

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201312056

朱晓媛,杨斌,和兆荣,等. 不同干扰生境下河口莲座蕨遗传多样性分析 [J]. 广西植物, 2016, 36(7):818-823

ZHU XY, YANG B, HE ZR, et al. Analysis on the genetic diversity of *Angiopteris hokouensis* in habitats under different disturbances [J]. Guihaia, 2016, 36(7):818-823

不同干扰生境下河口莲座蕨遗传多样性分析

朱晓媛¹, 杨斌¹, 和兆荣², 王崇云^{1*}, 张滋第², 刘伟³

(1. 云南大学生态学及地植物学研究所, 昆明 650091; 2. 云南大学生命科学学院, 昆明 650091; 3. 文山学院, 云南文山 663000)

摘要: 该研究利用 ISSR 分子标记, 对不同生境下的 6 个河口莲座蕨种群进行遗传多样性分析。结果表明: 从 44 条 ISSR 引物中筛选出 8 条能够扩增出清晰、稳定条带的引物, 对 6 个河口莲座蕨种群进行基因组 DNA 扩增, 共扩增出 144 条带, 其中多态性条带 119 个, 多态性条带比率为 93.7%, Nei's 遗传多样性指数 (H) 为 0.296, Shannon 多样性指数 (I) 为 0.457, 遗传分化指数 (G_{st}) 为 0.152 0, 种群遗传一致度和遗传距离分别为 0.913 8~0.954 8 和 0.058 4~0.090 1; UPGMA 聚类分析表明, 种群间遗传距离与空间距离和生境类型有关。河口莲座蕨在不同干扰程度的生境中, 种群具有高水平的遗传多样性, 一定强度或频率的干扰生境中, 种群遗传多样性较高, 与海拔、坡度和坡向无相关性。

关键词: 河口莲座蕨, 干扰, ISSR, 遗传多样性

中图分类号: Q943 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2014)07-0818-06

Analysis on the genetic diversity of *Angiopteris hokouensis* in habitats under different disturbances

ZHU Xiao-Yuan¹, YANG Bin¹, HE Zhao-Rong²,
WANG Chong-Yun^{1*}, ZHANG Zi-Di², LIU Wei³

(1. Institute of Ecology and Geobotany, Yunnan University, Kunming 650091, China; 2. College of Life Sciences, Yunnan University, Kunming 650091, China; 3. Wenshan Teachers' College, Wenshan 663000, China)

Abstract: Genetic diversity of 6 *Angiopteris hokouensis* populations collected from different habitats were analyzed by means of intersimple sequence repeat (ISSR) markers, and 8 proper primers with rich polymorphism and stable bands were selected from a total of 44 ISSR's primers. The genome DNAs of the 6 populations were amplified to a total of 144 putative bands by the 8 primers, in which 96 were polymorphism bands. Polymorphism rate was 93.7%; Nei's gene diversity index was 0.296, Shannon information index was 0.457, and G_{st} was 0.152 0. The genetic distance coefficient and the genetic similarity were 0.058 4–0.090 1 and 0.913 8–0.954 8. Cluster analysis by UPGMA indicated that the genetic distance between the populations related to spatial distance, as well as to habitats. The results showed that *A. hokouensis* populations had high levels of genetic diversity at disturbed habitats. Even there was no significant differentiation of genetic diversity among populations, the populations in moderate disturbed habitats had higher genetic diversity. The genetic diversity was not significantly related to altitude, slope and aspect.

Key words: *Angiopteris hokouensis*, disturbance, ISSR, genetic diversity

收稿日期: 2014-12-30 修回日期: 2015-03-27

基金项目: 国家自然科学基金(30260011, 31260078) [Supported by the National Natural Science Foundation of China (30260011, 31260078)].

作者简介: 朱晓媛(1987-), 女, 云南玉溪人, 硕士研究生, 主要从事外来入侵生物分子标记技术研究, (E-mail) zhuxiaoyuan1987@126.com.

*通讯作者: 王崇云, 博士, 副教授, 研究方向为植物生态学、进化生态学、生物多样性保护等, (E-mail) cywang@ynu.edu.cn.

