山东农业大学学报(自然科学版),2026,57(4):731-740 VOL.57 NO.4 2026
Journal of Shandong Agricultural University (Natural Science Edition) doi:10.3969/j.issn.1000-2324.2026.04.014

基于cpDNA分子标记的紫椴和华东椴遗传多样性研究

李海源[1],张 悦[1],臧凤岐[1],马 燕[1],刘 丹[2],鲁仪增[2],臧德奎[1],吴其超[1*]
1. 山东农业大学林学院,国家林业局黄河下游造林重点实验室,山东 泰安 271018
2. 山东省林草种质资源中心,山东 济南 250100

摘 要: 解析紫椴和华东椴遗传背景信息有助于其遗传资源和种质资源的科学保护。基于cpDNA(叶绿体基因组)分子标记开展紫椴和华东椴的遗传多样性分析。研究表明:(1)基于叶绿体基因片段(trnL和trnL-trnF)测序分析,共检测到11种单倍型,其中7种为种群特有单倍型,4种为共享单倍型。单倍型H1为优势类型,分布于10个种群,表明其可能为祖先单倍型。(2)叶绿体序列变异分析揭示了两个物种之间存在显著的遗传差异。分子方差分析结果表明叶绿体基因组遗传变异主要发生在种群内部。(3)中性检验和失配分布分析表明,紫椴种群近期可能经历了扩张事件,华东椴种群可能经历了轻微的扩张。该研究结果为紫椴和华东椴遗传资源的有效保护和合理利用提供了理论依据和技术支撑。

关键词: 紫椴;华东椴;叶绿体DNA;遗传多样性
中图法分类号: S792.36 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-2324(2026)04-0731-10

Genetic Diversity of *Tilia amurensis* and *Tilia japonica* Based on cpDNA Molecular Markers

LI Hai-yuan[1], ZHANG Yue[1], ZANG Feng-qi[1], MA Yan[1], LIU Dan[2], LU Yi-zeng[2], ZANG De-kui[1], WU Qi-chao[1*]
1. *College of Forestry/Shandong Agricultural University, Key Laboratory of Afforestation in the Lower Reaches of the Yellow River, State Forestry Administration, Tai'an 271018, China*
2. *Shandong Provincial Forest and Grassland Genetic Resource Center, Jinan 250100, China*

Abstract: Comprehensive analysis of the genetic background of *Tilia amurensis* and *Tilia japonica* is essential for the scientific conservation of their genetic resources and germplasm diversity. Based on chloroplast genome (cpDNA) molecular markers, this study conducts a genetic diversity analysis of eight populations of *Tilia amurensis* and three populations of *Tilia japonica*. The results reveal that: (1) Chloroplast gene fragment (trnL and trnL-trnF) sequencing identifies a total of 11 haplotypes, of which 7 are population-specific and 4 are shared among populations. Haplotype H1 is the dominant type, distributed across 10 populations, indicating that it may be the ancestral haplotype. (2) Chloroplast sequence-variation analysis reveals significant genetic differentiation between the two species. Analysis of molecular variance (AMOVA) indicates that the cpDNA genetic variation occurs mainly within populations. (3) Neutral tests and mismatch-distribution analysis suggest that *Tilia amurensis* may have undergone recent expansion, whereas *Tilia japonica* may have experienced a slight expansion. These findings provide both a theoretical basis and technical support for the effective conservation and sustainable utilization of the genetic resources of *Tilia amurensis* and *Tilia japonica*.

Keywords: *Tilia amurensis*; *Tilia japonica*; chloroplast DNA; genetic diversity

椴树属(*Tilia*)植物为落叶乔木,因其花序或果序上独特的大型叶状苞片和通常基部偏斜的叶片而易于区别于其他类群[1],广泛分布于欧亚大陆和北美东部[2]。中国有15种椴树属植物,包括11个特有种,是椴树属植物的物种多样化中心,其中紫椴(*Tilia amurensis*)与华东椴(*Tilia japonica*)为该属的代表性物种。紫椴主要分布于中国北方和朝鲜北部,向西延伸至叶尼塞河上游地区,向东至朝鲜半岛;华东椴分布在我国东部,也见于日本[3]。二者因树姿优美、遮阴效果显著,被广泛应用于城市行道树、公园景观及庭院绿化。然而,当前两类树种均面临严峻挑战:野生紫椴存在种子休眠现象,影响其种群更新[4],且由于历史性过度采伐,天然紫椴种群数

收稿日期: 2025-09-08 **修回日期:** 2026-06-19
基金项目: 山东省重点研发计划项目(2024LZGC003);2021年山东省高等教育"青年创新与科技支持计划"项目:物种保护与生物入侵创新团队(鲁教科函〔2021〕51号)
第1作者简介: 李海源(2005-),女,本科生,研究方向:保护遗传学。E-mail:1429187591@qq.com
***通讯作者:** Author for correspondence. E-mail:Wuqc@sdau.edu.cn

量和质量急剧下降，遗传资源尚不明确[5]；华东椴则因生境破碎化及过度采挖，野外种群萎缩。这些挑战使得保护紫椴和华东椴遗传资源和种质资源的任务迫在眉睫。

遗传多样性的保护是生物多样性保护的核心内容[6,7]，同时遗传多样性也是生物长期演化的产物。研究表明，遗传多样性水平与生物适应环境变化的潜力呈正相关，物种遗传多样性程度越高、变异越复杂，种群进化潜力越大，后代对恶劣环境的适应能力越强，遗传分布范围越广[8]，而遗传多样性的丧失会导致近交衰退和适应性下降等负面效应，进而增加物种的灭绝风险[6]。此外，遗传结构也能揭示群体内遗传多样性的分布特征，直接关系到物种对环境变化的适应能力[9]。分子标记作为研究遗传多样性与遗传结构的重要工具，在椴属植物的相关研究中已得到广泛应用。例如，穆立蔷等[10]利用ISSR分子标记技术对紫椴进行遗传多样性分析，揭示紫椴种群具有较高的遗传多样性。高磊等[11]通过SSR分子标记技术对16个种源的紫椴进行遗传多样性分析，发现紫椴的总体遗传多样性水平较高，遗传分化程度中等，群体内遗传变异远大于群体间。但是，关于采用cpDNA分子标记技术对紫椴和华东椴的种质资源进行遗传多样性分析的研究还未见报道。

