

甘蔗细茎野生种云南不同生态类型的 RAPD 分析*

范源洪¹, 陈 辉¹, 史宪伟², 蔡 青¹, 张 明¹, 张亚平²

(1 云南省农业科学院甘蔗研究所, 云南 * " 开远 661600;

2 中国科学院昆明动物研究所细胞与分子进化开放研究实验室, 云南 * " 昆明 650223)

摘要: 利用 25 个随机引物对来自云南不同生态类型的 82 份甘蔗细茎野生种 (*Saccharum spontaneum* L.) 和 4 份国外种材料进行 RAPD 标记, 结果表明: 云南甘蔗细茎野生种不同生态类型的遗传变异较大, 具有丰富的遗传多样性; 低纬度类型的遗传多样性明显高于高纬度类型, 在相同的纬度范围内, 随着海拔的升高, 其多态性逐渐减少; 基于分子聚类分析, 86 份材料被划分为 8 个不同群体, 表现出明显的地理分布的特点。结果初步证明了云南甘蔗细茎野生种可能起源于云南南部低海拔、低纬度地区, 而后逐渐向高海拔、高纬度的西北和东北部演化、扩散; 提出了云南南部可能是野生甘蔗起源中心之一的观点。

关键词: 甘蔗细茎野生种; 生态类型; RAPD 分析

中图分类号: Q 948, Q 945 文献标识码: A 文章编号: 0253-2700(2001)02-0298-11

RAPD Analysis of *Saccharum spontaneum* from Different Ecospecific Colonies in Yunnan

FAN Yuan-Hong¹, CHEN Hui¹, SHI Xian-Wei², CAI Qing¹,
ZHANG Ming¹, ZHANG Ya-Ping²

(1 *Sugarcane Research Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kaiyuan 661600, China;*

2 *Laboratory of Cellular and Molecular Evolution, Kunming Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650223, China*)

Abstract: In this study, random amplified polymorphism DNA (RAPD) was used to investigate 82 accessions of *Saccharum spontaneum* L. from different population in Yunnan and 4 accessions of *S. spontaneum* L. from Indian, Thailand and Vietnam respectively. Results showed that *S. spontaneum* L. in Yunnan possesses abundant genetic diversity. The polymorphism were less and less when latitude and elevation increased. Based on the results of DNA data analysis, 86 accessions of *S. spontaneum* L. were divided into 8 different ecotypes. The topology of the phylogenetic tree of *S. spontaneum* L. corresponds to their geographical distribution. The initial results indicated that *S. spontaneum* L. in Yunnan was probably originated from the south of Yunnan, then diffused to high elevation and high latitude of the northwest and the northeast. We suggested that the south Yunnan was one of the possible original centers of wild sugarcane.

Key words: *Saccharum spontaneum*; Ecotypes; RAPD analysis

* 基金项目: 云南省自然科学基金重点项目(96C005Z)资助

收稿日期: 2000-05-10, 2000-09-20 接受发表

作者简介: 范源洪(1964-)男, 云南人, 副研究员, 主要从事甘蔗的遗传育种研究。

种质资源是甘蔗育种的基础。细茎野生种 (*Saccharum spontaneum* L.) 是栽培甘蔗的祖先植物, 亦是世界甘蔗杂交育种的重要亲本, 目前世界各国现有的甘蔗杂交品种均含有该种的血缘 (骆君骥, 1992; 周可涌, 1984)。由于该种生态类型多样, 适应性广, 抗逆性强等特点, 使其成为甘蔗育种上最重要的种质资源之一 (骆君骥, 1992)。

云南属低纬度热带、亚热带高原气候, 地势西北高东南低。复杂多样的地理及气候条件, 形成了丰富的甘蔗种质资源, 亦使云南成为我国甘蔗野生资源重要的分布中心之一 (周可涌, 1984; 何顺长, 1994)。细茎野生种是甘蔗属 (*Saccharum* L.) 中分布最广、类型最多的一个野生种, 但长期以来的遗传背景研究只停留在形态、细胞及生理生化等方面, 而分子水平方面的研究未见报道。

RAPD (Random Amplified Polymorphism DNA) 技术自 1990 年由 Williams 等建立起来以后, 由于其扩增程序简单快捷、易于操作、灵敏度高等优点, 已被广泛应用于遗传多样性研究、分子系统学、品种鉴定、基因定位和分离等研究领域 (张继益, 1999; 刘新芝, 1997; Meunier 等, 1993; Wachiro 等, 1995)。本研究采用 25 个随机扩增引物对 82 份来自云南不同生态环境和 4 份国外的甘蔗细茎野生种材料进行 RAPD 分析, 旨在从 DNA 分子水平探讨云南细茎野生种的种内遗传多样性、生态类群划分和不同生态类群间的亲缘关系, 以期对甘蔗细茎野生种的起源演化提供分子生物学依据, 为进一步发掘利用云南甘蔗种质资源奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

