

# 海南霸王岭南亚松天然林群落遗传多样性的 SSR 分析

陈 虎, 颜培栋, 杨章旗

(广西林业科学研究院, 南宁 530001)

**摘要:**为揭示海南霸王岭南亚松天然林群落在遗传多样性水平上的差异和遗传分化情况,利用 SSR 分子标记技术对其 6 个群落共 350 个单株进行了遗传多样性分析。结果显示:所选用的 12 对 SSR 引物,共检测到 38 个等位位点。各区域间观察杂合度( $H_o$ )、期望杂合度( $H_e$ )、Shannon 信息指数( $I$ )和 Nei's 期望杂合度分别介于 0.1933 ~ 0.4679、0.4150 ~ 0.5321、0.5225 ~ 0.7384、0.3451 ~ 0.4819 之间,说明霸王岭南亚松总体的遗传多样性水平相对较低。居群间的遗传分化系数( $F_{st}$ )平均为 0.0628,说明绝大部分变异(93.72%)存在于群体各居群内。UPGMA 聚类可将供试 6 个群落划分为 2 类,遗传距离与地理距离有一定相关性,但并没有严格按地理距离聚类,受到了自然地理隔离的影响。

**关键词:** 南亚松;天然林;遗传多样性;SSR

## Analysis of Genetic Diversity of *Pinus latteri* Mason Nature Populations in Bawangling of Hainan Province by SSR Markers

CHEN Hu, YAN Pei-dong, YANG Zhang-qi

(Guangxi Academy of Forestry Sciences, Nanning 530001)

**Abstract:** To reveal differences and characteristics of *Pinus latteri* Mason natural populations in Bawangling forestry area of Hainan province on the level of genetic diversity, SSR molecular markers technique were used to study genetic diversity of 350 single individual plants representing 6 nature populations of *Pinus latteri* Mason. The result showed that 38 alleles were detected using 12 polymorphic SSR primers. The observed heterozygosity ( $H_o$ ), expected heterozygosity ( $H_e$ ), Shannon information index ( $I$ ), and Nei's expected heterozygosity were 0.1933 - 0.4679, 0.4150 - 0.5321, 0.5225 - 0.7384, and 0.3451 - 0.4819, respectively. *Pinus latteri* Mason had a low genetic diversity level among populations in Bawangling. The proportion of genetic differentiation among the populations accounted for 0.0628, suggesting most of variation (93.72%) appeared within population. The 6 populations were divided into 2 groups based on genetic distance, showing that the genetic distance was less significantly related with the geographic latitude, but was not strictly according to the geographic distance clustering, while was influenced by natural geographic isolation.

**Key words:** *Pinus latteri* Mason; wild populations; genetic diversity; SSR molecular marker

南亚松(*Pinus latteri* Mason)又名海南松、越南松、南洋二针松,是最具代表性的热带松树,分布于亚洲南部热带地区的印度、缅甸、泰国、越南、菲律宾、印度尼西亚等国,在我国海南、广西南部、广东南部有分布。南亚松多为散生,我国只有海南霸王岭

林区有大片的南亚松天然林分布,南亚松是热性针叶林植被型唯一一个群系(即南亚松林)<sup>[1-3]</sup>。南亚松耐干旱、耐瘠薄、耐高温,是热带地区绿化荒山荒地的主要珍贵用材树种;南亚松材性比马尾松更优良,产脂量高(是马尾松产脂量的 2 倍),松脂中还

收稿日期:2013-10-30 修回日期:2013-11-26 网络出版日期:2014-06-09

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20140609.1429.024.html>

基金项目:国家“948”项目(2011-4-34);“八桂学者”专项经费资助

第一作者主要从事松树遗传改良研究。E-mail: chenhubeiing-2008@163.com

通信作者:杨章旗,主要从事松树遗传改良研究。E-mail: Yangzhangqi@163.com

有一般松脂没有的二元树脂<sup>[4-7]</sup>, 南亚松是我国热带地区主要的用材和采脂树种之一, 是发展林产工业的优质原材料树种, 也是我国南部沿海的主要生态造林树种, 具有很好的应用前景。

相对于其他松类树种, 国内外对南亚松的研究虽然较早但研究报道较少。目前对南亚松的研究主要集中在采脂技术、天然更新动态、树脂和松脂特性、松脂化学分析与特性、造林技术、育苗技术及木材材性等方面<sup>[7-14]</sup>。其中有关南亚松的较新报道仅见黄清麟等<sup>[5]</sup>对海南霸王岭南亚松天然林中的乔木层结构特征进行了初步研究, 黄运峰等<sup>[6]</sup>对海南霸王岭南亚松居群结构与分布格局进行了研究。

