

# 根茎禾草沙鞭的等位酶变异及克隆多样性\*

<sup>1</sup>王可青 <sup>1</sup>葛颂 <sup>2</sup>董鸣

<sup>1</sup>(中国科学院植物研究所系统与进化植物学开放实验室 北京 100093)

<sup>2</sup>(中国科学院植物研究所植被数量生态学开放实验室 北京 100093)

**摘要** 沙鞭(*Psammochloa villosa* (Trin.) Bor)是禾本科的一种沙生旱生植物,靠根茎进行无性生殖。采用10种酶系统共15个基因位点对中国科学院植物研究所内蒙古伊克昭盟鄂尔多斯沙地草地生态研究站的4个天然居群进行了遗传结构和克隆多样性分析。结果表明,和同类植物相比,沙鞭的遗传变异水平和克隆多样性均较低。沙鞭4个居群的遗传组成明显不同。石龙庙流动沙丘和石灰庙固定沙丘的基株数目多,遗传变异水平较高,而石龙庙固定沙丘和石灰庙半流动沙丘的基株数目少,只有1株或2株,且多样性水平极低。环境差异在沙鞭的等位酶变异上未得到反映。和其它克隆植物相似,沙鞭的大部分变异存在于居群间( $G_{ST} = 62.16\%$ ),居群内变异所占比例较少。沙鞭91.67%的基因型属地方型,无广布基因型。

**关键词** 沙鞭,克隆植物,等位酶,居群遗传结构,克隆多样性

## Allozyme Variance and Clonal Diversity in the Rhizomatous Grass *Psammochloa villosa* (Gramineae)\*

<sup>1</sup>WANG Ke-Qing <sup>1</sup>GE Song <sup>2</sup>DONG Ming

<sup>1</sup>(Laboratory of Systematic and Evolutionary Botany, Institute of Botany, The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093)

<sup>2</sup>(Laboratory of Quantitative Vegetation Ecology, Institute of Botany, The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093)

**Abstract** *Psammochloa villosa* (Trin.) Bor (Gramineae) is a rhizomatous grass with characteristic sand fixation. Ten enzymes encoded with 15 allozymic loci were used to examine the genetic structures of four natural populations in Inner Mongolia from different habitats. Electrophoretic data indicated that *P. villosa* had lower genetic variation ( $H_e = 0.104$ ) and lower clonal diversity ( $D = 0.764$ ) than other similar plants. Genetic compositions of the 4 populations were different. In Shilongmiao mobile dune and Shihuimiao fixed dune there were more genotypes and higher levels of variation than in Shilongmiao fixed dune and Shihuimiao semi-mobile dune. Just like other clonal plants, most genetic variation of *P. villosa* resided among populations ( $G_{ST} = 62.16\%$ ). Most genotypes were local, and there were no spread genotypes. Factors contributed to the genetic structure are herein discussed.

**Key words** *Psammochloa villosa*, Clonal plant, Allozyme, Population genetic structure, Clonal diversity

影响植物居群遗传结构的因素有多种,包括物种的遗传变异水平、繁育系统、种子散布机制以及小生境水平上的自然选择等<sup>[1]</sup>。物种的繁育系统既包括有性生殖,也包括无性生殖,是影响居群遗传结构的主要因素之一。无性生殖习性是植物界普遍存在的一种现象,具无性生殖习性的植物(以下称克隆植物)具有可塑性强、繁殖速度快的特点,常可在短期内占据各种不同生境,尤其是不良环境<sup>[2]</sup>,对物种的生存具有重要意义。尽管迄今对以有性生殖进行繁育的物种的遗传结构研究较多,但针对克隆植物所开展的研究仍十分有限,对克隆植物遗传多样性水

平及其适应意义仍有较大争议<sup>[3-6]</sup>。沙鞭为禾本科的单种属沙鞭属 *Psammochloa* Hitchc. 的多年生草本,分布于我国陕西、宁夏、甘肃、青海、新疆和内蒙古等省区和蒙古国境内。该种具发达的根状茎,并可靠此行无性生殖(营养生殖),具有很强的建群能力,为沙地和沙化草地的先锋植物,对流动沙丘有很强的适应性,为沙地植物群聚的优势种,是典型的旱生、沙生植物<sup>[7,8]</sup>。染色体计数表明该种为四倍体(另文报道)。本研究采用等位酶电泳技术,对毛乌素沙地的沙鞭居群进行了遗传多样性研究,以期了解该物种的遗传多样性水平和居群遗传结构,为进

\* 中国科学院生物科学和技术研究特支费(财政部专项)(STZ-1-10)资助项目。Supported by the Grant for Biological Science and Technology, the Chinese Academy of Sciences (STZ-1-10).

