

4 种形态类型诸葛菜的等位酶变异及遗传多样性分析

李密密, 吴林园, 郭建林, 孙小芹, 杭悦宇^①

(江苏省·中国科学院植物研究所(南京中山植物园)江苏省植物迁地保护重点实验室, 江苏 南京 210014)

摘要:以采自江苏省南京市4个样点的4种不同形态类型(紫花毛果、紫花光果、白花光果和白花毛果)诸葛菜 [*Orychophragmus violaceus* (L.) O. E. Schulz] 63个单株为研究对象,采用不连续聚丙烯酰胺凝胶电泳技术(SDS-PAGE)对过氧化物酶同工酶(POD)、乙醇脱氢酶(ADH)、谷氨酸脱氢酶(GDH)、超氧化物歧化酶(SOD)和多酚氧化酶(PPO)酶谱进行了分析,并基于5个等位酶的酶谱分析结果对4种形态类型诸葛菜的遗传多样性进行了研究。结果表明:5个等位酶系统共包含12个位点32个等位基因,其中POD-1、POD-4、POD-5、POD-6、ADH-1、PPO-1、SOD-1和SOD-2为多态性位点;除具有共有谱带外,不同类型诸葛菜还具有各自特有的酶谱特征,其中,GDH-2的b带和c带分别是紫花类型和白花类型的特有谱带。紫花毛果、紫花光果和白花毛果类型的多态位点百分率(PPL)均为58.33%,而白花光果的PPL为66.67%;紫花毛果、紫花光果、白花光果和白花毛果每个位点的平均等位基因数分别为2.42、2.25、2.42和1.83,平均期望杂合度分别为0.35、0.30、0.38和0.29。4种形态类型诸葛菜的总基因多样性平均值为0.61,类型内基因多样性平均值为0.49,明显大于类型间基因多样性平均值(0.12);类型间的基因分化系数平均值为0.195,表明总基因多样性的80.5%来源于类型内。紫花光果和白花毛果类型间的遗传一致度最低(0.7244)且遗传距离最大(0.3225),而2个白花类型间的遗传一致度最高(0.9541)且遗传距离最小(0.0471)。研究结果显示:诸葛菜的种内变异程度很大、遗传分化程度较高,但在各类型内具有较高的遗传相似性。

关键词: 诸葛菜; 形态类型; 等位酶; 遗传多样性; 遗传分化

中图分类号: Q946.5; S681.9 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2012)03-0044-06

Analyses on allozyme variation and genetic diversity of four morphological types of *Orychophragmus violaceus* (Brassicaceae) LI Mi-mi, WU Lin-yuan, GUO Jian-lin, SUN Xiao-qin, HANG Yue-yu^① (Jiangsu Province Key Laboratory for Plant *Ex-Situ* Conservation, Institute of Botany, Jiangsu Province and the Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2012, 21(3): 44-49

Abstract: Taking 63 individuals of four morphological types (including types of purple petal-hairy fruit, purple petal-glabrous fruit, white petal-glabrous fruit and white petal-hairy fruit) of *Orychophragmus violaceus* (L.) O. E. Schulz collected from four sample plots in Nanjing City of Jiangsu Province as the research objects, zymograms of peroxidase isozyme (POD), alcohol dehydrogenase (ADH), glutamate dehydrogenase (GDH), superoxide dismutase (SOD) and polyphenol oxidase (PPO) were analyzed by SDS-PAGE technology. And the genetic diversity of four morphological types of *O. violaceus* was studied on the basis of zymogram analysis results of five allozymes. The results show that five allozyme systems contain 12 loci and 32 alleles, in which, POD-1, POD-4, POD-5, POD-6, ADH-1, PPO-1, SOD-1 and SOD-2 are polymorphic loci. Besides common bands, every type of *O. violaceus* possesses self-specific zymogram feature, in which, b-band and c-band of GDH-2 are unique allozyme band of purple and white petal type, respectively. Percentage of polymorphic loci (PPL) of types of purple petal-hairy fruit, purple petal-glabrous fruit and white petal-hairy fruit all are 58.33%, while that of white petal-glabrous fruit type is 66.67%. And their average number of alleles per locus of types of purple petal-hairy fruit,

