

基于SSR标记的江西省枫香古树遗传多样性评价

仲小茹¹, 柯 叮¹, 黄献峰¹, 何小三², 王玉娟², 孙荣喜¹

(¹江西省森林培育重点实验室/江西农业大学林学院, 南昌 330045; ²江西省林业科学院, 南昌 330013)

摘要: 采用14对SSR引物对江西省9个枫香古树群体的222个单株进行毛细管电泳测序, 利用GenAIEx、CERVUS和Structure软件, 进行遗传多样性与聚类分析。结果表明14个SSR位点平均观测等位基因数(N_a)为8.143个, 平均有效等位基因数(N_e)为2.819个, Shannon信息指数(I)平均值为1.009, 平均期望杂合度(H_e)和观测杂合度(H_o)分别为0.504和0.470, 多态信息含量(PIC)平均值为0.513。宁都(ND)群体具有最高的遗传多样性($H_e=0.551$), 湾里(WL)群体的遗传多样性最低($H_e=0.394$)。在地区水平, 赣南($H_e=0.534$, $n=8$)和赣北($H_e=0.505$, $n=14$)地区具有较高的遗传多样性和特有等位基因; 赣中地区具有最低的遗传多样性($H_e=0.473$)和最少的特有等位基因($n=2$)。分子方差分析(AMOVA)结果表明枫香群体内变异为92%, 显著高于群体间变异8%, 与遗传分化系数($F_{st}=0.133$)一致, 有可能是较高的基因流造成的($Nm=2.995$)。主成分分析和聚类分析表明9个群体可分成3大类群, 不同枫香古树群体间存在较为强烈的基因渐渗。研究结果为枫香古树的利用及保护提供科学依据, 在今后的枫香育种工作中, 要加强对枫香古树个体的保护, 可以加强在赣北、赣南地区群体内开展优树选择, 有可能含有特定的基因类型资源, 可以获得更大的遗传增益。

关键词: 枫香; 古树; SSR分子标记; 遗传多样性; 遗传结构

Genetic Diversity in the Ancient *Liquidambar formosana* Hance Revealed by Simple Sequence Repeat Markers

ZHONG Xiao-ru¹, KE Ding¹, HUANG Xian-feng¹, HE Xiao-san², WANG Yu-juan², SUN Rong-xi¹

(¹Jiangxi Provincial Key Laboratory of Silviculture/College of Forestry, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045;

²Jiangxi Academy of Forestry, Nanchang 330013)

Abstract: In this study, a total of 222 samples from nine populations of ancient *Liquidambar formosana* Hance that distributed in Jiangxi province, P.R. China, were genotyped by capillary electrophoresis using 14 pairs of SSR primers, followed by the genetic diversity and cluster analysis using GenAIEx, CERVUS and Structure. The results showed that the average number of observed alleles (N_a) of 14 SSR loci was 8.143, with the average number of effective alleles (N_e) of 2.819. The average value of Shannon information index (I) was 1.009, with a mean polymorphism information content (PIC) of 0.513. The average expected heterozygosity (H_e) and observed heterozygosity (H_o) were 0.504 and 0.470, respectively. The Ningdu (ND) population had the highest genetic diversity ($H_e=0.551$), and the Wanli (WL) population had the lowest genetic diversity ($H_e=0.394$). The South region of Jiangxi province showed the highest genetic diversity ($H_e=0.534$) and eight private alleles, followed by the North region of Jiangxi province with $H_e=0.505$ and the largest number of 14 private alleles. The lowest genetic diversity and a small number of private alleles were found in the Central region of Jiangxi province ($H_e=0.473$, $n=2$). The results of AMOVA showed that the intra-population variation (92%) was significantly higher than that of the populations (8%). This was in line with a coefficient of genetic differentiation

收稿日期: 2022-08-30 修回日期: 2022-09-30 网络出版日期: 2022-10-27

URL: <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20220830003>

第一作者研究方向为种质资源评价, Email: xiaoruzhong0506@163.com

通信作者: 孙荣喜, 研究方向为种质资源收集、评价以及遗传多样性和新品种选育, Email: rongxisun@163.com

基金项目: 江西省教育厅科学技术研究项目(GJJ170296); 江西省林业局林业科技创新专项([2019]29号)

Foundation projects: Science and Technology Research Project of Education Department of Jiangxi Province (GJJ170296); Innovation Fund of Jiangxi Province Department of Forestry Research (No. [2019]29)

($F_{st}=0.133$), implying higher gene flow ($Nm=2.995$). According to principal component analysis (PCoA) and structure analysis, 9 populations could be divided into three groups, and there were different degrees of introgression among populations. Collectively, this study provided insights for the utilization and protection of ancient *L. formosana*, indicating the importance on the protection of ancient trees available in the future breeding program. In order to maximize a long-term genetic gain, the selection of superior trees in the populations in the North and South of Jiangxi province should be strengthened which may contain specific gene type resources.

