不同地理分布区紫椴种群的遗传多样性变化

穆立蔷¹ 刘赢男²

(1 东北林业大学林学院 哈尔滨 150040) (2 黑龙江省科学院自然资源研究所 哈尔滨 150040)

摘要 该文运用 ISSR 分子标记技术,研究不同纬度、不同海拔紫椴 (*Tilia amurensis*) 天然种群的遗传多样性变化规律,探讨紫椴种群的濒危机制,为紫椴遗传资源的有效保护和合理利用提供理论依据。14 个 ISSR 引物扩增结果显示,紫椴种群多态位点百分率 (P) 为 93.85%,基因多样性指数 (H) 和 Shannon 多样性指数 (I) 分别为 0.243 3 和 0.380 3。不同纬度紫椴种群的遗传多样性由高到低依次为: CBS 种群 > BL 种群 > NA 种群 > LS 种群 > FHS 种群 > DYS 种群; 不同海拔紫椴种群的遗传多样性由高到低依次为: H1 种群 > H2 种群 > H3 种群 > H4 种群 > H6 种群 > H5 种群。紫椴种群的遗传多样性没有随纬度的升高而呈现规律性的变化,但随海拔的升高呈现遗传多样性逐渐降低的趋势。用 AMOVA 进行分子方差分析表明,紫椴种群间遗传分化较大,遗传变异主要来自种群内部。紫椴种群间遗传距离与地理距离没有相关性,但随着海拔的逐渐增高种群间遗传距离增大。该研究结果揭示,紫椴种群具有较高的遗传多样性,遗传多样性不是导致其种群濒危的主要原因,导致其濒危的主要原因可能与人为采伐、生境破坏和生境退化及其自身生物学特性所导致的自然更新不良有密切关系。因此,应加强对紫椴生境的保护,防止人为因素对紫椴天然种群的进一步破坏。

关键词 紫椴种群 ISSR 遗传多样性 保护策略

GENETIC DIVERSITY OF *TILIA AMURENSIS* POPULATIONS IN DIFFERENT GEOGRAPHICAL DISTRIBUTION REGIONS

MU Li-Qiang¹ and LIU Ying-Nan²

¹Forestry College, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China, and ²Institute of Natural Resource, Heilongjiang Academy of Sciences, Harbin 150040, China

Abstract Aims *Tilia amurensis* is one of the II-grade Chinese protected plants with an important economic value and ecological significance. The population of *T. amurensis* has gradually declined due to overdrafting. Our objectives were to 1) study the genetic diversity of six natural populations varying in longitude and latitude and six varying in altitude and 2) discuss strategies to conserve germplasm resources.

Methods The newly developed inter-simple sequence repeats (ISSR) marker was used to examine genetic diversity.

Important findings The results of 14 ISSR primers showed that polymeric percentage of the six populations was 93.85%, the gene diversity (H) was 0.243 3 and Shannon Index of diversity (I) was 0.380 3. The genetic diversities of *T. amurensis* decreased with increasing altitude, had a single-peak curve with increasing latitude, and were higher in the central region than in the edges. Analysis of molecular variance (AMOVA) revealed that the majority of genetic variation occurred within populations. Genetic distance and geographic distance were uncorrelated. We concluded that the genetic diversity of *T. amurensis* was high and mainly within populations. Also, the major factors threatening the development of *T. amurensis* included direct damage to natural populations due to destruction of habitat and poor regeneration ability caused by innate biological and ecological characteristics. Habitat should be protected, as individuals, especially in core areas.

Key words *Tilia amurensis* population, ISSR, genetic diversity, protect strategy

紫椴 (*Tilia amurensis*) 是椴树科椴树属的落叶阔叶乔木,主产于中国东北、内蒙古东部及黑龙江与乌苏里江流域,向南至朝鲜半岛,在中国向南不超过黄

河(唐亚和诸葛仁,1999)。主要分布区域在40°15'~50°20' N、126°~135°30' E 之间,呈新月式地形(聂绍荃等,1992)。紫椴不仅是世界著名的重要蜜源树

种,而且是优质胶合板及细木工板的重要材料,其花和根可入药,种子可榨工业用油。紫椴树形优美,抗烟、抗毒性较强,虫害也较少,可栽植于庭园供观赏(周以良等,1986);其种群还是东北植被区红松阔叶林群落的主要伴生种群及人工天然复合群落的优良混交组分(聂绍荃等,1992),具有重要的经济价值和生态意义。近年来,由于大量超采滥伐,紫椴种群数量逐年减少,已被列为国家Ⅱ级保护植物(穆立蕾和韩志坚,2004)。因此,为有效保护紫椴这一珍贵物种资源,有必要开展保护遗传学研究。