近年来,生物遗传多样性(Genetic diversity)研究越来越受到重视,其中大多以分子标记(RAPD 标记、ISSR 标记、SSR 标记等)展开研究,为生物多样性保护、中度干扰、系统发育关系、交配系统等提供理论依据(潘丽芹等,2005;文陇英等,2006;周媛等,2009)。遗传多样性是生物多样性的重要组成部分,是生态系统和物种多样性的基础。物种以种群为具体的存在形式,任何一个物种都具有独特的基因库和遗传结构,同时物种多样性也显示了基因多样性(施立明,1990)。对一个物种而言,其遗传多样性既是维持繁殖活力和长期适应环境变化的基础,又是生物多样性保护的重要方面(陈灵芝等,2001)。中度干扰假说(Intermediate Disturbance Hypothesis)指出群落中物种丰富度在中等干扰水平时最大(Connell,1978;文陇英等,2006)。环境干扰导致选择压力差异,或引起种群波动,对种群遗传多样性分布与格局也会产生重要影响,但对此认识还比较欠缺(Banks et al, 2013)。中国水青冈在人为活动频繁的环境下,几乎没有实生苗,种群即使能生存主要也是靠根蘖萌生更新,这将不利于遗传多样性的保存(李俊清,1996)。濒危物种夏腊梅(*Sinocalycanthus chinensis*)在人为干扰的适宜生境中具有较高的遗传多样性(张文标等,2005);观光木(*Tsoongiodendron odorum*)的遗传多样性也较高,但对生境要求严格,生境干扰是观光木濒危的主要原因之一(黄九香等,2002)。广布种冷蒿(*Aremisa frigida*)随干扰强度的增加,遗传多样性降低(王静等,2004);荒漠地带性广布种红砂(*Reaumuria soongorica*)在不同的干扰生境下,具有不同水平的遗传多样性,无干扰的自然保护区种群遗传多样性水平较高(张颖娟等,2008)。不同干扰环境下,濒危种或广布种检测出不同的遗传多样性分布式样。对于一些具有较高遗传多样性的濒危植物来说,其濒危的主要因素之一是生境的破坏,随生境的破坏程度加强,遗传多样性逐渐降低,但有些植物在一定频率或强度干扰的适宜生境中可维持较高的遗传多样性。中度干扰假说是否适用于解释种群遗传多样性的分布与格局呢?

河口莲座蕨(*Angiopteris hokouensis*)为莲座蕨科莲座蕨属植物,属广布种。河口莲座蕨产于云南罗平、西畴、麻栗坡、马关、屏边、河口、金平、绿春、江城等地(钱崇澍等,1959;朱维明等,2006;王崇云等,2012),生于常绿阔叶林及混交林下溪边,常为植物

群落中草本层的优势种,其分布生境多样化,从原生性山地雨林到香蕉园地橡胶林,林缘农田沟边都有该植物生长,可见河口莲座蕨具有较广的分布范围并适应异质性的生境。野外观察到河口莲座蕨叶柄瘤突明显程度、大小和排列状况等存在较大形态变异,此外,云南植物志卷(二十卷)对该种收录了13个异名(朱维明等,2006),一度分类处理的混乱侧面反映了其丰富的形态变异。本文以河口莲座蕨为研究对象,利用ISSR分子标记技术对不同干扰生境下的河口莲座蕨种群开展遗传多样性研究,分析其遗传多样性格局和种群遗传分化程度,探讨不同干扰强度的河口莲座蕨种群遗传多样性特征,为莲座蕨科中的广布种、狭域种、濒危种的遗传多样性和种群分化,及其与生境干扰的关系研究积累资料,为这一类大型肉质蕨类植物的保护提供理论指导。

1 材料与方 法

1.1 材 料

以河口莲座蕨主要分布区—红河州河口县为中心,对滇东南的该物种分布区(图1)进行了生境实地调查,根据人类干扰强度划分群落生境类型并记录海拔、坡度、坡向,同时采集6个种群(表1),每个种群最少采集15株个体的新鲜叶片,选取植株上较好(鲜嫩、干净、无生虫、发黄等)的叶片,去除中间的主脉及叶边有破损的地方,后放入装有干燥硅胶的密封袋保存,同时保存一定数量的凭证标本。

