

不同尺度下野大豆种群的遗传分化

府宇雷, 钱吉*, 马玉虹, 李军, 郑师章

(复旦大学生命科学院环境与资源生物系, 上海 200433)

摘要:为了阐明不同尺度范围内野大豆种群的遗传分化情况,应用随机扩增多态性 DNA(RAPD)方法,分别对我国 5 个纬度 8 个不同地点的野大豆(*Glycine soja*)种群及浙江金华地区 5 个野大豆种群,进行了分子生态学研究。根据 RAPD 数据计算相似系数及遗传距离并进行聚类分析,发现无论是不同纬度野大豆种群还是金华地区野大豆小种群均存在较高的遗传变异,且不同纬度野大豆种群间的遗传变异与地理纬度有一定正相关。在对金华地区野大豆种群遗传多样性的研究中,利用 Shannon 指数估算了 5 个野大豆种群的遗传多样性,发现大部分的遗传变异存在于野大豆种群间(78.5%),只有少部分的遗传变异存在于种群内。本文就此探讨了不同尺度下野大豆种群的遗传多样性与环境因子的关系,并对其成因及维持机制进行了讨论。

关键词:野大豆;RAPD;遗传多样性;Shannon 指数;遗传距离

Genetic Differentiation Research on Populations of Wild Soybeans in Different Scales

FU Yu-Lei, QIAN Ji, MA Yu-Hong, LI Jun, ZHENG Shi-Zhang (Department of Environment and Resource Biology, School of Life Sciences, Fudan University, Shanghai 200433, China). *Acta Ecologica Sinica*, 2002, 22(2): 176~184.

Abstract: Random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis was applied to eight populations of wild soybeans (*Glycine soja*) from five different latitudes and five populations within Jinhua, Zhejiang Province respectively. Cluster analysis based on genetic distance generated from the RAPD data showed that there were high genetic variations among *G. soja* populations from different latitude and within Jinhua area. There were some evidences showing noticeable correlation existed between the variations and the geographical latitude. Shannon phenotypic diversity index indicated that 78.5% of the molecular variation existed among populations. The study implied that the variation of wild soybean were correlative to the environment gradient in a large range, but were determined by random genetic drift in a small area.

Key words: wild soybean; *Glycine soja*; RAPD; genetic diversity; Shannon index; genetic distance

文章编号:1000-0933(2002)02-0176-09 中图分类号:Q948 文献标识码:A

大豆是世界最主要的蛋白质、油料作物,又是最主要的固氮植物之一。中国不仅是栽培大豆的故乡,而且其近缘种野大豆资源占世界总量的 90% 以上。根据以往研究,野大豆种内的变异分成两个层次:一是大范围的生态倾群,即植物性状随环境梯度呈梯度变化,如因光温随纬度、海拔等地理因子的梯度变化,而把野大豆划分成若干光温生态型;二是小地区的变异,即因微环境的变化或因为基因的随机漂变等作用,从而在一个地方种群内存在众多基因型^[1~3]。利用分子生态学等手段,开展野大豆的生态遗传学研究,对于保

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39500022)

* 通讯联系人

吉林农科院大豆研究所庄炳昌研究员提供各种纬度野大豆材料;中国科学院植物研究所胡志昂教授在数据处理等方面提供的指导和帮助在此谨表谢忱。

收稿日期:2000-02-10;修订日期:2001-10-20

作者简介:府宇雷,(1973~),男,上海人,硕士。主要从事生态遗传研究。

护和开发大豆的种质资源,改良栽培大豆品质具有重要意义。本文选用 8 个不同纬度、不同地点的野大豆种群和金华地区 5 个野大豆种群为材料,利用 RAPD 技术,从 DNA 水平上分析各自的遗传变异及种群的遗传分化程度,并从理论上探讨野大豆种群在不同尺度内遗传变异的成因和机制,为如何保护好大豆近缘种野大豆的基因库及取样对策提供分子生物学依据。

1 材料和方法

1.1 本文所用的不同纬度野大豆种群样品来源于中国大陆 5 个纬度、8 个地点,均由吉林农科院大豆研究所提供(具体地理位置及种子形态见表 1),各纬度所用种子数为 10 颗;金华地区野大豆种群样品是在浙江省金华市北山南坡(29°13'N,119°38'E),3.2×4.8km² 内随机取 5 个样点,各样点范围 100~200m²,随机取样 20~30 株,单株收集种子,每株用种子数为 15 颗(具体生境资料及位置见表 2,图 1)。

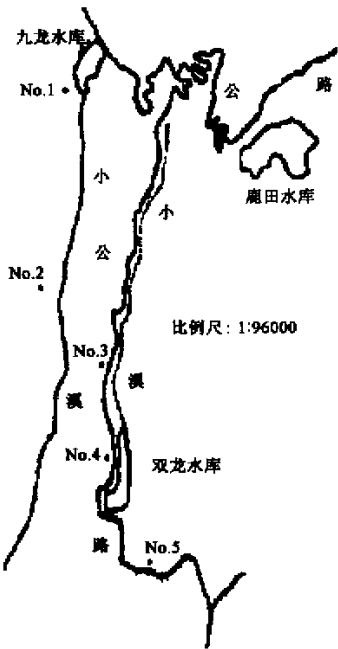


图 1 本课题中浙江金华北山南坡 5 个野大豆种群的地理位置分布

Fig.1 The geographical site about five populations of the wild soybean in Jinhua area

