

珠芽蓼种群克隆多样性及克隆结构的初步研究

陆建英¹ 马瑞君^{2*} 孙 坤¹

(¹ 西北师范大学生命科学学院, 兰州 730070; ² 韩山师范学院生物系, 广东潮州 521041)

摘 要 珠芽蓼 (*Polygonum viviparum*) 是青藏高原东缘广泛分布的克隆植物, 具有有性和无性(根状茎和珠芽)两种生殖方式。该研究采用 RAPD 技术对分布于不同海拔的珠芽蓼 7 个自然种群进行了克隆结构和克隆多样性(是单克隆种群还是多克隆种群)以及克隆多样性与海拔因子之间的相关性研究, 为了解高山克隆植物对环境的适应性策略及揭示克隆植物的繁殖和分布特点提供科学依据。研究结果表明: 1) 采用 13 条 RAPD 引物对珠芽蓼 7 个种群共 140 个样本进行扩增分析, 共扩增到 117 个位点, 其中多态性位点 84 个, 多态位点百分率 PPL 达到 71.79%, 检测到 43 个基因型, 且全部为局限型基因型; 2) 与 Ellstrand 和 Roose(1987) 总结的克隆植物的克隆多样性平均值相比 ($PD = 0.17$, $D = 0.62$) 珠芽蓼种群克隆多样性水平稍高, Simpson 指数平均为 0.639, 基因型比率 PD 平均为 0.307; 3) 克隆结构分析表明, 珠芽蓼种群内克隆之间的镶嵌明显, 这可能与珠芽蓼过渡型的克隆构型有关。研究中珠芽蓼种群的构型有游击型、密集型以及这两者之间的过渡类型; 4) 采用 SPSS 软件对珠芽蓼种群的克隆多样性与海拔高度进行相关性分析, 结果显示它们之间并无明显的相关性。

关键词 珠芽蓼 克隆植物 克隆多样性 克隆结构 RAPD

CLONAL DIVERSITY AND STRUCTURE IN *POLYGONUM VIVIPARUM*

LU Jian-Ying¹, MA Rui-Jun^{2*}, and SUN Kun¹

¹College of Life Science, Northwest Normal University, Lanzhou 730070, China, and ²Biology Department, Hanshan Normal University, Chaozhou, Guangdong 521041, China

Abstract Aims *Polygonum viviparum*, which is widely distributed in eastern Qinghai-Tibet Plateau in China, is a clonal plant species with two modes of reproduction, clonal propagation by below-ground rhizomes and bulbils and sexual by seeds. This study investigated clonal structure and diversity (monoclonal or multiclinal population) and the relationship between clonal diversity and the altitude. Our objective was to examine the adaptive strategy of alpine plants to varied environments and establish a foundation for understanding reproduction and distribution of clonal plants.

Methods We selected seven populations in eastern Qinghai-Tibet Plateau along an altitudinal gradient and sampled 20 individuals in each population with at least 1 m between individuals to avoid individuals from the same clone. We employed random amplified polymorphic DNA (RAPD) technology for studying clonal structure and diversity and analyzed the relationship between clonal diversity and altitude by SPSS software.

Important findings We selected 13 random primers for amplification and found 117 repetitive loci with 84 polymorphic loci (total average percentage of polymorphic loci was 71.79%). We differentiated 43 RAPD genotypes among the 140 plants sampled. Mean Simpson's index was 0.639, and mean PD was 0.307, slightly higher than the mean of Ellstrand ($PD = 0.17$, $D = 0.62$). There was a clear mosaic among *P. viviparum* clones, probably because of diverse clonal structure. The formations of *P. viviparum* populations included guerilla, phalanx and a transitional type. Clonal diversity was independent of altitude.

