

水松自然种群和人工种群遗传多样性比较*

吴则焰¹ 刘金福^{2**} 洪伟² 潘东明³ 郑世群²⁽¹⁾ 福建农林大学生命科学学院, 福州 350002; ⁽²⁾ 福建农林大学林学院, 福州 350002; ⁽³⁾ 福建农林大学园艺学院, 福州 350002)

摘要 采用 ISSR 分子标记技术分析水松不同起源种群的遗传多样性. 结果表明: 10 条引物共检测出 95 个扩增位点, 多态位点数占 39.0%. 与其他濒危裸子植物相比, 水松的遗传多样性较低, 遗传分化系数 G_{st} 为 0.3982, 基因流 N_m 仅 0.3778, 种群间存在一定程度的遗传分化, 但种群内变异占主导地位; 遗传距离与地理距离呈正相关关系. 自然种群的多态位点百分率 (P)、Nei 的条带多样性 (H_e) 和 Shannon 信息指数 (I) 平均值 (39.3%、0.1499 和 0.2202) 分别高于人工种群 (30.7%、0.1265 和 0.1759). 自然种群的遗传分化系数 ($G_{st}=0.4513$) 和平均遗传距离 ($D=0.0301$) 也高于人工种群 ($G_{st}=0.3025$, $D=0.0192$).

关键词 水松 遗传多样性 遗传结构 自然种群 人工种群 ISSR

文章编号 1001-9332(2011)04-0873-07 中图分类号 Q16, Q346 文献标识码 A

Genetic diversity of natural and planted *Glyptostrobus pensilis* populations: A comparative study. WU Ze-yan¹, LIU Jin-fu², HONG Wei², PAN Dong-ming³, ZHENG Shi-qun² (¹ College of Life Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; ² College of Forestry, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; ³ College of Horticulture, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China). -*Chin. J. Appl. Ecol.*, 2011, 22(4): 873-879.

Abstract: *Glyptostrobus pensilis* is a rare and endangered relict species in China. To make a comparative study on the genetic diversity and genetic structure of natural and planted *G. pensilis* populations would have significance in the conservation and proliferation of the species. Samples from the main distribution regions of *G. pensilis* were analyzed by ISSR (inter simple sequence repeats) molecular marker. A total of 95 discernible DNA fragments were detected with 10 ISSR primers, of which, polymorphic loci occupied 39.0%, suggesting that the genetic variation in the test *G. pensilis* populations was at a very low level, compared with other endangered gymnosperm. The genetic differential index ($G_{st}=0.3982$) and the gene flow ($N_m=0.3778$) indicated that there existed genetic differentiation among populations but the differentiation dominated within populations. There was a significant positive correlation between genetic distance and geographical distance. The mean values of polymorphic loci (P), Nei's gene index (H_e), and Shannon information index (I) of natural populations ($P=39.9%$, $H_e=0.1499$, $I=0.2202$) were much higher than those of planted *G. pensilis* populations ($P=30.7%$, $H_e=0.1265$, $I=0.1759$), and the coefficient of gene differentiation (G_{st}) and genetic distance (D) of natural populations ($G_{st}=0.4513$, $D=0.0301$) were also much higher than those of the planted populations ($G_{st}=0.3025$, $D=0.0192$).

Key words: *Glyptostrobus pensilis*; genetic diversity; genetic structure; natural population; planted population; ISSR.

水松 (*Glyptostrobus pensilis*) 别名水帝松、水杉松, 杉科水松属, 是我国特有的单种属植物, 国家一

级保护树种. 作为古老的“活化石”植物, 水松在中生代时期曾广泛分布于北半球. 第四纪冰期以后, 由于自然地理因素和人为活动的影响, 欧洲、北美、东亚及我国东北等地的水松种群均已灭绝, 现仅零星残存于我国南方的广东、广西、福建和江西等省份,

* 福建省自然科学基金项目 (2009J01053) 和福建省省属高校基金项目 (2006F50009) 资助.

** 通讯作者. E-mail: flijf@126.com.

2010-10-收稿, 2011-01-17 接受.

处于高度濒危状态,被世界保护监测中心列为稀有种,中国植物红皮书列为濒危树种.水松在研究杉科植物的系统发育、古植物学和第四纪冰川气候等方面均有重要的科学价值,其濒危状况受到国内外学者高度关注.目前前人对水松的研究主要集中在胚胎发育学^[1]、化学组成^[2]、生物学特性^[3]、形态学^[4]、地理分布^[5]、无性繁殖技术^[6]和数量生态学^[7-9]等方面,其保护遗传学研究仅见Li等^[10]对水松自然种群遗传结构的研究报道.

