

全国第十八次
YINGXING XUESHUYANTAOHUI LUNWENJI
银杏学术研讨会论文集

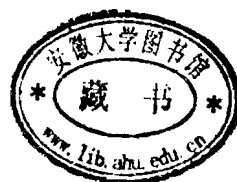
中国林学会银杏分会 安陆市林业局 编



中国林业出版社

全国第十八次
银杏学术研讨会论文集

中国林学会银杏分会 编
安陆市林业局



中国林业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

全国第十八次银杏学术研讨会论文集/中国林学会银杏分会, 安陆市林业局编.
-北京: 中国林业出版社, 2010. 12

ISBN 978-7-5038-6019-5

I. ①全… II. ①中…②安… III. ①银杏-学术会议-文集 IV. ①S664.3-53

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 241280 号

责任编辑: 何增明 张 华

出版 中国林业出版社 (100009 北京市西城区德内大街刘海胡同 7 号)

E-mail: cfphz@public.bta.net.cn 电话: (010) 83227584

发行 新华书店北京发行所

印刷 北京顺诚彩色印刷有限公司

版次 2011 年 3 月第 1 版

印次 2011 年 3 月第 1 次

开本 787mm × 1092mm 1/16

印张 19.5

字数 499 千字

印数 1 ~ 1000 册

定价 79.00 元

《全国第十八次银杏学术研讨会论文集》

编 委 会

- 顾 问：李正理 李 晔 王澄方 侯庆生 郭大孝
陈路旺 汤杨中 刘燕君 史继孔 褚生华
鞠章网
- 名誉主任委员：郑德明 徐 先 陈 鹏 林 协
- 主任委员：曹福亮
- 副主任委员：程水源 苏金乐 李登开 王义强 邓荫伟
李 群 彭方仁 李治民 葛成林
- 委 员：曹福亮 程水源 苏金乐 李登开 王义强
邓荫伟 李 群 彭方仁 李治民 汪贵斌
刑世岩 俞建国 赵洪亮 徐登奎 隋道庆
王 莉 宫玉臣 潘小平 葛成林 陈德贵
齐之尧
- 主 编：曹福亮 罗义金
- 副 主 编：汪贵斌 潘小平
- 编 辑 人 员：曹福亮 罗义金 汪贵斌 潘小平 郁万文
张往祥

前 言

首届中国银杏节暨全国第十八次银杏学术研讨会于2009年11月17~20日在湖北省安陆市隆重召开。来自湖北、江苏、山东、河南、陕西、北京、天津、四川、湖南、江西、浙江、安徽等12个省（直辖市）的500多名代表参加了会议。

大会在安陆市银杏广场举行了“首届中国银杏节”开幕仪式，中国林学会常务副秘书长李岩泉同志主持，中共安陆市委书记周先来同志致欢迎辞，国家林业局总工程师卓榕生同志致开幕辞，湖北省人大常委会副主任刘友凡同志、湖北省林业局党组成员、总工程师洪石同志分别讲话，进行了“湖北安陆古银杏国家森林公园”授牌仪式和盛大的文艺演出。会议期间，开展了银杏产品、作品的综合展览，包括银杏新产品、摄影艺术、漫画艺术和盆景艺术等内容。

大会组织参观了王义贞镇钱冲古银杏群落、杨家冲古银杏群落及南京林业大学银杏实验示范园，同时观光了红色景点新四军旧址。中国林学会银杏分会会长、南京林业大学校长曹福亮教授代表银杏分会理事会做大会工作报告，并作主题发言，报告总结了一年来取得的成绩，分析了存在的问题，提出了未来发展的思路和目标。大会共收到论文50多篇，论文整体水平较高，内容丰富，既着重银杏产业的开发与优化升级，又有银杏基础科学与应用基础研究。经过理事会学术委员会评审出优秀论文一等奖6篇，二等奖15篇，优秀奖22篇。会议采用主题报告、学术报告、自由发言、会后讨论等多种方式进行学术交流，收到了良好的效果。经充分地讨论，大会形成了以下几点共识：（1）以安陆发展银杏的模式为典范，带动全国银杏产区更多的市级、省级、国家级银杏森林公园的建设申报，推动银杏文化产业的发展；（2）以成立全国银杏产业联谊会为契机，配合国家林业产业化工程，引领银杏事业全面发展；（3）以大型企业为龙头，以深加工、精加工、综合开发为重点，市场营销为主线，推进银杏产业链的延伸与扩大；（4）加强银杏良种基因库建设，现有种植基地的管理，为高端银杏产品开发提供优良的种质资源；（5）进一步加强银杏分子生物学、遗传育种等基础研究工作，为银杏事业健康、持续、稳步发展和高技术产业的形成奠定坚实的基础。

编者

2010年11月

目 录

银杏基础研究

- 10 个叶籽银杏染色体核型分析 韩晨静 邢世岩 郭媛媛等 (2)
- 基于 EST 银杏光合作用相关基因表达分析 王义强 谭晓风 孙吉康等 (9)
- 银杏 EPSP 合酶的基因克隆及表达分析 程华 曹福亮 李琳玲等 (17)
- 转银杏查尔酮合成酶基因烟草叶片黄酮含量和成分的变化 ... 李琳玲 程华 许锋等 (27)
- 叶籽银杏叶生种子的形态特征 张 芳 邢世岩 韩晨静等 (36)
- 银杏雌配子体发育过程中养分形成与积累的研究 陆彦 王莉 潘焯等 (43)
- 银杏雄花的分析研究 章 霞 周宏根 游庆方 (51)
- 银杏雌花的形态建成 王頔 陆彦 金鑫鑫等 (56)
- Cd、Pb 对银杏根系离子微域分布影响初探 朱宇林 曹福亮 汪贵斌 (64)
- 天目山银杏品种资源多样性空间分布的初步研究 赵明水 周荣高 (70)