Key words *Polygonum viviparum*, clonal plant, clonal diversity, clonal structure, RAPD

许多植物,特别是生长在逆境中的植物,常具有性生殖和克隆繁殖的两种增加个体数量的方式。其中克隆繁殖具有可塑性强、繁殖速度快、幼苗成活率高可在短期内占据不同生境,尤其是有适应不良环

境的优势(Barret & Shore, 1989),对物种的繁衍具有重要意义。因此,生长于干旱、高山等胁迫环境下的植物,其有性生殖方式往往被限制,而克隆繁殖占优势(Hartmann, 1957; Gray, 1993; Stöcklin & Bäumler,

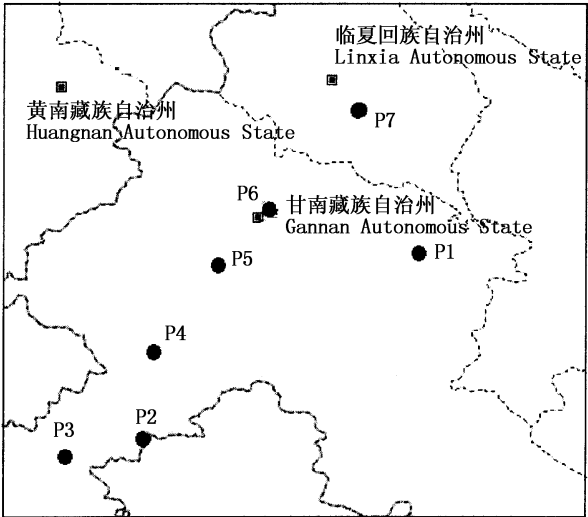
1996 ;Klimes *et al.* ,1997)。植物种群克隆结构及克隆多样性是种群进化过程中适应环境的结果 ,深入研究种群的克隆结构及克隆多样性是了解克隆植物种群的形成、维持和衰退机制的重要方面 ,同时对研究植物定居、侵殖和演替的机理也有重要意义(阮成江等 2005)。近年来 ,对克隆植物的克隆结构、克隆多样性和克隆大小的研究已成为克隆植物的研究热点之一(Sipes & Wolf ,1997 ;Suyama *et al.* ,2000)。由于克隆繁殖后代具有与母体植物相同的遗传特性 (阮成江等 2005) ,克隆繁殖具有适应胁迫环境方面的优势 ,因此 ,前人的研究表明 ,随着海拔的升高 ,传粉昆虫数量减少 ,植物花期缩短 ,以及小种群效应产生 ,高山克隆植物克隆繁殖也会增加 ,克隆多样性水平下降(Younga *et al.* ,2002) ;但 Stenstorm 等(2001)则认为虽然海拔与温度呈负相关性 ,但海拔越高的地方 ,植物的种子容易逃离动物的采食 ,因此在海拔较高处植物的遗传变异反而更丰富。可见 ,在环境胁迫强度与克隆结构、克隆多样性之间的关系尚不明确。

珠芽蓼(*Polygonum viviparum*)为蓼科蓼属的多年生草本 ,广布于亚洲、欧洲及美洲 ,在我国常见于陕西、甘肃、西藏、青海等地 ,主要生长在海拔 2 200 ~ 4 200 m 的高山草原湿润地区 ,是优良的牧草。珠芽蓼是典型的兼性克隆植物 ,有性生殖为虫媒传粉 ,同时靠地下根状茎和珠芽行克隆繁殖(李有忠和沈颂东 ,1996)。本研究在青藏高原东缘沿海拔梯度选择了 7 个珠芽蓼自然种群 ,采用 RAPD 的方法对其克隆结构、克隆多样性(是单克隆种群还是多克隆种群)以及克隆多样性与海拔因子之间的相关性进行了初步的研究 ,旨在探讨高山克隆植物对环境的适应性策略 ,并为揭示克隆植物的繁殖策略、克隆多样性与海拔之间的关系提供依据。

1 材料和方法

1.1 实验材料

实验材料采集于青藏高原东缘甘南藏族自治州 7 个不同海拔下的珠芽蓼自然种群(图 1) ,海拔在 2 000 ~ 3 900 m 之间不等 ,采集时间在植物生长季节(8 月) ,具体材料采集地的海拔及其生境见表 1。当地年平均降水量为 620 mm ,多集中在 5 ~ 9 月 ,年平均气温为 1.8 ℃。具体采样方法由于材料个体分布所限 ,且尽可能避免采集到相同克隆 ,个体之间至少相隔 1 m。采集珠芽蓼新鲜的嫩叶片后立即使用变色硅胶干燥保存 ,带回备用。



●表示珠芽蓼 7 个种群的采样地点
Showing sampling places of seven populations of *Polygonum viviparum*
图 1 珠芽蓼种群采样分布图

