

DOI:10.11913/PSJ.2095-0837.2016.20238

魏青永, 郭水良, 曹同, 于晶. 基于 ISSR 数据探讨卷叶凤尾蕨 (*Fissidens dubius* P. Beauv.) 遗传多样性[J]. 植物科学学报, 2016, 34(2): 238-245Wei QY, Guo SL, Cao T, Yu J. Genetic diversity of *Fissidens dubius* P. Beauv. based on ISSR data[J]. *Plant Science Journal*, 2016, 34(2): 238-245

基于 ISSR 数据探讨卷叶凤尾蕨 (*Fissidens dubius* P. Beauv.) 遗传多样性

魏青永, 郭水良, 曹同, 于晶*

(上海师范大学生命与环境科学学院, 上海 200234)

摘要: 卷叶凤尾蕨 (*Fissidens dubius* P. Beauv.) 是凤尾蕨科凤尾蕨属植物, 该种分布广泛, 形态变异强烈。为了解其遗传多样性及种群遗传结构特点, 本研究利用 ISSR 分子标记对采集于浙江、福建、广西、四川、辽宁 5 个省区的卷叶凤尾蕨 14 个自然种群的遗传多样性进行了评价。结果显示: 筛选出的 12 对引物共扩增出 259 条清晰、重复性高的条带, 其中多态性位点有 248 个, 多态位点百分率为 95.75%; 种群总的 Nei's 基因多样性指数为 0.2327, Shannon's 信息指数为 0.3701, 说明卷叶凤尾蕨遗传多样性水平较高; 14 个种群的遗传分化系数 (G_{st}) 为 0.7078, 种群间的基因流 (N_m) 为 0.1864, 表明大部分遗传变异 (72.01%) 存在于种群间, 27.99% 的遗传变异存在于种群内, 即卷叶凤尾蕨种群间遗传分化明显。基于 ISSR 数据的聚类分析表明, 在遗传距离 50 为分组阈值处, 14 个种群可被分为 6 组 ($G_1 \sim G_6$): G_1 为来自于浙江省不同采集地点的 8 个种群 (JHBS 除外); G_2 由浙江金华北山种群 (JHBS) 组成; G_3 包括福建武夷山 (WYS) 和天宝岩种群 (TBY); G_4 、 G_5 、 G_6 分别由广西龙胜县花坪种群 (GX)、四川龙池种群 (LC)、辽宁白石砬子保护区种群 (BSLZ) 组成, 表明卷叶凤尾蕨种群间的遗传分化主要由地理距离造成, 种群内的遗传分化可能与其生境的异质性有关。

关键词: 卷叶凤尾蕨; ISSR; 遗传多样性中图分类号: Q949.35⁺2

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2016)02-0238-08

Genetic Diversity of *Fissidens dubius* P. Beauv. Based on ISSR Data

WEI Qing-Yong, GUO Shui-Liang, CAO Tong, YU Jing*

(College of Life and Environmental Sciences, Shanghai Normal University, Shanghai 200234, China)

Abstract: *Fissidens dubius* P. Beauv., a species of *Fissidens* Hedw. belonging to Fissidentaceae (Musci), is widely distributed and shows high morphological variation. To understand its genetic diversity and structure, 14 populations of *F. dubius* collected from Zhejiang, Fujian, Guangxi, Sichuan and Liaoning Provinces were tested using ISSR markers. Of the 56 ISSR primers tested, 12 were selected to amplify the DNA from 101 samples of the 14 populations, with 259 clear and repeatable bands obtained. We found 248 polymorphic loci, with 95.75% polymorphic loci, a Nei's genetic diversity index of 0.2327, and a Shannon's information index of 0.3701. The populations of *F. dubius* had a high level of genetic diversity. The genetic differentiation index (G_{st}) of the 14 populations was 0.7078, the gene flow among these populations was 0.1864, and the majority of genetic variation (72.01%) existed among

收稿日期: 2015-10-27, 退修日期: 2015-11-25。

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31570208, 31370233) 和上海师范大学前瞻性预研项目 (DYL201503)。

This work was supported by grants from the National Nature Science Foundation of China (31570208, 31370233) and Prospective Project of Shanghai Normal University (DYL201503)。

作者简介: 魏青永 (1990-), 男, 硕士研究生, 研究方向为苔藓植物学 (E-mail: 995710628@qq.com)。

* 通讯作者 (Author for correspondence. E-mail: yujing@shnu.edu.cn)。

populations, with only 27.99% existing within populations. These results demonstrated that *F. dubius* had obvious genetic differentiation among populations. Based on ISSR data, the dendrogram with a grouping threshold at a genetic distance of 50 showed that populations could be divided into six groups (G1-G6): Group 1 included eight populations from Zhejiang Province, except the Jinhuabeishan population, Group 2 included the Jinhuabeishan population, Group 3 included the Fujian populations from Wuyishan and Tianbaoyan, Group 4 included populations from Huaping of Guangxi Province, Group 5 included Longchi population of Sichuan Province, and Group 6 included Bashilazi of Liaoning Province. Our analyses showed geographical genetic differentiation among populations and genetic differentiation relative to habitat heterogeneity within populations of *F. dubius*.

