

基于 AFLP 的滇西北玉龙雪山不同海拔川滇高山栎遗传多样性分析

程小毛¹ 李 响¹ 姜永雷² 黄晓霞¹

1. 西南林业大学园林学院, 昆明 650224;

2. 中国科学院成都山地灾害与环境研究所/山地表生过程与生态调控重点实验室, 成都 610041

摘要 利用 AFLP 分子标记对滇西北玉龙雪山不同海拔(2 750~3 500 m)川滇高山栎(*Quercus aquifolioides*)6 个居群进行遗传多样性分析。结果表明: 川滇高山栎多态位点比率为 100%, Shannon 多样性指数 I 为 0.54, Nei's 基因多样性指数 H 为 0.37, 反映出川滇高山栎总的遗传多样性丰富, 处于较高水平; 由 Shannon 信息指数计算的值比 Nei 指数估算的居群遗传多样性高, 但两者都一致表明 6 个居群的遗传多样性水平随海拔梯度的变化而呈现相同的变化规律: 海拔 3 050~3 350 m 川滇高山栎的遗传多样性水平较高, 而海拔 2 750~2 900 m 及 3 500 m 居群的遗传多样性水平均有降低的趋势。本研究中川滇高山栎的遗传分化系数 G_{st} 为 0.089, 表明居群间的遗传变异占总的遗传变异的 8.90%, 而 91.10% 的遗传变异存在于居群内, AMOVA 分析表明 11.00% 的变异存在于居群间, 89.00% 的变异存在于居群内, 两者都说明川滇高山栎居群间存在较低的遗传分化, 总的遗传分化主要来自居群内部。基因流 N_m 为 5.12, 表明较高的基因流可能是导致川滇高山栎具有较高的遗传多样性的主要原因之一。

关键词 川滇高山栎; AFLP; 遗传多样性; 遗传分化

中图分类号 S 792.18 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2017)01-0022-06

川滇高山栎(*Quercus aquifolioides*)是我国西部独特的高山硬叶常绿阔叶林, 主要分布于我国西南横断山区海拔 1 700~4 600 m 地带, 具有很强的生态适应性^[1]。在分布区内, 从南到北海拔越来越高, 川滇高山栎的分布状态表现为从森林逐渐过渡到灌丛^[2]。川滇高山栎为阳性树种, 具有耐干旱、耐寒冷、耐瘠薄的能力, 萌生能力强, 根系发达, 抗强风, 有较强的水源涵养及水土保持功能, 是高海拔地区及生态脆弱区植被修复的良好树种。前人对川滇高山栎进行了不同生长阶段空间格局^[3]、非结构性贮藏碳水化合物与氮^[4]、养分循环^[5]等方面的研究。但迄今为止, 关于川滇高山栎的遗传多样性受海拔梯度影响的研究仍少见报道, 李进等^[6]利用同工酶对 8 个不同海拔的川滇高山栎居群进行遗传多样性分析, 结果表明随着海拔高度的增加, 川滇高山栎遗传多样性表现出先增加再降低的变化趋势, 中等海拔居群(2 400~3 300 m)较高海拔(3 800 m)及低海

拔(2 200 m)居群表现出较高的的遗传变异水平。SSR 标记研究表明川滇高山栎在居群内表现较高遗传多样性水平, 平均期望杂合度 0.820, 居群间的差异较小, 分化仅为 6.6%, 川滇高山栎居群的遗传变异受海拔梯度形成的选择压力影响并不明显^[7]。AFLP 分析结果表明海拔高度(从居群 WL2 到居群 WL5)与居群内遗传表现负相关, 而与居群间遗传呈现一定的正相关^[8]。

