

白檀自然居群遗传结构与遗传多样性研究

刘 强¹, 尹 翔¹, 杨 艳², 陈景震², 蒋丽娟¹

(¹中南林业科技大学生命科学与技术学院, 长沙 410004; ²湖南省林业科学院, 长沙 410004)

摘要:采用 ISSR 分子标记技术分析湖南省 5 个地区 6 个居群白檀的遗传多样性水平和遗传结构。结果表明, 9 条 ISSR 引物对 6 个居群的 149 份白檀样品 PCR 扩增检测到 122 个扩增位点, 其中多态性位点 113 个, 多态性比率高达 92.62%。Nei's 基因多样性指数 (H_e) 为 0.3264, Shannon 多样性指数 (I) 为 0.4873, 居群之间产生较大的遗传变异 ($G_{st} = 0.5215$, $N_m = 0.4588$), AMOVA 分子差异分析表明白檀居群间遗传分化程度高, 51.07% 的变异存在于居群间, 48.93% 的变异存在于居群内; UPGMA 聚类分析将 6 个白檀居群分为 3 大类: 大围山和龙山居群为一类, 岳阳和道县居群组成另一类; 衡山居群单独成一类, 聚类原则跟地理位置不一致, 与海拔高度有一定的相关性。

关键词:白檀; ISSR; 自然居群; 遗传多样性

Analysis of Genetic Diversity and Genetic Structure in Natural Populations of *Symplocos paniculata*

LIU Qiang¹, YIN Xiang¹, YANG Yan², CHEN Jing-zhen², JIANG LI-juan¹

(¹College of Life Science & Technology, Central South University of Forestry & Technology, Changsha 410004; ²Forestry Academy of Hunan, Changsha 410004)

Abstract: The genetic diversity and structure of 6 natural populations of *Symplocos paniculata* in Hunan Province from 5 different regions was investigated using inter-simple sequence repeat (ISSR) markers. As a result, 122 loci were identified from the 9 selected primers in 149 individuals of all populations, of which, 113 loci were polymorphic, the percentage of polymorphic bands (P) was high to 92.62%, while Nei's gene diversity (H) and Shannon information index (I) were 0.3264 and 0.4873. The coefficient of gene differentiation (G_{st}) was 0.5215, while gene flow among populations (N_m) was 0.4588. Analysis of molecular variance (AMOVA) demonstrated that the genetic differentiation among populations was relatively high. The component among populations accounts for 51.07% of the total variation, while the component within populations accounts for 48.93%. 6 populations were clustered into 3 groups by the UPGMA cluster analysis, the result showed that Da Wei Shan and Long Shan populations were in the first group, Yue Yang and Dao Xian populations were in another group, and Heng Shan population separated from all the populations in the dendrogram. The geographical distribution was not related to the cluster results, but was mutually related to the geographical elevation.

Key words: *Symplocos paniculata*; ISSR; natural populations; genetic diversity

ISSR (inter-simple sequence repeat) 为简单重复序列扩增, 是近年来发展起来的一类新型分子标记技术^[1], 该分子标记技术具有无需知道任

何靶标序列的微卫星背景信息, 操作技术简单, 只需要微量的 DNA 模板, 不需要预知基因组序列, 检测多态性能力强等优点^[2-4], 因此在植物分

收稿日期: 2014-07-15 修回日期: 2014-08-14 网络出版日期: 2015-06-23

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20150623.0904.006.html>

基金项目: “十二五”科技支撑项目(2014BAC09B01); 长沙市科技计划项目(k1307012-21); 湖南省林业科技计划项目(XLK201456)

第一作者主要从事能源植物培育与利用研究。E-mail: liu.qiangcs@163.com

通信作者: 蒋丽娟, 主要从事能源植物培育与利用研究。E-mail: znljiang2542@163.com

子鉴定^[5]、遗传多样性研究^[6]以及遗传图谱构建^[7]和基因定位^[8]方面都得到了广泛的应用和推广。

白檀(*Symplocos paniculata* (Thunb.) Miq.)为山矾科山矾属落叶灌木或小乔木,广泛分布在东北、华北和华南等地,具有耐干旱、耐瘠薄、根系发达、易繁殖等优点。作为一种含油率较高的油料树种^[9],其果实油富含不饱和脂肪酸,既是高品质食用油^[10],又可以作为工业原料油,更被认为是制取生物柴油的理想原料^[11],而且分布广泛,生态经济栽培潜力大。目前对野生白檀的研究报导极少,杨艳等^[12]、尹翔等^[13]对野生白檀居群资源的分布、物候期和形态差异做过系统的研究,但对白檀资源遗传多样性还没见研究报道。为了解白檀资源的适应性及遗传特点,本研究对湖南地区白檀分布较集中的6个野生居群遗传多样性进行 ISSR 分析,从分子水平上了解白檀自然变异程度及遗传多样性,为油用白檀优良资源筛选、保护及引种驯化栽培提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

