

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201606002

引文格式: 谢伟玲, 柴胜丰, 蒋运生, 等. 黄枝油杉遗传多样性的 ISSR 分析 [J]. 广西植物, 2017, 37(1):36-41.

XIE WL, CHAI SF, JIANG YS, et al. ISSR analysis on genetic diversity of *Keteleeria calcarea* [J]. Guihaia, 2017, 37(1):36-41.

## 黄枝油杉遗传多样性的 ISSR 分析

谢伟玲, 柴胜丰\*, 蒋运生, 唐健民, 陈宗游, 邹蓉, 韦霄

(广西喀斯特植物保育与恢复生态学重点实验室, 广西壮族自治区广西植物研究所, 广西桂林 541006)  
中国科学院

**摘要:** 该研究采用 ISSR 分子标记, 对黄枝油杉 7 个自然种群的遗传多样性进行了分析。结果表明: 用 12 条 ISSR 引物对 218 个黄枝油杉个体进行扩增, 共扩增出 125 个位点。在物种水平上, 多态性位点百分数 (*PPL*) 为 100.00%, Shannon 信息多样性指数 (*I*) 为 0.417 7, Nei's 基因多样性指数 (*H*) 为 0.266 6; 在种群水平上, 多态性位点百分数 (*PPL*) 在 71.20%~92.00% 之间, 平均值为 80.69%, Shannon 信息多样性指数 (*I*) 在 0.327 3~0.388 6 之间, 平均值为 0.354 8, Nei's 基因多样性指数 (*H*) 在 0.213 9~0.247 8 之间, 平均值为 0.229 1。这说明黄枝油杉在物种水平和种群水平上均显示出较高的遗传多样性。Nei's 遗传多样性分析 ( $G_{st} = 0.143 3$ ) 和 AMOVA 分析 ( $\Phi_{st} = 17.91\%$ ) 表明, 黄枝油杉的遗传变异主要存在于种群内, 种群间的遗传分化程度较低, 种群间保持一定的基因交流 ( $N_m = 2.989 0 > 1$ )。Mantel 分析显示, 黄枝油杉种群间的遗传距离和地理距离之间不存在显著的相关关系 ( $r = 0.456 7$ ,  $P = 0.061 0 > 0.05$ )。

**关键词:** 黄枝油杉, ISSR 分子标记, 遗传多样性, 遗传结构, 保护策略

中图分类号: Q943 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2017)01-0036-06

## ISSR analysis on genetic diversity of *Keteleeria calcarea*

XIE Wei-Ling, CHAI Sheng-Feng\*, JIANG Yun-Sheng, TANG Jian-Min,  
CHEN Zong-You, ZOU Rong, WEI Xiao

(Guangxi Key Laboratory of Plant Conservation and Restoration Ecology in Karst Terrain, Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences, Guilin 541006, Guangxi, China)

**Abstract:** ISSR markers were used to investigate the genetic diversity of seven natural populations of *Keteleeria calcarea*. Twelve ISSR primers produced 125 loci. At the species level, the percentage of polymorphic loci (*PPL*) was 100.00%, Shannon's Information index (*I*) was 0.417 7 and Nei's gene diversity index (*H*) was 0.266 6. At the population level, the percentage of polymorphic loci was 71.20%~92.00% and the average value was 80.69%, Shannon's Information index (*I*) was 0.327 3~0.388 6 with the average value 0.3548 and Nei's gene diversity index (*H*) was 0.213 9~0.247 8 with the average value 0.229 1. *K. calcarea* in both species and population levels showed higher genetic diversity. Nei's genetic diversity analysis ( $G_{st} = 0.143 3$ ) and AMOVA analysis ( $\Phi_{st} = 17.91\%$ ) showed that the genetic variation of *K. calcarea* mainly occurred within populations, and the genetic differentiation among populations was low. The gene flow ( $N_m$ ) between populations was high (2.989 0). Mantel analysis showed that the genetic distance of *K. calcarea* natural populations

收稿日期: 2016-07-25 修回日期: 2016-08-31

基金项目: 广西科学研究与技术开发计划项目(桂科能 1598025-49); 广西林业科技项目(桂林科字 [2012] 第 26 号和 [2015] 第 26 号) [Supported by Guangxi Science Research and Technology Development Program (1598025-49); Guangxi Forestry Science and Technology Program ([2012] No. 26 and [2015] No. 26)].

