帮助。

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: xiangmeijiang@yahoo.com.cn

Key Words: *Phoebe bournei*; RAPD; population genetic differentiation; genetic diversity; conservation strategies

闽楠 *Phoebe bournei*(Hemsl) Yang 为樟科楠属高大常绿乔木,是我国特有的一个珍贵用材树种与优良观赏植物^[1],尤以材质优良闻名中外,自古以来即是建筑、高级家具和精密木模的良材。闽楠天然分布于闽、赣、粤北、鄂西、湘、黔东、浙南,闽、赣两省是其主要分布区。闽楠主要生长于阴湿的沟谷常绿阔叶林中,其垂直分布范围为海拔 100 ~ 1000m,大部分呈散生状态,有时可见小片天然纯林。由于长期的过度采伐以及生境破坏等,闽楠天然资源已近枯竭,被列为国家二级珍稀濒危植物^[2],其拯救、保护工作已迫在眉睫。目前国内对外对闽楠的研究仅见闽楠种群生态学、人工林培育、生长特性等方面的报道^[3~7],而忽视了对其遗传资源现状的研究。揭示物种的种群遗传多样性及其遗传变异特征,可为制定保护策略和措施提供必要的理论指导^[8~10]。RAPD 标记技术因其简便、快速、易自动化操作、检测位点多而被广泛应用于林木种群遗传多样性的研究^[11~14]。本文采用 RAPD 标记技术,对江西、福建两省 8 个闽楠天然种群的遗传多样性和种群遗传分化进行研究,旨在为制定闽楠遗传多样性保护对策和育种策略提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料分别采自江西的龙南、泰和,福建的政和、王台、明溪、永安、浦城、西芹 8 个种群。种群之间有明显的天然隔离(如山川、河流等),水平距离 50km 以上;每个种群随机选取 30 个位于林冠上层的植株,植株之间相距 50m 以上,采集当年生幼叶,硅胶干燥后带回实验室提取基因组 DNA;部分样品因 DNA 质量不高等问题导致扩增效果不理想而予以舍弃,最后确定每个种群试验样本数为 20,采样种群地理位置及气候条件见表 1。

表 1 闽楠采样种群的地理位置与气候条件
Table 1 The sample sizes and localities of eight natural populations of *Phoebe bournei*

种群名称及编号 Pop ID	取样数 No. of samples collected	试验样本数 No. of samples tested	经度(E) Latitude	纬度(N) Longitude	海拔高(m) Altitude	年均温(℃) Mean annual temp.	湿度 Humidity
1 福建政和 ZHENGHE. F	30	20	118°19'E	27°03'N	220.9m	18.5	75%
2 福建王台 WANGTAI. F	30	20	117°51'E	26°34'N	127.8m	19.3	72%
3 福建永安 YONGAN. F	30	20	117°21'E	25°58'N	221.7m	20.0	70%
4 江西泰和 TAIHE. J	30	20	114°55'E	26°48'N	71.4 m	18.6	80%
5 江西龙南 LONGNAN. J	30	20	114°49'E	24°55'N	205.5m	18.9	81%
6 福建明溪 MINGXI. F	30	20	116°48'E	26°08'N	319.4m	18.0	78%
7 福建西芹 XIQIN. F	30	20	118°40'E	26°51'N	127.8m	19.3	72%
8 福建浦城 PUCHENG. F	30	20	118°32'E	27°55'N	274.8m	17.4	79%

1.2 试验方法

1.2.1 基因组 DNA 提取、RAPD 扩增与电泳检测

RAPD 已广泛应用于遗传多样性分析及系统学研究,在试验条件一致的前提下 RAPD 产物具有很好的重复性^[15,16]。试验采用笔者开发的闽楠 DNA 提取方案与 RAPD-PCR 优化反应体系以及常规电泳检测方法^[17],经部分样品的重复扩增与检测,可确保试验的可重复性与可靠性。

1.2.2 数据分析

统计 RAPD 扩增产物的电泳谱带,建立 0/1 二元数据矩阵。计算各种群的多态位点百分比(PPB);利用 Shannon 表型多样性指数计算基于各引物扩增条带在种群(*Hpop*)和物种(*Hsp*)水平的表型多样性,分别根据(*Hpop/Hsp*)和((*Hsp-Hpop*)/*Hsp*)计算种群内与种群间变异所占的比例;应用 DCFA1.1 软件^[18]计算个体间欧氏距离所得的输出文件(距离文件、组文件、种群文件)作为输入文件,采用 AMOVA1.55 软件^[11,19]进行遗

