

数量分类学与微机信息处理研究进展

中国植物学会数量分类学专业委员会 编



87083

4

云南科技出版社

58.87083
144

数量分类学与微机信息处理研究进展

ADVANCES IN NUMERICAL TAXONOMY AND INFORMATION
PROCESSING IN CHINA

中国植物学会数量分类学专业委员会 编
THE NUMERICAL TAXONOMY BRANCH, BOTANICAL SOCIETY OF CHINA

云南科技出版社

YUNNAN SCIENCE AND TECHNOLOGY PRESS

1997

责任编辑:侯德勋
封面设计:彭定富

数量分类学与微机信息处理研究进展
中国植物学会数量分类学专业委员会 编

云南科技出版社发行(昆明市书林街 100 号)
云南省地震工程研究院印刷厂印装

开本:787X1092/16 印张:9.5 字数:25 万
1997 年 6 月第 1 版 1997 年 6 月第 1 次印刷
印数:1000

ISBN 7-5416-1029-1/Q.29 定价:12 元
若发现印装错误,请与承印厂联系

数量分类与微机信息处理研究进展
编辑委员会

主 编 徐克学 张明理

副主编 钟 扬 周 伟

编 委 (以姓氏笔划为序)

王凤春 王兰州 左家哺

李 伟 张金屯 张奠湘

周铜水 赵铁桥 曹家树

Advances in Numerical Taxonomy and
Information Processing in China

Editorial Board

Chief Editor: Xu Kexue Zhang Mingli

Associate Editor: Zhong Yang Zhou Wei

Members: Wang Fengchun Wang Lanzhou

Zuo Jiafu Li Wei

Zhang Jintun Zhang Dianxiang

Zhou Tongshui Zhao Tieqiao

Cao Jiashu

目 录

中国榲桲类植物数量化学分类学研究	周铜水, 周荣汉 (1)
葡萄属植物超氧化物歧化酶(SOD)同工酶的数化量分析	张立平, 林伯年, 沈德绪 (7)
沿阶草属及山麦冬属的数值分类研究	龚祝南, 吴 骏, 余伯阳, 王峥涛, 徐珞珊, 徐国钧 (13)
黑龙江蹄盖蕨科植物数量分类的研究	董亚杰, 关文彬, 陈 铁, 孟庆友 (17)
乳菀属的聚类分析	魏 岩 (24)
中国野生薄荷(<i>Mentha haplocalyx</i> Briq.)地理化学型	周铜水, 剑桂新, 周荣汉 (27)
中国西北部植物区系相似关系的分析	左家哺, 潘晓玲, 彭代文 (35)
锦鸡儿属植物特有性分布的数值分析	张明理 (45)
中国南方主要水系鱼类地理分布及其关系分析	周 伟, 崔桂华, 黄顺友 (50)
绣球亚科 Hydrangeoideae 分支分析	郝 刚, 胡启明 (59)
芸苔类(n=10)蔬菜品种的分支分析及其验证	曹家树, 缪 颖, 卢 钢, 曹寿椿 (67)
斧头湖湖滨湿地植被与土壤因子关系的 DCA 排序分析	李 伟, 钟 扬, 黄德世 (75)
应用 Fuzzy 数学方法进行黄连引种适栽区划的研究	濮社班, 钱士辉, 张宇和 (81)
交互分类信息系统和电子植物志的设计与实现 I. 应用 UNIC 结构, OMES 模型和 关系数据库记录多个交互分类	钟 扬, 洪亚平 (87)
洪湖生态信息系统研究初报	黄德世, 李 伟, 钟 扬 (101)
植物分类信息系统中图像数据的自动采集和组合显示	余清清, 钟 扬, 余晓征 (106)
分支分类对应集和谐性分析	徐克学 (110)
多元聚合分类的两种新方法	张金屯 (116)
重叠分类的数量方法及理论	王季槐 (123)
论植物叶序的亚黄金分割	王兰州 (128)
我国植物数值分类研究的几个问题	赵铁桥, 陈建华 (133)
分子生物学数据库概述	钟 扬 (137)
中国植物区系地理学的数值研究进展	左家哺 (146)

CONTENTS

The Numerical Chemotaxonomic Study on Drynarioid Ferns in China	Zhou Tongshui, Zhou Ronghan (1)
Multivariate Analysis of Superoxide Dismutase Isozyme Data of Vitis	Zhang Liping, Lin Bonian, Shen Dexu (7)
Numerical Taxonomical Study on Ophiopogon and Liriope in China	Gong Zhunan, Wu Tao, Yu Boyang, Wang Zhengtao, Xu Luoxan, Xu Guojun (13)
A Numerical Taxonomic Study for Athyriaceae in Heilongjiang Province	Dong Yajie, Guan Wenbin, Cheng Tie, Meng Qinyou (17)
A Cluster Analysis of the Genus Galatella (Compositae)	Wei Yan (24)
Geochemotypes of Wild Memtha haplocalux Briq. in China	Zhou Tongshui, Cou Guixin, Zhou Ronghan (27)
Analysis on the Resemblant Relationships of Flora in Northwestern Parts of China	Zuo Jiafu, Pan Xiaoling, Peng Daiwen (35)
A Numerical Analysis of Endemism in Caragana (Fabaceae)	Zhang Mingli (45)
A Preliminary Analysis of Relationships between Geographical Distribution of Freshwater Fishes and History Changes of Geography in South China	Zhou Wei, Cui Guihua, Huang Shunyu (50)
Phylogenetic Analysis in Hydrangeoideae (Hydrangeaceae)	Hao Gang, Hu Chiming (59)
Cladistic Analysis and its Verification of Cultivars in Brassica Group(n=10)	Cao Jiashu, Miao Ying, Lu Gang, Cao Shouchun (67)
A DCA Analysis on the Relationships Between the Vegetation and Soil Factors of the Shoreline Wetland in Futouhu Lake	Li Wei, Zhong Yang, Huang Deshi (75)
An Application of Fuzzy Mathematic Methods to the Culture Regionalization of Coptis chinensis Franch.	Pu Sheban, Qian Shihui, Zhang Yuhe (81)
Design and Implementation of a Taxonomic Information System and E-FLORA for Inter Acting Classifications I、Storing Interacting Classifications Using the Unic Structure, the Omes Model, and Relational Databases	Zhong Yang, Hong Yaping (87)
The Preliminary Design and Establishment of Honghu Lake ecological information system	Huang Deshi, Li Wei, Zhong Yang (101)
The Automatic Collecting and Combinable Displaying of Image Data in a Taxonomic Information System	Yu Qingqing, Zhong Yang, Yu Xiaozheng (106)
Corresponding Set Compatibility Analysis Method in Cladistics	Xu Kexue (110)
Two New Methods in Polythetic Agglomerative Clustering Family	Zhang Jintun (116)
The Method and Theory of Numerous Overlapping Classification	Wang Jihuai (123)
On a (Golden Section) ² of Plants With Alternate Phyllotaxis	Wang Lanchow (128)
Several Problems of Numerical Taxonomical Study of Plants in China	Zhao Tieqiao, Chen Jianhua (133)
A Survey of Molecular Biological Databases	Zhong Yang (137)
Advances in Numerical Floristic Geography in China	Zuo Jiafu (146)

中国槲蕨类植物数量化学分类学研究^①

周铜水 周荣汉

(中国药科大学植物化学分类研究室, 南京 210038)

