

用遗传标记监测不同环境和经营措施下的加勒比松森林群体遗传动态

郑勇奇

(中国林业科学研究院林业研究所, 北京 100091)

摘要:对古巴加勒比松的 6 个群体(包括天然林、采伐林、母树林和种子园)进行了同工酶分析,根据 5 个酶系统 8 个位点的同工酶数据,对各群体交配系统以及群体遗传变异和结构进行了分析。天然林、种子园和母树林的多位点异交率和绝大多数单位点异交率都和完全异交无显著差异,过渡采伐的松树岛群体多位点异交率显著小于完全异交,而只有一半单位点异交率显著小于完全异交。而且该群体单位点平均异交率和多位点异交率均低于其它 3 个群体的估计值。采伐群体中同工酶变异和基因多样性与天然林群体 JAG 的相似,但低于其它群体,其近交系数较大,但小于天然林 MAN 和中国栽培群体的近交系数。中国引种栽培群体无论是同工酶变异还是基因多样性都显著高于古巴群体,与所有古巴群体的遗传距离都显著大于古巴群体之间的遗传距离。结果表明过度采伐导致群体自交程度增加,营建种子园可有效减少近交。自然分布区以外的引种栽培群体遗传变化最大,无论遗传变异和基因多样性都比参试其它群体大。

关键词:遗传动态;交配系统;遗传结构;遗传标记;异交率

Monitoring genetic dynamics of Caribbean pine populations under different environments and management activities using genetic markers

ZHENG Yong-Qi (Research Institute of Forestry, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China)

Abstract: Isozyme analysis of seeds collected from natural and managed populations of the tropical pine, *Pinus caribaea* var. *caribaea*, was used to assess mating systems and population genetic structure. By comparing the genetic parameters of the managed with the natural populations, possible impacts of changed growing condition on population genetic dynamics were detected. Six populations (consisting of 3 natural populations, 1 managed seed stand and 1 clonal seed orchard in Cuba and 1 plantation population in China) were assayed with 5 enzyme systems and 8 loci. In all populations except the over-logged island population, both single and multi-locus outcrossing rates did not significantly differ from the complete outcross ($t=1$). The multi-locus outcrossing rate and half of the single locus outcrossing rates of the over-logged island population were smaller than the complete outcross. Both the average single-locus outcrossing rate and the multi-locus estimate were significantly smaller than that of the other three populations. Isozyme variation and gene diversity of the over-logged population were found similar to that of the natural population JAG, but lower than of the other populations. The inbreeding coefficient in the over-logged population was larger than in other populations except the two populations of MAN and Chinese plantation. The population of the Chinese plantation was exceptionally different from the Cuban populations by displaying significantly larger isozyme variation and gene diversity. The genetic distances between the Chi-

基金项目:国家“九五”攻关(96-011-03-18-4)资助项目和中英林业合作研究项目(试验部分由英国 ODA 资助)

本研究在爱丁堡大学完成。分析和后期文章整理在中国林业科学院完成,本研究承蒙英国爱丁堡大学 Richard Ennos 博士和中国林业科学院王豁然研究员指导,一并致谢!

收稿日期:1999-03-05; 修订日期:2000-03-23

作者简介:郑勇奇(1964~),男,湖北天门人,博士,研究员。主要从事森林遗传学和树木改良研究。

nese population and the Cuban populations were significantly larger than that among the Cuban populations. Results indicated that over-logging caused the increase of inbreeding and that establishment of well-designed seed orchard can effectively reduce inbreeding. Given the changed growing condition and closely related neighboring species, the population of the Chinese plantation may have undergone several possible processes, such as bulking of seeds of different taxa or hybridization with related species (varieties).

Key words: genetic dynamics; mating system; genetic structure; genetic marker; outcrossing rate

文章编号:1000-0933(2001)03-0344-09 中图分类号:Q943 文献标识码:A

加勒比松(*Pinus caribaea*)是热带重要速生针叶树种,原产古巴、巴哈马及中美洲大陆,有 3 个变种,洪都拉斯加勒比松(*P. caribaea* var. *honduensis*)、古巴加勒比松(*P. caribaea* var. *caribaea*)和巴哈马加勒比松(*P. caribaea* var. *bahamensis*)。我国从 60 年代早期开始引种加勒比松^[1],现已大面积栽植,目前有加勒比松人工林近 10 万 hm^2 ,其栽培面积还将继续迅速扩大。古巴加勒比松是我国引种最早、栽培最广的变种,在人工林林业中起着重要作用。它也是原产地古巴(图 1)和东南亚一些国家的重要人工林树种,其遗传资源被广泛开发利用,天然林被采伐或被用来建立育种改良项目(营建种子园和母树林等)、引种栽培到新的生态环境。从生态学角度来看,森林群体的遗传动态包括群体的遗传结构、群体分化和交配系统。如果群体的遗传动态发生改变,势必影响林木的发育、繁殖和进化,影响森林群体的演替。某些群体遗传特性的变化如近交程度增加,多样性减少等对树种的繁殖、进化以及遗传资源的利用是不利的,应该尽量避免或减少。本文以古巴加勒比松天然群体为对照,利用同功酶遗传标记对采伐林、采种母树林、种子园及引种栽培群体交配系统、遗传结构和群体分化等进行调查,来量化分析在不同环境条件和经营措施下群体的遗传动态,以便制订合理的经营策略,更好开发利用树种遗传资源。

