

野慈姑自然群体异交率的定量估测

汪小凡¹ 陈家宽²

(1. 武汉大学生命科学院, 武汉 430072; 2. 复旦大学生物多样性科学研究所, 上海 200433)

摘要: 用自然群体取样和同工酶遗传标记的方法对沼生植物野慈姑 (*Sagittaria trifolia* Linn.) 及其变态长瓣慈姑 [*S. trifolia* Linn. f. *longiloba* (Turcz.) Makino] 的异交率作了定量研究, 3 个自然群体的异交率估计值为 $\bar{i} = 91.0\% \sim 98.0\%$, 表明该种为异交占绝对优势的交配系统。在野慈姑各群体间未发现异交率的显著差异。

关键词: 野慈姑; 自然群体; 异交率; 交配系统

中图分类号 Q941

文献标识码 A

文章编号 0253-9772(2000)05-0316-03

Quantitative Estimates of Outcrossing Rates in Natural Populations of *Sagittaria trifolia* Linn.WANG Xiao-fan¹, CHEN Jia-kuan²

(1. College of Life Sciences, Wuhan University, Wuhan 430072; 2. Institute of Biodiversity Science, Fudan University, Shanghai 200433, China)

Abstract: The outcrossing rates of *Sagittaria trifolia* Linn. and *S. trifolia* Linn. f. *longiloba* (Turcz.) Makino, a helophyte species and a form under the species, were estimated by sampling from natural habitats and using isozyme locus as genetic marker. According to the values of outcrossing rates in 3 populations ($\bar{i} = 91.0\% \sim 98.0\%$), the mating system of the species studied was found to be dominated by outcrossing mechanisms. Statistical analysis suggested that there was no significant difference in outcrossing rates among the populations.

Key words: *Sagittaria trifolia* L.; natural population; outcrossing rate; mating system

交配过程构成了高等动物或高等植物亲代与子代间、子代与子代间的基本联系。与高等动物不同的是, 高等植物不同类群乃至种内不同群体、不同个体之间交配式样有着较大幅度的变化, 了解交配系统 (mating system) 是研究植物群体中基因传递的前提^[1]。异交率 (outcrossing rate) 为交配系统的特征参数。20 世纪 20 年代, 植物遗传学家开始用形态学标记对植物群体的异交率作定量估计^[2], 1970 年以后由于蛋白质电泳技术的运用和精心设计的统计学模型的引入, 对植物交配系统及其多样性有了较多的了解^[3-5]。但在水生高等植物中交配系统的定量研究工作仅有少量见于报道^[6]。

本研究以野慈姑 (*Sagittaria trifolia* Linn.) 为对象, 对其自然群体的异交率作定量估测。野慈姑是一种常见的沼生草本植物, 为栽培慈姑 [华夏慈姑 *S. trifolia* Linn. var. *sinensis* (Sims) Makino] 的野生亲缘种。该种兼有性生殖和营养繁殖, 花单性同株且为不严格的花序内雌雄异熟。野慈姑种下分化显著, 是研究植物微观进化的好材料。

1 材料和方法

供试材料取自野慈姑 3 个自然群体: (1) 湖南茶陵群体 (CL9609), (2) 湖北红安群体 (HA9610) 和 (3) 湖北武昌群体 (WC9611)。其中群体 CL9609 为野慈姑的一种下变型——长瓣慈姑 [*S. trifolia* Linn. f. *longiloba* (Turcz.) Makino]。

在考察群体自然状况的基础上, 从每群体随机取已开花植株各 32~36 株作为亲代 (母本) 样本, 收集植株上成熟的聚合瘦果培养出幼苗, 每家系抽取幼苗 20~40 株为子代样本。

20 世纪 80 年代以来, 异交率研究常用多基因座估计法进行^[2, 7, 8]。水生植物克隆繁殖发达^[9, 10] 给选择遗传标记带来困难^[6], 最近的有关研究仍采用单基因座估计法^[11-14]。本研究中异交率的估测采用同工酶单基因标记和经典的统计模型^[3, 15]。在用聚丙烯酰胺凝胶电泳法对多种同工酶进行分析后, 筛选一明显而可靠的基因作为遗传标记; 检测亲代样本在标记基因上的基因型频率, 推算花粉库中雄配子体基因型

