

内蒙古地区短花针茅 (*Stipa breviflora*) 种群遗传多样性

张 庆, 牛建明*, 董建军

(内蒙古大学生命科学学院生态与环境科学系, 呼和浩特 010021)

摘要:短花针茅(*Stipa breviflora*)属亚洲中部荒漠草原种,分布范围极其广泛,为荒漠草原地带重要的牧草资源。在内蒙古地区,短花针茅群落类型复杂多样,与本氏针茅(*S. bungeana*)、小针茅(*S. klemenzi*)和克氏针茅(*S. krylovii*)均能共同建群,具有很广的生态幅和很强的适应能力。研究以 8 个不同的短花针茅地理种群为对象,随机采集健康、无锈短花针茅叶片样本,通过 RAPD(Random Amplified Polymorphism DNA, RAPD)分析,研究短花针茅种群的遗传多样性,丰富人们对短花针茅生物多样性的认识,也为合理利用短花针茅草原提供依据。结果表明,(1)从 102 条 10 碱基随机引物中筛选出 28 条有效引物,共扩增出 308 条 DNA 带,多态性 DNA 带 151 条,占 49.03%,特异性 DNA 带 45 条,占 14.61%。(2)遗传多样性较为丰富,多态性位点百分率为 49.03%,但低于同种方法获得的大针茅(54.75%)和克氏针茅(74.67%)的遗传多样性。(3)等级聚类、PCA 分析和 UPGMA 聚类 3 种不同方法都将 8 个不同地理种群分为同样的两类:暖温性种群和中温性种群,热量差异是主导因素,而且,与种群的空间分布相吻合。(4)经 Mantel 检验发现,遗传距离与地理距离存在显著相关性($r=0.534, P<0.05$)。(5)Pearson 相关分析表明,特异性位点百分率与 $\geq 10^{\circ}\text{C}$ 积温、干燥度和年平均降水量之间均无显著相关性。

关键词:短花针茅;地理种群;RAPD;遗传多样性

文章编号:1000-0933(2008)07-3447-09 中图分类号:Q346 文献标识码:A

Genetic diversity of *Stipa breviflora* populations in Inner Mongolia

ZHANG Qing, NIU Jian-Ming*, DONG Jian-Jun

Department of Ecology and Environment Science, Inner Mongolia University, Hohhot 010021, China

Acta Ecologica Sinica, 2008, 28(7): 3447 ~ 3455.

Abstract: *Stipa breviflora* is a desert steppe plant species found widely in central Asia, and is a major forage plant in the desert steppe region of Inner Mongolia. The desert steppe is dominated by several *Stipa* species, including *S. bungeana*, *S. klemenzi* and *S. krylovii*. *S. breviflora* is adapted to a wide range of environment conditions, and tolerant to extremely tough climatic and soil conditions. The objective of the study was to estimate the genetic diversity of *S. breviflora* populations by studying different *S. breviflora* populations from 8 geographic locations in the Inner Mongolia steppe. Healthy and rustless leaves of *S. breviflora* individuals were sampled randomly at each site for RAPD analysis. Our results showed: (1) 28

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30760158);内蒙古大学“513”人才项目和人才引进资助项目;内蒙古自然科学基金资助项目(200308020507);内蒙古高等学校科研资助项目(NJ02008);省部共建“内蒙古草地生态学国家重点实验室培育基地”资助项目

收稿日期:2007-02-10; **修订日期:**2008-03-31

作者简介:张庆(1981~),男,山东泰安人,博士生,从事草地生态学与分子生态学研究. E-mail: qzhang82@163.com

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: jmnui2005@163.com

致谢:感谢亚利桑那州立大学生命科学系邬建国教授对本文写作的帮助。

Foundation item: The project was financially supported by National Natural Science Foundation of China (No. 30760158), Talent Program of Inner Mongolia University(513 Program), Natural Science Foundation of Inner Mongolia (No. 200308020507), University Scientific Research Program of Inner Mongolia (NJ02008), Inner Mongolia Key Laboratory of Grassland Ecology Cooperated By Education Ministry and Province

Received date:2007-02-10; **Accepted date:**2008-03-31

Biography: ZHANG Qing, Ph. D. candidate, mainly engaged in the grassland ecology and molecular ecology. E-mail: qzhang82@163.com

primers were screened from 102 arbitrary primers with 10-bp. A total of 308 bands were produced, including 151 polymorphic bands, accounting for 49.03% of the total. There were 45 unique loci obtained, accounting for 14.61%. (2) The genetic diversity of *S. breviflora* (49.03%) was lower than that of *S. grandis* (54.75%) and *S. krylovii* (74.67%) reported earlier by other authors. (3) Eight different geographical populations could be grouped into 2 categories: warm-temperate and cold-temperate populations with 3 different methods, i. e. Hierarchical cluster analysis, PCA and UPGMA clustering. These 2 groups were mainly characterized by marked differences of thermal factors, corresponding to their spatial distribution boundaries. (4) Mantel test showed a significantly positive correlation between genetic distance and geographical distance ($r = 0.534, P < 0.05$). (5) The percentage of unique loci of 8 populations showed no significant correlations with accumulative temperature above 10°C, aridity and annual mean precipitation, according to Pearson correlation analysis.