收稿日期:1998-01-06 接受日期:1998-06-05

一步揭示克隆植物与沙生环境的关系及其潜在的进化意义提供资料。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验材料

研究材料沙鞭(*Psammochoa villosa* (Trin.) Bor)取自位于中国科学院植物研究所内蒙古伊克昭盟鄂尔多斯沙地草地生态研究站的4个地点,即:石龙庙

基地和石灰庙基地各自的一个流动沙丘和固定沙丘上。两基地间相距约50 km。石龙庙基地的两个样地间相距约300 m,石灰庙基地的两个样地间相距约400 m。采样以居群方式进行,每个居群的面积约为400~1600 m<sup>2</sup>。这些居群的生境特点和每个居群的采样分株数详见表1。将新鲜叶片带回后迅速研磨提取,提取液采用Tris-Maleate缓冲液配方<sup>[9]</sup>。将蘸有酶提取液的滤纸条存于-80℃冰箱备用。

表1 沙鞭4个居群的采集地点、生境和分株数

Table 1 Localities, habitats and sampling sizes in 4 sampled populations of *Psammochoa villosa*

Population number	Locality	Habitat	Sampling size
N1	Shilongmiao, Yijinhuoluo Banner, Inner Mongolia	Mobile dune	30
N2	Shilongmiao, Yijinhuoluo Banner, Inner Mongolia	Fixed dune	44
O1	Shihuimiao, Yijinhuoluo Banner, Inner Mongolia	Semi-mobile dune	43
O2	Shihuimiao, Yijinhuoluo Banner, Inner Mongolia	Fixed dune	41

### 1.2 等位酶电泳

采用水平切片淀粉凝胶电泳方法<sup>[10]</sup>,检测了沙鞭15个酶系统。其中10种酶系统的显色正常且表现出清晰的谱带,这10种酶系统分别是:天冬氨酸转氨酶(AAT)、乙醇脱氢酶(ADH)、还原型辅酶I心肌黄酶(DIA)、异柠檬酸脱氢酶(IDH)、苹果酸脱氢酶(MDH)、苹果酸酶(ME)、6-磷酸葡萄糖脱氢酶(PGD)、磷酸葡萄糖异构酶(PGI)、磷酸葡萄糖变位酶(PGM)和莽草酸脱氢酶(SKD)。其中AAT、DIA、PGI和PGM用6号电极缓冲液系统(硼酸钠/Tris-柠檬酸)进行分离;其他的酶系统用1号电极缓冲液系统(柠檬酸三钠/组氨酸)进行分离。电极缓冲液及酶染色液根据王中仁<sup>[10]</sup>和Soltis等<sup>[9]</sup>的配方稍作改动。淀粉(Sigma公司生产)凝胶的浓度为12%。酶位点从阳极到阴极依次用1、2……表示,每个位点的等位基因从阳极到阴极依次用a、b……表示。

### 1.3 统计分析

为便于和其他植物进行比较,我们计算了反映居群遗传变异水平和克隆多样性的几种常用度量指标。这些指标的意义及其计算方法详见有关文献<sup>[10~14]</sup>。

#### 1.3.1 度量居群遗传变异水平和遗传结构的指标

1)多态位点百分率 $P$ 我们采用具有两个以上等位基因且每个等位基因的频率不大于0.99的标准;2)每个位点平均等位基因数 $A$ ;3)平均期望杂合度 $He$ <sup>[11]</sup>;4)基因分化系数 $G_{ST}$ <sup>[11]</sup>。

1.3.2 测定克隆多样性的指标 1)每个居群的实际基株数目(或基因型数目) $G$ ;2)平均克隆大小 $Nc$

=样本数/ $G$ ;3)基因型比率(proportion distinguishable) $PD = G$ /样本数;4)Simpson指数 $D$ <sup>[12]</sup>;5)居群内基因型分布的均匀度 $E$ <sup>[13]</sup>。

