

# 湖北星斗山台湾杉居群的遗传多样性研究

杨琴军, 陈光富, 刘秀群, 陈龙清\*

(华中农业大学园艺植物生物学教育部重点实验室/园艺林学学院, 武汉 430070)

**摘要:** 采用随机扩增多态性 DNA(RAPD)方法对子遗植物台湾杉分布于湖北星斗山的野生和栽培居群共 42 个个体进行了遗传多样性分析。从 60 个随机引物中筛选出 13 个引物,共扩增出 155 条清晰谱带,多态位点百分率为 72.9%。野生居群和栽培居群的多态位点百分率分别为 65.81%和 59.35%;Nei's 基因多样性分别为 0.2001 和 0.1911;Shannon's 信息指数分别为 0.3120 和 0.2946。野生居群的遗传多样性高于栽培居群,表明这些原上古树的后代出现了一定程度的遗传衰退。用 UPGMA 方法对 42 个单株聚类可知,来自野生群体的个体和来自栽培群体的个体明显地各聚为一类。尽管子遗物种台湾杉在湖北仅有一个野生群体,且为零星分布,总个体数 40 多株,但仍保持较高的遗传多样性水平,这说明遗传多样性不是导致其种群濒危的主要原因,导致台湾杉种群濒危的原因可能与台湾杉自然种群及群落所处生境的直接破坏及其本身生物学和生态学特性所导致的自然更新不良有着密切的联系。

**关键词:** 台湾杉; 濒危树种; RAPD; 遗传多样性

**中图分类号:** Q941    **文献标识码:** A    **文章编号:** 1000-3142(2009)04-0450-05

## Analysis of genetic diversity of *Taiwania cryptomerioides* in Xingdoushan, Hubei Province

YANG Qin-Jun, CHEN Guang-Fu, LIU Xiu-Qun, CHEN Long-Qing\*

(Key Laboratory of Horticultural Plant Biology, Ministry of Education/College of Horticulture and Forestry Sciences, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

**Abstract:** In this project, RAPD markers were used to investigate the level of genetic diversity of 42 individuals in the wild and cultivated populations of *Taiwania cryptomerioides*, which distributed in Xingdoushan National Natural Reserve of Hubei Province. 13 primers were selected from the tested 60 random primers and 155 DNA fragments were scored. The percentage of polymorphic loci of the wild and cultivated populations were 65.81% and 59.35%, respectively. Nei's gene diversity and Shannon's information measure(H) of the wild population were 0.2001 and 0.3120, respectively; while the corresponding values of the cultivated one were 0.1911 and 0.2946, respectively. The genetic diversity of the wild population was higher than that of the cultivated one. The results showed that the cultivated population had a certain extent genetic recession. In the UPGMA dendrogram based on Nei's genetic distance, the individuals from the wild and cultivated populations clustered respectively. Preliminary study showed that *T. cryptomerioides* maintained a relatively high level of genetic diversity, though there were nearly 40 wild trees distributing fragmently in Hubei Province. This meant that the main cause threatening its natural population was not the low genetic diversity. The endangered status of this taxon was mainly attributed to the habitat deterioration and disturbance, and the poor natural regeneration ability caused by its own biological and ecological characteristics.

**Key words:** *Taiwania cryptomerioides*; endangered tree; RAPD; genetic diversity

收稿日期: 2008-07-22    修回日期: 2008-11-11

基金项目: 华中农业大学科技创新基金[Supported by Science and Technology Innovation Project of Huazhong Agricultural University]

作者简介: 杨琴军(1974-),女,湖北应城人,在职博士,从事园林植物种质资源的遗传多样性、发育生物学等研究,(E-mail) yangqj@mail.hzau.edu.cn.