作者简介: 谢伟玲(1990-), 女, 硕士研究生, 研究方向为生物化学与分子生物学, (E-mail) xwling\_2025@163.com。

\*通信作者: 柴胜丰, 博士, 副研究员, 主要植物保护生物学和药用植物栽培等研究, (E-mail) sfchai@163.com。

had no significant correlation with their geographic distance ( $r=0.4567$ ,  $P=0.0610 > 0.05$ ).

**Key words:** *Keteleeria calcarea*, ISSR markers, genetic diversity, genetic structure, conservation strategy

黄枝油杉 (*Keteleeria calcarea*) 是一种松科 (Pinaceae) 油杉属 (*Keteleeria*) 的喜阳、常绿大乔木 (何平, 2005), 为我国特有的珍稀濒危树种, 同时是第三纪古老原始的树种, 主要分布于我国贵州、湖南、广西一带 (李树刚和梁畴芬, 1990; 沈燕等, 2009; 覃海宁, 2010), 例如平塘、独山、江永、融安、桂林等地, 生于海拔 560~1 100 m 的石灰岩山坡。由于根系发达, 并具有发达的皮层, 因而具有很强的穿插力和贮藏较多水分, 故能耐石山干旱生境, 可用于石山绿化 (彭少麟, 2003); 其材质坚固、木材纹理直、树干通直、耐水浸, 可用于造船、建筑、家具等 (蒋柏生等, 2008)。此外, 由于其树形优美, 枝繁叶茂、雄伟挺拔, 可用作观赏树种 (傅立国, 1989)。20 世纪 70 年代以来, 黄枝油杉天然种群遭受严重破坏, 野外种群数量锐减, 分布区域狭窄, 且母树开花结实少, 种子发育不良, 天然更新能力较弱, 已处于濒危状态。目前关于黄枝油杉的研究报道很少, 大多集中在无性繁育技术 (蒋柏生等, 2008)、资源分布现状 (沈燕等, 2009)、化学成分分析 (何道航等, 2006)、种群生态学 (符支宏, 2014) 等方面。关于黄枝油杉遗传多样性的研究, 至今尚未见有报道。

ISSR 是基于 PCR 技术、以简单重复序列为引物的一种分子标记技术, 由 Zietkiewicz et al (1994) 提出, 具有多态性水平高、产物特异性强、DNA 用量少以及稳定性好等优点, 已广泛应用于构建遗传图谱 (范付华等, 2010; 张林等, 2012)、种质资源鉴定 (宋吉轩, 2010; 郑鹭, 2007)、品种亲缘关系及分类研究 (范付华等, 2010; 梁景霞等, 2008)、分析遗传多样性 (郑鹭, 2007; 梁景霞等, 2008) 等方面。本文拟采用 ISSR 分子标记对黄枝油杉进行遗传多样性分析, 揭示其种群遗传多样性水平和遗传结构, 分析遗传多样性水平与濒危原因的关系, 并为黄枝油杉的资源保护制定科学合理的保护策略。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料

2014 年 9-12 月, 分别在桂林临桂县二塘沉桥村 (LG)、桂林恭城县三江三寨村 (GC)、贺州富川县麦岭镇栎尾村 (FC)、柳州融安县都木村 (RA)、河池

南丹县里湖乡怀里村 (ND)、贵州平塘县者密镇 (PT)、贵州独山县尧棒乡 (DS) 等黄枝油杉分布地采集 7 个种群生长良好的、健康的黄枝油杉叶片。每个种群各取 27~33 个个体, 新鲜叶片迅速装入封口袋, 分别用硅胶迅速干燥固定, 带回实验室分析。广西植物研究所蒋运生研究员对所采集的样品进行了鉴定, 确定是黄枝油杉 (*Keteleeria calcarea*)。各采样地点的自然概况如表 1 所示。

