

内蒙古中东部草原大针茅的种群遗传分化

赵念席,高玉葆*,王金龙,任安芝,阮维斌,陈磊,刘惠芬

(南开大学生命科学学院 天津 300071)

摘要:对内蒙古中东部草原区分布的 11 个大针茅(*Stipa grandis* P. Smirn)地理种群进行了 RAPD 分析。从 100 个随机引物中筛选出 18 个有效引物,共扩增出 221 条 DNA 带,多态性 DNA 带 121 条,占 54.75%,平均每个引物扩增的 DNA 带数为 12.28 条;特异性 DNA 带 25 条,占 11.31%。基于 Jaccard 遗传相似性系数对此 221 条 DNA 带进行 UPGMA 聚类分析,将 11 个种群分为 3 类,白音锡勒牧场的 8 个种群聚为一类,林西种群和克什克腾种群两个种群聚为一类,阿巴嘎种群单独成为第 3 类。用 Mantel 检验作进一步分析表明,在相对较大的尺度上,大针茅的遗传分化与地理距离相关极显著($g > g_{0.005}$);而在相对较小的尺度上(白音锡勒牧场 8 个种群),相关不显著($g < g_{0.050}$)。特异性位点百分数与所处生境大于 10℃ 年积温及干燥度呈现极显著正相关($p < 0.01$)。对其中的 5 个大针茅种群所在群落的植物组成、Shannon 多样性指数以及重要值进行分析,发现这 5 个种群的相似性系数矩阵与所在群落的相似性系数矩阵(用重要值计算得到)之间表现为显著正相关($r = 0.7703, g > g_{0.05}$)。

关键词:大针茅;地理种群;遗传分化;RAPD;Mantel 检验;环境因子;重要值

An analysis of genetic differentiation between *Stipa grandis* populations in middle and eastern Inner Mongolia steppe

ZHAO Nian-Xi, GAO Yu-Bao, WANG Jin-Long, REN An-Zhi, RUAN Wei-Bin, CHEN Lei, LIU Hui-Fen
(College of Life Science, Nankai University, Tianjin 300071, China). *Acta Ecologica Sinica*, 2004, 24(10): 2178~2185.

Abstract: *Stipa grandis* P. Smirn, an important perennial tussock grass in the Inner Mongolia steppe in China, is palatable for livestock and rich in nutrients, and is grazed by cattle and sheep at different stages of its growth cycle. Form. *Stipa grandis* is one of the major formations of the moderately-temperate steppe in Central Asia, and has considerable ecological and economic importance as it is not only suitable for grassland farming, but also provides an environmental defense for the Beijing-Tianjin area.

Studies about *Stipa grandis* started in 1950's. The geographical distribution, growth and photo-physiological characteristics of *Stipa grandis* have been well documented, but molecular markers were used in the study of *Stipa grandis* in just recent years and documents are still lacking. In the present study, eleven sites were selected from the Form. *Stipa grandis* in the middle and eastern Inner Mongolia steppe. In each site, leaves of *Stipa grandis* plant were harvested for RAPD analysis, and at the same time, plant community investigation was carried out for five representative sites of the eleven.

Eighteen oligonucleotides screened from 100 random decamer primers were selected to analyze the eleven populations of *Stipa grandis*, which produced profiles with intense and well-separated bands. A total of 221 bands were produced from the 18 selected primers with an average of 12.28 bands per primer, among which 121 bands were polymorphic. Twenty-five unique loci were obtained, accounting for 11.31% of the total amplified loci, and the percentage of unique loci was significantly correlated with aridity ($r = 0.76, P < 0.01$) and with cumulative temperatures above 10℃ ($r = 0.81, P < 0.01$) along the environmental gradient. Genetic distances between geographic populations of *Stipa grandis* ranged from 0.084 to 0.761, with

基金项目:国家重点基础研究发展规划资助项目(G2000018601)
收稿日期:2004-02-22;修订日期:2004-06-04
作者简介:赵念席(1978~),女,河北辛集人,博士生,主要从事植物种群生态学和种群遗传学研究。E-mail:zhaonianxi@eyou.com
* 通讯作者 Author for correspondence. E-mail: ybgao@nankai.edu.cn
Foundation item: National Key Basic Research Special Foundation Project(No. G2000018601)
Received date: 2004-02-22; Accepted date: 2004-06-04
Biography: ZHAO Nian-Xi, Ph. D. candidate, mainly engaged in plant population ecology and genetics research. E-mail: zhaonianxi@eyou.com

an average of 0.243. A UPGMA dendrogram based on the genetic similarity coefficient matrix showed that the populations were most likely to be clustered if their geographic locations were nearer. A Mantel's test indicated that there was a significant correlation between the genetic distance and geographic distance ($g > g_{0.005}$) in a larger range containing all of the 11 populations. As for the 8 populations within the Baiyinxile Farm, there was no correlation between genetic distance and geographic distance ($g < g_{0.05}$), which was consistent with the results of the dendrogram. It may be reasonable to suggest that rainfall and temperature were the major factors that affected genetic differentiation of *Stipa grandis* on a larger scale (about 240km), and that on a smaller scale (below 50km) where the variation of rainfall and temperature was not significant, a combination of several environmental factors was responsible for the genetic differentiation of *Stipa grandis* populations.

