内蒙古高原小叶锦鸡儿(*Caragana microphylla*)、中间锦鸡儿(*C. davazamcii*)和柠条锦鸡儿(*C. korshinskii*)的遗传多样性及遗传关系

郭宏宇[1], 高玉葆[1,*], 马成仓[1,2], 任安芝[1], 吴建波[1], 王银华[1]
(1. 南开大学生命科学学院, 天津 300071; 2. 天津师范大学生物学系, 天津 300387)

摘要: 采用 RAPD 技术对 10 个具较大地理跨度的小叶锦鸡儿、中间锦鸡儿和柠条锦鸡儿种群的遗传多样性和遗传关系进行了研究。共检测到 678 个位点, 多态条带比率(PPB)为 100%; 特有位点 41 个, 占 6.05%。总体上 3 种锦鸡儿的遗传多样性表现出自东向西递减的趋势, 分析表明其与生长地点年均气温呈显著负相关。AMOVA 表明: 3 种锦鸡儿种间变异只占总体变异的 6.08%, 且显著性检验表明这种变异不显著; 种内种群间的变异占总变异的 11.90%; 总变异的主要部分来自种群内部(82.02%)。3 种锦鸡儿各种群总体分析结果表明: 种群内变异比率 *Hpop/Hsp* 为 0.8013, 基因分化系数 G_{st} 为 0.1603, 种群每代迁移数 N_m 为 2.6192, 显示种群间存在一定强度的基因流, 3 种锦鸡儿间表现为异交性。3 种锦鸡儿多样性高低及种群聚类分布格局都表现出一定的地理连续性。

关键词: 小叶锦鸡儿; 中间锦鸡儿; 柠条锦鸡儿; RAPD; 地理种群; 遗传多样性; 遗传关系
文章编号: 1000-0933(2008)08-3729-08 **中图分类号**: Q948 **文献标识码**: A

Genetic diversity and genetic relationship of *Caragana microphylla*, *Caragana davazamcii* and *Caragana korshinskii* in Inner Mongolia Plateau

GUO Hong-Yu[1], GAO Yu-Bao[1,*], MA Cheng-Cang[1,2], REN An-Zhi[1], WU Jian-Bo[1], WANG Yin-Hua[1]
1 *College of Life Sciences, Nankai University, Tianjin* 300071, *China*
2 *Department of Biology, Tianjin Normal University, Tianjin* 300387, *China*
***Acta Ecologica Sinica*, 2008, 28(8): 3729 ~ 3736.**

Abstract: *Caragana microphylla*, *C. davazamcii* and *C. korshinskii* exhibit a geographical replacement series from east to west in the Inner Mongolia Plateau. Currently there is still a debate about the taxonomic and genetic relationship among these 3 species. We studied the genetic diversity and the genetic relationship among these 3 species by analyzing individual plant DNA samples from within 10 populations with RAPD markers. We identified 678 RAPD loci in total, of which all were polymorphic (PPB = 100%). There were 41 unique loci (6.05%). In general, a trend presented that the genetic diversity of these species decreases from east to west. Further, the genetic diversity negatively correlated with the local annual mean temperature significantly. AMOVA showed that the genetic variation among these 3 species was only 6.08% of the total genetic variation. Between the species, the genetic variation was insignificant ($P = 0.9961$). The proportion of genetic variation among populations within each species was 11.90% ($P < 0.001$), and the genetic variation existed mainly

基金项目: 国家重点基础研究发展计划资助项目(2007CB106802)
收稿日期: 2007-05-08; **修订日期**: 2007-11-23
作者简介: 郭宏宇(1978 ~), 男, 天津市人, 博士, 主要从事植物生态学研究. E-mail: greatuniverse@hotmail.com
* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: ybgao@nankai.edu.cn
Foundation item: The project was financially supported by the State Key Basic Research and Development Plan of China (No. 2007CB106802)
Received date: 2007-05-08; **Accepted date**: 2007-11-23
Biography: GUO Hong-Yu, Ph. D., mainly engaged in plant ecology. E-mail: greatuniverse@hotmail.com

within the populations (82.02%). The genetic differentiation within the populations, estimated with Shannon's index (Hpop/Hsp), was 0.8013; the coefficient of gene differentiation (G_{st}) was 0.1603; and the N_m was 2.6192. This thus indicates that there is relatively high gene flow among these populations which suggests that these 3 species are crossbreeding. The genetic diversity level and the population distribution pattern showed geographic continuity to some extent.

