

◆ 濒危植物 ◆

无柄醉鱼草与大叶醉鱼草的遗传多样性解析*

吴 诺^{1,2,3}, 陈 高^{1,3}, 申仕康^{2,4}, 葛 佳^{1,3**}

(1. 中国科学院昆明植物研究所, 中国科学院东亚植物多样性与生物地理学重点实验室, 云南昆明 650201; 2. 云南大学生命科学学院, 云南昆明 650500; 3. 中国科学院昆明植物研究所, 云南省极小种群野生植物综合保护重点实验室, 云南昆明 650201; 4. 云南大学生态学与环境学院, 云南省植物繁殖适应与进化生态学重点实验室, 云南昆明 650500)

摘要:无柄醉鱼草(*Buddleja sessilifolia*)是狭域分布的极小种群野生植物(Plant Species with Extremely Small Populations, PSESP),大叶醉鱼草(*B. davidii*)则是广布种,二者亲缘关系较近,且同为四倍体。通过比较濒危物种与近缘广布种的遗传多样性,可以了解濒危物种的演化历史,为制定保护策略提供理论依据。本研究通过简单重复序列(Simple Sequence Repeats, SSR)分子标记对无柄醉鱼草5个居群(126个个体)和大叶醉鱼草14个居群(206个个体)进行遗传多样性和遗传结构解析,并提出对无柄醉鱼草的保护建议。结果表明,无柄醉鱼草和大叶醉鱼草各居群的期望杂合度(H_e)平均值分别为0.606、0.775,Shannon's多样性指数(I)平均值分别为1.162、1.729,两个物种均具有较高的遗传多样性,但广布种大叶醉鱼草遗传多样性水平高于狭域种无柄醉鱼草;无柄醉鱼草和大叶醉鱼草遗传分化系数(F_{ST})分别为0.043和0.024,两个物种居群间遗传分化程度均较低。遗传结构分析结果表明,无柄醉鱼草5个居群可划分为2个集群,居群间地理距离与遗传距离不存在相关性;大叶醉鱼草14个居群可划分为3个集群,居群间地理距离与遗传距离相关。结合野外居群现状,建议对无柄醉鱼草划分保护单元,重点对丹珠居群和独龙江隧道口居群开展就地保护,同时采取种质资源收集、人工繁育等保护措施。

关键词:遗传多样性;遗传结构;极小种群野生植物;濒危物种;无柄醉鱼草;大叶醉鱼草;保护建议

中图分类号:Q948.2 文献标识码:A 文章编号:1005-9164(2024)01-0126-13

DOI:10.13656/j.cnki.gxkx.20240004.001

玄参科(Scrophulariaceae)醉鱼草属(*Buddleja*)植物多为灌木或小乔木,全球有90余种,分布于美洲、非洲和亚洲的热带至温带地区^[1]。本属植物醉鱼

草(*B. lindleyana*)叶片中含有醉鱼草甙和醉鱼草酮甙,对鱼有麻醉作用,古时渔人将其叶片捣烂放入水中,鱼取食后如同醉酒般浮于水面,故而得名“醉鱼

收稿日期:2023-08-17

修回日期:2023-10-16

* 国家自然科学基金项目(32071653),云南省科技厅科技计划项目(202001AT070097)和中国科学院战略生物资源能力建设基金项目(KFJ-BRP-017-41)资助。

【第一作者简介】

吴 诺(2000—),女,在读硕士研究生,主要从事植物学研究,E-mail:wunuoxu@163.com。

【**通信作者简介】

葛 佳(1986—),女,助理研究员,主要从事保护生物学和生态学研究,E-mail:gejia@mail.kib.ac.cn。

【引用本文】

吴诺,陈高,申仕康,等.无柄醉鱼草与大叶醉鱼草的遗传多样性解析[J].广西科学,2024,31(1):126-138.

WU N, CHEN G, SHEN S K, et al. Analysis of Genetic Diversity of *Buddleja sessilifolia* and *B. davidii* [J]. Guangxi Sciences, 2024, 31(1): 126-138.

草”^[2,3]。醉鱼草属植物具有较高的园艺价值,如大叶醉鱼草(*B. davidii*)被誉为“蝴蝶灌木”(Butterfly bush),引种到欧美等地区后成为了流行的观赏植物^[4,5]。该属一些类群还具有药食价值,被用作传统药物和食品添加剂^[6]。醉鱼草属植物普遍存在多倍化现象^[7,8],亚洲地区多倍化比例高,且种内和种间倍性变化丰富($2n=2x, 4x, 6x, 8x, 12x, 16x, 24x$),多倍化可能促进该属物种对不同环境的适应^[7,9]。醉鱼草属植物通常具有较高的生态适应性,部分类群为广布种和先锋种,国外甚至有园艺品种逃逸发展为入侵物种^[4,10]。但醉鱼草属也存在一些狭域分布的受威胁类群,世界自然保护联盟(IUCN)濒危物种红色名录共收录了6种醉鱼草属植物^[11];《中国高等植物受威胁物种名录》将3种醉鱼草属植物列为易危(Vulnerable, VU)^[12];《云南省极小种群野生植物保护名录(2021版)》收录了2种醉鱼草属植物^[13]。

无柄醉鱼草(*B. sessilifolia*)曾为大花醉鱼草(*B. colvilei*)的同物异名,后经形态学和分子生物学研究厘清了无柄醉鱼草为一个独立的物种^[14]。野外调查发现,该物种仅零星分布于高黎贡山北麓,部分居群受自然和人为因素干扰严重,近年来成年植株数量急剧下降,随时面临灭绝风险,根据《IUCN物种红色名录濒危等级和标准》,该物种目前受威胁等级为濒危(EN),是典型的极小种群野生植物(Plant Species with Extremely Small Populations, PSESP),亟待开展保护生物学研究^[13-16]。群体遗传学被认为是研究物种致濒原因的关键,因为遗传变异决定了种群适应变化的能力^[17]。狭域分布的小种群物种容易受遗传漂变和近亲交配的影响,导致遗传多样性水平降低,进而使其对环境变化的适应力减弱,灭绝风险更高^[17-19]。Hamrick等^[20]总结了653篇涉及449个植物物种的等位酶,发现狭域分布的濒危物种遗传多样性水平普遍低于广泛分布的物种。但也有研究表明,部分狭域分布的物种仍具有较高的遗传多样性水平^[21,22]。可见植物濒危程度和遗传变异之间并未有普遍联系^[19,23],而未在统一标准下比较可能会导致遗传多样性水平和物种濒危程度不相关,如评估物种受威胁程度的标准(基于当地丰度、地理范围和生境特异性等)和物种的生活史属性。理想情况下,应选择具有类似进化历史、繁育系统、传粉者及散布策略的物种进行比较,通常系统发育关系密切的物种可以满足以上条件^[21,24]。

