

采用空间自相关分析研究两种兰科植物的群体遗传结构

李 昂 罗毅波 葛 颂*

(中国科学院植物研究所系统与进化植物学重点实验室, 北京 100093)

摘要: 采用空间自相关分析方法对硬叶兜兰(*Paphiopedilum micranthum*)和独花兰(*Changnienia amoena*) 4个天然群体的小尺度空间遗传结构进行了研究,以探讨两种兰科植物群体内遗传变异的分布特征及其形成机制。根据来自12个(硬叶兜兰)和16个(独花兰)RAPD引物所提供的多态位点,计算出每个群体的空间自相关系数 Moran *I* 值。结果表明,在2个硬叶兜兰群体中,遗传变异在短距离(3~4 m)内表现出显著的正相关,在较大的距离内表现出显著的负相关,说明其遗传变异在群体内形成一定的空间结构。而对独花兰的空间自相关分析则显示,其遗传变异在参与计算的2个群体内不存在明显的空间结构。造成上述两种兰科植物具有不同空间分布特性的原因可能与其不同的繁殖方式有关。上述研究结果有助于进一步了解物种的进化历程和濒危机制,并为制定有效的保护策略和措施提供科学依据。

关键词: RAPD, 保护遗传学, 硬叶兜兰, 独花兰

中图分类号: Q949.71*8.43, Q93

文献标识码: A

文章编号: 1005-0094(2002)03-0249-09

Spatial autocorrelation study of population genetic structure of two orchid species

LI Ang, LUO Yi-Buo, GE Song*

Laboratory of Systematic and Evolutionary Botany, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093

Abstract: The spatial pattern or structure of genetic variation within populations is an important part of evolutionary and ecological genetic processes in natural populations of plants, and may provide deep insight into the conservation of endangered species. In this paper, we investigated the spatial distribution patterns of population genetic variation of two orchid species, *Paphiopedilum micranthum* and *Changnienia amoena*, using RAPD markers. A total of 89 and 42 individuals in two populations of each of the species, respectively, were involved in our study. Based on the polymorphic bands generated by 12 (*P. micranthum*) and 16 (*C. amoena*) RAPD primers, Moran's *I* spatial autocorrelation coefficient was calculated, which revealed significant spatial structure of genetic variation within populations of *P. micranthum* (with significant positive autocorrelation over short-distance class: 3~4 m). In contrast, the genetic variation in *C. amoena* populations was found to be randomly distributed. The different spatial distribution patterns may be attributed to the different reproductive systems of these two species. *P. micranthum* undergoes significant clonal growth while no significant clonal reproduction was found in *C. amoena*. These results have important implications for the conservation and management of these species, especially for the sampling strategies for *ex situ* conservation.

Key words: conservation genetics, RAPD, *Paphiopedilum micranthum*, *Changnienia amoena*

1 引言

兰科(Orchidaceae)是单子叶植物中最大的科,种类在 17 500 到 30 000 种之间,广泛分布于除两极和沙漠地区以外的各种陆地生态系统中,尤其是在热带地区有着极高的物种多样性(陈心启等,1999; IUCN/SSC Orchid Specialist Group, 1996)。随着世界人口的迅速膨胀和经济活动的不断加剧,大面积森林被砍伐,生态系统正受到严重的破坏,适宜兰科植物生存的生境不断萎缩和消失,大量兰科植物变得稀有、濒危以致灭绝(Dressler, 1981; IUCN/SSC Orchid Specialist Group, 1996)。与此同时,由于兰科植物具有很高的观赏价值,有些种类的根状茎还具有药用价值,在经济利益驱动下的人为采集和干扰进一步威胁着兰科植物的生存(陈心启等, 1999)。因此,针对兰科植物尽快开展调查、研究和保护,是摆在我们面前刻不容缓的任务。

群体遗传结构及其影响因子的研究是保护遗传学的重要内容,它不仅是探讨物种形成以及植物适应和进化机制的基础,也是针对物种制定有效保护策略和措施的依据(葛颂, 1998; 李昂, 葛颂, 2002; Avise & Hamrick, 1996; Hamrick & Godt, 1996)。遗传变异在群体内小尺度空间的分布是群体遗传结构的重要特征之一,与进化和生态遗传过程有着不可分割的联系(Lewontin, 1974; Epperson & Allard, 1989; Epperson, 1990, 1993, Geburek & Tripp-Knowles, 1994)。由于空间结构的改变反映了自然选择等因素的影响,因此空间结构分析有助于探讨各种进化因素的作用(Epperson, 1993)和揭示植物濒危的机制,进而为制定科学的保护策略和措施,最大限度地保护和利用遗传多样性奠定理论基础(Epperson & Allard 1989, Shapcott, 1995)。空间自相关分析(spatial autocorrelation analysis)是研究遗传变异空间结构的一种有效方法,尤其是在小尺度空间范围内(Sokal & Oden, 1978)。虽然该方法很早就被提出,但在实际研究中的应用还比较少(Epperson, 1990; 何田华等, 1999)。