Key Words: *Caragana microphylla*; *C. davazamcii*; *C. korshinskii*; RAPD; geographical population; genetic diversity; genetic relationship

小叶锦鸡儿(*Caragana microphylla*)、中间锦鸡儿(*C. davazamcii*)和柠条锦鸡儿(*C. korshinskii*)在内蒙古高原从东至西的广大地区呈替代性分布[1]。对小叶锦鸡儿、中间锦鸡儿和柠条锦鸡儿的分类学关系至今还存在争议。许多学者认为它们是3个种;也有学者认为它们应为两个种,中间锦鸡儿是柠条锦鸡儿的亚种①;还有学者提出把它们归并成一种为好[2,3]。分子生物学及分析技术的飞速发展为研究物种间的分类学关系提供了更有效的方法。马成仓等用种群DNA混样对这3种锦鸡儿不同地理种群间的遗传距离做过一些研究[4],认为这3种锦鸡儿形成一个连续的地理渐变群,但没有从3种锦鸡儿种群间和种群内的遗传变异特征方面详细阐明它们间的关系。本文对来自于内蒙古高原从东到西具有较大地理跨度的小叶锦鸡儿、中间锦鸡儿和柠条锦鸡儿10个种群的个体DNA样品进行了RAPD分析,研究了这3种锦鸡儿种群间和种群内遗传多样性及遗传结构的特点,以期在较大地理尺度上揭示这3种锦鸡儿间的遗传变异关系。

1 材料与方法

1.1 采样地点与样品采集

2003年7月至9月对内蒙古高原小叶锦鸡儿(5个种群)、中间锦鸡儿(3个种群)和柠条锦鸡儿(2个种群),由东至西共10个种群进行了考察。各种群所在地点自然概况见表1。在每个种群内选取10株个体(个体间隔10m以上),摘取每株新生叶片样品约10g,用变色硅胶快速干燥固定,带回实验室于室温下保存。用烘干法测定每个采样地点30, 60 cm和100 cm深度的土壤含水量,并计算其平均土壤含水量(表1)。

1.2 实验方法

采用SDS法[5]从硅胶干燥固定的叶片干样中提取DNA;加入RNAase纯化DNA;在含0.5% EB的0.7%琼脂糖凝胶中电泳检测DNA模板有无降解;紫外分光光度计检测DNA浓度和纯度,-20℃保存备用。

1.3 引物筛选

本研究所用的10碱基寡聚核苷酸随机引物购自美国Operon公司,经过筛选最终选出18条对全部DNA样品均有清晰、稳定多态性扩增条带且重复性好的引物。

1.4 PCR反应

通过预实验确定优化反应体系,最终确定选用总体积为25μl的随机扩增反应体系,其中包括:10×Buffer 2.5μl, $MgCl_2$(25 mmol/L) 2μl, dNTP(10 mmol/L) 0.5μl, Taq DNA Polymerase (5U/μl) 0.2μl(以上均为Sangon公司产品),Primer(5pmol/L) 1μl(Operon公司),双蒸水16.3μl,锦鸡儿Genomic DNA 80ng左右,在Biometra PCR仪上进行RAPD扩增。扩增程序为:94℃ 预变性4min; 94℃变性40s,36℃退火1min,72℃延伸2min,40个循环;最后72℃ 延伸10min。

1.5 电泳结果记录

扩增产物用1.6%的琼脂糖凝胶电泳(含1μl/ml EB)进行分离,电泳缓冲液为1×TBE,以鼎国生物生产的SD005为分子量标准,用SynGene凝胶成像系统识别扩增条带并确定分子量。根据分子量大小对各胶块上

① 徐朗然,郝秀英,杨喜林,等. 中国植物学会55周年年会论文集. 1988,188

的扩增条带进行同源匹配,从而确定检测到的位点。对某一位点有扩增条带的计为 1,没有扩增产物的计为 0。

表 1　3 种锦鸡儿种群采样地点自然概况

Table 1　The environmental data for the sample sites of these 3 *Caragana* species

种群编号 Population code	植物种名 Species name	采样地点(地理位置) Sample site (Location)	年降水量* Annual precipitation (mm)	年均气温* Annual mean temperature (℃)	土壤含水量 Soil water content (%)			
					30cm	60cm	100cm	平均 Mean
XWM	小叶锦鸡儿 *C. microphylla*	西乌旗 Xiwu Banner (117.60° E; 44.58° N)	340	1.47	4.87	3.04	4.35	4.09
XLM	叶锦鸡儿 *C. microphylla*	锡林浩特市 Xilinhaote City (116.07°E; 43.95° N)	281	2.35	3.91	3.95	3.23	3.70
ABM	小叶锦鸡儿 *C. microphylla*	阿巴嘎旗 Abaga Banner (114.95°E;44.02°N)	245	1.20	4.09	2.90	2.27	3.09
SRM	小叶锦鸡儿 *C. microphylla*	苏尼特右旗 Sunite Right Banner (112.90°E;42.40°N)	211	4.93	3.21	2.26	1.74	2.40
DMM	小叶锦鸡儿 *C. microphylla*	达茂旗 Damao Banner (110.43°E;41.70°N)	256	4.01	2.41	2.25	1.83	2.16
DMD	中间锦鸡儿 *C. Davazamcii*							
ELD	中间锦鸡儿 *C. Davazamcii*	二连浩特市 Erlianhaote City (111.97°E;43.65°N)	142	3.40	2.61	3.46	1.97	2.68
WCD	中间锦鸡儿 *C. Davazamcii*	乌中旗 Wulate Central Banner (108.52°E;41.57°N)	199	5.07	1.25	2.42	2.86	2.18
HBK	柠条锦鸡儿 *C. korshinskii*	杭锦后旗 Hangjin Back Banner (107.50°E;41.25°N)	150	5.82	1.36	1.93	3.02	2.10
ALK	柠条锦鸡儿 *C. korshinskii*	阿拉善左旗 Alashan Left Banner (105.66°E;38.84°N)	110	7.80	1.98	1.66	1.55	1.73

