

## 兴安落叶松基本群体与育种群体 RAPD 多样性分析

张 振, 张含国, 张 磊, 朱航勇, 李雪峰

(东北林业大学 林木遗传育种与生物技术国家重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150040)

**摘要:** 利用随机扩增多态性 DNA (RAPD) 分子标记并结合表型性状对来自乌伊岭、甘河、库都尔、嫩江、莫尔道嘎、阿尔山等 6 个兴安落叶松 *Larix gmelinii* 基本群体的 270 个样本进行遗传多样性分析。从 450 个 RAPD 引物中筛选出 23 个条带清晰、多态性高的引物, 共检测出 186 个条带, 其中 182 个为多态性条带, 多态位点百分率为 97.85%, 各群体多态位点百分率 (PPB) 为 87.10%~94.09%, 所有群体的基因多样性指数 ( $H_i$ ) 为 0.374 3, 群体内基因多样性 ( $H_s$ ) 为 0.322 6, 群体间遗传多样性为 0.051 7, 86.19% 的遗传变异存在于群体内, 13.81% 的遗传变异存在于群体之间, Shannon 指数平均值为 0.482 1, Nei's 指数平均值为 0.322 6; 通过对 6 个群体聚类分析, 以 0.09 的遗传距离可将 6 个群体聚为 3 个类群, 为小兴安岭分布区、大兴安岭西北部分布区、大兴安岭南部分布区, 遗传距离与地理距离存在显著正相关; 兴安落叶松 4 个群体的生长性状表明, 树高、胸径、材积遗传变异系数分别为 10.25%~20.78%, 14.93%~28.37%, 35.03%~74.36%, 存在着丰富的变异。同兴安落叶松育种群体的遗传变异比较, 多态位点百分率、等位变异标记数、Nei's 指数、Shannon 指数分别高出 5.32%, 1.13%, 4.94%, 5.68%, 群体总遗传变异高出 8.78%, 表明兴安落叶松基本群体的遗传变异水平、遗传多样性均高于育种群体, 基本群体在群体间的遗传分化要高于育种群体, 两者都证实遗传变异主要存在于群体内。图 3 表 6 参 10

**关键词:** 林木育种学; 兴安落叶松; 基本群体; 育种群体; 随机扩增多态性 DNA; 生长性状; 遗传多样性  
**中图分类号:** S722.3      **文献标志码:** A      **文章编号:** 2095-0756(2012)01-0130-07

## Diversity analysis with RAPD for natural and breeding populations of *Larix gmelinii*

ZHANG Zhen, ZHANG Han-guo, ZHANG Lei, ZHU Hang-yong, LI Xue-feng

(State Key Laboratory of Forest Genetics and Tree Breeding, Northeast Forestry University, Harbin 150040, Heilongjiang, China)

**Abstract:** Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers associated with phenotypic characteristics were used to analyze the genetic variation of 270 individual samples from six natural populations of *Larix gmelinii* (Wuyiling, Ganhe, Kuduer, Nenjiang, Moerdaoga, and Aershan). From 450 primers, 23 clear RAPD primers were selected as their amplified bands with high polymorphism. The analysis included the gene diversity index, Shannon's diversity index (SI), Nei's gene diversity index, a cluster analysis, and a correlation analysis. Results showed 182 loci among a total of 186 were polymorphic or a percentage of polymorphism (PPB) of 97.9% having a range of 87.10%–94.09%. The gene diversity index was 0.374 3, and the genetic diversity within populations was 0.051 7 indicating that genetic variation was mainly within the population (86.19%). Mean SI was 0.482 1, and the mean for Nei's index was 0.322 6. The cluster analysis revealed six populations divided into three groups (the Xiaoxing'an Mountain Range, northwest of the Daxing'an Mountain Range, and south of the Daxing'an Mountain Range) with a genetic distance of 0.09. Genetic distance was significantly and positively correlated with geographical distance ( $P < 0.05$ ,  $r = 0.768$ ). Growth traits of the four *L. gmelinii*

收稿日期: 2011-03-28; 修回日期: 2011-05-23

基金项目: 国家科技基础性工作专项(2007FY110400-3)

