

普通杏和西伯利亚杏野生居群遗传多样性与其地理分布关系研究

刘 硕¹, Decroocq Veronique², 张玉军¹, 刘 宁¹, 马小雪¹,
章秋平¹, 徐 铭¹, 张玉萍¹, 刘威生¹

(¹ 辽宁省果树科学研究所, 营口 115009; ² 法国国家农业科学院水果与病理生物研究所, 阿基坦波尔多 33000)

摘要: 地理距离可能有利于陆地植物种群的遗传分化, 了解地理因素如何影响基因流和居群遗传结构, 对于遗传多样性保护至关重要。本研究以桃李属 (*Prunus* L.) 2 个自然分布的种, 即欧亚大陆的西伯利亚杏 (*Prunus sibirica* L.) 和中亚地区的普通杏 (*Prunus armeniaca* L.) 共计 16 个野生居群为材料。本研究筛选多态性较好的 18 个微卫星 DNA 标记进行基因分型, 应用贝叶斯模型分析其遗传多样性和居群遗传结构。本研究发现: (1) 起源于中国华北和东北地区的西伯利亚杏野生居群的遗传变异和遗传多样性较中亚普通杏野生居群丰富, 2 个杏野生居群的遗传结构诠释了各自不同的最佳遗传群簇 (K); (2) 中国西伯利亚杏居群的遗传群簇分布具有地理差异特征, 处于西北地区的居群呈现孤立结构, 可能是与复杂的生态环境和地理上栖息自西向东的分布广泛有关; 中亚地区野生普通杏居群的遗传结构呈高度杂合, 可能由最近发生在有限地理分布区域中居群间的基因流引起; (3) 地理隔离 (IBD) 解析了遗传分化与地理梯度之间的相关关系, 表明中国西伯利亚杏野生居群的地理距离与遗传距离之间存在显著的相关性, 而在中亚的普通杏野生居群中则不同。综上, 本研究指出与生态地理模式相关的遗传结构可能会影响杏属植物的遗传分化和遗传多样性, 但对遗传分化和多样性的影响程度在不同的杏种居群中有所不同。基于此, 进一步讨论了开展遗传多样性保护的可能策略和意义。

关键词: 杏; 遗传多样性; 居群结构; 距离隔离

Study on the Relationship between Genetic Diversity and Geographical Distribution of Wild Common Apricots and Siberian Apricots

LIU Shuo¹, DECROOCQ Veronique², ZHANG Yu-jun¹, LIU Ning¹, MA Xiao-xue¹,
ZHANG Qiu-ping¹, XU Ming¹, ZHANG Yu-ping¹, LIU Wei-sheng¹

(¹ Liaoning Institute of Pomology, Yingkou 115009; ² Biologie du Fruit et Pathologie, INRAE, Aquitaine Bordeaux 33000)

Abstract: The geographic distance might contribute to the genetic differentiation of populations on the landscape. Understanding the mechanism of the geographic range that affects gene flow and genetic structure is beneficial to maintain the genetic diversity. Here we investigated the landscape genetic structure of sixteen natural populations of apricot representing two natural distribution ranges of wild common apricots (*P. armeniaca* L.) and siberian apricots (*P. sibirica* L.) using 18 microsatellite markers. The siberian apricots, which were originated from the North and northeastern China, represented the richer genetic variation and diversity than that of siberian apricots. We found that *P. sibirica* L. populations in the Northeast and Northwest of China likely belonged to discrete genetic clusters, while the northwestern populations seemed isolated on the edge. We speculate that this pattern could be a result of the currently complex ecological environment associated with their wide habitats range

收稿日期: 2020-04-17 修回日期: 2020-05-17 网络出版日期: 2020-08-17

URL: <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20200417001>

第一作者研究方向为李、杏种质资源与遗传育种, E-mail: Liushuo028@163.com

通信作者: 刘威生, 研究方向为果树种质资源, E-mail: wsluilaas@163.com

基金项目: 国家重点研发计划资助 (2019YFD1000600)

Foundation project: National Key Research & Development Program of China (2019YFD1000600)

from west to east in China. While, Central Asian *P. armeniaca* L. populations showed a highly admixed structure which was probably due to the recent introgression in a limited geographic distribution region. Meanwhile, we also implemented Isolate by distance (IBD) study on the relationship between both genetic differentiation and related geographic gradients pattern. Our results showed a significant association between geographical distance and genetic distance among wild populations of Chinese *P. sibirica* L. but in Central Asian *P. armeniaca* L. Therefore, our results suggested that the genetic structure associated with eco-geographic patterns could affect the genetic differentiation and diversity, which varied differently in case of different *Armeniaca* Scop. plants, which might have an implication for establishing a conservation strategy maintaining genetic diversity in these species.

Key words: apricot; genetic diversity; population structure; isolation by distance

开展影响物种遗传多样性因素的研究,对制定有效措施保护物种遗传多样性至关重要。普遍认为,物种的遗传多样性分布主要取决于种群的有效规模、遗传碎片化程度(即基因流)、自然地理分布和对生态栖息地的适宜性^[1]。然而,与遗传多样性相关的影响因素及其重要程度在不同的物种或种群中存在差异。对于陆地植物而言,地理分布和生态环境是导致种群间遗传分化的主要因素,受遗传漂移和环境压力因素影响^[2-3]。源自不同地理环境的自然选择决定了陆地植物基因的适应性,与遗传漂移共同导致自然种群间出现遗传变异不均匀和遗传多样性低于期望等现象^[4-5]。其中,地理距离因素是不可忽视的重要影响因子,可能导致显著的地理分布和生态环境构成差异。具体来说,地理距离较近的自然居群在遗传上往往很相似,而相距较远的居群间则反映出一定的遗传分歧。较远的距离可能会对自然居群间彼此的基因流动构成阻力,导致了居群的配子(例如花粉)在有限的距离内传播。如此经过长期的自然积累,居群间遗传差异的扩大速度会比基因流的均匀化(削弱遗传差异)影响快,导致明显的地理差异与遗传分化相关的现象^[6-7]。这种发生在具有地理距离的自然居群间,由有限的基因交流导致的显著遗传差异模式称为“距离隔离”(IBD, isolation by distance),其特征表现为随着种群之间的地理距离增加,种群间的遗传相似性随之降低^[8-9]。许多研究发现,距离隔离现象广泛存在于各种植物之中,并在遗传差异方面起到重要作用^[10]。

在群体遗传学理论中,自然遗传漂移和近亲繁殖现象会导致小种群的遗传变异相对于大种群的水平低。面对生境的不断变化,低遗传变异水平会制约种群对疾病、寄生虫和天敌等威胁的反应能力^[11-12]。因此,小种群所面临的潜在遗传侵蚀已成为物种自然保护的主要问题。为此,开展有关居群的遗传结构的调查分析十分必要,可掌握居群内部和居群之

间的遗传变异分布及遗传渗透,有助于对自然条件下小居群的遗传变异水平和遗传构成情况进行评价。然而,遗传变异分布可能与居群的地理距离、遗传相似性密切相关,综合分析可促进对植物遗传多样性变化机制的了解,制定适合的植物遗传多样性保护策略。

蔷薇科(Rosaceae)桃李属(*Prunus* L.)植物生长于30°~60°N或30°~60°S之间的温带地区,是常见的多年生落叶果树。野生的杏分布在北半球的欧亚大陆,包括普通杏(*P. armeniaca* L.)、西伯利亚杏(*P. sibirica* L.)、辽杏(*P. mandshurica* (Maxim.) Koehne.)、藏杏(*P. holosericea* Bata.)和梅(*P. mume* Siebold & Zucc.)等^[13]。除分布于我国南方地区的梅树以外,广泛分布在欧亚大陆的野生杏主要为普通杏和西伯利亚杏,是阔叶落叶乔木或灌木。普通杏野生居群集中生长在中亚地区的哈萨克斯坦、吉尔吉斯斯坦、乌兹别克斯坦和中国新疆的伊犁河谷地区^[14-15]。西伯利亚杏的野生居群分布于中国华北和东北的山区、西伯利亚的东部地区和蒙古局部地区^[16]。野生的普通杏和西伯利亚杏兼具食、药、材的用途,是人们关注和利用的重要树种^[17-18]。然而,气候环境不断变化和人类活动的愈加频繁,对它们自然林的影响越来越明显,如何科学合理地对其加以利用和保护,成为了科研工作者面临的新问题。