* 数据由当地气象部门提供　The data with * were provided by local weather stations

1.6　数据分析

将数据以 0,1 矩阵形式输入计算机进行统计分析。计算多态位点百分率(PPB);用 Popgene 32 软件①计算 Nei 基因多样性指数(h)[6]、Shannon 信息指数(I)[7]、基因分化系数(G_{st})、种群每代迁移数(N_m) 和 Nei 无偏遗传距离[8];用 Arlequin 2.000② 进行 AMOVA 分析。根据 Nei 无偏遗传距离,采用 UPGMA 法进行种群聚类分析。

2　结果与分析

2.1　3 种锦鸡儿 RAPD 扩增带的多态性

对小叶锦鸡儿、中间锦鸡儿和柠条锦鸡儿 10 个种群的个体 DNA 样品进行检测,共扩增得到 678 条带,片断分子量多集中在 200 ~2000bp 之间(图 1)。扩增条带全部为多态带(PPB = 100%; 表 2),这表明这 3 种锦

① Yeh F C, Yang R C, Boyle T. Popgene Ver. 1.31. 1999. http://www.ualberta.ca/-fyeh.

② Schneider S, Roessli D, Excoffier L. Arlequin ver. 2.000: A software for population genetics data analysis. 2000, Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, Switzerland.