The composition, species frequency and importance value, and Shannon's index of five communities differed from each other. The similarity between communities were computed using the Pearson correlation method based on the importance values of the species and a dendrogram based on the similarity coefficient matrix was constructed using UPGMA in NTSYS-pc. This dendrogram was similar to the one that was established using the corresponding populations of *Stipa grandis* based on RAPD data. Further analysis with Mantel's test indicated that there was a positive correlation ($r=0.7703$, $g > g_{0.05}$) between the similarity coefficient matrix of the five *Stipa grandis* populations and that of their communities.

Key words: *Stipa grandis*; geographic population; genetic differentiation; RAPD; Mantel's test; environmental factor; importance value

文章编号:1000-0933(2004)10-2178-08 中图分类号:Q346,Q948 文献标识码:A

大针茅(*Stipa grandis*)是禾本科针茅属一种多年生旱生密丛生禾草,草质优良,适口性强,在亚洲中部草原广泛分布。大针茅草原主要分布于大兴安岭以西,内蒙古锡林郭勒高原的东部和呼伦贝尔高原的中部,形成我国中温性草原亚带的主要群系之一,总面积为 253.5 万 hm^2 ,占针茅草原总面积的 20%,是一类非常重要的草场资源,对畜牧业生产具有重要的作用^[1]。

关于针茅属植物的研究,国内外已经做了大量的研究工作,主要集中在地理分布、生态生物学特性、光合生理特性上面;近几年随着分子生物学和技术的发展,关于针茅属植物分子生物学的研究工作也开始起步,Turuspekov 等应用 RAPD 分子标记技术检测出,高辐射污染区(即离核试验基地最近)的针茅(*Stipa capillata*)的遗传变异显著大于中辐射污染区和低辐射污染区^[2];韩冰等应用 RAPD 分子标记对克氏针茅(*Stipa krylovii*)的分析结果显示重度利用降低了克氏针茅的遗传多样性^[3]。本文以不同地理种群大针茅为研究对象进行 RAPD 分析,探讨大针茅种群的变异和分化与生态因子的关系,为阐明大针茅种群遗传分化变异的成因和机制提供进一步的实验证据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

2001 年 7 月至 9 月对内蒙古赤峰市农牧交错区、锡林郭勒盟典型草原进行考察,沿途选择大针茅群落典型地段(共 11 个地段),采集大针茅叶片现场进行硅胶干燥处理,带回实验室用于 DNA 提取;并对其中 5 个典型地段作样方调查。根据地理位置不同分别将大针茅样品所代表的种群命名为:林西种群、克什克腾种群、白音锡勒种群 1~8、阿巴嘎种群。各个种群所在生境的有关信息列于表 1(进行群落调查的 5 个样地采用与种群样品采集点同样的编号)。

1.2 实验方法

1.2.1 群落调查方法 在样地内随机设置 50m 样线,以 1m 为单位详细统计群落内植物出现的频度;每隔 10m 做 1m×1m 样方,统计样方内植物的种类,测量植株自然高度,并将样方内植株沿地表剪下,以种为单位装在不同的纸袋里立即用 1/100g 电子天平称量其鲜重,样品带回室内用烘箱(80℃)烘至恒重,用 1/100g 电子天平称量干重并统计每种植物(或分株)数目。

1.2.2 DNA 提取及扩增方法 DNA 提取采用改进的 SDS 法^[4],从硅胶干燥过的大针茅叶片混合样品中提取 DNA。总 DNA 经 RNase A 处理后,分别在波长 260nm 和 280nm 处测所提取基因组 DNA 的 OD 值,根据 OD260/OD280 的值判断其纯度(纯 DNA 的 OD₂₆₀/OD₂₈₀=1.8^[5])。然后再用 0.7% 的琼脂糖凝胶对其进行电泳,在紫外检测仪上观察其纯度并判别 DNA 分子的大小及一致性。

随机引物为 Operon 公司生产的 10 个碱基的寡聚核苷酸。

PCR 扩增的总体积为 25 μl ,在 PTC-100 Programmable Thermal Controller 上进行,扩增程序为:94℃ 预变性 4min;94℃ 40s,36℃ 1min,72℃ 2min,共进行 40 个循环;最后 72℃ 延伸 10min。经 Mg^{2+} 浓度、模板浓度、dNTPs 浓度和引物浓度梯度筛选,选取最佳反应体系:1 μl 模板 (30ng);2 μl MgCl_2 (25mM);2.5 μl PCR10×buffer (无 Mg^{2+});0.5 μl dNTPs (10mM);1 μl 引物 (5pM);0.2 μl (5U/ μl)Taq DNA 聚合酶和 17.8 μl 无菌双蒸水。

