

DOI: 10.3969/j.issn.1000-3142.2011.06.005

## 扎龙芦苇遗传多样性 ISSR 分析

杨晓杰<sup>1\*</sup>, 佟守正<sup>2</sup>, 程加春<sup>1</sup>, 李娜<sup>1</sup>

(1. 齐齐哈尔大学 生命科学与农林学院, 黑龙江 齐齐哈尔 161006; 2. 中国科学院 东北地理与农业生态研究所, 长春 130012)

**摘要:** 采用 ISSR 分子标记技术对扎龙湿地的 5 个野生芦苇居群进行了遗传多样性研究。从 75 条 ISSR 引物中筛选出 10 个特异性强、稳定性好的引物进行 ISSR 分析。共获得 96 个位点, 其中多态位点 94 个, 多态位点百分率为 97.92%。PopGene 分析结果表明: 居群的平均多态位点百分率为 56.46%, Shannon's 多样性指数( $I$ )平均值为 0.4783, 具有较高的遗传多样性, 居群间存在一定程度的基因流( $N_m$  为 0.9249)和遗传分化(Nei's 信息多样性指数平均值为 0.3150,  $G_{st}$  平均值为 0.3509), 居群内的基因多样性占总居群的 64.91%, 居群间占 35.09%, 表明芦苇居群的变异主要来源于居群内。聚类分析的结果表明: 5 个芦苇居群分为两类, 克钦湖居群(K)和唐土岗居群(T)最近聚在一起, 然后和稍远的局址居群(J)聚为一类; 满代居群(M)和赵凯居群(Z)聚为一类。以上结果可为芦苇种质资源的保护和利用以及物种分化研究提供基础资料。

**关键词:** 芦苇; 居群遗传结构; 遗传变异

中图分类号: Q949.67 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2011)06-0725-05

## Genetic diversity of *Phragmites australis* populations from Zhalong based on ISSR analysis

YANG Xiao-Jie<sup>1\*</sup>, TONG Shou-Zheng<sup>2</sup>, CHENG Jia-Chun<sup>1</sup>, LI Na<sup>1</sup>

(1. College of Life Science and Agriculture and Forestry Qiqihar University, Qiqihar 161006, China; 2. Northeast Institute of Geography and Agricultural Ecology, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130012, China)

**Abstract:** The genetic diversity of 5 wild *Phragmites australis* populations from Zhalong was estimated using inter-simple sequence repeat (ISSR) markers, using ten specific and stable primers selected from 75 primers. A total of 96 sites were generated, 94 of which (97.92%) were polymorphic. The data was analyzed by PopGene. The average percentage of polymorphic loci of populations was 56.46% and demonstrated high genetic diversity (the average value of Shannon's index ( $I$ ) was 0.4783). To some extent, both gene flow and genetic diversity were present among populations ( $N_m$  was 0.9249, average Nei's index was 0.3150, and average  $G_{st}$  was 0.3509). The gene proportion of diversity reached 64.91% within population but was 35.09% among populations. This demonstrated that genetic variation of *P. australis* populations was mainly within populations. According to cluster analysis, the populations were classified into two large groups: the populations (K, T and J) grouped together, whereas populations (M and Z) grouped together. These results would supplement the information for protection and utilization of *P. australis* and also provide further data for the study of genetic variation and species differentiation of *P. australis*.

**Key words:** *Phragmites australis*; population genetic structure; genetic variation

收稿日期: 2011-02-18 修回日期: 2011-08-19

基金项目: 国家自然科学基金(40971053) [Supported by the National Natural Science Foundation of China (40971053)]

作者简介: 杨晓杰(1962-), 女, 辽宁法库人, 硕士, 教授, 从事植物学教学和科研工作, (E-mail) yangxiaojie1980@163.com.

