

三峡库区特有种疏花水柏枝的保护遗传学研究

李作洲¹ 王传华^{1,2} 许天全¹ 吴金清¹ 黄宏文^{1*}

1(中国科学院武汉植物研究所,武汉植物园,武汉 430074)

2(湖北省五峰土家族自治县采花乡人民政府,湖北五峰 443408)

摘要:采用超薄平板微型聚丙烯酰胺等电聚焦电泳方法对三峡库区特有种疏花水柏枝(*Myricaria laxiflora*)的13个自然居群和1个人工迁地保护居群的等位酶遗传变异进行了初步研究。检测了5个酶系统,得到13个等位酶位点,遗传多样性及其遗传结构分析结果表明:疏花水柏枝具有较高水平的遗传多样性,平均多态位点比率 $P = 78.7\%$,每位点平均等位基因数 $A = 1.8$,平均预期杂合度 $H_e = 0.317$,高于中国植物特有种的平均水平,且群体中杂合基因型个体偏多,其遗传变异主要发生于居群内(84.86%),居群间又存在一定的遗传分化($G_{st} = 0.1514$),居群间平均基因流 $Nm = 1.401$,居群间遗传距离为0.002~0.176,UPGMA聚类分析显示疏花水柏枝在三峡湖北境内的白水河—泄滩一带分为上游和下游2个居群组;武汉植物园迁地保护的混合居群基本保育了其遗传多样性总水平。在分析讨论疏花水柏枝遗传多样性与其繁育系统、生境及其起源进化的关系的基础上,探讨了疏花水柏枝濒危的主要原因,推断其应为第四纪冰期影响后的古子遗种。最后,在评价迁地保护成果的基础上,提出了今后进一步保育的策略。

关键词:水柏枝属,等位酶,遗传多样性,遗传结构,保育策略

中图分类号:Q16,Q347

文献标识码:A

文章编号:1005-0094(2003)02-0109-09

Conservation genetics of the endemic species *Myricaria laxiflora* (Tamariaceae) in the Three-Gorges Reservoir area , Hubei

LI Zuo-Zhou¹, WANG Chuan-Hua^{1,2}, XU Tian-Quan¹, WU Jin-Qing¹, HUANG Hong-Wen^{1*}

1 Wuhan Botanical Garden, Wuhan Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430074

2 Caihua Township Government, Wufeng Tujiazu Autonomous County, Hubei Province, 443408

Abstract: Allozymic variation of 13 natural populations and one *ex situ* population of *Myricaria laxiflora* were analyzed using isoelectric focusing in thin-layer polyacrylamide slab gels. Thirteen loci of five enzyme systems were examined and used for the analysis of population genetic diversity and structure. A high genetic diversity was observed in this species, with mean number of alleles per locus of $A = 1.8$, mean percentage of polymorphic loci $P = 78.7\%$ and average expected heterozygosity $H_e = 0.317$, which were higher than the average value of Chinese endemic plant species. An excess of heterozygous genotypes was found both in natural and *ex situ* populations, suggesting a slight deviation from the Hardy-Weinberg equilibrium in the populations. The total genetic diversity (H_t) is 0.3733 within the species, while the genetic diversity within and among populations (H_s vs D_{st}) were 0.3168 and 0.0565, respectively, indicating that 84.86% of the genetic variation occurred within populations and only 15.14% among natural populations. The mean gene flow among populations (Nm) was 1.401 and genetic distances among populations ranges from 0.002 to 0.176. Cluster analysis using UPGMA on Rogers' genetic distance revealed that populations of *M. laxiflora* growing along riversides in the Three-Gorges Reservoir area were separated into upstream and downstream groups at Baishui River, Xietan region in Hubei Province. A level of genetic diversity similar to that of natural populations was observed in the *ex situ* popula-

基金项目:中国科学院知识创新工程重要方向项目(KSCX2-SW-104),中国科学院生物科学技术特别支持费(STZ97-1-09),国务院三峡工程建设委员会、长江三峡工程开发总公司“九五”科研攻关项目(SX(95)-63/KY),中国科学院生物分类区系学科发展特别支持项目。

收稿日期:2002-08-20;接受日期:2002-12-26

作者简介:李作洲,男,1967年出生。在职博士研究生,助理研究员,主要从事植物保育遗传研究。

* 通讯作者 Author for correspondence. E-mail: hongwen@public.wh.hb.cn

tion at Wuhan Botanical Garden, so the *ex situ* conservation program was considered to be successful in preserving genetic diversity. Combining analysis of the genetic diversity with available information on breeding system, status of natural habitat, and evolutionary history, the causes for the endangerment of *M. laxiflora* are discussed. It is likely that the species gradually evolved as a relict species after the Quaternary Glaciation. Based on evaluation of the current *ex situ* conservation program, we suggest that similar habitats upstream and downstream of the Three-Gorges Reservoir or on nearby tributaries should be selected as *ex situ* conservation spots for *M. laxiflora* populations with high genetic diversity before their original habitats are submerged by the Three-Gorges Reservoir.

