

匍匐茎草本植物蛇莓小尺度克隆结构

李钧敏*, 金则新

(台州学院生态研究所, 临海 317000)

摘要:采用 ISSR 分子标记技术比较分析了 3 个斑块匍匐茎草本植物蛇莓的遗传多样性、克隆多样性和克隆结构, 探讨蛇莓克隆结构的形成机制及与环境的相关性。结果表明蛇莓的遗传多样性较低, 多态位点百分率 P 为 37.93%, Shannon 信息指数 I 为 0.2402, Nei 指数 h 为 0.1677; 蛇莓的克隆多样性与其它克隆植物较为接近, 基因型比率 $G/N=0.2013$, Simpson 多样性指数 D 为 0.6396, 基因型分布的均匀度 E 为 0.5862; 蛇莓的遗传变异大部分存在于斑块间, 基因流较小, 仅为 0.1019。3 个斑块蛇莓的遗传多样性以临海斑块 (LH) 最高 ($P=10.34\%$, $I=0.0513$, $h=0.0344$), 安吉斑块 (AJ) 次之 ($P=10.34\%$, $I=0.0443$, $h=0.027$), 而天台斑块 (TT) 最低 ($P=5.17\%$, $I=0.0325$, $h=0.0227$)。基株数目、基因型比率、Simpson 多样性指数和基因型分布的均匀度均表明克隆多样性以 LH 斑块最大 ($G=12$, $G/N=0.3077$, $D=0.8677$, $E=0.8380$), AJ 斑块次之 ($G=9$, $G/N=0.1800$, $D=0.5870$, $E=0.4753$), TT 斑块最低 ($G=5$, $G/N=0.1163$, $D=0.4642$, $E=0.4453$)。3 个斑块中均存在优势克隆, 但优势克隆的大小在 3 个斑块中均不相同, 以 LH 斑块最小, AJ 斑块次之, TT 斑块最大。空间自相关分析显示 LH 斑块在 20 cm 和 40 cm 时存在显著性正相关, 其 X 轴截矩为 49.959; AJ 斑块仅在 20 cm 时存在显著性正相关, 其 X 轴截矩为 63.333; TT 斑块在 20 cm、30 cm、40 cm 和 70 cm 时均存在显著性正相关, 其 X -轴截矩高达 90.512。这表明 3 个不同斑块内蛇莓基因型的空间分布距离不同, TT 斑块最大, AJ 斑块最小; 克隆所能到达的距离也不同, TT 斑块最大, LH 斑块最小。3 个不同斑块蛇莓的遗传多样性、克隆多样性与克隆结构具有明显的差异。蛇莓的遗传多样性与克隆多样性与蛇莓较强的克隆繁殖能力和较低的种子萌发率有关。蛇莓的遗传结构、克隆结构及克隆的空间分布格局与不同斑块所处生境的生态因子及其它因素 (如干扰、演替和突变) 有关。

关键词: 蛇莓; 克隆多样性; 克隆结构; ISSR

文章编号: 1000-0933(2009)07-3540-09 中图分类号: Q948.1 文献标识码: A

Fine-scale clonal structure of the stoloniferous herb *Duchesnea indica*

LI Jun-Min*, JIN Ze-Xin

Institute of Ecology, Taizhou University, Linhai 317000, China

Acta Ecologica Sinica, 2009, 29(7): 3540 ~ 3548.

Abstract: Genetic diversity, clonal diversity and clonal structure within the patches of the stoloniferous herb *Duchesnea indica* Focke were analyzed using inter-simple sequence repeat (ISSR) techniques. The relationship between clonal structure and habitat conditions was also studied to elucidate how clonal structure of *D. indica* was established. Genetic diversity of *D. indica* was relatively low; percentage of polymorphic loci (P) 37.93%, Shannon informative index (I) 0.2402, and Nei's gene index (h) 0.1677. Clonal diversity of *D. indica* was similar to that of other clonal plant species. The proportion of distinguishable genotypes (G/N) was 0.2013, Simpson's diversity index (D) 0.6396 and genotypic evenness (E) 0.5862. Both genetic diversity and clonal diversity of *D. indica* were the highest within the patch in Linhai City (LH), lowest within the patch in Tiantai City (TT), and intermediate within the patch in Anju City (AJ). Dominant clones were found in all three patches, but their size was the largest in the TT path, smallest in the LH patch and intermediate in the AJ patch. Spatial autocorrelation analysis showed that in the LH patch the autocorrelation coefficient was

基金项目: 浙江省自然科学基金资助项目 (Y505331)

收稿日期: 2008-11-30; 修订日期: 2009-03-03

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: lijm@tzc.edu.cn

significantly positive at distances of 20 cm and 40 cm with an X -intercept of 49.959. In the AJ patch the correlation value was significantly positive at 20 cm with an x -intercept of 63.333 and in the TT patch it is positive and significant at 20 cm, 30 cm, 40 cm and 70 cm, respectively, with an X -intercept of 90.512. This indicates that the spatial autocorrelation scale of the genotype was highest within the TT patch, lowest in the AJ patch, and that the average length of genetic patches was the largest in the TT patch and smallest in the LH patch. The genetic diversity, clonal diversity and clonal structure of *D. indica* in three different patches were significantly different, which might be due to vegetative spreading and also the low seed germination rate. The ecological factors, together with others such as disturbance, succession and mutation, might have played important roles in the formation of the genetic structure, clonal structure and spatial distribution patterns.