Fig.1 The distribution map of study population of *Polygonum viviparum*
P1 : 冶力关-临潭 Yeliguang-Lintan P2 : 尕玛梁 Gamaliang P3 : 玛曲 Maqu P4 : 尕海-碌曲 Gahai-Luqu P5 : 碌曲-合作 Luqu-Hezuo P6 : 依毛梁 Yimaoliang P7 : 和政南阳山 Hezheng Nanyangshan Mountain

表 1 珠芽蓼天然种群 RAPD 分析的样品及其生境条件
Table 1 The habitats in sampling sites of *Polygonum viviparum*

种群 Population	海拔 Altitude (m)	采样个数 No. of sample	生境 Habitats
P1	2 500	25	山上 On the Mountain
P2	3 900	25	路边草地 Roodside meadow
P3	3 400	25	草地 Meadow
P4	3 150	20	草地 Meadow
P5	3 000	27	湿地 March
P6	2 900	24	湿地 March
P7	2 000	25	河滩 Beach

P1 ~ P7 : 见图 1 See Fig. 1

1.2 总 DNA 的提取与检测

采用 CTAB 法(Doyle & Doyle ,1987)提取基因组总 DNA ,方法略有改进。温育后将离心速度由 100 g 提高到 10 000 g ,提高第二次抽提时加入抽提液的量由原来的 800 ul 变为 900 ul ,并且 10 000 g 离心。加入异丙醇后 ,放到常温下沉淀 30 min。提取后用紫外分光光度计检测 DNA 模板的浓度 ,用 0.8% 的琼脂糖凝胶电泳、EB 染色、紫外灯下观察照相 ,电泳结果 DNA 条带清晰、无拖尾现象表明 DNA 质量较好。最后将样品稀释到 5 ~ 10 ng · ul⁻¹ 备用。

1.3 引物的筛选和 PCR 扩增及产物

引物筛选时采用两轮筛选 ,首先用每个种群的 2 个样品对 200 条引物(上海生工公司)进行第一轮

筛选 , 筛选出扩增片段清晰、特异性好的引物 82 条 , 然后用这 82 条引物对每个种群的 4 个样品进行扩增 , 筛选出扩增带型稳定、重复性好的 13 条引物作为全部样品扩增引物 , 表 2 为引物的序列及其检测到的位点数。选取每个种群的 20 个样品进行 PCR 扩增。采用 10 μ l 的反应体系 : 模板 5 ~ 10 ng \cdot μ l⁻¹ , 50 mmol \cdot L⁻¹ Tris-HCl (pH 8.3) , 500 ug \cdot μ l⁻¹ BSA , Ficoll 10% , dNTP 各 200 umol \cdot L⁻¹ , Taq 酶 0.5 U , 引物 3 ng \cdot μ l⁻¹ , MgCl₂ 2 mmol \cdot L⁻¹ , 酒石黄 1 mmol \cdot L⁻¹。PCR 反应在德国 Biometra UNO II PCR 仪上进行 , 扩增程序为 : 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min ; 94 $^{\circ}$ C 1 min , 37 $^{\circ}$ C 1 min , 72 $^{\circ}$ C 1 min , 40 个循环 , 72 $^{\circ}$ C 延伸 7 min。在含有 EB 的 1.5% 的琼脂糖凝胶上电泳 2 ~ 3 h , 然后在凝胶成像系统上观察比较并照相。

表 2 用于珠芽蓼扩增的随机引物的序列及其检测的位点数 Table 2 The sequence of primers and the number of tested loci			
引物 Primer	序列(5'-3') Sequence (5'-3')	DNA 总位点数 Total number of loci	多态位点数 No. of polymorphic loci
S5	TGCGCCCTTC	10	7
S8	GTCCACACGG	13	7
S12	CCTTGACGCA	7	6
S13	TTCCCCCGCT	8	6
S223	CTCCCTGCAA	7	4
S393	ACCGCCTGCT	8	5
S494	GGACGCTCA	10	6
S500	TCGCCCAGTC	11	7
S1102	ACTTGACGGG	10	8
S1107	AACCGCGGCA	7	6
S1156	CACAACGGGA	10	9
S1420	CTTCTCGGAC	8	7
S2113	CCGCCGGTAA	8	6

