

文章编号: 1001-1498(2009)03-0367-06

香榧天然群体遗传多样性的 AFLP 分析

闵会¹, 程诗明^{2*}, 康志雄³, 黄坚钦¹

(1. 浙江林学院浙江省现代森林培育技术重点实验室, 浙江 临安 311300; 2. 浙江省林业科学研究院, 浙江 杭州 310023; 3. 浙江省林业厅, 浙江 杭州 310020)

摘要:利用 AFLP 分子标记技术, 采用 8 对引物对 6 个香榧天然群体的 92 个个体进行了总基因组 DNA 水平上的多态性检测, 共检测出 364 个位点, 其中多态性位点 63 个。方差分析表明: 基因谱带频率在群体间差异不明显, 方差分量贡献率在群体间占 11.14%, 群体内占 88.86%。6 个群体均具有丰富的遗传多样性, 多态位点百分率为 79.73% ~ 98.41%, 其中绍兴 > 东白湖 > 磐安 > 钟家岭 > 嵊州 > 黄山, 且群体内遗传多样性大于群体间遗传多样性。等位基因数为 1.7939 ~ 1.9841, 有效等位基因数为 1.5416 ~ 1.6759, Shannon 信息指数为 0.4548 ~ 0.5471。群体分化系数为 0.1136, 群体内遗传多样性为 0.3512, 基因流为 3.8997。遗传一致度平均值为 0.9174, 遗传距离平均值为 0.0797。根据遗传一致度进行了 UPGMA 聚类分析。

关键词: 香榧; 多态位点百分率; 遗传多样性; AFLP

中图分类号: S718.46

文献标识码: A

Genetic Diversity of Different *Torreya grandis* Populations by AFLP

MIN Hui¹, CHENG Shiming², KANG Zhixiong³, HUANG Jianqin¹

(1. The Key Laboratory of Forest Cultivation of Zhejiang Forestry University, Lin'an 311300, Zhejiang, China;

2. Forestry Institute of Zhejiang Province, Hangzhou 310023, Zhejiang, China;

3. Forestry Department of Zhejiang Province, Hangzhou 310020, Zhejiang, China)

Abstract: Amplified fragment length polymorphism (AFLP) was used to analyze the genetic diversity of 92 *Torreya grandis* from 6 different populations. Total of 364 loci of the *T. grandis* genome were examined for molecular variation and 63 loci were polymorphic. Analysis of variance showed that variance components among populations was not obvious, the percentage of variance components was 11.14% among populations and 88.86% within populations. The percentage of polymorphic loci (P) ranging from 79.73% - 98.41%, Shaoxing > Dongbaihu > Panan > Zhongjialing > Shengzhou > Huangshan, the number of alleles (A) ranging from 1.7939 - 1.9841, the effective number of alleles (A_e) ranging from 1.5416 - 1.6759, Shannon information index (I) ranging from 0.4548 - 0.5471. As for *T. grandis*, the genetic differentiation coefficient among 6 populations (G_{st}) was 0.1136. Genetic identities within 6 populations (H_s) were 0.3512. The gene flow among 6 populations (N_m) was 3.8997. The average genetic identity was 0.9174 and the average genetic distance was 0.0797. The 6 populations were divided

收稿日期: 2008-11-04

基金项目: “十一五” 国家科技支撑课题“林木、花卉基因资源发掘与种质创新利用研究”子课题“东亚热带林木基因资源创新利用研究”(2006BAD13B07-9); 浙江省自然科学基金项目“香榧天然群体遗传多样性研究与优异种质创新利用”(Y306613); 浙江省科研院所专项“浙江省特色经济林种质资源的收集、保存与创新利用研究”(2006F11002)

作者简介: 闵会 (1983—), 女, 河南南阳人, 硕士研究生, 从事经济林种质资源研究。

*通讯作者: 副研究员, 博士, 从事林木遗传育种研究。E-mail: chengsm888@163.com

according to the UPGMA cluster analysis

Key words: *Torreya grandis*; percentage of polymorphic loci; genetic diversity; AFLP

