

## 基于DNA条形码的上海滨海湿地碱蓬属植物遗传多样性分析

赵子滔<sup>1,2</sup>, 李 敏<sup>1,2</sup>, 吴庭健<sup>1,2</sup>, 张梅菁<sup>1,2</sup>, 沈茜妤<sup>1,2</sup>, 马绍祖<sup>1,2</sup>, 刘金林<sup>1,2</sup>, 何培民<sup>1,2,3</sup>

(1. 上海海洋大学 海洋科学与生态环境学院, 上海 201306; 2. 上海水域生态环境工程高校研究中心, 上海 201306; 3. 江苏省海洋生物产业技术协同创新中心, 江苏 连云港 222005)

**摘 要:** 为探究上海市滨海湿地碱蓬属(*Suaeda*)植物种类及其遗传多样性, 调查和研究了上海市浦东新区南汇东滩、奉贤区海滩、崇明区东滩等3个滨海湿地11个站位采集的碱蓬属植物种类资源及其遗传多样性。结果表明: 经形态学鉴定和基于ITS和*matK*序列条形码分析的分子鉴定, 上海市滨海湿地碱蓬属植物为盐地碱蓬和碱蓬2个种。仅在崇明岛发现碱蓬, 7株样品之间遗传距离为0, 表明该群体与外界没有基因交流。崇明、浦东、奉贤等地盐地碱蓬在ITS和*matK*序列上均存在2~3个单倍型, 遗传距离 $D < 0.05$ , 说明大多数为群体内部遗传变异。奉贤群体的遗传多样性最低( $H_d = 0.419 \pm 0.113$ ,  $P_i = 0.000\ 9$ 和 $H_d = 0.133 \pm 0.112$ ,  $P_i = 0.000\ 4$ ), 浦东群体遗传多样性最高( $H_d = 0.629 \pm 0.086$ ,  $P_i = 0.001\ 5$ 和 $H_d = 0.475 \pm 0.141$ ,  $P_i = 0.004\ 3$ )。浦东与崇明、奉贤的群体间存在中度分化( $0.05 < F_{ST} < 0.15$ ,  $P < 0.05$ ;  $N_m > 1$ ), 崇明与奉贤的群体间存在高度分化( $0.15 < F_{ST} < 0.25$ ,  $P < 0.05$ ;  $N_m < 1$ )。本研究为上海市滨海湿地碱蓬属植物保护和种群恢复奠定了坚实基础。

**关键词:** 碱蓬属; 遗传多样性; 分子鉴定; ITS; *matK*; 上海

**中图分类号:** S 917; Q 943

**文献标志码:** A

碱蓬属为石竹目(Caryophyllales)藜科(Chenopodiaceae)植物, 碱蓬属全部为盐生植物, 有极强的耐盐、耐碱、耐干旱和耐瘠薄等特征, 常见于滨海潮间带、盐沼湿地、荒漠、盐湖岸边、沟渠岸边及各种盐碱地<sup>[1]</sup>。全球共有100余种, 且分布广泛<sup>[2-3]</sup>。我国主要分布于黑龙江、内蒙古、辽宁、山东、江苏、浙江、新疆和青海等地区。1979年记录中国碱蓬属植物共20个种及1个变种<sup>[4]</sup>, 2018年修订为19个种及1个变种<sup>[5-6]</sup>。由于碱蓬属植物在不同生境下的表型差异较大, 为形态学鉴定工作造成了一定的困难, 故需要借助分子生物学手段进行准确鉴定。

近年来, 随着分子技术的飞速发展, DNA条形码技术(DNA barcoding)和分子标记(Molecular marker)在生物多样性评估和物种鉴定中的应用越来越广泛。HEBERT等<sup>[7-8]</sup>最早提

出了DNA条形码概念, 国际上成立了生命条形码联盟(Consortium for the barcode of life, CBOL)。在目前植物DNA条形码相关的研究中, 核基因ITS作为DNA条形码的潜力得到了不少研究者的认可, 叶绿体基因*matK*受到了多数研究者的支持和重视<sup>[9]</sup>。但是针对滨海湿地盐沼植物研究相对较少。BAFEEL等<sup>[10]</sup>最早发现*matK*能够100%区分藜属内12个种, BRANDT等<sup>[11]</sup>研究发现ITS序列可以鉴别美国一种碱蓬亚种(*Suaeda* subg. *Brezia*), 魏亚男等<sup>[12]</sup>研究发现ITS+*matK*可作为中国海岸带耐盐植物(包括碱蓬属)DNA条形码, 姚鹏程<sup>[13]</sup>则认为*matK*是藜科植物(包括碱蓬属)最适DNA条形码。此外, 国外和山东师范大学也开展了碱蓬属分子标记研究<sup>[14-15]</sup>。利用DNA条形码及分子标记技术结合传统分类学方法, 可从形态、分子水平对不同碱

收稿日期: 2023-07-19 修回日期: 2023-08-30

基金项目: 上海市海洋局科研项目(沪海科 2022-03); 国家重大科技专项(2017YFC0506002); 自然资源部海洋生态监测与修复技术重点实验室开放基金(MEMRT202003)

作者简介: 赵子滔(1997—), 男, 硕士研究生, 研究方向为植物生态学。E-mail: zitaoshao@163.com

通信作者: 何培民, E-mail: pmhe@shou.edu.cn

版权所有 ©《上海海洋大学学报》编辑部(CC BY-NC-ND 4.0)

Copyright © Editorial Office of Journal of Shanghai Ocean University (CC BY-NC-ND 4.0)

<http://www.shhydx.com>

蓬属植物种群进行分类鉴定及遗传多样性分析。

滨海湿地属于蓝碳生态系统,在滨海碳汇方面拥有巨大潜力<sup>[16-17]</sup>。碱蓬群落为滨海湿地的典型盐沼植物类型,是盐碱地生境的先锋物种,具有降低土壤盐分、改变土壤理化性质的功能,对盐碱地群落的演替进程起到关键性的作用,具有较高的净初级生产力和碳吸收能力,并呈现一片色彩十分红艳的生态景观,具有极高的生态旅游经济价值<sup>[18-21]</sup>。最新研究显示,辽河口盐沼湿地土壤固碳能力最强的为碱蓬群落(土壤碳储量为44.73 t/hm<sup>2</sup>),其次为芦苇(*Phragmites australis*)群落(36.69 t/hm<sup>2</sup>)<sup>[22]</sup>。盘锦红海滩国家风景廊道盐地碱蓬湿地通过生态修复由2018年的133.33 hm<sup>2</sup>增加到2022年的1 466.67 hm<sup>2</sup>,2021年旅游收入高达220亿元。

上海市地处长江入海口的冲积平原,是典型的滨海生态城市<sup>[23-24]</sup>,滨海湿地面积约占上海市湿地总面积的79%,且湿地率高于全国平均湿地率近9倍<sup>[25]</sup>。上海市沿岸分布着大面积的滨海滩涂和盐沼湿地,兼具维持生态系统结构、提供生态系统服务供给和保护生物多样性等功能<sup>[26-27]</sup>。随着近年来上海市经济和人口的快速增长,沿岸的滩涂和盐沼面积逐渐减少,导致原有生境退化及生物多样性降低,1990—2018年间上海滩涂面积/潮滩面积约下降了52%,潮滩湿地面积净损失约18%<sup>[28]</sup>。上海市近几年十分重视滨海湿地生态修复工程建设,每年均投入大量资金大规模种植芦苇、海三棱藨草、藨草等盐沼植物,以恢复滨海湿地盐沼植物种群。上海海洋大学从2015年开始在上海南汇东滩光滩上种植海三棱藨草,目前已恢复了近166.67 hm<sup>2</sup>海三棱藨草种群,为上海滨海湿地海三棱藨草种群恢复和生态修复做出了重大贡献<sup>[29-33]</sup>。但多年来,上海市滨海湿地有关碱蓬属植物资源调查及遗传多样性研究鲜有报道。

为此,本研究对上海市滨海湿地碱蓬属植物资源及遗传多样性进行调查,并采用ITS和*matK*基因序列确定碱蓬种类,在此基础上进一步开展群体间遗传距离、单倍型多样性、基因流等遗传多样性指数研究,旨在为上海市滨海湿地碱蓬种群保护与恢复奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 碱蓬属种类与样品采集

研究对象为上海市滨海湿地生长分布的碱蓬属(*Suaeda*)植物,样品采集种类为盐地碱蓬(*Suaeda salsa*)和碱蓬(*Suaeda glauca*)。

2022年6—11月,在上海沿岸地区开展碱蓬属植物分布调查,本次调查共在11个点位发现有碱蓬属植株分布并采集样品,考虑到潮位对碱蓬属植物分布的影响,在选择设置采样点位时,均覆盖潮间带和潮上带区域。其中崇明5个点位(CM-1、CM-2、CM-3、CM-4、CM-5),浦东新区3个点位(PD-1、PD-2、PD-3),奉贤3个点位(FX-1、FX-2、FX-3)。每个采样点的面积大致为250~1 000 m<sup>2</sup>。采样点站位如图1所示,站位信息详见表1。