\* 通讯作者 (Author for correspondence)

芦苇(*Phragmites australis*)为禾本科多年生高大草本,是世界广布的重要湿地物种,通常在池沼、泉边、河旁、湖边、河口等浅水湿地形成密集的单优群落,影响着湿地的外貌、结构与功能(徐卫华等, 2005)。在长期的适应不同生境中,个体及居群间发生了分化和变异,构成了种内丰富的生态型(林文芳等, 2007)。尽管对不同生态型芦苇已进行了大量资源分布、形态结构、生理生态、居群特征以及细胞学等方面的研究(赵可夫等, 1998; 李修仓等, 2008; 柳新伟, 2009),然而针对芦苇变异规律及其形成机制仍然存在很多分歧(王仁卿等, 2000; 王振庆等, 2006; 刘斌斌等, 2009; 庄瑶等, 2010)。基因型是影响芦苇变异的关键因素, Kuhl 和 Zemlin(2000)将生长在不同河域的芦苇居群移栽到同质的生境中, 芦苇在表型和居群结构上依然差异显著, 这种表型差异都可认为是遗传结构不同引起。芦苇的形态分化由环境引起还是基因型不同导致, 在早期无法确定, 因此表型的差异往往被认为是划分生态型的依据(Clevering & Lissner, 1999)。Saltonstall(2003)运用 SSR 标记技术分析了北美、欧洲以及引进种等 3 个芦苇世系的遗传多样性, 认为三者遗传水平上存在差异。林文芳等(2007)基于 ISSR 和 RAPD 分子标记分析, 发现河西走廊四种不同生态型芦苇间表现出水生芦苇→盐渍芦苇→沙丘芦苇逐渐演替趋势。刘斌斌等(2009)用 RAPD 标记技术分析了甘肃临泽县内的 4 种生态型芦苇, 认为不同生态型的差异是遗传分化的结果。深入开展芦苇遗传学及分子生物学等研究, 从微观角度分析不同生态型芦苇发生变异的原因, 从根本上解释物种发生变异的机制是十分必要的(王萌等, 2010)。

扎龙湿地是黑龙江省芦苇大面积分布的主要区域, 被列入《国际重要湿地》名录, 但近年来湿地退化现象较严重, 对芦苇的生长状态和产量产生严重影响(吴长申, 1999; 佟守正等, 2008)。对扎龙湿地芦苇的研究多限于生理生态、生物量、生态补水及形态结构等方面(张爱勤等, 2005; 王永洁等, 2005; 杨晓杰等, 2008)。ISSR 分子标记能有效地评价物种的亲缘关系(张利等, 2006), 为探讨扎龙湿地芦苇居群的多样性水平及不同生态型形成的机制, 本研究运用 ISSR 分子标记技术, 对扎龙芦苇的 5 个居群进行遗传多样性分析, 以揭示扎龙芦苇的遗传多样性和进化距离, 为合理利用和保护芦苇资源提供科学依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 植物材料

研究材料样地设置按照经纬度分布广泛, 不同功能分区, 不同水分梯度原则在扎龙保护区内取 5 个样地, 即局址(J)、赵凯(Z)、满代(M)、唐土岗(T)和克钦湖(K)5 个居群, 为了反应水分、盐分对芦苇生长的联合影响, 结合实测值将水分和盐分对芦苇的适宜度分为五级, 并用水分与盐分适宜度的乘积作为各样地中水分和盐分对芦苇的联合影响因子, 水盐适宜度随水盐联合影响因子数值的增加而降低(张淑萍, 2001), 样地信息见表 1。

每个样地选取长势均一相距 20 m 以上的植株各 10 株, 分别取其顶端嫩叶及叶芽用封口袋装好放入冰盒, 尽快带回实验室放入 -80 °C 冰箱冷冻保存。

表 1 样地信息

Table 1 The information of plot

居群 Popula- tion	经度 E Longitude	纬度 N Latitude	功能 分区 Func- tion division	采样数 Sample size	水盐联合影响 因子 (WSF)
局址(J)	124°14'05.2"	47°11'29.0"	实验区	20	6
赵凯(Z)	124°17'53.9"	47°09'44.1"	核心区	20	4
满代(M)	124°03'11.9"	46°56'44.8"	缓冲区	20	10
唐土岗(T)	124°20'46.8"	47°13'21.5"	核心区	20	15
克钦湖(K)	124°18'06.2"	47°16'55.3"	缓冲区	20	20

