

文章编号:1001-1498(2016)02-0176-07

# 无患子天然居群遗传多样性研究

刁松锋<sup>1,2</sup>, 邵文豪<sup>2</sup>, 陈涛<sup>3</sup>, 姜景民<sup>2\*</sup>, 段文彬<sup>4</sup>

(1. 国家林业局泡桐研究开发中心, 中国林业科学研究院经济林研究开发中心, 河南 郑州 450003; 2. 中国林业科学研究院亚热带林业研究所, 浙江 杭州 311400; 3. 河南林业职业学院, 河南 洛阳 471002; 4. 河南省安阳市洹水公园, 河南 安阳 455000)

**摘要:** [目的] 通过我国无患子主要分布区的居群样本, 研究无患子天然居群的遗传多样性和遗传结构。 [方法] 采用 ISSR 分子标记技术, 利用 12 条 ISSR 引物分析 18 个天然居群的 265 株个体样本。 [结果] 表明无患子遗传多样性水平较高, 物种和居群水平上的多态位点百分率 (PPB) 分别为 95.37% 和 57.82%, Shannon's 信息指数 ( $I$ ) 分别为 0.2569 和 0.1998, Nei's 遗传多样性指数 ( $H$ ) 分别为 0.3909 和 0.2980。 AMOVA 分析表明, 18 个居群间出现一定程度的遗传分化, 且遗传变异主要发生在居群内。 UPGMA 聚类类和 Mantel 检验结果表明, 18 个天然居群可分为 2 大组群, 且居群间的地理距离与遗传距离之间不存在显著相关性 ( $r=0.0667, P=0.5417 > 0.05$ )。 [结论] 无患子以自交为主, 其天然居群遗传多样性丰富, 居群内的遗传多样性高于居群间。 研究结果可为无患子育种策略的科学制定和种质资源的有效保护及利用提供理论依据。

**关键词:** 无患子; ISSR; 遗传多样性; 遗传分化; 天然居群

中图分类号: S718.46

文献标识码: A

## Genetic Diversity of *Sapindus mukorossi* Natural Populations in China Based on ISSR

DIAO Song-feng<sup>1,2</sup>, SHAO Wen-hao<sup>2</sup>, CHEN Tao<sup>3</sup>, JIANG Jing-min<sup>2</sup>, DUAN Wen-bin<sup>4</sup>

(1. Paulownia Research and Development Center of State Forestry Administration, No-timber Forestry Research and Development Center, Chinese Academy of Forestry, Zhengzhou 450003, He'nan, China; 2. Research Institute of Subtropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Hangzhou 311400, Zhejiang, China; 3. He'nan Forestry Vocational College, Luoyang 471002, He'nan, China; 4. Huanshui Park of Anyang City, Henan Province, Anyang 455000, He'nan, China)

**Abstract:** [Objective] To reveal the genetic diversity and genetic structure in natural populations of *Sapindus mukorossi*. [Method] The genetic diversity and genetic structure of 265 *S. mukorossi* individuals sampled from 18 natural populations distributed in China were examined using fifteen inter-simple sequence repeat (ISSR) markers primers. [Result] The percentages of polymorphic bands (PPB) at the species and population level were 95.37% and 57.82%, respectively. The Shannon's indexes ( $I$ ) of phenotypic diversity at the species and population level were 0.2569 and 0.1998, respectively, and Nei's genetic diversities ( $H$ ) at the species and population level were 0.3909 and 0.2980, respectively. These results indicated that *S. mukorossi* contains relatively high levels of genetic diversity. There was genetic differentiation among the 18 populations to a certain level ( $G_{ST}: 0.2337$ ;  $F_{ST}: 22.22\%$ ; AMOVA genetic differentiation: 24.74%), and most of the genetic differentiation occurred within populations. The UPGMA clustering and Mantel test showed that there was no significant correlation between the geographical distance and genetic distance ( $r=0.0667, P=0.5417 > 0.05$ ). [Conclusion] *S. mukorossi* was given

收稿日期: 2015-08-03

基金项目: 国家公益性行业科研专项(201404104, 200804032); 浙江省-中国林科院省院合作项目(2013SY01); 浙江省重大科技专项重点农业项目(2011C12015)

作者简介: 刁松锋(1989—), 男, 河南商丘人, 研究实习员, 硕士, 主要从事经济林遗传育种和分子生物学研究。

\* 通讯作者: 姜景民, 研究员, 博士, 博士生导师, 主要从事林木遗传育种和种质资源研究。 E-mail: jmjiang6001@163.com

priority to selfing. Its natural populations had abundant genetic diversity. And the genetic diversity of *S. mukorossi* within populations was higher than that among populations. The present study could provide a reference for the conservation and utilization of *S. mukorossi*.

