

植物保护遗传学研究进展

李昂 葛颂*

(中国科学院植物研究所系统与进化植物学开放研究实验室, 北京 100093)

摘要: 保护遗传学是运用遗传学的原理和研究手段,以生物多样性尤其是遗传多样性的研究和保护为核心的一门新兴学科。近几十年来,遗传学研究在生物多样性保护的理论和实践中发挥着越来越重要的作用。本文简要回顾了保护遗传学的发展历史、研究方向和涉及的概念,着重介绍了植物保护遗传学研究所取得的一些进展,包括植物系统发育重建和保护单元的确定、遗传多样性与物种和群体适应性之间的关系、群体遗传结构与保护策略的制定以及植物遗传资源的鉴定和利用等方面的内容,并强调保护遗传学研究是未来生物多样性和保护生物学研究中一个亟待加强的研究领域。

关键词: 保护遗传学,生物多样性,植物

中图分类号: Q16 文献标识码: A 文章编号: 1005-0094(2002)01-0061-11

Advances in plant conservation genetics

LI Ang, GE Song

Laboratory of Systematic and Evolutionary Botany, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093

Abstract: Conservation genetics is a new field of research focusing on the studies and practices of biodiversity conservation based on the principles and techniques of population genetics. During the past decades, genetic studies have made increasingly great contributions to biodiversity conservation in theory and practice. In this paper, we briefly introduce the concept and history of conservation genetics, and highlight progress in plant conservation genetics. Four major aspects of conservation genetics in plants are addressed, including plant phylogenetic reconstruction and identification of conservation units, the relationship between genetic diversity and species fitness, population genetic structure and conservation strategies, as well as the identification and utilization of plant genetic resources. In addition, the great importance of genetic studies in plant conservation is discussed.

Key words: conservation genetics, biodiversity, plant

1 前言

生命在地球上出现至今,已经有三十多亿年的历史。经过多次大绝灭和适应辐射,各种生命形式共同缔造了自然界的一片繁荣景象。然而,近几百年来,由于世界人口的高速增长,人类经济活动的不断加剧,地球上的生物多样性正在急剧下降(Frankham, 1995)。尤其是在生物多样性十分丰富的热带、亚热带发展中国家,由于人口膨胀和经济发展所带来的压力,生态系统正受到严重的破坏,大量物种已经灭绝或处于濒危状态;与此同时,许多物

种的居群规模正在锐减,种内遗传多样性急剧丧失(葛颂,洪德元,1994;Meffe *et al.*, 1994; Avise & Hamrick, 1996)。与此同时,人类对生物资源的依赖和需求却在日益增大。在这些严酷的事实面前,人们终于认识到,自然界中物种的多样性和进化潜力是其自身生存和发展的基础,保护物种及其所蕴藏的遗传多样性就是保护生物多样性,就是保护人类赖以生存的资源,就是保护人类自己(陈灵芝等, 1993; Meffe *et al.*, 1994)。

20世纪70年代,国际社会开始意识到人类经

济活动的加剧正在对生态环境产生不利影响,进而对生物(包括我们人类自身)的生存带来直接的威胁,从而把生物多样性的研究和保护提到了空前的高度,一门新的综合性学科——保护生物学(Conservation Biology)也应运而生(蒋志刚等,1997;Meffe *et al.*, 1994)。随后,有关的研究和保护活动也在各国开展起来。在生物多样性三个主要层次,即遗传多样性、物种多样性和生态系统多样性中,遗传多样性是指生物体内决定性状的遗传因子及其组合的多样性,是物种多样性和生态系统多样性的基础(葛颂,洪德元,1994;Avisé & Hamrick, 1996)。任何物种,只有具备一定的遗传多样性才能抵御自然界中的各种生存压力,否则灭绝将是不可避免的(Meffe *et al.*, 1994; Avisé & Hamrick, 1996)。

基于这一认识,近20年来,在保护生物学的研究和实践过程中,人们逐步将遗传学的原理和方法运用于生物多样性的研究和保护,成为保护生物学中一个十分活跃的研究领域和方向(葛颂,洪德元,1994;胡志昂,张亚平,1997;邹喻莘等,2001;Falk & Holsinger, 1991; Avisé & Hamrick, 1996),由此而产生了一门新的学科——保护遗传学(Conservation Genetics)。本文试图就该学科的概念、发展历史和研究内容,尤其是在植物保护遗传学中取得的一些成绩做一概述,以期推动国内该领域的研究。

2 保护遗传学的概念、目的和研究内容

尽管保护遗传学这一名词的提出和广泛应用的时间并不很长,但遗传学在资源和物种保护中的应用则可以回溯到20世纪30年代。1937年,Errington和Hamerstromsh在野生动物管理方面首次提出了“Conservation Biology”这一名词,而20世纪二三十年代,俄罗斯科学家Vavilov等通过对农作物的研究已开始强调遗传多样性的重要性^①。此后的几十年间,染色体、等位酶、DNA等多种遗传分析手段逐步得到广泛应用,为保护遗传学研究积累了大量资料,所涉及的物种也从农作物扩展到野生动植物和人类(葛颂,洪德元,1994;胡志昂,张亚平,1997;Meffe *et al.*, 1994)。尤其是70年代以后,分子生物学和群体遗传学的迅猛发展,为保护遗传学研究的开展奠定了坚实的理论和技術基础。1978年第一届国际保护生物学大会的召开,标志着该学科的确立,而在众多保护生物学研究者中,有相当一

部分是从事遗传学和群体遗传学研究工作的。此后,保护遗传学方面的研究日益增多,保护遗传学逐步形成和完善了自己的理论体系和研究方法,开始以一门崭新学科的姿态出现(Avisé & Hamrick, 1996; Holsinger, 1996)。在此其间,由Frankel和Soule编著的《Conservation & Evolution》(1981)和由Schonewald-Cox等编辑的《Genetics and Conservation》(1983)对该领域的发展起到了积极的作用。1991年由Falk和Holsinger编辑的《Genetics and Conservation of Rare Plants》是对植物该领域研究的一个较为全面的回顾和总结。如今,保护遗传学已经逐渐发展成为一门成熟的学科,全世界许多学者在从事这方面的研究,有关的文献资料逐年增加(Meffe *et al.*, 1994; Loescheke *et al.*, 1994; Frankham, 1995; Avisé & Hamrick, 1996; Goldstein *et al.*, 2000)。2000年,在国际著名的学术出版社Kluwer Academic Publishers的组织和推动下,一份名为《Conservation Genetics》的国际性专业期刊在荷兰创刊,标志着这门学科已逐步成熟并受到国际社会的广泛关注。

根据Woodruff(1989, 1990)的定义,保护遗传学就是运用遗传学的原理和研究手段,以生物多样性尤其是遗传多样性的研究和保护为核心的一门新兴学科。实际上,它可以说是一个多学科的综合,融合了群体遗传学、生态学、分子生物学、数学和系统与进化等许多领域的研究内容,兼有基础科学和应用科学的性质。保护遗传学是在对濒危物种制定正确的保护策略中应运而生的,它首先要解决的问题是确立保护单元、查明物种当前的遗传学状况(即遗传多样性水平、居群的分化程度等),并据此决定对其实施何种保护策略。由于保护遗传学是一门综合性很强的学科,其研究内容涉及物种保护的各个方面。尽管不同学者有不同的观点(Frankham, 1995; Avisé & Hamrick, 1996; Holsinger, 1996),但正如Avisé & Hamrick(1996)在《Conservation Genetics》一书中所指出的,其核心内容不外乎5个方面的内容,即研究居群内遗传变异的水平及其意义;居群内个体间的亲缘关系式样;居群的群体遗传结构和居群间的进化关系;种间界限和杂交;以及物种或更高级

