植物学通报 2001，18（6）：739～743
Chinese Bulletin of Botany

泡桐叶片蛋白质多态性及其聚类分析①

[1]范国强 [2]彭海风 [1]翟晓巧 [1]马新业 [1]蒋建平

[1]（河南农业大学泡桐研究所 郑州 450002） [2]（河南省信阳农业专科学校 信阳 464000）

摘要 研究了9种泡桐叶片蛋白质的多态性，并根据其叶片蛋白质聚丙烯酰胺凝胶单向和双向电泳结果，将它们聚类为白花泡桐组[白花泡桐（*Paulownia fortunei*）和白花兰考泡桐（*P. elongata* f. *alba*）]、南方泡桐组[南方泡桐（*P. australis*）和成都泡桐（*P. albiphloea* var. *chengtuensis*）]和毛泡桐组[毛泡桐（*P. tomentosa*）、川泡桐（*P. fargesii*）、鄂川泡桐（*P. albiphloea*）、山明泡桐（*P. lamprophylla*）和兰考泡桐（*P. elongata*）]。该结果可为了解泡桐属植物的亲缘关系和种的鉴定提供参考依据。

关键词 泡桐，蛋白质，电泳，聚类分析

Protein Polymorphism of *Paulownia* Leaves and Its Cluster Analysis

[1]FAN Guo-Qiang [2]PENG Hai-Feng [1]ZHAI Xiao-Qiao [1]MA Xin-Ye [1]JIANG Jian-Ping

[1]（*Institute of Paulownia*, *Henan Agricultural University*, Zhengzhou 450002）

[2]（*Xinyang Agricultural College*, Xinyang 464000）

Abstract This paper deals with protein polymorphism in 9 taxa of *Paulownia* plant leaves and relationship among them. The results indicated that the 9 taxa may be divided into three groups: *Paulownia australis* group (*Paulownia australis* and *P. albiphloea* var. *chengtuensis*), *Paulownia fortunei* group (*P. fortunei* and *P. elongata* f. *alba*) and *Paulownia tomentosa* group (*P. tomentosa*, *P. fargesii*, *P. albiphloea*, *P. lamprophylla* and *P. elongata*) based on one- and two-dimensional sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) of proteins in those plant leaves, which provided evidence for classification of the genus and identification of lower taxa.

Key words *Paulownia*, Protein, Electrophoresis, Cluster analysis

泡桐是我国重要的速生用材树种之一，分布广泛，深受广大人民喜爱。大力发展泡桐对于改善生态环境、缓解目前我国木材短缺和出口创汇等方面具有重要的意义。泡桐属植物种类很多，自1835年荷兰学者Siebold和Zuccarini等建立泡桐属以来，很多人分别从形态学、细胞学等方面对泡桐属植物分类问题进行了大量的研究工作（陈志远，1981；1986；Darlington and Wylie，1955；龚彤，1976；龚本海等，1994；Hu，1959；胡慧荣和陈志远，1995；蒋建平，1990；孙蒙祥和王灶安，1990；熊金桥和陈志远，1991；1992；佟永昌等，1980；舒寿兰，1985；于兆英等，1987），取得了不少研究成果。但是人们对泡桐属植物的分类结果仍有一定的争议（陈志远，1986；Hu，1959；胡慧荣和陈志远，1995；龚彤，1976；龚本

https://www.jstor.org/stable/42934/GRD/89-104

① 国家自然科学基金（编号：39870631）和河南省自然科学基金（编号：994011100）资助项目的部分内容。
作者简介：范国强，男，教授，1964年出生。1991在中国科学院植物研究所获得博士学位，1991～1993年在中山大学做博士后研究工作。研究方向为泡桐丰产栽培、良种选育及其抗性机理研究。
收稿日期：2000-07-25 接受日期：2001-07-05 责任编辑：刘 晖