表 1 不同纬度野大豆种群具体地理位置及种子形态
(以上样本均由吉林农科院大豆研究所提供)

Table 1 The geographical site and seed character of the wild soybean from different latitude(offered by the Institute of Soybean,Jilin Agriculture Academy of Science)

纬度	编号	地点	品种	种子形态
Latitude	No.	Site	Type	Character
30°	30w	浙江丽水	野生	黑色、颗粒小
35°	35w	江苏沛县	野生	黑色、颗粒小
40°	40wa	辽宁	野生	黑色、颗粒中
40°	40wb	河北	野生	深褐色、颗粒中
43.5°	43.5w	内蒙通辽	野生	黑色、颗粒大
45°	45wa	黑龙江双城	野生	黑色、颗粒小
45°	45wb	吉林德惠	野生	黑色、颗粒小
45°	45wc	吉林九台	半野生	浅褐色、颗粒大

表 2 金华地区 5 个野大豆种群生境资料

Table 2 The environmental information about five populations of the wild soybean in Jinhua area

	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5
生境	荒地	农舍、小路、荒地	公路	公路	公路
Habitat	荒地	农舍、小路、荒地	公路	公路	公路
攀援物	高草、小灌木	篱笆、低草	小灌木	高草	高草、小灌木
Climber	高草、小灌木	篱笆、低草	小灌木	高草	高草、小灌木
光照度	中强	中	强	强	中强
Light	中强	中	强	强	中强
潮湿度	中	中强	中	中	中
Humidity	中	中强	中	中	中

1.2 样品在自然条件下培养,用 CTAB 法提取幼苗叶片总 DNA。

1.3 随机扩增引物采用中科院生工基地合成的 20 个经初步筛选的 10 个碱基的寡聚核苷酸(OPH 1~OPH 20)。

1.4 本实验中随机扩增反应体系为总体积为 25μl,含 4μl 稀释至 1/20 的模板 DNA;1μl 25mM MgCl₂;2.5μl PCR10×buffer(Mg²⁺浓度为 20mM); 0.3μl 20mM dNTP;2μl 20μM 引物;0.5μl 1U/μl Taq DNA 聚合酶及 14.7μl 无菌双蒸水。反应程序为 95℃ 1min,35℃ 1min,72℃ 2min(5 个循环);94℃ 1min,35℃ 1min,72℃ 1.5min(40 个循环);72℃ 5min。

1.5 琼脂糖凝胶电泳分离随机扩增产物,EB 染色,并用凝胶扫描系统检测

1.6 用Shannon指数、Nei指数估算种群遗传结构参数及相似系数和遗传距离,并用PHYLIP软件进行

聚类分析。

2 结果与分析

2.1 不同纬度野大豆种群

2.1.1 对于不同纬度野大豆种群,本实验所用 16 个引物共扩出 112 条条带,每个引物 1~9 条不等,平均每个引物 7 条,其中多态性条带 104 条,根据 0.99 的多态位点标准,多态位点比率为 92.91%。

2.1.2 不同纬度野大豆种群的相似系数、遗传距离及其聚类分析 由表 3 可见不同纬度 8 个野大豆种群的遗传距离从 0.1163 到 0.9001 不等,平均遗传距离为 0.5702。聚类分析可以发现,纬度相同乃至相近的野大豆基本上能聚类在一起。

2.2 金华地区野大豆种群

2.2.1 对于金华地区野大豆种群,本实验所用 20 个

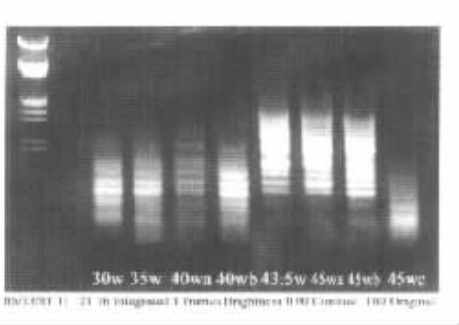


图 2 用引物 OPH14 对不同纬度野大豆样品进行 RAPD 扩增得到的 RAPD 图谱
Fig. 2 The RAPD photograph of wild soybeans from different latitude amplified by primer OPH14
(注:左面为 λ DNA/EcoRI + HindIII Marker)

表 3 不同纬度野大豆种群的相似系数和遗传距离
Table 3 The similarity coefficient (under diagonal) and genetic distance (upon diagonal) of wild soybeans from different latitude

