

花楸树天然群体的遗传多样性研究

郑健^{1,2} 郑勇奇^{1*} 张川红¹ 宗亦臣¹ 李伯菁¹ 吴超³

1 (中国林业科学研究院林业研究所, 北京 100091)

2 (中国林业科学研究院热带林业研究所, 广州 510520)

3 (天津市河东区绿化管理二所, 天津 300176)

摘要: 花楸树(*Sorbus pohuashanensis*)是我国北方一种观赏兼经济用途的树种。本研究采用水平淀粉凝胶同工酶电泳技术,对采自山东、山西、河北、辽宁4个省的8个花楸树天然群体的种子样本进行了分析,旨在了解花楸树天然群体的遗传多样性和遗传结构,为该树种的保护与利用提供科学依据。4个酶系统10个位点的检测结果表明,花楸树群体水平上的遗传多样性较高,每位点平均等位基因数(N_a)为2.2000,多态位点百分率(P)为100%,期望杂合度(H_e)为0.4240。花楸树8个群体间的有效等位基因数(N_e)、 H_e 和Shannon信息指数差异较小,3个指标从高到低依次为:河北驼梁山>河北雾灵山>山西庞泉沟>河北白石山>山东崂山>河北塞罕坝>山东泰山>辽宁老秃顶子。群体间遗传分化系数(F_{st})为0.0758,群体间总的基因流较高($N_m = 3.0472$),群体间遗传一致度较高(I 为0.8585–0.9872),表明群体间遗传分化程度小。在单个群体中,通过 χ^2 检验,花楸树群体有73.62%的位点组合显著偏离Hardy-Weinberg平衡($P < 0.05$),总群体水平近交系数(F_{it})和单个群体水平近交系数(F_{is})分别为–0.3105和–0.4180,表明无论在总体水平还是群体内个体间,花楸树群体表现为杂合体过量的现象。UPGMA聚类结果显示,8个群体的遗传距离与地理距离相关性不显著。

关键词: *Sorbus pohuashanensis*, 同工酶, 遗传多样性, 遗传结构, 遗传分化

Genetic diversity in natural populations of *Sorbus pohuashanensis*

Jian Zheng^{1,2}, Yongqi Zheng^{1*}, Chuanhong Zhang¹, Yichen Zong¹, Bojing Li¹, Chao Wu³

1 Research Institute of Forestry, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091

2 Research Institute of Tropic Forestry, Chinese Academy of Forestry, Guangzhou 510520

3 Afforestation Management Office of Hedong District, Tianjin 300176

Abstract: *Sorbus pohuashanensis* is a tree species native to northern China with high potential for ornamental use. The genetic structure and diversity of eight natural populations of *Sorbus pohuashanensis* were studied at ten loci encoding four isozymes using horizontal starch gel electrophoresis. Genetic diversity was high at the species level with the mean number of alleles per locus $N_a = 2.2000$, the percentage of polymorphic loci $P = 100\%$, and the mean expected heterozygosity $H_e = 0.4240$. Values of the three parameters of H_e , N_e , and Shannon's information index indicated a random pattern of genetic diversity among the eight populations. A low level of genetic differentiation among populations ($F_{st} = 0.0758$) and a high estimate of gene flow ($N_m = 3.0472$) were detected together with a high level of genetic identity (I) among the populations (from 0.8585 to 0.9872). Wright's F -statistics analysis indicated an excess of heterozygotes both at the individual population level ($F_{is} = -0.4180$) and at the total population level ($F_{it} = -0.3105$). χ^2 -tests ($P < 0.05$) indicated that 73.62% of the assayed loci departed from the Hardy-Weinberg equilibrium. The UPGMA cluster analysis suggested that the genetic distances among populations were weakly correlated with their geographic distances.

Key words: *Sorbus pohuashanensis*, isozyme, genetic diversity, genetic structure, genetic differentiation

花楸树(*Sorbus pohuashanensis*), 又名百花花楸、百华花楸、臭山槐等, 蔷薇科苹果亚科花楸属落叶小乔木, 为我国特有树种。其树形优美, 对有害污染气体如SO₂、SO₃、CO₂等有较强抗性, 非常适于城市园林绿化。此外, 花楸树的药用价值和食用价值也有待开发(孙秀殿, 1999)。花楸树为我国花楸属分布比较广泛的树种(郑万钧, 1985), 可在西北、华北、东北栽培利用, 市场前景广阔, 开发潜力巨大。然而由于花楸树苗供不应求, 有的地方竟然从天然林挖大苗出售, 对花楸树野生资源造成了极大的破坏。因此, 对花楸树遗传资源的研究及保护工作已十分必要。以往国内对花楸树的研究主要集中在播种育苗技术(姜雁和李近雨, 1998; 陈荣伟等, 2004; 沈海龙等, 2006)、扦插繁殖(苏喜庭等, 2005)、组织培养(王爱芝等, 2005)、引种驯化(姜雁和李近雨, 1998)以及野生资源的地理分布、生境(郑健等, 2007)等方面, 关于其遗传多样性方面的研究尚未见报道。

