

## 濒危植物伯乐树遗传多样性的初步研究

彭沙沙<sup>1</sup>, 黄华宏<sup>1</sup>, 童再康<sup>1</sup>, 周厚君<sup>1</sup>, 时剑<sup>1</sup>, 余国民<sup>2</sup>, 骆文坚<sup>3</sup>

<sup>1</sup>浙江农林大学亚热带森林培育国家重点实验室培育基地, 临安 311300;

<sup>2</sup>浙江省龙泉市林业科学研究所, 龙泉 323700; <sup>3</sup>浙江省林业种苗管理总站, 杭州 310020)

**摘要:**利用 ISSR 和 RAPD 分子标记技术对 23 份伯乐树材料进行遗传多样性研究。结果表明, 筛选出的 13 条 ISSR 和 10 条 RAPD 引物分别得到 79 条和 57 条扩增带, 其中多态性条带分别为 50 条和 33 条, 多态性条带比率分别为 63.29% 和 57.89%; ISSR 和 RAPD 检测的有效等位基因数分别为 1.4036 和 1.3601, 基因多样性为 0.2305 和 0.2115, Shannon 信息指数为 0.3405 和 0.3145; 分析表明 23 份伯乐树之间具有比较丰富的遗传变异。对比 ISSR 和 RAPD 在 PCR 反应中的稳定性和检测变异的能力表明, 对于试验条件的稳定性而言, ISSR 优于 RAPD, 且总的来说 ISSR 能检测到比 RAPD 更多的遗传变异。另外, 本研究推断人类活动的干扰和生境的片断化是导致伯乐树濒危现状的主要因素之一。

**关键词:**伯乐树; RAPD; ISSR; 遗传多样性

## Genetic Diversity of Endangered Plant *Bretschneidera sinensis*

PENG Sha-sha<sup>1</sup>, HUANG Hua-hong<sup>1</sup>, TONG Zai-kang<sup>1</sup>,

ZHOU Hou-jun<sup>1</sup>, SHI Jian<sup>1</sup>, YU Guo-min<sup>2</sup>, LUO Wen-jian<sup>3</sup>

<sup>1</sup>The Nurturing Station for the State Key Laboratory of Subtropical Silviculture, Linan 311300;

<sup>2</sup>Forest Research Institute of Longquan City, Longquan 323700;

<sup>3</sup>Forest Tree Seed and Stock Master Station of Zhejiang Province, Hangzhou 310020)

**Abstract:** To provide biological foundation for the utilization and breeding of Chinese *Bretschneidera* germplasm, ISSR and RAPD were applied to detect genetic diversity of 23 accessions of Chinese *Bretschneidera* germplasm. 79 bands were applied with 13 ISSR primers, of which 57 (63.29%) were polymorphic. 57 bands were applied with 10 RAPD primers, of which 33 (57.89%) were polymorphic. Effective number of alleles  $N_e$ , Nei's index  $H$ , the Shannon information index were 1.4306 and 1.3601, 0.2305 and 0.2115, 0.3405 and 0.3145. The two molecular markers demonstrate that both ISSR and RAPD are efficient approaches for genetic diversity analysis of Chinese *Bretschneidera* germplasm and ISSR is more suitable comparatively in terms of reproducibility and ability of detecting genetic polymorphism. The influence of human activity and forest fragmentation may play a main role in creating this species's current endangered status.

**Key words:** *Bretschneidera sinensis* Hemsl.; RAPD; ISSR; Genetic diversity

伯乐树 (*Bretschneidera sinensis* Hemsl.) 为伯乐树科伯乐树属植物, 因其花萼似钟状, 故又名钟萼木, 是我国特有的单型科植物, 零散分布于浙江、台湾、福建、湖南、湖北、广东、广西和四川等省(区), 处于濒危状态, 已被列为国家一级保护植物<sup>[1]</sup>。伯乐树作为第三纪古热带植物区系的孑遗种, 在研究被子

植物的系统发育及古地理、古气候等方面均有重要的科学价值<sup>[2-3]</sup>。种内分子遗传多样性是生物多样性的核心内容之一, 研究濒危植物分子遗传多样性不仅有助于了解物种的进化历史以及濒危机制, 而且关系到能否采取科学有效的措施以保护濒危物种。然而, 目前有关伯乐树的研究报道较少, 且仅限

