林业科学研究 2014,27(3):295～301
Forest Research

文章编号:1001-1498(2014)03-0295-07

新疆额尔齐斯河流域苦杨与欧洲黑杨遗传多样性分析

郑书星[1,2], 张建国[1*], 何彩云[1], 保尔江[3], 段爱国[1], 曾艳飞[1], 赛力克[4]

(1. 中国林业科学研究院林业研究所,林木遗传育种国家重点实验室,国家林业局林木培育重点实验室,北京 100091;
2. 中国林业科学研究院资源昆虫研究所,云南 昆明 650224;3. 阿勒泰地区林业科学研究所,新疆 阿勒泰 836500;
4. 阿勒泰地区哈巴河县林业局,新疆 哈巴河 836700)

摘要:应用 SSR 标记技术,对新疆额尔齐斯河流域河谷分布的苦杨(*Populus laurifoli*)和欧洲黑杨(*Populus nigra*)天然居群的遗传多样性和遗传分化进行了研究。结果显示:苦杨和欧洲黑杨的天然居群具有较高的遗传多样性,且苦杨明显高于欧洲黑杨。与苦杨居群相比,欧洲黑杨居群间基因流较高,居群间的遗传分化程度较小,变异主要源于居群内。苦杨和欧洲黑杨居群内的杂合度较高,各个居群的各项遗传参数都要小于物种水平。苦杨和欧洲黑杨均偏离 Hardy-Weinberg 平衡,表现为杂合子过量的现象。

关键词:苦杨;欧洲黑杨;遗传多样性;遗传分化

中图分类号:S718.46 **文献标识码**:A

Genetic Diversity of *Populus laurifolia* and *Populus nigra* Along Erqis River

ZHENG Shu-xing[1,2], *ZHANG Jian-guo*[1], *HE Cai-yun*[1], *BAO Er-jiang*[3], *DUAN Ai-guo*[1], *ZENG Yan-fei*[1], *SAI Li-ke*[4]

(1. State Key Laboratory of Tree Genetics and Breeding, Key Laboratory of Tree Breeding and Cultivation, State Forestry Administration, Research Institute of Forestry, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China;2. Research Institute of Resources Insects, Chinese Academy of Forestry, Kunming 650224, Yunnan, China;3. Altai Research Institute of Forestry, Altai 836500, Xinjiang, China;4. Habahe County Forestry Bureau, Habahe 836700, Xinjiang, China)

Abstract: The genetic diversity and population genetic differentiation of *Populus laurifolia* and *P. nigra* distributed along Erqis River were studied by using nuclear microsatellite markers (SSR). The results showed that the *P. laurifolia* and *P. nigra* populations had an abundant genetic diversity, especially *P. laurifolia*. Higher gene flow ($N_m = 10.0585$) was found in *P. nigra* than in *P. laurifolia*, which prevented the genetic differentiation among populations. It was found that 97.57% genetic variation resulted from intra-populations. In addition, there existed a higher heterozygosity in *P. laurifolia* and *P. nigra* populations, and many genetic coefficients of populations were smaller than those of species. The inbreeding coefficients among populations were negative, indicating that all SSR loci investigated were deviated from Hardy-Weinberg equilibrium at the level of individuals and populations, which suggested that excess of heterozygotes was present in the population.

Key words: *Populus laurifolia*; *Populus nigra*; genetic diversity; genetic differentiation

新疆阿勒泰额尔齐斯河流域河谷地带,分布着成片的苦杨(*Populus laurifoli*)、欧洲黑杨(*Populus nigra*)和额河杨(*Populus × jrtyschensis*)的天然林。其中,苦杨是新疆北部山地中山带下部和低山带河

收稿日期: 2013-11-28
基金项目: 中央公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目"额尔齐斯河天然杨树种群遗传多样性研究"(201004035)
作者简介: 郑书星(1979—),男(土家族),助理研究员,主要从事植物分子生态研究
* 通讯作者:研究员,博士生导师

谷林的主要建群种之一,常生于额尔齐斯河河岸阶地上,形成带状苦杨林。欧洲黑杨是欧亚大陆河谷林中黑杨派的唯一代表种。目前,额河河岸的欧洲黑杨林呈小块状和星散状分布。而额河杨是新疆河谷林的特有种,是欧洲黑杨和苦杨的天然杂交种,天然分布区仅限于新疆的额尔齐斯河及其支流克朗河、布巴津河、哈巴河、别列孜河和阿克哈巴河沿岸的河漫滩地及河湾一带[1]。额河杨林分由多代杂种的复合体构成,杂种形态多变多数呈中间型。

近几十年来,由于干旱、额河水量减少等自然环境恶化以及传统打草放牧等人为活动的干扰,该区域的苦杨、欧洲黑杨和额河杨天然林遭到严重破环,河谷林开始发生衰退。因此,加强额尔齐斯河河谷苦杨、欧洲黑杨及额河杨天然居群遗传多样性的研究,揭示其遗传结构,可为河谷林杨树基因资源的保存及退化居群的恢复提供基础理论依据,也为杨树遗传育种提供新的种质资源。