同工酶的酶谱同位基因之间有明确的对应关系, 因此成为一种十分有效的遗传多样性的检测标记(葛颂, 1994; 王中仁, 1996), 它所检测的酶蛋白质的多态性可以被看作是对整个基因组的随机取样, 进而可以估测群体的遗传结构和遗传变异。

此外, 同工酶分析方法和设备简单, 样本需要量少, 分析灵敏度高, 获得实验结果迅速, 已被广泛应用于生物研究的各个领域。本研究采用同工酶技术对花楸树遗传多样性进行了分析, 揭示花楸树天然群体间、群体内的遗传变异, 以期为合理保护与科学利用花楸树遗传资源提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

取样地点分别为山东崂山(SDL)和泰山(SDT), 山西庞泉沟(SXP), 河北驼梁山(HBT)和白石山(HBB)、雾灵山(HBW)、塞罕坝(HBS), 辽宁老秃顶子(LNL)等8个群体。分单株采集果实, 采种母树间隔 ≥ 50 m, 且生长正常无病虫害, 按常规处理获得纯净种子后储存于冰箱备用。各取样群体的地理位置和样本数量详见表1。

参照吴超^①的方法进行种子发芽处理。种子休眠打破之后, 在培养箱中培养4–7 d, 以胚轴伸长后的幼苗为材料进行酶提取。同工酶分析的样本量为: SDL、SXP、HBB、LNL等4个群体各取12个家系, 每家系30个单株; SDT群体取30个家系, 每家系10个单株; HBW、HBS、HBT等3个群体各取30个家系, 每家系8个单株。

表1 花楸树采样群体的地理位置和样本量

Table 1 Geographic locations and sample size of *Sorbus pohuashanensis* populations

群体代号 Population code	采样地 Seed collection site	经纬度 Geographic location	海拔 Altitude (m)	家系数量 No. of families	每家系种子数 No. of seeds per family	样本大小 Sample size
SDL	山东崂山 Laoshan, Shandong	120°37.5'E 36°11'N	493–991	12	30	360
SDT	山东泰山 Taishan, Shandong	117°06.1'E 36°15.8'N	1,002–1,451	30	10	300
SXP	山西庞泉沟 Panguangou, Shanxi	111°25.7'E 37°53.6'N	1,834–2,179	12	30	360
HBB	河北白石山 Baishishan, Hebei	114°41.0'E 39°13.2'N	1,654–1,931	12	30	360
HBT	河北驼梁山 Tuoliangshan, Hebei	113°49.5'E 38°45.1'N	1,564–1,971	30	8	240
HBW	河北雾灵山 Wulingshan, Hebei	117°35.0'E 40°38.0'N	809–1,847	30	8	240
HBS	河北塞罕坝 Saihanba, Hebei	117°39.0'E 42°36.0'N	1,287–1,674	30	8	240
LNL	辽宁老秃顶子 Laotudingzi, Liaoning	124°53.9'E 41°19.2'N	890–1,245	12	30	360

① 吴超 (2007) 花楸树群体遗传结构及种子休眠机理研究. 中国林业科学研究院硕士学位论文

1.2 实验方法

酶提取参照王中仁(1996)和吴超^①的方法,对磷酸提取缓冲液配方作微小修改。淀粉凝胶电泳参照王中仁(1996)的方法,采用L-组氨酸/柠檬酸(pH6.5)电泳缓冲液及相应的凝胶缓冲液系统,对4个酶系统(6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶(Pgd)、磷酸葡萄糖异构酶(Pgi)、磷酸葡萄糖变位酶(Pgm)、苹果酸脱氢酶(Mdh))进行分析。

电泳条件和染色方法参照王中仁(1996)、Soltis等(1983)和Cleliak和Pitel(1984)的配方与方法。电泳在4℃冰箱内进行,30 mA恒电流1.5 h,然后50 mA恒电流4 h左右。电泳结束后,将凝胶水平分切为4片,分装于4个染色盒内,加入相应酶系统的染色液,置于避光处进行染色。

1.3 数据分析

每位点等位基因频率(p_i)依据所获得酶谱确定每个个体该位点的基因型进行计算(Nei, 1978)。

群体遗传多样性以多态位点百分率(P),平均等位基因数(N_a)、有效等位基因数(N_e)、期望杂合度(H_e)、观察杂合度(H_o)、固定指数(F)、Shannon信息指数(I_s)等为指标来度量。每个位点的Hardy-Weinberg平衡采用 χ^2 检验。

特定基因位点的等位基因频率在不同群体之间的分化程度采用Wright(1965, 1978)的 F -统计量来描述,可检测群体及其亚群体中基因型实际比例与Hardy-Weinberg理论期望比例的偏离程度。 F -统计量有三种情况: F_{it} 表示在总群体中基因型的实际频率和理论预期频率的离差; F_{is} 表示各群体(或亚群体)中基因型的实际频率和理论预期频率的离差; F_{st} 则用来衡量群体(或亚群体)之间的遗传分化程度,与常用的基因分化系数(G_{st})有相同的意义(王中仁, 1996)。

