金钱槭和云南金钱槭遗传多样性比较研究

李珊^{1,2} 钱增强¹ 蔡宇良¹ 赵桂仿^{1*}

(1 西北大学生命科学学院, 秦岭生物多样性研究中心, 西安 710069)

(2 同济大学生命科学与技术学院, 生物资源与应用技术研究所, 上海 200092)

摘要 金钱槭属(*Dipteronia*)是我国特有少种属, 属下仅金钱槭(*D. sinensis*)和云南金钱槭(*D. dyeriana*)两种。该文用 RAPD 标记揭示了金钱槭的遗传多样性和遗传结构, 并与云南金钱槭的 RAPD 研究结果进行了比较。同时, 对两物种遗传距离与地理距离的相关性进行了分析, 结果有助于阐释该属植物遗传变异的产生机制。研究显示, 18 条随机引物在 17 个金钱槭居群(226 个个体)中检测到 128 个扩增位点, 物种水平的多态位点比率为 92.97%, 在 4 个云南金钱槭居群(45 个个体)中则检测到 103 个扩增位点, 物种水平的多态位点比率为 81.55%, 金钱槭的多态位点比率高于云南金钱槭。相似性系数值、Shannon 多样性指数和 *Nei* 基因多样性指数分析反映了与多态位点比率相一致的结果。AMOVA(Analysis of molecular variance)分析结果显示, 金钱槭居群内、居群间的遗传变异分别占总变异量的 56.89% 和 43.11%。云南金钱槭居群内、居群间的遗传变异分别占总变异量的 57.86% 和 42.14%。Shannon 多样性指数、*Nei* 基因多样性指数的分析结果与 AMOVA 分析结果趋势相同。上述特征值揭示, 金钱槭和云南金钱槭居群间的遗传分化均已达到较高水平, 推测居群间低水平的基因流可能是导致上述现象产生的原因之一。遗传距离与地理距离的相关分析结果显示, 金钱槭居群间的遗传距离与经度差异存在极显著水平的相关性($p < 0.01$), 云南金钱槭居群间的遗传距离与地理隔离则无显著相关关系。说明在大尺度上遗传距离与地理距离相关而在小范围内则无上述关系, 该结果可能与位于不同分布区内的物种所承受的生境选择压力不同有关。建议在对该属植物进行就地保护时, 应设立多个保护点, 保护自然居群及其周围生境; 在迁地保护时, 应通过加大居群间种子和幼苗的交流, 人为创造基因交流和重组的条件, 保存该属植物的遗传多样性。

关键词 金钱槭 云南金钱槭 RAPD 遗传多样性 比较研究

A COMPARATIVE STUDY ON THE GENETIC DIVERSITY OF *DIPTERONIA SINENSIS* AND *DIPTERONIA DYERIANA*

LI Shan^{1,2} QIAN Zeng-Qiang¹ CAI Yu-Liang¹ and ZHAO Gui-Fang^{1*}

(1 Biodiversity Research Center of Qinling Mts, College of Life Science, Northwest University, Xi'an 710069, China)

(2 Institute of Bioresource and Applied Technology, School of Life Sciences and Technology, Tongji University, Shanghai 200092, China)

Abstract *Dipteronia* is an endemic genus to China and includes only two species, *Dipteronia sinensis* and *D. dyeriana*. Based on RAPD markers, a comparative study on the genetic diversity and genetic structure of *Dipteronia* was performed. In total, 128 and 103 loci were detected in 17 *D. sinensis* populations and 4 *D. dyeriana* populations, respectively, using 18 random primers. These results showed that the proportion of polymorphic loci for the two species were 92.97% and 81.55%, respectively, indicating that the genetic diversity of *D. sinensis* was higher than that of *D. dyeriana*. Analyses based on similarity coefficients, Shannon diversity index and *Nei* gene diversity index, also confirmed this result. AMOVA analysis demonstrated that the genetic variation of *D. sinensis* within and among populations accounted for 56.89% and 43.11% of the total variation, respectively, and 57.86% and 42.14%, respectively, of *D. dyeriana*. The Shannon diversity index and *Nei* gene diversity index showed similar results. The above-mentioned characteristics indicated that the genetic diversity levels of these two species were extremely similar and that the interpopulational genetic differentiation within both species was relatively high. Analysis of the genetic distance among populations also supported this conclusion. Low levels of interpopulational gene flow within both species were believed to be among the leading causes for the above-mentioned phenomenon. The correlation analysis between genetic and geographical distances showed that there existed a remarkably significant correlation between the genetic distance and the longitude difference among populations of *D. sinensis* ($p < 0.01$) while no significant correlation existed between genetic and geographical distances among populations of *D. dyeriana*. This indicates that genetic distance was correlated with geographical distances at large scales other than at small scales. This re-

sult may be related to differences in selection pressure exerted on species by their habitats with different distribution ranges. We suggest that *in situ* conservation efforts should focus on establishing more sites to protect the natural populations and their habitats. *Ex situ* conservation efforts should focus on enhancing the exchange of seeds and seedlings among populations to facilitate gene exchange and recombination to help conserve genetic diversity.

