

不同盐度梯度的桐花树种群的遗传多样性和遗传分化*

黎中宝 林 鹏 林益明

(厦门大学生命科学学院 361005)

摘要 采用垂直板型聚丙烯酰胺凝胶电泳测定了九龙江口不同盐度梯度的桐花树种群的遗传多样性和遗传分化。桐花树种群维持有较高的遗传变异性,观察杂合度为 0.300,期望杂合度为 0.215。种群间遗传分化系数较小为 $G_{ST}=0.101$,表明总的遗传变异中有 10.1%来自种群间。种群间遗传距离和遗传一致度均值分别为 0.045 和 0.955,基因流畅, $N_m=2.09$ 。

关键词 等位酶,遗传多样性,遗传分化,盐度梯度,桐花树

近年来,种群遗传多样性和遗传分化研究广被重视,其中多以等位酶作为遗传标记,探讨物种的遗传结构。这在很大程度上为生物育种、引种驯化、生物多样性保护和森林经营等方面提供理论依据。红树林是生长在热带、亚热带海岸潮间带的一种常绿木本植物群落,分布于我国的海南、广西、广东、福建和台湾五省区的沿海地带,它具有胎生、抗盐及富含丹宁等特性,这使得它与其他陆生植物群落存在着很大差别。虽然已对红树植物在生理、生态、能量生态和污染生态方面开展了较为详尽的研究工作^[1-2],但对其遗传结构研究并不多见。本实验是以广布种桐花树(*Aegiceras corniculatum*)种群为代表,对不同盐度梯度(福建浮宫 1.340,福建桥头 1.524,福建充龙 1.732)的桐花树种群开展研究的,旨在探讨不同盐度梯度的种群的遗传多样性和遗传分化。

1 材料和方法

1.1 样品的采集和处理

桐花树种群采自厦门九龙江口沿岸,福建充龙(24°28' N, 117°57' E)、福建桥头(24°28' N, 117°56' E)、福建浮宫(24°24' N, 117°55' E),在其选定的种群样地中,株与株之间的距离相隔 15 m 以上随机采集幼嫩的桐花树叶片,每样地采样 33~44 株,保持叶片新鲜不变质,迅速携至实验室内处理,在 -20℃ 冷冻贮藏,尽快测完,由于红树植物富含单宁,因此将提取酶缓冲液^[3]进行改进,以磷酸钾缓冲液代替 Tris-KCl 缓冲液(25 ml, 0.1 mol/L 磷酸钾缓冲液, pH 7.5, 内含 0.019 g KCl, 0.05 g MgCl₂, 0.01 g EDTA Na₂, 5 g PVP-K30, 0.08 g 偏亚硫酸钠, 1 g 四硼酸钠,

0.025 ml 巯基乙醇),冰浴研成匀浆,4 000 r/min 冷冻离心 15 min,弃去沉淀,上清液备用。

1.2 电泳及等位酶分析

电泳采用垂直板型不连续聚丙烯酰胺凝胶(PGE)电泳,浓缩胶和分离胶的浓度分别为 2.5% 和 7.0%, pH 分别为 6.7 和 8.9。本实验共检测 5 个酶系统 13 个酶位点(表 1)。

1.3 计算方法

1.3.1 遗传变异的计算

多态位点百分率(P): $P = (k/n) \times 100\%$, k 为多态酶位点的数目, n 为所测定酶位点的总和。多态位点的标准按 Nei 氏(1975)的 0.99 划分,即最常见的等位基因出现的频率小于或等于 0.99。

杂合度(H):即杂合位点的百分数。期望杂合度(即平均遗传多样性) $H_e = \sum_{i=1}^n (1 - \sum_{j=1}^{m_i} q_{ij}^2)/n$, 观察杂合度 $H_o = \sum_{i=1}^n (1 - \sum_{j=1}^{m_i} p_{ij})/n$ 。其中 q_{ij} 为第 i 个位点上第 j 个等位基因的频率, p_{ij} 为第 i 个位点上第 j 个等位基因观察到的纯合基因型频率。

