

16-22
毛乌素沙地柠条群体分子生态学
初步研究: RAPD 证据* 2945.4.28
5783.302魏伟^② 王洪新^① 胡志昂^① 钟敏 恽锐 钱迎倩

(中国科学院植物研究所 北京 100093)

摘要 毛乌素沙地柠条群体是一个杂种带。为了进一步阐明分子变异和基因流与生境或生态过渡带的联系,应用 RAPD 标记开展了柠条群体的分子生态学研究。根据 RAPD 数据利用 Shannon 信息指数估计了 6 个柠条群体的遗传多样性,发现大部分的分子变异存在于柠条群体之内(82.4%),只有少部分的分子变异存在于群体之间(17.6%),又利用 Nei 指数统计了 RAPD 数据,也证实了大部分的遗传变异存在于群体之内。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。以上结果都肯定了柠条群体间和种间的基因流动。无论是从多态位点比率还是群体的遗传多样性来看,硬梁和硬梁夏沙群体是最小的,滩地夏沙群体则具有较高的水平。某些 RAPD 扩增片段的频率在柠条群体间有规律的变化也许具有着特殊的生态学意义,更可能是中性突变的随机固定。根据以上研究可以得出下列结论:①通过比较 Shannon 指数和 Nei 指数的统计结果,可以认为,对于异交植物来讲,Shannon 指数在统计 RAPD 数据方面有用,②毛乌素沙地柠条群体之间存在着强大的基因流,物种的杂交性与生态过渡性一致。

关键词 毛乌素沙地,生态过渡带, RAPD 标记,分子生态学,基因流, Shannon 指数, Nei 指数,柠条群体。

PRIMARY STUDIES ON MOLECULAR ECOLOGY OF
Caragana spp. POPULATIONS DISTRIBUTED OVER
MAOWUSU SANDY GRASSLAND: FROM RAPD DATA

WEI Wei WANG Hong-Xin HU Zhi-Ang ZHONG Min YUN Rui QIAN Ying-Qian

(Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100093, China)

Abstract To reveal the relationship between molecular variation, gene flow and the habitats, RAPD markers were used to study the molecular ecology of *Caragana* spp. populations in Maowusu sandy grassland. Estimated by Shannon phenotypic diversity index from RAPD data, it was found that 82.4% of molecular variation existed within the populations while 17.6% of which among populations. The genetic different coefficient and genetic distance between populations of *C. korshinskii* and of *C. intermedia* were small that gene flow between two species was confirmed. In the terms of the proportion of polymorphic loci and genetic diversity of populations, the population of hard ridge (PHR) and that on hard ridge

* 国家科委攀登资助项目。

野外工作中得到中国科学院植物研究所孔令韶、陈旭东、董学军及鄂尔多斯沙地草地实验站阿拉腾宝的支持与帮助,数据处理得到中国科学院植物研究所刘成刚的帮助,谨致谢忱。

收稿日期:1996-12-06,修改稿收到日期:1997-07-26。

① 通讯联系人; Author for correspondence. ② 现工作单位:中国农业大学生物技术室 北京100094。

with sand-covered (PHRS) had the lowest level, while the population on lowland with sand-covered (PLS) had the highest level. Frequencies of some amplified fragments regularly varied among populations especially between PHR, PHRS and PLS, which might have special sense in ecology, most likely, resulted from random fixation of neutral mutation. It could be concluded that: 1) Shannon phenotypic diversity index was useful in statistics of RAPD data for outbreeding plants, compared with Nei's index. 2) Strong gene flows existed among *Caragana* spp. populations in Maowusu sandy grassland. The hybrid zone was consistent with the ecotone.

Key words hybrid zone, ecotone, RAPD markers, molecular ecology, gene flow, Shannon index, Nei index, *Caragana* spp. populations.

