

白皮松天然群体遗传结构的地理变异分析

赵 罕^{1,2}, 郑勇奇¹, 李 斌¹, 林富荣¹, 张川红¹, 程蓓蓓³, 黄 平¹

(¹中国林业科学研究院林业研究所/国家林木种质资源平台/国家林业局林木培育重点实验室, 北京 100091;

²中国林业科学研究院经济林研究开发中心, 郑州 450003; ³南京林业大学风景园林学院, 南京 210000)

摘要:为探讨白皮松天然群体遗传结构在地理分布上的差异, 利用 7 对 SSR 引物对 5 个白皮松分布区域的遗传结构进行分析。结果表明: 7 对 SSR 引物在 5 个区域内 476 个单株中共检测到 14 个多态性位点。各区域间观测等位基因数(N_a)、有效等位基因数(N_e)、Shannon's 信息指数(I)、观测杂合度(H_o)、期望杂合度(H_e)、Nei's 期望杂合度($Nei's$) 分别介于 1.7143 ~ 2.1429、1.1942 ~ 1.571、0.1948 ~ 0.4954、0.1726 ~ 0.3116、0.1178 ~ 0.3325、0.1172 ~ 0.3307 之间。白皮松遗传多样性水平总体较低, 区域间差异较大; 遗传多样性水平最高的区域为秦岭西侧群体, 其次为大巴山区群体; 太行山与吕梁山群体多样性水平相对较低。区域间的遗传分化系数 F_{st} 介于 0.0138 ~ 0.2242 之间, 基因流 N_m 介于 0.8650 ~ 17.8646 之间。遗传分化较大、基因流水平较低的区域均发生在秦岭西侧及其与其他区域之间。各区域间遗传相似系数在 0.8416 ~ 0.9964 之间, 遗传相似程度最高的群体为太行山与吕梁山区域, 遗传距离最大的为太行山与秦岭西侧区域。白皮松多样性分布的中心主要存在于秦岭西侧和大巴山区域, 因此应对该区域进行重点保护。

关键词: SSR; 天然群体; 遗传结构; 遗传多样性

Genetic Structure Analysis of Natural Populations of *Pinus bungeana* in Different Geographical Regions

ZHAO Han^{1,2}, ZHENG Yong-qi¹, LI Bin¹, LIN Fu-rong¹,

ZHANG Chuan-hong¹, CHENG Bei-bei³, HUANG Ping¹

(¹Key Laboratory of Tree Breeding and Cultivation of State Forestry Administration/National Forest Genetic Resource Platform/ Institute of Forestry, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091;

²Non-timber Forestry Research and Development Center, Chinese Academy of Forestry, Zhengzhou 450003;

³College of Landscaping and Gardening, Nanjing Forestry University, Nanjing 210000)

Abstract: In order to explore the genetic structure differences of natural populations of *Pinus bungeana* in geographical distributions. Genetic structure of 5 distribution regions was studied using 7 pairs of SSR primers. The result showed that 14 polymorphic loci were detected in 476 individuals among five regions. The observed number of alleles (N_a), effective number of alleles (N_e), Shannon's information index (I), observed heterozygosity (H_o), expected heterozygosity (H_e), and Nei's expected heterozygosity ($Nei's$) were 1.7143 - 2.1429, 1.1942 - 1.571, 0.1948 - 0.4954, 0.1726 - 0.3116, 0.1178 - 0.3325, and 0.1172 - 0.3307, respectively. The genetic diversity was relatively low among regions but the difference was high. The regions with the highest genetic diversity were west side of the Qinling Mountain followed by the Daba Mountain. While the Taihang and Lvliang Mountain were relatively low. Genetic differentiation coefficient (F_{st}) was between 0.0138 - 0.2242 and gene flow (N_m) was between 0.8650 - 17.8646 among regions. The populations with high genetic differentiation and gene flow were west side of the Qinling Mountain and among the regions of west side of the Qinling Mountain and other regions. Genetic diversity center of *Pinus Bungeana* were mainly distributed in the west side of the Qinling and Daba Mountain. Therefore,

收稿日期: 2012-06-14 修回日期: 2012-07-10 网络出版日期: 2013-04-17

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20130417.1134.001.html>

基金项目: “十二五”国家科技支撑计划(2013BA001B06)

作者简介: 赵罕, 博士, 主要从事林木遗传资源研究。E-mail: zdh707@163.com

通信作者: 郑勇奇, 研究员, 主要从事林木遗传资源与遗传多样性研究。E-mail: zhengyq@caf.ac.cn

the protection of *Pinus Bungeana* should focus on these regions.

