

甘蔗细茎野生种 (*Saccharum spontaneum* L.) 的遗传多样性和系统演化研究*

陈 辉¹ 范源洪¹ 史宪伟² 蔡 青¹ 张 明¹ 张亚平²

(¹云南省农业科学院甘蔗研究所, 云南开远 661600; ²中国科学院昆明动物所细胞与分子进化开放研究实验室, 云南昆明 650223)

提 要 利用 RAPD 技术, 采用 25 个随机引物对来自中国不同生态环境的 195 份甘蔗细茎野生种材料进行了地理群体结构的遗传多样性研究。结果表明: 甘蔗细茎野生种的种内遗传变异较大, 各地理类群的遗传分化明显, 具有丰富的遗传多样性。基于分子聚类分析, 推论中国甘蔗细茎野生种的起源演化方式为: 起源于云南, 然后由云南 四川 贵州 广西 广东 海南 福建 江西; 进一步证明了云南为野生甘蔗的起源中心之一的可能性。

关键词 甘蔗细茎野生种; RAPD 分析; 遗传多样性; 系统演化

Research on Genetic Diversity and Systemic Evolution in *Saccharum spontaneum* L.

CHEN Hui¹ FAN Yuan-Hong¹ SHI Xian-Wei² CAI Qing¹ ZHANG Ming¹
ZHANG Ya-Ping²

(¹Sugarcane Research Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Yunnan Kaiyuan 661600; ²Laboratory of Cellular and Molecular Evolution, Kunming Institute of Zoology, the Chinese Academy of Sciences, Yunnan Kunming 650223, China)

Abstract 195 accessions of *S. spontaneum* L. collected from different geographical regions in China were studied, using random amplified polymorphism DNA (RAPD) analysis. The results showed that *S. spontaneum* L. in China exhibited extensive genetic variability and abundant genetic diversity. Cluster analysis based on DNA data revealed that *S. spontaneum* L. in China might be possibly originated from Yunnan province, and then, after evolution, diffused to Sichun, Guizhou, Guangxi, Guangdong, Hainan, Fujiang and Jiangxi. It was suggested, therefore, that Yunnan province was might possibly be one of the centers of origin of wild sugarcane.

Key words *Saccharum spontaneum* L.; RAPD analysis; Genetic diversity; Origin; Evolution

中国是世界甘蔗野生种质的重要分布中心之一^[1]。生态类型的多样性孕育了丰富的甘蔗

* 云南省自然科学基金重点项目资助(96C005Z)。本工作在中国科学院昆明动物所细胞与分子进化开放研究实验室完成。

致谢: 本研究得到昆明动物所细胞与分子进化开放研究实验室向余进攻、丁波、陈永久、苟世康等的帮助, 采样过程得到云南省甘蔗研究所王丽萍、马丽、夏红明等的帮助, 特此致谢!

收稿日期: 2000-04-27, 接受日期: 2000-09-11

Received on: 2000-04-27, Accepted on: 2000-09-11

野生资源,北自秦岭,南至海南岛,东起台湾东部,一直到西藏东南部的雅鲁藏布江都有野生甘蔗的踪迹,幅跨热带、亚热带两大气候区^[2]。

甘蔗细茎野生种(*S. spontaneum* L.)是甘蔗属(*Saccharum*)中分布最广、类型最多的野生种,从南纬10°至北纬40°内均有分布,是当前世界甘蔗育种中抗逆性、宿根性、适应性等优良性状的主要来源^[2~4]。目前,所有甘蔗商业品种中均有该种的血缘,因而,该种是甘蔗属及其近缘属种中最有育种和研究价值的野生种之一^[5~8]。然而,多年来对其研究尚不深入,仅从形态、细胞及生理生化方面作过一些研究^[9,10],分子水平方面的研究尚未见报道^[11~15]。

本研究采用25个随机扩增引物,对来自云南、贵州、四川、广西、广东、海南、福建、江西等主要分布省区的195份材料进行了随机扩增多态性DNA(RAPD)分析,旨在从DNA分子水平研究中国的甘蔗细茎野生种的种内遗传多样性和不同地理类群间的亲缘关系及其起源演化,以期对中国的甘蔗细茎野生种的育种研究和发掘利用提供分子生物学依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

