

## 毛乌素沙地根茎灌木羊柴的遗传多样性和克隆结构\*

<sup>1</sup>葛 颂 <sup>1</sup>王可青 <sup>2</sup>董 鸣

<sup>1</sup>(中国科学院植物研究所系统与进化植物学开放研究实验室 北京 100093)

<sup>2</sup>(中国科学院植物研究所植被数量生态学开放研究实验室 北京 100093)

**摘要** 采用淀粉凝胶电泳技术对毛乌素沙地根茎灌木羊柴 (*Hedysarum laeve* Maxim.) 8个群体的遗传多样性和克隆结构进行了初步研究。利用10个酶系统15个等位酶位点的检测表明,羊柴群体具有较高的遗传变异水平,多态位点百分率  $P = 37.0$ ,等位基因平均数  $A = 1.48$ ,平均期望杂合度  $He = 0.101$ ;但8个群体间的分化很小 ( $F_{ST} = 0.067$ );固定沙丘群体和半固定沙丘群体在等位酶水平上的变异性无显著差异。通过7个多态位点的研究表明,羊柴群体中的克隆多样性很高 ( $D = 0.9156$ ),但不同克隆在规模上相差很大。同时,群体间的克隆分化较大,广布基因型仅占3.2%。克隆空间结构的分析表明,羊柴的基株分布为游击型构型,克隆之间的镶嵌明显。

**关键词** 羊柴,遗传多样性,克隆多样性,克隆结构,克隆植物

## Genetic Diversity and Clonal Structure of *Hedysarum laeve* in Mo Us Sandland\*

<sup>1</sup>GE Song <sup>1</sup>WANG Ke-Qing <sup>2</sup>DONG Ming

<sup>1</sup>(Laboratory of Systematic and Evolutionary Botany, Institute of Botany, The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093)

<sup>2</sup>(Laboratory of Quantitative Vegetation Ecology, Institute of Botany, The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093)

**Abstract** Genetic diversity and clonal structure of eight populations of *Hedysarum laeve* Maxim. in sandland were studied using starch gel electrophoresis. Allozyme data of 15 loci of 10 enzymes indicated relatively high levels of genetic variability in this species with a proportion of polymorphic loci  $P = 37.0$  and an average number of alleles per locus of  $A = 1.48$  and an average expected heterozygosity of  $He = 0.101$ . It exhibited a low degree of population differentiation among the eight populations with  $G_{ST}$  value of 0.067. There was no significant difference of the genetic diversity between the populations in the fixed dunes and in the semi-fixed dunes. The clonal diversity was very high ( $D = 0.9156$ ) in *H. laeve* populations according to the analysis based on 7 polymorphic loci. The sizes of different clones, however, varied greatly. In addition, there was great clonal differentiation among populations with only 3.2% of the widespread genotypes. The analysis of clonal structure demonstrated that the spatial distribution pattern of *H. laeve* clones was one of the 'guerilla' architectures.

**Key words** *Hedysarum laeve*, Genetic diversity, Clonal diversity, Clonal structure, Clonal plant

植物无性繁殖是自然界普遍存在的生物学现象。其中有一类无性繁殖是在植物营养生长过程中实现的,这种过程就是克隆生长(clonal growth),具有克隆生长习性的植物即克隆植物(clonal plant)<sup>[1]</sup>。具无性繁殖习性的植物(包括克隆植物)的遗传多样性及其生态适应意义是长期以来争论不休的一个理论问题<sup>[2]</sup>,也是近年来进化生物学研究领域中的热点之一<sup>[3]</sup>。尤其是随着等位酶基因标记和DNA分子标记技术的应用,使得可靠地度量群体(population,亦称种群或居群)的遗传变异、基因流以及准确地鉴定克隆基株和分株成为可能,从而为植物繁殖