① 宿兵,1996. 中国八种珍稀动物的遗传多样性与保护. 中国科学院昆明动物研究所博士学位论文

别类群间的系统发育关系。此外,物种的进化历史、适应潜力和濒危的机制、交配系统及其进化机制、外来种入侵的遗传后果、栽培群体经济形状衰退、法学鉴定(包括与贸易有关的品种和品系鉴定)等等都属于保护遗传学的研究范畴(Milligan *et al.*, 1994; Frankham, 1995; Holsinger, 1996; Case *et al.*, 1998; Soule & Hillis, 1998; Congiu *et al.*, 2000; Goldstein *et al.*, 2000)。

3 植物保护遗传学所取得的成绩

保护遗传学的原理和方法在野生动物中得到较为广泛的应用,如大熊猫(*Ailuropoda melanoleuca*)、白犀牛(*Ceratotherium simum*)、红顶啄木鸟(*Picoides borealis*)和太平洋鲑鱼(*Oucorhynchus* spp.)等物种的保护,都是由于遗传学的介入而收益颇大(胡志昂,张亚平,1997;Meffe *et al.*, 1994;Avise & Hamrick, 1996;Soule & Hillis, 1998)。动物遗传资源的研究、保护和利用也成为当前科学界讨论的焦点(Morin 2000;Ryder *et al.*, 2000)。尽管植物的保护遗传学起步相对较晚,但近年来已取得了可喜的进展。以下将简单介绍植物保护遗传学主要研究领域的进展和取得的主要成绩。

3.1 系统发育重建和物种保护单元的确定

制定物种保护策略和措施的最重要一步是确定需要优先保护的类群或物种。尽管迄今在科学上被描述过的物种仅有 175 万种,但估计地球上与人类共栖共存的物种大约有 1300 ~ 1400 万种(Heywood *et al.*, 1995)。面对如此庞大的物种多样性和大量物种处于灭绝边缘这一事实,保护活动所能涉及的物种只是其中很小的一部分,并非所有类群对人类都同等重要,因此确定优先保护的类群是保护遗传学要解决的重要问题之一。1986 年,Ryder 首次提出了“进化显著单元(evolutionarily significant units)(ESU)”的概念,用来代表根据不同技术确定的、具有明显适应性变异的一组群体(Ryder, 1986),由于其在进化上的独特性而需要加以优先保护。ESU 的概念已在动物的遗传管理和保护中得到广泛运用(胡志昂,张亚平,1997;Crandall *et al.*, 2000)。

Moritz(1994)曾对 ESU 给出了一个量化的定义,其基本含义是:如果有 A 和 B 两个类群,若它们在线粒体 DNA 水平上互为单系群(reciprocal monophyly),并且在核基因座位上的基因频率已有显著

分化,则认为 A 和 B 两个类群分属不同的 ESU,在保护和遗传管理中应分别对待。实际上,根据遗传上的独特性来确定保护类群主要是基于类群的分类学地位和种间关系,即利用分类学和系统发育方面的资料来确定优先保护的类群(胡志昂,张亚平,1997;邹喻苹等,2001)。例如,那些特有的单型属或科应给予最优先的保护,因为它们分类或遗传上最为独特因而不可替代(Falk & Holsinger, 1991)。在植物中,对类群研究的不足和偏差常常导致对物种濒危现状的错误判断(洪德元等,1995)。因此,利用遗传学资料和数据进行分类处理和澄清种间关系在植物保护遗传学中就显得尤为重要。

茄科的一年生草本 *Oryctes nevadensis* 是 *Oryctes* 属的唯一成员,只出现在美国 Owens Valley 的 6 个地点以及相邻的 Nevada 几个地点。1986 年统计只发现 603 株个体,是非常濒危的物种,但未被列入濒危物种名录。1991 年,Holsinger & Gottlieb 提出,*Oryctes nevadensis* 完全应该加以优先保护,不仅仅因为该种只有 603 株个体,而且因为其代表了一个独特的进化类群。相反,锦葵科(Malvaceae)的 *Iliamna corei* 被美国联邦政府列为濒危植物,因为该种迄今只发现有 1 个居群,分布于美国 Virginia 州,然而该种的近缘种 *I. remota* 则分布于 Virginia、Indiana 和 Illinois 3 个州。Steward & Excoffier(1996)利用 RAPD 技术研究了这 2 个种的遗传多样性及其两者之间的分类关系,结果表明 2 个种间的遗传差异不显著,因此提出把濒危种 *I. corei* 处理为 *I. remota* 的亚种,其保护的价值也相应下降。

沙参属(*Adenophora*)是桔梗科(Campanulaceae)内中等大小的属,形态变异非常大,因此种间关系模糊,许多种的分类地位存在争议,包括一些珍稀濒危物种。葛颂等(1995,1998)和 Ge & Hong(1994)对泡沙参复合体进行了物种生物学研究,发现原有的 6 个种实质上只有 2 个种在分类学上成立,其中一个就是仅分布于四川金川、马尔康县境内的濒危物种裂叶沙参(*A. lobophylla*)。但是,由于裂叶沙参的标本非常少,在分类学上是否成立曾有争议。对这样一个濒危物种是否值得保护,将在很大程度上取决于它在分类上是否为一独立的物种,即是否为进化上的显著单元。为此,Ge *et al.*(1999b)采用等位酶技术对裂叶沙参及其近缘广布种泡沙参(*A. potaninii*)进行了遗传多样性和种间关系的研究,通

通过对 5 个裂叶沙参居群和 7 个泡沙参居群等位酶数据的分析表明,这 2 个种内居群间的遗传分化都很小,而种间遗传分化非常明显(图 1),因此认为裂叶沙参是一个独立的物种,值得加以保护。

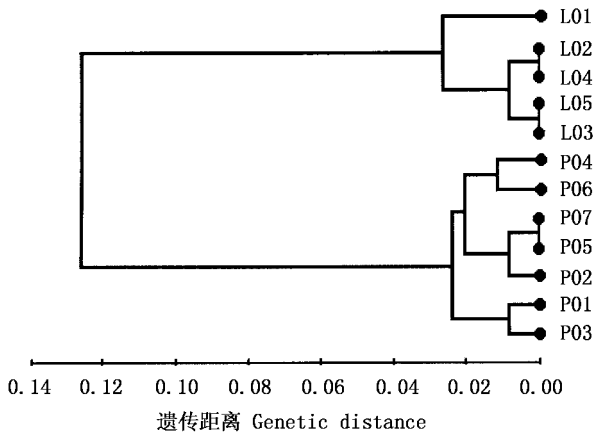


图 1 裂叶沙参 (*Adenophora lobophylla*) 5 个群体及其近缘广布种泡沙参 (*A. potaninii*) 7 个群体之间的遗传关系。L 代表裂叶沙参 P 代表泡沙参(引自 Ge *et al.*, 1999b)
 Fig. 1 Phenogram of genetic distance for five populations of *A. lobophylla* and seven populations of *A. potaninii*, based on Nei's (1978) unbiased genetic distance coefficient. L represents *A. lobophylla* and P represents *A. potaninii*.

