

白木香遗传多样性研究

贾文杰¹, 李恩香¹, 杨柏云^{1*}, 刘东晓²

(1. 南昌大学生命科学学院, 南昌 330047; 2. 东莞市莞香园艺科技有限公司, 广东 东莞 511700)

摘要: 用 ISSR 分子标记技术对白木香(*Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg) 的遗传多样性进行分析。结果表明, 白木香物种水平的遗传多样性较高, 而居群水平的遗传多样性相对较低, 其中广东茂名居群的遗传多样性最高。白木香居群间存在较大的遗传分化, 遗传分化系数 $G_{ST} = 0.4425$, 表明居群内遗传分化大于居群间的分化。UPGMA 聚类分析表明白木香分化为两个谱系, 其中谱系 I 由广东、福建、海南的 5 居群组成, 谱系 II 由广西、云南的 3 个居群组成。居群间的基因交流受到阻碍($Nm = 0.6633 < 1$), 阻碍主要产生于两个谱系间, 而谱系内部的居群间在较近的历史时期基因交流频繁(Nm 分别为 1.4382 和 1.2333), 谱系分化的原因主要是地理因素, 两谱系交界处有云开山脉等形成的天然屏障, 阻碍物种的扩展和基因交流。

关键词: 白木香; ISSR; 遗传多样性; 保护

中图分类号: Q16

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2010)02-0159-06

Studies on Genetic Diversity of *Aquilaria sinensis*

JIA Wen-jie¹, LI En-xiang¹, YANG Bo-yun^{1*}, LIU Dong-xiao²

(1. College of Life Sciences, Nanchang University, Nanchang 330047, China; 2. Guanxiang Horticulture Technology Co. Ltd of Dongguan, Dongguan 511700, China)

Abstract: The genetic diversity of *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg was investigated by using ISSR molecular markers. The results showed that there was high genetic diversity at the species level, and relatively low at the population level, in which the Maoming population (MM) had the highest genetic diversity. Significant genetic differentiation was found among populations of *A. sinensis* with $G_{ST} = 0.4425$, it showed that the genetic differentiation within population was bigger than that between populations. The analyses of UPGMA and PCA revealed that 8 populations of *A. sinensis* were divided into two lineages, lineage I included 5 populations located in Guangdong (MM, GG and GZ), Fujian (FJ) and Hainan (HN), and lineage II comprised 3 populations in Guangxi (GX) and Yunnan (YX and YM). At species level, the gene flow with $Nm = 0.6633 < 1$ was very limited, which lead to high differentiation among populations. The limitation of gene flow mostly occurred between two lineages, while the gene flow was frequent within lineage with $Nm > 1$ in recent historical period. The main reason of genetic differentiation was geographical factors, which Yunkai Mountains located at borderline of two lineages hindered the gene flow between two lineages.

Key words: *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg; ISSR; Genetic diversity; Conservation

白木香(*Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg) 又称土沉香, 属瑞香科(Thymelaeaceae)沉香属植物, 为我国特有的珍贵观赏药用植物, 主要分布于我国福建、广东、广西、云南、海南等地。白木香以其含树脂的木材入药, 是我国中药沉香的唯一植物资源, 受到

国内外学者的关注。沉香产香方式的特殊性, 用刀斧伐凿香木而使树脂凝结(即“生结”)为重要的产香方式, 因此其野生资源受到严重威胁和破坏, 成为珍稀濒危保护植物^[1], 研究中国白木香的遗传多样性十分重要。

我国目前对白木香主要集中于其药用、植物化学成分、栽培和组织培养等方面的研究,也曾对不同产地的白木香进行遗传分子鉴定,但获得了 ISSR 分子标记可作为白木香居群遗传多态性、居群亲缘关系和分子鉴别有效手段的结论^[2-6],而采用 ISSR 技术对白木香的遗传多样性和居群遗传结构的研究尚见报道。本研究采用 ISSR 技术对白木香居群进行研究,探讨其居群遗传多样性水平和遗传结构,为科学合理保护和利用白木香资源提供理论依据和技术支持。

2 材料和方法

2.1 实验材料

白木香(*Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg)采自广东

东莞(GD)、茂名(MM)和广州(GZ)、海南屯昌(HN)、福建漳浦(FJ)、广西南宁(GX)、云南西双版纳(YX)和勐腊(YM)(表 1)。其中广东东莞和云南勐腊居群为自然居群,其它居群为当地野生种群的移栽。每个居群采集 7~35 株植物,每株在东、南、西、北各采集 1~2 片叶片。记录采集样品的经纬度、海拔和生境,同时对每个居群采集凭证标本供研究用。DNA 样品采集使用硅胶干燥法。

