

大针茅种群 RAPD 多样性及其与 若干生态因子的相关关系

赵念席, 高玉葆*, 王金龙, 任安芝, 徐 华

(南开大学生命科学学院, 天津 300071)

摘要:利用 RAPD 分子标记, 对锡林郭勒草原主要建群种大针茅 (*Stipa grandis* P. Smirn.) 5 个种群共 90 个基因株的遗传多样性进行了分析。由 16 个 10 碱基随机引物共扩增得到 310 条清晰可重复的 RAPD 片段, 且全部为多态性条带。利用 POPGENE 软件对 RAPD 数据进行分析可以看出, 不同地理种群大针茅存在很高的遗传变异, 且大部分变异存在于种群之内, 只有少量变异存在于种群之间 ($\approx 28\%$)。Pearson 相关分析表明, 大针茅种群内基因多样性与温度因子 ($\geq 10^\circ\text{C}$ 年积温、年均温和 1 月份均温) 之间存在显著 ($p < 0.05$) 或极显著 ($p < 0.01$) 的相关关系; Mantel 检验结果显示, 大针茅种群间的遗传距离与种群间的实际地理距离之间不存在显著的相关关系 ($r = 0.184, p = 0.261$), 但与水热因子的分异之间存在显著 ($p < 0.05$) 或极显著 ($p < 0.01$) 的相关关系。这些都表明水热差异的自然选择引起大针茅种群 RAPD 标记的生态地理分化, 而迁移和遗传漂变对大针茅种群间的分化不起决定作用。

关键词:大针茅; 建群种; RAPD; 遗传多样性; 气候因子; 自然选择

文章编号: 1000-0933(2006)05-1312-08 中图分类号: Q143, Q346, Q948 文献标识码: A

RAPD diversity of *Stipa grandis* populations and its association with some ecological factors

ZHAO Nian-Xi, GAO Yu-Bao, WANG Jin-Long, REN An-Zhi, XU Hua (College of Life Science, Nankai University, Tianjin 300071, China. *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26(5): 1312 ~ 1319.

Abstract: *Stipa grandis* steppe, a tussock steppe in the Mid-Asian grassland of Euro-Asian Steppe Region, is one of the representative formations of the typical steppes in Inner Mongolia, China. Increasing awareness of diversity reduction has brought about the increased interest in the studies of dominant species like *S. grandis*, both at home and abroad. A study on genetic diversity and genetic structure of the dominant species will provide a better measure of the ecosystem's genetic health, as well as provide a scientific basis for its conservation and utilization. However, there have only been a few studies on *S. grandis* genetic diversity so far and studies on the association with ecological factors are even rare. Therefore, it is necessary to thoroughly investigate the genetic characters of *S. grandis*.

In the present study, genetic diversity in random amplified polymorphic DNAs (RAPD) was studied for 90 genets of the *S. grandis*, from 5 natural populations sampled in Xilingol steppe. Sixteen oligonucleotides screened from 100 random decamer primers were used to amplify 310 scorable RAPD loci that were all polymorphic. By analysis of RAPD data with POPGENE software, it was found that high level of genetic diversity existed in *S. grandis* populations. Most variation existed within populations and 28% variation existed among populations. By Pearson correlation analysis, significant correlations were found

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:2005-10-27; **修订日期:**2006-02-05

作者简介:赵念席(1978 ~), 女, 河北省辛集人, 博士, 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:The project was supported by National Basic Research Program of China (No. G2000018601)

Received date:2005-10-27; **Accepted date:**2006-02-05

Biography:ZHAO Nian-Xi, Ph. D., mainly engaged in plant population ecology and genetics research. E-mail: zhaonianxi@eyou.com

between gene diversity indexes and temperature factors ($\geq 10^{\circ}\text{C}$ cumulative temperature in a year, annual mean temperature and mean temperature in January), and all diversity indexes showed significant correlations with mean temperature in January. Mantel tests showed that there was no significant correlation between Nei's unbiased genetic distance and geographic distance of *S. grandis* populations, but positive and significant correlations existed between Nei's genetic distance and several climatic divergences in pair-wise *S. grandis* populations ($p < 0.05$), suggesting that natural selection of climatic variation (mainly in precipitation and temperature) resulted in the adaptive RAPD eco-geographic differentiation.

