

# 不同地理种源杉木的分子多态性分析

杨玉玲<sup>1,2</sup>, 马祥庆<sup>2\*</sup>, 张木清<sup>3</sup>

(1. 宁德师范高等专科学校, 福建 宁德 352100; 2. 福建农林大学林学院, 福建杉木研究中心, 福州 350002;  
3. 农业部甘蔗生理生态与遗传改良重点实验室, 福州 350002)

**摘要:**利用 ISSR 分子标记技术和筛选出的 22 条 ISSR 引物, 对 24 个不同地理种源杉木的 DNA 进行扩增, 共扩增出 188 条谱带, 其中多态条带 173 条, 占总数的 92.0%。经计算, 平均位点的有效等位基因是 1.3408, Nei's 基因多样性指数是 0.2154, Shannon 多态性信息指数为 0.3458, 表明不同杉木种源间具有较高的遗传多样性。通过 UPGMA 法聚类分析, 可把 24 个种源杉木分为五个类群: 中带东区生态型、中带东南区生态型、中带中区生态型、南带生态型和北带生态型, 表明杉木地理种源遗传距离聚类呈现出一定的地域性分布规律。

**关键词:**杉木; ISSR; 分子多态性; 地理种源

中图分类号: S791.27

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2009)02-0183-07

## Molecular Polymorphic Analysis for Different Geographic Provenances of Chinese Fir

YANG Yu-ling<sup>1,2</sup>, MA Xiang-qing<sup>2\*</sup>, ZHANG Mu-qing<sup>3</sup>

(1. Ningde Teacher College, Ningde 352100, China; 2. College of Forestry, Fujian Chinese Fir Research Center, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; 3. Key Lab. of Eco-physiology and Genetic Improvement for Sugarcane, Fuzhou 350002, China)

**Abstract:** Genetic diversity of 24 geographic provenances of Chinese fir (*Cunninghamia lanceolata*) was analysed by ISSR (Inter-simple sequence repeat) markers. Twenty-two primers were screened from 100 ISSR primers. 188 DNA bands were amplified from 24 provenances of Chinese fir, 173 bands of which belonged to polymorphic bands, account for 92.0%. The effective number of alleles (Ne) was 1.3408, Nei's index of genetic diversity was 0.2154 and Shannon's index of polymorphic information was 0.3458. It indicated that the different geographic provenances of Chinese fir had higher genetic diversity. Twenty-four provenances of Chinese fir were divided into five groups by UPGMA cluster analysis: Eastern Area Ecotype in Middle Zone, Southeastern Area Ecotype in Middle Zone, Middle Area Ecotype in Middle Zone, Southern Zone Ecotype, Northern Zone Ecotype. This showed that the genetic distances of different geographic provenances of Chinese fir present regular geographical distribution.

**Key words:** Chinese fir; ISSR; Molecular polymorphism; Geographic provenances

杉木(*Cunninghamia lanceolata* (Lamb.) Hook)是我国南方重要的商品用材树种, 具有生长快、材质好、产量高、用途广的特点。杉木分布范围广, 在我国南方 16 个省区均有分布, 因此研究不同分布区杉木种源的遗传变异规律对于揭示杉木种群分布格局具有重要现实意义。同时由于杉木自花不育,

长期的异花授粉和人工栽培使杉木遗传高度杂合, 掌握杉木的遗传背景和遗传变异对育种材料选择和杂交亲本选配显得十分重要。目前对不同杉木地理种源的形态学、生理学和生态学特性进行了大量研究<sup>[1-8]</sup>。

近年来, 随着分子生物技术的迅猛发展, 利用

收稿日期: 2008-03-24 接受日期: 2008-11-04

基金项目: 福建省科技重大专项基金项目(2006NZ0001-2); 国家林业局 948 基金项目(2006-4-65); 高等学校博士点基金项目(20070389004); 福建省科技厅科学基金项目(2006F5010); 宁德师范高等专科学校科研项目(2006Y021)资助