策略、克隆生长和动态等研究提供了技术上的保证<sup>[3,4]</sup>。Ellstrand和Roose<sup>[5]</sup>以及Widen等<sup>[3]</sup>的研究表明,尽管克隆植物有性繁殖的比重已明显减小,但克隆植物具有与非克隆植物同样高的遗传变异水平。虽然,从早期利用形态学和生理标记到后来的利用等位酶标记针对克隆植物已开展了不少研究,但迄今对克隆植物遗传变异产生和维持的机制,有性繁殖与无性繁殖的适应意义,克隆植物的进化过程和遗传变异在物种生存和进化中的意义等问题的认识仍十分有限,许多理论上的推测仍缺乏实验证据<sup>[3,5]</sup>。因此,采用各种可靠的遗传标记对尽可能

\* 中国科学院生物科学和技术研究特支费课题(财政部专项)(STZ-1-10)。Supported by the Grant for Biological Science and Technology, The Chinese Academy of Sciences(STZ-1-10)。

收稿日期:1998-05-15 接受日期:1998-09-10

多的克隆植物开展遗传多样性和进化研究显得十分必要和迫切。羊柴 (*Hedysarum laeve* Maxim.) 属豆科岩黄芪属, 是分布于内蒙古、陕西和宁夏境内干旱、半干旱地区的多年生小灌木, 一种优良饲料植物<sup>[6]</sup>。由于其一方面能开花结实进行有性繁殖, 另一方面又具有细长、能存活多年的地下根状茎, 实现遗传个体(基株)在水平空间的移动, 因此是典型的兼性克隆植物。资料表明, 羊柴的根状茎作为一种克隆器官, 对群体的维持、更新和发展都具有重要的意义<sup>[7]</sup>。本研究利用等位酶遗传标记, 对羊柴群体进行了遗传多样性、克隆结构(不同基因型的植株在二维空间上的分布)及其与生境条件之间关系的研究, 旨在了解克隆植物羊柴的遗传变异水平和群体遗传结构及其影响因素, 揭示群体内克隆的大小和空间格局, 为进一步揭示羊柴的克隆生长和生态适应意义提供基本资料。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验材料

本研究的取样地点位于内蒙古伊金霍洛旗毛乌素沙地的中国科学院植物研究所内蒙古伊克昭盟鄂尔多斯沙地草地生态研究站。1997年7月下旬在固定沙丘和半固定沙丘上选择了8个地点分单株进行取样, 其中3个地点为固定沙丘, 另5个地点为半固定沙丘。为避免对某一克隆的重复取样, 取样的单株间的距离均不小于2 m。在其中以羊柴占绝对优势的2个固定沙丘上设置了20 m × 20 m的方格子样方, 进行相隔2 m的定距取样, 以便研究克隆的空间结构。除N4群体的取样个体为13株以外, 其它群体的取样个体数均在15株以上。8个取样地点的位置、生境特点和每个地点的取样单株数详见图1及其注解。

### 1.2 等位酶电泳

将新鲜枝条带回后迅速研磨提取, 提取液采用 Tris-Maleate 缓冲液<sup>[8]</sup>。采用淀粉凝胶电泳技术, 所用水解淀粉为美国 Sigma 公司产品(S-4501), 淀粉胶浓度为12%。采用3种凝胶缓冲系统对15个酶系统进行了检测, 其中10个酶系统的显色正常且表现出清晰的谱带, 用于进一步的群体遗传学分析。所用凝胶缓冲系统均来自 Soltis 等<sup>[8]</sup>或稍加调整而成。其中, 天冬氨酸转氨酶(AAT)、苹果酸脱氢酶(MDH)、莽草酸脱氢酶(SKD)和亮氨酸氨基肽酶(LAP)用1号缓冲系统进行分离, 心肌黄酶(DIA)、磷酸葡萄糖异构酶(PGI)、磷酸葡萄糖变位酶(PGM)用

