

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201503016

引文格式: 田艳伶, 李柏海, 李志辉, 等. 基于 ISSR 标记的福建省钩锥遗传多样性分析 [J]. 广西植物, 2017, 37(1):42-48.

TIAN YL, LI BH, LI Zhi-Hui, et al. Genetic diversity analysis on five populations of *Castanopsis tibetana* from Fujian Province based on ISSR marker [J]. Guihaia, 2017, 37(1):42-48.

基于 ISSR 标记的福建省钩锥遗传多样性分析

田艳伶^{1,3}, 李柏海², 李志辉^{1*}, 杨模华¹, 张斌¹, 周鑫伟¹

(1. 中南林业科技大学 林学院, 长沙 410004; 2. 湖南省森林植物园, 长沙 410004; 3. 益阳市林业科学研究所, 湖南 益阳 413000)

摘要: 本研究利用 ISSR 分子标记, 对分布于福建省内 5 个样地(邵武、建阳、建瓯、周宁和屏南)的 61 个野钩锥(*Castanopsis tibetana*)单株的遗传多样性进行了分析, 并采用聚类分析方法探讨了它们的遗传关系。结果表明: 用 10 条 ISSR 引物从 61 个单株的基因组 DNA 共扩增出 158 条带, 包含 145 条多态性条带, 多态性条带百分率达 91.77%, 其中引物 UBC817、UBC819 与 UBC842 的多态性条带百分率(PPB)为 100.0%。各居群的多态性条带百分率(PPB)、有效等位基因数(N_e)、Nei's 基因多样性(H)和 Shannon's 多样性指数(I)等各遗传指数差异较大, 其中各项遗传指标中最高的是邵武居群, 而周宁居群则最低。5 个居群的基因分化系数和基因流分别为 0.144 0 和 2.973 0, 说明 5 个居群总遗传变异的 14.40% 存在于居群间, 85.60% 存在于居群内。种间总基因多样性分别为 0.395 8, 种内基因多样性分别为 0.338 8, 表明钩锥种间遗传多样性较高, 且种间变异大于种内变异。各居群间的遗传距离差异较大; 其中, 邵武与建瓯居群的遗传距离最近, 仅为 0.081 5; 建阳和周宁居群的遗传距离最远, 为 0.162 9。通过聚类分析可将 5 个钩锥居群聚为 3 支, 屏南与周宁的居群各自独立聚为 2 支; 来自邵武、建瓯及建阳的居群聚为一支, 且可进一步分为两个亚支, 建阳居群为 1 个亚支, 邵武和建瓯居群聚为 1 个亚支。供试的钩锥具有较高的遗传多样性, 存在着较为频繁的基因交流。该研究结果较准确地揭示了钩锥种间的遗传多样性。

关键词: 钩锥, ISSR 标记, 遗传多样性, 基因分化, 聚类分析

中图分类号: Q943 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2017)01-0042-08

Genetic diversity analysis on five populations of *Castanopsis tibetana* from Fujian Province based on ISSR marker

TIAN Yan-Ling^{1,3}, LI Bo-Hai², LI Zhi-Hui^{1*}, YANG Mo-Hua¹,
ZHANG Bin¹, ZHOU Xin-Wei¹

(1. College of Forestry, Central South University of Forestry and Technology, Changsha 410004, China; 2. Hunan Forest Botanical Garden, Changsha 410004, China; 3. Yiyang Institute of Forestry, Yiyang 413000, Hunan, China)

Abstract: *Castanopsis tibetana* is an evergreen hard wood tree of red Castanopsis, which is one of the excellent commercial tree species. *C. tibetana* has great development prospect and ecological value in China. In this paper, the genetic diversity of 61 individuals of *C. tibetana* collected from five plots (Shaowu, Jianyang, Jianou, Zhouning and Pingnan) in

收稿日期: 2016-03-11 修回日期: 2016-05-21

基金项目: 国家林业行业公益性项目 (201204405); 湖南省林业科技创新计划项目 (XLK201424) [Supported by National Public Welfare Program of Forestry Industry (201204405); Technology Innovation Plan Project in Hunan Forestry (XLK201424)]。

作者简介: 田艳伶 (1989-), 女, 湖南安化人, 硕士研究生, 从事林木定向培育研究, (E-mail) ty12101@126.com。

*通信作者: 李志辉, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事森林培育教学和科研, (E-mail) lzh1957@126.com。

