

艾纳香野生种群克隆多样性及克隆结构研究

庞玉新^{1,2}, 王文全^{1*}, 张影波^{2,3}, 莫廷辉³, 袁媛⁴

(1. 北京中医药大学 中药学院, 北京 100102; 2. 中国热带农业科学院 热带作物品种资源研究所, 海南 儋州, 571737; 3. 海南大学 儋州校区农学院, 海南 儋州 571737; 4. 海南大学 儋州校区环植学院, 海南 儋州 571737)

摘要: 艾纳香是具有克隆生长习性的多年生宿根性草本植物, 其广布于中国南部, 为了更有效地保护和合理利用艾纳香资源, 本文利用 RAPD 分子标记技术, 对 4 个野生艾纳香种群进行了克隆结构和克隆多样性(单克隆种群或多克隆种群)进行了初步研究。结果表明: (1) 10 对 10 bp 随机引物共检测到 70 条谱带, 其中多态带为 60 条, 占 85.71%, 检测到 64 个基因型, 且全部为局限基因型; (2) 与 Ellstrand & Roose(1987) 总结的克隆多样性平均值(PD=0.17, D=0.62) 相比艾纳香的种群克隆多样性水平稍高, Simpson 指数平均为 0.973, 基因型比率 PD 平均为 0.800; (3) 遗传一致度和遗传距离分析表明, 4 个艾纳香野生种群被分成两组, 一组是海南的所有种群, 另外一组是云南类群。

关键词: 艾纳香; 克隆植物; 克隆多样性; 克隆结构; 遗传多样性

中图分类号: Q145, Q948 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2010)02-0209-06

Clonal diversity and structure in natural populations of *Blumea balsamifera*PANG Yu-Xin^{1,2}, WANG Wen-Quan^{1*}, ZHANG Ying-Bo^{2,3}, MO Ting-Hui³, YUAN Yuan⁴

(1. College of Chinese Medical Sciences, Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100102, China; 2. Tropical Crops Genetic Resources Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Danzhou 571737, China; 3. College of Agriculture, Hainan University, Danzhou 571737, China; 4. College of Environment and Plant Protection, Hainan University, Danzhou 571737, China)

Abstract: Ramet of *Blumea balsamifera* belongs to perennial herbaceous plant, which widely distributes in south of China. The objectives of the present study were to assess the clonal structure and diversity(monoclonal or multiclinal population) on wild populations of *B. balsamifera* for the purpose of efficient conservation and reasonable utilization of its resources. Eighty individuals of *B. balsamifera* were collected from four natural populations in different and typical habitats in its major distribution areas in China, and they were studied by RAPD analysis. Seventy loci were detected by using 10 random primers(10bp), and 60 of them were found polymorphic(85.71%). Sixty-four RAPD genotypes were differentiated among the 80 plants sampled. The mean Simpson's index was 0.973, and mean PD was 0.800, slightly higher than the mean of Ellstrand & Roose(PD=0.17, D=0.62). With UPGMA cluster analysis, four natural *B. balsamifera* populations can be divided into two clusters, one is all the Hainan populations, and the other is the Yunnan populations.

Key words: *Blumea balsamifera*; clonal plants; clonal diversity; clonal structure; genetic diversity

收稿日期: 2009-09-23 修回日期: 2009-12-12

基金项目: 国家自然科学基金(30860370); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(PZS027); 农业部热带作物种质资源利用重点开放实验室基金(KFKT-2009-03)[Supported by the National Natural Science Foundation of China(30860370); National Nonprofit Institute Research Grant of CATAS-TCGRI(PZS027); Key Laboratory of Tropical Crops Germplasm Resources Utilization Research Grant of Ministry of Agriculture(KFKT-2009-03)]

作者简介: 庞玉新(1975-), 男, 内蒙古人, 博士生, 研究方向为药用植物资源保护与种质创新研究, (E-mail) pyxmarx@126.com.