1 材料与方法

1.1 试验材料

从不同生境采集了6个苦杨天然居群(居群编号K),其中在第2、3、4居群中包含额河杨个体;4个欧洲黑杨天然居群(居群编号H),其中在第1、4居群中也包含额河杨个体。从各个居群中随机选取20～32个单株(单株间距100 m以上)的幼嫩枝条,共288个样本,带回实验室内水培,选取萌发的幼嫩叶片用于基因组DNA的提取。各居群地理位置和样本情况见表1。

1.2 DNA提取及SSR扩增

选取新鲜的幼嫩叶片,用植物基因组DNA提取试剂盒(天根生化科技有限公司)提取样本的基因组DNA。SSR扩增所用的引物来自http://www.ornl.gov/sci/ipgc/ssr_resource.htm中提供的SSR引物序列。共选择了已Mapped的50对引物序列,从中筛选了12对扩增条带清晰、重复性好的引物用于本次实验分析。

SSR扩增体系:50 ng基因组DNA、PCR Buffer [10 mmol·L^{-1} Tris-HCl (pH 8.3)、50 mmol·L^{-1} KCl、1.5 mmol·L^{-1} $MgCl_2$]、0.2 mmol·L^{-1} dNTP、0.2 μmol·L^{-1}反应引物、1U Taq酶(TaKaRa Bio Inc., Otsu, Japan),用去离子水补足总体积为25 μL。扩增程序设定为:94℃预变性3 min;36个循环(94℃变性30 s,54℃～55℃退火30 s,72℃延伸105 s);72℃延伸10 min。扩增反应用GeneAmp® PCR system 9700型扩增仪进行。扩增产物用4%变性聚丙烯酰胺凝胶(PA)电泳,使用JY5000型多功能电泳仪和JY-CX2C型测序电泳槽,银染方法检测结果[2]。

表1 苦杨和欧洲黑杨居群采样地理位置

居群	地点	经纬度	树种/个	生境	海拔/m
K_1	阿尔泰 小东沟 Altay	47°54′22″ N 88°07′10″ E	苦杨(23)	山地	956
K_2	北屯 Beitun	47°22′10″ N 87°48′56″ E	苦杨(18) 额河杨(3)	河滩	485
K_3	北屯 Beitun	47°22′09″ N 87°48′27″ E	苦杨(14) 额河杨(6)	河滩	509
K_4	北屯 克孜勒哈英 Beitun	47°33′26″ N 87°15′33″E	苦杨(22) 额河杨(10)	河滩	475
K_5	布尔津 平原林场 Burqin	47°43′03″ N 86°49′46″ E	苦杨(25)	河滩	472
K_6	哈巴河 俄得克 Habahe	48°03′41″ N 86°19′11″ E	苦杨(20)	河滩	514
H_1	北屯 Beitun	47°34′07″ N 87°15′36″ E	欧洲黑杨(19) 额河杨(2)	河滩	479
H_2	北屯 哈拉西里克 Beitun	47°21′50″ N 87°48′19″ E	欧洲黑杨(24)	河滩	500
H_3	布尔津 平原林场 Burqin	47°34′59″ N 87°03′26″ E	欧洲黑杨(20)	河滩	471
H_4	哈巴河 比列兹河口 Habahe	48°00′03″ N 85°42′11″ E	欧洲黑杨(21) 额河杨(1)	河滩	424

1.3 数据分析

SSR是共显性标记,判读带型时有带赋值“1”,无带赋值“0”,从而形成由1和0组成的数据矩阵。之后,应用POPGENE软件[3]计算多态位点比例(P)、观测等位基因数(A)、有效等位基因数(N)、观测杂合度(H_o)、期望杂合度(H_e)、Shannon指数(I)、基因分化系数(F_{st})、基因流(N_m)等遗传参数;并利用NTSYSpc2.10软件[4](NTSYS-PC Version 2.10. Applied Biostatistics Inc., New York)构建了UPGMA聚类图。

2 结果与分析

2.1 苦杨和欧洲黑杨SSR位点的遗传多样性分析

PCR扩增产物经变性聚丙烯酰胺凝胶电泳得到了清晰的图谱,如图1所示。引物GCPM_1255对苦杨居群的部分样本(A)和GCPM_1158对苦杨(B)及欧洲黑杨(C)居群的部分样本的扩增图谱显示出居群个体间丰富的多态性。

