

372-380

3959(5)

第14卷 第4期
1994年12月生态学报
ACTA ECOLOGICA SINICAVol. 14, No. 4
Dec., 1994毛乌素沙地锦鸡儿(*Caragana*)种群种子
蛋白多样性及其生物学意义*

王洪新 胡志昂 钟 敏 钱迎倩

(中国科学院植物研究所, 北京, 100044)

1994.7.5.9

A

摘 要 应用多种聚丙烯酰胺凝胶电泳方法对纯化的锦鸡儿种子球蛋白和清蛋白进行分离和分子量测定。占总蛋白70%左右的球蛋白包括3个不同分子量的蛋白,它们由相同的21个亚基组成,说明是不同的聚合态。清蛋白在PAGE和SDS PAGE中都分出约20种成分。

全蛋白PAGE结果表明最主要的球蛋白和若干清蛋白在种群内和种群间有高水平的多态性,至少有4个可能的位点编码6个蛋白。SDS PAGE结果表明全蛋白有约50个不同分子量的单体,其中大多数是变异的。记录了其中17个单体的变异,初步推测由13个位点编码。

从全部10个种群337份样品的PAGE和338份样品的SDS PAGE结果计算出23个蛋白或单体的分布频率,进一步统计出各项种群遗传结构参数。数据表明毛乌素沙地锦鸡儿的全部遗传多样性中90%以上存在于群体内,群体间只占7.6%,说明种群间存在强大的基因流。同一植株不同种子存在不同种子蛋白和单体成分,更进一步证明锦鸡儿的异交性。蛋白质的高水平多样性及其空间分布格局证实了所报道的形态变异的结果,说明毛乌素地区的锦鸡儿的种构成一个杂种带。

关键词: 锦鸡儿, 种群, 种子蛋白, 遗传结构, 异交性, 杂种带。

多样性

大量资料^[1]及本实验室的研究报道^[2-4]都已证明种子蛋白是高度多态的,用电泳方法能够检测出群体内的大量遗传变异。经典遗传分析表明种子蛋白电泳多态性主要是遗传决定的^[1],很少受环境条件的影响,而且只涉及少数核基因。基因克隆及序列分析证明电泳变异有清晰的、独特的分子基础^[1]。因此种子蛋白作为很好的遗传标记,不仅用于品种鉴定^[1,7]、育种^[1]和预测加工品质,而且用于研究种间关系、鉴定作物的野生种,也用来研究种群内外遗传多样性及其空间分布格局。Nevo等^[8]和Levy和Feldman^[9]用多项回归分析了某些蛋白成分的变异和环境因子的相关性,提出种子蛋白的适应性。用种子蛋白进行种群的生化遗传研究只限于作物及其野生近缘^[1],没有纯野生种类报道。这是因为种子蛋白遗传多样性的研究必须建立在种子蛋白的生化性质研究的基础上。

作者已研究报道了毛乌素沙地锦鸡儿种群内个体的形态变异^[10],提出该地区锦鸡儿是3种锦鸡儿(小叶锦鸡儿 *C. microphylla*, 中间锦鸡儿 *C. intermedia* 和柠条锦鸡儿 *C. korshinskii*)的杂种带的可能性。为了进一步揭示种群的遗传结构,本文报道了锦鸡儿种子蛋白生化研究以及种群内外的遗传多样性。

1 材料和方法

1.1 野外调查和种群取样,详见文献[10]。

* 本研究为国家攀登项目的一部分。

* PAGE—聚丙烯酰胺凝胶电泳, Poro PAGE—浓度梯度的PAGE, SDS—十二烷基硫酸钠。

收稿日期 1994 07 09, 修改稿收到日期, 1994 08 26。

1.2 种子蛋白的纯化,基本上按 Osborne^[11]经典方法,略有修改。具体步骤是称取来自不同植株的种子 1g,先在 4℃ 下 0.5mol/L NaCl 中浸泡过夜。去种皮后用 5 倍重量的 0.5mol/L NaCl 反复提取 10 次。合并的全部上清液在 4℃ 下加蒸馏水透析 48h。透析物 10000rpm 离心 5min,上清液加蒸馏水再透析 48h,最后的上清液用 2 倍以上体积的冷丙酮沉淀过夜,为纯化的清蛋白。透析后离心的沉淀再用蒸馏水洗 2 次为纯化的球蛋白。NaCl 提取后的残渣用裂解缓冲液(125mmol/l Tris 缓冲液 pH6.7,2%SDS,5%β-巯基乙醇,10%甘油)37℃ 保温 1h,为增溶的剩余蛋白部分。

