

基于 SRAP 标记半枫荷天然种群的遗传多样性分析

叶兴状¹, 张明珠¹, 刘益鹏¹, 文国卫¹, 赖文峰¹, 范辉华², 张国防¹, 刘 宝^{1,①}

(1. 福建农林大学林学院, 福建 福州 350002; 2. 福建省林业科学研究院特色资源研究所, 福建 福州 350012)

摘要: 基于 SRAP 标记对半枫荷 (*Semiliquidambar cathayensis* Chang) 17 个天然种群 154 个样株的遗传多样性和遗传结构进行研究。结果表明: 半枫荷 17 个天然种群多态性条带数的均值为 113.6, 多态性条带百分比的均值为 63.5%。半枫荷具有较高的遗传多样性水平 [Nei's 遗传多样性指数 (H) 的均值为 0.250 4, Shannon's 多态性信息指数 (I) 的均值为 0.366 2], 其中, 福建连城种群的遗传多样性水平最高 (H 值为 0.354 4, I 值为 0.521 0)。半枫荷种群内遗传变异较高 (贡献率 75.95%), 种群间遗传变异较低 (贡献率 24.05%), 种群间基因流为 1.579, 遗传分化系数为 0.241。综合 Neighbor-joining 聚类分析、UPGMA 聚类分析和 STRUCTURE 分析结果, 半枫荷 17 个天然种群先划分为集群 I 和集群 II, 集群 I 进一步划分为 5 个亚群, 其中, 亚群 I a 包括福建的德化和连城种群以及江西的乐安和大余种群, 广东平远种群单独构成亚群 I b, 亚群 I c 包括福建的延平、沙县和清流种群, 亚群 I d 包括福建的南靖和周宁种群, 亚群 I e 包括福建的邵武和顺昌种群以及广西融水种群; 集群 II 进一步划分为 2 个亚群, 其中, 湖南江华种群单独构成亚群 II a, 亚群 II b 包括福建的长汀、永定和武平种群。Mantel 检验结果显示: 半枫荷种群间遗传距离和地理距离不存在显著相关性。建议结合迁地保护和就地保护对半枫荷进行保护, 在福建的连城、沙县、武平和顺昌, 湖南江华, 广西融水以及广东平远实行就地保护的同时, 尽快建立半枫荷核心种质资源库。

关键词: 半枫荷; SRAP 标记; 遗传多样性; 遗传结构; 聚类分析

中图分类号: Q946-33; S718.46 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2021)04-0060-09

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2021.04.07

Analysis on genetic diversity of natural populations of *Semiliquidambar cathayensis* based on SRAP marker

YE Xingzhuang¹, ZHANG Mingzhu¹, LIU Yipeng¹, WEN Guowei¹, LAI Wenfeng¹, FAN Huihua², ZHANG Guofang¹, LIU Bao^{1,①} (1. Forestry College, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; 2. Research Institute of Characteristic Resources, Fujian Academy of Forestry, Fuzhou 350012, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2021, 30(4): 60-68

Abstract: Genetic diversity and genetic structure of 154 sampling plants from 17 natural populations of *Semiliquidambar cathayensis* Chang were studied based on SRAP marker. The results show that the average of number of polymorphic bands of 17 natural populations of *S. cathayensis* is 113.6, and that of percentage of polymorphic bands is 63.5%. *S. cathayensis* has a relatively high genetic diversity level, with Nei's genetic diversity index (H) of 0.250 4 and Shannon's polymorphic information index (I) of 0.366 2, in which, the genetic diversity level of population in Liancheng of Fujian is the highest, with H value of 0.354 4 and I value of 0.521 0. The genetic variation within *S. cathayensis* population is relatively high, with the contribution rate of 75.95%, the genetic variation among populations is relatively low, with the contribution rate of 24.05%, gene flow among populations is 1.579, and the genetic differentiation coefficient is 0.241. Considering the results of Neighbor-joining clustering analysis, UPGMA clustering analysis, and STRUCTURE analysis, 17 natural populations of *S. cathayensis* can be divided into group

收稿日期: 2020-11-28

基金项目: 福建省第三轮种业创新与产业化工程项目 (ZYCX-LY-2017002); 宁夏回族自治区重点研发计划 (2019BBF02025); 福建农林大学科技创新专项基金 (KFA17069A)

作者简介: 叶兴状 (1991—), 男, 福建大田人, 博士研究生, 主要从事濒危植物保护与利用方面的研究。

①通信作者 E-mail: liubao@m.fafu.edu.com

引用格式: 叶兴状, 张明珠, 刘益鹏, 等. 基于 SRAP 标记半枫荷天然种群的遗传多样性分析[J]. 植物资源与环境学报, 2021, 30(4): 60-68.

I and group II, group I can be further divided into 5 subgroups, in which, subgroup I a contains Dehua and Liancheng of Fujian and Le'an and Dayu of Jiangxi populations, subgroup I b is composed of Pingyuan of Guangdong population independently, subgroup I c contains Yanping, Shaxian, and Qingliu of Fujian populations, subgroup I d contains Nanjing and Zhouning of Fujian populations, and subgroup I e contains Shaowu and Shunchang of Fujian and Rongshui of Guangxi populations; group II can be further divided into 2 subgroups, in which, subgroup II a is composed of Jianghua of Hunan population independently, and subgroup II b contains Changting, Yongding, and Wuping of Fujian populations. The result of Mantel test shows that there is no significant correlation between genetic distance and geographical distance among *S. cathayensis* populations. It is recommended that *S. cathayensis* should be preserved with a combination of *in situ* and *ex situ* preservation, and core germplasm resource bank should be established as soon as possible in addition to *in situ* preservation in Liancheng, Shaxian, Wuping, and Shunchang of Fujian, Jianghua of Hunan, Rongshui of Guangxi, and Pingyuan of Guangdong.

