

DOI:10.11913/PSJ.2095-0837.2021.40415

叶兴状, 文国卫, 张明珠, 刘益鹏, 范辉华, 张国防, 陈世品, 刘宝. 珍稀濒危植物半枫荷的遗传多样性及遗传结构[J]. 植物科学学报, 2021, 39(4): 415-423

Ye XZ, Wen GW, Zhang MZ, Liu YP, Fan HH, Zhang GF, Chen SP, Liu B. Genetic diversity and genetic structure of a rare and endangered plant in *Semiliquidambar cathayensis* Hung T. Chang[J]. *Plant Science Journal*, 2021, 39(4): 415-423

珍稀濒危植物半枫荷的遗传多样性及遗传结构

叶兴状¹, 文国卫¹, 张明珠¹, 刘益鹏¹, 范辉华², 张国防¹, 陈世品¹, 刘宝^{1*}

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

摘要: 利用 15 对 EST-SSR 引物对半枫荷 (*Semiliquidambar cathayensis* Hung T. Chang) 的遗传多样性与遗传结构进行分析。结果显示, 半枫荷的遗传多样性水平较高 ($H_e = 0.816$), 遗传变异主要存在于居群内 (76.63%), 但不同地区间遗传分化系数较高 ($F_{st} = 0.176$)。半枫荷的 17 个居群可划分为 6 个基因库, 同时本研究发现半枫荷遗传背景复杂, 基因杂合性高。半枫荷居群遗传结构不稳定, 有 4 个居群 (40%) 经历瓶颈效应。研究结果表明半枫荷维持较丰富的遗传变异, 具有较高的进化潜力。繁育系统、生境破碎化和人为干扰可能是造成半枫荷濒危的主要原因, 是其现代地理分布格局和居群遗传结构的主要成因。

关键词: 半枫荷; 濒危植物; 遗传多样性; EST-SSR 分子标记; 遗传结构

中图分类号: Q347

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2021)04-0415-09

Genetic diversity and genetic structure of a rare and endangered species *Semiliquidambar cathayensis* Hung T. Chang

Ye Xing-Zhuang¹, Wen Guo-Wei¹, Zhang Ming-Zhu¹, Liu Yi-Peng¹, Fan Hui-Hua²,
Zhang Guo-Fang¹, Chen Shi-Pin¹, Liu Bao^{1*}

(1. College of Forestry, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China;

2. Fujian Research Institute of Forestry, Fuzhou 350012, China)

Abstract: Genetic diversity and genetic structure of *Semiliquidambar cathayensis* Hung T. Chang were analyzed using 15 EST-SSR primers. Results revealed that its genetic diversity was high ($H_e = 0.816$), and that genetic variation mainly existed within populations (76.63%), although the genetic differentiation coefficient among different regions was slightly high ($F_{st} = 0.176$). The 17 populations could be divided into seven gene banks. We found that the genetic background was complex and the gene heterozygosity was high. However, the genetic structure of the populations were unstable, and four populations (40%) experienced bottleneck events. We showed that *S. cathayensis* maintained relatively rich genetic variation and had high evolutionary potential. Habitat fragmentation and its endangerment caused by breeding system and human disturbance might be the main causes for the formation of the current geographical distribution pattern and population genetic structure.

Key words: *Semiliquidambar cathayensis*; Endangered plants; Genetic diversity; EST-SSR molecular markers; Genetic structure

收稿日期: 2021-02-07, 修回日期: 2021-04-16。

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 (KJA19H01A)。

This work was supported by grants from the Third Round of Seed Industry Innovation and Industrialization Project in Fujian Province (ZYCX-LY-2017002) and Key Research and Development Project of Ningxia Autonomous Region (KJA19H01A)。

作者简介: 叶兴状 (1991-), 男, 博士研究生, 研究方向为濒危植物保护与利用 (E-mail: yxz@fafu.edu.cn)。

* 通讯作者 (Author for correspondence. E-mail: liubao@m.fafu.edu.cn)。

我国南方地处气候温暖湿润的亚热带(热带)季风区,分布有多个生物避难所,被认为是世界生物多样性热点地区之一^[1]。然而随着生产力的提高和土地利用的变化,我国南方的原生植物生境呈现出片段化和破碎化的格局,已出现上百种濒危植物^[2]。濒危植物由于居群数目及有效居群大小均较小,这将影响遗传漂变和基因流等进化过程,从而导致植物灭绝或地方性灭绝的风险大增^[3-5]。而丰富的遗传变异是物种应对不断变化环境的遗传基础,研究濒危植物的遗传多样性及遗传结构对于制定保护策略至关重要。

半枫荷(*Semiliquidambar cathayensis* Hung T. Chang)($2n = 32$)为蕁树科半枫荷属半落叶高大乔木,仅存于我国长江以南的常绿阔叶林、针阔混交林和竹林中^[6]。该物种对生境条件要求苛刻,分布区狭窄,居群规模小,大多数呈单株散生的间断分布,现已濒临灭绝,已被列为国家二级保护植物^[7]。半枫荷是蕁树属(*Altingia*)和枫香树属(*Li-quidambar*)两属的天然杂交种^[8, 9],属雌雄异花同株,以风媒传粉为主。具有自交亲和、树干通直、树形优美、叶型多变等特点,是南方少有的彩叶树种,极具园林绿化开发价值。半枫荷还具有较高的药用价值,其根的活性成分齐墩果酸(Oleanolic acid)对病毒性肝炎的抗原具有抑制活性的作用^[10];其叶片富集了大部分差异黄酮类化

合物^[11]。但目前尚无关于半枫荷谱系地理学和居群保护等方面的报道。

近年来,随着分子标记技术的快速发展,利用分子标记技术评估遗传变异和遗传结构并提出相关保育策略,已成为保护濒危物种的常用方法^[5, 12-14]。其中,简单序列重复,即微卫星序列(Simple sequence repeat, SSR),具有共显性、高特异性和高重复性等诸多优点^[14],已被广泛应用于濒危植物遗传多样性的研究。SSR 分子标记技术可分为核 SSR(g-SSR)和表达序列标签 SSR(EST-SSR),EST-SSR 相较于传统的 g-SSR 不仅保有共显性的特点,还具有开发成本低、稳定性好和来源广等特点^[12-14]。

