

中国特有种四合木种群遗传多样性的 RAPD 分析

张颖娟^{1,2}, 杨 持^{1*}

(1. 内蒙古大学生态与环境科学系, 呼和浩特 010021; 2. 内蒙古师范大学生物系, 呼和浩特 010022)

摘要: 采用随机扩增多态性 DNA (RAPD) 技术检测了西鄂尔多斯高原特有种四合木种群 5 个斑块的遗传多样性。22 个扩增引物产生 116 条带, Shannon 信息指数和 Nei 指数对 RAPD 数据的分析表明: 四合木种群存在较高的遗传多样性, 其中千里山斑块的遗传多样性和多态位点比例较高, 石嘴山斑块的最低。遗传多样性的 86.5% 存在于斑块内, 斑块间的遗传变异为 13.5%。遗传距离与地理距离无直接相关关系。这些结果说明, 遗传多样性反映了四合木种群基因组 DNA 存在较高的变异性; 同时各斑块间存在一定的基因流, 四合木各斑块可看成是处于同一种群的半隔离状态 (meta-种群), 对四合木应注意保护遗传多样性丰富的 meta-种群。

关键词: RAPD; 四合木; 遗传多样性; 斑块; 基因流

An Analysis of the Genetic Diversity of Populations Endemic Species *Tetraena mongolica* Maxim. (*Zygophyllaceae*) by RAPD in ORDS Plateau, China

ZHANG Ying-Juan^{1,2}, YANG Chi^{1*} (1. Department of Ecology and Environmental Science, Inner Mongolia University, Huhhot 010021, China; 2. Department of Biology, Inner Mongolia Normal University, huhhot 010022, China). *Acta Ecologica Sinica*, 2002, 22(11): 1917~1922.

Abstract: *Tetraena mongolica* Maxim., a monotypic genus of *Zygophyllaceae* endemic to China, it is an ancient relic shrub and second-class conserved plant in nation. *T. mongolica* grows in semi-arid and arid regions of western ORDS plateau, where *T. mongolica* plays an important role in soil conservation. However, *T. mongolica* is affected by a variety of factors. Its distribution is being continually reduced. Its regeneration is difficult and it is increasingly endangered.

Random amplified polymorphic DNA (RAPD markers) provides a powerful tool for investigation of genetic variation in natural and domesticated populations. We described the five patches genetic variation of RAPD markers in natural, diploid sources of *T. mongolica*. This is the first molecular level report of it. Twenty-two arbitrary 10 base pair primers produced 116 amplification bands. Based on the presence/absence bands, Shannon's index, Nei's index and a genetic distance matrix were analyzed. The results showed that higher genetic diversity existed within *T. mongolica* populations. The Qianlishan patch had higher level of genetic diversity and polymorphic loci proportion, while the Shizuishan patch had the lowest level. The average proportion polymorphic loci of *T. mongolica* was higher than other rare and endemic species. Genetic diversity of Shannon's index varied larger with the primers than with the patches. Wujiamiao patch was the highest Shannon diversity (2.617) and Shizuishan patch was the lowest one (2.214). Nei gene diversity index was generally congruent with Shannon index. Gene diversity of

基金项目: 国家重点基础研究发展规划资助项目 (G2000048704); 国家自然科学基金项目资助项目 (30160020)

收稿日期: 2002-01-23; **修订日期:** 2002-08-18

作者简介: 张颖娟, 女, 博士。主要从事植物种群生态学研究。

*** 通讯作者** Author for correspondence, E-mail: Yangchi@mail.imu.edu.cn

Wujiamiao patch was the highest(0.344) and Shizuishan was the lowest(0.288) of all the assayed primers.

Genetic variation among patches was 13.5% of total genetic diversity and 86.5% of genetic diversity existed within patches. Genetic distance was also calculated. Genetic distance between Qianlishan, Shizuishan patch and Wujiamiao patch were 0.143 and 0.152 respectively, which were the longest. Genetic distance did not directly correspond to geographic distance.

