黄盖鹅膏白色变种生态环境研究*

李宗菊 沙 涛 张微思 张志国
云南大学生命科学学院，昆明 650091

摘要 黄盖鹅膏白色变种(*Amanita subjunquillea var. alba*)，剧毒，在我国分布数量有限，对环境较敏感. 在云南的武定、宜良发现了该种，并对其进行了连续三年的跟踪记录，调查了其最佳生态因子，并人为设置破坏生境，将受损生境及保护良好生境下种群的生长特性、遗传变异特征进行了对比研究. 结果表明，黄盖鹅膏白色变种主要生长于青冈、栎树等阔叶林中，林木郁闭度0.7—0.9，具1000—2000 lx的散射光，腐叶层厚3—9 cm，土层富含矿物质，有机质含量、土壤含水量、土壤容重、pH分别为20%—35%，35%—43%，0.90—1.10 g/cm^3，5.5—6.5. 空气的相对湿度及温度分别为70%—80%，25—27℃. 当共生树木被砍伐50%以上时，三年不能观察到任何子实体；当树木只被砍伐三分之一(C)时，第一年(C1)、第二年(C2)及第三年(C3)的出菇率分别为35%，25%，10%；当地表腐叶层全部被铲除(D)时，第一年(D1)、第二年(D2)及第三年(D3)的出菇率分别为55%，20%，15%；而未受破坏的生境，出菇率在80%以上. ISSR遗传分析和rDNA测序也表明，受损的生境，无论是C，还是D，所长出的子实体不但外型上比原生境(E)下的瘦小，而且遗传上也发生了一定的变异，第一年与第二年，变异不大，到第三年就发生了明显的分化. 如C1，D1；C2，D2；C3，D3与E种群的平均遗传相似度分别为0.9950，0.9952；0.9861，0.9822；0.9456，0.9496；C1，D1；C2，D2；C3，D3与E种群的碱基数之差分别为3，2；5，4；11，9. 这个结果从遗传聚类图也可以看出. 这表明随着生境的破坏，物种的遗传多样性发生了明显变化.

关键词 黄盖鹅膏白色变种 自然生境 破坏生境 生长及遗传特性

鹅膏属(Amanita)隶属于担子菌亚门、层菌纲、伞菌目、鹅膏科(Amanitaceae)，是大型真菌中较特殊、珍贵的一个世界性广布大属，其物种多样性是非常丰富的. 全球已报道近400种，中国已记录的近100种(含亚种、变种及变型)[1,2]. 其价值大、应用范围广，除一些种如红黄鹅膏(*A. hemibapha* (*Berk.* & *Broome*) *Sacc.*)、隐花青鹅膏(*A. manginiana sensu W. F. Chiu*)等可食用外[3]，还在生物防治，开发新特效药如抗肿瘤药、抗菌及抗病毒药、镇静或麻醉药等领域具有潜在的应用前景. 但鹅膏属大多为外生菌根真菌，属于自然界中难培养或未能培养的微生物，目前还不能人工、半人工栽培. 因此，难以开发利用，至今国内外还没有一种能规模化开发的鹅膏毒素产品. 如今随着全球生态危机的出现，我国的许多大型真菌资源已告危，通过近三年对云南各地的调查，鹅膏菌属的许多种群和个体数量已大大减少，处于严重衰退及濒危状态，而部分种可能还没有被人类认识或发现其价值时，就已面临着灭绝的风险. 这更增加了其进一步被研究、利用的难度.

黄盖鹅膏白色变种(*Amanita subjunquillea var. alba Zhu L. Yang*)为鹅膏属檐托鹅膏组黄盖

2006-12-13收稿，2007-03-05收修改稿
* 国家自然科学基金(批准号：30360021)及云南省自然科学基金(批准号：2002D0005M)资助项目
E-mail：zjlee@ynu.edu.cn；lizongju@yahoo.com.cn
?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

鹅膏的白色变种，是目前已知剧毒鹅膏种类之一，外形酷似白条盖鹅膏(*A. chepangiana Tulloss & Bhandary*)及灰托鹅膏白色变种(*A. vaginata var. alba* (*De Seynes*) *Gillet*)[3]，在我国的北京(1970及1978)、吉林(1960)、河南(1968)、湖北(1984)、湖南(2000)、台湾(1995)、广东(1981)、四川(1971)、贵州(1988)、西藏(1976)、陕西(1991)、甘肃(1992)等地发现过该种的标本[3]. 在云南，杨祝良曾于勐海(1991)和彝良(1998)发现过该种[3]，但自2002年以来，我们对云南境内40多个县(包括勐海和彝良)进行了四年的反复调查，仅在武定、宜良发现了该种的个体，可见黄盖鹅膏白色变种分布有限，在数量上属于稀有或趋少物种. 为了进一步了解黄盖鹅膏白色变种的生长习性，最佳生态因子或条件，对其进行了连续三年的跟踪记录，并人为设置破坏生境，将受损生境及保护良好生境下种群的生长习性、遗传变异特征进行了对比研究，以期探讨菌物在生境破碎下的衰退现象或规律，为今后政府制定和实施保护濒危大型菌物的方针、政策等提供依据.