亚洲醉鱼草属植物系统发育研究表明,无柄醉鱼草与其他9个多倍体物种聚为一支,与大叶醉鱼草同为四倍体,且二者亲缘关系较近^[8]。有趣的是,这一分支中无柄醉鱼草是分布最为狭窄的极小种群野生植物,而大叶醉鱼草是分布最为广泛的物种^[4,16]。大叶醉鱼草原产于我国中部、中西部地区,花序硕大艳丽,花色丰富,气味芳香,极具观赏性,自19世纪引入欧美地区后,被广泛应用于园林造景,是醉鱼草属开发最成功的观赏物种。但由于管理不善且物种本身适应性较强,大叶醉鱼草在引入地逃逸至野外大量繁殖造成入侵,在多个国家和地区被划定为入侵物种^[4,10,25]。大叶醉鱼草在中国原产地分布海拔范围广(1 000—3 000 m),分布生境多为撂荒地、河流和道路两旁以及受干扰严重的贫瘠土地上,可作为先锋物种占领新生境。目前关于无柄醉鱼草和大叶醉鱼草遗传多样性方面的研究较少。因此,本研究基于简单重复序列(Simple Sequence Repeats, SSR)分子标记技术,采用多倍体遗传数据分析方法,比较无柄醉鱼草和大叶醉鱼草的遗传多样性和遗传结构,旨在探讨这两个物种各居群遗传多样性的分布格局和历史成因,并解析地理分布范围、濒危程度与遗传多样性的关系,提出针对濒危物种无柄醉鱼草的保护建议。

1 材料与方法

1.1 材料

无柄醉鱼草126个样品来自5个野生居群(表1),大叶醉鱼草206个样品来自14个野生居群(表2),采样地理位置见图1。样品采集时株株间隔10—15 m,避免采集到同一植株,采集植株新鲜枝条上完整健康、无病虫害的嫩叶,放入分子袋后加入硅胶干燥,带回实验室常温保存。

1.2 方法

1.2.1 DNA提取及PCR扩增分析

采用改良的十六烷基三甲基溴化铵(Cetyltrimethylammonium Bromide, CTAB)法提取所有样品的总DNA,提取的DNA使用1%琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计(Nandrop-1000)检测质量和浓度,检测合格的样品置于-20℃冰箱保存备用。无柄醉鱼草选用的引物来源于葛佳^[16]筛选的10对SSR序列(表3),大叶醉鱼草选用Schreiter等^[25]筛选的8对SSR序列(表4)。将确定好的两个物种引物序列提交给生工生物工程(上海)股份有限公司合成荧光引

表 1 无柄醉鱼草 5 个居群的地理分布

Table 1 Geographical distribution of 5 *B. sessilifolia* populations

居群 Population	位置 Location	采样数量 Sample size	经度 Longitude	纬度 Latitude	海拔/m Altitude/m
S	Gongshan, Sandui	30	98°25'24"E	27°42'55"N	2 620
D	Gongshan, Danzhu	33	98°35'51"E	27°37'56"N	2 850
M	Junction of Myanmar and Gongshan	30	98°33'53"E	27°35'31"N	2 780
F	Junction of Myanmar and Fugong	14	98°39'59"E	27°14'28"N	3 060
K	Gongshan, Dulongjiang Crossing	19	98°29'52"E	27°46'48"N	3 140

表 2 大叶醉鱼草 14 个居群的地理分布

Table 2 Geographical distribution of 14 *B. davidii* populations

居群 Population	位置 Location	采样数量 Sample size	经度 Longitude	纬度 Latitude	海拔/m Altitude/m
ZT	Zhaotong	8	104°08'58"E	28°23'38"N	1 134
GG	Gongga	29	101°58'54"E	29°34'06"N	3 166
SZ	Shizhu	15	108°09'53"E	30°02'15"N	629
SNJ	Shennongjia	12	110°28'29"E	31°24'19"N	835
WDS	Wudangshan	12	111°07'12"E	32°30'24"N	189
WG	Wugang	12	110°35'05"E	26°42'36"N	364
GZ	Guzhang	15	109°50'50"E	28°31'21"N	565
ZJJ	Zhangjiajie	12	110°26'35"E	29°20'50"N	879
DJ	Dejiang	12	108°11'47"E	28°23'37"N	760
ZY	Zunyi	12	106°41'26"E	26°59'23"N	1 345
LH	Lianghe	12	104°35'58"E	25°48'46"N	1 741
TBS	Taibaishan	12	107°48'51"E	34°00'55"N	2 710
ES	Enshi	34	109°33'10"E	30°25'10"N	647
SQ	Shiqian	9	108°28'42"E	27°35'08"N	882

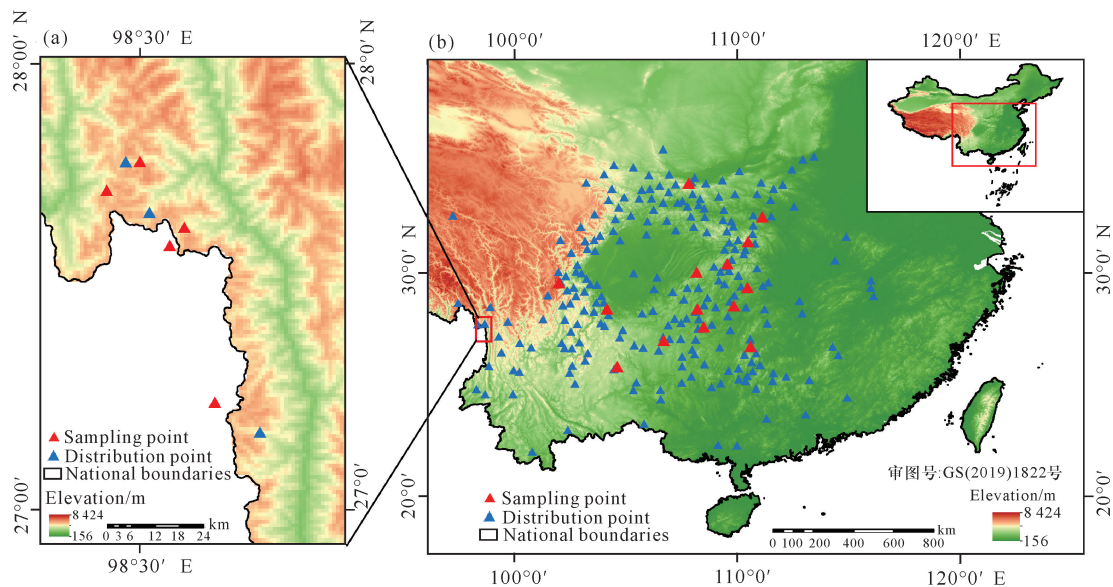


图 1 无柄醉鱼草(a)和大叶醉鱼草(b)采样点地理分布

Fig. 1 Geographic distribution of sampling point of *B. sessilifolia* (a) and *B. davidii* (b)

表 3 无柄醉鱼草引物信息

Table 3 Microsatellite information of *B. sessilifolia*

引物编号 Primer number	引物序列 Primer sequences	重复单元 Repeat motif	产物长度/bp Size range/bp
BS01	F: CATTCCAACCGCGCAGAATC R: CGCGGAAGTCGTTCTTGTTG	(AGC) ₅	136
BS02	F: GTTGTGTCGGCGGATTGAG R: CATTCCAACCGCGCAGAATC	(CTG) ₅	143
BS03	F: TCCTTGTTCAGCTTGCTCCTG R: TGAAGAAGAGCGTGCTCAGG	(CTT) ₅	103
BS04	F: CGTGCTCGTGCTTCTTCTTG R: ATCAAGGACAAGAGCCACGG	(CTT) ₆	103
BS05	F: TCCAACGACTAGGAATCGCG R: GTGACGGAGCAGACGGAATC	(GAA) ₅	115
BS06	F: AACTCCGATAAGCACACGGC R: TCATCAACTCGCTGCCGTAC	(GCT) ₅	100
BS07	F: ATGACGACTACGACGATGGC R: CCTCTGCCGTA CTCTCATC	(GGA) ₅	115
BS08	F: ATGGCGGCTATGGCTATGAC R: CGCGGAAGTCGTTCTTGTTG	(TCC) ₅	106
BS09	F: GGAAGGAAGCTCCGGAAGAG R: GACGTCGTA CTAGCAGACGC	(CCG) ₆	101
BS10	F: AACTGCCAACAACAATCCGG R: AGTCGCAGTCGCAGATGTC	(AAC) ₅	111