鸡儿在内蒙古高原从东到西广大的地理范围内有着很高的遗传多样性。特有带共有 41 条，占扩增条带总数的 6.05%（表 2）。

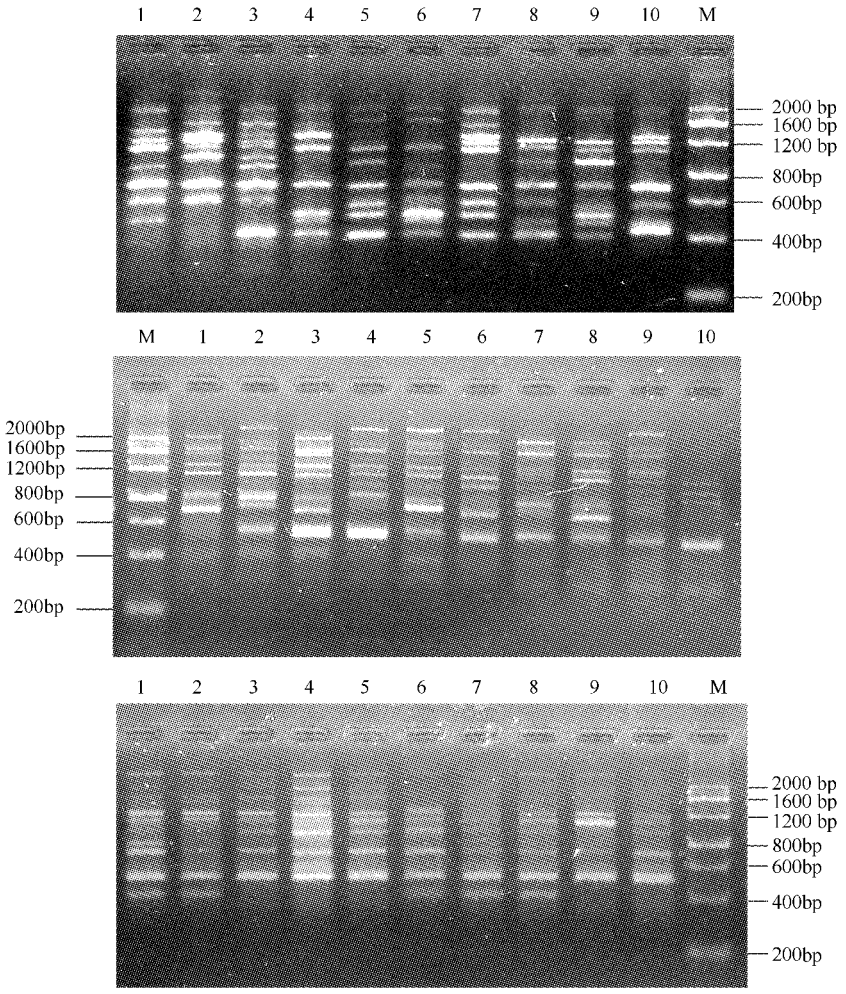

图 1 部分 RAPD 电泳结果

Fig. 1 Examples of RAPD electrophoretogram

A：小叶锦鸡儿种群 XWM，引物为 OPN18；B：中间锦鸡儿种群 WCD，引物为 OPN10；C：柠条锦鸡儿种群 ALK，引物为 OPN18 A：XWM population，Primer OPN18；B：WCD population，Primer OPN10；C：ALK population，Primer OPN18

2.2 3 种锦鸡儿的遗传多样性

根据 3 种锦鸡儿种群的表型频率矩阵，用 Shannon 信息指数计算得出的种群遗传多样性表明：10 个种群中，阿巴嘎旗小叶锦鸡儿种群 ABM 的遗传多样性最高（0.3349），杭锦后旗柠条锦鸡儿种群 HBK 的遗传多样性最低（0.2162），遗传多样性顺序为：ABM > SRM > XLM > DMM > XWM > DMD > ELD > WCD > ALK > HBK（表 2）。总体上小叶锦鸡儿种群的 Shannon 多样性指数高于中间锦鸡儿和柠条锦鸡儿种群，而中间锦鸡儿种群略高于柠条锦鸡儿种群（表 2）。

计算基因频率矩阵（认为种群处于 Hardy-Weinberg 平衡），并按照 Lynch-Milligan 矫正小样本 RAPD 数据的方法[9]，剔除 $q^2 < 3/N$（q 为隐性基因频率，N 为取样大小）的条带后，用 Popgene 32 计算 Nei 基因多样性指数。结果显示，阿巴嘎旗小叶锦鸡儿种群 ABM 的基因多样性仍为最高（0.2125），阿拉善左旗柠条锦鸡儿种群 ALK 的基因多样性最低（0.1336），基因多样性顺序为 ABM > SRM > XLM > DMM > XWM > DMD > ELD > WCD > HBK > ALK（表 2）。总体上，这 3 种锦鸡儿种群的 Nei 基因多样性指数也呈自东向西递减的趋势（表 2）。用 Shannon 指数和 Nei 指数两种方法对这 3 种锦鸡儿种群遗传多样性的估算虽然数值上有所不同，但显

示的高低规律具有一致性。

表 2　3 种锦鸡儿种群 RAPD 位点和遗传多样性

Table 2　RAPD loci and genetic diversity of the populations of these 3 *Caragana* species

种群编号 Population code	多态位点数 Number of polymorphic loci	多态位点百分数 Percentage of polymorphic loci (%)	特有位点数 Number of unique loci	特有位点百分数 Percentage of unique loci (%)	Nei 基因多样性指数 Nei's gene diversity (h)	Shannon 多样性指数 Shannon's index of diversity (I)
XWM (*C. microphylla*)	473	69.76	5	0.74	0.1893	0.2992
XLM (*C. microphylla*)	477	70.35	2	0.29	0.2009	0.3140
ABM (*C. microphylla*)	520	76.70	12	1.77	0.2125	0.3349
SRM (*C. microphylla*)	517	76.25	5	0.74	0.2111	0.3326
DMM (*C. microphylla*)	484	71.39	3	0.44	0.1990	0.3125
ELD (*C. davazamcii*)	401	59.14	2	0.29	0.1372	0.2254
DMD (*C. davazamcii*)	433	63.86	1	0.15	0.1517	0.2484
WCD (*C. davazamcii*)	397	58.55	2	0.29	0.1358	0.2222
HBK (*C. korshinskii*)	364	53.69	2	0.29	0.1342	0.2162
ALK (*C. korshinskii*)	375	55.31	8	1.18	0.1336	0.2170
全体水平 Over all	678	100.00	41	6.05	0.2031	0.3397

相关性分析表明,各种群的 Shannon 指数和 Nei 指数都与生长地点的年均温度呈显著负相关($R^2_{Shannon}=0.431$, $P_{Shannon}=0.039$; $R^2_{Nei}=0.417$, $P_{Nei}=0.044$; $a=0.05$),而与年降水量($R^2_{Shannon}=0.365$, $P_{Shannon}=0.064$; $R^2_{Nei}=0.369$, $P_{Nei}=0.062$; $a=0.05$)及土壤含水量($R^2_{Shannon}=0.337$, $P_{Shannon}=0.078$; $R^2_{Nei}=0.339$, $P_{Nei}=0.077$; $a=0.05$)虽均未达显著相关水平,但有明显正相关趋势。