1 材料与方法

1.1 种子采集和样本大小

本研究对 6 个古巴加勒比松群体(天然林群体 3 个、母树林和无性系种子园群体各 1 个、1 个经过采伐的松树岛群体)和 1 个中国栽培群体取样进行群体遗传结构分析(表 1),并对其中 4 个古巴群体(即天然林群体 JAG、母树林、种子园和采伐群体)进行交配系统分析。试验材料为自由授粉的种子,每个群体中选取至少 14 株母树采种。种子采集由中英合作项目“中国加勒比松树木改良和早期营建”于 1994 年夏季在古巴进行(图 1),所有种子均有详细的采种纪录。中国栽培群体的种子由湛江市林科所提供,无详细采种纪录。在群体遗传结构分析中,每个群体至少用 50 粒种子。在交配系统分析中,每个家系(单株)至少对 6 粒种子的胚和胚乳同时进行同功酶分析,以准确推断母本的基因型。

表 1 古巴加勒比松采种群体地理位置和采种母树株数

Table 1 Geographic information and number of seed-collection trees of populations of *P. caribaea* var. *caribaea*

群体 Population	群体类型 Forest type	经营措施 Management	经度(N) Lat.	纬度(W) Long.	海拔(m) Alt.	采种株数 No. of trees collected
PAL	天然林 ^①	无 None	22°36'	83°14'	20~30	15
JAG	天然林*	无 None	22°43'	83°38'	200~280	18
MAN MBJ	天然林	无 None	22°38'	83°33'	70~150	14
	母树林* ^②	遗传疏伐 ^⑥	22°49' 21°25'	83°28' 83°00'	50~70	17
松树岛 IDJ	采伐林* ^③	过度采伐 ^⑦	21°46'	83°02'	50~100	16
种子园 SOR	种子园* ^④	配置设计 ^⑧	21°43' 22°41'	83°55' 83°53'	50	43
中国湛江 CHN	人工林* ^⑤	引种栽培 ^⑨	21	1000°(E)	—	—

* 作交配系统分析的群体 ①Natural, ②Seed stand, ③Logged, ④Seed orchard, ⑤Plantation, ⑥Genetic thinning, ⑦over logging, ⑧Designed deployment, ⑨Introduction & cultivation.