表 4 大叶醉鱼草引物信息

Table 4 Microsatellite information of *B. davidii*

引物编号 Primer number	引物序列 Primer sequences	重复单元 Repeat motif	产物长度/bp Size range/bp
Bud04	F: GCTATTCATGGTAATTGAGTGAGG R: ATTGACGCCCTCCTCTACCTG	(GATA) ₇	145
Bud09	F: GCTCAACTGTCAGTACGTTGC R: CTCCTGCACTTCAGATTGTTTAC	(CT) ₂₁	164
Bud10	F: TCCCTCTCATATTGGGATAACA R: GCATTTGGAACCGTTAAAGC	(CT) ₂₆ T(CT) ₄	183
Bud12	F: ACATCCCTACCCGTGATAGTAG R: TTTTCGCTGTTTGTCCACTTAC	(GA) ₁₉	143
Bud03	F: GCATGCGCTGACATTTTTC R: GTCTTCTCGACCCATGTGC	(TATC) ₈ (TA) ₅	111
Bud06	F: CGTCACATGTCGTTTCGTTAGG R: TTCCGTTATTCCCATTGTCC	(CT) ₂₀ CATA(CA) ₆	199
Bud13	F: CCTAACTGCGAATTGTATAGTTTCC R: TCTGATGCAGTCAGGTTTGC	(CT) ₁₄	110
Bud14	F: CAAAACCAATGCCCAAAGAG R: AGCTTAGGAGTCCCCACAC	(GA) ₁₉	181

物,以提取后的样品 DNA 为模板,利用选取的引物序列进行 PCR 扩增。

PCR 扩增反应体系总体积 25 μL ,包括 DNA 模板 1.0 μL 、正向和反向引物各 0.5 μL 、10 \times PCR Buffer (含 2.0 μL MgCl_2) 2.5 μL 、10 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ dNTP 溶液 0.5 μL 、5 $\text{U} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ Taq 聚合酶 0.2 μL 、用无菌水补足至 25 μL 。PCR 反应扩增程序:95 $^{\circ}\text{C}$

预变性 3 min;之后分两个阶段,第一阶段 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s,60 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s,10 次循环;第二阶段 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s,55 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s,20 次循环;最后于 72 $^{\circ}\text{C}$ 修复延伸 6 min。扩增后的 PCR 产物使用 ABI PRISM 3730 XL(美国 ABI 公司)进行毛细管电泳测定片段长度。电泳结果通过软件 GeneMarker 2.2.0 读取每个扩增片段的长度,记

录等位基因用于后续分析。

1.2.2 数据分析

由于本研究的两个物种均为四倍体,多倍体的遗传变异具有多方面的复杂性,多个等位基因和复杂的分离模式会造成遗传数据分析结果产生偏差,选择适合的多倍体遗传数据分析方法可以避免或减少多倍化带来的偏差^[26]。

本研究采用多倍体分析软件 GenoDive 3.06^[27]和 Polygene 1.6^[28]对两个物种的遗传数据进行分析,这两个软件同时考虑了基因型歧义和双倍减少,降低了多倍化可能造成的误差。利用 GenoDive 3.06 和 Polygene 1.6 软件计算两个物种各居群等位基因数(N_a)、有效等位基因数(N_e)、观测杂合度(H_o)、期望杂合度(H_e)、多态信息指数(PIC)等遗传多样性参数;通过 Polygene 1.6 软件进行分子方差分析(Analysis of Molecular Variance, AMOVA),并计算居群间遗传分化系数(F_{ST});基于 Nei's 遗传距离进行主成分分析(PCoA);对各居群遗传关系构建非加权组平均法(Unweighted Pair Group Mean Analysis, UPGMA)聚类树,反映居群间遗传关系;并构建地理距离和遗传距离矩阵,采用 R 语言中的 ade4 包进行 Mantel 检验,分析群体遗传距离与地理距离的相关性。

通过软件 Structure 2.3.4 对来自不同居群的个体进行遗传结构分析,Structure 分析适用于多倍体,当参数 recessivealleles 被设置为 1 时,计算将忽略输入文件中所有等位基因的剂量信息,减少多倍体数据带来的误差^[26]。依据居群数量设置运行参数,设置无柄醉鱼草 K 值为 1-5,大叶醉鱼草 K 值为 1-14,每个 K 值重复运算 20 次,马尔科夫链蒙特卡罗(MCMC)重复 200 000 次后进行 100 000 次 burn-in。利用在线软件 Structure Harvester (https://taylor0.biology.ucla.edu/struct_harvest/)根据最大似然值 ΔK 的最大 $\ln P(D)$ 值确定最佳聚类分组^[29],

表 5 无柄醉鱼草和大叶醉鱼草位点遗传多样性指数

Table 5 Index of genetic diversity for loci of *B. sessilifolia* and *B. davidii*

物种 Species	位点 Locus	等位基因数 N_a	有效等位基因数 N_e	观测杂合度 H_o	期望杂合度 H_e	Shannon's 多样性指数 I	多态信息指数 PIC
<i>B. sessilifolia</i>	BS01	13	3.3	0.658	0.693	1.590	0.657
	BS02	9	2.1	0.547	0.518	0.889	0.425
	BS03	6	3.7	0.689	0.730	1.410	0.686
	BS04	12	3.6	0.696	0.725	1.515	0.678
	BS05	9	3.8	0.683	0.738	1.548	0.698
	BS06	7	2.8	0.585	0.640	1.205	0.584

然后通过在线软件 Pophelper 2.3.1 (<http://pophelper.com/>)绘制群体结构分析图^[30]。

2 结果与分析

2.1 遗传多样性分析

各位点遗传多样性指数见表 5。无柄醉鱼草在 10 个位点上共检测到 102 个等位基因,大叶醉鱼草在 8 个位点上共检测到 109 个等位基因。无柄醉鱼草在各位点上观测杂合度、期望杂合度、Shannon's 多样性指数分别为 0.503-0.696、0.518-0.780、0.889-1.751,平均值分别为 0.621、0.663、1.332;大叶醉鱼草分别为 0.730-0.993、0.761-0.893、1.485-2.375,平均值分别为 0.820、0.824、1.983。无柄醉鱼草 10 个位点中,高度多态性位点($PIC > 0.50$)有 8 个,中度多态性位点($0.25 < PIC < 0.50$)有 2 个;大叶醉鱼草 8 个位点均为高度多态性位点,表明这两个物种的引物都呈现出较高的多态性,能提供可靠的遗传信息。

无柄醉鱼草 5 个居群和大叶醉鱼草 14 个居群的遗传多样性指数见表 6。无柄醉鱼草观测杂合度、期望杂合度、Shannon's 多样性指数分别为 0.578(K)-0.654(D)、0.564(K)-0.648(S)、0.991(K)-1.258(S),平均值分别为 0.614、0.606、1.162;大叶醉鱼草分别为 0.795(WDS)-0.847(ZJJ)、0.749(SQ)-0.798(ZJJ)、1.612(SNJ)-1.800(LH),平均值分别为 0.819、0.775、1.729。

