

广西石灰岩地区蜈蚣蕨居群的遗传多样性研究

周厚高¹, 谢义林², 黎桦², 周琼², 张西丽², 王中仁³, 周世良³

(1. 仲恺农业技术学院, 广东广州 510225; 2. 广西大学农学院, 广西南宁 530005; 3. 中国科学院植物研究所, 北京 100093)

摘要: 采用等位酶分析方法, 研究了广西石灰岩地区蜈蚣蕨居群的遗传多样性, 分析了其空间变化趋势。检测了 8 个酶系统, 15 个酶位点。分析结果表明: 广西石灰岩地区蜈蚣蕨居群遗传多样性程度较高, 每个位点的等位基因平均数为 1.67, 多态位点为 57.78%, 平均期望杂合度为 0.249。蜈蚣蕨居群的遗传组成在居群间有一定的差异, 但差异的程度并不与空间距离成正比。

关键词: 蜈蚣蕨; 等位酶分析; 遗传多样性

中图分类号: Q948 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2002)01-0067-04

Analysis of genetic diversity on *Pteris vittata* L. populations from Guangxi limestone area

ZHOU Hou-gao¹, XIE Yi-lin², LI Hua², ZHOU Qiong²,
ZHANG Xi-li², WANG Zhong-ren³, ZHOU Shi-liang³

(1. Zhongkai Agrotechnical College, Guangzhou 510225, China; 2. Agricultural College, Guangxi University, Nanning 530005, China; 3. Botany Institute of Sinica Academy, Beijing 100093, China)

Abstract: Population genetic diversity and allele spatial distribution of *Pteris vittata* from Guangxi limestone area were studied by allozyme electrophoresis. Eight enzyme systems and 15 loci were screened. The results showed that the genetic diversity of *Pteris vittata* populations from Guangxi limestone area was high, the mean number of alleles per locus was 1.67, polymorphic loci was 57.78%, the mean expected heterozygosity was 0.249. There were difference in genetic variation among populations and no correlation between difference and spatial distance.

Key words: *Pteris vittata*; allozymic analysis; genetic diversity

蜈蚣蕨(*Pteris vittata*)广布于长江以南各省区, 向北到甘肃(康县)、陕西(秦岭南坡)和河南南部, 亚洲热带、亚热带其他地区也有, 是我国暖温带、亚热带和热带地区的钙质土和石灰岩的指示植物, 为广西境内常见植物。王中仁^[1]的研究表明, 华南地区的蜈蚣蕨为四倍体植物。本文探讨广西石灰岩地区蜈蚣蕨(*Pteris vittata*)居群遗传多样性, 主要研究居

群间遗传组成的差异及其空间变化规律。

1 材料和方法

1.1 材料来源与制备

按照巢式抽样技术, 从南到北在南部(南宁)、中部(柳州)和北部(桂林)三点取样, 距离 200 km 以上, 每点取样 3 居群, 相邻居群相距 30~50 km。

收稿日期: 2000-09-25

作者简介: 周厚高(1962-), 男, 四川安岳人, 教授, 博士, 从事植物系统学和花卉育种研究。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(编号: 39760010)

居群取样一般为20个个体,个体间距尽可能大,以避免同宗后代。取植物幼叶叶片加4~5滴提取缓冲液在冰浴中研磨提取。研磨提取液为Mitton等^[2]的复杂磷酸提取缓冲液配方,样品放在-70℃冷冻箱中保存备用。

1.2 电泳与染色

采用水平切片淀粉凝胶电泳技术。选用两种电极缓冲液和相应的凝胶缓冲液系统,分别用于不同

的酶系统。电泳在4℃冰箱中进行,选用200V稳压,电泳5~6h,切胶染色。AMP采用液染,其余酶系统均采用胶染。染色液配方采用Soltis等^[1]和王中仁^[4]使用的配方。染色后及时记录谱带和照相。