	30w	35w	40wa	40wb	43.5w	45wa	45wb	45wc
30w	—	0.5135	0.7544	0.5152	0.8000	0.7722	0.8378	0.647
35w	0.4865	—	0.2000	0.1739	0.5534	0.4565	0.5862	0.666
40wa	0.2456	0.8000	—	0.4242	0.4634	0.4643	0.4393	0.840
40wb	0.4848	0.8261	0.5758	—	0.6768	0.6136	0.7108	0.615
43.5w	0.2000	0.4466	0.5366	0.3232	—	0.1587	0.3143	0.879
45wa	0.2278	0.5435	0.5357	0.3863	0.8413	—	0.1163	0.861
45wb	0.1622	0.4138	0.5607	0.2892	0.6857	0.8837	—	0.910
45wc	0.3529	0.3333	0.1600	0.3846	0.1205	0.1389	0.0900	—

该矩阵对角线上方为遗传距离 D , 下方为相似系数 S

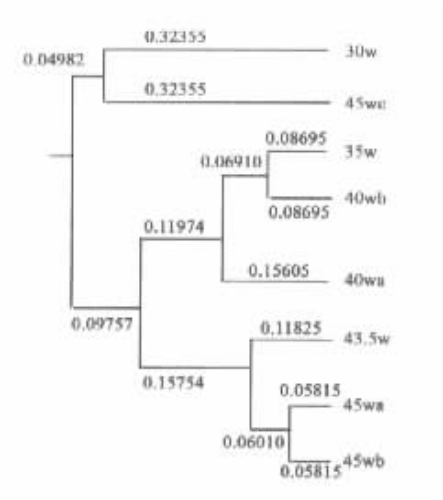


图 3 用 UPGMA 法对不同纬度野大豆种群所做的聚类分析
Fig. 3 UPGMA dendrogram of wild soybeans from different latitude

引物共扩出 370 条条带,平均每个引物 18.5 条,其中多态性条带 368 条,多态位点比率为 99.5%。

2.2.2 金华地区野大豆种群的相似系数、遗传距离及其聚类分析 表 4 是根据相似系数 S 计算得出的 5 个种群间遗传距离矩阵,对角线上方为遗传距离,下方为相似系数。各种群遗传距离从 0.643 到 0.809 不等,平均遗传距离为 0.745。

表 4 金华地区 5 个种群间相似系数 S 和遗传距离矩阵
Table 4 The similarity coefficient (under diagonal) and genetic distance (upon diagonal) among five populations of wild soybeans in Jinhua area

	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5
No. 1	—	0.643	0.743	0.809	0.761
No. 2	0.347	—	0.760	0.723	0.761
No. 3	0.257	0.240	—	0.738	0.714
No. 4	0.191	0.277	0.262	—	0.802
No. 5	0.239	0.239	0.286	0.198	—

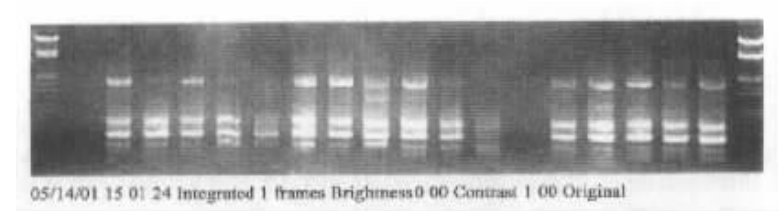


图 4 用引物 OPH7 对金华地区三号样点野大豆样品进行 RAPD 扩增得到的 RAPD 图谱

Fig. 4 The RAPD photograph of the wild soybean of site No. 3 in Jinhua area amplified by primer OPH7
(注:两边为 λDNA/EcoRI +HindIII Marker)

表 5 金华地区 5 个野大豆种群间的遗传一致性

Table 5 The genetic identity among five populations of wild soybeans in Jinhua area

