

珍稀濒危植物浙江楠的遗传多样性评价

郑永杰^{1,2}, 张月婷^{1,2}, 刘新亮^{1,2}, 涂白连¹, 伍艳芳^{1,2}

(¹江西省林业科学院樟树研究所/国家林业草原樟树工程技术研究中心, 南昌 330032; ²江西省林业科学院樟树研究所/
江西乡土树种良种选育与高效利用江西省重点实验室, 南昌 330032)

摘要: 浙江楠是我国珍稀濒危物种, 研究浙江楠群体的遗传多样性和遗传结构, 可为有效保护和利用浙江楠种质资源提供科学依据。本研究采用自主开发的 15 对 SSR 引物, 对浙江楠 10 个群体共计 175 份种质资源进行毛细管电泳检测, 解析浙江楠群体的遗传多样性和遗传结构。15 对引物在 175 份浙江楠种质中共检测到 113 个等位基因位点 (N_a), 平均每对引物含 2.371 个有效等位基因 (N_e), 多态引物信息含量 (PIC) 为 0.323~0.844, 平均值为 0.629。浙江楠群体表现出中等程度的遗传多样性 (平均观测杂合度=0.621, 平均期望杂合度=0.478), 平均群体内近交系数 (F_{is}) 为 -0.237, 平均群体近交系数 (F_{it}) 为 0.082, 杂合率较高, 群体间表现出较高的遗传分化系数 (F_{st} =0.275) 和低水平的平均基因流 (Nm =0.763)。分子方差分析表明浙江楠种群内个体间差异是主要的遗传变异来源, 占总变异的 78.7% ($P<0.001$)。群体结构分析与聚类分析将 10 个不同种源的浙江楠群体分为 3 个类群, 群体间存在一定的基因渐渗。生境破碎化和人为干扰可能是造成浙江楠濒危的主要原因, 应采取就地保护和迁地保护相结合的措施, 保护浙江楠的遗传多样性。

关键词: 浙江楠; 濒危植物; SSR 标记; 遗传多样性; 遗传结构

Genetic Diversity Evaluation of a Rare and Endangered Species *Phoebe chekiangensis*

ZHENG Yongjie^{1,2}, ZHANG Yueting^{1,2}, LIU Xinliang^{1,2}, TU Bailian¹, Wu Yanfang^{1,2}

(¹Camphor Tree Research Institute, Jiangxi Academy of Forestry/Camphor Engineering and Technology Research Center of National Forestry and Grassland Administration, Nanchang 330032; ²Camphor Tree Research Institute, Jiangxi Academy of Forestry/Jiangxi Provincial Key Laboratory for Breeding and Efficient Utilization of Jiangxi Native Tree Species, Nanchang 330032)

Abstract: *Phoebe chekiangensis* is a rare and endangered species in China, and investigating its genetic diversity and genetic structure of populations provides a scientific basis for the effective protection and utilization. In this study, 15 pairs of SSR markers were used to analyze 175 germplasm resources from 10 populations by capillary electrophoresis. A total of 114 alleles (N_a) were detected, with an average of 2.371 effective alleles (N_e) per primer pair. The polymorphic information content (PIC) of the SSR primers ranged from 0.323 to 0.844, averaging 0.629. The populations exhibited a moderate degree of genetic diversity (H_o =0.621, H_e =0.478). The inbreeding coefficient within subpopulations (F_{is}) was -0.237, while the inbreeding coefficient for total population (F_{it}) was 0.082, indicating a high rate of heterozygosity. There was substantial genetic differentiation (F_{st} =0.275) and limited gene flow (Nm =0.763) among populations. Analysis of molecular variance (AMOVA) showed that inter-individual differences within populations accounted for 78.7% of the total variation ($P<0.001$). Population structure and cluster analysis divided the 10 populations from

收稿日期: 2024-06-18 网络出版日期: 2024-11-27

URL: <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20240618001>

第一作者研究方向为林木种质资源挖掘与创新, E-mail: zhengyongjie0416@163.com

通信作者: 伍艳芳, 研究方向为林木遗传育种, E-mail: yanfangwu2012@163.com

基金项目: 江西省林业科技创新项目[(2021)15号]; 江西省林业科学院基础研究与人才培养专项(2023522704)

Foundation projects: Innovation Fund of Jiangxi Province Department of Forestry Research [(2021)No.15]; Fundamental Research and Talent Development Project of Jiangxi Academy of Forestry (2023522704)

different provenances into three groups, with some evidence of gene introgression between populations. Habitat fragmentation and human disturbance are likely the primary reasons of endangerment for *P. chekiangensis*. To protect its genetic diversity of *P. chekiangensis*, measures by combining in situ conservation and ex situ conservation should be implemented.

