短柄枹种群在不同群落演替过程中的遗传多样性

顾奇萍^{1,2}, 金则新^{2*}, 李钧敏², 楼文燕³

(1. 西南大学 三峡库区生态环境教育部重点实验室,重庆 400715;2. 台州学院 生态研究所,浙江 临海 317000; 3. 义亭中学, 浙江 义乌 322005)

摘 要:为了解群落演替与种群遗传行为之间的紧密联系,利用 RAPD 技术对处于不同演替阶段 森林群落(针叶林、针阔混交林、常绿阔叶林)中短柄枹种群的遗传多样性进行研究。结果表明:11 个随机引物共扩增出 145 条条带,其中多态条带为 120 条,总的多态位点百分率为 82.76%,平均 多态位点百分率为 64.14%; Shannon 信息指数估算的总遗传多样性为 0.474 7, 平均为 0.364 2。 Nei 指数计算的总基因多样性为 0.323 4,平均为 0.248 4。3 个种群的的遗传多样性大小顺序为针 叶林>针阔混交林>常绿阔叶林。AMOVA 分析结果显示,在总的遗传变异中,30.27%的变异发 生在种群间,69.73%的变异发生在种群内,种群间遗传分化系数(GST)为 0.231 9,基因流(Nm) 为 1.653 9。种群间的遗传相似度平均为 0.850 1,遗传距离平均为 0.162 6,针叶林与针阔混交林中 的短柄槌种群遗传相似度最高。对不同群落的短柄槌种群进行 UPGMA 聚类,在针叶林与针阔混 交林中的短柄枹种群先聚到一起,再与常绿阔叶林中的短柄枹种群相聚,短柄枹种群这种遗传结构 是其本身生物学特性的反映,同时也与群落的微环境密切相关。

关键词:短柄枪;RAPD;遗传多样性;演替

中图分类号:S718.541

文献标识码:A

文章编号:1001-7461(2008)01-0018-05

Genetic Diversity of Quercus serrata var. brevipetiolata Populations at Different Succession Stages

GU Qi-ping^{1,2}, JIN Ze-xin^{2*}, LI Jun-min², LOU Wen-yan³

(1. Key Laboratory of Eco-environments in Three Gorges Reservoir Region's (Ministry of Education), Faculty of Life Sciences, Southwest China University, Chongqing 400715, China; 2. Institute of Ecology, Taizhou University, Linhai, Zhejiang 317000, China; 3. Yitin Middle School, Yiwu, Zhejiang 322005, China)

Abstract: In order to probe into the relationship between population succession and its genetic behaver, RAPD technique (random amplified polymorphic) was used to analyze the genetic diversity and genetic differentiation of Quercus serrata var. brevipetiolata population in three forest communities with different succession stage (coniferous forest, coniferous and broad-leaved mixed forest, evergreen broad-leaved forest). The results showed that: Using 11 random primers, 145 repetitive loci were prodeuced in 60 indivedual of Q. serrata var. brevipetiolata, which 125 loci were ploymorphic. The total percetage of polymorphicloci was 82.76%. The average percentage of polymorhpic loci was 64.14%. Estimated by Shannon information index, the total genetic diversity of three populations were 0.474 7 with an average of 0.364 2, while that was 0.358 7 with an average of 0.326 5 judged from Nei index. Judged from percentage of polymorphic loci and Shannon information index and Nei index, the genetic diversity of coniferous forest community ranked first, followed by broad-leaved mixed forest community, and then evergreen broad-leaved forest. Analysis of molecular variance (AMOVA) showed that 69.73% of genetic variance was found within populations and 20. 27% of genetic variance resided among population. The coefficient of gene differentiation

收稿日期:2007-03-14 修回日期:2007-04-18

基金项目:浙江省自然科学基金项目(Y505331),浙江省教育厅科研计划项目(20040287) 作者简介:顾奇萍(1982—),女,浙江诸暨人,研究生,主要从事植物生态学研究。 *通讯作者:金则新(1960—),男,浙江临海人,教授,主要从事植物生态学研究。

(GST) was 0. 231 9 and the gene flow (N_m) was 1. 653 9. The mean of genetic identity among 3 populations of Schima superba were 0. 850 1 and the mean of genetic distance was 0. 162 6. The genetic identity of Q. serrata var. brevipetiolata population between the coniferous forest community and the coniferous and broad-leaved mixed forest community was the highest. The UPGMA cluster analysis based on Nei's genetic distance showed that coniferous forest community first gathered with coniferous and broad-leaved mixed forest community, and then with evergreen broad-leaved forest community. The genetic structure of Quercus serrata var. brevipetiolata was influenced not only by the biological characteristics of this species, but also by the microenvironment of different communities.