与此十分相似的一个例子来自对兰科杓兰属 *Cypripedium kentuckiense* 的研究。该种是一个稀有物种,主要分布在美国 Arkansas 州,但关于这个种成立与否曾经有过争议。有人认为它只是广布种 *C. parviflorum* var. *pubescens* 的一个极端形式,但等位酶数据支持将其作为一个独立的种,因而有必要对其采取保护措施(Case *et al.*, 1998)。杂交是植物界广泛存在的一种现象,故杂种鉴定对保护单元确定以及保护策略和措施的制定具有重要意义。Crawford *et al.* (1993) 用等位酶和 RAPD 检测了智利附近 Masatierra 岛上的一种珍稀植物 *Margyracena skottsbergii* 的杂交起源问题。这个种曾被认为是该岛上特有种 *Margyricarpus digynus* 与一种入侵植物 *Acaena argentea* 杂交产生的,而原产该岛的 *Acaena ovalifolia* 也曾被认为是亲本之一。但 Crawford *et al.* 的研究表明, *A. ovalifolia* 不是 *M. skottsbergii* 的亲本。由于杂交种不可育,自然状态下只能与 *A. argentea* 同时存在,故保护 *M. skottsbergii* 的同时必须保护其种质来源 *A. argentea*。Smith *et al.* (1996) 采用 RAPD 标记对夏威夷苦苣苔科 *Cyrtandra* 属的研究表明,该属有 17 个物种均为杂种起源(邹喻莘等, 2001)。类似采用遗传标记方法确定物

种保护单元的例子还很多(Castiglione *et al.*, 1993; Rossetto *et al.*, 1999; Goldstein *et al.*, 2000; Szalanski *et al.*, 2001)。

3.2 遗传多样性与物种和群体的适应性

Meffe *et al.* (1994) 在其编著的《Principles of Conservation Biology》一书中,从 3 个方面概括了遗传多样性的重要意义。首先,根据自然选择的基本原理,居群的进化速率与其遗传多样性成正比,换句话说,一个群体中遗传多样性的下降意味着其适应环境变化能力的下降;其次,群体遗传学研究表明,群体中的杂合性也即居群内遗传变异的水平,是与其适合度成正相关的;第三,全球的遗传多样性中蕴藏了所有生命过程的信息,任何遗传多样性的丢失都会导致有机体对环境变化的适应能力降低,同时也使人类丧失了具有潜在应用价值的生物信息和资源。

对许多动物物种的研究表明,杂合性水平与其适合度有显著的正相关(Meffe *et al.*, 1994)(图 2)。近年来的研究表明,遗传多样性的丧失将对物种生存带来直接的不利影响(Saccheri *et al.*, 1998; Soule & Mills, 1998)。植物中的类似报道也有不少。Mitton & Grant(1980)在对颤杨(*Populus tremuloide*)的研究中发现,在所分析的年龄、杂合度、性别、海拔等因素中,有 2 个因素与平均生长率之间存在显著的正相关,有 1 个因素存在显著负相关(表 1),其中个体的杂合度与平均生长率呈显著正相关。与此同时,他们还发现在西黄松(*Pinus ponderosa*)的群体中,幼苗的 *F* 值比种子要低,说明杂合体较纯合体有生存优势(Mitton & Grant, 1984)。最近,对百合科濒危物种木根麦冬(*Ophiopogon xylorrhizus*)的研究表明,结实率和家系的远交率及母本的杂合度显著相关(图 3, He *et al.* 1998)。而且不同世代间居群遗传变异的研究表明,子代群体在生长发育至成年群体时,居群中基因杂合度显著增高,说明在这一过程中,自然选择淘汰了大量的纯合度高的个体,证实了杂合度高的个体具有较高的适合度(He *et al.*, 2001)。对裸子植物的许多研究发现,自交或近交会明显降低群体中的杂合度,从而导致这类异交植物产生明显的近交衰退(Savolainen, 1994; Ge *et al.*, 1998)。Antonovics & Ellstrand (1984)对 *Anthoxanthum odoratum* 的研究表明,在该物种的群体中,频率低的基因型适合度高(即符合

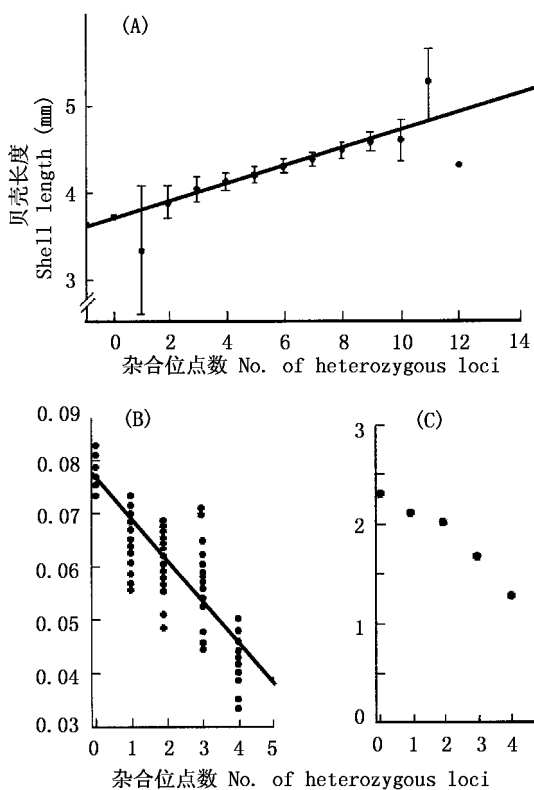


图2 杂合性水平和3个与适合度有关的性状之间的关系
A. 一种蛤类(*Mulinia lateralis*)个体的生长速率; B. 美洲牡蛎(*Crassostrea virginica*)的耗氧量,耗氧量低说明代谢效率高;
C. 彩虹鲑鱼(*Oncorhynchus mykiss*)形态上的不对称性,不对称性高说明发育上的不稳定(引自 Meffe *et al.*, 1994)。

Fig. 2 Three examples of correlations between heterozygosity level and three fitness-related characters. A. Growth rate in the coot clam *Mulinia lateralis* over a two-week period after collection as larvae; B. Oxygen consumption in the American oyster (*Crassostrea virginica*), low consumption indicates greater metabolic efficiency; C. Morphological asymmetry in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*); greater asymmetry indicates less developmental stability.

表1 颤杨(*Populus tremuloide*)平均生长率的多元回归
Table 1 Multiple regression of average growth rates of *Populus tremuloide*

	系数 Index	显著性 Significance
多元回归 Multiple regression	0.606	$P < 0.001$
各自变量 Independent variables		
年龄 Age	-0.152	$P < 0.001$
杂合度 Heterozygosity	1.637	$P < 0.05$
性别 Sex	1.425	$P > 0.20$
海拔 Elevation	-0.017	$P < 0.01$

依频选择假说),与亲本在遗传上有差异的后代具有生存优势,证明遗传多样性高有利于物种的生存。

但另一方面,有些研究实例表明,遗传变异性与

群体或个体的生存之间不存在相关关系。Holsinger (1996)举出智利 Channel 岛狐狸的例子,说明低水平的遗传多样性并不一定影响物种的生存能力,他同时认为分子标记所显现出的多样性水平并不能可靠地反映与选择压有关的性状的变异程度。对欧洲赤松(*Pinus sylvestris*)的研究也没有发现杂合度与群体的适合度有明显的正相关(Savolainen & Hedrick, 1995)。事实上,关于遗传多样性与物种和群体的适应性之间的关系一直存在着不同的观点和争论(张大勇,姜新华,1999;Lande, 1988;Holsinger, 1996)。正如许多学者所强调的,在很多情况下,遗传多样性的丧失更可能是物种濒危的症状而不是濒危的原因(张大勇,姜新华,1999;Meffe *et al.*, 1994;Holsinger, 1996)。因此,有关杂合度与物种和群体适应性之间的关系及其机制还需要进一步深入研究。