\* 通讯作者 Corresponding author

传统的表型标记、生化标记及细胞标记揭示杉木遗传背景、遗传结构及亲缘关系等方面的信息非常有限,且易受环境条件的影响,很难满足现代育种工作的需要,因此 DNA 分子标记技术应运而生。一方面,它便于揭示种质间遗传差异而排除环境差异所造成的表型变异;另一方面,它拓宽了研究材料的选择,从幼苗或种子提取 DNA 均可进行早期鉴定,使得对杉木基因型的早期选择成为可能。近年来有关不同杉木种质资源的分子水平研究有些报道<sup>[9-20]</sup>,但多是利用 RAPD 分子标记技术进行研究<sup>[13-20]</sup>。由于分子标记种类应用的不平衡性,难以筛选出含有目标性状而仅含少量外源不良基因的后代,加上 RAPD 标记技术的不稳定性,因此很有必要探寻适合杉木育种研究的多种类型分子标记方法,以期从分子机理上弄清不同种源杉木的遗传变异规律及种群分布格局。有鉴于此,本研究首次利用多态性、重复性及检测遗传差异能力均优于 RAPD 的 ISSR 分子标记技术,选择全国 24 个杉木地理种源为研究对象,进行不同地理种源杉木遗传多态性和亲缘关系的分析,从分子水平上揭示不同种源杉木的遗传变异规律及种群分布格局,为杉木育种方案制定、亲缘关系与起源演化的判断、鉴别分类研究及种质资源管理提供依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 供试材料

选取福建农林大学西芹教学林场杉木地理种源试验林的 24 个杉木 (*Cunninghamia lanceolata*

(Lamb.) Hook)种源为材料(表 1),包括 1979 年造林的花竹沟杉木种源试验林和 1978 年造林的院口杉木种源试验林,取杉木新芽进行基因组 DNA 的提取。从花竹沟杉木种源试验林选取 11 个不同杉木地理种源,从院口杉木种源试验林选取 13 个不同杉木地理种源,基本涵盖全国杉木主要分布区的 3 个带 5 个区:北带东区、北带西区、中带东区、中带西区和南带。福建农林大学西芹教学林场地处福建南平市,属于中亚热带季风气候。

### 1.2 基因组 DNA 的提取与测定

通过比较 CTAB 法和 SDS 提取法,最终参考尤勇的 SDS 法<sup>[9]</sup>,并加以改进。用核酸蛋白分析仪测定提取的 DNA 浓度和纯度,用电泳法检测 DNA 的完整性,放入-20℃下储存备用。

### 1.3 PCR 扩增、条件优化和检测

ISSR 引物购自上海生工生物工程技术服务有限公司。扩增反应在德国 Eppendorf PCR 基因扩增仪上进行。对 ISSR 反应体系进行优化,建立了杉木 ISSR-PCR 反应的最佳体系。反应体系终体积为 20 μl:包含 1.5 mmol/L 的 Mg<sup>2+</sup>, 1 U 的 *Taq* DNA 聚合酶, 0.75 μmol/L 引物, 100 μmol/L 的 dNTP, 100 ng L<sup>-1</sup> 模板 DNA, 1 × PCR Buffer。在 94℃ 预变性 7 min, 94℃ 变性 30 s, 50 ~ 57℃ 复性 40 s (温度依引物不同而改变), 72℃ 延伸 2 min, 40 个循环之后 72℃ 反应 7 min。PCR 扩增产物在含有 0.1% EB 的 1.5% 琼脂糖凝胶上 140 V(4 V cm<sup>-1</sup>) 稳压电泳 1.5 h 分离,然后用 VILBER LOURMAT 公司