1.2 方 法

1.2.1 总DNA提取及检测 采用改良的CTAB法(Murray et al, 1980;邹喻萍等,2001)提取DNA,用0.8%琼脂糖凝胶电泳后于凝胶成像系统检验DNA质量。DNA样品置于-20℃冰箱中保存、备用。

1.2.2 ISSR引物筛选及反应体系 选取8个DNA模板,根据加拿大哥伦比亚大学公布的ISSR引物序列设计44个ISSR引物进行筛选。经过反复实验,选择扩增条带清晰、反应稳定且多态性较好的8个ISSR引物(表2)对所有DNA样品进行扩增。

PCR反应体系的总体积为25 μL,模板DNA 32 ng · μL⁻¹, Taq聚合酶1U, dNTP 0.2 mmol · L⁻¹, 引物1.3 mmol · L⁻¹, Mg²⁺ 1.5 mmol · L⁻¹。扩增程序: 94℃, 5 min, 38个循环; 94℃, 45s; 48~58℃, 1 min; 72℃, 1 min; 72℃, 5 min, 4℃保存。PCR产物用2% (含EB约0.5 μg · mL⁻¹)的琼脂糖凝胶电泳检

表 1 分子实验材料采集地群落样地综合简表

Table 1 General description of communit of *Angiopteris hokouensis*

种群 Population	地点 Place	海拔 Altitude (m)	坡向 Slope	坡度 Aspect (°)	群落生境主要特点 Characteristics of community habitat	人为干扰 强度 Intensity of human disturbance	群落生境类型 Community habitat type	种群类型 Population type
冷水沟 1 Lengshuigou 1	河口冷水沟 Lengshuigou, Hekou	120	阴坡 Shady slope	5	杂木疏林边缘、小溪边,光照充足,干扰类型多样 Sparse hardwood, riverside, full sunlight, divers disturbance	弱 Weak	次生型 Secondary forest	天然林-种群 Population in natural forest
冷水沟 2 Lengshuigou 2	河口冷水沟 Lengshuigou, Hekou	150	阳坡 Sunny slope	25	人工橡胶林下,光照良好,结构简单,物种稀少 Rubber tree forest, good sunlight, less complex, less species	强 Strong	人工林型 Man-made forest	人工林-种群 Population in man-made forest
冷水沟 3 Lengshuigou 3	河口冷水沟 Lengshuigou, Hekou	160	阳坡 Sunny slope	30	人工橡胶林下,光照良好,结构简单,物种稀少 Rubber tree forest, good sunlight, less complex, less species	强 Strong	人工林型 Man-made forest	人工林-种群 Population in man-made forest
南溪 1 Nanxi 1	河口南溪烈士 陵园后山 Cemetery of martyr, Nanxi, Hekou	180	阴坡 Shady slope	40	人工橡胶林下,光照良好,结构简单,物种稀少 Rubber tree forest, good sunlight, less complex, less species	较强 Very strong	人工林型 Man-made forest	人工林-种群 Population in man-made forest
南溪 2 Nanxi 2	河口南溪 131 电站 131 hydropower station, Nanxi, Hekou	400	阴坡 Shady slope	45	原始密林下,光照较弱,结构复杂,物种多样 Primitive dense forest, weak sunlight, complicated community, diverse species	很弱 Very weak	原生型 Primitive forest	天然林-种群 Population in natural forest
王国卡 Wanguoka	河口王国卡 Wanguoka, Hekou	200	阳坡 Sunny slope	25	人工橡胶林下,光照良好,结构简单,物种稀少 Rubber tree forest, good sunlight, less complex, less species	较强 Very strong	人工林型 Man-made forest	人工林-种群 Population in man-made forest