收稿日期: 2011-11-15

基金项目: 江苏省自然科学基金资助项目(BK2010476)

作者简介: 李密密(1983—),女,浙江宁波人,博士,助理研究员,主要从事植物系统演化研究。

^①通信作者 E-mail: hangyueyu@21cn.com

purple petal-glabrous fruit, white petal-glabrous fruit and white petal-hairy fruit is 2.42, 2.25, 2.42 and 1.83, their average expected heterozygosity is 0.35, 0.30, 0.38 and 0.29, respectively. Average of total genetic diversity of four morphological types of *O. violaceus* is 0.61, average of genetic diversity within types is 0.49, which is obviously higher than that among types (0.12). Average of genetic differentiation among types is 0.195, showing 80.5% of total genetic diversity of *O. violaceus* originates from within types. The genetic identity between purple petal-glabrous fruit type and white petal-hairy fruit type is the lowest (0.724 4) with the largest genetic distance (0.322 5), while that between two white petal types is the highest (0.954 1) with the smallest genetic distance (0.047 1). It is suggested that both intraspecific variation degree and genetic differentiation degree of *O. violaceus* are higher, but genetic similarity within each type is high.

Key words: *Orychopragmus violaceus* (L.) O. E. Schulz; morphological type; allozyme; genetic diversity; genetic differentiation

诸葛菜 [*Orychopragmus violaceus* (L.) O. E. Schulz] 隶属于十字花科 (Brassicaceae) 芸苔族 (Trib. Brassiceae Hayek) 诸葛菜属 (*Orychopragmus* Bunge), 野生或栽培, 主要分布于亚洲中部和东部。据记载^[1], 中国分布的诸葛菜属植物共有 1 种 3 变种, 包括原变种诸葛菜以及变种湖北诸葛菜 [*O. violaceus* var. *hupehensis* (Pamp.) O. E. Schulz]、缺刻叶诸葛菜 [*O. violaceus* var. *intermedius* (Pamp.) O. E. Schulz] 和毛果诸葛菜 (*O. violaceus* var. *lasiocarpus* Migo)。此后又有研究者陆续发表了太白诸葛菜 (*O. taibaiensis* Z. M. Tan et B. X. Zhao)、辅散诸葛菜 (*O. diffusus* Z. M. Tan et J. M. Xu) 和秭归诸葛菜 (*O. ziguiensis* Z. E. Zhao et J. Q. Wu) 等新类群^[2-3]。与上述分类意见不同的是, 《Flora of China》^[4] 将诸葛菜属修订为 2 种, 即诸葛菜和心叶诸葛菜 [*O. limprichtianus* (Pax) Al-Shehbaz et G. Yang], 将心叶碎米荠 (*Cardamine limprichtiana* Pax) 和大叶葱芥 (*Alliaria grandifolia* Z. X. An) 修订为心叶诸葛菜, 而对诸葛菜的分类处理则采纳了 Al-Shehbaz 等^[5] 的观点, 将除心叶诸葛菜以外的其他种和变种都均归并入诸葛菜, 作为诸葛菜复合种 (*O. violaceus* Complex) 处理。然而, 周丽蓉等^[6] 有关 ITS 和 *matK* 序列的分析结果并不支持“将湖北诸葛菜和太白诸葛菜归并入诸葛菜”的分类处理; 通过花粉形态观察, 张鹏等^[7] 则认为心叶碎米荠和大叶葱芥不应该被归入诸葛菜属。

在植株体被毛状况、叶片及花的大小和颜色以及果实的被毛情况等形态特征方面, 诸葛菜种内存在明显的差异^[8]。吴沿友等^[9] 根据对诸葛菜根尖有丝分裂和花粉母细胞减数分裂的观察结果推断其中存在同源或异源四倍体, 而多倍体现象可能是造成诸葛菜