Key words: *Phoebe chekiangensis*; endangered plants; SSR markers; genetic diversity; genetic structure

遗传多样性是维持物种生存和进化的基础,其水平影响着物种对环境变化的适应能力^[1]。遗传多样性的丧失往往是不可逆的,一旦遭到破坏几乎无法恢复,保护遗传多样性对物种的长期生存具有至关重要的意义。近年来,由于栖息地的丧失和气候变化等因素,全球范围内物种的平均遗传多样性已经丧失了10%~16%^[2],在濒危物种中这种遗传多样性的丧失表现更为激烈^[3-4]。濒危植物的遗传多样性低于一般物种,原因是群体数量减少导致的自交或近亲繁殖引起遗传漂变。研究濒危植物的遗传多样性可以揭示其濒危机制,并为保护策略提供科学依据。

浙江楠(*Phoebe chekiangensis*)属樟科(Lauraceae)楠属(*Phoebe*),为常绿阔叶高大乔木,是国家二级重点保护植物,在世界自然保护联盟(IUCN, the International Union for Conservation of Nature)濒危物种红色名录中列入易危(VU, vulnerable)^[5]。浙江楠的生态适应性较为狭窄,一般沿溪流或沟谷分布,零星分布于浙江、江西、湖北和安徽南部等海拔1000 m以下的低山丘陵地区。长期以来,作为“金丝楠木”的原生种之一,浙江楠被大量采伐利用,导致野外种群分布较少,个体数量急剧下降,现存面积仅约40 hm²^[6]。近年来,浙江楠的濒危状况引起国内不少学者的关注,研究主要集中在资源分布与利用、光合特性、种群生态学与物种多样性等方面,而群体遗传多样性研究鲜有报道^[7-9],仅丁亚军^[10]利用SSR标记分析了浙江和江西7个群落的遗传多样性研究。种群空间结构研究发现,浙江楠在群落中居于乔木中下层,群落内幼苗严重不足,物种丰富度偏低,群落稳定性较差,具有逐步衰退的趋势^[9]。种群表型变异研究发现,种群内变异是叶片、种子等表型性状的主要变异来源^[11]。

本研究在前期浙江楠种质资源收集的基础上,利用SSR分子标记对浙江楠天然群体开展遗传多样性研究,分析其多样性水平、遗传分化情况、变异程度以及遗传结构组成,探讨其濒危原因,以期为

浙江楠种质资源的科学保育及合理利用奠定基础,同时也为揭示浙江楠天然群体的分子遗传背景及为育种材料的选择提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

在对浙江楠自然分布区详细调查的基础上,采集来源于江西、浙江、安徽、湖北和湖南等省的10个自然群体,共计175份样本。江西庐山、浙江宁波、浙江松阳和浙江杭州的4个居群数量较少,因此采集到的样本量也较少(表1)。采集标准为群体间地理距离大于20 km,目标树胸径大于30 cm,相邻株间距大于20 m(图1)。每一份样本采集树冠向阳一侧无病虫害的成熟叶10片,置入含硅胶的自封袋保存,用于DNA的提取。

表1 浙江楠群体的地理分布

Table 1 Geographical distribution of *P. chekiangensis* populations

群体 Population	样本数 Sample number	经度(°) Longitude	纬度(°) Latitude
江西德兴 JX_DX	15	117.7463	28.9432
江西婺源 JX_WY	30	117.0664	29.4594
江西庐山 JX_LS	7	115.9942	29.5326
江西石城 JX_SC	30	116.3421	26.3143
浙江杭州 ZJ_HZ	12	120.1362	30.2657
浙江宁波 ZJ_NB	11	121.8012	29.8103
浙江松阳 ZJ_SY	10	119.4122	28.3970
安徽祁门 AH_QM	30	117.7322	29.8543
湖北武汉 HB_WH	15	114.4297	30.5505
湖南武冈 HN_WG	15	110.6347	26.6784

JX_DX: Jiangxi Dexing; JX_WY: Jiangxi Wuyuan; JX_LS: Jiangxi Lushan; JX_SC: Jiangxi Shicheng; ZJ_HZ: Zhejiang Hangzhou; ZJ_NB: Zhejiang Ningbo; ZJ_SY: Zhejiang Songyang; AH_QM: Anhui Qimen; HB_WH: Hubei Wuhan; HN_WG: Hunan Wugang; The same as below



图1 浙江楠野生资源生境

Fig. 1 Wild resource habitats of *P. chekiangensis*

1.2 DNA提取

采用植物基因组DNA快速抽提试剂盒(B518231,上海生工)提取浙江楠175份样本的基因组DNA,使用核酸蛋白测定仪(Eppendorf,德国)检测DNA浓度,通过琼脂糖凝胶电泳检测DNA质量,-80℃保存备用。

1.3 SSR扩增

采用15对多态性和特异性较好的SSR引物^[12]进行浙江楠的遗传多样性分析,引物信息见表2。正向引物5'端添加荧光标记基因,委托北京擎科生物科技股份有限公司合成。荧光引物PCR反应体系:2×TSINGKE Master Mix 10 μL,正反向引物各0.15 μL,DNA 1 μL,ddH₂O补至20 μL。PCR扩增程序:94℃预变性3 min;94℃变性30 s,60℃复性30 s,72℃延伸30 s,循环35次;最后72℃延伸5 min。取10 μL的Mix(HIDI Formamide缓冲液与GS500 LIZ内标按体积比130:1混合)、0.5 μL上述SSR扩增产物混合加入PCR板,95℃加热预变性5 min,-20℃冷却,4000 r/min离心混匀。通过ABI 3730 xl遗传分析仪(Thermo,美国)进行毛细管电泳检测后,利用Gene mapper软件读取位点数据。