Key words: *Liquidambar formosana*; ancient tree; simple-sequence-repeat (SSR) markers; genetic diversity; genetic structure

古树是指树龄在100年以上,受人类文化影响而保存下来的树木^[1]。古树资源作为种质资源中的一种特殊表现形式,记录着历史的变迁,被誉为“大自然的编年史”,为进化和变异提供重要材料来源^[2];古树作为长寿植物,是历史遗留下来的宝贵财富,蕴含长寿及抗逆性基因资源,具有极高的科研和历史价值^[3];古树构成的植物景观,是城市悠久历史和乡土文化的体现,具有极高的观赏价值^[4]。

国外开展古树研究工作较早,德国、美国等将大于50年的树木列为古树,而且提出了“遗产树”的概念^[5-6],并通过了立法保护。2001年,新加坡通过“遗产树法案”,并且建立了其全国范围内的遗产树数据库,并定期进行检查^[7]。此后,越来越多的国家和地区开始重视古树研究及其保护^[8-9]。研究主要集中在古树构成种类、树龄、胸径分布、健康状况、管护情况以及复壮技术上^[10-11]。古树资源遗传评价的研究报道只见于古银杏(*Ginkgo biloba*)^[12]、古杨树(*Populus*)^[13]、古香榧(*Torreya grandis*)^[14]、古枸杞(*Lycium barbarum*)^[15]、古挪威云杉(*Picea abies*)^[16]以及古日本柳杉(*Cryptomeria japonica*)^[17]等树种。

江西省属于亚热带东部湿润气候以及亚热带中心地带,低山和丘陵地区是保存和繁衍古老物种的重要地区之一^[18]。枫香(*Liquidambar formosana*)作为亚热带区域分布较广的第三纪孑遗树种,在江西省保存了许多枫香古树。这些古树是珍稀的种质创新资源,可供选择育种的基因资源,挖掘潜力很大。因此对枫香古树遗传多样性的研究,能够充分了解其遗传变异水平及其遗传结构。

随着科学进步及生物技术的发展,遗传多样性的检测手段也得到了提高和改进。从最初的形态标记,逐步发展到细胞学标记、生化标记以及分子标记。分子标记可直接检验生物间在DNA水平上的差异,因为不受组织类别、发育阶段、环境条件的影响,而且具有数量多、多态性高等优点,已经被广泛

用于植物遗传多样性研究^[19]。SSR(Simple Sequence Repeat)分子标记技术,是共显性标记,可以鉴别出杂合子和纯合子,实验操作简单、重复性好、结果可靠^[20]。本研究以江西省枫香古树为对象,利用SSR分子标记对其遗传多样性及其遗传结构进行研究,为枫香古树的利用及保护提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

根据文献查阅及踏访,共采集到江西省赣北(玉山YS、婺源WY、德兴DX),赣中(永丰YF、靖安JA、湾里WL)和赣南(龙南LN、宁都ND、大余DY)地区共9个群体的222个单株(表1),部分古树见图1。每个群体选取8~34株枫香古树(挂古树标牌或胸径>80 cm;湾里地区古树较少全部采集),单株间隔大于50 m,记录经纬度信息。每个单株采集新鲜叶片放入自封袋中,经硅胶干燥后用于DNA提取。

表1 采样点基本信息

Table 1 Basic information of the sampling populations

编号 Code	群体 Population	地区 Region	株数 Sample size
YS	玉山	赣北	26
WY	婺源	赣北	26
DX	德兴	赣北	10
YF	永丰	赣中	25
JA	靖安	赣中	32
WL	湾里	赣中	8
LN	龙南	赣南	31
ND	宁都	赣南	34
DY	大余	赣南	30

1.2 基因组DNA提取与检测

采用CTAB法提取枫香叶片的基因组DNA,使用1%琼脂糖凝胶电泳检测其完整性,用紫外分光光度计测定DNA浓度及纯度。最后将电泳条带清晰,基因组的纯度高、完整性好的DNA模板稀释到50 ng/ μ L,放在冰箱-20℃保存备用。



