

影响披碱草属植物遗传分化和亲缘关系的地理因素分析

严学兵^{1,2,3}, 郭玉霞⁴, 周 禾¹, 王 堃^{1,①}

(1. 中国农业大学草地科学研究所, 北京 100094; 2. 复旦大学生物多样性研究所, 上海 200433;
3. 郑州牧业工程高等专科学校, 河南 郑州 450008; 4. 河南农业大学牧医工程学院, 河南 郑州 450002)

摘要: 用微卫星标记法对产自中国青藏高原和蒙古高原地区 9 种披碱草属 (*Elymus* L.) 植物的 40 个居群进行遗传变异和亲缘关系分析, 居群间遗传相似系数为 0.020 ~ 0.957, 居群间遗传距离与地理因素关系密切。以垂穗披碱草 (*Elymus nutans* Griseb.) 为例, 采用二维和三维 Mantel 检验, 对遗传距离和地理因素间的关系 (纬度、经度和海拔) 作进一步分析, 结果表明, 地理位置 (纬度和经度) 是影响垂穗披碱草居群微卫星遗传差异的最重要因素 ($R = 0.478$; $P < 0.05$), 其次是海拔 ($R = 0.258$; $P > 0.05$)。单一地理位置因素 (纬度或经度) 与遗传距离的相关性并不明显, 但从单一地理位置因素与遗传距离的相关系数、可信度区间来看, 纬度对遗传分化的影响程度大于经度。

关键词: 披碱草属; 微卫星标记; 遗传分化; 地理位置

中图分类号: Q948.114 文献标识码: A 文章编号: 1004-0978(2006)04-0017-08

Analysis of geographical conditions affected on genetic variation and relationship among populations of *Elymus* YAN Xue-bing^{1,2,3}, GUO Yu-xia⁴, ZHOU He¹, WANG Kun^{1,①} (1. Institute of Grassland Science, China Agricultural University, Beijing 100094, China; 2. Institute of Biodiversity Science, Fudan University, Shanghai 200433, China; 3. Zhengzhou College of Animal Husbandry, Zhengzhou 450008, China; 4. He'nan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2006, 15(4): 17-24

Abstract: Genetic variations and relationships of forty populations of nine species of *Elymus* L. from Qinghai-Tibetan Plateau and Mongolian Plateau of China were determined by microsatellite marker. Microsatellite data indicated that genetic similarity of forty *Elymus* populations ranged from 0.020 to 0.957. Genetic distance among these populations was related to their geographical origins. With *Elymus nutans* Griseb. as the model, the relationships of genetic distance and geographical location (latitude, longitude and altitude) were further analyzed using two and three dimensional Mantel test. The results showed that location (latitude and longitude) was the most important factor of influence on genetic difference ($R = 0.478$; $P < 0.05$), the next one was altitude ($R = 0.258$; $P > 0.05$). As for single environmental factor, considering relation coefficient and confidence interval ($P > 0.05$), latitude had a greater influence on genetic differentiation than longitude.

Key words: *Elymus* L.; microsatellite marker; genetic differentiation; geographic location

由于植物不能自主“逃避”环境的胁迫, 因此, 它是研究生物与环境关系的良好材料。在许多研究中, 植物遗传分化与地理因素之间的关系一直是受到普遍关注的问题之一, 生物居群分子进化与生境适应之间的关系也一直是分子生态学研究的热点。无论是海拔高度差异, 还是地理位置差异, 都能造成植物所处生境之间的水热差异。赵念席等^[1]在 DNA 水平上对内蒙古中东部草原上分布的 11 个大针茅 (*Stipa grandis* P. Smirn.) 居群进行了 UPGMA

聚类分析, 并将它们分为 3 类; Mantel 检验分析表明, 在相对较大的尺度上 (约 240 km), 大针茅的遗传分化与地理距离的相关性极其显著

收稿日期: 2006-06-29

基金项目: 青海省科学技术厅“青南适用牧草品种选育”项目 (21031423) 和河南省科学技术厅“小麦族含有 St 基因组植物遗传进化和系统学研究”项目 (0611032300)

作者简介: 严学兵 (1974-), 男, 河南扶沟人, 博士, 副教授, 主要研究方向为遗传进化生物学。

① 通讯作者 E-mail: wangkun@cau.edu.cn

($g > g 0.005$);而在相对较小的尺度上(小于 50 km),相关性却不显著($g < g 0.050$)。普通野生稻(*Oryza rufipogon* Griff.)的遗传距离与地理距离经 Mantel 检验表现出显著正相关^[2]。对长白山北坡 4 个高山红景天(*Rhodiola sachalinensi* A. Bor.)居群的研究表明其遗传变异随海拔的升高而呈上升趋势^[3,4];对野生大豆[*Glycine max* (Linn.) Merr.]的研究表明遗传分化与南北纬度的差异相关^[5];对阿尔卑斯山黄花茅(*Anthoxanthum alpinum* A. et D. Love)的研究也表明其遗传分化与海拔相关性显著^[6]。

SSR 即简单重复序列(simple sequence repeat),也称微卫星 DNA (microsatellite DNA),20 世纪 90 年代以来被广泛用于分子标记研究。Röder 等认为^[7],SSR 是具有丰富多态性的标记,随机分布于植物的整个基因组中,是进行植物遗传研究的理想工具。已有研究证明,微卫星 DNA 是研究披碱草属(*Elymus* L.)植物很有价值的分子标记^[8,9]。披碱草属不同种间微卫星引物的成功扩增使 SSR 分子标记的应用更为广泛^[10~12]。

