

云南金花茶的遗传多样性评价和核心种质构建

张珊珊^{1,2,3} 阮孙美^{1,2,3} 杨文忠^{1,2,3*}

(1. 云南省林业和草原科学院, 昆明 650201; 2. 国家林业和草原局云南珍稀濒危森林植物保护和繁育重点实验室, 昆明 650201; 3. 云南省森林植物培育与利用重点实验室, 昆明 650201)

摘要 云南金花茶(*Camellia fascicularis*)作为国家二级重点保护植物和云南省极小种群野生植物,其种群重建与保护亟待科学指导。该研究采用Hyper-seq技术的简化基因组测序方法,对3个野生种群(马关(MG)、蒙自(MZ)和河口(HK))和2个迁地保护种群(昆明树木园(KMSMY)和文山树木园(WSSMY))共计133份云南金花茶种质开展遗传多样性评估、群体遗传结构解析及核心种质筛选。结果显示:云南金花茶遗传多样性较高,期望杂合度(H_E)平均值为0.232 6,观测杂合度(H_0)平均值为0.365 9,核苷酸多样性(P_i)平均值为0.372 5;迁地保护种群(KMSMY和WSSMY)的遗传多样性略低于MG种群,高于MZ种群和HK种群,但这2个迁地保护种群的 H_E 、 H_0 和 P_i 均未达到物种水平的90%。群体遗传结构分析表明,云南金花茶5个种群的133个个体可以分为4类,其中MG和KMSMY种群显示出较复杂的遗传结构和遗传背景。群体遗传分化显示,云南金花茶不同种群间的遗传分化程度极高($F_{st}=0.410 3$)。基于遗传距离,从133份种质中提取出27份核心种质,可有效代表云南金花茶的遗传多样性。该研究首次从基因组层面解析云南金花茶的遗传特征,为制定该濒危物种的就地保护策略、优化迁地保育方案及科学开展种群重建提供了关键理论支撑。

关键词 极小种群野生植物;云南金花茶;遗传多样性;群体遗传结构;核心种质;种群重建

中图分类号:Q346 文献标志码:A doi:10.7525/j.issn.1673-5102.2025.06.008

Genetic Diversity Evaluation and Core Germplasm Construction of *Camellia fascicularis*

ZHANG Shanshan^{1,2,3} RUAN Sunmei^{1,2,3} YANG Wenzhong^{1,2,3*}

(1. Yunnan Academy of Forestry and Grassland Sciences, Kunming 650201; 2. Key Laboratory of Conservation and Propagation of Rare, Endangered and Endemic Forest Plants in Yunnan, National Forestry and Grassland Administration, Kunming 650201; 3. Yunnan Provincial Key Laboratory of Cultivation and Utilization of Forest Plants, Kunming 650201)

Abstract *Camellia fascicularis*, as a National Class II Key Protected Plant and a wild plant with extremely small populations in Yunnan Province, scientific guidance is urgently required for its population reconstruction and conservation. In this study, simplified genome sequencing method using Hyper-seq technology was used to evaluate and analyze the genetic diversity, population genetic structure and screen core germplasm among 133 accessions collected from three wild populations (Hekou, Mengzi and Maguan) and two ex situ conservation populations (Kunming Arboretum and Wenshan Arboretum). The results revealed that genetic diversity of *C. fascicularis* was high, an average expected heterozygosity (H_E) was 0.232 6, an average observed heterozygosity (H_0) was 0.365 9, and an average nucleotide diversity (P_i) was 0.372 5. The genetic diversity of the ex-situ conservation populations (KMSMY and WSSMY) was slightly lower than that of the MG population and higher than those of the MZ and HK populations, but the H_E , H_0 and P_i values of both ex-situ conservation populations did not reach 90% of the species-level benchmark. Genetic structure analysis showed that 133 individuals from five populations were categorized into four clusters, the MG and KMSMY populations showed more complex genetic structure and backgrounds. Population genetic differentiation showed that the degree of genetic

基金项目:国家自然科学基金地区科学基金项目(31960278);云南省林业和草原科学院基金项目(MS2019-08,MS2019-09)。

第一作者简介:张珊珊(1984—),女,副研究员,主要从事濒危植物保护及开发利用研究。

* 通信作者:E-mail:wzyang2004@126.com。

收稿日期:2025年5月8日。

differentiation among populations was very high ($F_{st}=0.4103$). In conclusion, 27 core germplasms were extracted from 133 germplasms based on genetic distance, which effectively represented the genetic diversity of *C. fascicularis*. This study first analyzed the genetic characteristics of *C. fascicularis* at the genomic-level, providing crucial theoretical foundations for formulating *in situ* conservation strategies, optimizing the *ex situ* preservation protocols and implementing scientific population reconstruction for this endangered species.

Key words plant species with extremely small populations; *Camellia fascicularis*; genetic diversity; population genetic structure; core germplasm; population reconstruction

极小种群野生植物是指分布地域狭窄,长期受到外界因素干扰,呈现种群退化和数量持续减少,种群及个体数量均极少,已低于稳定存活界限的最小生存种群,随时濒临灭绝的野生植物,是最易丧失的生物资源之一,亟需开展种群重建工作^[1]。种群重建有助于避免极小种群野生植物灭绝,维护生态平衡,对我国乃至世界的生物多样性保护都具有非常重要的意义^[2]。种群重建的关键在于全面评估物种遗传多样性和深入了解其遗传背景^[3]。物种遗传多样性可以反映物种应对栖息地变化的适应性和改变能力^[4]。种群结构能够体现种群现状,并在一定程度上反映种群的发展动态^[2]。因此,研究极小种群野生植物的遗传多样性和种群结构可以了解物种生存现状,预测未来发展趋势,为开展种群重建提供科学依据。

迁地保护是指对那些在原生栖息地生存和繁殖受到严重威胁的物种进行异地管理,旨在保护物种遗传多样性的一种保护和管理策略,可为种群重建提供优质种源和繁殖技术,是种群重建的基础和前提^[5-6]。然而,通过迁地保护建立的植物园或种质苗圃,本质上是人工创建的小型孤立种群集合,种质资源收集和引进过程可能存在采样不完整、重复引种、种质资源情况不明和种植条件不佳等问题,同样会导致物种面临遗传多样性下降或灭绝的风险^[6-7]。因此,评估迁地保护种群的遗传多样性是十分必要的。

