

濒危物种——巴东木莲等位酶遗传变异的空间自相关分析*

何敬胜, 李作洲, 黄宏文**

(中国科学院武汉植物园, 湖北 武汉 430074)

摘要: 采用空间自相关分析方法对巴东木莲目前残留的两个最大居群, 小溪居群的 40 个个体和桑植居群的 28 个个体等位酶遗传变异的空间结构进行了研究, 以揭示两居群遗传变异的空间模式, 并探讨其形成机制及与巴东木莲致濒危原因、过程之间的关系。根据检测出来的 8 个酶系统的 19 个酶位点, 选择基因频率大于 0.1 小于 0.9 的等位基因, 运用等样本频率和等地理距离间隔两种方法分别计算两居群不同距离等级下的 Moran's I 空间自相关系数。结果表明: 小尺度的小溪居群等位基因的遗传变异缺乏空间结构, 为随机分布模式。巴东木莲生境片断化的桑植居群则是相反的结果, 遗传变异存在明显的空间结构, 遗传变异空间分布为斑块状。造成这种差别的原因可能是桑植居群片断化和地理隔离造成的基因流的限制。上述结果为进一步制定有效的巴东木莲的保育措施提供科学的理论依据。

关键词: 空间自相关系数; 空间遗传结构; 保护生物学

中图分类号: Q 943 文献标识码: A 文章编号: 0253-2700(2005)02-0171-10

Spatial Autocorrelation of Allozyme Genetic Variation of the Endangered *Manglietia patungensis* (Magnoliaceae)

HE Jing-Sheng, LI Zuo-Zhou, HUANG Hong-Wen**

(Wuhan Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430074, China)

Abstract: Spatial autocorrelation analysis on allozyme genetic variability was used to explore the patterns of genetic structure in two biggest remnant *M. patungensis* populations. A total of 40 and 28 individual trees were sampled from the two remnant populations and subjected to spatial analysis in two approaches of equal gene frequency correlograms with five classes and equal distance interval correlograms with ten classes, respectively. Moran's I correlograms revealed no significant spatial structure in Xiaoxi population indicating that genetic variations of the most polymorphic loci in this population were randomly distributed. In Sangzhi population, the result revealed large positive values at short distances ($< 1 - 2$ km), then autocorrelations decrease, and at the distance of 6-7 km they become significantly negative. Within the distance range of 17-21 km, positive values prevail again. However, in the distance class of 24 km, almost all Moran's indices are negative. These fluctuations indicate a patchy genetic structure within this population. Limited gene flow due to habitat fragmentation and isolation by distance may account for the genetic clustering.

* 基金项目: 中国科学院知识创新工程重要方向项目资助 (KSCX2-SW-104)

** 通讯作者: Author for correspondence. E-mail: hongwen@public.wh.hb.cn

收稿日期: 2004-07-16, 2004-11-11 接受发表

作者简介: 何敬胜 (1975-) 男, 硕士研究生, 植物学专业, 从事植物保育遗传研究。

These results have provided theoretical information for drawing up a conservation strategy of this species.

Key words : Moran 's *I* ; Spatial genetic structure ; Conservation biology

巴东木莲 (*Manglietia patungensis* Hu) 隶属于木兰科 (Magnoliaceae), 木莲属, 是木兰科植物中比较原始的物种 (刘玉壶等, 1995)。集中分布于湖南桑植县及永顺小溪国家级自然保护区, 零星分布于湖南石门壶瓶山国家级自然保护区、张家界景区, 湖北利川市毛坝、咸丰县、巴东县等地。由于森林的严重砍伐、破坏, 巴东木莲野生个体数量越来越少, 尤其幼苗更为少见, 因此巴东木莲被列入《中国植物红皮书》(傅立国, 1992)。前期对巴东木莲的研究仅局限于分类学 (刘玉壶等, 1996)、组织培养和扦插、嫁接繁殖 (陈发菊等, 2000; 黄运平等, 1998) 等, 很少从保育遗传角度研究该物种完整的遗传基础、遗传分布规律及其对巴东木莲濒危状况的影响。直到最近我们采用等位酶分子标记的技术和方法, 系统地对巴东木莲遗传多样性、遗传变异程度进行了研究, 结果表明巴东木莲在居群和种水平上都具有较高的遗传多样性, 居群间存在一定的分化 (何敬胜和黄宏文, 2003), 为其科学保育策略的制定提供了一定的依据。但要制定科学而有效的保育策略, 还必须对居群的状况、威胁因子以及生活力做出准确的判断, 这不仅要了解居群的遗传变异度, 而且要掌握遗传变异的空间分布 (Falk and Holsinger, 1991; Dunham 等, 1999)。居群空间遗传结构提供了有效的信息以推断环境包括人类活动、植物生活史特征、以及一些基本的遗传过程, 例如: 不同的选择压力、基因流、漂变等与居群遗传变异空间模式的关系 (Knowles 等, 1992; Epperson, 1993; Bjornstad 等, 1995), 并有助于进一步分析探讨各种进化因素的作用和揭示植物濒危的机制, 为制定科学的保护策略和措施, 最大限度地保护和

和利用遗传多样性奠定理论基础。(Epperson and Allard, 1989; 李昂等, 2002)。

本文在巴东木莲遗传多样性研究的基础上, 采用空间自相关分析方法, 分析巴东木莲等位酶遗传变异的空间分布, 探讨居群片段化及隔离在遗传差异上的反映, 阐明巴东木莲濒危机制, 为进一步制定完整、有效的保育措施提供科学的理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

