

基于 EST-SSR 分子标记的栀子野生群体遗传多样性研究

邓绍勇^{1,2}, 朱培林¹, 温强¹, 李康琴¹, 王贤荣^{2*}

1. 江西省林业科学院, 江西 南昌 330032

2. 南京林业大学生物与环境学院, 江苏 南京 210037

摘要: 目的 研究栀子 *Gardenia jasminoides* 野生群体遗传多样性, 为栀子野生植物资源的保护和合理利用提供科学依据。方法 利用 14 对 EST-SSR 引物对栀子 19 个野生群体 573 个个体进行研究, 计算遗传参数, 分析遗传多样性, 进行聚类分析。结果 检测到 75 个等位基因, 发现栀子野生群体有较高的遗传多样性水平 ($H_e=0.703$), 栀子野生群体的基因多样性 (N_{ei}) 平均为 0.603, Shannon 多样性指数 (I) 平均为 1.10; 群体间表现为中等程度的遗传分化 ($F_{st}=0.141$) 和较高水平的基因流 ($N_m=1.523$), AMOVA 方差分析结果 (0.124) 显示群体变异主要以群体内变异为主, Mantle 检验分析结果显示地理距离与遗传距离相关程度较低, TPM 检验结果显示栀子 73.7% 的群体在历史近期经历过瓶颈效应。结论 栀子野生群体目前保持有较高的遗传多样性水平。

关键词: 栀子; 野生群体; EST-SSR; 遗传多样性; 地理距离

中图分类号: R282.12 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)02-0431-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.02.025

Genetic diversity of natural *Gardenia jasminoides* populations based on EST-SSR analysis

DENG Shao-yong^{1,2}, ZHU Pei-lin¹, WEN Qiang¹, LI Kang-qin¹, WANG Xian-rong²

1. Forest Academy of Jiangxi Province, Nanchang 330032, China

2. College of Biology and the Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China

Abstract: Objective The genetic diversity of the natural populations of *Gardenia jasminoides* were investigated to provide scientific basis for its resources protection and rational utilization. **Methods** Fourteen pairs of EST-SSR primers were screened in 19 natural populations of 573 individuals to calculate the genetic parameters of *G. jasminoides*, and further cluster analysis was then carried out. **Results** Fourteen pairs of EST-SSR primers generated 75 loci, which showed high genetic diversity maintained in natural populations of *G. jasminoides* ($H_e = 0.703$). Mean population gene diversity (N_{ei}) within populations was 0.603, the Shannon's diversity index (I) was 1.10. Moderate genetic differentiation ($F_{st} = 0.141$) and high gene flow ($N_m = 1.523$) among populations have been showed too. AMOVA analysis revealed that genetic variation within populations was the main sources of total variation. The Mantle test showed there was no significant correlation between genetic distances and geographic distances. Moreover, significant bottlenecks effects in two-phased model of mutation (TPM) test in 73.7% populations were detected in recent history. **Conclusion** The results in this study indicated that high level genetic diversity were existed in the natural *G. jasminoides* populations.

Key words: *Gardenia jasminoides* Ellis; natural populations; EST-SSR; genetic diversity; geographic distances

栀子 *Gardenia jasminoides* Ellis 为茜草科栀子属多年生常绿灌木, 在我国长江以南各省区广泛分布, 如江西、湖南、浙江、福建、广东、广西和贵州等省。栀子是我国传统的大宗药材, 以干燥成熟

果实入药, 具有泻火除烦、清热利尿、凉血解毒的功效。人工大面积栽培历史悠久。目前对其有效成分、药理、药性等方面做了大量的研究工作, 但涉及栀子遗传资源的研究较少^[1], 仅有一些对栀子栽

收稿日期: 2017-06-01

基金项目: 江西省重点研发计划项目 (20161BBG70097); 江西省林业科学院博士启动项目 (2014521203); 江西省林业科学院青年培养项目 (2015521201)

作者简介: 邓绍勇 (1982—), 男, 博士, 副研究员, 主要研究方向为植物资源学。Tel: (0791)83833803 E-mail: dsy1982cn@aliyun.com

*通信作者 王贤荣 Tel: (025)85427657 E-mail: wangxianrong66@njfu.edu.cn

培种质资源或群体遗传多样性的相关研究报道^[2-3], 对梔子野生群体遗传多样性研究更是缺乏, 常常只有少数野生个体作为参照与栽培个体进行比较分析。可见, 对梔子野生群体的遗传多样性现状的了解几乎是空白, 这极不利于人们对梔子遗传资源的保护及评价利用。