海等，1994；中国林业科学院泡桐调查组，1980；熊金桥和陈志远，1991；1992；孙蒙祥和王灶安，1990)，需进行深入研究。随着科学技术的发展，新的方法为解决该问题提供了条件(林兵和林建兴，1990；曹东威和陈受宜，1992；Hames and Rickwood，1990；Mosseter，1992；Palmer，1987；Wang *et al*，1994)。我们以泡桐叶片蛋白质为材料，利用单向和双向电泳技术对此问题进行了研究。

1 材料和方法

1.1 试验材料

试验材料为 1997 年 7 月取自河南农业大学郑州林业试验站 5 年生的白花泡桐、白花兰考泡桐、南方泡桐、毛泡桐、山明泡桐、鄂川泡桐、成都泡桐、川泡桐和兰考泡桐苗的同龄新鲜叶片。采集的叶片分别依次用自来水、蒸馏水快速洗净纱布包好贮 - 196 ℃液氮备用。

1.2 试验方法

1.2.1 叶片蛋白质样品制备和电泳 参照范国强和蒋建平的方法(1997)。

1.2.2 凝胶扫描 用 CS-9000 双波点扫描仪(Shimadzu Corporation，Japan)，波长为 575 nm。

1.2.3 数据分析 凝胶扫描后，按扫描图上蛋白质峰的相对位置分别标记，不同凝胶上有蛋白质扫描峰的分别记为 1、无蛋白质扫描峰的记为 0。统计结果用 NT-SYS 程序中的 Simqual 软件算出泡桐种间的遗传相似系数，用 Unweight Pair Group Method Arithmetic Clustering(Exeter Publishing，Ltd. USA)聚类并构建树状图。

2 结果与分析

2.1 不同种泡桐叶片蛋白质的单向电泳分析

2.1.1 9 种泡桐叶片蛋白质的多态性 由 9 种泡桐叶片蛋白质电泳结果扫描图(图 1)看出，9 种泡桐叶片蛋白质差异十分明显。不同种泡桐叶片既有相同的蛋白质谱带，如 1、4、6、7、8、14、18、21、23、25、28、29、32、35、36、40、46、53、57、59、62、65、69、71、73(在扫描图上按从左到右的统计顺序编号，每一个峰代表一种蛋白质或多肽)，又有各自特异的谱带，如第 74 条谱带只为成都泡桐所有，第 34 条谱带只为南方泡桐所有，第 22 条谱带为川泡桐所有，第 48、49 条谱带为山明泡桐所有，第 39、72 条谱带为鄂川泡桐所有，第 55、56、58 条谱带为兰考泡桐所有，而第 3、26 和 27 条谱带则只为白花兰考泡桐所有，而白花泡桐和毛泡桐无各自特有的谱带，这说明白花泡桐和毛泡桐与其它几种泡桐有一定的遗传相关关系。9 种泡桐的这些共有的蛋白质谱带和不同种各自特有的一些谱带，说明这 9 种泡桐叶片蛋白质呈现多态性。

2.1.2 不同种泡桐叶片蛋白质单向电泳结果的相似系数估算 由不同种泡桐叶片蛋白质电泳结果的相似系数矩阵(表 1)可以看出，9 种泡桐叶片的蛋白质相似系数从 0.739 ~ 0.886。相似系数最大的为毛泡桐与川泡桐(0.886)，而最小的则为白花泡桐与山明泡桐(0.739)。成都泡桐和南方泡桐的相似系数达 0.88 以上 鄂川泡桐与兰考泡桐、白花泡桐与白花兰考泡桐、川泡桐与兰考泡桐的相似系数皆为 0.86 以上。也就是说，在这 9 种泡

桐中毛泡桐与川泡桐的亲缘关系最近，而白花泡桐与山明泡桐的亲缘关系最远。

2.1.3　聚类分析　几何平均非加权成对法处理 9 种泡桐叶片蛋白质单向电泳结果后的相似系数聚类图(图 2)表明，蛋白质相似系数在 0.82 左右时，可把 9 种泡桐明显地分为三组。第一组：白花泡桐和白花兰考泡桐；第二组：成都泡桐和南方泡桐；第三组：毛泡桐、川