Key Words: *Duchesnea indica* Focke; clonal diversity; clonal structure; ISSR

克隆植物能够在生境内通过克隆生长产生多个遗传一致的植株,即克隆分株或无性系分株,从而占据相当大的水平空间^[1]。对克隆植物种群内的基株数目、克隆多样性和空间结构的评估是研究克隆植物的重要内容之一^[2,3]。生物生境的基本属性之一是异质性^[4,5]。环境因子如光照、水分、海拔等的异质性均可以影响克隆生长植物在空间的分布格局^[1,6-8]。在长期进化过程中,植物种群的克隆结构及克隆多样性是种群进化过程中适应环境的结果,深入研究种群的克隆结构及克隆多样性是了解克隆植物种群的形成、维持和衰退机制的重要方面,同时对研究植物定居、侵殖和演替的机理也具有重要意义^[9]。

近年来,由于 PCR 技术的快速发展,基于 PCR 的 DNA 分子标记技术,如简单重复序列区间(inter-simple sequence repeat, ISSR)^[10,11]、随机扩增多态 DNA(random amplified polymorphic DNA, RAPD)^[12-15]、扩增片段长度多态性(amplified fragments length polymorphic, AFLP)^[16]、(简单重复序列(Simple sequence repeat, SSR)^[17,18],由于它们强大的多态性,可以揭示基因组水平的遗传变异,已在克隆植物的鉴定中发挥了强大的作用^[19],从而被广泛地用于克隆植物的克隆多样性及居群遗传结构的研究^[10,11,14,15,18]。Vaughan 等^[17]利用 SSR 分子标记技术分析了甜樱桃(*Prunus avium*)的克隆结构,分析了体细胞突变、天然干扰、林地经营、有性与无性幼苗再生在克隆结构形成中的作用,揭示了甜樱桃种群遗传结构形成的机制。Honnay 等^[16]利用 AFLP 分子标记技术分析了多年生二叶舞鹤草(*Maianthemum bifolium*)的遗传结构,发现长期的克隆生长及幼苗再生的缺乏可以影响植物的有性繁殖能力及种群内和种群间的遗传结构,从而揭示了异交的林下物种种群遗传结构的形成机制。

目前,已有不少研究关注克隆植物的基株与分株结构^[16,20-23],但是,对克隆植物所处的生境与克隆结构之间的相关性的研究很少^[13]。一些研究发现植物的克隆结构与环境密切相关,如,Shimizu 等^[13]利用 RAPD 技术分析了不同坡度的日本柳杉(*Cryptomeria Japonica*)天然种群的克隆结构,发现高坡的日本柳杉天然种群具有较高的幼苗反复更新,从而比矮坡种群具有高的克隆多样性。但是也有研究发现克隆植物的克隆结构与环境无关,如,Pluess 和 Stöcklin^[12]利用 RAPD 技术分析了蔷薇科(Rosaceae)的 *Geum reptans* 的克隆结构,发现与海拔无关。

蛇莓(*Duchesnea indica* Focke)是蔷薇科(Rosaceae)蛇莓属(*Duchesnea*)的多年生草本植物,常生长在亚热带林缘和疏林下^[24]。该植物通过产生地上匍匐茎表现出克隆生长习性。当实生苗生长一定时间后,其节间极度缩短的直立茎节上的一个或多个侧芽开始形成匍匐茎;匍匐茎在横向生长一段时间后,其顶芽转向向上形成节间极度缩短的直立茎,直立茎基部产生许多不定根,从而形成分株。此过程不断重复,形成具有合轴分枝型的地面匍匐茎网络系统^[1]。研究发现,蛇莓的克隆构型可随着海拔、湿度、光照的影响而发生明显的改变^[6-8]。由此推测,蛇莓的克隆结构可以随着生境的不同而发生明显的改变,并且这种变化与其对环境的强大适应能力有关。本文利用 ISSR 分子标记技术分析 3 个不同生境下蛇莓斑块的克隆多样性,采用空间自相关分析不同生境蛇莓的克隆空间结构,以阐明以下两个科学问题:(1)不同生境下蛇莓克隆结构是否存在差异?(2)克隆生长在蛇莓种群遗传结构形成中的作用机制。本文的研究结果有助于阐明蛇莓在不同生境中

生长、繁衍和维持机制,对于进一步了解克隆植物的生态适应机理具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 实验材料

于2008年6月分别在浙江省临海市、天台县、安吉县采集3个不同生境的蛇莓斑块,各斑块的基本情况见表1。将各斑块划分成20cm×20cm的连续正方形,对每个点上的个体进行定位,记录空间坐标(x, y) (图2)。每株取其健康幼嫩叶片放入装有硅胶的密封袋中干燥保存备用。

表1 不同蛇莓斑块的生境概况
Table 1 The conditions of the different patches of *D. indica*

斑块 Patch	产地 Locality	地理位置 Geographical location	生境 Habitat	斑块大小 Size of patch	分株数量 The number of ramets
LH	浙江省临海市 Linhai City, Zhejiang Province	28°84' N, 121°11'E	绿化带 Virescence belt	80cm×160cm	160
AJ	浙江省安吉县 Anju County, Zhejiang Province	30°68' N, 119°68'E	弃耕地 Abandoned field	160cm×120cm	220
TT	浙江省天台县 Tiantai County, Zhejiang Province	29°10' N, 120°59'E	林缘 Forest edge	80cm×200cm	180