86 份供试样品采自云南省甘蔗研究所“国家甘蔗种质资源圃”(表 1)。取植株顶端分生组织和幼嫩叶片, 于 4℃ 保存后在实验室内提取总 DNA。

1.2 DNA 的提取: 参照范源洪等 (1999) 的 SDS 改进法。

1.3 RAPD 扩增反应及产物分离

扩增在反应 Biometra (德国) PCR 仪上进行, RAPD 反应总体积为 10 μ L, 其成分包括: 10 mmol/L Tris - HCl (pH 8.9), 50 mmol/L KCl, 2.0 mmol/L MgCl₂, 4 mg/mL BSA, 0.1 mmol/L 的每种 dNTP, 0.2 μ mol/L Primer (Operon 公司生产), 1U Taq 酶 (上海生工), 25 ng 基因组 DNA, 反应混合物用 20 μ L 石蜡油覆盖。每个反应过程共 40 个循环, 每个循环包括: 94℃ 变性 1 min, 36℃ 退火 1 min, 72℃ 延伸 2 min, 首次循环前在 95℃ 预变性 3 min, 最后一次循环后 72℃ 延伸 5 min, 每次反应均设不含模板 DNA 的阴性对照。RAPD 产物用 1.5% 琼脂糖电泳分离, 电极缓冲液为 1 (TAE; 溴化乙锭 (EB) 染色后在 EAGLE EYE IITM 全自动凝胶成像仪下观察拍照。

1.4 数据统计分析: 只统计清晰可辨、可重复的 RAPD 谱带。个体及群体间的遗传距离、遗传多样性指数等参照以下公式计算:

1.4.1 遗传距离 (Genetic distance)

1.4.1.1 个体间的遗传距离: $D = 1 - 2 N_{xy} / (N_x + N_y)$

其中, N_x 是 x 个体扩增的总带数, N_y 是 y 个体扩增的总带数, N_{xy} 是 x 个体与 y 个体

表1 供试材料名称及来源

Table 1 Name and source of 86 *Saccharum spontaneum* accessions

编号	材料名称	纬度	海拔	原产地	编号	材料名称	纬度	海拔	原产地
OUT No.	Name of materials	Latitude (N)	Altitude (m)	Source of material	OUT No.	Name of materials	Latitude (N)	Altitude (m)	Source of materials
1	云南 83-160	22°21'	76.4	红河河口	44	云南 82-14	24°50'	815	德宏盈江
2	云南 82-147	22°40'	140	红河金平	45	云南 82-18	24°30'	1660	德宏盈江
3	云南 75-2-35	22°35'	140	红河河口	46	云南 82-26	25°00'	1380	高黎贡山
4	云南 4号	23°40'	380	红河	47	云南 82-25	25°00'	2380	高黎贡山
5	蒙自割手密	23°20'	1180	红河蒙自	48	云南 82-33	25°30'	2010	大理
6	云南 83-164	22°50'	1020	文山麻栗坡	49	云南 82-27	25°00'	660	保山东风桥
7	云南 75-2-28	22°55'	1335	文山马关	50	云南 82-23	25°00'	1300	保山
8	越南 2号	22°00'	120	越南	51	陇川 16号	24°30'	1670	德宏陇川
9	云南 82-112	20°50'	795	版纳勐腊	52	云南 83-196	27°57'	540	昭通大关
10	云南 82-116	21°40'	560	版纳勐岭	53	云南 83-201	28°07'	435	昭通盐津
11	云南 82-127	22°30'	410	思茅江城	54	云南 76-2-24	28°23'	400	昭通永善
12	云南 82-110	21°40'	570	版纳景洪	55	云南 76-2-26	28°33'	380	四川雷波
13	云南 76-3-16	22°30'	900	思茅普文	56	云南 76-2-32	28°38'	430	四川屏山
14	云南 76-3-18	22°38'	1100	思茅	57	云南 76-1-24	26°49'	1150	四川米易
15	云南 82-125	22°20'	1080	思茅江城	58	云南 76-1-21	25°44'	1118	楚雄元谋
16	云南 82-103	21°40'	960	版纳勐海	59	云南 83-187	25°58'	1170	曲靖东川
17	云南 82-91	22°30'	1850	思茅西盟	60	云南 83-191	27°36'	800	昭通彝良
18	云南 82-94	22°30'	1970	思茅澜沧	61	云南 83-193	27°45'	790	昭通彝良
19	泰国 1号	18°00'		泰国	62	云南 83-189	26°46'	170	曲靖会泽
20	云南 83-176	23°37'	460	文山富宁	63	寻甸割手密	25°30'	1980	曲靖寻甸
21	云南 83-174	23°49'	190	文山富宁	64	云南 83-190	27°07'	1900	昭通
22	云南 84-260	24°50'	680	贵州兴义	65	云南 83-204	25°22'	1990	曲靖马龙
23	开远割手密	22°40'	1050	红河开远	66	云南 75-1-3	25°10'	800	保山
24	云南 82-63	24°30'	920	楚雄南涧	67	云南 75-1-5	25°10'	850	潞江
25	云南 83-173	23°48'	1140	文山广南	68	合庆割手密	26°35'	980	大理鹤庆
26	云南 83-170	23°55'	1430	文山丘北	69	云南 82-50	26°30'	1190	丽江华坪
27	云南 84-264	24°42'	1660	曲靖师宗	70	云南 76-1-16	27°00'	1500	渡口
28	云南 75-2-3	23°28'	396	玉溪元江	71	云南 82-34	26°30'	1450	大理宾川
29	云南 75-2-4	23°28'	396	玉溪元江	72	云南 82-48	26°50'	1570	丽江永胜
30	云南 75-2-2	24°10'	1149	玉溪峨山	73	云南 82-58	26°10'	1220	丽江永胜
31	云南 75-2-1	24°05'	1500	玉溪新平	74	云南 83-215	25°09'	1510	怒江泸水
32	云南 84-245	23°43'	1350	红河石屏	75	云南 83-231	25°34'	1540	大理漾濞
33	云南 83-205	24°56'	1910	昆明	76	云南 83-240	25°52'	1610	楚雄永仁
34	云南 75-1-21	23°30'	500	临沧耿马	77	云南 82-40	26°35'	2218	大理剑川
35	云南 82-79	23°20'	520	临沧孟定	78	云南 82-44	27°50'	1830	迪庆中甸
36	云南 82-64	24°20'	1090	临沧云县	79	云南 82-59	25°30'	1660	大理宾川
37	云南 82-67	24°08'	1080	临沧云县	80	云南 82-60	25°10'	1978	大理祥云
38	云南 82-82	23°20'	1090	临沧耿马	81	云南 83-213	25°15'	2050	大理漾濞
39	云南 82-70	24°40'	1850	临沧南汀河	82	云南 83-228	25°18'	2280	大理永平
40	云南 84-268	24°00'	700	德宏遮放	83	云南 83-235	25°20'	2230	大理祥云
41	云南 82-6	24°00'	720	德宏瑞丽	84	印度 1号			印度
42	云南 75-1-10	24°30'	1000	德宏芒市	85	印度 2号			印度
43	云南 82-11	24°30'	901	德宏陇川	86	云南 83-226	25°56'	900	怒江泸水

