

广东省五节芒遗传多样性的 ISSR 分析

李婧, 夏念和*

(中国科学院华南植物园, 广州 510650)

摘要:采用 ISSR 分子标记技术,对广东省内分布的能源植物五节芒(*Miscanthus floridulus*) 13 个野生居群共 215 个个体的遗传多样性进行了研究。9 个 ISSR 引物共扩增到了 81 个位点,其中 76 个是多态性位点。结果表明,广东五节芒的遗传多样性水平很高,物种水平上,多态位点百分率(PPB)为 93.83%,Nei's 基因多样性指数(He)为 0.3969,Shannon's 信息指数(Hsp)为 0.5724;居群水平上,PPB=81.91%,He=0.3015,Hpop=0.4460。居群间的遗传分化低于居群内的遗传分化,居群间遗传多样性分化系数(Gst)为 0.2379,居群间基因流(Nm)为 1.6018。AMOVA 分析表明,广东五节芒居群间的遗传变异占总变异的 20.44%,居群内的遗传变异占 79.56%。居群的地理分布和遗传多样性分布没有直接的相关性。Mantel 检测表明,居群遗传距离和地理距离之间无显著的相关关系($r=-0.2811$, $P=0.9590$),居群遗传多样性无明显的地域性分布格局。

关键词:五节芒;ISSR;遗传多样性

中图分类号:Q943

文献标识码:A

文章编号:1005-3395(2011)06-0506-07

doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2011.06.003

Genetic Diversity of *Miscanthus floridulus* (Poaceae) from Guangdong by Intersimple Sequence Repeat (ISSR)

LI Jing, XIA Nian-he*

(South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China)

Abstract: The genetic diversity of 215 individuals of *Miscanthus floridulus* from 13 natural populations distributed in Guangdong Province was investigated by using intersimple sequence repeat (ISSR) techniques. A total of 81 unambiguous and repetitious bands were scored by 9 primers. The results showed that the genetic diversity of *M. floridulus* was high, at species level, percentage of polymorphic loci (PPB) was 93.83%, Nei's gene diversity (He) for 0.3969, and Shannon's information index (Hsp) for 0.5724; while at population level, PPB=81.91%, He=0.3015 and Shannon's information index (Hpop)=0.4460. The coefficient of genetic differentiation among populations (Gst) was 0.2379, and gene flow among populations (Nm) was 1.6018. The AMOVA analysis showed that 79.56% of the total genetic variation within populations and the rest (20.44%) partitioned among populations. No significant correlation was found between geographical and genetic distance ($r=-0.2811$, $P=0.9590$).

Key words: *Miscanthus floridulus*; ISSR; Genetic diversity

五节芒 (*Miscanthus floridulus*) 为禾本科 (Poaceae) 黍亚科 (Panicoideae) 芒属多年生草本^[1]。在广东省内自海拔十几米的海边至海拔 1500 m 的山坡均有分布,占据多种生境。五节芒作为一种高光效 C₄ 植物,具有生物质产量高、抗逆性强等特点。

近 10 年来,由于生物质可再生能源得到广泛关注,芒属植物被视为颇具开发潜力的能源植物之一^[2-3],欧美一些国家,如英国、德国、美国等已经开始规模化进行了芒属植物的引种和遗传改良工作^[4-5]。目前,国内对于五节芒的研究主要集中在

收稿日期: 2011-04-07

接受日期: 2011-05-15

作者简介: 李婧(1986~),女,硕士研究生,主要从事植物分类和植物资源研究, email: lijing208@mails.gucas.ac.cn

* 通讯作者 Corresponding author, email: nhxia@scib.ac.cn

资源调查^[6-7]、生态习性^[8-9]、细胞学^[10]、分子标记^[11]、栽培应用^[12]等方面。利用 DNA 分子标记技术探讨五节芒遗传多样性和居群遗传结构方面的研究才刚刚开始^[11,13]。

ISSR(inter-simple sequence repeat)即简单重复间隔序列标记方法,具有 DNA 样品用量少、操作简单、快速灵敏、实验成本低、重复性好、信息量大且多态性高等优点;但 ISSR 为显性标记,抽样不充分易造成遗传多样性统计值偏低;其次 ISSR-PCR 反应对退火温度、引物浓度、Mg²⁺ 浓度等因素较为敏感。在实际操作中,通过优化采样策略、增加样本数、摸索最适 PCR 扩增条件等方法可以有效降低以上不利因素对于实验结果准确性的影响。因而 ISSR 仍是一种比较理想的检测物种内遗传变异的分子标记。目前,ISSR 分子标记技术在野牛草(*Buchloe dactyloides*)^[14]、扁穗牛鞭草(*Hemarthria compressa*)^[15]、鸭茅(*Dactylis glomerata*)^[16]、沙鞭(*Psammodloa villosa*)^[17]、披碱草(*Elymus spp.*)^[18]等禾本科植物的遗传多样性研究中得到广泛应用。