近年来,保护遗传学的分子生物学方法,包括等位酶及各种DNA分子标记技术已经广泛应用于探讨濒危植物的遗传多样性(时明芝等,2003)。通过对稀有濒危物种遗传多样性和遗传结构的研究,有助于了解稀有濒危物种受威胁的原因和现状。同时,物种种群水平上的遗传多样性信息也是制定合理保育策略的重要依据(许凤华等,2006)。目前,关于紫椴的研究主要集中在种群生态(聂绍荃等,1992)、育种造林(邹学忠等,1991)、人工林竞争机制¹⁾、种子解剖(杜凤国等,1994)和无性繁殖技术(乔静等,2004)等方面,但尚未见到有关紫椴保护遗传学方面的研究报道。本文运用简单序列重复区间扩增(Inter-simple sequence repeat, ISSR)分子标记技术,研究紫椴主要分布区内不同纬度、不同海拔天然种群遗传多样性和遗传分化的变化规律,探讨紫椴种群的濒危机制,为紫椴遗传资源的有效保护和合理利用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料采集与处理

在紫椴主要分布区 40°15' ~ 50°20' N、126° ~ 135°30' E 之间,纬度每增加约 2°设立取样地,共选出 6 个种群进行采样,作为水平对照。6 个种群分别为 辽宁省凤凰山(Fenghuangshan, FHS)自然保护区、吉林省长白山(Changbaishan, CBS)自然保护区、黑龙江省宁安(Ning'an, NA)林业局江东林场、黑龙江省勃利(Boli, BL)林业局通天二林场、东北林业大学凉水(Liangshui, LS)自然保护区、内蒙古自治区大杨树(Dayangshu, DYS)林业局古里林场。在吉林省长白山自然保护区,海拔 600 ~ 1 100 m 区间,每上升约 100 m 设立取样地,共选出 6 个种群进行采样,作

为垂直对照(表 1)。取样于 2004 年 10 ~ 11 月进行,采集紫椴 1 ~ 2 年生枝条。单株取样,样本间距离大于 50 m,植株直径 5 ~ 25 cm。将材料放入实验室内进行水培,待嫩叶展开至 3 ~ 4 cm 时采集,放入 - 70 °C 冰箱中保存待用。

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取及纯度检测

采用改良 CTAB 法提取萌发幼叶基因组 DNA(王军和贺普超,2000)。未萌发的样品提取枝条韧皮部基因组 DNA。 λ DNA(48 kb,浓度 30 ng· μ l⁻¹)作为对照,取 2 μ l DNA 样品 0.8% 琼脂糖(含 EB,终浓度为 0.5 μ g·ml⁻¹)凝胶电泳检测,电压 5 V·cm⁻¹。Eppendorf 公司生产的 Bio Photometer 核酸检测仪检测 DNA 溶液浓度与纯度,并将浓度稀释至 30 ng· μ l⁻¹。

1.2.2 ISSR 扩增及扩增产物检测

紫椴 ISSR-PCR 反应体系、扩增程序及所用引物序列参见穆立蕾等(2006)文献。PCR 反应在美国 MJ 公司的 PTC-200 型 PCR 循环仪上进行。PCR 产物用 1.5% 琼脂糖(含 EB 的终浓度为 0.5 μ g·ml⁻¹)凝胶电泳检测,电压 3 V·cm⁻¹。DL2000 Marker 作为分子量标准,Gene Genius 公司的 Bio Imaging System 成像。

1.2.3 数据分析及应用软件

采用人工读带法,根据条带的迁移率 and 有无记录二元数据,有带记 1,无带记 0。排除模糊不清的带和无法准确标识的带。用 POPGENE32 计算群体遗传多样性和遗传分化等指数,并用 UPGMA 进行聚类分析。AMOVA1.55 进行种群遗传变异分析。

2 实验结果

2.1 多态位点分析

14 个引物对不同纬度的紫椴 6 个种群共计 135 个 DNA 样品进行 PCR 扩增(图 1),共扩增出 130 条重复性高、清晰的条带,扩增片段分子量为 200 ~ 2 000 bp 之间,平均每个引物扩增出 9.3 条带,其中多态性条带为 122 条,多态位点百分率(P)为 93.85%。对不同海拔紫椴 6 个种群共计 90 个样品进行 PCR 扩增,共扩增出 122 条重复性高、清晰的条带,其中多态性条带为 114 条,平均每个引物扩增出 8.1 条带,多态位点百分率(P)为 87.69%,低于不同纬度紫椴种群的总多态位点百分率(P)。

1) Wang JB(王军邦)(2001). *Simulation of Competitive Mechanism and Growth Dynamics of Juvenile Amur Linden Plantation*(紫椴人工林竞争机制及生长动态模拟研究). Master degree dissertation, Northeast Forestry University, Harbin, 7. (in Chinese with English abstract)

2.2 不同纬度紫椴种群的遗传多样性分析

2.2.1 不同纬度紫椴种群遗传多样性

用 POPGENE32 对 6 个紫椴种群的遗传多样性进行统计分析,结果表明紫椴遗传多样性在 6 个种群间存在一定差异(表 2)。其中,有效等位基因数 A_e 、Nei 基因多样性指数(H)和 Shannon 指数(I)所揭示的紫椴 6 个种群遗传多样性规律一致,其顺序依

