

黄河三角洲滨海湿地芦苇遗传变异及其与生境盐度的关系

张丽文¹ 王安东² 赵亚杰² 陈琳^{1,3} 宋建彬² 杨长志² 韩广轩^{1*}

(¹中国科学院烟台海岸带研究所, 中国科学院海岸带环境过程与生态修复重点实验室, 山东烟台 264003; ²山东省黄河三角洲国家级自然保护区管理局, 山东东营 257091; ³聊城大学, 山东聊城 252000)

摘要 了解植物遗传多样性信息能够为植被的生态修复和保育提供科学参考。本研究在黄河三角洲滨海湿地采集了7个芦苇群体280个个体的叶片, 采用12对微卫星分子标记引物进行遗传多样性和遗传结构分析, 并分析了遗传多样性和生境盐度的相关关系。结果显示, 芦苇群体遗传多样性较低, 7个群体的Nei遗传多样性(H)平均值在0.077~0.107, Shannon信息指数(I)平均值在0.133~0.185, 但潮汐湿地芦苇群体遗传多样性相对高($H=0.101\sim 0.107$; $I=0.176\sim 0.185$)。芦苇群体遗传分化比较低($G_{ST}=0.062$), 遗传变异主要来自于群体内。群体间遗传距离与地理距离无显著相关性($r=0.026$, $P=0.354$), 但遗传多样性与生境的盐度具有正相关关系($R_{adj}^2=0.597$, $P=0.026$)。建议山东黄河三角洲国家级自然保护区优先保护潮汐湿地芦苇群体, 而在修复湿地时可以选择其他地区芦苇种苗或繁殖体以丰富种群的遗传多样性。

关键词 黄河三角洲; 芦苇; 遗传多样性; 微卫星分子标记; 盐度

Genetic variation of *Phragmites australis* and its relationship with salinity in the coastal wetland of Yellow River Delta. ZHANG Li-wen¹, WANG An-dong², ZHAO Ya-jie², CHEN Lin^{1,3}, SONG Jian-bin², YANG Chang-zhi², HAN Guang-xuan^{1*} (¹Key Laboratory of Coastal Environmental Processes and Ecological Remediation, Yantai Institute of Coastal Zone Research, Chinese Academy of Sciences, Yantai 264003, Shandong, China; ²Administration Bureau of the Yellow River Delta National Nature Reserve, Dongying 257091, Shandong, China; ³Liaocheng University, Liaocheng 252000, Shandong, China).

Abstract: Investigating plant genetic diversity can provide basic knowledge for vegetation conservation and ecological restoration. Leaves of 280 individuals from seven *Phragmites australis* populations in the Yellow River Delta were sampled. We analyzed the genetic structure and diversity of seven *P. australis* populations at 12 loci using microsatellite markers, and analyzed the relationship between genetic diversity and salinity. Results showed that the genetic diversity in these *P. australis* populations was low. The Nei's genetic diversity index (H) ranged from 0.077 to 0.107 and the Shannon information index (I) ranged from 0.133 to 0.185. However, the genetic diversity of two populations from high marsh was relatively high ($H=0.101\sim 0.107$, $I=0.176\sim 0.185$). The genetic divergence of these populations was low ($G_{ST}=0.062$), with most of them coming from intra-population. Moreover, there was no significant relationship between genetic distance and geographic distance ($r=0.026$, $P=0.354$). However, the relationship of genetic diversity and salinity was positively significant ($R_{adj}^2=0.597$, $P=0.026$). These results suggested that *P. australis* populations from tidal marsh in the Yellow River Delta should be protected and that seedlings or propagules from populations of other regions could be used to enrich genetic diversity of *P. australis* in the degraded wetland during restoration.

Key words: Yellow River Delta; *Phragmites australis*; genetic diversity; SSR; salinity.

国家自然科学基金项目(31670533)和中国科学院青年创新促进会项目(2018247)资助。

收稿日期: 2017-11-24 接受日期: 2018-05-08

* 通讯作者 E-mail: gxhan@yic.ac.cn

芦苇(*Phragmites australis*)为多年生草本,属于禾本科芦苇属,为世界广布种,主要分布在水体边形成单一种群,但在干旱沙丘也能生长。芦苇具有地下茎克隆繁殖和种子繁殖两种繁殖方式,但其种子细小,在自然条件下萌发率低,所以在天然种群中种子繁殖比例低。芦苇的形态特征变异大,比如:生长在淡水生境的芦苇植株高大,生长在盐碱生境的芦苇则植株低矮(张淑萍等,2003)。这些形态变异可能是芦苇的可塑性引起的,也可能是遗传变异导致的。

