

长白山地区槭属植物遗传亲缘关系研究

丁仕雯 董佳 李玲 马跃 曲业宽 吴海湾 杨犀玉 赵子翰
(按姓氏拼音排列)

摘要: 我国是槭树科 (*Aceraceae*)种类最多的国家,包括金钱槭属 (*Dipteronia sinensis*)及槭属 (*Acer*),约 151 种。长白山地区常见的槭树种类共有 10 个物种。本次长白山野外实习,我们以这 10 种槭树属物种为实验材料进行实验,主要依据其形态学特征进行初步的分类,再通过 DNA 分子实验建立分子系统树,进一步确认其系统发育关系,并将两种结果进行分析比对,探究较准确的分类学依据。

关键词: 长白山地区 槭树科 槭属 形态学 分子系统树

前言

槭树科属双子叶植物纲蔷薇亚纲。乔木或灌木,落叶稀常绿。冬芽具多数覆瓦状排列的鳞片,稀仅具 2 或 4 枚对生的鳞片或裸露。叶对生,具叶柄,无托叶,单叶稀羽状或掌状复叶,不裂或掌状分裂。花序伞房状、穗状或聚伞状,由着叶的枝的几顶芽或侧芽生出;花序的下部常有叶,稀无叶,叶的生长在开花以前或同时,稀在开花以后;花小,绿色或黄绿色,稀紫色或红色,整齐,两性、杂性或单性,雄花与两性花同株或异株;萼片 5 或 4,覆瓦状排列;花瓣 5 或 4,稀不发育;花盘环状或褥状或现裂纹,稀不发育;生于雄蕊的内侧或外侧;雄蕊 4-12,通常 8;子房上位,2 室,花柱 2 裂仅基部联合,稀大部分联合,柱头常反卷;子房每室具 2 胚珠,每室仅 1 枚发育,直立或倒生。果实系小坚果常有翅又称翅果^[1];种子无胚乳,外种皮很薄,膜质,胚倒生,子叶扁平,折叠或卷折。

该科共 2 属 200 余种,分布于北温带和热带高山上,主要产地为中国和日本。我国是槭属种类最多的国家,包括金钱槭属及槭属,约 151 种。全国各地均有分布,主产长江流域及以南各省区^[2]。目前我国学者的研究主要集中在引种、栽培技术、生理、形态学以及分类等方面,鲜见利用分子水平对多种槭属物种进行系统研究^[3]。因此,我们采用 DNA 测序技术对长白山地区的槭属物种进行测序,并探讨其亲缘关系,为槭属植物的分类与利用提供科学依据。

槭树多系乔木,树干挺直,木材坚硬,材质细密,可作车轮、家具、农具、枕木及建筑

材料；有些种类的纹理壮观可用以制造乐器和工艺品；嫩叶可代替茶叶用作饮料；种子含脂肪，可榨油供食用及工业方面的应用；有些种类的树皮，其纤维可为造纸及人造棉提供原料；近年来尚有从树皮提取药物的报道。本科落叶种类在秋季落叶之前变为红色，果实具长形或圆形的翅，冬季尚宿存在树上，非常美观；且树冠冠幅较大，叶多而密，遮荫良好，为有经济价值的绿化树种之一，宜引种为行道树或绿化城市的庭园树种^[4]。

1. 实验材料

我们选取抚松县露水河镇部分地区的槭属物种 10 种为研究对象，具体信息见表 1。

表 1 本研究中所使用的样品的基本信息

种名	采集人	采集地点	采集时间
元宝槭 <i>Acer truncatum</i> Bunge	马 跃	露水河电站	7月10日
色木槭 <i>Acer mono</i> Maxim.	丁仕雯	黎明林场	7月4日
假色槭 <i>Acer pseudo-sieboldianum</i> (Pax) Komatov	马 跃	永青林场	7月2日
茶条槭 <i>Acer ginnala</i> Maxim.	李 玲	黎明林场	7月4日
花楷槭 <i>Acer ukurunduense</i> Trautv. Et Mey	丁仕雯	露水河电站	7月10日
小楷槭 <i>Acer komarovii</i> Pojark.	赵子翰	黎明林场	7月4日
青楷槭 <i>Acer tegmentosum</i> Maxim.	董 佳	永青林场	7月2日
簇毛槭 <i>Acer barbinerve</i> Maxim.	曲业宽	露水河电站	7月10日
拧筋槭 <i>Acer triflorum</i> Kom	吴海湾	露水河电站	7月10日
白牛槭 <i>Acer mandshuricum</i> Maxim.	杨犀玉	永青林场	7月2日

