

优先保护种群的确定

II. 单倍型丰富度模型及在银杏中的应用

陆慧萍¹, 沈浪¹, 张欣¹, 樊晓霞¹, 陈小勇^{1, 2 *}

(1. 华东师范大学环境科学系, 上海 200062; 2. 教育部地理信息科学开放实验室, 上海 200062)

摘要: 由于不同种群遗传多样性的不均匀分布以及资金和人力资源等的限制, 加上经济发展常与生物多样性保护存在矛盾, 对于珍稀濒危物种等需要确定优先保护的种群。确定优先保护种群有 3 种途径: 一是以种群遗传变异为依据, 这一方法常用于指导种质资源收集; 二是遗传差异为依据, 如进化显著单元; 三是以综合考虑种群内遗传变异和遗传差异的遗传贡献率为依据。前两种方法各自考虑了一个方面, 存在一定缺陷, 第 3 种方法弥补了这种不足, 但是目前缺少计算遗传贡献率的模型。采用等位基因丰富度参数, 从种群内遗传变异、种群间遗传变异以及物种水平遗传变异之间的关系出发, 提出了将种群间遗传变异分配到各种群的模型, 以及计算各种群遗传贡献的方法。利用获得的 6 个银杏种群 cpDNA PCR-RFLP 单倍型数据对模型进行了说明, 并根据计算结果得出金佛山、爰乐种群位于需要优先保护前列的初步结果。

关键词: 优先保护; 遗传贡献; 单倍型丰富度; 银杏

Identifying populations for priority conservation

II. Models based on

haplotype richness and their applications in *Ginkgo biloba*

LU Hui-Ping¹, SHEN Lang¹, ZHANG Xin¹, FAN Xiao-Xia¹, CHEN Xiao-Yong^{1, 2} (1. Department of Environmental Sciences, East China Normal University, Shanghai 200062, China; 2. Open Laboratory of Geographic Information Science, The Ministry of Education, Shanghai 200062, China). *Acta Ecologica Sinica*, 2004, 24(10): 2312~2316.

Abstract: Due to the uneven distribution of genetic variation and therefore differences in the significance of populations, limits of fund and human resources, and the contradiction usually occurred between conservation and economic development, we had to decide what and where to conserve the threatened species, though all populations should be conserved effectively. Genetic diversity-based methods in germplasm collections and genetic distinctiveness-based methods in identifying evolutionarily significant units (ESUs) can also be used in determining populations for priority conservation. However, each of them considers one aspect of contribution of a population to genetic variation at species level. Genetic variation includes two parts: variation within populations and among populations. Although lots of methods have been proposed to estimate these two parts, no method was available to determine the contribution of a specific population to the variation among populations, and further genetic contribution to the genetic variation at species level. We expanded the relationship between species richness at local and regional levels, $\beta = \gamma/\alpha - 1$, suggested by Whittaker, to the relationship between allele richness at population and species levels, $R_T = R_S + R_D$, where R_T , R_S and R_D are allele richness at species and population levels and distinctiveness among populations, respectively. We constructed models to estimate the relative contribution of allele richness and distinctiveness of a specific population to the species level, $C_{RS(k)} = (R_{S(k)} - \bar{R}_S)/R_T$, $C_{RD(k)} = (R_{D(k)} - \bar{R}_D)/R_T$, respectively. Models to evaluate the

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30070143); 上海市曙光学者计划项目; 上海市重点学科和“211”建设项目

收稿日期: 2003-08-09; **修订日期:** 2003-11-10

作者简介: 陆慧萍(1978~), 女, 上海市人, 硕士生, 主要从事分子生态学、数学模型研究。

致谢: 本文前期工作得到北京师范大学生态学研究所张大勇教授的指导, 谨此致谢

* 通讯联系人 Author for correspondence. xychen@des.ecnu.edu.cn

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No. 30070143); Shuguang Scholar Program of Shanghai; Shanghai Priority Academic Discipline and 211 Program

Received date: 2003-08-09; **Accepted date:** 2003-11-10

Biography: LU Hui-Ping Master candidate, mainly engaged in molecular ecology and ecological modeling.

genetic contributions of populations ($C_{RT(k)} = (R_{T(k)} - \bar{R}_T)/R_T$) were also proposed. At last, we evaluated the genetic contributions of six *G. biloba* populations based on cpDNA haplotypes. Genetic contributions of Jinfoshan and Tuole populations were 34.52% and 8.34%, respectively, and should be conserved with the highest priority.

