

DOI: 10.3969/j.issn.1000-3142.2012.02.012

广西红树植物桐花树种群遗传多样性分析

潘文¹, 李元跃^{2*}, 陈攀³, 周涵韬³, 林鹏³

(1. 集美大学 生物工程学院, 厦门 361021; 2. 集美大学 水产学院, 厦门 361021; 3. 厦门大学 生命科学学院, 厦门 361005)

摘要: 采用 RAPD-PCR 方法探讨广西 3 个不同生境下桐花树种群的遗传多样性和遗传分化。结果表明: 3 个不同生境桐花树 RAPD 扩增多态百分率为 20.2%, 3 个不同生境桐花树种群两两之间的遗传距离分别为 0.195、0.169、0.26, 平均遗传距离为 0.208。同一种群不同个体的扩增多态百分率最高为 37.28%, 其次为 20.93%, 最小的为 19.32%。Shannon's 遗传多样性指数 3 个种群分别为 0.331、0.225 和 0.17, 其大小顺序与多态百分率的结果一致。种群内遗传多样性比率为 62.3%, 种群间遗传多样性比率为 37.7%。说明广西 3 个不同生境的桐花树种群的遗传变异大部分存在种群内, 种群间遗传变异较小。

关键词: 红树林; 桐花树; 种群; 遗传距离; 遗传多样性; RAPD

中图分类号: Q948 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2012)02-0203-05

Study on genetic diversity of mangrove plant *Aegiceras corniculatum* populations in Guangxi

PAN Wen¹, LI Yuan-Yue^{2*}, CHEN Pan³, ZHOU Han-Tao³, LIN Peng³

(1. College of Bioengineering, Jimei University, Xiamen 361021, China; 2. College of Fisheries, Jimei University, Xiamen 361021, China; 3. School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: RAPD-PCR markers were used to investigate the genetic diversity and genetic differentiation among 3 populations with different habitats of *Aegiceras corniculatum* in Guangxi. The results showed that percentage of polymorphic band was 20.2%, and genetic distances among 3 *A. corniculatum* populations were 0.195, 0.169 and 0.26, respectively, and 0.208 on average. The percentage of polymorphic band and Shannon's diversity index among individuals within the same population had the same trend, and each was 37.28% and 0.331, 20.93% and 0.225, 19.32% and 0.17. A large proportion of genetic variance (62.3%) of *A. corniculatum* was among individuals within population, while only 37.7% genetic variance was among populations.

Key words: angrove; *Aegiceras corniculatum*; populations; genetic distances; genetic diversity; RAPD

红树植物是热带海岸潮间带的木本植物群落, 是热带海岸重要的植被类型, 是维护海岸生态平衡的特殊生态系统。红树林生态系统处于海洋与陆地的动态交接面, 是不同于陆地生态系统也不同于海洋生态系统的独特的海陆边缘生态系统。在全球生态平衡中起着不可替代的重要作用。红树林生态系统在抵抗潮汐防护海岸、净化陆地径流和工农业生

产活动带来的污染中起着重要的作用。全世界现有红树植物约 20 科, 30 属, 70 种; 东方类群有 19 科 23 属 60 种, 西方类群有 6 科 7 属 12 种。中国红树植物属于东方类群, 现有红树植物 12 科 15 属 27 种 (含 1 变种), 除两种蕨类外都是高大乔木或灌木, 占全球红树植物科数的 60%、属数的 56%、种数的 37%。其地理分布以海南省为主, 其次为广东、广

① 收稿日期: 2011-06-08 修回日期: 2011-12-10

基金项目: 福建省科技计划重点项目(2009Y0036)[Supported by Science and Technology Planning Key Project of Fujian Province(2009Y0036)]

