

云南金钱槭形态变异与遗传变异的相关性研究

李 珊, 蔡宇良, 钱增强, 赵桂仿*

(西北大学生命科学学院, 秦岭生物多样性研究中心, 西安 710069)

摘要:对我国特有珍稀濒危保护植物云南金钱槭的形态变异水平、遗传变异模式以及两者之间的相关性进行了研究。形态学性状分析结果表明:各居群形态性状变异系数的平均值从大到小排列为:文山居群(WSh)、屏边居群(PB)、黑龙潭居群(HLT)、蒙自居群(MZ);文山居群与屏边、黑龙潭、蒙自居群间已产生显著或极显著水平的形态差异,而后三者间的差异未达显著水平。RAPD 分析检测到 103 个位点,其中多态位点 84 个,云南金钱槭物种水平的多态位点比率为 81.55%,与其它珍稀濒危植物相比该种的遗传多样性水平不低。AMOVA 和 *Nei* 基因多样性指数分析显示,尽管大部分遗传变异仍存在于居群内(分别为 57.86%、57.33%),但居群间的遗传变异已达较高水平(分别为 42.14%、42.67%)。相关分析结果显示,云南金钱槭的形态变异与海拔、土壤有机质等生态因子有着显著或极显著水平的相关性,但与遗传变异的相关性未达显著水平,说明云南金钱槭的形态变异虽然具有一定的遗传基础,但可塑性及环境压力对形态变异的产生作用更大一些。基于形态性状和 RAPD 数据的聚类分析则进一步说明,云南金钱槭的形态变异受到环境因子的强烈影响而与遗传背景的关系不显著。

关键词:云南金钱槭;形态变异;遗传多样性;相关性分析

Researches on the relationship between the morphological and genetic variations of *Dipteronia dyeriana* Henry (Aceraceae)

LI Shan, CAI Yu-Liang, QIAN Zeng-Qiang, ZHAO Gui-Fang* (School of Life Science, Biodiversity Research Center of Mts. Qinling, Northwest University, Xi'an 710069, China). *Acta Ecologica Sinica*, 2004, 24(5): 925~931.

Abstract: *Dipteronia dyeriana* Henry is a rare and endangered species of China. Four populations, collected from Wenshan (WSh), Mengzi (MZ), Pingbian (PB) and Heilongtan (HLT) respectively, were used for the research on its morphological variation, its pattern of genetic variation, and the correlation between them. 27 macro-scopic and micro-scopic morphological characters, including those of branches, leaves, fruit and seeds, were measured. The results showed that, according to the mean variation coefficients of the morphological characters, the order of the variation level of the 4 populations was in turn WSh>PB>HLT>MZ. There existed significant or remarkably significant morphological differentiations between WSh and other three populations. However, those differentiations among the latter three populations failed to reach a significant level. Based on RAPD markers, 103 loci were amplified with 18 primers, of them 84 were polymorphic. The proportion of polymorphic loci was 81.55% at the species level, and thus the genetic diversity of *Dipteronia dyeriana* Henry wasn't lower than other rare and endangered plants. AMOVA and *Nei*'s genetic diversity index analysis showed that, though relatively high genetic variations (57.86% and 57.33% respectively) existed within populations, there were rather high differentiation among populations (42.14% and 42.67% respectively). Results of correlation analysis showed that there existed correlations between *Dipteronia dyeriana* Henry's morphological variations and ecological factors such as altitude, soil organic matters, etc. Different ecological factors exerted different influences on morphological variations and comprehensive effects by various ecological factors were supposed to be responsible for the morphological differentiations. Results of correlation analysis

基金项目:国家自然科学基金资助课题(30270154)

收稿日期:2003-11-09; **修订日期:**2004-03-29

作者简介:李 珊(1976~),女,陕西西安人,博士生,主要从事植物分子进化和分子生态学研究。

* 通讯作者 Author for correspondence.

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No. 30270154)

Received date: 2003-11-09; **Accepted date:** 2004-03-29

Biography: LI Shan, Ph. D. candidate, mainly engaged in molecular evolution and molecular ecology. E-mail: lishanbio@yahoo.com.cn.

between the genetic variations and ecological factors such as soil water content and annual precipitation showed that there existed a clear negative correlation between genetic variations and factors such as soil water content and annual precipitation. Water condition of the habitats may have played a comparatively important role in the maintenance of *Dipteronia dyeriana* Henry's genetic diversity. Correlation analyses were also performed between the variation coefficients of morphological characters and three genetic diversity indices including proportion of polymorphic loci, Shannon diversity index and Nei's gene diversity index. The results showed that there existed positive correlations between variation coefficients of morphological characters and the three genetic diversity indices. However, results of the significance test revealed that none of the correlations reached the significant level ($P > 0.05$). This indicated that, although morphological variation had its genetic basis to some extent, plasticity and environmental pressure influenced the morphological variation more intensively. Clustering analyses based on morphological characters and the RAPD data further revealed that the *Dipteronia dyeriana* Henry's morphological variations were intensively influenced by the environmental factors, while its correlation with the population genetic background was not significant.