作者简介: 张振, 硕士, 从事林木遗传改良等研究。E-mail: zhenzh19860516@163.com。通信作者: 张含国, 教授, 博士, 从事林木遗传改良等研究。E-mail: hanguozhang1@yahoo.com.cn

populations were 10.25%–20.78% for height, 14.93%–28.37% for diameter, and 35.03%–74.36% for volume coefficients of variation. Compared with the genetic variation of breeding populations, in natural populations PPB was 5.32% greater, mean of effective alleles numbered 1.13% greater, Nei's index was 4.94% greater, SI was 5.68% greater, and the populations' total genetic variation 8.78% greater. [Ch, 3 fig. 6 tab. 10 ref.]

**Key words:** forest tree breeding; *Larix gmelinii*; natural population; breeding population; RAPD; growth traits; genetic diversity

兴安落叶松 *Larix gmelinii* 在中国东北地区分布广泛, 具有较高的生物群落稳定性, 种质资源类型丰富, 是中国高寒地区主要造林和用材树种<sup>[1]</sup>。群体的遗传多样性可以反映群体进化的潜力, 对基因资源保护、育种战略的制定有重要的参考价值<sup>[2]</sup>。基本群体是遗传育种的源或称为最基本的物质基础, 育种群体是由基本群体挑选出来的优良单株组成, 但是群体的规模变小, 遗传变异小, 近交进展快<sup>[3]</sup>。了解兴安落叶松群体的遗传结构是林木遗传改良的基础, 充分掌握兴安落叶松群体的变异模式和机制, 才能发掘其遗传潜力, 制定合理可靠的遗传改良策略。目前, 随机扩增多态性 DNA (RAPD) 分子标记已经广泛应用于落叶松 *Larix* 的遗传多样性、遗传结构和遗传图谱的研究中, 但在兴安落叶松基本群体与育种群体的遗传多样性分析方面报道较少。本研究利用 RAPD 结合表型性状研究兴安落叶松基本群体的遗传多样性, 探讨兴安落叶松在基本群体和育种群体方面的关系, 为兴安落叶松的造林生产、引种、杂交育种等具有重要的指导意义, 为种质资源的保存、测定、评价和育种策略的制定提供依据。

## 1 试验材料与方法

### 1.1 试验材料

基本群体试验材料分别采自乌伊岭前卫、嫩江中央站、库都尔小九亚、甘河源江、莫尔道嘎太平、阿尔山天池等 6 个兴安落叶松天然群体, 采样群体地理位置与气候条件见表 1。各个群体设置 3 个小群体, 各小群体间相距大于 3 km, 各个小群体随机采取 15 个样本, 共计 270 个样本。树种组成为兴安落叶松占 80% 以上, 树龄为 40~60 a, 林分密度为 400 株·hm<sup>-2</sup>。采集当年生位于林冠上层的嫩叶, 分别包装、标号, 置于冰袋内带回放置在 -80 °C 冰箱中保存, 以备提取植株 DNA。育种群体试验材料来源于黑龙江省林口县青山林场的兴安落叶松无性系收集区, 49 区和 53 区于 1985 年定植, 接穗分别来自阿尔山、库都尔、莫尔道嘎、嫩江、乌伊岭、甘河等 6 个天然群体, 各个群体 15 个无性系, 详见文献<sup>[5]</sup>。

表 1 采样群体的概况

Table 1 Profiles of sampling population

群体	样本数	纬度 N/(°)	经度 E/(°)	海拔 /m	年均气温/°C	相对湿度/%
乌伊岭	45	48.67	129.42	300.0	-0.94	72.6
库都尔	45	49.78	121.88	820.0	-4.00	67.0
嫩江	45	50.45	125.20	230.0	-2.20	69.0
甘河	45	50.58	123.22	490.7	-2.50	68.0
莫尔道嘎	45	51.25	120.58	900.0	-4.50	70.0
阿尔山	45	47.17	119.95	1 026.5	-3.30	70.0

