

海南海桑遗传多样性的 ISSR 研究^{*}

李海生¹, 陈桂珠¹, 施苏华²

(1. 中山大学环境科学研究所, 广东 广州 510275;

2. 中山大学生命科学学院 // 教育部基因工程重点实验室, 广东 广州 510275)

摘 要: 采用简单序列重复区间扩增 (ISSR) 分子标记技术对分布于海南岛的海南海桑 *Sonneratia hainanensis* 4 个种群共 33 个个体进行了遗传变异分析。11 条引物共扩增出 166 条带, 其中 142 条具多态性, 多态位点百分率为 85.54%。在种群水平上多态位点百分率 14.46%~80.12%, 平均为 46.24%。期望杂合度、Shannon 信息指数在物种水平上分别为: 0.232 9 和 0.361 9; 在种群水平上分别为 0.153 8 和 0.231 7。依据 G_{st} 值, 海南海桑遗传变异发生在种群内的个体间占 75.89%, 24.11% 的遗传变异发生在种群间。UPGMA 聚类结果为来自文昌的 2 个天然种群聚为一类, 东寨港引种栽培的 2 个人工种群聚为另一类。Mantel 检验表明海南海桑种群间的遗传距离与地理距离间存在显著的正相关 ($P < 0.05$)。种群遗传多样性与环境因子间的相关性分析表明: 海南海桑的遗传多样性水平与土壤总氮量、有机质含量呈显著负相关 ($P < 0.05$)。

关键词: 海南海桑 *Sonneratia hainanensis*; ISSR; 遗传多样性; 遗传分化; 濒危; 保护

中图分类号: Q16; Q948.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2004) 02-0067-05

海南海桑 *Sonneratia hainanensis* KO, E. Y. Chen et W. Y. Chen 是海桑科海桑属植物, 仅天然分布于我国文昌市清澜红树林保护区东阁和头宛两处, 分布范围狭窄。据最新调查, 海南海桑个体数量极为稀少, 在东阁有 2 株, 在头宛有 6 株, 在海南东寨港红树林自然保护区内有引种栽培, 不足 200 株个体。目前, 该物种已濒临灭绝, 已载入《中国植物红皮书》, 并被列入《中国生物多样性保护行动计划》优先保护植物名录。海南海桑作为沿海红树林的组成成分之一, 对于防风、防浪、固堤、保护农田和村庄、促淤造陆有显著的效果; 其树干饱满, 材质好, 生长速度较快, 亦可作为我国红树林可用材树种; 海南海桑具有适应生理干旱的特殊形态结构, 对今后研究盐生植物和红树林的植物区系有科学意义。因此, 研究海南海桑濒危机理, 从而采取必要的保护措施是十分重要的。

遗传多样性是生物多样性的的重要组成部分, 其水平影响物种长期生存和进化潜力。对稀有濒危植物遗传多样性和遗传结构的研究, 是探讨其适应性、生存力的基础, 也是分析致濒机理的基础, 从而帮助制定科学有效的保护策略和措施。目前对海南海桑的形态、解剖、细胞学、生理生态作过一些研究, 但在 DNA 水平上的遗传多样性研究尚未见报

道。ISSR (inter simple sequence repeat) 是一种新型的分子标记, 是由 Zietkiewicz 等^[1] 创建的一种简单序列重复区间扩增多态性分子标记。ISSR 分子标记技术具有 DNA 样品用量少, 操作简单, 无需预先知道受试基因组 DNA 序列, 结果记录方便, 实验成本低, 能提供丰富的关于基因组的信息等优点, 且比 RAPD 技术更加稳定可靠, 实验重复性好, 因而是非常理想的分子标记。ISSR 分子标记已广泛用于遗传多样性分析、绘制 DNA 指纹图谱、品种鉴定、进化及分子生态学研究中。因而本文采用 ISSR 分子标记技术来研究海南海桑的遗传变异, 以阐明其遗传多样性水平和遗传结构, 并探讨种群遗传多样性水平与环境因子间的相关性, 为保护海南海桑提供基础资料和科学依据。

