

我国特有植物缙云卫矛同工酶变异的数量分析

张桂萍¹, 何平², 张峰³

(1. 晋东南师专生物化学系, 山西长治 046011; 2. 西南师范大学生命科学学院, 重庆 400715; 3. 山西大学生命科学系, 山西太原 030006)

摘要: 研究了分布于重庆市的我国特有植物——缙云卫矛 7 个居群 91 个个体功能叶片的过氧化物酶、细胞色素氧化酶、超氧化物歧化酶、酯酶和淀粉酶同工酶谱带的变异式样, 用 Jaccard 结合系数的 UPGMA 法进行聚类分析和主成分分析, 结果表明: 10.81% 的同工酶谱带是恒定的, 89.19% 的同工酶谱带在个体间表现出或多或少的变异; 居群有 29.73% 的同工酶谱带是恒定的, 70.27% 的同工酶谱带在居群间存在着一定程度的分化。来自同一居群的个体在谱带上表现出极大的相似性, 而来源于不同居群的个体却表现出明显的趋异性, 这可能是环境因子作用的结果或者是由于不同地域间基因流阻断所致。

关键词: 濒危植物; 缙云卫矛; 同工酶变异; 遗传分化; 数量分析

中图分类号: Q948 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2002)06-0523-06

Numerical analyses of isozymic variation on *Euonymus chloranthoides* Yang that endemic to chongqing, China

ZHANG Gui-ping¹, HE Ping², ZHANG Feng³

(1. Department of Biology, Jindongnan Teacher's College, Changzhi 046011, China; 2. Department of Life Science, Southwest Normal University, Chongqing 400715, China; 3. Department of Life Science, Shanxi University, Taiyuan 030006, China)

Abstract: The peroxidase, cytochromeoxidase, superoxidase dismutase, esterase and amylase in leaves of 91 plants from 7 populations with different habitats of *Euonymus chloranthoides* Yang that endemic to Chongqing, China were studied by using electrophoretic technique. The bands of those allozymes are scored to construct the two-state data matrix that is calculated by the Jaccard association coefficients clustered by UPGMA and principis component analysis(PCA). The results show that 10.81% allozyme bands are permanent to all the individuals and the other 89.19% allozyme bands show more or less variation among populations. About 29.73% allozyme bands are permanent to populations and the other 70.27% allozyme bands differentiated among populations. The results of clustering analysis and PCA indicate that individuals from the same population are highly homogenous genetically, which individuals from the different populations show highly dissimilarities in those allozyme bands. It may be either the result from environmental factors or the isolation of gene flow.

Key words: endanger plant; *Euonymus chloranthoides* Yang; allozyme analysis; genetic diversity; numerical analysis

收稿日期: 2001-05-18

作者简介: 张桂萍(1964-), 女, 山西太原人, 硕士, 讲师, 植物学专业, 从事植物多样性研究。

基金项目: 教育部回国人员基金资助项目(300700680)

缙云卫矛(*Euonymus chloranthoides*)为我国特有植物,又名绿花卫矛或青对叶,隶属于卫矛科(Celastraceae)、卫矛属(*Euonymus*)、卫矛亚属(subgen. *Euonymus*)、冬青叶组(sect. *Ilicifolia* Nakai.)、冬青叶系(ser. *Japonici* Blakel.)。据《四川植物志》报道缙云卫矛种仅分布于重庆北碚地区^[1],实地考察发现重庆统景镇东温泉公园内也有分布,但现存数量已非常有限。本研究对缙云卫矛在全分布区内进行取样,共获得7个居群91个个体,采用凝胶电泳法对其同工酶谱带进行变异分析,此外还对同工酶谱带进行了PCA和聚类分析,试图探求缙云卫矛致濒机理,为该物种的科学保护提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 样地的设定及材料的选取

有关重庆缙云山的自然地理、植物区系及植被类型,已有报道^[2,3],不再赘述。于1999年11~12月间对重庆缙云山及东温泉等地分别进行了实地考察。由于缙云卫矛现已处于濒危状况^[4],分布范围比较狭窄,且分布数量非常有限,尤其是东温泉和缙云山后山(运河上)该种现存的数量更为稀少,因此在取材过程中材料的选取数量只能根据具体数量而定。经考察共确定7个居群(A、B、C、D、E、F和G)91个个体,各样地的环境因素见表1。

