

文章编号: 1674-7054(2018)01-0037-10

海南特有毛花马铃薯苔小尺度局域种群的年龄结构与基因流

邢婀娜, 徐诗涛, 任明迅

(海南大学 热带农林学院/环南海陆域生物多样性研究中心, 海口 570228)

摘要: 从局部地形揭示植物种群的空间分布、年龄组成与个体迁移, 可深入揭示种群动态与适应潜力, 为制定有效的保育措施提供依据。笔者选取海南岛高山特有附生石上、局域种群界限清晰的毛花马铃薯苔 (*Oreocharis dasyantha*) 4 个地理种群, 首先研究每个地理种群内主要斑块 (小尺度局域种群) 的个体年龄结构和静态生命表, 然后利用核基因片段 *ITS* 和 2 个叶绿体基因片段 (*trnL-F*, *ycf1b*) 分析各斑块种群的遗传结构与斑块间的基因流强度。结果表明, 位于海南岛湿润区的毛花马铃薯苔种群呈增长型, 而位于海南岛干旱区的种群则呈下降型。同一地点的小尺度局域种群之间的年龄结构、增长率、死亡率和消失率等也都存在较大差异, 并出现了私有单倍型。这可能是由于坡谷、栈道等微地形的隔离效应, 导致扩散能力较弱的毛花马铃薯苔在小尺度 (10 m 左右) 上出现了基因流的阻断。因此, 对于繁殖体扩散能力较差的草本植物而言, 即使在较小尺度上也要维持繁殖体迁移畅通的廊道, 避免坡谷、栈道等微地形对基因流的不良效应, 保证野外种群长期的就地保育。

关键词: 毛花马铃薯苔; 斑块; 隔离; 种群动态; 遗传结构; 保育; 海南岛

中图分类号: Q 941+.2

文献标志码: A

DOI: 10.15886/j.cnki.rdsxb.2018.01.005

由于地理隔离的作用, 海岛往往比临近大陆有着更高比例的狭域分布的特有种^[1-3]。岛屿特有种大多适应于较为特化的生境, 种群分布多呈明显的斑块状^[4-5]。这些斑块状分布的局域种群容易受到干扰的影响, 导致每个斑块种群都存在着灭绝的可能^[6-8]。对于岛屿特有的草本植物而言, 由于种子与花粉传播距离有限, 每个斑块的隔离程度与灭绝风险都远高于其他植物。山谷、河流或人类活动等都可能影响到岛屿特有草本植物的花粉传播与种子扩散及基因流水平^[9-10], 塑造了植物在不同局域景观下的遗传结构^[11-12], 直接决定了该物种的种群动态与进化速率^[13-15]。但迄今为止, 大多数研究还是聚焦在区域种群、局域种群以及局域种群可能形成的集合种群水平上, 从更小尺度上对局域种群内的各个斑块 (亚种群) 开展斑块内个体年龄构成、斑块内及斑块间的基因流事件等精细研究还很少, 对大多数珍稀物种在小尺度上的个体迁移与局域适应潜力还缺乏准确的认识。白永飞等^[16]通过地上部分形态特征确定多年生草本个体龄级, 分析植物种群的年龄结构、死亡率、存活率及生命表, 了解植物与环境之间相互作用的结果^[17]。此外, 空间遗传结构模式是检测种群生境片段化效果的 1 种方法^[18]。海南岛是全球生物多样性热点地区之一^[19-20], 特有植物高达 480 多种^[21], 如海南岛分布的苦苣苔科 (*Gesneriaceae*) 24 种植物, 其中有 8 种 (含 1 个变种) 是海南岛特有种^[22-24]。海南岛苦苣苔科植物基本上是适应阴暗潮湿石生生境的低矮草本植物, 大多附生在一块块隔离的巨石或直立石壁之上, 斑块界限明显, 适宜开展小尺度斑块种群动态及斑块间基因流等研究。笔者选择海南岛特有高山植物毛花马铃薯苔 (*Oreocharis dasyantha*), 利用变

收稿日期: 2017-12-25

修回日期: 2018-01-10

基金项目: 国家自然科学基金 (31670230, 31660229)

作者简介: 邢婀娜 (1993-) 女, 海南大学热带农林学院 2015 级硕士研究生. E-mail: 1059240039@qq.com

通信作者: 徐诗涛 (1968-) 男, 博士, 副教授, 研究方向: 植物多样性保护. E-mail: xutaohn@qq.com;

任明迅 (1976-) 男, 博士, 教授, 研究方向: 植物系统与进化. E-mail: renmx@hainu.edu.cn

异程度大的核基因片段 *ITS* 和 2 个叶绿体基因片段 (*trn L-F*, *ycf1b*) 研究毛花马铃苣苔的空间遗传结构, 主要探究以下 2 个问题: (1) 毛花马铃苣苔小尺度局域种群的年龄结构、静态生命表及种群动态趋势预测; (2) 毛花马铃苣苔小尺度局域种群空间遗传结构及基因流强度与方向。研究结果将有助于深入分析毛花马铃苣苔及类似植物在小尺度上的斑块种群动态与基因流 (种子扩散与花粉传播) 水平, 更准确揭示这类植物在小尺度上的个体迁移历史与相关生态过程, 为深入揭示珍稀植物局域适应、制定有效保育措施提供更准确、全面的依据。

1 材料与方法

1.1 研究物种 毛花马铃苣苔是苦苣苔科马铃苣苔属多年生草本植物, 叶全部基生、具长柄, 植株呈莲座状。叶片卵状椭圆形或宽卵形, 两面密被灰白色短柔毛, 叶上表面叶脉凹陷、下面明显隆起。花黄红色, 花冠钟状筒形, 外被短柔毛, 雄蕊 4、离生, 花药位于花冠筒开口处。毛花马铃苣苔广布于海南岛的主要山区, 是高海拔 (> 800 m) 云雾林下附生于石块或悬崖壁上的低矮草本植物。由于巨石或石壁间相互截然隔离, 在局域尺度上毛花马铃苣苔呈现出清晰间断的斑块状分布格局, 每块巨石或石壁上的植株群体可被视为 1 个亚种群, 或称“斑块种群”或“小尺度局域种群”。

