

DOI:10.12171/j.1000-1522.20190402

北京山区3种栎属植物居群遗传结构与基因渐渗研究

高基朋^{1,2} 秦岭^{2,3} 曹庆芹^{2,3} 房克凤^{1,2} 田晔林^{1,2}

(1. 北京农学院园林学院, 北京 102206; 2. 北京林果业生态功能提升协同创新中心, 北京 102206;
3. 北京农学院植物科学技术学院农业应用新技术北京市重点实验室, 北京 102206)

摘要:【目的】栎属植物种间经常发生种间杂交和基因渐渗现象,特别是同域分布的同组内栎树之间,这种情况会更加频繁。本文通过对北京山区3种栎属植物居群遗传结构遗传变异与遗传结构进行研究,为了解北京地区自然分布的栎属植物种间基因渐渗情况、种质资源现状以及经营管理提供有效数据。【方法】本文使用6对SSR引物对云蒙山、上方山和北农林场同域分布的304个蒙古栎、槲栎、柞栎的居群遗传多样性、遗传结构和种间基因渐渗进行了研究。【结果】共检测到等位标记105个,每个位点的平均等位标记数(N_a)为17.5个,期望杂合度(H_e)为0.660~0.911,平均为0.838,多态性信息含量指数(PIC)为0.632~0.903,平均为0.822,3种栎树在总体水平上具有较高的遗传多样性。在种的水平上,3种栎树的平均等位标记数(N_a)为12.667~14.167,期望杂合度(H_e)为0.743~0.849,多态性信息含量指数(PIC)为0.725~0.826,3种栎属植物的遗传多样性水平为蒙古栎>槲栎>柞栎。对7个栎树居群的遗传结构分析表明,遗传变异大部分发生在居群内。通过Structure软件对3种栎树种间基因渐渗进行分析,发现槲栎-柞栎、槲栎-蒙古栎和柞栎-蒙古栎这3个种对间均有基因渐渗发生。【结论】在北京山区分布的蒙古栎、槲栎和柞栎这3种栎属植物之间存在普遍的、复杂的渐渗杂交现象。

关键词: 栎属; 遗传多样性; 遗传结构; 基因渐渗

中图分类号: S792.18 文献标志码: A 文章编号: 1000-1522(2020)07-0058-10

引文格式: 高基朋, 秦岭, 曹庆芹, 等. 北京山区3种栎属植物居群遗传结构与基因渐渗研究 [J]. 北京林业大学学报, 2020, 42(7): 58-67. Gao Jipeng, Qin Ling, Cao Qingqin, et al. Genetic structure of populations and introgression of three *Quercus* species in mountainous area of Beijing [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2020, 42(7): 58-67.

Genetic structure of populations and introgression of three *Quercus* species in mountainous area of Beijing

Gao Jipeng^{1,2} Qin Ling^{2,3} Cao Qingqin^{2,3} Fang Kefeng^{1,2} Tian Yelin^{1,2}

(1. College of Landscape Architecture, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China ;

2. Beijing Collaborative Innovation Center For Eco-Environmental Improvement with Forestry and Fruit Tree, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China;

3. College of Plant Science and Technology, Beijing Key Laboratory of New Technology in Agricultural Application, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China)

Abstract: [Objective] Interspecific hybridization and introgression often occur among species of *Quercus*, especially among sympatric *Quercus* more frequently. In this paper, the genetic structure and genetic variation of three species of *Quercus* in the mountainous area of Beijing were studied. It will provide effective data for gene introgression, germplasm resources and management of *Quercus* species naturally distributed in Beijing. [Method] 304 natural oak samples of *Quercus mongolica*, *Quercus dentate* and *Quercus aliena* from Yunmeng Mountain, Shangfang Mountain and BUA (Beijing University of

收稿日期: 2019-10-21 修回日期: 2020-04-17

基金项目: 科技创新服务能力建设-科研基地建设-林果业生态环境功能提升协同创新中心项目(PXM2018-014207-000024),北京主要乡土林木重要性状形成的分子机制及资源创新(IDHT20180509)。

第一作者: 高基朋。主要研究方向: 栎属植物种质资源研究。Email: g752768062@163.com 地址: 102206 北京市昌平区回龙观镇北农路7号北京农学院园林学院。

责任作者: 田晔林, 副教授, 硕士生导师。主要研究方向: 植物资源开发与利用研究。Email: tianyelin@126.com 地址: 同上。

本刊网址: <http://j.bjfu.edu.cn>; <http://journal.bjfu.edu.cn>

Agriculture) Forest Farm were selected as the material, and six pairs of SSR primers were used to study the genetic diversity, genetic structure and introgressive hybridization among populations. [Result] A total of 105 alleles were detected, the average number of alleles (N_a) of each locus was 17.5, the expected heterozygosity (H_e) was 0.660–0.911, the polymorphism information content index (PIC) was 0.632–0.903. The three oaks had high genetic diversity at the overall level. At the species level, the average allele number (N_a) of the three oaks was 12.667–14.167, the expected heterozygosity (H_e) was 0.743–0.849, the polymorphism information content index (PIC) was 0.725–0.826, the genetic diversity level of the three species of oaks was *Q. mongolica* > *Q. dentata* > *Q. aliena*. The genetic structure analysis of 7 populations of *Quercus* showed that most of the genetic variation was in local populations. The genetic introgression analysis by structure software found that the gene introgression occurred among three pairs of *Q. mongolica*, *Q. dentata* and *Q. aliena*. [Conclusion] There is a common and complex phenomenon of introgression hybridization among *Q. mongolica*, *Q. dentata* and *Q. aliena* in Beijing mountainous area.

Key words: *Quercus*; genetic diversity; genetic structure; gene introgression

基因渐渗这一现象最早被描述为一个物种的种质逐渐渗入到另一个物种的情况, 在之后对植物杂交方面的研究中, Anderson 等首次提出了渐渗杂交的概念^[1], 即两个物种的杂交后代与亲本反复回交, 把某一亲本的性状带至另一亲本的现象。之后的研究则将这个概念拓宽至种、种群的个体杂交中, 现在泛指一个种群的基因整合到另一种群中, 并且这个过程在大部分情况下是相互的^[2]。已有的研究表明, 在基因渐渗过程中, 基因在物种间的流动并非单向、均匀的, 而是双向、非均等、不平衡的。