表 1 供试的不同种源杉木

Table 1 Material of different provenance Chinese fir

样品号 Sample No.	种源 Origin	分布带 Zone	样品号 Sample No.	种源 Origin	分布带 Zone
1	浙江龙泉 Longquan, Zhejiang	中带 Middle zone	13	广西梧州 Wuzhou, Guangxi	南带 Southern zone
2	浙江开花 Kaihua, Zhejiang	中带 Middle zone	14	广西浦北 Pubei, Guangxi	南带 Southern zone
3	江西井冈山 Jinggangshan, Jiangxi	中带 Middle zone	15	福建长泰 Changtai, Fujian	中带 Middle zone
4	福建沙县 Shaxian, Fujian	中带 Middle zone	16	广西贺县 Hexian, Guangxi	中带 Middle zone
5	湖南会同 Huitong, Hunan	中带 Middle zone	17	江西全南 Quannan, Jiangxi	中带 Middle zone
6	湖南江华 Jianghua, Hunan	中带 Middle zone	18	云南文山 Wenshan, Yunnan	中带 Middle zone
7	四川雅安 Ya'an, Sichuan	中带 Middle zone	19	福建南平 Nanping, Fujian	中带 Middle zone
8	四川西昌 Xichang, Sichuan	中带 Middle zone	20	广东怀集 Huaiji, Guangdong	中带 Middle zone
9	安徽休宁 Xiuning, Anhui	北带 Northern zone	21	广西融水 Rongshui, Guangxi	中带 Middle zone
10	贵州锦屏 Jinping, Guizhou	中带 Middle zone	22	四川叙永 Xuyong, Sichuan	中带 Middle zone
11	陕西南郑 Nanzheng, Shanxi	北带 Northern zone	23	河南罗山 Luoshan, Henan	北带 Northern zone
12	广东信宜 Xinyi, Guangdong	南带 Southern zone	24	湖北咸宁 Xianning, Hubei	中带 Middle zone

凝胶成像系统拍照观察并保存。

#### 1.4 引物筛选

从供试样品中选取分布区差异大的 8、11、19 号 3 个样品作为模板筛选引物,从 100 条 ISSR 引物中筛选出扩增条带清晰、带较多、多态性和稳定

性好的 22 条引物用于本文杉木地理种源 ISSR 分析,同时发现含 $(AG)_8$ 、 $(AC)_8$ 、 $(CT)_8$ 序列的 ISSR 引物在杉木上扩增的多态性水平较高。具体引物名称和序列见表 2。

表 2 所用的引物名称和序列

Table 2 The sequence of primers used in test

序号 No.	引物 Primers	序列 Sequence	多态性谱带数 Number of polymorphic bands	扩增的谱带数 Number of bands amplified	多态性百分率 Percent of polymorphic band
1	U10	$(AG)_2$ TTGGTAG $(CT)_2$ TGATC	8	8	100
2	U879	$(CTTCA)_3$	22	22	100
3	U1	$(GGGTG)_3$	3	3	100
4	U868	$(GAA)_6$	8	12	66.67
5	U855	$(AC)_8$ (CT)T	8	10	80.0
6	U853	$(TC)_8$ (AG)T	12	12	100
7	U845	$(CT)_8$ (AG)G	12	12	100
8	U3	$(GA)_8$ (CT)T	7	7	100
9	U4	$(AG)_8$ (CT)A	15	18	83.33
10	U835	$(AG)_8$ (CT)C	0	3	0
11	U834	$(AG)_8$ (CT)T	8	8	100
12	U7	$(AG)_8$ T	4	4	100
13	U811	$(GA)_8$ C	12	12	100
14	U812	$(GA)_8$ A	10	10	100
15	U818	$(CA)_8$ G	2	2	100
16	U820	$(GT)_8$ C	11	11	100
17	U825	$(AC)_8$ T	6	7	85.71
18	U842	$(GA)_8$ YG	9	9	100
19	U847	$(CA)_8$ RC	6	6	100
20	U848	$(CA)_8$ RG	3	4	75.0
21	U849	$(GT)_8$ YA	0	1	0
22	U857	$(AC)_8$ YG	7	7	100
平均	Average		7.86	8.55	91.93

#### 1.5 数据统计分析

根据 ISSR 扩增产物相同电泳迁移位置带的有无,建立分子标记资料(多态性片断的数目、大小和信息量)的 1、0 型 Excel 数据库。以 1 表示某一位置上产物存在,0 表示不存在。利用 POPGENE32 软件计算 ISSR 扩增产物的 Shannon 信息多样性指数 I (Shannon information index)、Nei's 基因多样性指数 H (Nei's gene diversity index)、多态位点数、多态位点百分率、标记系统的有效等位基因数 Ne (Effective number of alleles)。依 Nei-Li 相似系数法计算两个种源之间的遗传距离;运用 DPS 软件按