本研究选取西伯利亚杏和普通杏的野生居群开展遗传变异、群体结构、遗传多样性和地理隔离等研究,侧重于从各自种群的地理空间分布差异出发,探讨居群之间的地理距离、遗传结构和遗传变异之间的关系。与此同时,本研究拟进一步探讨不同杏种群间的距离隔离、基因渗透发生情况,及对居群结构和遗传多样性的影响。本研究旨在通过对野生杏居群开展基于地理分布的遗传多样性调查,为温带地区多年生木本植物的自然居群研究、遗传多样性保护提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料

供试的野生普通杏 (*P. armeniaca* L.) 居群来自中亚地区的哈萨克斯坦、吉尔吉斯斯坦、乌兹别克斯坦和中国新疆的伊犁河谷地区, 包括 9 个居群, 共计

166 份; 野生西伯利亚杏 (*P. sibirica* L.) 居群源自中国北方甘肃东部、陕西北部、内蒙古南部及辽宁西北地区的山区的自然林, 包括 7 个主要居群, 共计 84 份 (表 1)。以上材料由辽宁省果树科学研究所、国家果树种质资源熊岳李杏圃和法国农业科学院水果与病理生物研究所 (Biologie du Fruit et Pathologie-INRAE) 提供。

表 1 供试的西伯利亚杏和普通杏野生居群的基本信息
Table 1 Information of siberian apricots and wild common apricots sampling included in this study

	编号 Code	野生居群 Population	个体数量 Number of samples	所属国家和地区 Country and region	东经 (E) Longitude	北纬 (N) Latitude
普通杏 (n=166) <i>P. armeniaca</i> L.	1	CA_AANP	9	吉尔吉斯斯坦, 阿拉古卡国家公园	74° 28'	42° 35'
	2	CA_CR	14	吉尔吉斯斯坦, 楚河流域	75° 49'	42° 36'
	3	CA_BAL	45	哈萨克斯坦, 大阿拉木图湖	76° 55'	43° 6'
	4	CA_MV	15	哈萨克斯坦, 梅杜山谷	77° 3'	43° 9'
	5	CA_BC	24	哈萨克斯坦, Belbulak 村庄	77° 10'	43° 16'
	6	CA_EL	31	哈萨克斯坦, 伊塞克湖	77° 29'	43° 16'
	7	CA_IKAT	3	吉尔吉斯斯坦, Issyk-Kul 地区村庄	77° 39'	42° 46'
	8	CA_IKOB	17	吉尔吉斯斯坦, Issyk Kul 地区河流	77° 40'	42° 47'
	9	CHN_XJ	8	中国, 伊犁河谷	83° 12'	43° 19'
西伯利亚杏 (n=84) <i>P. sibirica</i> L.	1	CHN_sib_1	14	中国, 甘肃	105° 40'	35° 33'
	2	CHN_sib_2	5	中国, 陕西	108° 50'	37° 32'
	3	CHN_sib_3	15	中国, 陕西	109° 7'	37° 3'
	4	CHN_sib_4	10	中国, 山西	113° 39'	40° 28'
	5	CHN_sib_5	9	中国, 内蒙古	117° 50'	41° 55'
	6	CHN_sib_6	16	中国, 辽宁	120° 19'	41° 52'
	7	CHN_sib_7	15	中国, 辽宁	121° 46'	41° 54'

1.2 方法

1.2.1 基因组 DNA 提取、PCR 扩增和产物检测 采用改良 CTAB 法^[19] 提取杏基因组 DNA 并稀释至 20 ng/μL 备用。称取杏的幼嫩叶片 1.5 g 左右, 加入 5 mL 的 DNA 提取液 buffer1 (由 0.2 mol/L Tris-HCl pH 8、0.07 mol/L EDTA、2 mol/L NaCl 和 0.02 mol/L 重亚硫酸钠组成) 进行研磨。抽取 500 μL 加入 450 μL 提取液 buffer2 (由 2% HATMAB、1.4 mol/L NaCl、0.02 mol/L EDTA pH 8 和 Tris-HCl pH 8 组成), 经过 30 min 65 °C 处理, 通过氯仿异戊醇和醋乙酸沉淀 (10%)、溶解于 200 μL 0.1 倍 TE (Tris-HCl/EDTA) 缓冲液。
所用简单重复序列 (SSR, simple sequence repeat)

引物信息选自蔷薇科基因组数据库 (GDR, genome database for Rosaceae)^[20], 均匀分布在核果类 8 条连锁群 (LG, linkage group) 的 18 个标记。这些分子标记在前人的报道中表现出较好的多态性, 被广泛应用于核果类遗传分子生物学研究^[21-23]。包括来自 LG1 的 PacB26 和 UDP96-018, LG2 的 BPPCT004 和 BPPCT030, LG3 的 AMPA101、EPPCU0532 和 EPPCU0532, LG4 的 AMPA103、BPPCT040 和 UDAp-480, LG5 的 BPPCT038, LG6 的 AMPA100 和 CPPCT300, LG7 的 CPPCT22、CPPCT33 和 CPSCT004, LG8 的 CPPCT06 和 UDP98-409。PCR 扩增方法参考 Bourguiba 等^[24] 的方法, 使用 ABi 3730xl DNA 分析仪进行荧光检测, 通过 ABi

Genemapper 4.0 软件采集基因型数据。

1.2.2 居群遗传变异、多样性及遗传结构分析 利用 GENODIVE 2.0 软件^[25]统计普通杏和西伯利亚杏野生居群的等位基因数、有效等位基因数和杂合度等遗传变异指标,并计算各自居群间的 *Jost'* *D* 遗传距离。利用基于贝叶斯模型的 STRUCTURE v2.3.3 软件^[26-27]解析 2 个杏种居群各自的遗传结构,设置分析的 K 值为 2~10,通过 MCMC (Markov chain Monte Carlo) 抽样方法推断样品在某一个 K 时的遗传构成。我们对每一个 K 的居群结构进行 10 次独立重复运算,参数设置为 10,000 Burn-in 和 100,000 次 MCMC 迭代。通过 Structure Selector^[28]工具 (<http://lmme.qdio.ac.cn/StructureSelector/>) 对计算结果进行分析,采用 Puechmaille^[29]的方法纠正因样本抽样不均匀所导致的最佳 K 群簇 (Genetic cluster) 数估计偏差,通过计算 MedMed、MedMean、MaxMed 和 MaxMean 统计量推断在不同 K 时的理想遗传群簇数,用于描述居群的遗传构成。使用 pophelper^[30]和 ggplot2^[31]等软件包,经 R 统计软件 (<https://www.R-project.org/>) 绘制居群的遗传结构图。

1.2.3 遗传结构的地理分布及 IBD 分析 当居群的最佳群簇 K 确定后,统计各遗传群簇的成员系数 (Membership coefficient) 分布,通过 circlize 分析包^[32]绘制遗传结构和弦图 (Chord Diagram)。同时,结合居群的遗传结构与地理分布 (经纬度) 信息绘制交互式地图,使用 leaflet^[33]和 maptools^[34]分析包以饼状图 (Pie chart) 形式呈现居群遗传结构的地理分布。其中,中国各省份地区的 GIS 数据来自国家基础地理信息中心 (<https://nfgis.nsdi.gov.cn>)。利用 adegenet^[35]分析包进行 Mantel 检验,分别计算居群间的地理距离 (Euclidean geographic distances) 和遗传距离矩阵 (Edwards' genetic distances),实现对

