

刘春香,李钧敏,李红丽,等. 匍匐茎克隆植物蛇莓的遗传多样性和遗传结构[J]. 江苏农业科学,2016,44(2):215-220.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.02.062

匍匐茎克隆植物蛇莓的遗传多样性和遗传结构

刘春香¹,李钧敏²,李红丽¹,罗芳丽¹

(1.北京林业大学自然保护区学院,北京 100083;2.浙江省植物进化生态学与保护重点实验室,浙江台州 318000)

摘要:采用 8 对简单重复序列(simple sequence repeat,SSR)引物对克隆植物蛇莓 33 个野生种群 353 个个体的遗传多样性及遗传结构进行分析。结果表明,参试的 33 个种群中的平均等位基因数(A)为 2.841,平均多态性位点(PPL)为 88.6%,平均期望杂合度(H_e)为 0.494,平均 Nei's 遗传多样性指数(h)为 0.468。所有参试样本中共有 223 个基因型。该物种的克隆多样性和等位基因水平的变异均较高,各种群的平均基因型数(G)为 6.758,平均克隆大小(N/G)为 2.063,克隆多样性指数 Simpson 指数(D)为 0.769,基因型均匀度(E)为 0.769。基于分子的方差分析结果表明,蛇莓野生种群间和种群内的分化系数分别为 0.55 和 0.45,这说明蛇莓种群间和种群内遗传分化均显著。STRUCTURE 分析和基于 Nei's 遗传一致度的 UPGMA 聚类结果表明,参试的 33 个野生种群可分为四大类群。Mantel 相关性分析结果表明,种群间遗传距离与其地理距离不存在显著相关关系($r=0.052, P=0.150$)。该研究结果说明蛇莓野生种群的遗传多样性高,所有种群均为多克隆种群,且基因型的局域性很强,其中 82.6% 的基因型为局部基因型,不存在广布基因型。物种水平的遗传差异主要表现在种群间,但在种群内也较高,这表明该物种在种群间和种群内在一定程度上能通过有性繁殖进行基因交流。蛇莓种群建群者的奠基者效应和所在位置生态因子对其遗传多样性和遗传结构的形成和进化具有重要的意义。

关键词:蛇莓;克隆生长;遗传多样性;简单重复序列;基因型多样性;遗传分化

中图分类号: Q945.79 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)02-0215-06

遗传结构、遗传多样性和生活史特征等影响物种与其所在环境间的相互作用,也决定物种的进化潜能^[1]。繁育系统是决定植物种群遗传结构的重要因素之一,而克隆植物一般兼具有性和无性 2 种繁殖方式,且这 2 种繁殖策略在一定程度上有平衡作用^[2-3]。因此,研究克隆植物的遗传结构对深入了解植物种群遗传多样性的形成及进化机制具有重要意义^[4-5]。

克隆生长是克隆植物所特有的生活史过程^[6]。很多克隆植物通过形成根状茎、匍匐茎、鳞茎、珠芽、块茎等,能够迅速产生大量的无性后代个体即分株^[7]。除少数分株可能存在概率极低的遗传突变以外,绝大多数分株的遗传组成与亲体分株(母株)完全相同^[8]。由于母株可通过克隆整合向后代分株提供光合产物、水分和养分的支持^[9-12],使得这些后代分株能够顺利地度过建立期,并迅速占据局部空间,进而可能形成由 1 个或几个基因型占优势的分株种群^[13-15]。这些生态过程对克隆植物种群遗传结构和遗传多样性均可产生十分显著的影响^[16]。

在自然界中,大多数克隆植物除了通过克隆生长进行无性繁殖之外,还能够通过产生种子等进行有性繁殖^[8]。在 1 个或几个基因型占优势的分株种群中,由于相同基因型分株的大量存在,使得相同基因型个体自交的概率极高,从而影响

其遗传多样性水平^[8-16]。由于克隆植物的这些特性,人们最初普遍认为克隆植物种群的遗传多样性水平很低,遗传结构简单^[17]。有研究表明,一些克隆植物的遗传多样性的确很低^[17-18]。例如,在全球范围内,凤眼莲(*Eichhornia crassipes*)在非原产地的个体中约 80% 属于同一个基因型^[14,19-21]。中国南方地区的空心莲子草(*Alternanthera philoxeroides*)很可能只存在 1 个基因型^[22]。然而,很多克隆物种具有与非克隆植物相当的遗传多样性如甜樱桃(*Prunus avium*)、红球姜(*Zingiber zerumbet*)、大苦草(*Vallisneria spiralis*)和羊柴(*Hedysarum laeve*)等^[23-27]。这是因为与非克隆植物相比,克隆植物生命周期长,所以即使非常少量的实生苗(即种子萌发所产生)更新也能使克隆种群维持较高的遗传多样性^[28]。蛇莓(*Duchesnea indica* Focke)为蔷薇科(Rosaceae)蛇莓属的多年生草本植物,主要分布在我国辽宁以南各省(市、区),常生长在山坡、河岸、草地及潮湿的地方^[29]。该物种通过产生较长的地上匍匐茎表现出旺盛的克隆生长习性。该物种也可通过有性生殖产生种子,并进一步萌发形成实生苗。蛇莓是一种典型的游击型克隆植物,能够快速形成单一基因型的大种群。该物种还具有较强的花展示,即能通过产生花蜜来吸引传粉者,以增强有性繁殖^[30]。近年来,对蛇莓的研究主要集中在化学活性成分、药理、克隆构型对环境的可塑性反应和小尺度克隆结构等方面^[31-33]。本研究采用简单重复序列(simple sequence repeat,SSR)分子标记技术对全国范围内的 33 个蛇莓野生种群的 353 株个体的遗传多样性水平和遗传结构进行分析,旨在了解兼性克隆植物蛇莓的种群遗传多样性与遗传分化,探讨其遗传结构的特点,具体回答以下科学问题:克隆植物蛇莓种群的遗传多样性水平;蛇莓种群的遗传多