Key words: SSR; natural populations; genetic structure; genetic diversity

白皮松 (*Pinus bungeana* Zucc.) 是松属中较为原始的一个种类,在松属 4 亚属、5 组、15 亚组中,白皮松亚组是东亚仅有的两个特有亚组之一,而白皮松是该亚组中仅分布在我国的特有乡土树种^[1],具有重要的研究和观赏价值。经文献记载白皮松在我国古时曾遍布西北各省^[2-3],但是由于环境条件的破坏,人为干扰及白皮松自身更新困难等特点,白皮松天然群体分布范围和区域已日趋狭小,处于严重的片段化状态。近年来,随着白皮松园林绿化价值的提高和人们对其需求的不断增加,不合理的采集和挖掘活动也随之增加,更加剧了白皮松遗传资源的恶化状况。目前,白皮松天然群体仅存在于太行山、吕梁山、中条山、秦岭及大巴山的部分区域。由于白皮松生长及更新缓慢,群体内长期积累的遗传变异更是来之不易。因此,对白皮松遗传结构进行研究和评价,制定切实可行的白皮松保护策略,对合理有效的保护和开发利用白皮松资源具有重要的指导价值。

了解物种遗传结构的分布规律是人们制定合理决策的理论基础^[4]。研究^[5-6]表明,白皮松在群体间和群体内均存在广泛的变异,与松属的其他种类相比,白皮松遗传多样性水平相对较低,群体间的表型和遗传分化系数都处于较高的水平。白皮松球果长度、球果重量受热量因子的控制,在地理分布上表现出南北变异趋势。种子厚度、球果高径比、每球果种子数,受水分因子的控制,表现为东西变异趋势。球果宽度及种皮所占比例表现为西南—东北向变异,同时受热量及水分因子的制约^[7-8]。目前人们对白皮松遗传资源所进行的评价主要集中在形态标记和同工酶标记上;从分子水平对白皮松遗传资源所进行的评价还较少。由于分子标记直接反映基因组 DNA 水平间的差异,并且标记数量丰富、检测手段简单、迅速,不受生物发育阶段的限制,相对于形态标记、生物化学标记和细胞学标记,分子标记在遗传评价上具有较大的优势。SSR (simple sequence repeats) 又称微卫星 (Microsatellite),是指以少数几个核苷酸为单位的串联重复序列。随着分子标记技术的不断改进和完善,尽管出现了诸如 AFLP、ISSR、SCAR、SRAP、STS 等新的标记,但 SSR 分子标记以其所具有的多态性高、共显性、检测方便、试验重复性好等特点,在动植物的遗传分析中得到了广泛应用^[9-14]。

本研究使用 SSR 分子标记对不同区域的白皮松天然群体遗传多样性及其遗传分化规律进行了研究,探讨了不同区域白皮松遗传变异规律,为白皮松遗传资源的保护提供了科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

在对白皮松分布区全面了解的基础上,依山势走向分别在吕梁山区、太行山区、秦岭东侧、秦岭西侧及大巴山区各取 3 个群体(图 1、表 1),每个群体抽取 30~32 个单株作为研究对象。其中陕西蓝田天然群体、甘肃天水群体、山西临汾 B 群体为本课题组 2000 年所采种子,其他试验材料为 2011 年所采针叶。白皮松种子采摘后放入锡箔纸中以真空状态 4 °C 保存;针叶从树体取下后和硅胶一起放入自封袋中,带回实验室于 -80 °C 冰箱保存。种子在提取 DNA 前放入纱布中,每天用清水冲洗 1 次,室温催芽,萌芽后利用其胚进行 DNA 提取。

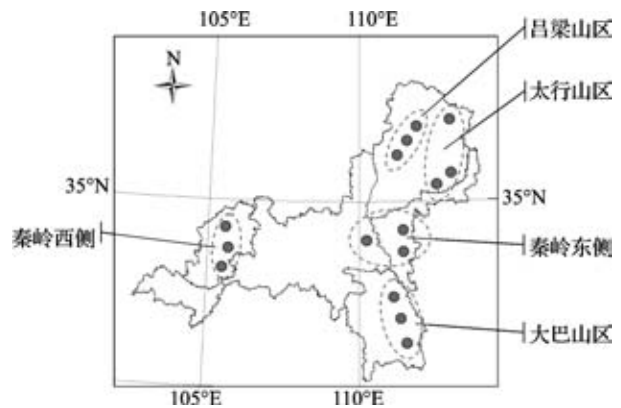


图 1 白皮松天然分布区及取样点

Fig. 1 Sampling sites and natural distribution of *Pinus bungeana*

1.2 试验方法

1.2.1 基因组 DNA 的提取 试验材料基因组 DNA 的提取均采用 CTAB 法,1% 琼脂糖检测 DNA 质量,使用 NanoDrop 2000 超微量分光光度计测定 DNA 浓度和纯度,将 DNA 稀释到 20~100 ng/μL,放入 4 °C 冰箱备用。