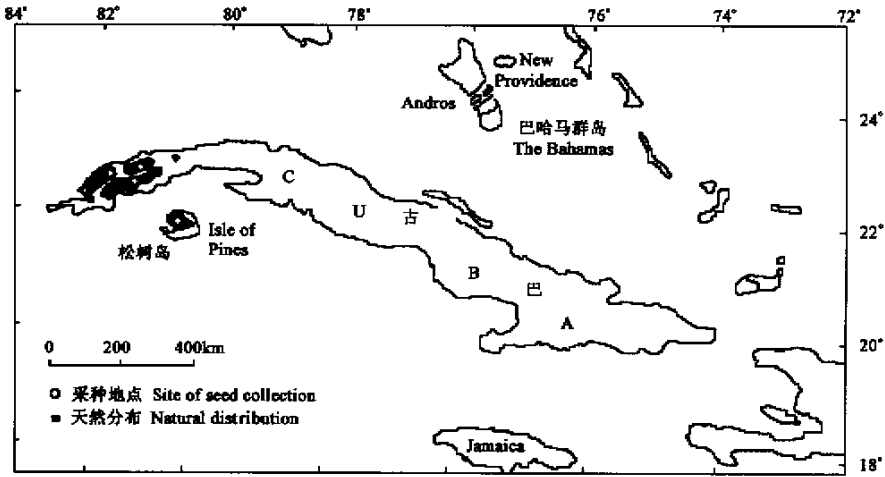


图1 古巴加勒比松天然分布和采样地点

Fig. 1 Natural distribution and seed collection sites

2.2 同工酶分析

电泳之前,种子进行发芽处理,等胚轴伸长至 5mm 长时,将胚和胚乳分离并进行酶提取。遗传结构分析中只对胚作酶提取和电泳,每个群体分析至少 50 粒种子。群体交配系统分析中对胚和胚乳同时作酶提取和电泳,每株母树分析至少 6 粒种子。酶提取采用 0.2M 磷酸钠缓冲液(含 1mg/ml dithiothreitol),电泳按 Chieliak & Pitel^[2]的方法进行。对 5 个酶系统共 8 个位点作了分析,它们是 Aat (E. C. 2. 6. 1. 1)(3 个位点);Idh(E. C. 1. 1. 1. 42)(1 个位点);Mdh(E. C. 1. 1. 1. 37)(1 个位点);6Pgd (E. C. 1. 1. 1. 44) (2 个位点)和 Pgm (E. C. 5. 4. 4. 2) (1 个位点)。其中 Aat-a 在种子园交配系统分析中没有采用。

2.3 数据分析

本研究的群体动态主要指林木群体的交配系统及遗传结构和群体遗传分化。通过对种子胚和胚乳的同工酶电泳,记录其表现型。假设和许多其它针叶树种一样,加勒比松群体符合孟德尔遗传,并且连锁不显著,则母本的基因型可根据其子代(种子)胚乳的同工酶谱来推断。本研究采用 6 粒种子,正确鉴别母本基因型的概率为 $1 - (0.5)^{6-1} = 0.96875$ 。群体单位点和多位点异交率的估计采用 Ritlant K & Jain^[3]和 Ritland^[4]的方法。根据各家系子代基因型频率估计群体花粉库基因频率(p)、单位点和多位点异交率(t_s , t_m)。估计值的方差通过 100 到 500 次家系间重抽样(Bootstraps)求得。由于用于分析交配系统的计算机程序^[5]只能计算每个位点最多 3 个等位基因,Pgm 的第 4 个等位基因(频率最低)与酶谱最近的等位基因合并。

采用 GENEPOP^[6]计算机软件进行 Hardy-Weinberg 平衡和基因型连锁平衡检验。群体内遗传变异由等位基因频率、位点平均等位基因数、位点有效等位基因数、多态位点百分比和基因多样性(期望杂合度 H_e)来衡量。用 F_{is} 测量群体的遗传结构及 Hardy-Weinberg 平衡。群体间分化用 F_{st} 和 Nei 氏遗传距离来衡量。Hardy-Weinberg 平衡状态下的等位基因频率由下式计算:

$$P_i = (N_{ii} + \frac{1}{2} \sum_{j=1}^n N_{ij}) / N \quad (1)$$

其中 P_i 是一个位点第 i 个等位基因(A_i)的频率, N_{ii} 和 N_{ij} 分别是观测到的 $A_i A_i$ 和 $A_i A_j$ 基因型个数, N 是分析的样本总数。多态位点(最频等位基因频率小于等于 0.95 或 0.99)百分比(P)由下式求出:

$$p = x/m \quad (2)$$

其中 x 是多态位点的个数, m 是所分析的总位点个数。每个位点的有效等位基因数为:

万方数据

$$n_e = 1 / (\sum_{i=1}^n p_i^2) \quad (3)$$

它是理论纯合度的倒数。基因多样性(杂合度)的计算公式为:

$$H_c = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 = \sum_{i=1}^n p_i(1 - p_i) \quad (4)$$

其中 n 是等位基因数。基因多样性是衡量群体内遗传变异的最常用的指标。位点的实际等位基因数反映等位基因的丰富程度,而有效等位基因数和基因多样性则测量等位基因的均匀程度,它既考虑等位基因频率又考虑等位基因的个数。

对于单个位点,Nei 氏遗传距离采用下列公式计算:

$$D_N = -\ln I_N = -\ln J_{xy} + \frac{1}{2}\ln J_x + \frac{1}{2}\ln J_y \quad (5)$$

$$I_N = J_{xy} / \sqrt{J_x J_y}; \quad J_{xy} = \sum_{i=1}^n p_{i,x} p_{i,y}; \quad J_x = \sum_{i=1}^n p_{i,x}^2; \quad J_y = \sum_{i=1}^n p_{i,y}^2 \quad (6)$$

$p_{i,x}$ 和 $p_{i,y}$ 分别为群体 x 和 y 中第 i 个等位基因的频率。对于多个位点,则采用平均值。UPGMA (Unweighted pair group method 不加权配对分组法) 用来构建系统发育树。