栎属(*Quercus*)植物属于风媒传粉的多年生乔木, 具有防止自交的特性, 栎属植物种间经常产生杂交, 发生基因渐渗^[3-4], 特别是同组内亲缘关系较近的物种间, 这种现象发生的概率会更加频繁^[5]。不断的杂交和基因渐渗使得栎属植物群体间的遗传变异处于较低水平^[6-8]。随着分子手段的发展, 基于基因组的序列分析方法被广泛的应用于物种间遗传变异和基因渐渗的研究^[9-10], 尤其是微卫星序列(SSR), 由于其在植物基因组中分布广泛, 且不受自然选择压力, 在物种进化过程中能产生丰富的遗传变异, 十分适用于居群遗传变异、种间杂交和基因渐渗的研究^[11-12]。国外对于栎属植物种间基因渐渗的研究开展较早, 特别是对分布在欧洲、北美洲地区的栎属植物, 如无梗花栎(*Quercus petraea*)和夏栎(*Quercus robur*)等, 已经有了较为深入的研究^[13-16]。上述研究表明, 栎属植物种间经常会发生不同程度的杂交和基因渐渗现象, 同域分布的栎树种间基因交流会更加频繁^[17-18]。物种丰富度会显著影响基因渐渗的方向, 丰富度高的群体的基因会更多的渗入到丰富度低的群体当中^[19-20]。

我国栎属资源丰富, 北方地区分布大约 20~30 种, 许多树种还是我国北温带森林的主要建群树

种, 具有重要的生态价值^[21]。我国对于栎属群体遗传方面的研究起步较晚, 目前主要集中于蒙古栎(*Quercus mongolica*)、栓皮栎(*Quercus variabilis*)、短柄枹栎(*Quercus glandulifera*)等^[22-24]。北京地区作为中国北方栎属植物的集中分布区之一, 不同海拔高度上广泛分布着蒙古栎、槲树(*Quercus dentata*)、槲栎(*Quercus aliena*)、栓皮栎等, 这些树种是北京山区森林群落中重要的建群树种, 具有极高的生态价值和应用价值。Zeng 等^[25]在对蒙古栎和辽东栎(*Quercus liaotungensis*)群体的研究中, 发现这两个物种在北京地区发生了高度的基因渐渗, 群体间遗传分化程度低, 难以区分物种边界。槲树、槲栎和蒙古栎在北京山区均有同域分布, 且都属于栎属表征群中的槲栎组(Section *Quercus*)物种, 亲缘关系较近^[26], 同时在前期的调查中, 还发现了云蒙山栎(*Quercus mongolica* var. *yunmengshanensis*)^[27]、房山栎(*Quercus fangshanensis*)^[28]等天然杂交种。这些研究表明, 槲树、槲栎和蒙古栎在北京地区或许存在着高度的基因渐渗情况。

为了探究这一问题, 本文使用 6 对 SSR 标记对云蒙山、上方山和北农林场分布的槲树、槲栎、蒙古栎的遗传变异与遗传结构进行了研究, 为了解北京地区自然分布的栎属植物种间基因渐渗情况提供了一定参考, 为北京地区自然分布的栎属植物种质资源现状以及经营管理提供了有效数据, 有助于对北京地区分布的栎属植物进一步的保护与开发利用。

1 材料和方法

1.1 样本采集

本研究以栎树新鲜叶片为材料, 样品采自云蒙山、上方山和北农林场 3 个样地的不同海拔高度和地点, 3 个样地中, 上方山属于太行山脉, 是华北地

区唯一保存完好的原始次生林,林分乔木以侧柏(*Platycladus orientalis*)、油松(*Pinus tabulaeformis*)、栎树为主;云蒙山属于燕山山脉,林分乔木以栎树为主;北农林场位于怀柔区北部山区宝山镇四道河村,属于燕山山脉,主要树种有胡桃楸(*Juglans mandshurica*)、平榛(*Corylus heterophylla*)、山杏(*Armeniaca sibirica*)和栎树等,在1 000 m以上高海拔地区以白桦(*Betula platyphylla*)为主,伴生有少量蒙古栎(图1)。样本采集总量304个,其中在云蒙山

样地中共采集榲桲、榲栎和蒙古栎样本115个,取样海拔450~900 m;上方山样地中共采集榲桲和榲栎样本104个,取样海拔500~700 m;北农林场样地中共采集榲栎、蒙古栎样本85个,取样海拔600~1 100 m。样本采集区域均为自然分布的栎树天然次生林或原始林,采样时不划分标准样地,尽可能对一片区域内的成熟个体(胸围 ≥ 15 cm)进行全部采集,每个样本单独编号并记录树种信息,放入自封袋中低温保存。



图1 采样点分布图

Fig. 1 Location of 3 sample sites in this study

1.2 DNA 提取与检测

使用高效植物基因组提取试剂盒(DP350, Tiangen Biotech)对样本叶片全基因组DNA进行提取,溶解在60 μ L TE溶液中,制成DNA原液。用1%的琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计(Nanodrop2000, Eppendorf)检测DNA质量与浓度,电泳条带清晰无弥散的为合格DNA样本,之后用TE溶液将部分DNA母液稀释成20~30 ng/ μ L的工作液,放置于-20 $^{\circ}$ C保存备用。

1.3 引物筛选与PCR扩增

所选用的引物来自已发表的相关栎属植物研究中扩增效果好、多态性高的SSR引物^[29-32],从采集到的样本中每个物种随机选择3个样本进行引物筛选,通过结合文献报道和梯度PCR确定最适退火温度。扩增产物使用6%的非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,用银染法进行染色,最终筛选出6对在榲桲、榲栎和蒙古栎中通用性好、多态性高、重复性稳定的SSR引物,并在5'端进行荧光标记,用于后续研究(表1)。

1.4 数据分析

304个样本的扩增产物通过3730XL测序仪

(ABI)进行基因分型,电泳结果通过GeneMarker进行读取,获得所有样本的基因型数据。使用Cervus软件^[33]计算不同引物和居群的等位标记数、观测杂合度(H_o)、期望杂合度(H_e)、多态性信息量(PIC)。使用GenAlEx6.5软件^[34]计算居群内和居群间的变异率(F_{st})、基因流(N_m)、二维主坐标分析(PCA)。使用PowerMarker软件计算居群间遗传距离(Da),分析结果用MEGA绘图。使用Structure软件进行杂交情况分析。

2 结果与分析

2.1 SSR位点多态性分析

本研究使用筛选得到的6对多态性较高的SSR引物对总共304个栎属植物样本进行PCR扩增,共检测到等位标记105个,每个位点的等位标记数量为11.0~25.0个,SSR位点平均等位标记数(N_a)为17.5个,观测杂合度(H_o)为0.485~0.881,平均为0.755,期望杂合度(H_e)为0.660~0.911,平均为0.838,多态性信息量(PIC)为0.632~0.903,平均为0.822(表1)。