Fujian Province of China was analyzed by means of inter-simple sequence repeat (ISSR) marker, and the genetic relationship among these individuals also was discussed by cluster analysis method. The results showed that 158 bands were amplified from genomic DNA of 61 *C. tibetana* individuals by ten inter-simple sequence repeat (ISSR) primers, and there were 145 polymorphic bands with percentage of polymorphic band of 91.77%, in which, the percentage of polymorphic band of UBC817, UBC819 and UBC42 reached 100.0%. Percentage of polymorphic band (PPB), effective number of alleles (N_e), Nei's gene diversity (H) and Shannon's diversity index (I) were obviously different among five *C. tibetana* populations, in which all indexes of population in Shaowu were the highest, populations in Zhouning was the lowest. Gene differentiation coefficient and gene flow of five populations was 0.144 0 and 2.973 0, respectively, indicating that 14.40% of overall genetic variation of five populations exists among populations and 85.60% within populations. The gene diversity among species (H_t) and within species (H_s) were 0.395 8 and 0.338 8. It is suggested that the genetic diversity among species of *C. tibetana* was relatively rich and the interspecies variation degree was higher than intraspecies. Genetic distance among all populations differed obviously, and the genetic distance, between populations of Shaowu and Jianou was the nearest (only 0.081 5) while that between populations of Jianyang and Zhouning was the farthest (0.162 9). Five populations could be divided into three groups by cluster analysis, in which populations of Pingnan and Zhouning were two separate groups, while three populations of Shaowu, Jianou and Jianyang were gathered into one group, which could be divided into two sub-groups further, one was Jianyang population and another contained populations of Shaowu and Jianou. It is suggested that populations of *C. tibetana* tested possessed higher genetic diversity, and there were frequent gene exchange. The genetic diversity of *C. tibetana* could be accurately revealed by means of ISSR marker analysis.

Key words: *Castanopsis tibetana*, ISSR marker, genetic diversity, gene differentiation, cluster analysis

钩锥 (*Castanopsis tibetana*) 为壳斗科锥属 (*Castanopsis*) 树种, 又名钩栗或钩栲, 为常绿阔叶高大乔木, 高达 30 m; 材质坚硬, 耐水腐, 为优良的建筑、车船、家具和室内装饰用材 (张宏达, 1988; 林敏和黄宗安, 2003), 属红锥类, 为长江以南极具重要开发前景的珍贵用材树种。有关钩锥方面的研究尚不多见, 已有的研究主要集中在种群生态及生命表分析 (林敏和黄宗安, 2003; 张嘉生, 2005)、种子特性 (王佩兰等, 2013) 与播种育苗 (陈养, 2007; 李纯教, 2012) 等方面, 目前还无任何研究涉及钩锥分子水平这一方面。对钩锥种群生态研究的结果表明, 现存的钩锥常散生于常绿阔叶林中, 居群规模小、更新情况差, 居群处于衰退状态 (林敏等, 2003; 李纯教, 2012)。因此, 在分子水平上对钩锥居群进行遗传结构及其遗传多样性, 可为钩锥珍贵用材林的营建、应用与推广提供必要的理论依据, 也能为钩锥种质资源的有效保护提供相关的遗传改良策略。

ISSR 分子标记, 即简单重复序列区间扩增多态 (inter-simple sequence repeat) 分子标记。此标记不受环境与季节等外在因素影响, 能有效揭示整个基因组的一些特征, 用于检测 2 个 SSR 之间一段 DNA 序列上的多态性 (Zietkiewicz & Rafalski, 1994)。ISSR 具有操作方便、模板用量少、产物多态性丰富

和结果重复性高等优点, 已被广泛用于林木种质资源遗传结构、品种鉴定与遗传多样性分析 (李海生和陈桂珠, 2004; 赵冰和张启翔, 2008; 李乃伟等, 2011)。目前, ISSR 标记技术主要运用于种质资源鉴定 (Fang et al, 1988)、指纹图谱构建 (Cho et al, 2002)、遗传多样性分析 (Ge & Sun, 1999;) 和亲缘关系研究 (林乐静等, 2015) 等方面。本研究通过 ISSR 分子标记技术, 在遗传结构与遗传多样性等方面对 5 个福建野生居群进行了遗传分化水平比较, 采用聚类分析方法对钩锥不同居群进行了遗传关系的研究, 为进一步评价钩锥种质资源的遗传多样性提供依据。

