

刺槐群体引种试验及遗传多样性分析

张 双¹, 谷俊涛², 王进茂¹, 左力辉¹, 杨敏生^{1,*}

(¹河北农业大学林学院, 河北省林木种质资源与森林保护重点实验室, 河北保定 071000; ²河北农业大学生命科学学院, 河北保定 071000)

摘 要: 分析来源于不同产地的刺槐群体生长和遗传多样性, 以期了解刺槐在中国的地理变异模式, 为其良种选育和栽培利用提供参考。用全国 19 个刺槐产地种子育苗, 在河北保定营建对比试验林, 对其生长性状进行调查分析, 并对 19 个群体共 570 个样本进行 SSR 标记分析。对 5 年生试验林的调查结果表明, 19 个刺槐群体间在存活率、树高和胸径上均表现为显著差异, 存活率为 53.33%~83.33%, 树高区间为 5.65~6.61 m, 胸径为 4.28~5.48 cm。不同产地的群体间生长性状存在显著差异, 表现为以试验林栽植地区为中心向外辐射, 距离试验地点越远的群体, 存活率和生长量越低, 表明刺槐在生长性状上形成地理变异, 具有丰富的遗传多样性。SSR 分析表明, 总的基因多样性 (H_T) 的变化幅度为 0.5154~0.7569, 遗传分化系数 (G_{ST}) 平均值为 0.0128, 种群间的变异只占 1.28%, 绝大部分变异存在于种群内。19 个刺槐群体的有效等位基因数、预期杂合度和观测杂合度均表现为由北向南增加趋势。群体的生长指标和 SSR 遗传参数与产地地理因素显著相关; 树木存活率和遗传参数显著相关。试验结果表明, 来自不同产地刺槐群体遗传多样性丰富, 已初步形成地理变异, 表现为产地距离试验地点越远的群体, 存活率和生长量越低; 受纬度和年均温的影响, 群体遗传参数均表现为由北向南增加的趋势。

关键词: 刺槐; 遗传多样性; 适应性

中图分类号: S 687

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2017) 08-1609-10

Analysis on Introduction Trial and Genetic Diversity of Black Locust Populations

ZHANG Shuang¹, GU Juntao², WANG Jinmao¹, ZUO Lihui¹, and YANG Minsheng^{1,*}

(¹Key Laboratory of Germplasm Resources of Forest Trees and Forests Protection of Hebei; College of Forestry, Agricultural University of Hebei, Baoding, Hebei 071000, China; ²College of Life Science, Agricultural University of Hebei, Baoding, Hebei 071000, China)

Abstract: This paper studies the genetic diversity in different geographical conditions can help to understand geographic variation pattern of black locust in China, which can be a reference for the cultivation. Contrast experimental forests were built in Baoding, Hebei with black locust seeds collected from 19 provenances, and the growth traits were investigated. Analysis of SSR markers of 19 populations of total 570 samples are done. Investigation of 5-year-old experimental forest showed that different groups in survival rate, height and diameter at breast height (DBH) had significant differences, that survival rate ranged 53.33% – 83.33%, height changed in 5.65 – 6.61 m, DBH distributed in 4.28 – 5.48 cm. There was

收稿日期: 2017-06-15; **修回日期:** 2017-08-14

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2017YFD0600503)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: yangms100@126.com)

a significant differences in growth traits among populations of different origins, that the performance of the experimental forests planting area as the center radiates outside. The population which farther away from the test site, has a lower survival rate and growth, that indicates the black locust have formed geographical variations in growth traits, with abundant genetic diversity. SSR analysis showed that the total genetic diversity (H_T) changes in amplitude of 0.5154 - 0.7569, and coefficient of genetic differentiation (G_{ST}) has an average of 0.0128. The variation among populations only 1.28% shows that the most variation within populations. The number of effective alleles, expected heterozygosity and observed heterozygosity of 19 black locust populations show increasing from north to south. Correlation analysis of growth traits and genetic parameters showed significant negative correlations. The black locust from different origins have an abundant genetic diversity, that has initially formed a geographical variation. The results show that the farther away from the test site, the populations have the lower survival rate and growth; affected by latitude and the annual mean temperature, number of effective allele, expected heterozygosity and observed heterozygosity both showed trend of increasing from north to south.

Keywords: black locust; *Robinia pserdoacacia*; genetic diversity; adaptability

外来物种在适应当地生态环境的进化过程中, 经过自然选择, 形成自身的遗传结构, 与原产地群体遗传结构相比有不同程度的变化 (Hamrick et al., 1992; Barbier & Schulz, 1997)。研究外来植物不同群体的遗传结构和遗传多样性可以揭示其在当地的适应性和受环境选择压影响的程度, 揭示其进化潜力和未来命运, 可以拓展对育种和遗传改良树种的认识 (季维智和宿兵, 1999; 沈浩和刘登义, 2001; 张翠琴 等, 2015)。

