

白骨壤种群遗传变异及分化的生态分析研究*

黎中宝 林 鹏 林益明

(厦门大学生命科学学院 厦门 361005)

摘 要 白骨壤(*Avicennia marina*)为红树植物。采用垂直板型聚丙烯酰胺凝胶电泳测定了5个白骨壤种群遗传多样性、遗传分化,分析了白骨壤种群的样地气候和土壤理化指标。研究结果表明,环境因子与白骨壤种群的*Aat-1A*, *Aat-1D*, *Me-1B*, *Me-1C* 4个等位基因相关性显著,说明环境因子对这4个等位基因具有选择压力,他们的变化与环境变量有关。

关键词 生态分析 白骨壤 种群 遗传变异

Study on the ecological analysis of genetic variation and ecological differentiation of *Avicennia marina* populations.
LI Zhong-Bao, LIN Peng, LIN Yi-Ming (College of Life-Science, Xiamen University, Xiamen 361005), *CJEA*, 2001, 9(1): 67~70

Abstract *Avicennia marina* is mangrove plant. Genetic diversity and genetic differentiation were measured with the assay of vertical slab polyacrylamide gel electrophoresis in *Avicennia marina* populations, and climate and chemistry physical as characteristic of soils were analyzed in sampling sites of 5 *Avicennia marina* populations. The ecological analyses of genetic variation and ecological differentiation of *Avicennia marina* populations were studied. The environmental factors have a significant relation with 4 alleles including *Aat-1A*, *Aat-1D*, *Me-1B*, *Me-1C*, showing that the environmental factors which relate with the alleles have selective pressure on the 4 alleles, and the 4 alleles varied with the environmental factors.

Key words Ecological analysis, *Avicennia marina*, Population, Genetic variation

白骨壤(*Avicennia marina*)为红树植物。白骨壤种群维持较高遗传变异和较低遗传分化,本文研究了其维持较高遗传变异和较低遗传分化的原因,同时也研究了在不同的环境变量情况下对白骨壤种群的遗传变异和遗传分化产生怎样的影响及其影响程度。

1 试验材料与方法

白骨壤种群样品采自福建省厦门市东屿(N24°28', E118°05')、深圳市福田(N22°32', E114°05')、海南省塔市(N19°58', E110°37')、广西壮族自治区大冠沙(N21°26', E109°14')和钦州港(N21°37', E108°20'),在选定的种群样地中株与株间距离相隔10m以上随机采集幼嫩的白骨壤叶片,保持叶片新鲜不变质,迅速携至实验室内处理,在-20℃冷冻贮藏,尽快测完,由于红树植物富含单宁^[1],因此将提取酶缓冲液^[2]进行改进,以磷酸钾缓冲液代替 Tris-HCl 缓冲液(25cm³, 0.1mol/dm³ 磷酸钾缓冲液, pH7.5, 内含 0.019gKCl, 0.05mgCl₂, 0.01gEDTANa₂, 5gPVP-K30, 0.08g 偏亚硫酸钠, 1g 四硼酸钠, 0.25cm³ 巯基乙醇)。冰浴研成匀浆, 4000r/min 冷冻离心 15min, 弃去沉淀, 上清液备用。电泳酶谱分析及计算方法, 电泳采用垂直板型不连续聚丙烯酰胺凝胶(PAGE)电泳, 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。实验共检测 5 个酶系统、10 个酶位点、29 个等位基因。数据分析则使用 Biosys-1 套装软件^[3]计算每 1 种群的等位基因频率(A), 平均每个位点的有效等位基因频率(Ae)、多态位点百分数(P)、观察杂合度(Ho)、预期杂合度(He)。土壤指标测试有机质采用重铬酸钾容量法; 全 N 采用硫酸、过氧化氢氧化, 纳氏比色; 全 P 采用硫酸、高氯酸氧化, 钼锑抗比色; 总含盐量采用残渣烘干法; pH 值采用水浸提, pHs 采用 3C 精密酸度计测定^[4]。