1.2 研究地点 选择覆盖毛花马铃苣苔整个分布区的 4 个代表性地点: 五指山 (WZ, 海南岛昌化江东侧)、尖峰岭 (JF, 海南岛昌化江南侧)、南高岭 (NG, 海南岛昌化江西北侧) 和猴猕岭 (HM, 海南岛昌化江西北侧) 开展研究。五指山和猴猕岭两地的毛花马铃苣苔地理种群较大, 尖峰岭和南高岭地理种群较小 (表 1)。五指山的毛花马铃苣苔分布海拔为 1 500 ~ 1 800 m, 生境均为石壁, 坡度在 60° ~ 90° 之间, 坡向为南坡。尖峰岭的 6 个小尺度局域种群分布在海拔 1 000 ~ 1 500 m 的石壁, 石壁坡度 50° ~ 90° 之间, 坡向为南坡, 有竹叶草 (*Oplismenus compositus*) 和海南铁线蕨 (*Adiantum induratum*) 等伴生植物。猴猕岭种群分布海拔为 1 200 ~ 1 500 m, 石壁坡向均为东坡。小尺度局域种群 HM1 分布的石壁坡度为 30° ~ 60°, 有树根出露于石壁之上, 毛花马铃苣苔植株散生于树根之间; 其余 5 个小尺度局域种群的石壁坡度更陡 (60° ~ 90°), 伴生植物主要是苔藓。南高岭种群分布海拔 1 200 ~ 1 350 m, 共有 3 块集中分布有毛花马铃苣苔的潮湿石壁, 石壁 1 坡度很小, 约为 15°, 石壁 2 和石壁 3 坡度为 90°; 坡向均为东坡。伴生植物有盾叶苣苔 (*Metapetrocosmea peltata*)、海南秋海棠 (*Begonia hainanensis*)、竹叶草和鞭叶铁线蕨 (*Adiantum caudatum*) 等。在每个地点, 都对毛花马铃苣苔的主要分布斑块进行全覆盖调查, 选择其中 6 个具有最多毛花马铃苣苔植株数的主要斑块 (小尺度局域种群) 进行研究。南高岭种群较小, 共统计有 3 个小尺度局域种群。

表 1 毛花马铃苣苔 4 个研究地点的基本信息

Tab. 1 Four sites for observation of *Oreocharis dasyantha*

地点 Location	种群 Population	经纬度 Latitude/longitude	海拔/m Altitude	生境类型 Habitat type	种群大小/株 Population size	坡向 Aspect of slope	坡度 Slope	主要伴生植物 Main associated plants
五指山 Mt. Wuzhi	WZ	18°90'68" N, 109°69'68" E	1 500 ~ 1 800	林下沙粒 岩上	2 595	南坡 South	60° ~ 90°	苔藓 Moss
尖峰岭 Mt. Jianfeng	JF	18°45'88" N, 108°87'98" E	1 000 ~ 1 500	石壁沙粒 岩上、干燥 石壁上	1 130	南坡 South	50° ~ 90°	竹叶草 (<i>Oplismenus compositus</i>)、海南铁 线蕨 (<i>Adiantum in- duratum</i>)
猴猕岭 Mt. Houmi	HM	18°59'50" N, 108°84'48" E	1 200 ~ 1 500	林下石壁 上、石壁树 根之间、腐 殖质厚	1 650	东坡 East	30° ~ 90°	苔藓 Moss
南高岭 Mt. Nangao	NG	19°10'48" N, 109°19'06" E	1 200 ~ 1 350	林下潮湿 石壁上、石 壁缝里	635	东坡 East	15° ~ 90°	盾叶苣苔 (<i>Metapet- rocosmea peltata</i>)、 海南秋海棠 (<i>Begonia hainanensis</i>)、 竹叶草、鞭叶铁线 蕨 (<i>Adiantum cau- datum</i>)

1.3 种群结构和静态生命表 在 2015 ~ 2017 年的花期,以斑块(1 块巨石或石壁)为单位,先通过肉眼估测每个斑块(小尺度局域种群)的个体数,然后对能够触及的所有个体进行冠幅测量和叶片计数。由于毛花马铃薯苔植株每年的冠幅(a)与叶片数(b)有着规律性变化,植株的龄级指数(V)可估算如下:

$$V = [\ln(a)] / 2 + b/5。$$

根据毛花马铃薯苔植株的龄级指数及对应的 3 个主要形态学特征:有无开花、冠幅和叶片数,将龄级指数 $V < 2$ 的划为幼苗, $2 \leq V < 3$ 为幼年, $3 \leq V < 4$ 为成年, $V \geq 4$ 为繁殖成体。统计每个小尺度局域种群不同龄级个体的百分比,作龄级结构图。

根据孙儒泳^[25]和 Larcher^[26],将种群内个体数量最多龄级的个体数标准化为 1 000,编制不同地理种群及各个小尺度局域种群的静态生命表,小尺度局域种群的存活率自然对数曲线,预测各个斑块的局域种群变化趋势。编制公式如下:

a_x (个体数): 在 x 龄级出现的个体数; l_x (存活率) = $a_x/a_1 \times 1 000$; d_x (死亡量) = $l_x - l_{x+1}$; q_x (死亡率) = d_x/l_x ; L_x (区间寿命) = $(l_x + l_{x+1})/2$; T_x (总寿命) = $L_x + L_{x+1} + L_{x+2} + \dots + L_{x+n}$; e_x (期望寿命) = T_x/l_x ; k_x (种群消失率) = $\ln(l_x) - \ln(l_{x+1})$ 。

1.4 小尺度局域种群的遗传结构与基因流 针对每个小尺度局域种群,覆盖整个斑块(巨石或石壁)采集可以触及到的植株个体的叶片,分别放入带硅胶的袋内干燥,带回实验室进行提取 DNA 等相关实验。DNA 提取方法使用改良的 CTAB(Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide,十六烷基三甲基溴化铵)法^[27]。选择变异程度大的 2 个叶绿体基因片段 *trnL-F*、*ycf1b* 和 1 个核基因片段 *ITS* 进行扩增和序列分析,以分析各个局域种群的单倍型类型及比例,确定局域种群遗传结构及局域种群间的基因流水平。