6号缓冲系统进行分离, 而乙醇脱氢酶(ADH)、异柠檬酸脱氢酶(IDH)和6-磷酸葡萄糖脱氢酶(PGD)则用稀释一倍的1号缓冲液进行分离。酶的组织化学染色详见文献<sup>[8]</sup>。

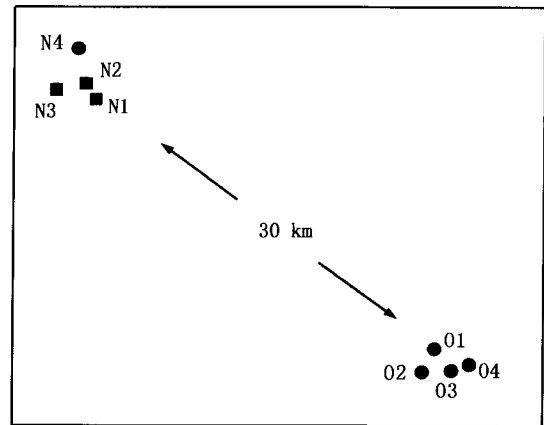


图1 羊柴8个群体的采样地点和生境

**Fig. 1** Localities and habitats of 8 populations of *Hedysarum laeve*. The squares represent fixed dunes, and the circles represent semi-fixed dunes. N1. Fixed dune in Shilongmiao(32); N2. Fixed dune in Shilongmiao(33); N3. Fixed dune in Shilongmiao(27); N4. Semi-fixed dune in Shilongmiao(13); O1. Semi-fixed dune in Shihuimiao(28); O2. Semi-fixed dune in Shihuimiao(24); O3. Semi-fixed dune in Shihuimiao(15); O4. Semi-fixed dune in Shihuimiao(15). The sample size is in the parentheses.

等位酶位点和等位基因的命名按常规<sup>[9]</sup>, 以酶的缩写字母代表该酶系统, 连字符后数字代表该酶不同的位点(当有多个位点时), 愈靠近正极(迁移率愈大)的位点以愈小数字表示。每个位点的等位基因用小写英文字母代表, 靠正极最近(迁移率最大)的等位基因以a代表, 其次以b代表, 照此类推。

### 1.3 数据分析

物种和群体的遗传变异以常规的多态位点百分率( $P$ )(proportion of polymorphic loci), 等位基因平均数( $A$ )(average number of alleles per locus), 平均期望杂合度( $He$ )(average expected heterozygosity)和观察杂合度( $Ho$ )(average observed heterozygosity)来度量。群体间的分化和遗传相似性分别采用 Wright 的  $F$ -统计量( $F$ -statistics)和 Nei 遗传一致度( $I$ )(genetic identity)来衡量。根据 Wright<sup>[10]</sup>,  $(1-F_{IS}) \times (1-F_{ST}) = (1-F_{IT})$ , 式中的  $F_{IS}$  和  $F_{IT}$  分别表示群体平均基因频率和整个物种的基因频率偏离 Hardy-Weinberg 遗传平衡的程度,  $F_{ST}$  则表示居群间的遗传变异占总遗传变异的比率。上述各项指标的计算均用 BIOSYS-1 程序<sup>[11]</sup>完成。另外, 根据 Wright<sup>[12]</sup> 的固定指数  $F$  来衡量群体是否偏离 Hardy-Weinberg 平衡, 并对群体的异交率( $t$ )进行近似估计。这些参数的来源、意

义和计算方法可参阅有关文献<sup>[10, 13, 14]</sup>。

为了进一步度量克隆的基因型多样性和空间结构, 计算实际基因型(基株)总数( $G$ ), 平均克隆大小( $N/G$ ), 局部基因型(只存在于一个群体中的基因型)百分比( $GL$ ), 广布基因型(存在于 75% 以上群体中的基因型)百分比( $Gw$ )<sup>[5]</sup>。

克隆的基因型多样性和分布均匀性分别用 Simpson 指数( $D$ )<sup>[15]</sup>和 Fager 指数( $E$ )<sup>[16]</sup>来度量。