通过广泛的野外资源调查,根据白檀分布生境特点、植物的形态特征,划分6个天然野生居群,分布在湘东(浏阳大围山)、湘中(南岳衡山)、湘南(永州道县)、湘北(岳阳君山)、湘西(龙山县)5个地区,其中大围山不同海拔分布不同形态特征的白檀,故划分为2个居群,每个居群内随机选取长势相同、树龄相仿、健康无病虫害的样株,以保证取样均匀性和一致性,并通过GPS定位并挂牌,确定每个样株间水平距离5倍株高(50 m)以上,海拔高度相差5 m以上,最大限度地降低了样本植株间的亲缘关系。共计采样株149株,采取白檀新生嫩叶,随即用锡箔纸包裹密封,放入液氮罐中保存带回实验室,在-70℃超低温冰箱中保存备用。各白檀居群的分布和基本特点见表1和图1。

1.2 试验方法

1.2.1 基因组总DNA的提取 取保存的样品1 g,加入液氮充分碾磨,直至样品成为白绿色粉末,采用改良CTAB法^[14]提取白檀基因组DNA,提取物用100 μL去离子水溶解,紫外分光光度计测定DNA的浓度和纯度,并用1.0%的琼脂糖凝胶电泳检测其完整性,-20℃保存备用。

表1 不同白檀居群特点

Table 1 The characteristics of different populations of *Symplocos paniculata*

居群代号 Popula- tion ID	居群 Population	采样数目 Sample size	平均 海拔(m) Altitude	经度 (E) Longitude	纬度 (N) Latitude
DWSA	浏阳大围山A区	21	1550	114°09'	28°25'
DWSB	浏阳大围山B区	25	1263	114°08'	28°26'
XXLS	湘西龙山	28	1402	109°10'	28°44'
HYHS	衡阳衡山	26	650	112°42'	27°15'
YYJS	岳阳君山	30	80	113°06'	29°22'
YZDX	永州道县	19	100	111°46'	25°24'

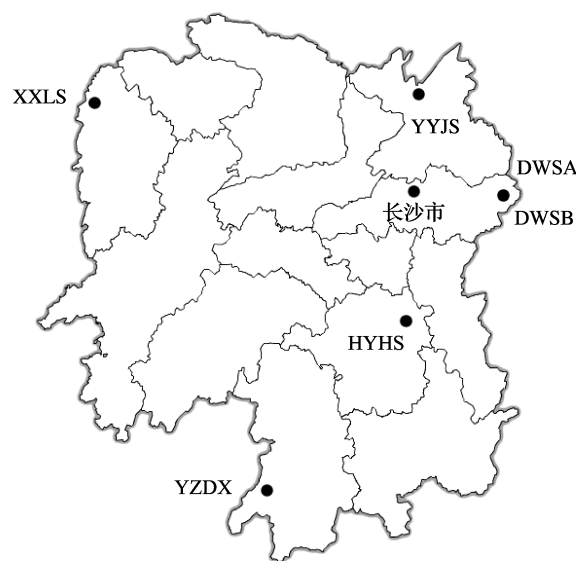


图1 湖南6个白檀野生居群的地理分布图

Fig. 1 The geographic distributions of six natural populations of *Symplocos paniculata* in Hunan

1.2.2 引物筛选与PCR扩增 对100个ISSR引物进行筛选,从中选取扩增条带清晰,重复性较好的9条引物(表2)用于PCR扩增,扩增反应在AB2720 PCR扩增仪上进行,通过正交和单因素实验确定最优的扩增条件,20 μL的反应体系包括有:DNA模板80 ng, Mg²⁺ 3 mmol/L, dNTPs 0.2 mmol/L(1.6 μL),引物0.5 μmol/L(1 μL), Taq DNA聚合酶1.25 U(0.5 μL), 10 × Buffer (Mg²⁺ free) 2 μL,最后用灭菌的ddH₂O(10.9 μL)补足至20 μL。反应程序为:94℃预变性4min;94℃变性30 s,退火温度48~54℃,时间45 s,72℃延伸90 s,30个循环;72℃延伸7 min,4℃保存。

1.2.3 PCR 产物检测 扩增产物以 1.5% 的琼脂糖凝胶(含 0.5 mg/LEB)电泳(0.5 × TBE 缓冲液,电压 5V/cm)1.0 ~ 1.5 h,以 DNA Marker-B 作标准分子质量参照物,采用 BOX 凝胶成像系统(SYNGE-NEG)照相并作记录。