目前, 松属植物居群遗传多样性在马尾松<sup>[15]</sup>、火炬松<sup>[16-17]</sup>、云南松<sup>[18]</sup>等均有研究。但还未见有关南亚松天然居群遗传多样性方面的研究, 南亚松自然居群间遗传分化程度、遗传关系等问题还属未知。为此, 本研究在对海南岛霸王岭国家级自然保护区南亚松进行调查的基础上, 按地理位

置以 6 个群落的 12 个南亚松居群为研究对象, 利用 SSR 标记分析技术对其进行遗传多样性研究, 以期了解霸王岭保护区南亚松居群的遗传多样性水平和遗传分化程度, 为今后的种质资源保护和利用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 居群选择与材料采集

根据霸王岭自然保护区的地形、保护区划分范围以及雅加大岭山脉, 选取了洪水、东六、南叉河、水田、桐才和王下 6 个主要分布群落, 并根据群落大小、不同海拔和位置划分为 12 个居群。按照居群生态学的原理和方法<sup>[19]</sup>, 根据居群的实际情况, 在居群内随机选择 30 株左右树龄相近、生长正常的母树, 株间距在 50 m 以上, 最大限度地降低样本间的亲缘关系, 具体情况见表 1。采取无病虫害的当年新叶, 置于 50 mL 离心管中, 用硅胶进行干燥, 再将样品放入保鲜袋, 置于 -70 °C 超低温冰箱中保存。

表 1 供试材料及其来源

Table 1 Origin or collection place of materials used in this study

群落 Community	居群 Population	经度(E) Longitude	纬度(N) Latitude	海拔(m) Altitude	采样个体数 Sample size
洪水 HS	HS1	109°14.007'	18°58.483'	840	30
	HS2	109°14.149'	18°57.318'	630	29
	HS3	109°13.987'	18°57.424'	659	30
东六 DL	DL1	109°10.264'	19°01.451'	737	30
	DL2	109°18.865'	19°04.631'	701	30
	DL3	109°11.460'	19°03.176'	740	26
南叉河 NCH	NCH1	109°12.428'	19°09.440'	625	26
	NCH2	109°12.028'	19°09.732'	572	30
水田 ST	ST1	109°13.668'	19°00.177'	768	31
	ST2	109°14.877'	19°01.933'	762	30
桐才 TC	TC	109°12.081'	18°56.936'	644	27
王下 WX	WX	109°07.123'	19°02.184'	665	31

HS: Hongshui; DL: Dongliu; NCH: Nanchahe; ST: Shuitian; TC: Tongcai; WX: Wangxia. The same as below

### 1.2 试验方法

**1.2.1 DNA 的提取** 采用改良的 CTAB 法提取针叶 DNA, 用 TE 溶解 DNA, 用 1% 琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测 DNA 质量和浓度, 并最终将各样品浓度稀释至 50 ng/μL, -20 °C 保存备用。

**1.2.2 SSR 引物筛选** 所用 SSR 引物是根据广西林科院松树课题组对马尾松基因组 DNA 测序所得基因组 DNA 序列而设计开发的, 共开发 127 对。利用地理位置较远的 4 个海南霸王岭南亚松个体和 3 个广西防城的南亚松个体样品 DNA 对 127 对引物进行 PCR 扩增, 筛选出有目的条带和条带清晰的引

物;然后再用霸王岭不同居群的南亚松 DNA 样品对初选引物进行复筛,选取 12 对具有多态性的 SSR 引物用于本试验。

**1.2.3 PCR 扩增** SSR 反应体系为 10  $\mu\text{L}$ ,包括 DNA(50 ng/ $\mu\text{L}$ )0.8  $\mu\text{L}$ 、 $10 \times$  buffer(含  $\text{Mg}^{2+}$ )1.2  $\mu\text{L}$ 、4.0 mmol/L dNTP 0.2  $\mu\text{L}$ 、30  $\mu\text{mol/L}$  上下引物各 0.5  $\mu\text{L}$ 、DNA 聚合酶(2 U/ $\mu\text{L}$ )0.15  $\mu\text{L}$ ,加去离子水至 10  $\mu\text{L}$ 。SSR 反应程序:94  $^{\circ}\text{C}$  预变性 5 min;95  $^{\circ}\text{C}$  变性 50 s,复性退火温度 58  $^{\circ}\text{C}$  40 s,72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 45 s,循环 30 次;72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 10 min。PCR 反应在 Biometra Tprofessional PCR 仪上进行。