Key words: *Semiliquidambar cathayensis* Chang; SRAP marker; genetic diversity; genetic structure; clustering analysis

由于人类活动对生态环境的破坏日益严重^[1],加之全球气候变暖^[2],许多植物的分布区域锐减,由连续分布演变成间断分布,进而成为濒危植物^[3]。因濒危植物自身适应水平较低,加之繁殖障碍和地理隔离,濒危植物间的基因交流越来越困难,有的甚至出现瓶颈效应,进而导致其遗传多样性丧失,甚至物种灭绝^[4-5]。研究濒危植物的遗传多样性和遗传结构有助于濒危植物的保护与开发利用。

半枫荷(*Semiliquidambar cathayensis* Chang) ($2n=32$)隶属于蕈树科(Altingiaceae),为稀有种、国家二级重点保护野生植物,零星散状分布于中国长江以南山区,具有重要的科研价值^[6-7]。Wu等^[7]利用分子标记证明半枫荷为枫香树属(*Liquidambar* Linn.)和蕈树属(*Altingia* Noronha)的属间天然杂交种。半枫荷具有较高的观赏价值,是中国南方为数不多的彩叶树种,春、秋两季叶片部分变为紫红色、红色,且同株有2~5种叶型,具有良好的园林绿化应用前景。半枫荷还是药用植物,为传统苗药,其根具有祛风除湿、镇痛消肿和抑制病毒性肝炎抗原活性的功效^[8]。由于半枫荷对生长环境要求苛刻,有效种子少,在群落内常为非优势种,在竞争光热资源时常处于弱势地位,再加上人们过度采挖半枫荷根等原因,导致其遗传资源大量流失,濒临灭绝^[9]。目前,仅田晓明等^[10]和叶兴状等^[11]进行了半枫荷转录组测序等分子标记准备工作,亟需对半枫荷群体的遗传多样性和遗传结构进行研究,这对其遗传资源保护策略的制定具有重要意义。

相关序列扩增多态性(sequence-related amplified polymorphism, SRAP)标记是显性标记,具有简便、高

效、重复性好等优点^[12]。已有研究结果^[12-14]显示:在研究对象基因型未知的情况下,采用SRAP标记技术研究其遗传多样性有效可行。Li等^[14]利用SRAP标记对半枫荷近缘的金缕梅科(Hamamelidaceae)植物四药门花[*Loropetalum subcordatum* (Benth.) Oliv.]的遗传多样性进行了研究,并为其制定了保护策略。

鉴于此,本研究采用SRAP标记分析来自福建、湖南、广东、江西和广西的半枫荷17个天然种群154个样株的遗传多样性和遗传结构,探讨半枫荷的分布特征对其遗传变异的影响,以期对半枫荷遗传资源保护及开发利用奠定理论基础。

1 材料和方法

1.1 材料

于2018年3月至5月对半枫荷的天然分布区进行全面调查,按照居群间地理距离大于10 km、株间距大于10 m的标准,对分布于福建、湖南、广东、江西和广西的17个天然种群进行采样,各种群的具体地理分布信息见表1。其中,分布于福建长汀、永定、清流、延平、邵武、南靖和周宁7个种群的半枫荷株数较少。每个种群各样株采集100 g无病虫害的当年生嫩叶,剪下后立即放入冰盒,带回实验室后将嫩叶平均分成3份,擦拭干净后用锡箔纸包好,然后用液氮冷冻30 min,最后放入-80℃冰箱保存,用于提取基因组DNA。

1.2 方法

参考Murray等^[15]的方法从半枫荷叶中提取基因组DNA,使用Nano-200微量分光光度计(杭州奥

表1 半枫荷 17 个天然种群的地理分布信息

Table 1 Geographical distribution information of 17 natural populations of *Semiliquidambar cathayensis* Chang

编号 No.	采集地 Location	经度 Longitude	纬度 Latitude	海拔/m Altitude	样株数 Sampling plant number
DH	福建省泉州市德化县 Dehua County, Quanzhou City, Fujian Province	E118°13'23"	N25°38'16"	829	7
LC	福建省龙岩市连城县 Liancheng County, Longyan City, Fujian Province	E117°02'06"	N25°35'53"	750	19
CT	福建省龙岩市长汀县 Changting County, Longyan City, Fujian Province	E116°17'33"	N25°21'42"	690	2
YD	福建省龙岩市永定区 Yongding District, Longyan City, Fujian Province	E116°56'31"	N24°52'52"	450	3
WP	福建省龙岩市武平县 Wuping County, Longyan City, Fujian Province	E116°20'27"	N25°10'57"	560	11
SX	福建省三明市沙县区 Shaxian District, Sanming City, Fujian Province	E117°49'32"	N26°39'38"	835	28
QL	福建省三明市清流县 Qingliu County, Sanming City, Fujian Province	E116°45'38"	N25°54'39"	823	4
YP	福建省南平市延平区 Yanping District, Nanping City, Fujian Province	E118°08'10"	N26°43'34"	960	2
SW	福建省南平市邵武市 Shaowu City, Nanping City, Fujian Province	E117°31'18"	N27°33'40"	752	3
SC	福建省南平市顺昌县 Shunchang County, Nanping City, Fujian Province	E117°49'21"	N26°50'10"	447	16
NJ	福建省漳州市南靖县 Nanjing County, Zhangzhou City, Fujian Province	E117°13'30"	N24°34'26"	570	2
ZN	福建省宁德市周宁县 Zhouning County, Ningde City, Fujian Province	E119°27'29"	N25°59'52"	630	2
JH	湖南省永州市江华瑶族自治县 Jianghua Yao Autonomous County, Yongzhou City, Hunan Province	E112°00'38"	N25°00'21"	750	17
PY	广东省梅州市平远县 Pingyuan County, Meizhou City, Guangdong Province	E115°53'20"	N24°42'20"	750	15
DY	江西省赣州市大余县 Dayu County, Ganzhou City, Jiangxi Province	E114°26'05"	N25°33'29"	730	5
LA	江西省抚州市乐安县 Le'an County, Fuzhou City, Jiangxi Province	E115°50'33"	N27°31'20"	570	8
RS	广西壮族自治区柳州市融水苗族自治县 Rongshui Miao Autonomous County, Liuzhou City, Guangxi Zhuang Autonomous Region	E108°48'51"	N25°08'28"	765	10

盛仪器有限公司)测定 DNA 的浓度和质量,使用质量体积分数 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 条带的完整性。使用 T100 梯度 PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司)进行扩增。参考董蒙蒙^{[16]31}的方法,从 225 对 SRAP 引物组合中筛选出 10 对多态性丰富、条带清晰的引物组合用于半枫荷 154 个样株的遗传多样性分析。