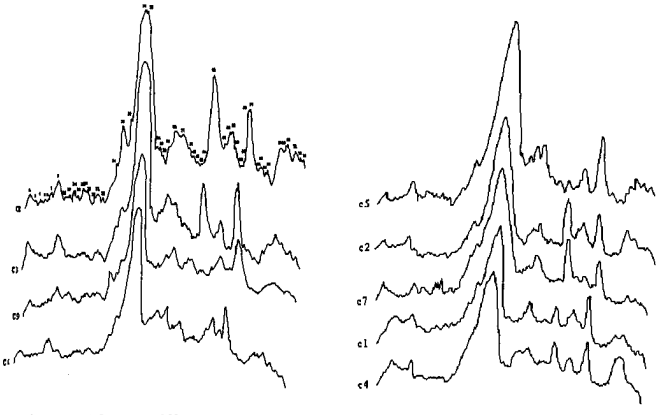


图 1　泡桐叶片蛋白质电泳结果扫描图

Fig.1　Scanning diagram of proteins in leaves of 9 taxa of *Paulownia*

c1：白花泡桐；c2：成都泡桐；c3：南方泡桐；c4：毛泡桐；c5：川泡桐；c6：山明泡桐；c7：鄂川泡桐；c8：兰考泡桐；c9：白花兰考泡桐

表 1　9 种泡桐叶片蛋白质谱带相似系数矩阵

Table 1　Similar coefficient matrix of single SDS-PAGE of proteins in leaves of 9 taxa of *Paulownia*

c1	1.000								
c2	0.800	1.000							
c3	0.769	0.882	1.000						
c4	0.776	0.805	0.841	1.000					
c5	0.835	0.817	0.830	0.886	1.000				
c6	0.739	0.809	0.800	0.809	0.800	1.000			
c7	0.769	0.774	0.787	0.841	0.851	0.863	1.000		
c8	0.845	0.808	0.820	0.830	0.860	0.832	0.860	1.000	
c9	0.879	0.817	0.766	0.773	0.830	0.779	0.787	0.840	1.000

泡桐、山明泡桐、鄂川泡桐和兰考泡桐。此外，白花泡桐与白花兰考泡桐相似系数较大(0.86)，说明二者亲缘关系很近。从遗传背景上说，白花兰考泡桐是白花泡桐和兰考泡桐的杂交种。在地理分布上同属南方桐区，所以聚为一类有其必然性。第二组中，南方泡桐与成都泡桐聚为一类，二者都分布在湖北、四川一带，通过基因漂移从而形成了一定的相似性。第三组中，毛泡桐、川泡桐、山明泡桐、鄂川泡桐和兰考泡桐聚为一类也表明了这一点。

2.2　不同种泡桐叶片蛋白质的双向电泳分析

2.2.1　泡桐叶片蛋白质双向电泳结果的相似系数估算　9 种泡桐叶片蛋白质的双向电泳凝胶上显示的蛋白质(多肽)种类很多，为研究方便，将凝胶上蛋白质(多肽)变化的部分作为研究的主体按前述方法进行统计，得出 9 种泡桐叶片蛋白质的双向电泳结果的相似系数矩阵(表 2)。结果表明，9 种泡桐的相似系数从 0.809 变化到 0.980。相似系数最

大的为白花泡桐与白花兰考泡桐(0.980),说明两者亲缘关系最近;相似系数最小的为毛泡桐与白花泡桐(0.809),说明两者亲缘关系较远。此外,成都泡桐与南方泡桐、山明泡桐与鄂川泡桐、山明泡桐与川泡桐的亲缘关系也很近,相似系数在 0.97 以上。

2.2.2 聚类分析 根据 9 种泡桐叶片蛋白质双向电泳结果的相似系数聚类图(图 3)可以

表 2 9 种泡桐叶片蛋白质双向电泳相似系数矩阵

Table 2 The coefficient matrix of two dimensional SDS-PAGE of proteins in leaves of 9 species of *Paulownia*

c1	1.000								
c2	0.980	1.000							
c3	0.894	0.913	1.000						
c4	0.870	0.889	0.977	1.000					
c5	0.840	0.857	0.936	0.913	1.000				
c6	0.809	0.826	0.909	0.930	0.936	1.000			
c7	0.851	0.870	0.909	0.930	0.936	0.955	1.000		
c8	0.875	0.894	0.889	0.909	0.917	0.933	0.978	1.000	
c9	0.857	0.875	0.913	0.933	0.939	0.957	0.957	0.979	1.000