SSR 具有含量丰富、多态性高、共显性和检测方法简单等优点, 广泛用于濒危及药用植物野生群体遗传多样性研究, 如绞股蓝^[4]、党参^[5]等, 尤其是近期对梔子核基因 SSR 标记^[6]及 EST-SSR 标记^[7]开发取得成功, 为梔子群体遗传多样性研究奠定了很好的基础。本实验以目前处于野生状态的 19 个梔子群体为研究对象, 群体取样基本覆盖国内梔子野生分布区域, 采用 EST-SSR 分子标记对其遗传多样性、遗传变异及遗传分化等方面进行了研究, 以期

对梔子野生遗传资源的现状有更加清晰的认识, 可为野生资源的评价利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

野外采集新鲜完整的梔子, 经南京林业大学生物与环境学院王贤荣教授鉴定为梔子 *Gardenia jasminoides* Ellis 幼嫩叶片, 将采集的样品迅速放入自封袋内, 立即加入变色硅胶并摇匀 (变色硅胶与样品质量比约为 10:1), 使叶片和变色硅胶充分接触, 封好袋后于常温干燥处保存。根据硅胶变色情况及时更换硅胶。共采集梔子 19 个野生群体 573 份个体样本, 每个群体采集 30~32 份个体, 单株间隔距离在 20~30 m。样株具备的条件是: 株高 1 m 以上, 长势良好、无病害, 取样部位尽可能选取当年生枝条顶端叶 6~8 片。样品采集地基本情况详见表 1。

表 1 19 个梔子野生群体基本信息

Table 1 Information on 19 natural populations of *G. jasminoides*

群体代码	地点	纬度 (N)	经度 (E)	海拔/m	个体数
CZ-AH	安徽池州	30°37'	117°31'	18	30
LY-FJ	福建龙岩	25°05'	116°58'	497	30
SC-FJ	福建顺昌	26°47'	117°49'	164	30
YA-FJ	福建永安	25°58'	117°23'	215	30
ZZ-FJ	福建漳州	24°29'	117°44'	90	31
DG-GD	广东东莞	22°57'	113°41'	91	30
HY-GD	广东河源	23°47'	114°38'	176	30
MZ-GD	广东梅州	24°14'	116°08'	202	32
PL-GX	广西平乐	24°37'	110°39'	192	30
RJ-GZ	贵州榕江	25°56'	108°31'	254	30
DX-HN	湖南道县	25°39'	111°22'	269	30
DK-HN	湖南洞口	27°05'	110°33'	265	30
SY-HN	湖南邵阳	27°12'	111°27'	269	30
NC-JX	江西南昌	28°45'	115°47'	139	30
SC-JX	江西石城	26°23'	116°20'	261	30
WN-JX	江西武宁	29°18'	115°04'	110	30
ZS-JX	江西樟树	27°59'	115°33'	65	30
SX-ZJ	浙江绍兴	29°56'	120°35'	50	30
YW-ZJ	浙江义乌	29°22'	120°02'	107	30

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取 采用改进的 CTAB 裂解-硅珠吸附法^[8]从变色硅胶保存的叶片中提取总基因组 DNA。

1.2.2 SSR 扩增反应及检测 从 25 对梔子 EST-SSR 多态引物^[7]中挑选出多态性良好的 14 对引物 (表 2), 用于本实验的 PCR 扩增反应, 所有的 PCR 扩增反应程序由 Eppendorf 5331 梯度 PCR 扩增仪 (Eppendorf 公司, 德国) 执行, 并经优化筛选出适宜梔子的 SSR 标记反应体系和程序。其反应体系为 10 μL 中含 1.5 μL 模板 DNA (50

ng/μL)、1 μL 10×Buffer (Mg²⁺ free)、0.6 μL MgCl₂ (25 mmol/L)、0.8 μL dNTPs (10 mmol/L)、0.3 μL F-primer (10 μmol/L)、0.3 μL R-primer (10 μmol/L)、0.1 μL Taq 酶 (5 U/μL) (TaKaRa Bio Inc., Otsu, Shiga, 日本)、5.4 μL ddH₂O。反应程序为 94 °C 预变性 3 min; 94 °C 变性 30 s, 63 °C 退火 30 s (每循环降低 1 °C), 72 °C 延伸 30 s, 共 15 个循环; 94 °C 变性 30 s, 57 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 30 s, 共 15 个循环; 72 °C 延伸 10 min; 10 °C 保持。PCR 扩增产物用 8% 聚丙烯酰胺凝胶电泳检测, 采用银染技术显带。