表 1 种群所在生境的自然概况

Table 1 Habitat information of the investigated populations of <i>Stipa grandis</i>									
地点 Location		种群代码* Population code	纬度 (°N) Latitude	经度 (°E) Longitude	海拔 (m) Altitude	≥10℃ 积温 (℃) Total temperature	年降水(ml) Annual precipitation	草场利用类型 Type of use	
林西县	Linxi	L	43.43	118.08	750	2688	380	试验基地	Trial
克什克腾旗	Keshiketeng	K	43.38	117.65	930	2496	380	中度放牧草场	Intermediate grazing
白音锡勒牧场	Baiyinxile 1	B1	43.49	116.7	1300	1944	380	割草场	Mowing
白音锡勒牧场	Baiyinxile 2	B2	43.51	116.8	1300	1776	400	割草场	Mowing
白音锡勒牧场	Baiyinxile 3	B3	43.57	116.74	1300	1872	380	中度放牧草场	Intermediate grazing
白音锡勒牧场	Baiyinxile 4	B4	43.85	116.43	1170	2208	340	重度放牧草场	Heavy grazing
白音锡勒牧场	Baiyinxile 5	B5	43.5	116.79	1300	1776	400	割草场	Mowing
白音锡勒牧场	Baiyinxile 6	B6	43.53	116.7	1300	1944	380	休闲地(12a)	Abandoned(12a)
白音锡勒牧场	Baiyinxile 7	B7	43.6	116.73	1300	1872	380	休闲地(22a)	Abandoned(22a)
白音锡勒牧场	Baiyinxile 8	B8	43.63	116.38	1170	2136	340	休闲地(22a)	Abandoned(22a)
阿巴嘎旗	Abaga	A	43.97	115.17	1170	2448	250	重度放牧草场	Heavy grazing

B1~B8:分别位于中国科学院内蒙古草原生态系统定位研究站(简称定位站)羊草样地南 8km、嘎松山北 3km、锡林河河岸阶地、白音锡勒牧场总部北 20km 处、嘎松山阳坡、定位站羊草样地、定位站退化样地和定位站大针茅样地 The plots from B1 to B8 were set in the following locations; 8 km south to the *Leymus chinensis* Plot of the Inner Mongolia Grassland Ecosystem Research Station of the Chinese Academy of Sciences (shorted as IMGERS-CAS), 3 km north to the Gasong Mountain, the terrace of River Xilin, 20 km north to Baiyinxile Farm, the southern slope of the Gasong Mountain, the *Leymus chinensis* Plot (IMGERS-CAS), the deteriorated grassland Plot (IMGERS-CAS) and the *Stipa grandis* Plot (IMGERS-CAS); * 下同 the same below

1.3 数据处理

RAPD 扩增产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳分离,紫外投射仪上观察,拍照记录。
以标准分子量标记(鼎国生物公司生产的 SD005)为对照,确定扩增片段的分子量大小。随机扩增片段以 1(有)或 0(无)表示,统计分子量为 400~2000bp 的清晰谱带,所得数据输入计算机进行统计分析,根据 Jaccard^[6]相似性系数计算种群间的相似系数(Similarity, S)和遗传距离(Genetic Distance, $D=1-S$),用 NTSYS-pc 中的 Shan Clustering 进行 UPGMA 聚类分析^[7];用 Mantel 检验^[8]对 RAPD 所得遗传距离和地理距离进行相关性检验,以研究遗传距离和地理距离相关性的显著程度。同时,统计各个种群特异性 DNA 带,计算占总扩增条带的百分数,并分析其与生态因子的相关关系。

群落调查所得数据经 EXCEL 处理后,用 SPSS11.0 将物种重要值做不同样地之间的 Pearson 相关系数^[9],最后用 NTSYS-pc 中的 Shan Clustering 将所得 Pearson 相关关系矩阵进行 UPGMA 聚类分析,以此来分析分子标记聚类图与群落物种重要值分类聚类图之间的相似程度,后经 Mantel 检验两组相似性系数矩阵之间相关性的显著程度。

2 结果与分析

2.1 大针茅种群的 DNA 多态性分析

对 Operon 公司的 100 个 10 核苷酸引物进行筛选,选择能够扩增出清晰、稳定带的引物进行正式扩增,共得到 18 个引物。这些引物在 11 个不同地理种群内共扩增到 221 条 DNA 片段,片段分子量多集中在 400~2000 之间(图 1),其中每个引物扩增出带在 8~22 之间,平均每个引物扩增出 12.28 条带。在 221 条带中,多态性片段为 121 条,占总扩增数的 54.75%,平均每个引物有 6.7 条多态性带。

2.2 RAPD 分析所得遗传距离与地理距离的相关性分析

大针茅不同地理种群的遗传距离从 0.084 到 0.761 不等,变化范围比较大,平均遗传距离为 0.243,其中白音锡勒牧场 8 个种群(B1~B8)之间以及克什克腾种群(K)与大多数种群(除林西种群(L)和克什克腾种群(K)之外)的遗传距离都低于平均值,而阿巴嘎种群(A)与其他种群以及林西种群(L)与其他种群(除去 K)都超过平均值(表 2)。进一步聚类分析可以发现(图 2),11 个种群按遗传距离分为 3 类,白音锡勒牧场范围内的 8 个种群(B1~B8)相距都较近,首先聚为一类;林西种群(L)和克什克腾种群(K)两个种群相距也很近,聚为一类;阿巴嘎种群(A)一个种群单独成为一类。聚类结果与按种群之间的地理距离归类有一定的联系。为了考察种群间遗传距离与地理距离之间的相关程度,用 Mantel 检验对遗传距离与地理距离作进一步分析(表 3),可以发现:11 个种群的遗传距离和地理距离之间存在极显著相关($r=0.6058, g=2.684>$

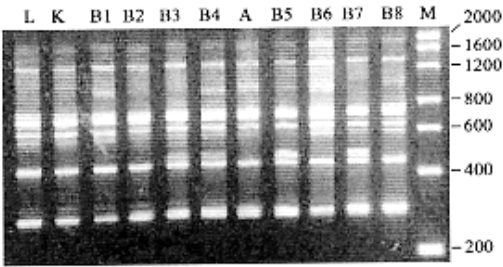


图 1 不同地理种群大针茅 RAPD 电泳结果(OPI03)