Key words: *Dipteronia dyeriana* Henry; morphological variation; genetic diversity; correlation analysis

文章编号:1000-0933(2004)05-0925-07 中图分类号:Q346,Q948.1 文献标识码:A

随着人口的膨胀以及人类对自然资源不合理利用的日益加剧,生物多样性的消失日趋迅速,许多生物已经或即将处于濒危状态^[1]。由于种内变异的大小和分布决定着物种的生存机率及进化潜力,而且对种内变异的研究是提出有效保护策略对珍稀濒危植物进行保护的关键因素,因此近年来对物种种内变异的研究得到了快速的发展^[2]。在研究遗传变异的同时,用更多的有效参数对物种的形态性状、形态性状变异以及形态性状变异与遗传变异之间的关系进行研究,是群体遗传学研究的一个重要方向^[3]。在动物学领域有学者对 *C. gigas*, *haemastoma*, *Mytilus edulis* 等物种的形态变异及其与遗传变异的关系进行过研究^[4~6],在植物学领域对假俭草、芦苇等也有相关的报道^[7],但迄今为止,尚未见到对金钱槭属植物进行过此类研究。

云南金钱槭(*Dipteronia dyeriana* Henry) 是槭树科(Aceraceae)金钱槭属(*Dipteronia*)的古老孑遗植物,为我国特有的少种属落叶乔木,已被列为国家二级珍稀濒危保护植物^[8]。该种仅零星分布于我国云南省东南部文山县、蒙自县、屏边县 1 900~2 200m 的林地中,个体数量极为有限,迫切需要对其进行综合研究。然而目前对云南金钱槭的了解仅局限于形态结构、分类学、细胞学等方面^[9~11]。本文试图通过形态性状统计和 RAPD 标记技术阐明以下问题:(1)枝叶、果实、种子等形态性状的变异水平及变异式样;(2)种内遗传变异水平、遗传变异分布模式及影响居群遗传结构的因素;(3)形态性状变异与遗传变异的相关性;(4)导致云南金钱槭濒危的机制及应采取的保护策略。

1 材料与方法

1.1 材料采集

1.1.1 形态变异研究材料 2002 年 9 月,通过查阅资料、走访有关人员及野外调查,在云南省文山、蒙自、屏边 3 个县及昆明市进行材料采集,采集点涵盖了云南金钱槭的整个分布区,其中黑龙潭居群是由文山居群成熟种子萌发而形成的迁地保护居群。为保证取样的可靠性,对每个被调查个体都从东、南、西、北 4 个方向选最基部分枝和近基部第 3 个分枝,在枝中部取两对羽状复叶,并将复叶上近基部的 6 片小叶摘下浸于 FAA 固定液中;在果序上也从东、西、南、北四个方向,分上下两层选取成熟翅果。由于居群内的个体数有限(文山居群个体数最多,约 20 余株,黑龙潭居群个体数最少,有 10 株),我们把所有已结实个体都作为形态学变异的研究对象,在文山、蒙自、屏边、黑龙潭居群中分别选取 13、8、6、5 个个体用于形态学变异分析。材料采集地及其地理资料如表 1 所示。

1.1.2 遗传变异研究材料 在上述四个云南金钱槭居群中分别选取 13、13、9、10 个健康植株,采集无病斑幼嫩叶片,用硅胶迅速干燥,置于 -80℃ 超低温冰箱保存。

表 1 各居群采样地概况

Table 1 The general profile of sampling sites

居群 Population	采样地 Locations	海拔 Altitude	经度 Longitude	纬度 Latitude	采样点生境 Habitat
文山 WSh	文山老君山 Laojun Mountain	2217	103°17'	23°17'	路缘及潮湿林地 Roadside and humidity forest
蒙自 MZ	蒙自老寨 Laozhai	1902	103°47'	23°24'	沟谷 Valley
屏边 PB	屏边金钟山 Jinzhong Mountain	2019	103°52'	23°01'	阴暗潮湿林地 Shady and humidity forest
黑龙潭 HLT	昆明植物研究所 Kunming Institute of Botany	1923	102°54'	25°02'	阴暗路边 Shady roadside

1.2 形态指标测定

共测量 27 项形态指标。用卷尺测量以下指标:一级枝长、一级枝粗、二级枝长、二级枝粗。用直尺测量小叶长、小叶宽、复叶柄长、小叶柄长、果梗长,并计算小叶形系数(小叶长/小叶宽)、小叶长/小叶柄长。用游标卡尺测量果实长、果实宽、种子长、种子宽、果实厚、种子厚,并计算果形系数(果实长/果实宽)、种形系数(种子长/种子宽)。用量角器测量主侧脉夹角(取近叶基部 3~6 条侧脉与主脉夹角的平均值)。用电子天平称量果实重、种子重。记录每一复叶上的小叶数,并在解剖镜下观察小叶叶脉数、小叶叶齿数、单位视野下表皮毛数(取 3 个视野的平均值)。用指甲油印痕法在光学显微镜下统计单位视野内气孔数(取 4 个视野的平均值)。

1.3 总 DNA 提取与 RAPD 扩增

由于槭树科植物体内含较多的酚类、多糖、萜类物质,用常规方法难以提取到高质量的 DNA^[12],因此本研究采用改良的 CTAB 法分别提取每一被研究个体的总 DNA。在研磨过程中,加入适量 PVP 和抗坏血酸;将温浴时间延长至 2 h;增加氯仿-异戊醇溶液的抽提次数及用洗涤缓冲液洗涤沉淀的时间、次数。

