

竹叶眼子菜居群遗传多样性和克隆结构*

陈媛媛¹ 栗琪² 吴文颖¹ 李伟^{1, **}

(¹ 中国科学院武汉植物园水生植物生物学实验室, 武汉 430074; ² 中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

【摘要】 采用 ISSR 技术对长江中游南岸豹澥湖和大冶湖不同生境中的竹叶眼子菜 (*Potamogeton malaianus*) 居群的遗传多样性及克隆结构进行了研究。结果表明, 在两居群的 106 株个体中, 利用 6 条 ISSR 引物共得到 40 条符合 3/N 标准并无连锁不平衡的清晰位点, 竹叶眼子菜具有较高的遗传多样性, 其多态位点百分率为 75.0%, Shannon 多样性指数为 0.3736, 两居群的遗传分化很小。竹叶眼子菜的克隆多样性很高 ($D=0.9917$), 两居群间的克隆分化很大, 不具有共有的基因型。竹叶眼子菜的基株分布为游击型构型, 位于湖心的大冶居群克隆距离 (3.0 ~ 31.5 m) 明显地大于湖岸豹澥居群 (2.4 ~ 6.7 m)。

关键词 竹叶眼子菜 遗传结构 克隆多样性 克隆分化 克隆空间结构

文章编号 1001-9332(2006)11-2034-07 **中图分类号** Q173, Q178.51+3 **文献标识码** A

Genetic diversity and clonal structure of *Potamogeton malaianus* populations. CHEN Yuanyuan¹, LI Qi², WU Wenying¹, LI Wei¹ (¹Laboratory of Aquatic Plant Biology, Wuhan Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430074, China; ²Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China). -Chin. J. Appl. Ecol., 2006, 17(11): 2034 ~ 2040.

By using inter-simple sequence repeat (ISSR) makers, this paper studied the genetic diversity and clonal structure of two *Potamogeton malaianus* populations growing in different habitats of two lakes in the middle reaches of Yangtze River. With six primers selected, a total of 40 fragments, of which 30 (75.0%) were polymorphic, were obtained from 106 individuals. This species showed a high genetic diversity, with Nei's gene diversity of $H = 0.2471$ and Shannon's information index of $I = 0.3736$. A low degree of population differentiation ($G_{st} = 0.0861$) was found between the two populations, and a very high clonal diversity ($D = 0.9917$) was detected, according to the analysis based on the polymorphic loci. No common genotypes were found among the individuals from the two populations, showing a great clonal differentiation between them. The spatial distribution pattern of *P. malaianus* genets showed 'guerilla' architecture, and the clonal distance of the population in lake center (3.0 ~ 31.5 m) was significantly larger than that in lakeshore (2.4 ~ 6.7 m).

Key words *Potamogeton malaianus*, Genetic structure, Clonal diversity, Clonal differentiation, Clonal spatial structure.

1 引言

克隆生殖是一种普遍的植物繁殖方式, 是水生植物的一种较为优势的生殖方式^[33], 对植物的遗传多样性和种群遗传结构具有重要影响^[3, 33]. 对于兼性克隆植物来说, 有性生殖可以使其遗传多样性增大, 遗传分化减小, 但要依赖于该物种有性生殖和无性生殖的比例及其散播能力^[7, 19]. 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^[17, 33]. 以往, 由于克隆植物的基株难以辨认, 因而涉及克隆植物的居群遗传学及其进化因素方面的研究相对较少^[34], 且多采用等位酶分子标记^[1, 23, 31]. 然而, 因为等位酶可识别的位点较少, 研究结果将会低估物种遗传多样性及克隆多样性^[17]. 近年来, 一些基于 PCR 的 DNA 分子标记的发展为准确鉴定克隆基株提供了可靠技术

保障, 并已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^[8, 17, 27].

眼子菜属 (*Potamogeton*) 为水生单子叶植物中种类最丰富的一个属, 约 100 种, 多为世界广布种; 竹叶眼子菜 (*P. malaianus*) 为多年生沉水草本, 东亚广布种, 可开花结实, 同时也有发达的根状茎进行克隆繁殖^[30], 是长江中下游地区湖泊沉水植被的主要建群种之一. 鉴于 ISSR 标记不需要特定引物, 且因其退火温度较高及引物序列较长而具有较好的重复性^[17], 本研究使用 ISSR 做遗传标记, 对不同生境中的两个竹叶眼子菜群体进行遗传及克隆多样性、克隆结构和遗传变异的分布研究, 旨在初步揭示克隆植物竹叶眼子菜的居群遗传变异及遗传结

* 国家自然科学基金项目(29970065)、中国科学院知识创新工程项目(KSCX2-1-10)和中国科学院生命科学与生物技术特别支持费资助项目.