**1.2.4 聚丙烯酰胺凝胶电泳 (PAGE)** PCR 反应结束后加 2.5  $\mu\text{L}$   $6 \times$  loading buffer 混合,取 1  $\mu\text{L}$  扩增产物在 6% 的聚丙烯酰胺凝胶分离,电压为 200 V,电极缓冲液为  $1 \times$  TBE,电泳在 Bio-Rad 300 型电泳仪 (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA) 上进行,参照 Y. M. Charters 等<sup>[20]</sup>的方法银染显色。在胶片灯下拍照记录。

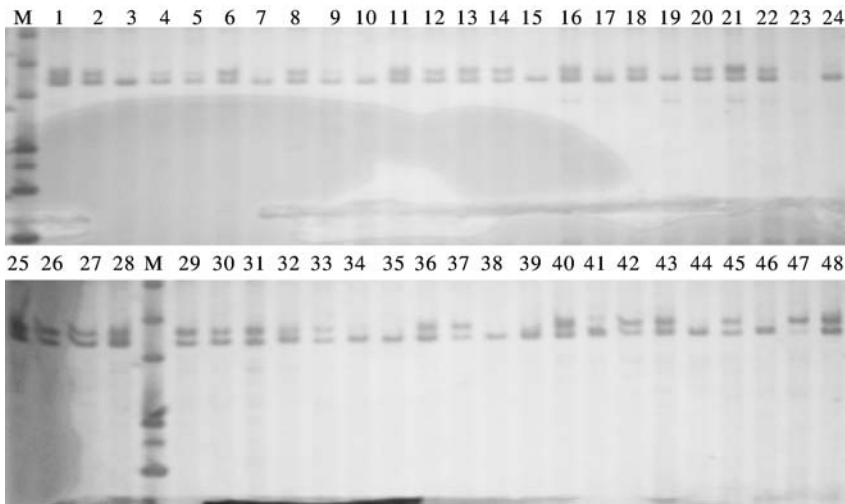
**1.2.5 数据统计及遗传参数计算** SSR 为共显性

标记,每个引物作为一个等位 SSR 标记位点,将图片上条带大小以 A、B、C、D、E...进行编号,之后以 AA、AB、BB 的格式进行统计输入 Excel 表。采用 POPGENE32 软件<sup>[21]</sup>进行分析,统计参数包括:计算群体间和群体内的观察等位基因数目 ( $N_o$ )、有效等位基因数目 ( $N_e$ )、观察杂合度 ( $H_o$ ) 和平均期望杂合度 ( $H_e$ )、Shannon 多样性指数 ( $I$ )、Nei's 期望杂合度 Nei's、遗传距离 ( $D$ )、基因分化系数 ( $F_{st}$ ) 和基因流 ( $N_m$ ) 等。根据 POPGENE32 软件分析得到的遗传距离,用 NTSYSpc 2.10e 软件获得的遗传距离矩阵,利用 UPGMA 方法进行聚类分析,并构建聚类图。

## 2 结果与分析

### 2.1 SSR 引物的筛选

从马尾松中开发的 127 对 SSR 引物中初步筛选 76 对有目的条带、扩增清晰的引物。之后再利用本试验不同居群的材料进行复选,其中 25 对引物在 南亚松中具有多态性,最后从中选取 12 对多态性较好的引物用于本试验,部分扩增结果如图 1 所示。



M: Marker DL 500; 1 ~ 48: 试验材料编号

M: Marker DL 500, 1 - 48: Codes of the materials

图 1 PF713 引物对南亚松扩增的 SSR 图谱

Fig. 1 SSR profile amplified by primer PF713 in *Pinus latteri* Mason

### 2.2 居群间的遗传多样性

使用 12 对 SSR 引物在海南霸王岭南亚松 6 个群落分布的 12 个居群共 350 个体进行 PCR 扩增,共检测到 38 个等位位点,平均 3.17 个等位位点,多态率为 100%,其中引物 PF693 和 PF713 最多,为 5 个。由表 2 可以看出遗传多样性在各群体间存在一定差异。12 个居群中,观察等位基因数 ( $N_o$ ) 的变化幅度为 1.8333 ~ 2.6667,其中最大的为 HS1 居群,其次是 TC 居群,最小的是 NCH1 居群。有效等位