1.3 蛋白质的含量测定用 Bradford 方法^[12]

1.4 PAGE 和 Poro PAGE 用 Davis 系统而略加修改^[13]。SDS PAGE 用 Laemmli 系统^[14]。种子全蛋白提取用 20%蔗糖溶液。

1.5 变性条件下分子量测定采用文献[15]的方法。分子量标准用大豆种子蛋白。副大豆球蛋白的 α、α' 和 β 亚基分别为 84,76 和 57kD;大豆球蛋白 A、B 亚基分别为 38,22kD;93kD 为脲酶。非变性条件下分子量测定用浓度为 6%—26%的 Poro PAGE,分子量标准用 Boehringer Mannheim 产品,铁蛋白 450 000,过氧化氢酶 240 000,牛血清蛋白 68 000,鸡卵清蛋白 45 000。电泳谱上 900 000 与 136 000 的蛋白估计分别是铁蛋白和牛血清蛋白的二聚体。

1.6 胰蛋白酶、胰蛋白酶抑制剂复合物方法同文献[16]。

1.7 蛋白质丹酰荧光标记按 Tijssen 和 Kurstak^[17]方法。

1.8 蛋白质氨基酸组成分析在 Beckman 6300 氨基酸自动分析仪上进行。

1.9 遗传结构参数的计算按 Hoelzel 和 Brancroft 描述的方法^[18]。

种群内基因一致性(Gene identity) $j = \sum xi^2$, 其中 xi 是 i 等位的频率。 J 是全部位点的平均值。

种群内基因多样性(Gene diversity) $h = 1 - j$, 又叫种群杂合度(Heterozygosity)。

种群间遗传一致性 $I = \sum xiyi / (\sum xi^2 \sum yi^2)^{1/2}$, 其中 xi 是 x 种群 i 等位的频率, yi 是 y 种群 i 等位的频率。

种群间遗传距离 $D = -\ln I$ 。

基因分化系数 $G_{ST} = (H_T - H_S) / H_T$, $H_T = 1 - J_T$, 其中 H_T 是全部种群总基因多样性, J_T 是全部种群总基因一致性。 $H_S = 1 - J_S$, 其中 H_S 是各个种群内部基因平均多样性, J_S 是各种群内基因平均一致性。

2 结果和分析

2.1 种子蛋白的生化分析

2.1.1 种子蛋白组成 定量测定纯化的锦鸡儿种子蛋白 3 个组分的含量,并用氨基酸成分分析校正。清蛋白约占总蛋白的 30%,球蛋白约占 54%,残余蛋白约 16%。残余蛋白用 SDS PAGE 裂解缓冲液 37℃ 保温过夜的提取物,其 SDS PAGE 谱和球蛋白一样。说明残余蛋白也是一种球蛋白,但很难用盐溶液提取出来。因此,球蛋白占总蛋白的 70%左右。

2.1.2 分子量测定 纯化的清蛋白和球蛋白分别用 6%—26%浓度梯度的 PAGE 进行分离,结果见图版 I A。PAGE 中蛋白质的滴度由蛋白质分子量、电荷和构型 3 个因素决定。梯度胶加强了分子筛效应,减弱了电荷和构型的影响,因此用已知分子量的标准蛋白共同电泳可以测定天然蛋白的分子量。从图版 I A1 看到清蛋白可以分出 20 余种不同分子量的蛋白,分子量范

围在 14—230kD(千道尔顿,下同),见图 1。各个蛋白的含量比较接近,无优势成分。变性条件下电泳(SDS PAGE)也分出 20 种左右单体(Monomer,有的作者称亚基 Subunit),分子量 16—95kD(图版 I B1-4)。看来和其它豆科植物类似,锦鸡儿种子的清蛋白不是储存蛋白,而可能是酶及酶的抑制剂。球蛋白不同于清蛋白,在非变性 Poro PAGE 条件下包括 3 个主要成分(230,360,540kD)和少量 29,26,21kD 蛋白(图版 I A3),最主要的只有一个,为 230kD。球蛋白在 Poro PAGE 之后用稀的考马氏兰(0.01%)溶液略染一下到可以刚刚分辨出蛋白时,把 3 个主要成分分别切下,用裂解缓冲液变性后分别进行 SDS PAGE。结果 3 个成分有相同的单体(主要为 63,75 和 67kD),说明 230,360 和 540kD 等 3 个天然蛋白是相同单体组成的不同的聚合态。看来,球蛋白是锦鸡儿种子的贮存蛋白,由若干单体组成,3 种不同聚合态是盐可溶的,另外有盐不溶的可能是更高的聚合态或经过修饰而不溶于盐溶液。纯化球蛋白的 SDS PAGE 揭示由 21 种不同分子量单体组成,含量高的为 63,39,23,22,48kD(图版 I B5-8,图 1)。种子全蛋白的 Poro PAGE 谱基本上是纯化的球蛋白和清蛋白谱的叠加(图版 I A1-3)