Key words: *Stipa grandis* P. Smirn.; dominant species; RAPD; genetic diversity; climatic factor; natural selection

近年来,随着人们对物种多样性及其保护的重要性的认识越来越深入,保护生物学家对物种遗传多样性和遗传分化更加重视起来,研究对象除了濒危物种和稀有物种外,对群落建群种/优势种遗传多样性的研究也越来越多^[1-5]。对建群种/优势种遗传变异的研究,不仅对这些物种的利用和保护有重要的意义,而且还可以对生态系统遗传健康(ecosystem's genetic health)评价提供基础数据^[2]。

大针茅(*Stipa grandis* P. Smirn.)是生长于亚洲中部草原亚区特有的达乌里-蒙古草原种,属于禾本科(Gramineae)针茅属(*Stipa* L.)光芒组(Sect. *Leiostipa* Dum)。以大针茅为建群种的大针茅草原,是欧亚草原区中部特有的一种丛生禾草草原,是我国典型草原的代表群系,在划分草原植被地带时具有标志作用^[6]。然而,关于大针茅遗传多样性和遗传分化的研究仅有少量的报道^[7,8],将其遗传变异与生态地理因子相联系起来分析尚不够深入。本文通过对锡林郭勒典型草原区 5 个大针茅种群进行 RAPD 研究,重点分析大针茅遗传多样性和遗传结构与生态地理因子的相关关系,以期找到与大针茅种群内遗传多样性相关联的生态因子和对大针茅种群遗传分化起决定作用的因素,为阐明大针茅遗传变异的成因和机制提供基础数据,也为合理利用和保护这一重要的种质资源提供科学依据。

1 研究区域与研究方法

1.1 研究区域

研究区域位于内蒙古锡林郭勒盟的典型草原区,是我国大针茅群落集中分布的区域。该区域具有温带半干旱大陆性气候的特点。一年四季变化明显,夏季受东南海洋季风的影响,气候温和湿润;而冬季受蒙古高压气团的控制,气候寒冷干燥。该区降水年变化属于华北东北夏雨型,降水主要集中在 7~9 月份,为全年降水量的 70%。该区域地貌以高平原为主,地带性土壤自东至西依次为暗栗钙土、栗钙土。在干扰较少的大针茅群落典型地段设置 5 个样地,采集大针茅个体样品用于 RAPD 分析。不同样地内大针茅种群的名称及其样地的地理和气候概况列于表 1,其中,地理位置和海拔高度由 GPS 直接测得,气象数据(年降水量、 $\geq 10^{\circ}\text{C}$ 积温、年均温、1 月份均温、7 月份均温)由锡林郭勒盟所辖旗气象站提供,经计算而得。

1.2 实验材料与方方法

1.2.1 实验材料 在样地 50 m × 50 m 范围内,以株丛为单位(株丛间隔 > 1 m)随机采集大针茅植株叶片,采自同一株丛的叶片放入同一个带封口的塑料袋中用变色硅胶快速干燥固定,每个样地采集单株样品 20 份,带回实验室于室温下保存备用^[9]。

1.2.2 实验方法 DNA 提取采用改进的 SDS 法^[10],从硅胶干燥过的大针茅叶片中提取单株植物基因组总 DNA。总 DNA 经 RNase A 处理后,分别在波长 260 nm 和 280 nm 处测所提取基因组 DNA 的 OD 值,根据 $\text{OD}_{260}/\text{OD}_{280}$ 的值判断其纯度(纯 DNA 的 $\text{OD}_{260}/\text{OD}_{280} = 1.8$ ^[11]。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。最后,将提取样品的浓度稀释到 $30 \text{ ng} \cdot \mu\text{l}^{-1}$ 。

RAPD 扩增程序参考 Williams 等^[12]略作修改。PCR 扩增的总体积为 $25 \mu\text{l}$,在 PTC-100 Programmable Thermal Controller 上进行,扩增程序为: 94°C 预变性 4min; 94°C 40s, 36°C 1min, 72°C 2min, 共进行 40 个循环;最后 72°C 延伸 10min。经 Mg^{2+} 浓度、模板浓度、dNTPs 浓度和引物浓度梯度筛选,选取最佳反应体系为: $1 \mu\text{l}$ 模板 (30 ng); $2 \mu\text{l}$ MgCl_2 ($25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$); $2.5 \mu\text{l}$ PCR10 × buffer(无 Mg^{2+}); $0.5 \mu\text{l}$ dNTPs ($10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$); $1 \mu\text{l}$ 引物 (5

pmol·μl⁻¹);0.2 μl(5 U·μl⁻¹)Taq DNA 聚合酶和 17.8 μl 无菌双蒸水。随机引物为 Operon 公司生产的 10 碱基寡聚核苷酸。扩增产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳分离(含 1 μg·μl⁻¹溴化乙锭),紫外投射仪上观察,拍照记录。将能够扩增出分离、清晰且重复性好的引物用于正式实验。每个引物扩增两次,以保证结果的可重复性。

表 1 5 个大针茅种群的地理和气候(1965 ~ 1995 年测定平均值)特征

Table 1 Geographic and climatic data (means of 30 years between 1965 and 1995) for 5 populations of *Stipa grandis*