Key words: *Fissidens dubius* P. Beauv.; ISSR; Genetic diversity

目前,在分子水平上对苔藓植物进行遗传研究一般采用分子标记技术,如 RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)、ISSR (Inter-Simple Sequence Repeat, 简单序列重复区间扩增多态性)、AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)、SRAP (Sequence-Related Amplified Polymorphism) 等^[1]。其中,由加拿大 Zietkiewicz 等提出的 ISSR 是以锚定微卫星为引物扩增间隔不是很大的 2 个 SSR 间的序列,再通过凝胶电泳条带分析样本 DNA 多态性的一种分子标记。其优点是:无需预知样本基因组的任何信息;可以在植物生长周期的任何阶段进行检测;引物设计容易;实验成本低;样本 DNA 用量少^[3]。因此,ISSR 被认为是一种非常理想的分子标记方法,并已被广泛应用于许多被子植物^[4-6]的遗传多样性分析中,但在苔藓植物研究中常使用的是 RAPD。例如:Skotnicki 等^[7]对黄瓜丝藓 (*Pohlia nutans* (Hedw.) Lindb.)、刘丽等^[8]对鼠尾藓 (*Myuroclada maximowiczii* (G. G. Borshch.) Steere & W. B. Schofield)、郭水良等^[9]对中华蓑藓 (*Macromitrium cavaleriei* Cardot & Thér.)、李倩影^[10]对小羽藓属 (*Haplocladium* Müll. Hal.) 遗传多样性的研究。国内仅汪琛颖等^[3, 11]、王莹莹^[12]利用 ISSR 对狭边大叶藓 (*Rhodobryum ontraiense* (Kindb.) Paris) 和真藓科 (Bryaceae) 以及浙江千岛湖大灰藓 (*Hypnum plumaforme* Wilson) 和东亚小金发藓 (*Pogonatum inflexum* (Lindb.) Sande Lac) 遗传多样性的研究。

卷叶凤尾蕨 (*Fissidens dubius* P. Beauv.) 为真藓亚纲凤尾蕨科 (Fissidentaceae) 植物,除中国

河南、山西、海南等少数省份没有分布报道外,其余省份均有该种分布^[15-18]。卷叶凤尾蕨植物体形态、大小、分枝以及不同部位叶片特征变化很大,叶片细胞大小、叶边分化边缘宽度、叶尖形态、鞘部对称程度、叶边牙齿等也发生了强烈变异。贾渝和何思^[16]在对中国苔藓植物进行修订时,列出了该种的 4 个异名 (*F. cristatus* Wilson ex Mitt.、*F. decipiens* De Not.、*F. micro-japonicus* Paris、*F. obsolete-marginatus* Müll.); Bescherelle 曾将该种列为厥叶凤尾蕨的一个变种 (*F. adianthoides* var. *savatieri* Besch.)^[21]; Grout 也曾将该种列为 *F. adianthoides* var. *semicristatus* Grout^[22];由密苏里植物园主办的 Tropics 网站 (<http://www.tropicos.org/>) 收录的该种异名达 11 个,说明该种形态特征变异强烈。为了探讨卷叶凤尾蕨的形态变异是否具有遗传特征以及遗传变异的可能原因,本研究采集了该种来自浙江、福建、四川、广西和辽宁 5 个省区的 14 个种群,并利用 ISSR 标记开展了该种遗传多样性及其分化特点的研究。

1 材料与方法

1.1 实验材料

卷叶凤尾蕨 14 个种群分别采自浙江、福建、广西、四川和辽宁 5 个省区,其具体采集地点信息及种群样本数量详见表 1。为确保采集的样品是不同克隆植株,每个种群样品间的取样距离 ≥ 5 m^[12]。采集卷叶凤尾蕨的植株并置于纸制标本袋中,自然风干后冷冻、备用。卷叶凤尾蕨不同采集地点的凭证标本保存于上海师范大学生命与环境科学学院标本馆 (SHNU); Mix 和水由康为公司

提供; 56 条引物由上海生物工程有限公司合成。

自动数码凝胶成像分析系统(Tanon 2500)进行观察、拍照。

1.2 DNA 提取及 PCR 扩增

卷叶凤尾蕨新鲜配子体用无菌水冲洗干净并干燥后, 采用植物 DNA 提取试剂盒(天根: Cat. DP305-2)提取其基因组 DNA。基于加拿大哥伦比亚大学(UBC)公布的 100 条 ISSR 常用引物, 选取其中退火温度在 50 ~ 55℃之间的 56 条引物进行多态性筛选, 共筛选出条带清晰、重复性好、稳定性好的 12 对引物(表 2)。PCR 反应体系采用康为公司提供的 Mix 50 μL; PCR 扩增程序参考汪琛颖^[3]的方法; PCR 扩增产物经含 EB 核酸染料的 2%琼脂糖凝胶电泳(电压为 80 V)检测后, 应用全