采集的完整植株置入12号采样袋内密封,带回实验室进行样品预处理。使用双蒸水[A500197-0500,生工生物工程(上海)股份有限公司]清洗植株根系及茎叶表面的土壤和盐离子等杂质,用于后续形态学及分子鉴定。

### 1.2 碱蓬属植株形态学鉴定

参考《中国植物志》对采集的样品进行形态学鉴定,初步确定采集的样品均为碱蓬属植物<sup>[4]</sup>。按照形态学相似特征将样品进行初步分类并编号,使用相机拍摄样品形态学特征并记录。然后将完整植株存放于-80℃冰箱内冷冻保存,以便后续开展分子生物学鉴定。

### 1.3 碱蓬属植株DNA提取

采用生工生物工程(上海)股份有限公司的Dzap基因组DNA抽提试剂盒(植物),选取健康、完整、幼嫩的叶片组织进行DNA提取。提取后的DNA样品经过电泳后出现一条明亮总DNA条带,表明DNA样品合格。电泳图谱见图2。

### 1.4 碱蓬属植株基因序列分析与比对

采用ITS(包含保守段和可变段)和*matK*基因序列分析鉴定样品种类<sup>[5]</sup>。ITS和*matK*基因的上下游引物(表2)由苏州金唯智生物科技有限公司合成。PCR扩增条件建立在这2对通用引物上,PCR扩增反应采用50 μL体系:2 μL的DNA样品,44 μL的2×Taq Master mix,2 μL的10 μmol/L正向引物,2 μL的10 μmol/L反向引物。PCR扩增反应条件见表3。

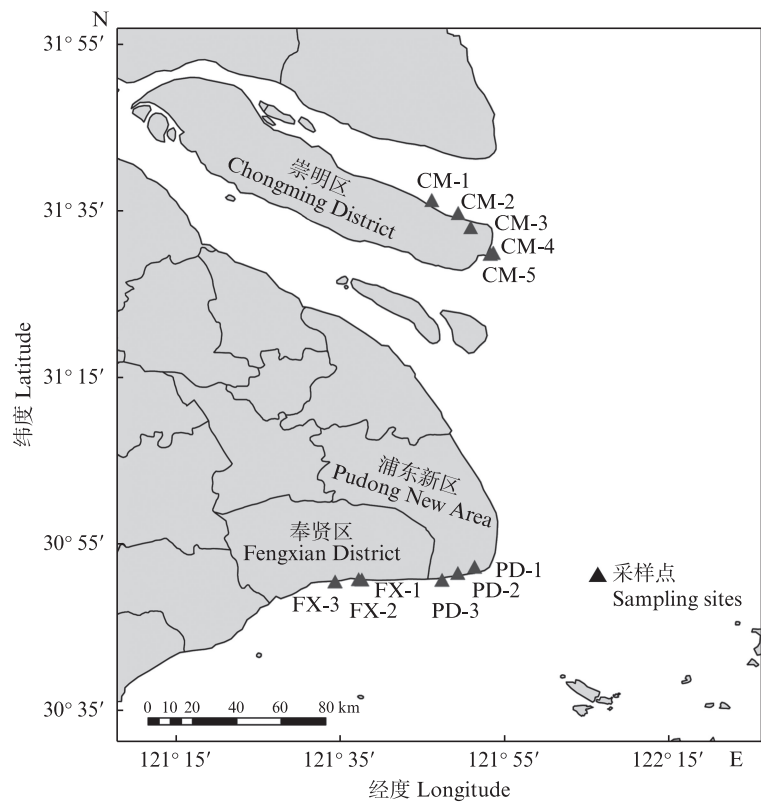


图 1 上海市沿岸采样点位分布图

Fig. 1 Distribution map of sampling sites along the coast of Shanghai

表 1 上海市沿岸采样点信息

Tab. 1 Information about sampling sites along the coast of Shanghai

采样区域 Sampling area	纬度 Latitude	经度 Longitude	样品编号 Number of samples
崇明区 Chongming District	31°36'19.54"N	121°52'3.09"E	CM-1-1,CM-1-2,CM-1-3,CM-1-4,CM-1-5
	31°34'44.68"N	121°55'16.13"E	CM-2-1,CM-2-2,CM-2-3,CM-2-4,CM-2-5
	31°33'4.73"N	121°56'46.77"E	CM-3-1,CM-3-2,CM-3-3,CM-3-4,CM-3-5
	31°29'59.68"N	121°59'31.07"E	CM-4-1,CM-4-2,CM-4-3,CM-4-4,CM-4-5
	31°29'49.23"N	121°59'20.84"E	CM-5-1,CM-5-2,CM-5-3,CM-5-4,CM-5-5
浦东新区 Pudong New Area	30°52'19.68"N	121°57'15.24"E	PD-1-1,PD-1-2,PD-1-3,PD-1-4,PD-1-5
	30°51'35.81"N	121°55'11.61"E	PD-2-1,PD-2-2,PD-2-3,PD-2-4,PD-2-5
	30°50'45.85"N	121°53'16.91"E	PD-3-1,PD-3-2,PD-3-3,PD-3-4,PD-3-5
奉贤区 Fengxian District	30°50'51.30"N	121°43'8.07"E	FX-1-1,FX-1-2,FX-1-3,FX-1-4,FX-1-5
	30°50'51.17"N	121°43'0.70"E	FX-2-1,FX-2-2,FX-2-3,FX-2-4,FX-2-5
	30°50'35.72"N	121°40'16.24"E	FX-3-1,FX-3-2,FX-3-3,FX-3-4,FX-3-5

研究选用的 2 种碱蓬属植物的 DNA 条形码序列的 PCR 扩增结果(图 2)在凝胶成像仪上均呈现出完整、明亮、清晰的特异性扩增条带,本研究扩增出的 ITS 序列长度为 700~800 bp, *matK* 序列长度为 800~900 bp, 扩增序列质量均符合测序分析标准。

将 PCR 扩增得到的核苷酸序列样品送生工

生物工程(上海)股份有限公司进行测序。使用 BioEdit<sup>[43]</sup>软件检查序列是否准确,并进行人工校对。在 NCBI (National center for biotechnology information)数据库中自带的 BLAST 序列比对工具与库中相近或相同序列进行比对,进一步得到各序列对应的物种信息。

表2 PCR扩增引物信息  
Tab. 2 Information on PCR amplification primers

引物 Primer	引物序列 Primer sequences	引物扩增方向 Direction of primer amplification	参考文献 Reference
18sdir	5'-CGTAACAAGGTTTCCGTA-3'	正向 Forward	[5]
ITS4	5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'	反向 Reverse	[5]
<i>matK</i> 3F-KIM	5'-CGTACAGTACTTTTGTGTTTACGAG-3'	正向 Forward	-
<i>matK</i> IR-KIM	5'-ACCCAGTCCATCTGGAAATCTTGGTTC-3'	反向 Reverse	-

表3 PCR扩增反应条件  
Tab. 3 Reaction conditions of PCR amplification

片段 Fragment	PCR反应扩增程序 PCR amplification protocol
ITS	94 °C 4 min; 94 °C 1 min; 50 °C 45 s; 72 °C 1 min 30 cycles; 72 °C 5 min
<i>matK</i>	94 °C 1 min; 94 °C 30 s; 52 °C 20 s; 72 °C 50 s 35 cycles; 72 °C 5 min

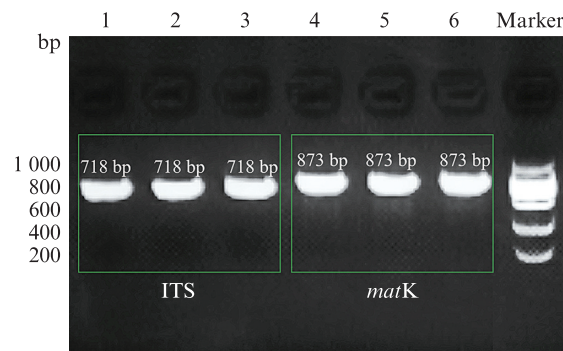


图2 DNA条形码序列扩增电泳图

Fig. 2 Electrophoresis map of amplified products of DNA bar code sequences

选取文献中已报道的与研究对象亲缘关系相近植物的DNA条形码:盐地碱蓬(ITS: MF063498, *matK*: NC045302)、碱蓬(ITS: MF063490, *matK*: NC045303)、盐角草 *Salicornia europaea* (ITS: MF063455, *matK*: MF063989)、互花米草 *Sporobolus alterniflorus* (ITS: MF063664, *matK*: MF064223)和地肤 *Kochia scoparia* (ITS: MF063437, *matK*: MF063975)。将上述物种作为本研究的外群物种或近缘物种,并把测得的碱蓬属样品序列与上述物种序列进行分析。

### 1.5 系统发育进化树建立

使用 Mega 11 (Molecular evolutionary genetics analysis) 软件进行序列对齐分析。待得到序列文件后,将序列裁剪整齐以确保后续系统发育进化树的建树准确度。系统发育进化树是基于进化的聚类,是描述物种进化顺序的拓扑结构,常用于研究物种的进化关系。本研究选择近

