

短葶飞蓬云南三个种群的核型与等位酶分析*

冯定霞¹, 陈勃¹, 党承林², 王崇云²

(1 西南林学院, 云南 昆明 650224; 2 云南大学生态学与地植物学研究所, 云南 昆明 650091)

摘要: 通过核型和等位酶分析, 对短葶飞蓬 (*Erigeron breviscapus*) 种群遗传结构进行了较全面的研究。研究材料来自丽江、昆明、邱北。核型分析表明, 这 3 个种群都为二倍体种群 ($2n = 2x = 18$), 以丽江种群为例, 短葶飞蓬核型为 $2n = 2x = 18 = 6m + 10sm(2SAT) + 2st$ 。10 种酶的等位酶分析表明, 短葶飞蓬的遗传变异存在于种群内。种群间遗传一致度高 ($I = 0.9172$), 遗传距离小 ($D = 0.0876$)。遗传距离与空间距离大致成正比相关。

关键词: 短葶飞蓬; 核型; 等位酶; 种群遗传结构

中图分类号: Q 943 文献标识码: A 文章编号: 0253-2700(2002)06-0754-05

Karyotype and Allozyme Analyses of Three Populations of *Erigeron breviscapus* from Yunnan

FENG Ding-Xia¹, CHEN Bo¹, DANG Cheng-Lin², WANG Cong-Yun²

(1 South-West Forestry College, Kunming 650024, China; 2 Institute of Ecology and Geobotany, Yunnan University, Kunming 650091, China)

Abstract: In this paper, the population genetic structure of *Erigeron breviscapus* in three population of Yunnan was studied by the karyotype analysis and allozyme analysis. Lijiang, Kunming and Qiubei populations were sampled. Karyotype analysis indicated that all the three populations are diplontic ($2n = 2x = 18$). The karyotype formula of Lijiang population is: $2n = 2x = 18 = 6m + 10sm(2SAT) + 2st$. Ten allozyme analyses show that, the genetic variation exists within the populations. The genetic identities in the three populations are very high ($I = 0.9172$), and the genetic distances are very small ($D = 0.0876$). The genetic distances are positively related to the spatial distances.

Key words: *Erigeron breviscapus*; Karyotype; Allozyme; Population genetic structure

短葶飞蓬 *Erigeron breviscapus* (Vant.) Hand.-Mazz, 俗称灯盏花或灯盏细辛, 为菊科 (Compositae) 紫菀族 (Trib. Astereae Cass.) 飞蓬属 (*Erigeron*) 植物, 产于湖南、广西、贵州、四川、云南、西藏等省区, 常见于海拔 1 200 ~ 3 500 m 的中山和亚高山开阔山坡、草地、林缘 (林谔和陈艺林, 1985)。其黄酮类提取物, 主要是灯盏花素 (灯盏甲素和灯盏乙素), 对治疗闭塞性脑血管疾病所致瘫痪及脑出血后遗瘫痪有特效 (黎光南, 1990)。工厂化生产 20 多年来, 野生短葶飞蓬被大量采挖, 野生资源不足将成为制约云南灯盏花

* 收稿日期: 2002-03-28, 2002-07-16 接受发表

作者简介: 冯定霞 (1975-) 女, 硕士, 助教, 研究方向: 植物种群生物学。

药业发展的瓶颈。加强短葶飞蓬生物学特性研究，对人工栽培提高黄酮产率，保护短葶飞蓬野生资源具有理论和现实意义。本文从细胞遗传学和等位酶水平对短葶飞蓬种群遗传结构进行了较全面的研究。

