

地理因素对箭竹复合体遗传多样性与遗传分化的影响

黄 蕾, 邢晓成, 张雨曲, 任 毅

(陕西师范大学 生命科学学院, 药用植物资源与天然药物化学教育部重点实验室, 西安 710119)

摘 要: 地理因素对植物天然居群的物种分布和种内分化具有重要影响。该研究通过对箭竹复合体内 39 个居群的 14 对 SSR 数据进行深入分析, 旨在揭示重要地理因素(如海拔、纬度、地理距离)对该复合体内遗传多样性和遗传分化式样的影响。结果表明: (1) 糙花箭竹亚支系遗传多样性最高 ($H_e = 0.50$), 而团竹亚支系的遗传多样性最低 ($H_e = 0.33$)。 (2) 遗传多样性与纬度、海拔在 A、B 两个支系水平呈显著正相关关系, 但在亚支系水平, 遗传多样性的变化趋势呈现出更为复杂的局面, 部分支系表现为负相关关系, 推测纬度和海拔对箭竹复合体内遗传多样性水平具有一定影响, 但也需重视其他进化因素的作用。 (3) Mantel 检验显示, 仅在团竹亚支系中检测出较弱的正相关关系, 表明地理距离不是影响箭竹复合体内遗传分化的主导因素, 后续需结合基因流检测推断杂交事件对其遗传分化的影响。

关键词: 遗传多样性; 遗传分化; 海拔; 纬度; 地理距离

中图分类号: Q346⁺.5; Q948.11 **文献标志码:** A

Effect of Geographic Factors on the Genetic Diversity and Divergence of *Fargesia spathacea* Complex

HUANG Lei, XING Xiaocheng, ZHANG Yuqu, REN Yi

(Key Laboratory of Medicinal Resources and Natural Pharmaceutical Chemistry, Ministry of Education, College of Life Sciences, Shaanxi Normal University, Xi'an 710119, China)

Abstract: Geographic factors play an important role in the species distribution and divergence of natural populations in plants. Here we re-analyzed 14 SSR markers data in 39 populations from *Fargesia spathacea* complex, aimed to reveal how geographic factors may influence the pattern of genetic diversity and divergence of *F. spathacea* complex. The results showed that: (1) we found that *F. scabrida* sub-clade exhibited the highest genetic diversity ($H_e = 0.50$), while *F. obliqua* sub-clade exhibited the lowest one ($H_e = 0.33$). (2) On the level of clade A and B, genetic diversity was proved to be significantly positive correlated to altitude and latitude; but on the level of sub-clade, we detected negatively correlations between genetic diversity and altitude, latitude, which indicated that some other factors may have an impact on the genetic diversity within *F. spathacea* complex. (3) We carried out Mantel test and found that geographic distance may not be the driving force of the current genetic divergence pattern within *F. spathacea* complex. Clade B showed no significant correlation between genetic distance and geographic distance, and

收稿日期: 2020-12-31; 修改稿收到日期: 2021-04-15

基金项目: 国家自然科学基金(31570221)

作者简介: 黄 蕾(1985—), 女, 博士, 从事植物群体遗传学与分子进化的研究。E-mail: caspar@snnu.edu.cn

only one sub-clade in clade A showed slightly significant correlation. Future studies of gene flow may help answer whether hybridization influenced the genetic differentiation within these species.

Key words: genetic diversity; genetic divergence; altitude; latitude; geographic distance

生物多样性包括遗传多样性、物种多样性和生态系统多样性三个层次,是指全部陆地或水域中生物所拥有的基因、细胞、物种乃至多个生态系统的总称。其中,遗传多样性是生物多样性研究的核心和基础,广义是指地球上所有的生物所携带的全部遗传信息的总和;狭义的遗传多样性则是指种内不同居群间以及居群内的遗传变异,即种内基因的变化^[1-3]。一般认为,影响物种水平上的遗传多样性因素可能包括该物种的进化历史、分布范围、繁育系统等,通常认为分布地域广、基因流较强、种子较多的物种其遗传多样性较高,一个物种包含的等位基因越丰富,说明它对环境适应性就越强,进化潜力也越大^[4]。

影响植物居群遗传多样性的内部因素包括物种的繁育系统(生殖方式),遗传漂变,自然选择,基因突变^[5]和基因流^[6],同时还包括由于环境变化和人为干扰引起的种群隔离和生境片段化^[7]等外部因素。内部因素可直接作用于基因组,引起等位基因数目与频率的变化,外部因素不会直接改变基因(等位基因)的数目与频率,一般通过间接方式使植物居群的遗传多样性水平和遗传结构发生变化^[8-9]。近年来,随着分子标记技术的蓬勃发展,探讨不同环境因子对植物遗传多样性的影响成为领域热点。环境因子一般分为生物因子和非生物因子^[10],非生物因子中温度、降水、纬度、海拔等地理因素成为研究者关注的重点^[11]。值得关注的是不同植物类群中,同一地理因素与遗传多样性可能呈现出截然相反的关联性。徐振朋等^[12]利用 15 对 ISSR 分子标记对石竹科裸果木属 12 个天然居群的遗传多样性进行分析,发现海拔和纬度与遗传多样性呈显著的正相关。苏前^[13]基于 100 个 RAPD 分子标记对夹竹桃科罗布麻属 6 个天然居群的研究发现遗传多样性与纬度呈显著正相关,而与海拔呈显著的负相关。因此,为了更好地理解和阐释“地理因素如何影响植物居群的遗传多样性”这一重要问题,需来自更多植物类群的研究实例。