自从《Molecular Ecology》杂志1992年问世以来,分子生态学受到越来越多的重视。一些分子标记特别是 RAPD 标记在分子生态学中有着广泛的应用^[1~3]。RAPD 标记在分子生态学中的应用主要集中在研究分类学上的同一属的不同种之间,同一种内的不同亚种之间以及同一种内不同无性系或群体之间分子的遗传变异,以及这些分子变异与其生境或生态学之间的联系^[4~6]。

毛乌素沙地是具有特殊地理景观的生态过渡带^[8]。柠条则是该地区常见的固沙植物。根据柠条群体的形态学及种子蛋白多态性的研究,可以认为该地区的柠条可能是小叶锦鸡儿(*Caragana microphylla*)和柠条锦鸡儿(*C. korshinskii*)的杂种带^[10,11]。为了在分子水平上探讨毛乌素沙地柠条群体的高度杂交性与生态过渡带的关系,阐明柠条群体可能存在的过渡性以及柠条群体分子变异与生境间的关系,本文应用 RAPD 标记初步研究了毛乌素沙地柠条群体的分子生态学特征。

1 材料和方法

1.1 野外取样

取样均在鄂尔多斯沙地草地生态站附近进行。选取生长在沙丘(population on sand dune, PSD, 编号7)、滩地覆沙(population on lowland with sand-covered, PLS, 编号2)、硬梁覆沙(population on hard ridge with sand-covered, PHRS, 编号4-1)、硬梁(population on hard ridge, PHR, 编号4-2)和软梁覆沙(population on soft ridge with sand-covered, PSR, 编号5)等典型景观上的柠条群体作为研究对象,来探讨生境对柠条基因频率的选择作用,并选取种子来自伊盟西北的柠条锦鸡儿(*C. korshinskii*)的人工纯林(俗称毛条群体, population of *C. korshinskii*, PCK, 编号6-2)作为对照来研究生态过渡带与柠条分子变异间的关系。由于本文与文献^[10,11]属于同一研究系列,所以各群体的取样和编号是一致的,生境条件及各群体的地理位置均见文献^[10]。随机取样,每群体9~13株,采集幼叶, -30℃贮存备用。

1.2 基因组 DNA 提取

采用 Doyle & Doyle 的方法^[12]提取叶子 DNA, 每株用量50mg 左右,得 DNA 1μg 左右,存于-20℃冰箱备用。

1.3 随机扩增引物

随机引物采用 Operon 公司生产的引物系列 H 和 D,选择能够获得稳定扩增产物的引物对各个群体的基因组 DNA 进行随机扩增。

1.4 随机扩增

参考 Williams 等^[13]的方法,并略加改动。本实验中,随机扩增及反应液的总体积25μl,包括100mM Tris-HCl(pH 8.3), 50mM KCl, 1.5mM MgCl₂, 0.001%(w/v)明胶, 100μM dATP, dCTP, dGTP, dTTP, 0.2μM 引物, 25ng 左右的基因组 DNA, 1.5单位的 Tag DNA 聚合酶,混匀后加1滴矿物油进行以下温度循环(45个): 94℃ 1min, 35℃ 1min, 72℃ 2min。

1.5 随机扩增产物的分离及显色

用作者实验室改良的方法^[14]进行聚丙烯酰胺凝胶电泳分离随机扩增产物的,银染检测。

1.6 RAPD 数据的统计方法

1.6.1 多态位点比率

多态位点比率是指其绝大多数等位基因的频率小于或等于0.99的位点所占比率。假设一个 RAPD 位点上有两个等位基因,用 Kongkiatngam 等的方法^[15]估测 RAPD 位点上的显、隐性等位基因频率,然后用 Shannon 指数和 Nei 指数估算群体的遗传结构参数。

1.6.2 Shannon 信息多样性指数

$$H = - \sum P_i \log_e P_i$$

P_i : 等位基因频率, H 可以估算两种水平的多样性: 群体内平均多样性 (H_{pop}) 和种内多样性 (H_p)。

1.6.3 Nei 的遗传分化指数

总群体的基因多样性 (H_T), 包括群体内基因多样性 (H_S) 和群体间基因多样性 (D_{ST}), 群体的基因分化系数: $G_{ST} = D_{ST} / H_T$, 群体间的遗传距离: $D = -\log_e I$ 或 $D = -\ln I$ 。