收稿日期:2015-01-16

基金项目:国家自然科学基金(编号:31200314,31470475);高等学校博士学科点专项科研基金新教师类资助(编号:20120014120001)。

作者简介:刘春香(1990—),女,湖南邵阳人,硕士研究生,主要从事克隆植物生态学研究。E-mail:chunxiangliu_1990@163.com。

通信作者:罗芳丽,女,四川都江堰人,博士,副教授,主要从事湿地生态学研究。E-mail:ecolouofangli@bjfu.edu.cn。

样性主要发生在种群内还是种群间;蛇莓种群间遗传距离与其地理距离的相关关系。

1 材料与方法

1.1 植物采集

33 个蛇莓野生种群分别采自广西、浙江、江西、湖南、贵州、河南、北京和陕西等 10 个省(市、区),具体信息见表 1 和图 1。每个种群根据面积大小各采集 5~17 个样本,共 353 个,采集的植株在北京林业大学科技股份有限公司的温室中进行培养备用。

表 1 33 个蛇莓种群的取样位置、生境特征和取样数

种群编码	取样位置	生境	东经(°)	北纬(°)	海拔(m)	取样数(份)
CQ1	重庆缙云山 1	草地	106.408	29.846	618	15
CQ2	重庆缙云山 2	草地	106.396	29.846	603	15
CQ3	重庆西南大学	林下	106.426	29.833	265	15
FS	北京房山区	林下	115.447	39.356	224	9
GZ1	贵阳花溪平桥	撂荒地	106.647	26.434	1 106	15
GZ2	贵阳黔灵公园	撂荒地	106.694	26.602	1 127	8
GZ3	贵阳天河潭	林下	106.574	26.444	1 106	8
HZ1	杭州老和山	林下	120.114	30.271	166	17
HZ2	杭州植物园 1	草地	120.113	30.259	64	15
HZ3	杭州植物园 2	林地	120.118	30.258	35	15
JAX	江西吉安县	林缘	114.910	27.043	52	7
JGS	江西井冈山	林缘	114.124	26.562	923	7
JGSU	江西井冈山大学	林缘	115.024	27.112	92	9
JJ	江西九江市	林地	116.288	29.658	28	8
JS	江西吉水县	林缘	115.109	27.184	64	11
LYW1	河南龙峪湾 1	林地	111.795	33.675	1 684	8
LYW2	河南龙峪湾 2	草地	111.758	33.706	1 185	15
LYW3	河南龙峪湾 3	湿地	111.750	33.698	1 084	8
LYW4	河南龙峪湾 4	林下	111.752	33.705	1 040	15
NJ1	南京林大林场 1	林下	119.207	32.128	204	12
NJ2	南京林大林场 2	林下	119.207	32.130	206	8
NJ3	南京林大林场 3	林下	119.207	32.128	207	5
SCH1	四川简阳市 1	撂荒地	104.732	30.436	578	15
SCH2	四川简阳市 2	撂荒地	104.732	30.443	580	15
SCH3	四川简阳市 3	撂荒地	104.742	30.444	558	15
TZ1	浙江台州 1	林下	121.166	28.876	40	9
TZ2	浙江台州 2	林下	121.144	28.880	41	9
XA1	西安 1	撂荒地	108.870	33.969	942	7
XA2	西安 2	撂荒地	108.880	33.970	992	7
XLM	北京小龙门	林下	115.438	35.970	235	8
GL1	桂林雁山镇 1	灌丛	110.322	25.073	148	6
GL2	桂林雁山镇 2	草地	110.261	25.093	148	6
GL3	桂林会仙镇	湿地	110.245	25.082	151	11

1.2 DNA 提取和 PCR 扩增

根据 CTAB 植物基因组 DNA 快速提取试剂盒(艾德莱生物, DN1401, 北京)的说明方法提取幼嫩蛇莓叶片中的总 DNA, 采用 NAS-99 分光光度计(ACTGene, 美国)确定总 DNA 的质量和浓度, 并稀释至 10 ng/μL 备用。

蛇莓 SSR 引物的开发由北京阅微基因技术有限公司完成, 从中筛选出 8 对清晰多态引物用于所有个体的 PCR 扩增, 引物序列见表 2。PCR 反应体系为: 8 μL 2.5 × Multiplex Buffer(MRP17, 北京阅微基因技术有限公司, 北京), 0.4 μL 15 μmol/L TP-M13 荧光接头(北京阅微基因技术有限公

司), 2 μL 引物(5 μmol/L), 0.2 μL 5 U/μL Fast Taq DNA 聚合酶, 2 μL DNA 模板, 7.6 μL 无菌双蒸水。PCR 扩增程序为: 95℃ 预变性 5 min; 94℃ 变性 30 s, 56℃ 退火 45 s, 72℃ 延伸 45 s, 30 个循环; 94℃ 变性 30 s, 53℃ 退火 45 s, 72℃ 延伸 45 s, 10 个循环; 72℃ 延伸 12 min。PCR 扩增在 9 600 PCR 扩增仪(美国应用生物系统公司)上完成, PCR 扩增产物在 3 730 xl DNA 分析仪(美国应用生物系统公司)上进行基因分型分析。