PCR 反应体系为 25 μL ,包括 17 μL 去离子水,2.5 μL 10 \times 缓冲液,0.5 μL 10 mmol \cdot L⁻¹ dNTPs,5 $\mu\text{mol} \cdot$ L⁻¹ 引物各 0.5 μL ,1 μL DNA 和 0.5 μL 5 U \cdot μL^{-1} *Taq* 酶(Aidlab 公司)。

核基因 ITS 1/2 序列的引物为 ITS1: TCCGTAGGTGAACCTGCGG 和 ITS2: GCTGCGTTCATCGATGC。PCR 反应程序为 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min,然后是 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 1 min,55 $^{\circ}\text{C}$ 退火 1 min,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min,共 35 个循环,最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min。

叶绿体基因 *trnL-F* 序列引物为 *trnL*: CGAAATCGGTAGACGCTAGG 和 *trnF*: ATTTGAACTGGTGACACGAG。PCR 反应程序:94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 4 min,然后 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s,58 $^{\circ}\text{C}$ 退火 40 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min,共 35 个循环;最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min。

叶绿体基因 *ycf1b* 引物为 F: CCTCGCCGAAAATCTGATTGTTGTGAAT 和 R: ACATATGCCAAAAGTGATGGAAA。PCR 反应程序:94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 4 min,然后 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s,52 $^{\circ}\text{C}$ 退火 40 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min,共 35 个循环,最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min。

PCR 产物送华大基因测序。测序成功的序列使用软件 Bioedit^[28]进行比对和手工校正,对不同地理种群 DNA 测序结果用 MEGA 6.0^[29]进行剪切,将叶绿体基因序列和核基因序列用 Sequence Matrix^[30]合并,使用 DNAsp 5.0^[31]计算基因片段的多态性位点的数量(S , Number of polymorphic sites)、单倍型的数量(h , Number of haplotypes)、单倍型类型、单倍型多样性(H_d , Haplotype diversity)、核苷酸多样性(π , Nucleotide diversity)、DNA 片段遗传分化程度(K , Average number of nucleotide difference)等估测每个局域种群的遗传多样性及遗传结构。

根据每个斑块(小尺度局域种群)的空间分布位置,将各自的单倍型类型及其比例绘制成饼状图并放在对应地点。根据单倍型多样性的空间分布格局,估测小尺度局域种群之间的基因流水平与隔离程度。

2 结果与分析

2.1 年龄结构与存活曲线 图 1 2 是毛花马铃薯苔 4 个地理种群的小尺度局域种群龄级结构和存活曲线。由图 1 2 可见,WZ 地理种群的 6 个小尺度局域种群都是幼苗的数量最多,其次是幼年个体数量,繁殖成体(有花植株)数量较少,幼年与幼苗个体的存活率最高,属增长型。小尺度局域种群 WZ4 和 WZ5 虽然也表现为增长型群体,但繁殖成体的个体数百分比只有 1.42% 和 1.47%,也没有龄级指数超过 5 的繁殖后期个体,可能是新定居群体。JF 地理种群中,小尺度局域种群 JF1、JF2、JF4 和 JF5 幼苗最多,个体

数百分比均在 50% 以上;繁殖成体数量较少,个体数百分比均在 5% 以下,存活率也较高,属增长型。JF3 和 JF6 则是幼年 and 成年植株占比较多、存活率也高于其他龄级个体,属稳定型。HM 地理种群所有 6 个小尺度局域种群的龄级结构差异不大,都是幼年数多于幼苗,特别是 HM1 的 80% 个体都是幼年个体。6 个小尺度局域种群的幼年个体存活率也明显高于幼苗及其它龄级个体。因此,猴猕岭所有 6 个小尺度局域种群均可视为稳定型。NG 地理种群中,小尺度局域种群 NG1 和 NG2 的幼年植株数量最多,个体数百分比分别为 42.86% 和 46.67%,存活率最高,属稳定型。NG3 则多为成年和繁殖成体,个体数百分比分别为 38.71% 和 32.26%,幼苗数量最少,个体数百分比只有 12.9%,存活率也是繁殖成体和成年远高于幼苗与幼年个体,属下降型。

