

新疆濒危植物半日花居群的遗传变异及遗传结构分析

苏志豪^{1,①}, 李文军¹, 卓立², 姜小龙³

(1. 中国科学院新疆生态与地理研究所 干旱区生物地理与生物资源重点实验室, 新疆 乌鲁木齐 830011;

2. 新疆师范大学图书馆, 新疆 乌鲁木齐 830054; 3. 上海辰山植物园, 上海 201602)

摘要: 利用3个叶绿体微卫星多态性引物(包括 mtrnSf-trnGr、mtrnL2-trnF 和 mtrnL5-trnL3)对新疆地区半日花(*Helianthemum songaricum* Schrenk)9个居群[分别位于伊犁河谷的军马场(JMC)、黑山头(HST)、科克苏(KKS)、种羊场(ZYC)、科博(KB)、龙口(LK)、喀拉布拉(KLBL)和拜什墩(BSD)以及河谷北部的博乐(BL)]92个单株的叶片总DNA进行了扩增,在此基础上,对各居群的遗传变异、地理分布、遗传多样性和遗传结构进行了分析。结果表明:3个叶绿体微卫星多态性引物共扩增出6个多态性位点;经分析,得到H1、H2、H3和H4 4个单倍型,其中,H1单倍型分布在JMC、HST、KKS、ZYC、KB和KLBL居群,H2单倍型仅分布在JMC居群,H3单倍型分布在LK和BL居群,H4单倍型仅分布在BSD居群。9个半日花居群总的遗传多样性指数较高(0.583),但居群内的遗传多样性指数却很低(0.040),居群间的遗传分化系数为0.932。主坐标分析(PCoA)将9个半日花居群划分成3个群体,其中,BSD居群单独为1个群体,BL和LK居群为1个群体,其余6个居群为1个群体;而亲缘关系树状图将这9个居群分成2支,其中,BL、LK和BSD居群为1支,其余6个居群为1支,说明BL、LK和BSD居群明显有别于其他居群。分子方差分析结果表明:半日花95.61%的遗传变异发生在群体间。Mantel检验结果表明:各居群间遗传距离与地理距离的相关系数为0.324,说明半日花居群间遗传距离与地理距离存在一定程度的正相关。研究结果显示:新疆地区半日花居群间发生了明显的遗传分化,并存在一定程度的地理隔离,这可能与小居群的遗传漂变和近交效应及居群间的地理障碍有关。建议对新疆地区半日花的全部居群、个体和原始生境进行保护,并对其天然居群采取复壮、迁地保护和划分居群管理单元等保护措施。

关键词: 半日花; 新疆地区; 遗传变异; 遗传结构; 叶绿体微卫星技术(cpSSRs)

中图分类号: Q946-33; Q949.758.9 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2017)04-0067-07

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2017.04.09

Analyses on genetic variation and genetic structure of populations of endangered plant

Helianthemum songaricum in Xinjiang SU Zhihao^{1,①}, LI Wenjun¹, ZHUO Li², JIANG Xiaolong³

(1. Key Laboratory of Biogeography and Bioresource in Arid Land, Xinjiang Institute of Ecology and Geography, Chinese Academy of Sciences, Urumqi 830011, China; 2. Library, Xinjiang Normal University, Urumqi 830054, China; 3. Shanghai Chenshan Botanical Garden, Shanghai 201602, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2017, 26(4): 67-73

Abstract: Total DNA in leaves of 92 individuals from nine populations [located in Junmachang (JMC), Heishantou (HST), Kekesu (KKS), Zhongyangchang (ZYC), Kebo (KB), Longkou (LK), Kalabula (KLBL), and Baishidun (BSD) of Yili valley, and in Bole (BL) of northern Yili valley, respectively] of *Helianthemum songaricum* Schrenk in Xinjiang region were amplified by using three chloroplast microsatellite polymorphic primers (including mtrnSf-trnGr, mtrnL2-trnF, and mtrnL5-trnL3). On the basis, genetic variation, geographic distribution, genetic diversity, and genetic structure of each population were analyzed. The results show that six polymorphic sites are amplified by using three chloroplast microsatellite polymorphic primers. Four haplotypes of H1, H2, H3, and H4 are obtained

收稿日期: 2017-05-27

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金资助项目(2014211A073)