1 材料和方法

1.1 材料

黄盖鹅膏白色变种，取自云南的武定狮山及宜良九乡. 在两处设置固定样点进行连续调查.

1.2 方法

(1) 生境土壤理化性质及含水量的测定：常规法[4].

(2) 空气湿度及温度测定：TES-1365手持温湿度计(台湾)

(3) 光强测定：TES 1336A手持光照计(台湾)

(4) 总DNA的提取：改良CTAB法.

(5) 核糖体DNA系列测定[5—7]：(i) PCR扩增及测序 扩增反应在Effendoff PCR仪上进行. 用ITS1(TCCTCCGCTTATTGATATGC)和ITS2(GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG)两条引物，进行PCR扩增，反应总体积50μL，其中，Mg^{2+} 2.5 mmol/L，buffer 1×，DNTP 0.3 mmol/L，引物0.25 mmol/L，模板15—25 ng/μL(2.5μL)，Taq酶2.5 U，反应混合物用50μL石蜡油覆盖. 扩增程序为，94℃预变性5 min；94℃变性35 s，52℃退火45 s，72℃延伸55 s，40个循环；72℃延伸7 min. 扩增产物进行纯化，用3730测序仪进行测序. 扩增部位见图1. (ii) 序列分析 用EditSeq软件进行碱基校对，用MegAlign及Clustalx1.8软件进行数据转换，用BioEdit软件进行系列比对，用Mega2软件进行遗传聚类.

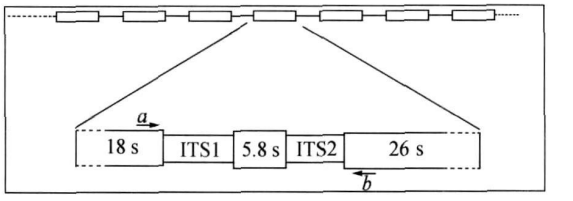

图1 18 S及26 S rDNA的基本结构

箭头示PCR扩增和测序引物(仿Wendel, et al., 1995)[8]

a=5′-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3′;

b=5′-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3′

(6) 分子标记ISSR(Inter-simple sequence repeat)方法：(i) PCR扩增 扩增反应在Effendoff PCR仪上进行，反应总体积20μL，其中，Mg^{2+} 2.5 mmol/L，buffer 1×，DNTP 0.3 mmol/L，引物0.25 mmol/L，模板15—25 ng/μL，Taq酶1 U，反应混合物用20μL石蜡油覆盖. 扩增程序为，94℃预变性5 min；94℃变性30 s，52℃退火45 s，72℃延伸1 min，40个循环；72℃延伸7 min. (ii) 扩增产物的检测 取反应混合物4μL，上样缓冲液(含0.25%溴酚蓝，40%蔗糖)3μL，混匀，点入1.8%琼脂糖凝胶中，用DYY-33B型电泳槽，1×TAE作缓冲液，100bpDNA Ladder Plus为Marker，45 V电压电泳3 h，凝胶置于5 mg/L的EB溶液中染色30 min，水洗后于紫外检测仪下观察照相. (iii) 引物的筛选 用两个种群的混合DNA样，对40条ISSR引物进行筛选，从中选出清晰、明亮、重复性好，多态性强的9条引物. 各引物的序列见表1. (iv) 数据处理 每个样品，同一引物，同一位点的产物，按扩增阳性(1)和扩增阴性(0)记录电泳谱带，形成0，1数据矩阵，用POPGENE软件进行分析. 根据POPGENE遗传距离，用Mega2软件进行UPGMA聚类，构建群间的系统树.

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 1 用于样品分析的九条引物

ISSR 引物	序列	ISSR 引物	序列
I—7	CCC GTG TGT GTG TGT	I—14	GGC GGC GGC GGC GGC
I—9	CGC CGA GAG AGA GAG A	I—15	AGC AGC AGC AGC AGC
I—10	GCA TGA GAG AGA GAG A G	I—16	ACT GAC TGA CTG ACT G
I—11	CCA GAG GAG GAG GAG	I—17	GAC AGA CAG ACA GAC A
I—12	GCG ACA CAC ACA CAC A		

2 结果与分析

2.1 样地的土壤和生境特征

所选两个样点，武定狮山为国家级自然保护区，宜良九乡为附近村民的自然林. 自两个样点发现 *A. subjunquillea var. alba* 种群后，以采样地为中心，对方圆 50 m 以内进行反复调查，结果见表 2 及表 3.

表 2 武定、宜良种群土壤和生境特征

种群a)	生境	生境土壤基本理化性质												
		有机质/%	pH	容重/(g·cm^{-3})	全量养分/(g·kg^{-1})									
					N	P	K	S	Ca	Mg	Zn	Cu	Mn	B	Mo
宜良九乡	阔叶林	22.66	6.35	1.02	4.72	0.89	4.80	0.59	3.50	2.90	0.0529	0.0269	0.479	0.0551	0.0140
武定狮山	阔叶林	30.75	5.50	0.98	4.37	0.84	3.00	0.57	2.00	2.50	0.0707	0.0790	1.900	0.0890	0.0186

a) 宜良九乡以壳斗科的青冈、翅斗科的锥连栎、越桔科的乌饭等阔叶树为主，离叶层厚 3—6 cm，武定狮山以壳斗科的元江栲、青冈等阔叶树为主，离叶层厚 4—9 cm. 二者都是土表层疏松、潮湿、林子茂密，林间有稀薄的阳光透入.