为保护孑遗水松珍贵种质资源,我国从20世纪70年代起在南方地区陆续开展水松人工栽培,目前珠江三角洲地区已成为水松最大的人工栽植地,广东斗门拥有全球现存面积最大的水松人工林.虽然水松个体数量迅速增加,但其种群恢复过程尚未从遗传学角度考虑,如现有水松人工种群的遗传多样性和遗传结构,人工种群对环境变化的适应性等.因此,开展对水松自然种群和人工种群的遗传多样性及遗传结构的深入研究,对于种群的恢复与繁衍具有重要意义.

简单重复间隔序列标记方法(inter simple sequence repeats, ISSR)具有操作简单、快速高效、可重复性等优点,广泛运用在珍稀濒危植物遗传多样性研究中^[11-13].笔者在长期水松生态学研究基础上,以全国水松主要种群样本为材料,采用ISSR标记技术对其进行遗传多样性分析,旨在揭示孑遗水松在物种和种群水平的遗传多样性状况;比较调查地水松人工种群与自然种群遗传多样水平和遗传结构的异同,为探讨水松濒危机制和制定科学有效的保护措施提供依据.

1 材料与方法

1.1 样地概况及采样

由于气候变迁、人为干扰和演替压力等因素,目前水松分布范围不断缩小,呈片断化,自然种群数量急剧下降,大部分水松分布地仅剩几株孤立木.2009年春季对水松主要种群进行野外调查及采样.水松自然种群采自福建省三明市和屏南县,江西省上饶市和余江县等地;人工种群采自福建省福州市和南平市,广州市和广东省珠海斗门区等地.其中,福建三明(FS)种群面积约0.8 hm²,树龄700 a,平均胸径45.4 cm,平均树高9.5 m;福建屏南(FP)种群面积约6 hm²,树龄300 a,平均胸径50.2 cm,平均树高13.2 m;江西上饶(JS)种群面积约0.4 hm²,树龄800 a,平均胸径62.8 cm,平均树高18.3 m;江西余江(JY)种群面积约0.25 hm²,树龄400 a,平均胸径35.9 cm,平均树高13.6 m;广东斗门(GD)种群面积约24 hm²,树龄35 a,平均胸径16.9 cm,平均树高14.8 m;各样地的基本概况和人工种群的种质来源见表1.各种群水平距离均>50 km.

随机选取生长状况良好的成年植株,相邻植株间距50 m以上,个体在10株以下的种群全部采样,共获得8个种群136株个体样本.分单株采集当年生嫩叶置于密封袋中,硅胶干燥保存后,带回实验室-40℃冷藏.

1.2 研究方法

1.2.1 DNA提取及纯度检测 取水松嫩叶0.5 g,用液氮冷冻、研碎后,采用改良CTAB法^[14]提取水松嫩叶总DNA,保存于4℃冰箱中待用.用0.8%的琼脂糖凝胶电泳检测总DNA质量,用紫外分光光度计(UV-1600)检测其浓度.

1.2.2 ISSR扩增及扩增产物检测 采用加拿大哥伦比亚大学(UBC)提供序列、上海生工公司合成的ISSR引物,在20 μl反应体系中进行扩增筛选.从100个引物中筛选出扩增条带较多、信号强、背景清

表1 水松种源的地理位置和气候条件

Table 1 Localities and temperature of *Glyptostrobus pensilis* populations

林型 Forest type	种源代码 Population code	经度 Latitude (E)	纬度 Longitude (N)	海拔 Altitude (m)	年均温 Mean annual temperature (°C)	年降雨量 Annual rainfall (mm)	取样数 Sample size
自然种群 Natural population	FS	118°08'	26°10'	1100	19.2	1620.6	17
	FP	118°57'	26°58'	1208	14.5	1842.3	23
	JS	117°24'	28°22'	52	18.1	1816.0	13
	JY	116°58'	28°17'	46	17.6	1788.8	12
人工种群 Artificial population	FF	119°38'	25°45'	45	18.4	1600.4	18
	FN	118°20'	27°23'	502	17.8	1684.5	7
	GD	113°16'	22°15'	32	21.8	1998.8	30
	GZ	113°15'	23°06'	23	20.3	2000.6	16

FS:福建三明 Sanming in Fujian; FP:福建屏南 Pingnan in Fujian; JS:江西上饶 Shangrao in Jiangxi; JY:江西余江 Yujiang in Jiangxi; FF:福建福州 Fuzhou in Fujian; FN:福建南平 Nanping in Fujian; GD:广东斗门 Doumen in Guangdong; GZ:广州 Guangzhou.

