

承德光秃山不同海拔油松居群遗传多样性 与生境因子关联研究

李明¹, 高宝嘉^{2,3}, 张静洁⁴

(¹河北农业大学生命科学学院, 保定 071001; ²河北农业大学林学院, 保定 071001;

³河北北方学院, 张家口 075000; ⁴中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要: 为了解光秃山不同海拔下天然油松居群之间的遗传差异及探求遗传多样性与土壤因子的关联, 为油松种源筛选和管理提供参考, 本研究运用 ISSR 技术, 对位于河北承德辽河源光秃山 4 个不同海拔油松天然居群共 118 个植株个体的遗传多样性进行分析。13 个引物共扩增出 177 条清晰的条带, 种群多态位点百分比 (PPL) 为 60.2775%, Nei's 基因多样性指数 (h) 为 0.2171, Shannon 信息指数 (I) 为 0.3222; 不同种群遗传变异水平随海拔差异呈规律性变化, 表现为沿海拔升高而呈低-高-低的分布规律, 其中 1354~1274 m 范围的遗传多样性水平最高; 在物种水平上油松具有较高的遗传多样性 (PPL = 98.33%, $h = 0.38142$, $I = 0.5550$), 种群间的遗传分化系数 $G_{st} = 0.6562$ 。利用 AMOVA 软件对遗传变异的等级剖分结果表明, 种群间有显著的遗传分化, 约 2/5 的遗传变异存在种群间, 种群内占 3/5。Pearson 相关分析表明, 油松居群内遗传多样性与海拔、土壤养分 (有机质、速效磷、速效钾含量) 之间存在显著或一定的相关关系。Mantel 检验结果显示, 油松居群遗传距离与海拔差距、土壤养分因子的分异存在一定相关性。以上结果表明不同海拔区域的生态因子、低基因流等对油松居群间的遗传分化影响较大。

关键词: 油松; 海拔; 遗传多样性; ISSR; 土壤因子

Genetic Diversity of *Pinus tabulaeformis* Populations at Different Altitudes in Guangtushan Mountains and Relationship to Environmental Changes

LI Ming¹, GAO Bao-jia^{2,3}, ZHANG Jing-jie⁴

(¹College of Life Sciences, Agricultural University of Hebei, Baoding 071000; ²College of Forest, Agricultural

University of Hebei, Baoding 071000; ³Hebei North University, Zhangjiakou 075000;

⁴Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049)

Abstract: To investigate the genetic diversity of *Pinus tabulaeformis* distributed in different altitude regions and explore the association of *P. tabulaeformis* with the environment, the relationship between genetic diversity and environmental factors were analyzed. Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) technique was used to evaluate the genetic diversity and population structure of 118 individuals from four natural populations of *P. tabulaeformis* at different altitudes in Liaoheyuan National Forest Park, Hebei Province, China. Thirteen random primers produced a total of 177 securable amplified fragments. The genetic diversity of *P. tabulaeformis* population level and species level was PPL = 60.2775%, $h = 0.2171$, $I = 0.3222$, and PPL = 98.33%, $h = 0.38142$, $I = 0.5550$, respectively. The level of genetic variation varied regularly with different altitudes. The highest level of genetic variation of the population was observed at the altitude of 1354-1274 m (Pop2). The high value of differentiation ($G_{st} = 0.6562$) and analysis of molecular variance (AMOVA) indicated there was significant genetic differentiation among populations,

收稿日期: 2011-11-01 修回日期: 2012-01-05

基金项目: 河北省自然科学基金项目 (C2008000231)

作者简介: 李明, 博士研究生, 讲师, 研究方向为分子生态学。E-mail: liming@hebau.edu.cn

通讯作者: 高宝嘉, 博士, 教授, 主要从事生态学、森林有害生物管理研究。E-mail: baojiagao@163.com

and about two-five of the variation occurred among populations. Pearson correlation analysis further revealed that the genetic diversity within populations was significantly correlated with the altitude and soil nutrient factors (i. e. , organic matter , available phosphorus , and available phosphorus) . Mantel tests showed that there existed a correlation between the genetic distances among populations and the distance of elevation , and the divergence of soil nutrient factors. The results of the present study suggested that the genetic differentiation among populations of *P. tabulaeformis* from different altitudes may be caused by the ecological factors of different altitudes and gene flow.