中国共有披碱草属植物 12 种,是重要的遗传资源。青藏高原和蒙古高原不但是中国的重要牧区,也是披碱草属植物的主要分布区。作者选取了 9 种常见披碱草属植物,研究在高原地区这种特殊生态环境中披碱草属植物的遗传分化,为披碱草属植物种间遗传关系及生物地理学研究提供基础资料。

1 材料和方法

1.1 材料

实验材料为垂穗披碱草(*Elymus nutans* Griseb.)、老芒麦(*Elymus sibiricus* L.)、短芒披碱草[*Elymus breviaristatus* (Keng) Keng f.]、圆柱披碱草[*Elymus cylindricus* (Franch.) Honda]、黑紫披碱草[*Elymus atratus* (Nevski) Hand.-Mazz.]、紫芒披碱草(*Elymus purpuraristatus* C. P. Wang et H. L. Yang)、披碱草(*Elymus dahuricus* Turcz.)、青海披碱草[*Elymus geminatus* (Keng et S. L. Chen) S. L. Chen]和无芒披碱草(*Elymus submuticus* (Keng) Keng f.)的 40 个野生居群(表 1)。其中,除老芒麦的染色体数为 28、染色体组型为 StH 外,其余 8 个种的染色体数均为 42、染色体组型均为 StHY。

种子采收后在中国农业大学校园内盆栽萌发,每个居群播种 3 盆,每盆定苗 10 株。盆的规格为 25 cm(上口直径)×17 cm(下口直径)×29 cm(高)。土壤 pH 7.13,有效磷含量(Osen-P)0.07 mg·g⁻¹,有效钾含量 0.28×10⁻³ mg·g⁻¹,全氮含量 0.74%,全磷含量 2.94%,有机质含量 4.05%。

1.2 方法

1.2.1 植物总 DNA 的提取 在幼苗期,分别取各居群的 30 个单株叶片进行等量混合,然后迅速置于 -80℃ 冰箱中长期保存备用。根据 Doyle^[13]法并适当改进,提取各居群的总 DNA。

1.2.2 SSR 扩增

1.2.2.1 SSR 引物的确定 选用 2 类引物:一类是来源于披碱草属植物基因组的 14 条引物,其中 7 条来自 *Elymus caninus* 基因组(缩写为 ECGA)^[8],另外 7 条来自 *E. alaskanus* 基因组(缩写为 EAGA)^[9];另一类是来源于小麦基因组的 8 条引物(缩写为 WMS)^[7,14],各引物序列见表 2。

1.2.2.2 PCR 反应体系和程序 所有 PCR 反应均在 PTC-200 型 PCR 仪上进行,用 ECGA 作为引物的反应体系和 PCR 程序采用 Sun 等的方法^[8];用 EAGA 作为引物的反应体系和 PCR 程序采用文献^[9]的方法;用 WMS 作为引物的反应体系和 PCR 程度则采用文献^[7]和^[14]报道的方法。在 PCR 产物冷却后,加 1/5 体积的上样缓冲液,95℃ 变性 5 min,然后迅速置于 -80℃ 冷却备用。

1) ECGA 的基本扩增程序为 94℃ 预变性 3 min,然后进行循环反应,反应条件为 94℃ 变性 1 min,54℃ 退火 45 s,72℃ 延伸 1 min,35 个循环后,72℃ 温育 10 min。

2) EAGA 的扩增程序分为 2 个阶段。第 1 阶段为 18 个循环,反应程序为 94℃ 变性 1 min,然后退火 30 s,退火温度最初为 64℃,以后每 3 个循环降低 2℃,72℃ 延伸 1 min;第 2 阶段为 30 个循环,反应程序为 94℃ 变性 1 min,52℃ 退火 1 min,72℃ 延伸 1 min;最后 72℃ 温育 10 min。

3) WMS 的扩增程序为 94℃ 预变性 4 min;然后进行循环反应,反应条件为 93℃ 变性 1 min,55℃、56℃ 或 60℃ 退火 1 min,72℃ 延伸 2 min,35 个循环后,72℃ 温育 10 min。

1.2.3 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳和染色 采用 6% 变性聚丙烯酰胺凝胶进行电泳并用硝酸银染色。

表1 供试披碱草属种类的产地及自然地理概况

Table 1 The location and geographical condition of habitat of *Elymus* L. species tested