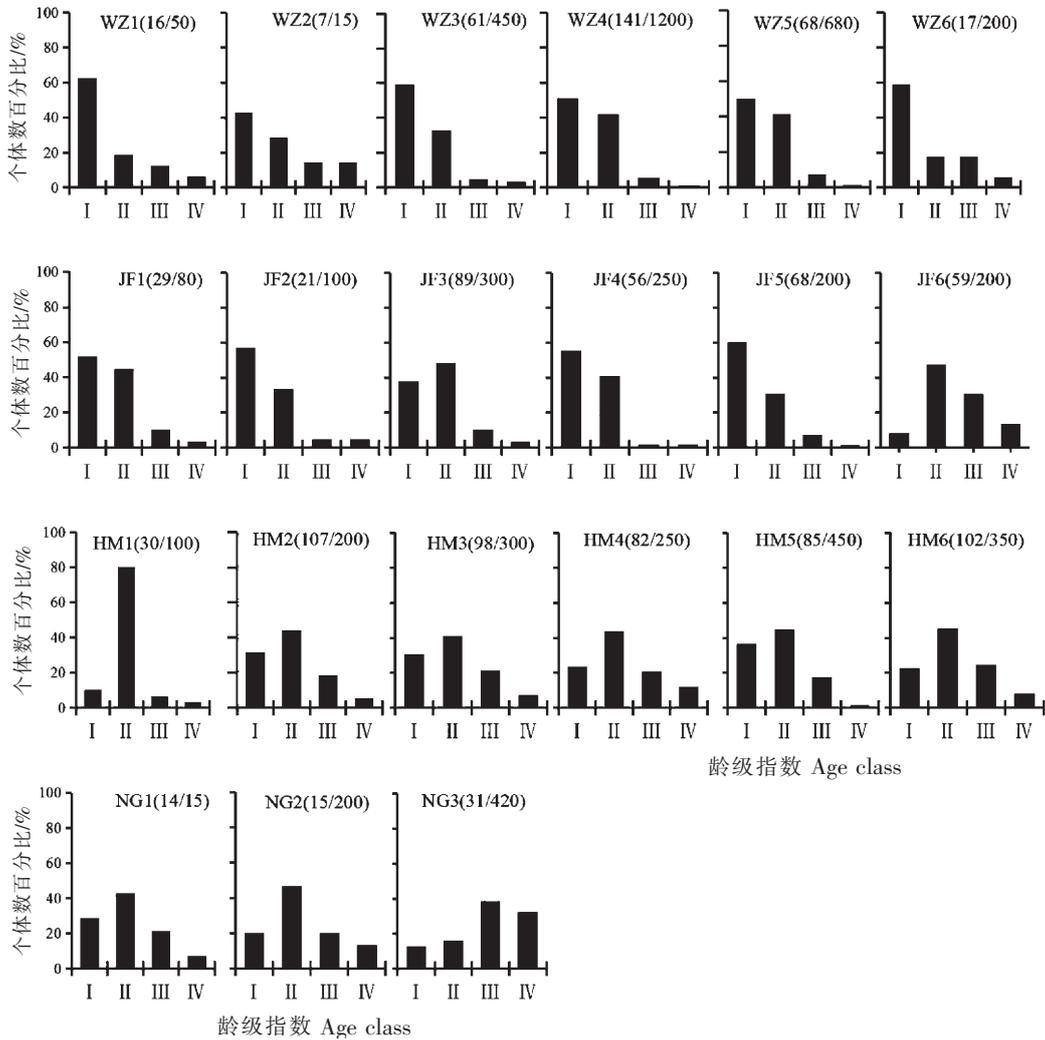


图 1 毛花马铃苣苔 4 个地理种群的小尺度局域种群龄级结构

Fig. 1 Age structure of fine-scale local populations of *Oreocharis dasyantha* at four different sites

2.2 静态生命表 表 2 为毛花马铃苣苔野外种群生命表。由表 2 可见,WZ 种群和 JF 种群的生长趋势更为接近,其中 d_x (死亡量)、 q_x (死亡率)、 k_x (消失率)等指数没有出现负数。 d_x 和 q_x 指数在 II 龄级时达到了最大值,II 龄级的 k_x 值仅次于 IV 龄级的 k_x 值,说明毛花马铃苣苔野外种群的维持依赖于 II 龄级时期。个体在 II 龄级时可能因为快速生长和发育需要更多的营养物质和空间,导致死亡率和死亡量达到最大。存活率 $\ln(l_x)$ 指数由于个体的生理衰老,存活率随着龄级增加而减少。NG 种群与 HM 种群的 d_x , q_x , k_x 等指数出现负数, $\ln(l_x)$ 指数在 II 龄级时达到了最大值,说明幼年的个体很难存活下来,一旦度过幼年阶段,就能适应不同生境生存下来(表 2)。各小局域种群静态生命表中的 l_x , d_x , q_x , k_x , $\ln(l_x)$ 等指数在各龄级阶段之间的波动具有明显差异。

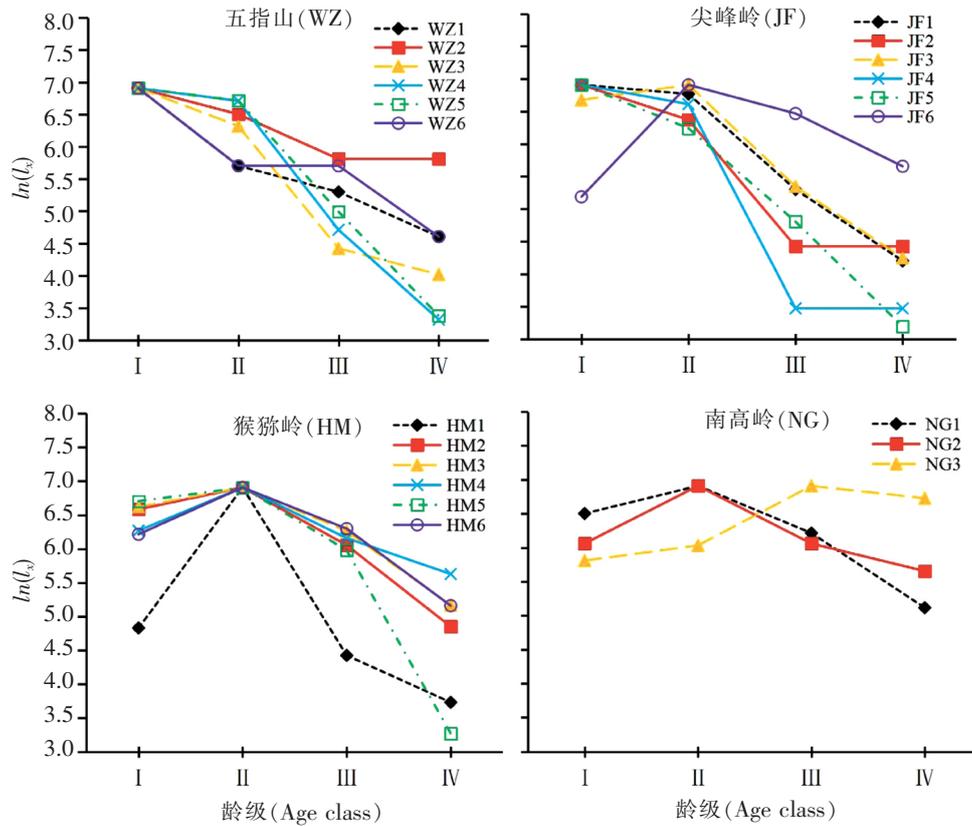


图 2 毛花马铃薯苔 4 个地点小尺度局域种群的存活曲线

Fig. 2 Survival rate of fine-scale local populations of *Oreocharis dasyantha* at four different sites

表 2 毛花马铃薯苔 4 个地点的种群静态生命表

Tab. 2 The life tables of *Oreocharis dasyantha* in four sites.

