

不同海拔高度大血藤群体遗传多样性的 RAPD 分析及其与环境因子的相关性

李钧敏¹, 金则新¹, 钟章成²

(1. 台州学院生物系, 浙江临海 317000; 2. 西南师范大学生命科学学院, 重庆北碚 400715)

摘要:利用 RAPD 技术分析了分布于浙江省天台山 3 个不同海拔高度的天然大血藤群体的遗传多样性、遗传分化以及与环境因子的相关性。13 种随机引物在 36 株个体中共检测到 88 个可重复的位点, 其中多态位点 74 个, 总多态位点百分率为 84.09%, 大血藤具有丰富的遗传多样性。Shannon 信息指数显示的遗传多样性以海拔 950m 的群体为最高, 其次是海拔 730m 的群体, 最低的是海拔 520m 的群体; 群体内的遗传多样性占总遗传多样性的 43.68%, 群体间的遗传多样性占 56.32%。Nei 指数估计大血藤群体间的遗传分化系数为 0.5406, 大血藤群体间的基因流很低。大血藤海拔 730m 群体与海拔 520m 群体的遗传相似度较高, 海拔 950m 群体与其它两群体的遗传相似度较低。大血藤群体内的遗传多样性与土壤总氮呈极显著的正相关。

关键词:大血藤; RAPD; 遗传变异; 海拔高度; 环境因子

RAPD analysis of genetic diversity of *Sargentodoxa cuneata* at different altitude and the influence of environmental factors

LI Jun-Min¹, JIN Ze-Xin¹, ZHONG Zhang-Cheng² (1. Department of Biology, Taizhou University, Linhai, Zhejiang, 317000, China; 2. Faculty of Life Science, Southwest China Normal University, Chongqing 400715, China). *Acta Ecologica Sinica*, 2004, 24(3): 567~573.

Abstract: The genetic diversity within populations and genetic differentiation among populations of *Sargentodoxa cuneata* at three different altitudes in Tiantai mountain of Zhejiang Province were analyzed by random amplified polymorphic DNA technique. To explore how *S. cuneata* fits environment, the relationships between the genetic diversity and the environmental factors were analyzed. 13 random primers were selected in the amplification and 88 repetitive loci with 74 polymorphic loci were produced. The total average percentage of polymorphic loci was 84.09%. Among three populations of *S. cuneata*, the populations at the altitude of 950m showed the most bands and the percentage of polymorphic loci was 39.77%. The percentage of polymorphic loci of the population at the altitude of 730m was 32.95% and took the second place. The population at the altitude of 520m showed the lowest bands and the percentage of polymorphic loci was 31.82%. All of them were distinctively lower than the percentage of total polymorphic loci.

Different ecological microhabitat could lead to the difference of the genetic structure. Shannon index of phenotypic diversity shows that the highest genetic diversity occurred in the population at the altitude of 950m. The second one occurred in the population at the altitude of 730m and the lowest genetic diversity occurred in the population at the altitude of 520m. But the difference between the population at the altitude of 730m and the population at the altitude of 520m was relatively small. The average genetic diversity within populations of *S. cuneata* accounted for 43.68% of the total genetic diversity while the genetic diversity among populations accounted for 56.32%. All of these show that the genetic variation mainly existed among the populations of *S. cuneata*. The genetic diversity of *S. cuneata* estimated with Nei index was lower than that estimated with Shannon index of phenotypic diversity. But the variation trend of the genetic diversity within three populations, as indicated by

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39870160)

收稿日期:2003-02-07; **修订日期:**2003-09-18

作者简介:李钧敏(1973~), 女, 浙江临海人, 硕士, 讲师, 主要从事植物分子生态学研究。E-mail: lijm@mail.tzptt.zj.cn

Foundation item: The National Natural Science Foundation of China (No. 39870160)