1 材料与方 法

1.1 材料

于 2013 年 7 月, 在福建邵武、建阳、建瓯、周宁和屏南选取了 5 个钩锥野生居群 61 个单株 (表 1)。对各居群进行了种质资源调查, 采集了具有代表性的待测样品, 选取的植株无病虫害且生长状况良好, 将采集好的健康嫩叶装于编号的锡箔纸中包好, 再放入装有适量硅胶的封口袋中, 及时运回实验室, 于 $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备用。

所用仪器和试剂: Eppendorf Centrifuge 5415R 冷冻离心机, GeneAmp PCR System 9700 扩增仪, WH-2 微型旋涡混合仪, 电热恒温水浴锅, DYY-12 型稳压稳流电泳仪, Bio-Rad 紫外凝胶成像仪。ISSR 引物的设

计参考加拿大哥伦比亚大学(UBC)(余艳等, 2003), 由上海英骏生物技术有限公司合成; Marker 由广州东盛生物科技有限公司提供; dNTPs、Taq DNA 聚合酶和 10×PCR buffer 等购自 TINGEN 公司。

表 1 供试钩锥各居群的基本概况

Table 1 Basic status of tested populations of *Castanopsis tibetana*

居群编号 Population code	采集地 Sampling location	经度 Latitude	纬度 Longitude	降雨量 Rainfall (mm)	采样数 Sampling No.
SW	邵武市 Shaowu City	117°39'35" E	26°57'1" N	1 770	14
JY	建阳市 Jitneying City	117°42'38" E	27°39'13" N	1 742	10
JO	建瓯市 Jianou City	118°26'1" E	27°13'19" N	1 663	14
ZN	周宁县 Zhouning County	119°16'59" E	27°3'4" N	2 069	13
PN	屏南县 Pingnan County	117°28'48" E	27°20'32" N	1 842	10

1.2 方法

1.2.1 钩锥 DNA 提取 每个钩锥样品称取 3 g, 液氮中充分粉碎, 采用天根试剂盒法提取钩锥总 DNA (田艳伶等, 2015), -20 °C 的冰箱储存、备用。

1.2.2 引物的筛选 参照锥栗 ISSR 遗传分析中引物筛选的方法 (龚榜初和刘国彬, 2013), 通过对 100 条 ISSR 引物进行筛选, 共筛选出 10 条谱带清晰, 信号强且, 重复性好且扩增结果稳定的引物, 用于本研究钩锥遗传结构分析。

1.2.3 PCR 扩增与检测 ISSR-PCR 反应体系总体积为 20 μ L, 含 30 ng 模板 DNA, 0.4 mmol \cdot L⁻¹ dNTPs, 0.75 U Taq DNA 聚合酶, 3 mmol \cdot L⁻¹ Mg²⁺, 0.3 μ mol \cdot L⁻¹ 引物, 用纯水补足。钩锥 ISSR-PCR 反应扩增程序为 94 °C 预变性 2 min; 然后于 94 °C 变性 30 s, 50~59.3 °C 退火 30 s (根据不同引物的 T_m 值而设定具体退火温度)、68 °C 延伸 2 min 30 s, 共 40 个循环; 72 °C 延伸 7 min 保存。用质量体积分数为 0.7% 的琼脂糖凝胶 (含少量溴化乙锭) 电泳 30~35 min (4~5 V \cdot cm⁻¹) (田艳伶等, 2015), 电泳结束后在紫外凝胶成像仪上成像并检测钩锥 DNA 的提取浓度及其质量。

1.3 数据统计和分析

将清晰、多态性好、迁移率相同的条带按照同源位点进行处理, 条带出现, 赋值“1”, 没出现赋值“0”, 通过图形资料转化成 1、0 二元数据矩阵的数据资料。按照 Nei' s (1979) 的方法, 通过 Popgene 1.32 软件, 在假定种群处于哈迪-温伯格平衡前提

下, 计算分析总遗传多样性指数 (H_t)、居群间基因分化系数 (G_{st})、Nei' s 居群内遗传多样性指数 (H_s)、Nei' s 标准遗传距离 (GD)、遗传一致度 (GI)、居群间基因流 (N_m); 采用 NTSYSpc version 2.10 软件计算 5 个居群 61 个钩锥样品的遗传相似性系数 (SC) 和遗传距离 (DS), 聚类分析采用 UPGMA 法对遗传关系进行研究分析。