银杏培育技术

- “银杏栽培技术”解说词 侯九寰 皇甫桂月 (74)
- 泰兴银杏园调整种植结构的方法 史记国 王继东 蒋宝维 (83)
- 郟城县叶用银杏采种基地营建技术初探 宫玉臣 苏明洲 宗学美 (85)
- 不同银杏复合经营模式土壤肥力综合评价 汪贵斌 曹福亮 程鹏等 (88)
- 庐山三宝树之古银杏复壮观察实验初报 陈树英 陈树青 陈俊文等 (99)
- 银杏的耐盐性 齐之尧 李家玉 (104)
- 诱虫灯防治金龟子危害银杏叶成效初报 何仁东 (106)
- 银杏黄叶病的发生与防治 张敏 李广进 陈世品等 (109)
- 新村银杏虫情分析 颜世宏 刘艳喆 高建玲等 (112)
- 银杏 GAP 采叶园中对银杏茶黄蓟马的药效试验 李明光 魏海 高建玲等 (115)
- 银杏超小卷叶蛾生物学特性与防治的初步研究 高森 侯九寰 邓夫盛 (120)
- 银杏叶 GAP 生产基地质量控制关键技术探讨 苏明洲 李荣军 (123)
- 净现值法在银杏复合系统经济评价中的应用 陈雷 汪贵斌 曹福亮 (128)
- 银杏无公害栽培技术规程 许时钦 梅家东 许鹏等 (132)

银杏加工技术

- SOD 富硒银杏产品开发初探 颜世宏 宿恒胜 苑如萍等 (142)

国内外银杏叶提取物预防心肌缺血再灌注损伤的综述	黄志伟	(144)
银杏叶黄酮类化合物研究进展	周春华 陈 鹏 王 莉	(147)
银杏叶提取物预防和治疗老年痴呆症的研究和展望	姚渭溪	(161)
银杏营养贮藏蛋白的分离纯化技术研究	贾韶千 吴彩娥 杨剑婷等	(164)
银杏种仁中银杏酸的提取及组分研究	吴彩娥 潘红梅 范龚健等	(170)
白果蛋白质提取工艺研究	李莹莹 吴彩娥 杨剑婷等	(179)
白果蛋白质提取及 SDS-PAGE 分析	吴彩娥 李莹莹 杨剑婷等	(186)
不同方法测定白果中氰化物的研究	吴彩娥 杨剑婷 贾韶千等	(195)
白果蛋白过敏动物模型的试验研究	吴彩娥 杨剑婷 李莹莹等	(203)

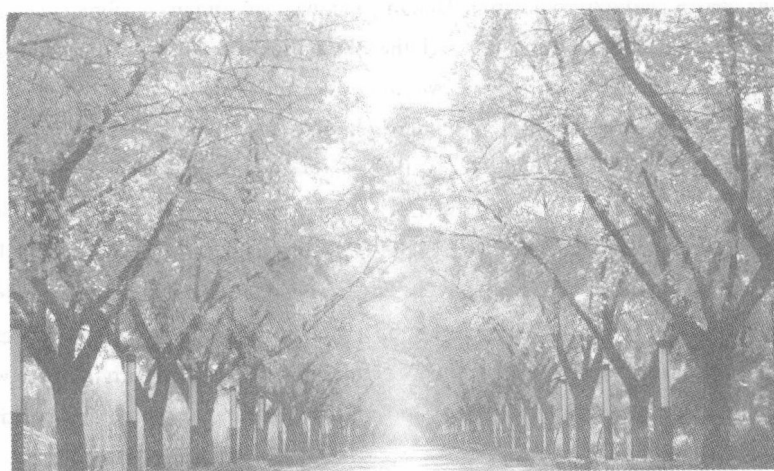
银杏产业

安陆市银杏绿化大苗产业化发展思路与探讨	潘小平 陈 俊	(218)
功能食品是银杏产业深加工开发的主导	夏建伟 马维新	(221)
狠抓科技创新 促进产业提升——郟城县银杏科技工作 30 年回眸	张贵平	(233)
近百年郟城银杏市场的变迁——银杏营销研究之一	侯九寰	(237)
当前郟城银杏市场发展概况——银杏营销研究之二	侯九寰	(241)
郟城县狠抓银杏中药现代化科技产业	侯九寰 邓夫胜 苏明洲	(245)
现代银杏还有野化的可能吗?	杨天秀	(248)
安陆古银杏资源保护及开发利用	潘小平 刘建军 靳 颢	(250)
银杏造园景观设计概论——兼论银杏景观设计学的建立	闫长智 侯九寰 高森等	(253)
中华之瑰宝 群树之桂冠	李建林	(257)
实现银杏产业可持续发展要坚持一个中心 面向两个市场做强三大产业依靠 四条保证	彭怀远	(263)

银杏文化

第一棵银杏引种到欧洲的历史透视	曲祚民	(266)
银杏西传第一人及“银杏描述”的研读	曲祚民	(269)
银杏的海外传播历史——基于分子证据	赵云鹏 闫小玲 Juraj Paule 等	(275)
浅论银杏的民族精神	唐孟杰 朱明全 丁怀德	(289)
人民期盼尽早确定中国国树	彭怀远	(292)
神圣而光荣的千秋伟业——加入中国林学会银杏分会实践活动回眸	丁怀德	(294)

