

# 人工砍伐后短柄枹栎的居群遗传重建研究

曹倩<sup>1,2</sup>, 刘义飞<sup>1</sup>, 黄宏文<sup>1\*</sup>

(1. 中国科学院华南植物园, 中国科学院植物资源保护与可持续利用重点实验室, 广州 510650; 2. 中国科学院大学, 北京 100049)

**摘要:** 为探讨人工砍伐后短柄枹栎(*Quercus glandulifera* var. *brevipetiolata* Nakai)居群的遗传关系,采用 SSR 分子标记技术,对短柄枹栎天然林中的 4 个次生林居群的遗传多样性、遗传结构进行研究。结果表明,筛选的 7 对 SSR 引物在 4 个居群内共揭示了 101 个等位基因。砍伐后恢复 20 年(20YAH)的短柄枹栎居群的遗传多样性最高,而砍伐后恢复 1 年(1YAH)和 10 年(10YAH)的遗传多样性相对较低。从长远来看,试验地居民特殊的砍伐习惯不会造成短柄枹栎天然林遗传多样性的变化。

**关键词:** 短柄枹栎; SSR; 遗传多样性; 遗传结构

doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2014.01.011

## Restoration of Genetic Diversity of *Quercus glandulifera* var. *brevipetiolata* Population after Artificial Logging

CAO Qian<sup>1,2</sup>, LIU Yi-fei<sup>1</sup>, HUANG Hong-wen<sup>1\*</sup>

(1. Key Laboratory of Plant Resources Conservation and Sustainable Utilization, South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

**Abstract:** In order to understand the genetic relationship of *Quercus glandulifera* var. *brevipetiolata* Nakai population, the genetic diversity and genetic structure in four secondary populations of *Q. glandulifera* var. *brevipetiolata* community were studied by using SSR markers. The results showed that 101 alleles existed in the four populations of *Q. glandulifera* var. *brevipetiolata* by using 7 pairs of SSR primers. The genetic diversity in population of 20-year after harvesting (20YAH) was the highest, while those of 1YAH and 10YAH were low relatively. In the long term, the special logging habits of local residents will not influence the genetic diversity of *Q. glandulifera* var. *brevipetiolata* nature forest.

**Keywords:** *Quercus glandulifera* var. *brevipetiolata*; SSR; Genetic diversity; Genetic structure

短柄枹栎(*Quercus glandulifera* var. *brevipetiolata*)隶属于壳斗科(Fagaceae)枹属,为多年生落叶乔木<sup>[1]</sup>,主干可达 15 ~ 20 m,短柄枹栎是我国热带和南亚热带地区的优良树种,具有重要的商业价值:短柄枹栎生长速度快、树干高大笔直、木材坚硬,可用于建筑、车辆、薪材和食用菌种植等;种子富含淀粉可用于酿酒和饮料制作;树皮可提取栲胶,树叶可饲养柞蚕。同时,该物种在其自然分布区还是重

要的森林建群树种,具有重要的生态意义,在区域生态防护和生态功能维系上发挥了重要的作用。短柄枹栎的地理分布广泛,其自然居群多分布于辽宁(南部)、山西(南部)、陕西、甘肃、山东、江苏、安徽、河南、湖北、湖南、广东、广西、四川、贵州、云南等省区,海拔为 200 ~ 2000 m 的山地或沟谷林中,同时,日本和朝鲜等国也有分布。

湖北省地处我国中部,地势西高东低,西、北、

收稿日期: 2013-05-16

接受日期: 2013-05-29

基金项目: 中国科学院华南植物园领域前沿青年科学基金项目(200736)资助

作者简介: 曹倩(1987~),女,硕士研究生,从事植物保育遗传研究工作。E-mail: caoqian0825@163.com

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: huanghw@mail.scbg.ac.cn

东三面环山,中间低平,略成一个不完整的盆地。湖北省地处亚热带,属于典型的季风气候,具有四季分明,日照充足,雨热同季,光、热、水资源较丰富的特点。宜昌市五峰县位于湖北省的西南部,位于北纬 30.218395°,东经 110.747888°,在五峰县境内有大片连续分布的短柄枹栎天然林,当地百姓因为冬季取暖用材和菌类种植用材的需要长期以来形成一种特有的砍伐习惯,自山脚至山顶,砍光宽约几十米的长方形条带内的所有植物,然后自然恢复一定的年限,直到该砍伐带的植被恢复到砍伐前的状态,相邻的砍伐带间隔在 1 km 以上。

本研究利用 SSR 分子标记,分析五峰县境内短柄枹栎天然林中 4 个居群的遗传多样性和遗传结构,研究短柄枹栎天然林的恢复重建情况,揭示在连续分布的短柄枹栎天然林内当地特有的人工砍伐习惯对短柄枹栎天然林遗传重建的影响,为短柄枹栎天然林重建和生态功能维系提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

根据当地的历史砍伐记录,我们选取其中 4 块地理位置邻近的短柄枹栎(*Quercus glandulifera* var. *brevipetiolata*)砍伐带作为研究对象,采用地形图和 GPS 定位相结合的方法确定 4 个短柄枹栎居群的空间位置,其中 3 块砍伐带分别经历了 1 年、10 年