箭竹属隶属于禾本科竹亚科(Poaceae, Bambusoideae) 北美箭竹族(tribe arundinariinae) 或木本竹类温带分支,是竹亚科中的大属之一,包括 80~100 种。该属广泛分布于中国西南至喜马拉雅东部

的山地,是大熊猫等珍稀动物的主要食物,在当地生态系统中发挥重要作用^[14]。箭竹属的分类地位和属的范围一直存在争议,易同培^[15-16]曾经依据营养器官性状将箭竹属分为 2 组 6 系。然而,与繁育器官相比,营养器官容易受环境影响而发生变化,同时营养器官普遍存在趋同演化或平行演化现象。基于已有研究发现,箭竹属内有 15 个近缘种——箭竹(*Fargesia spathacea* Franch.)、矮箭竹(*Fargesia demissa* Yi)、毛龙头竹(*Fargesia decurvata* J. L. Lu)、拐棍竹(*Fargesia robusta* Yi)、青川箭竹(*Fargesia rufa* Yi)、糙花箭竹(*Fargesia scabrida* Yi)、缺苞箭竹(*Fargesia denudata* Yi)、华西箭竹 [*Fargesia nitida* (Mitford) Keng f. ex Yi)、秦岭箭竹(*Fargesia qinlingensis* Yi et J. X. Shao)、团竹(*Fargesia obliqua* Yi)、伏牛山箭竹(*F. funiushanensis* Yi)、神农箭竹 [*Fargesia murielae* (Gamble) Yi]、窝竹(*Fargesia brevissima*)、细枝箭竹(*Fargesia stenoclada*)和甜箭竹(*Fargesia ostrina*)^[17],以上物种之间的形态学差异不显著,部分性状存在连续变异,且在已有的系统发育树上位于同一分支^[18-19],而箭竹是其中最早命名的物种^[20],因此本研究将其称为箭竹复合体(*Fargesia spathacea* complex)。本研究的前期工作筛选了箭竹复合体的 39 个天然居群共 750 个个体,利用 14 个 SSR(微卫星 Simple Sequence Repeat)分子标记,详细探讨了该复合体内的遗传变异式样,并认为其中 3 个种是成立的,而有 4 个种显然不成立。同时结合 3 种居群遗传结构分析方法,将箭竹物种复合体的 39 个居群分为 2 个支系(A 支系、B 支系),其中 A 支系内部可再划分出华西箭竹亚支系和团竹亚支系,B 支系内部可再划分出拐棍竹亚支系、窝竹亚支系、箭竹亚支系和糙花箭竹亚支系,即全部样本分为 6 个亚支系。另一方面,还发现该复合体内的整体遗传多样性水平并不低,改变了“竹子以营养繁殖为主,遗传多样性水平较低”的传统观念^[21]。但是需要指出的是,该研究集中在梳理箭竹复合体内部的遗传结构和居群变异式样,并未详细探讨环境因素,尤其是海拔和纬度对整个复合体内不同支系、亚支系的遗传多样性水平的影响。基于箭竹复合体现有的 750 个个体大量的遗传变异信息,以及该类群对大

熊猫保护领域的重要意义,本研究认为该复合体是深入探讨“地理因素如何影响植物居群的遗传多样性”这一问题的理想材料。

另一方面,遗传多样性可为人们估算植物居群的遗传分化提供重要的基础数据。遗传多样性的计算是基于遗传变异信息,这些遗传变异在居群之间的不平衡分布表现为遗传分化,而遗传分化同样受到地理因素的重要影响^[8-9]。因此,本研究在深入分析前期研究工作的箭竹复合体 SSR 标记数据时,同时关注地理距离与箭竹复合体内的遗传分化水平是否表现出显著的相关性。根据前期野外观察,箭竹复合体内同一支系内的不同类群存在海拔差异,这些类群可能发生了对高海拔区域的适应性分化,目前并不清楚地理距离是否影响了复合体内的适应性分化。综上所述,本研究探讨箭竹复合体的遗传多样性及其与地理因素的关系,旨在揭示箭竹复合体遗传多样性对地理变化的响应,为后续深入研究竹类植物对高山环境的适应性分化奠定基础,并为箭竹复合体内遗传多样性保护和大熊猫主食竹相关研究提供科学依据和理论支持。

1 材料和方法

1.1 微卫星(SSR)引物筛选

本研究的测序样品选择箭竹物种复合体的 4 个竹种:缺苞箭竹(甘肃省文县)、毛龙头竹(陕西省太白县)、细枝箭竹(四川省彭州县)和伏牛山箭竹(河南省栾川县),用其新鲜叶片,干冰保存送至上海天昊遗传分析中心,利用 Illumina HiSeq 2500 平台进行配对末端(paire-end)测序。根据返回的高通量测序信息,在设定文库片段大小时,在主峰基础上±50 bp 设定其最大与最小片段范围,其中毛龙头竹(310~410 bp)、缺苞箭竹(280~380 bp)、细枝箭竹(280~380 bp)和伏牛山箭竹(280~380 bp),以双末端方式导入 CLC Genomics Workbench 7.5 (QIA-GEN, Germantown, MD, Germany) 软件中,先去除了质量较低的序列,再用从头组装的策略对上一步得到的结果进行组装,所得结果以 *.fasta 文件格式输出。本研究所筛选 14 对 SSR 引物的详细信息,参照黄蕾等文章中相应表格^[18]。

1.2 箭竹复合体样本采集

参考《中国植物志》^[14]和《中国竹类图志》^[22],整理箭竹物种复合体中 15 个竹种的详细地点,并历时 3 年对其进行样品采集。采集地点包括四川、陕西、贵州、湖北、河南、甘肃、宁夏等省份。样品采集