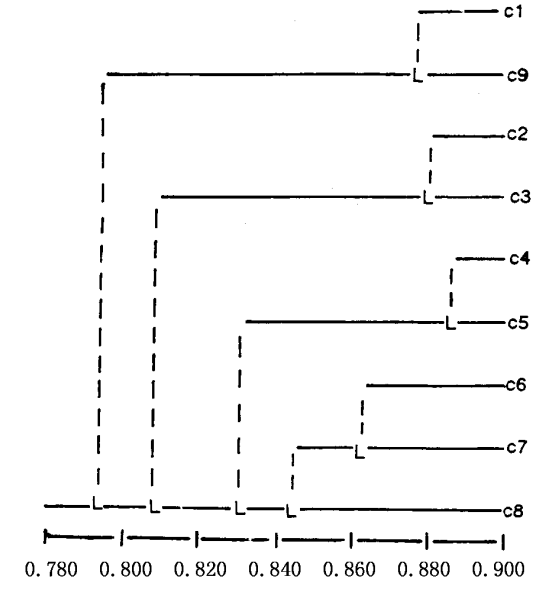


图 2 9 种泡桐叶片蛋白质单向电泳结果相似系数聚类图

Fig. 2 Tree map of similar coefficient of single SDS-PAGE of proteins in leaves

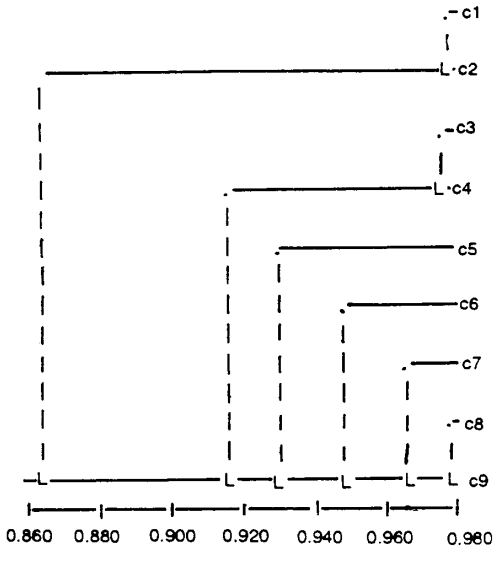


图 3 9 种泡桐叶片蛋白质双向电泳结果相似系数聚类图

Fig. 3 Tree map of similar coefficient of two-dimensional SDS-PAGE of proteins in leaves

看出,相似系数在 0.92 左右时可把 9 种泡桐分为三组。第一组:白花泡桐和白花兰考泡桐;第二组:成都泡桐和南方泡桐;第三组:毛泡桐、川泡桐、山明泡桐、鄂川泡桐和兰考泡桐。这种结果与单向电泳的分类结果完全吻合,并且双向电泳将其分组结果的相似程度靠得更近。从更大的相似系数聚在一起,充分揭示了不同种的内在联系。也就是说,利用蛋白质的双向电泳结果对不同种泡桐进行聚类比单向电泳的结果更能说明问题。