平均每位点有效等位基因数(A_e): $A_e = \sum_{i=1}^n (1 / \sum_{j=1}^{m_i} q_{ij}^2)/n$, q_{ij} 为第 i 个位点上第 j 个等位基因的频率。

固定指数(F): $F = 1 - H_o/H_e$ 。

F_{IS} 为总种群中所有等位基因的 F_{ISk} 加权平均值。 $F_{IS} = \sum_k (\bar{P}_k - P_k^2) F_{ISk} / \sum_k (\bar{P}_k - P_k^2)$

* 国家教育部博士学科点专项科研基金资助项目 1999038410 号。

收稿日期:2000-07-13;修回日期:2000-12-21

F_{IT} 为总种群中所有等位基因的 F_{ITk} 加权平均值

$$F_{IT} = \sum_k (\bar{P}_k - P_k^2) F_{ITk} / \sum_k (\bar{P}_k - P_k^2)$$

F_{ST} 为总种群中所有等位基因的 F_{STk} 加权平均值

$$F_{ST} = \sum_k (\bar{P}_k - P_k^2) F_{STk} / \sum_k (\bar{P}_k - P_k^2)$$

$\bar{P}_k$ 为总种群中第 k 个等位基因的频率的平均值。

P_k^2 为总种群中第 k 个等位基因的频率平方的平均值。

1.3.2 遗传分化的测定

基因分化系数 (G_{ST}): $G_{ST} = D_{ST} / H_T$, D_{ST} 为种群间的基因多样性; H_T 为基因多样性总量。遗传距离 (D) 和遗传一致度 (I) 采用 Nei 氏 (1978) 的标准。

$$I = \sum_k \sum_i X_i Y_i / \sqrt{\sum_k \sum_i X_i^2 \cdot \sum_k \sum_i Y_i^2}$$

$$D = -\ln I$$

基因流采用 Wright (1965) 的 F_{ST} 法统计出的 F_{ST} 值来计算: $Nm = (1 - F_{ST}) / 4F_{ST}$, 式中 F_{ST} 表示种群间的分化度 (在多位点的情况下, $F_{ST} = G_{ST}$)。

表 1 桐花树种群研究用酶系统 E.C. 代码位点数目

Tab.1 Enzyme systems E.C.No., numbers of loci in study of *Aegiceras corniculatum* populations

酶系统	E.C. 代码	位点数目
天冬氨酸转氨酶 (AAT)	E.C.2.6.1.1	3
酯酶 (EST)	E.C.3.1.1.-	3
乙醇脱氢酶 (ADH)	E.C.1.1.1.1	3
苹果酸酶 (ME)	E.C.1.1.1.40	1
苹果酸脱氢酶 (MDH)	E.C.1.1.1.37	3

2 实验结果

2.1 不同盐度梯度的桐花树种群的遗传多样性

根据电泳酶谱分析结果, 桐花树的等位基因频率见表 2。由表 2 的数据进行遗传变异指标计算, 其结果列于表 3。

从表 3 可见 3 个种群平均每位点等位基因数目 A 为 1.57, 高于种水平值 2.38。种群和种水平的有效等位基因数目 A_e 分别为 1.432 和 1.587。种群和种水平的多态位点百分数 P 分别为 46.2 和 69.2。这 3 个种群观察杂合度和期望杂合度都比较高。种群的观察杂合度平均为 $H_o = 0.300$ (0.266 ~ 0.344), 大于种水平的观察杂合度 $H_o = 0.252$ 。种群的期望杂合度平均为 $H_e = 0.215$ (0.195 ~ 0.233), 种水平的期望杂合度为 $H_e = 0.266$ 。

2.2 不同盐度梯度的桐花树种群的遗传分化

这不同盐度梯度的桐花树种群的遗传分化比较低, 3 个种群总的遗传多样性为 0.237, 其中种群内的遗传多样性为 0.213, 种群间的遗传多样性为 0.024,