和 20 年的恢复期,另 1 块砍伐带在 20 年内无砍伐记录。将这 4 块砍伐带内的短柄枹栎群体各看作一个独立的小居群,分别表示为 1YAH、10YAH、20YAH 和 NYAH。每个居群的面积均约为 40 m × 100 m,采样时用网格法记录居群内各样本的相对空间位置,采集短柄枹栎的嫩叶,放入装有硅胶的密封袋中(叶样与硅胶的比重为 1 : 10)。从 4 个居群中共采集 168 个短柄枹栎样本,其中 20YAH 居群 50 个样本、10YAH 居群 33 个样本、1YAH 居群 50 个样本、NYAH 居群 35 个样本(图 1),用改良的 CTAB 法<sup>[2]</sup>提取短柄枹栎叶片的基因组 DNA。

### 1.2 短柄枹栎SSR引物的筛选

由于目前还没有短柄枹栎的 SSR 引物报道,因此本研究选用栎属近缘种双色栎(*Quercus petraea*)<sup>[3]</sup>、夏栎(*Q. robur*)<sup>[4]</sup>的 49 对 SSR 引物进行筛选。利用琼脂糖凝胶电泳、非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳对引物进行筛选,并用软件进行评价。用 GENEPOP<sup>[5]</sup>在线软件(<http://genepop.curtin.edu.au/>)对 SSR 位点水平、居群水平以及全局水平是否偏离哈代-温伯格平衡进行检测;利用 FSTAT V.2.9.3 软件<sup>[6]</sup>检测连锁不平衡性,最终挑选出扩增率高且稳定的 SSR 引物用于后续试验。

### 1.3 短柄枹栎SSR位点多态性检测

采用银染法<sup>[7]</sup>检测各 SSR 位点的多态性。

表 1 筛选出的 7 对引物

Table 1 Seven pairs of SSR primers for *Quercus glandulifera* var. *brevipetiolata*

位点 Locus	重复基序 Repeat motif	引物序列 (5' ~ 3') Primer sequence	退火温度 Annealing temperature (°C)	片段长度 Length of fragment (bp)	等位基因数 Number of allele
ssrQpZAG1/5	(GT) <sub>5</sub> (GA) <sub>9</sub>	F: GCTTGAGAGTTGAGATTTGT R: GCAACACCCTTTAACTACCA	53	160 ~ 190	10
ssrQpZAG16	(AG) <sub>21</sub>	F: CTTCAGTGGCTTTTCCTCCT R: TGAAGCCCTTGCAACATGC	50	164 ~ 199	12
ssrQrZAG7	(TC) <sub>17</sub>	F: CAACTTGGTGTTCGGATCAA R: GTGCATTTCTTTTATAGCAITCAC	50	115 ~ 153	33
ssrQrZAG73	(TC) <sub>43</sub>	F: CATGCCTAGTGGAGTCGAGACC R: GCACACCCACGTCGTTCTTAG	48	160 ~ 182	14
ssrQrZAG90	(GA) <sub>34</sub>	F: GGAAGATAGTACCAGCTTGGTGAAT R: GCCTCATCTCACAGGTCCTCC	48	220 ~ 244	11
ssrQrZAG59	(TC) <sub>23</sub>	F: AACAATGAACTCATCAATCCAACA R: GCCATTGAAACTCTCGACCTCTT	48	123 ~ 164	17
ssrQrZAG39	(TC) <sub>34</sub>	F: CACCGCTGGAATTTAAAGGGA R: GACCTAAGCCAAAGTGTGGGC	50	109 ~ 146	14