## 2 实验结果

### 2.1 等位酶分析

通过酶电泳谱带式样的分析,共获得15个等位酶位点的图谱,其中 $Aat-1$ 、 $Adh$ 、 $Dia-1$ 、 $Idh$ 、 $Mdh-1$ 、 $Mdh-2$ 、 $Me$ 、 $Pgd-1$ 、 $Pgi-1$ 、 $Pgi-2$ 、 $Pgm$ 为单态位点,只有 $Mdh-3$ 、 $Pgd-2$ 、 $Pgi-3$ 、 $Skd$ 为多态位点。其中 $Pgi-3$ 有4个等位基因, $Skd$ 、 $Mdh$ 和 $Pgd-2$ 分别有2个等位基因。 $Pgi-3$ 中的 $d$ 基因为稀有基因,只在石灰庙基地半流动沙丘(O1)的一个个体里出现。 $Pgd-2$ 中的 $b$ 基因只在石灰庙基地固定沙丘(O2)里出现,但频率却超过在其他3个居群中唯一表达的 $a$ 基因。其他8个等位基因在两个或两个以上的居群内出现。石龙庙基地的流动沙丘(N1)和固定沙丘(N2)的MDH酶谱一致,石灰庙基地的半流动沙丘(O1)和固定沙丘(O2)的MDH酶谱一致,石龙庙基地流动沙丘(N1)的大部分个体和固定沙丘(N2)的SKD酶谱一致,石灰庙半流动沙丘(O1)和固定沙丘(O2)的SKD酶谱一致。实际上,石龙庙固定沙丘居群的所有酶谱变化都在同一地点的流动沙丘居群的变化范围之内。由此可以看出,石龙庙流动沙丘(N1)与固定沙丘居群(N2)、石灰庙半流动沙丘(O1)和固定沙丘居群(O2)的遗传距离较近,石龙庙各居群与石灰庙各居群之间的遗传距离较远。遗传距离和地理位置远近呈正相关关系( $r = 0.8513$ ,  $P$

<0.05)。

## 2.2 居群遗传变异

表2为各个基因位点的预期杂合度  $H_e$ 。可以看出同一居群的不同位点、同一位点在不同居群里的  $H_e$  均不相同,说明位点间、居群间存在着较大差异。

根据反映遗传变异水平的3个指标(表3),石龙庙流动沙丘(N1)和石灰庙固定沙丘(O2)的每个位点平均等位基因数  $A$  较高,分别为1.267和1.2,石龙庙固定沙丘(N2)和石灰庙半流动沙丘(O1)的  $A$  值很低,只有1.067。石龙庙流动沙丘(N1)的多

表2 沙鞭4个多态位点的预期杂合度

Table 2 Average expected heterozygosity data of 4 allozyme loci of *Psammochloa villosa*

Locus	Population <sup>1)</sup>				Total
	N1	N2	O1	O2	
<i>Mdh-3</i>	0.375	0.375	0.000	0.000	0.219
<i>Pgd-2</i>	0.000	0.000	0.000	0.284	0.328
<i>Skd</i>	0.340	0.000	0.000	0.000	0.494
<i>Pgi-3</i>	0.396	0.000	0.023	0.559	0.513

1) Population numbers are the same as in Table 1.

表3 沙鞭4个居群的遗传变异和克隆多样性

Table 3 Genetic variation and clone diversity in 4 populations of *Psammochloa villosa*

Population <sup>1)</sup>	$A$	$P$	$H_e$	$G$	$N_e$	$PD$	$D$	$E$
N1	1.267	20.00	0.074	4	7.50	0.133	0.579	0.662
N2	1.067	6.67	0.025	1	44.00	0.023	0.000	NA <sup>2)</sup>
O1	1.067	6.67	0.002	2	21.50	0.047	0.047	0.000
O2	1.200	13.33	0.056	6	6.83	0.146	0.665	0.696
Total	1.400	26.67	0.104	12	13.17	0.076	0.764	0.798

1) The population numbers are the same as in Table 1; 2) NA = not applicable.

## 2.3 克隆多样性

沙鞭的克隆多样性见表3。共测出12种基因型。石灰庙固定沙丘(N2)最多,有6种基因型,其次为石龙庙流动沙丘(N1),有4种基因型,石龙庙固定沙丘(O2)最少,只有1种,该基因型也出现在附近的流动沙丘中。石龙庙流动沙丘(N1)和石灰庙固定沙丘(O2)的每个样本的基因型比率较大,分别为0.133和0.146,石龙庙固定沙丘(N2)和石灰庙半流动沙丘(O1)的基因型比率较低,只有0.023和0.047。同样,石龙庙流动沙丘(N1)和石灰庙固定沙丘(O2)的 Simpson 指数( $D$ )较高,分别为0.579、0.665,而石龙庙固定沙丘(N2)没有多样性,整个居群只有一种基因型,石灰庙半流动沙丘(O1)的  $D$  值仅为0.047。从基因型分布的均匀程度  $E$  看,石龙庙流动沙丘(N1)(0.662)和石灰庙固定沙丘(O2)(0.696)的分布远较石灰庙半流动沙丘(约等于0)均匀。若按 Elstrand and Roose<sup>[4]</sup> 中地方基因型(genotypes occurring in only one population)和广布基因型(genotypes occurring in more than 75% of the popula-