1.2.4 电泳结果统计与分析 选择电泳检测分析照片中记录清晰、稳定且长度在 200 ~ 2500 bp 范围内的扩增带,利用 Quantity One. 4.04 软件将有条带的记录为 1,无条带的记录为 0,构成 ISSR 基因型“0/1”型矩阵。根据 Hardy-Weinberg 平衡对原始矩阵进行修正,以保证实验数据的准确性。

遗传多样性分析:根据“0/1”型数据矩阵计算 ISSR-PCR 扩增条带总数、多态性条带的数目和多态性条带的百分率,进一步分析种群的遗传多样性。根据基因频率矩阵,应用 PopGen32 软件在假定居群处于 Hardy-Weinberg 平衡状态下,分别计算多态性位点百分率(PPL)、有效等位基因数(Ae)、 Nei 's 基因多样性指数(He)和 $Shannon$ 信息指数(I)等指标,从不同层次来反应各个居群的遗传多样性水平^[15]。

遗传结构分析:采用 STRUCTURE 2.3.4 对白檀 149 个样株进行遗传结构分析,假定位点都是独立的。MCMC(Markov Chain Monte Carlo)开始时不作数迭代(length of burn-in period)设为 10000 次,将不作数迭代后的 MCMC 设为 10000 次。再将组群(population genetic cluster)数目 K 范围设定为 2 ~ 10,每次评价 K 值运行 20 次。设定 K 值后,根据每次测试过程中软件计算出的后验概率(posterior

probability) $LnP(D)$ 计算 ΔK 值。 ΔK 为 $|L''(K)|$ 的平均数除以 $L(K)$ 的标准差,其中, $L'(K) = L(K) - L(K-1)$, $|L''(K)| = |L'(K+1) - L'(K)|$, $L(K)$ 即为 STRUCTURE 软件运行结果中的 $LnP(D)$ 。绘制 ΔK 散点曲线图,则曲线上明显拐点对应的 K 值为最合理的组群数目^[16],根据样株 Q 值范围划分不同组群。

遗传分化分析:AMOVA 分子方差分析软件分析白檀居群遗传分化程度,并计算每一个多态性位点总的遗传多样性 Ht 和居群(属、种或地区)内遗传多样性 Hs ,再利用公式 $Ht = Hs + Dst$ 计算居群间遗传多样性 Dst ,居群间的遗传分化以 $Gst = Dst/Ht$ 计算。基因流 $Nm = 0.5(1 - Gst)/Gst$ ^[17]。

遗传聚类分析:利用 PopGen32 计算各居群间的 Nei 's 遗传一致度和遗传距离,并对各居群进行 UPGMA 法聚类分析(unweighted pair-group method arithmetic averages),根据计算结果和聚类分析图评价各种群间的遗传分化程度。

2 结果与分析

2.1 白檀居群遗传多样性

利用筛选出的 9 条 ISSR 引物,对 6 个天然白檀居群共 149 份野生白檀基因组总 DNA 样品进行 ISSR-PCR 扩增,共扩增出 122 条可重复的清晰谱带,其中 113 条为多态性谱带,多态性谱带百分率为 92.62%(表 2)。每条引物扩增出的谱带数目不等,为 10 ~ 17 条,其中引物 UBC845 扩增出的谱带稳定、清晰和多态性丰富(图 2),扩增片段长度约在 200 ~ 2500 bp 之间。

表 2 引物序列及位点数

Table 2 Sequence and loci of primers

引物 Primer	序列(5' - 3') Sequence	温度(°C) Temperature	总谱带数 No. of bands	多态性谱带数 No. of polymorphic bands	多态性谱带百分率(%) Percentage of polymorphic bands
UBC815	(CT) ₈ G	52	15	15	100
UBC817	(CA) ₈ A	51	14	12	85.71
UBC824	(TC) ₈ G	52	14	13	92.86
UBC835	(AG) ₈ YC	51	10	8	80
UBC845	(CA) ₈ RC	54	15	15	100
UBC853	(TC) ₈ RG	52	11	10	90.9
UBC862	(AGC) ₆	50	13	12	92.31
UBC873	(GACA) ₄	52	17	15	88.23
UBC879	(CTTCA) ₃	48	13	13	100
平均 Mean			13.5	12.5	92.62

