

柴松遗传多样性的 RAPD 分析

解 庆, 刘志红, 李周岐*

(西北农林科技大学 林学院, 陕西 杨陵, 712100)

摘 要:以柴松现存 2 个居群各 50 个个体为样本, 利用随机扩增多态 DNA (RAPD) 标记研究了其遗传多样性。50 条引物共扩增出 349 个位点, 其中多态位点为 321 个。用 POPGEN32 版软件对数据进行了分析, 结果表明: (1) 柴松的遗传多样性水平很高。在物种水平上, 多态位点百分率 (PPB) 为 92.51%, Ne's 基因多样性指数 (H) 为 0.317 3, Shannon 多样性信息指数 (I) 为 0.478 2, 总基因多样性 (H_t) 为 0.317 4。在居群水平上, 平均多态位点百分率为 89.92%, H 和 I 平均值分别为 0.302 5 和 0.456 6; (2) 居群间的遗传分化较低。居群间遗传分化系数 (G_{st}) 为 0.046 7, 基因流 (N_m) 为 10.201 8, Shannon's 居群分化系数 ($(I_{sp}-I_{pop})/I_{sp}$) 为 0.045 2。表明柴松的遗传变异主要存在于居群内, 占总变异的 95% 以上, 居群间的遗传变异不足 5%。并根据柴松的遗传多样性现状提出了相应的保护策略和措施。

关键词:柴松; 遗传多样性; RAPD

中图分类号:S791.254 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-7461(2011)04-0112-05

Analysis of Genetic Diversity of *Pinus tabulaeformis* f. *Shekannesis* by RAPD

XIE Qing, LIU Zhi-hong, LI Zhou-qi*

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

Abstract: Genetic diversity of two extant populations of *Pinus tabulaeformis* f. *Shekannesis* were investigated by using RAPD markers. A total of 349 RAPD loci were generated from 100 individuals of 2 populations with 50 primes, of which polymorphic loci were 321. POPGENE 32 was used to analyze the data. The results showed that *P. tabulaeformis* f. *Shekannesis* had an extraordinarily high level of genetic diversity. On the species level, percentage of polymorphic loci (PPB) was 92.51%, total gene diversity (H_t) was 0.317 4, Ne's gene diversity (H) and Shannon's Information index (I) were 0.317 3 and 0.478 2 respectively. On the population level, mean percentage of polymorphic loci was 89.92%, the means of H and I were 0.302 5 and 0.456 6 respectively. A low level of genetic differentiation between populations was detected based on gene flow ($N_m = 10.201 8$), Ne's genetic diversity analysis (4.67%) and Shannon's diversity index (4.52%). Finally, some management strategies of protecting this species were proposed.

Key words: *Pinus tabulaeformis* f. *Shekannesis*; genetic diversity; RAPD

柴松 (*Pinus tabulaeformis* f. *Shekannesis*) 又称陕甘油松, 是油松 (*Pinus tabulaeformis*) 在黄土高原发生的变异类型^[1], 也有人认为柴松是油松在

黄土区的生态型^[2]。与油松相比, 柴松具有生长快、树皮光滑、树体高大、树干通直、天然整枝好、材质较软、单株及林分高、径、蓄积生长量均较高等特点, 被

收稿日期: 2010-05-19 修回日期: 2010-07-19

基金项目: 国家自然科学基金 (30972382)

作者简介: 解庆, 男, 硕士研究生, 主要从事林木遗传育种研究。

* 通讯作者: 李周岐, 男, 教授, 博士生导师, 主要从事林木遗传育种教学与研究。E-mail: Lzhouqi@yahoo.com.cn

誉为黄土高原上的珍贵遗传资源。柴松作为陕北黄土高原天然林中的重要建群种,对当地森林群落的稳定发展以及生态环境的改善都起着举足轻重的作用,具有重要的保护价值。柴松分布于陕西省富县境内,仅 2 个居群,相距约 400 m,保存有总面积约 337.3 hm² 的成片林。目前,对柴松除在形态学和分类学^[1,2]、群落学^[3]及生态学^[4]等方面有过研究报道外,其他学科的研究尤其是对该物种在 DNA 水平上的遗传多样性等保护生物学的相关研究至今尚未见报道。