Key words: *Myricaria*, allozyme, genetic diversity, genetic structure, conservation strategy

疏花水柏枝 (*Myricaria laxiflora*) 为柽柳科 (Tamaricaceae) 水柏枝属 (*Myricaria*) 的多年生灌木, 即将被列为中国的珍稀濒危植物 (许再富, 1998)。它是很好的河岸沙滩固土绿化树种和观叶植物, 也是药用植物 (庞秀生等, 2000), 民间常用来治疗烫伤 (吴金清等, 1998)。全世界共有水柏枝属植物约 13 种, 其中我国有 10 种、1 变种。该属植物分布于以喜马拉雅为中心的北温带欧、亚两洲, 为温带高山植物, 在我国主要分布在西北、西南地区的中高山地的河滩砂砾地、河岸石砾质山坡或湖边砂地, 以及流动沙丘间的洼地 (张鹏云, 张耀甲, 1984, 1990)。疏花水柏枝为该属植物的偏东南及低海拔分布, 在该属植物进化演替研究及植物区系研究方面具有重要意义。然而, 由于它仅狭域分布于长江三峡沿江的河滩至海拔 130 m 的自然消涨带内, 将成为三峡大坝建成后唯一的全部被淹没的地方特有植物物种, 会因其原始生境遭受毁灭性的破坏而灭绝 (吴金清等, 1998), 因此必须对疏花水柏枝实行迁地保护, 并在大坝建成后的新消涨带内或另选新的地点进行该物种群落的恢复重建。

中国科学院武汉植物研究所在完成对疏花水柏枝的生境和分布调查的基础上, 初步完成了其迁地保护以及种子到种子的繁育 (徐惠珠等, 1999), 它的无性扦插繁殖也取得初步成功 (熊高明, 陈岩, 1996; 徐惠珠等, 1999)。然而, 急需解决的问题是, 目前的迁地保护居群能否有效涵盖该物种基因库完整的遗传信息, 以及今后恢复重建中能否保持足够的或尽可能多的遗传多样性。而解决这一问题的基础和依据就是对其自然居群及迁地保护人工居群遗传多样性和遗传结构进行比较。近年来, 一些学者从多方面对柽柳科的分类和系统学进行了研究 (张元明等, 1998, 2001a; 魏岩等, 1999; 张道远等, 2000; 程争鸣等, 2000), 但未见对其遗传多样性的研究报

道 (张元明等, 2001b), 疏花水柏枝的研究更是空白。本研究运用等位酶分子标记技术对疏花水柏枝的 13 个自然居群和 1 个迁地保护居群进行了研究, 分析了自然居群与迁地保护居群在遗传多样性以及遗传结构上的差异, 以期评价迁地保护成功与否提供居群遗传学证据, 同时也为制定进一步迁地保护和群体恢复重建的策略提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 材料来源

疏花水柏枝的 13 个自然居群采自其自然分布区长江三峡库区消涨带 (图 1), 人工迁地保护居群采自中国科学院武汉植物研究所迁地保护基地 (表 1)。每居群随机取样 20~22 株, 采集样本为带叶的当年生幼枝, 经保湿处理, 置于 4℃ 下保存至 1 个月内完成电泳实验。

1.2 电泳和同工酶染色

全部样本采用当年生成熟叶作为等位酶分析试材, 等位酶提取、电泳、染色采用超薄平板微型聚丙烯酰胺等电聚焦电泳方法 (黄宏文, 2000)。经预实验对 22 个酶系统的筛选获得 ACP (酸性磷酸酶 E. C. 3. 1. 3. 2)、EST (酯酶 E. C. 3. 1. 1. -)、MDH (苹果酸脱氢酶 E. C. 1. 1. 1. 37)、PRX (过氧化物酶 E. C. 1. 11. 1. 7)、 α -AMY (α -淀粉酶 E. C. 3. 2. 1. 1) 5 个酶系统及谱带清楚的 13 个基因位点用于居群遗传学分析 (表 2)。

1.3 等位酶位点的确定和数据分析

根据疏花水柏枝的染色体为二倍体 ($2n = 24$) (何子灿, 未发表资料), 各酶的亚基数目以及基因型与酶谱表型的对应关系, 参照王中仁 (1996) 及其他物种等位酶位点确定的方法 (Huang *et al.*, 1994a, 1994b) 确定酶位点和等位基因。

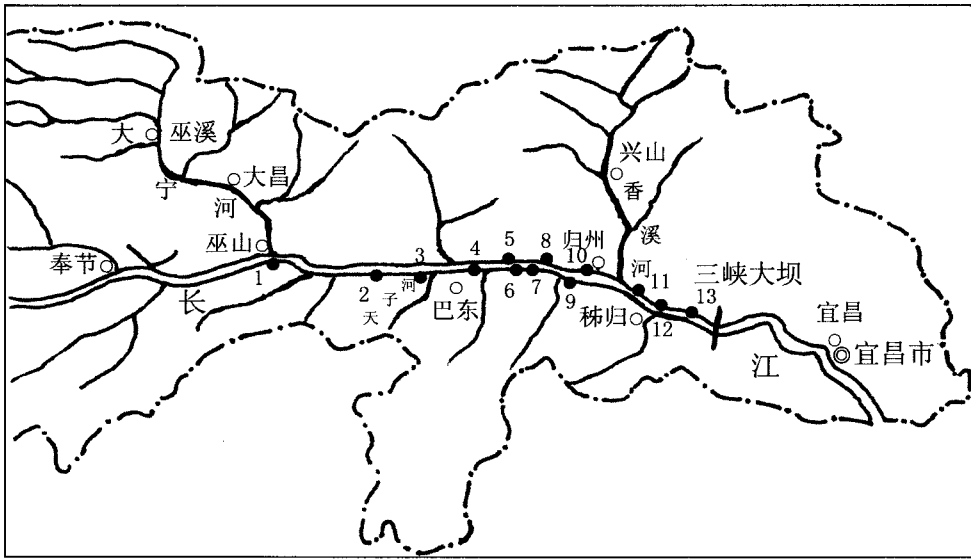


图 1 疏花水柏枝的 13 个自然居群在三峡库区的分布

1:巫峡;2:陪石;3:楠木园;4:信陵;5:牛口;6:唐家河;7:白水河;8:新滩;9:沙镇溪;10:归州;11:新滩;12:柳林渡;13:美人沱。

Fig. 1 The distribution of 13 natural populations of *Myricaria laxiflora* in the Three-Gorges Reservoir area

1, Wuxia; 2, Peishi; 3, Nanmuyuan; 4, Xinling; 5, Niukou; 6, Tangjiahe; 7, Baishuihe; 8, Xietan; 9, Shazhenxi; 10, Guizhou; 11, Xintan; 12, Liulinzi; 13, Meirentuo.