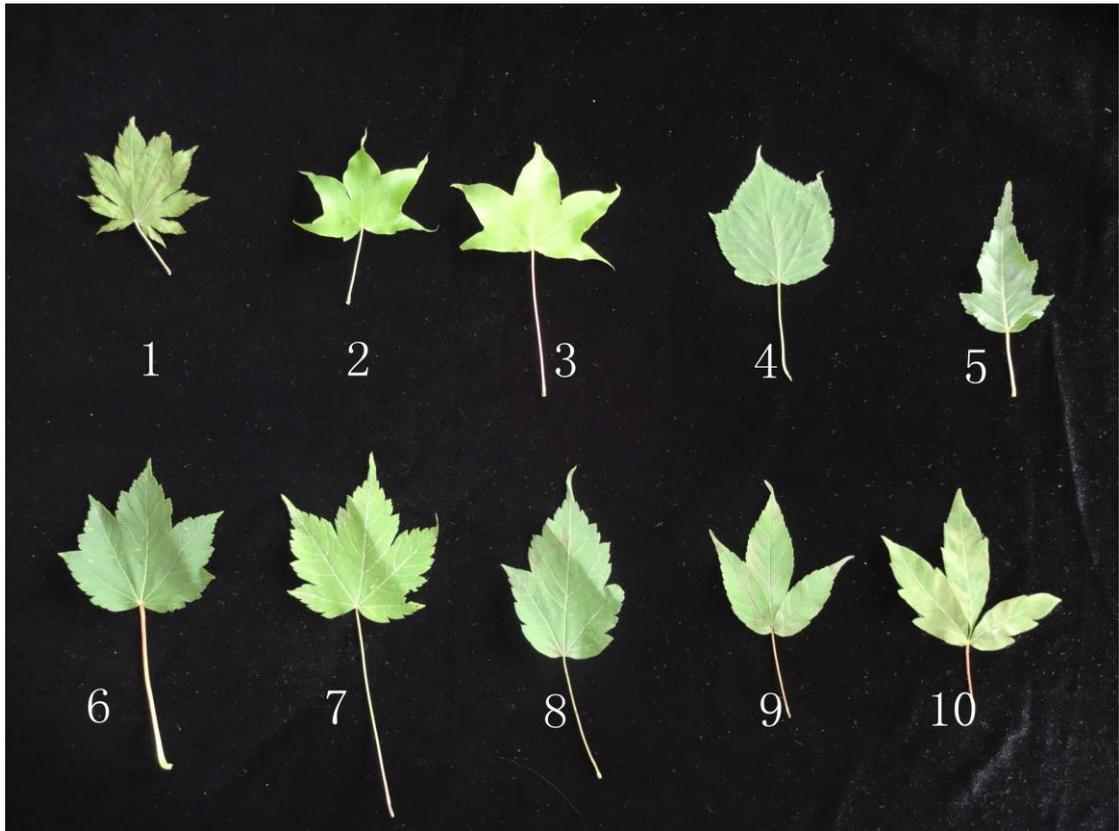


图 1 十种槭属物种叶片形态对比

(物种名称: 1. 假色槭 2. 色木槭 3. 元宝槭 4. 青楷槭 5. 茶条槭 6. 簇毛槭 7. 花楷槭 8. 小楷槭 9. 白牛槭 10. 拧筋槭)

2. 实验方法

2.1 植物标本的制作与新鲜材料的保存

2.1.1 植物标本制作

(1) 采集

本小组分别于永青林场、黎明林场及露水河电站采集到10种植物的标本。采集时，尽量取得完整的植物标本，包括其茎、叶、花、果实等器官。但是，由于季节的限制，本组采集的植物标本只包括茎、叶、果实，且尽量选取了槭树具有典型代表性的部分。