* 通讯作者(Author for correspondence, E-mail: mail: wwq57@126.com)

在菊科(Asteraceae)植物中,无性生殖(克隆繁殖)方式相当普遍和广泛,尤其假泽兰属(*Mikania*)、蒲公英属(*Taraxacum*)、大丁草属(*Gerbera*)、蓟属(*Cirsium*)等中许多种类都可以通过根状茎、株芽、压条、分蘖、断枝等方式进行克隆繁殖(Lyman & Ellstrand, 1984; Ayres & Ryan, 1999; Sole 等, 2004; Junming & Ming, 2008)。克隆生长对植物的遗传多样性和种群遗传结构具有重要影响,而植物种群的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。因此,为了解克隆植物种群动态和演化的信息,对种群内基株数目和克隆多样性的估计是研究克隆植物的重要研究内容之一。以往由于克隆植物的基株难以辨认,因而涉及克隆植物的种群遗传学的研究相对较少,且多采用等位酶分子标记,然而,等位酶识别的位点较少,研究结果将会低估物种遗传多样性及克隆多样性。近年来,一些基于PCR的DNA分子标记的发展,如RAPD、ISSR,为准确鉴定克隆基株提供了可靠保障,并已被广泛用于克隆植物的克隆多样性和种群遗传结构的研究中。

艾纳香(*Blumea balsamifera*)为菊科艾纳香属(*Blumea*)多年生草本植物,多生于路旁、河岸、山地、湿地等环境。在中国、印度、马来西亚、印度尼西亚

和菲律宾等国家多作为传统药用植物广泛栽培。目前,艾纳香属植物繁育系统还不甚清楚,一般认为其兼具有性繁殖和无性繁殖的特点,其繁殖手段包括种子繁殖和根、茎的扦插。但是,我们在野外资源调查和田间试验研究过程中发现,其种子发芽率极低(低于1%),根和茎的扦插也并不容易成活,究竟是何原因和机制能使艾纳香自然种群规模和居群结构保持相对稳定,有必要对艾纳香自然环境下的繁殖方式和不同野生生境下的种群结构进行了解。本研究利用RAPD分子标记对艾纳香不同野生种群进行克隆多样性和克隆结构进行研究,以期对艾纳香的克隆生长、生态适应性、资源保存、引种驯化、遗传改良以及艾纳香属的分子系统学等研究提供基础资料和科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

根据文献调研以及对中国国家植物标本馆馆藏艾纳香标本的考证,结合实地采样,选取了4个典型的艾纳香野生种群进行研究。利用Magellan GPS仪对取样样本进行定位,用Mapsend软件传输和编辑航点信息。根据种群的大小以平均间隔的办法选取20个健康的艾纳香植株,选取2~5g叶片,以10倍量的变色硅胶(广州化学试剂厂)在12h内快速干燥备用。

表1 艾纳香4个野生种群的取样情况

Table 1 Four natural *B. balsamifera* populations sampled in the study

种群代号 Population code	采集地点 Collecting site	生境 Habitat	伴生植物 Companioned plants	取样数 Sample size	经纬度 Longitude and latitude	海拔 Altitude (m)
1	海南省儋州市海南热带植物园	路边草地	鸡屎藤(<i>Paederia scandens</i>)、莎草(<i>Cyperus rotundus</i>)等	20	19°50.093' N, 109°49.224' E	148
2	海南省五指山市五指山	五指山余脉,山坡	紫茎泽兰(<i>Eupatorium adenophorum</i>)、莎草(<i>C. rotundus</i>)等	20	18°54.357' N, 109°40.258' E	711
3	海南省万宁市兴隆热带花园	湿地	荜蕪(<i>Smilax china</i>)、毛稔(<i>Melastoma sanguineum</i>)、毛巴戟(<i>Morinda officinalis</i>)等	20	18°41558' N, 110°13.076' E	57
4	云南省西双版纳州勐海县南诺山	南诺山高山湿地	钩藤(<i>Uncaria rhynchophylla</i>)、紫茎泽兰(<i>E. adenophorum</i>)等	20	21°57.704' N, 100°35.446' E	1374

1.2 方法

1.2.1 总DNA提取 称取0.2g干燥艾纳香嫩叶,用改良CTAB法(庞玉新等,2009)提取基因组DNA,0.8%琼脂糖电泳检测DNA的纯度、完整性及产量。

1.2.2 RAPD引物筛选 引物筛选时采用两轮筛选,首先用每个种群的2个样品对50条RAPD引物(美国Invitrogen),进行第一轮筛选,筛选出扩增片段清晰、特异性好的引物15条,然后用这15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 10 条引物作为全部样品扩增引物(表 2)。选取每个种群的 20 个样品进行 PCR 扩增。采用 25.0 μL 的反应体系:模板 1.0 μL (50~100 ng/ μL), 2X PCR Mix(北京 Tiangen 公司)12.5 μL , 引物 2.0 μL (10 μmol), ddH₂O 9.5 μL 。PCR 扩增程序为:94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 4 min;94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 1 min, 35 $^{\circ}\text{C}$ 退火 1 min, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 2 min, 40 个循环;72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 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 用于艾纳香扩增的 RAPD 引物的序列及其检测的位点数