共同享有的带数。

1.4.1.2 群体间的遗传距离： $D = -\ln(I)$, $I = N_{xy} / (N_x \cdot N_y)^{1/2}$

其中 N_x , N_y 和 N_{xy} 分别是所有位点上 N_x , N_y , 和 N_{xy} 的算术平均数。这里 $N_x = \sum X_i^2$, $N_y = \sum Y_i^2$, $N_{xy} = \sum X_i Y_i$, X_i , Y_i 分别是 X、Y 群体中第 i 条扩增片段的分布频率。

1.4.2 遗传多样性指数 (Genetic diversity index)

各群体遗传多样性指数： $H_o = -\sum \pi_i \ln \pi_i$

总群体遗传多样性指数： $H_{sp} = -\sum \pi \ln \pi$

群体内遗传多样性指数： $H_{pop} = 1/n \sum H_o$

其中： π_i 是一条扩增带在第 i 个群体中出现的频率， π 是一条扩增带在总群体中出现的频率，n 为所研究的群体数。根据以上指数估测遗传多样性在群体内的分布 H_{pop}/H_{sp} 和群体间的分布 $(H_{sp} - H_{pop})/H_{sp}$ 。

1.4.3 聚类分析：

根据群体间的遗传距离，利用 PHYLIP 软件 3.51c 版本 (Felsenstein, 1993) 中的 UPGMA (Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Average) 法构建群体间的系统发育树图。

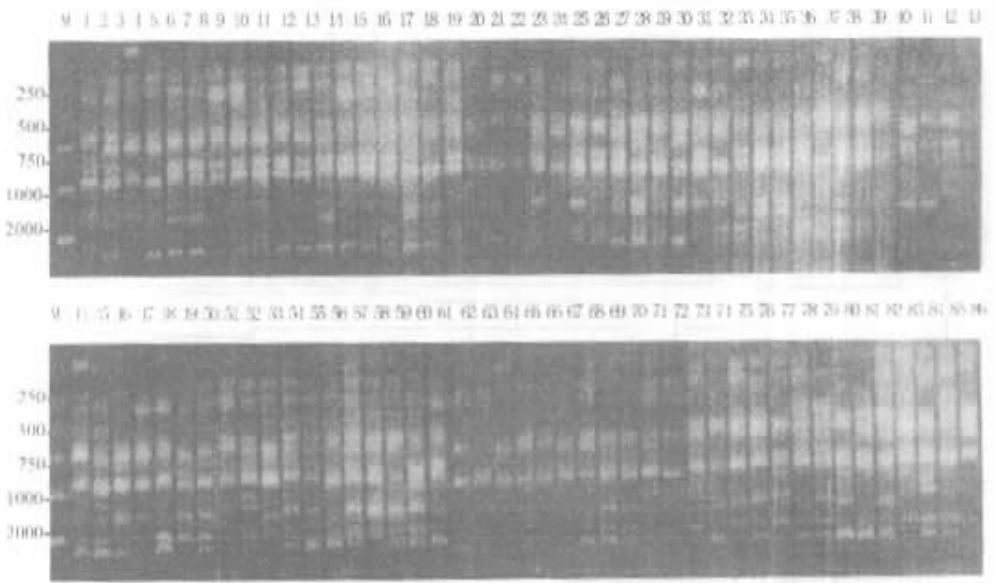


图 1 86 份甘蔗细茎野生种使用引物 OPF05 (CCGAATTC) 扩增的 RAPD 产物

Fig 1 The RAPD patterns were obtained from 86 *S. spontaneum* accessions populations respectively amplified with primer OPF05 (CCGAATTC)

2 结果与分析

2.1 RAPD 扩增结果

RAPD 扩增反应所采用的 25 个随机引物中，有 5 个引物 (OPF18、OPH11、OPI15、OPI05、OPK09) 扩增的谱带在所有参试材料中均为单型 (Monomorphic Pattern)，其它 20 个

