

不同产地间、产地内杉木过氧化物同工酶的变异研究*

杨自湘 李玲

关键词 杉木、产地、过氧化物同工酶、酶带分离度

同工酶是基因活动的产物,用来认识基因的存在表达,由生化表型反映其基因型,将宏观的遗传现象结合到微观的分子水平上加以研究,因而同工酶技术已成功地应用到生物系统进化、遗传结构、种群分类、以及杂种认识等领域^[1]。尤其应用同工酶研究生物群体遗传差异和生物多样性上有更多报道^[2]。

遗传多样性是生物多样性的一个方面,遗传多样性可在许多不同水平上来表达,同工酶仅是其中分子水平的一种,也是检验种一级基因多态性的分子标记。杉木(*Cunninghamia lanceolata* (Lamb.) Hook.)是我国特有树种,分布广泛,栽培历史悠久。杉木种源性状研究表明,种源间存在显著的差异,多数性状变异与产地纬度有较密切的线性关系^[3]。陈岳武等^[4]认为杉木是一个多起源中心的渐变群体。本文应用过氧化物同工酶研究杉木不同产地间及产地内的遗传变异差异。

1 材料与方方法

从河南鸡公山林场杉木种源试验育苗地,18个产地的2年生实生苗上采成熟针叶作为同工酶液提取材料。采种林分具有一定密度和面积,林龄在25 a以上,采种树为林中的优势木或亚优势木,各种源采10~20株,株距为1倍树高以上。在育苗地内各产地随机采集47株苗木针叶样品备用。

每株苗木取1g针叶,加3mL磷酸缓冲液(pH7.2),研磨提取酶液,用垂直板聚丙烯酰胺凝胶电泳(分离胶7.5%,电泳电压250V,电泳4h,联苯胺染色)分离过氧化物同工酶。

2 结果与讨论

2.1 杉木过氧化物同工酶酶谱

来自18个产地的808株杉木样品的过氧化物同工酶共有11种类型酶谱(图1、2、表1),即

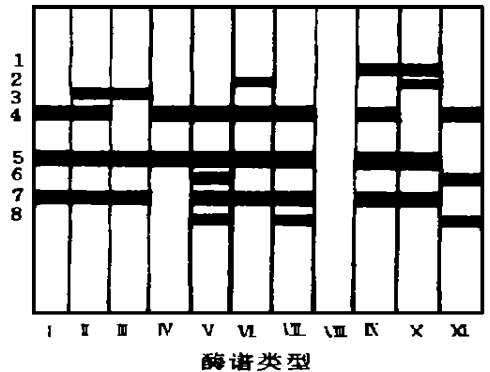


图1 11种酶谱类型模式

1995-05-18收稿。

杨自湘副研究员,李玲(中国林业科学研究院林业研究所 北京 100091)。

* 陈伯望同志参加同工酶分离度计算,特此感谢。

11 种表型。

其中 695 株杉木都表现为第 种酶谱类型, 占总数的 86. 10%, 因而可以认为第 种酶谱是杉木种的代表酶谱。

酶谱分为快区和慢区, 慢区有两条染色酶带: 1、3, 其间有一条染色较浅的 2 带, 出现不稳定, 快区酶带表现不一, 此结果与沈乃茹等^[5]的结果吻合, 全部样品的酶谱快区有 11 种类型, 总共有 8 条迁移值不同的酶带。