Key words: Quercus serrata var. brevipetiolata; RAPD; genetic diversity; succession

种群的遗传多样性是在长期演化过程中积累起来的,同一物种在不同群落演替阶段种群的发展史是不一样的,早期入侵者在刚刚侵入某一领地时,所面临的是一种生境条件,随着演替的进行,光照、湿度、竞争、植食等一系列因子会发生变化,其后代面临的是另一种环境压力。因此,在不同演替阶段会留下不同的基因型,从而导致各演替阶段种群遗传组成上的差异[1]。比较不同群落间遗传多样性的变化,研究不同生境对物种遗传多样性的影响,这对优势种的保护和退化生态系统的恢复有重要意义。

短柄枹(Quercus glandulifera var. brevipetio-lata)属于壳斗科的落叶乔木,其材质优良,抗压力强,适宜制车架、农具和建筑用材。短柄枹广泛分布于长江流域各省,通常在海拔800 m以上山地,是组成落叶阔叶林的主要树种之一[2]。这种森林群落多分布于水源上游之山区,保护好森林,对保持水土、涵养水源起着重要作用[3]。目前有关短柄枹的研究很少报道,对该种的适应环境的能力和对环境变迁持续进化的潜力缺乏了解,为了了解短柄枹在群落演替过程中对环境的适应能力,有必要对其遗传多样性进行研究。以弥补当前对大多数优势树种遗传多样性于解的不足,在一定程度上指导这一地区的森林经营、植被恢复、生境重建以及资源的综合利用和可持续发展。

目前用于遗传多样性的方法很多,RAPD 技术 具有简便、快速、经济、DNA 用量少、多态性好等特点,使之近年来被国内外广泛应用于植物遗传多样 性和遗传结构的研究中^[4~7]。并且也有研究表明 RAPD 和 AFLP 一样,可以作为可靠的分子标记使 用^[8]。本研究利用 RAPD 技术对分布于浙江省天台 山不同群落演替过程中短柄枹种群的遗传多样性进 行分析,旨在了解群落演替对短柄枹种群遗传多样 性的影响,为深入研究短柄枹对环境的适应能力提 供基础资料。

万方数据

1 材料与方法

1.1 材料

天台山地处亚热带中部,位于 29°09′~29°28′ N、120°50′~121°24′E, 地带性植被是常绿阔叶 林[9]。于2002年5月,根据群落演替的不同阶段,在 天台山石梁景区内选择含有短柄枹的 3 种演替系列 群落即针叶林、针阔混交林、常绿阔叶林进行采集。 针叶林为马尾松(Pinus massoniana)林,其特点是群 落结构简单,马尾松在群落中占绝对优势,群落的郁 闭度低,林下光照比较充足,林下植物较茂盛,短柄 枹、木荷(Schima superba)等阳性树种已开始侵入, 针叶林是亚热带森林演替的先锋阶段。针阔混交林 是马尾松和阔叶树种的混合林,阳性阔叶树种入侵 针叶林后生长至一定阶段,和马尾松共同构成乔木 层优势树种,使得群落向混交林演替,因而混交林是 亚热带森林群落演替的中间阶段。常绿阔叶林是亚 热带地带性植被, 当混交林形成一定阶段后, 群落的 郁闭度较大时,一些中生性树种,如甜槠(Castanopsis eyrei)等入侵群落,取代阳性树种,形成以中生性 树种为主体的常绿阔叶林。这3种群落类型共存于 天台山,代表中亚热带森林群落演替的各个阶段。由 于3个群落相距很近,其大的环境因子基本一致。