邻相接(Neighbor-joining, NJ)法构建系统发育进化树,相关参数设置如下:建树检测方法选用步长检验法(Bootstrap method),设置自举检验值(No. of Bootstrap Replications)为1000次检验节点置信度<sup>[34]</sup>。

### 1.6 遗传多样性指数分析

选用 Kimura 双参数模型计算不同地理群体间遗传距离和群体内遗传距离。使用 DNAsp 5.0 软件进行序列变异位点数、核苷酸多样性、单倍型多样性、平均核苷酸差异数、遗传分化指数、基因流和 Tajima's D 检验的计算分析。使用 Arlequin 3.5 进行分子变异分析<sup>[35]</sup>。使用 PopART 1.7 绘制盐地碱蓬单倍型网络图。使用 PopART 1.7 的综合邻接方法快速构建可视化单倍型网络,还包含 AMOVA 分析和 Tajima's D statistics 等遗传学统计方式。

### 1.7 数据分析与处理

使用 SPSS 27.0 进行单因素方差分析和相关



性分析,显著性水平 $P<0.05$ 表示差异显著。本研究中,所有数值计算结果均精确至小数点后4位有效数字,以确保数据的准确性与一致性,满足研究分析对精度的要求。

2 结果

2.1 上海市滨海湿地碱蓬属植物种类调查及形态学鉴定

上海市滨海湿地碱蓬属植物在地理位置上呈零散分布,主要生长在滨海滩涂、盐沼湿地、沟渠岸边和田埂等地,通常形成单种群落,多为斑点状分布或条带状分布(图3)。其中,在南汇东

滩滨海湿地、奉贤滨海湿地、崇明东滩滨海湿地等发现面积较大的碱蓬属植物分布(表4)。

经形态学鉴定,可以初步将上海市滨海湿地碱蓬属植物区分为2个种:盐地碱蓬和碱蓬,2个物种在形态学上主要特征见表5、图4和图5。

3个采样地点主要为盐地碱蓬,仅崇明采集到碱蓬。不同地点采集到的碱蓬属植物的样品见图6。现场调查发现,崇明4个采样站位盐地碱蓬均分布在潮滩,高程较低,潮水淹没时间较长,而碱蓬主要分布在防波堤上和堤坝附近,高程较高,潮水淹没时间较短。

表4 上海市滨海湿地碱蓬属植物的分布及面积  
Tab. 4 Distribution and area of *Suaeda* plants in Shanghai coastal wetlands

区域 Region	地点 Location	面积 Area/hm <sup>2</sup>	主要种类 Main species	分布状况 Distribution
浦东新区 Pudong New Area	南汇东滩滨海湿地	0.180 0~0.200 0	盐地碱蓬	主要为盐地碱蓬,单株或簇状。历史上偶见碱蓬,单株。
奉贤区 Fengxian District	奉贤滨海湿地	0.066 0~0.100 0	盐地碱蓬	主要为盐地碱蓬,单株或簇状。
崇明区 Chongming District	崇明东滩滨海湿地	45~50	盐地碱蓬、碱蓬	优势种为盐地碱蓬,簇状。偶见碱蓬,单株。

表5 盐地碱蓬与碱蓬形态学差异  
Tab. 5 Morphological differences between *S. salsa* and *S. glauca*

形态特征 Morphological characteristics	盐地碱蓬 <i>S. salsa</i>	碱蓬 <i>S. glauca</i>
株高 Height/cm	10~85	15~120
茎干 Stem	多为簇状,无主枝且直立,黄褐色,具微条棱	有主枝且直立,粗壮,绿色,具微条棱
分枝 Branch	细瘦开散,多生于茎上部	细长上升,集中于茎上部
叶型 Shape of leaves	长条状,枝上部的叶短小	细丝状,向上弯曲,叶基本等长
叶色 Color of leaves	生长期呈黄绿色或红绿色,成熟后呈红色	总体呈灰绿色,分枝基部叶片呈红色
花 Flowers	花被5深裂,半球状	花被5裂,杯状
果 Fruits	胞果,种子成熟后果皮开裂	胞果,包于花被内

2.2 上海市滨海湿地碱蓬属植物分子鉴定

在形态学鉴定基础上,进一步采用分子鉴定。经DNA提取、ITS和 $matK$ 序列PCR扩增及测序分析,获得ITS和 $matK$ 全基因序列,与NCBI标准盐地碱蓬和碱蓬ITS(盐地碱蓬登录号:MF063498,碱蓬登录号:MF063490)和 $matK$ (盐地碱蓬登录号:NC045302,碱蓬登录号:NC045303)序列比对,结果显示,盐地碱蓬ITS序列的相似度为100%, $matK$ 序列的相似度为99%,碱蓬ITS序列的相似度和 $matK$ 序列的相似度均达到100%。验证本研究采集到的上海市滨海湿地碱蓬属植物分别为盐地碱蓬和碱蓬。

2.3 系统发育进化树分析结果

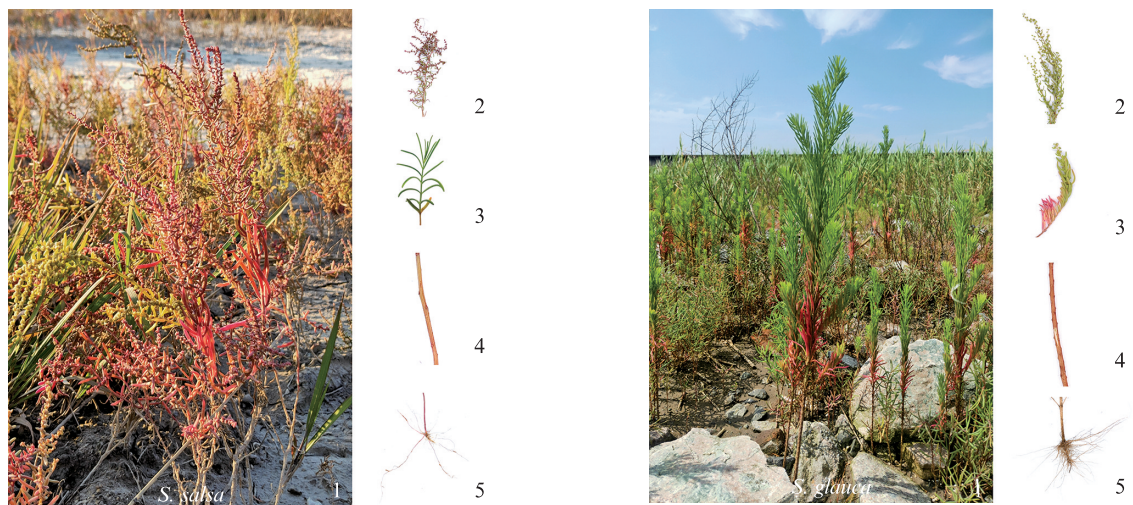
基于ITS和 $matK$ 序列构建的系统发育进化树显示(图7):崇明4个站位(CM-1、CM-2、CM-3、CM-4)18个样品、浦东新区3个站位(PD-1、PD-2、PD-3)15个样品、奉贤3个站位(FX-1、FX-2、FX-3)15个样品与标准序列盐地碱蓬(登录号依次为MF063498和NC045302)聚类为一支,自展支持率为100%。崇明CM-1-4、CM-1-5、CM-5-1、CM-5-2、CM-5-3、CM-5-4和CM-5-5样品与标准序列碱蓬(登录号依次为MF063490和NC045303)聚类为一支,自展支持率为100%。



1. 崇明; 2. 浦东南汇堤坝内; 3. 浦东南汇堤坝外; 4. 奉贤。  
1. Chongming District; 2. Within the embankment of Nanhui Town, Pudong New Area; 3. Outside the embankment of Nanhui Town, Pudong New Area; 4. Fengxian District.

图3 上海市滨海湿地碱蓬属植物种群

Fig. 3 *Suaeda* plant populations along the coastal wetland of Shanghai



1. 盐地碱蓬; 2. 盐地碱蓬的果实; 3. 盐地碱蓬的叶; 4. 盐地碱蓬的茎; 5. 盐地碱蓬的根。  
1. *S. salsa*; 2. Fruits of *S. salsa*; 3. Leaves of *S. salsa*; 4. Stem of *S. salsa*; 5. Roots of *S. salsa*.

图4 盐地碱蓬的形态学特征

Fig. 4 Morphological characteristics of *S. salsa*

1. 碱蓬; 2. 碱蓬的果实; 3. 碱蓬的叶; 4. 碱蓬的茎; 5. 碱蓬的根。  
1. *S. glauca*; 2. Fruits of *S. glauca*; 3. Leaves of *S. glauca*; 4. Stem of *S. glauca*; 5. Roots of *S. glauca*.