本研究采用 EST-SSR 标记,对半枫荷天然居群的遗传多样性和遗传结构进行检测,并对该物种可能的致濒原因进行探讨,以期在半枫荷天然资源的保护提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本研究于 2018 年 3-5 月,在对半枫荷天然分布区进行详细调查的基础上,采集来源于福建、广东、湖南和广西等省的 17 个自然居群(表 1)。在长汀(CT)、周宁(ZN)、延平(YP)、邵武(SW)、永定(YD)、清流(QL)、大余(DY)、德化(DH)

表 1 17 个半枫荷居群的地理分布
Table 1 Geographical distribution of the 17 *Semiliquidambar cathayensis* populations

| 居群 Population | 地理位置 Location | 样本量 Sample size | 经纬度 Longitude and latitude | 海拔 (m) Altitude |
|------------------|------------------|--------------------|-------------------------------|--------------------|
| DH | 福建省德化县 | 7 | 25°38'16"N, 118°13'23"E | 829 |
| LC | 福建省连城县 | 19 | 25°35'53"N, 117°02'06"E | 750 |
| CT | 福建省长汀县 | 2 | 25°21'42"N, 116°17'33"E | 690 |
| YD | 福建省永定区 | 3 | 24°52'52"N, 116°56'31"E | 450 |
| WP | 福建省武平县 | 11 | 25°10'57"N, 116°20'27"E | 560 |
| RS | 广西壮族自治区融水县 | 10 | 25°08'28"N, 108°48'51"E | 765 |
| SX | 福建省沙县 | 28 | 26°39'38"N, 117°49'32"E | 836 |
| QL | 福建省清流县 | 4 | 25°54'39"N, 116°45'38"E | 830 |
| YP | 福建省延平区 | 2 | 26°43'34"N, 118°08'10"E | 960 |
| SW | 福建省邵武市 | 3 | 27°33'40"N, 117°31'18"E | 752 |
| SC | 福建省顺昌县 | 16 | 26°50'10"N, 117°49'02"E | 447 |
| NJ | 福建省南靖县 | 2 | 24°34'26"N, 117°13'30"E | 570 |
| ZN | 福建省周宁县 | 2 | 25°59'52"N, 119°27'29"E | 630 |
| JH | 湖南省江华县 | 17 | 25°00'21"N, 112°00'38"E | 750 |
| PY | 广东省平远县 | 15 | 24°42'20"N, 115°53'20"E | 750 |
| DY | 江西省大余县 | 5 | 25°33'29"N, 114°26'05"E | 730 |
| LA | 江西省乐安县 | 8 | 27°31'20"N, 115°50'33"E | 570 |

和乐安(LA)等9个居群半枫荷数量较少,因此采集到样本量相应也较少。采样标准为居群间的地理距离大于10 km,株间距大于10 m,并且无病虫害。采下叶子立即放入预先准备的冰盒中,带回到实验室后放入超低温冰箱保存。

1.2 DNA 提取、引物筛选及 PCR 扩增

采用改良的 CTAB 法,提取半枫荷叶片基因组 DNA^[8]。本研究所用的 15 对高多态性引物是根据叶兴状等^[6]开发的半枫荷特异 EST-SSR 引物序列筛选而来(表 2)。

以不同地区半枫荷 DNA 为模板,上、下游引物各添加 0.2 μmol/L,退火温度设置为 44℃ ~ 57℃ 进行 PCR 扩增。本研究发现,当退火温度为 51℃ 时,PCR 扩增结果最好,等位基因数量多,显示清晰。后续实验采用 25 μL 的反应体系,包括:1.0 μL DNA (100 ng/μL),2 × Taq PCR StarMix with Loading Dye 混合液 12.5 μL 以及上、下游引物 (5 mol/L) 各 1.0 μL。反应程序为:94℃ 预变性 5 min;94℃ 变性 45 s,51℃ 退火 1 min,72℃ 延伸 45 s,共 33 个循环;最后 72℃ 延伸 10 min。

1.3 数据处理

采用 PowerMarker 3.25^[15] 软件计算各位点多

态信息含量 PIC。利用 POPGEN1.32^[16] 软件计算观察等位基因(N_a)、有效等位基因(N_e)、Shannon 多样性指数(I)、观察杂合度(H_o)、期望杂合度(H_e)、私有等位基因(N_p)。使用 Fstat^[17] 软件计算居群间近交系数(F_{is})和固定系数(F_{st})。使用 GENPOP (<https://genepop.curtin.edu.au>) 计算哈代-温伯格平衡(Hardy-Weinberg)。基于 UP-GMA 及 Neighbor-joining 方法,利用 MEGA 5.0^[18] 软件分别绘制出所有居群和个体聚类图。采用 GenAlEx6.5^[19] 软件进行分子方差分析(AMOVA),并进行 Mantel 相关性检验。基于遗传距离矩阵,利用 GenALEx 6.5 软件对所有居群的遗传关系进行主成分分析(PCoA)。遗传结构采用 Structure 2.3.4^[20] 软件进行分析, K 分别设置为 1 ~ 17,每个 K 值重复运算 10 次。100 000 次的马尔科夫链蒙特卡罗(MC)重复之后进行 1 000 000 次 burn-in。使用 CLUMPP2.0^[21] 软件将 10 次运算结果合并,然后采用 Distruct1.1^[22] 软件绘制半枫荷居群遗传结构图。采用 BOTTLENECK1.2.02^[23] 软件对半枫荷居群进行瓶颈效应检测分析(长汀、永定等 7 个居群规模太小,低于 Bottleneck 软件最低使用标准,未对上述 7 个居群检测瓶颈效应)。