按照每个居群 20~30 份 DNA 材料(由于箭竹物种复合体竹种地下茎属于合轴丛生,地上同一丛不同秆株来自同一个体,因此在样品采集时,选择个体间间隔 15 m 以上),总共采集 39 个居群,包括箭竹(2 个居群)、矮箭竹(3 个居群)、毛龙头竹(7 个居群)、拐棍竹(4 个居群)、青川箭竹(2 个居群)、糙花箭竹(2 个居群)、缺苞箭竹(3 个居群)、华西箭竹(3 个居群)、秦岭箭竹(4 个居群)、团竹(1 个居群)、伏牛山箭竹(1 个居群)、神农箭竹(4 个居群)、窝竹(1 个居群)、细枝箭竹(1 个居群)和甜箭竹(1 个居群)。每个居群挑选 15~20 个个体,共计 750 个个体进行 SSR 片段的扩增和测序,详细信息请见黄蕾等文章中相应表格^[21]。

1.3 总 DNA 提取与 PCR 扩增

利用改良的 CTAB^[23-24]法提取竹类植物的总 DNA,步骤为:1)取 1.5 g 的干燥叶片手工研磨至粉末状,再将粉末状颗粒转入 2 mL 离心管中,加入 800 μ L DNA 缓冲液 I,0 $^{\circ}$ C 保存 30 min;2)离心管放入 4 $^{\circ}$ C 恒温离心机,4 000 r/min 恒温离心 10 min,弃上清;3)将离心管取出,加入 800 μ L 已预热的 DNA 缓冲液 II(65 $^{\circ}$ C),并在 65 $^{\circ}$ C 水浴锅中水浴 1 h,间隔 15 min 轻微摇晃使颗粒与液体充分接触;4)取出离心管放置于 4 $^{\circ}$ C 恒温离心机中 12 000 r/min 离心 10 min;吸取上清液至 2 mL 离心管中,加 800 μ L 的氯仿/异戊醇(体积比 24 : 1)与 80 μ L DNA 缓冲液 II,颠倒混合 10 min;5)4 $^{\circ}$ C 恒温离心机中常温 10 000 r/min 离心 10 min,取上清液至 2 mL 离心管中,加入 700 μ L 的氯仿/异戊醇(24 : 1)与 70 μ L DNA 缓冲液 II,颠倒混合 10 min;6)常温 10 000 r/min 离心 10 min,取上清液,加入等体积无水乙醇在-20 $^{\circ}$ C 冰箱放置 1 h;10 000 r/min 离心 12 min,加入 400 μ L ddH₂O,完全溶解;7)加入 500 μ L 冰乙醇在-20 $^{\circ}$ C 放置 1 h,12 000 r/min 离心 10 min,弃上清液,用 70%乙醇洗涤沉淀,干燥过夜;8)加入 200 μ L ddH₂O 溶解 DNA,-20 $^{\circ}$ C 保存备用。

PCR 扩增首轮反应——10 μ L 的反应体系,包括酶 2 \times Es Taq MasterMix 5 μ L,ddH₂O 4 μ L,正反向引物各 0.25 μ L,DNA 模板 0.5 μ L。反应程序采用梯度 PCR(TD-PCR)程序:94 $^{\circ}$ C 4 min;94 $^{\circ}$ C 30 s,62~0.5 $^{\circ}$ C,20 s,72 $^{\circ}$ C 30 s,10 个循环;94 $^{\circ}$ C 30 s,57 $^{\circ}$ C 20 s,23~24 循环,72 $^{\circ}$ C 30 s;72 $^{\circ}$ C 10 min;25 $^{\circ}$ C。第二轮反应——10 μ L 反应体系,包括酶 2 \times Es Taq MasterMix 10 μ L,ddH₂O 8 μ L,

荧光引物正反向各 0.5 μ L,DNA 模板(首轮反应产物稀释 100 倍)1 μ L。反应程序:94 $^{\circ}$ C 4 min;94 $^{\circ}$ C 30 s,62~0.5 $^{\circ}$ C 30 s,72 $^{\circ}$ C 30 s,10 个循环;94 $^{\circ}$ C 30 s,57 $^{\circ}$ C 30 s,72 $^{\circ}$ C 30 s,23~24 循环;72 $^{\circ}$ C 10 min,25 $^{\circ}$ C。两轮反应中,不同的引物采用不同的荧光进行标记。扩增产物用 1.5%琼脂糖凝胶电泳检测后送至江苏金唯智生物科技有限公司进行毛细管电泳检测,使用 ABI3730XL 测序仪完成荧光检测,得到扩增产物的峰型图谱。

1.4 数据处理与分析

SSR 原始数据进行汇总整理后,输入 CONVERT 1.3^[25] 软件进行格式转换,用于后续软件分析。使用 POPGENE 1.32 软件^[26] 进行遗传多样性——平均等位基因数(N_a)、有效等位基因数(N_e)、香农指数(I)、扩增多态性位点比率(PPL)、期望杂合度(H_e)、观测杂合度(H_o)的计算。本研究所用的线性回归分析采用 R 软件包进行计算并绘图^[27]。在遗传分化指标上,利用 GenAlEx 6.502 软件进行 Mantel 检验^[28],通过 1 000 次迭代运行计算地理距离与遗传距离的相关性。本研究采用的地理距离是基于居群经纬度所得的欧式距离。