Table 2 Sequence of primers and the number of tested loci

引物 Primer	序列 Sequence(5'-3')	DNA 总位点数 Total number of loci	多态位点数 No. of polymorphic loci
R1	GGTGACGCAG	8	8
R4	CTGGGGACTT	6	6
R6	CTGACGTCAC	5	5
R9	GAATCGGCCA	7	5
R14	AGAGGGCACA	10	8
R23	AGCCAGCGAA	7	6
R31	TGACGCATGG	5	4
R37	AGCCTGAGCC	6	4
R42	CACGAGTCTC	10	9
R50	AGCAGCGCAC	6	5

1.2.3 数据处理与统计分析 统计 10 条引物在所有 DNA 样品中扩增的电泳带总数与多态带的数目, 有电泳带记为 1, 无电泳带记为 0, 作 0/1 矩阵输入计算机。运用 POPGENE Version1.31(Francis, 1999)软件对全部种群进行遗传参数分析, 分别计算种群的观察等位基因数 N_a 、有效等位基因数 N_e

(Hartl & Clark, 1989)、Nei's 基因多样性指数 H (Nei, 1978)、Shannon 表型信息指数 I (Shannon, 1949)和多态位点百分率 PPB。克隆多样性的检测采用以下指数:(i)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;(ii)平均克隆大小 NC , $NC=N/G$, N 为样品个体数;(iii)基因型比率 $PD=G/N$;(iv)Simpson 多样性指数 D , $D=1-\sum\{(n_i(n_i-1))/(N(N-1))\}$, 其中 n_i 为具有第 i 个基因型的分株数(Parker & Hamrick, 1992);(v)局限性基因型(%):只在一个种群中出现的基因型(Elstrand & Roose, 1987);(vi)广布性基因型(%):在 75% 以上种群中出现的基因型(Elstrand & Roose, 1987)。

2 结果与分析

2.1 艾纳香野生种群的克隆多样性

艾纳香的各项克隆多样性指数见表 3。从表 3 中看到, 所研究的 4 个种群的克隆数目(基株数目)大小不同, 有的种群含有 20 个, 有的只有 13 个。所有种群都是由多基因型构成, 没有发现单克隆的种群。艾纳香种群的平均克隆大小 NC 为 1.250, 每基株含有的克隆分株数从 1.000~1.538 不等, 五指山种群的最高, 为 1.538。由 Simpson 指数 D 反映出的克隆多样性显示, 五指山种群的 D 值最低, 为 0.842; 4 个种群的 D 值范围是 0.942~1.000, 平均为 0.973。在种群水平上, Simpson 指数 D 值为 0.993。不管是种群平均值, 还是种群水平, 均表现出高的克隆多样性。

表 3 艾纳香野生种群的克隆多样性

Table 3 Clonal diversity in all natural *B. balsamifera* populations

种群代号 Population code	样品数 Sample size	G	基株分布 Genets distribution within population	NC	PD	D
1	20	20	1/2/3/4/5/6/7/8/9/10/11/12/13/14/15/16/17/18/19/20	1.000	1.000	1.000
2	20	13	1,2,3,4/5/6,7/8,9,10/11/12/13/14/15/16/17/18,19/20	1.538	0.650	0.942
3	20	16	1/2/3/4,5/6,14/7/8/9/10/11/12/13,16,17/15/18/19/20	1.250	0.800	0.974
4	20	15	1,2/3/4,5/6/7/8/9/10/11/12/13,16/14,19/15,17/18/20	1.333	0.750	0.974
平均值 Mean	—	16	—	1.250	0.800	0.973
种群水平 Population level	80	64	—	1.250	0.800	0.993

艾纳香野生种群基因型比率以 G/N 度量时, 海南热带植物园种群的基因型比率最大, 为 1.000; 五指山的基因型比率最小, 为 0.650。在 4 个种群中的变幅范围为 0.650~1.000, 平均是 0.800 种群水