195份供试样品采自云南省甘蔗研究所“国家甘蔗种质资源圃”。取植株顶端分生组织和幼嫩叶片于4℃运回实验室后在-70℃保存备用。

1.2 模板DNA的提取

参照范源洪等SDS改进法提取模板DNA^[16]。

1.3 RAPD 扩增反应及产物分离

扩增在Biometra(德国)PCR仪上进行。RAPD反应总体积为10μL,包括:10mmol/L Tris-HCl(pH8.9),50mmol/L KCl,2.5mmol/L MgCl₂,0.2mmol/L BSA,2.5mmol/L dNTP(上海生工),0.2μmol/L Primers(美国Operon公司生产),1U Taq DNA聚合酶(上海生工),25ng基因组DNA,反应混合物用20μL石蜡油覆盖。每个反应过程共40个循环,每个循环包括:94℃1min,36℃1min,72℃2min,首次循环前在95℃预变性3min,最后一次循环后72℃延伸5min,每次反应均设不含模板DNA的阴性对照。RAPD产物用1.5%琼脂糖电泳分离,电极缓冲液为1×TAE,溴化乙锭(EB)染色后在EAGLE EYE II™全自动凝胶成像仪下观察拍照。

1.4 数据统计分析

只统计清晰可辨、可重复的RAPD谱带。个体及群体间的遗传距离、遗传多样性指数等参照相关公式计算^[17]。

1.4.1 群体间的遗传距离(Genetic distance) $D = -\ln(D) \quad I = N_{xy}/(N_x \cdot N_y)^{1/2}$

其中 N_x , N_y 和 N_{xy} 分别是所有位点上 N_x , N_y 和 N_{xy} 的算术平均数。这里 $N_x = \sum X_i^2$, $N_y = \sum Y_i^2$, $N_{xy} = \sum X_i Y_i$, X_i , Y_i 分别是X、Y群体中第*i*条扩增片段的分布频率。

1.4.2 遗传多样性指数(Genetic diversity index),也称Shannon指数

各群体遗传多样性指数: $H_o = -\sum \pi_i \ln \pi_i$

总群体遗传多样性指数: $H_{sp} = -\sum \pi \ln \pi$

群体内遗传多样性指数: $H_{pop} = 1/n \sum H_o$

其中: π_i 是一条扩增带在第*i*个群体中出现的频率, π 是一条扩增带在总群体中出现的频率, n 为所研究的群体数。根据以上指数估测遗传多样性在群体内的分布 H_{pop}/H_{sp} 和群体

间的分布(H_{sp-Hp})/ H_{sp} 。

1.4.3 聚类分析 根据群体间的遗传距离,利用 PHYLIP 软件 3.51c 版本(Felsenstein, 1993)中的 UPGMA (Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Average)法构建群体间的系统发育树图。

2 结果与分析

2.1 RAPD 扩增结果

本研究所采用的 25 个 RAPD 随机引物中,有 5 个引物(OPF18、OPH11、OPI15、OPI05、OPM04)扩增的谱带在所有受试材料中均为单型(Monomorphic Pattern),20 个引物均表现不同程度的多态,多态频率为 53.8%~81.8%,扩增片段的分子量在 0.2~2 kb 之间,片段数在 7~15 条之间,在所检测到的 266 条扩增片段中,147 条为多态,多态片段占总扩增片段的比例为 55.3%。表 1 列出了 195 份不同地理群体材料的 25 个引物的扩增结果及引物的碱基序列。20 个引物对 195 份材料均扩增出特异性的 RAPD 标记,多态片段在 4~10 条之间,多态片断差异为 1~5 条,且多态性片段的分布从西南的云南、四川、贵州到南部的广西、广东、海南以及东南的福建、江西呈现逐渐减少的趋势,表明甘蔗细茎野生种的地区分化比较明显。图 1 列举出引物 OPF-12(ACGGTACCA G)的 RAPD 扩增结果。