2 结果与分析

2.1 环境变量与遗传变量

* 国家教育部博士学科点专项科研基金项目(1999038410)资助

收稿日期: 2000-11-21 改回日期: 2000-12-06

环境变量。本研究所涉及的环境变量包括土壤因素、地理因素和气候因素,结果见表1。

表1 白骨壤种群的样地气候与土壤理化指标

Tab.1 Climate condition and chem-physical indexes of soils in sample plots of *Avicennia marian* populations

样地 Sample plots	样地气候条件及土壤理化指标 Climate condition and chem-physical indexes					Climat condition and chem-physical indexes			
	有机质(Or)/%	全N(Tn)/%	全P(Tp)/%	全盐量(Ts)/%	pH值(pH)	经度(Lo)	纬度(La)	年均气温(Ta)/℃	降雨量(Fn)/mm
厦门市东屿 Dongyu of Xiamen	2.909	0.165	0.052	24.29	7.78	118°05'	24°28'	21.1	1036.0
深圳市福田 Futian of Shenzhen	7.886	0.307	0.091	20.85	5.32	114°05'	22°32'	22.0	1926.7
海南省塔市 Tashi of Hainan	3.130	0.071	0.027	25.61	4.55	110°37'	19°58'	23.8	1697.8
广西大冠沙 Daguansha of Guangxi	2.086	0.028	0.081	19.67	6.80	109°14'	21°26'	22.4	1666.9
广西钦州港 Qinzhougang of Guangxi	2.259	0.061	0.038	14.61	6.65	108°20'	21°37'	23.7	1512.0

遗传变量。用于分析的遗传变量主要有等位基因频率、多态位点百分数(P)、平均每位点等位基因数(A)、有效等位基因数(Ae)、期望杂合度(He)、观察杂合度(Ho),结果见表2。

表2 白骨壤种群遗传变异性指标*

Tab.2 Indexes of genetic variability of *Avicennia marina* populations

样地 Sample plots	每点等位基因数(A)多态位点百分数(P)/%	有效等位基因数(Ae)	期望杂合度(He)	观察杂合度(Ho)
	Alleles per position Percentage multi-positions	Effective alleles	Expected heterozygosity	Observed heterozygosity
厦门市东屿 Dongyu of Xiamen	1.6(0.3)	40	1.473	0.212(0.089)
海南省塔市 Tashi of Hainan	2.0(0.5)	40	1.526	0.214(0.093)
深圳市福田 Futian of Shenzhen	2.9(0.4)	90	1.702	0.310(0.084)
广西大冠沙 Daguansha of Guangxi	1.7(0.3)	50	1.508	0.253(0.085)
广西钦州港 Qinzhougang of Guangxi	1.9(0.4)	50	1.628	0.265(0.094)
种群水平 Population level	2.02	54	1.567	0.251
种水平 Species level	2.50	80	1.599	0.269

*表中括号内数据为标准差。

表3 环境变量之间的相关关系

Tab.3 Correlative relations among environmental variables

		环 境 变 量					Environmental variables				
		Or	Tn	TP	Ts	pH	Lo	La	Ta	Fn	
环境变量 Environmental variables	Or	1									
	Tn	0.9285 *	1								
	TP	0.9128 *	0.9818 **	1							
	Ts	0.1322	0.2012	0.0279	1						
	pH	-0.4551	-0.1641	-0.1305	-0.2689	1					
	Lo	0.3787	0.6659	0.5808	0.5718	0.3375	1				
	La	0.1791	0.5067	0.5032	0.0442	0.7155	0.8180	1			
	Ta	-0.2954	-0.5475	-0.4712	-0.3054	-0.5849	-0.8480	-0.8922 *	1		
	Fn	-0.1148	-0.2388	-0.0590	-0.8619	-0.1006	-0.6848	-0.3516	0.6713	1	

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$; $Df = n - 2 = 3$,以下表同。

表4 白骨壤种群遗传变异指标平均值之间的相关性

Tab.4 Correlation analysis among the mean of genetic variation indices of *Avicennia marina* populations

	遗传变异指标 Indices of genetic variation				
	A	P	Ae	He	Ho
A	1				
P	0.9239	1			
Ae	0.8710	0.8575	1		
He	0.7965	0.9293	0.9035	1	
Ho	0.6605	0.7064	0.9363	0.8305	1