2 结果与分析

2.1 海拔和纬度对箭竹复合体遗传多样性的影响

基于 750 个个体和 14 对 SSR 引物的遗传结构分析,39 个居群可分为 A, B 两个支系,A 支系可进一步分为 2 个亚支系,B 支系可分为 4 个亚支系^[21]。首先对 A, B 两个支系的遗传多样性参数——平均等位基因数(N_a)、有效等位基因数(N_e)、香农指数(I)、扩增多态性位点比率(PPL)、期望杂合度(H_e)、观测杂合度(H_o)进行计算,A 支系遗传多样性参数的结果为 $N_a=2.93$, $N_e=1.85$, I

$=0.64$, $H_o=0.47$, $H_e=0.37$, $PPL=0.81$,B 支系为 $N_a=3.05$, $N_e=1.91$, $I=0.66$, $H_o=0.45$, $H_e=0.37$, $PPL=0.86$ 。由图 1 可见,B 支系的遗传多样性略高于 A 支系。

对 6 个亚支系的遗传多样性参数进行计算(图 2),华西箭竹亚支系内 13 个居群 $N_a=6.21$, $N_e=2.05$, $I=0.84$, $H_o=0.50$, $H_e=0.44$, $PPL=0.819$;团竹亚支系内 4 个居群 $N_a=4.14$, $N_e=1.69$, $I=0.61$, $H_o=0.37$, $H_e=0.33$, $PPL=0.732$;拐棍竹亚支系内 4 个居群 $N_a=4.57$, $N_e=1.84$, $I=0.73$, $H_o=0.40$, $H_e=0.38$, $PPL=0.857$;窝竹亚支系内 9 个居群 $N_a=5.43$, $N_e=2.09$, $I=0.80$, $H_o=0.43$, $H_e=0.41$, $PPL=0.821$;箭竹亚支系内 4 个居群 $N_a=4.50$, $N_e=2.08$, $I=0.76$, $H_o=0.47$, $H_e=0.39$, $PPL=0.875$;糙花箭竹亚支系内 5 个居群 $N_a=5.50$, $N_e=2.38$, $I=1.00$, $H_o=0.51$, $H_e=0.50$, $PPL=0.929$ 。6 个亚支系遗传多样性由高到低的顺序为:糙花箭竹亚支系>华西箭竹亚支系>窝竹亚支系>

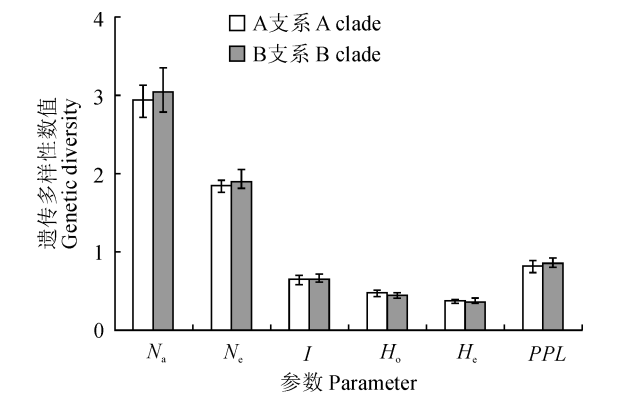


图 1 箭竹复合体 A、B 两支系内遗传多样性参数对比
Fig. 1 The genetic diversity of A and B clades in *Fargesia spathacea* complex

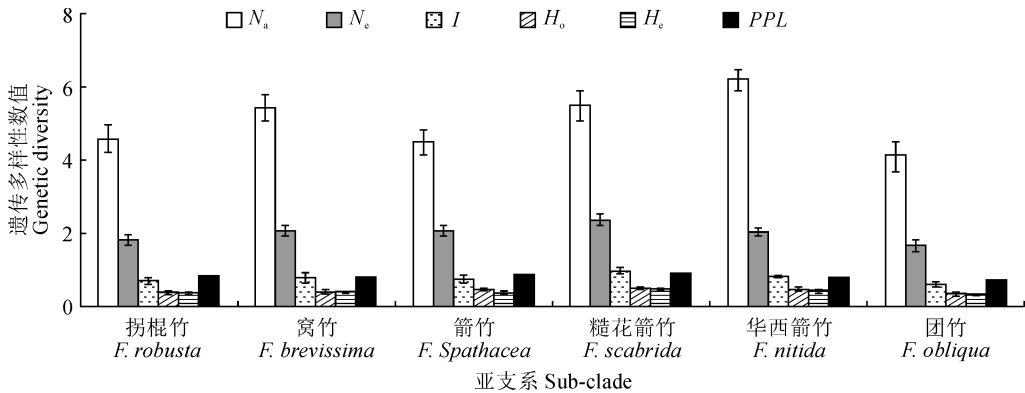


图 2 箭竹复合体 6 个亚支系组内遗传多样性参数对比图
Fig. 2 The genetic diversity of six sub-clades in *F. spathacea* complex

箭竹亚支系>拐棍竹亚支系>团竹亚支系。在遗传多样性指标上,扩增多态性位点比率 PPL 在不同亚支系之间变化最小;平均等位基因数 N_a 的变化最大。

为检测箭竹物种复合体 A 支系和 B 支系的遗传多样性与海拔、纬度是否具有显著相关性,将两组各自的遗传多样性指标 H_e 与海拔和纬度分别进行线性回归分析,结果如图 3 所示。A 支系的遗传多样性与纬度、海拔均具有显著相关(图 3, A 支系: $R^2=0.5635$, $r=0.751$, $P<0.01$; $R^2=0.0151$, $r=0.123$, $P<0.01$),B 支系也可得出同样结论(图 3, B 支系: $R^2=0.0700$, $r=0.264$, $P<0.01$; $R^2=0.1302$, $r=0.360$, $P<0.01$)。这表明随着纬度和海拔的增加 A 支系和 B 支系的遗传多样性也随之增大。