1.3 遗传多样性度量采用的几个指标

遗传多样性度量采用等位基因平均数(A)、多态位点的百分数 P 、平均期望杂合度(He)、居群间遗传一致度(I)和遗传距离 $D^{[5]}$ 。

表1 蜈蚣蕨15个位点上的等位基因频率

Table 1 The allele frequency in 15 loci of *Pteris vittata* populations

位点 Locus	桂林 Guilin	雁山 Yanshan	永福 Yongfu	鹿寨 Luzhai	柳州 Liuzhou	柳城 Liucheng	武鸣 Wuming	南宁 Nanning	隆安 Longan
Amp	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Dia-1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Dia-2A	0.5	0.408	0.462	0.433	0.363	0.659	0.362	0.312	0.297
Dia-2B	0.375	0.329	0.288	0.2	0.387	0.114	0.425	0.263	0.359
Dia-2C	0.125	0.263	0.25	0.367	0.25	0.227	0.213	0.425	0.344
Dia-3	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Idh-A	0.15	0.895	0.937	0.033	0.85	0.875	1	0.962	1
Idh-B	0.85	0.105	0.063	0.967	0.15	0.125	0	0.038	0
Mdh-1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Mdh-2A	0.25	0.645	0.7	0.25	0.663	0.614	0.75	0.75	0.594
Mdh-2B	0.75	0.355	0.3	0.75	0.337	0.386	0.25	0.25	0.406
Mdh-3A	1	1	1	1	0	0.091	1	1	1
Mdh-3B	0	0	0	0	1	0.909	0	0	0
Pgd-1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Pgd-2A	0.5	0.5	0.475	0.533	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Pgd-2B	0.5	0.5	0.525	0.467	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Pgi-1A	0.337	0.5	0.413	0.733	0.25	0.5	0.687	0.663	0.656
Pgi-1B	0.663	0.5	0.587	0.267	0.75	0.5	0.313	0.337	0.344
Pgi-2A	0.613	0.658	0.625	0.55	0.325	0.455	0.75	0.775	0.719
Pgi-2B	0.387	0.342	0.375	0.45	0.675	0.545	0.25	0.225	0.281
Pgm-1A	0.45	0.289	0.287	0.033	0.1	0	0.375	0.375	0.406
Pgm-1B	0.55	0.711	0.713	0.967	0.775	0.773	0.625	0.625	0.594
Pgm-1C	0	0	0	0	0.125	0.227	0	0	0
Pgm-2A	0.475	0.211	0.3	0.433	0.263	0.341	0.55	0.6	0.625
Pgm-2B	0.5	0.789	0.7	0.5	0.737	0.659	0.45	0.4	0.375
Pgm-2C	0.025	0	0	0.067	0	0	0	0	0
Skd-A	0	0.118	0	0	0	0	0	0	0
Skd-B	0.987	0.882	0.9	1	0.413	0.568	1	0.975	0.35
Skd-C	0.013	0	0.1	0	0.587	0.432	0	0.025	0.65

聚类分析方法采用非加权对群法(UPGMA),采用Nei氏^[5]无偏遗传距离系数或遗传一致度。

采用分辨率较高的Amp、Dia-1、Dia-2、Dia-3、Idh、Mdh-1、Mdh-2、Mdh-3、Pgd-1、Pgd-2、Pgi-1、Pgi-2、Pgm-1、Pgm-2、Skd 15个位点的数据进行遗传多样性指标统计运算。数据的分析使用Biosys-1软件。

2 结果

2.1 等位基因组成和频率

通过等位酶分析,获得了研究区域蜈蚣蕨居群等位基因组成和频率分布(表1)。

蜈蚣蕨9个居群共有基因数量多、频率高。从9个居群、15个基因位点上等位基因的种类和频率可

表 2 蜈蚣蕨居群的遗传变异度
Table 2 Genetic diversity of *Pteris vittata* populations

居群 Population	居群取样个体数 Sample size	位点平均等位基因 Mean no. of alleles per locus	多态位点百分数 Percentage of loci polymorphic.	平均期望杂合度 Mean expected heterozygosity
桂林 Guilin	20	1.7	60	0.253
雁山 Yanshan	20	1.7	60	0.25
永福 Yongfu	20	1.7	60	0.25
鹿寨 Luzhai	20	1.7	53.3	0.21
柳州 Liuzhou	20	1.7	60	0.268
柳城 Liucheng	20	1.7	66.7	0.285
武鸣 Wuming	20	1.5	46.7	0.226
南宁 Nanning	20	1.7	60	0.233
隆安 Longan	20	1.6	53.3	0.267
平均值 Mean	20	1.667	57.778	0.249