AFLP 标记具有用量少、灵敏度高、重复性好、多态性位点丰富、显性标记, 不需要预先知道基因组背景等优点^[9]。对栎属川滇高山栎^[8]、蒙古栎^[10]、辽东栎^[10]、灰背栎^[11]等已进行了基于 AFLP 的遗传多样性研究, 本研究采用 AFLP 标记对丽江玉龙雪山不同海拔梯度的川滇高山栎自然居群进行遗传变异研究, 从分子水平上揭示丽江玉龙雪山川滇高山栎自然居群的遗传多样性水平、遗传分化程度及基因流, 旨在为科学保护和利用川滇高山栎提供理

收稿日期: 2016-01-18

基金项目: 国家自然科学基金项目(31100292); 国家林业局西南风景园林工程技术研究中心建设经费; 云南省省级重点学科园林植物与观赏园艺建设经费(50097401)

程小毛, 博士, 副教授。研究方向: 林木遗传育种。E-mail: 30375713@qq.com

通信作者: 黄晓霞, 博士, 副教授。研究方向: 植物分子生理。E-mail: 543292533@qq.com

论依据。

1 材料与方法

1.1 植物材料及总 DNA 抽提

2013年11月初,在云南省丽江市玉龙雪山省级自然保护区内设置样地。设置海拔梯度2 750、2 900、3 050、3 200、3 350和3 500 m。为避免同克隆产生的试验偏差,每个海拔选取生长正常的单株且单株间间距>30 m,每株取1~3个嫩枝放入装有变色硅胶的自控袋中带回实验室用于提取DNA,不同海拔取样数分别为22、23、24、22、23和18株,共132株。用改良CTAB法^[12]抽提基因组总DNA。

1.2 AFLP分析

1)酶切与连接。基因组DNA用限制性内切酶Mse I和Eco R I双酶切,参考Vos等^[9]所建立的方法略作修改。酶切反应总体积为12.5 μL,包括10×Tango buffer 2.5 μL,总DNA 150 ng,Eco R I 6.25 U,Mse I 2.5 U,加ddH₂O至12.5 μL,配好反应体系后,37 °C 2 h,65 °C 2 h,85 °C保温20 min。酶切完成后,加12.5 μL连接混合液,包括10×T4 Buffer 2.5 μL,5 μmol/L Ead 0.625 μL,50 μmol/L

Mad 0.1 875 μL,T4 DNA ligase 0.75 U,加ddH₂O至12.5 μL。22 °C 3 h,65 °C灭活10 min后,将酶切连接产物稀释5×,置于-20 °C冰箱备用。

2)PCR扩增反应。在25 μL预扩增反应体系中,包括10×PCR Buffer(含1.5 mmol/L Mg²⁺)2.5 μL,2.5 mmol/L dNTPs 2.0 μL,10 μmol/L EA 0.5 μL,10 μmol/L MC 0.5 μL,5×酶切连接产物5 μL,5 U/μL Taq DNA聚合酶0.2 μL,加ddH₂O至25 μL。扩增程序设置为:94 °C 3 min;94 °C 30 s,56 °C 30 s,72 °C 1 min,共25个循环;72 °C 5 min;4 °C保温。预扩产物稀释30×后放置于-20 °C冰箱备用。

10 μL选择性扩增反应体系为:10×PCR Buffer(含1.5 mmol/L Mg²⁺)1.0 μL,2.5 mmol/L dNTPs 0.8 μL,10 μmol/L EA选择性扩增引物和10 μmol/L MC选择性扩增引物各0.5 μL,30×预扩产物2.0 μL,5 U/μL Taq DNA聚合酶0.1 μL,加ddH₂O至10 μL。扩增程序为94 °C 3 min;94 °C 30 s,65 °C 30 s,72 °C 1 min,每个循环退火温度降0.7 °C,共13个循环;再接着23个循环:94 °C 30 s,56 30 s,72 °C 1 min;72 °C 5 min;4 °C保温。选择性扩增引物编号及序列见表1。