1 材料和方法

1.1 材 料

本研究对海南海桑分布区内的所有天然种群, 包括文昌东阁 (DG)、文昌头宛 (TW) 进行了采样, 对东寨港红树林保护区种植在林家湾 (LJW)、三江 (SJ) 的海南海桑引种种群亦作了取样分析。采样时, 采摘海南海桑的嫩叶, 置于盛有硅胶的塑料袋中干燥保存。同时采集各种群距地表 0~20 cm

* 收稿日期: 2003-03-26

基金项目: 教育部高等学校博士学科点专项科研基金资助项目 (20010558004)

作者简介: 李海生 (1971 年生), 男, 博士, 讲师, 作者现在广东教育学院生物系工作;

通讯联系人: 陈桂珠; E-mail: chengui@yeah.net

深处的土壤, 供土壤分析用。采样时间为 2001 年 12 月。各种群的基本情况见表 1。

表 1 海南海桑取样种群的基本情况

Tah 1 The general situation of *S. hainanensis* sampling populations

项目	DG	TW	SJ	LJW
取样数	2	6	7	18
经度	110° 49' 49"	110° 47' 52"	110° 36' 49"	110° 35' 11"
纬度	19° 37' 37"	19° 37' 06"	19° 55' 35"	19° 57' 11"
降雨量/mm	1974	1974	1676.4	1676.4
w(总氮)/10 ⁻³	1.166	1.142	0.705	0.373
w(总磷)/10 ⁻³	1.035	0.188	0.362	0.384
w(总钾)/10 ⁻³	3.973	1.573	6.396	3.815
w(有效氮)/10 ⁻⁶	238.03	113.06	58.14	44.35
w(有效磷)/10 ⁻⁶	9.15	3.30	3.21	4.63
w(有机质)/10 ⁻³	67.550	46.554	19.929	18.322
w(盐)/10 ⁻²	1.002	1.881	1.745	1.053
pH	5.93	4.45	5.77	5.18
Ω/(ms·cm ⁻¹)	3.3	4.3	5.3	3.2

1.2 DNA 提取

采用 CTAB 法^[2]提取基因组 DNA。用电泳法测其含量。

1.3 PCR 扩增

对购自于哥伦比亚大学的 100 条 ISSR 引物 (UBC set No. 9) 进行了筛选, 从中选取扩增条带清晰, 重复性较好的 11 条引物(表 2)用于 PCR 扩增。扩增反应在 PTC^{100TM} Programmable Thermal Controller (MJ Research Inc., 美国) PCR 扩增仪上进行。经实验证实较好的扩增条件为每 10 μL 反应体积含 1 μL 10× buffer, 3.0 mmol/L MgCl₂, 300 μmol/L dNTPs, 0.3 μmol/L 引物, 1U Taq DNA 聚合酶(加拿大真达公司), 10 ng 模板 DNA。扩增程序: 94 °C 预变性 5 min, 之后进行 45 个循环, 每个循环包括 94 °C 变性 45 s、52~53.5 °C 退火(退火温度随引物而定)(表 2) 45 s、72 °C 延伸 1.5 min, 最后于 72 °C 延伸 7 min。将结果置于 4 °C 冰箱保存。

1.4 PCR 产物鉴定

将 PCR 扩增产物在用 0.5× TBE 配制的 w=1.5% 的琼脂糖凝胶中电泳分离。EB 直接加入胶中, 终浓度约为 0.5 mg/L。以 100 bp DNA ladder (100~3 000 bp)(上海生物工程公司)作为相对分子质量标准。在 60 mA 的恒流下电泳 3 h。电泳结束后在紫外检测仪上观察记录扩增产物的泳带, 并在凝胶成像系统中保存图像。