此外,按照Nei(1972)的方法计算群体每代迁移数(N_m),其计算公式为 $N_m = (1-F_{st})/4F_{st}$,其中, F_{st} 为遗传分化系数。用Nei(1972)的遗传一致度(I)和遗传距离(D)来衡量各群体之间的遗传分化大小。以遗传距离为基数,采用UPGMA法对各群体进行聚类分析(Sun *et al.*, 1998)。

以上参数的估算均采用POPGENE 1.32 (Yeh *et al.*, 1997)软件进行。

2 结果

2.1 基因频率

在8个花楸树群体中,共检测出4个酶系统的10个基因位点,均表现出高度的多态性。其中具有3个等位基因的位点2个,具有2个等位基因的位点8个,共检测出等位基因22个(图1)。崂山和泰山群体检测出的等位基因数均为21个,其余群体均为22个(表2)。各位点的等位基因频率从0.0000–1.0000不等,其中Pgm-3a、Pgi-1c、Pgd-1a、Pgd-2b等4个等位基因具有较高的频率; Pgi-1a、Pgd-2a等2个等位基因频率较低;此外,崂山群体中的Pgd-2a基因频率为0,表现为Pgd-2b的纯合(表2)。

2.2 群体位点多态性分析

综合分析多项指标的统计结果发现(表3),在群体水平上,平均等位基因数(N_a)在8个群体间存在一定的波动,但总的情况是崂山和泰山的等位基因数(均为2.1000)略低于其他6个群体(均为2.2000),8个群体平均为2.1750。平均有效等位基因数(N_e)介于1.7159–1.8423之间,平均为1.7732,以驼梁山群体最高,老秃顶子群体最低。各群体观察杂合度(H_o)值变动范围为0.5342–0.5900,平均为0.5555。相应的期望杂合度(H_e)和Shannon信息指数(I_s)的变动范围分别为0.3728–0.4192、0.5695–0.6234,平均分别为0.3930、0.5933,均是以驼梁山群体为最高,老秃顶子群体为最低(表3)。说明花楸树各群体间的遗传多态性水平差异不大。

平均每个位点上的有效等位基因数目(N_e)、平均期望杂合度(H_e)和Shannon信息指数(I_s)三项参数由高到低依次为:河北驼梁山>河北雾灵山>山西庞泉沟>河北白石山>山东崂山>河北塞罕坝>山东泰山>辽宁老秃顶子,但 N_e 有一个例外,即泰山>塞罕坝。此外,群体中平均期望杂合度 H_e 均低于观察杂合度 H_o (表3),表明群体内的杂合子过量。

2.3 群体的遗传分化与基因流

花楸树8个群体在10个位点的 F 统计量及其分解值见表4。群体间的遗传分化系数(F_{st})在不同位点间的差异较大,其变化范围为0.000(Mdh-1、Mdh-2)–0.2921 (Pgm-2),平均为0.0758,表明仅有7.58%的变异存在于群体间,而92.42%的变异存在于群体内,说明花楸树群体内的遗传变异是花楸树总变异的主要来源。