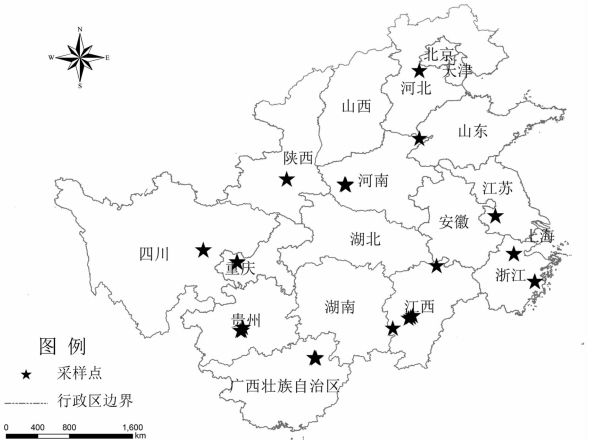


图1 33 个蛇莓种群位点分布情况

1.3 数据分析

人工判读 PCR 扩增产物的基因分型结果, 记录目的条带的片段大小以构成 SSR 分子标记数据矩阵。使用 Popgen 32 软件^[34] 计算以下遗传多样性指数: 每个位点的平均等位基因数(A)、预期杂合度(H_e)、Nei's 基因多样性指数(h)及 Nei's 遗传一致度和遗传距离。计算实际基因型(即基株或克隆, 所有位点基因型相同的植株为 1 个基株)总数(G)、平均克隆大小(N/G , 基因型数/取样个体数)、局部基因型(只存在于 1 个群体中的基因型)比例(GL)、广布基因型(存在于 75% 以上群体中的基因型)比例(GW)。种群遗传多样性指数采用 Simpson 指数(D), 其计算公式为: $D = 1 - \sum [n_i(n_i - 1)] / [N(N - 1)]$ 。种群遗传均匀性指数采用 Fager 指数(E)来表示, 计算公式为 $E = (D - D_{\min}) / (D_{\max} - D_{\min})$, 其中 $D_{\min} = (G - 1)(2N - G) / N(N - 1)$, $D_{\max} = (G - 1)N / G(N - 1)$ 。式中 N 为取样个体总数, G 为基因型(基株)总数, n_i 为第 i 基因型的个体数^[27]。

使用 GenAlEx 6.5 软件^[35] 计算种群间遗传分化系数 F_{st} , 并进行分子方差分析(AMOVA, analysis of molecular variance analysis), 计算种群内和种群间遗传方差分量。遗传方差分量和成对种群遗传分化系数的统计显著性均采用 9 999 次置换评价。

为了检测参试的蛇莓种群遗传结构, 采用 STRUC-TURE^[36] 分析参试样本的遗传结构。将 MCMC (markov chain monte carlo) 不作数迭代(length of burn-in period)设为 1 万次, 不作数迭代后的 MCMC 也设为 1 万次, 组群数(K)设定为 2~33(参试种群数目), 评价 K 值运行 20 次。依据每次测试过程中计算的后验概率 $\ln P(D)$ 值计算 ΔK 值, 绘制 ΔK 曲线图。散点曲线最大值对应的 K 值视为最合理的组群数^[37]。

使用 NTSYS 2.1 软件^[38] 对种群间 Nei's 遗传多样性指数

表 2 蛇莓 SSR 引物序列

引物	序列(5'→3')	重复碱基	片段大小 (bp)	总期望杂合度
SM5	F:AGGACTGCCTTGTGTTCA;R:GTAATTCACATGCCATTGCG	(AC) ₁₈	230~244	0.199
SM21	F:GTAATTCACATGCCATTGCG;R:ACCAAACCTGACTCACCCAT	(TG) ₁₈ (TA) ₄	126~156	0.557
SM27	F:CTCAAAGTACCATCTTCTCA;R:AGCTCTTGAAGTTAGCCGAT	(CA) ₁₈ (TA) ₃	112~150	0.537
SM71	F:GTGGTTTTGATTTCACCT;R:GAGTGATTAGTTGCTAACGT	(AC) ₁₈	112~146	0.430
SM72	F:CAGAAACACTCCATTATTACCT;R:GACCAATGCATGCTTGAGAT	(CA) ₁₁	114~130	0.514
SM96	F:GGGTTCTCTCTACCATT;R:GGACTAACCAATACTTTGCTCA	(TA) ₇ (TG) ₂₀	108~214	0.573
SM162	F:CCAGCTTTAGTAAGTCTCTGAT;R:GTGGAGCTTGTGCATCATAAT	(TA) ₃ (TG) ₁₀	140~154	0.483
SM191	F:CATTGTCTTCTACACGCT;R:GGCGAAACTTGAATCCAT	(AC) ₁₈	124~154	0.457

统计量距离进行非加权平均配组(unweighted pair group method with arithmetic - means,UPGMA)聚类分析,绘制树状聚类图。利用 GenAlEx 6.5 软件中的 Distance 计算 33 个蛇莓野生种群间地理距离,Mantel 统计学分别检验分析种群间的地理距离和遗传距离相关性,并进行显著性检测(9 999 次置换)。