表 2 基于 EST-SSR 标记的半枫荷居群的遗传多样性分析
Table 2 EST-SSR analysis of genetic diversity of *Semiliquidambar cathayensis* populations

| 居群 Population | F_{is} | N_p | N_a | N_e | I | H_o | H_e |
|------------------|----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| RS | -0.156 * | 1 | 4.867 | 3.684 | 1.359 | 0.687 | 0.734 |
| JH | -0.293 * | 1 | 6.067 | 3.719 | 1.441 | 0.878 | 0.727 |
| PY | -0.051 * | 0 | 6.533 | 4.346 | 1.608 | 0.618 | 0.778 |
| DY | -0.133 | 0 | 4.067 | 3.041 | 1.213 | 0.653 | 0.727 |
| LA | 0.085 * | 2 | 4.933 | 3.480 | 1.361 | 0.533 | 0.736 |
| DH | -0.004 * | 0 | 5.267 | 3.884 | 1.455 | 0.629 | 0.778 |
| LC | -0.089 * | 0 | 6.400 | 3.775 | 1.504 | 0.593 | 0.739 |
| CT | -0.333 | 0 | 2.467 | 2.302 | 0.791 | 0.667 | 0.656 |
| YD | -0.238 | 0 | 3.467 | 3.009 | 1.108 | 0.822 | 0.742 |
| WP | -0.124 * | 0 | 5.067 | 3.402 | 1.303 | 0.594 | 0.683 |
| QL | -0.289 | 0 | 3.800 | 3.085 | 1.183 | 0.567 | 0.738 |
| SX | -0.022 * | 0 | 6.867 | 4.300 | 1.616 | 0.581 | 0.765 |
| SC | -0.052 * | 0 | 6.200 | 4.192 | 1.569 | 0.667 | 0.776 |
| SW | -0.277 | 0 | 3.533 | 3.204 | 1.173 | 0.622 | 0.791 |
| YP | -0.03 | 0 | 2.467 | 2.284 | 0.800 | 0.633 | 0.667 |
| ZN | -0.143 | 0 | 2.333 | 2.173 | 0.684 | 0.467 | 0.544 |
| NJ | -0.03 | 0 | 2.933 | 2.662 | 0.985 | 0.667 | 0.778 |
| 平均 Mean | -0.128 | 0.026 | 4.545 | 3.326 | 1.244 | 0.640 | 0.727 |

注:居群名称对应表 1。 F_{is} : 近交系数; N_p : 私有等位基因; N_a : 观察等位基因; N_e : 有效等位基因; I : Shannon 多样性指数; H_o : 观察杂合度; H_e : 期望杂合度。* 表示显著偏离哈代-温伯格平衡。下同。
Notes: Place names correspond to population codes shown in Table 1. F_{is} : Within-population inbreeding coefficient; N_p : Private allelic richness; N_a : Average number of different alleles; N_e : Average number of effective alleles; I : Shannon diversity index; H_o : Observed heterozygosity; H_e : Expected heterozygosity. *: Significantly deviated from Hardy-Weinberg Equilibrium. Same below.

2 结果与分析

2.1 遗传多样性分析

研究结果显示, 15 个 EST-SSR 位点共检测到半枫荷居群 131 个观察等位基因(N_a), 不同位点上等位基因变化范围为 5~13, 平均为 8.733 个; 其中, 位点 BFH2、BFH9、BFH14、BFH22、BFH26、BFH29 和 BFH50 的扩增结果好, 提供的遗传信息较多; H_o 、 H_e 在 15 个位点中的变化趋势略有不同, 最高值分别来自 BFH26 和 BFH50(附表 1¹⁾)。17 个居群的 N_a 、 N_e 、 H_o 、 H_e 及 I 的平均值分别为 4.5451、3.3259、0.6398、0.727 和 1.2442; 其中平远居群(PY)的遗传多样性最高、其次为顺昌(SC)和沙县(SX), 而周宁(ZN)的遗传多样性水平最低; 融水(RS)、江华(JH)、平远(PY)、连城(LC)、乐安(LA)、武平(WP)、沙县(SX)和顺昌(SC)等 8 个居群显著偏离 Hardy-Weinberg 平衡, 表现为杂合子数量过剩, 且除乐安(LA)居群外, 所有居群近交系数均为负值, 其平均值为 -0.128。仅融水(RS)、江华(JH)和乐安(LA)等 3 个居群存在私有等位基因(表 2)。

2.2 遗传分化

由 AMOVA 分析结果可知(表 3), 半枫荷遗传变异主要发生在居群内(76.63 %)($P < 0.001$), 地区内居群间遗传变异占 17.44 %($P < 0.001$), 而地区间的遗传变异只有 5.93 %($P < 0.001$), 说明半枫荷遗传变异主要存在于居群内的个体之间。半枫荷居群间的遗传分化系数 F_{ST} 为 0.176(附表 2²⁾), 在种的水平表现出较高的遗传分化, 表明天然半枫荷呈现低水平的居群间遗传变异和高水平居群内遗传变异。