平上, 基因型比率为 0.800。4 个种群中, 共分析 80 个分株, 检测到 64 个基因型, 平均每个种群有 16 个克隆。若按 Elstrand & Roose(1987)中地方基因型和广布基因型的标准, 艾纳香 100% 的基因型为

局限基因型,没有广布基因型。

2.2 艾纳香野生种群的遗传多样性

用 POPGENE Version1.31 对 4 个艾纳香种群的遗传多样性进行统计分析,结果表明艾纳香种群间的遗传多样性存在一定差异(表 4)。其中,有效等位基因数 N_e 、 N_{ei} 基因多样性指数 H 和 Shannon 指数 I 所揭示的艾纳香种群间的遗传多样性规律一致,其顺序依次为,种群 1>种群 2>种群 3>种群 4。

表 4 艾纳香克隆种群的遗传多样性
Table 4 Genetic diversity in all natural *B. balsamifera* populations

种群代号 Population code	分株数/基株数 Offshoots/Genets (N)	N_a	N_e	PPB (%)	H	I
1	20	20	1.57	1.29	57.14	0.18 0.28
2	20	13	1.51	1.28	51.43	0.17 0.25
3	20	16	1.49	1.25	48.57	0.15 0.23
4	20	15	1.46	1.25	45.71	0.15 0.23

2.3 艾纳香野生种群间的遗传一致度和遗传距离

遗传相似性系数或遗传距离(Nei,1978)是衡量种群间遗传分化程度的最重要指标。由表 5 可以看出,各种群间的遗传一致度(I)在 0.8901~0.9342 之间,说明艾纳香野生种群间的相似程度较高。艾纳香种群 1 和 3 两个种群间的遗传距离最小,为 0.0680,种群 2 和 4 两个种群间的遗传距离最大,为 0.1300。根据 Nei 无偏遗传距离构建种群间 UPGMA 聚类图(图 1)。从图中可以看出,4 个种群共聚成 2 组:第一组为海南类群;第二组云南类群。

表 5 艾纳香野生种群间的遗传一致度和遗传距离
Table 5 Nei's genetic identity and genetic distance among natural *B. balsamifera* populations

种群代号 Population code	1	2	3	4
1	****	0.9207	0.9342	0.9014
2	0.0826	****	0.9275	0.8781
3	0.0680	0.0753	****	0.8901
4	0.1038	0.1300	0.1165	****

**** 对角线上是 Nei's 遗传一致度,对角线以下是遗传距离。Nei's genetic identity(above diagonal)and genetic distance(below diagonal)。

3 讨论

克隆的基因型多样性 Simpson 指数 D 值,反映的是种群中特定基因型的相对频率,高 D 值意味着在取样范围内种群中几乎每个取样个体遗传上都不不同, D 值等于 1 表明每个个体有其独特的多位点基

因型;低 D 值则表明在种群内有一些基因型多次取样,而 D 值等于 0 说明所有个体有一个共同的多位点基因型。

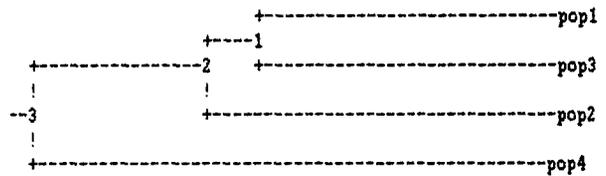


图 1 艾纳香种群间 UPGMA 聚类图
Fig.1 Dendrogram among natural *B. balsamifera* populations using UPGMA cluster analysis

Ellstrand & Elam(1993)、Widén(1994)的研究表明,其克隆多样性平均值分别为 0.62(0.1~1.0)和 0.75(0.13~1.0)。然而,上述研究只是依赖于位于编码区的等位酶技术进行的,由于这些位点受环境的选择压力较大,不易发生变异,因此在一定程度上使那些克隆植物的 D 值和 PD 值偏低。近年来,随着基于 PCR 的 DNA 分子标记技术的不断发展,如 RFLP、RAPD、AFLP 和 SSR 等,该技术已经广泛应用于克隆植物的克隆多样性研究,而基于分子标记的 RAPD 分子标记的克隆植物种群的 PD 平均值为 0.47(0.08~0.94), D 值平均值 0.76(0.00~1.00)(Hangelbroek 等,2002)。本研究中艾纳香的 PD (0.800)、 D (0.993)值的平均值均高于上述克隆植物的平均值,但所得结果均在上述克隆植物基因型多样性范围内。