**Keywords:** *Sapindus mukorossi*; ISSR; genetic diversity; genetic differentiation; natural populations

无患子 (*Sapindus mukorossi* Gaertn.) 为无患子科 (Sapindaceae) 无患子属 (*Sapindus* L.) 落叶乔木, 是一种重要的绿化彩化树种, 广泛分布在亚洲和美洲的热带亚热带低山丘陵及石灰岩地区, 欧洲也有分布<sup>[1]</sup>, 我国多分布于秦岭-淮河以南低山丘陵地区<sup>[2]</sup>。无患子果皮中的皂苷含量可达 10.76%<sup>[3]</sup>, 是一种天然的非离子型表面活性剂, 具有良好的起泡性和去污能力, 可用来替代石化产品原料生产洗涤剂<sup>[4]</sup>。无患子皂苷还具有抗病毒、降血压等药理作用<sup>[5-6]</sup>。无患子种仁油脂含量可达 42.73%, 其中不饱和脂肪酸含量高达 86.63%, 具有开发生物柴油的潜力<sup>[7]</sup>。无患子已被国家林业局列为重要生物质能源树种, 可望成为支撑新兴绿色产业的新型经济林种。

目前, 国内外学者对无患子的研究大多集中在其皂苷化学活性成分<sup>[8]</sup>及提取工艺<sup>[9]</sup>、药理效果与临床应用<sup>[5-6]</sup>、种实表型变异<sup>[10-11]</sup>、经济性状区域差异<sup>[3,12]</sup>以及果实发育及其生理<sup>[13-14]</sup>和光合变化<sup>[15]</sup>等方面。无患子分子技术方面的研究尚处于起步阶段。Mahar 等<sup>[16]</sup>采用 RAPD 和 ISSR 等技术分析了印度 6 个无患子居群 69 个单株的遗传多样性。洪莉等<sup>[17]</sup>采用 ISSR 和 SRAP 技术对来自 13 个种源的 16 份无患子种质资源研究表明, 不同分布区无患子种质间多态性较高、遗传多样性较为丰富。但上述研究涉及的居群和个体数量少, 不能全面揭示其天然居群的遗传信息。本研究采用 ISSR 分子标记技术对我国分布相对集中的无患子资源的 18 个天然居群的遗传多样性水平进行研究, 旨在为无患子育种策略的科学制定和种质资源的有效保护及利用提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料采集

无患子长期以来都是江南主要的绿化树种之一, 当前无患子天然居群受人为影响较大。本研究根据现存无患子天然资源分布情况, 对无患子自然分布区内含 5 株以上成年个体的居群进行采样, 共采集了 11 个省级行政区的 18 个居群的 265 株个体

的当年生嫩叶(采样点见表 1)。采集的叶片放入盛有硅胶的密封袋带回实验室, 放入 -80℃ 冰箱中保存备用。

表 1 无患子取样群体概况

居群编码	居群	N	E	样本数
FJJO	福建建瓯	27°01'	118°18'	18
ZJLA	浙江临安	30°21'	119°26'	5
ZJSC	浙江遂昌	28°22'	118°52'	8
JXYF	江西宜丰	28°23'	114°48'	14
ZJLQ	浙江龙泉	27°54'	119°10'	15
GZRJ	贵州榕江	25°58'	108°04'	23
JXSY	江西上犹	26°18'	114°10'	24
AHHS	安徽黄山	30°12'	118°11'	15
SCCX	四川苍溪	32°08'	106°21'	6
GDZX	广东中山	25°44'	108°34'	26
GXLZ	广西龙州	22°26'	107°01'	5
AHCZ	安徽滁州	32°18'	108°18'	24
ZJTT	浙江天台	29°10'	120°59'	15
HNCS	湖南长沙	28°11'	112°55'	10
JSNJ	江苏南京	30°37'	116°37'	16
ZJFY	浙江富阳	30°04'	119°59'	17
ZJAJ	浙江安吉	30°23'	119°23'	16
HNXX	河南西峡	33°25'	111°21'	8

### 1.2 实验方法

1.2.1 基因组 DNA 提取及质量检测 用改良的 CTAB 法提取干燥处理后的无患子嫩叶基因组 DNA<sup>[18]</sup>。用 0.8% 琼脂糖凝胶电泳以及 Thermo 微量核酸蛋白分析仪 (Nanodrop2000c, 美国赛默飞世尔科技公司) 检测 DNA 的浓度和纯度。

1.2.2 引物筛选和 PCR 扩增 从加拿大哥伦比亚大学 (UBC) 公布第 9 套 ISSR 中筛选出扩增条带清晰、重复性好的引物序列 (共 12 条), 并由上海生工生物公司合成。

PCR 扩增反应在 TP600 PCR 仪 (日本 Takapa 公司) 进行。反应体系为: PCR 反应液总体积 20  $\mu\text{L}$ , 其中包括 1  $\mu\text{L}$  的 50  $\text{ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$  模板 DNA, 1.6  $\mu\text{L}$  的 10  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  dNTP mix (2.5 mM each dNTP), 1.6  $\mu\text{L}$  的 25  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{MgCl}_2$ , 2.0  $\mu\text{L}$  的 10  $\times$  assay buffer (Buffer F), 0.45  $\mu\text{L}$  的 10  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  primer, 0.9  $\mu\text{L}$  的 1  $\text{U} \cdot \mu\text{L}^{-1}$  rTaq 酶和 11.45  $\mu\text{L}$  ddH<sub>2</sub>O。