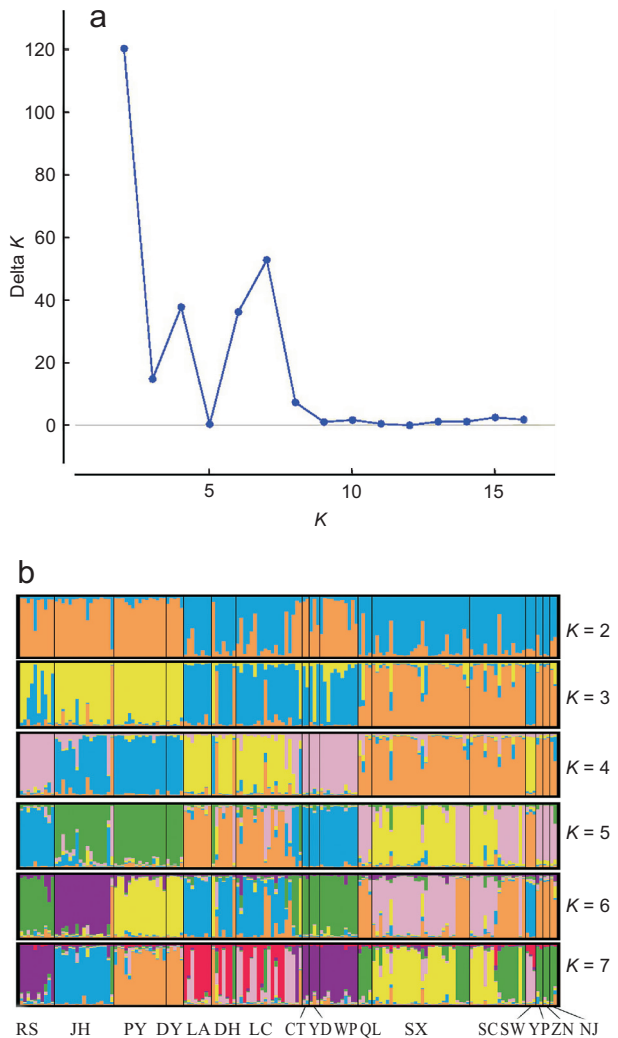
表 3 半枫荷遗传结构的 AMOVA 检验

Table 3 Results of AMOVA test of *Semiliquidambar cathayensis* population genetic structure

| 变异来源 Variation source | 自由度 df | 方差和 Sum of squares | 比例 Ratio (%) | P 值 P |
|--------------------------|-----------|-----------------------|-----------------|-------------|
| 地区间 | 4 | 91.879 | 5.93 | $P < 0.001$ |
| 居群间 | 149 | 1047.461 | 17.44 | $P < 0.001$ |
| 居群内 | 154 | 744.000 | 76.63 | $P < 0.001$ |

2.3 居群遗传结构分析

Structure 分析结果如图 1 所示, 在 $K = 2$ 时达到极值。值得注意的是, 之后 K 值还出现几个峰值, 且 $K = 6$ 时, 各个居群划分最清晰; $K = 7$ 时, 连城(LC), 乐安(LA)和德化(DH)3 个居群划分变的模糊, 因而 17 个半枫荷居群最有可能来自 6 个基因库。Neighbor-joining 分析结果也将 17 个半枫荷居群分成 2 类, 并可进一步划分为 6 个亚



a: 基于 10 次重复的 Delta K 的对数似然函数值; b: 根据 15 个 EST-SSR 位点变异推断 17 个居群的遗传结构。居群名称对应表 1。下同。
a: Log likelihood of the data (Delta K) as a reference K over 10 iterations; b: Population structure of the 17 populations of *Semiliquidambar cathayensis* based on variation in 15 EST-SSR loci. Population names correspond to Table 1. Same below.

图 1 Structure 遗传结构分析
Fig. 1 Results of structure analysis

1, 2) 如需查阅附表内容请登录《植物科学学报》网站(<http://www.plantscience.cn>) 查看本期文章。

群(图 2: a), 大余(DY)和平远(PY)等 7 个绿色三角形居群聚为一大类, 可细分为 3 个亚群。其中大余(DY)和平远(PY)聚为 1 个亚类, 武平(WP)、长汀(CT)、永定(YD)和融水(RS)聚为 1 个亚类, 江华(JH)单独聚为 1 个亚类; 乐安(LA)和邵武(SW)等 10 个红色圆形居群聚为另一大类, 也可细分为 3 个亚类, 其中乐安(LA)、邵武(SW)、德化(DH)和连城(LC)聚为 1 个亚类, 沙县(SX)、顺昌(SC)和清流(QL)聚为 1 个亚类, 延平(YP)、南靖(NJ)和周宁(ZN)聚为 1 个亚类。PCoA 分析的第 2、第 3 主成分分别解释总变量的 21.92%和 29.84%(图 2: b)。此外

PCoA 分析和 UPGMA 聚类分析的结果也大致将 17 个居群的 154 个样本聚为两大类, 并可进一步划分为 6 个亚类, 与 Structure 分析结果相互验证(图 3)。

2.4 瓶颈效应检测

本研究剔除 7 个极小居群后, 检测了 10 个居群的瓶颈效应(表 4)。其中沙县(SX)、顺昌(SC)和平远(PY)居群在双相突变模型(TPM)存在杂合子过剩($P < 0.05$); 沙县(SX)、顺昌(SC)、平远(PY)和融水(RS)居群在逐步突变模型(SMM)存在杂合子过剩($P < 0.05$), 表明这些种群可能在近期受到了瓶颈效应的影响。

