

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2008.00094

# 野生狗牙根种质遗传多样性的 SRAP 研究

易杨杰, 张新全, 黄琳凯, 凌瑶, 马啸, 刘伟

四川农业大学草业科学系, 雅安 625014

**摘要:** 采用 SRAP 分子标记技术, 对采自中国四川、重庆、贵州、西藏四省区的 32 份野生狗牙根(*Cynodon dactylon*) 材料进行遗传多样性分析, 获得下述结果: (1) 用 14 对引物组合共得到 132 条多态性条带, 平均每对引物扩增出 9.4 条多态带, 多态性位点百分率为 79.8%, 材料间的遗传相似系数范围在 0.591 到 0.957 之间, 平均 GS 值为 0.759, 这些结果说明, 供试野生狗牙根具有较为丰富的遗传多样性; (2) 对所有材料进行聚类分析, 可聚为 4 类, 大部分来自相同或相似生态地理环境材料聚为一类, 表明供试材料的聚类和其生态地理环境间有一定的相关性; (3) 基于 Shannon 多样性指数估算了 6 个狗牙根生态地理类群内和类群间的遗传分化, 发现类群内遗传变异占总变异的 65.56%, 而类群间遗传变异占总变异的 34.44%; (4) 对各生态地理类群基于 Nei 氏无偏估计的遗传一致度的聚类分析表明, 各生态地理类群间的遗传分化与其所处的生态地理环境具有一定的相关性。

**关键词:** 狗牙根; SRAP; 遗传多样性; 聚类分析

## Genetic diversity of wild *Cynodon dactylon* germplasm detected by SRAP markers

YI Yang-Jie, ZHANG Xin-Quan, HUANG Lin-Kai, LING Yao, MA Xiao, LIU Wei

Department of Grassland, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China

**Abstract:** Sequence-related amplified polymorphism (SRAP) molecular markers were used to detect the genetic diversity of 32 wild accessions of *Cynodon dactylon* collected from Sichuan, Chongqing, Guizhou and Tibet, China. The following results were obtained. (1) Fourteen primer pairs produced 132 polymorphic bands, averaged 9.4 bands per primer pair. The percentage of polymorphic bands in average was 79.8%. The Nei's genetic similarity coefficient of the tested accessions ranged from 0.591 to 0.957, and the average Nei's coefficient was 0.759. These results suggested that there was rich genetic diversity among the wild resources of *Cynodon dactylon* tested. (2) Thirty two wild accessions were clustered into four groups. Moreover, the accessions from the same origin frequently clustered into one group. The findings implied that a correlation among the wild resources, geographical and ecological environment. (3) Genetic differentiation between and within six eco-geographical groups of *C. dactylon* was estimated by Shannon's diversity index, which showed that 65.56% genetic variance existed within group, and 34.44% genetic variance was among groups. (4) Based on Nei's unbiased measures of genetic identity, UPGMA cluster analysis measures of six eco-geographical groups of *Cynodon dactylon*, indicated that there was a correlation between genetic differentiation and eco-geographical habits among the groups.

**Keywords:** *Cynodon dactylon*; SRAP; genetic diversity; cluster analysis

收稿日期: 2007-06-11; 修回日期: 2007-10-10

基金项目: 科技部 973 项目(编号: 2007CB108907)和教育部新世纪优秀人才支持计划(编号: NCET-04-0909)资助[Supported by the National Basic Research Program(973 Program)in China(No. 2007CB108907) and the Program for New Century Excellent Talents in University(No. NCET-04-0909)]

作者简介: 易杨杰(1982-), 男, 四川崇州人, 在读硕士, 研究方向: 草种质资源创新及育种。E-mail: yyj\_914@yahoo.com.cn

通讯作者: 张新全(1965-), 男, 教授, 博士生导师, 中国草原学会副理事长, 已发表论文 150 余篇, 研究方向: 牧草及草坪草育种与种质资源。E-mail: zhangxq@sicau.edu.cn

狗牙根(*Cynodon dactylon* L. Pers.), 又叫铁线草、爬地草, 属禾本科狗牙根属。狗牙根原产于非洲, 分布在热带、亚热带和温带沿海地区。在美国的南部、非洲、欧洲、亚洲的南部各国都有分布<sup>[1]</sup>, 为世界广布种。在我国, 狗牙根主要分布于黄河流域及其以南地区, 此外新疆、吉林、青海、甘肃、河北等地也有分布<sup>[2]</sup>。