1.3 数据记录与分析

将凝胶电泳图中的每一条条带均视为一个分子标记, 按照电泳图谱处于同一位置 DNA 条带的有无进行统计, 有带记为 1, 无带记为 0, 建立一个 0/1 二元数据矩阵。采用 Popgene 1.32 软件对卷叶凤尾蕨 14 个种群进行遗传多样性参数分析, 并分别计算多态位点百分率(*PPB*)、*Nei's* 基因多样性(*H*)、*Shannon's* 信息指数(*I*)以及各种群间的遗传分化系数(*Gst*)和基因流(*Nm*)等; 采用 Popgene 1.32 软件分别构建 14 个种群的遗传

表 1 卷叶凤尾蕨 14 个种群的采集信息
Table 1 Collection information of 14 *Fissidens dubius* populations

种群编号 Population number	种群采集地点 Locality	经纬度 Longitude and latitude	海拔(m) Altitude	采集数量 Sample number
1. WYL	浙江乌岩岭保护区 Wuyanling Reserve, Zhejiang	27°21'15.58" N, 119°45'59.77" E	595.44	14
2. DSXJ	浙江大神仙居保护区 Dashenxianju Reserve, Zhejiang	28°42'29.78" N, 120°36'21.99" E	272.36	11
3. LWT	浙江龙湾潭国家森林公园 Longwantan National Forest Park, Zhejiang	28°20'42.41" N, 120°51'37.75" E	239.55	13
4. LTS	浙江龙塘山保护区 Longtangshan Reserve, Zhejiang	30°05'48.75" N, 118°53'28.75" E	892.54	5
5. SXW	浙江顺溪坞保护区 Shunxiwu Reserve, Zhejiang	30°02'46.23" N, 118°56'18.16" E	437.78	5
6. LY	浙江凉源保护区 Liangyuan Reserve, Zhejiang	30°10'59.55" N, 119°12'39.76" E	363.00	11
7. QLF	浙江清凉峰保护区 Qingliangfeng Reserve, Zhejiang	30°06'30.34" N, 118°54'29.64" E	562.89	5
8. GX	广西花坪保护区 Huaping Reserve, Guangxi	25°37'58.76" N, 109°54'33.86" E	747.63	6
9. YDS	浙江雁荡山保护区 Yandangshan Reserve, Zhejiang	28°21'54.38" N, 120°33'19.16" E	257.27	6
10. TBY	福建天宝岩保护区 Tianbaoyan Reserve, Fujian	25°53'47.60" N, 117°29'42.73" E	578.24	5
11. JHBS	浙江金华北山保护区 Jinhuaobeishan Reserve, Zhejiang	29°12'20.96" N, 119°37'14.29" E	653.76	5
12. WYS	福建武夷山保护区 Wuyishan Reserve, Fujian	27°45'22.74" N, 117°39'45.16" E	421.32	5
13. LC	四川龙池国家森林公园 Longchi National Forest Park, Sichuan	31°06'44.75" N, 103°33'44.15" E	2180.12	5
14. BSLZ	辽宁省白石砬子保护区 Baishilazi Reserve, Liaoning	40°55'28.70" N, 124°51'28.14" E	564.34	5

表 2 ISSR 引物序列及其对卷叶凤尾蕨种群的 PCR 扩增结果
Table 2 Primers used for ISSR and PCR amplification of *Fissidens dubius* populations

引物 Primers	引物序列(5'-3') Primer sequence	扩增位点数 Total number of loci	多态性位点数 Number of polymorphic loci	多态位点百分率(%) Percentage of polymorphic loci
UBC807	AGAGAGAGAGAGAGAGT	23	22	92.86
UBC811	GAGAGAGAGAGAGAGAC	27	27	100.00
UBC826	ACACACACACACACACC	22	21	95.45
UBC827	ACACACACACACACACG	23	22	95.65
UBC834	AGAGAGAGAGAGAGAGYT	22	21	95.45
UBC835	AGAGAGAGAGAGAGAGYC	24	23	95.83
UBC842	GAGAGAGAGAGAGAGAYG	26	26	100.00
UBC855	ACACACACACACACACYT	21	20	95.24
UBC856	ACACACACACACACACYA	21	20	95.24
UBC880	GGAGAGGAGAGGAGA	22	21	95.45
UBC889	DBDACACACACACACAC	15	13	86.67
UBC891	HVHTGTGTGTGTGTGTG	13	12	92.31
平均值 Average	—	21.58	20.67	—
总和 Total	—	259	248	95.75

距离矩阵和地理距离矩阵后, 运用 PCORD 4.0 软件分析各种群间遗传变异与地理距离的相关性。

2 结果与分析

2.1 卷叶凤尾蕨 ISSR-PCR 扩增结果

利用筛选出的扩增条带清晰、重复性好的 12 对引物, 对卷叶凤尾蕨 14 个种群 101 个样品进行 PCR 扩增(图 1), 其扩增条带大小为 100 ~ 2800 bp。由表 2 可见, 电泳后共检测到 259 个扩增位点, 其中多态性位点 248 个, 多态位点百分率(*PPB*)为 95.75%, 表明卷叶凤尾蕨在分子水平上具有丰富的多态性, 遗传基础较广; 平均每对引物扩增位点数为 21.58 个, 多态性位点数为 20.67 个, 其中引物 UBC811 的扩增位点最多(27 个), UBC842 次之(26 个), UBC891 最少(13 个); 引物 UBC811 和 UBC842 的多态位点百分率最高(达 100%), UBC889 的多态位点百分率虽最低, 但也达 86.67%, 说明本研究筛选出的 12 对引物均适于卷叶凤尾蕨遗传多样性的研究。12 条 ISSR 引物序列中, 碱基 A 含量都非常丰富; 其中有 5 条富含碱基 C, 有 8 条富含碱基 G。