硬叶兜兰(*Paphiopedilum micranthum*)生长在云南东南、贵州西南以及广西西部和北部的石灰岩地区,自 20 世纪 80 年代被重新发现以来,已大量流入国际市场,其野生资源受到严重的破坏(陈心启, 吉占和, 1998; Cribb, 1998)。独花兰(*Changnienia*

amoena)是我国特有的单种属植物,分布于我国东部和中部海拔 400 ~ 1700 m 的中亚热带丘陵山地(吴征镒, 1991; 应俊生, 张玉龙, 1994; 陈心启, 1999),由于对生境的要求较高,加上近些年的人为采挖,其群体数目和规模急剧减少(傅立国, 1992)。本研究采用空间自相关分析,对硬叶兜兰和独花兰自然群体内遗传变异的分布特征进行了研究,探讨了影响 2 种兰花群体遗传结构的因素,为阐明其濒危机制和探讨进一步的保护策略和措施奠定了基础。

2 材料和方法

2.1 材料采集

1999 年 11 月 ~ 2001 年 4 月,采集了 4 个硬叶兜兰群体共 161 个个体以及 11 个独花兰群体共 228 个个体。分别用 12(硬叶兜兰)和 16 个(独花兰)RAPD 引物对其进行了遗传多样性检测(Li *et al.*, 2002a)。本研究对其中位于贵州册亨(Pch)和望漠(Pwm)的 2 个硬叶兜兰群体和位于江西庐山(LS)和湖南新宁(XN1)的 2 个独花兰群体进行了空间自相关分析。这 4 个群体的编号、地理位置和取样个体数等见表 1。

2.2 空间自相关分析

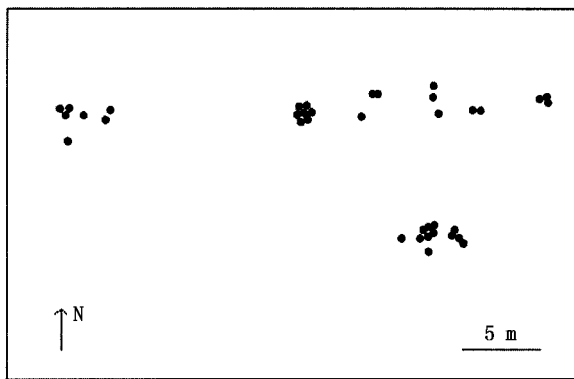
空间自相关分析是一种统计方法,用来检测与量化从多个标定点中取值变异的空间依赖性,通过检测一个位置上的变异是否依赖于邻近位置的变异,来判断该变异是否存在空间自相关性,即是否存在空间结构(Sokal & Oden, 1978; Epperson, 1990; 何田华等, 1999)。首先将取样点标定在图上,每个取样点对应一个或多个变量。变量的性质可以分为 3 种类型:绝对型变异(如花形态:红色或白色;基因型:AA, BB, AB 等)、等型变异(如植物密度等级等)、连续型变异(如形态测量及基因频率等)。

每个取样点的变异值来源于 1 次观察(如该取样点个体的基因型)或该取样个体群的统计(如基因型频率,性状平均值等)(何田华等, 1999)。在此,我们将 RAPD 变异看作绝对型变异进行处理。从多态位点中选出等位基因频率在 30% ~ 70% 者,根据 Sokal(1978)的计算方法,使用 Spacial 3 软件(加拿大蒙特利尔大学生物系 Matthew Norton 编写),计算了不同距离等级下的 Moran's I 空间自相关系数和 I 的期望值($I_{\text{expected}} = -1/(n-1)$, $n =$ 位

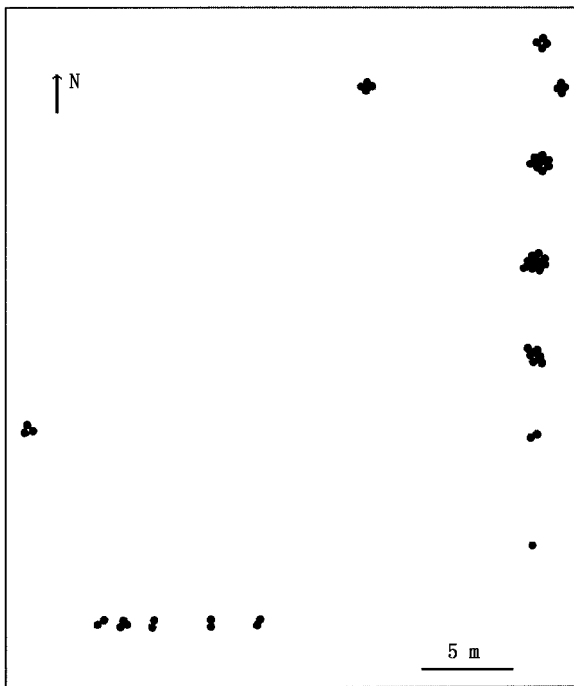
表 1 采样群体编号、个体数、多态条带数及用于空间自相关分析的条带数

Table 1 Population code, size, number of polymorphic bands and number of bands used in autocorrelation analysis

物种 Species	地理位置 Locality	群体编号 Population code	取样个体数 No. of individuals	多态条带数 No. of polymorphic bands	用于分析的条带数 No. of bands used in the analysis
<i>Paphiopedilum micranthum</i>	贵州册亨 Ceheng, Guizhou	Pch	37	74	20
	贵州望漠 Wangmo, Guizhou	Pwm	52	78	27
<i>Changnienia amoena</i>	江西庐山 Lushan, Jiangxi	LS	25	43	15
	湖南新宁 Xinning, Hunan	XN1	17	29	12