广东省野生五节芒资源丰富,分布广泛,生境

多样,蕴藏着十分丰富的遗传多样性。本研究运用 ISSR 技术,首次从分子水平上探讨广东地区野生五节芒居群的遗传多样性和遗传结构,揭示其遗传背景,为华南地区五节芒驯化育种和杂交育种选择亲本提供依据;为用 ISSR 技术构建五节芒指纹图谱、种质鉴别提供有效手段,对五节芒种质资源的收集、保存、利用及核心种质资源构建等具有一定的参考意义。

1 材料和方法

1.1 材料

实验材料五节芒(*Miscanthus floridulous*)分别采自广东省境内的黑石顶、丹霞山、大雾岭、七目嶂等地(图 1),共计 13 个居群 215 个样本。五节芒成丛分布,采样时在每一居群中以 10 m 间距选择 1 个株丛作为 1 份材料,剪取幼嫩叶片,用硅胶干燥后室温保存。居群位置和采样个体数见图 1 和表 1。

1.2 基因组 DNA 的提取

采用改良后的 CTAB 法^[19]提取基因组 DNA,用 1% 琼脂糖胶电泳检测。用紫外分光光度计检测总 DNA 的浓度和质量^[20]。

表 1 五节芒自然居群的位置
Table 1 Locations of natural populations of *M. floridulus*

居群代号 Population code	采样地 Locality	经度 (N) Latitude	纬度 (E) Longitude	海拔 (m) Altitude	采样数 Sample number	凭证标本 Voucher
LFS	博罗罗浮山 Luofushan, Boluo	114.02	23.25	244	20	Li-BL-001
NL	南岭乳源 Ruyuan, Nanling	113.02	24.92	948	18	Li-RY-002
XTS	惠州象头山 Xiangtoushan, Huizhou	114.37	23.25	283	18	Li-XTS-001
HSD	封开黑石顶 Heishiding, Fengkai	111.90	23.46	220	16	Li-HSD-002
DYW	惠阳大亚湾 Daya Bay, Huiyang	114.53	22.71	44	17	Li-HY-001
GK	惠东港口 Gangkou, Huidong	114.89	22.55	10	12	Li-GK-001
PS	坪石 Pingshi	113.05	25.29	230	16	Li-PS-001
QMZ	五华七目嶂 Qimuzhang, Wuhua	115.38	23.83	389	15	Li-QMZ-002
DWL	信宜大雾岭 Dawuling, Xingyi	111.20	22.29	1178	18	Li-XY-001
XG	河源新港 Xin'gang, Heyuan	114.63	23.77	162	14	Li-XG-001
HHS	南澳黄花山 Huanghuashan, Nan'ao	116.97	23.44	320	16	Li-HHS-002
DX	仁化丹霞山 Danxiashan, Renhua	113.74	25.03	334	20	Li-DX-008
YNS	梅县阴那山 Yinnashan, Meixian	116.40	24.40	698	15	Li-YNS-002

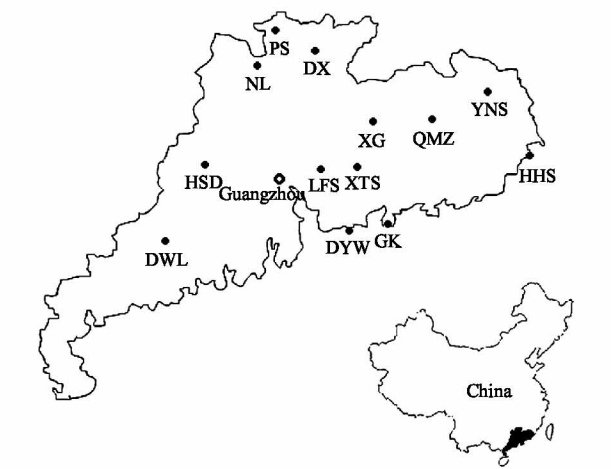


图 1 五节芒 13 个居群的取样分布图。居群代号见表 1。
Fig. 1 Locations of thirteen sampling plots of *Miscanthus floridulus* populations. Population codes see Table 1.