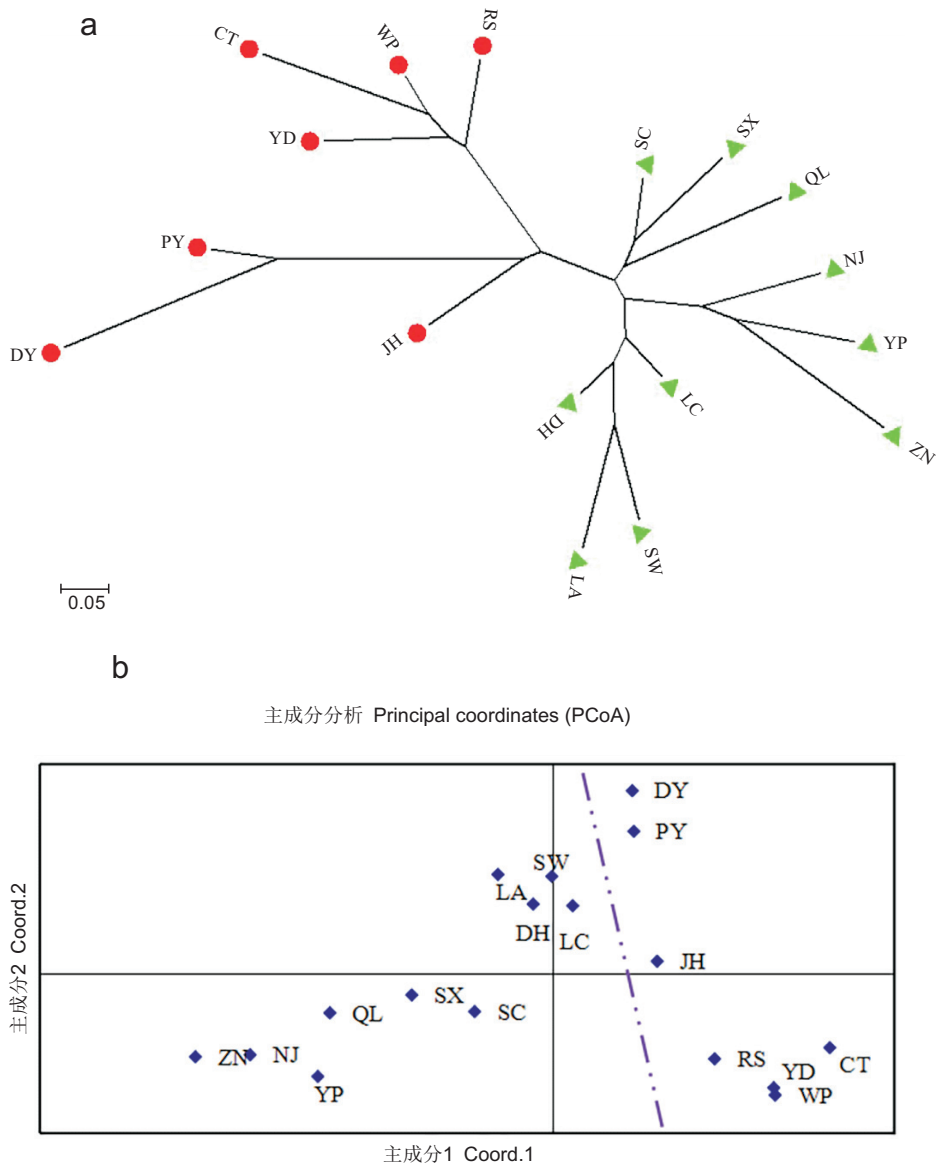


图 2 基于 NJ 法构建的野生半枫荷 17 个居群的聚类图(a)以及居群成对遗传距离的主成分聚类分析(b)
Fig. 2 Neighbor-joining trees of 17 *Semiliquidambar cathayensis* populations (a) and PCoA clustering analysis of paired genetic distance of populations (b)

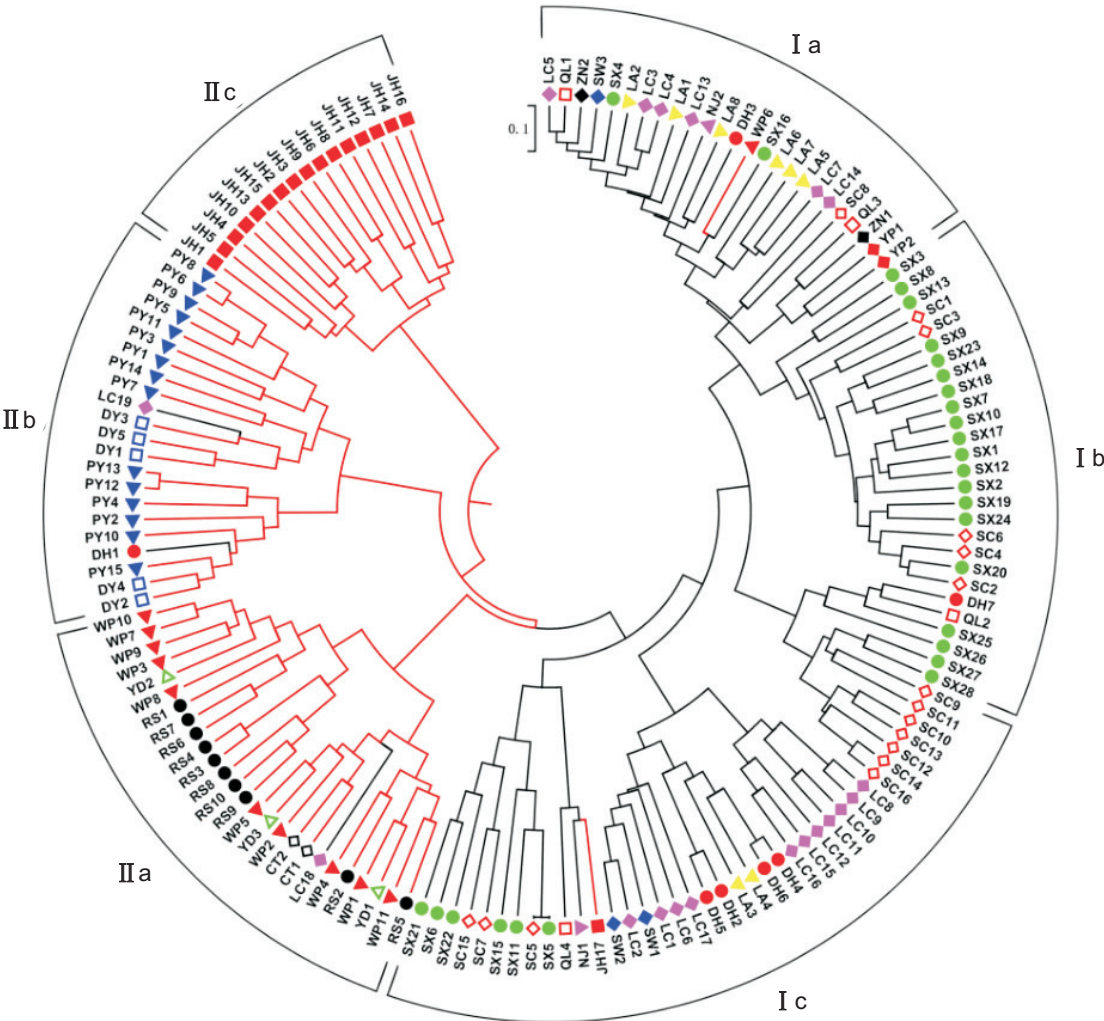


图 3 154 个半枫荷个体的 UPGMA 聚类分析
Fig. 3 UPGMA cluster analysis of 154 *Semiliquidambar cathayensis* individuals