PCR 扩增程序为: 94℃ 预变性 4 min, 94℃ 变性 60 s, 52℃ 退火 60 s, 72℃ 延伸 2 min, 共 40 个循环, 最后 72℃ 再延伸 7 min, 4℃ 冷却取出。扩增产物用

1.5%琼脂糖凝胶在  $0.5 \times \text{TBE}$  缓冲液 ( $\text{pH} = 8.0$ ) 中电泳分离,电压为  $5 \text{ V} \cdot \text{cm}^{-1}$ ,对照为 2 000 bp DNA marker,电泳结束后用 F-980A 紫外凝胶成像系统(上海复日科技有限公司)观察,拍照记录。

### 1.3 数据处理

人工计带法判读电泳图谱,ISSR 标记多态条带频率被视为基因型频率处理,相同迁移位置上有无条带分别记为“1”或“0”,获得 0,1 二元数据矩阵。用 POPGENE version1.32 软件估算物种及居群多态条带百分率(Percentage of polymorphic loci,  $PPB$ )、Shannon 信息指数(Shannon's index of diversity,  $I$ )、Nei's 遗传多样性指数(Nei's expected heterozygosity,  $H$ )、Nei's 遗传分化指数(Coefficient of gene differentiation,  $G_{ST}$ )和居群每代迁移数(基因流, Gene flow,  $N_m$ ),其中  $N_m = 0.5 \times (1 - G_{st}) / G_{st}^{[19]}$ 。

利用 Arlequin3.1 软件包中的分子方差分析(AMOVA)软件计算无患子居群内、居群间遗传方差分量,估算居群间遗传分化系数  $G_{st}$ ,采用 AMOVA 1.55 软件对居群间和居群内的分子变异进行分析。采用 NTSYS-pc 2.10 软件对居群间的遗传相似度构建 UPGMA 聚类图。通过 TFGA 软件包中的 Mantel 检验程序分析居群间地理距离与遗传距离之间的相关性<sup>[20-21]</sup>。

文中出现的英文缩写及其代表意义, $D$ : Nei's 遗传距离(Genetic distance);  $T$ : Nei's 遗传一致度(Genetic identity);  $H_T$ : 居群总基因多样性(Total genetic diversity);  $H_S$ : 居群内的基因多样性(Gene diversity within populations);  $H_S/H_T$ : 居群内基因多样性占总遗传多样性的比率(The percentage of gene diversity within populations);  $I_{pop}$ : 居群内遗传多样性(Average genetic diversity within populations);  $I_{sp}$ : 种水平总的遗传多样性(Total genetic diversity of populations);  $I_{pop}/I_{sp}$ : 居群内遗传多样性占总遗传多样性的比率(The percentage of genetic diversity within populations);  $F_{ST} = (I_{sp} - I_{pop}) / I_{sp}$ : 居群间遗传分化系数(居群间遗传多样性占总遗传多样性的比率, The percentage of genetic diversity among populations)<sup>[22]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 无患子居群遗传多样性

利用 12 条 ISSR 引物对无患子 18 个居群 265 株单株进行扩增,共扩增出 137 条带,其中 114 条带呈现多态性,物种水平多态条带百分率( $PPB$ )为

83.21% (表 2)。由表 3 可知,无患子天然居群多态条带百分率( $PPB$ )中,河南西峡居群最高( $PPB = 82.41\%$ ),其次为广东中山居群( $PPB = 68.52\%$ )以及江西上犹居群( $PPB = 64.81\%$ ),湖南长沙和四川苍溪居群最低, $PPB$  分别为 35.19% 和 39.81%。从 Nei's 遗传多样性指数( $H$ )看,河南西峡居群最高( $H = 0.2599$ ),浙江临安居群次之( $H = 0.2542$ ),浙江天台和四川苍溪居群最低,分别为 0.1285 和 0.1399。其它指标大小变化趋势与居群多态条带百分率( $PPB$ )基本一致,18 个居群中 Shannon's 信息指数( $I$ )最大值为湖南长沙居群 0.3996,最小值为四川苍溪居群 0.2094。无患子居群物种水平的遗传多样性相对较高, $PPB$  达 95.37%, $H$  为 0.2569, $I$  则为 0.3909。

表 2 ISSR-PCR 引物及扩增结果

引物	序列(5'-3')	退火温度/°C	总条带数	多态条带数	多态条带百分率( $PPB$ )
UBC808	(AG) <sub>8</sub> C	50	10	8	80.00%
UBC818	(CA) <sub>8</sub> G	50	12	9	75.00%
UBC824	(TC) <sub>8</sub> G	50	13	10	76.92%
UBC830	(TG) <sub>8</sub> G	50	11	9	81.82%
UBC836	(AG) <sub>8</sub> YA	49	10	8	80.00%
UBC840	(GA) <sub>8</sub> YT	49	13	10	76.92%
UBC841	(GA) <sub>8</sub> YC	52	12	10	83.33%
UBC848	(CA) <sub>8</sub> RG	52	11	9	81.82%
UBC855	(AC) <sub>8</sub> YT	49	12	11	91.67%
UBC860	(TG) <sub>8</sub> RA	49	12	11	91.67%
UBC880	(GGAGA) <sub>3</sub>	49	10	9	90.00%
UBC881	(GGGT) <sub>3</sub> G <sub>3</sub>	57	11	10	90.91%
均值	-	-	11	10	83.34%
物种水平	-	-	137	114	83.21%