次为: CBS 种群 > BL 种群 > NA 种群 > LS 种群 > FHS 种群 > DYS 种群,与多态位点百分率(P)和等位基因数(A)的评价结果略有不同。但总体来看,位于紫椴分布区中间纬度的 CBS($42^{\circ}20'56''N$)、BL($45^{\circ}42'02''N$)、NA($44^{\circ}19'44''N$)和 LS($47^{\circ}10'56''N$)种群具有较高的遗传多样性,而位于紫椴分布区边缘的 FHS($40^{\circ}24'37''N$)和 DYS($50^{\circ}02'22''N$)种群遗

表 1 紫椴种群取样地点
Table 1 Natural populations of *Tilia amurensis* in this study

对 照 Control	种 群 Populations	样本数 Samples	纬 度 Latitude (°N)	经 度 Longitude (°E)	海拔 Altitude (m)	生 境 Habitats
水平对照 Level control	凤凰山(FHS)	15	40°24'37"	124°04'35"	560 ~ 580	以辽东栎为主的阔叶混交次生林 ¹⁾
	长白山(CBS)	15	42°20'56"	128°05'26"	780 ~ 820	红松、沙冷杉针阔混交林 ²⁾
	宁 安(NA)	30	44°19'44"	129°38'03"	510 ~ 530	以蒙古栎为主的阔叶混交次生林 ³⁾
	勃 利(BL)	30	45°42'02"	130°25'08"	390 ~ 420	红松针阔混交林 ⁴⁾
	凉水(LS)	30	47°10'56"	128°53'28"	300 ~ 310	云冷杉红松林 ⁵⁾
	大杨树(DYS)	15	50°02'22"	124°56'01"	290 ~ 320	杂木林 ⁶⁾
垂直对照 Upright control	海拔 1(H1)	15	42°37'34"	127°56'16"	600 ~ 620	红松、沙冷杉针阔混交林 ²⁾
	海拔 2(H2)	15	42°34'26"	127°50'47"	720 ~ 740	红松、沙冷杉针阔混交林 ²⁾
	海拔 3(H3)	15	42°20'56"	128°05'26"	780 ~ 820	红松、沙冷杉针阔混交林 ²⁾
	海拔 4(H4)	15	42°18'16"	128°07'42"	900 ~ 920	红松、沙冷杉针阔混交林 ²⁾
	海拔 5(H5)	15	42°15'48"	128°09'15"	980 ~ 1000	针叶林 ⁷⁾
	海拔 6(H6)	15	42°12'36"	128°10'10"	1 080 ~ 1 090	针叶林 ⁷⁾

FHS: Fenghuangshan CBS: Changbaishan NA: Ning'an BL: Boli LS: Liangshui DYS: Dayangshu H1 ~ H6: Altitude 1 ~ 6 1): Mixed secondary broadleaf forest which is mainly of *Quercus liaotungensis* 2): Mixed coniferous-broadleaved *Pinus koraiensis* and *Abies holophylla* forest 3): Mixed secondary broadleaf forest which is mainly of *Quercus mongolica* 4): Mixed coniferous-broadleaved *Pinus koraiensis* forest 5): *Abies nephrolepis*, *Picea koraiensis* and *Pinus koraiensis* forest 6): Weed-tree forest 7): Coniferous forest

图 1 引物 813 扩增结果
Fig.1 Amplification results using primer 813

传多样性则偏低。紫椴种群的遗传多样性没有随纬度的升高而呈现规律性的变化。

2.2.2 不同纬度紫椴种群遗传分化

紫椴种群总遗传多样性 H_t 值在 0.000 0 ~ 0.499 9 之间,平均值为 0.236 1,群体内遗传多样性 H_s 值在 0.000 ~ 0.478 8 之间,平均值为 0.189 8,群体间遗传多样性 D_{st} ($D_{st} = H_t - H_s$)值为 0.046 3。

基因流 N_m 为 2.044 9。紫椴种群基因分化度 G_{st} 的变动范围较大,在 0.010 2 ~ 0.712 4 之间,平均值为 0.196 5。用 AMOVA1.55 对紫椴种群进行群体遗传变异分析,结果表明紫椴种群间与种群内都产生了显著的遗传分化($p < 0.002$),紫椴群体的遗传多样性主要分布在群体内,占变异成分的 76.25%,只有 23.75% 的变异存在于不同种群间(表 3)。

表 2 不同纬度紫椴 6 个种群的遗传多样性
Table 2 Genetic diversity of *Tilia amurensis* from 6 populations at different latitudes

种群 Population	样本数 No. of sample	多态位点百分率 Percentage of polymeric P	等位基因数 Observed number of alleles A	有效等位基因数 Effective number of alleles A_e	期望杂合度 Mean expected heterozygosity H	香农信息指数 Shannon's information index I
FHS	15	56.15%	1.561 5	1.278 4	0.169 2	0.261 1
CBS	15	86.92%	1.869 2	1.377 4	0.230 7	0.358 9
NA	30	65.38%	1.653 8	1.319 4	0.194 6	0.299 9
BL	30	70.77%	1.707 7	1.332 3	0.203 5	0.315 8
LS	30	58.46%	1.584 6	1.302 8	0.179 3	0.272 8
DYS	15	57.69%	1.576 9	1.261 7	0.161 2	0.250 8
总 Total	135	93.85%	1.938 5	1.396 1	0.243 3	0.380 3