2.2 基因组 DNA 提取

将 127 个经硅胶干燥的样品用液氮冷冻研磨。白木香总 DNA 提取采用优化的 CTAB 法^[7]。加入预冷异丙醇后,用细针将析出的 DNA 挑出,可有效提高 DNA 的纯度。用 1.0% 琼脂糖电泳检测 DNA 质量;用分光光度计测定其纯度和浓度。

表 1 材料来源
Table 1 Material tested

编号 Code	采样地 Locality	海拔 Altitude (m)	纬度 Latitude	经度 Longitude	全年日照 时数 Annual sunshine hours	年降雨量 Annual rainfall (mm)	年均温(°C) Annual average temperature	地貌类型 Geomorphic type	数量 Sample size
GD	广东东莞 Dongguan, Guangdong	60	22°57'	113°45'	2098	1796	23.2	台地 Platform	35
MM	广东茂名 Maomin, Guangdong	40	21°40'	111°11'	1756	1856	22.7	台地 Platform	15
HN	海南屯昌 Tunchang, Hainan	150	19°28'	109°45'	2000	2180	23.4	丘陵 Hill	15
FJ	福建漳浦 Zhangpu, Fujian	400	23°24'	103°47'	2002	1942.3	23	丘陵 Hill	16
GX	广西南宁 Nanning, Guangxi	81	21°23'	110°41'	1610	1350	21.3	台地 Platform	16
YX	云南西双版纳 Xishuangbanna, Yunnan	570	21°48'	101°25'	1691	1556.8	21.4	平原 Plain	7
YM	云南勐腊 Mengla, Yunnan	540	21°43'	101°30'	1685	1562.3	21.4	平原 Plain	17
GZ	广东广州 Guangzhou, Guangdong	326	32°10'	113°21'	1767.4	1619.5	22.8	台地 Platform	6

2.3 ISSR PCR 扩增和检测

ISSR 引物是根据加拿大 British Columbia 大学公布的序列设计,由上海生工公司合成。在4个群体中各选取2个模板,从100个引物中筛选出扩增条带较多、信号强、背景清晰的16条引物用于ISSR-PCR反应。在25 μ L PCR反应体积中,含有1 \times PCR buffer,1.1 U *Taq* DNA聚合酶(上海申能博彩科技有限公司),4种dNTPs各200 μ mol/L,0.4 μ mol/L引物,2.0 mmol/L $MgCl_2$,100 ng模板DNA。最佳扩增程序为:94 $^{\circ}C$ 预变性5 min,然后45个循环:94 $^{\circ}C$ 变性45 s,复性温度根据各引物的 T_M 值略低1~2 $^{\circ}C$,45 s,72 $^{\circ}C$ 延伸75 s,循环结束后72 $^{\circ}C$ 延伸7 min,4 $^{\circ}C$ 保存。1.5%琼脂糖电泳,EB染色后紫外光下检测电泳条带。

2.4 数据分析

对ISSR电泳凝胶图进行人工读带,同一引物扩增产物迁移率一致的条带被认为具有同源性,相同迁移位上扩增阳性记为1,扩增阴性记为0,建立二态数据矩阵,在计算机中得到ISSR表型数据矩阵。根据POPGENE1.32^[8]计算各个遗传变异指数:多态位点百分率(*PPB*)、有效等位基因数(*Ae*)、期望杂合度(*He*)、香农信息指数(*I*),并计算种群总遗传变异(H_T)和种群内的遗传变异(H_S);采用AMOVA-PREP version 1.01^[9]和WINAMOVA1.55软件分析白木香居群内、居群间的遗传分化水平(Φ_{ST});用

NTSYSpc 2.1^[10]计算个体间的Nei相似性系数^[11],并进行聚类分析。

3 结果

3.1 白木香的遗传多样性分析

供试的8个居群127株白木香经PCR扩增,获得156条清晰的谱带,其中132条为多态性条带,平均每引物扩增的带数为10条。

在物种水平上的多态位点百分率(*PPB*)为84.62%,等位基因数(*Na*)为1.8462,有效等位基因数(*Ne*)为1.4378,期望杂和度(*He*)为0.2643,Shannon信息多样性指数(*I*)为0.4038。在居群水平上,*PPB*为38.78%,*Na*为1.3878,*Ne*为1.2637,*He*为0.1497,*I*为0.2196。8个居群的*PPB*为21.15%~57.69%,*Na*为1.2115~1.5769,*Ne*为1.1557~1.4191,*He*为0.0848~0.2343,*I*为0.1230~0.3407。其中遗传多样性水平最高的为MM居群(*PPB* = 57.69%,*He* = 0.2343,*I* = 0.3407),而GZ居群为最低(*PPB* = 21.15%,*He* = 0.0848,*I* = 0.1230)(表2)。