作者简介: 苏志豪(1981—),男,湖北随县人,博士,助理研究员,主要从事植物遗传保育方面的研究。

①通信作者 E-mail: suzh@ms.xjb.ac.cn

after analysis, in which, haplotype H1 distributes in JMC, HST, KKS, ZYC, KB, and KLBL populations, haplotype H2 only distributes in JMC population, haplotype H3 distributes in LK and BL populations, and haplotype H4 only distributes in BSD population. Total genetic diversity index of nine populations of *H. songaricum* is relatively high (0.583), while genetic diversity index within population is relatively low (0.040), and the genetic differentiation coefficient among populations is 0.932. Nine populations of *H. songaricum* are divided into three groups by using principal coordinate analysis (PCoA), in which, BSD population alone is a group, BL and LK populations are a group, and other six populations are a group. While the nine populations are divided into two branches by using phylogenetic tree, in which, BL, LK, and BSD populations are a branch, and other six populations are a branch, meaning that BL, LK, and BSD populations are obviously different from other populations. Molecular variance analysis result shows that 95.61% of genetic variation of *H. songaricum* occurs among groups. Mantel test result shows that the correlation coefficient of genetic distance with geographic distance among populations is 0.324, indicating that there is a certain degree of positive correlation of genetic distance with geographic distance among populations of *H. songaricum*. It is suggested that there are obvious genetic differentiation among populations of *H. songaricum* in Xinjiang region, as well as a certain degree of geographic isolation, which is probably associated with genetic drift and inbreeding effect of sub-population and geographic barrier among populations. All populations, individuals, and original habitats of *H. songaricum* in Xinjiang region are proposed to protect, and protective measures of rejuvenation, *ex situ* conservation, and dividing population management unit, etc. are recommended for preserving its natural population.

Key words: *Helianthemum songaricum* Schrenk; Xinjiang region; genetic variation; genetic structure; chloroplast microsatellite technology (cpSSRs)

半日花 (*Helianthemum songaricum* Schrenk) 隶属半日花科 (Cistaceae) 半日花属 (*Helianthemum* Mill.), 在中国仅此一种^[1], 为旱生小灌木、古地中海植物区系孑遗种。半日花具有很高的园艺观赏价值, 在西北地区常作为庭院绿化植物; 它还能够适应极度干旱的生境, 可作为干旱草原和砾质荒漠防风固沙的优良物种^[2]。目前, 国内的半日花分布面积十分狭小, 并且, 由于开矿、樵采和放牧等人类活动的过度干扰, 导致其生境极度破碎化, 种群数量急剧减少, 植株生长发育和繁殖均受到限制, 实生苗数量日趋减少, 种群自然更新困难^[3]。为此, 半日花已被列入“中国珍稀濒危保护植物名录”^[4]。为了避免半日花遗传多样性及遗传种质的迅速丢失, 亟待采取积极有效的保护措施, 避免其种群从渐危走向灭绝。

叶绿体微卫星技术 (cpSSRs) 具有扩增结果多态性高、稳定可靠和重复性好等优点, 被广泛应用于植物遗传学研究^[5-9]。新疆地区的半日花主要分布在新疆伊犁河谷的伊宁、巩留和特克斯等地, 在河谷北部的博乐也有分布, 主要生长在海拔 1 000~1 400 m 的荒漠石质残丘坡地上。目前, 用于新疆地区半日花遗传特征分析的叶绿体基因片段数量较少^[10], 获得的变异位点数量有限, 因此, 需要结合更多的分子标记对新疆地区半日花居群的遗传特征进行研究。

鉴于此, 作者利用 3 个叶绿体微卫星多态性引物对新疆地区半日花 9 个居群 (伊犁河谷 8 个居群及河谷北部 1 个居群) 92 个单株的叶片总 DNA 进行了扩增, 在此基础上, 对各居群的遗传变异、地理分布、遗传多样性和遗传结构进行了分析, 以期制定新疆地区半日花的保护和复壮策略提供参考依据, 并为新疆地区其他濒危植物的保护研究提供参考资料。

1 材料和方法

1.1 材料

根据中国数字植物标本馆 (<http://www.cvh.ac.cn>) 中半日花在新疆伊犁河谷和准噶尔盆地的分布信息, 共采集半日花 9 个居群 92 个单株的新鲜叶片, 包括伊犁河谷 8 个居群和河谷北部博乐 1 个居群, 每个居群采集 8~12 个单株, 各居群的基本信息见表 1。为了避免采集的植株为近亲繁殖或克隆体, 采集植株的间距在 30 m 以上。同一单株的叶片放入一个密封袋 (装有硅胶) 中, 置于 4 ℃ 冰箱中保存、备用。