### 1.2 试验方法

1.2.1 DNA 的提取及检测 试验采用李雪峰<sup>[4]</sup>的方法, 从兴安落叶松针叶中提取总的 DNA, 用凝胶电泳及紫外吸收法进行 DNA 质量的检测<sup>[5]</sup>。

1.2.2 引物的筛选 RAPD 引物购于上海生工生物工程技术有限公司。首先从 450 条 RAPD 引物中初步筛选出 150 条谱带清晰、差异明显的引物, 进一步筛选, 方法见文献<sup>[4]</sup>, 最终筛选出扩增稳定、重复性强、多态性高的 23 条引物用于全部 DNA 样品的扩增(表 2)。

1.2.3 PCR 扩增 RAPD-PCR(随机扩增多态性 DNA-聚合酶链式反应)扩增在 System 9700(Gene Amp)扩

表2 23条 RAPD 引物序列

Table 2 23 RAPD primer sequences

引物名称	序列 5'→3'	引物名称	序列 5'→3'	引物名称	序列 5'→3'
S228	GGACGGCGTT	S511	GTAGCCGTCT	S2152	TCGCCTTGTC
S320	CCCAGCTAGA	S282	CATCGCCGCA	S2141	CCGACTCTGG
S369	CCCTACCGAC	OPN-01	CTGACGTTGG	S2156	CTGCGGGTTC
S477	TGACCCGCCT	OPD-06	CTCACGTTGG	S1135	TGATGCCGCT
S362	GTGTCCGCAA	S1377	CACGCAGATG	S1361	TCGGATCCGT
S222	AGTCACTCCC	S1379	ACACTCTCGG	OPA-15	TTCCGAACCC
S407	CCGCTACTCA	S1371	TCCAGCGCGT	OPD-15	CTCACGTTGG
S418	CACCATCCGT	S1500	CTCCGCACAG		

增仪上进行, 试验采用李雪峰<sup>[6]</sup>提供的 RAPD-PCR 反应体系。经过比较和优化确定最佳的 RAPD 扩增程序, 即 94 °C 变性 3 min, 然后进行下列循环: 94 °C 变性 60 s, 38.5 °C 退火 60 s, 72 °C 延伸 1.5 min, 共 40 个循环。循环结束后, 72 °C 延伸 7 min, 以保证延伸彻底。全部体系的 PCR 扩增产物经 GelRed (BIOTIUM, USA) 染色, 使用琼脂糖凝胶(质量分数 15.0 g·kg<sup>-1</sup>, 1 × TAE 缓冲液)进行电泳分离(130 V, 1 h), 紫外光下 UVP 凝胶成像系统观察并成像。

1.2.4 条带的计数方法 电泳图谱中的每一条谱带分别代表了引物与模板 DNA 互补的一对结合位点, 可记为一个分子标记, 根据分子量标准对照反应产物在胶上的对应位置, 估计扩增产物的分子量大小, 有带的记为 1, 无带的记为 0。所得结果为二元数据矩阵, 利用 Popgene 32 软件对数据进行分析。

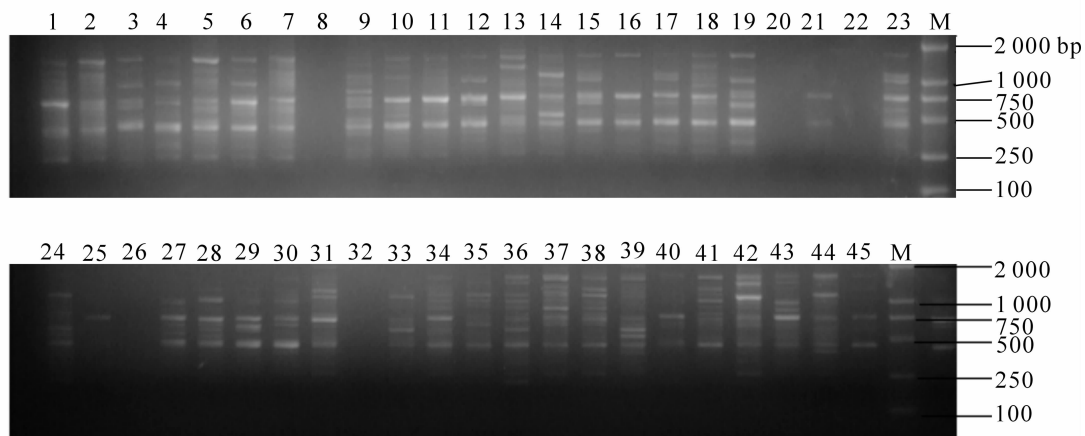
1.2.5 数据的统计分析方法 采用 Popgen 32 软件进行数据处理, 得出各群体多态位点百分率、等位变异标记数、Shannon 多样性指数、Nei's 多样性指数、遗传分化系数、Nei's 基因遗传距离和遗传一致度等信息。通过对遗传多样性的分析, 构建各群体遗传关系聚类图, 并采用 SPSS 18.0 检验各群体的遗传距离和地理距离的相关性。采用 SPSS 18.0 对 4 个群体的树高、胸径、材积进行变异分析(莫尔道嘎和阿尔山群体数据丢失未参与分析)。