THE NUMERICAL CHEMOTAXONOMIC STUDY ON DRYNARIOID FERNS IN CHINA

Zhou Tongshui Zhou Ronghan

(Department of Plant Chemotaxonomy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210038)

摘要 在系统分析中国槲蕨类植物及水龙骨科近缘属 16 种植物形态特征及脂溶性成分的基础上, 分别选取 30 个形态学性状和 30 个化学性状, 用聚类分析方法进行综合分析, 根据分析结果初步讨论了槲蕨类植物的分类及系统地位问题。

关键词 槲蕨类; 脂溶性成分; 聚类分析; 分类; 系统地位

Abstract The systematic position, classification, origination and evolution of Drynarioid ferns have long been disputed. Many different opinions have been given based on detailed studies on their morphological and anatomical characters. But chemical features have never been considered. So it is necessary to consider both morphological and chemical characters by means of numerical taxonomic Method, in order to resolve the above problems more naturally. The total 10 species of Drynarioid ferns native in China mainland were collected and identified along with 6 other species separately belonging to *Phymatodes*, *Lepisorus* and *Microsorium* of Polypodiaceae, which are the 3 closest genera of Drynarioid ferns. Chemical researchs were carried out firstly on rhizomes of *Drynaria fortunei* (Kunze) J. Sm., from which 15 constituents were isolated and identified, and then on other plants by means of GC comparative method. 30 morphological and 30 chemical characters were selected on the basis of detailed morphological and chemical studies. The cluster analysis (Correlation coefficient, UPGMA) were carried out and the following conclusions were proposed according to the results: 1. Not only in the aspect of morphological characters but also in the aspect of chemical features Drynarioid ferns can be clearly distinguished from Polypodiaceae. So we support Ching's suggestion that Drynarioid ferns should be elevated to the family rank - Drynariaceae. 2. Three groups can be divided within *Drynaria*. (1) Group Sinica: including *D. sinica*, *D. delavayi* and *D. mollis*; (2) Group Propinqua: including *D. propinqua*, *D. parishii* and *D. rigidula*; (3) Group *Drynaria*: including *D. fortunei*, *D. bonii* and *D. quercifolia*. They represent 3 different evolutionary levels. 3. The numerical chemotaxonomic research arouses some interesting aspects: (1) Drynarioid ferns show closest relationships with *Phymatodes* of Polypodiaceae; (2) *Pseudrynaria* shows closest relations with Group *Drynaria*, which refers this group might be the primary group and have the same origin with *Peu* -

① 国家自然科学基金资助项目

dodrynaria.

Key words Drynarioid ferns; Chemical characters; Cluster analysis; Classification; Taxonomic position

槲蕨类植物(Drynarioid ferns)全世界约 30 种,我国产 11 种。该类植物以其根状茎密被鳞片,叶二型(或叶基扩大),叶柄基部无关节以及某些种类具蜜腺等特征与水龙骨科相区别。对于它的系统地位、分类、起源和演化等问题存在各种不同认识。Christensen(1938)将它置于水龙骨科瓦韦族(Pleopeltideae);秦仁昌(1940)将它置于瓦韦亚科瘤蕨族(Phymatodeae); Dickson (1946), Holttum(1947, 1954), Copeland(1947, 1960), Alston(1956), Pichi - Sermolii(1958, 1959, 1977), Mehra(1961)和 Bierhorst (1971)则把它放在水龙骨科靠近星蕨属(*Microsorium*)的位置, Nayer (1970, 1974)建立了星蕨亚科(Microsorioideae), 将槲蕨类植物包括在内。Crabbe 等(1975)正式将其提升为亚科(Drynarioideae)。1978 年,秦仁昌先生又将其提升为科(Drynariaceae),但尚未被普遍接受(Chandra, 1982; Roos, 1985)。关于其起源和演化,主要有两种观点:Christensen(1938)认为它起源于瘤蕨属(*Phymatodes*),莲珠蕨属(*Aglaomorpha*)是槲蕨属(*Drynaria*)和瘤蕨属之间的过渡类型;Copeland (1947)、秦仁昌(1978)等认为该类植物通过 *Aglaomorpha heraclea*, 起源于星蕨属(Roos, 1985)。前人在形态、解剖及孢粉学方面作过较详细的研究,并在这些基础上作过数量分类学探讨(Roos, 1985),但迄今尚无化学成分及化学分类研究的报道,及综合形态学和化学特征的分析研究。为更合理地解决上述问题,我们在系统研究了国产槲蕨类植物及水龙骨科近缘属植物形态特征及脂溶性成分的基础上,分别选取 30 个形态学性状和 30 个化学性状,运用聚类分析的方法,进行了综合分析和探讨。

表 1 实验材料

分类等级	序 号	种 名	产 地
槲蕨类 Drynarioid ferns	A	栎叶槲蕨 <i>Drynaria quercifolia</i> (L.)J. Smith	海南 Hainan
	B	团叶槲蕨 <i>D. binii</i> Christ	广西 Guangxi
	C	槲 蕨 <i>D. fortunei</i> (Kun. et Mett.)J. Smith	安徽 Anhui
	D	中华槲蕨 <i>D. sinica</i> Diels	四川 Sichuan
	E	川滇槲蕨 <i>D. delavayi</i> Christ	云南 Yunnan
	F	毛 槲 蕨 <i>D. mollis</i> Bedd.	西藏 Xizang
	G	光叶槲蕨 <i>D. propinqua</i> (Wail. ex Mett.)J. Smith	云南 Yunnan
	H	滇南槲蕨 <i>D. parishii</i> (Bedd)Bedd.	云南 Yunnan
	I	硬叶槲蕨 <i>D. rigidula</i> (sw.)Bedd.	云南 Yunnan
	J	崖 姜 蕨 <i>Pseudodrynaria coronans</i> (Wall. et Mett.) Ching	海南 Hainan
水龙骨科 Polypodiaceae	K	扭瓦韦 <i>Lepisorus contortus</i> (Christ)Ching	云南 Yunnan
	L	大瓦韦 <i>L. macrosphaerus</i> (Bak.)Ching	云南 Yunnan
	M	光叶瘤蕨 <i>Phymatode lucida</i> (Roxb.)Ching	云南 Yunnan
	N	瘤蕨 <i>Ph. scolopendria</i> (Burm.)Ching	海南 Hainan
	O	江南星蕨 <i>Microsorium henryi</i> (Christ)C. M. Kuo	四川 Sichuan
	P	攀援星蕨 <i>M. buergerianum</i> (Miq.)Ching	安徽 Anhui

1 材料和方法

1.1 实验材料

作者采集了我国大陆产槲蕨类植物共 2 属 10 种, 以及水龙骨科 3 属各 2 种代表植物, 共 16 种植物, 如表 1 所示。所有植物标本均经有关专家鉴定无误, 凭证标本存于中国药科大学药用植物标本馆。

1.1.1 形态学研究及性状选取

形态学研究和性状的选取是在野外调查和标本研究基础上进行的。除细致研究了亲自采集的 100 余份标本外, 还研究了北京植物标本馆、华南植物研究所标本馆、昆明植物研究所标本馆及云南大学生态与地植物学研究所标本室等共 800 余份标本。所选取的 30 个性状如表 2 所示。