1.2.2 PCR 扩增 采用 TP-M13 荧光标记技术来进行 PCR 扩增,扩增采用 3 条引物,第 1 条引物由 SSR 正向引物的 5' 端和 M13 相连组成 (5'-TGT AAAACGACGGCCACT-3'),第 2 条引物为正常的 SSR

表 1 白皮松采样地点

Table 1 Sampling sites of *Pinus bungeana*

采样区域	采样地点	采样数量	取样部位
Sampling regions	Sampling locations	No. of samples	Sampling position
太行山区	山西榆次	32	叶片
	山西陵川	32	叶片
	河南沁阳	32	叶片
吕梁山区	山西孝义	32	叶片
	山西临汾 A	30	叶片
	山西临汾 B	32	种子
秦岭东侧	河南洛宁	32	叶片
	河南栾川	32	叶片
	陕西蓝田	32	种子
秦岭西侧	甘肃天水	32	种子
	甘肃成县	30	叶片
	甘肃康县	32	叶片
大巴山区	湖北南漳	32	叶片
	湖北丹江口	32	叶片
	湖北远安	32	叶片

反向引物,第 3 条引物是 5'端标有 CY5 荧光标记的 M13 尾巴引物 (CY5-TGTA AACGACGGCCAGT)。PCR 反应体系共 10 μ L,其中 2 \times Taq PCR MasterMix 5 μ L、正反向引物各 0.2 μ L (浓度 10 μ m)、CY5 荧光引物 0.2 μ L (浓度 10 μ m)、DNA 0.4 μ L、ddH₂O 4 μ L。反应程序分 2 步,第 1 步扩增使用前 2 条引物,扩增程序为:为 95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min;95 $^{\circ}$ C 变性 30 s,55 $^{\circ}$ C 退火 30 s,72 $^{\circ}$ C 度延伸 45 s,30 个循环;第 2 步扩增加第 3 条引物,扩增程序为:95 $^{\circ}$ C 变性 30 s,53 $^{\circ}$ C 退火 30 s,72 $^{\circ}$ C 度延伸 45 s,8 个循环;72 $^{\circ}$ C 度延伸 10 min。

1.2.3 引物筛选 首先对松属已发表的 309 对 SSR 引物进行筛选,从中筛选出扩增效果好、2% 琼脂糖电泳中具有 1 条或 2 条条带的引物,然后使用不同种源的 8 个白皮松样品对其进行毛细管电泳检测,选出具有多态性位点的引物。

1.2.4 毛细管电泳 将甲酰胺与分子量内标按 100:1 的体积比混匀后,取 15 μ L 加入上样板中,再加入 0.4 μ L PCR 产物。然后使用 BECKMAN CEQ8000 遗传分析仪对 PCR 结果进行毛细管电泳。

1.2.5 数据分析 每个引物作为一个等位 SSR 标

记位点,将基因型按照 AA、AB、BB 的格式进行统计。参考 M. Kimura 等^[15]的原理计算有效等位基因数 N_e (effective number of alleles);参考 R. C. Lewontin^[16]的原理计算 Shannon's 信息指数 I (Shannon's Information index);参考 H. Levene^[17]的原理计算期望杂合度 (H_o) 与观测杂合度 (H_e) (expected homozygosity and heterozygosity);参考 M. Nei^[18]的原理计算 N_ei 's 期望杂合度;参考 S. Wright^[19]的原理计算固定指数 F_{is} (fixation index);参考 M. Nei^[20-21]的原理计算 F 统计量 (F_{st})、基因流 (Nm)、遗传距离和遗传一致度 (genetic identity and genetic distance);依卡方检验检测群体的 Hardy-Weinberg 平衡。以上参数计算和检验均使用 POPGENE 32 软件进行;根据遗传相似度与遗传距离,利用软件 NT-SYS-pc 2.1,以 UPGMA (unweighted pair-group method) 方法,绘制各群体聚类分析图^[22-23]。

2 结果与分析

2.1 引物筛选

从松属其他物种已发表的 309 对 SSR 引物中,初步筛选出 86 对扩增效果较好的引物,然后对其进行多态性筛选,最终筛选出 7 对具有多态性位点的引物 (表 2)。图 2 为部分引物的扩增结果。