RAPD 分子标记是一种随机扩增多态性分子标记,具有 DNA 样品用量少、操作简单、快速灵敏和实验成本低等优点,而且实验信息量大,多态性高,因而是一种比较理想的检测物种内遗传变异的分子标记,已被广泛应用于遗传多样性分析和居群生物学的研究^[5-6]、品种鉴定^[7-8],以及物种的分类系统学比较^[9-10]等方面,同时也成为遗传图谱构建^[11-12]及数量性状位点(QTL)定位^[13-14]的有力工具。本文采用 RAPD 分子标记对仅有的 2 个柴松自然居群的遗传多样性进行了研究,旨在阐明其遗传多样性水平和遗传结构,为制定科学有效的保护策略和措施提供基础资料和科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

2009 年 5 月初,待柴松当年生嫩梢长至 10 cm 左右时采样。从 2 个居群(阳坡、阴坡)各随机选取 50 个单株,株间距 50 m 以上,覆盖整个分布区。嫩梢水培迅速带回实验室后于-80℃保存备用。

1.2 方法

1.2.1 DNA 的提取及检测 采用尹佟明等^[15]的方法提取柴松嫩茎基因组 DNA,用紫外分光光度计(Pharmaspec UV-1700)检测 DNA 模板的浓度,用 1.5%的琼脂糖凝胶电泳、EB 染色、Gel-2000 凝胶成像系统(Bio-Rad 公司)照相,检测 DNA 的质量。DNA 带清晰、无拖尾现象,表明 DNA 质量较好,用于后续研究。

1.2.2 PCR 扩增及引物筛选 PCR 反应在 PTC-200 型 PCR 仪(美国 MJ Research 公司)上进行。25 μL 反应体系包括:10×Buffer(10 mmol·L⁻¹ Tris-HCl, pH8.3;50 mmol·L⁻¹ KCl) 2.5 μL, 25 mmol·L⁻¹的 MgCl₂ 2.5 μL, 10 mmol·L⁻¹ dNTP(TaKaRa 公司)0.5 μL, Taq 聚合酶(MBI 公

司)2.0 U,模板 40 ng,5 μmol·L⁻¹引物(上海生工生物工程有限公司)1.0 μL,用灭菌双蒸水补足 25 μL。

扩增程序:94℃预变性 3 min,然后 94℃变性 20 S;38℃退火 1 min;72℃延伸 1 min,共 40 个循环;最后于 72℃延伸 7 min。

用上海生物工程有限公司生产的 S 系列随机引物 S01-S500 共 500 条,对随机选取的 1 个柴松 DNA 样品进行 PCR 扩增,初筛出 296 个能产生清晰谱带的引物。再从 2 个柴松居群中各随机取 3 个 DNA 样品,共 6 个 DNA 样品进行 2 次复筛,选出扩增带型清晰、多态性强、重复性好的引物,用于全部柴松 DNA 样品扩增。

1.2.3 扩增产物电泳分析 取扩增产物 10 μL 在 1.5%(质量分数)琼脂糖凝胶上,1×TBE 缓冲液中电泳,稳压电泳 1.5 h 左右, DNA Marker DL2000 做分子量标准,用凝胶成像仪拍照检测。

1.2.4 统计分析 对扩增出的 RAPD 谱带进行统计分析,根据 DNA Marker DL2000 (100-2 000 bp)指示的标准分子量,对照反映产物在琼脂糖凝胶上位置,估计扩增产物分子量大小,强反应带和反复出现的弱带记为“1”,不能重复出现的弱带和没有条带的记为“0”,模糊不清或无扩增产物即缺失数据记为“.”,生成 0/1 矩阵图。

