

# 银杏与其它裸子植物之间的关系

## ——分子生物学的证据

施苏华 张宏达 余小强 屈良鹤  
(生物学系) (生物工程研究中心)

**摘要** 银杏 *Ginkgo biloba* L. Ls-rRNA 5'末端188个核苷酸序列已被准确测定。与苏铁 *Cycas revoluta* Thunb., 水松 *Glyptostrobus pensilis* (Staunt.) Koch, 南方红豆杉 *Taxus mairei* (Lemee et Levl.) S. Y. Hu 和5种被子植物及1种绿藻的同源序列比较分析, 其所构建的rRNA系统树图表明, 银杏与苏铁的关系较为密切, 与其它裸子植物的关系相对较远。

**关键词** 银杏, Ls-rRNA, 序列分析, 系统树

与苏铁比较, 银杏是一种更古老的孑遗植物, 为最著名的活化石。中生代时曾遍布全球, 至今仅在我国东南部有少数野生的银杏。从广义的演化观点来看, 银杏被认为是世界上不可思议的一种植物, 同年代的许多动、植物都已灭绝, 它却经过了漫长的时期仍旧保留下来, 而且只有很少的改变<sup>[1]</sup>。关于银杏的形态解剖、孢粉、细胞学以及古地理学等方面的研究已很详细<sup>[2~5]</sup>。本文报道了银杏Ls-rRNA 5'末端两个保守区域的188个核苷酸序列, 同时还报道了苏铁、水松及南方红豆杉Ls-rRNA 5'末端保守区部分序列。并根据这些序列从分子水平对银杏与其它裸子植物之间的关系问题进行了探讨。

## 1 材料与方法

银杏 *Ginkgo biloba* L., 苏铁 *Cycas revoluta* Thunb., 水松 *Glyptostrobus pensilis* (Staunt.) Koch 和南方红豆杉 *Taxus mairei* (Lemee et Levl.) S. Y. Hu 树叶采自华南植物园和中山大学校园。[ $\gamma$ -<sup>32</sup>P] ATP 和 [ $\alpha$ -<sup>32</sup>P] ATP 购自英国 Amersham 公司和北京福瑞公司, T<sub>4</sub> 噬菌体多核苷酸激酶和逆转录酶购自华美公司。

### 1.1 植物大分子RNA的制备

新鲜植物叶用蒸馏水洗净, 晾干。放入液氮中浸泡冷冻。置研钵中加液氮磨成粉末。加入适当体积(30ml/2克树叶)的抽提缓冲液(100mmol/L Tris-HCl, pH8.0, 50mmol/L EDTA, pH8.0, 500mmol/L NaCl, 10mmol/L 巯基乙醇)和SDS(终浓度1%)。剧烈震荡2~3min, 置65℃水浴中10min。加入醋酸钾溶液(终浓度1mol/L), 震荡。放入0℃冰浴中20min。以12000rpm高速离心20min(4℃), 用绸布过滤取水相, 以0.6倍体

本文1992年4月15日收到

· 国家自然科学基金资助项目



酸序列相加，来计算核苷酸差异矩阵，见表1。

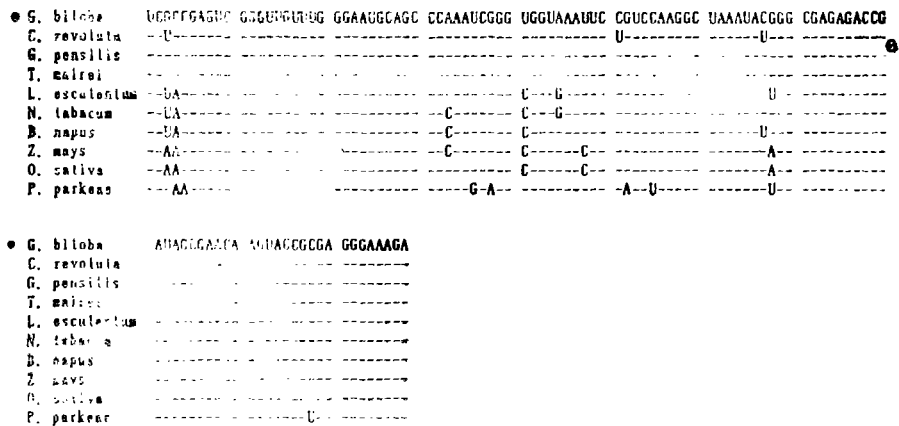


图1-2 核糖体大亚基RNA 5'端D<sub>1c</sub>区核苷酸序列排列

Fig.1-2 Sequences alignments for the nucleotides of large subunit rRNA 5' terminal D<sub>1c</sub> region