2.2 甘蔗细茎野生种的遗传多样性

不同地理群体的多态分布频率见表 1,从中可看出,云南、四川、贵州类群的多态分布频率(分别为 91.7%、89.6%和 87.6%)明显高于福建、江西类群(分别为 59.3%和 51.0%),且从西南到东南,其多态分布频率逐渐降低。这表明:西南类群云南、四川、贵州内的遗传变异程度较高,群体遗传差异较大,具有丰富的遗传多样性。

不同地理类群的遗传多样性指数见表 2,从中可看出,从云南类群到江西类群,其遗传多样性指数为从 1.7126 到 0.6937,不同地理类群的遗传多样性指数差异较大,其中云南、四川、贵州类群的多样性指数明显高于福建、江西类群。

以上结果表明,细茎野生种种内不同地理群体(个体)间的异质性程度是很高的,群体遗传结构和遗传分化非常明显,具有丰富的遗传多样性。

2.3 不同地理群体的遗传分化和亲缘关系

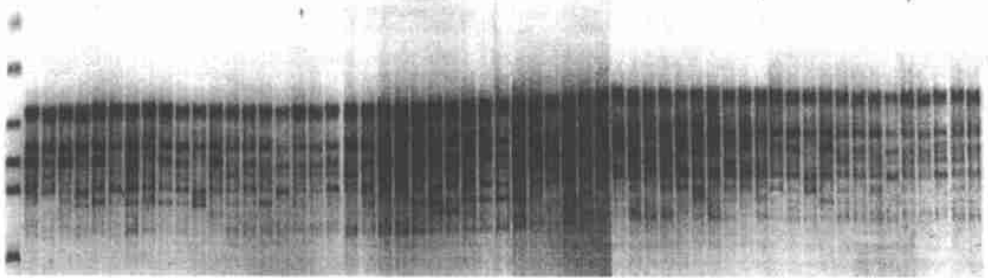
物种亲缘关系的构建是研究物种起源、进化的重要手段^[18]。本研究根据群体遗传距离公式计算出不同地理群体间的群体遗传距离,结果在 0.23 和 0.45 之间(见表 3),通过 UPGMA 法构建群体间的系统发育树(见图 2),从图中可看出,195 份材料分别聚为两个大的分支,第一个分支包括了海南和 5 个省区两个支系,在 5 个省区的支系中西南三省(云、贵、川)和两广分别聚成两个大的群体,说明它们的遗传相似性较大,具有较近的亲缘关系和起源进化过程;同样,第二分支中又分为福建与江西两个亲缘关系较近的分支或群体。其中,云南和四川的亲缘关系最近,遗传变异和系统进化较为一致,但与福建和江西的遗传差异较大,亲缘最远。该结果表明,细茎野生种的遗传分化具有明显的地理和生态分布特点(见表 4),具有相近的气候类型(属亚热带高原湿润季风气候)及地理位置(位于中国的西南)的云南与四川、贵州,广西与广东、海南(位于中国的南部,属热带湿润季风气候),福建与江西(位于中国的东南部,属亚热带湿润季风气候)分别聚在一起,表明不同地理群体内遗传分化程度低,亲缘较近,具相似的起源演化进程;不同地理群体间的遗传差异较大,遗传分化程度较高。

