

基于 EST-SSR 标记的青榨槭天然种群遗传多样性分析

穆莹, 张梦璐, 白云海, 张睿鹂^①, 郑健, 窦德泉

(北京农学院园林学院 城乡生态环境北京实验室, 北京 102206)

摘要: 采用 28 对 EST-SSR 引物对北京、河南、陕西、广东和浙江的青榨槭(*Acer davidii* Franch.) 8 个天然种群 231 株样株的基因组 DNA 进行扩增, 在此基础上对供试种群的遗传多样性和遗传结构进行分析。结果表明: 8 个天然种群的观测等位基因数和有效等位基因数较为接近, 均值分别为 3.2 和 1.6; Shannon's 多样性指数、观测杂合度、期望杂合度、Nei's 基因多样性指数和多态性信息含量均值分别为 0.512 7、0.237 9、0.276 9、0.271 9 和 0.243 6。总体来看, 8 个天然种群中, 广东南岭国家森林公园(P7)种群的遗传多样性最高, 河南嵩山地质公园(P5)种群的遗传多样性最低, 且 8 个天然种群的观测杂合度小于期望杂合度。8 个天然种群间的遗传分化系数为 0.334 5, 基因流为 0.508 8, 种群内和种群间的遗传变异贡献率分别为 66.55% 和 33.45%。供试种群中, P7 种群和浙江西天目山森林公园(P8)种群与其余 6 个种群间的遗传相似系数相对较小, 而遗传距离却相对较大。Mantel 检验结果显示: 青榨槭种群间的遗传距离和地理距离存在极显著正相关($R^2=0.568\ 6, P=0.002$)。UPGMA 聚类分析和 STRUCTURE 分析结果均表明: 供试青榨槭 8 个天然种群被分成 2 个集群, 其中, P7 种群和 P8 种群为一个集群, 其余 6 个种群为另一个集群。综合上述研究结果: 青榨槭天然种群的遗传多样性水平较高, 其遗传分化主要存在于种群内, 种群间的基因交流较少。供试种群内均存在一定程度的自交或近交现象, 种群容易衰退, 故应加强对青榨槭天然种群的保护力度。

关键词: 青榨槭; EST-SSR 标记; 遗传多样性; 遗传结构; 聚类分析

中图分类号: Q946-33; R282.71 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2022)02-0057-07

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2022.02.06

Analysis on genetic diversity of natural populations of *Acer davidii* based on EST-SSR marker MU Ying, ZHANG Menglu, BAI Yunhai, ZHANG Ruili^①, ZHENG Jian, DOU Dequan (Beijing Laboratory of Urban and Rural Ecological Environment, College of Landscape Architecture, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2022, 31(2): 57-63

Abstract: The genomic DNA of 231 samples from eight natural populations of *Acer davidii* Franch. in Beijing, Henan, Shaanxi, Guangdong, and Zhejiang were amplified with 28 pairs of EST-SSR primers, and the genetic diversity and genetic structure of the test populations were analyzed on the basis. The results show that the numbers of observed alleles and effective alleles of eight natural populations are relatively close, and their means are 3.2 and 1.6, respectively; the means of Shannon's diversity index, observed heterozygosity, expected heterozygosity, Nei's gene diversity index, and polymorphism information content are 0.512 7, 0.237 9, 0.276 9, 0.271 9, and 0.243 6, respectively. Overall, among eight natural populations, the genetic diversity of Nanling National Forest Park of Guangdong (P7) population is the highest, while that of Songshan Mountain Geopark of Henan (P5) population is the lowest, and the observed heterozygosity of eight natural populations are smaller than their expected heterozygosity. The genetic differentiation coefficient among eight natural populations is 0.334 5, the gene

收稿日期: 2021-10-09

基金项目: 北京市教育委员会科技计划面上项目(KM202010020005)

作者简介: 穆莹(1995—), 女, 北京人, 硕士研究生, 主要从事林木种质资源方面的研究。

^①通信作者 E-mail: lily_candy@126.com

引用格式: 穆莹, 张梦璐, 白云海, 等. 基于 EST-SSR 标记的青榨槭天然种群遗传多样性分析[J]. 植物资源与环境学报, 2022, 31(2): 57-63.

flow is 0.508 8, and the contribution rates of genetic variation within and among populations are 66.55% and 33.45%, respectively. Among the test populations, the genetic similarity coefficients of P7 population and West Tianmu Mountain Forest Park of Zhejiang (P8) population with the other six populations are relatively small, but the genetic distances are relatively large. The Mantel test result shows that there is an extremely significantly positive correlation between genetic distance and geographical distance among *A. davidii* populations ($R^2=0.568\ 6$, $P=0.002$). The UPGMA cluster analysis and STRUCTURE analysis results both show that the test eight populations of *A. davidii* are divided into two clusters, in which, P7 population and P8 population are one cluster, and the other six populations are the other cluster. It is suggested that the genetic diversity level of natural populations of *A. davidii* is relatively high, its genetic differentiation mainly exists within populations, and there is less gene exchange among populations. There are some selfing or inbreeding phenomenon in the test populations, and the populations are easy to decline, therefore protection of natural populations of *A. davidii* should be strengthened.