	I ₁₂	I ₁₃	I ₁₄	I ₁₅	I ₂₃	I ₂₄	I ₂₅	I ₃₄	I ₃₅	I ₄₅
Oph1	0.094	0.476	0.000	0.373	0.182	0.000	0.366	0.000	0.242	0.000
Oph2	0.575	0.089	0.341	0.000	0.000	0.467	0.000	0.436	0.963	0.573
Oph3	0.388	0.279	0.000	0.432	0.124	0.268	0.087	0.406	0.437	0.158
Oph4	0.199	0.183	0.336	0.109	0.176	0.000	0.092	0.000	0.174	0.168
Oph5	0.453	0.498	0.298	0.569	0.000	0.628	0.235	0.000	1.000	0.279
Oph6	0.478	0.000	0.517	0.476	0.142	0.362	0.285	0.580	0.000	0.693
Oph7	—	0.506	0.321	0.821	—	—	—	0.711	1.000	0.754
Oph8	—	0.181	0.746	0.042	—	—	—	0.804	0.377	1.000
Oph9	0.601	0.552	0.306	0.000	0.239	0.138	0.000	1.000	0.496	0.129
Oph10	0.338	0.189	0.063	0.209	0.707	0.517	0.207	0.653	0.098	0.256
Oph11	0.315	0.511	0.257	0.406	0.300	0.400	0.000	0.953	0.000	0.165
Oph12	0.403	0.218	0.397	0.000	0.329	0.408	0.292	0.544	0.279	0.139
Oph13	0.634	0.221	0.163	0.350	0.472	0.000	0.476	0.395	0.430	0.260
Oph14	0.191	0.109	0.273	0.315	0.000	0.000	0.402	0.549	0.148	0.000
Oph15	0.221	0.091	0.000	0.289	0.092	0.073	0.000	0.222	0.122	0.000
Oph16	0.146	—	0.136	0.184	—	0.262	0.141	—	—	0.000
Oph17	0.182	0.602	0.170	0.000	0.308	0.000	0.538	0.466	0.000	0.000
Oph18	0.146	0.110	0.000	0.000	0.129	0.317	0.091	0.218	0.134	0.000
Oph19	0.387	0.000	0.530	0.063	0.000	0.660	0.169	0.000	0.387	0.081
Oph20	0.407	0.125	0.433	0.031	0.593	0.166	0.510	0.237	0.958	0.032
平均 Average	0.342	0.233	0.264	0.234	0.223	0.259	0.216	0.430	0.381	0.234

由表 5 可见,各种群间遗传一致性最大为 0.430,最小为 0.216,平均种群间遗传一致性为 0.282,这说明种群间遗传变异较大。

表 7 是根据遗传一致性 I 计算得到的 5 个种群间的遗传距离矩阵,各种群间遗传距离最大的是 No. 2 和 No. 5(1.532)、No. 2 和 No. 3(1.500),最小的是 No. 3 和 No. 4(0.846),平均遗传距离为 1.295。

2.2.3 Shannon 指数 根据 RAPD 数据计算得到的统计结果,No. 5 遗传多样性最低为 1.381,No. 2 遗传多样性最高为 2.669,按顺序排列如下 :No. 2>No. 1>No. 3>No. 4>No. 5。种群内和种群间遗传多样性所占比例分别为 21.5%和 78.5%。遗传变异大部分存在于种群间,有的引物甚至检测出有 88.3%的遗传变异存在于种群间(详细计算结果略)。

2.2.4 Nei 指数 由 Nei 指数估算各引物检测到的基因多样性中,No. 3 遗传多样性最高为 0.380,No. 1 最低为 0.305,按顺序排列如下 :No. 3>No. 5>No. 2>No. 4>No. 1,根据 Nei 指数计算的 5 个种群间遗传分化系数为 0.234,说明种群间分子变异占所有种群总的基因多样性的 58.3%,说明种群间遗传变异要明显大于种群内的遗传变异。

表 6 根据遗传一致性计算得到的金华地区 5 个野大豆种群间的遗传距离

Table 6	The genetic distance among five populations of wild soybeans in Jinhua area worked out by genetic identity									
	D ₁₂	D ₁₃	D ₁₄	D ₁₅	D ₂₃	D ₂₄	D ₂₅	D ₃₄	D ₃₅	D ₄₅
Oph1	2.364	0.742	∞	0.986	1.704	∞	1.005	∞	1.419	∞
Oph2	0.553	2.419	1.076	∞	∞	0.761	∞	0.830	0.038	0.557
Oph3	0.947	1.277	∞	0.839	2.087	1.317	2.442	0.901	0.828	1.845
Oph4	1.614	1.698	1.091	2.216	1.737	∞	2.386	∞	1.749	1.784
Oph5	0.792	0.697	1.211	0.564	∞	0.465	1.448	∞	0.000	1.277
Oph6	0.738	∞	0.660	0.742	1.952	1.016	1.255	0.545	∞	0.367
Oph7	—	0.681	1.136	0.197	—	—	—	0.341	0.000	0.282
Oph8	—	1.709	0.293	3.170	—	—	—	0.218	0.976	0.000
Oph9	0.509	0.594	1.184	∞	1.431	1.981	∞	0.000	0.701	2.048
Oph10	1.085	1.666	2.765	1.565	0.347	0.660	1.575	0.426	2.323	1.363
Oph11	1.155	0.671	1.359	0.901	1.204	0.916	∞	0.048	∞	1.802
Oph12	0.909	1.523	0.924	∞	1.112	0.896	1.231	0.609	1.277	1.973
Oph13	0.456	1.510	1.814	1.050	0.751	∞	0.742	0.929	0.844	1.347
Oph14	1.655	2.216	1.298	1.155	∞	∞	0.911	0.600	1.911	∞
Oph15	1.510	2.397	∞	1.241	2.386	2.617	∞	1.505	2.104	∞
Oph16	1.924	—	1.995	1.693	—	1.339	1.959	—	—	∞
Oph17	1.704	0.507	1.772	∞	1.178	∞	0.620	0.764	∞	∞
Oph18	1.924	2.207	∞	∞	2.048	1.149	2.397	1.523	2.010	∞
Oph19	0.949	∞	0.635	2.765	∞	0.416	1.778	∞	0.949	2.513
Oph20	0.899	2.079	0.837	3.474	0.523	1.796	0.673	1.440	0.043	3.442