PCR 反应体系包括:100 ng · μL⁻¹ DNA 1.0 μL, 2×Taq PCR StarMix with Loading Dye 混合液 12.5 μL, 5 mol · L⁻¹ 上游和下游引物各 1.0 μL, 加 ddH₂O 至 25.0 μL。PCR 反应程序为:94 °C 预变性 7 min;94 °C 变性 45 s、35 °C 退火 1 min、72 °C 延伸 1 min,7 个循环;94 °C 变性 45 s、35 °C 退火 1 min、52 °C 延伸 1 min, 28 个循环;最后 72 °C 延伸 10 min。

PCR 反应结束后,取 10 μL 扩增产物,加入 1×TBE 电泳缓冲液,在质量体积分数 30% 的聚丙烯酰胺凝胶上进行电泳分离,然后参考董蒙蒙^{[16]32}的方法银染。使用 YGD-II 医用观片灯(冀州市宏光康复器械厂)观察条带,并用 DSC-RX10M4 数码相机(日本 SONY 公司)拍照、保存。

1.3 数据处理

统计电泳图中 100~2 000 bp 间的条带,某一位点上有条带记为“1”,无条带记为“0”,其中,模糊条带与同区间清晰条带比对,将数据输入 EXCEL 2010

软件构建原始的“1”、“0”矩阵。

利用 POPGEN1.32 软件^[17] 计算观察等位基因数、有效等位基因数、多态性条带百分比、Nei's 遗传多样性指数和 Shannon's 多态性信息指数。使用 MEGA5.0 软件^[18] 绘制半枫荷 17 个天然种群和 154 个样株的聚类图。采用 GenAlEx 6.5 软件^[19] 进行 Mantel 检验,检验半枫荷种群间遗传距离与地理距离的相关性,并用该软件进行分子方差分析(analysis of molecular variance, AMOVA),计算种群间的遗传分化系数和基因流以及种群内和种群间遗传变异的贡献率。采用 STRUCTURE2.3.4 软件^[20] 分析遗传结构,分组数(K)设置为 1~17,每个 K 值重复运算 10 次,500 000 次马尔科夫链蒙特卡罗(MC)重复之后进行 100 000 次 burn-in。使用 STRUCTURE Harvester 确定最佳 K 值。使用 CLUMPP2.0 软件^[21] 将 10 次运算结果合并,并采用 Distruct1.1 软件^[22] 将半枫荷群体遗传结构以图形方式可视化输出。

2 结果和分析

2.1 扩增结果及遗传多样性分析

从 225 对 SRAP 引物中筛选出 10 对用于半枫荷 154 个样株基因组 DNA 的扩增,10 对 SRAP 引物的

序列及扩增结果见表 2。结果显示:共得到 235 个条带,每对引物扩增的条带数为 18~28,平均每对引物扩增出 23.5 个条带,其中多态性条带 179 个,平均多态性条带百分比为 77.2%。

表 2 用于半枫荷 154 个样株基因组 DNA 扩增的引物序列及扩增结果

Table 2 Primer sequences used for amplification of genomic DNA from 154 sampling plants of *Semiliquidambar cathayensis* Chang and their amplification results

引物编号 No. of primer	引物序列(5'→3')		条带数 Number of bands	多态性条带数 Number of polymorphic bands	多态性条带百分比/% Percentage of polymorphic bands
	正向引物 Forward primer	反向引物 Reverse primer			
Me1-Em2	TGAGTCCAAACCGGAGC	GACTGCGTACGAATTGAC	21	17	81.0
Me2-Em8	TGAGTCCAAACCGGACC	GACTGCGTACGAATTCTA	25	18	72.0
Me4-Em5	TGAGTCCAAACCGGTAA	GACTGCGTACGAATTCGA	25	18	72.0
Me5-Em3	TGAGTCCAAACCGGTCC	TGAGTCCAAACCGGTCC	23	18	78.3
Me7-Em7	TGAGTCCAAACCGGTGC	GACTGCGTACGAATTATT	24	18	75.0
Me8-Em4	TGAGTCCAAACCGGTCA	GACTGCGTACGAATTCTA	26	17	65.4
Me9-Em13	TGAGTCCAAACCGGAGT	GACTGCGTACGAATTAAG	24	18	75.0
Me11-Em14	TAAACAATGGCTACTCAAG	GACTGCGTACGAATTCAG	21	18	85.7
Me13-Em1	CTAAAACCAGGAAGTGAGAA	GGCTTGAACGAGTGACTGA	18	18	100.0
Me15-Em6	CTGGTGAATGCCGCTCT	TTCTTCTTCTGGACACAAA	28	19	67.9
均值 Average			23.5	17.9	77.2

基于 SRAP 引物扩增结果,半枫荷 17 个天然种群的遗传多样性分析结果见表 3。结果显示:基于 SRAP 引物检测出的半枫荷 17 个天然种群的多态性条带数为 32~167,均值为 113.6,多态性条带百分比

(PPB)为 17.9%~93.3%,均值为 63.5%;观察等位基因数(N_a)和有效等位基因数(N_e)分别为 1.2~1.9 和 1.2~1.6,均值分别为 1.6 和 1.5;Nei's 遗传多样性指数(H)和 Shannon's 多态性信息指数(I)分别为

表 3 基于 SRAP 引物扩增结果半枫荷 17 个天然种群的遗传多样性分析

Table 3 Analysis on genetic diversity of 17 natural populations of *Semiliquidambar cathayensis* Chang based on amplification results of SRAP primers