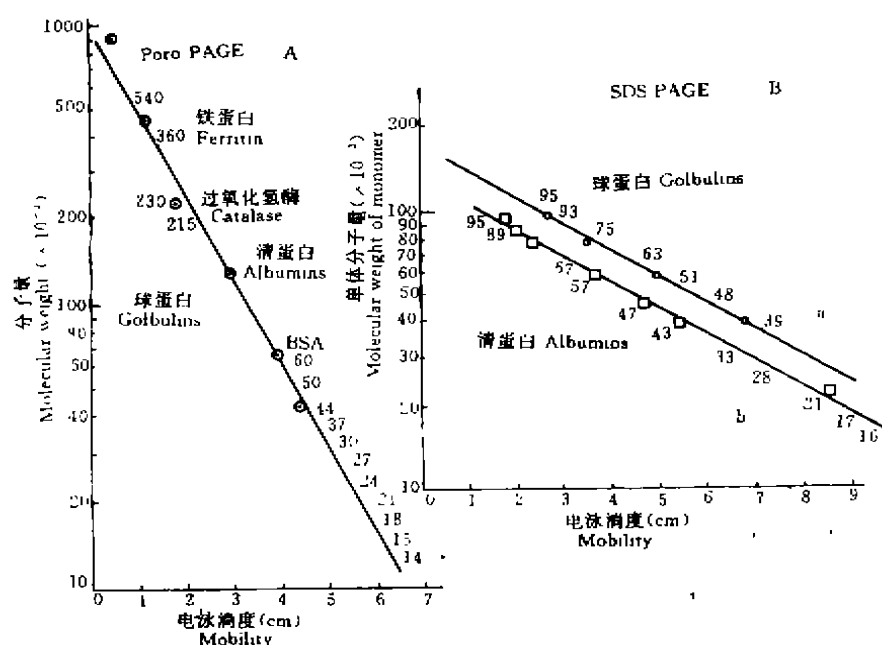


图 1 纯化的锦鸡儿种子清蛋白和球蛋白各成分的分子量测定

A. Poro PAGE, B. SDS PAGE. a. 12% 胶 gel b. 15% 胶 gel

Fig. 1 Molecular weight determination of components and monomers of purified *Caragana* albumins and globulins

2.1.3 氨基酸组成 纯化球蛋白的氨基酸组成按峰值的保留时间排列为:天门冬氨酸 10.42 (g/100g 蛋白,下同);苏氨酸 3.65;丝氨酸 4.97;谷氨酸 23.14;脯氨酸 5.24;甘氨酸 4.19;丙氨酸 4.19;缬氨酸 5.98;甲硫氨酸 0.69;异亮氨酸 3.60;亮氨酸 6.83;酪氨酸 2.59;苯丙氨酸 5.06;组氨酸 3.08;赖氨酸 4.09;精氨酸 11.26。没有测出半胱氨酸。没有测定色氨酸。与大豆、豌豆球蛋白比较的氨基酸百分组成列于表 1。

可见,锦鸡儿种子球蛋白的氨基酸组成与大豆、豌豆球蛋白很相似,似乎缬氨酸含量略高,而门冬氨酸含量略低。

表 1 种子球蛋白氨基酸组成分子百分数

Table 1 Amino acid composition of *Caragana* globulin (mole %)