Key words: *Acer davidii* Franch.; EST-SSR marker; genetic diversity; genetic structure; cluster analysis

青榨槭 (*Acer davidii* Franch.) 隶属于槭树科 (Aceraceae) 槭属 (*Acer* Linn.), 为落叶乔木, 该种生长迅速, 树冠整齐, 树姿优美, 树皮呈蛙绿色, 叶片在秋季可变为黄色、红色或橙色, 具有极佳的观赏价值, 是城市园林绿化的优良树种^[1]。此外, 青榨槭还具有叶片富含蛋白酶、材质优良等特点, 具有一定的经济价值和医用价值^[2,3]。然而, 由于青榨槭存在天然生境遭到人为破坏和自身更新困难等问题, 其遗传多样性面临巨大危机。目前, 关于青榨槭天然种群遗传多样性的研究报道甚少, 仅 He 等^[4]利用青榨槭叶绿体基因组开发出 20 对 SSR 引物, 并对陕西 7 个青榨槭种群的遗传多样性进行了分析。因此, 亟需对青榨槭遗传多样性和遗传结构进行系统研究, 这对其遗传多样性保护策略的制定具有重要意义。

微卫星标记 (microsatellite marker) 又称简单重复序列标记 (simple sequence repeat, SSR), 广泛分布于真核生物基因组的编码区和非编码区^[5], 具有共显性、多态性高、对 DNA 要求不严格、重复性好及符合孟德尔遗传规律等优点, 被广泛应用于遗传多样性分析、比较作图、濒危物种保护、品种鉴定及种质资源保存等方面研究^[6-9]。EST-SSR 标记是基于表达序列标签 (expressed sequence tag, EST) 开发的一种新型分子标记, 在同科不同属或同属不同种间具有良好的通用性, 被广泛应用于植物基因组学研究^[10-13]。

鉴于此, 本研究利用 28 对多态性稳定、条带清晰的 EST-SSR 引物对北京、河南、陕西、广东和浙江 5 个地区的青榨槭 8 个天然种群 231 株样株的遗传多样性和遗传结构进行了系统分析, 以期对青榨槭天然种群的遗传多样性保护及该遗传资源的开发利用奠定理论基础。

1 材料和方法

1.1 材料

根据青榨槭在中国的实际分布情况, 选取北京、河南、陕西、广东和浙江的青榨槭 8 个天然种群作为研究对象, 共采集 231 株样株的完整叶片, 各种群的地理分布和样株数见表 1。其中, 北京天池峡谷和陕西南五台山地质公园 2 个种群的叶片样本于 2019 年 10 月采集; 北京白羊沟自然风景区、北京三岔万涧、北京黄柏寺村、河南嵩山地质公园和广东南岭国家森林公园 5 个种群的叶片样本于 2020 年 10 月采集; 浙江天目山森林公园种群的叶片样本于 2020 年 11 月采集。样本采集时保证样株间距在 30 m 以上, 每个种群采集 30 株以上, 样株数量少于 30 株的种群则采集种群中的全部样株。采集样株顶部枝条上的健康、无病虫害的完整嫩叶, 置于装有硅胶的塑封袋中保存并带回实验室。

1.2 方法

1.2.1 基因组 DNA 的提取和质量检测 使用 CTAB 植物基因组 DNA 快速提取试剂盒 (北京爱博森生物科技有限公司) 提取每株样株的基因组 DNA。使用质量体积分数 1% 琼脂糖凝胶电泳检测基因组 DNA 样品的完整性, 使用 ND-1000 超微量分光光度计 (美国 NanoDrop 公司) 检测基因组 DNA 样品的浓度和纯度, 并将 DNA 质量浓度稀释至 $50\text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ 后, 置于 $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱中保存、备用。

1.2.2 PCR 扩增条件及扩增结果检测 以每株样株的基因组 DNA 为模板, 使用 28 对多态性稳定且扩增条带清晰的 EST-SSR 引物 (表 2) 进行 PCR 扩增。

表1 青榨槭8个天然种群的地理分布和样株数

Table 1 Geographical distribution and sample number of eight natural populations of *Acer davidii* Franch.