将每条酶带作为一个性状, 用胡志昂^[6]酶谱的相似系数来表示两两酶类型间相似性(表 2)。

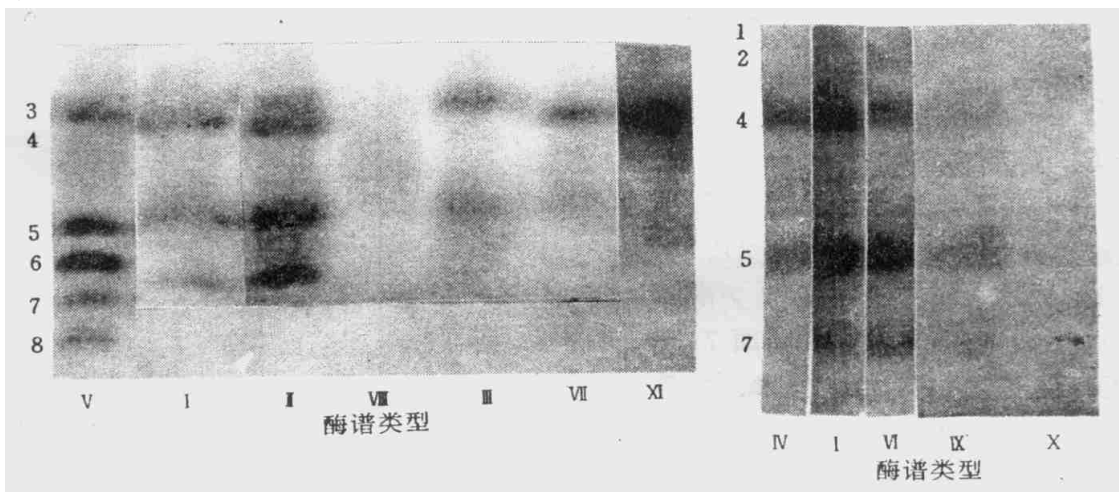


图 2 杉木 11 种酶谱类型

表 1 18 个产地杉木在各类酶谱中出现频率

NO.	产地	北纬 N(°)	东经 E(°)	样品数	带型数	酶 谱 类 型											
						1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
1	广西德保	22.25	106.12	45	3	0.911 1	0	0	0	0	0.044 4	0	0	0	0.044 4	0	0
2	广东信宜	22.35	110.93	36	2	0.972 2	0.027 8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	台湾观雾山	24.10	120.70	55	2	0.909 1	0	0.090 9	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	广东连南	24.72	112.28	45	2	0.911 1	0	0	0	0	0	0	0.088 9	0	0	0	0
5	广西融水	25.10	109.07	45	4	0.911 1	0	0	0.022 2	0	0.022 2	0	0	0.044 4	0	0	0
6	福建德化	25.33	118.32	47	4	0.089 4	0.063 8	0	0	0.021 3	0	0.021 3	0	0	0	0	0
7	福建仙游	25.37	118.67	47	2	0.978 7	0.021 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	云南罗平	25.43	104.17	44	4	0.772 7	0.181 8	0.022 7	0	0	0	0	0	0	0.022 7	0	0
9	福建南平	26.63	117.97	45	4	0.800 0	0.133 3	0.044 4	0	0	0	0	0	0	0.022 2	0	0
10	贵州余庆	27.23	107.88	47	7	0.744 7	0.021 3	0.042 6	0.042 5	0.063 8	0	0.042 6	0	0	0	0.042 6	0
11	四川德昌	27.43	102.10	34	2	0.852 9	0.147 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	湖南芷江	27.50	109.67	45	2	0.933 3	0	0	0	0.066 7	0	0	0	0	0	0	0
13	江西铜鼓	28.67	114.25	45	5	0.800 0	0.022 2	0	0.111 1	0.022 2	0	0.044 4	0	0	0	0	0
14	浙江丽水	28.33	119.87	47	5	0.829 8	0	0	0.063 8	0.025 6	0.063 8	0.022 2	0	0	0	0	0
15	四川洪雅	29.92	102.67	46	3	0.956 5	0	0	0.022 7	0	0	0	0	0.022 7	0	0	0
16	安徽宁国	30.62	118.10	45	3	0.955 6	0.022 2	0	0.022 2	0	0	0	0	0	0	0	0
17	安徽金寨	31.33	115.62	45	5	0.666 7	0.133 3	0.133 3	0	0	0.044 4	0	0.022 2	0	0	0	0
18	陕西留坝	33.58	106.93	45	9	0.690 0	0.066 6	0	0.044 4	0.066 7	0.022 2	0.044 4	0.022 2	0.022 2	0	0.022 2	0
合计样本数				808	11	695	36	16	15	12	9	8	6	4	4	4	3

