

微生境下羊草两种生态型种群的遗传多样性及遗传分化——等位酶分析

崔继哲*, 曲来叶, 祖元刚

(东北林业大学森林植物生态学开放研究实验室, 哈尔滨 150040)

摘要:采用水平淀粉凝胶电泳技术,应用等位酶分析方法测定了松嫩平原南部微生境条件下羊草灰绿色和黄绿色两种生态型 9 个种群的遗传多样性和遗传分化程度。羊草种、种群和生态型水平都维持较高的遗传多样性。两种生态型之间有明显的遗传多样性差异及遗传分化。灰绿型和黄绿型的多态位点百分率分别为 67.3% 和 57.1%, 等位基因平均数分别是 2.2 和 1.9, 期望杂合度分别为 0.348 和 0.298。两种生态型种群之间平均遗传距离是 0.18, 而同一生态型种群间的遗传距离仅分别为 0.045 和 0.099。灰绿型和黄绿型种群间遗传一致度为 0.836, 相同生态型种群间遗传一致度分别是 0.956 和 0.914。

关键词:羊草; 生态型; 等位酶; 遗传变异性; 遗传分化

Genetic diversity and differentiation of two ecotypes of *Leymus chinensis* populations in microhabitat——Allozyme analysis

CUI Ji-Zhe*, QU Lai-Ye, ZU Yuan-Gang (Open Research Laboratory of Forest Plant Ecology, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

Abstract: *Leymus chinensis* (Trin.) Tzvel. is a rhizome grass species, which has two ecotypes, a gray green type and a yellow green type, in the south of the Songnen Plain of China. Levels of allozyme diversity and genetic differentiation were assessed for 14 allozyme loci in 7 populations of the gray green type and 2 populations of the yellow green type (a total of 271 individuals). *Leymus chinensis* maintained relatively high genetic variation at the ecotype, population and species levels as compared with the average plant species. Significant differences of genetic diversity and genetic differentiation were found between the gray green and yellow green ecotypes. Percentage of polymorphic loci, mean number of alleles per locus and expected heterozygosities between the gray green type and the yellow green type were 67.3% and 57.1%, 2.2 and 1.9, 0.348 and 0.298 respectively. The means of genetic distance were 0.18 between the ecotypes, 0.045 and 0.099 within the gray green type and the yellow green type respectively. While the means of genetic identity were 0.836 between the types, those within the gray green type and the yellow green type were 0.956 and 0.914 respectively.

Key words: *Leymus chinensis*; ecotype; allozyme; genetic diversity; genetic differentiation

文章编号: 1000-0933(2000)03-0434-06 中图分类号: Q145, Q948 文献标识码: A

羊草(*Leymus chinensis*)是欧亚草原带东部地区广泛分布的多年生根茎型禾本科牧草,是我国内蒙古东部草原和东北草原植被中的主要建群种或优势种,其草质优良,产草量高。在自然条件下,羊草既可以通过种子进行有性繁殖,又可通过根茎进行大量的无性繁殖^[1]。因而羊草对不同的生境条件表现出很强的生

基金项目: 国家教委跨世纪优秀人才计划基金项目

* 哈尔滨师范大学生物系, 哈尔滨 150080. Department of Biology, Harbin Normal University, Harbin 150080

收稿日期: 1999-03-04; 修订日期: 1999-12-03

作者简介: 崔继哲(1962~), 女, 副教授。

态适应性,最终因生境的异质性使其种群在性状上表现出明显的变异。根据叶色的不同,羊草至少可以区分为灰绿型与黄绿型两种生态型^[2,3]或趋异类型^[4];依据其它形态结构特征,羊草又有不同的地理区域生态型^[5]和土壤生态型^[6,7]之分。以往对羊草生态型的研究多集中于形态^[8,9]、解剖^[7,10]、生理^[6]、细胞学^[11]等方面,有关羊草不同种群遗传变异及其分化的研究缺乏报道,而这方面的工作是生态型研究中重要且不可缺少的部分。因此本研究以灰绿色和黄绿色两种生态型羊草为对象,通过等位酶分析,研究在微生境条件下,羊草两种生态型天然种群的遗传变异性及其遗传分化,试图揭示羊草生态型分化的遗传基础,探讨羊草的适应和进化机制。