\* 通讯作者(Author for correspondence, E-mail: chenlq@mail.hzau.edu.cn)

杉科(Taxodiaceae)是一个起源古老、演化历史悠久的科,现存各属均为古老的孑遗类群(于永福, 1995)。台湾杉(*Taiwania cryptomerioides*, 曾用名: 秃杉)为杉科台湾杉属植物,是杉科植物中最进化的一个类群(于永福等, 1996)。台湾杉为第三纪古热带植物区系孑遗植物,曾广泛分布于欧洲和亚洲东部,由于第四纪冰期的影响,现仅残存于我国湖北、云南、贵州、福建等地,种群规模小,多为星散分布,而且其中很大一部分为珍贵的古树(《主要珍稀濒危植物树种繁殖技术》编辑委员会编, 1992)。由于生境的片段化,自然历史、人为破坏等因素,台湾杉数量正日益减少,处于濒危状态,被林业部列为我国一级保护的珍贵树种。台湾杉还是优质珍贵的用材树种和庭园绿化树种,并且对研究我国历史植物区系及古生物、古气候、古地质学等有着重要的意义。

种下水平的遗传变异研究对了解濒危物种在未來环境下的适应或进化以及物种保护具有深刻的意义(Millar & Libby, 1991; Schaal 等, 1991),因此近年来濒危物种的遗传多样性研究成为一项备受关注的研究课题,研究结果为濒危物种保育策略的制定提供了科学依据(李昂等, 2002; Rob & George, 2004)。

国内外对台湾杉的研究主要集中在起源、引化、系统发育、胚胎学、细胞学(于永福, 1995; 于永福等, 1996; Chen 等, 2006),生物生态习性、地理分布(胡玉熹等, 1995)及群落、种群特征(廖凤林等, 2004)等方面,遗传多样的研究很少; Lin 等(1993)用等位酶标记研究了 4 个台湾杉栽培居群的遗传多样性,张瑞麟(2005)对取自台湾的 8 个台湾杉群体的 108 个样本用 ISSR 标记进行了遗传变异研究。本文运用 RAPD 分子标记技术对分布于湖北星斗山的野生台湾杉居群和当地的一个台湾杉栽培居群进行了遗传多样性研究。本研究结果将对有效保护和利用台湾杉这一珍稀树种具有借鉴和指导意义。

## 1 星斗山台湾杉自然分布概况

湖北利川市、恩施市、咸丰县境内的星斗山国家级自然保护区是台湾杉在湖北的主要野生分布地,保护区共计有野生分布的台湾杉 40 多株,其中树龄在 100 年以上的有 28 株,主要分布于利川市毛坝乡的花板溪村和楠木村,且多散生于屋旁、田旁、沟旁,呈小片聚集的主要有 2 块,其中一块 6 株,另一块 11 株。如果用胸径分级代表年龄结构,则可得出这

样的结论:台湾杉种群年龄结构极不合理,种群处于严重衰退过程中。胸径在 0.25 m 以上的大树约占 90%,中、小树极其缺乏,未发现自然更新的幼苗(杨琴军等, 2006)。这些特征表明台湾杉亟待保护。

## 2 材料与方法

### 2.1 实验材料

湖北星斗山有野生台湾杉 40 多株,因此尽量对所有个体进行取样(但有些植株太高,未取到样本)。单株采集台湾杉幼嫩叶片,置于加入了足量干燥剂的塑料袋中密封,带回实验室后置于 -20 °C 的冰箱中保存。本研究来源于野生居群的样本数为 20 个(W1-W20),采样过程先实测每棵树的胸径,然后根据廖凤林等(2004)建立的台湾杉年龄与胸径的数学模型估测所采样本的树龄,得出野生居群的个体树龄在 100 年以上的占 80% 以上。另外,随机选取了当地栽培台湾杉居群的 22 个样本,记作 C1-C20(栽培居群为星斗山野生台湾杉母树的种子播种繁殖后得到的实生苗群体,树龄 17 年,栽植于保护区内)。