## 2 结果与分析

### 2.1 遗传多样性分析

利用筛选得到的 23 个引物对 6 个兴安落叶松群体 270 个个体的样品进行 RAPD 分析, 共检测到 186 个位点, 位点范围为 250~2 000 bp(图 1), 平均每个引物扩增出 8.09 个条带。

利用 POPGENE 32 软件对 6 个兴安落叶松群体遗传多样性统计分析, 182 个为多态性条带, 多态位



1~15 号为库都尔群体; 16~30 号为莫尔道嘎群体; 31~45 号为阿尔山群体

图 1 S1500 号引物扩增部分 DNA 样品的电泳图

Figure 1 Primer S1500 amplification part of DNA samples of electrophoresis figure

点百分率为 97.85%。库都尔群体多态位点最多，为 175 个，多态位点百分率为 94.09%；莫尔道嘎多态位点最少，为 162 个，多态位点百分率为 87.10%。按检测到的多态位点百分比大小排序，各群体顺序依次为：库都尔>甘河>嫩江>乌伊岭>阿尔山>莫尔道嘎。群体等位基因平均数为 1.871 0~1.940 9，平均值为 1.897 0，等位变异标记数为 1.531 8~1.584 3，平均值为 1.548 7。用 Shannon 多样性指数估算 6 个群体间遗传多样性变化幅度为 0.467 1~0.508 0，平均值为 0.482 1；用 Nei's 多样性指数估算 6 个群体中的遗传变异范围为 0.313 1~0.341 7，平均值 0.322 6。6 个群体的 Shannon 多样性指数和 Nei's 多样性指数所体现的遗传多样性变化规律一致(表 3)。基本群体与育种群体遗传多样性比较(表 3)，多态位点百分率平均值高出 5.32%，等位基因平均数平均值高出 4.51%，等位变异标记数平均值高出 1.13%，Nei's 指数平均值高出 4.94%，Shannon 指数平均值高出 5.68%。由 2 项研究表明：基本群体的遗传多样性较育种群体丰富，基本群体的遗传变异较育种群体稍高，基本群体适应环境的能力较强，在多态位点百分率方面两者均反映出库都尔群体最高，莫尔道嘎群体最低，两者均显示群体内存在较大的遗传变异。

表 3 基本群体与育种群体遗传多样性比较

Table 3 Genetic diversity compared of basic population and the breeding population