香榧 (*Torreya grandis* Fort. ex Lindl.) 属裸子植物红豆杉科 (Taxaceae) 榧树属 (*Torreya* Am.), 常绿乔木, 又称榧树、玉榧、野杉子。香榧为第三纪孑遗植物, 也是我国特有的珍稀树种。其全身都是宝, 是集果用、油用、药用、材用、绿化、观赏为一体的多用途优良经济树种^[1]。

目前, 香榧大部分呈野生或半野生状态, 主要分布于浙江省的会稽山区和天目山区, 安徽的黄山地区, 福建的闽南山区, 赣东北和湘西山区。近年来, 随着香榧经济价值的提高, 大部分香榧资源因其材质好、用途广而被当地农民大量采伐中熟大树, 遭到严重破坏。特别是由于细榧经济价值的不断提高, 很多香榧类型被改接为细榧, 原有的类型遭到严重破坏, 亟需抢救保存。浙江作为香榧的主产区, 是香榧资源保存最多、种内性状变异最复杂的省份, 因此以浙江省及其周边地区香榧资源为研究对象, 基本覆盖了香榧的全部类型, 具有重要的研究意义。

目前对香榧的研究主要集中在资源分布、丰产栽培、病虫害防治以及营养和功能成分等方面^[2], 对其分子水平的研究还比较少。前人已经利用 RAPD^[3-4] 以及 AFLP^[5] 等分子标记技术对香榧进行研究, 但只是确定了香榧基因组 DNA 的抽提技术并建立了稳定的 RAPD、AFLP 实验体系, 香榧遗传多样性方面的研究则未见报道。AFLP 分子标记具有稳定性高、重复性好、多态性检测效率高等特点, 已广泛应用于植物品种鉴定、遗传多样性分析、遗传图谱构建、基因定位等方面。在建立稳定的香榧 AFLP 实验体系的基础上, 本研究采用 AFLP 分子标记技术对包含 92 个个体的 6 个香榧天然群体的遗传多样性进行了分析。

遗传多样性是生物多样性的基本组成部分, 是遗传信息的总和, 蕴藏在地球上动物、植物和微生物个体的基因中, 它决定着物种的发生、进化和变异^[6]。一个物种, 如果遗传多样性丰富, 也即所含的基因变化丰富, 该物种对环境的适应能力就强, 进化的潜力就大; 否则, 进化潜力就小。本研究针

对目前香榧资源遭到严重破坏的情况, 采用不受环境影响的 DNA 分子标记对香榧天然群体的遗传多样性进行研究, 为确定香榧遗传多样性保护策略以及种质资源保存、合理开发利用提供了科学的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

收集香榧主要分布区资料^[7-8], 进行香榧主要分布区的随机分组取样。分别采集了浙江诸暨东白湖、钟家岭, 浙江磐安、绍兴、嵊州及安徽黄山 6 个主要群体共 92 个个体的叶片, 硅胶快速干燥后带回实验室, -70°C 下保存备用。其中诸暨东白湖 11 个个体、钟家岭 20 个个体、磐安 17 个个体、绍兴 16 个个体、黄山 15 个个体、嵊州 13 个个体, 每个群体覆盖其分布区全部类型。样本情况见表 1。

