

## 青藏高原 7 种嵩草遗传多样性 AFLP 研究

郑红梅<sup>1</sup>, 呼天明<sup>2</sup>, 王俭珍<sup>2</sup>, 张国云<sup>3</sup>, 宋江湖<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>西北农林科技大学资源环境学院, 陕西杨凌 712100; <sup>2</sup>西北农林科技大学动物科技学院; <sup>3</sup>陕西省农业分子生物学重点实验室, 陕西杨凌 712100)

**摘要:**【目的】从分子水平研究嵩草品种资源之间的遗传多样性, 为综合评价青藏高原嵩草种质资源提供依据。【方法】用筛选出的 4 对 E+3/M+3 引物对 11 份嵩草基因组 DNA 进行 AFLP 扩增。【结果】共得到 164 条清晰可辨条带, 多态性条带 154 条, 多态性位点百分率为 93.96%, 嵩草平均 Nei's 基因多样性指数为 0.2430, Shannon's 多样性指数为 0.4012, 表明嵩草种质间存在丰富的遗传多样性。通过 UPGMA 聚类分析, 将 11 个嵩草居群划分为 5 类。【结论】嵩草的 11 个自然居群存在丰富遗传多样性, 嵩草居群的遗传相似系数与海拔之间没有相关性, 嵩草居群的生境的异质性影响遗传分化。

**关键词:** 嵩草; 遗传多样性; AFLP

## Research of Genetic Diversity in Seven *Kobresia* by AFLP Tibet Plateau of China

ZHENG Hong-mei<sup>1</sup>, HU Tian-ming<sup>2</sup>, WANG Quan-zhen<sup>2</sup>, ZHANG Guo-yun<sup>3</sup>, SONG Jiang-hu<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>College of Resources and Environment, Northwest Agricultural and Forestry University, Yangling 712100, Shaanxi; <sup>2</sup>College of Animal Science and Technology, Northwest Agricultural and Forestry University, Yangling 712100, Shaanxi; <sup>3</sup>Key Laboratory Molecular Biology of Agriculture Shaanxi, Yangling 712100, Shaanxi)

**Abstract:** 【Objective】 This work analyzed the genetic diversity of *Kobresia* accessions, in the molecular level, and further obtained the helpful information for breeding and germplasm evaluation. 【Method】 Genomic DNA of *Kobresia* was amplified with four E+3 and M+3 primer combinations with AFLP. 【Result】 AFLP analysis produced 164 score able bands, among them 154 (93.96%) were polymorphic. The mean Nei's gene diversity index (H) was 0.2430, the Shannon's information index (I) was 0.4012, indicating that genetic diversity of *Kobresia* is abundant. The number of 11 *Kobresia* accessions from Tibetan Plateau can be classified into five groups with cluster analysis based on the UPGMA method. 【Conclusion】 In general, there is an abundant genetic diversity among *Kobresia* accessions resources, and the genetic coefficient is unrelated to their geographic latitude. Natural habitats influenc genetic differentiation of *Kobresia*.

**Key words:** *Kobresia*; Genetic diversity; AFLP

### 0 引言

【研究意义】嵩草属 (*Kobresia* Willd.) 植物属莎草科中的苔草亚科, 是多年生草本植物, 多数是高寒草甸的建群种, 它们具有草质柔软、营养丰富等特点, 为各类家畜所喜食, 是青藏高原控制水土流失, 保持生态平衡的重要植物种类<sup>[1]</sup>。嵩草属植物作为高寒草甸主要的建群种, 其研究对促进西藏高寒草地生态建

设、改良天然草地、建立人工草地和发展草地畜牧业具有极其重要的科学研究和生产价值。【前人研究进展】AFLP 自其问世以来, 该方法已被广泛应用于生物多样性研究<sup>[4,5]</sup>、图谱构建<sup>[6,7]</sup>、品种鉴定<sup>[8,9]</sup>、基因定位分离<sup>[10,11]</sup>、杂种优势预测<sup>[12]</sup>和分子标记辅助选择育种<sup>[13]</sup>等多方面的研究, 在多种植物如野生鸭茅、羽扇豆、烟草、羊草、玉米等<sup>[14-18]</sup>的研究中已取得很大进展, 但在嵩草属植物研究中鲜见应用。【本研究切