图5 碱蓬的形态学特征

Fig. 5 Morphological characteristics of *S. glauca*

## 2.4 遗传距离、遗传多样性和群体分化分析结果

### 2.4.1 遗传距离分析

基于Mega 11软件分析结果,发现崇明采集的CM-1-4、CM-1-5、CM-5-1、CM-5-2、CM-5-3、CM-5-4和CM-5-5共7个样品,遗传距离为0。

基于ITS序列的遗传距离矩阵显示(表6),3

个地理区域盐地碱蓬群体间遗传距离值均为0.001 0~0.001 4,属于种群间遗传距离( $0 < D < 0.05$ ),崇明群体与浦东群体的遗传距离最远( $D = 0.001 3$ ),亲缘关系远;崇明群体与奉贤群体的遗传距离最近( $D = 0.001 1$ ),亲缘关系近。浦东群体与奉贤群体的遗传距离为0.001 1。

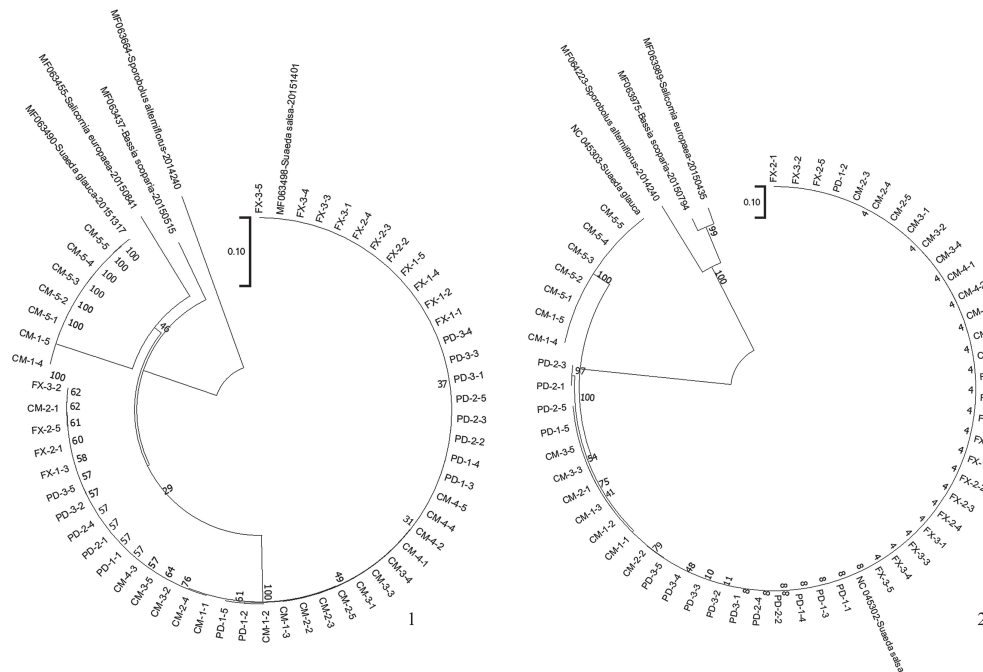


1, 2 为 CM-1 采集的样品; 3-6 依次为 CM-2、CM-3、CM-4、CM-5 采集的样品; 7-9 依次为 PD-1、PD-2、PD-3 采集的样品; 10-12 依次为 FX-1、FX-2、FX-3 采集的样品。

1, 2 Samples collected for CM-1; 3-6 Samples collected for CM-2, CM-3, CM-4 and CM-5 in turn; 7-9 Samples collected for PD-1, PD-2 and PD-3 in turn; 10-12 Samples collected successively for FX-1, FX-2 and FX-3.

图 6 不同采样点的样品图

Fig. 6 Photos of samples at different sampling points



1. 基于 ITS 序列构建的上海碱蓬属植物系统发育树; 2. 基于 *marK* 序列构建的上海碱蓬属植物系统发育树。

1. Phylogenetic tree of *Suaeda* in Shanghai based on ITS sequence; 2. Phylogenetic tree of *Suaeda* in Shanghai based on *marK* sequence.

图 7 NJ 法构建的系统发育树

Fig. 7 The phylogenetic tree constructed by NJ method



基于 *matK* 序列的遗传距离矩阵显示(表 7), 3 个地理区域盐地碱蓬群体间遗传距离为 0.000 6~0.002 7, 属于种群间遗传距离 ( $0 < D < 0.05$ ), 崇明群体与浦东群体的遗传距离最远 ( $D=0.002\ 6$ ), 亲缘关系远; 崇明群体与奉贤群体的遗传距离最近 ( $D=0.000\ 6$ ), 亲缘关系也最近。浦东群体与奉贤群体的遗传距离为 0.002 5。该结果与 ITS 序列分析结果相一致。

#### 2.4.2 遗传多样性分析

基于 ITS 序列遗传多样性结果显示(表 8): 上海市沿岸盐地碱蓬总群体的单倍型多样性  $H_d=0.513\pm 0.054$ , 核苷酸多样性  $P_i=0.001\ 1$ , 平均核苷酸差异数  $k=0.551$ , 表明该种群遗传多样性较低。进一步比较发现奉贤群体的单倍型多样性相对较低 ( $H_d=0.419\pm 0.113$ ,  $P_i=0.000\ 9$ ,  $k=0.419$ ), 而崇明群体 ( $H_d=0.542\pm 0.086$ ,  $P_i=0.001\ 2$ ,  $k=0.582$ ) 和浦东群体 ( $H_d=0.629\pm 0.086$ ,  $P_i=0.001\ 5$ ,  $k=0.724$ ) 较高。

基于 *matK* 序列遗传多样性结果显示(表 9): 上海市沿岸盐地碱蓬总群体的  $H_d=0.378\pm 0.078$ ,  $P_i$  值为 0.001 8,  $k$  值为 1.320, 表明存在一定的遗传多样性。进一步分析同样也发现奉贤群体的遗传多样性相对较低 ( $H_d=0.133\pm 0.112$ ,  $P_i=0.000\ 4$ ,

$k=0.267$ ), 而浦东群体 ( $H_d=0.475\pm 0.141$ ,  $P_i=0.004\ 3$ ,  $k=3.219$ ) 和崇明群体 ( $H_d=0.471\pm 0.082$ ,  $P_i=0.000\ 6$ ,  $k=0.428$ ) 较高。

#### 2.4.3 群体分化指数分析

基于 ITS 序列的  $F_{ST}$  均为负值 ( $-0.055\ 4$ ,  $-0.047\ 3$ ,  $-0.028\ 6$ ), 无生物学意义, 需进行数据修正见表 6。进一步采用 AMOVA 分子变异分析, 结果显示 3 个盐地碱蓬群体的  $F_{ST}$  为  $-0.045\ 0$  ( $P>0.05$ )。其中绝大多数为各群体内部遗传变异 (99.99%), 极少数为各群体间的遗传变异 (0.01%)。中性检验采用 *Tajima's D* 测试显示  $D_T=0.409\ 6$ ,  $P=0.001$ , 说明群体进化为平衡选择, 且发生了群体收缩<sup>[36]</sup>。

基于 *matK* 序列的  $F_{ST}$  值显示, CM-PD 的  $F_{ST}$  值为 0.067 2,  $N_m$  为 3.470 2; PD-FX 的  $F_{ST}$  值为 0.071 4,  $N_m$  为 3.251 4; CM-FX 的  $F_{ST}$  值为 0.210 1,  $N_m$  为 0.939 9(表 7)。进一步 AMOVA 分子变异分析显示, 3 个盐地碱蓬群体的  $F_{ST}$  为 0.088 9 ( $P<0.05$ )。其中大多数为各群体内部遗传变异 (91.11 %), 少数为各群体间的遗传变异 (8.89%)。中性检验 *Tajima's D* 测试显示  $D_T=-1.870\ 0$ ,  $P=0.001$ , 说明盐地碱蓬群体存在扩张迹象。

表 6 基于 ITS 基因的 3 个盐地碱蓬群体的群体间遗传距离  $D$ (左下部分)、群体内遗传距离  $\pi S$ (对角线)和  $F_{ST}$ (右上部分)  
Tab. 6 Genetic distance between populations  $D$ (lower left part), genetic distance within populations  $\pi S$ (diagonal line) and  $F_{ST}$  (upper right part) of 3 *S. salsa* populations based on ITS gene

群体 Population	CM	PD	FX
CM	0.001 3	-0.055 4	-0.047 3
PD	0.001 3	0.001 5	-0.028 6
FX	0.001 1	0.001 1	0.000 8

表 7 基于 *matK* 基因的 3 个盐地碱蓬群体的群体间遗传距离  $D$ (左下部分)、群体内遗传距离  $\pi S$ (对角线)和  $F_{ST}$ (右上部分)  
Tab. 7 Genetic distance between populations  $D$ (lower left part), genetic distance within populations  $\pi S$ (diagonal line) and  $F_{ST}$  (upper right part) of 3 *S. salsa* populations based on *matK* gene

群体 Population	CM	PD	FX
CM	0.000 6	0.067 2	0.210 1
PD	0.002 6	0.004 3	0.071 4
FX	0.000 6	0.002 5	0.000 4

表 8 上海市 3 个盐地碱蓬群体细胞核 ITS 基因的遗传多样性  
Tab. 8 Genetic diversity of nuclear ITS gene of 3 *S. salsa* populations in Shanghai