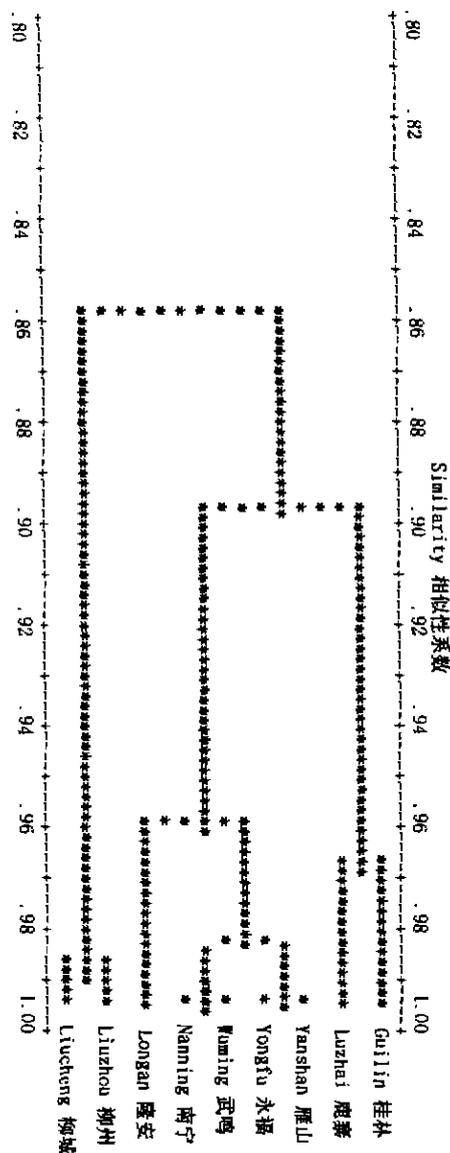


图 1 聚类分析的结果

Fig. 1 The diagram of populations of *Pteris vittata*

见,不同居群的等位基因频率有一定差别(表 1)。等

位基因组成方面,在南部 *Idh* 的等位基因 B 明显低于其他北部居群,其中 2 个居群缺少该等位基因。在中部居群 *Pgm-1A* 频率明显低于其他居群,其中柳州、柳城二居群的 *Mdh-3A* 和 *Pgm-1C* 等位基因频率和组成不同于其他类群;*Pgm-2C* 和 *Skd-A* 为北部(含鹿寨)居群所特有。在 15 个基因位点中有 9 个基因位点是多态的(有 2 个以上的等位基因),其中,两个等位基因的位点 5 个,3 个等位基因的位点 4 个。

2.2 蜈蚣蕨居遗传变异水平度量

采用 Biosys-1 统计软件,获得了位点的等位基因数,多态位点百分数,平均期望杂合度等多样性指标(表 2)。

根据对 165 属 449 种植物等位酶变异的统计结果,植物物种水平的平均多态位点比率为 50%,平均预期杂合度为 0.149(*He*),植物居群内平均多态位点比率为 34%,平均预期杂合度为 0.11^[6]。与这些结果相比较,蜈蚣蕨的多态位点比率为 57.78%,平均期望杂合度为 0.249,每个位点等位基因平均数为 1.67(表 2),可见其居群内遗传多样性指标略偏高。蜈蚣蕨分布广,环境多样,繁殖方式多样,因而蜈蚣蕨本身具有较高的遗传多样性水平。从 9 个居群的遗传多样性指标比较可知,平均杂合度北部 0.251、中部 0.261,南部 0.275,从北向南有逐渐增加的趋势,而位点等位基因数、多态位点比例南部略低。

