

栓皮栎天然群体过氧化物酶同工酶遗传变异分析^①

周建云, 郭军战, 杨祖山, 张文辉

(西北农林科技大学 林学院 陕西 杨陵 712100)

摘 要 对秦岭北坡中段、巴山北坡、秦岭东段的栓皮栎 3 个天然群体的过氧化物酶同工酶进行了研究。结果表明,栓皮栎天然群体过氧化物酶同工酶由 POD-A、POD-B、POD-C 3 个多态位点组成。各群体的多态位点百分率为 100%,等位基因平均数为 2.300,平均期望杂合度为 0.651。表明栓皮栎天然群体在过氧化物同工酶系统各基因位点上具有较高的遗传变异水平,其遗传变异性大多发生于群体内,群体内变异占总变异的 95.3%,群体间变异占总变异的 4.7%。

关键词 栓皮栎 过氧化物酶同工酶 遗传变异

中国分类号 S792.180.1 文献标识码 A 文章编号 1001-7461(2003)02-0033-04

Variation of Peroxidase Isozyme on Natural Populations of *Quercus variabilis*

ZHOU Jian-yun, GUO Jun-zhan, YANG Zu-shan, ZHANG Wen-hui

(College of Forestry, NW Sci-Tech Univ. of Agr. And For., Yangling, Shaanxi, 712100, China)

Abstract Studies were accomplished on the genetic structure of three natural populations of *Quercus variabilis* with peroxidase isozyme. The results showed that the peroxidase isozyme of *Q. variabilis* consisted of three polymorphic loci: POD-A, POD-B and POD-C. The percentage of polymorphic loci of every population was 100%. The mean of alleles was 2.300 and the expected heterozygosity was 0.651. Results also showed that higher variation on genetic locus of peroxidase isozyme existed in populations of *Q. variabilis*. Genetic variations mostly arose within the population. The inner-population genetic variations account for 95.3% of the total genetic variations and the inter-population genetic variations account for 4.7%.

Key words *Quercus variabilis*; peroxidase isozyme; genetic variation

栓皮栎(*Quercus variabilis*)广布于我国西北、华北、华中、华南、西南地区,是我国暖温带落叶阔叶林、亚热带常绿落叶林主要组成树种之一。栓皮栎也是我国传统经济树种。除了用于木材、薪材、食用菌、天麻、栲胶生产外,也是我国重要的软木资源树种。栓皮栎抗旱、耐瘠薄、萌芽力强、适应范围广,在秦巴山区、黄土高原海拔 1 600 m 以下地区形成的天然林,在当地的水土保持和环境保护方面发挥了重要作用,同时为山区人民脱贫致富提供了极为难得的物质基础^[1]。为了合理地保存和利用这一资源,对其群体结构的遗传变异进行研究,具有十分重要的意义。

林木群体遗传变异的本质是 DNA(基因)的变异,而同工酶是基因表达的产物。通过适当的酶系统可以准确识别染色体的基因位点,从而在最接近 DNA 的水平上研究林木群体的遗传变异^[2]。本文利用电泳技术对不同群体的栓皮栎子代叶部过氧化物酶同工酶进行了测定,分析了群体内等位基因酶的遗传变异,比较了群体间的遗传差异,以期对栓皮栎良种选育及优良类型的选择提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料来源

1998 年 9~10 月,从秦岭北坡中段(陕西眉

① 收稿日期 2002-07-08

基金项目 陕西省科技攻关项目(2001K04-G12);中国科学院知识创新项目(KZCX1-06-02)

作者简介 周建云(1974-)男,陕西扶风人,在读硕士,主要从事植物分类及生物多样性保护的的教学与研究工作。

县)巴山北坡(陕西平利县)秦岭东段(河南伏牛山宝天曼)3个地区(表1)各采集10~15株栓皮栎20~30年生优良母树种子(各株水平距离在50 m以上),用磷化铝熏蒸后,按家系在杨凌绿通园艺公司永安苗圃进行播种,建立人工小群体。于2000年7月上旬采集样株顶部第3片叶(预备试验结果表明此部位叶片中过氧化物酶活性较强,酶谱显色清晰,表达较为稳定),现场采集后装入试管,立即放入冰瓶。其中秦岭北坡中段、巴山北坡、秦岭东段各10个家系,在每个家系中取7个样株。样株生长良好,无病虫害。

表1 群体来源和地理位置

Table 1 The origins of the populations and geographic location						
地点	群体	经度 /°	纬度 /°	海拔 /m	年均温 /℃	年降水量 /mm
秦岭北坡中段 (陕西眉县)	P ₁	107.7	34.1	1 120	9.2	752.1
巴山北坡 (陕西平利县)	P ₂	109.4	32.4	1 250	10.8	958.5
秦岭东段 (河南伏牛山)	P ₃	111.8	33.4	980	15.2	885.6