用 POPGENE32 软件进行分析。统计多态位点百分率(PPB)、Shannon 多样性信息指数(*I*在物种水平上为 *I_{sp}*,在居群水平上为 *I_{pop}*)、Shannon's 居群分化系数((*I_{sp}*-*I_{pop}*)/*I_{sp}*)、Nei's 基因多样性指数(*H*)、总的基因多样性(*H_t*)、居群内基因多样性(*H_s*)、基因分化系数(*G_{st}*)和基因流(*N_m*)。

2 结果与分析

2.1 引物筛选结果

从 500 条 RAPD 随机引物中筛选出 50 条条带清晰、重复性和稳定性好且多态性条带相对较多的引物,用于全部 DNA 样品的 PCR 扩增(表 1)。

2.2 物种和居群水平的遗传多样性

50 条引物共检测到 349 个清晰、可重复的有效位点,其中多态位点有 321 个,占 92.51%。居群 1 和居群 2 的多态性条带百分率(PPB)分别 90.78%和 89.05%,居群 1 的遗传多样性略高于居群 2。图 1 为引物 S101、S295 对柴松部分 DNA 样品的扩增图片。居群遗传多样性分析结果见表 2。

表 1 RAPD 引物序列及扩增结果

Table 1 Sequences of RAPD primers and amplification results

引物	序列(5′- 3′)	总带数	多态条带数	引物	序列(5′- 3′)	总带数	多态条带数
S3	CATCCCCCTG	13	13	S102	TCGGACGTGA	9	9
S8	GTCCACACGG	14	14	S175	TCATCCGAGG	6	5
S11	GTAGACCCGT	9	9	S237	ACCGGCTTGT	9	9
S19	ACCCCGAAG	5	5	S249	CCACATCGGT	6	6
S20	GGACCTTAC	9	8	S290	CAAACGTGGG	3	2
S24	AATCGGGCTG	5	4	S293	GGGTCTCGGT	6	6
S27	GAAACGGGGG	6	5	S295	AGTCGCCCTT	7	6
S29	GGGTAACGCC	8	8	S297	GACGTGGTGTA	9	8
S32	TCGGCGATAG	6	4	S323	CAGCACCGCA	3	2
S36	AGCCAGCGAA	7	6	S332	TCAACGGGAC	9	8
S37	GACCGCTTGT	9	8	S334	TCGGAGGTTC	6	6
S38	AGGTGACCGT	5	4	S341	CCCGGCATAA	7	6
S40	GTTGCGATCC	4	4	S356	CTGCTTAGGG	7	5
S45	TGAGCGGACA	6	5	S358	TGGTCGCAGA	8	8
S46	ACCTGAACGG	6	6	S375	CTCCTGCCAA	3	2
S50	GGTCTACACC	4	4	S387	AGGCGGGAAC	9	8
S52	CACCGTATCC	8	8	S404	GGCGGTTGTC	4	4
S64	CCGCATCTAC	7	7	S418	CACCATCCGT	9	7
S66	GAACGGACTC	7	7	S425	ACTGAACGCC	8	8
S67	GTCCCGACGA	9	9	S430	ACAACGGGG	5	5
S73	AAGCCTCGTC	7	6	S436	AAGCGACCTG	4	3
S77	TTCCCCCAG	8	8	S441	GGCACGTAAG	5	4
S88	TCACGTCCAC	9	9	S471	AACGCGTCGG	6	6
S91	TGCCCGTCGT	8	8	S480	GACCCTAGTC	6	6
S101	GGTCGGAGAA	8	8	S499	CCCCCTATCA	6	6

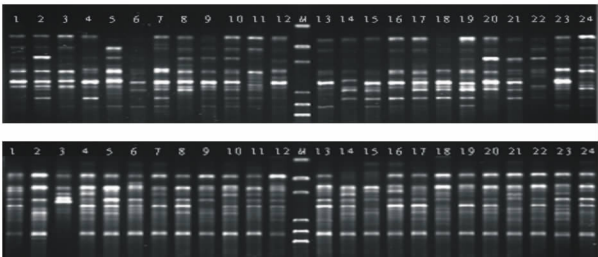


图 1 引物 S101、S295 对柴松部分 DNA 样品的扩增谱带
Fig. 1 RAPD amplification profiles for some genomic
DNA of *Pinus tabulaeformis* f. *Shekannesis*
the upper and lower generated by primer S101 and S295
for population of *P. tabulaeformis* f. *Shekannesis*,
respectively; M: DL2000 Marker