种群 Population	多态性条带数 Number of polymorphic bands	多态性条带百分比/% Percentage of polymorphic bands	观察等位基因数 Observed number of alleles	有效等位基因数 Effective number of alleles	Nei's 遗传多样性指数 Nei's genetic diversity index	Shannon's 多态性信息指数 Shannon's polymorphic information index
福建德化 Dehua of Fujian	130	72.6	1.7	1.5	0.271 8	0.404 1
福建连城 Liancheng of Fujian	164	91.6	1.9	1.6	0.354 4	0.521 0
福建长汀 Changting of Fujian	48	26.8	1.3	1.3	0.134 1	0.185 9
福建永定 Yongding of Fujian	70	39.1	1.4	1.3	0.173 8	0.248 9
福建武平 Wuping of Fujian	147	82.1	1.8	1.6	0.312 7	0.461 0
福建沙县 Shaxian of Fujian	166	92.7	1.9	1.6	0.349 6	0.516 7
福建清流 Qingliu of Fujian	105	58.7	1.6	1.5	0.249 3	0.360 6
福建延平 Yanping of Fujian	58	32.4	1.3	1.3	0.162 0	0.224 6
福建邵武 Shaowu of Fujian	62	34.6	1.4	1.3	0.153 9	0.220 5
福建顺昌 Shunchang of Fujian	152	84.9	1.9	1.5	0.308 1	0.458 9
福建南靖 Nanjing of Fujian	77	43.0	1.4	1.4	0.215 1	0.298 2
福建周宁 Zhouning of Fujian	32	17.9	1.2	1.2	0.089 4	0.123 9
湖南江华 Jianghua of Hunan	158	88.7	1.9	1.5	0.302 2	0.453 5
广东平远 Pingyuan of Guangdong	167	93.3	1.9	1.6	0.326 7	0.489 5
江西大余 Dayu of Jiangxi	121	67.6	1.7	1.5	0.269 9	0.396 1
江西乐安 Le'an of Jiangxi	141	78.8	1.8	1.5	0.303 8	0.447 7
广西融水 Rongshui of Guangxi	133	74.3	1.7	1.5	0.279 9	0.414 2
均值 Average	113.6	63.5	1.6	1.5	0.250 4	0.366 2

0.089 4~0.354 4 和 0.123 9~0.521 0, 均值分别为 0.250 4和 0.366 2, 其中, 福建连城种群的 Nei's 遗传多样性指数和 Shannon's 多态性信息指数均最高, 分别为 0.354 4 和 0.521 0。

基于 Nei's 遗传多样性指数对半枫荷 17 个天然种群的遗传多样性进行排序, 从大到小依次为福建连城种群、福建沙县种群、广东平远种群、福建武平种群、福建顺昌种群、江西乐安种群、湖南江华种群、广西融水种群、福建德化种群、江西大余种群、福建清流种群、福建南靖种群、福建清流种群、福建永定种群、福建延平种群、福建邵武种群、福建长汀种群和福建周宁种群。

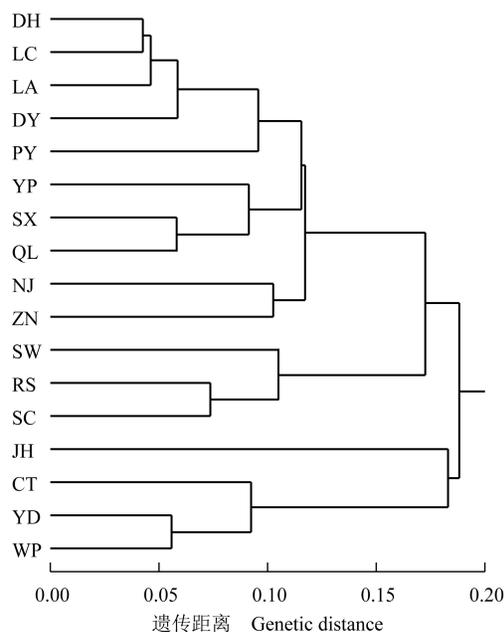
2.2 遗传结构分析

分子方差分析(AMOVA)结果表明:半枫荷 17 个天然种群间的遗传分化系数为 0.241, 种群间基因流为 1.579, 种群内遗传变异的贡献率高达 75.95%, 而种群间遗传变异的贡献率仅占 24.05%, 且种群间和种群内的差异达到极显著($P < 0.001$)水平。说明半枫荷遗传多样性主要分布在种群内, 种群间仅出现一定程度的遗传分化。

Mantel 检验结果表明:半枫荷 17 个天然种群的遗传距离和地理距离间无显著相关性($r = 0.068, P = 0.350$), 表明地理隔离不是导致半枫荷遗传变异高的主要因子。

Neighbor-joining 聚类图(图 1)显示:在遗传距离 0.18 处, 半枫荷 17 个天然种群划分为 I 和 II 2 个集群。集群 I 包括福建的德化、连城、延平、沙县、清流、南靖、周宁、邵武和顺昌种群, 江西的乐安和大余种群, 广东平远种群以及广西融水种群共 13 个种群, 集群 II 包括湖南江华种群以及福建的长汀、永定和武平种群共 4 个种群。在遗传距离 0.11 处, 集群 I 可进一步划分为 I a、I b、I c 和 I d 4 个亚群, 其中, 亚群 I a 包括福建的德化和连城种群, 江西的乐安和大余种群以及广东平远种群, 亚群 I b 包括福建的延平、沙县和清流种群, 亚群 I c 包括福建的南靖和周宁种群, 亚群 I d 包括福建的邵武和顺昌种群以及广西融水种群; 集群 II 可进一步划分为 II a 和 II b 2 个亚群, 其中, 湖南江华种群单独构成亚群 II a, 亚群 II b 包括福建的长汀、永定和武平种群。

UPGMA 聚类图(图 2)显示:在遗传距离 0.65 处, 半枫荷 17 个天然种群的 154 个样株分为 2 个集群, 其中, 湖南江华种群中 16 个样株单独聚为集群



