

红树植物木榄 (*Bruguiera gymnorrhiza*) 种群遗传变异与遗传分化的初步研究*

葛菁萍 杨志伟 林 鹏

(厦门大学生物系, 厦门 361005)

摘 要 研究了我国红树林分布区内 3 个木榄种群的遗传变异和遗传分化。在种水平和种群水平上, 期望杂合度分别为 0.293 和 0.268, 观察杂合度分别为 0.274 5 和 0.270 5。种群间遗传多样性为 0.083 0, 表明总的遗传变异中有 8.3% 来自种群间。基因流较为顺畅, 为 3.34。

关键词 木榄 遗传变异 遗传分化

中图分类号: Q943

1 引言

近年来, 国内外相继开展了对植物遗传多样性的研究, 其中多以等位酶作为遗传标记, 探讨物种的遗传结构^[1~3]。这在很大程度上为育种、引种驯化以及物种资源保存提供了理论依据。红树林是生长在热带、亚热带海岸潮间带的一种常绿木本植物群落, 分布于我国广东、广西、海南、福建和台湾 5 省区的沿海地带。它具有胎生、抗盐等特性, 周围环境呈现均一化, 这使得它与其他陆生植物群落存在着很大差别。虽然目前已对红树植物的能量生态、生理生态和污染生态等方面开展了较为详尽的工作^[4~6], 但对其遗传结构却了解甚少。本文即是以其中广布型的木榄(*Bruguiera gymnorrhiza*)种群为代表开展实验工作的。旨在为今后进一步深入研究铺石垫路。

2 材料和方法

2.1 取样地点

采样地点分别位于海南省琼山市演丰镇东寨港国家级红树林保护区(19°54'N, 110°20'E)、广东省深圳市内伶仃福田国家级红树林保护区(22°32'N, 114°05'E)和福建省龙海市浮宫

本文于 1998-11-07 收到, 修改稿于 1999-03-16 收到。

* 国家自然科学基金资助项目(编号: 39670135)。

第一作者简介: 葛菁萍, 女, 26 岁, 博士, 从事生态遗传学研究。

红树林自然保护区(24°24'N, 117°55'E). 海南东寨港样地为木榄自然纯林, 伴生有少量的海莲(*Bruguiera sexangula*)和尖瓣海莲(*Bruguiera saxangula* var. *rhynchopetala*). 深圳福田样地中的木榄散生于秋茄+桐花树+白骨壤群落中. 福建龙海市浮宫样地的木榄种群是人工移栽林, 移栽历有10余年.

2.2 样品采集方法及处理

在各样地内随机采集幼嫩的木榄叶片, 株与株之间相隔5 m以上. 保持叶片新鲜不变质, 迅速携至实验室内处理. 也可以采集成熟的木榄胚轴, 采集方法同叶片, 砂培于盆内, 待长出叶片后取样测定. 由于红树植物叶片内富含单宁^[7], 因此酶粗提液采用改进的 Tris-HCl 提取液^[8, 9], 冰浴中研成匀浆, 备用.

2.3 电泳及酶谱分析

实验采用垂直板型不连续聚丙烯酰胺凝胶(PGE)和水平切片淀粉凝胶(SGE)两种凝胶类型^[10]. 共测定了7个酶系统15个位点. 其中PGE浓缩胶和分离胶的浓度分别为2.5%和7.0%, pH分别为6.7和8.9; SGE根据各种酶的分离度和清晰度, 分别采用美国Sigma公司的水解淀粉(S-5691)和国产混合淀粉, 淀粉胶浓度为12%, 相应凝胶缓冲液分别为 Tris-硼酸-EDTANa₂(pH 8.0)(TVB)和 Tris-硼酸-EDTANa₄(pH 8.6)(#10). 用于本次实验的酶系统、代码、位点数目及缓冲系统等详见表1. 酶组织化学染色方法见文献[8, 11, 12]