云南金花茶(*Camellia fascicularis*)为山茶科(Theaceae)山茶属(*Camellia*)金花茶组植物,又称云南显脉金花茶、簇蕊金花茶,是云南特有的极小种群植物^[8]。云南金花茶含有丰富的营养成分,属于药食两用植物,不仅具有极高的观赏价值,还具有良好的药用价值和保健功效^[9]。然而,云南金花茶野外资源极少,分布范围狭窄,仅在河口县、马关县、个旧市有少量分布;由于云南金花茶自身繁殖能力弱,且植株和栖息地遭到人为破坏,致使其濒临灭绝,现已列为云南省珍贵树种,按照世界自

然保护联盟(IUCN)评估标准,该种属于“极危种”(CR)等级^[10]。为有效保护云南金花茶,现已在昆明和文山建立了迁地保护种群,但截至目前,仅有少量基于SSR分子标记技术对云南金花茶野生种群遗传多样性进行的研究^[10],尚未对其迁地保护种群进行遗传多样性评估,迁地保护种群的遗传结构和遗传分化程度也不明确。

近年开发的分子生物学技术Hyper-seq是一种低成本、高效、灵活且高通量的DNA测序文库制备和基因分型方法,已广泛应用于物种遗传多样性分析及核心种质提取^[11]。方萍萍等^[12]利用Hyper-seq技术对64份白辣椒(*Capsicum annuum*)种质资源进行群体结构和遗传多样性分析,揭示白辣椒种质资源的遗传多样性较低与其狭窄的遗传背景有关。本研究基于Hyper-seq技术解析云南金花茶3个野生种群与2个迁地保护种群的遗传多样性及群体结构特征,并评估迁地保护策略的有效性,旨在了解该物种的遗传背景,为科学指导种群重建及制定可持续保护策略提供遗传学依据。

1 材料与方法

1.1 植物材料

分别从红河河口(HK)、红河蒙自(MZ)、文山马关(MG)、文山树木园(WSSMY)和昆明树木园(KMSMY)采集5个云南金花茶种群样本,共计133个样本(表1)。其中,WSSMY和KMSMY是迁地保护种群,HK、MZ和MG是野生种群。采集样品时选择完整无病虫害的叶片放入密封袋中,立即向密封袋中加入足量的变色硅胶,对叶片进行干燥保存,每份样品做好标记。

1.2 DNA提取、文库构建及上机测序

采用CTAB方法对133个样本进行DNA提取,使用Nanodrop和1%的琼脂糖凝胶电泳检测DNA的浓度和质量。控制DNA质量浓度在150~200 ng· μL^{-1} ,保证之后的建库效果。建库和测序

表1 样本信息与遗传多样性分析
Table 1 Sampling information and genetic diversity analysis

种群 Population	类型 Type	样本量 Sample size	期望杂合度 H_E	观测杂合度 H_O	核苷酸多样性 P_i	近交系数 F_{is}
MG	野生种群 Wild population	46	0.292 5	0.406 7	0.449 8	0.090 1
HK		2	0.142 3	0.273 4	0.270 5	-0.004 3
MZ		5	0.206 7	0.349 1	0.352 6	0.006 1
KMSMY	迁地保护种群 Ex situ population	50	0.292 4	0.443 1	0.437 5	0.005 5
WSSMY		30	0.229 4	0.357 4	0.352 0	0
物种水平 Species level		133	0.397 3	0.502 2	0.559 5	0.143 8

委托武汉贝纳科技有限公司完成。应用Hyper-seq建库,使用特定的Hyper-seq引物对DNA进行PCR扩增,扩增后选择片段大小合适的产物混样,纯化后构建测序文库。检测合格的文库,在Illumina NovaSeq 6000 测序平台上运行双端测序程序(PE150),得到150 bp的序列reads。

1.3 质量控制及SNP过滤

测序完成后,使用fastp(0.20.1;默认参数)对原始数据进行质控与过滤。使用GATK 4.1.2.0^[13]以默认参数检测单核苷酸多态性(SNP)位点。使用VCFtools 0.1.11^[14]去除具有多于2个等位基因、Phred分数低于30及群体缺失率高于5%的变异,以获得用于下游分析的高质量SNP数据。

1.4 数据处理

基于筛选后的高质量单核苷酸多态性(SNP)数据,利用Stacks 2.59软件^[15]分别计算观测杂合度(H_O)、期望杂合度(H_E)、核苷酸多样性(P_i)和近交系数(F_{is})。使用FastTree 2.1.11^[16]软件构建133个个体的系统发育树,最后利用ImageGP在线工具(<https://www.bic.ac.cn/ImageGP/>)的Phylogenetic Tree View对系统发育树进行可视化。使用Plink 1.07软件^[17]计算样品间的遗传距离,并基于遗传距离矩阵对所有种群进行主成分分析(PCA)。利用Admixture 1.3.0软件^[18]分析云南金花茶的群体结构,通过假设分群数(K)(1~10)聚类,最后根据交叉验证错误率最小值所对应的 K 来确定最佳分群数。使用VCFtools 0.1.11软件^[6]计算5个种群之间的遗传分化系数(F_{st})。

1.5 构建核心种质

先利用Plink 1.07软件^[17]计算133个云南金花茶野生种群和迁地保护种群个体的遗传距离矩阵,基于遗传距离矩阵在CoreHunter3软件^[19]中构

建核心种质,取样比例为20%。CoreHunter3构建核心种质的原理是通过优化模型,提升等位基因丰富度和遗传相异性,确保核心子集能覆盖原始群体95%以上的遗传变异。提取的核心种质利用Stacks 2.59和Plink 1.07软件分别计算核苷酸多样性和遗传距离,最后基于遗传多样性参数信息对比评价核心种质和整个种质。