1.2 研究方法

1.2.1 DNA 提取和定量

采用改进的SDS法^[25]提取总DNA。DNA经0.8%琼脂糖凝胶电泳分析,用GIS凝胶成像分析系统(上海天能科技服务公司)拍照定量,并稀释成终浓度为10 ng/μl, -20℃保存备用。

1.2.2 ISSR 扩增及产物鉴定

ISSR引物是根据加拿大哥伦比亚大学(University of British Columbia, Set No. 9, No. 801-900)公布的序列,由上海生工生物工程公司合成。扩增反应在PTC-220热循环仪(美国伯乐公司)中进行。经过测试镁离子浓度、dNTP浓度、模板DNA含量、引物浓度、DNA聚合酶用量、牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)对ISSR反应结果的影响后,确定了最适的ISSR扩增反应条件为:10 μl PCR反应体积,1(Taq酶配套缓冲液(10mmol/L Tris·HCl pH 9.0, 50 mmol/L KCl, 0.1% Triton X-100), 1.5mmol/L MgCl₂, 0.5U Taq酶(上海华美公司), 10ng模板DNA, 6 pmol引物(上海Sangon公司); dATP、dCTP、dGTP、dTTP各0.15mmol/L, 2 mg/mL BSA。采用touch-down PCR扩增程序:94℃预变性5 min; 94℃变性30s, 57℃退火1 min, 72℃延伸1.5min, 每个循环下降0.5℃, 共10个循环; 94℃变性30s, 52℃退火1 min, 72℃延伸1.5min, 共25个循环; 72℃完全延伸5 min。扩增产物在1.4%的琼脂糖凝胶(含0.5 μg·mL⁻¹溴化乙锭)中电泳,电泳缓冲液为0.5×TBE,用GIS凝胶成像分析系统(上海天能科技服务公司)拍照保存。用200 bp DNA梯度(上海华美公司)做分子量标记。阴性对照加入除模板DNA外的以上各成分,用双蒸水代替总DNA。从100个引物中筛选出在3个蛇莓居群中均可扩增出清晰条带,能分辨不同克隆,且条带不弥散,不模糊,重复性好,同时阴性对照中无带的8个引物作为正式扩增的ISSR扩增引物(表2)。

1.2.3 数据统计与分析

对照反应产物在凝胶上的对应位置,有带记为“1”,无带记为“0”,得到ISSR分析的原始数据矩阵。采用POPGEN32软件^[26]计算多态位点百分率($P\%$)、Shannon信息指数(I)和Nei指数(h)用来估算基因多样性。根据基因频率矩阵,利用POPGEN32软件计算遗传分化系数(G_{ST}),并估算基因流。利用WINAMOVA 1.5软件^[27]进行分子方差分析,计算变

表2 ISSR 分析用的8个引物序列

Table 2 Sequences of 8 primers used in ISSR analysis			
引物 Primers	序列 Sequences	引物 Primers	序列 Sequences
UBC807	(AG)8T	UBC823	(TC)8C
UBC808	(AG)8C	UBC825	(AC)8T
UBC809	(AG)8A	UBC841	(GA)8YC
UBC812	(GA)8A	UBC842	(GA)8YG

异的方差分布。

采用以下 4 个参数估算克隆多样性:(1) 种群中基因型(基株)总数(G),将全部位点基因型相同的植株视为来自同一基株,居群中基株总数即为 G ;(2) 平均克隆尺度($N_c = N/G$),其中 N 是居群中所有个体(分株)总数;(3) 基因型比率(G/N)^[19];(4) Simpson 多样性指数(D), $D = 1 - \sum [N_i(N_i - 1)/N(N - 1)]$ ^[28], N_i 为居群内第 i 种基因型的总数;(5) 基因型分布的均匀度(E), $E = (D - D_{\min})/(D_{\max} - D_{\min})$ ^[29],其中 $D_{\min} = [(G - 1)(2N - G)]/[N(N - 1)]$, $D_{\max} = [(G - 1)N]/[G(N - 1)]$ 。对每个基株的空间分布进行定位,同时采用 GenALEx 6 软件^[30]计算每个基因型与空间位置的空间自相关系数(r),以分析斑块内克隆的小尺度空间分布格局^[31]。

2 结果与分析

2.1 遗传多样性

利用 8 个 ISSR 引物对 3 个蛇莓斑块共 132 个个体的 DNA 样品进行了 ISSR 分析,每个引物均能扩增出清晰的可重复的条带,其中引物 UBC825 对 LH 蛇莓居群的 24 个个体的 DNA 样品扩增结果见图 1。12 个引物共扩增出 132 条带,其中有 22 个条带为多态条带,占 37.93%。Shannon 信息指数(I)和 Nei 基因多样性(h)也揭示 3 个斑块蛇莓的遗传多样性较低,分别为 0.2402 和 0.1677。多态位点百分率显示:LH 与 AJ 斑块的遗传多样性一致,均为 10.34%,TT 斑块最低,为 5.17%。而 Shannon 信息指数(I)和 Nei 基因多样性(h)揭示:LH 斑块最高,分别为 0.0513 和 0.0344;AJ 斑块次之,分别是 0.0443 和 0.0277,而 TT 斑块最低,分别是 0.0325 和 0.0227。3 个斑块之间存在明显的遗传分化,AMOVA 分析显示 87.68% 的变异存在于斑块间,而仅 12.32% 的变异存在于斑块内,由 G_{ST} 估算的基因流仅为 0.1019。