数据分析使用 Biosys-2 (William, 1997) 和 Genstat-PC (Lewis & Whitkus, 1989) 软件。应用 Biosys-2 软件计算各居群各等位基因的频率分布、每位点等位基因平均数 (A)、多态位点比率 (P)、平均观察杂合度 (H_o)、平均预期杂合度 (H_e)、固定指数 (F)、Wright (1978) 的 F -统计量、Nei's (1978) 遗传距离 (D) 和遗传一致度 (I), 并采用“Modified Roger's Distance”进行 UPGMA 聚类分析。应用 Genstat-PC 计算遗传分化度 (G_{st})。按照 Wright (1978) 的 F_{st} 法 ($F_{st} = 1/(1 + 4Nm)$, $Nm = (1 - F_{st})/4F_{st}$) 计算反映基因流强度的居群每代迁移数 (Nm)。

2 结果与分析

2.1 等位酶变异及居群遗传多样性

经过 22 个酶系统的预备实验,筛选了 5 个酶系统对疏花水柏枝 13 个自然居群和 1 个迁地保护居群的等位酶变异进行了检测,在 13 位点上共检测了 26 个等位基因,位点的最大等位基因数为 3。其中,酸性磷酸酶 (ACP) 表现为单聚体,3 个位点谱带清晰,各有 2 个等位基因;酯酶 (EST) 表现为单聚体,3 个位点,除位点 2 为单态位点外,其余位点均含 2 个等位基因;苹果酸脱氢酶 (MDH) 为二聚体,3 个位点,各有 2 个等位基因;过氧化物酶 (PRX) 表现为单体酶,2 个位点谱带清晰,各有 2 个等位基因; α -淀

粉酶 (α -AMY) 同样表现为单体酶,大多数居群只在 2 个位点上表达,各有 2 个主要等位基因,位点 2 在居群 2 (陪石)、居群 4 (信陵) 发现稀有等位基因 *Amy-2c*。此外, α -AMY 在居群 3 (楠木园) 还表达位点 4、位点 5,位点 3 在少数个体表达,绝大多数个体表现为哑等位基因,这些位点未用于进一步分析。 χ^2 分析发现:13 个自然居群的等位基因频率,除单态位点 *Est-2* 外,仅 *Est-3* 和 *Amy-2* 无显著差异,其余 10 个均表现差异显著,极显著位点达 8 个,表明等位基因频率在居群间存在显著差异 (表 2)。

疏花水柏枝具有较高的遗传多样性 (表 1),表现在种水平上的每位点平均等位基因数为 2.0,多态位点比率为 84.6%,观察杂合度为 0.406,显著高于预期杂合度 0.368;自然居群平均水平分别为: $A = 1.8$ 、 $P = 78.7\%$ 、 $H_o = 0.408$ 、 $H_e = 0.317$;多态位点比率最高的为居群 11 (新滩) (92.3%),最低的为居群 9 (沙镇溪) (61.5%),而观察杂合度则以居群 10 (归州) 最高 (0.500),居群 9 (沙镇溪) 最低 (0.310)。迁地保护居群的遗传多样性指标 ($P = 84.6\%$ 、 $H_o = 0.445$ 、 $H_e = 0.355$) 高于自然居群平均水平,部分指标甚至超过了居群总水平,基本上保持了疏花水柏枝的遗传多样性;但缺乏含稀有基因 (*Amy-2c*) 的个体以及表达 *Amy-3*, *Amy-4*, *Amy-5* 位点的个体。

表 1 疏花水柏枝的居群遗传变异(括号内为标准误)
Table 1 Genetic variation in populations of Myricaria laxiflora (standard errors in parentheses)

Table with 9 columns: No., Population, N, A, P^1), H_o, H_e^2), F, Location. Rows include natural populations (1-13) and species-level values (14*).

注: N: 实际取样数; A: 每位点的等位基因平均数; P: 多态位点比率; H_o: 平均观察杂合度; H_e: 平均预期杂合度; F: 固定指数; 1) 最常见等位基因频率不超过 0.95 的位点为多态性位点 2) 无偏估计(Nei, 1978); * 为迁地保护居群
Note: N, actual sampling size; A, mean number of alleles per locus; H_o, mean observed heterozygosity; H_e, mean expected heterozygosity; F, mean fixation index; 1) a locus is considered polymorphic if the frequency of the most common allele does not exceed 0.95; 2) unbiased estimate (see Nei, 1978); * ex situ population

Table with 6 columns: 位点 Locus, H_t, H_s, D_st, G_st, chi^2. Rows list various loci (Acp-1 to Amy-2) and a Mean row.