传变异的巢式方差分析;采用 Lynch-Milligan 矫正方法剔除 $q^2 < 3/N$ (q 为基因频率, N 为种群内取样个体数) 的条带^[20]后,运用 POPGENE v. 1.31^[21] 计算各种群的 Nei's 基因多样性(h)、遗传分化系数(G_{ST})以及种群间 Nei's 无偏遗传距离及相似系数^[22],应用 NTSYSpc 软件^[23]对 8 个种群进行 UPGMA 聚类分析,构建树状聚类图,并采用 Mantel 检验分析 8 个闽楠种群间遗传距离与地理距离的相关性。

2 结果与分析

2.1 闽楠天然种群的 RAPD 扩增及遗传多样性

从 200 条随机引物中共筛选出 12 条引物用于 RAPD 分析,各引物检测出的总带数、多态带数见表 2。每条引物可扩增 10~20 条谱带,扩增谱带长约 200~3000bp,共检测到 135 个位点,其中多态位点 134 个,总多态位点百分率为 99.3%,引物 S_{40} 、 S_{62} 对浦城种群扩增的 RAPD 谱带见图 1。由表 3 可以看出,各种群多态位点百分比为 57.63~76.27,大小依次为西芹>浦城>明溪>政和>永安>龙南>王台>泰和,而各种群内基因多样度的排序与前者稍有不同,其高低为西芹>明溪>浦城>永安>龙南>政和>王台>泰和,但两者均显示福建西芹种群遗传多样性水平高于其他 7 个种群,而江西泰和种群的遗传多样性水平最低。在物种水平上,闽楠的基因多样性为 0.3688,说明其遗传多样性较为丰富。

表 2 16 条 RAPD 引物扩增的总带数和多态带数

Table 2 The total bands and polymorphic bands by 16 RAPD primers in *Phoebe bournei*

引物 Primer	引物序列(5'~3') Sequence (5'~3')	总带数 Total bands	多态带数 Polymorphic bands	引物 Primer	引物序列(5'~3') Sequence (5'~3')	总带数 Total bands	多态带数 Polymorphic bands
S_3	CATCCCCCTG	13	13	S_{40}	GTTCGATCC	12	12
S_8	GTCCACACGG	8	8	S_{62}	GTGAGGCGTC	11	11
S_{21}	CAGGCCCTTC	10	10	S_{82}	GGCACTGAGG	12	12
S_{24}	AATCGGGCTG	12	12	S_{98}	GGCTCATGTG	11	10
S_{28}	GTGACGTAGG	13	13	S_{167}	CAGCGACAAG	12	12
S_{31}	CAATCGCCCT	10	10	S_{180}	AAAGTCCGGC	11	11

表 3 闽楠种群遗传多样性参数

Table 3 Parameters of genetic diversity in eight populations of *Phoebe bournei*

种群名称及编号 Pop ID	多态位点百分率(%) Percentage of polymorphic locus	Nei's 基因多样性 Nei's gene diversity
1 福建政和 ZHENGHE. F	69.49	0.2124
2 福建王台 WANGTAL. F	61.86	0.2098
3 福建永安 YONGAN. F	67.80	0.2299
4 江西泰和 TAIHE. J	57.63	0.1973
5 江西龙南 LONGNAN. J	63.56	0.2249
6 福建明溪 MINGXI. F	72.03	0.2603
7 福建西芹 XIQIN. F	76.27	0.2641
8 福建浦城 PUCHENG. F	74.58	0.2513

2.2 闽楠天然种群的遗传分化

通过 Lynch-Milligan 矫正后利用 POPGENE 软件计算得出,37.3% 的变异存在于种群间,说明遗传变异主要来自于闽楠种群内,亦表明种群间存在着强烈的遗传分化。