计算公式为:

$$D = 1 - \sum \{ [ni(ni-1)] / [N(N-1)] \};$$

$$E = (D - D_{min}) / (D_{max} - D_{min});$$

$$D_{min} = (G-1)(2N-G) / N(N-1);$$

$$D_{max} = (G-1)N / G(N-1)$$

式中,  $N = \sum n_i$ , 为取样个体(分株)总数,  $G$  为基因型(基株)的总数,  $n_i$  为具有第  $i$  基因型的个体(分株)数目。

表 1 羊柴 8 个群体的遗传变异性(括号内为标准误,  $N$  为取样个体数)

Table 1 Genetic variability in eight populations of *Hedysarum laeve*

Population	$N$	$A$	$P$	$H_o$	$H_e$	$F$
N1	32	1.5	40.0	0.092 (0.041)	0.108 (0.045)	0.148
N2	33	1.7	40.0	0.080 (0.035)	0.129 (0.045)	0.620
N3	27	1.7	46.7	0.100 (0.044)	0.130 (0.052)	0.231
N4	13	1.2	20.0	0.041 (0.025)	0.054 (0.029)	0.241
O1	28	1.3	33.3	0.075 (0.034)	0.085 (0.039)	0.118
O2	24	1.4	40.0	0.039 (0.017)	0.080 (0.031)	0.513
O3	15	1.3	26.7	0.053 (0.026)	0.102 (0.046)	0.480
O4	15	1.4	33.3	0.040 (0.022)	0.073 (0.032)	0.452
Mean		1.48(0.173)	37.0(7.06)	0.071(0.023)	0.101(0.024)	0.297
Species	187	1.87	46.7	-	0.102	

$N$ . Sample size;  $A$ . Average number of alleles per locus;  $P$ . Proportion of polymorphic loci;  $H_o$ . Average observed heterozygosity;  $H_e$ . Average expected heterozygosity;  $F$ . Fixation index. Standard errors in parentheses.

## 2 结果

在本研究所分析的 10 个酶系统共 15 个等位酶位点中, 有 7 个是多态的, 即至少在 1 个群体中有 2 个以上的等位基因。其中,  $Aat$ 、 $Dia-1$ 、 $Lap$  和  $Pgm-2$  有 2 个等位基因,  $Mdh-3$  有 3 个等位基因,  $Pgm-1$  有 4 个等位基因, 而  $Pgi-3$  则有 5 个等位基因; 另 8 个位点( $Adh$ ,  $Dia-2$ ,  $Idh$ ,  $Mdh-1$ ,  $Mdh-4$ ,  $Pgd$ ,  $Pgi-1$  和  $Skd$ )为单态位点。因篇幅所限, 8 个羊柴群体在 15 个等位酶位点上的基因频率表从略。

### 2.1 遗传变异水平

羊柴 8 个群体的遗传变异性指标、固定指数( $F$ )列于表 1 中。由表可见, 如以物种为单位, 羊柴的遗传变异水平较高,  $P$  为 46.7%,  $A$  为 1.87,  $H_e$  为 0.102。在群体水平上, 8 个群体的  $P$  值变动于 20% ~ 46.7% 之间,  $A$  值 1.2 ~ 1.7,  $H_e$  值

表 2 羊柴群体分化的  $F$ -统计量分析

Table 2 Population differentiation of *Hedysarum laeve* as measured by  $F$ -statistics

Locus	$F_{IS}$	$F_{IT}$	$F_{ST}$
$Aat$	0.704	0.717	0.044
$Dia-1$	0.872	0.886	0.113
$Lap$	-0.118	-0.049	0.061
$Mdh-3$	0.128	0.184	0.064
$Pgi-2$	0.159	0.244	0.101
$Pgm-1$	0.078	0.132	0.059
$Pgm-2$	0.249	0.280	0.041
Mean	0.301	0.348	0.067