1.5 数据的统计和分析

1.5.1 种群遗传多样性及遗传结构分析 在琼

表 2 ISSR 引物、序列、退火温度和扩增后产生的带型数

Tah 2 Name of ISSR primers, sequences, annealing temperature and bands after amplification

引物	引物序列	退火温度/°C	记录带数	多态带数
808	(AG) ₈ C	53.5	11	8
809	(AG) ₈ G	52.0	16	16
835	(AG) ₈ (CT)C	53.5	20	19
836	(AG) ₈ (CT)A	52.0	18	14
840	(GA) ₈ (CT)T	53.0	15	14
842	(GA) ₈ (CT)G	53.0	15	13
847	(CA) ₈ (AG)C	53.5	14	14
857	(AC) ₈ (CT)G	52.0	17	15
864	(ATG) ₆	53.5	14	8
868	(GAA) ₆	52.5	14	11
887	(AGT)(ACG)(AGT)(TC) ₇	52.0	12	10
总和			166	142

脂糖凝胶电泳图谱上同一 ISSR 位点上有电泳带记为 1, 无电泳带的记为 0, 作 0, 1 矩阵输入计算机。应用 POPGENE 1.31 程序, 假定种群在这些 ISSR 标记位点处于 Hardy-Weinberg 平衡状态, 统计下列参数。

(1) 多态位点百分数 (P): 扩增的 DNA 片段出现频率小于或等于 0.99 的位点即为多态位点,

$$P = \frac{\text{具有多态的位点数}}{\text{检测到的位点数}} \times 100\%;$$

- (2) 平均每个位点的观察等位基因数 (N_a);
(3) 平均每个位点的有效等位基因数 (N_e);
(4) 期望杂合度 (h), 亦称 Nei 的平均基因多样性;

- (5) Shannon 信息指数 (I);
(6) 总的基因多样性 (H_t) 和种群内的基因多样性 (H_s);

- (7) 基因分化系数 (G_{st}) 和基因流 (N_m);
(8) 遗传距离 (D) 和遗传一致度 (I)。

1.5.2 聚类分析 根据种群间 Nei 的遗传距离^[3], 采用算数平均数的非加权成组配对法 (UPGMA 法) 进行聚类分析。使用软件为 NTSYSpc 2.02。

1.5.3 相关性分析 应用 NTSYSpc 2.02 软件的 Mantel 统计学检验, 进行种群间地理距离和遗传距离之间的相关性分析, 并作显著性检测。种群的遗传多样性水平与环境因子间的关系, 由 SPSS 11.0 软件得出。

2 实验结果

2.1 ISSR-PCR 扩增结果

用 11 条 ISSR 引物扩增了 4 个海南海桑种群共

33 个个体, 共扩增出 166 条带, 其中 142 条具多态性, P 为 85.54%。每个引物扩增的条带数为 11 ~ 20 条 (表 2), 平均每个引物扩增的条带数为 15.1 条, 扩增的条带在 150 ~ 2 000 bp 之间。ISSR-PCR 扩增结果共检测出 33 个基因型, 即每个样品均有独立的基因型。

2.2 海南海桑的遗传多样性

由表 3 可知, 海南海桑在物种水平上 P 为 85.54%, 种群内的 P 在 14.46% ~ 80.12% 之间, 平均值为 $(46.24 \pm 27.83)\%$ 。每位点的 N_e 为 1.383 0。期望杂合度在物种水平上为 0.232 9, 在

种群水平上为 0.153 8; Shannon 信息指数在种群水平上为 0.231 7, 在物种水平上为 0.361 9。4 个种群中, 来自于东阁(DG)、头宛(TW)的天然小种群表现出较低的遗传多样性水平, 东寨港引种栽培的林家湾种群(LJW)和三江种群(SJ)表现出较高的遗传多样性水平, 其中种群个体数最高的林家湾种群遗传多样性水平最高(P : 80.12%, N_e : 1.408 3, h : 0.241 0, I : 0.367 6)。相关分析表明, 随着种群内取样个体数的增加, 种群遗传多样性水平也相应增加, 但未达到显著性相关水平($P>0.05$)。

