

长江中游浮萍种质资源鉴定及遗传多样性分析

穆瑶佳^{1,2}, 谭德冠², 于博涵², 付莉莉², 陈婷¹, 孙雪飘², 张家明^{1,3}

(¹ 南京农业大学生命科学学院, 南京 210059; ² 中国热带农业科学院热带生物技术研究所 / 农业农村部热带作物生物学与遗传资源利用重点实验室, 海口 571101; ³ 中国热带农业科学院海南热带农业资源研究院, 海口 571101)

摘要: 浮萍为浮萍科水生植物, 具有生长繁殖快、氮磷吸收能力强及高含蛋白质和淀粉的特性, 在饲料和能源方面具有较大的开发潜力。目前尚未有系统研究我国长江中游地区浮萍种质资源的报道。本研究从我国长江中游地区 3 个省 42 个具有代表性的自然水体中共收集到浮萍种质 112 份。经形态学并结合分子生物学鉴定, 它们分属 4 个属 6 个种, 其中青萍属 (*Lemna* L.) 含 3 个种 54 份种质; 多根紫萍属 (*Spirodela* Schleid.)、少根紫萍属 (*Landoltia* Les & Crawford)、芜萍属 (*Wolffia* Horkel ex Schleid.) 均只有 1 个种, 种质数量分别为 33 份、19 份和 6 份。遗传多样性分析表明 *AtpF-AtpH* 间隔序列和 *rpS16* 内含子序列的单倍型数量分别为 11 和 18, 单倍型多样性分别为 0.748 和 0.892, 群体突变率分别为 0.03013 和 0.03507, 平均每 Kb 核苷酸差异数为 31.386 和 61.263, 核苷酸多样性分别为 0.04713 和 0.06623。本研究为我国长江中游浮萍的资源化利用奠定了基础。

关键词: 浮萍; 种质资源; 遗传多样性; *AtpF-AtpH*; *rpS16*

Identification and Genetic Diversity Analysis of Duckweed Germplasm Resources in the Middle Reaches of the Changjiang River

MU Yao-jia^{1,2}, TAN De-guan², YU Bo-han², FU Li-li², CHEN Ting¹, SUN Xue-piao², ZHANG Jia-ming^{1,3}

(¹ College of Life Science, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210059; ² Institute of Tropical Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences / Key Laboratory of Tropical Crops Biology and Genetic Resources, Ministry of Agriculture, Haikou 571101; ³ Hainan Institute of Tropical Agricultural Resources, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101)

Abstract: Duckweed, a family of aquatic plants, has the characteristics of fast growth and reproduction, strong nitrogen and phosphorus absorption capacity, and high protein and starch content. Therefore it has great potential in feed and bioenergy production. However, the information of duckweed germplasm collection and diversity analysis in the middle reaches of Changjiang River has not been systematically reported. In this study, 112 duckweed germplasms were collected from 42 representative natural aquatic habitats in three provinces of the middle reaches of the Changjiang River. These germplasm resources were classified into 4 genera and 6 species by morphological and molecular biological identification. *Lemna* contained 3 species and 54 accessions. *Spirodela*, *Landoltia* and *Wolffia* contained only 1 species, and their collected germplasm number was 33, 19 and 6, respectively. Genetic diversity analysis showed that the number of haplotypes of their *AtpF-AtpH* spacer sequences and *rpS16* intron sequences were 11 and 18, the haplotype diversity was 0.748 and 0.892, the population mutation rates were 0.03013 and 0.03507, nucleotide differences per Kb were 31.386 and 61.263 and nucleotide diversity was 0.04713 and 0.06623, respectively. This study plays a key role for the utilization of duckweed in the middle reaches of the Changjiang River.

Key words: duckweed; germplasm resource; genetic diversity; *AtpF-AtpH*; *rpS16*

收稿日期: 2019-12-05 修回日期: 2019-12-26 网络出版日期: 2020-01-20

URL: <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20191205001>

第一作者主要研究方向为浮萍种质资源收集、鉴定与应用, E-mail: 297080488@qq.com

通信作者: 张家明, 主要研究方向为农村生态与生物能源, E-mail: zhangjiaming@itbb.org.com

基金项目: 海南省重点研发计划 (ZDYF2018241); 中国热带农业科学院基本科研业务费专项资金 (1630052019021, 1630052016009)

Foundation project: Hainan Province Key R & D Plan (ZDYF2018241), Central Public-interest Scientific Institution Basal Research Fund for Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences (1630052019021, 1630052016009)