Fig. 1 RAPD electrophoretogram of primer OPI03 for different geographic populations of *Stipa grandis*

$g_{0.005}$),在 3000 次置换(permutation)中,仅有 5 次超过 z 值;而对白音锡勒牧场 8 个种群的遗传距离与其对应空间距离之间相关性不显著($r=0.1658, g=0.539 < g_{0.05}$),在 3000 次置换(permutation)中,有 889 次超过 z 值。这一结果说明:在相对较大的尺度上($>200\text{km}$),种群间的遗传距离的大小与地理距离的远近存在相关性,而在相对较小的尺度上($<50\text{km}$),种群间的遗传距离的大小与地理距离的远近不存在相关性。

表 2 大针茅不同地理种群之间地理距离(对角线下方)及 RAPD 分析所得的遗传距离(对角线上方)

Table 2 The geographic distance (below diagonal) among different geographic populations of *Stipa grandis* and their genetic distance (above diagonal) indicated by RAPD data

种群代码 P. code	L	K	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	A
L	—	0.187	0.330	0.250	0.279	0.293	0.274	0.267	0.276	0.269	0.353
K	34.84	—	0.283	0.228	0.200	0.254	0.213	0.198	0.227	0.220	0.315
B1	110.60	76.96	—	0.198	0.200	0.263	0.203	0.188	0.227	0.191	0.277
B2	102.78	69.49	8.30	—	0.110	0.158	0.176	0.161	0.181	0.134	0.270
B3	108.30	75.74	9.36	8.16	—	0.130	0.105	0.112	0.112	0.106	0.271
B4	139.85	110.45	45.11	47.70	39.54	—	0.184	0.199	0.199	0.163	0.323
B5	103.49	70.05	7.28	1.36	8.68	48.08	—	0.103	0.125	0.119	0.744
B6	110.95	77.77	4.40	8.30	5.44	41.30	7.92	—	0.111	0.084	0.761
B7	109.61	77.48	12.34	11.37	3.40	36.50	12.00	8.07	—	0.094	0.723
B8	137.77	105.26	29.88	36.10	29.55	24.53	35.78	27.86	28.19	—	0.749
A	240.26	208.75	133.30	139.87	133.08	101.66	139.53	131.62	131.27	103.77	—

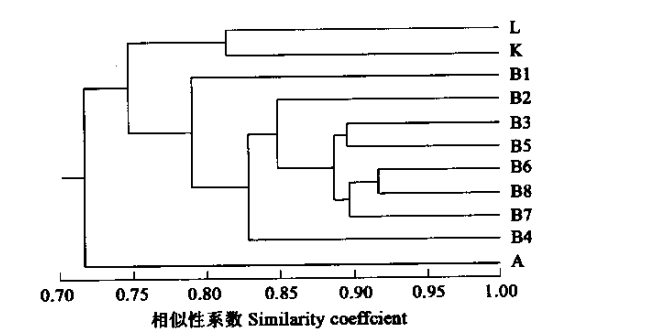


图 2 根据 UPGMA 法对大针茅不同地理种群 RAPD 结果所作的聚类图

Fig. 2 The agglomerate classification of different geographic populations of *Stipa grandis* using UPGMA method

2.3 特异性位点百分率与环境因子的相关性分析

对各个种群扩增的特异性位点(即只有某种群出现而其它种群没有出现的 DNA 条带)进行统计,结果表明,共有 25 个特异性位点,占总扩增位点数的 11.3%。计算每个种群的特异性位点百分率(表 4),可以发现,特异性位点百分率与种群所处生境的特点之间有一定的联系,它随着环境干燥度 K 的增大而呈现增加的趋势,相关关系极显著,所得相关系数为 $r=0.76$ ($p<0.01$);同时分析其与 10℃ 以上积温的相关关系,可以发现两者之间也存在极显著相关($r=0.81, p<0.01$)。

2.4 群落组成相似性与种群遗传相似性的相关性分析

大针茅群落 5 个典型地段的种类组成、每种植物出现的频度、重要值及其 Shannon 多样性指数列于表 5。从表 5 可以看出,5 个样地群落植物种类组成、群落结构和多样性指数有明显的差异。将 5 个样地所有物种的重要值这一综合指标作 Pearson 相关分析后,用 UPGMA 法作聚类图(图 3)。该图与图 2 中所对应的 5 个大针茅种群的 RAPD 聚类图相似,经 Mantel 检验,两

表 3 大针茅不同地理种群间遗传距离和地理距离相关性的 Mantel 检验

Table 3 Mantel test between genetic distance and geographic distance among different geographic populations of *Stipa grandis*

项目 Item	L、K、A、B1~B8	B1~B8
置换 Permutation	3000	3000
标准正态变量 Standard normal variate	2.684	0.539
相关系数 Correlation coefficient	0.6058	0.1658
Mantel 系数 Mantel Coefficient	2363.81	188.12
叠代 Iteration	2995	2111
超过 z 值置换数 Pos from nearest end	5	889
显著水平 Level of significance	0.0017	0.2963

表 4 大针茅不同地理种群由 RAPD 分析所得的特异性位点百分率及所在生境的相关生态因子

Table 4 The percentage of unique loci among different geographic populations of *Stipa grandis* indicated by RAPD data and some environmental factors in their habitats