银杏基础研究



10 个叶籽银杏染色体核型分析*

韩晨静 邢世岩 郭媛媛 张 芳 周继磊

(山东农业大学林学院, 山东泰安 271018)

摘要: 以幼叶为试材, 对来自河南、广西、云南、湖北、山东等 8 省(自治区)的 10 个叶籽银杏种质进行核型分析及倍性鉴定。结果表明: ①该 10 个种质的染色体数目均为 $2n = 2x = 24$; ②核型主要由中部着丝粒染色体(m)和近中部着丝粒染色体(sm)组成, 共有 2A、3A、2B 和 3B 四类核型; ③染色体长度组成中以中短(M_1)、中长(M_2)染色体为主, 稀有长(L)染色体; ④方差分析表明: SY_2 和 HB 的染色体长度比(3.97、1.87)及 GX_3 和 SY_2 的核型不对称系数、臂比值(68.65% 和 2.36, 62.14% 和 1.72)差异显著; ⑤WY 较原始, GX_3 的进化程度最高。本研究对核型与进化的关系进行了分析和探讨。

关键词: 叶籽银杏; 种质; 染色体; 核型

Analysis of Karyotype on Ten *Ginkgo biloba* var. *epiphylla* Mak. Germplasms

Han Chenjing Xing Shiyan Guo Yuanyuan Zhang Fang Zhou Jilei
(College of Forestry, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018)

Abstract: The karyotype and ploidy of the ten *Ginkgo biloba* var. *epiphylla* Mak. germplasms with the young leaves, which come from Henan, Guangxi, Yunnan, Hubei, etc. 8 provinces were analysed. The results showed that: ①the chromosome number of these ten germplasms was all for $2n = 2x = 24$; ②the karyotype was mainly composed two parts: median centromere chromosome (m) and nearly median centromere chromosome (sm); the karyotype can be divided into 4 types: 2A, 3A, 2B and 3B. ③ the relative length formulae on chromosome were main medium-short (M_1) and medium-long (M_2), long chromosome (L) rarely; ④ it can be seen from the Duncan's test that there were significant different between SY_2 and HB on length ratio, which were 3.97 and 1.87, respectively, as well as GX_3 and SY_2 on asymmetrical karyotype coefficient and arm ratio, which were 68.65%, 2.36 and 62.14%, 1.72, respectively, and the rest had no obvious difference. ⑤the WY germplasms was more originative, while the evolution extent of GX_3 was maximum. This study analysed and explored the relationship be-

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30671707 和 30872040)

E-mail: xingsy@sdau.edu.cn

tween karyotype and evolution.

Key words: *Ginkgo biloba* var. *epiphylla* Mak. ; Germplasms; Chromosome; Karyotype

银杏(*Ginkgo biloba* L.)原产我国,是著名的孑遗植物,俗称“活化石”。1891年, Shirai 首先发现了在叶片上着生胚珠的叶籽银杏(Shirai, 1891)。1927年,日本植物分类学家 Makino(牧野富太郎)首次把叶籽银杏定为一个变种: *Ginkgo biloba* L. var. *epiphylla* Mak., 并为后人引用(郭善基等, 1984; 彭日三, 1995)。1982年,董春耀在山东省沂源县发现的我国第一株叶籽银杏(郭善基等, 1984)。目前,我国已报道的叶籽银杏有 32 株(李保进, 2008)。

核型分析是探讨植物亲缘关系和系统演化的一种有效方法(梁国鲁等, 1999)。20 世纪上半叶,诸多学者对银杏染色体形态及性染色体进行了研究。Ishikawa(1910)最早发现银杏染色体为 $2n = 24$ 。Sax 和 Sax(1933)首次绘制了银杏雌配子体染色体图, Tanaka 等(1952)观察了雌雄株的染色体,但均未发现性染色体。1954年, Newcomer 和 Lee 在各自研究中分别发现了雌雄株银杏染色体的差异。陈瑞阳等(1993)以核型分析、C 带和 Ag-NOR 染色体技术对雌雄株进行研究,得出雄株简式为 $2n = 24 = 22A + ZZ$, 雌株简式为 $2n = 24 = 22A + WZ$ 。邢世岩等(2007)对中国、法国、美国等地 21 个银杏特异种质进行了核型分析,认为中国的“叶籽银杏”比日本的“叶籽银杏”更原始。本研究以河南、广西、云南、湖北、山东等 8 省(自治区)的 10 株叶籽银杏为试材,对其染色体核型及倍性水平进行观察,同时对各种质间的亲缘关系及进化趋势进行研究。

1 材料和方法

材料取自山东农业大学叶籽银杏种质资源库,共 10 个种质(表 1)。

表 1 叶籽银杏种质的来源及特征

Tab. 1 Sources and characters of *Ginkgo biloba* var. *epiphylla* Mak. germplasms

编号 code	来源 sources	树高(m) height	胸径(cm) DBH	冠幅(m×m) crown width	树龄(a) tree age
DZ	河南邓州	18.00	105.00	20.20×22.50	大于 1000
GX ₃	广西兴安	12.50	64.00	10.00×11.50	80
HB	湖北安陆	27.60	214.00	26.90×27.50	1040
SM	福建三明	17.59	120.00	15.00×16.00	100
SY ₁	沂源叶籽银杏实生子代(表达)	19.00	45.00	15.00×12.00	40
SY ₂	沂源叶籽银杏实生子代(没表达)	20.00	47.00	11.00×18.00	40
TC	山西太谷	24.00	80.00	15.00×15.00	大于 300
WY	四川万源	30.00	150.00	11.00×13.00	大于 300
TC ₁	云南腾冲	13.50	102.00	5.00×6.00	300
YZ ₁	山东沂源	25.00	102.20	20.50×16.30	800