### 1.2 方法

1.2.1 黄枝油杉总 DNA 的提取 采用 CTAB 法提取黄枝油杉的总 DNA, 但在水浴前用  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  预冷的丙酮洗两次 (代文娟, 2006)。用浓度为 0.8% 的琼脂糖凝胶电泳检验 DNA 的质量和完整性, DNA 的纯度和浓度用 NanoDrop 2000c 超微量分光光度计检测, 存储在  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  冰箱备用。

1.2.2 ISSR 的扩增与检测 从 100 条 ISSR 引物中筛选出了 12 条扩增效果好、重复性好、具有多态性的引物 (表 2) 对黄枝油杉 7 个自然种群共 218 个个体进行 ISSR 分析。采用 25  $\mu\text{L}$  体系, 其中含有 2.5  $\mu\text{L}$  的  $10\times\text{PCR buffer}$ 、1.5 U 的 *Taq* DNA 聚合酶、1.0  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的引物、2.0  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  的  $\text{Mg}^{2+}$ 、0.10  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  的 dNTP、以及 30 ng 的模板 DNA, 剩余用灭菌的 ddH<sub>2</sub>O 补够 25  $\mu\text{L}$ ; 扩增程序为 94  $^{\circ}\text{C}$  预变性 5 min; 94  $^{\circ}\text{C}$  变性 30 s, 53~58  $^{\circ}\text{C}$  (不同的引物, 其退火温度不同, 具体见表 2) 退火 45 s, 72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 90 s, 以上 3 个步骤循环 50 次; 最后 72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 7 min。PCR 扩增产物用浓度为 1.5% 的琼脂糖凝胶电泳 1~1.5 h, 溴化乙锭 (0.5  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 染色 20 min, 用 UVP 凝胶成像系统拍照保存。

1.2.3 数据整理及分析 对种群遗传参数的统计分析要在两个假设下才能进行, 即 (1) 种群处于 Hardy-Weinberg 平衡; (2) 电泳迁移率相同的条带是扩增基因组上相同 DNA 片段的产物。ISSR 为显性标记, 根据电泳图谱中扩增产物的有无及其分子量大小, 将电泳图谱中同一迁移位置上有清晰条带 (包括弱带) 的记为“1”, 没有条带的记为“0”。应用 POPGENE1.31 软件计算 Nei's 基因多样性指数 ( $H$ )、多态性位点百分数 ( $PPL$ )、观察到的等位基因数 ( $N_a$ )、Shannon 信息多样性指数 ( $I$ )、有效等位基因数 ( $N_e$ )、基因分化系数 ( $G_{st}$ )、种群内的基因多样

表 1 黄枝油杉分布区样地概况

Table 1 Survey of the stands of *Keteleeria calcarea* community

种群及代号 Population code	采样地点 Location	坡向 Aspect	坡度 Slope (°)	海拔 Altitude (m)	纬度 Latitude	经度 Longitude	采样数 Sample size
桂林恭城 (GC)	桂林恭城县三江三寨村 Sanjiang Sanzhai Village, Gongcheng County, Guilin	WS	50	670	25°50'26" N	110°05'47" E	31
桂林临桂 (LG)	桂林临桂县二塘沉桥村 Ertang Chenjiao Village, Lingui County, Guilin	WS	40	160	25°12'47" N	110°11'51" E	33
贺州富川 (FC)	贺州富川县麦岭镇栎尾村 Liwei Village, Mailing Township, Fuchuan County, Hezhou	ES	35	334	25°02'24" N	111°18'47" E	27
柳州融安 (RA)	柳州融安县都木村 Dumu Village, Rong'an County, Liuzhou	WS	50	480	25°01'46" N	109°34'50" E	29
河池南丹 (ND)	河池南丹县里湖乡怀里村 Huaili Village, Lihu Township, Nandan County, Hechi	WS	40	697	25°07'07" N	107°42'25" E	33
贵州独山 (DS)	贵州独山县尧棒乡 Yaobang Township, Dushan County, Guizhou	WS	60	855	25°23'40" N	107°30'50" E	32
贵州平塘 (PT)	贵州平塘县者密镇 Zhemi Township, Pingtang County, Guizhou	ES	30	771	25°41'31" N	107°22'41" E	33