1.2 方法

采用改进的 2×CTAB 法^[11]提取叶片总 DNA, 使用 Alpa-1502 型紫外分光光度计 (上海谱元仪器有限公司) 检测总 DNA 的纯度和浓度。

表 1 新疆地区半日花 9 个居群的基本信息
Table 1 Basic informations of nine populations of *Helianthemum songaricum* Schrenk in Xinjiang region

居群 Population	地点 Location	样本数 Sample number	经度 Longitude	纬度 Latitude	海拔/m Elevation
JMC	军马场 Junmachang	10	E81°59′	N43°14′	1 318
HST	黑山头 Heishantou	12	E82°28′	N43°35′	810
KKS	科克苏 Kekesu	10	E81°56′	N43°12′	1 166
ZYC	种羊场 Zhongyangchang	12	E82°34′	N43°34′	952
KB	科博 Kebo	10	E81°45′	N43°10′	1 246
BL	博乐 Bole	8	E82°03′	N44°50′	566
LK	龙口 Longkou	10	E82°28′	N43°25′	855
KLBL	喀拉不拉 Kalabula	10	E82°37′	N43°27′	829
BSD	拜什墩 Baishidun	10	E82°03′	N43°41′	1 220

使用叶绿体微卫星多态性引物 *mtrnSf-trnGr*、*mtrnL2-trnF* 和 *mtrnL5-trnL3*^[12] 进行扩增反应,引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。使用 T100™ Thermal Cycler 热循环仪(美国 Bio-Rad 公司)进行扩增反应,扩增体系总体积为 25 μL,包括 25 ng·μL⁻¹ 模板 DNA、50 mmol·L⁻¹ Tris-HCl、1.5 mmol·L⁻¹ MgCl₂、0.2 mmol·L⁻¹ dNTPs、50 mmol·L⁻¹ KCl、0.5 U *Taq* DNA 聚合酶以及 5 μmol·L⁻¹ 正向和反向引物。扩增程序如下:95 ℃ 预变性 4 min;92 ℃ 变性 45 s,57 ℃ 退火 45 s、72 ℃ 延伸 1 min,30 个循环;最后于 72 ℃ 延伸 10 min。扩增产物交由生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序分析,使用 ABI 3730XL 全自动 DNA 测序仪(美国 ABI 公司)和 BigDye Terminator v1.1 试剂盒(美国 Applied Biosystems 公司)对扩增产物进行测序,使用 Geneious 7.0 软件^[13] 分析片段长度。每个单株重复扩增并测序 3 次。

1.3 数据分析

根据片段长度对每个引物扩增的片段进行组合,最终得到单倍型。使用 GenAlEx 6.5 软件^[14] 计算各居群每位点的平均等位基因数和平均有效等位基因数;使用 HAPLONST 程序计算遗传多样性指数和遗传分化系数。

使用 Arlequin 3.1 软件^[15-16] 计算各居群间的遗传距离,据此进行分子方差分析,并计算居群内及居群间遗传变异的分配比例,采用 10 000 次置换进行显著性检验;基于遗传距离,使用 MEGA 6 软件采用邻接法(neighbor-joining method)构建各居群的亲缘关系树状图^[17],使用 GenAlEx 6.5 软件^[14] 进行主坐标分析(PCoA)。使用 GEODIS 2.5 软件计算居群间的地理距离^[18],用遗传分化系数代替遗传距离,使用

IBD v1.52 软件进行 Mantel 检验,检测居群间地理距离与遗传距离的相关性,分析各居群间是否存在地理隔离,采用 1 000 次置换进行显著性检验^[19]。

2 结果和分析

2.1 新疆地区半日花的遗传变异及地理分布分析

实验结果(表 2)表明:3 个叶绿体微卫星多态性引物在新疆地区半日花 9 个居群叶片总 DNA 中共扩增出 6 个多态性位点,其中,引物 *mtrnSf-trnGr* 扩增出 1 个多态性位点(第 133 位),引物 *mtrnL2-trnF* 扩增出 2 个多态性位点(第 219 位和第 224 位),引物 *mtrnL5-trnL3* 扩增出 3 个多态性位点(第 238 位、第 239 位和第 240 位)。将这 6 个多态性位点组合后共得到 H1、H2、H3 和 H4 4 个单倍型。