1 材料和方法

1.1 取样 样地位于吉林省长岭县腰井子种马场,地理位置在 44°45'N,123°45'E 附近。依不同植物群落类型(指示土壤不同盐碱度)、不同生态型(灰绿型和黄绿型)选取 9 个种群(表 1)。在每一个种群中随机挖取 30 株以上羊草,样株之间距离保持在 10m 以上,以减少样株取自同一无性系的机率。将取回的试材分株栽植于花盆中,正常栽培管理。

表 1 各样地羊草种群群落组成及生境
Table 1 List of communities,habitats of *Leymus chinensis* sampled

种群代号 Population	生态型 Ecotype	群落 Community	生境 Habitat
1 CHLG1	灰绿型 Gray green	羊草 <i>Leymus chinensis</i>	草甸 Meadow
2 CHLG2	灰绿型 Gray green	碱茅+羊草 <i>Puccinellia</i> spp+ <i>L. chinensis</i>	草甸 Meadow
3 CHLG3	灰绿型 Gray green	獐毛+羊草 <i>Aeluropus iittoralis</i> <i>var. sinensis</i> + <i>L. chinensis</i> 芦苇+星星草,羊草+杂类草	草甸 Meadow
4 CHLG5	灰绿型 Gray green	<i>Phragmites communis</i> + <i>Puccinellia tenuiflora</i> , <i>L. chinensis</i> +miscellaneous grass	草甸 Meadow
5 CHLG6	灰绿型 Gray green	碱斑地周围羊草群落斑块 <i>L. chinensis</i> patch around alkaline spot	草甸 Meadow
6 CHLG7	灰绿型 Gray green	羊草+杂类草,伴生种主要为罗布麻 <i>L. chinensis</i> + miscellaneous grass, mainly <i>Apocynum venetum</i>	草甸 Meadow
7 CHLG8	灰绿型 Gray green	羊草+杂类草 <i>L. chinensis</i> +miscellaneous grass	路边林下风沙土 Roadside, under forest, wind-drift sandy soil
8 CHLY8	黄绿型 Yellow green	羊草+杂类草 <i>L. chinensis</i> +miscellaneous grass	路边林缘风沙土 Roadside, beside forest, wind-drift sandy soil
9 CHLY9	黄绿型 Yellow green	羊草+杂类草 <i>L. chinensis</i> +miscellaneous grass	路边林缘风沙土 Roadside, beside forest wind-drift sandy soil

1.2 电泳 采用水平切片淀粉凝胶电泳^[12]方法进行,所用药品全部购自 Sigma 公司。取样株重新萌发出的嫩叶,用 Tris-马来酸提取缓冲液^[13]研磨,并用 6 片 6mm×2mm 的沁子吸附,然后将蘸有不同样品的沁子按顺序摆放在培养皿中,-20℃冷冻备用。电泳时基本上同一种群的样品置于一块胶上,并放一个其它种群的样作相互对照;最后选取各种群中 3~8 个代表性样株在同一块胶上电泳,以便于准确判定不同种群的等位基因。本研究采用 3 个电泳缓冲液系统(ⅠB、ⅡR 和 Ⅲ6),共检测 14 种酶,即 AAT、ACP、ADH、AMP、DIA、EST、GDH、IDH、MDH、PER、PGD、PGI、PGM 和 SKD(表 2)。按照国际通用的记录酶谱上基因位点和等位基因的方法记录酶谱。

1.3 数据分析 应用 BIOSYS-1 套装软件计算各位点上的等位基因频率、等位基因平均数(A)、多态位点百分率(P)、观测杂合度(Ho)和预期杂合度(He)、F-统计量,种群遗传一致度(I)和遗传距离(D),用不加权对儿法(UPGMA)根据遗传距离对种群进行聚类分析。计算各种群 A、P、Ho、He 的平均数得到种群水平上遗传多样性的相应参数;把全部种群作为一个单位分析,得到的 A、P、Ho 和 He 作为种水平相应参数的估值^[14]。