编号 No.	种群 Population	经度 Longitude	纬度 Latitude	海拔/m Altitude	气候带类型 Climatic zone type	样株数 Sample number
P1	北京白羊沟自然风景区 Baiyanggou Natural Scenic Area of Beijing	E116°01'	N40°12'	680-850	温带 Temperate zone	32
P2	北京三岔涧 Sancha Wanjian of Beijing	E116°23'	N40°28'	610-840	温带 Temperate zone	26
P3	北京天池峡谷 Tianchi Canyon of Beijing	E116°23'	N40°54'	500-640	温带 Temperate zone	32
P4	北京黄柏寺村 Huangbaisi Village of Beijing	E115°59'	N40°32'	910-980	温带 Temperate zone	22
P5	河南嵩山地质公园 Songshan Mountain Geopark of Henan	E112°56'	N34°35'	1 310-1 460	暖温带 Warm temperate zone	24
P6	陕西南五台地质公园 Nanwutai Geopark of Shaanxi	E108°59'	N33°59'	1 300-1 410	暖温带 Warm temperate zone	32
P7	广东南岭国家森林公园 Nanling National Forest Park of Guangdong	E112°30'	N24°37'	670-1 140	亚热带 Subtropical zone	32
P8	浙江西天目山森林公园 West Tianmu Mountain Forest Park of Zhejiang	E119°25'	N30°20'	370-1 020	亚热带 Subtropical zone	31

表2 用于青榨槭8个天然种群样株基因组DNA扩增反应的引物序列

Table 2 Primer sequence used for amplification of genomic DNA of samples from eight natural populations of *Acer davidii* Franch.

编号 No.	引物序列(5'→3')		重复单元 Repeat motif	预期片段长度/bp Expected fragment length	退火温度/°C Annealing temperature
	正向引物 Forward primer	反向引物 Reverse primer			
AD01	ACAGCCCTACACCAATCT	ATCTACTACGACGAGTTACAG	(AT) ₆	481	51
AD02	TTGGCATTCAATCTTCACA	TAGGGCAACTCATACGGT	(TA) ₇	274	51
AD03	CACCACCTCCACATTAC	AAGCCCACTCCGTCATT	(CT) ₇	430	52
AD04	AATCTGCACCTCAACCTG	GAGACTGGAAGTCCGACTG	(AG) ₆	332	57
AD05	TCCTACTTAGTGCCCTCC	CATGTGCTATTGCGATGA	(AG) ₈	301	56
AD06	TCCTACTTAGTGCCCTCC	CATGTGCTATTGCGATGA	(AG) ₈	301	56
AD07	AGCCAATGCCAGCGATAA	CCACTGTTACTCTAGCCCACA	(GA) ₇	372	55
AD08	CAAGACTGCTGGAGACAA	AACCCACTACCCACATACA	(AG) ₈	256	56
AD09	CATTCCACTTCCGTCCTT	TCTTCAGATTCTATGCCTTTC	(TC) ₉	477	51
AD10	GACCGTCCGTTTCTGTAT	ACTTCAAGGCACTTCCA	(AC) ₆	316	49
AD11	CGAGGGATAACGGCAACT	GTGGATAAACCATCGCAAGA	(AG) ₉	290	53
AD12	ATCCAGACTTGAAGAGGC	TCATGTAAGCAGCAGAGC	(CTT) ₅	479	51
AD13	ATAACAACAATGGCGAAG	ACAGCGAGTGAAGTCAGGT	(TCT) ₅	385	51
AD14	CAACAAGACAGAGCGATT	CACCACTTTCACCGACTA	(TTG) ₅	334	49
AD15	GCAGGTCTTGTGGAGGGA	GAATGTGACGATTCGGGTAC	(GCA) ₅	334	57
AD16	AAGGAGGAAGTATTGATGCTGAGG	TTTTCTCGGCTGGATGGG	(GTC) ₅	450	56
AD17	GACTCGCTCCACCTGAAT	GCCCTGATGATGTCCAAT	(TTA) ₅	381	52
AD18	TCGCCGTCACCAATCCTC	ATCGGTCCCGTTAGTTCC	(GTG) ₅	345	54
AD19	GCGGCTGAGGGAGAAGAT	TCGGTGACGAAGACGAGC	(GCA) ₅	299	60
AD20	GGATGGTATGGACGGGTG	TATGCTCTTTGTAGGGTGT	(AAT) ₅	338	54
AD21	CTTGGTCTTCGTCCGATT	TTTTGCGGATAAGGAACT	(CTT) ₆	323	49
AD22	ACCCGCCCACTGTTGTCTC	TCGCTTGCCATCATTTCC	(GCG) ₆	406	54
AD23	GTGGGCTCATACTTCTCG	ATGGATTGTACGGTCAAG	(CCA) ₇	259	51
AD24	CACCGACCATTCATAGCG	CGGAGGATACATCACAGC	(GTT) ₅	203	57
AD25	GCCGCAATCGGTAAATCG	TCATCATCAGTATCGCCAGGAA	(TCC) ₅	383	53
AD26	ACCTGACCTCCGCATAGA	GGACGAGAAGCCACAATC	(TAG) ₅	403	55
AD27	CCACCTCCCCACCTCTGT	CGGCCTCTTATCCGTTGC	(TTTC) ₅	260	56
AD28	TCTTCTACGGAGTAGGG	CGGCTGTCTTCAGTTTC	(CAGT) ₆	396	54