群体 Population	样本量 $N$	变异位点 $S$	单倍型数 $N_h$	单倍型多样性 $H_d$	核苷酸多样性 $P_i$	平均核苷酸差异数 $k$
CM	18	2	3	0.542 $\pm$ 0.086	0.001 2	0.582
PD	15	2	3	0.629 $\pm$ 0.086	0.001 5	0.724
FX	15	1	2	0.419 $\pm$ 0.113	0.000 9	0.419
CM+PD+FX	48	2	3	0.513 $\pm$ 0.054	0.001 1	0.551



表9 上海市3个盐地碱蓬群体叶绿体*matK*基因的遗传多样性  
Tab. 9 Genetic diversity of chloroplast *matK* gene of 3 *S. salsa* populations in Shanghai

群体 Population	样本量 <i>N</i>	变异位点 <i>S</i>	单倍型数 <i>N<sub>h</sub></i>	单倍型多样性 <i>H<sub>d</sub></i>	核苷酸多样性 <i>P<sub>i</sub></i>	平均核苷酸差异数 <i>k</i>
CM	18	3	2	0.471±0.082	0.000 6	0.428
PD	15	2	2	0.475±0.141	0.004 3	3.219
FX	15	13	2	0.133±0.112	0.000 4	0.267
CM+PD+FX	48	15	3	0.378±0.078	0.001 8	1.320

2.5 单倍型分析结果

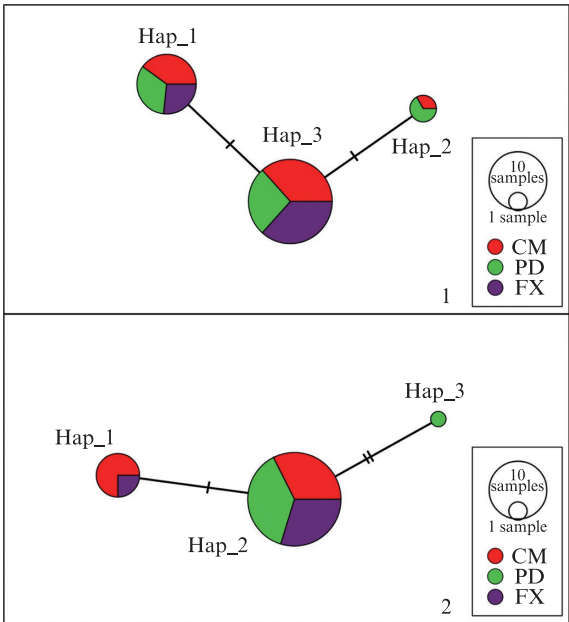
ITS单倍型关系图谱显示(图8),共检测到3个单倍型,单倍型网络呈现链状结构。CM群体和PD群体中均包含Hap\_1、Hap\_2和Hap\_3,而FX群体中包含Hap\_1、Hap\_2。其中Hap\_3是最大的单倍型,它在3个群体中为共享单倍型,位于网络图的中心位置,表明可能是上海沿岸地区盐地碱蓬的原始单倍型。

*matK*单倍型关系图谱显示(图8),共检测到3个单倍型:CM群体包含Hap\_1和Hap\_2。来源于浦东新区的样品包含Hap\_2和Hap\_3。来源于奉贤区的样品包含Hap\_1和Hap\_2。Hap\_3为群体内独有单倍型。

3 讨论

3.1 关于上海市滨海湿地碱蓬属植物种类分布及条形码分子鉴定

葛振鸣等<sup>[37]</sup>在2003年对崇明东滩湿地生态示范区的植被进行生态学研究时,发现北部秋塘内出现碱蓬。张建锋等<sup>[38]</sup>曾对上海滨海滩涂盐生植物分布及其生物量开展过调查研究,其中包括了碱蓬属的盐地碱蓬。魏亚男等和姚鹏程开展了中国海岸带耐盐植物分子鉴定技术的建立,采集到藜科植物(碱蓬、盐地碱蓬、南方碱蓬等样品)的站位包括广东(惠州、南澳、湛江、雷州)、福建(漳州、宁德)、浙江(温岭、舟山、慈溪)、上海(奉贤)、江苏(盐城、连云港)、山东(荣成、东营、蓬莱)、河北(秦皇岛)和辽宁(大连、葫芦岛),值得注意的是,在上海奉贤采集到了盐地碱蓬,而后研究者进行了多种条形码序列筛选,比较了1个核基因(ITS)和3个叶绿体基因(*matK*、*rbcL*和*trnH-psbA*)的获得率、识别率和物种识别差异性,发现单个片段ITS在种层面上物种识别率最高,NJ方法下*matK*识别表现最为突出,确定ITS+*matK*可作为碱蓬属的DNA条形码,从而建立了藜科植物分子鉴定技术<sup>[11-12]</sup>。本研究则在以上研究基础上,对上海市沿海滨海湿地(包括堤坝外和堤坝内)开展碱蓬属植物资源调查,发现崇明区、浦东新区(南汇)和奉贤区等沿岸具有碱蓬属植物分布,并存在2种不同形态的植物,进一步采用ITS和*matK*序列分析,确认为盐地碱蓬(*S. salsa*)和碱蓬(*S. glauca*)2个物种。



1. 为基于ITS基因构建的上海市沿岸的盐地碱蓬单倍型关系;2. 基于*matK*基因构建的上海市沿岸的盐地碱蓬单倍型关系。图中,圆圈符号表示一个单倍型,圆圈面积大小反映了该单倍型的频数,不同颜色表示不同来源获得的单倍型。各单倍型连线上的短竖线表示一个发生突变的位点。  
1. The haplotype relationship of *Suaeda salsa* along the coast of Shanghai based on ITS gene; 2. the haplotype relationship of *Suaeda salsa* (L.) Pall. along the coast of Shanghai based on *matK* gene. In the figure, the circle represents a haplotype. The size of the circle reflects the frequency of the haplotype. Different colors represent haplotypes obtained from different sources. The short vertical line on each haplotype line represents a mutation site.  
图8 基于Median joining network方法构建的盐地碱蓬单倍型网络图

Fig. 8 The haplotype network of *Suaeda salsa* based on the method of Median joining network

现场调查发现,高程较低的潮滩地区多为盐地碱蓬分布,而高程较高靠近堤坝处,仅碱蓬可以生长,表明与2种碱蓬属植物耐干旱、耐盐能力有关,李劲松等<sup>[39]</sup>研究发现盐地碱蓬种子耐干旱程度强于碱蓬种子,盐地碱蓬幼苗耐盐程度强于碱蓬幼苗。

### 3.2 关于上海市滨海湿地碱蓬属植物遗传多样性分析

我国碱蓬属植物主要分布区为长江口以北地区,基于遥感技术测算的总面积约为12 030 hm<sup>2</sup>,其中面积最大的省份为山东省(61.9%),依次是辽宁省和江苏省,且物种多样性较单一。上海市碱蓬属植物的面积极小,难以在遥感数据上体现<sup>[40]</sup>。

核苷酸多样性( $P_i$ )和平均核苷酸差异数( $k$ )和单倍型多样性( $H_d$ )均是种群遗传多样性分析重要指标。其中,核苷酸多样性( $P_i$ )和平均核苷酸差异数( $k$ )反映群体中核苷酸多态性的强弱程度, $P_i$ 值越大则核苷酸多态性越强。单倍型多样性( $H_d$ ),表示在群体中随机抽取到两个不同单倍型的频率, $H_d$ 值高的群体遗传多样性高,说明该群体的遗传资源丰富。本研究中开展的遗传关系分析,结合形态学和分子生物学鉴定结果,发现碱蓬各样本间遗传距离为0,即没有遗传差异。上述样本地理区位都在崇明区,地理距离较近。据此推测,因崇明岛为长江口入海处的冲积岛,与本研究其他区域相对隔离,且在洋流、沙土运输等人为传播途径和动物迁徙过程中均未携带种质,即没有外源输入。最终导致崇明碱蓬群体没有形成基因交流,种内遗传多样性较低。盐地碱蓬的遗传多样性分析发现3个盐地碱蓬种群存在一定遗传差异,其中奉贤群体的遗传多样性相对较低,浦东群体表现出较高的核苷酸多样性。而碱蓬仅在崇明滨海湿地采集到,且碱蓬种群内没有遗传差异,表明碱蓬群体间几乎没有基因交流,这需要引起高度重视。本次调查仅在崇明CM-2和CM-5站位采集到碱蓬,可能与采集到的站位数及样品数有限有关,应该在上海区域再扩大范围采集更多的样品并进行更深入的遗传多样性分析,如果仍然是无遗传差异,表明该种群存在较大的退化和灭绝潜在风险,该物种保护刻不容缓。