表 2 形态学性状

1	叶二型否	16	蜜腺有无
2	孢子叶基部扩大否	17	被毛情况
3	根茎平均周长(cm)	18	分枝状腺毛有无
4	鳞片二型否	19	孢子叶背面有无鳞片
5	鳞片质地与排列	20	二级侧脉状况
6	鳞片形状	21	三级侧脉状况
7	鳞片先端	22	第一腔室状况
8	鳞片边缘	23	四级侧脉直否
9	毛被情况	24	孢子囊形状
10	孢子叶平均长度(cm)	25	孢子囊排列
11	孢子叶长宽比(宽/长)	26	孢子囊群是否于二级侧脉间排成一行
12	最宽处(最宽处至叶柄基部距离/叶全长)	27	不育叶宽/长
13	柄轴比(叶柄长/叶轴)	28	不育叶最宽处
14	孢子叶片质地	29	不育叶有无叶柄
15	孢子叶分裂状况	30	不育叶分裂状况

1.1.2 槲蕨根茎化学成分研究

槲蕨(*Drynaria fortunei* (Kunze) J. Sm.) 是分布最广、最具代表性的槲蕨类植物。系统分析该种植物的化学成分, 对于全面了解和掌握该类植物化学成分的基本情况, 并且获得系统分析所需的化合物标准品, 具有重要意义。我们从槲蕨根茎石油醚提取物中分离鉴定了 9 个单体化合物: 里白烯(diploptene, I); 何帕-21-烯(hop-21-ene, II); 里白醇(diplopterol, III); 羊齿-9(11)-烯(fern-9(11)-ene, IV); 环劳顿醇(cyclolaudenol)(24-methyl-9, 19-cyclolanost-25-en-3 β -ol, V); 环麻根醇(cyclomargenol)(24-ethyl-9, 19-cyclolanost-25-en-3 β -ol, VI); 环劳顿酮(cyclolaudenol)(24-methyl-9, 19-cyclolanost-25-en-3-one, VII); 三十二烷酸(n-dotriacontanic acid, VIII); β -谷甾醇(β -sitosterol, IX)。其中化合物 II、III、V、VI、VII、VIII 为首次从该植物中分得。另外, 采用 GC-MS-计算机联用仪检索, 并与标准谱对照, 分离鉴定了二组共 6 个混合物组分, 即 25-烯-环阿尔廷醇(25-en-cycloartenol, X); 25-烯-环阿尔廷酮(25-en-cycloartenone, XI); 24-烯-环阿尔廷醇(24-en-cycloartenol, XII); 24-烯-环阿尔廷酮(24-en-cycloartenone, XIII); 5-豆甾烯-3-醇(5-stigmasten-3-ol, XIV); 5-豆甾烯-3-酮(5-stigmasten-3-one, XV)。X、XI、XII、XIII、XIV、XV 均为该植物首次发现。

1.1.3 16 种植物脂溶性成分比较研究

(1) 样品制备: 各种植物根茎(表 1)适量, 于 80℃ 烘干 8 h, 磨成粗粉。各精称 5.0g(K, L, O 三种仅 1.5g; P 仅 100.0mg), 于索氏提取器中, 用 95% 乙醇回流提取 10-12 h, 直至无色。回收乙醇至干, 浸膏以石油醚(30-60℃)反复捏溶至无色, 蒸干, 加氯仿配成浓度为 0.5g/ml 试液, 备用。

标准品临用前以氯仿配成约 1mg/ml 的试液。

(2) 色谱条件: Sp3700 气相色谱仪, 3900A 数据处理机, SE-30 毛细管柱(25m)。柱温:

270℃;进样室温度:290℃;分离器温度:250℃;柱前压:98.0665×103Pa, 质谱电离电压:70 eV;分流比:1:20;程序升温:初始 230℃;终温 260℃;升温速率:1℃/min; 初始时间 5min;升温时间 30 min。

(3) 结果:用标准品加入法共确定了16个化合物,如表3。依据16种植物的气相色谱图,以特定保留时间的色谱峰作为一个性状。表3中未列出的性状为未知成分。各种植物的气相色谱图中,保留时间在29min以前的,大多为微量和未知成分,只以色谱峰的有无描述之;29 min以后的均为主要成分,大多已确定了化合物的结构,以各峰的相对含量(用归纳法计算)描述。如此确定30个化学性状的原始数据矩阵。

表3 16个主要成分的保留时间及化合物名称

性状序号	保留时间	化合物名称
27	51.13	24-ethyl-9,19-cyclolanost-25-en-3-acetate *
25	47.90	24-methyl-9,19-cyclolanost-25-en-3-acetate *
24	47.10	24-ethyl-9,19-cyclolanost-25-en-3-one
23	46.50	24-ethyl-9,19-cyclolanost-25-en-3β-ol
21	44.85	24-methyl-9,19-cyclolanost-25-en-3-one
20	43.50	9,19-cyclolanost-25-en-3-acetate *
18	41.61	24-methyl-9,19-cyclolanost-25-en-3β-ol
17	40.27	25-en-cycloartenone
16	39.07	25-en-cyclolartenone
15	38.00	hop-21-ene
14	37.00	hop-22(29)-ene
13	35.90	β-sitoserol
12	34.13	fern-7-ene *
10	32.20	fern-9(11)-ene
8	30.50	neohop-13(18)-ene *
1	5.35	n-dotricotanic-acid