表1 电泳检测所用酶系统、代码、位点数目及缓冲系统

酶系统	E. C. 代码	凝胶类型	位点数目
苹果酸脱氢酶(MDH)	E. C. 1. 1. 37	SGE (#10)	2
苹果酸酶(ME)	E. C. 1. 1. 40	SGE (#10)	1
酯酶(EST)	E. C. 3. 3. 3. -	SGE(TVB)	2
过氧化物酶(POD)	E. C. 1. 11. 1. 7	PGE	2
天冬氨酸转氨酶(AAT)	E. C. 2. 6. 1. 1	SGE (#10)	2
碱性磷酸酶(ALP)	E. C. 3. 1. 3. 1	SGE(TVB)	3
超氧化物歧化酶(SOD)	E. C. 1. 15. 1. 1	SGE (#10)	3

2.4 计算方法

2.4.1 遗传变异的计算

多态位点百分率(P): $P = (k/n) \times 100\%$ k 为多态酶位点的数目, n 为所测定酶位点的总和. 多态位点的标准按 Nei 氏^[13]的 0.99 划分, 即最常见的等位基因出现的频率小于或等于 0.99.

杂合度(H): 即杂合位点的百分数. 期望杂合度 $H_e = \sum_{i=1}^n (1 - \sum_{j=1}^{m_i} q_{ij}^2) / n$, 观察杂合度 $H_o = \sum_{i=1}^n (1 - \sum_{j=1}^{m_i} p_{ij}) / n$. 其中 q_{ij} 为第 i 个位点上第 j 个等位基因的频率, p_{ij} 为第 i 个位点上第 j 个等位基因观察到的纯合基因型频率.

平均每位点有效等位基因数(A_e): $A_e = \sum_{i=1}^n (1 / \sum_{j=1}^m q_{ij}^2) / n$, q_{ij} 为第 i 个位点上第 j 个等位基因的频率.

固定指数 (F): $F = 1 - H_o/H_e$.

2.4.2 遗传分化的测定

基因分化系数 (G_{sT}): $G_{sT} = D_{sT}/H_T$, D_{sT} 为种群间的基因多样性; H_T 为基因多样性总量.

遗传距离采用 Nei 氏^[14]的标准遗传距离.

$$I = \frac{\sum_k \sum_i X_i Y_i}{\sqrt{\sum_k \sum_i X_i^2 \cdot \sum_k \sum_i Y_i^2}}$$

$$D = -\ln I$$

基因流采用 Wright^[15]的 F_{sT} 法统计出的 F_{sT} 值来计算: $N_m = (1 - F_{sT})/4F_{sT}$

表 2 木榄种群等位基因频率

位点	等位基因	海南东寨港	深圳福田	福建浮宫	种水平
<i>Mdh</i> - 1	a	1.000	0.953	1.000	0.984
	b	0.000	0.047	0.000	0.016
<i>Mdh</i> - 2	a	0.220	0.488	0.044	0.248
	b	0.683	0.512	0.956	0.721
	c	0.098	0.000	0.000	0.031
<i>Me</i> - 1	a	0.407	0.244	0.596	0.391
	b	0.593	0.756	0.404	0.609
<i>Est</i> - 2	a	1.000	0.860	0.800	0.892
	b	0.000	0.140	0.200	0.108
<i>Pod</i> - 1	a	0.964	1.000	0.973	0.977
	b	0.036	0.000	0.027	0.023
<i>Pod</i> - 2	a	0.915	0.679	0.462	0.700
	b	0.053	0.231	0.205	0.156
	c	0.032	0.077	0.244	0.112
	d	0.000	0.013	0.089	0.032
<i>Aat</i> - 1	a	0.529	0.593	0.182	0.480
	b	0.471	0.140	0.455	0.323
	c	0.000	0.267	0.364	0.197
<i>Alp</i> - 2	a	1.000	1.000	1.000	1.000
<i>Alp</i> - 3	a	0.491	0.389	0.250	0.403
	b	0.500	0.597	0.750	0.589
	c	0.009	0.014	0.000	0.008
<i>Sod</i> - 1	a	0.471	0.477	0.458	0.471
	b	0.500	0.477	0.542	0.500
	c	0.029	0.047	0.000	0.029
<i>Sod</i> - 2	a	0.740	0.907	1.000	0.866
	b	0.260	0.093	0.000	0.134
<i>Sod</i> - 3	a	1.000	1.000	1.000	1.000