表 2 11 种酶谱间相似系数矩阵

0.909 1										
0.800 0	0.909 1									
0.888 9	0.800 0	0.666 7								
0.833 3	0.769 2	0.666 7	0.727 3							
0.909 1	0.833 3	0.727 3	0.800 0	0.769 2						
0.909 1	0.833 3	0.727 3	0.800 0	0.769 2	0.833 3					
0.571 4	0.500 0	0.571 4	0.666 7	0.444 4	0.500 0	0.500 0				
0.909 1	0.833 3	0.727 3	0.800 0	0.500 0	0.833 3	0.833 3	0.500 0			
0.727 3	0.666 7	0.727 3	0.600 0	0.615 4	0.666 7	0.666 7	0.500 0	0.666 7		
0.666 7	0.833 3	0.400 0	0.666 7	0.500 0	0.545 5	0.545 5	0.571 4	0.545 5	0.363 2	

$$\text{酶谱相似系数} = \frac{\text{两酶谱类型间相同酶带数}}{\text{两酶谱类型间总带数}}$$

与第 种酶谱最相似的是第 、 、 、 类酶谱,最不相似的是第 、 两种酶谱。将相似系数用离差平方和法得聚类图(图 3)。

第 、 、 、 、 、 、 7 类酶谱相聚为一类,在平方和距离为 0.36 时,前面 7 类聚为一类,第 、第 两种酶谱聚为一类,第 、第 种酶谱各成一类。以上可以看出杉木同工酶既有种内基因型的稳定性,又有种内基因型的多样性,并且 11 种酶谱间相似距离远近不一,亲缘关系也反映它们远近不一^[7]。

2.2 酶谱类型与产地

各产地的杉木都表现过氧化物同工酶的多态性,即遗传多样性,表 1 中列出了各产地酶谱类型的数量。信宜、连南、仙游、德昌、芷江及观雾山等 6 个产地都具 2 种酶谱类型;德保、德化、洪雅、宁国具 3 种;融水、罗平、南平具 4 种;铜鼓、丽水、金寨分别具 5 种酶谱;余庆具 7 种酶谱;陕西留坝具 9 种酶谱。没有 1 种酶谱是某一产地特有的,仅有第 种酶谱在留坝与余庆同时出现。Vavilov^[8]认为分类群的多样性中心也是其起源中心。C. A. 斯特斯^[8]则认为类群越古老,其起源中心和多样性中心相一致的可能性越小,又认为某个分类群的遗传学多样性中心有时不止 1 个,除 1 个以外,其它所有中心往往是次级遗传多样性中心。依照以上论点可认为过氧化物同工酶可标明杉木存在遗传多样性。各产地多样性水平有差异。并且与陈岳武^[4]认为杉木可能是一个多种起源中心的渐变群体的论点吻合。

计算产地所处纬度与第 种酶谱在各产地出现频率间的相关关系, r 为 -0.5358 ,达 0.05 水平的显著相关,即随着产地纬度的增加,第 种酶谱出现的频率逐渐减少,呈线性负相关。酶谱多态数量与产地经度无相关。

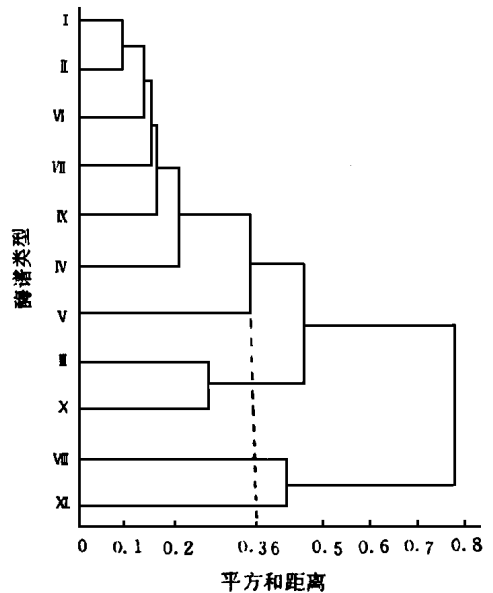


图 3 11 种酶谱聚类

2.3 产地间过氧化物同工酶分离度

根据 Berry^[10] 首倡, 由 Muhs^[9] 补充的种源间分离度(Divergence, D^2), 计算 18 个产地间过氧化物同工酶分离度列于表 3(见后页)。从表 3 中找不到某一酶带是某一产地所特有的。

共计 306 对产地间分离度, 其中 122 对产地间分离度达极显著水平(1%), 20 对产地间分离度达显著水平, 有 164 对产地间分离度不显著, 其中连南、余庆、金寨、留坝等分别与其它产地间酶带频率差异显著。连南有 12 对产地间分离度达极显著, 3 对显著; 金寨有 13 对产地间分离度达极显著; 留坝也有 13 对达极显著, 1 对达显著; 余庆有 15 对达极显著。