表 2 使用的 14 对多态性较好的栀子引物

Table 2 Fourteen primers used for amplifying microsatellite loci of *G. jasminoides*

位点	引物序列 (5'-3')	重复单元	片段大小/bp	退火温度/℃	GenBank 登记号
eGJ004	F: TCACCTCAGCAGCCTACTCT R: AGAGAGAAGTGGGCACGTTG	(CCAAA) ₅	199	60	KM279432
eGJ006	F: CATGCCGCCGTGATTGATTT R: GCCCCTTCTAGCCAATGTGT	(AATAG) ₅	168	60	KM279433
eGJ011	F: CTCCTGGGCAAGACTTTGGT R: GCGGTGGATCGGTGTCTTAA	(TTGCC) ₅	221	60	KM279435
eGJ015	F: CCAAACCAACCGCTCAACAG R: ATGCCGTGTGTTGAGTGAGT	(ACTC) ₆	127	60	KM279436
eGJ019	F: GAAGGGGTGGCTCCAATTCA R: ACTTGGTCCGCTGGATAACG	(GCTG) ₅	277	60	KM279437
eGJ026	F: GTCAGTGTGGCTGCCATTTG R: AGAGCAACGCCACGTATCAA	(GCT) ₇	164	60	KM279438
eGJ041	F: CTCCCACACACACGGAAGA R: GCTCAGTGGTGGAGAAGAGG	(GA) ₁₁	197	60	KM279441
eGJ087	F: GCACCAGTTACTTGGTCTCCA R: GAGGGGTTTGCACGTCTGTA	(TCC) ₆	191	60	KM279445
eGJ091	F: CCCCCACATTCGGCATTTTC R: TCAGTGATTCTGTTGGACCCG	(TCA) ₇	142	60	KM279446
eGJ098	F: GTGGTTCCGGCTAGTCAGTC R: ACCTGCCATCGGATAAAGCC	(GGA) ₆	105	60	KM279447
eGJ123	F: GAATGCTGTTCCAAAGCTGCA R: CTTTGTGGTTCCGTGGCAAG	(GA) ₉	183	60	KM279451
eGJ134	F: AAACAGACCAGGCATGAGCA R: AAGTGGCACCGTCTGATGAG	(CA) ₉	175	60	KM279454
eGJ144	F: TGAGCTGATGCACTCACAGA R: CCTGGACCTGGAGAAAGACG	(AG) ₉	222	59	KM279455
eGJ145	F: CCCCTTGGTCTAGAGGTGGA R: TTAGCCTACGAGGAATGGCG	(AG) ₉	202	60	KM279456

1.2.3 位点判读和分析软件使用 SSR 属于共显性标记, 同一引物对不同模板的扩增产物如果在电泳迁移率一致, 即被认为是同一位点, 即具有同源性。对所得的图片采用多人判读比对方式对胶图数据进行判读, 按条带长度大小从大到小用 A、B、C、D、E…进行编号, 即最上面的等位基因条带为 A, 读带结果如 AB、BC 等, 若某一个样本只有一条带, 读带结果则为 AA、BB 等。同时统计各位点条带的片段大小, 方便数据数值转换, 条带分析完之后把所有的结果根据软件格式要求输入相应软件进行实验数据处理与统计分析。

利用 POPGEN32 软件^[9]计算观察等位基因平均数 (N_a)、有效等位基因数目 (N_e)、观察杂合度 (H_o)、期望杂合度 (H_e)、Shannon 多样性指数 (I)、Nei 多样性指数 (N_{ei}) 以及遗传距离 (D)。群体之间的遗传变异比率通过 F 统计量 (F_{st}) 估算, 群体间的基因流 (N_m) 通过公式 $N_m = 0.25(1 - F_{st})/F_{st}$ 计算得到。使用 Arlequin 3.5 软件^[10]对群体内与群体间不同水平的遗传变异来源进行 AMOVA 分子变异方差分析, 同时计算各群体间的遗传分化 [$F_{st}/(1 - F_{st})$]^[11]; 采用 NTSYS-pc 2.10e 软件^[12]的 UPGMA 法利用 N_{ei} 遗传距离

(1978) 构建系统聚类图; 利用经纬度地理距离测算软件计算群体间的空间距离, 再采用 TFPGA 软件^[13]对梔子各群体的空间距离与遗传距离、遗传分化的相关性进行 Mantle 检验^[14]分析; 采用 Bottleneck version 1.2.02^[15]软件检验各群体在历史近期是否发生瓶颈效应。