表 5 半枫荷瓶颈效应检测
Table 5 Bottleneck detection for *Semiliquidambar cathayensis*

| 居群 Population | Wilcoxon 检验 Wilcoxon test | |
|------------------|--|--|
| | 双相突变模型 Two-phased mutation model (TPM) | 逐步突变模型 Stepwise mutation model (SMM) |
| RS | 0.062 | 0.012 |
| JH | 0.602 | 0.599 |
| PY | 0.023 | 0.003 |
| DY | 0.374 | 0.330 |
| LA | 0.456 | 0.847 |
| DH | 0.457 | 0.277 |
| LC | 0.395 | 0.639 |
| WP | 0.249 | 0.119 |
| SX | 0.005 | 0.001 |
| SC | 0.026 | 0.030 |

3 讨论

3.1 半枫荷遗传多样性

本研究所选 15 个位点的多态信息含量 (PIC) 均大于 0.8, 这说明它们均属于高多态性位点, 其中最大值为 0.917, 平均值为 0.866, 为本研究结果奠定了可靠的基础。通常濒危植物分布区域狭窄, 居群规模小, 导致其遗传多样性较低, 如水松^[5] (*Glyptostrobus pensilis* (Staunt.) Koch, $H_e = 0.272$) 和大王杜鹃^[24] (*Rhododendron rex* Levl., $H_e = 0.515$), 然而本研究得出的半枫荷物种遗传多样性水平 ($H_e = 0.816$ 、 $I = 1.8401$) 比一些广布种的遗传多样性更高, 同时也高于许多其他濒危植物, 这与其近源的金缕梅科植物长柄双花木^[25] (*Disanthus cercidifolius* subsp. *longipes* (H. T. Chang) K. Y.

Pan) 和银缕梅^[26] (*Shaniodendron subaequale* (Hung T. Chang) M. B. Deng, H. T. Wei & X. Q. Wang) SSR 标记的分析结果类似,这可能是与半枫荷为枫香属与蕈树属的天然杂交种,遗传基础丰富有关,说明遗传多样性可能不是导致半枫荷濒危的主要因素。长汀(CT)、武平(WP)、延平(YP)和周宁(ZN)4个居群的遗传多样性均低于0.7,这可能和这些地区半枫荷数量较少,生境单一,居群遗传背景相似有密切关系^[27]。野外调查发现,半枫荷多以孤立木存在,周围幼苗很少,这可能和半枫荷果实为蒴果,具有硬壳,种子难以直接接触土壤,导致种子萌发率低、天然更新困难有关。王满莲等^[28]的研究也认为采取高千粒重、种子集中萌发和低生育率的 K 对策是导致半枫荷濒危的主要原因,进一步说明遗传多样性水平不是半枫荷致濒的主要原因。本研究中,大部分位点(86.66%)偏离 Hardy-Weinberg 平衡,绝大多数(93.33%)居群内近交系数为负值,呈现出极显著的不平衡状况,表现为杂合子缺失,揭示了居群内普遍存在自交或近交现象,这也符合半枫荷自交亲和的生物学特性。

3.2 半枫荷遗传结构及遗传分化

本研究发现半枫荷遗传变异主要发生在居群内(76.63%),这可能是由于生境破碎化导致的遗传漂变造成的。Mantel 检验结果表明,成对遗传距离与地理距离的成对差异之间无显著的相关性,地理隔离对半枫荷遗传分化的作用不明显($r = 0.076$, $P = 0.290$)。前人的研究发现,半枫荷可能是多地点属间杂交起源^[8],综合 Structure 分析结果可知,当 $K = 2$ 时,虽然 K 值最大,却不能显示清晰的遗传结构;当 $K = 6$ 时,各地区居群间的遗传分化变得更明显,故可将 17 个居群划分为 6 个基因库,这与水松^[5]的遗传结构划分类似,同时聚类分析(NJ)和主成分分析(PCoA)分析结果与 Structure 分析结果基本一致。此外,随着 K 值的增加,出现了 3 个明显拐点,说明半枫荷出现了新的基因库,表明半枫荷杂合性很高,遗传背景复杂,这与半枫荷为枫香属与蕈树属天然杂交种的结论相吻合^[10]。半枫荷居群间,尤其是不同地区居群间存在显著的遗传分化($F_{ST} = 0.176$),这与许多亚热带阔叶树种的遗传变异模式基本一致^[29]。本实验室目前已完成半枫荷基因组 survey 测序(结果未显示),发现其基因组约为 685 Mb,杂合率

为 2.93%,重复序列约占 68.87%,这进一步验证了半枫荷的遗传背景复杂,杂合性较高。

值得注意的是,本研究聚类分析,武夷山脉南端的武平(WP)、长汀(CT)和永定(YD)3个居群与广西九万山脉的融水(RS)居群聚为一类;南岭北侧的江华(JH)居群与南岭山脉东北侧的大余(DY)居群及东南侧的平远(PY)居群聚为同一亚类;武夷山脉的沙县(SX)、顺昌(SC)和清流(QL)3个居群也聚为同一亚类;此外,鹫峰山-戴云山-博平岭山系以东的周宁(ZN)、延平(YP)和南靖(NJ)3个居群也聚为同一亚类。这可能是由于半枫荷起源时间早于后期形成的武夷山、南岭、鹫峰山-戴云山-博平岭等山系,山体运动及第四纪冰川的冰期-间冰期反复震荡,加大了其居群间的遗传分化,最终构成了现有的居群遗传结构,这与其近源的金缕梅科植物榿木^[30] (*Loropetalum chinense* (R. Br.) Oliver) 的遗传分化情况类似。分布在南岭南侧的平远(PY)、九万大山山脉腹地融水(RS)居群、武夷山脉东侧支脉的顺昌(SC)及沙县(SX)和戴云山山脉腹地的德化(DH)等居群,因山脉形成的山体屏障,在历经冰期后依然保存有较大居群规模(除德化居群较小外)、遗传多样性也较高,说明上述地点可能是半枫荷的冰期避难所,与 Bottleneck 检测结果相互验证, Ye 等^[31] 的研究也得出上述地区极可能是半枫荷的冰期避难所的结论。此外,上述地区残存的一些半枫荷古树上可看到许多树瘤,而这些树瘤被认为是半枫荷经长时间恶劣环境而生存下来的证据^[32]。

