

文章编号: 1009- 3575(2002)01- 0112- 03

分子标记技术在红树植物遗传多样性研究中的应用*

赵萌莉¹, 林鹏²

(1. 内蒙古农业大学生态环境学院,呼和浩特 010018; 2. 厦门大学生命科学院,厦门 361005)

摘要: 红树林是分布于热带海岸潮间带的木本植物群落,由于暖洋流的影响,有的可分布到亚热带,红树林是热带、亚热带海岸重要的植被类型,是维护海岸生态平衡的特殊生态系。本文根据国内外近年来最新研究进展,对分子标记技术及其在红树植物的遗传多样性研究的应用作一些简要叙述。

关键词: 红树植物; 分子标记; 遗传多样性

中图分类号: S543 **文献标识码:** A

MOLECULAR MARKERS AND ITS USED IN MANGROVE GENETIC DIVERSITY

ZHAO Meng-li¹, LIN Peng²

(1. College of Ecology and Environmental, Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot 010018;
2. College of life Science, Xiamen University, Xiamen, 361005)

Abstract Mangrove are woody plant communities in the intertidal zone of tropical of coasx. By the influence of worm ocean current, some species can grow in subtropical zone. It's a important vegetation type and an unique ecosystem for maintaining of coast ecological balance in tropical and subtropical area. An introduction on the conception and type of molecular marker was made after the reviewing the newest research progress in this field, the research advance of molecular marker used in mangroves genetice diversity was described in detail.

Key words mangroves; molecular marker; genetics diversity

生物的遗传多样性是其适应多变环境的基础,对生物的合理利用和保护有赖于了解其遗传多样性的分布、分化及影响因素。因此,保护生物的遗传多样性是当今生物多样性研究的热点之一。

红树林是分布于热带海岸潮间带的木本植物群落,是热带、亚热带海岸重要的植被类型,是维护海岸生态平衡的特殊生态系。当前,由于不合理的开发利用,全世界的红树林都面临着资源枯竭的严重境地,为保护和可持续利用这一独特的珍贵资源,各有关国家开展了许多研究。与其他生物保护一样,用分子标记的方法研究其遗传变异及其与环境的关系是合理利用和保护的前提。

* 收稿日期: 2001- 12- 29
基金项目: 国家教育部博士点基金项目资助
作者简介: 赵萌莉(1963-),女,博士,副教授,从事植物生态学教学和研究。

随着分子标记技术的飞速发展及向各个学科的渗透,在植物遗传多样性的研究中已大量引入了分子标记的方法,并已取得十分显著的成绩(李俊清,1998; Millar & Westfall, 1992)。但在红树植物中却开展不多,这与红树植物的重要性极不相称,可能与红树植物体内含有较高的单宁等次生物质,使蛋白及核酸的提取及分析比较困难有关。从仅有的几篇文章看,分子标记应用于红树植物遗传多样性的研究主要有以下两个方面:

1 同工酶或等位酶的应用

同工酶是由单拷贝基因编码,通过酶染色的放大作用即可检测。研究蛋白质的多态性的重要手段是同工酶电泳技术,通过遗传分析确定是等位基因编码的同工酶称为等位酶,绝大多数同工酶位点是共显性的。等位基因及基因频率可以直接计算,在每个种群或亲缘中间可以分析相同的同工酶位点。因此关于遗传变异的水平及分布的数值可以直接相互比较(王中仁,1994)。

研究表明,通过同工酶揭示红树植物的遗传变异程度是比较低的。Goodall和 Stoddart(1989)用等位酶技术研究了红海榄的遗传变异,在 28 个酶位点中仅有 4 个多态位点,其中只有 2 个多态位点能进行遗传判译,揭示出种和种群水平上的遗传变异程度远低于植物的平均值(表 2)。在秋茄也有同样情况,18 个酶位点中仅有 5 个为多态位点,种群平均多态位点百分率为 19.9%,平均每位点等位基因数为 1.1,期望杂合度(He)只有 0.04(黄生等,1996)。桐花树中也有类似情况(陈小勇,1997)。总之,等位酶分析揭示出红树植物的遗传变异程度较低。

表 1 红树植物与植物平均遗传变异比较

	P	A	He
种平均*	50.5	1.96	0.149
种群平均*	34.2	1.53	0.113
红海榄	7.7	1.1	
秋茄	19.9	1.1	0.04

根据陈小勇*(1995)博士后工作报告整理

* 为 449 种植物的平均值

P—多态性百分率

A—等位基因丰富度

He期望杂合度

2 核酸的分析

2.1 限制性片段长度多态性(Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP)

RFLP是指限制酶位切点的插入、缺失、重排或点突变导致酶切位点的增减所引起的基因型间限制性片段长度的差异。RFLP分析是 1 项综合技术,涉及 DNA 片段的克隆、基因组 DNA 的提取、限制酶消化、琼脂糖凝胶电泳、Southern 印迹转移、DNA 探针制备及分子杂交等一系列分子生物学技术。早在 Botstein 等(1980)年提出 RFLP 概念不久,Beckman 和 Soller 等(1983)及 Tanksley 等(1983)就认识到其在植物遗传研究和育种中的应用潜力。