2.2 卷叶凤尾蕨遗传多样性分析

多样性指数通常用来表示种群内和种群间的遗传变异程度^[10]。卷叶凤尾蕨 14 个种群的多态位点百分率(*PPB*)变化范围为 24.25% ~ 73.79%(表 3), 其中 *PPB* 最高的是浙江清凉峰自然保护区凉源种群(LY), 最低的是福建天宝岩保护区种群(TBY), 仅为 24.25%; 各种群内平均多态位点百分率为 46.79%, 而在物种水平上其种群总的多态位点百分率为 95.75%。

Shannon's 信息指数(*I*)的变化范围为 0.0475 ~ 0.2061(表 3), 说明不同地理来源的卷叶凤尾蕨种群内的遗传多样性存在差异。其中: Shannon's 信息指数最高的是浙江清凉峰的凉源种群(LY), 最低的是福建天宝岩保护区种群(TBY); 各个种群内平均 Shannon's 信息指数为 0.1036, 而在物种水平上其种群总的多样性指数为 0.3701。

卷叶凤尾蕨种群的 Nei's 基因多样性(*H*)为 0.0315 ~ 0.1335(表 3), 其中 Nei's 基因多样性最高的是浙江清凉峰的凉源种群(LY), 最低的是福建天宝岩保护区种群(TBY); 各个种群内平均 Nei's 基因多样性为 0.0680, 而在物种水平上其种

群总的 Nei's 基因多样性为 0.2327。

由表 3 可见, 卷叶凤尾蕨 14 个种群的多态位点百分率(*PPB*)、Shannon's 信息指数(*I*)和 Nei's 基因多样性(*H*)比较一致, 仅龙湾潭(LWT)和大神仙居(DSXJ)种群的 Shannon's 信息指数和 Nei's 基因多样性高于广西花坪(GX)和四川龙池(LC)种群, 而其多态位点百分率则相反。

2.3 种群的遗传分化分析

Nei's 基因多样性指数为总的遗传变异中种群间变异所占的比例, 是衡量种群遗传分化的最常用指标^[9]。由 Shannon's 信息指数对卷叶凤尾蕨 14 个种群估算的遗传分化分析中, 种群内遗传多样性(*Hpop*)为 0.1036, 种群总的遗传多样性(*Hsp*)为 0.3701, 其中 72.01% 的遗传变异存在于种群间, 27.99% 的遗传变异存在于种群内。由 Nei's 基因多样性对卷叶凤尾蕨 14 个种群估算的遗传分化分析中, 种群内基因多样性(*Hs*)为 0.0680, 种群总的基因多样性(*Ht*)为 0.2327, 遗传分化系数(*Gst*)为 0.7078, 表明 70.78% 的遗传变异存在于种群间, 29.22% 的遗传变异存在于种群内。由 Shannon's 信息指数和 Nei's 基因多样性估算的遗传分化结果一致, 即卷叶凤尾蕨的遗传变异主要存在于种群间。同时, 种群的基因流($Nm = 0.1864$)较小, 说明种群间的基因流动水平低、基因交流较少, 种群之间的遗传隔离明显, 不同的种群通过种群内遗传变异对不同环境产生适应。

2.4 种群间的遗传距离及聚类分析

由表 4 可见, 卷叶凤尾蕨 14 个种群间的遗传一致度在 0.6846 ~ 0.9522 之间变化, 平均值为 0.8050, 小于中华蓑蕨种群间的遗传一致度^[9], 说明卷叶凤尾蕨 14 个种群间的遗传相似程度较小, 种群间的遗传分化明显。其中: 浙江大神仙居(DSXJ)和龙湾潭(LWT)种群的遗传相似性最高, 为 0.9522; 其次是浙江乌岩岭(WYL)和大神仙居种群(DSXJ), 遗传相似系数为 0.9363; 四川龙池种群(LC)和浙江金华北山种群(JHBS)的遗传相似性较小, 为 0.6846。卷叶凤尾蕨 14 个种群间的遗传距离在 0.0490 ~ 0.3789 之间变化, 平均值为 0.2202。

利用 Popgene 1.32 和 PCORD 4.0 软件根据卷叶凤尾蕨种群间的遗传距离构建的遗传关系聚类树状图(图 2)显示, 以遗传距离 50 为分组阈值可