Key Words: *Stipa breviflora*; geographic population; RAPD; genetic diversity

短花针茅(*Stipa breviflora*)系禾本科(Gramineae)针茅属(*Stipa* L.)一种多年生旱生密丛型草本植物,属亚洲中部荒漠草原种^[1],具有返青早、生产力高、适口性好、耐干旱、耐牧性强等特点,成为荒漠草原地带重要的牧草资源。该种分布范围极其广泛,在我国内蒙古高原、黄土高原、青藏高原、新疆及蒙古、俄罗斯、日本、中亚等地都可以见其踪迹^[1]。在内蒙古地区,短花针茅主要分布于从黄土高原丘陵西北部起,向东向北越过阴山山地到达内蒙古高原南部所形成的一个连续带上^[2]。该区域内的短花针茅群落类型复杂多样:在暖温性典型草原区,它和本氏针茅(*S. bungeana*)构成群落;在中温性和暖温性荒漠草原区,它与小针茅(*S. klemenzi*)、无芒隐子草(*Cleistogenes songorica*)等共同占据优势;而在中温性典型草原与荒漠草原的过渡区域,它还可以与克氏针茅(*S. krylovii*)共同建群。可见,短花针茅具有很广的生态幅和很强的适应能力。正因为如此,在这样一个无论是温度、水分,还是土壤差异都比较显著的区域,研究不同地理种群短花针茅的遗传多样性非常有意义且十分必要。

关于短花针茅,前人做了大量工作,涉及领域广泛,如地理分布^[3,4]、物种形态^[5,6]、繁殖特征^[7,8]、种间关系^[9,10]、种群动态^[11]、放牧利用^[12,13]及撷荒恢复规律^[14]等。就分子生物学方面而言,在大针茅和克氏针茅中已经开展了一些工作^[15~19],但是,关于短花针茅天然种群遗传多样性的研究却从未见报道。本项研究以内蒙古草原区 8 个不同地理种群的短花针茅为对象,通过 RAPD (Random Amplified Polymorphism DNA, RAPD) 分子标记技术^[20],检测不同种群短花针茅的遗传多样性,为制定合理的草原利用和管理措施提供指导意义,并弥补短花针茅在该方面的研究空白。

1 材料与方法

1.1 实验材料

依据物候特征^[2],于 2006 年 6 月至 7 月在东经 107.34°~113.33°、北纬 39.24°~42.48°这一带状范围内,选择 8 个典型样地(图 1,表 1),每个样地随机采集健康、无锈短花针茅 20~30 株(依据内蒙古植物志^[1]及内蒙古大学植物标本馆中短花针茅标本对所取样品进行了鉴定),用变色硅胶进行快速干燥固定,带回实验室于 -20℃ 保存备用^[21]。

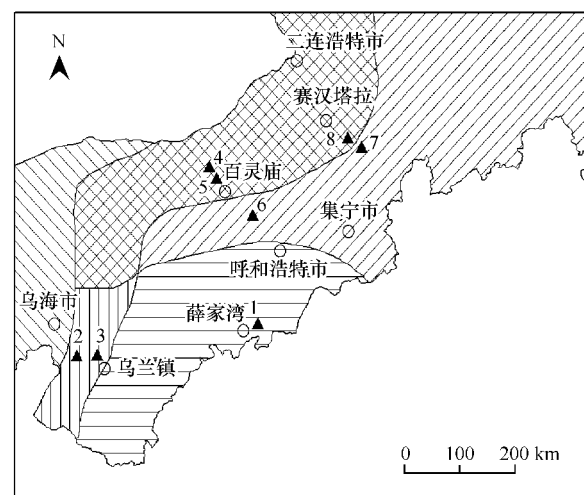


图 1 样地分布图

Fig. 1 The distribution of observation sites

表 1 样地描述

Table 1 The description of observation sites

地点 Location	种群代码 Population code	经纬度 Longitude & latitude	海拔(m) Altitude	年平均降水量 (mm) Annual mean precipitation	≥10℃ 积温(℃) Accumulative temperature	土壤类型 Soil
准格尔旗皇甫川	1	111.13°E, 39.80°N	1129	387.3	3225.7	黄绵土 loess soil
鄂托克旗三北羊场	2	107.34°E, 39.24°N	1289	264.7	3173.9	淡棕钙土 light brown soil
鄂托克旗东深井	3	107.98°E, 39.26°N	1482	264.7	3173.9	棕钙土
达茂旗巴音敖包苏木	4	110.12°E, 41.92°N	1426	260.9	2502.4	棕钙土 brown soil
达茂旗百灵庙	5	110.37°E, 41.73°N	1388	260.9	2502.4	棕钙土 brown soil
达茂旗石宝乡	6	111.02°E, 41.37°N	1682	260.9	2502.4	淡栗钙土 light chestnut soil
西苏旗都仁乌力吉苏木	7	113.33°E, 42.48°N	1160	217.2	2700.1	淡栗钙土 light chestnut soil
西苏旗都仁乌力吉苏木	8	113.25°E, 42.47°N	1175	183.0	2837.0	棕钙土 light brown soil