表 3 武定、宜良种群土壤和生境特征

种群	生境土壤基本理化性质											
	速效养分/(g·kg^{-1})											
	N	P	K	S	Ca	Mg	Zn	Cu	Mn	B	Mo	Fe
宜良九乡	0.2919	0.0501	0.381	0.0729	0.149	0.111	0.0143	0.0035	0.157	0.0000	0.0001	0.054
武定狮山	0.5845	0.0676	0.251	0.0933	0.556	0.120	0.0212	0.0060	0.521	0.0003	0.0002	0.326

可以看出，两个样点都以青冈(*Cyclobalanopsis glaucoides*)、栎树(*Querus franchetii*)等阔叶林为主，林子茂密，且具有较厚的腐叶层，土表层疏松、透气、潮湿，有稀薄的阳光透入. 土层有机质含量高、矿物质养分丰富，土壤容重较小，偏微酸性.

2.2 环境因子对黄盖鹅膏白色变种生长的影响

温度、湿度、光照等环境条件，是野生菌类生长发育的重要影响因子. 只有条件适宜，才能长出良好的子实体，否则，即使土壤及共生树木较好，有大量的菌丝，却难以萌发出子实体.

图 2 是土壤含水量对出菇率的影响. 可以看出，在一定范围内(小于 43%)，随着含水量的增加，出菇率逐渐增大，当大于 50%时，出菇率明显下降，至 75%时已无法长出子实体. 其中以 35%—43%较为合适.

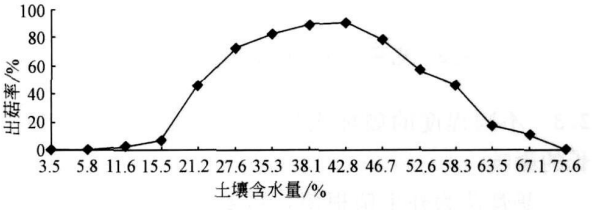

图 2 土壤含水量对黄盖鹅膏白色变种出菇率的影响

图 3 是空气湿度对出菇率的影响. 最适宜的空气湿度(RH)为 70%—80%，大于 80%，出菇率有所下降，但下降不多.

温度的影响可以见图 4. 温度在 24—30 ℃范围内较好，以 25—27 ℃最合适.

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

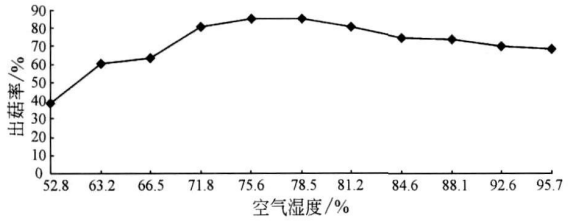

图 3 空气湿度对黄盖鹅膏白色变种出菇率的影响

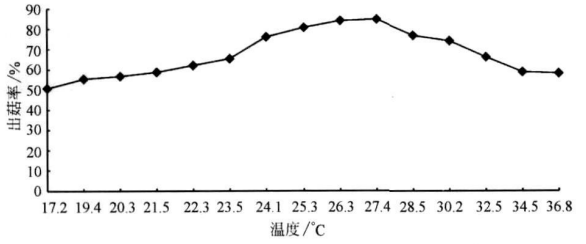

图 4 温度对黄盖鹅膏白色变种出菇率的影响

菌体一般生长在浓密的树阴下，太强的直射光可能不利于其生长．若光线过暗，也不利于菌丝扭结．一般需要一定的散射光刺激，适宜的弱光是成熟菌丝顺利扭结的重要环境因子．从图 5 可以看出，1000—2000 lx 的散射光较好．一般每天保证 1000—2000 lx 的光照 2—4 h，200—900 lx 的弱光，6—8 h，即足以诱导子实体的形成．

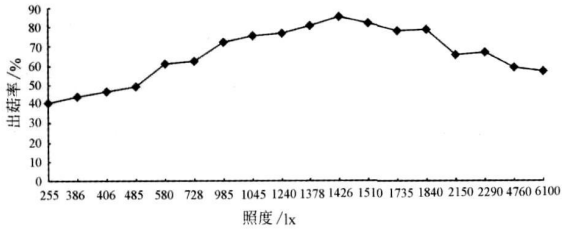

图 5 光强对黄盖鹅膏出菇率的影响

2.3 不同程度的破坏生境对黄盖鹅膏白色变种生长的影响

鹅膏菌为外生菌根菌，需要有共生的树种，需要良好的腐质层，还需要适宜的温湿度，一旦环境遭到破坏，子实体的生长就会受到影响．本文以狮山为点，在菇体大量出生之地，人为设计了几种不良生境，比较其对子实体形成的影响，结果见表 4．