西伯利亚杏野生居群、普通杏野生居群各自的距离隔离分析 (IBD)。以上计算和绘图均由 R 统计软件完成。

2 结果与分析

2.1 西伯利亚杏野生居群

2.1.1 遗传变异和居群结构 由 18 个 SSR 分子标记实验获得的基因型数据,反映了 7 个西伯利亚杏野生居群的遗传变异情况 (表 2)。7 个野生居群的平均等位基因数为 7.651,有效等位基因数为 5.251。居群 CHN_sib_6 携带最多的等位基因数 (9.278) 和有效等位基因数 (6.548); 居群 CHN_sib_2 携带最少的等位基因数 (5.167), 而居群 CHN_sib_4 则携带最少的有效等位基因数 (3.641)。观测杂合度的平均值为 0.686, 在居群 CHN_sib_7 中表现值最大为 0.748, 而在居群 CHN_sib_5 中表现值最小为 0.552。群体杂合度的最大值 0.820 出现在居群 CHN_sib_1, 最小值 0.689 在居群 CHN_sib_4 中, 平均值为 0.762。居群间两两 *Jost'* *D* 遗传距离平均值为 0.257, 最大值为 0.509 (CHN_sib_3 与 CHN_sib_4), 而最小值为 0.008 (CHN_sib_1 与 CHN_sib_3)。除 CHN_sib_1 与 CHN_sib_2 (*P*=0.316)、CHN_sib_1 与 CHN_sib_3 (*P*=0.359)、CHN_sib_6 与 CHN_sib_7 (*P*=0.104) 外, 绝大部分 *P* 值呈 0.05 水平显著 (表 3)。上述结果表明, 野生西伯利亚杏整体遗传变异水平较高, 居群间存在一定的遗传差异。

选择可以反映西伯利亚杏主要居群结构变化的 K 值范围, 即 K=2~5 的结果见图 1A。当 K=2 时, 84 份个体聚类形成清晰完整的蓝色 (群簇 1) 和红色 (群簇 2) 2 个群簇, 分别为居群 CHN_sib_1、CHN_sib_2 和 CHN_sib_3, 与 CHN_sib_4、CHN_sib_5、CHN_sib_6 和 CHN_sib_7。当 K=3 时, 绿色群簇

表 2 西伯利亚杏野生居群遗传变异
Table 2 Genetic variance among siberian apricot populations

西伯利亚杏居群 Sberian population	等位基因数 Number of alleles	有效等位基因数 Effective number of alleles	观测杂合度 (<i>Ho</i>) Observed heterozygosity	群体杂合度 (<i>Hs</i>) Heterozygosity within populations
CHN_sib_1	8.944	6.084	0.721	0.820
CHN_sib_2	5.167	4.365	0.719	0.782
CHN_sib_3	9.167	5.906	0.722	0.796
CHN_sib_4	5.556	3.641	0.615	0.689
CHN_sib_5	6.167	4.289	0.552	0.711
CHN_sib_6	9.278	6.548	0.728	0.767
CHN_sib_7	9.278	5.922	0.748	0.770
平均 Mean	7.651	5.251	0.686	0.762

表 3 西伯利亚杏居群间 *Jost'* *D* 遗传距离矩阵

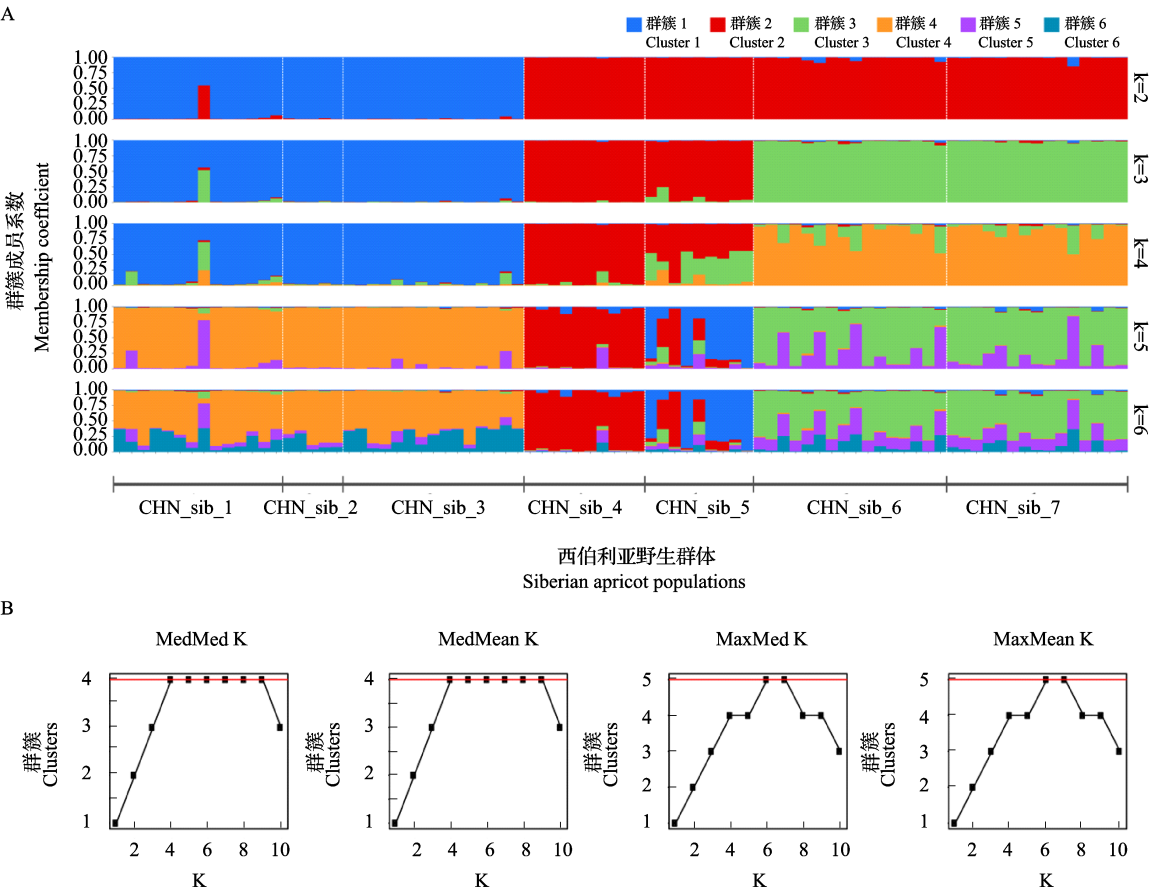
Table 3 Pairwise genetic differentiation across the 7 siberian apricot populations

西伯利亚杏居群 Siberian population	CHN_sib_1	CHN_sib_2	CHN_sib_3	CHN_sib_4	CHN_sib_5	CHN_sib_6	CHN_sib_7
CHN_sib_1	--	0.020	0.008	0.453	0.347	0.245	0.279
CHN_sib_2	0.316	--	0.080	0.474	0.356	0.238	0.297
CHN_sib_3	0.359	0.030	--	0.509	0.359	0.261	0.322
CHN_sib_4	0.001	0.002	0.001	--	0.176	0.311	0.313
CHN_sib_5	0.001	0.002	0.001	0.001	--	0.184	0.147
CHN_sib_6	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	--	0.020
CHN_sib_7	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.104	--

遗传差异矩阵的上部为 *Jost'* *D* 值(由 GENODIVE 计算);下部为对应的 *P* 值。下同

Pairwise *Jost'* *D* values calculated in the GENODIVE in the upper triangle, their corresponding pairwise *P*-values in the lower triangle.The same as below

(群簇 3)从之前的红色群簇分离,成为新的群簇代表居群 CHN_sib_6 和 CHN_sib_7。K=4 时的聚类结果同 K=3 时相近,其中居群 CHN_sib_5 表现为高度杂合,呈现出明显的分化趋势。当 K=5 和 K=6 时,居群结构变化基本稳定,包含 4 个主要的群簇(群簇 1~4)。根据 Puechmaille^[29]的方法判断居群在遗传水平的最佳群簇构成(图 1B),MedMed 和 MedMean 指标表明存在 4 个最佳群簇,MaxMed 和 MaxMean 指标表明 4 个群簇为次佳。相对于 K=4, K=5 的结果中 4 个遗传群簇可以较清晰地反映居群结构,故选择 K=5 时的聚类结果进行后续地理隔离分析(图 1B)。



A: K=2~6 时的居群结构图示,群簇 1~6 为 STRUCTURE 推测的不同遗传群簇。

B: 最佳群簇数估计分析,红线代表某一 K 群体结构中实际存在的最佳遗传群簇数。图 3 同

A: Structure barplots from K2 to K6, Cluster 1 to 6 indicates the inferred genetic groups.