1.3 引物筛选与 PCR 扩增

所用引物系列为加拿大哥伦比亚大学 UBC 公司公布的第 9 套 ISSR 引物序列。从 100 个通用引物中选取 9 个能扩增出清晰条带的引物(表 2),对全部 13 个居群的所有个体进行 PCR 扩增。PCR 反应体系为 20 μ L, 内含 10 $\times$ PCR buffer 2 μ L, Mg^{2+} 1.5 mmol/L, 4 $\times$ dNTP 0.2 mmol/L, *Taq* DNA 聚合酶 0.75 U, 引物 0.5 μ mol/L, 模板 DNA 50 ng μ L⁻¹。PCR 反应在 PTC-200 PCR 仪上进行。扩增程序为: 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 45 s, 退火 45 s (退火温度随引物而不同, 表 2), 72 $^{\circ}$ C 延伸 50 s, 40 个循环; 72 $^{\circ}$ C 延伸 7 min, 4 $^{\circ}$ C 恒温保存。扩增产物用 1% 的琼脂糖凝胶电泳分离, 通过凝胶成像系统(JS-680B)观察记录。

表 2 筛选出的 ISSR 引物序列及退火温度

引物	序列	退火温度
Primer	Sequence (5' ~ 3')	Anneal temperature ($^{\circ}$ C)
UBC-809	(AG) ₈ G	53
UBC-810	(G A) ₈ T	52
UBC-819	(GT) ₈ A	51
UBC-820	(GT) ₈ C	53
UBC-822	(TC) ₈ A	51
UBC-824	(TC) ₈ G	53
UBC-860	(TG) ₈ RA	52
UBC-884	HBH(AG) ₇	51
UBC-887	DVD(TC) ₇	51

1.3 数据统计与分析

对 ISSR 电泳凝胶图进行人工读带, 按照图谱中相同迁移位上扩增阳性记为“1”, 扩增阴性记为“0”, 得到 ISSR 表型数据矩阵。五节芒是异交植物, 本研究中的 13 个供试五节芒居群皆为自然状态下的野生居群, 故可认为均处于 Hardy-Weinberg 平衡状态。采用 POPGENE 1.32^[21] 对全部居群和单个居群分别进行遗传参数分析, 分别计算多态位点百分率(PPB)、平均每个位点的观测等位基因数(N_a)、平均每个位点的有效等位基因数(N_e)、Nei's 基因多样性指数(H_e)^[22]、Shannon's 多样性信息指数(H_o , 物种水平为 H_{sp} , 居群水平为 H_{pop})、总的基因多样性(H_t)、居群内平均基因多样性(H_s)、居群间的遗传分化系数(G_{st})、Nei's 遗传距离(D)和遗传一致度(I)^[23], 分别根据 Shannon's 指数(H_o)在物种水平(H_{sp})和居群水平的基因多样性(H_{pop}), 利用 $[(H_{sp} - H_{pop})/H_{sp}]$ 来估测居群间的遗传变异, 基因流用公式 $N_m = 0.5 \times (1 - G_{st})/G_{st}$ 计算。用 NTSYSpc 2.1^[24] 对居群间的 Nei's 遗传距离(D)用 UPGMA 方法进行聚类分析。用 WINAMOVA 1.55^[25] 分析居群间和居群内的遗传变异^[26]。用 TFPGA 1.3^[27] Mantel 检测居群遗传距离和地理距离间的相关性。

2 结果

2.1 物种和居群水平的遗传多样性

9 条引物共检测到 81 个有效位点, 片段长度为 180 ~ 2000 bp, 其中多态性位点有 76 个(图 2)。在物种水平上, 五节芒的多态性位点百分率(PPB)为 93.83%, 平均每个位点的有效等位基因数(N_e)为 1.7162 ± 0.2770 , Nei's 基因多样性指数(H_e)为 0.3969 ± 0.1315 , Shannon's 信息指数(H_{sp})为 0.5724 ± 0.1772 ; 居群水平上, 各个居群的 PPB 为 74.07% ~ 87.65% ,

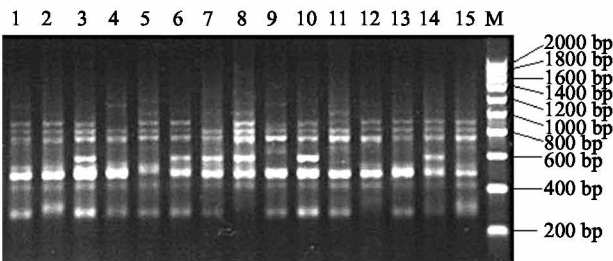


图 2 引物 UBC-860 对部分个体的扩增结果。M: Marker; 1 ~ 15: 罗浮山居群的 15 株个体。

Fig. 2 ISSR amplification by primer UBC-860 to some *Miscanthus floridulus* individuals. M: Marker; 1-15: 15 individuals in LFS population.