作者简介: 潘文(1967-), 女, 福建浦城县人, 博士, 主要从事分子生态学研究和教学, (E-mail)pcpanwen@163.com。

* 通讯作者: 李元跃, 男, 博士, 主要从事植物学研究和教学, (E-mail)yuanyueli@163.com。

西、台湾和福建(林鹏,1984)。

广西红树植物分布广、面积大、生境多样复杂、地理位置特殊,孕育了多种多样的红树植物群落。由于不同种群间栖息的生境差异,有可能影响到这个种群的生态和遗传本质(Hartl,1987)。本试验选择广西3种不同生境(沙土、沙壤土、粘土)的红树植物广布种桐花树种群为研究对象,采用RAPD方法开展其遗传多样性和遗传分化研究,旨在探讨红树植物的生物进化与生态环境的关系,为红树植物的保护和利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 种群样地的选择

选取广西山口、大冠沙、钦州港3种不同生态环境下的桐花树种群(以下分别称为山口种群、大冠沙种群、钦州种群)作为考察和取样地点。山口种群位于广西东南部合浦县山口镇英罗湾的山口国家级红树林自然保护区内,土壤质地为粘土。大冠沙种群位于北海市西南郊区,面积约67 hm²,土壤质地为沙土。钦州种群位于钦州市西南金鼓村旁,面积约6 hm²,土壤质地为沙壤土。3个种群所处气候和土壤理化指标引用广西海洋研究所《广西北部湾红树林生态系及其快速恢复的研究》,详见表1。

表1 桐花树种群样地气候和土壤理化指标

Table 1 Climate and chemistry physical as characteristic of soils in sampling sites of *Aegiceras corniculatum*

类别 Classification	山口种群 Shankou population	大冠沙 种群 Daguansha population	钦州种群 Qinzhou population
有机质 Organic matter (%)	3.478	3.738	2.514
全氮 Total nitrogen (%)	0.079	0.151	0.065
全磷 Total phosphorus (P ₂ O ₅ %)	0.033	0.036	0.033
全盐量 Total salt content (‰)	20.65	21.75	22.19
pH值 pH value	5.14	6.74	7.1
经度 Longitude (E)	109°43'	109°14'	108°20'
纬度 Latitude (N)	21°28'	21°26'	21°37'
年均温 Annual temperature(°C)	22.6	22.4	23.7
降雨量 Precipitation (mm)	1796.8	1666.9	3512

1.2 取样方法

利用种群取样法,在选定的种群样地中选择胸径4 cm以上、无病虫害的母树,每隔10~20 m取1株,每个种群取10个个体,采集幼嫩叶片单独标记,叶片采集后置于-20 °C冰箱或液氮储存备用。

1.3 RAPD-PCR 反应

从100个RAPD随机引物中筛选出10个能获得清晰多态性条带、反应稳定的引物。DNA提取、纯化参照周涵韬等(2001)的方法进行。RAPD-PCR扩增总体积为25 μL,包括Tris-HCl 10.0 mmol/L(pH8.0),KCl 50.0 mmol/L,0.1% Tritonx-100,2.5 mmol/L MgCl₂,0.1 mmol/L dNTPs,0.4 μmol/L引物,80 ng的DNA模板,1 U Taq聚合酶。PCR循环设置为:94 °C变性1 min,36 °C退火1 min,72 °C延伸2 min,共40个循环,然后72 °C延伸7 min。反应产物在含有EB的1.4%琼脂糖凝胶中电泳检测,电压为5V/cm,2 h,电泳结束后,在紫外检测仪上观察,并在凝胶成像系统保存图片。RAPD引物以及Taq酶等药品均购自上海生工生物工程技术有限公司。

表2 3种不同生境下桐花树种群RAPD扩增结果
Table 2 Amplification of *Aegiceras corniculatum* populations in 3 kinds of habitats by RAPD

引物号 Primer	序列号 Sequence	扩增 条带 No. of DNA band	多态 条带 No. of poly- morphic	多态百分 率(%) Perce- tage of poly bands
S50	GGTCTACACC	22	4	18.18
S53	GGGGTGACGA	13	4	30.77
S55	CATCCGTGCT	18	0	0
S56	AGGGCGTAAG	16	4	25
S66	GAACGGACTC	17	2	11.76
S125	CCGAATTCCC	23	6	26.09
S141	CCCAAGGTCC	28	7	25
S148	TCACCACGGT	14	2	14.28
S152	TTATCGCCCC	22	10	45.45
S156	GGTGACTGTG	25	1	4
合计 Total		198	40	
平均 Average		19.8	4	20.2