种群分化指数( $F_{ST}$ )、中性检测(*Tajima's D*)和基因流( $N_m$ )是群体遗传分化分析重要指标。

其中,种群分化指数( $F_{ST}$ )反映了群体间遗传分化的程度,取值范围为0~1, $F_{ST}$ 越接近1,分化程度越高。 $F_{ST}$ 越接近0,分化程度越低<sup>[36]</sup>。通常认为 $F_{ST} < 0.05$ 表示种群存在轻度分化, $0.05 < F_{ST} < 0.15$ 表示种群存在中度分化, $0.15 < F_{ST} < 0.25$ 表示种群存在高度分化<sup>[41-42]</sup>,另外, $F_{ST}$ 为负值时,并没有合理的生物学解释,本研究采用常见的修正方法,即将负 $F_{ST}$ 值视为0,解释为种群间无显著遗传,反映出群体间基因交流非常普遍,遗传结构几乎完全一致。基因流( $N_m$ )表示不同群体之间基因流动的过程,与种群分化指数( $F_{ST}$ )密切相关,计算公式为 $N_m = (1 - F_{ST}) / (4 \times F_{ST})$ ,其中 $F_{ST} > 0$ 。WRIGHT认为 $N_m < 1$ 表示群体间存在基因交流受限,群体分化程度高; $N_m > 1$ 表示群体间基因交流频繁,群体分化程度低<sup>[43]</sup>。本研究群体分化指数分析发现基于ITS序列的 $F_{ST}$ 均为负值,说明上海3个盐地碱蓬群体没有出现遗传分化,反映出群体间基因交流非常普遍,遗传结构几乎完全一致。基于*matK*序列的分析结果显示,浦东与崇明、奉贤的群体间存在中度分化( $0.05 < F_{ST} < 0.15$ ,  $P < 0.05$ ;  $N_m > 1$ ),表示群体间的基因交流较频繁,发挥均质化作用;由于崇明与奉贤地理距离相对较远,故崇明与奉贤群体间存在高度分化( $0.15 < F_{ST} < 0.25$ ,  $P < 0.05$ ;  $N_m < 1$ ),表明群体间基因交流受限,发生遗传漂变<sup>[44]</sup>。

如果中性检测*Tajima's D*  $> 0$ 时,表示序列进化方式为平衡选择,存在一些单倍型分化; $D_i < 0$ 时,则为负向选择或群体扩张。本研究基于盐地碱蓬ITS序列分析,显示中性检验采用*Tajima's D*为正值,说明群体曾经发生过群体收缩;而基于*matK*序列分析,显示中性检验*Tajima's D*为负值,说明群体存在扩张迹象。这种差异可能是由于采用核基因和叶绿体基因分析而导致的<sup>[36]</sup>。谢平等<sup>[45]</sup>推测核基因与叶绿体基因的遗传方式可能是导致遗传多样性差异的原因。ITS序列可展示亲缘很近的种之间的差异,而*matK*序列不仅可展示种间的差异,甚至还可以展示某些类群种内的差异<sup>[46]</sup>。本研究显示,上海市沿岸盐地碱蓬的种群内变异丰富,核基因ITS遗传自亲本植株,来源较为复杂,并且该基因的杂合度较高;而高等植物叶绿体基因*matK*不会通过花粉受精而扩散,单倍型遗传到子代较为保守,不会产生基因重组的问题<sup>[47]</sup>。

### 3.3 关于上海市滨海湿地碱蓬属植物种群保护与恢复

2009年,黄华梅等<sup>[48]</sup>对上海滩涂盐沼植被的分布和动态进行研究,仅在崇明东滩自然保护区高潮带上半部分发现一些散生的碱蓬斑块状群落;2015年,张建锋等<sup>[38]</sup>对上海滨海滩涂盐生植物分布和生物量调查时发现,中潮位以上防潮堤内侧分布有小面积的碱蓬植物群落,盖度一般为20%~30%。在前人调查中,上海市碱蓬属植物总体呈现面积小、生物量少、群落破碎等特征。为了填补上海市滨海湿地碱蓬属植物调查的空缺,本研究通过对上海市沿岸碱蓬属植物的ITS基因和*matK*基因开展物种鉴定和遗传多样性分析,较为全面和深入地探究了上海市沿岸碱蓬属植物的种类和遗传关系,并给出了科学解释。对碱蓬属植物的鉴定和系统发育进化树的构建提供了一定的参考。另外,本研究发现上海市沿岸受到自然灾害(如台风等)影响和人为因素干扰较为频繁<sup>[49]</sup>,发现局部有些种群退化甚至全部消失了,表明碱蓬属植物资源受到严重的威胁,种群的保护和恢复刻不容缓。

上海地区碱蓬属植物的分布区域较窄,生态环境因子对其生长和分布的影响是值得进一步研究的问题。盐度因素和水文因素通常与盐沼植物生长和分布的关联性较大。有研究表明,随着盐度升高会抑制盐地碱蓬的种子萌发,同时会降低盐地碱蓬的株高、叶面积、冠面积、生物量,进而导致种群密度、生产力的下降。而水淹对个体形态影响并不明显,但会改变生物量分配,促进根部和叶部的生物量生长,同时水淹会降低种群密度、减弱种内竞争强度。

若想更加全面和精准地了解上海市碱蓬属植物的种群发展历史和遗传关系,则需要进一步扩大取样范围和延长时间尺度,有助于对碱蓬属植物的DNA条形码数据库进行补充,进而可以为上海市植物保护和生物资源利用提供数据支持。当前已有一些应用盐地碱蓬开展滨海生态修复的成功案例<sup>[50-51]</sup>,出于对本地植物遗传资源保护的考虑,推荐上海市沿岸种植本地生长的盐地碱蓬,本研究发现崇明区存在规模较大、质量较高的盐地碱蓬种群,建议选取该地的盐地碱蓬亚种应用于上海市盐沼的生态修复,以避免种质资源演替进程加快,同时更好地保护和提高本地

盐地碱蓬亚种的扩散度。该种群具有一定的生态恢复空间和形成“红海滩”景观的潜力,应当开展适宜的生态恢复工作。生态恢复工作应聚焦碱蓬属植物群落的植被结构、生物多样性和生态过程3个核心问题,挑选适宜恢复的样地,对影响碱蓬属植物生长的关键性生态环境因子进行综合性评估,规划阶段性恢复计划,科学、系统地恢复植被。

作者声明本文无利益冲突。

### 参考文献:

- [1] 彭钊植,雷春英,吉小敏. 藜科碱蓬属植物研究进展[J]. 江西农业学报, 2021, 33(2): 42-46.  
PENG M Z, LEI C Y, JI X M. Research advances in *Suaeda* plants [J]. Acta Agriculturae Jiangxi, 2021, 33 (2): 42-46.
- [2] CAO C C, SU F L, SONG F, et al. Distribution and disturbance dynamics of habitats suitable for *Suaeda salsa* [J]. Ecological Indicators, 2022, 140: 108984.
- [3] WANG X Y, SHAO X T, ZHANG W J, et al. Genus *Suaeda*: Advances in phytochemistry, chemistry, pharmacology and clinical application (1895-2021) [J]. Pharmacological Research, 2022, 179: 106203.
- [4] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志第25卷(2)[M]. 北京: 科学出版社, 1979: 115-135.  
Editorial Committee of Flora of China, Chinese Academy of Sciences. Flora of China vol. 25 (2) [M]. Beijing: Science Press, 1979: 115-135.
- [5] WHITE T J, BRUNS T, LEE S, et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics [M]//INNIS M A, GELFAND D H, SNINSKY J J, et al. PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. New York: Academic Press, 1990: 315-322.
- [6] 邢军武. 中国碱蓬属植物修订[J]. 海洋与湖沼, 2018, 49(6): 1375-1379.  
XING J W. Revision of the *Suaeda* in China [J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2018, 49(6): 1375-1379.
- [7] HEBERT P D N, CYWINSKA A, BALL S L, et al. Biological identifications through DNA barcodes [J]. Proceedings of the Royal Society B Biological Sciences, 2003, 270(1512): 313-321.
- [8] HEBERT P D N, RATNASINGHAM S, DEWAARD J R. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species [J]. Proceedings of the Royal Society B Biological Sciences, 2003, 270(s1): S96-S99.