平均值为 81.91% ,Ne 为 1.5232 ± 0.3551 ,He 为 0.3015 ± 0.1809 ,Hpop 为 0.4460 ± 0.2509 。各居群间的遗传多样性有差异,其中黑石顶(HSD)居群的遗传多样性水平最高(PPB = 87.65% , Ne = 1.5123 , He = 0.3059 , Ho =0.4607),坪石(PS)居群的最低(PPB = 74.07% , Ne = 1.4095 , He = 0.2443 ,Ho = 0.3696) (表 3)。

表 3 五节芒居群的遗传多样性

Table 3 Genetic diversity of *M. floridulus* populations

居群 Population	Na	Ne	He	Ho	PPB (%)
LFS	1.7531 ± 0.4339	1.4798 ± 0.3774	0.2760 ± 0.1945	0.4088 ± 0.2717	75.31
NL	1.8148 ± 0.3909	1.4786 ± 0.3522	0.2815 ± 0.1819	0.4219 ± 0.2516	81.48
XTS	1.8395 ± 0.3694	1.5977 ± 0.3618	0.3343 ± 0.1802	0.4866 ± 0.2489	83.95
HSD	1.8765 ± 0.3310	1.5123 ± 0.3225	0.3059 ± 0.1593	0.4607 ± 0.2167	87.65
DYW	1.8272 ± 0.3805	1.5831 ± 0.3483	0.3306 ± 0.1767	0.4831 ± 0.2453	82.72
GK	1.8642 ± 0.3447	1.5176 ± 0.3293	0.3060 ± 0.1665	0.4584 ± 0.2274	86.42
PS	1.7407 ± 0.4410	1.4095 ± 0.3556	0.2443 ± 0.1882	0.3696 ± 0.2644	74.07
QMZ	1.7531 ± 0.4339	1.4999 ± 0.3868	0.2835 ± 0.1979	0.4175 ± 0.2751	75.31
DWL	1.8395 ± 0.3694	1.5553 ± 0.3500	0.3190 ± 0.1748	0.4706 ± 0.2409	83.95
XG	1.7901 ± 0.4098	1.4816 ± 0.3495	0.2835 ± 0.1816	0.4234 ± 0.2539	79.01
HHS	1.8395 ± 0.3694	1.5881 ± 0.3455	0.3335 ± 0.1742	0.4879 ± 0.2406	83.95
DX	1.7531 ± 0.4339	1.5723 ± 0.3803	0.3174 ± 0.1972	0.4586 ± 0.2772	75.31
YNS	1.8272 ± 0.3805	1.5257 ± 0.3575	0.3037 ± 0.1791	0.4505 ± 0.2474	82.72
居群水平 Population level	1.8091 ± 0.3914	1.5232 ± 0.3551	0.3015 ± 0.1809	0.4460 ± 0.2509	81.91
物种水平 Species level	1.9383 ± 0.2422	1.7162 ± 0.2770	0.3969 ± 0.1315	0.5724 ± 0.1772	93.83

Na: 等位基因数; Ne: 有效等位基因数; He: Nei's 基因多样性; Ho: Shannon's 信息指数; PPB: 多态位点百分率
Na: Observed number of alleles; Ne: Effective number of alleles; He: Nei's gene diversity; Ho: Shannon's information index; PPB: Percentage of polymorphic loci.

2.2 居群间遗传分化

用 POPGENE 计算出广东五节芒 13 个野生居群间的遗传分化参数,结果表明,居群间的遗传分化系数(Gst)为 0.2379, $[(Hsp - Hpop)/Hsp] = 0.2208$,居群间基因流(Nm)为 1.6018,基因交流较大(表 4)。AMOVA 分析显示居群间变异占总变异的 20.44% (表 5)。

2.3 居群间遗传一致度和遗传距离

用 POPGENE 计算广东五节芒 13 个居群间的

Nei's 遗传一致度(I),约为 0.7701 ~ 0.9140;遗传距离(D)约为 0.0899 ~ 0.2613(表 6)。根据居群间的遗传距离,利用 NTSYSpC 2.1^[23] 进行 UPGMA 聚类分析(图 3)。结果表明,大雾岭(DWL)和黑石顶(HSD)居群聚在一起,黑石顶(HSD)和罗浮山(LFS)居群的距离最远,罗浮山(LFS)居群位于最基部。经 TFPGA 1.3 Mantel检测,广东五节芒 13 个居群的遗传距离和地理距离之间的相关性不显著($r = -0.2811$, $P = 0.9590$)。