照类平均聚类法(UPGMA)生成聚类图。

相似系数:  $a = 2n_{xy} / (n_x + n_y)$

$n_x, n_y$  分别表示在  $x$  行、 $y$  行条带的数目; $n_{xy}$  表示两行中共有条带的数目。

## 2 结果和分析

### 2.1 ISSR 多态性分析

从 100 个 ISSR 引物中筛选出多态性较好的引物 22 个(表 2),对 24 个不同杉木地理种源进行扩增,共扩增出 188 条谱带(图 1),大小为 180 ~ 2 000 bp,其中多态性谱带 173 条,占总数的 92.0%。每个引物扩增出 1 ~ 22 条多态性谱带,平均

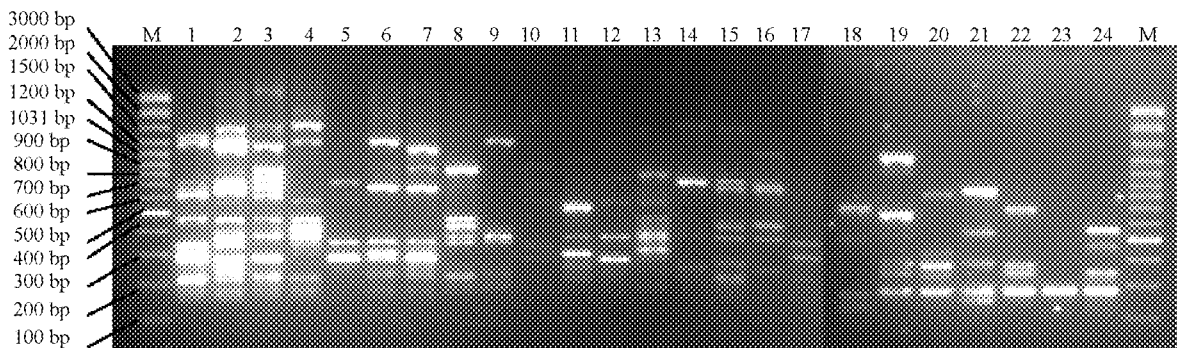


图 1 引物 U 879 对杉木种源基因组扩增的 ISSR 谱带

Fig. 1 The ISSR map of Chinese fir provenance genome amplified with primer U 879

M: Marker; 1~24 见表 1。1~24 see Table 1.

产生 7.86 条。平均多样性指数(I)为 0.3458。Nei's 基因多样性指数(H)是 0.2154。平均每个位点的有效等位基因数(Ne)是 1.3408。

谱带统计结果表明:不同引物对同一种源(江西井冈山)所扩增的带数在 1(U849)~11 条(U879)不等(表 2)。谱带多少和扩增片断大小不同,表明了不同引物与模板的结合位点不同,揭示的多态性不同;同一引物对不同种源扩增出不同的谱带,扩增带在 3~6 条之间,而 U879 在 1(河南罗山)~11 条(江西井冈山)之间,反映了材料之间的多态性;绝大多数引物在不同种源上都具有主特征带,这反映了同一物种基因组的同一性;另外有的引物揭示出了某些种源的特征带,多数引物在所有供试材料中没有一条共同的谱带,如 U879、U842;几个引物共用可以区别所有 24 个供试地理种源。

### 2.2 杉木地理种源间亲缘关系的聚类分析

根据 ISSR 扩增情况,应用 VILBER LOURMAT 公司凝胶成像系统的图像分析软件,按 Nei-Li 的方法计算 24 种杉木种源间的遗传相异系数。最大遗传相异系数是陕西南郑-广西浦北,为 0.74;最小的是广西贺县-福建长泰,为 0.26。种源间平均遗传相异系数为 0.48。说明杉木种源间的遗传分化较大。运用 UPGMA 方法对 24 个杉木种源进行聚类分析,得到聚类图(图 2)。对聚类图进行分析,以相异系数 0.52 为界,可把 24 个杉木地理种源分为五大组。第一组是杉木分布区中带东区的 3 个地理距离较近的种源,在 0.40 水平首先聚为一类,分别为浙江龙泉、浙江开化和江西井冈山;第二组大部分为杉木分布最为广泛的中带分布区种源,包括福建沙县、广西贺县、贵州锦屏等 11 个种源。这一组在 0.41 水平又划分为 3 个亚组:福建沙县、安徽休