3 讨论

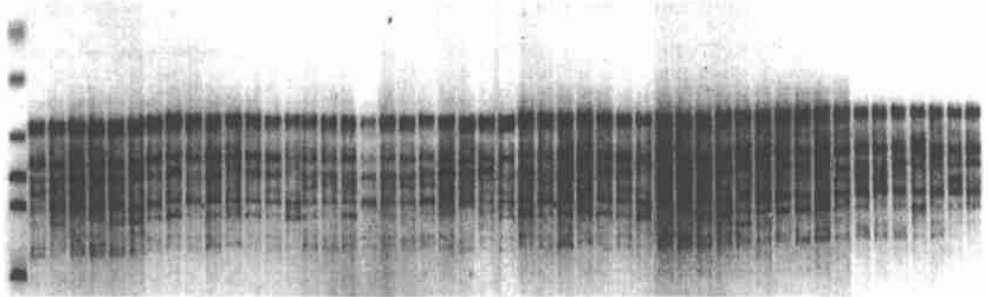
3.1 甘蔗细茎野生种的遗传多样性

遗传多样性是生物多样性研究的核心, 它可反映出物种的遗传背景、育种潜力和利用价

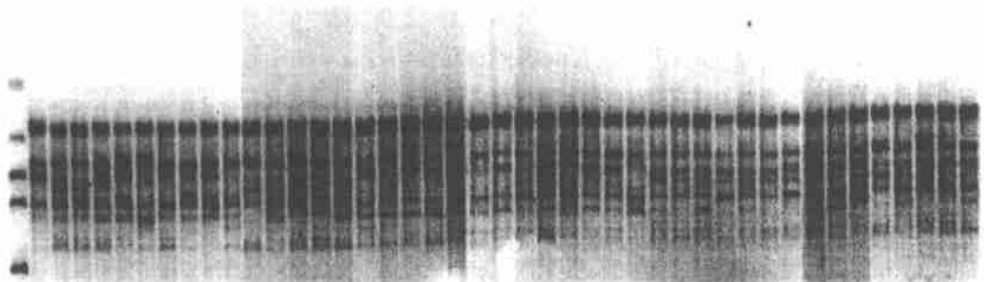
M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60



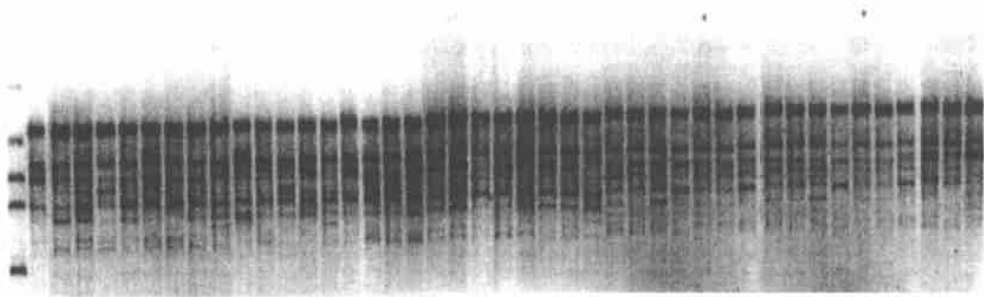
M 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100 101 102 103 104 105 106 107 108



M 109 110 111 112 113 114 115 116 117 118 119 120 121 122 123 124 125 126 127 128 129 130 131 132 133 134 135 136 137 138 139 140 141 142 143 144 145 146 147 148 149 150



M 151 152 153 154 155 156 157 158 159 160 161 162 163 164 165 166 167 168 169 170 171 172 173 174 175 176 177 178 179 180 181 182 183 184 185 186 187 188 189 190 191 192 193 194 195