(2) 压制

在压制标本之前考虑到台纸的大小，因此首先对所采的槭树标本进行修剪，除去部分枝叶。植物刚采回来时体内有大量的水分，不易定型，因此不能立即整形；而由于水分的蒸发，植物标本干透后，变得干脆不易移动，也不利于整形。所以，本组将槭树标本采集回来的第二天早上定为标本整形时间。我们用镊子将槭树的枝、叶、果实等各部分展开，均保留其正反面。整形后将夹好的标本叠起来放在标本夹板中，用绳捆紧。此后，每天定时更换吸水纸，

保持干燥，以免标本发霉。

2.1.2 新鲜材料的保存——硅胶干燥保存

将事先烘干的硅胶颗粒(1~1.5毫米)慢慢倒入盛放标本的盒子或标本瓶中使其充满标本的每个空隙,直到完全覆盖为止,然后将标本放入干燥箱中5~6天,硅胶作为干燥剂吸去标本中的水分,如有真空干燥器可将标本置于其中抽气并保持低压二天左右也可完成脱水过程。

2.2 植物标本的观察与检索表的编写

本小组在此次长白山地区实习过程中共采集到十种槭树的标本,即白牛槭(*Acer mandshuricum Maxim.*)、拧筋槭(*Acer triflorum Kom*)、元宝槭(*Acer truncatum Bunge*)、色木槭(*Acer mono Maxim.*)、假色槭(*Acer pseudo-sieboldianum (Pax) Komarov*)、花楷槭(*Acer ukurunduense Trautv. et Mey*)、茶条槭(*Acer ginnala Maxim.*)、青楷槭(*Acer tegmentosum Maxim.*)、小楷槭(*Acer komarovii Pojark.*)、簇毛槭(*Acer barbinerve Maxim.*)。通过组员共同观察,并查阅相关文献和书籍^[5],多次讨论整理后得到它们的形态学分析如下:

表 2 各物种形态学分析

	叶 型	叶子的分 裂	叶子基部 形状	花	冬 芽	果实形状
白牛槭	复叶	侧脉 9-11 对	中生小叶 基部楔形, 两侧小叶 基部倾形, 近于圆形	黄绿色 伞房花序 仅具 3—5 花 杂性 花 5 基数	很小,鳞片 无毛	小坚果凸 起,长 1-1.5 厘 米,宽 8 毫 米
拧筋槭	复叶	侧脉 11-13 对	顶生小叶 基部楔形 或阔楔形, 侧生小叶	伞房花序 密被疏柔 毛 具 3 花	细小,鳞片 边缘纤毛 状覆瓦状	小坚果凸 起,近于球 形,直径

			基部倾斜 或钝形	杂性	排列	1-1.3 厘米，密被淡黄色疏柔毛
元宝槭	单叶	常5裂，稀7裂	截形，稀近于心形	黄绿色杂性 常成无毛的伞房花序 花5基数	较小，卵圆形，鳞片锐尖，外侧微被短柔毛	小坚果压扁状，长1.3-1.8厘米，宽1-1.2厘米
色木槭	单叶	常5裂，有时3裂或7裂	截形或近于心形	黄绿色杂性 常成无毛的顶生圆锥状伞房花序 花5基数	近于球形，鳞片卵形，外侧无毛，边缘具纤毛	小坚果压扁状，长1-1.3厘米，宽5-8毫米
假色槭	单叶	9-11裂	心形或深心形	紫色杂性 常成被毛的伞房花序 花5基数	卵圆形，鳞片卵形，6枚，外侧密被疏柔毛	小坚果凸起，脉纹显著，长5-7毫米，宽4-5毫米
花楷槭	单叶	常5裂，稀7裂	截形或近于心形	黄绿色单性、雌雄异株 具短柔毛的直立的顶生总状圆锥花序 花5基数	短圆锥形，外部2枚鳞片，深紫色，有黄色短柔毛，内部两枚苞片有褐色短柔毛	小坚果卵圆形，微有毛，直径6毫米
茶条槭	单叶	较深的3-5裂	圆形，截形或略近心形	黄绿色无毛伞房花序 杂性 花5基数	细小淡褐色，鳞片8枚，近边缘具长柔毛，覆叠	小坚果嫩时被长柔毛，脉纹显著，长8毫米，宽5毫米