种名 Species	产地 Location	编号 Identity	海拔/m Altitude	纬度(N) Latitude	经度(E) Longitude	生境 Habitat
垂穗披碱草 <i>E. nutans</i>	甘肃天祝 Tianzhu, Gansu	GJC	2 915	37°11'38"	102°47'74"	高山草甸 Alpine meadow
	甘肃合作 Hezuo, Gansu	GHC	3 040	35°02'18"	102°55'31"	封育的天然草地 Enclosed rangeland
	青海玛沁 Maqin, Qinghai	QMC	3 289	35°15'92"	100°39'22"	高山草甸 Alpine meadow
	青海同德 Tongde, Qinghai	QHHC	3 487	34°42'36"	100°42'37"	高山草甸 Alpine meadow
	青海玛沁 Maqin, Qinghai	QMDC1	3 838	34°29'28"	100°09'32"	高山草甸 Alpine meadow
	青海玛沁 Maqin, Qinghai	QMD(W1)	3 908	34°29'42"	100°09'47"	灌丛草地 Shrub
	青海玛沁 Maqin, Qinghai	QMDC2	3 916	34°40'27"	100°24'52"	高山草甸 Alpine meadow
	青海玛沁 Maqin, Qinghai	QMXC	3 724	35°01'65"	099°11'98"	河漫滩 Swamp along the river
	青海玛沁 Maqin, Qinghai	QMHC	3 867	34°31'66"	100°25'16"	高山草甸 Alpine meadow
短芒披碱草 <i>E. breviaristatus</i>	甘肃天祝 Tianzhu, Gansu	GJD	2 883	37°11'75"	102°47'42"	路边 Roadside
	甘肃合作 Hezuo, Gansu	GHD	3 040	35°02'18"	102°55'31"	封育的天然草地 Enclosed rangeland
	青海玛沁 Maqin, Qinghai	QMDP	3 280	35°15'68"	100°39'29"	高山草甸 Alpine meadow
	青海玛沁 Maqin, Qinghai	QMHD	3 628	34°32'06"	100°25'14"	山坡草地 Slope rangeland
	青海兴海 Xinghai, Qinghai	QXED	4 186	35°27'41"	099°29'13"	水蚀沟内 Ditch eroded by water
	青海玛沁 Maqin, Qinghai	QMDL	3 282	35°15'68"	100°39'29"	疏林草地 Rangeland with sparse forest
黑紫披碱草 <i>E. aratus</i>	甘肃天祝 Tianzhu, Gansu	GJH	2 878	37°11'53"	102°46'73"	河漫滩草地 Swamp meadow
老芒麦 <i>E. sibiricus</i>	河北沽源 Guyuan, Hebei	HYL	1 458	41°44'89"	116°09'32"	人工草地 Pasture
	河北沽源 Guyuan, Hebei	HGL(N)	1 350	41°52'86"	115°52'24"	封育的典型草原 Enclosed steppe
	甘肃天祝 Tianzhu, Gansu	GJL(Y)	2 881	37°10'65"	102°46'98"	高山草甸 Alpine meadow
	甘肃天祝 Tianzhu, Gansu	GJLZ	2 887	37°11'78"	102°47'11"	人工草地 Pasture
	甘肃合作 Hezuo, Gansu	GHL(1)	2 532	35°13'25"	102°46'63"	封育的天然草地 Enclosed rangeland
	甘肃合作 Hezuo, Gansu	GHL(2)	2 693	35°27'63"	102°55'31"	封育的人工草地 Enclosed rangeland
	青海玛沁 Maqin, Qinghai	QML(Y)	3 282	35°15'68"	100°39'29"	疏林草地 Rangeland with sparse forest
	青海同德 Tongde, Qinghai	QM3	3 280	35°15'82"	100°39'28"	试验地 Trial land
	青海同德 Tongde, Qinghai	QHYP	3 786	34°53'89"	100°53'25"	高山草甸 Alpine meadow
披碱草 <i>E. dahuricus</i>	甘肃天祝 Tianzhu, Gansu	GJM	2 874	37°10'18"	102°47'31"	排水沟边 Ditch
	甘肃永靖 Yongjing, Gansu	GYP	1 624	35°09'31"	103°03'62"	路边 Roadside
	青海同德 Tongde, Qinghai	QHMM	3 470	34°42'79"	100°42'49"	路边 Roadside
青海披碱草 <i>E. geminatus</i>	青海玛沁 Maqin, Qinghai	QMX(W)	4 010	35°01'65"	099°11'98"	灌丛草地 Shrub
	青海兴海 Xinghai, Qinghai	QXE(W)	4 034	35°27'44"	099°29'12"	河漫滩 Swamp along the river
无芒披碱草 <i>E. submuticus</i>	甘肃天祝 Tianzhu, Gansu	GJW	2 883	37°11'75"	102°47'42"	路边 Roadside
圆柱披碱草 <i>E. cylindricus</i>	河北沽源 Guyuan, Hebei	HGY(N)	1 353	41°52'45"	115°51'57"	封育的典型草原 Enclosed steppe
	河北沽源 Guyuan, Hebei	HGY(K)	1 363	41°52'31"	115°48'20"	拓荒地 Wilderness
	甘肃天祝 Tianzhu, Gansu	GJY	2 918	37°11'33"	102°47'78"	高山草甸 Alpine meadow
紫芒披碱草 <i>E. purpuraristatus</i>	河北沽源 Guyuan, Hebei	HGZ(N)	1 357	41°52'01"	115°51'87"	路边 Roadside
	河北沽源 Guyuan, Hebei	HYZK	1 443	41°45'28"	116°09'78"	人工草地 Pasture
	甘肃合作 Hezuo, Gansu	GHY	2 107	35°67'52"	102°18'02"	干河滩 Dry riverway
	甘肃临夏 Linxia, Gansu	GL(W)	1 973	35°06'24"	103°01'16"	沟旁 Ditch
	青海玛沁 Maqin, Qinghai	QMZ	3 282	35°15'68"	100°39'29"	疏林草地 Rangeland with sparse forest
	河北沽源 Guyuan, Hebei	HYZH	1 447	41°45'39"	116°09'04"	路边 Roadside