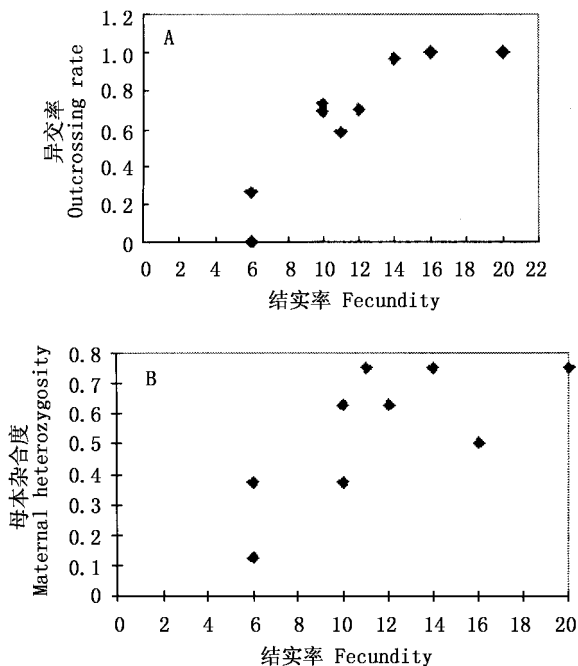


图3 木根麦冬(*Ophiopogon xylorrhizus*)结实率与家系远交率及母本杂合度之间的相关关系。

A. 结实率与家系多位点远交率之间的相关关系。B. 结实率与母本杂合度之间的相关关系。(引自 He *et al.*, 1998)

Fig. 3 Relationships between fecundity and multilocus outcrossing rates of family and maternal heterozygosity. A. Relationships between fecundity and multilocus outcrossing rates of families; B. Relationship between fecundity and maternal heterozygosity.

3.3 群体遗传结构与保护策略的制定

植物群体的遗传变异水平和群体遗传结构是其进化历史、分布范围、生活型、繁育方式、种子散布机

制等各种不同因素综合作用的结果,与其适应性和进化潜力密切相关,故检测植物的遗传变异水平及其空间结构,是探讨上述各种进化因素的前提,同时关系到物种保护和复壮的策略和措施的制定(葛颂,洪德元,1994;葛颂,1997;Meffe *et al.*,1994)。尤其是针对稀有和濒危的物种以及受人类直接干扰和破坏的物种,在缺乏基本的遗传学信息的情况下,很难制定科学合理的保护和抢救措施(邹喻苹等,2001;Falk & Holsinger 1991)。

目前,人们已利用等位酶以及各种 DNA 分子标记对大量物种进行了研究,取得了可喜的成绩,国内外有关的实例很多(葛颂,1997;胡志昂,张亚平,1997;邹喻苹等,2001;Hamrick & Godt,1990;Falk & Holsinger,1991)。例如,在对我国特有濒危植物银杉(*Cathaya argyrophylla*)的研究中,根据 12 个酶系统 25 个等位酶位点对 8 个居群共 101 个个体的检测,发现该物种居群水平上的遗传多样性只相当于其他裸子植物的 1/2 到 1/3,然而其居群间的遗传分化则十分强烈,基因分化系数(G_{st})高达 0.441,是其他裸子植物平均值的 6 倍(Ge *et al.*,1998)。采用 RAPD 技术对该种进行的分析也得到了相同的结果(汪小全等,1996)。因此,结合化石资料推测,银杉在其进化历史上经历了严重的瓶颈效应,小居群的相互隔离和随之而来的遗传漂变是导致其遗传变异大幅下降、居群间遗传分化加大的主要原因(葛颂等,1997;Ge *et al.*,1998)。

在众多影响物种群体遗传结构的因素中,繁育系统起着十分关键的作用(葛颂,1997;Hamrick & Godt,1990)。对火烧兰属(*Epipactis*)群体遗传结构与繁育系统的研究是个典型的例子。Ehlers & Pedersen(2000)采用等位酶技术研究了丹麦境内的 3 个火烧兰属物种的遗传多样性和地理分布,结果发现物种的繁育系统与群体的遗传结构密切相关。异交广布的 *E. helleborine* ssp. *helleborine* 显示出高水平的遗传变异($P = 73.6$, $He = 0.274$),而且绝大部分变异(91%)存在于群体之内,而专性自交种 *E. phyllanthes* 在检测的全部位点上均为单态(Ehlers & Pedersen,2000)。Scacchi *et al.*(1991)对 3 种繁育方式不同的头蕊兰(*Cephalanthera* spp.)的研究也得出了相似的结论。在对我国云南热带雨林的濒危物种木根麦冬的研究中,Ge *et al.*(1997)发现,尽管该种仅分布于 30 km² 范围内,但群体的分化和隔离十

分强烈,他们据此推断该种可能发生了较为严重的近交或自交(Ge *et al.*,1997)。后来的进一步研究证实了这一推断,该种出现了交配系统的分化及较为严重的自交衰退,这可能是其濒危的重要原因之一(He *et al.*,1998)。

在对物种实施保护计划过程中,原位保护地点的选择和迁地保护的采用策略都需要遗传学资料作为基础(Falk & Holsinger,1991;Hogbin & Peakall,1999)。对一个遗传变异主要存在于居群之内的物种(如大多数风媒异花授粉的裸子植物)和一个遗传变异主要分布于居群之间的物种(如许多自花授粉的一年生草本植物)应具有完全不同的取样和保护方针(邹喻苹等,2001)。尽管稀有和濒危物种遗传变异的平均水平要明显低于广布种,但不同物种的多样性水平和居群遗传结构会有很大的不同(葛颂,洪德元,1999;Hamrick & Godt,1990)。因此,对一个物种应采取什么样的保护策略和措施,必须建立在对该物种群体遗传学研究的前提下。如前述的银杉就具有与其他裸子植物明显不同的群体遗传结构,从而应采用不同的取用和保护策略。在欧洲阿尔卑斯山(Alps)分布的虎耳草科 *Saxifraga cernua* 具有十分独特的遗传结构。Bauert *et al.*(1998)采用 RAPD 技术对阿尔卑斯山 3 个地区共 7 个居群的检测发现,在同一地区,居群内和居群间均没有发现 RAPD 谱带的差异,尽管每个居群均检测了 30 个左右的个体,但地区之间差异却很明显(Bauert *et al.*,1998)。换句话说,该物种的遗传变异全部分布于群体之间,故此类物种的保护应把重点放在群体间而不是群体内。对我国保护植物硬叶兜兰(*Paphiopedilum micranthum*)的研究表明,由于人为采摘和生境片断化等因素,该物种的遗传多样性已明显低于其他兰科植物,而群体间的遗传分化则明显偏高。在所检测的 4 个群体中,有 2 个群体的遗传多样性显著高于其他群体,因此在原位保护中更有价值。但如要进行迁地保护则应对尽可能多的群体进行(Li *et al.*,2002)。

对澳大利亚芸香科 *Zieria prostrata* 的研究是植物保护遗传学中比较成功的例子。该种仅分布于沿海岸 3 km 范围内,Hogbin & Peakall(1999)采用 RAPD 分析技术发现该种遗传变异在居群间所占比例很高(37%),结合其他遗传学研究结果对保护行动提出了 4 点意见:1)任何一个居群的丢失都