材料于 2002 年 11~12 月及 2003 年 11 月, 采自巴东木莲较集中分布的桑植县, 特别是在八大公山国家级自然保护区缓冲区的五道水镇和巴矛溪乡及目前发现的巴东木莲最大的分布区永顺小溪国家级自然保护区。本研究选取了小溪 40 个样品 (取样面积 $\approx 1 \text{ km}^2$) 及桑植 28 个样品, (取样面积 $2.5 \text{ km} \times 25 \text{ km}$) (包括五道水亚居群和巴矛溪亚居群) 两个居群 (个体分布见图 1、2) 分别做遗传空间结构分析。所有采样点均经 GPS 定位。

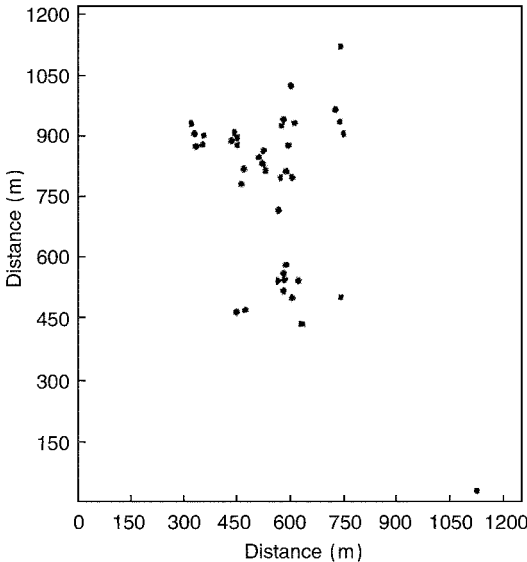


图 1 巴东木莲小溪居群个体位置图

Fig. 1 Spatial distribution of *M. patungensis* individuals in Xiaoxi population

居群 (个体分布见图 1、2) 分别做遗传空间结构分析。所有采样点均经 GPS 定位。

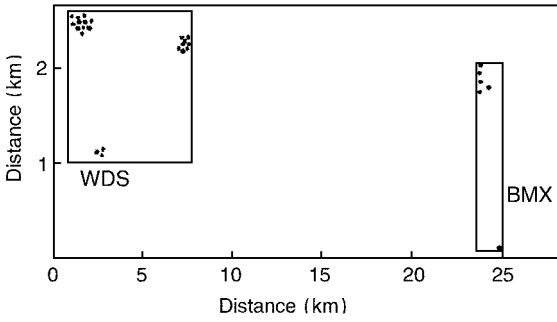


图 2 巴东木莲桑植居群个体位置图

WDS = 五道水亚居群；BMX = 巴矛溪亚居群

Fig. 2 Spatial distribution of *M. patungensis* individuals in Sangzhi population

等位基因编码的亚基可自由组合，不同位点的等位基因编码的亚基不能组合的原理对各个酶系统的酶谱进行解释（图 3）（Wendel and Weeden, 1989；王中仁，1996）。

表 1 染色的酶系和位点数

Table 1 The 8 enzymes and number of loci

中文名称 Chinese name	缩写 Abbreviation	代号 Code of enzyme	位点数 Number of loci
酸性磷酸酶	ACP	E.C.3.1.3.2	5
α-淀粉酶	α-AMY	E.C.3.2.1.1	2
还原型辅酶 I 心肌黄酶	DIA	E.C.1.6.2.2	2
酯酶	EST	E.C.3.1.1.-	2
β-半乳糖苷酶	GAL	E.C.3.2.1.23	3
磷酸葡萄糖异构酶	PGI	E.C.5.3.1.9	1
磷酸葡萄糖变位酶	PGM	E.C.5.4.2.2	1
过氧化物酶	PRX	E.C.1.11.1.7	3

等位酶数据分析使用 Biosys-1 (Swofford and Selander, 1981) 软件计算出各位点等位基因频率、多态位点百分数等。空间自相关是一种统计方法，用来检测与量化多个标定中取值上变异的空间依赖性，通过检测一个位置上的变异是否依赖于临近位置的变异，来判断该变异是否存在空间自相关性，即是否存在空间结构 (Sokal and Oden, 1978a, 1978b)。以等位基因频率作为连续型数据对所有基因频率大于 0.1 而小于 0.9 的多态位点的等位基因进行空间自相关分析。对两等位基因位点，选择任一个等位基因进行分析，因为第二个等位基因提供了同等的信息。对多等位基因位点则分析所有频率大于 0.1 的等位基因。对二倍体植株，单个个体的某一位点的等位基因频率的值为：1.0、0.5 或 0.0，分别意味着此等位基因在该位点为：纯合、杂合或无此等位基因。空间结构的变异用空间自相关系数 Moran's *I* 来衡量 (Sokal and Oden, 1978a) 对于每一个等位基因的每一个距离等级，Moran's *I* 指数可用下面的标准公式进行计算：

$$I = n \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^n W_{ij} Z_i Z_j / \sum_{i=1}^n Z_i^2$$