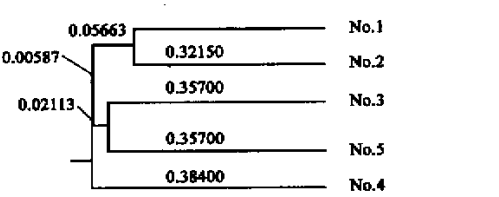


图 5 根据表 4 用 UPGMA 法对金华地区野大豆种群所作的聚类分析

Fig. 5 UPGMA dendrogram of wild soybeans in Jinhua area according to the data in table 4

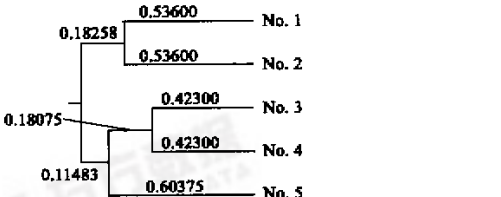


图 6 根据表 7 用 UPGMA 法对金华地区野大豆种群所作的聚类分析

Fig. 6 UPGMA dendrogram of wild soybeans in Jinhua area according to the data in table 7

表 7 根据遗传一致性 I 计算得到的金华地区 5 个种群间的遗传距离矩阵

Table 7	The matrix of genetic distance among five populations of wild soybeans in Jinhua area worked out by genetic identity I				
	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5
No. 1	—				
No. 2	1.072	—			
No. 3	1.455	1.500	—		
No. 4	1.331	1.350	0.846	—	
No. 5	1.455	1.500	0.964	1.451	—

2.2.5 从所有引物检测到的 N_m 来看(见表 9),最大的为 0.280,最小的为 0.097,它们的平均值为 0.181,均远远小于 1,所以可以认为它们之间的基因流很小。这与 Shannon 指数和 Nei 指数得到的大部分遗传变异存在于种群间的结论相一致。

3 讨论

3.1 从 RAPD 分析得到的数据结果来看,无论是不同纬度野大豆还是金华地区野大豆种群均存在较高的遗传变异,这一点与王洪新等人的结果是一致的^[4~6]。之所以金华地区的野大豆种群的多态位点

表 8 由 Nei 指数估算的金华地区野大豆群体的基因多样性
Table 8 The genetic diversity of wild soybeans in Jinhua area estimated by Nei's index

引物 Primer	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	Hs	Ht	Dst	Gst	Nm
OPH01	0.255	0.393	0.319	0.418	0.272	0.332	0.842	0.510	0.606	0.163
OPH02	0.254	0.406	0.357	0.356	0.471	0.369	0.829	0.460	0.555	0.200
OPH03	0.355	0.355	0.423	0.428	0.297	0.372	0.839	0.467	0.557	0.199
OPH04	0.287	0.287	0.422	0.324	0.329	0.330	0.847	0.517	0.610	0.160
OPH05	0.312	0.422	0.416	0.426	0.438	0.403	0.832	0.429	0.516	0.234
OPH06P	0.330	0.295	0.410	0.175	0.318	0.306	0.816	0.510	0.615	0.150
OPH07	0.444	—	0.383	0.358	0.457	0.411	0.778	0.367	0.472	0.280
OPH08	0.326	—	0.304	0.444	0.309	0.346	0.790	0.444	0.562	0.195
OPH09	0.374	0.357	0.232	0.106	0.263	0.266	0.802	0.536	0.668	0.124
OPH10	0.295	0.344	0.357	0.250	0.362	0.322	0.809	0.487	0.602	0.165
OPH11	0.271	0.263	0.331	0.345	0.379	0.318	0.816	0.498	0.610	0.160
OPH12	0.402	0.373	0.402	0.246	0.317	0.348	0.833	0.485	0.582	0.180
OPH13	0.322	0.294	0.398	0.423	0.415	0.37	0.839	0.469	0.559	0.197
OPH14	0.365	0.399	0.395	0.411	0.456	0.405	0.853	0.448	0.525	0.226
OPH15	0.334	0.353	0.332	0.208	0.417	0.329	0.852	0.523	0.614	0.157
OPH16	0.135	0.207	—	0.227	0.304	0.218	0.781	0.563	0.721	0.097
OPH17	0.223	0.403	0.422	0.336	0.416	0.360	0.846	0.486	0.574	0.186
OPH18	0.265	0.347	0.395	0.419	0.343	0.354	0.858	0.504	0.587	0.176
OPH19	0.314	0.439	0.492	0.303	0.345	0.379	0.847	0.468	0.553	0.202
OPH20	0.251	0.415	0.436	0.293	0.289	0.339	0.823	0.484	0.588	0.175
平均 Average	0.305	0.353	0.380	0.325	0.360	0.343	0.826	0.484	0.583	0.181