Received date: 2003-02-07; **Accepted date:** 2003-09-18

Biography: LI Jun-Min, Master, Lecturer, main research field: plant molecular ecology. E-mail: lijm@mail.tzptt.zj.cn

these two indice, was generally consistent. The genetic differentiation among three populations, as estimated by Nei index, was 0.5406. The distribution of the genetic variation was generally consistent, i. e. the genetic variation among populations was relatively high and that within populations was relatively low. The gene flow estimated from *Gst* was only 0.4018 and it indicates that gene flow among populations of *S. cuneata* was relatively low. The genetic identity between the population at the altitude of 950m and the population at the altitude of 730m was the lowest while that between the population at the altitude of 730m and the population at the altitude of 520m was the highest. The genetic distance matrix was calculated using the method published by Nei and the clustering analysis was made using the unweighted pair group method with arithmetic mean (UPGMA). The population at the altitude of 520m clustered with population at the altitude of 730m, and then they clustered with population at the altitude of 950m. The correlation analysis showed that the genetic diversity within populations was significantly positively related with the soil total nitrogen. It indicates that nitrogen was important in the maintenance of the genetic diversity of *S. cuneata*.

Key words: *Sargentodoxa cuneata*; RAPD; genetic variation, ; altitude; environmental factors

文章编号: 1000-0933(2004)03-0567-07 中图分类号: Q948.1 文献标识码: A

大血藤(*Sargentodoxa cuneata*)为落叶木质藤本, 隶属大血藤科(*Sargentodoxaceae*)大血藤属(*Sargentodoxa*), 大血藤科为我国所特有^[1], 属于比较古老、原始的类群, 分布黄河流域、秦岭及以南各省区, 跨越热带、亚热带、温带广大地区。大血藤为一传统药用植物, 根和茎入药治急性阑尾炎、关节炎、跌打、月经不调等症^[2]。目前, 对大血藤的研究不多, 一些学者仅对次生代谢产物含量、生化成分动态、花粉结构及光合作用特性等进行了初步研究^[3~6], 积累了一些资料。而对大血藤天然群体遗传结构、遗传分化及多样性研究较少, 仅国内廖文波等利用 RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) 技术对大血藤地带性分化的分子差异进行了研究, 发现不同地区的大血藤群体在分子水平上存在明显的差异, 表现出一定的地带性分化规律^[7]。RAPD 分子标记技术作为一种简便、快速、易行的分子标记技术, 近年来被广泛应用于植物自然群体的遗传多样性的研究^[8~10]。本研究利用 RAPD 分子标记技术从 DNA 分子水平上分析 3 个不同海拔高度的大血藤天然群体的遗传多样性、群体内和群体间的遗传变异以及与生态因子的相关性, 为合理地保护、利用与开发大血藤遗传资源提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料于 2001 年 7 月取自浙江省天台山 3 个不同海拔高度的大血藤天然群体, 3 个大血藤群体的环境因子如表 1 所示。每个群体均随机选取 12 株多年生的成熟植株, 大血藤群体内的个体之间有基因交流, 为了避免同一家系而产生的试验偏差, 相邻植株间的距离在 30m 以上, 在植株上选择当年萌发的叶片, 于 4℃ 带回实验室洗净, -70℃ 低温冰箱保存, 供 DNA 提取。

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取 取-70℃ 冻存大血藤叶片研磨成粉状, 取 0.1g 转入 1.5ml 离心管中, 加入 500μl 提取缓冲液[100mmol/L Tris·HCl (pH8.0), 3% 可溶性 PVP, 20mmol/L β-巯基乙醇, 20 mmol/L EDTA (pH8.0)], 8,000r/min 离心 5min, 弃上清, 取沉淀加入 500μl 裂解缓冲液[100mmol/L Tris·HCl (pH8.0), 20 mmol/L EDTA (pH8.0), 500 mmol/L NaCl, 1.5% SDS], 65℃ 水浴 30min, 不时轻轻颠倒, 取出加入 500μl 氯仿/异戊醇 (v : v = 24 : 1), 颠倒成乳浊状, 10000r/min 离心 10min, 取上清加入 0.25 (v/v) 乙醇和 0.11 (v/v) 5mol/L KAc (pH4.8), 立即 10000r/min 离心 10min, 取上清加入 0.6 (v/v) 异丙醇, 置-20℃ 冰箱 30min, 12,000r/min 离心 10min, 取沉淀, 溶于 30μl TE 缓冲液 (含 RNase 5μg/ml) 中, 备用^[11]。