1 材料与方法

本文实验材料包括从滇西北到滇东南的3个种群：丽江玉龙雪山种群、昆明西山种群、邱北新甸种群。实验材料来源见表1，凭证标本保存于云南大学生态学与地植物学研究所。

表1 实验材料来源

Table 1 Origin of materials

种群 population	采集地 localities	经度 longitude	纬度 latitude	海拔/m altitude	生境 habitat	凭证标本 voucher
Lijiang	Yulongxueshan	100°15'	27°	2700	grassland	FDX014
Kunming	Xishan	102°38'	24°58'	2100	grass slope, <i>Pinus yunnanensis</i> woods	FDX057
Qiubei	Xindian	104°10'	24° 5'	1700	grass slope, <i>Pinus yunnanensis</i> woods	FDX109P

本文应用植物染色体常规压片法(李懋学, 1982)。取生长旺盛的栽培植株根尖, 放入0.05%秋水仙碱溶液中, 室温下预处理3h, Carnoy溶液固定3h, 1mol/L HCl室温下水解8min, 卡宝品红染色和镜检。将具有良好中期分裂相的玻片标本制成永久封片, 供核型和倍性分析。染色体类型划分、命名和排列按李懋学和陈瑞阳(1985)制定的标准。核型不对称性依据Stebbins(1971)的分类标准进行判断, 核型不对称程度用“核型不对称系数”度量(虞泓, 1996), 即 $As.K\% = (\text{长臂总长}/\text{染色体总长}) \times 100$, $As.K\%$ 值越高, 核型越不对称。每个种群检查20~30个植株。以丽江种群为代表, 作核型分析。等位酶实验应用水平切片淀粉凝胶电泳方法(王中仁, 1996)。实验酶系统与缓冲液系统见表2和表3。

淀粉凝胶浓度为12%, 所用淀粉为Sigma公司产品S-4501。提取液选用Tris-马来酸提取缓冲液

表2 电泳缓冲液系统

Table 2 Buffer system used in electrophoresis

No.	gel buffer	electrode buffer
1	0.02 mol/L L-histidine mono HCl, pH7.0	0.4 mol/L Citric acid, trisodium, salt, pH7.0
R	0.009mol/L Tris, 0.005mol/L L-histidine mono HCl, pH8.0	0.04mol/L Tris, 0.105mol/L Citric acid, pH8.0

Buffer system 1: 王中仁(1996); Buffer system R: 虞泓(1999)

表3 酶系统与缓冲液系统

Table 3 The enzyme system and buffer system

酶系统 Enzyme system	酶缩写 Abbreviation	缓冲液系统 Buffer system
天冬氨酸转氨酶 Aspartase aminotransferase	AAT	1、R
莽草酸脱氢酶 Shikimate dehydrogenase	SKD	R
苹果酸酶 Malic enzyme	ME	1、R
苹果酸脱氢酶 Malate dehydrogenase	MDH	1、R
异柠檬酸脱氢酶 Isocitrate dehydrogenase	IDH	1、R
6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶 Phosphogluconate dehydrogenase	PGD	1、R
磷酸葡萄糖变位酶 Phosphoglucomutase	PGM	1
磷酸葡萄糖异构酶 Phosphoglucoisomerase	PGI	R
6-磷酸葡萄糖脱氢酶 Glucose-6-phosphate dehydrogenase	G ₆ PDH	1
3-磷酸甘油醛脱氢酶 Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	G ₃ PDH	1

(王中仁, 1996), 提取缓冲液现配现用。材料研磨好后, 用新华 III 号滤纸制成的 $2\text{ mm} \times 2\text{ mm}$ 的沁子直接吸取研磨液上样。每次上样时, 以一个已知酶谱的个体为对照标记, 同时上一个溴酚蓝沁子作电泳时间指示。电泳在 4°C 冰箱中进行, 采用 60 mA 稳流电泳 $7 \sim 8\text{ h}$, 待溴酚蓝移至凝胶顶端, 停止电泳, 割胶染色。AAT 液染, 其余 9 种酶胶染。染色液配方采用 Soltis 等 (1983) 和王中仁 (1996) 配方。酶带显色后, 及时记录、照相。酶谱记录采用基因构成记录法。每个基因位点如果有多个等位基因, 最近阳极的标为 a, 次近阳极的标为 b, 以此类推。每个种群取样 $20 \sim 30$ 个植株。