0.054 ~ 0.130。其中, 石龙庙固定沙丘 N1 群体的各项遗传多样性指标均最高, 而与 N1 相距 4 km 的半固定沙丘 N4 群体的多样性指标均最低, 可能和 N4 群体取样较少有关。两种生境相比, 固定沙丘群体与半固定沙丘群体的遗传变异水平无明显差异。



基因型在居群中的分布,得出局部基因型百分比( $GL$ )为 60.3%,广布基因型百分比( $Gw$ )仅为 3.2%,可见不同群体间克隆差异较大。

为了进一步了解克隆的空间结构,我们对 N1 和 N2 群体进行了定点、定株的取样分析。图 3 是这 2 个群体的克隆空间分布图。由图可见,在 10 m × 10 m 的方格子范围内和两个 20 m 直线上,就有多达 18(N1 群体)和 22(N2 群体)个克隆,但决大部分克隆只有 1~2 个分株。N1 群体的最大克隆为第 47 号基因型(有 7 个分株),其它克隆均不超过 3 个分株。N2 群体的最大克隆为第 49 号基因型(有 9 个分株),其它克隆均不超过 2 个分株。由图 3 可见,在 N1 群体中除 42 号和 46 号克隆的分株相邻以外,其它 6 个多分株克隆的分株均分散在样方中;N2 群体中的情况相同,最大克隆(49 号)也分散在整个样方中,说明羊柴群体中的克隆间有明显的相互交错。值得注意的是,第 47 号和第 49 号基因型存在于全部 8 个群体中,前者在 N1 和 O1 群体中为优势克隆;而后者在 N2、N4、O1、O2 和 O4 群体中为优势克隆。8 个群体除 N3、O3 以外,都存在优势克隆(多于 4 个分株的克隆),但两种生境群体在基因型多样性及空间结构(均匀性)方面并无明显差异(表 3)。

### 3 讨论

#### 3.1 等位酶标记和克隆的鉴定

对克隆植物来说,克隆基株和分株的鉴定是研究群体结构和动态的前提。如果不知道群体中的个体(分株)是由多少遗传上独立个体(基株)构成的,那么就很难准确地掌握群体的动态;建立在群体大小上的一些规律对克隆植物也不太适用,因为克隆植物的一个大群体(以分株数目来定)可能仅由少数几个基株构成,因而出现有性繁殖植物小群体所面临的遗传后果,如遗传漂变和近(自)交等<sup>[17]</sup>。由于等位酶具有共显性表达、实验操作简便等优点,是迄今用于克隆鉴定最广泛的遗传标记<sup>[3]</sup>。但由于等位酶水平上的变异性在不同物种中不同,其鉴别克隆的能力有很大差异。Widen 等<sup>[3]</sup>采用 9 个多态的等位酶位点对唇形科植物 *Glechoma hederacea* 的 191 株个体进行了克隆多样性的研究,检测出了 41 个多位点基因型(基株),同时发现鉴别位点在 6 个以下时,基因型数目随位点的增加而明显增多,但当鉴别位点从 8 个增加到 9 个时,只多检测出 1 个基因型。他们认为,克隆鉴定的可靠性在很大程度上取决于所用多态(鉴别)位点的数目,只用少数位点的鉴定

往往不准确。本研究中 8 个羊柴群体具有中等水平的遗传变异,提供了 7 个多态的等位酶位点,据此鉴定出 63 个多位点基因型,为进一步研究该种的克隆多样性和空间结构奠定了基础。当然,由图 2 可知,如果增加鉴别位点的数目,还有可能发现新的基因型(克隆)。因此,本研究鉴定为不同基因型的个体可以认为来自不同的克隆,但鉴定为同一基因型的个体则有可能来自不同的克隆。换句话说,本研究羊柴群体中的克隆多样性可能比现有的估计略高。