Key words *Dipteronia sinensis*, *Dipteronia dyeriana*, RAPD, Genetic diversity, Comparative study

遗传多样性是生物长期进化的产物,是生物多样性的的重要组成部分。对稀有和濒危物种遗传多样性进行研究,不仅有助于了解物种的进化历史、适应潜力及濒危机制,而且还关系到能否以及如何采取科学有效的措施来保护物种(葛颂和洪德元,1994)。很多学者已从形态、细胞、生理和分子等不同水平对物种的遗传多样性进行了研究(董玉琛,1995),其中DNA分子标记技术以其独特的优点在珍稀濒危保护植物遗传多样性的研究中得到了广泛地应用(Maile & Norman, 2003; Robert *et al.*, 2000; Vandevoestijne & Baguette, 2002)。由于物种的遗传多样性、遗传结构与该物种的进化历史、系统发育地位和生活史特性等许多因素有关,不同物种的研究结果很难在同一标准下进行比较—因此越来越多的研究人员将研究重点转向近缘濒危物种和广布种遗传多样性的对比分析(Godt *et al.*, 1997; Karron *et al.*, 1988)。我国学者对濒危物种裂叶沙参(*Adeoophora lobophylla*)及其近缘广布种泡沙参(*Adenophora otaninii*)(葛颂和洪德元,1999)、濒危物种杭州石芥苣(*Mosla hangchouensis*)及其近缘广布种石香薷(*Mosla chinensis*)(周世良等,1998)等物种的遗传多样性进行了对比研究。但到目前为止尚未见到对金钱槭属(*Dipteronia*)植物进行过此类研究报告,由于云南金钱槭(*D. dyeriana*)和金钱槭(*D. sinensis*)为地理分布范围明显不同的近缘种,两者具有相似的生活史特性和一致的交配系统,因此很适合进行遗传多样性的对比研究。

金钱槭属隶属于槭树科,为我国特有少种属,属下仅云南金钱槭、金钱槭两个种,分别被列为国家二级、三级珍稀濒危保护植物(方文培,1981)。云南金钱槭目前仅分布于云南省东南部文山、蒙自和屏边县,金钱槭则广布于陕西、甘肃、河南、湖南、湖北、四川和重庆等省市(应俊生和张玉龙,1994)。有关部门近年来组织的植物资源普查及本次研究的野外调查发现,两种植物在一些标本记载的分布点上均已消失,分布范围有不断缩小的趋势,因此急需对这两种植物进行保护遗传学研究。对珍稀濒危物种居群遗传多样性和居群遗传结构的研究是了解其居群生

物学特性、探讨致濒原因的第一步,同时也为制定科学的保护和利用措施提供了重要的理论依据(赵阿曼等,2003)。本文旨在采用RAPD标记对17个金钱槭居群的226个个体进行遗传学研究,并与4个云南金钱槭居群45个个体的研究结果进行比较(李珊等,2004),分析两物种的遗传多样性水平及居群遗传结构特点,探讨其进化潜力及遗传多样性维持机制,为进一步研究两物种的进化适应及制定合理的保护措施提供科学的理论依据。

1 材料和方法

1.1 植物材料

2002年5~8月和2003年6~9月在陕西太白山、铁甲山、佛坪、宁西林区,甘肃小陇山,四川宝兴,重庆城口,湖南壶瓶山,湖北神农架、大老岭、龙门河和河南石人山等地采集17个金钱槭居群;2002年9月在云南昆明、蒙自、屏边、文山采集4个云南金钱槭居群。居群采样图及采样点生态特征见图1和表1。

图1 居群采样点分布示意图

Fig.1 Sketch map of locations of the sampled populations
Solid dot and triangle denote the sample sites of *Dipteronia sinensis* and *D. dyeriana* respectively