为检测箭竹物种复合体 6 个亚支系的遗传多样性与海拔、纬度是否具有显著相关性,将每个亚支系的遗传多样性指标 H_e 与海拔和纬度分别进行线性回归分析。拐棍竹亚支系 H_e 与纬度的相关性 $R^2=0.3772$, $r=0.615$, $P<0.01$; H_e 与海拔的相关性 $R^2=0.1948$, $r=-0.442$, $P<0.01$ 。窝竹亚支系 H_e 与纬度的相关性 $R^2=0.0002$, $r=0.014$, $P<0.01$; H_e 与海拔的相关性 $R^2=0.6353$, $r=0.797$, $P<0.01$ 。箭竹亚支系 H_e 与纬度的相关性

$R^2=0.7542$, $r=-0.868$, $P<0.01$; H_e 与海拔的相关性 $R^2=0.3406$, $r=0.584$, $P<0.01$ 。糙花箭竹亚支系 H_e 与纬度的相关性 $R^2=0.2314$, $r=0.481$, $P<0.01$; H_e 与海拔的相关性 $R^2=9E-06$, $r=0.003$, $P<0.01$ 。华西箭竹亚支系 H_e 与纬度的相关性 $R^2=0.0935$, $r=0.306$, $P<0.01$; H_e 与海拔的相关性 $R^2=0.1945$, $r=-0.441$, $P<0.01$ 。团竹亚支系 H_e 与纬度的相关性 $R^2=0.6121$, $r=0.782$, $P<0.01$; H_e 与海拔的相关性 $R^2=0.0442$, $r=0.210$, $P=0.02$ 。由此可见,尽管 6 个亚支系的遗传多样性和纬度、海拔呈现出显著相关性,但表现出不同的趋势,部分支系表现为负相关。

2.2 地理距离对箭竹复合体遗传分化式样的影响

利用 GenAlEx 6.41 在箭竹物种复合体水平和 A、B 支系水平分别进行 Mantel 检验(图 4)。在箭竹复合体水平上,全部 39 个居群的遗传距离和地理距离未表现出显著的线性关系($R^2=0.0032$, $r=0.057$, $P=0.11$)A 支系的检测结果表明遗传距离和地理距离存在显著相关性($R^2=0.0613$, $r=0.25$, $P=0.01$),B 支系的检测结果表明遗传距离和地理距离不存在显著相关性($R^2=0.0036$, $r=0.06$, $P=0.21$)。

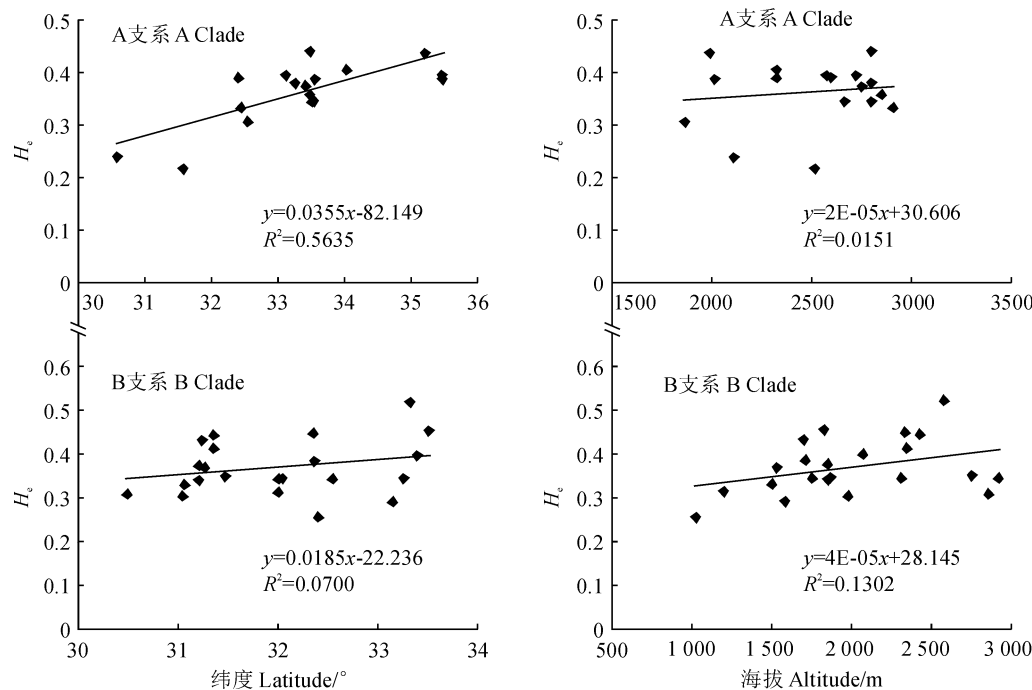
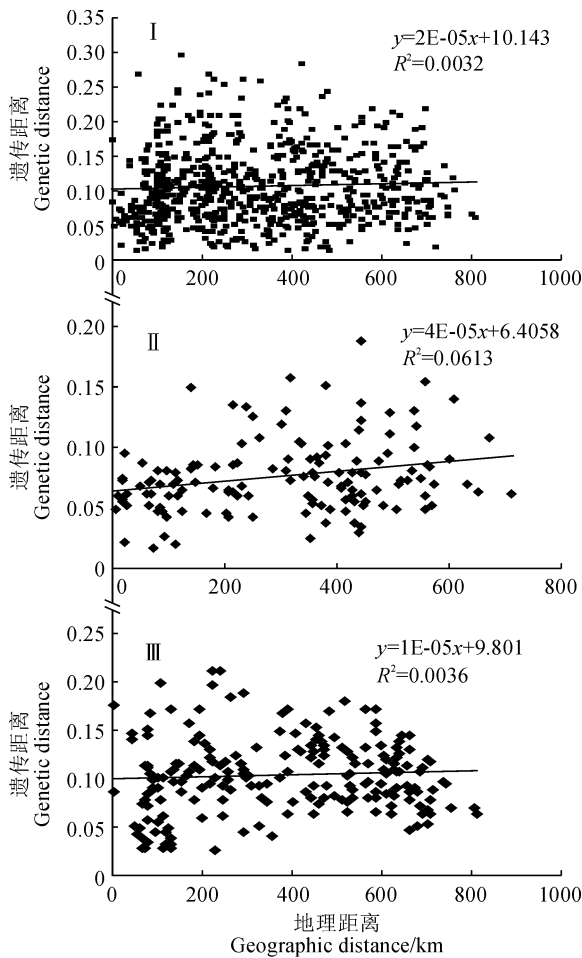