### 1.2 DNA 提取与 PCR 扩增

芦苇总 DNA 的提取采用改进后的 CTAB 法(Doyle & Doyle, 1987), 每次取 0.5 g 干燥的叶片组织。PCR 反应在 MG48+PCR 仪(杭州朗基科学仪器有限公司制造)上进行。经比较和优化确定最佳的 25  $\mu$ L 反应体系: 10 $\times$  buffer 3.0  $\mu$ L, Mg<sup>2+</sup> 1.0  $\mu$ L, dNTP(10 mM/each)0.65  $\mu$ L, Primer(10 P mol/ $\mu$ L) 2.3  $\mu$ L, TemplateDNA (20 ng/ $\mu$ L) 1.0  $\mu$ L, Taq polymerase(5 U/ $\mu$ L)0.35  $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O 16.7  $\mu$ L。扩增程序: 94 °C 预变性 7 min; 循环, 94 °C 变性 30 s, 48~55 °C 退火(温度视不同引物而定)45 s, 72 °C 延伸 1 min, 循环 40 次; 72 °C 延伸 7 min; 最后 4 °C 保存。

实验所用 ISSR 引物均由上海生物工程技术服务有限公司合成, 引物序列参照加拿大哥伦比亚大学公布的序列设计。每个居群选取 8 个模板, 在 25  $\mu$ L 反应体系中进行引物筛选及可重复性试验。从 75 个引物中选出 10 个扩增条带清晰、反应稳定的

引物用于全部 5 个居群样本分析(表 2)。

电泳条件:PCR 扩增产物在 1.7% 的琼脂糖凝胶上电泳(0.5×TBE, 4~5 V/cm)分离,以 DNA Marker GM335(上海生工 100~2 000 bp)为分子标记,溴化乙锭(EB)染色显带。DNA 片段通过凝胶成像系统(UVP GDS-8000)观察记录。带的有无分别以 1 和 0 的格式记录并输入计算机,构成 ISSR 表型数据矩阵输入 PopGene 1.32 软件(Yeh 等, 1997)进行分析。分别计算多态位点百分率(PPL)、有效等位基因数  $N_e$ 、Nei's 基因多样性指数( $H_e$ )、Shannon 信息指数( $I$ )、群体总基因多样性( $H_t$ )、群体内基因多样性( $H_s$ )、群体间的遗传分化系数( $G_{st}$ )、遗传距离( $D$ )和遗传一致度( $I$ )。将 PopGene 1.32 软件生成的遗传距离数据带入 Statistica 6.0 软件,利用欧氏距离加权配对算术平均法建立居群遗传关系聚类图。

表 2 ISSR 引物序号与序列

Table 2 ISSR primer codes and their sequences

引物序号 Primer codes	引物序列(5'-3') Primer sequences
807	AgAgAgAgAgAgAgT
808	AgAgAgAgAgAgAgC
809	AgAgAgAgAgAgAgG
835	AgAgAgAgAgAgAgYC
843	CTCTCTCTCTCTCTRA
846	CACACACACACACART
847	CACACACACACACAAC
855	ACACACACACACACYT
884	HBHAgAgAgAgAgAg
899	CATggTgTTggTCATTgTTCCA

