

薏苡属(*Coix* L.) 2种 1变种的遗传多样性 及亲缘关系的初步分析*

马建霞 潘泽惠 刘心恬 於虹

江苏省植物研究所, 南京 210014
中国科学院

摘要 利用垂直板型聚丙烯酰胺凝胶电泳技术, 检测了薏苡属(*Coix* L.) 2种 1变种: 薏苡(*Coix lacryma-jobi* L.) 6个居群、念珠薏苡(*C. lacryma-jobi* var. *maxima* Makino) 3个居群和薏米(*C. chinensis* Tod.) 2个居群共 11个居群 5个酶系统 6个位点上 9个等位基因的分布情况, 结果表明: 薏苡、念珠薏苡和薏米的遗传多样性水平普遍较低, 每个位点等位基因平均数(A)分别为 1.2, 1.1 和 1.2; 多态位点百分数(P)分别为 16.7, 11.3 和 16.7; 平均期望杂合度(He)分别为 0.06, 0.03 和 0.07。聚类分析不能从遗传上将以上的 2种 1变种区分开。

关键词 等位酶; 薏苡属; 居群; 遗传多样性

Analysis of genetic diversity and taxonomic relations among two species and one variety of *Coix* L. Ma Jianxia, Pan Zehui, Liu Xintian, Yu Hong (Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014), *J. Plant Resour. & Environ.* 1999, 8(4): 11~16

Allozyme variation at 6 loci encoding 5 enzymes was examined in 6, 3 and 2 populations across the ranges of *Coix lacryma-jobi* L., *C. lacryma-jobi* var. *maxima* Makino and *C. chinensis* Tod., respectively, using vertical slab polyacrylamide gel electrophoresis. The result indicated that all three species are genetically depauperate in their population: mean number of alleles per locus (A) is 1.2, 1.1 and 1.2; percentage of loci polymorphic (P) is 16.7, 11.3 and 16.7; mean expected heterozygosity (He) is 0.06, 0.03 and 0.07, respectively. Cluster analysis indicated that three species can not be distinguished each other conspicuously.

Key words allozyme; *Coix* L.; population; genetic diversity

薏苡属(*Coix* L.) 全世界约 10 种, 主要分布在东南亚地区。我国薏苡属植物资源丰富, 有 5 种 2 变种^[1], 栽培历史久远, 是农业上的小品种之一。由于其营养丰富及在医药、保健方面的重要作用, 素有保健滋补之“王”的美誉。为了充分利用薏苡资源, 作者收集了全国 12 个省、市、自治区 53 个地方居群, 进行了生殖生物学观察和实验, 结果表明薏苡属植物既可同株异序授粉, 又可异株授粉; 形态观察发现薏苡(*Coix lacryma-jobi* L.) 在总苞形状、大小、颜色、硬度及颖果品质等方面发生了稳定的遗传分化; 核型研究发现薏苡处于中等演化水平, 而薏米(*C.*

* 国家自然科学基金资助项目(编号:39670087)

马建霞: 女, 1968 年 10 月生, 学士, 助理研究员, 主要从事珍稀濒危植物遗传多样性研究。

收稿日期 1999-07-28

chinensis Tod.)处于演化较高的水平^[2]。本研究以薏苡属2种1变种:薏苡、薏米和念珠薏苡(*C. lacryma-jobi* var. *maxima* Makino)的11居群的实生苗为材料,采用垂直板型聚丙烯酰胺凝胶电泳技术,分析了5种同工酶6个等位酶位点的基因型,目的在于:(1)结合形态变异分析,了解薏苡、念珠薏苡和薏米的遗传多样性,为种质资源的开发提供分子生物学依据;(2)从分子水平上探讨薏苡属内2种1变种间的亲缘关系。