收稿日期: 1999-08-10; 修回日期: 1999-12-06

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (39870082)

作者简介: 汪小凡 (1965-), 男, 博士, 从事植物系统学与进化生物学研究。

频率;抽取标记基因上为纯合型母本的子代检测标记基因上的杂合率,计算异交率最大可能性估计值^[13,14]。

2 结 果

2.1 群体的自然状况

群体 CL9609:位于湖南省茶陵县湖里(26°50'N,113°40'E)沼泽,长瓣慈姑生于沼泽边缘一150m²的弃耕田中,水深0~10cm,花序平均密度11.0个/m²,具2个或更多花序的植株占60%左右,伴生植物为禾本科、莎草科若干种。取样时间为9月上旬。

群体 HA9610:位于湖北省红安县城郊(31°20'N,114°40'E),野慈姑生于一面积约180m²的莲塘中,水深5~30cm,莲与野慈姑混生,莲叶为挺水状态,伴生植物还有空心莲子草(*Alternanthera philoxeroides*)及禾本科、莎草科若干种。野慈姑花序平均密度4.3个/m²,具2个或更多花序的植株占30%左右。取样时间为10月初。

群体 WC9611:位于湖北省武汉市郊南湖附近(30°30'N,114°20'E),野慈姑生于一面积约400m²的莲塘中,塘中无积水,莲叶已干枯、倒伏,伴生植物还有空心莲子草及禾本科、莎草科若干种。野慈姑花序平均密度2.0个/m²,具2个或更多花序的植株占80%左右。取样时间为11月初。

2.2 遗传标记与亲本基因型频率

用聚丙烯酰胺凝胶电泳法得到供试材料的酯酶(EST)、过氧化物酶(PER)、苹果酸脱氢酶(MDH)、苹果酸酶(ME)和谷氨酸脱氢酶(GDH)等8种同工酶谱,经反复比较分析,发现酯酶同工酶 *Est-1* 是最为明显且稳定的多态基因座(图1),故选择该基因座为遗传标记。本研究所用标准电泳条件[分离胶浓度10%、a:b=37.5、pH=8.9、胶板规格120mm(长)×104mm(宽)×1mm(厚);浓缩胶浓度4%、pH=6.8;电

极液为 Tris-甘氨酸缓冲液,pH=8.3;稳压250V,电泳3.5h]下,该基因的迁移率 $R_f = 0.28 \sim 0.34$ 。

野慈姑3个群体的亲代(孢子体)样本在 *Est-1* 位点上共被检出3个等位基因:*Est-1¹*、*Est-1²*和*Est-1³*,它们组成了6种基因型。各群体亲代孢子体在标记基因座上的基因型频率及据此推算出的配子体基因型频率见表1。

2.3 子代杂合率与异交率估计值

对每群体各5个 *Est-1* 基因座纯合型亲本(母本)的子代样本作了电泳检测,得出各家系子代杂合率,推算出异交率的最大可能性估计值,其平均值为91.0%~98.0%,详见表2。结果显示野慈姑为自交占绝对优势的交配系统。尽管群体 CL9609 为野慈姑种下变型长瓣慈姑所组成,它们在形态上明显区别于组成其他二群体的植物,但本研究涉及的3个群体在异交率方面并无显著差异。当然,植物种内群体间乃至群体内异交率的差异普遍存在,也见于慈姑属某些种内^[13],要对野慈姑的交配系统类型作出准确判断,应有更多群体的、最好是多基因座的异交率估计结果。

3 讨 论

3.1 影响野慈姑异交率的因素

野慈姑花单性、雌雄同株,花序含多数花,雌花先于雄花开放,存在不严格的花序内雌雄异熟,但每植株可能有2个以上花序同时开放,同一花序内不同分枝上雌雄花也可同时开放,因而有自交机会。人工隔离和控制授粉试验表明,该种自交可育(表3)。野外观察发现,野慈姑以虫媒传粉为主,访花昆虫可促成同株异花传粉。但本研究的结果($\bar{i} > 90\%$)提示,该种可能存在一种内在的生理机制,对同种的自花/异花花粉竞争或雄配子体选择起作用。