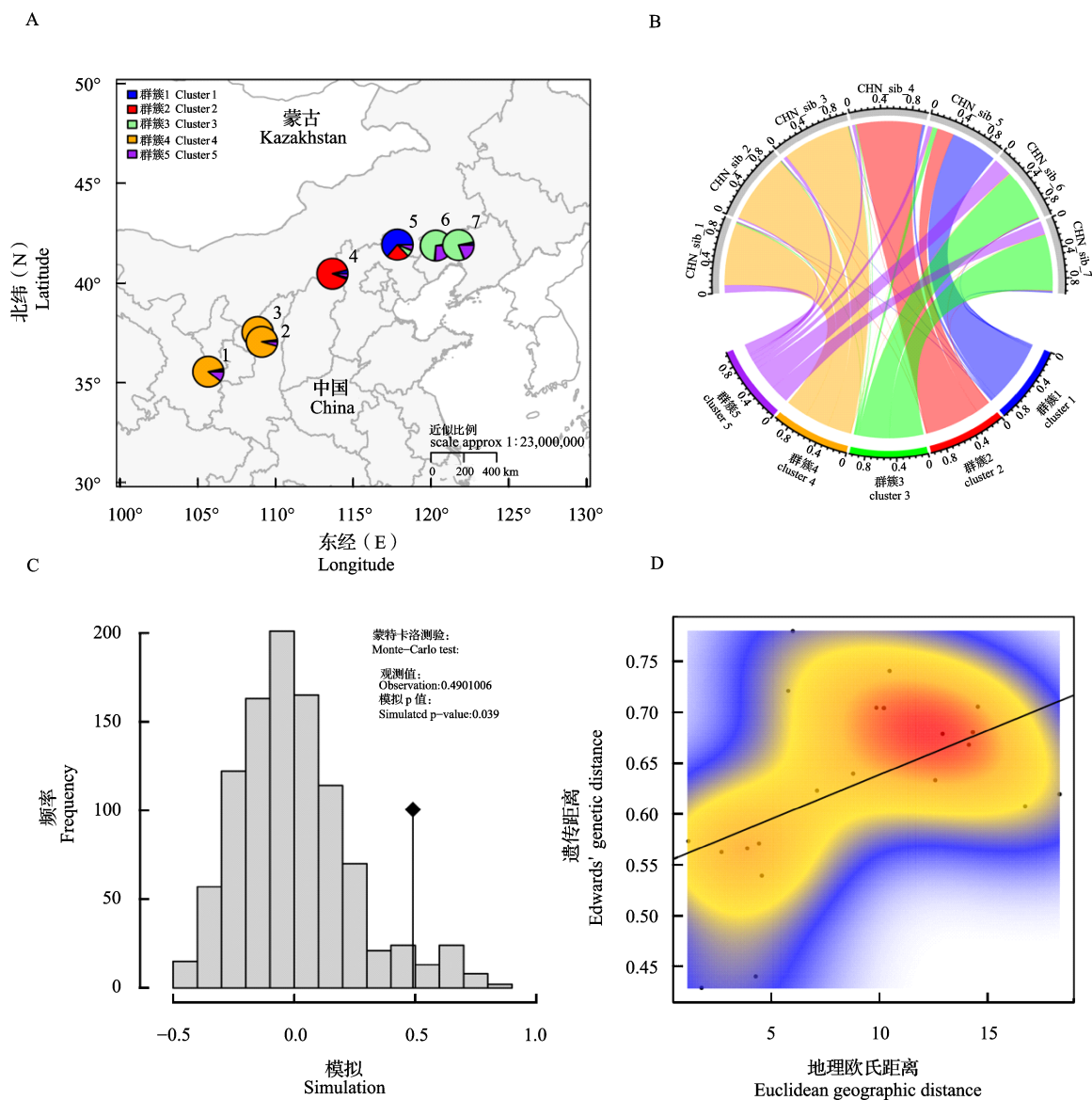
B: results of the optimal clusters, the red line indicates the optimal number of genetic clusters in a given K. The same as Fig.3

图 1 西伯利亚杏野生居群的遗传结构

Fig.1 Genetic structure of seven siberian apricot populations

2.1.2 居群的地理分布和遗传结构关系 7个西伯利亚野生居群自西向东分布于中国北部山脉(图2A)。中国华北地区西部的居群 CHN_sib_1、CHN_sib_2 和 CHN_sib_3 含橙色群簇(群簇4)比例最高;在处于山西和内蒙古邻接山区的居群 CHN_sib_4 由红色群簇(群簇2)构成。蓝色群簇(群簇1)主要存在居群 CHN_sib_5 中,少量分布在 CHN_sib_4 中。处于中国辽宁西北地区的居群 CHN_sib_6 和 CHN_sib_7 所含的群簇构成比率相近,由多数绿色群簇(群簇3)和少数紫色群簇(群簇5)组成(图2A、B)。K=5 时的遗传群簇中,累计的成员系数比例在橙色群簇中最高(39.71%),其次在绿色群簇中(22.77%),在紫色群簇中最低(10.23%)(图2B)。上述结果表明,野生西伯利亚杏群体存在明显的地理空间分布特征,相邻群体含有的遗传群簇具有较高的相似性。

sib_7 所含的群簇构成比率相近,由多数绿色群簇(群簇3)和少数紫色群簇(群簇5)组成(图2A、B)。K=5 时的遗传群簇中,累计的成员系数比例在橙色群簇中最高(39.71%),其次在绿色群簇中(22.77%),在紫色群簇中最低(10.23%)(图2B)。上述结果表明,野生西伯利亚杏群体存在明显的地理空间分布特征,相邻群体含有的遗传群簇具有较高的相似性。



A: K=5 时的居群结构在地理水平上的分布示意图,图中数字代表 1 中的居群序号; B: K=5 时,遗传群簇与 7 个居群的结构分配图;

C: 模拟的距离间相关的点分布,黑色方块代表实际观测的距离间相关所处位置,图中包含 Monte Carlo 测验结果;

D: 地理和遗传距离间的二维密度图,斜线为散点的线性拟合线。图 4 同

A: Geographical location of siberian apricots populations with genetic structure at K=5, the numbers correspond to the population number in Table 1,

B: Chord diagram between inferred clusters and genetic structuration of 7 populations, C: The distribution of simulated correlations of genetic distance matrix and pairwise distance matrix. The dot represents your actual correlation between the two distance matrixes, D: Local density of points plotted using a two-dimensional kernel density estimation based on pairwise Edwards' distances plotted against Euclidean geographic distances. The same as Fig.4

图 2 西伯利亚杏的地理分布、遗传结构和遗传距离分析

Fig.2 The correlation among the geographical distribution, generic structure and genetic distance on siberian apricots populations

2.1.3 基于遗传距离和地理距离的 IBD 分析 7 个西伯利亚杏野生居群地理距离间及遗传距离的置换 (Permuted values) 统计表明, 相关性值在假设无地理空间结构的情况下呈近正态分布, 距离矩阵之间的实际相关 (黑点位置) 观测值 (Observation value=0.49) 位于正态分布的右侧区域 (图 2C)。Monte Carlo 测验结果表明居群地理距离间及遗传距离之间呈显著相关性 ($P<0.05$), 说明西伯利亚杏野生居群存在 IBD 现象, 在距离矩阵间散点密度图中表现为较为明显的不连续散点云分布 (图 2D)。

2.2 普通杏野生居群

2.2.1 遗传变异和居群结构 调查 9 个普通杏野生居群的遗传变异情况和多样性 (表 4)。SSR 标记反映出居群含有的平均等位基因数为 6.284, 平均有效等位基因数为 4.024。前者在居群 CA_BAL 中最多

为 8.278, 而在居群 CA_IKAT 中最少, 仅为 3.667; 后者最多出现于居群 CA_AANP 中 (4.490), 而在居群 CA_IKAT 中最少 (3.306)。观测杂合度的平均值为 0.670, 在居群 CA_IKAT 中表现值最大为 0.796, 而在居群 CA_CR 中表现值最小为 0.572。群体杂合度的最大值为 0.766, 出现在居群 CA_AANP 中, 最小值 0.660 在居群 CA_CR 中, 平均值为 0.707。统计居群间 $Jost' D$ 遗传距离 (表 5), 结果表明居群平均的遗传距离为 0.085, 最大值为 0.155 (CA_EL 与 CA_IKOB), 而最小值为 0.005 (CA_IKAT 与 CA_AANP)。 $Jost' D$ 遗传距离 P 值显示, 居群 CA_IKAT 与 CA_EL 以外的其他居群的 P 值均不显著 ($P>0.05$), 居群 CA_MV 和居群 CA_BC 的 P 值不显著 ($P>0.05$)。上述结果表明, 野生普通杏整体遗传变异水平不高, 但可以在居群间发现一定的群体遗传差别。