表 2 2 个柴松群体的遗传多样性分析(平均值±标准差)
Table 2 Analysis of genetic diversity of the two
populations (mean ±SD)

居群	多态位点百分数 (PPB)/%	Nei's 基因多样性 (H)	Shannon 信息指数 (I)
阳坡	90.78	0.304 4±0.161 0	0.459 5±0.214 5
阴坡	89.05	0.300 7±0.163 4	0.453 7±0.219 6
物种水平	92.51	0.317 3±0.151 0	0.478 2±0.199 5

从表 2 可以看出, Nei's 基因多样性(H)物种水

平是 0.317 3, Shannon 信息指数(I)的物种水平是 0.478 2。在居群水平上, Nei's 基因多样性指数(H)和 Shannon 信息指数(I)的变化反映的趋势一致, 2 个居群的遗传多样性的顺序是阳坡>阴坡。Shannon 信息指数值均高于相应的 Nei's 基因多样性的数值。这可能是因为 Nei's 指数的计算必须有严格的显、隐性等位基因频率, 而 Shannon 多样性指数则由于缺乏生物学意义, 在一定程度上避免了对 RAPD 扩增位点显隐性的讨论^[16]。

2.3 居群间遗传分化

假设 Hardy-Weinberg 平衡, 用 PopGen32 软件对柴松 2 居群进行分析, 根据 Nei's 的总基因多样性(H_t)和居群内的基因多样性(H_s)估测居群间的分化系数(G_{st})为 0.046 7, 即在总的遗传变异中有 4.67% 存在于居群之间, 居群内变异占到 95.33%。用 PopGen32 估测的基因流为 10.201 8 (表 3), 表明居群之间存在着很强的基因交流。根据 Shannon 信息指数, 柴松总的遗传多样性(I_{sp})为 0.478 2, 居群内遗传多样性(I_{pop})为 0.456 6, 由此得出 Shannon's 居群分化系数($(I_{sp} - I_{pop})/I_{sp}$)为 0.045 2, 表明柴松总的变异中有 4.52% 发生在居群间, 95.48% 发生在居群内, 反映的趋势与 Nei's 遗传分化一致。

表 3 居群遗传分化分析

Table 3 Analysis of genetic differentiation between two populations

	Nei's 总基因多样性 (H_t)	Nei's 居群内基 因多样性(H_s)	基因分化系数 (G_{st})	基因流 (N_m)	Shannon 信息指数(I)		
					I_{sp}	I_{pop}	$(I_{sp}-I_{pop})/I_{sp}$
平均	0.317 4	0.302 5	0.046 7	10.201 8	0.478 2	0.456 6	0.045 2
标准差	0.022 8	0.021 0			0.199 5	0.217 0	

3 结论与讨论

通常认为特有种、濒危种和狭域种的遗传多样性水平较低,但是也有研究报道表明,有些特有种、狭域种甚至濒危种也能保持较高水平的遗传多样性^[17-19]。柴松虽然是仅分布于陕西省富县境内的特有狭域树种,却具有很高水平的遗传多样性。与已有研究报道的其他松属物种相比,如黑松(*P. thunbergii*)的遗传多样性 PPB 为 55.56%;红松(*P. koraiensis*)居群 RAPD 分析的遗传多样性为 69.35%;马尾松(*P. massoniana*)居群 RAPD 分析的遗传多样性为 71.01%,柴松的遗传多样性水平明显较高(表 4)。

表 4 柴松与其他松属植物遗传多样性分析结果比较

Table 4 Genetic diversity comparison between *P. tabulaeformis* f. *shekannesis* and other species of *P. L.*