高等植物中叶绿体基因相对保守，多以闭合环状双链分子存在，它既不像核基因组那样有较多的重复序列，也不像线粒体基因组那样有频繁的重排事件发生，具有单亲遗传、无重组、基因组小和结构简单等特点，且基于叶绿体位点变异的有效居群大小只是二倍体核基因组位点变异的一半或四分之一。随着分子生物学的发展，cpDNA（叶绿体基因组）分子标记凭借其独特的母系遗传、低突变率、结构保守、高拷贝数以及清晰的变异层次等核心优点，成为重要的分子标记方法之一。王崇等[12]利用cpDNA的间隔区序列（trnL-trnF、trnH-psbA和trnT-trnL）对甘薯（*Dioscorea esculenta*）种质进行遗传多样性分析，为其种质保护及开发利用提供理论依据。王玲等[13]利用cpDNA分析白杆（*Picea meyeri*）群体间遗传多样性，揭示了白杆群体间的遗传结构、分化、亲缘关系和种内变异程度。

紫椴和华东椴作为椴树属中重要的生态与经济树种，在中国分布范围存在部分重叠，两物种形态特征较为相似，分布重叠区内的种群种间界限较为模糊。迄今为止，国内对紫椴和华东椴的多样性水平、亲缘关系以及种群历史等遗传背景信息尚不清晰。因此，本研究基于cpDNA分子标记分析紫椴和华东椴的遗传变异，解析紫椴和华东椴种群在叶绿体DNA水平上的遗传多样性，探讨它们之间的亲缘关系，从分子水平上阐明紫椴和华东椴的种群动态历史变化，以期为紫椴和华东椴种质资源的保护、开发和利用提供科学的理论支撑。

1 材料与方法

1.1 试验材料

采样地点选择为黑龙江省、吉林省、辽宁省、北京市、河北省、山东省、安徽省和浙江省的11个种群，其中8个紫椴种群，3个华东椴种群，共采集个体143个，选择目标植株的新鲜幼叶作为实验材料，然后装入硅胶干燥。每个采样种群的纬度、经度和海拔高度在表1中列出。

1.2 试验方法

1.2.1 DNA提取与纯度检测 选用SteadyPure植物基因组DNA提取试剂盒（CTAB方法）进行DNA提取。使用核酸蛋白检测仪评估提取的DNA质量与浓度。根据实验需求，将DNA溶液稀释至30 ng·μL^{-1}，用于后续PCR扩增实验。

1.2.2 cpDNA引物筛选及产物测序 开展椴树cpDNA通用引物的多态性筛选实验，从11个椴树种群中各随机选取2个个体，共计22份DNA样本。通过PCR扩增与测序分析，系统筛选具有种群间多态性差异的特异性引物。在35 μL的反应中执行PCR反应，包括1.5 μL模板DNA（30 ng/mL）、1.5 μL正向引物（10 μmol/L）、1.5 μL反向引物（10 μmol/L）、13.5 μL Taq酶，以及17 μL的ddH_2O。采用以下PCR扩增程序：预变性95 ℃处理5 min；35个循环，每个循环包括94 ℃变性15 s、52-56 ℃（根据具体引物Tm）退火40 s和72 ℃延伸80 s；最后72 ℃延伸5 min；保存温度为4 ℃。

采用1.5%琼脂糖凝胶电泳技术对PCR扩增产物进行检测。通过对扩增产物进行纯化处理

表 1 椴树样本采集地点的信息
Table 1 Information for the sampling sites of *Tilia*

种群 Population	物种 Species	地点 Location	纬度/°N Latitude	经度/°E Longitude	海拔/m Altitude	样本数量 *N*
TS	*Tilia amurensis*	山东省泰安市泰山	36.263828	117.108972	1 422	13
LU	*Tilia amurensis*	山东省淄博市鲁山	36.294079	118.101904	947	13
YDS	*Tilia amurensis*	北京市玉渡山	40.553270	115.894394	875	13
ZS	*Tilia amurensis*	河北省秦皇岛市祖山	40.158517	119.428285	849	13
LS	*Tilia amurensis*	山东省青岛市崂山	36.185469	120.614545	812	13
DGL	*Tilia amurensis*	辽宁省丹东市大谷岭	40.330044	124.602425	790	13
MPS	*Tilia amurensis*	吉林省吉林市磨盘山	43.763505	126.379051	761	13
DXG	*Tilia amurensis*	黑龙江省五常市大峡谷	44.218201	127.995354	1 136	13
HS	*Tilia japonica*	安徽省黄山市黄山	30.137615	118.175653	1 235	13
MS	*Tilia japonica*	山东省临沂市蒙山	35.559423	117.849874	1 221	13
TMS	*Tilia japonica*	浙江省杭州市天目山	30.343229	119.432020	1 345	13