如果一个群体分成几个亚群体,则它具有 3 个不同的层次,即单株(I)、亚群体(S)和总群体(T)。群体间分化 F_{st} 及其它 F 统计值的基本公式为:

$$(1 - F_{is})(1 - F_{it}) = 1 - F_{it} \quad (7)$$

其中 F_{is} 和 F_{it} 分别为亚群体和总群体内的固定系数(相当于近交系数),测量群体基因型频率分布与 Hardy-Weinberg 平衡的偏离程度。 F_{st} 测量亚群体间的遗传分化。它们可由下列公式计算:

$$F_{is} = 1 - H_i/H_S; \quad F_{it} = 1 - H_i/H_T; \quad F_{st} = 1 - \bar{H}_S/H_T \quad (8)$$

这里 H_i 是一个单株全部基因的平均杂合度或任一基因的杂合度的概率。它是各亚群体平均的观测杂合度。 H_S 是亚群体内单株在随即交配状态下的期望杂合度,对各亚群体求平均得 \bar{H}_S ; H_T 是所有亚群体融合成一个总群体时随机交配状态下的期望杂合度。

2 结果

2.1 花粉和胚珠库中(雄、雌配子库)基因频率

花粉库(父本)中等位基因频率的估计值与胚珠库(母本)中相应等位基因频率进行比较(表 2)。雌雄胚子库基因频率的差异从 Pgd-b 位点第 3 个等位基因的 0.004 到 Idh 位点的 0.066, t 检验表明雌雄胚子库基因频率的差异不显著。

花粉和胚珠库中等位基因频率差异 t 检验的 t 值由下式求得:

$$t = (\bar{x}_1 - \bar{x}_2) / (S_{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}) = (\bar{x}_1 - \bar{x}_2) / \sqrt{2S_p^2/n} \quad (9)$$

其中 n 是估计标准误的重抽样次数, S_p^2 是差异的累加方差,并由下式求出(两个变量的自由度相等时):

$$S_p^2 = (df_1\sigma_1^2 + df_2\sigma_2^2) / (df_1 + df_2) = 1/2(\sigma_1^2 + \sigma_2^2) \quad (10)$$

其中 σ_1^2 和 σ_2^2 分别为花粉和胚珠库中等位基因频率的方差。

2.2 群体异交率估计

置信区间显著性检验表明在种子园群体和完全没有经营措施的自然群体中,单位点和多位点异交率与完全异交(异交率 $t=1$)没有显著差异($P < 0.05$) (表 3)。在母树林群体中, Aat-a 的单位点异交率明显小于完全异交,多位点异交率则不显著。在经过采伐的天然群体中,两个单位点(Pgd-b 和 Pgm-b)和多位点异交率均显著小于完全异交。该群体的单位点和多位点异交率均低于其它 3 个群体。 χ^2 检验为单位点异交率间差异性检验,采用下式计算:

$$\chi_{k-1}^2 = \sum_{i=1}^k I_i(t_i - t)^2$$

自由度位 $k-1$; I_i 为第 i 个单位点 t 估计值方差的倒数。

在全部万个数据中,单位点异交率之间的差异均不明显($P < 0.05$)。在没有采取经营措施的自然群体中,单位点异交率从 0.86(Aat-a)到 1.049(Pgm-b),平均值为 0.954。多位点异交率为 0.984,表示

1.6% 自交。在母树林群体中,单位点平均异交率 0.907,变动范围从 Aat-a 的 0.678 到 Pgm-b 的 1.004。多位点异交率为 1.009,表示没有自交。在采伐过的群体中,单位点异交率从 Pgd-b 的 0.654 到 Idh 的 0.849,平均值为 0.798。多位点异交率为 0.894,表示 10.6% 的自交。在种子园中单位点异交率估计值从 Pgm-b 的 0.90 到 Mdh-b 的 1.007,平均值为 0.941。多位点异交率为 0.985,表示种子园中 1.5% 的自交率。单位点和多位点之间异交率的差异显著性检验表明,在采伐群体和母树林群体中有明显近亲授粉,在无经营措施的自然群体和种子园中近亲授粉不明显。

表 2 花粉和胚珠库中(雄、雌配子库)基因频率及差异检验

Table 2 Gene frequencies in pollen and ovule pools and significance tests of differences

位点 Locus	等位基因 Allele	样本大小 Sample size	胚珠库 Ovule pool	花粉库 Pollen pool	差异 Difference
Idh	1	259	0.163 (0.037)	0.229 (0.026)	-0.066 ns
	2		0.837 (0.037)	0.771 (0.026)	-0.066 ns
Pgd-b	1	247	0.500 (0.036)	0.488 (0.045)	0.012 ns
	2		0.279 (0.049)	0.295 (0.031)	-0.016 ns
	3		0.221 (0.049)	0.217 (0.032)	0.004 ns
Pgm	1	275	0.140 (0.034)	0.119 (0.030)	0.021 ns
	2		0.465 (0.049)	0.446 (0.030)	0.019 ns
	3		0.395 (0.050)	0.435 (0.040)	-0.040 ns
Mdh	1	241	0.070 (0.026)	0.131 (0.035)	-0.061 ns
	2		0.930 (0.026)	0.869 (0.035)	0.061 ns