表 1 6 对 SSR 引物多态性

Tab. 1 Ploymorphism of 6 SSR primers

位点 Locus	引物(5'—3') Primer(5'—3')	重复片段 Repeat motif	等位标记数 Number of alleles(Na)	观测杂合度 Observation heterozygosity (Ho)	期望杂合度 Expected heterozygosity (He)	多态信息量 Polymorphism information content(PIC)
Qden 03011	AACCCAACCTTCCCTTCATC GCAGTGGTGCCTAATGTAGAC	(AG) ₈	15.0	0.823	0.836	0.817
Qden 05011	CCCCTCCCTGTCCATTGT CACTGTGTGCTGCGACTTG	(CT) ₈	19.0	0.881	0.893	0.882
Qden 03032	AGTTGTGGTCTGCTCGC GAAAAGTGCATGACGGTTG	(CT) ₁₂	16.0	0.618	0.857	0.841
Qden 05031	CCCCGATTCGCCATCATTGT GTAACGCCGTTTTCTCCACC	(GT) ₁₂	19.0	0.846	0.873	0.859
ssrQpZAG112	TTCTTGCTTGGTGC GCG GTGGTCAGAGACTCGGTAAGTATTC	(GA) ₃₂	11.0	0.485	0.660	0.632
ssrQpZAG96	CCCAGTCACATCCACTACTGTCC GGTTGGGAAAAGGAGATCAGA	(TC) ₂₀	25.0	0.881	0.911	0.903
平均值 Mean			17.5	0.755	0.838	0.822

2.2 栎树居群遗传多样性分析

7 个居群的遗传多样性参数如表 2 所示。槲树样本总共 78 个, 其中云蒙山居群(YM-D)有 45 个, 上方山居群(SF-D)有 33 个。2 个居群的槲树总的平均等位标记数(Na)为 12.667 个, 观测杂合度(Ho)为 0.793, 期望杂合度(He)为 0.787, 多态性信息量(PIC)为 0.754, 说明槲树居群的遗传多样性水平较高。在 2 个槲树居群中, 上方山居群(SF-D)的各项参数略高于云蒙山居群(YM-D), 说明上方山居群的槲树遗传变异分化程度要略高于云蒙山槲树居群。

槲栎样本总共 151 个, 其中云蒙山居群(YM-A)

有 27 个, 北农怀柔林场居群(LC-A)有 53 个, 上方山居群(SF-A)有 71 个。3 个居群的槲栎总的平均等位标记数(Na)为 14.167 个, 观测杂合度(Ho)为 0.706, 期望杂合度(He)为 0.743, 多态性信息量(PIC)为 0.725, 各项指数总体相比槲树群体略低, 但依然有较高的遗传多样性水平。在 3 个槲栎居群中, 上方山居群(SF-A)的平均等位标记数(Na)为 12.833, 观测杂合度(Ho)为 0.753, 期望杂合度(He)为 0.771, 多态性信息量(PIC)为 0.750, 均明显高于槲栎的云蒙山居群(YM-A)和北农怀柔林场居群(LC-A), 说明上方山居群(SF-A)相比其他两个居群

表 2 7 个栎树居群的遗传多样性

Tab. 2 Genetic diversity of 7 populations of oak

物种 Speices	居群 Population	样本数 Sample number	Na	Ho	He	近交系数 Inbreeding coefficient(F)	PIC
槲树 <i>Quercus dentate</i>	YM-D	45	9.833	0.819	0.762	-0.086	0.718
	SF-D	33	10.833	0.758	0.797	0.036	0.760
	平均值 Mean	78	12.667	0.793	0.787	-0.014	0.754
槲栎 <i>Quercus aliena</i>	YM-A	27	7.833	0.685	0.671	-0.027	0.629
	LC-A	53	8.000	0.657	0.683	0.063	0.650
	SF-A	71	12.833	0.753	0.771	0.007	0.750
	平均值 Mean	151	14.167	0.706	0.743	0.046	0.725
蒙古栎 <i>Quercus mongolica</i>	YM-M	43	11.667	0.797	0.831	0.022	0.800
	LC-M	32	9.833	0.854	0.839	-0.031	0.806
	平均值 Mean	75	13.167	0.826	0.849	0.016	0.826

注: YM. 云蒙山样地, SF. 上方山样地, LC. 北农林场样地, D. 槲树, A. 槲栎, M. 蒙古栎。Notes: YM refers to Yunmeng Mountain sample plot; SF refers to Shangfang Mountain sample plot; LC refers to BUA Forest Farm sample plot; D refers to *Quercus dentate*; A refers to *Quercus aliena*; M refers to *Quercus mongolica*.

具有更高的遗传多样性。

蒙古栎样本总共 75 个, 其中云蒙山居群(YM-M)有 43 个, 北农林场居群(LC-M)有 32 个。2 个居群的蒙古栎总的平均等位标记数(N_a)为 13.167 个, 观测杂合度(H_o)为 0.826, 期望杂合度(H_e)为 0.849, 多态性信息量(PIC)为 0.826, 各项指数除平均等位标记数外均显著高于榉树和榉栎群体, 说明在 3 个栎属植物群体中, 蒙古栎群体的遗传多样性水平最高。蒙古栎的 2 个居群中各项遗传多样性指数相差不大, 均具有较高的遗传多样性水平。

观测杂合度(H_o)和期望杂合度(H_e)反映了群体遗传的变异性, 与等位标记的数目成正相关, 其中期望杂合度是当种群处于平衡时理论上的杂合程度, 观测杂合度则是通过实际数据计算得到的杂合度, 观测杂合度(H_o)值越大, 表明杂合度越高。在调查的 7 个居群中, YM-D、YM-A 和 LC-M 居群的观测杂合度(H_o)高于期望杂合度(H_e), 说明这 3 个居群杂合度高于预期值, 杂合子略微过剩; SF-D、LC-A、SF-A 和 YM-M 居群的观测杂合度(H_o)低于期望杂合度(H_e), 说明这 4 个居群的杂合度略低于预期水平。7 个居群的 F 值范围为 $-0.086 \sim 0.063$ 之间, F 值是根据期望杂合度(H_e)和观测杂合度(H_o)间的偏差所计算得到的参数, 能从一定程度上指示出居群的交配系统, 本研究中的 7 个居群的 F 值都普遍较低, 说明居群内近交情况不明显。

2.3 栎树居群间遗传变异分析

2.3.1 同种居群间遗传变异

对 3 种栎树的同种居群间进行遗传变异分析(表 3), 基因分化系数(F_{st})值的变化范围在 0.019 ~ 0.044 之间, 云蒙山榉树居群(YM-D)和上方山榉树居群(SF-D)的基因分化系数(F_{st})最小, 为 0.019, 即表示仅有 1.9% 的变异发生在群体间, 绝大部分(98.1%)变异发生在群体内; 云蒙山榉栎居群(YM-A)和北农林场榉栎居群(LC-A)的基因分化系数(F_{st})最大, 为 0.044。3 个栎属的同种居群间基因流(N_m)变化