1.2 试验方法

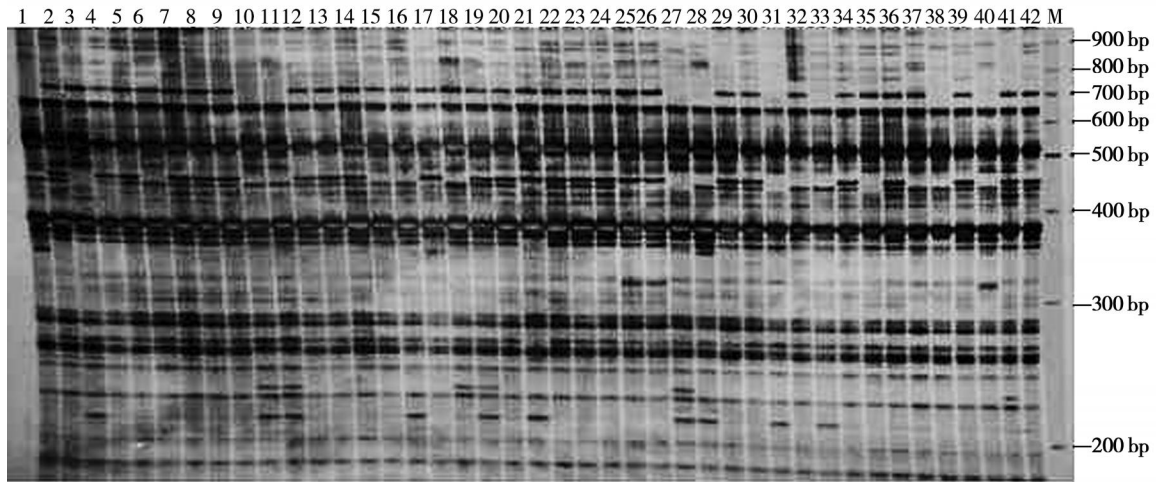
1.2.1 香榧基因组 DNA 的提取 采用改良的 CTAB 法提取香榧叶片基因组 DNA。用质量浓度为 0.8% 的琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 质量, 并检测 OD 值, 最后将 DNA 定量至 $50\text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ 备用。DNA 质量符合 AFLP 分析的要求。

1.2.2 AFLP 分析 AFLP 实验程序与梁丹等^[9] 的研究基本相同, 仅对 PCR 反应体系和程序进行了优化。从 64 对 E+3/M+3 引物组合中筛选出 8 对 (表 2) 能够获得清晰条带、反应稳定的引物组合进行 PCR 扩增。选择性扩增产物 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 5 min, 在 6% 变性聚丙烯酰胺胶上电泳约 2 h, 最后银染染色。

1.2.3 数据处理 只选取大小在 100~800 bp 的清晰可辨的电泳条带, 以“1”和“0”分别记录条带的有无。在相同片段位置上有带记为“1”, 无带记为“0”。扩增情况如图 1 所示。作 0/1 矩阵输入 POPGENE1.32^[10] 软件进行分析, 同时对基因谱带频率进行 AMOVA 方差分析。计算个体间的 Nei 相似系数 (Nei & Li, 1979) 并用 NTSYSpc2.10 (Rohlf, 1997) 进行 UPGMA 聚类分析。