芦苇是黄河三角洲滨海湿地的主要植被类型和生产者之一。芦苇植被为黄河三角洲滨海湿地提供非常重要的生态系统功能,比如:为昆虫、底栖生物、水鸟等动物提供栖息生境,也具有护岸和净化水体的功能。因此,芦苇植被健康是黄河三角洲滨海湿地发挥其生态功能的基础。植物群体遗传多样性越高,其所在的生态系统往往具有较高的功能和稳定性(Reusch *et al.*,2006; Kettenring *et al.*,2014; Tomimatsu *et al.*,2014)。在黄河三角洲滨海湿地,由于土壤盐渍化严重,植物物种多样性比较低,所以优势种芦苇遗传多样性对该生态系统功能的维持非常重要。遗传多样性和遗传结构是群体遗传变异的两个方面,其中遗传结构是遗传多样性在群体内的分布格局,反映物种对环境的适应潜力,是生物多样性保护和修复的基础信息(张绪良等,2011)。因此,了解黄河三角洲滨海湿地芦苇的遗传变异,能为该湿地的保育、修复和管理提供知识支撑。然而,目前关于芦苇植被的研究集中于黄河三角洲湿地芦苇植被特征及其与环境因子之间关系(张淑萍等,2003; 崔保山等,2006; 管博等,2014),而探讨芦苇遗传变异及其与环境因子之间关系的研究较少。

植物遗传变异的形成与繁殖方式、基因流、基因漂变、环境选择压、生境片段化等因素有关(陈小勇,2000; 徐刚标,2011)。遗传变异能够反映物种的进化潜力和对环境的适应能力,遗传变异越大,进化潜力越大,对环境的适应能力可能越强;而环境因子通过影响植物种群的繁殖系统和繁殖体扩散进而影响其遗传变异和遗传结构。在区域尺度上,遗传变异可能随环境因子梯度比如:海拔、纬度、降雨、气温、湿度发生规律性变化(高立杰等,2011; 朱新帅等,2014; 蒋艾平等,2016; 许玉兰等,2016)。在局域尺度上,遗传变异也有可能随局域环境因子而变化(周志强等,2006)。盐度是影响黄河三角洲滨海湿

地芦苇植被分布的关键环境因子之一(张淑萍等,2003; 崔保山等,2006; 管博等,2014),因此,芦苇群体遗传变异是否与盐度有关值得探讨。

植物遗传多样性研究方法很多,比如:形态学标记、染色体标记、等位酶标记和DNA分子标记,随着科学技术的发展,DNA分子标记更普遍运用于遗传多样性分析。微卫星(simple sequence repeat)分子标记是DNA分子标记中的一种,它具有多态性高、呈共显性遗传、重复性好、中性标记、稳定性高等优点(Jarne *et al.*,1996)。本文运用微卫星分子标记方法对黄河三角洲滨海湿地7个芦苇群体的遗传多样性和遗传结构进行分析,并进一步探讨芦苇遗传多样性与生境盐度的关系。

1 研究地区与研究方法

1.1 研究区概况

研究区位于山东省东营市境内的黄河三角洲滨海湿地,包括潮汐湿地和非潮汐湿地。该区域的气候为暖温带气候,年平均气温为11.7~12.6℃,年平均降雨量为530~630mm,大多数降雨发生在7、8月份,年平均蒸发量为1750~2430mm,潮汐为非规则半月潮。黄河三角洲滨海湿地自然植被从潮间带到黄河边的植被分布主要呈现带状分布,不同带状由单一的优势物种组成,分别为互花米草(*Spartina alterniflora*)、盐地碱蓬(*Suaeda salsa*)、芦苇、盐地碱蓬-柽柳(*Tamarix chinensis*)-芦苇交错带、芦苇。

1.2 研究方法

2016年9月初和2017年5月初在黄河三角洲滨海湿地选取7个典型的天然芦苇群体(群体的面积大而且人为干扰比较少)进行采样。7个群体地理位置请见表1和图1,主要分布在山东黄河三角洲国家级自然保护区内,群体1和群体2位于一二管理站,群体6、群体7位于黄河口管理站,群体3、4、5位于大汶流管理站。保护区外的海岸线人为开发比较严重,面积大的芦苇种群较少,所以没有进行采样。另外,潮汐湿地芦苇种群目前只发现2个。

每个群体采40个个体的成熟、新鲜、无损伤、位于植株中上部的叶片,个体间相互距离30m以上,共采集了280个样品。叶片采集后放入装有硅胶的无纺布袋中,叶片和硅胶充分混合,带回实验室后用风扇吹干,然后干燥保存。并在每个生境随机采集了5个土壤样品(土壤深度为0~20cm)并分析其全碳、全氮、全磷、pH和电导率。其中全碳和全氮用

表1 黄河三角洲滨海湿地7个芦苇群体地理位置和土壤理化性质

Table 1 Geographic locations and soil properties of seven *Phragmites australis* populations in the Yellow River Delta