地点 Location	种群代码 Population code	植物群落类型及特征 Type and characteristics of plant community
准格尔旗皇甫川	1	短花针茅 + 本氏针茅 (<i>S. breviflora</i> + <i>S. bungeana</i>): 分布于阳坡陡坡, 主要伴生种有达乌里胡枝子 (<i>Lespedeza davurica</i>)、细叶远志 (<i>Polygala tenuifolia</i>)、草木樨状黄芪 (<i>Astragalus melilotoides</i>) 等
鄂托克旗三北羊场	2	短花针茅 + 小针茅 (<i>S. breviflora</i> + <i>S. klemenzi</i>): 位于缓坡, 地表覆沙, 主要伴生种狭叶锦鸡儿 (<i>Caragana stenophylla</i>) 和无芒隐子草。短花针茅主要分布在谷地, 丘坡上以小针茅为主
鄂托克旗东深井	3	短花针茅 + 无芒隐子草 (<i>S. breviflora</i> + <i>C. ongorica</i>): 位于梁地, 地表覆沙, 有放牧利用, 狭叶锦鸡儿, 戈壁天门冬 (<i>Asparagus gobicus</i>) 等为主要伴生种
达茂旗巴音敖包苏木	4	短花针茅 + 小针茅 (<i>S. breviflora</i> + <i>S. klemenzi</i>): 位于缓坡下部, 地表有细小砾石, 有放牧利用, 主要伴生种为无芒隐子草
达茂旗百灵庙	5	短花针茅 + 无芒隐子草 (<i>S. breviflora</i> + <i>C. ongorica</i>): 位于缓丘下部, 地表轻微覆沙, 有放牧利用, 主要伴生种为冰草 (<i>Agropyron cristatum</i>)、冷蒿 (<i>Artemisia frigida</i>) 等
达茂旗石宝乡	6	克氏针茅 + 短花针茅 (<i>S. krylovii</i> + <i>S. breviflora</i>): 位于缓丘中部, 较新围栏内, 有轻微放牧, 主要伴生种为碱韭 (<i>Alium polyrhizum</i>)、无芒隐子草、糙隐子草 (<i>C. squarrosa</i>)、冷蒿等, 地表有地皮菜 (<i>Nostoc commune</i>)
西苏旗都仁乌力吉苏木	7	克氏针茅 + 短花针茅 (<i>S. krylovii</i> + <i>S. breviflora</i>): 位于丘坡下部围栏内, 地表覆沙, 且有较多的玄武岩砾石, 无放牧, 主要伴生种有羊草 (<i>Leymus chinensis</i>)、黄囊苔草 (<i>Carex korshinskyi</i>) 等, 丘间谷地有小叶锦鸡儿 (<i>C. microphylla</i>) 分布
西苏旗都仁乌力吉苏木	8	小针茅 + 短花针茅 (<i>S. klemenzi</i> + <i>S. breviflora</i>): 位于缓坡下部围栏内, 地表覆沙且有少量小砾石, 有放牧利用, 主要伴生种为冰草、碱韭和无芒隐子草

* 气候因子为样地所处气象站自 1977 年建站至 2005 年 29a 数据平均值; 土壤类型依据内蒙古自治区 1:100 万土壤类型图获得 Climatic factor values are the average from 1977 to 2005 on meteorological stations adjacent to sampled sites; Soil type is extracted from Soil Type Map of Inner Mongolia (1:1000000)

1.2 实验方法

从每个种群经硅胶干燥处理的 20 ~ 30 株短花针茅样品中随机选取 20 株短花针茅, 将其叶片等量混合, 获得 8 个短花针茅样品, 采用北京天根生化科技有限公司生产的植物基因组 DNA 提取试剂盒, 分别提取 8 个样品的 DNA。利用紫外分光光度计, 分别在波长 260nm 及 280nm 处测得提取基因组 DNA 的 OD 值, 以判断其浓度和纯度^[22], 然后用 0.8% 的琼脂糖凝胶进行电泳, 确定提取基因组 DNA 的大小及一致性, 最后, 稀释到 50ng/μl。

经优化实验, PCR 扩增总体体系为 25μl: 1μl 模板 (50ng); 1.5μl MgCl₂ (25mmol/L); 2.5μl PCR10 × buffer (无 Mg²⁺); 2μl dNTPs (2.5mmol/L); 1μl 引物 (10pmol/L); 0.4μl Taq DNA 聚合酶 (2.5U/μl) 和 16.6μl 无菌双蒸水。反应在北京北方华粤有限公司生产的 Biometra T1 PCR 仪上进行, 扩增程序为: 94℃ 预变性 4min, 94℃ 变性 40s, 37℃ 复性 1min, 72℃ 延伸 1.5min, 设 40 个循环, 最后 72℃ 保温 10min。以北京天根生化科技有限公司生产的 DNA MarkerIII 为对照, 扩增产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳分离后在紫外投影仪上观察并拍照。

1.3 数据处理

(1) RAPD 为显性标记, 随机扩增片段以 1(有)和 0(无)表示, 使用 Quantity one 凝胶分析软件自动统计分子量为 400 ~ 2000bp 的条带, 得到二元数据矩阵,

(2) 等级聚类(Hierarchical cluster analysis)。它是两种最主要分类方法中的一类^[23], 包括两个主要的步骤: 第一、计算样本间的相似矩阵。需要对含有 N 个样本的数据计算两两之间的相似系数, 并列出 $N \times N$ 相似系数矩阵。利用欧氏距离, 反映样本间的相似程度, 并构建相似矩阵。第二、选取适当的聚类策略进行合并。本文选择的是最近邻体法(Nearest-neighbour)。最近邻在不同的情形下有不同的表述: 样本间的距离最小, 用以合并 2 个样本为组; 样本与组(含多个样本)中距离最近样本的距离最小, 用来将该样本合并到该组中; 而组与组的合并取决于 2 个组中相距最近的 2 个样本间的距离最小。