tions)的标准,沙鞭91.67%的基因型为地方基因型,没有广布基因型。由此可看出不同居群的克隆多样性可以相差很大,且基因型的地域性分布较强烈。

态位点百分率最高,为20%,其次为石灰庙固定沙丘(O2),为13.33%,而石龙庙固定沙丘(N2)和石灰庙半流动沙丘(O1)只有6.67%的位点为多态。平均预期杂合度  $H_e$  又称基因多样性<sup>[9]</sup>,可以很好地反映居群的变异程度。石龙庙流动沙丘(N1)的  $H_e$  (0.074)最高,石灰庙固定沙丘(O2)(0.056)次之,石龙庙固定沙丘(N2)的  $H_e$  (0.025)较低,石灰庙半流动沙丘(O1)的  $H_e$  (0.002)最低。从居群分化程度指标  $G_{ST}$  来看,沙鞭总群体中62.16%的遗传变异存在于居群间,居群内变异所占比例不足一半,说明居群分化十分明显。

tions)的标准,沙鞭91.67%的基因型为地方基因型,没有广布基因型。由此可看出不同居群的克隆多样性可以相差很大,且基因型的地域性分布较强烈。

## 3 讨论

### 3.1 沙鞭的居群遗传结构和克隆多样性

从反映居群遗传变异水平的各指标看,作为多年生草本单子叶植物,沙鞭的遗传多样性水平( $A = 1.4$ ,  $P = 26.67$ ,  $H_e = 0.104$ )明显低于其它单子叶植物平均值( $A = 1.66$ ,  $P = 40.0$ ,  $H_e = 0.144$ )<sup>[5]</sup>和其它长寿多年生草本平均值( $A = 1.79$ ,  $P = 50$ ,  $H_e = 0.149$ )<sup>[5]</sup>。野外调查表明,沙鞭的有性生殖以自交为主,但其遗传变异水平高于自交种的平均值( $P = 20.0$ ,  $A = 1.31$ ,  $H_e = 0.074$ )<sup>[5]</sup>,这可能和沙鞭可以营养生殖、因而固定了较多的杂合子有关,故根据基因频率计算出的  $H_e$  也相应较高。沙鞭的居群分化非常明显,  $G_{ST}$  远远高于同类型的其他植物<sup>[5]</sup>,大概与沙鞭的生殖方式(无性繁殖+自交)有很大关系。

把沙鞭和其他克隆植物比较,基因型比率

(0.076)较平均值(0.17)<sup>[4]</sup>低,多克隆居群所占比例(75%)与其它克隆植物(77%)<sup>[4]</sup>相当。石龙庙流动沙丘和石灰庙固定沙丘的克隆多样性指数( $D = 0.579, 0.665$ )和基因型分布均匀度( $E = 0.662, 0.696$ )接近其他多克隆居群的平均值( $D = 0.62, E = 0.68$ )<sup>[4]</sup>,但石龙庙固定沙丘和石灰庙流动沙丘的 $D$ 值和 $E$ 值远远低于该平均值,说明石龙庙流动沙丘和石灰庙固定沙丘的多样性属中等水平,石龙庙固定沙丘和石灰庙半流动沙丘的多样性水平极低。和其它克隆植物类似,沙鞭的大多数基因型属地方基因型,居群分化强烈。

### 3.2 遗传变异的产生和维持

自然界有许多兼性生殖植物,它们通过有性重组,产生可供自然选择作用的遗传变异,通过无性繁殖,可使带有新的有利基因型的个体迅速占领某个地区<sup>[15]</sup>。有证据表明,在天然居群中有少量基因流和/或突变发生,遗传变异便可维持<sup>[4]</sup>,因此克隆植物可能会含有较多的遗传变异。沙鞭以自交为主,通过重组产生基因型的机会较少,其遗传变异水平相对较低,现存的遗传变异有可能主要来自突变。

单亲生殖系统、遗传变异的贫乏、明显的居群间变异和高水平的多位点组合,已在许多克隆植物中有报道<sup>[2]</sup>。沙鞭各个居群的遗传组成不同。石龙庙固定沙丘只有一个基株,其来源可能就是附近的流动沙丘。石灰庙基地的两个居群共享基因较多,但没有共同的基因型,说明两者分化的时间比较长,各自产生了新的等位基因组合。