可以看出，当树木被砍伐 50%以上时，生境受到严重破坏，光强、温度、湿度(空气湿度和土壤含水量)都发生了较大的变化，腐叶层减少，杂草逐年增多，土层趋于板结，容重及酸性有所增加，有机质及全量、速效 N，P，K 都明显降低，这种生境已不适于菌类的生长，三年都没有观察到子实体；如果树木只被砍伐三分之一(交替间隔砍伐)，虽然生境有所破坏，但仍有一定的林木郁闭度(0.5—0.6)，有部分散射光，此时的土壤含水量及空气湿度还基本能维持子实体生长，所以在第一年，仍然有一定的出菇率(35%)，但到第二年以后，随着土表腐叶层的减少和营养成分的降低，整个生境趋于恶化，出菇率降低，如第二年和第三年的出菇率分别为 25%和 10%；地表疏松透气的腐叶层是菇体生长的重要因子，本文通过人为地铲除腐叶，并持续保证观察点无任何落下的叶子，发现虽然林木的郁闭度、光照、湿度等因素都没有太大变化，但整个土表的结构及营养发生了明显变化，导致出菇率明显下降，如第一年、第二年及第三年的出菇率分别为 55%，20%，15%．

将表 4 中的 C，D，E，F 处理，三年共采到的 12 个小群体(每个群体的子实体个体数见表 5)，进行 ISSR 遗传分析．由表 5 可以看出，E1，E2，E3 之间，F1，F2，F3 之间的平均遗传一致度分别为 0.9971，0.9970，表明未受破坏的生境，每年长出的子实体遗传相似度非常高；而受损的生境，无论是 C(树木被砍伐三分之一)，还是 D(铲除地表腐叶)，所长出的子实体不但外型上都不如原生境(E、F)下的肥大，而且遗传上也发生了一定的变异，第一年(C1，D1)与第二年(C2，D2)，变异还不是很大，到第三年就发生了明显的变异，结果见表 6．