表 4 五节芒居群基因多样性的 Nei's 分析

Table 4 Nei's analysis of gene diversity in *M. floridulus* populations

	总基因多样性 Total gene diversity (Ht)	居群内基因多样性 Gene diversity within populations (Hs)	基因分化系数 Coefficient of gene differentiation (Gst)	基因流 Gene flow (Nm)
平均 Mean	0.3956	0.3015	0.2379	1.6018
标准差 Standard deviation	0.0173	0.0112		

表 5 五节芒的遗传变异(AMOVA)分析

Table 5 Genetic variance (AMOVA) of *M. floridulus* populations

变异来源 Source of variance	自由度 d.f.	方差总和 Sum of square deviation (SSD)	平均方差 Mean of square deviation (MSD)	变异组分 Variance component	%	P
居群间 Among population	12	849.1729	70.764	3.4679	20.44	< 0.0002
居群内 Within population	202	2726.1945	13.496	13.4960	79.56	< 0.0002

表 6 13 个居群间的地理距离(对角线上方)和遗传距离(对角线下方)

Table 6 Geographical distances (above diagonal) and genetic distance (below diagonal) among *M. floridulus* populations

	LFS	NL	XTS	HSD	DYW	GK	PS	QMZ	DWL	XG	HHS	DX	YNS
LFS	—	217	41	219	80	118	253	152	305	86	303	201	85
NL	0.1696	—	230	200	299	329	45	272	347	208	439	77	348
XTS	0.2200	0.1077	—	257	66	99	262	113	351	57	260	203	234
HSD	0.2613	0.1780	0.1168	—	281	322	242	356	150	280	518	258	467
DYW	0.1789	0.1743	0.1567	0.1566	—	43	327	150	343	117	264	270	266
GK	0.2102	0.1471	0.0996	0.0912	0.1823	—	362	151	376	141	236	302	257
PS	0.2345	0.1382	0.1431	0.1125	0.1434	0.1406	—	287	390	235	449	75	350
QMZ	0.1900	0.1283	0.1222	0.1475	0.1510	0.1236	0.1204	—	458	78	168	214	120
DWL	0.2212	0.1453	0.1289	0.0899	0.1768	0.1123	0.1251	0.1376	—	386	601	400	578
XG	0.2217	0.1803	0.1987	0.1862	0.2098	0.1865	0.2118	0.1692	0.1285	—	242	167	190
HHS	0.2323	0.1641	0.1132	0.1140	0.1508	0.1219	0.1840	0.1671	0.1286	0.1397	—	374	124
DX	0.1984	0.1349	0.1059	0.2260	0.1444	0.1975	0.2068	0.1743	0.1790	0.2281	0.1843	—	276
YNS	0.1817	0.1134	0.1068	0.1295	0.1593	0.1347	0.1554	0.1051	0.0917	0.1692	0.1468	0.1532	—

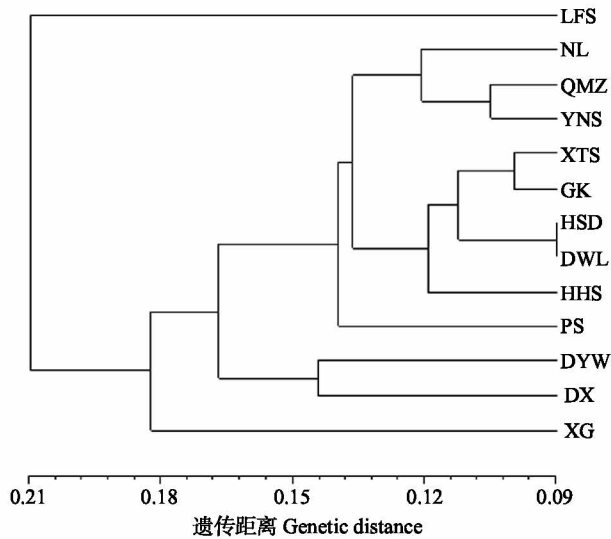


图 3 五节芒居群的 Nei's 遗传距离的 UPGMA 聚类图
Fig. 3 UPGMA dendrogram of *M. floridulus* populations based on Nei's genetic distance

3 讨论

3.1 遗传多样性

采用 ISSR 分子标记技术,刁英等^[13]研究了湖北

省鄂州市梁子岛的 4 个五节芒居群的遗传多样性,结果表明在物种水平上,其多态性位点百分率为 95.15%, H_t 为 0.3144, H_{sp} 为 0.4525, H_{pop} 为 0.4281。与我们的研究结果(物种水平的多态位点百分率为 93.83%, H_t 为 0.3956, H_{sp} 为 0.5724, H_{pop} 为 0.4460)相当,这些均表明五节芒具有丰富的遗传多样性。