2 结果分析

2.1 方差数据 本研究分析了 14 种酶,共检测到 22 个位点(表 2)。其中在各种群中都表现稳定、分辨性好的酶有 11

个,计 14 个位点,即 AAT-1、ATT-2、ACP、AMP、DIA-1、DIA-2、EST、GDH、MDH-1、MDH-2、PGI-2、PGM、PGD-1 和 SKD。EST 和 PGI-2 在所有种群、全部个体中都表现一致的固定杂合性,并经花粉检验证实(结果另文报告),表明羊草的异源四倍体特性。对这 11 种酶 14 个位点的等位基因进行统计分析,其中 EST 和 PGI-2 位点的等位基因频率按 Sun^[15]方式处理,即基因型固定为 aabb 的位点,等位基因 a 和 b 的频率各为 0.5。

表 2 本研究采用的电泳系统、检测的酶种类及其位点数
Table 2 Buffer systems used,enzymes examined and the number of loci revealed in the study

酶系统 Enzyme	缩写 Abbreviation	酶分类编码 EC No.	电泳系统 Buffer system	位点数 No. of loci
天冬氨酸转氨酶 Aspartate aminotransferase	AAT	(E. C. 2. 6. 1. 1)	# 1B	2
酸性磷酸酶 Acid phosphatase	ACP	(E. C. 3. 1. 3. 2)	# R	1
乙醇脱氢酶 Alcohol:dehydrogenase	ADH	(E. C. 1. 1. 1. 1)	# 1B	1
氨基肽酶 Aminopeptidase	AMP	(E. C. 3. 4. 11. 1)	# 6	1
还原型辅酶 I 心肌黄酶 Diaphorase	DIA	(E. C. 1. 6. 2. 2)	# 1B	2
酯酶(比色的)Esterase (Colorimetric)	EST	(E. C. 3. 1. 1. —)	# 6	1
谷氨酸脱氢酶 Glutamate dehydrogenase	GDH	(E. C. 1. 4. 1. 2)	# R	1
异柠檬酸脱氢酶 Isocitrate dehydrogenase	IDH	(E. C. 1. 1. 1. 41)	# R	1
苹果酸脱氢酶 Malate dehydrogenase	MDH	(E. C. 1. 1. 1. 37)	# R	3
过氧化物酶 Peroxidase	PER	(E. C. 1. 11. 1. 7)	# 6	3
磷酸葡萄糖异构酶 Phosphoglucisomerase	PGI	(E. C. 5. 3. 1. 9)	# R	2
磷酸葡萄糖变位酶 Phosphoglucomutase	PGM	(E. C. 5. 4. 2. 2)	# R	1
6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶 Phosphogluconate dehydrogenase	PGD	(E. C. 1. 1. 1. 44)	# 1B	2
莽草酸脱氢酶 Shikimate dehydrogenase	SKD	(E. C. 1. 1. 1. 25)	# R	1

2.1 羊草种群间的遗传变异性

在种和种群水平上,羊草的遗传变异性都很高(表 3)。在种水平上,羊草的 P 、 A 和 He 值分别为 78.6、2.4 和 0.390;羊草 9 个种群 14 个位点中多态位点百分率 P 介于 57.1~71.4 之间,平均为 65.1;其中黄绿型的两个种群最低,都是 57.1;灰绿型 7 个种群的平均值是 67.3。9 个种群各基因位点上的平均等位基因数 A 为 2.1,变动于 1.9~2.3 之间,仍以黄绿型的两个种群最低(1.9)。平均期望杂合度(基因多样性指数)9 个种群平均为 0.337(0.293~0.368),也是黄绿型的两个种群最低,平均 0.298。以上结果表明,羊草不同类型的种群之间有一定的遗传差异,黄绿型种群的遗传多样性较灰绿型种群低。羊草 9 个种群的观测杂合度都高于相应的期望杂合度,表明存在杂合子过量。