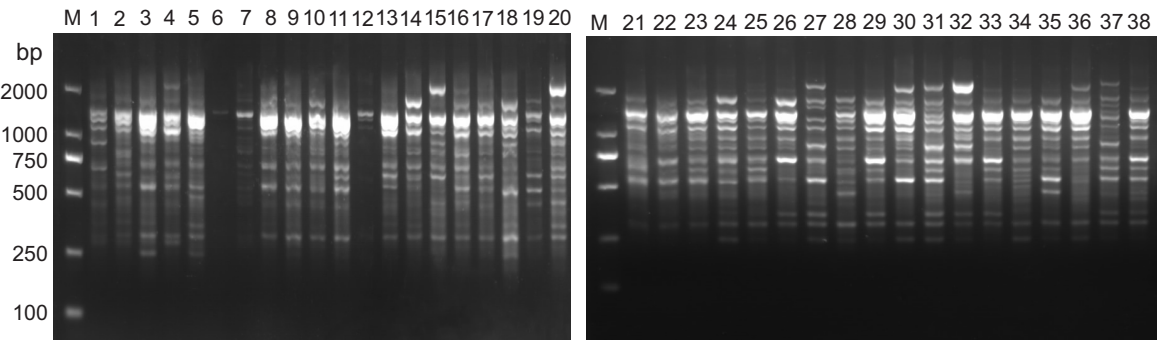


图 1 引物 UBC835 对卷叶凤尾蕨部分样品的 ISSR-PCR 扩增
Fig. 1 PCR amplification products of *Fissidens dubius* samples with ISSR primer UBC835

表 3 基于 ISSR 标记的卷叶凤尾蕨遗传多样性
Table 3 Genetic diversity of *Fissidens dubius* based on ISSR

种群编号 Population codes	样品数量 Number of samples	多态性位点数 Number of polymorphic loci	多态位点百分率(%) Percentage of polymorphic loci (PPB)	Nei's 基因多样性 Nei's gene diversity (<i>H</i>)	Shannon's 信息指数 Shannon's information index (<i>I</i>)
1. 乌岩岭 (WYL)	14	95	64.19	0.0953	0.1508
2. 大神仙居 (DSXJ)	11	54	44.63	0.0611	0.0967
3. 龙湾潭 (LWT)	13	54	44.63	0.0676	0.1039
4. 龙塘山 (LTS)	5	51	45.54	0.0761	0.1145
5. 顺溪坞 (SXW)	5	53	46.90	0.0775	0.1159
6. 凉源 (LY)	11	107	73.79	0.1335	0.2061
7. 清凉峰 (QLF)	5	48	48.00	0.0719	0.1071
8. 广西花坪 (GXHP)	6	51	59.30	0.0607	0.0937
9. 雁荡山 (YDS)	6	51	47.22	0.0735	0.1106
10. 天宝岩 (TBY)	5	24	24.25	0.0315	0.0475
11. 金华北山 (JHBS)	5	30	32.26	0.0454	0.0658
12. 四川龙池 (LC)	5	45	46.39	0.0590	0.0899
13. 武夷山 (WYS)	5	36	38.71	0.0472	0.0717
14. 白石砬子 (BSLZ)	5	35	39.33	0.0519	0.0765
平均值 Average	—	52.43	46.79	0.0680	0.1036

表 4 基于 ISSR 标记的卷叶凤尾蕨 14 个种群间的遗传相似系数和遗传距离
Table 4 Nei's genetic identity and genetic distance of 14 *Fissidens dubius* populations

种群 Populations	1. WYL	2. DSXJ	3. LWT	4. LTS	5. SXW	6. LY	7. QLF	8. GX	9. YDS	10. TBY	11. JHBS	12. WYS	13. LC	14. BSLZ
1. WYL	****	0.9363	0.9226	0.8807	0.8812	0.8866	0.8715	0.8237	0.8721	0.8015	0.8111	0.7405	0.8107	0.7538
2. DSXJ	0.0658	****	0.9522	0.8628	0.8744	0.8617	0.8415	0.7847	0.8559	0.801	0.7979	0.6986	0.8114	0.7336
3. LWT	0.0806	0.049	****	0.8751	0.868	0.8506	0.838	0.7702	0.8441	0.7867	0.7643	0.6873	0.7934	0.7251
4. LTS	0.127	0.1476	0.1334	****	0.9206	0.8864	0.8699	0.8043	0.866	0.8015	0.7676	0.7071	0.8199	0.7323
5. SXW	0.1264	0.1342	0.1415	0.0827	****	0.9096	0.8727	0.8039	0.8806	0.8025	0.7769	0.7112	0.8243	0.7333
6. LY	0.1204	0.1489	0.1618	0.1206	0.0947	****	0.9036	0.8714	0.8977	0.8124	0.8088	0.7785	0.8137	0.771
7. QLF	0.1376	0.1726	0.1768	0.1393	0.1361	0.1013	****	0.8256	0.8864	0.795	0.7913	0.733	0.8141	0.7329
8. GX	0.194	0.2424	0.2612	0.2178	0.2183	0.1376	0.1917	****	0.8124	0.7453	0.7607	0.8076	0.7572	0.7936
9. YDS	0.1368	0.1556	0.1694	0.1439	0.1271	0.1079	0.1206	0.2077	****	0.8025	0.7843	0.7155	0.8544	0.7286
10. TBY	0.2213	0.2219	0.2399	0.2213	0.22	0.2078	0.2294	0.294	0.2201	****	0.7244	0.7073	0.8048	0.7008
11. JHBS	0.2094	0.2257	0.2688	0.2645	0.2524	0.2122	0.2341	0.2735	0.243	0.3224	****	0.6846	0.7574	0.6876
12. WYS	0.3004	0.3586	0.375	0.3466	0.3408	0.2504	0.3106	0.2136	0.3347	0.3463	0.3789	****	0.7048	0.7951
13. LC	0.2098	0.209	0.2314	0.1986	0.1932	0.2061	0.2056	0.2782	0.1574	0.2172	0.2779	0.3498	****	0.7256
14. BSLZ	0.2826	0.3098	0.3214	0.3115	0.3102	0.2601	0.3107	0.2312	0.3167	0.3555	0.3745	0.2293	0.3208	****

注：对角线右上方为遗传相似系数，左下方为遗传距离。居群编号同表 1。
Note: Top right of diagonal is genetic similarity coefficients, and lower left is genetic distances. Population codes are the same as those in Table 1.