群体	等位基因平均数	有效等位基因数	Nei's 多样性指数	Shannon 多样性指数	多态位点数	多态位点百分率/%	
基本群体	乌伊岭	1.881 7	1.539 4	0.313 1	0.467 1	164	88.17
	嫩江	1.892 5	1.534 7	0.314 5	0.470 7	166	89.25
	甘河	1.919 4	1.584 3	0.341 7	0.508 0	171	91.94
	库都尔	1.940 9	1.555 0	0.329 5	0.495 3	175	94.09
	莫尔道嘎	1.871 0	1.531 8	0.316 0	0.473 7	162	87.10
	阿尔山	1.876 3	1.546 8	0.320 8	0.477 7	163	87.63
	平均值	1.897 0	1.548 7	0.322 6	0.482 1	167	89.70
育种群体	乌伊岭	1.867 7	1.543 3	0.312 9	0.464 2	164	86.77
	嫩江	1.846 6	1.536 7	0.306 7	0.454 3	160	84.66
	甘河	1.841 3	1.519 7	0.300 1	0.446 3	159	84.13
	库都尔	1.888 9	1.549 8	0.320 0	0.476 4	168	88.89
	莫尔道嘎	1.830 7	1.511 9	0.294 8	0.438 2	157	83.07
	阿尔山	1.836 0	1.543 2	0.309 8	0.457 8	158	83.60
	平均值	1.851 9	1.531 4	0.307 4	0.456 2	161	85.17
基本群体高出育种群体百分率/%	4.51	1.13	4.94	5.68	3.73	5.32	

## 2.2 群体的遗传分化

采用 Popgene 32 软件计算出基本群体总遗传变异为 0.374 3，群体内遗传变异为 0.322 6，群体间遗传变异为 0.051 7，可知 86.19%的遗传变异存在于群体内，有 13.91%的遗传变异存在于群体之间，群体间遗传分化系数为 0.138 1；基因流为 3.119 9。李雪峰<sup>[4]</sup>计算育种群体总遗传变异为 0.344 1，群体内基因多样性为 0.307 9，群体间遗传多样性为 0.036 2，可知 89.48%的遗传变异存在于群体内，只有 10.52%的遗传变异存在于群体之间(表 4)。基本群体和育种群体遗传分化分析结果表明(表 4)，基本群体的总遗传变异较育种群体高，群体总遗传变异高出 8.78%，基本群体之间的基因分化程度较育种群体之间大，2 项研究都表明群体内变异是 RAPD 分子水平上遗传变异的主要成分。

表 4 基本群体与育种群体的遗传分化分析

Table 4 Basic population and the breeding population genetic differentiation analysis

群体	基本群体总遗传变异	群体内遗传变异	群体间遗传分化系数	基因流
基本群体	0.374 3 ± 0.013 3	0.322 6 ± 0.010 8	0.138 1	1.560 3
育种群体	0.344 1 ± 0.021 4	0.307 9 ± 0.018 1	0.105 0	4.262 6



### 2.3 遗传距离和遗传一致度

从表5可见：6个群体的遗传一致度变化范围为0.867 7~0.960 6，遗传距离变化范围为0.040 2~0.141 9。其中乌伊岭与嫩江2个群体的遗传一致度最大(0.960 6)，遗传距离最近(0.040 2)，说明乌伊岭与嫩江这2个群体遗传分化最小，亲缘关系最近；莫尔道嘎和乌伊岭2个群体的遗传一致度最小(0.867 7)，遗传距离最远(0.141 9)，说明莫尔道嘎和乌伊岭2个群体间遗传分化最大，亲缘关系最远。

表5 兴安落叶松各群体间遗传相似性(右上角)和遗传距离(左下角)

Table 5 Nei's genetic identity (above diagonal) and genetic distance (below diagonal)

群体	乌伊岭	嫩江	甘河	库都尔	莫尔道嘎	阿尔山
乌伊岭		0.960 6	0.891 6	0.888 1	0.867 7	0.869 4
嫩江	0.040 2		0.929 5	0.902 6	0.898 3	0.887 7
甘河	0.114 7	0.073 1		0.931 1	0.929 9	0.902 6
库都尔	0.118 6	0.102 4	0.071 4		0.939 3	0.902 8
莫尔道嘎	0.141 9	0.107 3	0.072 7	0.062 7		0.926 9
阿尔山	0.140 0	0.119 1	0.102 5	0.102 3	0.076 0	