综上,无柄醉鱼草和大叶醉鱼草在居群水平上具有较高的遗传多样性,且大叶醉鱼草高于无柄醉鱼草。两个物种各居群遗传参数变化不大,遗传多样性水平相似。无柄醉鱼草所有居群近交系数均大于零(表 6),群体中存在杂合子缺失现象,近交程度较高;相反大叶醉鱼草所有居群近交系数均小于零(表 6),群体中杂合子过剩,异交程度较高。

续表

Continued table

物种 Species	位点 Locus	等位基因数 N_a	有效等位基因数 N_e	观测杂合度 H_o	期望杂合度 H_e	Shannon's 多样性指数 I	多态信息指数 PIC
	BS07	12	2.4	0.546	0.583	1.084	0.508
	BS08	16	2.3	0.503	0.564	1.055	0.472
	BS09	10	4.5	0.647	0.780	1.751	0.755
	BS10	8	2.9	0.661	0.655	1.276	0.597
Mean (S. E.)		10.200(0.914)	3.140(0.231)	0.621(0.021)	0.663(0.026)	1.332(0.083)	0.606(0.033)
<i>B. davidii</i>	Bud04	17	6.4	0.783	0.844	2.137	0.828
	Bud09	12	4.7	0.735	0.788	1.720	0.757
	Bud10	13	7.2	0.803	0.861	2.181	0.847
	Bud12	21	7.4	0.886	0.865	2.238	0.851
	Bud03	14	5.3	0.758	0.811	1.934	0.787
	Bud06	10	4.3	0.730	0.769	1.798	0.747
	Bud13	15	9.3	0.874	0.893	2.375	0.883
	Bud14	7	4.2	0.993	0.761	1.485	0.718
Mean (S. E.)		13.600(1.414)	6.100(0.595)	0.820(0.030)	0.824(0.016)	1.983(0.100)	0.802(0.019)

表 6 无柄醉鱼草和大叶醉鱼草各居群遗传多样性指数

Table 6 Genetic diversity indexes of populations of *B. sessilifolia* and *B. davidii*

物种 Species	居群 Population	等位基因数 N_a	有效等位 基因数 N_e	私有等位 基因数 N_p	观测杂 合度 H_o	期望杂 合度 H_e	Shannon's 多样性指数 I	多态信息 指数 PIC	近交系数 F_{is}
<i>B. sessilifolia</i>	D	6.7	3.1	0.8	0.654	0.645	1.245	0.584	0.085
	M	7.1	2.9	1.3	0.603	0.605	1.211	0.555	0.309
	S	6.8	3.2	1.0	0.652	0.648	1.258	0.586	0.148
	F	5.4	2.8	0.2	0.582	0.571	1.104	0.522	0.099
	K	4.3	2.6	0.2	0.578	0.564	0.991	0.496	0.198
Mean (S. E.)		6.060 (0.472)	2.900 (0.095)	0.700 (0.196)	0.614 (0.015)	0.606 (0.016)	1.162 (0.045)	0.548 (0.016)	0.168 (0.036)
<i>B. davidii</i>	ZT	7.6	4.7	0.0	0.833	0.766	1.661	0.733	-0.089
	GG	8.9	5.1	0.1	0.843	0.785	1.725	0.751	-0.078
	DJ	9.3	4.8	0.3	0.804	0.769	1.757	0.742	-0.047
	SZ	7.5	4.7	0.0	0.831	0.766	1.640	0.729	-0.089
	ES	9.5	4.8	0.1	0.816	0.774	1.745	0.745	-0.053
	GZ	8.4	5.2	0.0	0.829	0.788	1.776	0.761	-0.054
	SNJ	7.5	4.5	0.0	0.814	0.755	1.612	0.717	-0.083
	WDS	8.5	4.6	0.3	0.795	0.757	1.694	0.728	-0.050
	WG	7.5	4.9	0.0	0.804	0.769	1.656	0.733	-0.047
	ZJJ	8.1	5.2	0.0	0.847	0.798	1.792	0.771	-0.062
	ZY	8.8	4.9	0.0	0.804	0.765	1.742	0.739	-0.052
	LH	8.9	5.1	0.1	0.820	0.788	1.800	0.760	-0.043
	TBS	8.8	4.6	0.9	0.814	0.769	1.713	0.739	-0.059
	SQ	8.0	4.7	0.4	0.806	0.749	1.637	0.715	-0.078
Mean (S. E.)		8.720 (0.177)	4.930 (0.060)	0.200 (0.065)	0.819 (0.004)	0.775 (0.004)	1.729 (0.016)	0.744 (0.004)	-0.059 (0.004)

2.2 遗传结构分析

2.2.1 分子方差分析

通过分子方差分析研究两个物种的遗传变异情况, 结果见表7。无柄醉鱼草5个居群中95.684%的遗传变异来自居群内部, 4.316%的遗传变异来自居群间, 居群间遗传分化系数(F_{ST})为0.043; 大叶醉鱼草

表7 无柄醉鱼草和大叶醉鱼草分子方差分析结果

Table 7 Results of analysis of molecular variance of *B. sessilifolia* and *B. davidii*

物种 Species	变异来源 Source of variation	自由度 <i>df</i>	方差和 SS	变异分组 Variation grouping	占变异百分比/% Percentage of variation/%	遗传分化系数 F_{ST}
<i>B. sessilifolia</i>	Among populations	4	71.69	0.015	4.316	0.043
	Within populations	125	1 547.33	0.329	95.684	
<i>B. davidii</i>	Among populations	13	130.30	0.010	2.362	0.024
	Within populations	205	2 648.21	0.415	97.639	

2.2.2 Mantel 检验

对无柄醉鱼草和大叶醉鱼草居群进行 Mantel 检验, 检测地理距离与遗传距离之间的相关性, 分析结果见图2。结果显示, 无柄醉鱼草 $P=0.875>0.05$, 表明无柄醉鱼草各居群间的遗传距离与地理距离不

具有相关性, 遗传分化不遵循距离隔离模式; 大叶醉鱼草 $P=0.0001<0.05$, 表明各居群间的遗传距离与地理距离间存在相关性, 地理距离对大叶醉鱼草各居群间的遗传分化具有较强的塑造作用。

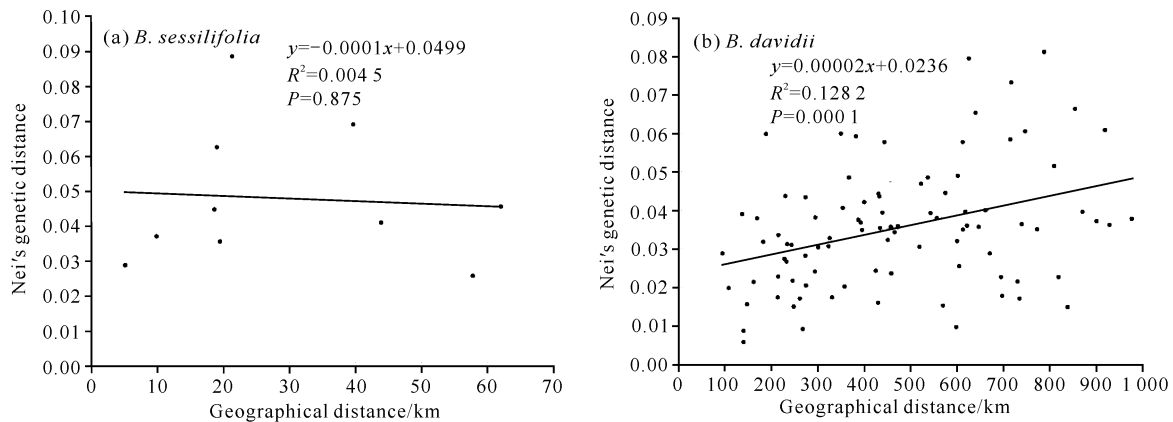


图2 无柄醉鱼草和大叶醉鱼草遗传距离与地理距离相关性检验

Fig. 2 Correlation test of *B. sessilifolia* and *B. davidii* between genetic distance and geographical distance