依据群体遗传分化系数(F_{st})计算得到花楸树群体间的基因流变化范围为0.6057 (Pgm-2)–831.5815

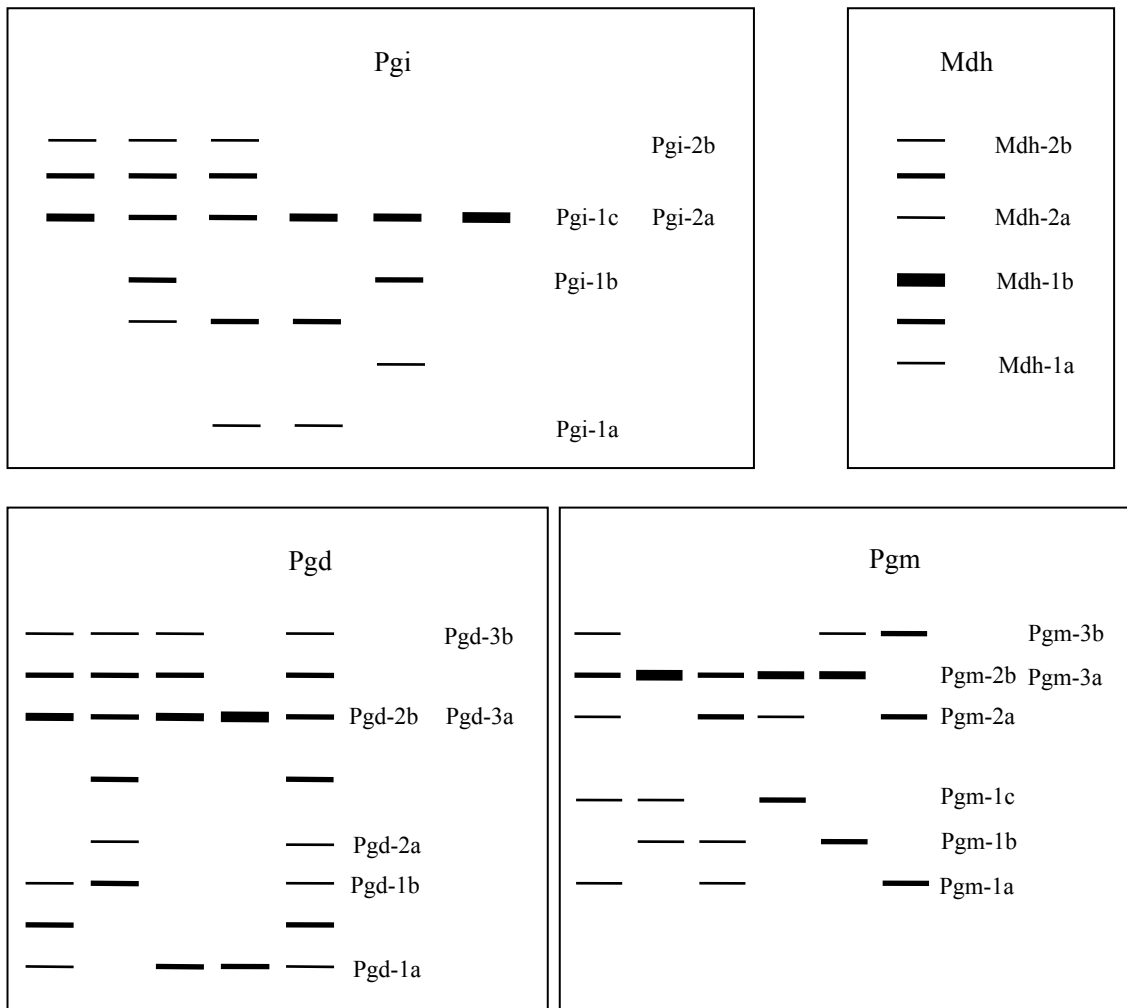


图1 花楸树同工酶分析谱带模式图
Fig. 1 Model patterns of isozyme bands of *Sorbus pohuashanensis*

(Pgd-3), 位点间的差异很大, 群体间总的基因流 (N_m)较高, 为3.0472, 与花楸树群体间遗传分化程度较小相一致(表4)。

在单个群体中, χ^2 检验显示, 有73.62%的位点组合显著偏离Hardy-Weinberg平衡($P < 0.05$)。 F_{it} 和 F_{is} 分别代表总体水平和单个群体内个体间近交指标, 8个群体的 F_{it} 和 F_{is} 除Pgm-2、Pgm-3、Pgd-1等3个位点为正值外, 其余7个位点均为负值, 总群体的 F_{it} 和 F_{is} 也均为负值, 分别为-0.3105和-0.4180(表4), 表明无论在总体水平还是群体内个体间, 花楸树群体都表现为杂合体过量的现象。

2.4 群体间的遗传距离

根据Nei(1972)的方法计算出遗传一致度(I)和

遗传距离(D)(表5)。各群体的遗传一致度较高, 变幅为0.8585-0.9872, 而遗传距离的变化范围为0.0129-0.1526。进一步比较发现, 雾灵山群体与庞泉沟群体之间的遗传一致度最高而遗传距离最近($I = 0.9872, D = 0.0129$); 崂山群体与塞罕坝群体之间的遗传一致度最低而遗传距离最远($I = 0.8585, D = 0.1526$)。

以Nei(1972)遗传距离进行UPGMA聚类分析(图2)。结果显示, 花楸树8个群体分为2组: 在第1组中, 崂山(SDL)与泰山(SDT)两群体先聚在一起后再与驼梁山(HBT)群体聚在一起; 在第2组的5个群体中, 雾灵山(HBW)与庞泉沟(SXP)、白石山(HBB)与老秃顶子(LNL)分别先聚在一起, 然后聚为一组,

表2 8个花楸树群体等位基因频率分布(群体代号同表1)

Table 2 Allele frequencies in eight natural populations of *Sorbus pohuashanensis*. Population codes are the same as in Table 1.

位点 Locus	等位基因 Allele	等位基因频率 Allele frequencies							
		HBW	HBS	HBT	HBB	SDL	SDT	SXP	LNL
Pgm-1	a	0.3229	0.3500	0.2497	0.1958	0.2458	0.2467	0.2917	0.4889
	b	0.4521	0.3667	0.4979	0.4181	0.4222	0.3433	0.4486	0.2278
	c	0.2550	0.2833	0.2542	0.3861	0.3319	0.4100	0.2597	0.2833
Pgm-2	a	0.6917	0.9417	0.4250	0.8194	0.1736	0.2233	0.7181	0.7514
	b	0.3083	0.0583	0.5750	0.1806	0.8264	0.7767	0.2819	0.2486
Pgm-3	a	0.6917	0.7396	0.5021	0.8986	0.3764	0.6167	0.9361	0.9333
	b	0.3083	0.2604	0.4979	0.1014	0.6236	0.3833	0.0639	0.0667
Pgi-1	a	0.0167	0.0125	0.0854	0.0181	0.0556	0.0000	0.0361	0.0153
	b	0.1437	0.2167	0.1187	0.1889	0.3889	0.2500	0.2153	0.2708
	c	0.8396	0.7708	0.7958	0.7931	0.5556	0.7500	0.7486	0.7139
Pgi-2	a	0.6854	0.9500	0.5583	0.6611	0.8333	0.9450	0.6264	0.7194
	b	0.3146	0.0500	0.4417	0.3389	0.1667	0.0550	0.3736	0.2806
Pgd-1	a	0.7562	0.6771	0.8729	0.9069	0.9347	0.9867	0.6917	0.9653
	b	0.2437	0.3229	0.1271	0.0931	0.0653	0.0133	0.3083	0.0347
Pgd-2	a	0.0375	0.1562	0.0042	0.1861	0.0000	0.2050	0.0278	0.1181
	b	0.9625	0.8438	0.9958	0.8139	1.0000	0.7950	0.9722	0.8819
Pgd-3	a	0.5104	0.5250	0.5104	0.5194	0.5056	0.5000	0.5000	0.5014
	b	0.4896	0.4750	0.4896	0.4806	0.4944	0.5000	0.5000	0.4986
Mdh-1	a	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000
	b	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000
Mdh-2	a	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000
	b	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000