1.2 样品制备

样品带回实验室后,立即用蒸馏水洗净,晾干。每样品称取0.5 g放入经冰冻的研钵内,加入Tris-甘氨酸缓冲液(pH 8.0)1 mL,研成糊状。然后用1 mL提取液(pH 7.5 0.1 mol 磷酸缓冲液:40%蔗糖=1:1混合)将糊状液冲入离心管,离心15 min(5 000 r/min)后,取上清液,置于0~4℃冰箱内,贮存备用。

1.3 电泳及染色

电泳采用垂直聚丙烯酰胺凝胶电泳法,染色采

用醋酸-联苯胺法^[2~4]。
1.4 同工酶位点的确定和等位基因的命名
在表示同工酶位点和等位基因时,由同工酶的缩写字母代表酶系统,连字符后的字母代表不同的位点,距正极最近的位点用A表示,其他各位点依次用B、C...表示。各位点上等位基因的确定根据谱带的迁移率,将最常见的谱带(等位基因)定为100,其他谱带(等位基因)则用相对于最常见谱带迁移率的百分比表示,依次用A₁、A₂、A₃...、B₁、B₂、B₃...、C₁、C₂、C₃...表示,无活性或活性极弱的谱带用S_A表示^[2]。

1.5 同工酶位点变异的度量指标

表示同工酶位点变异的度量指标有多态位点百分率(P)、等位基因平均数(A)、等位基因频率(F)、平均期望杂合度(He)、基因分化系数(GST)等^[6~8]。

2 结果与分析

2.1 栓皮栎群体过氧化物酶同工酶的遗传组成

栓皮栎叶部过氧化物酶同工酶活性较强,酶带数量较多。酶带主要分为3个区,迁移率最高的A区具0~2条带,迁移率在0.62~0.88之间,迁移率居中的B区具1~3条带,迁移率在0.30~0.53之间,迁移率最低的C区具1~2条带,迁移率在0.16~0.28之间。POD-A具有5个等位基因,其中POD-A₅为无效基因,不能表达,POD-B具5个等位基因,POD-C具3个等位基因(图1)。

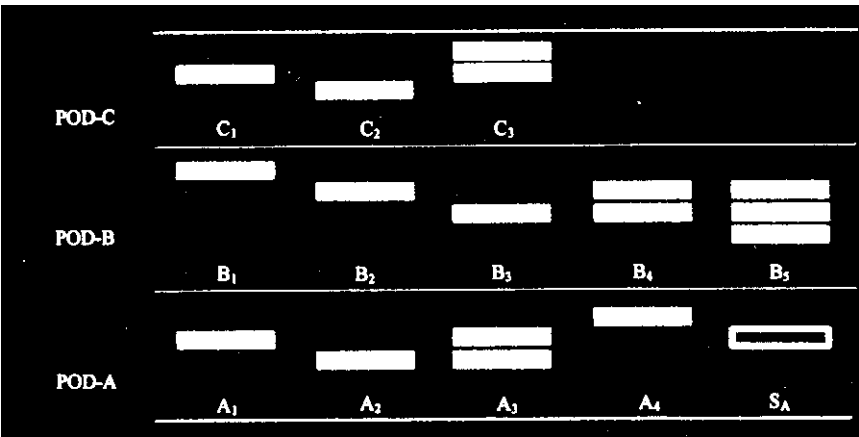


图1 栓皮栎过氧化物酶 POD-C、POD-B、POD-A 各位点的等位基因型

Fig.1 Allele phenol types of the three loci (POD-C, B and A) in the leaves of *Quercus variabilis*
2.2 等位基因频率与遗传变异
表2列出了每个群体中3个位点上的等位基因频率。所观察的3个位点在3个群体中都是多态的,每个位点上都发现不同的等位基因,所以,栓皮

