

鹅掌楸 (*Liriodendron chinense*) 遗传多样性的等位酶论证*

朱晓琴 马建霞 姚青菊 郝日明 贺善安

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

摘要 选择5个具有地理代表性的鹅掌楸 (*Liriodendron chinense* (Hemsl.) Sarg.) 种群, 分析6种酶系统9个位点上27个等位基因的遗传变异。结果表明, 鹅掌楸种内保存较高的等位酶变异。遗传多样性的分布特点与种群地理分布型式一致, 鹅掌楸的种内分化主要表现为东、西部种群之间的差异, 东部亚区的总的基因丰富程度低于西部亚区。同时, 东部亚区内“岛”状隔离分布使其中的种群分化加深, 种群间差异大于西部亚区中呈“带”状地理连续分布的种群间的分化。

关键词 鹅掌楸; 等位酶; 遗传多样性; 种群分化

Allozyme verification on the population differentiation of *Liriodendron chinense* (Hemsl.) Sarg. Zhu Xiao-Qin, Ma Jian-Xia, Yao Qing-Ju, Hao Ri-Ming and He Shan-An (Jiangsu Provincial Key Laboratory for Plant *Ex Situ* Conservation, Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014), *J. Plant Resour. & Environ.* 1995, 4(3): 9~14

Genetic variations of 5 geographically representative populations of *Liriodendron chinense* (Hemsl.) Sarg. are researched on 27 alleles of 9 loci coding for 6 kinds of allozyme. The results indicated that there are relatively high allozyme variations in the species. Its genetic diversity distribution is pretty consistent with the “belt and islands” pattern of its geographical distribution. The differentiation within the species is mainly between the western “belt” and the eastern “islands”, which manifests to be less diversified and with fewer alleles. In addition, the greater gene differentiation is found between populations of eastern “islands” rather than that among populations in western “belt”. This is due to the isolation between the eastern populations. The results of this genetic research strongly support the concept of the phytogeographical differentiation process of *L. chinense*.

Key words *Liriodendron chinense* (Hemsl.) Sarg.; allozyme; genetic diversity; population differentiation

鹅掌楸 (*Liriodendron chinense* (Hemsl.) Sarg.) 星散分布于长江流域以南的亚热带中、低山地, 种群常很小, 个体数目大多为1~10株, 仅少数群体达到100株, 处于严重的濒危状态。其种群分布型式反映了一个走向濒危的物种在数量上的减少过程⁽¹⁾。鹅掌楸分布区可以划分为东部亚区和西部亚区。前者由4个隔离的“岛”状结构组成, 后者包括一个地形上连片的分布“带”和带中分化出的一个“岛”。这反映了分布区由连续性向间断性的过渡。而间断性的“岛”状分布是濒危程度加深的表现。从这种分布型式推断, 东、西亚区种群间可能存在不同程度的生殖障

碍,而以东部为甚。本研究的主要目的在于:(1)了解鹅掌楸种内遗传多样性丰富程度和地理分布特点;(2)东、西部两分布区之间遗传分化的程度及其原因。从等位酶的研究结果论证这种分布型式的科学意义,进一步探讨这个物种遗传多样性的特征。

1. 材料与方 法

1.1 实验材料

根据研究目的,在东部亚区,分别在两个岛状分布区内各选择一个种群。在西部亚区内选择3个不同纬度的种群为代表。它们的位置见图1和表1。秋季采集种子。次年春季播种。8月取1龄实生苗的全展叶进行电泳。采种个体数在3~9株之间,每个母株取4株实生后代用于分析。

1.2 等位酶电泳方法

分析了叶片提取物中的6种酶系统,分别是:谷氨酸脱氢酶同工酶(GDH)、过氧化物酶同工酶(PER)、乙醇脱氢酶同工酶(ADH)、过氧化氢酶同工酶(CAT)、多酚氧化酶同工酶(PPO)和异柠檬酸脱氢酶同工酶(IDH)。酶提取基本按照 Parks 等的方法^[10]进行。GDH, PER 和 PPO 采用聚丙烯酰胺凝胶垂直平板电泳法,分离