针叶林采样点与针阔混交林相距 800 m,针阔混交林采样点与常绿阔叶林相距 600 m,常绿阔叶林采样点与针叶林相距 1 300 m。D1、D2、D3 分别代表针叶林、针阔混交林、常绿阔叶林中的短柄枹种群。分别在 3 个种群中随机选取 20 棵成熟植株,相邻植株间的距离在 30 m 以上,采集当年萌发的嫩叶,置于保鲜袋中,封口,存于冰袋中,带回实验室,洗净,一70℃超低温冰箱保存,备用。

1.2 方法

1.2.1 DNA 的提取与定量 DNA 的提取采用改进的 SDS 法[10]。经 0.8% 琼脂糖凝胶电泳分析,用 GIS 凝胶成像分析系统(上海天能科技服务公司)拍

照定量,-20℃保存备用。

1.2.2 引物的筛选 随机引物购自上海 Sangon 公司,从中筛选出 11 个扩增产物稳定、重复性好的 引物对所有样本的核基因组 DNA 进行扩增。引物序列见表 1。

表 1 RAPD 分析用的 11 条随机引物序列

Table 1 Sequences of 11 random primers used in RAPD analysis

引物 序列 引物 序列 引物 序列 S370 GTGCAACGTG S327 CCAGGAGGAC S309 GGTCTGGTTG S335 CAGGGCTTTC S306 ACGCCAGAGG S81 CTACGGAGGA S112 ACGCGCATGT S69 CTCACCGTCC S380 GTGTCGCGAG S333 GACTAAGCCC S94 GGATGAGACC

1.2.3 PCR 扩增与产物鉴定 扩增反应条件经优化后,体系如下:10 μL PCR 反应体积,1×Taq 酶配套缓冲液(10 mmol/L Tris-HCl,pH 9.0,50 mmol/L KCl,0.1% Triton X-100),0.15 mmo/L 4×dNTP,0.75U Taq 酶(上海华美公司),10 ng 模板 DNA,3.6 pmol 引物(上海 Sangon 公司),1 μg/μL BSA。PCR 扩增程序为:94℃预变性 5 min,94℃变性 1 min,40℃退火 1 min,72℃延伸 1.5 min,共35个循环,72℃完全延伸 5 min。所有反应在美国Thermo 公司生产的 P×2 热循环仪中进行。扩增产物在1.4%的琼脂糖凝胶(含0.5 μg/mL 溴化乙锭)中电泳,电泳缓冲液为0.5×TBE,用 GIS 凝胶成像分析系统(上海天能科技服务公司)拍照保存。

1.2.4 数据统计与分析 用 λ DNA/EcoR I + Hind III 分子量标准参照做分子量标记,对照反应产物在凝胶上的相应位置,按扩增有无记录电泳带谱,有带记为"1",无带记为"0",得到 RAPD 表型数据矩阵。将矩阵输入 POPGENE32 软件进行分析,计算多态位点百分率(P)、Shannon 信息指数(I)、Nei 指数(h)、遗传分化系数(G_{ST})、种群间的遗传相似度和遗传距离,由 G_{ST} 值估算基因流(N_m)的大小。根据种群间的遗传距离,通过算术平均数的非加权成组配对法(Unweighted pair group method with arithmeticmean,UPGMA)进行聚类分析。同时采用AMOVA (Analysis of molecular variance,AMOVA1.55)软件分析遗传变异在种群内和种群间的分布[11]。

2 结果与分析

2.1 短柄枹种群的遗传多样性

对 3 个短柄枹种群共 60 个个体用 11 个引物进 万方数据 行了 PCR 扩增(表 2),共扩增出 145 个条带,平均 每个引物 13.2 个条带,在 145 个条带中,多态性条 带 120 个,总的多态位点百分率(P)为 82.76%,平 均 P 为 64.14%。这 3 个种群中, P 以 D1 最高, 为 66.90%: 其次是 D2, 为 64.83%; 最低的是 D3, 为 60, 69%。由 Shannon 信息指数(I)估算的 3 个短柄 **枫种群的遗传多样性在 0.345 9~0.387 2 之间,平** 均为 0, 364 2(表 2);由 Nei 指数(h)估算的 3 个短 **柄椒种群的基因多样性介于 0.236 5~0.265 0 之** 间,平均为0.2484(表2),该指数所估算的值要比I估算的值略低些,但是两种指数得出3个种群间的 变化趋势却是一致的,都是 D1 最高,D2 次之,最低 的是 D3。从 P、I、h 等 3 个指标可看出, 短柄枹种群 在3个演替系列群落中遗传多样性的高低均为针叶 林>针阔混交林>常绿阔叶林,表明短柄枹种群的 遗传多样性随群落演替阶段的不同表现出有规律的 变化。通常针叶林中光照充足,适宜短柄枹的生长, 表现出较高的遗传多样性。因此在短柄枹的经营过 程中,适度疏伐,创造光照充足的生境是必要的。