所有扩增反应均使用 S1000 PCR 仪(美国 ABI 公司)完成,扩增体系总体积 10.00 μL ,包括基因组 DNA 样品 1.00 μL 、2 \times Taq Master Mix for PAGE(北京康为世纪生物科技有限公司)5.00 μL 、10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 正向和反向引物各 0.25 μL 、ddH₂O 3.50 μL 。扩增程序为 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min;94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s、相应退火温度下退火 30 s、72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 45 s,共 32 个循环;最后,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min。

使用质量体积分数 1% 琼脂糖凝胶电泳检测扩增结果,检测完毕后扩增产物转交北京睿博兴科生物技术有限公司进行毛细管电泳检测分析,检测仪器为 ABI3730 基因测序仪(美国 ABI 公司)。

1.3 数据处理

利用 Genemarker Version 2.2.0 软件读取 SSR 荧光标记片段大小,统计每个样本的基因型,据此构建 231 个样本的基因型数据库。利用 POPGENE 32 软件计算观测等位基因数、有效等位基因数、观测杂合度、期望杂合度、Shannon's 多样性指数、Nei's 基因多样性指数、基因流、遗传分化系数、遗传距离和遗传相似系数。利用 GenAlEx 6.5 软件进行 Mantel 检验,分析种群间遗传距离与地理距离的相关性,并进行分子方差分析(AMOVA),计算种群内及种群间的遗传变异贡献率。利用 Cervus Version v3.0.7 软件计算多态性信息含量。基于遗传距离、利用 NTSYS-pc2.1 软件对供试种群进行 UPGMA 聚类分析和绘图。利用 STRUCTURE 2.3.4 软件对供试种群进行分组和遗

传结构分析,其中,遗传结构分析采用混合模型与等位基因相关模型,具体参数如下:分组 K 设为 1~8,每个 K 值重复运算 20 次,将马尔科夫链蒙特卡罗(MCMC)和 burn-in 均设为 100 000。运行结束后,将结果压缩(zip 文件)并上传到 Structure Harvester 网站(<http://taylor0.biology.ucla.edu/structureHarvester/>)上,计算 ΔK ,得到最佳分组的 K 值。

2 结果和分析

2.1 青榨槭天然种群的遗传多样性分析

基于 28 对 EST-SSR 引物对青榨槭 8 个天然种群基因组 DNA 的扩增结果,供试青榨槭天然种群的遗传多样性分析结果见表 3。

由表 3 可见:广东南岭国家森林公园(P7)种群和浙江天目山森林公园(P8)种群的观测等位基因数为 4,其余 6 个种群的观测等位基因数均为 3,供试种群观测等位基因数的均值为 3.2。P7 种群的有效等位基因数最多,为 1.8;北京黄柏寺村(P4)种群的有效等位基因数次之,为 1.7;北京天池峡谷(P3)种群和 P8 种群的有效等位基因数最少,仅为 1.5;其余 4 个种群的有效等位基因数均为 1.6;供试种群有效等位基因数的均值也为 1.6。

由表 3 还可见:P4 种群的观测杂合度最低(0.197 6),P7 种群的观测杂合度最高(0.298 9),供试种群观测杂合度的均值为 0.237 9;P8 种群的期望

表 3 基于 EST-SSR 引物扩增结果青榨槭 8 个天然种群的遗传多样性分析

Table 3 Analysis on genetic diversity of eight natural populations of *Acer davidii* Franch. based on amplification results of EST-SSR primers

种群 ¹⁾ Population ¹⁾	观测等位基因数 Number of observed alleles	有效等位基因数 Number of effective alleles	观测杂合度 Observed heterozygosity	期望杂合度 Expected heterozygosity	Shannon's 多样性指数 Shannon's diversity index	Nei's 基因 多样性指数 Nei's gene diversity index	多态性信息含量 Polymorphism information content
P1	3	1.6	0.220 1	0.295 1	0.529 3	0.290 5	0.255 5
P2	3	1.6	0.233 4	0.269 9	0.484 7	0.264 6	0.235 8
P3	3	1.5	0.268 4	0.265 9	0.471 7	0.261 6	0.228 7
P4	3	1.7	0.197 6	0.304 5	0.573 9	0.297 2	0.272 6
P5	3	1.6	0.241 3	0.245 3	0.441 5	0.240 1	0.214 8
P6	3	1.6	0.245 0	0.282 0	0.513 0	0.277 6	0.243 3
P7	4	1.8	0.298 9	0.307 7	0.599 9	0.302 8	0.276 0
P8	4	1.5	0.198 5	0.244 4	0.487 2	0.240 4	0.222 2
均值 Mean	3.2	1.6	0.237 9	0.276 9	0.512 7	0.271 9	0.243 6