### 2.2 实验方法

2.2.1 DNA 的提取与检测 采用改进的 CTAB 法从硅胶干燥的针叶中提取 DNA(陈光富等, 2008)。取适量的 DNA 进行 0.8% 的琼脂糖凝胶电泳,检测 DNA 样品的完整性、有无降解;用紫外分光光度计分别测定适量稀释的 DNA 样品在波长 230 nm、260 nm、280 nm 的吸光值  $A_{230}$ 、 $A_{260}$ 、 $A_{280}$ 。利用  $A_{260}$  计算 DNA 样品的浓度,  $A_{230}/A_{260}$  及  $A_{260}/A_{280}$  的比值评价 DNA 样品的纯度。

2.2.2 引物筛选 用 Invitrogen 公司合成的 60 条随机引物(10 bp),随机从野生居群和栽培居群中各取一个 DNA 样品,利用优化的 PCR 反应体系进行扩增筛选。选择能扩增出清晰、稳定、重复性好、多态性强的图谱的 13 条引物用于所有样品的分析。引物序列见表 1。

2.2.3 PCR 扩增及产物检测 用筛选好的 13 条随机引物对全部的台湾杉的样品 DNA 进行 PCR 扩增。基因组 DNA 根据所测浓度稀释至 20 ng/ $\mu$ L 作为模板。反应总体积为 20  $\mu$ L,其中含有 40 ng 模板 DNA、1U Taq 酶、0.2 mmol/L dNTP、0.4  $\mu$ mol/L 引物、1.8 mmol/L  $Mg^{2+}$ 、2  $\mu$ L 10 $\times$ buffer。上述 PCR 扩增液除 Primer 为 Invitrogen 公司以外,其它均为 MBI Fermentas 公司的产品。扩增程

序 94 °C 预变性 3 min, 37 °C 退火 1 min, 72 °C 延伸 2 min, 一个循环; 接着 36 个循环: 每个循环包括 94 °C 55 s, 37 °C 55 s, 72 °C 100 s; 再 72 °C 延伸 10 min。扩增在 PE9600 型 PCR 仪上进行。

表 1 引物名称、序列及多态性片段数  
Table 1 Primer sequence and the number of polymorphic loci

| 引物序号<br>Primer | 序列(5'-3')<br>Sequence | 扩增总带数<br>No. of<br>total bands | 多态性带数<br>No. of<br>polymorphic<br>bands |
|----------------|-----------------------|--------------------------------|-----------------------------------------|
| P11            | AGGGCCGTCC            | 15                             | 11                                      |
| P12            | AGGGTCGTTC            | 11                             | 7                                       |
| P13            | AGGGCGTAAG            | 11                             | 8                                       |
| P20            | CAAACGTCGG            | 13                             | 7                                       |
| P21            | CCCGAAGCGA            | 8                              | 8                                       |
| P22            | CCTGTACCGA            | 14                             | 14                                      |
| P28            | CCGAACACGG            | 12                             | 8                                       |
| P45            | TGGCGCAGTG            | 11                             | 8                                       |
| P48            | TCCGAGAGGG            | 9                              | 6                                       |
| P57            | GACCGCTTGT            | 9                              | 6                                       |
| P70            | GGCGGTTGTC            | 13                             | 9                                       |
| P74            | GAGCGATTCT            | 12                             | 7                                       |
| P79            | GGTGCTCCGT            | 17                             | 12                                      |

扩增产物检测: 以 1×TAE 为电泳缓冲液, 取 10 μL 的扩增产物在含有 0.5% EB 的 2.0% 琼脂糖凝胶上电泳 2 h 左右 (5 v/cm)。采用的 DNA 标准样品 Marker: 100 bp DNA Ladder, 分子量范围 100

~3 000 bp, 购自 MBI 公司。电泳结束后利用 Gel-Logic 200 凝胶扫描成像系统拍照并保存。

2.2.4 结果统计与数据分析方法 PCR 产物统计: 电泳图谱中的每一条带 (DNA 片段) 作为一个分子标记, 并代表一个引物结合位点。根据各分子标记的迁移率及其有无计算所有位点的二元数据: 显带计为“1”, 无带计为“0”。强带和弱带均赋值为“1”。