2 结果与分析

2.1 种群遗传变异和克隆多样性

选用 8 对能扩增出稳定、清晰条带的 SSR 引物,对 33 个蛇莓种群 353 株个体进行 PCR 扩增,共扩增出 94 个等位基因,每个位点的等位基因数为 7~23。蛇莓各种群的平均每个位点的等位基因数(*A*)为 1.5~5,平均 2.841;期待杂合度(*H_e*)为 0.213~0.682,平均 0.494;Nei's 基因多样性指数(*h*)为 0.465~0.640,平均 0.468(表 3)。蛇莓种群平均遗传多样性较高(*A*=2.841,*H_e*=0.494,*h*=0.468),其中,北京小龙门种群(XLM)的遗传多样性最高(*A*=4.55,*H_e*=0.682,*h*=0.640),而江西九江种群(JJ)的遗传多样性最低(*A*=1.5,*H_e*=0.213,*h*=0.199,表 3)。蛇莓物种水平的遗传多样性也较高(*A*=13.000,*H_e*=0.657,*h*=0.656)。

所有种群均为多克隆(基因型)种群,克隆(基因型)总数为 223,各种群的基因型数为 2~15,平均 6.758;克隆大小为 1.0~7.5,平均 2.063;局部基因型比例为 82.6%;广布基因型比例为 0;平均基因型多样性指数 Simpson 指数为 0.769(表 3)。

2.2 种群遗传结构

STRUCTURE 分析结果表明,当 *K*=4 时,Δ*K* 散点曲线呈稳定趋势,可推测出所有参试的 353 株个体最合理的组群数为 4(图 2)。图 2 中纵坐标 *Q* 值表示不同植株归属于不同组群的比例,黑色(组群 I)、深灰色(组群 II)、浅灰色(组群 III)和白色(组群 IV)分别代表组群的趋向,每个个体在 4 种颜色中最长色条的颜色决定该个体所属的组群。组群 I 包括 FS、GZ2、HZ3、JJ 和 SCH1,组群 II 包括 LYW1、LYW2、LYW3、LYW4、SCH2、SCH3、TZ1、TZ2、XA1、XA2 和 XLM,组群 III 包括 GZ1、HZ1、HZ2、JAX、JGS、JGSU、JS、NJ1、NJ2、NJ3、GL1、GL2 和 GL3,组群 IV 包括 CQ1、CQ2、CQ3 和 GZ3。

基于种群间遗传分化系数 Nei's 遗传一致度指数的 UPGMA 聚类结果(图 3)表明,在遗传分化系数以 0.62 为阈值的情况下,33 个种群可分为四大类,其中 CQ1、CQ2 和 CQ3 为第 1 个类群;GZ3 为第 2 个类群;HZ3 和 JJ 为第 3 个类群;其他 27 个种群为第 4 个类群。

表 3 33 个蛇莓种群遗传多样性

种群编码	<i>G</i>	<i>N/G</i>	<i>D</i>	<i>E</i>	<i>A</i>	<i>H_e</i>	<i>h</i>
CQ1	2	7.500	0.133	0	1.875	0.404	0.391
CQ2	4	3.750	0.543	0.397	2.625	0.405	0.391
CQ3	5	3.000	0.476	0	2.625	0.438	0.423
FS	3	3.000	0.639	0.667	2.125	0.445	0.421
GZ1	9	1.667	0.848	0.313	3.000	0.483	0.466
GZ2	2	4.000	0.250	0	1.750	0.399	0.374
GZ3	4	2.000	0.643	0	2.625	0.529	0.496
HZ1	6	2.833	0.654	0.377	3.250	0.503	0.488
HZ2	10	1.500	0.924	0.622	5.000	0.639	0.618
HZ3	14	1.071	1.000	0	3.000	0.380	0.367
JAX	3	2.333	0.524	0	2.500	0.512	0.476
JGS	5	1.400	0.857	0	2.375	0.507	0.471
JGSU	4	2.250	0.583	0	2.125	0.446	0.421
JJ	5	1.600	0.857	0.556	1.500	0.213	0.199
JS	4	2.750	0.673	0.544	2.250	0.425	0.406
LYW1	4	2.000	0.643	0	2.375	0.472	0.442
LYW2	14	1.071	0.990	0	4.000	0.602	0.582
LYW3	6	1.333	0.929	0.600	2.750	0.573	0.537
LYW4	14	1.071	0.990	0	3.375	0.615	0.595
NJ1	3	4.000	0.318	0	2.750	0.496	0.475
NJ2	8	1.000	1.000	—	3.375	0.567	0.531
NJ3	4	1.250	0.900	0	2.500	0.553	0.498
SCH1	10	1.500	0.895	0.356	3.375	0.544	0.526
SCH2	15	1.000	1.000	—	3.750	0.536	0.518
SCH3	15	1.000	1.000	—	4.000	0.477	0.461
TZ1	9	1.000	1.000	—	2.750	0.440	0.416
TZ2	9	1.000	1.000	—	2.875	0.488	0.461
XA2	7	1.000	1.000	—	3.250	0.565	0.524
XA3	7	1.000	1.000	—	3.250	0.559	0.519
XLM	8	1.000	1.000	—	4.500	0.682	0.640
GL1	3	2.000	0.733	0.667	2.250	0.525	0.481
GL2	2	3.000	0.600	1.000	1.750	0.392	0.359
GL3	5	2.200	0.782	0.782	2.250	0.487	0.465
平均	6.758	2.063	0.769	0.769	2.841	0.494	0.468
合计	223	68.079	25.384	6.811	93.750	16.301	15.438

AMOVA 结果(表 4)表明,蛇莓种群间遗传变异约占总变异的 55%,种群内遗传变异占总变异的 45%,种群间遗传分化显著(*F_{st}*=0.55,*P*=0.01)。成对种群间遗传分化系数在 0.020~0.464 之间,各种群间遗传分化达到显著水平(*P*<0.05)。其中,GL2 和 JJ 种群之间遗传分化系数最大(*F_{st}*=0.464),HZ1 与 NJ1 种群之间遗传分化系数最小(*F_{st}*=0.020)。在地理距离水平上,北京房山(FS)与桂林 3(GL3)种群之间距离最远,为 1 660.158 km;南京种群 1 与南