聚类的过程主要为: 从 N 个样本中找出最相似的两个样本进行第一次合并, 并将合并结果作为一个组对待。合并后就只有 $N-1$ 个样本(含 1 个组); 计算 $(N-1) \times (N-1)$ 的相似矩阵, 合并最相似的 2 个样本(组), 结果为 $N-2$ 个样本; 重复同样的工作, 直到最初的所有样本合并成一个组, 该过程即告结束。

本文使用 SPSS11.0^[24] 统计软件对二元数据矩阵进行聚类分析, 其结果用树状图表示。

同时, 该二元数据矩阵经 NTSYS-pc 软件^[25] 获得 Jaccard 相似系数(Similarity, S)^[26] 矩阵后, 进行非加权对组算数平均值聚类(Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic mean, UPGMA)分析。

最后, 选取多态性条带, 使用 Canoco for windows 4.5 软件进行主成分分析(Principal Component Analysis, PCA)。

(3) 利用 GPS 获取各样地的经纬度坐标, 利用该坐标生成地理坐标系统的矢量结构点图层数据, 并将其投影转化为高斯-克吕格投影, 然后在 ArcMap 中利用 Point Distance 命令获得地理距离矩阵。利用该地理距离矩阵与由 Jaccard 相似系数产生的遗传距离(Genetic Distance, $D = 1 - S$) 矩阵进行 Mantel 检验^[27], 检验遗传距离与地理距离相关性的显著程度。

(4) 统计各个种群的特异性条带, 使用 SPSS11.0 中的 Pearson 相关分析工具, 计算 8 个不同种群短花针茅特异性位点百分率与生态因子之间的相互关系。

2 结果与分析

2.1 短花针茅种群多态性分析

对上海生物工程公司(Sangon)生产的 102 条 10 碱基的随机引物进行筛选, 选定 28 条(表 2)能够扩增出清晰、稳定条带的有效引物进行 RAPD 扩增, 共扩增出 308 条带, 平均每条引物扩增出 11.0 条带, 大部分集中在 400 ~ 2000bp 之间(28 条有效引物中的 S03 引物扩增结果见图 2)。在 308 条带中, 有 151 条多态性条带, 平均每条引物扩增 5.4 条, 多态性位点百分率为 49.03%。

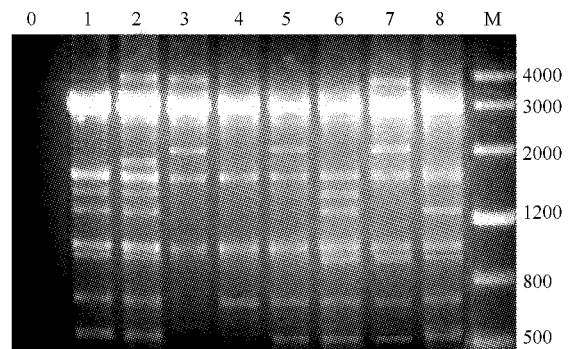


图 2 RAPD 电泳结果(S03)

Fig. 2 The RAPD electrophoretogram of primer S03

表 2 28 条有效引物的编号及序列

Table 2 The code and sequence of 28 primers

引物 Primer	序列 Sequence	引物 Primer	序列 Sequence	引物 Primer	序列 Sequence	引物 Primer	序列 Sequence
S02	TGATCCCTGG	S46	ACCTGAACGG	S157	CTACTGCCGT	S446	GCACGGGAAG
S03	CATCCCGCTG	S52	CACCGTATCC	S318	GACTAGGTGG	S447	CAGCACTGAC
S19	ACCCCGGAAG	S126	GGGAATTCCG	S320	CCGAGCTAGA	S449	TCCCACGCAA
S27	GAAACGGGTG	S131	TTGGTACCCC	S441	GGCAGGTAAG	S450	TCAGAGCGCC
S30	GTGATCGCAG	S133	GGCTGCAGAA	S442	ACGTAGCGTC	S453	GTCAGAGTCC
S32	TCGGCGATAG	S139	CCTCTAGACC	S443	CTGTGCTAC	S458	CTCGCTATCC
S44	TCTGCTGAGG	S148	TCACCACGGT	S444	AAGTCCGCTC	S460	ACACACGCTG

2.2 短花针茅种群的遗传一致度和遗传距离

使用 NTSYS-pc 软件计算得到 8 个种群的 Jaccard 相似系数及遗传距离矩阵(表 3)。不同地理种群的遗传距离从 0.316 到 0.582 不等,平均遗传距离为 0.460,种群 2 和 6 的遗传距离最大,种群 4 和 5 的遗传距离最小。利用 UPGMA 法对 Jaccard 相似系数进行聚类,获得不同种群间的遗传关系(图 3),并与等级聚类的结果(图 4)相吻合。8 个不同地理种群依据温度差异被聚为两大类:暖温性的种群 1、2、3 和中温性的种群 4、5、6、7、8。前者聚类中,依据水分差异处于暖温性荒漠草原的种群 2 和 3 先聚在一起,再和处于暖温性典型草原的种群 1 聚为一类;后者聚类中,处于中温型荒漠草原的种群 4 和 5 聚在一起后又和处于中温性典型草原的种群 6 组合,7、8 同处于中温性典型草原的边缘并聚为一类。结合图 1 不难看出,聚类结果和空间分布是一致的。

表 3 Jaccard 相似系数(对角线上方)及遗传距离(对角线下方)