表 2 ISSR 引物序列及扩增结果

Table 2 ISSR primers and their amplification results from *Glyptostrobus pensilis* populations

引物编号 Primer code	序列 Sequence of prime	退火温度 Annealing temperature ($^{\circ}\text{C}$)	统计条带 No. of bands scored	多态性条带数 No. of polymorphic bands	多态带百分比 Percentage of polymorphic bands (%)
811	GA(8)C	56.4	10	4	40.0
813	CT(8)T	51.0	10	5	50.0
815	CT(8)G	53.4	10	4	40.0
840	GA(8)YT	54.9	7	2	28.6
841	GA(8)YC	55.8	9	2	22.2
856	AC(8)YA	54.6	10	4	40.0
857	AC(8)YG	53.4	8	2	25.0
872	GATA(4)	52.6	10	4	40.0
873	GACA(4)	53.1	13	7	54.0
880	GGAGA(3)	52.6	8	3	37.5

晰的 10 个引物 (811、813、815、840、841、856、857、872、873 和 880) 用于 PCR 扩增, 变性温度根据引物的 T_m 值变化 $1^{\circ}\text{C} \sim 3^{\circ}\text{C}$ (表 2)。20 μl 反应体系为: 2 μl 10 \times Buffer (10 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Tris-HCl pH 9.0, 50 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ KCl), 1.5 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ MgCl_2 , 0.1 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ dNTPs, 200 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 引物, 1.5 Utaq DNA 聚合酶, 20 $\text{ng} \cdot \mu\text{l}^{-1}$ 模板 DNA。扩增程序: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min, 然后进行 35 个循环, 每循环包括 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 48 $^{\circ}\text{C} \sim 53^{\circ}\text{C}$ 退火 (退火温度随引物而定) 45 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 复性 1.5 min, 最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min, 将扩增产物置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱内保存。PCR 反应在德国 BIOMETRA T-Gradient 型热循环仪上进行, PCR 产物用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳分离, 后经溴化乙锭染色, 以 DL2000Marker 作为分子量标准, 采用 Gene Genius 公司的 Bio Imaging System 成像分析。

1.3 数据处理

采用人工计带法判读电泳图谱中扩增产物和分子量。同一引物的扩增产物, 迁移率相同的条带记为一个位点, 扩增阳性赋值为“1”, 阴性赋值为“0”, 构成表型数据矩阵。采用 POPGENE 3.2 软件对全部种群进行遗传参数分析, 分别计算多态性位点比率 (P)、有效等位条带数 (A_e)、Shannon 信息指数 (I)、Nei 的条带多样性 (H_e)、种群总条带多样性 (H_t)、种群内条带多样性 (H_s)、种群间遗传分化指数 (G_{st}) 及 Nei 的遗传距离 (D), 根据种群间的遗传距离, 采用 UPGMA 法对各种群进行聚类分析。

2 结果与分析

2.1 水松种群的 ISSR 遗传多样性分析

对 8 个水松种群 136 个 DNA 样品进行 PCR 扩增, 结果均有扩增产物。其中引物 UBC813 对部分水

松植株 DNA 样品的扩增结果见图 1。

10 个引物共扩增出 95 条清晰、重复性高的条带, 平均每个引物扩增出 9.5 条条带。其中多态性条带 37 条, 多态位点百分率 (P) 为 39.0%, 平均有效等位条带数 (A_e) 1.224。由于福建南平 (FN) 种群仅有 7 株水松, 为避免抽样偏差影响整体结果, 数据统计时未将其列入。由表 3 可见, 水松各种群的 P 值变化范围在 30.2% \sim 41.1% 之间, 平均为 35.6%, 其高低顺序为 FP>FS>JY>JS>GD>FF>GZ, 福建屏南 (FP) 种群最高, 广州 (GZ) 种群最低; 各种群的 H_e 值变化范围在 0.1193 \sim 0.1571, 平均为 0.1396, 高低顺序为 FS>FP>JS>JY>FF>GD>GZ; I 值在 0.1724 \sim 0.2304 之间, 平均为 0.2012, 其高低顺序为 FS>FP>JY>JS>GD>FF>GZ; H_e 和 I 变化趋势与 P 大致相同。4 个自然种群的 P 、 H_e 、 I 平均值分别为 39.3%、0.1499 和 0.2202, 远高于人工种群的平均值 (30.7%、0.1265 和 0.1759), 说明水松种群遗传多样性水平极低, 不同种群间遗传多样性差别很大, 自然种群的遗传多样性明显高于人工种群。