基因数 ( $N_e$ ) 的变幅在 1.5974 ~ 2.0482 之间,其中 DL3 居群最大,最小为 NCH1 居群。观察杂合度 ( $H_o$ ) 变幅为 0.1933 ~ 0.4697,其中最大为 NCH2 居群,最小为 TC 居群。期望杂合度 ( $H_e$ ) 变幅相对较小,在 0.3320 ~ 0.4960 之间,其中最大为 TC 居群,其次为 DL3 居群,最小为 NCH1。Shannon 信息指数相对变幅在 0.4707 ~ 0.7384,其中 TC 居群最大,其次是 DL3 居群,最小为 NCH1 居群。说明 TC 和 DL3 两个居群的基因多样性比较高。

表 2 霸王岭南亚松居群内的 SSR 遗传多样性参数

Table 2 The parameters of genetic diversity on SSR locus in populations of *Pinus latteri* Mason

居群 Population	观察等位基因数 $N_a$	有效等位基因数 $N_e$	观察杂合度 $H_o$	期望杂合度 $H_e$	Shannon 信息指数 $I$
HS1	2.6667 ± 1.0731	1.7721 ± 0.4039	0.4263 ± 0.3194	0.4052 ± 0.1837	0.6409 ± 0.3014
HS2	2.3333 ± 0.9847	1.6741 ± 0.4574	0.4594 ± 0.3540	0.3599 ± 0.2071	0.5527 ± 0.3173
HS3	2.0833 ± 0.5149	1.8384 ± 0.3222	0.2425 ± 0.3067	0.4396 ± 0.1539	0.6242 ± 0.2147
ST1	2.3636 ± 0.8090	1.6658 ± 0.3644	0.4456 ± 0.3534	0.3804 ± 0.1708	0.5686 ± 0.2235
ST2	2.3333 ± 0.6513	1.8771 ± 0.4731	0.3437 ± 0.2988	0.4388 ± 0.1669	0.6656 ± 0.2684
DL1	2.1667 ± 0.7177	1.7425 ± 0.3404	0.3936 ± 0.3428	0.4067 ± 0.1558	0.5971 ± 0.2263
DL2	2.3330 ± 0.7785	1.9007 ± 0.3026	0.2192 ± 0.2851	0.4610 ± 0.1480	0.6653 ± 0.2209
DL3	2.3330 ± 0.8876	2.0482 ± 0.5036	0.2276 ± 0.3015	0.4864 ± 0.1745	0.7231 ± 0.3067
NCH1	1.8333 ± 0.3892	1.5974 ± 0.4161	0.4695 ± 0.4232	0.3320 ± 0.2107	0.4707 ± 0.2816
NCH2	2.1667 ± 0.5774	1.6223 ± 0.4219	0.4697 ± 0.4075	0.3486 ± 0.1743	0.5249 ± 0.2289
WX	2.4167 ± 0.5149	1.9519 ± 0.3751	0.2375 ± 0.2720	0.4737 ± 0.1337	0.7072 ± 0.2071
TC	2.5833 ± 0.7930	1.9943 ± 0.3302	0.1933 ± 0.2444	0.4960 ± 0.1171	0.7384 ± 0.1877
平均 Mean	2.3011	1.8071	0.3440	0.4190	0.6232
种内水平 Species level	3.1667 ± 1.1934	1.8492 ± 0.2464	0.3371 ± 0.2200	0.4511 ± 0.0730	0.7142 ± 0.1376

$N_a$ : Observed number of alleles,  $N_e$ : Effective number of alleles,  $H_o$ : Observed heterozygosity,  $H_e$ : Expected heterozygosity,  $I$ : Shannon's information index

### 2.3 不同群落间的遗传多样性

霸王岭南亚松 12 个居群分别来自洪水 (HS)、水田 (ST)、东六 (DL)、南叉河 (NCH)、王下 (WX) 及桐才 (TC) 6 个群落, 从 6 个群落的遗传多样性参数 (表 3) 可以看出, 观察等位基因数 ( $N_a$ ) 最大的为 HS 群落, 最小的为 NCH 群落, 观察杂合度 ( $H_o$ ) 和期望杂合度 ( $H_e$ ) 分别介于 0.1933 ~ 0.4679、0.4150 ~ 0.5321 之间, 最高都为 NCH 群落, 最低分别为 TC 居群落和 ST 群落。有效等位基因数 ( $N_e$ ) 的顺序为 TC 群落 > WX