表 3 同种栎树居群间遗传变异和基因流

Tab. 3 Genetic variation and N_m values between populations within same oak species

居群1 Population 1	居群2 Population 2	基因分化系数 Genetic differentiation coefficient(F_{st})	基因流 Gene flow(N_m)
YM-D	SF-D	0.019	12.710
YM-A	LC-A	0.044	5.472
YM-A	SF-A	0.032	7.649
LC-A	SF-A	0.020	12.027
YM-M	LC-M	0.025	9.924

范围为 5.472 ~ 12.710, 表明 3 种栎属植物的同种居群间存在着强烈的基因交流。

2.3.2 异种居群间遗传变异

对 3 个样地内异种栎树居群间的遗传变异进行分析(表 4), 3 种栎树种间的基因分化系数(F_{st})的变化范围为 0.045 ~ 0.108, 基因流(N_m)的变化范围为 2.068 ~ 5.271。上方山样地的榉树居群(SF-D)和榉栎(SF-A)居群之间基因交流强烈, 仅有 4.5% 的变异发生在居群间, 基因流(N_m)值最高, 为 5.271; 与之相比, 云蒙山样地的榉树居群(YM-D)和榉栎(YM-A)居群之间的基因交流就相对较弱, 居群间变异率为 10.1%, 基因流(N_m)为 2.237。蒙古栎居群与榉树和榉栎居群之间同样也存在着一定的基因交流, 总体上, 蒙古栎居群与榉树居群间的基因交流要强于蒙古栎居群和榉栎居群间, 云蒙山的蒙古栎居群(YM-M)和榉树居群(YM-D)间的变异率为 7%, 基因流(N_m)值为 3.342, 居群间变异率低于云蒙山(9.3%)和北农林场(10.8%)两个样地的蒙古栎居群和榉栎居群间, 基因流(N_m)高于云蒙山(2.445)和北农林场(2.068)两个样地的蒙古栎居群和榉栎居群间。

表 4 异种栎树居群间遗传变异和基因流

Tab. 4 Genetic variation and N_m values between populations among varied oak species

居群1 Population 1	居群2 Population 2	F_{st}	N_m
YM-D	YM-A	0.101	2.237
YM-D	YM-M	0.070	3.342
YM-A	YM-M	0.093	2.445
LC-A	LC-M	0.108	2.068
SF-D	SF-A	0.045	5.271

2.4 群体间遗传距离

采用 Nei(1983)方法计算 7 个栎树居群间的遗传距离(Da), 结果如表 5 所示。遗传距离的范围是 0.131 ~ 0.448, 其中上方山的榉树群体(SF-D)和云蒙山的榉树群体(YM-D)遗传距离最小, 为 0.131, 上方山的榉栎群体(SF-A)与北农林场的榉栎群体(LC-A)、云蒙山的榉栎群体(YM-A)的遗传距离次之, 分别为 0.160 和 0.164。北农怀柔林场的榉栎居群(LC-A)与云蒙山的榉树群体(YM-D)的遗传距离最大, 为 0.448。

2.5 聚类分析

基于 Nei(1983)遗传距离(Da), 使用 UPGMA 法对 7 个栎树居群构建系统聚类树(图 2), 榉栎和榉树均先聚类成本种的小分支, 再进一步聚类在一起, 形成大的分支, 与 2 个蒙古栎居群所组成的大分支

表 5 居群间遗传距离

Tab. 5 Genetic distance between populations

居群 Population	LC-A	LC-M	SF-A	SF-D	YM-A	YM-D	YM-M
LC-A	—						
LC-M	0.427	—					
SF-A	0.160	0.285	—				
SF-D	0.374	0.343	0.196	—			
YM-A	0.218	0.368	0.164	0.286	—		
YM-D	0.448	0.394	0.264	0.131	0.334	—	
YM-M	0.400	0.178	0.231	0.268	0.305	0.340	—

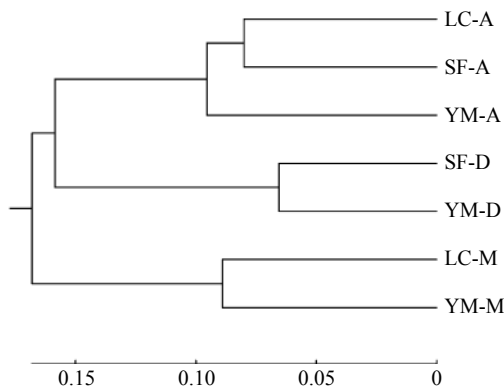


图 2 7 个栎树居群 UPGMA 聚类图

Fig. 2 UPGMA dendrogram of 7 oak populations

并列。聚类结果与实际分类情况相符,同种居群都正确的聚类在了一起。聚类结果中,北农林场和上方山的槲栎居群(LC-A 和 SF-A)聚成了一个更小的分支,说明这 2 个居群间的遗传距离更近,槲栎的 3 个居群和槲树的 2 个居群聚类在一起,说明这两个种之间的遗传距离更近,种间分化程度较低,更容易出现基因渐渗情况。

2.6 3 种栎属植物种间基因渐渗分析

对所有 304 个个体进行基于贝叶斯聚类的 Structure 混合分析(图 3), K 值设置为 3, burn-in 为 10 000, iterations 设置为 100 000, 分析结果如图 4 所示,在总共 304 个个体中鉴别出渐渗个体 72 个,其中在 78 个槲树样本中,有 66 个个体为纯种,12 个个体为杂种;在 151 个槲栎样本中,有 101 个个体为纯种,50 个个体为杂种;在 75 个蒙古栎样本中,有 66 个个体为纯种,9 个个体为杂种。被认为是杂种的个体占总样本的 23.68%。

在所有被认为是杂种的个体中,属于槲树-蒙古栎渐渗杂交类型的个体有 9 个,属于槲树-槲栎渐渗杂交类型的个体有 31 个,属于槲栎-蒙古栎渐渗杂交类型的个体有 25 个,除此之外,还有 7 个个体属于槲树-槲栎-蒙古栎渐渗杂交类型。3 个栎属植物种间都存在着明显的基因渐渗现象,尤其是在槲栎

群体中,渐渗种和纯种个体的比例达到了 1:2,在 72 个杂种个体中,与槲栎有关的渐渗个体有 63 个,这意味着槲栎正在和其他栎属物种发生着极其频繁的种间交流和基因渐渗。同时,根据 Structure 的结果显示,在上方山样地的槲树和槲栎居群发生的基因渐渗现象最为显著,该地区采集的 104 个槲树和槲栎样本中,有 50 个样本被鉴别为渐渗类型个体,整体基因渐渗率达到了 48.07%,其中,槲树居群中有渐渗个体 12 个,在该居群中的比率为 36.36%;槲栎居群中有渐渗个体 38 个,在该居群中的比率为 53.52%,除此之外,还在槲树和槲栎居群中检测到蒙古栎基因的渗入。这表明在该地区中,槲栎和槲树、蒙古栎之间正在发生着强烈的、不对称的、复杂的基因渐渗,槲栎群体的遗传信息正在被其他栎属植物入侵。