图 1 古树图片

Fig.1 Ancient tree picture in filed

1.3 荧光引物 PCR 扩增及毛细管电泳测序

本试验所用引物参考孙荣喜^[21]和赖玖鑫^[22], 14 对引物详细信息见表 2。正向引物的 5'端添加荧

光基团(FAM、HEX、TAMRA 或 ROX), 由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

表 2 14 对引物信息

Table 2 The information of 14 SSR primers

SSR 位点 SSR locus	引物序列(5'-3') Primer sequence(5'-3')	重复单元 Repeat motif	退火温度(℃) Annealing temperature	片段长度(bp) Fragment length	荧光类型 Fluorescent dye
LFL80	F: CCTAGGTACCCAGCAAGGT R: GATAATGTGGGGGATTGGTG	(CT) ₃₀	59.3	295	ROX
LFL34	F: CAGCAGCTGCAGAGGAAGAT R: GCCATTCTGATGCTTGGTTT	(CT) ₉	57.8	187	HEX
LF29	F: GACAGACCCTCAGAGTTGCC R: GTTGAACGCCTCTTCTGCTG	(AGA) ₆	58.3	138~144	FAM
LFL12	F: TCCCTATGGAATGCAGGAAG R: AGCTGCAGAACTCAATGGAA	(AG) ₁₂	54.1	196	ROX
LFL86	F: TTTGGACACGCCAATATCAA R: CCCATGCTCCACAAAAATCT	(TATT) ₅	51.6	244	TAMRA
LF37	F: TCGCCTCTGTCCTCTCCTAC R: ATGTGCCAGATGTGTCCGT	(AAC) ₅	58.5	163~178	HEX
LF69	F: AAATAAGCCCTGACGGTGGC R: GAGACAAAGTGCGGTGGTTG	(TGG) ₆	58.3	169~205	HEX
LF3	F: TGCGAATCACTGGTCGAATCA R: TCCAACAAGTCAACAACAGCA	(TCT) ₈	56.5	138~144	FAM
LF19	F: TAGAACCCGACTCAAGTGG R: AAGTTGTTCTGGGCATGGCA	(GCA) ₇	57.2	222~240	TAMRA
LFL90	F: CGCTTAGCCATGGAATTTACC R: GGTGATCGCTTCTATGTTCA	(GA) ₉	53.9	200	TAMRA
LF62	F: GGTGCTCTTGTGGGTCCT R: CAGCCTCACTCAGCCAAGAT	(TGA) ₇	58	157~160	FAM
LF17	F: TCTGGTTATCTCGGGCAAC R: TGTCAACCAATCTGCCGAA	(GCC) ₆	57.2	214~232	HEX

表 2 (续)

SSR 位点 SSR locus	引物序列(5'-3') Primer sequence(5'-3')	重复单元 Repeat motif	退火温度(°C) Annealing temperature	片段长度(bp) Fragment length	荧光类型 Fluorescent dye
LF40	F:CCCACCTCAAGCAAGAACCA R:GCCGTGGAGAATGAGAGGTT	(AGA) ₅	58	230~233	TAMRA
LFL89	F:TAGGGGAAATGGTGGTTGTG R:CCCTTCTCGTACCCATTCA	(GA) ₁₃	54.8	192	FAM

()里字母代表基序类型, ()外数字代表重复的数量

The letter in () represents the motif type, and the number outside () represents the number of repeated

采用 Touchdown 程序进行 PCR 扩增^[21], 25 μ L 反应体系: 50 ng/ μ L DNA 模板 1.0 μ L、2 \times Buffer 12.5 μ L (Takara, 宝生物工程有限公司)、10 μ mol/L F-Primer 0.5 μ L (带荧光基团)、10 μ mol/L R-Primer 0.5 μ L、其余用 dd H₂O 补齐。PCR 扩增的产物采用 ABI 3730xl DNA analyzer (Applied Biosystems, Foster, CA, USA) 进行二重或三重毛细管电泳检测。

1.4 数据统计与分析

采用 GeneMaker 2.2.0 (SoftGenetics LIC, State College, PA, USA) 软件读取 SSR 标记片段大小。采用 GenAIEx6.51^[23] 软件计算遗传多样性参数: 观测等位基因数 (N_a)、有效等位基因数 (N_e)、Shannon 信息指数 (I)、期望杂合度 (H_e)、观测杂合度 (H_o) 等, 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}) 和基因流 (Nm)。采用 CERVUS 计算多态性信息含量 (PIC), 当 $PIC \leq 0.25$ 、 $0.25 < PIC \leq 0.50$ 和 $PIC > 0.5$ 时, 分别表明此位点多态性较低、中等和较高。使用 GenAIEx6.51 软件计算各群体间的遗传距离, 并进行主成分分析 (PCoA)。

利用 Structure 2.3.4^[24] 软件对枫香古树群体的遗传结构进行分析, 设置 K 值为 1~10, 每个 K 值的运行次数为 10 次, 每次不作数迭代 (Length of Burn-in Period) 和 MCMC (Markov Chain Monte Carlo) 均设置为 100000 次, 将 Structure 的运行结果上传到 <http://taylor0.biology.ucla.edu/structureHarvester/> 网站查看 Delta K (ΔK) 的折线图, 并得到最佳的分组值, 最后采用 Clustering Markov Packager Across K (CLUMPAK) 网站 (<http://clumpak.tau.ac.il>) 进行聚类图绘制。

2 结果与分析

2.1 引物的多态性

14 个 SSR 位点在枫香古树 9 个群体 222 个个体中共检测到 114 个等位基因。观测等位基因数 (N_a) 变化范围为 3~22 个, 平均每个 SSR 位点上有 8.143 个等位基因。LFL80 位点观测等位基因数最多, 为

22 个, 而 LF40 位点等位基因数最少, 仅为 3 个。平均有效等位基因 (N_e) 范围是 1.172 (LFL90)~8.912 (LFL80), 平均 N_e 值为 2.819。Shannon 信息指数 (I) 变化范围为 0.369 (LFL90)~2.240 (LFL80), 平均值为 1.009。观测杂合度 (H_o) 和期望杂合度 (H_e) 变化范围分别为 0.198 (LFL90)~0.926 (LFL80) 和 0.204 (LFL90)~0.872 (LFL80), 平均值分别为 0.470 和 0.504。除 LFL80、LF29、LFL12、LF37、LF17、LF40 和 LFL89 外, 其余 7 个位点的 H_o 都小于 H_e , 说明这些位点存在不同程度的杂合子缺失。多态信息含量 (PIC) 变化为 0.212 (LFL90)~0.926 (LFL80), 平均值为 0.513, 其中 2 个位点 (LFL90 和 LF40) 具有较低多态性 ($PIC \leq 0.25$), 7 个位点 (LFL80、LFL34、LFL12、LF37、LF19、LF17 和 LFL89) 具有高多态性 ($PIC > 0.5$), 其余 5 个位点 (LF29、LFL86、LF69、LF3 和 LF62) 具有中等多态性 ($0.25 < PIC \leq 0.5$) (表 3)。