- [9] 任保青, 陈之端. 植物 DNA 条形码技术[J]. 植物学报, 2010, 45(1): 1-12.  
REN B Q, CHEN Z D. DNA Barcoding plant life[J]. Chinese Bulletin of Botany, 2010, 45(1): 1-12.
- [10] BAFEEL S O, ARIF I A, AL-HOMAIDAN A A, et al. Assessment of DNA barcoding for the identification of *Chenopodium murale* L. (Chenopodiaceae) [J]. International Journal of Biology, 2012, 4(4): 66-74.
- [11] BRANDT R, LOMONOSOVA M, WEISING K, et al. Phylogeny and biogeography of *Suaeda* subg. *Brezia* (Chenopodiaceae/Amaranthaceae) in the Americas [J]. Plant Systematics and Evolution, 2015, 301(10): 2351-2375.
- [12] 魏亚男, 王晓梅, 姚鹏程, 等. 比较不同 DNA 条形码对中国海岸带耐盐植物的识别率[J]. 生物多样性, 2017, 25(10): 1095-1104.  
WEI Y N, WANG X M, YAO P C, et al. Comparison of species resolution rates of DNA barcoding for Chinese coastal halo-tolerant plants [J]. Biodiversity Science, 2017, 25(10): 1095-1104.
- [13] 姚鹏程. 滨海/内陆耐盐植物 DNA 条形码比较研究——以禾本科和藜科为例[D]. 上海: 华东师范大学, 2017: 30.  
YAO P C. Coastal/inland halo-tolerant plant DNA barcoding evaluation of Poaceae and Chenopodiaceae: a case study for sampling strategy [D]. Shanghai: East China Normal University, 2017: 30.
- [14] 张洛艳. 沿海地区盐地碱蓬的分子标记研究[D]. 济南: 山东师范大学, 2010: 11.  
ZHANG L Y. Molecular markers Analysis of *Suaeda salsa* populations in coastal region[D]. Ji'nan: Shandong Normal University, 2010: 11.
- [15] BASAHI R A, BASAHI M A, ALZUAIBR F, et al. Molecular phylogeny using ISSR analysis in naturally growing *Suaeda* populations in Saudi Arabia [J]. Research Journal of Applied Sciences, 2018, 13(11): 686-691.
- [16] 段克, 刘峥延, 李刚, 等. 滨海蓝碳生态系统保护与碳交易机制研究[J]. 中国国土资源经济, 2021, 34(12): 37-47.  
DUAN K, LIU Z Y, LI G, et al. Research on the coastal blue carbon ecosystem conservation and carbon trading mechanism [J]. Natural Resource Economics of China, 2021, 34(12): 37-47.
- [17] IPCC. Climate change 2022: mitigation of climate change (summary for policymakers) [EB/OL]. [2023-12-15]. <https://www.ipcc.ch/report/ar6/wg3/>.
- [18] 朱赞. 上海地区滩涂盐碱地概况及其改良研究进展[J]. 现代农业科技, 2019(23): 168-169.  
ZHU Y. Research progress on saline-alkali land and its improvement in Shanghai area [J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2019(23): 168-169.
- [19] 童晨. 人类活动干扰下滨海湿地的碳足迹研究——以盐城自然保护区为例[D]. 宁波: 宁波大学, 2020: 7.  
TONG C. Research on the carbon footprint of coastal wetlands under the interference of human activities: A case study of Yancheng national nature reserve [D]. Ningbo: Ningbo University, 2020: 7.
- [20] 于宝勒. 盐碱地修复利用措施研究进展[J]. 中国农学通报, 2021, 37(7): 81-87.  
YU B L. Remediation measures of saline-alkali land: a review [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2021, 37(7): 81-87.
- [21] 贾林, 刘璐瑶, 王鹏山, 等. 盐地碱蓬的耐盐机理及改良土壤机理研究进展[J]. 中国农学通报, 2021, 37(3): 73-80.  
JIA L, LIU L Y, WANG P S, et al. Salt-tolerance and soil improvement mechanism of *Suaeda salsa*: research progress [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2021, 37(3): 73-80.
- [22] 张广帅, 蔡悦荫, 闫吉顺, 等. 滨海湿地碳汇潜力研究及碳中和建议——以辽河口盐沼湿地为例[J]. 环境影响评价, 2021, 43(5): 18-22.  
ZHANG G S, CAI Y Y, YAN J S, et al. Study on carbon sequestration potential of coastal wetland ecosystem and suggestions for carbon neutrality: a case study of salt marsh in Liaohe delta [J]. Environmental Impact Assessment, 2021, 43(5): 18-22.
- [23] 姚文强. 上海市海岸带开发利用监测与专题图可视化[J]. 城市勘测, 2022(2): 22-26.  
YAO W Q. Monitoring and visualization of coastal zone development and utilization in Shanghai [J]. Urban Geotechnical Investigation & Surveying, 2022(2): 22-26.
- [24] 林巧莺, 黄雅丽, 张德健. 基于 GIS 和 RS 的上海市近海岸生态系统服务价值评估[J]. 科技和产业, 2016, 16(11): 110-113, 140.  
LIN Q Y, HUANG Y L, ZHANG D J. Valuation of ecosystem services in Shanghai coastal zone based on GIS and RS [J]. Science Technology and Industry, 2016, 16(11): 110-113, 140.
- [25] 苏令侃. 上海滨海湿地退化原因及生态修复措施研究[J]. 上海国土资源, 2022, 43(3): 111-116.  
SU L K. Degradation causes of coastal wetlands in Shanghai and ecological restoration measures [J]. Shanghai Land & Resources, 2022, 43(3): 111-116.
- [26] 陈雪初, 戴禹杭, 孙彦伟, 等. 大都市海岸带生态整治修复技术研究进展与展望[J]. 海洋环境科学, 2021, 40(3): 477-484.  
CHEN X C, DAI Y H, SUN Y W, et al. Research progress and prospect of eco-realignment and restoration technologies for metropolitan coastal zone [J]. Marine

- Environmental Science, 2021, 40(3): 477-484.
- [27] 林世伟. 上海市潮滩湿地退化评估及生态修复优先区识别[D]. 上海: 华东师范大学, 2021: 1.
- LIN S W. Quantitative assessment of tidal wetlands degradation and the identification of priority areas for ecological restoration in Shanghai City [D]. Shanghai: East China Normal University, 2021: 1.
- [28] LIN S W, LI X Z, YANG B, et al. Systematic assessments of tidal wetlands loss and degradation in Shanghai, China: From the perspectives of area, composition and quality [J]. Global Ecology and Conservation, 2021, 25: e01450.
- [29] 陶燕东, 于克锋, 何培民, 等. 围垦后南汇东滩海三棱藨草的空间分布及其影响因子研究[J]. 长江流域资源与环境, 2017, 26(7): 1032-1041.
- TAO Y D, YU K F, HE P M, et al. Distribution of *Scirpus mariqueter* on Nanhui Coasts After reclamation and the associated affecting factors [J]. Resources and Environment in the Yangtze Basin, 2017, 26(7): 1032-1041.
- [30] 陶燕东, 钟胜财, 厉成伟, 等. 南汇东滩湿地海三棱藨草的生态修复效果研究[J]. 海洋湖沼通报, 2018(5): 40-49.
- TAO Y D, ZHONG S C, LI C W, et al. A study on the effect of ecological restoration and reconstruction of *Scirpus mariqueter* community: a case of Nanhui coasts [J]. Transactions of Oceanology and Limnology, 2017 (5): 40-49.
- [31] 钟胜财, 于克锋, 厉成伟, 等. 生态修复后海三棱藨草湿地底栖生物多样性的年度变化及影响因子[J]. 长江流域资源与环境, 2020, 29(4): 889-899.
- ZHONG S C, YU K F, LI C W, et al. Variation and the associated affecting factors of benthic biodiversity in wetlands of *Scirpus mariqueter* on remediated Nanhui coasts [J]. Resources and Environment in The Yangtze Basin, 2020, 29(4): 889-899.
- [32] 章俊, 陈旭, 陶燕东, 等. 不同环境因子对海三棱藨草种子及球茎萌发影响的研究[J]. 海洋湖沼通报, 2020 (4): 156-164.
- ZHANG J, CHEN X, TAO Y D, et al. Studies on the effects of different environmental factors on the germination of *Scirpus mariqueter* seeds and corms [J]. Transactions of Oceanology and Limnology, 2020 (4): 156-164.
- [33] 何宁, 胡阳, 吴铭轩, 等. 基于<sup>15</sup>N示踪的南汇边滩海三棱藨草氮素分配策略及修复建议[J]. 生态学杂志, 2023, 42(3): 635-642.
- HE N, HU Y, WU M X, et al. Nitrogen allocation strategy of *Scirpus mariqueter* based on <sup>15</sup>N tracing analysis on Nanhui coasts and restoration suggestions[J]. Chinese Journal of Ecology, 2020, 42(3): 635-642.
- [34] 陈月华, 何培民, 杨金权. 基于DNA条形码的如东海域浒苔附着鱼卵的物种鉴定[J]. 上海海洋大学学报, 2018, 27(1): 1-7.
- CHEN Y H, HE P M, YANG J Q. Molecular identification of fish eggs in Enteromorpha of Rudong sea area based on DNA barcode [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2018, 27(1): 1-7.
- [35] 张琴, 曹洋铭, 陆化杰, 等. 基于线粒体基因标记的太平洋褶柔鱼群体遗传结构及变异分析[J]. 上海海洋大学学报, 2021, 30(4): 763-769.
- ZHANG Q, CAO Y M, LU H J, et al. Genetic variation and genetic structure analysis of *Todarodes pacificus* based on mitochondrial DNA markers [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2021, 30(4): 763-769.
- [36] TAJIMA F. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism [J]. Genetics, 1989, 123(3): 585-595.
- [37] 葛振鸣, 王天厚, 施文斌, 等. 崇明东滩围垦堤内植被快速次生演替特征[J]. 应用生态学报, 2005, 16(9): 1677-1681.
- GE Z M, WANG T H, SHI W Y, et al. Secondary succession characteristics of vegetations on reclaimed land inside Chongming wetland seawall [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2005, 16(9): 1677-1681.
- [38] 张建锋, 张德顺, 陈光才, 等. 上海滨海滩涂盐生植物分布及其生物量调查研究[J]. 江西农业学报, 2015, 27 (2): 26-29, 36.
- ZHANG J F, ZHANG D S, CHEN G C, et al. Investigation on distribution and biomass of halophytes at beach in Shanghai [J]. Acta Agriculturae Jiangxi, 2015, 27(2): 26-29, 36.
- [39] 李劲松, 郭凯, 李晓光, 等. 模拟干旱和盐碱胁迫对碱蓬、盐地碱蓬种子萌发的影响[J]. 中国生态农业学报, 2018, 26(7): 1011-1018.
- LI J S, GUO K, LI X G, et al. Effects of PEG, NaCl and Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> stresses on *Suaeda glauca* and *Suaeda salsa* seed germination [J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2018, 26(7): 1011-1018.
- [40] 赵欣怡. 基于时序光学和雷达影像的中国海岸带盐沼植被分类研究[D]. 上海: 华东师范大学, 2020: 58.
- ZHAO X Y. Classification of salt marsh vegetation in coastal zone of China based on temporal optics and radar images [D]. Shanghai: East China Normal University, 2020: 58.
- [41] 岳丽佳, 熊良伟, 王帅兵, 等. 基于线粒体Cytb序列的3个宽体金线蛭群体遗传多样性分析[J]. 上海海洋大学学报, 2020, 29(1): 9-16.
- YUE L J, XIONG L W, WANG S B, et al. Genetic diversity analysis of three populations of *Whitmania pigra* *Whitman* based on mitochondrial Cytb gene [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2020, 29(1): 9-16.

