

文章编号: 0529-6579 (2000) 04-0125-03

厚壳桂种群在不同群落中的 AFLP 分析^{*}

王峥嵘, 张军丽, 王伯荪, 李鸣光

(中山大学生命科学学院, 广东 广州 510275)

摘 要: 使用 AFLP (Amplified fragment length polymorphism) 方法对常绿阔叶林中的演替顶级种厚壳桂 (*Cryptocarya chinensis*) 在 2 个不同群落中的遗传分化进行了研究. 结果表明, 种群的大部分遗传变异存在于种群中, 而有 10.45% 的遗传变异存在于种群间. 结果表明群落的差异不可忽视.

关键词: 厚壳桂 (*Cryptocarya chinensis*); AFLP; 多样性; 遗传分化

中图分类号: Q948 **文献标识码:** A

我国的亚热带地区具有优越的气候条件, 水热资源充足, 发育着世界上面积最大、最典型的亚热带常绿阔叶林. 鼎湖山地处亚热带, 植物资源丰富, 保存着比较完整的天然植物, 是研究亚热带森林种群和群落的理想地方. 厚壳桂 (*Cryptocarya chinensis*) 是亚热带常绿阔叶林的演替顶级种, 中生性植物, 在鼎湖山分布很广, 是优势树种, 对其已有较多研究^[1,2], 但多集中在群落与种群的宏观探讨上, 微观了解较少. 本文拟对其在不同群落的遗传分化进行探讨, 以进一步了解环境对其生长的影响.

1 材料与方法

1.1 材 料 样品采集于鼎湖山 (东经 $112^{\circ}30'39'' \sim 112^{\circ}33'41''$, 北纬 $23^{\circ}09'21'' \sim 23^{\circ}11'30''$) 的针阔混交林和常绿阔叶林.

1.2 实验方法

(1) 样品处理. 新鲜树叶 1 克采用 CTAB 法提取 DNA^[3], 用电泳法测其含量. AFLP 方法参照文 [4], 2 个 *Eco*R 引物和 2 个 *Mse* 引物分别是:

*Eco*R1: 5'-GACTGCGTACCAATTC-AGG-3'

*Eco*R2: 5'-GACTGCGTACCAATTC-ACT-3'

*Mse*1: 5'-GATGAGTCTGAGTAA-CAG-3'

*Mse*2: 5'-GATGAGTCTGAGTAA-CTC-3'

(2) 数据处理. 把上述电泳产物所得的各带进行 1/0 标记, 采用 AMOVA (the analysis of molecular variance, AMOVA 1.55)^[5] 分析软件进行数据分析.

2 结果与讨论

4 对引物分别扩增出 23, 30, 42, 和 31 条 AFLP 带 (表 1).

^{*} 基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (39670136); 国家博士点基金资助项目 (98055808)

收稿日期: 1999-09-17; 作者简介: 王峥嵘 (1973-), 男, 博士研究生.

表 1 4 对引物扩增结果
Tab 1 Amphification results with four primer pairs

引物对	所有带	单一带	多态性带	多态性百分率/%	群落	平均非偏差杂合度
<i>Eco</i> R1— <i>Mse</i> 1	23	12	11	47.8	针阔混交林	0.276(±0.064)
					常绿阔叶林	0.259(±0.064)
					平均	0.267(±0.064)
<i>Eco</i> R1— <i>Mse</i> 2	30	11	19	63.3	针阔混交林	0.303(±0.061)
					常绿阔叶林	0.288(±0.056)
					平均	0.296(±0.059)
<i>Eco</i> R2— <i>Mse</i> 1	42	5	37	88.1	针阔混交林	0.306(±0.058)
					常绿阔叶林	0.352(±0.057)
					平均	0.329(±0.058)
<i>Eco</i> R2— <i>Mse</i> 2	31	12	19	61.3	针阔混交林	0.228(±0.065)
					常绿阔叶林	0.211(±0.056)
					平均	0.220(±0.061)

从表 1 可以看出 4 个引物对所扩增的多态性带十分丰富，最多的 *Eco*R2—*Mse*1 引物对所得多态性带为 88.1%，最低是 *Eco*R1—*Mse*1，47.8%。同时这些引物对扩增所得的杂合度也较高（表 1）。这一杂合度代表了遗传多样性的 大小，说明厚壳桂在 2 个群落中的遗传多样性较高。

表 2 是 AMOVA 的分析结果，从中可以看出厚壳桂种群有 10.45% 的遗传变异发生在种群间，89.55% 的遗传变异发生在种群内，显著性检测表明这种分化很显著。

Φ_{st} 相当于分化指数，Wright（1978，引自 Buso^[9]），认为分化指数介于 0~0.05 之间说明分化很弱，0.05~0.15 之间是中等分化，0.15~0.25 之间是分化大，大于 0.25 表明分化极大。结果为 0.105，说明种群之间有中等的遗传分化。