Key words: Priority conservation; genetic contribution; haplotype richness; *Ginkgo biloba*

文章编号:1000-0933(2004)10-2312-05 中图分类号:Q346,Q948 文献标识码:A

由于生物多样性分布的不均匀以及资金、人力资源等的限制,需要对各地区生物多样性进行评估以确定优先保护对象^[1]。在物种多样性层次,集中反映在热点地区等概念及其实施^[2]。对于重要物种(珍稀濒危物种、重要驯化物种的野生近缘种等)同样也存在优先保护的问题^[3]。重要物种优先保护种群的确定主要是根据各种群的遗传特征进行的,大致有3个途径,即根据种群遗传多样性、遗传独特性以及两者的综合^[3]。根据种群内遗传多样性高低的方法比较直观,但是容易忽略具特有等位基因但总体遗传变异程度不高的种群,使得这些种群中的特有等位基因得不到有效保护,其次并不是所有含有较高遗传变异的种群都值得保护,需因情况而异^[3]。而根据遗传独特性则只强调了差异性,忽视了种群内遗传变异的影响。因此,以综合考虑遗传多样性和独特性的遗传贡献率在衡量优先保护中效果最佳^[3]。综合种群遗传多样性和遗传独特性的遗传贡献最初由Petit等人^[4]提出来的,他们也曾尝试构建一套遗传贡献模型,但他们的公式本质上仍是一种反映遗传独特性的参数。

测度种群遗传变异的方法很多,常见的有多态位点百分比、(有效)等位基因数目、杂合度等。根据种群遗传变异确定优先保护可以参考异地保护中的样本收集和基因资源收集^[3],在衡量种质资源不同采集方法的有效性时,Schoen & Brown^[5]发现根据等位基因最大化原则的收集策略优于Nei's基因多样性最大化原则,主要是因为Nei's基因多样性与等位基因分布频率有很大关系。因此,从等位基因丰富度出发,构建物种水平等位基因丰富度与种群水平丰富度以及独特性之间的关系模型,提出基于等位基因丰富度的遗传贡献率模型反映不同种群对物种遗传变异的贡献程度,并根据遗传贡献程度确定优先保护种群。

银杏(*Ginkgo biloba*)是著名的活化石植物,在植物红皮书中列为二级保护植物^[6],1999年被列为一级重点保护植物。银杏也是十分重要的药材,近几十年来发现对许多病症有独特的疗效。因此,对于银杏的保护理应得到重视,但在银杏的保护中也存在许多不确定性因素,如哪里的种群应该得到优先保护?因此,以银杏为例开展优先保护种群研究,可以确定不同银杏种群的遗传重要性,对于科学地保护银杏具有十分重要的意义。

1 种群遗传贡献模型

物种的遗传变异包含两部分:种群内遗传变异和种群间遗传变异,因而,种群对物种总体遗传贡献程度也相应地取决于两个部分:该种群内遗传变异程度以及该种群与种内其他种群间的遗传差异程度(或称种群遗传独特性)^[3]。对于种群内遗传变异程度的测度已有不少方法,但有关各种群对种群间遗传变异的作用,即种群遗传差异性(或者说种群遗传独特性)的度量却少有关关注。尽管最近已有相关研究涉及此方面,如进化显著单元(ESUs)^[7]、遗传差异性(genetic differentiation, $D_{ST}(k)$)^[4]等,但它们或者不能与经典种群遗传统计方法相结合,或者度量不够确切,因而,无法结合它们对种群遗传贡献进行合理测度。因此,为了准确度量种群对物种的遗传贡献程度,并使这种遗传贡献度量能够纳入经典种群遗传统计分析的框架中,就应从传统种群遗传统计方法着手,给出种群遗传差异性(或者说种群遗传独特性)的合理测量方法,并结合种群内遗传变异,最终得到种群遗传贡献综合模型。