表 3 羊草种群的遗传变异(括号内是标准差)
Table 3 Genetic variability in *Leymus chinensis* populations (Standard errors in parentheses)

种群 Population	样本数 Sample size	等位基因数 No. of alleles	多态位点百分数 P. of loci polymorphic	观测杂合度 Observed heterozygosity	期望杂合度 Expected heterozygosity
1	45	2.2(0.3)	64.3	0.395(0.113)	0.344(0.084)
2	23	2.3(0.3)	71.4	0.449(0.106)	0.363(0.074)
3	27	2.2(0.3)	71.4	0.388(0.106)	0.354(0.078)
4	30	2.2(0.3)	64.3	0.404(0.113)	0.323(0.076)
5	33	2.2(0.3)	71.4	0.397(0.105)	0.342(0.078)
6	26	2.2(0.3)	64.3	0.404(0.101)	0.368(0.078)
7	32	1.9(0.2)	64.3	0.432(0.106)	0.340(0.075)
8	34	1.9(0.3)	57.1	0.431(0.114)	0.293(0.074)
9	21	1.9(0.3)	57.1	0.425(0.120)	0.302(0.079)
灰绿型种群(1~7)平均 ^①		2.2	67.3	0.410	0.348
黄绿型种群(8~9)平均 ^②		1.9	57.1	0.428	0.298
9 个种群平均 ^③		2.1	65.1	0.414	0.337
种水平平均 ^④		2.4	78.6	0.413	0.390

①Means of grey green type populations(1~7),②Means of yellow green type populations(8~9),③Means of populations(1~9),④Species level

表 4 羊草种群的 F 统计 (F_{ST} 值)
Table 4 F -statistics of *Leymus chinensis* populations (F_{ST} presented)

位点 Loci	灰绿型种群 Grey green populations	黄绿型种群 Yellow green populations	全部种群 Total populations
AAT-1	0.035	—	0.037
AAT-2	0.185	—	0.204
ACP	0.185	0.004	0.197
DIA-1	0.058	0.429	0.149
DIA-2	0.129	0.333	0.635
EST	0.000	0.000	0.000
MDH-1	0.040	0.027	0.048
MDH-2	0.073	0.032	0.066
PGI-2	0.000	0.000	0.000
PGM	0.104	0.021	0.280
SKD	0.103	0.086	0.169
平均 Means	0.080	0.101	0.154

表 5 所示为羊草种群间的遗传一致度 I (上三角) 和遗传距离 D (下三角) 估值。灰绿型 7 个种群之间、黄绿型 2 个种群之间遗传距离都相对较小, 不超过 0.1; 而两种不同类型种群之间的遗传距离则明显增大, 灰绿型与黄绿型间平均遗传距离是 0.18; 说明羊草灰绿型与黄绿型间的遗传分化是明显的。遗传一致度的分析结果也表明同样的规律, 灰绿型种群间遗传一致度最大, 平均为 0.956, 黄绿型 2 个种群间遗传一致度为 0.914, 灰绿型与黄绿型种群间的遗传一致度则降至 0.836。

根据羊草种群间的遗传距离, 采用 UPGMA 法对 9 个种群进行聚类 (图 1)。灰绿型 7 个种群可聚为明显的两类, 种群 3、5、2 为一类, 种群 4、6、7、1 合为另一类。但就这一类型而言, 其 7 个种群间遗传距离都较小, 平均最远距离为 0.049。黄绿型的 2 个种群间遗传距离为 0.089, 单聚成一类。灰绿型与黄绿型两种生态型之间的遗传距离为 0.18, 远大于同一生态型种群间距离, 这两种生态型分属两个明显不同的类别。

表 5 羊草种群的遗传一致度和遗传距离
Table 5 Nei's genetic identities (upper triangle) and genetic distances (lower triangle) for all pairwise comparisons of nine populations of *Leymus chinensis*