¹⁾ P1: 北京白羊沟自然风景区 Baiyanggou Natural Scenic Area of Beijing; P2: 北京三岔万涧 Sancha Wanjian of Beijing; P3: 北京天池峡谷 Tianchi Canyon of Beijing; P4: 北京黄柏寺村 Huangbaisi Village of Beijing; P5: 河南嵩山地质公园 Songshan Mountain Geopark of Henan; P6: 陕西南五台地质公园 Nanwutai Geopark of Shaanxi; P7: 广东南岭国家森林公园 Nanling National Forest Park of Guangdong; P8: 浙江天目山森林公园 West Tianmu Mountain Forest Park of Zhejiang.

杂合度最低(0.244 4),P7 种群的期望杂合度最高(0.307 7),供试种群期望杂合度的均值为 0.276 9;河南嵩山地质公园(P5)种群的 Shannon's 多样性指数最低(0.441 5),P7 种群的 Shannon's 信息指数最高(0.599 9),供试种群 Shannon's 多样性指数的均值为 0.512 7;P5 种群的 Nei's 基因多样性指数最低(0.240 1),P7 种群的 Nei's 基因多样性指数最高(0.302 8),供试种群 Nei's 基因多样性指数的均值为 0.271 9;P5 种群的多态性信息含量最低(0.214 8),P7 种群的多态性信息含量最高(0.276 0),供试种群多态性信息含量的均值为 0.243 6。

整体来看,在供试种群中,P7 种群的遗传多样性最高,P5 种群的遗传多样性最低,且各种群的不同遗传多样性指标存在一定差异。例如:基于 Shannon's 多样性指数进行排序,供试种群的遗传多样性从大到小依次为 P7 种群、P4 种群、北京白羊沟自然风景区(P1)种群、陕西南五台地质公园(P6)种群、P8 种群、北京三岔万涧(P2)种群、P3 种群、P5 种群;基于 Nei's 基因多样性指数进行排序,供试种群的遗传多样性从大到小依次为 P7 种群、P4 种群、P1 种群、P6 种群、P2 种群、P3 种群、P8 种群、P5 种群。

2.2 青榨槭天然种群的遗传分化和遗传结构分析

分子方差分析(AMOVA)结果表明:青榨槭 8 个天然种群间的遗传分化系数为 0.334 5,种群间基因流为 0.508 8,种群内遗传变异贡献率为 66.55%,而种群间遗传变异贡献率为 33.45%。说明青榨槭天然种群的遗传分化主要分布于种群内。

青榨槭 8 个天然种群间的遗传相似系数和遗传距离见表 4。结果显示:供试种群间的遗传相似系数为 0.584 3~0.960 3,其中,北京白羊沟自然风景区(P1)种群与北京三岔万涧(P2)种群间的遗传相似系数最大,北京黄柏寺村(P4)种群与浙江西天目山森林公园(P8)种群间的遗传相似系数最小。值得注意的是,广东南岭国家森林公园(P7)种群和 P8 种群与其余 6 个种群间的遗传相似系数相对较低,但这 2 个种群间及其余 6 个种群间的遗传相似系数却较高。供试种群间的遗传距离为 0.040 5~0.537 3,其中,P1 种群与 P2 种群间的遗传距离最小,P4 种群和 P8 种群间的遗传距离最大。同样,P7 种群和 P8 种群与其余 6 个种群间的遗传距离相对较大,而这 2 个种群间及其余 6 个种群间的遗传距离却较小。据此推断青榨槭天然种群间的遗传距离与地理距离呈正关联。Mantel 检验结果表明:各种群间的遗传距离与地理距离呈极显著正相关($R^2=0.568 6, P=0.002$)。

UPGMA 聚类分析结果(图 1)显示:在遗传距离 0.51 处,供试的青榨槭 8 个天然种群被分成 2 个集群,其中,P1 种群、P2 种群、北京天池峡谷(P3)种群、P4 种群、河南嵩山地质公园(P5)种群和陕西南五台地质公园(P6)种群聚为一个集群,P7 种群和 P8 种群聚为另一个集群。