扩增反应在 TEMP-TRONTC 热循环仪上进行。RAPD 扩增反应体系为:10×Reaction Buffer 3 μ l,随机引物(0.7 μ mol/L) 8 μ l,模板 DNA(10 ng/ μ l)2 μ l,4×dNTP (10 mmol/L) 0.6 μ l, Taq 酶 2 U,超纯水 5.4 μ l,反应总体积为 20 μ l。RAPD 扩增程序为:96℃预变性 5 min 30 sec;94℃变性 1 min 20 sec,40℃复性 1 min,72℃延伸 1 min 40 sec,进行 40 个循环;最后 72℃延伸 10 min。扩增产物经 1.4% 琼脂糖凝胶(含 0.5 mg/ml EB)电泳分离。Kodak Scientific Imaging Systems 凝胶成像系统 120 (Estman Kodak Company)照相。

1.4 数据处理

计算各表型性状的平均值、变异系数(CV)值;用 SPSS11.0 软件进行单因素方差分析 F -检验,分析形态性状在居群间的变异水平;进行配对样本显著性 t 检验,讨论居群间形态总体差异显著性水平;基于形态学性状进行居群间的聚类分析。用 Popgen32 软件^[13]分析多态位点比率(PPB)、Shannon 多样性指数、Nei 基因多样性指数及居群间遗传分化系数(G_{ST}),并由 G_{ST} 值估算基因流(N_m)的大小。用 DCFA 和 AMOVA(Analysis of Molecular Variance)软件^[14]分析遗传变异在居群内、居群间的分布。采用 UPGMA 法(Unweighted pair-group method with arithmetic averaging)进行聚类分析,构建分子聚类图。计算表型性状变异系数与生态因子、遗传多样性指标间的相关系数,遗传多样性指标与生态因子间的相关系数,探讨形态变异与遗传变异的相关性,形态变异、遗传变异的产生机制。

2 结果与分析

2.1 形态变异

2.1.1 居群内形态变异 从表 2 中可以看出,居群内表型性状的平均值在黑龙潭居群中最大,为 9.934,其次为屏边、文山居群,蒙自居群的平均值最小,为 9.168。变异系数值显示:(1)在同一居群内部,形态性状的变异系数值不等。如在文山居群中二级枝长的变异系数最大,为 0.816,种子长的变异系数最小,为 0.026;(2)同一形态性状的变异系数值在不同居群中存在一定程度的变化,如二级枝粗变异系数在屏边居群中最大,为 0.453,在黑龙潭居群中最小,为 0.260;(3)各居群形态性状变异系数的平均值从大到小依次为 WSh(0.173)、PB(0.164)、MZ(0.152)、HLT(0.151)。

2.1.2 居群间形态变异 单因素方差分析 F -检验的结果表明(表 3),在调查的 27 个性状中,有 4 个性状在居群间的差异达显著性水平($p < 0.05$),15 个达极显著水平($p < 0.01$)。通过比较 F 值发现,果实长度在居群间的差异程度最大,小叶叶长/叶柄长在居群间的差异程度最小。

居群间形态总体差异显著性配对 t 检验的结果显示(表 4),WSh 居群与 MZ、PB、HLT 3 个居群间均存在显著或极显著水平的差异,而 MZ、PB、HLT 居群之间的差异未达显著水平。说明在所研究的居群中,WSh 居群的形态性状最为独特,与其他居群存在显著不同。

2.2 遗传变异

2.2.1 遗传多样性水平 18 条 RAPD 引物检测到 103 个位点,其中多态位点 84 个,物种水平的多态位点比率为 81.55%。居群水平的多态位点比率分别为:文山居群 47.57%、蒙自居群 42.72%、屏边居群 32.04%、黑龙潭居群 40.78%。根据 Shannon 多样性指数和 Nei 基因多样性指数估算的居群遗传多样性水平与多态位点比率的结果相一致(表 5)。4 个居群按遗传多样性水平高低的排列顺序为:屏边居群 < 黑龙潭居群 < 蒙自居群 < 文山居群。

2.2.2 遗传变异的分布 AMOVA 分析结果揭示,云南金钱槭居群内的遗传变异(V_B)为 8.55,居群间的遗传变异(V_A)为 6.23,分别占总变异量的 57.86%和 42.14%。居群间遗传分化系数(G_{ST})为 0.4267,说明有 57.33%的遗传变异存在于居群内,42.67%的遗传变异存在于居群间(表 5);Shannon 多样性指数分析显示,有 55.64%的遗传变异存在于居群内($H_{SP}/H_{POP} = 0.5564$),44.36%的变异存在于居群间($H_{POP} - H_{SP}/H_{POP} = 0.4436$)。Shannon 多样性指数、Nei 基因多样性指数得到了与

AMOVA 分析相一致的结果。上述特征值表明,云南金钱槭居群间的遗传变异约占总变异的 45%,居群间的遗传分化已达较高水平。

表 2 各居群 27 个形态指标的平均值及变异系数

Table 2 The mean value and CV (Coefficients of variation) of twenty-seven morphological characters within populations