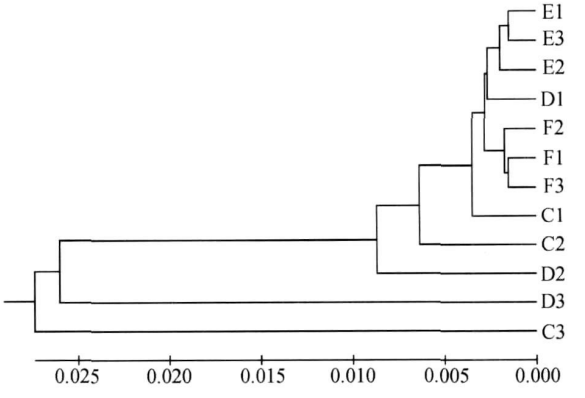

图 6 黄盖鹅膏白色变种 12 个种群间的 ISSR 遗传聚类图

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表4 不同生境下黄盖鹅膏子实体的出菇率

处理		A（出菇地方圆7 m内的树木全被砍伐）			B（出菇地方圆7 m内的树木一半被零星砍伐）			C（出菇地方圆7 m内的树木1/3被零星砍伐）			D（出菇地土表的腐叶层被全部铲除，一旦有落叶就除去）			E（武定种群—未受破坏）			F（宜良种群—未受破坏）		
		第一年（A1）	第二年（A2）	第三年（A3）	第一年（B1）	第二年（B2）	第三年（B3）	第一年（C1）	第二年（C2）	第三年（C3）	第一年（D1）	第二年（D2）	第三年（D3）	第一年（E1）	第二年（E2）	第三年（E3）	第一年（F1）	第二年（F2）	第三年（F3）
生境描述		土表有约3 cm的腐叶层，疏松但干燥	部分杂草，土表干燥	杂草丛生，地表板结，干燥	土表有约3 cm的腐叶层，疏松较干燥	部分杂草，土表干燥	杂草较多，地表稍板结，干燥	土表有约4 cm的腐叶层，疏松较干燥	土表有约2 cm的腐叶层，疏松较干燥	土表有约1 cm的腐叶层，少量杂草，疏松干燥	土表较疏松，较潮湿	部分杂草，土表干燥	大多杂草，土表干燥	土表有约7 cm的腐叶层，疏松潮湿	土表有约7 cm的腐叶层，疏松潮湿	土表有约7 cm的腐叶层，疏松潮湿	土表有约5 cm的腐叶层，疏松潮湿	土表有约5 cm的腐叶层，疏松潮湿	土表有约5 cm的腐叶层，疏松潮湿
林木郁闭度		0	0	0	0.2—0.4	0.2—0.4	0.2—0.4	0.5—0.6	0.5—0.6	0.5—0.6	0.7—0.9	0.7—0.9	0.7—0.9	0.7—0.9	0.7—0.9	0.7—0.9	0.7—0.9	0.7—0.9	0.7—0.9
照度/10^4 lx		7—9	7—10	7—10	4—7	4—7	4—7	3—5	3—5	3—5	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2
空气相对湿度/%		45—55	45—62	40—58	48—65	50—60	45—65	50—70	50—70	50—70	70—80	70—80	70—80	75—90	75—90	75—90	70—85	70—85	70—85
土壤含水量/%		20—25	18—28	20—28	25—30	27—35	24—35	25—40	25—40	25—40	30—40	30—40	30—40	38—45	38—45	38—45	35—45	35—45	35—45
温度/℃		26—30	27—30	25—30	26—29	23—29	24—28	23—30	23—29	24—28	24—27	24—27	24—27	24—27	24—27	24—27	24—27	24—27	24—27
有机质/%		15.86	8.67	3.92	15.39	10.46	8.69	18.89	14.56	11.68	8.68	7.80	5.23	31.25	30.08	34.89	23.60	22.87	24.86
容重/($g \cdot cm^{-3}$)		1.12	1.37	1.62	1.15	1.28	1.43	1.01	1.18	1.22	1.19	1.25	1.39	0.92	0.95	0.90	1.01	0.99	1.08
pH		5.0	5.0	4.5	5.0	5.0	4.8	5.4	5.5	5.0	5.6	5.5	5.5	5.9	6.3	6.5	5.8	6.0	6.0
全量养分/($g \cdot kg^{-1}$)	N	4.04	1.70	0.98	4.21	2.08	1.68	4.88	3.80	3.25	2.08	1.28	0.79	6.77	5.58	6.89	4.66	4.39	4.45
	P	0.48	0.25	0.05	0.50	0.30	0.12	0.63	0.56	0.48	0.25	0.15	0.08	0.90	0.95	1.07	0.80	0.78	0.86
	K	2.68	1.27	0.76	3.02	2.46	1.98	3.42	3.05	2.78	2.00	1.58	1.10	4.50	4.79	4.94	3.78	3.89	3.50
速效养分/($g \cdot kg^{-1}$)	N	0.204	0.106	0.069	0.257	0.160	0.108	0.301	0.245	0.209	0.145	0.088	0.049	0.493	0.352	0.502	0.295	0.307	0.288
	P	0.032	0.016	0.003	0.027	0.020	0.010	0.034	0.030	0.025	0.012	0.007	0.005	0.058	0.062	0.066	0.047	0.042	0.050
	K	0.134	0.061	0.031	0.157	0.116	0.089	0.176	0.149	0.128	0.110	0.069	0.050	0.225	0.258	0.265	0.179	0.198	0.169
出菇率/%		0	0	0	0	0	0	35	25	10	55	20	15	85	90	85	80	80	85
菇体描述[a)]								子实体较大，瘦弱*	子实体小，瘦弱**	子实体小，瘦弱	子实体较大，瘦弱	子实体小，瘦弱	子实体小，瘦弱	子实体大，健壮***	子实体大，健壮	子实体大，健壮	子实体大，健壮	子实体大，健壮	子实体大，健壮

a) *：菌盖4—8 cm，菌柄长7—8 cm，菌柄粗0.5—0.8 cm；**：菌盖3—5 cm，菌柄长3—6 cm，菌柄粗0.5—0.8 cm；***：菌盖7—10 cm，菌柄长9—12 cm，菌柄粗1—2 cm

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表5 黄盖鹅膏白色变种12个种群Nei's遗传一致度(上三角)和遗传距离(下三角)[a)]

pop ID	C1(9)	C2(5)	C3(2)	D1(13)	D2(6)	D3(3)	E1(20)	E2(23)	E3(22)	F1(19)	F2(20)	F3(21)
C1(9)	****	0.9908	0.9685	0.9870	0.9855	0.9553	0.9952	0.9956	0.9941	0.9939	0.9951	0.9940
C2(5)	0.0091	****	0.9615	0.9998	0.9820	0.9385	0.9856	0.9870	0.9858	0.9876	0.9860	0.9882
C3(2)	0.0323	0.0293	****	0.9239	0.9125	0.9450	0.9448	0.9446	0.9475	0.9440	0.9409	0.9494
D1(13)	0.0162	0.0111	0.0762	****	0.9856	0.9435	0.9958	0.9957	0.9942	0.9945	0.9959	0.9946
D2(6)	0.0150	0.0182	0.0883	0.0152	****	0.9638	0.9828	0.9825	0.9812	0.9819	0.9827	0.9830
D3(3)	0.0451	0.0621	0.0555	0.0572	0.0372	****	0.9508	0.9500	0.9480	0.9498	0.9482	0.9416
E1(20)	0.0052	0.0151	0.0563	0.0050	0.0174	0.0500	****	0.9968	0.9976	0.9938	0.9950	0.9955
E2(23)	0.0055	0.0133	0.0556	0.0053	0.0181	0.0553	0.0042	****	0.9970	0.9951	0.9953	0.9971
E3(22)	0.0061	0.0152	0.0532	0.0063	0.0193	0.0523	0.0032	0.0041	****	0.9939	0.9937	0.9940
F1(19)	0.0064	0.0131	0.0566	0.0060	0.0195	0.0505	0.0068	0.0050	0.0062	****	0.9970	0.9969
F2(20)	0.0053	0.0143	0.0500	0.0056	0.0182	0.0524	0.0052	0.0052	0.0065	0.0032	****	0.9973
F3(21)	0.0062	0.0122	0.0510	0.0062	0.0172	0.0592	0.0050	0.0042	0.0061	0.0035	0.0036	****

a) 括号内的数字表示该群体的子实体个体数

表6 C, D处理与原生境E, F的平均遗传一致度

	第一年		第二年		第三年	
	C1	D1	C2	D2	C3	D3
E(E1、E2、E3)	0.9950	0.9952	0.9861	0.9822	0.9456	0.9496
F(F1、F2、F3)	0.9943	0.9950	0.9873	0.9825	0.9448	0.9465