与测序分析，最终系统筛选获得两对具有多态性的引物（trnL 和 trnL-trnF）用于后续实验（见表2）。

从11个椴树种群中每个种群筛选出13个合适的个体用于叶绿体DNA的测序。对143个个体进行大规模群体扩增，试验采用的PCR扩增体系：反应的总体积为35 μL，模板DNA（30 ng/mL）1.5 μL，正反引物（10 μmol/L）各 1.5 μL，Taq 酶 13.5 μL，ddH_2O 17 μL。反应体系条件：引物trnL采用的PCR扩增程序为94 ℃变性 15 s，54.4 ℃退火40 s，72 ℃延伸 80 s，72 ℃延伸 5 min，35个循环，4 ℃保存；引物trnL-trnF采用的PCR扩增程序为94 ℃变性 15 s，55.4 ℃退火 40 s，72 ℃延伸 80 s，72 ℃延伸 5 min，35 个循环，4 ℃保存。将扩增产物送到北京擎科生物科技股份有限公司进行纯化测序。

表 2 cpDNA通用引物序列
Table 2 Sequences of cpDNA primer

引物名称 Primers	引物信息（5’-3’） Primer details	退火温度 Temperature	文献 Bibliography
trnL	F：CGAAATCGGTAGACGCTACG R：GGGGATAGAGGGACTTGAAC	54.4 ℃	Taberlet，Gielly，Pautou，*et al.*1991[14]
trnL-trnF	F：GGTTCAAGTCCCTCTATCCC R：ATTTGAACTGGTGACACGAG	55.4 ℃	Taberlet，Gielly，Pautou，et al.1991[14]

1.2.3 数据分析　测序的cpDNA序列数据利用MEGA7[15]软件进行处理拼接，利用DnaSP 6.0[16]对数据进行鉴别计算，获得单倍型数据。

采用Permut软件[17]计算紫椴和华东椴种群内平均遗传多样性（H_S）、总遗传多样性（H_T）、以及遗传分化系数N_{ST}和G_{ST}值。通过1 000次置换检验分析了G_{ST}和N_{ST}的差异显著性。利用Arlequin 3.0软件进行分子方差（AMOVA）分析[18]并绘制单倍型地理分布图，得到11个椴树种群中单倍型分布情况。

基于DnaSP v6软件[16]获得的单倍型数据以rbf格式保存，并导入Network 5.0软件[19]。采用中值连接法（Median-joining）构建单倍型网络图。基于单倍型联合数据利用软iqtree2.0构建紫椴和华东椴的ML系统发育树，采用4×10^5次重复计算各分支的支持率[20]。

利用DnaSPv6[21]软件进行中性检验和失配分布分析，并用Origin绘制并分析失配分布曲线[21]。

2　结果分析

2.1　叶绿体DNA变异位点及单倍型统计

利用最终筛选出的cpDNA通用引物trnL和trnL-trnF对11个椴树种群的143个个体进行叶绿体DNA片段测序，两个测序总长度是998 bp，其中trnL基因片段的长度是574 bp，trnL-trnF基

因间隔区片段的长度是417 bp。在拼接后的两个叶绿体序列片段998 bp数据中，共检测到11个碱基替换位点和2个插入缺失位点。其中，trnL具有7个单碱基替换位点和1个插入缺失位点，trnL-trnF具有4个碱基替换位点和1个插入缺失位点（见表3）。

表3 紫椴和华东椴叶绿体基因片段的11种单倍型序列变异位点表

Table 3 Sequence variation sites of 11 haplotypes in cpDNA fragments in *Tilia amurensis* and *Tilia japonica*

单倍型	trnL								trnL-trnF				
Hap	16	19	22	147	275	308	572	573	590	599	621	767	885
H1	A	A	T	T	T	A	G	T	A	—	C	T	C
H2	A	A	T	T	T	A	G	T	C	—	C	T	C
H3	A	A	G	T	T	A	G	T	A	—	C	T	C
H4	A	A	T	T	G	A	G	T	A	—	C	T	C
H5	A	A	T	G	T	A	G	T	A	—	C	T	C
H6	A	A	T	T	T	—	G	T	A	#	C	G	T
H7	C	A	T	T	T	A	G	T	A	—	C	T	C
H8	C	C	T	T	T	A	G	T	A	—	C	T	C
H9	A	A	T	T	T	—	G	C	A	#	C	G	T
H10	A	A	T	T	T	—	T	T	A	#	C	G	T
H11	A	A	T	T	T	A	G	T	A	—	&	T	C

注：—代表缺失；#代表TTTT；&代表AG。

Note：—：missing；#：TTTT；&：AG.

在11椴树种群中通过拼接的两段叶绿体DNA片段共产生11种单倍型，单倍型详细信息和地理分布图（见表3和图1），其中有7个单倍型是特有单倍型，只存在单一种群中（H3、H5、H7、H8、H9、H10、H11），4个单倍型是多个种群共有（H1、H2、H4、H6）。从分布范围来看，单倍型H1存在于10个椴树种群中（除DGL种群），是主要单倍型（103/143）；单倍型H6存在于ZS和DGL种群，分布频率为（22/143）；单倍型H2存在于YDS、MPS、HS和TMS种群中，单倍型H4存在于HS和MS种群中，分布频率均为（5/143）；其余单倍型仅在1个种群中有分布，H10的分布频