Key words: *Pinus tabulaeformis*; Altitude; Genetic diversity; ISSR; Soil factors

油松(*Pinus tabulaeformis*) 是我国特有树种,是构成我国北方温带针叶林的主要建群树种之一。由于油松适应性强,根系发达,树形美观,四季常青,可作为重要的工业用材、荒山造林和城镇绿化树种。目前,国内外学者对植物遗传分化的研究均表明各种环境因子与植物的遗传多样性之间存在着明显关联^[1-3]。我国近些年对油松群落更新特征^[4]、封育造林^[5]、油松种质资源^[6]等宏观、育种方面已有较多研究,徐化成等^[7]利用主分量分析和判别分析技术对油松遗传变异问题进行了探讨;张春晓等^[8]、李悦等^[9]采用水平淀粉凝胶电泳方法分析了油松遗传多样性及与气象因素相关关系;王磊等^[10]利用随机微卫星分子标记技术,对油松天然居群进行遗传多样性分析,表明各居群间存在较高遗传多样性;李磊等^[11-12]用酸性聚丙烯酰胺凝胶(APAGE)技术分析了华北地区油松种群在醇溶蛋白及分子水平的遗传特征。同时,很多学者就不同海拔条件胁迫下植物居群的遗传特征多有研究,也论证了海拔胁迫下,土壤因子、温度、光照等环境因子与植物的遗传多样性存在一定的相关性,但不同海拔范围内油松是否存在着种内变异和分化、变异和分化程度如何、种群分化与环境的关系、有哪些适应性意义等问题,至今尚未见有深入而系统的研究,因此有必要深入探究油松遗传分化和环境因子的内在关联。

本研究选择河北辽河源国家级森林公园主峰光秃山不同海拔生态环境下的油松天然居群为研究对象,采用 ISSR 技术对其遗传多样性进行研究,探讨其遗传多样性随环境因子的变化规律,以进一步揭示与油松居群遗传多样性相关联的土壤因子的相关性,为油松种质及资源的保护、遗传改良和可持续利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料采自河北省辽河源国家级森林公

园(41°00′~41°10′N,118°30′~118°40′E),按不同海拔设置以油松为建群种的4个典型样地,各样地均为阴坡,坡度在25~30°之间。4样地林分均为油松、核桃楸、蒙古栎及白桦等混交林;成龄油松多集中在40~60年间,油松密度在2000~2500株/hm²;各海拔油松林分间没有明显隔离带。

每个样地随机选择5个非岩石裸露土壤取样点,每取样点土壤剖面位置的选择一般距油松树基约0.5~1.0m,沿等高线进行挖掘。主要剖面规格为:宽度0.4~0.5m,深度30cm以上。除主要剖面外,还挖掘2个次要的剖面,用来检查主要土壤剖面的代表性。在挖好的土壤剖面中,去除脱落物及腐殖质按0~20cm进行土层取样。所有取样土壤质地、土壤容重、土壤孔隙度、土壤持水量等物理特征指标差别不明显。每样地5个取样点单独测定做为重复,同时,每取样点土样用标准土壤纠正测试误差。其中,土壤全氮为凯氏定氮法,土壤全磷为钼锑抗比色方法,土壤全钾方法为原子吸收法测定,土壤有机质为重铬酸钾-浓硫酸消化硫酸亚铁滴定方法,速效磷为0.5N碳酸氢氨浸提钼锑抗比色方法,有效钙、镁为原子吸收方法。

各样地的位置及土壤因子如表1所示,海拔由GPS直接测得。于2010年7月底至8月初,为避免同一家系而产生的试验偏差,每个样地随机选择相邻间距30m以上树龄在40龄以上的健康油松进行采样。在健康植株上采集当年生枝条上的嫩叶,冰盒保存并带回实验室,供DNA提取。