注: Y = (C, T), R = (A, G)。

表 3 无患子 18 个群体的遗传多样性参数估算

居群编码	多态性条带数	多态条带百分率( $PPB$ )	Nei's 遗传多样性指数( $H$ )	Shannon 信息指数( $I$ )
FJJO	84	61.11%	0.2235	0.3304
ZJLA	84	61.11%	0.2542	0.3681
ZJSC	72	52.78%	0.1975	0.2907
JXYF	85	62.04%	0.1985	0.2985
ZJLQ	86	62.96%	0.2241	0.3306
GZRY	86	62.96%	0.2050	0.3082
JXSY	89	64.81%	0.1963	0.2989
AHHS	81	59.26%	0.2285	0.3343
SCCX	55	39.81%	0.1399	0.2102
GDZS	94	68.52%	0.2218	0.3333
GXLZ	67	49.07%	0.1670	0.2523
AHCZ	80	58.33%	0.1874	0.2814
ZJTT	79	57.41%	0.1285	0.2108
HNCS	48	35.19%	0.1442	0.2094
JSNJ	71	51.85%	0.1990	0.2925
ZJFY	81	59.26%	0.2202	0.3225
ZJAJ	71	51.85%	0.2008	0.2924
HNXX	113	82.41%	0.2599	0.3996
均值	79	57.82%	0.1998	0.2980
物种水平	131	95.37%	0.2569	0.3909

### 2.2 无患子居群遗传分化程度

从表4可知,由Shannon信息指数( $I$ )估算无患子总的遗传变异中77.78%存在于居群内,22.22%存在于居群间。根据Nei's遗传多样性指数( $H$ )估算,无患子居群的遗传分化系数 $G_{ST}$ 为0.2337,表明无患子18个居群的遗传变异主要来自居群内。无患子居群间遗传多样性占总遗传多样性的比率 $F_{ST}$ 为0.2222,而Wright<sup>[23]</sup>认为,当 $F_{ST} < 0.05$ 时,居群间分化很小; $0.05 \leq F_{ST} \leq 0.15$ ,遗传分化程度中等;当 $0.15 < F_{ST} \leq 0.25$ ,居群间遗传分化明显; $F_{ST} > 0.25$ ,居群遗传分化很大。因此,无患子居群间遗传分化明显。 $N_m \geq 1$ ,则能发挥匀质化作用,在一定程度上抵制因遗传漂变而产生的居群遗传分化; $N_m < 1$ ,则表明基因流是居群间遗传结构分化的主要原因,遗传漂变可能是导致居群间明显遗传分化的主要原因<sup>[23]</sup>。无患子18个居群间遗传分化系数 $G_{st}$ 为0.2337,介于长寿命植物(0.2100~0.2500)、广布种植物(0.0760~0.3400)之间,表明无患子基本符合分布广泛的、多年生、高大乔木的生物学特征<sup>[24-25]</sup>。由 $G_{st}$ 计算出无患子居群间的基因流 $N_m$ 为1.6394,说明无患子居群间存在着较大程度的基因流。

利用AMOVA对无患子18个居群的遗传分化系数进行分析,结果表明无患子居群间遗传变异量约占总遗传变异量的23.37%,居群内遗传变异量占总变异量的76.63% ( $P < 0.001$ ,表5),表明无患子遗传多样性主要分布在居群内,且居群间也出现了一定程度的遗传分化。

表4 无患子18个群体的基因多样性分析

Shannon's 信息指数( $I$ )		Nei's 遗传多样性指数( $H$ )	
$I_{POP}$	0.269 5	$H_S$	0.199 8
$I_{SP}$	0.346 5	$H_T$	0.260 7
$I_{POP}/I_{SP}$	0.777 8	$H_S/H_T$	0.766 4
$F_{ST}$	0.222 2	$G_{ST}$	0.233 7

表5 无患子不同居群间的AMOVA分析

变异来源	自由度	df	总方差	方差组分	变异百分率	$P$
居群间	17		1 751.19	2.56	24.74%	<0.001
居群内	247		4 683.22	7.79	75.26%	<0.001

### 2.3 无患子群体间遗传结构和聚类分析

无患子18个居群两两之间的Nei's遗传一致度( $T$ )的变化范围在0.7880~0.9881之间,Nei's遗传距离( $D$ )的变化范围在0.0120~0.2574之间(表6)。其中贵州榕江居群和江西上犹居群间的遗传距离最远,遗传一致度最小,分化程度最高;而四川苍溪居群与湖南长沙居群间的遗传距离最近,遗传一致度最大,分化程度最低。故在基于Nei's遗传一致度的居群UPGMA聚类图中贵州榕江居群和江西上犹居群聚集为一组,而浙江富阳居群则与浙江安吉居群聚在一起,浙江遂昌居群则与江西宜丰居群聚在一起,这两个分支的分化程度最高(图1)。对无患子天然居群间遗传距离和地理距离进行Mantel检验(图2),结果显示遗传距离和地理距离之间的相关性不显著( $r = 0.0667, P = 0.5417 > 0.05$ ),说明无患子居群遗传分化不符合Wright的地理距离分化模式。