基因分化系数 G_{ST} 为 0.101, 见表 4, 而这一结果与 $F_{ST} = 0.107$ 基本一致 (表 5)。采用 Wright 的 F_{ST} 法计算出多态位点基因流较大, $Nm = 2.09$ (表 5)。

表 2 桐花树种群的等位基因频率

Tab.2 Allele frequencies in *Aegiceras corniculatum* populations

位点	等位基因	等位基因频率		
		福建浮宫	福建桥头	福建充龙
Aat-1	A	0.000	0.000	0.000
	B	0.000	0.000	0.000
	C	0.500	0.500	0.500
	D	0.500	0.500	0.500
Aat-2	A	1.000	1.000	0.985
	B	0.000	0.000	0.000
	C	0.000	0.000	0.000
	D	0.000	0.000	0.015
Aat-3	A	1.000	1.000	1.000
Est-1	A	0.000	0.000	0.000
	B	1.000	1.000	1.000
Est-2	A	0.500	0.000	0.000
	B	0.500	1.000	1.000
Est-3	A	1.000	1.000	1.000
Adh-1	A	0.477	0.409	0.485
	B	0.523	0.591	0.515
Adh-2	A	0.511	0.591	0.485
	B	0.489	0.409	0.515
Adh-3	A	1.000	1.000	1.000
Me-1	A	0.000	0.485	0.470
	B	1.000	0.515	0.530
Mdh-1	A	0.000	0.000	0.061
	B	0.500	1.000	0.939
	C	0.500	0.000	0.000
Mdh-2	A	0.500	0.485	0.424
	B	0.000	0.015	0.076
	C	0.000	0.015	0.076
	D	0.500	0.485	0.424
Mdh-3	A	1.000	1.000	1.000

既然种群间存在着较低的遗传分化 ($F_{ST} = 0.101$), 那么 3 个种群间的遗传距离 (D) 就不会太大, 平均 D 为 0.045。桥头种群和充龙种群间的遗传距离最小, D 为 0.000, 而浮宫种群和桥头种群间遗传距离较大, D 为 0.072, 变化范围不大 (0.000 ~ 0.072)。遗传一致度的数值也表明了 3 个种群的分化程度很小, 平均为 0.955。桥头种群和充龙种群相似程度高达 1, 说明两种群没有分化存在, 而浮宫种群和桥头种群相似程度相对较小为 0.931 (表 6)。

根据不同盐度梯度的桐花树种群间的遗传距离, 采用平均聚类方法 (UPGMA) 对 3 个不同盐度梯度的种群进行聚类 (图 1), 可知, 桥头种群和充龙种群之间的距离较小, 这 2 个种群可归为一类, 浮宫种群与另两个种群的距离较大, 单独归为一类 (图 1)。

3 讨论

3.1 不同盐度梯度的桐花树种群水平维持着较

表3 桐花树种群遗传多样性指标

Tab.3 Indexes of genetic variability of *Aegiceras corniculatum* populations (parentheses are the standard errors)

地点	A	P	Ae	Ho	He
福建浮宫	1.5(0.1)	46.2	1.461	0.344(0.128)	0.233(0.073)
福建桥头	1.5(0.2)	38.5	1.384	0.266(0.117)	0.195(0.071)
福建充龙	1.7(0.2)	53.8	1.452	0.289(0.116)	0.216(0.073)
种群平均	1.57	46.2	1.432	0.300	0.215
种水平	2.38	69.2	1.587	0.252	0.266

注:括号内是标准差。

表4 桐花树种群基因多样性的分配和分化

Tab.4 Apportionment of gene diversity and differentiation of *Aegiceras corniculatum* populations