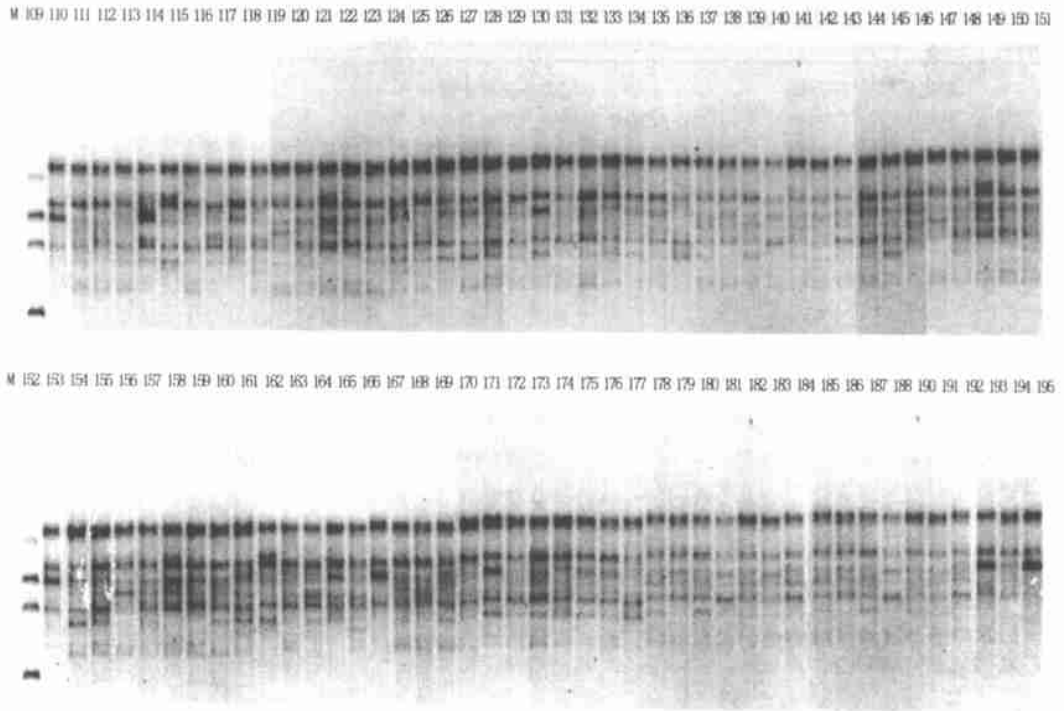


图1 195份甘蔗细茎野生种使用引物OPF-12(ACGGTACCA G)扩增的RAPD产物
 Fig 1 The RAPD patterns obtained from 195 accessions of *S. spontaneum* L. collected from China, amplified with primer OPF-12(ACGGTACCA G)

值,对优良种质的保护和发掘利用具有重要意义^[19]。本研究表明:中国甘蔗细茎野生种具有很高的遗传变异,不同地理类群间的遗传差异较大,具有丰富的遗传多样性,此结果与多年来的野外采集、考察和研究结果一致^[2, 20]:即细茎野生种分布范围甚广,在纬度10°S~40°N,海拔1~2460m内均有出现,主要分布于我国西南、华南及东南等省区,其中最多分布于云南省;此外,在缅甸、越南、泰国、印度尼西亚、马来西亚和印度等国亦均有分布。从目前的研究结果看,细茎野生种不仅形态类型多样(株高30~350cm,茎径0.2~2.0cm,锤度2.0%~22%),而且染色体类型也极其丰富(2n=60~104共10多种类型)^[21]。

中国气候生态类型的多样性决定了甘蔗细茎野生种的遗传多样性^[2]。从本研究结果看,西南部的云南、四川、贵州类群至南部沿海的广西、广东、海南类群到东南的福建、江西, RAPD谱带位点类型越来越简单,遗传多样性指数具有明显差异,表现出西南类群间的遗传变异程度及遗传多样性都明显高于南部沿海类群和东南类群。具有明显的地理分布的特点,这可能与群体材料分布地区的生态气候类型和特点直接相关,生态气

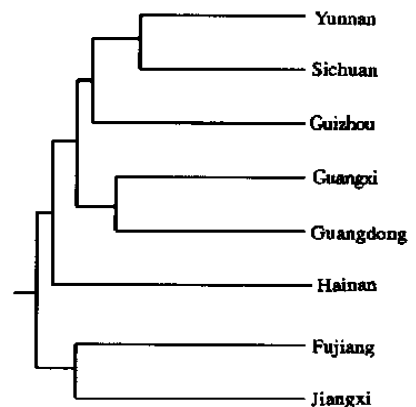


图2 中国细茎野生种不同地理类群的UPGMA系统发育树
 Fig 2 Dendrogram of different geographical colonies of *Saccharum spontaneum* L. in China generated by UPGMA cluster analysis

表 1 甘蔗细茎野生种不同地理类群 25 个引物的扩增结果
 Table 1 The results of RAPD analysis with 25 primers in different geographical colonies of *Saccharum spontaneum* L. in China