2 结果与分析

2.1 短葶飞蓬核型

以丽江种群为代表, 短葶飞蓬核型公式 $2n = 2x = 18 = 6m + 10sm (2SAT) + 2st$ 。染色体长度范围 $0.51 \sim 0.92\ \mu\text{m}$, 为极小染色体, 染色体组实际长度约 $6.98\ \mu\text{m}$, 染色体长度比为 1.79, 核型不对称性属于 3A 型, As.K 值为 66.01% 。第一对染色体为随体染色体, 随体大小异形 (表 4、图 1 和图 2)。3 个种群都为二倍体种群, 未见多倍体或非整倍性现象。

2.2 短葶飞蓬种群的等位酶分析

检测的 10 种酶中, MDH、ME、 G_6PD 、 G_3PD 、PGD 和 IDH 只有 1 个位点, 为单态; AAT 有 2 个位点, 都为单态; PGI 有 1 个位点 2 个等位基因; SKD 有 1 个位点 2 个等位基因; PGM 有 1 个位点 3 个等位基因 (图 3, 表 5)。

表 4 丽江短葶飞蓬染色体参数

Table 4 The parameters of chromosomes in the *Erigeron breviscapus* population from Lijiang

序号 No.	相对长度/% RL	臂比 AR	类型 PC
1	13.20	1.76	sm*
2	13.09	4.81	st
3	12.63	2.06	sm
4	12.63	2.83	sm
5	12.05	1.59	m
6	10.58	2.15	sm
7	9.44	2.03	sm
8	8.99	1.47	m
9	7.39	1.15	m

No. : Chromosome number ; RL : relative length ;

AR : arm ratio ; PC : position of centomere ;

* Sat-chromosome



图 1 丽江短葶飞蓬有丝分裂中期染色体和核型

Fig. 1 The somatic chromosomes and karyotype in mitotic metaphase in the *Erigeron breviscapus* population from Lijiang

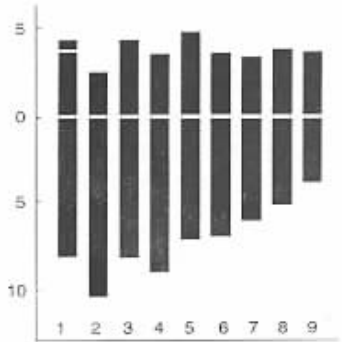


图 2 丽江短葶飞蓬核型模式图

Fig. 2 Idiograms of *Erigeron breviscapus* population from Lijiang

根据实验结果, 分析种群遗传结构及种群间遗传变异 (表 6, 表 7)。3 个种群的多态位点百分数 P 相等 ($P = 27.27$), 平均每个位点的等位基因数 A 也相等 ($A = 1.36$)。平均每个位点的等位基因数的有效数目 A_e 、平均每个位点的预期杂和度 H_e 和平均每个位点