式中 W_{ij} 为权重，当空间一点 *i* 和 *j* 为邻接关系时， $W_{ij} = 1$ ；否则 $W_{ij} = 0$ 。 Z_i 、 Z_j 分别为空间点 *i* 和 *j* 的数值与所有点的均值之差，*n* 为样点数。

在空间随机分布零假设下，*I* 的预期值 $E(I) = -1/(n-1)$ ，当被检测样本足够多时 $E(I)$ 接近于零。Moran's *I* 指数为正值且显著，说明该距离等级两点存在相似关系即具有相似的基因频率（基因型），若为负值且显著则说明该距离等级两点存在不相似关系即具有不相似的基因频率（基因型）。Moran's *I* 偏离预期值的显著程度采用标准正态偏差法检验。我们采用等频率距离等级（5 个等级）相关和

1.2 酶提取及电泳

制取酶样时，用改进的三号提取缓冲液 (Wendel and Weeden, 1989) 冰浴条件下研磨冬芽 (约 25 mg/100 μl)，研磨液移入 1.5 ml 离心管，5 000 r/min 下离心 5 min，用 1 mm² 的 Whatman 3 号滤纸制作的纸芯子蘸取上清液 (酶液)，即可上样。电泳采用黄宏文 (2000) 的超薄平板聚丙烯酰胺等电聚焦方法。酶显色用 Wendel and Weeden (1989) 系统，用量缩减 1/2。通过广泛测试，最后选取表 1 所列的 8 个酶系统进行分析。

1.3 位点确定和数据分析

巴东木莲为二倍体 (孟爱平等, 2004)。依据酶的亚基数目，以及多聚体酶同一位点的等

等间隔地理距离等级 (10 个等级) 相关 2 种方法计算不同距离等级下的 Moran's I 空间自相关系数。在等间隔方法中, 距离梯度的设置按个体间的平均距离进行。数据处理采用 Wartenberg (1989) 编写的 SAAP4.3 计算机软件。