群落 > DL 群落 > HS 群落 > ST 群落 > NCH 群落。Shannon 信息指数 ( $I$ ) 和 Nei's 期望杂合度分别介于 0.5225 ~ 0.7384、0.3451 ~ 0.4819 之间, 两个多态性指标排名一致为 TC 群落 > WX 群落 > DL 群落 > HS 群落 > ST 群落 > NCH 群落。综合以上各群落的遗传多样指数可知, 有 3 个指标排名一致, 3 个指标存在一些排名的差异, 总体上各遗传多样性水平从高到低为 TC 群落 > WX 群落 > DL 群落 > HS 群落 > ST 群落 > NCH 群落。

表 3 不同群落南亚松遗传多样性参数统计

Table 3 Statistics of genetic diversity parameters in different communities of *Pinus latteri* Mason

群落 Community	样本数 No. of samples	观察等位基因数 $N_a$	有效等位基因数 $N_e$	观察杂合度 $H_o$	期望杂合度 $H_e$	Shannon 信息指数 $I$	Nei's 期望杂合度 Nei's
洪水 HS	89	2.7500 ± 0.9653	1.7940 ± 0.2775	0.3624 ± 0.2452	0.4317 ± 0.0967	0.6744 ± 0.1570	0.4291 ± 0.0962
水田 ST	61	2.5833 ± 0.7930	1.7799 ± 0.3691	0.3919 ± 0.2989	0.4150 ± 0.1492	0.6421 ± 0.2136	0.4106 ± 0.1476
东六 DL	86	2.6667 ± 1.1547	1.9045 ± 0.3159	0.2836 ± 0.2844	0.4561 ± 0.1472	0.6907 ± 0.2428	0.4533 ± 0.1463
南叉河 NCH	56	2.1667 ± 0.5774	1.6154 ± 0.3847	0.4679 ± 0.3889	0.5321 ± 0.3889	0.5225 ± 0.2175	0.3451 ± 0.1671
王下 WX	31	2.4167 ± 0.5149	1.9519 ± 0.3751	0.2375 ± 0.2720	0.4737 ± 0.1337	0.7072 ± 0.2071	0.4656 ± 0.1313
桐才 TC	27	2.5833 ± 0.7930	1.9943 ± 0.3302	0.1933 ± 0.2444	0.4960 ± 0.1171	0.7384 ± 0.1877	0.4819 ± 0.1138
平均 Mean		2.5278	1.840	0.3228	0.4674	0.6626	0.4309

### 2.4 居群的遗传分化

南亚松居群在 12 个 SSR 位点的遗传分化结果见

表 4。6 个群落的遗传分化系数 ( $F_{st}$ ) 的变化范围为 0.0005 ~ 0.1747, 平均 0.0628, 即有 6.28% 的遗传变

异存在于群落间,绝大部分变异(93.27%)存在于群落内,说明6个群落间没有发生遗传分化,即群落内的变异大于群落间,群落间分化很小。说明群落内变异是导致南亚松遗传多样性的主要来源,以 $F_{st}$ 值为基础计算得南亚松群体间的基因流动( $N_m$ )在1.1812~456.7794之间,平均为45.9668,说明小范围的居群间存在比较充分的基因交流(表4)。 $F_{it}$ 和 $F_{is}$ 分别代表总体水平和单个居群内个体间近亲交配的指标即偏离哈迪-温伯格平衡的程度。南亚松居群的平均 $F_{it}$ 值为-0.4549,平均 $F_{is}$ 值为-0.5445。

## 2.5 群落间遗传相似系数和聚类分析

从表5可以看出,南亚松各群落间的遗传相似系数在0.8928~0.9907之间,其中遗传相似度最高的为HS和ST群落,其次为TC和WX群落,最小(即遗传距离最大)为TC和NCH群落。以遗传相似性系数,利用非加权算术平均聚类法(UPGMA)对6个群落进行聚类分析。从树状图可以看出(图2),在遗传距离0.082处可将南亚松分为2类,洪水、水田、东六、南叉河归为第I类,桐才和王下归为第II类。结果表明,聚类结果与各群落间的地理分布有关。