氨基酸 Amino acid	谷 Glx	门冬 Asx	亮 Leu	甘 Gly	丙 Ala	丝 Ser	脯 Pro	精 Arg	赖 Lys	异亮 Ile	缬 Val	苏 Thr	苯丙 Phen	酪 Tyr	组 His	蛋 Met
锦鸡儿球蛋白 <i>Caragana</i> globulin	21	10	7	7	6	7	6	8	4	4	7	4	4	2	3	1
大豆 11S* Glycinin	19	12	7	8	7	7	6	6	4	5	6	4	4	2	2	1
大豆 7S* Conglycinin	24	12	9	5	5	7	5	7	6	5	4	2	6	3	2	0
豌豆 11S* Legumin	20	12	8	7	6	7	5	9	5	4	5	4	4	2	3	0
豌豆 7S* Vicilin	18	13	9	6	5	7	5	6	8	5	5	3	5	2	2	2

*引自 Larkins(1983)[19]

2.1.4 胰蛋白酶的作用 豆科植物如大豆种子清蛋白含有胰蛋白酶抑制剂,可以用与胰蛋白酶共同电泳来检测^[16]。用类似方法检测锦鸡儿种子的球蛋白、清蛋白和全蛋白,结果见图版 I C。随着胰蛋白酶加入量的增加,清蛋白的大于 230kD 的成分逐渐消失,全蛋白电泳谱也表现出类似情况。球蛋白最大分子消失,最小分子滴度增加,全蛋白里的球蛋白分子也有类似情况。清、球蛋白的小分子成分没有影响。为了进一步了解胰蛋白酶的作用,又进行了胰酶肽谱分析^[20],主要是加长间隔胶,电泳中当溴酚兰进到间隔胶中部时停止电泳 30min。整个电泳的速度也减慢。全蛋白的结果见图版 I A2—7。除了大分子成分含量减少,主要球蛋白分子量下降外,出现很多小于 20kD 的蛋白(或多肽)。因为豆类的胰蛋白酶抑制剂一般是小分子量的蛋白,所以锦鸡儿种子似乎不含胰蛋白酶抑制剂。这是否和其抗虫性差有关系呢?大分子成分的专一性降解,可能说明它们存在若干对胰蛋白酶敏感的位点。

2.1.5 种子蛋白变异成分的鉴定和遗传背景的推测 锦鸡儿种群不同植株种子蛋白 PAGE 显示出个体间的丰富变异(图版 I A),最显著是胶的上部有一个含量最多的带,就是球蛋白的最主要成分,有快慢的不同。在均一的 PAGE 中有时可以看到是 4—5 个相互重叠的蛋白。因为在梯度 PAGE 中是一条带,所以这几个相互重叠的蛋白带可能有电荷或构型的不同。作为遗传标记,把这组蛋白作为简单的一个蛋白来处理。图版 I D 是种群 3 里一个单株 20 粒种子全蛋白的电泳谱,可以看到部分种子有球蛋白快带,另部分有慢带。本文推测快、慢带是一个基因位点编码的。纯化蛋白的电泳说明 PAGE 谱里比球蛋白电泳快的基本上是清蛋白,很多带是变异的,最显著的是靠近胶底的几个蛋白。作者计算了各个带出现的频率,图版 I A 中标 0 与 1 的两条带距离很近,每个种群内两频率相加约 1.00,推测是一个基因位点编码的。其它两条带(2,3)出现的频率在大多数种群里都大于 0.50,暂且作为两个不同的位点处理。每个位点包括两个等位,其中一个是无产物的零等位。

全蛋白 SDS PAGE 表现出更广泛的个体变异。图版 I B 和图版 I C 分别显示在高分子量区和低分子量区的变异。在 37—76kD 范围内除 55kD 是全部植株共有外,其它 18 个单体均是变异的(有或无)。其中最高分子量的 5 个单体在一般情况下是分别分布于不同的个体中,只有

少数植株的种子含有其中两个单体。在均一的 SDS PAGE 中 5 个单体的分子量估计为 76, 74, 72, 70 和 66kD。但在梯度的 SDS PAGE 中这些单体的滴度变得更加接近, 推测其差异至少部分在电荷上。事先把含有上述 5 个单体的 5 粒种子的蛋白提取液用丙酮沉淀进一步纯化, 然后进行丹酰化荧光标记, 最后分别进行 SDS Porc PAGE。紫外光下没有显示出相互间有什么区别。已知丹酰化减少蛋白质电荷的差异, 因此估计 5 个单体的差别很大程度在电荷上。统计结果表明每个种群内这 5 个单体出现频率相加接近 1.00, 所以进一步推测是一个基因位点编码。

PAGE 合计是 4 个位点, 1 个球蛋白, 3 个清蛋白。SDS PAGE 合计 13 个位点, 其中 4 个位点编码 44, 43, 41, 40kD 单体是清蛋白, 其余都是球蛋白。