计算各产地分离度的平均值, 并计算 18 个产地分离度的总平均值(图 4)。

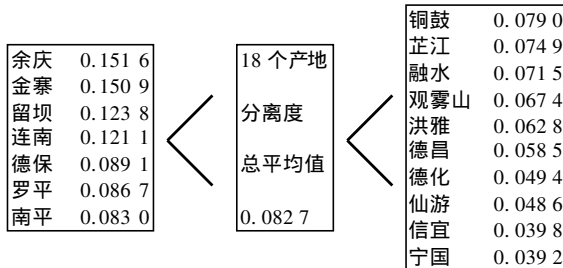


图 4 18 个产地杉木的总平均分度与平均分度间关系

大于总平均值的有余庆、金寨、留坝、连南、德保、罗平和南平, 即这些产地与其它产地间遗传差异大。其余 10 个产地的平均分度都小于总平均值, 即这 10 个产地与其它产地间遗传差异小。前 7 个产地杉木间过氧化物同工酶分离度大。尤其余庆、金寨、留坝、连南的平均分离度远远大于总平均值, 参看表 1 可以看出这几个产地过氧化物同工酶的平均分离度大的原因, 与它们拥有相似距离较远的第 1、第 2 种酶谱可能有较大的关系。

3 结 论

(1) 12 个省(区) 18 个产地 808 株杉木中有 695 株具有同样酶谱, 这种酶谱是杉木代表酶谱。

(2) 18 个产地中 213 株杉木样品具有另外 10 种过氧化物同工酶谱, 说明杉木同时具有分子水平的遗传多样性。

(3) 18 个产地中有余庆、金寨、留坝、连南产地的杉木, 具有较多的酶谱类型及较大的酶谱分离度, 说明这些产地内杉木遗传多样性及分离度较大, 它们可能是杉木起源地或次生起源地。

参 考 文 献

- 何朝珍. 果蝇自然群体同工酶遗传多态的研究. 遗传学报, 1989, 16(1).
- 葛颂. 同工酶与林木群体遗传变异研究. 南京林业大学学报, 1988, (1): 68~77.
- 洪菊生, 吴士侠, 杨宗武, 等. 杉木种源变异的研究. 林业科学研究, 1994, 4(专刊): 117~129.
- 陈岳武, 阮益初, 陈世彬. 十一个杉木产地的遗传变异. 南京林产工业学院学报, 1980, (4): 35~46.
- 沈乃茹. 杉木过氧化物同工酶初步分析. 上海师范学院学报(自然科学版), 1981, (2): 63~68.
- 胡志昂, 王洪新. 杨属植物的过氧化物同工酶. 植物分类学报, 1981, 19(3): 291~297.
- 胡志昂, 王洪新, 阎龙飞. 裸子植物的生化系统学(一) 松科植物的过氧化物同工酶. 1983, 21(4): 423~430.

- 8 斯特斯 C A(书钟新等译). 植物分类学与生物系统学. 北京: 科学出版社, 1986. 207 ~ 211.
- 9 Hans-J. Muhs Distinction of douglas-fir provenances using peroxidase-isoenzyme-patterns of needles. *Silvas Genetica*, 1974, 23(1~3): 71 ~ 76.
- 10 Berry R J. Epigenetic polymorphism in wild populations of *Mus musculus*. *Genet. Res. Camb.*, 1963, 4, 193 ~ 220.

Research on Variation of Peroxidase Isoenzyme in *Cunninghamia lanceolata* among or within Provenances

Yang Zixiang Li Ling

Abstract Needle samples of 808 two-year-old *Cunninghamia lanceolata* seedlings of 18 provenances from 12 provinces were analyzed by peroxidase isoenzyme method. Altogether 11 isoenzyme patterns were observed, in which 86.1% of the samples showed isoenzyme pattern I, while the geographical latitudes where these provenances located showed significantly negative correlation with frequencies of isoenzyme pattern I. More than half of these 18 provenances showed little genetic variation and only 45% of the provenances showed obvious variation. Polymorphism and bigger divergence D^2 were found in 4 provenances, Yuqing, Liuba, Jinzai and Liannan, which seemed to be correlated with the original production locations of the provenances.

Key words *Cunninghamia lanceolata*, provenance, peroxidase isoenzyme, divergence D^2

Yang Zixiang, Associate Professor, Li Ling (The Research Institute of Forestry, CAF Beijing 100091).