表 1 香榧天然群体各采样母树生长状况调查

编号	种质号	产地	种质类型	编号	种质号	产地	种质类型
1	绍兴 01	绍兴县稽东镇占岙村	小圆榧	47	磐安 03	磐安县尚湖乡岭干村	珠榧
2	绍兴 02	绍兴县稽东镇占岙村		48	磐安 04	磐安县尚湖乡岭干村	小圆榧
3	绍兴 03	绍兴县稽东镇占岙村		49	磐安 05	磐安县尚湖乡岭干村	米榧
4	绍兴 04	绍兴县稽东镇占岙村	圆榧	50	磐安 06	磐安县尚湖乡岭干村	大圆榧
5	绍兴 05	绍兴县稽东镇占岙村	香榧	51	磐安 07	磐安县尚湖乡岭干村	大香榧
6	绍兴 06	绍兴县稽东镇占岙村	木榧	52	磐安 08	磐安县尚湖乡岭干村	假丁香榧
7	绍兴 07	绍兴县稽东镇占岙村	大圆榧	53	磐安 09	磐安县尚湖乡岭干村	猪牙榧
8	绍兴 08	绍兴县稽东镇占岙村		54	磐安 10	磐安县尚湖乡岭干村	红衣榧
9	绍兴 09	绍兴县稽东镇占岙村	木榧	55	磐安 11	磐安县尚湖乡栗树山村	猪牙榧
10	绍兴 10	绍兴县稽东镇占岙村	圆榧	56	磐安 12	磐安县尚湖乡环岩前村	木榧
11	绍兴 11	绍兴县稽东镇占岙村		57	磐安 13	磐安县墨林乡东川村	大丁香榧
12	绍兴 12	绍兴县稽东镇占岙村		58	磐安 14	磐安县双溪乡下园村	圆榧
13	绍兴 13	绍兴县稽东镇占岙村		59	磐安 15	磐安县窈川乡依山下村	大香榧
14	绍兴 14	绍兴县稽东镇占岙村	香榧	60	磐安 16	磐安县尚湖乡环岩前村	细榧
15	绍兴 15	绍兴县稽东镇占岙村		61	磐安 17	磐安县尚湖乡岭干村	大圆榧
16	绍兴 16	绍兴县稽东镇占岙村		62	钟家岭 01	诸暨市赵家镇钟家岭村	细榧
17	黄山 01	黄山市宏村镇双联村	米榧	63	钟家岭 02	诸暨市赵家镇钟家岭村	细榧
18	黄山 02	黄山市宏村镇双联村	米榧	64	钟家岭 03	诸暨市赵家镇钟家岭村	长籽榧
19	黄山 03	黄山市宏村镇双联村	叶里笑	65	钟家岭 04	诸暨市赵家镇钟家岭村	芝麻榧
20	黄山 04	黄山市宏村镇双联村	米榧	66	钟家岭 05	诸暨市赵家镇钟家岭村	小圆榧
21	黄山 05	黄山市宏村镇双联村	大圆榧	67	钟家岭 06	诸暨市赵家镇钟家岭村	细榧
22	黄山 06	黄山市宏村镇泗溪村	类似橄榄	68	钟家岭 07	诸暨市赵家镇钟家岭村	细榧
23	黄山 07	黄山市宏村镇泗溪村	花生榧	69	钟家岭 08	诸暨市赵家镇钟家岭村	细榧
24	黄山 08	黄山市宏村镇泗溪村	旋纹榧	70	钟家岭 09	诸暨市赵家镇钟家岭村	芝麻榧
25	黄山 09	黄山市宏村镇泗溪村	和尚榧	71	钟家岭 10	诸暨市赵家镇钟家岭村	圆榧
26	黄山 10	黄山市宏村镇泗溪村	米榧(赤榧)	72	钟家岭 11	诸暨市赵家镇钟家岭村	小圆榧
27	黄山 11	黄山市宏村镇泗溪村	小圆榧	73	钟家岭 12	诸暨市赵家镇钟家岭村	旋纹榧
28	黄山 12	黄山市宏村镇泗溪村	米榧系列	74	钟家岭 13	诸暨市赵家镇钟家岭村	大圆榧
29	黄山 13	黄山市宏村镇泗溪村	米榧系列	75	钟家岭 14	诸暨市赵家镇钟家岭村	小圆榧
30	黄山 14	黄山市宏村镇泗溪村	米榧系列	76	钟家岭 15	诸暨市赵家镇钟家岭村	中圆榧
31	黄山 15	黄山市宏村镇泗溪村	米榧系列	77	钟家岭 16	诸暨市赵家镇钟家岭村	大圆榧
32	嵊州 01	嵊州市通源乡松明培村	实生香榧	78	钟家岭 17	诸暨市赵家镇钟家岭村	雌雄同株榧
33	嵊州 02	嵊州市通源乡松明培村	米榧	79	钟家岭 18	诸暨市赵家镇钟家岭村	雄树
34	嵊州 03	嵊州市通源乡松明培村	标准茄榧	80	钟家岭 19	诸暨市赵家镇钟家岭村	茄榧
35	嵊州 04	嵊州市通源乡松明培村	小圆榧	81	钟家岭 20	诸暨市赵家镇钟家岭村	獠牙榧
36	嵊州 05	嵊州市通源乡松明培村	香榧	82	东白湖 05	诸暨市东白湖乡王坑村	芝麻榧
37	嵊州 06	嵊州市通源乡松明培村	雌雄同株圆榧	83	东白湖 06	诸暨市东白湖乡王坑村	细榧
38	嵊州 07	嵊州市通源乡松明培村	中圆榧	84	东白湖 07	诸暨市东白湖乡王坑村	细榧
39	嵊州 08	嵊州市通源乡松明培村	香榧	85	东白湖 08	诸暨市东白湖乡王坑村	细榧
40	嵊州 09	嵊州市通源乡松明培村	芝麻榧	86	东白湖 09	诸暨市东白湖乡王坑村	芝麻榧
41	嵊州 10	嵊州市谷来乡西石村	雌雄同株细榧	87	东白湖 10	诸暨市东白湖乡王坑村	芝麻榧
42	嵊州 11	嵊州市谷来乡西石村	中圆榧	88	东白湖 11	诸暨市东白湖乡王坑村	圆榧
43	嵊州 12	嵊州市谷来乡西石村	小芝麻榧	89	东白湖 12	诸暨市东白湖乡王坑村	茄榧
44	嵊州 13	嵊州市谷来乡西石村	香榧	90	东白湖 13	诸暨市东白湖乡王坑村	小米榧
45	磐安 01	磐安县墨林乡东川村	细榧	91	东白湖 14	诸暨市东白湖乡王坑村	细榧
46	磐安 02	磐安县墨林乡东川村	细榧	92	东白湖 15	诸暨市东白湖乡王坑村	大圆榧