表1 rRNA序列矩阵。表右上方为不同植物之间的核苷酸序列差异数，表左下方是经过校正的Knuc值

Tab. 1 A matrix of differences in rRNA 5' terminal nucleotides. The numbers of nucleotide differences between all the species analysed in Fig. 1-1 and Fig.1-2 are given in the upper right half of the table, and corresponding Knuc value in the lower left half of the table

	G.b	C.r	G.p	T.m	L.e	N.t	B.n	Z.m	O.s	P.p
G. biloba		4	6	5	10	10	10	15	13	18
C. revoluta	0.021		10	9	11	11	9	17	15	21
G. pensilis	0.032	0.055		2	11	11	13	15	13	18
T. mairei	0.027	0.049	0.011		10	10	12	13	11	18
L. esculentum	0.055	0.061	0.061	0.055		3	6	10	8	19
N. tabacum	0.055	0.061	0.061	0.055	0.016		5	8	8	20
B. napus	0.055	0.049	0.072	0.066	0.033	0.027		11	11	21
Z. mays	0.085	0.097	0.085	0.073	0.055	0.044	0.061		2	21
O. sativa	0.073	0.085	0.073	0.061	0.044	0.044	0.061	0.011		19
P. parkeae	0.103	0.122	0.103	0.103	0.111	0.114	0.122	0.116	0.110	

根据表1数据，我们得到一个种子植物的rRNA系统进化树(图2)。由树图可以清楚地看到，被子植物和裸子植物明显分为两个自然的类群，它们各自种类间的差异较小，清晰的两大枝。在裸子植物中，苏铁与银杏的关系非常密切，水松则与南方红豆杉关系分为亲近。它们各自形成两个姐妹群。

以绿藻作为种子植物群外参照物种表明，所比较的种子植物的分子进化速度无明显差异，因此，所得结果不是由于异常的进化速度造成的。

### 2.3 系统学意义讨论

关于银杏的系统位置，植物学界历来有着不同的意见。根据其一般器官学和解剖学特点，很多学者和教科书把银杏归为松柏植物一类，即隶属于松柏纲<sup>[13,14]</sup>。另一些学

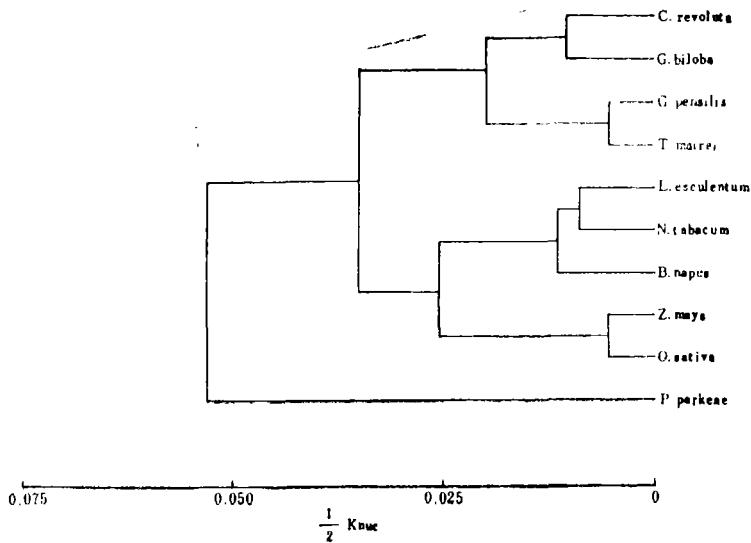


图2 种子植物rRNA系统树图。用表1中的Knuc值和简单成聚法(UPGMA)构建,2个物种间的距离仅仅与它们在X轴( $1/2Knuc$ )上的总长度成正比,Y轴上的距离是任意的

Fig.2 Phylogenetic tree of rRNA from the seeding plants. The tree was constructed by using UPGMA method with the Knuc values of the table 1. In this representation, the distance between two species is proportional to the sum of the projections on the X axis( $1/2knuc$ ) of the branch lengths, while distance on the Y axis are arbitrary