2.2 不同枫香古树群体的遗传多样性

9 个枫香古树群体观测等位基因数 (N_a) 变化范围为 2.286 (WL)~5.929 (YS), 平均值为 4.627 个。有效等位基因数 (N_e) 变化范围为 2.034 (WL)~3.334 (JA), 平均值为 2.819 个。Shannon 信息指数 (I) 变化范围为 0.677 (WL)~1.153 (ND), 平均值为 1.009。观测杂合度 (H_o) 变化范围为 0.391 (WL)~0.537 (DX), 平均值为 0.470。期望杂合度 (H_e) 变化范围为 0.394 (WL)~0.551 (ND), 平均值为 0.504, 表明江西省枫香古树具有中等的遗传多样性 (表 4)。期望杂合度可以作为评价群体遗传多样性的重要指标, 宁都 (ND) 群体具有最高的遗传多样性, 湾里 (WL) 群体的遗传多样性最低, 湾里群体较低的遗传多样性也有可能是采样数量不足造成的。在地区水平, 赣南地区具有最高的遗传多样性 ($H_e=0.534$), 并且具有 8 个特有等位基因 ($n=8$); 赣中地区具有最低的遗传多样性 ($H_e=0.473$) 和最少的特有等位基因 ($n=2$); 赣北地区具有中等的遗传多样性 ($H_e=0.505$), 但具有最多的特有等位基因数量 ($n=14$)。

表3 14个SSR位点的遗传多样性

Table 3 Genetic diversity of 14 SSR loci

位点 Locus	等位基因数 <i>Na</i>	有效等位基因数 <i>Ne</i>	Shannon 信息指数 <i>I</i>	观测杂合度 <i>Ho</i>	期望杂合度 <i>He</i>	多态性信息含量 <i>PIC</i>
LFL80	22	8.912	2.240	0.926	0.872	0.926
LFL34	12	4.614	1.691	0.466	0.776	0.781
LF29	5	1.519	0.538	0.338	0.328	0.307
LFL12	10	3.444	1.385	0.732	0.676	0.706
LFL86	4	1.864	0.790	0.238	0.460	0.477
LF37	5	2.240	0.962	0.624	0.532	0.513
LF69	8	2.121	0.885	0.429	0.506	0.474
LF3	6	1.614	0.654	0.270	0.368	0.334
LF19	7	2.103	1.012	0.463	0.505	0.566
LFL90	4	1.172	0.369	0.198	0.204	0.212
LF62	5	1.478	0.508	0.259	0.271	0.266
LF17	7	2.298	0.917	0.517	0.516	0.554
LF40	3	1.412	0.453	0.277	0.263	0.246
LFL89	16	4.675	1.723	0.840	0.776	0.813
均值 Mean	8.143	2.819	1.009	0.470	0.504	0.513

表4 枫香古树群体遗传多样性

Table 4 Genetic diversity of *Liquidambar formosana* ancient tree population

群体 Population	地区 Region	等位基因数 <i>Na</i>	有效等位基因数 <i>Ne</i>	Shannon 信息指数 <i>I</i>	观测杂合度 <i>Ho</i>	期望杂合度 <i>He</i>	特有等位基因 Private alleles
玉山 YS	赣北	5.929	3.060	1.108	0.446	0.513	7
婺源 WY	赣北	4.929	2.796	1.051	0.507	0.521	4
德兴 DX	赣北	3.571	2.356	0.889	0.537	0.480	3
均值 Mean		4.810	2.737	1.016	0.497	0.505	
永丰 YF	赣中	4.286	2.668	0.974	0.426	0.489	0
靖安 JA	赣中	5.071	3.334	1.100	0.481	0.535	1
湾里 WL	赣中	2.286	2.034	0.677	0.391	0.394	1
均值 Mean		3.881	2.678	0.917	0.433	0.473	
龙南 LN	赣南	4.786	2.881	1.032	0.464	0.509	2
宁都 ND	赣南	5.786	3.236	1.153	0.509	0.551	4
大余 DY	赣南	5.000	3.008	1.096	0.467	0.542	2
均值 Mean		5.190	3.042	1.094	0.480	0.534	
均值 Mean		4.627	2.819	1.009	0.470	0.504	

2.3 不同枫香古树群体的遗传分化与遗传变异

AMOVA 方差分析表明(表5),枫香古树群体间遗传变异为8%,群体内遗传变异为92%,说明群体内的遗传变异是枫香古树变异的主要来源。由表6可知,枫香古树群体内近交系数 F_{is} 范围为-0.173(LF37)~0.482(LFL86),平均值为0.069。其中LFL80、LF29、LFL12、LF37、LF17、LF40、LFL89位点具有一定的杂合子过剩现象,而其他7个位点存在杂合子缺失现象;群体间近交系数 F_{it} 范围为