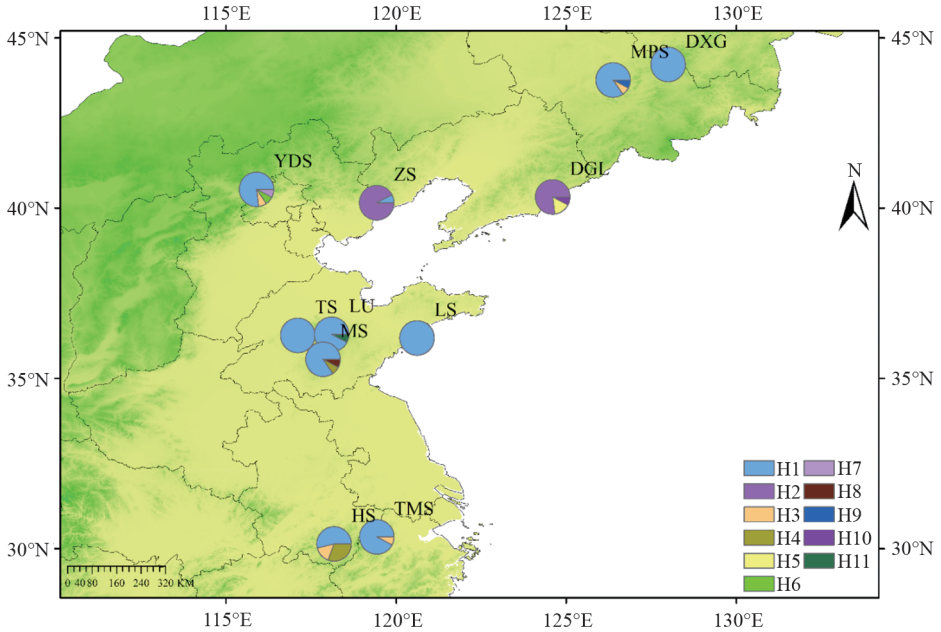


图1 11种单倍型在11个椴树种群中的地理分布图

Fig. 1 Geographical distribution map of 11 haplotypes across 11 *Tilia* populations

率为（2/143），余下6种单倍型的分布频率均为（1/143）。从种群来看，除TS、LS和DXG种群只存在H1单倍型外，其余9个椴树种群都存在2种或2种以上单倍型，其中单倍型最多的种群是YDS，存在4种单倍型。

利用DnaSPv6[21]软件计算得到11个椴树种群的单倍型多态性和核苷酸多态性。单倍型多态性（H_d）的数值范围在0~0.641，核苷酸多态性（*Pi*）的数值范围在0~0.000 90之间，总体单倍型多态性 H_d=0.463，总体核苷酸多态性 Pi=0.000 89。拥有最高单倍型多态性的是华东椴HS种群（H_d=0.641），其存在3种单倍型；拥有最高核苷酸多态性的是紫椴种群中的YDS（*Pi*=0.000 90），存在4种单倍型。TS和LS种群的单倍型多样性以及核苷酸多样性都为0，只存在分布频率最高的H1单倍型。

表4 椴树种群内单倍型的分布及遗传多样性

Table 4 Distribution of haplotypes and genetic diversity within *Tilia* populations

种群 Population	数量 quantity	单倍型（样本数量） Single-size（sample size）	单倍型多态性 H_d	核苷酸多态性 *Pi*
TS	13	H1（13）	0.000	0.000 00
LU	13	H1（12）**H11（1）**	0.154	0.000 16
YDS	13	H1（10）H2（1）**H7（1）H8（1）**	0.628	0.000 90
ZS	13	H1（1）H6（12）	0.154	0.000 32
LS	13	H1（13）	0.000	0.000 00
DGL	13	H6（10）**H10（2）H9（1）**	0.410	0.000 44
MPS	13	H1（11）H2（1）**H5（1）**	0.345	0.000 37
DXG	13	H1（13）	0.295	0.000 45
HS	13	H1（7）H2（2）H4（4）	0.641	0.000 77
MS	13	H1（11）H4（1）**H3（1）**	0.295	0.000 32
TMS	13	H1（12）H2（1）	0.154	0.000 16
总体 Total	143		0.463	0.000 89

注：黑色加粗，代表特有单倍型。

Note：Black is bold，representing a unique hap.

2.2　叶绿体DNA种群变异分析

对紫椴和华东椴叶绿体遗传变异进行AMOVA分析。结果显示，两个物种种群间变异占总变异的68.55%，为主要的变异，种群内变异占30.52%，仅有0.93%的变异来自物种间。而对于紫椴来说，变异主要来自种群间（77.95%），22.05%的变异来自种群内。但华东椴却相反，种群内变异为主要变异，占总变异的91.74%，种群间变异仅为8.26%。所有结果都具有高度显著性（P<0.001）。基于叶绿体DNA序列变异估算两种椴树整体遗传分化系数，F_{ST}=0.693，基因流（*Nm*）为0.111。紫椴种群间具有高的遗传分化系数（F_{ST}=0.780）和低基因流（*Nm*=0.065）；对比之下，华东椴种群间具有较低的遗传分化系数（F_{ST}=0.083）和较高的基因流（*Nm*=2.777）（见表5）。

描述两种椴树叶绿体DNA序列变异的基本数据在表6中列出。紫椴（H_S=0.179）的种群内平均遗传多样性低于华东椴（H_S=0.363）平均遗传多样性，但两个物种的总遗传多样性却相反，紫椴种群的总遗传多样性（H_T=0.504）高于华东椴（H_T=0.410）。紫椴和华东椴种群遗传结构可以通过种群间分化系数（G_{ST}和N_{ST}）来评估，紫椴两项分化系数都显著高于华东椴的分化系数（见表6）。紫椴种群间分化系数G_{ST}小于N_{ST}，表明遗传距离较近的单倍型主要集中在同一个种群或距离较近的种群中。相反，华东椴种群间分化系数G_{ST}大于N_{ST}，表明遗传距离较近的单倍型以较低概率在同一个种群或距离较近的种群中出现。

2.3　叶绿体单倍型网络图及系统发育树的构建

基于Network 5.0软件构建的单倍型进化关系网络图（见图2）显示，19个单倍型聚类为3个潜在进化谱系。从图中可以看出，单倍型H1作为网络核心节点呈现星状辐射分布模式，其地理分布包括大部分的椴树种群，结合单倍型网络

表 5 两种椴树的叶绿体分子变异方差分析

Table 5 Analysis of molecular variance (AMOVA) of two *Tilia* species based on cpDNA