3　讨论

泡桐是我国重要的速生、优质用材树种之一。不同种泡桐材性和生长速度存在一定的差异。目前，在泡桐生产中存在着生长愈快材质愈差等急需解决的问题，为了培育适应林业生产需要的泡桐新品种，研究泡桐属植物的亲缘关系具有重要的理论和实际意义。然而，至今不同泡桐种间的亲缘关系的问题仍在争论中。胡秀英(1959)根据花果等形态特征将泡桐属划分为毛泡桐组、白花泡桐组和台湾泡桐组。后来，熊金桥和陈志远(1992)根据泡桐叶、花、果等 38 个性状采用系统聚类法对泡桐属 12 个种聚类后又将泡桐属分为白花泡桐组、毛泡桐组及楸叶泡桐组。这种方法从形态方面比较全面地研究了泡桐属 12 种的分类问题，组内的种与以往相比有较大的变化。但是叶长、叶宽、花的大小、花期早晚、结果实多少等数量性状随树龄、年份、气候条件、土壤状况以及管理水平等不同而发生变化。梁作楠和陈志远(1997)依染色体数目将泡桐属 9 个种分为川泡桐组、毛泡桐组、白花泡桐组和华东泡桐组四组。这种分组法更细，但观察结果常常受到人为因素的影响。如佟永昌等(1980)报道白花泡桐染色体为 2n = 18 ~ 34(n 为染色体数)，而在‘泡桐属细胞分类学研究’一文中，却是 2n = 40(舒寿兰，1985)，这主要是由于染色体太小，压片过程中其它被染上色的颗粒不易分辨而导致计数偏差的结果。马浩(1997)根据泡桐属 15 个种或变种叶绿体 DNA 的 RFLP(限制性酶切片段长度多态性)结果将其分为南方泡桐组、白花泡桐组和毛泡桐组。但在进行谱带统计时删去了不清晰的带，而这些不清晰的谱带是不是不同泡桐的特异性谱带，以及在聚类分析过程中它们是否占据一定的权重值得考虑。此外，在其论文中未见 cpDNA 酶切图谱照片及统计谱带的数目。因此，对于该问题还需要进一步研究。本实验所得的分类结果与陈志远(1981)的数量分类结果以及马浩(1997)的 cpDNA RFLP 的分类结果既有一定的差异，又有一定的相同之处。兰考泡桐是白花泡桐与毛泡桐的天然杂交种，其含白花泡桐的遗传成分较大，所以将其归入白花泡桐组内，而我们发现其电泳图谱与毛泡桐的更为接近，故将其放入毛泡桐组中。龚本海等(1994)认为山明泡桐是兰考泡桐与毛泡桐的杂交种，说明山明泡桐与毛泡桐和兰考泡桐的亲缘关系很近，所以本试验将其放入毛泡桐一组内，有一定的理论基础。与马浩(1997)的叶绿体 DNA 的 RFLP 分类结果相比，南方泡桐组的分类结果是一致的，都将南方泡桐和成都泡桐归入南方泡桐组内；从毛泡桐组和白花泡桐组的分类结果看，二者有很大的一致性(只是在某些种的分类上有差异，如马浩(1997)将山明泡桐分到白花泡桐一组里，本试验将其分到毛泡桐一组里)，两种方法都将白花泡桐与白花兰考泡桐划为一组。这与 Hu(1959)及胡惠蓉和陈志远(1995)的试验结果一致。由于山明泡桐被确认为是毛泡桐与兰考泡桐的杂交种(Hu，1959；龚本海等，1994)，所以，我们认为将山明泡桐归入毛泡桐组内而不归入白花泡桐组内更为合理。

参　考　文　献

于兆英，李思峰，徐光远，1987．泡桐属植物染色体数目和形态的初步研究．西北植物学报，7(2)：127 ~ 133
中国林业科学院泡桐调查组，1980．泡桐研究．北京：农业出版社，18 ~ 20

(下转 642 页)

Zhang J L (张军丽), Wang Z F (王峥峰), Wang B S (王伯荪), Li M G (李鸣光), Zhang W Y (张炜银), 2001. AFLP analysis in *Crypotocarya concinna*, a dominant population in lower subtropical evergreen broad-leaved forests at Heishiding Natural Reserve. *Acta Ecol Sin* (生态学报), **21**(3): 391 ~ 398 (in Chinese)

Zhong M (钟敏), Wang H X (王洪新), Hu Z A (胡志昂), Qian Y Q (钱迎倩), 1995. A preliminary study on genetic structure of Liaodong oak (*Quercus liaotungensis*) populations in dry and moist habitats and its adaptive implications. *Acta Bot Sin* (植物学报), **37**(9): 661 ~ 668 (in Chinese)