Table 3 Jaccard's similarity coefficients (above diagonal) and genetic distances (below diagonal)								
种群 Population	1	2	3	4	5	6	7	8
1	* * * *	0.634	0.566	0.555	0.535	0.484	0.587	0.451
2	0.366	* * * *	0.640	0.504	0.461	0.418	0.541	0.440
3	0.434	0.360	* * * *	0.579	0.577	0.441	0.543	0.441
4	0.445	0.496	0.421	* * * *	0.684	0.608	0.595	0.507
5	0.465	0.539	0.423	0.316	* * * *	0.578	0.630	0.477
6	0.516	0.582	0.559	0.392	0.422	* * * *	0.571	0.436
7	0.413	0.459	0.457	0.405	0.370	0.429	* * * *	0.645
8	0.549	0.560	0.559	0.493	0.523	0.564	0.355	* * * *

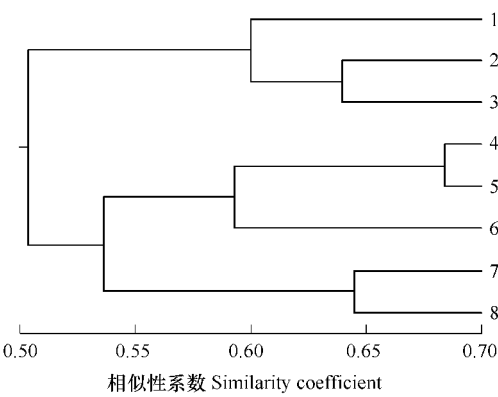


图 3 Jaccard 相似性系数的 UPGMA 聚类
Fig. 3 The diagram of UPGMA cluster according to Jaccard's similarity coefficients

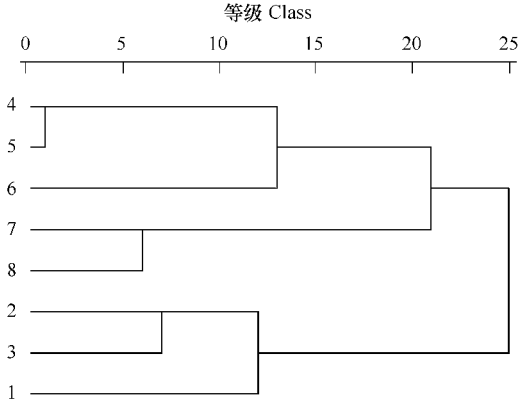


图 4 RAPD 二元数据矩阵的等级聚类
Fig. 4 The diagram of Hierarchical cluster analysis with RAPD data

同时,基于扩增结果的多态性条带进行了主成分分析(图 5,表 4)。前两个主分量占有所有信息的 44.7%,8 个不同地理种群的排序体现了其空间分布,这与前面聚类的结果也是一致的。

表 4 主成分分析特征统计

Table 4 The statistics of PCA				
排序轴 Axes	1	2	3	4
特征根 Eigenvalue	0.236	0.211	0.147	0.122
方差累计 Cumulative percentage variance	23.6	44.7	59.5	71.7
总特征根 Sum of all eigenvalues	1.000			

2.3 短花针茅种群遗传距离与地理距离相关性分析

鉴于 8 个不同地理种群的聚类、排序结果与其空间分布极其吻合,将遗传距离矩阵和地理距离矩阵(表 5)进行了 Mantel 检验。在 3000 次置换中有 14 次超过 Z 值,并且二者之间的相关系数为 $r = 0.534 > 0.374 = r_{0.05}$, $P < 0.05$ 。可见,二者之间具有显著相关性。

2.4 特异性位点百分率与气候因子之间的关系

8 个短花针茅不同地理种群共有 45 个特异性位点,占总条带的 14.61%,每个种群的特异性位点百分率见表 6。使用 Pearson 相关分析计算 8 个不同种群短花针茅特异性位点百分率与气候因子之间的相互关系,结果发现,特异性位点百分率与种群所处生境的 $\geq 10^{\circ}\text{C}$ 积温、干燥度和年平均降水量均无显著相关性。

3 结论与讨论

(1) 本项研究所用材料为 20 个单株的混样,所得 RAPD 条带代表一个种群的结果。研究结果和其它类似工作表明,上述方法是合理并可行的^[28,29],在不涉及每个种群内的遗传多样性及基因流而分析种群间的遗传多样性时显得更为简便、高效。

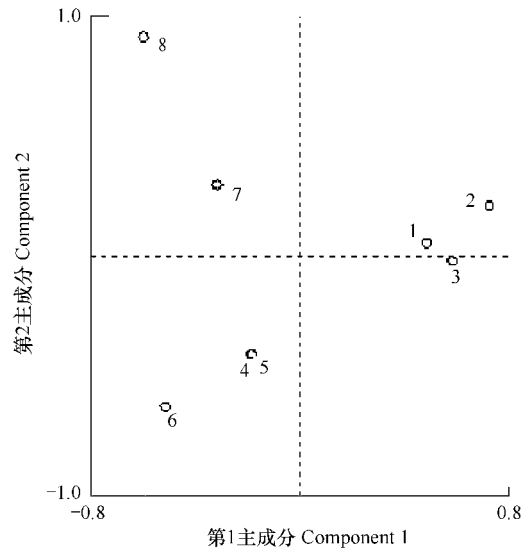


图5 RAPD 多态性数据的主成分分析
Fig. 5 The diagram of PCA with RAPD polymorphism data

表5 遗传距离(对角线上方)与地理距离(对角线下方)