利用 Shannon 表型多样性指数分析变异在种群内和种群间的分布情况见表 4。根据 (H_{pop}/H_{sp}) 和 ($H_{sp}-H_{pop})/H_{sp}$ 分析所得结果显示,平均有 46.4% 的变异存在于种群之间,与利用 POPGENE 软件计算出的遗传分化系数(G_{ST})相差较大。

对闽楠 8 个种群进行 AMOVA 分析,结果(表 5)显示,闽楠种群间和种群内变异分量分别为 11.460 和

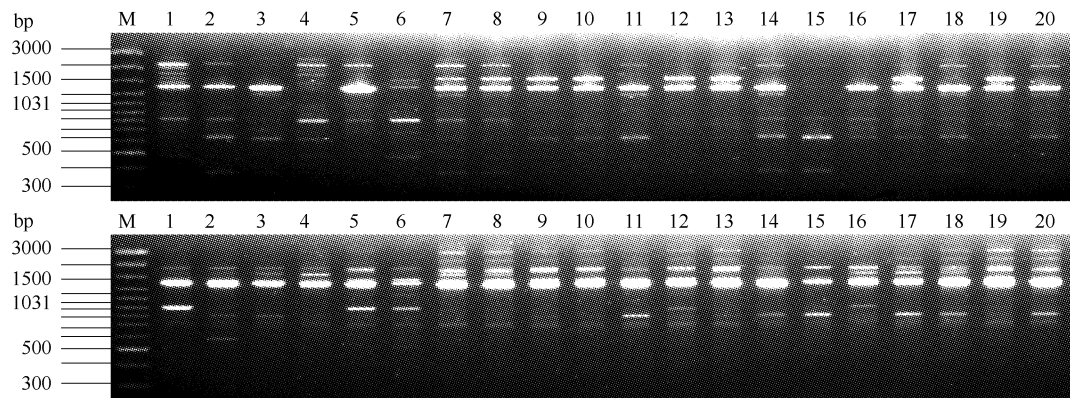


图 1 引物 S_{40} 、 S_{62} 对浦城闽楠种群的扩增谱带

Fig. 1 RAPD amplification profiles for genomic DNA of *Phoebe bournei*
the upper and lower generated by primer S_{40} and S_{62} for Population Pucheng, respectively; M: Marker

14.983, 即 43.3% ($P < 0.001$) 的遗传变异来源于种群间, 其结果与 Shannon 表型多样性指数分析相一致。

2.3 种群间的相互关系

表 6 列出了闽楠 8 个天然种群 Nei's 无偏遗传距离(左下角)和地理距离(右上角)。

8 个种群两两间的遗传距离在 0.1189 ~ 0.3640 之间, 其中福建西芹与浦城种群间的遗传距离最小, 浦城与江西泰和种群间的遗传距离最大。根据种群间的遗传距离, 采用 UPGMA 聚类法可得出 8 个闽楠种群的树状聚类图(图 2)。由图 2 显示, 利用 RAPD 标记可以较好地将 8 个闽楠种群划分为江西和福建两大类型, 即江西的泰和和龙南两个种群聚成一类, 福建的政和等 6 个种群聚成一类。在福建的 6 个种群中, 永安、浦城、西芹、明溪、政和 5 个种群聚为一类, 与王台种群分开。

对闽楠各种群间遗传距离和地理距离的相关性进行 Mantel 检验, 结果表明其遗传距离与地理距离间相关显著($r = 0.4856, P < 0.05$)。整体而言, 相距较近的种群基本上能聚在一起, 如福建永安种群与明溪种群、江西泰和种群与龙南种群地理距离较近, 亦聚在一起。很显然亦有一些例外, 如相距较远的福建西芹与浦城种群, 其遗传关系最近。由此可见, 种群间的遗传关系除了受其地理距离的影响, 亦可能受种群间保存现状、环境因素差异等的影响。

表 4 闽楠种群 Shannon 表型多样性指数分析

Table 4 Analysis on Shannon's index of phenotypic diversity for *Phoebe bournei*

引物 Primers	H_{pop}	H_{sp}	$(H_{sp} - H_{pop}) / H_{sp}$
S_3	3.345	5.710	0.414
S_8	1.545	2.753	0.439
S_{21}	2.283	4.251	0.463
S_{24}	2.568	3.833	0.330
S_{28}	2.949	5.767	0.489
S_{31}	1.960	4.219	0.535
S_{40}	3.585	4.873	0.264
S_{62}	1.843	4.953	0.628
S_{82}	2.209	4.175	0.471
S_{98}	1.906	5.134	0.629
S_{167}	2.737	5.098	0.463
S_{180}	2.454	4.399	0.442
平均 Mean	2.449	4.597	0.464