2 结果与分析

2.1 梔子野生群体遗传多样性

14 对梔子 EST-SSR 引物均在供试群体中得到了较好的多态扩增, 引物 eGJ004、eGJ006、eGJ011 和 eGJ144 对梔子部分野生群体的扩增产物电泳结果见图 1。通过比较分析 19 个梔子野生群体的各遗传多样性参数, 从表 3 反映出梔子野生群体的基因多样性为 0.603, 各群体 N_{ei} 差异不显著, 其变化范围为 0.538~0.649, 19 个野生群体中 N_{ei} 最高的为福建顺昌群体, 最低的为贵州榕江群体, 所有供试群体多态位点百分比均为 100%。另外各群体 I 差异也不显著, 其变化范围为 0.991~1.221, 平均为 1.10, 除贵州榕江群体的 I 小于 1 外, 其他群体均大于 1。 N_{ei} 和 I 均显示各群体多样性都保持在较高水平, 其中福建顺昌群体遗传多样性最高, 贵州榕江群体遗传多样性最低。而各群体的 N_e 值介于 2.36~3.03, 各群体 H_o 和 H_e 值范围分别为 0.423~0.600 和 0.547~0.660, 以检测到的 N_e 和 H_e 作为标准, 江西南昌和福建顺

昌群体的遗传多样性较高, 而贵州榕江群体的遗传多样性水平仍然显示最低。

19 个群体的固定指数 F 值均大于 0, 固定指数最大的广东东莞群体 ($F=0.264$) 其等位基因频率偏离哈迪-温伯格平衡 (Hardy-Weinberg) 最远, 而浙江绍兴群体 ($F=0.052$) 等位基因频率最接近平衡。总体而言各群体的固定指数 F 值均较低, 平均值为 0.145, 说明群体偏离平衡, 表现为纯合子过剩。

2.2 群体的遗传分化和基因流

利用 14 对引物组合分析 573 份梔子样本分析遗传分化和各基因位点之间的基因流, 表 4 显示根据 Nei F 统计量 (F_{st}) 对群体遗传变异进行分析的结果, F 统计显示不同位点分化系数有一定差异, 最小为位点 eGJ087 (0.095), 最大为位点 eGJ123 (0.202), 平均为 0.141。这个结果说明群体间的遗传变异只占 14.1%, 而 85.9% 的遗传变异来源于群体内。根据群体内与群体间的 AMOVA 分子变异组分分析结果显示, 12.35% 的遗传变异存在于群体间, 群体内个体间遗传变异占 10.97%, 而以个体间遗传变异为主 (76.68%); 这些分析结果对梔子野生群体遗传分化的反映基本一致, 即不同群体间的变异不显著, 群体变异的主要来源是群体内的个体之间。通过 F_{st} 估算的 N_m 处于 0.987~2.391, 平均为 1.523。