收稿日期: 2010-07-27 修回日期: 2011-02-23

基金项目: 浙江省重大科技专项(2006C12059-4); 浙江省科技重点项目(2006C22064)

作者简介: 彭沙沙, 硕士研究生, 主要从事林木遗传育种研究。E-mail: shashabingyu1129@163.com

通讯作者: 黄华宏, 副教授, 从事林木遗传育种研究。E-mail: huanghh@zafu.edu.cn

于系统发育<sup>[4-8]</sup>、物候特征<sup>[9]</sup>、种子繁殖<sup>[10-11]</sup>和组织培养<sup>[12]</sup>等方面,鲜见报道对该物种在 DNA 水平上的遗传多样性的研究。在我国,ISSR 和 RAPD 技术已广泛应用于很多物种的遗传多样性研究<sup>[13-14]</sup>。本文以来自浙江南部山区和江西九连山的 23 份伯乐树为材料,采用 ISSR 和 RAPD 技术,初步分析其遗传多样性,以便为进一步的资源保护提供理论依据。

表 1 供试材料

Table 1 The information of test materials

编号 Code	样品名称 Name	采样地 Source	采样地经度 Longitude	采样地纬度 Latitude	OD <sub>260/280</sub> OD value
1	庆元 1 号	浙江庆元巾子峰	119°08'E	27°41'N	1.98
2	庆元 2 号	浙江庆元巾子峰	119°08'E	27°41'N	1.91
3	庆元 3 号	浙江庆元巾子峰	119°08'E	27°41'N	1.96
4	庆元 4 号	浙江庆元巾子峰	119°08'E	27°41'N	1.92
5	卢峰 1 号	浙江庆元隆宫	118°59'E	27°49'N	1.92
6	卢峰 2 号	浙江庆元隆宫	118°59'E	27°49'N	1.94
7	卢峰 3 号	浙江庆元隆宫	118°59'E	27°49'N	1.98
8	卢峰 4 号	浙江庆元隆宫	118°59'E	27°49'N	2.04
9	龙泉 1 号	浙江龙泉凤阳山	119°38'E	28°08'N	2.05
10	龙泉 2 号	浙江龙泉凤阳山	119°38'E	28°08'N	1.99
11	龙泉 3 号	浙江龙泉凤阳山	119°38'E	28°08'N	1.95
12	龙泉 4 号	浙江龙泉凤阳山	119°38'E	28°08'N	2.02
13	龙泉 5 号	浙江龙泉凤阳山	119°38'E	28°08'N	2.02
14	龙泉 6 号	浙江龙泉凤阳山	119°38'E	27°58'N	2.04
15	泰顺 1 号	浙江泰顺乌岩岭	119°07'E	27°58'N	1.92
16	景宁 1 号	浙江景宁上标场	119°38'E	27°58'N	2.04
17	景宁 2 号	浙江景宁上标场	119°38'E	27°58'N	2.03
18	景宁 3 号	浙江景宁上标场	119°38'E	27°58'N	2.01
19	景宁 4 号	浙江景宁上标场	119°38'E	27°58'N	1.97
20	江西 1 号	江西龙南九连山	114°28'E	24°33'N	2.06
21	江西 2 号	江西龙南九连山	114°28'E	24°33'N	2.03
22	江西 3 号	江西龙南九连山	114°28'E	24°33'N	1.97
23	江西 4 号	江西龙南九连山	114°28'E	24°33'N	1.99

## 1.2 主要仪器及试剂

用于 ISSR-PCR 扩增反应的 ISSR 引物 (10 μmol/μl) 由南京金斯瑞生物科技有限公司合成,引物序列参照加拿大哥伦比亚大学 (UBC) 公布的第 9 套 ISSR 引物序列 ([http://www.michaelsmith.ubc.ca/services/NAPS/Primers\\_Sets](http://www.michaelsmith.ubc.ca/services/NAPS/Primers_Sets)); Taq DNA 聚合酶 (5 U/μl)、MgCl<sub>2</sub> (25 mmol/L)、dNTPs (2.5 mmol/L) 以及 DNA Marker 等均购于大连宝生物工程有限公司。PCR 扩增反应在 HYBAID 公司