表1 AFLP选择性扩增引物

Table 1 Selected primer sequences of AFLP markers

编号 Code	引物序列(5'-3') Sequences	编号 Code	引物序列(5'-3') Sequences
EA1	GACTGCGTA CCA ATT CAAA	MC2	GAT GAG TCC TGA GTA ACAT
EA2	GAC TGC GTA CCA ATT CAAT	MC3	GAT GAG TCC TGA GTA ACAC
EA3	GAC TGC GTA CCA ATT CAAC	MC4	GAT GAG TCC TGA GTA ACAG
EA4	GAC TGC GTA CCA ATT CAAG	MC5	GAT GAG TCC TGA GTA ACTA
EA5	GAC TGC GTA CCA ATT CATA	MC10	GAT GAG TCC TGA GTA ACCT
		MC14	GAT GAG TCC TGA GTA ACGT
		MC16	GAT GAG TCC TGA GTA ACGG

1.3 PAGE凝胶电泳检测

选扩产物94 °C变性5 min后,向其加入等体积的上样缓冲液,充分混匀,用6%变性聚丙烯酰胺凝胶电泳,电压、电流和功率分别设置为2 500 V、50 mA和80 W,预电泳约1 h后上样1.8 μL,接着电泳约1 h后剥胶显影,显影方法为银染。

1.4 数据分析

用Excel构建(0,1)矩阵,扩增产物在相同迁移位置上,有带记为1,无带记为0。根据POPEGENE version 1.31^[13]软件,计算Nei's基因多样性指数 $H_e = \sum(1 - \sum P_{i2})/n$,n代表所测定的位点总数, P_i 代表第*i*种纯合基因型的频率;香农指数 I

(Shannon's information index) = $-\sum P_i \ln P_i$, P_i 为表型频率,即某一扩增出现的频率;居群总基因多样性度 H_t 为总的基因多样性, H_s 为居群内基因多样性, $H_s = \sum[1 - (p_i^2 + q_i^2)]/n$,其中 p_i 和 q_i 分别为总的居群中位点上的显性频率和隐性频率,n为位点总数;居群间基因分化系数 $G_{st} = (H_t - H_s)/H_t$, G_{st} 的值从0到1;基因流 $N_m = 0.5(1 - G_{st})/G_{st}$ 。利用AMOVA version 1.55软件^[14]进行分子方差分析。根据POPEGENE version 1.31计算的居群间的遗传相似系数,利用NTSYS-pc统计分析软件^[15]按不加权成对算术平均法(UPGMA)构建系统聚类分枝树状图^[16]。

2 结果与分析

2.1 川滇高山栎遗传多样性分析

利用筛选出的 11 对 AFLP 引物组合 (EA1/MC10、EA5/MC10、EA2/MC3、EA3/MC2、EA2/MC16、EA5/MC14、EA3/MC16、EA3/MC5、EA3/MC4、EA2/MC2、EA4/MC16) 对 6 个居群总计 132 个样品进行扩增, 共获得 94 个清晰且表现多态性的多态性条带, 平均每对引物组合扩增出 8.55 个条带(表 2)。6 个川滇高山栎居群的平均多态性条带百分率 93.80%, 多态性条带比率变异范围

为 90.43%~98.94%, Q2750 居群多态性条带百分率最低, Q3350 居群多态性条带百分率最高(表 2)。

川滇高山栎 Nei's 基因多样性指数 H_e 为 0.37, 香农指数 I 为 0.54。6 个居群的 Nei's 基因多样性指数 H_e 变化范围为 0.30~0.36, 平均为 0.33; 香农指数 I 变化范围为 0.45~0.53, 平均为 0.50。Nei's 基因多样性指数 H_e 和香农指数 I 在 6 个居群中呈现出相同的变化趋势, 都是随着海拔的增加先降低, 后升高, 再降低(表 2)。 H_e 和 I 均以低海拔的 Q2750 最低, 较高海拔的 Q3350 最高(表 2)。