2.1.6 种群种子蛋白分布频率 本地区锦鸡儿 9 个自然种群和 1 个柠条锦鸡儿人工种群的种子蛋白单体分布频率和蛋白分布频率列于表 2 和表 3。

表 2 毛乌素沙地锦鸡儿种群种子蛋白单体分布频率

Table 2 Frequency of seed protein monomers of *Caragana* Populations in Maowusu sandy grassland

种群编号	个体数	各单体(kD)频率百分数 Monomer frequency (%)																
Population	Sample	76	74	72	70	66	63	61	53	51	48	46	44	43	41	40	39	37
1	50	36	16	12	0	2	72	64	22	96	92	8	24	58	62	18	100	88
2	50	34	12	12	18	6	74	76	18	94	98	12	46	32	66	50	90	92
3	50	42	6	16	14	10	90	66	36	72	92	40	10	72	90	30	94	90
4-1	50	36	6	2	6	2	82	84	18	90	54	22	38	64	62	58	62	66
4-2	13	46	23	15	0	8	54	77	15	77	38	92	92	46	54	77	69	85
5	50	42	20	8	10	8	94	68	32	94	92	16	14	64	92	32	100	86
6-1	19	21	15	5	0	5	95	79	16	89	89	11	26	37	42	58	84	68
7-1	26	20	17	0	17	18	100	83	8	67	67	4	42	58	92	17	58	83
7-2	12	46	19	19	19	8	77	81	15	46	88	11	12	73	42	8	65	81
合计 Total	320	38	14	9	10	6	82	73	23	84	83	21	25	58	70	37	85	83
6-2	18	22	6	0	0	0	100	39	0	89	50	6	33	11	83	39	94	33

表 3 毛乌素沙地锦鸡儿种群种子蛋白频率分布

Table 3 Frequency of seed protein of *Caragana* populations in Maowusu sandy grassland

种群编号	个体数	球蛋白 Globulin			清蛋白 Albumin		
		S	F	0	1	2	3
1	50	53	47	84	8	54	84
2	50	53	47	88	14	80	82
3	49	37	63	84	8	67	49
4-1	50	60	40	90	6	66	54
4-2	13	21	79	85	23	69	69
5	51	42	58	84	12	20	71
6-1	18	22	78	78	0	78	22
7-1	26	42	58	100	0	23	88
7-2	12	35	65	100	0	23	88
合计 Total	319	49	51	87	9	57	68
6-2	18	50	50	100	0	28	72

2.1.7 种群遗传结构参数 根据表 2 和表 3 的频率计算各种群的基因一致性(表 4), 种群间遗传一致性和遗传距离(表 5)。在这些数据的基础上计算出种群间的基因分化系数 $G_{ST}=0.0755$ 。

3 讨 论

3.1 锦鸡儿种群的遗传多样性 全蛋白的 PAGE 和 SDS PAGE 都说明种群种子蛋白有高度的多样性。在种子清蛋白和球蛋白的分离纯化、蛋白和单体电泳分离和分子量测定的基础上, 对种群遗传结构参数进行了定量测定。实验结果和文献^[10]报道的形态变异一致, 说明毛乌素地区锦鸡儿种群内、种群间在遗传上是高度异质的。

整个地区锦鸡儿的总基因多样性 $H_T=0.371$, 大于野生二粒小麦高分子量谷蛋白的数值 (0.36)^[9]。平均的各种群内遗传多样性 $H_s=0.343$, 远大于同工酶研究所揭示的物种内平均基因多样性值 ($H_s=0.149$)^[21]。

表 4 锦鸡儿各种群的基因一致性

Table 4 Gene identity of *Caragana* populations

种群 Population	1	2	3	4-1	4-2	5	6-1	7-1	7-2	6-2
基因一致性 Gene identity	0.68	0.66	0.64	0.59	0.63	0.69	0.66	0.68	0.68	0.74

表 5 锦鸡儿种群间遗传一致性(对角线上)和遗传距离(对角线下)

Table 5 Genetic identity (above diagonal) and genetic distance (below diagonal)