1.4 数据分析

扩增结果用 λ DNA100 bp 做分子标记 , 对照反应产物在胶上的对应位置 , 同一位点的产物按有带的计为 1 , 无带的计为 0 , 形成二元数据矩阵。分析中将在各扩增位点的 RAPD 谱带完全相同的个体视为同一克隆 (即基因型相同)。为便于和其它植物进行比较 , 我们计算了反映克隆种群的克隆多样性及其空间结构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 (Nei , 1973 ; Pielou , 1969 ; Fager , 1972 ; Eckert & Barrett , 1993)。为了了解不同克隆之间的遗传关系 , 在 DCFA1.1 (张富民和葛颂 , 2002) 中由 RAPD 数据得到不同克隆的欧氏距离平方 , 通过 NTSYS2.02 的 SHAN 程序聚类得到聚类图。采用 SPSS12.0.1 软件进行克隆多样性与海拔高度

相关性的分析。

克隆多样性分析指标 :

1) 种群中基株数目 (G) : 将全部位点基因型相同的植株视为来自同一基株 , G 即为种群中基株总数。

2) 平均克隆大小 (N/G) : 即每个基株平均含有的克隆分株数 , N 是样本大小。

3) 不同基因型比率 (PD) : 以 G/N 估算 , N 是样本大小。

4) Simpson 多样性指数 (D) : Simpson 指数最初是用于测定种的多样性和均匀度的 , 现在用于度量种群内的克隆多样性 (Parker & Hamrick , 1992)。公式为 :

$$D = 1 - \frac{\sum N_i (N_i - 1)}{N (N - 1)}$$

(1)

式中 , N_j 为第 j 个基因型的分株数 , N 是样本大小。

5) Fager 指数 (E) (Fager , 1972) :

$$E = (D - D_{\min}) (D_{\max} - D_{\min}) ; D_{\min} = (G - 1) (2N - G) / N (N - 1) ; D_{\max} = (G - 1) N / G (N - 1)$$

(2)

6) 局限型基因型 : 只在一个种群中出现的基因型 (Elstrand & Roose , 1987)。

7) 广布型基因型 : 在 75% 以上种群中出现的基因型 (Elstrand & Roose , 1987)。

2 结果与分析

2.1 珠芽蓼种群的 RAPD 扩增与克隆多样性

从 200 个 RAPD 引物中筛选出 13 个引物对珠芽蓼 7 个种群的 140 个 DNA 样品进行 PCR 扩增 , 其中引物 S12 对 P4 种群的扩增见图 2 (其它扩增图略)。13 个引物共检测到 117 个位点 , 其中多态性位点 84 个 , 多态位点百分率 PPL 达到 71.79%。

表 3 是各研究种群的平均克隆大小、基因型比

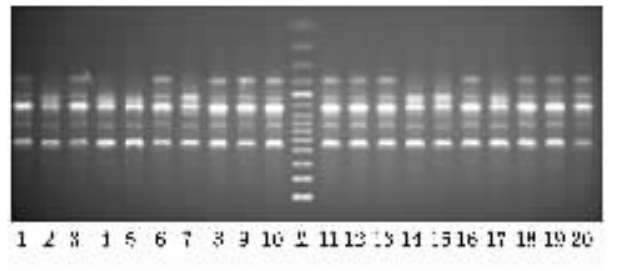


图 2 引物 S12 扩增的 P4 种群的 DNA 片段图谱
Fig.2 The PCR amplification pattern of P4 population generated with primer S12
1 ~ 20 : P4 种群的 20 个样品 20 samples of P4 population M : 分子量标准 100 bp DNA ladder plus) Standard marker

率、Simpson 多样性指数等统计值。珠芽蓼种群平均基株数目为 6 个 ;平均克隆大小为 3.622 ,从 2.000 到 5.000 不等 ,P3 和 P6 两个种群最高 ,都为 5.000 , P1 种群最低为 2.000 ;基因型比率平均为 0.307 (0.200~0.500) ;由 Simpson 多样性指数反映出的克隆多样性显示 ,P1 种群最高 (0.879) ,P6 最低 (0.284) ,平均为 0.639。珠芽蓼种群 Fager 指数的平

均值只有 0.495 ,低于 Ellstrand 和 Roose(1987)对于 21 种克隆植物的比较总结结果($E = 0.68$) ,其中 P6 种群的均匀度 E 为 0 ,说明在这个种群内 1 种基因型占据了绝大多数个体。如表 4 ,珠芽蓼克隆繁殖的 7 个珠芽蓼种群都是由多基因型构成 ,基因型个数在各种群中分布不均 ,种群间基因型多样性较低 , 7 个种群共 140 个样本 ,检测到 43 个基因型(克隆)。