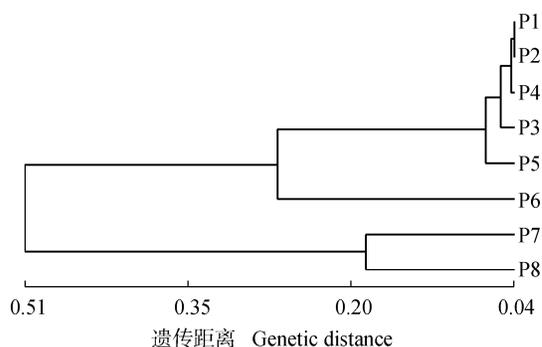
使用 STRUCTURE 2.3.4 软件对青榨槭 8 个天然种群的遗传结构进行分析,结果(图 2)显示: $K=2$ 时, ΔK 值最大,遗传结构最清晰,说明供试青榨槭 8 个天然种群可划分为 2 个集群。

表 4 青榨槭 8 个天然种群间的遗传相似系数和遗传距离

Table 4 Genetic similarity coefficient and genetic distance among eight natural populations of *Acer davidii* Franch.

种群 ¹⁾ Population ¹⁾	种群间的遗传相似系数(横线上方)和遗传距离(横线下方) Genetic similarity coefficient (above the horizontal line) and genetic distance (below the horizontal line) among populations							
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8
P1	—	0.960 3	0.945 5	0.959 4	0.914 3	0.886 6	0.634 4	0.589 2
P2	0.040 5	—	0.956 4	0.956 5	0.947 8	0.899 7	0.659 4	0.621 3
P3	0.056 1	0.044 6	—	0.942 7	0.943 0	0.930 4	0.628 3	0.592 1
P4	0.041 5	0.044 5	0.059 0	—	0.920 8	0.888 6	0.627 5	0.584 3
P5	0.086 3	0.050 1	0.055 5	0.078 2	—	0.923 0	0.654 4	0.620 1
P6	0.120 4	0.105 7	0.072 2	0.118 1	0.083 3	—	0.633 1	0.592 7
P7	0.455 1	0.416 4	0.464 8	0.466 0	0.427 4	0.457 1	—	0.833 0
P8	0.529 0	0.475 9	0.524 1	0.537 3	0.480 9	0.523 1	0.182 8	—

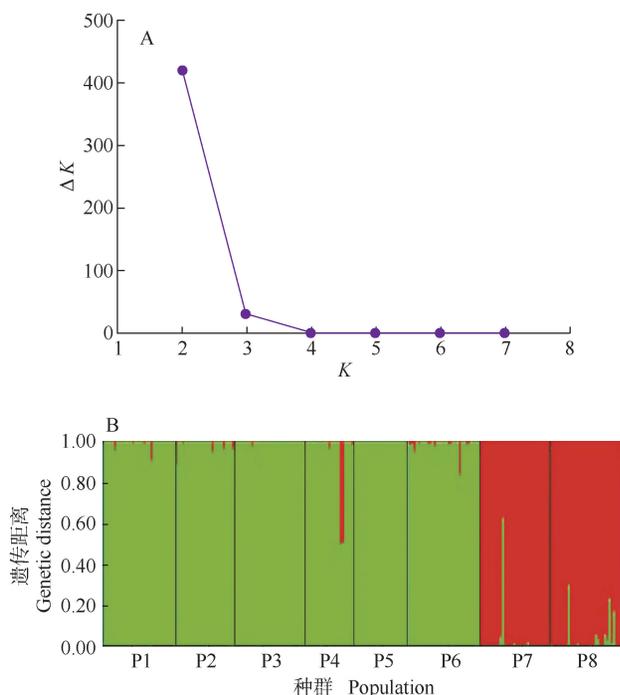
¹⁾ P1: 北京白羊沟自然风景区 Baiyanggou Natural Scenic Area of Beijing; P2: 北京三岔万涧 Sancha Wanjian of Beijing; P3: 北京天池峡谷 Tianchi Canyon of Beijing; P4: 北京黄柏寺村 Huangbaisi Village of Beijing; P5: 河南嵩山地质公园 Songshan Mountain Geopark of Henan; P6: 陕西南五台地质公园 Nanwutai Geopark of Shaanxi; P7: 广东南岭国家森林公园 Nanling National Forest Park of Guangdong; P8: 浙江西天目山森林公园 West Tianmu Mountain Forest Park of Zhejiang.



P1: 北京白羊沟自然风景区 Baiyanggou Natural Scenic Area of Beijing; P2: 北京三岔万涧 Sancha Wanjian of Beijing; P3: 北京天池峡谷 Tianchi Canyon of Beijing; P4: 北京黄柏寺村 Huangbaisi Village of Beijing; P5: 河南嵩山地质公园 Songshan Mountain Geopark of Henan; P6: 陕西南五台地质公园 Nanwutai Geopark of Shaanxi; P7: 广东南岭国家森林公园 Nanling National Forest Park of Guangdong; P8: 浙江西天目山森林公园 West Tianmu Mountain Forest Park of Zhejiang.