表2 15对SSR引物信息

Table 2 Information of 15 pairs of SSR primers

引物 Primer	正向引物序列(5'-3') Forward primer sequence(5'-3')	反向引物序列(5'-3') Reverse primer sequence(5'-3')	重复基元 SSR motif	荧光类型 Fluorescent type	退火温度 (℃) T _m	产物长度 (bp) Product length
Pc06	AGCCCTTAACCCTAACCT	CGGGTAGTTGTTGTGCCTCT	CT(6)	TAMRA	59.87	193
Pc10	CGAGATATTTGAGATTTGTAGGCCA	ATGCCAATGCGATCGAAAGC	GC(7)	TAMRA	59.00	228
Pc13	TGCAAAAACCCCTCCACTT	TCGTAGACGAAAACCCTGCC	TCG(6)	HEX	60.00	242
Pc14	GGGAGGCATCTCTACTCGC	CCACGGGAGATACCCTTGG	CGC(6)	HEX	59.96	242
Pc16	CTAGTCGGAAGCAGAGCTCG	ACCATTCCCAAACAGTACCC	TCG(6)	HEX	59.97	246
Pc17	TCTGAGGCCATGTTTCGGAC	GCGTTGTTTAGGTCTCGCC	ACG(5)	HEX	60.04	249
Pc18	TGCAAAAACCCCTCCACTT	TCGTAGACGAAAACCCTGCC	CT(8)	FAM	60.03	254
Pc19	GGACCTCTCTACGGAGTTCCA	GCCATTCATTCTGGTGGGC	GCC(7)	FAM	60.34	255
Pc24	GCTTCTCTTCGCATTCCCC	GCCGCCGCTATTCAATTCT	ACC(7)	FAM	59.27	272
Pc28	AGTGGTCTGAATCACAAACCA	TGGGTTGGAAGTGGAAAGCA	CG(7)	FAM	59.83	273
Pc45	GGGAAAAGACAGACAGGGCA	CAGGCCCTTTCACCTTTTGC	ATCTG(5)	TAMRA	59.89	176
Pc71	TCTTATGGTGAGGTCTCCAATGT	GCAAGATGCGCAGATTTCTCT	TTTTC(5)	FAM	58.90	267
Pc73	ATCATGGTCTTTGTCGCCGT	AGTCGGATGATTGTCAATCCG	AAAAG(5)	FAM	60.04	272
Pc81	GCTCCAACATGGGATTACAG	GGATCAGCTTTGTGAGTTCTGC	TACA(8)	TAMRA	59.27	158
Pc96	CCCTCAACAAGGCCTCATGT	GTGGGATCGAGAGGCTGATG	GAT(8)	FAM	59.96	254

括号内数字代表重复基元的重复次数

The numbers in parentheses represent the repetitions of SSR motif

1.4 数据分析

利用 Popgen32 和 GenAlEx (version 6.501) 软件^[13]计算观测等位基因(N_a)、有效等位基因(N_e)、Shannon 信息指数(I)、观测杂合度(H_o)、期望杂合度(H_e)等遗传多样性参数,同时计算群体内近交系数(F_{is})、群体间近交系数(F_{it})、遗传分化系数(F_{st})、基因流(Nm)和遗传距离。利用 CERVUS^[14]计算多态性信息含量(PIC , polymorphism information content), $PIC < 0.25$ 、 $0.25 \leq PIC < 0.5$ 、 $PIC \geq 0.5$ 分别代表低多态性位点、中度多态性位点、高度多态性位点。采用 STRUCTURE 2.3.3 软件分析浙江楠群体结构。基于 Nei's 遗传距离,使用 MEGA 软件基于非加权组平均法(UPGMA)进行群体聚类。

2 结果与分析

2.1 SSR 分子标记多态性

利用 15 对 SSR 引物对浙江楠 10 个群体 175 份

材料进行荧光毛细管电泳检测(表 3)。结果显示, 15 对 SSR 引物在 175 份材料中共检测到 113 个观测等位基因(N_a), 平均每个位点包含 7.6 个观测等位基因(N_a), 平均有效等位基因(N_e)为 2.371。其中观测等位基因(N_a)数量最高的是 PC24, 最低的是 PC6 和 PC14; 有效等位基因(N_e)数量最多的是 PC19, 最少的是 PC18。Shannon 信息指数(I)为 0.333(PC18)~1.377(PC19), 平均值为 0.828, 说明遗传提供的信息度高。物种水平上, 浙江楠的平均观测杂合度($H_o=0.621$)大于平均期望杂合度($H_e=0.478$)。多态信息含量(PIC)的变化范围为 0.323(PC18)~0.844(PC19), 平均值为 0.629, 其中 13 个位点为高度多态性位点($PIC \geq 0.5$), 2 个位点为中度多态性位点($0.25 \leq PIC < 0.5$), 表明所选 SSR 引物在浙江楠中表现出良好的多态性, 能够有效揭示其遗传多样性。