比例要高于不同纬度野大豆种群的多态位点比例,可能是因为用于提抽 DNA 的植株数前者是后者的十多倍,一般说来,代表供实验种群的样本越多,其所覆盖的遗传多态信息越多。另外,李军在对金华地区野大豆种群同工酶的研究中得到的多态位点比率为 0.4118^[2], Chiang Y.C. 在对分布在韩国、日本的 72 个野大豆种群的同工酶研究得到的平均多态性为 67.4%,均要远远小于本文 99.5%的比率,造成上述差异是因为同工酶研究是在蛋白质水平,仍是基因的表型,种种原因导致了大量的遗传变异无法用同工酶方法检测到,据估计建立在电泳可以检测出基础上的遗传变异大概相当于实际值的 1/3~1/2。由于 RAPD 技术是基于 DNA 分子水平,使得在基因初级层次上研究种群遗传变异成为可能,并且可以方便的采用多个随机引物覆盖整个基因组,加之其灵敏度很高,所以对研究遗传多样性更有效。另外扩增产物以及多态位点比率均随引物本身、引物数量及样品数量而异,鉴于本研究中使用的引物多达 20 个,因此能够很好的覆盖所用种群所包含的遗传多样性信息^[7~11]。

3.2 用 UPGMA 法对于不同纬度不同地点的野大豆种群进行聚类分析,45wa 和 45wb 总是先聚类,其遗传距离 0.1163 明显小于其大类与 43.5w 聚类时的遗传距离 0.7184,其他聚类也有相似现象,这在北方地区尤为明显,这说明遗传距离与地理距离存在一定的相关性,较符合“距离-隔离”的模型。这与 Kiang 和 Chiang 在对分布在韩国、日本的 72 个野大豆种群的同工酶研究中得出的遗传距离和纬度、物候农艺学性状有相关性^[1]的数据。也再次验证了徐豹先生提出的光温生态型的分化规律^[3]。

由于种群遗传变异是多种生态因子及本身特性综合作用的结果,因而也有一些例外,不可能与纬度完

全一致,如图 3 中,40wb 没有先和 40wa 聚类,而是先与 35w 聚类后,才与 40wa 聚类,这可能与它们所处的具体地理位置有关。40wb 处于河北,40wa 位于辽东半岛,一个在关内,一个在关外,因此 40wb 与位于江苏北部的 35w 之间的基因交流较之与同纬度的 40wa 之间的基因交流可能更为容易,这同样证实了“距离-隔离”的模型。另外,还有一种可能是从形态上分析,40wb 的种子外观形态同 45wc(半野生)相近,因此不能排除 40wb 可能实际为半野生大豆,因而导致上述聚类结果。这也提示人们不仅需要分子生物学依据,还需要结合其它各个层次多种学科进行进一步的平行比较研究。

从图 3 中还可以看出,45wc 比较特别,不是先和同纬度或相近纬度的野大豆聚类,而是与地理距离最近的 30w 聚类,这是因为 45wc 是半野生大豆(吉林九台)的缘故,其与同纬度 45wa、45wb 的差异要大于不同纬度野大豆间的差异,这也说明了 30w 比较接近于半野生大豆。张二荃在不同纬度、不同进化类型大豆 *rbcS* 基因结构分析与分子进化研究中有类似情况,聚类分析的结果表明,25N°半野生大豆总是先和 30N°、35N°的野大豆聚类,然后再与 25N°的野大豆聚类,这与徐豹的研究发现南方野大豆和栽培大豆的 RAPD 图谱相似性似乎高于北方相类似,也再一次提示南方地区在栽培大豆起源中值得注意。

3.3 Gottlieb(1981)指出,近交植物(inbreeder)有两种极端情况,某些种在各个位点上几乎都是同一个基因;在另一些近交种的种群之间一些位点等位基因频率变化很大,会出现在某些种群里一个等位基因的频率很低,而另一些种群里有很高的频率^[9]。而远交植物(outbreeder),种群杂合性在种群间很接近。从 Shannon 指数来看,金华地区野大豆种群内的遗传多样性比率为 21.5%,而种群间的遗传多样性比例为 78.5%,说明大部分的遗传变异存在于种群间,这符合野大豆自交种群的特点,与野大豆在自然条件下只有 0.1%左右的异花授粉率是一致的,与胡志昂、李军等人分别对北京和金华野大豆小种群的同工酶研究的分析结果是相同的^[1,3]。由 Nei 指数得到的种群间与种群内的遗传分化情况与 Shannon 指数得到的基本一致,但其种群遗传分化系数 G_{ST} (0.583)与 Shannon 指数估算的 78.5%相去甚多,这可能是因为,Nei 指数的计算需要严格的显隐性等位基因频率,由于 RAPD 并不能区别相关位点是纯合的还是杂合的,所以需要借助另外的实验手段来确定位点的杂合性,这有待以后进一步的研究,本文只能根据 Kong kiangam 等的方法估算等位基因频率,所以出现这样的偏差是可以理解的。虽然最初这些参数是在假设随机交配并达到 Hardy-Weinberg 平衡的条件下计算的,但也可用于近交种群。这些参数有其生物学含义。胡志昂、王洪新在对北京地区 13 个野大豆种群的同工酶研究中发现,不同种群间的遗传距离有的为 0,有的为无穷大^[1]。本文在用 RAPD 分析金华地区 5 个野大豆种群过程中也发现多个引物得到的种群间遗传距离有的为 0,有的为无穷大(见表 6)。这说明了种群遗传结构的随机性,反映了遗传上相互隔离的状况,而这正是自交植物的特点。另外,Hamrick 和 Godt(1989,1991)对 165 个属,449 种植物共 653 篇等位酶研究报道进行了统计分析,整理出不同植物的遗传变异水平和种群分化程度,其中自交植物的种群分化程度 G_{ST} 为 0.510^[12],同本文根据 Nei 指数估算的种群间遗传多样性 58.3%很接近,这更进一步说明了对于自交植物应用 Nei 指数来估算遗传多样性是可行的。而 Shannon 指数就不同了,它较之 Nei 指数来说,缺乏生物学意义,但正由于它没有很明确的生物学意义,从而在一定程度上,避免了对 RAPD 扩增位点显隐性的讨论。