表 2 疏花水柏枝自然居群的遗传多样性及遗传结构

Table 2 Genetic diversity and genetic structure of natural populations of Myricaria laxiflora

注: H_t: 总的遗传多样性; H_s: 居群内遗传多样性; D_st: 居群间遗传多样性; G_st: 遗传分化度; chi^2: 等位基因频率在居群间分布差异的 chi^2 分析; ns, *, ** 分别代表不显著、在 0.05 或 0.01 水平下的显著性。

Note: H_t, total genetic diversity; H_s, genetic diversity within populations; D_st, genetic diversity among populations; G_st, the relative magnitude of differentiation among populations; chi^2, the test of difference in distribution of alleles frequencies among populations; ns, nonsignificant; * significant at 0.05 level; ** significant at 0.01 level.

χ^2 检测 13 个自然居群和 1 个迁地保护居群的多态位点与 Hardy-Weinberg 平衡的偏离,发现居群平均有 3 (1~5) 个位点显著偏离该平衡(数据未列),所有居群固定指数均为负值(表 1),疏花水柏枝各居群具有杂合基因型的个体数量多于 Hardy-Weinberg 期望值。以居群 2(陪石)偏离最大,居群 1(巫峡)、居群 5(牛口)、居群 10(归州)其次。迁地保护居群(居群 14)同样含有较多杂合基因型的个体($F = -0.257$),但杂合基因型个体比例要比主要母体居群(归州)($F = -0.335$)偏低(表 1)。

2.2 遗传结构分析

2.2.1 居群遗传分化和基因流

疏花水柏枝遗传结构分析表明,疏花水柏枝各居群间存在一定的遗传分化。13 个自然居群总的遗传多样性 $H_t = 0.3733$,其中居群内保持的遗传多样性(H_s)为 0.3168,居群间遗传多样性 D_{st} 为 0.0565,遗传分化度 $G_{st} = 0.1514$,表明总遗传多样性的 15.14% 来源于居群间遗传变异,84.86% 属于居群内遗传变异(表 2),说明各居群间已有一定程度的遗传分化。在 12 个多态性位点中,位点 *Amy-1* 的分化程度最大,达到很高的水平($G_{st} = 0.6298$);其次是 *Prx-2* 位点($G_{st} = 0.2829$)。根据 $G_{st} \approx F_{st}$ (王中仁,1996),疏花水柏枝居群间基因流 $Nm = (1 - F_{st})/4F_{st} = 1.401$,说明其居群间存在一定的基因流,维持各居群间的遗传交流及其现有的遗传结构。

2.2.2 居群间的遗传一致度与聚类分析

疏花水柏枝自然居群间的遗传一致度(Nei,

1978)相对较高(0.838~0.998),平均约为 0.923;居群 5(牛口)与居群 6(唐家河)遗传一致度最高(0.998);而居群 1(巫峡)与居群 9(沙镇溪)遗传一致度最低(0.838)。居群间的遗传一致度的高低在空间上呈跳跃分布的趋势(表 3),可能暗示疏花水柏枝在长江三峡库区消涨带特殊生境有着特殊的居群分化规律。

迁地保护居群与居群 10(归州)遗传一致度最高(0.997),其次是与居群 11(新滩)(0.986),而与居群 7(白水河)的遗传一致度最低(0.885)(表 3),说明归州居群为迁地保护居群(居群 14)的主要母体居群。

应用 Modified Roger's Distance 遗传距离系数对疏花水柏枝居群进行了 UPGMA 聚类分析,聚类结果与距离系数矩阵相关性检验表明其适合较好,共表征相关系数(cophenetic correlation) $r = 0.858$,说明聚类图能够清晰简洁地反映出各居群间的亲缘关系(图 2)。聚类结果表明,疏花水柏枝的 13 个自然居群与迁地保护居群明显地聚为两大居群组。其中,第一组含 7 个居群(居群 1~7),即重庆市巫山县的巫峡和陪石、湖北省巴东县的楠木园与信陵、秭归县与巴东县交界的牛口及其邻近的唐家河、白水河,为偏上游居群组,除居群 5(牛口)位于长江北岸外,其他均为南岸居群。另一组为偏下游居群组(居群 8~13),包括秭归县泄滩以下的 6 个居群,即泄滩、沙镇溪、归州、新滩、柳林渍和宜昌县邻近秭归的美人沱居群,其中除沙镇溪居群为南岸居群外,均

表 3 疏花水柏枝居群间的遗传一致度

Table 3 Genetic identities among populations of *Myricaria laxiflora*

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	1.000													
2	0.962	1.000												
3	0.904	0.932	1.000											
4	0.948	0.946	0.987	1.000										
5	0.980	0.983	0.923	0.963	1.000									
6	0.977	0.955	0.904	0.963	0.998	1.000								
7	0.940	0.989	0.957	0.962	0.963	0.933	1.000							
8	0.914	0.898	0.861	0.875	0.917	0.901	0.864	1.000						
9	0.838	0.885	0.881	0.870	0.868	0.851	0.879	0.949	1.000					
10	0.916	0.915	0.924	0.935	0.902	0.897	0.884	0.919	0.910	1.000				
11	0.878	0.881	0.887	0.865	0.881	0.854	0.862	0.973	0.957	0.951	1.000			
12	0.912	0.914	0.862	0.892	0.909	0.891	0.914	0.955	0.953	0.907	0.917	1.000		
13	0.944	0.928	0.846	0.862	0.928	0.902	0.882	0.992	0.922	0.930	0.970	0.953	1.000	
14	0.911	0.916	0.917	0.917	0.907	0.896	0.885	0.972	0.964	0.997	0.986	0.947	0.967	1.000