会对遗传变异造成很大损失 2)迁地保护必须考虑分布范围内的所有居群 3)如果要进一步实施迁移计划,应考虑进行居群间混合繁殖 4)对一个曾被认为是取自现已灭绝居群的个体的分析发现,这个个体在遗传上与现存居群个体十分相近,从而对该个体的来源提出了疑问,并放弃了将其迁移到原地的保护计划(Hogbin & Peakall, 1999)。

物种不同的生活史特征对保护措施的制定也有重要的影响。例如,克隆现象是植物中常见的一种繁殖策略,克隆生长往往会使群体的实际规模难以估计,从而错误地估计遗传上的个体数目;克隆习性的强弱和克隆的空间结构对取样策略的制定也有直接的影响(葛颂等, 1999; Sydes & Peakall, 1998; Xie *et al.*, 2001)。He *et al.* (2000)在对木根麦冬的研究中指出,该物种的基因型在群体内呈现明显的空间结构,因此在保护过程中必须注意取样对所有基因型的代表性。Swensen *et al.* (1995)采用等位酶、RAPD、和 RFLP 等多种手段,对美国 California 海岸附近 Santa Cruz 岛上的濒危植物 *Malacothamnus fasciculatus* var. *nesioticus* 进行了检测,发现在现存的 2 个群体中只有 5 个基因型,为进一步采取人工建群等措施提供了科学依据。

对于稀有和濒危物种来说,在探讨其进化的历史和揭示其濒危机制的前提下,更重要的是应该提出能使该物种及其群体得以恢复和复壮的可行的途径和方法。前述我国的一级保护植物银杉是十分濒危的树种,其生长缓慢、结实量小、种子发芽率低,因而天然更新困难。Ge *et al.* (1998)根据其群体间遗传分化极高这一独特的群体结构,提出选取遗传差异明显的群体进行群体间人工控制杂交,是促使该物种复壮的可行方法之一。由于生境的大规模破坏,澳大利亚西部山龙眼科(Proteaceae)的多年生木本 *Grevillea scapigera* 已处于灭绝的边缘,只剩下 4 个居群,个体总数只有 27 株,是亟待抢救的物种。为此,Rossetto *et al.* (1995)采用 RAPD 标记对该种现存居群的遗传多样性进行了研究,同时对已开展的移植策略进行了评估。结果发现居群间几乎没有遗传差异,说明相互移植不会有不利的遗传效应(Rossetto *et al.*, 1995)。Wong & Sun (1999)通过人工杂交、等位酶和 RAPD 研究了香港濒危的兰花 *Goodyera procera* 的生殖生物学和群体遗传结构,并在此基础上提出了相应的保护措施。

3.4 植物遗传资源的鉴定、保护和利用

遗传资源就是蕴藏在各种生物中的遗传变异,包括野生生物(动植物、微生物)中存在的遗传变异。20 世纪后半叶,随着遗传资源侵蚀程度的不断加剧,植物资源采集和保存的观念已发生了很大的变化。从强调采集具有直接利用价值的特定基因、居群或生态型资源到重视采集对现在和将来都具有保护和利用价值的遗传资源(Tanksley & McCouch, 1997)。由于通常很难确定哪一类基因更有价值从而在采样中加以优先,所以遗传资源的保护应使每个基因位点上尽可能多的变异得以保存,因为任何一种野生生物都是可利用的潜在的遗传资源,不知哪一天就会被科学家派上用场(邹喻苹等 2001)。

随着生物多样性保护日益受到重视,大规模的资源调查和收集工作也在全球范围内开展起来。Morin (2000)在刚刚创刊的国际期刊《Conservation Genetics》第 1 卷第 1 期上撰文,将如何有效地保护遗传资源看成是新世纪的机会和挑战,并认为开展保护遗传学研究已迫在眉睫,其紧迫性决不亚于对遗传资源的收集和保存。以目前世界上最重要的 7 种农作物为例,迄今在世界主要种质中心保存的资源就数以百万计(表 2)。面对这样庞大的种质资源,如何进行有效的管理和利用是摆在人们面前的首要问题。为此,遗传学的原理和方法为快速有效地进行资源鉴定、评估和利用提供了基本的手段(贾继增, 1996; 邹喻苹等, 2001; Loescheke *et al.*, 1994; Tanksley & McCouch, 1997; Gilbert *et al.*, 1999)。

表 2 一些重要作物在世界主要种子库中保存的样品条目数量(据 Tanksley & McCouch, 1997)
Table 2 Estimated number of seed bank entries worldwide for selected crops (Tanksley & McCouch, 1997)

作物 Crops	条目 Entry	野生种所占% Percentage of wild species
小麦 Wheat	410 000	60
水稻 Rice	215 000	10
玉米 Maize	100 000	15
大豆 Soybean	100 000	30
土豆 Potato	42 000	40
西红柿 Tomato	32 000	70
棉花 Cotton	30 000	20

以世界头号粮食作物水稻为例,仅中国的地方品种就有近万个(陈灵芝等, 1993),国际水稻研究所(IRRI)收集的稻属资源则多达 80 000 多份,构成了一个庞大的稻种基因源,加上水稻所在的稻属还

有 20 多个野生物种,共同构成了水稻遗传改良的宝贵资源(卢宝荣,1998;Virk *et al.*,1995)。然而,世界主要种子库所保存的水稻样品中,野生种只占 10%(表 2)。近些年来,各种遗传标记在对水稻及其野生资源的研究、鉴定和利用方面起到了关键性的作用。Martin *et al.*(1997)尝试采用 RAPD 对 IR-RI 种质库中的 93 份材料进行了鉴定,取得了很好的效果。在所研究的 93 份材料中,他们发现有 9 份样品鉴定错误。同样,Virk *et al.*(1995)用 RAPD 技术证实原来所怀疑的 3 对样品中有 2 对是重复样品。在包含 24 个物种的稻属中,由于分类中可依据的形态性状少,且许多形态性状在物种内变异较大,加上杂交事件和多倍体的普遍存在,使得稻属一些物种的鉴定很困难,具有不同染色体组的物种也往往会出现鉴定错误(卢宝荣等,2001)。最近,Ge *et al.*(2001)提出了一种快速而可靠地鉴定稻属染色体组的方法,通过 PCR 扩增的 *Adh1* 和 *Adh2* 两个基因片段的 RFLP 分析,可以快速地鉴别出稻属全部 10 个染色体组,从而为稻属染色体组和物种的鉴定提供了一种新的方法。类似在物种和变种以及品种水平上的鉴定工作还有很多(邹喻苹等,2001;Castiglione *et al.*,1993;Martin *et al.*,1997;Congiu *et al.*,2000)。

栽培植物的祖型或野生近缘种中存在着十分丰富的遗传多样性。目前在生产实践中普遍存在人工繁殖群体的经济性状衰退,这与其遗传多样性的降低有密切关系。缺乏对作物近缘野生种的搜集、研究和利用已严重地阻碍了当前作物遗传改良和育种工作的进一步发展。因此,研究和利用栽培植物野生近缘种中的遗传变异,是对其进行遗传改良的关键(贾继增,1996;Tanksley & McCouch,1997)。Ge *et al.*(1999a)利用 RAPD 技术对来自中国 and 巴西的普通野生稻(*Oryza rufipogon*)的天然居群进行了对比研究,希望了解这两地天然居群中遗传变异水平和居群遗传结构的异同,同时探讨巴西普通野生稻的分类地位。结果发现,野生稻居群中含有丰富的遗传变异。中国和巴西居群的对比分析表明,来自中国普通野生稻的变异性要明显高于来自巴西的居群,中国 4 个居群的多态片断百分比为 30.5%~43.2%(平均 55.8%),而来自巴西 4 个居群的多态片断百分比只有 6.3%~27.4%(平均 41.1%)。居群遗传结构的分析表明,总的遗传变