者则根据银杏的孢子发生、配子发生等胚胎发育学特征,与现存的苏铁之间有许多相似之处,以及它们的叶脉有少量网结现象,孢粉单沟、船形等特征也都与苏铁相似。因而提出银杏不应归于松柏纲,而应属于苏铁纲<sup>(15,16,17)</sup>或单独成立银杏纲<sup>(18,19,20)</sup>。Foster也指出:“它们的配子体和种子之间的相似性可能代表一些古生代和中生代裸子植物所具有的古老的生殖方式。……可以认为银杏和苏铁是裸子植物演化的两条独立路线中极原始而存活下来的植物”<sup>(4)</sup>。

可见,由于银杏的形态结构及其孢子、配子发生等特征与松柏类和苏铁有各自相似之处,故以上问题一直存在着争议。为此,我们测定的结果表明,种子植物rRNA系统树在解释银杏与其它裸子植物、被子植物的关系等问题时清晰、明了(表1和图2)。与Hori<sup>(21)</sup>所做的5s-rRNA分子系统树比较,得到了较一致的结论。但他们没有研究红豆杉类群;而且5s rRNA作为小分子rRNA具有过于保守的特点。我们的研究表明,银杏与苏铁之间的分子差异很小,说明它们的关系相当密切。但银杏与松柏类的水松,紫杉类的南方红豆杉之间的分子差异则相对大得多,可见银杏与松柏类的关系较远,而较接近苏铁纲,因而可单独成立银杏纲。

## 参 考 文 献

- 1 Seward A C. Sci Progr (England), 1938, 32: 420~440
- 2 李正理. 植物学报, 1959, 8: 262~270
- 3 Foster A S. Comparative Morphology of Vascular Plants. Freeman H W and Company, 1974. 362~378
- 4 Hara N. Mag Tokyo, 1980, 93: 1~12
- 5 李正理等. 植物学报, 1989, 31(6): 427~431
- 6 屈良鹊, 余小强, 施苏华等. 中山大学学报(自然科学版), 1991, 30(1): 71~76
- 7 Takaiwa F *et al.* Gene, 1985, 37: 255~259.
- 8 Kiss T *et al.* Nucleic Acids Res, 1989, 17: 796
- 9 Qu L H, *et al.* J Mol Evol, 1988, 28: 113~124
- 10 Perasso R *et al.* Nature, 1989, 339: 142~144
- 11 Kimura M. J Mol Evol, 1980, 16: 111~120
- 12 Sneath F H A, Sokal R R. Numerical Taxonomy. Freeman W H and Company, San Francisco, 1973
- 13 Hirase S. Bot Mag (Tokyo). 1896, 10: 171
- 14 Engler A. Syllabus der Pflanzenfamilien. Ed. 12 Band 1. Gebrüder Bortreger, Berlin, 1954
- 15 王伏雄, 陈祖鏊. 植物学报, 1983, 25(3): 199~206
- 16 王伏雄, 陈祖鏊. 植物学通报, 1983, 1(1): 4~7.
- 17 Ota T. Biol Sci, 1958, 10: 167~171
- 18 中山大学生物学系等. 植物学(系统分类部分). 北京: 高级教育出版社, 1984
- 19 陈 嵘. 中国树木分类学, 3~4. 东华印书馆, 1937
- 20 郝景盛. 中国裸子植物志, 10~12. 正中书局出版, 1944
- 21 Hori H *et al.* Proc Natl Acad Sci (USA), 1985, 82: 820~823

## Molecular Evidence for the Relationships of *Ginkgo biloba* L. and Other Gymnosperms

Shi Suhua\* Zhang Hongda Yu Xiaoqiang Qu Lianghu

**Abstract** 188 nucleotide sequence of Ls-rRNA 5' terminal region from *Ginkgo biloba* L. was determined. By comparing and analysing the sequences of *Cycas revoluta* Thunb., *Glyptostrobus pensilis* (Staunt.) Koch, *Taxus mairei* (Lemee et Levl.) S. Y. Hu, 5 species of angiosperms and a green algae, a phylogenetic tree of rRNA was constructed. It is shown that *Ginkgo biloba* L. relates closely to *Cycas revoluta* Thunb.

**Keywords** *Ginkgo biloba* L., Ls-rRNA, relationship, phylogenetic tree

\*Department of Biology