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试的伯乐树叶片样品共 23 份 (表 1), 其中 19 份采自浙江省南部的庆元、龙泉、景宁、泰顺等县, 其余 4 份采自江西省龙南县的九连山。野外采集无病斑、无虫咬痕迹的叶片, 迅速用硅胶干燥保存, 带回实验室后贮存于 -30℃ 冰箱备用。

生产的 PCRexpress 扩增仪上进行; 电泳仪、电泳槽以及凝胶成像系统由 Bio-Rad 公司生产; 电泳所用主要试剂 Tris、琼脂糖等购自上海生工生物工程技术服务有限公司。

### 1.3 试验方法

**1.3.1 伯乐树 DNA 的提取及检测** 采用改良后的 CTAB 法提取基因组 DNA, 通过蛋白质核酸蛋白仪检测所提 DNA 的纯度和浓度, 同时采用 1.0% 琼脂糖电泳检测 DNA 是否降解。

**1.3.2 ISSR-PCR 反应体系及程序** 通过单因素及正交试验建立伯乐树的 ISSR-PCR 扩增体系:20 $\mu$ l 体系含 30ng 模板 DNA, 0.75U Tag DNA 聚合酶, 1.5 mmol/L Mg<sup>2+</sup>, 0.1mmol/L dNTP, 0.4 mmol/L 引物。扩增程序:94 $^{\circ}$ C 预变性 5min; 94 $^{\circ}$ C 变性 30s, 38 $^{\circ}$ C 退火 40s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 90s, 35 个循环;最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10min, 16 $^{\circ}$ C 终止反应。由于不同的引物要求的最佳退火温度不同, 需要根据每个引物自身的 TM 值进行退火温度梯度试验, 以确定采用引物的最适退火温度。反应结束后, PCR 产物在含有 0.5 $\mu$ g/ml EB 的 1.0% 琼脂糖凝胶中电泳, 以 2000 Ladder DNA Marker 为分子量标记, 在 BIO-RAD 凝胶成像系统上进行拍照分析。

**1.3.3 RAPD-PCR 反应扩增程序** 通过单因素及正交试验建立伯乐树的 RAPD-PCR 扩增体系:20 $\mu$ l 体系含 40ng 模板 DNA, 0.5U Tag DNA 聚合酶, 1.5mmol/L Mg<sup>2+</sup>, 0.25mmol/L dNTP, 0.5mmol/L 引物。扩增程序:94 $^{\circ}$ C 预变性 5min; 94 $^{\circ}$ C 变性 30s, 38 $^{\circ}$ C 退火 40s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 90s, 40 个循环; 72 $^{\circ}$ C 延伸 10min, 16 $^{\circ}$ C 保存。反应结束后, PCR 产物在含有 0.5 $\mu$ g/ml EB 的 1.0% 琼脂糖凝胶中电泳, 以 2000 Ladder DNA Marker 为分子量标记, 在 BIO-RAD 凝胶成像系统上进行拍照分析。

#### 1.4 数据分析

ISSR 与 RAPD 标记是显性标记, 将每个扩增条带作为一个位点, 记录清晰稳定的条带, 有扩增位点的记为 1, 无扩增位点的记为 0, 形成 ISSR 表型数据矩阵用于进一步统计分析。任一位点若有 1 个或 1 个以上个体不同于其他个体即为 1 个多态位点。应

用 NTSYS 软件进行 UPGMA (非加权算术平均数聚类) 分析, 采用多样性分析的 POPGENE32 软件分别对 RAPD 和 ISSR 扩增结果进行遗传分析, 得到多态性位点及其百分数、有效等位基因数、基因的多样性及 Shannon 信息指数等遗传参数。

## 2 结果与分析

### 2.1 基因组 DNA 的提取

采用改良 CTAB 法提取伯乐树叶片样品 DNA 的 OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 值为 1.80 ~ 2.09, 表明 DNA 纯度较好。经 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测, 发现点样孔清晰, 条带完整, 证明无 RNA 污染。表明本试验提取的 DNA 质量较好, 适用于 ISSR-PCR 及 RAPD-PCR 扩增。

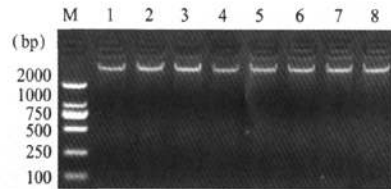


图 1 8 个伯乐树样品 DNA 的电泳结果  
Fig.1 The electrophoresis results of eight DNA from *Bretschneidera sinensis*