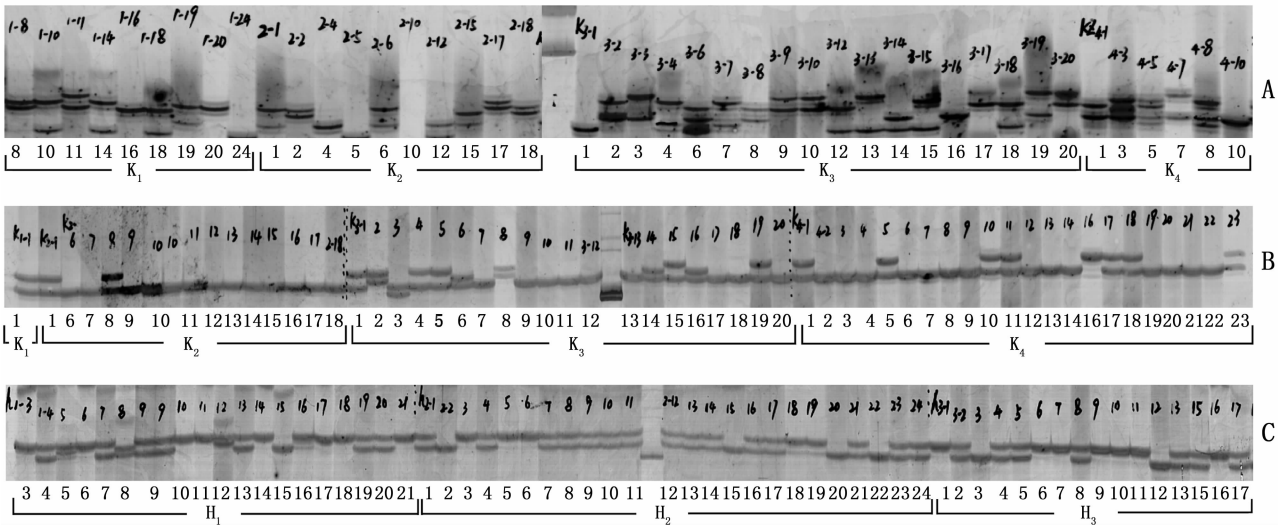

图 1 SSR 引物 GCPM_1255 和 GCPM_1158 扩增产物的电泳结果

(A:GCPM_1255,苦杨;B:GCPM_1158,苦杨;C:GCPM_1158,欧洲黑杨)

统计结果表明,苦杨的多态位点为 10 个,多态位点百分率是 83.33%。50 对引物在苦杨的 6 个天然居群中,共检测到 89 个等位基因(N_a),每个 SSR 位点检测到 1 ～ 31 个等位基因,平均为 7.416 7 个。其中扩增等位基因最多的引物 GCPM_139,共检测到 31 个,最少的是引物 GCPM_1274 和 GCPM_114,各为 1 个。有效等位基因数(N_e)变化范围为 1.000 0(GCPM_1274)到 19.481 7(GCPM_139),平均为 3.887 2(表 2)。苦杨的观察杂合度(H_o)变化范围为 0.000 0 ～ 1.000 0,平均为 0.424 9。期望杂合度(H_e)变化范围为 0.000 0 ～ 0.952 6,平均为 0.394 0。Shannon 信息指数(I)平均为 0.918 5,Nei 多样性指数(h)平均为 0.392 4(表 2)。

表 2　苦杨各位点遗传参数

位点	等位基因数 (N_a)	有效等位基因数 (N_e)	Shannon 信息指数 (I)	观察杂合度 (H_o)	期望杂合度 (H_e)	Nei 多样性指数 (h)
GCPM_1063	15.000 0	4.133 3	1.819 6	0.713 1	0.761 2	0.758 1
GCPM_1065	3.000 0	1.025 0	0.074 1	0.024 6	0.024 5	0.024 4
GCPM_114	1.000 0	1.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0
GCPM_1158	4.000 0	1.436 3	0.517 3	0.319 7	0.305 0	0.303 7
GCPM_124	2.000 0	1.008 2	0.026 6	0.008 2	0.008 2	0.008 2
GCPM_1252	2.000 0	1.008 2	0.026 6	0.008 2	0.008 2	0.008 2
GCPM_1255	9.000 0	4.620 2	1.728 7	0.639 3	0.786 8	0.783 6
GCPM_1260	2.000 0	2.000 0	0.693 1	1.000 0	0.502 1	0.500 0
GCPM_1274	1.000 0	1.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0
GCPM_1353	17.000 0	7.933 9	2.310 6	0.483 6	0.877 6	0.874 0
GCPM_1376	2.00 00	2.000 0	0.693 1	1.000 0	0.502 1	0.500 0
GCPM_139	31.000 0	19.481 7	3.131 9	0.901 6	0.952 6	0.948 7
平均	7.416 7	3.887 2	0.918 5	0.424 9	0.394 0	0.392 4