早期的研究认为,克隆植物的遗传多样性往往比非克隆植物要低。如 Mashburn 等(1978)对香蒲属(*Typha*)的研究发现,其遗传多样性很低;Ayres 等(1999)对菊科(Asteraceae)根茎植物 *Wyethia reticulata* 的研究发现,其种群仅由少数几个基株组成,种群内遗传多样性水平较低。然而,越来越多的研究发现,克隆植物的遗传多样性并不像早期预期的那么低,一些克隆植物种群同样具有较高的遗传多样性。陈小勇等(1997)利用等位酶分析青冈(*Cyclobalanopsis glauca*)种群的克隆多样性时就发现,克隆植物同样具有较高的克隆多样性,其 Simpson 指数分别为 0.9882。王可青等(1999)和祖元刚等(2002)利用水平淀粉凝胶电泳技术研究沙鞭(*Psammochloa villosa*)与羊草(*Leymus chinensis*)种群的克隆多样性时就发现:克隆植物羊柴与羊草也具有较高的克隆多样性,其 Simpson 指数分

别为 0.9156 和 0.9839。夏立群等(2005)和陈媛媛等(2006)分别利用 RAPD 和 ISSR 分子标记对竹叶眼子菜(*Potamogeton malaiianus*)种群的遗传多样性和克隆结构进行了研究也表明,竹叶眼子菜的克隆多样性很高,D 值达到 0.9917。陆建英等(2007)和李媛(2006)对珠芽蓼(*Polygonum viviparum*)和罗汉果(*Siraitia grosvenorii*)的野生种群的 RAPD 研究同样表明,其具有较高的遗传多样性,其 Simpson 指数分别为 0.639 和 0.8627。本研究中,艾纳香种群的 Simpson 指数为 0.993,具有高的克隆多样性。

Douglas & Pamela(1989)、夏立群等(2002)认为,克隆植物遗传多样性的差异主要与物种的生活史特征有关,特别是涉及种群的更新或补充方式,对于兼性克隆植物来说,其可以通过有性繁殖来补充遗传变异的损失、提高种群内的遗传变异水平并降低种间的差异。对于专性克隆繁殖的植物,其遗传变异的来源有:(1)遗传多样性源于历史原因(Douglas & Pamela,1989;Maki 等,1999),即其克隆种群是多起源的,是由多个不同基因型个体建立的种群,尽管目前观察是专性克隆繁殖,但其种群可以通过幼苗更新(seedling recruitment)保持较高的遗传多样性;(2)一些多倍体专性克隆繁殖植物虽已完全不能进行有性繁殖,但其二倍体亲缘种可能会充当新的克隆繁殖多倍体或遗传变异的基因资源库(Patterson,1978);(3)体细胞变异(somatic mutation)是克隆植物遗传变异的另一重要来源(Esselman,1999),当选择压力大致恒定时,遗传变异水平最终会达到平衡,此时突变产生的变异与选择淘汰的大致相等。Lynch(1984)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重组的缺失,从而使克隆繁殖种适应环境的变化,如以克隆繁殖为主的浮萍(*Lemna minor*)和亚洲蒲公英(*Taraxacum asiatica*)和酢浆草(*Oxalis corniculata*)等种群中存在 0.1%~19%的自发突变,除体细胞变异外,还有其他的变异机制,如调节基因位置变化、异染色质化、多倍体化等;(4)对于一些高度不育的克隆植物,并不能排除不同个体间极低的比率杂交(Esselman,1999),若杂交发生在不同基因型个体间则会由于重组而产生新的基因型。

在本研究中,艾纳香每个克隆平均包括 1.250 个分株(NC=1.250),其中 2 号种群也就是五指山种群的 NC 值最高(1.538),1 号种群也就是海南热