具体的计算方法详见文献^[16~18]。

2 结果与分析

2.1 柠条群体 RAPD 数据的统计分析

本实验共用引物5个,其序列如表1所示。由这5个引物获得的 RAPD 标记的重复性很好^①,说明实验中 RAPD 标记检测群体遗传多样性的可靠性和可信性。表2列出了5个引物检测柠条各群体 RAPD 位点数及多态位点比率。表中只统计2kb 以下的扩增片段,2kb 以上还有很多片段,但在本实验的条件下,这些带很集中,难以确定这些扩增片段是否有迁移率上的差别。5个引物在6个柠条群体中共检测出154个位点,其中153个是多态的,总的多态位点比率为0.994。硬梁群体由5个引物检测出的多态位点比率最小(0.796),软梁覆沙群体和滩地覆沙群体最大(分别为0.9143和0.9137)。按所检测的多态位点比率排列各群体顺序为:硬梁群体<沙丘群体<硬梁覆沙群体<毛条群体<滩地覆沙群体<软梁覆沙群体。

为了进一步研究柠条群体内及群体间的变异以及这些分子变异与生境的联系,应用 Shannon 指数和 Nei 的遗传分化指数估算了群体的遗传多样性。

2.1.1 Shannon 多样性指数 根据统计结果,硬梁群体的遗传多样性最低(16.112,表3),滩地覆沙群体最高(17.671)按顺序排列如下:硬梁群体<硬梁覆沙群体<沙丘群体<软梁覆沙群体<毛条群体<滩地覆沙群体。柠条群体内和群体间遗传多样性所占比例分别为82.4%和17.6%(表3),遗传变异大部分存在于群体之内。有的引物甚至检测出只有9.3%的遗传变异存在于群体间。

2.1.2 Nei 的遗传分化指数 仍用估测等位基因频率,根据 Nei 的遗传分化指数估算柠条群体分子变异。由 Nei 指数估算各引物检测到的基因多

表1 实验中所用到的随机引物序列

Table 1 Sequences of five arbitrary primers (Operon) used to generate RAPD markers in *Caragana* spp.

引物 Primer	序列 Sequence
OPH04	5'-GGAAGTCGCC-3'
OPH05	5'-AGTCGTCCCC-3'
OPH18	5'-GAATCGGCCA-3'
OPH19	5'-CTGACCAGCC-3'
OPD20	5'-ACCCGGTCAC-3'

样性中(表4),硬梁群体最低(0.233),滩地覆沙群体最高(0.262)。5个引物所检测出的各群体基因多样性按顺序排列如下:硬梁群体<硬梁覆沙群体<沙丘群体<软梁覆沙<毛条群体<滩地覆沙群体。

根据 Nei 指数计算的6个柠条群体间的遗传分化系数为0.0403,即群体间的分子变异只占群体总的基因多样性的4.03%。大部分的遗传变异(95.97%)存在于群体之内(表4)。表5是6个柠条群体间的遗传距离矩阵。各群体间的遗传距离从0.0534到0.0949不等,平均为0.0707±0.0107,硬梁覆沙群体和硬梁群体与

① 魏伟等,1996,检测柠条群体遗传多样性时 RAPD 标记的重复性,见:生物多样性与人类未来(第二届全国生物多样性保护与持续利用研讨会论文摘要集)。

滩地覆沙群体间的遗传距离较大,分别为0.0778和0.0781。

2.2 各群体 RAPD 表型频率的变化

表2 各引物检测柠条群体多态位点的数量(括弧里是多态位点的比率)

Table 2 Polymorphic loci detected with five primers for six populations of *Caragana* spp. (proportion of polymorphic loci)

引物 Primer	毛条群体 PCK	沙丘群体 PSD	软梁覆沙群体 PSR	硬梁覆沙群体 PHRS	硬梁群体 PHR	滩地覆沙群体 PLS	总的多态位点 Total loci
OPH04	24(0.923)	22(0.88)	24(0.923)	24(0.923)	22(0.846)	25(0.962)	28(1.0)
OPH05	27(0.9)	27(0.9)	26(0.897)	27(0.9)	23(0.821)	26(0.867)	29(0.967)
OPH18	28(0.933)	23(0.885)	24(0.923)	26(0.929)	24(0.828)	29(0.935)	31(1.0)
OPH19	24(0.774)	24(0.828)	30(0.938)	24(0.85)	19(0.704)	26(0.929)	34(1.0)
OPD20	26(0.929)	23(0.821)	24(0.889)	23(0.821)	21(0.778)	21(0.875)	31(1.0)
总的位点数 Total loci (总多态位 点比率)	129(0.89)	119(0.862)	128(0.914)	124(0.886)	109(0.796)	127(0.9137)	153(0.994)