1.3 数据统计和处理

按电泳条带的有或无予以赋值,电泳条带存在时赋值为1,无则赋值为0,缺失用“.”表示。采用Popgen 1.31软件^[15]进行SSR的数据处理。不同种类间相似性距离矩阵采用遗传距离(genetic

distance)^[16]数据,以简单匹配系数为基础(simple match coefficient),用UPGMA法^[17]对披碱草属种或居群进行聚类分析,建立亲缘关系树状图,聚类分析运用NTSYS-PC(V. 2.1)程序进行。

遗传和地理数据间的比较采用NTSYS-PC

表2 披碱草属植物 SSR 分子标记所选用的引物及其序列
Table 2 Sequences of primers used in SSR study on *Elymus L.* populations

引物 Primer	序列 Sequence (5'→3')	引物 Primer	序列 Sequence (5'→3')
ECCA22	GAAGGTGACTAGTCCAA CATAGTCTCGGTCAGGCTC	EAGA102	CACAACCGTGGCAGTGGT TCAACATTCAAATTTGGCAGAC
ECCA114	CTTATATCTTCTGGCTTATCAT GATCTGATACGTGACATCTCA	EAGA103	GACTGCTAAACTAACAACAAAAC ATCTCACACTGGCTCATGTC
ECCA44	TGATCAAGAAGAGGAACAT GATAAGATCGTGACTCTCCT	EAGA104	AGCCAGACACAAGTGACTATG GACTACGGTCCATAGATACTATCT
ECCA89	TTAGCTCTTTACTTATFCAAAC TCCTATGATCAAGCACAAG	WMS37	ACTTCATTGTTGATCTTGCAT CGACGAATPCCAGCTAAAC
ECCA210	CGACAAGTACTGGATCAAA GAACTACTCTCGAGAAGCTT	WMS2	CTGCAAGCCTGTGATCAACT CATTCTCAAATGATCGAACA
ECC736	TCACAGAGTGATTACATGCC ACATGTAAGTGGACTCGAGC	WMS43	CACCGACGGTTTCCCTAGAGT GGTGAGTGCAAATGTCATGTC
ECCA125	TGCTTCCAAGTCTGCTCA TGCATCTGTGTCTCCACA	WMS44	GTTGAGCTTTTCAGTTCGGC ACTGGCATCCACTGAGCTG
EAGA13	ACACACTGAGACTGCTTTGTC TGCGAAGGTTGAGTTATGCT	WMS46	GCACGTGAATGGATTGGAC TGACCCAATAGTGGTGTCA
EAGA51	TCCACTGTGCTACTTCTAGCT AACTGAATGAATGTGTGCAGT	WMS47	TTGCTACCATGCATGACCAT TTCACCTCGATTGAGGTCCT
EAGA101	GATGATGTCAATATGCTGCAAT AGGCCAGACTTATGAACACTATT	WMS106	CTGTCTTTCGGTGGCATTA AATAAGACACAATTGGGATGG
EAGA74	AGGTTGTATCTGCTGATACGATC TGCAACTCGAGCTGCTACTAG	WMS159	GGGCCAACACTGGAACAC GCAGAAGCTTGTGTGATAGG

(V. 2.1) 程序进行,将标准化后的数据矩阵先用 Similarity 的 Genetic distance (适用于遗传数据) 或 Interval data (适用于标准化的地理数据) 子程序进行运算,然后选择 Graphics 的 Matrix comparison plot 子程序进行 Mantel 检验^[18],最后根据检验标准 (Z) 和相关系数 (R) 进行相关性分析。

2 结果和分析

2.1 居群间的遗传相似性分析

遗传距离或相似性系数 (genetic similarity) 常用于判断群体之间的亲缘关系,当遗传距离为 1 (相似性系数为 0) 时,表明 2 个群体完全不一样,无亲缘关系;当遗传距离为 0 (相似性系数为 1) 时,表明 2 个群体完全一样。SSR 分子标记结果表明,披碱草属 9 个种类 40 个居群间的相似性系数变化范围很大,在 0.020 ~ 0.957 之间,多集中在 0.5 左右。老芒麦的 2 个居群 QML (Y) 和 GHL (1) (分别来源于青海玛沁和甘肃合作) 相似性系数最大,为 0.957;其次为垂穗披碱草的 2 个居群 QMHC 和 QHHC (分别来

源于青海玛沁和青海同德) 相似性系数也很高,达 0.951。总的来说,披碱草属植物种间相似性较小,相似性系数最小的仅为 0.020,位于披碱草的 1 个居群 [GYP (来源于甘肃永靖)] 和老芒麦的 2 个居群 [GHL (1) 和 GJLZ (分别来源于甘肃合作和甘肃天祝)] 间;而同一种类的居群间相似性系数较高,表明它们之间亲缘关系较近。

用 UPGMA 法根据遗传距离对所得结果进行聚类分析并绘制的树状图见图 1。由图 1 可知,按居群进行划分,短芒披碱草、老芒麦和河北产的紫芒披碱草聚类相对集中,而垂穗披碱草则较为分散。同种不同居群的聚类呈现显著的地域性,最为明显的例子是来自河北和青藏高原 (青海和甘肃) 的紫芒披碱草居群分别聚为 2 类。另外,老芒麦的 2 个居群 QML (Y) 和 GHL (1) 相似性系数最大,为 0.957。其次为垂穗披碱草的 2 个居群 QMHC 和 QHHC,相似性系数为 0.951,这 2 个居群是来自同一地区。