种群 Population	龄级 Age x	个体数 No. of Individuals a_x	存活率 Survival rate l_x	死亡量 Mortality d_x	死亡率 Mortality rate q_x	区间寿命 Interval life L_x	总寿命 Total life T_x	期望寿命 Expected life e_x	Ln l_x	消失率 Disappear ance rate K_x
五指山种群 WZ	I	165	1 000.00	303.03	0.30	848.48	1 378.79	1.38	6.91	0.36
	II	115	696.97	563.64	0.81	415.15	530.30	0.76	6.55	1.66
	III	22	133.33	84.85	0.64	90.91	115.15	0.86	4.89	1.01
	IV	8	48.48	0.00	0.00	24.24	24.24	0.50	3.88	3.88
尖峰岭种群 JF	I	138	1 000.00	21.74	0.02	989.13	1 855.07	1.86	6.91	0.02
	II	135	978.26	710.14	0.73	623.19	865.94	0.89	6.89	1.30
	III	37	268.12	159.42	0.59	188.41	242.75	0.91	5.59	0.90
	IV	15	108.70	0.00	0.00	54.35	54.35	0.50	4.69	4.69
猴猕岭种群 HM	I	140	606.06	-393.94	-0.65	803.03	1 878.79	3.10	6.41	-0.50
	II	231	1 000.00	567.10	0.57	716.45	1 075.76	1.08	6.91	0.84
	III	100	432.90	290.04	0.67	287.88	359.31	0.83	6.07	1.11
	IV	33	142.86	0.00	0.00	71.43	71.43	0.50	4.96	4.69
南高岭种群 NG	I	11	611.11	-388.89	-0.64	805.56	2 694.67	4.41	6.42	-0.49
	II	18	1 000.00	0.00	0.00	1 000.00	2 222.22	2.22	6.91	0.00
	III	18	1 000.00	277.78	0.28	861.11	1 222.22	1.22	6.91	0.33
	IV	13	722.22	0.00	0.00	361.11	361.11	0.50	6.58	6.58

2.3 遗传结构与基因流 图3为毛花马铃薯苔4个地理种群的小尺度局域种群单倍型空间分布及单倍型网络图。利用核基因 *ITS* 和叶绿体基因 *Tm L-F_{ycf1b}* 在毛花马铃薯苔的137个体中检测到21个单倍型,单倍型多样性($Hd = 0.852$)、核苷酸多样性($\pi = 0.00781$)、遗传分化程度($K = 17.995$),未发现不同地点间有共享的单倍型,而且同一个地点内的小尺度局域种群之间也多为私有的单倍型,很少有共享的单倍型。

由图3可见,五指山的毛花马铃薯苔共有4种单倍型,其中单倍型H18的数量最多,尤其是小尺度局域种群WZ1,WZ3,WZ4和WZ5都只有H18这一种单倍型。位于整个分布区边缘、有斜坡阻隔的WZ2和WZ6则分别出现了1个私有单倍型(H19)和2个私有单倍型(H20和H21)。尖峰岭的毛花马铃薯苔以单倍型H10为优势,位于分布区边缘、被栈道隔开的小尺度局域种群JF1和JF2各出现了2个私有单倍型;被山谷隔开的JF6种群也出现了1个私有单倍型。南高岭地点共有4种单倍型,其中单倍型H14的个体数量最多,是每个小尺度局域种群的优势单倍型。各个小尺度局域种群都各出现了1个私有单倍型,表现出较明显的局域隔离。位于毛花马铃薯苔分布区中心地带的猴猕岭,具有较高的单倍型多样性。猴猕岭共有6种单倍型,但没有1个单倍型同时出现在6个小尺度局域种群中。单倍型H4是整个猴猕岭地理种群的优势单倍型,是HM3,HM5的唯一单倍型,也是临近的HM4和HM6中的优势单倍型;但在HM1中单倍型H4成为了稀有单倍型,在HM2中则完全没有单倍型H4,表现出明显的局域隔离。

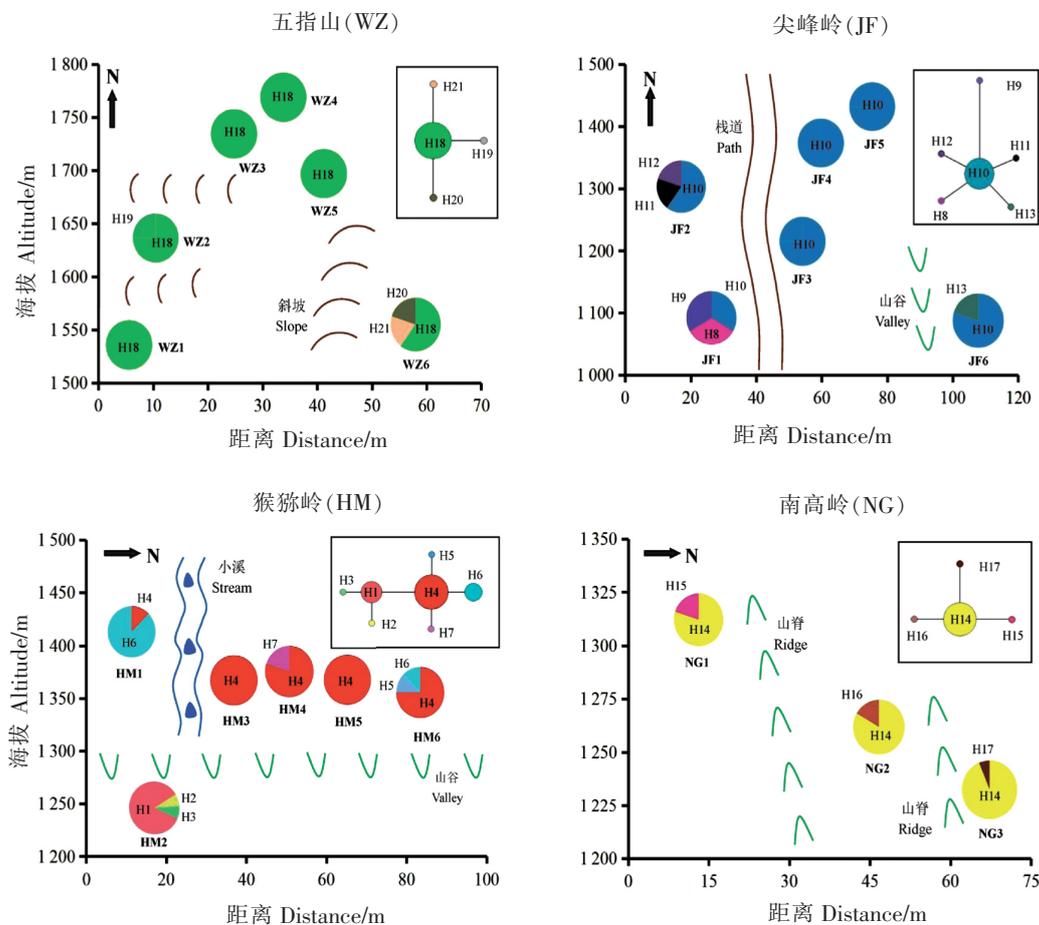


图3 毛花马铃薯苔4个地理种群的小尺度局域种群单倍型空间分布及单倍型网络图
Fig.3 Haplotype distribution and network of fine-scale local populations of *Oreocharis dasyantha* at four sites