FHS、CBS、NA、BL、LS、DYS :见表 1 See Table 1

表 3 不同纬度紫椴 6 个种群的 AMOVA 分析
Table 3 AMOVA analysis of *Tilia amurensis* from 6 populations at different latitudes

变异来源 Source of variation	自由度 df	总方差 SSD	均方差 MSD	变异成分 Variance component		显著度检验 p
				Absolute	%	
种群间 Among populations	5	358.66	71.73	4.36	23.75	< 0.002
种群内 Within populations	74	1 035.20	13.98	13.99	76.25	< 0.002
总 Total	79			18.35	100	

2.2.3 遗传距离与地理距离的相关性

遗传相似性系数或遗传距离是衡量种群间遗传分化程度的最重要指标。由表 4 可以看出 ,各种群间的遗传一致度 I 在 0.917 8 ~ 0.968 9 之间 ,说明紫椴群体间的相似程度较高。紫椴 BL 和 NA 两个种群的遗传距离最小为 0.031 6 ,LS 和 FHS 种群间的遗传距离最大为 0.099 1。

根据 Nei 无偏遗传距离构建种群间 UPGMA 聚类图(图 2)。从图中可以看出 ,6 个种群共聚成 3 组 :第一组 ,DYS 种群(50°02'22" N)和 LS 种群(47°10'56" N) ;第二组 ,NA(44°19'44" N)和 BL 种群(45°42'02" N) ;第三组 ,CBS 种群(42°20'56" N)和 FHS 种群(40°24'37" N)。紫椴种群间的遗传距离并没有随纬度变化而呈现明显的规律变化。将其与地理距离做相关性分析 ,其 r 值为 0.277 6 ,经 Mantel 检测 ,显著水平 $p > 0.05$,说明紫椴种群间遗传距离与地理距离没有相关性。

2.3 不同海拔紫椴种群的遗传多样性分析

2.3.1 不同海拔紫椴种群遗传多样性

基于平均有效等位基因数 (A_e) 和 Nei 基因多样性指数 (H) 的评价结果与 Shannon 多样性指数 (I) 由大到小排列规律一致(图 3) ,其排列顺序依次为 :H1 种群 > H2 种群 > H3 种群 > H4 种群 > H6 种群 > H5 种群 ,从整体趋势上来看 ,随着海拔不断升高 ,紫椴种群间的遗传多样性逐渐降低。

图 2 不同纬度紫椴种群间 Nei 遗传距离 UPGMA 聚类图
Fig.2 UPGMA dendrogram of *Tilia amurensis* based on Nei genetic distance at different latitudes
FHS、CBS、NA、BL、LS、DYS :见表 1 See Table 1

2.3.2 不同海拔紫椴种群遗传分化

不同海拔紫椴种群总遗传多样性 H_t 值在 0.000 0 ~ 0.500 0 之间 ,平均值为 0.230 5 ,群体内遗传多样性 H_s 值在 0.000 ~ 0.471 1 之间 ,平均值为 0.161 1 ,群体间遗传多样性 D_{st} ($D_{st} = H_t - H_s$) 值为 0.069 4。紫椴种群基因分化度 G_{st} 的变动范围较大 ,在 0.036 5 ~ 0.846 7 之间 ,平均值为 0.301 1。用 AMOVA 进行不同海拔紫椴种群遗传变异分析(表 5)。结果表明 ,不同海拔紫椴种群间与种群内都产生了显著的遗传分化 ($p < 0.002$) ,有 27.29% 的变异存在于不同海拔的种群之间 ,72.71% 的变异存在于各种群内。

2.3.3 遗传距离与海拔的相关性

利用 POPGENE32 计算不同海拔紫椴种群间 Nei 无偏遗传距离 D 和遗传一致度 I ,由表 6 可以看出 ,

表 4 不同纬度紫椴种群 Nei 遗传距离和遗传一致度
Table 4 Nei genetic distance and genetic identity of *Tilia amurensis* at different latitudes

种群 Population	FHS	CBS	NA	BL	LS	DYS
FHS	0	0.953 7	0.949 9	0.957 7	0.905 7	0.920 5
CBS	0.066 4	0	0.952 1	0.957 5	0.940 5	0.917 8
NA	0.051 4	0.049 1	0	0.968 9	0.936 8	0.943 6
BL	0.043 2	0.043 4	0.031 6	0	0.936 7	0.928 9
LS	0.099 1	0.061 3	0.065 3	0.065 4	0	0.925 0
DYS	0.082 8	0.085 8	0.055 2	0.073 8	0.078 0	0

遗传距离在左下角,遗传相似度在右上角 Genetic identity above diagonal, genetic distance below diagonal FHS, CBS, NA, BL, LS, DYS :见表 1 See Table 1

表 5 不同海拔紫椴 6 个种群 122 条 ISSR 标记的 AMOVA 分析
Table 5 AMOVA analysis of *Tilia amurensis* from 6 populations using 122 ISSR markers at different altitudes