2007 年从嫁接的 2 年树上采集幼叶立即浸于饱和对二氯苯溶液中预处理 8h, 之后用卡诺固定液固定 12~24h, 1mol/L 盐酸解离 10min, 改良卡宝品红染色、压片。在 Nikon E 200

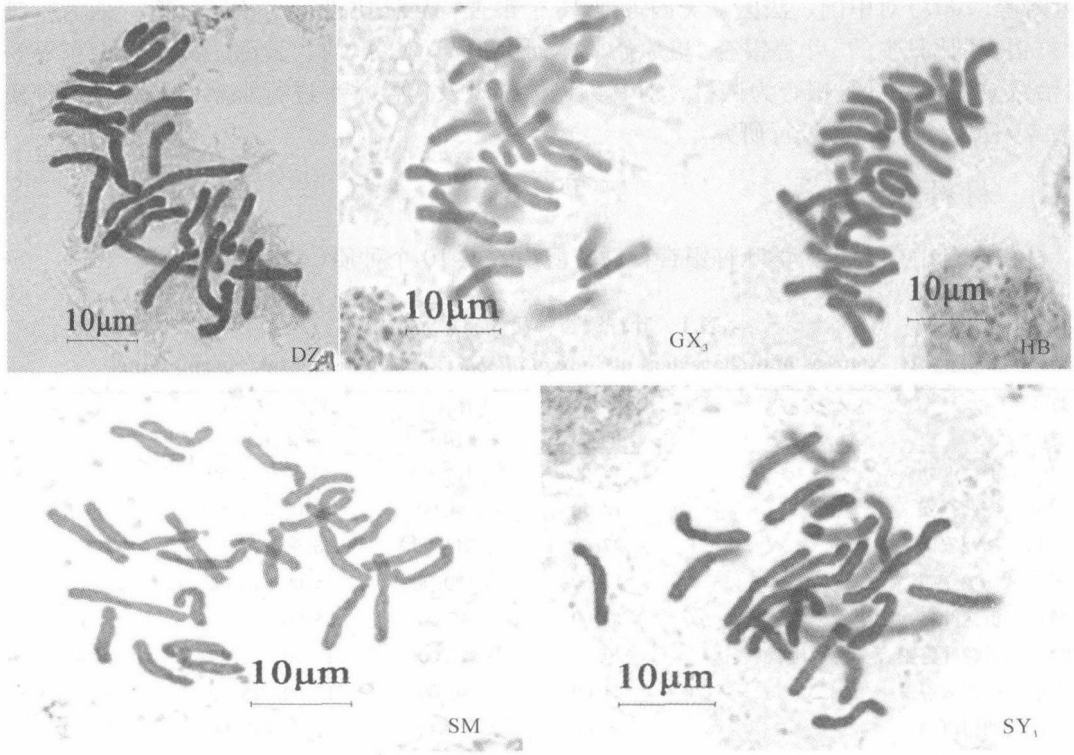
光学显微镜 10 × 40、10 × 100 下观察处于分裂中期的染色体形态并照相。每个材料至少观察 30 个细胞，以 5 个典型细胞的平均值得出核型的数值。

核型分析采用 Levan 等(1964)两点四区系统法，核型分类依据 Stebbins(1971)的对称性标准及李懋学等(1985)的核型分析标准，染色体相对长度组成用 Kuo 等(1972)方法计算与命名，即染色体相对长度系数(index of relative length, IRL) > 1.26 为长染色体(L)，1.01 < IRL < 1.25 为中长染色体(M₂)，0.76 < IRL < 1.00 为中短染色体(M₁)，IRL < 0.76 为短染色体(S)，共 4 种类型。核型不对称系数(asymmetrical karyotype coefficient, As. K. c)按 Arano 等(1963; 1975)方法计算，即 As. K. c(%) = 长臂总长/全组染色体总长。染色体长度比 = 最长/最短；臂比 = 长臂/短臂。分别以长度比(LR)和核型不对称系数(As. K. c)为纵坐标，以平均臂比(MAR)为横坐标做二维进化趋势图。

2 结果与分析

2.1 染色体倍性观察

经观察发现，供试 10 个叶籽银杏的染色体数均为 $2n = 2x = 24$ (图 1)，这与前人所研究的银杏的染色体数(Ishikawa, 1910; 陈学森等, 1996)及邢世岩等(2007)研究的叶籽银杏的染色体数均一致，银杏在其漫长的演化过程中，染色体数目并没有改变。



