

地理隔离对西南藏区山杨居群遗传结构影响的 SRAP 分析

何承忠^{1,2,3}, 李佳蔓^{1,2}, 员涛^{1,2}, 纵丹^{1,2}, 周安佩^{1,2},
欧光龙², 尹五元^{2,3}

(1. 云南省高校林木遗传改良与繁育重点实验室, 西南林业大学, 云南 昆明 650224;

2. 西南地区生物多样性保育国家林业局重点实验室, 西南林业大学, 云南 昆明 650224;

3. 西南山地森林资源保护与利用省部共建教育部重点实验室, 西南林业大学, 云南 昆明 650224)

摘要:采用 SRAP 分子标记技术,对分布于我国西南 3 个藏族地区山杨 9 个居群 130 个个体进行了遗传结构分析。结果表明,筛选出的 7 对引物组合共检测到多态性条带(AP)99 条,多态性条带百分比(PPB)为 59.28%。采用 POPGENE 软件分析,山杨 9 个居群平均多态位点百分率(PPB)为 33.80%,Nei's 基因多样性指数(H)和 Shannon's 信息指数(I)分别为 0.1309 和 0.2137,较东北地区山杨具有偏低的遗传多样性。遗传分化系数 $G_{st} = 0.3255$,表明遗传变异主要存在于居群内个体间。地理距离与遗传距离之间具有弱相关关系($r = 0.349, P = 94.5\%$),山脉阻隔效应是导致西南藏族地区山杨居群间遗传分化的主要因素。UPGMA 聚类表明,甘孜地区 4 个居群与迪庆地区的维西居群具有较近的亲缘关系,迪庆地区的德钦、香格里拉居群和昌都地区 2 个居群的遗传相似度较高。基于西南藏族地区山杨遗传结构分析,建议实施就地保护的同时,建立山杨种质资源库,促进不同居群间的基因交流。

关键词:山杨; SRAP 标记; 地理隔离; 遗传多样性; 遗传结构

中图分类号:S718.46

文献标识码:A

SRAP Analysis on the Effect of Geographic Isolation on Population Genetic Structure of *Populus davidiana* in Tibetan-inhabited Regions in Southwest China

HE Cheng-zhong^{1,2,3}, LI Jia-man^{1,2}, YUN Tao^{1,2}, ZONG Dan^{1,2}, ZHOU An-pei^{1,2}, OU Guang-long², YIN Wu-yuan^{2,3}

(1. Key Laboratory for Forest Genetic and Tree Improvement & Propagation in Universities of Yunnan Province, Southwest Forestry University, Kunming 650224, Yunnan, China; 2. Key Laboratory of Biodiversity Conservation in Southwest China, State Forestry Administration, Southwest Forestry University, Kunming 650224, Yunnan, China; 3. Key Laboratory for Forest Resources Conservation and Use in the Southwest Mountains of China, Ministry of Education, Southwest Forestry University, Kunming 650224, Yunnan, China)

Abstract: 130 individuals of 9 *Populus davidiana* populations collected from 3 Tibetan-inhabited regions in southwest China were examined by sequence-related amplified polymorphism (SRAP) markers to determine the genetic structure. 99 polymorphic loci were obtained from the 9 populations using 7 selected primers, and its percentage was 59.28%. As analyzed by POPGENE soft, the average percentage of polymorphic loci ($PPB = 33.80\%$), Nei's genetic diversity ($H = 0.1309$) and Shannon's information index ($I = 0.2137$) indicated that *P. davidiana* distributed in Tibetan-inhabited regions in Southwest China held a lower level of genetic diversity than that of *P. davidiana* distributed in Northeast China. The coefficient gene differentiation (G_{st}) was 0.3255, indicating more variation existed in the individuals of the populations. A weak correlation was found between geographic distance and

收稿日期: 2014-09-20

基金项目: 国家林业公益性行业专项基金项目(201104076); 国家自然科学基金项目(31360184); 云南省教育厅基金项目(2014J99); 云南省中青年学术与技术带头人后备人才培养基金项目(2012HB021)。