种群名称 ^① Population name	地理位置 Geographic location	海拔高度 Altitude (m)	土壤类型 Soil type	年降水量 Annual precipitation (mm)	≥10℃年积温 ≥10℃ cumulative temperature in a year (℃)	年均温 Annual mean temperature (℃)	干燥度指数 ^② Aridity index	1 月份均温 Mean temperature in January (℃)	7 月份均温 Mean temperature in July (℃)
大针茅样地种群 <i>S. grandis</i> Plot	43.54°N 116.55°E	1170	栗钙土	340	2136	2	1.01	-22.3	18.8
嘎松山种群 Gasong Mountain	43.5°N 116.82°E	1300	暗栗钙土	400	1776	-0.8	0.7	-27	17.8
锡林浩特西种群 West Xilinhot	43.93°N 115.74°E	1152	栗钙土	290	2496	1.8	1.38	-19.8	20.8
锡林浩特东种群 East Xilinhot	44.14°N 116.36°E	1121	栗钙土	300	2400	1.4	1.28	-19.1	20.7
巴彦乌拉种群 Bayanwula	44.64°N 117.72°E	1152	暗栗钙土	340	2256	1.5	1.06	-19.4	19.5

①大针茅样地种群:位于中国科学院内蒙古草原生态系统定位研究站的大针茅样地;嘎松山种群:位于中国科学院内蒙古草原生态系统定位研究站附近的嘎松山阳坡;锡林浩特西种群:位于内蒙古锡林浩特市西 35 km;锡林浩特东种群:位于内蒙古锡林浩特市东 27 km;巴彦乌拉种群:位于内蒙古西乌珠穆沁旗巴彦乌拉镇东北 12 km *S. grandis* Plot was set up in the *S. grandis* Plot of the Inner Mongolia Grassland Ecosystem Research Station of the Chinese Academy of Sciences; Gasong Mountain was set up in Gasong Mountain in the vicinity of the Inner Mongolia Grassland Ecosystem Research Station of the Chinese Academy of Sciences; West Xilinhot was set up 35 km west to Xilinhot City; East Xilinhot was set up 27 km east to Xilinhot City; and Bayanwula was set up 12 km northeast to Bayanwula Town of Xiwu Banner of Inner Mongolia; ② 干燥度指数 = 0.16, * ≥10℃年积温/年降水量 Aridity index = 0.16*, 10℃ cumulative temperature in a year (≥10℃)/Annual precipitation

以标准分子量标记(鼎国生物生产的 SD005)为对照,在凝胶成像系统 Bio IMAGING SYSTEM(SynGENE)对扩增结果进行分析。比较同一引物全部个体的扩增结果,具有不同相对迁移距离的条带称作不同的 RAPD 标记,而相对迁移距离相同的条带则为同一个 RAPD 标记。判读每个点样孔的扩增结果,RAPD 标记以 1(有)或 0(无)表示,统计分子量为 400 ~ 2000 bp 的清晰谱带;所得数据输入计算机进行统计分析。

1.2.3 数据处理

(1)种群基因多样性指数和分化指数的计算 根据所得数据矩阵,利用 POPGENE 32 软件^[13]中 dominant (显性)- diploid(二倍体)计算多态位点百分率 (PPB)、观测等位基因数 (na)、期望等位基因数 (ne)、种群的 Nei's 基因多样性 (h) 和 Shannon 多样性信息指数 (H) 等遗传多样性指数;根据 POPGENE 计算所得种群平均多样性指数和所有样品总多样性指数,得到 Nei's 遗传分化系数 ($G_{ST} = (h_T - h_s)/h_T$) 和 Shannon 遗传分化系数 $[(H_T - H_s)/H_T]$,其中, h_s 和 H_s 分别为种群平均 Nei's 和 Shannon 多样性指数; h_t 和 H_t 分别为总 Nei's 和 Shannon 多样性指数。

(2)聚类图的构建 利用 POPGENE 软件,计算得到 Nei's 无偏差遗传距离系数矩阵,在 NTSYS-pc 软件^[14]上进行非加权配对算术平均法(UPGMA)进行聚类。

(3)相关性分析 利用 SPSS 11.0 中的 Pearson 相关分析,计算 RAPD 分析所得大针茅种群内遗传多样

表 2 16 个有效引物的编号及序列

Table 2 Numbers and sequences of the 16 primers used in this study

引物 Primer	5'-3'序列 Sequence 5' to 3'	引物 Primer	5'-3'序列 Sequence 5' to 3'
A01	CAGGCCCTTC	N08	ACCTCAGCTC
A02	TGCCGAGCTG	N09	TGCCGGCTTG
A04	AATCGGGCTG	N20	GGTGCTCCGT
A08	GTGACGTAGG	Q01	GGGACGATGG
I03	CAGAAGCCCA	Q05	CCGGTCTTG
I07	CAGCGACAAG	Q09	GGCTAACCGA
N02	ACCAAGGGGCA	Q12	AGTAGGGCAC
N04	GACCGACCCA	Q18	AGGCTGGGTG