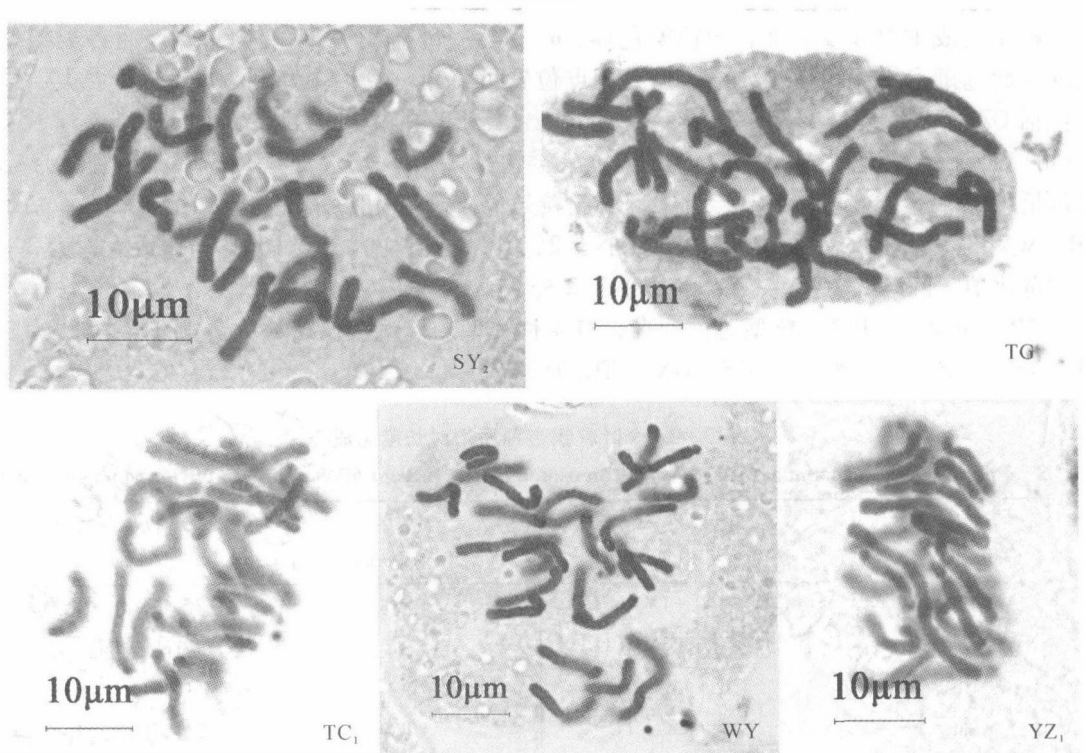


图 1 10 个叶籽银杏的染色体数

Fig. 1 The karyotype of ten *Ginkgo biloba* var. *epiphylla* germplasm

2.2 核型分析

10 个种质的核型参数如表 2 所示，叶籽银杏染色体相对长度范围为 2.09 ~ 7.05。以中短和中长染色体为主，仅 DZ 和 TC₁ 具 2 对长染色体，其余均具 1 对长染色体(表 3)。

表 2 10 个叶籽银杏种质核型比较

Tab. 2 Comparison of karyotypes in ten *Ginkgo biloba* var. *epiphylla* Mak. germplasm

种质 germplasm	相对长度范围 the range of relative length	染色体 长度比 (最长/最短)	平均臂比 arm ratio (mean)	核型公式 karyotype formulae	核型类型 karyotype type	核型不对 称系数 asymmetrical karyotype coefficient(%)
DZ	3.01 ~ 7.05	2.34	2.22	$2n = 24 = 4m + 20sm$	3B	67.28
GX ₃	3.00 ~ 7.03	2.36	2.36	$2n = 24 = 2m + 20sm + 2st$	3B	68.65
HB	3.25 ~ 6.09	1.87	2.29	$2n = 24 = 4m + 18sm + 2st$	3A	67.80
SM	3.24 ~ 6.34	1.96	2.16	$2n = 24 = 2m + 22sm$	3A	66.41
SY ₁	3.05 ~ 6.24	2.03	2.06	$2n = 24 = 2m + 22sm$	2B	66.90
SY ₂	2.09 ~ 6.97	3.97	1.72	$2n = 24 = 12m + 12sm$	2B	62.14
TC	2.80 ~ 6.50	2.33	2.10	$2n = 24 = 6m + 18sm$	2B	66.11
WY	3.32 ~ 6.52	1.96	1.94	$2n = 24 = 8m + 16sm$	2A	64.47
TC ₁	2.46 ~ 6.79	2.76	2.10	$2n = 24 = 4m + 16sm + 4st$	3B	65.40
YZ ₁	2.74 ~ 6.64	2.42	1.96	$2n = 24 = 12m + 10sm + 2st$	2B	64.49

核型组成主要涉及中部着丝粒染色体(m)和近中部着丝粒染色体(sm)。而各类核型均表现在此基础上不同程度的差异。据着丝点位置可将10个叶籽银杏种质分为2大类:第一类包括DZ、SM、SY₁、SY₂、TG及WY,其染色体形态的相似之处在于均具中部着丝粒染色体(m)和近中部着丝粒染色体(sm);第二类包括GX₃、HB、TC₁、YZ₁,其染色体形态组成包括中部着丝粒染色体(m)、近中部着丝粒染色体(sm)和近端部着丝粒染色体(st)。HB、SM、WY的染色体长度比(最长/最短)小于2,其余种质均大于2,其中SY₂最大,为3.97。平均臂比值:除SY₂、WY、YZ₁的值小于2外,其余种质均大于2。

按照Stebbins(1971)核型对称标准,有4种类型的核型:仅WY为2A,HB、SM为3A,SY₁、SY₂、TG、YZ₁为2B,DZ、GX₃、TC₁为3B。

表3 10个叶籽银杏种质相对长度组成

Tab. 3 Relative length formulae (RLF) on chromosome of ten *Ginkgo biloba* var. *epiphylla* Mak. germplasm