Genetic diversity was related to higher variability of gemonic DNA of *T. mongolica* population and the higher variability was advantageous to tackle the change and choice of habitat. It was one of the reasons that *T. mongolica* became the constructive species of the area. Some degree gene flow existed in *T. mongolica* patches. It was considered to be meta-population. Meta-populations of higher genetic diversity should be conserved.

Key words: RAPD; *Tetraena mongolica*; genetic diversity; patch; gene flow; metapopulation

文章编号:1000-0933(2002)11-1917-06 中图分类号:Q145.Q948 文献标识码:A

近年来,分子生物学的飞速发展为检测植物种群 DNA 水平上的遗传多样性提供了多种方法,其中方便快捷易于掌握并被广泛应用地是随机扩增多态性 DNA 即 RAPD 技术^[1]。该技术已成功地应用于遗传多样性检测、基因组鉴定、品系分析、物种进化和保护、遗传指纹图谱及系统学研究等领域^[2~5]。

四合木(*Tetraena mongolica* Maxim)是蒺藜科中古老的子遗植物,为我国特有的单种属小灌木,国家二级保护植物。四合木自然种群受到各种因素的影响而不断缩小,现存的分布区位于鄂尔多斯高原西北部,库布齐沙漠以南及桌子山的山麓地带,集中生长于内蒙古自治区乌海市境内。它的分布区是亚洲中部一批古老残遗植物的“避难所”^[6]。乌海的城市化建设使四合木种群在分布区内不断破碎化,每个斑块的面积极和数量不断减少,而且斑块内幼龄个体少,更新困难,濒危状况日益严重。虽然对四合木的生物学特点、种群年龄结构及其他生态学方面有研究,但有关这一重要珍稀植物在 DNA 水平上的研究报道极少^[7,8]。对其进行 DNA 水平上的研究,分析与生境的关系,对于珍稀物种遗传多样性的保护、了解物种的进化潜力及种质资源利用等方面具有重要的科学价值和实践意义。

1 材料和方法

1.1 野外取样

实验材料取自乌海市境内四合木种群的 4 个处于半隔离状态的斑块和磴口县乌加庙一带(其中千里山斑块编号 A,海南区斑块为 B,石嘴山斑块为 C,桃司图斑块为 D,乌加庙斑块为 E)。前 4 个斑块的生境特点作者^[8]在 2000 年已有描述,而乌加庙斑块的土壤为沙质,伴生种主要是绵刺(*Potania mongolica*)、红砂(*Reaumuria soongorica*)、珍珠(*Salsola passerina*)。每个斑块在 50m 样线上随机采集生长良好的 20 株四合木嫩叶,冰冻保存。

1.2 基因组 DNA 提取

采用略加改动的邹喻萃等^[9]高盐低 pH 值方法。具体如下:将 1g 四合木嫩叶加液氮研磨成细末,放入离心管中。加入 2ml 65℃的提取介质(0.1mol/L NaAc, 0.05mol/L EDTA, 0.5mol/L NaCl, 2% PVP, 1.4% SDS, 0.5%β-巯基乙醇, pH5.5),保温 30min,10000g 离心 10min(4℃)。取上清液加入 0.6 体积-20℃异丙醇,温和混匀后于-20℃放置 30min,10000g 离心 10min。收集沉淀溶于 1ml 消毒无离子水,离心(去掉少许不溶物)后,上清液中再加入 0.6 体积-20℃异丙醇于-20℃放置 30min,10000 rpm 离心 10min。所得沉淀用 70%乙醇洗涤 2 次,风干后溶于 100μl TE(1mol/L Tris, 0.1mol/L EDTA, pH 8.0)。所得 DNA 样品稀释为 20ng/μl,作为模板进行 RAPD 反应。