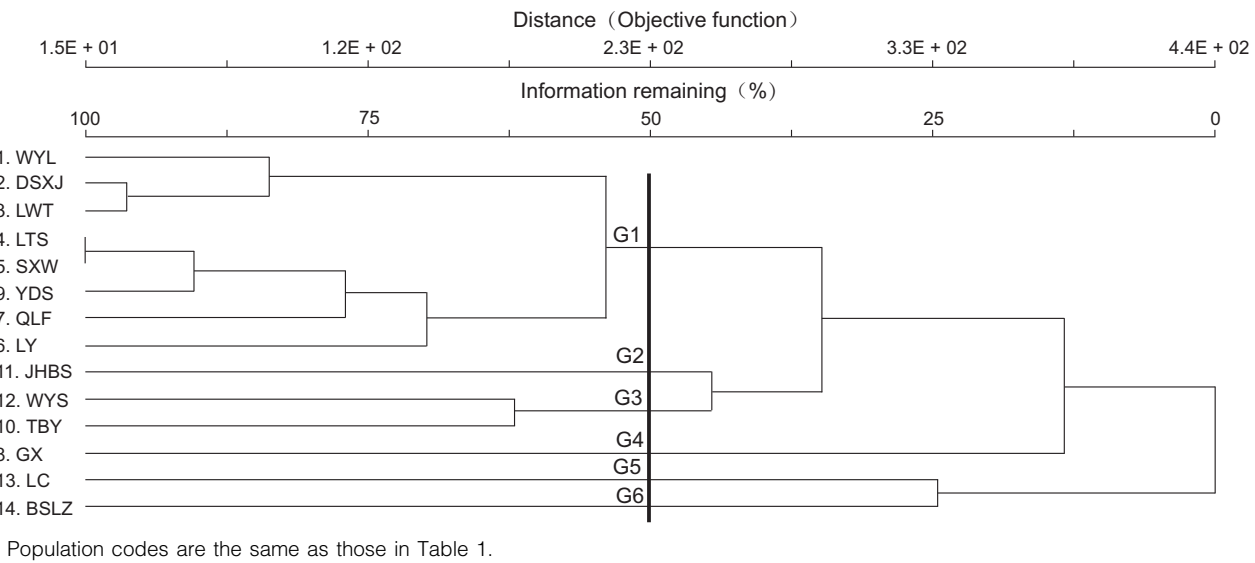


图 2 卷叶凤尾蕨 14 个种群的遗传距离聚类图

Fig. 2 Clustering dendrogram of 14 *Fissidens dubius* populations based on genetic distances

以将 14 个种群分为 6 组(G1 ~ G6)。其中：G1 为来自于浙江省不同采集地点的 8 个种群(不包括 JHBS 种群)；G2 由浙江金华北山种群(JHBS)组成；G3 包括福建武夷山(WYS)和天宝岩种群(TBY)；G4、G5、G6 分别由广西龙胜县花坪种群(GX)、四川龙池种群(LC)、辽宁白石砬子保护区种群(BSLZ)组成。聚类树状图不仅形象直观地展示了不同种群间的遗传差异，还显示出卷叶凤尾蕨种群间的遗传距离与地理距离间呈现出一定的相关性，即种群间地理距离越近其遗传距离越小，地理距离越远其遗传距离越大。

由于 ISSR 的数据为 0/1 二元结构，适合应用 Jaccard 系数比较两者之间的距离关系，并用 Bray-curtis 系数衡量对象间的关系^[23]。为分析基于 ISSR 数据的种群间遗传分化与地理来源间的相关关系，我们采用 Popgen 1.32 软件计算出卷叶凤尾蕨 14 个种群间的遗传距离矩阵和地理距离矩阵，然后应用 R 语言程序计算两个距离矩阵之间的相关性。结果显示(图 3)，两者间的相关系数为 0.703($P < 0.01$)，反映出种群间遗传分化与其地理距离之间呈极显著正相关。