表6 无患子天然居群的Nei's遗传一致度和Nei's遗传距离

居群编码	FJJO	ZJLA	ZJSC	JXYF	ZJLQ	GZRJ	JXSY	AHHS	SCCX	GDZS	GXLZ	AHCZ	ZJTT	HNCS	JSNJ	ZJFY	ZJAJ	HNXX
FJJO		0.945 9	0.931 1	0.929 1	0.923 7	0.920 9	0.919 5	0.927 4	0.873 3	0.934 6	0.892 9	0.930 5	0.869 5	0.862 7	0.904 2	0.929 6	0.919 9	0.873 4
ZJLA	0.055 6		0.961 7	0.941 1	0.954 4	0.959 7	0.965 0	0.945 6	0.923 0	0.944 1	0.922 0	0.939 3	0.934 8	0.845 7	0.905 4	0.939 3	0.937 2	0.922 9
ZJSC	0.071 4	0.039 1		0.969 9	0.945 3	0.968 6	0.965 3	0.933 2	0.941 6	0.952 6	0.932 5	0.916 8	0.952 4	0.827 9	0.876 1	0.929 1	0.930 6	0.949 8
JXYF	0.073 6	0.060 7	0.030 5		0.956 4	0.954 7	0.946 2	0.931 3	0.933 9	0.950 4	0.940 2	0.911 1	0.932 7	0.828 1	0.872 7	0.928 3	0.933 8	0.937 4
ZJLQ	0.079 4	0.046 6	0.056 3	0.044 6		0.969 3	0.955 0	0.931 9	0.922 9	0.940 4	0.918 4	0.926 0	0.929 7	0.834 8	0.890 9	0.931 2	0.928 8	0.908 5
GZRJ	0.082 4	0.041 1	0.031 9	0.046 3	0.031 2		0.988 1	0.943 3	0.947 7	0.958 7	0.941 0	0.938 8	0.964 5	0.859 8	0.908 4	0.943 4	0.939 8	0.937 3
JXSY	0.083 9	0.035 6	0.035 3	0.055 3	0.046 1	0.012 0		0.958 3	0.947 1	0.953 9	0.928 0	0.954 0	0.965 0	0.858 5	0.913 5	0.939 6	0.945 0	0.934 3
AHHS	0.075 3	0.059 4	0.069 1	0.071 2	0.070 5	0.058 4	0.042 6		0.943 3	0.941 7	0.917 8	0.949 9	0.928 5	0.840 7	0.893 4	0.928 0	0.936 5	0.909 7
SCCX	0.135 5	0.080 1	0.060 2	0.068 4	0.080 2	0.053 8	0.054 4	0.058 4		0.940 5	0.922 2	0.897 8	0.967 7	0.780 8	0.833 9	0.904 7	0.907 1	0.930 7
GDZS	0.067 7	0.057 6	0.048 6	0.050 9	0.061 5	0.042 2	0.047 2	0.060 1	0.061 3		0.960 3	0.935 2	0.942 0	0.846 2	0.886 3	0.945 7	0.932 9	0.931 3
GXLZ	0.113 2	0.081 2	0.069 8	0.061 7	0.085 1	0.060 8	0.074 7	0.085 8	0.081 0	0.040 5		0.910 5	0.929 1	0.830 0	0.872 0	0.931 5	0.922 0	0.918 7
AHCZ	0.072 1	0.062 6	0.086 9	0.093 1	0.076 9	0.063 2	0.047 0	0.051 4	0.107 8	0.067 0	0.093 7		0.905 3	0.869 3	0.916 9	0.933 0	0.936 7	0.881 3
ZJTT	0.139 9	0.067 4	0.048 8	0.069 7	0.072 9	0.036 2	0.035 6	0.074 2	0.032 9	0.059 7	0.073 6	0.099 5		0.795 8	0.858 7	0.910 9	0.908 8	0.953 5
HNCS	0.147 7	0.167 6	0.188 9	0.188 6	0.180 5	0.151 0	0.152 6	0.173 5	0.257 4	0.167 0	0.186 3	0.140 0	0.228 5		0.957 5	0.900 4	0.887 1	0.776 9
JSNJ	0.100 7	0.099 4	0.132 3	0.136 1	0.115 5	0.096 1	0.090 5	0.112 7	0.181 6	0.120 7	0.137 0	0.086 8	0.152 4	0.043 4		0.927 2	0.922 8	0.841 6
ZJFY	0.073 0	0.062 7	0.073 6	0.074 4	0.071 2	0.058 3	0.062 3	0.074 7	0.100 1	0.055 9	0.071 0	0.069 4	0.093 3	0.104 9	0.075 6		0.983 3	0.910 4
ZJAJ	0.083 5	0.064 8	0.071 9	0.068 4	0.073 8	0.062 1	0.056 5	0.065 6	0.097 5	0.069 4	0.081 2	0.065 4	0.095 6	0.119 8	0.080 4	0.016 9		0.911 9
HNXX	0.135 4	0.080 2	0.051 6	0.064 6	0.095 9	0.064 8	0.067 9	0.094 6	0.071 8	0.071 2	0.084 8	0.126 3	0.047 6	0.252 4	0.172 5	0.093 9	0.092 2	