#### 3.2 遗传变异和克隆多样性

Hamrick 和 Godt<sup>[18]</sup>对 165 属 449 种种籽植物的等位酶研究进行了总结,结果表明,有性生殖物种与具有无性生殖习性的植物在遗传变异水平和群体遗传结构上均无显著的差异。Ellstrand 和 Roose<sup>[5]</sup>以及 Widen 等<sup>[3]</sup>针对克隆植物遗传多样性研究的总结也证实,克隆植物具有与有性生殖植物相当的遗传变异水平,但不同克隆植物的遗传变异程度、基因型多样性和空间结构有很大的差别。如 Cheliak 和 Dancik<sup>[19]</sup>对 222 株 *Populus tremuloides* 个体的检测发现,所有个体都具有不同的基因型( $D = 1.00$ );而 Levin 等<sup>[20]</sup>检测了 200 株 *Oenothera biennis* 个体,则只发现 3 个基因型( $D = 0.13$ )。更极端的情况是,有些克隆植物仅由 1 个克隆构成,如 *Gaura triangulata* 的 15 个群体 420 株个体的基因型全部一致<sup>[21]</sup>。本研究发现,羊柴群体的遗传变异水平( $P = 37.0$ ;  $A = 1.48$ ;  $He = 0.101$ )比 100 多种多年生木本植物的平均值( $P = 49.3$ ;  $A = 1.76$ ;  $He = 0.148$ )<sup>[22]</sup>稍低,而群体间的遗传分化很小。然而,如果从基因型种类和分布上看,克隆的多样性却很高( $D = 0.9156$ ),群体间的克隆分化较大,因为只有 3.2% 的基因型为广布基因型。出现这种情况的原因这可能在于,一方面由于 8 个羊柴群体的起源比较一致,故在基因频率上差异不大。另一方面,近来的研究表明,羊柴群体在花果生物量上的投资较大,有性生殖在其生活史中占有非常重要的作用<sup>[7]</sup>。因此,由于有性重组往往能产生新的基因组合(基因型),从而保持了克隆的基因型多样性。而且,羊柴群体中的许多基因型很可能具有局部的生态适应性,造成了群体之间克隆(基因型)的分化。但固定沙丘和半固定沙丘两种生境上的群体在等位酶变异水平以及克隆多样性上的差异不明显。

#### 3.3 克隆的空间结构

本研究利用 7 个等位酶标记对 8 个羊柴群体的检测,尤其是根据样方的定株分析表明,羊柴群体的

克隆多样性很高,且不同克隆间相互交错混生(图2)。对毛乌素沙地羊柴群体的生态学研究表明,在自然状态下,羊柴分株间距常达1 m,同一根茎上相继分株的植冠间通常具有相当大的间隙,基株具有典型的游击型构型<sup>[7]</sup>。有证据表明,游击型构型的克隆植物均保留了较大比重的有性繁殖,且具有很强的利用异质环境的能力,这种觅食行为常形成基株之间的镶嵌分布以利于竞争<sup>[3,23]</sup>,羊柴基株的空间分布正符合这一特点。

克隆植物中不同基因型的适合度和竞争能力是克隆植物研究中的重要问题,但有关的研究还很少<sup>[5,24]</sup>。值得注意的是,尽管羊柴群体中平均克隆所含分株数不多(每个基株平均只有1.15~2.18个分株),但不同克隆间相差很大。羊柴群体中不同克隆在规模上有如此之大的差异,意味着不同克隆(基因型)可能具有不同的生长潜力或适合度,从而可能具有不同的竞争能力。当然,本研究只是对羊柴克隆多样性和克隆空间结构的初步报道,羊柴克隆间的竞争、克隆的规模及其影响因素还有待进一步的研究。