种群 Population	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	—	0.940	0.948	0.950	0.965	0.958	0.959	0.903	0.830
2	0.062	—	0.961	0.963	0.957	0.954	0.953	0.862	0.827
3	0.053	0.040	—	0.928	0.979	0.942	0.933	0.828	0.771
4	0.051	0.038	0.075	—	0.978	0.968	0.955	0.833	0.810
5	0.036	0.044	0.021	0.022	—	0.968	0.958	0.845	0.792
6	0.043	0.048	0.060	0.032	0.033	—	0.968	0.867	0.800
7	0.042	0.048	0.069	0.047	0.043	0.032	—	0.891	0.846
8	0.102	0.149	0.189	0.183	0.168	0.142	0.116	—	0.914
9	0.186	0.190	0.261	0.211	0.233	0.223	0.167	0.089	—

3 讨论

3.1 Hamrick & Godt^[18]研究了已发表的涉及植物 165 个属 653 个类群的等位酶文献, 总结了 449 个种的等位酶变异, 首次在种的水平上估计了植物的遗传多样性, 并且与种群水平上的遗传变异情况进行了对比。他们的分析提供了一个依据同工酶结果解释植物遗传多样性的框架。与他们的分析相比较 (表 6), 羊草种和种群水平的遗传变异性很高, 但是种群间的分化略低。羊草种群较高的遗传变异性与其生活史特性是一致的。羊草广泛分布于欧亚草原区, 是一种长寿命的多年生牧草, 有很强的根茎繁殖能力, 并且以风媒传粉, 有一定的有性繁殖力。广布种、风媒传粉等特性都与种群较高的遗传变异性有关^[19], 而且一旦种子在种群中成苗、定居, 无性繁殖是维持种群较高遗传多样性的重要因素之一^[20]。虽然在自然生境中, 羊草抽穗率低 (7.9%), 结实率低 (<40%), 种子可以发芽并定居成长为幼植株的尚不到种子生产数的 5%^[1], 但是有性繁殖却是羊草种群产生遗传多样性的根源。羊草是高密度植物种, 在不同群落中羊草密度变化于 330±97 株/万方数据 333 株/m², 单位面积上平均每穗小穗数为 13.6±2.21 个, 平均每穗小花数是 58.3±15.8 个, 平均每穗种子数为 21.3±11.6 粒^[21], 所以在这种情况下, 单位面积上的有性繁殖作用足

以产生较高的基因型多样性。Ellstrand & Roose^[22]认为对于一些规律性产生有性后代的无性繁殖植物来说,尽管在种群发展过程中有性繁殖作用微弱,然而这类种群是靠有性繁殖建立起来的。在匍枝毛茛(*Ranunculus repens*)中,只要种群中有 3% 的幼苗源于种子,就足以保持其基因型的多样性。因此,羊草种群较高的遗传变异性无疑与羊草一定的种子繁殖力和较强的营养繁殖力有关。

3.2 本研究所选样地集中于松嫩平原南部,尺度较小,这可能是测得的种群间分化较低的一个重要原因。尽管如此,黄绿型和灰绿型两种生态型种群之间仍然存在明显的遗传分化。灰绿型和黄绿型两种类型的羊草在形态、解剖、生育期、光合生理特性等方面均有一定的差异^[9],有人认为这种不同颜色只属形态上的变异^[23];也有人分析这种变异是可遗传的^[9],但没有足够的遗传学方面的证据。本研究中对种群等位基因的平均数 A 、多态位点的百分率 P 、期望杂合度 He 、遗传一致度 I 和遗传距离 D 的分析都揭示,灰绿型和黄绿型之间确实存在着稳定的遗传差异(表 3~5,图 1)。有关的研究^[23]未能发现这一特性与其仅选用过氧化物酶和酯酶两种酶不无关系。