表3 由 Shannon 信息指数估计的柠条各群体的遗传多样性

Table 3 Genetic diversity for *Caragana* spp. populations estimated by Shannon diversity index

引物 Primer	OPH04	OPH05	OPH18	OPH19	OPD20	平均 Mean
毛条群体 PCK	16.503	18.971	19.146	14.822	17.522	17.393
沙丘群体 PSD	14.088	19.195	16.252	17.875	16.399	16.760
软梁覆沙群体 PSR	16.802	18.367	15.255	17.685	18.635	17.349
硬梁覆沙群体 PHRS	13.735	18.094	15.743	17.685	16.048	16.358
硬梁群体 PHR	14.540	17.419	17.591	16.684	14.326	16.112
滩地覆沙群体 PLS	17.976	18.128	19.397	16.844	16.010	17.671
群体内遗传多样性 H_{pop}	15.665	18.387	17.289	16.844	16.590	16.955
总群体的遗传多样性 H_{sp}	18.291	20.267	20.628	23.073	21.087	20.669
群体内遗传多样性比率 H_{pop}/H_{sp}	0.856	0.907	0.838	0.730	0.787	0.824
群体间遗传多样性比率 $(H_{sp}-H_{pop})/H_{sp}$	0.144	0.093	0.162	0.270	0.213	0.176

表4 由 Nei 指数估算的群体的基因多样性

Table 4 Gene diversity for six populations of *Caragana* spp. estimated by Nei's index

引物 Primer	OPH04	OPH05	OPH18	OPH19	OPD20	平均 Mean
毛条群体 PCK	0.264	0.283	0.281	0.194	0.262	0.257
沙丘群体 PSD	0.220	0.288	0.239	0.239	0.242	0.246
软梁覆沙群体 PSR	0.273	0.274	0.216	0.239	0.277	0.256
硬梁覆沙群体 PHRS	0.208	0.268	0.223	0.237	0.243	0.236
硬梁群体 PHR	0.229	0.259	0.252	0.224	0.203	0.233
滩地覆沙群体 PLS	0.292	0.272	0.281	0.224	0.241	0.262
群体内基因多样性 H_s	0.247	0.275	0.249	0.225	0.246	0.248
总的基因多样性 H_T	0.288	0.303	0.297	0.307	0.309	0.301
群体间基因多样性 D_{ST}	0.0415	0.0283	0.0475	0.0819	0.0629	0.0524
遗传分化系数 $G_{ST}(\pm SE)$	0.0322	0.0217	0.0336	0.0627	0.0481	0.0403 $\pm$ 0.0157

表5 6个柠条群体间的遗传距离矩阵

Table 5 Matrix based on genetic distance for six *Caragana* spp. populations

	PCK	PSD	PSR	PHRS	PHR	PLS
毛条群体(PCK)	0					
沙丘群体(PSD)	0.0628	0				
软梁覆沙群体(PSR)	0.0661	0.0677	0			
硬梁覆沙群体(PHRS)	0.0762	0.0798	0.0571	0		
硬梁群体(PHR)	0.0631	0.0617	0.0797	0.0949	0	
滩地覆沙群体(PLS)	0.0708	0.0697	0.0534	0.0788	0.0781	0