作者简介: 何承忠(1970—), 甘肃民勤人, 教授, 博士生导师。主要研究方向: 林木遗传育种与分子生物学。E-mail: hcz70@163.com。

genetic distance ($r = 0.349, P = 94.5\%$), which indicated that the mountain barriers strongly influenced genetic differentiation among populations. Unweighted pair-group method with arithmetical averages cluster analyses (UPGMA) revealed that the Weixi population from Diqing region had grouped with the four populations from Ganzi region, while the Deqin and Xianggelila population from Diqing region had grouped with the two populations from Changdu region. According to the analysis on genetic structure of *P. davidiana* populations, it is proposed that natural population should be protected *in situ*, and the germplasm resources should be constructed to enhance the gene flow.

Key words: *Populus davidiana*; SRAP markers; geographical isolation; genetic variation; genetic structure

山杨(*Populus davidiana* Dode)是我国的乡土树种,分布广泛,从东北大小兴安岭、完达山至华北、西北、华中及西南等共23个省区均有集中成片或混交散生分布^[1]。山杨适应性极强,在海拔200~3500 m范围内的棕壤、草甸土、河岸沙土、轻度盐碱土地上均能生长,是森林更新的先锋树种,也是荒山治理的重要植物资源^[1-3]。目前我国对山杨的研究主要集中在优良种源的筛选、家系分析、无性系选育及其杂交育种和育苗等方面^[1]。在遗传变异方面的研究主要有张金然等^[4]利用SSR标记对52个山杨杂种进行了遗传多样性检测,白卉^[5]对我国东北地区6个山杨种源的遗传多样性开展了SSR分析。采用分子标记技术揭示地理隔离对山杨自然居群遗传结构影响的研究则鲜有报道。

相关序列扩增多态性(sequence-related amplified polymorphism, SRAP)是Li等于2001年开发的一种建立在PCR基础上的新型分子标记^[6],该标记具有操作步骤简单、引物通用性强、重复性好、多态性高、在基因组中分布均匀的特点^[7-8]。SRAP分子标记的PCR扩增区域为基因组开放阅读框(Open Reading Frame, ORF),其扩增出的多态性条带,直接体现不同ORF的DNA序列多态性^[7-9]。SRAP分子标记近年来得到了广泛应用,如李秀等^[10]利用SRAP标记对7个生姜居群51份材料进行了遗传多样性分析,Babaei等^[11]利用SRAP标记对采集于伊朗不同地区的28份番红花材料进行了分析;Peng等^[12]利用SRAP标记对59种表型的丹参遗传多样性进行了分析。

山杨在我国西南藏族地区分布十分广泛,居群处于野生状态,群体结构完整,人为扰动较少。同时,该区域海拔4000 m以上的山脉纵横,如横断山、白马雪山、者多山、洪拉山、东达山等,又有金沙江等干热河谷地带,使山杨呈现出间断分布的特点,是研究地理隔离的理想材料。为此,本研究采用

SRAP分子标记技术,对云南省迪庆藏族自治州(3个居群)、四川省甘孜藏族自治州(4个居群)、西藏自治区昌都地区(2个居群)共3个藏族地区9个居群的山杨遗传变异及遗传结构进行分析,旨在揭示山杨居群遗传多样性水平和遗传分化程度,进而了解地理隔离对该区域山杨居群遗传结构的影响,为后续研究工作的开展提供科学理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料采集

经调查,选择云南省迪庆藏族自治州(香格里拉县、德钦县、维西县)、四川省甘孜藏族自治州(乡城县、稻城县、康定县、泸定县)、西藏自治区昌都地区(芒康县、昌都县),共计3个地区9个山杨居群为研究对象(图1),居群内个体间每间隔约100 m取1份样本,采集新鲜叶片用硅胶进行干燥保存,备用。