表 2 基于 3 个叶绿体微卫星多态性引物扩增结果的新疆地区半日花多态性位点和单倍型分析
Table 2 Analyses on polymorphic site and haplotype of *Helianthemum songaricum* Schrenk in Xinjiang region based on amplification result of three chloroplast microsatellite polymorphic primers

引物 Primer	各单倍型的多态性位点 Polymorphic site of each haplotype			
	H1	H2	H3	H4
<i>mtrnSf-trnGr</i>	133	133	133	133
<i>mtrnL2-trnF</i>	224	219	224	224
<i>mtrnL5-trnL3</i>	239	239	238	240

新疆地区半日花 9 个居群单倍型样本数、平均等位基因数和平均有效等位基因数的比较结果见表 3。由表 3 可见:军马场(JMC)居群有 H1 和 H2 2 个单倍型,样本数分别为 8 和 2;黑山头(HST)、科克苏(KKS)、种羊场(ZYC)、科博(KB)和喀拉布拉

(KLBL) 居群均只有 H1 单倍型, 样本数分别为 12、10、12、10 和 10; 博乐 (BL) 和龙口 (LK) 居群只有 H3 单倍型, 样本数分别为 8 和 10; 拜什墩 (BSD) 居群只有 H4 单倍型, 样本数为 10。JMC 居群每位点的平均等位基因数和平均有效等位基因数分别为 1.3 和 1.2, 其余 8 个居群每位点的平均等位基因数和平均有效等位基因数均为 1.0。总体来看, H1 单倍型分布在伊犁河谷的 6 个居群 (JMC、HST、KKS、ZYC、KB

和 KLBL 居群), H2 单倍型只分布在伊犁河谷的 1 个居群 (JMC 居群), H3 单倍型分布在伊犁河谷的 1 个居群 (LK 居群) 和河谷北部的 1 个居群 (BL 居群), H4 单倍型只分布在伊犁河谷的 1 个居群 (BSD 居群), 说明半日花各居群间发生了明显的遗传分化。

综合 3 个叶绿体微卫星多态性引物的扩增结果, 新疆地区半日花 9 个居群的平均等位基因数和平均有效等位基因数均较高, 分别为 1.3 和 1.2。

表 3 新疆地区半日花 9 个居群单倍型样本数、平均等位基因数和平均有效等位基因数的比较
Table 3 Comparison on haplotype sample number, average allele number, and average effective allele number of nine populations of *Helianthemum songaricum* Schrenk in Xinjiang region

居群 ¹⁾ Population ¹⁾	各单倍型的样本数 ²⁾ Sample number of each haplotype ²⁾				每位点的平均 等位基因数 Average allele number per site	每位点的平均 有效等位基因数 Average effective allele number per site
	H1	H2	H3	H4		
JMC	8	2	—	—	1.3	1.2
HST	12	—	—	—	1.0	1.0
KKS	10	—	—	—	1.0	1.0
ZYC	12	—	—	—	1.0	1.0
KB	10	—	—	—	1.0	1.0
BL	—	—	8	—	1.0	1.0
LK	—	—	10	—	1.0	1.0
KLBL	10	—	—	—	1.0	1.0
BSD	—	—	—	10	1.0	1.0

¹⁾ JMC: 军马场 Junmachang; HST: 黑山头 Heishantou; KKS: 科克苏 Kekesu; ZYC: 种羊场 Zhongyangchang; KB: 科博 Kebo; BL: 博乐 Bole; LK: 龙口 Longkou; KLBL: 喀拉不拉 Kalabula; BSD: 拜什墩 Baishidun.
²⁾ —: 不存在 No existing.