RAPD 稳定性和重复性受诸多因素的影响,为保证同一引物的各斑块样品能同时在一型号的 PCR 仪上进行反应,以得到一致的反应效果,每个斑块选取 15~16 个样品。PCR 扩增反应体系(25μl)组成如下:10×buffer 1g²⁺ 2μl (25mmol/L), dNTP 0.25μl(each 10mmol/L),引物 1μl(0.2μmol/L),Taq 酶 1U(均购自上海生工),20ng 左右的模板 DNA,混匀后加入一滴矿物油,并且每个引物设有空白对照,以

反应体系中的模板 DNA 换为双蒸水。PCR 反应程序如下: 94 C 3min, 94 C 1min, 37 C 1min, 72 C 1.5min, 45 个循环, 最后 72 C 延伸 5min, 4 C 保存。扩增产物在含有 EB 的 1.5% 的琼脂糖凝胶中电泳 2.5h, 以 Lambda DNA/ EcoRI+HindIII 作为分子量标记的 Marker。紫外灯下观察照相。

1.3 引物筛选

任意选取 2~3 个斑块, 将所选斑块的单株 DNA 等量混合作为模板 DNA 并进行引物筛选。确定扩增效果好、重复性高及多态性明显的引物作为正式 RAPD 引物(引物为 Operon 公司)。

1.4 数据分析

RAPD 为显性标记, 同一引物的扩增产物在电泳中迁移率相同的条带被认为是同源性的, 属于同一位点的条带按清晰可见的强带或反复出现的弱带记为 1, 无带记为 0, 形成二元数据。统计各引物的位点, 应用 POPGENE 软件计算 Shannon 信息指数 ($I = - \sum p_i \log_2 p_i$), 根据 Nei 基因多样性和相似系数^[10,11] 计算种群遗传分化和遗传距离。

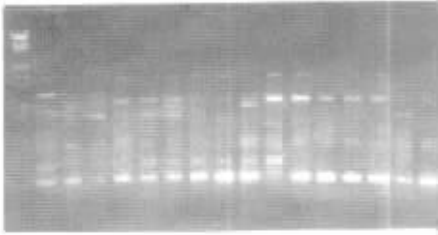


图 1 引物 OPO-19 在千里山斑块不同样品中的扩增结果

Fig.1 RAPD profiles of Qianlishan population of *T. mongolica* amplified by primer OPO-19(M is marker)

2 结果分析

2.1 RAPD 数据的统计分析

表 1 四合木种群各引物的多态位点数和信息指数(括号里的是多态位点比例)