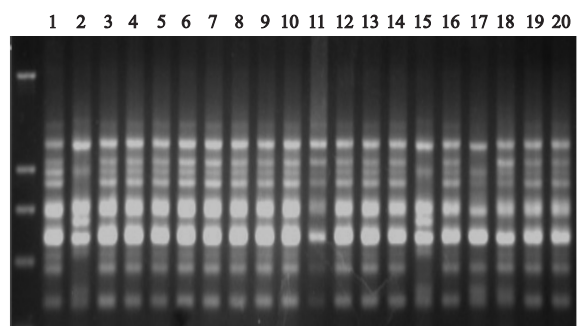


图 1 引物 UBC813 扩增水松种群 20 个植株基因组 DNA 的 ISSR 电泳图

Fig. 1 ISSR profiles of 20 individuals of *Glyptostrobus pensilis* with primer UBC813.

表 3 8 个水松种群遗传多样性分析

Table 3 Genetic diversity among the 8 populations of *Glyptostrobus pensilis* based on ISSR marker

种源 Population	个体数 No. of samples	多态位点百分率 Percentage of polymorphic loci (P , %)	观测等位条带数 Observed allele number (A_0)	有效等位条带数 Effective allele number (A_e)	Nei 的条带多样性 Nei's gene index (H_e)	Shannon 信息指数 Shannon information index (I)
FS	17	40.0	1.4000	1.2761	0.1571	0.2304
FP	23	41.1	1.4105	1.2654	0.1524	0.2257
JS	13	37.5	1.3053	1.2166	0.1475	0.2037
JY	12	38.7	1.3368	1.2061	0.1408	0.2210
FF	18	30.8	1.3684	1.2488	0.1391	0.1771
FN	7	15.8	1.1579	1.1116	0.0654	0.0955
GD	30	31.1	1.4105	1.2473	0.1213	0.1783
GZ	16	30.2	1.4014	1.2521	0.1193	0.1724

表 4 Nei 的遗传一致度和遗传距离

Table 4 Nei's genetic identity (S) and genetic distance (D)

		遗传一致度 Genetic identity							
		FF	FS	FP	JS	JY	FN	GD	GZ
遗传距离	FF		0.9817	0.9874	0.9733	0.9677	0.9311	0.9764	0.9723
Genetic distance	FS	0.0185		0.9894	0.9590	0.9645	0.9360	0.9824	0.9714
	FP	0.0127	0.0107		0.9681	0.9654	0.9333	0.9817	0.9725
	JS	0.0271	0.0418	0.0324		0.9760	0.9134	0.9645	0.9543
	JY	0.0328	0.0361	0.0352	0.0242		0.9214	0.9662	0.9567
	FN	0.0714	0.0662	0.0691	0.0906	0.0819		0.9127	0.9028
	GD	0.0238	0.0178	0.0184	0.0362	0.0344	0.0913		0.9357
	GZ	0.0217	0.0171	0.0174	0.0349	0.0397	0.0935	0.0121	

2.2 水松种群间遗传分化程度

水松种群总条带多样性(H_t)为0.1926,种群内条带多样性(H_s)为0.1159,表明水松遗传变异主要发生在种群内部.各种群间基因分化系数(G_{st})为0.3982,即在总的遗传变异中有39.8%的变异发生在种群间,种群内遗传变异占总遗传变异的60.2%,种群间和种群内变异均极显著($P < 0.001$).自然种群间遗传分化系数($G_{st} = 0.4513$)远高于人工种群($G_{st} = 0.3025$).水松种群间存在一定程度的遗传分化,但种群内个体间变异在其遗传变异中占主导地位.根据公式 $N_m = (1 - G_{st}) / 4G_{st}$ 推算,水松种群间的基因流(N_m)较低,仅为0.3778.