-0.113(LF37)~0.624(LFL86),除了位点LFL12、LF37和LF89外其余都为正值,平均值为0.190,表明群体间具有一定的近交现象;群体间的遗传分化系数 F_{st} 范围为0.043(LF3)~0.489(LFL90),平均值为0.133,表明群体间具有中等的遗传分化。另外,与遗传分化紧密相关的基因流 Nm 范围在0.261(LFL90)~5.534(LF3),平均值为2.995。较高的基因流阻止了群体间遗传分化的产生,这也是本研究江西省枫香古树群体具有中等遗传分化的原因。

表5 枫香古树群体分子方差分析表

Table 5 Molecular variance analysis of *Liquidambar formosana* ancient tree population

变异来源	自由度	均方和	均方偏差	方差组分	方差分量百分率(%)
Source of variation	df	SS	MS	Variance componets	Proportion of variance component
群体间 Among populations	8	326.526	40.816	1.161	8
群体内 Within populations	213	2693.483	12.645	12.645	92
总计 Total	221	3020.009		13.806	100

表6 枫香古树群体遗传分化系数及基因流

Table 6 Coefficient of genetic differentiation and gene flow in ancient tree populations of *Liquidambar formosana*

位点	群体内近交系数	群体间近交系数	遗传分化系数	基因流
Locus	<i>F_{is}</i>	<i>F_{it}</i>	<i>F_{st}</i>	<i>N_m</i>
LFL80	-0.061	0.004	0.062	3.812
LFL34	0.400	0.426	0.045	5.328
LF29	-0.032	0.024	0.054	4.373
LFL12	-0.082	-0.008	0.069	3.377
LFL86	0.482	0.624	0.273	0.664
LF37	-0.173	-0.113	0.051	4.625
LF69	0.152	0.197	0.053	4.500
LF3	0.266	0.298	0.043	5.534
LF19	0.083	0.310	0.248	0.759
LFL90	0.028	0.503	0.489	0.261
LF62	0.045	0.163	0.124	1.774
LF17	-0.002	0.198	0.200	1.001
LF40	-0.053	0.039	0.088	2.595
LFL89	-0.084	-0.008	0.070	3.323
均值 Mean	0.069	0.190	0.133	2.995

2.4 不同枫香古树群体主成分及聚类分析

基于9个群体的成对遗传距离矩阵进行主成分分析(PCoA, principal coordinates),可分为3类:玉山群体(YS)、婺源群体(WY)和德兴群体(DX)聚集为一类,说明这3个群体的遗传距离相对比较近,而且地理位置也比较近,都位于赣北地区,湾里(WL)群体独立分为一类,其余群体聚为另一类,其中第一主成分和第二主成分分别可以解释总变量的87.71%和5.72%(图2)。主成分分析结果表明群体间没有明显的地理结构,地理位置相近的群体并不总是优先聚为一类。

为了进一步研究枫香群体间的遗传关系,基于贝叶斯聚类方法对9个枫香古树群体进行Structure分析,图3可知,当K=3时,ΔK值最大,因此可以将9个枫香群体分成3大类。从图4中可以看出,9个枫香古树群体并不能很好地按照不同颜色的基因

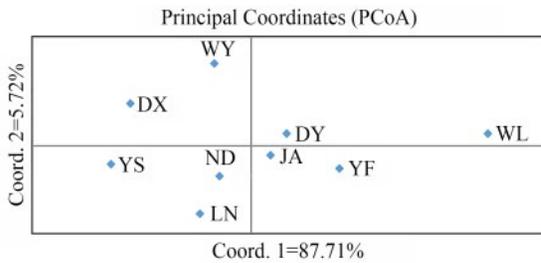


图2 基于群体成对遗传距离的枫香古树群体 GenAIEx 主成分分析

Fig.2 Principal coordinate analysis (PCoA) of ancient tree populations based on pairwise genetic distance in GenAIEx

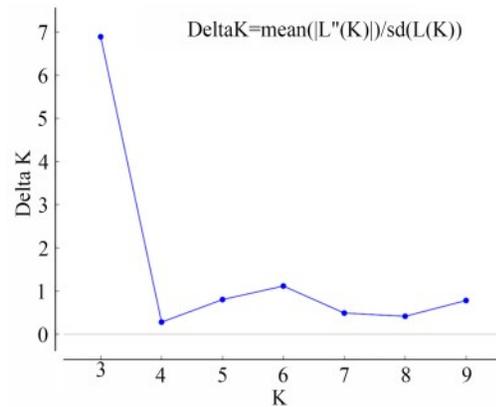
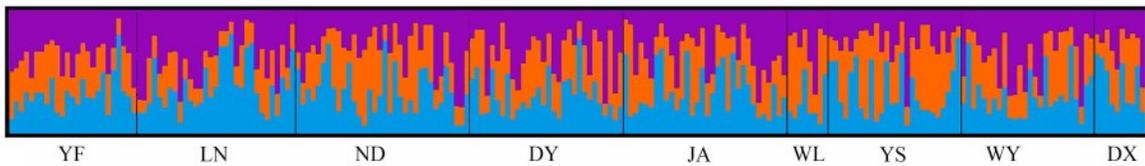