表1 缙云卫矛7个样地的环境特征

Table 1 The environment factors of 7 sample populations of *E. chloranthoides* in 7 sites, Chongqing

居群 Populations	地点 Locations	海拔 Elevation (m)	坡度 Slope	土壤含水量 Water contained in soil(%)	土壤厚度 Soil thick- ness(cm)	生境 Habitat	个体数 Individuals
A	北温泉公园外山-1 No. 1 Mountain out of Beiwenquan Park	380~400	50°	42	25	竹林下 Bamboo forest	15
B	北温泉公园外山-2 No. 2 Mountain out of Beiwenquan Park	260~280	55°	46	25	竹林下 Bamboo forest	15
C	北温泉公园内-1 No. 1 in Beiwenquan Park	260	80°	51	13	岩石峭壁 Rock	15
D	北温泉公园内-2 No. 2 in Beiwenquan Park	240	50°	50	25	灌丛内 Shrub	15
E	东温泉公园-1 No. 1 In Dongwenquan Park	260~270	75°	50	20	竹林下 Bamboo forest	10
F	东温泉公园-2 No. 2 in Dongwenquan Park	300~310	75°	50	20	竹林下 Bamboo forest	10
G	运河上 Yunheshang	450~470	70°	55	30	竹林下 Bamboo forest	11

表2 缙云卫矛5种酶系统的酶谱带数目、等位基因位点数及迁移率

Table 2 The allozyme bands, Allele loci and Rf of 5 allozyme in *E. chloranthoides*

酶名称 Allozyme	酶谱带 Allozyme bands	等位基因位点数 Allele loci	迁移率 Rate of flow
过氧化物酶 Peroxidase	4	2	0.44, 0.40, 0.36, 0.28
细胞色素氧化酶 Cytochrome oxidase	6	2	0.46, 0.42, 0.38, 0.32, 0.28, 0.24
超氧化物歧化酶 Speroxide dismutase	6	4	0.74, 0.61, 0.48, 0.39, 0.33, 0.27
淀粉酶 Amylase	9	5	0.74, 0.68, 0.64, 0.60, 0.46, 0.33, 0.15, 0.10, 0.05
酯酶 Esterase	12	5	0.86, 0.84, 0.81, 0.77, 0.75, 0.73, 0.71, 0.69, 0.65, 0.63, 0.60, 0.57

1.2 电泳及染色

测定的同工酶谱包括细胞色素氧化酶(CYT)、过氧化物酶(POD),超氧化物歧化酶(SOD)、淀粉酶(AMY)和酯酶(ES)。采用不连续聚丙烯酰胺垂直平板凝胶电泳法^[5],对上述91个个体的当年生完整叶片进行电泳,将电泳后的胶版进行染色,并将

染色后的图谱摄影后,计算出Rf(迁移率)^[6]。

1.3 数据处理

根据绘制的酶谱带图,以酶谱带的Rf值依次确定谱带名(表2),并依据二态特征的0-1编码原则得到91×37的二元数据矩阵^[7]。

依据等位酶二态数据矩阵表(91×37),运用

NTSYS-pc 多变量分析程序, 采用 Jaccard 系数作为相似指标, 然后用 UPGMA 方法进行聚类分析和主成分分析(PCA)^[8,9]。

2 结果与分析

2.1 等位酶谱带在各居群中的分布

对 5 种酶系统所检测出的 37 条等位酶谱带, 根

据酶是基因的产物及酶谱与基因相对照原理^[10], 依据 Rf 值, 得出表 3。

由该表可以看出, 5 种酶系统共检测出酶谱带 37 条。其中, 过氧化物酶的酶谱带数量最少, 只有 4 条; 酯酶的酶谱带数量最多, 为 12 条。等位基因位点数过氧化物酶、细胞色素氧化酶最少, 只有 2 个位点, 淀粉酶、酯酶的等位基因位点数最多, 为 5 个位点。每一条酶谱带的 Rf 值见表中所示。

表 3 缙云卫矛 7 个居群中等位酶谱带数、等位基因位点数及多态位点百分率

Table 3 Allozyme bands, alleles loci and percentage of polymorphic loci in 7 populations of *E. chloranthoides*