群体	地理位置		全碳 ($g \cdot kg^{-1}$)	全氮 ($g \cdot kg^{-1}$)	全磷 ($g \cdot kg^{-1}$)	pH	电导率 ($mS \cdot cm^{-1}$)	生境类型
群体1	38°03'46.74" N	118°45'39.66" E	23.24±2.41 a	0.90±0.12 a	2.68±0.10 a	8.21±0.08 a	2.25±0.18 ab	非潮汐湿地
群体2	38°03'49.02" N	118°44'13.5" E	13.27±0.44 b	0.41±0.04 b	2.78±0.09 a	8.19±0.13 a	2.01±0.83 a	非潮汐湿地
群体3	37°44'2.04" N	119°11'12.84" E	24.48±2.01 a	0.91±0.08 a	2.48±0.05 a	7.68±0.09 b	2.27±0.38 ab	非潮汐湿地
群体4	37°43'32.3" N	119°13'55.61" E	26.29±0.76 a	0.73±0.04 a	2.62±0.12 a	8.17±0.01 a	5.87±0.20 b	潮汐湿地
群体5	37°45'56.9" N	118°58'50.96" E	16.19±0.89 b	0.48±0.05 b	2.40±0.06 a	7.92±0.13 a	1.79±0.26 a	非潮汐湿地
群体6	37°45'58.26" N	119°10'6.58" E	13.97±0.88 b	0.34±0.05 b	2.20±0.05 b	8.33±0.10 a	1.60±0.18 a	非潮汐湿地
群体7	37°47'22.51" N	119°10'20.08" E	15.23±0.55 b	0.27±0.02 b	2.25±0.08 b	8.36±0.06 a	4.15±0.33 ab	潮汐湿地

mean±SE; n=5。芦苇种群生境土壤理化性质之间多重比较结果用“a”、“ab”和“b”表示;具有一个相同的字母表示在置信水平为0.05时,多重比较没有显著差异,完全不同的字母则表示多重比较具有显著差异。

元素分析仪分析;全磷使用 $HClO_4-H_2SO_4$ 消煮法和钼锑抗比色法测定;pH和电导率测定时,浸提水土比为5:1。

采用CTAB法(Doyle *et al.*, 1987)提取总基因组DNA。从文献(Saltonstall, 2003; Yu *et al.*, 2013)提供的引物中筛选出12对具有较高多态性的引物进行微卫星分析(表2)。根据文献中引物的PCR反应条件和程序对所有个体进行PCR扩增。PCR扩增反应体系为20 μL ,包括0.3 μL 上游引物F(20 $\mu mol \cdot L^{-1}$),0.3 μL 下游引物R(20 $\mu mol \cdot L^{-1}$),0.4 μL dNTP(2 $mmol \cdot L^{-1}$),2 μL PCR缓冲液(buffer),2 μL 模板DNA,0.2 μL Taq酶(20 $U \cdot \mu L^{-1}$),去离子水14.8 μL 。PCR扩增程序:94 $^{\circ}C$ 预变性5 min;94 $^{\circ}C$ 变性30 s,54 $^{\circ}C$ (退火温度在54 $^{\circ}C$ 上下波动)复性35 s,72 $^{\circ}C$ 延伸40 s,共35个循环;最终72 $^{\circ}C$ 延伸3 min。将甲酰胺与分子量内标按

100:1的体积比混匀后,取9 μL 加入上样板中,再加入1 μL 稀释10倍的PCR产物,使用3730XL测序仪(ABI)进行毛细管电泳分析。

1.3 数据分析

利用GeneMarker 2.2软件将280个样品、12对引物扩增产物测序仪得到的原始数据进行分析,将各泳道内分子量内标的位置与各样品峰值的位置做比较分析,得到片段大小(表2)。再根据无带和有带情况转化为0、1数据矩阵。利用POPGENE 1.32软件(Yeh, 1997)进行遗传多样性和遗传结构分析、计算各个群体的多态位点百分率PPL(Percentage of polymorphic loci)、Nei基因多样性指数 H (Nei's genetic diversity; Nei, 1973)、Shannon多态性信息指数 I (Shannon information index; Lewontin, 1972)和遗传一致性(genetic similarity)。采用NTSYSpc软件,运用UPGMA法进行聚类分析。

运用R i386 3.4.0软件“vegan”包中的“mantel”命令检验芦苇种群遗传距离和地理距离之间的相关关系;运用单因素方差分析(one-way ANOVA)和多重比较分析比较了芦苇种群生境的土壤全碳、全氮、全磷和pH的差异;由于盐度数据不符合正态分布,运用非参数检验方法(Kruskal-Wallis test)分析和比较了芦苇种群生境的土壤盐度差别;并用线性回归分析了芦苇种群基因多样性指数与土壤理化性质的关系。

2 结果与分析

从表3可以看出,在12个微卫星位点上,从280个芦苇个体中检测到188个等位基因。这些微卫星位点上的等位基因个数从8个(PaGT8)到34(Phra775)个;等位基因表现型则从25个(Phra98)到105个(Phra775);Nei基因多样性(H)平均值则