表 2 ISSR 引物序列

Table 2 Sequence of 8 primers

引物编号 Code of primer	引物序(5'-3') Primer sequence (5'-3')	引物编号 Code of primer	引物序列(5'-3') Primer sequence (5'-3')
P1	(ACTG) ₄	P10	(CTC) ₄ GC
P6	(CA) ₆ GG	P11	(GAG) ₄ GC
P8	(CT) ₆ AC	P15	(GA) ₈ CTG
P9	(AGA) ₆	P29	(GAA) ₆

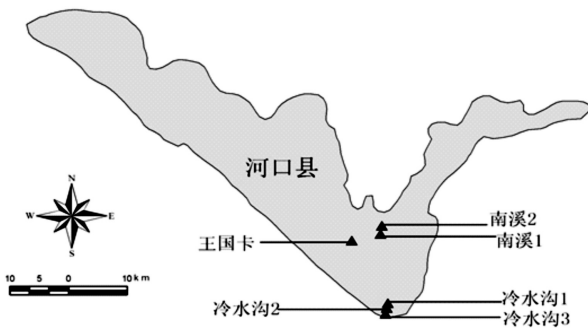


图 1 分子实验材料采集地分布图

Fig. 1 Distribution of *Angiopteris hokouensis*

测,电压为 $3 \text{ V} \cdot \text{cm}^{-1}$,电泳 2 h。电泳结果用 Gene System 凝胶成像系统照相,记录结果。

1.2.3 统计与分析 每个样品的扩增条带通过 UVI-Photo 软件判读,POPGENE32 软件进行遗传多样性参数分析,遗传多样性参数分别为多态性位点比 (PPB)、有效等位基因数、Shannon 多样性指数 (I)、

Nei's 遗传多样性指数 (H)、基因分化系数 (G_{st})、Nei's 遗传一致度、遗传距离;采用 SPSS17.0 软件进行平均数差异的显著性检验和相关性分析。

2 结果与分析

2.1 遗传多样性及遗传分化

8 个 ISSR 引物在 6 个种群中共扩增出 127 条,

平均每个引物扩增出 14.88 条带,多态性条带数为 119 个,PPB 为 93.7%。

表 3 显示,Shannon 指数的遗传多样性各种群大小顺序为冷水沟 2>冷水沟 3>南溪 1>冷水沟 1>王国卡>南溪 2,与多态位点比率稍有差异。Nei's 基因多样性指数计算的结果与 Shannon 指数计算的结果一致,各种群在 0.230~0.270 0 之间变化。

表 3 6 个河口莲座蕨种群多态性及遗传差异统计

Table 3 Polymorphic loci and genetic diversity in 6 *Angiopteris hokouensis* populations

种群编号 Population code	样本数 Sample size	多态位 点比率 (PPB)	有效等位 基因数 (N_e)	Shannon 多样性 指数 (H')	Nei's 遗传 多样性 指数 (H)
冷水沟 1 Lengshuigou 1	20	74.80	1.423 4	0.378	0.251
冷水沟 2 Lengshuigou 2	20	83.46	1.454 6	0.410	0.270
冷水沟 3 Lengshuigou 3	20	78.74	1.421 8	0.392	0.257
南溪 1 Nanxi 1	20	80.31	1.423 3	0.391	0.256
南溪 2 Nanxi 2	16	71.65	1.382 4	0.349	0.230
王国卡 Wanguoka	20	73.23	1.397 5	0.361	0.238
平均 Average	19.3	77.03	1.417 2	0.380	0.250
总体 Total	116	93.7	1.480 0	0.457	0.296

根据 Nei's 基因多样性指数计算的种群遗传分化结果,6 个种群总的遗传多样性 $H_t = 0.295 2$,种群内遗传多样性 $H_s = 0.250 3$,种群间遗传多样性 $D_{st} = 0.044 9$,各种群间存在一定遗传变异,遗传分化系数 $G_{st} = 0.152 0$,即 15.2% 的变异存在于种群间,84.8% 的遗传变异存在于种群内。基于种群间遗传分化系数计算的基因流 $N_m = 2.789 4 > 1$,说明不同生境的种群间存在一定基因流,防止因遗传漂变导致的种群间的遗传分化。