收稿日期: 2007-07-02; 接受日期: 2007-09-29

基金项目: 科技部国际科技合作项目 (2006DFA33630), 西藏自治区科技攻关项目 (2005011)

作者简介: 郑红梅 (1978-), 女, 内蒙古赤峰人, 博士研究生, 研究方向为生态环境工程。E-mail: zhm2520@163.com。通讯作者呼天明 (1958-), 男, 内蒙古伊金霍洛旗人, 教授, 博士, 研究方向为草业科学。E-mail: hutianming@126.com

入点】嵩草种质资源的分子标记目前虽做了一些初步研究, 但仅限于 RAPD 分析<sup>[2,3]</sup>, 未见有关嵩草 AFLP (amplified fragment length polymorphism) 分析的报道。【拟解决的关键问题】本试验采用 AFLP 分子标记技术对 11 份青藏高原嵩草的基因组 DNA 进行多态性扩增, 旨在从分子水平对不同产地嵩草资源进行遗传多样性分析, 为综合评价我国青藏高原嵩草种质资源提供依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

2006 年 9 月在西藏自治区那曲、当雄、浪卡子等地的天然草场采收成熟嵩草种子。10 月在陕西省农业分子生物学重点实验室进行种子萌发, 取萌发幼嫩叶片作为试验材料, 每个群体取 30 株。

### 1.2 试 验 方 法

嵩草植物基因组 DNA 的提取采用 CTAB 法<sup>[19]</sup>。AFLP 流程参照 Vos 等的方法<sup>[20]</sup>, 并参考他人在其它作物上的反应程序<sup>[21]</sup>进行优化。变性聚丙烯酰胺电泳

分离扩增产物, 银染法检测<sup>[22]</sup>。

### 1.3 数 据 统 计 及 分 析 方 法

1.3.1 数据统 计 方 法 AFLP 同一引物扩增产物中电泳迁移率一致的条带被认为具有同源性, 按照相同迁移位置上有扩增条带记为“1”、无带为“0”的方法记录电泳谱带, 仅清晰、可重复的并且长度在 100~500 bp 范围内的 AFLP 扩增带才被记录。

1.3.2 分 析 方 法 根据表征矩阵利用 POPGENE1.31<sup>[23]</sup>软件统计扩增产物的条带总数和多态带数量, 计算多态带所占比率 (P) 和单位引物多态条数, Nei's 基因多样性 (H) 和 Shannon 信息多样性指数 (I)。根据基因频率矩阵, 利用 POPGENE 软件计算总的遗传多样性 (Ht), 各居群基因多样性 (Hs)、基因分化系数 (Gst) 和基因流 (Nm)。利用 NTSYS-pc2.10<sup>[24]</sup>软件计算遗传距离, 应用 UPGMA (unweighted pair group method using arithmetic averages) 方法聚类, 并用 EIGEN 方法进行主坐标分析; 根据遗传相似性系数矩阵和地理距离矩阵, 用 Mantel test 检验两者的相关性。