表 2 基于 AFLP 分子标记遗传多样性分析

Table 2 Genetic diversity of *Quercus aquifolioides* based on AFLP marker

居群 Population	样品数 Sample size	扩增条带数 No. amplified bands	多态性条带数 No. polymorphic bands	多态性 百分比/% PPB	观察到的 等位基因数 Observed number of alleles (N_a)	有效等位 基因数 Effective number of alleles (N_e)	Nei's 基因多 样性指数 Nei's gene diversity index (N_e)	香农指 数 Shannon's information index(I)
Q2750	22	94	85	90.43	1.90	1.49	0.30	0.45
Q2900	23	94	87	92.55	1.93	1.52	0.31	0.47
Q3050	24	94	88	93.62	1.94	1.62	0.35	0.52
Q3200	22	94	88	93.62	1.94	1.59	0.34	0.53
Q3350	23	94	93	98.94	1.99	1.62	0.36	0.53
Q3500	18	94	88	93.62	1.94	1.58	0.34	0.50
平均 Mean	22	94	88	93.80	1.94	1.57	0.33	0.50
物种水平 Species level	132	94	94	100.00	2.00	1.63	0.37	0.54

2.2 川滇高山栎遗传分化

川滇高山栎居群总的基因多样性 H_e 为 0.37, 居群内基因多样性 H_s 为 0.33, 居群间遗传分化系数 G_{st} 为 0.089, 表明居群间存在 8.90% 的遗传变异, 居群内的遗传变异为 91.10%, 说明川滇高山栎居群间遗传分化不明显, 遗传分化主要来自居群内部。居群间基因流 N_m 为 5.12(大于 4), 说明居群间基因交流较充分。

AMOVA 分子方差分析表明, 居群内的遗传变异占 89.00%, 居群间的变异占 11.00%, 居群间和居群内均有极显著的遗传分化 ($F_{st} = 0.110$, $P < 0.001$)。

2.3 川滇高山栎居群的聚类分析

聚类分析结果表明: Q3200 和 Q3350 间 Nei's 相似系数最大(0.98), Q2750 和 Q3050 居群间 Nei's

相似系数为最小(0.89), 说明不同居群间较高的相似度导致居群间的遗传分化较低。川滇高山栎居群的遗传距离范围为 0.03~0.11, Q3200 和 Q3350 居群遗传距离最小, Q2750 和 Q3050 居群的遗传距离最大(表 3)。

根据 Nei & Li 遗传相似性系数, 用 NTSYS 软件中的 UPGMA 法对 6 个川滇高山栎居群进行聚类。结果表明, 在遗传相似系数为 0.925 时, 低海拔的 2 个居群 Q2750 和 Q2900 聚成一支, 居群 Q3050、Q3200、Q3350 和 Q3500 聚成另外一支; 在遗传相似系数为 0.956 时, 6 个居群被分成 3 组: 第 1 组为 Q2750 和 Q2900, 第 2 组为 Q3050, 第 3 组为 Q3200、Q3350 和 Q3500; 在遗传相似系数为 0.961 时, 6 个居群被划分为 4 组: 第 1 组为 Q2750 和 Q2900, 第 2 组为 Q3050, 第 3 组为 Q3200 和 Q3350, 第 4 组为 Q3500。

表3 Nei's遗传距离和相似系数

Table 3 Nei's genetic distance and Nei's genetic identity

居群 Population	Q2750	Q2900	Q3050	Q3200	Q3350	Q3500
Q2750	1.00	0.97	0.89	0.90	0.94	0.93
Q2900	0.03	1.00	0.92	0.92	0.95	0.94
Q3050	0.11	0.08	1.00	0.95	0.96	0.96
Q3200	0.10	0.08	0.05	1.00	0.98	0.95
Q3350	0.07	0.05	0.05	0.03	1.00	0.97
Q3500	0.07	0.06	0.04	0.05	0.03	1.00

注:左下角为遗传距离,右上角为相似系数。Note: The data below the diagonal represents the genetic distance, and the upper data represents the Nei's genetic identity.