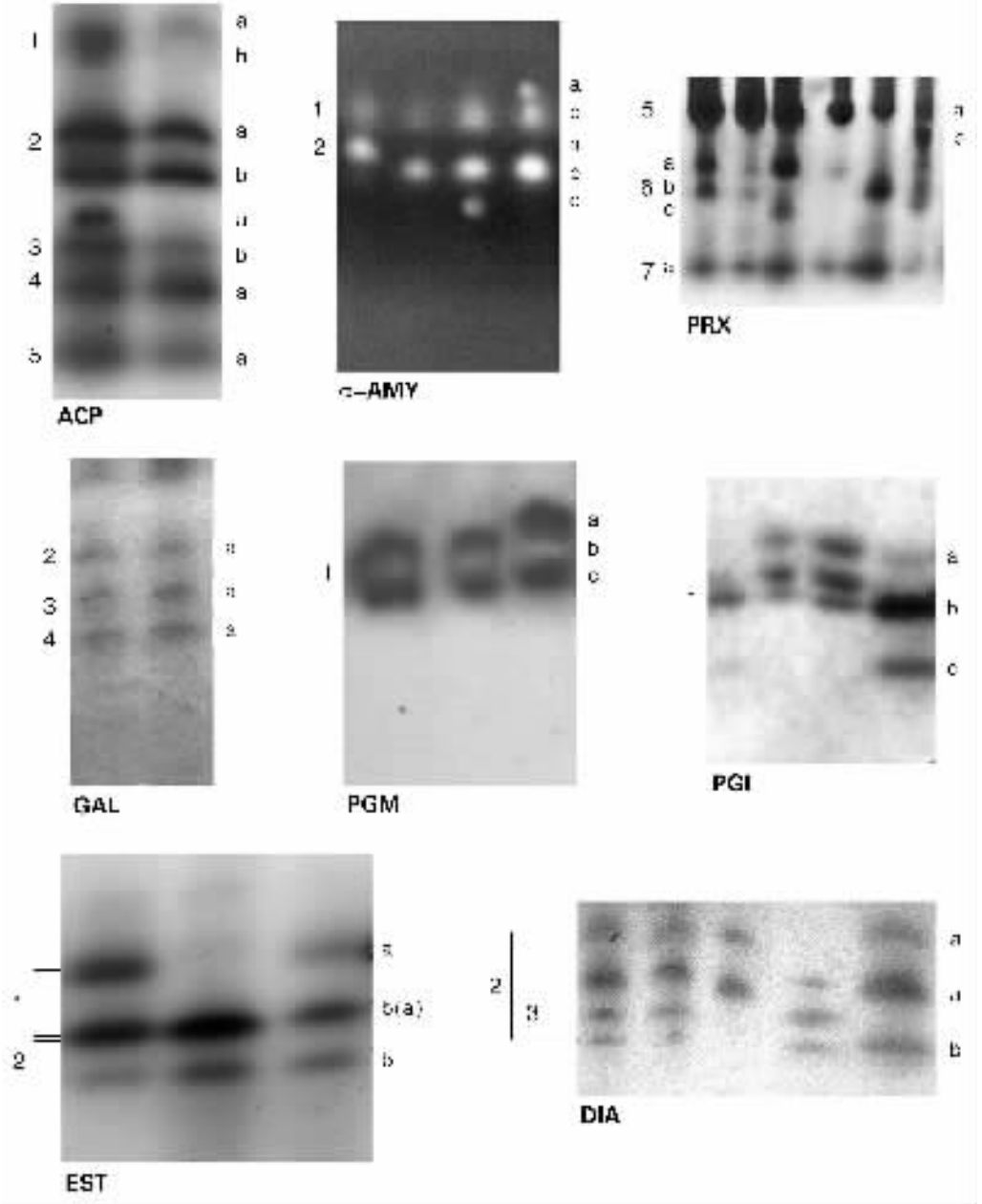


图 3 巴东木莲部分等位酶图片

Fig. 3 Gel pictures of *M. patungensis*

ACP, 酸性磷酸酶; α -AMY, α -淀粉酶; DIA, 还原型辅酶 I 心肌黄酶; EST, 酯酶; GAL, β -半乳糖苷酶; PGI, 磷酸葡萄糖异构酶; PGM, 磷酸葡萄糖变位酶; PRX, 过氧化物酶

注: 数字表示位点; 小写字母表示等位基因 Note: Number: locus; Small letters: alleles

2 结果

2.1 巴东木莲各居群内等位酶分析结果

通过巴东木莲桑植居群和小溪居群等位酶数据分析，共在 8 个酶系统中检测到清晰可读的 19 个酶位点和 36 个等位基因（表 1；图 3）。小溪居群、桑植居群各有 10 个多态位点（按照等位基因频率小于等于 0.99 为多态位点的标准），表明两居群均具有较高的多态性。

表 2 巴东木莲小溪居群 10 个距离等级下 Moran's I 及其显著性（等距离间隔）

Table 2 Spatial autocorrelation coefficients (Moran's I) for ten distance classes in Xiaoxi population of *M. patungensis* (equal interval correlograms)

等位基因 Alleles	距离等级 Distance class (m) 和样对数										累计可能性 Cumulative probability
	122	245	367	489	611	734	856	978	1101	1223	
Acp-2a	0.06	-0.09	-0.12	0.00	0.11	0.32	-0.55*	0.11	0.53**	-0.72*	0.022
Amy-1a	-0.09	0.01	-0.04	0.01	-0.02	-0.13	-0.03	0.25	-0.06	0.09	1.000*
Dia-2a	0.12**	-0.03	-0.02	-0.07	0.02	0.26	0.19	0.19	-1.00**	0.67*	0.000
Dia-3a	-0.00	-0.02	0.04	-0.06	-0.35*	-0.02	-0.23	0.38	-0.14	-0.14	0.283*
Pgi-1a	-0.03	-0.05	0.00	-0.04	0.06	-0.17	0.04	-0.03	-0.03	0.12	1.000
Pgi-1b	0.16**	-0.15*	-0.14*	-0.06	0.26*	0.08	0.36	-0.03	-0.03	0.04	0.011
Pgi-1c	0.06	-0.06	-0.14	-0.04	0.15	0.49*	-0.55*	0.30	0.30	-0.35	0.207
Prx-5a	0.04	0.02	0.08*	-0.14*	-0.12	-0.99**	-0.17	0.00	-0.11	-0.11	0.000
Prx-6a	-0.03	-0.01	-0.05	-0.05	0.16	-0.06	0.08	0.22	-0.03	-0.09	1.000*
Average	0.03	-0.04	-0.05	-0.05	0.03	-0.02	-0.10	0.16	-0.06	-0.05	-
Maximum	0.16	0.02	0.08	0.01	0.26	0.49	0.36	0.38	0.53	0.67	-
Minimum	-0.09	-0.15	-0.14	-0.14	-0.35	-0.99	-0.55	-0.03	-1.00	-0.72	-

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; $E(I) = -0.026$ 注：黑体：样对数 ≥ 30 Note: Black: Number of pairs ≥ 30

2.2 巴东木莲小溪居群遗传变异的空间分布

巴东木莲多态位点中，选取基因频率大于 0.1 而小于 0.9 的等位基因（小溪 9 个，表 2、桑植 11 个，表 4）进行空间自相关分析。对于小溪居群，依本次分析的 40 个体间的平均距离（122 m）为梯度，划分 10 个距离等级，样对数不足 30 的 I 值缺乏统计意义，不予考虑。在计算出的 45 个 Moran's I 值中，达到 0.05 显著水平（ $E(I) = -0.026$ ）的仅有 8 个（17.8%）（表 2），远低于 50%。在 5 个距离等级中，统计呈显著性的 I 值比例最高为 22.2%，最低为 11.1%（表 3），说明该居群内等位基因的遗传变异缺乏空间结构，为随机

表 3 巴东木莲小溪居群各距离等级中表现出相关的位点数（等距离间隔）

Table 3 Number of loci showing significant correlation in each distance class for Xiaoxi population of *M. patungensis* (equal interval correlograms)

	距离等级 Distance class (m)									
	122	245	367	489	611	734	856	978	1101	1223
显著正相关的位点数 No. of loci which showed significant positive correlation	2	0	1	0	1	1	1	0	1	1
显著负相关的位点数 No. of loci which showed significant negative correlation	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1
呈现显著相关性的位点所占比例 (%) The percentage of loci which showed significant correlation (%)	22.2	11.1	22.2	11.1	22.2	22.2	22.2	0	22.2	22.2