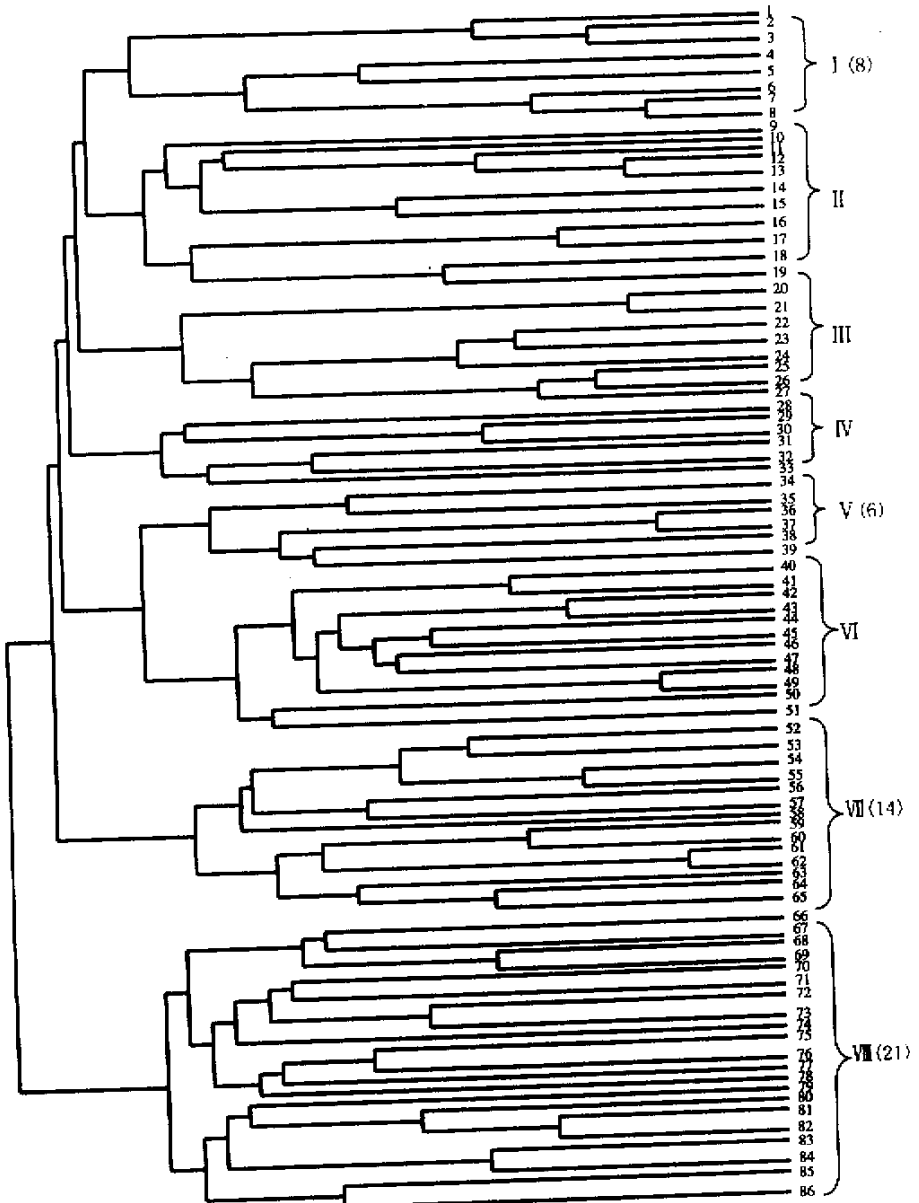


图 2 甘蔗细茎野生种 86 个群居的 UPGMA 系统聚类图

Fig 2 Dendrogram generated by the UPGMA cluster analysis from 86 *S. spontaneum* accessions populations in Yunnan

引物均表现不同程度的多态片段 (25.0% ~ 81.8%), 其片段的分子量在 0.2 ~ 2kb 之间, 扩增片段数在 7 ~ 15 条之间; 在所检测到的 266 条扩增片段中, 121 条为多态, 多态片段

占总扩增片段的 45.5%。表 2 列出了 25 个引物的碱基序列和扩增结果。在本研究中，RAPD 扩增结果显示了良好的分辨率，20 个引物对参试的 86 份材料均扩增出特异性的 RAPD 标记，多态片段在 2 ~ 10 条之间。图 1 列举出引物 OPF - 05 (CCGAATTCCC) 的 RAPD 扩增结果。

2.2 云南甘蔗细茎野生种的生态类群划分和地理分布

根据 Nei (1978) 的遗传距离公式计算出的个体遗传距离 (略)，通过 UPGMA 法构建出亲缘关系的系统聚类图 (图 2)，从图 2 可看出，来自不同生态环境的 86 份细茎野生种被聚成了 8 个大的类群，有价值的是，这 8 个类群所处的生态环境具有明显的地理分布特点，即与实际的地理分布相对应 (24 号材料除外)，图 3 标出了 8 个类群的地理分布，如第 I、II 类群正好处于北回归线以南 ($< 23^{\circ}27'$) 的南部地区，其中 I 类群分布在河口、金平、马关等南部地区，II 类群分布在勐腊、江城、西盟等西南部地区；而第 VII、VIII 类群分布在纬度 $25^{\circ} \sim 29^{\circ}$ 之间的北部地区，其中 VII 类群分布在昭通、曲靖等东北部地区，VIII 类群分布在中甸、丽江、泸水、大理等西北和西部地区。RAPD 标记结果表明：不同生态类型的云南甘蔗细茎野生种具有明显的地理分布的特点 (图 3)；该结果还表明：利用 RAPD 标记和 Nei 的个体遗传距离的统计分析对甘蔗细茎野生种进行生态类群划分是可行的。