表 2 引物序列及编号

Table 2 Sequence and number of primer

编号	名称	序列	
No.	Name	Sequence	
Y1	36567-992-F	CCAGACAA	CAGAATCAG
		CCCAAATGAA	GCGTCCAAT
Y2	RPtest9-F	CCAGACAAC	GCCTGCTAT
		CCAAATGAAGG	CGAATCCAGAA
Y3	919347-F	TGCGCTGG	GCGGGTTG
		GCTTTGTCTG	CATATTTGGTG
Y4	ssrPt_ctg8767-F	TGGGGAAAA	GGAGCAGAC
		ATGGCATACAT	ACCCATGGACT
Y5	51113-3237-F	TCCAGACAA	CAGGCGTCC
		CCCAAATGA	AATACCAGA
Y6	48044-7700-F	TACGGTGG	AGGCTTCT
		TCTGTTCTGC	CCTGGTCTCC
Y7	PtSIFG_6058R	AAGAGGTT	GCTCCATT
		GCTCCTACCAA	TCAGAGCAGGTC

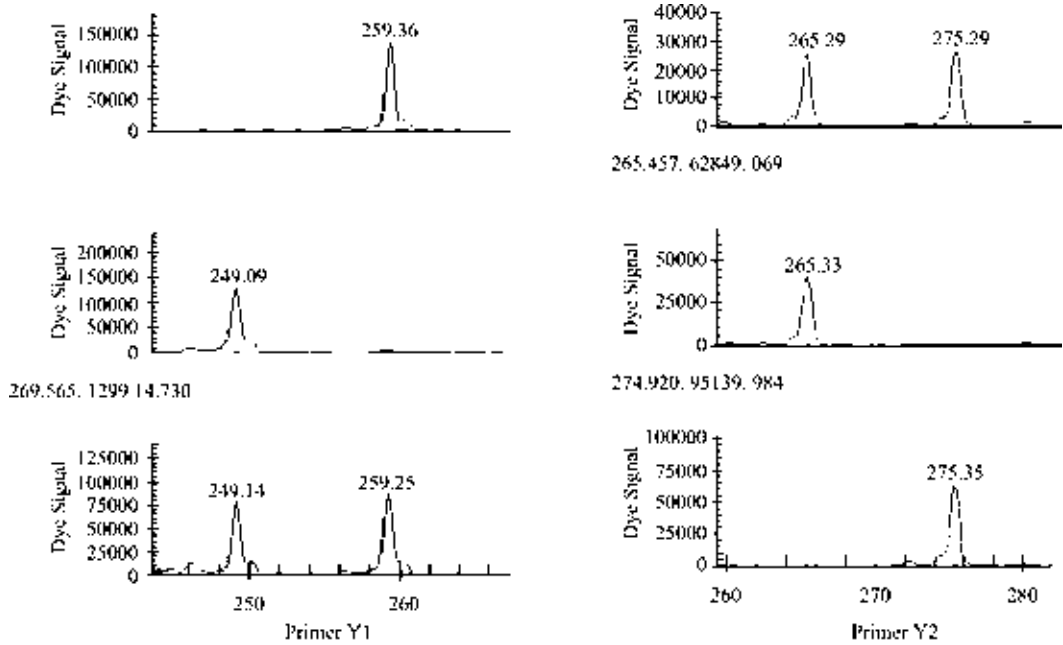


图2 白皮松 SSR 分子标记多态性引物

Fig. 2 Polymorphic primers of SSR molecular marker of *Pinus bungeana*

2.2 遗传多样性

使用 7 对 EST-SSR 引物在白皮松 5 个分布区 15 个群体的 476 个单株中共检测到 14 个多态性位点。除引物 Y3 检测到 3 个多态性位点外,其他引物均检测到 2 个多态性位点。各位点 Ne 、 I 、 Ho 、 He 、 $Nei's$ 分别介于 1.0042 ~ 1.7619、0.0151 ~ 0.6240、0.0042 ~ 0.6239、0.0042 ~ 0.4329、0.0042 ~ 0.4324 之间。

表 3 不同区域白皮松遗传多样性参数统计

Table 3 Statistics of genetic diversity parameters

区域 Regions	样本数 No. of samples	观测等位基 因数 Na	有效等位基 因数 Ne	Shannon's 信 息指数 I	观测杂合 度 Ho	期望杂合 度 He	Nei's 期望 杂合度 $Nei's$
太行山区	192	1.7143	1.1942	0.1948	0.1786	0.1178	0.1172
吕梁山区	188	1.8571	1.1985	0.2405	0.1748	0.1378	0.1371
秦岭东侧	192	1.8571	1.2143	0.2874	0.1726	0.1656	0.1647
秦岭西侧	188	2.1429	1.5710	0.4954	0.3116	0.3325	0.3307
大巴山区	192	1.8571	1.4176	0.4281	0.2485	0.2766	0.2752
平均值 Mean		1.8857	1.3148	0.3273	0.2109	0.2039	0.2030
标准差 S		0.1565	0.1610	0.1245	0.0499	0.0900	0.0898