种群代码 Population code	总位点数 Total number of loci	特有位点数 Number of unique loci	特有位点 百分数 Percentage of unique loci(%)	$\geq 10\text{℃}$ 积温 (℃) Total temperature	干燥度 K
L	161	8	4.97	2688	1.13
K	158	2	1.27	2496	1.05
B1	158	3	1.90	1944	0.82
B2	161	0	0.00	1776	0.71
B3	166	0	0.00	1872	0.79
B4	165	5	3.03	2208	1.04
B5	160	0	0.00	1776	0.71
B6	170	0	0.00	1944	0.82
B7	170	1	0.59	1872	0.79
B8	173	0	0.00	2136	1.01
A	147	6	4.08	2448	1.57

$K = 0.16 \sum t/r; \sum t: 10\text{℃}$ 以上的积温 (℃) Accumulated temperature ($\geq 10\text{℃}$); r : 同期降水量 Precipitation in the same period (mm)

表 5 5 个样点群落的种类组成、频度、重要值及物种多样性指数

Table 5 Species composition, frequency, importance value and diversity index in five plots										
植物名称 Species	群落代码 Community code									
	K		B1		B2		B3		A	
	频度 <i>F</i> (%)	重要值 <i>IV</i> (%)	频度 <i>F</i> (%)	重要值 <i>IV</i> (%)	频度 <i>F</i> (%)	重要值 <i>IV</i> (%)	频度 <i>F</i> (%)	重要值 <i>IV</i> (%)	频度 <i>F</i> (%)	重要值 <i>IV</i> (%)
禾本科 Gramineae										
大针茅 <i>Stipa grandis</i>	96	10.3	56	20.2	28	8.5	88	23.1	38	16.8
贝加尔针茅 <i>Stipa baicalensis</i>					40	0.3				
糙隐子草 <i>Cleistogenes sguarosa</i>	100	9.8	52	2.9	16	3.9	100	13.5	96	28.1
羊茅 <i>Festuca venusta</i>					12	1.1				
草 <i>Koeleria cristata</i>				1.4		1.5	28	3.5		
羊草 <i>Leymus chinensis</i>	100	10.2	100	16.4	80	5.2	100	15.1	20	4.8
西伯利亚羽 <i>Achnatherum sibiricum</i>	64	3.1	24	2.5	24	1.9	12	2.3		
狗尾草 <i>Setaria viridis</i>							12	0.2		
偃狗尾草 <i>Setaria viridis</i> var. <i>depressa</i>						0.1		0.4		
冰草 <i>Agropyron cristatum</i>		1.4	4	7.5	4	3.5	59	6.6	2	6.0
豆科 Legumen										
扁蓿豆 <i>Melissitus ruthenicus</i>	8	0.7	24	0.9	16	1.1	6	0.9	2	1.2
草木樨 <i>Melilotus suaveolens</i>	12	1.8								
达乌里胡枝子 <i>Lespedeza davurica</i>										
披针叶黄华 <i>Thermopsis schischkinii</i>		1.2			4	0.7				
多叶棘豆 <i>Oxytropis aciphylla</i>					24	0.6	12	0.2		
棘豆 <i>Oxytropis ochrocephala</i>		0.2						0.5	2	0.9
小叶锦鸡儿 <i>Caragana microphylla</i>							34	2.7	16	1.4
小米口袋 <i>Gueldenstaedtia pauciflora</i>		0.5							4	0.2
野豌豆 <i>Vicia sepium</i>					4	1.1				
菊科 Composite										
线叶菊 <i>Filifolium sibiricum</i>					32	2.3				
凤毛菊 <i>Saussurea japonica</i>	12	0.8			8	0.4	3	0.7		
阿尔泰狗娃花 <i>Heteropappus altaicus</i>	40	2.7	16	1.1	4	0.7			8	2.1
冷蒿 <i>Artemisia frigida</i>	92	9.7	64	5.6	8	0.6	66	6.5	18	2.5
变蒿 <i>Artemisia pubescens</i>	24	1.4			88	1.4				
黄蒿 <i>Artemisia scoparia</i>			16	2.2	8	7.1				
火绒草 <i>Leontopodium conglobatum</i>	72	2.2	28	1.7	8	0.8				
丝叶山苦葵 <i>Ixeris chinensis</i>		1.4								
麻花头 <i>Serratula chinensis</i>		3.3	32	2.1					12	2.2
鸦葱 <i>Scorzonera austriaca</i>		3.7								
其他 Other										
细叶葱 <i>Allium tenuissimum</i>			36	1.7	20	1.1	16	1.8		
野韭 <i>Allium macrostemum</i>					4	0.8	6	2.9		
矮韭 <i>Allium anisopodium</i>	24	3.0					3	1.2		
蒙古葱 <i>Allium mongolium</i>		1.6	16	0.3		0.5	3	1.8		
天门冬 <i>Asparagus dauricus</i>									2	0.3
华北蓝盆花 <i>Scabiosa tschiliensis</i>					8	1.2				
薄荷 <i>Mentha davurica</i>					24	0.4				
并头黄芩 <i>Scutellaria scordifolia</i>	32									
黄芩 <i>Scutellaria baicalensis</i>						0.5				
乳浆大戟 <i>Euphorbia esula</i>										1.1
虫实 <i>Corispermum chinganicum</i>									4	2.8
木地肤 <i>Kochia prostrata</i>	8	0.9	24	0.4	8	1.1	19	1.8	10	0.6
尖叶藜 <i>Chenopodium acuminatum</i>									26	8.2
灰绿藜 <i>Chenopodium glaucum</i>			64	0.7						
藜 <i>Chenopodium album</i>									66	4.3
优若藜 <i>Ceratoides latens</i>								0.8		
轴藜 <i>Axyris amaranthoides</i>			24	0.7						
猪毛菜 <i>Salsola collina</i>	4					0.5	6	1.0	82	10.6