对植物而言,可以分别用核基因组和叶绿体基因组进行 RFLP 的研究。尤其是叶绿体基因组,若能得到纯净的 DNA,则可以直接从酶切后的电泳图谱看出其多态性。应用这种方法,可以从种群内、种内、种间以及属以上等不同水平对物种的亲缘性进行分析。目前,RFLP 是 1 种广泛应用的研究植物遗传多态性的方法。Lakshmi, M 等人(1997)用 RFLP 法分析了 8 个分布地 45 株老鼠勒(*Acanthus ilicifolius* L)种群内和种群间的遗传多样性,结果表明,种群内的多态率为 3.2%~9.1%;种群间,在总的 96 个片段中,44 个呈多态性,多态率为 45.8%。

2.2 随机扩增多态 DNA(Random Amplified Polymorphic DNA, RAPD)

RAPD 技术是 1990 年由美国科学家 Williams 和 Welsh 两个科研小组几乎同时建立起来的。此技术建立在 PCR(Polymerase Chain Reaction)反应基础上,它是利用一系列随机引物,对基因组 DNA 进行 PCR 扩

* 陈小勇:红树植物生态遗传学研究,厦门大学博士后工作报告(油印本)16-21。

增,其产物通过电泳分离,染色后检测扩增产物 DNA片段的多态性,这些扩增产物 DNA片段的多态性反映了整个基因组相应区域的 DNA多态性。由于 RAPD技术是以 PCR为基础,采用引物为随机引物,不需要内切酶, DNA探针、分子杂交和放射自显影等一系列复杂技术,操作简单易行。在其诞生的短短几年时间里,这一技术已渗透于基因组研究的各个方面,同时也为植物遗传多样性的检测提供了 1个有力工具。Parani, M等人(1997)采用此技术分析了红树植物白骨壤属(*Avicennia*)的 3个种——白骨壤(*A. marina*)、药用白骨壤(*A. officinalis*)和白海榄雌(*A. alba*)的遗传多样性及分化,结果表明:在 10个亚种群内,白骨壤的多态性为 17.8%~ 18.9%,变异系数为 26.5%,白海榄雌和药用白骨壤的多态性分别为 37.8% (Loringa 种群)和 32.3% (Pichavaram 种群),比分布于同一地区的白骨壤种群内的平均多态性(27.41%)要高,但远远低于白骨壤种群间的多态性(76.7%)。说明白骨壤与白海榄雌的亲缘关系接近,而与药用白骨壤较远。

3 结语

以上我们对目前应用于红树植物遗传多样性研究的几种方法作了一些简单介绍,毫无疑问,随着现代分子生物学的发展及其向各个学科的渗透和人们对红树林这一独特珍贵资源的重要性的认识,将会有越来越多的新技术应用于红树植物的研究,为可持续利用红树林资源提供更多的依据。

参 考 文 献:

- [1] 林鹏. 中国红树林生态系[M]. 北京: 科学出版社, 1997, 1- 8.
- [2] 黄生. 秋茄的区域性种群遗传结构[J]. 生物多样性, 1994, 2(2): 68- 75.
- [3] 王中仁. 植物等位酶分析[M]. 北京: 科学出版社, 1994, 1- 30.
- [4] BECKMAN, J. S., Soller, M., Construction of a genetic map in man using restriction fragment improvement of agricultural species, *Euphytica*, 1986, 35 11- 124.
- [5] Botstein, D., white R. L., Construction of a genetic map in man using restriction fragment length polymorphism, *Am. J. Hum. Genet.*, 1980, 32 331- 331
- [6] Hamrick, J. L., & Schmale, A., Understanding the genetic structure of plant populations. some old problem and new approach, In Gregorius, H. R. (ed.), *Population Genetic in forestry*, Berlin, Springer-Verlag, 1985, 50- 70.
- [7] Parani, M., Lakshmi, M., et al., Molecular phylogeny of mangroves I: Use of molecular markers in assessing the inter-specific genetic variability in the mangrove species *Acanthus ilicifolius* Linn (*acanthaceae*), *Theor. Appl. Genet.*, 1997, 94 1121- 1127.
- [8] Lakshmi, M., Kajalakshmi, L., et al., Molecular phylogeny of mangroves II: Intra- and inter-specific variation in *Avicennia* revealed by RAPD and RFLP markers, *Genome*, 1997, 40 487- 49.
- [9] Millar, C. L., Westfall, R. P., Allozyme markers in forest genetic conservation, *New forests*, 1992, 6 347- 371.#
- [10] Tanksley S. D., Young N. D., Paterson A. H., et al., RFLP mapping in plant breeding- new tools for an old science, *Bio. Technol.*, 7 257- 264.
- [11] Williams, J. G. K., Kulerlic, A. R., Livak, J. et al., DNA polymorphism identified by arbitrary primers are useful as genetic markers, *Nucleic Acids Res.*, 1990, 18 6531- 6535.
- [12] Milligan, B. G., Leebens-mack, J., Strand, A. E., 1994, Conservation genetics: Beyond the maintenance of marker diversity, *Molecular Ecology*, 1994, 3 423- 435.