1~42:样品号;M:分子量标准 Marker
图 1 E-ACG/M-CTA 引物组合的选择性扩增图谱

表 2 AFLP引物组合急扩增的条带数

引物序列	扩增总带数	差异带数
E-AAC/M-CAC	47	7
E-AAG/M-CAA	43	7
E-ACC/M-CTC	50	4
E-ACT/M-CTC	40	7
E-ACG/M-CAA	49	8
E-ACG/M-CTA	38	12
E-AGG/M-CTA	42	8
E-AGG/M-CTT	45	10

性位点 63 个。数据分析结果 (表 3) 表明: 6 个香榧群体遗传多样性 (H) 在 0.309 6 ~ 0.376 8 之间 (种水平为 0.395 9), Shannon 信息指数为 0.454 8 ~ 0.547 1 (种水平为 0.579 4), 观测等位基因数为 1.793 9 ~ 1.984 1 (种水平为 2.000 0), 有效等位基因数为 1.541 6 ~ 1.675 9 (种水平为 1.696 2)。比较黄山、绍兴、磐安、钟家岭、东白湖、嵊州 6 个香榧群体的遗传多样性参数值, 可以看出磐安地区香榧群体的遗传多样性最高, 其 Nei 遗传多样性为 0.376 8, 嵊州次之, 为 0.361 2, 黄山地区最低, 为 0.309 6。

2 结果与分析

2.1 香榧群体遗传多样性水平

8 对 AFLP 引物共检测出 364 个位点, 其中多态

表 3 香榧群体遗传多样性水平

群体	多态位点百分率 / %	遗传多样性 (H)	Shannon 信息指数 (I)	观测等位基因数 (A)	有效等位基因数 (A_e)
黄山	79.73	0.309 6 (0.184 5)	0.454 8 (0.257 6)	1.793 9 (0.407 9)	1.541 6 (0.359 9)
绍兴	98.41	0.343 4 (0.142 8)	0.514 3 (0.173 3)	1.984 1 (0.126 0)	1.592 0 (0.326 3)
磐安	92.06	0.376 8 (0.147 9)	0.547 1 (0.197 0)	1.920 6 (0.272 5)	1.675 9 (0.310 7)
钟家岭	88.89	0.355 6 (0.170 9)	0.516 8 (0.229 2)	1.888 9 (0.316 8)	1.642 6 (0.352 8)
东白湖	93.65	0.360 7 (0.160 9)	0.527 3 (0.208 9)	1.936 5 (0.245 8)	1.646 9 (0.337 5)
嵊州	87.30	0.361 2 (0.164 5)	0.523 3 (0.226 6)	1.873 0 (0.335 6)	1.647 0 (0.327 4)
种水平	100	0.395 9 (0.102 7)	0.579 4 (0.120 5)	2.000 0 (0.000 0)	1.696 2 (0.248 7)