形态多样性的主要原因。张莉俊等^[10] 对诸葛菜的传粉机制研究结果则表明诸葛菜在自然条件下难以自花授粉, 而异花授粉的特性可能导致其具有丰富的遗传多样性。Zhang 等^[11] 运用 ISSR 分子标记技术对采自中国的 9 个诸葛菜居群进行了遗传多样性分析, 结果显示: 各居群具有很高的多态性, 其中 80.8% 的变异来自于居群内, 16.4% 的变异来自居群间。吴林园等^[12] 采用 ITS、*psbA-trnH* 和 *trnL-F* 3 个序列片段对 4 种形态类型 (紫花毛果、紫花光果、白花毛果和白花光果) 的诸葛菜进行了遗传关系分析, 研究结果显示: 4 种形态类型诸葛菜有很近的亲缘关系, 仅通过这 3 个序列分析结果还不能完全划清它们之间的界限; 对这 4 种形态类型后代性状的观察结果显示: 诸葛菜的白色花为特化现象, 果实被毛情况则是不稳定性状。

凝胶电泳技术常用于酶表达分析等方面的研究。Hubby 等^[13] 和 Harris 等^[14] 利用凝胶电泳技术结合酶的特异性染色分别对果蝇 (*Drosophila pseudoobscura* Frolova) 和人类 (*Homo sapiens* L.) 居群遗传变异进行了定量研究。等位酶标记是功能基因的具体表现形式, 与等位基因之间有明确关系^[15], 因此等位酶是研究居群遗传多样性和遗传结构的重要手段之一^[16-21], 也被广泛应用于植物系统演化^[22-23]、种质资源鉴定及亲缘关系分析^{[15]1-46, [19]} 等方面的研究。李军^[24] 首次将同工酶技术用于诸葛菜的遗传多样性研究, 对诸葛菜 5 个地理种源成年植株叶片的过氧化物酶同工酶 (POD) 酶谱进行了分析, 结果表明: 各种源之间的酶谱带和相对酶活力差异显著, 这种差异极有可能是不同生境所致。

虽然通过 ISSR 和 DNA 序列分子标记对诸葛菜的遗传多样性进行了研究, 但研究结果未能提供准确

的基因交流信息,且已有的相关同工酶研究也不够全面,因此,作者选择 POD、乙醇脱氢酶(ADH)、谷氨酸脱氢酶(GDH)、超氧化物歧化酶(SOD)和多酚氧化酶(PPO)5个酶体系,采用不连续聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)技术对紫花毛果、紫花光果、白花光果和白花毛果4种形态类型诸葛菜的等位酶差异及遗传多样性进行了研究,并探讨了这4种形态类型间的遗传关系,旨在为诸葛菜的形态多样性研究以及其种下类型的分类界定提供更多的实验证据,并据此探讨诸葛菜后代分离现象的机制。

1 材料和方法

1.1 材料

实验材料采自江苏省南京市,采集地点分别为南京中山植物园、南京理工大学、玄武湖公园和清凉山公园。在4月份,将野生诸葛菜按照花颜色和果实被毛情况分成紫花毛果、紫花光果、白花毛果和白花光果4种形态类型进行采集,每个形态类型每个样点均采集5个单株并对每个单株逐一编号,其中白花毛果类型数量较少,仅在南京中山植物园内采集到3株。凭证标本存放于江苏省·中国科学院植物研究所植物标本馆(NAS)。

1.2 方法

1.2.1 酶液提取方法 每个单株取200 mg幼嫩叶片,参照王中仁^{[25]1-6}的方法提取酶液,并置于干净的离心管中,于-20℃保存、备用。

1.2.2 电泳和染色方法 采用不连续聚丙烯酰胺凝胶电泳法(SDS-PAGE)垂直板技术进行等位酶电泳分析,具体操作参照何忠效等^[26]的方法进行。电泳结束后对凝胶进行染色,其中,过氧化物酶同工酶(POD)、乙醇脱氢酶(ADH)、谷氨酸脱氢酶(GDH)和超氧化物歧化酶(SOD)的染色参照何忠效等^[26]的方法;多酚氧化酶(PPO)的染色参考薛俊杰等^[27]的方法。