表 1 不同嵩草居群所在生境的自然概况

Table 1 The environmental data for the different accessions of *Kobresia*

种名 Species	编号 Code	采集地点 Origion	海拔 Altitude (m)	经纬度 Latitude and longitude	生境 Habitat
喜马拉雅嵩草 <i>K. royleana</i> (N.) B.	C1	浪卡子 Langkazi	4455	28°59'11N 90°26'04E	高寒草原 Alpine steppe
大花嵩草 <i>K. macrentha</i> Boeck.	C2	浪卡子 Langkazi	4455	28°59'11N 90°26'04E	高寒草甸 Alpine meadow
藏北嵩草 <i>K. littledalei</i> C. B. Clarke	C3	浪卡子 Langkazi	4455	28°59'11N 90°26'04E	高寒草甸 Alpine meadow
喜马拉雅嵩草 <i>K. royleana</i> (N.) B	C4	那曲 Naqu	4456	31°26'34N 92°16'32E	高寒草原 Alpine steppe
短轴嵩草 <i>K. prattii</i> C. B. Clarke	C5	当雄 Dangxiong	4278	30°29'35N 91°05'58E	高寒草原 Alpine steppe
线叶嵩草 <i>K. caillifolia</i> Decne	C6	当雄 Dangxiong	4278	30°29'35N 91°05'58E	高寒草甸 Alpine meadow
藏北嵩草 <i>K. littledalei</i> C. B. Clarke	C7	那曲 Naqu	4456	31°26'34N 92°16'32E	沼泽化草甸 Marshy meadow
藏北嵩草 <i>K. littledalei</i> C. B. Clarke	C8	当雄 Dangxiong	4278	30°29'35N 91°05'58E	沼泽化草甸 Marshy meadow
矮生嵩草 <i>K. humilis</i> C.A.Mey	C9	那曲 Naqu	4456	31°26'34N 92°16'32E	高寒草原 Alpine steppe
矮生嵩草 <i>K. humilis</i> C.A.Mey	C10	当雄 Dangxiong	4278	30°29'35N 91°05'58E	高寒草原 Alpine steppe
高山嵩草 <i>K. pygmaea</i> C.B.	C11	那曲 Naqu	4456	31°26'34N 92°16'32E	高寒草甸 Alpine meadow

## 2 结 果 与 分 析

### 2.1 嵩草的遗传多样性

不同引物所揭示的遗传多样性差异很大, 所以选择合适的引物组合对全面揭示嵩草属种质资源的遗传多样性是非常重要的。本试验对嵩草进行 AFLP 分析, 通过对 20 对 E+3/M+3 引物组合的筛选, 选出 4 对扩增多态性较高, 且带形清晰的引物组合 (图 1)。根据数据分析原则对扩增谱带进行统计, 扩增带数最多的是引物 E-ACC+M-CAG, 为 47 条, 带数最少的是引物 E-ACA+M-CTG, 为 33 条; 多态性检出率最高

的也是引物 E-ACA+M-CTG, 获得 32 个多态性位点, 多态率达 96.97%, 多态性检出率最低的是引物 E-ACC+M-CAA, 为 87.8%。对 11 份嵩草基因组 DNA 进行 AFLP 扩增, 共得到 164 条清晰可辨条带, 多态性条带 154 条, 多态性位点百分率为 93.96%, 平均每对引物扩增出 41 条带, 其中 38.5 条具有多态性 (表 2)。

嵩草在居群水平 Nei's 基因多样性指数为 0.2430, Shannon's 多样性指数为 0.4012, 表现出丰富的遗传多样性。同一引物组合所检测不同位点的遗传多样性程度存在较大的差异。E-ACC+M-CAG、E-ACA+M-CAG、E-ACA+M-CTG、E-ACC+M-CAA 引

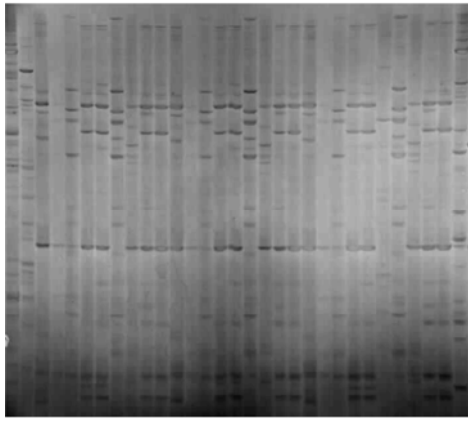


图 1 11 个嵩草居群的 AFLP 指纹图谱

Fig. 1 AFLP fingerprint of 11 *Kobresia* accessions

物组合所检测位点的有效等位基因数的范围为 1.2393~1.2838; 基因多样度的变异范围为 0.1586~0.1894; Shannon 信息指数的变异范围为 0.2614~0.3176 (表 3)。从上述几个指标来看, 嵩草种质间 AFLP 变异大、多态性高, 存在丰富的遗传多样性。