国外对狗牙根种质资源的研究大多集中在分子水平。Assefa等<sup>[3]</sup>利用DAF技术分析了8个狗牙根种之间的遗传相关性。Roodt等<sup>[4]</sup>用RAPD技术确定了南非狗牙根栽培种间的遗传相关性。Zhang等<sup>[5]</sup>和Karaca等<sup>[6]</sup>利用AFLP技术分别区别了27和31种狗牙根基因型。Wu等<sup>[7]</sup>用AFLP技术量化了非洲狗牙根(*C. transvaalensis*)的遗传变异程度以及与六倍体狗牙根的相关性。此外, 国内也有学者利用RAPD技术对不同地区的狗牙根材料进行遗传多样性分析的报道<sup>[8~11]</sup>。

相关序列扩增多态性(sequence-related amplified polymorphism, 简称SRAP), 又称为基于序列扩增多态性(sequence-based amplified polymorphism, SBAP)<sup>[12]</sup>, 是由Li和Quiros<sup>[13]</sup>在2001年创建的一种DNA分子标记技术。该技术是通过独特的引物设计对开放阅读框(ORFs)进行扩增。因不同个体、物种的内含子、启动子及间隔区长度不同而产生多态性。SRAP技术具有简便、稳定、产率高、便于克隆目标片段的特点<sup>[14]</sup>, 目前已在一些农作物如马铃薯、水稻、油菜等中成功扩增<sup>[15]</sup>, 并已被应用于图谱构建<sup>[13]</sup>、比较基因组学<sup>[15]</sup>和遗传多样性分析<sup>[16]</sup>。SRAP在草业科学领域中的研究不多, 只有Budak等<sup>[14]</sup>利用34对SRAP引物组合分析了53份野牛草种质的遗传多样性及其与表型的关系。

本实验以我国西南区的32份野生狗牙根为材料, 采用SRAP分子标记技术分析了我国西南区野生狗牙根不同生态地理类群的遗传多样性, 为科学保护和合理利用我国野生狗牙根种质资源以及狗牙根新品种的培育提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 供试材料

供试材料为四川农业大学草业科学系收集的32份野生狗牙根资源。采集时, 每份材料取1个生长健康的营养枝, 用湿毛巾包裹带回实验基地扦插, 使其繁殖为无性系。这些材料来源于四川、重庆、

贵州和西藏, 海拔变异范围为140~3 080 m(表1)。

### 1.2 基因组DNA提取

随机选取狗牙根无性系健康幼叶, 用CTAB法提取其基因组DNA。通过0.8%琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测DNA浓度和纯度, 合格的DNA样品于4℃冰箱内保存备用。

### 1.3 SRAP-PCR反应

扩增反应体系为20 μL: DNA 1 μL(40 ng/μL), 10×PCR Buffer 2 μL, Mg<sup>2+</sup> 2 μL(25 mmol/L), dNTP 1.6 μL(2.5 mmol/L), Taq DNA聚合酶 0.2 μL(5 U/μL), 上、下游引物均为1 μL(10 μmol/μL), 灭菌水补足20 μL。

参照Li等<sup>[13]</sup>发表的引物, 设计了14个引物序列(表2), 引物由上海生工生物工程技术有限公司合成。SRAP-PCR反应采用的是复性变温法: 循环包括94℃变性5 min; 94℃变性1 min, 35℃复性1 min, 72℃延伸1 min, 共5个循环; 之后35个循环: 94℃变性1 min, 50℃复性1 min, 72℃延伸1 min, 最后72℃延伸10 min; 4℃保存。

### 1.4 电泳检测

扩增产物用6%的变性聚丙烯酰胺凝胶(丙烯酰胺: 甲叉=19:1, 7 mol/L尿素, 1×TBE缓冲液)电泳分离。200 V电压预电泳20 min, 每点样孔中点样12~13 μL, 350~450 V恒压电泳约90~100 min, 停止电泳后银染, 银染参照许绍斌等<sup>[17]</sup>的方法。