表5 群落间的遗传相似度和遗传距离

Table 5 Genetics similarity and genetic distance of different communities

群落 Community	洪水 HS	水田 ST	东六 DL	南叉河 NCH	王下 WX	桐才 TC
洪水 HS	1	0.9907	0.9622	0.9692	0.9639	0.9511
水田 ST	0.0093	1	0.9345	0.9560	0.9489	0.9329
东六 DL	0.0385	0.0677	1	0.9614	0.9281	0.9252
南叉河 NCH	0.0313	0.0450	0.0394	1	0.9017	0.8928
王下 WX	0.0368	0.0525	0.0747	0.1034	1	0.9861
桐才 TC	0.0502	0.0695	0.0777	0.1134	0.0140	1

右上角为遗传相似度,右下角为遗传距离

The upper right corner of genetic similarity and the lower right corner of the genetic distance

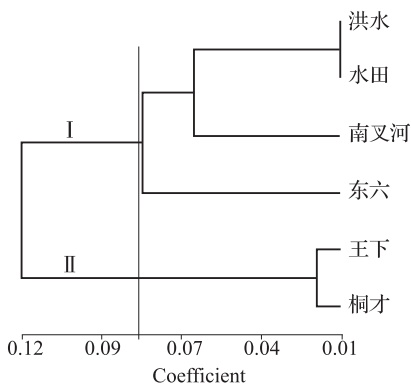


图2 群落间UPGMA聚类分析图

Fig. 2 Cluster analysis of different communities using UPGMA method

表4 南亚松居群的F统计量和基因流动

Table 4 The F-statistic and gene flow of the *Pinus latteri* Mason populations

位点 Locus	群体内基因多样性 $F_{is}$	总基因多样性 $F_{it}$	遗传分化系数 $F_{st}$	基因流动 $N_m$
PF683	-0.5392	-0.2703	0.1747	1.1812
PF693	-0.3862	-0.2994	0.0626	3.7465
PF695	-0.9585	-0.9575	0.0005	456.7794
PF705	-0.2411	-0.1031	0.1112	1.9979
PF713	-0.3627	-0.2706	0.0676	3.4495
PF717	-0.8275	-0.8093	0.0099	24.9104
PF737	-0.6985	-0.6829	0.0092	26.9727
PF760	-0.1519	-0.0501	0.0884	2.5765
PF766	-0.7239	-0.6953	0.0166	14.8243
PF790	-0.7149	-0.6509	0.0373	6.4506
PF786	-0.4361	-0.3879	0.0336	7.1946
PF801	-0.4931	-0.282	0.1414	1.5181
平均 Mean	-0.5445	-0.4549	0.0628	45.9668

$F_{is}$ : Genetic diversity within populations,  $F_{it}$ : The total genetic diversity,  $F_{st}$ : Coefficient of genetic differentiation,  $N_m$ : Gene flow

## 3 讨论

一个物种的遗传多样性是其对适应环境及其被改造和利用潜力的表现。物种的遗传多样性确定着一个物种的分布范围和群体的大小,一个物种遗传多样性水平的高低受自然选择、地理分布范围、繁育系统、种子传播机制、气候条件等许多因素的影响<sup>[22-23]</sup>。确定南亚松多样性是对南亚松种质资源进行收集利用的重要研究内容,但由于南亚松在我国分布面积较小,且多为散生,目前对南亚松群体遗传多样性研究的报道较少。因此有必要对我国唯一一片南亚松天然林的遗传多样性进行研究,来填补