1.4 数据统计分析

在RAPD扩增电泳图谱中,有带计为“1”,无带计为“0”,强带和弱带均计为“1”。运用Nei指数法(Nei等,1979)计算遗传距离,采用UPGMA(unweighted pair group mean average)进行聚类分析(Vierling等,1992)。Shannon's遗传多样性指数估测参照Chalmers方法(Chalmers等,1992)。

2 结果与分析

2.1 不同生境下桐花树种群的遗传分化

10个RAPD引物在3种生境桐花树种群共扩

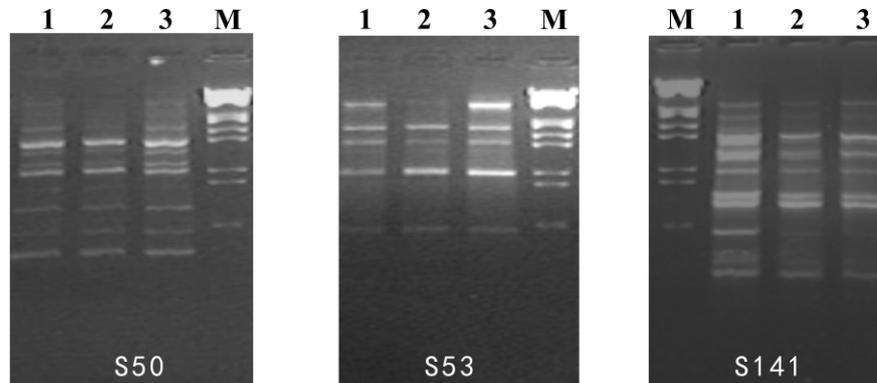


图 1 3 种不同生境下桐花树种群 RAPD 扩增图谱

Fig. 1 Genomic DNA fingerprints of *Aegiceras corniculatum* populations in 3 kinds of habitats

1. 大冠沙种群; 2. 钦州种群; 3. 山口种群; M 为 λ DNA EcoR I /Hind III。下同。

1. Daguansha population; 2. Qinzhou population; 3. Shankou population; M: λ DNA EcoR I /Hind III. The same below.

表 3 3 个不同生境下桐花树种群间遗传距离
Table 3 Genetic distance of *Aegiceras corniculatum* populations in 3 kinds of habitats by RAPD

	大冠沙种群 Daguansha population	钦州种群 Qinzhou population	山口种群 Shankou population
大冠沙种群 Daguansha population	0	0.805	0.831
钦州种群 Qinzhou population	0.195	0	0.740
山口种群 Shankou population	0.169	0.260	0

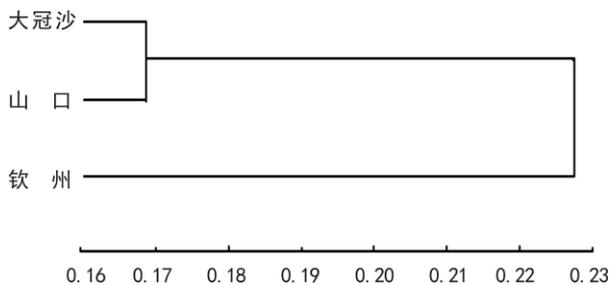


图 2 3 种不同生境下桐花树种群的遗传聚类图

Fig. 2 Molecular dendrogram of *Aegiceras corniculatum* populations in three kinds of habitats by RAPD

增多 198 条带, 其中具有多态性的扩增条带有 40 条, 扩增多态百分率为 20.2% (表 2), RAPD 反应扩增片段大部分集中在 0.35~3.5 kb 范围内 (图 1)。