种群 Population	1	2	3	4-1	4-2	5	6-1	6-2	7-1	7-2
1		0.96	0.94	0.93	0.79	0.96	0.90	0.87	0.93	0.93
2	0.04		0.93	0.94	0.85	0.93	0.92	0.86	0.91	0.89
3	0.06	0.07		0.92	0.81	0.96	0.91	0.83	0.91	0.91
4-1	0.08	0.06	0.08		0.87	0.91	0.94	0.89	0.93	0.89
4-2	0.23	0.16	0.21	0.14		0.78	0.81	0.75	0.80	0.77
5	0.04	0.07	0.04	0.09	0.25		0.88	0.88	0.95	0.93
6-1	0.10	0.09	0.09	0.06	0.21	0.13		0.89	0.86	0.85
6-2	0.14	0.15	0.19	0.12	0.29	0.13	0.12		0.89	0.82
7-1	0.08	0.09	0.09	0.08	0.23	0.05	0.15	0.12		0.94
7-2	0.08	0.12	0.09	0.12	0.26	0.07	0.16	0.20	0.07	

3.2 生物学意义 群体遗传学,特别是生化遗传学研究结果的统计资料表明植物的生殖方式对种群遗传结构影响最大,因此种群遗传结构参数最明显的价值是能反映植物在自然条件下的生殖方式。例如同属豆科的野大豆(*Glycine soja*)是自交植物,其基因频率随群体而变化很大^[3],而锦鸡儿各个基因位点的频率在种群间变化很小。用基因分化系数 G_{ST} 可以定量地表示出来。例如 165 属 449 种植物的等位酶统计结果^[21] 自交植物的 $G_{ST}=0.510$, 即基因多样性有一半以上发生在群体之间,而风媒的异交植物 $G_{ST}=0.099$ 。基因多样性 90% 在群体内。因为种群间有很大的基因流(花粉或种子)导致种群间基因频率相互接近。

作者曾发表的野生大豆北京地区 13 群体^[3], $H_T=0.30$, $H_s=0.072$, $G_{ST}=0.76$, 就是说 3/4 的变异储存在群体间,群体内变异只占总变异的 1/4。严格的自交造成种群间高度的遗传分化。本文报道的锦鸡儿种群间的遗传多样性只占总基因多样性的 7.6%, 表明种群间有强大的基因流。进一步说明锦鸡儿的生殖方式可能是异交的。作者取种群 3 的一个植株,任意取 20 粒种子制备蛋白质提取液进行 PAGE 和 SDS PAGE, 结果分别见图版 I D, I D。20 粒种子的 PAGE 谱基本相同,但仔细检查球蛋白有快慢带,有两粒种子没有清蛋白 2, SDS PAGE 的变化更显著(图版 I D),多数种子没有 76—66kD 之间的单体蛋白,但有的种子有 76kD, 有的有 74kD, 有的有 72kD, 有的有 66kD, 在其它分子量区域也看到这种同一植株种子间的变异。这些变异的来源只能归之于不同基因型的花粉,直接证明了锦鸡儿的异交性。这种异交性可能是种内的,也可能是种间的。豆科植物以其特殊的花结构保证其自花受粉。但在豆科中,已报道有的种类如蚕豆(*Vicia faba*)和苜蓿(*Medicago sativa*)有相当比例的异花受粉率。徐朗然等发

现套袋情况下柠条锦鸡儿和中间锦鸡儿不结实,认为是自花不亲和^{*},但套袋本身有可能影响植物的生殖发育,要肯定自花不亲和还需要进一步的证据。本文的实验结果证明,本地区锦鸡儿在自然种群中,即未受任何干扰的情况下是高度异交的。这就解释了文献[10]形态变异的结果。因为广泛的种内和种间杂交,整个毛乌素沙区的自然锦鸡儿实际上是3种锦鸡儿相互杂交的杂种群,因此表现出各个种群的荚果长度都覆盖了3个种的范围。小叶形状和被毛在种群内外也是混杂的。种子蛋白因其多基因家族编码可容忍个别基因的突变而表现出惊人的多样性。

徐朗然等1988年还根据杂交试验的结果提出中间锦鸡儿和柠条锦鸡儿“毕竟是互为替代的地理宗,由于没有达到生殖脱离的程度。”文献^[10]和本文也对比说明了柠条锦鸡儿人工种群和自然种群,从形态和种子蛋白看,这两个种之间只是基因频率上有很小的差别(表2、表3),遗传距离的数值也差不多(表5)。遗传结构参数所表明的种群内外的高度异交性,证明中间锦鸡儿和柠条锦鸡儿在自然条件下分享共同的基因库。又因为9个自然种群的形态特征也覆盖了小叶锦鸡儿的特征范围,因此这3个种很可能属于1个生物学种。