3.3 半枫荷的濒危机制和保护策略

在对福建沙县及连城半枫荷居群进行连续 3 年实地调查的基础上,本研究推测造成半枫荷濒危主要原因如下。首先,狭域、破碎化、居群规模小和大多数呈单株散生的间断分布;其次,半枫荷对生境要求苛刻,幼苗怕光耐阴,而幼树生长喜光,但半枫荷在群落常处于非优势树种,其周围的幼树幼苗数量少,自然更新能力弱,导致龄级断层严重;第三,半枫荷果实为蒴果,鸟兽几乎不吃,种子不能依靠动物进行传播,同时其传粉方式主要为风媒传粉,传播距离较近;第四,半枫荷果实的有效种子数量少,果实坚硬,难以吸收水分,再加上凋落物层较厚,种子难以接触土壤,严重影响种子的萌发;第五,半枫荷生境破坏严重,再加上全球气候变暖、酸雨和人为干扰等原因,造成半枫荷生境

日益破碎化。罗仕祥^[33]和徐燕等^[34]也得出类似的结论。因此,采取扩大林窗面积、增加种子接触土壤机会等有效的措施可提高其居群的自然更新能力。

半枫荷居群间遗传分化较大,居群中私有基因较丰富。因此,保护种群遗传多样性,是防止该物种特异种质流失的关键,也是维持居群遗传结构的前提。目前,该物种的大多数居群并未分布于自然保护区内,生境受人为干扰较严重,但绝大多数居群无幼苗及幼树,呈负增长型结构。特别是连城(LC)、德化(DH)、平远(PY)、顺昌(SC)和长汀(CT)等居群位于村落、公路旁和竹林中,人为干扰现象更为严重。融水(RS)居群虽然位于天然次生林中,但当地群众常砍其枝叶或挖根用做药浴及中成药的原材料,人为破坏严重,因此急需建立半枫荷自然保护小区。结合本研究结果及对半枫荷居群的跟踪观测,表明繁育系统、长期人为干扰和地理隔离极有可能是造成半枫荷当前遗传变异模式的主要原因。

Bottleneck 检测结果显示有 40% 的半枫荷居群近期可能经历过瓶颈效应,或许是由于当地某个历史时期的气候、环境条件或人为过度干扰造成^[5, 26]。虽然本研究发现半枫荷各种源间遗传变异水平较高,但近年来其野生居群数量却呈下降趋势。小居群、优良单株和含有私有等位基因的居群是维持半枫荷遗传多样性不可或缺的重要组成部分^[35],因此融水(RS)、江华(JH)和乐安(LA)等含有私有等位基因及其它小居群应予以优先重点保护,这样将有助于半枫荷遗传多样性的稳步提高,从而促进该物种健康发展。本研究团队已完成半枫荷全基因组测序组装工作,正在解析其全基因组,以期更深入地探讨半枫荷种群历史动态演化及濒危机制,为该物种的保护与利用奠定基础。此外,通过建立核心种质资源库、生殖生态学、制定保育技术和自然回归试验等措施,对半枫荷的异地保护、居群恢复和开发利用也具有重要意义。

参考文献:

- [1] Zhang MG, Slik JWF, Ma KP. Using species distribution modeling to delineate the botanical richness patterns and phytogeographical regions of China [J]. *Sci Rep-UK*, 2016, 6: 22400.
- [2] Sun WB, Ma YP, Blackmore S. How a new conservation action concept has accelerated plant conservation in China [J]. *Trends Plant Sci*, 2019, 24(1): 4–6.
- [3] Breslin PB, Wojciechowski MF, Albuquerque F. Projected climate change threatens significant range contraction of *Cochemiea halei* (Cactaceae), an island endemic, serpentine-adapted plant species at risk of extinction [J]. *Ecol Evol*, 2020, 10(23): 13211–13224.
- [4] Hoffmann AA, Miller AD, Weeks AR. Genetic mixing for population management: from genetic rescue to provenancing [J]. *Evol Appl*, 2020, 14(3): 634–652.
- [5] Wu X, Ruhsam M, Wen Y, Thomas P, Worth JRP, et al. The last primary forests of the Tertiary relict *Glyptostrobus pensilis* contain the highest genetic diversity [J]. *Forestry*, 2020, 93(3): 359–375.
- [6] 叶兴状, 杨先吉, 王妙青, 刘宝, 范辉华, 等. 濒危珍稀植物半枫荷转录组中 SSR 位点分析 [J]. *分子植物育种*, 2020, 18(5): 215–222.
- Ye XZ, Yang XJ, Wang MQ, Liu B, et al. Analysis of SSR locus marked transcriptome of rare and endangered plants of *Semiliquidambar cathayensis* [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2020, 18(5): 215–222.
- [7] Zhang MZ, Jiang YT, Ye XZ, Chen SP, Fan HH, Liu B. The complete chloroplast genome of *Semiliquidambar cathayensis* (Hamamelidaceae) [J]. *Mitochondrial DNA B*, 2020, 5(1): 695–696.
- [8] 吴伟. 阿丁枫科的自然杂交、亲缘地理学与物种形成模式 [D]. 广州: 中山大学, 2009.
- [9] Xiang X, Xiang K, Ortiz RDC, Jabbour F, Wang W. Integrating palaeontological and molecular data uncovers multiple ancient and recent dispersals in the pantropical Hamamelidaceae [J]. *J Biogeogr*, 2019, 46(11): 2622–2631.
- [10] 孙静, 郑雪凌, 崔向珍, 孟琳. 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.
- Sun J, Zheng XL, Cui XZ, Meng L. A study of inhibition effects on hepatitis B virus of *Semi-cathayensis* in vitro [J]. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, 2014, 25(10): 2391–2393.
- [11] 田晓明, 颜立红, 蒋利媛, 向光锋, 李高飞, 吴嘉. 基于 UH-PLC-QTOF/MS 代谢组学技术比较分析半枫荷不同组织化学成分 [J]. *植物生理学报*, 2021, 57(6): 1311–1318.
- Tian XM, Yan LH, Jiang LY, Xiang GF, Li GF, Wu J. Chemical comparison of different tissues of *Semiliquidambar cathayensis* Chang by UHPLC-QTOF/MS-based metabonomics [J]. *Plant Physiology Journal*, 2021, 57(6): 1311–1318.
- [12] 谢慧敏, 彭德镇, 陈衍如, 罗火林, 杨柏云, 熊冬金. 江西主要山脉春兰野生居群遗传结构与分化 [J]. *植物科学学报*, 2020, 38(1): 123–133.
- Xie HM, Peng DZ, Chen YR, Luo HL, Yang BY, Xiong