### 1.2 引物筛选

随机选取 3 个不同来源的伯乐树叶样 DNA 为模板, 采用 84 条 ISSR 引物和 48 条 RAPD 随机引物进行筛选。结果选出稳定、清晰且具有多态性的 13 条 ISSR 引物和 10 条 RAPD 引物 (表 2 和表 3), 用于后续 23 份伯乐树样品的遗传多样性分析。

表 2 13 条 ISSR 引物序列和扩增结果

Table 2 The sequence of 13 ISSR primers and amplified results

引物编号 Primer code	引物(5'-3') Primer sequence	退火温度( $^{\circ}$ C) Annealing temperature	扩增总带数 Scored bands	多态性条带 Polymorphic bands	多态性百分率(%) Percentage of polymorphic band
UBC817	(CA) <sub>8</sub> T	50	6	3	50.00
UBC822	(TC) <sub>8</sub> A	50	4	2	50.00
UBC823	(TC) <sub>8</sub> C	52	7	3	42.85
UBC824	(AG) <sub>8</sub> G	52	9	5	55.55
UBC834	(AG) <sub>8</sub> YT	50	6	3	50.00
UBC835	(CT) <sub>8</sub> YC	52	6	2	33.33
UBC844	(CT) <sub>8</sub> RC	52	8	7	87.50
UBC845	(CA) <sub>8</sub> RG	52	4	2	50.00
UBC846	(CA) <sub>8</sub> RT	50	4	2	50.00
UBC857	(AC) <sub>8</sub> YG	52	7	5	71.42
UBC872	(GATA) <sub>4</sub>	40	8	6	75.00
UBC876	(CATA) <sub>4</sub>	40	6	6	100.00
UBC881	(GGCT) <sub>3</sub>	48	4	4	100.00

表 3 10 条 RAPD 引物序列和扩增结果

Table 3 The sequence of 10 RAPD primers and amplified results

引物编号	引物(5'-3')	扩增总带数	多态性条带	多态性百分率(%)
Primer code	Primer sequence	Scored bands	Polymorphic bands	Percentage of polymorphic band
S25	TGCGCCCTTC	4	2	20.00
S29	TGGGGGACTC	5	3	30.00
S30	CTGCTGGGAC	9	5	55.55
S31	TCTCATCCCC	5	2	40.00
S49	CTCACCGTCC	6	3	50.00
S130	AGGGCCGTCT	4	2	50.00
S132	CAGCTCACGA	9	6	66.66
S133	CTCTCGGCCA	6	3	50.00
S136	AGCGTCCTCC	5	2	40.00
S144	GGAAGTCGCC	4	2	50.00

## 2.2 ISSR-PCR 和 RAPD-PCR 扩增结果多态性分析

采用两种标记技术分别对参试的 23 份伯乐树材料进行分析,获得了较好的扩增结果(图 2 和图 3)。表 2 和表 3 分别列出了 ISSR 和 RAPD 的扩增条带情况,13 条 ISSR 引物共检测出位点 79 个,平均每条引物 6.1 个,其中多态位点 50 个,占 63.29%,平均每条引物多态性位点 3.85 个,其中扩

增条带数最多的是引物 UBC824 为 9 条,多态性条带最多的引物是 UBC876 和 UBC881,多态率高达 100%;10 条 RAPD 引物共检测出位点 57 个,平均每条引物 5.7 个,其中多态位点 33 个,占 57.89%,平均每条引物多态性位点 3.3 个,其中扩增条带数最多的引物是 S30 和 S132,多态性条带最多的引物是 S132,多态率高达 66.66%。