## 2 结果

### 2.1 遗传变异和遗传多样性

通过 10 条 ISSR 引物对 5 个芦苇居群共 40 个个体(每个样地取 8 株)进行 ISSR 分析(图 1),共检测到 96 个位点,其中 94 个是多态的,总多态位点百分率(PPL)为 97.92%。各居群的多态位点百分率见表 3。其中 M 居群的 ISSR 多态性最高为 60.42%,居群 Z 的多态位点百分率最低为 50.00%,各居群的多态性排列顺序为:M>J>K>T>Z。各引物扩增的条带数在 6~14 之间,平均每个引物扩增的条带数为 9.6 条,扩增片段大小全部在 250~1 500 bp 之间。ISSR 标记检测到较多的多态条带比率表明这 5 个芦苇居群间存在着丰富的遗

传变异。

由表 3 可知,遗传多样性参数在各个居群之间存在一定的差异。居群内的等位基因数( $N_a$ )和有效等位基因数( $N_e$ )的平均值分别为 1.5646 和 1.3558,变动范围分别为 1.5000~1.6042 和 1.3111~1.4280。这两个多样性指数均是在 M 居群最高,而在 Z 居群中  $N_a$  最低, J 居群中  $N_e$  最低。5 个居群间总的等位基因数和有效等位基因数分别为 1.9792 和 1.5302。Nei's 基因多样性指数和 Shannon's 信息指数是度量居群遗传多样性的重要指标,居群间总的 Nei's 基因多样性为 0.3150, Shannon's 信息指数为 0.4783,可见 Shannon's 信息指数反映的遗传多样性比 Nei's 的值稍高,但在居群内,二者表现出的变化趋势是相同的, M>T>K>J>Z。

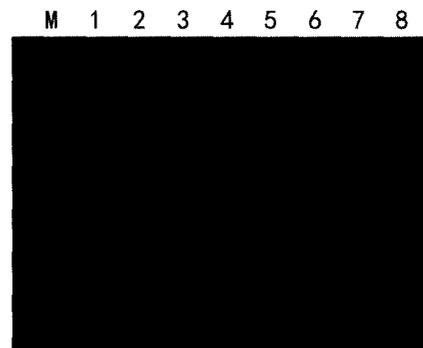


图 1 引物 807 对赵凯居群(Z)样品扩增产生的谱带  
Fig. 1 ISSR bands of Zhaokai(Z) population samples amplified with primer 807

### 2.2 居群的遗传结构与遗传分化

5 个居群总的基因多样性( $H_t$ )平均值为 0.3150,居群内的基因多样性( $H_s$ )为 0.2045,居群间的基因多样性  $D_{st}$ ( $D_{st}=H_t-H_s$ )为 0.1105。基因分化系数  $G_{st}$ ( $G_{st}=D_{st}/H_t$ )在 0.0269~1 之间,平均值为 0.3509。说明这 5 个芦苇居群发生了一定的遗传分化。其中居群间的遗传变异占总的遗传变异的 35.09%,居群内的遗传变异占总变异的 64.91%,说明遗传变异主要来自居群内部,基因流系数  $N_m$ ( $N_m=0.5(1-G_{st})/G_{st}$ )平均值为 0.9249,表明居群间存在着一定程度的基因交流,基因流的波动范围为 0~18.1041,大部分的变异发生在居群内部,小部分的存在于居群间。

### 2.3 5 个居群间遗传一致度(I)与遗传距离(D)

由表 4 可知,居群 Z 和居群 J 的遗传距离最大,为 0.2419,即遗传一致度最小 0.7851;而遗传距离

最小值存在于居群 K 和居群 T 之间,为 0.1241,最大遗传一致度为 0.8833。

#### 2.4 聚类分析

根据 Nei(1973)遗传距离利用 UPGMA 法对供

试材料进行聚类分析。由图 2 可以看出,5 个芦苇句群居群分为两类,K 和 T 最近聚在一起,然后和稍远的 J 聚为一类;M 和 Z 聚为一类,最后 5 个居群聚在一起。