表 5 闽楠 8 个种群的分子变异分析(AMOVA)

Table 5 Analysis of molecular variance (AMOVA) for the eight populations of *Phoebe bournei*

变异来源 Source of variation	自由度 df	平方和 SSD Sum of squares	均方差 MSD Mean squared deviation	变异组分 Variance component	变异百分率 % Total variation (%)	P-值 P-value
种群间 Among populations	7	1709.225	244.175	11.460	43.3%	<0.001
种群内 Within populations	152	2277.400	14.983	14.983	56.7%	<0.001
合计 SUM	159	3986.625				

3 讨论

稀有和濒危物种的遗传变异水平一般低于广布种, 但不同物种的多样性水平和种群遗传结构差异大^[28]。

在本研究中,各取样种群的多态位点百分率为 57.63% ~ 76.27%,各种群的基因多样性为 0.1973 ~ 0.2641,其中福建西芹种群的遗传多样性最高,而江西泰和种群最低。在物种水平上,闽楠的基因多样性为 0.3688,高于樟科的其他物种,如应用显性标记 ISSR 揭示出舟山群岛濒危种红楠的基因多样性为 0.277^[26],濒危种思茅木姜子的基因多样性为 0.246^[27],说明闽楠的遗传多样性较丰富。本研究采样种群多为天然纯林,且呈稳定增长型或成熟型,拥有巨大的种子库^[4],显示种群有丰富的幼苗储备。闽楠种子属中粒种子(千粒重为 266.79)^[3,5],种子成熟时,靠鸟类等动物传播有限,绝大部分在重力作用

下聚集在母树周围,母树林冠下成为闽楠天然更新的主要场所^[4-6]。一方面,闽楠生境较为阴湿,种子掉落后易受土壤病原菌的感染而发生霉烂,加之地下动物的觅食,使得天然状态下闽楠发芽率降低;另一方面种子的成群散布,随着种群继续发育,种内和种间竞争加剧,种群个体死亡率提高^[29]。可见,天然状态下闽楠种子和幼苗经历了较大的内外环境选择压力,而这种压力可能正是种群内部个体变异的主要来源。

表 6 闽楠 8 个天然种群两两间的遗传距离和地理距离

Table 6 Nei's unbiased genetic distance and geographical distance between 8 populations of *Phoebe bournei*

种群名称及编号 Pop ID	1	2	3	4	5	6	7	8
1 福建政和 ZHENGHE. F	0	134.06	216.55	394.78	486.92	245.10	61.63	67.89
2 福建王台 WANGTAI. F	0.1719	0	83.38	292.54	354.99	113.82	87.29	164.66
3 福建永安 YONGAN. F	0.1384	0.1761	0	259.33	279.88	55.92	164.06	246.63
4 江西泰和 TAIHE. J	0.2799	0.3531	0.3000	0	209.52	203.50	372.55	378.03
5 江西龙南 LONGNAN. J	0.1952	0.3034	0.1973	0.2229	0	241.87	441.35	498.25
6 福建明溪 MINGXI. F	0.1724	0.2326	0.1382	0.3424	0.2161	0	200.98	261.63
7 福建西芹 XIQIN. F	0.1873	0.2398	0.1836	0.3185	0.2425	0.1689	0	119.91
8 福建浦城 PUCHENG. F	0.1836	0.2048	0.1597	0.3640	0.2755	0.1412	0.1189	0

表中下半角为 Nei's (1979) 无偏遗传距离,上半角为地理距离 (km) The data are geographical distance (km) (above diagonal) and Nei's unbiased genetic distance (1979) (below diagonal)