性指数与气候因子之间的相关关系。利用 Mantel 检验^[15]对 POPGENE 计算所得的 Nei's 无偏差遗传距离矩阵与地理距离矩阵、气候因子的分异之间的相关关系进行检验。其中,两个种群之间的地理距离,采用两点之间的直线距离;气候因子的分异,采用不同样地各种气候因子数据标准化后,计算所得的两两之间的欧氏距离^[1]。

2 结果与分析

2.1 大针茅种群基因多样性和遗传结构

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、稳定条带的引物进行正式扩增,共得到 16 个引物(表 2)。用这 16 个引物对本实验 5 个大针茅种群共 90 个个体(每个种群最后保留 18 个个体)进行 PCR 扩增,共得到 310 条 RAPD 扩增条带,且全部为多态性条带(多态性比率 100%)(表 3);不同种群所得扩增条带数在 239 ~ 275 不等,片段分子量集中在 400 ~ 2000 bp 之间(图 1),其中每个引物扩增条带在 16 ~ 26 条之间,平均每个引物可扩增出 19.4 条带。

用 POPGENE 32 软件对 RAPD 扩增结果进行分析,估算大针茅种群内遗传多样性(表 3),其中,Nei's 基因多样性指数和 Shannon 信息指数表现出相同的变化规律,即嘎松山种群 > 大针茅样地种群 > 锡林浩特西种群 > 锡林浩特东种群 > 巴彦乌拉种群,表现出同一纬度上南侧的大针茅种群的基因多样性大于北侧的种群的基因多样性,但其它多样性指数的估计结果与此结果稍有差异;在 5 个种群中,对于表 3 所列各个基因多样性指数而言,嘎松山种群表现出显著高于其它种群估算的结果,基因多样性最高。

基于表 3 中 POPGENE32 估算所得基因多样性指数,计算得到 Nei's 遗传分化系数($G_{ST} = (h_T - h_s)/h_T$)为 28.14%,Shannon 信息多样性指数所得的分化系数($(H_T - H_s)/H_T$)为 28.05%,这两种方法所估算的结果都表明约 28% 的总变异存在于种群之间,而多数变异存在于种群之内。

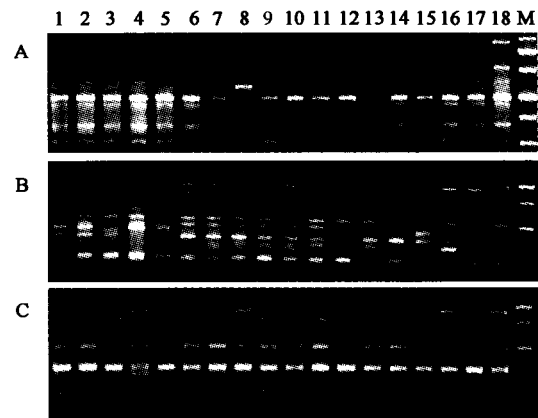


图 1 不同地理种群大针茅 RAPD 电泳结果(Operon I07)

Fig.1 RAPD electrophoretogram of Operon I07 for *S. grandis* individuals of different geographic populations

A: 锡林浩特西种群 West Xilinhot; B: 锡林浩特东种群 East Xilinhot;

C: 巴彦乌拉种群 Bayanwula

表 3 大针茅种群遗传多样性模式

Table 3 Patterns of genetic diversity for *S. grandis* populations

种群名称 Population name	样本数目 Sample size	观测等位 基因数 n_a	期望等位 基因数 n_e	Nei's 基因 多样性 h	Shannon 信息 指数 H	多态位点数 Polymorphic loci	多态位点百分数 PPB (%)
大针茅样地种群 <i>S. grandis</i> Plot	18	1.7774	1.3692	0.2236	0.3452	241	77.74
嘎松山种群 Gasong Mountain	18	1.8355	1.4902	0.2847	0.4261	259	83.55
锡林浩特西种群 West Xilinhot	18	1.7484	1.3697	0.2224	0.3411	232	74.84
锡林浩特东种群 East Xilinhot	18	1.7161	1.3730	0.2209	0.3363	222	71.61
巴彦乌拉种群 Bayanwula	18	1.7258	1.3275	0.2007	0.312	225	72.58
平均值 Mean		1.7606	1.3859	0.2305	0.3521	235.8	76.06
总数 Total	90	2	1.5265	0.3207	0.4894	310	100

Abbreviation: n_a = Observed number of alleles; n_e = Effective number of alleles; h = Nei's gene diversity; H = Shannon's diversity index; PPB = percentage of polymorphic bands

2.2 种群间遗传关系及聚类图的构建

利用 POPGENE 32 软件计算大针茅种群间的 Nei's 无偏差遗传距离,所得遗传距离显示 5 个大针茅种群间的 Nei's 无偏差遗传距离在 0.1096 ~ 0.1937 之间,其中,锡林浩特西种群和锡林浩特东种群之间的遗传距离最小(0.1096)(表 4)。基于此矩阵构建 UPGMA 聚类图,结果显示 5 个种群共聚成两个大分支,其中,锡林浩