变异来源 Source of variation	自由度 <i>df</i>	总方差 <i>SSD</i>	均方差 <i>MSD</i>	变异成分		显著度检验 <i>p</i>
				Variance component		
				Absolute	%	
种群间 Among population	5	291.833	58.36	4.61	27.29	< 0.002
种群内 Within population	54	663.200	12.28	12.28	72.71	< 0.002
总 Total	59			16.89	100

图 3 不同海拔紫椴天然种群内的遗传变异指数统计
Fig.3 The genetic variation indeices within the populations of *Tilia amurensis* at different altitude

图 4 不同海拔紫椴种群间 Nei 遗传距离 UPGMA 聚类
Fig.4 UPGMA dendrogram of *Tilia amurensis* based on Nei genetic distance at different altitudes

H2 种群与其它 5 个种群间的遗传一致度 I 小于 0.9,且遗传距离均大于 0.1。其中,H1 和 H2 种群位于长白山的露水河,而 H3、H4、H5 和 H6 四个种群位于长白山的二道白河,这可能是导致两地区种群间遗传距离相对较大的主要原因。

根据 Nei 无偏遗传距离构建种群间 UPGMA 聚类图。由图 4 可以看出,海拔相近的种群分别聚在了一起,6 个种群共聚成 3 组:第一组,位于长白山露水河的 H1 和 H2 种群;第二组,位于长白山二道白河的 H3 和 H4 种群;第三组,长白山二道白河的 H5 和 H6 种群。对长白山二道白河 4 个种群进行遗传距离与垂直距离的相关性分析,其 r 值为 0.751 8,经 Mantel 检测,显著水平 $p < 0.05$,说明遗传距离与海拔变化有较显著相关性,紫椴种群的遗传距离随着海拔的不断升高而逐渐增大。

3 讨 论

3.1 紫椴种群的遗传多样性

通过 ISSR 标记对 6 个不同纬度紫椴天然种群的研究表明,紫椴种群的多态位点百分率为 93.85%,与其它采用 ISSR 标记进行检测的濒危植物相比要高得多,如银杏(*Ginkgo biloba*) ($P = 71.60\%$) (葛永奇等,2003)、海桑(*Sonneratia hainanensis*) ($P = 81.37\%$) (李海生等,2004)、延龄草(*Trillium tschonoskii*) ($P = 34.07\%$) (李群等,2005)、华木莲(*Manglietia decidua*) ($P = 17.28\%$) (廖文芳等,2004)、毛柄小勾儿茶(*Berchemiella wilsonii* var. *pubipetiolata*) ($P = 26.40\%$) (许凤华等,2006)等。根据 Hamrick 和 Godt(1989)对 165 个属 449 个物种共 653 篇等位酶研究论文,统计分析得出不同类型植物的遗传变异和种群遗传分化可知,双子叶植物多

表 6 不同海拔紫椴种群 Nei 遗传距离和遗传一致度
Table 6 Nei genetic distance and genetic identity of *Tilia amurensis* at different altitudes

种群 Population	H1	H2	H3	H4	H5	H6
H1	0	0.855 0	0.918 4	0.906 1	0.914 7	0.945 6
H2	0.156 7	0	0.871 0	0.882 9	0.878 6	0.853 0
H3	0.085 1	0.138 1	0	0.944 2	0.937 7	0.928 8
H4	0.098 7	0.124 6	0.057 4	0	0.939 3	0.933 6
H5	0.089 1	0.129 4	0.064 3	0.062 6	0	0.942 0
H6	0.056 0	0.159 1	0.073 9	0.068 7	0.059 7	0

遗传距离在左下角,遗传相似度在右上角 Genetic identity above diagonal, genetic distance below diagonal H1、H2、H3、H4、H5、H6 :见表 1 See Table 1

态位点百分率(*P*)平均值为 44.8% ,长命多年生木本植物多态位点百分率(*P*)值为 64.7% ,与之相比紫椴具有较高的遗传多样性水平。由此可见,无论与其它特有、珍惜濒危物种,还是与物种的遗传多样性平均水平相比,紫椴均具有较高的遗传多样性。紫椴具有较高的遗传多样性,可能是由其生活史特性所决定的。紫椴是多年生木本植物,虫媒传粉,而且由于是重要的蜜源植物,可以维持较多的传粉者,使个体之间基因流动频繁,为基因重组提供了机会;具有实生繁殖和无性繁殖两种繁育方式,确保了遗传稳定性。此外,现代椴树属分布区的形成是最近一次冰期结束后,其保存种类分化并重新扩散形成的(唐亚和诸葛仁,1999)。紫椴在其进化历史上并没有遭受严峻的气候变化和瓶颈效应,也使其在长期的进化中保留了较高水平的遗传多样性。

Taylor 和 Aarsser(1990)认为种群间分化与环境因子的选择和基因流的阻隔有关,生态小环境的变异可导致不同种群间在遗传结构上的显著差异。因此,不同种群间遗传变异大小可在某种程度上说明该物种对不同环境适应的广泛程度。种群间变异越大,该物种适应环境的能力越强(庞广昌等,1992)。本研究采用 AMOVA 对紫椴种群遗传变异的分布格局进行分析,结果表明紫椴种群间具有显著的遗传分化,说明紫椴种群具有较强的环境适应能力。