宁、广西梧州及广西融水为第 1 亚组,均为中心产区东南部的种源。河南罗山、湖北咸宁聚后又和云南文山聚为第 2 亚组,均为杉木边缘产区种源,杉木生长一般较差。第 3 亚组是贵州锦屏、广西贺县、福建长泰及四川叙永,为中心产区西南部种源。第三组中,地理距离较近的四川雅安和四川西昌在 0.26 水平聚在一起,然后与地域较近的湖南会同聚在一起,最后在 0.40 水平与湖南江华聚为第三大组,这一组均为中带中区种源;第四组基本是杉木分布区南带种源,福建南平与广东怀集在 0.29 水平聚在一起,然后与广东信宜、江西全南、广东浦北聚为一大组;第五组为地域上分布最远的陕西南郑种源单独聚为一组,属北带西区种源,从地域分布上与其他种源距离最远,遗传相异系数也最大。

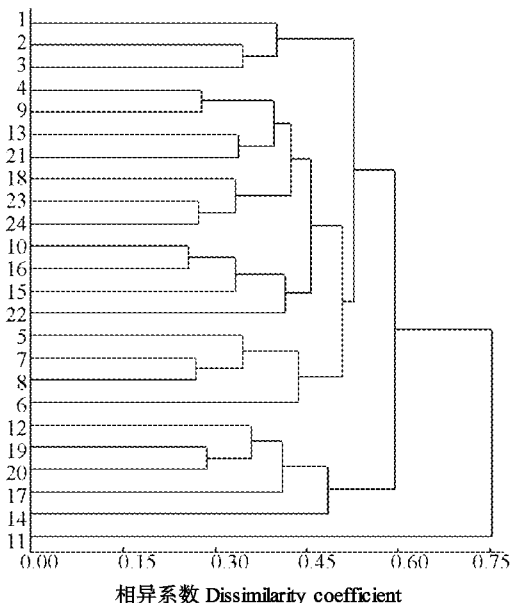


图 2 24 个杉木地理种源的聚类图

Fig. 2 The dendrograms of twenty-four Chinese fir geographic provenances

1~24 见表 1。1~24 see Table 1.

## 3 讨论

### 3.1 杉木地理种源的遗传多样性水平

用不同的标记方法对杉木种源的遗传多样性已进行了一些研究。李梅<sup>[18]</sup>用 RAPD 分子标记技术研究了杉木第二代育种群体内 30 个杂交亲本,多态性位点比例达 66.9%;第三代育种群体中 182 个个体之间遗传多样性较高,达 78.78%<sup>[19]</sup>;陈由强<sup>[20]</sup>用筛选的 20 个 RAPD 引物对 12 个杉木地理种源进行扩增反应,多态性位点比例为 77.18%,均表明杉木地理种源间具有丰富的遗传多态性。王晓丽<sup>[17]</sup>用 RAPD 技术对 28 个杉木种源 DNA 进行扩增,多态性仅为 45%。