刺槐 (*Robinia pserdoacacia* L.) 为豆科刺槐属落叶乔木, 原产于美国东部, 17 世纪传入欧洲, 之后传入亚洲。刺槐生长快, 观赏效果佳且具有良好的抗逆性, 因此常作为绿化树种使用; 刺槐材质坚韧, 也是重要的用材树种 (Niklas, 1997; Celik et al., 2005)。中国在刺槐的群落学特征方面研究较少 (彭鸿 等, 2003)。张国君等 (2012) 在北京引种韩国、匈牙利及中国国内一些刺槐品种后测定其部分生长指标具有显著差异, 可以通过生长指标来区分各地品种。李忠喜等 (2015) 在引种了美国刺槐和国内刺槐后发现, 原生刺槐的抗寒性呈现出地理变异规律。但在以往的种源试验中主要探究的是生理指标, 分子标记等新技术亟待应用 (张国君 等, 2012; 陈娇 等, 2013; 欧阳磊 等, 2014; 高天翔 等, 2016; 李家丽 等, 2016)。

为了探究不同地区刺槐的遗传多样性, 本研究选取中国 19 个刺槐栽植区, 分别收集种子, 统一育苗并营建对比试验林, 分别从生长性状、SSR 标记方面对比分析了刺槐群体遗传结构的差异和遗传多样性的丰富度, 明确刺槐在中国的遗传变异规律和地理分布模式, 分析刺槐在中国生态环境下的适应特点, 为更好地运用刺槐资源提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

在刺槐不同生长区, 随机选择 19 个地点, 根据地理位置, 将 19 个群体分为 5 个区 (表 1)。挑选当地生长的实生林分, 每个林分收集混合种子 1 kg, 第 2 年 (2000 年) 春季在河北农业大学苗圃试验地 (河北保定) 播种培育。用 1 年生苗木在苗圃试验地建立 19 个刺槐群体的对比试验林。试验

地土壤质地为壤土。采用随机区组设计, 4 次重复, 每小区 10 株, 行距和株距分别为 0.8 m 和 0.6 m, 小区面积 92 m²。试验林 3 年生时进行疏伐, 行距为 1.6 m, 株距为 1.2 m。5 年生时进行性状调查和分子标记分析。

表 1 刺槐 19 个群体的种源产地
Table 1 Locations of the tested 19 black locust provenances

所属区域 Region	编号 No.	采集地 Location	经度/° Longitude	纬度/° Latitude	年均气温/℃ Annual mean temperature	年降水量/mm Annual mean precipitation
I	1	吉林集安市 Ji'an, Jilin	126.17	41.15	5.0	823.7
	2	辽宁阜新县 Fuxin, Liaoning	121.65	42.00	7.2	513.3
	3	辽宁开原市 Kaiyuan, Liaoning	124.03	42.53	8.1	684.4
	4	辽宁朝阳县 Chaoyang, Liaoning	120.42	41.58	8.6	476.4
	5	内蒙古赤峰市 Chifeng, Inner Mongolia	118.87	42.28	7.2	354.8
II	6	甘肃泾川县 Jingchuan, Gansu	107.38	35.31	8.6	521.3
	7	陕西陇县 Longxian, Shaanxi	106.86	34.91	10.7	600.1
	8	陕西杨凌市 Yangling, Shaanxi	108.95	34.27	13.4	573.0
III	9	山西和顺县 Heshun, Shanxi	113.55	37.33	6.3	560.8
	10	河北平泉县 Pingquan, Hebei	118.68	41.02	8.9	506.2
	11	河北遵化县 Zunhua, Hebei	117.97	40.20	9.0	521.7
	12	河北昌黎市 Changli, Hebei	119.15	39.72	10.0	735.2
	13	天津市 Tianjin	117.20	39.13	12.5	559.5
	14	山东潍坊市 Weifang, Shandong	119.10	36.62	12.2	626.8
IV	15	河南卢氏县 Lushi, Henan	111.03	34.06	12.6	637.1
	16	河南辉县 Huixian, Henan	113.77	35.46	13.8	570.1
	17	湖北新洲市 Xinzhou, Hubei	114.80	31.84	15.3	847.1
	18	安徽肥西县 Feixi, Anhui	117.15	31.70	15.7	975.2
V	19	云南昆明市 Kunming, Yunnan	102.73	25.04	14.6	1 006.6

1.2 生长性状调查

对各群体子代进行每木检尺, 测量其树高和胸径, 采用 SPSS 17.0 对其树高、胸径和存活率等进行方差分析。

1.3 刺槐 SSR 分子标记分析

采集新鲜叶片, 每个群体随机采集 30 个个体, 19 个群体总计收集 570 个样本, 用于 SSR 分子标记分析。采用改良 CTAB 法分别提取每个样本基因组 DNA, 经纯化溶解, 使用 Nanodrop2000 核酸测定仪检测合格并稀释到 30 ng · μL⁻¹, 用于 PCR 反应。SSR 引物参考 Lian 和 Hogetsu (2002) 的文献, 由赛百盛生物技术公司合成 (表 2)。筛选的 7 对引物中, Rops09 因扩增产物不稳定, 舍弃。经检验, 用于试验的 6 对 SSR 引物均多态性高、谱带清晰、重复性好。