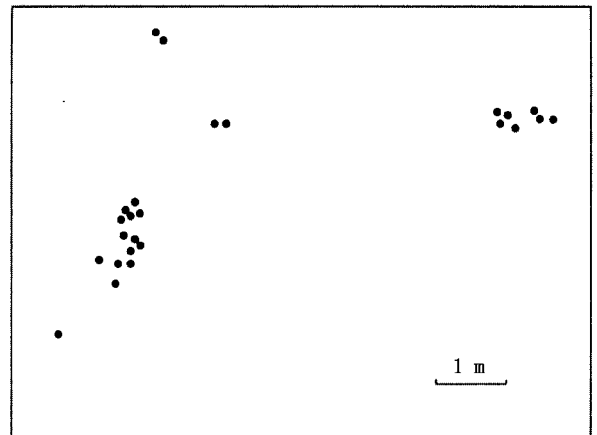
A



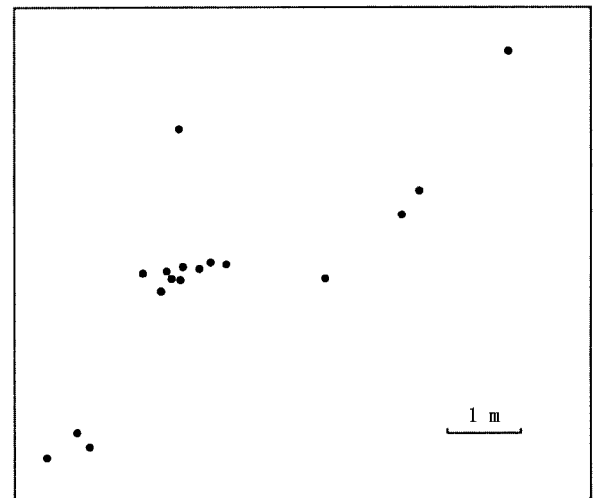
B

图 1 硬叶兜兰 Pch(A)和 Pwm(B)群体中的个体位置图
Fig. 1 Spatial distribution of *Paphiopedilum micranthum* individuals in populations Pwm and Pch

点数),当检测位点足够多时, I_{expected} 接近 0。如果 I 值显著大于 I 的期望值(即 I 值为正值且显著),说明两点存在相似关系;而 I 值显著小于 I 的期望值



A



B

图 2 独花兰 LS(A)和 XN1(B)群体中的个体位置图

Fig. 2 Spatial distribution of *Changnienia amoena* individuals in populations LS(A) and XN1(B)

(即 I 值为负值且显著),说明两点存在不相似关系(何田华等,1999)。通过统计学检验来判定上述的相似和不相似是否由于随机过程造成的,从而分析群体在小尺度上的空间结构(Sokal & Oden,1978; McCauley *et al.*,1996)。按常规,距离梯度的设置按个体间的平均距离。两种兰科植物的取样点分布见图 1 和图 2。

3 实验结果

3.1 硬叶兜兰遗传变异的空间自相关分析

在硬叶兜兰中,共得 RAPD 多态位点 96 个。对 Pch 群体,选取 20 个谱带频率在 30%~70% 之间的 RAPD 位点,以个体间的平均距离(3 m)为梯度,划分 9 个距离等级。在计算出的 180 个 Moran's *I* 值中,有 100 个(56%)达 0.05 显著水平(表 2)。在 9 个距离等级中的 4 个等级内,统计检验达显著的 *I* 值超过 50%。在最短距离内,统计检验达显著的 *I* 值(占 80%)均为正值,说明在 3 m 范围内的个体间存在相似关系。随着距离增大,正值减少而负值增加。在第 6~9 距离等级内,显著负相关的位点占大多数,说明在 18~27 m 范围内的个体不相似。表 3 列出了不同距离等级下表现出显著相关性的位点

数。

对 Pwm 群体,选取 27 个谱带频率在 30%~70% 之间的 RAPD 位点,以个体间的平均距离(4 m)为梯度,划分 10 个距离等级。在计算出的 270 个 Moran's *I* 值中(表 4),有 157(58%)个达 0.05 显著水平。在 10 个距离等级中的 8 个等级内,统计检验达显著的 *I* 值超过 50%。在最短距离等级(4 m)内,统计检验达显著的 *I* 值(占 96%)均为正值,在第 3~6 距离等级内,显著负相关的位点占大多数,更大距离等级内则缺乏显著的相关性,说明在 4 m 范围内的个体间存在相似关系,而在 12~24 m 范围内的个体不相似。表 5 列出了不同距离等级下表现出显著相关性的位点数。

在上述 2 个群体中,遗传变异在短距离(3~4 m)内表现出显著正相关,在较大距离内表现出显

表 2 Pch 群体 9 个距离等级下的 Moran's *I* 值及其显著性

Table 2 Spatial autocorrelation coefficients (Moran's *I*) for nine distance classes in population Pch of *Paphiopedilum micranthum*