注:右上角数值为Nei's遗传一致度,左下角数值为Nei's遗传距离。

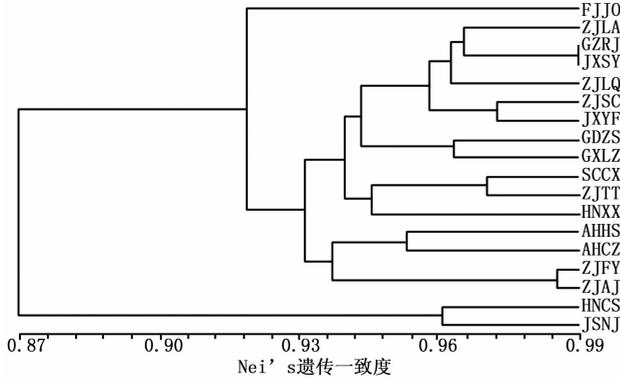


图1 基于 Nei's 遗传一致度的无患子不同天然居群 UPGMA 聚类

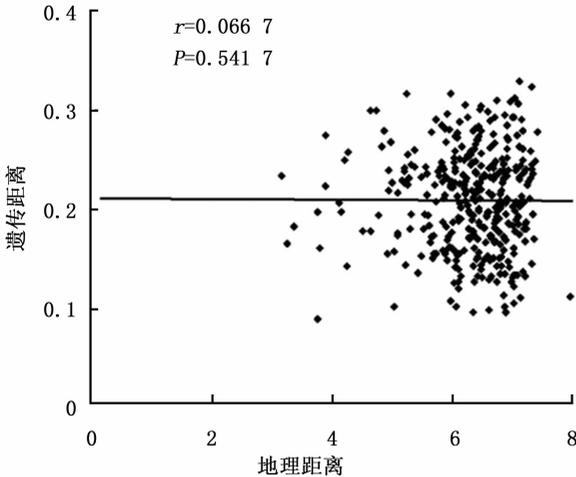


图2 无患子地理距离自然对数和遗传距离 Mantel 检验

### 3 结论与讨论

#### 3.1 无患子居群遗传多样性

基于 ISSR 分子标记技术对我国无患子主要分布区的 18 个天然居群共 265 个单株研究表明,无患子居群多态条带百分率( $PPB$ )达 95.37%、Nei's 遗传多样性指数( $H$ )为 0.2569、Shannon's 信息指数( $I$ )为 0.3909,表明无患子天然居群遗传多样性丰富,其中  $PPB$  明显高于 Nybom 等<sup>[26]</sup>总结的 107 个物种的平均  $PPB$  (71.02%),且高于本科植物掌叶木 (*Handeliodendron bodinieri* (Levl.) Rehd.) 的 49.42%<sup>[27]</sup> 和 59.65%<sup>[28]</sup>、伞花木 (*Eurycorymbus cavaleriei* (Levl.) Rehd.) 的 62.25%<sup>[29]</sup>、荔枝 (*Litchi chinensis* Sonn.) 的 83.59%<sup>[30]</sup>,与龙眼 (*Dimocarpus longan* Lour.) 的 95.40% 近似<sup>[31]</sup>。无患子分布区域广,具有丰富的遗传基础。Souza 等<sup>[32]</sup>认为物种遗传多样性水平是其进化历史事件、分布区大小、生物学特性(生活型、繁育系统)和生态条件(自然选择)以及人为干扰等因素综合作用的结果。大多数

广布种具有较高的居群遗传多样性<sup>[24,33]</sup>。本研究中四川苍溪、广西龙州、湖南长沙居群等取样较少, $PPB$  较低;广东中山、江西上犹、贵州榕江居群等取样数量较多, $PPB$  较高。表明无患子居群遗传多样性高低与居群的大小存在一定的正相关关系。

#### 3.2 无患子基因流和遗传分化

无患子 18 个居群的方差分析(AMOVA)结果显示, $F_{st}$  为 0.2223 ( $P < 0.001$ ),其中仅有 24.74% 的遗传多样性存在于居群间,大部分遗传变异(75.26%)存在于居群内,这说明无患子居群间遗传分化较小,遗传多样性主要存在于居群内<sup>[34]</sup>。Glémin 等<sup>[35]</sup>研究认为居群遗传分化系数受花粉传播方式、种子传播方式、生活史和地理分布的综合影响,是评价居群遗传结构的重要参数。Brown 等<sup>[36]</sup>发现繁育系统方式和基因交流程度是影响居群遗传结构最重要的因素,总体来看自交植物  $G_{st}$  大于异交植物  $G_{st}$ 。Hamrick 等<sup>[33]</sup>研究结果表明异交植物  $G_{st}$  为 0.1970,自交植物为 0.510,而混交植物仅为 0.216;Nybom<sup>[25]</sup>研究认为异交植物  $G_{st}$  为 0.270,自交植物为 0.650,混交植物则为 0.400。无患子  $G_{st}$  为 0.2337,介于 0.1970 和 0.2700 之间,表明无患子以自交为主,这与作者<sup>[13]</sup>观察调查的结果一致。