2.3 蜈蚣蕨居群间的遗传学关系

本文采用 Nei 无偏遗传距离和 Nei^(5,7) 无偏一致度度量居群间的遗传关系。为了分析居群两两之间的遗传分化程度,计算 Nei 的相似性系数(*I*),又称遗传一致度。蜈蚣蕨各居群间遗传一致度(*I*)和遗传

距离(D)研究结果表明,9个居群之间变异很小, I 值的变化范围为0.784~1.000, D 值变化范围在0.001~0.244。居群之间的遗传距离最大为鹿寨和柳州;南宁与武鸣、雁山与永福之间差异最小,只有0.001,其相似数最大近为1.000。根据遗传一致度所做的聚类分析,结果表明距离与蜈蚣蕨居群相互之间的关系(图1)。

蜈蚣蕨是一种适应性强,分布广的常见蕨类植物,它的遗传多样性程度比较高,同时孢子传播距离较远,居群间基因交流快速而频繁,使居群间的等位基因组成差异小。在等位基因频率组成上虽有一定差异,但差异较小。在小范围内,等位基因的组成和频率变异符合距离模型(distance model),即其差异随着空间距离的增大而增大,如南部居群⁽⁶⁾。而在大空间范围内,距离模型的变异规律不适合广西蜈蚣蕨居群的等位基因组成和频率变化。从遗传距离和遗传一致度的计算结果看,空间距离的远近并不与遗传距离和遗传一致度成相关关系,聚类分析的结果也证明了这一点(图1)。

在不同地理环境条件下,蜈蚣蕨居群间等位基因频率不是完全相同,表现出了一定的遗传差异,不过这种差异并未产生很强的种内遗传分化,即它们的遗传距离很小,表明居群内基因交流的频繁程度。蜈蚣蕨不同居群保持着稳定的遗传结构,其居群遗传多样性程度居中等偏上水平。

参考文献:

- [1] 王中仁. 中国凤尾蕨属细胞学的初步研究[J]. 植物分类学报, 1989, 27(6): 421—438.
- [2] Mitton J, Linhart Y, Sturgeon K. Allozyme polymorphisms detected in mature needle tissue of ponderosa pine[J]. *Journ. Heredity*, 1979, 64: 271—280.
- [3] Soltis D E, Haufler C H, Gastony G J. Starch gel electrophoresis of ferns: A compilation of Grinding buffers, gel and electrode buffer, and staining schedules[J]. *Amer. Fern J.*, 1983, 73: 908—913.
- [4] 王中仁. 植物等位酶分析[M]. 北京: 科学出版社, 1996.
- [5] Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from 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 H D, Clegg M T, Kahler A L, et al. eds., *Plant Population Genetics, Breeding, and Genetic Resources*. Sunderland Massachusetts: Sinauer, 1989, 43—63.
- [7] Nei M. Genetic distances between populations[J]. *Am. Natur.*, 1972, 106: 283—292.
- [8] 周琼, 周厚高, 谢庆武, 等. 南宁地区蜈蚣蕨居群遗传多样性[J]. 广西农业生物科学, 1999, 18(4): 239—242.

(上接第73页 Continue from page 73)

上的基因型之间的关系,仅在LJ-1居群中发现多于5花瓣的植株在AAT-1位点上基因型均为杂合型(ab),反过来看,AAT-1位点上基因型为杂合型的植株绝大多数花瓣多于5片,只有个别另外。这一方面的研究有重要价值,但还有待深入。

参考文献:

- [1] 王中仁. 植物等位酶分析[M]. 北京: 科学出版社, 1996.
- [2] 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.

- [3] 徐玲玲, 廖亮, 等. 禹毛茛复合体及其近缘种过氧化物同工酶研究[J]. 武汉植物学研究, 1997, 15(1): 43~48.
- [4] 徐玲玲, 廖亮. 猫爪草和肉根毛茛的同工酶研究[A]. 中国植物学会. 中国植物学会六十五周年年会学术报告及论文摘要汇编[C]. 北京: 中国林业出版社, 1998. 148.
- [5] 王金平, 李天煜, 汪小凡, 等. 小毛茛(*Ranunculus ternatus* Thunb.)花粉流潜能初探[J]. 广西植物, 1999, 19(3): 225~228.