DNA 定量采用紫外分光光度计 (日本岛津 UV-7401PC 紫外可见分光光度计) 与琼脂糖凝胶电泳双重定量。紫外分光光度法以 λ DNA 为标准品, 以 A₂₆₀ 对 DNA 进行定量; 电泳图谱经 UTHSCSA ImageTool 软件分析荧光面积, 与标准 DNA 分子量参照物比较定量而得。

表 1 3 个大血藤群体的环境因子

Table 1 The environmental conditions of three *Sargentodoxa cuneata* populations

环境条件	群体 Populations		
Environmental conditions	P1	P2	P3
海拔高度 Altitude(m)	950	730	520
坡向 Aspect	NW30°	SE60°	NE10°
坡度 Slope	30°	28°	35°
pH 值 pH value	4.81	5.35	5.09
总氮 Total nitrogen (mg/kg)	5.584	4.787	4.902
总磷 Total phosphorus (mg/kg)	0.529	0.322	0.088
有机质 Organic matter (mg/kg)	14.17	19.73	34.35
群落类型 Community type	落叶阔叶林 broad-leaved forest	针阔混交林 leaved Mixed forest	针叶林 Needle leaved forest

1.2.2 RAPD 反应程序 扩增反应条件 15μlPCR 反应体积,1×Taq 酶缓冲液,0.15mmol/L 4×dNTP,1U Taq 酶(上海华美公司),10ng 模板 DNA,20pmol 引物(上海 Sangon 公司);1.5mmol/L MgCl₂;2μg/μl BSA。对照加入除模板 DNA 外的以上各成分,用双蒸水代替总 DNA。

扩增程序 本实验所用的 PCR 仪为上海高机公司生产的 SRX-481 PCR 仪,适合大血藤 RAPD 分析的 PCR 反应程序(用 6℃循环水冷却),94℃预变性 5min;94℃变性 1min,40℃退火 1min,72℃延升 1.5min,35 个循环;72℃最后延伸 5min。

电泳检测 RAPD 产物用 1.4%琼脂糖凝胶电泳(含 0.5μg/ml 溴乙锭),电泳缓冲液为 1×TAE,用 λDNA/(EcoR I + Hind III)做分子量标记。电泳完毕于紫外透射仪上观察拍照,Leica 数码相机拍照保存。

1.3 数据统计与分析

(1)RAPD 多样性表型带计数 用 λDNA/(EcoR I + Hind III)做分子标记,对照反应产物在胶上的对应位置,有带记为“1”,无带记为“0”,得到原始数据。

(2)数据处理 采用 POPGENE32 软件进行多态位点比率、Shannon 表型多样性指数、Nei 指数、遗传分化系数的统计分析,并进行聚类分析。

(3)平均数的差异检验 采用成组数据平均数比较的 *t* 检验法。

(4)相关性分析 采用 Excel 统计软件进行相关性分析。

2 结果与分析

2.1 大血藤 DNA 随机扩增反应结果

大血藤叶片提取 DNA 后,采用 10 碱基随机引物(上海生工生物工程公司)进行 RAPD 扩增,对每次扩增的 DNA 产物电泳分离并拍照,从中筛选出扩增条带清晰,重复性好的 13 个随机引物作为正式扩增的引物。现将这 13 种引物的碱基序列于表 2。

表 2 RAPD 分析用的 13 个随机引物序列
Table 2 Sequence of 13 arbitrary primers

引物 Primer	序列 Sequence	引物 Primer	序列 Sequence	引物 Primer	序列 Sequence
S21	CAGGCCCTTC	S58	GAGAGCCAAC	S125	CCGAATTCCC
S35	TTCCGAACCC	S96	AGCGTCCTCC	S127	CCGATATCCC
S36	AGCCAGCGAA	S102	TCGGACGTGA	S2115	ACGCGAACCT
S38	AGGTGACCGT	S105	AGTCGTCCCC		
S42	GGACCCAACC	S123	CCTGATCACC		