随机扩增后电泳、银染后的 RAPD 谱上一些位点的表型频率的变化在各群体之间是有规律可循的。这6个柠条群体的 RAPD 谱之间具有着共同的扩增片段以及在柠条锦鸡儿群体和中间锦鸡儿群体之间存在差异的扩增片段(表6)。在中间锦鸡儿各群体之间,也有一些扩增片段的频率有规律的变化。这些群体的生境是有一定梯度的,硬梁的基质是侏罗纪或白垩纪粉红色、灰绿色砂层,土壤层较薄,地下水位较深(>10m);硬梁覆沙由硬梁经覆沙后形成,覆沙能够防止水分蒸发利于植物生长;软梁的基质是第3系或第4系冲击或洪积物,地下水位较高(6.5m),覆沙后形成软梁覆沙;滩地覆沙则是在湿滩地上覆沙形成,地下水位较高(2~5m),水分条件较好^[19]。由于硬梁和硬梁覆沙与滩地覆沙之间有着水分和基质的差异,而且其上分布的中间锦鸡儿群体之间的遗传距离也较大,所以本文在讨论 RAPD 表型频率在5个中间锦鸡儿群体间的规律变化时,着重分析了在硬梁群体和硬梁覆沙群体与滩地覆沙群体之间有差异的扩增片段(表7)。

表6 6个柠条群体共同具有的扩增片段以及柠条锦鸡儿与中间锦鸡儿之间有差异的扩增片段

Table 6 The applification fragments shared among six *Caragana* spp. populations and the fragments differed between *C. korshinskii* population and *C. intermedia* population

	共有的扩增片段 Shared fragments			差异的扩增片段 Differed fragments		
	OPH05	OPD20	OPH04	OPH04	OPH19	
	C220	C2027	C2000	C1940	C525	C465
柠条锦鸡儿群体 ^①	1.0	1.0	1.0	0.90	0.17	0.25
中间锦鸡儿群体 ^②						
沙丘群体 ^③	1.0	1.0	1.0	0.27	0.09	0.09
软梁覆沙群体 ^④	1.0	1.0	1.0	0.5	0	0
硬梁覆沙群体 ^⑤	1.0	0.92	1.0	0.17	0	0
硬梁群体 ^⑥	1.0	1.0	1.0	0.33	0	0
滩地覆沙群体 ^⑦	1.0	1.0	0.92	0.38	0	0

① PCK, ② Populations of *C. intermedia*, ③ PSD, ④ PSR, ⑤ PHRS, ⑥ PHR, ⑦ PLS

表7 扩增片段频率在5个中间锦鸡儿群体间的变化

Table 7 Frequencies of special fragments varying among *C. intermedia* populations

	OPH04		OPH05		OPH19		OPD20	
	C670	C1240	C870	C670	C350	C330	C320	C280
滩地覆沙群体 PLS	0.38	0	0.08	0	0.42	0	0	0.17
沙丘群体 PSD	0.73	0.11	0.09	0	0.73	0	0.18	0.91
软梁覆沙群体 PSR	0.7	0.1	0.1	0.1	0.6	0	0.4	0.8
硬梁覆沙群体 PHRS	0.83	0.33	0.25	0.09	0.82	0.25	0.42	0.75
硬梁群体 PHR	1.0	0.22	0.44	0.44	1.0	0.11	0.67	1.0

从表7可以看出,有的扩增片段不存在于滩地覆沙群体中,却存在于硬梁和硬梁覆沙群体中(如 OPD20-C320),或存在于所有其它柠条群体(如 OPD20-C320和 OPH04-C1240)。有的扩增片段的滩地覆沙

群体中有较低的频率,如 OPD20-C280在滩地覆沙群体中的表型频率为0.17,而在其它柠条群体中的表型频率均大于0.75,甚至在硬梁群体中达到1.0。

3 讨论

3.1 由于柠条的杂交性倾向很明显^[10,11],所以 RAPD 谱中一条扩增产物的存在并不能区别与之相关的位点是纯合的还是杂合的,需要确定位点的杂合性时,就必须借助另外的实验手段来补充检验,这不是本文所能解决的问题。本文只能根据 Kongkiangam 等^[15]的方法估算等位基因的频率。结果表明 Nei 指数和 Shannon 指数估算的柠条各群体的遗传多样性的大小顺序相同,并且由这两个指数估测的群体间群体内遗传变异的分布是一致的。但是由 Nei 指数估算的群体间遗传多样性占4.03%(表4),与 Shannon 指数估算的17.6%相去很多。这可能是因为 Nei 指数的计算需要严格的显、隐性等位基因的频率。而 Shannon 指数就不同了,虽然说 Shannon 表型多样性指数较 Nei 指数来说缺乏生物学意义,但正是由于它没有很明确的生物学意义从而在一定程度上避免了对 RAPD 扩增位点显隐性的讨论。所以对于异交植物来讲,应用 Shannon 信息指数估算遗传多样性是可行的。