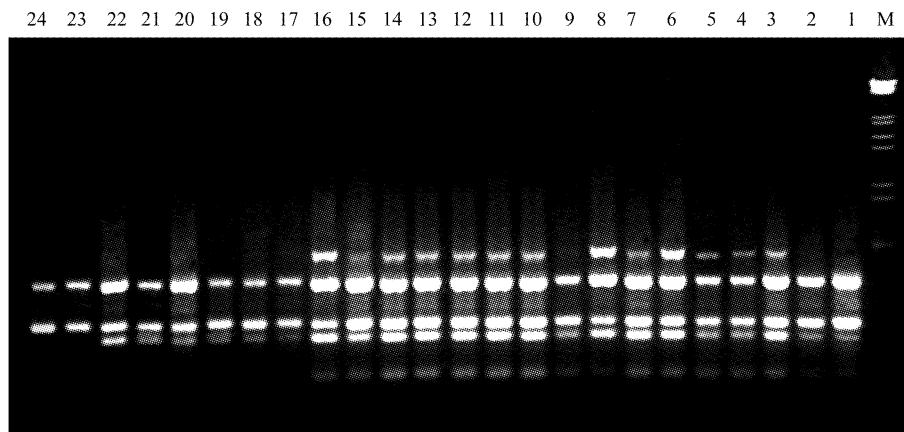


图 1 LH 斑块蛇莓 ISSR 扩增结果(引物 UBC 825)

Fig. 1 The ISSR amplification results of *D. indica* in LH patch (primer UBC 825)

2.2 克隆多样性

不同蛇莓斑块的克隆多样性指数如表 3 所示。基株数目以 LH 斑块最多,AJ 次之,TT 最低(图 2);每个基因型平均拥有的分株数目以 LH 斑块最少,AJ 斑块次之,TT 斑块最多;基因型比率、Simpson 多样性指数和基因型分布的均匀度均表明克隆多样性以 LH 斑块最大,AJ 斑块次之,TT 斑块最低。由图 2 可知,3 个蛇莓斑块均由多克隆组成,LH 斑块的克隆数目较多,但组成克隆的分株数目较少,最大的克隆由 12 个分株组成;AJ 斑块的克隆大小次之,最大的克隆由 22

表 3 不同蛇莓斑块的克隆多样性

Table 3 Clonal diversity measures for *D. indica* in different patches

斑块 Patch	N	G	N_c	G/N	D	E
LH	39	12	3.25	0.3077	0.8677	0.8380
AJ	50	9	5.56	0.1800	0.5870	0.4753
TT	43	5	8.60	0.1163	0.4642	0.4453

注: N 分株数目 the total number of individuals (ramets) sampled, G 基株数目 the number of genets, N_c 平均克隆尺度 mean clonal size, G/N 基因型比率 the proportion of distinguishable genotypes, D Simpson 多样性指数 Simpson's diversity index, E 基因型均匀度 Genotypic evenness