2 结果与分析

2.1 ISSR-PCR 扩增结果分析

利用优化的反应体系从 100 条 ISSR 引物中筛选出多态性高、重复性好的 10 条引物进行 ISSR 分析, 10 条引物的序列以及扩增结果见表 2。从表 2 可见, 10 条引物中 (AC)_n、(AG)_n、(GA)_n 引物占多数, 说明钩锥基因中可能存在大量的 (AG) 二核苷酸重复序列。不同引物组合扩增出不同的多态性条带数, 本研究的 10 条引物片段长度为 250~2 000 bp, 共扩增出了 158 条清晰条带, 其中多态性条带 145 条; 参试引物扩增条带数为 13~19 条, 平均每条引物检测到的条带数为 15.8。其中检测出的条带数最多的为引物 UBC808, 达 19 条; 而数量最少的为 UBC846 号引物, 仅 13 条。其中, 多态性条带数最多的为 UBC880 号引物 (18 条); 而多态性条带数最少的为 UBC830 号引物 (11 条)。各引物的多态性条带百分率 (PPB) 为 73.30%~100.00%, 平均为 91.77%; 其中 UBC817、UBC819 和 UBC842 号引物

表 2 用于钩锥基因组总 DNA ISSR-PCR 的随机引物碱基序列及扩增结果

Table 2 Base sequences of random primers used for ISSR-PCR of genomic total DNA of *Castanopsis tibetana* and its amplified results

引物 Primer	碱基序列(5'-3') Sequence (5'-3')	扩增条带 Number of amplified band	多态性条带数 Number of polymorphic band	多态性条带百分率 Percentage of polymorphic band (%)
UBC-808	AGAGAGAGAGAGAGAGC	16	14	87.50%
UBC-817	CACACACACACACACAA	14	14	100.00%
UBC-819	GTGTGTGTGTGTGTGTA	16	16	100.00%
UBC-821	GTGTGTGTGTGTGTGTT	17	16	94.12%
UBC-824	TCTCTCTCTCTCTCTCG	17	15	88.24%
UBC-830	TGTGTGTGTGTGTGTGG	15	11	73.33%
UBC-836	AGAGAGAGAGAGAGAGYA	15	13	86.67%
UBC-842	GAGAGAGAGAGAGAGAYG	16	16	100.00%
UBC-846	CACACACACACACACART	13	12	92.31%
UBC-880	GGAGAGGAGAGGAGA	19	18	94.47%
总计 Total		158	145	
平均 Average		15.80	14.50	91.77%

表 3 基于 ISSR 标记的福建省 5 个钩锥居群的遗传多样性分析结果

Table 3 Analysis result of genetic diversity of five populations of *Castanopsis tibetana* in Fujian Province based on ISSR marker

居群 Population	多态性条带数 Number of polymorphic band	多态性条带 百分率 Percentage of polymorphic band (%)	观测等位基因数 Observed number of alleles	有效等位 基因数 Effective number of alleles	Nei's 基因多度 Nei's gene diversity	Shannon's 信息指数 Shannon's information index
邵武 Shaowu City	144	91.14%	1.911 4	1.630 7	0.362 2	0.531 3
建阳 Jianyang County	143	90.51%	1.905 1	1.614 9	0.353	0.519 1
建瓯 Jianou City	143	90.51%	1.905 1	1.551 7	0.323 1	0.482 4
周宁 Zhouning County	134	84.81%	1.848 1	1.574 7	0.327 1	0.480 6
屏南 Pingnan County	136	86.08%	1.860 8	1.571 5	0.328 9	0.485 4
平均值 Average	140	88.61%	1.886 1	1.588 7	0.337 8	0.499 8

扩增的 PPB 均达到 100.00%。由此可见,供试的 5 个钩锥居群具有较丰富的遗传变异和遗传多样性。

2.2 钩锥居群遗传多样性分析

表 3 中记录了采用 ISSR 分子标记对福建 5 个钩锥居群进行的遗传多样性指标分析,结果表明:参试各居群的多态性条带数、多态性条带百分率(PPB)、有效等位基因数(N_e)、Shannon's 多样性指数(I)和 Nei's 基因多样性(H)均有明显差异。邵武居群的各