### 1.5 数据统计及分析

对获得清晰可重复的DNA条带进行统计, 有带记为1, 无带记为0, 构成遗传相似矩阵。

采用Shannon-Weaver指数 $H$ 和Simpson指数 $D$ (即Nei氏基因多样性指数)来估计各种质及其生态地理类群间的遗传多样性<sup>[18]</sup>。 $H_0 = -\sum \pi_i \ln \pi_i$ , 这里的 $\pi_i$ 指某类群内表型“ $i$ ”(第“ $i$ ”条谱带)的频率;  $H_{\text{group}} = H_0/n$ 是指 $n$ 个不同类群的平均多样性;  $H_{\text{sp}} = -\sum \pi \ln \pi$ 是指把所有供试类群作为一个整体时, 以表型频率“ $\pi$ ”计算而得的多样性<sup>[19]</sup>。各地理类群内的多样性用 $H_{\text{within}} = H_{\text{group}}/H_{\text{sp}}$ , 类群间的多样性用 $H_{\text{between}} = (H_{\text{sp}} - H_{\text{group}})/H_{\text{sp}}$ 表示<sup>[20]</sup>。Simpson指数的计算公式为 $D = 1 - \sum \pi_i^2$ <sup>[18]</sup>。

对各种质材料间的聚类分析是利用NTSYS-pc软件按基于Nei-Li遗传相似系数<sup>[21]</sup>(GS, 即Dice系

表 1 供试材料  
Table 1 Wild *Cynodon dactylon* L.Pers. accessions tested in this study

序号 No.	编号 Accession number	采集地 Origin	生境 Habit	海拔 Altitude(m)
1	Sau9935	四川, 茂县 Maoxian, Sichuan	荒地 Wasteland	1480
2	Sau9936	四川, 茂县 Maoxian, Sichuan	荒地 Wasteland	1530
3	Sau02011	四川, 汶川 Wenchuan, Sichuan	路边 Roadside	1310
4	Sau02012	四川, 金川 Jinchuan, Sichuan	路边 Roadside	2150
5	Sau02014	四川, 金川 Jinchuan, Sichuan	河边 Riverside	2130
6	Sau02015	四川, 金川 Jinchuan, Sichuan	路边 Roadside	2110
7	Sau9918	四川, 雅安 Ya'an, Sichuan	草地 Grassland	600
8	Sau02058	四川, 紫经 Yingjing, Sichuan	田埂 Field ridge	720
9	Sau02061	四川, 天全 Tianquan, Sichuan	河边 Riverside	740
10	Sau02063	四川, 天全 Tianquan, Sichuan	山坡 Hillside	630
11	Sau02064	四川, 芦山 Lushan, Sichuan	山坡 Hillside	630
12	Sau9927	四川, 宜宾 Yibin, Sichuan	河滩 Flood land	250
13	Sau9922	四川, 宜宾 Yibin, Sichuan	江边 Riverside	255
14	Sau9926	四川, 宜宾 Yibin, Sichuan	荒地 Wasteland	260
15	Sau02041	四川, 宜宾 Yibin, Sichuan	江边 Riverside	250
16	Sau02042	四川, 宜宾 Yibin, Sichuan	江边 Riverside	245
17	Sau02046	重庆, 梁平 Liangping, Chongqing	路边 Roadside	380
18	Sau9942	重庆, 长寿 Changshou, Chongqing	林地 Woodland	305
19	Sau9945	重庆, 长寿 Changshou, Chongqing	河滩 Flood land	140
20	Sau02050	重庆, 万州 Wanzhou, Chongqing	码头 Shipside	150
21	Sau06001	重庆, 云阳 Yunyang, Chongqing	河滩 Flood land	160
22	Sau02019	贵州, 荔波 Libo, Guizhou	河边 Riverside	370
23	Sau02020	贵州, 荔波 Libo, Guizhou	河滩 Flood land	360
24	Sau02022	贵州, 独山 Dushan, Guizhou	路边 Roadside	950
25	Sau02023	贵州, 独山 Dushan, Guizhou	田埂 Field ridge	970
26	Sau02024	贵州, 独山 Dushan, Guizhou	路边 Roadside	810
27	Sau02025	贵州, 独山 Dushan, Guizhou	路边 Roadside	890
28	Sau03001	西藏, 八一 Bayi, Tibet	路边 Roadside	3080
29	Sau03002	西藏, 察隅 Chayu, Tibet	路边 Roadside	2550
30	Sau03003	西藏, 察隅 Chayu, Tibet	路边 Roadside	2460
31	Sau03004	西藏, 察隅 Chayu, Tibet	路边 Roadside	2030
32	Sau03005	西藏, 察隅 Chayu, Tibet	路边 Roadside	1750

表 2 用于狗牙根SRAP分析的引物序列  
Table 2 Primer sequences used in SRAP analyses of *Cynodon dactylon* L.Pers.