在物种多样性度量中,Whittaker曾给出了群落内物种丰富度(α 多样性)、群落间物种变化速率(β 多样性)和区域总体物种丰富度(γ 多样性)间的度量关系,即 $\beta = \gamma/\bar{\alpha} - 1$,其中 γ 为研究区域中记录到的物种总数, $\bar{\alpha}$ 为研究区域中各群落的平均物种数^[8, 9]。通过转化该公式,可得 $\gamma = \bar{\alpha} + \beta\bar{\alpha}$,如果说 β 是对群落间物种变化速率的度量,那么 $\beta\bar{\alpha}$ 就是对群落间物种差异性的绝对度量。

类似于物种丰富度,等位基因丰富度是指种内或种群内等位基因的绝对或相对数目,因此,以上关系也可推广到遗传变异的度量中,若用 R_T 表示种内所有种群的总体等位基因丰富度, R_S 表示各种群的平均等位基因丰富度, R_D 表示种群间等位基因的差异程度,则有 $R_T = R_S + R_D$ 。这个公式与Nei^[10]提出的种群内遗传变异(H_S)、种群间遗传分化(D_{ST})以及所有种群总体遗传多样性(H_T)间的关系 $H_T = H_S + D_{ST}$ 一致。

据此关系,若物种有 n 个种群,所有种群含有的等位基因总数为 R ,其中种群 k 含有的等位基因数为 R_k ,含有等位基因 i 的种群数为 n_i ($1 \leq n_i \leq n$),则有:

$$R_T = R \tag{1}$$

$$R_S = \frac{1}{n} \sum_k^n R_k = \frac{1}{n} \sum_i^R n_i \tag{2}$$

万方数据

$$R_D = R_T - R_S = \sum_i^R \frac{n - n_i}{n} \tag{3}$$

由以上公式可见,物种水平的等位基因丰富度与各种群含有的等位基因数目以及各等位基因在种群间的分布比例有关。以等位基因 i 为例,若有 n_i 个种群含有该等位基因,则 n_i/n 表示含有该等位基因种群的比例,反映了各种群就该等位基因而言的遗传相似程度;不含该等位基因的种群比例为 $1 - n_i/n$,反映了各种群就该等位基因而言的遗传差异性。该等位基因分布的种群越少,则就越稀有,含有该等位基因的种群与其它种群的差异性就越大,即越独特;若 $n_i = n$,该等位基因分布于所有的种群中,独特性为 0。

因此,每个含有等位基因 i 的种群在该等位基因上的相对等位基因数的贡献为 $1/n$,遗传差异性的贡献为 $(n - n_i)/(nn_i)$ 。前者就是种群在等位基因 i 上贡献给整体的相对等位基因数,而后者为种群就等位基因 i 贡献给整体的等位基因独特性,两者之和 $1/n_i$ 就是种群就该等位基因对物种的总体遗传贡献。

对种群 k 而言,设其含有 R_k 个等位基因,它对物种的遗传变异贡献 $R_{S(k)}$,遗传独特性贡献 $R_{D(k)}$,总体遗传贡献 $R_{T(k)}$ 应为其各等位基因的贡献之和,故有:

$$R_{S(k)} = \frac{R_k}{n} \tag{4}$$

$$R_{D(k)} = \sum_i^{R_k} \frac{n - n_i}{nn_i} \tag{5}$$

$$R_{T(k)} = R_{S(k)} + R_{D(k)} = \sum_i^{R_k} \frac{1}{n_i} \tag{6}$$

可见,当物种的种群数 n 一定时, $R_{S(k)}$ 仅取决于种群 k 所含的等位基因数,而 $R_{D(k)}$ 不仅与种群 k 所含的等位基因数有关,也取决于各等位基因在种群间的分布状况, $R_{T(k)}$ 则是两者的综合贡献。