图1 5个鹅掌楸种群的地理位置

Fig 1 Localities of 5 *Liriodendron chinense* populations

- A: Qingyuan, Zhejiang; B: Tonggu, Jiangxi;
C: Longshan, Hunan; D: Songtao, Guizhou;
E: Jinping, Yunnan

胶和浓缩胶的浓度分别为7%和4%,电极缓冲液为Tris-甘氨酸,pH 8.3。ADH, CAT 和 IDH 的电泳运用 Pharmacia Phast System 高效快速水平电泳仪,所用凝胶浓度分别为梯度胶8~25,均一胶7.5和12.5。染色配方参照文献^[11]。

表1 鹅掌楸采样种群的地理位置

Tab 1 Geographical sites of 5 sampled *L. chinense* populations

代号 Code	地点 Locality	经度(°) Longitude	纬度(°) Latitude	海拔 Altitude (m)
A	浙江庆元 Qingyuan, Zhejiang	119.0	27.6	1400
B	江西铜鼓 Tonggu, Jiangxi	114.4	28.5	800
C	湖南龙山 Longshan, Hunan	109.4	29.5	1200
D	贵州松桃 Songtao, Guizhou	109.1	28.1	800
E	云南金平 Jinping, Yunnan	103.2	22.8	1600

等位酶位点分析的依据为 Parks 等的研究结果^[10]以及各种酶的结构和亚细胞分室特

点^[11]。

2. 结果与分析

2.1 遗传变异

表2为鹅掌楸各被研究种群中的等位酶基因频率。本研究在6种酶系统中观察到9个位点上的27个等位基因, 基因型总数中的58%为杂合子类型。东部种群中杂合体出现频率为42%, 西部种群中为48%。等位基因频率在各种群间差异较大。

表2 鹅掌楸种群的等位基因频率表

Tab 2 Frequencies of alleles on 9 allozyme loci of *L. chinense* populations

位点 Locus	等位基因 Allele	种群 Population					位点 Locus	等位基因 Allele	种群 Population				
		A	B	C	D	E			A	B	C	D	E
GDH-1	a	0.09		0.07	0.34	0.20	ADH-1	b	0.37	0.96	0.78	1.00	0.60
	b					0.20	CAT	a	0.05	0.04	0.41	0.60	
	c			0.02		0.10		b	0.95	0.96	0.59	0.40	1.00
	d	0.91	1.00	0.91	0.66	0.50	PPO-1	a	0.08		0.30	0.31	0.10
PER-2	a				0.02			b	0.32	0.46	0.08	0.16	0.40
	b			0.24	0.09	0.15		c	0.58	0.45	0.25	0.28	0.35
	c	0.75	0.50	0.44	0.52	0.75		d	0.02	0.09	0.37	0.25	0.15
	d	0.25	0.50	0.32	0.37	0.10	PPO-2	a	0.08	0.04	0.05	0.30	0.05
PER-3	a	0.19	0.05	0.29	0.15			b	0.62	0.79	0.74	0.50	0.60
	b	0.06						c	0.30	0.17	0.21	0.10	0.35
	c	0.25	0.41	0.26	0.38	0.10	PPO-3	a	0.64	0.73	0.52	0.57	0.60
	d	0.50	0.04	0.34	0.45	0.50		b	0.36	0.27	0.48	0.43	0.40
	e		0.50	0.11	0.02	0.40	IDH	a	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
ADH-1	a	0.63	0.04	0.22		0.40							

表3 鹅掌楸种内遗传多样性各度量值

Tab 3 Parameters of genetic diversity of *L. chinense* populations

种群 Population	期望杂合性 He	观察杂合性 Ho	每位点等位 基因数 A/L	多态位点 比率 P
A	0.37	0.45	2.44	0.89
B	0.28	0.33	2.22	0.78
C	0.44	0.45	2.67	0.89
D	0.43	0.49	2.56	0.78
E	0.42	0.56	2.56	0.78

He; expected heterozygosity; Ho; observed heterozygosity; A/L; allelic number per locus; P; ratio of polymorphic loci

各种群内的期望杂合性(He)和观察杂合性(Ho)分别在0.28~0.44和0.33~0.56范围内变动(表3)。A和B这两个东部种群的He和Ht值比西部种群低。每个位点上的等位基因数也表现出同样的趋势。多态位点百分率在各种群间平均为0.82。