2.2 多态位点比率

利用 13 个随机引物对 3 个大血藤群体共 36 个个体的 DNA 样品进行了 RAPD 分析,每个引物检测到的位点在 4~10 之间。36 个个体共检测到 88 个位点,平均 6.77 条带/引物,其中多态位点有 74 个,占 84.09%(表 3)。P1 群体共扩增出 35 个多态位点,P2 群体共扩增出 29 个多态位点,P3 群体共扩增出 28 个多态位点,多态位点百分率分别为 39.77%、32.95%、31.82%。3 个群体的多态位点百分率明显低于总的多态位点百分率。3 个群体多态位点百分率的大小顺序为:P1 群体>P2 群体>P3 群体,但 P2 群体与 P3 群体较接近。

2.3 Shannon 信息指数估计的遗传多样性

由表 4 可知,由 Shannon 信息指数估计的大血藤群体内的遗传多样性有一定的差异,变动范围为 0.1924~0.2463,3 个群体平均为 0.2105。P1 群体的遗传多样性最高,P2 群体略高于 P3 群体。利用成组数据平均数比较的 *t* 检验法,显示 3 个群体之间的差异均不显著。不同引物估测的遗传多样性也是有差异的,用引物 S123 检测的最高,平均为 0.5428,而用引物 S35 检测的则最低,平均为 0.0383。

Shannon 表型遗传多样性指数可分为群体内遗传多样性和群体间遗传多样性两部分(表 5),表中的数值在引物间变动较大,说明各引物扩增出的不同多态位点对遗传多样性的贡献是不相同的。大血藤群体内平均遗传多样性为 0.2105,总的遗传多样性平均为 0.4818。在总遗传变异中,大部分存在于群体间(55.27%),群体内占 44.73%。

表 3 3 个大血藤群体内多态位点比率

Table 3 Percentage of polymorphic loci within 3 populations of *Sargentodoxa cuneata*

群体 Population	样本数 No. of samples	位点数 Total of loci	多态位点数 No. of polymorphic loci	多态位点百分率(%) Percentage of polymorphic loci
P1	12	88	35	39.77
P2	12	88	29	32.95
P3	12	88	28	31.82
合计 Total	36	88	74	84.09

2.4 Nei 指数估计的基因多样性

由 Nei 指数估算 3 个大血藤群体内的基因多样性结果列于表 6,该指数估算的值较 Shannon 信息指数低。3 个群体内的基因多样性仍以 P1 群体最高,其次是 P3 群体,最小是 P2 群体,经 *t* 检验显示,3 个群体之间的差异不显著。P2 群体、P3 群体的大小顺序与 Shannon 信息指数估计的值有所不同,但 P2 群体与 P3 群体的差异较小。不同引物估测的基因多样性大小不同,用引物 S123 检测的最高,平均为 0.3831,而用引物 S35 检测的则最低,平均为 0.0242,这与 Shannon 信息指数估算的结果一致。

由表 7 可知,Nei 指数估算的 3 个群体总的基因多样性平均为 0.3283,群体内的平均为 0.1463,群体间的平均为 0.1820,群体间的遗传分化系数为 0.5406,表明 3 个大血藤群体的遗传变异主要来自群体间,其次是群体内,这一结果与 Shannon 信息指数估算的结果一致。由 *Gst* 估算的群体间的基因流为 0.4018,显示群体间的基因流较小。

2.5 3 个大血藤群体的聚类分析

通过 POPGENE 软件按 Nei 方法计算大血藤群体间的遗传相似度,结果如表 8 所示:P1 群体与 P2 群体的遗传相似度最低,为 0.6158;P1 群体与 P3 群体的遗传相似度次之,为 0.6776;P2 群体与 P3 群体的遗传相似度最高,为 0.7459。通过算术平均数的非加权成组配对法(Unweighted pair group method with arithmetic mean, UPGMA)进行聚类分析,可将 P2 群体与 P3 群体先聚合,再与 P1 群体聚在一起(图 1)。

表 5 由 Shannon 表型多样性指数估计的 3 个大血藤群体间的遗传分化

Table 5 Partitioning of the genetic diversity among and within 3 populations of *Sargentodoxa cuneata* estimated by Shannon index of phenotypic diversity