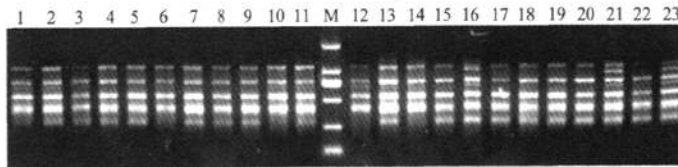


图 2 ISSR 引物 UBC834 对 23 个样品的扩增结果

Fig.2 The amplification of ISSR primer UBC834

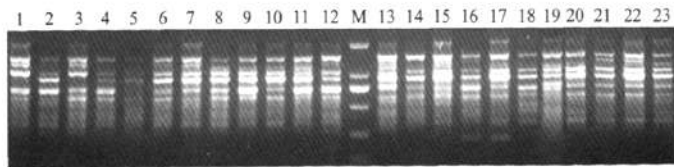


图 3 RAPD 引物 S132 对 23 个样品的扩增结果

Fig.3 The amplification of RAPD primer S132

## 2.3 遗传多样性及遗传相似系数

有效等位基因数和基因多样性是衡量遗传变异最常用的两个遗传指标,具有明确的遗传学意义,另外 Shannon 信息指数本身没有遗传意义,但方便与同类研究进行比较<sup>[15]</sup>。利用 POPGENE32 软件计算分析了样品两种标记的 3 个遗传参数。ISSR 方法的有效等位基因数为 1.4036,基因的多样性为

0.2305,Shannon 信息指数为 0.3405;RAPD 方法以上 3 个参数分别为 1.3601,0.2115,0.3145。总体上看 ISSR 标记所获得的值都略高于 RAPD 标记,说明 ISSR 标记能获得单位引物多态位点的能力高于 RAPD。从计算结果看,供试的 23 份伯乐树样品具有比较丰富的遗传变异。

从图 4 和图 5 可以看出两种标记方法的聚类结

果不完全相同,但总体趋势是一致的,与地理分布大致相同。23份伯乐树种质资源多样性的 RAPD 分析,在相似系数 0.89 处可以将材料分为 7 大类,第 1 类来自浙江庆元巾子峰的 3 个样品,包括 1 号、2 号和 3 号;第 2 类是来自浙江庆元隆宫的 4 个样品;第 3 类来自浙江龙泉凤阳山的 1、3、4 号样品;第 4 类来自浙江龙泉凤阳山的 2、5、6 号样品;第 5 类来自江西龙南九连山的 4 个样品;第 6 类是来自浙江景宁上标的 4 个样品;第 7 类是来自浙江庆元巾子峰的 4 号样品和泰顺乌烟岭的 1 号样品。23 份伯乐

树种质资源的 ISSR 分析,在相似系数 0.85 左右也将材料分为 7 类,与 RAPD 分类有点出入,差别在于将来自浙江龙泉凤阳山的 6 份材料分为两大类,第 1 类包括 1、2、3、4 号样品,第 2 类包括 5、6 号样品。

2.4 两种方法的相关性分析

为了检测同组样品内 ISSR 和 RAPD 分析的相关程度,对基于这两种标记的遗传相似性系数矩阵进行了相关性分析。两种标记检测的遗传相似性的相关系数为 0.282 (N = 253),这进一步验证了两种标记聚类结果的相似性。