表 2 筛选出的 12 条引物的序列及退火温度

Table 2 Sequences and annealing temperatures of twelve primers

引物编号 Primer code	序列 Sequence	T <sub>m</sub> 值 T <sub>m</sub> value (°C)	退火温度 Annealing temperature (°C)
UBC834	AGAGAGAGAGAGAGA GYT	53.9	57.0
UBC836	AGAGAGAGAGAGAGAGYA	53.9	56.0
UBC840	GAGAGAGAGAGAGAYT	53.9	56.0
UBC844	CTCTCTCTCTCTCTRC	56.2	50.0
UBC848	CACACACACACACARG	56.2	58.0
UBC850	GTGTGTGTGTGTGTGYC	56.2	54.0
UBC853	TCTCTCTCTCTCTCRT	53.9	52.0
UBC855	ACACACACACACACYT	53.9	52.0
UBC881	GGGTGGGGTGGGGTG	61.8	54.0
UBC895	AGAGTTGGTAGCTCTTGATC	55.8	54.0
UBC899	CATGGTGTGGTCATGTTCCA	58.2	57.0
UBC900	ACTTCCCACAGTTAACACA	58.0	52.0

R=(A/G), Y=(C/T)。

性 ( $H_s$ )、种群总的基因多样性 ( $H_t$ ) 及 Nei's 遗传距离 ( $D$ ), 基因流 ( $N_m$ ) 等。用 win AMOVA 1.55 软件分析种群间和种群内的遗传变异。根据 Nei's 遗传距离 ( $D$ ) 应用 NTSYS-pc 2.02 软件对 7 个黄枝油杉种群进行聚类分析。进一步用 TFPGA 软件进行 Mantel test 分析, 检测 7 个黄枝油杉种群的遗传距

离和地理距离之间的关系。

## 2 结果与分析

### 2.1 黄枝油杉的遗传多样性

用 12 条 ISSR 引物对 218 个黄枝油杉个体进行扩增, 共扩增出 125 个位点。由表 3 可知, 在物种水平上, Shannon 信息多样性指数 ( $I$ ) 为 0.417 7, 多态性位点百分数 ( $PPL$ ) 为 100.00%, 有效等位基因数 ( $N_e$ ) 为 1.427 2, Nei's 基因多样性指数 ( $H$ ) 为 0.266 6。

在种群水平上, 7 个种群的多态性位点百分数 ( $PPL$ ) 在 71.20% ~ 92.00% 之间, 平均值为 80.69%; Shannon 信息多样性指数 ( $I$ ) 在 0.327 3 ~ 0.388 6 之间, 平均值为 0.354 8, Nei's 基因多样性指数 ( $H$ ) 在 0.213 9 ~ 0.247 8 之间, 平均值为 0.229 1。其中遗传多样性最高的是柳州融安都木村 (RA) 种群 ( $H = 0.247 8$ ,  $I = 0.388 6$ ,  $PPL = 92.00%$ ), 其次是贺州富川栎尾村 (FC) 种群 ( $H = 0.246 5$ ,  $I = 0.380 5$ ,  $PPL = 84.80%$ ), 最低的是贵州独山尧棒乡 (DS) 种群 ( $H = 0.213 9$ ,  $I = 0.327 3$ ,  $PPL = 71.20%$ )。

### 2.2 黄枝油杉种群的遗传结构

基因分化系数 ( $G_{st}$ ) 由种群总的基因多样性 ( $H_t$ ) 和种群内的基因多样性 ( $H_s$ ) 计算得出。黄枝油杉种群总的基因多样性 ( $H_t$ ) 为 0.267 4, 种群内的基因多样性 ( $H_s$ ) 为 0.229 1, 基因分化系数 ( $G_{st}$ ) 为

表 3 黄枝油杉不同种群的遗传变异

Table 3 Genetic variability in different populations of *Keteleeria calcarea* detected by ISSR analysis