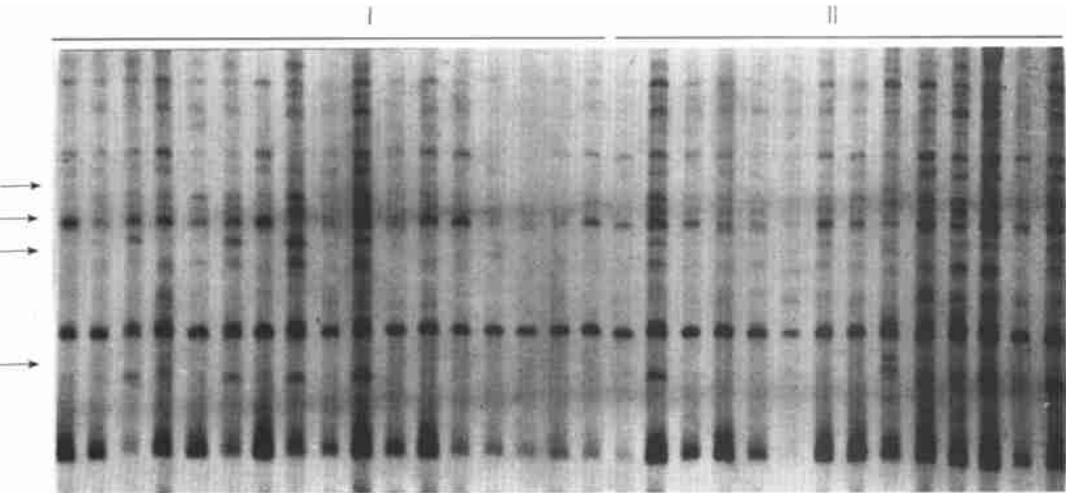


图 1 *Eco*R1—*Mse*2 引物对的部分扩增结果

Fig.1 Result of the portion of amplification using primer combination *Eco*R2—*Mse*2

I: 常绿阔叶林; II: 针阔混交林; 箭头显示的是部分多样性带

表2 对厚壳桂40 个样品的 AMOVA 分析
Tab 2 AMOVA analysis for 40 individuals of *C. chinensis*

变异来源	自由度	方差	均方差	变异成分	变异百分率/ %	Φ_{st}	显著度检测
种群间	1	34. 340	34. 340	1. 474	10. 45	0. 105	< 0. 001
种群内	38	479. 75	12. 625	12. 625	89. 55		—

显著度检测: 对 AFLP 扩增产物带进行 1 000 次随机重复所得的显著性检测

厚壳桂作为中生性演替顶级种，从野外采集来看，在演替早期群落（针叶林）并没有出现；在演替中期（针阔混交林），由于群落进一步郁闭，厚壳桂在一定程度上可以生长；在演替晚期（常绿阔叶林），由于群落形成了完善的结构，厚壳桂生长条件得到完全满足，可以大量生长繁殖。王伯荪等^[2]对此有详细的研究，并且发现种群在不同群落中有不同的外表、生理生态分化。对照本文的结果，进一步从分子角度证实了分化的存在。

参考文献：

[1] 张宏达, 王伯荪, 张超常, 等. 广东高要鼎湖山植物群落之研究 [J] . 中山大学学报 (自然科学版), 1955 (3): 159~ 225.

[2] 王伯荪, 黄庆昌, 黄培佑. 广东鼎湖山森林群落的小气候 [J] . 中山大学学报 (自然科学版), 1965 (3): 366~ 382.

[3] DOYLE J J, DOYLE J L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf material [J] . Phytochem Bull, 1987, 19: 11~ 15.

[4] VOS P, HOGER R, BLEEKER M, et al. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting [J] . Nucl Acid Res, 1995, 23: 4407~ 4414.

[5] EXCOFFIER L, SMOUSE P E, QUATTRO J M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data [J] . Genetics, 1992, 131: 479~ 491.

[6] BUSO G S C, RANGEL P H, FERREIRA M E. Analysis of genetic variability of south American wild rice population (*Oryza glumaepatula*) with isozymes and RAPD markers [J] . Mole Ecol, 1998, 7: 107~ 117.

AFLP Analysis of *Cryptocarya chinensis*
Population in Different Communities

WANG Zheng-feng^{*}, ZHANG Jun-li, WANG Bo-sun, LI Ming-guang

Abstract: Amplified fragment length polymorphism (AFLP) was used to analyze 2 subpopulations of *Cryptocarya chinensis*, one of succession climax species in lower subtropical broad-leaved forest, across two communities. Analysis of molecular variance (AMOVA) indicated most of the genetic variation was due to the differences within the population (89. 55 %), with high significant genetic variation among population (10. 45 %). And genetic divergence is due to different communities.

Keywords: *Cryptocarya chinensis*; AFLP; diversity; genetic variation

^{*} School of Life Sciences, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China
(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net