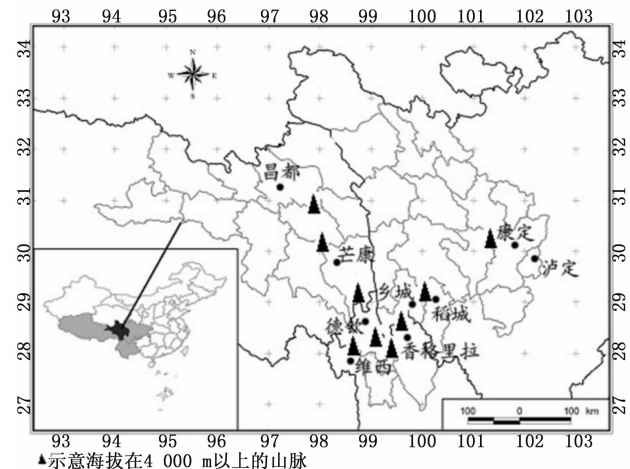


图1 样本采集地点

1.2 基因组DNA提取与检测

取干燥后的山杨叶片100 mg,经冷冻混合球磨仪研磨后转移至2 mL离心管,采用本实验室改进后的SDS法提取山杨基因组DNA,用0.8%的琼脂糖凝胶电泳和核酸蛋白检测仪两种方法共同检测

DNA 的纯度和浓度。

1.3 SRAP 标记分析

根据 SRAP 引物设计的原理^[5,7],参照已有标准引物序列设计正反引物各 15 条,共计 225 对引物组合,从中筛选出扩增带型清晰、重复性好、多态性高的 7 对引物组合用于山杨全部样本的 SRAP 分析。

PCR 反应体系: 10 × buffer (含 25mM Mg²⁺) 1 μL, dNTP (2.5 mmol/L) 0.7 μL, 正反引物 (10 μmol/L) 各 1.50 μL, Taq 酶 (2.5U/μL) 0.20 μL, DNA 模板 2.5 μL (50 ng/μL), ddH₂O 补足至 10 μL。

PCR 反应程序: 94℃ 预变性 5 min; 前 5 个循环, 94℃ 变性 50 s, 36℃ 退火 50 s, 72℃ 延伸 90 s; 后 30 个循环, 94℃ 变性 50 s, 50℃ 退火 50 s, 72℃ 延伸 90 s; 72℃ 延伸 10 min。

PCR 扩增产物在 6% 变性聚丙烯酰胺上进行电泳分离, 采用银染法进行指纹图谱的显影。

1.4 数据统计与分析

根据同一位点条带的“有”、“无”构建 0/1 矩阵。分别以采样地区(即同一地区所有山杨样本)和居群为单位,应用 POPGENE 1.32 软件分析数据,计算多态性条带数 (*AP*)、多态性条带百分率 (*PPB*)、观测等位基因数 (*Na*)、有效等位基因数 (*Ne*)、Nei's 基因多样性指数 (*H*)、Shannon's 信息指数 (*I*)、总基因多样性 (*Ht*)、居群内基因多样性 (*Hs*)、居群间遗传分化系数 (*Gst*)、基因流 (*Nm*) 以及 3 个地区之间、9 个居群之间的遗传距离和遗传一致度,采用非加权配对算术平均法 (Unweighted

pair-group method with arithmetical averages UPGMA) 进行聚类分析,构建聚类图。应用 GenAIEx 6.41 软件对不同地区和不同居群山杨遗传差异进行 AMOVA 分析,通过 Mantel Test 对居群间地理距离和遗传距离进行相关性分析。

2 结果与分析

2.1 山杨物种水平及居群间的遗传多样性

在物种水平上,筛选出的 7 对 SRAP 引物组合从 130 份山杨样本中检测出多态性条带 99 条,多态性条带百分率 (*PPB*) 为 59.28%,观测等位基因数 (*Na*) = 1.592 8,有效等位基因数 (*Ne*) = 1.195 5,Nei's 基因多样性指数 (*H*) = 0.130 9,Shannon's 信息指数 (*I*) = 0.213 7(表 1)。