带植物园种群的 NC 值最低(1.000),这可能与两个种群间的地理环境条件有关,在海南热带植物园种群中由于其处在居住区附近,受人为、昆虫、动物和其它高大的乔灌木的干扰严重,所以呈现较高的种群克隆多样性,这个结果符合 Price & Waser(1982)建立的一种频率依赖选择(frequency dependent selection)模型的相关观点,该模型认为在稳定和同质环境中无性繁殖基因会由于依频选择在以克隆繁殖为主的种群中扩散,其条件是这种有性繁殖的稀有基因型的数量足以使选择作用起作用,并且后代的扩散受到限制,有性繁殖基因在专性克隆植物种群中发生并扩散,其遗传多样性也会随之增加,而对兼性克隆繁殖的植物而言,其克隆繁殖和有性繁殖的相对比例更是受诸如水、光等环境条件和植食性动物的强烈影响,两者之间的平衡取决于环境变化、干扰模式、资源需求和生物之间的相互作用(Mandujano 等,1998;Aspinwal & Christian,1992;Haradaetal,1997;Wijesinghe & Whigham,1997)。由于 RAPD 研究的局限性,本研究只对典型生境下的艾纳香野生种群的克隆结构和克隆多样性进行了研究。至于艾纳香的克隆规模的大小、克隆种群内的多样性来源、克隆间的竞争及繁殖方式权衡等方面则需作进一步的研究和探讨。

参考文献:

- 李媛. 2006. 野生罗汉果种群分布格局研究及克隆结构 RAPD 分析[D]. 中国优秀硕博学位论文(广西师范大学)
- Aspinwall N, Christian T. 1992. Clonal structure, genotypic diversity, and seed production in populations of *Filipendula rubra* (Rosaceae) from the northcentral United States[J]. *Am J Bot*, 79(3):294-299
- Ayres DR, Ryan FJ. 1999. Genetic diversity and structure of the narrow endemic *Wyethia reticulata* and its congener *W. bolanderi* (Asteraceae) using RAPD and allozyme techniques[J]. *Am J Bot*, 86(3):344-353
- Chen XY(陈小勇), Song YC(宋永昌). 1997. Clonal diversity in *Cyclobalanopsis glauca* populations and its relationship with environmental factors(青冈种群克隆多样性及其与环境因子的关系)[J]. *J Plant Ecol*(植物生态学报), 21(4):342-348
- Chen YY(陈媛媛), Li Q(栗琪), Wu WY(吴文颖), et al. 2006. Genetic diversity and clonal structure of *Potamogeton malaiianus* populations(竹叶眼子菜居群遗传多样性和克隆结构)[J]. *Chin J Appl Ecol*(应用生态学报), 17(11):2 034-2 040
- Douglas ES, Pamela SS. 1989. Isozymes in Plant Biology. [M] Portland, Oregon: Dioscorides Press, 106-126
- Ellstrand NC, Roose ML. 1987. Patterns of genotypic diversity in clonal plant species[J]. *Am J Bot*, 74, 123-131
- Ellstrand NC, Elam DR. 1993. Population genetic consequences of