3 讨 论

本研究通过使用 6 对 SSR 引物对 3 种栎属植物的 7 个居群进行遗传结构和遗传变异的分析,检测到等位标记数为 12.667 ~ 14.167,期望杂合度(H_e)为 0.743 ~ 0.849 与之相比较,华北落叶松(*Larix principis-rupprechtii*)群体中检测到平均等位标记数为 3.36,期望杂合度为 0.423^[35];柞柳(*Tamarix chinensis*)群体中检测到平均等位标记数为 3.65,期望杂合度为 0.557^[36];川滇高山栎(*Quercus aquifolioides*)群体中检测到平均等位标记数为 11.33,期望杂合度为 0.779^[37];栓皮栎群体中检测到平均等位标记数为 8.44,期望杂合度为 0.806^[23],本研究中的 3 种栎树与其他种的栎属植物的遗传多样性均表现出较高水平。虽然不同的研究中使用的引物和采样方式有所不同,但总体上的趋势是相同的,即栎属植物群体的遗传多样性水平普遍较高。这种表现情况与栎属植物的生活习性相关,栎树植物为风媒传粉,有防止自交的机制,种间异交率高,这就使得子代整体杂合程度变高,使居群保留了更多的等位标记,表现出更高的遗传多样性水平^[38]。

本研究对同种栎树居群的遗传变异分析中,槲树 98.1% 的变异发生在居群内,1.9% 的变异发生在居群间;槲栎居群内变异率为 95.6% ~ 96.8%,居群间的变异率为 4.4% ~ 3.2%;蒙古栎 98% 的变异发生在居群内,2% 的变异发生在居群间。同种栎树的遗传变异水平较低,这一方面与栎属植物属于多年生、长寿命、乔木、风媒、异交、广布种等特性有关;另一方面与采样地点有关,本研究中的 3 个样地均在北京地区,地理跨度小,各个居群的生境基本相同且不存在生殖隔离,花粉和种子流普遍存在,同种栎树间

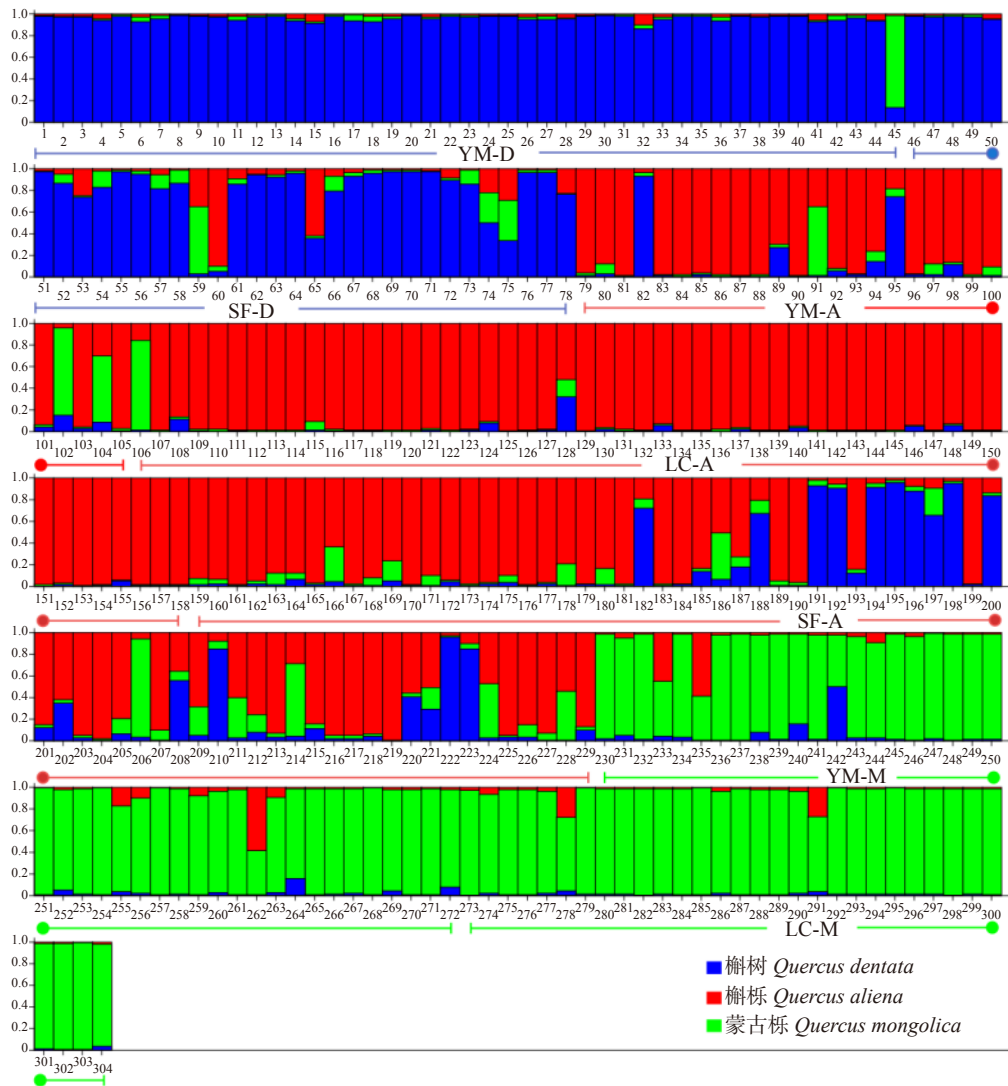


图 3 各样品的 Structure 输出结果

Fig. 3 Structure output results of each sample

交流密切,降低了居群分化程度,基因流(Nm)5.472~12.710 也同样说明同种间的基因交流程度高。在其他研究中,大果栎(*Quercus macrocarpa*)居群内变异率为 97%,居群间变异率为 3%^[39];川滇高山栎居群内变异率为 93.4%,居群间变异率为 6.6%;栓皮栎居群内变异率为 95.4%,居群间变异率为 4.6%;槲栎居群内变异率为 79.2%,居群间变异率为 20.8%^[40],本研究中槲栎居群的遗传变异程度要低于邸晓瑶的研究结果,这与研究尺度和采样数量有关,邸晓瑶的研究采集了来自全国各地的槲栎样本,且每个居群采样量少(6~30 个),采样间隔大(100 m),导致其揭示出的槲栎居群间遗传变异程度要高于本研究,但两者总体上的趋势是一致的,即槲栎居群的遗传变异大部分存在于居群内。