表3 8个花楸树天然群体的遗传多样性(群体代号同表1)

Table 3 Genetic diversity in eight natural populations of *Sorbus pohuashanensis*. Population codes are the same as in Table 1.

群体 Population	样本数量 Sample size	N_a	N_e	P (%)	H_o	H_e	I_s
河北雾灵山 HBW	240	2.2000	1.8068	100.00	0.5717	0.4148	0.6206
河北塞罕坝 HBS	240	2.2000	1.7510	100.00	0.5500	0.3819	0.5814
河北驼梁山 HBT	240	2.2000	1.8423	100.00	0.5771	0.4192	0.6234
河北白石山 HBB	360	2.2000	1.7854	100.00	0.5436	0.3875	0.5932
山东崂山 SDL	360	2.1000	1.7837	90.00	0.5342	0.3850	0.5824
山东泰山 SDT	300	2.1000	1.7538	100.00	0.5403	0.3810	0.5707
山西庞泉沟 SXP	360	2.2000	1.7968	100.00	0.5900	0.4017	0.6054
辽宁老秃顶子 LNL	360	2.2000	1.7159	100.00	0.5367	0.3728	0.5695
平均 Mean	308	2.1750	1.7732	98.75	0.5555	0.3930	0.5933

N_a : 平均等位基因数; N_e : 有效等位基因数; P : 多态位点百分率; H_o : 观察杂合度; H_e : 期望杂合度; I_s : Shannon信息指数。

N_a , Observed number of alleles; N_e , Effective number of alleles; P , Percentage of polymorphic loci; H_o , Observed heterozygosity; H_e , Expected heterozygosity; I_s , Shannon's information index.

最后再与塞罕坝(HBS)群体聚在一起。

2.5 基因的重叠

同工酶电泳结果显示, Pgm、Pgi、Pgd 3个酶系统均有与孟德尔式分离相异的谱带模式(图1)。在 Pgm-2和Pgm-3两位点共出现2、3条谱带现象, 2条谱带浓度偏离常规的1:1比例, 呈现3:1比例; Pgi酶系

统出现1、3、5条谱带的现象; Pgd-2与Pgd-3两位点出现了3、5条谱带现象(图1)。本文按Pgi-1c与Pgi-2a重叠、Pgd-2b与Pgd-3a重叠、Pgm-2b与Pgm-3a重叠处理。此外, Mdh-1位点的3条谱带浓度偏离常规的1:2:1比例, 呈现9:6:1的比例(图1), 可能是发生了基因位点的重复, 本文仍按单个位点处理。

表4 花楸树群体 F -统计量及基因流

Table 4 Estimated F -statistics and gene flow in natural populations of *Sorbus pohuashanensis*

位点 Locus	F_{is}	F_{it}	F_{st}	N_m
Pgm-1	-0.1943	-0.1631	0.0261	9.3373
Pgm-2	0.3419	0.5342	0.2921	0.6057
Pgm-3	0.3813	0.4948	0.1834	1.1130
Pgi-1	-0.2672	-0.2245	0.0337	7.1665
Pgi-2	-0.4712	-0.3251	0.0993	2.2685
Pgd-1	0.0148	0.1172	0.1040	2.1546
Pgd-2	-0.1133	-0.0304	0.0745	3.1065
Pgd-3	-0.9505	-0.9499	0.0003	****
Mdh-1	-1.0000	-1.0000	0.0000	****
Mdh-2	-1.0000	-1.0000	0.0000	****
平均 Mean	-0.4180	-0.3105	0.0758	3.0472

F_{is} : 单个群体水平近交系数; F_{it} : 总群体水平近交系数; F_{st} : 群体间遗传分化系数; N_m : 基因流; ****计算公式中的分母 F_{st} 为零(或几乎为零), 故不能计算出一个值来。

F_{is} , Inbreeding coefficient at individual population level; F_{it} , Inbreeding coefficient at total population level; F_{st} , Population differentiation; N_m , Gene flow estimated from $F_{st} = 0.25(1 - F_{st})/F_{st}$.

表5 花楸树群体间遗传距离(D)(对角线下方)及遗传一致度(I)(对角线上方)(群体代号同表1)

Table 5 Genetic distance (below diagonal) and genetic identities (above diagonal) among *Sorbus pohuashanensis*. Population codes are the same as in Table 1.