个分株组成;TT 斑块的克隆最大,最大的克隆由 27 个分株组成;表明蛇莓斑块中存在优势克隆(图 2)。

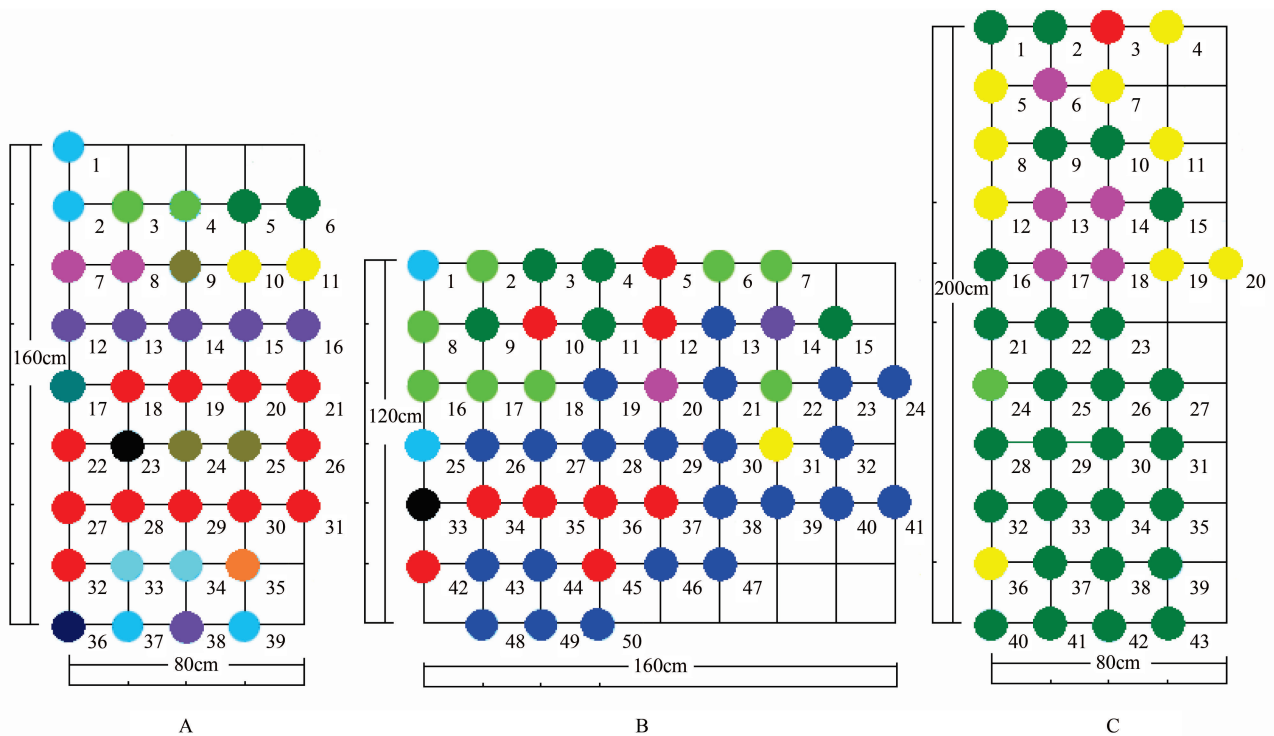


图2 不同蛇莓斑块的取样图

Fig. 2 The sampling figure of the different patches of *D. indica*

A: 临海斑块 LH patch; B: 安吉斑块 AJ patch; C: 天台斑块 TT patch; 数字表示不同的个体, 不同颜色表示不同克隆, 同一颜色表示同一克隆 Numbers indicate the ramets in one patch; the different color indicates the different clone in one patch and the same color indicate the same clone in one patch

2.3 空间遗传结构

当距离等级为 10cm 时, 3 个不同斑块蛇莓克隆分布的空间自相关分析结果如图 3 所示。LH 斑块在 20cm 和 40cm 时存在显著性正相关, 在 80cm 时存在显著性负相关, 其 X 轴截矩为 49.959; AJ 斑块仅在 20cm 时存在显著性正相关, 其 X 轴截矩为 63.333; TT 斑块在 20cm、30cm、40cm 和 70cm 时均存在显著性正相关, 其 X -轴截矩高达 90.512。

3 讨论

克隆植物通常在遗传上也具有多样性^[19]。不同生境的蛇莓斑块的遗传多样性均很低, 以 LH 斑块最高 ($P=10.34\%$, $I=0.0513$, $h=0.0344$), AJ 斑块次之 ($P=10.34\%$, $I=0.0443$, $h=0.0277$), 而 TT 斑块最低 ($P=5.17\%$, $I=0.0325$, $h=0.0227$)。蛇莓总的遗传多样性也很低 ($P=37.93\%$, $I=0.2402$, $h=0.1677$), 这与 Ayres 和 Ryan^[35] 利用 RAPD 技术研究 *Wyethia reticulata* ($I=0.28$) 的研究结果较为接近。分子标记研究表明不同物种具有不同的克隆多样性。如 *Carex bigelowii*^[32]、*Pupulus tremuloides*^[33] 等具有较高的克隆多样性, 但芦苇 (*Phragmites australis*)^[34] 却具有较低的克隆多样性。本研究发现不同斑块的蛇莓的基因型比率平均为 0.2013, Simpson 指数平均为 0.6396, 与其它克隆植物较为接近 (分别为 0.17 和 0.62)^[19]。植物的遗传多样性与克隆多样性与物种的繁殖特性有关^[36], 取决于植物有性繁殖与无性繁殖的相对格局^[37]。蛇莓为多年生草本植物, 其克隆生长能力很强, 可通过越冬叶片或地下根茎繁殖, 一株蛇莓一年可育几百株植株, 可覆盖面积达 1~2 m²。虽然蛇莓可通过有性繁殖产生种子, 且种子数目也很多, 但种子萌发率较低, 不超过 10%^[38], 导致不同斑块之间的遗传多样性也较低。3 个不同蛇莓斑块之间的遗传分化较大, 大部分变异存在于斑块

间, 斑块之间的基因流也很低, 仅为 0.1019, 这也表明蛇莓物种水平的基因交换频率很低, 通过有性繁殖进行基因交流的可能较小。

环境因素对克隆多样性具有重要作用^[31], 不同生境的蛇莓斑块之间的克隆结构差异较大。不同蛇莓斑块均由多克隆组成, 克隆基因型数目以 LH 斑块最多, AJ 斑块次之, TT 斑块最少。不同生境中每一基株的分株数量以 LH 斑块最小, AJ 斑块次之, TT 斑块最大。空间自相关分析显示 TT 斑块蛇莓基因型与空间距离的正相关的距离最大, 可达 70cm, 其克隆能到达的距离也最大, 为 90.512cm, 表明 TT 斑块的蛇莓单个克隆占据的空间最大; 而 AJ 斑块和 LH 斑块则较小, 正相关距离分别为 20cm 和 40cm, 克隆能到达的距离分别为 66.333cm 和 49.959, 表明两个斑块的单个克隆占据的空间低于 TT 斑块。蛇莓斑块的遗传多样性及克隆的空间分布格局可能与不同斑块所处生境的生态因子, 如海拔、光照、养分, 及其它因素(如干扰、演替和突变)有关。

Young 等^[40]利用等位酶技术分析亚针叶林草本菊科(Asteraceae) *Rutidosia leiolepis* 的克隆结构, 发现随着海拔的增高, 植物开花密度下降, 传粉者活动减少, 花期长度减少, 克隆繁殖能力增强, 每一基株的分株数量上升, 克隆基因型比例下降。在 3 个蛇莓斑块中, TT 斑块处于山坡边缘, 海拔(160 m)高于 LH 斑块(3 m)与 AJ 斑块(10 m)。随着海拔的升高, 蛇莓的无性繁殖能力增强, 从而导致每一基株的分株数量上升, 克隆基因型比例下降。