3.2 白木香的遗传结构分析

利用POPGENE 1.31分析软件,假设Hardy-Weinberg遗传平衡,计算不同居群间的遗传分化水平(G_{ST})。结果表明,8个居群总的遗传变异 H_T 为0.2684,居群内的遗传变异 H_S 为0.1497,居群间的

表2 白木香8个居群的遗传多样性

Table 2 The genetic variation in 8 populations of *A. sinensis* by ISSR

居群 Population	个体数 Number of samples	<i>PPB</i>	<i>Na</i>	<i>Ne</i>	<i>He</i>	<i>I</i>
DG	35	41.03	1.4103	1.2459	0.1454	0.2175
FJ	16	34.62	1.3462	1.2425	0.1372	0.2003
HN	15	46.79	1.4679	1.3232	0.1839	0.2689
MM	15	57.69	1.5769	1.4191	0.2343	0.3407
GX	16	41.03	1.4103	1.2889	0.1626	0.2374
YX	7	29.49	1.2949	1.1985	0.1114	0.1638
YM	17	38.46	1.3846	1.2358	0.1377	0.2052
GZ	6	21.15	1.2115	1.1557	0.0848	0.1230
平均 Average	15	38.78	1.3878	1.2637	0.1497	0.2196
物种水平 Total	127	84.62	1.8462	1.4378	0.2643	0.4038

PPB:多态性条带百分率 Percentage of polymorphic bands; *Na*:等位基因数 Number of alleles per locus; *Ne*:有效等位基因数 Effective number of alleles per locus; *He*:期望杂和度 Expected heterozygosity; *I*:Shannon信息多样性指数 Shannon's information index.表3同。The same as Table 3.

遗传分化系数 $G_{ST} = 0.4425$, 表明在总的遗传变异中有 44.25% 存在于居群间, 55.75% 存在于居群内, 居群内的变异大于居群间的。居群间的基因流 $Nm = 0.6300 < 1$, 表明居群间的基因交流程度有限。

进一步用 AMOVA 分析, 结果表明, ϕ_{ST} 值为 0.4354, 即在总的遗传变异中有 56.46% 的变异发生在居群内, 43.54% 存在于居群间, 居群内和居群间的差异均极显著 ($P < 0.0002$)。AMOVA 结果与 POPGENE 结果大体一致。两种方法均表明白木香各居群之间有较高的遗传分化, 但遗传变异主要存在于居群内。

3.3 聚类分析

利用 NTSYS-pc 软件对 Nei's 遗传距离进行 UPGMA 聚类分析(图 1)。可以看出, 白木香 8 个居群可分为两支(谱系), 谱系 I 中 DG 和 GZ 居群先聚类, 再依次和 FJ、HN 和 MM 居群聚在一起。谱系 II 中 GX 和 YX 居群先聚类, 再和 YM 聚类, 这表明遗传分化主要存在于 DG、GZ、FJ、HN、MM 居群与 GX、YX、YM 居群之间。

表 3 显示谱系 I 来自广东、福建、海南 5 个居群(GG、GZ、MM、FJ、HN)的平均多态位点百分率(PPB)为 40.26%, Shannon 多样性指数为 0.23, H_e 值为 0.1571; 谱系 II 来自广西、云南的 3 个居群(GX、YX、YM)的 PPB 为 36.32%, Shannon 多样性指数为 0.2021, H_e 值为 0.1372。可见, 谱系 I 比谱系 II 的遗传多样性水平高。