引物 Primer	A		B		C		D		E	
	P	I	P	I	P	I	P	I	P	I
OPD-02	5(0.833)	2.094	4(0.667)	1.939	5(0.833)	2.473	5(0.833)	1.473	5(0.833)	1.650
OPD-03	6(1.000)	3.437	6(1.000)	2.872	6(1.000)	3.272	5(0.833)	2.726	5(0.833)	2.897
OPD-08	5(0.833)	3.085	3(0.500)	2.020	3(0.500)	1.696	2(0.333)	1.122	4(0.667)	2.407
OPD-09	7(0.875)	3.503	5(0.625)	3.222	4(0.500)	2.615	6(0.750)	3.859	7(0.875)	4.392
OPD-11	8(1.000)	5.116	8(1.000)	4.942	8(1.000)	4.221	5(0.625)	3.025	6(0.750)	3.714
OPE-02	5(1.000)	3.117	4(0.800)	2.424	1(0.200)	0.654	4(0.800)	2.182	5(1.000)	3.003
OPE-11	5(0.833)	3.063	6(1.000)	3.424	6(1.000)	3.719	6(1.000)	2.879	6(1.000)	3.447
OPF-03	3(0.600)	1.934	4(0.800)	2.466	5(1.000)	2.957	5(1.000)	2.825	1(0.200)	0.688
OPF-06	5(1.000)	2.559	5(1.000)	2.219	3(0.600)	1.820	5(1.000)	2.395	4(0.800)	2.129
OPF-13	4(0.800)	2.155	3(0.600)	1.708	4(0.800)	2.228	5(1.000)	3.038	4(0.800)	2.598
OPG-04	2(0.500)	1.339	3(0.750)	1.706	3(0.750)	1.830	2(0.500)	0.869	2(0.500)	0.908
OPG-15	6(1.000)	3.085	6(1.000)	3.484	5(0.833)	2.987	6(1.000)	3.108	6(1.000)	3.215
OPG-16	7(0.875)	4.654	5(0.625)	2.857	4(0.500)	2.420	7(0.875)	3.195	7(0.875)	4.066
OPM-13	2(0.500)	1.841	4(1.000)	2.458	3(0.750)	1.668	4(1.000)	2.664	4(1.000)	2.692
OPO-02	4(0.800)	1.575	4(0.800)	1.697	5(1.000)	2.107	3(0.600)	1.271	5(1.000)	2.904
OPO-04	3(0.750)	1.034	2(0.500)	0.425	3(0.750)	0.907	4(1.000)	1.832	4(1.000)	2.201
OP0-10	3(0.750)	1.856	3(0.750)	1.706	4(1.000)	2.308	3(0.750)	1.538	3(0.750)	1.626
OPO-19	6(1.000)	2.851	6(1.000)	2.595	6(1.000)	2.066	5(0.833)	1.899	5(0.833)	2.696
OPQ-01	3(0.600)	1.977	4(0.800)	2.339	4(0.800)	1.901	4(0.800)	2.373	5(1.000)	3.021
OPY-07	3(1.000)	1.748	3(1.000)	1.512	3(1.000)	1.501	3(1.000)	1.684	2(0.667)	1.344
OPY-10	3(0.600)	1.711	4(0.800)	2.406	3(0.600)	0.967	5(1.000)	2.169	5(1.000)	2.931
OPY-18	7(0.875)	3.929	7(0.875)	3.223	4(0.500)	2.403	4(0.500)	2.572	5(0.625)	3.039
总计 Total	102(0.879)		98(0.845)		91(0.785)		96(0.828)		98(0.845)	
平均 Mean	102	2.567		2.438		2.214		2.304		2.617

表 2 Nei 指数估测的四合木种群基因多样性

Table 2 Gene diversity of *T. mongolica* populations estimated by Nei's index

引物 Primer	<i>A</i>	<i>B</i>	<i>C</i>	<i>D</i>	<i>E</i>	<i>Ht</i>	<i>Hs</i>	<i>Dst</i>	<i>Gst</i>
OPD-02	0.351	0.341	0.429	0.220	0.279	0.369	0.324	0.045	0.122
OPD-03	0.385	0.327	0.365	0.313	0.329	0.407	0.344	0.063	0.155
OPD-08	0.427	0.288	0.228	0.150	0.329	0.330	0.285	0.045	0.136
OPD-09	0.292	0.284	0.231	0.339	0.382	0.366	0.305	0.061	0.167
OPD-11	0.449	0.428	0.416	0.260	0.322	0.407	0.375	0.032	0.079
OPE-02	0.433	0.336	0.092	0.289	0.411	0.398	0.312	0.086	0.216
OPE-11	0.352	0.386	0.432	0.313	0.400	0.409	0.377	0.032	0.079
OPF-03	0.272	0.344	0.405	0.381	0.099	0.354	0.300	0.054	0.151
OPF-06	0.331	0.273	0.250	0.306	0.284	0.305	0.289	0.016	0.052
OPF-13	0.289	0.230	0.300	0.419	0.366	0.368	0.321	0.047	0.128
OPG-04	0.318	0.385	0.422	0.185	0.197	0.397	0.301	0.096	0.242
OPG-15	0.337	0.394	0.343	0.344	0.365	0.380	0.357	0.023	0.061
OPG-16	0.473	0.276	0.236	0.303	0.394	0.363	0.336	0.027	0.074
OPM-13	0.318	0.426	0.277	0.473	0.480	0.442	0.395	0.047	0.106
OPO-02	0.206	0.226	0.271	0.161	0.395	0.359	0.252	0.107	0.298
OPO-04	0.148	0.052	0.130	0.287	0.368	0.234	0.197	0.037	0.158
OPO-10	0.321	0.292	0.392	0.252	0.271	0.392	0.306	0.086	0.219
OPO-19	0.305	0.272	0.206	0.200	0.304	0.283	0.257	0.026	0.092
OPQ-01	0.280	0.032	0.246	0.324	0.415	0.366	0.317	0.049	0.134
OPY-07	0.340	0.330	0.328	0.375	0.319	0.412	0.350	0.062	0.150
OPY-10	0.233	0.331	0.111	0.273	0.400	0.339	0.269	0.070	0.206
OPY-18	0.379	0.291	0.236	0.258	0.299	0.314	0.293	0.021	0.067
平均 Mean	0.338	0.312	0.288	0.292	0.344	0.363	0.314	0.049	0.135