2.2 种群遗传结构

鹅掌楸种群分化参数见表4, 反映了种群内和种群间的遗传多样性程度。根据本研究中6种酶系统的分析结果, 鹅掌楸物种总的基因多样性平均为0.50, 其中种群内基因多样性为0.43%, 占总变异的86%; 群体间基因多样性为0.07, 占14%。说明鹅掌楸种内遗传变异的86%分布在种群内。通过动物传粉的植物异交种的平均群体间基因多样性为18.7%^[11], 虫媒授粉的鹅掌楸的这一量值接近于此数而略低。同时, 西部种群的遗传多样性高于东部种群。

表 4 中还列出了东部种群之间以及西部种群之间各自的种群分化程度。表明西部亚区的总基因多样性(Ht) 0.54 和种群内基因多样性(Hs)0.49 明显高于东部亚区的 0.41 和 0.37。这两个亚区各自种群间基因分化指数相当接近,分别为 0.09 和 0.10,东部略高。这两个数值都明显地低于种内总的基因分化指数 0.14。表明东、西分布亚区之间的差异明显,即鹅掌楸种内种群间分化的重心在于东、西种群的分化。

表 4 鹅掌楸种内的种群分化

Tab 4 Population differentiation of *L. chinense*

种群组合 Population grouping	总基因多样性 Ht	种群内基因 多样性 Hs	种群间基因 多样性 Dst	种群间基因 分化指数 Gst
种内平均 All populations of the species	0.50	0.43	0.07	0.14
东部种群 All eastern populations	0.41	0.37	0.04	0.10
西部种群 All western population	0.54	0.49	0.05	0.09

Ht: Total genetic diversity; Hs: Genetic diversity within populations; Dst: Genetic diversity among populations; Gst: the coefficient of gene differentiation

3. 讨 论

3.1 对鹅掌楸遗传多样性的认识

中国原产的鹅掌楸(*L. chinense*)和北美鹅掌楸(*L. tulipifera*)被公认为两个分化得相当好的种,它们在这个属内形成了一对典型的东亚-北美间断分布的对应种⁽⁷⁾。当北美鹅掌楸引入中国后,在林业生产实践中发现它的嫩枝梢,尤其是幼苗的嫩梢呈暗红色。这一特征往往被作为一种经验用于在幼苗期区别这两个种。然而,偶然地,在中国原产的鹅掌楸的某些种源中也出现了稳定的嫩梢暗红色特征。它预示着中国原产的鹅掌楸可能有着较为复杂的遗传基础。

当同工酶技术用于研究鹅掌楸遗传多样性以后,黄敏仁等⁽²⁾发表了在中国育成的鹅掌楸与北美鹅掌楸杂交种的几种同工酶酶谱。1981年至1982年,在美国国立树木园的一项国际合作中又一次对1970年在美国育成的杂种,以及在中国育成的杂种材料进行研究,找出了两个种的特征性谱带和杂种谱型⁽⁵⁾。这些信息为鹅掌楸遗传多样性研究提供了良好的基础。

同时,对于引种到美国弗吉尼亚州和北卡罗莱纳州的鹅掌楸也有研究⁽⁸⁾,认为,中国原产的这个种的同工酶变异很小,并可能是遗传纯合的。由于北美鹅掌楸在美国东部分布十分广泛而普遍,数量很多,是一个适应性很强的先锋树种。而在中国,鹅掌楸分布星散,是一渐危种。因此这一论述引起了学术界的关注。为此,贺善安等查证了美国这两处引种的记录,发现其种源都是庐山植物园提供的。再对庐山植物园进行调查,了解到,习惯上该园在与国外进行鹅掌楸种子交换中,大都在一处被称为“六棵树”的植株上采收种子。“六棵树”的名称来自6个主干十分靠近的一丛植物。目前已很难查明它们究竟是来自生长在一丛的6棵实生树,还是1棵植株有6个主干。因此,美国栽培的鹅掌楸的取材范围十分狭窄。

在另一项中美合作研究中对中国各地鹅掌楸的性状有了更多的认识⁽⁹⁾。值得注意的是,在对中国西部四川酉阳的天然鹅掌楸种群进行研究后,发现它兼有两个种的同工酶酶谱特征⁽⁶⁾,首次用同工酶技术论证了中国原产的鹅掌楸遗传基础的复杂性。