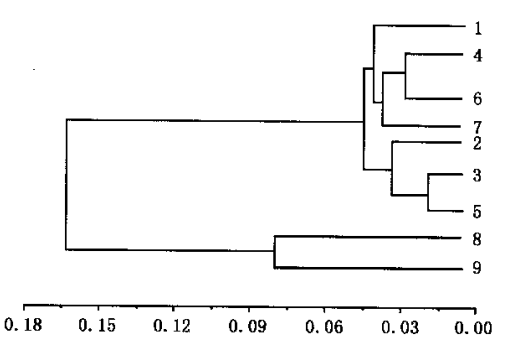


图 1 羊草 9 个种群的 UPGMA 聚类
Fig. 1 UPGMA clustering of nine *Leymus chinensis* populations based on genetic distances

表 6 羊草与其它植物遗传多样性的比较
Table 6 Comparisons of genetic diversity among *Leymus chinensis* and other plants

指标 Index	羊草 <i>Leymus chinensis</i>		其它植物均值 ^[18] Means of other plants				
	种水平 Species level	种群水平 Population level	种水平 Species level	种群水平 Population level	单子叶植物 Mono-cotyledon	多年生草本植物 Perennial grass	异交风媒繁育植物 Outcrossing wind pollination
P	0.786	0.651	0.50	0.34	0.592	0.413	0.661
H	0.390	0.337	0.15	0.11	0.181	0.116	0.162
G_{ST}	—	0.154	—	0.22	0.23	0.233	0.099

3.3 关于生态型的分化,自交植物生态性物种的形成与其多位点等位酶基因型的变异及分化密切相关^[24,25],异交植物却不尽一致^[26,27]。许多研究没有发现异交植物生态宗之间等位酶的分化,但 van Rossum 等^[28]发现俯垂麦瓶草(*Silene nutans*)两种土壤生态型之间存在着高度的遗传分化。作者认为,这个种具有的多年生、长寿命以及外繁育特性可能是生态型之间高水平遗传多样性得以保持的原因。本研究结果与 van Rossum 等的结论一致,支持了 van Rossum 的分析。羊草生态型之间表现出明显的遗传分化可能也与它的生活史特性——长寿命、多年生、有一定的种子繁殖力和强大的以根茎繁殖的能力密切相关。

在松嫩草原腰井子草场,灰绿型羊草分布普遍,面积较大、生境变化较大;黄绿型羊草分布面积窄小,仅在路边林缘风沙土上发现 2 个种群。黄绿型的小种群效应似乎是导致其遗传多样性较低的主要因素。但是,在本研究所涉及种群中,有一个灰绿型种群(CHLG8)与黄绿型的一个种群(CHLY8)相邻分布,面积相当,都远离其它种群,而 CHLG8 种群遗传多样性水平却与其它灰绿型种群一致,明显高于相邻的黄绿型种群。因此,这两种生态型间的遗传差异不应当是由小种群遗传漂变所造成。张喜军^①分析了腰井子草原上羊草 10 个种群的 10 项土壤环境指标,其中包括这两个相邻的不同类型种群,发现黄绿型羊草所在生境的钙离子百分含量明显小于相邻分布的灰绿型种群和其它灰绿型种群生境,相差达一个数量级(其值分别是 7.71 和 32.01)。由此推测,土壤环境因子中钙元素对不同生态型羊草有较大的选择作用,黄绿型羊草对土壤中低钙水平表现出适应性。