* 标准品由日本昭和药科大学上田博之教授提供

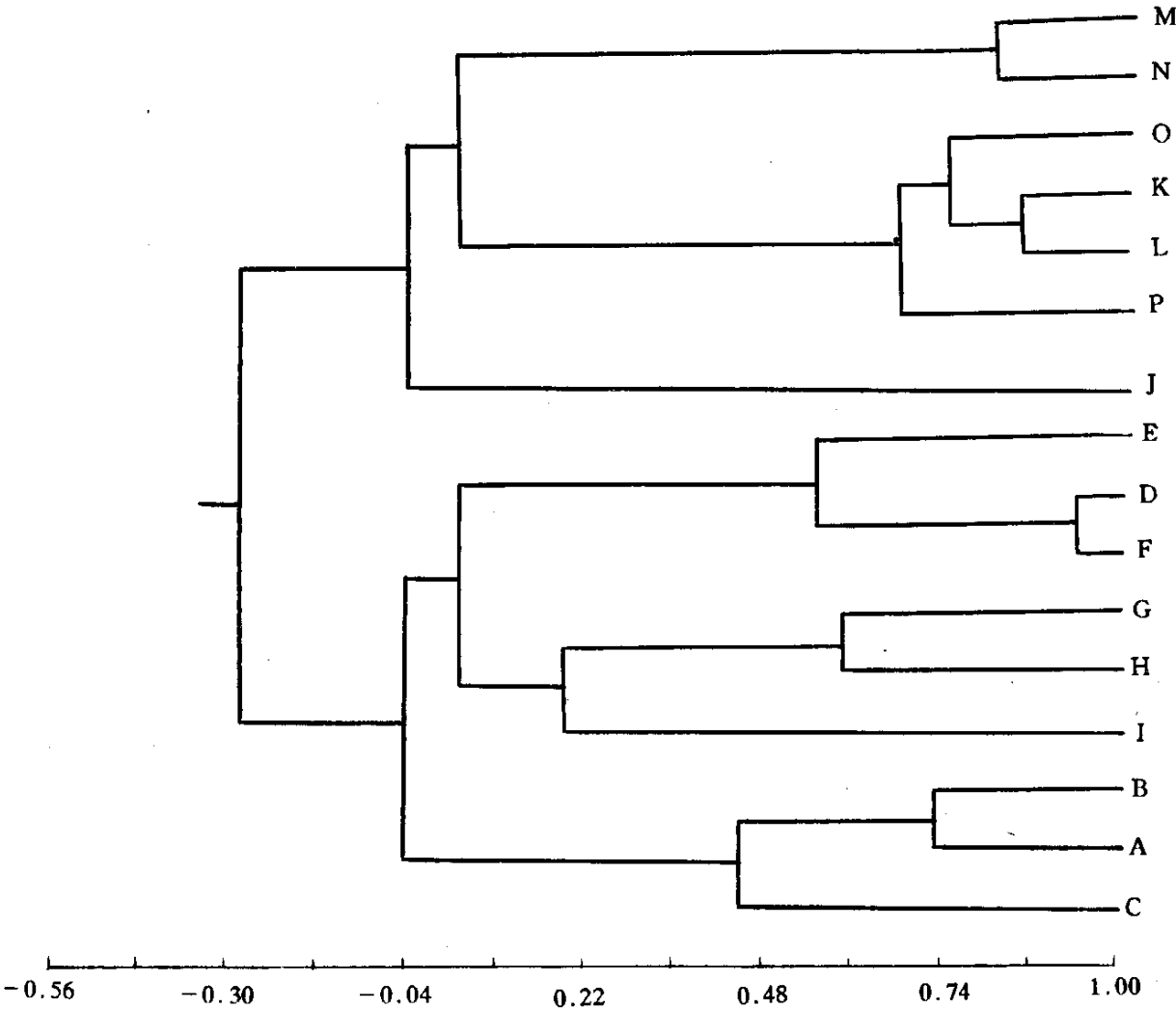


图1 基于形态学性状的Q分析树系图(相关系数,UPGMA)

2 结果与讨论

首先根据 30 个形态学性状进行聚类分析运算, 得到如图 1 所示的结果。再根据 30 个化学性

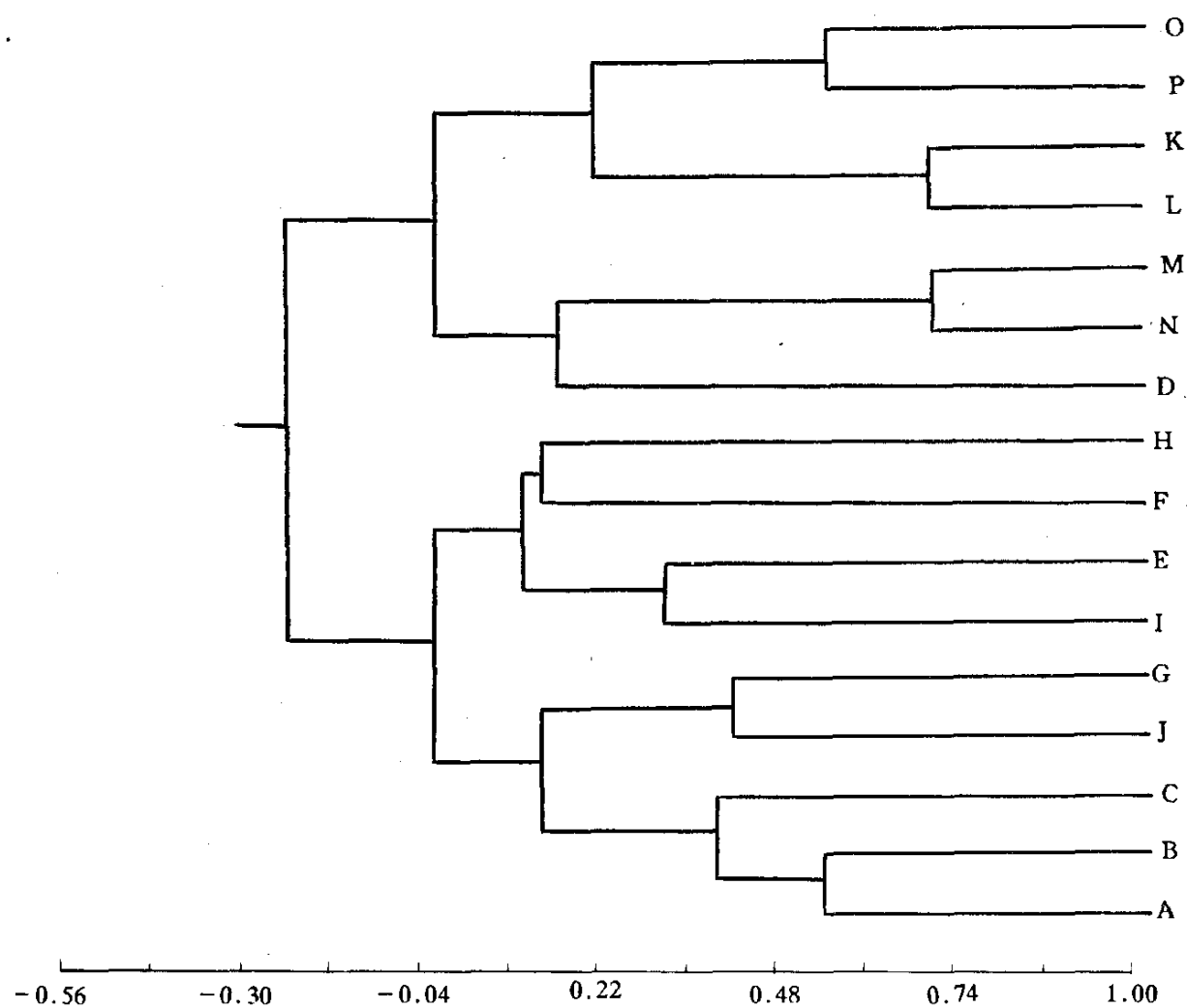


图 2 基于化学性状的Q分析树系图(相关系数, UPGMA)