括号内数字为标准误,ns 表示不显著。

表 3 单位点和多位点异交率估计值(t_s 和 t_m)

Table 3 Estimates of single and multi-locus outcrossing rates (t_s and t_m)

位点 Locus	JAG 天然林 Natural stand		IDJ 采伐林 Logged stand		MBJ 母树林 Seed stand		SOR 种子园 Seed orchard	
	t_s	<i>s.e.</i>	t_s	<i>s.e.</i>	t_s	<i>s.e.</i>	t_s	<i>s.e.</i>
Aat-a	0.86	0.181	0.798	0.124	0.678*	0.133		
Idh	0.942	0.277	0.849	0.173	0.827	0.169	0.977	0.079
Pgd-b	0.888	0.111	0.654*	0.116	0.919	0.097	0.964	0.106
Pgm-b	1.049	0.097	0.762*	0.095	1.004	0.223	0.900	0.088
Mdh-b	—	—	—	—	0.959	0.138	1.007	0.254
t^b	0.935	0.167	0.766*	0.127	0.877	0.152	0.962	0.132
t^c	0.954	0.066	0.798*	0.052	0.907	0.065	0.941	0.053
χ^2 检验 test	0.079		0.071	0.141		0.000		
t_m	0.984	0.046	0.894*	0.038	1.009	0.086	0.985	0.050
t_m-t^c	0.029	0.058	0.096*	0.02	0.102*	0.049	0.044	0.028

t^b 为单位点异交率的数学平均值; t^c 为单位点异交率最小方差平均值; *s.e.* 为标准误; *: 5% 显著水平; —: 因高度单态,不能估计异交率

2.3 Hardy-Weinberg 平衡和连锁平衡检验

多数位点的基因型频率分布都符合 Hardy-Weinberg 平衡,但 Pgd-b 在除 MAN 和 JAG 以外的所有群体中处于杂合体偏少。PAL 和 IDJ 中的 Aat-a、MAN 和 JAG 中的 Aat-b,以及 MAN 中的 Pgm 不符合 Hardy-Weinberg 平衡。中国栽培群体除 Aat-a、Pgd-a 和 Pgm 外,其余位点均不符合 Hardy-Weinberg 平衡。多数群体多数位点都处于连锁平衡,古巴群体只有 3 对位点(即 MBJ 群体的 Pgd-a 和 Pgd-b、IDJ 中的 Aat-a 和 Mdh、SOR 中的 Aat-a 和 Pgm)有显著的连锁不平衡。但在中国栽培群体中有 4 对位点表现出显

著连锁不平衡。它们是 Aat-a 和 Idh, Idh 和 Mdh, Aat-a 和 Pgd-a 以及 Idh 和 Pgd-a。

2.4 基因频率

所有位点至少有一个群体表现多态性,但 Aat-c 和 Pgd-a 两个位点在多数古巴群体中为单态(即固定于一个等位基因)。Aat-b 位点单态性很高,但没有完全固定。多数位点有 2 到 3 个等位基因分离,但 Pgm 有 4 个等位基因分离。其中频率最低、电泳中迁移最快的等位基因在中国栽培群体没有出现,但在所有古巴群体中都出现(表 4)。

表 4 古巴加勒比松各群体的等位基因频率

Table 4 Gene frequencies in populations of *P. caribaea* var. *caribaea*

位点 Locus	等位基因 Allele	PAL (1)	MAN (2)	MBJ (3)	JAG (4)	IDJ (5)	SOR (6)	CHN (7)
Aat-a	(N)	80	57	102	108	174	63	88
	1	0.3	0.456	0.412	0.301	0.385	0.413	0.409
	2	0.7	0.544	0.588	0.699	0.615	0.587	0.591
Aat-b	(N)	80	57	121	131	177	172	88
	1	0	0.018	0	0	0.003	0	0.722
	2	0.988	0.895	1	0.992	0.992	0.994	0.273
Aat-c	(N)	80	57	121	131	177	172	88
	1	0.994	1	1	1	1	1	0.972
	2	0.006	0	0	0	0	0	0.028
Idh-1	(N)	80	57	102	110	148	269	62
	1	0.169	0.132	0.201	0.145	0.108	0.188	0.355
	2	0.831	0.868	0.799	0.855	0.892	0.812	0.645
Mdh-b	(N)	80	57	127	110	148	249	68
	1	0.1	0.105	0.15	0.036	0.03	0.11	0.125
	2	0.9	0.895	0.85	0.964	0.97	0.89	0.875
Pgd-a	(N)	80	57	126	21	148	60	74
	1	0	0	0.012	0	0	0	0.088
	2	1	1	0.984	1	1	0.994	0.912
Pgd-b	(N)	80	57	126	131	176	340	92
	1	0.313	0.342	0.444	0.431	0.33	0.529	0.554
	2	0.256	0.57	0.23	0.271	0.389	0.404	0.272
Pgm	(N)	80	57	102	110	148	277	68
	1	0.081	0.088	0.142	0.109	0.108	0.13	0.007
	2	0.387	0.447	0.353	0.541	0.426	0.444	0.279
	3	0.481	0.421	0.471	0.336	0.436	0.406	0.713
	4	0.05	0.044	0.034	0.014	0.03	0.02	0