2.3 水松种群遗传距离与聚类分析

由表4可以看出,剔除FN种群, D 值的变化范围在0.0107~0.0418,平均为0.0259,说明水松种群间的相似程度较高.其中FS和FP种群间的遗传距离最小($D = 0.0107$),FS和JS种群间的遗传距离最大($D = 0.0418$).前者可能是由于地理位置较近、基因交流频率较高;后者可能是由于地理距离最远,基因交流一定程度上受阻. D 值的人工种群平均遗传距离小于自然种群,表明人工种群的遗传相似性更明显.对水松各种群间的地理距离和遗传距离进

行 Mantel 检验,结果表明,二者存在显著相关($r = 0.4832$).

由图2可以看出,间断分布的3个省份中的种群各自聚集在一起,FS种群和FP种群聚为一类;JS种群和JY种群聚为一类;GZ种群和GD种群聚为一类.另外,聚类分析也体现出人工种群和自然种群的遗传分化.同为自然种群,FS种群和FP种群,JS种群和JY种群各自聚为一类;同为人工种群,GZ种群和GD种群聚为一类;FF种群与FP种群聚为一类;FN种群自成一类,可能是邵武、浦城、建阳等不

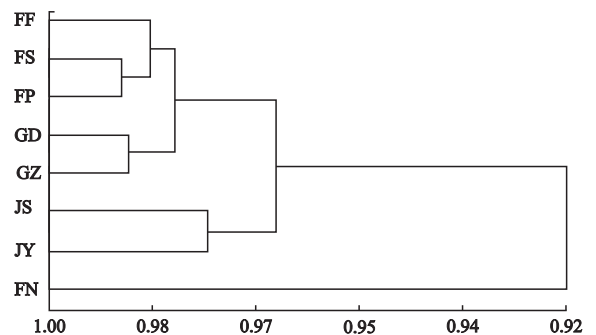


图2 水松种群间 Ne 的遗传一致度 UPGMA 聚类

Fig. 2 Dendrogram of UPGMA based on Nei's genetic identity of different population of *Glyptostrobus pensilis*.

同种源混杂及取样数偏少造成. 这表明水松种群间遗传变异的分布与其地理空间格局基本一致.

3 讨 论

3.1 水松种群的遗传多样性

通常,稀有濒危物种的遗传变异低于广布种,但不同物种遗传多样性水平及遗传结构可能存在较大差异^[15]. ISSR-PCR 分析表明,水松自然种群的 P 值为 39.32%, H_e 值为 0.1499, I 值为 0.2202. 与其他珍稀濒危裸子植物相比,水松自然种群 P 值远低于资源冷杉(*Abies ziyuanensis*, 77.8%)^[16]、银杏(*Ginkgo biloba*, 70.5%)^[17]、南方红豆杉(*Taxus mairei* var. *mairei*, 51.2%)^[18]、元宝山冷杉(*Abies yuanbaoshanensis*, 50.2%)^[19], 和水杉(*Metasequoia glyptostroboides*, 38.6%)^[20]、银杉(*Cathaya argyrophylla*, 32.2%)^[21]相近; H_e 和 I 也明显低于资源冷杉($H_e=0.2344, I=0.3764$)、银杏($H_e=0.2508, I=0.3599$).

水松自然种群的遗传多样性水平较低,与其地理环境和气候变化密切相关. 水松是一个古老孑遗树种,对生存环境依赖程度很高,繁殖更新能力不强,原始的生物学特性制约了其发展规模^[3]. 经历了第四纪冰川气候变迁,水松分布范围急剧缩减、南移,加之自然地理因素和人为活动的影响,多数种群已相继灭绝,仅在少数受冰期影响较小的“避难所”残存下来,代表和保存了原始水松的部分基因型. 其在漫长的进化过程中经历了严重的“瓶颈效应”,种群间基因交流存在障碍,导致现存水松物种遗传多样性水平低下. 造成种群内遗传衰退的原因可能是近交作用与遗传漂变^[22]. 由于人类干扰造成的生境改变、破碎化,水松生境隔离现象十分突出,个体多呈零星分布,种群规模日益减小,加剧了小种群近交和遗传漂变. 近交降低了水松基因杂合性,导致其后代个体适合度下降;遗传漂变改变了水松基因频率,影响其种群遗传结构.

水松人工种群遗传多样性低于自然种群,可能与种源选择有关. 大部分种源来自福建屏南和广州等少数水松母树,由于当时栽培时没有现代的遗传学理论作指导,每个人工种群只能涵盖有限的水松遗传多样性. 人工种群遗传多样性低,也反映出目前并没有对水松母树进行全面异地保存. 野外调查发现,原生地水松母树生长现状堪忧,受生长年限及人为干扰的影响,部分水松母树死亡在所难免,导致某

些基因永久丧失.