居群 Population	WSh		MZ		PB		HLT		平均值 Mean	
	$\bar{x}$	CV	$\bar{x}$	CV	$\bar{x}$	CV	$\bar{x}$	CV	$\bar{x}$	CV
一级枝粗 Thickness of first grade branch	0.042	0.424	0.050	0.187	0.157	0.311	0.037	0.212	0.072	0.284
一级枝长 Length of first grade branch	0.525	0.497	0.291	0.098	1.891	0.331	0.726	0.221	0.858	0.287
二级枝粗 Thickness of second grade branch	0.040	0.368	0.037	0.261	0.090	0.453	0.018	0.260	0.046	0.336
二级枝长 Length of second grade branch	0.312	0.816	0.68	0.203	1.855	0.403	1.286	0.271	1.033	0.423
小叶长 Length of foliole	11.64	0.053	10.99	0.141	13.81	0.084	13.83	0.123	12.57	0.100
小叶宽 Width of foliole	2.938	0.211	2.991	0.133	3.417	0.177	2.989	0.130	3.084	0.163
叶形系数 Coefficient of leaf form	3.962	0.149	3.674	0.134	4.075	0.090	4.695	0.144	4.102	0.129
叶脉数 Number of nervation	22.86	0.071	21.36	0.141	25.32	0.106	24.28	0.115	23.46	0.108
叶齿数 Number of leaf-teeth	14.86	0.089	14.21	0.321	18.64	0.190	16.94	0.248	16.16	0.212
主侧脉夹角 Angle of nervation	56.36	0.128	52.25	0.083	53.77	0.099	52.78	0.080	53.79	0.098
复叶总柄长 Length of ansae	9.74	0.048	9.533	0.161	8.86	0.091	10.1	0.127	9.558	0.107
小叶柄长 Length of foliole leafstalk	0.35	0.276	0.316	0.308	0.440	0.717	0.418	0.217	0.381	0.380
小叶数 Number of foliole	12.6	0.185	12.33	0.094	13.0	0.121	13.00	0.080	12.73	0.120
小叶长/小叶柄长 Length ratio of foliole and foliole leafstalk	33.25	0.483	34.81	0.338	31.42	0.116	33.05	0.394	33.13	0.333
下表皮毛 Number of epidermal hair	15.45	0.088	11.39	0.233	15.09	0.143	13.31	0.208	13.81	0.168
气孔数 Number of stoma	26.13	0.122	24.78	0.118	27.73	0.071	34.42	0.105	28.27	0.104
果实长 Length of fruit	4.189	0.043	5.024	0.097	4.596	0.063	5.264	0.091	4.768	0.074
果实宽 Width of fruit	4.151	0.046	5.237	0.097	4.826	0.071	5.368	0.089	4.896	0.076
果形系数 Coefficient of fruit form	1.004	0.068	0.962	0.083	0.954	0.046	0.984	0.070	0.976	0.067
种子长 Length of seed	10.69	0.026	11.21	0.067	11.01	0.054	11.18	0.070	11.02	0.054
种子宽 Width of seed	7.983	0.048	8.226	0.085	7.827	0.066	8.444	0.080	8.120	0.070
种形系数 Coefficient of seed form	1.298	0.057	1.366	0.122	1.411	0.094	1.330	0.097	1.351	0.093
果梗长 Length of fruit stalk	1.384	0.112	1.516	0.094	1.518	0.090	1.640	0.172	1.515	0.117
果实厚 Thickness of fruit	3.340	0.075	3.900	0.065	3.632	0.104	3.900	0.088	3.693	0.083
种子厚 Thickness of seed	2.088	0.055	2.481	0.157	2.616	0.111	2.532	0.134	2.429	0.114
果实重 Weight of fruit	0.212	0.065	0.312	0.137	0.275	0.111	0.316	0.121	0.279	0.109
种子重 Weight of seed	0.087	0.074	0.122	0.155	0.118	0.104	0.122	0.139	0.112	0.118
平均值 Mean value	9.366	0.173	9.168	0.152	9.780	0.164	9.934	0.151	8.893	0.160

表 3 单因素方差分析 F 检验

Table 3 F -test of one-factor analysis of variance

	一级枝粗	一级枝长	二级枝粗	二级枝长	小叶长	小叶宽	小叶形系数	小叶叶脉数	小叶叶齿数
F	40.754	27.518	36.083	44.138	23.289	5.523	5.021	7.399	7.216
p	0.000**	0.000**	0.000**	0.000**	0.000**	0.002**	0.004**	0.000**	0.000**
	主侧脉夹角	复叶叶柄长	小叶叶柄长	小叶数	小叶长/叶柄长	下表皮毛	气孔数	果实宽	果实长
F	2.876	0.706	1.662	0.310	0.299	4.434	36.652	41.223	54.44
p	0.042*	0.565	0.182	0.818	0.826	0.006**	0.000**	0.000**	0.000**
	果形系数	种子长	种子宽	种形系数	果梗长	果实厚	种子厚	果实重	种子重
F	2.498	2.42	3.434	3.218	5.856	13.279	3.223	53.149	32.072
p	0.067	0.073	0.021*	0.028*	0.001**	0.000**	0.028*	0.000**	0.000**