1.2.3 酶谱位点确定方法 参照王中仁^{[25]10-11}介绍的国际通用酶谱命名方法对酶带进行命名;结合本研究组对4种形态类型诸葛菜染色体倍性的观察结果($2n=2X=24$)^[28],根据5个等位酶四级结构(亚基数目)及其在亚细胞分室中的分布(位点数目),以及酶谱表型与基因型的对应关系,在确定了5个等位酶酶带的基础上,将酶带带型转化为基因型数据。

1.3 数据分析

使用 POPGENE 1.31^[29] 软件对5个等位酶的基因型数据进行分析,计算等位基因频率、多态位点百分率(PPL)、每个位点平均等位基因数(A)、平均期望杂合度(H_e)、总基因多样性(H_T)、类型内基因多样性(H_S)、类型间基因多样性(D_{ST})、类型间的基因分化系数(G_{ST})、类型间的 Nei 遗传距离(D)和遗传一致度(I)。其中, D_{ST} 、 G_{ST} 、D和I根据文献^[30]的方法进行计算,其余参数的计算方法参见文献^[31]。

2 结果和分析

2.1 等位酶的酶谱分析

对4种形态类型诸葛菜共63个单株的5个等位酶的 SDS-PAGE 分析结果(详细电泳图略)表明:过氧化物酶同工酶(POD)、乙醇脱氢酶(ADH)、谷氨酸脱氢酶(GDH)、超氧化物歧化酶(SOD)和多酚氧化酶(PPO)5个酶系统共包含12个等位酶基因位点,包括 POD-1 至 POD-6、GDH-1 和 GDH-2、ADH-1、PPO-1、SOD-1 和 SOD-2;共有46条谱带,其中,POD谱带有16条,GDH谱带有3条,ADH谱带有2条,PPO谱带有10条,SOD谱带有15条;4种形态类型的共有谱带为 POD 的 c、d、e、g、l、m、n 和 o 带, GDH-1 的 a 带, ADH-1 的 a 带, PPO-1 的 a 带, 以及 SOD 的 c、f、g、k、l 和 o 带。

电泳结果显示:紫花毛果类型缺失 POD-4 的 f 带;紫花光果类型缺失 POD-5 的 k 带;白花毛果和白花光果2种类型均缺失 POD-1 的 a 带和 POD-5 的 j 带;白花毛果类型还缺失 POD-1 的 b 带以及 POD-4 的 h 和 i 带。GDH-2 的 b 带只存在于紫花类型的诸葛菜中,而白花类型特有 GDH-2 的 c 带,白花类型还特有 ADH-2 的 b 带。白花光果类型的 PPO-1 位点上的酶带明显多于其他3种类型。白花毛果类型缺失 SOD-2 的 i、j 和 m 带;紫花毛果类型特有 SOD-1 的 b 带和 SOD-2 的 h 带,紫花光果类型缺失 SOD-1 的 a 和 d 带以及 SOD-2 的 n 带。

2.2 等位酶的等位基因频率分析

通过对4种形态类型诸葛菜5个等位酶12个位点的32个等位基因进行分析,计算得出各等位基因的频率,结果见表1。由表1可以看出:POD位点的差异最大;POD-1、POD-4、POD-5、POD-6、ADH-1、PPO-1、SOD-1 和 SOD-2 为多态位点,占总位点数的

表1 不同形态类型诸葛菜5个等位酶的等位基因频率分析

Table 1 Analysis on allele frequency of five allozymes from different morphological types of *Orychophragmus violaceus* (L.) O. E. Schulz