表 2 3 个短柄枹种群的遗传多样性

Table 2 Genetic diversity for 3 populations of

Q. serrata var. brevipetiolata

样地	D1	D2	D3	平均	合计
样本数	20	20	20	20	60
位点数	145	145	145	145	145
多态位点数	97	94	88	93	120
多态位点百分率/%	66. 90	64.83	60.69	64.14	82.76
Shannon 信息指数	0.3872	0. 3596	0.3459	0.3642	0.4747
Nei 指数	0. 2650	0. 2436	0. 2365	0. 2484	0. 3234

2.2 短柄枹种群的遗传分化

由 I 估算的短柄枹种群总的遗传多样性为 0.474 7,其中 76.72%的遗传变异出现在种群内,种群间占 23.28%;h 估算的短柄枹种群总的遗传多样性为 0.323 4,其中种群间遗传分化系数为 0.231 9,由 G_{ST} 估算的种群间基因流 (N_m) 为 1.653 9(表 3);AMOVA 分析结果显示(表 4),在总的遗传变异中,30.27%的变异发生在种群间,69.73%的变异发生在种群内,种群间和种群内变异均极显著 $(\Phi_{ST}=0.2715,P<0.001)$,这与 I 与 h 估算所得结果一致,即短柄枹种群内、种群间均产生遗传变异,但主要遗传变异存在于种群内。说明短柄枹不同种群有不同的遗传多样性,这是种群本身遗传特性的反应,并与群落的演替密切相关,也是不同群落微环境对短柄枹种群的遗传结构产生一定的影响。

表 3 个短柄袍种群的遗传分化

Table 3 Partitioning of the genetic diversity within and among 3 populations of Q. serrata var. brevipetiolata

Shannon 信息指数	遗传分化系数	Nei 指数	遗传分化系数
种群内遗传多样性	0. 364 2	种群内的基因多样性	0. 248 4
种群总的遗传多样性	0. 474 7	种群总的基因多样性	0. 323 4
种群内遗传多样性所占比率	0. 767 2	种群内基因多样性所占比率	0.768 1
种群间遗传多样性所占比率	0. 232 8	遗传分化系数	0. 231 9
		基因流	1.653 9

表 4 短柄枪种群内和种群间分子变异的 AMOVA 分析

Table 4 Analysis of molecular variance (AMOVA) within and among populations of Q. Serrata var. brevi petiolata

变异来源	自由度	总方差	平均方差	变异组分	变异百分率/%	显著度
种群间	2	282. 233 3	141. 117 0	6. 326 9	30. 27	<0.001
种群内	57	830. 950 0	14. 578 0	14. 587 1	69. 73	<0.001

2.3 短柄枹种群的遗传距离及遗传相似度

通过 POPGENE32 软件按 Nei (1972)^[12]方法 计算短柄炮种群间的遗传相似度和遗传距离(表 5)。3 个短柄炮种群间的遗传相似度在 0.831 0~ 0.875 8之间,平均为 0.850 1,其中 D2 种群与 D3 种群的遗传相似度最高,D1 种群与 D3 种群最低。 种群间的遗传距离在 0.1326~0.1851 之间,平均为 0.162 6。根据种群间的遗传距离,通过 UPGMA 进行聚类分析(图 1),D2 种群与 D3 种群先聚在一起, 再与 D3 种群聚合。

表 5 3 个短柄枪种群间的遗传相似度与遗传距离

Table 5 Genetic identity and genetic distance among 3 populations of Q. serrata var. brevipetiolata