物种	研究方法	多态位点百分率 (PPB)/%	文献
柴松	RAPD	92.51	本研究
油松	RAPD	87.67	周飞梅等 ^[20]
马尾松	RAPD	71.01	万爱华等 ^[21]
樟子松	ISSR	85.26	周志强等 ^[22]
红松	RAPD	69.35	吕建洲等 ^[23]
黄山松	RAPD	24.10	唐娟娟等 ^[24]
火炬松	RAPD	81.30	税珺等 ^[25]

导致狭域、濒危物种具有高水平遗传多样性的因素很多,如新种形成、形态突变、生活型、地理分布、繁育系统以及传粉方式等。遗传变异最高的植物类群是那些寿命长、地理分布广、以异交为主、风媒授粉、结实率高且存在于演替阶段末期居群中的物种^[26]。笔者认为,柴松分布范围狭小,但与松属其他广泛分布的物种相比仍具有很高水平的遗传多样性,除了其自身的生物学特性外,主要是由于从起源和系统演化来看,柴松可能是油松在黄土高原区的变种,处于油松居群演化阶段末期,故居群内存在广泛的变异类型,遗传多样性水平很高。

基因流强弱对种群遗传分化具有重要影响,种群遗传学理论认为,不管种群大小,只要基因流是多

向的,当每世代种群间迁移者多于 1 时($N_m>1$),基因流就可以防止由于遗传漂变引起的种群间的分化^[27];当基因流小于 1 时,则不足以抵制种群内因遗传漂变而引起的种群间遗传分化^[28]。柴松 2 个居群间的基因流明显大于 1($N_m=10.201\ 8$),表明了 2 个居群间的遗传分化还没有达到居群的分化水平。但 Nei's 基因分化系数(G_{st})分析表明仍有 4.67%的变异存在于居群间,Shannon's 居群分化系数($(I_{sp}-I_{pop})/I_{sp}$)也显示有 4.52%的变异存在于居群间。因此,柴松 2 居群间仍存在一定的分化,在遗传上仍具有一定的交流空间。

针对柴松居群遗传多样性水平高,但居群数量少的特点。一方面,应对柴松自然居群立即进行就地保护。首先,重视柴松居群周围生境的保护,仅对柴松个体进行保护,对其周围环境不加重视只是一种短期行为,不能对该种进行长期有效的保护;其次,由于柴松居群间还存在一定的遗传分化,就地保护时对 2 个居群都应加以重视;第三,对柴松居群的演替进程进行适当的人为干预,在郁闭度大的林分中,进行适当的疏伐,促进柴松的更新。另一方面,应加强柴松育种和栽培技术方面研究,扩大人工种植规模,以更好地维持、提高该物种遗传多样性水平。

参考文献:

[1] 乐天宇. 陕甘宁盆地植物志[M]. 北京:中国林业出版社,1957. 59.

[2] 朱志诚. 柴松一少脂油松生态型形成的初步分析[J]. 陕西林业科技,1987,(4):1-2.

[3] 王凯博,上官周平. 黄土高原子午岭天然柴松林种群结构与动态研究[J]. 西北植物学报,2006,26(12): 2553-2559.

WANG K B, SHANGGUAN Z P. Structure and dynamics of natural *Pinus tabulaeformis* f. *shekannesis* populations in Zi-wuling forest region of the Loess Plateau[J]. Acta Bot. Boreal. Occident. Sin, 2006, 26(12): 2553-2559.

[4] 韦兰英,上官周平. 黄土高原子午岭天然柴松林细根垂直分布特征[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2007,35(7): 69-74.

WEI L Y, SHANGGUAN Z P. Vertical distribution of the fine root of the natural *Pinus tabulaeformis* f. *shekannesis* forest in Zi-wuling Loess Plateau[J]. Journal of Northwest A & F Uni-

versity; Nature . Science. Edition. ,2007,35(7):69-74.

[5] 杜道林,苏洁,付永川,等.珍稀濒危植物海南粗榧种群遗传多样性研究[J].植物学报,2002,44(2):193-198.
DU D L,SU J,FU Y C,*et al.* Genetic diversity of cephalotaxus mannii,a rare and endangered plant[J]. Acta Botanica Sinica, 2002,44(2):193-198.