## 2.2 嵩草种质资源的遗传距离及聚类分析

用 NTSYS-pc2.10 得到种质间的 Dice 遗传相似系

表 2 嵩草的 AFLP 扩增结果

Table 2 AFLP amplified result of *Kobresia* accessions

引物 Primers	总位点 Total loci	多态位点数 Polymorphic loci	多态位点比率(%) Proportion of Polymorphic loci
E-ACC+M-CAG	47	45	95.74
EACA+M-CAG	43	41	95.34
E-ACA+M-CTG	33	32	96.97
E-ACC+M-CAA	41	36	87.8
合计 Total	164	154	
平均 Average	41	38.5	93.96

数 (GS), 计算 11 份材料间的遗传距离 GD (1-GS), 变化范围为 0.1159~0.4390, 平均值为 0.2774。其中遗传距离最大的是来自 C1 与 C10, 遗传距离最小的是来自 C3 和 C4。11 个嵩草两两居群间的遗传一致度 (I) 范围为 0.56098~0.88415 (表 4)。

根据聚类分析图 (图 2), 当取截集水平 0.74 时, 可以将 11 个种群分为 5 大类群。当取截集水平 0.74 时, C6、C9、C10、C11 的亲缘关系较近, 聚为一类; C7、C8 的种群亲缘关系较近, C3、C4、C5 也与此较近共同聚为一类; C2 种群单独聚为一类; C1 单独聚为一类。

表 3 嵩草遗传多样性各度量指标的平均值

Table 3 Estimates of genetic diversity among *Kobresia* (Mean  $\pm$ SD)

引物组合 Primer combinations	有效等位基因数(Ne) Effective number of alleles	基因多样(H) Nei's gene diversity	信息指数 (I) Shannon's information index
E-ACC+M-CAG	1.2838 $\pm$ 0.2883	0.1894 $\pm$ 0.1456	0.3176 $\pm$ 0.1892
E-ACA+M-CAG	1.2781 $\pm$ 0.2770	0.1871 $\pm$ 0.1457	0.3122 $\pm$ 0.1958
E-ACA+M-CTG	1.2393 $\pm$ 0.2735	0.1602 $\pm$ 0.1553	0.2614 $\pm$ 0.2274
E-ACC+M-CAA	1.2439 $\pm$ 0.3028	0.1586 $\pm$ 0.1595	0.2622 $\pm$ 0.2222

表 4 嵩草居群的遗传相似系数

Table 4 Coefficient in the accessions of *Kobresia*

ID	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11
C1	1.0000	0.7621	0.7621	0.7683	0.7256	0.6890	0.7195	0.7195	0.7134	0.6280	0.6402
C2	0.2379	1.0000	0.7561	0.7012	0.6829	0.6707	0.6768	0.6768	0.7073	0.5854	0.5610
C3	0.2379	0.2439	1.0000	0.8110	0.7683	0.7927	0.6768	0.7012	0.7073	0.6585	0.6220
C4	0.2317	0.2988	0.1890	1.0000	0.8598	0.7622	0.7439	0.7805	0.7866	0.6768	0.6524
C5	0.2744	0.3171	0.2317	0.1402	1.0000	0.6951	0.7744	0.7622	0.7927	0.6951	0.6463
C6	0.3110	0.3293	0.2073	0.2378	0.3049	1.0000	0.6402	0.6280	0.6341	0.5976	0.5732
C7	0.2805	0.3232	0.3232	0.2561	0.2256	0.3598	1.0000	0.8171	0.7866	0.7012	0.5915
C8	0.2805	0.3232	0.2988	0.2195	0.2378	0.3720	0.1829	1.0000	0.8841	0.7134	0.6037
C9	0.2866	0.2927	0.2927	0.2134	0.2073	0.3659	0.2134	0.1159	1.0000	0.7195	0.6585
C10	0.3720	0.4146	0.3415	0.3232	0.3049	0.4024	0.2988	0.2866	0.2805	1.0000	0.6098
C11	0.3598	0.4390	0.3780	0.3475	0.3536	0.4268	0.4085	0.3963	0.3415	0.3902	1.000