续表 5

麻黄 <i>Ephedra sinica</i>							4		3.7
牛儿苗 <i>Erodium stephanianum</i>	4	0.9		0.2		0.5			
卷叶唐松草 <i>Thalictrum petaloideum</i>	4				4	0.7			
细枝唐松草 <i>Thalictrum tenue</i>					8	0.4			
展枝唐松草 <i>Thalitrum squarrosum</i>					12	1.1			
瓣蕊唐松草 <i>Thalitrum petaloideum</i>	32	0.5	8	0.5	4	0.2	9	0.8	
棉团铁线莲 <i>Clematis hexapetala</i>					8	2.8			
蓬子菜 <i>Galium verum</i>			4	1.8	28	1.7			1.5
二裂委陵菜 <i>Potentilla bifurca</i>	40	1.3	4	0.8	8	0.1			
多裂委陵菜 <i>Potentilla multifida</i>					12	0.7	6	0.7	
星毛委陵菜 <i>Potentilla acaulis</i>	28	1.2	44	1.2	8	0.2	28	1.1	
菊叶委陵菜 <i>Potentilla tanacetifolia</i>	28	1.3	36	0.4	20	1.3	13	0.8	
腺毛委陵菜 <i>Potentilla longifolia</i>			36	0.7	8	0.6	6	0.9	
狼毒 <i>Stellera chamaejasme</i>			12	0.7	8	1.1			
柴胡 <i>Bupleurum chinense</i>					4	1.1			
防风 <i>Saposhnikovia divaricata</i>					40	1.2			
黄囊苔 <i>Carex korshinskyi</i>	100	23.3	100	27.1	88	27.8	28	1.9	
小花花旗竿 <i>Dontostemon micranthus</i>							38	1.7	4
石竹 <i>Dianthus chinensis</i>					12	0.1			0.6
苕芭 <i>Cymbaria dahurica</i>			20	0.5		0.8			
柳穿鱼 <i>Linaria vulgaris</i>	16	0.4				1.7			
马先蒿 <i>Pedicularis resupinata</i>					12	0.2			
射干鸢尾 <i>Belamcanda chinensis</i>	72	1.1	60	2.2	8	0.4			
马蔺 <i>Iris lactea</i>	40		4		28	2.1	3	3.6	
细叶远志 <i>Polygala tenuifolia</i>					8	0.8			
北拟芸香 <i>Haplophyllum dauricum</i>						0.7			
鹤虱 <i>Lappula deserticola</i>							6	0.9	
Shannon 信息指数 (<i>H</i>)		2.47		3.17		4.33		2.53	1.58

$H = - \sum (P_i \lg P_i)$; *F* Frequency; *IV* Importance value; $IV_i = (Di / \sum Di + Hi / \sum Hi + Bi / \sum Bi) / 3$; *D* Density; *H* Height; *B* Biomass

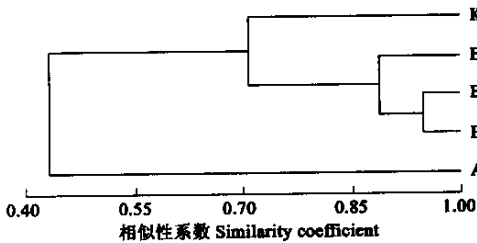


图3 根据UPGMA法对不同样地大针茅群落重要值所作的聚类图
Fig. 3 The agglomerate classification of species importance value in five plots using UPGMA method

表6 大针茅不同地理种群间RAPD分析所得相似性系数(对角线下方)及所在群落间由物种重要值所得相似性系数(对角线上方)

Table 6 The similarity coefficients (below diagonal) among different geographic populations of *Stipa grandis* indicated by RAPD data and the similarity coefficients among their communities indicated by species importance value (above diagonal)

代码 Code	K	B1	B2	B3	A
K	—	0.678	0.614	0.831	0.466
B1	0.717	—	0.891	0.883	0.166
B2	0.772	0.802	—	0.945	0.497
B3	0.800	0.800	0.890	—	0.597
A	0.685	0.723	0.730	0.729	—

个相似性系数矩阵之间显著相关(表6)($r=0.7703, g=1.7646>g_{0.05}$)。

3 讨论

本实验所用实验材料为混样,所得RAPD结果代表一个种群,这种方法并不能将这个种群个体扩增所得的RAPD片段全部检测出来。Michelmore等发现^[10],将混样扩增与个体扩增所得结果比较,不能被检测的位点低于10%,对同一样地的18个个体和混样进行了比较,发现绝大部分条带都能被检测出来,只有少数不太清晰且在个体扩增时出现频率较低的条带不能被检测出来,而出现频率较高或清晰但出现频率较低的条带很容易就被检测出来。本实验主要分析大针茅种群遗传分化与环境因子、地理位置及其群落分化的关系,没有涉及每个种群的遗传结构和基因流方面的问题,因此对混样DNA进行扩增就能满足,这样可以避免用个体(每个种群至少15个个体)的费时费力,也容易筛选出种群中清晰而出现频率低的片段,而用个体做实验则需要筛选大量个体才能得到一条清晰但出现频率不高的条带^[11]。本实验结果证明用混样进行RAPD扩增,不但能将几个种