注: 括号内为标准差。

2.2 香榧群体遗传分化

6 个香榧群体总的遗传多样性 (H_t) 为 0.396 3, 群体间的遗传多样性 (D_{st}) 为 0.045 1, 群体内遗传多样性 (H_s) 为 0.351 2, 表明香榧群体内遗传多样性大于群体间。群体分化系数 (G_{st}) 为 0.113 6, 根据 $N_m = 0.5(1 - G_{st}) / G_{st}^{[11]}$, 得出香榧群体种水平上的基因流 (N_m) 为 3.899 7。

2.3 香榧群体遗传一致度和遗传距离

遗传一致度 (I) 和遗传距离 (D) 分别是相同和

相反方面度量群体间遗传关系的指标, 遗传距离反映群体亲缘关系的远近^[12]。从表 4 中可以看出: 6 个香榧群体的遗传一致度比较大, 平均值为 0.917 4, 遗传距离平均值为 0.079 7, 说明香榧群体之间存在一定的分化。另外, 遗传一致度与遗传距离值还表明各群体间的遗传关系, 由表中可以看出, 钟家岭群体与磐安群体间的遗传关系最近 ($I = 0.965 5$, $D = 0.035 1$), 黄山群体与钟家岭群体、东白湖群体之间的遗传关系最远 ($D = 0.126 7$)。

表 4 香榧各群体间的遗传一致度 (I)和遗传距离 (D)

群体	黄山	绍兴	磐安	钟家岭	东白湖	嵊州
黄山		0.922 5	0.886 3	0.881 0	0.881 0	0.882 6
绍兴	0.080 7		0.914 0	0.898 5	0.892 9	0.901 5
磐安	0.120 7	0.090 0		0.965 5	0.950 2	0.955 0
钟家岭	0.126 7	0.107 0	0.035 1		0.947 8	0.950 2
东白湖	0.126 7	0.113 3	0.051 0	0.053 7		0.932 6
嵊州	0.124 9	0.103 7	0.046 0	0.051 1	0.069 8	

注:上三角为遗传一致度,下三角为遗传距离。

2.4 基因谱带频率方差分析^[13]

对 6 个供试群体 AFLP 分子标记的谱带进行 AMOVA 方差分析 (表 5),结果表明:在谱带频率总方差的贡献中,群体间占 11.14%,群体内占

88.86%,研究群体的遗传多样性主要分布在群体内;群体间谱带频率的差异不明显 ($F = 1.4253$),基因谱带频率在群体间的差异不明显。

表 5 6 个香榧群体 AFLP 分子标记谱带频率方差分析 (AMOVA)

变异来源	自由度 (df)	平方和 (SS)	均方 (MS)	方差分量	方差分量百分率 /%	Phist 系数	显著性检验
群体间	5	149.968 0	29.994	1.425 3	11.14	0.111	<0.142 9
群体内	73	829.804 1	11.367	11.367 2	88.86		
总计	78	979.772 1					

2.5 聚类分析

采用 NTSYS 软件进行 UPGMA 聚类,得到 6 个香榧群体的遗传一致度聚类图 (图 2)。由图 2 可以看出,以相似系数 0.10 进行划分,可以将 6 个群体