1.2 ISSR 分析

基因组DNA提取采用UNIQ-10柱式新型植物基因组DNA抽提试剂盒(购自上海生物工程有限公司)从油松叶片中提取单株植物基因组总DNA。所提DNA样品的纯度和含量用紫外吸收和凝胶电泳检测。PCR反应在PCR扩增仪2720型(ABI公

表 1 不同海拔天然油松居群的生境自然概况

Table 1 The environmental data for the four natural populations of *Pinus tabulaeformis*

生态因子 Ecological factors	居群 Populatiaon			
	Pop1	Pop2	Pop3	Pop4
海拔 (m) Altitude	1484 ~ 1430	1354 ~ 1274	1129 ~ 1091	1002 ~ 901
纬度 Longitude	41°18. 515' ~ 41°18. 553'	41°18. 351' ~ 41°18. 429'	41°18. 786' ~ 41°18. 869'	41°17. 952' ~ 41°18. 038'
经度 Latitude	118°28. 676' ~ 118°28. 898'	118°29. 006' ~ 118°29. 210'	118°30. 075' ~ 118°30. 205'	118°31. 912' ~ 118°32. 137'
林分组成 Forest composition	油松 + 落叶松 + 白桦	油松 + 白桦 + 核桃楸	油松 + 蒙古栎 + 核桃楸	油松 + 蒙古栎
全氮 (%) Total nitrogen	0. 2637	0. 1541	0. 2433	0. 2140
全磷 (%) Total phosphorus	0. 0344	0. 0664	0. 0306	0. 0369
全钾 (%) Total potassium	0. 1740	0. 1759	0. 1728	0. 1729
速效磷 (mg/kg) Available phosphorus	1. 5482	7. 5262	8. 0854	10. 0686
速效钾 (mg/kg) Available potassium	299. 6763	217. 8734	186. 8580	222. 8854
有机质 (%) Organic matter	6. 9761	4. 0127	3. 0142	5. 3625
取样数量 Sampling number	28	30	30	30

司) 上进行。反应体系(20 μ l) 组成如下: 模板 50 ~ 60ng; Mg²⁺ 2.5 mmol/L; dNTPs 0.25 mmol/L; 引物 0.4 μ mol/L; TaqDNA 聚合酶 1U。扩增反应循环条件为: 94 $^{\circ}$ C 预变性 5min, 然后进行 94 $^{\circ}$ C 变性 30s, 53 $^{\circ}$ C 退火 45s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 2min, 35 个循环, 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 7min。扩增产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳分离, 溴化乙锭染色后, 在 UVP 凝胶成像系统下观察拍照记录。将能够扩增出分离、清晰且重复性好的引物用于正式试验。每个引物扩增 2 次, 以保证结果的可重复性。

1.3 数据处理

(1) 居群遗传多样性指数和分化指数计算。ISSR 扩增产物按条带的有无分别赋值, 有带的记为 1, 无带的记为 0, 建立 0/1 二元数据; 根据所得数据矩阵, 利用 POPGENE 32 软件中 Dominant(显性)-Diploid(二倍体) 计算多态位点百分比(PPL)、观测等位条带数(N_a)、期望等位条带数(N_e)、居群的 Shannon 多样性信息指数(I) 和 Nei's 条带多样性(h) 等遗传多样性指数; 根据 POPGENE 32 计算所得的居群平均多样性指数和所有样品总多样性指数, 得到 Nei's 遗传分化系数 [$G_{st} = (h_T - h_S) / h_T$] 和 Shannon 遗传分化系数 [$[I_T - I_S] / I_T$], 式中 h_S 和 I_S 分别为居群平均 Nei's 和 Shannon 多样性指数, h_T 和 I_T 分别为总 Nei's 和 Shannon 多样性指数; 同时采用 WINAMOVA 软件 (Excoffier, 1995) 进行分子变异分析 (AMOVA), 统计居群内和居群间的遗传分布, 并做差异显著性检验。

(2) 相关性分析。用 SPSS 18.0 中的 Pearson 相

关分析, 计算 ISSR 分析所得油松居群内遗传多样性指数与生态因子间的相关关系; 再利用 Mantel 检验对遗传距离矩阵与海拔距离矩阵(两点之间的垂直距离) 生态因子的分异(将同样地各种生态因子数据标准化后, 计算所得的两两之间的欧式距离^[13]) 之间的相关关系进行检验。