2.3 区域间遗传分化

白皮松各区域间遗传相似系数在 0.8416 ~ 0.9964 之间,其中遗传相似度最高的为太行山区与吕梁山区域,遗传距离最大的区域为太行山区与秦岭西侧区域(表 4)。以遗传相似性系数为基础,按 UPGMA 法进行聚类分析并做聚类图,在遗传距离为 0.13

各区域间观测 Na 、 Ne 、 I 、 Ho 、 He 、 $Nei's$ 分别介于 1.7143 ~ 2.1429、1.1942 ~ 1.5710、0.1948 ~ 0.4954、0.1726 ~ 0.3116、0.1178 ~ 0.3325、0.1172 ~ 0.3307 之间(表 3)。各多样性指数对各区域的排名基本相同,多样性水平最高的区域均为秦岭西侧群体,其次均为大巴山区域群体;太行山区与吕梁山区群体多样性水平则相对较低。

处可将白皮松分为 2 个类群。秦岭西侧作为一个独立类群;第 II 类群又可分为 2 个亚类群,其中太行山区群体与吕梁山区群体聚为一个类群,秦岭东段群体与大巴山区群体聚为一个类群(图 3)。各区域的遗传距离与地理距离总体呈现出一定的相关性,地理距离相近的区域遗传距离相对也较近。

表 4 区域间遗传相似度和遗传距离

Table 4 Genetic similarity and genetic distance of different regions

区域 Regions	太行山区 Taihang mountain	吕梁山区 Lvliang mountain	秦岭东侧 East side of qinling mountain	秦岭西侧 West side of qinling mountain	大巴山区 Daba mountain
太行山区	1	0.9964	0.9830	0.8416	0.9822
吕梁山区	0.0036	1	0.9956	0.8676	0.9893
秦岭东侧	0.0172	0.0044	1	0.8941	0.9908
秦岭西侧	0.1725	0.1420	0.1119	1	0.9151
大巴山区	0.0180	0.0107	0.0092	0.0887	1

对角线上方为遗传相似度,对角线下方为遗传距离

Above diagonal: genetic similarity, below diagonal: genetic distance

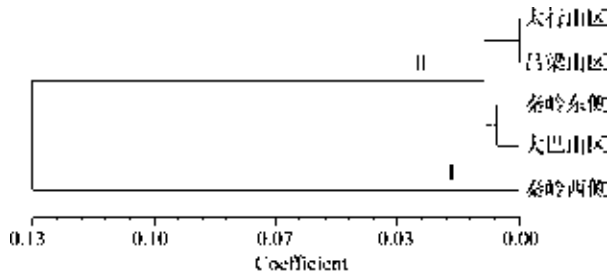


图 3 区域间 UPGMA 聚类分析图

Fig. 3 Cluster analysis of different regions using UPGMA method

各区域之间遗传分化系数的两两配对比较结果表明(表 5):基因流水平较低的区域均发生在秦岭西侧与其他区域之间,基因流最低的为秦岭西侧与太行山区。基因流水平较高的是吕梁山区与太行山区及吕梁山区与秦岭东侧区域。各区域内群体间的遗传分化水平检测结果表明,群体间遗传分化较高的区域为秦岭西侧群体,其次为秦岭东侧群体,然后依次是大巴山区群体、太行山区群体、吕梁山区群体(表 6)。这说明秦岭西侧区域与其他区域之间基因流动相对较少,同时秦岭西侧区域内部基因流动也相对较少。

表 5 白皮松区域之间的遗传分化和基因流

Table 5 Genetic differentiation coefficient and gene flow among regions

区域 Regions	太行山区 Taihang Mountain	吕梁山区 Lvliang Mountain	秦岭东侧 East Side of Qinling Mountain	秦岭西侧 West side of Qinling Mountain	大巴山区 Daba Mountain
太行山区		0.0138	0.0515	0.2242	0.0455
吕梁山区	17.8646		0.0139	0.1866	0.0283
秦岭东侧	4.6007	17.7871		0.1454	0.0215
秦岭西侧	0.8650	1.0900	1.4693		0.0906
大巴山区	5.2489	8.8528	11.3749	2.5091	