2.2.3 UPGMA 聚类树

基于 Nei's 遗传距离对无柄醉鱼草的5个居群和大叶醉鱼草的14个居群构建 UPGMA 聚类树进行聚类分析, 结果如图3所示。无柄醉鱼草被分为2支, 居群D和M聚为一支(Clade I), 居群S、F和K聚为另一支(Clade II); 大叶醉鱼草的14个居群可分为3支, 居群ZT、GG、SZ、ES、SNJ、SQ聚为一支(Clade I), 分支中居群SQ单独为一小支, 与其他居群遗传距离相对较远; 居群DJ、GZ、ZJJ、LH、WG、ZY、WDS为一支(Clade II), 分支中居群WDS单独

为一小支, 与其他居群遗传距离相对较远; 剩余的居群TBS单独为一支(Clade III)。

2.2.4 主坐标分析

通过主坐标分析两个物种的群体间遗传关系, 分析结果见图4。无柄醉鱼草126个个体中, 主坐标1和主坐标2的贡献率分别为15.35%和24.74%; 大叶醉鱼草206个个体中, 主坐标1和主坐标2的贡献率分别为9.18%和15.58%。两个物种的PCoA结果与UPGMA聚类树分支基本一致。

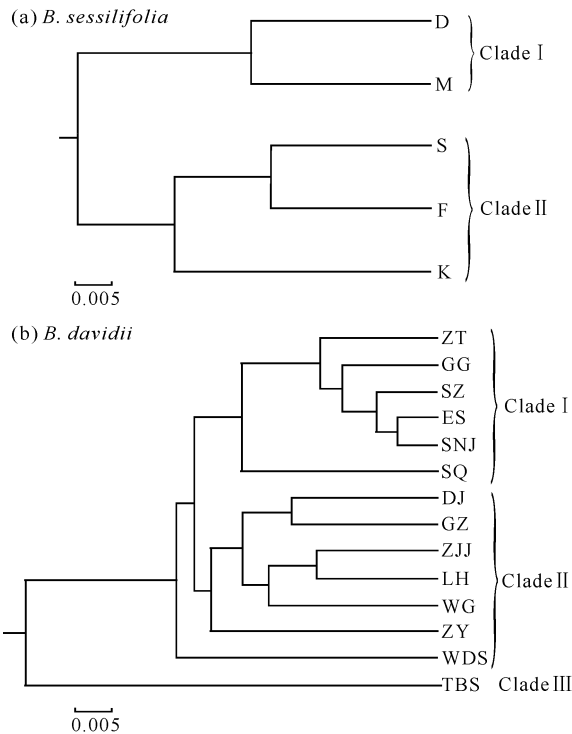


图3 无柄醉鱼草和大叶醉鱼草 UPGMA 聚类树分析
Fig. 3 UPGMA clustering tree analysis of *B. sessilifolia* and *B. davidii*

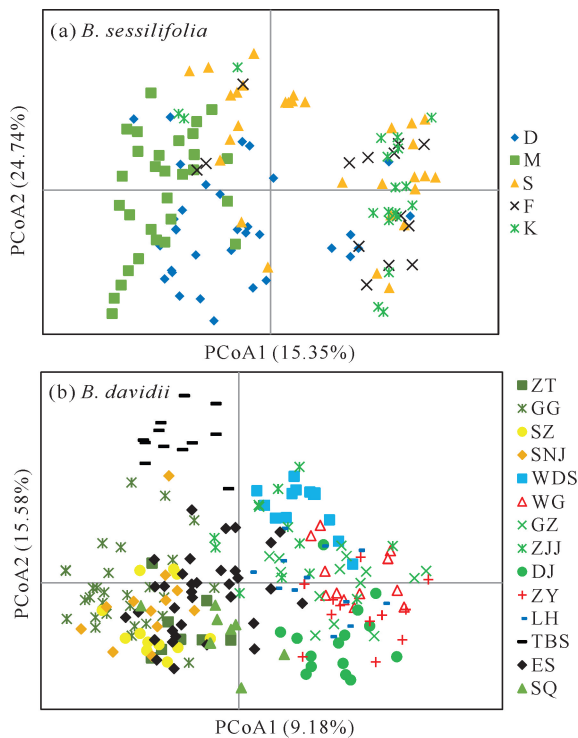


图4 无柄醉鱼草和大叶醉鱼草主坐标分析
Fig. 4 PCoA of *B. sessilifolia* and *B. davidii*

2.2.5 Structure 聚类分析

采用 Structure 分析无柄醉鱼草 5 个居群与大叶醉鱼草 14 个居群的遗传结构,结果如图 5 所示。根

据 Evanno 等^[31] 的评判标准,即通过 ΔK 来确定最佳 K 值。无柄醉鱼草居群的最佳 K 值为 2,大叶醉鱼草的最佳 K 值为 3。无柄醉鱼草 5 个居群被归为 2 个起源类群(基因库),居群 D 和 M 组成一个分组,居群 F 和 K 组成另一个分组,居群 S 位于中间,混杂了两个基因库组成的个体。大叶醉鱼草 14 个居群被归为 3 个起源类群(基因库),居群 ZT、GG、SZ、SNJ、ES、SQ 被分为一组,居群 DJ、WG、ZY、LH、GZ、ZJJ 被分为另外一组,居群 WDS、TBS 为一个分组,每个居群都存在 3 种基因库不同程度的相互渗透。两个物种的 Structure 分析结果与 UPGMA 聚类分析、PCoA 结果基本一致,相互印证。

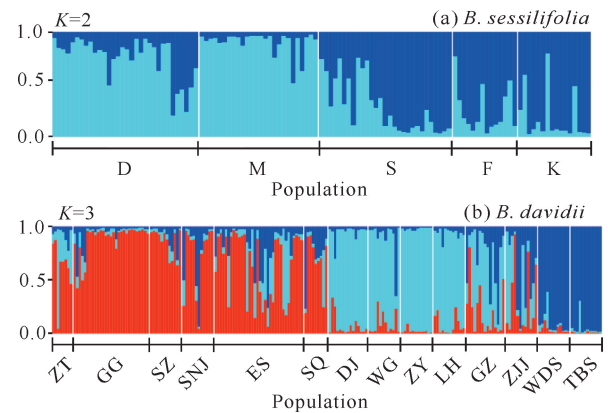


图5 无柄醉鱼草和大叶醉鱼草 Structure 分析

Fig. 5 Structure analysis of *B. sessilifolia* and *B. davidii*

3 讨论

3.1 无柄醉鱼草与大叶醉鱼草的遗传多样性

遗传多样性是物种进化潜力和适应环境变化能力的内在体现,比较分布狭窄的濒危物种与分布广泛的近缘种的遗传多样性,有助于了解濒危物种在演化历史和关键生活史中可能面临的挑战,以及其适应性和生存能力的变化。这对于揭示濒危物种的遗传特征、演化历史有重要意义,并可为制定濒危物种保护策略提供理论依据^[21,24]。遗传多样性参数 H_e 和 I 是衡量遗传多样性水平的重要指标。与醉鱼草属二倍体物种如互叶醉鱼草 (*B. alternifolia*, $H_e = 0.380$, $I = 0.691$)、皱叶醉鱼草 (*B. crispa*, $H_e = 0.551$, $I = 1.085$) 和互对醉鱼草 (*B. wardii*, $H_e = 0.513$, $I = 0.951$) 相比^[32],本研究中无柄醉鱼草 ($H_e = 0.606$, $I = 1.162$) 和大叶醉鱼草 ($H_e = 0.775$, $I = 1.729$) 的遗传多样性水平更高。与 Nybom^[23] 报道的通过 SSR 分子标记评估的地区特有种 ($H_e = 0.42$) 和狭域分布种 ($H_e = 0.56$) 相比,本研究中无柄