[6] 李晓东,黄宏文,李建强.孑遗植物水杉的遗传多样性研究[J].生物多样性,2003,11(2):100-108.
LI X D,HUANG H W, LI J Q. Genetic diversity of the relict plant *Metasequoia glyptostroboides* [J]. Biodiversity Science, 2003,11(2):100-108.

[7] 李周岐,王章荣.用 RAPD 标记进行鹅掌楸杂种识别和亲本选配[J].林业科学,2002,38(5):169 -174.
Li Z Q,WANG Z R. RAPD markers used for the hybrid identification and parents choice in *Liriodendron* [J]. Scientia Silvae Sinicae, 2002,38(5):169 -174.

[8] NKONGOLO K K, MICHAEL P, GRATTON W S. Identification and characterization of RAPD markers inferring genetic relationships among Pine species[J]. Genome,2002,45(1):51-58.

[9] 李宽钰,黄敏仁,王明麻,等.白杨派青杨派和黑杨派的 DNA 多态性及系统进化研究[J].南京林业大学学报,1995,31(4):373-378.
LI K Y,HUANG M R,WANG M X,*et al.* Study on DNA polymorphisms and phylogenetics of *Populus*: Aigeiros, Tacamahaca and leuce section[J]. Journal of Nanjing Forestry University,1995,31(4):373-378.

[10] 苏晓华,张绮纹,张望东,等.大青杨及其近缘种遗传变异和系统关系研究[J].林业科学,1996,32(2):118-124.
SU X H,ZHANG Q W,ZHANG W D,*et al.* The gentic variability and phylogenetic relationship in *Populus ussuriensis* Kom and its relatives[J]. Scientia Silvae Sinicae, 1996,32(2):118-124.

[11] YIN T, ZHANG X, HUANG M, *et al.* Molecular linkage maps of the *Populus genome* [J]. Genome,2002,45(3):541-555.

[12] DELA R R , ANGIOLOLLO A ,GUERRERO C ,*et al.* A first linkage map of olive (*Olea europaea* L.) cultivars using RAPD , AFLP ,RFLP and SSR markers[J]. Theoretical and Applied Genetics,2003,106(7):1273-1282.

[13] 苏晓华,李金花,陈伯望,等.杨树叶片数量性状关联标记及其图谱定位研究[J].林业科学,2000,36(1):33-361.
SU X H,LI J H,CHEN B W,*et al.* Detection and identification of molecular markers associated with quantitative traits of leaf in poplar [J]. Scientia Silvae Sinicae,2000,36(1):33-361.

[14] SCALFI M, TROGGIO M, PIOVANI P, *et al.* A RAPD , AFLP and SSR linkage map ,and QTL analysis in European beech (*Fagus sylvatica* L.) [J] . Theoretical and Applied Genetics, 2004, 108:433-441.

[15] 尹佟明,韩正敏,黄敏仁.从针叶树营养体组织中提取高纯 DNA 的方法[J].南京林业大学学报,1998,22(4):87-90.
YI T M,HAN Z M,HUANG M R. DNA extracting methods from vegetative tissue of conifer[J]. Journal of Nanjing Forestry University,1998,22(4):87-90.

[16] 魏伟,王洪新,胡志昂,等.毛乌素沙地柠条群体分子生态学初步研究: RAPD 证据[J].生态学报,1999,19(1):16-22.
WEI W,WANG H X,HU Z A,*et al.* Prmary studies on molecular ecology of *Caragana* spp populations distributed over maowusu sandy grass land;from RAPD data[J]. Acta Ecologica Sinica,1999,19(1):16-22.

[17] 宋卫华,李晓东,李新伟,等.三峡库区稀有植物裸芸香的遗传多样性和保育策略[J].生物多样性,2004,12(2):227-236.
SONG W H,LI X D,LI X W,*et al.* Genetic diversity and conservation stratgy of *Psilopeganum sinense*, a rare species in the Three-Gorges Reservoir area [J]. Biodiversity Science, 2004,12(2):227-236.