Ht is total gene diversity, *Hs* is gene diversity within populations, *Dst* is gene Diversity among populations, *Gst* is gene differentiation coefficient

四合木种群的 22 个引物扩增出 116 条带(只统计 2kb 以下的带,图 1),平均每个引物获得 5.27 条带,各斑块的多态性带和 Shannon 信息指数见表 1。22 个引物检测的多态位点数最多为 8 个,最少只有 1 个。多态位点比例从 20%~100%随引物和斑块而变化,如 OPE-02 和 OPF-03 在桃司图和乌加庙斑块分别只有 1 个多态位点,而在其它斑块则有 3~5 个位点。总体上,千里山斑块多态位点数最多为 102 个(87.9%),其次为海南区和乌加庙斑块(98 个,84.5%),石嘴山斑块的最少为 91 个(78.5%)。四合木种群的平均多态位点比例较其它珍稀特有种高^[12]。

2.2 遗传多样性

Shannon 指数显示的遗传多样性随引物的变化要大于斑块的变化,如 3 个斑块在 OPD-11 的遗传多样性最大($A=5.106, B=4.942, C=4.221$),2 个斑块在 OPD-09 的最大($D=3.859, E=4.392$);各斑块的 P 值在不同引物上均出现最小值,是引物对基因组 DNA 扩增片段的多态性,反映了基因组 DNA 的差异。总的说来,石嘴山斑块的遗传多样性最低(2.214),乌加庙斑块最高(2.617)。

根据等位基因频率计算的 Nei 遗传分化指标见表 2。各引物检测的基因多样性中,石嘴山斑块最低(0.288),乌加庙数据最高(0.344),与 Shannon 指数结果一致。斑块间的基因分化系数为 0.135,即斑块间的遗传变异占种群总的遗传多样性的 13.5%,大部分的遗传变异(86.5%)存在于 斑块内。但不同引物所

表 3 各斑块间的遗传距离

Table 3 Genetic distance of five populations of *T. mongolica*

种群 Population	<i>A</i>	<i>B</i>	<i>C</i>	<i>D</i>	<i>E</i>
<i>A</i>	0	0.949	0.905	0.902	0.867
<i>B</i>	0.052	0	0.949	0.947	0.891
<i>C</i>	0.078	0.052	0	0.915	0.859
<i>D</i>	0.103	0.054	0.089	0	0.907
<i>E</i>	0.143	0.115	0.152	0.097	0

占的比例不同,如引物 OPF-06 检测的斑块间的遗传变异为 5.2%,而 OPO-02 则为 29.8%。

2.3 遗传距离

为进一步说明斑块间的分化程度,计算了斑块间的遗传距离(表 3)。千里山和石嘴山斑块与乌加庙斑块的遗传距离最大,分别为 0.143 和 0.152。直线地理距离不能解释斑块间的遗传距离,斑块间的遗传差异与地理距离之间无直接相关关系。

