

栓皮栎优树自由授粉子代遗传变异研究

董海芳, 张存旭*

(西北农林科技大学 林学院, 陕西 杨陵 712100)

摘要:对栓皮栎 6 个群体的 4 a 年生优树自由授粉子代的叶片、生长性状以及过氧化物酶同工酶变异进行了分析, 结果表明: 苗高、叶长、叶宽、叶柄长、叶面积等性状在群体间存在极显著差异; 群体内家系间苗高、地径差异显著。栓皮栎群体过氧化物酶同工酶由 2 个位点组成, 等位基因平均数为 2.479, 平均期望杂合度为 0.282, 群体内的变异占总变异的 54%。以苗高作为主要性状, 从参试的 57 个家系中初步选择优良家系 10 个, 其高生长量比总体平均值大 31.7%~84.0%。

关键词:栓皮栎; 优树子代; 遗传变异; 家系选择

中图分类号:S722.34 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-7461(2011)03-0102-05

Genetic Variation of Plus Tree Open-pollinated Progenies in *Quercus variabilis*

DONG Hai-fang, ZHANG Cun-xu

(College of Forestry, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: The variations of the leaves and growth traits as well as peroxidase of 4-year-old plus tree open-pollinated progenies from six *Quercus variabilis* populations were investigated. The results showed that there were significant differences in seedling height, leaf length, leaf width, petiole length, and leaf area among different populations, and in seedling height, leaf length among different families. The peroxidase isozyme of *Q. variabilis* consisted of two loci. The mean of alleles was 2.479 and the expected heterozygosity was 0.282. Within the population, genetic variations accounted for 54% of the total genetic variations. With seedling height as the main character, 10 superior families were selected preliminarily from 57 tested families. Their height growths increased by 31.7%~84.0% than the overall population average.

Key words: *Quercus variabilis*; plus tree progeny; genetic variation; family selection

栓皮栎(*Quercus variabilis*)属于壳斗科栎属植物, 主要产于我国, 其分布范围广泛, 跨越我国 22 个省(区)、市, 分布海拔 50~2 000 m, 秦岭和大别山区是其分布中心。栓皮栎是我国重要的经济和用材树种, 用途广泛, 是进行木材、薪材、食用菌、天麻、栲胶生产的主要原料, 还是重要的软木资源, 并对土壤改良、水土保持具有重要作用^[1]。因此, 栓皮栎具有重要的生态价值和经济价值, 在林业中占有重要的地位, 开展栓皮栎遗传改良具有重要意义。以往的研究主要集中在分类、地理分布、种群生态等方面^[2-4], 对其遗传变异的研究较少^[5-7]。以不同群体 4 a 生的优树自由授粉子代苗木为对象, 研究生长及叶片形态性

状的变异, 分析过氧化物酶同工酶变异, 初步评选优良家系, 为栓皮栎遗传改良提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

试验地设在西北农林科技大学林学院苗圃, 海拔 464.7 m, 土壤为瘠土, 土层深厚, 土壤 pH 值 6.5~7.0。属暖温带半湿润气候区, 年平均气温 10.7~13.7℃, 年降水量 500~700 mm, 无霜期 184~216 d。

1.2 材料

试验材料为栓皮栎 6 个群体的 57 株优树子代的 4 a 生苗木(表 1)。

收稿日期: 2010-04-20 修回日期: 2010-06-28

基金项目: 陕西省科技攻关项目(2007K01-11-04); 西北农林科技大学植物遗传育种专项(09YZ082)

作者简介: 董海芳, 男, 在读硕士研究生, 主要从事林木遗传育种和林木生物技术研究工作。

* 通讯作者: 张存旭, 男, 副教授, 主要从事林木遗传育种和林木生物技术研究工作。

表 1 试验材料来源
Table 1 Source of experiment materials

群体	优树数量 /株	编号	纬度	经度	海拔/m
安徽岳西包家乡	7	1~7	30°57'N	116°02'E	1 721
河南宝天曼	10	8~17	33°34'N	111°47'E	1 830
陕西周至楼观台	10	18~27	33°42'N	108°20'E	630
河南信阳	10	28~37	31°50'N	114°05'E	700
陕西宁强	10	38~47	32°48'N	106°15'E	1 180
陕西太白山	10	48~57	33°57'N	107°45'E	1 240