欧洲黑杨的多态位点为 9 个,多态位点百分率是 75.00%。50 对引物在欧洲黑杨的 4 个天然居群中共检测到 24 个等位基因(N_a),每个 SSR 位点检测到 1 ～ 4 个等位基因,平均为 2.000 0 个。其中检测等位基因最多的是引物 GCPM_1158,共检测到 4 个 SSR 等位基因,最少的是引物 GCPM_124、GCPM_1255、GCPM_1353,各检测到 1 个 SSR 等位基因。有效等位基因数(N_e)变化范围为 1.000 0(GCPM_124、GCPM_1255、GCPM_1353)到 2.000 0(GCPM_1252、GCPM_1260、GCPM_1376),平均为 1.396 7。欧洲黑杨观察杂合度(H_o)变化范围为 0.000 0 ～ 1.000 0,平均为 0.345 2;期望杂合度(H_e)变化范围

为0.000 0～0.503 0,平均为0.220 0;Shannon 信息指数(I)平均为0.334 8,Nei 多样性指数(h)平均为0.218 7(表3)。与苦杨比较,欧洲黑杨居群的遗传多样性偏低。

表3 欧洲黑杨各位点遗传参数

位点	等位基因数(N_a)	有效等位基因(N_e)	Shannon 信息指数(I)	观察杂合度(H_o)	期望杂合度(H_e)	Nei 多样性指数(h)
GCPM_1063	2.000 0	1.012 0	0.036 4	0.011 9	0.011 9	0.011 8
GCPM_1065	2.000 0	1.086 8	0.173 2	0.011 9	0.080 3	0.079 9
GCPM_114	2.000 0	1.492 2	0.511 7	0.416 7	0.331 8	0.329 9
GCPM_1158	4.000 0	1.913 8	0.722 6	0.511 9	0.480 3	0.477 5
GCPM_124	1.000 0	1.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0
GCPM_1252	2.000 0	2.000 0	0.693 1	1.000 0	0.503 0	0.500 0
GCPM_1255	1.000 0	1.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0
GCPM_1260	2.000 0	2.000 0	0.693 1	1.000 0	0.503 0	0.500 0
GCPM_1274	3.000 0	1.156 0	0.302 8	0.095 2	0.135 7	0.134 9
GCPM_1353	1.000 0	1.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0
GCPM_1376	2.000 0	2.000 0	0.693 1	1.000 0	0.503 0	0.500 0
GCPM_139	2.000 0	1.099 8	0.191 4	0.095 2	0.091 2	0.090 7
平均	2.000 0	1.396 7	0.334 8	0.345 2	0.220 0	0.218 7

2.2 苦杨和欧洲黑杨居群遗传多样性分析

50个SSR位点的等位基因数(N_a)在苦杨的6个天然居群中的变幅为3.916 7～4.416 7。其中K_4居群最高(4.416 7),K_1居群的最低(3.916 7)。有效等位基因数(N_e)变化范围为2.402 8(K_2)到2.889 6(K_3)之间,平均为2.729 0。各居群的观察杂合度(H_o)变化范围为0.408 3～0.470 2,平均为0.427 3;期望杂合度(He)变化范围为0.343 6～0.421 3,平均为0.375 3;Shannon 信息指数(I)变幅为0.727 3～0.856 8,平均为0.765 9;Nei 多样性指数(h)变幅为0.335 7～0.406 2,平均为0.365 7。综合比较各项遗传参数,苦杨遗传多样性水平最高的是K_3居群。由于各个居群的H_o均高于H_e,表明居群内的杂合度较高,并且各个居群的各项遗传参数都要小于物种水平。以期望杂合度(H_e)为标准,6个苦杨居群遗传多样性高低次序为$K_3 > K_1 > K_5 > K_6 > K_2 > K_4$(表4)。

表4 苦杨居群遗传参数

居群	样本数量	平均等位基因数(N_a)	有效等位基因(N_e)	Shannon 信息指数(I)	多态位点比率(P)/%	观察杂合度(H_o)	期望杂合度(H_e)	*Nei* 多样性指数(h)
K_1	23	3.916 7	2.643 6	0.747 3	58.33	0.431 2	0.380 7	0.372 4
K_2	18	4.166 7	2.402 8	0.742 4	58.33	0.421 3	0.361 2	0.351 2
K_3	14	4.333 3	2.889 6	0.856 8	83.33	0.470 2	0.421 3	0.406 2
K_4	22	4.416 7	2.739 7	0.727 3	58.33	0.412 9	0.343 6	0.335 7
K_5	25	4.088 3	2.859 7	0.765 4	66.67	0.420 0	0.379 6	0.372 0
K_6	20	4.333 3	2.838 7	0.756 1	58.33	0.408 3	0.365 5	0.356 4
平均		4.209 2	2.729 0	0.765 9	63.89	0.427 3	0.375 3	0.365 7
物种水平	122	7.416 7	3.887 2	0.918 5	83.33	0.424 9	0.394 0	0.392 4