对角线下方为遗传距离; 对角线上方为遗传相似系数

Nei's genetic identity (above diagonal); genetic distance (below diagonal)

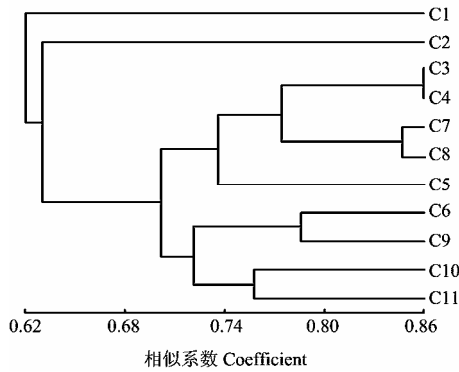


图 2 AFLP 分析嵩草的 11 个居群材料聚类图  
 Fig. 2 The dendrogram generated by AFLP data using UPGMA method among 11 *Kobresia* accessions

应用主坐标排序得到 11 份嵩草居群遗传变异的二维排序图 (图 3)，其为样品的进一步压缩提供了重要的遗传信息。由图 3 分析将 10 个品种分为 4 类，其中一类主要为 C6、C9、C8、C10、C11，C3、C4、C5、C7 为第二类，C1、C2 各为一类。各种质在二维图中的分布基本与 UPGMA 分类基本吻合。

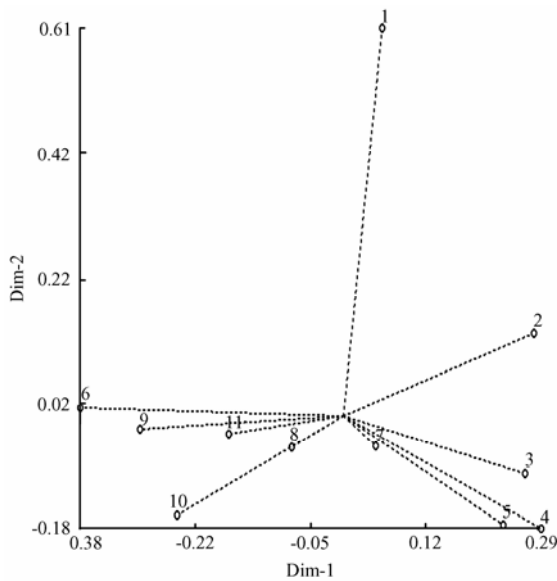


图 3 11 个嵩草居群主坐标排序二维图  
 Fig. 3 A two-dimensional PCO plot of 11 *Kobresia* accessions

2.3 嵩草的遗传结构

用 POPGENE 软件在假设遗传平衡时，计算出嵩草居群内遗传多样性为 0.223；总的遗传多样性为 0.2430；根据总的遗传多样性和居群内遗传多样性计

算不同居群间的遗传分化水平，基因分化系数为 0.0932，即表明总的遗传变异中只有 9.32% 的变异存在居群间。种群每代迁移数是测定基因流的一种方法，用于反映各居群间，居群内的遗传分化程度。基因流估计值平均为 4.8639，所以可以认为居群之间的基因流很大。

2.4 影响不同居群遗传相似系数的海拔因素分析

采用 Mantel 检验 (Mantel, 1967)，对嵩草不同居群遗传相似系数和海拔关系进一步分析  $r=0.75363$ ， $P=1.0000 > 0.05$ ，说明各居群的遗传相似系数与海拔之间没有相关性 (图 4)。