本研究从 100 个 ISSR 引物中筛选到有多态性条带的引物 22 个,对 24 个杉木地理种源进行扩增,共扩增出 188 条谱带,其中多态性谱带 173 条,占总数的 92.0%。可见 ISSR 可以揭示比 RAPD 更为丰富的遗传多态性。这与周延清等<sup>[21]</sup>利用 RAPD 和 ISSR 分子标记分析地黄 (*Rehmannia glutinosa*) 种质遗传多样性,祁建民等<sup>[22]</sup>利用 RAPD 和 ISSR 标记检测黄麻属 (*Corchorus*) 遗传多样性的研究结果相一致。这可能是由于 ISSR 引物含有重复序列,与它结合的靶序列在 DNA 复制过程中存在滑动和不均等交换现象,导致它们在不同品种或个体之间的重复次数差异较大,易引起引物结合位点和两结合位点之间的片段长度差异<sup>[23]</sup>。同时研究还表明杉木具有高的多态位点百分率,高于裸子植物的平均值(70.9%)<sup>[24]</sup>。杨传平等<sup>[25]</sup>用 ISSR-PCR 分析 19 个红松 (*Pinus sibirica*) 种源,其多态位点百分率(91.89%)与杉木很接近,表明杉木种源存在较大的遗传变异。遗传多样性一般是指种内的遗传差异水平,它反映一个物种适应环境的能力及其被改造和利用的潜力。杉木种源 Shannon 多样性指数(I)平均值为 0.3458,大于裸子植物红松种源(0.1563)<sup>[25]</sup>而小于银杏(0.3599)<sup>[26]</sup>。Nei 指数反映基因的多样性和基因的分化程度,杉木种源的 Nei 指数(H)平均值为 0.2154;大于裸子植物西伯利亚红松(0.1068),而小于银杏(0.2408);表明杉木的遗传多样性处于较高水平。这可能是由于杉木除了种子繁殖外,其营养繁殖能力强,人为引种栽培扩展了其分布区;杉木广大分布区的生态遗传隔离和生境的多样性导致了杉木具有较高的遗传多样性。遗传变异与物种的地理分布范围有密切关系<sup>[27]</sup>,广

泛分布的种类比狭窄分布种群维持较多的遗传变异。

杉木分布于我国南方 16 个省区,分布区南北跨 10 个纬度,东西跨 15 个经度,由于分布区生境差异大及生态遗传隔离,在长期的系统发育过程中,不同分布区的杉木随地理分布产生了较大的遗传变异,形成了不同的地理类群,因此进行不同地理种源杉木的群体改良潜力巨大。

### 3.2 杉木地理种源的遗传距离和聚类分析

大量研究<sup>[1-2,16-18,20]</sup>表明:杉木地理种源有一定的纬向倾群变异性。本研究中南岭山地种源区的杉木基本聚在第二大组,这为将杉木中心产区定在南岭山地的说法<sup>[16,28]</sup>提供了旁证,说明南岭山地种源区的杉木类群在研究其起源和演化中显得更为重要,也说明 ISSR 分子标记技术可为杉木种源区划提供分子水平依据。而 RAPD 标记在分析杉木中心起源上有一定局限性<sup>[17,20]</sup>,ISSR 比 RAPD 标记更能合理地揭示杉木种源间的遗传差异性,反映出更高的杉木遗传多态性分辨力。而且一套 ISSR 引物可以在多种植物中通用,提高了其利用率,在遗传关系研究方面有更广阔的应用前景。从聚类结果可看出,24 个种源聚为 5 大组。第一大组为杉木中带东区种源;第二大组主要是南岭地区种源,为杉木中心产区;第三大组为杉木中带中区种源;这 3 组在 0.52 水平聚为一大类,是杉木分布区中带种源;然后又在 0.60 水平与分布区南带的第四大组聚在一起,最后与地理距离最远的北带种源第五组在 0.75 水平聚在一起。这表明杉木地理种源遗传距离聚类与地域分布基本一致,这与尤勇<sup>[6]</sup>、王晓丽<sup>[17]</sup>用 RAPD 标记对杉木种源遗传变异的研究结果一致。许多研究<sup>[29-30]</sup>表明:空间距离与遗传距离相关性很大,空间距离越大遗传距离也越大,反之越小。而潘文等<sup>[31]</sup>对不同地区桐花树种群的分子遗传变异 RAPD 分析结果显示,不同纬度桐花树种群间的遗传距离与地理距离相关性明显,而 ISSR 分析的结果显示,遗传距离与空间距离相关性不明显。根据本研究遗传距离分类结果,结合现有的杉木地带划分结果分析:按照遗传距离聚类的结果与按照现有的地理带划分的结果基本一致,即基本按照杉木分布区和产区带归在了一起,因此本研究结果表明:空间距离与遗传距离相关性较大,空间距离越大,遗传距离也越大,反之越小。杉木的遗传分化与其空间关系密切和南岭山地为杉木

中心产区的这一研究结果为杉木引种栽培、种源区划及杉木遗传资源的收集与保护有极其重要的意义,为杉木亲缘关系与起源演化、鉴别分类的研究及种质资源管理提供分子依据,同时为杂交育种材料和杂交亲本选配及分子标记辅助育种提供理论依据。