从聚类图(图2)看出：在0.11的遗传距离上，6个兴安落叶松群体分为2个类群：第Ⅰ类为大兴安岭分布区，第Ⅱ类为小兴安岭分布区。在0.09的遗传距离上也可将6个兴安落叶松群体分为3个类群：第Ⅰ类为大兴安岭南部分布区，第Ⅱ类为大兴安岭西部分布区，第Ⅲ类为小兴安岭分布区。李雪峰<sup>[4]</sup>聚类分析等结果与本研究相似，基本群体间的遗传距离变化幅度较育种群体间的变化幅度大，遗传一致度变化范围较育种群体大，表明基本群体间基因的交流区域以及整个基因组交换频率较大。

用SPSS 18.0检测遗传距离与地理距离的相关分析(图3)，兴安落叶松基本群体的遗传距离和地理距离呈显著正相关，相关系数 $R=0.768$ ，表明地理分布是影响其群体遗传结构的，由于各群体地理位置与生长环境的影响，相距较近的群体间基因流动广泛些。整体而言，相距较近的群体基本上能聚在一起，如甘河、库都尔群体和莫尔道嘎群体地理距离较近，同时甘河、库都尔群体和莫尔道嘎群体地处大兴安岭西侧，亦聚在一起。也有例外，相距较远的乌伊岭和嫩江群体聚在一起，但是结合地理位置，嫩江群体地处小兴安岭西麓，乌伊岭群体地处小兴安岭北坡，两者亦应聚在一起，同时说明其遗传关系是最近的；阿尔山群体地处大兴安岭南部分布区，群体间相距较远。

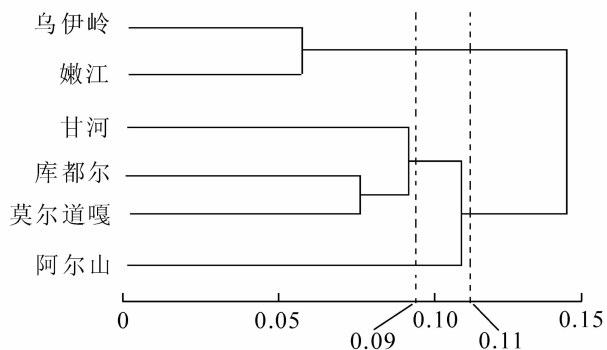


图2 兴安落叶松群体遗传距离聚类图

Figure 2 Cluster of genetic distance for the different provenances of *Larix gmelinii*

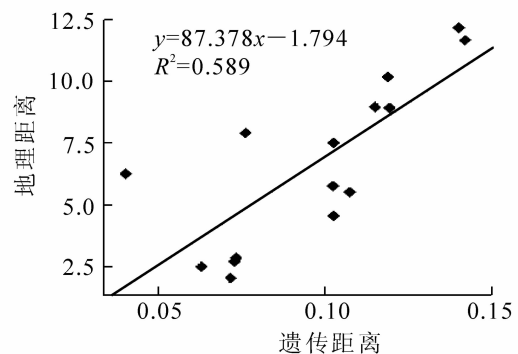


图3 遗传距离和地理距离的相关分析

Figure 3 Correlation analysis between genetic distance and geographical distance

### 2.4 生长性状遗传变异分析

由表6可见：6个兴安落叶松基本群体的树高、胸径、材积都存在较高的变异，变异系数为10.25%~20.78%，14.93%~28.37%，35.03%~74.36%。其中树高生长变异最大的是甘河，最小的是乌伊岭，胸径生长变异最大的是嫩江，最小的是库都尔，材积生长变异最大的是嫩江，最小的是库都尔。在分子遗传

变异水平上, 4 个群体中库都尔群体遗传变异最大, 最小的是乌伊岭群体, 分子水平与表型性状的变异趋势有所不同, 反映出各生长性状在适应不同地理生长环境的差异变化, 基本群体的遗传结构和变异规律发生着丰富的变化, 基本群体的表型性状变异丰富, 这与林木的生活史有很大的关系的。基本群体的生长变异幅度较育种群体大。

表 6 兴安落叶松各群体的树高、胸径、材积的比较

Table 6 Comparison of the growth characteristics among different provenances of *Larix gmelinii*