种群 Population	观察到的 等位 基因数 ( <i>N<sub>a</sub></i> )	有效等位 基因数 ( <i>N<sub>e</sub></i> )	Shannon 信息 多样性 指数 ( <i>I</i> )	Nei's 基因 多样性 指数 ( <i>H</i> )	多态性 位点 百分数 ( <i>PPL</i> )
GC	1.768 0	1.364 1	0.343 0	0.222 5	76.80%
LG	1.784 0	1.354 9	0.336 7	0.216 8	78.40%
FC	1.848 0	1.401 9	0.380 5	0.246 5	84.80%
RA	1.920 0	1.397 1	0.388 6	0.247 8	92.00%
ND	1.784 0	1.357 2	0.341 2	0.219 7	78.40%
DS	1.712 0	1.356 8	0.327 3	0.213 9	71.20%
PT	1.832 0	1.384 0	0.366 1	0.236 2	83.20%
平均值 Mean	1.806 9	1.373 7	0.354 8	0.229 1	80.69%
物种水平 Species level	2.000 0	1.427 2	0.417 7	0.266 6	100.00%

注: 种群代码同表 1。下同。

Note: The population code is the same as Table 1. The same below.

表 4 黄枝油杉种群内和种群间遗传变异的 AMOVA 分析

Table 4 Analysis of molecular variance (AMOVA) for populations of *Keteleeria calcarea*

变异来源 Source of variation	自由度 <i>df</i>	总方差 Sum of square	平均方差 MS	变异组分 Variance component	总变异百分比 Percentage of variation	<i>P</i> 值 <i>P</i> value
种群间 Among population	6	766.95	127.83	3.58	17.91%	<0.001
种群内 Within populations	211	3 461.92	16.41	16.41	82.09%	<0.001

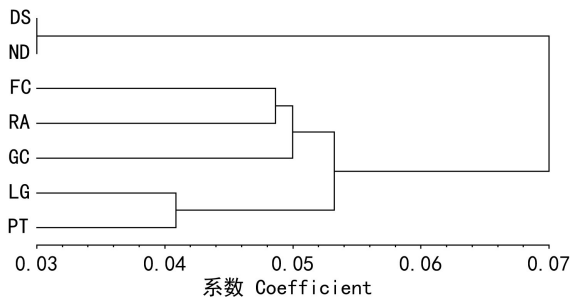


图 1 基于 Nei's 遗传距离的黄枝油杉 7 个种群的 UPGMA 聚类图 种群代码同表 1。

Fig. 1 Dendrogram of UPGMA cluster analysis based on Nei's (1972) genetic distance between seven populations of *Keteleeria calcarea*. The population code is the same as table 1.

0.143 3, 由此可知, 黄枝油杉总的遗传变异中发生在种群之间的遗传变异只有 14.33%, 其余的 85.67% 发生于种群内。进一步对黄枝油杉的 7 个种群的遗传变异进行 AMOVA 分析, 种群间遗传分化系数  $\Phi_{st} = 17.91\%$ , 表明在总的遗传变异中, 有 17.91% 的遗传变异是发生在种群之间的, 82.09% 的遗传变异是发生在种群内的 (表 4), 说明黄枝油杉的遗传变异主要发生在种群内, 种群间的遗传分化较小。基因流  $N_m = 2.989 0 > 1$ , 表明黄枝油杉种群之间保持一定的基因交流, 不容易出现遗传分化的现象。

### 2.3 黄枝油杉种群的聚类分析

根据 Nei's 遗传距离 (表 5) 用 NTSYS-pc 2.02 软件对 7 个黄枝油杉种群进行聚类分析, 聚类结果见图 1。由表 5 可知, 河池南丹怀里村种群 (ND) 和贵州独山尧棒乡种群 (DS) 的遗传一致度最大 (0.966 9), 遗传距离最小 (0.033 6); 贺州富川栎尾村种群 (FC) 和贵州独山尧棒乡种群 (DS) 的遗传一致度最小 (0.916 1), 遗传距离最大 (0.087 7)。由图 1 的 UPGMA 聚类图可知, 贵州独山尧棒乡种群

(DS) 和河池南丹怀里村种群 (ND) 先聚为一类, 其余的 5 个种群聚为一大类, 最后全部种群再汇聚成一类, 7 个种群并不是按照地理距离进行分支。进一步用 TFPGA 软件进行 Mantel test 分析, 结果表明黄枝油杉种群之间的遗传距离和地理距离之间无显著性差异 ( $r = 0.456 7$ ,  $P = 0.061 0 > 0.05$ )。