2 结果与分析

2.1 遗传多样性分析

计算云南金花茶遗传多样性指数,结果显示:在物种水平上,云南金花茶遗传多样性较高($H_E=0.397 3$, $H_O=0.502 2$, $P_i=0.559 5$)(表1)。在种群水平上,云南金花茶5个种群的 H_E 为0.142 3~0.292 5,平均值为0.232 6; H_O 为0.273 4~0.443 1,平均值为0.365 9; P_i 为0.270 5~0.449 8,平均值为0.372 5。云南金花茶5个种群的遗传多样性水平由高到低排序为MG、KMSMY、WSSMY、MZ、HK,其中,KMSMY种群的 H_E 、 H_O 和 P_i 分别是整个物种水平遗传多样性的73.6%、88.2%和78.2%;WSSMY种群的 H_E 、 H_O 和 P_i 分别是整个物种水平遗传多样性的57.7%、71.2%和62.9%。此外,云南金花茶HK种群的近交系数小于0,WSSMY种群的近交系数等于0,其余3个种群的近交系数均大于0,表明除了HK和WSSMY种群外,MG、MZ和KMSMY种群都存在杂合缺失和近亲繁殖。

2.2 群体遗传结构分析

系统发育树分析结果显示,133个云南金花茶个体被聚为3个分支:分支1的70个个体分别来自KMSMY和MG种群;分支2的58个个体分别来自WSSMY、MG和HK种群;分支3的5个个体全部来自MZ种群(图1)。以上结果表明,野生种群MG

中的个体遗传差异较大,一部分与KMSMY种群个体有密切的亲缘关系,另一部分与WSSMY种群个体亲缘关系密切,可能跟迁地保护种群(KMSMY

和WSSMY)的个体大部分来源于野生种群MG有关;而MZ种群与其余种群亲缘关系都较远。

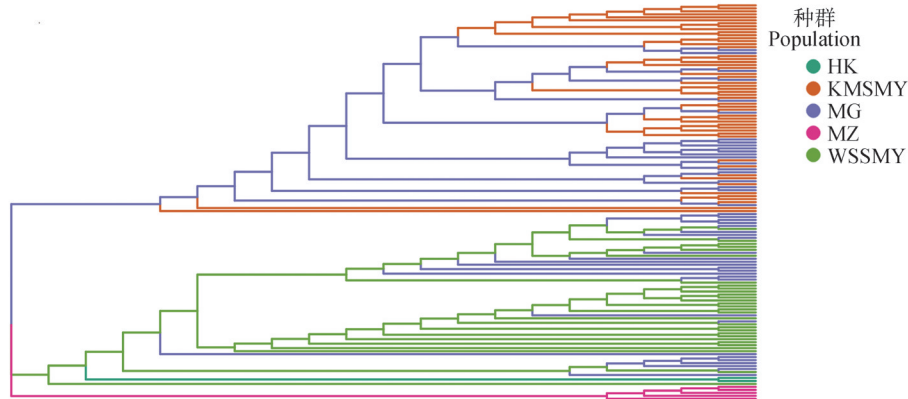


图1 云南金花茶个体系统发育树

Fig.1 Phylogenetic tree of *C. fascicularis* individuals

主成分分析可以反映云南金花茶个体之间的亲缘关系。主成分分析(PCA)结果显示,PC1、PC2和PC3的贡献率分别为20.96%、10.59%和6.60%,累计贡献38.15%(图2)。云南金花茶133个个体聚成3类,其中,MG种群的部分个体与KMSMY种

群个体聚在一起,个体间分布较密集;MG种群另一部分个体与WSSMY和HK种群个体聚在一起,个体间分布较分散;MZ种群个体单独聚在一起,部分个体间较分散。

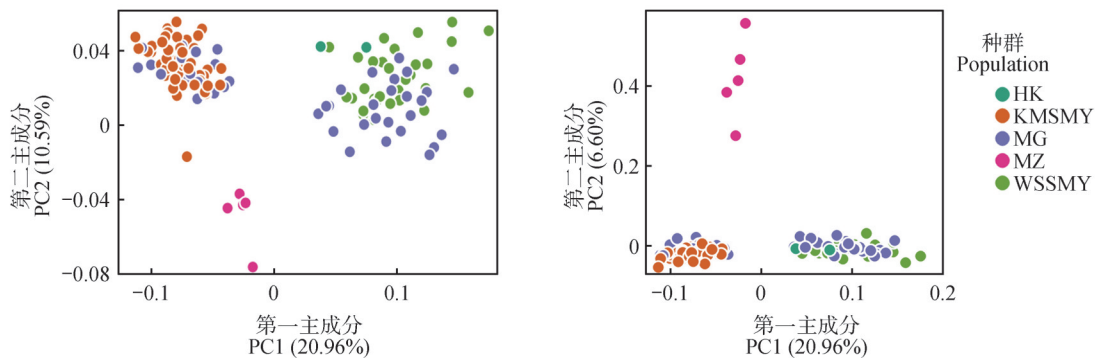


图2 云南金花茶个体的主成分分析

Fig.2 Principal component analysis (PCA) of *C. fascicularis* individuals

为补充系统发育树分析和主成分分析,本研究进一步进行聚类分析。结果发现,当 $K=4$ 时,交叉验证错误率最小,说明将云南金花茶的133个个体分为4类最合适(图3)。为了分析更加全面,本研究考虑了 $K=3$ 和 $K=4$ 时的情况。当 $K=3$ 时,云南金花茶5个种群的133个个体分为3类,分类情况与系统发育树分析和主成分分析结果一致。MG种群存在3种遗传成分,且大部分个体存在混合遗传背景;而KMSMY、WSSMY、MZ和HK种群的个

体遗传背景单一(图4)。当 $K=4$ 时,云南金花茶5个种群的133个个体分为4类。与 $K=3$ 时不同的是,MG种群出现4种遗传成分,KMSMY出现2种遗传成分,MG和KMSMY种群中的大多数个体存在混合遗传背景。上述结果表明,MG和KMSMY种群结构复杂,遗传背景丰富,而HK、MZ和WSSMY种群结构较单一。