位点	H_T	H_S	D_{ST}	G_{ST}
Aat-1	0.500	0.500	0.000	0.000
Aat-2	0.010	0.010	0.000	0.000
Aat-3	0.000	0.000	0.000	0.000
Est-1	0.000	0.000	0.000	0.000
Est-2	0.278	0.169	0.109	0.392
Est-3	0.000	0.000	0.000	0.000
Adh-1	0.496	0.496	0.000	0.000
Adh-2	0.498	0.498	0.000	0.000
Adh-3	0.000	0.000	0.000	0.000
Me-1	0.434	0.338	0.096	0.221
Mdh-1	0.311	0.207	0.104	0.334
Mdh-2	0.556	0.556	0.000	0.000
Mdh-3	0.000	0.000	0.000	0.000
全部位点	0.237	0.213	0.024	0.101

表5 桐花树种群多态位点的 F-统计和基因流

Tab.5 Summary of F-statistics and gene flow of Polymorphic loci in *Aegiceras corniculatum* populations

位点	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}	N_m
Aat-1	-1.000	-1.000	0.000	
Aat-2	-0.015	-0.005	0.010	
Est-2	-1.000	-0.200	0.400	
Adh-1	0.387	0.389	0.005	
Adh-2	0.433	0.437	0.008	
Me-1	-0.913	-0.467	0.234	
Mdh-1	-0.629	-0.073	0.341	
Mdh-2	-0.809	-0.796	0.008	
Mean	-0.414	-0.263	0.107	2.09

高的遗传变异,各项指标均高于其他植物种群均值,这和桐花树的生物学特征有关。桐花树在我国是广泛分布于热带、亚热带海岸潮间带的一种常绿木本植物群落,而广布种往往维持着

较高的遗传变异。其次,桐花树具有虫媒传粉、外力搬运种子、生命周期长、世代交替的特点,而这些特点也与其较高的遗传多样性有关。另外,桐花树种群的平均等位基因数目(A)、平均多态位点百分数(P)和平均遗传多样性(He),都高于一般植物种群的相应均值(表7),这主要是因为 Hamrick 所研究的 165 个属的 653 个类群的植物陆生偏多,而桐花树种群受潮汐浸润,其生态环境与陆生植物截然不同,同时用于本实验的 3 个桐花树种群分别生长于 3 个不同的盐度梯度环境下,推测 3 个桐花树种群的遗传变异高,可能也与这 3 个种群生长的盐度梯度环境不同及潮汐周期性变化有关。

3.2 3 个不同盐度梯度的桐花树种群之间的分化程度比较低,遗传分化系数 G_{ST} 为 0.101(表4)。表明总的遗传多样性有 10.1%来自种群之间,有 89.9%来自亚种群内部。这与 Wright 1965 年用 F 统计量计算出的结果 $F_{ST} = 0.107$ 基本一致(表5)。和多位点的情

表6 桐花树种群的遗传距离(上三角)和遗传一致度(下三角)

Tab.6 Genetic identity (below diagonal) and genetic distance (above diagonal) between *Aegiceras corniculatum* Populations

种群	1	2	3
1 福建浮宫	/	0.072	0.069
2 福建桥头	0.931	/	0.000
3 福建充龙	0.934	1.000	/

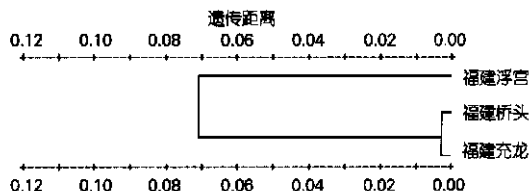


图1 不同盐度桐花树种群的聚类分析

Fig.1 The UPGMA of *Aegiceras corniculatum* population in different salinity

表 7 桐花树和其他植物遗传变异比较

Tab.7 Comparison of genetic variation of *Aegiceras corniculatum* and other plants

比较指标	A	P(%)	He
种群水平	1.57	46.2	0.215
其他植物种群均值 ^①	1.53	34.2	0.113

①: (Hamrick and Godt, 1989)