物种 Species	变异来源 Source of variation	自由度(d.f.) Degrees of freedom	平方和(SS) Sum of squares	方差组分(VC) Variance component	变异比例/% Percentage of variation	基因流 N_m	F统计量 F-statistics
紫椴 *Tilia amurensis*	种群间 Among populations	7	36.847	0.404	77.95	0.065	F_{ST} = 0.780
	种群内 Within populations	94	10.741	0.114	22.05		
	总变异 Total	101	47.588	0.518			
华东椴 *Tilia japonica*	种群间 Among populations	2	0.872	0.018	8.26	2.777	F_{ST} = 0.083
	种群内 Within populations	36	7.231	0.201	91.74		
	总变异 Total	38	8.103	0.219			
所有物种 All species	物种间 Among species	1	3.997	0.004	0.93	0.111	F_{ST} = 0.693
	种群间 Among populations	9	37.719	0.311	68.55		F_{SC} = 0.696
	种群内 Within populations	130	17.972	0.138	30.52		F_{CT} = 0.009
	总变异 Total		59.688	0.453			

注：结果显著性 P<0.001。

Note: The result is statistically significant (P<0.001).

表 6 PERMUT 软件分析紫椴和华东椴的叶绿体 DNA 序列变异的遗传多样性统计

Table 6 Genetic diversity statistics of cpDNA sequence variation in *Tilia amurensis* and *Tilia japonica* analyzed by PERMUT software

物种 Species	H_S	H_T	G_{ST}	N_{ST}	显著性 P-value[a]
紫椴 *Tilia. amurensis*	0.179	0.504	0.644	0.830	<0.01
华东椴 *Tilia japonica*	0.363	0.410	0.115	0.083	<0.01

“中心-边缘”理论，可推断 H1 为最古老的单倍型或祖先单倍型。另一核心节点 H6 仅存于紫椴种群 ZS 与 DGL 中，并独立衍生出特有单倍型 H9 和 H10 分支，结合单倍型特有性分布特征，推测 H6 可能代表区域性祖先单倍型，且历史上曾发生局部扩张事件。

基于 cpDNA 联合数据构建的 11 种单倍型 ML 系统发育树分析（见图 3），作为外类群的南京椴（*Tilia miqueliana*）与紫椴和华东椴的 11 种单倍型分离开。紫椴和华东椴的 11 种单倍型

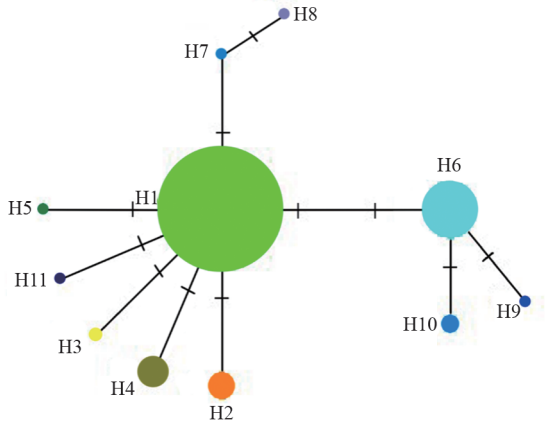


图 2 基于紫椴和华东椴种群 11 种单倍型构建的 Network 网络图

Fig. 2 Network map based on 11 haplotypes of *Tilia amurensis* and *Tilia japonica* population

注：图中圆圈面积的大小和各单倍型出现的频率成正比。

Note: The size of the circles in the figure is proportional to the frequency of each haplotype.

中，单倍型 H6 与其他单倍型以 64% 的支持率分离开，进一步说明单倍型 H6 为区域性祖先单倍型。剩余的 10 种单倍型又被分为 4 支，H1 和

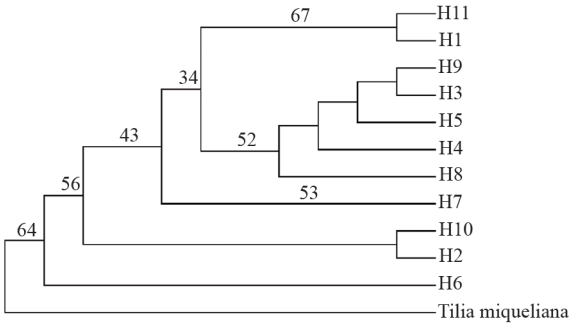


图 3 基于 2 条 cpDNA(trnL 和 trnL-trnF）序列构建的 11 种单倍型 ML 系统发育树

Fig. 3 ML phylogenetic tree of 11 haplotypes constructed based on two cpDNA sequences (trnL and trnL-trnF), the numerical values above the nodes represent maximum parsimony bootstrap support values

注：节点上面的数值代表最大简约法支持率。

Note: The numerical values above the nodes represent maximum parsimony bootstrap support values.

H11 为一支，表明仅存在紫椴 LU 种群的单倍型 H11 与 H1 遗传距离最近；H3、H4、H5、H8、H9 聚为一支，在紫椴和华东椴种群中都存在；H7 单独为一支，仅存在于紫椴 YDS 种群；H2 和 H6 为一支，存在于多个种群。

2.4　种群历史动态分析

基于联合拼接的 cpDNA 序列数据，利用软件 DnaSPv6 对紫椴和华东椴 11 个种群进行失配分布分析和中性检验，检测紫椴和华东椴种群是否经历过快速扩张事件，结果见表 7 和图 4。基于联合拼接序列数据进行中性检验计算得到：紫椴种群的 Tajima's D=−1.134 26（P>0.10），为不显著负值，华东椴种群的 Tajima's D=−0.875 31 也为不显著负值，都符合中性进化模型。但紫椴种群 Fu's Ds=−1.695 61（P<0.10）和 Fu's Fs=−1.780 94（P<0.10），华东椴种群 Fu's Ds=−0.342 78（P<0.10）和 Fu's Fs=−0.580 75（P<0.10），都为显著负值，数据支持快速扩张模型，表明紫椴和华东椴种群历史上可能存在快速扩张事件。