特西种群和锡林浩特东种群距离最近,聚成一个分支;大针茅样地种群和嘎松山种群先聚在一起,再和巴彦乌拉种群聚在一起,成为第二个分支(图2)。

表4 大针茅种群间的 Nei's 无偏差遗传距离

Table 4 Nei's unbiased measures of genetic distance of pair-wise *S. grandis* populations

种群名称 Population name	大针茅样地种群 <i>S. grandis</i> Plot	嘎松山种群 Gasong Mountain	锡林浩特西种群 West Xilinhot	锡林浩特东种群 East Xilinhot	巴彦乌拉种群 Bayanwula
大针茅样地种群 <i>S. grandis</i> Plot	****				
嘎松山种群 Gasong Mountain	0.1290	****			
锡林浩特西种群 West Xilinhot	0.1613	0.1937	****		
锡林浩特东种群 East Xilinhot	0.1563	0.1573	0.1096	****	
巴彦乌拉种群 Bayanwula	0.1328	0.1592	0.1490	0.1504	****

2.3 相关性分析

将所得大针茅种群内遗传多样性指数(表3)与种群所在生境的若干气候因子(表1)作相关性分析,结果显示:6个多样性指数与一月份均温之间均存在显著($p < 0.05$)或极显著($p < 0.01$)的负相关关系;部分指数与 $\geq 10^\circ\text{C}$ 积温和年均温之间存在显著($p < 0.05$)的负相关关系;各个多样性指数与降水量之间存在正相关关系但并不显著($p > 0.05$),这些结果表明若干温度因子对大针茅种群内遗传变异起一定的决定作用(表5)。

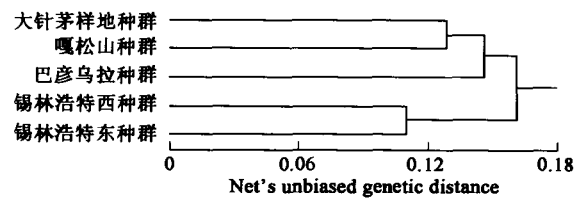


图2 基于大针茅种群间 Nei's 无偏差遗传距离构建的 UPGMA 聚类图

Fig.2 Dendrogram generated by UPGMA based on Nei's unbiased genetic distances between *S. grandis* populations

表5 大针茅种群内遗传多样性指数与气候因子的 Pearson 相关分析

Table 5 Pearson correlation analyses for the relationships between genetic diversity parameters within populations of *S. grandis* and climatic factors

项目 Item	观测等位 基因数 n_a	期望等位 基因数 n_e	Nei's 基因多样性 指数 h	Shannon 信息 指数 H	多态位点百分数 PPB
年降水量 Annual precipitation	0.826	0.714	0.734	0.749	0.826
$\geq 10^\circ\text{C}$ 积温 Cumulative temperature ($\geq 10^\circ\text{C}$)	-0.879*	-0.784	-0.802	-0.816	-0.879*
年均温 Annual mean temperature	-0.749	-0.908*	-0.902*	-0.894*	-0.749
干燥度指数 Aridity index	-0.817	-0.691	-0.711	-0.727	-0.817
1月份均温 Mean temperature in January	-0.983**	-0.913*	-0.931*	-0.944*	-0.983**
7月份均温 Mean temperature in July	-0.850	-0.647	-0.675	-0.698	-0.85

*, ** : 分别表示在 0.05 和 0.01 显著水平 Significant at 0.05 and 0.01 levels, respectively

计算不同地理种群大针茅所在样地间的地理距离(表6)及若干气候因子标准化后所得种群间的气候因子分异系数(种群间6个气候因子的分异矩阵列于表6,种群间单个气候因子分异矩阵略),利用 Mantel 检验

表6 不同大针茅种群所在样地间的实际地理距离(km)(对角线下方)和气候分异(6个指标综合)(对角线上方)

Table 6 Geographic distances (km) (below diagonal) and climatic divergence (six factors in total) (above diagonal) between the locations of different *S. grandis* populations

种群名称 Population name	大针茅样地种群 <i>S. grandis</i> Plot	嘎松山种群 Gasong Mountain	锡林浩特西种群 West Xilinhot	锡林浩特东种群 East Xilinhot	巴彦乌拉种群 Bayanwula
大针茅样地种群 <i>S. grandis</i> Plot	—	3.699	2.828	2.493	1.217
嘎松山种群 Gasong Mountain	22.0	—	5.932	5.452	4.227
锡林浩特西种群 West Xilinhot	98.5	77.7	—	0.7	2.157
锡林浩特东种群 East Xilinhot	54.7	79.4	67.7	—	1.646
巴彦乌拉种群 Bayanwula	121.9	176.6	144.6	153.0	—