3 讨论

3.1 不同地理种群的差异 五指山和尖峰岭的毛花马铃薯苔种群都以幼苗和幼年个体为主、种群呈增长型,南高岭和猴猕岭则为稳定型(以幼年和成年个体为主),南高岭部分小尺度局域种群甚至呈下降趋

势。这些差异可能由这些地点的气候因素造成^[32]。五指山和尖峰岭位于海南岛昌化江东南侧,是西北太平洋季风和台风的迎风面,湿润多雨^[20,33],有利于毛花马铃薯苔的生长与繁殖。猴猕岭和南高岭位于海南岛昌化江西北侧,相对干旱^[18,33]影响到了毛花马铃薯苔的自然更新。五指山和尖峰岭的毛花马铃薯苔种群有着较大的种群、每个局域种群都呈现较稳定的增长,可能是该物种的核心种质种群所在,应进行重点保护,避免破坏原生境,持续观测种群发展动态^[34-35]。南高岭的毛花马铃薯苔种群分布海拔较低、分布范围小,位于分布区的边缘,局域种群呈现下降趋势,容易受到干扰灭绝,需减少人类活动的干扰。

3.2 小尺度局域种群之间的分化 许多草本植物在不同尺度上都显现斑块状的空间分布格局,种群间存在一定的隔离^[36-38]。本研究结果表明,在很小的尺度上,如相距不到 10 m 的 2 块石壁,毛花马铃薯苔群体呈现出一定的差异,一些局域种群呈稳定或增长状态,一些局域种群则为下降趋势,小局域种群内的各龄级阶段之间的波动也具有明显差异。这表明局域种群动态与局域生境密切相关,斜坡、栈道、山谷、小河等物理隔离导致局域生境出现差异。石壁上沙粒土的厚度、腐殖质层的厚度、伴生植物的密度、郁闭度及毛花马铃薯苔主要集中分布坡度等的差异,造成同一地点内的不同小局域种群动态出现差异。小局域种群静态生命表反映出毛花马铃薯苔植物与局域环境的适合度^[39]。气候的改变、生物学特性、生殖行为等都会影响多年草本种群动态^[40-41]。张文辉等^[42]指出,种群年龄结构与种群数量动态规律的研究,可为多年生草本植物的可持续保护提供科学依据。

3.3 小尺度局域种群的遗传结构与基因流 笔者在本研究中未发现毛花马铃薯苔在 4 个地点间存在共享的单倍型,且具有高水平遗传变异及高的遗传分化程度。这可能是海岛特有植物毛花马铃薯苔分布于高海拔山顶形成“天岛”隔离作用所致。单倍型网状关系表明,大部分局域种群独享单倍型都是优势单倍型的衍生单倍型,说明局域种群之间存在有限的基因交流。可能花粉经过传粉者的行为扩散,或者高海拔石壁上种子随着石壁滚落至低海拔的石壁上,都实现小尺度局域种群之间微弱的基因交流。HM2 局域种群的私有单倍型 H1, H2 和 H3 成为独立的一支,实现长距离扩散。可能由于 HM2 局域种群与其他小局域种群之间山谷的较深和较宽造成的。物理障碍强度越大,越阻碍基因流的扩散。而基因流强度是维持种群续存的关键因素^[43-44]。局域种群之间基因流强度的研究揭示局域适应机制。类似于兰科植物^[12]和报春花科植物^[45],毛花马铃薯苔种群在小尺度上也出现了较多的私有单倍型,表现出明显的斑块隔离现象。小溪、山脊、斜坡以及人类修建的栈道等都可能阻断局域种群基因流的连续性,导致这些局域种群有着各自的独享单倍型。这种较高的遗传分化程度、较强的小尺度空间遗传结构表明,多年生草本植物毛花马铃薯苔的局域适应性较强,能适应小尺度微生境的差异,塑造了当前局域遗传分化模式。小尺度空间遗传结构是局域遗传漂移和有性繁殖的基因流之间相互作用和平衡的结果^[46]。种群内的生境破碎化不仅限制花粉和种子扩散,还影响了植物密度、传粉者的丰富度以及觅食行为^[47-50]。

3.4 保育的应用 物种保育时应考虑的关键因素是群体的遗传多样性^[51]及遗传结构^[52]。海南岛特有植物毛花马铃薯苔的种子或花粉扩散距离非常有限,可以在很小的尺度存在着斑块之间的隔离,如山谷、山脊或栈道的存在就会导致 10 m 左右距离的斑块间基因流被阻隔。因此,保护毛花马铃薯苔之类的多年生草本植物,不仅需要关注遗传变异程度大的核心种质种群(五指山和尖峰岭)、优先考虑有效种群大小的维持和人为干扰的减少^[53-54],还需深入揭示种群内的小尺度局域种群的空间遗传结构与基因流水平。对于繁殖体迁移能力很低的毛花马铃薯苔及类似草本植物而言,地理种群以及小尺度局域种群之间一定要维持繁殖体迁移畅通的廊道,避免栈道、坡谷等微地形的影响,提高种群适应潜力,保证野外种群长期的就地保育。

致谢:孟千万、谭珂、凌少军等人协助野外采样;海南南高岭林场的符龙辉、海南佳西省级自然保护区的何建会对野外工作给予了支持,一并致谢!