由以上对物种水平等位基因丰富度和种群水平遗传贡献的度量可知,它们之间存在如下关系: $R_S = \sum_k R_{S(k)}$, $R_D = \sum_k R_{D(k)}$, $R_T = \sum_k R_{T(k)}$ 。为了进一步探讨各种群在维持物种总体等位基因丰富度中的作用,通过比较种群遗传贡献与各种群平均遗传贡献间的差异程度,给出种群内遗传变异、种群遗传独特性以及种群总体遗传贡献的相对贡献率度量,分别用 $C_{RS(k)}$ 、 $C_{RD(k)}$ 和 $C_{RT(k)}$ 表示,则有:

$$C_{RS(k)} = \frac{R_{S(k)} - \bar{R}_S}{R_T} \tag{7}$$

$$C_{RD(k)} = \frac{R_{D(k)} - \bar{R}_D}{R_T} \tag{8}$$

$$C_{RT(k)} = \frac{R_{T(k)} - \bar{R}_T}{R_T} \tag{9}$$

式中, $\bar{R}_S = \sum_k R_{S(k)}/n$, $\bar{R}_D = \sum_k R_{D(k)}/n$, $\bar{R}_T = \sum_k R_{T(k)}/n$, 且有 $C_{RT(k)} = C_{RS(k)} + C_{RD(k)}$, $\sum_k C_{RS(k)} = 0$, $\sum_k C_{RD(k)} = 0$, $\sum_k C_{RT(k)} = 0$ 。显然, $C_{RS(k)}$ 和 $C_{RD(k)}$ 分别反映了种群 k 在维持种群内遗传变异和种群间遗传分化中的效应,而 $C_{RT(k)}$ 则反映了两者的综合效应,即种群 k 在维持物种总体等位基因丰富度中的效应,它们的值可为正也可为负。正值表示正效应,说明种群 k 的遗传贡献高于各种群的平均遗传贡献,该种群的存在增加了种群内遗传变异、种群间遗传分化或者物种总体等位基因丰富度;负值则表示负效应,说明种群 k 的遗传贡献低于各种群的平均遗传贡献,该种群的存在反而降低了种群内遗传变异、种群间遗传分化或者物种总体等位基因丰富度。因而, $C_{RS(k)}$ 、 $C_{RD(k)}$ 或 $C_{RT(k)}$ 表现为正值的种群分别是在维持种群内遗传变异、种群间遗传分化或物种总体等位基因丰富度中起较重要作用的种群。根据各种群 $C_{RS(k)}$ 、 $C_{RD(k)}$ 或 $C_{RT(k)}$ 的结果,可以对各种群进行排序,排在前面的种群保护价值大,特别是那些 $C_{RS(k)}$ 、 $C_{RD(k)}$ 或 $C_{RT(k)}$ 为正值的种群,更应优先得到保护。

2 应用:银杏优先保护种群的确定

以银杏为例,对构建的模型进行说明。有关数据引自获得的银杏种群中的 cpDNA PCR-RFLP 单倍型数据^①。这些种群采自被认为存在银杏野生种群、群落或避难所的地点(表 1),共采集了 7 个种群,由于贵州务川种群提取的 DNA 未能得到 cpDNA 特异性扩增产物,用于分析的有 6 个银杏种群(表 1)。这 6 个种群的 cpDNA PCR-RFLP 单倍型数据见表 2。

采用公式(4)~(9),利用表 2 的数据计算的银杏各种群遗传贡献见表 3。银杏种群 cpDNA PCR-RFLP 单倍型为 1~6 种,以金佛山种群最多,下庵、杉坪和天目山种群都只有 1 种单倍型。平均每种群含有的单倍型为 2.334 种。不管是种群内和种群间遗传贡献率都以金佛山种群最高,分别为 8.73%和 25.79%,总体遗传贡献率达到 34.52%。其次为妥乐种群。根据种群内等位基因丰富度计算的贡献程度顺序为:金佛山种群>妥乐种群>洛阳种群>天目山种群=下庵种群=杉坪种群。独特性贡献率情

① 沈浪. 银杏种群遗传结构的初步研究:兼论银杏冰期避难所. 华东师范大学硕士学位论文.