2 结果与分析

2.1 油松居群遗传多样性

对购入的 ISSR 随机引物(由上海生物工程有 限公司合成) 进行筛选, 通过记录的 DNA 电泳图像, 选择扩增条带清晰、多态性高、重复性好的 13 条引物(表 2) 用于 4 个不同海拔居群 118 个油松 DNA 样品的扩增。13 条引物共检测到 177 个位点, 不同引物的扩增位点从 10 到 21 不等, 位点分子量范围在 280 ~ 1600bp 之间。在物种水平, 177 个位

表 2 用于 ISSR 分析的引物序列

Table 2 Primers and their sequences used for ISSR analysis

引物 Primer	序列 5'-3' Sequence	引物 Primer	序列 5'-3' Sequence
808	AGAGAGAGAGAGAGAGC	827	ACACACACACACACAGC
809	AGAGAGAGAGAGAGAGG	828	TGTGTGTGTGTGTGTGA
811	GAGAGAGAGAGAGAGAC	834	AGAGAGAGAGAGAGAGYT
812	GAGAGAGAGAGAGAGAA	836	AGAGAGAGAGAGAGAGYA
818	CACACACACACACACAG	849	GTGTGTGTGTGTGTGYA
820	GTGTGTGTGTGTGTGTC	855	ACACACACACACACACYT
826	ACACACACACACACACC		

点中多态位点百分比(PPL)占 98.33% ,总的 Shannon 多样性指数 $I = 0.5550$,总的 Nei's 基因多样性指数 $h = 0.3814$ (表 3) ,高于同属的马尾松(*Pinus massoniana*) 的遗传多样性水平($h = 0.2765$)^[13] ,也高于一般针阔叶树种的估计值^[14-16]。

在居群水平上 ,不同海拔油松居群的平均遗传多样性统计如下: PPL 为 60.28% , $I = 0.32221$, $h = 0.2171$, $N_a = 1.6028$, $N_e = 1.3752$ (表 3) 。但由于不同海拔生境的差异 ,在 PPL、 I 、 h 等居群遗传多样性参数上有着显著的不同 ,综合各居群的

多样性参数值 ,可以看出 ,不同居群的多多样性指数呈现出不同的变化规律 , N_e 、 h 、 I 参数为 Pop1 居群 < Pop4 居群 < Pop3 居群 < Pop2 居群 ,表现居群遗传多样性程度随着海拔升高又降低 ,即在 1200 ~ 1300 m 海拔范围为最高。遗传多样性总体趋势是随着海拔升高而降低 ,这与其他关于海拔遗传差异研究结果相似^[17-19] 。但最低海拔油松与最高海拔油松遗传多样性指数相似 ,从而说明光秃山油松低海拔区域生境对油松遗传多样性产生一定的消极影响。

表 3 不同海拔油松种群遗传多样性指数

Table 3 Genetic diversity parameters of four natural populations of *Pinus tabulaeformis* different altitudes

种群 Population	样本数 No. of samples	多态位点数 Number of polymorphic loci	多态位点百分 (%) PPL	观测等位基因数 N_a	期望等位 基因数 N_e	Nei's 基因 多样性 h	Shannon 信息指数 I
Pop1	28	111	61.67	1.6167	1.3335	0.197	0.2973
Pop2	30	107	59.44	1.5944	1.3974	0.2263	0.333
Pop3	30	114	63.33	1.6333	1.4077	0.2357	0.3486
Pop4	30	102	56.67	1.5667	1.3623	0.2093	0.3099
平均值 Average		108.5	60.28	1.6028	1.3752	0.2171	0.3222
合计 Total	118	174	98.33	1.9833	1.6872	0.3814	0.5550