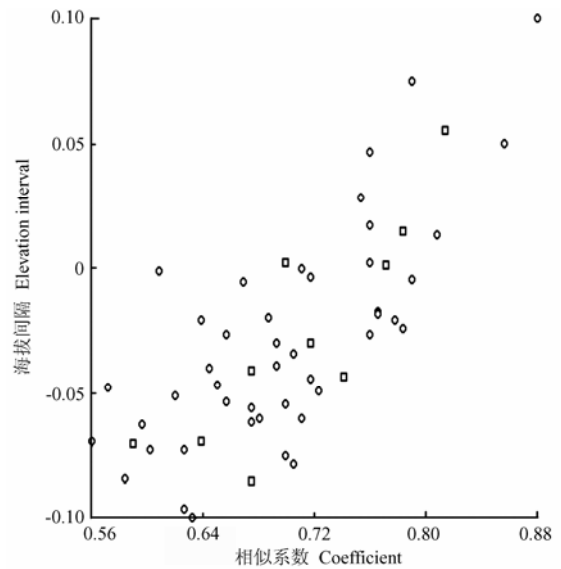


图 4 嵩草居群遗传相似系数和海拔间隔的关系  
 Fig. 4 Relationship between coefficient and elevation interval among accessions of *Kobresia*

3 讨论

3.1 AFLP 在嵩草材料遗传多样性研究中的高效性

AFLP 能比较全面地揭示种质资源的遗传特征，而且稳定性好、重复性强，非常适用于亲缘关系较近的材料遗传多样性研究。本研究首次采用 AFLP 技术对 11 个嵩草居群进行标记分析，用 4 对引物组合，检测出 164 个多态性谱带，平均每对引物扩增出 38.5 条多态性带，远高于李巧峡等<sup>[3]</sup>、赵庆芳等<sup>[4]</sup>利用 RAPD 标记得到的每个引物扩增出 9.9 和 12 条多态性水平，由此可见 AFLP 在嵩草材料的多态性比 RAPD 丰富得多，进行嵩草种质检测的效率非常高。AFLP

可以清晰地探测到嵩草 DNA 特异性扩增片段丰富的多态性,很好地反映出参试材料间的遗传差异,可以用于嵩草内资源材料的正确识别,以及种内详细分类。多态位点百分率、各种群间遗传相似性和聚类分析的结果都表明,嵩草的 11 个自然居群丰富的遗传多样性,表明 AFLP 技术在嵩草资源遗传多样性分析中的高效性。

### 3.2 遗传结构分析

本试验所选 11 个嵩草居群分布在浪卡子、那曲、当雄,其分布有一定程度的不连续性,各个种群所处生境变化较大,使得各个自然居群内出现了一定的遗传分化。嵩草以根茎无性繁殖为主,同时风媒异交具有一定的有性繁殖力,这种特殊的生活史特性使不同种群间存在一定的基因流。根据种群间遗传分化系数  $G_{st}$  计算种群每代迁移数目  $N_m$  为 4.8639,可防止由遗传漂变引起的嵩草种群间的遗传分化。洪锐民等<sup>[25]</sup>认为具有克隆的种群补充籽苗、克隆植物并不比非克隆植物可遗传变异少,具有克隆繁殖的克隆植物种群通常在种群内和种群间能保持相当大的变异,环境异质性可能在构建克隆植物种群变异中起着重要作用。由此推断嵩草居群的遗传分化取决于其生境的异质性,是其对生态环境长期适应的结果。

### 3.3 群体间的遗传相似度及聚类分析

遗传变异和地理环境之间的关系一直是植物种群遗传学研究中普遍关注的问题。本文根据遗传一致度  $F$  计算得到的遗传距离  $D$  对 11 个嵩草种群进行了聚类分析。聚类结果显示,当取截集水平 0.74 时, C6、C9、C10、C11 的亲缘关系较近,聚为一类; C7、C8 的种群亲缘关系较近, C3、C4、C5 也与此较近共同聚为一类; C2 种群单独聚为一类; C1 单独聚为一类。而从地理距离来看, C1、C2、C3 同在浪卡子采样, C6、C5、C8、C10 在当雄, C4、C7、C9、C11 在那曲;也就是说,在一定空间尺度内居群间的遗传相似系数与地理距离关系不大。由图 2 可以看出, 11 个嵩草种群聚类有一定的随机性,属于同一种的居群几乎能聚类在一起,但也出现交叉现象,说明嵩草的遗传分化并非由单一因子影响,而可能是多个因子综合作用的结果。本研究中居群的遗传相似系数与海拔之间也没有相关性,这可能与取样点海拔梯度差异不明显有关。