3.2 纬度对遗传多样性的影响

对紫椴种群间的遗传多样性研究表明,种群遗传多样性并没有随纬度的变化呈现规律性变化,而是表现为中纬度分布区的种群遗传多样性大于边缘区。这可能是因为处在中间纬度的种群,紫椴所处的林型主要为其顶级群落类型——红松针阔混交林,群落结构和种群结构合理,促进紫椴的生长繁殖,种群内个体间基因流动稳定,遗传多样性高。而在边缘区,紫椴主要处于人为干扰较大的杂木林,受人为影响较大,可能造成某些变异在群体中消失,从

而使群体的遗传多样性降低。

3.3 海拔对遗传多样性的影响

对不同海拔紫椴种群遗传多样性的研究结果表明,随着海拔的不断升高种群的遗传多样性逐渐降低。造成这种现象的原因,一方面可能是因为紫椴主要生长在海拔 500~700 m,随着海拔的不断升高,降雨量、温度等自然因素的变化均对紫椴生长极为不利,而且群落类型也逐渐由顶级群落沙冷杉(*Abies holophylla*)、红松(*Pinus koraiensis*)针阔混交林转变为针叶林带,不利于紫椴与其它树种竞争,生存环境恶劣导致高海拔地区紫椴种群的遗传多样性降低。李进等(1998)在对不同海拔高度川滇高山栎群体遗传多样性的变化进行研究时也认为分布规律与随着海拔而表现出的降雨量、温度等自然环境的变化是密切相关的。周涵韬和林鹏(2001)研究认为低温是限制红树植物向高纬度分布的重要因子。冯富娟等(2004)认为高海拔地区气候较为寒冷,影响红松生长,限制红松小孢子及其种子的传播,从而影响基因交流,导致长白山地区红松遗传多样性水平呈现随海拔升高逐渐降低的趋势。另一方面,种子传播和基因流动由低海拔地区向高海拔地区流动相对困难,也是遗传多样性降低的一个主要原因。

3.4 遗传距离与地理距离

对不同纬度紫椴种群间的遗传距离和地理距离进行相关性分析,发现两者之间没有相关性。这与一些学者的研究结果相一致,如李晓东等(2003)对水杉(*Metasequoia glyptostroboides*)、崔继哲等(2001)对松嫩草原羊草(*Leymus chinensis*)的研究结果均显示遗传距离与地理距离间不存在显著的相关性。但也有研究得到了相反的结论,如 Alpert 等(1993)在研究 *Fragaria chiloensis* 种群间的遗传分化时发现,遗传距离与种群间的空间距离高度相关。King 和 Chiang(1990)通过研究 *Clycine soja* 野生大豆种群认为遗传距离与纬度、物候农艺学性状有相关性。李群

等(2005)对珍惜濒危植物延龄草的遗传距离和地理距离进行相关性分析,认为二者之间具有一定的相关性。此外,也有一些学者研究认为遗传距离与地理距离的尺度有关,如李珊等(2005)在对金钱槭(*Dipteronia sinensis*)和云南金钱槭(*Dipteronia dyeriana*)居群间的遗传距离与地理距离进行相关性分析后认为在大尺度上遗传距离与地理距离相关而在小范围内则无上述关系。简曙光等(2004)在研究中国、泰国和澳大利亚全部 16 个银叶树(*Heritiera littoralis*)种群间遗传距离与地理距离相关性时,认为两者之间具有极显著相关($r = 0.945$ 和 $r = 0.793$, $p < 0.01$),但在小范围内,如在同一国家的种群间相关不显著。他认为这可能与基因流和生境适应有关,因为远距离的花粉和种子传播很难发生作用,而近距离不同种群由于生长环境的差异,导致不同程度的遗传分化。因此,本文中遗传距离与地理距离之间没有相关性可能是由于取样范围较小所致。

4 濒危机制及保护策略

稀有或濒危植物的致濒机制研究是保护生物学中的核心问题之一(黄久香和庄雪影,2002)。通过对濒危物种的种群遗传结构分析可以获得种群遗传多样性、遗传变异分布式样等方面的重要数据,对实现物种的有效管理和制定合理的保护策略有重要的参考价值。本研究结果揭示紫椴种群仍保持着较高的遗传多样性水平,遗传变异丰富,说明紫椴的致濒原因主要来自人为采伐、生境的破坏和生境退化等原因。近年来,紫椴作为优质胶合板及细木工板的重要材料,对其大量采伐使生境遭到破坏,资源量日趋下降,胸径大于 20 cm 的大树已不多见,如在山东,现存林分大多为天然次生林,紫椴呈灌木状或幼树分布,可见其人为破坏相当严重(傅立国等,2003)。Lande(1988)认为物种濒危的机制主要是栖息地的破坏、环境污染、生境退化和生物资源过度利用,而遗传多样性丧失,以及许多其它小种群中常见的特性,更可能是物种濒危的症状而不是濒危的原因。反过来,生长立地条件的破坏和生境退化等造成种群隔离和个体数量减少,从长远来看会减少物种遗传多样性,而种群遗传多样性减少易使种群趋于灭亡(张大勇和姜新华,1999)。因此,对紫椴的保护主要是进行就地保护,保护其现有栖息地,减少人为干扰对其生境的破坏,更好地保护群体的遗传特异性。其次,限制紫椴种群发展的因素还可能与其种子的发芽率低有关。紫椴种子果皮坚硬,种皮透