引物 Primer	群体内遗传多样性 Within-population genetic diversity <i>Hpop</i>	总群体遗传多样性 Total genetic diversity <i>Hsp</i>	群体内遗传多样性所占比率 Proportion of genetic diversity within-population <i>Hpop/Hsp</i>	群体间遗传多样性所占比率 Proportion of genetic diversity among population (<i>Hsp-Hpop</i>)/ <i>Hsp</i>
S96	0.2726	0.4760	0.5727	0.4273
S102	0.2369	0.3847	0.6158	0.3842
S123	0.5428	0.8036	0.6755	0.3245
S125	0.1665	0.2654	0.6275	0.3725
S127	0.2393	0.4541	0.5271	0.4730
S36	0.2474	0.5668	0.4365	0.5635
S42	0.1258	0.2741	0.4590	0.5410
S21	0.1343	0.2573	0.5218	0.4782
S2115	0.0668	0.2252	0.2968	0.7032
S105	0.1754	0.6241	0.2810	0.7190
S38	0.4230	0.9543	0.4433	0.5567
S35	0.0383	0.7585	0.0505	0.9495
S58	0.0674	0.2194	0.3074	0.6926
平均 Average	0.2105	0.4818	0.4473	0.5527
方差 Variance(<i>S</i> ²)	0.0208	0.0597	0.0307	0.0307

2.6 大血藤群体遗传结构与生态因子的相关性

3 个大血藤群体的遗传多样性与生态因子之间的相关性如表 9 所示。结果表明,由 Shannon 信息指数估计的大血藤群体内的遗传多样性与土壤总氮含量呈极显著的正相关($r=0.9904, P<0.01$),与土壤总磷、海拔高度呈正相关,但相关不显著($P>0.05$),与土壤有机质及土壤 pH 值呈负相关,相关也不显著($P>0.05$);由 Nei 指数估计的大血藤群体内的遗传多样性与各生态因子的相关性也与 Shannon 信息指数估计的一致。

表 4 由 Shannon 表型多样性指数估计的 3 个大血藤群体内的遗传多样性

Table 4 Genetic diversity within 3 populations of *Sargentodoxa cuneata* estimated by Shannon index of phenotypic diversity

引物 Primer	P1	P2	P3	平均 Average
S96	0.3212	0.3072	0.1894	0.2726
S102	0.2023	0.3230	0.1854	0.2369
S123	0.5650	0.3990	0.6644	0.5428
S125	0.0999	0.2978	0.1019	0.1665
S127	0.2352	0.0440	0.4388	0.2393
S36	0.2782	0.1787	0.2853	0.2474
S42	0.0999	0.1776	0.0999	0.1258
S21	0.1006	0.3022	0	0.1343
S2115	0	0.2005	0	0.0668
S105	0.2898	0.1470	0.0893	0.1754
S38	0.8081	0.1024	0.3586	0.4230
S35	0	0.0260	0.0888	0.0383
S58	0.2023	0	0	0.0674
平均 Average	0.2463	0.1927	0.1924	0.2105
方差 Variance(<i>S</i> ²)	0.0513	0.0161	0.0391	0.0208

表 6 由 Nei 指数估计的 3 个大血藤群体内的基因多样性

Table 6 Genetic diversity within 3 populations of *Sargentodoxa cuneata* estimated by Nei index

引物 Primer	P1	P2	P3	平均 Average
S96	0.2162	0.2216	0.1328	0.1902
S102	0.1452	0.2180	0.1288	0.1640
S123	0.3967	0.2850	0.4675	0.3831
S125	0.0714	0.1940	0.0578	0.1077
S127	0.1513	0.0235	0.3016	0.1588
S36	0.1934	0.1224	0.2002	0.1720
S42	0.0714	0.1213	0.0714	0.0880
S21	0.0721	0.2166	0.0000	0.0962
S2115	0.0000	0.1435	0.0000	0.0478
S105	0.2047	0.0950	0.0612	0.1203
S38	0.5799	0.0739	0.2491	0.3010
S35	0.0000	0.0120	0.0607	0.0242
S58	0.1452	0.0000	0.0000	0.0484
平均 Average	0.1729	0.1328	0.1332	0.1463
方差 Variance(S^2)	0.0260	0.0082	0.0193	0.0104