1.3 方法

1.3.1 试验设计 采用完全随机区组设计,株行距 7 cm × 15 cm, 3 次重复。区组内每个家系 1 个小区,每小区 15 株,管理方法一致。

1.3.2 生长性状测定 (1)生长量测定。2009 年秋季,在树木生长完全停止后,测定其苗高、地径,每个家系 30 株。

(2)叶片性状测定。2009 年 9 月,从每个家系中随机选择 10 株,每株采集其 2/3 处的叶子 3 片,用叶面积仪测定其长、宽、叶面积;用游标卡尺测其叶柄长,取其平均值。

1.3.3 过氧化物酶同工酶(POD)测定 2009 年 5 月下旬,选择样株顶部第 3 片叶,采集后装入自封袋,立即放入冰瓶。每个家系取 5 株。样品带回实验室后用蒸馏水洗净、晾干。每份样品称 0.5 g,放入经冰冻的研钵内,加入 Tris-甘氨酸缓冲液(pH 值 8.0)1 mL,研成匀浆,然后以 1 mL 提取液洗入离心管,离心(8 000 r · min⁻¹)15 min。提取上清液,混入等体积的 40% 的蔗糖溶液,置于冰箱内(0~

4℃),贮存备用。电泳采用垂直的聚丙烯酰胺凝胶电泳法;染色采用醋酸—联苯胺法^[8]。酶系统多位点的确定以迁移率最大的同工酶位点定为 A,其次为 B、C 等。在每个位点内,将频率最高的等位酶带定义为 100,其他酶带按其对频率最高酶带的相对迁移来确定。计算等位基因平均数(A)、平均期望杂合度(He)、基因分化系数(G_{st})等指标^[9]。

1.3.4 统计分析 采用单因素方差分析计算各性状的平均数、标准差、变幅、相关系数,所有统计分析均在 SAS 统计软件上进行^[10]。同工酶试验数据利用 BIOSYS-1^[11]软件运算。

2 结果与分析

2.1 叶片性状的变异

6 个群体中,叶长最大的是陕西太白群体,为 11.7 cm,超过总群体水平的 10.0%,生长最差的是河南信阳群体,为总群体水平的 84.0%;叶宽最大的是陕西太白群体,为 4.2 cm,超过总群体水平的 11.8%,而生长最差的是河南信阳群体为总群体水平的 87.3%;长宽比最大的是安徽包家乡群体,为 3.1,最小的是陕西宁强群体,为 2.8;叶柄长最大的是陕西宁强群体,为 6.1 mm,超过总群体水平的 30.0%,生长最差的安徽包家乡群体,仅为总群体水平的 78.0%;叶面积最大的是陕西太白群体,为 33.2 cm²,超过总群体水平的 18.9%,最小的是河南信阳群体,为总群体水平的 72.0%。方差分析结果表明,不同群体间叶长、叶宽、叶柄长、叶面积差异达极显著水平,而长宽比差异不显著(表 2)。

表 2 栓皮栎叶片性状特征值及多重比较(LSD_{0.05})^①
Table 2 Leaf trait numerical value and least significant difference test(LSD_{0.05})of *Q. variabilis*

群体	叶长/cm	叶宽/cm	长宽比	叶柄长/mm	叶面积/cm ²
安徽包家乡	9.6±0.9a	3.2±0.4c	3.1±0.3a	4.2±0.8c	21.5±3.8b
河南宝天曼	10.8±1.2a	3.7±0.4b	2.9±0.2ab	5.5±0.7ab	28.2±5.6a
陕西楼观台	11.5±1.5a	3.8±0.4b	3.0±0.2a	5.2±0.8b	30.8±0.7a
河南信阳	9.0±0.7b	3.2±0.2c	2.9±0.4ab	4.5±0.5c	20.2±2.8b
陕西宁强	11.2±1.3a	4.1±0.3ab	2.8±0.2b	6.1±0.8a	31.8±4.7a
陕西太白	11.7±1.1a	4.2±0.2a	2.9±0.3ab	5.9±0.4a	33.2±5.1a
平均值	10.7	3.7	2.9	5.3	27.9
F 值	9.02**	14.36**	1.96	13.64**	10.97**