变异指标平均值之间的相关分析见表4,平均每位点等位基因数目(A)和多态位点百分数(P)呈显著正相关;多态位点百分数(P)和期望杂合度(He)也呈显著正相关;有效等位基因数目(Ae)和期望杂合度(He)以及观察杂和度(Ho)呈显著正相关。但在各位点上有效等位基因数目和期望杂合度之间的相关性却较大(见表5),在Aat-2,Est-2,Est-3,Adh-1位点上的期望杂合度(He)分别和Aat-2,Est-2,Est-3,Adh-1位点上的有效等位基因数目呈线性关系;在另外的12对位点上其有效等位基因数目和期望杂合度呈极显著正相关。

2.2 遗传变异与分化的生态分析

环境变量之间相关分析。环境变量相关分析中(见表3)土壤有机质含量与土壤全N、全P的含量呈显著正相关关系;土壤中全N与全P呈极显著正相关关系;纬度与年均气温呈显著负相关关系。

等位基因频率之间的相关分析。白骨壤种群的等位基因频率之间有86对达到完全的线性关系,其中有44对为反比例线性关系,42对为正比例线性关系;另有2对(Aat-1A与Est-1A,Mdh-3C与Mdh-3B)呈极显著负相关关系;另外还有18对等位基因频率之间也达到显著相关性。

遗传变异指标之间的相关性分析。白骨壤种群遗传

表 5 白骨壤种群有效等位基因数与期望杂合度之间的相关性分析

Tab. 5 Correlation analysis of number of effective allele and expected heterozygosity of *Avicennia marina* population

		等位基因频率 Allelic frequencies								
		<i>Aat-1</i>	<i>Aat-2</i>	<i>Est-1</i>	<i>Est-2</i>	<i>Est-3</i>	<i>Adh-1</i>	<i>Me-1</i>	<i>Mdh-1</i>	<i>Mdh-3</i>
等位基因频率	<i>Aat-1</i>	0.9999 **	0.9659 **	0.6728	0.9659 **	0.9659 **	0.9659 **	0.4323	-0.0493	-0.6389
	<i>Aat-2</i>	0.9689 **	1 **	0.7883	1 **	1 **	1 **	0.5740	-0.2417	-0.5363
	<i>Est-1</i>	0.6071	0.7236	0.9948 **	0.7236	0.7236	0.7236	0.3572	-0.3322	-0.3335
Allelic frequencies	<i>Est-2</i>	0.9689 **	1 **	0.7883	1 **	1 **	1 **	0.5740	-0.2417	-0.5363
	<i>Est-3</i>	0.9689 **	1 **	0.7883	1 **	1 **	1 **	0.5740	-0.2417	-0.5363
	<i>Adh-1</i>	0.9689 **	1 **	0.7883	1 **	1 **	1 **	0.5740	-0.2417	-0.5363
frequencies	<i>Me-1</i>	0.3517	0.4894	0.3109	0.4897	0.4894	0.4894	0.9948 **	-0.2337	-0.2862
	<i>Mdh-1</i>	0.0033	-0.1659	-0.2599	-0.1659	-0.1659	-0.1659	-0.1584	0.9944 **	-0.7322
	<i>Mdh-3</i>	-0.6609	-0.5699	-0.3948	-0.5699	-0.5699	-0.5699	-0.3657	-0.6338	-0.9991 **

环境变量与白骨壤种群的等位基因频率之间的相关分析。由表 6 可知, *Aat-1A* 与 pH 呈显著的正相关; *Aat-1D* 与有机质含量呈极显著正相关, 与全 N 和全盐量均呈显著正相关; *Me-1B* 与气候因素中年均气温呈显著相关性; *Me-1C* 与全 N 量呈显著相关性, 与地理因素中经度呈显著正相关, 与纬度相关性较大, 但未达显著水平。由此可知, 与环境变量呈显著相关的等位基因有 *Aat-1A*, *Aat-1D*, *Me-1B*, *Me-1C* 4 个等位基因。