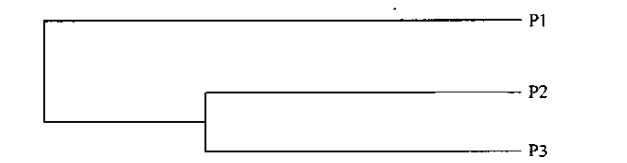


图 1 3 个大血藤群体间的聚类分析图

Fig. 1 The dengrogram produced by POPGENE soft for 3 populations of *Sargentodoxa cuneata*

3 讨论

多态位点百分率可作为度量遗传多样性高低的指标。本文研究结果显示,在 3 个大血藤群体中,P1 群体多态位点百分率为 39.77%;P2 群体多态位点百分率为 32.95%;P3 群体多态位点百分率为 31.82%;而总多态位点百分率为 84.09%。各群体的多态位点百分率明显低于总的多态位点百分率,这是由于有些位点仅在个别群体中表现出多态或只在个别群体中可检测到,这些位点在各群体中分布的不均衡,致使大血藤 3 个群体的总多态位点百分率很高。

在 3 个的大血藤群体中,P1 群体多态位点百分率最高,P2 群体次之,P3 群体最低。经 POPGEN32 软件分析 Shannon 信息指数也显示,3 个大血藤群体中,P1 群体的遗传多样性最高,P2 群体次之,P3 群体最低。由 Nei 指数估算的群体遗传多样性比 Shannon 信息指数计算的值要低,但两者揭示的 3 个群体间的遗传多样性变化的趋势基本一致,即 P1 群体最高,P2、P3 群体较低。尽管 P2、P3 群体用两种指数估计的大小顺序有所差异,但它们均比较接近。不同海拔大血藤群体间的遗传多样性与海拔之间不存在显著性相关($P>0.05$),不同海拔群体间遗传距离与海拔差值之间也不存在显著性相关($P>0.05$)。从群体间的遗传相似度来看,P2 群体与 P3 群体之间的遗传相似度最高,P1 群体与 P2、P3 群体之间的遗传相似度较低。按 Nei 方法建立距离矩阵,以 UPGMA 法进行聚类分析可知,P2 与 P3 群体先聚合在一起,再与 P1 群体聚合。许多学者认为不同生态小生境可导致不同群体遗传结构的差异^[12,13],

表 7 由 Nei 指数估计的 3 个大血藤群体间的遗传分化

Table 7 Genetic differentiations among 3 populations of *Sargentodoxa cuneata* estimated by Nei index

引物 Primer	总的基因多样性 Total gene diversity, H_T	群体内的基因多样性 Within population gene diversity, H_S	遗传分化系数 Genetic differentiation among populations, G_{ST}	从 G_{ST} 估算的基因流 Estimate of gene flow from G_{ST} , N_m
S96	0.3152	0.1902	0.3966	0.7608
S102	0.2711	0.1640	0.3951	0.7656
S123	0.5546	0.3830	0.3094	1.1160
S125	0.1748	0.1077	0.3839	0.8025
S127	0.3150	0.1588	0.4959	0.5083
S36	0.3787	0.1720	0.5458	0.4161
S42	0.1756	0.0880	0.4989	0.5023
S21	0.1763	0.0962	0.4543	0.6005
S2115	0.1463	0.0478	0.6733	0.2426
S105	0.4151	0.1203	0.7102	0.2040
S38	0.6727	0.3010	0.5525	0.4049
S35	0.5313	0.0242	0.9545	0.0239
S58	0.1414	0.0484	0.6577	0.2602
平均 Average	0.3283	0.1463	0.5406	0.4018
方差 Variance(S^2)	0.0302	0.0104	0.0302	0.0894