* 差异显著 ($P < 0.05$) Variation is significant at the 0.05 level, 2-tailed; ** 差异极显著 ($P < 0.01$) Variation is significant at the 0.01 level, 2-tailed 下同 the same below

2.3 相关性分析

2.3.1 形态变异与遗传变异的相关性 形态性状变异系数与多态位点比率、Shannon 多样性指数及 Nei 基因多样性指数等三个遗传多样性指数间的相关分析结果表明,形态性状变异系数与上述 3 个遗传多样性指数间均存在着正相关关系,其间的相关系数分别为 0.185、0.148 和 0.124。但显著性检验结果显示,形态性状变异系数与 3 个遗传多样性指数间的相关性均未达到显

著水平($P>0.05$),暗示其他因素可能是导致云南金钱槭居群间发生形态变异的主要原因。

2.3.2 形态变异与生态因子的相关性 在所研究的 9 个生态因子中(海拔、土壤含水量、土壤 pH、土壤有机质、年均温、年降水、年日照、年最高温、年最低温),海拔、土壤含水量、土壤有机质、年降水、年最高温、年最低温等 6 个因子与形态性状变异系数间存在着显著或极显著水平的相关性。其中,海拔因子对形态性状变异的影响最大。27 项形态性状中,一级枝粗、一级枝长、小叶长等 16 项性状的变异系数与海拔高度间显示出显著水平的正、负相关性($P<0.05$),相关系数值介于 0.952 到 0.997 之间,二级枝长、主侧脉夹角等 2 项性状的变异系数与海拔高度间的正相关性则达极显著水平($P<0.01$)。另外,小叶长/小叶柄长与土壤含水量,叶形系数、小叶叶柄长与年降水量,二级枝粗与年最低温等性状与环境因子间也存在着显著或极显著水平的相关性。上述结果表明,形态性状变异与生态因子间的关系较为复杂,不同生态因子对形态性状的影响力不同,多种生态因子的共同作用可能是导致形态差异产生的主要原因。

表 4 居群间形态总体差异显著性配对 t 检验

Table 4 Paired t -test of the significance of the general inter-population morphological variations

居群 Population	WSh- MZ	WSh- PB	WSh- HLT	MZ- PB	MZ- HLT	PB- HLT
T 值 t value	2.386*	1.994*	3.258**	-0.472	0.505	1.185

* Variation is significant at the 0.05 level, 2-tailed
** Variation is significant at the 0.01 level, 2-tailed

表 5 云南金钱槭 4 个居群遗传多样性特征指数分析

Table 5 Gene diversity index analysis of four *Dipteronia dyeriana* Henry populations

Shannon 指数 Shannon diversity index	平均 Mean	Nei 基因多样性指数 Nei's gene diversity index	平均 Mean
WSh	0.2713	WSh	0.1849
MZ	0.2315	MZ	0.1568
PB	0.1822	PB	0.1241
HLT	0.2476	HLT	0.1715
居群内平均遗传多样性 H_{SP}	0.2332	居群内基因多样性 H_S	0.1593
居群总的遗传多样性 H_{POP}	0.4191	居群总的基因多样性 H_T	0.2779
居群内平均遗传多样性比率 H_{SP}/H_{POP}	0.5564	居群内基因多样性比率 H_S/H_T	0.5732
居群间遗传多样性比率 $(H_{POP}-H_{SP})/H_{POP}$	0.4436	基因分化系数 G_{ST}	0.4267

2.3.3 遗传变异与环境因子的相关性 计算云南金钱槭居群多态位点比率、Shannon 多样性指数及 Nei 基因多样性指数与上述 9 个环境因子间的相关系数并进行显著性检验。结果显示,多态位点比率、Shannon 多样性指数与土壤含水量间存在显著水平的负相关($P<0.05$),相关系数分别为 0.982、0.958;Shannon 多样性指数、Nei 基因多样性指数与年降水量间也存在显著水平的负相关($P<0.05$),相关系数分别为 0.955、0.954;其它生态因子与云南金钱槭遗传多样性指数间的相关性均不显著($P>0.05$)。说明水分在维持云南金钱槭居群遗传多样性方面可能起着较为重要的作用。水分亏缺时,云南金钱槭的遗传多样性受自身所处微环境的选择压力作用而逐渐改变,以便更好地维持居群的稳定性。

2.4 聚类分析

基于 27 个形态性状特征值,对云南金钱槭居群进行聚类分析,结果显示:4 个居群可归并为两大支:蒙自居群与黑龙潭居群在最短的截取值处聚类,然后与屏边居群聚类形成第一大支,文山居群独立成支后与其它 3 个居群聚类(图 1)。基于 RAPD 数据的分聚类分析结果显示:文山居群先与黑龙潭居群聚类,然后与屏边居群、蒙自居群依次聚类(图 2)。