参考文献:

- [1] MacArthur R H, Wilson E O. The Theory of Island Biogeography [M]. New Jersey: Princeton University Press, 1967:522-542.
- [2] Losos J B, Ricklefs R E. The Theory of Island Biogeography Revisited [M]. New Jersey: Princeton University Press, 2010: 186-213.

- [3] Bramwell D, Caujapé-Castells J, et al. The Biology of Island Floras [M]. Cambridge: Cambridge University Press, 2011: 325–337.
- [4] Emerson B C. Evolution on oceanic islands: molecular phylogenetic approaches to understanding pattern and process [J]. *Molecular Ecology*, 2002, 11(6): 951–66.
- [5] Caujapé – Castells J, Tye A, Crawford D J, et al. Conservation of oceanic island floras: present and future global challenges [J]. *Perspectives in Plant Ecology*, 2010, 12(2): 107–129.
- [6] Hanski I. Patch-occupancy dynamics in fragmented landscapes [J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 1994, 9(4): 131–135.
- [7] Hanski I. A practical model of metapopulation dynamics [J]. *Journal of Animal Ecology*, 1994, 63(1): 151–162.
- [8] 张大勇, 雷光春, ILKKA HANKI. 集合种群动态: 理论与应用 [J]. *生物多样性*, 1999, 8(4): 627–639.
- [9] Hewitt G. The genetic legacy of the Quaternary ice ages [J]. *Nature*, 2000, 405(6789): 907.
- [10] Liu J Q, Wang Y J, Wang A L, et al. Radiation and diversification within the *Ligularia-Cremanthodium-Parasenecio* complex (Asteraceae) triggered by uplift of the Qinghai-Tibetan Plateau [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2006, 38(1): 31–49.
- [11] Mayol M, Palau C, Rosselló J A, et al. Patterns of genetic variability and habitat occupancy in *Crepis triasii* (Asteraceae) at different spatial scales: insights on evolutionary processes leading to diversification in continental islands [J]. *Annals of Botany*, 2012, 109(2): 429–441.
- [12] Ren M X, Cafasso D, Cozzolino S, et al. Extensive genetic differentiation at a small geographical scale: reduced seed dispersal in a narrow endemic marsh orchid, *Anacamptis robusta* [J]. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 2017, 183(3): 429–438.
- [13] Comes H P, Kadereit J W. The effects of Quaternary climatic changes on plant distribution and evolution [J]. *Trends in Plant Science*, 1998, 3(11): 432–438.
- [14] Taberlet P, Fumagalli L, Wust – Saucy A G, et al. Comparative phylogeography and postglacial colonization routes in Europe [J]. *Molecular Ecology*, 1998, 7(4): 453–644.
- [15] Hampe A, Arroyo J, Jordano P, et al. Range wide phylogeography of a bird-dispersed Eurasian shrub: contrasting Mediterranean and temperate glacial refugia [J]. *Molecular Ecology*, 2003, 12(12): 3415–3426.
- [16] 白永飞, 许志信, 李得新, 等. 内蒙古高原四种针茅种群年龄结构与株丛结构的研究 [J]. *植物学报*, 1999, 41(10): 1125–1131.
- [17] Skoglund J, Verwijst T. Age structure of woody species population in relation to seed rain, germination and establishment along the river Dalälven [J]. *Plant ecology*, 1989, 82(1): 25–34.
- [18] He T, Lamont B B, Krauss S L, et al. Genetic connectivity and inter-population seed dispersal of *Banksia hookeriana* at the landscape scale [J]. *Annals of Botany*, 2010, 106(3): 457–466.
- [19] Myers N, Mittermeier R A, Mittermeier C G, et al. Biodiversity hotspots for conservation priorities [J]. *Nature*, 2000, 403(6772): 853.
- [20] Francisco – Ortega J, Wang Z S, Wang F G, et al. Seed plant endemism on Hainan Island: a framework for conservation actions [J]. *Botanical Reviews*, 2010, 76(3): 346–376.
- [21] 杨小波. 海南植物名录 [M]. 北京: 科学出版社, 2013.
- [22] 韦毅刚. 华南苦苣苔科植物 [M]. 南宁: 广西科学技术出版社, 2010.
- [23] 邢福武. 海南植物物种多样性编目 [M]. 武汉: 华中科技大学出版社, 2012.
- [24] 凌少军, 孟千万, 唐亮, 等. 海南岛苦苣苔科植物的地理分布格局与系统发育关系 [J]. *生物多样性*, 2017, 25(8): 807–815.
- [25] 孙儒泳. 动物生态学原理 [M]. 二版. 北京: 北京师范大学出版, 1992: 130–146.
- [26] Larcher W. *Physiological Plant Ecology* 3rd edition New York [M]. Berlin: Heidelberg, Auf Springer, 1995: 279–448.
- [27] Doley J J, Doley J L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue [J]. *Phytochemical Bulletin*, 1987, 19(1): 11–15.
- [28] Hall T A. BioEdit: A User-Friendly Biological Sequence Alignment Editor and Analysis Program for Windows 95/98/NT [J]. *Nucleic Acids Symposium Series*, 1999, 41(41): 95–98.
- [29] Tamura K, Stecher G, Peterson D, et al. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis, version 6.0 [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2013, 30(12): 2725–2729.