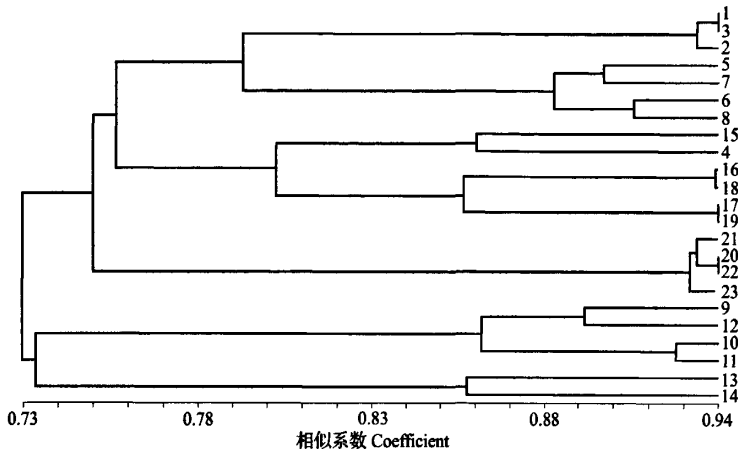


图 4 基于 ISSR 标记对 23 份材料 UPGMA 聚类图

Fig. 4 Dendrogram of 23 different materials based on ISSR markers

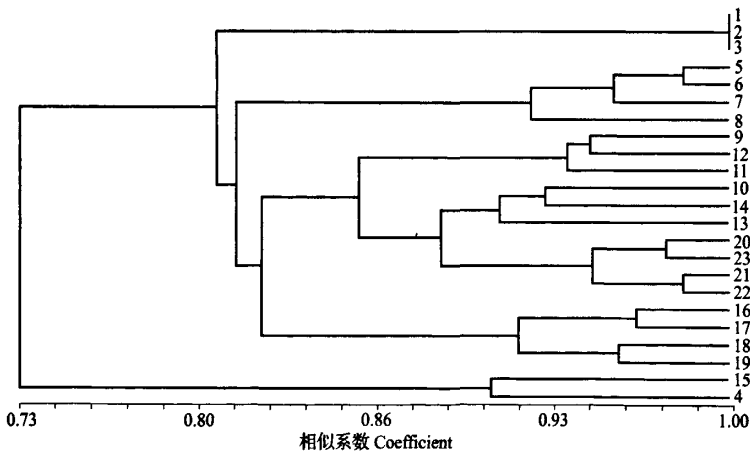


图 5 基于 RAPD 标记对 23 份材料 UPGMA 聚类图

Fig. 5 Dendrogram of 23 different materials based on RAPD markers

3 讨论

能否得到高质量的 DNA 是成功进行分子标记分析的关键一步。濒危植物伯乐树分布僻远,野外采样时多使用硅胶干燥方法保存,同时由于其叶片

含较多的多糖、多酚等成分,使得高质量 DNA 的获得存在一定难度。试验发现常规的 CTAB 法提取的 DNA 不仅抽提效率低,而且多数样品溶液呈现黄褐色,PCR 扩增时得不到产物。因此,本研究在常规 CTAB 法上作了适当改进,首先研磨样品时加入一

定量的 PVP 粉末以抗氧化;其次转移要迅速以防止材料暴露过久;最后料液比要控制适当,1ml 提取液加 40~50mg 样本即可。

一般认为特有种、濒危种和狭域种的遗传多样性水平较低<sup>[15-16]</sup>,但也有报道有些特有种、狭域种甚至濒危种也能保持较高水平的遗传多样性<sup>[17-20]</sup>。本研究通过对来自浙江南部和江西九连山的 23 份伯乐树样品分子标记分析,显示其具有较高的遗传多样性水平,13 条 ISSR 引物和 10 条 RAPD 引物共产生 83 个多态位点,平均多态位点百分率为 61.03%,和连香树、大果木莲等濒危植物的研究结果相近<sup>[21-22]</sup>。导致狭域种、濒危种具有较高水平遗传多样性的因素有很多,如新种形成、繁育系统、形态突变、多次奠基者效应或者冰期残余种等<sup>[23-25]</sup>。据报道,伯乐树野生植株在浙南的丽水地区仅发现 293 株,其中幼树 205 株,大树 88 株,且分布于海拔 450~1400m 的沟谷、山坡林中,生境较局限<sup>[26]</sup>。研究在采样过程中也发现采集地伯乐树零星分散于林中,多数植株间相距 1000m 以上,株间杂交可能性极小。由此可以推测它可能拥有一个广泛连续分布且具丰富遗传基础的祖先,只是随着人类活动的日益频繁,生境片断化的不断加剧,以致基因交流有限且呈不连续分布。因此,参照其他濒危物种保护遗传学的研究结果<sup>[17]</sup>,提出以下保护建议:(1)通过加强森林资源管理,创造优越的森林环境等,对现存的所有个体实施及时有效的原生境保护;(2)需要在各分布点进行大量的采样用于非原生境保护研究,并在此基础上采用不同居群、个体间进行混合繁殖和相互移植的方法,以提高其遗传多样性水平。