醉鱼草遗传多样性水平更高,接近区域分布种($He=0.65$)和广泛分布种($He=0.62$)的平均水平,而广布种大叶醉鱼草的遗传多样性平均水平($He=0.78$)高于广泛分布种($He=0.62$)。本研究中两个物种都维持了较高的遗传多样性水平,可能与其多倍体属性有关,多倍体中基因数量整倍增加,具有更多的基因副本,这意味着在进化过程中可以积累更多的突变和遗传变异,相较于二倍体,近缘物种通常表现出更高水平的杂合度^[33,34]。高水平的遗传变异赋予了物种更高的灵活性,也缓冲了居群因遗传漂变造成的遗传侵蚀^[35]。

本研究中两个醉鱼草属物种都维持了较高的遗传多样性水平,但广布种大叶醉鱼草在物种水平和居群水平的遗传多样性均高于狭域种无柄醉鱼草,这一结果验证了广泛分布的物种比狭域分布的近缘种具有更高水平的遗传多样性的普遍观点^[20]。物种的遗传多样性受到多种内外因素的影响,理论上认为小种群、分布范围狭窄的物种中,遗传漂变会成为主要的进化力量,遗传漂变可能会造成一些等位基因的丢失或固定,导致居群内遗传多样性减少和杂合性降低;而有害基因的固定则加剧了居群的脆弱性,进而降低物种适应性和遗传多样性水平^[18]。近年来由于多种因素干扰,无柄醉鱼草多个居群植株数量持续减少,可能会导致其遗传多样性进一步丧失,从而降低该物种适应环境变化的潜力,加剧灭绝风险。因此,为实现该物种长期生存的目标,需尽快采取有效的保护措施。广布种的生存环境差异大、适应性幅度更广、居群间基因交流频繁、种群间分化小,能更好地维持遗传变异,也更可能产生新变异^[21],这可能是无柄醉鱼草遗传多样性水平低于大叶醉鱼草的原因之一。物种的遗传多样性水平不仅受地理分布范围和居群大小等因素影响,还与物种的交配系统特征有关^[36]。通常认为异交物种比自交物种具有更高的遗传多样性,自交会增加居群内的纯合性,造成遗传变异丧失,遗传多样性锐减;近交会降低后代适应能力下降,即表现为近交衰退,且小种群会加剧近亲繁殖^[37]。传粉生物学研究表明,无柄醉鱼草的交配系统是以异交为主的兼性自交^[16],大叶醉鱼草为异交^[26]。本研究中无柄醉鱼草所有居群的近交系数均大于零,表明每个居群都存在自交或近交现象;而大叶醉鱼草所有居群的近交系数均小于零,表明异交程度较高,符合两个物种的交配系统特征。交配系统由异交向自交的转变会降低物种的遗传多样性水平^[38],交配系统上

的差异也可能是造成无柄醉鱼草遗传多样性水平低于大叶醉鱼草的原因之一。

3.2 无柄醉鱼草与大叶醉鱼草的遗传结构

物种的遗传结构是遗传变异在群体内、群体间的分布以及在时间上的变化。本研究通过UPGMA聚类、PCoA和Structure分析对无柄醉鱼草和大叶醉鱼草进行遗传结构解析,3种方法得到的结果基本一致。

遗传分化指数(F_{ST})通常用于评价群体间的遗传分化程度,当 $F_{ST} \geq 0.25$ 时,群体遗传分化程度极高;当 $0.15 \leq F_{ST} < 0.25$ 时,遗传分化程度高;当 $0.05 \leq F_{ST} < 0.15$ 时,遗传分化程度中等;当 $0 < F_{ST} < 0.05$ 时,遗传分化程度低^[39]。本研究中,无柄醉鱼草遗传分化指数为0.043,大叶醉鱼草为0.024,表明两个物种居群间遗传分化程度均较低。造成该现象的原因可能与两个物种的多倍体属性有关:遗传分化的主要因素——遗传突变和基因迁移在多倍体中的影响更弱,基因迁移会携带更多的基因拷贝数量,导致居群间的同质化程度更高,从而降低多倍体的 F_{ST} 值,使遗传分化程度低于二倍体^[26,40]。本研究还发现狭域种无柄醉鱼草相对广布种大叶醉鱼草具有较高的分化程度。物种的遗传结构受到基因流、突变、选择和遗传漂变等多种因素的共同影响,其中基因流起重要作用^[41],植物居群内和居群间的基因流主要依靠花粉扩散和种子传播,无柄醉鱼草交配系统为以异交为主的兼性自交,大叶醉鱼草交配系统为异交。自交在一定程度上限制了种群间的花粉流动,导致自交物种的遗传分化大于异交物种^[20,23]。此外,无柄醉鱼草由于分布区狭窄,生境破碎化以及分布区高海拔多雨的气候条件造成了传粉者限制,其主要传粉昆虫白背熊蜂(*Bombus festivus*)的访问多发生于同株异花之间(占比98%)^[16],跨居群间基因流较弱;大叶醉鱼草的传粉者更为丰富,多为鳞翅目(Lepidoptera)且能长距离飞行的蝶类^[42,43],居群间基因交流相对更强。同时,无柄醉鱼草存在种子取食者,果实被蛾类幼虫寄生严重,被寄生的果实种子减产近一半,寄生还改变了果实裂开的拓扑结构,影响残存种子的传播^[16];大叶醉鱼草单株花序量大,果实众多,种子结实量巨大,尘埃型种子借助风和水流传播,种子具长翅,更易于远距离传播,且具有强适应性^[42]。综上,无柄醉鱼草花粉流和种子流受到多重限制,这可能是导致无柄醉鱼草居群间遗传分化程度高于大叶醉鱼草的原因之一。

3.3 无柄醉鱼草保护建议

本研究结果表明濒危物种无柄醉鱼草野外居群数量稀少,遗传多样性水平低于广布种大叶醉鱼草,居群间分化程度较低。无柄醉鱼草 5 个居群中,居群 D、M、S 遗传多样性较高且是现存植株数量较多的居群,拥有丰富的特有等位基因,遗传结构分析中居群 M 和 D 被分为一组,且距居群 S 较近,这 3 个居群遗传差异较小,可作为一个遗传单元,建议将居群 D、M、S 划分为保护单元 1;由于居群 F 和 K 地理距离相隔较远,建议各自划分为一个保护单元,即保护单元 2、3。保护单元 1 中,居群 M 在缅甸境内,居群 S 较大且受干扰程度低,而居群 D 近年来因修路遭严重破坏,植株数量大幅下降,建议重点保护;保护单元 2 中居群 K 也因修路受到严重破坏,残余植株极少,建议重点保护。由于无柄醉鱼草遗传多样性水平相对较高,遗传变异主要存在于居群内部,并且该物种对生境要求较为严苛,对活体植株直接进行迁地保护存在较大困难,因此建议对该物种优先实施就地保护,加强对现有居群的保护。