- [30] Vaidya G , Lohman D J , Meier R. Sequence Matrix , concatenation software for the fast assembly of multi-gene datasets with character set and codon information [J]. *Cladistics* , 2011 , 27 (2) : 171 – 180.
- [31] Librado P , Rozas J. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data [J]. *Bioinformatics* , 2009 , 25 (11) : 1451 – 1452.
- [32] 赵伶茹, 杨霖, 方雅各, 等. 热带地区干湿气候对水稻土有机质含量及组分的影响 [J]. *热带生物学报* 2016 , 7 (3) : 338 – 342.
- [33] 姜超, 谭珂, 任明迅. 季风对亚洲热带植物分布格局的影响 [J]. *植物生态学报* , 2017 , 41 (10) : 1103 – 1112.
- [34] Murray B R , Rice B L , Keith D A , et al. Species in the tail of rank-abundance curves [J]. *Ecology* , 1999 , 80 (6) : 1806 – 1816.
- [35] Turpie J K , Beckley L E , Katua S M. Biogeography and the selection of priority areas for conservation of South African coastal fishes [J]. *Biodiversity Conservation* , 2000 , 92 (1) : 59 – 72.
- [36] Ehrlén J , Eriksson O. Large-scale spatial dynamics of plants: A response to Freckleton and Watkinson [J]. *Journal of Ecology* , 2003 , 91 (2) : 316 – 320 ,
- [37] Ouborg N J , Eriksson O. Towards a metapopulation concept for plants [M]. Amsterdam: Ecology , Genetics , and Evolution of Metapopulations , Elsevier Academic press , 2004 : 447 – 469.
- [38] Solbreck C. Climate change and long-term patch dynamics of a perennial herb [J]. *Basic and Applied Ecology* , 2012 , 13 (5) : 414 – 422.
- [39] Fuchs M A , Krannitz P G , Harestad A S. Factors affecting emergence and first – year survival of seedlings of Garry oaks (*Quercus garryana*) in British Columbia , Canada [J]. *Forest Ecology and Management* , 2000 , 137 (1) : 209 – 219.
- [40] 刘仲健 陈利君 饶文辉, 等. 长瓣杓兰 (*Cypripedium lentiginosum*) 种群数量动态与生殖行为的相关性 [J]. *生态学报* , 2008 , 28 (1) : 111 – 121.
- [41] 刘仲健 陈利君 刘可为, 等. 气候变暖致使墨兰 (*Cymbidium sinense*) 野外种群趋向灭绝 [J]. *生态学报* , 2009 , 29 (7) : 3443 – 3455.
- [42] 张文辉, 李景侠, 李红, 等. 独叶草种群年龄结构及动态分析 [J]. *应用生态学报* , 2004 , 15 (4) : 561 – 565.
- [43] Escudero A , Iriondo J M , Torres M E. Spatial analysis of genetic diversity as a tool for plant conservation [J]. *Biological Conservation* , 2003 , 113 (3) : 351 – 365.
- [44] Ishihama F , Ueno S , Tsumura A Y , et al. Gene flow and inbreeding depression inferred from fine-scale genetic structure in an endangered heterostylous perennial , *Primula sieboldii* [J]. *Molecular Ecology* , 2005 , 14 (4) : 983 – 990.
- [45] Van Rossum F , Triest L. Fine-scale genetic structure of the common *Primula elatior* (Primulaceae) at an early stage of population fragmentation [J]. *American Journal of Botany* , 2006 , 93 (9) : 1281 – 1288.
- [46] Heywood J S. Spatial analysis of genetic variation in plant populations [J]. *Annual Review of Ecology and Systematics* [J] , 1991 , 22 (1) : 335 – 355.
- [47] Richards A J. Plant breeding systems [M]. 2nd. London: Chapman & Hall , 1997.
- [48] Chung M Y , Nason J D , Chung M G. Spatial genetic structure in populations of the terrestrial orchid *Cephalanthera longibracteata* (Orchidaceae) [J]. *American Journal of Botany* , 2004 , 91 (1) : 52.
- [49] Van Rossum F , Bonnin I , Fénart S M , et al. Spatial genetic structure of a metalicolous population of *Arabidopsis halleri* , a clonal , self-incompatible , and heavy metal tolerant species [J]. *Molecular Ecology* , 2004 , 13 (10) : 2959 – 2967.
- [50] Vekemans X , Hardy O J. New insights from fine-scale spatial genetic structure analyses in plant populations [J]. *Molecular Ecology* , 2004 , 13 (4) : 912 – 935.
- [51] Rauch E M , Bar-Yam Y. Estimating the total genetic diversity of a spatial field population from a sample and implications of its dependence on habitat area [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences , USA* , 2005 , 102 (28) : 9826 – 9829.
- [52] Frankel O H , Soulé M E. Conservation and Evolution [M]. Cambridge , UK: Cambridge University Press , 1981.
- [53] Gao L M , Möller M , Zhang X M , et al. High variation and strong phylogeographic pattern among cpDNA haplotypes in *Taxus wallichiana* (Taxaceae) in China and North Vietnam [J]. *Molecular Ecology* , 2007 , 16 (22) : 4684 – 4698.
- [54] 周文嵩, 冯丹丹, 李东海, 等. 海南昌江县濒危药用植物的种群动态 [J]. *热带生物学报* , 2014 , 5 (4) : 392 – 400.

Age Structure and Gene flows of Fine-scale Populations of *Oreocharis dasyantha* (Gesneriaceae) , an Alpine Herb Endemic to Hainan Island

XING Enuo , XU Shitao , REN Mingxun

(Institute of Tropical Agriculture and Forestry/ Research Center for Terrestrial Biodiversity of the South China Sea ,
Hainan University , Haikou , Hainan 570228 , China)

Abstract: The spatial distribution , age structure and individual migration of plant populations in a partial land-form might give a deep revelation of dynamics and potential adaptivity of plant populations , which is a good reference for formulation of effective conservation measures for the plant populations. Four geographic populations of *Oreocharis dasyantha* , an epiphytic herb endemic to mountains in Hainan Island , which grow on rocks and are distinctly different in population at four sites , were selected to study their age structure and life table for each patch (fine-scale local population) within each geographic population , and to analyze the genetic structure and the intensity of gene flow between the patch populations by using the nuclear gene ITS and two chloroplast genes (*trn L-F* , *ycf1b*). The results show that the *O. dasyantha* populations tended to expand in the humid area of Hainan Island but tended to decline in the dry area of Hainan Island. The fine-scale local populations of *O. dasyantha* within the same site differed greatly in age structure , growth rate , mortality and disappearance rate , and were found to have private haplotypes growing in the same site. This may be due to the isolation effect of microtopography , such as the slope valley and the path , which led to the blocking of gene flow of *O. dasyantha* with weak dispersal ability on the fine scale (about 10 m). Therefore , for herbaceous plants with poor dispersal ability , it is necessary to maintain a smooth corridor for reproduction even at the fine-scale level , so as to avoid adverse effects of microhabitat such as slope valley and road to ensure long-term field conservation of the wild populations.

Keywords: *Oreocharis dasyantha*; patch; isolation; population dynamics; conservation; Hainan Island

(责任编辑: 钟云芳)