50个SSR位点的等位基因数(N_a)在欧洲黑杨4个天然居群中的变幅为1.750 0～2.083 3,H_1居群最高(2.083 3),H_2、H_3、H_4居群最低(1.750 0)。有效等位基因数(N_e)变化范围为1.343 2(H_1居群)到1.442 4(H_2居群)之间,平均为1.389 3。各居群的观察杂合度(H_o)变化范围为0.311 4～0.385 4,平均为0.343 0;期望杂合度(H_e)变化范围为0.196 1～0.238 1,平均为0.217 4;Shannon 信息指数(I)变幅为0.291 7～0.344 1,平均为0.319 9;Nei 多样性指数(h)变幅为0.190 9～0.233 1,平均为0.212 2。很明显,与苦杨居群比较,欧洲黑杨各居群间的多态性水平较低,且存在一定差异。相对而言,遗传多样性水平最高的是H_2居群;与苦杨类似,欧洲黑杨各个居群的H_o均高于H_e,这表明居群内的杂合度较高。同样,各个居群的各项遗传参数都要小于物种水平。比较期望杂合度(H_e)的大小,

4 个居群遗传多样性高低次序为 $H_2 > H_3 > H_4 > H_1$　（表 5）。

表 5　欧洲黑杨居群遗传参数

居群	样本数量	平均等位基因数 (N_a)	有效等位基因 (N_e)	Shannon 信息指数 (I)	多态位点比率 (P)/%	观察杂合度 (H_o)	期望杂合度 (H_e)	Nei 多样性指数 (h)
H_1	19	1.666 7	1.343 2	0.291 7	58.33	0.311 4	0.196 1	0.190 9
H_2	24	1.750 0	1.442 4	0.344 1	66.67	0.385 4	0.238 1	0.233 1
H_3	20	1.750 0	1.403 5	0.333 0	66.67	0.341 7	0.227 1	0.221 5
H_4	21	1.750 0	1.368 0	0.310 7	66.67	0.333 3	0.208 2	0.203 2
平均		1.729 2	1.389 3	0.319 9	64.59	0.343 0	0.217 4	0.212 2
物种水平	84	2.000 0	1.396 7	0.334 8	75.00	0.345 2	6.220 0	0.218 7

2.3　苦杨和欧洲黑杨居群的遗传分化分析

苦杨和欧洲黑杨共 10 个居群 12 个位点的遗传分化结果如表 6 和表 7 所示。

苦杨 6 个居群的遗传分化系数(F_{st})在不同位点间有较大差异,其变化范围为 0.000 0～0.126 0,平均为 0.071 4,即有 7.14% 的遗传变异存在于各个居群之间,而大部分的变异(92.86%)来源于居群内。

根据 F_{st} 值的估算 N_m,苦杨居群间的基因流变化范围为 1.734 6～8.837 0,平均为 3.253 3,基因流较高,说明苦杨居群间的遗传分化程度较小。

F_{it} 和 F_{is} 分别代表总体水平和单个居群偏离 Hardy-Weinberg(哈迪－温伯格)平衡的程度。从表 6 可知,居群内偏离 Hardy-Weinberg 平衡的 F_{is} 程度变幅在 －1.000 0～0.348 2,GCPM_1353 位点 F_{is} 最高,为 0.348 2,表明该位点在各居群内偏离 Hardy-Weinberg 平衡的程度较大,表现为纯合体偏高;GCPM_1260、GCPM_1376 位点的 F_{is} 为 －1.000 0,表明该位点在各居群杂合体偏高。总居群偏离 Hardy-Weinberg 平衡的程度 F_{it} 变化幅度为 －1.000 0～0.427 2,其中位点 GCPM_1353 的 F_{it} 最大,是 0.427 2,表明该位点总的居群纯合体偏高;GCPM_1260、GCPM_1376 位点的 F_{it} 最小,为 －1.000 0,表明该位点杂合度较高,杂合体偏高。综合分析,F_{it} 和 F_{is} 均为负值,分别为 －0.086 0 和 －0.169 5,表明在总居群和居群内个体间的水平上,都是偏离 Hardy-Weinberg 平衡的,总体表现为杂合子过量的现象。

表 6　苦杨居群 *F*-统计指数和基因流

位点	F_{is}	F_{it}	F_{st}	N_m
GCPM_1063	－0.040 9	0.054 4	0.091 6	2.480 0
GCPM_1065	－0.048 5	－0.011 7	0.035 0	6.888 1
GCPM_114	* * * *	* * * *	0.000 0	* * * *
GCPM_1158	－0.091 9	－0.061 9	0.027 5	8.837 0
GCPM_124	－0.037 0	－0.006 0	0.029 9	8.100 0
GCPM_1252	－0.037 0	－0.006 0	0.029 9	8.100 0
GCPM_1255	0.051 4	0.170 9	0.126 0	1.734 6
GCPM_1260	－1.000 0	－1.000 0	0.000 0	* * * *
GCPM_1274	* * * *	* * * *	0.000 0	* * * *
GCPM_1353	0.348 2	0.427 2	0.121 2	1.813 0
GCPM_1376	－1.000 0	－1.000 0	0.000 0	* * * *
GCPM_139	0.014 9	0.069 2	0.055 1	4.286 0
平均	－0.169 5	－0.086 0	0.071 4	3.253 3