栎天然群体在过氧化物酶同工酶系统上多态位点百分率为 100%。表 2 表明,各位点 3 个群体的期望杂合率顺序为:POD-B(0.659)>POD-A(0.657)>POD-C(0.641)。杂合率较大的位点 POD-B 在群体 P₁、P₃ 中每个位点有 5 个等位基因,在群体 P₂ 中该位点有 4 个等位基因,其中等位基因 B₂ 在群体 P₁、P₂ 中占优势,其等位基因频率分别为 0.529 和 0.429,等位基因 B₄ 在群体 P₃ 中占优势,等位基因频率为 0.443。杂合率居中的 POD-C 在各群体中每个位点有 3 个等位基因,其中等位基因 C₁ 在群体 P₁、P₂、P₃ 中都占优势,其等位基因频率分别为 0.471、0.429 和 0.628。杂合率较小的位点 POD-A 在各群体中平均每个位点有 5 个等位基因,其中无活性或活性较弱的等位基因 S_A 在群体 P₂、P₃ 中占优势,其等位基因频率分别为 0.414 和 0.386,等位基因 A₄ 在群体 P₁ 中占优势,等位基因频率为 0.457。Hamrick^[6]对 165 个属 449 种植物统计结果表明,植物种群内平均多态性位点比率为 34%,平均期望杂合度为 0.1。栓皮栎群体内过氧化物酶同工酶等位基因频率及杂合性的期望比率,各项指标均远高于平均值,说明栓皮栎天然群体在该酶系统上具有较高的遗传变异水平。

表 2 栓皮栎过氧化物酶同工酶各位点等位基因变异

Table 2 Allele variation of peroxidase isozyme three loci in nature populations of *Quercus variabilis*

位点	等位基因	群 体			平均
		秦岭北坡 (P ₁)	巴山北坡 (P ₂)	秦岭东坡 (P ₃)	
POD-C	C ₁	0.471	0.429	0.628	0.529
	C ₂	0.243	0.419	0.271	0.311
	C ₃	0.285	0.157	0.085	0.176
	杂合率	0.638	0.616	0.525	0.593
POD-B	B ₁	0.129	0.086	0.071	0.249
	B ₂	0.529	0.429	0.342	0.433
	B ₃	0.071	0.414	0.114	0.199
	B ₄	0.214	0.072	0.443	0.243
	B ₅	0.057	0.000	0.029	0.029
POD-A	杂合率	0.649	0.632	0.668	0.649
	A ₁	0.129	0.172	0.243	0.181
	A ₂	0.129	0.171	0.129	0.143
	A ₃	0.014	0.043	0.029	0.029
	A ₄	0.457	0.200	0.214	0.290
	S _A	0.271	0.414	0.386	0.357
	杂合率	0.684	0.728	0.729	0.716

2.3 群体基因变异分析

由表 3 可以看出,各天然群体过氧化物酶同工酶的等位基因平均数变动范围为 2.167~2.500,平

均值为 2.300,这与大多数乔木树种接近^[9~13];各群体平均期望杂合率变动范围为 0.641~0.659,平均值为 0.651,高于大多数树种的期望杂合度平均值(0.257)^[13]。从等位基因平均数和平均期望杂合率 2 个遗传指数(表 3)可以看出,高海拔群体 P₂ 变异性较大,2 个指数都最高;群体 P₃ 海拔最低,变异性最小,2 个指数都最小。栓皮栎天然群体遗传变异性随海拔升高而增大,其机理并不十分清楚,估计与花粉传递有关,尚需做进一步的研究。

表 3 栓皮栎过氧化物酶同工酶主要遗传参数

Table 3 Main heredity parameter of peroxidase isozyme in *Quercus variabilis* populations

群 体	等位基因平均数	平均期望杂合率
P ₁	2.233	0.657
P ₂	2.500	0.659
P ₃	2.167	0.641
平 均	2.300	0.651

2.4 栓皮栎群体遗传变异的分布

为了研究栓皮栎群体在过氧化物酶系统上的遗传分化程度,将总群体的基因多样性(H_T)分解为群体内基因多样性(H_S)和群体间基因多样性(D_{ST}) 2 部分,从而求出群体内和群体间基因多样性的相对量。据 Nei^[5]提出的基因多样性的层次分析方法,总基因多样性(H_T)等于各群体期望杂合性平均值,群体内基因多样性(H_S)等于期望杂合性的加权平均(表 4)。栓皮栎群体内变异(H_S)平均为 0.651,群体间变异(D_{ST})平均为 0.033,群体间相对分化系数平均为 0.047。即群体间变异占总变异的 4.7%,群体内变异占总变异的 95.3%。可见,栓皮栎群体在过氧化物酶系统上的遗传变异绝大部分分布在群体内。

表 4 栓皮栎过氧化物酶同工酶 3 个位点群体遗传分化

Table 4 Genetic differentiation among three loci of peroxidase isozyme in *Quercus variabilis* populations

位 点	H_T	H_S	D_{ST}	G_{ST}
POD-C	0.614	0.591	0.023	0.037
POD-B	0.704	0.649	0.055	0.078
POD-A	0.734	0.714	0.020	0.027
平 均	0.684	0.651	0.033	0.047

2.5 栓皮栎群体遗传多样性与相近类群比较分析

表 5 表明,栎属一些树种的遗传多样性指数^[13]与栓皮栎天然群体遗传多样性指数基本一致。这与它们都具有共同的演替历史和形成背景,其地理分布和生物生态学特性较为相似有很大关系。本研