图 3 箭竹复合体 A、B 两支系遗传多样性水平与纬度、海拔的回归分析图

Fig. 3 The regression analysis of genetic diversity and latitude, altitude within A and B clade in *F. spathacea* complex



I. 箭竹复合体; II. A 支系; III. B 支系

图 4 不同划分组下遗传距离和地理距离之间的 Mantel 检验

I. *Fargesia spathacea* complex; II. A clade; III. B clade
Fig. 4 The Mantel test of genetic distance and geographic distance under different groups

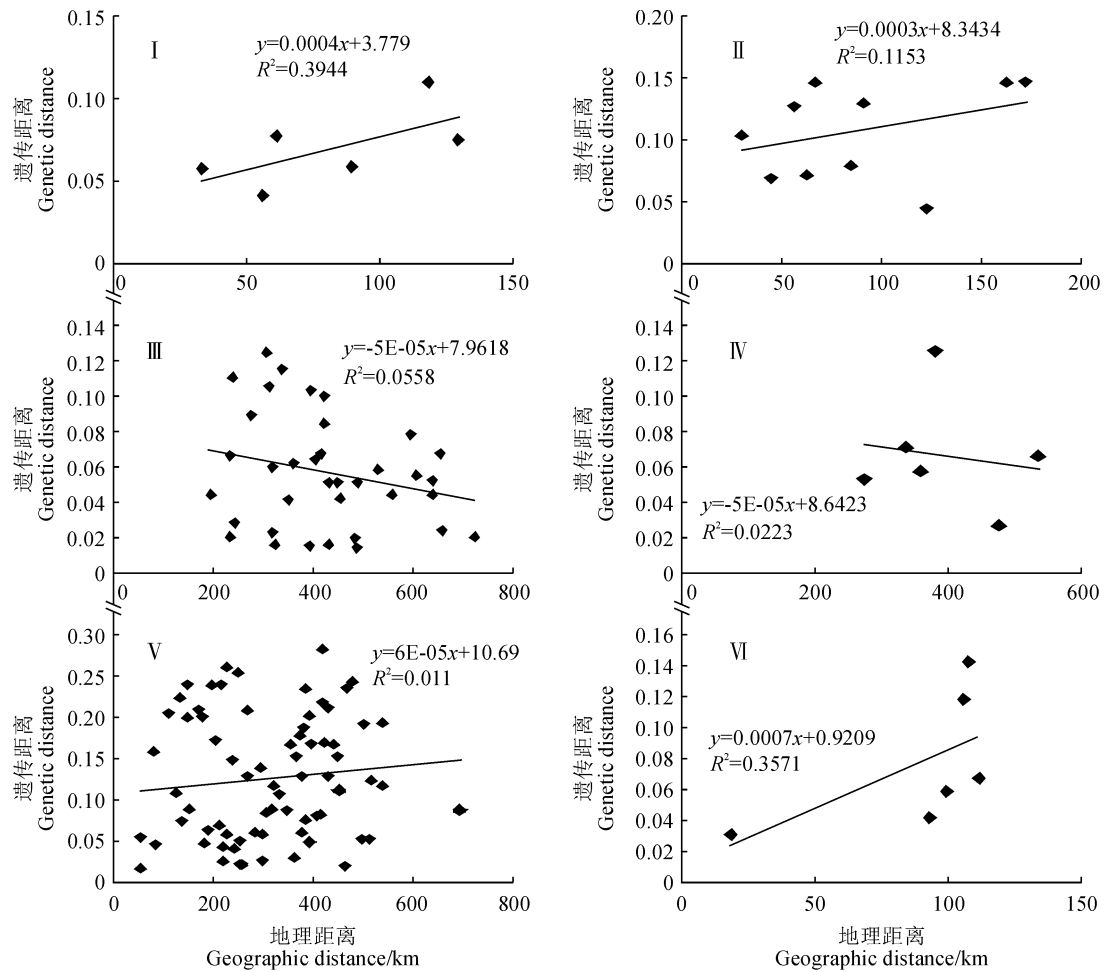
在 6 个亚支系水平上, Mantel 检验的结果如图 5 所示。拐棍竹亚支系(a)检测结果不显著, 相关系数 $R^2=0.3944$, $r=0.63$, $P=0.15$; 糙花箭竹亚支系(b)检测结果不显著, 相关系数 $R^2=0.1153$, $r=0.34$, $P=0.15$; 窝竹亚支系(c)检测结果不显著, 相关系数 $R^2=0.0558$, $r=0.24$, $P=0.10$; 箭竹亚支系(d)检测结果不显著, 相关系数 $R^2=0.0223$, $r=0.15$, $P=0.58$; 华西箭竹亚支系(e)检测结果不显著, 相关系数 $R^2=0.011$, $r=0.11$, $P=0.40$; 团竹亚支系(f)检测结果显著, 相关系数 $R^2=0.3571$, $r=0.60$, $P=0.02$ 。由此可见, B 支系内 4 个亚支系均未表现出遗传距离和地理距离之间的显著相关性, 这一结果与前述结果一致; A 支系内 2 个亚支系仅团竹亚支系的遗传距离和地理距离存在较弱的显著相关性。