对角线之上为 F_{st} , 对角线之下为 N_m

Above diagonal: F_{st} , below diagonal: N_m

表 6 区域内白皮松遗传分化与基因流

Table 6 Genetic differentiation coefficient and gene flow within regions

区域 Regions	群体数量 No. of samples	遗传分化 F_{st}	基因流 N_m
太行山区	3	0.0135	18.2868
吕梁山区	3	0.0121	20.4453
秦岭东侧	3	0.0770	2.9982
秦岭西侧	3	0.1657	1.2584
大巴山区	3	0.0598	3.9290
区域间	5	0.1478	1.4417

3 讨论

3.1 遗传多样性在区域间的分布规律

目前已有很多研究采用 SSR 分子标记对裸子植物及松属的遗传多样性和遗传结构进行了探讨。通过研究,大部分松属树种具有相对较高的遗传多样性,火炬松观测等位基因数、观测和期望杂合度分别为 5.2 ~ 10.3、0.482 ~ 0.559 和 0.626 ~ 0.679^[24]。辐射松观测等位基因数和期望杂合度分别为 8.19、0.734^[25]。西部白松观测等位基因数、观测和期望杂合度分别为 5.67 ~ 7.33、0.567 ~ 0.867 和 0.774 ~ 0.837^[26]。马尾松观测等位基因数、观测和期望杂合度分别为 2.663、0.5208 和 0.4786^[27]。油松观测等位基因数、观测和期望杂合度分别为 8 ~ 20、0.3689 ~ 0.5852 和 0.5612 ~ 0.742^[28]。但也有一些树种遗传多样性相对较低,如日本金松观测等位基因数为 2.93,期望杂合度为 0.381^[29]。北美短叶松有效等位基因数和 Nei's 期望杂合度平均值分别介于 1.187 ~ 1.321 和 0.118 ~ 0.194^[30] 之间。白皮松群体不同区域间观测等位基因数在 1.7143 ~ 2.1429 之间,平均值 1.8857,各区域间 Shannon's 信息指数、观测和期望杂合度平均值仅为 0.3273、0.2109 和 0.2039,说明白皮松遗传多样性水平相对较低。这一结果与白皮松同工酶(期望杂合度为 0.0986)和 AFLP (Shannon's 信息指数为 0.283 ~ 0.437) 研究结果^[5-6] 相似。

影响遗传多样性水平高低的因素很多,包括繁育系统、分布范围、生活型、分类地位、种子散播机制等因素。地理分布广、异交为主、风媒授粉、结实性高的物种一般被认为是遗传多样性水平较高的树种。白皮松虽然是以风媒异交为主的授粉方式,但是其地理分布范围相对狭窄,群体数量较小,在我国

仅分布在暖温带和北亚热带的山区,并且片段化及地理隔离较为严重,更新周期较长,这可能是导致其遗传多样性水平较低的原因。

对不同区域白皮松遗传多样性对比分析可知,白皮松各分布区域间多样性差异较为显著,秦岭西侧群体不仅多样性水平相对较高,而且还具有2个特有的等位基因。其他区域多样性水平相对较高的群体依次为大巴山区群体、秦岭东侧群体、吕梁山区群体和太行山区群体。多样性水平较高的秦岭西侧群体观测杂合度和期望杂合度相对于较小的太行山区、吕梁山区可达到2~3倍,区域间遗传多样性水平相差较大。表明秦岭西侧及大巴山区群体可能是白皮松的多样性起源中心,或白皮松的冰期避难所。而秦岭东侧群体及太行山区、吕梁山区群体则可能是由白皮松少数迁移个体所组成的新群体。地球在漫长的发展历史中曾经历了强烈的寒暖气候波动;冰期和间冰期交替出现,导致世界上很多树种受冻绝灭;而对裸子植物影响较大的为第四纪冰川;我国当时发生的是山地冰川,虽然不存在统一的大冰盖,但是也受到很大的影响,北方多年冻土南界向南移动约 10° ,东部地区年平均温度降低 $10\sim 12\text{ }^{\circ}\text{C}$,纬度地带平均向南推移 $8\sim 10^{\circ}$ ^[31-32]。由于白皮松生长的适宜区域主要在暖温带和北亚热带区域,因此分布区北部的太行山区、吕梁山区在这一时期可能会由于低温而不能生存,而秦岭西侧区域由于地形复杂,气候差异较大,可能形成白皮松冰期的避难所。大巴山区由于纬度较低,受降温的影响相对较少也可能形成避难所。这可能是白皮松多样性水平在这2个区域相对较高的原因。冰期后的迁移一般是由低海拔、低纬度地区向高海拔、高纬度迁移扩散。而冰期过后群体在从避难地向其他地方迁移过程中会受到物种自身生物学特性、地形、气候等各方面因素的干扰。迁移作为一种历史痕迹可能会保存到现在,形成当前的物种遗传结构。白皮松在分布区北部的太行山区、吕梁山区群体多样性水平较低则可能是由于冰期作用后其他区域群体在迁移过程中等位基因的抽样效应所形成。