注:F_{is}:群体内近交系数;F_{it}:群体间近交系数;F_{st}:群体间遗传分化系数;N_m:$N_m = 0.25(1 - F_{st})/F_{st}$ 估计的基因流。

欧洲黑杨 4 个居群的遗传分化系数(F_{st})在不同位点间存在一定差异,其变化范围为 0.000 0～0.124 0,平均为 0.024 3,即有 2.43% 的遗传变异存在于各个居群之间,而有 97.57% 的变异存在于居群内,与苦杨居群类似。欧洲黑杨居群间的基因流变化范围为 1.766 8～92.011 0,平均为 10.058 5,基因流较高,表明欧洲黑杨居群间的遗传分化程度较小(表 7)。欧洲黑杨居群内偏离 Hardy-Weinberg 平衡的 F_{is} 程度变化范围在 －1.000 0～0.843 3。其中,GCPM_1065 位点 F_{is} 最高,为 0.843 3,表明该位点在各居群内偏离 Hardy-Weinberg 平衡的程度较大,表现为纯合体偏高;GCPM_1252、GCPM_1260、GCPM_1376 位点的 F_{is} 为 －1.000 0,表明该位点在各居群杂合体偏高。总居群偏离 Hardy-Weinberg 平衡的程度 F_{it} 变化幅度为 －1.000 0～0.843 7。其中位点 GCPM_1065 的 F_{it} 最大,是 0.843 7,表明该位点总的居群纯合体偏高;GCPM_1252、GCPM_1260、GCPM_1376 位点的 F_{it} 最小,为 －1.000 0,表明该位点杂合度较高,杂合体偏高。综合分析,F_{it} 和 F_{is} 均为负值,分别为 －0.575 4 和 －0.614 6,表明在总居群和居群内个体间的水平上,都是偏离 Hardy-Weinberg 平衡的,总体表现为杂合子过量的现象。这一点也与苦杨类似。

表7 欧洲黑杨居群 *F*-统计指数和基因流

位点	F_{is}	F_{it}	F_{st}	N_m
GCPM_1063	-0.024 4	-0.006 0	0.018 0	13.666 7
GCPM_1065	0.843 3	0.843 7	0.002 7	92.011 0
GCPM_114	-0.423 3	-0.246 9	0.124 0	1.766 8
GCPM_1158	-0.097 3	-0.062 6	0.031 6	7.663 2
GCPM_124	* * * *	* * * *	0.000 0	* * * *
GCPM_1252	-1.000 0	-1.000 0	0.000 0	* * * *
GCPM_1255	* * * *	* * * *	0.000 0	* * * *
GCPM_1260	-1.000 0	-1.000 0	0.000 0	* * * *
GCPM_1274	0.266 9	0.284 2	0.023 7	10.316 4
GCPM_1353	* * * *	* * * *	0.000 0	* * * *
GCPM_1376	-1.000 0	-1.000 0	0.000 0	* * * *
GCPM_139	-0.099 0	-0.049 8	0.044 7	5.337 4
平均	-0.614 6	-0.575 4	0.024 3	10.058 5

2.4 苦杨和欧洲黑杨居群间聚类分析

苦杨6个居群间的遗传一致度较高，变幅为0.915 6～0.981 7，而遗传距离变化范围为0.018 4～0.088 1。其中 K_5 和 K_6 居群之间的遗传一致度最高（I=0.981 7），遗传距离最近（D=0.018 4），而 K_1 和 K_4 居群之间的遗传一致度最低（I=0.915 6），遗传距离最远（D=0.088 1），遗传分化程度最大（表8）。UPGMA 聚类分析表明，苦杨6个居群可分为两大类，第一大类包括 K_1 居群；第二大类包括 K_2～K_6 五个居群，其中 K_2 为一个亚分支，K_3～K_6 聚为另一亚分支（图2）。

表8 苦杨居群间的遗传一致度（*I*）和遗传距离（*D*）

居群	K_1	K_2	K_3	K_4	K_5	K_6
K_1	* * * *	0.939 5	0.955 1	0.915 6	0.945 0	0.916 0
K_2	0.062 4	* * * *	0.955 8	0.933 8	0.940 4	0.939 1
K_3	0.046 0	0.045 2	* * * *	0.958 7	0.969 7	0.960 3
K_4	0.088 1	0.068 5	0.042 2	* * * *	0.954 4	0.945 1
K_5	0.056 6	0.061 4	0.030 8	0.046 6	* * * *	0.981 7
K_6	0.087 7	0.062 8	0.040 5	0.056 4	0.018 4	* * * *