参数 Parameters	居群 Populations							合计 Total
	A	B	C	D	E	F	G	
酶谱带数 Allozyme bands	25	24	27	26	26	23	21	37
等位基因位点数 Allele loci	14	15	17	17	15	13	13	18
多态位点数 Polymorphic loci	8	7	8	8	8	7	7	8
单态位点数 Nomomorphic loci	6	8	9	9	7	6	6	10
平均每个位点的等位基因数(A) Mean number of alleles per locus	1.64	1.533	1.529	1.529	1.6	1.615	1.615	1.5
平均等位基因的有效数(Ae) Mean effective number of alleles per locus	1.84	1.75	1.80	1.79	1.79	1.74	1.66	1.77
多态位点百分数(%) Percentage of polymorphic loci	57.14	46.67	47.06	47.06	53.33	53.85	53.85	44.44

表 4 缙云卫矛等位酶谱带的分布类型

Table 4 The distribution types of the allozyme bands in *E. chloranthoides*

谱带类型 Dist. types	分布 Distribution	酶谱带 Allozyme bands	比例(%) Band No. of the type /total band No.
I	+++++	POD Rf 0.40; SOD Rf 0.61; AMY Rf 0.74; ES Rf 0.81	10.81
II	+ + + + + + + +	CYT Rf 0.42; SOD Rf 0.33; ES Rf 0.84 0.60 0.57; AMY Rf 0.68 0.64	18.92
III	+ + + + + + -	POD Rf 0.28; AMY Rf 0.60	5.41
IV	+ + + + + - -	CYT Rf 0.28; SOD Rf 0.48 0.39; ES Rf 0.77 0.65 0.63; AMY Rf 0.1	18.92
V	+ + + + - - -	SOD Rf 0.74; ES Rf 0.86 0.73; AMY Rf 0.15 0.05	13.51
VI	+ + + - - - -	POD Rf 0.36; CYT Rf 0.46 0.38 0.32; ES Rf 0.71	13.51
VII	+ + - - - - -	POD Rf 0.44; SOD Rf 0.27; ES Rf 0.75 0.69; AMY Rf 0.46 0.33	16.22
VIII	+ - - - - - -	CYT Rf 0.24	2.7

“+”指定居群的所有个体均有分布 The allozyme band presents in all the individuals of a given population; “+”指定居群的部分个体有分布 The allozyme band presents in some of the individuals of a given population; “-”指定居群的所有个体均无分布 The allozyme band absents in a given population.

由表 3 可知: 缙云卫矛同工酶谱带在不同居群间的数量、分布、位点数及等位基因的多态性等方面都有不同程度的差异, 意即缙云卫矛不同居群间存在着或多或少遗传上的分化, 且分化程度不尽相同。

由表 4 可以进一步看出: 就个体水平而言, 共有的酶谱带有 4 条(I), 占总数的 10.81%, 这 4 条谱带为所有个体所共有, 且其谱带浓度较浓, 推测为该植物的特征谱带, 这说明所选取的植物虽然分布于 7 个不同的小生境中, 但在遗传背景上, 它们具有一定

的遗传一致性。就居群水平而言, 共有的酶谱带有 10 条(I、II), 占总数的 29.73%, 推测也是该植物的特征谱带, 其余 70.27% 的酶谱带(III-VIII)在居群及个体间的分布存在着不同程度的差异。

2.2 聚类分析与主成分分析

对图 1 Jaccard 结合系数(JAC)的 3 个等级水平作为划线标准进行分析。

从 JAC=0.38 处可将 91 个个体划分为 3 个酶谱表征群, 结果如下:

第一表征群(图 1:①)包括北温泉附近的居群 A、B、C 和 D,共 60 个个体;第二表征群(图 1:②)包含了东温泉公园内居群 E、F,共 20 个个体;第 3 表征群(图 1:③)包括运河上居群 G,共 11 个个体。

从 JAC=0.48 处划线可得到 4 个表征群,划分结果为:

第一表征群(图 1:①)包括居群 A 的 15 个个体;第二表征群(图 1:②)包含了居群 B、C、D 的全部个体,共 45 个个体;第 3 表征群(图 1:③)包含了居群 E、F 的全部个体,共 20 个个体;第 4 表征群(图 1:④)包含居群 G 的全部个体,共 11 个个体。

从 JAC=0.56 水平进行划分,得到 7 个表征

群,分别是:

第一表征群(图 1:①)包含居群 A 的 4 个个体;第二表征群(图 1:②)包含居群 A 的 11 个个体,这两个表征群合并即为居群 A 的 15 个个体。第三表征群(图 1:③)包含居群 B 的 4 个个体;第四表征群(图 1:④)包含居群 B 的 16 个个体,其中 11 个属居群 B,5 个属居群 C;第五表征群(图 1:⑤)包含 25 个个体,其中 10 个属居群 C,15 个属居群 D,第三、四、五表征群包含了居群 B、C、D 的全部个体。第六表征群(图 1:⑥)包含 20 个个体,其中 10 个属居群 E,10 个属居群 F。第七表征群(图 1:⑦)包含 11 个个体,均为居群 G。

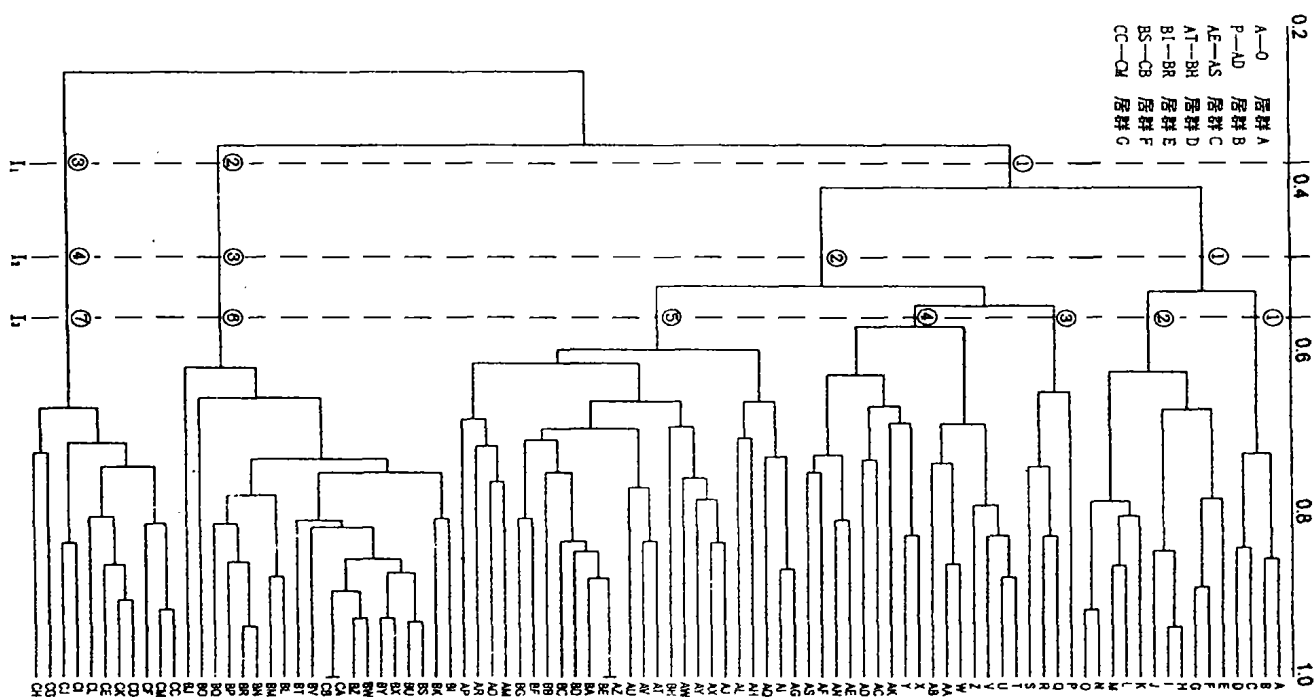


图 1 缙云卫矛等位酶二态数据矩阵的 Jaccard 结合系数聚类图

Fig. 1 The clustering dendrogram of two-state allozymic data of *E. chloranthoides* with Jaccard association coefficients clustered by UPGMA

由上可知,无论是从哪一等级水平进行划分,都不难看出缙云卫矛同一居群的个体其酶谱带具有较大的相似性,而不同居群间的个体其酶谱带却表现出一定的趋异性,这点可从 PCA(图 2)的前 3 个主成分三维空间图进一步看出。

无论是聚类分析(图 1)3 个等级水平的划分结果,还是从 PCA(图 2)的三维图均可明显看出,居群 G 与其它居群的相似性最小,其次是居群 E 和居群 F,再次是居群 A,居群 B、C、D 间的相似性最大,这