2.2 种群遗传一致度和聚类分析

Nei's 遗传一致度和遗传距离反映了种群间的亲缘关系远近。河口莲座蕨 6 个种群的遗传一致度在 0.913 8~0.954 8 之间,遗传距离在 0.046 3~0.090 1 之间(表 4)。

根据遗传距离,运行 POPGENE32 软件,采用 UPGMA 法构建的种群遗传关系聚类图(图 2)。聚

表 4 河口莲座蕨种群的遗传一致度和遗传距离

Table 5 Genetic identity and genetic distance among the populations of *Angiopteris hokouensis*

种群编号 Population Code	冷水沟 1 Lengshui- gou 1	冷水沟 2 Lengshui- gou 2	冷水沟 3 Lengshui- gou 3	南溪 1 Nanxi 1	南溪 2 Nanxi 2	王国卡 Wang- guoka
冷水沟 1 Lengshuigou 1	****	0.935 8	0.943 3	0.928 6	0.922 8	0.928 8
冷水沟 2 Lengshuigou 2	0.066 4	****	0.954 8	0.920 1	0.925 7	0.921 9
冷水沟 3 Lengshuigou 3	0.058 4	0.046 3	****	0.920 0	0.918 2	0.933 7
南溪 1 Nanxi 1	0.074 1	0.083 3	0.083 4	****	0.913 8	0.930 6
南溪 2 Nanxi 2	0.080 3	0.077 2	0.085 3	0.090 1	****	0.925 8
王国卡 Wanguoka	0.073 8	0.081 3	0.068 6	0.071 9	0.077 1	****

注: 对角线上为遗传一致度; 对角线下为遗传距离。

Note: On the diagonal, genetic identity; below diagonal, genetic distance.

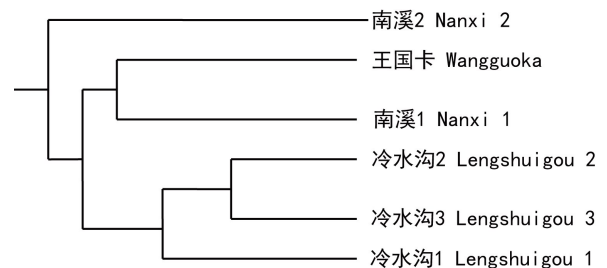


图 2 ISSR-PCR 种群遗传距离聚类图

Fig. 2 Dendrogram of ISSR cluster analysis of 6 populations

类图中可看出,6 个种群可分为两大类群:第一类群仅南溪 2 种群;第二类群包括其余的 5 个种群,即冷水沟 1、冷水沟 2、冷水沟 3、南溪 1 和王国卡种群。

在第二类群中,冷水沟 2 和冷水沟 3 的遗传距离最小,为 0.046 3,首先聚为一支,其次冷水沟 1 与它们的距离也较小,分别为 0.066 4 和 0.058 4,再聚为一支;再次是南溪 1 和王国卡种群聚为一支,二者的遗传距离为 0.071 9。

其中冷水沟 1、冷水沟 2、冷水沟 3 空间分布上较为接近,其次是南溪 1 和南溪 2 空间分布上较为接近,但冷水沟 2、冷水沟 3 与冷水沟 1 生境类型不同,南溪 1 和南溪 2 生境类型也不同,有着较大的遗传距离。