纵观近代鹅掌楸遗传多样性的研究历史, 本文的数据进一步说明了鹅掌楸是一个杂合性很高的树种。其平均期望杂合性为 0.39, 高于文献报道的多年生木本植物的平均值 0.18、多年生木本广布种的 0.26 和多年生动物传粉的木本异交种的 0.21^[3]。其中, 东部种群的平均期望杂合性为 0.33, 平均观察杂合性为 0.39, 西部种群的平均值则分别为 0.43 和 0.50。鹅掌楸的虫媒异交繁育特征使它保持了较高的杂合性。

3.2 鹅掌楸东、西两个分布亚区划分的遗传学意义

对本物种全部已查明的 84 个种群的“带、岛”分布型式的研究认为, 鹅掌楸的分布可划分为东、西亚区, 反映了走向濒危的物种的分布特征^[1]。本研究中, 浙江庆元(A)和江西铜鼓(B)代表了鹅掌楸分布区东部亚区的种群, 另外 3 个取样种群(C,D,E)则代表了西部“带”中不同纬度的群体。对于它们的遗传多样性的研究结果支持把鹅掌楸分布区划分为东、西两个亚区。从表 3 可见, 东部亚区中两个种群的期望杂合性 H_e 分别为 0.37(A)和 0.28(B), 而西部 3 个种群的 H_e 在 0.42~0.44 范围之间; 东部的观察杂合性 H_o 为 0.45(A)和 0.33(B), 西部种群的 H_o 在 0.45~0.56 范围之间, 这表明西部亚区的多样性程度高于东部亚区, 可以认为西部亚区是目前鹅掌楸遗传多样性的分布中心, 说明遗传多样性在东、西亚区间具有不同的分布特点。同时, 对种群分化程度的研究表明, 种群间分化指数(G_{st})在东、西部种群间较接近, 分别为 0.09 和 0.10, 但与种内所有种群总的分化指数的 0.14 相比则较低(表 4)。表明鹅掌楸物种种群分化主要表现为东、西部的差异。因此, 划分东、西两个分布亚区不仅具有地理和生态学意义, 也反映了这个物种遗传分化的现状和进程。

3.3 “带、岛”分化过程的遗传多样性论证

本研究中, 东部种群总的基因多样性(H_t)为 0.41, 种群内基因多样性(H_s)为 0.37, 分别低于西部种群的 H_t 0.54 和 H_s 0.49(表 4)。根据种群生态学的研究结果^[1], 东部种群中, 一部分在环境胁迫下, 逐渐移向较高海拔的非最适生境中, 生殖出现障碍, 群体缩小; 还有一些由于人类活动的直接破坏, 导致群体中个体数目的急剧减少。这些小群体内的交配范围狭窄, 易于产生近交衰退, 使东部种群内的遗传多样性程度降低。西部亚区中的连续地理分布“带”则减少了这一障碍, 保持了较高的基因丰富程度。因此产生了遗传多样性的“带”与“岛”之间的差异。

从种群间分化指数(G_{st})也可以看出“带、岛”分化过程的遗传基础。本研究中采用的鹅掌楸东部亚区中的种群间的空间距离约为 450 km, 其 G_{st} 值为 0.10; 西部亚区中种群间的空间跨度约为 1 000 km, G_{st} 值仅为 0.09。表示东部种群间的差异大于西部种群间的差异。说明东部亚区中群体间的隔离效应强于西部亚区。这是因为前者的种群已减缩成“岛”状分布, 种群间具有严重的地理屏障, 使群体间的基因交流难以进行; 而在西部, 连续的地理分布使种群间遗传信息交换机率较高。因此, 鹅掌楸地理分布上的“带、岛”分化过程也正是其种群间遗传分化的过程。

总之, 等位酶分析结果不仅支持种群生态研究中对鹅掌楸濒危过程的论断, 同时从遗传多样性的角度提供了对它实施有效保护的科学依据。因为目前鹅掌楸的个体数目虽然较少, 但仍保持了得益于其交配系统的较丰富的遗传多样性。当给予合适的生境后, 它完全有可能恢复和发展其多姿多彩的面貌。