** 通讯联系人. E-mail: liwei@rose.whiob.ac.cn
2005-11-14 收稿, 2006-08-30 接受.

构,了解群体内克隆的大小、空间格局及其与生境之间的联系,为进一步揭示竹叶眼子菜的克隆生长和生态适应性提供基础资料。

2 材料与方法

2.1 供试材料

近年来,随着污染和渔业养殖的加剧,竹叶眼子菜的大居群在长江中游湖泊中已很难见到。2004年9月,分别对长江中游大冶湖和豹澥湖中两个竹叶眼子菜居群进行野外调查并采样。竹叶眼子菜大冶居群(115°03.660'E,30°06.454'N,海拔23 m)处于大湖开阔水面中,沿湖心水道边缘狭长分布,水道水深为3 m以上,风浪较大,时有砂石货运船只经过;豹澥居群(114°33.127'E,30°25.377'N,海拔21 m)处于湖汊靠近围湖鱼塘的岸边,水面狭小平静,并多香蒲(*Typha angustifolia*)等挺水植物,水深0~0.5 m,居群沿湖岸狭长分布。在大冶和豹澥两居群分别采样45株和61株,每居群样品采集时,除个别个体略少于3 m外,其它样品至少间隔3 m,同时进行位置定位,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。

2.2 研究方法

2.2.1 总DNA的提取和浓度确定 采用改进的CTAB法^[2]从叶片中提取总DNA,用1%的琼脂糖凝胶电泳检测确认其质量,用紫外分光核酸测定仪测定其浓度。

2.2.2 PCR扩增 实验所用ISSR引物参照加拿大哥伦比亚大学(UBC)公布的第9套ISSR引物序列(由上海博亚生物公司合成),从69个ISSR引物中筛选出6个扩增片断清晰、重复性好且位点较多的引物(表1)。PCR反应体系15 μl:20 ng模板DNA,0.3 μmol·L⁻¹引物,0.2 mmol·L⁻¹ dNTPs,1.5 mmol·L⁻¹ Mg²⁺,0.375 U Taq酶,1.5 μl 10×反应缓冲液[750 mmol·L⁻¹ Tris-HCl (pH 8.8),200 mmol·L⁻¹ (NH₄)₂SO₄,0.1%吐温20]。PCR运行程序如下:94℃预变性1 min;94℃45 s,50℃30 s,72℃2 min,35个循环;72℃延伸5 min;4℃保存。反应产物在含有EB的1.5%琼脂糖凝胶中电泳检测,用100 bp的DNA ladder作为分子量标记,在紫外灯下用凝胶成像系统拍照记录结果。位点的命名由所用引物和条带大小来确定。

表1 ISSR引物序列和扩增条带

Table 1 Primers used and the number of scored, useful and polymorphic bands obtained in the ISSR analysis

引物名称 Prime name	序列 Sequence 5'-3'	退火温度 Annealing temperature (°C)	所得条带 Scored bands	剩余条带 Useful bands	多态条带 Polymorphic bands
808	(AG) ₈ C	49.7	7	3	2
809	(AG) ₈ G	48.9	7	6	3
812	(GA) ₈ A	48.9	8	7	5
842	(GA) ₈ YG	48.0	16	13	10
889	DBD (AC) ₇	50.8	6	4	3
890	VHV (GT) ₇	49.7	8	7	7

B = (C, G, T); D = (A, G, T); H = (A, C, T); V = (A, C, G); Y = (C, T)。

2.2.3 统计分析 应用显性标记RAPD和ISSR时,遗传多样

性参数将会被高估5%,为降低误差,频率高于 $[1 - (3/N)]$ (N ,取样个体数)的多态位点将被去掉^[22]。将数据作为单倍型,使用Arlequin 2.0^[28]对各个居群内的位点进行连锁不平衡检测,去除在两居群中均表现连锁不平衡的位点。

运用POPGENE Version 1.31^[35]计算竹叶眼子菜各居群的Nei's基因多样性指数(H)^[25]、Shannon表型信息指数(I)^[15]、群体分化系数(G_m)和多态性条带百分率(PPL)及Nei's^[24]遗传一致度。

克隆多样性采用实际基因型(基株)总数(G)、平均克隆大小(N/G)、Simpson指数(D)和Fager指数(E)进行分析^[3,5]。Simpson指数和Fager指数的计算公式为:

$$D = 1 - \sum \{ [N_i(N_i - 1)] / [N(N - 1)] \}$$

$$E = (D - D_{\min}) / (D_{\max} - D_{\min})$$

$$D_{\min} = (G - 1)(2N - G) / N(N - 1)$$

$$D_{\max} = (G - 1)N / G(N - 1)$$

式中, $N = \sum N_i$,为取样个体(分株)总数, G 为基因型(基株)总数, N_i 为具有第 i 基因型的个体(分株)数目。

采用空间自相关进行分析,首先将取样点标定在图上,每个取样点对应一个或多个变量。变量的性质可以分为绝对型变异(如表型或基因型)、等型变异(如植物密度等级)和连续型变异(如数量性状及基因频率等)3种类型。将ISSR变异看作绝对型变异进行处理,在多态位点中选取带谱表型频率在10%~90%的位点,进行空间自相关分析。空间结构的变异用空间自相关系数Moran's I 来衡量^[29]。对于每一个等位基因的每一个距离等级,Moran's I 指数可用以下标准公式计算:

$$I = n \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^n W_{ij} Z_i Z_j / W \sum_{i=1}^n Z_i^2$$