#### 参考文献

- [1] 于水福. 国家重点保护野生植物名录:第一批[J]. 植物杂志, 1999(5):4-11
- [2] 吴征镒. 中国种子植物属的分布类型[J]. 云南植物研究, 1991(4):29
- [3] 吴征镒,路安民,汤彦承. 中国被子植物科属综论[M]. 北京: 科学出版社,2003:702
- [4] Tang Y. Notes on the systematic position of *Bretschneidera sinensis* as shown by its timber anatomy [J]. Bull Fan Merm Inst Bio, 1935 (6):195
- [5] 刘成运. 伯乐树科及其近缘科的花粉形态研究[J]. 云南植物研究, 1986,8(4):441-450
- [6] Tobe H, Peng C L. The embryology and taxonomic relationship of *Bretschneidera* (*Bretschneideraceae*) [J]. Bot J Linn Soc, 1990, 103:139-152
- [7] 吕静,胡玉佳. 伯乐树茎次生木质部结构的研究[J]. 植物学报, 1994,36(6):459-465
- [8] Ronse Decraene L P R, Yang T Y A, Schols P, et al. Floral anatomy and systematics of *Bretschneidera* (*Bretschneideraceae*) [J]. Bot J Linn Soc, 2002, 139:29-45
- [9] 王娟,刘仁林,廖为明. 伯乐树生长发育节律和物候特征研究[J]. 江西科学, 2008,26(4):552-555
- [10] 伍铭凯,杨汉远,龙舞,等. 伯乐树种子育苗试验[J]. 贵州林业科技, 2006(4):39
- [11] Qiao Q, Chen H F, Xing F W, et al. Seed germination protocol for the threatened plant species, *Bretschneidera sinensis* Hemsl. [J]. Seed sci tech, 2009,37(1):70-78
- [12] 郭治友,龙应霞,肖国学. 钟萼木的组织培养和快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2007(1):127
- [13] 马艳明,李斯洋,范玉顶,等. 黄淮麦区小麦品种(系)的 ISSR 位点遗传多样性分析[J]. 植物遗传资源学报, 2006,7(1):13-17
- [14] 程春明,石云素,宋燕春,等. ISSR 分子标记技术在分析玉米自交系遗传关系研究中的适用性[J]. 植物遗传资源学报, 2005,6(2):172-177
- [15] Yeh F C, Yang R, Boyle T. Popgene version 1.32; Microsoft window-based freeware for population genetic analysis [M]. Edmonton: University of Alberta, 2000
- [16] 张大勇,姜新华. 遗传多样性与濒危植物保护生物学研究进展[J]. 生物多样性, 1999,7(1):31-37
- [17] 李昂,葛颂. 植物保护遗传学研究进展[J]. 生物多样性, 2002,10(1):61-71
- [18] 陈俊秋,慈秀芹,李巧明,等. 樟科濒危植物思茅木姜子遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 生物多样性, 2006,14(5):410-420
- [19] 向成华,朱秀志,张华,等. 濒危植物峨眉笑的遗传多样性研究[J]. 西北林学院学报, 2009,24(5):66-69
- [20] 李艳,鲁顺保,刘晓燕,等. 濒危植物华东黄杉种群遗传多样性 ISSR 分析[J]. 武汉植物学研究, 2010,28(1):38-42
- [21] 王静,张小平,李文良,等. 濒危植物连香树居群的遗传多样性和遗传分化研究[J]. 植物研究, 2010,30(2):208-214
- [22] 陈少瑜,韩燕,吴涛,等. 木兰科濒危植物大果木莲遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 福建林学院学报, 2010,30(1):56-60
- [23] Kruckeberg A K. Biological aspects of endemism in higher plants [J]. Ann Rev Ecol Syst, 1985,16:447-479
- [24] Ranker T A. Evolution of high genetic variability in the rare Hawaiian fern *Adenophorus periens* and implications for conservation management[J]. J. Biol Conse, 1994,70:19-24
- [25] Zawko G, Krauss S L, Dixon K W, et al. Conservation genetics of the rare and the endangered *Leucopogon obtectus* (*Ericaceae*) [J]. Mol Ecol, 2001,10:2389-2396
- [26] 潘绍方. 丽水生态示范区国家一级保护重点野生植物资源探讨[J]. 现代农业科技, 2008,5:17-18

# 濒危植物伯乐树遗传多样性的初步研究

作者: [彭沙沙](#), [黄华宏](#), [童再康](#), [周厚君](#), [时剑](#), [余国民](#), [骆文坚](#), [PENG Sha-sha](#), [HUANG Hua-hong](#), [TONG Zai-kang](#), [ZHOU Hou-jun](#), [SHI Jian](#), [YU Guo-min](#), [LUO Wen-jian](#)