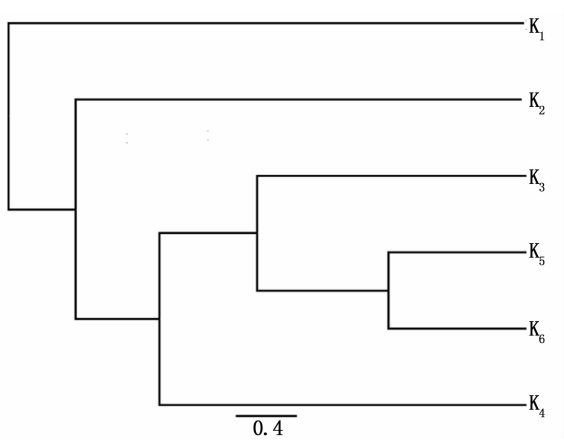

图2 苦杨居群遗传距离 UPGMA 聚类图

欧洲黑杨各个居群间的遗传一致度很高，变幅为0.982 5～0.997 2，而遗传距离变化范围为0.002 8～0.017 7，其中 H_1 和 H_4 居群之间的遗传一致度最高（I=0.997 2），遗传距离最近（D=0.002 8），而 H_1 和 H_2 居群之间的遗传一致度最低（I=0.982 5），遗传距离最远（D=0.017 7）。从遗传距离和遗传一致度的数据来看，欧洲黑杨居群间的遗传分化程度较小（表9）。UPGMA 聚类分析显示，欧洲黑杨4个居群聚为两大类，第一大类包括 H_1、H_4 两个居群；第二大类包括 H_2、H_3 两个居群（图3）。另外，苦杨与欧洲黑杨 UPGMA 聚类分析显示，苦杨6个居群与欧洲黑杨4个居群各自聚为一大类（图4）。

表9 欧洲黑杨居群间的遗传一致度（*I*）和遗传距离（*D*）

居群	H_1	H_2	H_3	H_4
H_1	* * * *	0.982 5	0.995 0	0.997 2
H_2	0.017 7	* * * *	0.995 3	0.982 8
H_3	0.005 0	0.004 8	* * * *	0.995 5
H_4	0.002 8	0.017 3	0.004 5	* * * *

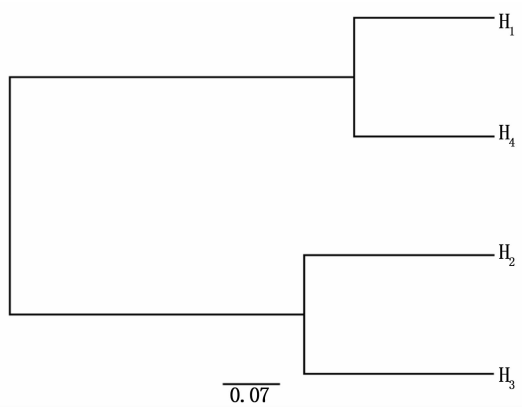

图3 欧洲黑杨群体遗传距离 UPGMA 聚类图

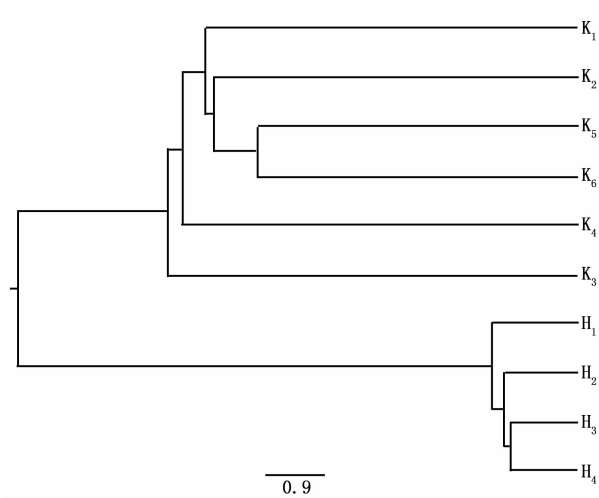

图4 苦杨和欧洲黑杨群体遗传距离 UPGMA 聚类图

3　讨论

3.1　苦杨和欧洲黑杨的遗传多样性

研究一个物种的遗传多样性水平,受到实验所选用的技术方法和采样策略等因素的影响。用不同分子标记研究的群体遗传多样性有着差别[5],一般比较不同物种间遗传多样性的大小应该以相同的分子标记为基础。微卫星 DNA 的高突变率、中性、共显性及其在真核基因组中的普通性,使其成为居群遗传学研究、种质资源鉴定、亲缘关系分析和图谱构建的优越的分子标记[6-9]。苦杨居群的遗传多样性(N_a =7.416 7,H_e =0.394 0)和欧洲黑杨居群的遗传多样性(N_a =2.000 0,H_e =0.220 0)要高于其它多年生木本植物的平均值(N_a = 1.76, H_e = 0.148 0)[10]。相比较,苦杨明显要高于欧洲黑杨。关于苦杨居群遗传多样性较高的主要原因是有欧洲黑杨花粉向苦杨单向授粉形成额河杨杂种的机制所决定的,额河杨进一步与苦杨产生回交,从而导致黑杨的成分渗进了苦杨。