Table 5 Genetic distances (above diagonal) and geographic distances (below diagonal)								
种群 Population	1	2	3	4	5	6	7	8
1	****	0.366	0.434	0.445	0.465	0.516	0.413	0.549
2	276.54	****	0.360	0.496	0.539	0.582	0.459	0.560
3	331.35	55.46	****	0.421	0.423	0.559	0.457	0.559
4	254.83	346.76	380.42	****	0.316	0.392	0.405	0.493
5	227.50	340.57	377.76	30.20	****	0.422	0.370	0.523
6	178.75	348.49	392.51	97.01	67.16	****	0.429	0.564
7	353.95	575.13	620.23	271.93	258.49	227.84	****	0.355
8	349.87	569.50	614.44	265.51	252.15	221.99	6.45	****

表6 特异性位点百分率与相关气候因子

Table 6 The percentage of unique loci and corresponding climatic factors				
种群代码 Population code	特异位点百分率(%) Percentage of unique loci	$\geq 10^{\circ}\text{C}$ 积温 Accumulative temperature	干燥度 Aridity	年平均降水量 Annual mean precipitation
1	2.575107	3225.7	1.4938	387.3
2	2.880658	3173.9	2.0239	264.7
3	2.564103	3173.9	2.0239	264.7
4	1.321586	2502.4	1.7218	260.9
5	2.155172	2502.4	1.7218	260.9
6	2.714932	2502.4	1.7218	260.9
7	1.785714	2700.1	2.3868	217.2
8	3.720930	2837.0	2.9323	183.0

为进一步验证上述方法的可行性,选取种群 1 的 20 个单株及其混合样品进行了检验。结果发现,选用 28 条有效引物中的 15 条引物进行标记验证实验(15 条引物中的 S02 验证结果见图 6),20 个单株共扩增出

162 条带,混合样品扩增出 153 条带,能检测出的位点百分率为 94.44%。被检测出的条带主要包括两种类型:一类是在个体中出现频率较高的条带,占测出条带的 98.04%;另一类是出现频率低但比较清晰的条带,占测出条带的 1.96%。这与 Michelmores^[30]及赵念席等^[28]的结论是一致的。实验还设置了空白对照样(图 2 及图 6 中的 0 号样品),以便排除由于药品污染所造成的错误标记,减少系统误差。

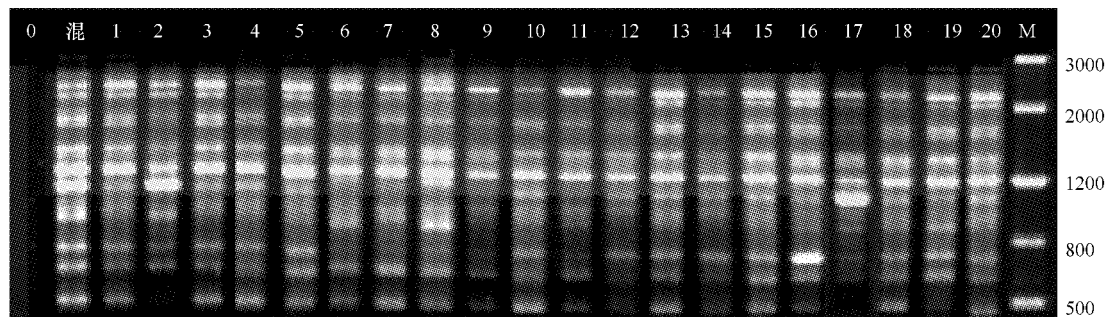


图 6 RAPD 电泳结果(S02)

Fig. 6 The RAPD electrophoretogram of primer S02

(2)短花针茅 8 个不同地理种群的多态性位点百分率为 49.03%,遗传多样性较为丰富^[31],但低于赵念席等用同种方法得出的大针茅^[28](54.75%)和克氏针茅^[15](74.67%)的多态性。究其原因,一方面,针茅属植物有性繁殖与水分因子密切相关,水分条件好,实生苗存活率高,有性繁殖能力强^[8]。短花针茅的分布区明显比大针茅和克氏针茅的主要分布区域干旱,有性繁殖能力也就较弱^[32],基因流相对就小;另一方面,近年来短花针茅草原利用强度增大,草地退化沙化严重,生境破碎化明显^[33],降低了种群之间的基因交流,也会降低短花针茅的遗传多样性。

(3)各种不同的聚类 and 排序一致表明,8 个不同地理种群被分为 2 类,且与空间分布相吻合,一类位于阴山山系以南,另一类则位于阴山山系以北。由于山地的作用,造成了南北两侧的水热差异,并在一定程度上阻碍了南北两侧基因的交流,产生了一定的地理隔离。另一方面,Mantel 检验发现,遗传距离与地理距离显著相关($r > r_{0.05}$),这与一些研究结论类似^[34,35],从而说明短花针茅间存在较强的基因流,符合短花针茅风媒、异花授粉的特点^[1]。

(4)赵念席等分别讨论了大针茅和克氏针茅特异性位点百分率与生态因子之间的关系,认为特异性位点百分率与干燥度呈显著正相关^[15,28]。本项研究认为,短花针茅特异性位点百分率与种群所处生境的 $\geq 10^{\circ}\text{C}$ 积温、干燥度和年平均降水量均无显著相关性。这样的结果应该是众多生态因子共同作用造成的,然而到底是哪些因子还需要更加细致的研究。处于暖温性草原的 3 个种群的特异性位点百分率均在 2.50 以上;处于中温性草原的 5 个种群的特异性位点百分率差异显著,除种群 6、8 外,其它 3 个种群的特异性位点百分率在 2.0 左右。通过分析 6、8 样地的植物群落结构发现,碱韭都是这两个样地的主要伴生种。朱桂林等认为短花针茅与碱韭具有新的种间关系,存在根根相连共生现象^[9],那么,是否可能是这种特殊的生物环境导致种群 6 和 8 具有如此高的特异性位点百分率,也需要进一步的研究来证实。