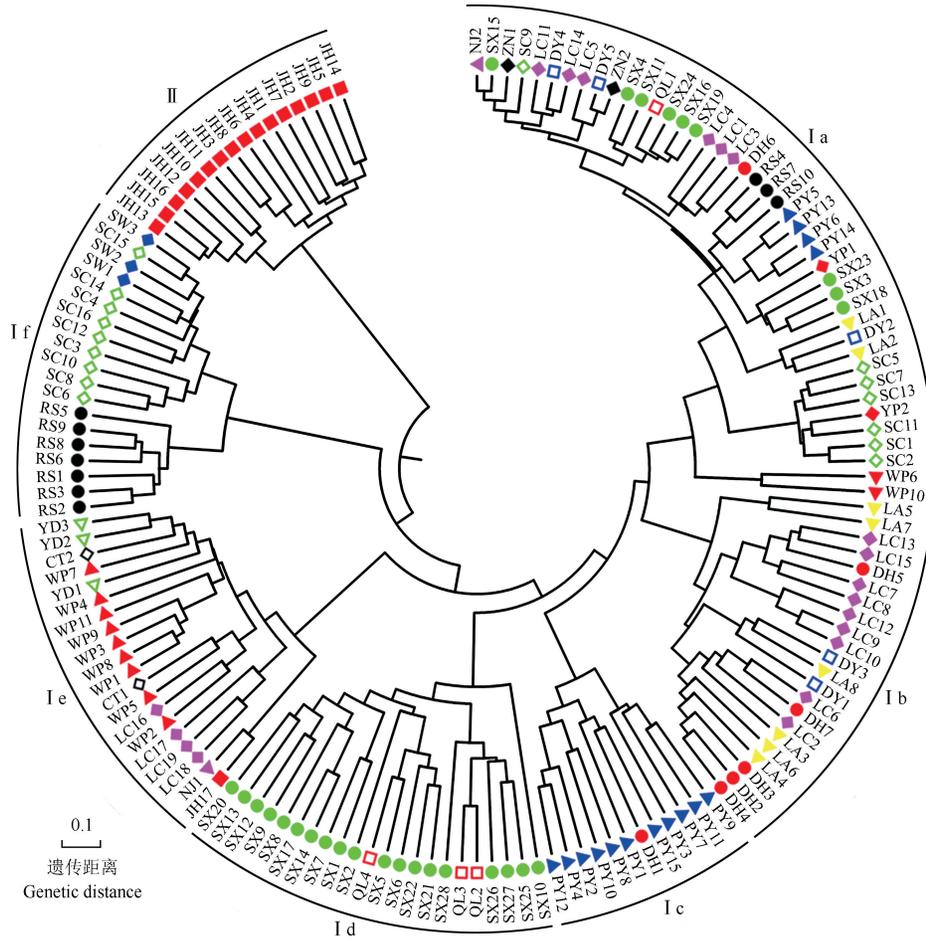
DH: 福建德化 Dehua of Fujian; LC: 福建连城 Liancheng of Fujian; LA: 江西乐安 Le'an of Jiangxi; DY: 江西大余 Dayu of Jiangxi; PY: 广东平远 Pingyuan of Guangdong; YP: 福建延平 Yanping of Fujian; SX: 福建沙县 Shaxian of Fujian; QL: 福建清流 Qingliu of Fujian; NJ: 福建南靖 Nanjing of Fujian; ZN: 福建周宁 Zhouning of Fujian; SW: 福建邵武 Shaowu of Fujian; RS: 广西融水 Rongshui of Guangxi; SC: 福建顺昌 Shunchang of Fujian; JH: 湖南江华 Jianghua of Hunan; CT: 福建长汀 Changting of Fujian; YD: 福建永定 Yongding of Fujian; WP: 福建武平 Wuping of Fujian.

图 1 半枫荷 17 个天然种群的 Neighbor-joining 聚类图
Fig. 1 Neighbor-joining dendrogram of 17 natural populations of *Semiliquidambar cathayensis* Chang

II, 其他 138 个样株共同聚为集群 I。在遗传距离 0.30 处, 集群 I 划分为 6 个亚群, 其中, 广东平远种群中大部分样株聚为亚群 I c; Neighbor-joining 聚类图中福建的长汀、永定和武平种群属于集群 II, 而 UPGMA 聚类图中这 3 个种群的样株在集群 I 中, 基本聚在亚群 I e。

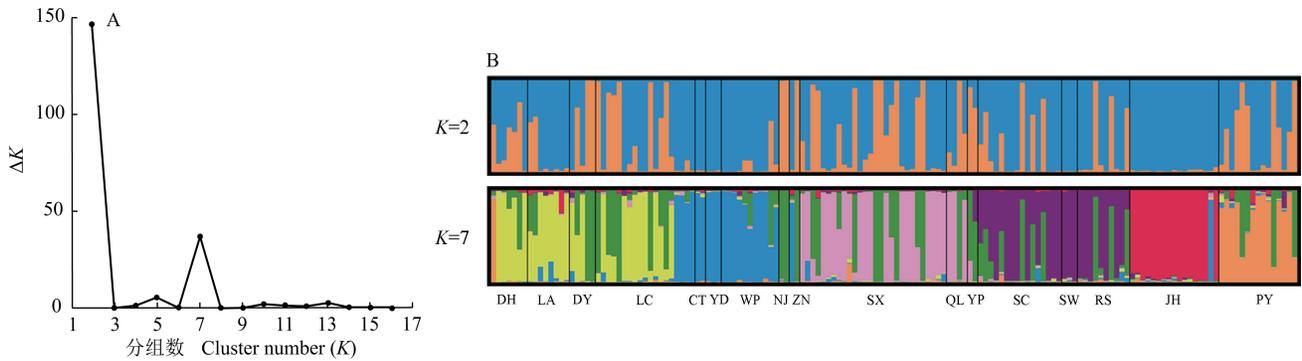
使用 STRUCTURE 软件检测供试半枫荷 17 个天然种群的遗传结构, 结果(图 3)显示: $K = 2$ 时, ΔK 值最大; $K = 7$ 时, ΔK 值次之(图 3-A)。 $K = 7$ 时, 半枫荷的遗传结构聚类较清晰(图 3-B), 说明半枫荷 17 个天然种群可先划分为 2 大集群, 再进一步细分为 7 个亚群。

综合 Neighbor-joining 聚类图、UPGMA 聚类图和 STRUCTURE 分析结果, 可将半枫荷 17 个天然种群先划分为 2 个集群, 然后在 Neighbor-joining 聚类图的划分基础上, 将亚群 II a 中的广东平远种群单独划分为 1 个亚群, 共 7 个亚群。



DH: 福建德化 Dehua of Fujian; LC: 福建连城 Liancheng of Fujian; CT: 福建长汀 Changting of Fujian; YD: 福建永定 Yongding of Fujian; WP: 福建武平 Wuping of Fujian; SX: 福建沙县 Shaxian of Fujian; QL: 福建清流 Qingliu of Fujian; YP: 福建延平 Yanping of Fujian; SW: 福建邵武 Shaowu of Fujian; SC: 福建顺昌 Shunchang of Fujian; NJ: 福建南靖 Nanjing of Fujian; ZN: 福建周宁 Zhouning of Fujian; JH: 湖南江华 Jianguhua of Hunan; PY: 广东平远 Pingyuan of Guangdong; DY: 江西大余 Dayu of Jiangxi; LA: 江西乐安 Le'an of Jiangxi; RS: 广西融水 Rongshui of Guangxi.