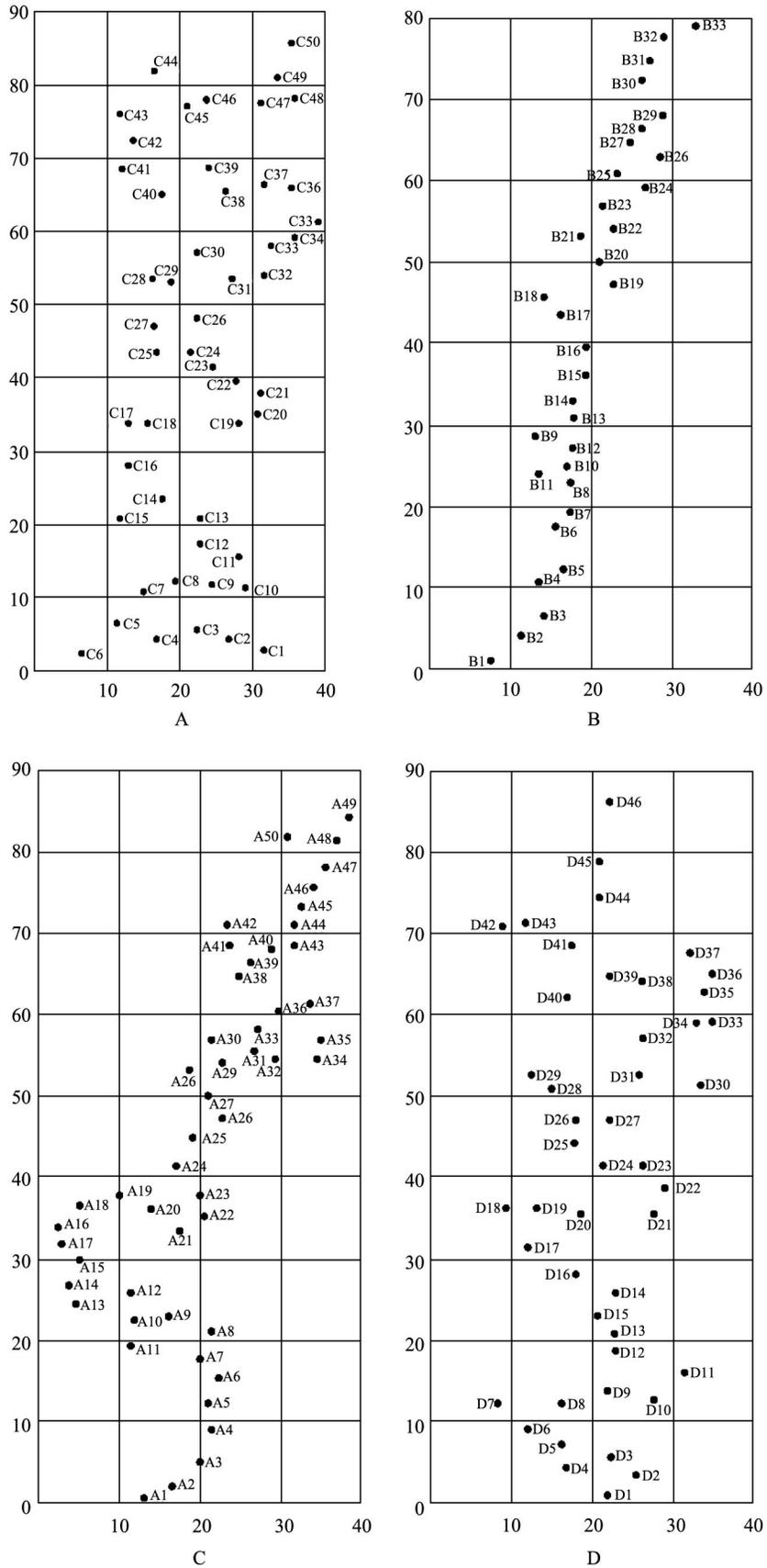


图 1 短柄栲栳采样图。A: 20YAH 居群; B: 10YAH 居群; C: 1YAH 居群; D: NYAH 居群。

Fig. 1 Samples of *Quercus glandulifera* var. *brevipetiolata* populations. A: 20YAH population; B: 10YAH population; C: 1YAH population; D: NYAH population.

PCR 扩增体系总体积为 10  $\mu$ L, 用琼脂糖凝胶电泳检测引物扩增的专一性, 专一性扩增的条带银染后拍照, 将照片导入 Quantity One 软件确定扩增产物的片段长度, 判读等位基因<sup>[3-4]</sup>, 运用 POPGENE 软件进行数据分析。

## 2 结果和分析

### 2.1 引物筛选

通过对 49 对引物进行筛选, 结果有 42 对引物未能获得专一性扩增, 其余 7 对引物则能获得专一性扩增, 且扩增的条带清晰、稳定。因此, 本研究采用这 7 对引物进行位点多态的性检测。这 7 对引物的信息见表 1。

### 2.2 遗传多样性分析

检测 7 对 SSR 引物结合位点的多态性表明(表 2): 7 个 SSR 位点均具有多态性, 在 4 个居群内共揭示了 101 个等位基因, 平均每个位点的等位基因数为 14.43, 其中 QrZAG7 位点的多态性最高, 具 33 个等位基因; QpZAG1/5 位点多态性最低, 仅 10 个等位基因。

运用平均等位基因数( $A$ )、平均有效等位基因数( $A_e$ )、实际杂合率( $H_o$ )、期望杂合率( $H_e$ )及 Shannon 信息指数( $I$ )来分析短柄枹栎居群的遗传多样性水平。从表 3 可知, 7 个 SSR 位点在 4 个短柄枹栎居群中都表现出很高的多态性,  $A$  的范围为 10.0000 ~ 33.0000, 平均值为 14.4286, 其中位点 ssrQrZAG7 的多态性最高, 具 33 个等位基因; 位点 ssrQpZAG1/5 的多态性最低, 仅 10 个等位基因。 $A_e$  值的范围为 6.0292 ~ 16.7178, 平均值为 9.1867, 位点 ssrQpZAG16 的最低, 位点 ssrQrZAG7 的最高;  $H_o$  值的范围为 0.1152 ~ 0.5212, 平均值为 0.3342, 位点 ssrQrZAG7 最低, 位点 ssrQrZAG90 最高;  $H_e$  值的范围为 0.8367 ~ 0.9430, 平均值为 0.8834, 位点 ssrQpZAG16 最低, 位点 ssrQrZAG7 最高。 $I$  值的范围为 2.0191 ~ 3.1432, 平均值为 2.3492, 位点 ssrQpZAG16 最低, 位点 ssrQrZAG7 最高。