种群	D1	D2	D3
D1		0.843 5	0.831 0
D2	0.170 2	_	0.875 8
D3	0. 185 1	0.132 6	_

注:对角线上方为 Nei 遗传相似度,对角线下方为遗传距离。

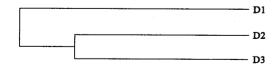


图 1 3 个短柄枹种群间的聚类分析图

Fig. 1 The cluster figure produced by POPGENE32 soft for 3 populations of Q. serrata var. brevipetiolata

3 结论与讨论

本研究从种群遗传多样性角度,对处于针叶林、 万方数据 针阔混交林、常绿阔叶林不同群落演替过程中短柄 枹种群的遗传多样性进行了 PCR-RAPD 分析,采用 3 种遗传多样性指数对该种群的遗传状况进行了描述,包括 P、I、h。研究表明,对于植物物种水平和种群水平上的遗传多样性而言,P在 50%左右被认为遗传多样性是丰富的[13~15],而短柄枹种群的 P 为82.76%,已远超过 50%,说明短柄枹有着丰富的遗传多样性。比同科植物板栗(Castanea mollissima)(P 为 52.7%)、荠栗(C. sequinii)(P 为 53.7%)、锥栗(C. henryi)(P 为 44.9%)[16]的遗传多样性高。

AMOVA 分析结果显示,在总的遗传变异中, 30.27%的变异发生在种群间,69.73%的变异发生 在种群内,I与h估算所得结果与其一致,即在短柄 枹种群内、种群间均产生遗传变异,但主要遗传变异 存在于种群内,这与 Hamrick 等人提到的大部分自 交物种遗传变异主要出现在种群间,而异交物种遗 传变异主要出现在种群内的结论一致[17]。短柄构种 群基因流为1.659,大于1,总体上各种群间的基因 流没有明显受阻,所以引起种群间部分遗传分化大 的主要原因还是微生境的异质性,不同的基因型在 不同微生境上的适合度不同,导致具相同基因型的 个体集聚在较适宜的微生境上,从而产生遗传分 化[18],对处于不同演替群落中短柄枹种群的研究结 果来看,3个短柄枹种群的 $P \setminus I$ 和 h 均表现为在针 叶林最大,针阔混交林次之,在常绿阔叶林中最小。 可能是短柄枹对不同微环境适应的结果,演替前期 的针叶林中,群落郁闭度小,光照充足,而短柄枹作 为阳性植物,能很好地适应这种光照充足的生境,所 以表现出较高的遗传多样性。随着演替进展,群落郁 闭度逐渐增大,短柄炮的适生生境逐渐缩小,导致部分短柄炮植株退出群落,部分基因的丢失,表现为遗传多样性下降。到了群落演潜后期的常绿阔叶林间段,此时群落郁闭度进一步增大,保留下来的短柄炮个体进一步减少,种群的遗传多样性也降到最低。

参考文献:

- [1] 操国兴,钟章成,谢德体,等.四川大头茶在不同群落中的遗传 分化及适应度分析[7],生态学报,2005,25(1),13-17.
- [2] 浙江植物志编辑委员会. 浙江植物志(第2卷)[M]. 杭州: 浙 江科学技术出版社,1992.60.
- [3] 浙江森林编辑委员会。浙江森林[M]. 北京:中国林业出版 社,1993,191.
- [4] 王静, 杨持, 尹俊,等. 冷蒿种群在放牧干扰下遗传多样性的变化[J]. 生态学报, 2004, 24(11), 2465-2471.
- [5] Massawe F J, Roberts J A, Azam-Ali S N, et al. Genetic diversity in bambara groundnut (Vigna subterranea (L.) Verdc) landraces assessed by Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) markers [J]. Genetic Resources and Crop Evolution, 2003, 50(7): 737-741.
- [6] 王艇, 苏应娟, 黄宏文, 等. 利用 RAPD 标记分析濒危植物白豆杉种群的遗传结构[J]. 生态学报, 2006, 26(7); 2313-2321.
- [7] Ofori D A, Swaine M D, Leifert C, et al. Population genetic structure of *Milicia* species characterised by using RAPD and nucleotide sequencing L[J]. Genetic Resources and Crop Evolution, 2001, 48(6); 637-647.