2.3 海拔、坡度和坡向与遗传多样性

6 个河口莲座蕨的遗传多样性与海拔、坡度和

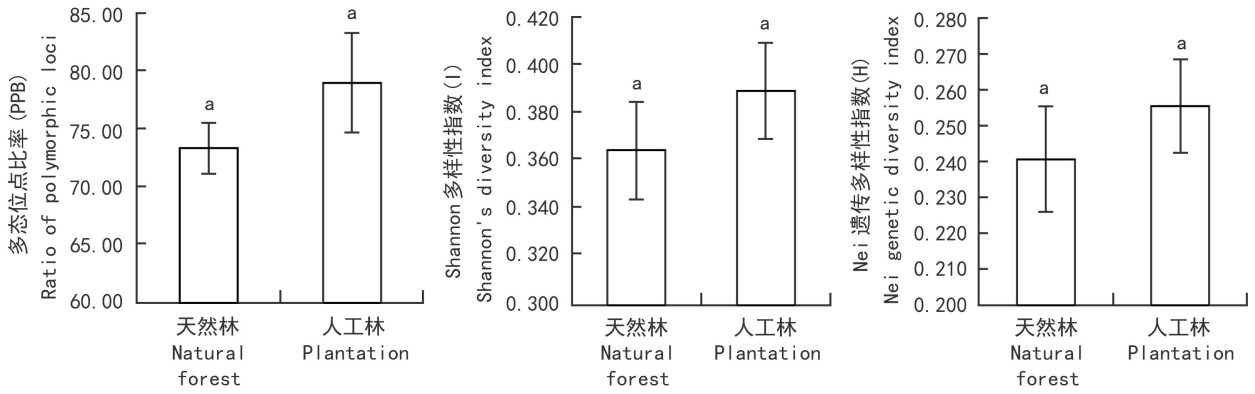


图3 生境类型与遗传多样性的相关性

Fig. 3 Relationship between habitat types and genetic diversity

坡向进行相关性分析,结果表明海拔、坡度和坡向与多态位点比率($r = 0.606, P = 0.202$)、Shannon 多样性指数($r = 0.740, P = 0.092$)和 Nei's 遗传多样性指数($r = 0.763, P = 0.077$)均无显著相关关系。

2.4 生境与遗传多样性

结合采集地的不同干扰程度,将 6 个种群分为两类,即人工林型种群的冷水沟 2、冷水沟 3、南溪 1、王国卡为一类,代表天然林种群的冷水沟 1(次生林)和南溪 2(原生林)为一类,两种生境类型的种群,多态位点比率、Shannon 多样性指数、Nei's 遗传多样性指数($P > 0.05$)显著性差异(图 3)。

3 讨论

Connell(1978)通过大量生态学研究提出了中度干扰假说,即中等程度的干扰水平能维持高度生物多样性。中度干扰假说是生态学中引用率最高的假说之一,但也存在广泛的质疑,Fox(2013)指出仅有少于 20%的研究显示中度干扰水平下生物多样性水平达到最高峰。干扰,尤其是中度干扰能增加生境及生态过程的多样性(叶林奇,2000),导致歧化选择过程,并发生遗传分化,形成不同的遗传多样性水平。广布种出现濒危状况的主要原因之一是生境遭到人类的破坏,导致其生境类型改变,这些广布种往往具有较高水平的遗传多样性,因此,干扰对其种群遗传结构将会有重要的影响。

本研究野外观察发现,作为林下植物的河口莲座蕨在不同群落生境中长势有明显差异,人工林和次生林中长势较好。本研究 6 个调查种群均表现出

较高等度的遗传多样性,在不同干扰程度的群落生境中具有不同水平的遗传多样性,一定强度干扰的种群与其它种群相比,具较高的遗传多样性,但无显著性差异。同时,遗传多样性与海拔、坡度、坡向无显著相关关系。产于英属 Pitcairn 岛的 *Angiopteris chauliodonta* 及产于台湾的伊藤氏原始莲座蕨(*Archangiopteris itoi*)为濒危及特有种,这两物种的 RAPD 分子标记表明,在人类干扰下其遗传多样性较低(Naomi et al, 2004; Xu et al, 2000)。与上述两物种相比,河口莲座蕨遗传多样性较高,具更好的环境适应能力,且不同群落生境类型下的河口莲座蕨种群都有较高的遗传多样性,存在一定强度人为干扰的生境中,种群具有相对高的遗传多样性水平。

通常良好的环境资源、较高的空间异质性和一定强度的歧化选择,都有利于植物维持较高的遗传多样性(红雨等,2006;张志红等,2005;黎中宝等,2000)。因此,对于适应环境能力较强、分布较广的河口莲座蕨来说,自然环境条件的不同(海拔、坡向)并不是造成其遗传多样性较高的因素,但一定强度或频率的干扰可能对维持其遗传多样性水平有更重要的意义。较高的遗传多样性可能是对干扰的一种适应,其它广布种也存在类似的情况(张颖娟等,2008)。