种质 germplasm	相对长度组成 RLF	种质 germplasm	相对长度组成 RLF
DZ	1S + 8M ₁ + 1M ₂ + 2L	SY ₂	2S + 4M ₁ + 5M ₂ + 1L
GX ₃	1S + 7M ₁ + 3M ₂ + 1L	TG	7M ₁ + 4M ₂ + 1L
HB	7M ₁ + 4M ₂ + 1L	WY	8M ₁ + 3M ₂ + 1L
SM	8M ₁ + 3M ₂ + 1L	TC ₁	2S + 4M ₁ + 4M ₂ + 2L
SY ₁	1S + 7M ₁ + 3M ₂ + 1L	YZ ₁	1S + 6M ₁ + 4M ₂ + 1L

2.3 核型指标邓肯检验

对叶籽银杏各种质的核型各指标进行邓肯检验发现:染色体长度比(最长/最短)中SY₂最大(3.97),HB最小(1.87),两者差异明显,其余种质差异不大;GX₃的核型不对称系数和臂比值分别为68.65%和2.36,而SY₂则分别为62.14%和1.72,两者差异明显,其他种质差别不大。

表4 10种叶籽银杏种质核型指标邓肯检验

Tab. 4 The Duncan's test of karyotypes in ten *Ginkgo biloba* var. *epiphylla* Mak. germplasm

种质 germplasm	最长/最短 L/S	臂比值 arm ratio	核型不对称系数 AKC(%)	种质 germplasm	最长/最短 L/S	臂比值 arm ratio	核型不对称系数 AKC(%)
DZ	2.34AB	2.22A	67.28AB	SY ₂	3.97A	1.72B	62.14C
GX ₃	2.36AB	2.36A	68.65A	TG	2.33AB	2.10AB	66.11AB
HB	1.87B	2.29A	67.80AB	WY	1.96B	1.94AB	64.47BC
SM	1.96B	2.16A	66.41AB	TC ₁	2.76AB	2.10AB	65.40ABC
SY ₁	2.03B	2.06AB	66.90AB	YZ ₁	2.42AB	1.96AB	64.49BC

2.4 核型进化趋势分析

Stebbins(1971)认为,核型不对称性同植物体某些器官形态上的特化或专化有一定的联

系,可反映核型或植物的进化程度。长度比(LR)和平均臂比(MAR)能够反应不同种质间核型的不对称性,两者越大则其核型越不对称,即在分别以长度比(LR)和核型不对称系数(AKC)为纵坐标,以平均臂比为横坐标的二维进化趋势图中,越偏右上方的种质其核型不对称性越高,进化程度有高的趋势。

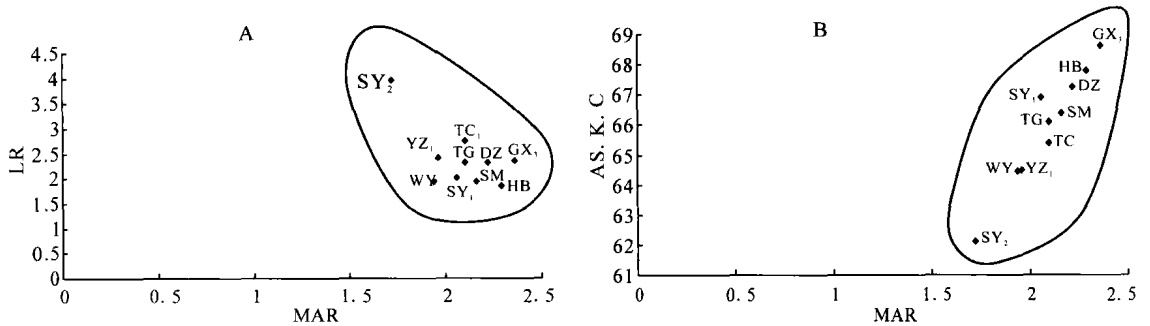


图2 叶籽银杏各种质染色体核型进化趋势

Fig. 2 Evolution trend of chromosome karyotype in *Ginkgo biloba* var. *epiphylla* Mak. germplasms

从二维进化趋势图(图2A)看出:SY₂是沂源叶籽银杏实生子代中没表达出叶生胚珠性状种质,最为特殊,独为一类。从图A、B中均可看出,叶籽银杏中,GX₃的进化程度最高,其次是DZ、HB,WY的进化程度最低,即较原始,其次是YZ₁。

3 结论与讨论

该10个种质的叶籽银杏的染色体数均为 $2n = 2x = 24$,未发现染色体非整倍和多倍体,这与Ishikawa(1910)、陈学森等(1996)所描述的银杏及邢世岩等(2007)对叶籽银杏的观察结果一致。证明这一物种的遗传相对稳定。可见,叶籽银杏的表型变异并非是染色体数目不同所致。

1931年,Levitzky最先根据他对毛茛科翠雀族(*Hell eboreae*)的研究,提出核型对称与不对称的概念,随后,Stebbins(1971)丰富和发展了这一概念。他们的基本观点是:核型进化的基本趋势是由对称向不对称发展的,处于比较古老或原始的植物,大多具有较对称的核型(李懋学和张赞平,1996)。银杏同其他裸子植物核型比较,银杏较苏铁进化,但比松柏类原始(Tanaka,1980)。王伏雄(1983)在裸子植物形态解剖中也得出了相同的结论。因此,该供试材料中WY最为原始,核型类型为2A,而其余种质集中在3A、2B和3B;同时从进化趋势图上也可以看出:WY的叶籽银杏进化程度最低,广西兴安(GX₃)的进化程度最高。邢世岩等(2007)认为中国叶籽银杏和日本叶籽银杏的核型基本一致,均为 $4m + 8sm + 12st$ 。本实验中10个叶籽银杏种质中,仅GX₃、HB、TC₁、YZ₁4个种质具有3种形态的染色体m、sm、st,且核型公式不一;其余种质仅具m和sm。

参考文献

- [1] Shirai M. Abnormal Ginkgo tree[J]. Bot. Mag. Tokyo. 1891, 5(56): 341-342(in Japanese).
- [2] 郭善基,李健.沂源县织女洞的叶籽银杏[J].山东林业科技,1984,(2):24-25.