3.2 无论是 Nei 指数还是 Shannon 指数统计 RAPD 数据的结果都显示出大量的分子变异存在于柠条群体之内,只有少量的分子变异存在于群体之间(表3和表4),说明6个柠条群体之间具有很相似的基因频率。梅里尔认为,如果邻近群体有相似的基因频率,可能只是表明它们具有相同的选择压力而并不能证明有基因流动^[20]。本文所选的生境是比较有代表性的,从硬梁到硬梁覆沙,然后是软梁覆沙和沙丘,最后是滩地覆沙。这5个生境是一定梯度的,硬梁的水分和基质条件最差,滩地覆沙最好,生境选择压力相同的可能性很小。柠条形态学、种子蛋白的研究^[10,11]以及同工酶的研究^⑤都认为群体之间具有强大的基因流动。

从群体之间的遗传距离上也说明问题。柠条锦鸡儿和中间锦鸡儿在分类学上本应是两个种,但是柠条锦鸡儿群体(PCK)与中间锦鸡儿每个群体间遗传距离最大的是0.0762,最小的只有0.0628,后者比中间锦鸡儿群体之间的遗传距离都小(表5)。另外,柠条锦鸡儿群体与中间锦鸡儿群体之间遗传分化系数为0.0287(限于篇幅,该数据没有给出),也要小于6个群体间的遗传分化系数(0.0403),说明在分类学上两个不同种之间也存在明显而强大的基因流动。这也许是生态过渡带物种分子变异的重要特征。

3.3 硬梁和硬梁覆沙群体与滩地覆沙群体间的遗传距离都较大(分别为0.0781和0.0788,表5),一种可能是由于生境选择的压力,硬梁群体和硬梁覆沙群体与滩地覆沙群体在遗传上产生了较大的分子变异,某些扩增片段的频率在这些群体中的变化(表7)也说明了这个问题,例如扩增片段 OPD20-C280的表型频率在滩地覆沙群体中为0.17,而在其它所有群体中的频率均大于0.75,在硬梁群体中为1.0;又如片段 OPD20-C320在滩地覆沙群体不存在,而在硬梁和硬梁覆沙群体中以较高的频率存在。另一种可能解释是繁育系统变化的结果,与选择无关。根据周永刚的研究,发现滩地覆沙群体的异交率100%,而硬梁群体的异交率较低(53%),随着生境变旱,异交率降低。近交导致个别基因在群体中的固定,而一定程度的外交则可能导致个别基因的扩散。这同样能够解释表7中一些扩增片段的表型频率总是在硬梁和硬梁覆沙群体中以较高频率存在,而在滩地覆沙群体中以较低频率存在甚至为零。

3.4 硬梁和硬梁覆沙群体由 RAPD 标记检测的 DNA 多态性位点比率最低(分别为79.6%和88.6%表2),滩地覆沙群体的 DNA 多态位点比率则较高(91.37%,表2),仅低于软梁覆沙群体的(91.4%)。而根据群体遗传多样性的检测结果,无论是 Shannon 指数还是 Nei 指数,都是滩地覆沙群体的最高,硬梁和硬梁覆沙群体的最低。一般认为较高的遗传变异能够较从容地应付环境的变化和选择。

3.5 根据以上研究结果,可以认为毛乌素沙地柠条群体间强大的基因流可能与其生境的过渡性和群体的异交性有关。但是得出这个结论的研究对象——5个典型景观上的柠条群体都选自这个生态过渡带内,似乎不足以说明群体异交性与生态过渡性间的联系。然而,根据陈旭东的研究结果^④,水分是鄂尔多斯高原生