4 结论

(1)用 8 条引物进行 ISSR 分析,扩增共产生 127 条带,其中 119 为多态性条带,PPB 为 93.7%,说明 6 个河口莲座蕨种群具有高水平的遗传多样

性。(2)河口莲座蕨采自河口县不同地方,地形因子存在一定的差异,相关性分析显示海拔、坡度和坡向的差异对遗传多样性无显著影响。(3)不同干扰生境中,河口莲座蕨的遗传多样性存在一定差异。不同生境类型中,遗传多样性差异不显著,但一定程度或频率的干扰种群和其它种群相比,遗传多样性水平更高。

参考文献:

BANKS SC, GEOFFREY JC, ANNABEL LS, et al. 2013. How does ecological disturbance influence genetic diversity? [J]. *Trends Ecol Evol*, 28(11): 670-679.

CHEN LZ, MA KP. 2001. Biodiversity science: principle and practice [M]. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers. [陈灵芝, 马克平. 2001. 生物多样性科学: 原理与实践 [M]. 上海: 上海科学技术出版社.]

CONNELL JF. 1978. Diversity in tropical rain forests and coral reefs [J]. *Sci*, 199(4 335): 1 302-1 310.

FOX JW. 2013. The intermediate disturbance hypothesis should be abandoned [J]. *Trends Ecol Evol*, 28(2): 86-91.

HONG Y, WANG LH, LIANG XH. 2006. Analysis on the genetic diversity of *sabina vulgaris* at different habitats and the influence of the environmental factors [J]. *J Arid Land Res Environ*, 20(3): 184-187. [红雨, 王林和, 梁小和. 2006. 不同生境臭柏种群的遗传多样性分析及其与环境因子的相关性 [J]. 干旱区资源与环境, 20(3): 184-187.]

HUANG JX, ZHUANG XY. 2002. Genetic diversity of structure of the population of *Tsoongiodendron odorum* [J]. *Acta Phytocool Sin*, 26(4): 413-419. [黄九香, 庄雪影. 2002. 观光木种群遗传多样性研究 [J]. 植物生态学报, 26(4): 413-419.]

LI LQ. 1996. Studies on intra-and inter-species gene diversity of chinese beeches [J]. *Biol Divers Sci*, 4(2): 63-68. [李俊清. 1996. 中国水青冈种内种间遗传多样的初步研究 [J]. 生物多样性, 4(2): 63-68.]

LI ZB, LI P, DENG CY. 2000. Genetic diversity and differentiation of *Aegiceras corniculatum* populations in three different habitat [J]. *J Oceanogr Taiwan St*, 19(3): 379-385. [黎中宝, 林鹏, 邓传远. 2000. 三种不同生境的桐花树种群的遗传多样性和遗传分化 [J]. 台湾海峡, 19(3): 379-385.]

MURRAY MG, THOMPSON WF. 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA [J]. *Nucl Acid Res*, 8(19): 4 321-4 325.

NAOMI K, STEVE W, NOELEEN S. 2004. Conservation genetics and ecology of *Angiopteris chauliodonta* Copel. (Marattiaceae), a critically endangered fern from Pitcairn Island, South Central Pacific Ocean [J]. *Biol Conserv*, (117): 309-319.

PAN LQ, JI H, CHEN LQ. 2005. Genetic diversity of the natural populations of *Adiantum reniforme* var. *sinense* [J]. *Biol Divers Sci*, 13(2): 122-129. [潘丽芹, 季华, 陈龙清. 2005. 荷叶铁线蕨自然居群的遗传多样性研究 [J]. 生物多样性, 13(2): 122-129.]

QIAN CS, CHEN HY. 1959. Flora of China (Vol.2) [M]. Beijing: Science Press. [钱崇澍, 陈焕镛. 1959. 中国植物志(第2卷) [M]. 北京: 科学出版社.]