PCR 反应程序所用 PCR 仪为德国生产的 Biometra T3 型。扩增程序参考张德强和张志毅 (2002) 的方法: 94 ℃预变性 5 min; 94 ℃变性 50 s, 48 ~ 52 ℃退火 50 s (不同引物退火温度不同), 72 ℃延伸 50 s, 30 个循环; 72 ℃延伸 7 min; 最后 20 ℃ 4 min 保温。PCR 反应结束后, 在 8%非变性聚丙烯酰胺凝胶上进行电泳 (王中仁, 1996)。

采用 Lian 等 (2004) 的方法进行电泳图谱的判读, 统计基因型数据。按照王中仁 (1996) 的方法计算每个种群的群体遗传学参数与遗传多样性指标。各项参数计算在群体遗传学计算软件 POPGENE 1.32 中完成。遗传学参数包括: 等位基因数 (*A*), 每个位点有效等位基因数 (*A_e*), 期望杂合度 (*H_e*), 观测杂合度 (*H_o*), 总遗传多样性 (*H_T*)、种群内遗传多样性 (*H_S*)、种群间遗传多样性 (*D_{ST}*)、基因分化系数 (*G_{ST}*)。

表 2 SSR 引物基本情况
Table 2 Characteristics of seven microsatellites isolated from *R. pseudoacacia*

引物 Primer	重复序列 Repeat sequence	引物序列 (5'-3') Sequence of primer	退火温度/℃ Annealing temperature	序列范围/bp Allele range	基因库号 GenBank accession No.
Rops02	(AC) ₁₃ (AT) ₄	F: CAGAACTGTGGAATAATTCTAGGCCG; R: CGCCATCTGTAGTTTGTTC	60	107 ~ 138	AB075029
Rops04	(AC) ₁₀	F: GTCTAATTCACCTTTCTCACGAG; R: GGACACCACCRAAATTCTACC	56	105 ~ 110	AB075030
Rops05	(AC) ₂ GC(AC) ₇	F: TGGTGATTAAGTCGCAAGGTG; R: GTTGTGACTTGTACGTAAGTC	56	120 ~ 138	AB075031
Rops06	(GT) ₃ ACA(GT) ₁₁	F: CTAAGGAGGTGCTGACCCTC; R: TTAATCTGTGATGGGACACTG	56	117 ~ 144	AB075032
Rops08	(CA) ₈ TA(CA) ₃	F: TTCTGAGGAAGGGTTCCGTGG; R: GTTAAAGCAACAGGCACATGG	56	191 ~ 205	AB075033
Rops09	(TA) ₆ A ₄ (TA) ₂ (TG)	F: CTCCAGGTCACGATTGAGG; R: TTTCTCATTTGATACGACCCC	56	89 ~ 150	AB075034
Rops10	T ₁₂ AAT ₄	F: AACTTTTCCGTATAGGGGTC; R: GAGTTTACACTTGGTCAAACC	56	182 ~ 187	AB075035

2 结果与分析

2.1 刺槐群体生长变异

经方差分析和多重比较可知，19 个不同来源的刺槐群体在保定地区造林 5 年，在存活率、平均树高和平均胸径上均存在显著差异（表 3）。

存活率的变化范围在 53.33% ~ 83.33%，最高的是来自辽宁朝阳县的 4 号群体，最低的是河南卢氏县的 15 号和河南辉县的 16 号群体。平均树高 5.65 ~ 6.61 m，其中最高的为湖北新洲市的 17 号群体，最低的为辽宁阜新县的 2 号群体。平均胸径变化范围是 4.28 ~ 5.48 cm，最大的为湖北新洲市的 17 号群体，最小的为辽宁朝阳县的 4 号群体。

方差分析表明，存活率及树高在 5 个不同区域间存在显著差异，其中存活率变化范围是 60.00% ~ 76.67%；平均树高在 5.72 ~ 6.34 m 范围变化；平均胸径显著不差异。

不同区域刺槐群体变异表现为以试验林栽植地区为中心向 I 区和 V 区辐射，造林存活率和生长量呈下降趋势。即产地距离试验地点越远的群体，存活率和生长量越低。同一区域不同群体间的存活率和生长量仅个别群体间有显著差异。

2.2 刺槐群体的 SSR 分析

2.2.1 不同 SSR 位点基因频率

通过对刺槐群体 6 个位点等位基因的频率（表 4）分析可知，6 个位点的等位基因数量在 3 ~ 6 之间变化，位点 Rops02 和 Rops05 的等位基因数量最多，达到 6 个，位点 Rops04 的等位基因数量最少，仅有 3 个。同一位点之间不同等位基因频率也存在较大差异。如位点 Rops06 中等位基因 A 的频率达到 0.6109，说明此基因在群体中广泛存在，而 B、C、E 基因的频率均低于 0.1，成为稀有基因。这些稀有基因对群体的遗传结构影响不大，但是在遗传多样性和资源保护方面确是珍贵的资源，应该给予足够重视。