由于克隆繁殖后代具有与母体植物相同的遗传特性^[9], 克隆繁殖具有适应胁迫环境方面的优势。克隆植物具有觅食行为, 可以支持子代的建立, 使基株的危险最小化。克隆繁殖可以使植物适应恶劣环境, 尤其是营养贫乏的生境^[41]。TT 斑块的生境为针阔混交林的林缘, 蛇莓主要长在山坡边上的乱石堆上, 生长环境比较恶劣, 光照较少, 斑块内有性繁殖产生的幼苗的更新较少, 斑块内的蛇莓以克隆生长为主, 以适应恶劣的生境, 因此 TT 斑块的克隆基因型比例较高, 克隆多样性最小, 斑块内的克隆数目较少, 但每一基株的分株数量较大, 最大克隆则由 22 个分株组成。AJ 斑块的生境为弃耕地, 蛇莓主要生长在稻田边, 光照充足, 营养肥沃, 蛇莓生长良好, 斑块内通过有性生殖产生的幼苗更新较多, 蛇莓的克隆生长减弱, 每一基株的分株数量减少, 最大克隆由 17 个分株组成, 但克隆基因型比例升高。干扰会通过提供种苗更新机会或影响幼苗生长来改变克隆多样性^[42]。LH 斑块的生境为绿化带, 但与 AJ 斑块差异较大, 蛇莓主要生长于绿化带内, 受到外界干扰较大, 受到其它植物如喜旱莲子草的竞争, 因此斑块内的克隆较多, 优势克隆较小, 最大克隆仅由 12 个分株组成。

克隆植物在不同环境中受到不同的选择压力, 环境异质性可以促进不同基因型的固定^[42]。克隆多样性在种群建立后不久最高, 随着时间的推移, 优势基因型将占据主导地位, 适合度较低的基因型逐渐被淘汰, 种

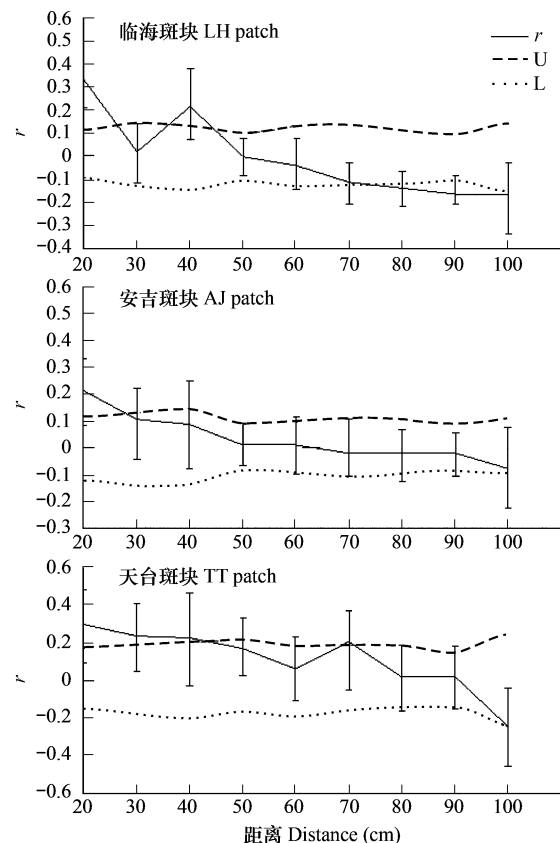


图3 3个不同蛇莓斑块的空间自相关分析

Fig. 3 Spatial autocorrelation analysis of *D. indica* in different patches

r : 空间自相关系数 spatial autocorrelation coefficient. U : 不存在显著性空间遗传结构的 95% 置信区间的上限 upper confidence limits bound the 95% confidence interval about the null hypothesis of No spatial structure. L : 不存在显著性空间遗传结构的 95% 置信区间的下限 low confidence limits bound the 95% confidence interval about the null hypothesis of No spatial structure

群中克隆多样性逐渐降低。TT 与 AJ 斑块的蛇莓建立时间较久,而 LH 斑块的蛇莓为当年建立,因此 LH 斑块的克隆最小,克隆数目最多。

另外,本研究结果也显示,在不同蛇莓斑块中均存在由单个分株组成的克隆(图 2),分析原因可能是由于体细胞突变造成的。克隆植物体细胞突变的高发生率补偿有性繁殖重组的缺失,从而使克隆繁殖物种可较好地适应环境的变化^[15, 43],特别是在长寿命及大尺寸的克隆中^[19]。

本研究表明蛇莓具有较低的遗传多样性,不同生境的蛇莓斑块之间的克隆结构差异较大。克隆生长在蛇莓遗传结构及克隆结构的形成中具有重要作用。蛇莓适应环境的能力很强,国内,除高寒、干旱的荒漠地区外,暖温带及其以南各省区都有分布^[39]。蛇莓强大的克隆能力可能是其强大适应环境能力的主要原因。另外,本研究还表明蛇莓的克隆结构的差异可能是其适应不同生境的结果,海拔、光照、水分、养分等环境异质性因子及不同的气候条件的综合结果。蛇莓的克隆结构受环境异质性的影响,与遗传多样性受环境异质性的影响的结论相一致^[44],这表明与非克隆植物相同,克隆植物的克隆多样性也可以作为其适应不同生境的主要作用力而发挥作用^[45]。蛇莓在逆境下可以通过快速的克隆生长来适应环境,因此蛇莓可以作为逆境下的地带性植被的构建种发挥重要作用。本研究结果揭示了蛇莓通过克隆生长适应环境变化的主要机制,有助于进一步了解克隆植物的生态适应机理。