References:

- [1] Commission Editorial of Inner Mongolia Flora. Flora intramongolia. Hohhot: Inner Mongolia People's Press, 1994. 5.
- [2] Inner Mongolia-Ningxia synthetical inspection group of Science Academy of China Vegetation of Inner Mongolia. Beijing: Science Press, 1985.
- [3] Lu S L, Wu Z L. On geographical distribution of the genus *Stipa* L. in china. Acta Phytotaxonomica Sinica, 1996, 34(3): 242-253.
- [4] Chen S H, Li Y P, Meng J, et al. Characteristics and the eco-geographical distribution of *Stipa* spp. in grassland of Inner Mongolia. Journal of Inner Mongolia Institute of Agriculture & Animal Husbandry, 1997, 18(1): 40-46.
- [5] Yan L. Comparative research on cariopside characteristics of *Stipa* in Inner Mongolia steppe region. Journal of Arid Land Resources and Enviroment, 1994, 8(14): 76-79.

- [6] Wan T, Wei Z J, Yang J, *et al.* Study of pollen morphology of 6 species of *Stipa* L. in the Grassland of Inner Mongolia. *Acta Agrestia Sinica*, 1997, 5(2):117—122.
- [7] Yang J, Zhu G L, Gao G R, *et al.* Effects of grazing systems on the reproductive feature of key plant population in *Stipa breviflora* steppe. *Journal of Arid Land Resources and Environment*, 2001, 15(5):112—116.
- [8] Zhu G L, Ya M, Wei Z J, *et al.* The effect of grazing systems on the sexual multiplication of the plants in *Stipa breviflora* community. *Grassland of China*, 2002, 24(5):1—4.
- [9] Zhu G L. A new find of relationship between plant populations on *Stipa breviflora* desert steppe. *Acta Bot. Boreal.-Occident. Sin*, 2003, 23(1):141—142.
- [10] Zhu G L, Yang H Q, Wei ZH J, *et al.* Interspecific associations in *Stipa breviflora* desert steppe community. *Acta Prataculturae Sinica*, 2004, 13(5):33—38.
- [11] Li D X, Bai W M, Xu Z X. A study on the population dynamics and the growth analysis of the *Stipa breviflora*. *Grassland of China*, 1997(6):25—28.
- [12] Wei Z J, Han G D, Xing Q, *et al.* The comparison between rotational and continuous grazing systems. *Journal of Inner Mongolia Agricultural University*, 2000, 21(4)46—49.
- [13] Zhu G L, Wei Z J, Yang J, *et al.* The effects of grazing systems on the above ground bio-mass of the plants in *Stipa breviflora* community. *Grassland of China*, 2002, 24(3):15—23.
- [14] Zhan B L, Zhang H, Chen S H, *et al.* A study of vegetation restoration in *Stipa breviflora* desert steppe. *Grassland of China*, 2000(6):68—69.
- [15] Zhao N X, Gao Y B, Wang J L, *et al.* A RAPD analysis of genetic differentiation between *Stipa krylovii* populations in central and eastern Inner Mongolia steppe. *Acta Ecologica Sinica*, 2004, 24(3):560—566.
- [16] Zhang H M, Zhao M L, Li Q F, *et al.* Detection of genetic diversity of *Stipa grandis* Inner Mongolia using RAPD markers. *Acta Agrestia Sinica*, 2003, 11(2):170—178.
- [17] Zhao N X, Gao Y B, Wang J L, *et al.* RAPD diversity of *Stipa grandis* population and its association with some ecological factors. *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 25(5):1312—1319.
- [18] Turuspekova 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.
- [19] Marjolein Visser, Dirk Reheul. Producing native seed of *Stipa lagascae* R. and Sch. in Presaharian Tunisia: high yields, high genetic variation or both? *Genetic Resources and Crop Evolution*, 2002, 49:583—598.
- [20] Williams J. G. K., Ubelik K. A. R., Livok J. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*, 1990, 18:6531—6535.
- [21] Wang J, Yang CH, Yin J, *et al.* Changes of the genetic diversity of *Aremisia frigida* population under the disturbance of grazing. *Acta Ecologica Sinica*, 2004, 24(1):2465—2471.
- [22] Zhou T Q. The application of DNA molecular ecology in the plant study. Beijing: Chemical Industry Press, 2005. 43—44.
- [23] Yang H X, Lu Z Y. Quantitative classification methods of vegetation ecology. Beijing: Science Press, 1981.
- [24] Lu W D. SPSS for windows. 2nd ed. Beijing: Publishing House of Electronic Industry, 2002.
- [25] Rohlf F J, Rohlf F J. NTSYSpc2.01. Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Exeter Software, New York, 1997.
- [26] Jaccard P. Nouvelles recherches sur la distribution florale. *Bull. Soc. Vaud. Sci. Nat.*, 1908, 44:223—270.
- [27] Mantel N A. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer. Res.*, 1967, 27:209—220.
- [28] 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.
- [29] Ki K, Lee W C, Yoon-Dong H, *et al.* A classification method using a hybrid genetic algorithm combined with an adaptive procedure for the pool of ellipsoids. *Appl Intell*, 2006, 25:293—304.
- [30] 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.
- [31] Sheng H M, Chen T, An L Z, *et al.* Genetic diversity and relationships among species of *Caragana Fabr.* *Journal of Desert Research*, 2005, 25(5):697—701.
- [32] Zhang H, Li X, Jiang F H, *et al.* Effects of different water supply on the reproduction of *Stipa krylovii* and *Artemisia frigida* populations in degraded steppe. *Acta Agrestia Sinica*, 2005, 13(2):106—110.
- [33] Sai S B. Serious desertification of desert steppe zone and its control in northern Inner Mongolia. *Journal of Arid Land Resources and Environment*, 2001, 15(4)34—39.