异中有 61.8% 存在于中国和巴西 2 个地区之间,每个居群内个体间的变异性占 23.3%,而地区内居群间的变异性只分别占 14.9%。这些结果对进一步最大限度地收集该种的遗传资源以及针对适应性性状设计采样策略具有指导作用(Ge *et al.*,1999a)。迄今,通过不同的分子标记技术对中国全部 3 种野生稻的群体遗传结构进行了初步的研究,为这些重要资源的保护和利用奠定了良好的基础(Ge *et al.*,1999a;Gao *et al.*,2000;Gao *et al.*,2001;Qian *et al.*,2001;Xie *et al.*,2001)。

Szalanski *et al.*(2001)用 PCR-RFLP 方法对美国一种稀有绶草(*Spiranthes diluvialis*)进行研究发现,其群体间和群体内均不存在遗传变异,其遗传多样性的缺乏为进一步制定长期的保护策略提供了重要的信息。Rio *et al.*(1997)对 2 个土豆野生种的研究发现,种质库中保存的 1958 年和 1978 年采集的样品与 1992 年再次采集的群体样品相比,在遗传组成上的分化已十分明显,出现了种质库中所没有的一些新的变异,说明原位保护对遗传资源的保存具有重要价值。

在正确收集和保存种质的基础上,高效利用这些种质资源是人们追求的目标。为此,Marshall(1990)提出了“核心种质”的概念。它是指只占全部种质 10% 左右、但能最大限度的代表种质资源遗传多样性的那些样品,也就是遗传改良中应最先被利用的种质资源。Schoen & Brown(1993)利用计算机模拟的方法,研究了建立核心种质几种主要方法的效率,即固定取样法(每个地区取一定数目的样本构成核心种质,C 策略),比例取样法(按每个地区所具有的样本数成比例取出样本构成核心种质,P 策略),对数取样法(按每个地区所具有的样本数按对数比例取出样本构成核心种质,L 策略),随机取样法(随机地从每个地区取出样本构成核心种质,R 策略)和标记辅助取样法(根据分子标记所体现的多样性进行取样,M 策略)(Schoen & Brown,1993)。结果发现,若以获得最丰富的等位基因为标准,根据分子标记的辅助取样法是最为有效的方法(图 4)。

对其他农作物及其近缘野生种遗传资源研究的实例还有很多(贾继增,1996;胡志昂,张亚平,1997;卢宝荣,1998;黄宏文等,2000;邹喻苹等,2001;Loescheke *et al.*,1994;Gilbert *et al.*,1999)。

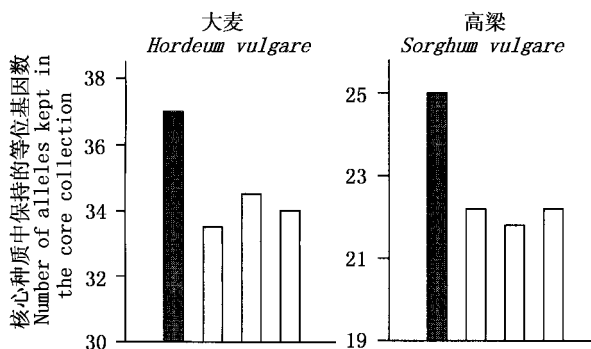


图4 核心种质筛选过程中不同方法的效率
根据 Schoen & Brown, 1993 绘制。实心柱代表分子标记方法,空心柱代表其他方法

Fig. 4 Efficiencies of different methods of core collection. Solid columns represent molecular makers. Hollow ones represent other methods (Schoen & Brown, 1993)

4 结束语

作为保护生物学中一个较新的领域,保护遗传学研究只能说是刚刚起步,随着保护生物学、遗传学以及相关学科的发展,保护遗传学也在不断地完善和提高。尽管遗传学原理和技术在区分保护单元、了解遗传变异的水平和分布状况、推测进化历史和指导保护措施的制定发挥着重要作用,但遗传学数据仅仅为保护策略的制定提供了一个出发点和基础性的资料,生物多样性和物种保护还将涉及方方面面的许多因素(Avise, 1996)。如果对生物赖以生存的生态系统以及物质能量流动缺乏了解,仅仅研究遗传多样性本身其价值是很有限的(张大勇,姜新华, 1999; Lande, 1988; Meffe *et al.*, 1994; Holsinger, 1996)。从实际应用的角度上看,保护遗传学也存在一定的局限性。遗传学研究费用较高,相对不易掌握,在很多情况下还会被误用;而且,遗传学研究必须建立在获得合适的动植物组织材料并妥善处理的前提下等(Meffe *et al.*, 1994; Holsinger, 1996)。另一方面,不同的遗传标记和方法所得出的结果会有差别,如何在物种保护中有效和准确地分析和利用遗传数据也是有待完善的问题(李昂等, 2000; 钱韦,葛颂, 2001; Wolfe & Liston, 1998)。

尽管如此,保护遗传学研究仍然是亟待加强的一个研究领域,尤其是对于我国这样一个物种资源丰富而生物多样性又面临严重威胁的国家,加快保护遗传学研究十分必要。由于技术和经费等方面的限制,加上人们往往看重研究的实用性,迄今在选择

研究对象时往往格外关注那些与人类密切相关的类群,如栽培作物的野生近缘种以及某些具有重要经济或社会效益的野生动物(宿兵, 1994; 胡志昂, 张亚平, 1997; 卢宝荣, 1998; 黄宏文等, 2000; 邹喻苹等, 2001; Meffe *et al.*, 1994)。大量野生动植物仍得不到足够的重视,更缺乏基本的研究。例如,在兰科(Orchidaceae)这一被子植物第二大科中,绝大多数物种以其艳丽或芳香的花朵闻名于世,具有很高的观赏价值,因此在巨大经济利益的驱动下,很多野生兰花种类从栖息地转移到了花卉经营者和爱好者手中。更为严重的是,分布着大量兰花种类的热带、亚热带地区,大面积森林遭到破坏,兰花生存的生境日益萎缩。这种全球范围内的生境退化和丧失加上人为破坏是导致大量兰花变为稀有、濒危以致灭绝的主要原因(IUCN/SSC Orchid Specialist Group, 1996)。当人们已经意识到问题的严重性并着手制定各种政策和法规时,却发现我们对这些物种的了解和认识仍相当贫乏。迄今可检索到的有关兰花保护遗传学研究的文献与该类群的多样性和重要性远不相称,大多数保护活动都是在缺乏基本的生物学研究的情况下进行的(IUCN/SSC Orchid Specialist Group, 1996)。对具有重要经济价值的兰花尚且如此,对其他动植物的研究则更为欠缺。Falk & Holsinger (1991)曾指出“我们不可能保护好我们所不了解的”。因此,全面开展保护生物学研究,包括保护遗传学研究是解决生物多样性危机、挽救成千上万物种的根本出路,也是合理的资源开发和利用的前提。