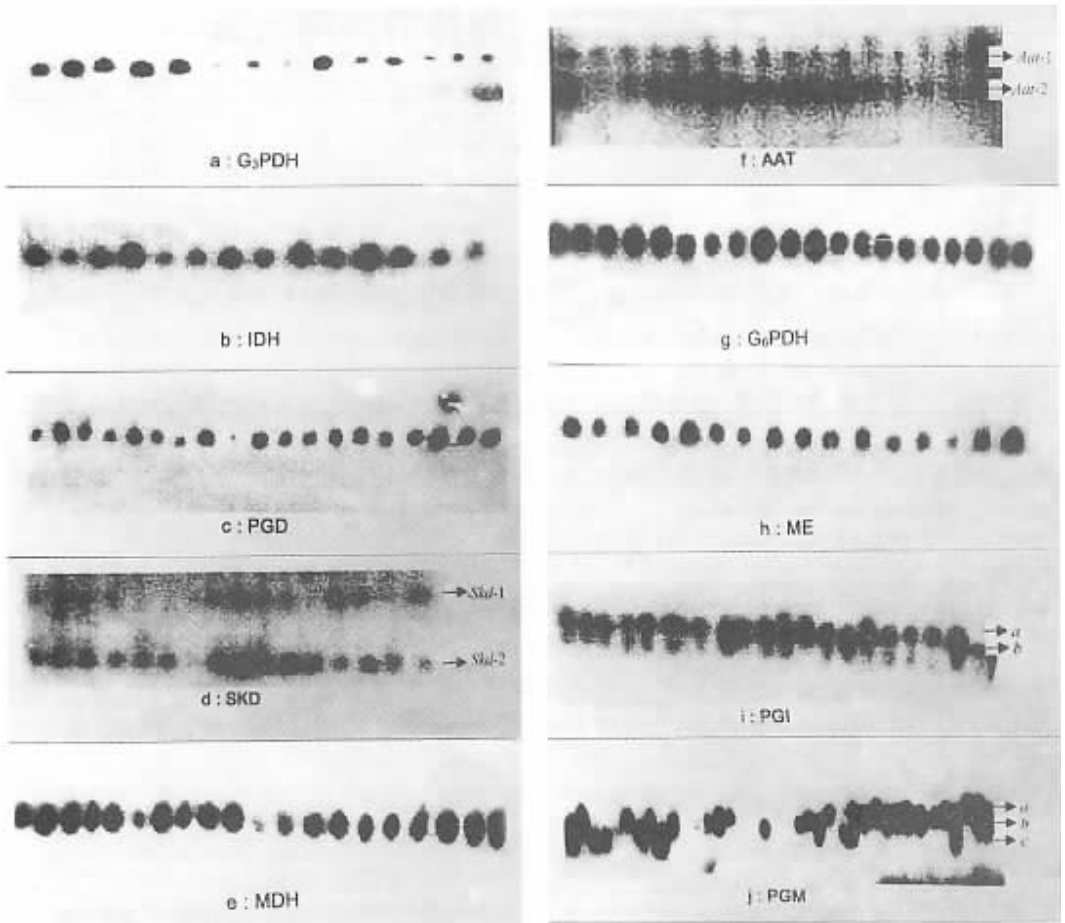


图3 短葶飞蓬的10种酶的酶谱

Fig. 3 Electrophoresis bands of ten allozyme of *Erigeron breviscapus*

(a : G_3 PDH ; b : IDH ; c : PGD ; d : SKD ; e : MDH ; f : AAT ; g : G_6 PDH ; h : ME ; i : PGI ; j : PGM)

的实际杂和度 H_o 都以丽江种群最高。

按照 Nei 的基因多样性概念，对每个多态位点来说，一个种的所有种群的总遗传多样性 H_T 包括各种群内的遗传多样性 H_S 和各种群间的遗传多样性 D_{ST} 之和： $H_T = H_S + D_{ST}$ 。对任何一个位点来说：存在于种群间的遗传多样性的比率 $G_{ST} = D_{ST}/H_T = (H_T - H_S) / H_T$ (王中仁，1996)。

短葶飞蓬种群间基因分化系数 $G_{ST} = 0.2798$ ，即短葶飞蓬总的遗传变异中有 27.89% 存在于种群间，有 72.02% 存在于种群内，遗传变异主要存在于各种群内部。

3 个短葶飞蓬种群间的遗传一致度很高，平均值为 0.9172，遗传距离小，平均值为 0.0876。其中昆明种群和邱北种群的遗传一致度最高，达 0.9700；昆明种群和丽江种群的遗传一致度居中，为 0.9198；邱北种群与丽江种群的遗传一致度最小，为 0.8617。遗传距