应用 RAPD 之类显性标记揭示种群间遗传分化时,学者们倾向于将 0/1 矩阵视为表型数据而采用分子变异分析 (AMOVA) 和 Shannon 表型多样性指数分析^[11]。本研究采用 Shannon 表型多样性指数和 AMOVA 分析方法,分别揭示出闽楠种群间的变异占 46.4% 和 43.3%,两者结果相近。而在种群符合 Hardy-Weinberg 平衡的假设前提下,通过 Lynch-Milligan 矫正^[25],将其视为遗传数据应用 POPGENE 软件计算出 G_{ST} (0.373),获得的遗传分化系数与前两者相差较大,其差异与前两类方法的数据处理不同有关。尽管如此,所揭示出的闽楠种群间的遗传分化趋势是一致的,都显示闽楠种群间出现强烈的遗传分化,而且种群内遗传变异大于种群间。其遗传分化水平小于自交种遗传分化的平均水平 ($G_{ST} = 0.510$)^[30],说明其繁育系统仍以异交为主。然而,闽楠种群绝大部分以聚群形式生长于阴湿沟谷地带,尤其在自然保护区小片天然纯林大多形似孤岛,使得种群间基因流降低,不可避免地种群内出现近交。Williamson 和 Werth^[31]认为遗传多样性水平特别高的濒危种,并没有经历过瓶颈效应,而且其种群内的近交不一定导致自交衰退。闽、赣两地作为闽楠主要分布区,其种群虽然呈孤岛状分布,但各种群内部仍具有丰富的遗传多样性。然而,人类活动所导致的森林片断化、生境恶化甚至丧失,可能使原来广泛连续分布的高水平遗传多样性的大种群片断化分布为地理隔离、范围狭小的小种群;生境面积变小造成种群内个体数量减少,可能导致遗传漂变,易造成基因频率小的等位基因丧失,这可能是闽楠濒危的主要原因之一,有待于从群落、景观等较小尺度上开展研究。

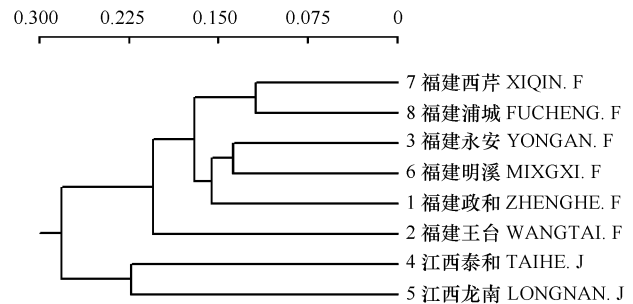


图 2 闽楠 8 个天然种群 UPGMA 聚类法得出的树状图

Fig. 2 Dendrogram generated by UPGMA analysis of eight populations of *Phoebe bournei* based on Nei's unbiased genetic distance

针对闽楠种群遗传多样性总体水平较高,但种群数量较少的特点,建议对尽可能多的闽楠天然种群进行就地保护,尤其像遗传多样性水平偏低的龙南、泰和种群应该得到当地林业部门的足够重视,而对遗传多样性较高的福建西芹、浦城、明溪等种群则应予以重点保护;收集各地闽楠遗传资源进行迁地保护,加强育种和栽培技术研究,扩大人工种植规模,满足市场对于其木材的旺盛需求,将有利于闽楠天然种群的有效保护;同时,在了解种群遗传背景的基础上,将频率较小的个体进行扩繁,并将其合理地回归自然,从而扩大种群规模,增强种群间的基因流,以维持其遗传多样性水平。

References:

- [1] Fu L G, Jin J M. China Plant Red Data Book — Rare and Endangered Plants (Vol. 1). Beijing: Science Press, 1992. 358 — 359.
- [2] Issued by the State Council. The National Important Wild Conservative Plants List (list 1). PLANTS, 1999, (5): 4 — 11.
- [3] Jiang X M, Lin W H, Wei B S, *et al.* Preliminary Report on Seedling raising of *Phoebe bournei*. Jiangxi Forestry Science and Technology, 2000, (4): 9 — 10.
- [4] Wu D L. Study on Seed Rain of *Phoebe Bournei* Population at LuoBoYan Natural Reserve In FuJian. Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition), 1997, 21 (1): 56 — 60.
- [5] Wu D R, Wu Y B. Regeneration of *Phoebe bournei* (Hemsl.) Yang population. Journal of Plant Resources and Environment, 1998, 7 (3): 8 — 12.
- [6] Wu D R, Wang B S. Seed and seedling ecology of the endangered *Phoebe bournei* (Lauraceae). Acta Ecologica Sinica, 2001, 21 (11): 1751 — 1760.
- [7] LI S W. Comprehensive Evaluations of Various Afforestation Patterns *Phoebe bournei*. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis, 2003, 25 (5): 100 — 103
- [8] Avise J C and Hamrick J L. Conservation Genetics: Case Histories from Nature. New York: Chapman & Hall, Inc. , 1996.
- [9] Drummond R S M, Keeling D J, Richardson T E, *et al.* Genetic analysis and conservation of 31 surviving individuals of a rare New Zealand tree, *Metrosideros bartlettii* (Myrtaceae). Mol. Ecol. , 2000, (9): 1149 — 1157
- [10] Ellstrand N C, Elam D R. Population genetic consequences of small population size Implications for plant conservation. Ann. Rev. Ecol. Syst. , 1993, 24: 217 — 242.
- [11] Zeng J, Zou Y P, Bai J Y, *et al.* RAPD analysis of genetic variation in natural populations of *Betula alnoides* from Guangxi, China. Euphytica, 2003, 134: 33 — 41.
- [12] Wang T, SU Y J, LI X Y, *et al.* RAPD analysis of the genetic variation within populations of a relict tree fern, *Alsophila spinulosa* (Cyatheaceae). Acta Ecologica Sinica, 2003, 23 (6): 1200 — 1205.
- [13] Zhang H Y, Chen Y Q, Liao W B. RAPD analysis of population genetic diversity of *Taxus mairei*. Acta Botanica Boreali-occidentalia Sinica, 2003, 23 (11): 1994 — 1997.
- [14] Zhang H Q, Liu D L, Jin R Y, *et al.* RAPD analysis on variation of genetic diversity of natural *Pinus koraiensis* in temporal dimension. Bulletin of Botanical Research, 2004, 24 (2): 204 — 210.
- [15] Wang X Q, Zou Y P, Zhang D M, *et al.* Problems in the use of RAPD to the study of genetic diversity and systematics. Acta Botanica Sinica, 1996, 38 (12): 954 — 962.
- [16] Lowe A J. Standardization of molecular genetic techniques for the characterization of germplasm collections: the cases of random amplified polymorphic DNA (RAPD). Plant Genetic Resources Newsletter, 1996, (107): 50 — 54.
- [17] Wen Q, Ye J S, Jiang X M. Genomic DNA Extraction and Optimizing Conditions for RAPD Analysis in *Phoebe bournei*. Jiangxi Forestry Science and Technology, 2005, 2: 5 — 7.
- [18] Zhang F M, Ge S. Data analysis in population genetics I. analysis of RAPD data with AMOVA. Chinese Biodiversity, 2002, 10 (4): 438 — 444.
- [19] Excoffier L. , Smouse P E Q, Uattro J M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. Genetics, 1992, 131: 479 — 491.
- [20] Lynch M, Milligan B G. Analysis of population genetic structure with RAPD markers. Mol. Ecol. , 1994, 3: 91 — 99.
- [21] Yeh F C, Yang R C, Boyle T B J. POPGENE version 1. 31. Microsoft Windows-based freeware for population genetic analysis. University of Alberta, Edmonton, 1997.
- [22] Nei M, Li W H. Mathematical model for studying genetic variation in teams of restriction endonucleases. Proc Natl Acad Sci USA, 1979, 76: 5269 — 5273.
- [23] Rohlf F J. NTSYS-pc: numerical taxonomy and multivariate analysis system, ver. 2. 02 Exeter Ltd, Setauket, NY, USA, 1997.