浮萍为浮萍科水面浮生植物,主要生长于水田、池沼及其他静水水域中,仅由叶状体和根组成,有些物种没有根,是被子植物中形体最小、结构最简单的植物之一^[1-3]。浮萍在全世界均有分布,共有青萍(*Lemna* L.)、多根紫萍(*Spirodela* Schleid.)、少根紫萍(*Landoltia* Les & Crawford)、芜萍(*Wolffia* Horkel ex Schleid.)和扁芜萍(*Wolffiella* Hege lm.) 5 个属,37 个种^[4]。目前发现在我国存在 4 个属,10 个种^[5]。浮萍具有繁殖速率快的特性,几乎接近指数增长;具有高效吸收水中氮、磷等养分的特性,可用于水体生态修复,改善水体水质,减少水体富营养化程度^[6]。有些浮萍品种还具有高含量的蛋白质和淀粉,可作为新型饲料源^[7-8]。鉴于浮萍具有上述特性,一般认为浮萍具有极大的开发潜力,已在沼气和乙醇发酵及饲料生产等方面得到应用^[9-11]。

我国长江中游地区主要包括湖南、湖北和江西等 3 个省份,该地区为亚热带季风气候,夏季高温多雨,冬季温和少雨,适合浮萍科植物的生长,遗传多样性相对较丰富。目前尚未有系统研究该地区浮萍种质资源的报道^[12]。本研究在该地区采集 112 株浮萍种质资源,利用形态学和分子生物学方法^[13-14]进行了物种鉴定和遗传多样性研究,为今后我国长江中游浮萍的资源化利用奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 浮萍种质资源的收集与保存

从我国长江中游地区的湖北、湖南、江西 3 个省份的 42 个具有代表性的自然水体中收集浮萍种质资源,并记录具体信息(详见 <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20191205001>, 附表 1)。随后

将采集的浮萍种质带回实验室,用蒸馏水冲洗干净后,挑选长势好的浮萍培养于无糖的液体 N 培养基中。此后每天对浮萍种质进行清洗并更换新的培养液,连续培养 15 d。待浮萍长势良好并繁殖到一定数量,进行消毒灭菌处理。于超净工作台内用 5% 的市售蓝月亮牌漂白水(有效氯 ≥ 40 g/L)处理 3 min,无菌水清洗 5 遍,接种于 PH 5.5 含 1% 蔗糖的固体 N 培养基中,24 °C 光照条件下培养,1 周后将无菌的株系放入种质资源库进行保存。

1.2 形态学的鉴定

采用显微镜或肉眼等方法观察浮萍叶片的形态、大小、颜色,根系的数目,叶背的颜色等特征,并依据 Landolt^[15]对各种属的描述对采集的浮萍种质进行初步的鉴定。

1.3 DNA 提取与 PCR 扩增

去除各浮萍种质的根,用 Hi-DNAsecure Plant Kit(天根试剂公司,北京)高效植物基因组 DNA 提取试剂盒分别提取各浮萍种质叶状体的 DNA,将提取的 DNA 保存于 -20 °C 冰箱内备用。

分别对各浮萍种质叶绿体基因组中 *AtpF-AtpH* 间隔序列和 *rpS16* 内含子序列进行扩增,具体的扩增引物见表 1。扩增反应体系为 50 μ L: 分别加入 25 μ L 2xTaq PCR 预混液(康维试剂公司,北京)、22 μ L ddH₂O、上下游引物各 1 μ L、1 μ L 模板。*AtpF-AtpH* 间隔序列扩增程序为: 94 °C 起始变性 4 min, 94 °C 变性 30 s, 58 °C 退火 45 s, 72 °C 延伸 1 min, 扩增 34 个循环,最后 72 °C 延伸 7 min。*rpS16* 内含子序列的扩增程序退火温度为 50 °C,其余均与 *AtpF-AtpH* 间隔序列的 PCR 程序相同。PCR 扩增结束后进行电泳检测扩增效果。

表 1 *AtpF-AtpH* 和 *rpS16* 序列扩增引物

Table 1 *AtpF-AtpH* and *rpS16* sequence amplification primers

目标序列 Target sequence	引物 primer	引物序列 Primer sequences
<i>AtpF-AtpH</i>	HNP307(上游引物)	5'-ACTCGCACACACTCCCTTCC-3'
	HNP308(下游引物)	5'-GCTTTTATGGAAGCTTTAACAAT-3'
<i>rpS16</i>	rpS16F(上游引物)	5'-AAACGATGTGGTARAAAGCAAC-3'
	rpS16R(下游引物)	5'-TATCGAATCSTTGCAATWGATGTT-3'