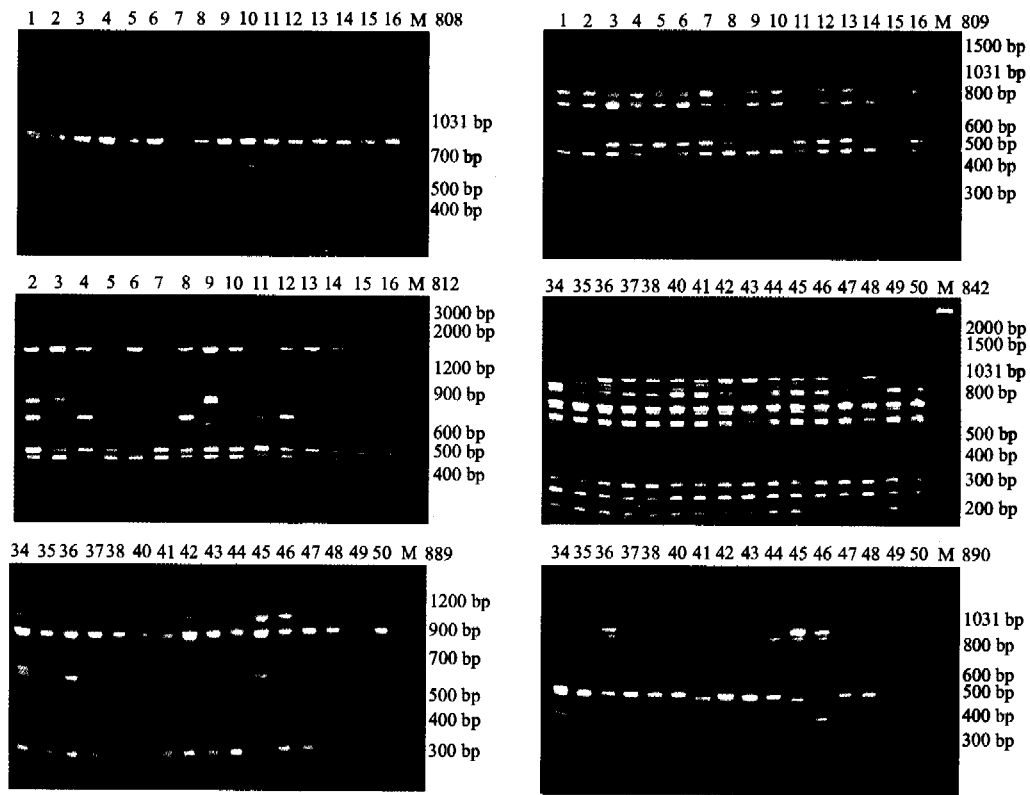
式中, W_{ij} 为权重,当空间一点 i 和 j 为邻接关系时, $W_{ij} = 1$,否则 $W_{ij} = 0$; Z_i 、 Z_j 分别为空间点 i 和 j 的数值与所有点的均值之差, n 为样点数。

在空间随机分布零假设下, I 的预期值 $I_{\text{expect}} = -1/(n - 1)$ 。当被检测样本足够多时, I_{expect} 接近于零。Moran's I 指数为正值且显著,说明该距离等级两点存在相似关系,若为负值且显著,则说明该距离等级两点存在不相似关系^[9]。Moran's I 偏离预期值的显著程度采用标准正态偏差法检验。本研究采用等间隔地理距离等级(10个等级)的方法,计算两居群不同距离等级下的Moran's I 空间自相关系数,距离梯度的设置按个体间的平均距离进行。采用SAAP 4.3计算机软件^[32]进行数据处理。

3 结果与分析

3.1 竹叶眼子菜遗传变异及遗传分化

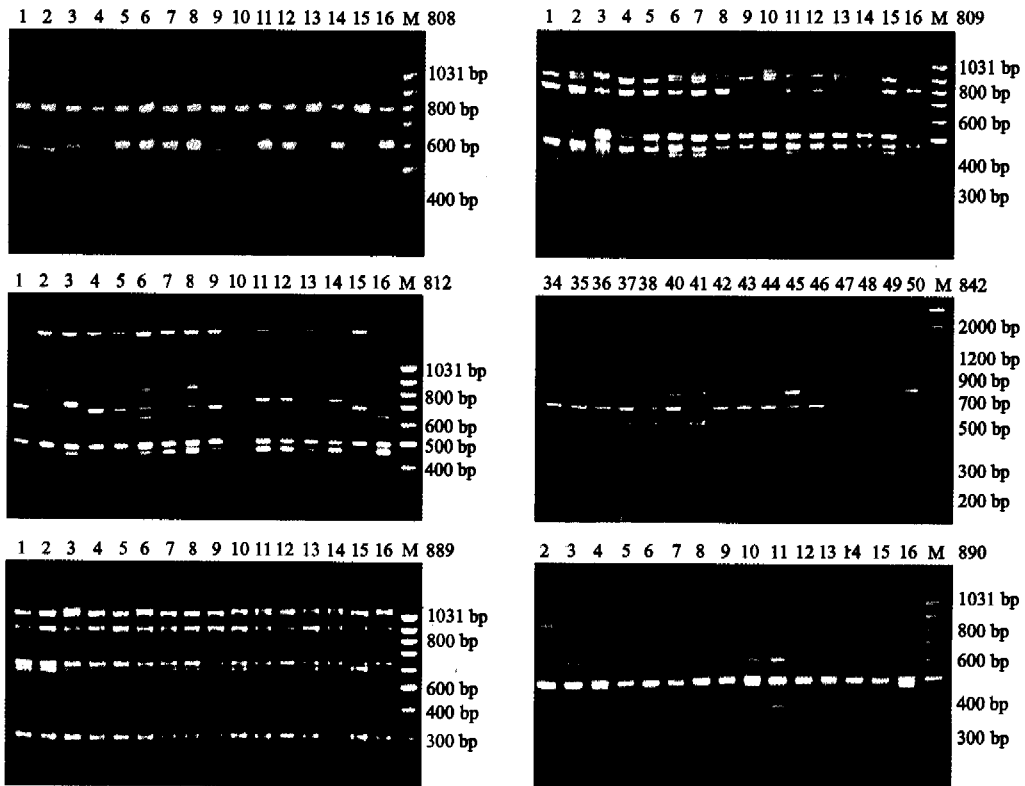
用6条ISSR引物对2个居群的106株竹叶眼子菜个体进行PCR扩增,共得到52条清晰稳定、大小在200~1500 bp之间的DNA片段(图版I, II),去掉连锁不平衡的10个位点和频率高于