作者单位: [彭沙沙, 黄华宏, 童再康, 周厚君, 时剑, PENG Sha-sha, HUANG Hua-hong, TONG Zai-kang, ZHOU Hou-jun, SHI Jian \(浙江农林大学亚热带森林培育国家重点实验室培育基地, 临安, 311300\)](#), [余国民, YU Guo-min \(浙江省龙泉市林业科学研究所, 龙泉, 323700\)](#), [骆文坚, LUO Wen-jian \(浙江省林业种苗管理总站, 杭州, 310020\)](#)

刊名: [植物遗传资源学报](#) **ISTIC PKU**

英文刊名: [JOURNAL OF PLANT GENETIC RESOURCES](#)

年, 卷(期): 2011, 12(3)

## 参考文献(26条)

1. [潘绍方](#) [丽水生态示范区国家一级保护重点野生植物资源探讨](#) 2008
2. [Zawko G; Krauss S L; Dixon K W](#) [Conservation genetics of the rare and the endangered Leucopogon obtectus\(Ericaceae\)](#) 2001
3. [Ranker T A](#) [Evolution of high genetic variability in the rare Hawaiian fern Adiantum perianth and implications for conservation management](#) 1994
4. [Kruckeberg A K](#) [Biological aspects of endemism in higher plants](#) 1985
5. [陈少瑜; 韩燕; 吴涛](#) [木兰科濒危植物大果木莲遗传多样性的ISSR分析](#) 2010(01)
6. [王静; 张小平; 李文良](#) [濒危植物连香树居群的遗传多样性和遗传分化研究](#) 2010(02)
7. [李艳; 鲁顺保; 刘晓燕](#) [濒危植物华东黄杉种群遗传多样性ISSR分析](#) 2010(01)
8. [向成华; 朱秀志; 张华](#) [濒危植物峨眉笑的遗传多样性研究](#) 2009(05)
9. [陈俊秋; 慈秀芹; 李巧明](#) [樟科濒危植物思茅木姜子遗传多样性的ISSR分析](#) 2006(05)
10. [李昂; 葛颂](#) [植物保护遗传学研究进展](#) 2002(01)
11. [张大勇; 姜新华](#) [遗传多样性与濒危植物保护生物学研究进展](#) 1999(01)
12. [Yeh F C; Yang R; Boyle T](#) [Popgene version 1.32: Microsoft window-based freeware for population genetic analysis](#) 2000
13. [程春明; 石云素; 宋燕春](#) [ISSR分子标记技术在分析玉米自交系遗传关系研究中的适用性](#) 2005(02)
14. [马艳明; 李斯泽; 范玉顶](#) [黄淮麦区小麦品种\(系\)的ISSR位点遗传多样性分析](#) 2006(01)
15. [郭治友; 龙应霞; 肖围学](#) [钟萼木的组织培养和快速繁殖](#) 2007(01)
16. [Qiao Q; Chen H F; Xing F W](#) [Seed germination protocol for the threatened plant species, Bretschneidera sinensis Hemsl](#) 2009(01)
17. [伍铭凯; 杨汉远; 龙舞](#) [伯乐树种子育苗试验](#) 2006(04)
18. [王娟; 刘仁林; 廖为明](#) [伯乐树生长发育节律和物候特征研究](#) 2008(04)
19. [Ronse Decrsene L P R; Yang T Y A; Schols P](#) [Floral anatomy and systematics of Bretschneidera\(Bretschneideraceae\)](#) 2002
20. [吕静; 胡玉佳](#) [伯乐树茎次生木质部结构的研究](#) 1994(06)
21. [Tobe H; Peng C L](#) [The embryology and taxonomic relationship of Bretschneidera\(Bretschneideraceae\)](#) [外文期刊] 1990
22. [刘成运](#) [伯乐树科及其近缘科的花粉形态研究](#) 1986(04)

23. [Tang Y](#) Notes on the systematic position of *Bretschneidera sinensis* as shown by its timber anatomy 1935 (06)
24. [吴征锚](#); [路安民](#); [汤彦承](#) [中国被子植物科属综论](#) 2003
25. [吴征镒](#) [中国种子植物属的分布类型](#) 1991 (04)
26. [于永福](#) [国家重点保护野生植物名录:第一批](#) 1999 (05)

本文链接: [http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical\\_zwyczyxb201103005.aspx](http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zwyczyxb201103005.aspx)