1.4 序列分析及物种分子鉴定

将各浮萍种质 PCR 扩增产物送往华大公司测序,测序结果用 MacVector 15 软件进行拼接。为使分类结果更加准确可靠,分别用 *AtpF-AtpH* 间隔序列、*rpS16* 内含子序列以及用 MacVector 15 软

件将 *AtpF-AtpH* 间隔序列与 *rpS16* 内含子序列融合成为一个整体的序列分别与已知的 37 个浮萍物种的序列(详见 <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20191205001>, 附表 2)进行比对分析,用 Mega7.0 软件构建系统发育树,确定所收集的浮萍

种质的类别,最后用 DnaSP5.10 对各浮萍种质的叶绿体 *AtpF-AtpH* 间隔序列和 *rpS16* 内含子序列的单倍型数量、单倍型多样性、群体突变率、平均核苷酸差异数、核苷酸多样性进行遗传多样性分析。

2 结果与分析

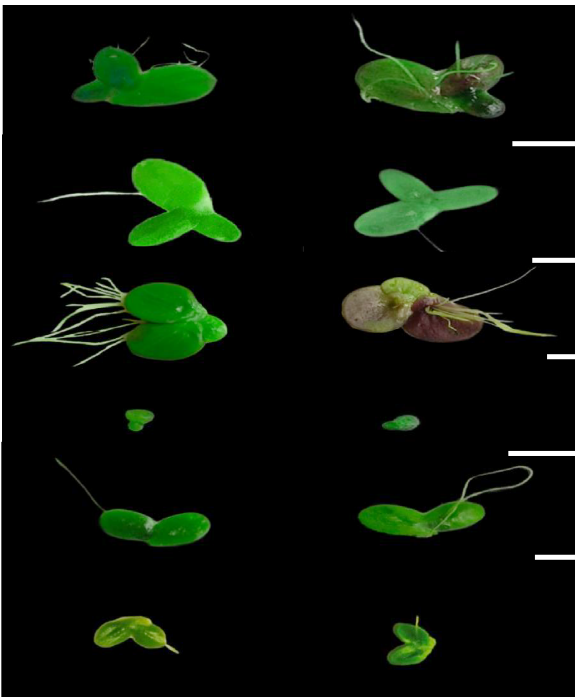
2.1 形态学鉴定

显微镜下对各浮萍种质叶状体和根进行观察(图 1),发现从长江中游地区采集到的 112 株浮萍种质资源中含有青萍属、多根紫萍属、少根紫萍属和芜萍属 4 个属,其中青萍属共 54 份种质,多根紫萍属共 34 份种质,少根紫萍属共 18 份种质,芜萍属 6 份种质(表 2)。

2.2 序列分析及物种分子鉴定

112 份浮萍种质均成功提取出 DNA,通过 PCR 方法扩增到 112 份浮萍种质 *AtpF-AtpH* 间隔序列的片段长度约为 650 bp, *rpS16* 内含子序列片段长度约为 1000 bp(图 2)。

根据浮萍种质叶绿体 *AtpF-AtpH* 间隔序列和 *rpS16* 内含子序列构建系统发育树(图 3),结果表明来源于长江中游地区的 112 份浮萍种质共分为 4 个属 6 个种。青萍属共 54 份种质,含有 3 个种,其中以 HB1203 和 JX0101 为代表的细脉萍(*Lemna aequinoctialis* Welw.)共 44 份种质,以 HB0101 为代表的小青萍(*Lemna minor* L.)共 9 份种质,以 JX2003 为代表的稀脉浮萍(*Lemna perpusilla* Torr.)仅有 1



从上往下依次为少根紫萍、细脉萍、多根紫萍、球叶芜萍、小青萍、稀脉浮萍。左侧为浮萍正面图,右侧为浮萍背面图
From top to bottom: *Landoltia punctata* (G.Meyer) Les & Crawford, *Lemna aequinoctialis* Welw., *Spirodela polyrrhiza* (L.) Schleid., *Wolffia globosa* (Roxb.) Hartog Plas, *Lemna minor* L., *Lemna perpusilla* Torr. The left side is the front view of duckweed, the right side is the back view of duckweed