图版 I 竹叶眼子菜大冶居群 6 条 ISSR 引物 DNA 扩增图片

Plate I ISSR bands of *P. malianus* samples from Daye population amplified with six primers.

1~50) 样品编号 Individual; M: 标准分子量对照 Marker; 808, 809, 812, 842, 889, 890: 引物代号 Names of six primers. 下同 The same below.



图版 II 竹叶眼子菜豹湖居群 6 条 ISSR 引物 DNA 扩增图片

Plate II ISSR bands of *P. malianus* samples from Baoxie population amplified with six primers.

97.2% 的 2 个多态位点, 最后有 40 个位点(表 1) 用于本次分析. 其中除 812-900 条带仅出现于大冶湖居群之外, 其它位点的条带均为大冶和豹澥两居群所共有. 在物种水平上, 40 个条带中有 30 条有多态性, 多态位点百分率 PPL 为 75%, Nei's 基因多样性指数 H 为 0.2471, Shannon 信息多样性指数 I 为 0.3736(表 2). 在居群水平上, 大冶居群的 3 个指数均略高于豹澥居群(表 2). 竹叶眼子菜两居群间遗传基础较为相似, 其居群间的遗传一致度高达 0.9444. 两居群总的基因多样性 H_t 为 0.2499, 其中居群内的基因多样性 H_s 为 0.2284, 居群间的基因多样性 D_{st} 为 0.0215, 居群间基因分化系数 G_{st} 为 0.0861, 表明两居群总遗传多样性的 91.39% 来自于居群内部, 居群间的遗传变异仅为 8.61%.

表 2 竹叶眼子菜居群的遗传变异
Table 2 Genetic variation of two populations of *P. malaianus* (\pm SE)

居群 Population	总位点数 Total number of loci	多态位 点数 Number of polymorphic loci	多态位点 百分率 PPL	Nei's 基因多样性 H	Shannon 指数 I
大冶 Daye	40	27	67.50	0.2436 \pm 0.2054	0.3602 \pm 0.2914
豹澥 Baoxie	40	25	62.50	0.2132 \pm 0.2043	0.3194 \pm 0.2879
总计 Total	40	30	75.00	0.2471 \pm 0.1875	0.3736 \pm 0.2650

PPL: The percentage of polymorphic loci; H : Nei's gene diversity; I : Shannon's information index.

3.2 竹叶眼子菜居群克隆多样性和克隆空间结构

由表 3 可以看出, 两群体均为多克隆群体, 克隆数目大冶居群为 37 个, 豹澥湖 51 个; 豹澥居群的克隆多样性 ($D = 0.9934$) 略高于大冶居群 ($D =$

表 3 竹叶眼子菜居群的克隆多样性和分布均匀性
Table 3 Clonal diversity and distributional uniformity in two populations of *P. malaianus*

居群 Population	N	G	N/G	D	E
大冶 Daye	45	37	1.2162	0.9899	0.8349
豹澥 Baoxie	61	51	1.1961	0.9934	0.8769
平均 Mean	53	44	1.2062	0.9917	0.8559

N : Sample size; G : Number of genotypes; N/G : Average size of genotype; D : Simpson index; E : Fager index.

0.9899); 豹澥居群和大冶居群的分布均匀性分别为 0.8769 和 0.8349. 两居群中无共有基因型.

竹叶眼子菜大冶和豹澥居群的克隆空间分布见图 1, 两居群中均无优势克隆, 在大冶居群中, 有 2 个基因型分别含有 3 个分株, 4 个基因型均含 2 个分株, 其它 31 个基因型都仅含一个分株; 豹澥居群中, 有 2 个基因型分别含有 3 个分株, 6 个基因型分别含有 2 个分株, 其它 43 个基因型都仅含一个分株. 值得注意的是, 两居群的克隆距离有很大差异, 大冶居群中克隆个体分布分散, 其克隆距离在 3.0 ~ 31.5 m; 豹澥居群中, 克隆个体分布较近, 多为相邻个体, 克隆距离在 2.4 ~ 6.7 m(图 1).