表 3 海南海桑种群间遗传变异统计

Tah 3 The genetic variation statistics among populations of *S. hainanensis* ($\bar{x} \pm SD$)

种群	观察等位基因数 N_a	有效等位基因数 N_e	期望杂合度 h	Shannon 信息指数 I	多态位点百分数 P
DG	1 1446±0.3527	1.1022±0.2494	0.0599±0.1461	0.0874 ±0.2133	14.46
TW	1 3614±0.4819	1.2052±0.3346	0.1208±0.1811	0.1828±0.2623	36.14
SJ	1 5422±0.4997	1.3305±0.3719	0.1934±0.2005	0.2891±0.2875	54.22
LJW	1 8012±0.4003	1.4083±0.3708	0.2410±0.1894	0.3676±0.2587	80.12
平均	1 4624±0.2783	1.2612±0.1352	0.1538±0.0797	0.2317±0.1224	46.24
总群体	1 8554±0.3527	1.3830±0.3479	0.2329±0.1786	0.3619±0.2425	85.54

2.3 海南海桑的遗传分化

由 POPGENE 分析, 海南海桑所有群体总的基因多样度为 0.202 6, 种群内基因多样度为 0.153 8, 种群间基因多样度为 0.048 8, G_{st} 为 0.241 1。换言之, 海南海桑种群间发生了一定的遗传分化, 种群间的遗传变异占总遗传变异的 24.11%, 75.89% 的遗传变异分布在种群内的个体间。种群间的遗传距离 (D) 和遗传一致度 (I) 见表 4。由表 4 可见林家湾种群和东阁种群的遗传距离最大 (0.109 5), 林家湾种群和三江种群的遗传距离最小 (0.050 1), 遗传一致度 I 值变化范围为 0.896 3 ~ 0.951 2, 所有群体间的平均遗传一致度为 0.925 3。根据 Nei 的遗传距离将所有群体进行 UPGMA 聚类, 聚类结果将分布于文昌的两个天然种群聚在一起, 引种栽培的两个迁地保护种群聚为一类 (图 1)。种群间基因流 (N_m) 的估测值为每代群体间平均为 0.787 0 个个体。对海南海桑种群间的地理距离和 Nei 的遗传距离作 Mantel 统计检验, 进行随机性检测 1 000 次, 检验结果表明遗传距离与地理距离之间的相关性较高 ($r=0.880 4$, $P<0.05$), 达到了显著性相关。

2.4 海南海桑种群的遗传多样性与环境因子间的相关性分析

利用 SPSS 11.0 软件将海南海桑 4 个种群的遗传多样性指标, 包括 N_a , N_e , h , I 和 P 与各环境

因子间作相关性分析, 结果见表 5。结果表明海南海桑的种群遗传多样性水平与土壤总氮量、土壤有机质含量呈显著负相关, 与其它各环境因子的相关性均不显著。

表 4 海南海桑种群间 Nei 的遗传一致度 (右上角) 和遗传距离 (左下角)

Tah 4 Nei's genetic identity (above diagonal) and genetic distance (below diagonal) of *S. hainanensis*

种群	DG	TW	LJW	SJ
DG	*	0.9443	0.8963	0.9154
TW	0.0573	*	0.9145	0.9303
LJW	0.1095	0.0893	*	0.9512
SJ	0.0884	0.0722	0.0501	*

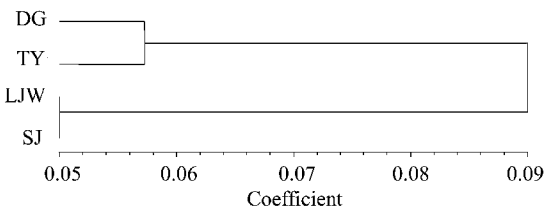


图 1 海南海桑各种群基于 Nei 的遗传距离 UPGMA 聚类图

Fig. 1 Dendrogram of UPGMA cluster analysis based on Nei's genetic distance among populations of *S. hainanensis*