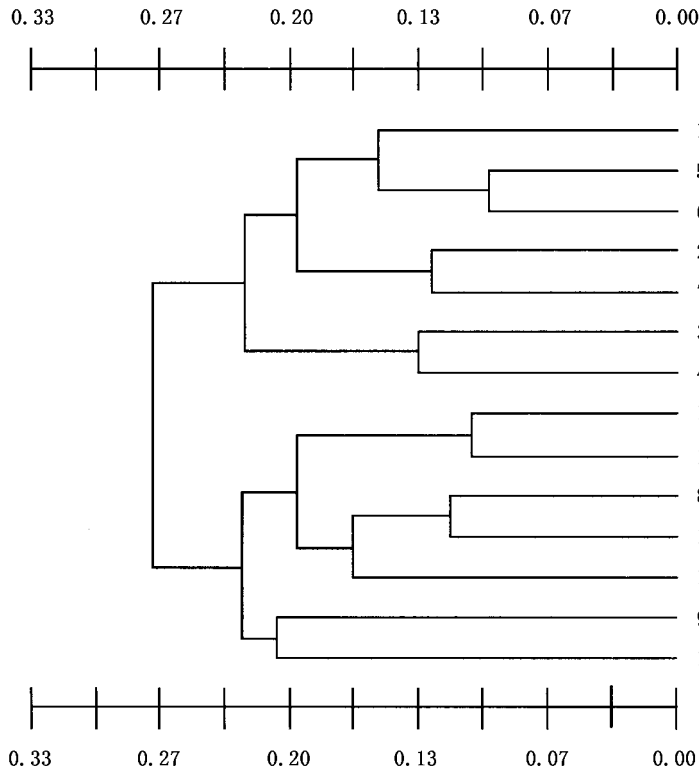


图2 三峡库区特有种疏花水柏枝 13 个自然居群及迁地保护居群的 UPGMA 遗传距离聚类图(共表征相关系数 $r = 0.858$)。居群 1~13 为自然居群,居群 14 为迁地保护居群(居群代号见表 1)

Fig. 2 UPGMA dendrogram of allozyme genetic distance based on modified Roger's genetic distance among 13 natural populations of *Myricaria laxiflora* and the *ex situ* population in Wuhan Botanical Garden of the CAS. Cophenetic correlation: $r = 0.858$. Population 1 to population 13 are natural populations, and population 14 is the *ex situ* population. Population numbers as in the legend to Fig. 1.

为北岸居群;此外,迁地保护居群聚在本组,并与归州居群极近缘。居群组内除地理距离极近的居群优先聚类外,距离较近的居群并不优先聚类,而表现为跳跃式聚类,与居群间遗传一致度交替分布的格局相似。

3 讨论

3.1 疏花水柏枝的遗传多样性及其濒危原因

3.1.1 高遗传多样性

Hamrick & Godt(1989)通过对 449 种植物的 653 例等位酶遗传变异研究的总结,综合分析了植物等位酶遗传多样性与系统位置、分布范围、分布地区、生活型、繁育系统、种子传播方式、生殖类型和演替阶段 8 个特征的相互关系,指出地方特有种或狭域分布的种具有较低的遗传多样性,并在随后的研究中进一步重申了这个结论(Hamrick & Godt, 1996a)。但也有研究表明特有种(甚至濒危种)也可能保持较高的遗传变异,具较高的遗传多样性(Conser & Crawford, 1994; Richter *et al.*, 1994; 郎萍, 黄宏文, 1999; 葛颂, 洪德元, 1999; 刘占林等, 2001),而某些广布种也可能有较低的遗传变异,如

曾经广布北美的美洲栗(*Castanea dentata*) (Huang *et al.*, 1998)和目前广布我国长江流域以南的石香薷(*Mosla chinensis*) (周世良等, 1998)。本研究的结果表明,疏花水柏枝作为一个狭域分布、三峡库区特有的地方性物种,却具有较高的遗传多样性水平($A = 2.0$, $P = 84.6\%$, $H_e = 0.406$, $H_s = 0.368$) (表 1),高于物种的平均水平($A = 1.96$, $P = 50.5\%$, $H_e = 0.149$),更高于特有种世界平均水平($A = 1.80$, $P = 40.0\%$, $H_e = 0.096$) (Hamrick & Godt, 1989),为我国高遗传多样性水平的地方特有种。这进一步证明了 Hamrick & Godt(1989, 1996a)的综合概括只是一种趋势,而不能用于估测一个具体物种的遗传多样性水平。

在疏花水柏枝种内居群水平上,归州和新滩 2 个居群的遗传多样性最高,可能是因为当地滩多、生境较为复杂,并且这 2 个居群同其他居群交流较容易的结果,而位于南岸的沙镇溪居群生境相对简单,且此段为库区江面最宽处,与其他居群的交流受到一定的阻碍,因而该居群的遗传多样性最低。在小毛茛(*Ranunculus ternatus*)的居群遗传分化上有类似规律(汪小凡等, 2001)。