3.4 本文还分别根据相似系数 S 和遗传一致性 I,计算了金华小尺度野大豆种群间的两种遗传距离 D,并进行了聚类分析。聚类结果显示,No.1 总是先和 No.2 聚类,而从地图上看,No.2 和 No.3 的地理距离最近,另外从地理距离上看,相距最远的 No.1 和 No.5 之间的遗传距离 0.761 只略微大于 5 个种群间的平均遗传距离 0.745,其它种群也有相类似情况,也就是说,种群间的遗传距离大小与地理距离的远近无关。这与胡志昂、李军等人分别对北京和金华野大豆小种群的同工酶研究的分析结果相一致^[1,2]。而与本文有关不同纬度野大豆种群研究得出的结论及 Kiang 和 Chiang 对分布在韩国、日本的 72 个野大豆种群的同工酶研究得到的结论相左,产生这一矛盾的原因显然是上文所述的研究是基于大尺度范围内的野大豆作为研究对象,故有别于小地区内的研究,因为大范围内影响植物遗传变异的主要因素是随纬度变化的光温生态因子。而在小地区内,这一因子就显得微不足道了,从表 4 金华地区 5 个野大豆种群的生境列表也可以看出光温、水分等生态因子的差别不大。以往的研究也发现,即在地理距离较小的种群间,遗传距离与地理距离之间,没有显著相关性^[2]。另外,李军在对野大豆种子库生化遗传结构多样性时空动态的初步研究结果

显示,野大豆种子库生化遗传结构的多样性主要来自于由时间引起的环境异质性,而非空间变化。

根据 G_{ST} 种群间遗传分化系数计算了 N_m 每代种群间迁移者数目,得到的 N_m 为 0.181,远小于 1,故种群间的基因流强度很小,这也符合自交种群的特点。所以,维持其遗传多态现象的机制很可能是遗传漂变,因此,就金华地区野大豆种群而言,可以这样认为,小种群遗传多态现象的成因是突变,而随机漂变是其分布格局的主要因素。这一结论似乎比较符合中性理论的解释。

综上所述,在以上野大豆种群的研究中,将不同尺度范围内的野大豆种群放在一起进行研究比较,可发现两者均存在很高的遗传变异,对于不同纬度不同地点野大豆种群观察到的变异进行聚类,似与纬度有一定相关性,自然选择的压力显得较为重要,其遗传分化的分布格局可能与地理环境的变化相关,较符合大的随机交配种群的进化学说;而对于金华地区野大豆种群,所观测到的遗传变异,与外界环境无明显相关。一方面可能是因为野大豆是严格自交的,这使得中性突变在种群内容易固定下来,即随机漂变在小种群的进化中起主导作用。另一方面,小地区内环境条件及物候条件不太可能出现质的变化,从而使自然选择压力趋于一致。

3.5 对于野大豆种质资源保护取样策略的建议

本文研究表明小地区范围内的野大豆种群也存在着高度的遗传变异,且大多数的遗传变异存在于种群间(如由 Shannon 指数得到的金华地区野大豆种群间的遗传多样性为 78.5%,而种群内只有 21.5%),因而原来在一定地区内只取一株或邻近几株的全部种子作为该地区的代表的取样策略实际上是不合理的。因此,根据野大豆不同尺度内遗传变异分布的特点,本文认为,野大豆种质资源取样保护策略也应作相应调整,如应在一个地区内尽可能多的单株搜集种子,考虑到野大豆是严格自交的,故每株只需采集几个豆荚即可;或是在野大豆重点分布区内选择尽可能多的种群,每个种群可取一定数量的个体,单株采集种子加以保存等。胡志昂等人也提供了较好的修正方法可供参考^[11]。

参考文献

[1] Hu Z A(胡志昂),Wang H X(王洪新). Genetic structure of nature populations of wild soybean (*Glycine soja*) in Beijing Region. *Acta Botanica Sinica*(in Chinese)(植物学报), 1985, **27**(6):599~604.