项指标均最高,明显高于其他 4 个居群;而周宁居群的各项遗传指标则最低。5 个钩锥居群的多态性条带百分率为 84.81% ~ 91.14%,平均值为 88.61%;观测等位基因数(N_a)为 1.848 1 ~ 1.911 4,平均值为 1.886 1;有效等位基因数(N_e)为 1.551 7 ~ 1.630 7,平均值为 1.588 7;Nei's 基因多样性(H)为 0.323 1 ~ 0.362 2,平均值为 0.337 8;Shannon's 信息指数(I)为 0.480 6 ~ 0.531 3,平均值为 0.499 8。多态性条带百分

率最高的为邵武(91.14%),建阳和建瓯次之(90.51%),而屏南(86.08%)和周宁(84.81%)则最低; N_e 、 H 和 I 等遗传指数最高的均是邵武,建阳和建瓯次之,屏南略低,而周宁则最低。这表明钩锥居群间的遗传多样性水平较高。

本研究进一步利用 AMOVA 软件 (Excofier,

1992)对分布于福建的钩锥居群内和居群间的分子变异进行了分析。从表 4 结果可以看出,钩锥居群间变异占 13.81%,居群内变异占 86.19%,居群内和居群间的变异均极显著($P < 0.001$)。

从两种方法得出的数据可知,Nei's 遗传多样性分析的结果和 AMOVA 分析所得结果相差不大。

表 4 钩锥居群间和居群内分子变异的 AMOVA 分析结果

Table 4 Analysis of molecular variance (AMOVA) within/among *Castanopsis tibetana* populations

变异来源 Source of variance	自由度 df	均方差 MSE	方差分量 Variance component	方差分量 百分率 Total variation (%)	Phi_{st} 系数 Φ_{st}	显著性检测 P -value
居群间 Variance among populations	4	35.013	2.293	13.81	0.138 1	<0.001
居群内 Variance within population	56	7.083	7.083	86.19	0.861 9	<0.001

2.3 不同种源间的遗传距离及聚类分析

根据 ISSR 扩增结果组成二元数据矩阵,用 SM 方法计算 5 个钩锥居群的遗传相似系数(表 4)。表 4 结果表明,邵武和建瓯居群的遗传距离最近,仅为 0.081 5,表明亲缘关系很近。建阳与周宁居群的遗传距离最远,为 0.162 9,表明亲缘关系很远,可能与其分布地距离相对较远、生长环境差异较大有关。5 个钩锥居群的遗传距离平均值为 0.126 6。

依据遗传距离,进行 UPGMA 聚类分析,获得基于 ISSR 的 5 个不同钩锥居群间的聚类图(图 1)。从表 4 和图 1 可以看出,当 $\lambda = 0.89$ 时,可将 5 个钩锥居群聚为两支,邵武、建瓯、建阳和屏南居群聚为一支;周宁的居群单独聚为一支。当 $\lambda = 0.90$ 时,5 个钩锥居群聚为 3 支,屏南与周宁的居群各自聚为一支;来自邵武、建瓯及建阳的居群聚为一支,细分为建阳居群亚支和邵武和建瓯居群亚支。

通过软件 NTsysPc-2.10,对来自不同居群的 61 个钩锥个体进行了 UPGMA 聚类分析,从图 2 的遗传关系聚类图我们可以得出,在遗传关系上和遗传结构相一致。从图 2 可以看出,当相似系数为 0.545 时,61 个钩锥个体可分为三大类,第一类为采自邵武、建瓯和建阳的 38 个单株;采自屏南的 10 个单株聚为第二类;而采自周宁的 13 个单株则聚为第三类。从整体来看,各地区资源有规律的聚类在一起,能按地区单独聚类。

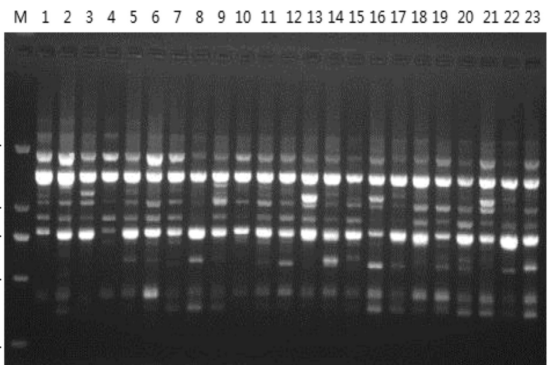


图 1 846 号引物在优化后的体系下扩增 23 个样品的 PCR 结果

Fig. 1 PCR results of 23 specimens with Primer 846 and optimized reaction system

2.4 基因分化

通过 POPGENE 软件对 5 个钩锥居群进行遗传分化分析,得出的在种水平上的基因多样性为 0.013 5,在居群水平上钩锥的基因多样性为 0.016 7,基因流为 2.973 0;基因分化系数(G_{st})为 0.144 0,即 5 个居群总的遗传变异主要发生在居群内(85.60%),总变异的 14.40% 来自居群间。