在图6中，F1，F2，F3，E1，E2，E3，各聚为一支，二者分别在$D=0.0025$，$D=0.0037$处与D1，C1聚为一支，然后再分别在$D=0.0063$，$D=0.0087$处与C2，D2聚为一支，最后在$D=0.026$，$D=0.027$处分别与C3，D3聚为一支．这表明随着生境的破坏，物种的遗传多样性会发生明显改变．

为了进一步验证以上结果，从12个群体中各选出一个代表性个体，分别进行测序．图7是核糖体DNA ITS1-ITS2之间的序列，可以看出，两种破坏生境C和D，第一年长出的子实体C1，D1与原生境下长出的子实体E1的碱基数差异分别为3，2；第二年长出的子实体C2，D2与E1的碱基数差异分别为5，4；第三年长出的子实体C3，D3与E1的碱基数差异分别为11，9．可见随着年份的增加，变异趋于增大．图8是根据图7的序列所得聚类图，结果与图6相似．只是在$D=0.0048$处D2先聚类，然后在$D=0.006$处再与C2聚类．

3 讨论

黄盖鹅膏白色变种，剧毒，开发潜力很大．但其分布有限，目前仅在日本与中国发现[3]，因此在数量上仍然属于稀有或趋少物种，或分布受局限、只在某些特定环境中生存．根据我们的多年调查结果，云南只在武定狮山与宜良九乡发现了该种的个体．对两地的生境进行比较研究，发现两地的共生植物非常相似，都是以青冈、栎树为主的阔叶林，林中地表的腐叶层较厚(3—9 cm)，土表层疏松、透气(容重为0.9—1.1 g/cm^3)、潮湿(土壤含水量为35%—43%)，并富含有机质及矿物质养分；林中的空气湿度为70%—80%，温度为25—27℃，照度为1000—2000 lx的散射光．仅在这种生境下，才能发现该种的子实体．这表明黄盖鹅膏白色变种的生长区域比较狭窄，生境比较单一．这种特殊的生境使得它们对外界环境极其敏感，一旦这些生境受到人为破坏，就可能造成这些物种的灭绝．

本文人为设置了两种破坏生境(树木砍伐及地表破坏)，以观察受损生境下黄盖鹅膏白色变种的生长情况．结果表明，当树木被砍伐50%以上时，由于生境的严重破坏，已不能再发现任何子实体；如果树木只被砍伐三分之一(C)或地表的腐叶层被连续铲除(D)，虽然仍能发现子实体，但个体数比未被破坏的原生境已明显减少，见表7．

另外从表6可以看出，第一年C1，D1与F的平均遗传一致度分别为0.9943，0.9950；第二年

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

```
                10         20         30         40         50         60
        ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
E1      AGTTGGTCAA GTTGTCCCCA TCCATATATA ATTAATACAG ACAGTCACAG TTAGACAGCA
E2      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
E3      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
F1      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
F2      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
F3      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
D1      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
C1      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
D2      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
C2      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
D3      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
C3      .......... .......... .......... .......... .......... ..........

                70         80         90        100        110        120
        ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
E1      GAGAGAAGTA GTGATATTGC TCCTGGCATT GATAGGTTTT ATCACACCAA TGGAGTTCAA
E2      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
E3      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
F1      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
F2      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
F3      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
D1      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
C1      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
D2      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
C2      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
D3      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
C3      .......... .......... .......... .......... .......... ..........

               130        140        150        160        170        180
        ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
E1      TGGCTTTTCT CCACTAATAC ATTCAAGGAG AGCAAGGCTA TTTATTTGAA ACAGCCTGCA
E2      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
E3      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
F1      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
F2      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
F3      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
D1      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
C1      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
D2      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
C2      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
D3      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
C3      .......... .......... .......... .......... .......... ..........

               190        200        210        220        230        240
        ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
E1      ACCCCCAAAA TCCAATACCT ATCAAAAAAG CAGACAGGTC TTGAGAATTT AATGACACTC
E2      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
E3      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
F1      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
F2      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
F3      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
D1      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
C1      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
D2      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
C2      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
D3      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
C3      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
```