南亚松遗传多样性方面研究的空白。

本研究利用 12 对 SSR 引物对海南霸王岭南亚松的 6 个主要分布群落进行分析发现,海南霸王岭南亚松不同群落间的观察等位基因数在 2.1667 ~ 2.7500 之间,平均值为 2.5278;观察杂合度和期望杂合度分别介于 0.1933 ~ 0.4679、0.4150 ~ 0.5321 之间,平均值分别为 0.3228 和 0.4674。这一结果比 M. A. Al-Rabab'ah 等<sup>[24]</sup>研究火炬松的观察等位基因数(平均 7.75)、观察杂合度(平均 0.5205)、期望杂合度(平均 0.6525);M. Mehes 等<sup>[25]</sup>研究白松的观察等位基因数(平均 6.5)、观察杂合度(平均 0.717)、期望杂合度(平均 0.8055);程程<sup>[26]</sup>研究白松的观察等位基因数(8 ~ 20)、观察杂合度(0.3689 ~ 0.5852)、期望杂合度(0.5612 ~ 0.742)及辐射松<sup>[27]</sup>观察等位基因数(8.19)、观察杂合度(0.734)的结果均较低。与王鹏良<sup>[28]</sup>研究马尾松的观察等位基因数(2.663)、观察杂合度(0.5208)、期望杂合度(0.4786)结果以及 D. Kawase 等<sup>[29]</sup>研究日本金松的结果相近。南亚松的有效等位基因数要比北美短叶松<sup>[30]</sup>的高。南亚松的 Shannon 信息指数和 Nei's 期望杂合度分别在 0.5225 ~ 0.7384、0.3451 ~ 0.4819,平均值分别为 0.6626 和 0.4309,比赵罕等<sup>[30]</sup>研究的白皮松,北美短叶松<sup>[31]</sup>、油松<sup>[32]</sup>结果要高。总体分析霸王岭南亚松的遗传多样性水平相对较低。虽然南亚松为风媒授粉植物,每年都结出不少球果和种实,但由于台风、动物、自然种子萌发率低等原因,形成实生苗的机率较小,导致目前南亚松天然林老龄化<sup>[6]</sup>,加上南亚松地理分布范围非常狭窄,群体数量不断下降,自然更新较慢,另外对南亚松的采脂,一定程度影响了树体营养生长和生殖发育降低,这可能是导致霸王岭南亚松遗传多样性相对较低的主要原因。

遗传分化系数表示种群间的遗传变异程度。S. Weight<sup>[33]</sup>提出当遗传分化系数  $F_{st}$  值在  $0.050 < F_{st} < 0.150$  时为中度分化; $F_{st} < 0.050$  时为低度分化, $F_{st} > 0.25$  则群体间的遗传差异很大。本研究中南亚松 6 个群落  $F_{st}$  平均值为 0.0628,属于中度分化,说明霸王岭南亚松群落间基因交流较低,群落间只存在 6.28% 的基因交流,而 93.72% 的交流存在于群落内部。虽然南亚松群落的基因交流主要在群落内部,但从本研究的  $N_m$  值表明,南亚松在相对狭小的分布区内存在着活跃的基因交流,本研究南亚松的遗传分化系数(0.0628)要明显低于虞泓等<sup>[34]</sup>研究的云南松、高山松和思茅松各自遗传分化系数 0.134、0.112、0.093,说明南亚松的群落间遗传变异低,这也说明了南亚松在地理分布上范

围狭窄,生态环境较为一致。

本研究根据 6 个群落的 Nei's 遗传距离,采用 UPGMA 方法进行聚类,结果显示洪水、东六、水田和南叉河聚为一类,王下和桐才聚为一类,由于霸王岭林区南亚松分布区域被雅加大岭山脉(主峰海拔 1105 m),而南亚松分布在海拔 100 ~ 1200 m,主要分布在 500 ~ 900 m<sup>[6]</sup>,而王下和桐才正好与其他群落分别分布在雅加大岭两侧,虽然东六和王下群落地理位置较近,但由于有天然隔离,因此居群间基因交流较小,而大岭每侧的群落间没有天然隔离,地理距离又相对较近,使它们之间产生较频繁的基因交流,从而使洪水、东六、水田和南叉河之间的遗传关系较近,这也进一步说明地理上的隔离应该是造成南亚松多样性和遗传分化的主要原因之一,与赵罕等<sup>[30]</sup>结果一致。

南亚松是我国南方优良的用材林松类树种,了解南亚松遗传多样性水平和遗传变异空间是科学对待南亚松基因资源进行保护的重要依据,另外保护较高的南亚松遗传多样性水平是保证南亚松物种稳定和增强自然进化潜力的前提。本研究表明,霸王岭南亚松遗传多样性主要存在于群落内,因此应加大人为进行群落间的种子交换来增加南亚松的遗传多样性。研究表明,洪水这一带具有较高的遗传多样性,应是霸王岭南亚松的中心地带,应加强对这一区域资源较全面的保护。对于南叉河、水田和王下的保护时应从群落、居群及个体 3 个层面进行保护,在分类和遗传上具有特殊地位的群落(如王下与东六只有一山之隔,但遗传多样性等方面差别很大),优良林分及个别性状特别突出的个体(如高产脂、速生、抗逆等)等方面的资源进行异地保存和适当的原地保存,为今后南亚松选育和品种改良提供重要种质资源。

致谢:在海南霸王岭南亚松天然林调查和采样过程中,得到了霸王岭林业局的大力帮助,在此一并表示感谢!