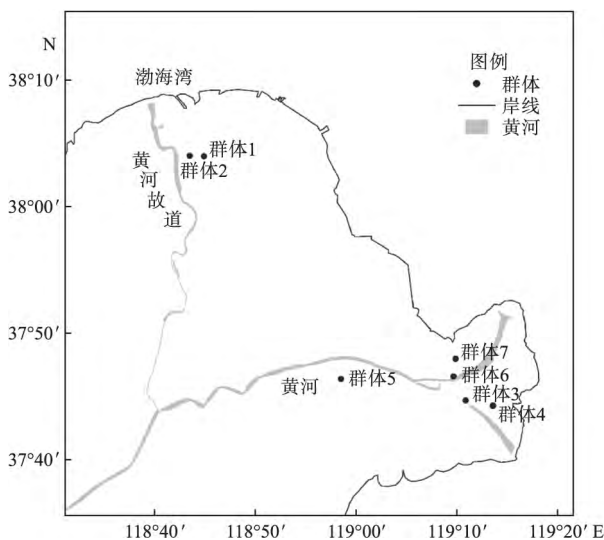


图1 7个芦苇群体在黄河三角洲的地理位置分布示意图

Fig.1 Geographic location of seven *Phragmites australis* populations in the Yellow River Delta

表 2 12 个芦苇多态性微卫星位点信息

Table 2 Information of twelve polymorphic microsatellite loci in *Phragmites australis*

位点	引物序列	重复单元	片段大小	退火温度(°C)
PaGT4	F: TGCTCCCTGCCAGTTTCTTG R: TATCCACCCTTCGAAGGCAC	(CA) ₉	266~284	50~56
PaGT8	F: TCTGAACATAATCCTGGTGG R: TCTGTGTGAAGCAGTTCTGC	(CA) ₈	170~193	50~56
PaGT9	F: CCATGTGTTAATGTTGTCC R: ATTGAATCCACAGTTTCCG	(CA) ₁₀	188~224	50~56
PaGT12	F: CTTCTAGGTCAGTATCATCC R: GTGGCAGCTGATTGATTTGG	(CA) ₉	151~196	50~56
PaGT14	F: GTTGCAGCAAGTATTTGG R: CAAGCATCTAGTAGTAGC	(CA) ₇	169~198	50~56
PaGT16	F: ACCAATCAGTCAGACTAGCC R: GTTCTCATGTTGAGAAGCC	(CA) ₁₀	231~298	50~56
PaGT22	F: TTGAGTGCCTGGTGTATTCG R: AAGCTTCTGTCATGGAACCC	(AC) ₈ CTT(GA) ₅	159~209	50~56
Phra98	F: CTGAGCCAGCAAAGTGAT R: GAGCCCTGTTAGGAAAG	(TG) ₅	184~202	60
Phra125	F: GATGAACAGGTTGCTGGGTA R: GACATGAGCCCAAGAGGA	(TG) ₆ T(GA) ₈	187~219	60
Phra522	F: TAATCTTGATTTTCGACGGC R: AGATTACAGCGATTTTCAGC	(AC) ₁₂	252~282	56
Phra609	F: GAGCCGAGACCATACGT R: TGAAGAAGGCTTCCCACA	(CT) ₁₀ (GT) ₁₁	110~150	60
Phra775	R: TCATTCTCCCTCACCACC F: CTCCACAAGCCTAAGTTCC	(TC) ₁₀ (AC) ₁₂ (CG) ₆	126~178	55

表 3 十二个微卫星位点的遗传多样性

Table 3 Genetic diversity in twelve polymorphic microsatellite loci

位点	样本	Nei 基因多样性	Shannon 信息指数	等位基因数	等位基因表型	多态百分率(%)
PaGT4	280	0.155±0.182	0.249±0.258	9	27	100
PaGT8	280	0.183±0.187	0.297±0.244	8	35	100
PaGT9	280	0.134±0.138	0.235±0.192	11	54	100
PaGT12	280	0.184±0.182	0.294±0.255	10	49	100
PaGT14	280	0.107±0.107	0.197±0.162	14	86	100
PaGT16	280	0.075±0.132	0.137±0.185	14	32	100
PaGT22	280	0.080±0.109	0.151±0.160	17	64	100
Phra98	280	0.134±0.153	0.225±0.226	9	25	100
Phra125	280	0.088±0.091	0.169±0.144	19	84	100
Phra522	280	0.091±0.083	0.176±0.132	19	97	100
Phra609	280	0.068±0.086	0.134±0.138	24	85	100
Phra775	280	0.040±0.034	0.093±0.068	34	105	100
Total	280	0.094±0.117	0.172±0.171	188	743	100

从 0.040(Phra775) 到 0.184(PaGT12); Shannon 信息指数 (I) 平均值则从 0.093(Phra775) 到 0.297(PaGT8)(表 3); 多态百分率则为 100%。

Nei 基因多样性指数和 Shannon 信息指数越高, 说明群体遗传多样性越高。黄河三角洲湿地芦苇群体遗传多样性指数 H 为 0.094 ± 0.117 、 I 为 0.172 ± 0.171 , 说明芦苇群体遗传多样性比较低。7 个芦苇群体中, 遗传多样性平均值最高的群体是群体 7 ($H = 0.107 \pm 0.133$; $I = 0.185 \pm 0.197$), 其次是群体 4 ($H = 0.101 \pm 0.132$; $I = 0.176 \pm 0.195$), 即潮汐湿地芦苇种