注：黑体：样对数 ≥ 30 Note: Black: Number of pairs ≥ 30

分布模式。各等位基因不同等级的Moran's *I* 值变化幅度不大，不具有明显的规律性。但个别等位基因又表现出特殊性。Pgi-1b 在近距离表现出显著的正相关（122 m），随距离的增加渐变为显著的负相关（245 m、367 m），而后又转为正相关（611 m），表现出双向渐变模式。达显著水平的Moran's *I* 绝大多数分布在 Pgi-1b、Prx-5a 两等位基因上。

表 4 巴东木莲桑植居群 5 个距离等级下 Moran's *I* 及其显著性（等频率）

Table 4 Spatial autocorrelation coefficients (Moran's *I*) for five distance classes in Sangzhi population of *M. patungensis* (equal frequency correlograms)

等位基因 Alleles	距离等级 Distance class (km)					累计可能性 Cumulative probability
	0.5	5	6	21	24	
Dia-2a	0.36**	-0.19	-0.29*	0.10	-0.25*	0.002
Est-2a	0.62**	0.14*	-0.72**	0.08	-0.30**	0.000
Est-3a	0.73**	0.16*	-0.86**	0.16*	-0.37**	0.000
Pgi-1a	-0.13	0.00	-0.12	0.02	0.02	0.941
Pgi-1b	0.04	0.06	-0.17	-0.21*	0.10	0.128
Pgi-1c	-0.02	-0.06	0.02	-0.15	0.03	0.551
Pgm-1a	0.78**	-0.12	-0.43**	-0.29**	-0.13	0.000
Pgm-1b	0.63**	-0.13	-0.24**	-0.57**	0.13*	0.000
Pgm-1c	-0.13	-0.04	-0.02	0.03	-0.05	0.786
Prx-5a	0.03	-0.09	0.01	-0.03	-0.11	0.894
Prx-6a	0.12*	-0.09	-0.14	0.17**	-0.26**	0.023
Average	0.27	-0.03	-0.27	-0.06	-0.11	-
Maximum	0.78	0.16	0.02	0.17	-0.13	-
Minimum	-0.13	-0.19	-0.86	-0.57	-0.37	-

每距离等级含 75 ~ 76 个样对 There are 75 ~ 76 tree pairs in each distance class * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; $E(I) = -0.037$

2.3 巴东木莲桑植居群遗传变异的空间分布

对于桑植居群，依 28 株个体的距离，按等样对频率划分 5 个距离等级分别为 0.5、5、6、21、24 km。在计算出的 55 个 Moran's *I* 值中，达到 0.05 显著水平 ($E(I) = -0.037$) 的共计 23 个 (42%) (表 4)，说明总体上看巴东木莲遗传变异的空间模式不是随机的。在比较重要的第一距离等级内，统计达显著的 *I* 值 6 个，占 54.5% (表 5)，且均为正值，说明近距离 (0.5 km) 内，存在极相似关系。随着距离增大，正值减少，而负值增加，到第三等级，呈显著相关的 Moran's *I* 均为负值。值得注意的是在第四等级 (6 ~ 21 km) 正值又占多数，且等位基因 Est-3a、Prx-6a 显著正相关，但在第五等级 (21 ~ 24 km) 大多数 *I* 值又转变成负值 (表 4)。Moran's *I* 值的这些波动说明，该群体中遗传变异空间上的分布不均匀，遗传结构呈斑块状。在所有距离等级中，等位基因的 Moran's *I* 值变化幅度非常大 (最大正值为 0.78，最小负值为 -0.86)，说明样本之间遗传差异程度较大。

表 5 巴东木莲桑植居群各距离等级中表现出相关的位点数 (等频率)

Table 5 Number of loci showing significant correlation in each distance class for Sangzhi population of *M. patungensis* (equal frequency correlograms)

	距离等级 Distance class (km)				
	0.5	5	6	21	24
显著正相关的位点数 No. of loci which showed significant positive correlation	6	2	0	2	1
显著负相关的位点数 No. of loci which showed significant negative correlation	0	0	5	3	4
呈现显著相关性的位点所占比例 (%) The percentage of loci which showed significant correlation (%)	54.5	18.2	45.5	45.5	45.5

为进一步了解样对数的空间分布状况、巴东木莲片断化的程度及其遗传差异上的反映，我们还对该居群做了等间隔地理距离等级的分析。距离梯度的设置按个体间的平均距离进行（2 km），共划分 10 个距离等级（表 6）。样对数不足 30 的 I 值缺乏统计意义，不予考虑。从表中我们可以看到第二、八、九距离等级样本分布较少，第四到第六等级（7~14 km）则根本无样本分布（表 6），说明该居群巴东木莲地理分布上缺乏连续性。Moran's I 值的统计结果与等样对频率计算的结果基本相似（表 6）：整体上较明显的斑块状和部分等位基因的渐变模式，只是显著性比例略低。由于两种分析方法距离等级划分的不一致性及各等级样对数的差异，因此计算出的 Moran's I 值略有不同，但总体趋势是一致的。

表 6 巴东木莲桑植居群 10 个距离等级下 Moran's I 及其显著性（等距离间隔）

Table 6 Spatial autocorrelation coefficients (Moran's I) for ten distance classes in Sangzhi population of *M. patungensis* (equal interval correlograms)