2.2 居群间遗传结构

从表 4 的 AMOVA 分析结果可看出 ,油松居群有 42.45% 的遗传变异发生在居群间 ,显著性检测表明这种分化较显著 ,57.55% 的遗传变异发生在居群内 ,这与表 4 中基于 POPGENE 32 估算所得的 Nei's 遗传分化系数 G_{st} 为 43.24% 和 Shannon 多样性指数为 41.95% 相一致。综合以上 3 种方法的估算结果可看出 ,2/5 以上的总变异存在于油松居群之间 ,而多数变异存在于居群内。由表 4 还可知 ,由 G_{st} 估算的基因流 (N_m) 为 0.6562 ,说明居群间的基因流较小。根据 Wright^[20] 的观点 ,若每代迁入个体数 $N_m < 1$,则遗传漂变可以导致居群间明显的遗传分化。因此 ,低水平的基因流

和遗传漂变可能是导致油松不同海拔居群间产生较大遗传分化的原因。

基于 Nei's 遗传相似度(居群间 ISSR 片段共享性)和遗传距离可进一步分析居群间的遗传分化程度。辽河源不同油松居群中(表 5) ,以最高海拔 1484 ~ 1430m 的 Pop1 居群和最低海拔 1002 ~ 901m 的 Pop4 居群间的遗传相似度最低(0.6116) 相应地其遗传距离最远(0.4917) ;而低海拔 1129 ~ 1091m 的居群 Pop3 和海拔 1002 ~ 901 m 的 Pop4 居群间遗传相似度最高(0.9609) ,遗传距离最小(0.0399) ,说明不同海拔居群间存在一定的遗传分化 ,且海拔隔离越大的居群 ,其居群间的遗传多样性差异越明显。

表 4 不同海拔油松居群间遗传分化

Table 4 Genetic differentiation for populations of *Pinus tabulaeformis* different altitudes

指标 Variable	居群内基 因多样性 h_s	总的基因 多样性 h_T	基因流 N_m	基因分 化系数 G_{st}	居群内遗 传多样性 I_s	总的遗传 多样性 I_t	居群间 遗传变异 ($I_t - I_s$) / I_t	AMOVA	
								居群间 Among populations	居群内 Within populations
物种水平 Species level	0.2171	0.3825	0.6562	0.4324	0.3222	0.555	0.4195	42.45% ($P \leq 0.01$)	57.55% ($P \leq 0.01$)
标准差 s	0.0141	0.0203				0.1824			

表 5 不同油松居群间的遗传相似度(对角线右上方)与遗传距离(对角线左下方)

Table 5 Genetic identity (above diagonal) and genetic distance (below diagonal) among populations of *Pinus tabulaeformis*

居群 Population	Pop1	Pop2	Pop3	Pop4
Pop1	—	0.8664	0.6241	0.6116
Pop2	0.1434	—	0.6346	0.6359
Pop3	0.4714	0.4547	—	0.9609
Pop4	0.4917	0.4526	0.0399	—

表 6 油松居群内遗传多样性指数与生态因子的 Pearson 相关分析

Table 6 Pearson correlation analyses for the relationships between genetic diversity parameters within populations of *Pinus tabulaeformis* ecological factors

土壤因子 Soil factor	观测等位基因数 <i>N_a</i>	期望等位基因数 <i>N_e</i>	Nei's 基因 多样性 <i>h</i>	Shannon 信息指数 <i>I</i>	多态位点数 Number of polymorphic loci	多态位点百分 Percentage of polymorphic loci
全氮 Total nitrogen	0.506	-0.505	-0.406	-0.338	0.505	0.506
全磷 Total phosphorus	-0.334	0.331	0.241	0.189	-0.333	-0.334
全钾 Total potassium	-0.103	0.119	0.05	0.024	-0.102	-0.103
速效磷 Available phosphorus	-0.497	0.628	0.581	0.523	-0.496	-0.497
速效钾 Available potassium	0.293	-0.853	-0.791	-0.736	0.292	0.293
有机质 Organic matter	-0.346	-0.872	-0.947*	-0.954*	-0.347	-0.346

* , ** : 分别表示在 0.05 和 0.01 水平显著, 相关系数检验参数自由度为 4, 下同

* , ** : Significant at 0.05 and 0.01 levels, respectively. *df* = 4, the same as below