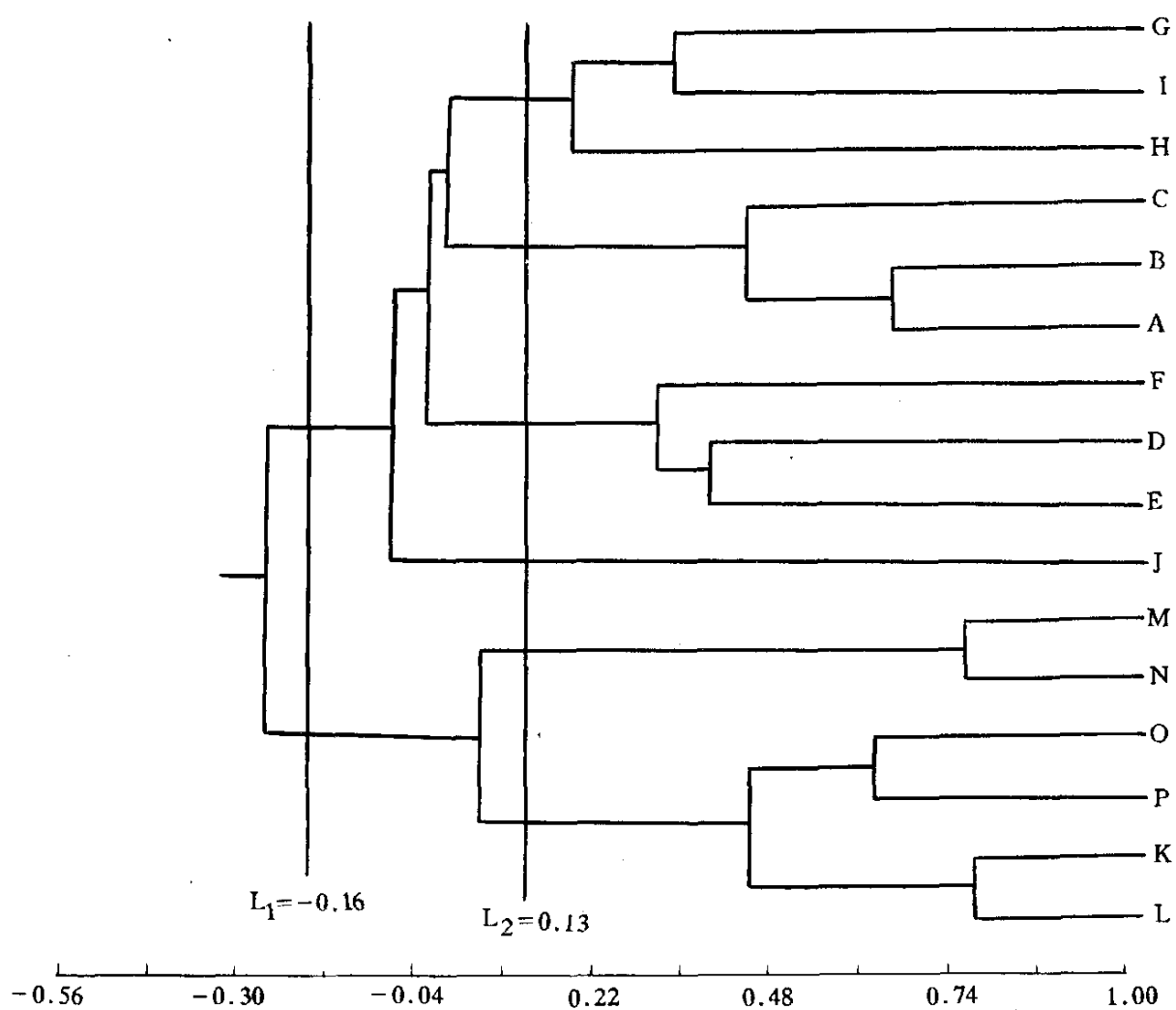


图 3 综合形态和化学性状的Q分析树系图(相关系数, UPGMA)

状进行聚类分析运算,得到图2所示的结果。对上述两个结果作一对比,发现槲蕨类植物(A-J)和水龙骨科植物(K-P)无论在形态学方面还是在化学方面都存在着明显差异,是平行发展的两个类群。

将30个形态学性状和30个化学性状综合,即基于60个性状进行聚类运算,所得结果如图3所示。根据结合曲线(3),在 $L1 = -0.16$ 处划一分界线,可将16个分类单位划分为两个类群:槲蕨类(A-J)和水龙骨科(K-P),由此可见,应将槲蕨类置于与水龙骨科平行和平等的位置,即独立成科—槲蕨科(Drynariaceae)。

在图3中自 $L2 = 0.13$ 处划一分界线,可将槲蕨类划分为四个类群,分别属于2个属:槲蕨属(A-I)和崖姜蕨属(J)。其中槲蕨属又可明显区分为3个组,分别命名为中华槲蕨组(Group Sinica):包括D(中华槲蕨),E(川滇槲蕨)和F(毛槲蕨);光叶槲蕨组(Group Propinqua):包括G(光叶槲蕨),H(滇南槲蕨)和I(硬叶槲蕨);槲蕨组(Group Drynaria):包括C(槲蕨),B(团叶槲蕨)和A(砾叶槲蕨)。

仔细分析图2所示的结果,可以发现以下几个问题:(1)分类单位D(中华槲蕨)与水龙骨科瘤蕨属(M,N)关系密切;(2)分类单位J(崖姜蕨)与槲蕨属的A(砾叶槲蕨)、B(团叶槲蕨)和C(槲蕨)关系密切;(3)槲蕨属内A、B、C、G(光叶槲蕨)关系较近,而E(川滇槲蕨)、F(毛槲蕨)、H(滇南槲蕨)和I(硬叶槲蕨)关系较近,形成明显二组。这与图1和图3所示的结果有着较大差别,体现了它们在化学成分方面的亲缘和演化关系。有关问题尚待进一步研究。

参考文献

- 1 周铜水,周荣汉,1994. 槲蕨根茎脂溶性成分的研究. 中草药,25(4):175-178
- 2 秦仁昌,1978. 中国蕨类植物科属的系统排列和历史来源. 植物分类学报,16(1):1-37
- 3 徐克学,李德中,我国人参属数量分类研究初试. 1983. 植物分类学报,21(1):34-42
- 4 Chandra S, 1982. A new concept of Drynarioid ferns. Fern Gez, 12(4):225-229
- 5 Crabbe J A, et al., 1975. A new generic sequence for the pteridophyte herbarium. Fern Gez., 11:141-162
- 6 Roos M C, 1985. Phylogenetic Systematics of the Drynarioideae (monograph) (Unpub.)

葡萄属植物超氧化物歧化酶(SOD) 同工酶的数量分析

张立平¹ 林伯年² 沈德绪²

(1 浙江农业大学生物科技系, 杭州 310029) (2 浙江农业大学园艺系, 杭州 310029)

MULTIVARIATE ANALYSIS OF SUPEROXIDE DISMUTASE ISOZYME DATA OF VITIS

Zhang Liping¹ Lin Bonian² Shen Dexu²

(1 Department of Bioscience and Biotechnology, Zhejiang Agriculture University, Hangzhou 310029)

(2 Department of Horticulture, Zhejiang Agriculture University, Hangzhou 310029)

摘 要 运用聚丙烯酰胺凝胶电泳技术, 结合主因子分析和聚类分析方法, 统计分析了不同起源的 33 个葡萄材料超氧化物歧化酶同工酶扫描数据。结果表明: 运用系统聚类的类平均法可将全部 33 个材料分为 6 大类群和 3 个特殊型, 葡萄超氧化物歧化酶类别与其地理分布相一致。

关键词 葡萄属; 超氧化物歧化酶; 因子分析; 聚类分析

Abstract Superoxide dismutase isozyme data of 33 materials of *Vitis* were analyzed with the technique of polyacrylamide gel electrophoresis and methods of factor analysis and cluster analysis. The results indicated that all materials were divided into 6 groups and 3 special types. The divergence of superoxide dismutase isozyme is in accordance with the geographic distribution of *Vitis*.