3.2 水松种群的遗传结构与分化

水松自然种群间分化系数($G_{st}=0.4513$),比水杉(0.1082)和银杏(0.18)高,亦高于 Nybom 和 Bar-tish^[23]统计的植物 ISSR 遗传分化系数平均值($G_{st}=0.34$),表明水松自然种群间存在相当程度的遗传分化,主要遗传变异发生在种群内部,与前人研究结论相近^[10]. Hutchison 等^[24]认为,种群的遗传结构是基因流和遗传漂变相互作用的结果,当基因流 $N_m < 1$ 时,遗传漂变可能导致种群间的分化. 水松种群间极低的基因流($N_m=0.3778$)可能是导致较高遗传分化的主要原因. 残存的水松种群主要分布于经济发达、交通便利的长江中下游和珠江三角洲地区,人为干扰频繁,生境破碎化严重,导致种群间基因交流受到限制. 此外,水松生物学特性亦是影响种群遗传分化的重要因素. 水松生殖花期短,球果包含种子数量少,花粉、种子的扩散和传播能力差,降低了种群间基因交流的可能性;水松种子野外不易萌发,幼苗成活率低,导致有效种群规模不断减小,加之地理环境隔绝影响,限制了种群间的基因流动,增加了种群间的遗传分化. 如果考虑人工种群间的 $G_{st}=0.3982$,说明人为选择作用对种群分化存在一定影响.

对水松各种群间的地理距离和遗传距离进行了 Mantel 检验,结果表明,二者存在显著正相关. 对于相隔较远的种群,距离隔离在种群遗传分化中的作用比较突出,可能是水松种群扩散历程和地理距离影响种群间基因交流所致. 聚类分析的结果与地理自然分布规律基本一致,可结合野外种群调查与分子标记技术来评价水松资源遗传多样性,进一步探讨水松种群的亲缘地理学与遗传结构的时空变化规律.

3.3 水松自然种群和人工种群的遗传差异

水松人工种群的 P 、 H_e 和 I 值均远低于自然种群,表明虽然水松人工栽培的数量和规模较为可观,但在种源选择时所涵盖的遗传多样性却很低. 与自然种群($G_{st}=0.4513, D=0.0301$)相比,人工种群遗传分化系数及平均遗传距离明显偏低($G_{st}=0.3025, D=0.0192$),表明人工种群间呈现出更明显的遗传相似性. 人工种群与自然种群各自聚类,体现出两种群间遗传分化明显,遗传变异分布与其地理空间格局基本一致.

人工种群遗传多样性低于自然种群的现象在水杉^[25]、银杏^[17]、白云杉(*Picea abies*)^[26]等树种中也

有报道,其原因主要与种群恢复方法有关,如取样效应和小种群效应会导致恢复种群的遗传多样性降低^[27]。水松自然种群与人工种群存在较大遗传差异的原因,可从以下几个方面解释:首先,水松人工栽培过程中受到采种的非随机因素影响,种子可能采自同一种群或少数植株高大的母树,即栽培水松来自极其有限的子遗水松个体,不能充分反映大种群的遗传组成,不可避免地丧失某些特定的基因,导致人工种群遗传结构单一,遗传多样性水平总体上低于自然种群。其次,小种群效应对人工栽培后种群生长和更新阶段的遗传变异产生较大影响,可能导致遗传漂变、近交作用和基因流受限,加剧了人工种群遗传异质性的缺失。因此,为避免受到小种群效应影响,水松恢复种群应维持一定的种群有效规模。第三,采样过程中受到水松种群数量和种群内个体数量稀少及交通不便等因素影响,试验样本无法代表所有水松种群,可能影响统计结果的准确性。但研究结果基本反映出水松人工种群遗传多样性及遗传分化程度低的事实,为水松大量基地化种植敲响了警钟。

3.4 水松资源保护思考

珍稀濒危植物的遗传多样性研究是保护生物学的核心问题之一。运用分子标记技术研究濒危物种恢复种群的遗传多样性及遗传变异规律,对实现物种的有效保护具有重要意义^[27-28]。面对生境人为破坏严重、自然及人工栽培种群遗传多样性较低、基因交流受限的现状,保护珍贵的水松种质资源已势在必行。