无柄醉鱼草分布于我国的居群均位于自然保护区内,建议与保护区合作,划定保护范围,减少在划定范围内的人为活动干扰。对于居群中潜在可能受塌方、泥石流等自然灾害影响的植株,在现有分布点附近选择较为安全的相似生境建立近地保护点,尽快将植株移栽至安全区域。同时应加强宣传教育,提高当地居民对该物种的保护意识和关注度。该物种的迁地保护建议以种质资源(种子、花粉)收集和保存为主,考虑到无柄醉鱼草居群内个体间的遗传变异较高,收集应尽可能覆盖所有居群,对居群内的每个个体进行收集,保证最大程度地保存该物种居群间的遗传变异,选择遗传多样性高的居群(如居群 D、M、S)收集种子,开展种子萌发、育苗组织培养以及扦插等人工扩繁相关技术研究,培育后代于原居群内开展回归,扩大现有居群的数量和规模。

4 结论

本研究对无柄醉鱼草 5 个野外居群遗传多样性进行研究,与同倍性的近缘广布种大叶醉鱼草相比,无柄醉鱼草遗传多样性较低,且其生活史多个环节存在障碍,限制了其花粉流和种子流,进而导致无柄醉鱼草遗传分化程度高于大叶醉鱼草。而人为干扰和自然灾害导致无柄醉鱼草植株数量持续下降,可能会进一步引发遗传多样性丧失,从而加剧其灭绝风险,

无柄醉鱼草的抢救性保护刻不容缓。建议将无柄醉鱼草 5 个居群划分为 3 个保护单元,重点对丹珠和独龙江隧道口居群开展就地保护等工作。考虑到无柄醉鱼草繁殖过程存在一定的限制,在今后的研究中应考虑如何通过遗传拯救重建该种的传粉网络,进而打破花粉流限制。另外,无柄醉鱼草遗传多样性水平接近广布种平均水平,不符合传统的狭窄分布的小种群物种遗传变异水平低的假设,鉴于多倍体植物遗传多样性水平普遍较高,而多数遗传多样性研究主要针对二倍体植物,因此今后在研究多倍体遗传多样性水平时建议与同倍性的物种进行比较。

致谢

感谢中国科学院昆明植物研究所孙卫邦研究员对本研究的大力支持,感谢李迎春、陶丽丹、魏薇、李云猛、蔡杰、郭永杰、亚吉东(中国科学院昆明植物研究所)、徐昊(秦岭国家植物园)、公维昌(曲阜师范大学)、张鑫(云南林业职业技术学院)、肖永福(贡山县民政局)、熊云、和毅(高黎贡山国家级自然保护区贡山管护分局)等人协助样品采集,感谢杨丰懋、肖斯悦(中国科学院昆明植物研究所)对本研究分析方法的建议。

参考文献

- [1] CHAU J H, O'LEARY N, SUN W B, et al. Phylogenetic relationships in tribe Buddlejaceae (Scrophulariaceae) based on multiple nuclear and plastid markers [J]. Botanical Journal of the Linnean Society, 2017, 184 (2): 137-166.
- [2] HOUGHTON P J. Ethnopharmacology of some *Buddleja* species [J]. Journal of Ethnopharmacology, 1984, 11(3):293-308.
- [3] 李秉滔. 中国植物志:第 61 卷[M]. 北京:科学出版社, 1992.
- [4] TALLENT-HALSELL N G, WATT M S. The invasive *Buddleja davidii* (butterfly bush) [J]. The Botanical Review, 2009, 75(3):292-325.
- [5] STUART D D. *Buddlejas* [M]. Portland: Timber Press, 2006.
- [6] 张虎翼, 潘竞先, 陈雅妍. 醉鱼草属植物化学成分及生物活性研究进展 [J]. 国外医药(植物药分册), 1995, 10(5):195-201.
- [7] CHEN G, SUN W B, SUN H. Ploidy variation in *Buddleja* L. (Buddlejaceae) in the Sino-Himalayan region and its biogeographical implications [J]. Botanical Journal of the Linnean Society, 2007, 154(3):305-312.

- [8] YANG F M, GE J, GUO Y J, et al. Deciphering complex reticulate evolution of Asian *Buddleja* (Scrophulariaceae): insights into the taxonomy and speciation of polyploid taxa in the Sino-Himalayan region [J]. *Annals of Botany*, 2023, 132(1): 15-28.
- [9] WU S D, WANG Y, WANG Z F, et al. Species divergence with gene flow and hybrid speciation on the Qinghai - Tibet Plateau [J]. *New Phytologist*, 2022, 234(2): 392-404.
- [10] GASPERINI C, CARRARI E, SELVI F. Invasion of riparian habitats by *Buddleja davidii*: a case study from the Northern Apennines [J]. *Annali Di Botanica*, 2020, 10: 21-32.
- [11] IUCN. The IUCN red list of threatened species [Z/OL]. (2018-01-01) [2023-08-10]. <https://www.iucnredlist.org/search?query=Buddleja&searchType=species>.
- [12] 覃海宁, 杨永, 董仕勇, 等. 中国高等植物受威胁物种名录[J]. *生物多样性*, 2017, 25(7): 696-744.
- [13] 孙卫邦. 云南省极小种群野生植物保护名录: 2021版[M]. 昆明: 云南科技出版社, 2021.
- [14] GE J, CAI L, BI G Q, et al. Characterization of the complete chloroplast genomes of *Buddleja colvilei* and *B. sessilifolia*: implications for the taxonomy of *Buddleja* L. [J]. *Molecules*, 2018, 23(6): 1248.
- [15] 云南林业和草原局. 云南省极小种群野生植物保护名录(2022年版)[Z/OL]. (2023-01-13) [2023-08-10]. https://lcy.yn.gov.cn/html/2023/zdlyxxgkqt_0113/67989.html.
- [16] 葛佳. 无柄醉鱼草分类界定及保护生物学研究[D]. 北京: 中国科学院大学, 2018.
- [17] SUPPLE M A, SHAPIRO B. Conservation of biodiversity in the genomics era [J]. *Genome Biology*, 2018, 19(1): 131.
- [18] RALLS K, BALLOU J D, DUDASH M R, et al. Call for a paradigm shift in the genetic management of fragmented populations [J]. *Conservation Letters*, 2018, 11(2): e12412.
- [19] GITZENDANNER M A, SOLTIS P S. Patterns of genetic variation in rare and widespread plant congeners [J]. *American Journal of Botany*, 2000, 87(6): 783-792.
- [20] HAMRICK J L, GODT M J W. Allozyme diversity in plant species [M]//BROWN H D, CLEGG M T, KAHLER A L(eds). *Plant population genetics, breeding, and genetic resources*. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates Inc, 1989.
- [21] GE S, WANG K Q, HONG D Y, et al. Comparisons of genetic diversity in the endangered *Adenophora lobophylla* and its widespread congener, *A. potaninii* [J]. *Conservation Biology*, 1999, 13(3): 509-513.
- [22] SILVA G A R, KHAN G, RIBEIRO-SILVA S, et al. Extreme genetic structure in a relict cactus genus from *campo rupestre* landscapes: implications for conservation [J]. *Biodiversity and Conservation*, 2020, 29(4): 1263-1281.
- [23] NYBOM H. Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants [J]. *Molecular Ecology*, 2004, 13(5): 1143-1155.
- [24] HE T H, RAO G Y, YOU R L, et al. Genetic diversity of widespread *Ophiopogon intermedius* (Liliaceae s. l.): a comparison with endangered *O. xyloorrhizus* [J]. *Biological Conservation*, 2000, 96(2): 253-257.
- [25] SCHREITER S, EBELING S K, DURKA W. Polymorphic microsatellite markers in the invasive shrub *Buddleja davidii* (Scrophulariaceae) [J]. *American Journal of Botany*, 2011, 98(2): e39-e40.
- [26] CHEN G, SUN H, SUN W B, et al. *Buddleja davidii* and *Buddleja yunnanensis*: exploring features associated with commonness and rarity in *Buddleja* [J]. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 2011, 206(10): 892-895.
- [27] MEIRMANS P G. Genodive version 3.0: easy-to-use software for the analysis of genetic data of diploids and polyploids [J]. *Molecular Ecology Resources*, 2020, 20(4): 1126-1131.
- [28] HUANG K, DUNN D W, RITLAND K, et al. Polygene: population genetics analyses for autopolyploids based on allelic phenotypes [J]. *Methods in Ecology and Evolution*, 2020, 11(3): 448-456.
- [29] EARL D A, VONHOLDT B M. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method [J]. *Conservation Genetics Resources*, 2012, 4(2): 359-361.
- [30] FRANCIS R M. Pophelper: an R package and web app to analyse and visualize population structure [J]. *Molecular Ecology Resources*, 2017, 17(1): 27-32.
- [31] EVANNO G, REGNAUT S, GOUDET J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study [J]. *Molecular Ecology*, 2005, 14(8): 2611-2620.
- [32] 廖荣丽. 互对醉鱼草的自然杂交起源与历史变迁研究[D]. 北京: 中国科学院大学(中国科学院昆明植物研究