2.3 群体遗传分化分析

云南金花茶5个种群的遗传分化指数 F_{st} 为

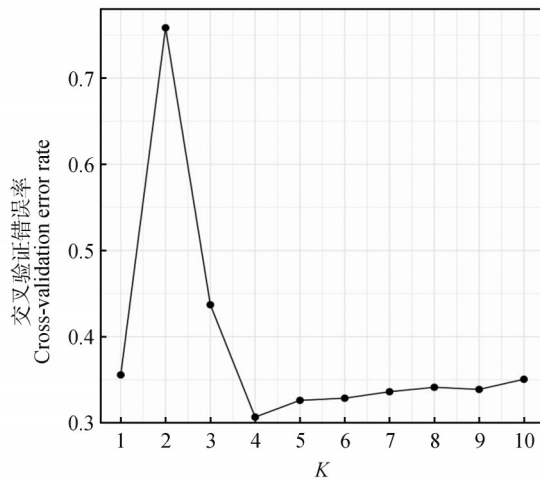


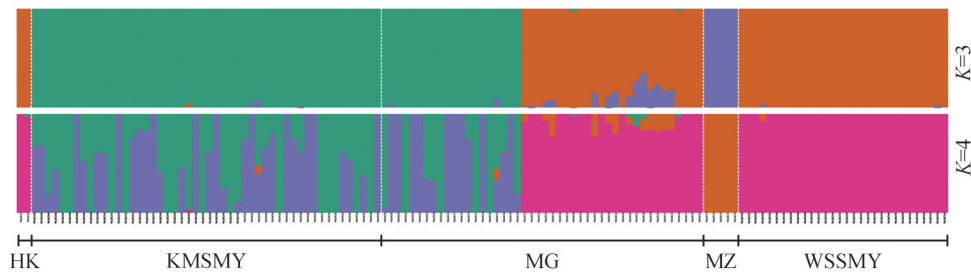
图3 云南金花茶种群不同 K 值对应的交叉验证错误率
Fig.3 The cross-validation error rate corresponding to the different K values of *C. fascicularis* populations

0.198~0.612, 其中3个野生种群的平均 F_{st} 、2个迁地保护种群的平均 F_{st} 及野生种群和迁地种群之间

的平均 F_{st} 分别为0.445、0.469和0.410(图5)。相比之下, MZ和HK种群之间的 F_{st} 最高, KMSMY和MG种群之间的 F_{st} 最低。

2.4 核心种质提取

从云南金花茶的133份种质中提取出27份核心种质(图6), 其中, 14个来自MG种群, 7个来自WSSMY种群, 4个来自KMSMY种群, 剩余的2个核心种质分别从HK和MZ种群各取1个。比较整个种质和核心种质的遗传相似系数和遗传距离, 结果表明, 整个种质间的遗传相似系数(GS)为0.202 6~0.995 8, 平均值为0.750 6; 遗传距离(GD)为0.004 2~0.797 4, 平均值为0.249 4。核心种质间的遗传相似系数(GS)为0.392 4~0.934 4, 平均值为0.732 0; 遗传距离(GD)为0.065 6~0.607 6, 平均值为0.268 0(表2)。从遗传相似系数、遗传距离和核苷酸多样性看, 两者的范围趋近(表2和图7), 表明27份核心种质可以代表133份云南金花茶种质的遗传多样性。



每种颜色代表一个种群, 每个竖线块代表1个个体; 每个竖线块的宽度代表在祖先种群中的比例。

Each color represented a population, and each vertical bar represented an individual; the width of each vertical bar indicated its proportion within the ancestral population.

图4 云南金花茶迁地保护种群和野生种群的聚类分析

Fig.4 Cluster analysis of ex-situ conservation and wild populations of *C. fascicularis*

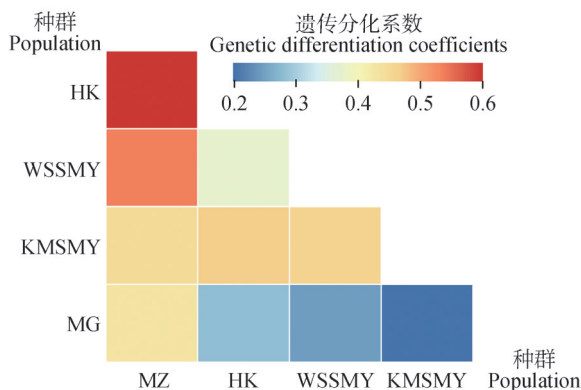


图5 5个云南金花茶种群的遗传分化系数

Fig.5 Genetic differentiation coefficients of five *C. fascicularis* populations

3 讨论

3.1 云南金花茶的遗传多样性

遗传多样性是衡量一个物种进化潜力和适应环境变化能力的重要指标^[4]。遗传多样性水平越高的物种, 适应环境变化的能力越强, 反之越弱^[20-21]。云南金花茶作为中国特有的珍稀濒危植物, 其遗传多样性水平直接关系到物种的生存潜力和生态功能。李斌^[10]利用SSR分子标记技术分析云南金花茶野生种群的遗传多样性, 发现云南金花茶野生种群具有较高的遗传多样性($H_0=0.358 8$, $H_e=0.585 8$); 该研究获得的期望杂合度是本研究的2倍多($H_e=0.232 6$), 观测杂合度与本研