1 材料与方法

1.1 实验材料

收集薏苡2种1变种11个居群的当年生种子,于次年4月播种,在幼苗长出4~5片叶子时,从上往下取第三片展开的健康叶为材料,取样地点及取样数见表1。

表1 薏苡取样居群的地点及样本数

Tab 1 Sample localities and size of *Coix* L. populations sampled

代号 Code	分类群 Taxon	样本数 Sample size	取样地点 Locality
1	薏苡 <i>C. lacryma-jobi</i> L.	5	黑龙江呼兰 Hulan, Heilongjiang
2	薏苡 <i>C. lacryma-jobi</i> L.	5	南京 Nanjing
3	薏苡 <i>C. lacryma-jobi</i> L.	10	安徽滁县 Chuxian, Anhui
4	薏苡 <i>C. lacryma-jobi</i> L.	5	杭州 Hangzhou
5	薏苡 <i>C. lacryma-jobi</i> L.	5	南宁 Nanning
6	薏苡 <i>C. lacryma-jobi</i> L.	10	海南儋县 Zhanxian, Hainan
7	念珠薏苡 <i>C. lacryma-jobi</i> var. <i>maxima</i> Makino	5	黑龙江肇东 Zhaodong, Heilongjiang
8	念珠薏苡 <i>C. lacryma-jobi</i> var. <i>maxima</i> Makino	5	杭州 Hangzhou
9	念珠薏苡 <i>C. lacryma-jobi</i> var. <i>maxima</i> Makino	5	黑龙江富锦 Fujin, Heilongjiang
10	薏米 <i>C. chinensis</i> Tod.	5	浙江缙云 Jinyun, Zhejiang
11	薏米 <i>C. chinensis</i> Tod.	5	南宁 Nanning

1.2 酶的提取、凝胶电泳和染色

以1:10(叶片质量g:提取液体积mL)的比例将去脉的叶片在提取缓冲液中冰浴匀浆提取。初提液在0~4℃下离心20min(12000r/min),取上清液-50℃保存。提取缓冲液基本按照Parks(1990)^[3]的配方配制。

采用垂直板型不连续聚丙烯酰胺凝胶电泳方法,浓缩胶浓度为3%,Tris-HCl缓冲液pH6.8,分离胶浓度除SOD为10%以外,其余均为7%,Tris-HCl缓冲液pH8.8,电极缓冲液为pH8.3的0.1MTris-甘氨酸。参照Wendel & Weeden(1989)的方法进行染色^[4],电泳所用的酶系统有以下9种:甲醇脱氢酶(ADH)、天冬氨酸转氨酶(AAT)、过氧化氢酶(CAT)、酯酶脱氢酶(EST)、还原型辅酶I心肌黄酶(DIA)、谷氨酸脱氢酶(GDH)、过氧化物酶(PER)、多酚氧化酶(PPO)、超氧化物歧化酶(SOD)。遗传分析时采用了变异稳定、染色适中、没有有明显的发育变化和器官特异性的5种酶即AAT、DIA、GDH、PPO和SOD。参照王中仁的方法^[5],进行各个体的基因型判译。

2 结果和分析

2.1 薏苡属植物的遗传多样性

表 2 为薏苡属 2 种 1 变种的 11 个居群的基因频率分布情况, 在检测到的 9 个等位基因中, 有 1 个基因固定在薏苡中; 每个居群的遗传多样性指标列于表 3, 可以看出, 2 种 1 变种的遗传多样性水平差异不明显, 普遍较低。

表 2 薏苡属取样居群的等位基因频率

Tab 2 Allelic frequencies of *Coix L.* populations sampled

位点 Locus	等位 基因 Allele	居群等位基因频率 Allelic frequencies of populations										
		呼兰 Hulan	南京 Nanjing	滁县 Chuxian	杭州 Hangzhou	南宁 Nanning	詹县 Zhanxian	肇东 Zhaodong	杭州 Hangzhou	富锦 Fujin	缙云 Jinyun	南宁 Nanning
AAT-1	A	0.000	0.400	0.000	0.200	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	B	0.750	0.400	0.000	0.800	0.800	1.000	0.000	0.000	0.000	0.600	0.800
	C	0.250	0.200	1.000	0.000	0.200	0.000	1.000	1.000	1.000	0.400	0.200
AAT-2	A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
DIA-2	A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
GDH-1	A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
PPO-1	A	0.100	0.000	0.000	0.000	0.000	0.050	0.100	0.200	0.000	0.000	0.000
	B	0.900	1.000	1.000	1.000	1.000	0.950	0.900	0.800	1.000	1.000	1.000
SOD-1	A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

表 3 薏苡属取样居群的遗传多样性指标 (括号内数字是标准差)

Tab 3 Parameters of genetic diversity of *Coix L.* populations sampled (number in bracket is standard errors)