群遗传多样性相对高; 而其他群体即非潮汐湿地芦苇的 Nei 基因多样性 (H) 平均在 $0.077 \sim 0.088$, Shannon 信息指数 (I) 平均在 $0.133 \sim 0.152$ 之间; 多态位点和多态位点百分率也是群体 4(多态位点: 132; $PPL = 69.11\%$) 和群体 7(多态位点 130; $PPL = 68.06\%$) 比较高(表 4)。进一步分析发现, 黄河三角洲滨海湿地芦苇 Nei 基因多样性与土壤盐度(用电导率表示) 具有显著正相关关系 ($R_{adj}^2 = 0.597$; $P = 0.026$) (图 2), 而与土壤全碳 ($P = 0.962$)、全氮 ($P = 0.390$)、全磷 ($P = 0.467$) 和 pH ($P = 0.488$) 无相关性。

表 4 黄河三角洲滨海湿地 7 个芦苇群体的遗传多样性
Table 4 Genetic diversity of seven *Phragmites australis* populations in the Yellow River Delta

群体	样本	Nei 基因多样性	Shannon 信息指数	多态位点	多态百分率(%)
群体 1	40	0.077±0.121	0.133±0.186	94	49.21
群体 2	40	0.082±0.126	0.142±0.189	104	54.45
群体 3	40	0.082±0.127	0.141±0.191	103	53.93
群体 4	40	0.101±0.132	0.176±0.195	132	69.11
群体 5	40	0.088±0.131	0.152±0.194	114	59.69
群体 6	40	0.082±0.127	0.142±0.190	106	55.50
群体 7	40	0.107±0.133	0.185±0.197	130	68.06

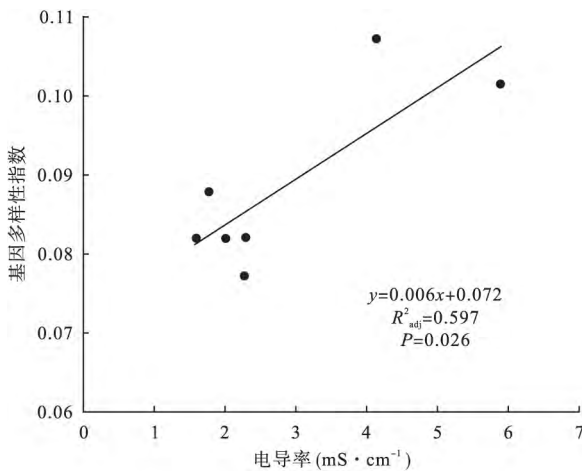


图 2 黄河三角洲滨海湿地芦苇基因多样性与生境盐度关系

Fig.2 Association of the genetic diversity in *Phragmites australis* and salinity of habitat in the coastal wetland of the Yellow River Delta

黄河三角洲滨海湿地 7 个芦苇群体的遗传分化比较低(G_{ST} 平均值为 0.062), 基因流较高(N_m 平均

表 5 黄河三角洲滨海湿地芦苇群体间遗传结构
Table 5 Genetic structure among *Phragmites australis* populations in the Yellow River Delta

位点名称	样本数	H_T	H_S	G_{ST}	N_m
PaGT4	280	0.155±0.182	0.149±0.175	0.044	10.991
PaGT8	280	0.183±0.187	0.170±0.172	0.069	6.755
PaGT9	280	0.134±0.138	0.123±0.127	0.082	5.585
PaGT12	280	0.184±0.182	0.171±0.170	0.072	6.419
PaGT14	280	0.107±0.107	0.096±0.098	0.102	4.410
PaGT16	280	0.075±0.132	0.065±0.108	0.135	3.198
PaGT22	280	0.080±0.109	0.076±0.102	0.045	10.604
Phra98	280	0.134±0.153	0.127±0.146	0.050	9.561
Phra125	280	0.088±0.091	0.084±0.088	0.045	10.680
Phra522	280	0.091±0.083	0.086±0.079	0.047	10.079
Phra609	280	0.068±0.086	0.066±0.084	0.025	19.595
Phra775	280	0.040±0.034	0.038±0.032	0.040	11.940
Total	280	0.094±0.014	0.088±0.012	0.062	7.568

H_T : 整个群体为理想群体期望杂合体频率; H_S : 地方群体为理想群体期望杂合体频率; G_{ST} : 地方群体间基因分化系数; N_m 为基因流。

值为 7.568)。对于微卫星位点来说, 遗传分化最大的微卫星位点为 PaGT16($G_{ST} = 0.135$), 遗传分化最小则是 Phra609($G_{ST} = 0.025$); 反之, 基因流最大的微卫星位点为 Phra609($N_m = 19.595$), 最小的则是 PaGT16($N_m = 3.198$) (表 5)。7 个芦苇群体间的遗传距离如表 6 所示, 群体 5 和群体 6 的遗传距离最小(0.0001), 群体 2 和群体 4 的遗传距离最大(0.0131)。根据遗传一致度, UPGMA 聚类分析表明, 群体 4 和群体 7 分为一类, 而群体 1、群体 2、群体 3、群体 5 和群体 6 为一类(图 3)。通过 Mantel 检验, 芦苇群体间遗传距离和地理距离无显著相关性($r = 0.026$; $P = 0.354$; permutations = 999)。