等位基因 Alleles	距离等级 Distance class (km) 和样对数										累计可能性 Cumulative probability
	2	5	7	10	12	14	17	19	21	24	
	129	5	112	0	0	0	32	16	17	67	
Dia-2a	0.01	0.03	-0.11	-	-	-	0.16	0.02	0.28	-0.30*	0.179
Est-2a	0.48**	-0.54	-0.59**	-	-	-	0.91**	-0.68**	-0.45*	-0.26**	0.000
Est-3a	0.55**	-0.65	-0.65**	-	-	-	1.04**	-0.78**	-0.45*	-0.32**	0.000
Pgi-1a	-0.09	-0.34	-0.02	-	-	-	-0.11	0.21	-0.10	0.03	1.000
Pgi-1b	0.01	-0.33	-0.05	-	-	-	-0.48**	0.25	-0.33	0.15*	0.009
Pgi-1c	-0.04	0.20	-0.05	-	-	-	0.08	-0.62**	0.06	0.03	0.024
Pgm-1a	0.31**	0.04	-0.45**	-	-	-	-0.18	0.64**	-0.12	-0.10	0.000
Pgm-1b	0.21**	-0.11	-0.33**	-	-	-	-0.47**	0.25	-0.13	0.21**	0.000
Pgm-1c	-0.09	-0.15	0.00	-	-	-	-0.01	0.04	0.13	-0.07	1.000
Prx-5a	-0.02	-0.34	0.03	-	-	-	-0.11	-0.11	0.05	-0.12	1.000
Prx-6a	-0.01	0.46	-0.04	-	-	-	0.13	-0.05	0.27	-0.28**	0.000
Average	0.12	-0.16	-0.21	-	-	-	0.08	-0.06	-0.09	-0.10	-
Maximum	0.55	0.46	0.03	-	-	-	1.04	0.64	0.28	0.21	-
Minimum	-0.09	-0.65	-0.65	-	-	-	-0.48	-0.78	-0.45	-0.32	-

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; $E(I) = -0.037$ 注：黑体：样对数 ≥ 30 Note: Black: Number of pairs ≥ 30

表 7 巴东木莲桑植居群各距离等级中表现出相关的位点数（等距离间隔）

Table 7 Number of loci showing significant correlation in each distance class for Sangzhi population of *M. patungensis* (equal interval correlograms)

	距离等级 Distance class (km)									
	2	5	7	10	12	14	17	19	21	24
显著正相关的位点数 No. of loci which showed significant positive correlation	4	0	0	-	-	-	2	1	0	2
显著负相关的位点数 No. of loci which showed significant negative correlation	0	0	4	-	-	-	2	3	2	4
呈现显著相关性的位点所占比例 (%) The percentage of loci which showed significant correlation (%)	36.4	0	36.4	-	-	-	36.4	36.4	18.2	54.5

注：黑体：样对数 ≥ 30 Note: Black: Number of pairs ≥ 30

3 讨论

3.1 巴东木莲小溪、桑植居群遗传变异空间结构

Wright's F -统计量 (F_{ST}) (Wright, 1978)、遗传分化度 G_{ST} (Nei, 1987) 等参数在一定程度上提供了物种居群间遗传结构的信息，但对于深入了解亚居群或临近个体之间遗传变异

的空间分布时,有效信息仍显不足(Dewey and Heywood, 1988; 何田华等, 1999)。而空间自相关分析作为一种有效的工具在居群遗传研究领域有着越来越广泛的应用(Sokal and Oden, 1978a; Epperson and Chung, 2001; Chung 等, 2004),因为空间自相关分析能提供更详细的空间分布信息,并且不用做居群结构尺度大小的预先假设(Dewey and Heywood, 1988)。

本研究通过对现存较为集中分布的两个巴东木莲居群个体等位酶遗传变异的空间自相关分析表明,巴东木莲不同格局分布的自然居群遗传变异空间格局存在着较大差异:在集中连续分布的小溪巴东木莲种群内,显著性相关的Moran's I 值仅占 17.8%,表明该居群内大多数等位基因的遗传变异缺乏空间自相关,基因型随机分布。巴东木莲在这里集中分布于保护区的核心地带,较少受到人为影响从而表现出自然状态下的空间结构模式。达显著水平的Moran's I 在各位点的分布并不平均,而是集中 *Pgi-1b*、*Prx-5a* 两等位基因上,说明空间上,各位点等位基因可能承受着不同的选择压力,尽管传统上认为酶位点上的等位基因在选择上是中性的。

在片断化分布亚居群组成的桑植巴东木莲居群内,显著性相关的Moran's I 值在等频率和等地理距离分析中(样对数为 75 或 76)分别占到 42%和 40%,且绝大多数为极显著($P < 0.01$),表明遗传变异基本呈非随机分布。等间隔划分中,在 10 个等级中连续 3 个等级(7~14 km)样对数为零,说明巴东木莲在此栖息地的不连续分布,即生境的破碎、片断化。在我们进行野外调查期间,曾见到当地农民大量采集木兰科植物的幼苗(包括巴东木莲)以极低的价格贩卖给收购者。这种急功近利的行为无疑极大的破坏了巴东木莲的原始栖息地,并严重影响了自然状态下的基因交流、物种的自然更新及居群的空间结构。在第一距离等级,大多数等位基因的Moran's I 值显著为正,说明近距离巴东木莲存在极相似关系,并意味着巴东木莲可能存在营养繁殖或聚集分布。目前还不能肯定巴东木莲在自然条件下可以进行营养繁殖,所以短距离的空间正相关可能反映了遗传相似个体的斑块状分布。随着距离的增加(< 6~7 km),Moran's I 负值增多,并且负值显著性增强。这种渐变意味着,地理隔离或栖息地的破坏影响了个体之间的交配或者是子代的散布。中远距离(< 21 km)的正值又占多数,但在远距离又重新为负,意味着整体上该居群巴东木莲的遗传变异空间分布为斑块状。