上游引物 Forward primers (5' 3')	下游引物 Reverse primers (5' 3')
me1 : TGAGTCCAAACCGGATA	em1 : GACTGCGTACGAATTAAT
me3 : TGAGTCCAAACCGGAAT	em3 : GACTGCGTACGAATTGAC
me4 : TGAGTCCAAACCGGACC	em4 : GACTGCGTACGAATTGGA
me5 : TGAGTCCAAACCGGAAG	em6 : GACTGCGTACGAATTGCA
me6 : TGAGTCCAAACCGGTAA	em7 : GACTGCGTACGAATTCAA
me9 : TGAGTCCAAACCGGTAG	em8 : GACTGCGTACGAATTCTG
me12 : TGAGTCCAAACCGGTCA	em13 : GACTGCGTACGAATTAGC

数)的UPGMA法进行。而各生态地理类群的聚类分析则是先用POPGENE软件计算出各材料间的Nei氏无偏估计的遗传一致度和遗传距离<sup>[22]</sup>, 再用NTSYS-pc绘制出UPGMA聚类图。

表 3 狗牙根SRAP标记的多态性  
Table 3 Amplification results from 14 primer combination

引物对 Primer pairs bands	扩增总条带数 Total No. of polymorphic	多态性条带数 No. of polymorphic bands	多态性比率 Percentage of polymorphic bands(%)
me1-em1	12.00	8.00	66.70
me1-em3	12.00	9.00	75.00
me3-em7	13.00	10.00	76.90
me4-em1	10.00	9.00	90.00
me4-em3	13.00	13.00	100.00
me4-em4	14.00	12.00	85.70
me4-em6	12.00	9.00	75.00
me4-em8	12.00	9.00	75.00
me4-em13	9.00	6.00	66.70
me5-em4	11.00	9.00	81.80
me6-em3	9.00	5.00	55.60
me6-em6	11.00	8.00	72.70
me9-em8	10.00	9.00	90.00
me12-em1	16.00	16.00	100.00
总和 Total	164.00	132.00	
平均 Average	11.70	9.40	79.80

2 结果与分析

2.1 供试材料 SRAP 扩增产物的多态性

用 14 对引物组合对 32 份狗牙根基因组 DNA 进行 SRAP 扩增，共得到 164 条清晰可辨条带。其中，多态性条带 132 条，多态性位点百分率为 79.8%，扩增的 DNA 片段大约集中在 100 bp 至 1 000 bp 之间。平均每对引物扩增出 11.7 条带，其中 9.4 条具有多态性(表 3)，表明 SRAP 能检测出较多的遗传位点，能获的多态性较好的 PCR 结果。

2.2 供试材料的遗传相似性分析

对扩增结果采用 Nei-Li 相似系数(GS)的计算方法，得到供试材料相似性矩阵。32 份狗牙根材料的 GS 值在 0.591 到 0.957 之间，平均 GS 值为 0.759，变幅为 0.366。由相似系数矩阵可以看出，来自四川金川(Sau02015, 6 号)和四川宜宾(Sau9926, 14 号)之间的遗传相似系数最小，其遗传距离最大。而来自四川雅安(Sau9918, 7 号)和四川宜宾(Sau9922, 13 号)与来自重庆梁平(Sau02046, 17 号)和重庆万州(Sau 02050,20 号)它们相互之间的遗传相似系数最大，其遗传距离最小。以上结果表明，供试材料之间差异明显，具有较为丰富的遗传多样性。

2.3 供试材料基于 Nei-Li(Dice)遗传相似系数的聚类分析

基于遗传相似系数，利用 UPGMA 法对 32 份供试材料进行 UPGMA 聚类分析(图 1)。从聚类图可以把 32 份供试材料聚为 4 类：来自四川宜宾的材料(Sau9926, 14 号)与其余材料差异非常明显，叶片质地细腻、株丛中等偏矮，枝条密度大，自成第 I 类；

来自西藏的材料聚为第 II 类；来自重庆云阳的材料(Sau06001, 21 号)与来自贵州的材料聚为第 III 类；第 III 类比较混杂，包括来自四川阿坝的 6 份材料、四川雅安的 5 份材料、四川宜宾的 4 份材料和重庆的 4 份材料。阿坝、雅安、宜宾和重庆的生态地理环境比较相似，多为山地和丘陵，为这种聚类提供了合理性。图 1 揭示了供试材料的聚类与其地理分布、地形地貌间存在着一定的相关性。