Key words *Vitis*; Superoxide dismutase isozyme; Factor analysis; Cluster analysis

自 1950 年 Markert 和 Moller 提出同工酶的概念以来, 同工酶的研究已应用于种群遗传。系统进化、杂交育种、个体发育、病理生理及环境保护等生物学的许多研究领域之中。利用同工酶进行分类研究, 多是以酶带的数目和迁移率变化进行简单的直观对比和归纳, 这样只考虑同工酶质(带数)的方面, 而未对同工酶量的影响进行分析, 难以反映出种间遗传上质的差异(成占锁等, 1987)。温奎等(1990)分析了粟过氧化物酶同工酶, 并将其研究结果进行因子分析及聚类分析, 提出了同工酶数量化分析的可能性。超氧化物歧化酶(简称 SOD)广泛存在于各种生物体内, 在高等植物的组织和器官中普遍存在其同工酶(罗广华等, 1983), 它可用于探讨植物衰老和逆境下的变化, 以窥探植物生命活动的规律(王福荣等, 1987), 用于进行种间 SOD 同工酶的比较或聚类分析, 以解决分类学上的疑难问题(吴航等, 1992)。

本研究利用葡萄不同种及品种成熟叶片的 SOD 同工酶电泳结果的扫描数据, 进行因子分析及聚类分析, 用以探讨同工酶电泳结果数量化分析的可行性。

1 材料和方法

1.1 材料: 从郑州果树所、上海农科院、杭州植物园等地引进不同产地的葡萄材料 33 个, 嫁接于浙江农业大学果园二年生巨峰砧木上, 从 1994 年春到 1996 年秋进行试验。材料名称见表 1。

1.2 方法：选取一次性梢的中部叶片，以预冷丙酮冰浴研磨至糊状，抽滤，丙酮粉保存于-20℃。取于述丙酮粉 0.25g，加 2ml 同工酶提取液(0.7mol/L Sucrose, 0.5mol/L Tris-HCl, 0.05mol/L EDTA, 0.1mol/L KCl, 0.006mol/l Vc, 0.006mol/L, L-Cysteine)研磨, 15,000g, 4℃ 离心 15min, 取上清液 50μl 进行聚丙烯酰胺凝胶垂直板状电泳, 分离胶浓度 10.5%, pH8.8; 浓缩胶浓度 3.75%, pH6.7, 凝胶制备及染色参见罗广华等(1983)方法。使用津岛 CS-930 双波长紫外薄层扫描仪在 590nm 波长下测得凝胶每条谱带酶的相对含量。

表 1 材料名称

1 秋葡萄 <i>V. romanetis</i> Roman et Caill	18 白香蕉
2 圆叶葡萄 <i>V. rotundifolia</i> Michx.	19 婴奥葡萄 <i>V. sdstricta</i> Hance.
3 宿晓红	20 瘤枝葡萄 <i>V. davidii</i> var. <i>gcynocarpa</i> (Gogn)Sarg
4 沙地葡萄 <i>V. rupestris</i> Scheele	21 三出婴奥 <i>V. adstricta</i> Hance var. <i>temata</i> W.T.wang
5 小果野葡萄 <i>V. balansaeana</i> Planch	22 复叶葡萄②
6 刺葡萄④ <i>V. davidii</i> Foex	23 俄罗斯康克
7 刺葡萄⑤	24 康拜儿
8 刺葡萄(实生)	25 香槟尼 <i>V. champini</i> Planch
9 河岸葡萄 <i>V. riparia</i> Michx	26 北醇
10 熊岳葡萄	27 美丽葡萄 <i>V. bellula</i> W.T. Wang
11 复叶葡萄④ <i>V. piasekii</i> Mamix	28 红瑞宝
12 燕山葡萄 <i>V. amurensis</i> Rupr. var. <i>yanshanensis</i>	29 甜冬葡萄 <i>V. cinera</i> Engel
13 玫瑰香	30 菱叶葡萄 <i>V. hancockii</i> Hance
14 华东葡萄 <i>V. pseudoreticulata</i> W.T. Wang	31 巨峰
15 毛葡萄 <i>V. quinquangularis</i> Rehd.	32 桑叶葡萄 <i>V. ficifolia</i> Bunge
16 广西毛葡萄	33 网脉葡萄 <i>V. wilsinae</i> Veith.
17 江西毛葡萄	

根据同工酶酶谱特征选取 9 个能反映材料间差异的同工酶谱带, 每一谱带酶含量作为一个指标, 组成 n 个指标, t 个分类单位的一矩阵(n=9, t=33)。利用四川省计经委计算中心多元统计分析组的因子分析程序, 在 AST486 主机上运行分析。找出使方差累积贡献率达 85% 以上时的因子数, 根据各材料主因子得分计算品种间遗传距离, 最后进行聚类分析。

2. 结果与分析

2.1 葡萄 SOD 同工酶的酶谱特征

在本实验条件下, 葡萄叶片 SOD 同工酶出现 12 条酶带, 一般品种酶带数在 6-9 条之间, 平均酶带 7-8 条, 依同工酶带有无, 全部供试葡萄种及品种表现出 19 种酶谱类型(图 1)。按迁移率大

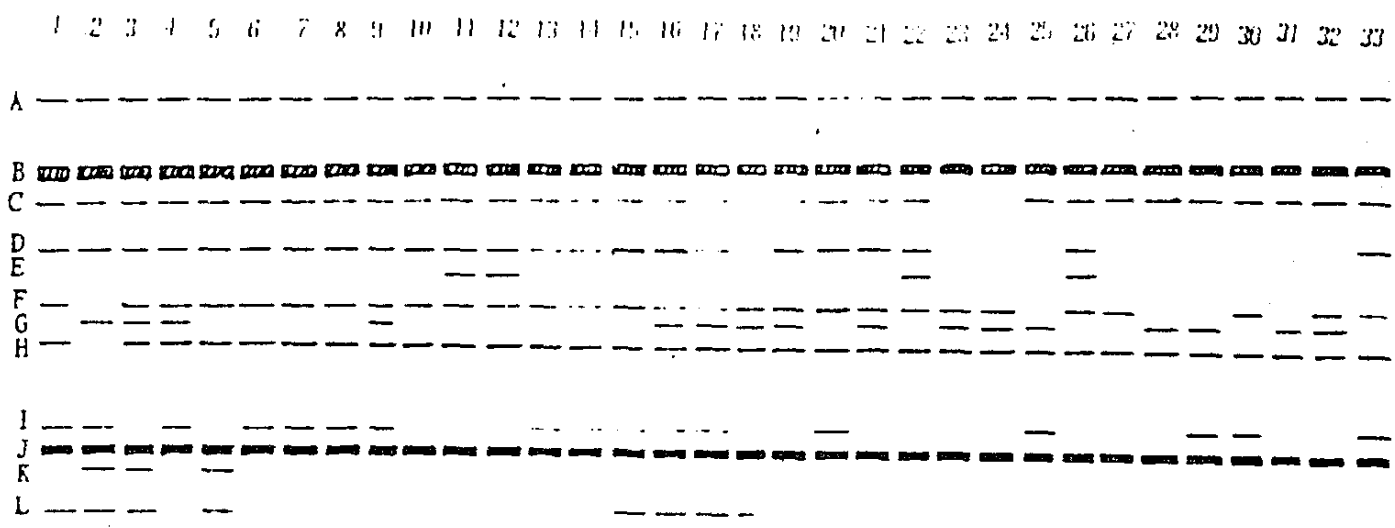


图 1 葡萄属SOD同工酶谱带模式图

小将同工酶分为三个酶活性区,慢带区的酶带迁移率最小 $R_f=0.33$,酶带数最少,仅有一条,种间无差异;中带区($R_f=0.34-0.46$)酶带数目地 4—6 条之间;快带区($R_f=0.5-0.62$)酶带活性最强,有 1—4 条酶带,不同种酶带的特异性主要反映在中带区的某些酶带差异上。以 12 条酶带作为葡萄 SOD 同工酶的代表性状,按迁移率从小到大,各酶带命名为 A、B、C、D、E、F、G、H、I、J、K、L,各酶带的特点是: A 酶带迁移率最小,是 1 条稳定的清细带;B 是 1 条浅色宽带;H 细重带;J 带最浓称为浓重带;C、D、E、F、G、I、K、L 是分类带。