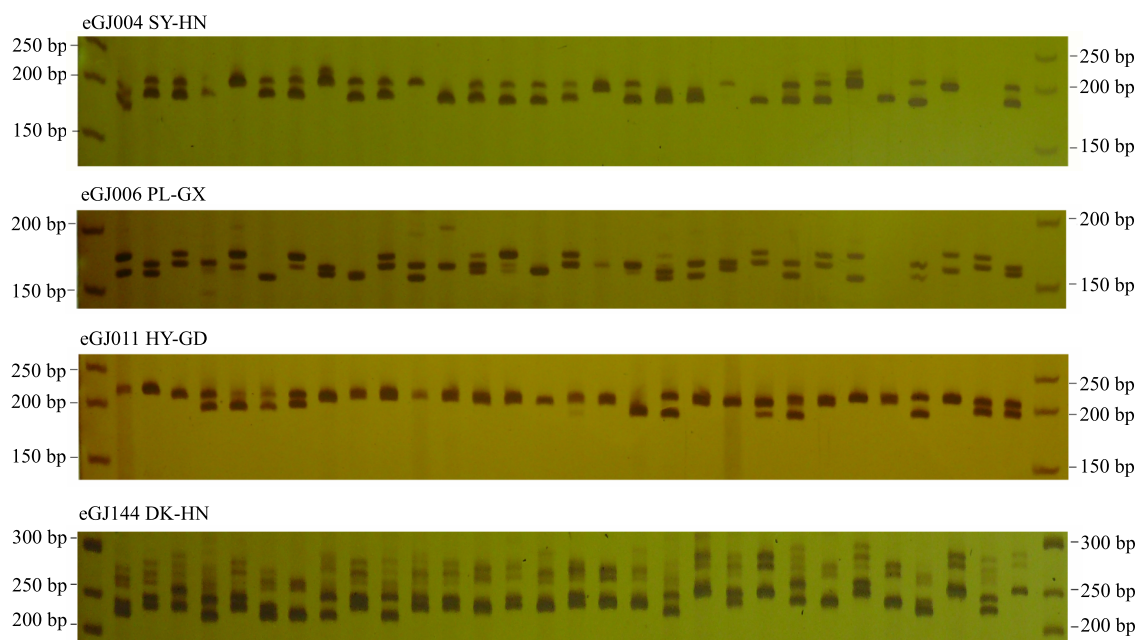


图 1 部分 SSR 引物对梔子野生群体的 PCR 扩增电泳检测

Fig. 1 PCR amplification products by using parts of SSR primers in natural populations of *G. jasminoides*

表 3 19 个梔子野生群体遗传多样性

Table 3 Genetic diversity among 19 natural populations of *G. jasminoides*

群体代码	样本大小/bp	<i>A</i>	<i>N_e</i>	<i>I</i>	<i>H_o</i>	<i>H_e</i>	<i>N_{ei}</i>	<i>F</i>	多态位点百分率/%
CZ-AH	30	4.071	2.859	1.164	0.600	0.647	0.636	0.073	100
LY-FJ	30	4.000	2.740	1.085	0.517	0.610	0.599	0.152	100
SC-FJ	30	4.143	2.974	1.177	0.562	0.660	0.649	0.148	100
YA-FJ	30	3.857	2.482	1.001	0.474	0.587	0.577	0.193	100
ZZ-FJ	31	4.143	2.688	1.075	0.566	0.598	0.588	0.054	100
DG-GD	30	4.000	2.550	1.068	0.446	0.606	0.595	0.264	100
HY-GD	30	4.643	2.962	1.221	0.537	0.658	0.647	0.184	100
MZ-GD	32	4.500	2.739	1.161	0.587	0.635	0.625	0.076	100
PL-GX	30	4.500	2.676	1.107	0.503	0.596	0.586	0.156	100
RJ-GZ	30	4.143	2.363	0.991	0.423	0.547	0.538	0.227	100
DX-HN	30	4.000	2.514	1.033	0.501	0.581	0.571	0.138	100
DK-HN	30	4.071	2.557	1.081	0.491	0.606	0.596	0.190	100
SY-HN	30	3.929	2.571	1.066	0.478	0.602	0.592	0.206	100
NC-JX	30	4.143	3.032	1.189	0.540	0.657	0.646	0.178	100
SC-JX	30	3.929	2.442	1.017	0.517	0.578	0.568	0.106	100
WN-JX	30	3.929	2.739	1.108	0.537	0.630	0.619	0.148	100
ZS-JX	30	4.214	2.660	1.104	0.526	0.607	0.597	0.133	100
SX-ZJ	30	4.214	2.700	1.107	0.581	0.613	0.602	0.052	100
YW-ZJ	30	4.357	2.820	1.140	0.586	0.633	0.622	0.074	100
平均值		4.147	2.688	1.100	0.525	0.613	0.603	0.145	100

表 4 *F* 统计量和基因流Table 4 Summary of *F*-statistics and gene flow of all loci

位点	<i>F_{is}</i>	<i>F_{it}</i>	<i>F_{st}</i>	<i>N_m</i> [*]
eGJ004	0.077	0.240	0.176	1.173
eGJ006	0.066	0.164	0.105	2.142
eGJ011	0.075	0.205	0.141	1.527
eGJ015	0.205	0.313	0.136	1.587
eGJ019	0.169	0.280	0.133	1.627
eGJ026	0.220	0.330	0.141	1.527
eGJ041	0.069	0.204	0.145	1.473
eGJ087	0.324	0.388	0.095	2.391
eGJ091	0.130	0.261	0.151	1.407
eGJ098	0.027	0.188	0.165	1.267
eGJ123	0.181	0.347	0.202	0.987
eGJ134	0.020	0.148	0.131	1.652
eGJ144	0.038	0.161	0.128	1.700
eGJ145	0.241	0.330	0.118	1.878
平均值	0.129	0.252	0.141	1.523