同一样地的异种栎树居群的遗传变异结果中,大部分的变异存在于居群内,小部分存在于居群间,3 种栎树异种居群间的遗传分化程度都普遍较低,居

群间变异率只有 4.5%~10.8%,这是因为 3 种栎树都属于同组类群,亲缘关系较近,且都不同程度混杂分布在同一区域内,居群间异交率高,异种居群间在演变过程中会不断进行基因交流,导致遗传分化程度处在一个较低水平^[41]。栎属植物异种居群间的变异程度与物种和地域等因素也有紧密关系,在本研究中,上方山地区的槲树居群和槲栎居群的居群间变异率最低,只有 4.5%,明显低于其他样地中槲树和蒙古栎、槲栎和蒙古栎居群间的变异率(7%~10.8%),也同样低于云蒙山样地中槲树和槲栎居群,且上方山样地中槲树和槲栎居群间的基因流为 5.271,存在着高强度的基因交流,达到了随机居群的程度^[42]。这表明上方山地区的槲树和槲栎居群间遗传分化程度相比其他样地和异种对间更低,基因交流更加频繁。有研究表明,该地区的槲树雄花和槲栎雌花在物候上有一定重叠,两种植物在开花时间上的重叠表明两者之间可能会有频繁的异交现象^[43],

同时该地区的槲栎叶片更大更宽,与槲树的叶片特征有相似之处,两者在形态特征上的相似或许也能说明该地区的槲树和槲栎之间基因交流频繁,遗传分化程度较低。植物的表型性状是由基因决定的^[44],但同时也会受到环境因子的影响,植物居群的表型性状变异是基因表达与环境因子共同作用的结果,所以上方山地区槲栎叶片形态的特殊性并非一定是由于基因交流的影响,想要验证这个猜想,还需要更多的研究加以证明。上方山的地理地形较为特殊,三面环山形成一个闭塞空间,内部地势陡峭,这种地形使上方山内部湿润度较高,同时石灰岩山体也有利于雨水下渗,这些都是对于植物生长十分有利的条件。有研究表明,上方山地区未曾遭受冰川和中亚干燥气候的过多影响,上方山的植物区系很可能是第三纪植物区系的直接后代^[45],这可能意味着上方山的栎属植物群体保留了更多的祖先基因,导致在该地区槲树和槲栎的分化程度较低,基因交流频繁。

栎属植物种间经常发生种间杂交和基因渐渗,是研究植物基因渐渗的代表性物种。不同栎属种间基因渐渗程度不同,同组内栎树间亲缘关系较近,更易发生基因渐渗现象^[46]。Burgarella 等^[47]通过 8 对 SSR 引物对欧洲栓皮栎(*Quercus suber*)和冬青栎(*Quercus ilex*)进行研究,从 1 112 个个体中共鉴别出 17 个基因渐渗个体,基因渐渗率为 1.53%;Curtu 等^[48]通过 6 对 SSR 引物对夏栎(*Quercus robur*)、无梗花栎(*Quercus patraea*)、柔毛栎(*Quercus pubescens*)、意大利栎(*Quercus frainetto*)这 4 种栎树进行了研究,结果表明意大利栎和夏栎之间基因渐渗率为 1.7%,意大利栎和柔毛栎之间基因渐渗率为 16.2%;Lepais 等^[20]使用 10 对 SSR 标记对法国地区分布的 2 107 个夏栎、无梗花栎、柔毛栎和比利牛斯山栎(*Quercus pyrenaica*)个体进行了分析,发现 4 个物种总的基因渐渗率为 22.9%,不同种对之间基因渐渗率为 2.5%~5.4%;魏高明等^[24]对麻栎(*Quercus acutissima*)、白栎(*Quercus fabri*)、短柄枹栎和栓皮栎之间的基因渐渗进行了研究,发现麻栎和栓皮栎之间基因渐渗率为 7.5%,栓皮栎和短柄枹栎之间基因渐渗率为 1.71%,白栎和短柄枹栎之间基因渐渗率为 10.83%。

本研究使用 6 对 SSR 引物对 304 个槲树、槲栎和蒙古栎进行了基于贝叶斯的 Structure 分析,在不输入物种先验信息的条件下,当 $K=3$ 时,所有个体可以被准确的划分在所在类群中。以 $Q \leq 0.9$ 作为阈值判断杂种个体,在所有 304 个栎树个体中,共检

测到杂种个体 72 个,总的基因渐渗率为 23.68%。其中,槲树和槲栎之间杂交个体有 31 个,基因渐渗率为 13.54%;槲树和蒙古栎之间杂交个体有 9 个,基因渐渗率为 5.88%,与王越^[32]等对于槲树和蒙古栎居群间基因渐渗程度的研究结果一致;槲栎和蒙古栎之间杂交个体有 25 个,基因渐渗率为 11.06%;除此之外,还有 7 个个体属于槲树、槲栎和蒙古栎之间的三向渐渗类型。3 种栎树种间均有较高度度的基因渐渗情况,特别是槲栎与槲树间、槲栎与蒙古栎间,在本研究中鉴别出的 72 个渐渗个体中,有 63 个是来自槲栎与其他 2 种的渐渗杂交体。

在 3 个样地中,以上方山样地中发生的基因渐渗情况最多,在上方山地区采集的 104 个槲树和槲栎样本中,有 50 个样本被鉴别为渐渗类型个体,整体基因渐渗率达到了 48.07%,其中,槲树居群中有渐渗个体 12 个,在该居群中的比率为 36.36%;槲栎居群中有渐渗个体 38 个,在该居群中的比率为 53.52%。种间基因渐渗也不止发生在槲树与槲栎之间,同时还检测到有蒙古栎的基因渗入到槲树和槲栎中,7 个被认为是三向渐渗类型的个体中,有 6 个来自于上方山样地中,而且 Structure 的结果中也能看出,上方山样地中的槲栎居群的基因被入侵程度明显高于其他居群。种种情况都说明,在上方山地区分布的同组内的栎属植物种间正在发生着强烈、不平衡、复杂的基因渐渗过程。Lyu 等^[49]使用 17 对 SSR 引物对上方山地区同域分布的槲树、槲栎和栓皮栎之间的遗传分化和遗传结构进行了研究,结果表明,在上方山地区的槲树居群与槲栎居群间遗传变异率为 11%,在 265 个槲树和槲栎个体中,只鉴别出 7 个个体属于渐渗类型个体,种间基因渐渗率只有 2.73%。这个结果与本研究的结果有明显差异,这可能与 SSR 引物的不同有关,在 Lyu 等^[49]的研究中,研究对象包括槲树、槲栎和栓皮栎 3 种,其中,栓皮栎属于麻栎组,而槲树和槲栎则属于白栎组,这就要求所选用的 SSR 引物在通用性上要适用于异组类别的栎树间,这些引物扩增出的位点信息可能相对更加保守,无法全面的揭示出物种间的遗传变异和遗传结构,但 Lyu 等^[49]的研究仍然显示出上方山地区的槲树和槲栎居群间的遗传分化要显著低于槲树和栓皮栎居群间和槲栎与栓皮栎居群间,这在趋势上是与本研究相符的。