2.3　3 种锦鸡儿种群的遗传变异

对小叶锦鸡儿、中间锦鸡儿和柠条锦鸡儿种群遗传变异进行基于欧氏距离矩阵的 AMOVA 分析表明:3 种锦鸡儿种间的变异只占总体变异的 6.08%,且显著性检验显示这种变异不显著($P=0.9961$, $a=0.05$);种内种群间的变异占总变异的 11.90% ($P<0.001$, $a=0.05$);总变异的主要部分是来自种群内的变异,占 82.02%。由 Popgene 32 计算出的基因分化系数 G_{st}为 0.1603(表 3),也表明主要的遗传变异(83.97%)存在于种群内部。利用 Shannon 指数估算的种群内遗传变异占总变异的比率为 80.13%(表 3),也显示大部分变异存在于种群内部。在本研究中用 AMOVA、基因分化系数 G_{st}和 Shannon 指数对 3 种锦鸡儿种群变异组成的分析得到基本一致的结果。

将 3 种锦鸡儿各种群一起分析,由 Popgene 32 计算得到的种群每代迁移数 N_m为 2.6192(大于 1),表明这 3 种锦鸡儿各种群间存在一定强度的基因流动。

表 3　由 Nei 指数和 Shannon 指数估算的 3 种锦鸡儿种群间的遗传分化

Table 3　Genetic differentiations among the populations of these 3 *Caragana* species estimated with Nei's and Shannon's indices

项目 Item	Nei 指数 Nei's index				Shannon 指数 Shannon's index		
	Ht	*Hs*	*Gst*	*Nm*	*Hsp*	*Hpop*	*Hpop/Hsp*
指数 Index	0.2031	0.1705	0.1603	2.6192	0.3397	0.2722	0.8013
标准差 SD	0.0153	0.0099	–	–	0.1694	0.0507	–

2.4　3 种锦鸡儿种群间遗传距离及聚类分析

在 Nei 无偏遗传距离矩阵(表 4)中,遗传距离最大的是西乌旗小叶锦鸡儿种群 XWM 和阿拉善左旗柠条锦鸡儿种群 ALK(0.0455),遗传距离最小的是二连浩特中间锦鸡儿种群 ELD 和达茂旗中间锦鸡儿种群 DMD (0.0101)。

表 4 3 种锦鸡儿种群间的 Nei 无偏遗传距离(对角线下方)和遗传一致度(对角线上方)

Table 4 Nei's unbiased genetic distance (below diagonal) **and genetic identity** (above diagonal) **among the populations of these 3 *Caragana* species**

Nei 无偏遗传距离 Nei's unbiased genatic distance	Nei 无偏遗传一致度 Nei's unbiased genetic identity									
	XWM	XLM	ABM	SRM	DMM	ELD	DMD	WCD	HBK	ALK
XWM		0.9651	0.9647	0.9562	0.9645	0.9628	0.9598	0.9563	0.9560	0.9555
XLM	0.0355		0.9676	0.9632	0.9663	0.9655	0.9626	0.9599	0.9587	0.9585
ABM	0.0360	0.0329		0.9644	0.9656	0.9671	0.9654	0.9616	0.9555	0.9636
SRM	0.0448	0.0375	0.0362		0.9744	0.9656	0.9603	0.9583	0.9588	0.9584
DMM	0.0362	0.0343	0.0350	0.0259		0.9724	0.9667	0.9664	0.9642	0.9670
ELD	0.0380	0.0351	0.0335	0.0350	0.0280		0.9900	0.9856	0.9841	0.9847
DMD	0.0411	0.0381	0.0352	0.0405	0.0339	0.0101		0.9827	0.9807	0.9802
WCD	0.0447	0.0409	0.0392	0.0426	0.0341	0.0145	0.0174		0.9802	0.9778
HBK	0.0450	0.0422	0.0454	0.0421	0.0365	0.0160	0.0195	0.0200		0.9780
ALK	0.0455	0.0424	0.0371	0.0425	0.0336	0.0154	0.0200	0.0224	0.0222	

用 UPGMA 法根据 Nei 无偏遗传距离所得到的 3 种锦鸡儿种群聚类分析结果如图 2 所示。首先二连浩特中间锦鸡儿种群 ELD 依次与向西的达茂旗中间锦鸡儿种群 DMD、乌拉特中旗中间锦鸡儿种群 WCD、杭锦后旗柠条锦鸡儿种群 HBK 和阿拉善左旗柠条锦鸡儿种群 ALK 聚在一起,再与先聚合的苏尼特右旗小叶锦鸡儿种群 SRM 和达茂旗小叶锦鸡儿种群 DMM 聚在一起,最后与已聚为一类的西乌旗小叶锦鸡儿 XWM、锡林浩特小叶锦鸡儿种群 XLM 及阿巴嘎旗小叶锦鸡儿种群 ABM 聚合。这 3 种锦鸡儿种群的聚类表现出一定的地理连续性。