表 3 居群间的遗传多样性指标

Table 3 The genetic variation statistics among populations of reed

居群 Population	多态位点数 No. of polymorphic loci	多态位点百分率 PPL(%)	等位基因数 Na	有效等位基因数 Ne	Nei's 基因 多样性指数 He	Shannon 信息指数 I
M	58	60.42	1.6042	1.4280	0.2370	0.3455
Z	48	50.00	1.5000	1.3428	0.1869	0.2833
J	56	58.33	1.5833	1.3111	0.1932	0.2847
K	55	57.29	1.5729	1.3437	0.2015	0.3021
T	54	56.25	1.5625	1.3534	0.2038	0.3027
平均值 Average	54.2	56.46	1.5646	1.3558	0.2045	0.3037
总计 Total	94	97.92	1.9792	1.5302	0.3150	0.4783

表 4 居群间的遗传一致度与遗传距离

Table 4 Genetic identity and Genetic distance of populations

居群 Population	M	Z	J	K	T
M	* * * *	0.8450	0.7869	0.8055	0.8642
Z	0.1684	* * * *	0.7851	0.8051	0.8127
J	0.2397	0.2419	* * * *	0.8567	0.8207
K	0.2163	0.2168	0.1547	* * * *	0.8833
T	0.1460	0.2074	0.1976	0.1241	* * * *

注:遗传一致度(上三角),遗传距离(下三角)

Note: Genetic identity(above diagonal)and genetic distance(below diagonal)

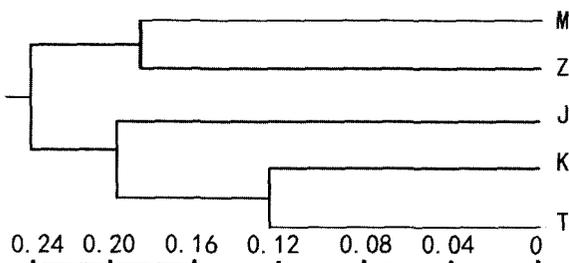


图 2 聚类分析图

Fig. 2 Cluster chart of among five populations

### 3 讨论

对植物进行分子标记的大量研究显示,同种植物不同居群之间的遗传相似性与其地理分布直接相关,地理位置分布较近者,遗传相似度也较高,多数能聚类合并(庄瑶,2010),而本研究结果显示地理位置最近的局址居群 J 和赵凯居群 Z 并没有首先聚为一类,而水盐联合因子较大的唐土岗居群 T 和克钦湖居群 K 的遗传距离最小,说明其生境的相似度对

其遗传相似性影响更大,即地理距离最近的居群不一定都归为一类,更重要的是其生境的相似度(刘惠芬等,2004)。

芦苇是广布于世界各地的物种,在对不同生境的长期适应过程中,个体及种群间发生了分化和变异,构成了种内丰富的生态型。Clevering(1999)用遗传多样性作为克隆间等位基因变异的测度,认为芦苇的动态特征(扩张、衰退等)主要与克隆多样性和遗传多样性有关。随着人类活动的日益频繁,扎龙生境的片断化不断加剧,形成一些基因流( $Nm=0.9249$ )不连续分布的居群,但各居群间分化小,导致了在居群水平上遗传多样性相对较低;而扎龙芦苇的种群内遗传多样性高于种群间,与郭卫华(2003)对黄河三角洲芦苇的研究结果一致;扎龙芦苇的遗传多样性与林文芳(2007)利用 ISSR 技术对甘肃河西走廊临泽县芦苇所进行的遗传多样性分析结果( $PPL=51.52\%$ )相比,多样性水平更高( $PPL=97.92\%$ )。物种具有高水平遗传多样性的因素有很多,如新种形成、繁育系统、形态突变、多次奠基者效应等。甘肃省河西走廊部分地区土壤盐渍化严重,再加上戈壁沙漠的分布,使得植物的生存环境十分恶劣,由于其 4 种生态型的芦苇常同时分布在方圆  $5 \text{ km}^2$  的范围内,所处的生境条件相似甚至相同(林文芳等,2007),遗传基础趋于一致。扎龙芦苇居群内的基因多样性高,能为成功的适应新环境提供足够的表型变异,所以,应在各居群内进行适量的采样用于保护研究。由于各个居群间存在一定的遗传分化,如满代居群(M)遗传多样性水平较高,因此,建议重点保护遗传多样性水平较高的满代居群;为