## 3 讨论

### 3.1 黄枝油杉遗传多样性评价

一般认为, 濒危物种拥有较低的遗传多样性水平, 但研究发现, 一些濒危物种的遗传多样性水平保持在较高水平 (钱迎倩和马克平, 1994; Grant, 1991; Soltis PS & Soltis DE, 1991)。在物种水平上, 黄枝油杉的多态性位点百分数 (*PPL*) 为 100.00%, Shannon

表 5 黄枝油杉种群的遗传一致度(对角线上方)和遗传距离(对角线下方)

Table 5 Nei's genetic identity (above diagonal) and genetic distance (below diagonal) between populations of *Keteleeria calcarea*

种群 Population	DS	FC	GC	LG	ND	PT	RA
DS		0.916 1	0.917 4	0.927 4	0.966 9	0.925 6	0.934 9
FC	0.087 7		0.949 7	0.942 5	0.922 5	0.947 7	0.950 9
GC	0.086 3	0.051 6		0.950 5	0.937 1	0.941 7	0.949 7
LG	0.075 3	0.059 2	0.050 8		0.948 9	0.957 5	0.953 5
ND	0.033 6	0.080 7	0.065 0	0.052 4		0.946 1	0.952 3
PT	0.077 3	0.053 7	0.060 1	0.043 4	0.055 4		0.945 7
RA	0.067 3	0.050 4	0.051 6	0.047 6	0.048 8	0.055 8	

信息多样性指数( $I$ )为0.417 7, Nei's 基因多样性指数( $H$ )为0.266 6, 与其他的濒危裸子植物, 如刘文娟(2006)研究的资源冷杉( $PPL = 63.38\%$ ,  $I = 0.234 9$ ,  $H = 0.152 7$ )、袁建国(2005)研究的百山祖冷杉( $PPL = 42.68\%$ ,  $I = 0.242 0$ ,  $H = 0.165 7$ )及李江伟(2014)研究的台湾杉( $PPL = 78.21\%$ ,  $I = 0.377 8$ ,  $H = 0.249 4$ )等相比, 黄枝油杉总的遗传多样性显示出较高的水平, 表明黄枝油杉的适应环境的能力较强, 进化潜力较大(Hogbin & Peakall, 1999), 其濒危的原因并不是遗传多样性低的内部因素造成的; 但比刘晓燕(2007)研究的华东黄杉( $PPL = 90.79\%$ ,  $I = 0.497 4$ ,  $H = 0.336 1$ )及张蕊(2009)研究的南方红豆杉( $PPL = 98.89\%$ ,  $I = 0.606 3$ ,  $H = 0.419 2$ )等的遗传多样性水平低。

Nei's 遗传多样性和 AMOVA 分析结果都揭示了黄枝油杉的遗传变异主要发生在种群内。黄枝油杉的基因分化系数( $G_{st}$ )为0.143 3, 总的遗传变异中发生在种群之间的遗传变异有14.33%, 其余的85.67%发生于种群内。AMOVA 分析结果表明在总的遗传变异中, 有17.91%的遗传变异是发生于种群之间的, 82.09%的遗传变异是发生在种群内的。基因流  $N_m = 2.989 0 > 1$ , 表明黄枝油杉种群之间保持一定的基因交流, 有效抵制了遗传漂变的影响, 不容易出现遗传分化的现象。大量研究结果表明(Loveless & Hamrick, 1984), 裸子植物的生物学特性(如风媒传粉、寿命长、频繁的基因交流等)对其遗传变异维持高水平和种群间较小的分化很有利, 即使其分布范围很窄, 但其种群仍会拥有整个物种的大多数遗传变异。

根据 Nei's 遗传距离对 7 个黄枝油杉种群进行聚类分析, 结果显示黄枝油杉 7 个种群并不是按照地理距离进行分支。进一步用 TFGA 软件进行 Mantel test 分析, 结果表明黄枝油杉种群之间的遗传距离和地理距离之间无显著性差异( $r = 0.456 7$ ,  $P = 0.061 0 > 0.05$ )。