3 讨论

3.1 遗传多样性

RAPD 研究表明,四合木种群的遗传多样性较高,5 个斑块的多态位点比例在 78%~88%之间;种群的遗传多样性(0.314)远大于斑块间的(0.049),这与作者曾作过的等位酶分析一致^[7]。从已研究的植物表明 RAPD 检测的多态位点数和遗传变异能力都高于等位酶分析,除两种方法本身的差异外,表明 RAPD 的灵敏性要高于等位酶。Shannon 和 Nei 指数对 RAPD 数据的统计结果都显示出四合木种群遗传多样性丰富,其中乌加庙斑块的遗传多样性最高,石嘴山斑块最低,四合木较高的遗传多样性有利于应付生境的变化和选择,有利于种群进化。这是四合木作为古地中海的孑遗植物能成为该地区建群种的原因之一,也说明不是所有的珍稀濒危物种都表现为低水平的遗传多样性。

Nei 统计表明,大部分遗传变异存在于种群内,5 个斑块之间具有相似的基因频率,可能说明它们具有相似的选择压力,也可能存在基因流动。本文所选的生境有一定差异,土壤基质和伴生种有所不同,但降水量分布较一致,并且各种群都经历放牧的啃食作用,表明生境选择压力在一定程度上是相似的。繁育系统对基因流有很大影响,四合木以有性生殖为主,王迎春^[13]在生殖研究中发现,四合木具有自交和异交相结合的交配系统,且异交比例大于自交的。其传粉方式既有异花传粉又可以自花授粉。可以推测四合木作为古地中海残遗物种,原本是一种异花传粉的植物,但该地区历经多次地理环境演变,形成了干旱、少雨、多风沙的恶劣气候^[6],这种条件限制了传粉昆虫的活动,依靠专性虫媒传粉很难保证生殖成功,因而四合木逐渐进化出一些自花传粉的特征。四合木复杂的繁育系统和传粉方式,也可能产生丰富的遗传变异和基因流动以抵御进化过程中环境的恶变,等位酶的研究也说明了这点。四合木种群遗传结构的特点与 Hamrick^[14]的结论一致,他认为,异交、生活史长的植物有较高遗传变异水平,且大部分变异存在于种群内。

珍稀濒危并非单一状态,而是种群数量少、地理范围受限制、生境狭窄、面对多种威胁的各种类型。虽然许多濒危物种中出现了有效种群变小,产生了一些不利的遗传效应,但人为对生境的干扰程度也越来越严重。本研究表明,对四合木来说,种群遗传结构没有显示出遗传上的衰退,生活史虽然存在薄弱环节^[13],但未阻碍其繁衍发展,生态学因素(如生境的片段化、环境污染和放牧)可能是其潜在濒危更直接的原因。

3.2 遗传分化

通过 RAPD 研究发现,四合木每个斑块都有一些全部个体共有的单态位点,也有各斑块共有的某些扩增产物,但没有专一性的扩增产物,说明种群之间在遗传上已产生一定的分化。统计结果也显示,斑块间的遗传变异为 13.5%,86.5%的遗传变异存在于种群内。另一方面,不同引物的基因分化系数差异也很大,从 OPO-02 的 0.298 到 OPF-06 的 0.052,平均为 0.135,略低于 35 种异交植物通过 RAPD 检测得到的平均值 0.193^[3]。

3.3 遗传距离与地理距离的关系

乌加庙斑块与其它 4 个斑块的遗传距离都较大,其中石嘴山与乌加庙斑块最大(0.1512),其次为千里山与乌加庙斑块(0.143),这可能是生境选择压力下,在进化过程中乌加庙斑块四合木的基因组 DNA 的变化使其在遗传上与其他斑块产生了较大差异,该斑块某些扩增片段的频率可说明这点。如 OPD-09 的 380bp、OPY-07 的 280bp 等片段在乌加庙斑块中有较大频率,而在其它斑块中不存在或频率很低,相反,OPD-11 的 280bp、OPF-03 的 330bp、OPY-18 的 620bp 等片段在乌加庙斑块中不存在,其它斑块却有一定