位点 Locus	等位基因 Allele	在不同类型诸葛菜中的基因频率 ¹⁾ Gene frequency in different types of <i>O. violaceus</i> ¹⁾				位点 Locus	等位基因 Allele	在不同类型诸葛菜中的基因频率 ¹⁾ Gene frequency in different types of <i>O. violaceus</i> ¹⁾			
		ZM	ZG	BG	BM			ZM	ZG	BG	BM
POD-1	a	0.375 0	0.400 0	0.800 0	0.667 0	GDH-1	a	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0
	b	0.387 5	0.450 0	0.200 0	0.333 0	GDH-2	a	1.000 0	1.000 0	0.000 0	0.000 0
	c	0.237 5	0.150 0	0.000 0	0.000 0		b	0.000 0	0.000 0	1.000 0	1.000 0
POD-2	a	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	ADH-1	a	1.000 0	1.000 0	0.500 0	0.500 0
POD-3	a	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0		b	0.000 0	0.000 0	0.500 0	0.500 0
POD-4	a	0.000 0	0.050 0	0.144 7	0.500 0	PPO-1	a	0.625 0	0.869 5	0.476 1	1.000 0
	b	0.372 5	0.100 0	0.500 0	0.500 0		b	0.031 3	0.043 4	0.269 1	0.000 0
	c	0.125 0	0.475 0	0.144 7	0.000 0		c	0.031 2	0.000 0	0.207 2	0.000 0
	d	0.512 5	0.375 0	0.210 5	0.000 0		d	0.312 5	0.087 1	0.047 6	0.000 0
POD-5	a	0.575 0	0.607 0	0.000 0	0.000 0	SOD-1	a	0.465 0	0.833 3	0.377 3	0.333 3
	b	0.175 0	0.000 0	0.500 0	0.500 0		b	0.465 0	0.000 0	0.283 0	0.333 3
	c	0.250 0	0.393 0	0.500 0	0.500 0		c	0.070 0	0.166 7	0.339 7	0.333 3
POD-6	a	0.487 5	0.512 5	0.612 5	0.833 4	SOD-2	a	0.473 6	0.422 5	0.431 8	0.428 5
	b	0.225 0	0.225 0	0.112 5	0.083 3		b	0.210 5	0.127 7	0.181 8	0.014 3
	c	0.250 0	0.200 0	0.237 5	0.083 3		c	0.078 9	0.255 3	0.113 6	0.000 0
	d	0.037 5	0.062 5	0.037 5	0.000 0		d	0.237 0	0.191 5	0.272 8	0.428 5

¹⁾ZM: 紫花毛果类型 Type of purple petal-hairy fruit; ZG: 紫花光果类型 Type of purple petal-glabrous fruit; BG: 白花光果类型 Type of white petal-glabrous fruit; BM: 白花毛果类型 Type of white petal-hairy fruit.

66.67%, 其余4个位点为单态位点。

2.3 等位酶的遗传变异分析

通常用于反映居群遗传多样性的常用指标有多态位点百分率(PPL)、每个位点平均等位基因数(A)和平均期望杂合度(H_e , 又称为基因多样性指数)等。从4种形态类型诸葛菜5个等位酶的遗传变异分析结果(表2)可以看出:4种类型诸葛菜的平均等位基因数为1.83~2.42, 均值为2.23。其中, 白花毛果类型的平均等位基因数最少, 为1.83, 可能与该类型诸葛菜的样株数较少有关; 其余3种类型中, 紫花毛果和白花光果类型的平均等位基因数相同且最多, 均为2.42。紫花毛果类型、紫花光果类型和白花毛果类型的多态位点百分率均为58.33%, 仅白花光果类型的多态位点百分率较高, 为66.67%。

由表2还可见: 紫花毛果、紫花光果、白花光果和白花毛果4种类型诸葛菜的平均期望杂合度分别为0.35、0.30、0.38和0.29, 其中紫花毛果和白花光果类型的基因多样性指数相对较高, 而白花毛果类型的基因多样性指数则较低。

2.4 等位酶的遗传分化分析

对4种形态类型诸葛菜5个等位酶12个位点的遗传多样性和遗传分化研究结果见表3。结果表明:

表2 不同形态类型诸葛菜5个等位酶不同位点的遗传变异分析¹⁾
Table 2 Analysis on genetic variation of different loci of five allozymes from different morphological types of *Orychophragmus violaceus* (L.) O. E. Schulz¹⁾