多态位点百分率 (P): 是指多态位点数占总位点数的百分比 ( $P = \text{多态位点数} / \text{位点总数}$ )。

基因多样性的度量: 运用 POPGENE32 软件计算 Nei's 基因多样性指数 (Hoelzel, 1992) 和 Shannon 信息指数 I (King & Schaal, 1989)。

遗传分化程度的度量: 用 NTSYSpc Version 2.10 (Rohlf, 1994) 计算个体间的相似系数, 并根据这些系数采用类平均法 (UPGMA) 对 42 个个体进行聚类分析, 获得聚类图。

### 3 结果与分析

#### 3.1 DNA 浓度检测及琼脂糖凝胶电泳检测

用紫外分光光度计检测  $A_{260}/A_{280}$  比值在 1.8 左右, DNA 产率为 200~600 ng/mg 干重。图 1 的凝胶电泳检测结果显示, 得到的 DNA 样品质量较好, 电泳带为一条清晰的带, 仅有少数样品有轻微程

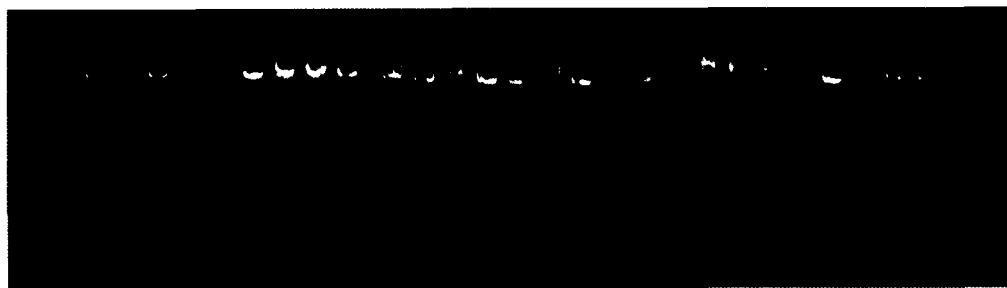


图 1 DNA 琼脂糖检测  
Fig. 1 Agarose detection of DNA

度的降解, RAPD 扩增表明对结果影响不大。

#### 3.2 PCR 扩增片段的多态性

13 个引物共产生 155 条谱带, 每个引物扩增的条带为 8~17 条不等 (表 1、图 2), 其中引物 21、22 扩增多态位点百分率达 100%。扩增谱带分子量在 250~2 000 bp 之间, 多态性带共有 113 条, 多态率为 72.9%。从扩增图谱可以看出, 野生居群有 6 个

特有标记, 分别是: 引物 P11 的第 14、15 个位点, P28 的第 10 个位点, P57 的第 9 个位点, P70 的第 11 个位点, P74 的第 12 个位点, P79 的第 17 个位点。栽培居群仅有一个特有标记: P57 的第 2 个位点。这表明野生居群具有较多的遗传变异。

#### 3.3 遗传多样性分析

经过统计得出的结果 (表 2), 野生居群 13 个引



图 2 引物 P11 对台湾杉 42 个样品的 RAPD 扩增图谱(1-20. 野生居群; 21-42. 栽培居群)  
Fig. 2 RAPD bands of *T. cryptomerioides* samples amplified with primer 11  
(1-20. wild populations; 21-42. cultivated populations)

表 2 野生居群和栽培居群的多态位点

Table 2 The polymorphic loci of the wild and cultivated populations of *T. cryptomerioides*

| 居群<br>Population | 样品总数<br>Total samples | 单态性位点<br>Monomorphic loci | 多态位点<br>Polymorphic loci | 多态位点<br>百分率<br>P (%) |
|------------------|-----------------------|---------------------------|--------------------------|----------------------|
| 野生 Wild          | 20                    | 47                        | 102                      | 65.81%               |
| 栽培 Cultivated    | 22                    | 57                        | 92                       | 59.35%               |
| 总体 Total         | 42                    | 42                        | 113                      | 72.9%                |