#### 参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志:第七卷[M]. 北京:科学出版社,1978:260-263
- [2] 陈焕镛. 海南植物志:第一卷[M]. 北京:科学出版社,1964:211-212
- [3] 广东省林业科学研究所. 海南主要经济树木[M]. 北京:农业出版社,1964:46-51
- [4] 中国植被编辑委员会. 中国植被[M]. 北京:科学出版社,1980:247-249
- [5] 黄清麟,陈永富,杨秀森. 海南霸王岭林区南亚松天然林乔木层结构特征研究[J]. 林业科学研究,2002,15(6):741-745

- [6] 黄运峰,杨小波,党金玲,等.海南霸王岭南亚松种群结构与分布格局[J].福建林业科技,2009,36(2):1-6
- [7] 马文秀. 南亚松松脂二元树脂酸鉴定及含量测定[J]. 南京林产工业学院学报,1988(4):93-99
- [8] 张梦琴,邓昭成. 南亚松产脂力的研究[J]. 林产化学与工业,1990,10(1):29-37
- [9] 张梦琴,邓昭成. 南亚松木材树脂道的扫描电镜观察初报[J]. 南京林产工业学院学报,1983(3):147-149
- [10] 邓昭成. 南亚松树基地建设及松脂生产经营管理[J]. 林产化学与工业,1993,13(S):84-86
- [11] 栗子安,梁志勤,秦文龙,等. 中国松香、松节油主要化学组成的研究[J]. 林业科学,1980(3):214-220
- [12] 陶辉光. 南亚松造林技术研究[J]. 海南林业科技,1991(2):13-16
- [13] Buckley B M, Watanasak M, D'Arrigo R, et al. Dendrochronological investigations in Thailand[J]. IAWA Journal, 1995, 16(4):393-409
- [14] Lange W, Weissmann G. Study on the oleoresin of *Pinus tonkinensis* from Hainan[J]. Holz als Roh-und werkstoff, 1987, 45(7):285-288
- [15] Xue L, Lie G W, Lu G G, et al. Allometric scaling among tree components in *Pinus massoniana* stands with different sites[J]. Ecol Res, 2013, 28:327-333
- [16] Shannon K D, Maureen F N, Philippe M, et al. Signatures of adaptation and genetic structure among the mainland populations of *Pinus radiata* (D. Don) inferred from SNP loci[J]. Tree Genet Genomes, 2013, 9(6):1447-1463
- [17] Vikram E C, Thomas D B, David B N, et al. Genetic structure and association mapping of adaptive and selective traits in the east Texas loblolly pine (*Pinus taeda* L.) breeding populations[J]. Tree Genet Genomes, 2013, 9:1161-1178
- [18] 许玉兰,蔡年辉,康向阳,等. 云南松种质资源遗传多样性研究概况[J]. 植物遗传资源学报,2011,12(6):982-985
- [19] 杜荣骞. 生物统计学[M]. 北京:高等教育出版社,1990:10-23
- [20] Charters Y M, Wilkinson M J. The use of self-pollinated progenies as 'in-groups' for the genetic characterization of cocoa germplasm[J]. Theor Appl Genet, 2000, 100:160-166
- [21] Yeh F C, Yang R C, Boyle T B, et al. POPGENE, The user-friendly shareware for population genetic analysis[D]. Canada; University of Alberta, 1997
- [22] Hoch P C, Stephnon A G. Experimental and molecular approaches to plant biosystematics[M]. St Louis; Missouri Botanical Garden, 1995:215-232
- [23] Forcioli D. Distribution of chloroplast DNA diversity within and among populations inferred from AFLP markers[J]. Mol Ecol, 1998, 7:975-982
- [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(1-3):263-271
- [25] Mehes M, Nkongolo, K K, Michael P. 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
- [26] 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, 2008
- [27] 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(1):167-175
- [28] 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
- [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, 101(1):292-297
- [30] 赵罕,郑勇奇,李斌,等. 白皮松天然群体遗传结构的地理变异分析[J]. 植物遗传资源学报,2013,14(3):395-401
- [31] 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
- [32] 李明,王树香,高宝嘉. 油松天然次生林居群遗传多样性及与产地地理气候因子的关联分析[J]. 生态学报,2013,33(12):3602-3610
- [33] Weight S. Evolution and the genetics of population variability within and among natural population[D]. Chicago, USA; University of Chicago Press, 1987
- [34] 虞泓,葛颂,黄瑞复,等. 云南松及其近缘种的遗传变异与亲缘关系[J]. 植物学报,2000,42(1):107-110