2.2 新疆地区半日花的遗传多样性及遗传结构分析

计算结果表明: 新疆地区半日花 9 个居群总的遗传多样性指数较高 (0.583), 而居群内的平均遗传多样性指数很低 (0.040)。各居群间的遗传分化系数较高 (0.932), 表明半日花各居群间发生了明显的遗传分化。

传分化。

由新疆地区半日花 9 个居群间的遗传距离 (表 4) 可见: 军马场 (JMC) 居群与科克苏 (KKS)、科博 (KB) 和喀拉布拉 (KLBL) 居群的遗传距离最小 (均为 0.111), 与黑山头 (HST) 和种羊场 (ZYC) 居群的遗传距离最大 (均为 1.000)。

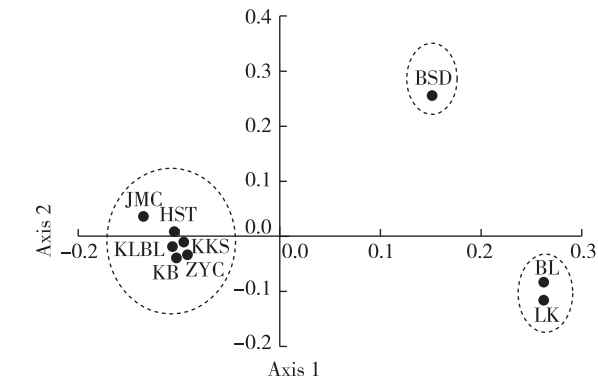
表 4 新疆地区半日花 9 个居群间遗传距离的比较¹⁾
Table 4 Comparison on genetic distance among nine populations of *Helianthemum songaricum* Schrenk in Xinjiang region¹⁾

居群 Population	遗传距离 Genetic distance								
	JMC	HST	KKS	ZYC	KB	BL	LK	KLBL	BSD
JMC	0.000								
HST	0.137	0.000							
KKS	0.111	0.000	0.000						
ZYC	0.137	0.000	0.000	0.000					
KB	0.111	0.000	0.000	0.000	0.000				
BL	0.836	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000			
LK	0.852	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000	0.000		
KLBL	0.111	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000	1.000	0.000	
BSD	0.852	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000

¹⁾ JMC: 军马场 Junmachang; HST: 黑山头 Heishantou; KKS: 科克苏 Kekesu; ZYC: 种羊场 Zhongyangchang; KB: 科博 Kebo; BL: 博乐 Bole; LK: 龙口 Longkou; KLBL: 喀拉不拉 Kalabula; BSD: 拜什墩 Baishidun.

传距离也较小(均为 0.137),与博乐(BL)居群的遗传距离较大(0.836),与龙口(LK)和拜什墩(BSD)居群的遗传距离最大(均为 0.852)。在除 JMC 居群外的 8 个居群中,BL、LK 和 BSD 居群与其余居群的遗传距离均为 1.000,而 BL 和 LK 居群间以及其余各居群间的遗传距离均为 0.000。

基于各居群间遗传距离,对新疆地区半日花 9 个居群进行主坐标分析(PCoA),结果见图 1。其中,第 1 主坐标变异占总变异的 76.14%,第 2 主坐标变异占总变异的 13.66%。由图 1 可见:第 1 主坐标将半日花 9 个居群分成 3 个群体。其中,JMC、HST、KKS、ZYC、KB 和 KLBL 6 个居群为 1 个群体;BL 和 LK 2 个居群为 1 个群体;BSD 居群单独为 1 个群体。



JMC: 军马场 Junmachang; HST: 黑山头 Heishantou; KKS: 科克苏 Kekesu; ZYC: 种羊场 Zhongyangchang; KB: 科博 Kebo; BL: 博乐 Bole; LK: 龙口 Longkou; KLBL: 喀拉不拉 Kalabula; BSD: 拜什墩 Baishidun.

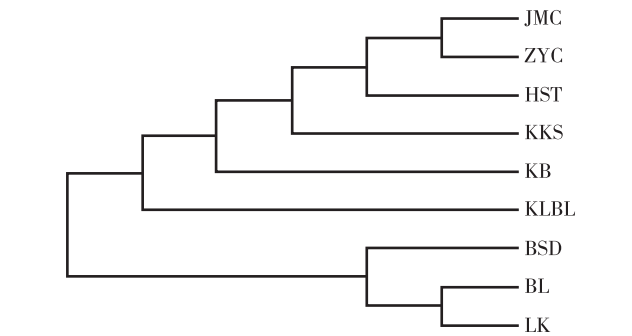
图 1 基于遗传距离的新疆地区半日花 9 个居群的主坐标分析(PCoA)
Fig. 1 Principal coordinate analysis (PCoA) of nine populations of *Helianthemum songaricum* Schrenk in Xinjiang region based on genetic distance