3 实验结果

3.1 木榄种群的遗传变异性

本次实验共检测到了 7 个酶系统, 15 个酶位点. 其中可用于遗传分析的见表 2 中列出的

12 个位点. 木榄种群的等位基因频率见表 2. 表 3 为木榄种群遗传变异性的各项指标. 由表 3 可以看出, 在种群水平上, 平均每位点等位基因数为 2.000, 要低于种水平值(2.167), 其中海南种群和浮宫种群的 A 值相同(1.917). 种群水平和种水平的平均每位点有效等位基因数分别为 1.537 和 1.575, 相差不大. 但在各种群内则有很大差别, 变化由 1.489~1.576. 观察杂合度在种群水平和种水平上相差也不大, 分别为 0.270 5 和 0.274 5. 但期望杂合度在种群水平和种水平上出现较大差异, 分别为 0.268 和 0.293. 由种水平上看, 观察杂合度值(0.274 5) 要小于期望杂合度(0.293), 说明存在着杂合子不足, 纯合子过量的情况. 由 F 值的情况也可以看出这种趋势. H 值在种群水平的情况也如此. 总起来看, 遗传变异的各指标值均是种水平要大于种群水平, 这与其他种类的情形相吻合^[16, 17].

表 3 木榄种群遗传变异性指标

	P	A	A_e	H_e	H_o	F
海南东寨港	66.7%	1.917	1.489	0.259	0.247 2	0.165 5
深圳福田	75%	2.167	1.545	0.287	0.280 3	0.130 8
福建浮宫	66.7%	1.917	1.576	0.260	0.284 0	0.005 6
平均	69.5%	2.000	1.537	0.268	0.270 5	0.100 6
种水平	83.3%	2.167	1.575	0.293	0.274 5	0.200 2

表 4 木榄种群内及种群间的遗传分化

位点	总遗传多样性 H_T	种群内遗传多样性 H_S	种群间遗传多样性 D_{ST}	基因分化系数 G_{ST}
Mdh-1	0.031 5	0.029 9	0.001 6	0.051 7
Mdh-2	0.421 8	0.353 1	0.068 7	0.162 9
Me-1	0.485 9	0.444 4	0.041 5	0.085 4
Est-2	0.200 5	0.186 9	0.013 5	0.067 5
Pod-1	0.041 1	0.040 7	0.000 5	0.011 4
Pod-2	0.489 1	0.438 5	0.050 6	0.103 5
Aat-1	0.640 7	0.561 0	0.079 6	0.124 3
Alp-2	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0
Alp-3	0.478 4	0.458 7	0.019 7	0.041 2
Sod-1	0.523 4	0.522 2	0.001 2	0.002 3
Sod-2	0.208 2	0.184 5	0.023 7	0.113 6
Sod-3	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0
平均	0.293 4	0.268 3	0.025 0	0.063 6
全部位点	0.292 6	0.268 3	0.024 3	0.083 0

3.2 木榄种群遗传分化

木榄种群间遗传分化程度比较低, 总的遗传多样性为 0.292 6, 其中种群内遗传多样性为 0.268 3, 种群间遗传多样性为 0.024 3, 基因分化系数 0.083 0, 表明总的遗传多样性有 8.3% 来自种群间. 既然种群间存在着较低的遗传分化($D_{ST}=0.024 3$), 那么 3 个种群间的遗传距离就不会太大. 海南种群和深圳种群间的遗传距离最小, 为 0.038; 而深圳和浮宫之间的遗传距离最大, 为 0.079, 变化幅度不大. 遗传一致度的数值也表明了 3 个种群间的分化很小. 平均遗传一致度为 0.942, 最大为 0.963, 最小为 0.924. 采用 Wright 的 F_{ST} 法计算出的基因流较

大,为 3.43. 分化小的种群间往往保持有较大的基因流. 这在木榄种群中也是如此. 这与 G_{ST} 值所反应出来的结论是一致的.