注: N 为样本大小。

2.5 遗传变异和群体分化

除 JAG 群体外,其它两个天然林群体中(PAL 和 MAN)的同功酶变异比经营群体(母树林 MBJ、采伐林 IDJ 和种子园 SOR)中的同功酶变异大,各群体位点平均等位基因数从 2.1 到 2.3,变化很小(表 5)。多态位点百分比从 50%到 75%,基因多样性从 0.25 到 0.297。采伐群体(IDJ)中同功酶变异和基因多样性与天然林群体 JAG 的相似,但低于所有其它群体。采伐林群体的近交系数较大,但小于天然林 MAN 和中国栽培群体的近交系数。种子园群体的近交系数显著低于所有其它群体。在中国栽培群体中同功酶变异增大,基因多样性增加(0.35),比古巴群体(不包括种子园)基因多样性的平均值 0.272 要高,其近交系数

(0.221)为全部群体中最大。

表 5 各群体的位点平均等位基因数(n_a), 位点有效等位基因数(n_e), 多态位点百分比 $P(\%)$, 基因多样性估计值(H_e)和群体内近交系数(F_{is}), 群体间分化(F_{st})以及显著性检验

Table 5 Values of average number of alleles per locus (n_a), effective number of alleles per locus (n_e), percentage of polymorphic loci ($P\%$), heterozygosity (H_e) and inbreeding coefficient within population (F_{is}) and population differentiation (F_{st})

群体 Population	n_a	n_e	$P(\%)$	H_e	F_{is}	F_{st}
PAL	2.3(0.3)	1.60	62.5	0.274(0.094)	0.139 * *	
JAG	2.1(0.4)	1.57	50.0	0.250(0.096)	0.107	
MAN	2.3(0.4)	1.67	75.0	0.286(0.086)	0.173 * *	
MBJ	2.3(0.4)	1.55	62.5	0.297(0.097)	0.156 * *	
IDJ	2.3(0.4)	1.60	50.0	0.253(0.101)	0.167 * *	
平均 Mean	2.26	1.60	60	0.272	0.148	0.020(0.008) * *
SOR	2.3(0.3)	1.57	62.5	0.274(0.091)	0.09	
CHN	2.4(0.2)	1.64	87.5	0.350(0.065)	0.221 * *	

注:平均值计算不包括种子园和中国栽培群体;括号内数值为标准误。

在所有参试群体中,都至少有一个位点明显偏离 Hardy-Weinberg 平衡。全部群体的 F_{is} 都大于 0,表明群体中都存在一定程度的杂合体不足,纯合体过剩(表 5)。种子园的 F_{is} (0.09)很小,而中国栽培群体的 F_{is} (0.221)则较大。中国栽培群体有 4 对位点的基因型连锁不平衡显著,其它群体只有一对位点连锁不平衡显著。天然群体间的遗传分化 F_{st} 值为 0.02,且达到显著水平,表示古巴加勒比松群体间有比较明显的遗传分化。UPGMA 聚类分析显示中国栽培群体与原产地群体的遗传距离较大($D=0.14$),差异显著(图 2)。

3 讨论

3.1 不同环境和经营措施对森林群体遗传动态的影响

3.1.1 群体交配系统 多位点异交率估计值不太受混合交配模型假设条件的限制,因而真实反映群体内的自花授粉程度。本研究结果表明古巴加勒比松全部参试群体的自花授粉程度都较低,与其它热带针叶树相符^[7]。Matheson 等^[8]曾报道巴哈马变种自交率为 15%到 7%,洪都拉斯变种为 11%到 8%,与本研究结果基本一致,但稍高于古巴变种的天然林群体及母树林和种子园,稍低于经过采伐的松树岛群体。

多位点分析结果表明松树岛群体的自交率明显高于其它群体。过度采伐导致自交程度增加,这可能是因采伐使林分密度减小,进而花粉供应不足,自交增加。林分密度对群体异交率的类似影响在其它针叶树种中也有发现^[9,10]。