采用邻接法构建的新疆地区半日花 9 个居群的亲缘关系树状图(图 2)将半日花 9 个居群分成 2 支。其中,JMC、HST、KKS、ZYC、KB 和 KLBL 6 个居群为一支;BL、LK 和 BSD 3 个居群为另一支。

分子方差分析结果(表 5)表明:新疆地区半日花各居群 95.61% 的遗传变异发生在群体间($P < 0.001$),只有 3.70% 的遗传变异发生在居群内($P < 0.001$),仅 0.69% 的遗传变异发生在群体内居群间。

Mantel 检验结果(图 3)表明:新疆地区半日花 9 个居群间遗传距离与地理距离的相关系数为 0.324,说明新疆地区半日花各居群的遗传距离与地理距离

间存在一定程度的正相关,各居群间存在一定程度的地理隔离,居群间发生了明显的遗传分化。



JMC: 军马场 Junmachang; HST: 黑山头 Heishantou; KKS: 科克苏 Kekesu; ZYC: 种羊场 Zhongyangchang; KB: 科博 Kebo; BL: 博乐 Bole; LK: 龙口 Longkou; KLBL: 喀拉不拉 Kalabula; BSD: 拜什墩 Baishidun.

图 2 采用邻接法构建的新疆地区半日花 9 个居群的亲缘关系树状图
Fig. 2 Phylogenetic tree of nine populations of *Helianthemum songaricum* Schrenk in Xinjiang region constructed by neighbor-joining method

表 5 基于遗传距离的新疆地区半日花 9 个居群的分子方差分析
Table 5 Molecular variance analysis on nine populations of *Helianthemum songaricum* Schrenk in Xinjiang region based on genetic distance

变异来源 ¹⁾	自由度	平方和	方差组成	方差比例/% ²⁾
Source of variation ¹⁾	Degree of freedom	Sum of square	Variance component	Percentage of variance ²⁾
A	2	21.454	0.497 9	95.61*
B	6	0.337	0.003 6	0.69
C	83	1.600	0.019 3	3.70*

¹⁾ A: 群体间 Among groups; B: 群体内居群间 Among populations within group; C: 居群内 Within population.
²⁾ *: $P < 0.001$.

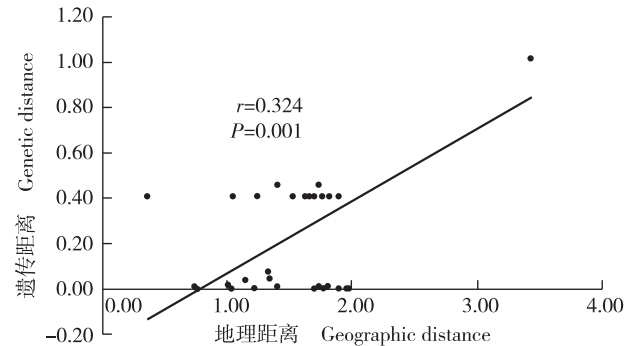


图 3 新疆地区半日花 9 个居群间遗传距离与地理距离关系的 Mantel 检验
Fig. 3 Mantel test on relationship of genetic distance and geographic distance among nine populations of *Helianthemum songaricum* Schrenk in Xinjiang region

3 讨 论

3.1 新疆地区半日花的遗传多样性

新疆地区半日花9个居群总的遗传多样性指数(0.583)高于中国西北干旱区的其他荒漠物种^[20-21],并显著高于半日花居群基于叶绿体基因间隔区 $trnD-trnT$ 和 $rps16-trnK$ 获得的遗传多样性指数(0.162)^[10],充分说明本研究使用的3个叶绿体微卫星多态性引物能有效检测新疆地区半日花的遗传多样性。

半日花为古老的地中海子遗植物,漫长的进化历史使其积累了一定水平的遗传变异,推测半日花祖先居群可能存在较高的遗传多样性,致使其子遗居群也具备一定程度的遗传多样性。与总的遗传多样性指数相比,新疆地区半日花居群内的遗传多样性指数很低(0.040),这可能是由于新疆地区的半日花分布面积狭小,且各居群的规模很小并呈片段化分布,导致其居群间的基因流减小或中断,致使其遗传多样性部分丧失,小居群的遗传漂变与近交效应加剧了部分等位基因固定,造成其遗传多样性降低^[22-23]。