## 参考文献

- [1] 阮梓材. 杉木遗传改良 [M]. 广东: 广东科技出版社, 2003: 25-33.
- [2] 俞新妥. 杉木栽培学 [M]. 福州: 福建科学技术出版社, 1997: 173-183.
- [3] Yu X T(俞新妥), Zhang Z W(张卓文). A preliminary study on the isozymes of the seeds of Chinese fir from different geographical provenances [C]// Yu X T(俞新妥). Anthology of Yu X T. Beijing: Chinese Forestry Publishing House, 2003: 162-168.(in Chinese)
- [4] Feng L Z(冯丽贞), Liu A Q(刘爱琴). Study on Nitrate Reductase activity comparison of different provenance Chinese fir [J]. J Fujian Coll For(福建林学院学报), 1998, 18(4): 335-337.(in Chinese)
- [5] Wang H J(王华斌), Deng Z F(邓宗富), Lu J H(卢俊豪), et al. Acquisition, conservation and utilization of genetic resources in Chinese fir [J]. Sci Sil Sin(林业科学), 1999, 35(5): 38-45.(in Chinese)
- [6] Wang Z H(王朝晖), Jiang Z H(江泽慧), Ren H Q(任海青). The study on comprehensive assessments on tracheid morphological characteristics of Chinese fir (*Cunninghamia lanceolata*) provenances as paper wood [J]. J Sichuan Agri Univ (Specissue of Wood Res) (四川农业大学学报: 木材研究专辑), 1998, 16(1): 85-87.(in Chinese)
- [7] Li X C(李晓储), Huang L B(黄利斌), Wang W(王伟), et al. Studies on selection of Chinese fir seed source of elite both growth and timber property [J]. J Jiangsu For Sci Techn(江苏林业科技), 1998, 25(1): 7-10.(in Chinese)
- [8] Wang M H(王明怀), Chen J X(陈建新), Tan J W(谭建伟), et al. Genetic variation among provenances, stands and families of Chinese fir [J]. J Guangdong For Sci Techn(广东林业科技), 1996, 12(1): 1-6.(in Chinese)
- [9] You Y(尤勇), Hong J S(洪菊生). The cloning and sequencing of the rDNA internal transcribed spacer 1 regions of Chinese fir [J]. Sci Sil Sin(林业科学), 2000, 36(1): 121-124.(in Chinese)
- [10] He Z X(何祯祥), Shi J S(施季森), Qiu J Q(邱进清), et al. Technique and strategy of genome mapping in forest trees [J]. J Zhejiang For Coll(浙江林学院学报), 1998, 15(2): 151-157.(in Chinese)
- [11] He Z X(何祯祥), Shi J S(施季森), Wang M X(王明麻), et al. The construction of molecular linkage frame map in Chinese fir [J]. J Nanjing For Univ(南京林业大学学报), 2000, 24(6): 22-26.(in Chinese)
- [12] He Z X(何祯祥), Shi J S(施季森), Yin Z F(尹增芳), et al. Detection of genetic markers associated with growth traits in Chinese fir [J]. J Zhejiang For Coll(浙江林学院学报), 2000, 17(4): 350-354.(in Chinese)
- [13] Li M(李梅), Shi J S(施季森), Gan S M(甘四明), et al. Correlation between RAPD-based parental genetic distance and filial performance of Chinese fir [J]. For Res(林业科学研究), 2001, 14(1): 35-40.(in Chinese)
- [14] You Y(尤勇). The genetic polymorphic research between two Chinese fir species using PAPD marker [J]. J Liaocheng Teacher Univ (Nat Sci)(聊城师院学报: 自然科学版), 1998, 11(4): 72-74.(in Chinese)
- [15] Huang F X(黄发新), Zhang X Y(张新叶), Kawamura K. Sstudy of identifying clones of *Cunninghamia lanceolata* by the means of RAPD [J]. J Hubei For Sci Techn(湖北林业科技), 2000(Suppl): 14-19.(in Chinese)
- [16] You Y(尤勇), Hong J S(洪菊生). Application of RAPD marker to genetic variation of Chinese fir provenances [J]. Sci Sil Sin(林业科学), 1998, 34(4): 32-37.(in Chinese)
- [17] Wang X L(王晓丽). Molecular signs and genetic analysis of *Cunninghamia lanceolata* (Lamb.) Hook and submarginal species [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2004: 38-39.(in Chinese)
- [18] Li M(李梅), Shi J S(施季森), He Z X(何祯祥), et al. Study on molecular genetic variation of superior trees in Chinese fir (*Cunninghamia lanceolata* (Lamb.) Hook) [J]. Sci Sil Sin(林业科学), 2001, 37(4): 136-141.(in Chinese)
- [19] Li M(李梅). Molecular genetic variation of breeding populations and molecular breeding in Chinese fir [D]. Nanjing: Nanjing Forestry University, 2001: 73-88.(in Chinese)
- [20] Chen Y Q(陈由强), Ye B Y(叶冰莹), Zhu J M(朱锦懋), et al. Analysis of genetic relationship among Chinese fir (*Cunninghamia lanceolata* Hook) provenances by RAPD [J]. Chin J Appl Environ Biol(应用与环境生物学报), 2001, 7(2): 130-133.(in Chinese)
- [21] Zhou Y Q(周延清), Jing J Z(景建洲), Li Z Y(李振勇), et al. Assessment of genetic diversity of *Rehmannia glutinosa* germplasm detected by RAPDs and ISSRs [J]. Hereditas(遗传), 2004, 26(6): 922-928.(in Chinese)
- [22] Qi J M(祁建民), Zhou D X(周东新), Wu W R(吴为人), et al. A comparison between RAPD and ISSR technology in detection of genetic diversity of jute [J]. Sci Agri Sin(中国农业科学), 2004, 37(12): 2006-2011.(in Chinese)
- [23] Bruford M W. Microsatellites and their application to conservation genetics [M]// Smith T B, Wayne R K. Molecular Genetic Approaches in Conservation. Oxford: Oxford University Press, 1996: 1-237.
- [24] Zhang H Q(张恒庆), An L J(安利佳), Zu Y G(祖元刚). RAPD Analysis on genetic variation of *Pinus Koraiensis* in Liangshui National Nature Reserve [J]. Bull Bot Res(植物研究), 2000, 20(2): 200-206.(in Chinese)
- [25] Yang C P(杨传平), Wei L(魏利), Jiang J(姜静), et al. Analysis of genetic diversity for nineteen populations of *Pinus sibirica* Du Tour with technique of ISSR [J]. J NE For Univ(东北林业大学学报),