位点 Locus	9 种距离等级的 Moran's <i>I</i> 值 Moran's <i>I</i> for 9 distance classes [#]								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
S13-1	0.259 **	-0.138	0.385 **	-0.024	0.458 ***	-0.687 **	0.268 *	-0.573 **	0.619 *
S13-2	0.100	-0.086	0.427 ***	-0.099	0.361 ***	-0.236 *	-0.323 *	0.067	-1.015 **
S13-3	0.756 ***	0.400 ***	0.906 ***	0.098 *	0.173 *	-0.584 **	-0.729 **	-1.046 **	-1.046 **
S193	0.256 *	0.376 ***	-0.432 *	-0.086	-0.446 **	-0.297 *	0.103	0.453 ***	-0.746 **
S195-1	0.423 ***	0.228 **	-0.101	-0.066	-0.180	-0.472 **	0.120	-0.242 *	0.292
S195-2	0.947 ***	-0.508 **	1.630 ***	0.008	0.213 *	-0.772 **	-0.640 **	-0.724 **	-1.060 **
S195-3	0.589 ***	-0.053	-1.007 **	-0.412 **	-0.479 **	0.499 ***	0.906 ***	-0.507 **	-1.068 **
S217-1	0.003	0.081	-0.131	-0.192	0.116	-0.034	0.084	-0.143	0.246
S217-2	0.136 *	-0.011	-0.027	-0.208 *	0.102	-0.019	-0.266 *	0.054	-0.111
S217-3	0.030	-0.061	0.005	-0.133	0.030	-0.044	-0.193	0.145 *	-0.008
S217-4	0.748 ***	0.555 ***	0.507 ***	0.337 ***	-0.042	-0.605 **	-0.736 **	-1.033 **	-1.033 **
S250	0.149 *	0.029	0.041	-0.017	0.241 **	-0.326 *	0.036	-0.328 *	0.135
S329	0.278 *	0.143	0.270 *	-0.324 **	0.263 **	-0.315 *	-0.015	-0.353 *	0.328
S346-1	0.149 *	0.048	-0.401 *	0.062	-0.037	-0.139	-0.598 **	0.092	0.901 **
S346-2	0.337 **	0.393 ***	0.042	0.393 ***	-0.327 *	-0.196 *	-0.480 **	-0.644 **	-0.691 **
S346-3	0.338 ***	0.133	-0.068	0.188 **	-0.495 **	-0.672 **	0.533 ***	-0.079	-0.035
S348	0.527 ***	-0.096	0.219	0.095 *	0.092	-0.123	-0.340 *	-0.684 **	-1.026 **
S351	0.430 **	0.250 **	-0.159	-0.775 **	-0.001	0.192 *	0.134	-0.273 *	0.278
S370-1	0.187 *	0.318 **	0.460 **	-0.005	-0.003	-0.309 *	-0.254 *	-0.519 **	0.091
S370-2	0.096	-0.101	-0.231	-0.104	-0.080	0.156 *	-0.150	-0.081	0.149

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

距离等级(distance classes) 单位:m; Unit:m): 1, 0.0~3.0; 2, 3.0~6.0; 3, 6.0~9.0; 4, 9.0~12.0; 5, 12.0~15.0; 6, 15.0~18.0; 7, 18.0~21.0; 8, 21.0~24.0; 9, 24.0~27.0

表 3 Pch 群体中表现出显著相关性的位点数

Table 3 Number of loci which showed significant correlation in population Pch

	距离等级 [#] Distance classes								
	1 [*]	2	3	4	5	6 [*]	7 [*]	8 [*]	9
显著正相关的位点个数 No. of loci which showed significant positive correlation	16	7	7	5	4	3	3	2	2
显著负相关的位点个数 No. of loci which showed significant negative correlation	0	1	3	4	4	11	8	12	8
呈现显著相关性的位点数所占比例(%) The percent of loci which showed significant correlation(%)	80	40	50	45	40	70	55	70	50

#同表 2 Same as Table 2 ; * 统计检验达显著的 I 值超过 50% The class in which more than 50% of I values exceeds 50% significantly

表 4 Pwm 群体 10 个距离等级下的 Moran's I 值及其显著性

Table 4 Spatial autocorrelation coefficients (Moran's I) for 10 distance classes in population Pwm of *Paphopedilum micranthum*