群体	株数	树高				胸径				材积			
		平均值/ m	标准差/ m	变异系 数/%	95%置 信区间	平均值/ cm	标准差/ cm	变异系 数/%	95%置 信区间	平均值/ m <sup>3</sup>	标准差/ m <sup>3</sup>	变异系 数/%	95%置 信区间
乌伊岭	45	16.764	1.718	10.25	16.06~17.47	29.418	5.204	17.69	27.76~31.08	0.573	0.227	39.61	0.503~0.643
库都尔	45	16.104	1.960	12.17	15.45~16.76	27.380	4.088	14.93	25.72~29.04	0.471	0.165	35.03	0.401~0.541
甘河	45	14.724	3.060	20.78	14.74~15.34	25.809	6.084	23.57	24.15~27.47	0.416	0.242	58.17	0.346~0.486
嫩江	45	14.913	2.609	17.49	14.26~15.56	25.651	7.277	28.37	24.00~27.31	0.429	0.319	74.36	0.359~0.500
总计	180	15.627	2.522	16.14	15.30~15.95	27.064	5.933	21.94	26.24~27.89	0.472	0.250	52.97	0.437~0.507

### 3 结论与讨论

兴安落叶松基本群体存在较高的遗传多样性, 86.19%的遗传变异存在于群体内, 13.91%的遗传变异存在于群体之间, 群体内变异是 RAPD 分子水平上遗传变异的主要成分。6 个群体的遗传一致度变化范围为 0.867 7~0.960 6, 遗传距离变化范围为 0.040 2~0.141 9, 群体之间的遗传距离较小, 亲缘关系较近, 其中乌伊岭与嫩江 2 个群体的遗传一致度最大(0.960 6), 遗传距离最近(0.040 2), 遗传分化最小, 亲缘关系最近; 莫尔道嘎和乌伊岭 2 个群体的遗传一致度最小(0.867 7), 遗传距离最远(0.141 9), 遗传分化最大, 亲缘关系最远。根据遗传距离的大小, 构建聚类图, 在 0.09 的遗传距离上可将 6 个兴安落叶松群体分为 3 个类群, 即大兴安岭南部分布区、大兴安岭西部分布区、小兴安岭分布区; 兴安落叶松基本群体遗传多样性的各项参数较育种群体呈现增加的趋势, 多态位点百分率、等位基因平均数、等位变异标记平均数、Nei's 指数、Shannon 指数分别高出 5.32%, 4.51%, 1.13%, 4.94%, 5.68%。

本实验从群体遗传学角度, 在大量取材的基础上对兴安落叶松基本群体的遗传变异进行 RAPD 分析, 6 个兴安落叶松基本群体 Shannon 多样性指数变化幅度为 0.467 1~0.508 0, 平均值为 0.482 1, Nei's 多样性指数变异范围为 0.313 1~0.341 7, 平均值为 0.322 6, 与其他人<sup>[7-8]</sup>用分子标记技术研究兴安落叶松遗传多样性比较, 基本群体遗传多样性的各项参数较育种群体呈现增加的趋势, 但低于杂交群体。本研究中, 大部分遗传变异存在于群体内部, 这与其他人<sup>[7,9-10]</sup>采用不同的研究方法分析兴安落叶松得到的结果一致, 表明兴安落叶松群体内存在丰富的遗传变异。育种群体聚类结果类似于基本群体, 但基本群体间的遗传距离变化幅度较育种群体间的变化幅度大, 遗传一致度变化范围较育种群体高, 表明在基本群体间基因的交流区域以及整个基因组交换频率较大。

#### 参考文献:

- [1] 王战. 中国落叶松林[M]. 北京: 中国林业出版社, 1992.
- [2] 沈熙环. 林木育种学[M]. 北京: 中国林业出版社, 1990.
- [3] 陈家宽, 杨继. 植物进化生物学[M]. 武汉: 武汉大学出版社, 1994.
- [4] 李雪峰. 兴安落叶松群体、无性系遗传多样性的研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2009.  
LI Xuefeng. Study on Genetic Diversity of Provenances and Clones of *Larix gmelinii* (Rupr.) Rupr. [D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2009.
- [5] 姜静, 杨传平. 分子生物学实验原理与技术[M]. 哈尔滨: 东北林业大学出版社, 2003.
- [6] 李雪峰, 张含国, 贯春雨, 等. 利用正交设计优化兴安落叶松 RAPD-PCR 反应体系[J]. 植物研究, 2009, 29 (1): 80 - 85.