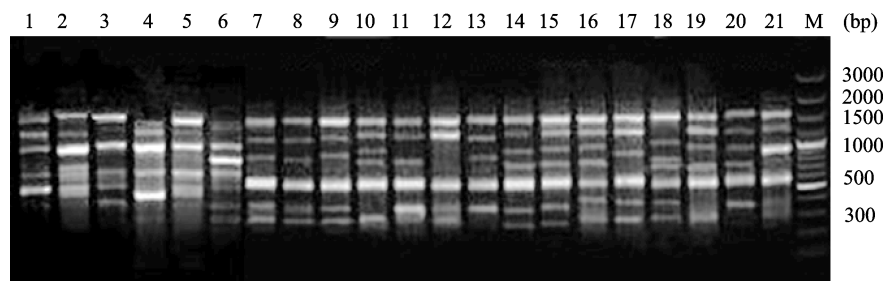


图2 引物 UBC845 对大围山 A 居群的 ISSR 扩增图谱

Fig. 2 The ISSR amplification map of Da Wei Shan A population using primer UBC845

由表 3 可知,白檀各居群多态性谱带百分比 (P)变化范围在 30.97% ~ 64.64% 之间, 高低顺序为大围山 A 区(DWSA) > 大围山 B 区(DWSB) > 永州道县(YZDX) > 岳阳君山(YYJS) > 衡阳衡山(HYHS) > 湘西龙山(XXLS),其中大围山 A 区居群的多态性最高($PPB = 64.64\%$),龙山居群的多态性最低($PPB = 30.97\%$)。白檀物种水平平均 *Shannon* 信息指数为 0.2664,各居群 *Shannon* 信息指数

在 0.1633 ~ 0.3635 之间,高低顺序为大围山 B 区(DWSB) > 大围山 A 区(DWSA) > 岳阳君山(YYJS) > 永州道县(YZDX) > 衡阳衡山(HYHS) > 湘西龙山(XXLS)。白檀物种的群体多态性谱带百分率和 *Shannon* 信息指数分别为 92.62% 和 0.4873,大围山 A 区居群的多态性最为丰富,遗传多样性丰富,适应环境能力最强,而龙山居群遗传多态性较低,对其生存的环境适应能力最弱。

表 3 白檀居群内的遗传多样性

Table 3 Genetic diversity within populations of *Symplocos paniculata*

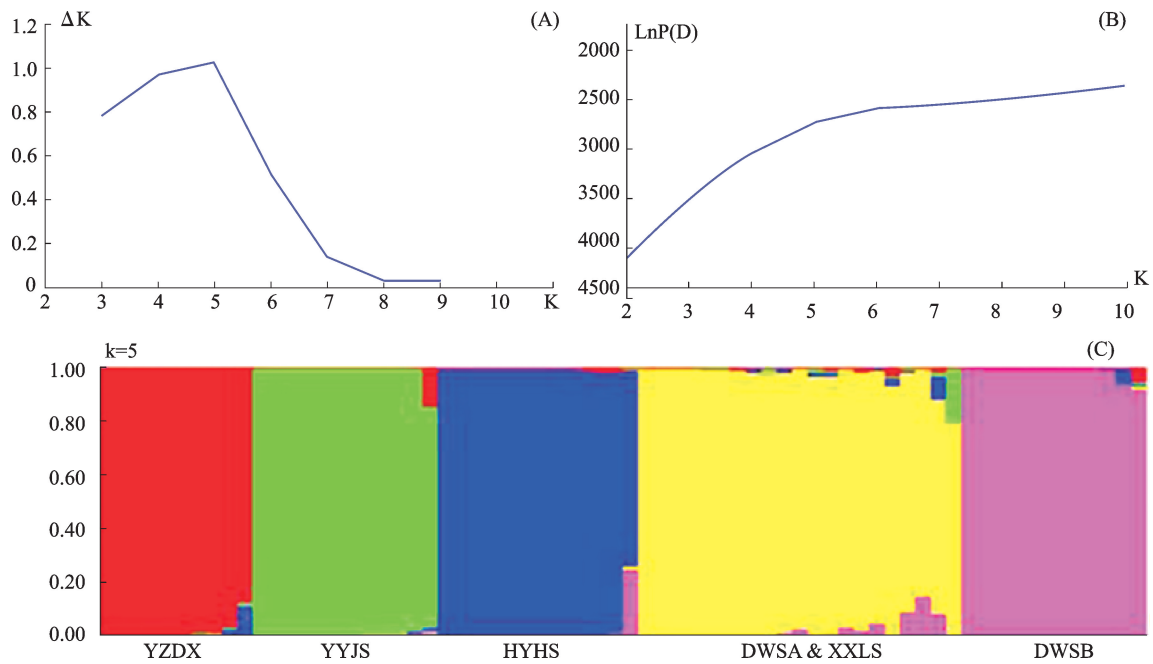
居群 Population	多态性谱带数 No. of polymorphic bands	多态性谱带百分率(%) Percentage of polymorphic bands	有效等位基因数 <i>A_e</i>	<i>Nei's</i> 遗传多样性指数 <i>H_e</i>	<i>Shannon</i> 多样性指数 <i>I</i>
大围山 A 区 DWSA	73	64.64	1.3841	0.2238	0.3348
大围山 B 区 DWSB	72	63.72	1.4400	0.2482	0.3635
湘西龙山 XXLS	35	30.97	1.1960	0.1106	0.1633
衡阳衡山 HYHS	39	34.51	1.2665	0.1445	0.2079
岳阳君山 YYJS	53	46.9	1.3327	0.1879	0.2745
永州道县 YZDX	55	48.67	1.3040	0.1717	0.2544
平均 Mean	54.5	48.22	1.3206	0.1809	0.2664
群体水平 Population level	113	92.62	1.5685	0.3264	0.4873