- [34] Wang T, Su Y J, OuYang P Y, et al. Using RAPD markers to detect the population genetic structure of *Pseudotsuga chienii* (Taxaceae), an endangered and endemic conifer in china. *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26(7): 2313—2321.
- [35] Susan M. Haig, R. Steven Wagner, Eric D. et al. Geographic variation and genetic structure in Spotted Owls. *Conservation Genetics*, 2001, 2: 25—40.

参考文献:

- [1] 内蒙古植物志编辑委员会. 内蒙古植物志. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 1994. 5: 200~202.
- [2] 中国科学院内蒙古宁夏综合考察队内蒙古植被. 北京: 科学出版社, 1995. 556~563.
- [3] 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.
- [4] 陈世镛, 李银鹏, 孟君, 等. 内蒙古几种针茅特性和生态地理分布的研究. *内蒙古农牧学院学报*, 1997, 18(1): 40~46.
- [5] 燕玲. 内蒙古草原区针茅属植物颖果特征的比较研究. *干旱区资源与环境*, 1994, 8(14): 76~79.
- [6] 宛涛, 卫智军, 杨静, 等. 内蒙古草原针茅属六种植物的花粉形态研究. *草地学报*, 1997, 5(2): 117~122.
- [7] 杨静, 朱桂林, 高国荣, 等. 放牧制度对短花针茅草原主要植物种群繁殖特征的影响. *干旱区资源与环境*, 2001, 15(5): 112~116.
- [8] 朱桂林, 雅梅, 卫智军, 等. 放牧制度对短花针茅群落植物种群有性繁殖能力的影响. *中国草地*, 2002, 24(5): 1~4.
- [9] 朱桂林. 短花针茅草原群落种间关系的新发现. *西北植物学报*, 2003, 23(1): 141~142.
- [10] 朱桂林, 杨洪琴, 卫智军, 等. 短花针茅草原群落种间联结研究. *草业学报*, 2004, 13(5): 33~38.
- [11] 李德新, 白文明, 许志信. 短花针茅种群密度动态与生长分析的研究. *中国草地*, 1997, (6): 25~28.
- [12] 卫智军, 韩国栋, 邢旗, 等. 短花针茅草原划区轮牧与自由放牧比较研究. *内蒙古农业大学学报*, 2000, 21(4): 46~49.
- [13] 朱桂林, 卫智军, 杨静, 等. 放牧制度对短花针茅群落植物种群地上生物量的影响. *中国草地*, 2002, 24(3): 15~23.
- [14] 占布拉, 张昊, 陈世镛, 等. 短花针茅荒漠草原撙荒恢复规律的研究. *中国草地*, 2000(6): 68~69.
- [15] 赵念席, 高玉葆, 王金龙, 等. 内蒙古中东部草原区克氏针茅种群遗传分化的 RAPD 研究. *生态学报*, 2004, 24(3): 560~566.
- [16] 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.
- [17] 赵念席, 高玉葆, 王金龙, 等. 大针茅种群 RAPD 多样性及其与若干生态因子的相关关系. *生态学报*, 2006, 26(5): 1312~1319.
- [21] 王静, 杨持, 尹俊, 等. 冷蒿种群在放牧干扰下遗传多样性的变化. *生态学报*, 2004, 24(11): 2465~2471.
- [22] 周廷清. DNA 分子标记技术在植物研究中的应用. 北京: 化学工业出版社, 2005. 43~44.
- [23] 阳含熙, 卢泽愚. 植物生态学的数量分类方法. 北京: 科学出版社, 1981.
- [24] 卢纹岱. SPSS for Windows 统计分析. 北京: 电子工业出版社(第二版), 2002.
- [28] 赵念席, 高玉葆, 王金龙等. 内蒙古中东部草原大针茅的种群遗传分化. *生态学报*, 2004, 24(10): 2178~2185.
- [31] 盛红梅, 陈拓, 安黎哲, 等. 锦鸡儿属植物的遗传多样性及其种间关系. *中国沙漠*, 2005, 25(5): 697~701.
- [32] 张昊, 李鑫, 姜凤和, 等. 水分对克氏针茅和冷蒿生殖生长的影响. *草地学报*, 2005, 13(2): 106~110.
- [33] 赛胜宝. 内蒙古北部荒漠草原带的严重荒漠化及其治理. *干旱区资源与环境*, 2001, 15(4): 34~39.
- [34] 王艇, 苏应娟, 欧阳蒲月, 等. 利用 RAPD 标记分析濒危植物白豆杉种群的遗传结构. *生态学报*, 2006, 26(7): 2313~2321.