分别计算它们与大针茅种群间 Nei's 无偏差遗传距离矩阵的相关关系,结果显示:不同地理大针茅种群间的 Nei's 无偏差遗传距离与所在样地间的地理距离之间没有显著的相关关系,即地理距离不是引起大针茅种群遗传分化的主要原因;大针茅种群间的 Nei's 无偏差遗传距离与所选 6 个气候因子的总分异之间存在显著的相关关系,表明以水热为主导的气候因子的分异对大针茅种群间的分化影响显著;6 个气候因子中,年降水量、 $\geq 10^{\circ}\text{C}$ 积温、干燥度指数以及 7 月份均温对大针茅种群间的分化均有显著影响,表明引起大针茅种群间分化的并不是一个因子,而且几个或者几个因子的综合作用(表 7)。

3 讨论

本文的目的是分析大针茅种群的 RAPD 多样性,并检测种群内遗传多样性和种群遗传结构与生态因子之间的相关关系。RAPD 扩增结果和 POPGENE 分析显示,5 个种群共扩增得到 310 条扩增条带,且全部为多态性带;不同种群内的多态位点百分率在 71.65% ~ 83.55% 之间;总 Nei's 基因多样性指数(h)为 0.3207;总 Shannon 基因多样性信息指数(H)为 0.4894。这些值均高于张红梅等^[7]对不同地理种群大针茅的研究结果,研究区域和所选样地不同可能是产生差异的主要原因。本研究得到的 Nei's 基因多样性指数(h)为 0.2305,与 Schoen & Brown^[16]对 9 种异交植物的 Nei's 基因多样性指数(h)研究所得的平均值 0.257(0.174 ~ 0.328)比较接近,与大针茅以风媒异交为主的繁殖方式相一致。

利用 POPGENE 计算得到大针茅种群间 Nei's 无偏差遗传距离,并构建 UPGMA 聚类图发现,大针茅种群间的分化与种群之间的地理距离并不一致,且 Mantel 检验表明大针茅种群间的遗传距离与地理距离之间不存在显著的相关关系($p = 0.261$)。大针茅属于风媒异交植物,因此花粉和种子的传播是影响其遗传分化的主要因素之一^[17]。在风媒植物的遗传分

化研究中,很多学者都认为,当与种群遗传分化相关的因素(地理距离除外)对种群分化无显著影响时,那么与花粉和种子传播相关的地理距离与遗传距离之间一定存在显著的相关关系^[17, 18],即种群间的遗传距离与地理距离之间存在显著的相关关系。但也有很多学者所得结果与本研究结果相似,即种群间的遗传距离与地理距离之间不存在显著的相关关系^[4, 19]。这些学者认为这种结果表明遗传漂变(genetic drift)或自然选择(natural selection)而非迁移(migration)或基因流(gene flow)是影响种群间遗传分化的主要因素^[20]。

虽然本研究所选样地均位于锡林郭勒典型草原区,但每个样地的环境因子之间存在很大的差异,结果显示不同大针茅种群内基因多样性指数与若干温度因子之间存在显著或极显著的相关关系(表 5)。赵念席等^[8]利用 RAPD 方法对大针茅种群个体混样 DNA 进行分析时就发现种群内特有位点百分率与种群所在样地的 $\geq 10^{\circ}\text{C}$ 积温和干燥度之间存在极显著相关关系。这些结果表明,温度或水分参数,单一或者几个因子的组合对大针茅种群的遗传变异的影响作用显著,为大针茅种群分化机制提供了有力的实验证据。对其它植物的研究也有类似报道。黎中宝和林鹏^[21]对 9 个桐花树(*Aegiceras corniculatum*)种群的等位酶进行分析表明土壤全氮、年均温等因子与等位基因的多样性指数存在显著的相关性,说明环境因子对桐花树等位基因具有选择压力,等位基因的变化与环境变量有关;Fahima 等^[20]对分布于以色列和土耳其的野生二粒小麦(*Triticum*

表 7 大针茅种群间 Nei's 无偏差遗传距离与地理距离和若干气候因子分异的 Mantel 检验结果(3000 次置换)

Table 7 Mantel test between matrix of Nei's unbiased genetic distances between different *S. grandis* populations and matrix of geographic distances, and between matrix of Nei's unbiased genetic distances and several matrixes of climatic divergence coefficients between the locations of different *S. grandis* populations (3000 permutations)

地理气候因子分异矩阵 Matrix of divergence of geographic location and climatic factors	大针茅种群间的 Nei's 无偏差遗传 距离矩阵 Nei's unbiased genetic distance matrix of different <i>S. grandis</i> populations	相关系数 Correlation coefficient (r)	显著性水平 Level of significance (P)
地理距离 Geographic distance		0.184	0.261
年降水量 Annual precipitation		0.759	0.022 *
$\geq 10^{\circ}\text{C}$ 积温 $\geq 10^{\circ}\text{C}$ cumulative temperature		0.762	0.009 * *
年均温 Annual mean temperature		0.328	0.152
干燥度指数 Aridity index		0.816	0.007 * *
1 月均温 Mean temperature in January		0.527	0.052
7 月均温 Mean temperature in July		0.895	0.010 *
以上 6 个气候因子综合 Six climatic factors stated above		0.731	0.007 * *