为了更好地推测紫椴和华东椴种群历史，我们进行了失配分布分析。失配分布分析曲线结果显示，紫椴种群的实际分布曲线遵循单峰模型，与期待恒定人口模型曲线相比，存在一个急剧下降后上升的过程，表明紫椴种群历史上存在扩张事件。华东椴种群的实际分布曲线与期待恒定人口模型曲线较为重合，只存在轻微扩张历史。

表 7 紫椴和华东椴的 cpDNA 序列的中性分析

Table 7 Neutrality Analysis of cpDNA Sequences in *Tilia amurensis* and *Tilia japonica*

物种 Species	Tajima's D 值 Tajima's D	Fu's Ds 值 Fu's Ds	Fu's Fs 值 Fu's Fs
紫椴（*Tilia amurensis*）	−1.134 26（P>0.10）	−1.695 61（P<0.10）	−1.780 94（P<0.10）
华东椴（*Tilia japonica*）	−0.875 31（P>0.10）	−0.342 78（P<0.10）	−0.580 75（P<0.10）
均值 Mean	−1.424 43（P>0.10）	−2.096 96（P<0.10）	−2.211 73（P<0.10）

注：P>0.10 代表统计不显著；P<0.10 代表统计显著。

Note: P>0.10 indicates that the result is not statistically significant; P<0.10 indicates that the result is statistically significant.

3　讨论

3.1　种间的遗传差异和遗传多样性

通过对 11 个椴树种群（8 个紫椴种群，3 个华东椴种群）143 个分子材料的 2 条 cpDNA 片段进行联合分析，发现华东椴（H_S=0.363）的种群内平均遗传多样性是紫椴（H_S=0.179）平均遗传多样性的两倍多，但紫椴的总遗传多样性（H_T=0.504）高于华东椴（H_T=0.410）。与同属于椴树属的心叶椴（*Tilia cordata*）（H_T=0.881）相比，紫椴和华东椴具有较低的遗传多样性[22]。同时，紫椴和华东椴在种群间表现出一定程度的遗传分化。紫椴（G_{ST} =0.644）的种群间遗传分化程度显著高于华东椴（G_{ST}=0.155）。cpDNA 序列变异分析揭示了两个物种之间存在显著的遗传差异。此外，cpDNA 单倍型分布也显示出一定的遗传差异，部分单倍型只存在于华东椴种群（H3、H4），而另一些单倍型则为紫椴种群特有（H5、H6、H7、H8、H9、H10、H11）。这种单倍型的特有性表明两个物种在遗传上具有一定的独立性，且在进化过程中可能经历了不同的选择压力和历史事件[23]。同时，紫椴和华东椴 cpDNA 单倍型的分布揭示了两个物种在进化历史上的潜在联系。尽管紫椴和华东椴在遗传上表现出显著的分化，但某些单倍型在两个物种的种群中均有分布（H1、H2），表明它们在分化早期拥有相同的遗传背景，即共同的祖先起源[24,25]。然而，随着时间的推移和环

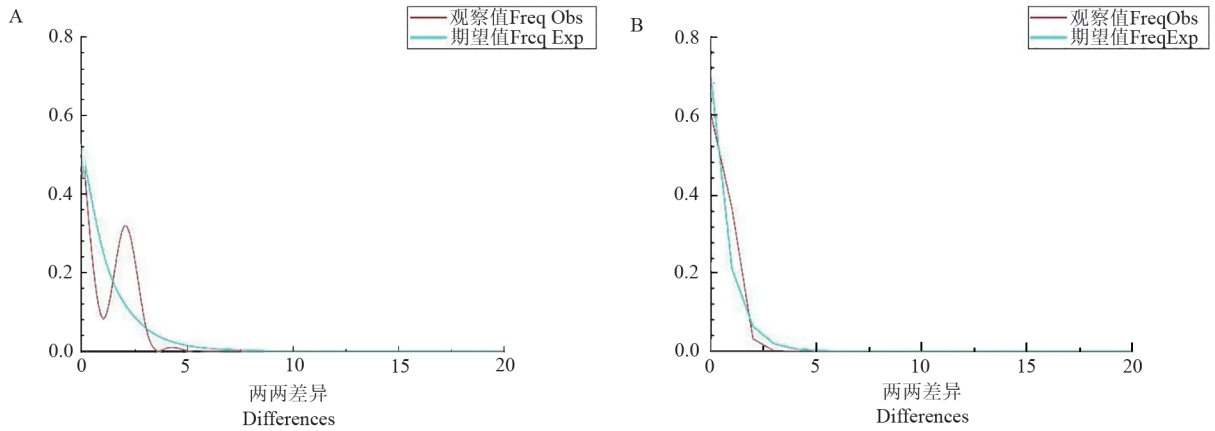


图 4 椴树种群叶绿体失配分析分布曲线

Fig. 4 Distribution curve of chloroplast mismatch analysis in *Tilia* populations

注：A：紫椴种群叶绿体失配分析分布曲线；B：华东椴种群叶绿体失配分析分布曲线。

Note: A: Distribution curve of chloroplast mismatch analysis in T. amurensis populations; B: Distribution curve of chloroplast mismatch analysis in T. japonica populations.