① 张喜军. 微生境下羊草种群的生态遗传变异研究. 东北师范大学博士后出站报告,1997

参考文献

- [1] 杨允菲,刘庚长,张宝田. 羊草种群年龄结构及无性繁殖对策的分析. 植物学报,1995, **37**(2):147~153.
- [2] 宁 布. 重视研究牧草的生态型. 草业科学,1991, **8**(2):72.
- [3] 贾慎修. 羊草. 见:贾慎修主编. 中国饲用植物志(1). 北京:农业出版社,1987. 19~35.
- [4] 杨允菲,郑慧莹,李建东. 松嫩平原两个趋异类型羊草无性种群特征的比较研究. 植物学报,1997, **39**(11):1058~1064.
- [5] 王克平,罗 璇. 羊草物种分化的研究. V 羊草的四种生态型. 中国草地,1988, (2):51~52.
- [6] 杜占池,杨宗贵. 不同土壤型羊草光合和蒸腾作用特性的比较研究. 植物学报,1995, **37**(1):66~73.
- [7] 陆静梅,李建东,胡阿林,等. 羊草种群生态和演化形态学特性的比较研究. 应用生态学报,1996, **7**(1):44~48.
- [8] 王克平. 羊草物种分化的研究. I 野生种群的考察. 中国草原,1984, (2):32~36.
- [9] 王克平. 羊草物种分化的研究. II 试验地种群对比. 2 形态特征. 生育特征调查. 中国草原,1987, (1):48~52.
- [10] 周 瑛,朴建植,王代运. 羊草营养器官的比较观察. 哈尔滨师范学院学报(自然科学版). 1977, (1):109~117.
- [11] 王克平,罗 璇. 羊草物种分化的研究. III 生态型差异的遗传基础分析. 中国草地,1987, (4):42~45.
- [12] 王中仁. 植物等位酶分析. 北京:科学出版社,1996.
- [13] Soltis D E C, Haufler C H, Darrow D C, *et al.* Starch gel electrophoresis of ferns: a compilation of grinding buffers, gel and electrode buffers, and staining schedules. *Amer Fern J.*, 1983, **73**(1):9~27.
- [14] Wang Z M, Nagasaka K. Allozyme variation in natural populations of *Picea glehnii* in Hokkaido, Japan. *Heredity*, 1997, **78**:470~475.
- [15] Sun M. The allopolyploid origin of *Spiranthes hongkongensi* (Orchidaceae). *Amer J Bot.*, 1996, **83**(2):252~260.
- [16] Wright S. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution*, 1965, **19**:395~420.
- [17] Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 1978, **89**:583~590.
- [18] Hamrick J L, Godt M J W. Allozyme diversity in plant species. In: Brown A. H. D., Clegg M. T., Kahler A. L. *et al* eds. *Plant population genetics, breeding, and genetic resources*. Sinauer, Sunderland, MA, 1990, 43~63.
- [19] Hamrick J L, Linhart Y B, Mitton J B. Relationships between life history characteristics and electrophoretically detectable genetic variation in plants. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 1979, **10**:173~200.
- [20] Korpelainen H, Kolkkala M. Genetic diversity and population structure in the outcrossing populations of *Equisetum arvense* and *E. hyemale* (Equisetaceae). *Amer J Bot.*, 1996, **83**(1):58~62.
- [21] 杨允菲,祝 玲. 松嫩平原天然羊草种群结实器官性状的波动与气候因子关系的研究. 植物学报,1993, **35**(6):472~479.
- [22] Ellstrand N C, Roose M L. Patterns of genotypic diversity in clonal plant species. *Amer J Bot.*, 1987, **74**(1):123~131.
- [23] 张丽萍,陈丽颖,李建东. 东北松嫩草原羊草过氧化物同工酶及酯酶同工酶的研究. 草业科学,1992, **9**(3):49~51.
- [24] Hamrick J L, Allard R W. Microgeographical variation in allozyme frequencies in *Avena barbata*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 1972, **69**:2100~2104.
- [25] Nevo E, Krugman T, Beiles A. Edaphic natural selection of allozyme polymorphisms in *Aegilops peregrina* at a Galilee microsite in Israel. *Heredity*, 1994, **72**:109~112.
- [26] Heywood J S, Levin D A. Associations between allozyme frequencies and soil characteristics in *Gaillardia pulchella* (Compositae). *Evolution*, 1985, **39**:1076~1086.
- [27] Freiley K J. Allozyme diversity and population genetic structure in *Haplopappus gracilis* (Compositae). *Syst. Bot.*, 1983, **18**:543~550.
- [28] van Rossum F, Vekemans X, Meerts P, G *et al.* Allozyme variation on relation to ecotypic differentiation and population size in marginal populations of *Silene nutans*. *Heredity*, 1997, **78**:552~560.