- [3] 彭日三. 叶籽银杏[J]. 甘肃林业科技, 1995, 20(1): 58 - 60.
- [4] 李保进. 叶籽银杏 matK 和 ITS 序列分析及系统发育研究[J]. 山东农业大学硕士论文. 2008.
- [5] 梁国鲁, 任振川, 阎勇等. 四川 8 个枇杷品种染色体变异研究[J]. 园艺学报, 1999, 26(2): 71 - 76.
- [6] Ishikawa M. Ueber die zahl der chromosomen von *Ginkgo biloba* L. [J]. Bot Mag (Tokyo), 1910, 24: 225 - 226.
- [7] Sax K and Sax HJ. Chromosome number and morphology in the conifers. J. [J]. Arnold Arboretum, 1993, 14: 356 - 375.
- [8] Tanaka N, Takemasa N Sinoto Y. Karyotype analysis in gymnospermae. I. Karyotype and chromosome bridge in the young leaf meristem of *Ginkgo biloba* L. [J]. Cytologia, 1952, 17: 112 - 123.
- [9] Newcomer EH. The karyotype and possible sex chromosome of *Ginkgo biloba*[J]. Amer. J. Bot., 1954, 542 - 545.
- [10] Lee L. L. Sex chromosomes in *Ginkgo biloba*[J]. Amer. J. Bot., 1954, 41: 545 - 549.
- [11] 陈瑞阳主编. 中国主要经济植物染色体图谱: 第一册, 中国果树及其近缘植物染色体图谱[M]. 北京: 万国学术出版社, 1993.
- [12] 邢世岩, 高进红, 姜岳忠等. 银杏特异种质核型进化趋势[J]. 林业科学, 2007, 43(1): 21 - 27.
- [13] Levan A, Fredgak, Sandberg A A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes [J]. Hereditas, 1964, 52: 201 - 220.
- [14] Stebbins G L. Chromosal evolution in higher plants. London: Edward Arnold Ltd., 1971: 87 - 89.
- [15] 李懋学, 陈瑞阳. 关于植物核型分析的标准化问题[J]. 武汉植物学研究, 1985, 3(4): 297 - 302.
- [16] Kuo S R, Wang T T, Huang T C. Karyotype analysis of some formosan gymnosperms[J]. Taiwan, 1972, 17(1): 66 - 80.
- [17] Arano H. Cytological studies in subfamily Carduoideae (Compositae) of Japan [J]. IX Bot Mag (Tokyo), 1963, 76: 128 - 140.
- [18] Arano H, Saito H. Cytological studies in family Campulaceae II: Karyotype in *Adenophora*(I) [J]. La Kromosomo, 1975, 99: 3072 - 3081.
- [19] 陈学森, 邓秀新, 章文才等. 中国银杏品种资源染色体数目及核型研究初报[J]. 华中农业大学学报, 1996, 15(6): 590 - 594.
- [20] 李懋学, 张赞平编著. 作物染色体及其研究技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 1993, 19 - 20.
- [21] Tanaka R. C banding treatment for the chromosomes of some gymnosperms[J]. Bot mag, 1980, 93: 167 - 170.
- [22] 王伏雄, 陈祖铿. 银杏胚胎发育的研究——兼论银杏目的亲缘关系[J]. 植物学报, 1983, 25(3): 199 - 206.

基于 EST 银杏光合作用相关基因表达分析

王义强¹ 谭晓风² 孙吉康¹ 周小慧¹ 邢伟一¹ 艾斌凌¹

(¹ 中南林业科技大学生命科学与技术学院, 湖南长沙 410004)

(² 中南林业科技大学经济林国家林业局重点实验室, 湖南长沙 410004)

摘要: 以成熟银杏雌性叶为材料构建 cDNA 文库, 随机挑取 2000 个克隆进行 3' 端测序, 并将所得序列与核酸数据库进行同源性比较。结果显示, 银杏叶组织与能量代谢相关的基因 ESTs 为 130 条, 其中光合作用基因 ESTs 为 97 条, 占总数的 75%。与能量贮藏相关的基因主要有: 核酮糖二磷酸羧化酶/加氧酶 (RuBisCO) 小亚基, 核酮糖二磷酸羧化酶/加氧酶活化酶 (RA), 光系统亚单位 I, PSI 反应中心亚单位, PSII 捕光叶绿素 a/b 结合蛋白, PSI 叶绿素 a/b 结合蛋白。与能量释放相关的基因主要有: 3-羟甲基戊二酸单酰 CoA 合酶, 磷酸甘油醛脱氢酶 ESTs, 乙醇酸氧化酶 (光呼吸途径的关键酶)。其中, RuBisCO 基因表达相当丰富, 其中 30 个克隆子的 EST 序列与落叶松 (*Larix laricina*) RuBisCO 同源。这些结果为揭示银杏光合作用过程中的基因表达和生理过程提供了科学依据。