图3 Delta K分布图

Fig.3 The distriction of Delta K



黑色线段将群体分开,不同颜色代表不同的类群。每根竖线代表一个个体,该线根据估计的3个类群的组成按比例划分为不同颜色:第1组为蓝色,第2组为橙色,第3组为紫色

Different color represents different cluster and black segments separate the populations. Each individual is represented by a single vertical line, which is partitioned into colored segments in proportion to the estimated membership in 3 groups: blue for group 1, orange for group 2, and purple for group 3

图4 枫香古树群体 Structure 聚类结果 (K=3)

Fig.4 Clustering results of *Liquidambar formosana* with cluster number (K) of 3

池区分开,表明不同枫香古树群体间存在较为强烈的基因渐渗,可能是由于较高的基因流导致的。

3 讨论

3.1 枫香古树群体的遗传多样性

遗传多样性是衡量物种适应环境变化能力的重要指标,遗传多样性研究将为种质资源的保护与利用提供理论参考。柴国锋等^[25]利用同工酶对16个群体进行遗传多样性分析,揭示其平均期望杂合度 He 为0.443。孟现东^[26]采用RAPD分子标记对枫香树10个群体研究结果表明基因多样性 H 为0.2554。毕泉鑫等^[27]和李芳芳^[28]分别采用ISSR和SRAP研究浙江省内的5个和7个枫香群体,结果显示枫香具有中等的遗传多样性(Nei 指数分别为0.3122和0.2310)。黄敏等^[29]采用ISSR分子标记对6个枫香群体研究表明平均遗传多样性 Nei 指数为0.3788,结果也显示了枫香具有中等的遗传多样性。本研究,利用SSR分子标记检测到江西省枫香古树具有相对较高的遗传多样性($He=0.504$)和中等水平的遗传分化($Fst=0.133$),高于之前采用SSR分子标记对我国全分布区枫香自然群体的遗传评价结果($He=0.399$, $Fst=0.0757$),而且高于枫香遗传分布中心西南地区的遗传多样性($He=0.435$)^[30]。本研究结果表明枫香古树具有相对较高的遗传多样性($He=0.504$),类似现象在其他孑遗植物中也有发现,如银杏(*Ginkgo biloba*)^[31]、挪威云杉(*Picea abies*)^[16]和古杨树(*Populus*)^[13]等。或许是由于非古树受到的人为干扰比较多,影响物种分化,有可能会丧失部分遗传多样性,类似的研究结果在挪威云杉不同海拔群体中也有发现,Maghuly等^[16]研究表明挪威云杉高海拔群体的遗传多样性大于中、低海拔群体。

在种群扩张过程中,低频等位基因比高频等位基因更容易丢失,这使得低频等位基因(尤其是特有等位基因)成为种群起源研究的重要依据。一般来说,古老起源群体含有更多的稀有等位基因和特有等位基因。赣南($He=0.534$, $n=8$)和赣北($He=0.505$, $n=14$)地区具有较高的遗传多样性和特有等位基因,因此我们推测赣南和赣北地区有可能是枫香的冰期避难所,由于赣北的武夷山脉以及赣南地区的南岭山脉,地形环境比较复杂多变,独特的气候环境使得枫香能够在此保留下来,冰期后赣北、赣南地区的枫香向赣中地区迁移扩散。在今后的枫香育种工作中,可以加强在赣北、赣南地区群体内开展优树选择,有可能含有特定的基因类型资

源,可以获得更大的遗传增益。

3.2 枫香古树群体的遗传分化和遗传结构

本研究中,遗传分化系数 Fst 值为0.133,说明群体间具有中等水平的遗传分化。8%的遗传变异发生在群体之间,而92%的遗传变异存在于群体内部。或许较高的基因流($Nm=2.995$)是引起枫香古树中等遗传分化的一个原因。枫香种子较小(千粒重仅为3.1~5.5g)且带翅,可以进行长距离传播,有利于种群间的基因交流;此外,枫香属于风媒交植物,长距离的花粉扩散应该是影响其遗传结构的重要进化力,因此种群间的遗传分化程度较小^[32]。由于本研究的枫香群体均分布在江西省内,生境的异质性相对较小,不同群体承受的生境选择差异较小,或许这也是群体间遗传分化程度较低的原因。

遗传结构的解析是遗传资源评价的关键,而遗传分化和亲缘关系的确定可以为遗传资源的保护和有效利用提供有益的线索^[33]。主成分分析结果表明,9个枫香古树群体间存在较为强烈的基因渐渗,群体被分成3个类群,不同枫香古树群体间存在较为强烈的基因渐渗,可能是由于较高的基因流($Nm=2.995$)导致的。

4 结论

通过对江西省枫香古树的遗传多样性研究表明,枫香古树具有相对较高的遗传多样性,且遗传变异主要存在于群体内的不同个体之间,任何个体的消失有可能导致枫香古树遗传多样性的降低,因此要加强对枫香古树个体的保护,对树势衰弱的古树进行扩繁保护。赣南、赣北地区具有较高的遗传多样性和特有等位基因,可能是枫香冰期避难所,在今后的枫香育种工作中,可以加强在赣北、赣南地区群体内开展优树选择,有可能含有特定的基因类型资源,可以获得更大的遗传增益。而且,古树资源蕴藏着长寿、抗旱、抗寒等优良基因资源,这些优良基因资源还有待进一步挖掘利用。