References:

- [1] Dong M, Zhang S M, Chen Y F. Clonal plasticity in response to nutrient availability in the stoloniferous herb, *Duchesnea indica*. *Acta Botanica Sinica*, 2000, 42(5): 518–522.
- [2] Li A, Ge S. Genetic variation and clonal diversity of *Psammochloa villosa* (Poaceae) detected by ISSR markers. *Ann. Bot.*, 2001, 87: 585–590.
- [3] Waycott M. Assessment of genetic variation and clonality in the seagrass *Posidonia australis* using RAPD and allozyme analysis. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 1995, 116: 289–295.
- [4] Frankland J C, Ovington J D, Marcrae C. Spatial and seasonal variation in soil, litter and vegetation in some Lake District woods. *J. Ecol.*, 1963, 51: 97–112.
- [5] Baldocchi D, Collineau S. The physical nature of solar radiation in heterogeneous canopy: spatial and temporal attributes. In: Caldwell M M, Pearcy R W, eds. *Exploitation of environmental heterogeneity by plants*. New York: Academic Press, 1994.
- [6] Ruo X G, Dong M. Architectural plasticity of the stoloniferous herb *Duchesnea indica* in response to different elevation. *Chinese J. Appl. Ecol.*, 2002, 13(4): 399–402.
- [7] Ruo X G, Dong M. Plasticity of clonal architecture in response to soil nutrients in the stoloniferous herb *Duchesnea indica* Focke. *Acta Ecologica Sinica*, 2001, 21(12): 1957–1963.
- [8] Ruo X G, Dong M. Architectural plasticity in response to light intensity in the stoloniferous herb. *Duchesnea indica* Focke. *Acta Phytocologica Sinica*, 2001, 25(4): 494–497.
- [9] Ruan C J, He Z X, Zhou C F. *Plant Molecular Ecology*. Beijing: Chemical Industry Press, 2005.
- [10] Sheng Y, Zheng W H, Pei K, *et al.* Genetic variation within and among populations of a dominant desert tree *Haloxylon ammodendron* (Amaranthaceae) in China. *Ann. Bot.*, 2005, 96: 245–252.
- [11] Chen Y Y, Li Q, Wu W Y, *et al.* Genetic diversity and clonal structure of *Potamogeton malaianus* populations. *Chinese J. Appl. Ecol.*, 2006, 17(11): 2034–2040.
- [12] Pluess A R, Stöcklin A J. Population genetic diversity of the clonal plant *Geum reptans* (Rosaceae) in the Swiss alps. *Am. J. Bot.*, 2004, 91(12): 2013–2021.
- [13] Shimizu Y, Ando M, Sakai F. Clonal structure of natural populations of *Cryptomeria japonica* growing at different positions on slopes, detected using RAPD markers. *Biochem. Syst. Ecol.*, 2002, 30: 733–745.
- [14] Lu J Y, Ma R J, Sun K. Clonal diversity and structure in *Polygonum viviparum*. *J. Plant Ecol.*, 2007, 31(4): 561–567.
- [15] Lynch M, Milligan B G. Analysis of population genetic structure with RAPD markers. *Mol. Biol.*, 1994, 3: 91–99.
- [16] Honnay O, Jacquemyn H, Roldán-Ruiz I, *et al.* Consequences of prolonged clonal growth on local and regional genetic structure and fruiting