3 讨论

影响植物居群遗传多样性的因素包括物种的生殖方式、遗传漂变、自然选择、突变率、基因流, 以及种群隔离和生境片断化。另一方面, 样本大小和分子标记数量也能对遗传多样性的估算产生一定影响^[29-30]。在本研究中, 华西箭竹亚支系的居群数目最多, 但其遗传多样性并非最高。由此可见, 在亚支系水平, 样本大小对估算箭竹复合体遗传多样性的影响较小。这表明, 箭竹复合体的不同类群在适应不同生境时, 遗传多样性水平可能会受到其他生态因子或进化因素的影响。其次, 在地理因素与遗传多样性的相关性上, 不同物种的研究结果并不一致^[9-10]。在本研究中, 地理因素与遗传多样性的相关性在不同进化尺度上并不相同。在 A、B 支系水平上检测出显著相关性, 可能是掩盖亚支系之间的遗传结构的结果, 并不能反映真实情形。因此建议, 开展类似研究工作时应充分考虑遗传结构的影响, 先厘清样本内部的遗传分化, 再开展多因素与遗传多样性的相关性检测。

在地理距离与遗传距离的相关性上, A 支系内包含华西箭竹亚支系和团竹亚支系, 本研究结果表明地理隔离在一定程度上影响了其现有分布格局; 而 B 支系内的遗传结构更为复杂, 其分布格局可能受其他因素比如自然选择、基因流、遗传漂变等影响。据此推测, 地理距离并非是影响箭竹复合体内遗传分化的主导因素。依据本研究前期的发现, B 支系下的糙花箭竹和窝竹亚支系内的部分个体检测到明显的杂交迹象, 这也为 B 支系 Mantel 检验结果不显著提供了合理解释^[21]。后续需加强基因流和杂交事件的检测, 以明确不同亚支系之间的基因流是否参与了现有遗传分化格局的建立。

本研究通过对箭竹复合体内 39 个居群的 14 对 SSR 数据进行深入分析, 发现糙花箭竹亚支系具有最高的遗传多样性, 而团竹亚支系的遗传多样性最低。尽管在 A、B 两个支系水平, 遗传多样性和纬度、海拔呈现了显著正相关, 但在更精细的亚支系水平, 遗传多样性的变化趋势呈现出更为复杂的局面, 部分支系表现为负相关。由此推测, 箭竹复合体的不同类群在适应不同生境时, 遗传多样性可能会受到其他生态因子或进化因素的影响。另一方面, 通过 Mantel 检验结果发现地理距离并非是影响箭竹复合体内遗传分化的主导因素。B 支系内的 4 个亚支系, 均未表现出遗传距离和地理距离之间的显著



I. 拐棍竹亚支系；II. 糙花箭竹亚支系；III. 窝竹亚支系；IV. 箭竹亚支系；V. 华西箭竹亚支系；VI. 团竹亚支系

图5 6个亚支系下遗传距离和地理距离之间的 Mantel 检验

I. *F. robusta* sub-clade; II. *F. scabrida* sub-clade; III. *F. brevissima* sub-clade; IV. *F. spathacea* sub-clade; V. *F. nitida* sub-clade; VI. *F. obliqua* sub-clade

Fig. 5 The Mantel test of genetic distance and geographic distance within six sub-clades

相关性;A 支系中仅团竹亚支系的遗传距离和地理距离存在较弱的显著相关性,这表明自然选择、基因流、遗传漂变等因素可能影响了该复合体内的遗传分化。已有结果表明该复合体内部分居群之间可能存在基因流,后续需结合基因流检测推断杂交事件

对其遗传分化的影响。鉴于箭竹复合体内不同类群之间存在海拔分化,本研究的结果可为后续深入研究竹类植物的适应性分化奠定基础,亦可为大熊猫主食竹的相关研究提供重要的参考信息。

作者贡献:那晓成和张雨曲采集了全部样本;那晓成完成了 SSR 数据的测序和数据分析;任毅教授设计了研究方案;那晓成和黄蕾完成文章撰写。

参考文献:

[1] ELLEGREN H, GALTIER N. Determinants of genetic diversity[J]. *Nature Reviews Genetics*, 2016, 17(7): 422-433.

[2] CLARKE B C. The evolution of genetic diversity[J]. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 1979, 205: 453-474.

[3] ELLSTRAND N C, ROOSE M L. Patterns of genotypic diversity in clonal plant species[J]. *American Journal of Botany*, 1987, 74(1): 123-131.

[4] 王洪新, 胡志昂. 植物的繁育系统、遗传结构和遗传多样性保护[J]. *生物多样性*, 1996, 4(2): 92-96.

WANG H X, HU Z A. Plant breeding system, genetic struc-

ture and conservation of genetic diversity[J]. *Chinese Biodiversity*, 1996, **4**(2): 92-96.