① 同列数据后不同小写字母表示差异显著(p<0.05)。下表同。

2.2 生长性状的变异

2.2.1 群体间生长性状的变异 6 个群体中,平均苗高变异幅度为 61.5~122.2 cm。生长最好的是河南宝天曼群体,为 122.2 cm,超过总群体水平的 26.7%;而生长最差的安徽包家乡群体,仅为总群体水平的 64.3%。平均地径变异幅度为 0.8~1.2 cm,其中生长最好的是河南宝天曼群体,为 1.2 cm,超过总群体平均值的 16.1%,而生长最差的安徽包

家乡群体为总群体平均值的 79.3%。方差分析结果表明,不同群体间苗高生长量差异达极显著水平,地径生长差异达显著水平(表 3)。

2.2.2 群体内生长性状的变异 遗传变异既存在于不同的群体间,又存在不同的家系间。栓皮栎 57 个家系中,苗高最大的 9 号家系为 177.4 cm,超过总群体水平的 85.4%;而生长最差的 5 号家系仅为总群体水平的 44.2%(表 4)。由表 4 可知,不同群

体内家系间苗高、地径的变化范围分别是 42.3~177.4 cm 和 0.5~1.7 cm。方差分析表明,群体内家系间苗高、地径的差异均达到显著水平($p<0.05$)。

表 3 苗高、地径生长量的特征值及多重比较(LSD_{0.05})

Table 3 Seedling height and diameter growth traits as well as least significant difference test (LSD_{0.05})

群体	苗高/cm		地径/cm	
	均值±标准差	变异范围	均值±标准差	变异范围
安徽包家乡	61.5±18.4c	42.3~89.0	0.8±0.1b	0.5~0.9
河南宝天曼	122.2±29.8a	88.4~177.4	1.2±0.3a	0.8~1.7
陕西楼观台	93.9±27.9b	58.3~118.1	1.0±0.2ab	0.6~1.2
河南信阳	90.3±19.2b	57.3~128.9	0.9±0.2b	0.6~1.4
陕西宁强	117.4±25.8a	69.6~136.1	1.1±0.3a	0.6~1.5
陕西太白	78.7±19.8bc	52.8~118.1	0.9±0.3ab	0.7~1.5
平均值	96.4		1.0	
F 值	8.00**		3.57*	

表 4 家系内生长性状特征值

Table 4 Growth trait numerical value within the family

家系	苗高/cm	地径/cm	家系	苗高/cm	地径/cm
1	80.1±7.3	0.8±0.3	30	110.4±24.0	0.9±0.3
2	89.0±24.3	0.8±0.6	31	128.0±30.3	1.4±0.6
3	46.6±19.5	0.5±0.2	32	99.9±13.9	0.9±0.2
4	52.6±14.4	0.9±0.1	33	95.3±21.1	0.9±0.3
5	42.3±10.6	0.6±0.2	34	73.9±33.2	0.8±0.4
6	52.3±12.1	0.8±0.3	35	57.3±13.9	0.6±0.1
7	73.8±15.5	0.8±0.3	36	95.4±24.4	0.8±0.3
8	155.3±45.1	1.2±0.5	37	94.8±16.3	0.9±0.3
9	177.4±18.2	1.5±0.4	38	138.4±18.1	1.5±0.4
10	148.1±25.9	1.7±0.4	39	119.1±33.1	1.1±0.3
11	91.8±47.2	1.2±0.6	40	69.6±27.8	0.9±0.4
12	107.9±14.6	0.9±0.4	41	105.2±27.6	1.2±0.5
13	130.7±23.4	1.2±0.3	42	136.1±35.7	1.3±0.4
14	97.3±34.2	0.8±0.3	43	107.9±29.4	1.2±0.3
15	116.8±46.9	1.0±0.7	44	126.0±36.2	1.0±0.3
16	108.2±27.5	1.1±0.3	45	112.7±32.2	1.1±0.4
17	88.4±32.7	1.1±0.4	46	95.9±25.7	0.6±0.4
18	118.1±20.2	1.2±0.2	47	163.1±25.6	1.5±0.4
19	68.5±26.5	0.8±0.2	48	77.4±25.5	0.9±0.5
20	138.9±28.9	1.1±0.4	49	67.5±23.9	0.8±0.3
21	111.4±28.4	1.1±0.3	50	62.3±23.1	0.7±0.3
22	102.2±25.3	1.1±0.6	51	118.1±15.5	1.3±0.4
23	120.2±24.6	1.4±0.3	52	69.5±22.1	0.8±0.1
24	72.3±12.5	0.9±0.2	53	52.8±17.5	0.6±0.2
25	67.4±19.9	0.9±0.2	54	84.1±28.1	1.0±0.2
26	58.3±20.5	0.6±0.1	55	68.9±22.8	0.8±0.2
27	77.8±18.3	0.9±0.2	56	105.0±17.2	1.5±0.4
28	87.6±13.9	0.7±0.3	57	81.1±22.9	1.0±0.2
29	96.2±18.7	0.9±0.3	平均值	96.4	0.9