群分开,而且容易找到种群特有条带。

本文所研究的 11 个大针茅种群分布在内蒙古中东部草原区,在相对较大的尺度上(约 240km)表现出水、热及其组合上的差异,而在白音锡勒牧场附近(各种群之间的距离小于 50km),水热状况比较接近。从 RAPD 分析结果来看,不同取样地点扩增结果表现出差异,11 个种群的遗传距离为 0.084~0.761,UPGMA 聚类将 11 个种群分为 3 类,地理位置接近的种群在遗传距离上也相近。Mantel 检验表明,11 个种群间遗传距离与地理距离之间存在极显著相关性($g > g_{0.005}$)。将 RAPD 分析用于其他植物种群也曾获得类似的结果:如对普通野生稻(*Oryza rufipogon* Griff.)的研究表明该物种的遗传距离与地理距离经 Mantel 检验表现出显著正相关^[12];对长白山北坡 4 个长白红景天(*Rhodiola sachalinensi*)种群的研究表明该物种的遗传变异基本上随海拔的升高而呈上升趋势^[13];对野大豆的研究表明该物种的遗传分化与南北纬度的差异相关^[14];对阿尔卑斯山黄花茅(*Anthoxanthum alpinum*)的研究表明,其遗传分化与海拔的差异经 Mantel 检验表现出显著相关性^[15]。无论是海拔高度差异、纬度差异,还是本文研究的地理位置的差异,它们都能产生研究对象所处生境之间的水热差异,因此本文认为不同地理位置之间的水热差异是大针茅产生遗传分化的原因。但就白音锡勒牧场的 8 个种群来说,它们所处生境的水热差异不明显,计算所得遗传距离与地理距离相关性也不显著($g < g_{0.05}$)。以往的研究也发现,即地理环境相距较小的种群间,遗传距离与地理距离之间没有显著相关性^[14,16],可能是多个因子的结合起决定作用的^[17]。

大针茅种群的多态位点比率为 54.75%(多态位点比例=多态位点数/所测得总位点数),低于张红梅^[18]等的研究结果,其大针茅群体水平平均多态位点比率 61.88%,这一差异这可能与张红梅等的结果为多个个体扩增计算所得数据有关,同时也与所选择的种群不同有关。种群之间特异性位点所占比例为 11.31%,且主要集中在环境干燥度较大的种群内。这些结果说明大针茅种群的种内分化较小,它们的遗传资源是相对稳定的,也说明种群间的基因流强度很大,这也符合大针茅种群风媒、异花授粉的特点;另一方面,也与大针茅所处生境有一定的关系,本文所研究的 11 个大针茅种群,都分布在内蒙古高原上,没有生境隔离现象。

关于特异性位点百分率与环境因子的相关关系方面的研究很多,胡宝忠等对不同土壤条件下羊草(*Aneurolepidium chinense*)的研究发现,羊草特有带百分率与土壤镁离子、钙离子呈现负相关^[19]。本文中特异性位点百分率与环境大于 10℃积温和干燥度都存在极显著相关关系,它随环境温度增加和干燥度增大而增大,这一结果表明环境温度或干燥度即环境的水热差异是引起大针茅遗传分化的主要原因,进一步的证据有待研究。

关于种群分化与种群所在群落的相关关系方面的研究很少,Andrew 等多年研究发现一种加利福尼亚常用草坪草(*Nassella pulchra*)的遗传分化与土层深度和群落植物组成有关^[20]。Xie 等研究发现蒙古冰草(*Agropyron mongolicum* Keng)的遗传分化与群落内土壤的养分含量有密切关系^[21]。不同群落植物重要值的相似性系数矩阵与所对应的大针茅种群遗传相似性系数显著相关($r=0.7703, g=1.7646 > g_{0.05}$),也就是说群落植物组成及其每种在群落中的重要性的比较结果与所对应的大针茅种群遗传相似性比较结果一致。选择的群落组成和结构特征为这一研究区域普遍存在,这几个群落的植物组成、结构及每种植物在群落中的重要性是长期以来形成的,虽然近几年人为干扰增强,但更主要的是由长期以来当地水热条件等生态因子共同作用的结果^[22](5 个群落并没有按其牧压梯度进行聚类);而大针茅种群的分化也是长期以来形成的,其结果也与水热条件相关,所以它们之间存在相关性也具有必然性。本文研究材料大针茅为研究区域群落的建群种或优势种,对群落有指示作用,如果换为其他物种进行研究,是否存在这种结果是值得探讨的。

References:

- [1] Commission Editorial of Inner Mongolia Flora. *Flora Intramongolia*. Hohhot: Inner Mongolia People's Press, 1994. **5**:195~205.
- [2] Turuspekov Y, Adams R P, Kearney C M. Genetic diversity in three perennial grasses from the Semipalatinsk nuclear testing region of Kazakhstan after long-term radiation exposure. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2002, **30**: 809~817.
- [3] Han B, Wang J, Zhao M L, *et al.* Genetic differentiation of *Stipa krylovii* in different degraded soil. *Acta Agrestia Sinica*, 2003, **11**(2): 146~153.
- [4] Clark M S. Translated by Gu H Y & Qu L J. *Plant molecular biology—a laboratory manual*. Beijing:China Higher Education Press, 1998.
- [5] Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis Ted. Translated by Jin D Y & Li M F. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. 2nd ed. Beijing: Science Press, 1993.
- [6] Jaccard P. Nouvelles recherches sur la distribution florale. *Bull. Soc. Vaud. Sci. Nat.*, 1908, **44**: 223~270.
- [7] Sneath P H A, Sokal R R. *Numerical Taxonomy*. Freeman. San Francisco, 1973. 573.
- [8] Mantel N. Detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer. Res.*, 1967, **27**:209~220.
- [9] Lu W D. *SPSS for windows*. 2nd ed. Beijing: Publishing House of Electronic Industry, 2002.