[2] Li J(李军),Tao Y(陶芸),Zheng S Z(郑师章), *et al.* Isozymatic differentiation in local population of *Glycine soja* Sieb & Zucc. *Acta Botanica Sinica*(in Chinese)(植物学报), 1995, **37**(9):669~676.

[3] Xu B(徐豹), Lu Q H(路琴华). Soybean Ecology I. Effect of photoperiod and day/night temperature on development of wild soybean in China. *Soybean Science* (in Chinese)(大豆科学), 1983, **2**(3):155~168.

[4] Wei W(魏伟),Wang H X(王洪新),Hu Z A(胡志昂), *et al.* Primary studies of Molecular ecology of *Caragana* spp. Populations distributed over Maowusu sandy grassland: from RAPD data. *Acta Ecologica Sinica* (in Chinese)(生态学报), 1999, **19**(1):16~22.

[5] Hui D W(惠东威),Zhuang B C(庄炳昌),Gu J(顾京), *et al.* Primary studies on *Glycine* phylogensis using RAPD data. *Chinese Science Bulletin*(in Chinese)(科学通报),1994, **39**(2):175~178.

[6] Zhuang B C(庄炳昌),Hui D W(惠东威), Wang Y M(王玉民). RAPD analysis of different evolution type soybeans in China. *Chinese Science Bulletin*(in Chinese)(科学通报),1994, **39**(23):2178~2180.

[7] Hardrvs H. Applications of random amplified polymorphic DNA(RAPD)in molecular ecology. *Molecular Ecology*, 1992, **1**:55~63.

[8] Dawson I K, Chalmers K J, Waugh R, *et al.* Detection and analysis of genetic variation in *Hordeum spontaneum* population from Israel RAPD. *Molecular Ecology*,1993, **2**:151~159.

[9] Kongkiangam P, Waterway M J, Fortin M G, *et al.* Genetic variation within and between two cultivars of red clover (*Trifolium pratense* L.):Comparisons of morphological, isozyme, and RAPD markers. *Euphytica*, 1995, **84**:237~246.

[10] Wang 万方数据, Hu Z A(胡志昂),Zhong M(钟敏), *et al.* Genetic differentiation of and physiological adaptation of wild soybean (*Glycine soja*) populations under saline conditions: isozymatic and random amplified polymor-

- phic and DNA study. *Acta Botanica Sinica* (in Chinese)(植物学报), 1997, **39**(1):34~42.
- [11] Hu Z A(胡志昂). Genetic Diversity of Wild Soybean (*Glycine soja* Sieb & Zucc. *Acta*) population. In: Hu Z A(胡志昂), Zhang Y P(张亚平) eds. *Genetic diversity of animals and plants in China*(in Chinese). Hangzhou: Zhejiang Science and Technology Press. 1997. 169.
- [12] Zu Y G(祖元刚), Sun M(孙梅), Kang Le(康乐). *The application, method and theory of molecular ecology*(in Chinese). Beijing: China Higher Education Press and Springer- Verlag Heidelberg. 1999.
- [13] Qian J(钱吉), Cheng X(陈痒), Zheng S Z(郑师章), et al. Genetic variations among populations of wild soybeans from different latitude. *Journal of Fudan University (Nature Science)*(in Chinese)(复旦学报), 1998, **37**(2):208~212.
- [14] Chen X Y(陈小勇), Song Y C(宋永昌). Genetic diversity and differentiation of *Cyclobalanopsis glanca* populations in east China. *Acta Botanica Sinica*(in Chinese)(植物学报), 1997, **39**(2):149~155.
- [15] Skroch PW, Nienhuis J. Qualitative and quantitative characterization of RAPD variation among snap bean (*Phaseolus vulgaris*) genotypes. *Theor. and Appl. Genet.*, 1995, **91**:1078~1085.
- [16] Huff D R, Peakall R, Smouse P. E. RAPD variation within and among natural populations of outcrossing buffalo grass, *Theor. and Appl. Genet.*, 1993, **86**:927~934.
- [17] Daniel K X Chong, Rong-Cai Yang, Francis C. Yeh. Nucleotide divergence between populations of trembling aspen (*Populus tremuloides*) estimated with RAPDs, *Curr Genet*, 1994, 374~376.
- [18] Chalmers KJ, Waugh R. Detection of genetics variation between and within populations of *Gliricidia sepium* and *G. maculata* using RAPD markers. *Heredity*, 1992, **69**:465~472.
- [19] Ratnaparkhe M B, Gupta V S, Ven Murthy M R, et al. Genetic fingerprinting of pigeonpea (*Cajanus cajan*, L. Millsp.) and its wild relatives using RAPD markers. *Theor. and Appl. Genet.*, 1995, **91**(6~7): 893~898.