表 3 刺槐 19 个群体存活率和生长性状
Table 3 Growth of the tested 19 black locust populations

区域 Region	群体 Population	存活率/% Survival rate	树高/m Height	胸径/cm DBH
I	1	76.67 ab	6.26 ± 1.28 ab	4.85 ± 1.11 ab
	2	66.67 ab	5.65 ± 1.08 b	4.45 ± 1.29 ab
	3	60.00 ab	5.82 ± 1.47 ab	4.50 ± 1.52 ab
	4	83.33 a	5.93 ± 1.32 ab	4.28 ± 1.48 b
	5	70.00 ab	6.11 ± 1.24 ab	4.70 ± 1.43 ab
II	均值 Average	71.33 AB	5.95 AB	4.56 A
	6	80.00 a	6.20 ± 1.22 ab	4.65 ± 1.36 ab
	7	73.33 ab	6.50 ± 1.15 ab	5.45 ± 1.15 a
	8	76.67 ab	6.32 ± 1.11 ab	4.88 ± 1.29 ab
	均值 Average	76.67 A	6.34 A	4.99 A
III	9	73.33 ab	6.22 ± 1.38 ab	5.30 ± 1.54 ab
	10	76.67 ab	5.91 ± 1.49 ab	4.70 ± 1.57 ab
	11	73.33 ab	6.55 ± 0.98 ab	5.33 ± 1.13 a
	12	63.33 ab	6.60 ± 1.39 a	4.73 ± 1.25 ab
	13	63.33 ab	6.24 ± 1.19 ab	5.18 ± 1.42 ab
IV	14	70.00 ab	6.05 ± 1.57 ab	4.83 ± 1.43 ab
	均值 Average	70.00 AB	6.26 AB	5.01 A
	15	53.33 b	6.50 ±1.00 ab	5.30 ± 1.18 ab
	16	53.33 b	5.86 ±1.06 ab	4.68 ± 1.06 ab
	17	73.33 ab	6.61 ±1.03 a	5.48 ± 1.22 a
V	18	66.67 ab	5.72 ± 1.18 ab	4.60 ± 1.39 ab
	均值 Average	61.67 AB	6.17 AB	5.02 A
	19	60.00 ab B	5.72 ± 1.29 ab B	4.63 ± 1.77 ab A

注：相同小写字母表示在不同群体 0.05 水平没有显著差异（费舍尔的 *LSD* 多重比较）；相同大写字母表示区域平均值间不存在显著差异。
Note: The lowercase letters indicate no significant differences in the 0.05 levels of the different groups ($P = 0.05$) (ANOVA Fisher's *LSD* test). There is no significant difference between the same capital letters indicating the regional mean.

表 4 刺槐群体 6 个 SSR 位点不同等位基因频率
Table 4 Six SSR locus allele frequency of different groups of black locust

等位基因 Allele	Rops02	Rops04	Rops05	Rops06	Rops08	Rops10
A	0.3828	0.5656	0.2063	0.6109	0.493	0.5906
B	0.2313	0.4047	0.4641	0.0797	0.1742	0.107
C	0.0781	0.0297	0.1344	0.0602	0.0477	0.0953
D	0.0711		0.0438	0.1695	0.2313	0.207
E	0.1625		0.1211	0.0797	0.0539	
F	0.0742		0.0305			
总计 Total	1	1	1	1	1	1

2.2.2 基因位点遗传多样性分析

由表 5 分析可知，总的基因多样性 (H_T) 平均值为 0.6360，各位点在 0.5154 (Rops04) ~ 0.7569 (Rops02) 之间变化，在位点 Rops02 上基因多样性最丰富。种群内遗传多样性 (H_S) 与总遗传多样性 (H_T) 变化梯度相一致，数值大小也近似，因此群体间遗传多样性 (D_{ST}) 很小，进一步使得基因分化系数 (G_{ST}) 更小。群体间遗传分化系数 (G_{ST}) 最大的位点是 Rops04，为 0.0394，最小的位点是 Rops06，为 0.0059，说明刺槐在位点 Rops06 的基因分化程度最低。由 G_{ST} 平均值为 0.0128 可知，在全体变异中种群间的变异只占 1.28%，群体间的分化度较小，98.72%的变异存在于种群内。

表 5 供试刺槐种源基因位点遗传多样性统计参数
Table 5 Total genetic diversity (H_T), genetic diversity within population (H_S), genetic diversity among populations (D_{ST}) and coefficient of gene differentiation (G_{ST}) for 12 loci of the tested 19 black locust provenances

位点 Locus	总基因多样性 H_T	群体内基因多样性 H_S	群体间基因多样性 D_{ST}	遗传分化系数 G_{ST}
Rops02	0.7569	0.7502	0.0067	0.0089
Rops04	0.5154	0.4951	0.0203	0.0394
Rops05	0.7065	0.7018	0.0047	0.0067
Rops06	0.5817	0.5782	0.0034	0.0059
Rops08	0.6680	0.6625	0.0054	0.0081
Rops10	0.5878	0.5833	0.0045	0.0076
平均 Mean	0.6360	0.6285	0.0075	0.0128