参考文献

- [1] 全国绿化委员会. 全国古树名木普查建档技术规定. 北京: 国家林业局, 2001
National Afforestation Environmental Protection Commission. National ancient and famous tree census filing technical regulations. Beijing: State Forestry Bureau, 2001
- [2] 刑福武. 中国的珍稀植物. 长沙: 湖南教育出版社, 2005: 54-55

- Xing F W. The rare plants of China. Changsha: Hunan Education Publishing House, 2005: 54-55
- [3] Malgorzata B, Grzegorz M. Incorporating social and cultural significance of large old trees in conservation policy. *Conservation Biology*, 2014, 28(6): 1558-1567
- [4] 赵斌, 吴世斌, 胡荣伟, 刘海东. 文成县“红枫古道”枫香古树衰弱原因调查与复壮技术初探. *浙江林业科技*, 2012, 32(5): 66-69
- Zhao B, Wu S B, Hu R W, Liu H D. Analysis on causes of decline of ancient *Liquidambar formosana* and its rejuvenation technique in Wencheng county. *Journal of Zhejiang Forestry Science and Technology*, 2012, 32(5): 66-69
- [5] Larson B M H. Peter Coates, American perceptions of immigrant and invasive species: Strangers on the land. *Biological Invasions*, 2008, 10(2): 257-258
- [6] Keith K. Ancient trees in the landscape Norfolk's arboreal heritage. *Archaeological Journal*, 2012, 169(1): 587-588
- [7] Waterton E, Watson S. Culture, heritage and representation: Perspectives on visibility and the past. Burlington: Ashgate Publishing, 2010: 152-160
- [8] Greg M, Sue H. The national trust of Australia (Victoria), register of significant trees; Now protecting community assets and heritage with smartphone technology. *Arboricultural Journal: The International Journal of Urban Forestry*, 2014, 36(1): 3-17
- [9] Jean L S, Zhang Q X. Heritage trees and landscape design in urban areas of Rwanda. *Journal of Forestry Research*, 2013, 24(3): 561-570
- [10] 赵景奎, 赵大胜, 生利霞, 魏恬恬, 蒋晖, 俞进璠. 扬州城区古树及后备古树资源调查与评价. *南方林业科学*, 2017, 45(2): 65-69
- Zhao J K, Zhao D S, Sheng L X, Wei T T, Jiang H, Yu J J. The actuality of ancient trees and its subsequent resources in Yangzhou city, Jiangsu province. *South China Forestry Science*, 2017, 45(2): 65-69
- [11] 李余新, 黄良华, 申屠惠良, 刘晓明. 常山县古树名木资源现状及保护管理建议. *华东森林经理*, 2017, 31(1): 62-64
- Li Y X, Huang L H, Shentu H L, Liu X M. Present situation of ancient and famous tree resources in Changshan county and suggestions on protection and management. *East China Forest Management*, 2017, 31(1): 62-64
- [12] Zhou Q, Mu K, Ni Z, Liu X, Xu L A. Analysis of genetic diversity of ancient *Ginkgo* populations using SSR markers. *Industrial Crops and Products*, 2020, 145(11): 111942
- [13] 纵丹, 周安佩, 张磊, 李旦, 段丽华, 何承忠. 西南地区古杨树遗传多样性的SSR分析. *西北植物学报*, 2018, 38(5): 839-849
- Zong D, Zhou A P, Zhang Y, Li D, Duan L H, He C Z. SSR revealed genetic diversity in large old *Poplars* from southwest China. *Acta Botanica Boreali Occidentalia Sinica*, 2018, 38(5): 839-849
- [14] 何明, 董雷鸣, 刘浩凯, 张辉, 曾燕如, 钱秋凤, 喻卫武, 戴文圣. 香榧古树的遗传差异性. *浙江林业科技*, 2014, 34(6): 1-5
- He M, Dong L M, Liu H K, Zhang H, Zeng Y R, Qian Q F, Yu W W, Dai W S. Genetic differences in ancient *Torreya grandis* cv. *Merrillii* Trees. *Journal of Zhejiang for Science and Technology*, 2014, 34(6): 1-5
- [15] 胡永超, 马洁, 唐建宁, 朱金忠, 杨涓, 郑蕊, 张磊, 郑国琦. 不同树龄枸杞古树的遗传多样性研究. *植物遗传资源学报*, 2022, 23(3): 755-767
- Hu Y C, Ma J, Tang J N, Zhu J Z, Yang J, Zheng R, Zhang L, Zheng G Q. Genetic diversity analysis of ancient trees with different ages of *Lycium barbarum* L. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2022, 23(3): 755-767
- [16] Maghuly F, Pinsker W, Praznik W, Fluch S. Genetic diversity in managed subpopulations of norway spruce [*Picea abies* (L.) Karst.]. *Forest Ecology and Manage*, 2006, 222(1-3): 266-271
- [17] Cai M Y, Wen Y F, Uchiyama K, Onuma Y, Tsumura Y. Population genetic diversity and structure of ancient tree populations of *Cryptomeria japonica* var. *sinensis* based on RAD-seq data. *Forests*, 2020, 11: 1192
- [18] 刘晓静, 邢世岩, 吴岐奎, 孙立民, 王莹. 江西省银杏古树资源及生长特性分析. *西南林业大学学报*, 2015, 35(1): 58-62
- Liu X J, Xing S Y, Wu Q K, Sun L M, Wang X. Research on ancient *Ginkgo biloba* resource and growth characteristic in Jiangxi province. *Journal of Southwest Forestry University*, 2015, 35(1): 58-62
- [19] 陈星, 高子厚. DNA分子标记技术的研究与应用. *分子植物育种*, 2019, 17(6): 1970-1977
- Chen X, Gao Z H. The study and application of DNA molecular marker technique. *Molecular Plant Breeding*, 2019, 17(6): 1970-1977
- [20] 李纬楠. 黑松、赤松无性系遗传多样性分析. 泰安: 山东农业大学, 2021
- Li W N. Genetic diversity analysis of *Pinus thunbergii* and *Pinus densiflora* clones. Tai'an: Shandong Agricultural University, 2021
- [21] 孙荣喜. 中国枫香树遗传多样性及谱系地理研究. 北京: 中国林业科学研究院, 2017
- Sun R X. Genetic diversity and phylogeography of *Liquidambar formosana* Hance in China. Beijing: Chinese Academy of Forestry, 2017
- [22] 赖玖鑫. 枫香(*Liquidambar formosana* Hance.)叶色季节性变化及常彩叶机理研究. 北京: 中国林业科学研究院, 2020
- Lai J X. Study on seasonal change of leaf color of *Liquidambar formosana* Hance and mechanism of constant color leaf. Beijing: Chinese Academy of Forestry, 2020
- [23] Peakall R, Smouse P E. GenAlEx 6.5: Genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research—an update. *Bioinformatics*, 2012, 28: 2537-2539
- [24] Pritchard J K, Stephens M, Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 2000, 155(2): 945-959