[10] Michelmore R W, Paran I, Kesseli R V. Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analyses: a rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991, **88**(11): 9828~9832.

[11] Kump B, Javornik B. Evaluation of genetic variability among common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) populations by RAPD markers. *Plant Science*, 1996, **114**: 149~158.

[12] Zhou H F, Xie Z W, Ge S. Microsatellite analysis of genetic diversity and population genetic structure of a wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.) in China. *Theor. Appl. Genet.*, 2003, **107**: 332~339.

[13] Yan T F, Yan X F, Zhou F J, *et al.* Research on the distribution and differentiation of RAPD polymorphic fragments for *Rhodiola sachalinensis*. In: Zu Y G, Sun M, Kang L, eds. *Theory, method and application of molecular ecology*. Beijing, China Higher Education Press and Springer-Verlag Heidelberg, 1999. 167~176.

[14] Fu Y L, Qian J, Ma Y H, *et al.* Genetic differentiation research on populations of wild soybeans in different scales. *Acta Ecologica Sinica*, 2002, **22**(2): 176~184.

[15] Zhao G F, Francois F, Philippe K. Subpopulation differentiation of *Anthoxanthum alpinum* (Poaceae) along an altitudinal gradient detected by random amplified polymorphic DNA. *Acta Phytotaxonomica Sinica*, 2000, **38**(1): 64~70.

[16] Li J, Tao Y, Zheng S Z, *et al.* Isozymatic differentiation in local population of *Glycine soja* Sieb & Zucc. *Acta Botanica Sinica*, 1995, **37**(9): 669~676.

[17] Ren W W, Qian J, Zheng S Z. A comparative study on genetic differentiation of *Leymus chinensis* in different geographic populations. *Acta Ecologica Sinica*, 1999, **19**(5): 689~696.

[18] Zhang H M, Zhao M L, Li Q F, *et al.* Detection of genetic diversity of *Stipa grandis* Inner Mongolia using RAPD makers. *Acta Agrestic Sinica*, 2003, **11**(2): 170~178.

[19] Hu B Z, Liu D, Hu G F, *et al.* Morphological variation and genetic diversity in *Aneurolepidium chinense*. *Acta Phytoecologica Sinica*, 2001, **25**(1): 83~89.

[20] Andrew R Dyer, Kevin J Rice. Evidence of spatial genetic structure in a California bunchgrass population. *Oecologia*, 1997, **112**: 333~339.

[21] Xie X M, Yun J F, Yin J, *et al.* RAPD analysis of genetic diversity of *Agropyron mongolicum*. *Acta Bot. Boreal.-Occident. Sin.*, 2002, **22**(1): 56~62.

[22] Editorial board of Libo' works. *Libo's works*. Beijing, Science Press, 1999. 68.

参考文献:

[1] 内蒙古植物志编写委员会. 内蒙古植物志. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 1994, **5**: 195~205.

[3] 韩冰, 王俊, 赵萌莉, 许志信, 等. 退化梯度对克氏针茅种群遗传分化的影响. *草地学报*, 2003, **11**(2): 146~153.

[4] 顾红雅, 瞿礼嘉译. 植物分子生物学——实验手册. 北京: 高等教育出版社, 1998.

[5] 金冬雁, 黎明枫译. 分子克隆——实验手册. 第 2 版. 北京: 科学出版社, 1993.

[9] 卢纹岱. SPSS for windows. 第 2 版. 北京: 电子工业出版社, 2002.

[13] 颜廷芬, 阎秀锋, 周福军, 等. 长白红景天的分布和 RAPD 多态性片段分化的研究. 见: 祖元刚, 孙梅, 康乐编. 分子生物学原理、方法和应用. 北京: 高等教育出版社-施普林格出版社, 1999. 167~176.

[14] 府宇雷, 钱吉, 马玉虹, 等. 不同尺度下野大豆种群的遗传分化. *生态学报*, 2002, **22**(2): 176~184.

[16] 李军, 陶芸, 郑师章, 等. 同工酶水平上野生大豆种群内分化的研究. *植物学报*, 1995, **37**(9): 669~676.

[17] 任文伟, 钱吉, 郑师章. 不同地理种群羊草的遗传分化研究. *生态学报*, 1999, **19**(5): 689~696.

[18] 张红梅, 赵萌莉, 李青丰, 等. 内蒙古地区大针茅群体遗传多样性 RAPD 研究. *草地学报*, 2003, **11**(2): 170~178.

[19] 胡宝忠, 刘娣, 胡国富, 等. 羊草遗传多样性的研究. *植物生态学报*, 2001, **25**(1): 83~89.

[22] 李博文集编写委员会. 李博文集. 北京: 科学出版社, 1999. 68.