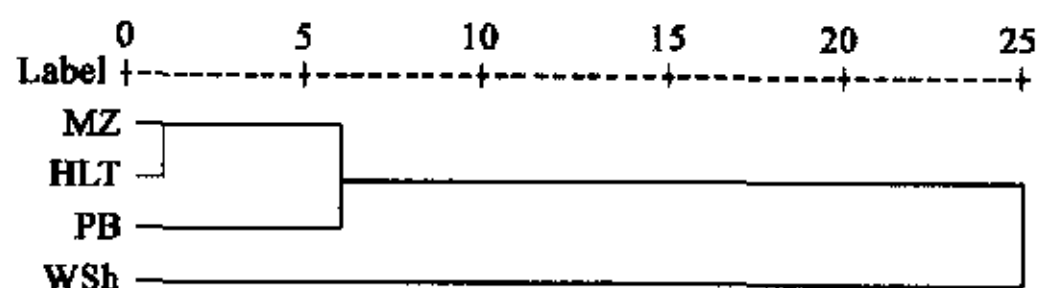


图 1 基于形态特征的云南金钱槭居群聚类图

Fig. 1 Dendrogram of *Dipteronia dyeriana* Henry populations based on phenotypic characters

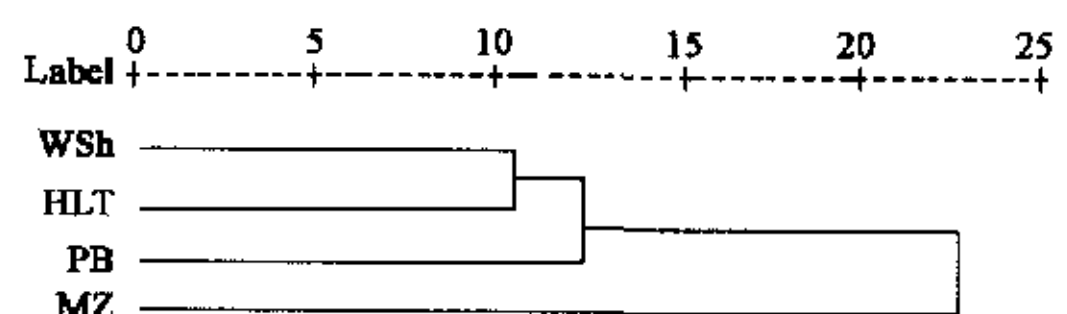


图 2 基于 RAPD 数据的云南金钱槭居群聚类图

Fig. 2 Dendrogram of *Dipteronia dyeriana* Henry populations based on RAPD data

3 讨论

3.1 形态变异的产生机制及其与遗传变异的关系

变异是生物界基本的特征之一,对形态性状变异的度量、描述和分析是探讨进化问题的基础^[15]。形态性状既具有变异性又

具有稳定性,受其本身的遗传组成和所处生态环境两方面影响,是生物适应其生存环境的表现形式^[16]。云南金钱槭的形态变异与生态因子,尤其与海拔因子间存在显著或极显著水平的相关性,与遗传变异间的相关性则不显著,说明虽然该种的形态变异具有一定的遗传基础,但可塑性,即物种改变表型以适应环境变化的能力,及环境压力在导致形态变异产生中的作用更大一些。与 Lande 和 Schemske 等得出的“短期内遗传变异对居群的存活和适应可能不如其他因素重要”的结论相一致。

基于形态性状数据得到的聚类结果与云南金钱槭分布地的环境特征较吻合,显示出海拔对表型性状的强势影响作用。蒙自居群与黑龙潭居群所处的海拔高度相近,二者首先聚类,文山居群所处的海拔最高,独立成支后,与其他居群聚类。作为一种环境梯度,随着海拔的升高,植物的生存条件逐渐恶劣,如海拔每升高 100m 温度下降 0.55℃^[17],降水量、日照时数等环境因子也随之发生变化。文山居群所处的海拔比屏边居群高约 200m,与适宜云南金钱槭生长的温暖湿润的气候条件相差较大,加之文山居群的小生境较为恶劣,土层较薄,土壤含水量偏低,最终导致表型性状与其它居群存在较大差异。黑龙潭居群是由来自于文山居群的成熟种子萌发而形成的迁地保护居群,两居群具有极为相似的遗传背景,基于 RAPD 数据的聚类分析显示文山居群先与黑龙潭居群聚类,然后与其它两个居群依次聚类,说明文山居群与黑龙潭居群间还未产生明显的遗传学差异,短期的环境异质性并未对该种的遗传物质产生明显的影响。

3.2 遗传变异的产生及维持机制

遗传变异是物种长期进化的产物,代表了物种的进化潜力,是种群生存和发展的前提^[18]。有学者发现,稀有或分布区狭窄的物种具有低水平的种内遗传变异,并认为这种低水平的遗传变异是由居群动态中的“瓶颈效应”或是由小居群内的近亲繁殖造成或加剧的^[19,20]。但也有一系列的研究揭示,稀有或濒危植物亦可保持高水平的遗传变异^[21~23]。与典型的稀有濒危物种如 *Lactoris fernandeziana*、银杉等相比,云南金钱槭维持着较高水平的遗传变异,这可能与下几方面的原因有关。首先,金钱槭属植物起源于第三纪以前^[24],在第四纪时分布区普遍南移^[25],根据云南金钱槭现今分布区的斑块化或异质种群结构 (metapopulation structure) 说明在其进化历史上受到第四纪冰川的影响。当冰川出现时,云南金钱槭向南移动而且分布范围极度缩小,幸存个体在多个“避难所”中保存下来。因此,可以推测,现存云南金钱槭是从不同的“避难所”发展而来,具有较为广泛的遗传基础。其次,云南金钱槭为孑遗植物,至少有几百万年的历史,而且个体生命周期长,世代重叠,在不同的选择压力下保留了各自的适宜基因,因此在漫长的进化过程中,积累了较高水平的遗传变异。