3 讨论

苔藓植物的遗传结构主要与繁育方式有关。郭水良等^[9]基于 RAPD 数据探讨了中华蓑蕨 4 个种群形态变异的遗传基础，发现该种在物种水平上的

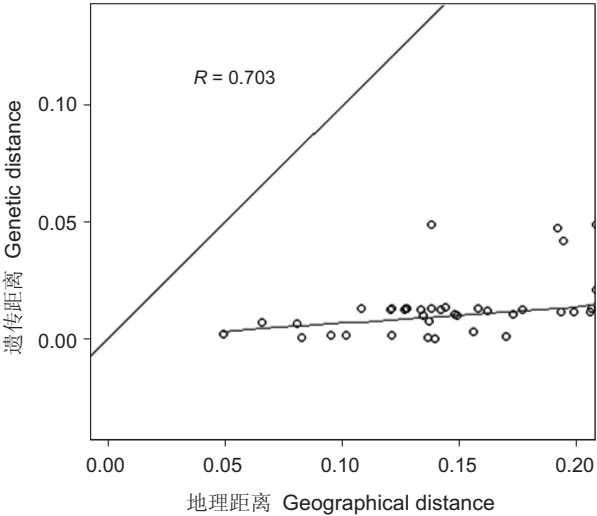


图 3 14 个种群的地理距离矩阵和遗传距离相关性 Shepard 图

Fig. 3 Shepard diagram revealing correlation between geographical distance and genetic distance matrix of 14 *Fissidens dubius* populations

Shannon's 信息指数为 0.5126，种群的平均信息指数为 0.4055，总的 Nei's 基因多样性指数为 0.3307，平均 Nei's 基因多样性指数为 0.2755；刘丽等^[8]也应用 RAPD 分子标记对鼠尾蕨 8 个种群的遗传多样性进行了评估，发现该种 Shannon's 信息指数为 0.4877，Nei's 基因多样性指数为 0.3326，种群内平均 Nei's 基因多样性指数为 0.2228；汪琛颖和赵建成^[3]发现狭边大叶蕨种群的 Nei's 基因多样性指数为 0.1530，Shannon's 信息指数为 0.2228，遗传分化指数(G_{st})为 0.2997，

并认为该种的种群遗传距离和地理距离之间没有相关性; 本研究中卷叶凤尾蕨种群的 Shannon's 信息指数为 0.3701, 种群内平均 Shannon's 信息指数为 0.1036, Nei's 基因多样性指数为 0.2922, 种群内平均遗传多样性指数为 0.0680。说明卷叶凤尾蕨的遗传多样性与鼠尾蕨相近, 高于狭边大叶蕨但低于中华蕨。卷叶凤尾蕨种群间的变异程度远远大于种群内, 因在野外很少发现卷叶凤尾蕨孢子体, 说明该种有性繁殖能力弱, 配子体主要通过营养繁殖扩展种群, 这种繁殖方式使其种群内遗传多样性较低。

郭水良等^[9]、汪琛颖和赵建成^[3]分别对中华蕨和狭边大叶蕨的遗传多样性进行研究, 认为种群的遗传距离与地理距离之间无相关性, 这可能与其取样过少、种群的地理来源范围过窄有关。刘丽等^[8]在分析鼠尾蕨 8 个种群的遗传多样性时, 发现不同种群间的遗传距离与其空间距离在一定范围内存在相关性。本文研究结果也表明, 卷叶凤尾蕨种群间的遗传分化与地理距离之间存在极显著的相关性。

Wright^[20]认为, 种群间基因流 $N_m > 1$ 时, 则能发挥其均质化作用; $N_m < 1$ 时, 则表明基因流成为遗传分化的主要因素。不同的基因型在不同的微生境上的适合度不同, 导致具有相同基因型的个体聚集在相似的微生境上, 从而产生种群间的遗传分化。本研究中卷叶凤尾蕨种群的基因流为 0.1864, 遗传分化系数 (G_{st}) 为 0.7078, 说明卷叶凤尾蕨种群间虽然有一定的基因流动, 但流动水平较低且主要存在于生境相近的种群间。

参考文献:

- [1] Vos P, Hoger R, Bleeker M, Reijans M, Lee TVD, *et al.* AFLP: a new technique for DNA fingerprinting[J]. *Nucleic Acids Res*, 1995, 23(21): 4407–4414.
- [2] Zietkiewicz E, Rafalski A, Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification[J]. *Genomics*, 1994, 20(2): 176–183.
- [3] 汪琛颖, 赵建成. 狭边大叶蕨 (*Rhodobryum ontariense*) 遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 贵州师范大学学报: 自然科学版, 2010, 4(28): 33–40.
Wang CY, Zhao JC. Genetic diversity in a medicinal plant species: *Rhodobryum ontariense* (Bryaceae), detected by ISSR[J]. *Journal of Guizhou Normal University: Natural Sciences*, 2010, 28(4): 33–40.
- [4] 吴雪琴. 南岭地区观光木种群遗传多样性的 ISSR 分析[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2013.
Wu XQ. ISSR analysis on genetic diversity of *Tsoongiodendron odorum* populations from the Nanling Mountains[D]. Changsha: Central South University of Forestry & Technology, 2013.
- [5] 王仕玉, 郭凤根, 张应华, 杨正安. 18 份滇产岩白菜资源的 ISSR 分析[J]. 中国农学通报, 2012, 28(7): 114–118.
Wang SY, Guo FG, Zhang YH, Yang ZA. ISSR Analysis of 18 *Bergenia purpurascens* resources in Yunnan[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2012, 28(7): 114–118.
- [6] 吴祝华, 施季森, 席梦利, 姜福星, 邓明文. 百合属野生种及品种亲缘关系的 ISSR 分析[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(1): 19–22.
Wu ZH, Shi JS, Xi ML, Jiang FX, Deng WM. Genetic relationship analysis between wild species and cultivars of *Lilium* by ISSR markers[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2012, 40(1): 19–22.
- [7] Skotnicki M, Bargagli R, Ninham J. Genetic diversity in the moss *Pohlia nutans* on geothermal ground of Mount Rittmann, Victoria Land, Antarctica[J]. *Polar Biology*, 2002, 25(10): 771–777.
- [8] 刘丽, 朱永青, 王幼芳. 鼠尾蕨不同种群间形态及 RAPD 分析[J]. 云南植物研究, 2006, 28(6): 570–574.
Liu L, Zhu YQ, Wang YF. Morphological and RAPD analyses of different *Myuroclada maximowiczii* (Brachytheciaceae) populations[J]. *Acta Botanica Yunnanica*, 2006, 28(6): 570–574.
- [9] 郭水良, 郑园园, 姜玉霞, 沈蕾. 基于 RAPD 数据探讨中华蕨 (*Macromitrium cavaleriei* Card. & Thér.) 形态变异的遗传基础[J]. 植物科学学报, 2011, 29(3): 312–318.
Guo SL, Zheng YY, Lou YX, Shen L. Genetic background of morphological variation in *Macromitrium cavaleriei* Card. & Thér. based on RAPD[J]. *Plant Science Journal*, 2011, 29(3): 312–318.
- [10] 李倩影. 小羽蕨属 (*Haplocladium*) 植物遗传多样性及其与环境因子关系分析[D]. 上海: 上海师范大学, 2010.
Li QY. Genetic biodiversity of moss genus *Haplocladium* and its relationship with the environmental factors[D]. Shanghai: Shanghai Normal University, 2010.
- [11] 汪琛颖, 赵建成. 真蕨科植物 ISSR-PCR 反应体系的优化及 ISSR 指纹图谱的初步构建[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(27): 16490–16493.
Wang CY, Zhao JC. Optimization of ISSR-PCR reaction system and preliminary construction of ISSR fingerprinting of some species in Bryaceae[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2011, 39(27): 16490–16493.
- [12] 王莹莹. 浙江千岛湖生境片段化对苔藓植物物种及遗传多样

性的影响[D]. 上海：华东师范大学, 2011.

Wang YY. Effects of habitat fragmentation on bryophytes richness and genetic diversity in Thousand-island Lake region, Zhejiang [D]. Shanghai: East China Normal University, 2011.

[13] 韩留福, 王晓蕊, 赵建成, 张红日. 6 种凤尾蕨属植物茎的比较解剖学研究[J]. 河北师范大学学报: 自然科学版, 2003, 27(6): 620–622, 637.

Han LF, Wang XR, Zhao JC, Zhang HR. A comparison of anatomy of the stems of six species of the genus *Fissidens* Hedw [J]. *Journal of Hebei Normal University: Natural Science Edition*, 2003, 27(6): 620–622, 637.

[14] 韩留福, 赵建成, 唐伟斌. 河北省凤尾蕨属植物的初步研究[J]. 西北植物学报, 2001, 21(4): 740–748.

Han LF, Zhao JC, Tang WB. A preliminary study of *Fissidens* Hedw. (Musci: Fissidentaceae) in Hebei Province, China [J]. *Acta Botanica Boreali-occidentalia Sinica*, 2001, 21(4): 740–748.

[15] 贾渝. 中国苔藓植物名录[M]. 北京: 科学出版社, 1999.

Jia Y. Moss Flora of China[M]. Beijing: Science Press, 1999.

[16] 贾渝, 何思. 中国生物物种名录: 第 1 卷: 苔藓植物[M]. 北京: 科学出版社, 2013.

Jia Y, He S. Species Catalogue of China; Vol. 1. Moss [M]. Beijing: Science Press, 2013.

[17] 高谦. 中国苔藓植物志: 第 2 卷[M]. 北京: 科学出版社, 1996.

Gao Q. Flora Bryophytarum Sinicorum; Vol. 2 [M]. Beijing: Science Press, 1996

[18] Li X J, He S. Moss Flora of China; Vol. 2. Fissidentaceae-Ptychomitriaceae[M]. Beijing: Science Press; St. Louis: New York & Missouri Botanical Garden, 2001.

[19] Howard A. Mosses of Eastern North America; Vol. 1[M]. New York: Columbia University Press, 1981.

[20] Wright S. Isolation by distance under diverse systems of mating[J]. *Genetics*, 1946, 31: 39–59.

[21] Bescherelle É. Bescherelle annales des sciences naturelles[J]. *Botanique, Sér. 7*, 1893, 17: 335.

[22] Grout AJ. Moss flora of North America, north of Mexico [J]. *Flora of North America North of Mexico*, 1928(1): 111.

[23] 郭水良, 于晶, 陈国奇. 生态学数据分析[M]. 北京: 科学出版社, 2015.

Guo SL, Yu J, Chen GQ. Ecological Data Analyses[M]. Beijing: Science Press, 2015.

(责任编辑: 刘艳玲)