**致谢** 感谢李新荣博士和陈玉福先生在采样过程中给予的帮助。

### 参 考 文 献

- Dong M(董鸣). Clonal growth in plants in relation to resource heterogeneity: foraging behavior. *Acta Bot Sin* (植物学报), 1996, **38**:828~835
- Asker S E, Jerling L. Apomixis in Plants. London: CRC Press, 1992.
- Widen B, Cronberg N, Widen M. Genotypic diversity, molecular markers and spatial distribution of genets in clonal plants, a literature survey. *Folia Geobot Phytotax Praha*, 1994, **29**: 245~263
- Schaal B A, O' Kane S L, Rogstad S H. DNA variation in plant populations. *Trend Ecol Evol*, 1991, **6**:329~333
- Ellstrand N C, Roose M L. Patterns of genotypic diversity in clonal plant species. *Amer J Bot*, 1987, **74**:123~131
- Ma Y-Q(马毓泉)(edited). Flora of Inner Mongolia, Vol. 3. Hohhot: Inner Mongolia People Press, 1989.
- Chen Y-F(陈玉福), Dong M(董鸣). Genet characters of *Hedysarum laeve* and the characters of its ramet population in different habitats in Mo Us sandland. *Acta Phytoecol Sin* (植物生态学报), 1999 (in press)
- Soltis D E, Haufler C H, Darrow D S, Gastony G J. Starch gel electrophoresis of ferns: a compilation of grinding buffers, gel and electrode buffers, and staining schedules. *Amer Fern J*, 1983, **73**: 9~27
- Gottlieb L D. Genetic control of glutamate oxaloacetate transaminase isozymes in the diploid plant *Stephanomeria exigua* and its allotetraploid derivative. *Biochem Genet*, 1973, **9**:97~107
- Wright S. Evolution and the Genetics of Populations. Vol 4. Variation Within and Among Natural Populations. Chicago: University of Chicago Press, 1978.
- Swofford D L, Selander R B. BIOSYS-1: A computer program for the analysis of allelic variation in population genetics and biochemical systematics. Release 1.7. Illinois Natural History Survey, Champaign, Illinois, 1989.
- Wright S. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution*, 1965, **19**:395~420
- Ge S(葛颂). Isozymes and plant evolutionary biology. In: Chen J-K(陈家宽), Yang J(杨继) eds. Plant Evolutionary Biology. Wuhan: Wuhan University Press, 1994. 153~208
- Nei M. Molecular Population Genetics and Evolution. New York: Elsevier, 1975.
- Pielou E C. An Introduction to Mathematical Ecology. New York: Wiley-Interscience, 1969.
- Fager E W. Diversity: a sampling study. *Amer Nat*, 1972, **106**:293~310
- Sipes S D, Wolf P G. Clonal structure and patterns of allozyme diversity in the rare endemic *Cycladenia humilis* var. *jonesii* (Apocynaceae). *Amer J Bot*, 1997, **84**:401~409
- Hamrick J L, Godt M J W. Allozyme diversity in plant species. In: Brown A H D, Clegg M T, Kahler A L, Weir B S eds. Plant Population Genetics, Breeding, and Genetic Resources. Sunderland: Sinauer, 1989. 43~63
- Cheliak W M, Dancik B P. Genic diversity of natural populations of a clone-forming tree *Populus tremuloides*. *Can J Genet Cytol*, 1982, **24**:611~616
- Levin D A, Howland G P, Steiner E. Protein polymorphism and genetic heterozygosity in a population of the permanent translocation heterozygote *Oenothera biennis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1972, **69**:1475~1477
- Levin D A, Kerster H W. Genetic correlates of translocation heterozygosity in plants. *Bio Sci*, 1975, **25**:724~728
- Hamrick J L, Godt M J W, Sherman-Broyles S L. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. *New For*, 1992, **6**:95~124
- Barrett J P, Silander J A. Seedling recruitment limitation in white clover (*Trifolium repens*; Leguminosae). *Amer J Bot*, 1992, **79**:643~649
- Montalvo A M, Conard S G, Conkle M T, Hodgskiss P D. Population structure, genetic diversity, and clone formation in *Quercus chrysolepis* (Fagaceae). *Amer J Bot*, 1997, **84**:1553~1564