### 3.2 黄枝油杉保护建议

濒危植物是植物遗传育种的珍贵材料, 很多濒危植物具有巨大的经济价值和文化价值。濒危植物是研究植物起源、进化的有力证据。植物濒危是内部因素和外部环境共同作用的结果, 内部因素包括遗传力、生殖力、适应力等, 外部环境包括自然灾害、人为因素等。黄枝油杉为我国特有的珍稀濒危树种和中亚热带珍贵树种, 目前具有较高的遗传多样性, 说明其濒危的原因并不是遗传多样性低的内部因素造成的。建议将遗传多样性最高的柳州融安都木村(RA)种群作为重点保护单元; 建议保护好所有的黄枝油杉自然分布区生态环境, 并尽可能保护种群内的所有个体, 防止人类继续乱砍滥伐以及破坏其生境和生物群落结构。此外, 当地的林业主管部门应加强对黄枝油杉的宣传保护教育, 让当地群众了解黄枝油杉的重要意义及价值, 使广大群众形成自觉保护黄枝油杉的意识; 有关执法部门应该引起高度重视, 严厉打击和查处破坏黄枝油杉的犯罪活动, 阻止黄枝油杉继续遭受破坏。

### 参考文献:

- AI JG, 2005. Studies on the endangerment mechanism and conservation strategies for *Abies beshanzenensis* [D]. Hangzhou: Zhejiang University. [袁建国, 2005. 百山祖冷杉濒危机制与保护对策