将不同海拔油松居群各样地的生态因子标准化后, 利用 Mantel 检验分别计算它们与居群遗传距离的相关关系。结果见表 7。由表 7 可知, 居群间 Nei's 无偏遗传距离与海拔差距之间存在一定相关关系 ($r = 0.762$), 说明海拔高度对油松居群间遗传分化有一定的影响。李丹等^[21]、刘登义等^[22]也得出了相似的结论。

表 7 油松居群间遗传距离与海拔生态因子分异的 Mantel 检验

Table 7 Mantel test between matrix of Nei's unbiased genetic distances and matrixes of divergence of ecological factors of different altitude distance at *Pinus tabulaeformis*

海拔生态因子分异 Divergence of ecological factors of different altitude	居群间遗传距离 Genetic distances among different <i>Pinus tabulaeformis</i> populations	
	相关系数 Correlation coefficient (<i>r</i>)	显著性水平 Level of significance (<i>P</i>)
海拔 Altitude	0.762	0.078
全氮 Total nitrogen	-0.51624	0.294
全磷 Total phosphorus	0.637198	0.174
全钾 Total potassium	0.750211	0.086
速效磷 Available phosphorus	-0.21957	0.676
速效钾 Available potassium	0.419911	0.407
有机质 Organic matter	0.34767	0.500

2.3 居群遗传结构与土壤因子的相关性

运用 SPSS 18.0 中的 Pearson 相关将表 3 中 IS-SR 分析所得的油松居群内遗传多样性指数与居群所在生境的土壤因子作相关性分析(表 6), 结果表明: 5 个多样性指数中 Nei's 基因多样性和 Shannon 信息指数 *I* 与土壤有机质含量之间存在显著 ($P < 0.05$) 的负相关关系; 与其他土壤因子存在一定相关性 ($P > 0.05$)。由于各样地土壤的基本物理特性相似, 故由相关分析结果可说明, 遗传多样性指数 (h 、 I) 随着全氮含量的增加而降低, 随着速效磷含量增加而增加, 随着速效钾含量的增加而增加, 随着有机质含量的增加而降低。

从表 7 还可看出, 不同海拔油松居群间的 Nei's 无偏遗传距离与土壤养分因子(全氮、全磷、全钾含量)之间也存在一定的相关性, 即居群遗传距离随着全氮、速效磷含量增加而降低, 随着海拔全磷、全钾、速效钾、有机质含量增加而增加。以上结果说明油松居群间遗传变异实际上是多因子综合作用的结果。

3 结论与讨论

从分子标记检测结果看,辽河源油松天然群落具有较高的遗传多样性($PPL = 98.33\%$, $I = 0.4899$, $h = 0.5550$),这可能与其生物学特性及生活习性有关。油松为雌雄同株的长寿命多年生树种,在相当长的时间内可以保持遗传多样性,且该群落位于保护区内得到了较好的保护,因此其本身可能就具有较高的遗传多样性基础;同时野外调查发现其天然林内幼苗更新成活率高,林下1年生到多年生实生苗很多(1~10龄幼苗占油松株数的18%~33%),年龄结构多为上升型,据此推测此林分具有存在较高的遗传多样性的基础,维持现有有效的保育策略,遗传多样性将进一步保存;在居群水平,不同海拔油松居群间遗传变异水平呈规律性变化,表现为水热及土壤条件配合较好的、处在低海拔1110 m居群的遗传变异水平最高($PPL = 63.33\%$, $h = 0.2357$, $I = 0.3486$),随着海拔继续升高到1457 m时,其遗传变异水平又有所降低($PPL = 56.67\%$, $h = 0.2093$, $I = 0.3099$),而当海拔降低到950 m时,遗传变异水平进一步降低($PPL = 61.67\%$, $h = 0.1970$, $I = 0.2973$)。由此可见,海拔与油松遗传变异水平高低有密切关系,随着海拔的升高,油松遗传变异水平呈现低-高-低有规律的分布。在野外调查中发现,最低海拔种群常年受到村民的盗伐和牲畜的啃食,同时林场进行人为采伐及幼苗更新,人为干扰大可能会造成天然次生种群变小,易发生遗传漂变,使得其遗传多样性丧失,从而造成低海拔遗传多样性又变低的趋势。从海拔1110m开始,随着海拔升高到油松分布的上限1457m,温度逐渐降低,落叶松、白桦密度增加,1~10龄幼苗比例降低(18%),从而限制油松小孢子及种子的传播,最终影响基因交流,导致遗传多样性降低趋势。