濒危物种的保护与恢复不应仅单纯地恢复个体数量,还应考虑保持恢复种群较高的遗传多样性。针对濒危树种的种群遗传学特性选择相应的生态恢复方法,并采取相应的措施,将有助于增强种群长期的存活能力^[29]。虽然目前水松人工栽培取得了较快进展,但人工种群遗传多样性明显低于自然种群,且遗传分化程度更低。因此,运用种群遗传学原理开展水松恢复保护尤为重要。对水松自然种群以就地保护为主,选择遗传多样性水平较高、适宜水松生长的集中分布区(如FP种群),建立自然保护区。对自然种群内的个体进行相互移栽和采种育苗移栽,人为提高种群的基因交流,最大限度地保护水松的遗传多样性。另一方面,迁地保护作为增强种群间基因交流的重要手段,能使其种群得以有效保存和恢复,应考虑水松生长适宜的环境条件,尽可能从不同地方更广泛地收集、保护各种水松种质资源,尤其加强来自

某些特定优树种源的人工种群保护,扩大种群的异质性,增加遗传变异水平,促进基因交流,避免遗传多样性的丧失。

参考文献

- [1] Takaso T, Tomlinson PB. Cone and ovule ontogeny in *Taxodium* and *Glyptostrobus* (Taxodiaceae-Coniferales). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 1990, **109**: 15-37
- [2] Si Y (斯 纓), Wang W (王 玮), Gong F-J (龚复俊), et al. Study on the total flavonoids content in leaves of *Glyptostrobus pensilis*. *Journal of Wuhan Botanical Research* (武汉植物学研究), 2003, **21**(6): 547-549 (in Chinese)
- [3] Han L-J (韩丽娟), Hu Y-X (胡玉熹), Lin J-X (林金星), et al. The biology and conservation of *Glyptostrobus pensilis*. *Subtropical Plant Research Communications* (亚热带植物通讯), 1997, **26**(1): 43-47 (in Chinese)
- [4] Vickulin SV, Ma QW, Zhilin SG, et al. On cuticular compressions of *Glyptostrobus europaeus* (Taxodiaceae) from Kaydagul Formation (Lower Miocene) of the Central Kazakhstan. *Acta Botanica Sinica*, 2003, **45**: 673-680
- [5] Li F-G (李发根), Xia N-H (夏念和). The geographical distribution and cause of threat to *Glyptostrobus pensilis* (Taxodiaceae). *Journd of Tropical and Subtropical Botany* (热带亚热带植物学报), 2006, **12**(1): 13-20 (in Chinese)
- [6] Li B (李 博), Li H-G (李火根), Wang G-P (王光萍). Tissue culture and plantlet regeneration of *Glyptostrobus pensilis* (Lamb.) K. Koch. *Plant Physiology Communications* (植物生理学通讯), 2006, **42**(6): 1136-1140 (in Chinese)
- [7] Wu Z-Y (吴则焰), Liu J-F (刘金福), Hong W (洪伟), et al. Study on the growth dynamics of dominance of the relict plant *Glyptostrobus pensilis* population. *Journal of Wuhan Botanical Research* (武汉植物学研究), 2009, **27**(4): 387-390 (in Chinese)
- [8] Liu J-F (刘金福), Hong W (洪 伟), Wu Z-Y (吴则焰), et al. The population life table and periodic fluctuation of the relict plant *Glyptostrobus pensilis*. *Journal of Wuhan Botanical Research* (武汉植物学研究), 2008, **26**(3): 259-263 (in Chinese)
- [9] Zheng S-Q (郑世群), Liu J-F (刘金福), Wu Z-Y (吴则焰), et al. The interspecific competition of main population in *Glyptostrobus pensilis* natural forest in Pingnan County. *Journal of Fujian College of Forestry* (福建林学院学报), 2008, **28**(3): 216-219 (in Chinese)