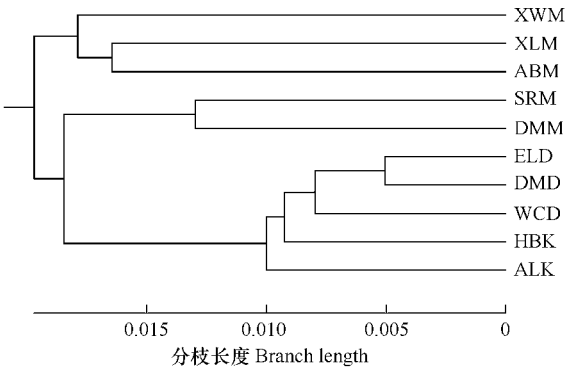

图 2 根据 Nei 无偏遗传距离用 UPGMA 法对 3 种锦鸡儿种群的聚类分析

Fig. 2 UPGMA dendrogram of the populations of these 3 *Caragana* species based on Nei's unbiased genetic distance

3 讨论

RAPD 是迄今应用最为普遍的分子标记[10],而且早期存在的 RAPD 重复性差的问题可以通过改进实验技术来避免[11,12]。在本研究优化的实验条件下 RAPD 扩增有很好的重复性,保证了 RAPD 方法的适用性。Lynch 和 Milligan 改进了处理 RAPD 数据的方法,提出剔除 $q^2 < 3/N$ (q 为隐性基因频率,N 为取样大小)的条带可大大减少小样本种群 RAPD 遗传分析的偏差[9],并广为应用。Kimberling 等的研究表明,当能检测到大量 RAPD 位点时,较小的样本量不会对遗传参数的估计造成大的影响[13]。也有其它一些研究表明每种群样本量达约 10 个个体以上时就不会对 RAPD 分析有大的影响[14,15]。Nybom 和 Bartish 比较了大量有关利用 RAPD 分析遗传参数的研究,指出每种群样本量对基于 RAPD 的遗传参数估计没有大的影响[16]。魏伟等对毛乌素沙地柠条群体进行的 RAPD 研究中每种群样本量在 10 株左右,并获得了很有意义的研究结果[17]。可见,本研究中从每个种群 10 株样本中检测到的大量的 RAPD 位点可以为了解小叶锦鸡儿、中间锦鸡儿和柠条锦鸡儿种间、种内遗传变异特点和关系提供有价值的信息。此外,RAPD 为显性标记,无法区别位点的纯合和杂合性,须在 Hardy-Weinberg 平衡假设下进行 Nei 指数分析;而 AMOVA 分析不必作 Hardy-Weinberg 平衡假设,还可以利用显著性检验分析遗传多样性的数值结果,可作为利用显性标记研究种群遗传结构时优先选择的分析方法[18]。钱韦等利用中国疣粒野生稻所作的研究表明,AMOVA 与 Nei 指数分析结果间存在极显著的相关性,两种分析方法都适用于种群遗传结构分析,而 Shannon 指数虽缺乏明确生物学意义,但可以作为

AMOVA 和 Nei 指数分析的有益补充[19]。本研究中,这 3 种分析方法得到较为一致的结果,表明它们在本研究中的适用性。

本研究中所得到的扩增条带全部为多态带(PPB =100%),这表明内蒙古高原小叶锦鸡儿、中间锦鸡儿和柠条锦鸡儿有很高的遗传多样性。一般来说具有高水平遗传变异的植物多为寿命长、地理分布广的物种[20]。这 3 种锦鸡儿都为多年生灌木,分布于内蒙古高原东起呼伦贝尔草原,西至阿拉善荒漠的广大地区,在这个宽广的地理范围内气候、土壤、水分等环境因子有着很大的差异,长期的自然选择及对环境的适应使这 3 种锦鸡儿具有较高的遗传多样性,有着较为丰富的种质资源。