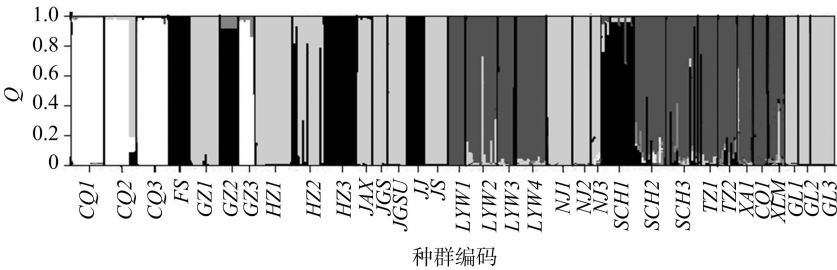


图2 33个蛇莓种群中 353 个个体的遗传结构

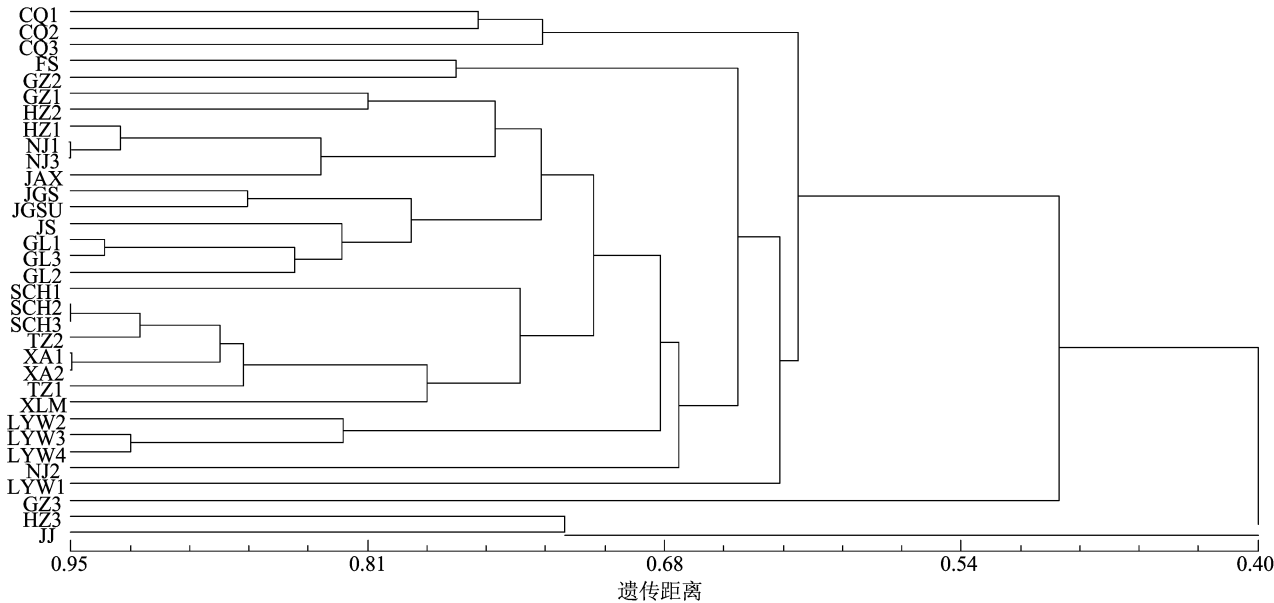


图3 基于 Nei's 遗传距离的 33 个蛇莓种群的 UPGMA 聚类结果

表 4 蛇莓种群分子方差分析结果

变异来源	自由度	均方和	方差组分	变异系数 (%)	P 值
种群间	32	1011.895	2.756	55	0.010
种群内	320	719.876	2.250	45	0.010
总和	352	1731.771	5.005	100	
F_{st}	0.550				

京种群 3 距离最近,为 0.57 km。Mantel 相关性矩阵检验结果表明,种群间遗传距离 F_{st} 与地理距离呈正相关但不显著 ($r=0.052, P=0.150$)。

3 结论与讨论

3.1 蛇莓的遗传变异和克隆多样性

很多研究结果表明,克隆植物具有一定的遗传变异水平,但不同克隆植物的遗传变异程度、基因型多样性有很大的差异^[27,39]。本研究结果表明,蛇莓物种水平的遗传多样性($A=13.000, H_e=0.657, h=0.656$,表 3)比 27 种克隆植物的平均值($D=0.62$)高,比 100 多种多年生木本植物的平均值($N_a=1.76, H_e=0.148$)高^[40-41]。这可能是由于蛇莓为一种广布的草本植物,因此具有较高的物种水平遗传多样性。蛇莓种群水平的遗传多样性也较高($A=2.841, H_e=0.494, h=0.468$),其中以北京小龙门种群(XLM)的遗传多样性最高($A=4.55, H_e=0.682, h=0.640$),而江西九江种群(JJ)的遗传