表 3 珠芽蓼种群的克隆多样性
Table 3 Clonal diversity in all populations

种群 Population	样本大小(N) Sample size	种群基株(G) Number of genets	平均克隆大(N/G) Average size of genotype	基因型比率(PD) Proportion of distinct genotypes	Simpson 多样性指数(D) Simpson diversity index	均匀度(E) Fager 's evenness
P1	20	10	2.000	0.500	0.879	0.712
P2	20	8	2.500	0.400	0.816	0.684
P3	20	4	5.000	0.200	0.500	0.427
P4	20	5	4.000	0.250	0.800	0.911
P5	20	7	2.857	0.350	0.689	0.441
P6	20	4	5.000	0.200	0.284	0.000
P7	20	5	4.000	0.250	0.505	0.288
平均 Mean	20	6	3.622	0.307	0.639	0.495

表 4 种群内克隆数目和构型分布
Table 4 Clones number and clonal architecture within populations

种群 Population	克隆数 Number of clones	构型 Clonal architecture	种群内克隆分布情况(不同克隆的植株用 ' / ' 隔开) Clones distribution within population (different clones distingwished by ' / ')
P1	10	过渡型 Transition	1 2/3 4 5 6 8 ,10/7/9/11 ,13/12/14/15-17 ,19/18/20
P2	8	过渡型 Transition	1 3 5 7 8 9 ,12 ,18/2 4 6/10/11/13/14/15-17/19 20
P3	4	密集型 Phalanx	1-11 ,15 ,16 ,17/12 ,14/13/18-20
P4	5	游击型 Guerilla	1 3 6 ,11 ,12 ,13 ,16/2 4 5 ,14 ,17/7 ,15/8-10/18-20
P5	7	游击型 Guerilla	1 2/3 4 6 7 9 ,10 ,12 ,15 ,16 ,18 20/5/8/11 ,14 ,19/13/17
P6	4	密集型 Phalanx	1-4 6-15 ,17 ,19 20/5/16/18
P7	5	密集型 Phalanx	1/2-4 6-15 ,17/5/16/18-20

2.2 珠芽蓼的克隆结构

表 4 是通过 RAPD 方法计算分析出的珠芽蓼 7 个种群的克隆分布情况。7 个种群的克隆数目(基株数目)大小不同(4~10 个)。所有的种群都是多克隆种群 ,没有发现有单克隆种群。从种群内克隆的空间分布看 ,相邻个体属于同一克隆的可能性较大 ,但也有相距较远的个体具有相同的基因型 ,例如 P2、P4 和 P5 种群的部分个体 ,这表明珠芽蓼种群内克隆有明显的镶嵌现象。同时 ,通过 Excel 软件分析得出了珠芽蓼种群内的克隆基株的频率分布图(图 3) ,可以看出 ,P3、P6 种群的基株数目最少(4 个) ,其中 P3-1 型的克隆占了 P3 种群的 70% ,P6-1 型的克隆占了 P6 种群的 85% ,成为各自种群内具

有竞争优势的克隆 ;P7 种群内的基株数目也较少 ,有 5 个 ,且其中 P7-2 基因型的个体占了 70% ,成为 P7 种群内优势克隆。

2.3 克隆种群的聚类分析

通过 Ntsys 软件对珠芽蓼种群个体进行聚类分析 ,结果表明 ,珠芽蓼同一种群的个体先聚为一类 ,再与其它种群个体聚类 ,只有少数个体先与其它种群个体聚在了一起。图 4 为珠芽蓼 P3 种群的聚类结果(其它种群聚类图略) 。可以看出 ,P3 种群基本聚为 4 支 ,其中个体 1~11、15~17 属于同一克隆 ,个体 12、14 属于同一克隆 ,18~20 属于同一克隆 ,只有个体 13 是一个单独的克隆 ,它的基因型和其它任何个体都不相同 ,但遗传距离与 P3-11 克隆十分接

近,很有可能是由 P3-11 克隆突变形成的。

2.4 珠芽蓼的克隆多样性与海拔的关系

采用 SPSS 软件对珠芽蓼种群的克隆多样性与海拔高度进行相关性分析,结果显示,Simpson 多样性指数和海拔相关不显著,相关系数 $r = 0.223$ 。这表明,珠芽蓼种群的克隆多样性和海拔梯度不存在明显的相关性。