水性差,种胚后熟,种胚及胚乳含油率较高,种子发芽率较低,不经特殊处理,苗圃实验发芽率仅为 7%。而在森林中,由于种子(果实)与苞片及果柄同时脱落,受枯落物阻碍,种子进入土壤周期中的时期长,进入到土壤中的种子量较少,导致种群在森林中的种子繁殖率低(不到 5%),但目前仍缺乏有关紫椴种群生殖生物学特性方面的详细资料。

此外,长白山是国家级自然保护区,在紫椴主要分布区内具有较高的遗传多样性,还包括紫椴分布的主要海拔,因此可以初步认为长白山是紫椴种群遗传多样性的分布中心,但具体确定尚需扩大取样群体的数量和规模开展深入研究。另外,紫椴传粉或种子扩散机制对群体遗传结构的影响也还需进一步的研究和探讨。

参 考 文 献

- Alpert P, Lumaret R, Digiusto F (1993). Population structure inferred from allozyme analysis in the clonal herb, *Fragaria chiloensis* (Rosaceae). *American Journal of Botany*, 80, 1002 – 1006.
- Cui JZ (崔继哲), Zu YG (祖元刚), Nie JL (聂江力), Wang GL (王桂玲) (2001). Genetic differentiation of *Leymus chinensis* populations in Songnen grassland. *Bulletin of Botanical Research* (植物研究), 21, 116 – 215. (in Chinese with English abstract)
- Du FG (杜凤国), Su CH (苏春华), Li YF (李云凤), Qian SL (钱树伦), Zhang XJ (张孝江), Chen Y (陈英), Li GC (李光成) (1994). Study on the seed anatomy structure of *Tilia amurensis* Rupr. and *Tilia mandshurica* Rupr. et Maxim. *Journal of Jilin Forestry Institute* (吉林林学院学报), 10 (2), 99 – 104. (in Chinese with English abstract)
- Feng FJ (冯富娟), Wang FY (王凤友), Li CS (李长松) (2004). Genetic differentiation of *Pinus koraiensis* under different altitude conditions in Changbai Mountains. *Journal of Northeast Forestry University* (东北林业大学学报), 32 (3), 1 – 3. (in Chinese with English abstract)
- Fu LG (傅立国), Chen TQ (陈谭清), Lang KY (郎楷永), Hong T (洪涛), Lin Q (林祁), Li Y (李勇) (2003). *Higher Plant of China* (中国高等植物). Qingdao Press, Qingdao, 17 – 18. (in Chinese)
- Ge YQ (葛永奇), Qiu YX (邱英雄), Ding BY (丁炳扬), Fu CX (傅承新) (2003). An ISSR analysis on population genetic diversity of the relict plant *Ginkgo biloba*. *Biodiversity Science* (生物多样性), 11, 276 – 287. (in Chinese with English abstract)