多样性最低($A=1.5, H_e=0.213, h=0.199$)。这可能与不同生境中蛇莓种群的有性繁殖与无性繁殖的相对贡献度有关。蛇莓种群的克隆多样性较高($G=6.758, N/G=2.063, D=0.769, E=0.769$)。虽然一些克隆植物的克隆多样性很低,如水葫芦和空心莲子草等。其他一些研究也发现,有些克隆植物的克隆多样性非常高,如越橘(*Vaccinium vitisidaea*, $D=0.84$)和仙人掌科入侵植物 *Stenocereus eruca* ($N/G=1.25$)等^[42-43]。理论研究结果表明,因为克隆植物的生命期长,所以即使非常少量的幼苗更新也能使克隆种群维持较高的克隆多样性^[28]。Bengtsson 认为,克隆植物 1 个世代只要有 3 个不同的基因型就可以保持克隆植物的遗传变异水平^[44]。计算机模拟结果显示,匍枝毛茛(*Ranunculus repens*)只要每一代有 1 个有性幼苗建立(约占总基株的 0.5%),就足以维持 15 个基因型的稳定结构^[28]。此外,不同蛇莓种群的基因型数量差异较大,如 CQ1、GZ2 和 GL2 等 3 个种群只有 2 个基因型组成,但其等位基因水平上的多样性却很高,3 个种群的期望杂合度(H_e)分别是 0.404、0.399、0.392,而期望杂合度(H_e)相对低的 JJ 种群($H_e=0.213$)却有多多个基因型($G=5, N/G=1.600$),这说明蛇莓能很好地维持种群的遗传多样性。对蛇莓有性繁殖特性的研究结果表明,蛇莓虽然能产生大量的种子,但种子的萌发率并不高,仅 10%^[31,45]。而从该研究的结果来看,较低种子萌发率并没有影响蛇莓的遗传多样性。与其他克隆植物相比,有性繁殖对这些植物遗传多样性的维持起

非常重要的作用^[42,46-47]。所以,尽管蛇莓的种子萌发率低,但只要有很少的幼苗更新就能维持其种群的遗传多样性。

然而,在基因型较少的种群中,可能存在克隆繁殖占主导地位的现象。因为克隆生长产生的分株个体由母体的供养能够比较顺利地度过建立期,有利于基株对局部空间的快速占据,而克隆整合、克隆可塑性和克隆器官的存储能力等克隆生长习性还可以缓解资源的小尺度空间和时间异质对基株适合度的影响^[1]。克隆繁殖占优势意味着蛇莓对有性繁殖的资源分配较少^[2],从而可以分配更多的能量进行克隆生长,从环境中获取更多资源,进而在群落中占领优势地位。此外,较少的有性繁殖意味着近交衰退的减少,而蛇莓本身具有较高的等位基因多样性,所以在某种程度上克隆繁殖有利于维持蛇莓种群的遗传多样性。蛇莓野外种群的有性繁殖和无性繁殖的相对格局还须要进一步研究。

3.2 蛇莓种群的遗传结构

一般认为,当 $F_{st} < 0.05$ 时,种群间遗传分化较小;当 $0.05 < F_{st} \leq 0.15$ 时,种群间存在中等程度的遗传分化;当 $0.15 < F_{st} \leq 0.25$ 时,种群间的遗传分化明显;当 $F_{st} > 0.25$ 时,遗传分化较大^[48]。蛇莓种群间 $F_{st} = 0.547$,由此可见蛇莓种群间存在较大的遗传分化。种群遗传分化系数是评价种群遗传结构的重要参数,植物种群遗传结构一般解释为交配系统、传播方式、生活史、分布区大小等因素综合作用的结果^[49-51]。与 Nybom 对 116 种植物种群遗传分化系数统计分析的平均值比较,蛇莓野生种群遗传分化系数($F_{st} = 0.55$)高于异交(0.27),低于自交(0.65),且高于混合交配(0.40)系统植物^[50]。说明蛇莓在进行克隆繁殖和克隆内自交繁殖外,还存在一定程度的异交,这可能是种群内不同基因型之间的基因交流或者不同种群间的基因交流,这与蛇莓是虫媒花以及鸟类喜食其红色聚花果并通过排泄散布可萌发的种子有关^[30,52],这与蛇莓兼性克隆繁殖和分布区较广的生物学特征相符合。

UPGMA 聚类结果表明,地理距离较近的种群则归属于同一类群,同一省(市、区)的种群基本属于同一类群,但也有例外,一些地理距离较近的种群没有归为同一类群,如北京房山(FS)和北京小龙门(XLM),四川简阳市 1(SCH1)与四川简阳市 2(SCH3)和四川简阳市 3(SCH2),以及杭州植物园 2(HZ3)与杭州其他 2 个种群(HZ1 和 HZ2),另外贵州 3 个种群分别属于不同的类群。STRUCTURE 分析结果也基本类似,大部分同省(市、区)种群都率先聚集在一起,然后再依地理距离由近到远依次聚在一起,但是仍存在一些同省(市、区)没有优先聚在一起的种群,其中 GZ3、HZ3 和 JJ 即为特殊的类群。比较 STRUCTURE 和 UPGMA 结果可知,33 个蛇莓野生种群的聚类大体一致,均可以分为 4 个组群。说明蛇莓的遗传距离与地理距离相关,但也有其特殊的复杂性。

Mantel 分析发现,蛇莓的遗传距离与地理距离的相关性不显著。这些均与蛇莓没有广布基因型,且局部基因型占比($GL = 82.6\%$)很高有关。葛颂等在兼性克隆植物羊柴(*Hedysarum laeve*)中也发现了类似结果,其局部基因型比例为 60%,广布基因型比例为 3.2%。这与 Ellstrand 等的总结一致,即克隆植物的大部分基因型都仅存在于 1 个或很少的种群内^[40]。这是因为克隆植物的遗传基础来源于建群者,并