A、B、J 带在所有葡萄分类群中都出现,可能是葡萄属 SOD 同工酶的基本酶带特征,H 带是真葡萄亚属的特有带,据此可进行圆叶葡萄和真叶葡萄的区分鉴定。

2.2 葡萄 SOD 同工酶的因子分析

实验选取 9 条酶带(A、B、C、D、F、G、H、I、J、K)的酶量作为原变量,33 个供试样品进行因子分析,原始测定数据经过标准化处理后计算相关系数矩阵,得出表 2,然后计算样本相关阵 R 的特征向量(表 3)及按大小顺序排列的特征根,贡献率及累积贡献率(表 4),由表 4 按特征值累积贡献率大于 85% 的原则,应选取 6 个主因子,且 6 个主因子所含量信息已占总体信息的 88.75%,6 个主因子因子载荷矩阵为表 5,如果对特殊因子忽略不计,则由表 5 得因子模型为:

$$\begin{aligned} y_1 &= 0.4043X_1 + 0.8801X_2 - 0.2336X_3 + 0.0832X_4 - 0.6133X_5 \\ &\quad - 0.0617X_6 - 0.0622X_7 - 0.5333X_8 + 0.4798X_9 \\ y_2 &= 0.0598X_1 + 0.0477X_2 + 0.5116X_3 + 0.6397X_4 + 0.0455X_5 \\ &\quad - 0.5002X_6 - 0.3213X_7 + 0.2271X_8 - 0.6161X_9 \\ y_3 &= -0.3411X_1 + 0.0901X_2 + 0.3773X_3 + 0.3332X_4 - 0.5389X_5 \\ &\quad + 0.1086X_6 + 0.7586X_7 - 0.2184X_8 - 0.4462X_9 \\ y_4 &= -0.2014X_1 + 0.1086X_2 - 0.5671X_3 + 0.5008X_4 - 0.2555X_5 \\ &\quad - 0.0734X_6 + 0.1335X_7 + 0.5268X_8 + 0.0302X_9 \\ y_5 &= -0.0487X_1 + 0.1718X_2 - 0.0888X_3 + 0.3756X_4 + 0.2756X_5 \\ &\quad - 0.1882X_6 + 0.495X_7 - 0.5247X_8 + 0.0046X_9 \\ y_6 &= 0.551X_1 + 0.1695X_2 + 0.2854X_3 + 0.1309X_4 + 0.1764X_5 \\ &\quad - 0.182X_6 - 0.2713X_7 + 0.0557X_8 + 0.1821X_9 \end{aligned}$$

表 2 相关系数矩阵 R

1.0000								
0.2381	1.0000							
0.0730	-0.1511	1.0000						
0.1247	0.2076	0.1380	1.0000					
-0.0865	-0.5026	0.0359	-0.1689	1.0000				
-0.4244	-0.0698	-0.0017	-0.1571	-0.3341	1.0000			
-0.3562	-0.4352	-0.0390	-0.0546	0.2511	0.1536	1.0000		
-0.0925	-0.4335	0.0104	0.0793	0.1706	-0.1946	0.1107	1.0000	
-0.0732	0.3420	-0.4483	-0.4153	-0.1236	-0.0969	-0.1078	-0.2329	1.0000

由表 5 看出,第一主因子 y_1 主要由 B 性状即稳定的浅宽带组成,第二主因子 y_2 主要由 J 组成,是一条浓重带;第三主因子由 F 的细重带 H 组成,这 4 条带代表比较稳定且酶量较大的性状,共同组成葡萄 SOD 同工酶的稳定特征。 y_4 、 y_5 的主要成分是分类带 C、D、I、G, y_6 的主要成分是慢带 A,这是个稳定程度居中的因子,后三个主因子所反映的是各类葡萄种的特性,因此称它们为易变特

征。同时也说明这 6 个主因子基本上概括了 9 个变量的全部信息。

表 3 特征向量

特征向量 指标变量	q1	q2	q3	q4	q5	q6	q7	q8	q9
X1	0.2677	0.4382	-0.2794	-0.2022	-0.0540	-0.7084	-0.0753	-0.0534	-0.3226
X2	0.5827	0.0355	0.0738	0.1090	0.1906	0.2179	0.0908	-0.7119	0.2073
X3	-0.1547	0.3806	0.3090	-0.5695	-0.0985	0.3669	0.4777	0.0403	0.1931
X4	0.0551	0.4759	0.2730	0.5029	0.4166	0.1683	-0.1210	0.3978	0.2613
X5	-0.4061	0.0338	-0.4414	-0.2566	0.3062	0.2268	-0.4488	-0.1952	0.4341
X6	-0.0409	-0.3721	0.6149	-0.0737	-0.2087	-0.2340	-0.2855	-0.0048	0.5445
X7	-0.4118	-0.2390	0.0890	0.1341	0.5490	-0.3488	0.5321	-0.1933	0.0612
X8	-0.3531	0.1689	-0.1789	0.5290	-0.5820	0.0717	0.2266	-0.2396	0.2869
X9	0.3177	-0.4583	-0.3655	0.0303	0.0051	0.2340	0.3548	0.4444	0.4199

表 4 主因子分析结果

No	特征值 CH	贡献率 LH	累计贡献率
1	2.2809	0.2534	0.2534
2	1.8071	0.2008	0.4542
3	1.4902	0.1656	0.6198
4	0.9917	0.1102	0.7300
5	0.8128	0.0903	0.8203
6	0.6050	0.0672	0.8875
7	0.5338	0.0593	0.9468
8	0.2588	0.0288	0.9756
9	0.2196	0.0244	1.0000

表 5 因子载荷矩阵 AA

F1	F2	F3	F4	F5	F6	
A	0.4043	0.0598	-0.3411	-0.2014	-0.0487	0.5510
B	0.8810	0.0477	0.0901	0.1086	0.1718	0.1695
C	-0.2336	0.5116	0.3773	-0.5671	-0.0888	0.2854
D	0.0832	0.6097	0.3332	0.5008	0.3756	0.1309
E	-0.6133	0.0455	-0.5389	-0.2555	0.2761	0.1764
F	-0.0617	-0.5002	0.1086	-0.0734	-0.1882	-0.1820
G	-0.6220	-0.3213	0.7586	0.1335	0.4950	-0.2713
H	-0.5333	0.2271	-0.2184	0.5268	-0.5247	0.0577
I	0.4798	-0.6161	-0.4462	0.0302	0.0046	0.1821