额尔齐斯河流域的苦杨和欧洲黑杨居群,虽然具有一定水平的遗传多样性,但由于传统打草放牧、干旱、地下水位下降等因素的影响,其基因资源在逐渐丢失,遗传多样性水平在降低。因此,尽快采取有效措施来保护基因资源,维持遗传多样性,对新疆北疆生态环境建设和绿洲区的可持续发展极为关键。

3.2　苦杨和欧洲黑杨居群遗传分化

一般广布种、寿命较长的多年生木本植物及风媒异交物种的遗传分化都小于其它类型的物种[11]。林木群体的变异主要来自于居群内,居群间的遗传分化要比其它生物低,遗传分化系数平均只有 0.07 左右,即居群间的变异只占总遗传变异的 7%[12-14]。我们的研究显示,苦杨有 92.86% 的遗传变异存在于居群内,欧洲黑杨有 97.57% 的遗传变异存在于居群内。苦杨和欧洲黑杨均具有较高的遗传多样性与较低的遗传分化,这与其雌雄异株、异花风媒授粉的机制相关。基因流对居群遗传分化具有重要影响[15-16],当居群间基因流大于 1 时,能产生均质化作用,阻止居群分化的发生;小于 1 就不足以抵制居群内因遗传漂变而引起的遗传分化。苦杨和欧洲黑杨的平均 N_m 为 3.253 3 和 10.058 5,这表明它们的基因流阻止了遗传漂变所引起的群体遗传分化,特别是欧洲黑杨。实际测试结果显示,欧洲黑杨各个居群间的遗传一致度很高,变幅为 0.982 5 ~ 0.997 2,遗传距离变化范围为 0.002 8 ~ 0.017 7,很明显欧洲黑杨居群群体间的遗传分化程度较小。欧洲黑杨居群间分化程度低,与种内近交有密切的关系,这一点与苦杨完全不同,因为欧洲黑杨能经过额河杨作为桥梁突破苦杨的遗传障碍,向苦杨单向渗透基因流,但相反的基因流不存在或鲜有发生。因此,我们认为,额尔齐斯河流域的欧洲杨可能是世界较为纯正的欧洲黑杨种。

参考文献:

[1] 陈章水. 杨树栽培实用技术[M]. 北京: 中国林业出版社, 2005

[2] 郑书星, 张建国, 段爱国,等. 新疆阿尔泰地区白杨派 3 个树种半同胞家系子代遗传多样性分析[J]. 林业科学研究, 2013, 26(3): 366 - 372

[3] Yeh F C, Yang R C, Boyle T B J, *et al*. POPGENE, the user friendly shareware or population genetic analysis[M]. Molecular Biology and Biotechnology Center, University of Alberta, Edmonton, Canada. 1997

[4] Rohlf F J. NTSYS - PC Version 2.10[M]. Applied Biostatistics lnc., New York, 1994

[5] Nybom H. Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants. Molecular Ecology, 2004, 13:1143 - 1155

[6] 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(自然科学版), 2006, 30(4): 10 - 14

[7] 徐　莉, 赵桂仿. 微卫星 DNA 标记及其在遗传多样性研究中的应用[J]. 西北植物学报,2002,22: 714 - 722

[8] 张香华, 苏晓华, 黄秦军,等. 欧洲黑杨育种基因资源 SSR 多态性比较研究[J]. 林业科学研究, 2006, 19(4): 477 - 483

[9] 郑书星,张建国,段爱国,等. 额尔齐斯河流域银白杨克隆结构及多样性研究[J]. 林业科学研究 2013,26(4): 426 - 432

[10] Hamrick J L, Godt M J M, Sherman - Broyles S L. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species[J]. New Forests, 1992, (6): 95 - 124

[11] Hamrick J L, Godt M J W. Effects of life history traits on genetic diversity in plant species[J]. Philosophical Transactions of the Royal Society in London, Series B, 1996, 351: 1291 - 1298

[12] 陈　娇, 王小蓉, 汤浩茹,等. 基于 SSR 标记的四川野生中国樱桃遗传多样性和居群遗传结构分析[J]. 园艺学报, 2013,40(2):333 - 340

[13] 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, 1: 68 - 77

[14] 张　玲, 焦培培, 李志军. 中国新疆灰叶胡杨群体遗传多样性的 SSR 分析[J]. 生态学杂志, 2012,31(11): 2755 - 2761

[15] 邹喻苹, 葛　颂, 王晓东. 系统与进化植物学的分子标记[M]. 北京: 科学出版社, 2001

[16] Slatkin M. Gene flow in natural populations[J]. Annual Review of Ecology and Systematics, 1985, 16: 393 - 430