	HBW	HBS	HBT	HBB	SDL	SDT	SXP	LNL
HBW	****	0.9728	0.9750	0.9788	0.9165	0.9325	0.9872	0.9726
HBS	0.0276	****	0.9071	0.9681	0.8585	0.8959	0.9646	0.9624
HBT	0.0253	0.0975	****	0.9374	0.9619	0.9515	0.9456	0.9307
HBB	0.0214	0.0324	0.0646	****	0.8687	0.9140	0.9837	0.9855
SDL	0.0872	0.1526	0.0388	0.1408	****	0.9751	0.8765	0.8807
SDT	0.0699	0.1099	0.0497	0.0899	0.0252	****	0.9040	0.9226
SXP	0.0129	0.0361	0.0559	0.0164	0.1318	0.1010	****	0.9776
LNL	0.0278	0.0383	0.0719	0.0146	0.1270	0.0806	0.0227	****

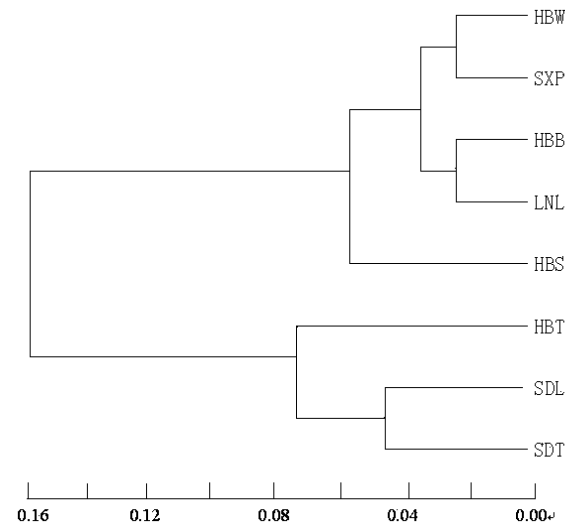


图2 花楸树群体遗传距离UPGMA聚类图(群体代号同表1)
Fig. 2 A UPGMA dendrogram of *Sorbus pohuashanensis* populations based on Nei's genetic distance. Population codes are the same as in Table 1.

3 讨论

3.1 花楸树群体遗传多样性

从反映群体遗传多样性的各个参数来看, 花楸树的遗传多样性水平($P = 100\%$, $N_a = 2.2000$, $H_e = 0.4240$)(表3)明显高于其他多年生木本植物的平均值($P = 49.3\%$, $N_a = 1.76$, $H_e = 0.148$)(Hamrick *et al.*, 1992), 原因与其交配系统、基因流、分布范围以及生态习性等因素有关(Hamrick & Godt, 1989)。研究者普遍认为异交、多年生广布种具有较高的遗传多样性(Hamrick, 1990)。花楸属绝大多数种都是异交, 表现为高度的自交不亲和(Nelson-Jones *et al.*, 2002; Pías & Guitián, 2006), 其主要的传粉者是蜜蜂和鸟类。本实验结果表明花楸树群体具有较高的杂合度($H_o = 0.5542$; $H_e = 0.4240$), 因此我们推断其交配系统也为异交。加之花楸树为多年生木本植物, 且分

布范围广泛, 遍及华北、西北以及东北等广大地区; 此外, 花楸树在我国分布在中纬度的低山、中山以及亚高山地区, 集中分布在海拔1,200–2,000 m间, 而且大多生长在半阴坡、阴坡以及沟谷环境中, 气温较低且湿度较大(郑健等, 2007)。以上因素都可能是造成其遗传多样性水平较高的原因。与花楸属其他种相比, 花楸树的遗传多样性水平高于欧洲花楸(*S. aucuparia*)($P = 63\%$, $N_a = 2.25$, $H_e = 0.212$)(Raspé & Jacquemart, 1998)、治疝花楸(*S. torminalis*)($P = 57\%$, $N_a = 1.62$, $H_e = 0.156$)(Demesure *et al.*, 2000), 这种差异可能是由于其所处的地理生态环境及其发育和进化史不同导致的。

3.2 花楸树群体遗传分化

Hamrick(1990)统计了1968–1988年20年里报道的165属449种裸子植物和被子植物的研究结果, 认为交配系统和基因流是影响群体遗传结构的最主要因素。以自交为主的物种, 群体间遗传多样性占总多样性的50%以上, 即平均 $G_{st} = 0.51$, 而异交为主的物种, 群体内遗传变异量约占总变异量的90%, 即平均 $G_{st} = 0.10$ 。本研究结果花楸树群体间的遗传分化系数 $F_{st} = 0.0758$, 近似等于其他多年生木本植物的平均值(0.076)(Hamrick & Godt, 1989), 表明92.42%的遗传变异存在于群体内, 这与其交配系统可能为异交有关。花楸属植物为虫媒传粉植物, 花粉可远距离传播(Nelson-Jones *et al.*, 2002; Pías & Guitián, 2006; Sato *et al.*, 2006); 花楸树野生群体的天然更新除萌芽繁殖外, 种子繁殖也是一个重要的方式(郑健等, 2007), 花楸的种子是通过鸟类或啮齿类哺乳动物取食果实而扩散的(Yagihashi *et al.*, 1998), 这就为远距离的基因交流提供了可能。这些生物学特性促进了花楸树群体间的基因流($N_m = 3.0472$), 从而在一定程度上减小了群体间的遗传分化。另据Hamrick(1992)的观点, 基因流 $N_m > 1$, 可以抵制遗传漂变的作用, 同时也防止了群体分化的发生(何承忠, 2005)。本研究结果表明遗传漂变尚未成为影响群体遗传结构的主导因素。然而, 花楸树群体现在基本上呈岛屿状分布, 多数群体间的空间距离较远, 并有大的山脉阻挡, 遗传漂变可能正在逐渐起作用, 虽然还没来得及导致多样性的显著降低, 但在将来这种效应有可能会越来越明显。