4 结 论

槲树、槲栎和蒙古栎在北京地区均有同域分布,经常混生在一起,栎属植物风媒传粉的特性和防止自交的机制使得不论同种还是异种之间都更容易发

生基因交流和杂交渐渗。在本研究所调查的3个地点中,除云蒙山蒙古栎居群外,其他居群均是紧密混生在一起,同时,这3种栎树的花期存在重叠,都集中在3—5月份,这就增加了异种交配的概率,异种间长期普遍存在的基因交流使得种间杂交渐渗更容易发生。本研究通过对北京地区分布的槲栎、槲栎和蒙古栎的居群遗传多样性、群体遗传结构和基因渐渗进行分析,发现这3种栎树普遍具有较高的遗传多样性水平,同种栎树之间遗传分化程度低,异种栎树间存在着普遍的、复杂的基因渐渗现象,特别是在上方山地区的槲栎和槲栎居群中,检测到了大量的基因渗入情况,为了保护以及利用该地区的栎属种质资源,有必要进行更深入的研究。

参 考 文 献

- [1] Anderson E, Hubricht L. Hybridization in *Tradescantia* (III): the evidence for introgressive for introgressive hybridization[J]. *American Journal of Botany*, 1938, 25(6): 396–402.
- [2] Rieseberg L H, Wendel J F. Introgression and its consequences in plants [M]// Harrison R. Hybrid zones and the evolutionary process. Oxford: Oxford University Press, 1993: 70–103.
- [3] Rushton B S. Natural hybridization within the genus *Quercus* L.[J]. *Annales des Sciences Forestières*, 1993, 50 (Suppl.): 73–90.
- [4] Arnold M L. Evolution through genetic exchange[M]. Oxford: Oxford University Press, 2006.
- [5] Jiggins C D, Mallet J. Bimodal hybrid zones and speciation[J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 2000, 15(6): 250–255.
- [6] Hamrick J L. Plant population genetics, breeding and genetic resources[M]. Sunderland: Sinauer Associates, 1990.
- [7] Kremer A, Petit R. Gene diversity in natural populations of oak species[J]. *Annales des Sciences Forestières*, 1993, 50: 186–202.
- [8] Quang N D, Ikeda S, Harada K. Nucleotide variation in *Quercus crispula* Blume[J]. *Heredity*, 2008, 101(2): 166–174.
- [9] Arnold M L, Ballerini E S, Brothers A N. Hybrid fitness, adaptation and evolutionary diversification: lessons learned from Louisiana irises[J]. *Heredity*, 2012, 108(3): 159–166.
- [10] Eaton D A, Hipp A L, González-Rodríguez A, et al. Historical introgression among the American live oaks and the comparative nature of tests for introgression[J]. *Evolution*, 2015, 69(10): 2587–2601.
- [11] Dow B D, Ashley M V. High levels of gene flow in bur oak revealed by paternity analysis using microsatellites[J]. *Journal of Heredity*, 1998, 89(1): 62–70.
- [12] Muir G, Fleming C C, Schlotterer C, et al. Species status of hybridizing oaks[J]. *Nature*, 2000, 405: 1016.
- [13] Steinhoff S. Results of species hybridization with *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt) Liebl[J]. *Annales des Sciences Forestières*, 1993, 50 (Suppl.): 137–143.
- [14] Lefort E, Lally M, Thompson D. Morphological traits, microsatellite fingerprinting and genetic relatedness of a stand of elite oaks (*Q. robur* L.) at Tullynally Ireland[J]. *Silvae Genetica*, 1998, 473(176): 5–6.
- [15] Lopez-Aljorna A, Angeles B M, Aguinalalde I, et al. Fingerprinting and genetic variability in cork oak (*Quercus suber* L.) elite trees using ISSR and SSR markers[J]. *Annales des Sciences Forestières*, 2007, 64(7): 773–779.
- [16] Moran E V, Willis J, Clark J S. Genetic evidence for hybridization in red oaks (*Quercus* Sect. Lobatae, Fagaceae)[J]. *American Journal of Botany*, 2012, 99(1): 92–100.
- [17] Petit R J, Csaikl U M, Bordács S, et al. Chloroplast DNA variation in European white oaks[J]. *Forest Ecology and Management*, 2002, 156(1): 5–26.
- [18] Antonecchia G, Fortini P, Lepais O, et al. Genetic structure of a natural oak community in central Italy: evidence of gene flow between three sympatric white oak species (*Quercus*, Fagaceae)[J]. *Annals of Forest Research*, 2015, 57(2): 205–216.
- [19] Salvini D, Bruschi P, Fineschi S, et al. Natural hybridisation between *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. and *Quercus pubescens* Willd. within an Italian stand as revealed by microsatellite fingerprinting[J]. *Plant Biology*, 2009, 11(5): 758–765.
- [20] Lepais O, Pett R J, Guichoux E, et al. Species relative abundance and direction of introgression in oaks[J]. *Molecular Ecology*, 2009, 18(10): 2228–2242.
- [21] 厉月桥, 李迎超, 吴志庄. 中国北方栎属植物资源调查与区划[J]. *林业资源管理*, 2013(4): 88–93.
- Li Y Q, Li Y C, Wu Z Z. Study on investigation and division of the resources of *Quercus* in northern China[J]. *Forest Resources Management*, 2013(4): 88–93.
- [22] 李文英, 顾万春, 周世良. 蒙古栎天然群体遗传多样性的 AFLP 分析[J]. *林业科学*, 2003, 39(5): 29–36.
- Li W Y, Gu W C, Zhou S L. AFLP analysis on genetic diversity of *Quercus mongolica* populations[J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2003, 39(5): 29–36.
- [23] 徐小林, 徐立安, 黄敏仁, 等. 栓皮栎天然群体 SSR 遗传多样性研究[J]. *遗传*, 2004, 26(5): 683–688.
- Xu X L, Xu L A, Huang M R, et al. Genetic diversity of microsatellites (SSRs) of natural populations of *Quercus variabilis*[J]. *Hereditas* (Beijing), 2004, 26(5): 683–688.
- [24] 魏高明. 苏皖4种同域分布栎树的遗传变异与基因渐渗[D]. 南京: 南京林业大学, 2015.
- Wei G M. Genetic variation of populations and introgression among four sympatric oaks in Jiangsu and Anhui provinces[D]. Nanjing: Nanjing Forestry University, 2015.
- [25] Zeng Y F, Liao W J, Petit R J, et al. Geographic variation in the structure of oak hybrid zones provides insights into the dynamics of speciation[J]. *Molecular Ecology*, 2011, 20(23): 4995–5011.
- [26] Hubert F, Grimm G W, Joussetin E, et al. Multiple nuclear genes stabilize the phylogenetic backbone of the genus *Quercus*[J]. *Systematics & Biodiversity*, 2014, 12(4): 405–423.
- [27] 任宪威. 北京新植物[J]. 河北农业大学学报, 1996, 19(3): 86–87.
- Ren X W. New taxa from Beijing[J]. *Journal of Agricultural*