3.2 小溪、桑植居群遗传变异空间结构形成原因及巴东木莲致濒原因

巴东木莲等位酶遗传变异的空间自相关系数Moran's I 的计算基于对分布状况未知的种群的随机观测与取样,小溪居群巴东木莲保护较好,个体数较多可以满足采样要求,但是桑植居群个体数有限,无法做到随机取样,这可能会影响到遗传变异在该居群的空间分布。研究表明距离隔离作用,即限制的基因流是导致遗传变异斑块状分布的主要因素(Sokal and Wartenberg, 1983; He 等, 2000)。种子植物中基因的流动主要通过花粉和种子。象其它木兰科植物一样,巴东木莲有大而芳香且结构特化的花,吸引一些特别的昆虫为其传粉,例如甲虫(Thien, 1974; 刘玉壶等, 1997)。巴东木莲成熟的种子为红色,种皮坚硬,此为种子萌发的最大障碍。种子传播可通过果实成熟后的自然炸裂,将种子弹出,落于地下,待种皮软化或腐烂后的萌发或通过鸟及小动物的取食消化掉种皮后萌发(潘跃芝等, 2003)。巴东木莲小溪居群反映了自然生存状况,个体连续分布,密度适中,因此花粉传播距离较远,不大受限制,同时考虑到种子可被小动物及鸟类带到较远的地方,也会导致长距离等级基因交流,减少地理差异对遗传变异的影响。因此自然状态下巴东木莲表

现较弱的空间结构。而桑植居群，由于砍伐和幼苗、种子采集造成栖息地片段化比较严重，各分布点个体成簇分布，密度较大，传粉者主要在临近个体间移动，因而斑块间的花粉流动减少了，种子落在临近地区的萌发也会导致一定程度上的基因流限制，使基因型严重偏离随机分布，形成较强的空间结构。有限的基因流将会进一步降低物种的遗传多样性。综上所述，我们认为人类活动是导致巴东木莲濒危的主要原因，人们对巴东木莲的砍伐和对幼苗、种子的采集造成居群中个体数急剧下降，从而导致部分居群、亚居群出现严重的片段化和隔离，并使基因流局限于某一亚居群甚至更小的范围。局限的基因流产生衰退的空间结构，进一步影响巴东木莲的生存能力。

3.3 保育策略

空间分析极大的提高了遗传研究在制定保育策略中的应用范围，可以说是保护生物学中联合遗传学、种群统计学及生态学的最重要的一环 (Manel 等, 2003)。根据本文的分析，虽然现有巴东木莲居群总体上仍有较高的遗传多样性，但其主要居群中部分已开始出现分化，并形成衰退的空间结构，随着时间的推移，巴东木莲的遗传多样性会逐渐降低，对环境的适应能力逐步下降，因此对它的保护已经到了非常关键的时刻。鉴于该物种部分主要居群生境片段化以及遗传变异聚集化的空间分布的事实，我们认为当前保护工作中最重要的是限制人们在巴东木莲分布较集中地区的开垦活动，尤其是砍伐、采集幼苗及采种。由于巴东木莲仍然具有较高的遗传多样性，具有恢复的基础，五道水亚居群有较多的幼树说明其自然更新尚好，只要对其生境进行必要的保护，该物种完全能在其自然栖息地自我恢复，因此就地保护是最好的选择。为扩大基因流的范围，防止近交衰退，应保证巴东木莲分布和生境的连续性。具体的措施可以考虑加大八大公山国家级自然保护区的范围，对分布较集中的区域进行监督或定期巡查等。对保护较好的小溪居群除继续加强保护外，可以人工繁育种苗，移栽于保护区外围，扩大分布区，从而使其真正脱离濒危状态。

致谢 感谢永顺小溪国家级自然保护区、张家界等地各级林业部门在采样过程中的协助及有关人士的大力配合，感谢中国科学院武汉植物园李晓东博士在野外工作中给予的帮助。

〔参 考 文 献〕

- 傅立国, 1992. 中国植物红皮书 [M]. 北京: 科学出版社, 第 1 卷, 438
- 王中仁, 1996. 植物等位酶分析 [M]. 北京: 科学出版社
- Bjornstad ON, Iversen A, Hansen M, 1995. The spatial structure of the gene pool of a viviparous population of *Poa alpina*-environmental controls and spatial constraints [J]. *Nordic Journal of Botany*, **15**: 347—354
- Chen FJ (陈发菊), Zhang LP (张丽萍), Lu B (卢斌), et al, 2000. Tissue culture of the winter buds of *Manglietia patungensis* [J]. *Bulletin of Biology (生物学通报)*, **35** (6): 36—37
- Chung MY, Nason JD, Chung MG, 2004. Spatial genetic structure in populations of the terrestrial orchid *Cephalanthera longibracteata* (Orchidaceae) [J]. *Amer J Bot*, **91** (1): 52—57
- Dewey SE, Heywood JS, 1988. Spatial genetic structure in a population of *Psychotria nervosa*. I. Distribution of genotypes [J]. *Evolution*, **42**: 834—838
- Dunham J, Peacock M, Tracy CR, et al, 1999. Assessing extinction risk: integrating genetic information [J]. *Conservation Ecology*, **3** (1): 2
- Epperson BK, 1993. Spatial and Space-time correlations in systems of subpopulations with genetic drift and migration [J]. *Genetics*,