2.2.3 刺槐群体间遗传多样性分析

19 个刺槐群体之间的 SSR 位点遗传多样性参数见表 6, 可见各群体间存在一定差异, 19 个群体的等位基因数 (A) 均为 4.833; 有效等位基因数 (A_e) 分布为 2.660 ~ 3.002, 最少的是 1 号群体, 最多的是 12 号群体。经方差分析可知, 不同区域间的有效等位基因数存在显著性差异, 最大的为 V 区, 为 2.97, 最小是 I 区, 为 2.77, 有效等位基因数按 I 区至 V 区即由北向南方向呈增加趋势。19 个群体预期杂合度 (H_e) 分布为 0.605 ~ 0.649, 最高的是 15 和 18 号群体, 最低的是 1 和 2 号群体; 方差分析表明, 区域预期杂合度变化范围为 0.61 ~ 0.64, 差异显著, 由 I 区向 V 区呈逐渐增加的趋势。观测杂合度 (H_o) 分布为 0.599 ~ 0.672, 最高的为 14 和 18 号群体, 最低的为 1 号群体, 区域观测杂合度在 0.63 ~ 0.67 之间变化, 差异极显著, 预期杂合度由 I 区向 V 区呈增加趋势。

表 6 刺槐 19 个群体内的 SSR 位点遗传多样性参数
Table 6 The parameters genetic diversity on SSR locus of the tested 19 black locust provenances

区域 Region	群体 Population	等位基因数 A	有效等位基因数 A_e	预期杂合度 H_e	观测杂合度 H_o
I	1	4.833	2.660	0.605	0.599
	2	4.833	2.763	0.605	0.635
	3	4.833	2.770	0.617	0.625
	4	4.833	2.902	0.633	0.641
	5	4.833	2.775	0.610	0.630
	均值 Average	4.833 A	2.774 C	0.614 B	0.626 C
II	6	4.833	2.825	0.618	0.630
	7	4.833	2.759	0.607	0.646
	8	4.833	2.806	0.612	0.641
	均值 Average	4.833 A	2.797 BC	0.612 B	0.639 BC
III	9	4.833	2.771	0.624	0.635
	10	4.833	2.838	0.635	0.667
	11	4.833	2.758	0.624	0.656
	12	4.833	3.002	0.648	0.667
	13	4.833	2.969	0.644	0.656
	14	4.833	2.956	0.643	0.672
	均值 Average	4.833 A	2.882 ABC	0.636 A	0.659 AB
	15	4.833	2.989	0.649	0.651
IV	16	4.833	2.960	0.643	0.667
	17	4.833	2.881	0.635	0.667
	18	4.833	2.997	0.649	0.672
	均值 Average	4.833 A	2.957 AB	0.644 A	0.664 AB
V	19	4.833 A	2.968 A	0.647 A	0.667 A

注: 相同大写字母表示区域平均值间 0.05 水平不存在显著差异 (费舍尔的 LSD 多重比较)。
Note: There is no significant difference among the same capital letters indicating the regional mean ($P = 0.05$) (ANOVA Fisher's LSD test) .

2.3 群体性状与原产地气象因子相关性分析

表 7 为统计 19 个群体的遗传参数与纬度、经度、年均温、降雨量的相关系数。结果表明，存活率与年均温显著负相关，相关系数为 - 0.402。有效等位基因 (A_e)、预期杂合度 (H_e)、观测杂合度 (H_o) 与年均温极显著正相关，相关系数分别为 0.735、0.659、0.764。有效等位基因 (A_e)、预期杂合度 (H_e)、观测杂合度 (H_o) 与纬度显著负相关，相关系数分别为 - 0.479、- 0.446、- 0.487。预期杂合度 (H_e) 与降水量显著正相关，相关系数为 0.403。说明温度和纬度是对供试刺槐群体的遗传多样性有较大影响的因子，亚热带区的气候丰富了刺槐的遗传多样性。而树高和胸径与各地理气象因素相关不显著。

表 7 供试刺槐地理因素与生长指标及遗传参数相关分析
Table 7 Correlation coefficient between geography factors, growth traits and the genetic parameters of the tested black locust

地理因素	存活率 Survival rate	树高 Height	胸径 DBH	有效等位基因 A_e	预期杂合度 H_e	观测杂合度 H_o
经度 Longitude	0.098	- 0.158	- 0.313	- 0.266	- 0.173	- 0.307
纬度 Latitude	0.252	- 0.004	- 0.243	- 0.479*	- 0.446*	- 0.487*
年均温 Annual mean temperature	- 0.402*	0.006	0.185	0.735**	0.659**	0.764**
降水量 Annual mean precipitation	- 0.279	- 0.088	0.033	0.336	0.403*	0.271

注：*表示在 0.05 水平上显著相关，**表示在 0.01 水平上显著相关， $n = 19$ 。
Note: * Correlation is significant at the 0.05 level, ** Correlation is significant at the 0.01 level, $n = 19$.

2.4 刺槐群体生长性状与 SSR 标记遗传参数相关分析

统计 19 个群体的生长指标和遗传参数的相关系数列于表 8。结果表明，存活率与有效等位基因数 (A_e) 和预期杂合度 (H_e) 的相关系数分别为 - 0.517 和 - 0.487，均达到显著负相关，存活率与观测杂合度 (H_o) 的相关系数为 - 0.332，而树高、胸径和遗传参数间相关不显著。

表 8 刺槐群体生长指标与 SSR 标记遗传参数相关分析
Table 8 Correlation coefficient between growth traits and parameters genetic diversity on SSR locus of the tested black locust

生长指标 Grow trait	有效等位基因数 A_e	预期杂合度 H_e	观测杂合度 H_o
存活率 Survival rate	- 0.517*	- 0.487*	- 0.332
树高 Height	- 0.089	- 0.042	- 0.012
胸径 DHB	- 0.101	0.011	0.130

注：* 表示在 0.05 水平上显著相关。 $n = 19$ 。
Note: * Correlation is significant at the 0.05 level. $n = 19$.