- success of the forest perennial *Maianthemum bifolium*. *Oikos*, 2006, 112: 21—30.
- [17] Vaughan SP, Cottrell J E, Moodley D J, *et al.* Clonal structure and recruitment in British wild cherry (*Prunus avium* L.). *Forest Ecol. Manag.*, 2007, 242: 419—430.
- [18] Hämmerli A, Reusch T B H. Genetic neighbourhood of clone structures in eelgrass meadows quantified by spatial autocorrelation of microsatellite markers. *Heredity*, 2003, 91: 448—455.
- [19] Ellstrand N C, Roose M L. Pattern of genotypic diversity in clonal plant species. *Am. J. Bot.*, 1987, 74: 123—133.
- [20] Lokker C, Susko D, Lovett-Doust L, *et al.* Population genetic structure of *Vallisneria americana*, a dioecious clonal macrophyte. *Am. J. Bot.*, 1994, 81: 1004—1012.
- [21] Maddox G D, Cook R E, Wimberger P H, *et al.* Clonal structure in four *Solidago allissima* (Asteraceae) populations: rhizome connections within genotypes. *Am. J. Bot.*, 1989, 76: 318—326.
- [22] Ruggiero M V, Reusch T B H, Procaccini G. Local genetic structure in a clonal dioecious angiosperm. *Mol. Ecol.*, 2005, 14: 957—967.
- [23] Setsuko S, Ishida K, Tomaru N. Size distribution and genetic structure in relation to clonal growth within a population of *Magnolia tomentosa* Thunb. (Magnoliaceae). *Mol. Ecol.*, 2004, 13: 2645—2653.
- [24] Institute of Botany. The Chinese Academy of Sciences. *Inconographia Comophytorum Sinicorum* (Tomus II). Beijing: Science Press, 1994. 287.
- [25] Li J M, Ke S S, Jin Z X. Extraction and determination of DNA from *Heptacodium miconioides*. *Guihaia*, 2002, 22: 499—502.
- [26] Yeh F C, Boyle T J B. Population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits. *Belgian J. Bot.*, 1997, 129(1): 157.
- [27] Excoffier L, Smouse P, Quattro J M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 1992, 131(2): 479—491.
- [28] Pielou E C. *An introduction to mathematical ecology*. New York: Wiley- Interscience, 1969.
- [29] Fager E W. Diversity: a sampling study. *Am. Naturalist*, 1972, 106: 293—310.
- [30] Peakall R, Smouse P E. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol. Ecol. Notes*, 2006, 6: 288—295.
- [31] Smouse P E, Peakall R. Spatial autocorrelation analysis of individual multiallele and multilocus genetic structure. *Heredity*, 1999, 82: 561—573.
- [32] Jonsson B O, Jonsdottir I S, Cronerg N. Clonal diversity and allozyme variation in populations of the arctic sedge *Carex bigelowii* (Cyperaceae). *J. Ecol.*, 1996, 84: 449—459.
- [33] Cheliak W M, Dancik B P. Genetic diversity of natural populations of a clone-forming tree *Populus tremuloides*. *Can. J. Gen. Cytol.*, 1982, 24: 611—616.
- [34] Hauber D P, White D A, Powers S P, *et al.* Isozyme variation and correspondence with unusual infrared reflectance patterns in *Phragmites australis* (Poaceae). *Plant Syst. Evol.*, 1990, 178: 1—8.
- [35] Ayres D R, Ryan F J. Genetic diversity and structure of the narrow endemic *Wyethia reticulata* and its congener *W. bolanderi* (Asteraceae) using RAPD and allozyme techniques. *Am. J. Bot.*, 1999, 86(3): 344—353.
- [36] Navas M L, Gasquez J. Genetic diversity and clonal structure of *Rubia peregrina* in Mediterranean vineyard and unmanaged habitats. *Weed Res.*, 1991, 31: 247—256.
- [37] Li J M, Dong M. Fine-scale clonal structure and diversity of invasive plant *Mikania micrantha* H. B. K. and its plant parasite *Cuscuta campestris* Yunker. *Biological Invasions*, 2009, 11(3): 687—695.
- [38] Zhen W X, Hu G Q, Wang C J. Study on the application and exploration of the native groundcover plant *Duchesnea indica* Focke. *North Horticulture*, 2006, 30(3): 102—104.
- [39] Xiao Y F, Gao J, Sun F Z. Study on the shade and wet tolerant lawn groundcover plant *Duchesnea indica* Focke. *J. Sichuan Grassland*, 1995, 3: 20—23.
- [40] Young A G, Hill J H, Murray B G, *et al.* Breeding system, genetic diversity and clonal structure in the subalpine forb *Rutidosia leiopis* F. Muell. (Asteraceae). *Biol. Conserv.*, 2002, 106: 71—78.
- [41] Klimes L, Klimesova J, Hendriks R, *et al.* Clonal plant architecture a comparative analysis of form and function. In: de Kroon H and van Groenendaal J M, eds. *The ecology and evolution of clonal plants*. Backhuys, Leiden, Netherlands.
- [42] Shen D W, Li Y Y, Chen X Y. Review of clonal diversity and its effects on ecosystem functioning. *J. Plant Ecol.*, 2007, 31(4): 552—560.
- [43] Gill D E, Chao L, Perkin S L, *et al.* Genetic mosaicism in plants and clonal animals. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 1995, 26: 423—444.

- [44] Hamrick J L, Linhard Y B, Mitton J B. Genetic variation and life history traits. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 1979, 10: 173—200.
- [45] Lehmann D. Clonal diversity of populations of *Calamagrostis epigejos* in relation to environmental stress and habitat heterogeneity. *Ecography*, 1997, 20: 483—490.

参考文献:

- [1] 董鸣, 张淑敏, 陈玉福. 匍匐茎草本蛇莓对基质养分条件的克隆可塑性. *植物学报*, 2000, 42(5): 518~522.
- [6] 罗学刚, 董鸣. 匍匐茎草本蛇莓克隆构型对不同海拔的可塑性反应. *应用生态学报*, 2002, 13(4): 399~402.
- [7] 罗学刚, 董鸣. 匍匐茎草本蛇莓克隆构型对土壤养分的可塑性反应. *生态学报*, 2001, 21(12): 1957~1963.
- [8] 罗学刚, 董鸣. 蛇莓克隆构型对光照强度的可塑性反应. *植物生态学报*, 2001, 25(4): 494~497.
- [9] 阮成江, 何祯祥, 周长芳. *植物分子生态学*. 北京: 化学工业出版社, 1995.
- [11] 陈媛媛, 栗琪, 吴文颖, 李伟. 竹叶眼子菜居群遗传多样性和克隆结构. *应用生态学报*, 2006, 17(11): 2034~2040.
- [14] 陆建英, 马瑞君, 孙坤. 珠芽蓼种群克隆多样性及克隆结构的初步研究. *植物生态学报*, 2007, 31(4): 561~567.
- [24] 中国科学院植物研究所. *高等植物图鉴* (第二册). 北京: 科学出版社, 1994. 287.
- [38] 郑维霞, 胡国强, 王长久. 乡土地被植物——蛇莓的应用研究与推广. *北方园艺*, 2006, 30(3): 102~104.
- [39] 萧云峰, 高洁, 孙发政. 耐荫湿的草坪地被植物——蛇莓的研究. *四川草原*, 1995, 3: 20~23.
- [42] 沈栋伟, 李媛媛, 陈小勇. 植物克隆多样性与生态系统功能. *植物生态学报*, 2007, 31(4): 552~560.