4 讨论

木榄 3 个种群内的遗传变异水平较高,但种群间的遗传分化较小($G_{ST} = 0.0830$),这在一定程度上与它的生物学特性有关.

表 5 木榄与其他植物类型遗传多样性的比较

	P	He	A	G_{ST}				
				自交种	风媒异交	虫媒异交	一年生种	长命多年生种
其他植物类型	50%	14.9%	1.97	51%	9.9%	21%	3%	8%
木榄	69.5%	26.8%	2.000			8.3%		

木榄属于热带树种、长命多年生、虫媒异花授粉^[18]. 按照 Hamrick 等^[19]的统计(表 5),木榄生物学特性与这些均值是相符合的. 但有一点例外:按照 G_{ST} 值,木榄与风媒异交植物的 G_{ST} 值很相似,而实际上它却是虫媒异交的植物. 这主要是由于 Hamrick 所统计的 165 个属的 653 个类群的植物以陆生偏多,而红树植物受到潮汐浸润,其生态环境与陆生植物截然不同. 它具有胎生现象,当胚轴成熟后,自行掉落,可以随洋流漂流很远而不腐烂,等固着在海滩后,依然能生根发芽. 可见,这种繁殖体传播方式使红树植物有极为顺畅的基因流 ($N_m = 3.43$). Wright^[20]认为 种群间基因流大于 1,则能发挥其均质化作用;反之若小于 1,则表明基因流成为遗传分化的主要原因. 这就克服了虫媒异花授粉导致的种群间分化. 由此可见,植物的遗传变异水平与其交配系统、生态特征和生物学特性等有一定关系.

木榄是红树植物中分布较广的一种类型. Hamrick 认为广布种更多地保持它们的遗传变异在种群内,种群间的遗传分化比率较低. 黄生^[21]对台湾的秋茄(*Kandelia candel*)研究和 Goodall 和 Stoddart^[22]对澳大利亚的红海榄(*Rhizophora stylosa*)研究都表明红树植物种群间的遗传分化是很低的(秋茄 $F_{ST} = 0.043$,红海榄 $F_{ST} = 0.023$,木榄 = $F_{ST}0.0679$).

位于浮宫的木榄种群是 1987 年由海南移栽过来的人工林. 经过十多年的选择分化,目前长势良好. 和海南的木榄种群相比,它们的遗传变异度 He 比较接近(分别为 0.259, 0.260). 遗传变异的其他各项指标也差异不大. 说明当时在移栽过程中,种群未受到建立者效应(founder effect)和瓶颈效应(bottleneck effect)的影响,保持了其大部分的遗传变异. 国内木榄自然分布的北界是福建漳浦以南海岸^[23],浮宫地处地理位置比漳浦偏北,木榄种群在适应自然分布的北限以后,经受抗寒锻炼,其遗传性状也发生了一些变化. 如在 *Alp-1* 位点上,便没有发现 *Alp-1a* 基因,出现等位基因的丢失;而这个基因在海南和深圳种群中频率却达到 1.000,发生了等位基因的固定. 这可能与浮宫纬度偏北、气温较低以及移栽后,受随机漂变影响有关. 有关温度对木榄种群遗传结构的影响将作进一步研究.