参考文献

- 陈灵芝(主编), 1993. 中国的生物多样性——现状及其保护对策. 北京: 科学出版社, 31~113
- 葛颂, 1997. 植物群体遗传结构研究的回顾和展望. 见: 李承森(主编), 植物科学进展(第1卷). 北京: 高等教育出版社, 1~15
- 葛颂, 洪德元, 1994. 遗传多样性及其检测方法. 见: 钱迎倩, 马克平(主编), 生物多样性研究的原理与方法. 北京: 中国科学技术出版社, 123~140
- 葛颂, 洪德元, 1995. 泡沙参复合体(桔梗科)的物种生物学研究 III. 性状的遗传变异及其分类价值. 植物分类学报, 33(5): 433~443
- 葛颂, 洪德元, 1998. 泡沙参复合体(桔梗科)的物种生物学研究 IV. 等位酶水平的变异和分化. 植物分类学报, 36(6): 581~589
- 葛颂, 洪德元, 1999. 濒危植物裂叶沙参及其广布种泡沙参遗传多样性的对比研究. 遗传学报, 26: 410~417
- 葛颂, 王海群, 张灿明, 洪德元, 1997. 八面山银杉林的遗传

- 多样性和群体分化. 植物学报, **39**(3): 266 ~ 271
- 葛颂, 王可青, 董鸣, 1999. 毛乌素沙地根茎灌木羊柴的遗传多样性和克隆结构. 植物学报, **41**(3): 301 ~ 306
- 洪德元, 葛颂, 张大明, 汪小全, 程树志, 1995. 植物濒危机制研究的原理和方法. 见: 钱迎倩, 甄仁德(主编), 生物多样性研究进展. 北京: 中国科学技术出版社, 125 ~ 133
- 胡志昂, 张亚平(主编), 1997. 中国动植物的遗传多样性. 杭州: 浙江科学技术出版社
- 黄宏文, 龚俊杰, 王圣梅, 何子灿, 张忠慧, 李建强, 2000. 猕猴桃属(*Actinidia*)植物的遗传多样性. 生物多样性, **8**: 1 ~ 12
- 贾继增, 1996. 分子标记种质资源鉴定和分子标记育种. 中国农业科学, **29**(4): 1 ~ 10
- 蒋志刚, 马克平, 韩兴国(主编), 1997. 保护生物学. 杭州: 浙江科学技术出版社
- 李昂, 王可青, 葛颂, 2000. 不同采样策略对细距堇菜遗传多样性估算的影响. 植物学报, **42**(10): 1069 ~ 1074
- 卢宝荣, 1998. 稻种遗传资源多样性的开发利用和保护. 生物多样性, **6**: 63 ~ 72
- 卢宝荣, 葛颂, 桑涛, 陈家宽, 洪德元, 2001. 稻属分类的现状及其存在问题. 植物分类学报, **39**: 373 ~ 388
- 钱韦, 葛颂, 2001. 居群遗传结构研究中显性标记数据分析方法初探. 遗传学报, **28**(3): 244 ~ 255
- 汪小全, 邹喻苹, 张大明, 洪德元, 1996. 银杉遗传多样性的RAPD分析. 中国科学(C辑), **26**(5): 436 ~ 441
- 张大勇, 姜新华, 1999. 遗传多样性与濒危植物保护生物学研究进展. 生物多样性, **7**: 31 ~ 37
- 邹喻苹, 葛颂, 王晓东, 2001. 系统与进化植物学中的分子标记. 北京: 科学出版社, 140 ~ 149
- Avise J C and J L Hamrick, 1996. Conservation Genetics, Case Histories from Nature. Chapman & Hall, New York
- Bauert M R, M Kalin, M Baltisberger and P J Edwards, 1998. No genetic variation detected within isolated relict populations of *Saxifraga cernua* in the Alps using RAPD markers. *Molecular Ecology*, **7**: 1519 ~ 1527
- Case M A, H T Mlodozieniec, L E Wallace and T W Weldy, 1998. Conservation genetics and taxonomic status of the rare Kentucky Lady's slipper: *Cypripedium kentuckiense* (Orchidaceae). *American Journal of Botany*, **85**: 1779 ~ 1786
- Castiglione S, G Wang, G Damiani, C Bandi, S Bisoffi and F Sala, 1993. RAPD fingerprints for identification and for taxonomic studies of elite poplar (*Populus* spp.) clones. *Theoretical and Applied Genetics*, **87**: 54 ~ 59
- Congiu L, M Chicca, R Cella, R Rossi and G Bernacchia, 2000. The use of random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers to identify strawberry varieties: a forensic application. *Molecular Ecology*, **9**: 229 ~ 232
- Crandall K A, O R P Bininda-Emonds, G M Mace and R K Wayne, 2000. Considering evolutionary processes in conservation biology. *Trends in Ecology and Evolution*, **15**: 290 ~ 295
- Crawford D J, S Brauner, M E Cosner, T F Stuessy, 1993. Use of RAPD markers to document the origin of the intergeneric hybrid *Margyraceana skottsbergii* (Rosaceae) on the Juan Fernandez Islands. *American Journal of Botany*, **80**(1): 89 ~ 92
- Ehlers B K and H A Pedersen, 2000. Genetic variation in three species of *Epipactis* (Orchidaceae): geographic scale and evolutionary inferences. *Biological Journal of the Linnean Society*, **69**: 411 ~ 430
- Falk D A and K E Holsinger, 1991. Genetics and Conservation of Rare Plants. Oxford University Press, New York
- Frankham R, 1995. Conservation genetics. *Annual Review of Genetics*, **29**: 305 ~ 327
- Gao L, S Ge and D Y Hong, 2000. Allozyme variation and population genetic structure of common wild rice, *Oryza rufipogon* Griff. in China. *Theoretical and Applied Genetics*, **101**: 494 ~ 502
- Gao L Z, S Ge and D Y Hong, 2002. High levels of genetic differentiation of *Oryza officinalis* Wall. et Watt. from China. *The Journal of Heredity* (in press)
- Ge S, D-Y Hong, 1994. Biosystematic studies on *Adenophora potaninii* complex. II. crossing experiment. *Cathaya*, **6**: 15 ~ 26
- Ge S, D M Zhang, H Q Wang and G Y Rao, 1997. Allozyme variation in *Ophiopogon xyloirrhizus*, an extreme endemic species of Yunnan, China. *Conservation Biology*, **11**: 562 ~ 565
- Ge S, D Y Hong, H Q Wang, Z Y Liu and C M Zhang, 1998. Population genetic structure and conservation of an endangered conifer, *Cathaya argyrophylla* (Pinaceae). *International Journal of Plant Sciences*, **159**: 351 ~ 357
- Ge S, G C X Oliveira, B A Schaal, L Z Gao and D Y Hong, 1999a. RAPD variation within and between natural populations of the wild rice *Oryza rufipogon* from China and Brazil. *Heredity*, **82**: 638 ~ 644
- Ge S, K Q Wang, D Y Hong, W H Zhang and Y G Zu, 1999b. Comparisons of genetic diversity in the endangered *Adenophora lobophylla* and its widespread congener, *A. potanini*. *Conservation Biology*, **13**: 509 ~ 513
- Ge S, T Sang, B R Lu and D Y Hong, 2001. Rapid and reliable identification of rice genomes by RFLP analysis of PCR-amplified Adh genes. *Genome*, **44**: 1136 ~ 1142
- Gilbert J E, R V Lewis, M J Wilkinson and P D S Caligari, 1999. Developing an appropriate strategy to assess genetic variability in plant germplasm collections. *Theoretical and Applied Genetics*, **98**: 1125 ~ 1131
- Goldstein P Z, R DeSalle, G Amato and A P Vogler, 2000. Conservation genetics at the species boundary. *Conservation Biology*, **11**: 120 ~ 131
- Hamrick J L and M J W Godt, 1990. Allozyme diversity in plant species. In: Brown A H D, M T Clegg, A L Kahler and B S Weir (eds.), *Plant Population Genetics, Breeding and Genetic Resources*. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA, 43 ~ 63
- He T H, G Y Rao, R L You and S Ge, 1998. Mating system of *Ophiopogon xyloirrhizus* (Liliaceae), an endangered species in southwest China. *International Journal of Plant Sciences*, **159**: 440 ~ 445
- He T H, G Y Rao, R L You, S Ge and D M Zhang, 2001. Genetic structure and heterozygosity variation between generations of *Ophiopogon xyloirrhizus* (Liliaceae s. l.), an endemic species in Yunnan, SW China. *Biochemical Genetics*, **39**: 93 ~ 98
- Heywood V H and R T Watson, 1995. Global biodiversity assessment. Cambridge University Press, Cambridge
- Hogbin P M and R Peakall, 1999. Evaluation of the contribution of genetic research to the management of the endangered plant *Zieria prostrata*. *Conservation Biology*, **13**: 514 ~ 522
- Holsinger K E, 1996. The scope and the limits of conservation genetics. *Evolution*, **50**: 2558 ~ 2561