表 4 普通杏野生居群遗传变异

Table 4 Genetic variance and diversity among wild common apricot populations

普通杏野生居群 Common apricot population	等位基因数 Number of alleles	有效等位基因数 Effective number of alleles	观测杂合度 (H_o) Observed heterozygosity	群体杂合度 (H_s) Heterozygosity within populations
CA_BC	7.056	4.249	0.694	0.707
CA_EL	7.167	4.107	0.655	0.695
CA_MV	6.778	4.278	0.659	0.695
CA_BAL	8.278	4.365	0.645	0.696
CA_IKAT	3.667	3.306	0.796	0.736
CA_IKOB	6.056	3.848	0.634	0.677
CA_CR	6.000	3.750	0.572	0.660
CA_AANP	6.222	4.490	0.758	0.766
CHN_XJ	5.333	3.826	0.619	0.728
平均 Mean	6.284	4.024	0.670	0.707

表 5 普通杏居群间 $Jost' D$ 遗传距离矩阵

Table 5 Pairwise genetic differentiation across the 9 wild common apricot populations

普通杏野生居群 Common apricot population	CA_BC	CA_EL	CA_MV	CA_BAL	CA_IKAT	CA_IKOB	CA_CR	CA_AANP	CHN_XJ
CA_BC	—	0.119	0.015	0.042	0.038	0.142	0.084	0.066	0.152
CA_EL	0.001	—	0.069	0.092	0.087	0.155	0.145	0.110	0.148
CA_MV	0.113	0.001	—	0.025	0.034	0.090	0.063	0.032	0.122
CA_BAL	0.001	0.001	0.017	—	0.017	0.153	0.058	0.061	0.140
CA_IKAT	0.168	0.037	0.189	0.283	—	0.027	0.031	0.005	0.018
CA_IKOB	0.001	0.001	0.001	0.001	0.305	—	0.147	0.115	0.150
CA_CR	0.001	0.001	0.001	0.001	0.251	0.001	—	0.084	0.149
CA_AANP	0.004	0.001	0.048	0.004	0.393	0.001	0.002	—	0.077
CHN_XJ	0.001	0.001	0.001	0.001	0.344	0.001	0.001	0.012	—

普通杏居群遗传结构 $K=2\sim6$ 的结果见图 3A, 整体表现出遗传变异分布不清晰。当 $K=2$ 时, 9 个居群及居群内的个体均含有一定比率的蓝色(群簇 1)和红色(群簇 2)遗传群簇。 $K=3$ 时, 绿色群簇(群簇 3)脱离红色部分, 成为独立的群簇于居群 CA_EL 中; 红色群簇(群簇 2)集中在居群 CA_CR、CA_BAL 和 CA_IKOB 中, 并在 $K=4$ 中进一步分化, 形成 2 个不同群簇。在 $K=5$ 时, 居群 CHN_XJ

XJ 逐渐形成主要由绿色(群簇 3)代表的居群; 而居群 CA_CR 和 CA_BAL 则多由蓝色群簇构成; 其他居群的构成较为复杂, 橙色群簇在其占比较高。 $K=6$ 与 $K=5$ 时的居群结构基本相似, 个体的群簇混杂程度随 K 值增多加剧。对于普通杏野生居群, MedMed、MedMean、MaxMed 和 MaxMean 指标均指出 5 个群簇数为最佳。因此, 选择 $K=5$ 时的遗传结构结果开展后续地理隔离分析(图 3B)。

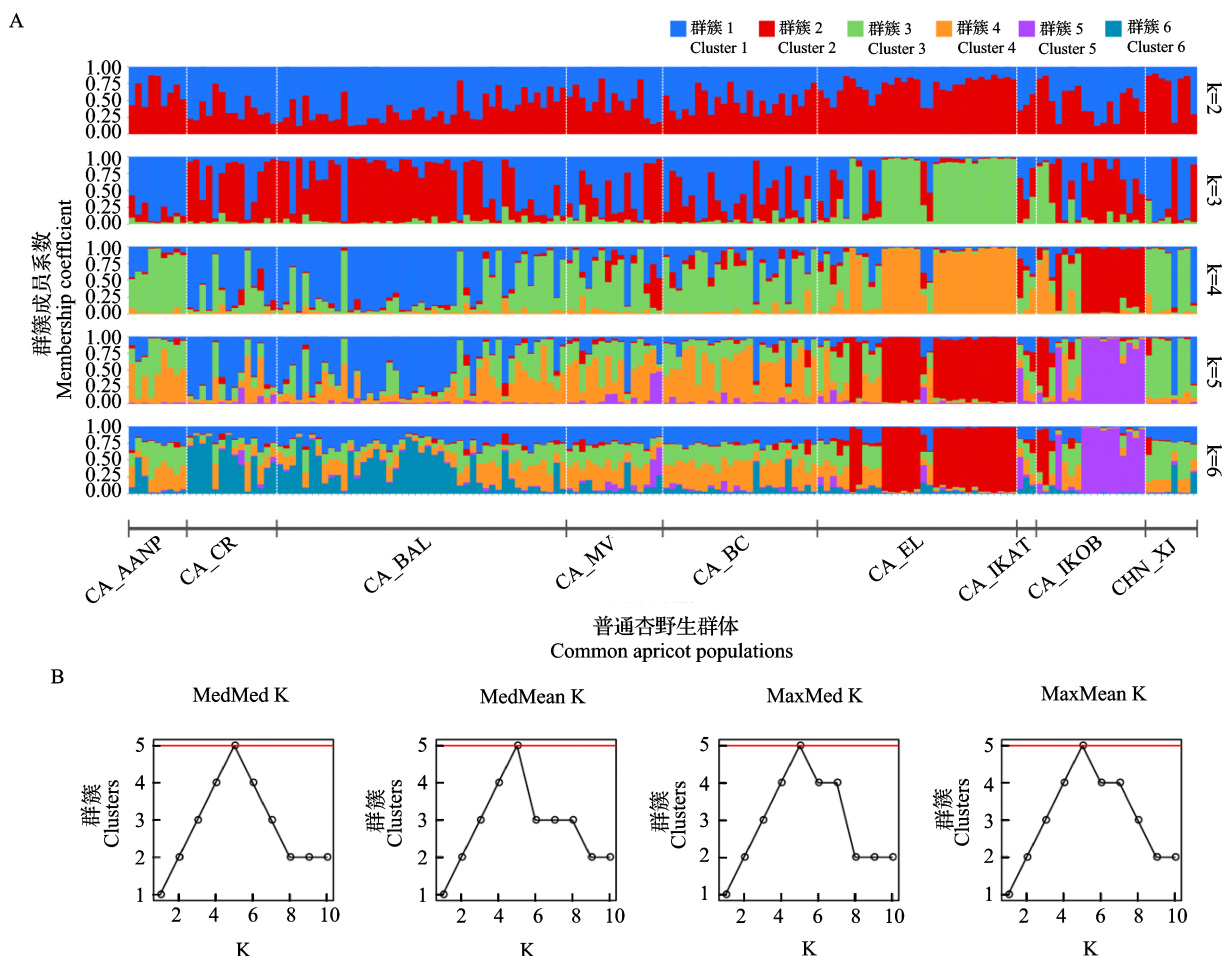


图 3 普通杏野生居群的遗传结构

Fig.3 Genetic structure of wild common apricot populations

2.2.2 居群的地理分布和遗传结构关系 普通杏野生居群位于中亚的哈萨克斯坦南部、吉尔吉斯斯坦北部及中国西部的新疆地区(图 4A)。9 个居群的遗传群簇构成整体复杂, 代表各群簇的主要居群(或个体)没有明显的地理分布特点。居群 CA_MV 和相邻的居群 CA_BC 遗传构成相似, 含橙色(群簇 4)群簇较多。居群 CA_CR 和相邻的居群 CA_BAL 遗传构成相似, 含蓝色(群簇 1)群簇较多。两个群较为特殊, 即居群 CA_EL 多含红色群簇(群簇 2), 而居群 CA_IKOB 多含紫色群簇(群簇 5)。