表 1 居群采样点概况
Table 1 The general situation of sampling sites

	居群 Codes	采样地 Locations	样本数 No. of sample	海拔 Altitude (m)	经度 Longitude	纬度 Latitude
金钱槭 <i>Dipteronia sinensis</i>	TBS	陕西太白山 Taibai mountain, Shaanxi	20	1 154	107°46′	33°25′
	MZG	陕西梅子沟 Meizi valley, Shaanxi	19	1 130	107 °48′	33°33′
	TJS	陕西铁甲树 Tiejia mountain, Shaanxi	6	1 603	107 °48′	33°52′
	BMG	陕西白马沟 Baima valley, Shaanxi	6	1 346	107 °48′	33°34′
	NX	陕西宁西 Ningxi forest centre, Shaanxi	4	1 616	108 °20′	33°45′
	XLS	甘肃小陇山 Xiaolong mountain, Gansu	19	1 526	106 °00′	34°21′
	CDZ	四川川洞子 Chuandongzi, Sichuan	15	1 468	102 °42′	30°28′
	LDG	四川陇东大沟 Longdongdagou, Sichuan	13	1 950	102 °45′	30°29′
	JZX	重庆箭竹乡 Jianzhu, Chongqing	10	1 479	108 °43′	32°03′
	ZPH	湖南纸棚河 Zhipeng river, Hunan	14	1 388	110 °32′	30°02′
	HPS	湖南壶瓶山 Huping mountain, Hunan	15	1 500	110 °31′	31°01′
	JCS	湖北九冲山 Jiuchong mountain, Hubei	12	870	110 °33′	31°24′
	WJC	湖北万家沟 Wanjia valley, Hubei	11	811	110 °33′	31°24′
	LMH	湖北龙门河 Longmenhe, Hubei	7	1 297	110 °29′	31°19′
	ZCG	湖北猪槽沟 Zhucao valley, Hubei	17	1 735	110 °55′	31°05′
	QTW	湖北青檀湾 Qingtan gulf, Hubei	19	1 685	110 °55′	31°03′
	SRS	河南石人山 Shiren mountain, Henan	19	1 138	112 °16′	33°43′
云南金钱槭 <i>Dipteronia dyeriana</i>	WSH	云南文山 Wenshan, Yunnan	13	2 217	103°17′	23°17′
	MZ	云南蒙自 Mengzi, Yunnan	13	1 902	103 °47′	23°24′
	PB	云南屏边 Pingbian, Yunnan	9	2 019	103 .°52′	23°01′
	HLT	云南昆明黑龙潭 Heilongtan, Yunnan	10	1 923	102 °54′	25°02′

表 2 研究所用随机引物
Table 2 Random primers employed in this study

引物名称 Primer	引物序列(5-3) Sequence	GC 含量 GC content (%)	引物名称 Primer	引物序列(5-3) Sequence	GC 含量 GC content (%)
BA0001	GTTTCGCTCC	60	BA0051	AGCGCCATTC	60
BA0017	AGGGAACGAG	60	BA0061	TTCGAGCCAG	60
BA0021	CAGGCCCTTC	70	BA0096	AGCGTCCTCC	70
BA0024	AATCGGGCTG	60	BA0123	CCTGATCACC	60
BA0030	GTGATCGCAG	60	BA0162	GGAGGAGAGG	70
BA0031	CAATCGCCGT	60	BA0217	CAGATCGGTG	60
BA0033	CAGCACCAC	70	BA0360	AAGCGGCCCTC	70
BA0035	TTCCGAACCC	60	BA1021	GGCATCGGCT	70
BA0048	GTGTGCCCCA	70	BA1344	AAGGCTCGAC	60

1.2 DNA 提取

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(田欣等,2002)。因此本研究采用改良的 CTAB 法提取金钱槭的总 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。最终获得了质量较好,可用于下游操作的总 DNA。

1.3 随机扩增与产物检测

所用引物购自上海生工生物有限公司,选取在

两个种中均能产生清晰、稳定扩增产物的 18 条随机引物(引物序列见表 2)用于 RAPD 扩增。扩增反应在 TEMP-TRONTC 热循环仪上进行。PCR 扩增反应体系为:10 × Reaction Buffer 1.5 μl,随机引物 5 μl,模板 DNA 1 μl,4 × dNTP (10 mmol•L⁻¹) 0.4 μl, Taq 酶 0.8 U,超纯水 1.3 μl,反应总体积为 10 μl,在反应混合液上覆盖等体积的石蜡油。PCR 扩增程序为:96 ℃预变性 6 min;94 ℃变性 8 s,40 ℃复性 1 min,72 ℃延伸 10 s,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⁻¹ EB)电泳分离,电泳缓冲液为 1 × TAE,电压 50 V,以

DGL2000 作为分子量标准,电泳 2 h。在 UV 灯下观察结果并用 Kodak Scientific Imaging Systems 凝胶成像系统 120(Estman Kodak Company)照相。

1.4 扩增产物的记录与数据分析

将清晰、稳定出现的 RAPD 条带记为 1,不出现的条带记为 0,形成二元表型数据矩阵用于进一步分析。

利用 Popgene(Population genetic simulator)软件包(Yeh & Yang, 1994)分析多态位点比率(*PPB*)、Shannon 多样性指数、*Nei* 基因多样性指数、居群间遗传距离和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 AMOVA(Analysis of molecular variance)软件(Excoffier, 1993)分析遗传变异在居群内、居群间的分布。用 SPSS(Statistical package for the social sciences)软件(卢纹岱, 2000)计算遗传距离与地理隔离(经度、纬度、海拔)间的相关性,并进行显著性检验。