表 3 SSR 分子标记的多态性分析结果

Table 3 Results of polymorphic analysis using SSR molecular markers

位点 Locus	观测等位基因 N_a	有效等位基因 N_e	Shannon 信息指数 I	观测杂合度 H_o	期望杂合度 H_e	多态信息含量 PIC
PC6	3	2.231	0.772	0.700	0.490	0.572
PC10	8	2.374	0.858	0.766	0.508	0.604
PC13	4	1.364	0.352	0.219	0.217	0.342
PC14	3	2.010	0.687	0.761	0.470	0.542
PC16	7	2.455	0.928	0.691	0.559	0.637
PC17	7	2.164	0.585	0.219	0.311	0.717
PC18	6	1.310	0.333	0.176	0.196	0.323
PC19	12	3.678	1.377	0.859	0.708	0.844
PC24	13	3.150	1.183	0.858	0.636	0.804
PC28	6	2.939	1.057	0.969	0.625	0.747
PC45	10	2.662	1.048	0.763	0.585	0.768
PC71	12	1.763	0.519	0.238	0.287	0.515
PC73	6	2.029	0.660	0.437	0.395	0.590
PC81	7	2.620	0.969	0.839	0.576	0.664
PC96	9	2.814	1.095	0.818	0.611	0.758
均值 Mean	7.6	2.371	0.828	0.621	0.478	0.629

N_a : Number of alleles; N_e : Number of effective alleles; I : Shannon's diversity index; H_o : Observed heterozygosity; H_e : Expected heterozygosity; PIC : Polymorphism information content; The same as below

2.2 浙江楠群体的遗传多样性

浙江楠 10 个群体间遗传多样性存在明显差异(表 4), 不同群体的观测等位基因数(N_a)变化范围为 1.800(浙江宁波、浙江松阳)~4.400(江西婺源),

平均值为 3.047; 有效等位基因数(N_e)变化范围为 1.692(浙江松阳)~2.972(江西德兴), 平均值为 2.371。Shannon 信息指数(I)变化范围为 0.449(浙江宁波)~1.164(江西德兴), 平均值为 0.828。观测

杂合度(H_o)变化范围为0.410(湖南武冈)~0.749(安徽祁门),平均值为0.621。期望杂合度(H_e)变化范围为0.297(浙江宁波)~0.616(江西德兴),平均值为0.478。期望杂合度(H_e)是评价群体遗传多样性的重要指标,江西德兴群体的期望杂合度最高,且其

有效等位基因数(N_e)、Shannon 信息指数(I)均最大,表明江西德兴群体具有最高的遗传多样性;而浙江宁波群体的期望杂合度(H_e)和 Shannon 信息指数(I)最低,表明其遗传多样性最低,这可能与其群体数量较小有关。

表4 浙江楠群体遗传多样性指数

Table 4 Genetic diversity indices of *P. chekiangensis* populations

群体 Population	观测等位基因 N_a	有效等位基因 N_e	Shannon 信息指数 I	观测杂合度 H_o	期望杂合度 H_e
江西德兴 JX_DX	4.267	2.972	1.164	0.622	0.616
江西婺源 JX_WY	4.400	2.701	1.010	0.631	0.535
江西庐山 JX_LS	2.400	2.084	0.704	0.670	0.433
江西石城 JX_SC	2.933	2.447	0.885	0.639	0.541
浙江杭州 ZJ_HZ	3.000	2.544	0.881	0.666	0.498
浙江宁波 ZJ_NB	1.800	1.698	0.449	0.511	0.297
浙江松阳 ZJ_SY	1.800	1.692	0.484	0.646	0.338
安徽祁门 AH_QM	3.000	2.616	0.940	0.749	0.558
湖北武汉 HB_WH	3.067	2.551	0.901	0.666	0.515
湖南武冈 HN_WG	3.800	2.405	0.863	0.410	0.451
均值 Mean	3.047	2.371	0.828	0.621	0.478

2.3 浙江楠群体的遗传分化

15个SSR位点的遗传分化系数和基因流是衡量群体间遗传分化程度的重要指标(表5),浙江楠群体的平均遗传分化系数(F_{st})为0.275,群体内近交系数(F_{is})为-0.237,基因流(N_m)为0.763,说明浙江楠群体间有着很大的遗传分化。浙江楠群体内近交系数(F_{is})范围为-0.622~0.296,其中12个位点为负值,4个位点为正值,表明浙江楠群体总体上表现出一定的杂合子过剩现象。群体近交系数(F_{it})范围为-0.254~0.707,平均值为0.082,表明群体间存在一定的近交现象。群体间的遗传分化系数(F_{st})范围为0.177~0.584,群体间具有极大的遗传分化。基因流(N_m)范围为0.178~1.165,群体间基因流水平较低,表明浙江楠群体间遗传分化很大。

分子方差分析结果显示(表6),浙江楠群体内遗传变异较大,占变异总量的78.7%,群体间的遗传变异仅占21.3%,遗传分化达到了极显著水平($P < 0.001$),表明浙江楠种质的遗传变异主要来自群体内个体之间。

2.4 遗传距离与聚类分析

群体结构分析表明,K=3时出现明显拐点并取得最大值,表明175份浙江楠材料具有3个不

表5 浙江楠群体遗传分化系数和基因流

Table 5 Genetic differentiation coefficient and gene flow of *P. chekiangensis* population