且在种群的发展过程中不断变化。克隆植物在不同的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^[53],从而占据不同的生境。尽管蛇莓在种群间存在一定的基因交流,但是该物种一般进行无性繁殖,所以基因型的局域性很强,而蛇莓在中国是一个广布种,所以其物种水平上的遗传多样性很高。

本研究表明,蛇莓在物种水平上的遗传多样性很高,基因型存在很强的局域性,且其遗传距离与地理距离不存在显著相关性。这些发现对研究蛇莓乃至克隆植物的进化潜能及生态特征具有重要意义。对于克隆植物野生种群的繁殖格局,遗传多样性对物种繁殖格局的影响,以及克隆植物中有性繁殖与无性繁殖之间权衡的科学问题仍须要开展相关的研究。

参考文献:

- [1] 董 鸣,于飞海,陈玉福,等. 克隆植物生态学[M]. 北京:科学出版社,2011:67,71-74.
- [2] 张玉芬,张大勇. 克隆植物的无性与有性繁殖对策[J]. 植物生态学报,2006,30(1):174-183.
- [3] 王洪新,胡志昂. 植物的繁育系统、遗传结构和遗传多样性保护[J]. 生物多样性,1996,4(2):32-36.
- [4] Escaravage N, Questiau S, Pornon A, et al. Clonal diversity in a *Rhododendron ferrugineum* L. (Ericaceae) population inferred from AFLP markers[J]. Molecular Ecology, 1998, 7(8):975-982.
- [5] Setsuko S, Ishida K, Tomaru N. Size distribution and genetic structure in relation to clonal growth within a population of *Magnolia tomentosa* Thunb. (Magnoliaceae) [J]. Molecular Ecology, 2004, 13(9):2645-2653.
- [6] Dong M. Clonal growth in plants in relation to resource heterogeneity: foraging behavior[J]. Acta Botanica Sinica, 1996, 38(10):828-835.
- [7] 于飞海. 克隆植物对异质性环境的生态适应对策[D]. 北京:中国科学院研究生院/植物研究所, 2002:2-4.
- [8] 夏立群,李建强,李 伟. 论克隆植物的遗传多样性[J]. 植物学通报, 2002, 19(4):425-431, 418.
- [9] Yu F H, Dong M, Krusi B. Clonal integration helps *Psammochloa villosa* survive sand burial in an inland dune [J]. New Phytologist, 2004, 162(3):697-704.
- [10] Yu F H, Wang N, He W M, et al. Adaptation of rhizome connections in drylands: increasing tolerance of clones to wind erosion [J]. Annals of Botany, 2008, 102(4):571-577.
- [11] Yu F H, Wang N, He W M, et al. Effects of clonal integration on species composition and biomass of sand dune communities [J]. Journal of Arid Environments, 2010, 74(6):632-637.
- [12] Luo F L, Chen Y, Huang L, et al. Shifting effects of physiological integration on performance of a clonal plant during submergence and de-submergence[J]. Annals of Botany, 2014, 113(7):1265-1274.
- [13] Zhang Y F, Zhang D Y. Asexual and sexual reproductive strategies in clonal plants [J]. Frontiers of Biology in China, 2007, 2(3):256-262.
- [14] Li J, Ye W H. Genetic diversity of alligator weed ecotypes is not the reason for their different responses to biological control[J]. Aquatic Botany, 2006, 85(2):155-158.
- [15] Zhang Y Y, Zhang D Y, Barrett S C. Genetic uniformity characterizes the invasive spread of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*), a clonal aquatic plant[J]. Molecular Ecology, 2010, 19(9):1774-1786.