^{*} $N_m = 0.25 (1 - F_{st}) / F_{st}$

2.3 遗传距离及遗传相关性分析

利用 Nei 遗传距离 (1978) 按 UPGMA 法构建系统聚类图, 图 2 上显示一些地理距离相近的群体聚在一起, 如江西石城和福建永安群体, 广西平乐和贵州榕江群体, 福建漳州和广东河源群体, 江西武宁、江西南昌和安徽池州群体。但也有部分地理距离较远的群体也聚在了一起, 如浙江绍兴和广东梅州群体, 湖南邵阳和福建龙岩群体。在遗传距离 0.28 处左右可将梔子 19 个野生群体分为 4 大组, 局部群体按照地理空间分布格局进行分类, 但从整体上看并未按照地理空间距离分布格局进行分类。其中, 广东东莞群体单独成 1 组; 广西平乐和贵州榕江群体 1 组; 广东梅州、广东河源、浙江绍兴、福建漳州、湖南洞口和江西樟树 6 个群体成 1 组; 湖南邵阳、湖南道县、江西石城、江西南昌、江西武宁、福建永安、福建龙岩、福建顺昌、安徽池州、浙江义乌 10 个群体成 1 组。

Mantle 检验分析显示空间距离与遗传距离相关

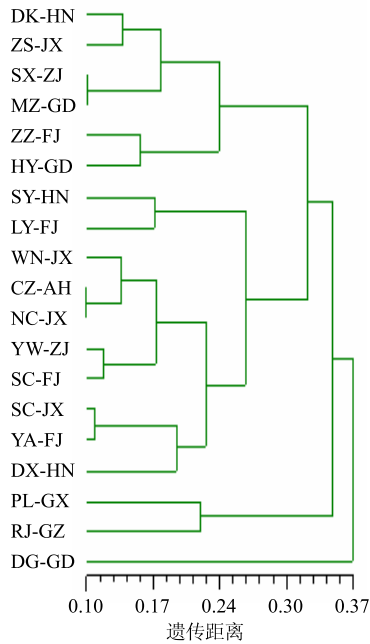


图 2 19 个梔子野生群体聚类图

Fig. 2 Dendrogram of 19 natural populations of *G. jasminoides*

程度较低 ($r=0.145\ 9$, $P=0.063\ 9$), 另外, 通过对 19 个梔子群体间的遗传分化与空间距离间的相关性分析, 可以检验梔子群体间是否存在地理隔离效应^[11]。通过 1 000 次的随机检测, 二者存在一定的相关性, 但相关性不显著 ($r=0.170\ 5$, $P=0.039$), 即遗传分化随地理距离的变化趋势不明显。

2.4 瓶颈效应检测

采用 TPM (two-phased mode of mutation) 模型的 Wilcoxon 检验 (Wilcoxon sign-rank test) 进行分析结果显示, 除平乐、石城、东莞、榕江、道县 5 个群体外, 其他 14 个群体均在近期经历过瓶颈效应 ($P<0.05$, 表 5)。而采用 SMM 模型的 Wilcoxon 检验 (Wilcoxon sign-rank test) 进行分析结果显示, 池州、南昌 2 个群体近期经历了瓶颈效应 ($P<0.05$), 其他群体则在近期均未经历过瓶颈效应 (表 5)。

3 讨论

3.1 梔子野生群体的遗传多样性现状

杂合度指数是目前普遍用于评价群体遗传多样性的指数, 梔子野生群体期望杂合度平均为 0.703, 显示出较高的遗传多样性水平, 高于以同样采用 SSR 标记进行群体遗传多样性分析的其他一些植物, 如黄连木 *Pistacia chinensis* Bunge^[16] 为 0.472, 迎春樱桃 *Cerasus discoidea* Yü et Li^[17] 为 0.445。植物遗传多样性的大小不仅受其自身的生活史长短、生殖方式、交配系统等影响, 其地理分布的大小等因素也

表 5 梔子野生群体瓶颈效应检测

Table 5 Bottleneck effect test of *G. jasminoides*

群体	Wilcoxon 检验	
	TPM	SMM
DK-HN	0.002 62**	1.000 00
SX-ZJ	0.049 44*	0.669 80
ZZ-FJ	0.013 43*	0.426 27
ZS-JX	0.016 60*	0.951 54
MZ-GD	0.035 28*	0.807 74
SY-HN	0.020 26*	0.172 61
LY-FJ	0.029 54*	0.267 58
PL-GX	0.172 61	0.583 01
WN-JX	0.000 61**	0.078 49
SC-JX	0.067 63	0.807 74
DG-GD	0.057 98	0.625 73
YW-ZJ	0.016 60*	0.426 27
YA-FJ	0.035 28*	0.325 81
RJ-GZ	0.541 63	0.172 61
CZ-AH	0.000 06**	0.002 01**
HY-GD	0.003 36**	0.463 13
DX-HN	0.135 25	0.807 74
NC-JX	0.000 31**	0.024 54*
SC-FJ	0.000 18**	0.057 98