况为:金佛山种群>妥乐种群>洛阳种群>天目山种群>下庵种群=杉坪种群,其中金佛山种群远高于其他种群,因为该种群含有 2 个特有单倍型;天目山种群虽然和下庵种群、杉坪种群一样,只有 1 种单倍型,但由于天目山种群含有的单倍型分布在 3 个种群中,而下庵种群、杉坪种群韩有的单倍型分布在 4 个种群中,因而计算的独特性为天目山种群高于下庵种群和杉坪种群。只有金佛山种群、妥乐种群等位基因丰富度、独特性和总体贡献率均为正值。由此可见,最值得保护的种群为金佛山种群和妥乐种群。

表 1 6 个银杏种群的地理位置和 cpDNA 多样性

地点 Location	代码	样本数	地理位置	叶绿体单	基因多样性
	Card	Stmpe	Location	倍型数目 No.	Diversity
湖北随州市洛阳镇 Luoyang Town of Suizhou City,Hubei Province	LY	16	113°19'E, 31°26'N	2	0.121
河南西峡县下庵 Xiaan of Xixia,He'nan Province	XA	20	111°47'E, 33°32'N	1	0
重庆南川金佛山 Jinfoshan of Nanchuan,Chongqing Municiplity	JF	24	107°11'E, 29°03'N	6	0.617
贵州贵阳杉坪 Shanping of Guiyang City,Guizhou Province	SP	20	106°48'E, 26°15'N	1	0
贵州盘县妥乐 Tuole Town of Pan County,Guizhou Province	TL	24	104°32'E, 25°36'N	3	0.351
浙江临安市西天目山 West Tianmushan of Lin'an City,Zhejiang Province	TM	27	119°27'E, 30°19'N	1	0

表 2 cpDNA 单倍型在 6 个银杏种群中的分布状况

单倍型 Haplot	银杏种群 Population						总数 Total
	LY	XA	JF	SP	TL	TM	
A			2		19		21
B		20	5	20	4		49
C					1		1
E	15		14			25	54
F	1		1				2
G			1				1
H			1				1
总数 Total	16	20	24	20	24	25	129

表 3 基于等位基因丰富度模型的度量结果

Table 3 Allele richness, distinctiveness and genetic contributions of <i>G. biloba</i> populations						
种群 Population	R_S	R_D	R_T	$C_{RS}(\%)$	$C_{RD}(\%)$	$C_{RT}(\%)$
LY	0.333	0.500	0.833	-0.79	-3.97	-4.76
XA	0.167	0.083	0.250	-3.18	-9.92	-13.10
JF	1.000	2.583	3.583	8.73	25.79	34.52
SP	0.167	0.083	0.250	-3.18	-9.92	-13.10
TL	0.500	1.250	1.750	1.59	6.75	8.34
TM	0.167	0.167	0.333	-3.18	-8.73	-11.91
总体 Total	2.334	4.666	6.999	0.00	0.00	0.00
标准方差 S.E	0.299	0.903	1.202	4.27	12.91	17.17

3 讨论

优先保护种群的确定有多种的途径,根据遗传组成情况来判别是最有效的方法。根据遗传组成进行判别时往往考虑两方面的因素,一是种群含有的遗传多样性高低,一般来讲,遗传多样性越高,越值得优先保护;二是与其他种群的不同(差异性),一个种群的遗传组成越独特,越具有优先保护价值。因此,一个恰当的评估模型应该包含这两方面的因素,仅考虑其中一个方面会带来一定的误差。为此,Petit 等^[4]提出遗传贡献率的概念来综合这两方面的因素,贡献率越高的种群,越值得优先保护。然而,他们的公式实际上仍是一种基于独特性的测量指标。根据 Whittaker 建立的物种丰富度关系,构建了各种群的种群内遗传多样性和种群间遗传多样性贡献,在此基础上建立综合的遗传贡献率模型,则综合地反映各种群对总体遗传多样性的贡献,并以银杏为例进行说明,表明模型是可行的。

综合的遗传贡献率由种群内多样性和独特性两部分组成,他们的相对重要性取决于遗传多样性在种群内和种群间的分配,当遗传变异大多存在于种群内时,意味着种群的相似程度高,差异性小,因而,种群的总体遗传贡献率主要取决于种群内的多样性;反之,意味着种群之间的遗传差异大,因而主要取决于种群间的多样性。在研究的银杏种群中,共有 7 种单倍型,种群单倍型数目平均为 2.38 种群,其余的变异则存在于种群间,因此,独特性往往起着较大的作用,计算的遗传贡献率中,差异性占有较大的比重。