- [10] Li FG, Xia NH. Population structure and genetic diversity of an endangered species, *Glyptostrobus pensilis* (Cupressaceae). *Botanical Bulletin of Academia Sinica* (Taipei), 2005, **46**: 155–162
- [11] Wang C, Zhang H, Qian ZQ, *et al.* Genetic differentiation in endangered *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino based on ISSR polymorphism and its implications for conservation. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2008, **36**: 699–705
- [12] Cao PJ, Yao QF, Ding BY, *et al.* Genetic diversity of *Sinojackia dolichocarpa* (Styracaceae), a species endangered and endemic to China, detected by inter-simple sequence repeat (ISSR). *Biochemical Systematics and Ecology*, 2006, **34**: 231–239
- [13] Chen JM, Liu X, Robert GW, *et al.* Genetic variation within the endangered quillwort *Isoetes hypsophila* (Isoetaceae) in China as evidenced by ISSR analysis. *Aquatic Botany*, 2009, **82**: 89–98
- [14] Whittaker DJ, Smith GS, Gardner RC. Expression of ethylene biosynthetic genes in *Actinidia chinensis* fruit. *Plant Molecular Biology*, 1997, **34**: 45–55
- [15] Agostini G, Echeverrigaray S, Souza-Chies TT. Genetic relationships among South American species of *Cunila* D. Royen ex L. based on ISSR. *Plant Systematics and Evolution*, 2008, **274**: 135–141
- [16] Zhang Y-R (张玉荣), Luo J-C (罗菊春), Yu J-X (喻锦秀). Genetic diversity of the endangered plant *Abies ziyuanensis* detected by ISSR markers. *Journal of Beijing Forestry University* (北京林业大学学报), 2007, **29**(6): 41–46 (in Chinese)
- [17] Ge YQ, Qiu YX, Ding BY, *et al.* An ISSR analysis on population genetic diversity of the relict plant *Ginkgo biloba*. *Biodiversity Science*, 2003, **11**: 276–287
- [18] Zhang H-Y (张宏意), Chen Y-Q (陈月琴), Liao W-B (廖文波). RAPD analysis of population genetic diversity of *Taxus mairei*. *Acta Botanica Boreali-occidentalia Sinica* (西北植物学报), 2003, **23**(11): 1994–1997 (in Chinese)
- [19] Wang Y (王燕), Tang S-Q (唐绍清), Li X-K (李先琨). The genetic diversity of the endangered plant *Abies yuanbaoshanensis*. *Biodiversity Science* (生物多样性), 2004, **12**(2): 269–273 (in Chinese)
- [20] Li X-D (李晓东), Huang H-W (黄宏文), Li J-Q (李建强). Genetic diversity of the relict plant *Metasequoia glyptostroboides*. *Biodiversity Science* (生物多样性), 2003, **11**(2): 100–108 (in Chinese)
- [21] Tian S, Luo LC, Ge S. Clear genetic structure of *Pinus kwangtungensis* (Pinaceae) revealed by a plastid DNA fragment with a novel minisatellite. *Annals of Botany*, 2008, **102**: 69–78
- [22] Wang Z-F (王峥峰), Peng S-L (彭少麟), Ren H (任海). Genetic variation and inbreeding depression in small populations. *Journal of Plant Genetic Resources* (植物遗传资源学报), 2005, **6**(1): 101–107 (in Chinese)
- [23] Nybom H, Bartish I. Effects of life history traits and sampling strategies on genetic diversity estimates obtained with RAPD markers in plants. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 2000, **3**: 93–114
- [24] Hutchison DW, Templeton AR. Correlation of pairwise genetic and geographic distance measures: Inferring the relative influences of gene flow and drift on the distribution of genetic variability. *Evolution*, 1999, **53**: 1898–1914
- [25] Shi Q-F (史全芬), Yang J (杨佳), Li X-D (李晓东), *et al.* Genetic diversity of cultivated populations of *Metasequoia glyptostroboides*. *Acta Botanica Yunnanica* (云南植物研究), 2005, **27**(4): 403–412 (in Chinese)
- [26] Rajora OP. Genetic biodiversity of silvicultural practices and phenotypic selection in white spruce. *Theoretical and Applied Genetics*, 1999, **99**: 954–961
- [27] Jin Z-X (金则新), Li J-M (李钧敏). ISSR analysis on genetic diversity of endangered relic shrub *Sinocalycanthus chinensis*. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2007, **18**(2): 247–253 (in Chinese)
- [28] Li J-H (李建辉), Jin Z-X (金则新), Li J-M (李钧敏). Genetic diversity of endangered plant *Torreya jackii*: A study with RAPD markers. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2007, **18**(12): 2661–2667 (in Chinese)
- [29] Chen X-Y (陈小勇). Population genetics considerations for ecological restoration. *Resources and Environment in the Yangtze Basin* (长江流域资源与环境), 2000, **9**(3): 313–319 (in Chinese)

作者简介 吴则焰, 男, 1983年生, 博士研究生. 主要从事森林生态学、分子生态学等研究. E-mail: wuzeyan0977@126.com

责任编辑 李凤琴