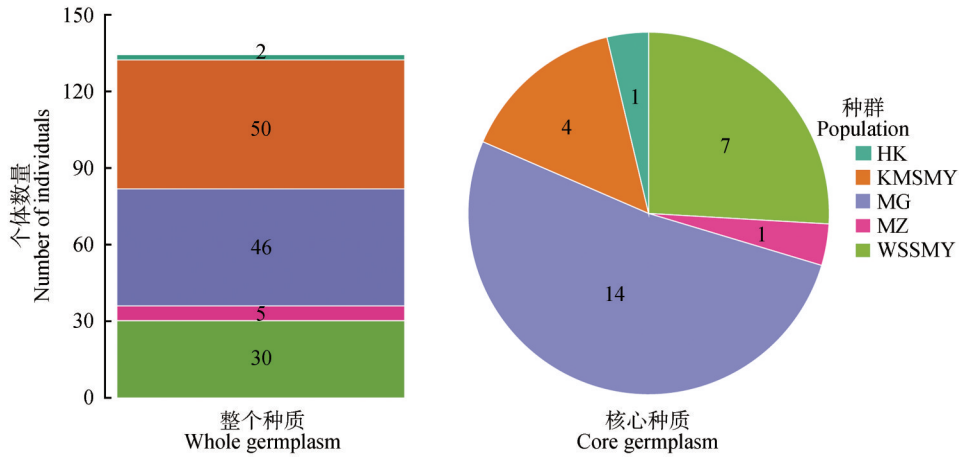


图 6 云南金花茶的核心种质资源提取

Fig.6 Core germplasm resources extraction of *C. fascicularis*

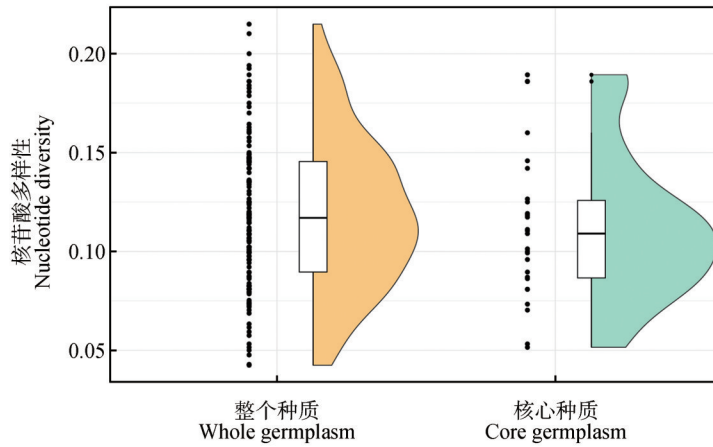


图 7 云南金花茶整个种质和核心种质的核苷酸多样性

Fig.7 Nucleotide diversity of the whole and core germplasm resources of *C. fascicularis*

表 2 133 份种质和 27 份核心种质遗传多样性比较分析

Table 2 Comparative analysis of genetic diversity of 133 germplasm and 27 core germplasm resources

类型 Type	样本量 Sample size	遗传相似系数 Genetic similarity coefficient			遗传距离 Genetic distance		
		最小值 Min.	最大值 Max.	平均值 Average	最小值 Min.	最大值 Max.	平均值 Average
整个种质 Whole germplasm	133	0.202 6	0.995 8	0.750 6	0.004 2	0.797 4	0.249 4
核心种质 Core germplasm	27	0.392 4	0.934 4	0.732 0	0.065 6	0.607 6	0.268 0

究结果接近($H_0=0.3659$)。先前的研究^[22-23]已经表明:SSR 标记估计的杂合性比 SNP 标记高 2~3 倍。因此,本研究的结果与李斌获得的结果具有可比性。与其他基于 SNP 评估的濒危物种相比——包括东兴金花茶(*Camellia tunghinensis*)^[6]($H_E=0.247\sim$

0.262 , $H_0=0.257\sim 0.293$)、红萼杜鹃(*Rhododendron meddianum*)^[24]($H_E=0.0713$, $H_0=0.0505$)和大花杓兰(*Cypripedium macranthos*)^[25]($H_E=0.1534$, $H_0=0.1335$, $P_i=0.1543$),云南金花茶除 HK 种群外均表现出较高的 H_E 、 H_0 和 P_i (表 1),这些结果说明,尽

管种群数量少且呈片段化分布,云南金花茶仍维持了较高的遗传多样性水平,这与李斌的研究结果一致^[10]。HK种群的遗传多样性相对较低可能是由于种群数量过少。

迁地保护是野生植物资源保护的主要方式之一,其终极目标是保护珍稀濒危植物遗传多样性^[26]。迁地保护种群的遗传多样性对于评估迁地保护成功与否至关重要,如果迁地保护种群的遗传多样性与野生种群一致、相近或更高,那么迁地保护项目可被视为初步成功;反之,则需要进一步改进^[6]。但大部分迁地保护种群都是小且孤立种群,遗传多样性容易受到遗传漂变、近亲繁殖及选择等因素的影响而发生改变^[6, 27]。有研究^[23]发现,澳大利亚的石山苏铁(*Cycas sexseminifera*)迁地种群的遗传多样性低于大多数野生种群。也有一些物种有与之相反的情况,如金花茶(*Camellia niti-dissima*)^[28]和岷江柏木(*Cupressus chengiana*)^[29]迁地保护种群的遗传多样性总体水平高于野生种群。本研究中,迁地保护种群(KMSMY和WSSMY)的遗传多样性接近,甚至高于野生种群,说明KMSMY和WSSMY种群的云南金花茶迁地保护已取得初步成功,繁育和管理方式可为种群重建提供技术支撑。然而,也有研究^[4]认为:迁地保护种群的遗传多样性需达到物种水平的90%以上,才能被视为有效保护。本研究中,云南金花茶KMSMY种群的期望杂合度(H_e)、观测杂合度(H_o)和核苷酸多样性(P_i)分别只是整个物种水平遗传多样性的73.6%、88.2%和78.2%;WSSMY种群的 H_e 、 H_o 和 P_i 分别只是整个物种水平遗传多样性的57.7%、71.2%和62.9%,说明这2个迁地保护种群的遗传多样性均未达到90%以上,亟需开展基于遗传管理的有效保护。综上所述,尽管云南金花茶迁地保护种群和野生种群的 H_e 、 H_o 和 P_i 均较高,意味着云南金花茶现存植株在SNP水平上的遗传多样性较丰富,保护已取得初步成功,但迁地保护种群的遗传多样性仍未达到预期的保护目标。