[18] 李作洲,王传华,许天全,等.三峡库区特有种疏花水柏枝的保护遗传学研究[J].生物多样性,2003,11(2):109-117.
LI Z Z,WANG C H,XU T Q,*et al.* Conservation genetics of the endemic species *Myricaria laxiflora* (Tamaricaceae) in the Three-Gorges Reservoir area, Hubei[J]. Biodiversity Science,2003,11(2):109-117.

[19] 郎萍,黄宏文.栗属中国特有种居群的遗传多样性及地域差异[J].植物学报,1999,41(6):651-657.
LANG P,HUANG H W. Genetic diversity and geographic variation in natural populations of the *Endemic Castanea* species in China[J]. Acta Botanica Sinica,1999,41(6):651-657.

[20] 周飞梅,樊军锋,侯万伟.陕西地区油松天然群体遗传结构的 RAPD 分析[J].东北林业大学学报,2008,36(12):1-3.
ZHOU F M,FAN J F,HOU W W. Genetic diversity in *Pinus tabulaeformis* natural population in Shanxi by RAPD markers[J]. Journal of Northeast Forestry University, 2008,36(12):1-3.

[21] 万爱华,徐有明,管兰华,等.马尾松无性系种子园遗传结构的 RAPD 分析[J].东北林业大学学报,2008,36(1):18-20.
WANG A H,XU Y M,GUAN L H, *et al.* Genetic structure of clonal seed orchard of Masson pine by RAPD technology [J]. Journal of Northeast Forestry University,2008,36(1):18-20.

[22] 周志强,郝雨,刘彤,等.大兴安岭北段天然樟子松林遗传多样性与主要生态因子的相关性研究[J].北京林业大学学报,2006,28(6):22-27.
ZHOU Z Q,HAO Y,LIU D, *et al.* Corelativity analysis between the main ecological factors and genetic diversity of *Pinus sylvestris* var. *mongolica* population in the north part of Great Xingan Mountains[J]. Journal of Beijing Forestry University,2006,28(6):22-27.

[23] 吕建洲,吴隆坤,刘德利,等.凉水、丰林自然保护区红松居群遗传多样性的 RAPD 分析[J].植物研究,2005,25(2):192-196.
LU J Z,WU L K,LIU D L, *et al.* Comparison of genetic diversity of *Pinus koraiensis* in two national nature reserves by RAPD marker [J]. Bulletn of Botanical Research, 2005,25(2):192-196.

[24] 唐娟娟,范义荣,朱睦元.黄山松群体遗传多样性分析[J].浙江林学院学报,2003,20(1):23-26.
TANG J J,FAN Y R,ZHU M Y. Analysis of the genetic diversity of *Pinus taiwanensis* populations[J]. Journal of Zhejiang Forestry College,2003,20(1):23-26.

氏距离聚类的结果表明:可用花色、斑块形态和苞片数量 3 个性状初区分开黄牡丹的类群,不同类群的黄牡丹的亲缘关系可依据地理种源的远近、花色、斑块色形和萼片和苞片总数进行初步分类。黄牡丹表型聚类的结果与龚洵所做的滇牡丹 ISSR 遗传多样性研究结果所反映的地理种源亲缘关系是一致的,说明地理隔离对多样性形成的作用是较大的。在黄牡丹种质的利用过程中,作杂交亲本的选择,花色无斑的类型其后代表现出黄色的稳定性应较高;若是培育有花斑的类型,选择的亲本以有卵圆形斑块的为好,花瓣基部有条带性色斑的亲本的花色遗传稳定性不高。

参考文献:

[1] 龚洵, 潘跃芝, 杨志云. 滇牡丹的多样性和现状评估[J]. 西北植物学报, 2003, 23(2): 218-223.
GONG X, PAN Y Z, YANG Z Y. The diversities and value of present situation of *Paeonia delavayi* [J]. Acta Bot. Boreal-Occident. Sin., 2003, 23(2): 218-223.

[2] 潘开玉. 芍药属. 中国植物志(第 2 卷)[M], 北京: 科学出版社, 1979.