居群 Populations	每个位点的 平均样本量 Mean sample size per locus	每个位点的 基因平均数 A Mean no. of alleles per locus	多态位点 百分数 P Percentage of loci polymorphic ¹⁾	平均杂合性 Mean heterozygosity		近交系数 (F) Inbreeding coefficient
				观察杂合性(Ho) Direct-count	期望杂合性(He) Expected heterozygosity ²⁾	
1. 呼兰 Hulan	4.7(0.2)	1.3(0.2)	33.3(0.033)	0.033(0.033)	0.105(0.073)	0.685
2. 南京 Nanjing	5.0(0.0)	1.3(0.3)	16.7(0.000)	0.000(0.000)	0.119(0.119)	1.000
3. 滁县 Chuxian	10.0(0.0)	1.0(0.0)	0.0(0.000)	0.000(0.000)	0.000(0.000)	/
4. 杭州 Hangzhou	4.8(0.2)	1.2(0.2)	16.7(0.000)	0.000(0.000)	0.059(0.059)	1.000
5. 南宁 Nanning	5.0(0.0)	1.2(0.2)	16.7(0.000)	0.000(0.000)	0.059(0.059)	1.000
6. 詹县 Zhanxian	10.0(0.0)	1.2(0.2)	16.7(0.017)	0.017(0.017)	0.017(0.017)	0.000
7. 肇东 Zhaodong	5.0(0.0)	1.2(0.2)	16.7(0.033)	0.033(0.033)	0.033(0.033)	0.000
8. 杭州 Hangzhou	4.7(0.3)	1.2(0.2)	16.7(0.067)	0.067(0.067)	0.059(0.059)	-0.136
9. 富锦 Fujin	5.0(0.0)	1.0(0.0)	0.0(0.000)	0.000(0.000)	0.000(0.000)	/
10. 缙云 Jinyun	5.0(0.0)	1.2(0.2)	16.7	0.000(0.000)	0.089(0.089)	1.000
11. 南宁 Nanning	5.0(0.0)	1.2(0.2)	16.7(0.000)	0.000(0.000)	0.059(0.059)	1.000

¹⁾ 最常见的等位基因出现的频率不超过 0.95 的位点认为是“多态的” A locus is considered polymorphic if the frequency of the most common allele does not exceed 0.95

²⁾ 无偏差估计 Unbiased estimate

薏苡的遗传多样性指标: 每个位点等位基因平均数为 $A=1.2$, 多态位点百分数为 $P=16.7$, 平均观察杂合度和平均期望杂合度分别为 $H_o=0.01$ 和 $H_e=0.06$, 薏苡 6 个居群对遗传多样性的贡献差异很大, 70% 的居群多样性指标超过平均值, 黑龙江呼兰居群甚至达到

$P=33.3$, 而安徽滁县琅琊山及海南詹县居群 6 个位点全是单态; 念珠薏苡的遗传多样性指标为: $A=1.1$, $P=11.3$, $He=0.03$, $Ho=0.03$; 薏米的遗传多样性指标为: $A=1.2$, $P=16.7$, $He=0.07$, $Ho=0.00$ 。

2.2 居群、种、变种的亲缘关系

2.2.1 遗传相似度 根据基因频率的分布, 得到属内 2 种 1 变种 11 个居群的遗传相似度(表 4), 根据遗传相似度用不加权对儿平均法对薏苡进行分支分析的树状分枝图见图 1。结果表明薏苡种内分化较大, 其中, 安徽滁县居群与薏苡种内部分居群的遗传相似度值小于 0.90。而念珠薏苡及薏米的种内分化则很小($I>0.9$); 薏苡、念珠薏苡和薏米三者的遗传相似度值较大达 0.915~1.000。