位点 Locus	在不同类型诸葛菜中的期望杂合度 Expected heterozygosity in different types of <i>O. violaceus</i>				
	ZM	ZG	BG	BM	平均值 Average
POD-1	0.65	0.62	0.32	0.44	0.51
POD-2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
POD-3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
POD-4	0.58	0.62	0.66	0.50	0.59
POD-5	0.58	0.48	0.50	0.50	0.51
POD-6	0.65	0.64	0.55	0.29	0.53
GDH-1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
GDH-2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
ADH-1	0.00	0.00	0.50	0.50	0.25
PPO-1	0.51	0.23	0.66	0.00	0.35
SOD-1	0.56	0.28	0.66	0.67	0.54
SOD-2	0.67	0.70	0.69	0.63	0.67
H_e	0.35	0.30	0.38	0.29	0.33
PPL/%	58.33	58.33	66.67	58.33	60.42
A	2.42	2.25	2.42	1.83	2.23

¹⁾ZM: 紫花毛果类型 Type of purple petal-hairy fruit; ZG: 紫花光果类型 Type of purple petal-glabrous fruit; BG: 白花光果类型 Type of white petal-glabrous fruit; BM: 白花毛果类型 Type of white petal-hairy fruit. H_e : 平均期望杂合度 Average expected heterozygosity; PPL: 多态位点百分率 Percentage of polymorphic loci; A: 每个位点平均等位基因数 Average number of alleles per locus.

表3 不同形态类型诸葛菜5个等位酶不同位点的遗传多样性与分化分析¹⁾

Table 3 Analyses on genetic diversity and differentiation of different loci of five allozymes from different morphological types of *Orychophragmus violaceus* (L.) O. E. Schulz¹⁾

位点 Locus	H_T	H_S	D_{ST}	G_{ST}
POD-1	0.56	0.51	0.05	0.09
POD-4	0.72	0.59	0.13	0.18
POD-5	0.66	0.51	0.15	0.23
POD-6	0.85	0.53	0.32	0.38
ADH-1	0.37	0.25	0.12	0.32
PPO-1	0.43	0.35	0.08	0.19
SOD-1	0.62	0.54	0.08	0.13
SOD-2	0.70	0.67	0.03	0.04
平均值 Average	0.61	0.49	0.12	0.195

¹⁾ H_T : 总基因多样性 Total genetic diversity; H_S : 类型内基因多样性 Genetic diversity within types; D_{ST} : 类型间基因多样性 Genetic diversity among types; G_{ST} : 类型间的基因分化系数 Genetic differentiation among types.

4种形态类型诸葛菜5个等位酶12个位点总基因多样性平均值为0.61;类型内基因多样性平均值为0.49,明显大于类型间基因多样性平均值(0.12)。类型间的基因分化系数平均值为0.195,表明总基因多样性的80.5%来源于类型内的遗传分化,而其余19.5%的总基因多样性来自于类型间的遗传分化,说明诸葛菜4种形态类型内具有较高水平的遗传变异,同时类型间的变异水平也达到了一定程度^[32]。

对4种形态类型诸葛菜的遗传距离和遗传一致度进行计算,结果表明(表4):4种类型诸葛菜间的遗传一致度为0.724 4~0.954 1,平均值为0.808 9;紫花光果和白花毛果2个类型间的遗传一致度最低,而白花光果和白花毛果2个类型间的遗传一致度最高。

表4 基于等位酶分析的不同形态类型诸葛菜的遗传距离和遗传一致度¹⁾

Table 4 Genetic distance and genetic identity of different morphological types of *Orychophragmus violaceus* (L.) O. E. Schulz based on allozyme analysis¹⁾

类型 Type	遗传距离或遗传一致度 ²⁾ Genetic distance or genetic identity ²⁾			
	ZM	ZG	BG	BM
ZM	-	0.049 9	0.280 0	0.304 9
ZG	0.951 3	-	0.314 1	0.322 5
BG	0.755 8	0.730 4	-	0.047 1
BM	0.737 2	0.724 4	0.954 1	-

¹⁾ ZM: 紫花毛果类型 Type of purple petal-hairy fruit; ZG: 紫花光果类型 Type of purple petal-glabrous fruit; BG: 白花光果类型 Type of white petal-glabrous fruit; BM: 白花毛果类型 Type of white petal-hairy fruit.

²⁾ 横线上方和下方的数据分别为遗传距离和遗传一致度 Datums above and below horizontal lines are genetic distance and genetic identity, respectively.