从表 4 可知, 在五峰县试验地的 4 个居群中, 短柄枹栎居群的平均等位基因数  $A$  为 10.857 ~ 12.857, 平均值为 11.926, 其中 20YAH(恢复 20 年)的最大, 10YAH(恢复 10 年)的最小; 平均有效等位基因数  $A_e$  为 7.011 (1YAH) ~ 8.281 (20YAH), 平

均值为 7.544; 实际杂合率  $H_o$  为 0.264 (10YAH) ~ 0.400 (1YAH); 期望杂合率  $H_e$  为 0.600 (1YAH) ~ 0.736 (10YAH), 其均值分别为 0.323 和 0.677, 可见  $H_o < H_e$ 。Shannon 信息指数  $I$  为 2.102 (1YAH) ~ 2.210 (NYAH)。总体来看, 20YAH 居群的遗传多样性最高, 1YAH、10YAH 的遗传多样性相对较低。

### 2.3 短柄枹栎居群的固定指数和哈温平衡检验

固定系数( $F$ )又称内繁育系数<sup>[8]</sup>, 是衡量居群是否随机交配的一个重要指标。由表 5 可以看出, 4 个短柄枹栎居群的  $F$  值为 0.132 ~ 0.296, 均大于 0, 说明纯合子过量, 反映出研究区域内的短柄枹栎群体普遍存在近交现象。

### 2.4 遗传分化及基因流

$F$  统计量( $F_{IS}$ 、 $F_{IT}$ 、 $F_{ST}$ )可用来衡量群体的遗传分化水平:  $F_{IS}$  表示群体的基因频率偏离 Hardy-Weinberg 平衡的程度;  $F_{IT}$  表示群体的基因频率偏离 Hardy-Weinberg 平衡期望比例的程度;  $F_{ST}$  又称居群分化系数, 用于衡量群体的分化程度<sup>[9]</sup>。由表 6 可知,  $F_{IS}$  值为 0.0375 (ssrQrZAG7) ~ 0.4084 (ssrQrZAG90), 平均值为 0.2091;  $F_{IT}$  值为 0.0621 (ssrQrZAG7) ~ 0.4254 (ssrQrZAG90);  $F_{ST}$  值为 0.0226 (ssrQrZAG73) ~ 0.0412 (ssrQpZAG1/5), 平均值为 0.0295, 即有 2.95% 的遗传分化存在于居群间, 97.05% 的遗传分化存在于居群内, 所以主要的遗传分化存在于居群内。

应用  $F_{ST}$  值计算样带之间的基因流( $Nm$ ), 即  $Nm = 0.25(1 - F_{ST})/F_{ST}$ , 结果表明基因流处于较高的水平, 最大值为 10.8248, 最小值为 5.8227, 平均值为 8.2281。高水平的基因流导致居群间的遗传分化程度下降, 因此也证明遗传变异主要分布于居群内部<sup>[10]</sup>。

### 2.5 遗传距离分析

遗传距离能反映不同居群间亲缘关系的远近, 其数值愈大, 其亲缘关系愈远; 数值愈小, 亲缘关系愈近<sup>[11]</sup>。由表 7 可知, 整体来看, 4 个居群间的遗传关系较近, 亲缘关系也较近; 另外, 根据短柄枹栎不同居群个体间遗传相关性 PCoA (Principal coordinates) 分析(图 2)可知: 整体而言, 4 个居群个体的相关性系数也相近, 其中 1YAH 中有较多个体的相关性系数偏离整体, 这可能与 1YAH 的遗传恢复时

表 2 等位基因的频率

Table 2 Frequency of all alleles

等位基因 Allele	位点 Loci						
	ssrQpZAG1/5	ssrQpZAG16	ssrQrZAG7	ssrQrZAG73	ssrQrZAG90	ssrQrZAG59	ssrQrZAG39
A	0.0061	0.0091	0.0121	0.0030	0.0152	0.0030	0.0121
B	0.0455	0.0485	0.0242	0.0424	0.0030	0.0030	0.0485
C	0.1242	0.0909	0.0364	0.0788	0.1303	0.0091	0.0727
D	0.1333	0.0121	0.0394	0.0242	0.2121	0.0121	0.0152
E	0.0758	0.1152	0.0364	0.0909	0.1182	0.0212	0.0667
F	0.1212	0.0152	0.0242	0.0576	0.1727	0.0121	0.0061
G	0.1758	0.1667	0.0030	0.1606	0.0818	0.0576	0.0273
H	0.1061	0.2636	0.0424	0.2212	0.1424	0.1212	0.0667
I	0.1212	0.2061	0.0091	0.0606	0.0576	0.0788	0.1455
J	0.0909	0.0273	0.0152	0.1485	0.0333	0.0909	0.2333
K		0.0242	0.0182	0.0273	0.0333	0.0848	0.0970
L		0.0212	0.0788	0.0727		0.1152	0.1121
M			0.0242	0.0091		0.1818	0.0939
N			0.1667	0.0030		0.0758	0.0030
O			0.0273			0.0545	
P			0.0576			0.0485	
Q			0.0242			0.0303	
R			0.0212				
S			0.0061				
T			0.0515				
U			0.0061				
V			0.0485				
W			0.0242				
X			0.0576				
Y			0.0121				
Z			0.0303				
a			0.0182				
b			0.0303				
c			0.0182				
d			0.0091				
e			0.0212				
f			0.0030				
g			0.0030				