归为 4 个类群,黄山群体和钟家岭群体归为一类,绍兴群体和东白湖群体归为一类,嵊州群体和磐安群体各自聚为一类。

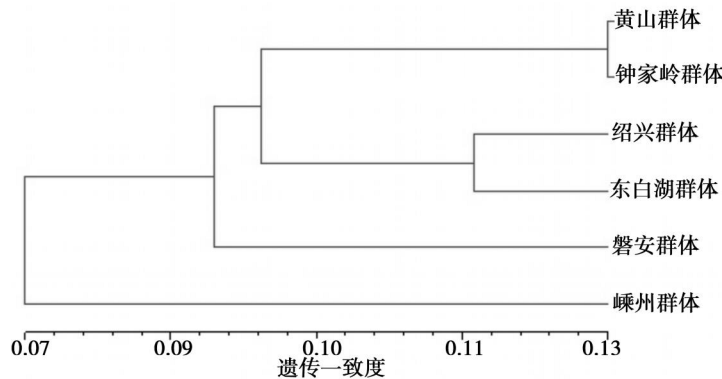


图 2 6 个香榧群体遗传一致度 UPGMA 聚类

3 结论与讨论

利用 AFLP 分子标记技术对 6 个香榧天然群体的遗传多样性和遗传分化进行了分析,结果表明,香榧物种水平和群体水平的遗传多样性都比较高,各群体的多态位点百分率为 79.73% ~ 98.41%,其中绍兴 > 东白湖 > 磐安 > 钟家岭 > 嵊州 > 黄山。运用基因谱带频率方差分析比较群体间与群体内遗传多样性水平,结果显示,香榧群体的遗传多样性主要存在于群体内 (88.86%),群体内的变异明显大于群体间,这与作者正在进行的香榧天然群体表型多样

性的分析结果一致。

香榧群体具有较高的遗传多样性 ($H = 0.3512$, $I = 0.5139$),明显高于 H. Nybom^[14]所统计的多种植物种群水平的遗传多样性 (基于 RAPD 和 ISSR 等显性标记) 平均值 ($H_e = 0.22$)。

本研究中香榧群体的遗传多样性也同样高于白豆杉 (*Pseudotsaxus chienii* (Cheng) Cheng) ($H = 0.2367$, $I = 0.2362$)^[17]、长叶榧群体的遗传多样性 ($H = 0.0813$, $I = 0.1221$)^[18]。Zawko 等^[17]认为,濒危或者分布狭窄的物种存在较高水平的多样性,可能与该种的进化历史有关。香榧是第三纪孑遗裸

子植物,寿命长,风媒传粉,雌雄异株。香榧表现出丰富的遗传多样性可能是因为在进化过程中保留了广泛的遗传基础,也可能是由于在后期的自然选择过程中产生了丰富的遗传变异。

6个香榧群体总的遗传多样性 (H_t) 为 0.3963, 群体间的遗传多样性 (D_{st}) 为 0.0451, 群体内遗传多样性 (H_s) 为 0.3512, 群体分化系数 (G_{st}) 为 0.1136, 可见香榧群体具有丰富的遗传变异, 且遗传变异主要存在于群体内。Hamrick等^[18]的研究认为, 对于异交风媒植物来说, 只有不到 10% 的变异产生于群体间的差异 ($G_{st} = 0.1$), 也就是 90% 以上的遗传多样性保持在群体内。香榧群体的遗传变异中, 群体内的遗传变异占明显优势, 可能是由于异交风媒的原因。

基因流是影响群体内部和群体间遗传变异程度的重要因素^[19]。遗传结构是通过物种群体内和群体间遗传分化来体现的, 基因流的大小也可以反映群体遗传结构的大小, 一般来说, 基因流大的物种, 种群间遗传分化小, 大的基因流可以阻止群体间的遗传分化^[20], 反之, 群体间的遗传分化大^[21]。Wright^[22]认为, 当 $N_m > 1$ 时, 说明居群间存在一定的基因流动。香榧群体种水平上的基因流 (N_m) 为 3.8997。由于香榧是风媒传粉, 再加上果实的采摘或鸟类的携带造成种子的远距离传播, 造成香榧的基因流较大, 群体间基因交流水平较高, 交流比较频繁, 这也是造成香榧群体间遗传分化小于群体内的一个重要原因。

从遗传一致度聚类分析可以看出, 钟家岭群体与来自不同地区的黄山群体聚为一类, 而同样来自诸暨的东白湖群体却与绍兴群体聚在一起。分析其原因, 这可能是由于细榧生产加工发达地区的农民只顾眼前利益, 将大量非细榧类型改接成细榧造成的。绍兴、诸暨曾是香榧会稽山区的主产区, 由于细榧价格是米榧等 3 倍以上, 当地非细榧类型遭到大量高接换品种, 再加上香榧雌雄异株, 产区农民为增加产量, 进行人工授粉等, 使原有的遗传多样性和基因丰富度遭到了严重的破坏和改变。