统计学检验表明,在居群水平上影响遗传变异的因素依次为:繁育系统>分布范围>生活型>分类地位>种子散播机制^[28],其中繁育系统同样也影响物种水平上的遗传变异^[28]。一般来说,遗传变异最高的植物类群是那些寿命长、地理分布广、异交为主、风媒授粉、结实性高且存在于演替末期群落中的物种^[28-29]。五节芒为多年生草本,风媒花,异花传粉;在自然状态下繁育系统多样(既可用分蘖或地下茎进行营养繁殖,也可用种子进行有性繁殖),大量种子依靠风力进行传播,散布范围较广;此外五节芒适应性很强,广泛分布于我国长江以南各省,并且占据多种生境,种群较大。这些生物学特性,决定了五节芒具有较高水平的遗传多样性。

Hamrick 等统计了 662 种植物的遗传多样性和遗传分化参数,它们的平均值分别为:多态位点百

分率(PPB)=51.3%,等位基因数(N_a)=1.97,基因多样性指数(H_e)=0.150,及遗传分化参数(G_{st})=0.228;其中广布种的 PPB=67.8%, N_a =2.11, H_e =0.257, G_{st} =0.033^[30]。本研究结果表明,广东五节芒 13 个野生居群的 PPB=93.83%, N_a =1.9383, H_e =0.3969, G_{st} =0.2379,可见,PPB、 H_e 和 G_{st} 均明显高于 Hamrick 的结果。这与广布种趋向于具有更高的遗传多样性水平^[29,31]的预测相符。

3.2 遗传结构

居群的遗传结构是通过物种居群间和居群内的遗传分化来体现。影响自然居群遗传分化的原因有多种,包括植物的繁育体系、传粉方式和种子传播机制、基因流、基因突变以及自然选择作用等^[28]。繁育体系是影响居群遗传结构的最重要的因素之一^[28]。Hamrick 和 Godt 统计了 449 种种子植物的遗传多样性研究结果,其中以异交为主的物种的 G_{st} 平均为 0.10^[28];Bussell 总结了 36 种物种的 RAPD 分析结果,其中 29 种异交物种的居群间遗传变异占总的遗传变异的 0.9%~41.3%^[32];Hogbin 和 Peakall 总结了 7 种物种的 RAPD 分析结果,认为异交物种的遗传变异主要存在于居群内,而居群间的遗传变异通常不足 27.1%^[33]。本研究结果表明,广东五节芒 13 个居群的 Nei's 基因分化系数(G_{st})为 0.2379,表明有 23.79% 的遗传变异存在于居群间;而根据居群间的 Shannon's 分化系数[($H_{sp}-H_{pop}$)/ H_{sp}]为 0.2208 来看,表明有 22.08% 的遗传变异存在于居群间。AMOVA 分析结果表明,居群间的遗传变异占总遗传变异的 20.44% ($P<0.0002$)。这 3 种方法分析的结果虽然在数值上有所差异,但均表明五节芒的遗传结构遵循了交配系统以异交为主的草本植物的通常模式,即只有少部分遗传变异存在于群体间,更多遗传变异存在于居群内。

除繁育系统外,由传粉和种子传播产生的基因流也是导致种群内遗传分化的一个重要因素^[34]。现在越来越多的研究证明,基因流强弱对群体遗传分化具有重要影响^[35-36]。基因流大的物种,种群的遗传分化小,大的基因流可以阻止群体的遗传分化;反之,群体间的遗传分化大^[37]。五节芒的交配系统中,花粉和种子是基因流的重要载体。其以风为媒介进行散播,促进了异地居群间的远距离基因交流,减少了基因漂变带来的影响。一般认为,基因流 $N_m \geq 1$ 时即可防止因遗传漂变而产生的居群遗传分化^[38]。五节芒居群间的基因流(N_m)为 1.6018,足以抵