相关分析进一步表明,油松遗传多样性指数随海拔而表现出的分布规律与随着海拔而表现出的土壤因子的变化出现或正或负的变化趋势。居群内的遗传多样性与有机质含量呈显著的相关关系,说明随着土壤有机质含量增加油松居群遗传多样性出现显著降低的趋势。本研究中,油松居群间遗传分化与海拔距离、全钾含量分异之间也存在一定的相关关系(但不显著, $P > 0.05$)。这同利用分子标记方法对马尾松(*Pinus massoniana*)居群^[21]、七子花(*Heptacodium miconioides*)居群^[23]、

光皮桦(*Betula luminifera*)居群^[18]等其他植物的研究结果相似。由此可见,海拔、土壤养分的变化等因素不仅影响油松的遗传多样性,而且还影响其居群间的遗传分化。

遗传结构分析表明,辽河源油松居群间的遗传分化程度较高,约3/5以上的遗传变异存在于居群内,居群间仅占不足2/5。植物居群间遗传分化主要受基因突变、地理距离、基因流及其生物学特性等因素的影响^[24-26]。其中,基因突变的发生几率很低,常常不被认为是引起居群间分化的主要因素。最初持中性学说的学者认为,许多分子水平上的遗传变异性,是选择中性或近于中性的,而几乎不受物种所处环境条件的影响^[27]。而在本研究中,辽河源油松居群间的遗传分化与土壤因子之间存在一定极显著的相关关系,说明居群间的遗传分化不全是由遗传漂变引起的,而是受不同海拔区域小生境的自然选择压力的影响,由此也为中性突变和自然选择两种理论的融合提供了一定的论据。总之,导致辽河源油松天然群体间遗传分化大的原因除了其生物学特性外,还可能与不同海拔小生境的自然选择作用及居群间缺乏有效的基因流有关。至于是否还有其他原因还值得进一步探讨。再者,本研究仅对承德辽河源森林公园光秃山油松遗传多样性进行研究,不能普遍反映出油松遗传结构及变异规律性,故有待拓展研究地域及领域,从而为油松繁育和管理提供更深的理论指导价值。

油松是我国特有的具有重要经济和生态价值的物种,保护好其现有遗传资源或种质,对进一步利用其遗传资源,解决油松生产中的实际问题具有重要的意义。辽河源光秃山不同海拔区域生境的差异对油松群体遗传多样性和遗传分化的影响较大,因此在今后的天然种质遗传资源保护和育种实践中,应注重不同海拔高度油松野生居群的科学保护,同时还要有针对性地对不同海拔生境的野生种质资源进行引种栽培和遗传改良,培育出适宜于各种生态环境下载培的新种源。

参考文献

- [1] Navarro E, Jaffre T, Gauthier D, et al. Distribution of *Gymnos-toma* spp. *Microsymniotic* Frankia strains in New Caledonia is related to soil type and to host-plant species [J]. *Mol Ecol*, 1999, 8(11): 1781-1788
- [2] Zhao C F, Chen G J, Wang Y H, et al. Genetic variation of *Hippophae rhamnoides* populations at different altitudes in the Wolong Nature Reserve based on RAPD [J]. *Chin J Appl Environ Biol*,