3.3 居群内空间自相关分析

在大冶和豹澥居群中, 分别得 ISSR 多态位点 27 个和 25 个(表 1), 其中谱带频率在 10% ~ 90% 之间的 ISSR 位点在两居群中分别为 15 个, 在大冶居群中以个体间的平均距离 6.3 m 为梯度, 在豹澥居群中以个体间的平均距离 5.0 m 为梯度, 分别划分 10 个距离等级, 去掉样对分布较少的第 10 距离

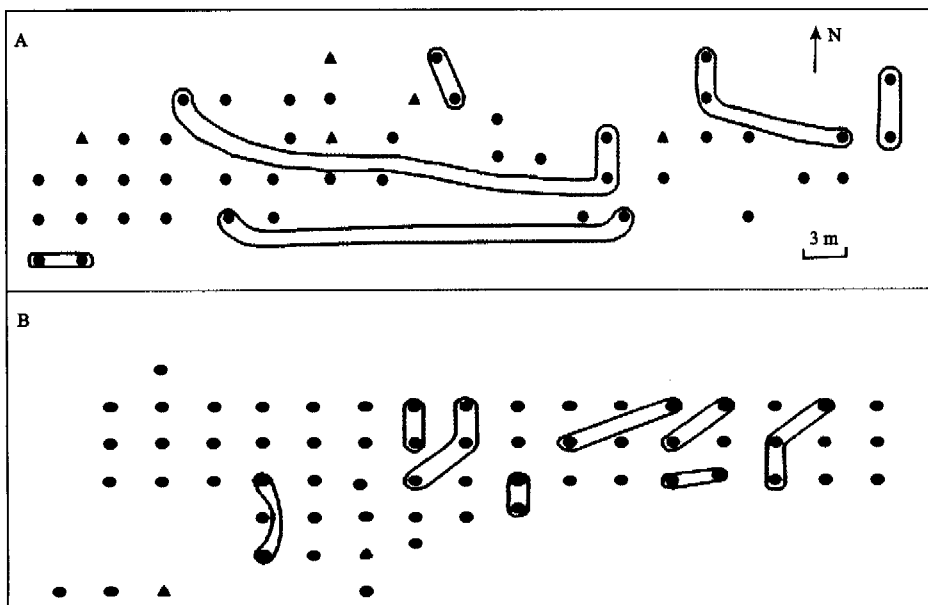


图 1 竹叶眼子菜居群的克隆空间分布

Fig. 1 Clonal structure of two *P. malaianus* populations.

A: 大冶 Daye, B: 豹澥 Baoxie; ● 分析植株 A sample collected and analyzed, ▲ 未分析植株 A sample collected and not analyzed, □ 同一克隆植株 A putative clone.

表 4 竹叶眼子菜大冶和豹澥居群 10 个距离等级下的 Moran's *I* 值及其显著性(等距离间隔)Table 4 Spatial autocorrelation coefficients (Moran's *I*) for 10 distance classes in Daye and Baoxie population of *P. malaianus* (equal interval correlograms)

居群 Population	位点 Locus	距离等级 Distance class [#]										累计 可能性 Cumulative probability
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
大冶 Daye	808-650	0.01	0.01	-0.07	-0.05	-0.04	-0.08	-0.08	0.05	0.18	-0.13	0.789
	808-580	0.06	-0.01	-0.08	-0.25**	0.11	0.20*	-0.10	0.00	-0.12	0.05	0.032*
	809-900	0.03	-0.03	-0.03	-0.12	0.05	0.12	-0.08	-0.01	-0.14	-0.21	0.761
	809-600	-0.03	-0.06	0.04	-0.01	0.04	-0.08	0.01	-0.10	0.01	-0.15	1.000
	812-670	0.03	0.11*	0.03	-0.17*	-0.10	-0.27**	-0.16	0.01	0.04	0.60**	0.016*
	842-1300	0.08	-0.09	0.05	-0.01	-0.13	0.24**	-0.07	-0.13	-0.12	-0.47*	0.028*
	842-1170	-0.02	0.03	0.03	-0.08	0.04	-0.02	-0.01	-0.18	-0.36**	0.30	0.063
	842-900	0.14*	0.03	-0.07	-0.06	-0.27**	-0.20*	0.05	0.03	0.13	0.32*	0.031*
	842-850	0.09	-0.04	0.21**	0.08	-0.12	-0.12	-0.22*	-0.10	-0.23	-0.32	0.012*
	842-460	0.16*	0.13**	-0.04	-0.36**	-0.28**	-0.15	0.06	0.15	0.15	0.15	0.000**
	842-310	0.29**	-0.03	-0.24**	-0.12	0.26**	0.07	-0.04	-0.10	-0.18	-0.69**	0.002**
	889-650	0.06	-0.08	0.02	-0.06	-0.10	0.07	-0.13	-0.19	0.58**	-0.24	0.000**
	890-900	0.11	0.07	0.00	-0.08	-0.28**	-0.24*	0.04	-0.14	0.24*	0.28	0.031*
	890-490	0.05	0.04	-0.01	0.00	-0.07	-0.11	-0.22*	-0.10	-0.17	0.84**	0.000**
	890-470	0.04	-0.01	0.00	-0.03	-0.09	0.03	-0.42**	0.24**	0.18	-0.16	0.000**
	Average	0.07	0.00	-0.01	-0.09	-0.07	-0.04	-0.09	-0.04	0.01	0.01	
Maximum	0.29	0.13	0.21	0.08	0.26	0.24	0.06	0.24	0.58	0.84		
Minimum	-0.03	-0.09	-0.24	-0.36	-0.28	-0.27	-0.42	-0.19	-0.36	-0.69		
豹澥 Baoxie	808-650	0.00	0.04	0.04	-0.05	-0.03	-0.15*	-0.04	-0.02	-0.34**	-0.20	0.156
	808-580	-0.10	-0.02	0.02	0.01	-0.06	0.02	0.03	-0.12	0.20	-0.47	0.597
	809-900	0.23**	0.12**	0.07*	-0.17**	-0.05	-0.23**	-0.19*	-0.36**	0.07	-0.02	0.003**
	809-600	-0.10	-0.02	-0.01	0.01	-0.03	-0.01	0.08	-0.00	-0.07	0.04	1.000
	812-670	0.19**	-0.05	-0.15**	-0.03	0.15**	-0.15*	0.04	0.09	-0.10	-0.11	0.015*
	812-630	-0.04	-0.01	-0.01	0.02	-0.09	0.00	-0.04	-0.02	0.08	0.24	1.000
	812-460	0.12*	-0.01	-0.04	-0.18**	-0.03	0.04	0.10	0.26**	-0.23	-0.50*	0.013*
	842-1300	0.03	0.01	-0.02	-0.04	-0.05	-0.08	0.00	0.03	0.03	-0.19	1.000
	842-1170	-0.06	-0.02	0.03	-0.10	0.00	0.06	-0.05	-0.04	0.24*	-0.38	0.432
	842-950	0.08	-0.05	-0.05	0.06	-0.08	0.07	0.06	-0.28**	0.03	0.23	0.045*
	842-900	0.20**	-0.04	-0.11*	0.01	0.03	-0.18*	-0.07	0.18*	-0.03	0.11	0.014*
	842-850	-0.09	0.02	-0.01	-0.09	0.04	0.04	-0.11	0.06	-0.02	-0.27	0.804
	889-600	0.08	-0.02	0.08*	-0.05	-0.01	-0.04	-0.11	-0.28**	-0.04	-0.28	0.048*
	890-900	-0.07	-0.03	0.00	-0.02	0.02	-0.07	0.13*	-0.16	0.18	-0.18	0.487
	890-470	0.06	-0.02	-0.12*	0.02	0.03	0.00	0.03	-0.02	-0.28*	0.02	0.180
	Average	0.03	-0.01	-0.02	-0.04	-0.01	-0.05	-0.01	-0.04	-0.02	-0.10	
Maximum	0.23	0.12	0.08	0.06	0.15	0.07	0.13	0.26	0.24	0.24		
Minimum	-0.10	-0.05	-0.15	-0.18	-0.09	-0.23	-0.19	-0.36	-0.34	-0.50		