3 讨论

从遗传进化的角度来说, 群体遗传多样性越高, 该物种对环境的适应潜力越高。本研究结果表明, 黄河三角洲滨海湿地芦苇的遗传多样性低($H = 0.094 \pm 0.117$; $I = 0.172 \pm 0.171$), 这与 Gao 等(2012)的研究结果一致。因此, 对于黄河三角洲滨海湿地来说, 芦苇对该环境适应潜力不高, 可能在今后快速环境变化中, 缺乏应对环境变化的潜力。但张淑萍(2001)运用 RAPD 和等位酶检测到黄河三角洲的芦苇具有较高的遗传多样性。研究结果的差异可能有两个原因: 一是张淑萍(2001)研究区域范围比较大, 涵盖了山东境内沿黄河的主要典型湿地并包括了内陆湖泊湿地, 研究区域越大, 生境复杂性越高, 种群隔离可能性越大, 遗传多样性可能越高, 而本研究只涉及沿海湿地; 第二个原因可能是所采用的遗传多样性检测方法不一样导致结果差异。

多种因素可能导致黄河三角洲滨海湿地芦苇群体遗传多样性低。第一, 种子繁殖受到限制可能是导致其遗传多样性低的关键原因之一。黄河三角洲滨海湿地盐渍化比较严重, 芦苇主要是以克隆繁殖为主, 在盐度较高的条件下, 芦苇种子萌发率低(裴定宇等 2009; Yu *et al.* 2012)。第二, 由于黄河三角洲滨海湿地受河-海-陆的多重影响, 该地区芦苇群体由于经常受风暴潮、黄河改道、黄河断流和人类活动等因素影响而处于波动状态(张晓龙 2005; 张晓龙等 2006; 刘艳芬等 2010), 芦苇种群经常重建, 导致种群可能处于初级和不稳定状态, 所以遗传多样性处于比较低的水平。第三, 气候变化(暖干化)引起的土壤盐渍化使得芦苇种群缩小和人类活动导致的生境片段化使得芦苇种群由大种群分割成多个小

表 6 芦苇群体间遗传距离(左下角)与遗传一致度(右上角)

Table 6 Genetic distance (below diagonal) and genetic similarity (above diagonal) among *Phragmites australis* populations

	群体 1	群体 2	群体 3	群体 4	群体 5	群体 6	群体 7
群体 1		0.9993	0.9985	0.9871	0.9967	0.9977	0.9899
群体 2	0.0007		0.9989	0.9869	0.9976	0.9982	0.9899
群体 3	0.0015	0.0012		0.9916	0.9967	0.9979	0.9918
群体 4	0.013	0.0131	0.0084		0.9862	0.9876	0.9967
群体 5	0.0033	0.0024	0.0033	0.0139		0.9999	0.9894
群体 6	0.0023	0.0018	0.0021	0.0124	0.0001		0.9906
群体 7	0.0101	0.0101	0.0083	0.0033	0.0106	0.0095	

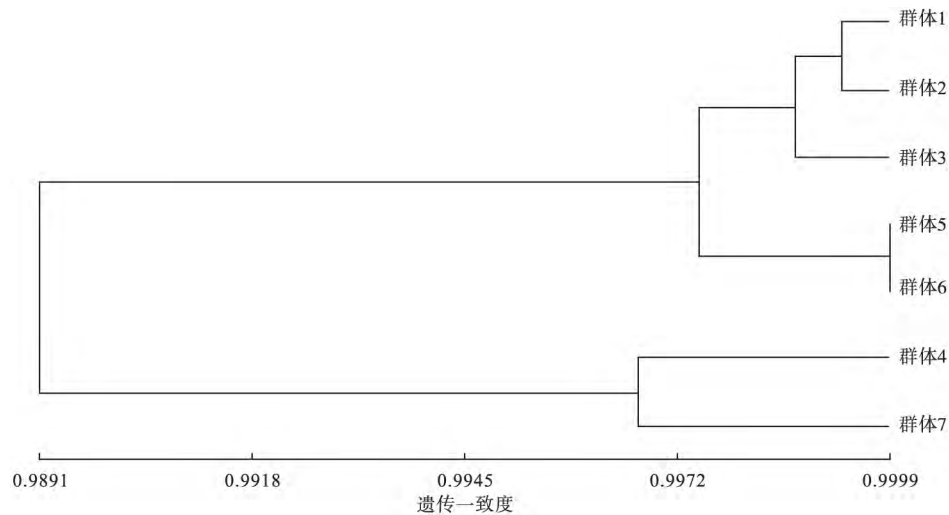


图 3 黄河三角洲芦苇群体 UPGMA 聚类图(基于遗传一致度)