表 5 海南海桑种群遗传多样性与
环境因子的相关性

Tah 5 Correlation between population genetic diversity of
S. hainanensis and environmental factors

环境因子	N_a	N_e	h	I	P
总氮	-0.955 ¹⁾	-0.952 ¹⁾	-0.953 ¹⁾	-0.953 ¹⁾	-0.955 ¹⁾
总磷	-0.607	-0.624	-0.623	-0.626	-0.607
总钾	0.232	0.349	0.342	0.325	0.232
有效氮	-0.915	-0.944	-0.943	-0.942	-0.915
有效磷	-0.607	-0.656	-0.653	-0.651	-0.607
有机质	-0.935	-0.977 ¹⁾	-0.975 ¹⁾	-0.971 ¹⁾	-0.935
含盐量	-0.032	0.049	0.045	0.039	-0.032
pH	-0.210	-0.138	-0.143	-0.157	-0.210
电导率	0.030	0.167	0.159	0.144	0.030
降雨量	-0.869	-0.921	-0.918	-0.911	-0.869

1) 表示在 $P<0.05$ 水平上有显著意义

3 讨 论

3.1 海南海桑的遗传多样性

海南海桑尽管目前分布范围和个体数量非常有限,但从实验结果来看,多态位点百分率、期望杂合度在物种水平和种群水平均高于 Hamrick 等^[4]对 165 个属 449 种植物的统计平均值。这与一般认为濒危物种的遗传多样性水平较低的观点并不吻合。原因可能在于本次研究采用 ISSR 分子标记技术,较等位酶、RFLP、RAPD 技术可检测到更多的基因位点,发现更加丰富的遗传信息^[5, 6];另外,同样采用 ISSR 分子标记技术, Jian 等^[7]研究了银叶树 *Heritiera littoralis* 的遗传多样性,发现银叶树亦具有较高的遗传多样性水平,在物种水平上 P 和 H_t 分别为 83.19% 和 0.232。不过, Ge 等^[8]应用 ISSR 标记研究了来自中国和泰国的角果木 *Ceriops tagal* 的遗传多样性,发现 P 和 H_t 分别只有 8.96% 和 0.016,对桐花树 *Aegiceras corniculatum* 的研究也得出类似的结果 (P : 16.18%, H_t : 0.039)^[9]。海南海桑为多年生长命木本植物,以异交为主,这样的生活史特征使海南海桑拥有较高的遗传多样性水平。另外,海南海桑较高的遗传多样性与它可能为杂种起源有关^[10]。有研究表明,杂交能提高物种内的遗传多样性水平^[11]。在种群水平上,在东寨港迁地保护的两个种群中,遗传多样性高于分布于文昌的两个天然种群,显然,海南海桑种群的遗传多样性与种群大小紧密相关。一方面因为天然种群中个体数少,所能检查到的变异自然偏低,另一方面虽然东寨港的海南海桑实为文昌的海南海桑的后代,但并未出现预期的奠基者效应事件,这可能是育苗过程乃至定植于林地的幼树均受到较强的人工和自

然选择的影响而带来的遗传突变所致。赖焕林等^[12]在研究马尾松种子园附近人工林的亲子代群体遗传结构时,亦得出类似的结果。林家湾的海南海桑种群内较高的遗传多样性可能跟该林分组成有关,该林分的海南海桑包括几个龄级,不同龄级在建立时都会遇到当时的选择压力,适宜的基因就保留下来,因此积累了较多的基因,形成了较广的遗传基础。另外,本研究表明海南海桑种群的遗传多样性与样地土壤的总氮量和有机质含量呈显著负相关,即土壤总氮量越高、有机质含量越高,种群遗传多样性越低,表明氮、有机质在维持海南海桑种群遗传多样性方面可能起着较为重要的作用。在较低的土壤营养情况下,较高的种群遗传多样性有利于充分利用有限的营养资源^[13]。