引物 Primers	标记数 Number of RAPD	多态数 Number of polymorphism	多态标记在各类群中的分布 Polymorphism within populations								多态频率% Frequency of polymorphism	碱基序列 Sequency 5—3
			云南	四川	贵州	广西	广东	海南	福建	江西		
OPA-07	8	6	6	6	5	5	5	4	5	4	75.0	GAAACGGGTG
OPA-19	13	10	9	9	9	8	9	7	7	6	76.9	CAAACGTCCG
OPB-14	15	10	9	9	8	7	6	6	4	5	66.7	TCCGCTCTGG
OPD-01	12	9	9	9	8	7	7	6	5	4	75.0	ACCGCGAA GG
OPF-01	8	4	4	4	4	3	2	2	3	1	50.0	ACGGA TCTG
OPF-05	11	9	8	8	9	7	6	6	5	4	81.8	CCGAA T TCCC
OPF-12	11	8	7	7	7	6	6	5	5	4	72.7	ACGGA T CCA G
OPF-18	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	TTCCCGGGAA
OPH-01	9	5	5	5	4	4	5	4	3	4	55.5	GGTCGGA GAA
OPH-11	11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	CTTCCGCA GT
OPH-19	9	7	6	5	5	5	4	4	4	3	77.8	CTG CCA GCC
OP I-05	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	TGT TCCA CGG
OP I-08	13	7	7	6	7	6	6	6	5	5	53.8	TTTGCCCGGT
OP I-15	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	TCA TCCGA GG
OPJ-07	13	8	7	6	6	5	5	4	4	3	61.5	CCTCTCGA CA
OPJ-09	11	7	7	7	6	6	5	4	3	3	63.6	TGA GCCTCA C
OPJ-14	13	8	6	7	6	6	5	5	4	4	61.5	CACCCGGA TG
OPJ-18	13	9	8	8	8	7	6	5	5	4	69.2	TGGTCGCA GA
OPK-09	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	CCCTACCGA C
OPK-18	14	10	9	8	9	8	8	7	6	5	71.4	CCTA GTCGA G
OPL-17	11	8	7	7	7	8	6	5	5	4	72.7	AGCCTGA GCC
OPM-04	10	6	6	5	6	5	5	4	3	4	60.0	GGGGTTGTC
OPM-07	7	5	4	5	4	4	3	4	3	3	71.4	CCGTGA CTCA
OPN-02	7	4	3	4	3	2	3	2	3	2	57.1	ACCA GGGCA
OPN-11	10	7	6	5	6	5	4	5	4	2	70.0	TCGCCGCAAA
总数 (Totals)	266	147	133	130	127	115	106	95	86	74		
多态% (Polymorphism)		55.3	91.7	89.6	87.6	79.3	73.1	65.5	59.3	51.0		

表 2 中国细茎野生种不同地理类群的遗传多样性指数
 Table 2 The genetic diversity index of different geographical colonies of *Saccharum spontaneum* L. in China