3 讨论

本研究中,用 10 个寡聚核苷酸随机引物扩增了

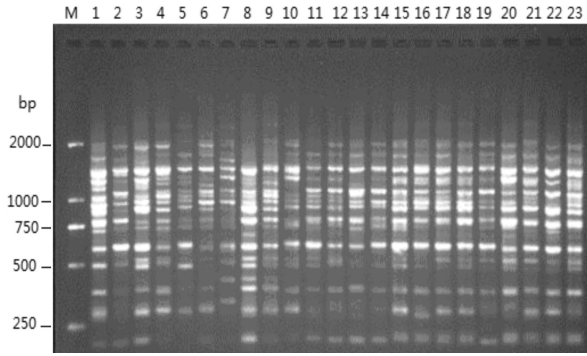


图 2 880 号引物在优化后的体系下扩增 23 个样品的 PCR 结果

Fig. 2 PCR results of 23 specimens with Primer 880 and optimized reaction system

5 个钩锥居群的基因组 DNA, 获得了 158 条清晰稳定的 DNA 谱带, 多态性谱带 145 条, 多态性条带百分率 (PPB) 达到 91.77%, 根据谱带的差异较好地地区分了 5 个参试钩锥居群。Hamrick et al (1992) 研究发现多数多年生木本树种平均多态位点百分数为 65%。由此可知, 供试的钩锥有丰富的遗传多态性。利用 ISSR 分子标记技术能快速准确地检测其遗传变异, 也为钩锥提供了分子标记辅助选择与评价的技术方法。5 个钩锥居群 61 份样品的基因组 DNA 多态性程度、平均 Shannon 信息指数及平均 Nei's 基因多样性指数均较高, 表明钩锥对其生存环境有很强的适应能力。

聚类分析表明地理分布距离近的钩锥居群聚类在一起, 说明这些居群间的遗传背景差异较小。来自邵武、建瓯和建阳居群聚为一类, 且邵武与建阳居群间的遗传距离大于和建瓯之间的遗传距离, 表明在亲缘关系上来看, 邵武和建瓯居群之间的较近; 而来自屏南和周宁的居群则各自独立分为两支, 说明两者的遗传差异很相对较大。同种居群间的遗传距离一般为 0.03~0.20, 相似系数一般为 0.80~0.975 的福建钩锥居群间存在着一定的遗传分化, 是因为其受环境差异和地理隔离等因素的影响, 然而, 根据 Thorpe (1982) 的标准理论值来看, 这 5 个钩锥居群仍然属于同一地理群体。

从反映物种遗传多样性的多个参数上, 包括物种水平的 Nei's 基因多样性 (0.337 8)、Shannon's 多样性指数 (0.499 8) 和多态性条带百分率 (91.77%) 等, 均揭示了福建钩锥种内具有较为丰富