3.2 区域间遗传分化

对不同区域内群体间的遗传分化和基因流的对比可知,太行山区与吕梁山区具有较高的基因流和较低的遗传分化,秦岭东侧和大巴山区基因流 Nm 接近于4,说明这2个区域基因交流也较为频繁,能够抵消由于遗传漂变所导致的基因丢失。而秦岭西

侧群体基因流水平仅为1.2584,说明秦岭西侧群体间基因流动相对较少。通过对各区域间基因流两两对比分析可以看出,秦岭西侧群体与其他区域的基因流水平均较低,而其他区域内基因流水平则相对较高,这说明白皮松各区域间基因流的阻隔主要存在于秦岭西侧各群体与其他群体之间。这一方面导致秦岭西侧群体遗传分化增加,同时也导致北部群体由于基因流的不足而呈现出较低多样性水平。影响植物群体基因流的因素主要是花粉与种子的迁移^[33]。这可能是由于秦岭西侧群体地形复杂所导致的种子与花粉传播受限。根据UPGMA聚类,区域间的遗传分化呈现出一定的地域性分布规律,聚类结果基本上将分布区水平地理距离较近的种群聚在一起,而秦岭西侧群体单独聚为一类。这也说明地理上的隔离是造成白皮松多样性及遗传分化的重要原因。这一现象在其他研究中也有类似报道,J. L. Hamrick等^[34]对生境片段化和交配系统关系的研究表明:连续分布的松林异交率为0.91,片段化分布的小群体异交率为0.886,而在零散分布的个体中异交率仅为0.739。J. J. Robledo等^[35]对*P. sylvestris*的研究也表明,在异交为主的风媒传粉系统中,隔离小种群的自交率是大种群的8倍。

3.3 白皮松保护策略

物种的稳定性和进化潜力依赖其遗传多样性,物种的生态和经济价值也依赖其优良的基因组成,因此对物种保护的最终目的是对其遗传多样性进行保护。SSR分子标记研究表明,白皮松分布区的西部不但具有较高的遗传多样性水平,而且群体遗传分化水平相对较高,对这一区域白皮松资源进行保存具有较大的潜在利用价值,不但保存了其多样性资源而且保存了优良的育种资源。因此,应采取原地保存的方式,适当增加保存群体的数量,在保存其群体进化潜能的基础上保存更多的遗传变异。南部大巴山区白皮松虽然资源数量较少,并且大都濒于灭绝,但仍具有较高的多样性,说明这一区域群体不但具有较高的保存价值,而且对白皮松的分布历史和迁移规律研究也具有重要参考价值;但该区域种群数量较少,更新状况不良,种群具有较大野外灭绝的风险,应采取以异地保存为主的措施。而北部太行山区、吕梁山区各群体虽然遗传背景相对单一,分化较小,但种源试验却表明该区域群体具有较强的抗逆性^[36],因此对这一区域群体进行适当的原地保存对优良抗逆基因的筛选也具有重要价值。