表 3 台湾杉野生和栽培居群的遗传变异

Table 3 Genetic variation of wild and cultivated populations of *T. Cryptomerioides*

| 居群<br>Population | 个体数<br>Samples | 多态位点百<br>分率 P (%) | Nei's 基因<br>多样性 HE | Shannon's<br>指数 I |
|------------------|----------------|-------------------|--------------------|-------------------|
| 野生 Wild          | 20             | 65.81             | 0.2001             | 0.3120            |
| 栽培 Cultivated    | 22             | 59.35             | 0.1911             | 0.2946            |

本未能理想聚类,可能是由于采样的主观性或实验误差引起。

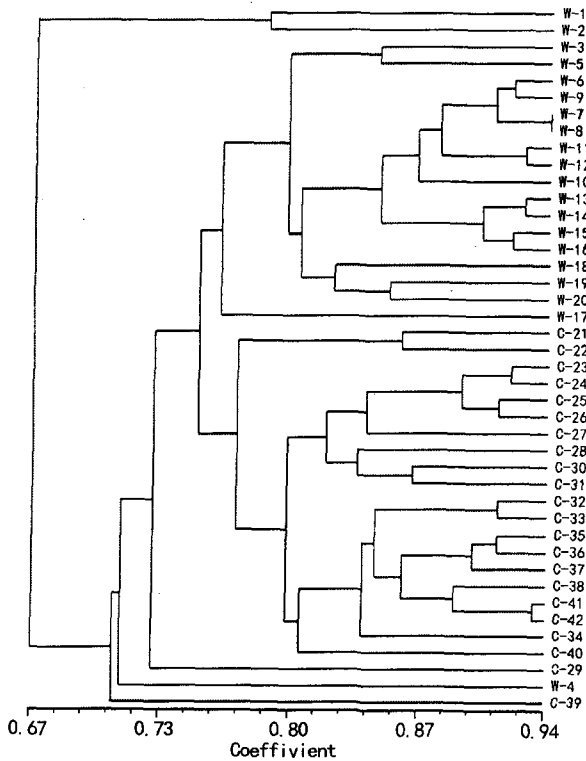


图 3 台湾杉单株间的 Nei's 遗传  
一致度 UPGMA 聚类图

Fig. 3 Dendrogram of UPGMA based on Nei's genetic identity of the 42 trees of *T. cryptomerioides* population codes

物共扩增出 102 个多态位点,多态位点百分率为 65.81%。栽培居群 13 个引物共扩增出 92 个多态位点,多态位点百分率 59.35%,野生居群的多态位点百分率比栽培居群高,表明台湾杉的野生居群的遗传多样性高于栽培居群。Nei's 基因多样性和 Shannon's 信息指数也显示出类似的结果:野生居群高于栽培居群(表 3),但两者的遗传多样性相差并不大。这表明栽培居群在一定程度上反映了野生居群的遗传多样性,栽培居群的种源可能来自于野生居群多个母株所结种子的混合体。这几个遗传多样性度量参数表明台湾杉具有较丰富的遗传多样性。

3.4 单株 UPGMA 聚类分析

用 NTSYSpc Version 2.10 (Rohlf, 1994) 根据相似系数对单株进行 UPGMA 聚类(图 3)分析。从聚类图来看,来自栽培群体和野生群体的个体分别聚类的现象很明显,只有个别样本例外。这表明栽培群体和野生群体之间有明显的遗传差异,个别样