2.3 云南甘蔗细茎野生种的遗传多样

根据 20 个多态引物扩增的 RAPD 标记在不同生态群体内的分布，计算各群体内的多态分布频率和遗传多样性指数 (表 2, 3)，从表中可以看出，从 I 类群 (低纬度地区) 至 VIII 类群 (高纬度地区) 的多态分布频率和遗传多样性指数有较大差异，分别为 $87.6\% \sim 44.6\%$ 和 $1.5213 \sim 0.7286$ 。这表明：不同生态类型的云南甘蔗细茎野生种的群体遗传差异大，具有丰富的遗传多样性；从不同生态类型材料的地理分布来看，低纬度类群的遗传变异程度较高，遗传差异大，其遗传多样性明显高于高纬度类群，并且，在同一纬度范围内，随着海拔的升高，其遗传多样性逐渐降低，具有明显的地理分布的特点。该结果对云南甘蔗细茎野生种的进一步收集、研究和利用具有重要作用。

2.4 云南甘蔗细茎野生种的遗传分化和亲缘关系

根据 Nei 的群体遗传距离公式计算出不同生态群体间的群体遗传距离 (表 4)，其值介于 0.26 和 0.46 之间。通过 UPGMA 法构建群体间的系统发育树 (图 4)，从图中可看出，86 份参试材料被聚为两个大的分枝 (第 I 至 VII 类群和 VIII 类群)，其中，同属于河口、马关、勐海等南部地区的第 I、II 类群首先聚在一起，与相同生态条件的第 III 类群 (文山、红河等) 聚在同一个分枝，并与处于玉溪、昆明等地区的第 IV 类群具有较近的亲缘关系，而地处临沧、德宏等地区的第 V、VI 类群又聚在同一个分枝内，并和以上类群组成了另一级大的分枝，它们与处于滇东北的第 VII 类群具有较远的亲缘关系；地处滇西北的第 VIII 类群则单独聚在另一个大的分枝内，与其它类群具有较远的亲缘关系。这说明：具有相近 (不同) 生态条件及地理位置的类群材料，它们具有相似 (不同) 的起源和进化历程及遗传基础，其亲缘关系也不相同。

3 讨论

3.1 云南甘蔗细茎野生种的遗传多样性

表 2 云南细茎野生种 8 个生态类群 25 个引物的扩增结果

Table 2 The results of RAPD with 25 primers in 8 ecotypes of *Saccharum Spontaneum* L. in Yunnan

引物	标记数多态数		多态标记在各类群中的分布								多态率%	碱基序列 5'—3'	
			I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII			
OPA-07	8	5	4	3	2	3	2	2	2	2	2	62.5	GAAACGGGTG
OPA-19	13	8	5	6	3	4	4	3	3	3	3	61.5	CAAACGTCGG
OPB-14	15	10	8	6	7	5	5	4	3	4	4	66.7	TCCGCTCTGG
OPD-01	12	7	6	6	4	5	4	3	3	2	2	58.3	ACCGCGAAGG
OPF-01	8	2	2	2	1	2	1	1	1	1	1	25.0	ACGGATCCTG
OPF-05	11	9	8	7	7	6	6	5	4	4	4	81.8	CCGAATTCCC
OPF-12	11	7	7	7	5	6	5	4	3	4	4	63.6	ACGGTACCAG
OPF-18	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	TTCCCCGGAA
OPH-01	9	4	4	3	4	4	3	2	3	2	2	44.4	GGTCGGAGAA
OPH-11	11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	CTTCCGCACT
OPH-19	9	5	4	4	3	3	3	2	3	3	3	55.6	CTGACCAGCC
OPI-05	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	TGTTCCACGG
OPI-08	13	5	5	4	5	3	4	3	3	2	2	38.5	TTTGCCCGGT
OPI-15	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	TCATCCGAGG
OPJ-07	13	6	6	5	6	4	3	3	3	3	3	46.2	CCTCTCGACA
OPJ-09	11	7	6	4	5	5	4	4	3	3	3	63.6	TGAGCCTCAC
OPJ-14	13	6	4	5	4	3	2	4	3	2	2	46.2	CACCCGGATG
OPJ-18	13	8	8	8	7	6	5	5	4	3	3	61.5	TGTCGGCAGA
OPK-09	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	CCCTACCAGC
OPK-18	14	8	7	6	5	6	3	4	3	2	2	57.1	CCTAGTCGAG
OPL-17	11	7	6	6	5	6	5	4	4	3	3	60.0	AGCCTGAGCC
OPM-04	10	6	6	6	6	5	5	4	5	4	4	63.6	GGGGGTTGTC
OPM-07	7	4	4	4	3	4	3	3	3	3	3	28.6	ACCAGGGGCA
OPN-11	10	5	4	5	4	4	3	4	4	3	3	50.0	TCGCCGAAA
总数	266	121	106	99	88	85	72	65	62	54	54		
多态%		45.5	87.6	81.8	72.7	70.2	59.5	53.7	51.2	44.6	44.6		

遗传多样性是物种遗传信息的总和，是生物多样性和遗传育种研究的核心和基础，遗传多样性的丰富与否，决定了该物种对环境适应能力的强弱，同时也决定其利用潜力的大小。本研究结果表明：云南甘蔗细茎野生种具有丰富的遗传多样性，不同生态类群的遗传变异具有明显的地理分布特点，低海拔、低纬度类群（即云南南部一带）的遗传变异最大，遗传多样性也最为丰富。这一结果为甘蔗种质资源的考察、收集及育种利用提供了重要的分子生物学依据，同时，也从分子水平上阐明了甘蔗细茎野生种具有重要的育种价值。