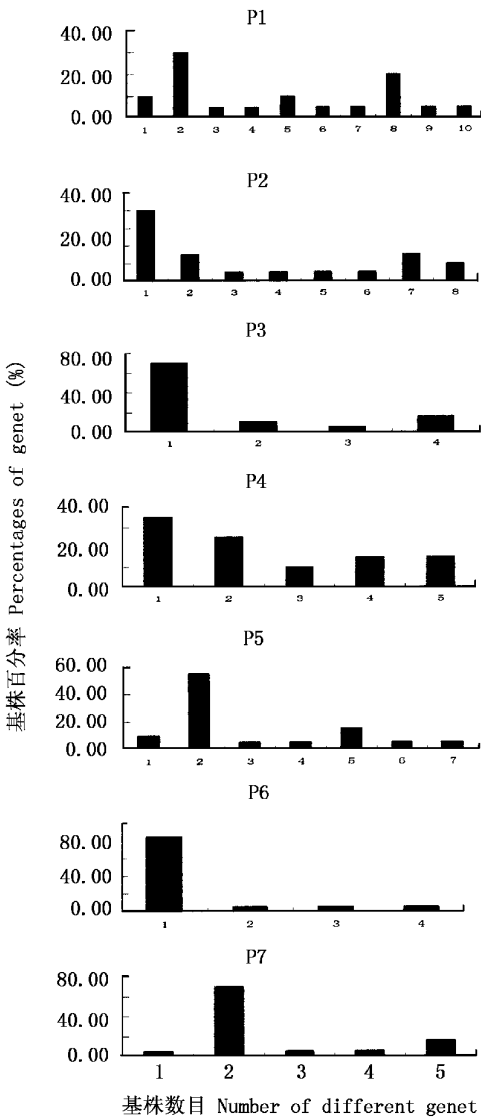


图3 各种群内克隆基株的频率分布

Fig.3 Frequency distribution of genets within each population

3 讨论

3.1 珠芽蓼种群的克隆多样性

本实验研究结果显示,珠芽蓼种群的不同基因型比率平均为 0.307,Simpson 多样性指数平均为 0.639,和其它多克隆种群的平均值($PD = 0.17$, $D = 0.62$)(Ellstrand & Roose,1987)相比稍高。这就说明

青藏高原东缘分布的珠芽蓼种群克隆多样性较高。另外,Bauer(1993)用琼脂糖凝胶电泳的方法检测了珠芽蓼 4 个种群的遗传变异性,在其中也发现了 15 种不同的基因型。本研究中珠芽蓼克隆多样性的维持,主要有几个方面:一方面可能是因为地处青藏高原东缘的珠芽蓼种群在定居初期或发展过程中,恶劣的高山环境使得种群为了适应环境压力,偶尔进行种苗补充,增加种群竞争能力;另一方面,微环境的异质性会通过多样性选择而促使不同的基因型的新个体占据不同的微环境。另外,体细胞突变也是其遗传变异的一个持续来源。Lynch 和 Milligan (1994)和 Gill 等(1995)认为在克隆植物中以体细胞突变的高发生率补偿有性繁殖重组的缺失,从而使克隆繁殖种适应环境的变化。

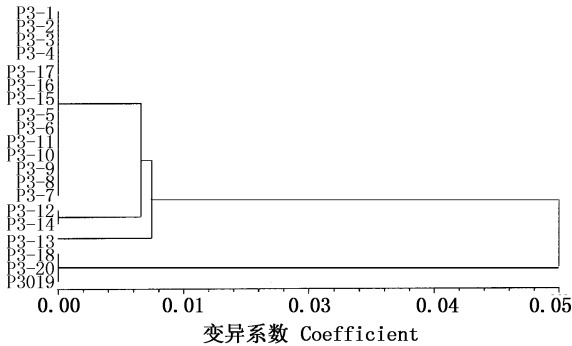


图4 珠芽蓼 P3 种群的 UPGMA 法聚类分析图

Fig.4 Dendrogram of UPGMA cluster analysis of *Polygonum viviparum* P3 population