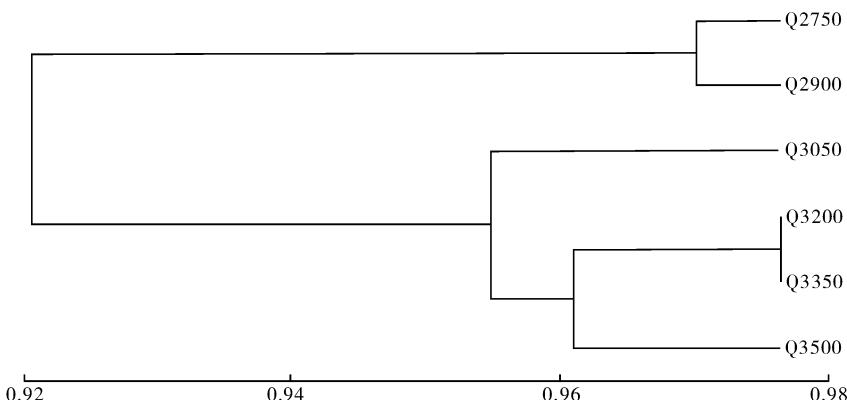


图1 基于Nei's遗传相似系数的6个川滇高山栎居群的UPGMA聚类图

Fig.1 UPGMA dendrogram for 6 populations of *Quercus aquifolioides* based on Nei's genetic identity

第4组为Q3500。

3 讨 论

植物遗传多样性是其长期进化的产物,代表了该物种的遗传信息总和,其大小决定物种或居群进化潜力和适应环境的能力^[24]。在一定的条件下,物种遗传多样性水平越高,该物种越容易扩展其分布范围和开拓新的环境,表明遗传多样性水平与其环境适应性之间呈现正相关的关系;多态位点百分率PPB、Nei's基因多样性指数 H_e 和香农指数 I 是度量遗传多样性高低的主要指标^[17]。本研究利用AFLP技术对玉龙雪山不同海拔高度6个川滇高山栎居群的遗传多样性进行分析,其物种水平的多态位点百分率PPB高达100%、Nei's指数 H_e 为0.37、香农指数 I 为0.54,高于灰背栎Nei's指数(0.21)^[11],低于短柄枹栎(H_e 为0.43)^[18]和辽东栎(H_e 为0.75)^[19],显示川滇高山栎总的遗传多样

性较高。遗传多样性与海拔高度之间的关系为:海拔3 050~3 350 m 川滇高山栎的遗传多样性水平较高,而海拔2 750~2 900 m 及3 500 m 居群的遗传多样性水平均有降低的趋势。这一结果与李进等^[6]利用同工酶对西藏川滇高山栎遗传多样性随海拔变化的规律类似。而在四川卧龙自然保护区,SSR及AFLP分子标记分析同样表明川滇高山栎遗传多样性水平与海拔之间呈现非线性变化,海拔2 800 m 左右是川滇高山栎生长和发育的最适地带^[7-8]。中等海拔3 050~3 350 m 川滇高山栎居群的遗传多样性水平较高,可能与其所处的相对优越的立地环境有关。人类的过度砍伐易导致低海拔居群生境片段化,而使其遗传变异水平降低^[6]。相对于中等海拔的居群,相对恶劣的立地环境及奠基者效应可能会促使高海拔居群遗传多样性出现降低的趋势。

本研究中川滇高山栎居群间的基因分化系数

G_{st} 为 0.089, 表明居群间的变异为 8.90%, 居群内的变异为 91.10%, 说明川滇高山栎居群间确实存在很小的遗传分化, 但遗传变异主要出现在居群内。居群遗传分化的原因主要由居群本身的遗传特性所致^[20], 如花粉、种子的传播方式, 非生物因子及生物因子, 尤其是人为干扰所引起的隔离、遗传变异等。有研究报道, 风媒传粉植物的遗传分化通常会低于虫媒传粉、自花授粉物种; 长寿命木本植物的遗传分化通常会低于短寿命植物; 广生态幅物种的遗传分化通常会低于狭生态幅物种^[21]。