根据 RAPD 扩增结果, 运用 Nei 指数法计算 3 种不同生境桐花树种群间的遗传距离, 大冠沙—钦州、大冠沙—山口、钦州—山口两两之间的遗传距离分别为 0.195、0.169、0.26 (表 3)。表明 3 种不同生境桐花树种群存在遗传分化, 平均遗传距离为

0.208。聚类结果, 大冠沙与山口 2 个种群聚为一组, 钦州种群单独聚为一组 (图 2)。

2.2 不同生境桐花树种群的遗传多样性

10 个 RAPD 引物在 3 种不同生境桐花树种群内不同个体中扩增的条带数不一样 (图 3, 图 4), 多态百分率最高为钦州种群 37.28%, 其次为山口种群 20.93%, 最小的为大冠沙种群 19.32% (表 4)。从 Shannon's 遗传多样性指数看, 不同生境桐花树种群有明显差异, 以钦州种群最高, 遗传多样性指数为 0.331, 其次为山口种群, 遗传多样性指数为 0.225, 大冠沙种群的最低, 遗传多样性指数为 0.17 (表 5), 其大小顺序与多态百分率的结果一致。

由表 6 可知, 3 个种群内遗传多样性指数平均为 0.242, 总的遗传多样性指数为 0.394。其中种群内遗传多样性比率为 62.3%, 种群间多样性比率为 37.7%。说明种群的遗传变异大部分存在种群内。

3 结论与讨论

3.1 植物种群的遗传变异受其生长环境的影响

植物种群遗传变异性的分布和该物种的地理分布情形、生态特征都有关系 (Loveless 等, 1984)。遗传分化是种群的普遍现象, 影响遗传分化的因素很多, 尤其是微生境的异质性, 因此各物种种群内遗传分化也不同。不同的基因型在不同的微生境上适合度相异, 导致具相同基因型的个体集聚在其适宜的生境中。黄生 (1994) 研究了秋茄 (*Kandelia candel*) 的区域性种群遗传结构, 结果表明: 生长在沼泽区比干燥地带和潮湿地带的秋茄遗传上的分化程度更低, 并认为可能是沼泽区内的基因流更顺畅 (Nm

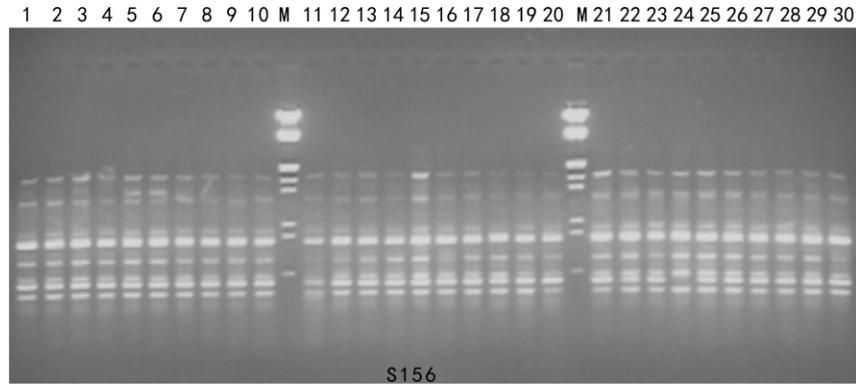


图 3 3 种不同生境下桐花树种群内 RAPD 扩增图谱 (S156 引物)

Fig. 3 Genomic DNA fingerprints of *Aegiceras corniculatum* populations in 3 kinds of habitats by S156 RAPD primer

1-10. 大冠沙种群; 11-20. 钦州种群; 21-30. 山口种群; M. λ DNA EcoR I /Hind III 分子量。下同。

1-10. Daguansha population; 11-20. Qinzhou population; 21-30. Sankou population; M. λ DNA EcoR I /Hind III. The same below.