制居群内遗传漂变而引起的居群分化。

Hamrick 和 Godt 的研究表明,居群的地理分布和遗传多样性分布没有直接的相关性^[28]。本研究的结果支持了上述结论。比较五节芒的居群分布图和 UPGMA 聚类图,仅黑石顶(HSD)和大雾岭(DWL),七目嶂(QMZ)和阴那山(YNS)居群间的地理距离较近,它们在聚类图中也聚在一起。而象头山(XTS)和罗浮山(LFS)居群间的地理距离最近,但在聚类图中却在两支上;丹霞山(DX)与大亚湾(DYW)两个居群聚为一支,但这两个地区并不相邻。Mantel 检测结果表明广东五节芒的遗传距离和地理距离之间没有显著的相关性($r=-0.2811$, $P=0.9590$),仅有 0.041% 的遗传变异可以由地理距离解释。究其原因,可能是由于广东省地形地貌多样复杂,丘陵、平原、海滩、河滩等不同生境条件下的海拔、气温、降雨量等差异都会对五节芒居群的遗传变异产生影响。居群遗传多样性分布与地理分布之间并不是简单的一一对应关系。

参考文献

- [1] Liou L(刘亮). Flora Reipublicae Popularis Sinicae Tomus 10(2) [M]. Beijing: Science Press, 1997: 3-11.(in Chinese)
- [2] Emily A H, Frank G, Dohleman W, et al. Meeting US biofuel goals with less land: The potential of *Miscanthus* [J]. Glob Change Biol, 2008, 14(9): 2000-2014.
- [3] Heaton E A, Clifton-Brown J C, Voigt T B, et al. *Miscanthus* for renewable energy generation: European union experience and projections for Illinois [J]. Mit Adapt Strat Glob Change, 2004, 9 (4): 433-451.
- [4] Clifton-Brown J C, Lewandowski I, Andersson B, et al. Performance of 15 *Miscanthus* genotypes at five sites in Europe [J]. Agron J, 2001, 93(5): 1013-1019.
- [5] Walsh M. *Miscanthus* Handbook; EU project FAIR 3-CT96-1707 [M]. Cork: Hyperion, 1997: 1-4.
- [6] Zeng X L(曾宪录), Liao F L(廖富林), Wen G R(温冠儒), et al. Investigation of the distribution and growth of major energy grasses in Meizhou City [J]. Guangdong Agri Sci(广东农业科学), 2008(7): 25-28.(in Chinese)
- [7] Xu Z R(徐泽荣), Yang L(杨林). Plant resources and its potential future for exploitation of *Miscanthus* in Sichuan [J]. Pruat Anim Husb(草业与畜牧), 2009(9): 22-27,54.(in Chinese)
- [8] Xiao Y F(萧运峰), Gao J(高洁). A comparative study on differentiated types and productive performance of *Miscanthus floridulus* [J]. J Sichuan Grass(四川草原), 1998(1): 21-23,50.(in Chinese)
- [9] Chen H J(陈慧娟), Zhang Z W(张卓文), Ning Z L(宁祖林), et al. Effect of fertilization on the caloric value and morphological properties of *Miscanthus floridulus* [J]. Prat Tural Sci(草业科学), 2009, 26(8): 63-67.(in Chinese)