保护和恢复芦苇种群, 遗传多样性水平较低的赵凯居群, 应该给予特别重视。同时为防止瓶颈效应, 有必要对不同居群间进行混合繁殖和相互移栽的方法, 以提高遗传多样性水平(黄姝博等, 2010)。在扎龙一定的空间范围开展表型变异的研究, 并进一步基于居群水平的分子标记研究, 可为芦苇生态型的鉴定、划分提供更为可靠的参考数据, 并且可以甄别生境差异和遗传变异对芦苇不同生态型分化的贡献。

### 参考文献:

- Clevering OA. 1999. The effects of litter on growth and plasticity of *Phragmites australis* clones originating from infertile, fertile or eutrophicated habitats[J]. *Aquatic Bot*, **64**(1): 35-50
- Clevering OA, Lissner J. 1999. Taxonomy, chromosome numbers, clonal diversity and population dynamics of *Phragmites australis* [J]. *Aquatic Bot*, **64**(3/4): 185-208
- Guo WH(郭卫华), Zhang SP(张淑萍), Song BM(宋百敏), et al. 2003. Clonal structure of *Phragmites australis* in wetland downstream the Yellow River marked by allozymes(黄河下游湿地芦苇种群克隆结构的等位酶分析)[J]. *J Shandong Univ* (山东大学学报), **38**(2): 89-96
- Huang SB(黄姝博), Hu YH(胡永红), Wu D(吴冬), et al. 2010. Genetic diversity of *Gnetum parvifolium* of Fujian by ISSR Markers(福建地区小叶买麻藤遗传多样性 ISSR 分析)[J]. *Guihaia*(广西植物), **30**(5): 601-607
- Kuhl H, Zemlin R. 2000. Increasing the efficiency of reed plantations on stressed lake and river shores by using special clones of *Phragmites australis* [J]. *Wetlands Ecol Management*, **8**(6): 415-424
- Liu BB(刘斌斌), Xing JJ(邢家强), Gong XJ(龚晓洁), et al. 2009. Genetic differences of different reed ecotypes adapted to individual habitats(不同生态型芦苇生境适应性的遗传差异)[J]. *Acta Prataculturae Sin*(草业学报), **18**(5): 250-255
- Liu HF(刘惠芬), Gao YB(高玉葆), Wang D(王丹), et al. 2004. Genetic differentiation in eight populations of *Leymus chinensis* in Inner Mongolia steppe(内蒙古典型草原羊草种群遗传分化的 RAPD 分析)[J]. *Acta Ecol Sin*(生态学报), **24**(3): 423-431
- Lin WF(林文芳), Chen LJ(陈林娇), Zhu XY(朱学艺). 2007. An analysis of genetic diversity of different ecotypes of reed(*Phragmites communis*) by molecular marker techniques(用分子标记技术分析不同生态型芦苇的遗传多样性)[J]. *J Plant Physiol Molec Biol*(植物生理与分子生物学报), **33**(1): 77-84
- Liu XW(柳新伟). 2009. Effect of temperatures on leaf, sheath and stem decomposition dynamic of *Phragmites australis* (温度对芦苇不同部位分解动态的影响)[J]. *Ecol Environ Sci*(生态环境学报), **18**(3): 1 042-1 044
- Li XC(李修仓), Hu SJ(胡顺军), Li YT(李岳坦), et al. 2008. Study on the root distribution and soil water dynamics under *Phragmites arid area* (干旱区旱生芦苇根系分布及土壤水分动态)[J]. *Acta Pratacult Sin*(草业学报), **17**(2): 17-25
- Saltonstall K. 2003. Microsatellite variation within and among North American lineages of *Phragmites australis* [J]. *Molec Ecol*, **12**(7): 1 689-1 702