- [42] NAIK V C B, PUSADKAR P P, WAGHMARE S T, et al. Evidence for population expansion of Cotton pink bollworm *Pectinophora gossypiella* (Saunders) (Lepidoptera: Gelechiidae) in India [J]. Scientific Reports, 2020, 10(1): 4740.
- [43] 杨箫, 卢宝荣. Gene flow 的溯源及其在生物安全和进化研究中的意义[J]. 生物安全学报, 2013, 22(2): 74-79.
- YANG X, LU B R. Tracking Chinese terminology of gene flow: its implications in biosafety and evolutionary research[J]. Journal of Biosafety, 2013, 22(2): 74-79.
- [44] 李菁, 张颖, 王振营, 等. 基于线粒体 DNA CO II 基因的亚洲玉米螟中国不同地理种群遗传分化及基因流研究[J]. 昆虫学报, 2010, 53(10): 1135-1143.
- LI J, ZHANG Y, WANG Z Y, et al. Genetic differentiation and gene flow among different geographical populations of the Asian corn borer, *Ostrinia furnacalis* (Guenée) (Lepidoptera: Crambidae) in China estimated by mitochondrial CO II gene sequences [J]. Acta Entomologica Sinica, 2010, 53(10): 1135-1143.
- [45] 谢平, 杨东红, 李丽丽, 等. 基于 ITS 和 *matK* 序列对平贝母种内变异的分析[J/OL]. 分子植物育种, 2022: 1-9. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20220531.1359.002.html>.
- XIE P, YANG D H, LI L L, et al. Analysis on intraspecific variation of *Fritillaria ussuriensis* Maxim. germplasms based on ITS and *matK* sequences [J/OL]. Molecular Plant Breeding, 2022: 1-9. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20220531.1359.002.html>.
- [46] 丑欢欢, 唐红. 基于 ITS 和 *matK* 基因对牡丹组序列分析及其亲缘关系的研究[J]. 植物研究, 2017, 37(4): 603-612.
- CHOU H H, TANG H. Interspecific relationship among the wild species of *Paeonia* Sect. *Moutan* DC with ITS and *matK* sequence [J]. Bulletin of Botanical Research, 2017, 37(4): 603-612.
- [47] 樊守金, 郭秀秀. 植物叶绿体基因组研究及应用进展[J]. 山东师范大学学报(自然科学版), 2022, 37(1): 22-31.
- FAN S J, GUO X X. Advances in research and application of plant chloroplast genome [J]. Journal of Shandong Normal University (Natural Science), 2022, 37(1): 22-31.
- [48] 黄华梅. 上海滩涂盐沼植被的分布格局和时空动态研究[D]. 上海: 华东师范大学, 2009: 48.
- HUANG H M. A Research on spatial - temporal dynamics of salt marsh vegetation at the intertidal zone in Shanghai [D]. Shanghai: East China Normal University, 2009: 48.
- [49] 李高如, 龚国宁, 张生乐, 等. 台风过程影响下的滨海湿地物理变量观测及湿地系统响应[J]. 海洋学报, 2022, 44(12): 116-125.
- LI G R, GONG G N, ZHANG S L, et al. Observation of physical variables of coastal wetland and response of wetland system under the influence of typhoon process [J]. Haiyang Xuebao, 2022, 44(12): 116-125.
- [50] 管博, 于君宝, 陆兆华, 等. 黄河三角洲重度退化滨海湿地盐地碱蓬的生态修复效果[J]. 生态学报, 2011, 31(17): 4835-4840.
- GUAN B, YU J B, LU Z H, et al. The ecological effects of *Suaeda salsa* on repairing heavily degraded coastal saline-alkaline wetlands in the Yellow River Delta [J]. Acta Ecologica Sinica, 2011, 31(17): 4835-4840.
- [51] 成海, 陈浩, 李建荣, 等. 基于滩涂生态修复的景观型盐地碱蓬群落建设与应用——以盐城国家级珍禽自然保护区湿地恢复与重建工程为例[J]. 现代园艺, 2017(22): 163-164.
- CHENG H, CHEN H, LI J R, et al. Construction and application of *Suaeda salsa* community in landscape type salt land based on ecological restoration of mudflat-Taking the Wetland Restoration and Reconstruction Project of Yancheng National Rare Bird Nature Reserve as an Example [J]. Contemporary Horticulture, 2017(22): 163-164.



## Genetic diversity analysis of *Suaeda* plants in Shanghai coastal wetlands based on DNA barcode

ZHAO Zitao<sup>1,2</sup>, LI Min<sup>1,2</sup>, WU Tingjian<sup>1,2</sup>, ZHANG Meijing<sup>1,2</sup>, SHEN Xiyu<sup>1,2</sup>, MA Shaozu<sup>1,2</sup>, LIU Jinlin<sup>1,2</sup>, HE Peimin<sup>1,2,3</sup>

(1.College of Oceanography and Ecological Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2.Environment and Ecology Engineering Research Center of Shanghai Institution of Higher Education, Shanghai 201306, China; 3.Department of Marine Sciences, Co-Innovation Center of Jiangsu Marine Bio-industry Technology, Lianyungang 222005, Jiangsu, China)

**Abstract:** For exploring the species and genetic diversity of *Suaeda* plants in Shanghai coastal wetlands, this paper investigated and studied the species resources and genetic diversity of *Suaeda* plants collected from 11 stations in three coastal wetlands, including the Nanhui east tidal flat in Pudong New Area, Fengxian tidal flat, and Chongming east tidal flat. The results showed that: (1) By the morphological identification and molecular identification based on ITS and *matK* sequence barcode analysis, the collected *Suaeda* plants in Shanghai coastal wetlands were two species: *Suaeda salsa* and *Suaeda glauca*. (2) In this study, we found only *S. glauca* distributed in Chongming east tidal flat, and the genetic distance between these seven samples collected was 0, indicating there was no gene exchange between the population and the outside area. (3) According to ITS and *matK* sequence analysis of *S. salsa* distributed in Chongming District, Pudong New Area, and Fengxian District, there are 2–3 haplotypes, respectively, and genetic distances ( $D$ ) between populations of different districts are smaller than 0.05, indicating that most of them are genetic variations within the population. We further found that the genetic diversity of Fengxian *S. salsa* population was the lowest on ITS and *matK* sequences ( $H_d=0.419\pm0.113$ ,  $P_i=0.000\ 9$  and  $H_d=0.133\pm0.112$ ,  $P_i=0.000\ 4$ ), while the genetic diversity of Pudong *S. salsa* population was the highest ( $H_d=0.629\pm0.086$ ,  $P_i=0.001\ 5$  and  $H_d=0.475\pm0.141$ ,  $P_i=0.004\ 3$ ). There is moderate differentiation between the *S. salsa* population of Pudong New Area and both *S. salsa* populations of Chongming District and Fengxian District ( $0.05<F_{ST}<0.15$ ,  $P<0.05$ ;  $N_m>1$ ), while there is high differentiation between the Chongming *S. salsa* population and the Fengxian *S. salsa* population ( $0.15<F_{ST}<0.25$ ,  $P<0.05$ ;  $N_m<1$ ). This study laid a solid foundation for the protection and population restoration of *Suaeda* plants in Shanghai coastal wetlands.

**Key words:** *Suaeda*; genetic diversity; molecular identification; ITS; *matK*; Shanghai