- [10] Chen S F (陈少风), He J (何俊), Zhou P H (周朴华), et al. The karyotypes of *Miscanthus sinensis* and *M. floridulus* [J]. Acta Agri Univ Jiangxi (江西农业大学学报), 2008, 30(1): 123–126 (in Chinese)
- [11] Jin L (金琳), Ge G (葛刚), Chen S F (陈少风), et al. Optimization of ISSR-PCR reaction system for *Miscanthus floridulus* [J]. J Anhui Agri Sci (安徽农业科学), 2009, 37(29): 14041–14043, 14077. (in Chinese)
- [12] Hu H K (胡恒康), Jiang X M (江香梅), Huang J Q (黄坚钦), et al. Tissue culture and rapid propagation of *Miscanthus floridulus* (Labill.) Warb [J]. Plant Physiol Commun (植物生理学通讯), 2009, 45(11): 1109. (in Chinese)
- [13] Diao Y (刁英), Hu X H (胡小虎), Zheng X F (郑兴飞), et al. Analysis of genetic diversity in *Miscanthus floridulus* using SRAP and ISSR marker [J]. J Wuhan Univ (Nat Sci) (武汉大学学报: 理学版), 2010, 56(5): 578–583. (in Chinese)
- [14] Liu L (刘莉), Deng C T (邓春婷), Bao M Z (包满珠). Analysis of genetic diversity within the population of buffalo grass by morphological traits and ISSR markers [J]. Prat Tural Sci (草业科学), 2008, 25(1): 100–106. (in Chinese)
- [15] Fan Y (范彦), Li F (李芳), Zhang X Q (张新全), et al. Genetic diversity of *Hemarthria compressa* germplasm detected by inter-simple sequence repeat (ISSR) [J]. Acta Prat Sin (草业学报), 2007, 16(4): 76–81. (in Chinese)
- [16] Zeng B (曾兵), Zhang X Q (张新全), Fan Y (范彦), et al. Genetic diversity of *Dactylis glomerata* germplasm resources detected by intersimple sequence repeats (ISSRs) molecular markers [J]. Hereditas (遗传), 2006, 28(9): 1093–1100. (in Chinese)
- [17] Li A, Ge S. Genetic variation and diversity of *Psammodloa villosa* (Poaceae) detected by ISSR markers [J]. Ann Bot, 2001, 87(5): 585–590.
- [18] Li Y X (李永祥), Li S S (李斯深), Li L H (李立会), et al. Comparison of genetic diversity of twelve *Elymus* species using ISSR and SSR markers [J]. Sci Agri Sin (中国农业科学), 2005, 38(8): 1522–1527. (in Chinese)
- [19] Doyle J. DNA protocols for plants: CTAB total DNA isolation [M]// Hewitt G M, Johnston A. Molecular Techniques in Taxonomy. Berlin: Springer, 1991: 283–293.
- [20] Ausubel F M, Brent R, Kingston R E, et al. Short Protocols in Molecular Biology [M]. Indianapolis: John Wiley & Sons, Inc, 1995: 2–11.
- [21] Yeh F C, Yang R C, Boyle T B J, et al. POPGENE: The User-friendly Shareware for Population Genetic Analysis [CP/DK]. Release 1.31, Canada, Edmonton, University of Alberta, Molecular Biology and Biotechnology Centre, 1997.
- [22] Nei M. Analysis of gene diversity in subdivided populations [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1973, 70(12): 3321–3323.
- [23] Nei M, Li W H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1979, 76(10): 5269–5273.
- [24] Rohlf F J. NTSYSpc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System Version 2.1 [DB/CD]. New York, USA: Setauket, Exeter Software, 2000.
- [25] Excoffier L, Smouse P E, Quattro J M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Applications to human mitochondrial DNA restriction data [J]. Genetics, 1992, 131: 479–491.
- [26] Zhang F M (张富民), Ge S (葛颂). Data analysis in population genetics: I. Analysis of RAPD data with AMOVA [J]. Biodiv Sci (生物多样性), 2002, 10(4): 438–444. (in Chinese)
- [27] Miller M P. Tools for Population Genetic Analysis (TEPGA): Version 1.3 [CP/DK]. Arizona: Northern Arizona University, Department of Biological Sciences, 1997.
- [28] Hamrick J L, Godt M J W. Allozyme diversity in plant species [M]// Brown A D H, Clegg M T, Kahler A L, et al. Plant Population Genetics, Breeding and Genetic Resources. Sunderland: Sinauer Press, 1989: 134–619.
- [29] Koron J D. A comparison of levels of genetic polymorphism and self-compatibility: Geographically restricted and widespread plant congeners [J]. Ecology, 1987, 1(1): 47–58.
- [30] Hamrick J L, Godt M J W, Sherman-Broyles S L. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species [J]. New For, 1992, 6(1): 95–124.
- [31] Hamrick J L, Godt M J W. Effects of life history traits on genetic diversity in plant species [J]. Phil Trans Roy Soc London Biol Sci, 1996, 351(1345): 1291–1298.
- [32] Bussell J D. The distribution of random amplified polymorphic DNA (RAPD) diversity amongst populations of *Isotoma petraea* (Lobeliaceae) [J]. Mol Ecol, 1999, 8(5): 775–789.
- [33] Hogbin P M, Peakall R. Evaluation of the contribution of genetic research to the management of the endangered plant *Zieria prostrate* [J]. Cons Biol, 1999, 13(3): 514–522.
- [34] Loveless M D, Hamrick J L. Ecological determinants of genetic structure in plant populations [J]. Ann Rev Ecol, 1984(15): 65–95.
- [35] Hartl D L, Clark A G. Principle of Population Genetics [M]. 2nd ed. Sunderland: Sinauer Press, 1989: 1–372.
- [36] Ge S (葛颂). Application of DNA molecular marker in conservation biology [M]// Zou Y P (邹喻辛), Ge S (葛颂), Wang X D (王晓东). Molecular Markers in Systematic and Evolutionary Botany. Beijing: Science Press, 2001: 140–149. (in Chinese)
- [37] Kumar A, Rogstad S H. A hierarchical analysis of microsatellite DNA diversity in Gambel oak (*Quercus gambelii* Nutt.; Fagaceae) [J]. Mol Ecol, 1998, 7(7): 859–869.
- [38] Slatkin M, Borton N H. A comparison of three indirect methods for estimating average levels of gene flow [J]. Evolution, 1989, 43(7): 1349–1368.