计算前 6 个正交因子得分, 结果差异很大, 说明参试葡萄属包含有不同种类。

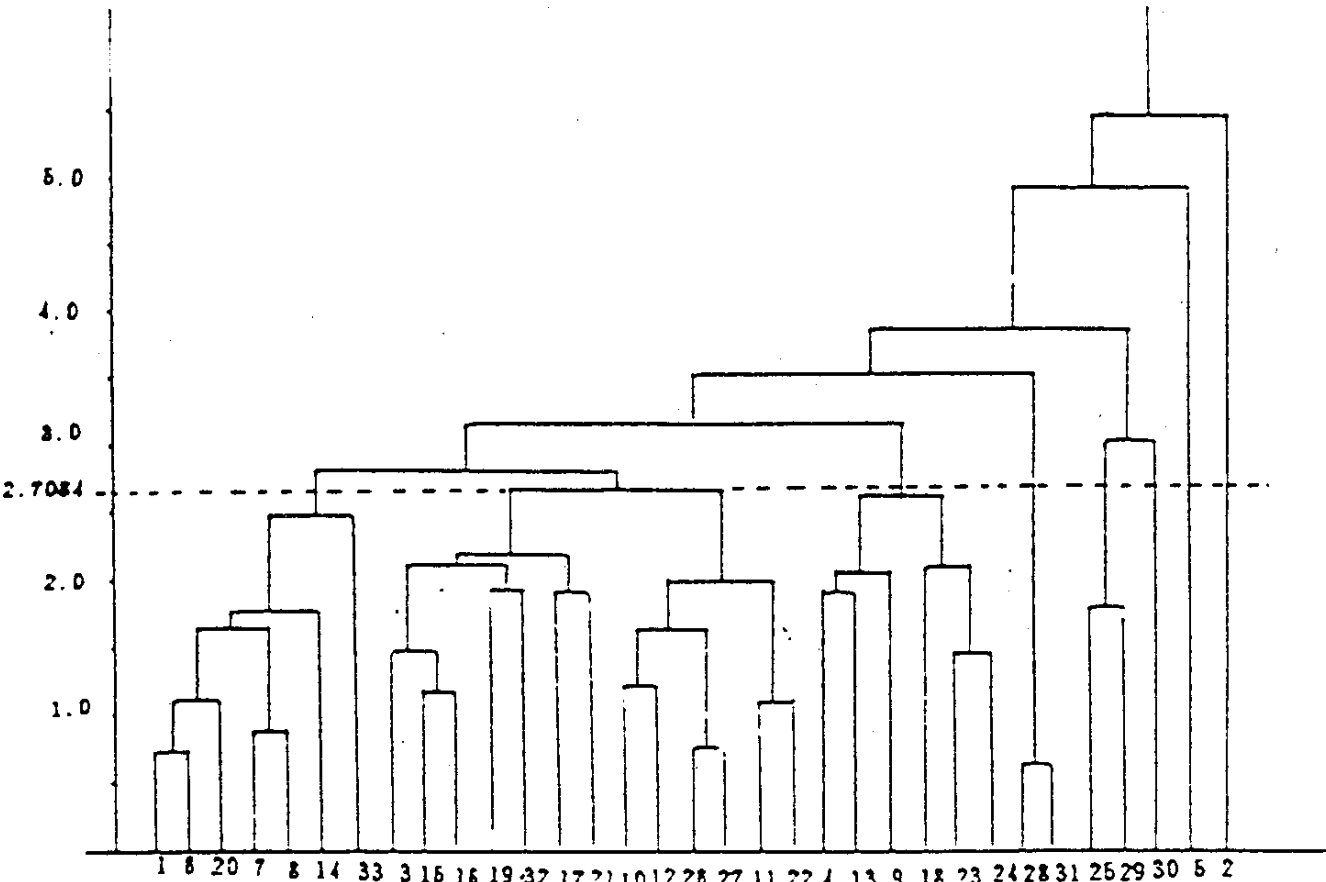


图 2 葡萄属SOD同工酶分析聚类树状图(横坐标代表不同的材料,各编码的样品名称见表1,纵坐标表示聚类水平)

2.3 葡萄属不同种同工酶分析的聚类分析

计算各材料的正交因子得分之间的欧氏距离,类平均法进行系统聚类得到供试材料在不同水平上并类过程的聚类图(图2)。

分析可见,当聚类水平 T 值(截距)选取不同标准时,聚类结果随之发生变化,确定较为适当的截距水平对分类研究有重要意义,而合适的截距值确定应取决于对种(类)的观察研究深度和对电泳测定的分析程度。根据目前国内研究葡萄属植物的资料,我们认为在葡萄属植物的聚类分析中,截距水平以 $T=2.7084$ 为宜,这样既能反映出种间的客观差异,同时又不致于分类过分繁琐。在 $T=2.7084$ 聚类水平处,可将供试 33 个材料聚为 6 个类群和 3 个独自为一类的特殊型。各类组成见表 6,由表 6 可看出,该分类结果与葡萄种的自然地理分布状况完全一致。第一类中包括秋葡萄、刺葡萄、瘤枝葡萄、华东葡萄及网脉葡萄,瘤枝葡萄在形态特征上与刺葡萄相近,只是刺葡萄小枝的刺在瘤枝葡萄上变为黑色的小瘤状突起, SOD 分析也表明它与刺葡萄亲缘关系较近,支持瘤枝葡萄是刺葡萄的一个变种的分类方法(王文采, 1979), 秋葡萄、华东葡萄、网脉葡萄并入刺葡萄类,这与它们的共同自然地理分布状况完全一致,这类群葡萄种类主要分布于我国的湖南、湖北、安徽等地。

第二类是毛葡萄类,宿晓红、婴奥葡萄和桑叶葡萄并入该类。分布于不同地区的两个毛葡萄,广西毛葡萄和江西毛葡萄肯有相同的酶谱类型,它们的形态特征也较相近,是同种的两个不同生态型, SOD 同工酶分析说明同种的不同生态型基因表达无差异。宿晓红是一个分布于我国江苏北部的古老酿酒葡萄品种,与毛葡萄、桑叶葡萄亲缘关系较近,这与它们具有共同的地理分布有关。

第三类包括有分布于我国华北地区的熊岳葡萄、燕山葡萄、北醇、复叶葡萄等,复叶葡萄和燕山葡萄亲缘关系较近,这与晁无疾的过氧化物同工酶分析结果一致(晁无疾等, 1990),这两葡萄种主要分布于我国华北地区,与华中和华南分布的华东葡萄和刺葡萄具有远的亲缘关系,说明了地理条件在物种形成中起着重要的作用。

第五类是日本培育的欧美杂交种红瑞宝和巨峰葡萄,两者亲缘关系十分相近。

第六类包括香槟尼和甜冬葡萄,二者均为美洲种葡萄,卷须连续着生,叶片较厚。

菱叶葡萄,小果野葡萄和圆叶葡萄各为独立一类群,菱叶葡萄可能是一种过渡形态,其叶片形态间于心脏形和卵圆形之间, SOD 同工酶分析把它列为独立的一类。圆叶葡萄染色体 $2n=40$, 与其它的葡萄种形态上存在着较大的差别,该种新梢节上无横隔膜,卷须不分叉,皮部密生皮孔,果皮厚、硬,叶圆形、无绒毛,扦插不生根, SOD 同工酶聚类分析将它列为一个特殊类,符合传统的分类方法。

表 6 类平均法聚类分析结果

类别	种及品种代号	材料名称
I	1, 6, 7, 14, 8, 33, 20	秋葡萄, 刺葡萄(♀), 刺葡萄(♂), 刺葡萄(实生), 华东葡萄, 网脉葡萄, 瘤枝葡萄
II	3, 15, 16, 19, 32, 17, 21	宿晓红, 毛葡萄, 广西毛葡萄, 婴奥葡萄, 桑叶葡萄, 江西毛葡萄, 三出婴奥
III	10, 12, 26, 27, 11, 22	熊岳葡萄, 燕山葡萄, 北醇, 美丽葡萄, 复叶葡萄(♀), 复叶葡萄(♂)
IV	4, 13, 9, 18, 23, 24	沙地葡萄, 玫瑰香, 河岸葡萄, 白香蕉, 俄罗斯康克, 康拜儿
V	28, 31	红瑞宝, 巨峰
VI	25, 29	香槟尼, 甜冬葡萄
VII	30	菱叶葡萄
VIII	5	小果野葡萄
IX	2	圆叶葡萄