动植物自然杂交现象及其适应意义,历来是生物进化的主要议题之一。Arnold^[22]的评述提到现在有3种有关的假说。其中Bounded hybrid superiority假说预计杂种带是生态上的过渡带,在这种地带杂种优于亲本。张新时^[23]指出“毛乌素沙地是具有特殊地理景观的生态过渡地带”。毛乌素沙区锦鸡儿种群的高度杂交性与生态过渡带的关系值得进一步研究。

参 考 文 献

- 1 Gepts P. Genetic diversity of seed storage proteins in plants. in "Plant Population Genetics, Breeding, and Genetic Resources" 1990, eds, Brown A D H *et al.* 64—82. Sinauer Associates Inc.
- 2 胡志昂,王洪新. 菜豆种子蛋白的变异和品种鉴定. 华北农业学报, 1986, 1(1), 1—7
- 3 胡志昂,王洪新. 北京地区野大豆群体遗传结构. 植物学报, 1985, 27: 599—604
- 4 Wang H X. *et al.* Electrophoretic study on seed proteins of maize hybrids and inbreds. *Chinese J. Bot.* 1989, 1, 139—144
- 5 Hu Z A. *et al.* Seed protein diversity of Phaseolus-Vigna complex and their relatives. *Chinese J. Bot.* 1993, 5: 1—5
- 6 王洪新,胡志昂. 谷蛋白和醇溶蛋白的电泳分析及小麦品种鉴定. 华北农学报, 1987, 2(4): 16—21
- 7 胡志昂,王洪新. 蛋白质多样性和品种鉴定. 植物学报, 1991, 33: 556—564
- 8 Nevo E. *et al.* Microgeographic edaphic differentiation in hordein polymorphisms of wild barley. *Theor. Appl. Genet.* 1983, 64: 123—132
- 9 Levy A A, Feldman M. Biogeographical distribution of HMW glutenin in populations of wild tetraploid wheat *Triticum turgidum* var. *dicoccoides*. *Theor. Appl. Genet.* 1988, 75: 651—658
- 10 王洪新等. 毛乌素沙地锦鸡儿种群形态变异. 生态学报, 1994, 14(4): 366—371
- 11 Osborn T B. *The Vegetable Proteins*. 1909 Longman, Green and Co. London
- 12 Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 1976, 72: 248—254
- 13 胡志昂. 杨属植物的同工过氧化物酶. 植物分类学报, 1981, 19: 291—297
- 14 Laemmli U K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 1970, 227: 680—685
- 15 胡志昂,王洪新. 栽培大豆和野大豆种子蛋白的变异. 大豆科学, 1986, 5: 204—210
- 16 胡志昂,王洪新. 检测大豆种子蛋白 S₁、T₁ 两基因位点各等位酶方法的改进. 植物学报, 1983, 25(6): 532—536
- 17 Tijssen & Kurstak. A simple and sensitive method for the purification and peptide mapping of protein solubilized from dourine virus with sodium dodecylsulfate. *Anal. Biochem.* 1979, 99: 97—104
- 18 Hoelzel A R, Brancroft D R. Statistical analysis of variation. in "Molecular Genetic Analysis of Populations: A Practical

• 中国植物学会 55 周年学术论文摘要, 1988, 188.

- Approach*"Ed, Hoelzel A R. IRL Press, 1992, 297—305
- 19 Larkins B A. Genetic engineering of seed proteins. in "*Genetic Engineering of Plants*"eds, Kosuge T *et al.*. Plenum Press, 1983, 93—118
 - 20 Cleveland D W, *et al.* Peptide mapping by limited proteolysis in sodium dodecylsulfate and analysis by gel electrophoresis. *J. Biol. Chem.* 1977, **253**, 1102—1106
 - 21 Hamrick J L, Godt M J W. Allozyme diversity in plant species. in "*Plant Population Genetics, Breeding, and Genetic Resources*"eds, Brown A H D, *et al.* Sinauer Associates Inc. 1990, 43—63
 - 22 Arnold M L. Natural hybridization as an evolutionary process. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 1992, **23**, 237—261
 - 23 张新时. 毛乌素沙地的生态背景及其草地建设的原则与优化模式. *植物生态学报*, 1994, **18**, 1—16

SEED PROTEIN DIVERSITY OF CARAGANA POPULATIONS IN MAOWUSU SANDY GRASSLAND AND ITS BIOLOGICAL IMPLICATION

Wang Hongxin Hu Zhiang Zhong Min Qian Yingqian

(Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100044)

By means of different polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE), purified albumins and globulins extracted from *Caragana* seeds were separated and the molecular weight of each component and monomer was determined. Globulin which is the major part (70%) of total seed proteins consisted of 3 major components shared 21 monomers, indicating that three major globulins can be considered as a protein with different aggregates of monomers. In the PAGE, albumins were separated into 20 components and similarly, 20 monomers appeared on the SDS PAGE of purified albumins.