参考文献:

[1] 陈力耕, 王辉, 童品璋. 香榧的主要品种及开发价值 [J]. 中国南方果树, 2005, 34(5): 33 - 34
 [2] 戴文圣, 黎章矩, 曹福亮, 等. 我国榧树研究文献分析 [J]. 浙江林业科技, 2006, 26(4): 51 - 57
 [3] 田敏. 香榧 RAPD 实验条件及 RAPD 引物筛选的研究 [D]. 株

洲: 中南林学院, 2000
 [4] 胡芳名, 张党权, 乌云塔娜, 等. 香榧 RAPD 分析实验条件的优化 [J]. 经济林研究, 2002, 20(3): 5 - 7
 [5] 何德. 香榧分子遗传图谱构建中 DNA 抽提和 AFLP 实验体系的确定 [D]. 株洲: 中南林学院, 2000
 [6] McNeely J A, Miller K R, Reid W V, et al. Conserving the world's biological diversity [M]. Gland: the International Union for Conservation of Nature and Natural Resources, 1990
 [7] 杨一光. 香榧资源的生态地理分布及开发利用 [J]. 湖南林业科技, 1990, 17(4): 39 - 40
 [8] 黎章矩, 程晓建, 戴文圣, 等. 浙江香榧生产历史、现状与发展 [J]. 浙江林学院学报, 2004, 21(4): 471 - 474
 [9] 梁丹, 吴勇, 曾燕如, 等. 香榧 AFLP 体系的建立 [J]. 福建林业科技, 2007, 34(2): 93 - 96
 [10] Yeh F C, Yang R C, Boyle T. POPGENE version 1.32: the user friendly software for population genetic analysis [M]. Edmonton: Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, 1999
 [11] McDermott J M, McDonald B A. Gene flow in plant pathosystems [J]. Ann Rev Phytopathol, 1993, 31: 353 - 373
 [12] 周连第. 板栗种质资源遗传多样性研究 [D]. 北京: 中国农业大学, 2005
 [13] 程诗明. 苦楝聚合群体遗传多样性研究与核心种质构建 [D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2005
 [14] Nybom H. Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants [J]. Molecular Ecology, 2004, 13: 1143 - 1155
 [15] 王艇, 苏应娟, 欧阳蒲月, 等. 利用 RAPD 标记分析濒危植物白豆杉种群的遗传结构 [J]. 生态学报, 2006, 26(7): 2313 - 2321
 [16] 李建辉, 金则新, 李均敏. 濒危植物长叶榧群体遗传多样性的 RAPD 分析 [J]. 应用生态学报, 2007, 18(12): 2661 - 2667
 [17] Zawko G, Krauss S L, Dixon K W, et al. Conservation genetics of the rare and endangered *Leucopogon obtectus* (Ericaceae) [J]. Molecular Ecology, 2001, 10(10): 2389 - 2396
 [18] Hamrick J L, Godt M J W. Allozyme diversity in plant species [M] // Brown A H D, Clegg M T, Kahler A L, et al. Plant Population Genetic, Breeding, and Genetic Resources. Sunderland: Sinauer Associates, Inc, 1989: 43 - 46
 [19] Slatkin M. Gene flow and the geographic structure of natural populations [J]. Science, 1987, 236(4803): 787 - 792
 [20] Ellstrand N C, Elam D R. Population genetic consequences of population size: implications for plant conservation [J]. Annual Review of Ecology and Systematic, 1993, 24: 217 - 242
 [21] Rowe G, Beebe T J C, Burke T. Phylogeography of the natterjack toad *Bufo calamita* in Britain: genetic differentiation of native and translocated populations [J]. Mol Ecol, 1998, 7(6): 751 - 760
 [22] Wright S. The genetic structure of populations [J]. Ann Eugen, 1951, 15: 323 - 354