2.2 白檀居群间遗传结构

应用 Structure 2.3.4 遗传分析软件对 149 个白檀样株在假定种群间的基因频率互不关联的情况下进行遗传结构分析(图 3)。依据不同 K 值下最大 $\ln P(D)$ (\log -likelihood values) 值、亚群体划分模式的稳定性和 ΔK 最大变化值所对应的 K 值特征,将白檀居群分成不同的类群。

经过 $\ln P(D)$ 和 ΔK 的数值作图比较,发现当 $K = 5$ 时(图 3-A),出现拐点, ΔK 变化量最大,而此时 $\ln P(D)$ 值在 $K = 5$ 时,似然值趋于稳定(图 3-B),能够

很好的体现白檀居群的遗传结构。由(图 3-C)可知,白檀各居群之间的个体相互渗透或迁移较少,149 个样品遗传结构可分成 5 类,分别以红色、绿色、蓝色、黄色和粉色表示。其中红色区域主要为永州道县种质,蓝色区域主要为衡阳衡山种质,绿色区域主要为岳阳君山种质,紫色区域主要为大围山 B 区种质,黄色区域主要为大围山 A 区和湘西龙山种质。基于模型的遗传机构分析,大围山 A 区与龙山基因渗透较多;其余居群间基因相互渗透较少彼此相互独立,表现出很大程度上的遗传分化。



A: ΔK 值随组群数的变化图; B: $\ln P(D)$ 平均值; C: 白檀 149 株个体遗传结构
 A: Plot of the ΔK on the number of population genetic clusters, B: Plot of mean posterior probability $\ln P(D)$ values, C: The genetic structure of 149 *Symplocos paniculata* individuals

图 3 白檀居群遗传结构图

Fig. 3 The genetic structure of *Symplocos paniculata* populations

2.3 白檀居群遗传分化

居群间的遗传分化分析结果显示(表 4),白檀总基因多样性(H_t)为 0.3064,其中引物 UBC845 反应的多样性水平最高,各个居群之间的基因分化系数(G_{st})为 0.5215,居群间的基因流(N_m)为 0.4588 < 1,则表明居群间基因流动程度较低。揭示了居群

间存在明显的遗传分化,居群内的基因多样性(H_s)为 0.1466,居群间的基因多样性(D_{st})为 0.1598;同时种群分子方差分析显示(表 5)白檀有 51.07% 的遗传变异存在于居群间,而 48.93% 的遗传变异来自于居群内,居群间变异稍大于居群内。进一步验证白檀居群之间具有较大的遗传分化。

表 4 白檀居群的遗传分化系数

Table 4 Coefficient of genetic differentiation for geographic populations of *Symplocos paniculata*

引物 Primer	总基因多样性 H_t	居群内基因多样性 H_s	居群间基因多样性 D_{st}	基因分化系数 G_{st}	基因流 N_m
UBC815	0.3295	0.1899	0.1396	0.4237	0.6800
UBC817	0.3125	0.1502	0.1623	0.5194	0.4627
UBC824	0.3291	0.1298	0.1993	0.6055	0.3257
UBC835	0.3518	0.1964	0.1554	0.4417	0.6320
UBC845	0.3893	0.2304	0.1589	0.4081	0.7252
UBC853	0.3289	0.1814	0.1475	0.4484	0.6151
UBC862	0.2128	0.0463	0.1665	0.7824	0.1390
UBC873	0.2557	0.1193	0.1364	0.5334	0.4874
UBC879	0.2480	0.0757	0.1723	0.6947	0.2197
平均值 Mean	0.3064	0.1466	0.1598	0.5215	0.4588

N_m : 基因流; H_t : 物种水平的基因多样性; H_s : 居群内的基因多样性; G_{st} : 基因分化系数; D_{st} : 居群间的遗传多样性