青楷槭	单叶	3-7 裂, 通常 5 裂	圆形或近于心形	黄绿色 杂性 无毛总状花序 花 5 基数	椭圆形, 鳞片浅褐色, 无毛	小坚果微扁平
小楷槭	单叶	常 5 裂, 稀 3 裂, 每裂片再分裂成小裂片	心形或近于心形	黄绿色 单性 雌雄异株 细瘦无毛的总状花序 花 5 基数	紫色, 椭圆形	小坚果微扁平, 长 8 毫米, 宽 5 毫米, 排列几成水平状
簇毛槭	单叶	5 裂	心形或近于心形	黄绿色 单性, 雌雄异株 (雌花: 总状花序, 被微柔毛; 雄花: 密伞花序, 花 4 基数)	细小, 鳞片 2, 无毛	小坚果近于球形, 脉纹显著

2.3 分子实验

2.3.1 植物 DNA 的提取

对所采的标本用改良的 CTAB 法提取 DNA, 即在加入 4×CTAB 缓冲液进行水浴之前, 加入 1mL 洗脱缓冲液, 充分混匀后置于冰上 5min, 不时上下颠倒, 再加入 3μL 巯基乙醇, 在 4℃ 冷冻离心, 12000rpm, 15min, 弃上清, 重复洗脱一次。这样做防止在 DNA 沉淀过程中多糖也被同时沉淀下来, 造成对实验的干扰。这一改良步骤是能否提取到高质量植物 DNA 的关键。

2.3.2 PCR 的扩增检测与测序

采用 ITS4、ITS5 引物进行 PCR 扩增, 引物由生工生物工程 (上海) 有限公司合成。扩增体系为 30μL, 内含 10×PCR buffer (Mg²⁺ free) 3.0μL, dNTP (10mmol) 0.6μL, 引物各 0.5μL (10pmol/μL), 3dH₂O 21.1μL。反应程序为 95℃ 预变性 5min, 94℃ 变性 30s, 50℃ 退火 30s, 72℃ 1min, 共 35 个循环; 72℃ 延伸 8min, 4℃ 保存。扩增反应在 ABI 2720 PCR (ABI, USA)

仪上进行。PCR产物于1.5g/L琼脂糖凝胶电泳检测后使用ABI3730 (ABI, USA) 测序仪进行测序。

3. 实验结果

对形态学分析和分子实验的结果整理统计得到如下的植物检索表和分子系统树。

3.1 植物检索表

1. 三出复叶

2. 叶边缘具钝锯齿，鳞片无毛

.....白牛槭 *Acer mandshuricum* Maxim.

2. 叶边缘中段以上有二至三个粗钝齿，冬芽细小，鳞片边缘纤毛状，覆瓦状排列

.....拧筋槭 *Acer triflorum* Kom

1. 单叶对生

3. 叶片全缘无毛

4. 叶基部截形，稀心形，裂片常三角形或披针形，掌状5裂，稀7裂

.....元宝槭 *Acer truncatum* Bunge

4. 叶基部心形或截形，裂片卵形，掌状5裂，有时3裂或7裂

.....色木槭 *Acer mono* Maxim.

3. 叶片边缘具锯齿

5. 叶常9-11裂.....假色槭 *Acer pseudo-sieboldianum* (Pax) Komatov

5. 叶常3裂、5裂或7裂

6. 翅果，翅张开呈锐角或直角

7. 芽短圆锥形，外部两枚鳞片，深紫色，有黄色短柔毛，内部两枚苞片，有褐色短柔毛

.....花楷槭 *Acer ukurunduense* Trautv. Et Mey

7. 冬芽细小，淡褐色，鳞片8枚，边缘具长柔毛，覆叠

.....茶条槭 *Acer ginnala* Maxim.

6. 翅果，翅张开呈钝角或近水平

8. 叶裂片边缘具有重锯齿，翅果长2.5-3.0cm

9. 叶片有顿尖的重锯齿，先端常具短锐尖头，裂片间凹缺，通常顿尖

.....青楷槭 *Acer tegmentosum* Maxim.

9. 中央裂片较大，先端常尾尖，两侧裂片三角状卵形，较小而狭，近基部两侧裂片较小，边缘有稀缺刻，有牙齿状重锯齿

.....小楷槭 *Acer komarovii* Pojark.

8. 叶边缘无重锯齿，具粗顿锯齿，叶片中间凹缺狭窄，约为15°锐角

.....簇毛槭 *Acer barbinerve* Maxim.