近交繁殖会降低后代杂合性并减少遗传多样性,严重时会引起近交衰退,导致物种生存能力降低,主要表现为后代的生长发育、生活力、繁殖力及适应性显著下降^[30]。本研究中, MG、MZ 和 KMSMY 的云南金花茶种群均存在近交现象,建议引入新的种群个体进行交配,避免近交,防止物种遗传多样性降低和近交衰退。

3.2 云南金花茶的群体遗传结构和遗传分化

研究群体遗传结构和遗传分化对于制定科学有效的种质资源保护策略至关重要^[31]。一个物种或群体的进化潜力在很大程度上取决于群体的遗传结构^[4]。确定一个物种的群体遗传结构,是了解生物学特性,研究进化过程和机制的重要步骤^[32]。群体遗传结构分析表明,在云南金花茶中检测到多种遗传成分,与野生种群HK和MZ相比,迁地保护种群KMSMY的遗传结构相对复杂,WSSMY种群遗传结构与之相当;但与野生种群MG相比,2个迁地保护种群的遗传结构均相对简单。系统发育树和PCA分析结果表明, MG种群部分个体与KMSMY种群遗传关系较近,另一部分个体与WSSMY和HK种群遗传关系较近,结合群体遗传结构分析推测:MG云南金花茶可能是较为原始的祖先种群或者是种群扩散的交汇中心^[33]。因此,应把MG种群作为重点保护单元。进一步调查发现, KMSMY 和 WSSMY 种群的种质资源几乎都来源于MG种群,这应该是导致迁地保护种群与MG种群亲缘性较近的原因。然而, KMSMY 和 WSSMY 种群间无相同的遗传成分,说明这2个迁地保护种群引种单一,且不完整,可能只集中于MG种群的某个区域,未充分保存MG种群的遗传多样性;同时,也说明MG种群局部间遗传差异较大,基因交流受阻。因此,在构建迁地保护种群时,引种应科学合理,避免单一和不完整,保证新建种群个体间的遗传距离最大,遗传资源最丰富^[4];而MG种群内个体应采用人工辅助授粉的方式加强基因交流。MZ种群与其余4个种群的遗传关系均较远,且有独特的遗传成分,可能存在特异的遗传祖先,建议重点保护,防止遗传多样性进一步丧失。根据遗传结构分析可知, KMSMY 和 WSSMY 种群均缺乏MZ种群的遗传成分,应合理引入MZ种群的云南金花茶,丰富这2个迁地保护种群的遗传多样性和遗传结构。

本研究进一步评估了这些种群间的遗传分化情况。通常认为, $0 \leq F_{st} \leq 0.05$ 时, 群体间几乎无遗传分化; $0.05 < F_{st} \leq 0.15$ 时, 群体间存在中等程度的遗传分化; $0.15 < F_{st} \leq 0.25$ 时, 群体间存在高度遗传分化; $F_{st} > 0.25$ 时, 群体存在非常高的遗传分化^[34]。依据这一分类标准, 云南金花茶的野生种群之间 ($F_{st}=0.445$) 和迁地保护种群之间 ($F_{st}=0.469$) 均呈现非常高的遗传分化, 说明基因交流受限。据研

究^[6, 28]报道,金花茶主要由飞行距离较短的蜜蜂授粉,并且该物种的种子大且重,导致传播距离短,这可能是基因交流受限的原因之一。此外,有研究^[35]通过探索下加利福尼亚半岛形成对石棕(*Brahea armata*)遗传结构的影响,发现地理隔离是导致种群间遗传分化的重要因素之一。云南金花茶不同种群之间地理距离较远,长期隔离,可能导致基因流动受限,各自独立进化,从而形成高水平的遗传分化,这与石棕情况相似^[35]。因此,推测授粉方式、种子生物学特性和地理隔离限制了云南金花茶的基因交流,从而造成高水平的遗传分化。值得注意的是,当遗传分化达到一定阈值时,可能导致这些迁地保护种质资源丧失对原生栖息地的适应性,从而限制后续原生境种群回归工作的实施^[36]。为了避免这种潜在风险,建议通过人为手段促进迁地保护种群之间和迁地保护种群与野生种群之间的基因流动,例如,人工辅助云南金花茶5个种群之间的授粉,以及用新的野生种质资源补充现有的迁地保护种群。

3.3 云南金花茶的核心种质构建

核心种质是指用最少的种质资源样品最大程度地代表种质资源的遗传多样性^[37]。构建核心种质能够有效解决基因库中种质资源的庞大数量与有效保存之间的矛盾,提升种质资源管理与利用效率,进而降低成本,这一理念已在园艺作物资源收集与利用领域得到广泛认可^[6, 38]。目前,已经构建了水稻(*Oryza sativa*)、大豆(*Glycine max*)、玉米(*Zea mays*)、花生(*Arachis hypogaea*)等主要农作物的核心种质^[38]。近年来,核心种质构建在濒危植物迁地保护方面也逐渐得到应用^[6]。本研究从云南金花茶133份种质中提取出27份核心种质,整个种质与核心种质的遗传相似系数、遗传距离和核苷酸多样性基本接近,表明27份核心种质可能代表133份云南金花茶种质的遗传多样性,能够较好地保留整个种质的遗传信息。因此,建议按照云南金花茶提取的核心种质补充迁地保护的种质资源,在节省人力、物力的同时提高物种遗传多样性,进而增强该物种的环境适应性。构建核心种质可高效保留种群的关键遗传信息和多样性,为种群重建提供核心种质基础。

3.4 云南金花茶的保护策略

云南金花茶的群体遗传分析可为评价和指导云南金花茶拯救保护工程中的遗传资源保护提供

理论依据^[4]。本研究根据云南金花茶的群体遗传分析结果,对现存的野生种群、迁地保护种群及新建人工种群的种质资源保护提出以下建议:针对野生种群MG局部间遗传差异大、基因交流受阻的问题,建议采用人工辅助授粉的方式加强基因交流,从而增加遗传多样性;野生种群MZ和HK的个体数量较少,且MZ种群与其他种群亲缘关系远,遗传成分独特,应建立保护小区,进行就地保护,避免生境遭到人为破坏;现存的迁地保护种群(KMSMY和WSSMY)遗传多样性略低于野生种群MG,主要是由于引种单一,应按照迁地保护种群缺乏的遗传成分补植MZ和MG的核心种质;新建人工种群应综合考虑环境压力、资金投入和种质资源的遗传多样性,按照构建的核心种质进行引种,在节省人力、物力的同时,最大限度保护云南金花茶的遗传资源。