2 结果与分析

2.1 金钱槭、云南金钱槭遗传多样性比较

RAPD 分析结果显示, 18 条引物在金钱槭中共

检测到 128 个位点,其中多态位点 119 个,即在物种水平上,金钱槭的多态位点比率 *PPB* 为 92.97%。而 18 条引物在云南金钱槭中共检测到 103 个位点,其中多态位点 84 个,即物种水平上,云南金钱槭的多态位点比率为 81.55%。可以看出,虽然两物种均具有较高水平的多态位点比率,但云南金钱槭的 *PPB* 低于金钱槭的 *PPB*。

通过对表 3 中数据的比较发现,多态位点比率、Shannon 多样性指数、*Nei* 基因多样性指数值均反映出,无论在物种水平还是在居群水平,金钱槭的遗传多样性水平都高于云南金钱槭。此外,虽然 *Nei* 基因多样性指数、Shannon 多样性指数的大小与多态位点比率反映的趋势相一致,但 Shannon 多样性指数值均高于相应的 *Nei* 基因多样性指数值,这可能是因为 *Nei* 指数的计算须严格的显、隐性等位基因频率,而 Shannon 多样性指数则由于缺乏生物学意义,在一定程度上避免了对 RAPD 扩增位点显隐性的讨论(魏伟等, 1999)。

2.2 金钱槭、云南金钱槭遗传变异分布模式比较

表 4 显示了由 AMOVA 分析、Shannon 多样性指数分析及 *Nei* 基因多样性指数分析得到的遗传变异

表 3 金钱槭、云南金钱槭居群遗传多样性及其比较
Table 3 Genetic diversity of *Dipteronia dyeriana* and *D. sinensis* populations

居群 Population	多态位点数 No. of polymorphic loci	多态位点比率 <i>PPB</i>	<i>Nei</i> 基因多样性指数 <i>H</i>	Shannon 多样性指数 <i>I</i>
金钱槭 <i>Dipteronia sinensis</i>				
TBS	70	54.69	0.169 8	0.257 7
MZG	78	60.94	0.195 3	0.293 4
TJS	70	54.69	0.208 4	0.305 0
BMG	75	58.59	0.246 6	0.353 7
NX	55	42.97	0.176 7	0.255 9
XLS	87	67.97	0.223 7	0.336 9
CDZ	72	56.25	0.193 1	0.288 8
LDG	70	54.69	0.199 0	0.294 7
JZX	70	54.69	0.188 3	0.280 7
ZPH	78	60.94	0.196 5	0.298 2
HPS	77	60.16	0.175 8	0.269 6
JCS	82	64.06	0.226 1	0.337 2
WJG	83	64.84	0.214 2	0.323 6
LMH	81	63.28	0.249 0	0.363 1
ZCG	97	75.78	0.249 6	0.377 8
QTW	93	72.66	0.228 6	0.347 2
SRS	98	76.56	0.292 2	0.428 9
	119	92.97	0.386 4	0.556 3
云南金钱槭 <i>Dipteronia dyeriana</i>				
WSH	49	47.57	0.184 9	0.271 3
MZ	44	42.72	0.156 8	0.231 5
PB	33	32.04	0.124 1	0.182 2
HLT	42	40.78	0.171 5	0.247 6
	84	81.55	0.277 9	0.419 1

JZX、CDI、LDG、BNG、MZG、NX、XLS、TBS、TJS、LMH、ZPH、HPS、ZCG、QTW、SRS、JCS、WJG、WSH、PB、MZ、HLT: 同表 1 See Table 1

表 4 金钱槭、云南金钱槭居群遗传变异的分布
Table 4 Genetic variation distribution of *Dipteronia dyeriana* and *D. sinensis*

	总变异量 Total genetic variation		居群内变异百分量 Genetic variation within populations (%)		居群间变异百分量 Genetic variation among populations (%)	
	金钱槭 ¹⁾	云南金钱槭 ²⁾	金钱槭 ¹⁾	云南金钱槭 ²⁾	金钱槭 ¹⁾	云南金钱槭 ²⁾
AMOVA 分析 AMOVA analysis	15.89	14.78	56.89	57.86	43.11	42.14
Shannon 多样性 Shannon diversity	0.556 3	0.419 1	57.24	55.64	42.76	44.36
Nei 基因多样性 Nei's gene diversity	0.386 4	0.277 9	55.31	57.32	44.70	42.67

1) *Dipteronia sinensis* 2) *Dipteronia dyeriana*

在居群内、居群间的分布情况。AMOVA 分析结果显示，金钱槭居群内、居群间的遗传变异分别占总变异量的 56.89% 和 43.11%。云南金钱槭居群内、居群间的遗传变异分别占总变异量的 57.86% 和 42.14%。