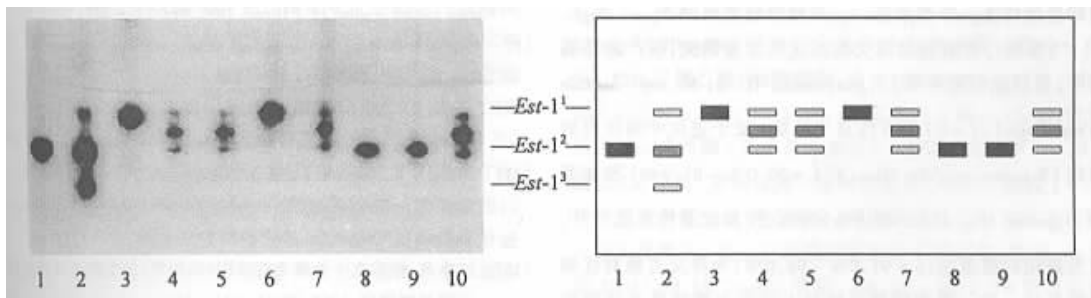


图1 野慈姑湖北武昌群体酯酶同工酶谱,示异交率定量估测所用遗传标记(*Est-1*基因座)基因型:1,8,9——*Est-1²/Est-1²*;2——*Est-1¹/Est-1³*;3,6——*Est-1¹/Est-1¹*;4,5,7,10——*Est-1¹/Est-1²*

表1 野慈姑3个自然群体在 *Est-1* 基因座的基因型频率

群体	孢子体						配子体		
	<i>Est-1¹/Est-1¹</i>	<i>Est-1²/Est-1²</i>	<i>Est-1³/Est-1³</i>	<i>Est-1¹/Est-1²</i>	<i>Est-1¹/Est-1³</i>	<i>Est-1²/Est-1³</i>	<i>Est-1¹</i>	<i>Est-1²</i>	<i>Est-1³</i>
CL9609	0.600	0.029	0	0.275	0.085	0.029	0.171	0.172	0.057
HA9610	0.143	0.485	0	0.286	0	0.086	0.286	0.671	0.043
WC9611	0.278	0.111	0.028	0.528	0.055	0	0.569	0.375	0.056

表 2 野慈姑 3 个自然群体的异交率估计

群体	家系	母本基因型	配子体基因型频率 $p + r/2$	子代杂合率 h	异交率(%) $\hat{t} = h/(1-p-r/2)$	
					\hat{t}	$\bar{t} \pm SD$
CL9609	1	$Est - I^1 / Est - I^1$	0.771	0.267	116.0	96.1 ± 22.9
	2	$Est - I^1 / Est - I^1$	0.771	0.143	62.4	
	3	$Est - I^1 / Est - I^1$	0.771	0.200	87.3	
	4	$Est - I^1 / Est - I^1$	0.771	0.222	96.9	
	5	$Est - I^1 / Est - I^1$	0.771	0.269	117.5	
HA9610	6	$Est - I^1 / Est - I^1$	0.286	0.636	89.1	98.0 ± 21.0
	7	$Est - I^2 / Est - I^2$	0.671	0.364	110.6	
	8	$Est - I^2 / Est - I^2$	0.671	0.227	69.0	
	9	$Est - I^2 / Est - I^2$	0.671	0.409	124.3	
	10	$Est - I^2 / Est - I^2$	0.671	0.318	96.7	
WC9611	11	$Est - I^1 / Est - I^1$	0.569	0.591	137.1	91.0 ± 28.5
	12	$Est - I^1 / Est - I^1$	0.569	0.273	63.3	
	13	$Est - I^2 / Est - I^2$	0.375	0.545	87.2	
	14	$Est - I^2 / Est - I^2$	0.375	0.455	72.8	
	15	$Est - I^2 / Est - I^2$	0.375	0.591	94.6	