- 研究 [D]. 杭州:浙江大学.]
- DAI WJ, 2006. Study on conservation genetics of *Abies ziyuanensis* [D]. Guilin: Guangxi Normal University: 8-9. [代文娟, 2006. 资源冷杉的保护遗传学研究 [D]. 桂林:广西师范大学: 8-9.]
- FU LG, 1989. China rare and endangered plants [M]. Shanghai: Shanghai Education Press. [傅立国, 1989. 中国珍稀濒危植物 [M]. 上海:上海教育出版社.]
- FAN FH, SHI WJ, RUAN RC, et al, 2010. ISSR finger-print and genetic relationship of 23 rice cultivars ( Lines ) [J]. Guizhou Agric Sci, 38(9):5-8. [范付华, 施文娟, 阮仁超, 等, 2010. 23 个水稻品种 (系) 的 ISSR 指纹图谱及其亲缘关系 [J]. 贵州农业科学, 38(9):5-8.]
- FU ZH, 2014. Ecological study of *Keteleeria calcarea* populations of Guilin [D]. Guilin: Guangxi Normal University. [符支宏, 2014. 桂林黄枝油杉种群生态学研究 [D]. 桂林: 广西师范大学.]
- Grant V, 1991. The evolutionary process: a critical study of evolutionary theory [J]. 2nd ED. New York: Columbia University Press.
- HOGBIN PM, PEAKALL R, 1999. Evaluation of the contribution of genetic research to the management of the endangered plant *Zieria prostrate* [J]. Conserv Biol, 13(3):514-522.
- HE P, 2005. The rare and endangered plant protection biology [M]. Chongqing Southwest Normal University Press. [何平, 2005. 珍稀濒危植物保护生物学 [M]. 重庆:西南师范大学出版社.]
- HE DH, PANG Y, SONG SY, et al, 2006. Chemical constituents of essential oil from twigs of *Keteleeria calcarea* [J]. Biomass Chem Eng, 40(2):8-10. [何道航, 庞义, 宋少云, 等, 2006. 黄枝油杉嫩枝中精油的化学成分研究 [J]. 生物质化学工程, 40(2):8-10.]
- JIANG BS, WEN GX, TANG Y, et al, 2008. Effects of different treatments on cottage cultivation and growth of *Keteleeria calcarea* [J]. Guihaia, 28(4):549-552. [蒋柏生, 文桂喜, 唐芸, 等, 2008. 不同处理对濒危植物黄枝油杉扦插育苗的影响 [J]. 广西植物, 28(4):549-552.]
- LOVELESS MD, HAMRIEK JL, 1984. Ecological determinant of genetic structure in plant populations [J]. Ann Rev Evol Syst, 15: 65-95.
- LI SG, LIANG CF, 1990. Plant resources in Guangxi [M]. Beijing: Beijing Science and Technology Press. [李树刚, 梁畴芬, 1990. 广西植物资源 [M]. 北京:北京科学技术出版社.]
- LIU XY, 2007. Genetic diversity analysis and protection of endangered plant *Pseudotsuga gaussenii* Flous [D]. Nanchang: Nanchang University. [刘晓燕, 2007. 濒危植物华东黄杉遗传多样性分析及保育 [D]. 南昌:南昌大学.]
- LIANG JX, QI JM, FANG PP, et al, 2008. Genetic diversity and genetic relatives analysis of tobacco germplasm based on inter-simple sequence repeat (ISSR) [J]. Sci Agric Sin, 41(1):286-294. [梁景霞, 祁建民, 方平平, 等, 2008. 烟草种质资源遗传多样性与亲缘关系的 ISSR 聚类分析 [J]. 中国农业科学, 41(1):286-294.]
- LI JW, YANG QJ, LIU XQ, et al, 2014. Genetic diversity of *Taiwania cryptomerioides* detected by ISSR analysis [J]. Sci Silv Sin, 50(6):61-66. [李江伟, 杨琴军, 刘秀群, 等, 2014. 台湾杉遗传多样性的 ISSR 分析 [J]. 林业科学, 50(6):61-66.]
- PENG SL, 2003. Rare and endangered plants in Guangdong [M]. Guangzhou: Science Press. [彭少麟, 2003. 广东珍稀濒危植物 [M]. 广州:科学出版社.]
- QIAN YQ, MA KP, 1994. The principle and methods of biodiversity research [M]. Beijing: Science and Technology of China Press: 123-140. [钱迎倩, 马克平, 1994. 生物多样性研究的原理与方法 [M]. 北京:中国科学技术出版社: 123-140.]
- QIN HN, LIU Y, 2010. List of plants in Guangxi [M]. Beijing: Science Press. [覃海宁, 刘演, 2010. 广西植物名录 [M]. 北京:科学出版社.]
- SOLTIS PS, SOLTIS DE, 1991. Genetic variation in endemic and widespread plant species: examples from Saxifragaceae and *Polystichum* (Dryopteridaceae) [J]. Aliso, 13(1):215-223.
- SHEN Y, CAO JW, LIU CL, et al, 2009. Resource status and artificial cultivation technology of endangered *Keteleeria calcarea* in Hunan [J]. J Fujian For Sci Technol, 36(3):107-110. [沈燕, 曹基武, 刘春林, 等, 2009. 湖南濒危植物黄枝油杉的资源现状及人工栽培技术 [J]. 福建林业科技, 36(3):107-110.]
- SONG JX, 2010. Guizhou sweetpotato germplasm resources determination and ISSR analysis of genetic diversity [D]. Chongqing: Southwest University. [宋吉轩, 2010. 贵州甘薯种质资源鉴定与 ISSR 遗传多样性分析 [D]. 重庆:西南大学.]
- ZIETKIEWICZ E, RAFALSKI A, LABUDA D, 1994. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification [J]. Genomics, 20(2):176-183.
- ZHENG L, 2007. The evaluation and ISSR&SRAP molecular tagging of genetic variation in *ricinus* [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University. [郑鹭, 2007. 蓖麻种质资源鉴定评价及遗传多样性 ISSR 与 SRAP 分析 [D]. 福州:福州福建农林大学.]
- ZHANG R, ZHOU ZC, JIN GQ, et al, 2009. Genetic diversity and genetic differentiation of *Taxus wallichiana* var. *mairii* provenances [J]. Sci Silv Sin, 45(1):50-55. [张蕊, 周志春, 金国庆, 等, 2009. 南方红豆杉种源遗传多样性和遗传分化 [J]. 林业科学, 45(1):50-55.]
- ZHANG L, XU YC, CHENG HZ, et al, 2012. Genetic relationship analysis and fingerprint construction of 62 cultivars of *Hippeastrum* spp. based on ISSR marker [J]. J Plant Resour Environ, 21(4):48-54. [张林, 徐迎春, 成海钟, 等, 2012. 基于 ISSR 标记的 62 个朱顶红品种的遗传关系分析及指纹图谱构建 [J]. 植物资源与环境学报, 21(4):48-54.]