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

```
                250        260        270        280        290        300
        ----|----| ----|----| ----|----| ----|----| ----|----| ----|----|
E1      AAACAGGCAT GCTCCTCGGA ATGCCAAGGA GCGCAAGGTG CGTTCAAAGA TTCGATGATT
E2      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
E3      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
F1      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
F2      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
F3      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
D1      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
C1      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
D2      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
C2      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
D3      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
C3      .......... .......... .......... .......... .......... ..........

                310        320        330        340        350        360
        ----|----| ----|----| ----|----| ----|----| ----|----| ----|----|
E1      CACTGAATTC TGCAATTCAC ATTACTTATC GCATTTCGCT GCGTTCTTCA TCGATGCGAG
E2      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
E3      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
F1      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
F2      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
F3      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
D1      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
C1      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
D2      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
C2      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
D3      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
C3      .......... .......... .......... .......... ......A... ..........

                370        380        390        400        410        420
        ----|----| ----|----| ----|----| ----|----| ----|----| ----|----|
E1      AGCCAAGAGA TCCGTTGTTG AAAGTTGTAC TTTATATTTA ATCAAATCAT CATTCTATAA
E2      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
E3      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
F1      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
F2      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
F3      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
D1      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
C1      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
D2      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
C2      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
D3      .......... .......... .......... ........G. .......... ..........
C3      .......... .........A .......... .......... .......TG. ..........

                430        440        450        460        470        480
        ----|----| ----|----| ----|----| ----|----| ----|----| ----|----|
E1      ACATGCAACT AGTGTTTAAT AAAATGGCAT ACACACCCAG ATGTTCAATT TCTCAAGAGA
E2      .......... .......T.. .......... .......... .......... ..........
E3      .......... .......... .......... .......... ..A....... ..........
F1      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
F2      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
F3      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
D1      .......... .......... .......... .......... ..C....... ..........
C1      .......... .......G.. .......... .......... .........A. ..........
D2      .......... .......... .......... .......... ..T....... ..........
C2      .......... ..A....... .......A.. .......... .......... ..........
D3      .......... .......... G......... .......... ..T....... ..........
C3      .......... .......... T......... .GT....... .......... ..........
```

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

```
                490        500        510        520        530        540
        ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
E1      CTGGTCAAGG TCTCTCATTC CCAACTGTCT ACAAGTGTGC ACAGGTGGAA TTAGTAATGA
E2      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
E3      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
F1      .....T.... .......... .......... .......... .......... ..........
F2      .....T.... .......A.. .......... .......... .......... ..........
F3      .....T.... ..G....... .......... .......... .......... ..........
D1      .......... .......... .......... .......... .......T.. ..........
C1      .......... .......... .......... .......... .G........ ..........
D2      .......... .......... .......... .....A...T .....G.... ..........
C2      .......... .......... .......... ...T...... .......... ........T.
D3      .......... .......... ...G..TG.. ......A... .......... ...AG.....
C3      .AA....... .......... .......... .......... .....A.... ..........

                550
        ....|....| ....|..
E1      CCAGAGACGT GCACGTG
E2      .......... .......
E3      .......... .......
F1      .......... .......
F2      .......... .......
F3      .......... .......
D1      .......... .......
C1      .......... .......
D2      .......... .......
C2      ....G..... .......
D3      .......... .......
C3      ...T...... .......
```

图 7　不同生境下黄盖鹅膏白色变种 12 个个体核糖体 DNA ITS1-ITS2 之间的序列

E1, E2, E3, F1, F2, F3, C1, C2, C3, D1, D2, D3 在 GenBank 中的序列号分别为 EF442100, EF442101, EF442102, EF442103, EF442104, EF442105, EF442106, EF442107, EF442108, EF442109, EF442110, EF442111

表 7　C, D, E, F 四种群体的子实体个体数

群体	狮山原生境 E (E1, E2, E3 平均)	九乡原生境 F (F1, F2, F3 平均)	树木砍伐 1/3(C)			铲除地表腐叶层(D)		
			第一年 C1	第一年 C1	第二年 C2	第一年 D1	第二年 D2	第三年 D3
子实体数	22	20	9	5	2	13	6	3

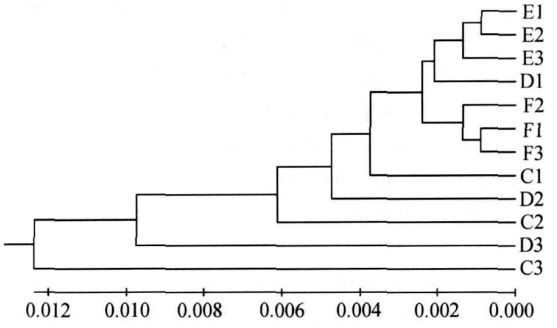

图 8　12 个个体间的 rDNA 序列遗传聚类图

C2, D2 与 F 的平均遗传一致度分别为 0.9873, 0.9825; 第三年 C3, D3 与 F 的平均遗传一致度分别为 0.9448, 0.9465. 可见, C3, D3 发生了明显的遗传分化(在聚类图上 C3, D3 也单独聚为一支). 这表明随着年代的增加, 破坏生境下物种的遗传多样性发生了明显变化. 这可能的原因是, 人为的生态危机, 如树木的砍伐, 地表的破坏, 使生境趋于恶化, 在面临骤然的生存压力时, 个体可能会通过突变或遗传漂变产生新的遗传变异, 引起遗传分化. 这可能与逆境中的 DNA 突变或基因的抑制表达等有关. Haig[9] 认为, 随机性的因素(环境的随机性、灾害随机性、遗传随机性等)对其遗传多样性的影响会更大, 如果这种影响时间比较短, 特别是随机事件刚发生不久, 物种的遗传多样性可能会暂时升高, 如果影响的时间较

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

长，遗传多样性可能会降低. 也就是说，物种长期处于恶化的生境中，那么只会导致种群的数量下降，遗传多样性一代代地丧失[10, 11].