境的变化，这些共享的单倍型逐渐分化，形成了现在的分布格局。

cpDNA 序列变异分析还揭示了它们在进化历史上的差异。紫椴的总遗传多样性（H_T=0.504）高于华东椴（H_T=0.410），这表明紫椴在漫长的进化过程中可能积累了更多的遗传变异。相比之下，华东椴虽然种群内遗传多样性较高（H_S=0.363），但其总遗传多样性较低，这可能暗示其在进化过程中受到遗传漂变或瓶颈效应的影响[26]。

3.2 遗传结构

叶绿体基因组在反映物种遗传结构特征上具有重要的作用。基于紫椴和华东椴多个种群叶绿体 DNA 对遗传结构进行分析，结果表明紫椴（G_{ST}=0.644）的遗传分化系数显著高于华东椴（G_{ST}=0.115），紫椴种群与 Petit 所统计被子植物母系遗传的质 DNA 遗传分化系数平均值（G_{ST}=0.637）或中值（G_{ST}=0.667）相近，华东椴种群则显著偏低[27]。此外，通过对紫椴和华东椴叶绿体遗传变异进行 AMOVA 分析，结果显示叶绿体基因组遗传变异主要发生在种群内部。

种群的遗传结构受基因流、物种进化历史等影响[28]，在一定程度上可以用遗传分化指数（F_{ST}）的大小来表示。根据 Wright[29]定义的种群间遗传分化的明确规则（F_{ST}<0.05 为低；0.05<F_{ST}<0.15 为中等；F_{ST}>0.15 为高），以及叶绿体 DNA 序列变异估算可知，紫椴种群间具有高的遗传分化系数（F_{ST}=0.780）和低基因流（Nm=0.065）；对比之下，华东椴种群间具有较低的遗传分化系数（F_{ST}=0.083）和较高的基因流（Nm=2.777）。遗传结构通过物种种群内和种群间的遗传分化体现，种群遗传分化受到基因流和遗传漂变的强烈影响[30]。当 Nm>1 时，种群间存在一定的基因流动，能发挥匀质化作用抵消遗传漂变并防止分化；当 Nm>4 时，种群间存在高的基因流，种群可以被视为一个随机交配的单位[31]。紫椴（Nm=0.065）种群间较低的基因流，并不能很好地抵消遗传漂变，防止分化；但华东椴（Nm=2.777）种群间较高的基因流，能够降低局部变异，阻止适应性分化，进而导致华东椴种群间遗传分化较低。这些结果表明紫椴种群间遗传差异大、基因交流少，多因隔离导致，长期可能朝不同方向演化；而华东椴种群间遗传差异小、基因交流频繁，演化方向较一致。同时，基于 Hamrick 和 Loveless[32]的研究，植物的基因流水平受到其繁殖系统和种子扩散机制的显著影响，而椴树主要通过昆虫传播花粉进行异交繁殖，这可以被认为是导致紫椴和华东椴种群基因流和种群结构差异的主要因素。

3.3 种群动态历史

中性检验中紫椴和华东椴种群的 Tajima's D 值均为不显著负值，符合中性进化模型。但 Fu's Ds 值和 Fu's Fs 值都呈现出较显著负值，支持种群符合快速扩张模型。综合检验结果，并不能直接证明种群中存在显著的非中性进化过程。进

一步结合失配分布分析曲线，推测紫椴种群近期可能经历了扩张事件，而华东椴种群则可能处于一种动态平衡状态，既没有强烈的中性漂变，也没有明显的自然选择作用[33]。此外，通过叶绿体DNA序列变异分析，也不能排除华东椴种群可能经历了轻微的扩张事件。这种结果可能与紫椴和华东椴种群的复杂进化历史有关，例如在地质历史时期经历了多次的扩张和收缩事件[34,35]。

3.4　保护意义

研究结果表明，紫椴和华东椴的遗传多样性水平较高，而紫椴和华东椴的遗传变异主要发生在种群内部。同时，人为干扰导致的生境破碎化威胁着椴树的生存[36,37]，受到更多人为干扰的种群遗传多样性水平较低。因此，紫椴和华东椴的主要保护策略应该结合就地保护和迁地保护，收集遗传资源建立椴树种质资源库，以保护关键种群及其栖息地，减少人为干扰的影响。此外，保护这两个物种的遗传多样性不仅需要关注它们各自的核心分布区域，还需要重视它们的分布交界区域，这些区域会是基因交流的重要区域。

4　结论

本研究为濒危保护物种紫椴和华东椴的遗传资源的有效保护和合理利用提供了科学、可靠的遗传学数据。研究中发现，紫椴（H_S=0.179，G_{ST}=0.644）和华东椴（H_S=0.363，G_{ST}=0.155）种间存在显著的遗传差异，叶绿体基因组遗传变异主要发生在种群内部，且中性检验和失配分布分析表明，紫椴种群近期可能经历了扩张事件，华东椴可能经历了轻微的扩张，有助于阐明紫椴和华东椴之间的遗传差异。此外，紫椴和华东椴的共同祖先背景以及它们之间存在显著的遗传差异，提示在保护和管理这两个物种时需要考虑它们的遗传联系。为了防止两个物种之间过度的杂交，应该加强对于非重叠区域种群（DGL、MPS、DXG和TMS）的保护，明确其自然分布区域，并加强保护与管理工作，这对于维持该物种的遗传多样性和生态功能至关重要。

参考文献

[1] 诸葛仁和唐亚.椴树属形态演化与生物地理学[J].西南林学院学报,1995(04):1-14.

[2] 中国科学院中国植物志编辑委员会.中国植物志,第四十九卷,第一分册[M].北京:科学出版社,1989:48-49.

[3] 唐亚和诸葛仁.椴树属的地理分布[J].植物分类学报,1996(03):254-264.

[4] Chun S W, Lee J W, Ahn J Y. Development and characterizationof novel microsatellite markers in Tilia amurensis Rupr. usingnext-generation sequencing[J]. Molecular Biology Reports,2022,49:1-5.