关键词: 银杏叶; 光合作用; EST 文库; 表达基因

植物光合作用是一切生命的物质基础和能量源泉, 它通过光反应和暗反应两个阶段完成, 同时伴随光呼吸过程^[1]。本文以中国银杏雌树成熟叶为材料成功地构建了 cDNA 文库, 在此基础上经过大量测序和序列分析, 对光合作用相关基因的表达进行了鉴定, 以期分离克隆相关基因进行进一步研究奠定了理论和技术基础。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

成熟叶来源于湖南银杏梅核品种优良单株。于 8 月下旬当银杏叶完全成熟、果实接近成熟时, 在树冠的中部采集无病虫害危害的正常发育叶片, -70℃ 超低温保存, 作为建库材料。

1.2 方法

1.2.1 银杏叶的 mRNA 提取

取 -70℃ 超低温保存的银杏叶样, 在液氮中研磨成粉末状, 加入变性裂解液裂解细胞, 抽提出总 RNA; 采用 Oligotex mRNA midi kit 从总 RNA 中分离纯化出含有 PolyA 的 mRNA^[2, 3]。

1.2.2 cDNA 文库构建

mRNA 分离纯化后, 在 SuperScript II - RT 反转录酶和其他酶的作用下合成第一链 cDNA 和第二链 cDNA; 经双链末端补平、加接头、酶切后, 回收 cDNA; 然后将 cDNA 片段与载体 pBluescript II 连接; 最后将重组 cDNA 转入大肠杆菌菌株 DH10B 中, 构建成银杏叶 cDNA

文库^[4, 5]。

1.2.3 EST 文库构建

从 cDNA 文库中随机挑选了 2000 个阳性克隆穿刺培养, 进行 3' 端测序, 构建 EST 文库^[5]。测序单位为北京华大基因研究中心。

1.2.4 生物信息学分析

采用 NCBI 的 BLAST 软件对所测核苷酸序列与 GenBank 中的非冗余数据库 (non-redundant database, NR) 比对。这一数据库是去除 GenBank、EMBL 和 DDBJ 中所有相同核酸序列整合后获得的最为全面的已知基因的数据库, 其中还包括部分基因组的序列, 同时参照 EST、STS、GSS 等数据库。重点对黄酮类合成相关功能基因进行同源性比较^[6]。

2 结果与分析

2.1 银杏叶中表达的光合作用相关基因

结果显示, 银杏叶组织与能量代谢相关的基因 ESTs 为 130 条, 其中光合作用基因 ESTs 为 97 条, 占总数的 75%。与能量贮藏相关的基因主要有: 核酮糖二磷酸羧化酶/加氧酶 (RuBisCO) 小亚基 ESTs 24 条, 核酮糖二磷酸羧化酶/加氧酶激活酶 (RA) ESTs 5 条, 光系统亚单位 I ESTs 6 条, PSI 反应中心亚单位 ESTs 3 条, PSII 捕光叶绿素 a/b 结合蛋白 ESTs 19 条, PSI 叶绿素 a/b 结合蛋白 ESTs 10 条。与能量释放相关的基因主要有: 3-羟甲基戊二酸单酰 CoA 合酶 ESTs 4 条, 磷酸甘油醛脱氢酶 ESTs 3 条, 乙醇酸氧化酶 (光呼吸途径的关键酶) ESTs 3 条。其中, RuBisCO 基因表达相当丰富, 其中 30 个克隆子的 EST 序列与落叶松 (*Larix laricina*) RuBisCO 同源。

2.2 银杏叶中光反应相关的基因表达

光反应发生在植物细胞叶绿体的基粒片层, 从光合色素吸收光能激发开始, 经过电子传递, 水的光解, 最后是光能转化成化学能, 以 ATP 和 NADPH 的形式贮存。光反应包括 2 个步骤: (1) 光能的吸收、传递和转换的过程 (原初反应); (2) 电能转变为活跃的化学能的过程 (电子传递和光合磷酸化)。

从实验分析中我们发现, 银杏成熟叶光反应相关的基因大量表达, 这些基因主要有 PSII 捕光叶绿素 a/b 结合蛋白、放氧复合体蛋白、质体蓝素 (PC)、PSI 捕光叶绿素 a/b 结合蛋白、PSI 反应中心亚单位、铁硫蛋白、铁氧蛋白还原酶、ATP 合成酶等 (表 1)。

2.2.1 PSII 捕光叶绿素 a/b 结合蛋白

PSII 捕光叶绿素 a/b 结合蛋白在银杏叶中表达最为丰富, 共获得 19 个克隆子, 其中 18 个克隆子与银杏 PSII 捕光叶绿素 a/b 结合蛋白高度同源, 相似性为 99%; 另 1 个克隆子与长白松 (*Pinus sylvestris*) 捕光复合物蛋白 *lhcb5* 同源, 相似性为 66%, 说明此克隆子是 PSII 捕光叶绿素 a/b 结合蛋白亚单位,

2.2.2 放氧复合体蛋白

银杏叶放氧复合体蛋白获得了 4 个相关单体, 分别是 33kD 蛋白前体、放氧增强蛋白、放氧增强蛋白 1 前体、放氧增强蛋白 3-2 前体。2 个克隆子与马铃薯 (*Solanum tuberosum*) 33kD 蛋白前体同源性高; 放氧增强蛋白、放氧增强蛋白 1 前体、放氧增强蛋白 3-2 前体均仅有 1 个克隆子, 分别与烟草 (*Nicotiana tabacum*)、木榄 (*Bruguiera gymnorrhiza*)、芜菁 (*Brassica rapa*) 的相应基因同源^[7]。