图1 青榨槭8个天然种群的UPGMA聚类图

Fig. 1 UPGMA dendrogram of eight natural populations of *Acer davidii* Franch.



P1: 北京白羊沟自然风景区 Baiyanggou Natural Scenic Area of Beijing; P2: 北京三岔万涧 Sancha Wanjian of Beijing; P3: 北京天池峡谷 Tianchi Canyon of Beijing; P4: 北京黄柏寺村 Huangbaisi Village of Beijing; P5: 河南嵩山地质公园 Songshan Mountain Geopark of Henan; P6: 陕西南五台地质公园 Nanwutai Geopark of Shaanxi; P7: 广东南岭国家森林公园 Nanling National Forest Park of Guangdong; P8: 浙江西天目山森林公园 West Tianmu Mountain Forest Park of Zhejiang.

图2 青榨槭8个天然种群的分组(A)和遗传结构(B)分析

Fig. 2 Analyses on cluster (A) and genetic structure (B) of eight natural populations of *Acer davidii* Franch.

3 讨论和结论

3.1 青榨槭天然种群的遗传多样性

相关研究发现,与青榨槭同属的庙台槭(*A. miaotaiense* P. C. Tsoong.) (Shannon's 多样性指数为 0.290 9, Nei's 基因多样性指数为 0.193 3)^[14]、五小叶槭(*A. pentaphyllum* Diels) (Shannon's 多样性指数为 0.392 4, Nei's 基因多样性指数为 0.249 8)^[15]和五角枫 [*A. pictum* subsp. *mono* (Maxim.) H. Ohashi] (Shannon's 多样性指数为 0.568 6, Nei's 基因多样性指数为 0.389 2)^[16]的遗传多样性普遍较高。本研究中青榨槭 8 个天然种群的基因多样性也较高, Shannon's 多样性指数均值为 0.512 7, Nei's 基因多样性指数均值为 0.271 9, 明显高于庙台槭和五小叶槭的相应指标, 但却低于五角枫的相应指标。槭属植物的遗传多样性水平较高可能与物种分布范围广有关^{[17][53, [18]}。青榨槭是分布于华北、华东、中南和西南各省份的广布种, 地理分布范围广和风媒传播的特性可能是其遗传多样性水平较高的重要原因^{[17][53, [18]}。

本研究中, 广东南岭国家森林公园种群的遗传多样性水平最高, 河南嵩山地质公园种群的遗传多样性水平最低。植物种群的遗传多样性可能与自然环境中种群的大小或个体密度等有关^{[17][5, [18]}。笔者在野外调查时发现, 广东南岭国家森林公园种群中青榨槭个体数量最多, 且该种群的人为干扰较少, 生境完整; 而河南嵩山地质公园种群中青榨槭个体数量较少, 受人为干扰影响, 该种群的生境遭到严重破坏, 种群内的青榨槭个体呈片段化分布状态。据此推测种群个体数量多、人为干扰较少、生境完整是广东南岭国家森林公园种群遗传多样性高的重要原因。值得注意的是, 本研究调查的青榨槭各天然种群的生境总体上受人为干扰较大, 其天然种群呈片段化分布, 种群规模较小。研究发现, 种群片段化分布会迫使植物进行自交繁殖, 而自交和近交繁殖势必导致植物的遗传多样性下降^[18]。据此认为, 青榨槭天然种群的遗传多样性有下降风险, 应引起人们的重视。

3.2 青榨槭天然种群的遗传分化和遗传结构

本研究结果显示: 青榨槭的遗传分化主要存在于种群内(种群内遗传变异贡献率为 66.55%), 而种群间的遗传分化相对较小(种群间遗传变异贡献率为 33.45%), 青榨槭的种群间遗传变异贡献率与同属植

物庙台槭(41.54%)^[14]和五小叶槭(37.22%)^[15]的种群间遗传变异贡献率相近。本研究还发现,青榨槭种群间基因流仅0.508 8,明显小于1,说明供试青榨槭8个天然种群间的基因交流较少。上述研究结果均可能与各青榨槭天然种群所处的地形地貌差异或地理距离较远有关。供试青榨槭8个天然种群间相距35~1 792 km,种群地分属于秦岭山脉、太行山山脉、燕山山脉和南岭山脉,除太行山山脉与燕山山脉相连,其余山脉均片段化分布,据此推断地理屏障也是造成青榨槭天然种群间基因交流困难的主要原因,导致青榨槭天然种群间的遗传分化较为严重。另外,槭属植物还存在花粉流不同期、种群间种子流难形成的问题^[14-16],也会造成种群间的基因交流较少,导致青榨槭的遗传分化主要存在于种群内的个体间。总体来看,供试青榨槭8个天然种群的观测杂合度小于期望杂合度,表明供试青榨槭天然种群内存在一定程度的自交或近交现象。