- [8] Kjolner S, Sastad S M, Taberlet P, et al. Amplified fragment length polymorphism versus random amplified polymorphic DNA markers: clonal diversity in Saxifraga cernua [J]. Molecular Ecology, 2004, 13(1): 81-86.
- [9] 金则新. 浙江天台山甜槠群落研究[J]. 武汉植物学研究, 1998, 16(4): 317-324.
- [10] 李钧敏,柯世省,金则新. 濒危植物七子花 DNA 的提取及分析[7]. 广西植物,2002,22(6):499-502.
- [11] 张富民,葛颂. 群体遗传学研究中的数据处理方法 I.RAPD 数据的 AMOVA 分析[J]. 生物多样性,2002,10(4):438-444.
- [12] Nei. Genetic distance between populations [J]. Am Nat, 1972, 106(949): 283-292.
- [13] 孙坤,陈纹,马瑞君. 子午岭中国沙棘亚居群的遗传多样性 研究[]]. 兰州大学学报(自然科学版),2004,40(3):72-75.
- [14] 刘果厚,贾宝丽. 浑善达克沙地榆遗传多样性的研究[J]. 干 早区资源与环境, 2003, 17(5): 123-128.
- [15] 赵庆芳, 李巧塽, 马世荣. 青藏高原东部矮生嵩草遗传多样 性的 RAPD 研究[J]. 生态学报, 2006, 26(8): 2494-2501.
- [16] 沈永宝,施季森,林同龙.福建建瓯栗、茅栗遗传多样性分析 [J]. 南京林业大学学根(自然科学版),2004,28(6),15-17.
- [17] Mary W G, Hamrick J L, Meier A. Genetic diversity in Cymophyllus fraserianus (Cyperaceae), a rare monotypic genus
 [J]. Genetica, 2004, 122(2): 207-215.
- [18] 陈小勇,宁永昌. 安徽黄山西部青冈种群小地理范围的遗传 分化[J]. 植物资源与环境,1998,7(1);10-14.

(上接第17页)

群落中相对较为稳定的林型,但因郁闭度、苔藓层盖 度和厚度过大造成的更新困难等自然因素和人为活 动的干扰而使其稳定性降低,群落存在潜在的分化 和演替的可能。

青海云杉种群在群落中的地位和作用十分突出,其结构动态对群落产生极为深刻的影响。除灌木一青海云杉林外,其他林型和整个青海云杉群落中幼苗、幼树的比例有不同程度的失调,是由于群落的物种组成、结构、建群种的生物学特性等因素和人类活动(放牧、樵采等)造成的,自然灾害(林火、风倒、雪压雪折、滑坡)和人为的适度干扰(合理采伐、造林更新、局部破坏地表植被等)对群落的更新和发展将会产生促进作用。

参考文献:

- [1] 刘兴聪. 青海云杉[M]. 兰州;兰州大学出版社,1992.
- [2] 魏克勤. 祁连山水源涵养林区的青海云杉林[A]. 见: 傅辉恩,

- 车可钩,刘建勋. 甘肃祁连山水源涵养林的研究. 兰州大学学报 文集[C]. 1990,26(专集);2-8.
- [3] 刘建泉. 祁连山保护区青海云杉种群分布格局的研究[J]. 西北林学院学报,2004,19(2):152-155.
- [4] 刘建泉. 祁连山保护区种子植物属的区系研究[J]. 干旱区资源 与环境,2005,19(7):221-227.
- [5] 刘建泉,杨全生,杨建红.祁连山保护区种子植物科的区系研究[J].甘肃农业大学学报,2004,39(专辑),221-225.
- [6] 刘建泉,金吉庆. 祁连山水源涵养林区青海云杉种群特征与抚育技术研究[A],见王继和. 中国西北荒漠区持续农业与沙漠综合治理国际学术交流会论文集[C]. 兰州;兰州大学出版社,1008
- [7] 李博. 生态学[M]. 北京:高等教育出版社,2002.
- [8] 宋永昌. 植被生态学[M]. 上海: 华东师范大学出版社, 2001. 35-249.
- [9] 姜汉侨,段昌群,杨树华,等.植物生态学[M].北京;高等教育 出版社,2004.
- [10] 刘建泉,郝玉福,宋秉明. 祁连山青海云杉林抚育更新研究[J]. 江西农业大学学报,1998,20(1);82-85.