表 3 野慈姑在人工隔离和控制授粉后的结实率

处理	结实率	
	平均值	标准差
雌花套袋	0	0
两性花序套袋	0	0
人工同株授粉	25.2	22.9
自然授粉	75.0	24.4

3.2 慈姑属的交配系统与系统演化

慈姑属是泽泻科中的一个较大的属,有 30 余种,广布于世界各地。依陈家宽(1989),中国产慈姑属植物共 8 种,分别属于冠果草亚属(Subgen. *Lophotocarpus*)和慈姑亚属(Subgen. *Sagittaria*)^[6]。根据作者对慈姑属交配系统的定量研究,国产慈姑属植物中,较原始的冠果草 [*S. guayanensis* H. B. K. ssp. *lappula* (D. Don) Bojin] ($\bar{t} = 0$) 为专性自交系统,处于进化中间阶段的小慈姑 (*S. potamogetifolia* Merr.) ($\bar{t} = 50.0\% \sim 81.9\%$) 和矮慈姑 (*S. pygmaea* Miq.) ($\bar{t} = 49.9\%$) 为自交/异交兼性系统^[13, 14],而较为进化的野慈姑 ($\bar{t} = 91.0\% \sim 98.0\%$) 为异交占绝对优势的交配系统,这一系列结果正好与上述关于慈姑属系统演化的观点相吻合。

参考文献:

- [1] Hamrick J L. Plant population genetics and evolution[J]. Amer J Bot, 1982, 69: 1685 ~ 1693.
- [2] Shaw D V, Kahler A L, Allard R W. A multilocus estimator of mating system parameters in plant populations[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1981, 78(2): 1298 ~ 1302.
- [3] Clegg M T. Measuring plant mating system[J]. BioScience, 1980, 30(12): 814 ~ 818.
- [4] Jain S K. Estimation of outcrossing rate: some alternative procedures[J]. Crop Sci, 1979, 19: 23 ~ 26.
- [5] 郭友好. 传粉生物学与植物进化[A]. 见: 陈家宽, 杨继主编. 植物进化生物学[C]. 武汉: 武汉大学出版社, 1989.
- [6] Barrett S C H, Eckert C G, Husband B C. Evolution processes in aquatic plant population[J]. Aquat Bot, 1993, 44: 105 ~ 145.
- [7] Ritland K, Jain S. A model for the estimation of outcrossing rate and gene frequencies using n independent loci[J]. Heredity, 1981, 47: 35 ~ 52.
- [8] Ritland K. A series of FORTRAN computer programs for estimating plant mating system[J]. J Hered, 1990, 81: 235 ~ 237.
- [9] Haynes R R. Reproductive biology of selected aquatic plants[J]. Ann Miss Bot Gard, 1988, 75: 805 ~ 810.
- [10] Grace J B. The adaptive significance of clonal reproduction in angiosperms: an aquatic perspective[J]. Aquat Bot, 1993, 44: 159 ~ 180.
- [11] Wang G X, Yamasue Y, Itoh K, Kusanagi T. Outcrossing rates as affected by pollinators and the heterozygote advantage of *Monochoria korsakowii* [J]. Aquat Bot, 1998, 62: 135 ~ 143.
- [12] 汪小凡, 陈家宽. 长喙毛茛泽泻(泽泻科)的交配系统研究[J]. 云南植物研究, 1998, 20(3): 315 ~ 320.
- [13] 汪小凡, 陈家宽. 小慈姑自然居群异交率的定量估测[J]. 武汉大学学报(自然科学版), 1998, 44(2): 217 ~ 220.
- [14] 汪小凡, 陈家宽. 矮慈姑的传粉机制与交配系统研究[J]. 云南植物研究, 1999, 21(2): 225 ~ 231.
- [15] Brown A D H, Allard R W. Estimation of mating system in open-pollinated maize population using isozyme polymorphisms[J]. Genetics, 1970, 66: 133 ~ 145.
- [16] 陈家宽. 中国慈姑属的系统与进化植物学研究[M]. 武汉: 武汉大学出版社, 1989.