- Tong SZ(佟守正), Lv XG(吕宪国), Su LY(苏立英), et al. 2008. Changing process and the impact factors of wetland ecosystem in Zhalong wetland(扎龙湿地生态系统变化过程及影响因素分析)[J]. *Wetland Sci*(湿地科学), **6**(2): 179-184
- Wu CS(吴长申). 1999. Natural Resources, Research and Management in Zhalong National Nature Reserve(扎龙国家自然保护区自然资源研究与管理)[M]. Harbin: Northeast Fore Univ Press
- Wang M(王萌), Wang YB(王玉彬), Chen ZH(陈章和). 2010. Germplasm resource of *Phragmites adans* and its application in constructed wetlands(芦苇的种质资源及在人工湿地中的应用)[J]. *Chin J Appl Environ Biol*(应用与环境生物学报), **16**(4): 590-595
- Wang YQ(王仁卿), Guo WH(郭卫华), Zhang SP(张淑萍). 2000. Research Advances of *Phragmites Australis* (芦苇研究进展)[M]. Beijing: Higher education Press
- Wang ZQ(王振庆), Wang LN(王丽娜), Wu DQ(吴大千), et al. 2006. The actuality and trend in the study of *Phragmites australis* in China(中国芦苇研究现状与趋势)[J]. *J Shandong Fore Sci Tech* (山东林业科技), (6): 85-87
- Wang YJ(王永洁), Deng W(邓伟). 2005. Regeneration of *Phragmites communis* in Zhalong wetland and ecological water supplement analysis(扎龙湿地芦苇恢复与生态补水分析)[J]. *Fore Invent Plann*(林业调查规划), **30**(5): 27-30
- Xv WH(徐卫华), Ouyang ZY(欧阳志云), Iris van Duren, et al. 2005. Reed land change and its relationship to water level in Baiyang Lake Since(白洋淀地区近 16 年芦苇湿地面积变化与水位的关系)[J]. *J Soil Water Conserv*(水土保持学报), **19**(4): 181-189
- Yang XJ(杨晓杰), Cheng JC(程加春), Li XH(李雪花), et al. 2008. The Relationship between microstructure of reed's leaves and Ecological environment of Zhalong Wetland(扎龙湿地芦苇叶片结构与生境关系的研究)[J]. *Heilongjiang Environ J*(黑龙江环境通报), **32**(4): 36-40
- Zhang AQ(张爱勤), Gao ML(高美玲), Zhao H(赵宏). 2005. Research on relationsh of reed growth and water in Zalong wetland(扎龙湿地芦苇生长与水因子关系的研究)[J]. *Heilongjiang Environ J*(黑龙江环境通报), **29**(4): 29-30
- Zhao KF(赵可夫), Feng LT(冯立田), Zhang SQ(张圣强). 1998. Adaptive physiology of different ecotypes of *Phragmites Communis* to salinity in the Yellow River Delta(黄河三角洲不同生态型芦苇对盐度适应生理的研究)[J]. *Acta Ecol Sin*(生态学报), **18**(5): 465-469
- Zhang L(张利), Zhou YH(周永红), Ding CB(丁春邦), et al. 2006. Study on genetic variation of genus *Kengyilia* by ISSR markers(应用 ISSR 标记研究仲彬草属植物的遗传变异)[J]. *Guihaia*(广西植物), **26**(4): 375-380
- Zhang SP(张淑萍). 2001. Study on molecular ecology of *Phragmites australis* (芦苇分子生态学)[D]. PhD dissertation. Harbin: Northeast Forestry University
- Zhuang Y(庄瑶), Sun YX(孙一香), Wang ZS(王中生), et al. 2010. Research advances in ecotypes of *Phragmites australis* (芦苇生态型研究进展)[J]. *Acta Ecol Sin*(生态学报), **30**(8): 2 173-2 181