4 结论

本研究揭示了云南金花茶野生种群与迁地保护种群具有较高的遗传多样性($H_E=0.2326$, $P_i=0.3725$),迁地保护种群遗传多样性未显著降低且部分指标优于野生种群,但迁地保护种群的 H_E 、 H_o 和 P_i 均未达到物种水平的90%,说明云南金花茶的迁地保护已取得初步成功,但迁地保护种群的遗传多样性仍未达到预期的保护目标。群体遗传结构和遗传分化分析表明,云南金花茶133个个体分为4类,MG野生种群与KMSMY迁地保护种群展现出更丰富的遗传背景,不同种群间均存在显著遗传分化($F_{st}=0.4103$)。本研究构建的27份云南金花茶核心种质可代表该物种的遗传多样性,为保证人工重建与恢复种群遗传完整性奠定了基础。研究结果基于遗传多样性分析评价了云南金花茶迁地保护的有效性,并提出通过核心种质筛选加强云南金花茶人工重建与恢复种群的遗传管理策略,可为其他濒危植物的种群重建提供参考。

参 考 文 献

- [1] 郑进焯,蔡文婧,郑静楠,等.云南省极小种群野生植物拯救保护规划研究[J].林业调查规划,2024,49(1): 151-155.
ZHENG J X, CAI W J, ZHENG J N, et al. Rescue and conservation planning of wild plant species with extremely small populations in Yunnan Province[J]. Forest Invento-

- ry and Planning, 2024, 49(1): 151-155.
- [2] 贾淇宇, 刘雄盛, 廖南燕, 等. 极小种群野生植物狭叶坡垒种群结构与动态特征[J]. 西南农业学报, 2024, 37(5): 1078-1086.
- JIA Q Y, LIU X S, LIAO N Y, *et al.* Population structure and dynamics characteristics of an extremely small population plant *Hopea chinensis* (Merr.) Hand. -Mazz. [J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2024, 37(5): 1078-1086.
- [3] 王欢利, 严灵君, 黄犀, 等. 南京椴群体遗传多样性和遗传结构分析[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2023, 47(1): 145-153.
- WANG H L, YAN L J, HUANG X, *et al.* Genetic diversity and genetic structure of *Tilia miqueliana* population [J]. Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition), 2023, 47(1): 145-153.
- [4] 张珊珊, 陈剑, 杨文忠. 应用简化基因组技术对富民枳遗传多样性检测[J]. 东北林业大学学报, 2020, 48(4): 36-41.
- ZHANG S S, CHEN J, YANG W Z. Genetic diversity analysis of *Poncirus polyandra* by reduced-representation sequencing technique [J]. Journal of Northeast Forestry University, 2020, 48(4): 36-41.
- [5] CIBRIAN-JARAMILLO A, HIRD A, OLEAS N, *et al.* What is the conservation value of a plant in a botanic garden? Using indicators to improve management of *ex situ* collections [J]. The Botanical Review, 2013, 79 (4): 559-577.
- [6] ZHU X L, ZOU R, QIN H Z, *et al.* Genome-wide diversity evaluation and core germplasm extraction in *ex situ* conservation: a case of golden *Camellia tunghinensis* [J]. Evolutionary Applications, 2023, 16(9): 1519-1530.
- [7] WEI X Z, JIANG M X. Meta-analysis of genetic representativeness of plant populations under *ex situ* conservation in contrast to wild source populations [J]. Conservation Biology, 2021, 35(1): 12-23.
- [8] 赵锼琪, 李斌, 张贵良, 等. 提高云南金花茶组培苗移栽成活率的方法[J]. 中国林副特产, 2017(4): 57-58.
- ZHAO S Q, LI B, ZHANG G L, *et al.* Methods for improving transplanting survival rate of tissue-cultured seedlings of *Camellia fascicularis* [J]. Forest By-Product and Speciality in China, 2017(4): 57-58.
- [9] 刘云, 付羚, 张颖君, 等. 金花茶组植物的化学成分及保健功效研究进展[J]. 食品工业科技, 2019, 40(3): 321-326.
- LIU Y, FU L, ZHANG Y J, *et al.* Research progress in chemical compositions and healthy functions of genus *Camellia* sect. *Chrysantha* [J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(3): 321-326.
- [10] 李斌. 云南金花茶遗传多样性分析及其离体快繁研究[D]. 昆明: 西南林业大学, 2019.
- LI B. Study on genetic diversity analysis and rapid propagation *in vitro* of *Camellia fascicularis* [D]. Kunming: Southwest Forestry University, 2019.
- [11] ZOU M L, XIA Z Q. Hyper-seq: a novel, effective, and flexible marker-assisted selection and genotyping approach [J]. The Innovation, 2022, 3(4): 100254.
- [12] 方萍萍, 张婷, 韦静, 等. 64份白辣椒种质资源的遗传多样性分析[J]. 浙江农业科学, 2024, 65(5): 1056-1063.
- FANG P P, ZHANG T, WEI J, *et al.* Genetic diversity analysis of 64 white-fruited pepper germplasm resources [J]. Journal of Zhejiang Agricultural Sciences, 2024, 65(5): 1056-1063.
- [13] MCKENNA A, HANNA M, BANKS E, *et al.* The Genome Analysis Toolkit: a MapReduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data [J]. Genome Research, 2010, 20(9): 1297-1303.
- [14] DANECEK P, AUTON A, ABECASIS G, *et al.* The variant call format and VCFtools [J]. Bioinformatics, 2011, 27(15): 2156-2158.
- [15] ROCHETTE N C, RIVERA-COLÓN A G, CATCHEN J M. Stacks 2: analytical methods for paired-end sequencing improve RADseq-based population genomics [J]. Molecular Ecology, 2019, 28(21): 4737-4754.
- [16] PRICE M N, DEHAL P S, ARKIN A P. FastTree 2: approximately maximum-likelihood trees for large alignments [J]. PLoS One, 2010, 5(3): e9490.
- [17] CHANG C C, CHOW C C, TELLIER L C, *et al.* Second-generation PLINK: rising to the challenge of larger and richer datasets [J]. GigaScience, 2015, 4(1): 7.
- [18] ALEXANDER D H, NOVEMBRE J, LANGE K. Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals [J]. Genome Research, 2009, 19(9): 1655-1664.
- [19] De BEUKELAER H, DAVENPORT G F, FACK V. Core Hunter 3: flexible core subset selection [J]. BMC Bioinformatics, 2018, 19: 203.
- [20] 田星, 李中霁, 刘小莉, 等. 基于SSR分子标记的灯盏花遗传多样性分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(18): 136-143.
- TIAN X, LI Z J, LIU X L, *et al.* Genetic diversity analysis of *erigeron breviscapus* based on SSR markers [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2021, 27(18): 136-143.
- [21] 秦斗文, 刘伟强, 田吉婷, 等. 基于SRAP分子标记的郁金香遗传多样性分析[J]. 植物研究, 2024, 44(5):