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 大冶 $I_{\text{expect}} = -0.023$, 豹澥 $I_{\text{expect}} = -0.017$. #大冶居群: 1) 0~6.3 m, 2) 6.3~12.6 m, 3) 12.6~18.8 m, 4) 18.8~25.1 m, 5) 25.1~31.4 m, 6) 31.4~37.7 m, 7) 37.7~43.9 m, 8) 43.9~50.2 m, 9) 50.2~56.5 m, 10) 56.5~62.8 m; 豹澥居群: 1) 0~5.0 m, 2) 5.0~10.1 m, 3) 10.1~15.1 m, 4) 15.1~20.1 m, 5) 20.1~25.1 m, 6) 25.1~30.2 m, 7) 30.2~35.2 m, 8) 35.2~40.2 m, 9) 40.2~45.3 m, 10) 45.3~50.3 m.

等级(大冶居群, 56.5~62.8 m, 19 对; 豹澥居群, 56.5~62.8 m, 11 对), 在计算出的 135 个 Moran's *I* 值中, 大冶居群仅有 26 个(19.26%) 达 0.05 显著水平, 豹澥居群仅有 25 个(18.52%) 达 0.05 显著水平(表 4), 此外, 大冶和豹澥居群的任一距离等级内呈显著相关的位点比例都很低(表 5). 以上充分说明在两竹叶眼子菜居群内个体均为随机分布的空间分布格局.

4 讨 论

4.1 竹叶眼子菜居群遗传多样性和遗传分化

由于水生植物多为克隆生殖, 有性生殖水平较低, 其遗传多样性一般低于陆生植物^[16]. 以往研究表明, 由于克隆生殖、有限的幼苗更新和奠基者效应

等原因, 眼子菜属植物遗传变异在等位酶水平较低或者没有遗传变异^[10-14], 但也有研究表明, 微齿眼子菜(*P. maackianus*) 表现出高水平的 RAPD 遗传变异^[18]. 本研究中竹叶眼子菜的遗传多样性较高, 主要有以下原因: 1) 由于 ISSR 在基因组中含量丰富且进化快, 因而可以揭示更高的遗传变异^[17]; 2) 竹叶眼子菜可以进行有性生殖, 尽管没有在野外直接观察到其实生苗, 但是在种子库萌发试验中可以观察到^[21], 而且其果实成熟后可随水流散播; 3) 在苗圃中观察发现, 竹叶眼子菜除利用根状茎进行克隆繁殖外, 其植株还会因为蜗牛等啃食或者高温而产生断枝, 开始断枝浮于水面, 但是随着节上不定根的生长, 断枝会逐渐沉到底泥上成为新的植株, 断枝下沉的时间一般为 2 周, 足够断枝漂移相当远的距

离;4)目前较多湖区由于污染或水产养殖导致竹叶眼子菜灭绝或居群面积和数量大大缩小,但其以往在湖区一般为优势种且分布面积较广,因而该物种所表现出高的遗传多样性可能源于历史遗留。此外,植物体细胞突变也可被克隆生殖所固定积累,从而增加植物遗传多样性,并增高其进化潜力^[6]。值得注意的是,本研究中大冶居群的遗传多样性指数均高于豹澥居群(表2),推测与两居群的生境差异有关:大冶湖湖面开阔动荡,更利于该居群与其它居群产生基因交流,从而提高其遗传多样性;豹澥湖湖面平静狭小,且在枯水期时地表暴露,因而其居群较难与湖中其它居群产生基因流。