Fig.3 A UPGMA dendrogram of seven *Phragmites australis* populations based on genetic similarity

种群,也能导致芦苇种群产生遗传漂变,从而降低遗传多样性(陈小勇, 2000; Gao *et al.*, 2012)。

黄河三角洲滨海湿地 7 个芦苇群体间遗传分化也比较低($G_{ST} = 0.062$),群体间的基因流($N_m = 7.568$)比较高,遗传变异集中在群体内。而且芦苇群体间遗传距离和地理距离无相关性。群体间遗传分化小可能是因为所研究群体间没有地理隔离,基因流比较高。但是 UPGMA 聚类分析表明这 7 个芦苇群体分为两个遗传信息不同的组别:群体 4 和群体 7 为一组;群体 1、2、3、5、6 为一组。而植物群体生境的差异是导致遗传分化的原因之一(Bockelmann *et al.*, 2003)。虽然芦苇群体间的基因流比较高,但环境因子选择作用比较强烈时,基因流的作用受到限制。群体 4 和群体 7 遗传距离近,而与其他群体的遗传距离相对远。其原因可能是群体 4 和群体 7 都位于潮汐湿地,该生境受到潮汐的影响,土壤盐分、硫含量等比其他生境高(表 1; 于君宝等, 2014),所以生境的选择作用导致芦苇群体遗传变异在分布格局上的差异。

本研究还发现,芦苇群体遗传多样性与生境盐度显著正相关,虽然本研究用的是中性微卫星分子标记。与本研究结果相似,郭卫华等(2003)通过等位酶分析发现黄河三角洲受海水潮汐影响的芦苇种群的克隆多样性较多。潮汐湿地芦苇群体 4 和群体 7 在等位基因位点 PaGT8、PaGT9、PaGT22、Phra522 上具有比其他群体更丰富的基因型,我们推断这些等位基因位点可能与盐度有关,需要进一步实验验证。因此,芦苇群体 4 和群体 7 蕴含着比较独特的遗传信息,这些遗传信息可能与其耐盐特性有关,对滨海湿地芦苇群体遗传多样性有其独特的贡献。盐度梯度明显是滨海湿地植物生境的重要特征之一,滨海湿地植物往往采取不同的策略来应对盐胁迫,从分子的角度来看,参与胁迫调控的基因有:与离子转运、重建离子平衡和渗透调节的有关基因,以及编码大分子蛋白基因(李峰等, 2009)。盐度较高生境的种群经过长期适应盐胁迫,上述参与盐胁迫调控基因可能发生进化,从而丰富其群体遗传多样性。因此,非潮汐湿地芦苇和潮汐湿地芦苇在分子水平

上对盐胁迫的响应比较需要实验进一步探讨。

总之,根据黄河三角洲滨海湿地芦苇群体遗传多样性和遗传结构情况,我们建议山东黄河三角洲国家级自然保护区在芦苇植被的保护中,优先保护生长在潮汐湿地的芦苇及其生境完整性,保持或扩大其种群面积。潮汐湿地芦苇目前面临的主要问题可能是:互花米草在低潮滩的大面积扩张,加速促淤抬高地面从而阻碍海水向高潮滩漫入,导致高潮滩盐度增加(海水具有一定洗盐、压盐作用,如果没有海水涨落,高潮滩盐分会更高),更加抑制该生境芦苇的生长。因此,通过工程手段,对互花米草区域的潮沟进行清淤,并开通新潮沟,以便海水在高潮滩正常涨落,可能是保护的措施之一。其次,在黄河三角洲退化滨海湿地的生态修复工程中,应该多选择其他地区(尤其是盐碱生境)的芦苇种苗或繁殖体,以提高芦苇种群的遗传多样性。

致谢 感谢中国科学院植物研究所薛建华副研究员对采样方法的指导。感谢中国科学院黄河三角洲滨海湿地生态试验站和黄河三角洲国家级自然保护区的工作人员对野外采样的帮助;感谢研究生吴晶晶帮助作采样点分布图。