3.3 花楸树群体间的遗传关系

Hamrick(1990)认为, 群体的地理分布和遗传多

样性分布没有直接的相关性, 本研究的结果支持了这一结论。比较花楸树的群体分布(表1)和根据Nei's遗传距离的UPGMA聚类图(图2), 发现驼梁山(HBT)和白石山(HBB)两个群体间的地理距离最近, 在聚类图上却分布在两支上; 而地理距离相对较远的雾灵山(HBW)与庞泉沟(SXP)群体、白石山(HBB)与老秃顶子(LNL)群体却聚在了一起。分析表明花楸树群体间的遗传距离与地理距离无明显的相关关系($r = 0.20123$, $P = 0.3045 > 0.01$), 与欧洲花楸(Raspé & Jacquemart, 1998)、治疝花楸(Demesure *et al.*, 2000)的结果一致。

3.4 基因(位点)重复可能性分析

本研究发现花楸树不同位点的等位基因发生重叠, 这可能是基因位点的重复所致。在黑荆(*Acacia mearnsii*)、银荆(*A. dealbata*)^①的同工酶分析中也有此类现象发生, Micales和Bonde(1995)也有类似发现。这种现象的出现, 无法用遗传控制的基因位点模式来直接描述, 推断可能是花楸树中编码这些酶系统的等位基因发生了位点重复所引起。这种基因位点重复的现象在许多植物类群中有过报道, 如毛白杨(*Populus tomentosa*)的苹果酸脱氢酶(Mdh)(何承忠, 2005)、*Clarkia franciscana*乙醇脱氢酶(Adh)、柳叶菜科*Clarkia*属的磷酸葡萄糖异构酶(Pgi)等(葛颂, 1994)。

同工酶位点数目在植物进化过程中高度保守, 一旦出现位点数目的增加必然意味着发生了罕见的基因(位点)重复, 可为系统发育关系的建立提供证据。最有意义的重复是存在于一个属的一些种而不是全部种, 或者是一个科的某些属而不是全部属的情况。因为具有重复基因的分类群共同构成了一个进化的(衍生的)单系类群, 这是划分单系类群或确定进化方向上的确凿证据。花楸树是否为花楸属中的一个单系类群, 需要对同属其他种进行实验研究。

3.5 取样策略的影响

在自然条件下, 由于花楸树的结实存在大小年现象, 加之气候、虫害等自然因素的影响, 经过两年的努力, 仅仅在花楸树的集中分布区和南部边缘地区收集了8个群体的种子, 而没有采集到北部边缘区如吉林、黑龙江等省区分布的花楸树的种子。样本不能完全代表整个分布区的花楸树的资源分