- small population size; implications for plant conservation [J]. *Annu Rev Ecol Syst*, **24**:217—242
- Esselman EJ, Li JQ, Crawford DJ, et al. 1999. Clonal diversity in the rare *Calamagrostis porteri* ssp. *insperata* (Poaceae); comparative results for allozymes and random amplified polymorphic DNA (RAPD) and intersimple sequence repeat (ISSR) markers [J]. *Mol Ecol*, **8**(3):443—451
- Gill DE, Lin C, Perkins SL, et al. 1995. Genetic mosaicism in plants and clonal animals [J]. *Annu Rev Ecol Syst*, **26**:423—444
- Harada Y, Kawano S, Iwasa Y. 1997. Probability of clonal identity; inferring the relative success of sexual versus clonal reproduction from spatial genetic patterns [J]. *J Ecol*, **85**(5):591—600
- Hartl DL, Clark AG. 1989. Principles of Population Genetics [M]. 2nd ed. Sinauer Associates, Sunderland, MA
- Junmin L, Ming D. 2008. Fine-scale clonal structure and diversity of invasive plant *Mikania micrantha* H. B. K. and its plant parasite *Cuscuta campestris* Yunker [J]. *Biological Invasions*, **11**(3):687—695
- Lu JY (陆建英), Ma RJ (马瑞君), Sui K (孙坤). 2007. Clonal diversity and structure in *Polygonum viviparum* (珠芽蓼种群克隆多样性及克隆结构的初步研究) [J]. *J Plant Ecol* (植物生态学报), **31**(4):561—567
- Lyman JC, Ellstrand NC. 1984. Clonal diversity in *Taraxacum officinale* (Compositae), an apomict [J]. *Heredity*, **53**(1):1—10
- Lynch M. 1984. Destabilizing hybridization, general-purpose genotypes and geographic parthenogenesis [J]. *Quarterly Review of Biology*, **59**(3):257—290
- Maki M, Takahashi H, Oiki S, et al. 1999. The effect of geographic range and dichogamy on genetic variability and population genetic structure in *Tricyrtis* section *Flavae* (Liliaceae) [J]. *Am J Bot*, **86**(2):287—292
- Mandujano MD, Méndez I, Golubov J, et al. 1998. The relative contributions of sexual reproduction and clonal propagation in *Opuntia rastrera* from two habitats in the Chihuahuan Desert [J]. *J Ecol*, **86**(6):911—921
- Mashburn SJ, Sharitz RR, Smith MH. 1978. Genetic variation among *Typha* populations of the southeastern United States [J]. *Evolution*, **32**(3):681—685
- Nei M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals [J]. *Genetics*, **89**(3):583—590
- Parker KC, Hamrick JL. 1992. Genetic diversity and clonal structure in a columnar cactus, *Lophocereus schottii* [J]. *Am J Bot*, **79**:86—96
- Patterson C (1978). *Evolution* [M]. London: Routledge and Kegan Paul, 166—171
- Price MV, Waser NM. 1982. Population structure, frequency-dependent selection and the maintenance of sexual reproduction [J]. *Evolution*, **36**:35—43
- Shannon CE, Weaver W. 1949. *The Mathematical Theory of Communication* [M]. Univ Illinois Press, Urbana
- Sole M, Durka W, Eber S, et al. 2004. Genotypic and genetic diversity of the common weed *Cirsium arvense* (Asteraceae) [J]. *Int J Plant Sci*, **165**(3):437—444
- Wang KQ (王可青), Ge S (葛颂), Dong M (董鸣). 1999. Allozyme variance and clonal diversity in the rhizomatous grass *Psammodochloa villosa* (Gramineae) (根茎禾草沙鞭的等位酶变异及克隆多样性) [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), **41**(5):537—540
- Widén B (1991). Environmental and genetic influences on phenology and plant size in a perennial herb, *Senecio integri folius* [J]. *Can J Bot*, **69**(1):209—217
- Wijesinghe DX, Whigham DF. 1997. Costs of producing clonal offspring and the effects of plant size on population dynamics of the woodland herb *Uvularia perfoliata* (Liliaceae) [J]. *J Ecol*, **85**(6):907—919
- Xia LQ (夏立群), Li JQ (李建强), Li W (李伟). 2002. Genetic diversity of clonal plant (论克隆植物的遗传多样性) [J]. *Chin Bull Bot* (植物学通报), **19**(4):425—431
- Xia LQ (夏立群), Li JQ (李建强), Li W (李伟). 2005. Genetic diversity of *Potamogeton malaianus* populations (木兰湖微齿眼子菜种群克隆多样性的初步研究) [J]. *J Zhanjiang Ocean Univ* (湛江海洋大学学报), **25**(4):88—91
- Yeh FC, Yang RC, Boyle T, et al. 1999. <http://www.ualberta.ca/~fyeh/> [EB/OL]
- Zu YG (祖元刚), Cui JZ (崔继哲). 2002. Clonal diversity in *Leymus chinensis* populations (羊草种群克隆多样性的初步研究) [J]. *J Plant Ecol* (植物生态学报), **26**(2):157—162

(上接第 169 页 Continue from page 169)

- Lang KY (郎楷永), Zhu ZY (祝正银). 1984. New taxa of the genus *Aspidistra* (Liliaceae) from Sichuan (四川百合科蜘蛛抱蛋属新植物) [J]. *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究), **6**(4):385—388
- Lang KY (郎楷永), Zhu ZY (祝正银). 1982. New taxa of the genus *Aspidistra* (Liliaceae) from Sichuan (四川百合科蜘蛛抱蛋属新植物) [J]. *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究), **20**(4):485—488
- Levan A, Fredga K, Sandberg AA. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes [J]. *Heredity*, **52**:201—220
- Qiao Q (乔琴), Zhang CQ (张长芹), Ma YP (马永鹏), et al. 2008. Karyotype asymmetry of *Aspidistra* (Convallariaceae, Ruscaceae) (蜘蛛抱蛋属植物的核型不对称性分析) [J]. *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究), **30**(5):565—569
- Stebbins GL. 1971. *Chromosomal Evolution in Higher Plants* [M]. London: Edward Arnold