参考文献

- [1] 陆素娟,李乡旺. 松属的起源、演化及扩散[J]. 西北林学院学报,1999,14(3):1-5
- [2] 赵焱,张学忠,王孝安. 白皮松天然林地理分布规律研究[J]. 西北植物学报,1995,15(2):161-166
- [3] 李斌,顾万春. 白皮松分布特点与研究进展[J]. 林业科学研究,2003,16(2):225-232
- [4] Agarwal M,Shrivastava N,Padh H. Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences[J]. Plant Cell Rep,2008,27(4):617-631
- [5] 李斌,顾万春,周世良. 白皮松的保育遗传学、基因保护分析[J]. 生物多样性,2003,11(1):28-36
- [6] 李斌. 白皮松遗传多样性及其核心种质保护策略研究[D]. 北京:北京林业大学,2002
- [7] 王小平,刘晶岚,王九龄,等. 白皮松种子及球果形态特征的地理变异[J]. 北京林业大学学报,1998,20(3):25-29
- [8] 李斌,顾万春,卢宝铭. 白皮松天然群体种实性状表型多样性研究[J]. 生物多样性,2002,10(2):181-188
- [9] 李义良,赵奋成,张应中,等. 分子标记在松树遗传与进化研究中的应用[J]. 分子植物育种,2009,7(5):1004-1009
- [10] 程小毛,黄晓霞. SSR 标记开发及其在植物中的应用[J]. 中国农学通报,2011,27(5):304-307
- [11] 高源,王昆,田路明,等. TP-M13-SSR 技术及其在苹果种质资源遗传多样性研究中的应用[J]. 植物遗传资源学报,2011,12(2):228-233
- [12] 王丽鹭,姜燕华,段云裳,等. 茶树 EST-SSRs 分布特征及引物开发[J]. 植物遗传资源学报,2009,10(4):511-516
- [13] 郭银萍,彭忠华,赵致,等. 基于 SSR 标记的贵州薏苡种质资源遗传多样性分析[J]. 植物遗传资源学报,2012,13(2):317-320
- [14] 曾淇,李明芳,郑学勤. 基于 SSR 标记的荔枝种质遗传多样性分析[J]. 植物遗传资源学报,2010,11(3):298-304
- [15] Kimura M,Crow J F. The Number of alleles that can be maintained in a finite population[J]. Genetics,1964,49(7):25-38
- [16] Lewontin R C. The apportionment of human diversity[J]. Evol Biol,1972,6:381-398
- [17] Levene H. On a matching problem in genetics[J]. Ann Math Stat,1949,20:91-94
- [18] Nei M. Analysis of gene diversity in subdivided populations[J]. Proc Natl Acad Sci USA,1973,70:3321-3323
- [19] Wright S. Variability within and among natural populations. volume 4[M]. Chicago:The University of Chicago Press,1978
- [20] Nei M. Molecular evolutionary genetics[M]. New York:Columbia University Press,1987:190-191
- [21] Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals[J]. Genetics,1978,89:583-590
- [22] Manly B F J. The statistics of natural selection[M]. London:Chapman and Hall,1985
- [23] Rohlf F J. NTSYS-pc; numerical taxonomy and multivariate analysis system. version 2.10e[M]. New York: Exeter Software, Setauket,1998
- [24] Al-Rabab'ah M A,Williams C G. Population dynamics of *Pinus taeda* L. based on nuclear microsatellites[J]. Forest Ecol Manage,2002,163:263-271
- [25] Karhu A,Vogl C,Moran G F,et al. Analysis of microsatellite variation in *Pinus radiata* reveals effects of genetic drift but no recent bottlenecks[J]. Evol Biol,2006,19:167-175
- [26] Mehes M,Nkongolo,Ka K,et al. Assessing genetic diversity and structure of fragmented populations of eastern white pine (*Pinus Strobus*) and western white pine (*P. Monticola*) for conservation management[J]. J Plant Ecol,2009,2(3):143-151
- [27] 王鹏良. 马尾松无性系种子园多年份子代遗传多样性分析[D]. 南京:南京林业大学,2006
- [28] 程理. 巴山松与油松的遗传分化和地理分界研究[D]. 西安:西北大学,2010
- [29] Kawase D,Tsumura Y,Tomaru N,et al. Genetic structure of an endemic Japanese conifer, *Sciadopitys verticillata* (Sciadopityaceae), by using microsatellite markers[J]. Am Genetic Assoc,2010,3:292-297
- [30] Chiovitti S L. Evolutionary genetic studies of forest trees: genetic structure of the boreal forest tree *Pinus banksiana* and the molecular phylogeny of the tropical tree family dipterocarpaceae[D]. Canada:Concordia University,2006
- [31] 金建华,廖文波,王伯荪,等. 新生代全球变化与中国古植物区系的演变[J]. 广西植物,2003,23(3):217-225
- [32] 李吉均,舒强,周尚哲,等. 中国第四纪冰川研究的回顾与展望[J]. 冰川冻土,2004,26(3):325-335
- [33] Asmussen M A,Orive M E. The effect of pollen and seed migration on nuclear-dicytoplasmic system. 1. Nonrandom associations and equilibrium structure with both maternal and paternal cytoplasmic inheritance[J]. Genetics,2000,155:813-831
- [34] Hamrick J L,Godt M J. Allozyme diversity in plant species[M]//Brown A D H,Cless M T,Kahler A L,et al. Plant population genetics, breeding, and genetic resources. Sunderland:Sinauer,1989,43-63
- [35] Robledo-Arnuncio J J,Gil L. Patterns of pollen dispersal in a small population of *Pinus sylvestris* L. revealed by total-exclusion paternity analysis[J]. Heredity,2005,94(1):13-22
- [36] 何燕,李斌,姜英淑,等. 白皮松种源苗期变异与选择[J]. 林业科技通讯,2001(6):5-8