位点 Locus	群体内近交 系数 F_{is}	群体近交 系数 F_{it}	群体间分化 指数 F_{st}	基因流 N_m
PC6	-0.428	-0.087	0.238	0.799
PC10	-0.508	-0.180	0.218	0.899
PC13	-0.010	0.256	0.263	0.700
PC14	-0.622	-0.248	0.230	0.837
PC16	-0.235	0.016	0.203	0.981
PC17	0.296	0.707	0.584	0.178
PC18	0.104	0.301	0.220	0.885
PC19	-0.213	0.001	0.177	1.165
PC24	-0.348	-0.018	0.245	0.771
PC28	-0.551	-0.254	0.191	1.056
PC45	-0.305	0.047	0.270	0.675
PC71	0.172	0.551	0.458	0.296
PC73	-0.107	0.328	0.393	0.386
PC81	-0.457	-0.152	0.209	0.946
PC96	-0.339	-0.041	0.223	0.871
均值 Mean	-0.237	0.082	0.275	0.763

F_{is} : Individual inbreeding coefficient relative to subpopulations;
 F_{it} : Individual inbreeding coefficient relative to total populations;
 F_{st} : Subpopulation inbreeding coefficient relative to total populations;
 N_m : Gene flow net migration

表 6 浙江楠群体分子方差分析

Table 6 AMOVA of populations of *P. chekiangensis*

变异来源 Source of variation	自由度 Mean of square	均方和 Sum of square	均方偏差 Mean of square	方差组分 Estimated variance	变异比例(%) Variation ratio	P 值 P-value
群体间 Among populations	9	402.766	44.752	1.199	21.3	0.001
群体内 Within populations	175	777.500	4.443	4.443	78.7	0.001
总计 Total	186	1823.277		5.642	100	

同类群(图2)。湖南武冈群体与其他群体表现出了明显的遗传分化。群体遗传结构分析表明,群体间存在明显的遗传分化,基因交流较少(图3)。为进一步探明遗传多样性与地理来源的相关性,基于非加权组平均法构建了 10 个群体的树状聚类图(图4)。种群聚类中,湖南武冈、浙江松阳聚为一类,江西石城种群与其他种群间遗传距离均较大,分别单独聚为一组,其余 7 个种群全部聚类一组。为了解野生群体间遗传关系,利用 Popgen32 软件对群体间的遗传距离进行计算。10 个野生群体的遗传距离差异很大,介于 0.056~0.831 之间。其中江西庐山和浙江杭州间的遗传距离最小,说明两个群体亲缘关

系最近;浙江松阳和江西石城间的遗传距离最大(表7),两个群体的亲缘关系较远,与群体遗传结构分析结果类似。

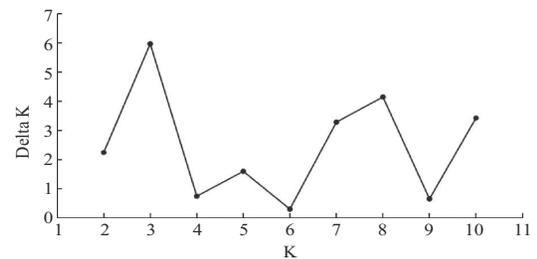


图 2 Delta K 分布
Fig. 2 Distribution of Delta K

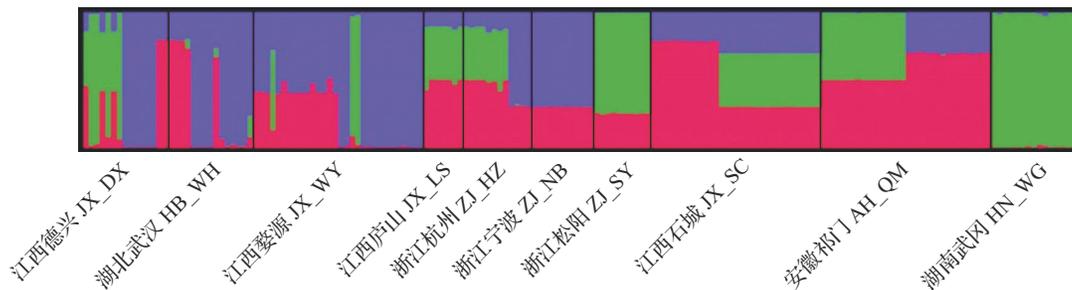


图 3 浙江楠群体遗传结构分析(K=3)
Fig. 3 Structure analysis of *P. chekiangensis* with cluster number(K=3)

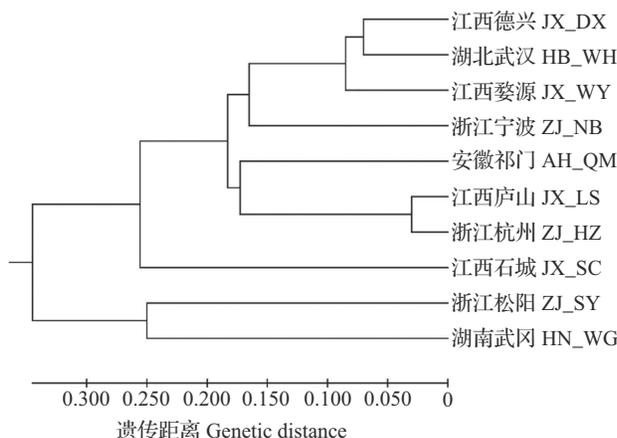


图 4 基于遗传距离的浙江楠群体聚类分析
Fig. 4 Dendrogram of *P. chekiangensis* populations based on genetic distance