- [16] Wilcock C C, Jennings S B. Partner limitation and restoration of sexual reproduction in the clonal dwarf shrub *Linnea borealis* L. (Caprifoliaceae) [J]. Protoplasma, 1999, 208: 76 – 86.
- [17] Dietz H, Steinlein T. Ecological aspects of clonal growth in plants [J]. Ecology, 2001, 62: 511 – 529.
- [18] 项卫东, 张亚梅. 外来入侵种空心莲子草的 RAPD 遗传多样性分析 [J]. 南京林业大学学报: 自然科学版, 2004, 28(6): 35 – 38.
- [19] Gitzendanner M A, Weekley C W, Germain – Aubrey C C, et al. Microsatellite evidence for high clonality and limited genetic diversity in *Ziziphus celata* (Rhamnaceae), an endangered, self – incompatible shrub endemic to the Lake Wales Ridge, Florida, USA [J]. Conservation Genetics, 2012, 13(1): 223 – 234.
- [20] Ren M X, Zhang Q G, Zhang D Y. Random amplified polymorphic DNA markers reveal low genetic variation and a single dominant genotype in *Eichhornia crassipes* populations throughout China [J]. Weed Research, 2005, 45(3): 236 – 244.
- [21] Li W G, Wang B R, Wang J B. Lack of genetic variation of an invasive clonal plant *Eichhornia crassipes* in China revealed by RAPD and ISSR markers [J]. Aquatic Botany, 2006, 84(2): 176 – 180.
- [22] Ye W, Li J, Cao H, et al. Genetic uniformity of *Alternanthera philoxeroides* in South China [J]. Weed Research, 2003, 43(4): 297 – 302.
- [23] Kavitha P G, Thomas G. Population genetic structure of the clonal plant *Zingiber zerumbet* (L.) Smith (Zingiberaceae), a wild relative of cultivated ginger, and its response to *Pythium aphanidermatum* [J]. Euphytica, 2008, 160(1): 89 – 100.
- [24] Lloyd M W, Burnett R, Engelhardt K M, et al. The structure of population genetic diversity in *Vallisneria americana* in the Chesapeake Bay: implications for restoration [J]. Conservation Genetics, 2011, 12(5): 1269 – 1285.
- [25] Vaughan S P, Cottrell J E, Moodley D J, et al. Clonal structure and recruitment in British wild cherry (*Prunus avium* L.) [J]. Forest Ecology and Management, 2007, 242(2/3): 419 – 430.
- [26] de Rogatis A, Ferrazzini D, Ducci F, et al. Genetic variation in Italian wild cherry (*Prunus avium* L.) as characterized by nSSR markers [J]. Forestry, 2013, 86(3): 391 – 400.
- [27] 葛 颂, 王可青, 董 鸣. 毛乌素沙地根茎灌木羊柴的遗传多样性和克隆结构 [J]. 植物学报, 1999, 41(3): 75 – 80.
- [28] Watkinson A R, Powell J C. Seedling recruitment and the maintenance of clonal diversity in plant – populations – a computer – simulation of *Ranunculus – repens* [J]. Journal of Ecology, 1993, 81(4): 707 – 717.
- [29] Wu Z Y, Raven P H, Hong D Y. Flora of China [M]. St. Louis: Science Press (Beijing) & Missouri Botanical Garden, 2004.
- [30] Naruhashi N, Sugimoto M. The floral biology of *Duchesnea* (Rosaceae) [J]. Plant Species Biology, 1996, 11(2/3): 173 – 184.
- [31] 李钧敏, 金则新. 匍匐茎草本植物蛇莓小尺度克隆结构 [J]. 生态学报, 2009, 29(7): 3540 – 3548.
- [32] 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 [J]. 生态学报, 2001, 21(12): 1957 – 1963.
- [33] 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 [J]. 应用生态学报, 2002, 13(4): 399 – 402.
- [34] Yeh F, Yang R, Boyle T J, et al. Popgen 32, microsoftware windows based freeware for population genetic analysis [M]. Edmonton: Molecular Biology and Biotechnology Center, 2002.
- [35] Peakall R, Smouse P E. GenAlEx 6. 5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research: an update [J]. Bioinformatics, 2012, 28(19): 2537 – 2539.
- [36] Pritchard J K, Stephens M, Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data [J]. Genetics, 2000, 155(2): 945 – 959.
- [37] Evanno G, Regnaut S, Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study [J]. Molecular Ecology, 2005, 14(8): 2611 – 2620.
- [38] Rohlf F J. NTSYS – pc 2. 1: numerical taxonomy and multivariate analysis system [M]. Exeter Software, Setauket, NY, 1997.
- [39] Hamrick J L, Godt M J W, Brown A H D, et al. Allozyme diversity in plant species [C]. Plant population genetics, breeding, and genetic resources, 1990: 43 – 63.
- [40] Ellstrand N C, Roose M L. Patterns of genotypic diversity in clonal plant species [J]. American Journal of Botany, 1987, 74(1): 123 – 131.
- [41] Hamrick J L, Godt M J, Sherman – Broyles S L. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species [J]. New Forests, 1992, 6(1/2/3/4): 95 – 124.
- [42] Kreher S A, Foré S A, Collins B S. Genetic variation within and among patches of the clonal species, *Vaccinium stamineum* L. [J]. Molecular Ecology, 2000, 9(9): 1247 – 1252.
- [43] Clark – Tapia R, Alfonso – Corrado C, Eguarte L E, et al. Clonal diversity and distribution in *Stenocereus eruca* (Cactaceae), a narrow endemic cactus of the Sonoran Desert [J]. American Journal of Botany, 2005, 92(2): 272 – 278.
- [44] Bengtsson B O. Genetic variation in organisms with sexual and asexual reproduction [J]. Journal of Evolutionary Biology, 2003, 16(2): 189 – 199.
- [45] 陈 明. 蛇莓观赏性与繁殖习性研究 [J]. 林业实用技术, 2008(2): 42 – 43.
- [46] Clark – Tapia R, Mandujano M C, Valverde T, et al. How important is clonal recruitment for population maintenance in rare plant species? The case of the narrow endemic cactus, *Stenocereus eruca*, in Baja California, México [J]. Biological Conservation, 2005, 124(1): 123 – 132.
- [47] Li J, Dong M. Fine – scale clonal structure and diversity of invasive plant *Mikania micrantha* HBK and its plant parasite *Cuscuta campestris* Yunker [J]. Biological Invasions, 2009, 11(3): 687 – 695.
- [48] Wright S. The interpretation of population – structure by *F* – statistics with special regard to systems of mating [J]. Evolution, 1965, 19(3): 395 – 420.
- [49] Nybom H, Bartish I V. Effects of life history traits and sampling strategies on genetic diversity estimates obtained with RAPD markers in plants [J]. Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics, 2000, 3(2): 93 – 114.
- [50] Nybom H. Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants [J]. Molecular Ecology, 2004, 13(5): 1143 – 1155.
- [51] Glémin S, Bazin E, Charlesworth D. Impact of mating systems on patterns of sequence polymorphism in flowering plants [J]. Proceedings of Biological Sciences, 2006, 273(1604): 3011 – 3019.
- [52] Heleno R H, Ross G, Everard A, et al. The role of avian ‘seed predators’ as seed dispersers [J]. IBIS, 2011, 153(1): 199 – 203.
- [53] 沈栋伟, 李媛媛, 陈小勇. 植物克隆多样性与生态系统功能 [J]. 植物生态学报, 2007, 31(4): 552 – 560.