图 2 半枫荷 17 个天然种群 154 个样株的 UPGMA 聚类图
Fig. 2 UPGMA dendrogram of 154 sampling plants from 17 natural populations of *Semiliquidambar cathayensis* Chang



DH: 福建德化 Dehua of Fujian; LA: 江西乐安 Le'an of Jiangxi; DY: 江西大余 Dayu of Jiangxi; LC: 福建连城 Liancheng of Fujian; CT: 福建长汀 Changting of Fujian; YD: 福建永定 Yongding of Fujian; WP: 福建武平 Wuping of Fujian; NJ: 福建南靖 Nanjing of Fujian; ZN: 福建周宁 Zhouning of Fujian; SX: 福建沙县 Shaxian of Fujian; QL: 福建清流 Qingliu of Fujian; YP: 福建延平 Yanping of Fujian; SC: 福建顺昌 Shunchang of Fujian; SW: 福建邵武 Shaowu of Fujian; RS: 广西融水 Rongshui of Guangxi; JH: 湖南江华 Jianguhua of Hunan; PY: 广东平远 Pingyuan of Guangdong.

图 3 半枫荷 17 个天然种群的分组 (A) 和遗传结构 (B) 分析
Fig. 3 Analyses on cluster (A) and genetic structure (B) of 17 natural populations of *Semiliquidambar cathayensis* Chang

3 讨论和结论

3.1 半枫荷天然种群的遗传多样性

通常情况下,濒危植物由于瓶颈效应、近亲繁殖、奠基者效应和遗传漂变等原因,其遗传多样性较低,如细果秤锤树(*Sinojackia microcarpa* C. T. Chen et G. Y. Li) [Nei's 遗传多样性指数(H)为 0.100 7, Shannon's 多态性信息指数(I)为 0.165 8]^[23] 和水青树(*Tetracentron sinense* Oliv.) (H 值为 0.076, I 值为 0.112)^[24]。本研究中,半枫荷天然种群具有较高水平的遗传多样性(H 值为 0.250 4, I 值为 0.366 2)。且半枫荷其他近缘种的遗传多样性也普遍较高,如银缕梅 [*Parrotia subaequalis* (H. T. Chang) R. M. Hao et H. T. Wei] (H 值为 0.203 1, I 值为 0.313 2)^[25] 和榿木 [*Loropetalum chinense* (R. Br.) Oliv.] (H 值为 0.65)^[26]。蕈树科是超蔷薇类(Superosids)植物的基部类群,半枫荷遗传多样性较高可能是蕈树科植物作为一个古老树种系统发育的结果,也可能是半枫荷为属间天然杂交种,还可能与第四纪冰期半枫荷种群结构相对稳定、现存种群为其避难所残迹有关^[6-7]。遗传多样性可能与自然环境中种群大小或密度等变量有关,但难以定量测定这些变量对遗传多样性的影响。福建的连城、武平、沙县和顺昌种群以及广东平远种群的遗传多样性较高且种群中半枫荷株数多,其中,福建的连城、武平、沙县和顺昌种群主要分布在高海拔、陡坡密林处,生境破坏程度较小,推测人为干扰较少是这 4 个种群遗传多样性较高的主要原因。

半枫荷生境总体受人为干扰较大,其天然种群呈现破碎化间断分布,种群规模通常较小,甚至部分为孤立木,迫使半枫荷自交繁殖。近亲繁殖会导致濒危植物种群数量减少,降低其遗传多样性^[27]。半枫荷在群落内常为非优势种,在竞争光热资源时常处于弱势,加之对光热的需求苛刻,不利于其生殖生长和种群规模的扩大,进而影响其遗传多样性。

3.2 半枫荷种群遗传结构和遗传分化

半枫荷遗传变异主要存在于种群内(贡献率 75.95%),种群间的遗传变异相对较小(贡献率 24.05%)。但其近缘植物四药门花^[14] 仅 15% 的变异来自种群内,说明半枫荷种群内的遗传变异较为丰富,具有较丰富的可开发利用的遗传资源。半枫荷属于混合交配的繁育系统,但其种群间遗传分化系数为

0.241,说明其种群内遗传分化水平较高,可能与该种对生境要求特殊以及分布区的地形地貌有关。半枫荷零星分布于武夷山脉、戴云山脉、南岭山脉、零山脉、罗霄山脉、十万大山、雪峰山脉、苗岭、大瑶山脉及黎母山脉,多生长在空气湿度大的沟谷、密林(阳坡)及竹林中,各种群被走向多样的高山阻隔。 $K=2\sim 7$ 时,半枫荷 17 个种群遗传结构的划分均存在较大的杂合性, $K=2$ 时,虽然 ΔK 值最大,却不能显示清晰的遗传结构, $K=7$ 时,各种群间的遗传分化更明显,因此,这 17 个种群可划分为 7 个基因库。半枫荷全基因组杂合率为 2.93%,重复序列约占 68.87% (未发表数据),表明半枫荷遗传背景复杂、杂合性高,与半枫荷为枫香树属与蕈树属天然杂交种的结论相吻合^[7]。植物繁育类型是植物种群遗传变异模式的决定性因子^[28]。异交物种的遗传分化系数平均值为 0.19^[29],而自交物种的遗传分化系数平均值为 0.414 0^[30],表明半枫荷很可能属于兼性自交的繁育系统,这与调查中发现半枫荷多数植株结实率低相吻合,且半枫荷极可能是自交亲和。Schmitt 等^[31] 研究半枫荷同科植物北美枫香(*Liquidambar styraciflua* Linn.) 的自花不育特征,认为自交会导果实中种子数极大减少。因此,半枫荷结实率低可能由于自交率较高和属间天然杂交亲和性低所致。本研究中,半枫荷种群间基因流为 1.579,大于 1,说明种群间基因交流强度适中,也说明种群间没有显著的遗传分化,因此,半枫荷天然种群的遗传多样性水平对遗传漂变不敏感。