The results of the PAGE of total seed proteins showed that there were at least 4 putative loci coding 6 proteins among which one was the major globulin and with a variation of a band running faster or slower, others are albumins. About 50 monomers have been detected by SDS PAGE of the total seed protein extracts. Variation of most monomers has been found among individuals within populations and among populations. At least 13 putative loci coding for 17 monomers was detected. From the frequencies of 6 proteins in 337 samples and those of 17 monomers in 338 samples of 10 populations in Maowusu region, a series of parameters of population genetic structure was calculated. The data showed that more than 90% of gene diversity existed within populations, and only 7.6% of variation distributed among populations, indicating a high level of gene flow. Different protein and monomer patterns in different seeds of a single plant further claimed that *Caragana* are outbreeders. The high level of gene diversity as well as its spatial distribution pattern confirmed our previous results of morphological variation which indicated the nature of a hybrid zone for *Caragana* populations in

Maowusu Sandy Grassland.

Key words: *Caragana* population, seed protein, genetic structure, outbreeder, hybrid zone.

信息

《生态学报》入选最新“中国自然科学核心期刊”

中国自然科学核心期刊研究课题组不久公布了最新的“1992—1993年中国自然科学核心期刊”300种。这是根据国家标准“GB/T13745—92”规定的学科分类标准,优选30种中国出版的各学科代表性期刊,对它们在1992、1993年所发表的论文,使用“引文法”进行客观统计后得到的结果。在仅占目前期刊总数4%比例的300种核心期刊中,综合性期刊及数理科学等学科期刊占28%,医药卫生期刊占28%,地学天文期刊占20%,生物农林类占24%。全部核心期刊名单及详尽评述将在国际核心期刊研究会的综合性学术期刊《科学技术学报》磁盘周刊上发表。与环境科学学科专业相关的核心期刊名单,按被引用频次从高到低的顺序列于下表。该表中空缺名次为其他学科核心期刊,被引用频次相同者名次相同。生态学报名列核心期刊第27

1992—1993年中国自然科学核心期刊

- | | | |
|-------------|---------------|--------------|
| 1 中国科学 | 50 中国环境科学 | 68 海洋科学集刊 |
| 2 科学通报 | 53 沉积学报 | 69 地震工程与工程振动 |
| 8 海洋学报 | 53 地震地质 | 69 石油与天然气地质 |
| 9 大气科学 | 54 地球物理学报 | 70 地球科学 |
| 13 海洋与湖沼 | 54 气象 | 70 气象科学 |
| 20 气象学报 | 55 地质论评 | 71 天文学进展 |
| 21 天文学报 | 55 高原气象 | 71 中国区域地质 |
| 22 环境科学 | 55 海洋地质与第四纪地质 | 72 地震学报 |
| 23 地质科学 | 57 海洋通报 | 72 黄渤海海洋 |
| 25 地理学报 | 58 长春地质学院学报 | 72 矿物学报 |
| 27 生态学报 | 58 热带气象 | 72 紫金山天文台台刊 |
| 44 环境科学学报 | 59 地球化学 | 73 地层学杂志 |
| 44 天体物理学报 | 61 地理科学 | 73 环境科学丛刊 |
| 46 青岛海洋大学学报 | 61 海洋湖沼通报 | 73 环境污染与防治 |
| 47 海洋科学 | 61 自然资源 | 73 空间科学学报 |
| 47 岩石学报 | 62 热带海洋 | 73 南极研究 |
| 48 土壤学报 | 63 冰川冻土 | 73 上海天文台年刊 |
| 49 地质学报 | 64 第四纪研究 | 73 云南天文台年刊 |
| 49 台湾海峡 | 66 生态学杂志 | 73 中国地震 |
| 50 地理研究 | 67 东海海洋 | 73 中国沙漠 |

国际核心期刊研究会
中国自然科学核心期刊研究课题组
1994年4月

转载《环境污染与防治》1994年第3期