* , * * : 分别表示在 0.05 和 0.01 显著水平 Significant at 0.05 and 0.01 levels, respectively

dicoccoides) 11 个种群进行 RAPD 研究发现, RAPD 多态性和种群所在生境的海拔、温度和可利用水分之间存在显著的相关关系, 说明自然选择引起了适应的 RAPD 生态地理分化 (adaptive RAPD ecogeographic differentiation)。

从本文所得这些结果还可以得出大针茅种群 RAPD 多态性是与适应相关的, 是由自然界特异性选择决定的。这些证据包括: (1) 大针茅种群内基因多样性与若干气候因子存在显著或极显著的相关关系, 这说明大针茅种群间 RAPD 多态性是非随机分布的, 且受种群所在生境的气候因子影响显著; (2) 大针茅种群间的遗传分化与地理距离之间不存在显著的相关关系, 但与若干气候因子的分异之间存在显著或极显著的相关关系。关于种群间遗传分化原因的解釋, 已有的报道主要包括 4 个方面: (1) 种群间的遗传分化是由种群间基因流动引起的, 主要包括种子和花粉的传播; (2) 种群间的遗传分化是由当地的自然选择的作用, 由不连续的生境异质性引起的种群分化被认为是自然选择的一种^[22]; (3) 种群间的遗传分化是由基因突变引起的, 但基因突变的发生几率很低, 常常不被认为是引起种群间分化的主要因素; (4) 种群间的遗传分化是由遗传漂变引起的。大针茅种群间的遗传分化与气候因子的分异显著相关而与地理距离之间不存在显著的相关关系, 正说明了种群间的遗传分化是由气候因子的选择作用而非基因流引起。同时, 这一结果还排除了大针茅种群间的遗传分化是由于遗传漂变引起的可能性, 因为如果大针茅种群间的遗传分化是由于种群间的遗传漂变引起的话, 那么种群间的遗传分化将不会与气候因子的分异之间存在显著的相关关系^[22]。关于生态因子对植物种群内基因多样性以及种群间的分化起决定作用的研究结果, 在其他植物中早有报道, 如 Nevo 等^[23]、Fahima 等^[20] 和 Li 等^[24] 先后利用等位酶技术、RAPD 技术和微卫星技术对野生二粒小麦 *Triticum dicoccoides* 进行研究发现种群间的分化主要是由生态因子决定的; Nevo 等^[25] 和 Turpeinen 等^[26] 先后利用 RAPD 和微卫星分子标记对野大麦 *Hordeum spontaneum* 进行研究已发现种群内高遗传多样性与胁迫环境相联系, 这些研究都表明是由自然选择而非其他因素对种群间的分化起主导作用。

References:

- [1] Knapp E E, Rice K J. Comparison of isozymes and quantitative traits for evaluating patterns of genetic variation in purple needlegrass (*Nassella pulchra*). *Conservation Biology*, 1998, 12: 1031 ~ 1041.
- [2] Gustafson D J, Gibson D J, Nickrent D L. Random amplified polymorphic DNA variation among remnant big bluestem (*Andropogon gerardii* vitman) populations from Arkansas' Grand Prairie. *Molecular Ecology*, 1999, 8: 1693 ~ 1701.
- [3] Cui J Z, Zu Y G, Nie J C. Genetic differentiation in *Leymus chinensis* populations revealed by RAPD markers II. Statistics analysis. *Acta Ecologica Sinica*, 2002, 22(7): 983 ~ 989.
- [4] Reisch C, Poschlod P, Wingender R. Genetic differentiation among populations of *Sesleria albicans* Kit. Ex Schultes (Poaceae) from ecologically different habitats in central Europe. *Heredity*, 2003, 91: 519 ~ 527.
- [5] Liu H F, Gao Y B, Ruan W B, et al. Genetic differentiation within and between *Leymus chinensis* populations from different zones of Mid-Eastern Inner Mongolia steppe. *Acta Ecologica Sinica*, 2004, 24(10): 2157 ~ 2164.
- [6] Lu S L, Wu Z L. On geographical distribution of the genus *Stipa* L. in China. *Acta Phytotaxonomica Sinica*, 1996, 34(3): 242 ~ 253.
- [7] Zhang H M, Zhao M L, Li Q F, et al. Detection of genetic diversity of *Stipa grandis* in Inner Mongolia using RAPD makers. *Acta Agrestic Sinica*, 2003, 11(2): 170 ~ 178.
- [8] Zhao N X, Gao Y B, Wang J L, et al. An analysis of genetic differentiation between *Stipa grandis* populations in middle and eastern Inner Mongolia steppe. *Acta Ecologica Sinica*, 2004, 24(10): 2178 ~ 2185.
- [9] Qian W, Ge S, Hong D Y. Assessment of genetic variation of *Oryza granulata* detected by RAPD and ISSRs. *Acta Botanica Sinica*, 2000, 42(7): 741 ~ 750.
- [10] Clark, M S. Translated by Gu H Y & Qu L J. *Plant molecular biology—a laboratory manual*. Beijing: China Higher Education Press, 1998.
- [11] 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. 1998.
- [12] Williams J G K, Kubelik A R, Livak K J, et al. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*, 1990, 18: 6531 ~ 6535.
- [13] Yeh F C, Yang R C, Boyle T. POPGENE version 1.32, Microsoft window base software for population genetic analysis: a quick user's guide. University of Alberta, Center for International Forestry Research, Alberta, Canada, 1999.