参考文献

- 陈小勇. 2000. 生境片断化对植物种群遗传结构的影响及植物遗传多样性保护. *生态学报*, **20**(5): 884-892.
- 崔保山, 赵欣胜, 杨志峰, 等. 2006. 黄河三角洲芦苇种群特征对水深环境梯度的响应. *生态学报*, **26**(5): 239-247.
- 高立杰, 高宝嘉, 侯建华. 2011. 赤松毛虫地理种群的遗传变异与生态因子的相关性. *生态学杂志*, **30**(7): 1394-1397.
- 管博, 栗云召, 夏江宝, 等. 2014. 黄河三角洲不同水位梯度下芦苇植被生态特征及其与环境因子相关关系. *生态学杂志*, **33**(10): 2633-2639.
- 郭卫华, 张淑萍, 宋百敏, 等. 2003. 黄河下游湿地芦苇种群克隆结构的等位酶分析. *山东大学学报: 理学版*, **38**(2): 1-4.
- 蒋艾平, 姜景民, 刘军. 2016. 天目山不同海拔檫木群体遗传多样性和遗传结构. *应用生态学报*, **27**(6): 1829-1836.
- 李峰, 谢永宏, 覃盈盈. 2009. 盐胁迫条件下湿地植物的适应策略. *生态学杂志*, **28**(2): 314-321.
- 刘艳芬, 张杰, 马毅, 等. 2010. 1995—1999年黄河三角洲东部自然保护区湿地景观格局变化. *应用生态学报*, **21**(11): 2904-2911.
- 裴定宇, 陆兆华, 苗颖, 等. 2009. 黄河三角洲不同程度盐碱化土壤对芦苇种子发芽的影响. *滨州学院学报*, **25**(3): 23-26.
- 徐刚标. 2011. 植物群体遗传学. 北京: 科学出版社.
- 许玉兰, 蔡年辉, 陈诗, 等. 2016. 云南松天然群体遗传变异与生态因子的相关性. *生态学杂志*, **35**(7): 1767-1775.
- 于君宝, 褚磊, 宁凯, 等. 2014. 黄河三角洲滨海湿地土壤硫含量分布特征. *湿地科学*, **12**(5): 559-565.

- 张淑萍, 王仁卿, 张治国, 等. 2003. 黄河下游湿地芦苇形态变异研究. *植物生态学报*, **27**(1): 78-85.
- 张淑萍. 2001. 芦苇分子生态学研究(博士学位论文). 哈尔滨: 东北林业大学.
- 张晓龙, 李培英, 刘月良. 2006. 黄河三角洲风暴潮灾害及其对滨海湿地的影响. *自然灾害学报*, **15**(2): 10-13.
- 张晓龙. 2005. 现代黄河三角洲滨海湿地环境演变及退化研究(博士毕业论文). 青岛: 中国海洋大学.
- 张绪良, 肖滋民, 徐宗军, 等. 2011. 黄河三角洲滨海湿地的生物多样性特征及保护对策. *湿地科学*, **9**(2): 125-131.
- 周志强, 郝雨, 刘彤, 等. 2006. 大兴安岭北段天然樟子松林遗传多样性与主要生态因子的相关性研究. *北京林业大学学报*, **28**(6): 22-27.
- 朱新帅, 王登元, 于江南. 2014. 新疆枣球蜡蚧地理种群的遗传变异与生态因子的相关性. *生态学杂志*, **33**(5): 1267-1279.
- Bockelmann AC, Reusch TBH, Bijlsma R, et al. 2003. Habitat differentiation vs. isolation-by-distance: The genetic population structure of *Elymus athericus* in European salt marsh. *Molecular Ecology*, **12**: 505-515.
- Doyle JJ, Doyle JL. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, **19**: 11-15.
- Gao LX, Tang SQ, Zhuge LQ, et al. 2012. Spatial genetic structure in natural populations of *Phragmites australis* in a mosaic of saline habitats in the Yellow River Delta, China. *PLoS ONE*, **7**: e43334.
- Jarne P, Lagoda P.J.L. 1996. Microsatellites, from molecules to populations and back. *Trends in Ecology & Evolution*, **11**: 424-429.
- Kettenring KM, Mercer KL, Adams CR, et al. 2014. Application of genetic diversity-ecosystem function research to ecological restoration. *Journal of Applied Ecology*, **51**: 339-348.
- Lewontin RC. 1972. The appointments of human diversity. *Evolutionary Biology*, **6**: 381-398.
- Nei M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **70**: 3321-3323.
- Reusch TBH, Hughes AR. 2006. The emerging role of genetic diversity for ecosystem functioning: Estuarine macrophytes as models. *Estuaries and Coasts*, **29**: 159-164.
- Saltonstall K. 2003. Microsatellite variation within and among North American lineages of *Phragmites australis*. *Molecular Ecology*, **12**: 1689-1702.
- Tomimatsu H, Nakano K, Yamamoto N, et al. 2014. Effects of genotypic diversity of *Phragmites australis* on primary productivity and water quality in an experimental wetland. *Oecologia*, **175**: 163-172.
- Yeh FC, Yang RC, Boyle T. 1997. Popgene: The User Friendly Shareware for Population Genetic Analysis. Edmonton: University of Alberta.
- Yu JB, Wang XH, Ning K, et al. 2012. Effects of salinity and water depth on germination of *Phragmites australis* in coastal wetland of the Yellow River Delta. *Clean: Soil, Air, Water*, **40**: 1154-1158.
- Yu S, Zhang YX, Ren YL, et al. 2013. Isolation and characterization of microsatellite loci for *Phragmites australis*. *Journal of Genetics*, **92**: e89-e92.

作者简介 张俐文,女,1983年生,博士,研究方向为滨海湿地植物生态学. E-mail: lwzhang@yic.ac.cn
责任编辑 魏中青