从采集样本的 3 个地区来看(表 1),迪庆地区、甘孜地区和昌都地区的多态性条带百分率 (*PPB*) 分别为 53.89%、56.29% 和 38.92%,Nei's 基因多样性指数 (*H*) 分别为 0.125 1、0.116 0 和 0.103 9,Shannon's 信息指数 (*I*) 依次为迪庆地区(0.201 3)、甘孜地区(0.192 1)和昌都地区(0.162 8)。对 3 个地区山杨遗传多样性参数比较分析可知,除多态性条带百分率 (*PPB*) 和观测等位基因数 (*Na*) 在甘孜地区中最高外,迪庆地区的有效等位基因数 (*Ne*)、Nei's 基因多样性指数 (*H*)、Shannon's 信息指数 (*I*) 均高于甘孜地区和昌都地区,而昌都地区的各项指标均最低,表明不同地区山杨之间存在着一定的遗传差异。

表 1 3 个地区 9 个居群山杨的遗传多样性参数

地区	居群	样本数	<i>AP</i>	<i>PPB</i> %	<i>Na</i>	<i>Ne</i>	<i>H</i>	<i>I</i>
迪庆地区	维西	11	43	25.75	1.257 5	1.136 4	0.081 3	0.123 5
	香格里拉	18	65	38.92	1.389 2	1.161 9	0.103 4	0.164 0
	德钦	15	62	37.13	1.371 3	1.157 4	0.099 9	0.157 2
	平均	/	56.67	33.93	1.339 3	1.151 9	0.094 9	0.148 2
	小计	44	90	53.89	1.538 9	1.191 8	0.125 1	0.201 3
甘孜地区	泸定	15	60	35.93	1.359 3	1.153 1	0.097 3	0.153 2
	乡城	14	53	31.74	1.317 4	1.164 2	0.099 6	0.152 7
	康定	15	60	35.93	1.359 3	1.117 7	0.080 6	0.133 4
	稻城	15	68	40.72	1.407 2	1.181 2	0.114 5	0.180 0
	平均	/	60.25	36.08	1.360 8	1.154 1	0.098 0	0.154 8
小计	59	94	56.29	1.562 9	1.172 7	0.116 0	0.192 1	
昌都地区	昌都	11	44	26.35	1.263 5	1.135 9	0.082 7	0.126 9
	芒康	16	53	31.74	1.317 4	1.152 7	0.092 0	0.142 1
	平均	/	48.50	29.05	1.290 5	1.144 3	0.087 4	0.134 5
	小计	27	65	38.92	1.389 2	1.166 9	0.103 9	0.162 8
居群水平	/	56.44	33.80	1.338 0	1.151 2	0.094 6	0.148 1	
物种水平	130	99	59.28	1.592 8	1.195 5	0.130 9	0.213 7	

山杨 9 个居群的遗传多样性参数表明(表 1), 9 个居群的平均多态性条带数(AP)为 56.44 条, 平均多态性条带百分率(PPB)为 33.80%。稻城居群检测到的观测等位基因数(N_a)、有效等位基因数(N_e)、 $Nei's$ 基因多样性指数(H)、Shannon's 信息指数(I)在所有居群中均最高, 分别为 1.407 2、1.181 2、0.114 5 和 0.180 0; 观测等位基因数(N_a)和有效等位基因数(N_e)从大到小分别为稻城 > 香格里拉 > 德钦 > 泸定 > 康定 > 乡城 > 芒康 > 昌都 > 维西, 稻城 > 乡城 > 香格里拉 > 德钦 > 泸定 > 芒康 > 维西 > 昌都 > 康定; $Nei's$ 基因多样性指数(H)的变幅为 0.080 6 ~ 0.114 5, 最小值出现在康定居群, 最大值出现在稻城居群; Shannon's 信息指数(I)的变幅在 0.123 5 ~ 0.180 0 之间, 最小值出现在维西居群, 最大值出现在稻城居群。不同居群的各项遗传多样性参数有所差异, 表明居群间遗传多样性水平存在差异。