[5] 杨立学,崔伟康,付瀚萱,等.植被控制对人工更新紫椴幼树叶片性状和生长量的影响[J].中南林业科技大学学报,2024,44(03):1-10+32.

[6] Shaw R E, Farquharson K A, Bruford M W, et al. Global meta-analysis shows action is needed to halt genetic diversity loss[J].Nature,2025,638(8051):1-7.

[7] 苏金源,燕 语,李 冲,等.通过遗传多样性探讨极小种群野生植物的致濒机理及保护策略:以裸子植物为例[J].生物多样性,2020,28(03):376-384.

[8] 刘曌玥,张梦婷,文 伟,等.国家重点保护植物赤水蕈树的遗传多样性[J].福建农林大学学报(自然科学版),2025,54(04):476-484.

[9] 蒋艾平,姜景民,刘 军.天目山不同海拔檫木群体遗传多样性和遗传结构[J].应用生态学报,2016,27(06):1829-1836.

[10] 穆立蔷,刘赢男.不同地理分布区紫椴种群的遗传多样性变化[J].植物生态学报,2007(06):1190-1198.

[11] 高 磊,刘 丹.基于SSR分子标记的紫椴遗传多样性分析和指纹图谱构建[J].北京林业大学学报,2025,47(03):28-37.

[12] 王 崇,焦春海,杨新笋,等.基于叶绿体基因trnL-trnF、trnH-psbA和trnT-trnL序列的甘薯种质遗传多样性分析[J].南方农业学报,2021,52(06):1536-1544.

[13] 王 玲,叶冬梅,包文泉,等.基于cpDNA分子标记的白杆群体遗传多样性研究[J].福建农林大学学报(自然科学版),2022,51(01):70-76.

[14] Taberlet P, Gielly L, Pautou G, et al. Universal Primers for Amplification of Three Non-Coding Regions of Chloroplast DNA [J]. Plant Molecular Biology, 1991, 17(5): 1105-1109.

[15] Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets[J]. Molecular Biology and Evolution, 2016, 33(7): 1870-1874.

[16] Rozas J, Ferrer-Mata A, Sánchez-DelBarrio J C, et al. Dnasp 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets[J]. Molecular Biology and Evolution, 2017,34(12):3299-3302.

[17] Pons O, Petit R. Measwring and testing genetic differentiation with ordered versus unordered alleles [J].Genetics,1996,144(3):1237-1245.

[18] Excoffier L, Laval G, Schneider S. Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis [J]. Evolutionary Bioinformatics, 2007,1:7-50.

[19] Bandelt H-J, Forster P, Röhl A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies[J]. Molecular Biology and Evolution,1999,16(1):37-48.

[20] 叶 鹤.我国马鞭草扩张过程中的遗传结构研究[D].南昌:南昌大学,2023.

[21] Librado P, Rozas J. Dnasp V5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data [J].Bioinformatics,2009,25(11):1451-1452.

[22] Fineschi S, Salvini D, Taurchini D, et al. Chloroplast DNA variation of *Tilia cordata* (Tiliaceae) [J]. Canadian Journal of Forest Research, 2003, 33(12): 2503-2508.

[23] Hey J, Nielsen R. Multilocus methods for estimating population sizes, migration rates and divergence time, with applications to the divergence of drosophila pseudoobscura and *D. persimilis* [J]. Genetics,2004,167(2):747-760.

[24] Maddison W P, Knowles L L. Inferring phylogeny despite incomplete lineage sorting[J]. Systematic Biology,2006,55(1):21-30.

[25] Rosenberg N A, Nordborg M. Genealogical trees, coalescent theory and the analysis of genetic polymorphisms [J]. Nature Reviews Genetics, 2002, 3(5): 380-390.

[26] Millstein R L.Genetic Drift[J].2016.

[27] Petit R J, Duminil J, Fineschi S, et al. Invited review: comparative organization of chloroplast, mitochondrial and nuclear diversity in plant populations[J]. Molecular Ecology,2005,14:689-701.

[28] 钟章成.植物种群生态适应机理研究[M].北京:科学出版社,2000.

[29] Wright S.Evolution and the genetics of populations:a treatise in four volumes:Vol.4:variability within and among natural populations[C].University of Chicago Press,1978.

[30] Andrews C A. Natural selection, genetic drift, and gene flow do not act in isolation in natural populations[J]. Nature Education Knowledge, 2010, 3(10):5.

[31] Wright S. Evolution in Mendelian populations[J]. Genetics,1931,16(2):97.

[32] Hamrick J, Loveless M. The genetic structure of tropical tree populations: Associations with reproductive biology[C]. The Evolutionary Ecology of Plants.CRC Press,2019:129-146.

[33] Lian C, Yang H, Lan J, et al. Comparative analysis of chloroplast genomes reveals phylogenetic relationships and intraspecific variation in the medicinal plant Isodon rubescens[J].PLoS One,2022,17:e0266546.

[34] Ledig F T, Jacob-Cervantes V, Hodgskiss P D, et al. Recent evolution and divergence among populations of a rare Mexican endemic, Chihuahua spruce, following Holocene climatic warming[J]. Evolution, 1997,51:1815-1827.

[35] Petit R J, Brewer S, Bordács S, et al. Identification of refugia and post-glacial colonisation routes of European white oaks based on chloroplast DNA and fossil pollen evidence[J]. Forest Ecology and Management,2002,156:49-74.

[36] Mu L Q,Liu Y N.Genetic diversity of *Tilia Amurensis* populations in different geographical distribution regions[J].Chinese Journal of Plant Ecology,2007,31 (6):1190.

[37] Zhang F G, Zhang S, Wu K, et al. Potential habitat areas and priority protected areas of *Tilia Amurensis* rupr in China under the context of climate change[J]. Frontiers in Plant Science,2024,15:1365264.