3.2 分子系统树

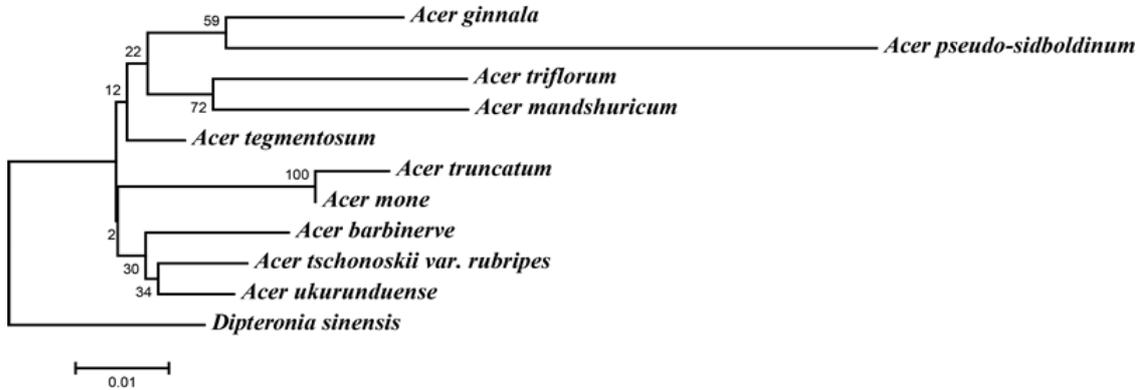


图 2 槭属系统发育树

4. 实验结果分析

根据经典的植物分类学进行分析，槭树科植物主要有单叶与复叶两种叶型，色木槭、元宝槭、茶条槭、花楷槭、簇毛槭、假色槭等属于单叶类，白牛槭、拧筋槭等为复叶类；植物的花型，一般有单性、花两性或杂性，雄花与两性花同株或异株等；元宝槭、白牛槭、拧筋槭、色木槭、假色槭、茶条槭、青楷槭为花杂性，花楷槭、小楷槭、簇毛槭为花单性、雌雄异株。此外，还可以根据叶型、叶子的分裂方式、叶子基部的形状、花、冬芽、翅果的张开角度等方面进行比较，以判断其亲缘关系。

根据分子系统树进行分析，在本次试验涉及的 10 种槭树中，假色槭、茶条槭、拧筋槭、白牛槭、青楷槭为一个类群，元宝槭、色木槭、簇毛槭、小楷槭、花楷槭为另一个类群。从分子系统树中可得出白牛槭与拧筋槭在同一个二权分支上，说明它们的进化关系最近，而与其他种类关系则较远，与形态学结果分析吻合；元宝槭与色木槭也在分子系统树的同一个二权分支上，说明它们在进化关系相近，与形态学结果分析吻合。从形态学上来看，元宝槭与色木槭在叶型、叶子的分裂、叶子基部形状、花、冬芽、果实形状等方面均很相似，而拧筋槭与白牛槭只在叶型、花、果实形状等方面较为相似，与分子系统树的结果统一。

由此可见，部分形态学分类结果与分子实验结果相吻合，说明根据形态学特征能够分析出部分槭树种之间的亲缘关系。然而，茶条槭与假色槭虽然在分子系统树上在同一分支，但其形态学特征相差较远。所以，将两种方法结合才能够更加科学有效地分析出同一属的不同槭树种之间的亲缘关系与进化先后顺序。通过本次实习与实验过程，本小组发现根据形态学特征和分子系统树两种研究方法，能够在今后的研究过程中提高效率，甚至在发现和研新物种时做出更加科学正确的判断，实现更大的应用价值。

参考文献

[1].Aceraceae in L. Watson and M. J. Dallwitz (1992 onwards), The families of flowering plants.

[2]. 方文培, 槭树科. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1981:66-273

[3]. 张冬梅, 魏华丽, 苏金乐, 等. 槭属树种 ISSR-PCR 反应体系的确立. 上海农业学报 [J]. 2008 ,24(1): 51 - 54 .

[4]. 槭树科. 中国植物物种信息数据库[引用日期 2013-05-16].

[5]. 陈艺林. 中国植物志. 46. 北京: 中国科学出版社. 1994