- Hamrick JL, Godt MJW (1989). Allozyme diversity in plant species. In: Brown ADH, Clegg MT, Kahler AL, Weir BS eds. *Plant Population Genetics, Breeding, and Genetic Resources*. Sinauer Associates Inc., Sunderland, MA, 43–63.
- Huang JX (黄久香), Zhuang XY (庄雪影) (2002). Genetic diversity of the populations of *Tsoongiodendron odorum*. *Acta Phytocologica Sinica* (植物生态学报), 26, 413–419. (in Chinese with English abstract)
- Jian SG (简曙光), Tang T (唐恬), Zhang ZH (张志红), Wei Q (韦强), Shi SH (施苏华) (2004). The population characteristics and endangered causes of *Heritiera littoralis* Dryand in China. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni* (中山大学学报(自然科学版)), 43 (Suppl.), 91–96. (in Chinese with English abstract)
- King YT, Chiang YC (1990). Comparing differentiation of wild soja bean (*Glycine soja* Sieb and Zucc.) population based on isozymes and quantitative traits. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 31, 129–142.
- Lande R (1988). Genetics and demography in biological conservation. *Science*, 241, 1455–1460.
- Li HS (李海生), Chen GZ (陈桂珠), Shi SH (施苏华) (2004). Genetic diversity of *Sonneratia hainanensis* (Sonneratiaceae) detected by inter-simple sequence repeats (ISSR) analysis. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni* (中山大学学报(自然科学版)), 43(2), 67–71. (in Chinese with English abstract)
- Li J (李进), Chen KY (陈可咏), Li BS (李渤生) (1998). The variation of genetic diversity of *Quercus aquifolioides* in different elevations. *Acta Botanica Sinica* (植物学报), 40, 761–767. (in Chinese with English abstract)
- Li Q (李群), Xiao M (肖猛), Guo L (郭亮), Li J (李静), Duan WX (段文霞), Chen F (陈放), Wang L (王丽) (2005). Genetic diversity of the rare and endangered plant *Trilium tschonoskii* in Sichuan Province. *Journal of Beijing Forestry University* (北京林业大学学报), 27(4), 1–6. (in Chinese with English abstract)
- Li S (李珊), Qian ZQ (钱增强), Cai YL (蔡宇良), Zhao GF (赵桂仿) (2005). A comparative study on the genetic diversity of *Dipteronia sinensis* and *Dipteronia dyeriana*. *Acta Phytocologica Sinica* (植物生态学报), 29, 785–792. (in Chinese with English abstract)
- Li XD (李晓东), Huang HW (黄宏文), Li JQ (李建强) (2003). Genetic diversity of the relict plant *Metasequoia glyptostroboides*. *Biodiversity Science* (生物多样性), 11, 100–108. (in Chinese with English abstract)
- Liao WF (廖文芳), Xia NH (夏念和), Deng YF (邓云飞), Zheng QY (郑庆衍) (2004). Study on genetic diversity of *Manglietia decidua* (Magnoliaceae). *Acta Botanica Yunnanica* (云南植物研究), 26, 58–64. (in Chinese with English abstract)
- Mu LQ (穆立蔷), Han ZJ (韩志坚) (2004). *Classification and Identification of Chinese Conserved Plants* (中国保护植物分类与识别). Northeast Forestry University Press, Harbin, 128. (in Chinese)
- Mu LQ (穆立蔷), Liu YN (刘赢男), Yang GT (杨国亭), Feng FJ (冯富娟) (2006). Establishment and optimization of ISSR-PCR reaction system for *Tilia amurensis*. *Scientia Silvae Sinicae* (林业科学), 42(6), 26–29. (in Chinese with English abstract)
- Nie SQ (聂绍荃), Guan WB (关文彬), Yang GT (杨国亭), Shi FC (石福臣), He XS (何小双) (1992). *Research on Population Ecology of Amur Linden* (紫椴种群生态学研究). Northeast Forestry University Press, Harbin, 6–8. (in Chinese)
- Pang GC (庞广昌), Wang L (王琳), Wang H (王宏), Wang JH (王军厚), Zhou SW (周士威) (1992). Study on population genetic structure geographical provenance of *Populus euphratica* Olive. and their interaction with environment. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica* (西北植物学报), 12, 295–302. (in Chinese with English abstract)
- Qiao J (乔静), Lian SX (廉守喜), Li GL (李贵莲), Qi YH (祁永会) (2004). Study on reproduction of *Tilia amurensis* by cutting. *Protection Forest Science and Technology* (防护林科技), (4), 16–17. (in Chinese with English abstract)
- Shi MZ (时明芝), Xiao YA (肖宜安), Li XH (李晓红) (2003). Conservative genetics and its utilization in studies of endangered plants. *World Forestry Research* (世界林业研究), 16(4), 13–16. (in Chinese with English abstract)
- Tang Y (唐亚), Zhu GR (诸葛仁) (1999). Geographical distribution of *Tilia* Linn. In: Lu AM (路安民) ed. *The Geography of Spermatophyti* (种子植物科属地理). Science Press, Beijing, 374–381. (in Chinese)
- Taylor, DR, Aarssen LW (1990). Complex competitive relationships among genotypes of three perennial grasses: implications for species coexistence. *American Naturalist*, 136, 105–127.
- Wang J (王军), He PC (贺普超) (2000). Extraction of genomic DNA from *Vitis amurensis* and its RAPD analysis. *Journal of Fruit Science* (果树科学), 17(2), 79–82. (in Chinese with English abstract)
- Xu FH (许凤华), Kang M (康明), Huang HW (黄宏文), Jiang MX (江明喜) (2006). Genetic diversity in fragmented populations of *Berchemiella wilsonii* var. *pubipetiolata*, an endangered plant endemic to eastern China. *Journal of Plant*

Ecology (Chinese Version) (Formerly *Acta Phytoecologica Sinica*) (植物生态学报), 30, 157 – 164. (in Chinese with English abstract)

Zang DY (张大勇), Jiang XH (姜新华) (1999). Progress in studies of genetic diversity and conservation biology of endangered plant species. *Chinese Biodiversity* (生物多样性), 7, 31 – 37. (in Chinese with English abstract)

Zhou HT (周涵韬), Lin P (林鹏) (2001). Analysis on genetic diversity of seven mangroves in Rhizophoraceae in China. *Acta Hydrobiologica Sinica* (水生生物学报), 25, 362 – 369. (in Chinese with English abstract)

Zhou YL (周以良), Dong SL (董世林), Nie SQ (聂绍荃) (1986). *Ligneous Flora of Heilongjiang* (黑龙江树木志). Heilongjiang Science and Technology Press, Harbin, 429 – 432. (in Chinese)

Zou XZ (邹学忠), Yan ZL (阎忠林), Liu QT (刘清田), Lü CB (吕长波) (1991). The study on seed dormancy of *Tilia amurensis* and dealing method. *Journal of Liaoning Forestry Science & Technology* (辽宁林业科技), (5), 6 – 10. (in Chinese)

责任编辑 : 李俊清 责任编辑 : 李 敏