综合 Neighbor-joining 聚类图、UPGMA 聚类图和 STRUCTURE 分析结果,半枫荷 17 个天然种群先划分为 I 和 II 2 个集群,集群 I 进一步划分为 5 个亚群,其中,亚群 I a 包括福建的德化和连城种群以及江西的乐安和大余种群,亚群 I b 仅包括广东平远种群,亚群 I c 包括福建的延平、沙县和清流种群,亚群 I d 包括福建的南靖和周宁种群,亚群 I e 包括福建的邵武和顺昌种群以及广西融水种群;集群 II 进一步划分为 2 个亚群,其中,湖南江华种群单独构成亚群 II a,亚群 II b 包括福建的长汀、永定和武平种群。虽然采样不均匀时,STRUCTURE 软件计算结果的可靠性可能会降低^[32],但采用 3 种方法对半枫荷 17 个天然种群遗传结构的划分结果基本一致,只是在部分样株划分上有差异,因此,本研究对半枫荷 17 个天然种群的遗传结构划分结果可信度较高。值得注意的是,尽

管广西融水种群与福建的邵武和顺昌种群在地理位置上距离很远,但聚为同一亚群,并且广西融水种群和福建顺昌种群的遗传多样性较高,这可能是由于这3个种群来自同一祖先。STRUCTURE分析结果显示:广西融水种群以及福建的邵武和顺昌种群来自同一个基因池,也证明这3个种群的祖先可能相同。可见聚类结果与地理位置有一定相关性,但并不显著,同时Mantel检验结果也表明半枫荷种群间遗传距离和地理距离无显著相关性。

本研究中,10对SRAP引物对半枫荷154个样株共扩增出235个条带,179个条带具有多态性,平均多态性条带百分比为77.2%,说明本研究可靠性较高。但由于海南、广西、贵州和湖南等省、自治区半枫荷的具体分布信息未能完全掌握,加之本研究中7个半枫荷种群的半枫荷株数较少,导致本研究取样存在不足,对研究结论的准确性造成一定的影响。作者所在团队将在半枫荷全基因组解析完成后开展半枫荷基因组重测序工作,以期全面解析其遗传多样性、遗传结构和谱系地理,弥补本研究的不足。

3.3 半枫荷遗传资源保护

外业调查发现,半枫荷生境渐趋恶化、破碎化日益严重,结实周期长短不一、种子空粒较多、大多数半枫荷周围未发现小苗、且多为孤立木,结合本研究结果,虽然半枫荷遗传多样性较高,但自交概率较高,种群衰退趋势明显,半枫荷天然种群亟需保护与复壮。具体建议如下:首先,应加快完成迁地保护,尽可能收集所有种群的种子,保存其遗传资源完整性。本研究团队已在福建省顺昌县建立半枫荷种质资源库,接下来还将进一步扩大种质资源收集范围。其次,应立即实施就地保护,保护原生境。遗传多样性较高的福建的连城、沙县、武平和顺昌种群,湖南江华种群,广西融水种群以及广东平远种群应给予优先保护。此外,福建德化、长汀和清流等小种群应严格保护(如采取建立保护小区、封山育林及回归定植等措施),禁止一切破坏行为。

参考文献:

- [1] PECL G T, ARAÚJO M B, BELL J D, et al. Biodiversity redistribution under climate change: impacts on ecosystems and human well-being[J]. *Science*, 2017, 355(6332): 1390-1398.
- [2] ZHAO Z, WANG Y, ZANG Z, et al. Climate warming has changed phenology and compressed the climatically suitable habitat of *Metasequoia glyptostroboides* over the last half century[J]. *Global Ecology and Conservation*, 2020, 23: e01140.
- [3] ROSENBLAD K C, PERRET D L, SAX D F. Niche syndromes reveal climate-driven extinction threat to island endemic conifers[J]. *Nature Climate Change*, 2019, 9(8): 627-631.
- [4] 周 桔, 杨 明, 文香英, 等. 加强植物迁地保护, 促进植物资源保护和利用[J]. *中国科学院院刊*, 2021, 36(4): 417-424.
- [5] WU X, RUHSAM M, WEN Y, et al. The last primary forests of the Tertiary relict *Glyptostrobus pensilis* contain the highest genetic diversity[J]. *Forestry*, 2019, 93(3): 1-17.
- [6] YE X Z, ZHAO G H, ZHANG M Z, et al. Distribution pattern of endangered plant *Semiliquidambar cathayensis* (Hamamelidaceae) in response to climate change after the last interglacial period[J]. *Forests*, 2020, 11(4): 434.
- [7] WU W, ZHOU R, HUANG Y, et al. Molecular evidence for natural intergeneric hybridization between *Liquidambar* and *Altingia* [J]. *Journal of Plant Research*, 2010, 123(2): 231-239.
- [8] 孙 静, 郑雪凌, 崔向珍, 等. 半枫荷抗乙型肝炎病毒的药理活性研究[J]. *时珍国医国药*, 2014, 25(10): 2391-2393.
- [9] 任朝辉, 王莲辉, 田华林, 等. 贵州半枫荷濒危成因分析[J]. *贵州林业科技*, 2014, 42(2): 34-36.
- [10] 田晓明, 曾玲珍, 颜立红, 等. 半枫荷叶片转录组特征研究[J]. *湖南林业科技*, 2018, 45(5): 40-50.
- [11] 叶兴状, 刘 丹, 罗佳佳, 等. 濒危珍稀植物半枫荷的转录组分析[J]. *植物研究*, 2019, 39(2): 276-286.
- [12] 周冬琴, 莫海波, 芦治国, 等. 基于SRAP标记的墨西哥落羽杉优良单株的遗传多样性分析[J]. *植物资源与环境学报*, 2012, 21(1): 36-41.
- [13] AMAR M H, BISWAS M K, ZHANG Z, et al. Exploitation of SSR, SRAP and CAPS-SNP markers for genetic diversity of *Citrus* germplasm collection[J]. *Scientia Horticulturae*, 2011, 128(3): 220-227.
- [14] LI B J, WANG J Y, LIU Z J, et al. Genetic diversity and *ex situ* conservation of *Loropetalum subcordatum*, an endangered species endemic to China[J]. *BMC Genetics*, 2018, 19(1): 12.
- [15] MURRAY M G, THOMPSON W F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA[J]. *Nucleic Acids Research*, 1980, 8(19): 4321-4325.
- [16] 董蒙蒙. 基于表型性状与分子标记的锥栗主栽农家品种遗传多样性分析[D]. 福州: 福建农林大学林学院, 2017.
- [17] ZHANG X, KONG W, WANG X, et al. Genetic diversity analysis of 34 fig varieties (*Ficus carica* L.) based on ISSR molecular marker[J]. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 2020, 67(1): 913-921.
- [18] TAMURA K, PETERSON D, PETERSON N, et al. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2011, 28(10): 2731-2739.
- [19] PEAKALL R, SMOUSE P E. GenAIEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research: an update[J]. *Bioinformatics*, 2012, 28(19): 2537-2539.