表 3 短柄枹栎不同位点的遗传多样性

Table 3 Genetic diversity of different locus in *Quercus glandulifera* var. *brevipetiolata*

位点 Loci	A	Ae	Ho	He	I
ssrQpZAG1/5	10.0000	8.2751	0.3152	0.8818	2.1678
ssrQpZAG16	12.0000	6.0292	0.3273	0.8367	2.0191
ssrQrZAG7	33.0000	16.7178	0.1152	0.9430	3.1432
ssrQrZAG73	14.0000	7.8890	0.3333	0.8759	2.2541
ssrQrZAG90	11.0000	7.2186	0.5212	0.8641	2.1047
ssrQrZAG59	17.0000	10.1189	0.3576	0.9039	2.4799
ssrQrZAG39	14.0000	8.0583	0.3697	0.8786	2.2759
平均 Mean	14.4286	9.1867	0.3342	0.8834	2.3492

A: 平均等位基因数; Ae: 平均有效等位基因数; Ho: 实际杂合率; He: 期望杂合率; I: Shannon 信息指数。表 4 同。

A: Average number of alleles; Ae: Average number of effective alleles; Ho: Actual heterozygosity rate; He: Expected heterozygosity rate; I: Shannon information index. The same is Table 4.

表 4 短柄枹栎各居群的遗传多样性

Table 4 Genetic diversity of *Quercus glandulifera* var. *brevipetiolata* populations

居群 Population	A	Ae	Ho	He	I
1YAH	11.714	7.011	0.400	0.600	2.102
10YAH	10.857	7.082	0.264	0.736	2.103
20YAH	12.857	8.281	0.3556	0.644	2.206
NYAH	12.286	7.802	0.273	0.727	2.210
平均 Mean	11.926	7.544	0.323	0.677	2.155

表 5 短柄枹栎居群不同位点上的固定指数(F)和 Hardy-Weinberg 平衡  $X^2$  检验

Table 5 Fixation index (F) and Hardy-Weinberg equilibrium ( $X^2$  test) of locus of *Quercus glandulifera* var. *brevipetiolata* populations

位点 Loci	居群 Population			
	1YAH	10YAH	20YAH	NYAH
ssrQpZAG1/5	0.282**	0.047	0.228**	0.133
ssrQpZAG16	0.271**	-0.061	0.253**	0.139
ssrQrZAG7	0.008**	-0.093**	0.045	0.184**
ssrQrZAG73	0.306**	0.151	0.229**	0.150
ssrQrZAG90	0.412**	0.352**	0.187*	0.283**
ssrQrZAG59	0.433**	0.184**	0.266**	0.100
ssrQrZAG39	0.359**	0.342	0.196**	0.093
平均 Mean	0.296	0.132	0.198	0.155

\*\* :  $P < 0.01$ ; \* :  $P < 0.05$ .

表 6 短柄枹栎的 F 统计量

Table 6 F statistics of *Quercus glandulifera* var. *brevipetiolata*

位点 Loci	$F_{IS}$	$F_{IT}$	$F_{ST}$	Nm
ssrQpZAG1/5	0.1740	0.2080	0.0412	5.8227
ssrQpZAG16	0.1537	0.1751	0.0253	9.6390
ssrQrZAG7	0.0375	0.0621	0.0256	9.5110
ssrQrZAG73	0.2079	0.2258	0.0226	10.8248
ssrQrZAG90	0.4084	0.4254	0.0287	8.4698
ssrQrZAG59	0.2474	0.2673	0.0265	9.1917
ssrQrZAG39	0.2477	0.2753	0.0367	6.5577
平均 Mean	0.2091	0.2324	0.0295	8.2281

表 7 短柄枹栎各居群 Nei's 的遗传相似性(对角线上)和遗传距离(对角线下)分析

Table 7 Nei's genetic identity (above the diagonal) and genetic distance (under the diagonal) of *Quercus glandulifera* var. *brevipetiolata* populations

居群 Population	1YAH	10YAH	20YAH	NYAH
1YAH	-	0.7828	0.8191	0.7605
10YAH	0.2448	-	0.7502	0.7203
20YAH	0.1996	0.2874	-	0.7251
NYAH	0.2738	0.3281	0.3214	-