Shannon 多样性指数分析显示，金钱槭、云南金钱槭居群内的变异量依次为 0.318 4 和 0.233 2，分别占总遗传变异的 57.24% 和 55.64%。居群间的变异量依次为 0.237 9 和 0.185 9，分别占总变异量的 42.76% 和 44.36%。由 *Nei* 基因多样性指数推算出金钱槭居群间的遗传分化系数 (G_{ST}) 为 0.447 0，云南金钱槭居群间的遗传分化系数 (G_{ST}) 为 0.426 7，说明有 44.70% 的遗传变异存在于金钱槭居群间，有 42.67% 的变异存在于云南金钱槭居群间。Shannon 多样性指数、*Nei* 基因多样性指数得到了与 AMOVA 分析基本一致的结果。上述特征值表明，金钱槭、云南金钱槭居群间遗传分化水平较为相似，两个种内居群间的遗传分化均已达到较高水平。

2.3 金钱槭、云南金钱槭居群聚类分析

基于 *Nei* 遗传距离，利用 UPGMA 法对 17 个金钱槭居群和 4 个云南金钱槭居群间的遗传关系进行了聚类分析，结果如图 2 所示：21 个居群可划分为两大支，分别对应着金钱槭和云南金钱槭两个种。在由 17 个金钱槭居群组成的第一大支中又可划分为两个亚区，第一亚区主要由位于秦岭的居群组成，这些居群位于金钱槭分布区的北部，第二亚区由位于金钱槭分布区南部的居群组成，聚类结果与居群的实际地理分布在一定水平上相吻合，说明金钱槭聚类群与地理差异存在某种程度的相关性。

2.4 遗传距离与地理距离的相关性分析

遗传距离分析结果显示，金钱槭居群间的平均遗传距离为 0.267 7，其中九冲山居群(JCS)与万家沟居群(WJG)间的遗传距离最小 ($ID_{min} = 0.046 9$)，铁甲树居群(TJS)与万家沟(WJG)居群间的遗传距离最大 ($ID_{max} = 0.414 1$)。云南金钱槭居群间的平

均遗传距离为 0.207 9，其中文山区居群(WSH)与黑龙潭居群(HLT)间的遗传距离最小 ($ID_{min} = 0.183 7$)，蒙自居群与黑龙潭居群(HLT)间的遗传距离最大 ($ID_{max} = 0.231 9$)。上述结果表明，金钱槭、云南金钱槭种内居群间均已产生一定程度的遗传分化，而且金钱槭居群间的分化水平高于云南金钱槭居群。

图 2 17 个金钱槭居群和 4 个云南金钱槭居群的聚类分析
Fig.2 Clustering analysis of 17 populations of *Dipteronia sinensis* and 4 populations of *D. dyeriana*
JZX、CDI、LDG、BNG、MZG、NX、XLS、TBS、TJS、LMH、ZPH、HPS、ZCG、QTW、SRS、JCS、WJG、WSH、PB、MZ、HLT: 同表 1 See Table 1

为研究遗传距离与地理距离(海拔、经度、纬度)的关系及地理距离对居群遗传结构的影响，分别对金钱槭居群、云南金钱槭居群间的地理距离和遗传距离进行了相关分析并进行显著性检验。结果表明，金钱槭居群间的遗传距离与海拔、经度、纬度间存在着不同程度的相关性，其中遗传距离与经度间的相关系数为 0.342 0，两者间显示出极显著水平的

正相关性($p < 0.01$)。

云南金钱槭居群间的遗传距离与地理隔离(经、纬度、海拔)间的相关系数较小($p > 0.05$),其间不存在显著的相关性,说明该种的遗传距离与地理隔离没有明显的相关关系。

3 讨 论

作为珍稀濒危保护植物,金钱槭、云南金钱槭均维持着较高水平的遗传多样性。与对国家一级珍稀濒危保护植物华山新麦草(*Psathyrostachys huashanica*)(刘占林等,2001;赵利锋等,2001)和国家二级珍稀濒危保护植物四合木(*Tetreaana mongolica*)(张颖娟和杨持,2003)等珍稀濒危物种的研究结果相一致。但亦有研究发现,珍稀濒危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于居群动态中的“瓶颈效应”或“奠基者效应”或者是由于小居群内的近亲繁殖造成或加剧的(Waller *et al.*, 1987)。本研究结果及上述资料表明,单凭是否珍稀、濒危并不能直接反映物种的遗传多样性水平,物种遗传多样性的保持受其生物学特性、生态条件、进化过程及历史事件等诸多因素的共同影响,不同类型的珍稀濒危物种可能具有不同的遗传意义,珍稀濒危保护植物亦可保持高水平的遗传变异(Hickey *et al.*, 1991; Swenson *et al.*, 1995; Hamrick *et al.*, 1991)。我们分析金钱槭和云南金钱槭得以维持较高水平遗传多样性的原因有以下几方面。首先,第四纪时,冰期、间冰期多次交替出现,造成动植物大规模的迁移,槭树科植物也难逃厄运(刘慎谔, 1985)。同时化石资料显示,金钱槭属植物曾分布于东亚及北美洲(沙菲尔,1958),而其现今分布区仅局限在我国中西部地区,且呈斑块化或异质种群结构(Metapopulation structure)。上述证据表明,金钱槭属植物的进化历史上无疑受到第四纪冰川的影响。第四纪时,我国仅存在山岳冰川,并未受到冰盖影响,冰川活动被限制在局部地区,形成很多分散的动植物冰期避难所(Hu, 1980)。因此,可以推断,现存金钱槭、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,金钱槭和云南金钱槭均为孑遗植物,至少有几百万年的历史,个体生命周期长,世代重叠,繁育方式以风媒为主,在不同的选择压力下保留了各自的适宜基因,因而在漫长的进化过程中积累了较高水平的遗传变异。但对金钱槭属植物叶绿体 DNA 进行的亲缘地理学研究发现,金钱槭具有的单倍型种类多于云南金钱槭,单倍型的