表5 竹叶眼子菜大冶和豹澥居群表现出显著相关性的位点数
Table 5 Number of loci which showed significant correlation in Daye and Baoxie populations of *P. malaianus*

居群 Population	距离等级 Distance class (m)	显著正相关 位点个数 No. of loci which showed significant positive correlation	显著负相关 位点个数 No. of loci which showed significant negative correlation	呈现显著相关 性位点数 所占比例 Percent of loci which showed significant correlation (%)
大冶 Daye	6.3	3	0	20.0
	12.6	2	0	13.3
	18.8	1	1	13.3
	25.1	0	3	20.0
	31.4	1	3	26.7
	37.7	2	3	33.3
	43.9	0	3	20.0
	50.2	1	0	6.7
	56.5	2	1	20.0
	62.8	3	2	33.3
豹澥 Baoxie	5.0	4	0	26.7
	10.1	1	0	6.7
	15.1	2	3	33.3
	20.1	0	2	13.3
	25.1	1	0	6.7
	30.2	0	4	26.7
	35.2	1	1	13.3
	40.2	2	3	33.3
	45.3	1	2	20.0
	50.3	0	1	6.7

本研究中,两居群的遗传分化很小($G_{st} = 0.0861$),遗传一致度高达0.9444,可能是由于两居群起源一致,且都位于长江中游南岸湖泊的大气候下所形成。

4.2 克隆多样性和克隆分化

Ellstrand等^[3]和Widén等^[34]的研究表明,多克隆植物克隆多样性平均值分别为0.62(0.1~1.0)和0.75(0.13~1.0);本研究中的竹叶眼子菜表现出很高的克隆多样性($D = 0.9917$),推测主要由以下原因造成:1)ISSR比等位酶和RAPD更能对不同基因型进行有效鉴别^[4,17,26,31],以往对植物克隆

多样性的研究主要使用等位酶方法;2)有性生殖中的基因组重组和外来居群漂流来的断枝均可增大其居群中的克隆多样性;3)本研究中3m的采样距离对于竹叶眼子菜的克隆距离偏大。本研究中虽然两居群的遗传分化很小,但是两居群没有共有基因型,说明居群间克隆分化较大,这可能是由于许多基因型具有局部生态适应,从而造成群体之间的克隆(基因型)的分化。

4.3 克隆的空间结构

植物营养繁殖更新策略会影响其克隆空间结构。对于集团构型的克隆植物,其植株呈簇状的马赛克分布,而游击构型的克隆植物则呈混合分布^[20]。竹叶眼子菜主要依靠伸长的根状茎进行克隆繁殖,为游击构型植物,空间自相关分析中两居群内个体均为随机分布的空间分布格局正是其植株呈混合分布的表现。另外,在湖心大冶居群中的克隆距离(3.0~31.5m)明显高于湖岸豹澥居群(2.4~6.7m),说明湖中深水区的克隆距离更远,将更利于植物占据更大的生存面积,也更加加剧了居群内交错分布的格局。对于水深与竹叶眼子菜克隆距离是否存在正比关系还需要进一步的研究。

参考文献

- 1 Aspinwall N, Christian T. 1992. Clonal structure, genotypic diversity and seed production in populations of *Filipendula rubra* (Rosaceae) from the northcentral United States. *Am J Bot*, **79**: 294~299
- 2 Doyle JJ, Dickson EE. 1987. Preservation of plant samples for DNA restriction endonuclease analysis. *Taxon*, **36**: 715~722
- 3 Ellstrand NC, Roose ML. 1987. Patterns of genotypic diversity in clonal plant species. *Am J Bot*, **74**: 123~131
- 4 Esselman EJ, Li JQ, Crawford DJ, et al. 1999. Clonal diversity in the rare *Calamagrostis porteri* ssp. *Insuperata* (Poaceae): Comparative results for allozymes and random amplified polymorphic DNA (RAPD) and inter simple sequence repeat (ISSR) markers. *Mol Ecol*, **8**: 443~451
- 5 Fager EW. 1972. Diversity: A sampling study. *Am Nat*, **106**: 293~310
- 6 Gill DE, Chao L, Perkin SL, et al. 1995. Genetic mosaicism in plants and clonal animals. *Annu Rev Ecol Syst*, **26**: 423~444
- 7 Hamrick JL, Linhart YB, Mitton JB. 1979. Relationships between life history characteristics and electrophoretically detectable genetic variation in plants. *Annu Rev Ecol Syst*, **10**: 173~200
- 8 Hangelbroke HH, Ouborg NG, Santamarta L, et al. 2002. Clonal diversity and structure within a population of the pondweed *Potamogeton pectinatus* foraged by Bewick's swans. *Mol Ecol*, **11**: 2137~2150
- 9 He T-H (何田华), Yang J (杨继), Rao G-Y (饶广远). 1999. Spatial autocorrelation analysis of plant population genetic variation. *Chin Bull Bot (植物学通报)*, **16**(6): 636~641 (in Chinese)
- 10 Hofstra DE, Adam KD, Clayton JS. 1995. Isozyme variation in New Zealand populations of *Myriophyllum* and *Potamogeton* species. *Aquat Bot*, **52**: 121~131
- 11 Hollingsworth PM, Gornall RJ, Preston CD. 1995. Genetic varia-