- DJ. Genetic structure and differentiation of wild populations of *Cymbidium goeringii* (Rchb. f.) Rchb. f. in the main mountain range of Jiangxi Province, China[J]. *Plant Science Journal*, 2020, 38(1): 123–133.
- [13] Wu QC, Zang FQ, Ma Y, Zheng YQ, Zang DK. Analysis of genetic diversity and population structure in endangered *Populus wulianensis* based on 18 newly developed EST-SSR markers[J]. *Glob Ecol Conserv*, 2020, 24: e01329.
- [14] Worth JRP, Marthick JR, Harrison PA, Sakaguchi S, Jordan GJ. The palaeoendemic conifer *Pherosphaera hookeriana* (Podocarpaceae) exhibits high genetic diversity despite Quaternary range contraction and post glacial bottlenecking[J]. *Conserv Genet*, 2021, 22(2): 307–321.
- [15] Liu KJ, Muse SV. PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis[J]. *Bioinformatics*, 2005, 21(9): 2128–2129.
- [16] Krawczak M, Nikolaus S, von Eberstein H, Croucher PJP, El Mokhtari NE, Schreiber S. PopGen: Population-based recruitment of patients and controls for the analysis of complex genotype-phenotype relationships[J]. *Community Genet*, 2006, 9(1): 55–61.
- [17] Goudet J. FSTAT (version 1.2): A computer program to calculate F-Statistics[J]. *J Hered*, 1995, 86(6): 485–486.
- [18] Hall BG. Building phylogenetic trees from molecular data with MEGA[J]. *Mol Biol Evol*, 2013, 30(5): 1229–1235.
- [19] Peakall R, Smouse PE. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update[J]. *Bioinformatics*, 2012, 28(19): 2537–2539.
- [20] Earl DA, Vonholdt BM. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the evanno method[J]. *Conserv Genet Resour*, 2012, 4(2): 359–361.
- [21] Jakobsson M, Rosenberg NA. 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 NA. DISTRUCT: a program for the graphical display of population structure[J]. *Mol Ecol Notes*, 2004, 4(1): 137–138.
- [23] Piry S, Luikart G, Cornuet JM. BOTTLENECK: A computer program for detecting recent reductions in the effective population size using allele frequency data[J]. *J Hered*, 1999, 90(4): 502–503.
- [24] 刘圆媛. 西南特有濒危植物大王杜鹃的保护遗传学研究[D]. 昆明: 云南大学, 2019.
- [25] 孟艺宏. 长柄双花木群体遗传多样性分析[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2019: 29–40.
- [26] 张云燕. 中国古特有濒危植物银缕梅(金缕梅科)的保护遗传学研究[D]. 南京: 南京大学, 2018: 50–67.
- [27] 马晓英, 韦伟, 申琳, 王珂, 于晶. 沿海岛屿与内陆藓类植物遗传多样性和分化的比较研究: 以真藓(*Bryum argenteum* Hedw.)为例[J]. *植物科学学报*, 2019, 37(3): 295–302.
- Ma XY, Wei W, Shen L, Wang K, Yu J. Genetic diversity and differentiation between coastal and inland populations of mosses: a case study of *Bryum argenteum* Hedw. [J]. *Plant Science Journal*, 2019, 37(3): 295–302.
- [28] 王满莲, 文香英, 韦霄, 蒋运生, 唐辉. 温度对3种金缕梅科植物种子萌发特性的影响[J]. *种子*, 2016, 35(10): 79–83.
- Wang ML, Wen XY, Wei X, Jiang YS, Tang H. Effects of temperature on seed germination of three species of Hamamelidaceae[J]. *Seed*, 2016, 35(10): 79–83.
- [29] 叶俊伟, 张阳, 王晓娟. 中国亚热带地区阔叶林植物的谱系地理历史[J]. *生态学报*, 2017, 37(17): 5894–5904.
- Ye JW, Zhang Y, Wang XJ. Phylogeographic history of broad-leaved forest plants in subtropical China[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2017, 37(17): 5894–5904.
- [30] Gong W, Liu WZ, Gu L, Kaneko S, Koch MA, Zhang DX. From glacial refugia to wide distribution range: demographic expansion of *Loropetalum chinense* (Hamamelidaceae) in Chinese subtropical evergreen broadleaved forest[J]. *Org Divers Evol*, 2016, 16(1): 23–38.
- [31] Ye XZ, Zhao GH, Zhang MZ, Cui XY, Fan HH, Liu B. Distribution pattern of endangered plant *Semiliquidambar cathayensis* (Hamamelidaceae) in response to climate change after the last interglacial period[J]. *Forests*, 2020, 11(4): 434.
- [32] Deltredici P, Hsieh L, Guang Y. The *Ginkgos* of Tian Mu Shan[J]. *Conserv Biol*, 1992, 6(2): 202–209.
- [33] 罗仕祥. 濒危植物半枫荷生境调查及优树选择技术[J]. *林业勘察设计*, 2020, 40(1): 46–50.
- [34] 徐燕, 吕丹, 黄佩萍, 陈忠, 胡华明, 等. 宜春区域半枫荷生境及其生长情况分析[J]. *现代园艺*, 2020, 43(19): 63–66.
- [35] Bezemer N, Krauss SL, Roberts DG, Hopper SD. Conservation of old individual trees and small populations is integral to maintain species' genetic diversity of a historically fragmented woody perennial[J]. *Mol Ecol*, 2019, 28(14): 3339–3357.