- [14] Rohlf F J. NTSYS-pc, numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 1.80, Exeter Software, New York, 1994.
- [15] Mantel N A. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research*, 1967, 27: 209 ~ 220.
- [16] Schoen D J, Brown A H D. Intraspecific variation in population gene diversity and effective population size correlates with the mating system in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 1991, 88: 4494 ~ 4497.
- [17] Wen C S, Hsiao J Y. Genetic differentiation of *Lilium longiflorum* Thunb. Var. *Scabrum Masam.* (Liliaceae) in Taiwan using Random Amplified Polymorphic DNA and morphological characters. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 1999, 40: 65 ~ 71.
- [18] Falconer D S, Mackay T F C. Introduction to quantitative genetics, 4th edn. Longman Group Ltd Essex, England, 1996.
- [19] Jordano P, Godoy J A. RAPD variation and population genetic structure in *Prunus mahaleb* (Rosaceae), an animal-dispersed tree. *Molecular Ecology*, 2000, 9: 1293 ~ 1305.
- [20] Fahima T, Sun G L, Beharav A, *et al.* RAPD polymorphism of wild emmer wheat populations, *Triticum dicoccoides*, in Israel. *theoretical and Applied Genetics*, 1999, 98: 434 ~ 447.
- [21] Li Z B, Lin P. Relationships between environmental factors and genetic variation of *Aegiceras corniculatum* populations. *Acta Ecologica Sinica*, 2004, 22 (11): 1912 ~ 1916.
- [22] Volis S, Yakubov B, Shulgina I, *et al.* Tests for adaptive RAPD variation in population genetic structure of wild barley, *Hordeum spontaneum* Koch. *Biological Journal of Linnean Society*, 2001, 74: 289 ~ 303.
- [23] Nevo E, Noy-Meir I, Beiles A, *et al.* Natural selection of allozyme polymorphisms: Amicro-geographical spatial and temporal ecological differentiation in wild emmer wheat. *Israel Journal of Botany*, 1991, 40: 419 ~ 449.
- [24] Li Y C, Röder M S, Fahima T, *et al.* Natural selection causing microsatellite divergence in wild emmer wheat at the ecological variable microsite at Ammiad, Israel. *Theoretical and Applied Genetics*, 2000, 100: 985 ~ 999.
- [25] Nevo E, Baum B, Beiles A, *et al.* Ecological correlates of RAPD DNA diversity of wild barley, *Hordeum spontaneum*, in the Fertile Crescent. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 1998, 45: 151 ~ 159.
- [26] Turpeinen T, Tenhola T, Manninen O, *et al.* Microsatellite diversity associated with ecological factors in *Hordeum spontaneum* populations in Israel. *Molecular Ecology*, 2001, 10: 1577 ~ 1582.

参考文献:

- [3] 崔继哲, 曲来叶, 祖元刚. 微生境下羊草种群生态型种群的遗传多样性及遗传分化——等位酶分析. *生态学报*, 2000, 20(5): 434 ~ 439.
- [5] 刘惠芬, 高玉葆, 阮维斌, 等. 内蒙古中东部不同草原地带羊草种群遗传分化. *生态学报*, 2004, 24(10): 2157 ~ 2164.
- [6] 卢生莲, 吴珍兰. 中国针茅属植物的地理分布. *植物分类学报*, 1996, 34(3): 242 ~ 253.
- [7] 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.
- [8] 赵念席, 高玉葆, 王金龙, 等. 内蒙古中东部草原大针茅种群遗传分化研究. *生态学报*, 2004, 24(10): 2178 ~ 2185.
- [9] 钱韦, 葛颂, 洪德元. 采用 RAPD 和 ISSR 标记探讨中国疣粒野生稻的遗传多样性. *植物学报*, 2000, 42(7): 741 ~ 750.
- [21] 黎中宝, 林鹏. 桐花树种群遗传变异与环境变量的关系. *生态学报*, 2002, 22(11): 1912 ~ 1916.