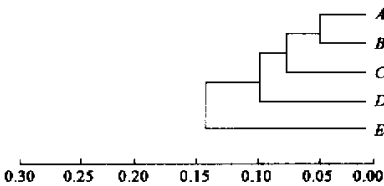


图 2 种群遗传距离
Fig. 2 Genetic distance of populations

频率。直线地理距离不能解释种群间的遗传距离,种群间的遗传差异与地理距离之间无直接相关关系。

3.4 保护对策

了解珍稀物种的种群遗传结构是探讨物种进化潜力并制定有效合理的保护对策的基础。四合木种群存在较高的遗传多样性,各斑块之间存在一定基因交流,呈半隔离状态,可以看成 meta-种群,且各种群的个体数量较大,为四合木成为建群种提供了遗传证据;虽然四合木分布面积在缩小,但并没有影响它维持丰富的遗传变异和一定的基因交流。四合木和它所形成的群落是西鄂尔多斯特有的景观现象,在现有的条件下,应就地保护遗传变异高的 meta-种群从而保护该物种的长期存在,为今后深入研究遗传资源的保护和利用提供条件。

参考文献

[1] Williams J G K, Hanafey M K, Rafalski J A, *et al.* DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.*, 1990, **18**: 6531~6535.

[2] Qian W(钱韦), Ge S(葛颂), Hong D Y(洪德元). Assessment of genetic variation of *Oryza granulata* detected by RAPDs and ISSRs. *Acta Botanica Sinica* (in Chinese) (植物学报), 2000, **42**(7): 741~750.

[3] Fischer M, Husi R, Prati D, *et al.* RAPD variation among and within small and large populations of the rare clonal plant *Ranunculus retans*. *Amer. J. Bot.*, 2000, **87**:1128~1137.

[4] Malyshev S V and Kartel N A. Molecular markers in mapping of plant genomes. *Mol. Biol.*, 1997, **31**:163~171.

[5] Jia J H(贾建航), Wang P(王萍), Jin D M(金德敏等),*et al.* The application of RAPD Markers in diversity detection and variety identification of *Porphyra*. *Acta Botanica Sinica* (in Chinese) (植物学报), 2000, **42**(4): 403~407.

[6] Li B(李博). A study of natural resources and environment in Ordos Plateau, Inner Mongolia. Beijing: Scientific Press, 1990. 110~158.

[7] Sheahan M C, Chase M W. A phylogenetic analysis of Zygophyllaceae *R. Br.* based on morphological, anatomical and rbcL sequence data. *Bot. J. Linn. Soc.*, 1996, **122**:279~300.

[8] Zhang Y J(张颖娟), Yang C(扬持). Comparative analysis of genetic diversity in the endangered shrub *Tetraena mongolica* and its related congener *Zygophyllum xanthoxylon*. *Acta Phytoecologica Sinica* (in Chinese) (植物生态学报), 2000, **24**(4): 425~429.

[9] Zou Y P(邹喻苹), Wang X Q(汪小全), Lei Y D(雷一丁),*et al.* Isolation and characterization of tatol DNA from several endangered species and their allies. *Acta Botanica Sinica* (in Chinese) (植物学报), 1994, **36**(2): 528~533.

[10] Nei M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 1973, **70**: 3321~3323.

[11] Nei M. Genetic distance between populations. *Amer. Nat.*, 1972, **106**:283~292.

[12] Young A G, Bromn A H D. Compative population genetic structure of the rare woodland shrub *Daviesia suaveolens* and its common congener *D. mimosoide*. *Conservation Biology*, 1996, **10**:1220~1228.

[13] Wang Y Ch(王迎春), Yang C(杨持). The study of the life history strategy of plants. *Acta Scientiarum Naturalium University Nei Mongol* (in Chinese) (内蒙古大学学报), 2001, **31**(1): 112~119.

[14] Hamick J L. Isozymes and the analysis of genetic structure in plant populations. In: Soltis D E, Soltis P M eds. *Isozymes in Plant Biology*. London: Chapman and Hall, 1990. 87~105.