位点 Locus	10 种距离等级的 Moran's I 值 Moran's I for 10 distance classes [#]									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
S13-1	0.387***	0.184***	-0.144*	-0.614**	-0.567**	0.0527	-0.046	-0.028	0.111*	0.216*
S13-2	0.401***	-0.651**	0.161**	0.257**	-0.365**	0.170*	-0.039	0.029	-0.006	0.003
S13-3	0.421***	0.202***	-0.018	-0.283**	-0.456**	-0.550**	-0.390**	-0.086	0.252**	0.120
S13-4	0.200**	-0.239**	0.195***	-0.423**	0.047	0.052	0.016	-0.098	0.070	-0.045
S13-5	0.763***	0.045	-0.3148*	-0.353**	-0.127	-0.121	0.437***	-0.005	-0.667**	-1.014**
S195-1	0.454***	0.054	-0.338**	0.396***	0.138	-0.162	-0.578**	-0.107	0.114*	-0.008
S195-2	0.502***	0.264***	-0.118*	-0.506**	0.315***	-0.367**	-0.399**	-0.506**	0.325***	0.410***
S195-3	0.778***	0.133**	-0.402**	-0.568**	-0.313**	0.069	-0.280**	0.052	0.147*	0.023
S195-4	0.537***	-0.545**	0.067	-0.223*	0.238**	-0.528**	0.530***	-0.321**	0.066	0.005
S217-1	0.122*	-0.196*	0.144**	-0.224*	-0.097	0.224*	-0.077	0.065	-0.160	0.023
S217-2	-0.009	0.096*	-0.034	-0.138	-0.127	-0.075	0.074	-0.054	-0.088	-0.038
S217-3	0.166*	-0.037	0.032	0.124*	-0.107	-0.426**	0.072	-0.191*	-0.072	-0.005
S217-4	0.430***	-0.153*	-0.414**	0.342***	-0.305**	-0.073	0.054	-0.243**	0.897***	-1.016**
S217-5	0.182*	-0.075	-0.239**	0.163*	0.018	-0.052	-0.144*	0.100*	-0.046	0.044
S217-6	0.593***	0.065	-0.309**	0.008	-0.300*	-0.010	0.028	0.238**	-0.449**	-0.780**
S217-7	0.554***	0.277***	-0.332**	-0.426**	-0.105	0.187*	0.216**	-0.226**	-0.382**	-0.097
S217-8	0.795***	-0.105	0.005	-0.355**	-0.399**	-0.252*	0.452***	-0.065	-0.521**	-0.751**
S250	0.168*	0.031	-0.333**	0.171*	0.259**	-0.401**	0.159*	-0.242**	0.236**	-0.203
S329-1	0.445***	-0.226**	-0.155*	-0.122	0.314**	0.069	-0.699**	0.335***	0.044	-0.019
S329-2	0.861***	0.182***	-0.708**	-0.196*	0.117	0.365***	-0.140	-0.172*	-0.388**	0.565***
S346-1	0.601***	0.339***	-0.094	-0.773**	-0.857**	-0.898**	-0.108	0.062	0.148*	0.348**
S346-2	0.572***	0.051	-0.018	-0.653**	-0.491**	-0.160	-0.170*	0.027	0.141*	-0.054
S346-3	0.311***	-0.268**	-0.069	0.236**	-0.293*	-0.235*	-0.085	0.158**	-0.081	-0.040
S348-1	0.847***	-0.103	-0.032**	-0.807**	-0.500**	0.368**	0.440***	-0.098	-0.538**	-0.203
S348-2	0.709***	0.114**	-0.299**	-0.775**	-0.017	0.078	0.035	0.115*	-0.166	-0.447*
S348-3	0.501***	-0.648**	0.408***	-0.002	-0.382**	-0.306**	-0.024	0.064	-0.192*	0.045
S351	0.349***	0.015	-0.247**	-0.469**	0.354**	0.440***	-0.234*	0.245***	-0.218*	-0.375*

* p < 0.05 , ** p < 0.01 , *** p < 0.001

距离等级(distance classes)(单位:m ;Unit:m) :1, 0.0~4.0 ; 2, 4.0~8.0 ; 3, 8.0~12.0 ; 4, 12.0~16.0 ; 5, 16.0~20.0 ; 6, 20.0~24.0 ; 7, 24~28 ; 8, 28~32 ; 9, 32~36 ; 10, 36~40

表 5 Pwm 群体中表现出显著相关性的位点数

Table 5 Number of loci which showed significant correlation in population Pwm

	距离等级 Distance classes [#]									
	1*	2*	3*	4*	5*	6	7	8	9*	10
显著正相关的位点个数 No. of loci which showed significant positive correlation	26	9	4	7	5	5	6	4	8	4
显著负相关的位点个数 No. of loci which showed significant negative correlation	0	8	14	16	13	9	8	7	8	6
呈现显著相关性的位点数所占比例(%) The percent of loci which showed significant correlation(%)	93	61	64	82	64	50	50	39	57	36

同表 3 Same as Table 3 ; * 统计检验达显著的 I 值超过 50% The class in which more than 50% of I values exceeds 50% significantly

表 6 LS 群体 9 个距离等级下的 Moran's I 值及其显著性Table 6 Spatial autocorrelation coefficients (Moran's I) for 9 distance classes in population LS of *Changnienia amoena*

位点 Locus	9 种距离等级的 Moran's I 值 Moran's I for 9 distance classes [#]								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
S200	0.0030	0.0046	-0.2238	-0.2238	0.0426	0.1187	-0.0489	-0.0289	0.1187
S200	-0.0695	0.5374*	-0.1623	-0.2238	-0.4902	0.1187	0.3978***	-0.2016	-0.2111
S200	0.3268**	-0.1627	-0.3851*	-0.3768*	-0.0200	0.4796*	0.2071*	-0.5612**	0.4796*
S219	-0.0529	-0.0268	-0.1042	-0.2124	0.5319	-0.0029	-0.1030	-0.0500	-0.0268
S229	0.0867	0.4127*	0.0833	-0.1092	-1.0192**	-1.0192**	-0.6558**	0.1257**	0.4796
S229	0.7523***	0.8992***	-0.9615**	-1.0638**	-1.0638**	1.02158***	0.1182	-0.8422**	-0.8105*
S326	0.3268**	-0.1627	-0.3851*	-0.3768*	0.0200	0.4796*	0.2071*	-0.5612**	0.4796*
S326	0.4785***	-0.4357*	-0.9615**	-0.8630**	0.9171	0.6323**	0.4866***	-0.5496**	0.6323*
S332	0.0285	0.4395*	-0.1545	-0.2698*	-1.0192**	0.2655	0.0538	-0.1215	-0.5642*
S332	0.0558**	-0.4231*	0.2691*	-0.3513*	0.4065	-0.4710*	0.1730	-0.1938	0.5102
S346	0.0198	0.1740	-0.0719	-0.1707	-1.0383**	-0.0162	0.0206	-0.0723	-0.4203
S348	0.2832***	0.1859	0.0177	0.0195	0.4038	-0.0399	0.0508	-0.5669**	-1.0383**
S348	0.2527**	0.3180	-0.0066	-0.2324	-1.0274**	-0.1717	0.3736**	-0.5042**	-1.0274**
S363	-0.0222	0.4830*	0.0133	-0.3193	-0.3727	-0.0162	0.2828**	-0.1925	-0.4203
S375	-0.0773	0.0570	-0.0848	0.0450	-0.4179	0.0330	0.4151***	-0.2224	-0.2423