2.3 性状间的相关分析

林木性状间遗传相关系数可以反映性状间的相关程度,它可为林木遗传育种方案和改良策略制定提供理论参考^[12]。相关分析结果表明(表 5),苗高与地径、叶柄长存在着极显著的正相关,相关系数分别为 0.846 和 0.607,而与其他性状的相关性不显著,说明苗高和地径、叶柄长密切相关。地径和叶柄长、叶面积存在显著的正相关,而与叶长、叶宽和长宽比的相关性不明显。在叶片性状方面,叶长、叶宽、叶柄长、叶面积相互之间存在显著的正相关,而长宽比与各性状的相关性不显著或者呈微弱正相关。

2.4 过氧化物酶同工酶变异分析

通过对栓皮栎 6 个群体的 57 个家系进行过氧化物酶同工酶分析,共获得 2 个同工酶位点及 5 种 POD 条带。等位基因平均数为 2.479,平均期望杂合度为 0.282。其中,河南宝天曼群体的 2 个遗传参数都最高,分别为 3.034 和 0.433;安徽包家乡的 2 个遗传参数最小,分别为 2.136 和 0.064。栓皮栎群体内变异(H_s)平均为 0.303,群体间变异(D_s)平均为 0.238,群体间相对分化系数平均为 0.460。即群体间变异占总变异的 46%,群体内变异占总变异的 54%。可见,栓皮栎群体在过氧化物酶系统上

的遗传变异主要分布在群体内。

表 5 苗期性状间的相关系数

Table 5 Correlation coefficients between traits						
性状	苗高	地径	叶长	叶宽	长宽比	叶柄长
地径	0.846**					
叶长	0.416	0.484				
叶宽	0.381	0.441	0.812**			
长宽比	0.062	0.058	0.218	0.336		
叶柄长	0.607**	0.630**	0.804**	0.784**	0.014	
叶面积	0.434	0.501**	0.966**	0.920**	0.004	0.832**

为了进一步分析群体间的遗传分化程度,计算

表 6 栓皮栎 6 个群体的遗传相似度 (*I*, 右上角) 和遗传距离 (*D*, 左下角)

Table 6 Genetic similarity and genetic distance from six populations of <i>Q. variabilis</i>						
群体	P1	P2	P3	P4	P5	P6
P1 陕西太白		0.962 1	0.453 8	0.454 4	0.903 2	0.912 1
P2 陕西宁强	0.039 6		0.489 5	0.487 9	0.744 0	0.983 8
P3 河南宝天曼	0.790 2	0.993 7		0.970 4	0.224 5	0.489 4
P4 河南信阳	0.788 7	0.717 6	0.030 1		0.285 4	0.540 9
P5 安徽包家乡	0.101 8	0.295 7	0.714 3	0.925 3		0.701 7
P6 陕西楼观台	0.092 0	0.016 3	0.714 6	0.614 4	0.354 2	