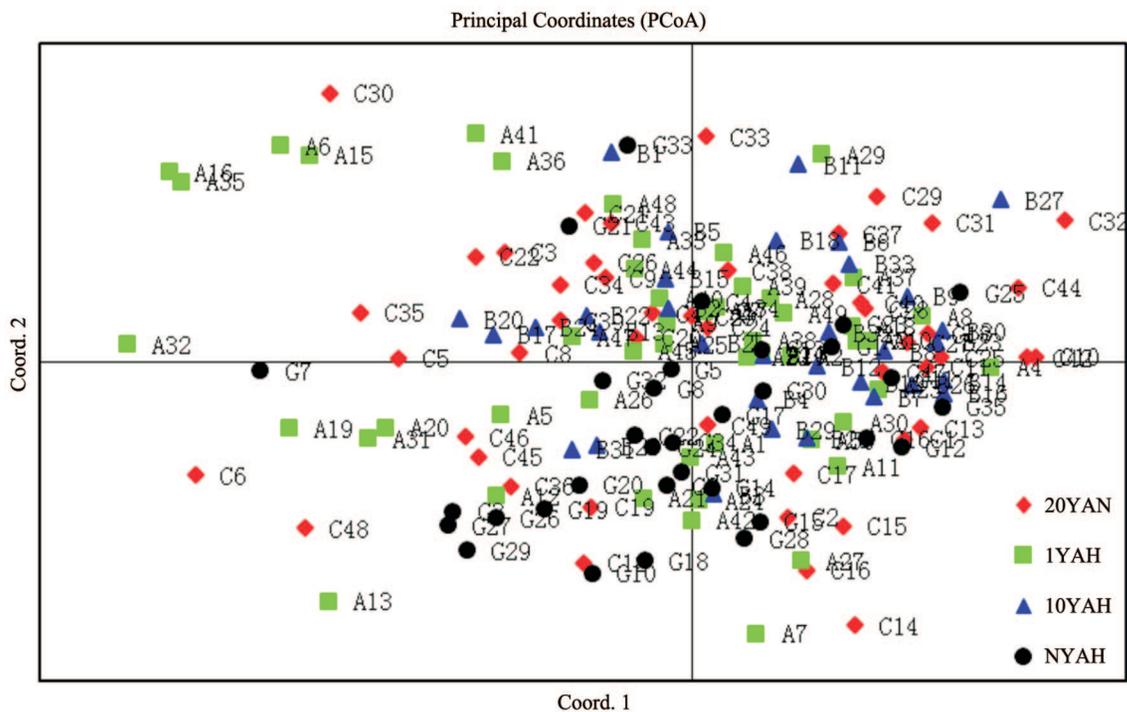


图 2 短柄枹栎各居群个体间遗传相关性 PCoA 分析

Fig. 2 PCoA analysis among individuals of *Quercus glandulifera* var. *brevipetiolata* populations

间过短,没有及时表现出期望的遗传多样性有关。

### 3 结论和讨论

#### 3.1 引物筛选

获得某一物种 SSR 引物的方法有多种: (1) 从构建的 SSR 文库中筛选 SSR 引物,如磁珠法<sup>[12]</sup>; (2) 用其他分子标记开发 SSR 引物,如 RAPD<sup>[13]</sup>、ISSR<sup>[9]</sup>、AFLP<sup>[14]</sup>、EST<sup>[15]</sup>等; (3) 从近缘种的 SSR 引物中筛选适合本种的 SSR 引物。第一种方法实验操作最复杂最繁琐,但筛选出的 SSR 引物较为全面,揭示的多态性位点也较其他方法多,且可以为后续进行遗传资源评价、分子标记辅助育种等研究奠定基础。同时,得到的引物大多数可以应用到近缘种上,为近缘种的相关研究提供 SSR 标记技术。

方法二是目前运用较为普遍的分子标记技术,以 EST 为例,在已知研究对象 EST 序列的前提下,通过对 EST 序列进行检索筛选出 SSRs<sup>[16]</sup>,然后再进行多态性扩增。方法三,即本试验运用的从短柄枹栎近缘种的已知 SSR 序列中,筛选短柄枹栎 SSR 引物,较为便捷。这 3 种方法各有利弊,应视具体研究情况做合适的选择。

#### 3.2 短柄枹栎居群的遗传多样性

本研究用 7 对 SSR 引物从 4 个短柄枹栎居群 168 个样本内共揭示出 101 个等位基因,平均等位基因数为 14.43。刘牧<sup>[17]</sup>研究了蒙古枹栎(*Quercus mongolica*)和辽东枹栎(*Q. wutaishanica*)群体的遗传多样性,9 个位点在 600 个样本中揭示了 149 个等位基因,平均各位点的等位基因数为 16.56;秦英英

等<sup>[18]</sup>研究了辽东枹栎群体的遗传多样性, 11 个位点在 240 个样本中揭示了 113 个等位基因, 各位点的平均等位基因数为 10.27。可见, 短柄枹栎的遗传多样性与枹属近缘种的相近, 处于正常水平。