3.2 海南海桑的遗传结构

海南海桑的遗传变异大部分在种群内 (75.89%),种群之间有了一定的遗传分化 (24.11%)。种群间的基因流为 0.787。影响种群间的基因流大小及种群遗传结构的因素很多,如繁育系统、分布范围、种子传播机制、演替阶段等^[14]。海桑属植物是以异交为主的交配系统,主要靠蝙蝠、鸟^[15]、天蛾^[16]等传播花粉,造成了一定的基因流动,而且由于海南海桑天然种群之间以及迁地保护种群之间地理距离较近,基因流尚未产生严重的障碍,加之在东寨港的海南海桑植株是在文昌采种育苗而来的,实为文昌海南海桑植株的后代,种群间有很近的亲缘关系,因而检测到的遗传变异主要分布在种群内。海南海桑自然分布多为散生,未有纯林,并且不连续分布,因此造成种群间一定的遗传分化,海南海桑种群的遗传距离与地理距离呈显著正相关,亦说明了一定的地理隔离对种群遗传分化产生了影响。

3.3 海南海桑的保护

目前人们在红树林生长地搞水产养殖,因挖鱼塘、虾塘等砍掉了大量的红树林植物,红树林生长的生境丧失、生境遭到破坏,给海南海桑的生存带来极大的威胁。在海南海桑天然种群和迁地保护种群中,均很难发现其幼苗存在。原因与海南海桑母树少,繁育能力差^[10]有关。海南海桑果实为浆果,果实落地后,种子极易受螃蟹、蚂蚁啃食、病虫害危害,再加上种子小,受涨退潮的影响,易被潮水冲走。另外,生长地可能缺乏种子萌发、幼苗生长的立地条件。因此,保护海南海桑的生境,对天然生长的每一株海南海桑实行挂牌保护是当前首先要做的事,尤其是分布于东阁的两株海南海桑,植株个体高大,耸立于其它红树植物之中,是极为重要的

种质资源。鉴于海南海桑个体数少, 面临的环境压力大, 除实施就地保护外, 还应实行迁地保护工作。海南海桑种群间已发生了一定的遗传分化, 除应继续加强对文昌东阁海南海桑种质资源的收集工作外, 为全面保护其遗传多样性, 还应加强对文昌头苑海南海桑的采种工作, 进一步提高育苗、造林技术及回归引种工作, 这方面的工作近年来在东寨港红树林自然保护区取得了一定进展。另外, 为弄清楚海南海桑自然更新能力差的原因, 应在海南海桑的繁殖生态学上进一步开展研究。

参考文献:

- [1] ZIETKIEWICZ E, RAFALSKI A, LABUDA D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification [J]. *Genomics*, 1994, 20: 176—183.
- [2] DOYLE J J, DOYLE J L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue [J]. *Phytochem Bull*, 1987, 19: 11—15.
- [3] NEI M. Genetic distance between populations [J]. *Amer Naturalist*, 1972, 106: 283—292.
- [4] HAMRICK J L, GODT M J W. Allozyme diversity in plant species // BROWN A H D, CLEGG M T, KAHLER A L, et al. eds. *Plant population genetics, breeding and genetic resources* [M]. Sunderland, Massachusetts: Sinauer, 1990: 43—63.
- [5] GODWIN I D, AITKEN E A B, SMITH L W. Application of inter simple sequence repeat (ISSR) markers to plant genetics [J]. *Electrophoresis* 1997, 18: 1524—1528.
- [6] NAGAOKA T, OGIHARA Y. Applicability of inter-simple sequence repeat polymorphisms in wheat for use as DNA markers in comparison to RFLP and RAPD markers [J]. *Theor Appl Genet*, 1997, 94: 597—602.
- [7] JIAN S G, SHI S H, ZHONG Y et al. Genetic diversity among south China *Heritiera littoralis* detected by inter-simple sequence repeats (ISSR) analysis [J]. *Journal of Genetics and Molecular Biology*, 2002, 13(4): 272—276.
- [8] GE X J, SUN M. Population genetic structure of *Ceriops tagal* (Rhizophoraceae) in Thailand and China [J]. *Wetland Ecology and Management*, 2001, (9): 203—209.
- [9] GE X J, SUN M. Reproductive biology and genetic diversity of a cryptoviviparous mangrove *Aegiceras corniculatum* (Myrsinaceae) using allozyme and intersimple sequence repeat analysis [J]. *Mol Ecol*, 1999, 8: 2061—2069.
- [10] 王瑞江, 陈忠毅, 陈二英, 等. 国产海桑属植物的两个杂交种 [J]. *广西植物*, 1999, 19(3): 199—204.
- [11] ANDERSON E. Hybridization of the habitat [J]. *Evolution*, 1948, 2: 1—9.
- [12] 赖焕林, 王章荣. 马尾松种子园及其附近人工林的亲子代群体遗传结构分析 [J]. *林业科学研究*, 1997, 10(5): 490—494.
- [13] XU L, WANG Y L, WANG X M, et al. Genetic structure of *Reaumuria songorica* population in Fukang desert, Xinjiang and its relationship with ecological factors [J]. *Acta Botanica Sinica*, 2003, 45(7): 787—794.
- [14] HAMRICK J L. Gene flow and distribution of genetic variation in plant populations // URBANKA K, ed. *Differentiation Patterns in Higher Plants* [M]. New York: Academic Press, 1987: 53—67.
- [15] STAFFORD-DEITSCH J. Mangrove: the forgotten habitat [M]. London: Immel Publishing Ltd., 1996: 129—130.
- [16] PRIMACK R B, DUKE N C, TOMLINSON P B. Floral morphology in relation to pollination ecology in five Queensland coastal plants [J]. *Austrobaileya*, 1981, 4: 346—355.

Genetic Diversity of *Sonneratia hainanensis* (Sonneratiaceae) Detected by Inter-simple Sequence Repeats (ISSR) Analysis

LI Hai sheng¹, CHEN Gui zhu¹, SHI Su hua²

(1. Institute of Environmental Sciences, Sun Yat sen University, Guangzhou 510275, China;

2. Key Laboratory of Gene Engineering of the Ministry of Education //

School of Life Sciences, Sun Yat sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: *Sonneratia hainanensis* is an endangered mangrove species of Sonneratiaceae distributed only in Hainan Island, China. Inter simple sequence repeats (ISSR) markers were used to investigate the genetic variations within and among 4 populations of *S. hainanensis*. Young leaf samples were collected from 33 individuals. Eleven ISSR primers gave rise to 166 discernible DNA bands of which 142 (85.54%) were polymorphic, indicating a considerable genetic variation at specific level. At the population level, the percentage of polymorphic bands (P) was from 14.46% to 80.12%, 46.24% on average. Expected heterozygosity (h) and Shannon's information index (I) were 0.232 9 and 0.361 9 respectively at specific level, 0.153 8 and 0.231 7 at population level. A large proportion of genetic variance (75.89%) was among individuals within population, 24.11% genetic variance was among populations. UPGMA cluster analysis based on Nei's (1972) genetic distance divided the populations into two main groups: two natural populations TW and DG from Wenchang were in one group, two introduced populations LJW and SJ from Dongzhai Harbor were in the other group. The Mantel test showed that genetic distance among populations was positively correlated with geographical distance significantly. The correlation analysis showed that population genetic diversity level of *S. hainanensis* had negative correlations with the content of total soil nitrogen and the content of soil organic matter significantly.

Key words: *Sonneratia hainanensis*; ISSR; genetic diversity; genetic differentiation; being endangered; conservation