表 4 薏苡属取样居群遗传相似度的矩阵

Tab 4 Matrix of genetic similarity coefficients of *Coix L.* populations sampled

居群 Populations	居群 Populations										
	呼兰 Hulan	南京 Nanjing	滁县 Chuxian	杭州 Hangzhou	南宁 Nanning	詹县 Zhanxian	肇东 Zhaodong	杭州 Hangzhou	富锦 Fujin	缙云 Jinyun	南宁 Nanning
1. 呼兰 Hulan	1.000	0.985	0.907	0.999	1.000	0.997	0.908	0.906	0.907	1.000	1.000
2. 南京 Nanjing		1.000	0.923	0.988	0.981	0.958	0.921	0.915	0.923	0.989	0.981
3. 滁县 Chuxian			1.000	0.859	0.894	0.832	1.000	0.997	1.000	0.943	0.894
4. 杭州 Hangzhou				1.000	0.999	0.996	0.856	0.850	0.859	0.987	0.999
5. 南宁 Nanning					1.000	0.996	0.891	0.886	0.894	1.000	1.000
6. 詹县 Zhanxian						1.000	0.831	0.827	0.832	0.977	0.996
7. 肇东 Zhaodong							1.000	1.000	0.941	0.891	0.997
8. 杭州 Hangzhou								1.000	0.936	0.886	0.943
9. 富锦 Fujin									1.000	0.943	0.894
10. 缙云 Jinyun										1.000	1.000
11. 南宁 Nanning											1.000

2.3 种内、变种内居群分化水平

F 统计量(F-statistics)是衡量居群间基因分化程度的指标, 薏苡种内居群间 $F_{ST}=0.459$, 说明 45.9% 的变异存在于居群间, 表明各居群间的分化较大, 接近自交种的 0.505; 而念珠薏苡和薏米居群间则分化很小, 念珠薏苡种内居群间 $F_{ST}=0.074$, 薏米种内居群间 $F_{ST}=0.048$ 。

3 讨 论

3.1 薏苡的遗传多样性水平

同工酶谱是基因的表现型, 既包括基因的直接产物, 也包括转录后的修饰产物, 因此用酶带的多少来反映遗传变异存在很大的误差。等位酶分析是根据酶谱判断个体的遗传基础, 因此, 常用来检测生物居群的遗传变异。本研究发现, 薏苡、念珠薏苡和薏米在酶水平上的遗传多样性水平相似, 与 Harmrick 等(1989)对 165 个属 449 种植物的统计结果相双^[6](一年生草本的多态位点百分数 $P=22.0$, 等位基因平均数 $A=1.35$), 本研究的薏苡属 2 种 1 变种居群在酶位点水平上的变异或多样性水平($P=16.7$, $A=1.2$)相对较低。

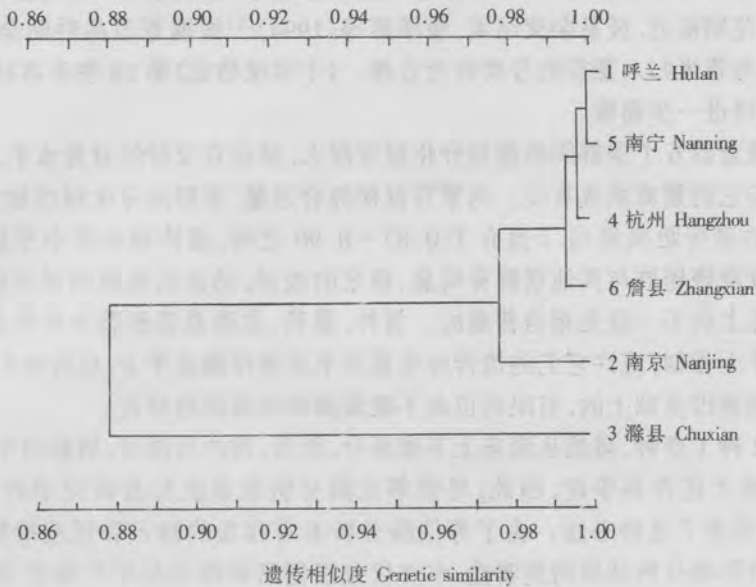


图 1 薏苡遗传相似度的树状分支图

Fig 1 Dendrogram of genetic similarity of *Coix lacryma-jobi* L.

物种的遗传多样性水平主要取决于物种的分布区域, 居群的遗传多样性水平主要取决于居群繁育系统和分布区域。薏苡居群的遗传多样性较贫乏, 可能有以下 3 个原因: (1) 遗传基础窄, 薏苡是农业上的小品种, 没有大面积栽培, 采集的居群位于农民房前屋后的零碎园地上, 调查发现农民最初只从山上采下几株, 然后留种, 来年播种, 这样, 栽培的薏苡居群的基因只是野生状态基因库中的部分基因; (2) 内繁育程度较高, 本研究发现, 薏苡的固定指数(近交系数) $F = 0.737$, 说明薏苡的内繁育程度较高, 这与作者对薏苡属的生殖生物学的研究相一致, 生殖生物学研究表明, 薏苡属风媒传粉的同株异序授粉植物, 授粉试验发现薏苡还可以异株授粉^[2], 自然条件下, 可能同株异序授粉的比例较大, 经过这种自交和近交的繁育方式, 杂合体不足, 显示出纯合体过量, 从而导致遗传多样性的丧失。(3) 供试的样本量偏少, 分析位点也较少, 一定程度会影响遗传多样性的分析结果。