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

距离等级(distance classes)(单位:m;Unit:m):1,0.0~1.0;2,1.0~2.0;3,2.0~3.0;4,3.0~4.0;5,4.0~5.0;6,5.0~6.0;7,6.0~7.0;8,7.0~8.0;9,8.0~9.0

显著相关,说明这 2 个群体中遗传变异在空间上的分布不均匀,呈斑块状,斑块大小为 3~4 m,不同位点变异的空间分布状况基本相似。

3.2 独花兰遗传变异的空间自相关分析

在独花兰中,共得 RAPD 多态位点 121 个。对 LS 群体,选取 15 个谱带频率在 30%~70% 之间的 RAPD 位点,以个体间的平均距离(1 m)为梯度,划分 9 个距离等级。在计算出的 135 个 Moran's I 值中(表 6),有 58(43.0%)个达 0.05 显著水平。在 9 个距离等级中,只有 1 个等级(7 m),统计检验呈显著的 I 值达 50%(8 个),说明该群体内遗传变异分布的空间结构性不强。但在最短距离(1 m)内,7 个

统计检验达显著的 I 值(占 46.6%)均为正值。表 7 列出了不同距离等级下表现出显著相关性的位点数。

对 XN1 群体,选取 12 个谱带频率在 30%~70% 之间的 RAPD 位点,以个体间平均距离(2 m)为梯度,划分 8 个距离等级。在计算出的 96 个 Moran's I 值中(表 8),有 37 个(38.5%)达 0.05 显著水平。在 8 个距离等级中,只有 1 个等级(16 m),统计检验达显著的 I 值超过 50%(8 个),情况和 LS 群体近似,遗传变异分布的斑块性不强(表 9)。

表 7 LS 群体中表现出显著相关性的位点数

Table 7 Number of loci which showed significant correlation in population LS

	距离等级 Distance classes [#]								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
显著正相关的位点个数 No. of loci which showed significant positive correlation	7	5	1	0	0	4	7	1	3
显著负相关的位点个数 No. of loci which showed significant negative correlation	0	2	4	6	5	2	1	6	4
呈现显著相关性的位点数所占比例(%) The percent of loci which showed significant correlation(%)	44	44	31	38	31	38	50	44	44

同表 6 Same as Table 6

表 8 XN1 群体 8 个距离等级下的 Moran's I 值及其显著性

Table 8 Spatial autocorrelation coefficients (Moran's I) for 9 distance classes of *Changnienia amoena* in XN1

位点 Locus	9 种距离等级的 Moran's I 值 Moran's I for 9 distance classes [#]							
	1	2	3	4	5	6	7	8
1	-0.0595	-0.0728	0.1184	-0.2311	-0.6571 *	0.6042 *	-1.0709 **	0.4462
2	-0.1178	-0.1127	-0.3030	0.3740 **	-0.0595	-0.5336	-1.1709 **	0.4462
3	0.1376	0.2467 *	-0.2013	-0.4197 *	-0.1760	0.1060	2.0549	-1.1209 **
4	0.1139	-0.3209	-0.32063	-0.1743	0.2811	0.2839	0.9379	-1.0552 **
5	0.0572	0.2067 *	0.1372	-0.5291 *	-0.8640 **	0.0669	1.2047	1.2047 *
6	0.1820 *	-0.1481	-0.4900 *	0.2402 *	-0.0710	-0.2547	-1.1209 **	-1.1209 **
7	-0.0867	0.0602	-0.2721	0.0848	-0.3122	0.5724	0.4271	-1.0251 **
8	-0.1077	0.0502	0.0546	-0.0750	-0.2601	0.0335	0.7301	-1.0429 **
9	0.2271 *	-0.6731 **	-0.2476	0.1014	0.5473 *	-0.3958	-1.0917 **	-1.0917 **
10	0.4077 **	-0.4258 *	-0.6861 **	-0.3433	0.6661 *	0.7822 *	0.9379	-1.0552 **
11	-0.1876	-0.1149	0.0866	0.1014	-0.5856 *	0.4991	-1.0917 **	-0.4731
12	0.1998 *	-0.4853 *	-0.2655	-0.2130	0.8829 ***	0.0037	-1.0709 **	-1.0709 **

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

距离等级(distance classes) 单位:m; Unit:m): 1, 0.0~2.0; 2, 2.0~4.0; 3, 4.0~6.0; 4, 6.0~8.0; 5, 8.0~10.0; 6, 10.0~12.0; 7, 12.0~14.0; 8, 14.0~16.0