## 4 结论

### 4.1 筛选出的 4 对 E+3/M+3 多态性和重复性较高的

引物对 11 份嵩草基因组 DNA 进行 AFLP 扩增,共得到 164 条清晰可辨条带,多态性条带 154 条,多态性位点百分率为 93.96%, AFLP 在嵩草材料遗传多样性研究中具有高效性。

4.2 通过 UPGMA 聚类分析,将 11 份嵩草居群划分为 5 类,各居群的遗传相似系数与海拔之间没有相关性。

致谢:感谢边巴卓玛和苗彦军在采样过程中给予的帮助。

## References

- [1] 周兴民. 中国嵩草草甸. 北京: 科学出版社, 1982.  
Zhou X M. *Kobresia Meadow of China*. Beijing: Science Press, 1982. (in Chinese)
- [2] 李巧峡, 赵庆芳, 崔 艳, 马世荣. 青藏高原东南部四川嵩草的遗传多样性研究. 西北师范大学学报(自然科学版), 2006, 42(1): 69-73.  
Li Q X, Zhao Q F, Cui Y, Ma S R. Genetic diversity of *Kobresia setchwanensis* along the east-southern of Qinghai-Tibet plateau. *Journal of Northwest Normal University (Natural Science)*, 2006, 42(1): 69-73. (in Chinese)
- [3] 赵庆芳, 李巧峡, 马世荣, 崔 燕, 王 刚. 青藏高原东部矮生嵩草遗传多样性的 RAPD 研究. 生态学报, 2006, 26(8): 2494-2501.  
Zhao Q F, Li Q X, Ma S R, Cui Y, W G. RAPD analysis of genetic diversity of *Kobresia humilis* along the eastern of Qinghai-Tibet Plateau of China. *Acta Ecological Sinica*, 2006, 26(8): 2494-2501. (in Chinese)
- [4] Barrett B A, Kidwell K K, Fox P N. AFLP-based genetics diversity assessment among wheat cultivars from the pacific northwest. *Crop Science*, 1998, 38: 1261-1271.
- [5] Bohn M, Utz H F, Melchinger A E. Genetics similarities among winter wheat cultivars determined on the basis of RFLPs, AFLPs, and SSRs and their use for predicting progeny variance. *Crop Science*, 1999, 39: 228-237.
- [6] Caicedo A L, Gaitán E, Duque M C, Toro Chica O, Debouck D G, Tohme J. AFLP fingerprinting of *phaseolus lunatus* L. and related wild species from South America. *Crop Science*, 1999, 39: 1497-1507.
- [7] Zhong D, Pai A, Yan G. AFLP-based genetic linkage map for the red flour beetle (*Tribolium castaneum*). *Journal of Heredity*, 2004, 95(1): 53-61.
- [8] Renganayaki K, Read J C, Fritz A K. Genetic diversity among Texas bluegrass genotypes (*Poa arachnifera* Torr.) revealed by AFLP and