3.1.2 遗传多样性与其生物学特性、生境的关系

植物的遗传多样性水平及其结构与其生物学特性、生境以及起源进化密不可分,其中繁育系统、分布范围、生活型以及花粉和种子传播方式影响最大(Harmrick & Godt, 1989, 1996a; 王洪新, 胡志昂, 1996)。疏花水柏枝的高遗传多样性同样与其特殊的生物学特性和起源进化历程、生境适应紧密相关。作为多年生灌木,疏花水柏枝的花为两性花,总状花序,花瓣粉红或淡紫色(张鹏云, 张耀甲, 1984, 1990),花粉粒为球形,体积大(张元明等, 2001a),花期长(徐惠珠等, 1999),符合虫媒传粉的特性,其同科近缘的柽柳属(*Tamarix*)植物被作为重要的蜜源植物(张金谈, 1990)。但也有风媒传粉的可能:其种子细小,顶端芒柱被柔毛,多而轻且亲水,有利于风媒散播或顺水传播,但寿命短(徐惠珠等, 1999),符合高遗传多样性植物的特征。疏花水柏枝的固定指数 F 在所有居群及总群体中均为负值,表明在该种中存在过多的杂合基因型个体,是否暗示疏花水柏枝种内存在自交同配衰退?还是存在某种选择机制?目前未见相关研究报告,武汉植物研究所三峡课题组在进行迁地保护研究时,曾进行过自花授粉试验,未观察到结籽(吴金清,未发表资料)。疏花水柏枝生长于江水消涨带,生境恶劣,可能在选择上偏向具有杂种优势、生命力强的杂合基因型个体。此外,疏花水柏枝极易扦插繁殖(熊高明, 陈岩, 1996; 徐惠珠, 1999),野外成丛状生长(吴金清等, 1998),表明其存在无性克隆生殖,也有利于固定杂合基因型。

疏花水柏枝的虫媒或风媒传粉以及种子风媒及顺水传播(含少许营养繁殖体),有效地增加了居群间的基因交流($Nm = 1.401 > 1$),一定程度上防止了居群遗传分化($G_{st} = 0.1514$),因而居群间有较高的遗传一致度(0.838 ~ 0.998)(表3)。又因长江三峡地形地势复杂,虫媒或风媒传粉和种子的风媒散播被限制在较近的范围;而种子或营养繁殖体的顺水传播则促成了较远距离居群间的基因单向流动,从而形成其多态位点比率自上而下表现增高趋势。然而,下游居群能否接纳上游居群输出的繁殖体,又与居群本身所处区域地形有关:一般河水转折回旋地段(如牛口、归州、新滩)能相对较多地截获迁入者,使得疏花水柏枝居群间遗传一致度高低表现交替分布(表3),聚类表现出跳跃(图2)。

3.1.3 居群遗传多样性格局可能的历史成因及其濒危原因

疏花水柏枝现有遗传多样性格局的形成可能还有其起源进化上的因素:水柏枝属及其同科近缘属的共同祖先起源于第三纪的“古地中海”沿岸地区,为耐盐碱植物(张元明等, 2001b)。琵琶柴属(*Reaumuria*)相对原始,为白垩纪、老第三纪子遗植物;水柏枝属和柽柳属为较进化的属,在喜马拉雅造山运动中逐渐进化为温带高山属,喜马拉雅为其发生和分布中心(张元明等, 1998, 2001a, 2001b; 张道远等, 2000),水柏枝属因进一步向湿中性特征演化而限制性分布于河岸地带(魏岩等, 1999)。可以推测:疏花水柏枝的近祖可能是在青藏高原的逐步抬升、长江形成的过程中,其种子或营养繁殖体顺江传播,遇适生河滩繁衍演化,并在后期到达三峡地段,受第四纪冰期影响而子遗分布于三峡库区。它较完整地继承了其祖先的遗传基础,如喜盐碱(沈泽昊等, 1999),又在适应新的环境中得以进化,从而形成了其现有的遗传多样性格局。这也可能是长江三峡段支流上未见其分布(吴金清等, 1998)的较合理的解释。

关于物种濒危的机制一直是遗传学家和生态学家争论的焦点。遗传学家偏重遗传基础,而生态学家则强调生态环境的作用(Harmrick & Godt, 1996b)。毫无疑问,物种的濒危是其内在遗传多样性基础与外界生境相互作用的结果,在不同的时期或者对于不同的物种,其作用大小有别。贫乏的遗传基础会带来更大的潜在危险性,而本研究发现疏花水柏枝具有较高的遗传多样性水平,遗传基础较丰富,因此遗传多样性的缺乏不是该物种濒危的主要原因,其狭域分布更可能是环境变迁的结果。从某种意义上说,疏花水柏枝不应是濒危种,而可能是第四纪冰期影响后的古子遗种,冰期过后,受种子散播方式及生境的限制而未能重新扩散。然而,正是三峡工程的兴建人为地使疏花水柏枝的自然生境丧失,从而即将导致其自然居群的灭绝。人类有责任为该物种寻找或创造适生生境,恢复重建其自然居群,并尽可能地保育其遗传多样性。