分布模式也较为复杂,说明冰期时金钱槭形成的“避难所”数目较多,初始种群间的差异较大,现存个体遗传物质多样化水平高于云南金钱槭。此外,金钱槭的分布范围明显较大,分布区温度、海拔和土壤等生态因子变化显著,环境异质性强,而且居群数目、个体数目均明显大于云南金钱槭,导致分子遗传变异水平高于云南金钱槭。

金钱槭和云南金钱槭的基因分化系数分别为 0.447 0 和 0.426 7,均高于双子叶植物基因分化系数的平均值($G_{ST} = 0.273$),说明其居群间均已产生较高水平的遗传分化。基于 G_{ST} 值,利用 McDermott 和 McDonald 的方法检测到金钱槭和云南金钱槭居群间的基因流大小分别为 $Nm = 0.668\ 5$ 和 $Nm = 0.671\ 9$, $Nm < 1$,居群间的基因交流匮乏。对金钱槭来说,不同居群间地理距离大,导致各居群的开花期不同,即使具有较接近开花期的居群其间高大山脊的阻隔也使花粉的传播受到极大地阻碍。此外,种子散布机制对居群间 G_{ST} 值具有显著影响,靠重力散布种子的植物具有相当强的居群趋异($G_{ST} = 0.277$),而金钱槭的果实正是靠重力传播,种子需经较长期的休眠后才能萌发。我们分析上述因素的综合作用是导致金钱槭居群间仅具低水平基因流的主要原因。对云南金钱槭来说,居群间的地理距离虽然较小,但其花期为 4~5 月,此间云南金钱槭分布区的降雨量、雷暴日数均较多(蒙自地区气象局内部资料),雨水的冲刷使花粉传播受到极大阻碍,导致居群间花粉流的形成较为困难。此外,云南金钱槭的翅果较金钱槭大,成熟果实的干重可达 0.3 g(李珊等,2003),种子亦需经较长期的休眠后才能萌发,有效种子流的形成受到了极大的限制,最终导致居群间的基因流水平也很低。

Alpert 等(1993)在研究 *Frogaria chilensis* 种群间的遗传分化时发现,遗传距离与种群间的空间距离高度相关;顾少华等(1992)对黑果蝇(*Drosophila virilis*)的研究表明随着地理距离的增加,遗传距离和基因频率的差异加大;郎萍和黄宏文(1999)对栗属(*Castanea*)的研究也表明,地理距离和遗传距离间存在一定的相关性。上述研究结果显示遗传变异的分布格局与地理距离间具有一定的相关性,即地理距离越远,遗传距离越大,地理距离越近,遗传距离越小。但也有研究得到了相反的结论,例如崔继哲等(2001)对松嫩草原羊草(*Leymus*)、李晓东等(2003)对水杉(*Metasequoia glyptostroboides*)等研究结果均显示遗传距离与地理距离间不存在显著的相关

关系。本研究结果显示,在大尺度上遗传距离与地理距离相关,在小范围内则无上述关系,与李军和钱吉等的研究结果相符合(府宇雷等,1999)。我们分析产生这种现象的主要原因在于,金钱槭分布范围广,居群分布的经度、纬度等跨度大,由此造成不同居群所处位置的温度、水分、光照、土壤等生态因子发生较大变化,环境变异性强,不同居群所承受的生境选择压力存在较大差异,最终导致居群间的遗传距离与地理距离存在一定水平的相关性。而对于仅分布在较小的范围内的云南金钱来说,不同居群所处位置的水、热等生态因子基本相同,生境选择压力趋于一致,中性的随机漂变可能是引起居群间产生遗传差异的因素之一,致使该种的遗传距离与地理距离未显示出显著的相关性。