[3] 刘勇, 孙中海, 刘德春, 等. 部分柚类品种数值分类研究[J]. 果树学报, 2006, 23(1): 35-40.
LIU Y, SUN Z H, LIU D C, *et al.* Study on numerical taxonomy of pomelo cultivars[J]. Journal of Fruit Science, 2006, 23(1): 35-40.

[4] 李思锋, 于兆英, 周俊彦. 黄牡丹的核型分析[J]. 武汉植物学研究, 1989, 7(2): 107-111.
LI S F, YU Z Y, ZHOU J Y. Karyotype analysis of *Paeonia delavayi* var *lutea* [J]. Journal of Wuhan Botanical Research, 1989, 7(2): 107-111.

[5] 肖调江, 龚洵, 夏丽芳, 等. 滇牡丹复合群的 Giemsa C—带比较研究[J]. 云南植物研究, 1997, 19(4): 395-401.
XIAO T J, GONG X, XIA L F, *et al.* C-banding patterns in *Paeonia delavayi* complex of Genus *Paeonia* [J]. Acta Botanica Yunnannica, 1997, 19(4): 395-401.

[6] 龚洵, 肖调江, 顾志建, 等. 黄牡丹八个居群的 Giemsa C—带比较研究[J]. 云南植物研究, 1999, 21(4): 477-482.
GONG X, XIAO T J, GU Z J, *et al.* Giemesia C—banding patterns in 8 populations of *Paeonia delavayi* var *lutea* [J]. Acta Botanica Yunnannica, 1999, 21(4): 477-482.

[7] 杨淑达, 施苏华, 龚洵, 等. 滇牡丹遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 生物多样性, 2005, 13(2): 105-111.
YANG S D, SHI S H, GONG X, *et al.* Genetic diversity of *Paeonia delavayi* revealed by ISSR [J]. Biodiversity Science, 2005, 13(2): 105-111.

[8] HONG D Y, PAN K Y, YU H. Taxonomy of the *Paeonia delavayi* complex (Paeoniaeae) [J]. Annals of Missouri Botanical Garden. 1998, (85): 554-564.

[9] 方文培. 中国芍药属植物研究[J]. 植物分类学报, 1958, 7(4): 297-323.
FANG W P. A study of the Genus *Paeonia* in China [J]. Acta Phytotaxonomica Sinica, 1958, 7(4): 297-323.

[10] 龚洵, 武全安. 渐危植物黄牡丹受威胁因素初探[J]. 植物引种驯化集刊, 1993, 8(1): 141-146.
GONG X, WU Q A. A preliminary study of the factors threatening *Paeonia lutea* [J]. Plant Introduction and Acclimatization, 1993, 8(1): 141-146.

[11] 何承忠, 张晏, 段安安, 等. 滇杨优树无性系苗期叶片性状变异分析[J]. 西北林学院学报, 2009, 24(6): 28-32.
HE C Z, ZHANG Y, DUAN A A, *et al.* Variation analysis on leaf traits in seedling duration of *Populus yunnanensis* plus tree clones [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2009, 24(6): 28-32.

(上接第 116 页)

[25] 税琨, 黄少伟, 陈炳铨. 火炬松原生种源和引种群体 RAPD 遗传多样性[J]. 华南农业大学学报, 2005, 26(3): 54-57.
SHUI J, HUANG S W, CHEN B Q. RAPD analysis on the genetic diversity of original provenances and internal populations of *Pinus taeda* [J]. Journal of South China Agricultural University, 2005, 26(3): 54-57.

[26] 王洪新, 胡志昂. 植物的繁殖系统, 遗传结构和遗传多样性保护[J]. 生物多样性, 1996, 4(2): 92-96.

WANG H X, HU Z A. Plant breeding system, genetic structure and conservation of genetic diversity [J]. Biodiversity Science, 1996, 4(2): 92-96.

[27] WRIGHT S. Evolution in Mendelian population [J]. Genetics, 1931, 16: 97-159.

[28] SLATKIN M. Rare alleles as indicators of gene flow [J]. Evolution, 1985, 39: 52-65.