究主要应用过氧化物酶同工酶对栓皮栎群体的遗传基础进行分析,对其遗传结构和遗传基础做更深入的了解,需做更进一步研究。

表 5 栓属部分树种遗传多样性及其分化
Table 5 The genetic diversity and differentiation
for some species of *Quercus*

树 种	群体数	位点数	A	He	Gst
麻 栎	4	6	2.30	0.325	0.072
槲 栎	4	6	2.20	0.310	0.089
柞 栎	5	6	2.16	0.276	0.040
蒙古栎	6	6	2.65	0.304	0.052
枹栎	4	6	2.03	0.280	0.115
平 均			2.48	0.378	0.128

3 结论与讨论

不同栓皮栎天然群体在过氧化物酶同工酶系统上存在着较高的遗传变异水平。栓皮栎天然群体过氧化物酶同工酶由 POD-A、POD-B、POD-C 3 个多态位点组成。各群体多态位点平均百分率为 100%,每个位点平均等位基因数为 2.300,平均期望杂合率为 0.651。3 个多态指数均高于植物平均值(36.8%,1.69,0.183)^[9]。Hamrick 认为,林木群体具有较高的遗传变异水平可能和其生活史特性有关,具有高水平遗传变异的植物多为寿命长、风媒授粉、结实性高、处于演替末期的物种^[14]。栓皮栎具备了这些特征,因此具有较高的遗传变异性。另外,栓皮栎起源早,演替的时期长,经历了更多的环境变化,从而积累了更多的遗传变异。

栓皮栎天然群体在过氧化物酶同工酶系统上,群体内遗传变异大于群体间变异。栓皮栎群体内变异占总变异的 95.3%,群体间变异仅占总变异的 4.7%。这一结果与已研究过的栓属其他植物相似^[13],说明他们在遗传基础上具有较多的共性。

栓皮栎天然群体在过氧化物酶同工酶系统上随海拔增高其遗传变异有增高的趋势,而与地理位置(经度和纬度)并无明显的相关关系。关于高海拔群

体遗传变异性大的原因尚不清楚,可能与花粉流向有关,有待进一步研究。

参考文献:

[1] 曲式曾,张文辉,李景侠,等. 陕西南部栎林资源特征调查[J]. 西北林学院学报,1990,(1):75-81.

[2] 葛颂. 同工酶与林木群体遗传变异研究[J]. 南京林业大学学报,1988,(1):68-77.

[3] 张存旭. 巴山松天然群体酯酶同工酶遗传变异的初步分析[J]. 西北林学院学报,1991,(2):89-92.

[4] 毕春侠,郭军战,杨培华. 银杏品种过氧化物同工酶酶谱分析[J]. 陕西林业科技,1998(4):1-3.

[5] Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals[J]. Genetics, 1978,89:583-590.

[6] Hamrick J L, Godt M J W. Allozyme diversity in plant species [A]. In: Brown A D H, Clegg M T, Kahler A C, et al. Plant population genetics, breeding, and genetic resources [C]. Sunderland Mass: Sinauer,1990. 43-63.

[7] 大羽滋. 群体遗传[M]. 北京: 科学出版社,1983. 110-114.

[8] Nei M. Drift variation of Est statistics obtained from a finite number of isolated populations[J]. Theor. Pop. Biol.,1977(1):307-325.

[9] Hamrick J L. Plant population genetics and evolution[J]. Amer. J. Bot.,1982,59:1685-1693.

[10] Hamrick J L. Genetic variation and longevity[A]. In: Solbrig O T, Jain S, Johnson G B, et al. Topics in plant population biology[C]. New York: Columbia Univ. Press, 1979.

[11] Linhart Y B, Mitton J B, Sturgen K B, et al. An analysis of genetic architecture in populations of ponderosa pine[A]. Isozymes of north American forest trees and forest insects[C]. USDA, Berkeley: Gen. Tech. Rep., 1981.

[12] Yeh F C H, El-Kassaby Y A. Enzyme variation in natural populations of sitka spruce (*Picea sitchensis*) [J]. Can. J. For. Res., 1980,20(10):415-422.

[13] 张春晓,李悦,沈熙环. 林木同工酶遗传多样性研究进展[J]. 北京林业大学学报,1998,20(3):58-66.

[14] Hamrick J L, Mitton J B, Linhart Y B. Levels of genetic variation in tree-influence of life history characteristics[A]. In: Isozymes of north American forest trees and forest insects[C]. USDA, Berkeley: Gen. Tech. Rep., 1981. 3511.