表 6 环境变量与白骨壤种群等位基因频率之间的相关性分析

Tab. 6 Correlation analysis between allelic frequency of *Avicennia marina* population and environmental variable

等位基因频率 Allelic frequencies	环境变量 Environment variables								
	<i>Or</i>	<i>Tn</i>	<i>TP</i>	<i>TS</i>	<i>pH</i>	<i>Lo</i>	<i>La</i>	<i>Ta</i>	<i>Fn</i>
<i>Aat-1A</i>	-0.370	-0.173	-0.092	-0.586	0.926 *	0.075	0.619	-0.437	0.176
<i>Aat-1B</i>	-0.122	-0.274	-0.356	0.596	-0.729	-0.219	-0.709	0.583	-0.163
<i>Aat-1C</i>	0.122	-0.274	-0.356	0.596	-0.729	-0.219	-0.709	0.583	-0.163
<i>Aat-1D</i>	0.984 **	0.893 *	0.894 *	-0.020	-0.393	0.287	0.182	-0.291	-0.025
<i>Aat-1E</i>	0.122	0.274	0.356	-0.596	0.729	0.219	0.709	-0.583	0.163
<i>Aat-2A</i>	-0.122	-0.274	-0.356	0.596	-0.729	-0.219	-0.709	0.583	-0.163
<i>Aat-2B</i>	0.122	0.274	0.356	-0.596	0.729	0.219	0.709	-0.583	0.163
<i>Est-1A</i>	0.363	0.166	0.085	0.587	-0.925 *	-0.078	-0.622	0.440	-0.176
<i>Est-1B</i>	0.413	0.318	0.347	-0.475	0.183	-0.083	0.231	-0.374	0.071
<i>Est-1C</i>	-0.560	-0.418	-0.420	0.307	0.145	0.120	-0.024	0.251	-0.013
<i>Est-1D</i>	-0.560	-0.418	-0.420	0.307	0.145	0.120	-0.024	0.251	-0.013
<i>Est-1E</i>	0.413	0.318	0.347	-0.475	0.183	-0.083	0.231	-0.374	0.071
<i>Est-2A</i>	-0.122	-0.274	-0.356	0.596	-0.729	-0.219	-0.709	0.583	-0.163
<i>Est-2B</i>	0.122	0.274	0.356	-0.596	0.729	0.219	0.709	-0.583	0.163
<i>Est-3A</i>	-0.122	-0.274	-0.356	0.596	-0.729	-0.219	-0.709	0.583	-0.163
<i>Est-3B</i>	0.122	0.274	0.356	-0.596	0.729	0.219	0.709	-0.583	0.163
<i>Adh-1A</i>	-0.122	-0.274	-0.356	0.596	-0.729	-0.219	-0.709	0.583	-0.163
<i>Adh-1B</i>	0.122	0.274	0.356	-0.596	0.729	0.219	0.709	-0.583	0.163
<i>Me-1A</i>	-0.122	-0.274	-0.356	0.596	-0.729	-0.219	-0.709	0.583	-0.163
<i>Me-1B</i>	-0.369	-0.489	-0.400	-0.225	-0.419	-0.608	-0.668	-0.911 *	0.656
<i>Me-1C</i>	0.663	0.892 *	0.859	0.300	0.223	0.909 *	0.811	-0.790	-0.418
<i>Me-1D</i>	-0.375	-0.507	-0.557	-0.144	0.218	-0.404	-0.203	-0.068	-0.193
<i>Mdh-1A</i>	-0.697	-0.578	-0.698	0.504	0.398	0.145	0.064	-0.229	-0.627
<i>Mdh-1B</i>	0.697	0.578	0.698	-0.504	-0.398	-0.145	-0.064	0.229	0.627
<i>Mdh-1C</i>	-0.697	-0.578	-0.698	0.504	0.398	0.145	0.064	-0.229	-0.627
<i>Mdh-1D</i>	0.697	0.578	0.698	-0.504	-0.398	-0.145	-0.064	0.229	0.627
<i>Mdh-3A</i>	-0.122	-0.274	-0.356	0.596	-0.729	-0.219	-0.709	0.583	-0.163
<i>Mdh-3B</i>	-0.238	-0.027	-0.052	-0.118	0.876	0.376	0.718	-0.765	-0.374
<i>Mdh-3C</i>	0.350	0.143	0.206	-0.078	-0.825	-0.387	-0.630	0.737	0.530