- [24] Fritsch P, Rieseberg L H. The use of random amplified polymorphic DNA (RAPD) in conservation genetics. In: Smith T B, Wayne R K (eds) *Molecular Genetic Approaches in Conservation*. Oxford University Press, London: 1996, 54—73.
- [25] Qian W, Ge S. Analyses of Population Genetic Structure by Using Dominant Markers. *Acta Genetica Sinica*, 2001, 28 (3): 244—255.
- [26] Leng X, Wang Z S, An S Q, *et al.* The Influence of Insular Geographical Isolation on Population Genetic Structure of *Machilus thunbergii*. *Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition)*, 2006, 30(2): 20—24.
- [27] Chen J Q, Ci X Q, Li Q M. Genetic diversity of *Litsea szemaois*, an endangered species endemic to China, detected by inter-simple sequence repeat (ISSR). *Biodiversity Science*, 2006, 14(5): 410—420.
- [28] Ge S, Zhang D M. Allozyme variation in *Ophiopogon xylorrhizus*, an extreme endemic species of Yunnan, China. *Conservation Biology*, 1997, 11: 562—565.
- [29] Wu D R, Zhu Z D. Preliminary Study on Structure and Spatial Distribution Pattern of *Phoebe Bournei* in Luo BoYan Nature Reserve in Fujian Province. *Scientia Silvae Sinicae*, 2003, 39(1): 23—30.
- [30] Zou Y P, Ge S, Wang X D, *et al.* *Molecular Marker of Plant Systematics and Evolution*. Beijing: Science Press, 2001. 41—43.
- [31] Williamson P S, Werth C R. Levels and pattern of genetic variation in the endangered species *Abronia macrocarpa* (Nyctaginaceae). *American Journal of Botany*, 1999, 86: 293—301.

参考文献:

- [1] 傅立国, 金鉴明. 中国植物红皮书——稀有濒危植物. 北京: 科学出版社, 1991. 358~359.
- [2] 国务院批准公布. 国家重点保护野生植物名录(第一批). 植物杂志, 1999, (5): 4~11.
- [3] 江香梅, 林卫红, 魏柏松. 闽楠育苗初报. 江西林业科技, 2000, (4): 9~10.
- [4] 吴大荣. 福建省罗卜岩自然保护区闽楠(*Phoebe bournei* (Hemsl) Yang) 种群种子雨研究. 南京林业大学学报, 1997, 21(1): 56~60.
- [5] 吴大荣, 吴永彬. 闽楠种群的天然更新. 植物资源与环境, 1998, 7(3): 8~12.
- [6] 吴大荣, 王伯荪. 濒危树种闽楠种子和幼苗生态学研究. 生态学报, 2001, 21(11): 1751~1760.
- [7] 李生文. 闽楠不同培育模式的综合评价. 江西农业大学学报, 2003, 25(5): 100~103.
- [12] 王艇, 苏应鹏, 李雪雁, 等. 孑遗植物桫欏种群遗传变异的 RAPD 分析. 生态学报, 2003, 23(6): 1200~1205.
- [13] 张宏意, 陈月琴, 廖文波. 南方红豆杉不同居群遗传多样性的 RAPD 研究. 西北植物学报, 2003, 23(11): 1994~1997.
- [14] 张恒庆, 刘德利, 金荣一, 等. 天然红松遗传多样性在时间尺度上变化的 RAPD 分析. 植物研究, 2004, 24(2): 204~210.
- [15] 汪小全, 邹喻苹, 张大明, 等. RAPD 应用于遗传多样性和系统学研究中的问题. 植物学报, 1996, 38(12): 954~962.
- [17] 温强, 叶金山, 江香梅. 闽楠基因组 DNA 提取及 RAPD 条件优化. 江西林业科技, 2005, 2: 5~7.
- [18] 张富民, 葛颂. 群体遗传学研究中的数据处理方法 I. RAPD 数据的 AMOVA 分析. 生物多样性, 2002, 10(4): 438~444.
- [25] 钱韦, 葛颂. 居群遗传结构研究中显性标记数据分析方法初探. 遗传学报, 2001, 28(3): 244~255.
- [26] 冷欣, 王中生, 安树青, 等. 岛屿地理隔离对红楠种群遗传结构的影响. 南京林业大学学报(自然科学版), 2006, 30(2): 20~24.
- [27] 陈俊秋, 慈秀芹, 李巧明, 等. 樟科濒危植物思茅木姜子遗传多样性的 ISSR 分析. 生物多样性, 2006, 14(5): 410~420.
- [29] 吴大荣, 朱政德. 福建省罗卜岩自然保护区闽楠种群结构和空间分布格局初步研究. 林业科学, 2003, 39(1): 23~30.
- [30] 邹喻苹, 葛颂, 王晓东, 等. 系统与进化植物学中的分子标记. 北京: 科学出版社, 2001. 41~43.