[5] TILMAN D, LEHMAN C I, THOMSON K T. Plant diversity and ecosystem productivity: Theoretical considerations[J]. *PNAS*, 1997, **94**(5): 1 857-1 861.

[6] SUAREZ-GONZALEZ A, LEXER C, CRONK Q C B. Adaptive introgression: A plant perspective[J]. *Biology Letters*, 2018, **14**(3): 20 170 688.

[7] KRUESS A, TSCHARNTKE T. Habitat fragmentation, species loss, and biological control [J]. *Science*, 1994, **264** (5 165): 1 581-1 584.

[8] 李 昂, 葛 颂. 植物保护遗传学研究进展[J]. 生物多样性, 2002, **10**(1): 61-71.
LI A, GE S. Advances in plant conservation genetics[J]. *Chinese Biodiversity*, 2002, **10**(1): 61-71.

[9] 陈家宽, 杨 继. 植物进化生物学[M]. 武汉: 武汉大学出版社, 1994.

[10] BRISCOE RUNQUIST R D, GORTON A J, YODER J B, *et al.* Context dependence of local adaptation to abiotic and biotic environments: A quantitative and qualitative synthesis [J]. *The American Naturalist*, 2020, **195**(3): 412-431.

[11] VELLEND M, LAJOIE G, BOURRET A, *et al.* Drawing ecological inferences from coincident patterns of population- and community-level biodiversity[J]. *Molecular Ecology*, 2014, **23**(12): 2 890-2 901.

[12] 徐振朋, 宛 涛, 蔡 萍, 等. 裸果木种群遗传多样性特点及与地理气候因子关联研究[J]. 草地学报, 2018, **26**(1): 70-76.
XU Z P, WAN T, CAI P, *et al.* Study on the relevance between genetic diversity of *Gymnocarpus przewalskii* populations and geographic climate factors[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2018, **26**(1): 70-76.

[13] 苏 前. 新疆罗布麻遗传多样性及其与环境关系研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆大学, 2013.

[14] 中国科学院中国植物志委员会. 中国植物志 第九卷 第一分册[M]. 北京: 科学出版社, 1996.

[15] 易同培. 中国竹类新分类群[J]. 植物研究, 1985, **5**(4): 121-137.
YI T P. New taxa of bamboo from China[J]. *Bulletin of Botanical Research*, 1985, **5**(4): 121-137.

[16] 易同培. 中国箭竹属的研究[J]. 竹子研究汇刊, 1988, **7** (2): 1-119.
YI T P. A study on the genus *Fargesia* fr. from China[J]. *Journal of Bamboo Research*, 1988, **7**(2): 1-119.

[17] 易同培. 川西南竹类二新种[J]. 云南植物研究, 1989, **11** (1): 35-38.
YI T P. Two new bamboo species in southwestern Sichuan [J]. *Plant Diversity and Resources*, 1989, **11**(1): 35-38.

[18] ZHANG Y Q, WANG X M, WU A L, *et al.* Merging *Fargesia dracocephala* into *Fargesia decurvata* (Bambusoideae, Poaceae): Implications from morphological and ITS sequence analyses [J]. *Plos One*, 2014, **9** (7): e101362. DOI:10.1371/journal.pone.0101362.

[19] 张雨曲. 箭竹属(禾本科:竹亚科)分子系统学研究[D]. 西安: 陕西师范大学, 2016.

[20] FRANCHET A. *Fargesia*, nouveau genre de Bambusées de la Chine[J]. *Bulletin Mensuel De La Societe Linneenne De Paris*, 1893, 2: 1 067-1 069.

[21] HUANG L, XING X C, Li W W, *et al.* Population genetic structure of the giant *Panda* staple food bamboo (*Fargesia spathacea* complex) and its taxonomic implications[J]. *Journal of Systematics and Evolution*, 2020, doi: 10.1111/jse.12594.

[22] 易同培. 中国竹类图志[M]. 北京: 科学出版社, 2008.

[23] SHARMA R, MAHLA H R, MOHAPATRAL T, *et al.* Isolating plant genomic DNA without liquid nitrogen [J]. *Plant Molecular Biology Reporter*, 2003, **21**(1): 43-50.

[24] DOYLE J J, DOYLE J L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue[J]. *Phytochemistry Bulletin*, 1987, **19**(1): 11-15.

[25] GLAUBITZ J C. Convert: A user-friendly program to reformat diploid genotypic data for commonly used population genetic software packages [J]. *Molecular Ecology Notes*, 2004, **4**(2): 309-310.

[26] ROUSSET F. Genepop'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux[J]. *Molecular Ecology Resource*, 2008, **8**(1): 103-106.

[27] JOMBART T. Adegnet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers[J]. *Bioinformatics*, 2008, **24** (11): 1 403-1 405.

[28] PEAKALL R, SMOUSE P E. GenAlEx 6.5: genetic analysis in excel. population genetic software for teaching and research—an update [J]. *Bioinformatics*, 2012, **28** (19): 2 537-2 539.

[29] SINCLAIR E A, HOBBS R J. Sample size effects on estimates of population genetic structure: Implications for ecological restoration[J]. *Restoration Ecology*, 2009, **17**(6): 837-844.

[30] TRASK J A S, MALHI R S, KANTHASWAMY S, *et al.* The effect of SNP discovery method and sample size on estimation of population genetic data for Chinese and Indian rhesus macaques (*Macaca mulatta*) [J]. *Primates: Journal of Primatology*, 2011, **52**(2): 129-138.

(编辑:宋亚珍)