3 讨论

经过多年的引种驯化，刺槐群体出现了多种基因类型，极大丰富了其遗传多样性（杨敏生 等，2004a）。本研究中，19 个刺槐群体的存活率和树高均有显著差异。其中，所调查的 V 区区域与栽植区保定地区相比纬度和气候条件差异较大，导致其存活率最低（60%）；而 II 区与栽植区纬度、气候均相似，因此来源于 II 区的 3 个刺槐群体存活率最高（76.67%）。同一地区内也存在差异，推测是因为区域划分较广（平均跨越 4 个地理省），导致遗传隔离形成差异（张春雨 等，2009；王丹 等，

2010)。中国不同地区的刺槐由于长期地理分离,形成了初步的地理变异,因此各地种源群体在华北地区进行对比栽培试验时,一些种源群体适应性较差,导致距离试验地越远,造林存活率越低的情况(张俊红等,2010;王凤格等,2014)。

SSR 分析结果表明,19 个刺槐群体的等位基因数为 4.833,有效等位基因数为 2.660 ~ 3.002,说明参试刺槐群体的等位基因变异较大,这与杨敏生等(2004b)对欧洲中部刺槐和 Surles 等(2001)对美国刺槐用等位酶方法研究的结果一致。不同区域间的有效等位基因数(A_e)存在显著差异,最大的为 V 区,为 2.97,最小是 I 区,为 2.77,而且有效等位基因数按 I 区至 V 区即由北向南方向呈增加趋势,说明 I 区群体至 V 区群体的遗传多样性丰富度逐渐增加。观测杂合度(H_o)分布为 0.599 ~ 0.672,也是由 I 区向 V 区呈增加趋势。有效等位基因和观测杂合度与年均温紧密相关,与年均温影响群体变异结论相符(韩宏伟等,2008)。说明各种源群体在长期适应过程中受到气候条件影响较大,由北向南遗传多样性提高,温暖气候有利于维持较高多样性。

存活率与有效等位基因数(A_e)和预期杂合度(H_e)的相关系数分别为 -0.517 和 -0.487,均达到显著负相关水平,而树高、胸径和遗传参数间相关不显著。分析其主要原因可能是虽然南部群体遗传多样性较丰富,有效等位基因数、预期杂合度(H_e)较高,但由于长期驯化已适应当地气候环境,到华北地区进行栽植时,适应性较差,存活率较低,导致出现负相关。这也充分说明,刺槐群体经过长期适应后,已发生地理变异,且温暖的南方气候,有利于保持较高遗传多样性。检测的遗传参数主要反映 DNA 遗传结构,受到环境影响较小,因此受试验地点影响较小,没有表现出明显与生长指标一致的规律。但关于刺槐的适应性和多样性形成的原因,有待进一步深入研究。

References

- Barbier E B, Schulz C E. 1997. Wildlife, biodiversity and trade. *Environment and Development Economic*, 2 (2): 145 - 172.
- Celik A, Kartal A A, Akdoğan A, Kaska Y. 2005. Determining the heavy metal pollution in Denizil (Turkey) by using *Robinio pseudoacacia* L. *Environment International*, 31 (1): 105 - 112.
- Chen Jiao, Wang Xiao-rong, Tang Hao-ru, Chen Tao, Huang Xiao-jiao, Liang Qin-biao. 2013. Assessment of genetic diversity and populations genetic structure in wild Chinese cherry from Sichuan Province using SSR markers. *Acta Horticulturae Sinica*, 40 (2): 333 - 340. (in Chinese)
- 陈 娇, 王小蓉, 汤浩茹, 陈 涛, 黄晓姣, 梁勤彪. 2013. 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. *园艺学报*, 40 (2): 333 - 340.
- Gao Tian-xiang, Cai Yu-liang, Feng Ying, Zhao Xiao-jun. 2016. Genetic diversity and genetic structure of *Prunus pseudocerasus* populations from China as revealed by SSR markers. *Acta Horticulturae Sinica*, 43 (6): 1148 - 1156. (in Chinese)
- 高天翔, 蔡宇良, 冯 瑛, 赵晓军. 2016. 中国樱桃 14 个自然居群遗传多样性和遗传结构的 SSR 评价. *园艺学报*, 43 (6): 1148 - 1156.
- Hamrick J L, Godt M J W, Sherman-Broyles S L. 1992. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. *New Forests*, 6 (1): 95 - 124.
- Han Hong-wei, Zhang Shi-hong, Xu Xing-xing, Zhang Jun, Yang Min-sheng. 2008. Geographic variation of cold resistance of *Robinia pseudoacacia* provenances from China. *Journal of Agricultural University of Hebei*, 31 (2): 57 - 60. (in Chinese)
- 韩宏伟, 张世红, 徐兴兴, 张 军, 杨敏生. 2008. 中国刺槐种源间抗寒性地理变异研究. *河北农业大学学报*, 31 (2): 57 - 60.
- Ji Wei-zhi, Su Bing. 1999. Principles and methods of genetic diversity study. Hangzhou: Zhejiang Science and Technology Press. (in Chinese)
- 季维智, 宿 兵. 1999. 遗传多样性研究的原理与方法. 杭州: 浙江科学技术出版社.
- Li Jia-li, Gao Xue, Wang Xiu-hua, Shi Xiang-xue, Yu Hong-xiang, Zhao Yan. 2016. Development of EST-SSR markers and analysis of genetic diversity in tall fescue. *Acta Horticulturae Sinica*, 43 (12): 2401 - 2411. (in Chinese)