表7 浙江楠10个群体间遗传距离

Table 7 Genetic distance among 10 populations of *P. chekiangensis*

群体 Population	江西德兴 JX_DX	湖北武汉 HB_WH	江西婺源 JX_WY	江西庐山 JX_LS	浙江杭州 ZJ_HZ	浙江宁波 ZJ_NB	浙江松阳 ZJ_SY	江西石城 JX_SC	安徽祁门 AH_QM	湖南武冈 HN_WG
江西德兴JX_DX	0									
湖北武汉HB_WH	0.143	0								
江西婺源JX_WY	0.194	0.145	0							
江西庐山JX_LS	0.368	0.401	0.381	0						
浙江杭州ZJ_HZ	0.296	0.327	0.248	0.056	0					
浙江宁波ZJ_NB	0.350	0.391	0.253	0.496	0.243	0				
浙江松阳ZJ_SY	0.603	0.782	0.780	0.663	0.656	0.767	0			
江西石城JX_SC	0.326	0.420	0.400	0.699	0.603	0.626	0.831	0		
安徽祁门AH_QM	0.336	0.364	0.435	0.352	0.338	0.494	0.548	0.498	0	
湖南武冈HN_WG	0.408	0.716	0.732	0.738	0.702	0.721	0.502	0.667	0.724	0

3 讨论

3.1 浙江楠群体的遗传多样性

SSR标记的多态性是评价群体遗传多样性的关键,常用PIC值衡量SSR位点多态性高低的程度,当PIC>0.5时,引物贡献率较高,多态性较好,选取的引物可以最大程度的反映遗传多样性^[15]。本研究采用的15对SSR引物平均PIC值为0.629,能够检测到的平均有效等位基因数为2.371,高于丁亚军^[10]报道的SSR标记的多态信息含量(PIC=0.32)和有效等位基因数($N_e=1.73$),说明所选引物多态性较好,能有效的揭示浙江楠种质资源的遗传多样性。研究表明,物种的遗传多样性水平与其濒危程度呈负相关^[16]。本研究中,浙江楠的平均期望杂合度(H_e)为0.478,与闽楠^[17]接近,但是低于木荷^[18]、枫香^[19]等广泛分布的阔叶树种,这可能与濒危植物的分布区域狭窄,居群规模小有关^[20]。

影响植物遗传多样性的因素包括生殖方式、遗传漂变、基因流和人为干扰等,近交繁殖、遗传漂变、基因流受限、种群规模变小都会导致遗传多样性的降低^[21]。遗传分化系数 F_{st} 可以反映群体间的遗传分化程度^[22],遗传分化系数越大,说明遗传分化程度越高,一般来说,当 $F_{st} > 0.25$ 时,群体间的遗传分化程度非常高。浙江楠群体间,尤其是不同地理种源群体间存在极大的遗传分化($F_{st}=0.275$),这与许多亚热带阔叶树种的遗传变异模式基本一致^[23]。张月婷等^[24]报道的浙江楠全基因组调查发现浙江楠基因组大小1060.06 Mb,杂合率为2.18%,重复序列占58.81%,进一步验证了浙江楠的遗传背

景复杂,杂合性较高。陆云峰等^[9]发现浙江楠叶片表型在种群间的变异大于种群内,而李因刚等^[10]发现浙江楠表型变异主要来自种群内。本研究中,浙江楠遗传变异主要发生在群体内(78.7%),这可能是由于生境破碎化导致的遗传漂变所致,表明浙江楠选择时需更加注重群体内的单株选择。基因流是影响群体间遗传分化的重要因素^[25]。浙江楠平均基因流值为0.763,表明群体间基因交流较少,基因流不足以抵制因遗传漂变而引起的群体分化。群体遗传结构分析表明10个浙江楠群体可能起源于3个基因库,地理距离较近的群体聚为一类,而地理距离较远的群体单独形成分支,表明地理隔离阻隔了群体间的基因交流,导致其产生了遗传差异。因此,生境片段化而引起的遗传漂变和群体间低水平的基因流可能导致了浙江楠群体间的高度遗传分化。此外,由于木材的珍贵性加速了浙江楠的人为砍伐,加剧了浙江楠群体数量的减少,导致浙江楠的濒危性。

3.2 浙江楠的濒危机制和保护策略

明确遗传多样性的重要影响因素是制定有限措施来保护濒危植物的关键。野外追踪调查发现,浙江楠多为古树或风水树,树龄偏大,结实量少,群落中幼苗幼树数量严重不足,龄级断层严重,导致群落自然更新能力弱^[9]。其次,浙江楠对生境要求苛刻,原生环境多位于沟谷、溪涧边,喜湿耐阴。此外,浙江楠由于木材珍贵经济价值高,人类干扰及盗伐严重,致使其种群数量减少或消失,生境日益破碎化。生境片段化会导致群体变小,遗传多样性水平降低,阻碍基因交流,是威胁物种生存的重要