薏苡分布于全国各地, 本次研究采集了从南到北有代表性的 6 个居群, 薏苡的繁育系统使薏苡居群间的遗传分化水平较高, 各居群常常具有自己的遗传结构, 对薏苡的多样性贡献差异较大, 本研究就发现黑龙江呼兰的多样性水平较高 ($P = 33.3$), 对于这些多样性较高的居群要加以保护, 以便作为进一步改良品种的基因来源。因念珠薏苡及薏米的样本量过少, 在此不加以讨论。

3.2 薏苡属 2 种 1 变种间的亲缘关系

遗传相似度反映了种内种间亲缘关系的远近程度及基因交换的程度。大量的等位酶资料统计表明: 种子植物属内种间的遗传相似度约为 0.670, 种内居群间的遗传相似度约为 0.900^[5]。《中国植物志》根据形态学差异将薏苡属划分为 5 种 2 变种, 根据该书的划分, 薏苡、

薏米是不同的种,念珠薏苡属于薏苡的种下变种^[1],但从本研究的结果看,在等位酶水平上不能将三者种、变种水平区分开($I \geq 0.9$),这与生殖生物学的研究结果相吻合:变种间不存在生殖隔离,只要花期接近,极易杂交结实,潘泽惠等(1994)^[2]根据薏苡品种间杂交亲和力和力水平及腊叶标本,认为薏米归入薏苡的分类较为合理。《中国植物志》第10卷禾本科采用独立成种的分类处理,值得进一步商榷。

本研究发现薏苡6个居群间的遗传分化程度较大,接近自交种的分化水平,正象遗传变异一样可能主要与它的繁育系统有关。内繁育促使纯合过量,居群间分化程度加大,安徽滁县居群与其他居群的遗传距离最远, I 值介于0.87~0.90之间,遗传相似度小于居群而大于种。形态学观察未发现该居群与其他居群有明显、稳定的差异,结合其他植物研究的结果,说明形态与分子在进化上的不一致是相当普遍的。另外,薏苡、念珠薏苡和薏米在形态上很易区分,而在等位酶水平上相似,或许它们的遗传分化重点不在等位酶水平上,也许他们形态学上的差异是建立在个别基因基础上的,有限的位点不能监测到该基因的存在。

本研究的2种1变种,虽然从形态上不难区分,但是,种内居群间,居群内个体间形态变异较大,目前,分类上还存在争论,因此,尽管等位酶分析在系统发育研究中的适用性还有争论^[7],本文仍然采用了这种办法。由于等位酶分析本身存在的缺点和试验取样量的偏少^[5],在一定程度上可影响分析结果的真实性和准确性,本文仅仅根据所取样本的等位酶遗传信息,对种内、种间居群的遗传多样性及亲缘关系作出初步估计。

参 考 文 献

- 1 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 第十卷第二分册. 北京:科学出版社,1997. 291.
- 2 庄体德,潘泽惠,姚欣梅. 薏苡属的遗传变异性及核型演化. 植物资源与环境,1994,3(2):16~21.
- 3 Parks C R, Wendel J F, Sewell M M, et al. Genetic control of isozyme variation in the genus *Liriodendron* L. Journal of Heredity, 1990, 81(4): 317~323.
- 4 Weeden N F, Wendel J F. Genetics of plant isozymes. In: Soltis D E, Soltis P S. ed. Isozymes in Plant Biology. Portland: Dioscorides Press, 1989. 46~73.
- 5 王中仁. 植物等位酶分析. 北京:科学出版社,1996. 50~51.
- 6 Hamrick J L. Isozymes and the analysis of genetic structure in plant populations. In: Soltis D E, Soltis P S. ed. Isozymes in Plant Biology. Portland: Dioscorides Press, 1989. 87~105.
- 7 Murphy R W. The phylogenetic analysis of allozyme data invalidity of coding alleles by presence/absence and recommended procedures. Biochem Syst Ecol, 1993, 21(1): 25~38.

(责任编辑:宗世贤)