SHI LM. 1990. Genetic diversity and its conservation [J]. *Bioinformatics*, 2(4): 158-164. [施立明. 1990. 遗传多样性及其保存 [J]. 生物科学信息, 2(4): 158-164.]

WANG CY, YANG B, HE ZR, et al. 2012. Analysis on the geographical distribution characteristics of angiopteridaceae and its causes in Yungui plateau and Hengduan mountains, China [J]. *Plant Divers Res*, 34(4): 317-325. [王崇云, 杨斌, 和兆荣, 等. 2012. 云贵高原及横断山区莲座蕨科植物地理分布特征及其格局成因初探 [J]. 植物分类与资源学报, 34(4): 317-325.]

WANG J, YANG C, YIN J, et al. 2004. Changes of the genetic diversity of *Aremisa frigida* population under the disturbance of grazing [J]. *Acta Ecol Sin*, 24(11): 2 466-2 471. [王静, 杨持, 尹俊, 等. 2004. 冷蒿种群在放牧干扰下遗传多样性的变化 [J]. 生态学报, 24(11): 2 466-2 471.]

WEN LY, LI ZF. 2006. The effects of disturbance on maintaining mechanism of species diversity [J]. *J NW Norm Univ*, 42(4): 87-91. [文陇英, 李仲芳. 2006. 干扰对物种多样性维持机制的影响 [J]. 西北师范大学学报, 42(4): 87-91.]

XU ZW, WANG JB. 2000. Low RAPD polymorphism in *Archangiopteris itoi*, a rare and endemic fern in Taiwan [J]. *Bot Bull Acd Sin*, 41: 15-18.

YE LQ. 2000. Relation between disturbance and biodiversity [J]. *J Guizhou Univ; Nat Sci Ed*, 17(2): 129-134. [叶林奇. 2000. 干扰与生物多样性 [J]. 贵州大学学报·自然科学, 17(2): 129-134.]

ZHANG WB, JIN ZX, LI JM. 2005. Genetic diversity of *Sinocalycanthus chinensis* in four different habitats revealed by RAPD [J]. *Bull Bot Res*, 32(3): 313-318. [张文标, 金则新, 李钧敏. 2005. 不同生境夏腊梅群体遗传多样性的 RAPD 分析 [J]. 植物研究, 32(3): 313-318.]

ZHANG YJ, GAO RX, LI QF. 2008. Analysis on the population genetic diversity of desert shrub *Reaumuria soongoricain* disturbed habitats [J]. *J Arid Land Res Environ*, 22(3): 147-151. [张颖娟, 高瑞霞, 李青丰. 2008. 不同干扰生境中荒漠小灌木红砂种群遗传多样性研究 [J]. 干旱区资源与环境, 22(3): 147-151.]

ZHANG ZH, TANG T, ZHONG RZ, et al. 2005. Effects of divergent habitat on genetic structure of population of *Excoecaria agallocha*, a mangrove associate [J]. *J Genet Genomics*, 32(12): 1 286-1 292. [张志红, 唐恬, 周仁超, 等. 2005. 异质性生境对半红树植物海漆 (*Excoecaria agallocha*) 居群遗传结构的影响 [J]. 遗传学报, 32(12): 1 286-1 292.]

ZHOU Y, GAO L, WANG ZW, et al. 2009. Application of molecular marker techniques in genetic diversity of pteridophytes [J]. *J Wuhan Bot Res*, 27(6): 667-673. [周媛, 高磊, 汪志伟, 等. 2009. 分子标记技术在蕨类植物遗传多样性研究中的应用 [J]. 武汉植物学研究, 27(6): 667-673.]

ZHOU YP, GE S, WANG XD. 2001. Molecular markers in systematic and evolutionary botany [M]. Beijing: Science Press [皱喻萍, 葛颂, 王晓东. 2001. 系统与进化植物学中的分子标记 [M]. 北京: 科学出版社.]

ZHU WM, ZHANG GF, LU SG, et al. 2006. Flora of Yunnan (Vol. 20) [M]. Beijing: Science Press. [朱维明, 张光飞, 陆树刚, et al. 2006. 云南植物志(第20卷) [M]. 北京: 科学出版社.]