本研究中, 川滇高山栎为风媒异交植物, 其花粉和种子的传播主要依靠重力、风力等, 不同海拔居群间的基因交流较充分, 因此, 花粉迁移距离和后代向外扩张能力对基因流具有重要影响, 最终影响居群遗传结构的形成^[22]。本研究中较小地理范围内不同海拔高度川滇高山栎居群间较大的基因流(N_m 为 5.12)发挥均质化作用, 导致居群间遗传分化不明显。基因流和遗传漂变是影响居群遗传结构的重要因素, 若 $N_m > 4$, 则居群间基因交流较为充分, 遗传漂变的作用因基因流足而减弱, 防止居群间遗传分化产生; 若 $1 < N_m < 4$, 则表明较高的居群间的基因流致使居群间的遗传分化较低; 若基因流 $N_m < 1$, 则居群遗传分化主要受遗传漂变影响^[23]。不同海拔梯度的川滇高山栎居群花粉细小且轻, 在重力和风力的作用下可以进行远距离的传播, 其居群间的基因交流更加充分, 而促使均质性增加、遗传分化降低。川滇高山栎居群间遗传分化低的现象并不是特有现象, 栎属其他树种也普遍存在类似的规律^[24-25], 即居群内遗传多样性水平高于居群间的遗传多样性。

参 考 文 献

- [1] 周浙昆. 中国栎属植物的起源演化及其扩散[J]. 云南植物研究, 1992, 14(3): 227-236.
- [2] 姜汉侨. 云南植被的分布特点及地带性规律[J]. 云南植物研究, 1980, 2(1): 23-31.
- [3] 沈志强, 华敏, 丹曲, 等. 藏东南川滇高山栎种群不同生长阶段的空间格局与关联性[J]. 应用生态学报, 2016, 27(2): 387-394.
- [4] ZHU W, CAO M, WANG S, et al. Seasonal dynamics of mobile carbon supply in *Quercus aquifolioides* at the upper elevational limit[J]. PLoS One, 2012, 7(3): e34213.
- [5] 谢静, 朱万泽, 周鹏, 等. 川滇高山栎灌丛营养元素积累和生物循环特征[J]. 西北植物学报, 2014, 34(5): 1032-1038.
- [6] 李进, 陈可泳, 李渤生. 不同海拔高度川滇高山栎居群遗传多样性的变化[J]. 植物学报, 1998, 40(8): 761-767.
- [7] ZHANG X, KORPELAINEN H, LI C. Microsatellite variation of *Quercus aquifolioides* populations at varying altitudes in the Wolong Natural Reserve of China[J]. Silva fennica, 2006, 40(3): 407-415.
- [8] 张学江. 中国卧龙自然保护区不同海拔川滇高山栎(*Quercus aquifolioides*)居群的遗传变异[D]. 成都: 中国科学院研究生院, 2006.
- [9] VOS P, HOGERS R, BLEEKER M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting [J]. Nucleic Acids Res, 1995, 23: 4407-4414.
- [10] 李文英, 顾万春, 周世良. 蒙古栎天然居群遗传多样性的 AFLP 分析[J]. 林业科学, 2003, 39(5): 29-36.
- [11] 王淑霞, 胡运乾, 周浙昆. 灰背栎遗传多样性和遗传结构的 AFLP 指纹分析[J]. 云南植物研究, 2005, 27(1): 49-58.
- [12] DOW B, ASHLEY M, HOWE H. Characterization of highly variable (GA/CT)_n microsatellites in the bur oak, *Quercus macrocarpa* [J]. Theor Appl Genet, 1995, 91: 137-141.
- [13] YEH F C, YANG R, BOYLY T. POPGENE VERSION 1.3.1. Microsoft window-based free ware for population genetic analysis [CP]. Edmonton: University of Alberta Edmonton, 1999.
- [14] EXCOFFIER L, SMOUSE J, QUATTRO J M. Analysis of molecular variance inferred from metric distance among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data [J]. Genetics, 1992, 131: 176-191.
- [15] ROHLF F J. Ntsys-pc: numerical taxonomy and multivariate analysis system version 2.2 getting started guide [CP]. New York: Applied Biostatistics Inc, 2009.
- [16] NEI M, LI W H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1979, 76: 5269-5273.
- [17] 葛颂, 洪德元. 遗传多样性及其检测方法. 生物多样性研究的原理和方法[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1994: 123-140.
- [18] 王雁红, 俞琦, 杨佳, 等. 基于核微卫星的短柄枹栎居群遗传多样性和遗传结构[J]. 林业科学, 2015, 51(12): 121-131.
- [19] 秦英英, 韩海荣, 康蜂蜂, 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.
- [20] BENNETT K D, HABERLE S G H, LUMLEY S H L. The last glacial holocene transition in South Chile[J]. Science, 2000, 290: 325-328.
- [21] HAMRICK J L, GODT M J W. Sherman-Broyes gene flow among plant population: evidence from genetic markers [M]// PETER C H, STEPHOON A G. Experimental and molecular approaches to plant biosystematics, Saint Louis: Missouri Botanical Garden, 1995: 215-232.
- [22] LAGACHE L, KLEIN E K, GUICHOUX E, et al. Fine-scale