单位点和多位点异交率的差异在母树林和强度采伐的群体中达到显著水平,说明在这两个群体中近亲交配比例较大。虽然近交不如自交的后果严重,但近亲繁殖也会导致近交衰退而影响林木群体的适应性。导致这种后果的原因可能是因采伐和遗传疏伐,使群体中产生分隔结构或家系群,从而导致有亲缘关系的个体之间互相授粉。

在母树林中因遗传疏伐导致自交程度升高,而建立种子园可以使这种情况得到改善。种子园中的高异交率和低自交程度可能是因为种子园设计采用了较合理的无性系空间配置,如较大的株行距和近亲无性系不相邻等,从而促进花粉的混合和传播,减少自交。许多其它研究也表明种子园中异交率很高,单位点和多位点异交率之间差异不明显^[11,12]。进一步说明良好的种子园设计能有效地防止自交或近交。

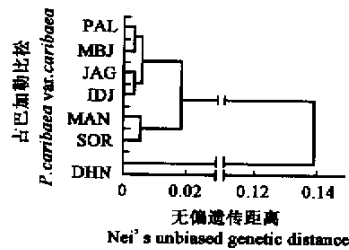


图 2 UPGMA 聚类分析图

Fig. 2 Cluster tree by UPGMA analysis

3.1.2 群体遗传结构和变异 研究结果表明古巴加勒比松各参试群体均具有较大的同功酶变异,这与其它针叶树种相似^[13]。其有效群体规模可能在很长时期内都保持较大,防止了遗传漂变对遗传多样性的侵蚀。加勒比松的另外两个变种也显示了较大的同功酶变异^[8,14]。

以天然林群体数据为基准,可根据同功酶标记推断在其它 3 个驯化群体中的遗传结构的变化程度。结果显示采伐林(IDJ)和母树林(MBJ)的遗传结构和变异变化不明显,种子园的变化亦很小,但种子园近交系数 F_{is} 稍有降低,表明种子园比天然林群体中自交或近交的比例降低,这与本研究中交配系统的分析结果一致。在其它种子园研究中也发现类似结果^[15,16]。

与天然群体相比,遗传结构和变异变化最显著的是中国栽培群体(CHN),此群体同功酶多样性较其它群体高,近交系数 F_{is} 较大,连锁不平衡显著。此外,UPGMA 聚类显示这一群体与其它群体遗传距离很大,差异明显。说明本试验中所用的试验材料中与真正的古巴加勒比松有极为明显的遗传差异,对此需要作更进一步的研究,需要作更多的试验如 DNA 标记分析^[14],以准确鉴定这批试验材料的真实身份。造成这种明显遗传差异的原因可能是因为本研究所采用的中国栽培群体试验材料为不同树种(如湿地松、火炬松等)或不同变种(如巴哈马加勒比松、洪都拉斯加勒比松)的混合种子,或它们之间的杂交种子。基因频率不同的群体混合使多样性升高,导致杂合子不足和明显的连锁不平衡,本试验的结果也证实这一点。

本研究采用的种子园群体和中国引种栽培群体都是通过抽样而建立的人工群体,它们是整个古巴加勒比松大群体的一个抽样样本,结果表明这两种措施并没有引起的明显的同功酶遗传变异或多样性的丢失,这种抽样效应不明显的情况在其它乡土树种驯化中也有报道^[17,18]。但由于这两个群体的生长环境发生改变或因为经营方式的不同,而导致群体内交配系统发生变化,种子园因采用了旨在避免近交的无性系配置设计和适当的株行距,使其近交程度降低。而中国栽培群体却与此相反,交配系统和遗传结构均发生显著变化,同功酶遗传变异和基因多样性升高,近交系数亦高于其它群体。这些出乎预料的变化说明了中国试材种子为混合种子或杂交种子的可能性,需作进一步的研究。

3.2 遗传标记在研究森林生态过程中的应用

传统的生态学研究方法多采用林木的宏观特征如形态性状上,遗传标记技术的发展为在分子水平上研究森林群体的生态过程提供了新的途径。采用遗传标记进行森林群体遗传动态分析进而推断生态过程的影响,具有许多优点。许多遗传标记(如同功酶标记)位点都符合孟德尔遗传规律,并具共显性特点,因此这类标记可用来直接推断各种可能的基因型种类,可直接用来计算基因频率,而不象数量性状受环境影响,因此可以对不同群体和树种进行直接比较。这种方法简单、便宜,适用于多种树种,同功酶分析只需少量植物材料如种子、叶片等即可进行大量基因位点的分析,而且对树木而言,许多基因位点在生命周期的各个发育阶段都能得到同功酶的表达。此外绝大多数树种都能够提取同功酶,在相同时间内可对大量试材进行分析。遗传标记通常是选择中性即不受选择影响的,因此遗传标记所反映的变异是中性(无选择性)的变异。这些遗传标记变异有助于了解森林群体演替历史,进而推断群体所经历过的诸如遗传瓶颈,自然分布区内群体间隔离等历史^[19]。