总体上,小叶锦鸡儿 Shannon 多样性指数和 Nei 基因多样性指数高于中间锦鸡儿和柠条锦鸡儿,而中间锦鸡儿高于柠条锦鸡儿。这 3 种锦鸡儿的遗传多样性表现出自东向西递减的趋势,且相关性分析表明 3 种锦鸡儿的遗传多样性与生长地点年均气温呈显著负相关,而与年降水量及土壤含水量虽未达显著相关水平,但正相关趋势明显。刘惠芬等对羊草的研究表明分布于水分条件较好生境中的羊草有着较高的遗传多样性[21]。王峥峰等认为选择压力可能会使植物丢失等位基因而使遗传多样性降低[22]。小叶锦鸡儿、中间锦鸡儿和柠条锦鸡儿在内蒙古高原上由东向西呈地理替代性分布[1],而该地区气候的总体特点是,光辐射和气温由东向西递增,降水则由东向西递减。分布于东部的小叶锦鸡儿受到来自气温和水分条件的自然选择压力较小,从而表现出较高的遗传多样性,而分布在中西部的中间锦鸡儿和柠条锦鸡儿在向西逐渐增大的气温和水分胁迫下遗传多样性有所降低。有关这 3 种锦鸡儿的遗传多样性与其他一些环境因子(如:土壤理化性质,土壤养分等)相关关系的研究正在进行中。

对小叶锦鸡儿、中间锦鸡儿和柠条锦鸡儿种群的 AMOVA 分析表明,种间变异仅占总体变异的6.08%,且显著性检验显示种间变异并不显著(P = 0. 9961, a = 0. 05),而变异主要集中在种群内部(82. 02%)。由 Shannon 多样性指数和 Nei 基因多样性指数计算的结果也表明大部分变异发生在种群内部(G_{st} = 0. 1603, $Hpop/Hsp$ = 0. 8013)。这些都说明这 3 种锦鸡儿间的遗传分化未达显著水平。种群每代迁移数 N_m 为 2. 6192(大于 1)也表明有一定强度的基因流存在于 3 种锦鸡儿种群间。已有一些研究表明异交物种的遗传变异主要发生在种群内部[14,23,24]。徐朗然等报道中间锦鸡儿和柠条锦鸡儿杂交,得到生长正常的后代,认为中间锦鸡儿应是柠条锦鸡儿的一个亚种。王洪新等研究了毛乌素沙地锦鸡儿种群的形态变异和种子蛋白多样性,结果表明该地区的锦鸡儿是小叶锦鸡儿、中间锦鸡儿和柠条锦鸡儿的杂种带(Hybrid Zone),认为这 3 种锦鸡儿可能属于 1 个生物学种[2, 3]。魏伟等所做的 RAPD 研究发现,毛乌素沙地柠条锦鸡儿群体与中间锦鸡儿群体的遗传分化系数和遗传距离都很小,表明两种间存在基因流动[17]。周永刚等用种子同工酶分析方法证明了这 3 种锦鸡儿的异交性[25]。马成仓等在形态结构和生理生化特性方面的研究以及用种群 DNA 混样所做的 RAPD 分析表明,这 3 个种不是孤立的 3 个种,而是从小叶锦鸡儿经中间锦鸡儿到柠条锦鸡儿形成一个连续的地理渐变群[4, 26]。本文用个体 DNA 样品对内蒙古高原小叶锦鸡儿、中间锦鸡儿和柠条锦鸡儿种群间和种群内遗传变异特点的研究结果进一步表明了这 3 种锦鸡儿间在较大地理范围内广泛存在的基因流动,揭示了它们间密切的遗传变异关系。

在本研究所得到的 3 种锦鸡儿种群的聚类图中,中间锦鸡儿种群和柠条锦鸡儿种群按照地理位置向西依次递加聚合,而小叶锦鸡儿种群 SRM 和 DMM 先与中间锦鸡儿和柠条锦鸡儿聚在一起,这也表明这 3 种锦鸡儿间十分亲密的遗传关系。本研究中的聚类图与马成仓等基于种群 DNA 混样及 Jaccard 系数距离得到的聚类图[4]略有不同,但所反映的总体聚类格局趋势是一致的,而基于个体 DNA 样品的 AMOVA、Nei 指数和 Shannon 指数分析可以使人们进一步了解这 3 种锦鸡儿种间、种内遗传变异的特点和关系。总体上,这 3 种锦鸡儿种群聚类分布与它们的地理位置具有对应性,表现出一定的地理连续性,也提示在遗传进化和散布的过程中这 3 种锦鸡儿的密切关系。

References:

[1] Zhao Y Z. Classification and eco-geographical distribution of *Caragana* in Nei Mongol. Acta Univ Intramongolicae (Nat. Sci.), 1991, 22(2):