- [20] EARL D A, VONHOLDT B M. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method [J]. Conservation Genetics Resources, 2012, 4(2): 359-361.
- [21] JAKOBSSON M, ROSENBERG N A. CLUMPP: a cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure [J]. Bioinformatics, 2007, 23(14): 1801-1806.
- [22] ROSENBERG N A. DISTRUCT: a program for the graphical display of population structure [J]. Molecular Ecology Notes, 2004, 4(1): 137-138.
- [23] ZHONG T, ZHAO G, LOU Y, et al. Genetic diversity analysis of *Sinojackia microcarpa*, a rare tree species endemic in China, based on simple sequence repeat markers [J]. Journal of Forestry Research, 2019, 30(3): 847-854.
- [24] LI S, GAN X, HAN H, et al. Low within-population genetic diversity and high genetic differentiation among populations of the endangered plant *Tetracentron sinense* Oliver revealed by inter-simple sequence repeat analysis [J]. Annals of Forest Science, 2018, 75(3): 74.
- [25] GENG Q, YAO Z, YANG J, et al. Effect of Yangtze River on population genetic structure of the relict plant *Parrotia subaequalis* in eastern China [J]. Ecology and Evolution, 2015, 5(20): 4617-4627.
- [26] YUAN N, COMES H P, CAO Y N, et al. A comparative study on genetic effects of artificial and natural habitat fragmentation on *Loropetalum chinense* (Hamamelidaceae) in Southeast China [J]. Heredity, 2015, 114(6): 544-551.
- [27] BUSCH J W, SCHOEN D J. The evolution of self-incompatibility when mates are limiting [J]. Trends in Plant Science, 2008, 13(3): 128-136.
- [28] WANG X J, BARRETT S C H, ZHONG L, et al. The genomic selfing syndrome accompanies the evolutionary breakdown of heterostyly [J]. Molecular Biology and Evolution, 2021, 38(1): 168-180.
- [29] FISCHER M, MATTHIES D. Effects of population size on performance in the rare plant *Gentianella germanica* [J]. Journal of Ecology, 1998, 86(2): 195-204.
- [30] BUSSELL J D. The distribution of random amplified polymorphic DNA (RAPD) diversity amongst populations of *Isotoma petraea* (Lobeliaceae) [J]. Molecular Ecology, 1999, 8(5): 775-789.
- [31] SCHMITT D, PERRY T O. Self-sterility in sweetgum [J]. Forest Science, 1964, 10(3): 302-305.
- [32] PUECHMAILLES J. The program structure does not reliably recover the correct population structure when sampling is uneven: subsampling and new estimators alleviate the problem [J]. Molecular Ecology Resources, 2016, 16(3): 608-627.

(责任编辑:张明霞)



欢迎订阅 2022 年《植物资源与环境学报》

《植物资源与环境学报》为江苏省中国科学院植物研究所和江苏省植物学会联合主办的学术刊物,国内外公开发行。本刊为全国中文核心期刊(北大核心)、中国科技核心期刊和中国科学引文数据库核心期刊(CSCD 核心),并为 BA(预评)、CAB、BCI、JST、中国生物学文摘、中国环境科学文摘、中国科学引文数据库、万方数据——数字化期刊群、中国学术期刊(光盘版)、超星期刊域出版平台和中文科技期刊数据库等国内外著名刊库收录。2013 年荣获“首届江苏省新闻出版政府奖·期刊奖”及江苏省精品科技期刊项目;2015 年荣获“第六届江苏省科技期刊金马奖·精品期刊奖”;2015 年至 2021 年均荣获江苏省精品科技期刊项目。

本刊围绕植物资源与环境两个中心命题,报道我国植物资源的考察、开发利用和植物物种多样性保护,自然保护区与植物园的建设和管理,植物在保护和美化环境中的作用,环境对植物的影响以及与植物资源和植物环境有关学科领域的原始研究论文、研究简报和综述等。凡从事植物学、生态学、自然地理学以及农、林、园艺、医药、食品、轻化工和环境保护等领域的科研、教学、技术人员及决策者均可以从本刊获得相关

学科领域的研究进展和信息。

本刊为双月刊,大 16 开本,2022 年起每期 100 页。全国各地邮局均可订阅,邮发代号 28-213,每期定价 26 元,全年定价 156 元。国内统一连续出版物号 CN 32-1339/S,国际标准连续出版物号 ISSN 1674-7895。若错过征订时间或需补齐 1992 年至 2020 年各期,请直接与编辑部联系邮购。1992 年至 1993 年每年 8 元;1994 年至 2000 年每年 16 元;2001 年至 2005 年每年 24 元;2006 年至 2008 年每年 40 元;2009 年至 2011 年每年 60 元;2012 年至 2019 年每年 80 元;2020 年至 2021 年每年 120 元;2022 年每年 156 元(均含邮资,如需挂号另付挂号费 3 元;快递到付)。地址:江苏省南京市中山门外江苏省中国科学院植物研究所内(邮编 210014);电话:025-84347014;QQ:2219161478;E-mail:zwzybjb@163.com。投稿网址: <http://zwzy.cnbg.net>。

本刊已开通微信公众号,欢迎您扫码关注。