4 台湾杉濒危原因探讨

保护物种,从某种意义上说,就是保护物种的遗传多样性或进化潜力。遗传多样性是物种长期进化

的产物,是种群生存和发展的前提。有些学者发现稀有植物所具有的遗传变异比常见种低,稀有种群缩小而导致近亲繁殖和等位基因的随机固定,从而降低了其种群生存的能力(葛颂等,1997)。种内遗传多样性愈丰富,物种对环境变化的适应能力愈大,其进化潜力也就愈大。子遗植物台湾杉是一个古老的树种,具有寿命长、风媒传粉、种子细小扁平且具有翅,有靠风力传播的特点。理论上台湾杉应具有较高的遗传多样性,并且本实验的结果也显示台湾杉具有较高水平的遗传多样性:野生居群和栽培居群多态位点百分率分别为 65.81% 和 59.35%,星斗山野生居群的 Nei's 基因多样性和 Shannon's 信息指数分别为 0.2001 和 0.3120。张瑞麟(2005)对取自台湾的 8 个台湾杉群体的 108 个样本用 ISSR 标记进行了遗传变异研究,也得到了较高的多态位点百分率,  $P=70.83\%$ 。他从 100 个引物中筛选出了 4 条引物,总共获得 24 条带,其中 17 条为多态性带。进一步分析表明其遗传变异主要存在于居群间(84.74%),居群内的变异为 15.26%。但为何筛选到的有效引物如此少,尚不清楚。本研究因为居群较少,没有做群体间遗传变异的比较。Lin 等(1993)用等位酶标记研究了 4 个台湾杉栽培居群的遗传多样性,得到的多态位点百分率也达到较高水平,  $P=50.2\%$ 。总的来说,台湾杉的遗传多样性处于较高水平,高于裸子植物的平均水平。与松柏目的一些植物 RAPD 标记的遗传多样性水平相比,高于水杉(*Metasequoia glyptostroboides*) ( $P=38.6\%$ , Nei's 基因多样性为 0.1305, Shannon's 信息指数为 0.1921)(李晓东等,2003);也高于水松(*Glyptostrobus pensilis*)的  $PPL=24.7\%$  (Li & Xia, 2005),高于银杉(*Cathaya argyrophylla*) ( $P=32\%$ )(汪小全等,1996),远高于五针白皮松(*Pinus squamata*)的  $PPL=6.45\%$ 、Shannon 指数 I 和 Nei 指数 H 分别为 0.020 和 0.030(张志勇等,2003)。台湾杉较高的遗传多样水平有利于适应生境的变化和选择,有利于种群进化,这可能是台湾杉作为子遗植物能成为该地区建群种的原因之一,也验证了不是所有的珍稀濒危物种都表现为低水平的遗传多样性,张仁波等(2007)通过对濒危种崖柏的研究也得到了类似的结论。

湖北星斗山野生居群的遗传多样性高于栽培居群,且野生居群具有较丰富的特征标记,这些均表明野生居群具有更高水平的遗传变异。本次实验中

所采野生居群的个体绝大部分为古树,栽培居群为野生居群的大树所结种子繁殖出的后代,树龄 17 a。栽培居群的遗传多样性低于野生居群表明了这些原生古树的后代出现了一定程度的遗传衰退,这可能与种群规模下降、遗传漂变等有关。

台湾杉是一种古老的子遗植物,第四纪冰期强烈冰盖的影响导致其分布区锐减,造成台湾杉目前的孤立分布格局(于永福,1995)。野外调查显示:星斗山自然保护区内的台湾杉多零星分布,其生境受到人为的严重破坏,现存台湾杉多生长于屋旁、田旁,仅存的 2 小片林子也有多处砍伐的痕迹,其生境严重破碎化。这可能是导致其濒危更为直接的原因。另外台湾杉属异花传粉,雌球花自然授粉率低,结籽时间较晚,结籽数量少,一般每隔 3~4 a 才有一个种子年,种子发芽率低,幼树生长缓慢、喜光,这导致其种群天然更新不良,台湾杉在群落内种间竞争中处于不利地位,这可能是导致台湾杉濒危的另一个重要原因。因此逐步恢复生境、改善种群结构是保护这一濒危树种的重要措施。