表 5 检测到的酶位点数和等位基因频率
Table 5 Enzyme locus number and the alleles frequency

酶位点 locus	等位基因频率 frequency/%		
	Qiubei	Lijiang	Kunming
<i>Mdh</i>	a = 100	a = 100	a = 100
<i>Me</i>	a = 100	a = 100	a = 100
<i>G₆pd</i>	a = 100	a = 100	a = 100
<i>G₃pd</i>	a = 100	a = 100	a = 100
<i>Pgd</i>	a = 100	a = 100	a = 100
<i>Idh</i>	a = 100	a = 100	a = 100
<i>Aat-1</i>	a = 100	a = 100	a = 100
<i>Aat-2</i>	a = 100	a = 100	a = 100
<i>Pgi</i>	a = 36.67, b = 63.33	a = 95, b = 5	a = 5, b = 95
<i>Skd</i>	a = 40.625, b = 59.375	a = 17.5, b = 82.5	a = 72.5, b = 27.5
<i>Pgm</i>	a = 21.88, b = 59.38, c = 15.63	a = 30.56, b = 19.44, c = 50	a = 22.5, b = 47.5, c = 30

表 6 短葶飞蓬各种群的遗传多样性指标
Table 6 Genetic diversity index of *Erigeron breviscapus* in the three populations

	Lijiang	Kunming	Qiubei	Mean
<i>P</i> /%	27.27	27.27	27.27	27.27
<i>A</i>	1.36	1.36	1.36	1.36
<i>Ae</i>	1.29	1.19	1.23	1.24
<i>He</i>	0.138	0.100	0.102	0.113
<i>Ho</i>	0.121	0.091	0.064	0.092

离与空间距离大致呈一定相关性 (表 8)。

综合核型与等位酶分析结果,从滇西北的丽江种群,到滇中的昆明种群以及滇东南的邱北种群,短葶飞蓬种群间都没有倍性分化,都为二倍体种群。从丽江到昆明,到邱北,3个短葶飞蓬种群间的遗传一致度高,遗传距离小。这可能与短葶飞蓬种子小,有冠毛,在风力作用下易传播,种群间基因流大有关。短葶飞

表 7 短葶飞蓬 3 个种群在 3 个多态位点的遗传多样性

Table 7 Genetic diversity of *Erigeron breviscapus* in three populations at three polymorphic loci

Locus	H_T	H_S	D_{ST}	G_{ST}
<i>Pgi</i> - 1	0.4961	0.2182	0.2779	0.5602
<i>Skd</i> - 1	0.4917	0.3900	0.1017	0.2068
<i>Pgm</i> - 1	0.6586	0.6109	0.0477	0.0724
mean	0.5488	0.4064	0.1424	0.2798

表 8 短葶飞蓬 3 个种群的遗传一致度和遗传距离

Table 8 Genetic similarity and distance of three *Erigeron breviscapus* populations

Population	Lijiang	Kunming	Qiubei
Lijiang		0.0836	0.1488
Kunming	0.9198		0.0305
Qiubei	0.8617	0.9700	

注:斜线右上侧为遗传距离 D,斜线左下侧为遗传一致度 I。

蓬的遗传变异主要存在于种群内。这与 Hamrick 和 Godt (1989) 对 1968 年到 1988 年 20 年里报道的 165 属 449 种裸子植物和被子植物群体的统计结果相符:繁育系统对群体内和群体间遗传多样性的分配起显著影响,自交为主的种类,遗传变异主要发生在种群间;异交为主的种类,遗传变异主要发生在群体内。短葶飞蓬以异交为主, $G_{ST} = 0.2798$, 遗传变异也主要表现为种群内个体间遗传多态性。与此相似,异交也造成了同一生境下短葶飞蓬个体间黄酮含量的差异很大 (苏文华等, 2001)。因此,在短葶飞蓬人工栽培和育种中,通过选育高含量植株,综合运用杂交、组培等手段,是能大大提高短葶飞蓬黄酮产率的。

致谢 云南大学黄瑞复教授给予无私帮助;陆树刚教授指导标本鉴定工作。