- University of Hebei, 1996, 19(3): 86–87.
- [28] 陈焕镛, 黄成就. 中国植物志 (22): 壳斗科 [M]. 北京: 科学出版社, 1998: 213–263.
- Chen H Y, Huang C J. Flora of China (22): Fagaceae [M]. Beijing: Science Press, 1998: 213–263.
- [29] Kampf S, Lexer C, Steinkellner H, et al. Characterization of (GA)_n microsatellite loci from *Quercus robur* [J]. *Hereditas*, 1998, 129: 183–186.
- [30] Aldrich P R, Michler C H, Sun W L, et al. Microsatellite markers for northern red oak (Fagaceae: *Quercus rubra*) [J]. *Molecular Ecology Notes*, 2002, 2: 472–474.
- [31] Steinkellner H, Fluch S, Turetschek E, et al. Identification and characterization of (GA / CT)_n-microsatellite loci from *Quercus petraea* [J]. *Plant Molecular Biology*, 1997, 33: 1093–1096.
- [32] 王越. 基于 SSR 标记的柞树、蒙古-辽东栎种间杂交研究 [D]. 济南: 山东大学, 2012.
- Wang Y. Natural hybridization between *Quercus dentata* and *Q. mongolica-liaotungensis* revealed by microsatellite markers [D]. Jinan: Shandong University, 2012.
- [33] Marshall T C, Slate J, Kruuk L E B, et al. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations [J]. *Molecular Ecology*, 1998, 7(5): 639–655.
- [34] Peakall R, Smouse P E. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research: an update [J]. *Bioinformatics*, 2012, 28(19): 2537–2539.
- [35] 范英明, 张登荣, 于大德, 等. 河北省华北落叶松天然群体遗传多样性分析 [J]. *植物遗传资源学报*, 2014, 15(3): 465–471.
- Fan Y M, Zhang D R, Yu D D, et al. Genetic diversity and population structure of *Larix principis-rupprechtii* Mayr in Hebei Province [J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2014, 15(3): 465–471.
- [36] 张如华. 柞柳群体遗传变异研究 [D]. 南京: 南京林业大学, 2011.
- Zhang R H. Study on the genetic variation of *Tamarix chinensis* Lour. populations [D]. Nanjing: Nanjing Forestry University, 2011.
- [37] 张学江. 中国卧龙自然保护区不同海拔川滇高山栎 (*Quercus aquifolioides*) 群体的遗传变异 [D]. 成都: 中国科学院成都生物研究所 2006.
- Zhang X J. Genetic variation of *Quercus aquifolioides* populations at varying altitudes in the Wolong Nature Reserve of China [D]. Chengdu: Chengdu Institute of Biology, 2006.
- [38] Hardy O J. Fine-scale genetic structure and gene dispersal in *Centaurea corymbosa* (Asteraceae) (II): correlated paternity within and among sibships [J]. *Genetics*, 2004, 168(3): 1601–1614.
- [39] Craft K J, Ashley M V. Landscape genetic structure of bur oak (*Quercus macrocarpa*) savannas in Illinois [J]. *Forest Ecology and Management*, 2007, 239(1): 13–20.
- [40] 邸晓瑶. 基于 cpDNA 和 SSR 标记的柞栎群体遗传学研究 [D]. 西安: 西北大学, 2017.
- Di X Y. Population genetics of *Quercus aliena* based on cpDNA and SSR marker [D]. Xi'an: Northwest University, 2017.
- [41] Chybicki I J, Burczyk J. Seeing the forest through the trees: comprehensive inference on individual mating patterns in a mixed stand of *Quercus robur* and *Q. petraea* [J]. *Annals of Botany*, 2013, 112(3): 561–574.
- [42] 徐刚标. 植物群体遗传学 [M]. 北京: 科学出版社, 2009: 55–65.
- Xu G B. Plant population genetics [M]. Beijing: Science Press, 2009: 55–65.
- [43] Liu Y, Li Y, Song J, et al. Geometric morphometric analyses of leaf shapes in two sympatric Chinese oaks: *Quercus dentata* Thunberg and *Quercus aliena* Blume (Fagaceae) [J/OL]. *Annals of Forest Science*, 2018, 75(4)[2019–08–21]. <http://link.springer.com/article/10.1007/s13595-018-0770-2>.
- [44] 解新明, 云锦凤. 植物遗传多样性及其检测方法 [J]. *中国草地*, 2000, 22(6): 52–60.
- Xie X M, Yun J F. Genetic diversity and detective methods of plant [J]. *Chinese Journal of Grassland*, 2000, 22(6): 52–60.
- [45] 鲜冬娅. 北京上方山植物多样性及保护研究 [D]. 北京: 北京林业大学, 2008.
- Xian D Y. Study on plant diversity and conservation in Shangfang Mountain, Beijing [D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2008.
- [46] Aldrich P R, Lavender-Bares J. Wild crop relatives: genomic and breeding resources [M]. Berlin: Springer Berlin Heidelberg, 2011.
- [47] Burgarella C, Lorenzo Z, Jabbour-Zahab R, et al. Detection of hybrids in nature: application to oaks (*Quercus suber* and *Q. ilex*) [J]. *Heredity*, 2009, 102(5): 442–452.
- [48] Curtu A L, Gailing O, Finkeldey R. Evidence for hybridization and introgression within a species-rich oak (*Quercus* spp.) community [J/OL]. *BMC Evolutionary Biology*, 2007, 7(1): 218 [2019–08–21]. <http://bmcevolbiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2148-7-218>.
- [49] Lyu J, Song J, Liu Y, et al. Species boundaries between three sympatric oak species: *Quercus aliena*, *Q. dentata*, and *Q. variabilis* at the northern edge of their distribution in China [J/OL]. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9: 414 [2019–06–14]. <http://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2018.00414/full>.

(责任编辑 范娟 崔艳红
责任编辑 卢孟柱)