① 付增娟(2005)黑荆与银荆生物入侵研究. 中国林业科学研究院硕士学位论文

布情况, 所得到的结果也可能存在一定的误差, 今后应进一步收集北部边缘地区的花楸树资源以进一步分析其遗传多样性水平。

参考文献

- Chen RW (陈荣伟), Xu XW (徐熙伟), Zhao BP (赵波平), Li J (李健), Wang CH (王春红) (2004) Seedling technology of *Sorbus pohuashanensis* (Hance) Hedl. *Shandong Forestry Science and Technology* (山东林业科技), (3), 43. (in Chinese)
- Cheng WC (郑万钧) (1985) *Sylva Sinica* (中国树木志), Vol 2. pp. 1009. China Forestry Publishing House, Beijing. (in Chinese)
- Cleliak WM, Pitel JA (1984) *Techniques for Starch Gel Electrophoresis of Enzymes from Forest Tree Species*. Information Report PI-X-42. Petawawa National Forestry Institute. Canadian Forestry Service. Chalk River, Ontario.
- Demesure B, Guerroué BL, Lucchi G, Prat D, Petit R-J (2000) Genetic variability of a scattered temperate forest tree: *Sorbus torminalis* L. (Crantz). *Annals of Forest Science*, **57**, 63–71.
- Ge S (葛颂) (1994) Electrophoretic data and studies of plant systematics and evolution. *Journal of Wuhan Botanical Research* (武汉植物学研究), **12**, 71–84. (in Chinese with English abstract)
- Hamrick JL (1990) Isozymes and the analysis of genetic structure in plant populations. In: *Isozymes in Plant Biology* (eds Soltis DE, Soltis PS), pp. 87–105. Chapman and Hall, London.
- Hamrick JL, Godt MJW (1989) Allozyme diversity in plant species. In: *Plant Population Genetics, Breeding and Genetic Resources* (eds Brown AHD, Clegg MT, Kahler AL, Weir BS), pp. 43–63. Sinauer, Sunderland, MA.
- Hamrick JL, Godt MJW, Sherman-Broyles SL (1992) Factors influencing genetic diversity in woody plant species. *New Forests*, **6**, 95–124.
- He CZ (何承忠) (2005) *Study on Genetic Diversity and Origin of Populus tomentosa* (毛白杨遗传多样性及起源研究). PhD dissertation, Beijing Forestry University, Beijing. (in Chinese)
- Jiang Y (姜雁), Li JY (李近雨) (1998) Preliminary study on seedling and introduction to *Sorbus pohuashanensis*. *Journal of Hebei Forestry Science and Technology* (河北林业科技), (4), 1–4. (in Chinese)
- Micales JA, Bonde MR (1995) Isozymes: methods and applications. In: *Molecular Methods in Plant Pathology* (eds Rudra PS, Uma SS), pp. 115–130. CRC Press, London.
- Nei M (1972) Genetic distance between populations. *The American Naturalist*, **6**, 283–293.
- Nei M (1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, **89**, 583–590.
- Nelson-Jones EB, Briggs D, Smith AG (2002) The origin of intermediate species of the genus *Sorbus*. *Theoretical and Applied Genetics*, **105**, 953–963.
- Pías B, Guitián P (2006) Breeding system and pollen limitation in the masting tree *Sorbus aucuparia* L. (Rosaceae) in the NW Iberian Peninsula. *Acta Oecologica*, **29**, 97–103.
- Raspé O, Jacquemart A-L (1998) Allozyme diversity and genetic structure of European populations of *Sorbus aucuparia* L. *Heredity*, **81**, 537–545.
- Sato T, Isagi Y, Sakio H, Osumi K, Goto S (2006) Effect of gene flow on spatial genetic structure in the riparian canopy tree *Cercidiphyllum japonicum* revealed by microsatellite analysis. *Heredity*, **96**, 79–84.
- Shen HL (沈海龙), Yang L (杨玲), Zhang JY (张建瑛), Feng DD (冯丹丹), Fan SH (范少辉) (2006) Influencing factors to seed dormancy and germination characteristics of *Sorbus pohuashanensis*. *Scientia Silvae Sinicae* (林业科学), **42**(10), 133–138. (in Chinese with English abstract)
- Soltis DE, Haufler CH, Darow DC, Gastony GJ (1983) Starch gel electrophoresis of ferns: a compilation of grinding buffers, gel and electrode buffers, and staining schedule. *American Fern Journal*, **73**, 9–27.
- Su XT (苏喜廷), Wang GY (王国义), Zhang SH (张淑华), Hua FJ (滑福建), Meng FL (孟凡力) (2005) Cutting effect of green wood of main broad-leaved tree species in Heilongjiang Province. *Journal of Northeast Forestry University* (东北林业大学学报), **33**(5), 13–14, 18. (in Chinese with English abstract)
- Sun M, Wong KC, Joe SYL (1998) Reproductive biology and population genetic structure of *Kandelia candel* (Rhizophoraceae), a viviparous mangrove species. *American Journal of Botany*, **85**, 1631–1637.
- Sun XD (孙秀殿) (1999) Utilization and cultivation of *Sorbus pohuashanensis* (Hance) Hedl. *Special Economic Animal and Plant* (特种经济动植物), (4), 32. (in Chinese)
- Wang ZR (王中仁) (1996) *Plant Allozyme Analysis* (植物等位酶分析). Science Press, Beijing. (in Chinese)
- Wang AZ (王爱芝), Shen HL (沈海龙), H J (黄剑), Li CH (李长海), Fan SH (范少辉) (2005) Callus induction from tender leaf and stem segment explants of *Sorbus pohuashanensis*. *Journal of Northeast Forestry University* (东北林业大学学报), **33**(2), 12–14. (in Chinese with English abstract)
- Wright S (1965) The interpretation of population structure by *F*-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution*, **19**, 395–420.
- Wright S (1978) Evolution and the genetics of populations, Vol. 4. *Variability Within and Among Natural Populations*. University of Chicago Press, Chicago.
- Yagihashi T, Hayashida M, Miyamota T (1998) Effects of bird ingestion on seed germination of *Sorbus commixta*. *Oecologia*, **114**, 209–212.
- Yeh FC, Yang RC, Boyle T (1997) *POPGENE, The User Friendly Shareware for Population Genetic Analysis*. Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, Edmonton, Canada.
- Zheng J (郑健), Zheng YQ (郑勇奇), Wu C (吴超), Zhang CH (张川红), Zong YC (宗亦臣), Li BJ (李伯菁), Zhu YP (祝业平) (2007) Geographical distribution and patterns of natural regeneration of *Sorbus pohuashanensis*. *Scientia Silvae Sinicae* (林业科学), **43**(12), 86–93. (in Chinese with English abstract)

(责任编辑: 葛颂 责任编辑: 时意专)