* $P<0.05$ ** $P<0.01$

直接或间接地影响其总体遗传多样性水平的高低^[18], 梔子在物种水平上显示出较高的遗传多样性水平, 可能是因为它多年生木本植物且为广布种等原因。在群体水平, 梔子野生群体的 N_{ei} 平均为 0.603, 各群体 N_{ei} 差异不显著, 各群体 I 差异也不显著, 平均为 1.10, 各群体 H_e 均高于 H_o , 研究结果能较好的反映梔子野生群体的遗传多样性水平, 反映出梔子野生群体目前所处的环境选择压力还不是很大。另外, 19 个群体的近交系数 F 值均大于 0, 表现为纯合子过剩, 杂合子缺失。梔子花大醒目, 有蜜腺, 表现为虫媒异交, 但对其花的结构进行解剖发现, 包裹极其严实的梔子花瓣展开前, 其花药所处的位置紧贴柱头, 且花药已成熟开裂, 柱头也已经湿润, 又表现为闭花授粉, 本实验的数据分析结果似乎证实了梔子存在明显的自交现象, 更确切的定论还有待今后对梔子繁育系统等方面进行更深入的研究。

3.2 梔子野生群体遗传分化和基因流

群体的遗传分化程度常用基因固定指数 (F_{st}) 来评价, 而根据常规的评判标准, 当 $0.05<F_{st}<$

0.15 代表中等分化^[19]。本研究中梔子各群体 F_{st} 平均值为 0.141, 这个结果说明群体间的遗传变异只占 14.1%, 而 85.9% 的遗传变异来源于群体内, 梔子野生群体表现为中等程度的遗传分化, 与群体内与群体间的 AMOVA 分子变异组分分析结果 (0.124) 比较接近, 这些分析结果对梔子野生群体遗传分化的反映基本一致, 即不同群体间的变异不显著, 群体变异的主要来源是群体内的个体之间。通过 F_{st} 估算的 N_m 大小为 1.523, N_m 的大小可以反映群体间遗传物质的交流情况, 当 $N_m > 1$ 时, 认为群体每代迁入个体数超过 1 个, 基因流所起的作用能有效的抵制遗传漂变所起的作用, 防止群体间分化的发生^[20]。因此, 梔子群体间的基因流作用可能是其遗传分化较小的原因之一。梔子果一般 10 月开始成熟, 可以挂果至翌年 2 月, 成熟后多为鲜红色, 极为醒目, 是一些鸟类在冬季的主要食源植物, 以梔子果实为冬季食源的鸟兽可能是其远距离基因交流传播的主要方式之一。梔子野生群体的果实常被人为的采摘收集作为药材, 人为干扰也可能造成不同群体间的远距离基因交流。

3.3 梔子野生群体遗传关系

利用遗传距离按 UPGMA 法构建系统聚类图, 显示一些地理距离相近的群体聚在一起, 但也有部分地理距离较远的群体也聚在了一起, 从整体上看并未按照地理空间距离分布格局进行分类。Mantle 相关性检验分析结果也显示空间距离与遗传距离相关程度较低, 且遗传分化随地理距离的变化趋势也不明显。聚类结果中广东东莞群体单独成一组, 显示和其他群体遗传距离较远, 该群体很有可能存在较特异的遗传信息, 另外, 群体中地理位置靠西边的广西平乐和贵州榕江群体成 1 组。而瓶颈效应检测结果显示除这 3 个群体即平乐、榕江、东莞群体以及聚在一起的另外 2 个群体石城、道县 5 个群体外, 其他 14 个群体均在近期经历过瓶颈效应 ($P < 0.05$)。综合前面的分析结果可以推断, 梔子 73.7% 的群体在历史近期经历过瓶颈效应, 但由于通畅的基因流作用有效的抵制了遗传漂变所起的作用, 梔子各群体均保持较高的遗传多样性, 梔子各野生群体间地理隔离效应不明显。