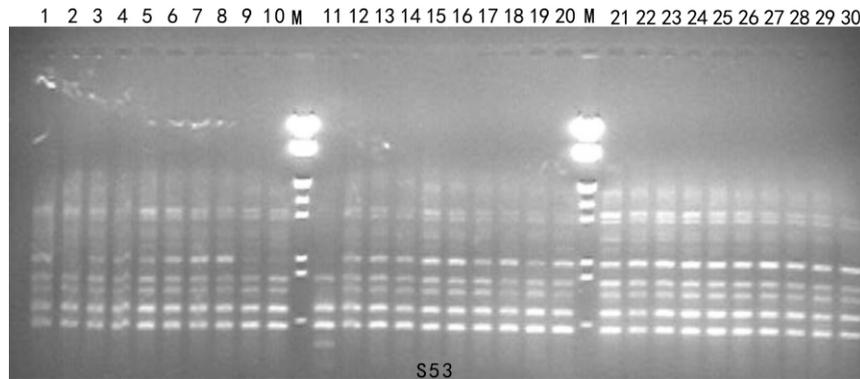


图 4 3 种不同生境下桐花树种群内 RAPD 扩增图谱 (S53 引物)

Fig. 4 Genomic DNA fingerprints of *Aegiceras corniculatum* populations in 3 kinds of habitats by S53 RAPD primer

表 4 3 种不同生境下桐花树种群内的 RAPD 扩增结果

Table 4 Amplification of *Aegiceras corniculatum* populations in 3 kinds of 3 habitats by RAPD

引物号 Primer No.	大冠沙种群 Daguansha population			钦州种群 Qinzhou population			山口种群 Shankou population		
	扩增条带 No. of DNA band	多态性条带 No. of polymorphic	多态百分率 Percentage of poly bands (%)	扩增条带 No. of DNA band	多态性条带 No. of polymorphic	多态百分率 Percentage of poly bands (%)	扩增条带 No. of DNA band	多态性条带 No. of polymorphic	多态百分率 Percentage of poly bands (%)
s50	38	18	47.37	23	13	56.52	22	12	54.55
s53	43	13	30.23	40	20	50	46	6	13.04
s55	58	18	31.03	36	16	44.44	34	14	41.18
s56	31	1	3.23	30	0	0	30	0	0
s66	48	8	16.67	48	28	58.33	37	17	45.95
s125	24	4	16.67	23	3	13.04	29	9	31.03
s141	71	11	15.49	60	40	66.67	68	8	11.76
s148	43	3	6.98	40	10	25	50	10	20
s152	40	0	0	37	3	8.11	35	5	14.29
s156	75	15	20	68	18	26.47	79	9	11.39
合计 Total	471	91		405	151		430	90	
平均 Average	47.1	9.1	19.32	40.5	15.1	37.28	43	9	20.93

表 5 RAPD 引物对 3 种不同生境下
桐花树种群的遗传多样性指数

Table 5 Genetic diversity of *Aegiceras corniculatum* populations in three kinds of habitats by RAPD

引物号 Primer No.	大冠沙种群 Daguansha population	钦州种群 Qinzhou population	山口种群 Shankou population
s50	0.454	0.545	0.526
s53	0.282	0.48	0.11
s55	0.29	0.424	0.392
s56	0.012	0	0
s66	0.147	0.563	0.44
s125	0.147	0.11	0.29
s141	0.135	0.647	0.098
s148	0.049	0.23	0.18
s152	0	0.061	0.123
s156	0.18	0.245	0.094
平均 Average	0.17	0.331	0.225

表 6 3 种不同生境桐花树种群内和
种群间的遗传多样性

Table 6 Genetic diversity with and between
Aegiceras corniculatum populations in
three kinds of habitats by RAPD analysis

引物号 Primer	种群内的遗传多样性 Hpop	总的遗传多样性 Hsp	种群内遗传多样性所占比率 Hpop/Hsp	种群间多样性所占比率 (Hsp-Hpop)/Hsp
s50	0.508	0.619	0.821	0.179
s53	0.291	0.515	0.565	0.435
s55	0.369	0.514	0.718	0.282
s56	0.004	0.005	0.8	0.2
s66	0.383	0.403	0.95	0.05
s125	0.182	0.454	0.401	0.599
s141	0.293	0.679	0.432	0.568
s148	0.153	0.303	0.505	0.495
s152	0.061	0.116	0.526	0.474
s156	0.173	0.335	0.516	0.484
平均 Average	0.242	0.394	0.623	0.377