- 783-792.
- QIN D W, LIU W Q, TIAN J T, *et al.* Genetic diversity analysis of tulip based on SRAP markers[J]. *Bulletin of Botanical Research*, 2024, 44(5): 783-792.
- [22] ZIMMERMAN S J, ALDRIDGE C L, OYLER-MC-CANCE S J. An empirical comparison of population genetic analyses using microsatellite and SNP data for a species of conservation concern [J]. *BMC Genomics*, 2020, 21: 382.
- [23] CLUGSTON J A R, RUHSAM M, KENICER G J, *et al.* Conservation genomics of an Australian cycad *Cycas callicola*, and the absence of key genotypes in botanic gardens[J]. *Conservation Genetics*, 2022, 23(3): 449-465.
- [24] ZHANG X J, LIU X F, LIU D T, *et al.* Genetic diversity and structure of *Rhododendron meddianum*, a plant species with extremely small populations[J]. *Plant Diversity*, 2021, 43(6): 472-479.
- [25] WU Q, DONG S, ZHAO Y X, *et al.* Genetic diversity, population genetic structure and gene flow in the rare and endangered wild plant *Cypripedium macranthos* revealed by genotyping-by-sequencing[J]. *BMC Plant Biology*, 2023, 23(1): 254.
- [26] 陈进, 杨玺. 关于植物迁地保护若干问题的讨论[J]. *生物多样性*, 2024, 32(2): 24064.
- CHEN J, YANG X. Discussion on the plant *ex situ* conservation[J]. *Biodiversity Science*, 2024, 32(2): 24064.
- [27] SU Z H, RICHARDSON B A, ZHUO L, *et al.* Divergent population genetic structure of the endangered *Helianthemum* (Cistaceae) and its implication to conservation in northwestern China [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 7: 2010.
- [28] WEI X, CAO H L, JIANG Y S, *et al.* Population genetic structure of *Camellia nitidissima* (Theaceae) and conservation implications [J]. *Botanical Studies*, 2008, 49: 147-153.
- [29] 常二梅, 刘建锋, 黄跃宁, 等. 岷江柏野生居群和迁地保护居群的遗传多样性比较[J]. *植物研究*, 2022, 42(5): 772-779.
- CHANG E M, LIU J F, HUANG Y N, *et al.* Comparison of genetic diversity between wild and *ex-situ* conservation populations of *Cupressus chengiana* [J]. *Bulletin of Botanical Research*, 2022, 42(5): 772-779.
- [30] ACHREM M, STEPIEŃ E, KALINKA A. Epigenetic changes occurring in plant inbreeding [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(6): 5407.
- [31] 潘文婷, 孙建军, 原勤勤, 等. RAD-seq 技术研究鹅掌楸属种源遗传多样性和遗传结构[J]. *林业科学*, 2022, 58(4): 74-81.
- PAN W T, SUN J J, YUAN Q Q, *et al.* Analysis of genetic diversity and structure in different provenances of *Liriodendron* by RAD-seq technique[J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2022, 58(4): 74-81.
- [32] LOVELESS M D, HAMRICK J L. Ecological determinants of genetic structure in plant populations [J]. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 1984, 15: 65-95.
- [33] 张笑, 郑骑坚, 李忠虎, 等. 绞股蓝的遗传多样性和群体结构研究[J]. *中草药*, 2015, 46(13): 1958-1965.
- ZHANG X, ZHENG Q J, LI Z H, *et al.* Genetic diversity and population structure of *Gynostemma pentaphyllum* [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2015, 46(13): 1958-1965.
- [34] WRIGHT S. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating [J]. *Evolution*, 1965, 19(3): 395-420.
- [35] PÉREZ-ALQUICIRA J, WEHNCKE E V, GARCÍA-LOZA G A, *et al.* Geographic isolation and long-distance gene flow influence the genetic structure of the blue fan palm *Brahea armata* (Arecaceae) [J]. *Journal of Plant Research*, 2023, 136(3): 277-290.
- [36] ENBLIN A, SANDNER T M, MATTHIES D. Consequences of *ex situ* cultivation of plants: genetic diversity, fitness and adaptation of the monocarpic *Cynoglossum officinale* L. in botanic gardens [J]. *Biological Conservation*, 2011, 144(1): 272-278.
- [37] FRANKEL O H, BROWN A H D. Current plant genetic resources: a critical appraisal [C]// *Genetics: new frontiers: proceedings of the XV International Congress of Genetics*. New Delhi: Oxford and IBH Publishing, 1984: 1-11.
- [38] 缪黎明, 王神云, 邹明华, 等. 园艺作物核心种质构建的研究进展[J]. *植物遗传资源学报*, 2016, 17(5): 791-800.
- MIAO L M, WANG S Y, ZOU M H, *et al.* Review of the studies on core collection for horticultural crops [J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2016, 17(5): 791-800.