- environmental control of hybridization in oaks[J].Molecular ecology,2013,22(2):423-436.
- [23] HAMRICK J, GODT M. Allozyme diversity in plant species [M]//BROWN A, CLEGG M, KAHLER A, et al. Plant population genetics, breeding and genetic resources. Sunderland: Sinauer Associates, 1989: 43-45.
- [24] 徐立安.栎属居群与进化遗传研究进展[J].南京林业大学学报,2002,26(6):73-77.
- [25] 徐小林,徐立安,黄敏仁,等.栓皮栎天然居群 SSR 遗传多样性研究[J].遗传,2004,26(5):683-688.

Analyzing genetic diversity of *Quercus aquifolioides* in different altitudes of Jade Dragon Snow Mountain in the northwest of Yunnan Province with AFLPs

CHENG Xiaomao¹ LI Xiang¹ JIANG Yonglei² HUANG Xiaoxia¹

1. Faculty of Landscape Architecture, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China;

2. Key Laboratory of Mountain Surface Processes and Ecological Regulation, Institute of Mountain Hazards and Environment, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041, China

Abstract The genetic diversity of *Quercus aquifolioides* population located at different altitudes (2 750-3 500 m) of Jade Dragon Snow Mountain in the northwest of Yunnan Province was investigated with amplification fragment length polymorphisms (AFLPs) markers. The results showed that the ratio of polymorphic loci was 100%. Shannon diversity index I was 0.54 and the Nei's gene diversity index H_e was 0.37, indicating that the *Quercus aquifolioides* had high genetic diversity at species level. I and H_e were agreed, indicating that the genetic diversity of 6 populations varied with altitude gradient. The genetic diversity from 3 050 m to 3 350 m was high. The genetic diversity of 2 750-2 900 m and 3 500 m group was decreased. Results of the genetic differentiation of *Quercus aquifolioides* G_{st} (0.089) and AMOVA analysis ($\Phi_{ist} = 0.110$) showed that there was a low level of genetic differentiation among populations. Gene flow among population was 5.12, suggesting that high gene flow may be a main factor leading to high levels of the genetic diversity among populations.

Keywords *Quercus aquifolioides*; AFLPs; genetic diversity; genetic differentiation

(责任编辑:张志钰)