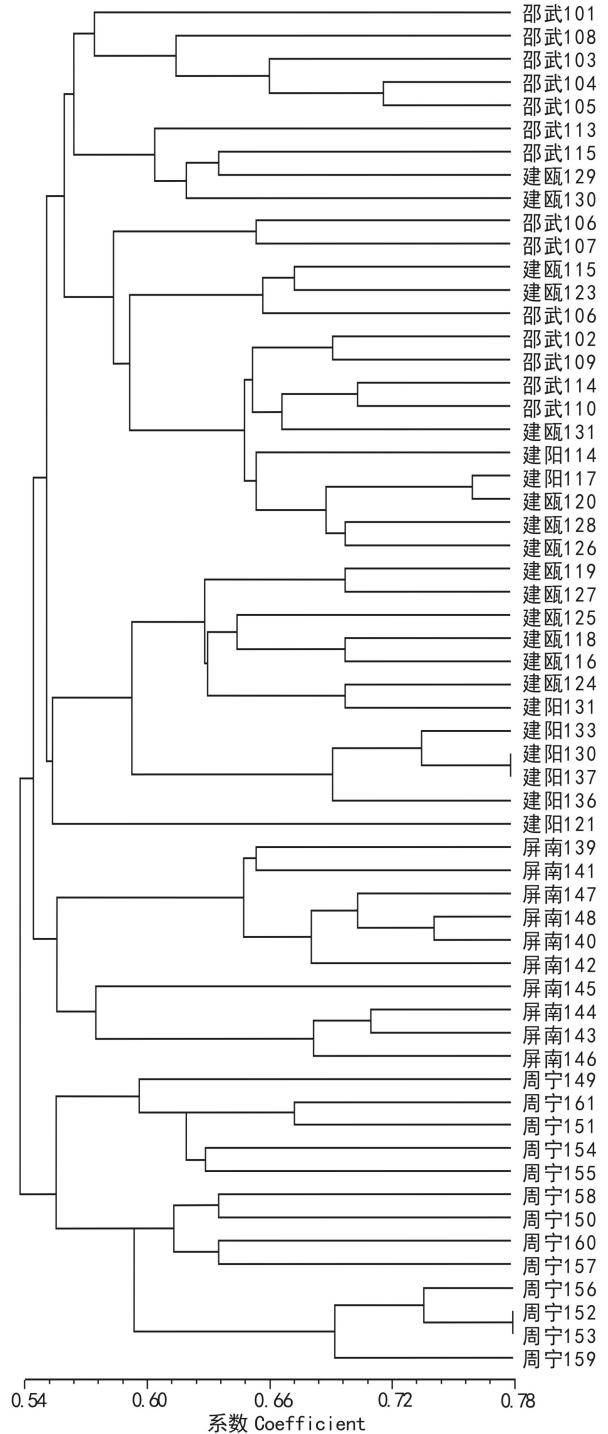


图 3 基于 ISSR 标记的 5 个钩锥居群的 UPGMA 聚类图
SW. 邵武, JO. 建瓯, JY. 建阳, PN. 屏南, ZN. 周宁。

Fig. 3 UPGMA dendrogram of five populations of *Castanopsis tibetana* based on ISSR marker

SW. Shaowu, JO. Jianou, JY. Jianyang, PN. Pingnan, ZN. Zhouning.

遗传多样性, 且其 Nei's 基因多样性前人所较研究过的一般针阔叶树种的估算值 (0.206) 还要高

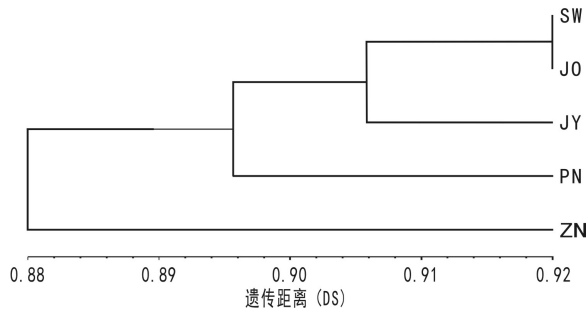


图 4 基于 ISSR 标记的 61 个钩锥个体 UPGMA 聚类图

Fig. 4 UPGMA dendrogram of 61 *Castanopsis tibetana* based on ISSR marker

表 5 福建钩锥各居群间的遗传相似系数 (对角线上方) 和遗传距离 (对角线下方)

Table 5 Genetic similarity coefficient (above diagonal) and genetic distance (below diagonal) among different populations of *Castanopsis tibetana* in Fujian Province

居群编号 Population code	SW	JY	JO	ZN	PN
SW	* * * *	0.918 9	0.921 8	0.900 1	0.901 8
JY	0.084 6	* * * *	0.893 0	0.849 6	0.884 3
JO	0.081 5	0.113 2	* * * *	0.877 9	0.897 6
ZN	0.105 2	0.162 9	0.130 2	* * * *	0.880 5
PN	0.103 4	0.123 0	0.108 0	0.127 3	* * * *

(Thorpe, 1982; Hamrick et al, 1992; 张青林和罗正荣, 2004)。

基因流 (Nm), 是影响居群内部和居群间遗传变异程度的重要因素。在群体遗传学理论中, Hamrick et al (1992) 和 Wright (1931) 的研究表明, 不管居群大小, 当基因流大于或等于 1 时, 就能防止居群间因遗传漂变而引起的遗传分化; 若基因流 $Nm < 1$, 遗传漂变就成为刻划种群遗传结构的主导因素。本研究通过 POPGENE 软件得出钩锥基因流为 2.973 0, 大于 1, 故能防止钩锥居群间因遗传漂变而引起的遗传分化