133 : 711—727

- Epperson BK, Allard RW, 1989. Spatial autocorrelation analysis of the distribution of genotypes within populations of lodgepole pine [J]. *Genetics*, **121** : 369—377
- Epperson BK, Chung MG, 2001. Spatial genetic structure of allozyme polymorphisms within populations of *Pinus strobes* (Pinaceae) [J]. *Amer J Bot*, **88** (6) : 1006—1010
- Falk DA, Holsinger KE, 1991. Genetics and Conservation of Rare Plants [M]. Oxford : Oxford University Press
- He JS (何敬胜), Huang HW (黄宏文), 2003. The allozyme diversity in *Manglietia patungensis* Hu [J]. *J Wuhan Bot Res* (武汉植物学研究), **21** (6) : 544—546
- He TH (何田华), Yang J (杨继), Rao GY (饶广远), 1999. Spatial autocorrelation analysis of plant population genetic variation [J]. *Chin Bull Bot* (植物学通报), **16** (6) : 636—641
- He TH, Rao GY, You RL, *et al*, 2000. Spatial autocorrelation of genetic variation in three stands of *Ophiopogon xylorrhizus* (Liliaceae s.l.) [J]. *Annals of Botany*, **86** : 113—121
- Huang HW (黄宏文), 2000. Ultra-thin slab IEF-PAGE method——A effective bio-analytic method for isozyme analysis [J]. *J Wuhan Bot Res* (武汉植物学研究), **18** (3) : 224—228
- Huang YP (黄运平), Zhang AM (张安民), Tan JX (谭鉴锡), 1998. Simple cutting propagation technology of *Manglietia patungensis* [J]. *Forestry Science and Technology* (林业科技), **23** (2) : 12—14
- Knowles P, Pery DJ, Foster HA, 1992. Spatial genetic structure in two tamarack (*Larix laricina* Du Roi K. Koch) populations with different establishment histories [J]. *Evolution*, **46** : 572—576
- Li A (李昂), Luo YB (罗毅波), Ge S (葛颂), 2002. Spatial autocorrelation study of population genetic structure of two orchid species [J]. *Biodiversity Science* (生物多样性), **10** (3) : 249—257
- Liu YH (刘玉壶), Luo XR (罗献瑞), Wu RF (吴容芳), *et al*, 1996. Flora of China [M]. Vol. **30** (1). Beijing : Science Press, 221—222
- Liu YH (刘玉壶), Xia NH (夏念和), Yang HQ (杨惠秋), 1995. The origin evolution and phylogeography of Magnoliaceae [J]. *J Trop Subtrop Bot* (热带亚热带植物学报), **3** (4) : 1—12
- Liu YH (刘玉壶), Zhou RZ (周仁章), Zeng QW (曾庆文), 1997. Ex situ conservation of Magnoliaceae including its rare and endangered species [J]. *J Trop Subtrop Bot* (热带亚热带植物学报), **5** (2) : 1—12
- Manel S, Schwartz MK, Luikart G, *et al*, 2003. Landscape genetics : combining landscape ecology and population genetics [J]. *Trends in Ecology and Evolution*, **18** : 189—197
- Nei M, 1987. Molecular evolutionary genetics [M]. New York : Columbia University Press
- Pan YZ (潘跃芝), Liang HX (梁汉兴), Gong X (龚洵), 2003. Studies on the reproductive biology and endangerment mechanism of the endangered plant *Manglietia aromatica* [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), **45** (3) : 311—316
- Sokal RR, Oden NL, 1978a. Spatial autocorrelation in biology. 1. Methodology [J]. *Biological Journal of the Linnean Society*, **10** : 199—228
- Sokal RR, Oden NL, 1978b. Spatial autocorrelation in biology. 2. Some biological implications and four applications of evolutionary and ecological interest [J]. *Biological Journal of the Linnean Society*, **10** : 229—249
- Sokal RR, Wartenberg DE, 1983. A test of spatial autocorrelation analysis using an isolation-by-distance model [J]. *Genetics*, **105** : 219—237
- Swofford DF, Selander RB, 1981. Users Manual of Biosys-1 (release 1) : A computer Program for the Analysis of Allelic Variation in Genetics [Z]. University of Illinois at Urbana-Champaign, Urbana
- Thien LB, 1974. Flora biology of *Magnolia* [J]. *Amer J Bot*, **61** : 1037—1045
- Wartenberg D, 1989. SAAP4.3—A spatial autocorrelation analysis program [Z]. Exeter Software, Setauket, NY, USA
- Wendel JF, Weeden NF, 1989. Visualization and interpretation of plant isozymes [A]. In : Soltis DE, Soltis PS eds. Isozymes in Plant Biology [C]. Oregon : Dioscorides Press, 5—45
- Wright S, 1978. Evolution and the genetics of populations. Variability within and among natural populations [M]. Chicago : University of Chicago Press, Vol. **4**