通过对濒危物种的种群遗传结构分析可以获得居群遗传多样性、遗传变异分布式样等方面的重要数据,对实现物种的有效管理和制定合理的保护策略有重要参考价值。本研究发现目前金钱槭属植物的生存状况具有以下特点。首先,金钱槭的迁地保护居群小陇山(XLS)和云南金钱槭的迁地保护居群黑龙潭(HLT)的多态位点比率均未达到所有居群中的最大值。其次,自然居群内较成熟个体有被砍伐迹象,幼苗有被啃食、埋没、毁坏的现象,而且居群所处的生境也遭到不同程度的破坏。第三,两种植物生活史中的一些环节在非适宜生境中均受到不利影响,如结实率、种子发芽率、成苗率低等。第四,两物种内居群间的遗传分化均已达到较高水平。针对上述特点,我们建议在对该属植物进行就地保护时,应设立更多的保护点保护居群及其周围生境。在进行迁地保护时,应尽量从不同居群取样,加大居群间种子和幼苗交换,为基因交流和重组创造条件,以保存该属植物的遗传多样性。

参 考 文 献

- Alpert P, Lumaret R, Digiusto F (1993). Population structure inferred from allozyme analysis in the clonal herb, *Fragaria chiloensis* (Rosaceae). *American Journal of Botany*, 80, 1002 – 1006.
- Cui JZ(崔继哲), Zu YG(祖元刚), Nie JL(聂江力), Wang GL(王桂玲) (2001). Genetic differentiation of *Leymus chinensis* populations in Songnen grassland. *Bulletin of Botanical Research* (植物研究), 21, 116 – 215. (in Chinese with English abstract).
- Dong YC(董玉琛) (1995). Biodiversity and the genetic diversity study of crop. *Crop Variety Germplasm* (作物品种资源), 3, 1 – 5. (in Chinese with English abstract)
- Excoffier L (1993). *Analysis of Molecular Variance* (AMOVA) Version 1.5. Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva.
- Fang WP(方文培) (1981). *Flora Reipublicae Popularis Sinicae* (中国植物志). Science Press, Beijing. (in Chinese)
- Fu YL(府宇雷), Qian J(钱吉), Zhang MY(张美云) (1999). Molecular-ecology study on sub-population of wild soybeans within Jinhua district. *Journal of Fudan University* (复旦大学学报), 38, 584 – 586. (in Chinese with English abstract)
- Ge S(葛颂), Hong DY(洪德元) (1994). Genetic diversity and its test methods. In: Qian YQ(钱迎倩), Ma KP(马克平) eds. *Principles and Methodologies of Biodiversity Studies* (生物多样性研究的原理与方法). Chinese Science and Technology Press, Beijing, 123 – 140. (in Chinese)
- Ge S(葛颂), Hong DY(洪德元) (1999). Studies of morphological and allozyme variation of the endangered *Adenophora lobophylla* and its widespread congener *A. potaninii*. *Acta Genetica Sinica* (遗传学报), 26, 410 – 417. (in Chinese with English abstract)
- Godt MJ, Walker J, Hamrick JL (1997). Genetic diversity in the endangered lily *Harperocallis flava* and a close relative, *Tofieldia racemosa*. *Conservation Biology*, 11, 361 – 366.
- Gu SH(顾少华), Kong Y(孔原), Zhu DL(朱定良), Geng ZC(庚镇城), Tan JZ(谈家桢) (1992). A study of genetic polymorphism of isozymes in natural populations of *Drosophila virilis* in east China. *Acta Genetica Sinica* (遗传学报), 19, 228 – 235. (in Chinese with English abstract)
- Hamrick JL, Godt MJW, Murawski DA (1991). Correlations between species traits and allozyme diversity: implication for conservation biology. In: Falk DA, Holsinger KE eds. *Genetics and Conservation of Rare Plants*. Oxford University Press, Oxford, 75 – 86.
- Hickey RJ, Vincent MA, Gutmann SI (1991). Genetic variation in running buffalos clover *Trifolium soloniferum*, Fabaceae. *Conservation Biology*, 5, 309 – 316.
- Hu SY (1980). The metasequoia flora and its phytogeographic significance. *Journal of Arnold Arboretum*, 61, 41 – 94.
- Karron JD, Linhart YB, Chaulk CA (1988). Genetic structure of populations of geographically restricted and widespread species of *Astragalus* (Fabaceae). *American Journal of Botany*, 75, 1114 – 1119.
- Lang P(郎萍), Huang HW(黄宏文) (1999). Genetic diversity and geographic variation innatural populations of the endemic *Castanea* species in China. *Acta Botanica Sinica* (植物学报), 41, 651 – 657. (in Chinese with English abstract)
- Li S(李珊), Cai YL(蔡宇良), Xu L(徐莉), Zhao GF(赵桂仿) (2003). Morphological differentiation of samaras and seeds of *Dipteronia dyeriana* Henry (Aceraceae). *Acta Botanica Yunnanica* (云南植物研究), 25, 589 – 595. (in Chinese with English abstract)
- Li S(李珊), Cai YL(蔡宇良), Qian ZQ(钱增强), Zhao GF