利用 POPGENE 1.31 分析软件分析两个谱系

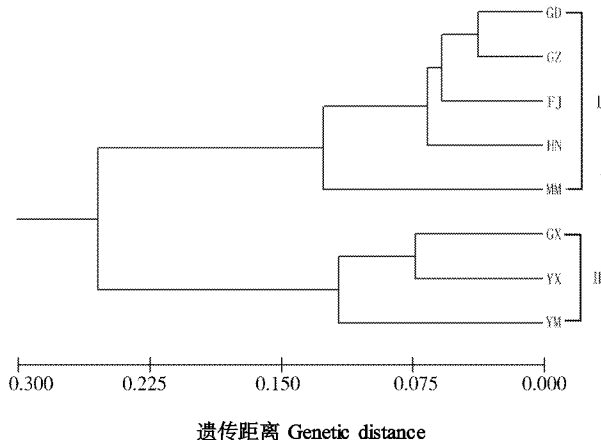


图 1 白木香居群间 Nei's 遗传距离的 UPGMA 聚类图

Fig. 1 Dendrogram of genetic relationships among 8 populations of *A. sinensis* using UPGMA

的遗传结构, 谱系 II 的遗传分化系数 ($G_{ST} = 0.2885$) 大于谱系 I ($G_{ST} = 0.2580$), 均显著低于物种水平的 44.25%; 基因流则谱系 I ($Nm = 1.4382$) 大于谱系 II ($Nm = 1.2333$), 明显高于物种水平的 0.6300。

AMOVA 分析表明, 谱系 I 的 ϕ_{ST} 为 0.1921, 即 80.79% 的变异发生在居群内, 19.21% 存在于居群间, 谱系 II 的 $\phi_{ST} = 0.3204$, 居群内变异大于居群间。谱系间的变异达到 40.27%, 基因流 $Nm = 0.7116$, 而谱系内居群间的遗传变异只有 14.37% (表 4)。

4 讨论

4.1 白木香的遗传多样性

本研究利用 16 条 ISSR 引物从白木香 8 个居群共 127 株样品中扩增得到 156 条带, 其中多态性

表 3 白木香 8 居群遗传多样性比较

Table 3 Comparison of genetic diversity among 8 populations of *A. sinensis*

居群 Population	条带数 Number of bands	多态带 Number of polymorphic bands	PPB	<i>I</i>	<i>H_e</i>
谱系 I Group I					
GD	149	64	41.03	0.2175	0.1454
FJ	151	54	34.62	0.2003	0.1372
HN	150	73	46.79	0.2689	0.1839
MM	148	90	57.69	0.3407	0.2343
GZ	151	33	21.15	0.1230	0.0848
谱系 II Group II					
GX	139	64	41.03	0.2374	0.1626
YX	136	46	29.49	0.1638	0.1114
YM	129	60	38.46	0.2052	0.1377
平均值 Average	144.5	60.5	38.78	0.2196	0.1497
物种水平 Total	156	132	84.62	0.4038	0.2643

表4 两谱系遗传变异分析

Table 4 AMOVA analysis between two groups of *A. sinensis*

变异来源 Source of variation	自由度 Degree of freedom	平方和 Sum of square	均方 Mean squares	变异成分 Variance component	变异系数 Variance coefficient (%)
谱系 I Group I					
居群内 Within populations	81	791.01	9.77	9.77	80.79
居群间 Among populations	4	186.44	46.61	2.32	19.21
谱系 II Group II					
居群内 Within populations	36	375.88	10.44	10.44	67.96
居群间 Among populations	2	139.55	69.78	4.92	32.04
谱系间 Among group	1	534.85	534.85	8.77	40.27
谱系内居群间 Among populations within groups	6	333.60	55.60	3.13	14.37
居群内 within populations	117	1156.43	9.88	9.88	45.36

条带 132 条, *PPB* 为 84.62%。物种水平上期望杂和度(*He*)为 0.2643, Shannon 信息多样性指数(*I*)为 0.4038, 其 *He* 高于双子叶植物的平均值(0.91), 略高于地区性植物(0.2200), 而与多年生长寿植物(0.2500)相当^[12-13]。居群平均水平上, *He* 仅为 0.1497, 低于区域性分布的植物, 如内蒙古小花棘豆(*Oxytropis glabra*, 0.1653)^[13]和卧龙自然保护区沙棘种群(*Hippophae rhamnoides*, 0.1700)^[15], 表明白木香物种水平的遗传多样性相对较高, 居群水平相对较低。物种水平遗传多样性较高可能是白木香分布于物种多样性丰富的热带和低纬度的亚热带地区, 有利于多样性的形成; 而且在较近的历史时期内白木香处于一个连续分布的状态, 有利于基因间的交流; 另外, 从繁育方式上看, 白木香花期长, 以异花传粉为主, 需要传粉媒介, 其种子传播具有特殊的悬挂展放方式, 可依靠重力传播, 也可借助昆虫的采食长距离传播, 这些特性有助于白木香之间进行基因交流, 从而物种水平上呈现出较高的遗传多样性。白木香子房花柱很短, 雄蕊花丝也很短, 花药中的花粉粒少且成活时间短, 有自花授粉现象产生(另文发表), 造成物种的多样性降低; 另外, 种子寿命短, 通常为 10~15 d。白木香居群水平遗传多样性低的原因是多方面的: (1) 由于人为干扰, 白木香居群片段化严重, 居群内的个体数很少, 产生瓶颈效应, 而使居群内的遗传多样性降低, 遗传漂变加剧; (2) 白木香花期为每年 4~5 月份, 此时是梅雨季节, 频繁降水引起花粉败育和影响昆虫的传粉, 在异花受粉受阻的情况下, 自花受粉率相对升高; (3) 白木香长期以来受到害虫黄野螟(*Heortia viessoides*)的危害^[16]; 严重影响白木香物种在自然