- 李家丽, 高 雪, 王秀华, 石香雪, 于鸿翔, 赵 岩.. 2016. 高羊茅 EST-SSR 标记开发及遗传多样性分析. 园艺学报, 43 (12): 2401 - 2411.
- Li Zhong-xi, Zhu Yan-lin, Wang Run-jun, He Shao-feng. 2015. Geographic variation of cold resistance of *Robinia pseudoacacia* provenances. Acta Agriculturae Shanghai, 31 (1): 63 - 66. (in Chinese)
- 李忠喜, 朱延林, 王润军, 贺少锋. 2015. 原生种源刺槐抗寒性地理变异研究. 上海农业学报, 31 (1): 63 - 66.
- Lian C, Hogetsu T. 2002. Development of microsatellite markers in black locust (*Robinia pseudoacacia*) using a dual-suppression-PCR technique. Molecular Ecology Notes, 2 (3): 211 - 213.
- Lian C, Oishi R, Miyashita N, Hogetsu T. 2004. High somatic instability of a microsatellite locus in a clonal tree, *Robinia pseudoacacia*. Theoretical and Applied Genetics, 108 (5): 836 - 841.
- Niklas K J. 1997. Mechanical properties of black locust (*Robinia pseudoacacia* L.) wood: correlations among elastic and rupture moduli, proportional limit, and tissue density and specific gravity. Annals of Botany, 79 (5): 479 - 485.
- Ouyang Lei, Chen Jin-hui, Zheng Ren-hua, Xu Yang, Lin Yu-feng, Huang Jin-hua, Ye Dai-quan, Fang Yang-hui, Shi Ji-sen. 2014. Genetic diversity among the germplasm collections of the Chinese fir in 1st breeding population upon SSR markers. Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition), 38 (1): 21 - 26. (in Chinese)
- 欧阳磊, 陈金慧, 郑仁华, 徐 阳, 林宇峰, 黄金华, 叶代全, 方扬辉, 施季森. 2014. 杉木育种群体 SSR 分子标记遗传多样性分析. 南京林业大学学报 (自然科学版), 38 (1): 21 - 26.
- Peng Hong, Chen Xiao-rong, Yu Zhong-dong. 2003. Know-how on silviculture of black locust plantation. Journal of Soil Water Conservation, 17 (5): 11 - 15. (in Chinese)
- 彭 鸿, 陈晓荣, 余仲东. 2003. 刺槐人工林培育实践的认知. 水土保持学报, 17 (5): 11 - 15.
- Shen Hao, Liu Deng-yi. 2001. Summary of genetic diversity. Journal of Biology, 18 (3): 5 - 7. (in Chinese)
- 沈 浩, 刘登义. 2001. 遗传多样性概述. 生物学杂志, 18 (3): 5 - 7.
- Surles S E, Hamrick J L, Bongarten B C. 2011. Allozyme variation in black locust (*Robinia pseudoacacia*) . Canadian Journal of Forest Research, 19 (19): 471 - 479.
- Wang Dan, Pang Chun-hua, Gao Ya-hui, Hao Xiao-jie, Wang Yi-ling. 2010. Phenotypic diversity of *Acer ginnala* (Aceraceae) populations at different altitude. Acta Botanica Yunnanica, 32 (2): 117 - 125. (in Chinese)
- 王 丹, 庞春华, 高亚卉, 郝晓杰, 王祎玲. 2010. 茶条槭不同海拔种群的表型多样性. 云南植物研究, 32 (2): 117 - 125.
- Wang Feng-ge, Tian Hong-li, Zhao Jiu-ran, Wang Lu, Yi Hong-mei, Song Wei, Gao Yu-qian, Yang Guo-hang. 2014. Genetic diversity analysis of 328 maize varieties (hybridized combinations) using SSR markers. Scientia Agricultura Sinica, 47 (5): 856 - 864. (in Chinese)
- 王凤格, 田红丽, 赵久然, 王 璐, 易红梅, 宋 伟, 高玉倩, 杨国航. 2014. 中国 328 个玉米品种 (组合) SSR 标记遗传多样性分析. 中国农业科学, 47 (5): 856 - 864.
- Wang Yan-hong, Yu Qi, Yang Jia, Zhao Peng, Li Zhong-hu, Zhao Gui-fang. 2015. Genetic diversity and population structure of *Quercus serrata* var. *brevipetiolata* revealed by nSSR markers. Scientia Silvae Sinicae, 51 (12): 121 - 131. (in Chinese)
- 王雁红, 俞 琦, 杨 佳, 赵 鹏, 李忠虎, 赵桂仿. 2015. 基于核微卫星的短柄栲栎居群遗传多样性和遗传结构. 林业科学, 51 (12): 121 - 131.
- Wang Zhong-ren. 1996. Plant allozyme analysis. Beijing: Science Press. (in Chinese)
- 王中仁. 1996. 植物等位酶分析. 北京: 科学出版社.
- Yang Min-sheng, Hertel H, Schneck V. 2004a. Genetic diversity and population structure of *Robinia pseudoacacia* provenances from middle Europe. Acta Ecologica Sinica, 24 (12): 2700 - 2706. (in Chinese)
- 杨敏生, Hertel H, Schneck V. 2004a. 欧洲刺槐种源群体遗传结构和多样性. 生态学报, 24 (12): 2700 - 2706.