3.2 云南甘蔗细茎野生种的遗传变异与生态地理分布

从本研究结果看，随着海拔、纬度的升高，RAPD 多态标记的谱带类型越来越简单，多态类型越来越少，低海拔、低纬度类群间的遗传变异程度高，其遗传变异和多样性大于高海拔、高纬度类群。这与同工酶分析（林炎坤，1986；陈能武，1995）的结论相一致；该结果也与我们已进行的染色体分析（另文报道）具有较为相似的结果，如类群 I 的染色体具有 64、80、76、72、96 五种类型，而类群 VIII 的染色体只有 80、64 两种类型，低纬度、

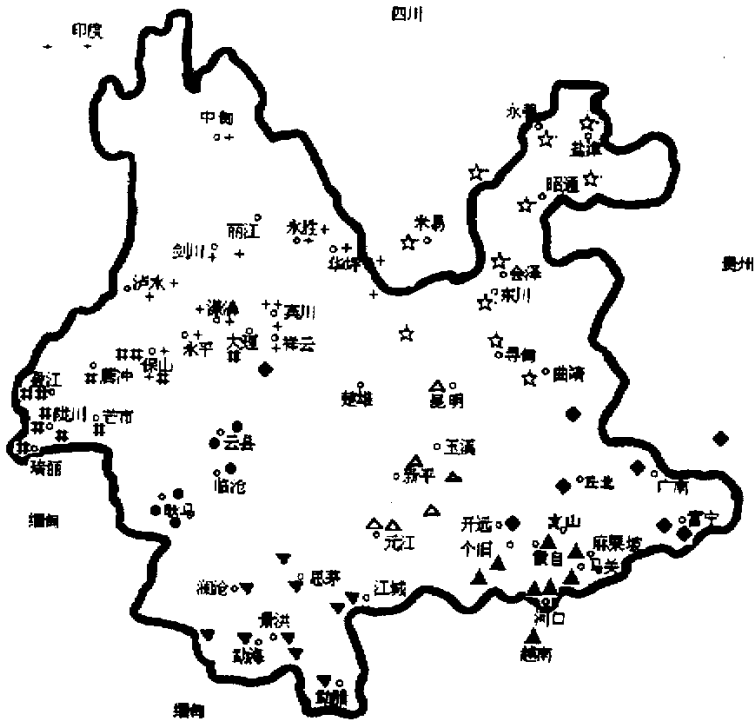


图 3 云南甘蔗细茎野生种 8 个不同类群的地理分布图

Fig 3 The geographical distribution of 8 ecotypes in Yunnan

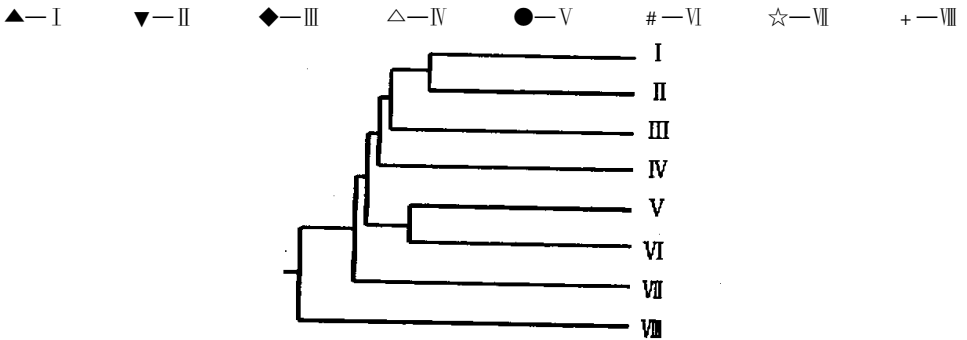


图 4 云南细茎野生种 8 个生态类群的 UPGMA 系统发育树

Fig 3 Dendrogram generated by the UPGMA cluster analysis from 8 ecotypes belonging to *S. spontaneum* L. in Yunnan

表3 云南细茎野生种8个生态类群的遗传多样性指数

Table 3 The genetic diversity index of 8 ecotypes of *Saccharum spontaneum* L. in Yunnan