4种类型间的遗传距离为0.047 1~0.322 5,平均值为0.219 8;白花毛果和白花光果2个类型间的遗传距离最小,而紫花光果和白花毛果2个类型间的遗传距离最大。

3 讨 论

根据4种形态类型诸葛菜5个酶系统12个位点32个等位基因的分析结果可以看出:各类型诸葛菜的基因丰富程度和遗传变异水平都较高。无论是在过氧化物酶同工酶(POD)还是其他4种酶的酶谱中,4种类型诸葛菜均具有相同的共有谱带,说明诸葛菜种下具有一定程度的遗传稳定性。各类型诸葛菜的酶带数量、带级、位点及活性强度等存在着很多较明显的差异,形成各自特有的酶谱特征以及酶谱条带,例如,紫花诸葛菜具有特有的GDH-2的b带,而白花诸葛菜则具有独特的GDH-2的c带,说明不同花色类型的诸葛菜在遗传组成上存在差异,这可能是适应特定生态环境而突变产生的。5个酶系统都有变异酶带,表明诸葛菜基因杂合率较高、纯合率较低。这一结果也验证了张莉俊等^[10]对诸葛菜传粉生物学的研究结果,即:诸葛菜自交的可能性不大,繁育系统研究中自交结实率低,属于专性异交。这也说明诸葛菜是一种天然杂交植物,由于种内存在同源或者异源的多倍体^[9,33],所以其遗传多样性水平较高。

研究结果显示:诸葛菜4种形态类型间的遗传一致度的平均值为0.808 9,与类型间的基因分化系数0.195相对应,说明各居群间具有较高的遗传相似性,总基因多样性的80.5%来源于类型内的遗传分化,其余19.5%的总基因多样性则来自于类型间的遗传分化。这一结果与诸葛菜的ISSR分子标记研究结果相一致^[11]。推测造成这一现象的主要原因是:诸葛菜种子自播性强,具有很强的繁衍后代能力,且具有重要的经济价值(种子含油量高、综合营养价值高和较高观赏价值等^[34]),各地大量引种栽培,地理分布范围广,引起频繁的基因交流,致使其类型间具有较高的遗传一致度,且保持着较低的基因分化水平。

参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志: 第三十三卷 [M]. 北京: 科学出版社, 1987: 40-43.
- [2] 谭仲明, 许介眉, 赵炳祥, 等. 中国诸葛菜属(十字花科)新分群[J]. 植物分类学报, 1998, 36(6): 544-548.