引物 Primers	YN	SC	GZ	GX	GD	HN	FJ	JX
OPA-07	2.0387	1.7673	1.4536	1.3849	1.2767	1.0885	1.1456	0.9764
OPA-19	2.0909	1.8421	1.7654	1.4308	1.5692	1.2048	1.0923	0.8732
OPB-14	1.4758	1.8122	0.9091	0.7422	0.7288	0.7059	0.4378	0.6496
OPD-01	2.1492	1.9678	1.6216	1.4358	1.2697	0.9739	0.7262	0.6519
OPF-01	1.3591	1.2943	1.0249	0.9739	0.7618	0.7618	0.8732	0.6348
OPF-05	2.2241	1.9769	2.0349	1.3851	1.0624	1.0348	0.7992	0.7567
OPF-12	1.8526	1.9769	1.7743	1.3155	1.2349	0.9849	0.8492	0.6599
OPH-01	1.5101	1.3844	1.0989	0.9432	1.1143	0.8938	0.7607	0.8349
OPH-19	1.8122	1.4278	1.3342	1.1893	0.9866	0.8654	0.7348	0.6549
OP I-08	1.4637	1.3859	1.2248	1.1049	1.0876	0.9703	0.8785	0.7786
OPJ-07	1.2917	1.0977	0.9771	0.8718	0.7185	0.6507	0.5873	0.4336
OPJ-09	1.7298	1.6348	1.3285	1.2853	1.0928	0.9385	0.6418	0.5186
OPJ-14	1.2875	1.4637	1.1524	1.0335	0.8785	0.8324	0.6545	0.5448
OPJ-18	1.8819	1.6405	1.4969	1.1721	0.9898	0.8671	0.7703	0.6479
OPK-18	1.9416	1.8803	1.6581	1.3272	1.2717	1.0068	0.8781	0.7589
OPL-17	1.9769	1.7734	1.5266	1.6534	1.2548	0.9849	0.8834	0.6599
OPM-04	1.6309	1.3154	1.4403	1.1191	1.0348	0.8779	0.5946	0.6343
OPM-07	1.7898	1.9416	1.6034	1.4432	1.0781	1.2249	0.9789	0.8744
OPN-02	1.1143	1.5533	0.9073	0.6471	0.8411	0.5489	0.5302	0.4812
OPN-11	1.6309	1.2951	1.4038	1.1438	0.9779	1.0433	0.9342	0.8495
平均(x)	1.7126	1.6216	1.3868	1.1801	1.0615	0.9230	0.7965	0.6937

表 3 甘蔗细茎野生种不同地理类群的遗传距离

Table 3 The genetic distances of different geographical colonies of *Saccharum spontaneum* L. in China

	云南(YN)	四川(SC)	贵州(GZ)	广西(GX)	广东(GD)	海南(HN)	福建(FJ)	江西(JX)
云南								
四川	0.41091							
贵州	0.27260	0.33572						
广西	0.33528	0.35942	0.26717					
广东	0.33795	0.44561	0.36867	0.33136				
海南	0.25650	0.33572	0.34728	0.27821	0.33883			
福建	0.23270	0.39135	0.28109	0.35194	0.33557	0.32547		
江西	0.33705	0.45662	0.33523	0.39101	0.35493	0.40010	0.41005	

表 4 甘蔗细茎野生种不同类群的地理分布及气候特征

Table 4 The geographical distribution and climatic characteristics of different geographical colonies of *Saccharum spontaneum* L. in China

类群 Groups	样品数 Number of materials	地理分布及气候特征 Geographical distribution and climatic characteristic
云南	86	位于中国南部边疆, 跨云贵高原西南部; 属亚热带、热带高原型湿润季风气候。
四川	36	位于中国西南, 地跨青藏高原东缘及四川盆地; 属亚热带湿润季风气候和温带、亚热带高原湿润气候。
贵州	10	位于中国西南的云贵高原东北部; 属亚热带高原湿润季风气候。
广西	13	位于中国南部边疆, 并跨云贵高原东南一隅, 南临北部湾; 属亚热带、热带湿润季风气候。
广东	18	位于中国南岭以南, 临南海; 属亚热带、热带季风气候。
海南	14	位于中国最南端, 北隔琼州海峡与广东省相望; 属热带湿润季风气候和热带海洋气候。
福建	14	位于中国华东南部沿海, 与台湾海峡相望, 并临东海; 属亚热带湿润季风气候。
江西	4	位于中国长江中下游以南; 属亚热带湿润季风气候。

候类型的不同决定了种内和种间的基因交流程度的不同; 同时, 与繁殖方式密切相关, 在自然条件下, 可同时进行有性繁殖(自交或异交)与无性繁殖。这些将为甘蔗基因与环境交互作用研究和生态育种提供重要的分子生物学依据, 对提高杂交亲本选择和育种效率具有重要的指导作用。