- IUCN/SSC Orchid Specialist Group, 1996. *Orchids—Status Survey and Conservation Action Plan*. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge
- Lande R, 1988. Genetics and demography in biological conservation. *Science*, **241**: 1455 ~ 1460
- Li A, Y B Luo and S Ge, 2002. A preliminary study on conservation genetics of an endangered orchid (*Paphiopedilum micranthus*) from southwestern China. *Biochemical Genetics*, **40**: (in press)
- Loescheke J, J Tomiuk and S K Jain, 1994. *Conservation Genetics*. Birkhauser, Basel
- Martin C, A Juliano, H J Newbury, B R Lu, M T Jackson and B V Ford-Lloyd, 1997. The use of RAPD markers to facilitate the identification of *Oryza* species within a germplasm collection. *Genetic Resources and Crop Evolution*, **44**: 175 ~ 183
- Meffe G K, C R Carroll, 1994. *Principles of Conservation Biology*. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Massachusetts
- Milligan B G, J Leebens-Mack and A E Strand, 1994. Conservation genetics: beyond the maintenance. *Molecular Ecology*, **3**: 423 ~ 435
- Mitton J B and M C Grant, 1984. Associations among protein heterozygosity, growth rate, and developmental homeostasis. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **15**: 479 ~ 499
- Morin P A, 2000. Genetic resources: opportunities and perspectives for the new century. *Conservation Genetics*, **1**: 271 ~ 275
- Moritz C, 1994. Defining evolutionary significant units for conservation. *Trends in Ecology and Evolution*, **9**: 373 ~ 375
- Qian W, S Ge and D-Y Hong, 2001. Genetic variation within and among populations of a wild rice *Oryza granulata* from China detected by RAPD and ISSR markers. *Theoretical and Applied Genetics*, **102**: 440 ~ 449
- Rio A H del, J B Bamberg and Z Huaman, 1997. Assessing changes in the genetic diversity of potato gene banks. I. Effects of seed increase. *Theoretical and Applied Genetics*, **95**: 191 ~ 198
- Rossetto M, G Jezierski, S D Hopper and K W Dixon, 1999. Conservation genetics and clonality in two critically endangered eucalypts from the highly endemic south-western Australian flora. *Biological Conservation*, **88**: 321 ~ 331
- Rossetto M, P K Weaver and K W Dixon, 1995. Use of RAPD analysis in devising conservation strategies for the rare and endangered *Grevillea scapigera* (Proteaceae). *Molecular Ecology*, **4**: 321 ~ 329
- Ryder O A, 1986. Species conservation and systematics: the dilemma of subspecies. *Trends in Ecology and Evolution*, **1**: 9 ~ 10
- Ryder O, A McLaren, S Brenner, Y P Zhang and K Benirschke, 2000. DNA banks for endangered animal species. *Science*, **288**: 275 ~ 277
- Saccheri I, M Kuussaari, M Kankare, P Vikman, W Fortelius and I Hanski, 1998. Inbreeding and extinction in a butterfly metapopulation. *Nature*, **392**: 491 ~ 494
- Savolainen O, 1994. Genetic variation and fitness: conservation lesson from pines. In: Loescheke J, J Tomiuk and S K Jain (eds), *Conservation Genetics*. Birkhauser, Basel, 27 ~ 36
- Savolainen O and P Hedrick, 1995. Heterozygosity and fitness: no association in Scots pine. *Genetics*, **140**: 755 ~ 766
- Scacchi R, G D Angelis and R M Corbo, 1991. Effect of the breeding system on the genetic structure in three *Cephalanthera* spp. (Orchidaceae). *Plant Systematic and Evolution*, **176**: 53 ~ 61
- Schoen D J and A H D Brown, 1993. Conservation of allelic richness in wild crop relatives is aided by assessment of genetic markers. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, **90**: 10623 ~ 10627
- Schonewald-cox C M, S M Chambers, B MacBryde, L Thomas (eds.), 1983. *Genetics and Conservation*. Benjamin-Cummings Publishing, Menlo Park, CA
- Smith J F, C C Burke, W L Wagner, 1996. Interspecific hybridization in natural populations of *Cyrtandra* (Gesneriaceae) on the Hawaiian Islands: evidence from RAPD markers. *Plant Systematics and Evolution*, **200**: 61 ~ 77
- Soule M E and L S Hillis, 1998. No need to isolate genetics. *Science*, **282**: 1658 ~ 1659
- Steward C N J and L Excoffier, 1996. Assessing population genetic structure and variability with RAPD data: application to *Vaccinium macrocarpon* (American Cranberry). *Journal of Evolutionary Biology*, **9**: 153 ~ 171
- Sydes M A and R Peakall, 1998. Extensive clonality in the endangered shrub *Haloragodendron lucasii* (Haloragaceae) revealed by allozymes and RAPDs. *Molecular Ecology*, **7**: 87 ~ 93
- Szalanski A L, G Steinauer, R Bischof and J Petersen, 2001. Origin and conservation genetics of the threatened Ute ladies'-tresses, *Spiranthes diluvialis* (Orchidaceae). *American Journal of Botany*, **88**: 177 ~ 180
- Tanksley S D and S R McCouch, 1997. Seed banks and molecular maps: unlocking genetic potential from the wild. *Science*, **277**: 1063 ~ 1066
- Virk P S, H J Newbury, M T Jackson and B V Ford-Lloyd, 1995. The identification of duplicate accessions within a rice germplasm collection using RAPD analysis. *Theoretical and Applied Genetics*, **90**: 1049 ~ 1055
- Wolfe A D, A Liston, 1998. Contributions of PCR-based methods to plant systematics and evolutionary biology. In: Soltis D E, P S Soltis and J J Doyle (eds), *Molecular Systematics of Plants II: DNA Sequencing*. Kluwer Academic Publishers, Norwell, MA, 43 ~ 86
- Wong K C and M Sun, 1999. Reproductive biology and conservation genetics of *Goodyera procera* (Orchidaceae). *American Journal of Botany*, **86**(10): 1406 ~ 1413
- Woodruff D S, 1989. The problems of conserving genes and species. In: Weston D and M Pearl (eds.), *Conservation for the Twenty First Century*, 76 ~ 88. Oxford University Press, New York
- Woodruff D S, 1990. Genetics and demography in the conservation of biodiversity. *Journal of Scientific Society of Thailand*, **16**: 117 ~ 132
- Xie Z W, Y Q Lu, S Ge, D Y Hong and F Z Li, 2001. Clonality in wild rice, *Oryza rufipogon* (Poaceae) and its implications for conservation management. *American Journal of Botany*, **88**: 1058 ~ 1064