参考文献

- 1 Spieth P T. Gene flow and genetic differentiation. *Genetic*, 1974, 78: 961-965
- 2 Hoey M T, Parks C R. Isozyme divergence between eastern Asian, north American, and Turkish species of *Liquidambar*

- (Hamamelidaceae). American Journal of Botany, 1931, 78(7): 937~947
- 3 Hokanson S C, Isebrands J G, Jensen R J, et al. Isozymes variation in oaks of the Apostle Islands in Wisconsin: genetic structure and levels of inbreeding in *Quercus rubra* and *Q. ellipsoidalls* (Fagaceae). American Journal of Botany, 1993, 80(11): 1 349~1 357
 - 4 林 鹏. 红树林研究论文集 (1980~1989) (第 1 集). 厦门: 厦门大学出版社, 1990. 99~230
 - 5 林 鹏. 红树林研究论文集 (1990~1992) (第 2 集). 厦门: 厦门大学出版社, 1993. 1~144
 - 6 林 鹏. 中国红树林生态系. 北京: 科学出版社, 1997. 284~316
 - 7 林 鹏. 红树林. 北京: 海洋出版社, 1984. 21~34
 - 8 王中仁. 植物等位酶分析. 北京: 科学出版社, 1996. 77~119
 - 9 陈小勇. 植物生态遗传学研究—以红树植物为主. 厦门大学博士后出站报告, 1997. 51~56
 - 10 Susan R K. Starch gel electrophoresis of plant isozymes: a comparative analysis of techniques. American Journal of Botany, 1990, 77(5): 693~712
 - 11 Siciliano M J, Shaw C R. 凝胶上酶的分离和显现. 植物生理学报, 1980, (4): 59~70
 - 12 Vallejos C E. Enzyme activity staining. In: Tanksley S D, Orton T J, eds. Isozyme in Plant Genetics and Breeding. Amsterdam: Elsevier, 1983
 - 13 Nei M. Molecular Population Genetic and Evolution. Amsterdam and New York: North Holland Publ Co, 1975
 - 14 Nei M. Molecular Evolutionary Genetics. New York: Columbia Univ Press, 1987
 - 15 Wright S. The interpretation of population structure by F - statistics with special regard to systems of mating. Evolution, 1965, 19: 395~420
 - 16 陈小勇, 王希华, 宋永昌. 华东地区青冈种群的遗传变异与遗传分化. 植物学报, 1997, 39(2): 149~155
 - 17 葛 颂, 王海群, 张灿明. 八面山银杉林的遗传多样性和遗传分化. 植物学报, 1997, 39(3): 266~271
 - 18 Tomlinson P B. The Botany of Mangroves. Cambridge: Cambridge University Press, 1986
 - 19 Hamrick J L, Loveless M D. Associations between the breeding system and the genetic structure of tropical tree populations. In: Bock J, Linhart Y B, ed. Evolutionary Ecology of Plants. Boulder, Colo: Westview Press, 1989. 129~146
 - 20 Wright S. Evolution in Mendelian population. Genetics, 1931, 16: 91~159
 - 21 黄 生. 秋茄 (*Kandelia candel*) 的区域性种群遗传结构. 生物多样性, 1994, 2(2): 68~75
 - 22 Goodall J A, Stoddart J A. Techniques for the electrophoresis of mangrove tissues. Aquat Bot, 1989, 35: 197~207
 - 23 张烧挺, 林 鹏. 中国海岸红树植物区系研究. 厦门大学学报 (自然科学版), 1984, 23(2): 232~239

Preliminary study on the genetic diversity and differentiation of three Chinese *Bruguiera gymnorrhiza* populations

Ge Jingping,¹ Yang Zhiwei,¹ Lin Peng¹

1. Department of Biology, Xiamen University, Xiamen 361005

Abstract—The genetic diversity and differentiation of three Chinese *Bruguiera gymnorrhiza* populations are examined. Expected heterozygosity at species and population levels is 0.293 and 0.268, observed heterozygosity is 0.274 5 and 0.270 5, respectively. The genetic diversity between population is 0.083 0, which shows that among total heterozygosities, 8.3% come from inter-population. Gene flow is smooth, which is 3.34.

Key words *Bruguiera gymnorrhiza*, genetic diversity, genetic differentiation