2.2 遗传分化与地理因素的关系

以垂穗披碱草的 9 个居群为例,聚类分析也发现,来自相似地域条件的垂穗披碱草居群的亲缘关

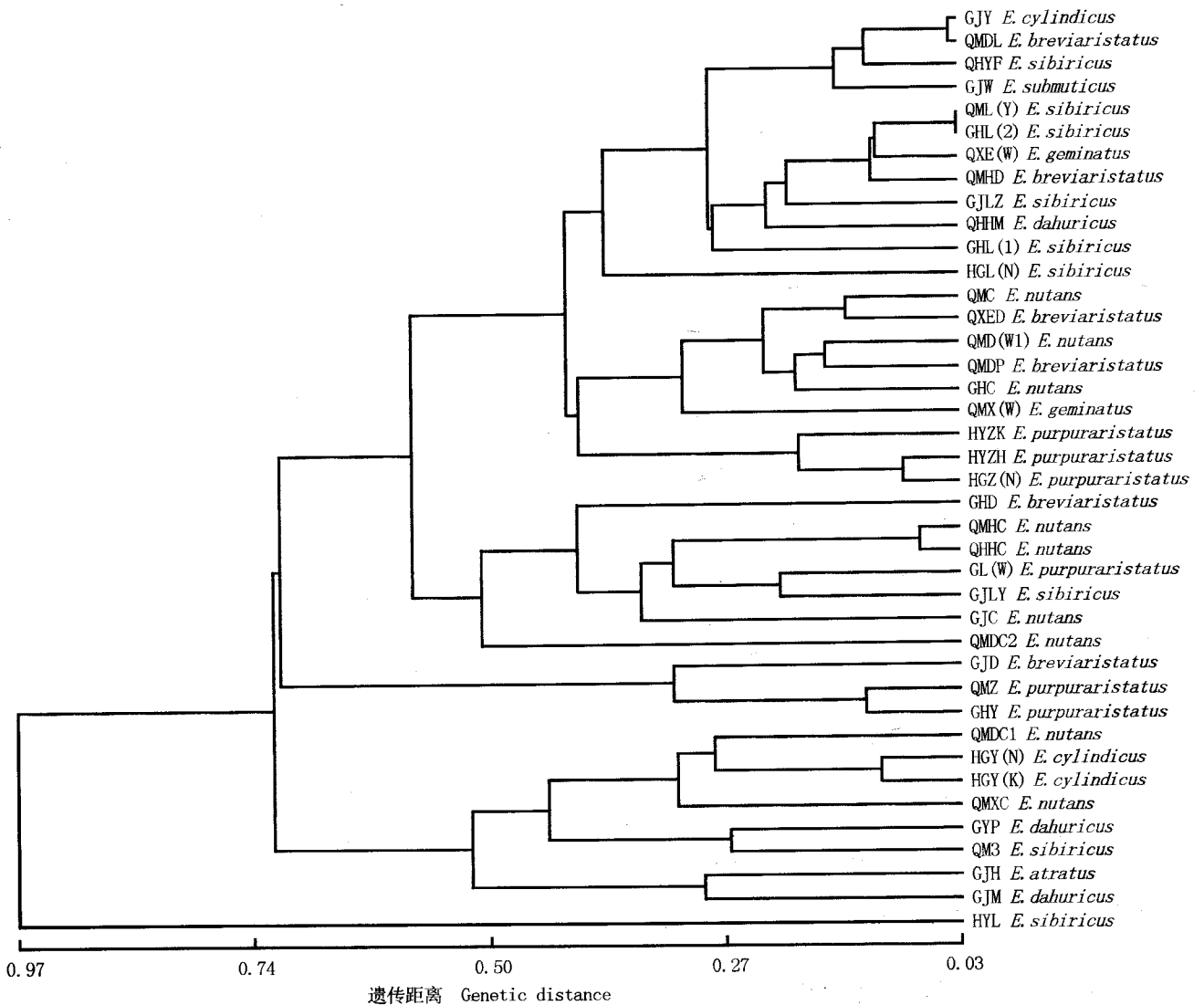


图1 9种披碱草属植物居群间基于SSR分子标记的遗传距离UPGMA聚类图
 Fig. 1 Dendrogram of genetic distance based on SSR data of 40 populations of nine species in *Elymus* L.

系较近(图2)。用二维和三维 Mantel 检验对垂穗披碱草的遗传距离与纬度、经度和海拔之间的关系作进一步分析, 检验结果见表3, 描绘如图3、图4和图5。由图3可以清楚地看出, 垂穗披碱草居群间的遗传距离并未随纬度的变化而改变; 从表3也可以看出, 二者相关系数仅为0.021, 没有明显的相关性。垂穗披碱草居群间的遗传距离和经度的关系也具有与纬度相似的关系(图4), 但相关性更小。从遗传距离和海拔变化的关系(图5)可以看出, 二者没有明显的相关性, 经Mantel检验, 其相关系数仅为0.258, 观察的Z值大于随机Z值的可信度, 为0.902, 可信度较低, 因此相关性不明显。

虽然垂穗披碱草居群间遗传距离与单一的地理位置因素(纬度或经度)无明显相关性, 但遗传距离和地理位置(纬度和经度)关系的三维 Mantel 检验结果却表明垂穗披碱草居群间遗传距离和地理位置(纬度和经度)显著相关($P < 0.05$), 相关系数为0.478。以上结果证明, 地理位置(纬度和经度)是影响垂穗披碱草居群微卫星遗传分化的最重要因素, 其次是海拔。单一地理位置因素(纬度或经度)与垂穗披碱草居群间遗传距离的相关性不明显, 从显著的可信度来看, 纬度对垂穗披碱草居群间遗传分化的影响要强于经度。