⑤ 周永刚,1997,柠条同工酶、种子蛋白的遗传分析和繁育系统(硕士毕业论文),中国科学院植物研究所。

④ 陈旭东,1996,鄂尔多斯高原生物多样性的研究(博士毕业论文),中国科学院植物研究所。

态系统的最大限制因子,降雨是生物群区转换即生态过渡带的最大驱动因子,生物群区发展的最大限制因子是水分,锦鸡儿属植物在水分梯度上的物种替代较为明显。而硬梁、硬梁覆沙、软梁覆沙和滩地覆沙几个景观或生境是有一定水分梯度的,以这个小尺度来研究大尺度是一种尝试,也是合理的。进一步的工作将是选择一个合适的水分梯度,研究和对照包括典型草原区、典型荒漠区及过渡带的几种锦鸡儿植物在分子水平上与生境的联系,也许能从更大的尺度和更深的层次上理解生态过渡性与植物物种遗传结构过渡性的联系。

参 考 文 献

- 1 Bachmann K. Tansley review no. 63—Molecular markers in plant ecology. *New Phytol*, 1994, **126**: 403~418
- 2 Burke T, Rainy WE and White TJ. Molecular variation and ecological problems. In Berry RJ *et al* (ed.) *Genes in Ecology*, Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1992. 229~254
- 3 Hadrys H, Blick M and Schierwater B. Application of random amplified polymorphic DNA (RAPD) in molecular ecology. *Molecular Ecology*, 1992, **1**: 55~63
- 4 Dawson IK, Chalmers KT and Waugh R, *et al*. Detection and analysis of genetic of genetic variation in *Hordeum spontaneum* population from Israel using RAPD markers. *Molecular Ecology*, 1993, **2**: 151~159
- 5 Bucci G and Menozzi P. Segregation analysis of random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers in *Picea abies* Karst. *Molecular Ecology*, 1993, **2**: 227~232
- 6 王洪新, 胡志昂, 钟 敏, 等. 盐渍条件下野大豆群体的遗传分化和生理适应: 同工酶和随机扩增多态 DNA 研究. *植物学报*, 1997, **39**: 29~34
- 7 恽 锐, 钟 敏, 王洪新, 等. 北京东灵山辽东栎种群 DNA 多样性的研究. *植物学报*, 1998, **40**: 169~175
- 8 Keil M and Griffin AP. Use of random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers in the discrimination and verification of genotypes in *Eucalyptus*. *Theor. Appl. Genet.* 1994, **89**: 442~450
- 9 张新时. 毛乌素沙地的生态背景及其草地建设的原则与优化模式. *植物生态学报*, 1994, **18**(1): 1~16
- 10 王洪新, 胡志昂, 钟 敏等. 毛乌素沙地锦鸡儿 (*Caragana*) 种群形态变异. *生态学报*, 1994, **14**(4): 366~371
- 11 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
- 12 Doyle JJ & Doyle JL. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 1990, **12**(1): 13~15
- 13 Williams JGK, Hanafey MK and Rafalski JA, *et al*. Genetic analysis using random amplified polymorphic DNA markers. *Methods in Enzymology*, 1993, **218**: 704~740
- 14 胡志昂, 恽 锐, 钟 敏, 等. 检测植物 DNA 扩增多态性方法的比较和改进. *植物学报*, 1997, **39**: 138~144
- 15 Kongkiatngam P, Waterway M J, Fortin M G, *et al*. Genetic variation within and between two cultivars of red clover (*Trifolium pratense* L.). Comparisons of morphological, isozyme, and RAPD markers. *Euphytica*, 1995, **84**: 237~246
- 16 Lewontin RC. The apportionment of human diversity. In Dobzhansky T ed. *Evolutionary Biology*. Appleton Century Crofts, New York, 1972. **6**: 381~398
- 17 Nei M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1973, **70**: 3321~3323
- 18 Nei M. *Molecular population genetics and evolution*. North Holland Publishing Company, 1975
- 19 陈仲新, 谢海生. 毛乌素沙地景观生态类型与灌丛生物多样性初步研究. *生态学报*, 1994, **14**(4): 345~354
- 20 梅里尔 DJ 著. 黄瑞复等译. *生态遗传学*. 北京: 科学出版社, 1991