相关性分析结果表明,珠芽蓼种群的克隆多样性和海拔梯度不存在明显的相关性,即随着海拔的升高,珠芽蓼并未在有性生殖与克隆繁殖之间进行明确的权衡,这一结果与前人的研究均不一致(Younga *et al.*, 2002; Stenstorm *et al.*, 2001)。究其原因可能有:1)在研究地的海拔范围内,海拔高度的变化还不足以影响传粉昆虫的数量、植物花期与种子传播等与有性繁殖密切相关的因素。因此,珠芽蓼的有性生殖和克隆繁殖的相对比重并未发生明显的改变,或者其改变尚不足以影响克隆多样性水平;2)珠芽蓼种群分布于较高的海拔条件下,经过长期的自然选择,其在垂直分布上有着广泛的生态适应性;3)克隆植物在不同的环境中可能面临着不同的选择压力,环境异质性能促进植物不同基因型的固定(Hangelbroek *et al.*, 2002; Torimaru *et al.*, 2003)。这就说明影响植物克隆多样性的因素不仅仅是海拔梯度,而是由环境异质性和不同地区的物候条件等各

个因子共同作用的结果。此外,也有可能受到其它非生态因子,如人为、交通工具或动物取食强度等的影响。

3.2 珠芽蓼种群的克隆结构

克隆分株种群的空间格局被认为是克隆植物与其利用环境(如资源)异质能力相关的性状。游击型构型具有很强的克隆扩散能力,易于利用分散分布的资源;密集型构型的克隆扩散能力有限,易于利用非常局部分布的资源(陈锦华等,2003)。

本研究中通过 RAPD 数据研究分析得到珠芽蓼种群内的克隆个体在空间上的分布情况。比较珠芽蓼自然种群可以看出,7 个克隆种群均属于多克隆种群,并不是单一的或只有几个克隆组成的种群。不同种群包括的克隆数目不同,有的种群含有 10 个,有的却只有 4 个,这可能是由不同海拔条件下种群环境的异质性决定的。珠芽蓼种群内不同克隆间相互交错混生,克隆之间的镶嵌明显,这与它的克隆构型密切相关。从种群内克隆的空间分布情况看,珠芽蓼克隆种群的构型为混合型,其中不同的种群有着不同的构型,包括游击型、密集型以及这两者之间的过渡类型。这种混合型的克隆生长空间格局形成了基株之间的镶嵌分布,使得克隆植物具有最大限度的利用资源的能力,在生存竞争中能使种群得以保存和发展。

克隆植物中不同基因型的适合度和竞争能力是克隆植物研究中的重要问题,但有关的研究还很少(Ellstrand & Roose,1987;Montalvo *et al.*,1997)。从各种种群内克隆基株的频率分布图可以看出,尽管珠芽蓼不同种群中平均克隆所含分株数相差很大(每个基株平均有 2~5 个分株),但是在多数种群内都有一到几个基因型占据相当大的比例,这说明不同的克隆(基因型)可能具有不同的生长潜力或适合度,进而可能具有不同的竞争能力,而那些不适应于生长环境的克隆个体(基因型)势必随着时间的推移最终被淘汰,这就是自然选择的结果。当然,本研究只是对珠芽蓼的克隆结构和克隆多样性进行了初步研究,且因 RAPD 方法鉴定克隆与引物的多少密切相关,有一定的局限性。因此,今后还可采用其它分子标记(AFLP、SSR、ISSR)对珠芽蓼的克隆规模大小、克隆间的竞争及繁殖方式权衡等方面作进一步研究。

参 考 文 献

Barret SCH, Shore JS (1989). Isozyme variation in colonizing

plants. In: Soltis DE, Soltis PS eds. *Isozymes in Plant Biology*. Chapman & Hall, London, 106 – 126.

Bauert MR (1993). Vivipary in *Polygonum viviparum*: an adaption to cold climate? *Nordic Journal of Botany*, 13, 473 – 480.

Chen JH (陈锦华), Wang XF (汪小凡), Lü YT (吕应堂) (2003). Pattern of clonal growth in a natural population of *Sagittaria pygmaea* Miq. (Alismataceae). *Journal of Wuhan University* (Natural Science Edition) (武汉大学学报(理学版)), 49, 523 – 527. (in Chinese with English abstract)

Doyle JJ, Doyle JL (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemistry Bulletin*, 9, 11 – 15.

Eckert CG, Barrett SCH (1993). Clonal reproduction and pattern of genotypic diversity in *Decodon verticillatus* (Lythraceae). *American Journal of Botany*, 80, 1175 – 1182.