- [25] 柴国锋, 郑勇奇, 王良桂, 张川红, 黄发新, 丁小飞. 枫香同工酶遗传多样性分析. 林业科学研究, 2013, 26(1): 15-20
Chai G F, Zheng Y Q, Wang L G, Zhang C H, Huang F X, Ding X F. Analysis of allozyme markers of *Liquidambar formosana* Hance. Forest Research, 2013, 26(1): 15-20
- [26] 孟现东. 枫香苗期地理变异及遗传多态性研究. 北京: 中国林业科学研究院, 2003
Meng X D. Geographic variation in seeding stage and genetic polymorphism of *Liquidambar formosana* Hance. Beijing: Chinese Academy of Forestry, 2003
- [27] 毕泉鑫, 金则新, 李钧敏, 李建辉. 枫香自然种群遗传多样性的 ISSR 分析. 植物研究, 2010, 1: 120-125
Bi Q X, Jin Z X, Li J M, Li J H. Genetic diversity in the natural populations of *Liquidambar formosana* revealed by ISSR molecular markers. Bulletin of Botanical Research, 2010, 1: 120-125
- [28] 李芳芳. 浙江省枫香天然群体的遗传多样性研究. 郑州: 河南农业大学, 2015
Li F F. Analysis on genetic diversity of *Liquidambar formosana* of Zhejiang province. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2015
- [29] 黄敏, 黄旭萍, 陈孝丑, 吴明晶, 翁建宇, 陈发兴. 基于 ISSR 分子标记的枫香遗传多样性分析. 福建农林大学学报: 自然科学版, 2022, 51(4): 524-532
Huang M, Huang X P, Chen X C, Wu M J, Weng J Y, Chen F X. Genetic diversity analysis of *Liquidambar formosana* Hance based on ISSR molecular markers. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University: Natural Science Edition, 2022, 51(4): 524-532
- [30] Sun R X, Lin F R, Huang P, Zheng Y Q. Moderate genetic diversity and genetic differentiation in the relict tree *Liquidambar formosana* Hance revealed by genic simple sequence repeat markers. Frontiers in Plant Science, 2016, 7: 1411
- [31] 王萱, 刘晓静, 邢世岩, 孔倩倩, 孙艳辉, 孙立民, 高燕. 中国部分古银杏资源遗传多样性的 AFLP 分析及核心种质的构建. 园艺学报, 2016, 43(2): 249-260
Wang X, Liu X J, Xing S Y, Kong Q Q, Sun Y H, Sun L M, Gao Y. AFLP analysis of genetic diversity and a construction of the core collection of partial ancient ginkgo trees in China. Acta Horticulturae Sinica, 2016, 43(2): 249-260
- [32] 陈凤毛, 高捍东, 施季森. 枫香种子生物学特性的研究进展. 种子, 2001(1): 33-34
Chen F M, Gao H D, Shi J S. Research progress on biological characteristics of *Liquidambar formosana* seeds. Seeds, 2001(1): 33-34
- [33] Maroso F, Vera M, Ferreiro J, Mayol M, Riba M, Ramil-Rego P, Martínez P, Bouza C. Genetic diversity and structure of *Taxus baccata* from the Cantabrian-Atlantic area in northern Spain: A guide for conservation and management actions. Forest Ecology and Management, 2021, 482: 118844