参 考 文 献

- 1 郝日明, 贺善安, 汤诗杰等. 1995: 植物资源与环境 4(1): 1~6.
- 2 黄敏仁, 陈道明. 1979: 南京林产工业学院学报 1(2): 156~158.
- 3 Hamrick J L. 1989; Isozymes and the analysis of genetic structure, in: D E Soltis and P S Soltis (eds), *Isozymes in Plant Biology*, P. 73~87. Dioscorides Press, Portland.
- 4 Hamrick J L, M J W Godt, S L Sherman-Broyles. 1992: *New Forests* 6: 95~124.
- 5 He S A, F S Santamour. 1983; *Ann. Missouri Bot. Gard.*, 70: 748~749.
- 6 He S A, Z B Yang, Y Gu. et al. 1990: Ex situ conservation in Nanjing Botanical Garden, In: S A He, V H Heywood and P S Ashton (chief editors), *Proceedings of the International Symposium on Botanical Gardens*, p. 63~81. Jiangsu Science & Technology Publishing House, Nanjing.
- 7 Li H L. 1952; *Trans. Amer. Phil. Soc.*, 42(2): 391~429.
- 8 Parks C R, N G Miller, J F Wendel et al. 1983; *Ann. Missouri Bot. Gard.* 70: 658~666.
- 9 Parks C R, S A He. 1988; *American Journal of Botany* 75: 100~101 (Abstract).
- 10 Parks C R, J F Wendel, M M Sewell et al. 1990; *J. Heredity*, 81(4): 317~323.
- 11 Weeden N F, J F Wendel. 1989; Genetics of plant isozymes, In: D E Soltis and P S Soltis (eds), *Isozymes in Plant Biology*, p. 46~73, Dioscorides Press, Portland.

(责任编辑: 盛国英)

(上接第 60 页, 傅翔等: 侧金盏花属植物成分及药理研究进展. Continued from page 60)

- 13 王道生, 周自强, 王双龙等. 1985: 中成药研究 (5): 35~36.
- 14 丁建弥, 蔡国琴. 1984: 中草药 15(9): 16~17.
- 15 苏州医学院第一附属医院内科心血管组. 1974: 心脏血管疾病 (1): 10~16.
- 16 天津市医药工业研究所. 1976: 中草药通讯 (11): 35~36.
- 17 上海新福武临床组. 1978: 新医学 (4): 30~32.
- 18 Elkhey M A, M Daruish, S M Abdelwahab et al. 1967; *Planta Med.* 15(2): 201~204.
- 19 Evdokimov P K. 1977; *Farmatsiya (Moscow)* 28(5): 68~71(Russ).
- 20 Evdokimov P K, Kh Khalmatov. 1979; *Farmatsiya (Moscow)* 28(6): 44~47.
- 21 Evdokimov P K. 1979; *Rastit. Resur.* 15(4): 565~571(Russ).
- 22 Junior P, D Kruegar, C Winkler. 1985; *Dtsch. Apoth. Ztg.* 125(39): 1945~1949(Ger).
- 23 Komissarenko N F, E P Stupakova, D A Paraln et al. 1981; *Khim. Prir. Soedin.* (2): 249~250(Russ).
- 24 Kretsu L G, V N Florya. 1982; *Ser. Biol. Khim, Nauk* (2): 69~70(Russ).
- 25 Maksyutova S S, N F Komissareuko, D N Lazareva. 1975; *Rastit. Resurll* (4): 512~514(Russ).
- 26 Manna F, M L Stein, B Anzalone et al. 1978; *Fitoterapia* 49(2): 56~60(Ital).
- 27 Mathe A, Jr I Mathe. 1979; *Herba Hung.* 18(2): 21~28.
- 28 Skorroza Z V, G P Shnyakina. 1985; *Rastit. Resur.* 21(4): 458~460(Russ).
- 29 Strokova N F. 1971; *Biol. Nauki* 14(2): 70~73(Russ).
- 30 Thieme H, A Lamchav et al. 1976; *Pharmazie* 31(8): 565~572(Ger).
- 31 Yatsyuk V Y, V S Dolya, E V Gella. 1983; *Khim. Prir. Soedin.* (5): 641(Russ)

(责任编辑: 许定发)