表 9 XN1 群体中表现出显著相关性的位点数

Table 9 Number of loci which showed significant correlation in XN1

	距离等级 Distance classes [#]							
	1	2	3	4	5	6	7	8*
显著正相关的位点个数 No. of loci which showed significant positive correlation	4	2	0	2	3	2	0	0
显著负相关的位点个数 No. of loci which showed significant negative correlation	0	3	2	2	3	0	6	8
呈现显著相关性的位点数所占比例(%) The percent of loci which showed significant correlation(%)	33	42	17	33	50	17	50	75

同表 8 Same as Table 8

* 统计检验达显著的 I 值超过 50% The class in which more than 50% of I values exceeds 50% significantly

4 讨论

在选取多态位点进行空间自相关分析时,我们只采用了等位基因频率在 30%~70%者,因为若某一等位基因的频率过高,则该位点在空间自相关分析中提供的有效信息将很少。为避免不必要的计算,同时保证数据具有足够的统计意义,在本研究

中,我们认为选取谱带频率在 30%~70%的位点是比较合适的。

对硬叶兜兰和独花兰的空间自相关分析表明,在小尺度范围(群体内)2个物种遗传变异的分布格局有差异。在硬叶兜兰2个群体中,遗传变异基本呈非随机分布,在短距离(3~4 m)内表现出显著的正相关,在较大距离内表现出显著的负相关,说明

这 2 个群体中遗传变异在空间上的分布不均匀,呈斑块状,斑块内个体在遗传上呈现相似关系,间距较大的个体间呈现不相似关系。与硬叶兜兰不同,独花兰的遗传变异在群体内不存在明显的空间结构。

研究表明,导致群体内遗传变异出现一定空间结构的非随机分布有许多因素,距离隔离作用是主要因素之一,即花粉和种子等繁殖体的有限散布导致遗传变异成斑块状分布,从而导致个体间的空间自相关性随距离的增加而降低(Epperson, 1990)。另外,局部环境的选择也会使植物群体内遗传变异表现出强烈的空间结构(Hamrick & Allard, 1972; Allard *et al.*, 1977; Epperson, 1993; 何田华等, 1999)。此外,植物的交配系统及其与扩散方式和自然选择之间的相互联系也是不可忽视的原因(Epperson, 1993)。本研究中 2 种兰花在群体内空间结构上的不同可能与二者繁殖方式上的差异有关。尽管这 2 种兰花均为昆虫传粉的异交物种(王年鹤等, 1994; 陈心启, 1999),但硬叶兜兰细长的匍匐根状茎具有较强的克隆生长能力,往往形成一个克隆的大量分株(Tsi *et al.*, 1999),从而在增加群体中近交比率的同时,也造成了群体中遗传变异的斑块状分布。虽然有报道认为独花兰的假鳞茎具有无性繁殖能力(王年鹤等, 1994),但在我们的研究中未发现群体中存在基因型相同的个体,因此可以基本排除大量克隆繁殖的可能性,故其群体内遗传变异的斑块状分布不明显。另外,野外观察发现独花兰吸引昆虫传粉采用的是欺骗性模式,传粉昆虫为熊蜂(具体物种待鉴定)。这种昆虫飞行能力较强,同时由于植物不向其提供食物回报,因此不会集中拜访相邻的植株。这也可能是独花兰的遗传变异在群体内呈随机分布的原因之一。种子传播方式以及微环境选择在 2 种兰花空间结构形成中是否起作用有待进一步研究。

硬叶兜兰的种子繁殖比较容易加上具备较强的克隆生长能力(Cribb, 1998; Tsi *et al.*, 1999),因此,只要对其适宜的生境进行必要的保护,同时停止采摘,该物种完全有能力在自然界自我恢复。然而,当前生境破坏和丧失以及相伴的生境片段化是这一导致大多数兰科植物稀有和濒危的主要因素(IUCN/SSC Orchid Specialist Group, 1996)。由于硬叶兜兰分布范围较小,对生境要求特殊(石灰岩山区,海拔 1100 ~ 2400 m 的北/南坡),野外群体数量较少,加

之群体间存在较高的分化(Li *et al.*, 2002a),故适时的迁地保护对硬叶兜兰是必要的。空间自相关分析表明,硬叶兜兰群体内遗传变异存在显著的斑块结构,这就要求我们在对群体进行充分采样的同时,应注意采样的间隔(不小于 3 m),以增加采样个体的代表性和避免对遗传学相似个体的重复采样。

独花兰虽然分布范围较硬叶兜兰广,但由于独花兰对生境条件要求较高,且自然结实率低(王年鹤等, 1994; 熊高明等, 2002^①),因而分布零星稀疏,群体规模不大,个体数量较少。最近的研究(Li *et al.*, 2002b)表明,独花兰群体间存在十分明显的分化,因此提出在原地和迁地保护中应尽可能加大受保护和取样群体的数目。但是,鉴于独花兰群体规模均不大且群体内不存在遗传变异的空间结构,在迁地保护的取样过程中群体内取样个体数也不能太少,以充分代表群体内的遗传变异。

综上所述,对群体内遗传变异空间结构的研究可以揭示物种的进化历史和生态过程,有助于探讨物种濒危的原因和机制。在濒危物种异地保护中,对遗传变异空间结构的研究对群体的取样策略有极为重要的指导作用(Marshall, 1990)。