- [3] 吴金清, 赵子恩. 长江三峡库区诸葛菜属(十字花科)一新种[J]. 武汉植物学研究, 2003, 21(6): 487-488.
- [4] WU Z Y, RAVEN P H. Flora of China: Vol. 8[M]. Beijing: Science Press, 2001: 26-27.
- [5] AL-SHEHBAZ I A, YANG G. A revision of the Chinese endemic *Orychophragmus* (Brassicaceae)[J]. Novon, 2000, 10(4): 349-353.
- [6] 周丽蓉, 余 研, 宋荣秀, 等. 中国特有诸葛菜复合群的系统发育关系[J]. 云南植物研究, 2009, 31(2): 127-137.
- [7] 张 鸥, 邱 明, 金孝锋. 诸葛菜复合体(十字花科)的花粉形态及其分类学意义[J]. 杭州师范大学学报: 自然科学版, 2009, 8(3): 214-217.
- [8] 张莉俊, 秦红梅, 王 敏, 等. 二月兰形态性状的变异分析[J]. 生物多样性, 2005, 13(6): 535-545.
- [9] 吴沿友, 蒋九余, 帅世文, 等. 诸葛菜的细胞遗传学研究[J]. 西南农业学报, 1996, 9(3): 38-41.
- [10] 张莉俊, 韩 颖, 戴思兰. 二月兰传粉生物学研究[J]. 北方园艺, 2007(12): 119-121.
- [11] ZHANG L J, DAI S L. Genetic variation within and among populations of *Orychophragmus violaceus* (Cruciferae) in China as detected by ISSR analysis [J]. Genetic Resources and Crop Evolution, 2010, 57(1): 55-64.
- [12] 吴林园, 高 兴, 彭 斌, 等. 基于3个DNA序列的不同形态类型诸葛菜的遗传关系分析及后代性状观察[J]. 植物资源与环境学报, 2010, 19(1): 75-79.
- [13] HUBBY J L, LEWONTIN R C. A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations. I. The number of alleles at different loci in *Drosophila pseudoobscura*[J]. Genetics, 1966, 54(2): 577-594.
- [14] HARRIS S A, INGRAM R. Chloroplast DNA and biosystematics: the effects of intraspecific diversity and plastid transmission [J]. Taxon, 1991, 40(3): 393-412.
- [15] 李长林. 桃属等位酶遗传多样性研究[D]. 武汉: 华中农业大学园艺林学学院, 2007.
- [16] 欧阳志勤, 王兵益, 党晓栋, 等. 云南金钱槭天然居群等位酶遗传多样性研究[J]. 武汉植物学研究, 2009, 27(5): 461-466.
- [17] 王中仁. 植物遗传多样性和系统学研究中的等位酶分析[J]. 生物多样性, 1994, 2(2): 91-95.
- [18] 刘 萍, 李应科, 李小虎, 等. 胡芦巴等位酶变异和遗传多样性研究[J]. 西北植物学报, 2010, 30(9): 1780-1785.
- [19] 颜福花. 李属植物及其近缘种的等位酶遗传多样性和种间关系研究[D]. 武汉: 华中农业大学园艺林学学院, 2006: 1-44.
- [20] 陈媛媛, 叶其刚, 黄宏文. 中华水韭(*Isoetes sinensis*)等位酶分析的初步研究[J]. 武汉植物学研究, 2003, 21(1): 91-94.
- [21] 王 玲, 卓丽环, 杨传平, 等. 兴安落叶松等位酶水平的遗传多样性[J]. 林业科学, 2009, 45(8): 170-174.
- [22] 方德秋, 章文才, 肖顺元. 应用同工酶进行柑桔分类和进化研究[J]. 植物分类学报, 1993, 31(4): 329-352.
- [23] 严学兵, 周 禾, 王 堃, 等. 我国9种披碱草属植物的系统学关系[J]. 草业学报, 2009, 18(3): 74-85.
- [24] 李 军. 不同地理种源诸葛菜的POD同工酶分析[J]. 西南农业大学学报, 1998, 20(3): 223-225.
- [25] 王中仁. 植物等位酶分析[M]. 北京: 科学出版社, 1996.
- [26] 何忠效, 张树政. 电泳[M]. 北京: 科学出版社, 1996: 12-73.
- [27] 薛俊杰, 张震云, 弓春瑞, 等. 几种木本豆科植物的过氧化物酶和多酚氧化酶同工酶研究[J]. 山西农业大学学报: 自然科学版, 2000, 20(1): 55-58.
- [28] 纪新庆. 黄独和诸葛菜的染色体数目观察[D]. 南京: 南京中医药大学药学院, 2009: 1-8.
- [29] YEH F C, BOYLE T, YE Z, et al. POPGENE Version 1.31: Microsoft Windows-Based. Freeware for Population Genetic Analysis [M]. Edmonton: University of Alberta, 1999: 1-28.
- [30] NEI M. Analysis of gene diversity in subdivided populations [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1973, 70(12): 3321-3323.
- [31] 葛学军. 植物遗传多样性研究中等位基因酶分析的遗传参数及其计算方法(综述)[J]. 热带亚热带植物学报, 1996, 4(2): 79-84.
- [32] ELLSTRAND N C, ELÁM D R. Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation [J]. Annual Review of Ecology and Systematics, 1993, 24: 217-242.
- [33] 李再云, 刘后利. 诸葛菜染色体的减数分裂配对研究[J]. 华中农业大学学报, 1995, 14(5): 435-439, T002.
- [34] 倪士峰, 陈 卓, 巩 江, 等. 国产诸葛菜属植物研究[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(14): 6435, 6460.

(责任编辑: 佟金凤)