2.2 山杨居群的遗传分化

分布于 3 个藏族地区的 9 个山杨居群总基因多样性(H_t)为 0.140 2, 居群内基因多样性(H_s)为 0.094 6, 遗传分化系数 $G_{st} = 0.325 5$, 即居群间的遗传变异占总变异的 32.55%, 山杨遗传变异的主要来源存在于居群内不同个体之间, 占总变异的 67.45%。居群间基因流 $N_m = 1.036 2$, 说明居群间存在一定程度的基因交流。以地区为分析单位, 迪庆地区、甘孜地区和昌都地区的山杨居群间遗传分化系数 G_{st} 分别为 0.268 8、0.181 9 和 0.160 4, 表明地区内仅有 16.04% ~ 26.88% 的遗传多样性由居群间的差异产生。基因流(N_m)分别为 1.360 1、2.249 5 和 2.617 9, 表明地区内居群间基因交流程度较高(表 2)。

表 2 山杨居群间的遗传分化

居群	H_t	H_s	G_{st}	N_m
迪庆地区 3 个居群	0.129 8	0.094 9	0.268 8	1.360 1
甘孜地区 4 个居群	0.119 8	0.098 0	0.181 9	2.249 5
昌都地区 2 个居群	0.123 2	0.103 5	0.160 4	2.617 9
3 个地区 9 个居群	0.140 2	0.094 6	0.325 5	1.036 2

应用 GenAEx 6.41 软件对山杨居群间的分子方差分析(AMOVA)结果表明(表 3), 无论是不同地区之间、地区内不同居群之间, 还是居群内不同个体之间均存在极显著的遗传差异($P < 0.001$), 10.45% 的变异存在于不同地区之间, 23.86% 的变异存在于地区内不同居群之间, 65.69% 的变异则存在于居群内不同个体之间。该结果与 POPGENE1.

32 软件计算结果基本一致, 表明居群内不同个体之间的差异是山杨遗传多样性的主要来源, 也揭示出山杨居群之间已出现一定程度的遗传分化。

表 3 山杨遗传差异的 AMOVA 分析结果

变异来源	自由度	方差和	变异组分	变异百分率/%	P 值
地区间	2	272.46	1.68	10.45	<0.001
居群间	6	394.39	3.85	23.86	<0.001
居群内	121	1 281.11	10.59	65.69	<0.001
总计	129	1 948.25			

2.3 山杨居群遗传距离与地理距离的相关性

以山杨 9 个居群为研究单元分析遗传距离和地理距离之间的相关性(图 2)。遗传距离最小值出现在康定居群与稻城居群之间(0.019 8), 而地理距离最近的 2 个居群是康定与泸定(24 km); 遗传距离最大值存在于维西居群与昌都居群之间(0.103 8), 地理距离也最远(515 km)。经 Mantel 检验, 遗传距离与地理距离之间存在着弱相关关系, 相关系数 $r = 0.349$, $P = 94.5\%$ ($P > 95\%$ 为显著相关, $90\% < P < 95\%$ 为弱相关)。

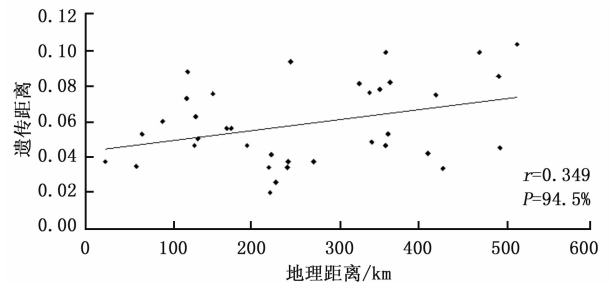


图 2 山杨 9 个居群的遗传距离与地理距离相关性

2.4 聚类分析

采用 POPGENE1.32 软件分析表明, 迪庆地区和甘孜地区之间的遗传一致度最高, 达 0.982 6, 其次为迪庆地区和昌都地区之间, 为 0.972 0, 甘孜地区和昌都地区之间最低, 为 0.948 5。山杨 9 个居群之间的平均遗传一致度为 0.943 4, 变幅在 0.901 4 ~ 0.980 4 之间, 最高遗传一致度在康定和稻城居群之间, 最小遗传一致度出现在维西和昌都居群之间。UPGMA 聚类结果显示, 9 个山杨居群可以划分为 2 组(图 3), 迪庆地区的德钦、香格里拉居群和昌都地区的 2 个居群聚在一起, 形成第 1 组; 甘孜地区 4 个居群和迪庆地区维西居群共同构成第 2 组。由此可见, 甘孜地区 4 个居群之间的遗传差异较小, 并与迪庆地区的维西居群具有较近的亲缘关系; 迪庆地区的香格里拉和德钦居群与昌都地区 2 个居群之间的遗传差异小, 亲缘关系较近。