从居群水平来看, 20YAH(恢复 20 年)居群的平均等位基因数和平均有效等位基因数均最多, 10YAH(恢复 10 年)的平均等位基因数最少, 1YAH(恢复 1 年)的平均有效等位基因数最少, 从整体来看, 20YAH 居群的遗传多样性稍高于 NYAH, 1YAH、10YAH 的遗传多样性相对较低。

短柄枹栎 4 个居群的平均等位基因数为 11.926, 平均有效等位基因数为 7.544, 这均比秦英英等<sup>[18]</sup>报道的辽东枹(平均等位基因数 10.2727、平均有效等位基因数 5.1859)要高。

短柄枹栎群体平均期望杂合度为 0.677, 而短柄枹栎近缘种中国板栗(*Castanea mollissima*)的期望杂合度为 0.678<sup>[19]</sup>、美洲黑杨(*Populus nigra*)的为 0.75<sup>[20]</sup>, 可见, 短柄枹栎群体的杂合度水平偏低, 这可能与取样地范围偏小、取样较为集中有关。

### 3.3 短柄枹栎居群的固定指数

固定指数  $F$  可以用来衡量群体中杂合体的比率, 本研究 4 个居群的固定指数  $F$  值分别为 0.296、0.132、0.198、0.155, 均大于 0, 说明短柄枹栎群体中杂合体较少, 这很有可能是因为短柄枹栎群体中种子流作用大于花粉流作用引起的。

### 3.4 短柄枹栎居群的遗传分化

短柄枹栎群体中只有 2.95% 的遗传分化存在于居群间( $F_{ST} = 0.029$ ), 而绝大部分的遗传分化存在于居群内部, 这也与枹属其他物种的遗传分化结果相近, 如秦英英等<sup>[18]</sup>报道辽东枹的遗传分化为 4.01%; 徐小林报道栓皮枹的遗传分化为 4.55%<sup>[21]</sup>。可见, 短柄枹栎的遗传分化更低, 造成短柄枹栎居群间遗传分化低、居群内遗传分化高的一个重要原因是其基因流水平较高。短柄枹栎群体的基因流水平  $Nm$  为 8.2281。Wright 认为当  $Nm$  值大于 1 时, 群体的基因流就能够足以抵制遗传漂变的影响, 防止遗传分化的产生<sup>[22]</sup>, 高水平的基因流很可能与选择的 4 个短柄枹栎居群间的时空距离较近有关。

### 3.5 展望

本研究结果表明, 试验地区特有的人工砍伐习

惯对当地短柄枹栎天然林的遗传多样性并没有影响。本研究结果可以为今后的科学研究提供以下几点理论基础和数据支持: (1) 短柄枹栎天然林的更新研究。在连续分布的短柄枹栎天然林中, 针对不同恢复年限的次生林样本, 应用 SSR 标记, 结合单株定位, 揭示短柄枹栎天然林恢复期的遗传多样性和遗传结构。(2) 分析进化因素(如自然选择、人工作用、基因流、遗传漂变等)对居群遗传变异的影响, 为生态功能的维系提供理论依据。(3) 协助政府部门进一步完善现有的护林政策。国家出台一系列限制天然林采伐的政策是为了更好地保护森林资源, 维护生态功能的稳定性。然而本研究结果却表明, 按照一定的科学规律, 适度、合理的砍伐, 在充分满足人们生产生活需要的同时, 不仅不会造成天然林的破坏, 反而更有助于天然林遗传多样性的提高和生态功能的稳定。

### 参考文献

- [1] Peng Y S, Chen L, Li J Q. Study on numerical taxonomy of *Quercus* L. (Fagaceae) in China [J]. J Wuhan Bot Res, 2007, 25(2): 149–157.  
彭炎松, 陈丽, 李建强. 中国枹属植物的数量分类研究 [J]. 武汉植物学研究, 2007, 25(2): 149–157.
- [2] Xiang Q Y, Crawford D J, Wolfe A D, et al. Origin and biogeography of *Aesculus* L. (Hippocastanaceae): A molecular phylogenetic perspective [J]. Evolution, 1998, 52(4): 988–997.
- [3] Steinkellner H, Fluch S, Turetschek E, et al. Identification and characterization of (GA/CT)<sub>n</sub>-microsatellite loci from *Quercus petraea* [J]. Plant Mol Biol, 1997, 33(6): 1093–1096.
- [4] Susanne K, Christian L, Josef G, et al. Characterization of (GA)<sub>n</sub> microsatellite loci from *Quercus robur* [J]. Hereditas, 1998, 129(2): 183–186.
- [5] Liu J E, Qiao C L, Hou X. A useful population genetics software package-GENEPOP (Version 3.1) [J]. Biodiv Sci, 2000, 8(2): 238–246.
- [6] Crispo E, Bentzen P, Reznick D N, et al. The relative influence of natural selection and geography on gene flow in guppies [J]. Mol Ecol, 2006, 15(1): 49–62.
- [7] Bassam B J, Gustavo-Anollés C, Gresshoff P M. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels [J]. Anal Biochem, 1991, 196(1): 80–83.
- [8] Rousset F. Genetic differentiation and estimation of gene flow from F-statistics under isolation by distance [J]. Genetics, 1997, 145(4): 1219–1228.
- [9] Yang C P, Wei L, Jiang J, et al. Analysis of genetic diversity for nineteen populations of *Pinus sibirica* Du Tour with technique of