基因流( $N_m$ )大小与居群遗传分化高低有显著正相关关系,其大小可以直接反应居群遗传分化高低的情况<sup>[37]</sup>。 $N_m$  较大时,其居群间的基因交流较多,居群间的遗传分化较小; $N_m$  较小时,居群间的基因交流很少,导致居群间的分化程度加大。 $N_m \geq 1$  时,在一定程度上会降低因遗传漂变而产生的居群遗传分化; $N_m < 1$  则说明居群间的遗传分化主要是由  $N_m$  引起的<sup>[38-39]</sup>。本研究中无患子居群  $N_m = 1.6394$ ,略低于一般广布种的  $N_m$  均值 1.881<sup>[40]</sup>。花粉流和种子流对基因流的大小有着重要的影响,昆虫是无患子主要传粉媒介,自然状态下主要依靠种子繁殖,花粉传播和水流对其种子的散布效应,为异地居群间的基因交流提供了可能性。

#### 3.3 无患子不同天然居群聚类

基于 Nei's 遗传一致度( $T$ )的 UPGMA 聚类结果表明,无患子天然居群间与地理距离之间没有显著的相关性。Mantel 相关性矩阵检验也表明无患子居群间遗传距离与其地理距离之间不存在显著相关性( $r = 0.0667$ ,  $P = 0.5417$ )。无患子居群间遗传多样性与地理距离之间相关性不显著,可能是因为其分布范围较广和生长立地条件差异较大造成的。

地理和空间上大尺度的隔离和地形地貌复杂会引起植物天然居群间的基因交流受阻,导致居群间遗传分化极大;另外各居群在不同的选择压力下,经历各自独立的进化历程,这些都可能是导致居群间遗传多样性与地理距离之间相关性不显著的原因<sup>[41-42]</sup>。