N_m : Estimate of gene flow from G_{st} or G_{cs} , E. g., $N_m = 0.5(1 - G_{st})/G_{st}$; H_t : Genetic diversity of species, H_s : Genetic diversity within populations, G_{st} : Coefficient of gene differentiation, D_{st} : Gene diversity among populations

表 5 白檀种群分子方差分析

Table 5 Analysis of molecular variance (AMOVA) of *Symplocos paniculata* populations

变异来源 Source of variance	自由度 <i>df</i>	方差和 SS	方差组分 Variance component	变异系数(%) Total variation	P 值 <i>P</i> -value
种群间 Among population	5	1291.236	11.1238	51.07	<0.001
种群内 Within population	143	1344.333	10.6576	48.93	<0.001
总和 Total	148	2635.569	21.78141		

2.4 白檀居群聚类分析

6 个不同的白檀天然居群之间的 Nei's 遗传距离范围在 0.08811 ~ 0.65637 之间(表 6), UPGMA 聚类分析可知(图 4), 6 个居群在遗传相似系数 0.456 处大致分为 3 大类, 第 I 大类为大围山 A 区、龙山居群和大围山 B 区居群; 第 II 大类为岳阳君山和永州道县居群; 衡阳衡山居群单独成第 III 大类。基本与 structure 分析结果相符合, 通常地理种源相近的天然居群容易聚为一类, 但是大围山 A 区居群并没有首先和地理位置近的大围山 B 区居群归为

一类, 而是和距离比较远的湘西龙山居群聚在一起, 随后再与大围山 B 区居群聚类, 大围山 A 区与湘西龙山居群之间的亲缘关系最近, 岳阳君山居群也没有和地理距离相近的衡山居群还有大围山居群聚在一起, 而是和最远的永州道县居群亲缘关系最近, 结果表明, 白檀居群聚类位置与地理位置不完全一致, 分析与海拔的相关性发现大围山 A 区与湘西龙山居群海拔相近, 岳阳君山居群和永州道县居群海拔也差异不大, 因此可以推测该聚类结果与海拔高度有一定关系。

表 6 白檀居群间的遗传距离

Table 6 Genetic distance among populations of *Symplocos paniculata*

居群 Population	DWSA	XXLS	HYHS	DWSB	YYJS	YZDX
DWSA	0.00000					
XXLS	0.08811	0.00000				
HYHS	0.56749	0.56457	0.00000			
DWAB	0.32892	0.45723	0.63191	0.00000		
YYJS	0.42669	0.41673	0.65637	0.56349	0.00000	
YZDX	0.46364	0.45022	0.61467	0.46529	0.44437	0.00000

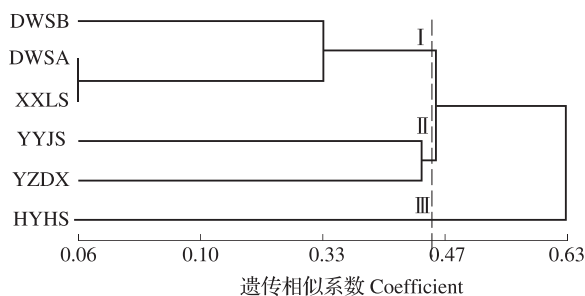


图 4 6 个天然白檀居群的 UPGMA 聚类图

Fig. 4 UPGMA based on the genetic similarity coefficients of six natural populations of *Symplocos paniculata*

3 讨论与结论

3.1 野生白檀居群遗传多样性

居群的遗传多样性水平在相当程度上制约着居

群对环境的适应能力, 因而可预测居群的发展趋势^[18], 多态性位点百分率的高低反应了居群对环境适应能力的强弱, 是评价遗传多样性的重要指标。白檀物种的多态性谱带百分率高达 92.62%, 因为白檀具有非常强的环境适应能力, 属于广布型植物^[19-21], 北至中国东北, 南至印度均有分布, 这可能是白檀遗传多样性丰富的主要原因。而且不同白檀居群多态性谱带百分率也比较高, 都在 30.97% ~ 64.64% 范围之内, 其中大围山 A 区居群的多态性最高 ($PPB = 64.64\%$), 龙山居群的多态性最低 ($PPB = 30.97\%$), 说明大围山 A 区居群的多态性最为丰富, 遗传基础最好, 适应环境能力最强, 而龙山居群由于与别的居群之间基因交流较少对其生存的环境适应能力最弱。在实际调查中我们也观测到同样的现象, 大围山 A 区分布于灌木林, 且畜牧活

动频繁,光照充足而且土壤肥沃,恰好提供白檀良好的生长环境,而龙山地区人为活动多,生境屡遭破坏,零星分布在高大的杉木人工林中,生长条件差,是导致遗传多样性低的主要原因。