3.2 迁地保护评价及其保育策略

为了保护疏花水柏枝不致人为灭绝,在三峡工程启动前和兴建过程中,中国科学院武汉植物研究所已经对其实行了迁地保护。本研究对迁地保护居

群的等位酶遗传多样性评价结果表明,迁地居群保持了其自然居群状态的遗传多样性水平(表1),这一方面说明迁地保护是基本成功的,迁地保护取样策略基本合理;而另一方面,因迁地保护居群个体主要来自归州居群,虽有附近居群个体的渗入(吴金清,黄汉东,未发表资料),但仍缺乏其他居群的取样,特别是巴东、巫山区域的居群个体贫乏,部分带有稀有等位基因 *Amy-2c* 的植株或表达特殊位点 *Amy-3*, *Amy-4*, *Amy-5* 位点的植株未被收集。鉴于疏花水柏枝居群内具高水平遗传多样性,居群间又有一定的分化,结合其起源进化因素,我们建议:在疏花水柏枝的迁地保育取样策略上,除了现已迁地保护的归州居群外,还应增加其他高遗传多样性居群(新滩、巫峡、陪石等)或具稀有等位基因的居群(信陵、牛口)以及表达特殊位点居群(楠木园)的取样。取样应实行植株迁移和收集种子进行繁育相结合,迁移保护地点除现有迁地保护基地外,可以考虑在库区支流的上游寻找适宜的河岸河滩作为迁地保育基地。待大坝建成、库区新的消涨带形成后,重返库区恢复重建自然居群。然而,疏花水柏枝的生长节律是夏季汛期水淹而休眠,枯水期为生长盛期(吴金清等,1998),大坝建成后,库区将实行冬季蓄水,夏季泄洪,水位的涨落刚好与自然消涨带形成季节上的反差,这样疏花水柏枝在库区新消涨带的生长将存在一个反季节节律的问题,这需要提前考虑并进行相关试验研究。另外,考虑到其近缘种三春水柏枝(*M. paniculata*)和宽苞水柏枝(*M. bracteata*)有较广域分布(如西藏、青海、甘肃、宁夏、陕西、河南、四川等均有分布)(张鹏云,张耀甲,1984,1990;张道远等,2000),且宽苞水柏枝在三峡库区与疏花水柏枝有同域分布(郑重,1993),因而可以考虑在三峡库区邻近地区的河流(如鄂西清江、鄂西北的汉水或湘西的澧水、沅江等河流的干支流)的河岸河滩进行迁地保护重建,以避免反季节生长节律对库区疏花水柏枝恢复重建的影响,更好地保护该物种使其免遭灭绝的危险。

本研究首次运用等位酶技术对库区特有植物疏花水柏枝进行遗传多样性研究,探讨其濒危机制,可能会有欠缺,如所用酶系统略微偏少、缺少近缘种比较等,可能会对结果产生一定的影响,带来一些偏差,有待于今后进一步研究改进并考虑结合其他标记研究。然而,对于一个自然居群即将灭绝和自然

生境即将丧失的物种,本研究不失为重要的科学数据和有用的基础资料,对疏花水柏枝的迁地保护或自然居群恢复重建有着重要的指导意义,是实施其保育策略的科学依据之一。

参考文献

- Cheng Z-M (程争鸣), Pan H-X (潘惠霞) and Yin L-K (尹林克). 2000. Study on the phytochemistry taxonomy of *Tamarix* Linn and *Myricaria* Desv. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica* (西北植物学报), **20**(2): 275 - 282. (in Chinese)
- Cosner M. E. and Crawford D. L. 1994. Comparisons of isozyme diversity in three rare species of *Coreopsis* (Asteraceae). *Systematic Botany*, **19** (3): 350 - 358.
- Ge S (葛颂) and Hong D-Y (洪德元). 1999. Studies of morphological and allozyme variation of the endangered *Adenophora lobophylla* and its widespread congener *A. potaninii*. *Acta Genetica Sinica* (遗传学报), **26**(4): 410 - 417. (in Chinese)
- Hamrick J. L. and Godt M. J. W. 1989. Allozyme diversity in plant species. In: Brown A. D. H. (eds.), *Plant Population Genetics, Breeding and Genetic Resources*. Sinauer, Sunderland, 43 - 63.
- Hamrick J. L. and Godt M. J. W. 1996a. Effects of life history traits on genetic diversity in plant species. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B. Biological Sciences*, **351**: 1291 - 1298.
- Hamrick J. L. and Godt M. J. W. 1996b. Conservation genetics of endemic plant species. In: Avise J. C. and Hamrick J. L. (eds.), *Conservation Genetics: Case Histories from Nature*. Chapman and Hall, New York, 281 - 304.
- Huang H-W (黄宏文). 2000. Ultra-thin slab IEF-PAGE method—an effective bio-analytic method for isozyme analysis. *Journal of Wuhan Botanical Research* (武汉植物学研究), **18**(3): 224 - 228. (in Chinese)
- Huang H., Dane F. and Norton J. D. 1994a. Genetic analysis of 11 polymorphic isozyme loci in chestnut species and characterization of chestnut cultivars by multi-locus allozyme genotypes. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, **119**: 840 - 849.
- Huang H., Dane F. and Norton J. D. 1994b. Allozyme diversity in Chinese seguin and American chestnut (*Castanea* spp.). *Theoretical and Applied Genetics*, **88**: 981 - 985.
- Huang H., Dane F. and Kubisiak T. L. 1998. Allozyme and RAPD analysis of the genetic diversity and geographic variation in wild populations of the American chestnut (Fagaceae). *American Journal of Botany*, **85**(7): 1013 - 1021.
- Lang P. (郎萍) and Huang H-W (黄宏文). 1999. Genetic diversity and geographic variation in natural populations of the endemic *Castanea* species in China. *Acta Botanica Sinica* (植物学报), **41**(6): 651 - 657. (in Chinese)
- Lewis P. and Whitkus R. 1989. GENESTAT for microcomputers. *American Society of Plant Taxonomists Newsletter*, **2**:

- 15 - 16.
- Liu Z-L (刘占林), Li S (李珊), Yan G-Q (阎桂琴), Song Y (宋颐) and Zhao G-F (赵桂仿). 2001. Genetic structure and intraspecific genetic polymorphisms in natural populations of *Psathyrostachys huashanica*. *Acta Genetica Sinica* (遗传学报), **28**(8): 769 - 777. (in Chinese)
- Nei M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, **89**: 583 - 590.
- Pang X-S (庞秀生), Ren C-S (任常胜), Gao R. (高荣), Liu Y. (刘月) and Zhao L-Z (赵利枝). 2000. Study on crude drug characteristics of *Myricaria alopecuroides*, a medicinal herbs in Inner Mongolia. *Chinese Journal of Ethnomedicine and Ethnopharmacy* (中国民族医药杂志), **6** (4): 43. (in Chinese)
- Richter T. S., Soltis P. S. and Soltis D. E. 1994. Genetic variation within and among populations of the narrow endemic, *Delphinium viridescens* (Ranunculaceae). *American Journal of Botany*, **81** (8): 1070 - 1076.
- Shen Z-H (沈泽昊), Jin Y-X (金义兴), Wu J-Q (吴金清) and Zhao Z-E (赵子恩). 1999. A contrast on the characteristics of soil in the natural habitat and re-site reserve of two endemic species of the Three Gorges Reservoir Region of Yangtze River. *Journal of Wuhan Botanical Research* (武汉植物学研究), **17**(1): 46 - 52. (in Chinese)
- Wang H-X (王洪新) and Hu Z-A (胡志昂). 1996. Plant breeding system, genetic structure and conservation of genetic diversity. *Chinese Biodiversity* (生物多样性), **4** (2): 92 - 96. (in Chinese)
- Wang X-F (汪小凡), Liao W-J (廖万金) and Song Z-F (宋志平). 2001. Genetic differentiation and the relation to spatial isolation among populations of *Ranunculus ternatus*. *Biodiversity Science* (生物多样性), **9**(2): 138 - 144. (in Chinese)
- Wang Z-R (王中仁). 1996. *Plant Allozyme Analysis* (植物等位酶分析). Science Press, Beijing, 1 - 196. (in Chinese)
- Wei Y (魏岩), Tan D-Y (谭敦炎) and Yin L-K (尹林克). 1999. The discussions on the anatomical structure of leaf and its taxonomic relationship of Tamaricaceae in China. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica* (西北植物学报), **19**(1): 113 - 118. (in Chinese)
- William C. B. IV, 1997. *Users Manual of Biosys-2: A computer Program for the Analysis of Allelic Variation in Genetics*. Department of Microbiology, Colorado State University, Colorado, USA.
- Wright S. 1978. *Evolution and the Genetics of Populations* (Vol. 4). *Variability within and among Natural Populations*. University of Chicago Press, Chicago, 79 - 103.
- Wu J-Q (吴金清), Zhao Z-E (赵子恩), Jin Y-X (金义兴) and Shen Z-H (沈泽昊). 1998. Investigation and study on the endemic plant *Myricaria laxiflora* in the Three-Gorge Reservoir Area. *Journal of Wuhan Botanical Research* (武汉植物学研究), **16**(2): 111 - 116. (in Chinese)
- Xiong G-M (熊高明) and Chen Y (陈岩). 1996. The cutting propagation of *Myricaria laxifolia*. *Chinese Biodiversity* (生物多样性), **4**(1): 25. (in Chinese)
- Xu H-Z (徐惠珠), Jin Y-X (金义兴), Zhao Z-E (赵子恩), Jiang M-X (江明喜) and Wu J-Q (吴金清). 1999. Propagation of *Myricaria laxifolia* endemic to Three-Gorges Area. *Resource and Environment in the Yangtze Basin* (长江流域资源与环境), **8**(2): 158 - 161. (in Chinese)
- Xu Z-F (许再富). 1998. *Principle and Methodology of ex situ Conservation for Rare and Endangered Plants* (稀有濒危植物迁地保护的原理与方法). Yunnan Science & Technology Press, Kunming, 129 - 175. (in Chinese)
- Zhang D-Y (张道远), Chen Z-D (陈之端), Sun H-Y (孙海英), Yin L-K (尹林克) and Pan B-R (潘伯荣). 2000. Systematic studies on some questions of Tamaricaceae based on ITS sequence. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica* (西北植物学报), **20**(3): 421 - 431. (in Chinese)
- Zhang J-T (张金谈). 1990. *Applied Study of Modern Pollen* (现代花粉应用研究). Science Press, Beijing, 103 - 104. (in Chinese)
- Zhang P-Y (张鹏云) and Zhang Y-J (张耀甲). 1984. A study on the taxonomy of the genus *Myricaria* Desv. in China. *Bulletin of Botanical Research* (植物研究), **4**(2): 67 - 80. (in Chinese)
- Zhang P-Y (张鹏云) and Zhang Y-J (张耀甲). 1990. Tamaricaceae. In: *Flora Reipublicae Popularis Sinicae* (中国植物志), **50** (2). Science Press, Beijing, 142 - 177. (in Chinese)
- Zhang Y-M (张元明), Pan B-R (潘伯荣) and Yin L-K (尹林克). 1998. Seed morphology of Tamaricaceae in China arid areas and its systematic evolution. *Journal of Plant Resources and Environment* (植物资源与环境), **7**(2): 22 - 27.
- Zhang Y-M (张元明), Pan B-R (潘伯荣) and Yin L-K (尹林克). 2001a. Pollen morphology of the Tamaricaceae from China and its taxonomic significance. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica* (西北植物学报), **21**(5): 857 - 864. (in Chinese)
- Zhang Y-M (张元明), Pan B-R (潘伯荣), Yin L-K (尹林克), Yang W-K (杨维康) and Zhang D-Y (张道远), 2001b. The research history of the family Tamaricaceae. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica* (西北植物学报), **21**(4): 796 - 804. (in Chinese)
- Zheng Z (郑重), 1993. *Hubei Plants Complete* (湖北植物大全). Wuhan University Press, Wuhan, 134. (in Chinese)
- Zhou S-L (周世良), Zhang F (张方), Wang Z-R (王中仁) and Hong D-Y (洪德元). 1998. Genetic diversity of *Mosla hangchouensis* and *M. chinensis* (Labiatae). *Acta Genetica Sinica* (遗传学报), **25**(2): 173 - 180. (in Chinese)