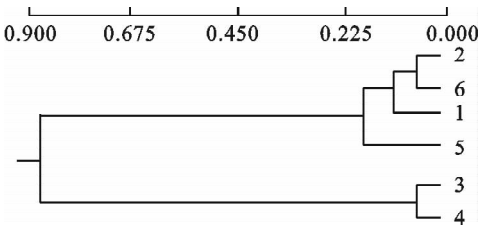


图 1 栓皮栎群体的系统聚类图

Fig. 1 Dendrogram of different population of *Q. variabilis*

2.5 优良家系的初步选择

在对苗期性状苗高和地径遗传变异研究的基础上,以苗高作为主要性状,对 4 a 生苗进行苗期速生家系选择。按照平均值大于总体平均数(苗高 96.4 cm)加 1 个标准差(30.5)的家系入选。以 17.5%的入选率,结果选出 10 个优良家系(表 7)。入选的 10 个家系表现出明显的优势,平均苗高为 144.4 cm,比参试家系总平均值(96.4 cm)高 49.8%,这些家系的苗高生长量比总体平均值高 31.7%~84.0%。

表 7 优良家系 4 a 生高生长特征值

Table 7 4-year-old height growth numerical value of superior families		
家系编号	苗高/cm	较群体平均数增幅/%
8	155.3	61.1
9	177.4	84.0
10	148.1	53.6
13	130.7	35.6
20	138.9	44.1
31	128.9	33.7
38	138.4	43.6
42	136.1	41.2
44	127.0	31.7
47	163.1	69.2
均值	144.4	49.8

了 Nei's 的群体间的遗传相似度 (*I*) 和遗传距离 (*D*) (表 6)。各群体的遗传相似度为 0.225~0.984,遗传距离 0.016~0.994,遗传差异较大。根据各群体间的 Nei's 遗传距离,采用平均距离方法 (UPGMA) 对 6 个群体进行聚类(图 1)。结果表明,陕西的 3 个群体与安徽包家乡群体的遗传距离较小,河南信阳与河南宝天曼群体的遗传距离较小,而河南宝天曼和河南信阳与其他群体的遗传距离相对较大。可以看出,地理上较近的群体,在遗传上聚在一起,这与其地理分布格局大致吻合。

3 结论与讨论

栓皮栎种内存在丰富的遗传变异,不同群体的苗高、地径、叶长、叶宽、叶柄长、叶面积等指标存在显著的差异,说明在种内选择是可行的。遗传变异不仅存在于栓皮栎不同的群体间和家系间,在同一家系的不同个体之间也有较大的分化。因此,在栓皮栎优良家系选择的基础上,进行家系-单株的配合选择,通过遗传增益的叠加效应,可以获得较好的遗传改良效果。性状间具有高度的相关性,各性状之间存在极显著的正相关或微弱的正相关。利用性状间的相关性进行间接选择,能取得理想的效果。

栓皮栎天然群体具有较高的遗传变异水平,遗传变异主要发生在群体内。每个位点平均的等位基因数为 2.479,平均期望杂合度为 0.282,2 个多态指数均高于植物平均值(1.690,0.183)^[13]。具有高水平遗传变异的植物多为寿命长、风媒授粉、结实性高、处于演替末期的物种^[14]。栓皮栎具备了这些特征,因此具有较高的遗传变异性。另外,栓皮栎起源早,演替的时期长,经历了更多的环境变化,从而积累了更多的遗传变异。

大多数学者认为,栓皮栎以秦岭一大别山为地理分布中心^[3]。通过对 6 个群体遗传距离和相似度进行聚类分析,发现分布在陕西秦岭区系的栓皮栎(陕西宁强、太白、楼观台)和分布在安徽大别山区系的群体(安徽包家乡)的相似度较高,遗传距离比较近,与河南伏牛山区系(河南信阳,河南宝天曼)分布的栓皮栎遗传距离和相似度较远。这也进一步说明

了栓皮栎的地理分布中心以秦岭和大别山为中心，同时也说明了栓皮栎的群体关系和地理位置(纬度和经度)相关性不显著。

苗高和地径是衡量苗木长势的重要指标，在一定程度上反映了植物对环境的适应程度^[15]。因此，在进行早期选择时，以苗高为主要指标。从栓皮栎的 57 个家系中选择出表现优良的 10 个家系，其苗高生长量比总体平均值高 31.7%~84.0%，选择效果明显。

由于树木具有多年生的特点，它的生长不仅必须经受栽培区全年各种生态因子的综合考验，而且还要经受不同年份生态条件变化的考验。因此，本试验选择出的 10 个优良家系仅仅是对苗期性状研究的初步结果，其结论尚需通过造林试验进一步的验证和完善。

参考文献：

[1] 郑万钧. 中国树木志(2 卷)[M]. 北京:中国林业出版社, 1985. 2330-2531.