利用 McDermott 和 McDonald 的方法检测到云南金钱槭居群间的基因流仅为 $N_m = 0.6719$ ($N_m < 1$),暗示遗传漂变和随之而来的近交可能是刻画云南金钱槭居群遗传结构的主要因素。通常情况下,风媒传粉、异交为主植物居群间的遗传分化程度较低^[26]。云南金钱槭虽然是风媒传粉植物,但居群间存在高大山脊的阻隔、较大的地理距离及低水平的基因流,这些因素可能是导致云南金钱槭居群间产生较明显遗传分化的主要原因。

3.3 云南金钱槭致濒原因及保护策略

本研究结果显示云南金钱槭的遗传多样性水平并不低,说明遗传多样性大小不是导致云南金钱槭濒危的直接原因。野外调查发现,云南金钱槭居群及居群所处的生境都遭到不同程度的破坏。在屏边居群,生于路边的云南金钱槭有明显的砍伐迹象,而且树下仅有的几株幼苗有被啃食、埋没、毁坏的现象;在蒙自居群,零星分布的个体多为砍伐后萌生形成而且生长在其它树种的压迫下,自然更新不良。由此可见,自然居群及其生境的破坏是导致云南金钱槭濒危的主要原因之一。野外调查及相关资料显示^[27],云南金钱槭的自然分布与森林植被林分郁闭度有一定的相关性,林分郁闭度过大(大于 0.85)植株的营养生长受到影响,生殖生长基本停止;林分郁闭度过小,植株会因光照强、温度高、湿度小也不能进行正常生长,甚至死亡。此外,云南金钱槭在非适宜的生境中表现出明显的衰退,生活史中的一些环节受到影响,如结实率、种子发芽率降低等^[12],这是导致云南金钱槭居群难以扩大的另一主要原因。

针对导致云南金钱槭濒危的可能原因,建议采取以下保护策略。首先,重视云南金钱槭居群周围生境的保护,仅对云南金钱槭个体进行保护,对其周围环境不加重视只是一种短期行为,不能对该种进行长期有效的保护;其次,每个云南金钱槭居群都有其遗传特殊性,一些个体还含有特殊的等位基因,因此就地保护时对每一个居群都应加以保护;第三,应对群落的演替进程进行适当的人为干预,在郁闭度大的林分中,进行适当的疏伐,促进云南金钱槭的更新;最后,迁地保护居群(HLT)不具有最高的遗传多样性,在进一步保护时,应从所有居群中选取足够的样本,通过加大居群间种子和幼苗的交换,人为创造基因交流和重组的条件,更好地维持、提高该物种遗传多样性的水平。

References:

- [1] Qian Y Q. Protection and utilization of living species. *Science and Technology Review*, 1992, 5: 36~38.
- [2] Li J M, Zhou Z C, Wu K Y, et al. Genetic differentiation of geographic populations in *liriodendron chinense* using RAPD markers. *Scientia Silvae Sinicae*, 2002, 38 (4): 61~66.