3.2 新疆地区半日花的遗传结构

研究表明:新疆地区的半日花居群发生了明显的遗传分化,可被分成3个群体,且95.61%的遗传变异发生在群体间。主坐标分析(PCoA)和亲缘关系树状图的结果均表明博乐、龙口和拜什墩居群明显有别于其他居群;Mantel检验结果表明供试半日花居群间存在一定程度的地理隔离。新疆地区半日花居群的遗传结构可能与多种因子有关。首先,半日花的传播能力十分有限。由于半日花的胚和胚乳发育存在多种异常现象、大多数胚珠未受精或受精但不完全发育,致使每个子房只有1~3个胚珠能够正常发育,即每个果实只有1~3粒种子,产种率极低^[24]。此外,半日花种子萌发需要休眠,种子外壳坚硬、透水性差^[25],加上气候干旱,导致其种子萌发率很低^[24]。其次,半日花各居群间存在多重地理障碍,呈间断分布。伊犁河谷的北部有东南走向的科古琴山和婆罗科努山,南部有西南走向的那拉提山,中部有乌孙山和阿吾拉勒山,将伊犁河谷分成5个大小不同的河谷^[26],半日花就分布在这些河谷中。可见,有限的传播能力与多重地理障碍虽然限制了半日花居群间的基因流,但却增大了居群间的遗传分化。再次,半日

花居群规模减小也会影响其遗传结构。小居群无可避免地增加了自交、近交及遗传漂变效应,其中,自交或近交显著降低居群间的杂合度,遗传漂变使有害等位基因任意固定^[27],导致居群间的等位基因构成发生变化^[22]。

3.3 新疆地区半日花的保护措施

生境破碎化是很多陆地生态系统内植物面临的一个严峻生存考验,可导致植物的遗传多样性下降,短期内可使植物居群的适应性和再生能力降低,长此以往将会降低植物对自然选择的适应能力,最终导致植物灭绝^[28]。新疆地区半日花居群内的遗传多样性水平非常低,处于濒危状态,应进行有效的保护。根据本研究结果,建议采取以下保护措施:

1) 由于半日花居群数量较少,且居群规模很小,因此,应对其全部居群、个体及原始生境加以保护。适当加强对当地居民的宣传力度,防止过度放牧和樵采对半日花天然居群的危害;同时,为了加强对其原始生境的保护,应考虑建立相关自然保护区。

2) 建议对半日花天然居群进行复壮。建议搜集原居群的半日花种子,经人工育苗后再移植到原居群,促进原居群复壮;同时,搜集原居群附近的半日花种子,经人工育苗后再移植到其适宜生长但已灭绝的地点,使片段化居群间建立联系,促进基因交流。

3) 以半日花居群原生境为参考,选择合适地点进行迁地保护。在半日花所有居群的全部个体中收集种质资源,确保其种质资源具有最大的遗传代表性;同时,加快半日花种苗的培育工作,建立种质资源圃,用于后续自然居群的复壮。

4) 建议在新疆地区划分半日花居群管理单元。由于博乐、龙口和拜什墩的半日花居群具有特殊的遗传多样性,建议单独采集和培育这3个地点的种质资源,以免盲目混合造成远交衰退。

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: 第五十卷第二分册[M]. 北京: 科学出版社, 1990: 178.
- [2] 李新荣. 我国珍稀荒漠灌木半日花的适宜气候生态引种区的研究[J]. 生态学杂志, 1998, 17(2): 16-19.
- [3] 高天鹏, 张勇, 晋玲, 等. 珍稀濒危植物半日花研究进展[J]. 中国沙漠, 2006, 26(2): 312-316.
- [4] 国家环境保护局, 中国科学院植物研究所. 中国珍稀濒危保护植物名录: 第一册[J]. 林业科学, 2001, 37(1): 52-57.
- [5] EBERT D, PEAKALL R. Chloroplast simple sequence repeats (cpSSRs): technical resources and recommendations for expanding