P1 群体位于华顶国家森林公园内,主要生长于由短柄 (*Quercus glandulifera* var. *brevipetiolata*)、苦槠木 (*Fraxinus insularis*)、七子花 (*Heptacodium miconioides*) 等落叶树种组成的阔叶林中,虽然分布地海拔高度较高,但受人为干扰少,其生存环境得到很大的改善,局部生境有利于整个群体的生存和繁衍,因此,保持了相对较高的遗传多样性。P2 群体主要生长于由马尾松 (*Pinus massoniana*)、木荷 (*Schima superba*) 组成的针阔混交林中,P3 群体主要生长于马尾松林内,由于 P2、P3 群体均位于

华顶国家森林公园外,经常受到人为樵砍,人为干扰很可能造成遗传多样性的丢失,而遗传多样性的一旦损失,恢复的速度极慢,从而形成目前大血藤群体内遗传多样性分布不均的格局。

由 Shannon 信息指数估计的 3 个大血藤群体内的遗传变异占 43.68%,而群体间的遗传变异占 56.32%;由 Nei 指数估计的 3 个群体间的遗传分化系数为 0.5406。本研究中采用两种方法所得到的遗传变异的分布大体一致,即群体间的遗传变异较高,群体内的变异较低。由 G_{st} 估计的基因流只有 0.4018,大血藤群体间的基因流较小。高水平的基因流可以防止群体间的分化,而低水平的基因流可能造成群体对局部生态环境的适应,进而促使群体间的遗传隔离。几个生境虽然处在同一大环境下,由于海拔差异的存在,生境的片断化,阻碍了群体间的基因交流。此外,大血藤为虫媒花,花粉的迁移距离小,外部花粉(基因)迁入的可能性低,浆果多掉在母树周围,这些在一定程度上限制了基因流,增加了群体间的遗传分化。并且野外观察大血藤群体很少见到开花与结果,缺乏有效的基因流,这些都导致了群体间的遗传分化。

遗传相似性与环境因子的相关性统计分析显示了 3 个大血藤群体的遗传多样性与土壤总氮含量呈极显著的正相关,即土壤总氮含量越高,群体的遗传多样性越大,表明氮在维持大血藤群体遗传多样性方面可能起着较为重要的作用。土壤中的氮被植物体吸收后,可作为蛋白质、核酸、酶、叶绿素及一些维生素和植物激素的组成成分,在植物生长发育过程中发挥重要作用。土壤中的氮素可能通过影响大血藤的生长从而在大血藤多样性的维持方面起重要作用,氮素高的土壤上生长的大血藤的多样性也较高,而含氮量低的土壤上生长的大血藤的多样性也较低。

References:

[1] Ying J S, Zhang Y L. *Special Genera of seed plant of China*. Beijing: Science Press, 1994. 536~539.

[2] Wang J X. *Flora of Zhejiang*(Volume 2). Hangzhou: Zhejiang Science and Technology Publishing House, 1992. 306.

[3] Li J M, Jin Z X, Zhong Z C, *et al.* The content change of flavonoids in *Sargentodoxa cuneata*. *Journal of Plant Resources and Environment*, 2002, **11**(1):57~58.

[4] Jin Z X, Li J M, Zhong Z C, *et al.* The dynamic changes of the biochemical components in the leafblades of *Sargentodoxa cuneata*. *Journal of Wuhan Botanical Research*, 2002, **20**(4):303~307.

[5] Wei Z X, Li D Z. Pollen morphology and wall ultrastructure of *Sargentodoxa cuneata*. *Acta Botanica Yunnanica*, 1995, **17**(2):197~200.

[6] Jin Z X, Ke S S, Zhong Z C, *et al.* Studies on characteristics of leaves growth and photosynthesis physioecology of *Sargentodoxa cuneata*. *Bulletin of Botanical Research*, 2002, **22**(4):184~189.

[7] Liao W B, Deng Y R, Cheng Y Q, *et al.* RAPD analysis of *Sargentodoxa cuneata* and discussing on the molecular divergence of plant zonation differentiation. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni*, 1999, **38**(1):64~69.

[8] Li J M, Bian C M. Applification of RAPD technology on the research of biological genetic diversity. *Bulletin of Biology*, 2000, **36**(12): 31.