界的竞争力, 不利于种群扩张。这些因素均导致白木香之间的基因交流受阻, 居群间缺乏基因交流, 居群内几代混交后导致居群遗传多样性的迅速丧失。可见, 白木香居群的遗传多样性水平低是物种自身生物学特性, 及人为、自然等多方面因素综合作用的结果。

在白木香居群中, MM 居群的遗传多样性最高, 多态性位点百分比 *PPB* 为 57.69%, *He* 达到 0.2343, 推测该居群是白木香的原始分布中心, 因为茂名位于岭南地区, 地处南亚热带, 北面依邻中亚热带, 南面隔海与海南岛、中南半岛(热带)相望。地理位置特殊, 环境优越, 植物区系相对独立, 同时又具有明显的过渡性, 是华南南亚热带植物区系的核心地区, 也是中国或华夏植物区系的核心地区之一, 分布有许多起源较为原始的植物, 如树蕨纱縠(*Alsophila spinulosa*)、叉叶苏铁(*Cycas micholitzii*)等^[17]。白木香成带状分布于中国南方沿海等地, 而广东茂名居群(MM)位于采样点的中心。我们推测, 白木香在该区发源后向两边扩散并进一步分化和演化, 从而形成了现在的白木香两个谱系。另一种可能是该居群处在白木香两个谱系的交汇区域, 与两个谱系都存在基因交流, 故该居群表现出相对较高的遗传多样性。广东省开发利用白木香资源的历史比较早, 特别是在茂名地区, 有大规模的白木香商业化种植基地, 从外地引种的可能性较大, 这也可能是该地区的白木香遗传多样性较高的主要原因之一。

4.2 白木香的遗传结构

AMOVA 分析(表 6)表明白木香的遗传分化系数 $\phi_{ST} = 0.435$, 居群内的遗传分化要大于居群间。

从区域分化上看,白木香两谱系间遗传分化较高,达到 40.27%,而各谱系内的遗传分化并不高(谱系 I 的 G_{ST} 为 0.2156, Nm 为 1.4382; 谱系 II 分别为 0.2885 和 1.2333), 谱系内居群间的遗传变异只有 14.37%。推断在较近的历史时期,白木香各谱系内存在广泛的基因交流,而在谱系间发生了明显的分化。白木香物种水平的基因流为 $0.6300 < 1$, 说明白木香居群间存在基因交流障碍,这种障碍主要是存在于两个谱系之间,这可能是两个谱系发生遗传分化的原因之一。

造成白木香谱系之间基因交流障碍的原因可能由以下几方面:(1)地理因素,白木香两谱系间有明显的地理隔绝。在广东、广西交界处及附近有东北-西南走向的云开大山、六万大山、大容山等,它们象一道天然的地理屏障阻碍着两谱系间的基因交流。谱系 I 分布的地区大多是平原地区,偶有的山脉其走向也和白木香的扩张方向一致,如云雾山、天雾山等,它们并不会阻碍谱系中白木香之间的基因交流;谱系 II 中也有类似的现象。(2)生态环境因子,谱系 I 分布的地貌以丘陵平原为主,而谱系 II 则是山地较多。从年平均气温、年降雨量、全年日照时数 3 个指标上看,谱系 II 的平均水平明显要低于谱系 I。因此认为,中国东南地区不同的生长环境间接导致了白木香居群间的遗传分化。(3)杂交因素,云南特有种云南沉香(*A. yunnanensis* S. C. Huang)和白木香形态学特征极为相似,分布地区也和本实验在云南采集的白木香相似^[18]。云南勐腊既是本实验勐腊居群(YM)的采集地,也是云南沉香模式标本的采集地。推测云南,特别是勐腊等地的白木香和云南沉香可能存在一定程度的基因交流,这种基因交流可能导致部分白木香的遗传分化。云南沉香和白木香间的遗传关系还需进一步的研究。