况下 F_{ST} 近似等于 G_{ST} 结论一致。Goodall 和 stoddart 1989 年对澳洲的红海榄的研究结果 ($F_{ST} = 0.023$), 黎中宝等 1994 年对白骨壤种群不同年龄级的遗传多样性和遗传分化的研究结果 ($G_{ST} = 0.024$)^[4]。黄生 1994 年对台湾秋茄种群的研究结果 ($F_{ST} = 0.043$) 都表明种群的遗传分化是很低的。Mei Sun 等^[7]对香港秋茄 (*Kandelia candel*) 种群遗传结构的研究发现秋茄种群遗传上的分化程度很低, $G_{ST} = 0.064$ 。黎中宝等在研究 3 种不同生境的桐花树种群的遗传多样性和遗传分化时发现桐花树种群的遗传分化系数较低, $G_{ST} = 0.127$ ^[5]。不同盐度梯度的桐花树种群之间的分化程度比较低, 这与桐花树种群间基因流很大有关, 研究表明, $N_m = 2.09$ 。Wright 认为种群间基因流大于 1, 则能发挥均质化作用, 反之, 则表明基因流成了遗传分化的主要原因。分化小的种群往往保持有较大的基因流, 3 个不同盐度梯度的桐花树种群也遵循这一规律, 基因流 N_m 大于 1, 说明种群间不会有较大的

分化。桐花树种群间基因流大, 推测可能与果实随洋流漂流而定居的传播方式及虫媒异花传粉机制有关。其次, 3 个不同盐度梯度的桐花树种群之间的分化程度比较低, 说明盐度对其选择压力不大。

3.3 王洪新^[6]等对盐渍条件下野生大豆群体的遗传分化和生理适应的研究, 结果表明, 绝大多数位点与耐盐能力无关; 及盐渍条件下野生大豆自然群体的高度遗传多样性, 可能是对盐胁迫强度随时随地的环境的适应。林鹏^[2]认为影响红树植物生长起主要作用的盐度上限。本实验也表明, 不同盐度梯度的桐花树种群之间的分化程度比较低, 说明盐度不是桐花树生长的限制因子, 本实验结果为桐花树种群向淡水引种提供了重要的理论依据, 具有重要的实践价值。

参考文献

- 1 林 鹏。红树林研究论文集(1993~1996)(第三集)。厦门:厦门大学出版社, 1999。1~168
- 2 林 鹏。中国红树林生态系。北京:科学出版社, 1997。284~316
- 3 王中仁。植物等位酶分析。北京:科学出版社, 1996。77~119
- 4 黎中宝, 林 鹏。厦门大学学报, 2001, 40(1): 1~7
- 5 黎中宝, 林 鹏, 邓传远。台湾海峡, 2000, 19(3): 379~385
- 6 王洪新, 胡志昂, 钟 敏等。植物学报, 1997, 39(1): 34~42
- 7 Mei Sun, K.C. Wong and Joe S.K. Lee. American Journal of Botany, 1998, 85(11): 1 631 - 1 637

GENETIC DIVERSITY AND DIFFERENTIATION OF *Aegiceras corniculatum* POPULATIONS IN THREE DIFFERENT SALINITY

LI Zhong-bao LIN Peng LIN Yr-ming
(School of Life Science, Xiamen University 361005)

Received: July, 13, 2000

Key Words: Allozyme, Genetic diversity, Genetic differentiation, Different salinity, *Aegiceras corniculatum*

Abstract

Genetic diversity and genetic differentiation of *Aegiceras corniculatum* populations in three different salinity were investigated using the assay of vertical slab polyacrylamide gel electrophoresis. The results showed that relatively high level of genetic diversity was maintained. Observed heterozygosities were 0.300, and expected heterozygosity were 0.215. The coefficient of genetic differentiation between populations was low, $G_{ST} = 0.101$, which showed that 10.1% of total heterozygosity came from interpopulation. The mean genetic distance and mean genetic identity between populations were 0.045 and 0.955 respectively. Gene flow was smooth, $N_m = 2.09$.

(本文编辑:张培新)