- 2007, 13 (6): 753-758
- [3] 杨明博,熊友才,王红芳,等. 黄土高原不同气象因子对中国沙棘亚居群遗传多样性的影响[J]. 应用生态学报, 2008, 19(1): 1-7
- [4] 侯琳,雷瑞德,王得祥,等. 黄龙山林区封育天然油松群落种群生态位特征[J]. 西北植物学报, 2006, 26(3): 585-591
- [5] 康冰,王得祥,崔宏安,等. 秦岭山地油松群落更新特征及影响因子[J]. 应用生态学报, 2011, 22(7): 1659-1667
- [6] 王磊,樊军锋,刘永红,等. 我国油松主要分布区种质资源遗传多样性[J]. 东北林业大学学报, 2009, 37(12): 3-13
- [7] 徐化成,唐谦,张淑娟,等. 油松气候生态型的研究[J]. 林业科学, 1986, 22(1): 10-20
- [8] 张春晓,李悦,沈熙环. 油松 10 个天然与人工群体两个同工酶系统的遗传多样性研究[C]//面向 21 世纪的中国生物多样性保护. 北京: 林业出版社, 2000: 137-144
- [9] 李悦,张春晓. 油松无性系群体育种值与遗传多样性研究[J]. 北京林业大学学报, 1998, 20(4): 12-18
- [10] 王磊,樊军锋,刘永红,等. 我国油松主要分布区种质资源遗传多样性[J]. 东北林业大学学报, 2009, 37(12): 3-7
- [11] 李磊,柴宝峰,王孟本. 华北地区油松种群遗传多样性分析[J]. 植物研究, 2006, 26(1): 98-102
- [12] 李磊,柴宝峰. 基于分子标记的油松种群遗传保护分析[J]. 应用与环境生物学报, 2009, 15(4): 459-463
- [13] Knapp E E, Rice K J. Comparison of isozymes and quantitative traits for evaluating patterns of genetic variation in purple needle grass (*Nassella pulchra*) [J]. Conserv Biol, 1998, 12: 1031-1041
- [14] 李志辉,陈芝,张冬林,等. 广西马尾松天然林古蓬和浪水种源群体遗传多样性 ISSR 分析[J]. 中国农学通报, 2009, 25(16): 116-119
- [15] 张杰,吴迪,汪春蕾,等. 应用 ISSR-PCR 分析蒙古栎种群的遗传多样性[J]. 生物多样性, 2007, 15(3): 292-299
- [16] 金则新,李钧敏,蔡琰琳. 不同海拔高度木荷种群遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 生态学杂志, 2007, 26(8): 1143-1147
- [17] 冯富娟,王凤友,李长松. 长白山不同海拔条件下红松的遗传分化[J]. 东北林业大学学报, 2004, 32(3): 1-3
- [18] 李志辉,陈芝,张冬林,等. 广西马尾松天然林古蓬和浪水种源群体遗传多样性 ISSR 分析[J]. 中国农学通报, 2009, 25(16): 116-119
- [19] 李钧敏,金则新,钟章成. 不同海拔高度大血藤群体遗传多样性的 RAPD 分析及其与环境因子的相关性[J]. 生态学报, 2004, 24(3): 567-573
- [20] Wright S. The genetic structure of populations [J]. Ann Eugen, 1951, 15: 323-354
- [21] 李丹,彭少麟. 三个不同海拔梯度马尾松种群的遗传多样性及其与生态因子的相关性[J]. 生态学报, 2001, 21(3): 415-421
- [22] 刘登义,沈浩,杨月红,等. 黄山花楸种群遗传多样性研究[J]. 应用生态学报, 2003, 14(12): 2141-2144
- [23] 金则新,李钧敏. 浙江天台山不同海拔高度七子花种群遗传多样性及其与环境因子的相关性分析[J]. 浙江大学学报: 理学版, 2005, 32(4): 452-458
- [24] 谢一青,李志真,黄儒珠,等. 武夷山不同海拔光皮桦种群遗传多样性及其与生态因子的相关性[J]. 林业科学, 2008, 44(3): 50-55
- [25] Volis S, Yakubov B, Shulgina I, et al. Tests for adaptive RAPD variation in population genetic structure of wild barley *Hordeum spontaneum* Koch. [J]. Biol J Linnean Soc, 2001, 74: 289-303
- [26] Schaal B A, Hayworth D A, Olsen K M, et al. Phylogeographic studies in plants: problems and prospects [J]. Mol Ecol, 1998, 7: 465-474
- [27] Kimura M. Evolutionary rate at the molecular level [J]. Nature, 1968, 217: 624-626