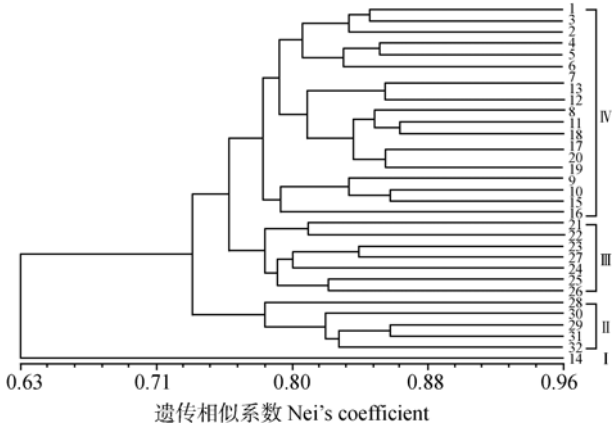


图 1 32份狗牙根基于Nei-Li相似系数的UPGMA聚类图  
Fig. 1 UPGMA dendrogram for *Cynodon dactylon* L.Pers. based on Nei-Li's genetic similarity coefficients

2.4 供试材料各生态地理类群的遗传多样性指数

参照赵汝植<sup>[23]</sup>对西南区自然区划的划分，再结合采集地的不同生态地理环境，可以把 32 份狗牙根材料分为 6 个生态地理类群，即四川阿坝类群，四川雅安类群，四川宜宾类群，重庆类群，贵州类群和西藏类群(表 4)。

6 个生态地理类群的遗传相似距离(GD,  $GD=1-GS$ )可以说明类群内部各材料间GD的大小,进而可以部分表明类群内遗传多样性的高低。某类群内部各材料间平均GD越大,则该类群的遗传多样性水平越高<sup>[24]</sup>。从表 4 可知,四川宜宾类群的平均GD值最大,与之对应的衡量该类群多样性的Shannon指数( $H_0$ )和Simpson指数( $D$ , 即Nei氏基因多样性)也是最大值。贵州类群和四川阿坝类群也体现了这个现象。

对各生态地理类群而言,物种水平上的表型多

样性 $H_{sp}=0.3586$ ,而类群水平上的表型多样性 $H_{group}=0.2351$ 。类群内和类群间的表型多样性分别是 $H_{within}=0.6556$ 和 $H_{between}=0.3444$ 。这个结果说明了类群内的遗传变异占总变异的 65.56%,而类群间的遗传变异占总变异的 34.44%。

## 2.5 供试材料各生态地理类群的聚类分析

为了了解各个生态地理类群间的关系,利用POPGENE 软件计算出各类群间的 Nei 氏遗传一致度和遗传距离的无偏估计值(表 5),然后用 NTSYS-

表 4 狗牙根各生态地理类群的遗传多样性指数

Table 4 Genetic polymorphism indexes of six eco-geographical groups of *Cynodon dactylon* L.Pers

类群 Groups	遗传距离(GD)	$D$	$H_0$	$H_{group}$	$H_{sp}$	$H_{within}$	$H_{between}$
四川阿坝 A'ba, Sichuan	0.1341	0.1525	0.2246				
四川雅安 Ya'an, Sichuan	0.1293	0.1493	0.2199				
四川宜宾 Yibin, Sichuan	0.1886	0.2193	0.3261	0.2351	0.3586	0.6556	0.3444
重庆 Chongqing	0.1122	0.1288	0.1907				
贵州 Guizhou	0.1476	0.1596	0.2356				
西藏 Tibet	0.1293	0.1427	0.2139				

GD: 各地理类群内种质材料的遗传距离的平均值;  $D$ : 基于表型(电泳条带)频率的各类群Simpson表型多样性;  $H_0$ : 基于表型(电泳条带)频率计算各个类群的Shannon表型多样性;  $H_{group}$ : 6个地理类群的平均表型多样性;  $H_{sp}$ : 把所有的材料看作一个类群时,基于表型(电泳条带)频率计算的表型多样性;  $H_{within}$ : 类群内的表型多样性;  $H_{between}$ : 类群间的表型多样性。

GD: Average genetic distance between pairs of accessions within groups;  $D$ : Degree of phenotypic diversity in the group based on Simpson index;  $H_0$ : Degree of phenotypic diversity in the group based on Shannon-Weaver index;  $H_{group}$ : Phenotypic diversity averaged over 6 groups;  $H_{sp}$ : Phenotypic diversity calculated from the phenotypic frequencies in all accessions considered together;  $H_{within}$ : Phenotypic diversity within group;  $H_{between}$ : Phenotypic diversity between groups.