点与各居群所处样地的生境概况基本吻合。由表 1 我们可以知道,居群 G 位于缙云山运河上,除海拔高度较其它居群偏高外,由于该居群离温泉的距离较其它居群远,土壤温度较其它居群也偏低,因而居群 G 的生境条件与其它居群相对来说差异较大,故在聚类中与其它居群最后聚为一类;居群 E 和居群 F 同生长在统景镇东温泉,其土壤温度、土壤水分虽与北温泉附近的 4 个居群相近,但它与其它居群的距离相对最远,在漫长的进化过程中地域隔离阻断

了彼此之间的基因交流,从而使它们与其它居群间表现出其等位酶水平上的较大差异。

3 讨 论

综上所述,无论是聚类分析还是 PCA 结果均显示出缙云卫矛同一居群的个体其酶谱带具有一定的相似性,而不同居群的个体其酶谱带表现出一定程度的趋异性,即缙云卫矛不同居群间在等位酶水平

上表现出一定程度的基因分化。

野外考察发现缙云卫矛可利用根茎进行无性繁殖,属克隆植物;而种子萌发试验表明该植物的种子萌发能力较弱,因此,虽然居群内的个体可通过异花传粉增加其遗传异质性,但这种遗传异质性多数不能通过种子繁殖形式一代代地成功固定下来,造成居群内的个体遗传相似性较大,而居群间的个体遗传相似性较小。究其原因既可能是环境因子作用的结果,也可能是由于不同地域间基因流阻断所致,这

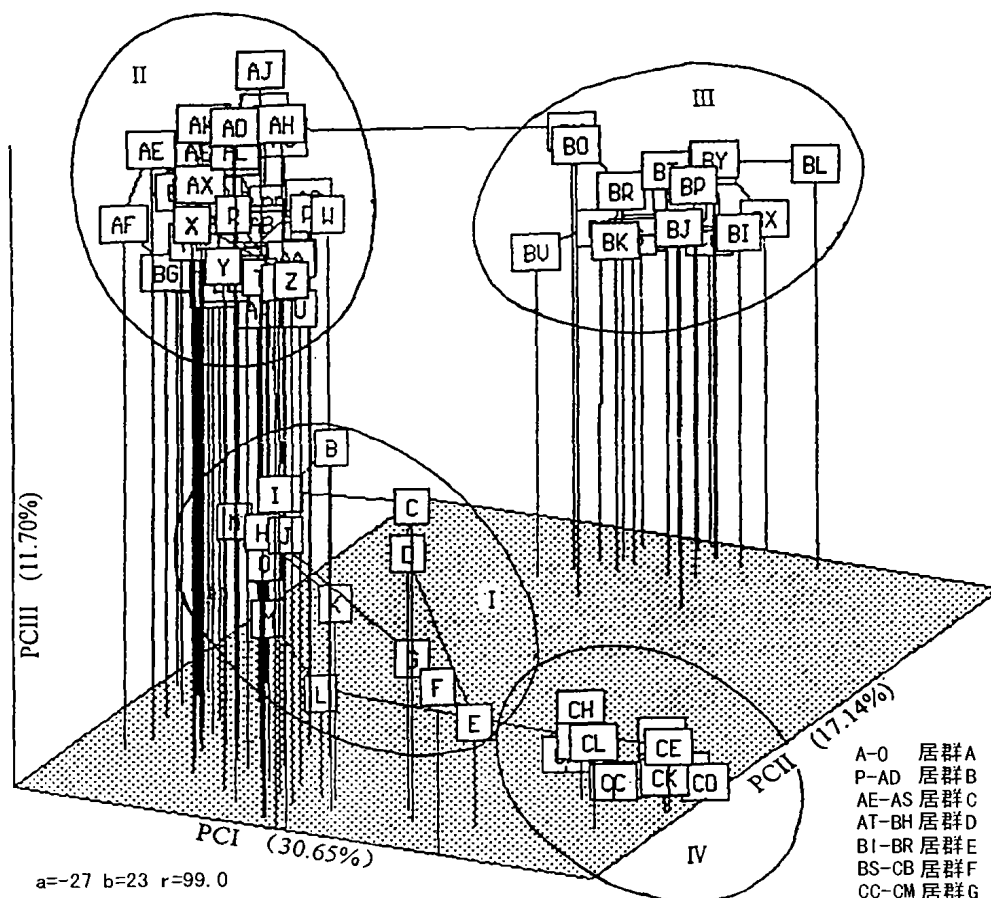


图 2 缙云卫矛等位酶主成分分析前三个主成分的三维空间图(个体间连线为最小生成树)