环境的异质性可以导致某些克隆植物的多样性<sup>[16,17]</sup>,但它们之间并没有必然联系<sup>[15,18]</sup>。一般地,流动沙丘生境单一,固定沙丘生境较复杂,但沙鞭四个居群的多样性水平和生境之间并无规律可循,无论是遗传变异还是克隆多样性,石龙庙流动沙丘和石灰庙固定沙丘的多样性水平都远远高于石龙庙固定沙丘和石灰庙半流动沙丘,说明环境差异并未反映在沙鞭居群的遗传多样性上。

因为重复的克隆事件是许多入侵植物的特征,和其它植物相比,遗传瓶颈、建立者效应和遗传漂变在影响遗传多样性方面可能起着更为重要的作用。此外,统计学、生活史和生殖特征也影响着克隆植物的遗传多样性水平<sup>[2]</sup>。沙鞭4个居群建群时可能只有少数个体参与,加上含不同基因型的个体数目不同,这在很大程度上影响了沙鞭的居群结构。因此沙鞭的居群遗传结构和克隆多样性是多种因素的综

合结果,与这些居群的起源、扩散方式和有性生殖大小有密切关系。

**致谢** 感谢李新荣博士和陈玉福先生在采样过程中给予的帮助。

### 参 考 文 献

- 1 Hamrick J L, Loveless M D. Isozyme variation in tropical trees: procedures and preliminary results. *Biotropica*, 1986, **18**:201 ~ 207
- 2 Barret S C H, Shore J S. Isozyme variation in clonizing plants. In: Soltis D E, Soltis P S eds. *Isozymes in Plant Biology*. London: Chapman & Hall, 1989. 106 ~ 126
- 3 Bayer R J. Patterns of isozyme variation in the *Antennaria rosea* (Asteraceae: Inuleae) polyploid agamic complex. *Sys Bot*, 1989, **14**:389 ~ 397
- 4 Elstrand N C, Roose M L. Patterns of genotypic diversity in clonal plant species. *Amer J Bot*, 1987, **74**:123 ~ 131
- 5 Hamrick J L, Godt M J W. Allozyme diversity in plant species. In: Brown A H D, Clegg M T, Khler A L, Weir B S eds. *Population Genetics and Germplasm Resources in Crop Improvement*. Sunderland: Sinauer, 1989. 44 ~ 64
- 6 Noyes R D, Soltis D E. Genotypic variation in agamosperous *Erigeron compositus* (Asteraceae). *Amer J Bot*, 1996, **83**:1292 ~ 1303
- 7 Lu S-L (卢生莲), Kuo P-C (郭本兆). *Psammochloa Hitchc.* In: Kuo P-C (郭本兆) ed. *Flora Republicae Popularis Sinicae*. Beijing: Science Press, 1987, **9**:309 (in Chinese)
- 8 Imzab (音扎布). *Psammochloa Hitchc.* In: Ma Y-Q (马毓泉) ed. *Flora of Inner Mongolia*. Huhhot: Inner Mongolia People Press, 1994. **5**:219 (in Chinese)
- 9 Soltis D E, Haufler C H, Darrow D C, Gastony G J. Starch gel electrophoresis of ferns: a compilation of grinding buffers, and staining schedules. *Amer Fern J*, 1983, **73**:9 ~ 27
- 10 Wang Z-R (王中仁). *Plant Allozyme Analysis*. Beijing: Science Press, 1996. (in Chinese)
- 11 Nei M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1973, **70**:3321 ~ 3323
- 12 Pielou E C. *An Introduction to Mathematical Ecology*. New York: Wiley-Interscience, 1969.
- 13 Fager E W. Diversity: a sampling study. *Amer Nat*, 1972, **106**:293 ~ 310
- 14 Eckert C G, Barrett S C H. Clonal reproduction and patterns of genotypic diversity in *Decodon verticillatus* (Lythraceae). *Amer J Bot*, 1993, **80**:1175 ~ 1182
- 15 Silander J A. Microevolution and clone structure in *Spartina patens*. *Science*, 1979, **203**:658 ~ 660
- 16 Hancock J F, Wilson R E. Biotype selection in *Erigeron annuus* during old field succession. *Bull Torrey Bot Club*, 1976, **103**:122 ~ 125
- 17 Burdon J J. Intra-specific diversity in a natural population of *Trifolium repens*. *J Ecol*, 1980, **68**:717 ~ 735
- 18 Steiner E, Levin D A. Allozyme, *SI* gene, cytological and morphological polymorphisms in a population of *Oenothera biennis*. *Evolution*, 1977, **31**:127 ~ 133