[2] 赵天榜,张宗尧. 栓皮栎一新变种[J]. 植物分类学报,1981,26(1):117.

[3] 张文辉,卢志军. 栓皮栎种群的生物学生态学特性和地理分布研究[J]. 西北植物学报,2002,22(5):1093-1101.

ZHANG W H, LU Z J. A study on the biological and ecological property and geographical distribution of *Quercus variabilis* population[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica,2002, 22(5):1093-1101.

[4] 明作,刘玉萃,姜志林. 栓皮栎种群生殖生态与稳定机制研究[J]. 生态学报,2001,21(2):225-230.

WU M Z, LIU Y C, JIANG Z L. The reproductive ecology and stable mechanism of *Quercus variabilis* population[J]. Acta Ecologica Sinica,2001,21(2):225-230.

[5] 周建云,卢彦昌,张进,等. 陕西栓皮栎天然群体同工酶遗传多样性研究[J]. 西南林学院学报,2008,28(2):01-04.

ZHOU J Y, LU Y C, ZHANG J, *et al.* Study on iozyme genetic diversity of *Quercus variabilis* natural populations in Shaanxi Province[J]. Journal of Southwest Forestry College, 2008,28(2):01-04.

[6] 张存旭,张瑞娥,张文辉,等. 不同群体栓皮栎栓皮性状变异分析[J]. 西北林学院学报,2003,18(3):34-36.

ZHANG C X, ZHANG R E, ZHANG W H, *et al.* Population variation analysis on cork characters of *Quercus variabilis*[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2003,18(3):34-36.

[7] 陈劼,潘艳,徐立安. 栓皮栎种子及苗期群体变异分析[J]. 林业科技开发,2009,23(3):62-65.

CHEN J,PAN Y, XU L A. Analysis of provenance variations in seeds and seedlings of *Quercus variabilis*[J]. China Forestry Science and Technology, 2009,23(3):62-65.

[8] 葛颂. 同工酶与林木群体遗传变异研究[J]. 南京林业大学学报,1988,3(1):68-77.

GE S. Isozymes and studies on population genetic variation in forest trees[J]. Journal of Nanjing Forestry University,1988, 3(1):68-77.

[9] 大羽滋,群体遗传[M]. 北京:科学出版社,1983. 110-114.

[10] 黄少伟,谢维辉. 实用 SAS 编程与林业试验数据分析[J]. 广州:华南理工大学出版社,2001.

[11] SWOFFORD L, SELANDER R B. BIOSIS1, a computer programfor the analysis of allelic variation in population genetics and biochemical systematics[J]. J Heredity, 1989,72 : 281-283.

[12] 罗建勋,吴春艳,王国良,等. 杉木优树自由授粉子代测定及优良家系选择[J]. 西南林学院学报,2009,29(4): 1003-7179.

LUO J X, WU C Y, WANG G L, *et al.* Half-sib progeny test of plus tree and superior family selection of *Cunninghamia lanceolata*[J]. Journal of Southwest Forestry College, 2009,29(4): 1003-7179.

[13] HAMRICK J L. Plant population genetics and evolution[J]. Amer. J. Bot. , 1982,59:1685-1693

[14] 周建云,郭军战,杨祖山,等. 栓皮栎天然群体过氧化物同工酶遗传变异分析[J]. 西北林学院学报,2003,18(2):33-36.

ZHOU J Y, GUO J Z, YANG Z S, *et al.* Variation of peroxidase isozyme on natural population of *Quercus variabilis*[J]. Journal of Northwest Forestry Univiersity,2003,18(2):33-36.

[15] 刘春林,曹基武. 几种国外栎属树种引种育苗试验[J]. 林业科技开发,2008,21(2):32-34.