- LI Xuefeng, ZHANG Hanguo, GUAN Chunyu, *et al.* Establishment and optimization of RAPD-PCR reaction system for *Larix gmelinii* (Rupr.) Rupr using orthogonal design [J]. *Bull Bot Res*, 2009, **29** (1): 80 - 85.
- [7] 那冬晨, 杨传平, 姜静, 等. 利用 ISSR 分析兴安落叶松种源遗传多样性[J]. 林业科技, 2006, **31** (1): 1 - 4.  
NA Dongchen, YANG Chuanping, JIANG Jing. Analysis on the genetic diversity of *Larix gmelinii* provenance by using ISSR markers [J]. *For Sci Techhol*, 2006, **31** (1): 1 - 4.
- [8] 贯春雨, 张含国, 张磊, 等. 落叶松杂种 F<sub>1</sub> 代群体遗传多样性的 RAPD, SSR 分析[J]. 经济林研究, 2010, **28** (4): 8 - 14.  
GUAN Chunyu, ZHANG Hanguo, ZHANG Lei, *et al.* RAPD and SSR analysis of genetic diversity of hybrid F<sub>1</sub> progeny population in *Larix* spp. [J]. *Nonwood For Res*, 2010, **28** (4): 8 - 14.
- [9] 杨传平, 黄秦军, 李永启, 等. 兴安落叶松优良种源遗传结构的研究(Ⅱ)遗传变异及种群分布[J]. 东北林业大学学报, 1997, **25** (3): 1 - 5.  
YANG Chuanping, HUANG Qinjun, LI Yongqi, *et al.* Study on the genetic structure of the best provenamnce of *Larix gmelinii* (Ⅱ) genetic variation and population differentiation [J]. *J Northeast For Univ*, 1997, **25** (3): 1 - 5.
- [10] 王玲, 卓丽环, 杨传平, 等. 兴安落叶松等位酶水平的遗传多样性[J]. 林业科学, 2009, **45** (8): 170 - 174.  
WANG Ling, ZHUO Lihuan, YANG Chuanping, *et al.* Allozymic genetic diversity in *Larix gmelinii* [J]. *Sci Silv Sin*, 2009, **45** (8): 170 - 174.

## 《科学研究方法与学术论文写作：理论·技巧·案例》出版

《科学研究方法与学术论文写作：理论·技巧·案例》(周新年编著，普通高等教育“十二五”规划教材，科学出版社出版)一书系作者积累的教学、科研和编辑的丰富经验与大量的国内外最新资料基础上，以科学研究创新与能力培养为主线，进行认真分析、归纳、探索、提炼与升华，而形成的一部理论联系实际的指导书。

科研方法的运用和学术论文的写作，是科研工作者和在校大学生、硕(博)士研究生的重要基本功。全书共 8 章：第 1 章科学和科学研究；第 2 章科研与论文选题方法；第 3 章科学研究方法；第 4 章信息检索与利用；第 5 章和第 6 章介绍了学术论文的写作流程、写作方法与写作规范；第 7 章毕业论文答辩与评价；第 8 章选取了编著者公开发表的自然科学与社会科学的 6 篇学术论文范文；把有关学术论文的编排规范(格式)编入附录。总结了科学研究与学术论文写作方式方法及技巧，选入了综述与学术论文范文，便于读者循序渐进并系统地学习。

该书可供高等院校大学生、硕(博)士研究生相近类课程使用，如科研方法与学术论文、科研方法与论文写作、科研方法与文献综述等，以及科研实训和撰写毕业论文时参考，亦可供有关科研人员、准备晋职称人员从事科学研究和撰写学术论文时参考。

订购者通过邮局汇款，并注明“购书款”，详细收书地址以及册数。单价(含邮资)：43.00 元。收款地址：350002 福建省福州市金山 福建农林大学交通学院 周新年。