综合聚类 and 遗传结构分析结果,供试青榨槭8个天然种群被分成2个集群,即广东南岭国家森林公园种群和浙江天目山国家森林公园种群为一个集群,其余6个种群为另一个集群。Mantel 检验结果表明:供试青榨槭8个天然种群间的遗传距离与地理距离呈极显著正相关。

3.3 青榨槭天然种群的保护策略

上述研究结果表明:虽然青榨槭天然种群的遗传多样性水平较高,但是各种群内均存在一定程度的自交或近交现象,导致种群逐渐衰退,因此,应加强对青榨槭天然种群的保护力度。相关部门既要重视对青榨槭各天然种群内不同个体的保护,又要注重对不同种群的保护。广东南岭国家森林公园种群的遗传多样性水平最高,建议优先保护。当然,还要对各天然种群进行适当的人工干预(如人为促进种群间种子与花粉的传播),以减少种群内植株的自交和近交现象。此外,还可以收集不同天然种群的种质资源,选择合适地点构建种质圃;开展青榨槭的引种栽培研究,使栽培资源能够满足市场需求,从而减少其野生资源被破坏。

参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志: 第四十六卷 [M]. 北京: 科学出版社, 1981: 220-221.
- [2] 王琦, 刘华红, 王彬, 等. 7种槭树释放挥发性有机化合物组分分析[J]. 浙江农林大学学报, 2016, 33(3): 524-530.
- [3] 邱业先, 陈尚研, 杜天真, 等. 几种槭树科植物叶蛋白酶活性的季节变化[J]. 江西农业大学学报, 2003, 25(5): 652-655.
- [4] HE Y L, HE Y, GONG L L, et al. Population genetic structure and interspecific differentiation between *Acer davidii* Franch. and *A. morrisonense* Hayata (Aceraceae) based on SSR markers [J]. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2017, 71: 42-49.
- [5] 陈宏. 基因工程实验技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2005: 101-103.
- [6] 陈思, 吴广文, 吴建忠, 等. 植物EST-SSR研究进展[J]. 黑龙江农业科学, 2018(12): 148-152.
- [7] SQUIRELL J, HOLLINGSWORTH P M, WOODHEAD M, et al. How much effort is required to isolate nuclear microsatellites from plants? [J]. *Molecular Ecology*, 2003, 12: 1339-1348.
- [8] 段豪, 徐建华, 王紫阳, 等. 落羽杉属种类及其杂交子代‘中山杉’系列品种的SSR指纹图谱构建及遗传关系分析[J]. 植物资源与环境学报, 2020, 29(4): 11-18.
- [9] 郑纪伟, 教忠意, 王保松, 等. 柳树新品种指纹图谱构建[J]. 江苏林业科技, 2020, 47(2): 1-5.
- [10] 张利达, 唐克轩. 植物EST-SSR标记开发及其应用[J]. 基因组学与应用生物学, 2010, 29(3): 534-541.
- [11] 何旭东, 郑纪伟, 孙冲, 等. 33个杨柳品种指纹图谱构建[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2021, 45(2): 35-42.
- [12] 孙叶, 刘红, 马辉, 等. 兰属植物EST-SSR标记开发及应用[J]. 江苏农业学报, 2020, 36(3): 681-688.
- [13] 秦姣姣, 杨玉琦, 胡晓燕, 等. 银杏转录组数据中EST-SSR位点的生物信息学分析[J]. 江苏农业科学, 2020, 48(3): 90-94.
- [14] 李珊, 阎桂琴, 赵桂仿. 庙台槭的居群遗传结构和遗传多样性[J]. 西北大学学报(自然科学版), 2005, 35(1): 71-75.
- [15] 郝云庆, 罗晓波, 王晓玲. 濒危植物五小叶槭(*Acer pentaphyllum* Diels)天然种群遗传多样性的ISSR标记分析[J]. 四川大学学报(自然科学版), 2019, 56(1): 161-166.
- [16] 张翠琴. 五角枫种群遗传多样性研究[D]. 临汾: 山西师范大学生命科学学院, 2015: 15.
- [17] 孙圣. 基于SSR标记血皮槭天然群体遗传变异研究[D]. 北京: 中国林业科学研究院林业研究所, 2014.
- [18] 文亚峰, 韩文军, 吴顺. 植物遗传多样性及其影响因素[J]. 中南林业科技大学学报, 2010, 30(12): 80-87.

(责任编辑: 佟金凤)