引物	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
OPA-07	1.3191	0.8732	0.5136	0.7632	0.5046	0.4932	0.4932	0.4872
OPA-19	0.9182	1.1991	0.4723	0.6801	0.6682	0.4633	0.4541	0.4389
OPB-14	1.3637	0.8951	1.1163	0.6978	0.6861	0.5222	0.4664	0.5021
OPD-01	1.4132	1.3842	0.7975	0.8083	0.7643	0.5503	0.52877	0.4375
OPF-01	1.2841	1.1191	0.9948	1.0231	0.9703	0.9474	0.8972	0.8858
OPF-05	1.8395	1.4697	1.4386	1.1503	1.0892	0.8753	0.6394	0.6403
OPF-12	2.1766	2.0897	1.1253	1.1503	1.0671	0.8221	0.7963	0.8084
OPH-01	1.5596	1.2467	1.3485	1.3485	1.0432	0.8624	0.9021	0.8435
OPH-19	1.3943	1.8189	1.0467	0.9732	0.9446	0.8972	0.9012	0.9115
OPI-08	1.4691	1.1752	1.2331	0.9632	1.0012	0.9458	0.9335	0.8998
OPJ-07	1.5865	1.3221	1.4452	0.9069	0.7298	0.7114	0.7008	0.7112
OPJ-09	1.4789	0.8792	1.0125	0.9449	0.8667	0.8329	0.7563	0.7459
OPJ-14	1.8504	1.7671	1.6191	0.7657	0.8181	0.8092	0.7682	0.6903
OPJ-18	1.4426	1.1513	0.9893	1.0432	0.4846	0.5665	0.4657	0.3288
OPK-18	1.4891	1.3479	1.1253	1.2026	1.0389	0.8719	0.8543	0.6493
OPL-17	1.8221	1.7345	1.4741	1.5132	1.3471	1.0234	0.9945	0.8758
OPM-04	1.7254	1.5341	1.4898	1.3129	1.2782	0.9959	1.0342	0.8834
OPM-07	1.7708	1.6903	1.2951	1.4397	1.1512	1.0879	0.9887	0.9603
OPN-02	1.3307	1.2897	1.2897	0.9876	1.0322	0.9943	1.0438	0.9749
OPN-11	1.1935	1.2648	1.0797	1.1011	0.9809	0.9903	0.9745	0.8974
平均	1.5213	1.3625	1.1453	1.0387	0.9233	0.8131	0.7796	0.7286

表4 云南细茎野生种8个生态类群的遗传距离

Table 4 The genetic distance of 8 ecotypes of *Saccharum spontaneum* L. in Yunnan

I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
I							
II	0.3188						
III	0.2721	0.3311					
IV	0.3322	0.3646	0.3362				
V	0.2601	0.3838	0.3731	0.4198			
VI	0.3464	0.2689	0.4005	0.3523	0.3333		
VII	0.2642	0.4681	0.2697	0.3341	0.2801	0.3687	
VIII	0.4278	0.3839	0.3459	0.3267	0.4625	0.3589	0.4104

低海拔类群的染色体数类型多于高纬度、海拔类群材料，也具有明显的地理分布的特点。这可能是与甘蔗细茎野生种在低纬度（海拔）比高纬度（海拔）地区容易开花且花期长，致使种内的基因交流机会增多，并经长期的自然选择形成有关。细胞、生化和分子研究得出相同的结论，反映出云南甘蔗细茎野生种不同生态类群的遗传分化和基因交流的程度。因此，我们认为：云南细茎野生种甘蔗的遗传多样性是非常丰富的，其起源及传播方式，可能是由低纬度、低海拔地区（云南南部一带）逐渐向高纬度、高海拔的西北和东北方向演化、扩展。

类群划分是提高甘蔗种质资源利用效率的基础性研究（Grassl, 1972）。近十几年来，国内外曾先后利用形态、细胞、生理生化（同工酶）等手段来研究甘蔗类群的划分（萧凤回和李富生, 1996），但结论各异。本研究利用 RAPD 技术，从分子水平上将云南甘蔗细

茎野生种划分为 8 个不同的生态群体，这不但可为甘蔗基因与环境交互作用研究和生态育种提供重要的分子生物学依据，而且对提高杂交亲本的选择和育种效率具有重要作用。

3.3 甘蔗细茎野生种的遗传变异和系统演化

世界甘蔗的起源一直是甘蔗界争议的焦点。目前，热带种 (*S. officinarum*) 公认为起源于南太平洋和大洋洲岛屿 (彭绍光, 1990); 而甘蔗野生种的起源, 有些学者认为起源于印度半岛东南沿海经孟加拉至锡金一带 (骆君骥, 1992), 而有些学者则认为除印度外, 还存在另一起源中心, 即中国—越南—缅甸一带 (周可涌, 1984; 彭绍光, 1990)。据地质学家的大陆板块理论认为, 印度板块与澳洲板块原本连在一起, 大约在二亿年前的中生代, 也正是地球上早期显花植物滋生的世纪, 印度板块从澳洲板块分离出来, 并向西北漂‘移’, 与中国大陆板块撞击形成喜马拉雅山等一系列山脉 (骆君骥, 1992)。而云南早在古生纪就形成康滇古陆, 到中生纪第三代, 气候的温暖, 生长了多种热带和亚热带植物, 与南太平洋群岛同属一个气候体系, 且地理位置毗邻 (郭辉军和龙春林, 1998), 这为各种植物提供了良好的起源、演化和扩散条件。

相关物种的基因组是由共同的原始基因组进化而来, 因而它们之间存在一定程度的相似性。在本研究扩增出的所有 RAPD 片段 (266 条) 中, 共享带多达 145 条, 占 54.5%, 这表明了云南甘蔗细茎野生种有一个相似的起源或进化历程。同时, 本研究结果, 揭示了低海拔、低纬度的云南南部一带是甘蔗细茎野生种多态类型最为丰富的地区, 也是遗传变异的中心地带; 该地区具有丰富的遗传多样性, 保留有更多的原始野生甘蔗类型。因而, 可以推断云南野生甘蔗很可能是起源于低海拔、低纬度的云南南部一带, 而后逐渐向高海拔、高纬度的西北部演化、扩展; 此外, 在本研究构建的系统聚类图 (图 2) 中, 4 份国外材料分别聚在云南甘蔗细茎野生种的各类群之间, 如越南 2 号、泰国 1 号分别聚在云南南部 (低纬度) 的类群 I 和类群 II 中, 而印度 1、2 号则聚在云南北部 (高纬度) 的类群 VIII 中, 这一结果支持了中国—越南—缅甸一带为野生甘蔗的起源中心的观点。云南, 是我国野生甘蔗分布最为广泛的省份, 因而, 云南南部即可能是野生甘蔗起源中心之一。