利用建立的模型对 6 个银杏种群遗传贡献率排序,得到金佛山种群、妥乐种需要优先保护的初步结论,这一结论与利用分子标记检测的种群内遗传变异程度、含有的独特等位基因数目是一致的。据报道,金佛山存在相对天然的银杏林,并且人类定居的历史不长^[11, 12],一般情况下,自然更新有利于遗传变异在世代间保持相对稳定而保留下来,世代间遗传差异小^[13, 14],因此,这些地方有可能保留了较多的遗传变异。这里的初步结论只是根据 cpDNA PCR-RFLP 单倍型数据得出的,由于影响种群内遗传变异的因素较多,还需要进一步确定这些种群中遗传变异维持的机制,以增强结论的说服力。需要指出的是,这里采用部分银杏种群的数据主要是用于模型的说明,要得到更客观的结论,可以对更多种群进行遗传分析,再采用本文中的模型进行处理。

References:

[1] Chen X Y, Li Y Y and Lu H P. Identification of geographic priority for biodiversity conservation. In: Y. Y. Chen. ed. *Biodiversity conservation and regional sustainable development in China*, Beijing: China Forestry Publisher, 2002. 28~36.

[2] Myers N, Mittermeier R A, Mittermeier C G, *et al.* Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 2000, **403**: 853~858.

[3] Chen X Y, Lu H P, Shen L and Li Y Y. Identifying populations for priority conservation of important species. *Biodiversity Science*, 2002, **10**: 332~338.

[4] Petit R J, Mousadik A E and Pons O. Identifying populations for conservation on the basis of genetic markers. *Conservation Biology*, 1998, **12**: 844~855.

[5] Schoen D J and Brown A H D. Conservation of allelic richness in wild crop relatives is aided by assessment of genetic markers. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 1993, **90**: 10623~10627.

[6] Fu L G and Jin J M. *Red list of endangered plants in China*. Beijing: Science Press, 1992.

[7] Moritz C. Defining “evolutionary significant units” for conservation, *Trends in Ecology & Evolution*, 1994, **9**: 373~375.

[8] Magurran A E. *Ecological Diversity and Its Measurement*. New Jersey: Princeton University Press, 1988.

[9] Wilson M V and Shmida A. Measuring beta diversity with presence~absence data. *Journal of Ecology*, 1984, **72**: 1055~1064.

[10] Nei M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 1973, **70**: 3321~3323.

[11] Li J W, Liu Z Y, Tan Y M, *et al.* Studies on the Ginkgo at the Jinfoshan Mountain. *Forest Research*, 1999, **12**: 197~201.

[12] Xiang Z, Zhang Z L and Xiang Y H. Investigation of natural Ginkgo biloba population on the Golden Buddha mountains of Nanchuan, Chongqing. *Guizhou Science*, 2001, **19**: 37~52.

[13] Linhart Y B, Mitton J B, Sturgeon K B, *et al.* Genetic variation in space and time in a ponderosa pine. *Heredity*, 1981, **46**: 407~426.

[14] Ueno S, Tomaru N, Yoshimaru H, *et al.* Size-class differences in genetic structure and individual distribution of *Camellia japonica* L. in a Japanese old-growth evergreen forest. *Heredity*, 2002, **89**: 120~126.

参考文献:

[1] 陈小勇,李媛媛,陆慧萍. 生物多样性优先保护地确定的研究 见:陈宜瑜主编. 生物多样性保护与区域可持续发展——第四届全国生物多样性保护与利用研讨会论文集. 北京: 中国林业出版社, 2002. 28~36.

[3] 陈小勇,陆慧萍,沈浪,等. 重要物种优先保护种群的确定. 生物多样性, 2002, **10**(3): 332~338.

[6] 傅立国,金鉴明. 中国植物红皮书. 北京: 科学出版社, 1992.

[11] 李建文,刘正宇,谭杨梅,等. 金佛山银杏的调查研究. 林业科学研究, 1999, **12**: 197~201.

[12] 向准,张著林,向应海. 重庆市南川金佛山银杏天然资源考察报告. 贵州科学, 2001, **19**: 37~51.