264 －273.
[2] Wang H X, Hu Z A, Zhong M, *et al*. Morphological variations of *Caragana* population in the Maowusu sandy grass land. Acta Ecologica Sinica, 1994, 14(4): 366－371.
[3] Wang H X, Hu Z A, Zhong M, *et al*. Seed protein diversity of *Caragana* populations in Maowusu sandy grassland and its biological implication. Acta Ecologica Sinica, 1994, 14(4): 372－380.
[4] Ma C C, Gao Y B, Liu H F, *et al*. Interspecific transition among *Caragana microphylla*, *C. davazamcii* and *C. korshinskii* along geographic gradient Ⅰ. Ecological and RAPD evidence. Acta Botanica Sinica, 2003, 45 (10): 1218－1227.
[5] Clark, M S. Plant Molecular Biology, A Laboratory Manual. Berlin: Springer, 1997
[6] Nei M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. Proc Natl Acad Sci USA, 1973, 70: 3321－3323.
[7] Lewontin R C. The apportionment of human diversity. Evol Biol, 1972, 6:381－398.
[8] Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics, 1978, 89: 583－590.
[9] Lynch M, Milligan B G. Analysis of population genetic structure with RAPD markers. Molecular Ecology, 1994, 3: 91－99.
[10] Nybom H. Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants. Molecular Ecology, 2004, 13: 1143－1155.
[11] Skroch P W, Nienhuis J. Impact of scoring error and reproducibility of RAPD data on RAPD based estimates of genetic distance. Theoretical and Applied Genetics, 1995, 91: 1086－1091.
[12] Weising K, Nybom H, Wolff K, *et al*. DNA Fingerprinting in Plants and Fungi. Boca Raton, FL: CRC Press, 1995.
[13] Kimberling D N, Ferreira A R, Shuster S M, *et al*. RAPD marker estimation of genetic structure among isolated northern leopard frog populations in the south-western USA. Molecular Ecology, 1996, 5: 521－529.
[14] Bussell J D. The distribution of random amplified polymorphic DNA (RAPD) diversity amongst population of *Isotoma patraea* (Lobeliaceae). Molecular Ecology, 1999, 8: 775－789.
[15] Isabel N, Beaulieu J, Thèriault P, *et al*. Direct evidence for biased gene diversity estimates from dominant random amplified polymorphic DNA (RAPD) fingerprints. Molecular Ecology, 1999, 8: 477－483.
[16] Nybom H, Bartish I. Effects of life history traits and sampling strategies on genetic diversity estimates obtained with RAPD markers in plants. Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics, 2000, 3(2): 93－114.
[17] Wei W, Wang H X, Hu Z A, *et al*. Primary studies on molecular ecology of *Caragana* spp. populations distributed over Maowusu sandy grassland: from RAPD data. Acta Ecologica Sinica, 1999, 19(1): 16－22.
[18] Excoffier L, Smouse P E, Quattro J M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. Genetics, 1992, 131: 479－491.
[19] Qian W, Ge S. Analyses of population genetic structure by using dominant markers. Acta Genetica Sinica, 2001, 28(3): 244－255.
[20] Hamrick J L. The distribution of genetic variation within and among natural plant populations. In: Chambers C M and Schonewald-Cox S M eds. Genetics and Wild Population Management. New York: Addison-Wesley Press, 1983. 335－348.
[21] 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.
[22] Wang Z F, Wang B S, Li M G, *et al*. Molecular ecology of lower subtropical species, *Schima superba* and *Castanopsis chinensis* in three succession series communities. Acta Botanica Sinica, 2000, 42(10): 1082－1088.
[23] Hogbin P M, Peakall R. Evaluation of the contribution of genetic research to the management of the endangered plant *Zieria prostrate*. Conserv Biol, 1999, 13: 514－522.
[24] Nybom H. Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants. Molecular Ecology, 2004, 13: 1143－1155.
[25] Zhou Y G, Wang H X, Hu Z A. Seed protein polymorphism within individual plants and mating system. Acta Botanica Sinica, 2000, 42(9): 910－912.
[26] Ma C C, Gao Y B, Guo H Y, *et al*. Interspecific transition among *Caragana microphylla*, *C. davazamcii* and *C. korshinskii* along geographic gradient Ⅱ. Characteristics of photosynthesis and water metabolism. Acta Botanica Sinica, 2003, 45 (10):1228－1237.

参考文献：

[1] 赵一之. 内蒙古锦鸡儿属的分类及其生态地理分布. 内蒙古大学学报, 1991, 22(2): 264～273.
[2] 王洪新, 胡志昂, 钟敏, 等. 毛乌素沙地锦鸡儿种群形态变异. 生态学报, 1994, 14(4): 366～371.
[3] 王洪新, 胡志昂, 钟敏, 等. 毛乌素沙地锦鸡儿种群种子蛋白多样性及其生物学意义. 生态学报, 1994, 14(4): 372～380.
[17] 魏伟, 王洪新, 胡志昂, 等. 毛乌素沙地柠条群体分子生态学初步研究: RAPD 证据. 生态学报, 1999, 19(1): 16～22.
[19] 钱韦, 葛颂. 居群遗传结构研究中显性标记数据分析方法初探. 遗传学报, 2001, 28(3): 244～255.
[21] 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.
[25] 周永刚, 王洪新, 胡志昂. 植株内种子蛋白多样性与繁育系统. 植物学报, 2000, 42(9): 910～912.