- Yang Min-sheng, Hertel H, Schneck V. 2004b. Allozyme variability of provenance populations of *Robinia pseudoacacia* from middle Europe. *Acta Genetica Sinica*, 31 (12): 1439 - 1447. (in Chinese)
- 杨敏生, Hertel H, Schneck V. 2004b. 欧洲中部刺槐种源群体的等位酶变异研究. *遗传学报*, 31 (12): 1439 - 1447.
- Zhang Chun-yu, Chen Xue-sen, Lin Qun, Yuan Zhao-he, Zhang Hong, Zhang Xiao-yan, Liu Chong-qi, Wu Chuan-jin. 2009. SRAP markers for population genetic structure and genetic diversity in *Malus sieversii* from Xinjiang, China. *Acta Horticulturae Sinica*, 36 (1): 7 - 14. (in Chinese)
- 张春雨, 陈学森, 林 群, 苑兆和, 张 红, 张小燕, 刘崇祺, 吴传金. 2009. 新疆野苹果群体遗传结构和遗传多样性的 SRAP 分析. *园艺学报*, 36 (1): 7 - 14.
- Zhang Cui-qin, Ji Zhi-feng, Lin Li-li, Zhao Rui-hua, Wang Yi-ling. 2015. Phenotypic diversity of *Acer mono* Maxim population. *Acta Ecologica Sinica*, 35 (16): 5343 - 5352. (in Chinese)
- 张翠琴, 姬志峰, 林丽丽, 赵瑞华, 王祎玲. 2015. 五角枫种群表型多样性. *生态学报*, 35 (16): 5343 - 5352.
- Zhang De-qiang, Zhang Zhi-yi. 2002. Genetic linkage map construction in forest tree. *World Forestry Research*, 15 (6): 1 - 6. (in Chinese)
- 张德强, 张志毅. 2002. 林木遗传图谱构建研究进展. *世界林业研究*, 15 (6): 1 - 6.
- Zhang Guo-jun, Li Yun, Xu Zhao-he, Sun Peng, Sun Yu-han, Huang Lu-jun. 2012. Morphology and leaf nutrition of introduced *Robinia pseudoacacia* clones. *Journal of Beijing Forestry University*, 34 (2): 52 - 56. (in Chinese)
- 张国君, 李 云, 徐兆翻, 孙 鹏, 孙宇涵, 黄禄君. 2012. 引种刺槐无性系形态及叶片营养的初步研究. *北京林业大学学报*, 34 (2): 52 - 56.
- Zhang Jun-hong, Huang Hua-hong, Tong Zai-kang, Cheng Long-jun, Liang Yue-long, Chen Yi-liang. 2010. Genetic diversity in six natural populations of *Betula luminifera* from southern China. *Biodiversity Science*, 18 (3): 233 - 240. (in Chinese)
- 张俊红, 黄华宏, 童再康, 程龙军, 梁跃龙, 陈奕良. 2010. 光皮桦 6 个南方天然群体的遗传多样性. *生物多样性*, 18 (3): 233 - 240.

征 订

欢迎订阅 2018 年《北方园艺》

《北方园艺》是由黑龙江省农业科学院主管, 黑龙江省园艺学会、黑龙江省农业科学院主办的园艺类综合性学术期刊。中文核心期刊(1992-2014); 中国农业核心期刊; 美国化学文摘社(CAS)收录期刊; 2015、2016 年期刊数字影响力 100 强。

自 2017 年 13 期起, 栏目部分改版, 设有研究论文、研究简报、设施园艺、园林花卉、资源环境生态、贮藏加工检测、中草药、食用菌、专题综述、产业论坛、不定期刊登栏目(农业经纬、农业经济、农业信息技术)、实用技术、新品种(彩版); 力求体现科研—生产—技术服务的全产业链, 汇聚园艺行业最新科研成果, 跟踪园艺学科最新研究热点, 期待广大作者、读者、编委一如既往的支持我们。

国际标准刊号: ISSN 1001-0009 国内统一刊号: CN 23-1247/S

邮发代号: 14-150

半月刊 每月 15、30 日出版 单价: 15.00 元 全年: 360.00 元

全国各地邮局均可订阅, 或直接向编辑部汇款订阅。

投稿网址: www.haasep.cn

地址: 黑龙江省哈尔滨市南岗区学府路 368 号《北方园艺》编辑部

邮编: 150086 电话: 0451-86674276

信箱: bfyybjb@163.com