- (赵桂仿) (2004). Researches on the relationship between the morphological and genetic variations of *Dipteronia dyeriana* Henry (Aceraceae). *Acta Ecologica Sinica* (生态学报), 24, 925 – 931. (in Chinese with English abstract)
- Li XD (李晓东), Huang HW (黄宏文), Li JQ (李建强) (2003). Genetic diversity of the relict plant *Metasequoia glyptostroboides*. *Biodiversity Science* (生物多样性), 11, 100 – 108. (in Chinese with English abstract)
- Liu ZL (刘占林), Li S (李珊), Yan GQ (阎桂琴) (2001). Genetic structure and intraspecific genetic polymorphisms in natural populations of *Psathyrostachys huashanica*. *Acta Genetica Sinica* (遗传学报), 28, 769 – 775. (in Chinese with English abstract)
- Liu SE (刘慎谔) (1985). Climatic changes and plants migration. In: Zhao DC (赵大昌) ed. *Selected Works of Liu shen'e* (刘慎谔文集). Science Press, Beijing. (in Chinese)
- Lu WD (卢纹岱) (2000). *SPSS for Windows*. Publishing House of Electronics Industry, Beijing. (in Chinese)
- Maile C, Norman C (2003). Conservation of genetic diversity in the endangered plant *Eriogonum ovalifolium* var. *vineum* (Polygonaceae). *Conservation Genetics*, 4, 337 – 352.
- Robert W, Jinzhong F, Darlene E, Thales D, Ermi Z (2000). Genetic variability among endangered Chinese giant salamanders, *Andrias davidianus*. *Molecular Ecology*, 1539 – 1547.
- Sarfer (Translated by Fu ZZ (傅子祯)) (1958). *General Principle of Plant Geography* (普通植物地理学原理). Higher Education Press, Beijing. (in Chinese)
- Swenson SM, Allan GJ, Howe M (1995). Genetic analysis of the endangered island endemic *Malacothamnus fasciculatus* (Nutt.) Greene var. *nesiotica* (Rob.) Kearns (Malvaceae). *Conservation Biology*, 9, 404 – 415.
- Tian X (田欣), Guo ZH (郭振华), Li DZ (李德铎) (2002). Phylogeny of Aceraceae based on ITS and trnL-F data sets. *Acta Botanica Sinica* (植物学报), 44, 714 – 724. (in Chinese with English abstract)
- Vandewoestijne S, Baguette M (2002). The genetic structure of endangered populations in the Cranberry Fritillary, *Boloria aquilonaris* (Lepidoptera, Nymphalidae): RAPDs vs allozymes. *Heredity*, 89, 439 – 445.
- Waller DM, O'Malley DM, Gawler SC (1987). Genetic variation in the extreme endemic, *Pedicularis furbishiae* (Scrophulariaceae). *Conservation Biology*, 1, 335 – 340.
- Wei W (魏伟), Wang HX (王洪新), Hu ZA (胡志昂) (1999). Primary studies on molecular ecology of *Caragana* spp. populations distributed over Maowusu sandy grassland: from RAPD data. *Acta Ecologica Sinica* (生态学报), 19, 16 – 22. (in Chinese with English abstract)
- Yeh FC, Yang R (1994). POPGENE v 1. 31. <http://www.ualberta.ca>
- Ying JS (应俊生), Zhang YL (张玉龙) (1994). *Endemic Genus of Chinese Spermatophyte* (中国种子植物特有属). Science Press, Beijing. (in Chinese)
- Zhang YJ (张颖娟), Yang C (杨持) (2003). Comparative allozyme and RAPD population genetic diversity in a endemic plant species, *Tetraena mongolica* Maxim (Zygophyllaceae), in Ordos Plateau. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis NeiMongol* (内蒙古大学学报), 34, 160 – 165. (in Chinese with English abstract)
- Zhao AM (赵阿曼), Liu ZM (刘志民), Kang XY (康向阳), Zhou SL (周世良) (2003). Allozyme variation in *Sophora moorcroftiana*, an endemic species of Tibet, China. *Biodiversity Science* (生物多样性), 11, 91 – 99. (in Chinese with English abstract)
- Zhao LF (赵利锋), Li S (李珊), Pan Y (潘莹) (2001). Population differentiation of *Psathyrostachys huashanica* along an altitudinal gradient detected by random amplified polymorphic DNA. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica* (西北植物学报), 21, 391 – 400. (in Chinese with English abstract)
- Zhou SL (周世良), Zhang F (张方), Wang ZR (王中仁), Hong DY (洪德元) (1998). Genetic diversity of *Mosla hangchouensis* and *M. chinensis* (Labiatae). *Acta Genetica Sinica* (遗传学报), 25, 173 – 180. (in Chinese with English abstract)

责任编委: 葛 颂 责任编辑: 姜联合