居群 CA_IKAT 所含的群簇构成最为复杂, 绿色群簇(群簇 3)成分最多(图 4A、B)。 $K=5$ 时的遗传群簇中, 累计的成员系数比例在蓝色群簇中最高(32.49%), 其次为在橙色群簇中(28.40%), 在红色群簇中最低(5.97%)(图 4B)。

2.2.3 基于遗传距离和地理距离的 IBD 分析 普通杏野生居群地理距离间及遗传距离的置换(Permuted values)统计表明, 相关性值在无空间结构的情况下呈近正态分布, 距离矩阵之间的实际相关(黑点位置)观测值(Observation value=0.458)

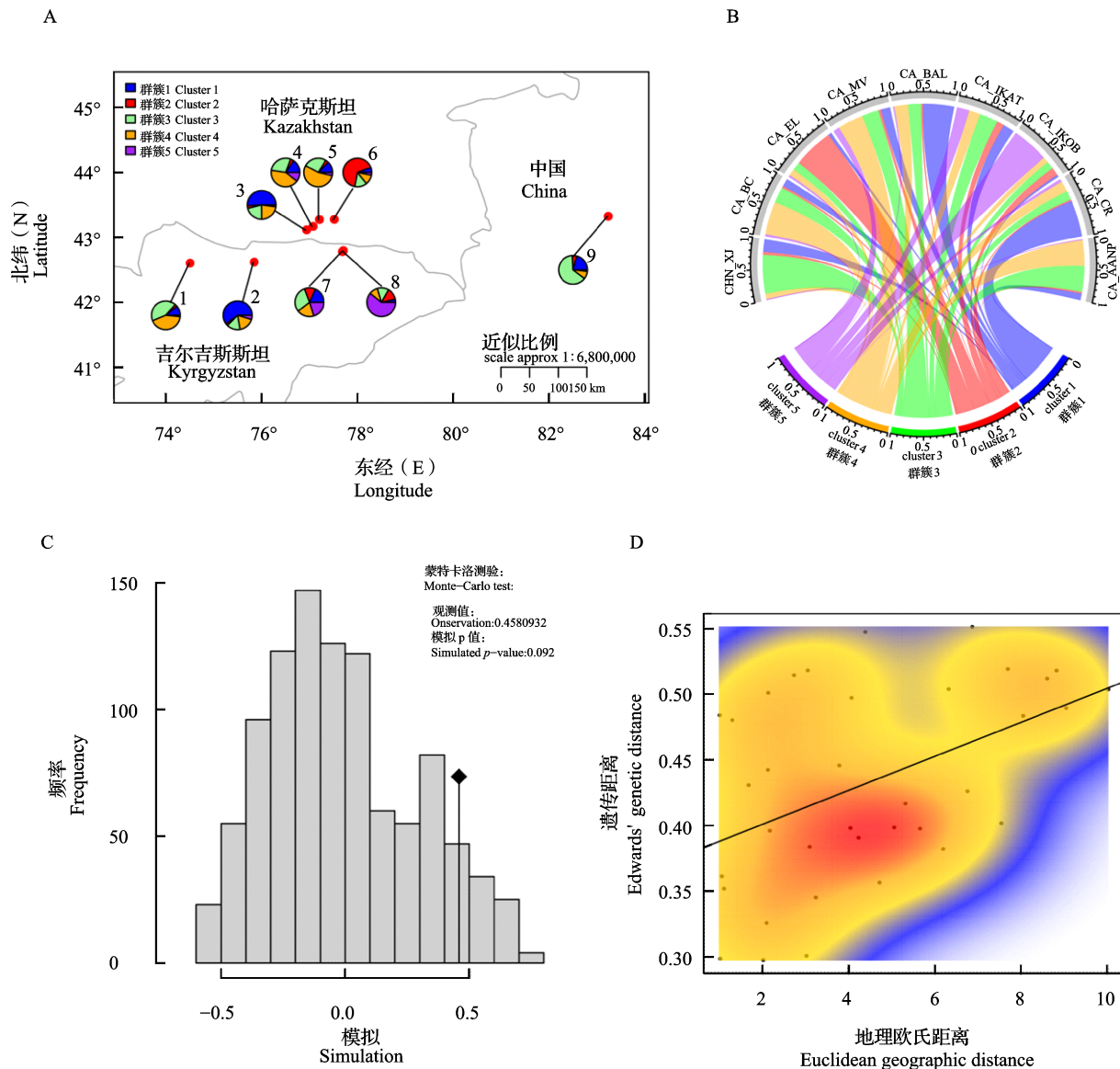


图 4 普通杏的地理分布、遗传结构和遗传距离分析

Fig.4 The correlation among the geographical distribution, genetic structure and genetic distance on wild common apricot populations

位于正态分布的右侧区域(图 4C)。Monte Carlo 测验结果表明居群地理距离间及遗传距离之间不呈现显著相关性($P>0.05$),意味着供试 9 个普通杏野生居群不存在明显的 IBD 现象,在距离矩阵间散点密度图中整体表现为不明显的连续散点云分布(图 4D)。

3 讨论

3.1 杏种野生居群遗传变异与居群结构的关系

本研究分别调查了普通杏和西伯利亚杏野生居群的遗传变异水平,并解析各自居群内的遗传变异分布。研究发现,单个遗传群簇可集中出现在某一个野生居群内。例如本研究中西伯利亚杏居群

CHN_sib_4 和 CHN_sib_5 在 $K=5$ 时的结果中,分别代表了 2 个独立的遗传群簇(红色和蓝色),及普通杏居群中的 CA_EL 和 CA_IKOB 两者含有 2 个独立的遗传群簇(红色和紫色, $K=5$)。此外,群簇也可以较为均匀地分布在居群之间,这种现象在普通杏居群中尤为明显,绿色和橙色群簇在 $K=5$ 时均匀分布在绝大多数居群(包含个体)之中。总体来看,两种情况依不同的供试材料情况不同。本研究结果与 Li 等^[36]的报道相似,西伯利亚杏居群的遗传群簇分布较为清晰,整体复杂程度较低,对居群与个体中主要遗传构成的辨识度较高。本研究同时发现普通杏居群以及个体中的遗传群簇具有分布分散的特征,该特征并不能很好的代表居群自身的遗传

变异分布。可能原因包括:第一,供试的普通杏居群分布的经度范围较西伯利亚杏居群小,因邻近居群间基因交流频繁,近期发生的遗传渗透事件(Recent admixture)较容易地被贝叶斯模型捕捉并反映在居群结构结果中;第二,普通杏居群与西伯利亚杏居群在长期的自然演化过程中,自身积累的遗传变异存在差异。相比之下,西伯利亚杏野生居群不仅具有较高的遗传多样性水平,而且具有清晰的遗传结构,这与前人报道的结果相似^[36-38]。第三,相同遗传变异水平下,居群间的遗传距离会影响居群的遗传结构。例如,西伯利亚杏居群 CHN_sib_4 与普通杏居群 CHN_XJ 的整体遗传变异水平相近,但前者与其他居群的平均遗传距离为 0.372,而后者与其他居群的平均遗传距离仅为 0.12,遗传距离小的居群表现出同质性强,易出现居群与个体的遗传群簇混合现象。

本研究发现居群中的遗传群簇的分布情况似乎与居群的遗传变异程度不存在明显的相关性。虽然遗传变异统计结果表明,西伯利亚杏居群的平均等位基因(*t* 测验呈显著水平)和有效等位基因数均高于普通杏,并且 2 个杂合度指数也表明西伯利亚杏居群的遗传多样性较普通杏略高,即使并不显著。但是,西伯利亚杏和普通杏种群的遗传结构分析却表明两者最佳遗传群簇数均出现在 $K=5$,即两者的遗传变异分布情况在贝叶斯模型估计上十分相近。