3.4 梔子野生遗传资源的保护和利用

梔子果实市场需求量极大, 有记载上世纪 60 年代末梔子野生资源受到极大破坏^[21], 梔子野生分

布多在低海拔地区, 人为活动频繁, 直接采摘野生梔子果作为药材出售现象普遍, 梔子价格波动大, 在行情好的年份, 野生资源常被直接采果播种转家种, 加上梔子大面积的区域引种栽培, 这些复杂的因素都必然对其野生群体遗传多样性造成较大的影响。本实验的研究结论将有助于掌握梔子野生资源的遗传多样性现状, 通过有针对性的对梔子野生遗传资源的收集保存和选育, 有望丰富栽培群体的遗传资源, 提高梔子的产量和质量, 能大大减轻人们对梔子野生资源需求导致的破坏。

参考文献

- [1] 邓绍勇, 李康琴, 朱培林, 等. 梔子遗传资源研究现状与展望 [J]. 农业科技与信息: 现代园林, 2015, 12(10): 756-760.
- [2] Han J P, Zhang W S, Cao H B. Genetic diversity and biogeography of the traditional Chinese medicine, *Gardenia jasminoides*, based on AFLP markers [J]. *Biochem Syst Ecol*, 2007, 35(4): 138-145.
- [3] 雷 栗, 王 益, 赵阿曼, 等. 梔子道地药材遗传关系的 ISSR 证据 [J]. 中草药, 2009, 40(1): 116-120.
- [4] 张 笑, 郑骑坚, 李忠虎, 等. 绞股蓝的遗传多样性和群体结构研究 [J]. 中草药, 2015, 46(13): 1958-1965.
- [5] 李忠虎, 刘晓东, 王小琦, 等. 党参微卫星引物筛选及群体遗传多样性研究 [J]. 中草药, 2013, 44(2): 210-214.
- [6] Xu Y Q, Wei G Y, Zhou Y, et al. Isolation and characterization of twenty-two polymorphic microsatellite markers from *Gardenia jasminoides* (Rubiaceae) [J]. *J Genetics*, 2014, 93(1): e22-24.
- [7] Deng S Y, Wang X R, Zhu P L, et al. Development of polymorphic microsatellite markers in the medicinal plant *Gardenia jasminoides* (Rubiaceae) [J]. *Biochem System Ecology*, 2015, 58(4): 149-155.
- [8] 张 博, 张 露, 诸葛强, 等. 一种高效的树木总 DNA 提取方法 [J]. 南京林业大学学报: 自然科学版, 2004, 28(1): 13-16.
- [9] Yeh F C, Yang R C, Boyle T. PopGene Version 131: Microsoft Window-based freeware for population genetic analysis [J]. *Univ Alb Centr Int Forestry Res*, 1999(3): 11-23.
- [10] Epperson B K, Allard R W. Spatial autocorrelation analysis of the distribution of genotypes within populations of lodgepole pine [J]. *Genetics*, 1989, 121(2): 369-377.
- [11] Montgomery S. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies [J]. *Genetics*,

- 1995, 139(1): 457-462.
- [12] James Rohlf F. *NTSYS-pc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System* [M]. New York: Applied Biostatistics, 1992.
- [13] Mark P M. Tools for population genetic analyses (TFPGA) 1.3: A Windows program for the analysis of allozyme and molecular population genetic data [J]. *Comp Soft Distr Auth*, 1997, 4: 157-160.
- [14] Nathan M. The detection of disease clustering and a generalized regression approach [J]. *Cancer Res*, 1967, 27(2 Part 1): 209-220.
- [15] Sylvain P, Gordon L, Jean-Marie Cornuet. BOTTLENECK: A program for detecting recent effective population size reductions from allele data frequencies [J]. *Montpellier*, 1999(4): 223-227.
- [16] 吴志庄, 张志翔, 汪泽军, 等. 黄连木居群遗传多样性的 SSR 标记分析 [J]. 应用与环境生物学报, 2010, 16(6): 803-806.
- [17] 商 韬, 王贤荣, 南程慧, 等. 基于 SSR 标记的迎春樱自然居群遗传多样性分析 [J]. 甘肃农业大学学报, 2013, 48(6): 104-109.
- [18] Hamrick J L, Godt M J W, Anthony H D B, *et al.* Allozyme diversity in plant species [J]. *Plant Pop Gen Breed Gene Res*, 1990, 26: 43-63.
- [19] François B, Nicolas L M . The estimation of population differentiation with microsatellite markers [J]. *Mol Ecol*, 2002, 11(2): 155-165.
- [20] Sewall W. The genetical structure of populations [J]. *Ann Eug*, 1949, 15(1): 323-354.
- [21] 易刚强, 李云耀, 崔培梧, 等. 栀子过氧化物酶、酯酶同工酶的遗传多样性分析 [J]. 中南药学, 2012, 10(6): 428-432.