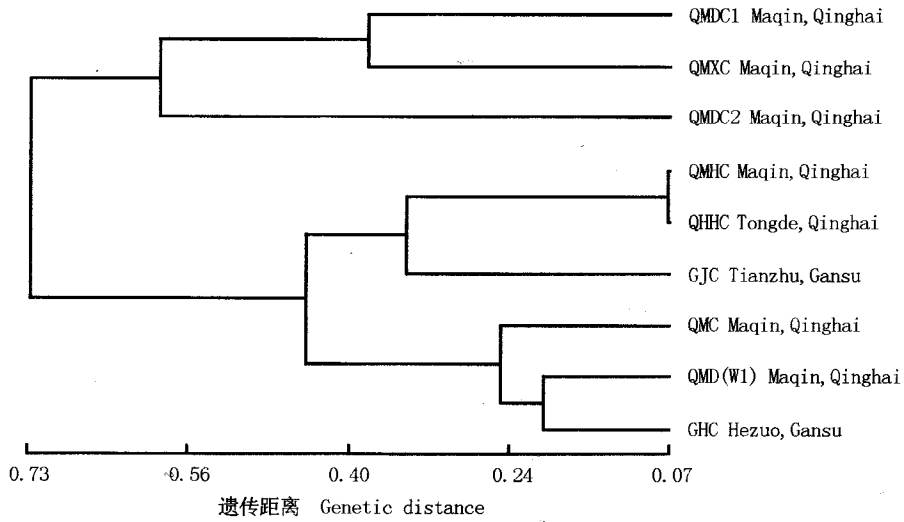


图 2 垂穗披碱草居群间基于 SSR 分子标记的遗传距离 UPGMA 聚类图
Fig. 2 Dendrogram of genetic distance based on SSR data of nine populations of *Elymus nutans* Griseb.

表 3 垂穗披碱草居群遗传距离和纬度、经度及海拔之间的关系

Table 3 Relationships between genetic distance among populations of *Elymus nutans* Griseb. and latitude, longitude and altitude intervals

关系类型 ¹⁾ Type of relationship ¹⁾	N	X 轴平均值 Mean X	Y 轴平均值 Mean Y	X 轴标准差 SSx	Y 轴标准差 SSy	检验结果 Mantel test		
						相关系数 Relation coefficient	t	可信度 ²⁾ Prob. Random ²⁾ Z < obs. Z
1	36	0.558 4	1.158 7	2.582 9	23.667 5	0.258 24	1.292 5	0.901 9
2	36	0.558 4	0.977 5	2.582 9	37.149 6	0.020 73	0.118 9	0.547 3
3	36	0.558 4	1.059 2	2.582 9	31.403 7	0.000 36	0.001 9	0.499 2
4	36	0.977 5	1.059 2	37.149 6	31.403 7	0.477 65	1.802 4	0.964 3 *

¹⁾ 1: 代表遗传距离(X轴)和海拔(Y轴)的关系 Relationship between genetic distance(X axis) and altitude (Y axis); 2: 遗传距离(X轴)和纬度(Y轴)的关系 Relationship between genetic distance(X axis) and latitude (Y axis); 3: 遗传距离(X轴)和经度(Y轴)的关系 Relationship between genetic distance(X axis) and longitude (Y axis); 4: 遗传距离(Z轴)和地理位置[纬度(X轴)和经度(Y轴)]的关系 Relationship between genetic distance(Z axis) and geographical site[including latitude(X axis) and longitude (Y axis)]. ²⁾ *: $P < 0.05$.

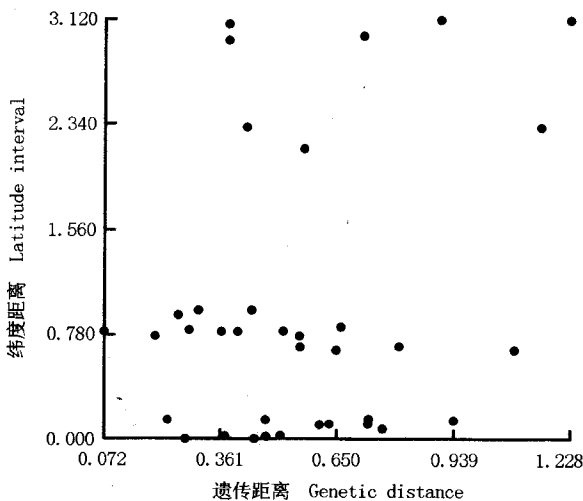


图 3 垂穗披碱草居群遗传距离和纬度之间的关系
Fig. 3 Relationship between genetic distance among populations of *Elymus nutans* Griseb. and latitude interval