3.2 野生白檀居群遗传分化

影响物种的遗传多样性和种群间遗传分化的因素包括种群历史、繁育系统、基因突变、遗传漂变、基因流动、自然选择等^[22],居群间基因流大于 1 能发挥其均质化作用;反之小于 1 则表明基因流成为遗传分化的主要原因,大小适中的基因流不但可以帮助维持居群的稳定,而且在一定程度上增强它们对不断变化环境的适应能力^[23]。AMOVA 分析发现白檀遗传变异在居群内和居群间同时存在,但居群间变异稍大于居群内,居群间的基因流(Nm)为 0.4588 (< 1)说明居群间基因流动程度较低,这与王凤英等^[24]、李超等^[25]研究结果一致,通过分析比较发现,本研究与前两者有一个共同点,就是取样跨度广,地势相差大,生境多样化造成白檀居群间较远隔离、同种植物各个居群空间上的隔离、突变、环境因子造成的选择差异、随机遗传漂变、基因流动的隔离等都能导致居群遗传结构的异质性^[26],从而促进居群的分化自交引起的较低的基因流,是基因流动较贫乏的重要原因。

3.3 野生白檀居群遗传结构

不同白檀天然野生居群进行了 UPGMA 聚类分析结果表明,6 个居群分为 3 大类,第 I 大类为大围山 A 区、龙山居群和大围山 B 区;第 II 大类为岳阳和道县居群;衡山居群单独成第 III 大类,其中大围山 A 区和湘西龙山居群遗传距离最近,基本上 structure 分析结果相似,与范英明等^[27]研究结果相同,白檀居群聚类位置与地理位置不完全一致,而与海拔高度有一定关系,这与秦英英等^[28]研究发现山西省辽东栎群体最先聚为一类的并不是地理距离最近的,反而是距离较远的 2 个群体,与本研究结果相同。前人也发现居群的地理分布和遗传多样性分布没有直接的相关性^[29],这说明,对于白檀来说自然生态条件差异形成的选择压力是引起居群遗传分化的主要因子之一。由于白檀生境海拔的差异,温差也会有所差异从而导致其花期的早晚,使不同海拔白檀居群花粉的传播受到了很大的阻碍,限制了种内居群间的随机交配,居群间的基因流动受阻,遗传分化则会越来越明显。白檀花期时间长雄蕊多枚,果实营养丰富,色泽鲜艳,休眠期长,调查发现当地居民有长期食用白檀油的传统^[30],鸟类的传播和人

为活动迁移,可能是造成同一个海拔居群遗传距离相近的原因。同时发现大围山 B 区生境处于竹林中,其树形经过长期自然选择表现成乔木状,其他地方均是灌木,可以推测不利的环境会使种质基因发生较大变异,产生比较独特的基因型,以后研究可以考虑具体的不同小生境(如气候因子、湿度等)会对其群体遗传多样性带来什么样的不同影响做进一步分析。

3.4 野生白檀居群资源保护和利用策略

白檀具有重要的经济价值,果实可以制取优质的植物油,树干木质细腻,是优良家具用材,保护好天然野生白檀遗传资源,对于利用其遗传资源,新品种选育与引种栽培具有重要意义。本研究发现白檀天然群体具有较高的遗传多样性,特别是浏阳大围山地区的遗传多样性丰富,可能是湖南地区白檀遗传多样性分布中心,应优先对其进行就地保护和重点开发利用。其他各居群间有较大的遗传分化,基因流动低,因此也要注意其他居群迁地保护和利用。近年来当地林业造林或旅游开发造景时,一味的追求树种的单一整齐性,对于白檀生境人为干扰和破坏急剧加重,因此急需制定白檀资源保护策略,尽可能保护和维持天然野生白檀遗传多样性水平,同时可以通过移栽、嫁接和扦插的方法进行有代表性的资源收集,建立种质资源收集圃,并通过分子标记与表型性状分析相结合的方法,对白檀种质资源进行综合分析和评价,为白檀优良品种筛选和选育提供理论参考依据。