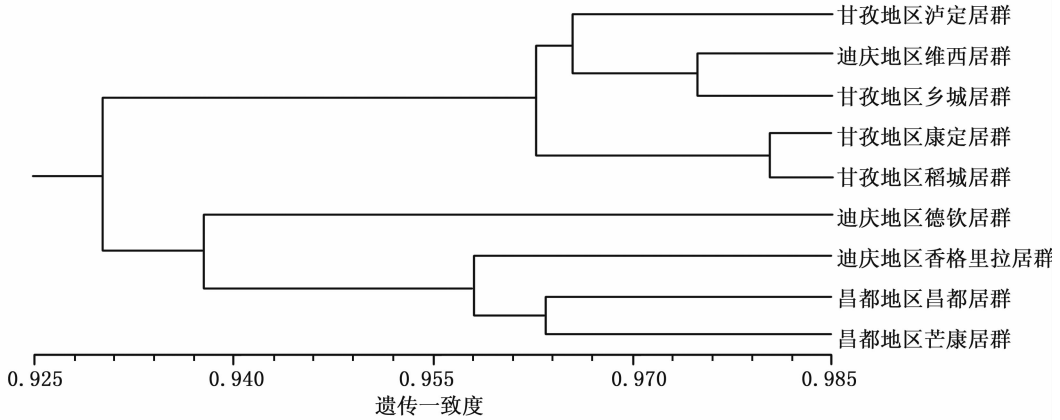


图3 山杨9个居群的UPGMA聚类图

3 结论与讨论

3.1 西南3个藏族地区山杨遗传多样性

遗传多样性通常指种内不同居群间或一个居群内不同个体的遗传变异,是生物多样性的重要组成部分,是生态多样性和物种多样性的基础^[3,13]。对遗传多样性进行研究,可以了解物种起源、种源适应性、资源分布等,以便合理保存和利用基因资源^[14]。白卉^[5]采用SSR标记对东北地区山杨6个种源208份材料的遗传多样性分析结果表明,6对SSR引物共检测出有效等位基因数(N_e)为2.6951,Nei's基因多样性指数(H)为0.5957,Shannon's信息指数(I)为1.1001。张金然等^[4]对采集于小兴安岭的山杨12份样本遗传多样性的SSR分析结果显示,5对SSR引物检测到有效等位基因数(N_e)=2.5585,Nei's基因多样性指数(H)=0.5833,Shannon's信息指数(I)=0.9726。本研究中,7对SRAP引物从9个居群130株山杨中共检测到有效等位基因数(N_e)=1.1955,Nei's基因多样性指数(H)=0.1309,Shannon's信息指数(I)=0.2137。由此可见,分布于西南3个藏族地区山杨的遗传多样性低于分布于东北地区的山杨。

3.2 地理隔离对西南藏区山杨居群遗传结构的影响

揭示与阐明居群遗传结构及其影响因素是制定该物种保护措施的主要依据^[15]。居群间的遗传分化系数(G_{st})是反映居群遗传结构的重要指标,可以有效区分居群间和居群内相对遗传变异的大小,揭示居群遗传变异的主要来源^[16-18]。本研究结果表明,西南3个藏族地区间山杨的遗传分化系数(G_{st})为0.1425,9个居群间 G_{st} =0.3255,两两居群之间的遗传分化系数(G_{st})变幅为0.0837~0.3470,表

明山杨居群之间出现了一定程度的遗传分化,遗传变异主要来源于居群内不同个体之间。白卉采用SSR标记揭示出6个种源山杨的遗传分化系数 G_{st} =0.1143^[5]。Hamrick等^[19]总结了165属499种裸子植物和被子植物群体变异的研究结果表明,繁育系统对植物群体内和群体间遗传多样性的分配发挥着关键作用,异交的木本植物中存在丰富的遗传变异,其中大部分的变异存在于群体内。山杨在我国分布极为广泛,分布于20~55°N,100~135°E之间,自然状态下主要是依靠风媒传粉的有性异交繁殖^[1]。本研究结果与白卉^[5]和Hamrick等^[19]的结论相一致。