由于本研究的实验材料采样范围相对集中, 取自福建省内的 5 个山区, 并不能完全地揭示出钩锥的全部遗传背景, 故仍需做好扩大钩锥种质资源的收集的工作, 最好对已发现的具有代表性的省 (区) (如浙江、广西、湖南等) 进行样品采集, 并采用多种

方法对钩锥进行遗传多样性和遗传结构的研究分析, 为我们科学地经营、管理、保护和利用钩锥野生种质基因资源, 维持其丰富的遗传育种潜力和遗传多样性奠定基础。

参考文献:

- CHNE Y, 2007. Artificial breeding technology of *Castanopsis tibetana* [J]. China For Sci Technol, 3:89-90. [陈养, 2007. 钩栗人工育苗技术研究 [J]. 林业科技开发, 3:89-90.]
- CHO S, KUMAR J, SHULTZ JL, et al, 2002. Mapping genes for double podding and other morphological traits in *Chickpea* [J]. Euphytica, 128(2): 285-292.
- EXCOFFIER L, SMOUSE PE, QUATTRO JM, 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondria DNA restriction sites [J]. Genetics, 131: 479-491.
- FANG DQ, KRUEGER RR, ROOSE ML, 1998. Phylogenetic relationship among selected Citrus germplasm accessions reveals by inter-simple sequence repeat (ISSR) markers [J]. Am Soc Hort Sci, 123(4): 612-617.
- GONG BC, LIU GB, 2013. ISSR analysis of genetic diversity in natural populations of *Castanea henryi* [J]. J Plant Genet Resour, 4:581-587. [龚榜初, 刘国彬, 2013. 锥栗自然居群遗传多样性的 ISSR 分析 [J]. 植物遗传资源学报, 4:581-587.]
- GE XJ, SUN M, 1999. Reproductive biology and genetic diversity of a crypto viviparous mangrove *Aegiceras corniculatum* (Myrsinaceae) us in gallozyme and intersimple sequence repeat (ISSR) analysis [J]. Mol Ecol, 8: 2061-2069.
- HAMRICK JL, GODT MJW, SHERMAN-BROYLES SL, 1992. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species [J]. New For, 6: 95-124.
- LI CJ, 2012. Charateristic and sowing seeding raising technology of *Castanopsis tibetana* in the south of Fujian [J]. Mod Agric Sci Technol, 13: 185-187. [李纯教, 2012. 皖南山区钩栲特征特性及播种育苗技术 [J]. 现代农业科技, 13:185-187.]
- LI HS, CHEN GZ, 2004. Genetic diversity of mangrove plant *Sonneratia caseolaris* in Hainan Island based on ISSR analysis [J]. Acta Ecol Sin, 24(8): 1657-1663. [李海生, 陈桂珠, 2004. 海南岛红树植物海桑遗传多样性的 ISSR 分析 [J]. 生态学报, 8:1657-1663.]
- LIN LJ, LI L, ZHU ZY, 2015. ISSR analysis of the genetic relationships among 25 *Acer* plants germplasm resources [J]. Guihaia, 1: 9-14. [林乐静, 林立, 祝志勇, 2015. 25 份槭属优良种质资源亲缘关系的 ISSR 分析 [J]. 广西植物, 1:9-14.]
- LIN M, HUNG ZA, 2003. Analysis of *Castanopsis tibetana* population life table [J]. J Fujian For Sci Technol, 2: 9-13. [林敏, 黄宗安, 2003. 钩栗种群生命表分析 [J]. 福建林业科技, 2:9-13.]
- LI NW, HE SA, SHU XC, et al, 2011. Genetic diversity and structure analyses of wild and ex-situ conservation populations of *Taxus chinensis* var. *mairei* based on ISSR marker [J]. J Plant Resour Environ, 1: 25-30. [李乃伟, 贺善安, 束晓春, 等, 2011. 基于 ISSR 标记的南方红豆杉野生种群和迁地保护种群的遗传多样性和遗传结构分析 [J]. 植物资源与环境学报, 1:25-30.]

(下转第 63 页 Continue on page 63)