因素^[26]。结合前期种质资源调查和本研究结果,表明生境破碎化和长期人为干扰极有可能是造成浙江楠当前遗传变异模式的主要原因。

保护群体遗传多样性对于物种的适应性和进化潜力具有重要意义。较高的种内遗传多样性或丰富的遗传变异意味着林木对环境变化的适应能力更强,相反,遗传多样性的降低或消失会削弱林木在适应、繁殖以及对疾病的抵抗力^[20]。因此,基于遗传多样性研究制定科学合理的保护策略变得尤为关键。本研究中,德兴群体的遗传多样性最高,应作为核心种群予以重点保护。而宁波群体数量少且遗传多样性较低,需优先予以保护。针对婺源、杭州、松阳等靠近村庄或景区的群体,可以采取迁地保护措施,如种质资源保存和基因库建设等。

参考文献

- [1] 丁剑敏, 张向东, 李国梁, 王隼, 黄江, 张兆祥, 高浦新. 濒危植物居群恢复的遗传学考量. 植物科学学报, 2018, 36(3): 452-458
Ding J M, Zhang X D, Li G L, Wang J, Huang J, Zhang Z X, Gao P X. Genetic considerations in recovery of endangered plants. Plant Science Journal, 2018, 36(3): 452-458
- [2] Exposito-Alonso M, Booker T R, Czech L, Gillespie L, Hateley S, Kyriazis C C, Lang P M, Leventhal L, Nogues-Bravo D, Pagowski V, Ruffley M, Spence J, Arana S T, Weiss C, Zess E. Genetic diversity loss in the anthropocene. Science, 2022, 377, 1431-1435
- [3] Wei X Z, Jiang M X. Meta-analysis of genetic representativeness of plant populations under ex situ conservation in contrast to wild source populations. Conservation Biology, 2021, 35(1): 12-23
- [4] 徐刚标, 吴雪琴, 蒋桂雄, 胡尚力, 刘雄盛, 肖玉菲, 郝博博. 濒危植物观光木遗传多样性及遗传结构分析. 植物遗传资源学报, 2014, 15(2): 255-261.
Xu G B, Wu X Q, Jiang G X, Hu S L, Liu X S, Xiao Y F, Hao B B. Genetic diversity and population structure of an endangered species: *Tsoongiodendron odorum* Chun. Journal of Plant Genetic Resources, 2014, 15(2): 255-261
- [5] 向其柏, 季春峰. 浙江楠后选模式标本的重新指定. 南京林业大学学报: 自然科学版, 2013, 37(4): 163-164
Xiang Q B, Ji C F. On the redesignation of lectotype of *Phoebe chekiangensis*. Journal of Nanjing Forestry University: Natural Sciences Edition, 2013, 37(4): 163-164
- [6] 吴显坤, 谢春平, 汤庚国, 南程慧, 徐燕红. 祁门浙江楠种群结构与数量动态研究. 四川农业大学学报, 2015, 33(3): 258-264
Wu X K, Xie C P, Tang G G, Nan C H, Xu Y H. Population structure and quantitative dynamics of *Phoebe chekiangensis* in Qimen county. Journal of Sichuan Agriculture University, 2015, 33(3): 258-264
- [7] 王松, 方芳, 范正文, 何理坤, 陈邦锦. 浙江楠研究现状及濒危保护建议. 华东森林经理, 2019, 33(3): 19-24
Wang S, Fang F, Fan Z W, He L K, Chen B J. The Status quo research, the rescue and conservation strategy for *Phoebe chekiangensis*. East China Forest Management, 2019, 33(3): 19-24
- [8] 李伟成, 田新立, 盛海燕, 刘姚姚, 张瑞. 干旱胁迫和复水对浙江楠光合与根系生长的影响. 生态科学, 2019, 38(3): 182-188
Li W C, Tian X L, Sheng H Y, Liu Y Y, Zhang R. Effects of drought stress and re-watering on photosynthesis and root growth of *Phoebe chekiangensis*. Ecology Science, 2019, 38(3): 182-188
- [9] 陆云峰, 裴男才, 朱亚军, 柏志靓, 杨安娜, 张俊红, 楼炉煥, 童再康. 渐危植物浙江楠群落结构及叶片性状多样性. 应用生态学报, 2018, 29(7): 2101-2110
Lu Y F, Pei N C, Zhu Y J, Bo Z L, Yang A N, Zhang J H, Lou L H, Tong Z K. Community structure and leaf trait diversity in a vulnerable species, *Phoebe chekiangensis* (Lauraceae). Chinese Journal of Applied Ecology, 2018, 29(7): 2101-2110
- [10] 丁亚军. 浙江楠 EST-SSR 标记开发及天然种群遗传多样性研究. 杭州: 浙江农林大学, 2014
Ding Y J. Development of EST-SSR markers and research of genetic diversity in natural populations of *Phoebe chekiangensis*. Hangzhou: Zhejiang Agriculture and Forestry University, 2014
- [11] 李因刚, 柳新红, 马俊伟, 石从广, 朱光权. 浙江楠种群表型变异. 植物生态学报, 2014, 38(12): 1315-1324
Li Y G, Liu X H, Ma J W, Shi C G, Zhu G Q. Phenotypic variations in populations of *Phoebe chekiangensis*. Chinese Journal of Plant Ecology, 2014, 38(12): 1315-1324
- [12] 郑永杰, 廖枝锋, 刘新亮, 张月婷, 涂白连, 伍艳芳. 基于转录组测序的浙江楠 EST-SSR 分子标记开发. 南方林业科学, 2024, 52(5): 8-12
Zheng Y J, Liao Z F, Liu X L, Zhang Y T, Tu B L, Wu Y F. Development of EST-SSR markers based on transcriptome sequences of *Phoebe chekiangensis*. South China Forestry Science, 2024, 52(5): 8-12
- [13] Peakall R O D, Smouse P E. GENALEX 6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology Notes, 2006, 6(1): 288-295
- [14] Kalinowski S T, Taper M L, Marshall T C. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. Molecular Ecology, 2007, 16(5): 1099-1106
- [15] Uzun A, Yesiloglu T, Polat I, Aka-Kacar Y, Gulsen O, Yildirim B, Tuzcu O, Tepe S, Canan I, Anil S. Evaluation of genetic diversity in lemons and some of their relatives based on SRAP and SSR markers. Plant Molecular Biology Reporter, 2011, 29: 693-701
- [16] 张大勇, 姜新华. 遗传多样性与濒危植物保护生物学研究进展. 生物多样性, 1999(1): 31-37