台湾杉作为珍贵的子遗濒危树种,利用 RAPD 分子标记技术对其种质资源进行研究,对于其资源保存和利用具有重要意义。本研究作为初步探索性研究,对采集自湖北星斗山国家级自然保护区的台湾杉的野生和栽培两个居群的遗传结构进行了初步分析,为其种质资源保存策略提供了一些基本资料。

### 参考文献:

- 主要珍稀濒危植物树种繁殖技术编辑委员会. 1992. 主要珍稀濒危植物树种繁殖技术[M]. 北京:中国林业出版社
- 张瑞麟. 2005. 台湾杉遗传多样性之研究[D]. 台湾:国立中山大学
- Chen SH, Chung NJ, Wang YN, et al. 2006. Study of male sterility in *Taiwania cryptomerioides* (Taxodiaceae) [J]. *Protoplasma*, 228:137-144
- Chen GF(陈光富), Yang QJ(杨琴军), Chen LQ(陈龙清). 2008. DNA isolation and establishment of RAPD system of the endemic and endangered *Taiwania cryptomerioides* (台湾杉 DNA 提取及 RAPD 反应体系的建立) [J]. *Hubei Agric Sci* (湖北农业科学), 47(10):1108-1121
- Ge S(葛颂), Wang HQ(王海群), Zhang CM(张灿明), et al. 1997. Genetic diversity and population differentiation of *Cathaya argyrophylla* in Baimian Mountain (八面山银杉林的遗传多样性和群体分化) [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), 39:266-271
- Hoelzel AR. 1992. Molecular Genetic Analysis of Population [M]. London: IRL Press
- Hu YX(胡玉熹), Lin JX(林金星), Wang XP(王献溥), et al. 1995. The biology and conservation of *Taiwania cryptomerioides* (下转第 567 页 Continue on page 567)

石竹烯(Caryophyllene Oxide, 2.22%)具有抗菌消炎和抗真菌等活性(唐小江等, 2003), 也是抗胃溃疡的活性成分。另外许多含有萜环结构的化合物也都具有一定的生物活性和药理活性。通过对毛冬瓜根挥发油化学成分的分析及其相对含量的测定, 为开发利用毛冬瓜根的药用价值和药材的质量控制提供了科学依据。