Fig. 2 The three-dimensional plot of the first three principal components from PCA of two-state allozymic data in *E. chloranthoides*

是导致该植物濒临灭绝的原因之一。

缙云卫矛生长于温泉附近,其生境均为旅游胜地。目前由于旅游业的快速发展,使该植物的生境遭到一定程度的破坏,其现存数量也已非常有限。对于缙云卫矛的濒危现状,若不及时采取有效手段,加强保护,其生存前景将十分令人堪忧。因此,在发展旅游业的同时,应大力对游客进行保护我国特有植物——缙云卫矛重要性的教育,使游客自觉地保

护缙云卫矛不受破坏。此外,有关部门应加强对缙云卫矛及其栖息生境的管理,制定相应的政策、法规,使缙云卫矛得到真正保护,这对于保护生物多样性具有十分重要的意义。

参考文献:

- [1] 张泽荣. 四川植物志(第四卷)[M]. 成都: 四川科学技术出版社, 1988. 277-285.

- [2] 刘玉成. 缙云山自然保护区植物区系组成分析[A]. 见: 钟章成. 长绿阔叶林研究[M]. 重庆: 西南师范大学出版社, 1988. 167—178.
- [3] 刘玉成, 钟章成, 缪世利, 等. 缙云山自然保护区植被概况[A]. 见: 钟章成. 长绿阔叶林研究[C]. 重庆: 西南师范大学出版社, 1988. 315—328.
- [4] 王诗云, 赵子恩, 彭辅松, 等. 华中珍稀濒危植物及其保存(第一册)[M]. 北京: 科学出版社, 1995.
- [5] 胡能书, 万贤国. 同工酶技术及其应用[M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1985. 113—167.
- [6] 王中仁. 植物等位酶分析[M]. 北京: 科学出版社, 1995. 134—137.
- [7] 钟扬, 陈家宽, 黄德世. 数量分类的方法与程序[M]. 武汉: 武汉大学出版社, 1990. 35—45.
- [8] Rohlf F J. NTSYS-pc version 1.80; Numerical taxonomy and multivariate analysis system[M]. New York State University, New York; Stony Brook, 1994.
- [9] He P, J Koek-Noorman, P J M Mass, L Y Th Westra. Numerical analysis of variation in the *Deutzia longifolia* group (Hydrangeaceae) [J]. *Proc. Kon. Ned. Akad. Wetensch.* 1994, **94**(3): 361—375.
- [10] 赖德 C. C., C. B. 泰勒(范培昌). 同工酶[M]. 北京: 科学出版社, 1987. 35—61.

(上接第 522 页 Continue from page 522)

凹纹, 千粒重 2.0 g 左右。

3 对环境条件的要求

苗期喜荫, 怕阳光暴晒, 苗圃地搭棚遮荫有利其生长。幼苗生长充实后, 阳光充足有利于良好的生长发育^[3]。“实美”对温度要求不严, 桂北地区一般都能种植, 尤其适宜低中山区种植。“实美”对土壤要求也不严, 以疏松肥沃不渍水的沙质壤土为好。因其新梢粗大质脆易折, 生长季节要注意扶绑或在长到适当长度后打顶, 建园时尽可能避开风口或是在果园周围营造防风林带。实美叶片大而薄, 蒸发量大, 虽比其他美味猕猴桃品种的抗旱性强, 但相对于中华猕猴桃的品种如“桂海 4 号”的抗旱性则较

差, 干旱时要加强灌溉, 建园时要注意选择近水源处便于灌溉的园地。

参考文献:

- [1] 李瑞高, 梁木源, 李洁维, 等. 猕猴桃高产栽培技术[M]. 南宁: 广西科学技术出版社, 1998.
- [2] 李瑞高, 梁木源, 李洁维, 等. 猕猴桃属植物生物学特征特性观测[J]. 广西植物, 1996, **16**(3): 265—272.
- [3] 崔致学. 中国猕猴桃[M]. 济南: 山东科学技术出版社, 1993.
- [4] 李洁维, 李瑞高, 梁木源, 等. 猕猴桃优良株系果实生长发育规律研究[J]. 广西植物, 1992, **12**(2): 152—156.