3.2 居群的地理分布与遗传变异之间关系

西伯利亚杏的栖息地位于我国华北的阴山、燕山等丘陵山地^[38],包含半干旱的内蒙古高原生态区和黄土高原生态区,及半湿润东北生态区和华北生态区^[39]。因此,复杂的地理环境条件会形成物理障碍,可能削弱或阻止以花粉为主要传播媒介的基因的流动性,进而使居群间的遗传差异积累不受基因流干扰,最终导致严重的遗传分化^[6-7]。这种与地理环境、地理距离密切相关的遗传分化很可能促成了种群的遗传变异分布,本研究中的西伯利亚杏遗传结构在空间的规律分布充分反映了上述现象。另外,自然生态环境也可能对西伯利亚杏的演化形成自然选择,因非适应性而产生遗传漂变的居群,其有效群体规模会在不利的环境条件下有所降低,进一步影响居群的遗传变异水平,而对较大的居群则不会产生明显影响。本研究中,地处东部和西部的西伯利亚杏居群的遗传变异水平较高,除可能受到居群内长期的突变、重组、自然选择和非随机交配等因素之外,也可能受历史上发生的物种分化和种间杂

交等人口统计历史影响,后者也与遗传结构的形成有关^[40-41]。本研究发现西伯利亚杏居群间的地理距离与种群的遗传变异分布呈显著相关性,与前人报道一致^[37,42]。上述结果说明存在距离隔离现象的居群之间,必然存在遗传变异分布的差异,并反映在遗传结构上。

本研究中普通杏居群源自吉尔吉斯斯坦 Uzun-Akhmat 和 Susamir 山区以及 Issyk Kul 湖泊附近、哈萨克斯坦的 Zailiysky 山区,属于欧亚大陆的干旱地区,处于广阔却脆弱的生态系统中^[43],对全球气候变化极为敏感^[44-45]。与西伯利亚杏不同,供试普通杏的分布在相对有限的空间环境,其地理生态环境条件比较相近,很可能处在相似的自然选择条件下(不包括局部小气候条件)。因此,它们的居群结构易受遗传漂变和基因流的共同影响,前者导致遗传变异程度逐渐降低,后者导致遗传群簇的均匀分布现象。该地区的基因流现象不仅存在于普通杏野生居群,与栽培的普通杏交流也较频繁^[46]。地理与遗传距离相关性测试结果表明供试普通杏居群间不存在明显的地理隔离现象。这很可能由于两个方面原因,一方面,地理距离较近,不形成显著的地理差异;另一方面,居群间遗传相似性较高且遗传结构化较弱,不形成显著的遗传距离差异。可能因上述原因的客观存在,即使普通杏种群中存在遗传变异分布的差异,但依然不能引起距离隔离现象的发生。近期的研究表明,中亚地区的普通杏之间的基因组差异与地理分布不存在显著的关系^[47-48]。

3.3 杏属野生植物遗传多样性保护策略

国际生物多样性公约(CBD, Convention on Biological Diversity)为保护植物遗传多样性提供了一个国际政策框架,尤其适用于在育种用途和对人类具有实用价值的植物^[49]。本研究中的西伯利亚杏和普通杏植物,在维持各自地区的生态系统中均起到积极作用,除作为经济林木的利用价值之外,也是栽培杏树的主要遗传贡献者,在抗性育种、改良过程中承担重要角色^[46]。

世界自然保护联盟(IUCN, International Union for Conservation of Nature)认为保持野生植物中所有类型和种群的遗传多样性是十分必要的,可以维持生物之间的相互作用和生态的功能^[50]。对野生植物的遗传多样性、居群结构和遗传变异调查及影响因素的研究,是开展遗传多样性保护的重要前提。本研究结果表明,少数普通杏和西伯利亚杏的野生居群存在遗传多样性丧失风险,例如居群 CHN_

sib_5 代表了西伯利亚杏 1 个独特的遗传群簇。因此,对于遗传多样性水平较高的居群,则优先考虑原位保护,包括建立自然保护区、加强当地居民对野生植物的保护意识、并定期进行种群监测等措施。而针对处于风险的居群保护策略,应在启动原位保护的同时重视非原位保护工作,通过收集一定数量的样本代表现有居群的遗传多样性^[51]。然而,随着原栖息的生态变化以及与保存地的环境差别,非原位保存下的种群可能会迅速地与原种群遗传分离^[52],失去对原种群的适应性,因此需要我们定期不断地从原种群中补充^[53]。

过去十几年,人们利用中性的分子标记这一有效方法开展物种的遗传评估。近年来,基因组学在植物中的快速发展可能会极大地增进对物种认知和对其有害遗传变异分布的理解^[54],大量的遗传资源数字序列信息被用来解释生命的分子基础和进化理论,为生物多样性的保护和可持续利用提供新的技术手段^[55]。

参考文献

- [1] Kvie K S, Heggenes J, Bårdsen B J, Røed K H. Recent large-scale landscape changes, genetic drift and reintroductions characterize the genetic structure of Norwegian wild reindeer. *Conservation Genetics*, 2019, 20 (6): 1405-1419
- [2] Orsini L, Vanoverbeke J, Swillen I, Mergeay J, De Meester L. Drivers of population genetic differentiation in the wild: isolation by dispersal limitation, isolation by adaptation and isolation by colonization. *Molecular Ecology*, 2013, 22 (24): 5983-5999
- [3] Manel S, Schwartz M K, Luikart G, Taberlet P. Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. *Trends in Ecology & Evolution*, 2003, 18 (4): 189-197
- [4] Leffler E M, Bullaughey K, Matute D R, Meyer W K, Segurel L, Venkat A, Przeworski M. Revisiting an old riddle: what determines genetic diversity levels within species? *PLoS Biology*, 2012, 10 (9): e1001388
- [5] Neher R A. Genetic draft, selective interference, and population genetics of rapid adaptation. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 2013, 44: 195-215
- [6] Slatkin M. Isolation by distance in equilibrium and non-equilibrium populations. *Evolution*, 1993, 47 (1): 264-279
- [7] Wright S. Isolation by distance. *Genetics*, 1943, 28 (2): 114-138
- [8] Wright S. Breeding structure of populations in relation to speciation. *The American Naturalist*, 1940, 74 (752): 232-248
- [9] Wright S. Size of population and breeding structure in relation to evolution. *Science*, 1938, 87: 430-431
- [10] Meirmans P G. The trouble with isolation by distance. *Molecular Ecology*, 2012, 21 (12): 2839-2846
- [11] Amos W, Harwood H J. Factors affecting levels of genetic diversity in natural populations. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 1998, 353: 177-186
- [12] Hartl D L, Clark A G. Principles of population genetics. Editor 3. Sinauer Associates, Massachusetts; Inc. Sunderland, 1997: 295-307
- [13] Rehder A. Manual of cultivated trees and shrubs hardy in North America. New York: Macmillan, 1940: 996
- [14] Hormaza J I, Yamane H, Rodrigo J. Apricot. In *fruits and nuts*. Berlin: Springer, 2007: 171-187
- [15] Lingdi L, Bartholomew B. *Armeniaca*/Wu C Y, Raven P H. *Flora of China*, Beijing: Science Press and Missouri Botanical Garden Press, 2003: 396-401
- [16] Maynard D N. Horticultural reviews, Volume 23. *HortScience*, 1999, 34 (6): 1131-1133
- [17] Zurov D E, Molnar T J, Eisenman S W, Ford T M, Mavlyanova R F, Capik J M, Goffreda J C. Genetic resources of apricots (*Prunus armeniaca* L.) in Central Asia. *HortScience*, 2013, 48 (6): 681-691
- [18] Wang L B. Progress of exploitation and utilization research of wild apricot. *Journal of Zhejiang Forestry Science and Technology*, 2008, 28 (6): 76-80
- [19] Doyle J J, Doyle J L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem. Bull*, 1987, 19: 11-15
- [20] Jung S, Ficklin S P, Lee T, Cheng C H, Blenda A, Zheng P, Evans K. The genome database for *Rosaceae* (GDR): year 10 update. *Nucleic Acids Research*, 2014, 42 (D1): D1237-D1244
- [21] Dirlwanger E, Cosson P, Tavaud M, Aranzana M, Poizat C, Zanetto A, Laigret F. Development of microsatellite markers in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] and their use in genetic diversity analysis in peach and sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 2002, 105 (1): 127-138
- [22] Mnejja M, Garcia-Mas J, Howad W, Badenes M L, Arús P. Simple-sequence repeat (SSR) markers of Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.) are highly polymorphic and transferable to peach and almond. *Molecular Ecology Notes*, 2004, 4 (2): 163-166
- [23] Howad W, Yamamoto T, Dirlwanger E, Testolin R, Cosson P, Cipriani G, Arus P. Mapping with a few plants: using selective mapping for microsatellite saturation of the *Prunus* reference map. *Genetics*, 2005, 171 (3): 1305-1309
- [24] Bourguiba H, Audergon J M, Krichen L, Trifi-Farah N, Mamouni A, Trabelsi S, Khadari B. Loss of genetic diversity as a signature of apricot domestication and diffusion into the Mediterranean Basin. *BMC Plant Biology*, 2012, 12 (1): 49
- [25] Meirmans P G, Van Tienderen P H. GENOTYPE and GENODIVE: two programs for the analysis of genetic diversity of asexual organisms. *Molecular Ecology Notes*, 2004, 4 (4): 792-794
- [26] Hubisz M J, Falush D, Stephens M, Pritchard J K. Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Molecular Ecology Resources*, 2009, 9 (5): 1322-1332
- [27] Pritchard J K, Stephens M, Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 2000, 155: 945-959
- [28] Li Y L, Liu J X. StructureSelector: A web-based software to select and visualize the optimal number of clusters using multiple methods. *Molecular Ecology Resources*, 2018, 18 (1): 176-177
- [29] Puechmaille S J. The program structure does not reliably