- cpSSR discovery and applications to a wide array of plant species [J]. *Molecular Ecology Resources*, 2009, 9: 673–690.
- [6] VENDRAMIN G G, LELLI L, ROSSI P, et al. A set of primers for the amplification of 20 chloroplast microsatellites in Pinaceae [J]. *Molecular Ecology*, 1996, 5: 595–598.
- [7] 杜凤凤, 刘晓静, 常雅军, 等. 基于 SSR 标记的荷花品种遗传多样性及群体结构分析[J]. *植物资源与环境学报*, 2016, 25(1): 9–16.
- [8] 王雷宏, 郑玉红, 汤庚国. 基于 SSR 标记的 8 个山荆子居群遗传多样性和遗传关系分析[J]. *植物资源与环境学报*, 2012, 21(1): 42–46.
- [9] 麦 静, 杨志玲, 杨 旭, 等. 基于 SSR 标记的厚朴亲本及其子代群体的遗传多样性分析[J]. *植物资源与环境学报*, 2015, 24(3): 10–17.
- [10] SU Z H, ZHANG M L, SANDERSON S C. Chloroplast phylogeography of *Helianthemum songaricum* (Cistaceae) from northwestern China: implications for preservation of genetic diversity[J]. *Conservation Genetics*, 2011, 12: 1525–1537.
- [11] DOYLE J J, DOYLE J L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissues[J]. *Phytochemical Bulletin*, 1987, 19: 11–15.
- [12] SOUBANI E, HEDRÉN M, WIDÉN B. Phylogeography of the European rock rose *Helianthemum nummularium* (Cistaceae): incongruent patterns of differentiation in plastid DNA and morphology[J]. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 2014, 176: 311–331.
- [13] KEARSE M, MOIR R, WILSON A, et al. Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data[J]. *Bioinformatics*, 2012, 28: 1647–1649.
- [14] 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: 2537–2539.
- [15] WRIGHT S. The interpretation of population structure by F -statistics with special regard to systems of mating[J]. *Evolution*, 1965, 19: 395–420.
- [16] EXCOFFIER L, SMOUSE P E, QUATTRO J M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes-application to human mitochondrial-DNA restriction data [J]. *Genetics*, 1992, 131: 479–491.
- [17] TAMURA K, STECHER G, PETERSON D, et al. MEGA 6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2013, 30: 2725–2729.
- [18] POSADA D, CRANDALL K A, TEMPLETON A R. GeoDis: a program for the cladistic nested analysis of the geographical distribution of genetic haplotypes[J]. *Molecular Ecology*, 2000, 9: 487–488.
- [19] BOHONAK A J. IBD (isolation by distance): a program for analyses of isolation by distance [J]. *The Journal of Heredity*, 2002, 93: 153–154.
- [20] SU Z, PAN B, ZHANG M, et al. Conservation genetics and geographic patterns of genetic variation of endangered shrub *Ammopiptanthus* (Fabaceae) in northwestern China [J]. *Conservation Genetics*, 2016, 17: 485–496.
- [21] QIAN Z Q, XU L, WANG Y L, et al. Ecological genetics of *Reaumuria soongorica* (Pall.) Maxim. population in the oasis-desert ecotone in Fukang, Xinjiang, and its implications for molecular evolution [J]. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2008, 36: 593–601.
- [22] GAUDEUL M, TABERLET P, TILL-BOTTRAUD I. Genetic diversity in an endangered alpine plant, *Eryngium alpinum* L. (Apiaceae), inferred from amplified fragment length polymorphism markers[J]. *Molecular Ecology*, 2000, 9: 1625–1637.
- [23] KANG M, WANG J, HUANG H. Demographic bottlenecks and low gene flow in remnant populations of the critically endangered *Berchemiella wilsonii* var. *pubipetiolata* (Rhamnaceae) inferred from microsatellite markers[J]. *Conservation Genetics*, 2008, 9: 191–199.
- [24] 马学平, 赵程亮, 宋玉霞. 濒危植物半日花的研究现状及其保护对策[J]. *农业科学研究*, 2007, 28(1): 72–75.
- [25] 曹 瑞, 段飞舟, 马 虹, 等. 残遗植物半日花与四合木生理生态学特征的比较研究[J]. *西北植物学报*, 2001, 21(1): 184–187.
- [26] 张军民. 伊犁河流域地质构造及其地形地貌特点的研究[J]. *石河子大学学报(自然科学版)*, 2006, 24(4): 442–445.
- [27] LYNCH M, CONERY J, BURGER R. Mutational meltdowns in sexual populations[J]. *Evolution*, 1995, 49: 1067–1080.
- [28] YOUNG A, BOYLE T, BROWN T. The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants [J]. *Trends in Ecology and Evolution*, 1996, 11: 413–418.

(责任编辑: 佟金凤)