表 5 各类群间的Nei氏遗传一致度和遗传距离的无偏估计值

Table 5 Nei's unbiased measures of genetic identity and genetic distance between six eco-geographical groups

类群 Groups	四川阿坝 A'ba, Sichuan	四川雅安 Ya'an, Sichuan	四川宜宾 Yibin, Sichuan	重庆 Chongqing	贵州 Guizhou	西藏 Tibet
四川阿坝 A'ba, Sichuan	—	0.9322	0.9332	0.9191	0.9165	0.8648
四川雅安 Ya'an, Sichuan	0.0702	—	0.9576	0.9252	0.9171	0.8782
四川宜宾 Yibin, Sichuan	0.0692	0.0434	—	0.9207	0.9196	0.8864
重庆 Chongqing	0.0843	0.0777	0.0826	—	0.9192	0.8780
贵州 Guizhou	0.0872	0.0866	0.0839	0.0843	—	0.8764
西藏 Tibet	0.1453	0.1299	0.1206	0.1302	0.1319	—

注: Nei氏遗传一致度(对角线上方)和遗传距离(对角线下方)。

Note: Nei's genetic identity (above diagonal) and genetic distance (below diagonal).



pc 软件进行 UPGMA 聚类(图 2)。6 个类群间的遗传一致度较高,均大于 0.865。6 个生态地理类群可以分为 5 大类:四川雅安类群与四川宜宾类群的遗传距离最小,最先聚为一类;四川阿坝类群、重庆类群、贵州类群和西藏类群各自聚为一类。聚类的结果与其所处的生态地理环境基本相符:四川雅安类群和四川宜宾类群同属于地形地貌比较相似盆地周边低山丘陵区,聚为一类;四川阿坝类群采集地属于盆周山地到川西北高山峡谷区的过渡地带,自成一类;贵州类群的采集地属于喀斯特地形地貌区域,也自成一类;西藏类群采集地基本属于青藏高原边缘高寒草原区,明显区别于其他生态地理类群;重庆类群采集地属于盆东平行岭谷区域,是我国典型的褶皱山区。

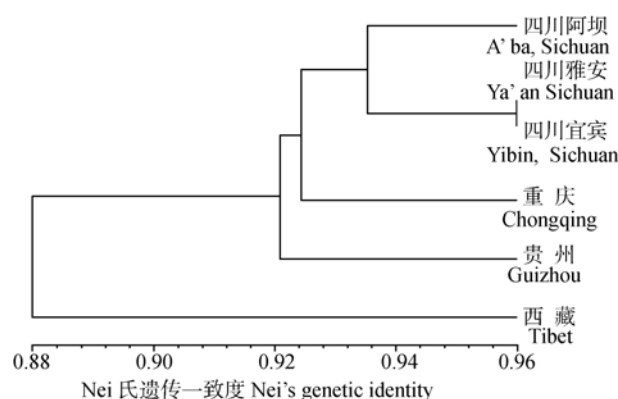


图 2 6个狗牙根生态地理类群基于Nei氏遗传一致度的聚类图

Fig. 2 Dendrogram of six eco-geographical groups based on Nei's unbiased measures of genetic identity

### 3 讨论

#### 3.1 SRAP 标记

SRAP标记结果表明,14对引物可在32份狗牙根基因组DNA的164个位点扩增出条带,多态性条带比例为79.8%,物种水平的表型多样性 $H_{sp}=0.3586$ ,在分子水平上证明了中国西南区不同野生狗牙根之间的遗传多样性较为丰富。

本实验中,野生狗牙根的SRAP标记表现出较高的多态性(79.8%),高于Wu等<sup>[7,25]</sup>用AFLP技术量化非洲狗牙根(*C. transvaalensis*)的遗传变异程度的多态性(56.8%)以及他们以AFLP技术对中国11个省区的狗牙根研究的多态性(61.1%),也高于刘伟<sup>[11]</sup>