[9] Wachira F N. Detection of genetic diversity in tea(*Camellia sinensis*) using RAPD markers. *Genome*, 1995,**38**:201~210.

[10] Palacios C, Gonzalez C F. Lack of genetic variability in the rare and endangered *Limonium cavanillesii* (*Plumbaginaceae*) using RAPD markers. *Molecular Ecology*, 1997,**6**(7): 671~675.

[11] Li J M, Bian C M, *et al.* DNA extraction and RAPD analysis of *Sargentodoxa cuneata*. *Bulletin of Botanical Research*, 2002, **22**(4):479~482.

表 8 3 个大血藤群体间的遗传相似度与遗传距离

Table 8 Genetic identity and genetic distance among 3 populations of *Sargentodoxa cuneata*

群体 Populations	P1	P2	P3
P1	—	0.6158	0.6776
P2	0.4848	—	0.7459
P3	0.3892	0.2931	—

* 对角线上方为 Nei 遗传相似度,对角线下方为遗传距离 Nei's genetic identity (above diagonal) and genetic distance (below diagonal)

表 9 3 个大血藤群体内的遗传多样性与各生态因子的相关性

Table 9 Correlation of the genetic diversities within 3 populations of *Sargentodoxa cuneata* and the ecological factors

生态因子变量 Ecological variables	Shannon 信息指数估算的遗传多样性 Genetic diversity estimated by Shannon index of phenotypic diversity	Nei 指数估算的遗传多样性 Genetic diversity estimated by Nei index
海拔高度 Altitude(m)	0.8750	0.8687
pH 值 pH value	-0.8742	-0.8807
总氮 Total nitrogen (mg/kg)	0.9904 **	0.9922 **
总磷 Total phosphorus (mg/kg)	0.8504	0.8432
有机质 Organic matter (mg/kg)	-0.7162	-0.7067

* $P < 0.01$, 极显著性相关; * * $P < 0.01$, high notable correlativity

[12] Wang X Q, Zhou Y P, Zhang D M, *et al.* Genetic diversity analysis by RAPD in *Cathaya argyrophylla* Chun *et* Kuang. . *Science in China* (Series C), 1996, **26**(5): 436~441.

[13] Parks C R, Wendel J F. Molecular divergence between Asian and north American species of *Liriodendron* (*Magnoliaceae*) with implication for interpretation of fossil floras. *Amer. J. Bot.* , 1990, **77**: 1243~1256.

参考文献:

[1] 应俊生, 张玉龙. 中国种子植物特有属. 北京: 科学出版社, 1994. 536~539.

[2] 王景祥. 浙江植物志(第二卷). 杭州: 浙江科学技术出版社, 1992. 306.

[3] 李钧敏, 金则新, 钟章成, 等. 大血藤形态不同器官黄酮类化合物含量的动态变化. 植物资源与环境学报, 2002, **11**(1):57~58.

[4] 金则新, 李钧敏, 钟章成, 等. 大血藤叶片生化成分的动态变化. 武汉植物学研究. 2002, **20**(4):303~307.

[5] 韦仲新, 李德铎. 大血藤花粉形态及外壁超微结构的研究. 云南植物研究, 1995, **17**(2):197~200.

[6] 金则新, 柯世省, 钟章成, 等. 大血藤叶的生长及光合生理生态特性的研究. 植物研究, 2002, **22**(4):184~189.

[7] 廖文波, 邓嫣容, 陈月琴, 等. 中国特有植物大血藤的 RAPD 分析——植物地带性分化的分子差异标准初探. 中山大学学报(自然科学版), 1999, **38**(1):64~69.

[8] 李钧敏, 边才苗. RAPD 技术在生物遗传性多样性研究中的应用. 生物学通报, 2000, **36**(12): 31.

[11] 李钧敏, 金则新, 边才苗, 等. 大血藤 DNA 提取及 RAPD 研究初探. 植物研究, 2002, **22**(4):479~482.

[12] 汪小全, 邹喻萍, 张大明, 等. 银杉遗传多样性的 RAPD 分析. 中国科学(C 辑), 1996, **26**(5): 436~441.