致谢: 本研究是在昆明动物所细胞与分子进化开放研究实验室完成的, 并得到该室的向余劲攻、丁波、陈永久、苟世康等的帮助, 采样过程得到云南省甘蔗研究所王丽萍、马丽、夏红明等的帮助。

〔参考文献〕

- 刘新芝, 1997. RAPD 在玉米类群划分研究中的应用 [J]. 中国农业科学, 30 (3): 44—51
- 何顺长, 杨清辉, 1994. 全国甘蔗种质资源的考察和采集 [J]. 甘蔗, (1): 11—17
- 陈能武, 1995. 四川甘蔗野生资源的酯酶同工酶分析 [J]. 甘蔗, 2 (1): 7—13
- 张继益, 1999. 旱草属种质资源的随机扩增多态性 DNA (RAPDs) 分析 [J]. 遗传学报, 26 (1): 54—60
- 林炎坤, 1986. 广西割手密 (*Spontaneum* L.) 类群过氧化物酶同工酶分析 [J]. 广西农学院学大学报, (1): 21—23
- 范源洪, 蔡青, 1999. DNA 提纯方法对 6 种甘蔗亚族植物 RAPD 的影响 [J]. 西南农业学报, 12 (1): 1—7
- 周可涌, 1984. 中国蔗糖简史兼论甘蔗起源 [J]. 甘蔗, 13 (1): 69—83
- 郭辉军, 龙春林, 1998. 云南生物多样性 [M]. 昆明: 云南科技出版社, 1—10
- 骆君骥, 1992. 甘蔗学 [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 60—76, 281—305
- 萧凤回, 李富生, 1996. 甘蔗近缘野生种蔗茅 (*Erianthus rufipilus*) 的研究 [J]. 甘蔗, 3 (2): 1—5

彭绍光, 1990. 甘蔗育种学 [M]. 北京: 农业出版社, 1—62

Daniels J, Roach B T, 1997. A taxonomic listing of *Saccharum* and related genera [J]. *Sugar Cane*, Sping suppt, 16—22

Grassl C. O., 1972. Taxonomy of saccharum relatives; *Sclerostchya*, *Narenga* and *Erianthus* [C]. Proc. Int. Soc. Sugarcane Technol, **14**: 240—248

Grattapaglia D, Sederoff R, 1994. Genetic lingage maps of eucalyplus and eucalyplus urpophylla using RAPD markers [J]. *Genetics*, **137**: 1121—1137

Meunier J K, Grimont P A D, 1993. Factors affencting reproducibility of random amplified polymorphic DNA fringprinting [J]. *Res Microbil*, **144**: 373—379

Mornrat P A, Shimada T, Fujiwara H, et al, 1995. Lingage of random amplified polymorphic DNAs (RAPDs) in the Silkworm. *Bombyx mori* [J]. *Genet Res Comb*, **66**: 1—7

Nei M, 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of Individuals [J]. *Genetics*, **89**: 583—590

Sreenivasan T V, 1989. Sugarcane genetic resources activities in India and in vitro germplasm conservation sugarcane varietal improvement coimbatore [R]. Sugarcane Breeding Institute, 177—192

Wachiro F N, Waugh R, Hackett C A, et al, 1995. Detection of genetic diversity in tea (*Camellia sinensis*) using RAPD markers [J]. *Genome*, **38**: 201—210

Yang Xiaofeng, Quiros C F, 1995. Construction of a genetic lingage map in celery using DNA - based markers [J]. *Genome*, **38**: 36—44

* * * * *

《云南植物研究》文后参考文献著录格式更改的说明

为便于国外检索期刊能够收录中文期刊的文献，自 2002 年起，本刊发表的论文，其文后参考文献的著录格式将要作一些调整，请广大作者注意并执行我刊的规定。具体内容如下：

A. 期刊：在引用国内刊物的文献时，无论其原文是用中文还是英文刊出时，一律用英文形式列出，但原文是中文的需列出作者中文名和中文刊名（用括号排于相应位置）；若原文无英文题目，则仍以中文形式，按姓氏笔划排于文献的最前面。举例如下：

Tang ZC (汤章城), 2001. Trends in Plant Physiology at the Turn of Century [J]. *Acta Phytophysiol Sin* (植物生理学报), 27 (1): 1—4

Zhou LH (周丽华), Wu ZY (吴征镒), 2001. Taxonomic Revision of *Cotoneaster microphyllus* (Rosaceae) [J]. *Acta Botanica Yunnanica* (云南植物研究), 23 (2): 162—168

Cao CY (曹成有), Kou ZW (寇振武), Jiang DM (将德明), et al, 2000. Interdune Duccession in the Kerqin Sandy Region. *Acta Phytoecologica Sinica* (植物生态学报). 24 (3): 262—267

B. 书：在引用中文书籍文献时，均用中文形式列出，若引用的是翻译为中文的书籍，也用中文形式列出，并按姓氏笔划排于文献的最前面。

C. 文献排列顺序：中文、日文、英文。中文、日文以姓氏笔划为序，英文以姓氏字母为序（包括用汉语拼音所列作者文献）。