- RAPD markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 2001, 102: 1037-1045.
- [9] Lombard V, Baril C P, Dubreuil P, Blouet F, Zhang D. Genetic relationships and fingerprinting of rapeseed cultivars by AFLP: Consequences for varietal registration. *Crop Science*, 2000, 40: 1417-1425.
- [10] Julio E, Verrier J L, Dorlhac de Borne F. Development of SCAR markers linked to three disease resistances based on AFLP within *Nicotiana tabacum* L. *Theoretical and Applied Genetics*, 2006, 112: 335-346.
- [11] Dong N V, Subudhi P K, Luong P N, Quang V D, Quy T D, Zheng H G, Wang B, Nguyen H T. Molecular mapping of a rice gene conditioning thermosensitive genic male sterility using AFLP, RFLP and SSR techniques. *Theoretical and Applied Genetics*, 2000, 100: 727-734.
- [12] 何光华, 侯磊, 李德谋, 罗小英, 牛国清, 唐梅, 裴炎. 利用分子标记预测杂交水稻产量及构成因素. *遗传学报*, 2002, 29: 438-444.
- He G H, Hou L, Li D M, Luo X Y, Niu G Q, Tang M, Pei Y. Prediction of yield components in hybrid rice by using molecular markers. *Acta Genetic Sinica*, 2002, 29: 438-444. (in Chinese)
- [13] Lokko Y, Danquah E Y, Offei S K, Dixon A G O, Gedil M A. Molecular markers associated with a new source of resistance to the cassava mosaic disease. *African Journal of Biotechnology*, 2005, 4(9): 873-881.
- [14] 彭燕, 张新全, 刘金平, 易扬杰. 野生鸭茅种质遗传多样性的 AFLP 分析. *遗传*, 2006, 28(7): 845-850.
- Peng Y, Zhang X Q, Liu J P, Yi Y J. AFLP analysis on genetic diversity of wild *Dactylis glomerata* L. germplasm resources. *Hereditas*, 2006, 28(7): 845-850. (in Chinese)
- [15] 杨友才, 周清明, 尹晗琪, 朱列书. 烟草种质资源遗传多样性及亲缘关系的 AFLP 分析. *中国农业科学*, 2006, 39(11): 2194-2199.
- Yang Y C, Zhou Q M, Yin H Q, Zhu L S. Studies on genetic diversity and relationship in tobacco germplasms by AFLP analysis. *Scientia Agricultura Sinica*, 2006, 39(11): 2194-2199. (in Chinese)
- [16] Liu J, Zhu Z Q, Liu G S, Qi D M, Li F F. AFLP variation analysis on the germplasm resources of *Leymus chinensis*. *Acta Botanica Sinica*, 2002, 44(7): 845-851.
- [17] 海林, 肖世和, 闫长生, 张秀英. 羽扇豆种间遗传差异 AFLP 分析. *中国农业科学*, 2002, 35(8): 911-915.
- Hai L, Xiao S H, Yan C S, Zhang X Y. Analysis of genetic difference between species in Lupins by AFLP. *Scientia Agricultura Sinica*, 2002, 35(8): 911-915. (in Chinese)
- [18] 郝晨阳, 王兰芬, 董玉琛, 尚勋武, 张学勇. 我国西北春麦区小麦育成品种遗传多样性的 AFLP 分析. *植物遗传资源学报*, 2003, 4(4): 285-291.
- Hao C Y, Wang L F, Dong Y S, Shang X W, Zhang X Y. Genetic diversity of wheat varieties released in Northwest Spring Wheat region revealed by AFLP. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2003, 4(4): 285-291. (in Chinese)
- [19] Chen D H, Ronald P C. A rapid DNA minipreparation method suitable for AFLP and other PCR applications. *Plant Molecular Biology Reporter*, 1999, 17: 53-57.
- [20] Vos P, Hogers R, Bleeker M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, 1995, 23: 4407-4414.
- [21] 闫龙, 关建平, 宗绪晓. 木豆种质资源遗传多样性研究中的 AFLP 技术优化及引物筛选. *植物遗传资源学报*. 2004, 5(4): 342-345.
- Yan L, Guan J P, Zong X X. Optimization of AFLP fingerprinting and screening of primer pairs in genetic diversity analysis of Pigeon pea germplasm. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2004, 5 (4): 342-345. (in Chinese)
- [22] Bassam B J, Caetano-Anollés G, Greshoff P M. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, 1991, 196: 80-83.
- [23] A joint Project Development by Francis C. Yeh and Rong-cai Yang. POPGENE VERSION 1.31. University of Alberta And Tim Boyle, Centre for International Forestry Research August. 1999. ftp://ftp.microsoft.com/Softlib/MSLFILES/HPGL.EXE
- [24] Nei M, Li W H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceeding of the National Academy Sciences of the United States of the America*, 1979, 76: 5269-5273.
- [25] 洪锐民, 王昱生, 杨建华. 羊草(*Leymus chinensis*)等植物种群克隆表型变异和遗传变异的分子遗传—生态学分析. *东北农业大学学报*, 2001, 32(4): 313-319.
- Hong R M, Wang Y S, Yang J H. Analysis of phenotypic and genetic variation in colonial population of *Leymus chinensis* and others. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2001, 32(4): 313-319. (in Chinese)