Ellstrand NC, Roose ML (1987). Patterns of genotypic diversity in clonal plant species. *American Journal of Botany*, 74, 123 – 131.

Fager EW (1972). Diversity: a sampling study. *The American Nature*, 106, 293 – 310.

Gill DE, Lin C, Perkins SL (1995). Genetic mosaicism in plants and animals. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 26, 423 – 444.

Gray A (1993). The vascular plant pioneers of primary successions: persistence and phenotypic plasticity. In: Miles J, Walton D eds. *Primary Succession on Land*. Blackwell, Oxford, UK, 179 – 191.

Hangelbroek HH, Ouborg NJ, Santamaría L, Schwenk K (2002). Clonal diversity and structure within a population of the pondweed *Potamogeton pectinatus* foraged by Bewick's swans. *Molecular Ecology*, 12, 2137 – 2150.

Hartmann H (1957). Studien über die vegetative Fortpflanzung in den Hochalpen. *Jahresbericht der Naturforschenden Gesellschaft Graubündens*, 86, 3 – 168.

Klimes L, Klimesova J, Hendriks R, van Groenendael J (1997). Clonal plant architecture: a comparative analysis of form and function. In: de Kroon H, van Groenendael J eds. *The Ecology and Evolution of Clonal Plants*. Backhuys Publishers, Leiden, the Netherlands, 1 – 29.

Li YZ (李有忠), Shen SD (沈颂东) (1996). A preliminary morphological and anatomical investigation in the vegetative and reproductive organs of *Polygonum viviparum*. *Journal of Qinghai Normal University* (Natural Science Edition) (青海师范大学学报(自然科学版)), 1, 34 – 40. (in Chinese)

Lynch M, Milligan BG (1994). Analysis of population genetic structure with RAPD markers. *Molecular Ecology*, 3, 91 – 99.

Montalvo AM, Conard SG, Conkle MT, Hodgskiss PD (1997). Population structure, genetic diversity, and clone formation in *Quercus chrysolepis* (Fagaceae). *American Journal of Botany*, 84, 1553 – 1564.

Nei M (1973). Analysis of gene diversity in subdivided popula-

- tions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 70, 3321 – 3323.
- Parker KC, Hamrick JL (1992). Genetic diversity and clonal structure in a columnar cactus, *Lophocereus schottii*. *American Journal of Botany*, 79, 86 – 96.
- Pielou EC (1969). *An Introduction to Mathematical Ecology*. Wiley-Interscience, New York.
- Ruan CJ (阮成江), He ZX (何祯祥), Zhou CF (周长芳) (2005). *Plant Molecular Ecology (植物分子生态学)*. Chemical Industry Press, Beijing. (in Chinese)
- Sipes SD, Wolf PG (1997). Clonal structure and patterns of allozyme diversity in the rare endemic *Cycladenia humilis* var. *jonesii* (Apocynaceae). *American Journal of Botany*, 84, 401 – 409.
- Stenstrom A, Jonsson BO, Jonsdottir IS, Fagerstrom T, Augner M (2001). Genetic variation and clonal diversity in four clonal sedges (*Carex*) along the Arctic coast of Eurasia. *Molecular Ecology*, 10, 497 – 513.
- Stöcklin J, Bäumler E (1996). Seed rain, seedling establishment, and clonal growth strategies on a glacier foreland. *Journal of Vegetation Science*, 7, 45 – 56.
- Suyama Y, Obayashi K, Hayashi I (2000). Clonal structure in a dwarf bamboo (*Sasasenanesis*) population inferred from amplified fragment length polymorphism (AFLP) fingerprints. *Molecular Ecology*, 9, 901 – 906.
- Torimaru T, Tomaru N, Nishimura N, Yamamoto S (2003). Clonal diversity and genetic differentiation in *Ilex leucoclada* M. patches in an old-growth beech forest. *Molecular Ecology*, 12, 809 – 818.
- Younga AG, Hill JH, Murray BG, Peakall R (2002). Breeding system, genetic diversity and clonal structure in the subalpine forb *Rutidosia leiolepis* F. Muell. (Asteraceae). *Biological Conservation*, 106, 71 – 78.
- Zhang FM (张富民), Ge S (葛颂) (2002). Data analysis in population genetics. I. Analysis of RAPD data with AMOVA. *Biodiversity Science (生物多样性)*, 10, 438 – 444. (in Chinese with English abstract)

责任编辑 : 刘丽娟