- [3] Wang X Z, Yang Y H. *Populations genetics principles*. Chengdu: Sichuan University Press, 1992.
- [4] Fujio Y. A correlation of heterozygosity and growth rate in Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Tohoku. J. Agric. Res.*, 1982, **33**: 66~75.
- [5] Garton D W. Relationship between multiple locus heterozygosity and physiological energetic of growth in the estuarine gastropod *Thais haemastoma*. *Physiol. Zool.*, 1984, **57**: 520~543.
- [6] Koehn R K, et al. Genetic heterozygosity and growth rate in *mytilus edulis*. *Mar. Biol.*, 1984, **82**: 1~7.
- [7] Bai S Q, Gou W L, Zhang X Q, et al. Ecological characteristics and morphological variations of centipede grass in different populations. *Journal of Beijing Forestry University*, 2002, **24** (4): 97~101.
- [8] Ying J S, Zhang Y L. *Endemic genus of Chinese seed plant*. Beijing: Science Press, 1994.
- [9] Tian X, Jin Q J, Li D Z, et al. Pollen morphology of Aceraceae and its systematic implication. *Acta Bot Yunnan*, 2001, **23** (4): 457~465.
- [10] Zhao X G, Xiao L, Mao F C. A study on pollen morphology of aceraceae. *Acta Botanica Boreali-occidentalia Sinica*, 1998, **18** (2): 252~255.
- [11] OuYang Z Q, Zhou J Z, Huang Q X. *Ex Situ Conservation of Dipteronia dyeriana*, A Rare and Endangered Plant. *Yunnan Forestry Science and Technology*, 2001, **96** (3): 24~27.
- [12] Tian X, Guo Z H, Li D Z. Phylogeny of Aceraceae based on ITS and trnL-F data sets. *Acta Botanica Sinica*, 2002, **44** (6): 714~724.
- [13] Yeh F C, Yang R C. Popgene v 1.31. University of albert and center for international research, 1999.
- [14] Excoffier L. Analysis of molecular variance (AMOVA) version 1.5. Genetics and biometry laboratory, University of Geneva, 1995.
- [15] Ge S, Hong D Y. Biosystematic studies on *adenophora potaninii* korsh. Complex (campanulaceae) III. Genetic variation and taxonomic value of morphological characters. *Acta Phytotaxonomica Sinica*, 1995, **33**: 433~443.
- [16] Yang J. Intraspecific variation in plant and the exploring methods. *Journal of Wuhan Botanical Research*, 1991, **2**: 196~195.
- [17] Ozenda P. La vegetation de la chaine alpine dan l'espace montagnard europeen. Masson, Paris, 1985.
- [18] Soltis P S, Soltis D E. Genetic variation in endemic and widespread plant species; examples from Saxifragaceae and *Polystichum*. *Aliso*, 1991, **13**: 215~223.
- [19] Waller D M, O'Malley D M, Gawler S C. Genetic variation in the extreme endemic, *Pedicularis furbishiae* (Scrophulariaceae). *Conservation Biology*, 1987, **1**: 335~340.
- [20] Fang Y M, You L X, Fan W W. Fecundity of natural and cultivated populations of *Liriodendron chinense* (Hemsl.) Sarg. *Journal of Plant Resources and Environment*, 1994, **3** (3): 9~13.
- [21] Hickey R J, Vincent M A, Gutmann S I. Genetic variation in running buffals clover *Trifolium soloniferum*, Fabaceae. *Conservation Biology*, 1991, **5**: 309~316.
- [22] Swenson S M, Allan G J, Howe M, et al. Genetic analysis of the endangered island endemic *Malacothamnus fasciculatus* (Nutt.) Greene var. nesiotica (Rob.) Kearn (Malvaceae). *Conservation Biology*, 1995, **9**: 404~415.
- [23] Hamrick J L, Godt M J W, Murawski D A, et al. Correlations between species traits and allozyme diversity; implication for conservation biology. In: Falk D A, Holsinger K E eds. *Genetics and Conservation of Rare Plants*. Oxford: Oxford University Press, 1991. 75~86.
- [24] He C R. The studies of the Chinese endemic genera of the spermatophytic flora in hubei. *Journal of Shanxi University*, 1997, **20** (4): 429~434.
- [25] Liu S E. *Climate variance and vegetation transfer. Corpus of Liushene*. Beijing: Science Press, 1985.
- [26] Brown A H D, Burdon J J, Jarosz A M. Isozyme analysis of plant mating system, 73~86. In: edited by D. E. Soltis and P. S. Soltis. *Isozymes in Plant Biology*, Portland: Dioscorides Press, 1989.
- [27] Di W Z, Yu Z Y. *The first group of Chinese rare and threatened plant of Shaanxi Province*. Xi'an: Northwest University Press, 1987.

参考文献:

- [1] 钱迎倩. 生物多样性的保护与永续利用. 科技导报, 1992, **5**: 36~38.
- [2] 李建民, 周志春, 吴开云, 等. RAPD 标记研究马褂木地理种群的遗传分化. 林业科学, 2002, **38** (4): 61~66.
- [3] 王喜忠, 杨玉华. 群体遗传学原理. 四川大学出版社, 1992.
- [7] 白史且, 苟文龙, 张新全, 等. 假俭草种群变异与生态特性的研究. 北京林业大学学报, 2002, **24** (4): 97~101.
- [8] 应俊生, 张玉龙. 中国种子植物特有属. 北京: 科学出版社, 1994. 57~58.
- [9] 田欣, 金巧军, 李得铎, 等. 槭树科花粉形态及其系统学意义. 云南植物研究, 2001, **23** (4): 457~465.
- [10] 赵先贵, 肖玲, 毛富春. 槭树科花粉形态的研究. 西北植物学报, 1998, **18** (2): 252~255.
- [11] 欧阳志勋, 周际中, 黄清祥. 稀有濒危植物云南金钱槭迁地保护的研究. 云南林业科技, 2001, **3**: 24~27.
- [12] 田欣, 郭振华, 李德铎. 基于 ITS 与 trnL-F 序列探讨槭树科的系统发育. 植物学报, 2002, **44** (6): 714~724.
- [15] 葛颂, 洪德元. 泡沙参复合体的物种生物学研究 III. 性状的遗传变异及其分类价值. 植物分类学报, 1995, **33**: 433~443.
- [16] 杨继. 植物种内形态变异的机制及其研究方法. 武汉植物学研究, 1991, **2**: 196~195.
- [20] 方炎明, 尤录祥, 樊汶汶. 中国鹅掌楸天然群体与人工群体的生育力. 植物资源与环境, 1994, **3** (3): 9~13.
- [24] 贺昌锐. 湖北种子植物区系的中国特有属研究. 山西大学学报, 1997, **20** (4): 429~434.
- [25] 刘慎鄂. 气候变迁与植物移动. 刘慎鄂文集. 北京: 科学出版社, 1985.
- [27] 狄维忠, 于兆英. 陕西省第一批国家珍稀濒危保护植物. 西安: 西北大学出版社, 1987.