环境变量与白骨壤种群各位点期望杂合度的相关分析。由表 7 可知, *Me-1* 位点的期望杂合度与经度呈显著负相关, 与纬度和年均气温相关性较大, 与土壤因素中全 N、全 P 相关性也较大, 但均未达显著水平。

表 7 环境变量与白骨壤种群各位点期望杂合度之间的相关性分析

Tab. 7 Correlation analysis between environmental variable and expected heterozygosity of *Avicennia marina* population

期望杂合度 Expected heterozygosities	环境变量 Environmental variables								
	<i>Or</i>	<i>Tn</i>	<i>TP</i>	<i>TS</i>	<i>pH</i>	<i>Lo</i>	<i>La</i>	<i>Ta</i>	<i>Fn</i>
<i>Aat-1</i>	0.1369	-0.0444	-0.1284	0.6097	-0.8582	-0.1494	0.6844	0.5240	-0.1753
<i>Aat-2</i>	-0.1218	-0.3739	-0.3560	0.5956	-0.7293	-0.2190	-0.7096	0.5828	-0.1633
<i>Est-1</i>	-0.4115	-0.3194	-0.3451	0.4587	-0.1875	0.0707	-0.2385	0.3884	-0.0506
<i>Est-2</i>	-0.1218	-0.2739	-0.3560	0.5956	-0.7293	-0.2190	-0.7096	0.5828	-0.1633
<i>Est-3</i>	-0.1218	-0.2739	-0.3560	0.5956	-0.7293	-0.2190	-0.7096	0.5828	-0.1633
<i>Adh-1</i>	-0.1218	-0.2739	-0.3560	0.5956	-0.7293	-0.2190	-0.7096	0.5828	-0.1633
<i>Me-1</i>	-0.6437	-0.8709	-0.8342	-0.2625	-0.2679	-0.9000 *	-0.8504	0.8592	0.4531
<i>Mdh-1</i>	0.6532	0.5259	0.6506	-0.5114	-0.4360	-0.1929	-0.1192	0.3007	0.6694
<i>Mdh-3</i>	-0.3387	-0.1324	-0.1959	0.0834	0.8202	0.3934	0.6327	-0.7441	-0.5371

环境变量与白骨壤种群遗传变异指标平均值之间的相关分析。研究发现, 平均每位点等位基因数目(*A*)与 pH 值的大小呈显著负相关; 有效等位基因数目(*A_e*)与年均气温呈显著正相关; 期望杂合度(*H_e*)与纬度呈显著负相关, 与年均气温呈显著正相关; 观察杂合度(*H_o*)与年均气温呈显著正相关(见表 8)。

表8 环境变量与白骨壤种群遗传变异各指标均值之间的相关性分析

Tab. 8 Correlation analysis between environmental variable and genetic variation index of *Avicennia marina* population

遗传变异指标 Indexes of genetic variation	环境变量 Environmental variables								
	Or	Tn	Tp	环境 Ts	pH	Lo	La	Ta	Fn
A	0.0878	-0.1251	-0.1730	0.4333	-0.8859 *	-0.3148	-0.7828	0.6851	0.0343
P	-0.2798	-0.4700	0.5290	0.4263	-0.6913	-0.4314	-0.8279	0.7227	-0.0139
Ae	-0.1839	-0.3894	-0.3515	0.0048	-0.7071	-0.6072	-0.8415	0.9314 *	0.4710
He	-0.4644	-0.6857	-0.6883	0.0815	-0.5729	-0.7086	-0.9118 *	0.8922 *	0.2866
Ho	-0.3848	-0.5044	-0.4233	-0.1869	-0.4282	-0.6021	-0.6809	0.9098 *	0.6233