参考文献

[1] State Environment Protection Administration of China(国家环境保护局), Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences(中国科学院植物研究所). The Catalogue of the Rare and Endangered Plant in China [M]. Beijing: Science Press, 1987: 1-96.(in Chinese)

[2] Qi S Y(戚树源), Lin L D(林立东), Ye Q F(叶勤法). Benzylacetone in agarwood and its biotransformation by *melanotus flavolivens* [J]. Chin J Biotechn(生物工程学报), 1998, 14(4): 464-467.(in Chinese)

[3] Liu J M(刘军民), Gao Y H(高幼衡), Xu H H(徐鸿华), et al. Chemical constituents of *Aquilaria sinensis* [J]. Chin Trad Herb

Drugs(中草药), 2006, 37(3): 325-327.(in Chinese)

[4] Ye Q F(叶勤法), Qi S Y(戚树源), Lin L D(林立东). Tissue culture and rapid propagation of *Aquilaria sinensis* [J]. Chin Bull Bot(植物学通报), 1997, 14: 60-63.(in Chinese)

[5] Du Q(杜勤), Wang Z H(王振华), Liu S F(刘书芬), et al. The study of tissue culture of *Aquilaria sinensis* [J]. Chin J Chin Mat Med(中国中药杂志), 2001, 26(10): 679-680.(in Chinese)

[6] Shen Y J(申彦晶), Tan X M(谭雪梅), Zhao X(赵翊), et al. Genetic variation and molecular identification of *Aquilaria sinensis* by ISSR [J]. Pharm J Chin People Liberat Army(解放军药学报), 2008, 24(1): 1-3.(in Chinese)

[7] Doyle J J. Molecular Techniques in Taxonomy [M]. Germany Berlin: Springer-Verlag Press, 1991: 283-293.

[8] Yeh F C, Yang R C, Boyle T, et al. POPGENE, the User Friendly Shareware for Population Genetic Analysis [M]. Canada: University of Alberta, Edmonton Press, 1997: 245-297.

[9] Miller M P. AMOVA ~ PREP 1.01: A program for the Preparation of AMOVA Input Files from Dominant~markers Raw Data [CP]. 1998.

[10] Rohlf F J. NTSYS-pc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, ver. 2.02 [CP]. New York, USA: Exeter Ltd., Setauket. 1997: 2-56.

[11] Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals [J]. Genetics, 1978, 89: 583-590.

[12] Nybom H, Igor V B. Effects of life history traits and sampling strategies on genetic diversity estimates obtained with RAPD markers in plants [J]. Perspect Plant Ecol Evolut Syst, 2000(3/2): 93-114.

[13] Nybom H. Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants [J]. Mol Ecol, 2004, 13: 1143-1155.

[14] Lu P(卢萍), Zhao M L(赵萌莉), Han G D(韩国栋), et al. Genetic diversity studies of *Oxytropis glabra* by ISSRs in Inner Mongolia [J]. Acta Bot Boreal-Occid Sin(西北植物学报), 2007, 27(6): 1102-1107.(in Chinese)

[15] Zhao C F(赵春芳), Chen G J(陈国娟), Wang Y H(王芋华), et al. Genetic variation of *Hippophae rhamnoides* populations at different altitudes in the Wolong Nature Reserve based on RAPDs [J]. Chin J Appl Environ Biol(应用与环境生物学报), 2007, 13(6): 753-758.(in Chinese)

[16] Su Y P(苏越平). The biological characteristics of Huang Guenee in *Aquilaria sinensis* [J]. J Chin Med Mat(中国药学报), 1994, 17(2): 7-9.(in Chinese)

[17] Su Z Y(苏志尧), Liao W B(廖文波). Formation and biogeographical characteristics of rare and endangered plants in South China's Lingnan Region [J]. Acta Sci Nat Univ Sunyatseni(中山大学学报: 自然科学版), 1999, 38(6): 84-89.(in Chinese)

[18] Huang S Q(黄蜀琼). Taxa nova *Thymelaeacearum sinicarum* [J]. Acta Bot Yunnan(云南植物研究), 1985, 7(3): 277-291.(in Chinese)