基因的相互交流可以提高居群内的遗传变异,减少居群间的遗传分化,这种表现在居群间和居群内的遗传物质交流称为基因流^[20]。导致居群间遗传分化和遗传变异水平不同的主要原因有基因流受阻、遗传漂变以及近交等,而基因流能使居群趋向于一致,与遗传漂变的作用相互拮抗^[21-23]。Wright^[24]、Slatkin^[25]和Hamrick等^[17]认为,若居群间的基因流 $Nm > 1$,则能抵制遗传漂变作用而导致的居群间遗传分化,维持居群现有的遗传结构;若基因流 $Nm < 1$,就表明居群间不能发挥均质化作用,基因流不足以防止居群间的遗传分化。西南藏区山杨9个居群之间的基因流值仅为1.0362,表明不同居群之间的基因交流受到了一定程度的阻碍。地理隔离是植物居群间基因交流的天然屏障^[26-29]。西南地区既有高原盆地,又有高山峡谷,地形地貌十分复杂,横断山脉以山川并列,南北走向,使得物种区域分布的山脉阻隔特点突出,对物种不同的居群具有天然的隔离作用^[30-32]。Mantel检验结果显示,西南藏区山杨居群间遗传距离与地理距离之间存在弱相关性($r=0.349, 90% < P=94.5% < 95%$)。因此,山脉阻隔是西南藏区山杨居

群间花粉及种子散布的主要阻碍因素,也是引起居群间遗传分化的重要因素。

3.3 西南藏区山杨居群的遗传多样性保护

自然状态下的山杨是西南藏区高海拔山地先锋树种,自我繁衍能力较强,经常呈块状或片状形式分布,其后逐渐被冷杉(*Abies fabric*(Mast.) Craib)、云杉(*Picea asperata* Mast.)等树种更替,现存山杨群体主要由幼龄个体构成。基于西南藏区山杨居群的遗传结构特征,建议加强自然居群的就地保护,尽可能防止工程项目采石、当地居民放牧等活动对现有生境的破坏。此外,在遗传多样性水平较高的稻城县建立山杨种质资源库,通过引进云南迪庆地区、西藏昌都地区等地的个体、花粉等种质材料进行混合繁殖,促进不同居群之间的基因交流,最大限度地保护西南藏族地区山杨的遗传多样性。

参考文献:

- [1] 郭树平,李春明. 中国山杨资源与发展现状[J]. 林业科技, 2012, 37(1): 48-52.
- [2] Zhang X, Wu N, Li C. Physiological and growth responses of *Populus davidiana* ecotypes to different soil water contents[J]. J Arid Environments, 2005, 60: 567-579.
- [3] Lee K M, Kim Y Y, Hyun J O. Genetic variation in populations of *Populus davidiana* Dode based on microsatellite marker analysis[J]. Genes and Genomics, 2011, 33: 163-171.
- [4] 张金然, 尚洁, 王秋玉. 山杨杂种无性系的 SSR 分子标记遗传多样性[J]. 植物研究, 2006, 26(4): 447-451, 460.
- [5] 白卉. 山杨遗传多样性研究与核心种质构建及利用[D]. 东北林业大学, 2010.
- [6] Li G, Quiros C F. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in *Brassica*[J]. Theor Appl Genet, 2001, 103: 455-461.
- [7] 王从彦. SRAP 标记在植物遗传多样性中的应用进展[J]. 生物技术, 2011, 21(5): 87-90.
- [8] Bharti A, Neelam R, Yadav V C, et al. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP) molecular marker system and its applications in crop improvement[J]. Mol breeding, 2012, 30: 1635-1648.
- [9] Roberts D W H, Wolfe A D. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP) markers: A potential resource for studies in plant molecular biology[J]. Applications in Plant Sciences, 2014, 2(7): 1400017.
- [10] 李秀, 徐坤, 巩彪. 生姜种质遗传多样性和亲缘关系的 SRAP 分析[J]. 中国农业科学, 2014, 47(4): 718-726.
- [11] Babaei S, Talebi M, Masoud B, et al. Analysis of genetic diversity among saffron (*Crocus sativus*) accessions from different regions of Iran as revealed by SRAP markers[J]. Scientia Horticulturae, 2014, 171: 27-31.
- [12] Peng L, Ru M, Wang B Q, et al. Genetic diversity assessment of a germplasm collection of *Salvia miltiorrhiza* Bunge. based on morphology, ISSR and SRAP markers[J]. Biochemical Systematics and Ecology, 2014, 55: 84-92.
- [13] 尹春英, 彭幼红, 罗建勋, 等. 杨属遗传多样性研究进展[J]. 植物生态学报, 2004, 28(5): 711-722.
- [14] 葛颂, 洪德元. 生物多样性研究的原理方法[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1994.
- [15] Leberg P L. Genetic considerations in the design of introduction programs transactions of the north American wildlife[J]. Natural Resource Conference, 1990, 55: 609-619.
- [16] 文亚峰, 韩文军, 吴顺. 植物遗传多样性及其影响因素[J]. 中南林业科技大学学报, 2010, 30(12): 80-86.
- [17] Hamrick J L, Godt M J W. Effects of life history traits on genetic diversity in plant species[J]. Philosophical Transactions of London Biological Sciences, 1996, 351: 1291-1298.
- [18] Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals[J]. Genetics, 1978, 89(3): 583-590.
- [19] Hamrick J L. Isozymes and the analysis of genetic structure in plant populations. In: Solitis D E et al (Eds.), Isozymes in plant biology[M]. London: Chapman and Hall, 1990.
- [20] Grant V. The Evolutionary process: a critical study of evolutionary theory[M]. New York: Columbia University Press, 1991.
- [21] Serbner K T, Evans J E, Morreale S J, et al. Genetic divergence among populations of the yellow-bellied slider turtle (*Pseudemys scripta*) separated by aquatic and terrestrial habitats[J]. Copeia, 1986, 3: 691-700.
- [22] Starkin M. Gene flow and geographics structure of natural populations[J]. Science, 1987, 236: 787-792.
- [23] Manel S. Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics[J]. Trends in Ecology and Evolution, 2003, 18(4): 189-197.
- [24] Wright S. Evolution in mendelian population[J]. Genetics, 1931, 16: 91-96.
- [25] Slatkin M. Isolation by distance in equilibrium and non-equilibrium populations[J]. Evolution, 1993, 47: 264-279.
- [26] 林立, 李纪元, 倪穗, 等. 岛屿地理隔离对山茶种群遗传结构的影响[J]. 林业科学研究, 2012, 25(3): 378-384.
- [27] Oromi N, Boix A R, Sanuy D, et al. Genetic variability in geographic populations of the natterjack toad (*Bufo calamita*) [J]. Ecology and Evolution, 2012, 2(8): 2018-2026.
- [28] Wang L J. Examining the full effects of landscape heterogeneity of spatial genetic variation: a multiple matrix regression approach for quantifying geographic and ecological isolation [J]. Evolution, 2013, 67(12): 3403-3411.
- [29] Orsini L, Vanoverbeke J, Swillen I, et al. Drivers of population genetic differentiation in the wild: isolation by dispersal limitation, isolation by adaptation and isolation by colonization [J]. Molecular Ecology, 2013, 22: 5983-5999.
- [30] 余树全, 刘军, 付达荣, 等. 川西高原青阳派基因资源特点[J]. 浙江林学院学报, 2003, 20(1): 27-31.
- [31] 刘友全, 付达荣. 川西高原青杨组基因资源及开发利用[J]. 中南林学院学报, 2004, 24(5): 129-131.
- [32] 万雪琴, 张帆, 钟宇, 等. 中国西南地区乡土杨树基因资源的保护与利用[J]. 林业科学, 2009, 45(4): 139-144.