3.2 甘蔗细茎野生种的起源和演化

关于世界野生甘蔗的起源中心问题, 国内外的甘蔗学家们曾有许多争议, 说法不一^[13, 11~15]。有些学者认为印度半岛东南沿海经孟加拉至锡金一带为世界野生甘蔗唯一的起源中心, 有些学者则认为除印度东南沿海一带外, 还存在另一起源中心, 即中国-越南-缅甸(“金三角”)一带^[1~3, 5~8]。我们在甘蔗细茎野生种云南不同生态类群的 RAPD 分析结果中(另文报道), 初步表明了云南的甘蔗细茎野生种很可能起源于低海拔、低纬度的云南南部一带, 而后逐渐向高海拔、高纬度的西北部一带演化、扩散, 这一结果支持中国-越南-缅甸一带为野生甘蔗的另一起源中心的观点, 并提出了云南南部一带很可能为世界野生甘蔗的起源中心之一的观点。

本研究通过对来自中国不同生态地理类群的 195 份甘蔗细茎野生种(基本代表了目前该种在这些地理类群的实际分布状况)的研究表明, 云南类群在所有类群中具有最大的多态分布频率(表 1)和最高的遗传多样性指数(表 2), 是中国甘蔗细茎野生种多态类型最为丰富的

地区,进一步说明该地区的遗传多样性非常丰富,保留有更多的野生甘蔗类型,也是中国野生甘蔗分布最为广泛的省份;同时,在本研究构建的亲缘关系系统聚类图(图1)可见,西南的云南、四川和贵州,南部的广西、广东和海南,东南的福建和江西,均分别聚在一起,多态分布频率和多样性指数自西南部、南部至东南部均表现出逐渐降低的趋势;因此,结合我们及其他甘蔗学家们多年来对甘蔗种质资源的收集、考察和研究及相关的考古资料等多方面的结果,进一步推论中国的野生甘蔗很可能起源于云南,然后由云南、四川、贵州、两广、海南或福建和江西逐渐演化、扩展。这一结果有待于进一步研究论证。

参 考 文 献

- 1 周可涌. 甘蔗, 1984, 13(1): 69~83
- 2 农业部编. 中国作物遗传资源. 北京: 中国农业出版社, 1998. 499~518
- 3 骆君啸. 甘蔗学. 广州: 广东科技出版社, 1984. 1~12
- 4 萧凤回, 李富生, 何丽莲等. 甘蔗, 1996, 3(2): 1~5
- 5 Tai P Y P, J D Miller, B L Legendre. *Sugar Cane*, 1999, (3): 4~10
- 6 Daniels J, B T Roach. *Sugar Cane*, 1987, 16~22
- 7 Sreenivasan T V. *Sugarcane Varietal Improvement*. Coimbatore: Sugarcane Breeding Institute Press, 1989. 177~192
- 8 Rao J T. *Sugarcane Varietal Improvement*. Coimbatore: Sugarcane Breeding Institute Press, 1988. 83~114
- 9 林炎坤, 蔡泽霖. 广西农学院学报, 1986, (1): 21~23
- 10 陈能武, 杨荣仲, 吴才文等. 甘蔗, 1995, 2(1): 7~13
- 11 Brummer E C, Bauton, G. *Kochert Genome*, 1995, 38: 362~367
- 12 Wachiro F N, R Waugh, C A Hackett et al. *Genome*, 1995, 38: 201~210
- 13 Xiaofeng Yang, F Carlos, Quiros. *Genome*, 1995, 38: 36~44
- 14 Darò Grattapaglia, Ronald Sederoff. *Genetics*, 1994, 137: 1121~1137
- 15 Meunier J K, P A D Grimont. *Research Microbiology*, 1993, 144: 373~379
- 16 范源洪, 蔡青, 宿兵等. 西南农业学报, 1999, 12(1): 1~7
- 17 Nei M. *Genetics*, 1978, 89: 583~590
- 18 刘新芝, 彭泽斌, 傅骏骅等. 中国农业科学, 1997, 30(3): 44~51
- 19 郭辉军, 龙春林. 云南生物多样性. 昆明: 云南科技出版社, 1998. 1~10
- 20 何顺长, 杨清辉, 萧凤回等. 甘蔗, 1994, (1): 11~17
- 21 廖江雄. 甘蔗, 1998, 2(5): 10~15