- recover the correct population structure when sampling is uneven: subsampling and new estimators alleviate the problem. *Molecular Ecology Resources*, 2016, 16(3): 608-627
- [30] Francis R M. Pophelper: an R package and web app to analyse and visualize population structure. *Molecular Ecology Resources*, 2017, 17(1): 27-32
- [31] Wickham H. Ggplot2: elegant graphics for data analysis. New York: Springer-Verlag, 2009: 27-40
- [32] Gu Z, Gu L, Eils R, Schlesner M, Brors B. Circize implements and enhances circular visualization in R. *Bioinformatics*, 2014, 30(19): 2811-2812
- [33] Joe C, Bhaskar K R, Xie Y H. Leaflet: Create Interactive Web Maps with the JavaScript 'Leaflet' Library. (2019-05-08) [2020-04-17]. <https://cran.r-project.org/package=leaflet>
- [34] Roger B, Nicholas L K. Maptools: Tools for handling spatial objects. R package version 0.9-9, 2019
- [35] Jombart T. Adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics*, 2008, 24(11): 1403-1405
- [36] Li M, Zhao Z, Miao X, Zhou J. Genetic diversity and population structure of Siberian apricot (*Prunus sibirica* L.) in China. *International Journal of Molecular Sciences*, 2014, 15(1): 377-400
- [37] 刘华波. 西伯利亚杏 SSR 引物开发及燕山群体遗传多样性研究. 北京: 北京林业大学, 2012
Liu H B. Development of microsatellite markers and analysis of genetic diversity of populations from Yan Mountains in *Prunus sibirica* L. Beijing: Beijing Forestry University, 2012
- [38] Wang Z, Kang M, Liu H, Gao J, Zhang Z, Li Y, Pang X. High-level genetic diversity and complex population structure of Siberian apricot (*Prunus sibirica* L.) in China as revealed by nuclear SSR markers. *PLoS One*, 2014, 9(2): e87381
- [39] 谢高地, 张昌顺, 张林波, 苏德, 曹淑艳, 冷允法, 肖玉. 保持县域边界完整性的中国生态区划方案. *自然资源学报*, 2012, 27(1): 154-162
Xie G D, Zhang C S, Zhang L B, Su D, Cao S Y, Leng Y F, Xiao Y. China's county-scale ecological regionalization. *Journal of Natural Resources*, 2012, 27(1): 154-162
- [40] Bolton P E, Rollins L A, Brazill-Boast J, Maute K L, Legge S, Austin J J, Griffith S C. Genetic diversity through time and space: diversity and demographic history from natural history specimens and serially sampled contemporary populations of the threatened Gouldian finch (*Erythrura gouldiae*). *Conservation Genetics*, 2018, 19(3): 737-754
- [41] Pyhäjärvi T, Garcia-Gil M R, Knürr T, Mikkonen M, Wachowiak W, Savolainen O. Demographic history has influenced nucleotide diversity in European *Pinus sylvestris* populations. *Genetics*, 2007, 177(3): 1713-1724
- [42] 李明. 中国北方普通杏和西伯利亚杏遗传多样性研究. 杨凌: 西北农林科技大学, 2014
Li M. Genetic diversity of common apricot and siberian apricot in North China. Yangling: Northwest A&F University, 2014
- [43] Josef C, Hung L Y, Li Z L. Multi-temporal, multi-channel AVHRR data sets for land biosphere studies-artifacts and corrections. *Remote Sensing of Environment*, 1997, 60: 35-57
- [44] Chen L, Li H, Zhang P, Zhao X, Zhou L, Liu T, Fang J. Climate and native grassland vegetation as drivers of the community structures of shrub-encroached grasslands in Inner Mongolia, China. *Landscape Ecology*, 2015, 30(9): 1627-1641
- [45] Lioubimtseva E, Henebry G M. Climate and environmental change in arid Central Asia: Impacts, vulnerability, and adaptations. *Journal of Arid Environments*, 2009, 73(11): 963-977
- [46] Decroocq S, Cornille A, Tricon D, Babayeva S, Chague A, Eyquard J P, Liu W. New insights into the history of domesticated and wild apricots and its contribution to Plum pox virus resistance. *Molecular Ecology*, 2016, 25(19): 4712-4729
- [47] Li W, Liu L, Wang Y, Fan G, Zhang S, Wang Y, Liao K. Determination of genome size and chromosome ploidy of selected taxa from *Prunus armeniaca* by flow cytometry. *Scientia Horticulturae*, 2020, 261: 108987
- [48] 魏潇, 章秋平, 刘威生, 刘宁, 张玉萍, 徐铭, 刘硕, 张玉君, 马小雪. 基于叶绿体 SSR 单倍型分析普通杏演化关系. *植物遗传资源学报*, 2018, 19(4): 705-712
Wei X, Zhang Q P, Liu W S, Liu N, Zhang Y P, Xu M, Liu S, Zhang Y J, Ma X X. Phylogenetic relationship analysis of common apricot (*Prunus armeniaca* L.) revealed by chloroplast SSR haplotypes. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2018, 19(4): 705-712
- [49] Castañeda-Álvarez N P, Khoury C K, Achicanoy H A, Bernau V, Dempewolf H, Eastwood R J, Müller J V. Global conservation priorities for crop wild relatives. *Nature Plants*, 2016, 2(4): 1-6
- [50] Maunder M, Byers O. The IUCN technical guidelines on the management of *ex situ* populations for conservation: reflecting major changes in the application of *ex situ* conservation. *Oryx*, 2005, 39(1): 95-98
- [51] Guerrant E O, Fiedler P, Havens K, Maunder M. Revised genetic sampling guidelines for conservation collections of rare and endangered plants: supporting species survival in the wild. *Ex Situ plant conservation: supporting species survival in the wild*. Washington, D.C: Island Press, 2004: 419-441
- [52] Lauterbach D, Burkart M, Gemeinholzer B. Rapid genetic differentiation between *ex situ* and their *in situ* source populations: an example of the endangered *Silene otites* (*Caryophyllaceae*). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 2012, 168(1): 64-75
- [53] Whitlock R, Hipperson H, Thompson D B A, Butlin R K, Burke T. Consequences of in-situ strategies for the conservation of plant genetic diversity. *Biological Conservation*, 2016, 203: 134-142
- [54] Savolainen O, Lascoux M, Merilä J. Ecological genomics of local adaptation. *Nature Reviews Genetics*, 2013, 14(11): 807-820
- [55] 李保平, 薛达元. 遗传资源数字序列信息在生物多样性保护中的应用及对惠益分享制度的影响. *生物多样性*, 2019, 27(12): 1379-1385
Li B P, Xue D Y. Application of digital sequence information in biodiversity research and its potential impact on benefit sharing. *Biodiversity Science*, 2019, 27(12): 1379-1385