=5.56), 抵消了可能发生的种群分化。另一方面, 李军等(1995)对野生大豆种群内分化的研究表明, 种群内存在大量的遗传变异, 但各样本的生化遗传结构与环境之间不存在显著的相关性。这些研究有力的说明种群内遗传分化受环境异质性的影响, 而分化大小则受到物种生物学性质的作用。

3.2 广西不同生境桐花树遗传变异主要存在种群内

黎中宝等(2000)用等位酶研究不同生境桐花树种群的遗传多样性和遗传分化, 表明桐花树物种和种群水平都维持有较高的遗传变异性, 种群间的分化度较低。种群间遗传分化系数为 0.127, 只有 12.7% 的变异来自种群间。本研究表明, 3 种生境

桐花树种群间存在较低的遗传分化, 种群间平均遗传距离为 0.208。根据 Shannon 遗传多样性指数显示, 3 种生境桐花树种群间遗传多样性比率为 37.7%, 种群内遗传多样性比率占 62.3%, 说明广西桐花树种群的遗传变异大部分存在种群内。这与黎中宝等(2000)的研究结论一致。

种群间分化与环境因子的选择和基因流的阻隔有关。有些研究显示生态小环境的变异可导致不同种群间在遗传结构上的显著差异(Taylor 等, 1990)。因此, 不同种群间遗传变异大小可在某种程度上说明该生物对不同环境适应的广泛程度。种群间变异越大, 该物种适应环境能力越强。桐花树为广布红树种, 且是虫媒异花授粉植物, 配子为随机分布。红树植物形成了适应漂流传播繁殖体的方式, 种子的传播是随机的。黎中宝等(2000)分析广西桐花树种群间的基因流 $Nm = 2.187$ 。强大的基因流可以阻止种群间的遗传分化, 维持较低的遗传变异。

3.3 适宜的环境有利于种群遗传变异的积累

遗传多样性是物种长期进化的产物, 是种群生存和发展的前提。任何物种, 只有具备一定的遗传多样性才能抵御自然界中的各种生存压力, 否则灭绝将是不可避免的(Avise 等, 1996)。当一个物种遇到比较适宜的环境条件时, 其个体就能不断增多, 种群结构也会发生变化, 有利于遗传变异的积累。本试验的三种生境中, 大冠沙种群土质为沙土, 遗传多样性水平最低, 山口种群土质为粘土, 遗传多样性水平次之, 钦州种群生境为沙壤土, 土壤质地优于大冠沙种群和山口种群, 其多样性水平也高于大冠沙种群和山口种群, 最有利于桐花树生长。可见, 土壤质地对红树植物遗传多样性具有一定的影响。

参考文献:

- 林鹏. 1984. 红树林[M]. 北京: 海洋出版社: 47-48
- Avise JC, Hamrick L. 1996. Conservation Genetics, Case Histories from Nature[M]. New York: Chapman and Hall: 25
- Chalmers KJ, Waugh R, Sprent JL, et al. 1992. Detection of genetic variation between and within population of *Gliricidia sepium* and *G. maculata* using RAPD markers[J]. *Heredity*, **69**: 465-472
- Hartl DL. 1987. A Primer of Population Genetics(2nd Ed.)[M]. Sunderland: Sinauer Associates
- Huang S(黄生). 1994. Genetic structure of *Kandelia candel* (L) druce in Taiwan(秋茄的区域性种群的遗传结构)[J]. *Chin Biodiv*(生物多样性), **2**(2): 68-75
- Li J(李军), Tao Y(陶芸), Zheng SZ(郑师章), et al. 1995. Isozy-(下转第 213 页 Continue on page 213)