致谢:感谢新宁县林业局罗仲春、刘小宁两位先生和九江师专廖亮教授在采样过程中提供的热心帮助,以及本室何田华博士在数据处理方面给予的详细指导。

参考文献

- 陈心启, 吉占和, 1998. 中国兰花全书. 北京: 中国林业出版社
- 陈心启, 1999. 中国植物志(第十八卷). 北京: 科学出版社
- 陈心启, 吉占和, 罗毅波, 1999. 中国野生兰科植物彩色图鉴. 北京: 科学出版社
- 傅立国, 1992. 中国植物红皮书——稀有濒危植物(第一册). 北京: 科学出版社
- 葛颂, 1998. 植物群体遗传结构研究的回顾和展望. 见: 李承森(主编), 植物科学进展(第一卷). 北京: 高等教育出版社, 1 ~ 15
- 何田华, 杨继, 饶广远, 1999. 植物群体遗传变异的空间自相关分析. 植物学通报, 16: 636 ~ 641
- 李昂, 葛颂, 2002. 植物保护遗传学研究进展. 生物多样性, 10(1): 61 ~ 71

①熊高明, 谢宗强, 熊小刚, 樊大勇, 葛颂, 2002. 神农架南坡珍稀植物独花兰的生物学及群落特征. 生态学报(待发表)

- 王年鹤, 吕晔, 程增林, 1994. 独花兰的生物学特性观察和繁殖研究初报. *植物学通报*, **11**(增刊): 53 ~ 55
- 吴征镒, 1991. 中国种子植物属的分布区类型. *云南植物研究*, IV(增刊): 1 ~ 139
- 应俊生, 张玉龙, 1994. 中国种子植物特有属. 北京: 科学出版社
- Allard R W, A L Kahler and M T Clegg, 1977. Measuring selection in natural populations. Springer-Verlag, New York
- Avise J C and J L Hamrick, 1996. Conservation genetics, case histories from nature. Chapman & Hall, New York
- Cribb P J, 1998. The Genus *Paphiopedilum*. Natural History Publications, Borneo
- Dressler, 1981. The Orchids: Natural history and classification. Smithsonian Institution, USA
- Epperson B K, 1993. Recent advances in correlation studies of spatial patterns of genetic variation. *Evolutionary Biology*, **27**: 95 ~ 155
- Epperson B K, 1990. Spatial patterns of genetic variation within plant populations. In: A H D Brown, M T Clegg, A L Kahler and B S Weir (eds.), *Plant Population Genetics, Breeding and Genetic Resources*. Sinauer Associates, MA, 229 ~ 253
- Epperson B K and R W Allard, 1989. Spatial autocorrelation analysis of the distribution of genotypes within populations of lodgepole pine. *Genetics*, **121**: 369 ~ 377
- Geburek T and P Tripp-Knowles, 1994. Genetic architecture in bur oak, *Quercus macrocarpa* (Fagaceae), inferred by means of spatial autocorrelation analysis. *Plant Systematics and Evolution*, **189**: 63 ~ 74
- Hamrick J L and R W Allard, 1972. Microgeographical variation in allozyme frequencies in *Avena barbata*. *Proceedings of National Academy of Sciences, USA*, **69**: 2100 ~ 2104
- Hamrick J L and M J W Godt, 1996. Conservation genetics of endemic species. In: J C Avise and J L Hamrick (eds.), *Conservation Genetics*, Chapman and Hall, New York, 281 ~ 304
- IUCN/SSC Orchid Specialist Group, 1996. Orchids—Status Survey and Conservation Action Plan. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge
- Lewontin R C, 1974. The Genetic Basis of Evolutionary Change. Columbia University, New York
- Li A, Y B Luo and S Ge, 2002a. A preliminary study on conservation genetics of an endangered orchid (*Paphiopedilum micranthus*) from southwestern China. *Biochemical Genetics*, **40**: 195 ~ 201
- Li A, Y B Luo, Z T Xiong and S Ge, 2002b. A preliminary study on conservation genetics of three endangered orchid species. *Acta Botanica Sinica*, **44**: 250 ~ 252
- Marshall D R, 1990. Corp genetic resources: current and emerging issues. In: A H D Brown, Clegg M T, Kahler A L, Weir B S (eds.), *Plant Population Genetics, Breeding and Genetic Resources*. Sinauer Associates, MA, 367 ~ 388
- McCauley D E, J E Stevens, P A Peroni and J A Raveill, 1996. The spatial distribution of chloroplast DNA and allozyme polymorphisms within a population of *Silene alba* (*Caryophyllaceae*). *American Journal of Botany*, **83**: 727 ~ 731
- Shapcott A, 1995. The spatial genetic structure in natural populations of the Australian temperate rainforest tree *Atherosperma moschatum* (Labill.) (Monimiaceae). *Heredity*, **74**: 28 ~ 38
- Sokal R R and N L Oden, 1978. Spatial autocorrelation in biology, 1. Methodology. *Biological Journal of the Linnean Society*, **10**: 199 ~ 228
- Tsi Z H, Y B Luo, P J Cribb, N McGough, G Siu and L Chau, 1999. A preliminary report on the population size, ecology, and conservation status of some *Paphiopedilum* species (Orchidaceae) in southwest China. *Lindleyana*, **14**: 12 ~ 23

(责任编辑: 孙大川)