## 参考文献:

- 丛浦珠, 苏克曼. 2000. 分析化学手册[M]. 北京: 化学工业出版社, 840—905
- Li DP(李典鹏), Wei JY(韦金育), Chen YY(陈月圆), et al. 2004. Studies on the chemical constituents from the root of *Actinidia indochinensis* (中越猕猴桃根化学成分研究)[J]. *Guihaia*(广西植物), 24(2): 152—154
- Magnusson BM, Runn P, Karlsson K, et al. 1997. Terpenes and ethanol enhance the transdermal permeation of the tripeptide thyrotropin releasing hormone in human epidermis[J]. *Int J Pharm*, 157(1): 113—123
- Masada Y. 1976. Analysis of Essential Oil by Gas Chromatography and Mass Spectrometry [M]. New York: John Wiley and Sons Inc., 31—72
- Qin YM(覃益民), Huang CS(黄初升), Chen XH(陈希慧), et al. 1999. Studies on the Triterpenoids constituents of Indochina *Actinidia* root(中越猕猴桃根三萜化学成分的研究)[J]. *Chin Trad Herb Drugs*(中草药), 50(5): 323—326
- Tang XJ(唐小江), Huang HR(黄华荣), Fang TZ(方铁铮), et al. 2003. The antitussive and de-sputum essential substance from the root of *Gerbera piloselloides* and its analytical compositions(毛大丁草根止咳化痰活性成分的研究)[J]. *China J Chin Mat Med*(中国中药杂志), 28(5): 426—428
- (上接第 454 页 Continue from page 454)
- oides(中国特有植物台湾杉的生物学特性及其保护)[J]. *Chinese Biodiversity*(生物多样性), 3(4): 206—212
- King LM, Schaal BA. 1989. Ribosomal DNA variation and distribution in *Rudbeckia missouriensis*[J]. *Evolution*, 43: 117—119
- Li A(李昂), Ge S(葛颂). 2002. Advances in plant conservation genetic(植物保护遗传学研究进展)[J]. *Biodiversity Sci*, 10(1): 61—71
- Li FG, Xia NH. 2005. Population structure and genetic diversity of an endangered species, *Glyptostrobus pensilis* (Cupressaceae) [J]. *Bot Bull Academia Sin*, 46(2): 155—162
- Liao FL(廖凤林), Li JL(李久林), Wu SZ(吴士章), et al. 2004. A study on the population structure and spatial distribution pattern of *Taiwania cryptomerioides* in the Leigong Mountains of Guizhou Province(贵州雷公山台湾杉种群结构及空间分布格局)[J]. *J Guizhou Norm Univ(Nat Sci)*(贵州师范大学学报·自然科学), 22(2): 6—9
- Li XD(李晓东), Huang HW(黄宏文), Li JQ(李建强). 2003. Genetic diversity of the relict plant *Metasequoia glyptostroboides* (孑遗植物水杉的遗传多样性研究)[J]. *Biodiversity Sci*(生物多样性), 11(2): 100—108
- Lin TP, Lu CS, Chung YL, et al. 1993. Allozyme variation in 4 populations of *Taiwania cryptomerioides* in Taiwan[J]. *Silv Genet*, 42(4—5): 278—284.
- Millar CI, Libby WJ. 1991. Strategies for conserving clinal, ecotypic and disjunct population diversity in widespread species [M]//Falk DA, Holsinger KE(eds). Genetics and Conservation of Rare Plants. New York: Oxford University Press, 149—170
- Rob DS, George A. 2004. The expansion of conservation genetics [J]. *Nature Review*, 5: 702—712
- Rohlf FJ. 1994. NTSYS-PC[M]. Version 2. 10, New York: Applied Biostatistics Inc
- Schaal BA, Leverich WJ, Rogstad SH. 1991. Comparison of methods for assessing genetic variation in plant conservation biology [M]//Falk DA, Holsinger KE(eds). Genetics and conservation of rare plants. New York: Oxford University Press, 123—134
- Wang XQ(汪小全), Zou YP(邹喻苹), Zhang DM(张大明), et al. 1996. Genetic diversity analysis by RAPD of *Cathaya argyrophylla* (银杉遗传多样性的 RAPD 分析)[J]. *Science in China (Series C)* 中国科学(C 辑), 26(5): 436—441
- Yang QJ(杨琴军), Xu H(徐辉), Yan ZG(严志国), et al. 2006. The natural resources and conservation of *Taiwania cryptomerioides* in Hubei Province(湖北省原生台湾杉资源及其保护)[J]. *Guihaia*(广西植物), 26(5): 551—556
- Yu YF(于永福). 1995. Origin, evolution and distribution of the Taxodiaceae(杉科植物的起源、演化及其分布)[J]. *Acta Phytotax Sin*(植物分类学报), 33(4): 362—389
- Yu YF(于永福), Fu LG(傅立国). 1996. Phylogenetic analysis of the family Taxonodiaceae(杉科植物的系统发育分析)[J]. *Acta Phytotax Sin*(植物分类学报), 34(2): 124—141
- Zhang ZY(张志勇), Li DZ(李德铎). 2003. Conservation genetics of an extremely endangered Pine, *Pinus squamata* (极度濒危植物五针白皮松的保护遗传学研究)[J]. *Acta Bot Yunnan*(云南植物研究), 25(5): 544—550
- Zhang RB(张仁波), Dou QL(窦全丽), He P(何平), et al. 2007. Analysis of genetic diversity in *Thuja sutchuenensis* populations as revealed by morphological and molecular data(濒危植物崖柏遗传多样性研究)[J]. *Guihaia*(广西植物), 27(5): 687—691