遗传标记的种类很多,除同功酶标记外,还有大量的 DNA 遗传标记。不同种类的遗传标记各具优缺点,同功酶标记的主要缺点是它们基本上只代表结构基因,并不是整个基因组的随机样本。同功酶标记只能检测到编码蛋白质表达的遗传变异,因此它所测到的遗传变异并不是准确的全部遗传变异。使用 DNA 标记可使这些缺点得到克服,但价格则要昂贵。因此,应根据研究目的、分析材料、研究经费和试验条件等因素来确定采用何种遗传标记。本研究显示同功酶遗传标记在监测在不同环境条件和不同经营措施下林木群体的遗传动态变化方面具有很大的应用价值。

参考文献

- [1] 潘志刚,游应天. 中国主要外来树种引种栽培. 北京:北京科学技术出版社,1994. 113~122.
- [2] Cheliah W, Hestel J A. Techniques for starch gel electrophoresis of enzymes from forest tree species. Information report PI-X-42, Petawawa National Forestry Institute, 1984. 49.

- [3] Ritland K & Jain S. A model for the estimation of outcrossing rate and gene frequencies using n independent loci. *Heredity*, 1981, **47**(1): 35~52.
- [4] Ritland K. Joint maximum likelihood estimation of genetic and mating structure using open-pollinated progenies. *Biometrics*, 1986, **42**: 25~43.
- [5] Ritland K. A series of FORTRAN computer programs for estimating plant mating systems. *J. Heredity*, 1990, **81**: 235~237.
- [6] Raymond M and Rousset F. GENEPOP: Population genetics software for exact tests and ecumenicism (version 1.2). *J. Heredity*, 1995, **86**: 248~249.
- [7] Loveless M D. Isozyme variation in tropical trees; Patterns of genetic organization. *New Forests*, 1992, **6**: 67~94.
- [8] Matheson A C, Bell J C and Barnes R D. Breeding systems and genetic structure in some Central American pine populations. *Silvae Genetica*, 1989, **38**: 107~113.
- [9] Knowles P, Furnier G R, Aleksiuik M A, *et al.* Significant levels of self-fertilization in natural populations of tamarack. *Can. J. Bot.*, 1987, **65**: 1087~1091.
- [10] Hardner C M, Vaillancourt R E and Potts B M. Stand density influences outcrossing rate and growth of open-pollinated families of *Eucalyptus globulus*. *Silvae Genetica*, 1996, **45**: 226~228.
- [11] Rudin D, Muona O and Yazdani R. Comparison of the mating system of *Pinus sylvestris* in natural stands and seed orchards. *Hereditas*, 1986, **104**: 15~19.
- [12] Muona O and Harju A. Effective population sizes, genetic variability, and mating system in natural stands and seed orchards of *Pinus sylvestris*. *Silvae Genetica*, 1989, **38**: 221~228.
- [13] Hamrick J L, Godt M J W and Sherman-Broyles S L. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. *New Forests*, 1992, **6**: 95~124.
- [14] Zheng Y Q. Genetic studies and improvement of *Pinus caribaea*. PhD thesis. Edinburgh University. 1996.
- [15] Moran G F, Bell J C and Griffin A R. Reduction in levels of inbreeding in a seed orchard of *Eucalyptus regnans* F. Muell. Compared with natural populations. *Silvae Genetica*, 1989, **38**: 32~36.
- [16] Savolainen O and Karkkainen K. Effect of forest management on gene pools. *New Forests*, 1992, **6**: 329~345.
- [17] Szmidi A E and Muona O. Genetic effects of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) domestication. In: Gregorius, H-R. ed. *Population genetics in forestry. Lecture notes in Biomathematics*, Berlin: Springer-Verlag, 1985, **60**: 241~252.
- [18] Muona O and Yazdani R. Genetic comparison of natural and artificial populations of *Pinus sylvestris*. In: Muller-Starck, G. and Ziehe, M. eds. *Genetic Variation of Forest Tree Populations in Europe*. Sauerlanders Verlag, Frankfurt am Main. 1991.
- [19] Ennos R A. Utilising genetic information in plant conservation programmes. In: Hochberg, M., Clobert J. and Barbault, R. eds. *Aspects of the Genesis and Maintenance of Biological Diversity*, Oxford: Oxford University Press, 1996. 278~291.