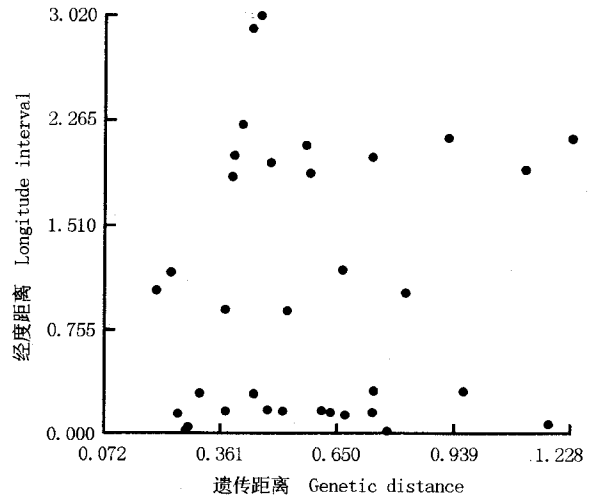


图 4 垂穗披碱草居群遗传距离和经度之间的关系
Fig. 4 Relationship between genetic distance among populations of *Elymus nutans* Griseb. and longitude interval

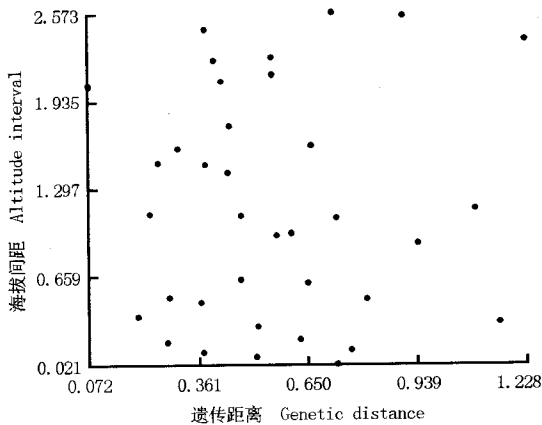


图5 垂穗披碱草居群遗传距离和海拔之间的关系
Fig. 5 Relationship between genetic distance among populations of *Elymus nutans* Griseb. and altitude interval

3 讨 论

蒙古高原和青藏高原是披碱草属植物在中国的主要分布区,因此,作者在确定研究种类和居群时综合考虑了不同环境(海拔、地形、草地类型等)的差异,研究结果基本能代表中国蒙古高原和青藏高原的披碱草属植物由地理条件所引起的遗传变异。要获得对种质遗传变异的精确评价,所选的标记位点在染色体上的均匀覆盖程度也是重要因素之一。在引物的选择上,作者所选用的披碱草引物是广泛分布于披碱草 St、H 和 Y 基因组并在披碱草属其他种类中已经得到很好验证的标记,来自小麦的引物也分布在 A、B 和 D 基因组中。因此,无论是实验对象的选择还是分子标记引物的选用都能反映实际情况。

遗传基础是决定遗传变异的主要因素,披碱草属植物有四倍体和六倍体;基因组有 StY、StH、StHY、StPY、StWY 和 StStH 6 种组型。李永祥等^[19]利用 ISSR 和 SSR 标记将分布在中国的 12 种披碱草属植物分为四倍体种和六倍体种 2 个不同类群,六倍体种又进一步分成不同类群。在四倍体中,*E. mutabilis* 与同为 StH 基因组型的另外 2 个四倍体种类差异较大,其原因可能是来源地相距较远,样品间存在较大程度的分化。诸多对披碱草属植物遗传多样性的研究均发现遗传变异与环境有很大的关系^[11, 20-22]。本研究中的聚类分析结果表明,利用 SSR 标记能将 40 个来源不同的居群彼此区分开,同一种类相同地理来源的居群首先被聚在一起,从而

揭示了披碱草属植物居群间遗传关系与生态环境和地理来源高度相关,支持“环境影响披碱草属植物居群间分化,相同或相近的亲缘关系和地理环境导致居群间发生一定程度上的遗传趋同化”的观点。进一步分析认为,地理位置(纬度和经度)是影响垂穗披碱草居群微卫星遗传分化的最重要因素,其次是海拔;单一地理位置因素与遗传距离的相关性不明显;从决定单一地理位置因素和遗传距离的相关系数和显著的可信度来看,纬度对遗传变异的影响作用大于经度。地理距离越大,生存条件差异也就越明显,最终促使披碱草属植物向不同方向的遗传变异。海拔差异形成的垂直地带性也决定了截然不同的生存条件对披碱草属植物的遗传进化和选择都会起到巨大的作用,这在其他披碱草属植物的研究中也有关的结果予以佐证。加利福尼亚州的 *E. glaucus* 的遗传分组和海拔有一定的联系^[23],说明海拔高度在影响 *E. glaucus* 遗传变异方面有一定的作用。

不同地理尺度对结论也会产生一定的影响。Nevo^[24]分别观察了在大、小地理尺度下自然居群的蛋白质变异,发现在大尺度地理条件下,由于生境不同阻碍了基因漂移,从而造成较大的遗传差异,但在大尺度地理条件下,如果存在相同或相似的生境条件,相同或相似的选择压力和生存环境则会导致远距离居群间产生较小的遗传变异。在小地理尺度下,Bockelmann 等研究发现^[11],与原来预期水流造成强烈的基因交流相反,在 100 m 范围内,具有独特生境的 *E. athericus* 居群已发生很明显的遗传变异;超过 60 km 时,地理距离隔离造成的影响变弱,但仍然重要,并总结出总遗传变异的 14% 是由生境造成的,8.9% 与地理距离有关,进一步肯定了生境条件对披碱草属植物遗传变异的影响。