3 小结与讨论

在对白骨壤种群的研究中发现,白骨壤种群等位基因频率与土壤因素有一定的相关性。研究发现,*Aat-1A*的等位基因频率与pH值呈显著正相关;*Aat-1D*与土壤中有机质含量呈极显著正相关,与全N和全P均呈显著正相关;*Me-1C*与全N含量呈显著正相关,我们发现在被研究的30个等位基因中有*Aat-1A*,*Aat-1D*,*Me-1C*3个等位基因与土壤因素有关,占10%。同时发现平均每位点等位基因数目与pH值呈显著负相关。Heywood T. S. 和 Levin D. A. [5]在研究北美广布的天人菊(*Gaillardia pulchella fougier*)时发现,等位基因频率与土壤特征相关。Nevo E. *et al.* [6]在研究“*Triticum turgidum var. dicoccoides*”时发现,生态因子(尤其是土壤因子)对*Pgi-3A*,*Aat-1A*,*Aat-1B*和*Pgi-2B*等等位基因或它们相连的基因组具有选择压力,而造成种群遗传结构在微地理或大范围的分化。

白骨壤种群的等位基因频率,期望杂合度的均值以及各位点的期望杂合度与地理因素有相关性。*Me-1C*的频率与经度呈显著正相关(在研究的范围内),与纬度也有很大的相关性,但未达到显著水平;期望杂合度的均值(*He*)与纬度呈显著负相关;位点*Me-1*的期望杂合度与经度(被研究的白骨壤种群范围内)呈显著负相关。Soler C. *et al.* [7]在研究“*Elytrigia pungens*”时发现,*Pgi-7*,*Pgm-8*及*Mdh-2*与纬度呈显著负相关,而*Cpx-2*,*Cpx-4*与纬度呈极显著正相关,在“*Elytrigia repens*”中的低纬度的种群遗传变异大。陈小勇(1995)发现青冈种群中的*Pod-1A*与纬度呈正相关,*Pod-2*与纬度呈负相关。

白骨壤种群的等位基因频率,遗传变异指标(*Ae*,*He*,*Ho*)与气候因子中的年均气温相关性很大。研究发现,*Me-1B*与年均气温呈显著正相关,同时还发现年均气温与有效等位基因数目(*Ae*)、期望杂和度(*He*)、观察杂合度(*Ho*)(种群均值)均呈显著正相关。陈小勇(1995)在研究青冈时发现,*Pod-1*与降雨量呈显著负相关,与温度因子也呈负相关。Comps B. *et al.* [8]研究了欧洲水青冈(*Fagus sylvatica*)种群时发现,等位基因*Pob-1*,*Pob-2*与气候变化相关,*Pob-2*与海拔高度相关。综上所述,环境因子与白骨壤种群的*Aat-1A*,*Aat-1D*,*Me-1B*,*Me-1C*4个等位基因相关性显著,这说明环境因子对这4个等位基因具有选择压力,他们的变化与环境变量相关。

参 考 文 献

- 1 林 鹏. 中国红树林生态系. 北京: 科学出版社, 1997, 284~316
- 2 王中仁. 植物等位酶分析. 北京: 科学出版社, 1996. 77~119
- 3 中国科学院南京土壤研究所. 土壤理化分析. 上海: 上海科学技术出版社, 1978
- 4 Swoford D. L., Selander R. B. Biosys-1, University of Illinois Urbana-champaign, 1989
- 5 Heywood T. S., Levin D. A. Association between allozyme frequencies and soil characteristics in *Gaillardia pulchella*. *Evolution*, 1985, 39: 1076~1086
- 6 Nevo E., Beiles A., Kaplan D. Genetic diversity and environmental. Associations of wild emmer wheat, in Turkey. *Heredity*, 1988, 61: 31~45
- 7 Soler C., Calindo C., Conzalea-Castano S. Sozyme variation in Spanish natural populations of *Elytrigia pungens* (Pers.) Turin and *E. repens* (L.) Nevski. *Heredity*, 1993, 71: 51~58
- 8 Comps B., Thiebaut B., Paule L. Allozymic variability in beechwoods (*Fagus sylvatica* L.) over central Europe, spatial differentiation among and within populations. *Heredity*, 1990, 65: 407~417