- 所), 2020.
- [33] ABBOTT R J, BROCHMANN C. History and evolution of the Arctic flora; in the footsteps of Eric Hultén [J]. *Molecular Ecology*, 2003, 12(2): 299-313.
- [34] LUTTIKHUIZEN P C, STIFT M, KUPERUS P, et al. Genetic diversity in diploid vs. tetraploid *Rorippa amphibia* (Brassicaceae) [J]. *Molecular Ecology*, 2007, 16(17): 3544-3553.
- [35] BROCHMANN C, BRYSTING A K, ALSOS I G, et al. Polyploidy in Arctic plants [J]. *Biological Journal of the Linnean Society*, 2004, 82(4): 521-536.
- [36] FRANKHAM R, RALLS K. Conservation biology: inbreeding leads to extinction [J]. *Nature*, 1998, 392: 441-442.
- [37] FRANKHAM R, BRADSHAW C J A, BROOK B W. Genetics in conservation management: revised recommendations for the 50/500 rules, red list criteria and population viability analyses [J]. *Biological Conservation*, 2014, 170: 56-63.
- [38] CHARLESWORTH B. Effective population size and patterns of molecular evolution and variation [J]. *Nature Reviews Genetics*, 2009, 10(3): 195-205.
- [39] WRIGHT S. Evolution and the genetics of populations, volume 3: experimental results and evolutionary deductions [M]. Chicago: University of Chicago Press, 1984.
- [40] MEIRMANS P G, VAN TIENDEREN P H. The effects of inheritance in tetraploids on genetic diversity and population divergence [J]. *Heredity*, 2013, 110(2): 131-137.
- [41] ORSINI L, VANOVERBEKE J, SWILLEN I, et al. Drivers of population genetic differentiation in the wild: isolation by dispersal limitation, isolation by adaptation and isolation by colonization [J]. *Molecular Ecology*, 2013, 22(24): 5983-5999.
- [42] 陈高, 孙航, 孙卫邦. 大叶醉鱼草居群、种子萌发特征及适应性的初步研究 [J]. *武汉植物学研究*, 2007, 25(5): 527-530.
- [43] 邵长芬, 关文灵, 李得发, 等. 大叶醉鱼草访花昆虫行为与活动规律 [J]. *亚热带植物科学*, 2014, 43(3): 227-231.

Analysis of Genetic Diversity of *Buddleja sessilifolia* and *B. davidii*

WU Nuo^{1,2,3}, CHEN Gao^{1,3}, SHEN Shikang^{2,4}, GE Jia^{1,3*}

(1. CAS Key Laboratory for Plant Biodiversity and Biogeography of East Asia, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming, Yunnan, 650201, China; 2. School of Life Sciences, Yunnan University, Kunming, Yunnan, 650500, China; 3. Yunnan Key Laboratory for Integrative Conservation of Plant Species with Extremely Small Populations, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming, Yunnan, 650201, China; 4. Yunnan Key Laboratory of Plant Reproductive Adaptation and Evolutionary Ecology, School of Ecology and Environmental Science, Yunnan University, Kunming, Yunnan, 650500, China)

Abstract: *Buddleja sessilifolia* is a narrowly distributed Plant Species with Extremely Small Populations (PSESP), whereas *B. davidii* a widely distributed species, are closely related with *B. sessilifolia*, and both are tetraploids. By comparing the genetic diversity of an endangered species with narrow distribution to their widely distributed relatives can lay a theoretical basis for conservation strategies. Genetic data can uncover crucial insights into the evolutionary history of the threatened species. In this study, we analyzed the genetic diversity and genetic structure of 5 populations (126 individuals) of *B. sessilifolia* and 14 populations (206 individuals) of *B. davidii* using Simple Sequence Repeats (SSR) molecular markers, and provide recommendations for the conservation management of *B. sessilifolia*. Our results demonstrated that: the expected heterozygosity (H_e) of *B. sessilifolia* and *B. davidii* average value were 0.606 and 0.775, respectively, and

Shannon's diversity index (I) for *B. sessilifolia* and *B. davidii* average value were 1.162 and 1.729, respectively. The high genetic diversity seen in both *B. sessilifolia* and *B. davidii*, but the genetic diversity of the widely distributed *B. davidii* was higher than that of the narrowly distributed *B. sessilifolia*. In both *B. sessilifolia* and *B. davidii*, low levels of genetic differentiation were found between their populations, with genetic differentiation coefficients (F_{ST}) of 0.043 and 0.024, respectively. Genetic structure analysis revealed that the 5 populations of *B. sessilifolia* fell into two clusters. Moreover, there was no correlation between geographical and genetic distance among the populations. The 14 populations of *B. davidii* fell into three clusters, and there was a correlation between geographical distance and genetic distance among the populations. Based on the current situation of the populations in the field, we recommend that populations of *B. sessilifolia* should be divided into conservation units, with emphasis on the in situ conservation of the Gongshan, Danzhu and Gongshan, Dulongjiang Crossing populations. In addition, germplasm collection, artificial breeding, and other conservation efforts should be carried out to protect this endangered species.

Key words: genetic diversity; genetic structure; Plant Species with Extremely Small Populations (PSESP); endangered species; *Buddleja sessilifolia*; *Buddleja davidii*; conservation recommendations

责任编辑:唐淑芬



微信公众号投稿更便捷

联系电话:0771-2503923

邮箱:gxxk@gxas.cn

投稿系统网址:<http://gxxk.ijournal.cn/gxxk/ch>