- Zhang D Y, Jiang X H. Progress in studies of genetic diversity and conservation biology of endangered plant species. *Biodiversity Science*, 1999(1): 31-37
- [17] 张俊红, 王洋, 周生财, 吴小林, 吴仁超, 杨琪, 张毓婷, 童再康. 闽楠群体遗传结构分析与核心种质库构建. *林业科学*, 2024, 60(1): 68-79
- Zhang J H, Wang Y, Zhou S C, Wu X L, Wu R C, Yang Q, Zhang Y T, Tong Z K. Genetic structure analysis and core germplasm collection construction of *Phoebe bournei* populations. *Scientia Silvae Sinicae*, 2024, 60(1): 68-79
- [18] 杨汉波, 张蕊, 王帮顺, 徐肇友, 陈焕伟, 周志春. 木荷优树无性系种质 SSR 标记的遗传多样性分析. *林业科学*, 2017, 53(5): 43-53
- Yang H B, Zhang R, Wang B S, Xu Z Y, Chen H W, Zhou Z C. Analysis of genetic diversity in *Schima superba* plus tree germplasms by SSR markers. *Scientia Silvae Sinicae*, 2017, 53(5): 43-53
- [19] 仲小茹, 柯叮, 黄献峰, 何小三, 王玉娟, 孙荣喜. 基于 SSR 标记的江西省枫香古树遗传多样性评价. *植物遗传资源学报*, 2023, 24(2): 523-531
- Zhong X R, Ke D, Huang X F, He X S, Wang Y J, Sun R X. Genetic diversity in the ancient *Liquidambar formosana* Hance revealed by simple sequence repeat markers. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2023, 24(2): 523-531
- [20] 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. *植物科学学报*, 2021, 39(4): 415-423
- Ye X Z, Wen G W, Zhang M Z, Liu Y P, Fan H H, Zhang G F, Chen S P, Liu B. Genetic diversity and genetic structure of a rare and endangered species *Semiquidambar cathayensis* Hung T. Chang. *Plant Science Journal*, 2021, 39(4): 415-423
- [21] 文亚峰, 韩文军, 吴顺. 植物遗传多样性及其影响因素. *中南林业科技大学学报*, 2010, 30(12): 80-87
- Wen Y F, Han W J, Wu S. Plant genetic diversity and its influencing factors. *Journal of Central South University of Forestry and Technology*, 2010, 30(12): 80-87
- [22] Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 1978, 89(3): 583-590
- [23] 潘文婷, 孙建军, 原勤勤, 张利利, 邓康桥, 厉月桥. RAD-seq 技术研究鹅掌楸属种源遗传多样性和遗传结构. *林业科学*, 2022, 58(4): 74-81
- Pan W T, Sun J J, Yuan Q Q, Zhang L L, Deng K Q, Li Y Q. Analysis of genetic diversity and structure in different provenances of *Liriodendron* by rad-seq technique. *Scientia Silvae Sinicae*, 2022, 58(4): 74-81
- [24] 张月婷, 郑永杰, 刘新亮, 李升星, 戴小英, 伍艳芳. 浙江楠全基因组调查. *分子植物育种*, 2023, 21(8): 2577-2582
- Zhang Y T, Zheng Y J, Liu X L, Li S X, Dai X Y, Wu Y F. The whole genome survey of *Phoebe chekiangensis*. *Molecular Plant Breeding*, 2023, 58(4): 74-81
- [25] 陈小勇. 生境片段化对植物种群遗传结构的影响及植物遗传多样性保护. *生态学报*, 2000(5): 884-892
- Chen X Y. Effect of habitat fragmentation on genetic structure of plant populations and implications for the biodiversity conservation. *Acta Ecologica Sinica*, 2000(5): 884-892
- [26] 武晶, 刘志民. 生境破碎化对生物多样性的影响研究综述. *生态学杂志*, 2014, 33(7): 1946-1952
- Wu J, Liu Z M. Effect of habitat fragmentation on biodiversity: A review. *Chinese Journal of Ecology*, 2014, 33(7): 1946-1952