利用RAPD、ISSR和RAMP技术对西南区野生狗牙根的遗传多样性研究所报道的结果(三种标记多态性分别为:76%、68.2%、59.4%),这些差异可能是由于材料和研究方法的不同造成的。由此可见,SRAP技术可以作为研究野生狗牙根遗传多样性简单、有效的手段。同时,本实验和刘伟报道的结果都显示了我国西南区野生狗牙根在多样的生态环境下有着丰富的遗传变异。

#### 3.2 聚类分析

从供试材料间的聚类结果(图1)可以看出,生态地理环境差异显著的材料能够各自聚为一类,如来自西藏的材料聚为一类,来自贵州的材料聚为一类,来自四川盆周山区和重庆的材料聚为一类。但这并非绝对,如来自四川宜宾的材料(Sau9926,14号)单独聚为一类;来自重庆云阳的材料(Sau06001,21号)与贵州材料聚为一类。这种聚类不完全符合地域性分布规律的原因可能有两个方面:一是基因突变,物种在进化过程中,有个别的基因发生了变异,且该突变体能较好地适应当地的环境,这个变异基因就能得到保存;二是以狗牙根顽强的无性繁殖能力,江河冲刷和人类活动等都可能使其转入异地扩展繁殖。

对生态地理类群的聚类分析表明相似生态环境或地理来源的狗牙根类群优先聚为一类,这就要求我们在收集、保护狗牙根种质资源时,应尽量保证其生态和地理环境的多样性。鉴于狗牙根是异花授粉植物,在广泛收集种质资源的同时,一定要注意采取不同措施进行种质隔离,避免传粉引起种质资源混淆。

#### 参考文献(References):

- [1] DONG Kuan-Hu, SHEN Yi-Xin. Forage Production Science. Beijing: China Agricultural Press, 2003, 7.  
董宽虎, 沈益新. 饲草生产学. 北京: 中国农业出版社, 2003, 7.
- [2] TAN Ji-Qing, TAN Zhi-Jian. Cover Plant of Turf in China. Chongqing: Chongqing Press, 1999.  
谭继清, 谭志坚. 中国草坪地被. 重庆: 重庆出版社, 1999.
- [3] Assefa S, Taliaferro CM, Anderson MP, de los Reyes BG, Edwards RM. Diversity among *Cynodon* accessions and taxa based on DNA amplification fingerprinting. *Genome*, 1999, 42: 465-474. [\[DOI\]](#)
- [4] Roodt R, Spies JJ, Burger TH. Preliminary DNA fingerprinting of the turfgrass *Cynodon dactylon* (Poaceae: Chloridoideae). *Bothealia*, 2002, 32: 117-122.