## 参考文献:

- [1] Chhetri A B, Tango M S, Budge S M, *et al.* Non-edible plant oils as new sources for biodiesel production [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2008, 9(2): 169-180.
- [2] 中国植物志编辑委员会. 中国植物志四十七卷(第1分册)[M]. 北京: 科学出版社, 1998: 14-15.
- [3] 邵文豪, 姜景民, 董汝湘, 等. 不同产地无患子果皮皂苷含量的地理变异研究[J]. *植物研究*, 2012, 32(5): 627-631.
- [4] Ghagi R, Satpute S K, Chopade B A, *et al.* Study of functional properties of *Sapindus mukorossi* as a potential bio-surfactant[J]. *Indian Journal of Science and Technology*, 2011, 4(5): 530-533.
- [5] Ibrahim M, Khaja M N, Aara A, *et al.* Hepatoprotective activity of *Sapindus mukorossi* and *Rheum emodi* extracts: *In vitro* and *in vivo* studies[J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2008, 14(16): 2566-2571.
- [6] Verma N, Amresh G, Sahu P K, *et al.* Antihyperglycemic activity, antihyperlipidemic activity, haematological effects and histopathological analysis of *Sapindus mukorossi* Gaertn fruits in streptozotocin induced diabetic rats[J]. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 2012, 5(7): 518-522.
- [7] Sun S, Ke X, Cui L, *et al.* Enzymatic epoxidation of *Sapindus mukorossi* seed oil by perstearic acid optimized using response surface methodology[J]. *Industrial Crops and Products*, 2011, 33(3): 676-682.
- [8] Kuo Y H, Huang H C, Yang Kuo L M, *et al.* New dammarane-type saponins from the galls of *Sapindus mukorossi*[J]. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2005, 53(12): 4722-4727.
- [9] Du M, Huang S, Zhang J, *et al.* Isolation of total saponins from *Sapindus mukorossi* Gaertn[J]. *Open Journal of Forestry*, 2014, 4(1): 24-27.
- [10] 刁松锋, 邵文豪, 姜景民, 等. 基于种实性状的无患子天然群体表型多样性研究[J]. *生态学报*, 2014, 34(6): 1451-1460.
- [11] 刁松锋, 邵文豪, 姜景民, 等. 无患子实生群体种实表型性状变异研究[J]. *西北农林科技大学学报: 自然科学版*, 2014, 42(5): 75-83.
- [12] 邵文豪, 刁松锋, 董汝湘, 等. 无患子种实形态及经济性状的地理变异[J]. *林业科学研究*, 2013, 26(5): 603-608.
- [13] 刁松锋. 无患子花果性状多样性及果实发育规律研究[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2014.
- [14] 邵文豪, 刁松锋, 董汝湘, 等. 无患子果实发育动态及内含物含量变化[J]. *林业科学研究*, 2014, 27(5): 697-701.
- [15] 刁松锋, 邵文豪, 董汝湘, 等. 无患子光合生理日变化与生理生态因子的关系[J]. *西北植物学报*, 2014, 34(4): 828-834.
- [16] Mahar K S, Rana T S, Ranade S A. Molecular analyses of genetic variability in soapnut (*Sapindus mukorossi* Gaertn.) [J]. *Industrial Crops and Products*, 2011, 34(1): 1111-1118.
- [17] 洪莉, 柏明娥, 张加正, 等. 无患子种质资源多样性与亲缘关系的 ISSR 和 SRAP 分析[J]. *浙江农业科学*, 2013, (5): 566-568.
- [18] 彭珠清, 范辉华, 刘宝, 等. 无患子 SRAP-PCR 反应体系的优化[J]. *浙江农林大学学报*, 2014, 31(2): 322-328.
- [19] 李国田, 艾呈祥, 张力思, 等. 核桃实生居群遗传多样性 ISSR 分析[J]. *植物遗传资源学报*, 2011, 12(4): 640-645.
- [20] 刘娟, 廖明安, 谢玥, 等. 猕猴桃属 16 个雄性材料遗传多样性的 ISSR 分析[J]. *植物遗传资源学报*, 2015, 16(3): 618-623.
- [21] 赵罕, 郑勇奇, 李斌, 等. 白皮松天然群体遗传结构的地理变异分析[J]. *植物遗传资源学报*, 2013, 14(3): 395-401.
- [22] 李江伟, 杨琴军, 刘秀群, 等. 台湾杉遗传多样性的 ISSR 分析[J]. *林业科学*, 2014, 50(6): 61-66.
- [23] Wright S. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating[J]. *Evolution*, 1965, 19(3): 395-420.
- [24] 徐刚标, 梁艳, 蒋焱, 等. 伯乐树种群遗传多样性及遗传结构[J]. *生物多样性*, 2013, 21(6): 723-731.
- [25] Nybom H. Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants[J]. *Molecular ecology*, 2004, 13(5): 1143-1155.
- [26] Nybom H, Bartich I. Effects of life history traits and sampling strategies on genetic diversity estimates obtained with RAPD markers in plants[J]. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 2000, 3(2): 93-114.
- [27] 贺瑞坤, 王静, 黄宏文. 我国西南部喀斯特森林特有濒危树种掌叶木新的微卫星分子标记的开发[J]. *热带亚热带植物学报*, 2011, 19(6): 493-498.
- [28] 李雪萍, 郭松, 熊俊飞, 等. 广西野生濒危植物掌叶木遗传多样性的 ISSR 与 SRAP 分析[J]. *园艺学报*, 2015, 42(2): 386-394.
- [29] Wang J, Ye Q, Kang M, *et al.* Novel polymorphic microsatellite loci and patterns of pollen-mediated gene flow in an ex situ population of *Eurycorymbus cavaleriei* (Sapindaceae) as revealed by categorical paternity analysis[J]. *Conservation genetics*, 2008, 9(3): 559-567.
- [30] 沈庆庆, 朱建华, 彭宏祥, 等. 桂西南早熟荔枝实生资源遗传多样性的 ISSR 分析[J]. *广西植物*, 2013, 33(2): 225-228.
- [31] 洪自同. 龙眼品种的 ISSR 分析及焦核性状的分子标记研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2007.
- [32] Souza I G B, Souza V A B, Lima P S C. Molecular characterization of *Platonia insignis* Mart. ("Bacurizeiro") using inter simple sequence repeat (ISSR) markers[J]. *Molecular Biology Reports*, 2013, 40(5): 3835-3845.
- [33] Hamrick J L, Godt M J W. Allozyme diversity in plant species [M]// Brown A H D, Clegg M T, Kahler A L, *et al.* plant population genetics, breeding, and genetic resources, Sunderland, Mass: Sinauer, 1990: 43-63.
- [34] Honjo M, Kitamoto N, Ueno S, *et al.* Management units of the en-

- dangered herb *Primula sieboldii* based on microsatellite variation among and within populations throughout Japan [J]. *Conservation Genetics*, 2009, 10(2): 257–267.
- [35] Glémin S, Bazin E, Charlesworth D. Impact of mating systems on patterns of sequence polymorphism in flowering plants [J]. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2006, 273(1604): 3011–3019.
- [36] Brown A H D, Clegg M T, Kahler A L, *et al.* Plant population genetics, breeding, and genetic resources [M]. Sinaue, Sunderland, MA, 1990.
- [37] 陈 曦. 湖北海棠 (*Malus hupehensis*) 不同居群变异式样及遗传多样性的研究 [D]. 南京: 南京林业大学, 2009.
- [38] Wright S. The genetical structure of populations [J]. *Annals of Eugenics*, 1949, 15(1): 323–354.
- [39] Slatkin M. Gene flow in natural populations [J]. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 1985: 393–430.
- [40] Hamrick J K. Gene flow and distribution of genetic variation structure in plant populations [M] // Usbanska K. Differentiation patterns in higher plants [M]. New York: Academic Press, 1987: 53–67.
- [41] Yoon M Y, Moe K T, Kim K Y, *et al.* Genetic diversity and population structure analysis of strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) using SSR markers [J]. *Electronic Journal of Biotechnology*, 2012, 15(2): 1–16.
- [42] 彭幼红. 青藏高原东缘青杨 *Populus cathayana* Rehd 遗传多样性研究 [D]. 北京: 中国科学院研究生院, 2006.

(责任编辑: 金立新)