(上接 743 页)

马 浩,1997.泡桐遗传值研究.博士学位论文,北京林业大学,北京

孙蒙祥,王灶安,1990.宜昌泡桐雌雄配子体发育及其生殖过程的研究.华中农业大学学报,**9**(2):107 ~ 111

佟永昌,杨自湘,韩一凡,1980. 一些树种染色体的观察.中国林科院林业研究所报告,**1**(1):83 ~ 88

陈志远,1981.湖北省泡桐资源调查研究文集.北京:中国林业出版社,11 ~ 15

陈志远,1986.泡桐属分类管见.华中农业大学学报,**5**(3):261 ~ 265

林 兵,林建兴,1990. RELP—遗传学研究的新领域.生物学通报,**7**(3):16 ~ 17

范国强,蒋建平,1997.泡桐叶片蛋白质提取方法的研究.植物学通报,**14**(3):61 ~ 64

舒寿兰,1985.四种泡桐染色体数目的初步研究.河南农业大学学报,**19**(1):48 ~ 51

胡惠蓉,陈志远,1995.泡桐属花粉的光学显微镜观察.见:泡桐研究进展,北京:中国林业出版社,239 ~ 243

龚 彤,1976.中国泡桐属植物的研究.植物分类学报,**14**(2):38 ~ 50

龚本海,郭燕舞,姚崇怀,1994.泡桐属植物 SOD 同工酶和可溶性蛋白质分析.华中农业大学学报,**13**(5):507 ~ 510

梁作椭 ,陈志远,1997.泡桐属细胞分类研究.华中农业大学学报,**16**(6):609 ~ 613

曹东威,陈受宜,1992. RAPD 技术及其应用.生物工程进展,**12**(6):1 ~ 5

蒋建平,1990.泡桐栽培学.北京:中国林业出版社

熊金桥,陈志远,1991.泡桐属花粉形态及分类的关系.河南农业大学学报,**25**(3):280 ~ 284

熊金桥,陈志远,1992.泡桐属的数量分类研究.植物研究,**12**(2):185 ~ 188

Darlington C D, Wylie A P, 1955. Chromosome atlas of flowering plants. George Allen and Nwin, London

Hames B D, Rickwood D P, 1990. Gel Electrophoresis of Proteins. Oxford Press, 217 ~ 220

Hu S Y(胡秀英), 1959, A monograph of the genus *Paulownia*. *TaiWan Museum*, **12**: 1 ~ 54

Mosseter A, 1992. Low levels of genetic diversity in red pine confirmed by random amplified polymorphic DNA markets. *Can J For Res*, **22**(3): 1332 ~ 1337

Palmer J D, 1987. Chloroplast DNA evolution and biosystematic use of chloroplast DNA variation. *Am Nat*, **130**(2): 56 ~ 59

Wang W Y, Pai R C, Lai C C, Lin T P, 1994. Molecular evidence for the hybrid of *Paulownia* based on RAPD markers and RFLP of chloroplant DNA. *The Appl Genet*, **89**(4): 271 ~ 275

我国选手获第 12 届国际生物奥林匹克竞赛团体总分第 4 名

第 12 届国际生物奥林匹克竞赛于 2001 年 7 月 8 日至 15 日在比利时首都布鲁塞尔举行,有 38 个国家和地区的 151 名选手参赛。经理论考试和实验考试,在 151 名选手中共评出金牌 17 枚,银牌 18 枚,铜牌 47 枚。我国代表队 4 名选手中有 3 名获得金牌,1 名获得铜牌,团体总分第四名。获奖选手是四川成都七中的童一(女)、金牌第 7 名,湖南师大附中的廖雅静(女)、金牌第 11 名,江苏海安高中的卢立(男)、金牌第 16 名,福建厦门一中的吴薇(女)、铜牌第 60 名。本次奥赛我国代表队由中国植物学会负责组织领导。据分析,我国代表队的优势逐渐下降的一个重要原因是学生在高中时生物学实验作得较少,实验水平较低,影响实验考试成绩。

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t20-104

(中国植物学会供稿)