参考文献

- [1] Zietkiewicz E. Genome finger printing by simple sequence repeat (SSR) anchored polymerase chain reaction amplification[J]. Genomes, 1994, 20: 176-183
- [2] Esselman E J, Li J Q, Crawford D J, et al. Clonal diversity in the rare *Calamagrostis porteri* ssp. *insperata* (Poaceae): comparative results for allozymes and random amplified polymorphic DNA (RAPD) and inter-simple sequence repeat (ISSR) markers[J]. Mol Ecol, 1999, 8: 443-451
- [3] 张军丽, 王峥峰, 李鸣光, 等. 植物种群研究中的分子标记及其应用[J]. 应用生态学报, 2000, 11(4): 631-636
- [4] 李海生. ISSR 分子标记技术及其在植物遗传多样性分析中的应用[J]. 生物学通报, 2004, 39(2): 19
- [5] 邱英雄, 傅承新, 吴斐捷. 明党参与川明参群体遗传结构及分子鉴定的 ISSR 分析[J]. 中国中药杂志, 2003, 28(7): 598-603
- [6] 葛永奇, 邱英雄, 丁炳扬, 等. 子遗植物银杏群体遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 生物多样性, 2003, 11(4): 276-287
- [7] 刘本英, 王丽鹭, 周健, 等. 云南大叶种茶树种质资源 ISSR 指纹图谱构建及遗传多样性分析[J]. 植物遗传资源学报, 2008, 9(4): 458-464
- [8] 钟然, 李敏, 韩闯, 等. 青菜花种质的 ISSR 分子标记研究[J]. 厦门大学学报: 自然科学版, 2007, 46(6): 842-846

- [9] 刘强,杨艳,尹翔,等. 油料植物白檀果实形态发育过程特性研究[J]. 中国野生植物资源,2012,12(6):53-55,61
- [10] 管正学,朱太平,仇田青. 白檀种子的油脂和氨基酸的分析与利用评价[J]. 中国野生植物资源,1991(2):11-14
- [11] 刘光斌,刘苑秋,黄长干,等. 白檀油的理化性质及其制备生物柴油的研究[J]. 中国粮油学报,2011,26(3):64-67
- [12] 杨艳,蒋丽娟,李昌珠,等. 大围山野生白檀资源调查与分析[J]. 湖南林业科技,2011,38(6):36-38
- [13] 尹翔,杨艳,刘强,等. 油料植物白檀不同居群的物候期与形态多样性[J]. 经济林研究,2012,30(3):55-60
- [14] Stewart C N J, Via L E. A rapid CTAB DNA isolation technique useful for RAPD fingerprinting and other PCR applications[J]. Biol Technol,1993,14:748-751
- [15] Yeh F C, Yang R C, Boyle T. POPGENE version 1.31. Microsoft window-base freeware for population genetic analysis[R]. Alberta:University of Alberta and the Centre for International Forestry Research,1999
- [16] Evanno G, Regnaut S, Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE;a simulation study[J]. Mol Ecol,2005,14:2611-2620
- [17] 马啸,陈仕勇,张新全,等. 老芒麦种质的醇溶蛋白遗传多样性研究[J]. 草业学报,2009,18(3):59-66
- [18] 潘莹,赵桂仿. 分子水平的遗传多样性及其测定方法[J]. 西北植物学报,1998,18(4):645-653
- [19] 徐斌,张方秋,潘文,等. 我国红锥天然群体的遗传多样性和遗传结构[J]. 林业科学,2013,49(10):162-166
- [20] 毕泉鑫,金则新,李钧敏,等. 枫香自然种群遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 植物研究,2010,30(1):120-125
- [21] 李鑫,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
- [22] Nybom H, Bartish I V. Effects of life history traits and sampling strategies on genetic diversity estimates obtained with RAPD markers in plants[J]. Perspect Plant Ecol,2000,3:93-114
- [23] Irwin D E, Bensch S, Irwin J H, et al. Speciation by distance in a ring species[J]. Science,2005,307(5708):414-416
- [24] 王凤英,葛学军,郝刚. 喜马拉雅横断山区钟花报春居群遗传多样性及遗传分化[J]. 热带亚热带植物学报,2005,13(2):149-153
- [25] 李超,罗淑萍,曾斌,等. 新疆核桃种质资源遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 中国农业科学,2011,44(9):1871-1879
- [26] Cozzolino S, Cafasso D, Pellegrino G, et al. Fine-scale phylogeographical analysis of Mediterranean *Anacamptis palustris* (Orchidaceae) populations based on chloroplastm in satellite and microsatellite variation[J]. Mol Ecol,2003,12:2783-2792
- [27] 范英明,张登荣,于大德,等. 河北省华北落叶松天然群体遗传多样性分析[J]. 植物遗传资源学报,2014,15(3):465-471
- [28] 秦英英. 山西省辽东栎群体遗传多样性研究[D]. 北京:北京林业大学,2008
- [29] Hamrick J L, Godt M J W. Allozyme diversity in plant species [C]//Plant Population Genetics, Breeding and Genetic Resources. Sunderland:Sinauer Associates Inc,1990:43-63
- [30] 陈正法,梁称福,肖润林,等. 湖南浏阳市大围山区高等植物类野菜资源特征及其开发利用[J]. 广西植物,2004,24(4):291-296