青藏高原和蒙古高原环境和气候条件差异很大,由于披碱草属植物具有自花授粉的繁殖方式,因此,生态隔离和生殖隔离构成了遗传变异的 2 个条件和因素,造成各地区披碱草属同种不同居群之间的强烈分化。微卫星分子标记反映的是重复序列的变异,容易受环境的修饰。青藏高原和蒙古高原地理距离很远,而且高原地区环境条件复杂多变,披碱草属植物居群生境条件差异很大,因此,影响披碱草属植物各居群间遗传分化的地理因素表现为地理距离大于海拔高度。由于地理环境各因子之间相互影

响,不同取样策略、不同生境的限制因子各不相同,造成不同地理环境条件下植物居群遗传分化过程的复杂性,因此,有必要进行长期深入的研究工作。

参考文献:

- [1] 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[J]. 生态学报, 2004, 24(10): 2178-2185.
- [2] Zhou H F, Xie Z W, Ge S. Microsatellite analysis of genetic diversity and population genetic structure of a wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.) in China[J]. Theor Appl Genet, 2003, 107: 332-339.
- [3] 颜廷芬,周福军,阎秀峰,等. 长白山红景天天然种群遗传多样性及遗传分化[J]. 植物研究, 1999, 19(2): 189-195.
- [4] 颜廷芬,阎秀峰,祖元刚. 不同海拔梯度的高山红景天种群适应机制的初步探讨[J]. 植物研究, 1999, 19(2): 201-206.
- [5] 府宇雷,钱吉,马玉虹,等. 不同尺度下野大豆种群的遗传分化[J]. 生态学报, 2002, 22(2): 176-184.
- [6] 赵桂仿, Francois F, Philippe K. 应用 RAPD 技术研究阿尔卑斯山黄花茅居群内的遗传分化[J]. 植物分类学报, 2000, 38(1): 64-70.
- [7] Röder M S, Plaschke J, König S, et al. Abundance, variability and chromosomal location of microsatellites in wheat[J]. Mol Gen Genet, 1995, 246: 327-333.
- [8] Sun G L, Salomon B, Bothmer R V. Characterization and analysis of microsatellite loci in *Elymus caninus* (Triticeae: Poaceae) [J]. Theor Appl Genet, 1998, 96: 676-682.
- [9] Sun G L, Salomon B, Bothmer von R. Characterization of microsatellite loci from *Elymus alaskanus* and length polymorphism in several *Elymus* species (Triticeae: Poaceae) [J]. Genome, 1998, 41: 455-463.
- [10] Hernández P, Laurie D A, Martin A, et al. Utility of barley and wheat simple sequence repeat (SSR) markers for genetic analysis of *Hordeum chilense* and *Tritordeum* [J]. Theor Appl Genet, 2002, 104: 735-739.
- [11] Bockelmann A C, Reusch T B H, Bijnsma R, et al. Habitat differentiation vs. isolation-by-distance: the genetic population structure of *Elymus athericus* in European salt marshes [J]. Molecular Ecology, 2003, 12: 505-515.
- [12] MacRitchie D, Sun G. Evaluating the potential of barley and wheat microsatellite markers or genetic analysis of *Elymus trachycaulus* complex species [J]. Theor Appl Genet, 2004, 108: 720-724.
- [13] Doyle J. Isolation of plant DNA from fresh tissue [J]. Focus Life Technologies, 1989, 12: 1.
- [14] Plaschke J, Ganai M W, Röder M S. Detection of genetic diversity in closely related bread wheat using microsatellite markers [J]. Theor Appl Genet, 1995, 91: 1001-1007.
- [15] Yang R C, Yeh F C. Multilocus structure in *Pinus contorta* Dougl [J]. Theor Appl Genet, 1993, 87: 568-576.
- [16] Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals [J]. Genetics, 1978, 89: 583-590.
- [17] Rohlf F J. NTSYC-PC numerical taxonomy and multivariate analysis system. Version 1.80 [CP]. New York: Exeter Software, Setauket, 1993.
- [18] Mantel N. The detection of disease clustering and a generalized regression approach [J]. Cancer Res, 1967, 27: 209-220.
- [19] 李永祥,李斯深,李立会,等. 披碱草属 12 个物种遗传多样性的 ISSR 和 SSR 比较分析 [J]. 中国农业科学, 2005, 38(8): 1522-1527.
- [20] Sun G L, Díaz O, Salomon B, et al. Genetic diversity in *Elymus caninus* as revealed by isozyme, RAPD and microsatellite markers [J]. Genome, 1999, 42: 420-431.
- [21] Sun G L, Salomon B, Bothmer R V. Microsatellite polymorphism and genetic differentiation in three Norwegian populations of *Elymus alaskanus* (Poaceae) [J]. Plant Syst Evol, 2002, 234: 101-110.
- [22] Garcia P, Monte J V, Casanova C, et al. Genetic similarities among Spanish populations of *Agropyron*, *Elymus* and *Thinopyrum*, using PCR-based markers [J]. Genetic Resources and Crop Evolution, 2002, 49: 103-109.
- [23] Barbara L, Wilson, Kitzmiller J, et al. Isozyme variation and its environmental correlates in *Elymus glaucus* from the California Floristic Province [J]. Can J Bot, 2001, 79(2): 139-153.
- [24] Nevo E, Apelbaum-Elkaher I, Garty J, et al. Natural selection causes microscale allozyme diversity in wild barley and a lichen at 'Evolution Canyon', Mt. Carmel, Israel [J]. Heredity, 1997, 78: 373-382.