- 2005, 33(1): 1-3.(in Chinese)
- [26] Ge Y Q(葛永奇), Qiu Y X(邱英雄), Ding B Y(丁炳扬), et al. An ISSR analysis on population genetic diversity of the relict plant *Ginkgo biloba* [J]. Biodiv Sci(生物多样性), 2003, 11(4): 276-287. (in Chinese)
- [27] Hamrick J L, Godt M J. Allozyme diversity in plant species [M]// Brown A H D, Clegg M T, Kahler A L, et al. Plant Population Genetics, Breeding and Genetic Resources. Sunderland: Sinauer Associates Inc Publishers, 1989: 43-63.
- [28] Hong J S(洪菊生), Wu S X(吴士侠), Yang Z W(杨宗武). Study on division of Chinese fir provenance [J]. For Res(林业科学研究), 1994, 7(MEM): 130-144.(in Chinese)
- [29] King Y T, Chiang Y C. Comparing differentiation of wild soybean (*Glycine soja* Sieb and Zucc.) population based on isozymes and quantitative traits [J]. Bot Bull Acad Sin, 1990, 31: 129-142.
- [30] Lang P, Huang H W. Genetic diversity and geographic variation in natural populations of the endemic *Castanea* species in China [J]. Acta Bot Sin, 1999, 4(6): 651-657.
- [31] Pan W(潘文), Zhou H T(周涵韬), Chen P(陈攀), et al. The Study on genetic diversity of *Aegiceras corniculatum* populations in different areas [J]. J Xiamen Univ (Nat Sci)(厦门大学学报:自然科学版), 2004, 43(Suppl): 106-112.(in Chinese)