Waters 等[12] 用叶绿体基因组的 RFLP 对松属植物进行检测，发现由于历史上冰川的作用，导致了陶松居群急剧缩小，遗传多样性迅速丧失. Kull[13] 和 Hans[14] 的研究表明，濒危兰花不但开花数和结实率明显降低，而且其在遗传上也发生了分化.

随着生境的严重破坏，物种必将处于灭绝或濒危状态. 物种的灭绝、意味着遗传多样性不可挽回的丧失. 而物种种群数目的减少，种内遗传多样性的下降，也意味着物种的濒危[15]. 洪德元指出[16]，稀有或特有种往往会出现遗传上的衰退，也即遗传变异的下降. 造成遗传衰退的原因有选择作用、居群有效规模的下降、遗传漂变以及自交等，现存物种在居群数目逐渐减少，居群规模不断变小，大而连续的生境不断破碎化时，种类的遗传多样性会随之下降甚至急剧丧失[17].

如果一个濒危物种(亚种、变种或生态型)与其非濒危近缘类群的遗传差别明显，就应该做为优先保护的类群[18]. Rossetto[19] 用 RAPD 技术研究了桉树濒危种，揭示其分类学上的独特性，表明 E. Phylacis 在遗传上分化已十分明显，是值得保护的遗传单元.

菌物有自己的微生态，主要依靠生态系统的相对稳定来维持，一旦这种微生态失衡，生境受损，那么要恢复原来的生境是极难的，而在脆弱或失衡的生态环境中，种群的个体数目会骤然减少，形成渐危或濒临危亡的现状. 黄盖鹅膏白色变种因其对环境条件要求较高而变得较珍稀. 本文的研究表明，其对环境较敏感，一旦生境受到破坏，变得不适于其生长，种群的数量就明显减少，而且遗传上也发生明显变异，如 C3 与 D3，这说明其在分类学上具有独特性，属于优先保护的单元. 如果不引起重视，不采取任何保护措施，可能导致物种的消失或绝迹.

参 考 文 献

1 卯晓岚. 中国鹅膏菌科毒菌及毒素. 微生物学通报，1991，18(3)：160－165

2 杨祝良. 中国鹅膏菌(担子菌)的物种多样性. 云南植物研究，2000，22(2)：135－142

3 杨祝良. 中国真菌志. 第27卷. 鹅膏科. 北京：科学出版社，2005

4 鲍 坦. 土壤农化分析. 北京：中国农业出版社，2000

5 王建波，张文驹，陈家宽. 核 rDNA 的 ITS 序列在被子植物系统与进化研究中的应用. 植物分类学报，1999，37(4)：407－416

6 Shi SH, Chang HT, Chen YQ, et al. Phylogeny of the Hamamelidaceae based on the ITS sequences of nuclear ribosomal DNA. Biochemical Systematics and Ecology, 1998, 26(1): 55－69

7 White TJ, Bruns T, Lee S, et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis M, Gelfand D, Sninsky J, et al. eds. PCR Protocols: A Guide to Methods and Application. San Diego, California: Academic Press, 1990, 315－322

8 Wendel JF, Schnabel AS, Seelanan T. Bidirectional interlocus concerted evolution following allopolyploid speciation in cotton (*Gossypium*). Proc Natl Acad Sci USA, 1995, 92: 280－284

9 Haig SM. Molecular contributions to conservation. Ecology, 1998, 79(2): 413－425

10 Gavin TA, Sherman PW, Yensen E, et al. Population genetic structure of the northern Idaho ground squirrel (Spermophilus bruneus). Journal of Mammalogy, 1999, 80(1): 156－168

11 Hanski I, Alho J, Moikanen A. Estimating the parameters of survival and migration of individuals in metapopulation. Ecology, 2000, 81(1): 239－251

12 Waters ER, Schaal BA. No variation is detected in the chloroplast Genome of *Pinus torreyana*. Canadian Journal of Forestry Research, 1991, 21: 1832－1835

13 Kull T, Hutchings MJ, Kull. A comparative analysis of decline in the distribution ranges of orchid species in Estonia and the United Kingdom. Biological Conservation, 2006, (129): 31－39

14 Hans JR, Martin H. Willems J. Long term dynamics and population viability in one of the last populations of the endangered *Spiranthes spiralis* (Orchidaceae) in the Netherlands. Biological Conservation, 2007, 134(1): 14－21

15 邹喻苹，葛 颂，王晓东编著. 系统与进化植物学中的分子标记. 北京：科学出版社，2000，140－149

16 洪德元，葛 颂，张大明，等. 植物濒危机制研究的原理和方法. 北京：中国科学技术出版社. 1995，125－133

17 Ge S, Hong DY, Wang HQ. Population genetic structure and conservation of an endangered conifer, *Cathaya argytophylla* (Pinaceae). International Journal of Plant Science, 1998, 159(2): 351－357

18 Falk DA, Holsinger KE. Genetics and Conservation of Rare Plants. New York: Oxford University Press, 1991

19 Rossetto M, Jezierski G, Hopper SD, et al. Conservation genetics and clonality in two critically endangered eucalypts from the highly endemic south-western Australian flora. Biological Conservation, 1999, 88(3): 321－331

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net