- ISSR [J]. *J NE For Univ*, 2005, 33(1): 1–3.
- 杨传平, 魏利, 姜静, 等. 应用ISSR-PCR对西伯利亚红松19个种源的遗传多样性分析 [J]. *东北林业大学学报*, 2005, 33(1): 1–3.
- [10] Qu R Z, Hou L, Lü H L, et al. The gene flow of population genetic structure [J]. *Hereditas*, 2004, 26(3): 377–382.
- 曲若竹, 侯林, 吕红丽, 等. 群体遗传结构中的基因流 [J]. *遗传*, 2004, 26(3): 377–382.
- [11] Zhao Q Y, Zhu Z, Zhang Y D, et al. Analysis on correlation between heterosis and genetic distance based on simple sequence repeat markers in *Japonica* rice [J]. *Chin J Rice Sci*, 2009, 23(2): 141–147.
- 赵庆勇, 朱镇, 张亚东, 等. SSR标记遗传距离与粳稻杂种优势的相关性分析 [J]. *中国水稻科学*, 2009, 23(2): 141–147.
- [12] Wang P K, Luo Y, Wang G Z, et al. Experimental study on rapid identification of DNA extracted using beads method [J]. *Bull Biol*, 2006, 41(6): 50–51.
- 王平康, 骆延, 王光志, 等. 磁珠法快速提取鉴定DNA的实验研究 [J]. *生物学通报*, 2006, 41(6): 50–51.
- [13] Lynch M, Milligan B G. Analysis of population genetic structure with RAPD markers [J]. *Mol Ecol*, 1994, 3(2): 91–99.
- [14] Opara U L, Jacobson D, Al-Saady N A. Analysis of genetic diversity in banana cultivars (*Musa* cvs.) from the south of Oman using AFLP markers and classification by phylogenetic, hierarchical clustering and principal component analyses [J]. *J Zhejiang Univ Sci B (Biomed Biotechn)*, 2010, 11(5): 332–341.
- [15] Li X B, Cui H R, Zhang M L. Molecular markers derived from EST: Their development and applications in comparative genomics [J]. *Biodiv Sci*, 2006, 14(6): 541–547.
- 李小白, 崔海瑞, 张明龙. EST分子标记开发及在比较基因组学中的应用 [J]. *生物多样性*, 2006, 14(6): 541–547.
- [16] Wang Y, Kang M, Huang H W. Subpopulation genetic structure in a panmictic population as revealed by molecular markers: A case study of *Castanea sequinii* using SSR markers [J]. *J Plant Ecol*, 2006, 30(1): 147–156.
- 王英, 康明, 黄宏文. 用分子标记揭示植物随机大居群中亚居群的遗传结构——茅栗自然居群空间遗传结构的SSR分析 [J]. *植物生态学报*, 2006, 30(1): 147–156.
- [17] Liu M. The researcher on genetic evolution relationship of *Quercus mongolica* and *Quercus wutaishannica* [D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2012: 1–64.
- 刘牧. 蒙古栎和辽东栎的遗传进化关系研究 [D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2012: 1–64.
- [18] Qin Y Y, Han H R, Kang F F, et al. Genetic diversity in natural populations of *Quercus liaotungensis* in Shanxi Province based on nuclear SSR markers [J]. *J Beijing For Univ*, 2012, 34(2): 61–66.
- 秦英英, 韩海荣, 康蜂峰, 等. 基于SSR标记的山西省辽东栎自然居群遗传多样性分析 [J]. *北京林业大学学报*, 2012, 34(2): 61–66.
- [19] Tian H, Kang M, Li L, et al. Genetic diversity in natural populations of *Castanea mollissima* inferred from nuclear SSR markers [J]. *Biodiv Sci*, 2009, 17(3): 296–302.
- 田华, 康明, 李丽, 等. 中国板栗自然居群微卫星(SSR)遗传多样性 [J]. *生物多样性*, 2009, 17(3): 296–302.
- [20] Li S F, Zhang B, Chen Y, et al. Analysis of genetic diversity of *Populus deltoids* germplasm by SSR [J]. *J Nanjing For Univ*, 2006, 30(4): 10–15.
- 李世峰, 张博, 陈英, 等. 美洲黑杨种质资源遗传多样性的SSR分析 [J]. *南京林业大学学报*, 2006, 30(4): 10–15.
- [21] Xu X L. Study on genetic structure of *Quercus variabilis* natural populations [D]. Nanjing: Nanjing Forestry University, 2003: 1–63.
- 徐小林. 栓皮栎群体遗传结构研究 [D]. 南京: 南京林业大学, 2003: 1–63.
- [22] Wright S. Evolution in mendelian populations [J]. *Genetics*, 1931, 16(2): 97–159.