- bility in British populations of *Potamogeton coloratus* (Potamogetonaceae). *Plant Syst Evol*, **197**: 71 ~ 85
- 12 Hollingsworth PM, Preston CD, Gornall RJ. 1996. Genetic variability in two hydrophilous species of *Potamogeton*, *P. pectinatus* and *P. filiformis* (Potamogetonaceae). *Plant Syst Evol*, **202**: 233 ~ 254
- 13 Iida S, Kadono Y. 2001. Population genetic structure of *Potamogeton anguillanus* in Lake Shinji, Japan. *Limnology*, **2**: 51 ~ 54
- 14 Kaplan Z, Stepanek J. 2003. Genetic variation within and between populations of *Potamogeton pusillus* agg. *Plant Syst Evol*, **239**: 95 ~ 112
- 15 King LM, Schaal BA. 1989. Ribosomal-DNA variation and distribution in *Rudbeckia missouriensis*. *Evolution*, **43**: 1117 ~ 1119
- 16 Laushman RH. 1993. Population genetics of hydrophilous angiosperms. *Aquat Bot*, **44**: 147 ~ 158
- 17 Li A, Ge S. 2001. Genetic variation and clonal diversity of *Psammochloa villosa* (Poaceae) detected by ISSR markers. *Ann Bot*, **87**: 585 ~ 590
- 18 Li W, Xia LQ, Li JQ, et al. 2004. Genetic diversity of *Potamogeton maackianus* in the Yangtze River. *Aquat Bot*, **80**: 227 ~ 240
- 19 Loveless MD, Hamrick JL. 1984. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. *Annu Rev Ecol Syst*, **15**: 65 ~ 95
- 20 Lovett DL. 1981. Population dynamics and local specialization in a clonal perennial (*Ranunculus repens*) I. The dynamics of ramets in contrasting habitats. *J Ecol*, **69**: 743 ~ 755
- 21 Liu GH, Li W, Zhou J, et al. 2006. How does the propagule bank contribute to cyclic vegetation change in a lakeshore marsh with seasonal drawdown? *Aquat Bot*, **84**: 137 ~ 143
- 22 Lynch M, Milligan BC. 1994. Analysis of population genetic structure with RAPD markers. *Mol Ecol*, **3**: 91 ~ 99
- 23 McClintock KA, Waterway MJ. 1993. Patterns of allozyme variation and clonal diversity in *Carex lasiocarpa* and *C. pellita* (Cyperaceae). *Am J Bot*, **80**: 1251 ~ 1263
- 24 Nei M. 1972. Genetic distance between populations. *Am Nat*, **106**: 283 ~ 292
- 25 Nei M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc Natl Acad Sci USA*, **70**: 3321 ~ 3323
- 26 Qian W, Ge S, Hong DY. 2001. Genetic variation within and among populations of a wild rice *Oryza granulata* from China detected by RAPD and ISSR markers. *Theor Appl Genet*, **102**: 440 ~ 449
- 27 Ruggiero MV, Reusch TBH, Procaccini G. 2005. Local genetic structure in a clonal dioecious angiosperm. *Mol Ecol*, **14**: 957 ~ 967
- 28 Schneider S, Roessli D, Excoffier L. 2000. Arlequin: A software for population genetics data analysis. Version 2.0. Genetics and Biometry Lab, Dept of Anthropology, University of Geneva, Geneva, Switzerland.
- 29 Sokal RR, Oden NL. 1978. Spatial autocorrelation in biology I. Methodology. *Biol J Linn Soc*, **10**: 199 ~ 228
- 30 Sun X-Z (孙祥钟), Wang H-Q (王徽勤), Li Q-Y (李清义), et al. 1992. *Potamogeton* Linn. In: Sun X-Z (孙祥钟), ed. Flora of China. Vol. 8. Beijing: Science Press. 40 ~ 83 (in Chinese)
- 31 Wang K-Q (王可青), Ge S (葛颂), Dong M (董鸣). 1999. Allozyme variance and clonal diversity in the rhizomatous grass *Psammochloa villosa* (Gramineae). *Acta Bot Sin (植物学报)*, **41**(5): 537 ~ 540 (in Chinese)
- 32 Warternberg D. 1989. SAAP4.3: A Spatial Autocorrelation Analysis Program. Exeter Software, Setauket, New York, USA.
- 33 Waycott M. 1995. Assessment of genetic variation and clonality in the seagrass *Posidonia australis* using RAPD and allozyme analysis. *Mar Ecol Prog Ser*, **116**: 289 ~ 295
- 34 Widén B, Cronenberg N, Widén M. 1994. Genotypic diversity, molecular markers and spatial distribution of genets in clonal plants, a literature survey. *Folia Geobot Phytotax*, **29**: 245 ~ 263
- 35 Yeh FC, Yang RC, Boyle T, et al. 1999. POPGENE, the User Friendly Shareware for Population Genetic Analysis. Edmonton, Canada: Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta.

作者简介 陈媛媛,女,1977年生,博士研究生,研究实习员。主要从事植物保育遗传及水生植物居群遗传学研究,发表论文2篇。Tel:027-87510981; E-mail: xg003@yahoo.com.cn

责任编辑 李凤琴