- [5] Zhang LH, Ozias-Akins P, Kochert G, Kresovich S, Dean R, Hanna W. Differentiation of bermudagrass (*Cynodon* spp.) genotypes by AFLP analyses. *Theor Appl Genet*, 1999, 98: 859–902. [\[DOI\]](#)
- [6] Karaca M, Saha S, Zipf A, Jenkins JN, Lang DJ. Genetic diversity among forage bermudagrass (*Cynodon* spp.): Evidence from chloroplast and nuclear DNA fingerprinting. *Crop Sci*, 2002, 42: 2118–2127.
- [7] Wu YQ, Taliaferro CM, Bai GH, Anderson MP. Genetic diversity of *Cynodon transvaalensis* Burt-Davy and its relatedness to hexaploid *C. dactylon* (L.) Pers. as indicated by AFLP markers. *Crop Sci*, 2005, 45: 848–853. [\[DOI\]](#)
- [8] LIANG Hui-Min. Study on genetic mark of germplasm resources and biotechnology of assist breed for salt-resistant bermudagrass [Dissertation]. Beijing Forestry University, 2003.  
梁慧敏. 狗牙根种质资源遗传标记和耐盐性生物技术辅助育种[学位论文]. 北京林业大学, 2003
- [9] FU Ling-Ling. RAPD analysis of *Cynodon dactylon* germplasm [Dissertation]. Gansu Agricultural University, 2003.  
付玲玲. 狗牙根种质资源的RAPD分析[学位论文]. 甘肃农业大学, 2003
- [10] ZHENG Yu-Hong, LIU Jian-Xiu, CHEN Shu-Yuan. RAPD analysis of merit selections of *Cynodon dactylon* in China. *Journal of Plant Resources and Environment*, 2005, 14: 6–9.  
郑玉红, 刘建秀, 陈树元. 中国狗牙根(*Cynodon dactylon*)优良选系的 RAPD 分析. 植物资源与环境学报, 2005, 14: 6–9.
- [11] LIU Wei. Genetic diversity of wild *Cynodon dactylon* germplasm in southwest of China and lawny value study [Dissertation]. Sichuan Agricultural University, 2006.  
刘伟. 西南区野生狗牙根种质资源遗传多样性与坪用价值研究[学位论文]. 四川农业大学, 2006.
- [12] Ferriol M, Pico B, Nuez F. Genetic diversity of some accessions of *Cucurbita maxima* from Spain using RAPD and SBAP markers. *Genet Resour Crop Evol*, 2003, 50: 227–238. [\[DOI\]](#)
- [13] Li G, Quiros CF. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in *Brassica*. *Theor Appl Genet*, 2001, 103: 455–461. [\[DOI\]](#)
- [14] Budak H, Shearman RC, Parmaksiz I, Gaussoin RE, Riordan TP, Dweikat I. Molecular characterization of Buffalograss germplasm using sequence-related amplified polymorphism markers. *Theor Appl Genet*, 2004, 108: 328–334. [\[DOI\]](#)
- [15] Li G, Gao M, Yang B, Quiros CF. Gene for gene alignment between the *Brassica* and *Arabidopsis* genomes by direct transcriptome mapping. *Theor Appl Genet*, 2003, 107: 168–180.
- [16] Ferriol M, Pico B, Nuez F. Genetic diversity of a germplasm collection of *Cucurbita pepo* using SRAP and AFLP markers. *Theor Appl Genet*, 2003, 107: 271–282. [\[DOI\]](#)
- [17] XU Shao-Bin, TAO Yu-Fen, YANG Zhao-Qing, CHU Jia-You. A simple and rapid methods used for silver staining and gel preservation. *Hereditas(Beijing)*, 2002, 24: 335–336.  
许绍斌, 陶玉芬, 杨昭庆, 褚嘉祐. 简单快速的 DNA 银染和胶保存方法. 遗传, 2002, 24: 335–336
- [18] CHE Yong-He, LI Li-Hui, HE Bei-Ru. Sampling strategy for genetic diversity in *Agropyron* Gaertn. based on gliadin. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2004, 5: 216–221.  
车永和, 李立会, 何蓓如. 冰草属(*Agropyron* Gaertn.)植物遗传多样性取样策略基于醇溶蛋白的研究. 植物遗传资源学报, 2004, 5: 216–221.
- [19] Wachira FN, Waugh R, Hackett CA, Powell W. Detection of genetic diversity in tea (*Camellia sinensis*) using RAPD Markers. *Genome*, 1995, 38: 201–210.
- [20] Persson K, Diaz O, von Bothmer R. Extent and patterns of RAPD variation in landraces and cultivars of rye (*Secale cereale* L.) from Northern Europe. *Hereditas*, 2001, 134: 237–243. [\[DOI\]](#)
- [21] Nei M, Li WH. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc Nat Acad Sci USA*, 1979, 76: 5269–5273. [\[DOI\]](#)
- [22] Nei M. Genetic distance between populations. *American Naturalist*, 1972, 106: 283–292. [\[DOI\]](#)
- [23] ZHAO Ru-Zhi. A study of the physico-geographical regionalization in Southwest region. *Journal of Southwest China Normal University (Natural Science)*, 1997, 22: 193–198.  
赵汝植. 西南区自然区划探讨. 西南师范大学学报(自然科学版), 1997, 22(2): 193–198.
- [24] MA Xiao, ZHOU Yong-Hong, YU Hai-Qing, ZHANG Hai-Qin. Genetic diversity of gliadin in wild germplasm of *Elymus nutans* Griseb. *Hereditas (Beijing)*, 2006, 28: 699–706.  
马啸, 周永红, 于海清, 张海琴. 野生垂穗披碱草种质的醇溶蛋白遗传多样性分析. 遗传, 2006, 28: 699–706.
- [25] Wu YQ, Taliaferro CM, Bai GH, Martin DL, Anderson JA, Anderson MP, Edwards RM. Genetic analyses of Chinese *Cynodon* accessions by flow cytometry and AFLP markers. *Crop Sci*, 2006, 46: 917–926. [\[DOI\]](#)