图 1 代表性浮萍株系的正面和背面形态

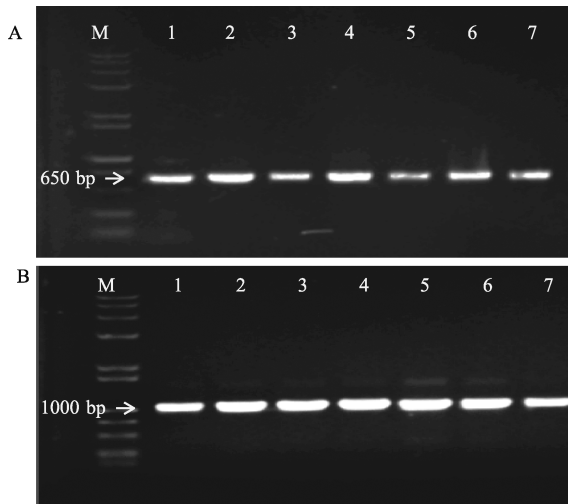
Fig.1 Morphology of the dorsal and ventral sides of representative strains

表 2 长江中游地区浮萍种质的形态学分类

Table 2 Morphological classification of duckweed strains in the Central Changjiang River

属名 Generic Name	编号 Accession	形态学特征 Morphological features
青萍属	HB0101, HB0202, HB0204, HB0302, HB0303, HB0401, HB0501, HB0701, HB0801, HB1203, HB1502, HB1503, HB1504, HB1505, HB1103, HB1602, HB1701, HB1702, HB1703, HB1704, HB1705, HB1803, HB1804, HN0302, HN0502, HN0604, HN0703, HN0801, HN1102, HN1203, HB0702, JX0101, JX0202, JX0302, JX0402, JX0502, JX0601, JX0602, JX0701, JX0801, JX0901, JX1002, JX1201, JX1401, JX1602, JX1603, JX1801, JX1802, JX1901, JX1902, JX2002, JX003, JX2102, JX2103	叶状体扁平,叶面和叶背均为绿色,长度约为 3~4 mm,宽度约为 2~3 mm,每个叶状体上仅有 1 条根,根长 11~23 mm
多根紫萍属	HB0201, HB0203, HB0301, HB0305, HB0402, HB0502, HB0603, HB0703, HB0802, HB1101, HB1104, HB1105, HB1202, HB1201, HB1302, HB1303, HB1501, HB1801, HN0301, HN0401, HN0501, HN0601, HN0701, HN0702, HN0803, JX0201, JX0301, JX0401, JX0501, JX1001, JX1601, JX1701, JX2001, JX2101	叶状体扁平,叶面为绿色,叶背为紫色,长度约为 6~9 mm,宽度约为 3~7 mm,约 3~4 个叶状体,每个叶状体下 4~10 条根,长 18~30 mm
少根紫萍属	HB0602, HB1102, HB1301, HB1401, HB1601, HB1802, HN0101, HN0201, HN0202, HN0203, HN0602, HN0605, HN0606, HN0901, HN1001, HN1003, HN1101, HN1201	叶状体为水滴形,叶面为深绿色,叶背呈紫色,长度约为 2~4 mm,宽度约为 2~3 mm,每个叶状体下有 3~5 条根,长 17~28 mm
芜萍属	HB0601, HB1002, HB0604, HN0102, HN0103, HB1202	无根,仅由叶状体组成,成细小颗粒状

份。多根紫萍属共 33 份种质,主要是以 HB0201 为代表的多根紫萍 (*Spirodela polyrhiza* (L.) Schleid.)。少根紫萍属共 19 份种质,主要是以 HN0201 为代表的少根紫萍 (*Landoltia punctata* (G.Meyer) Les & Crawford)。芜萍属共 6 份种质,主要是以 HB0601 为代表的球状芜萍 (*Wolffia globosa* (Roxb.) Hartog & Plas)。



A: *AtpF-AtpH*, B: *rps16*

M: D15000+2000marker, 1: HB0801, 2: HB0802, 3: HB1001, 4: HN0602, 5: HN0602, 6: HN0604, 7: HN0605

图 2 部分浮萍种质 DNA 扩增产物的凝胶电泳图
Fig.2 Gel electrophoresis of DNA amplification products of some duckweed germplasms

2.3 遗传多样性分析

将各浮萍种质的遗传多样性进行分析,得到长江中游地区 112 份浮萍种质叶绿体 *AtpF-AtpH* 间隔序列的单倍型数量、单倍型多样性、群体突变率、平均每 Kb 核苷酸差异数、核苷酸多样性均低于 *rpS16* 内含子序列(表 3)。总体上, *rpS16* 内含子序列比 *AtpF-AtpH* 间隔序列具有更高的遗传多样性。

将青萍属、多根紫萍属、少根紫萍属、芜萍属的遗传多样性分别进行分析,各种属的 *AtpF-AtpH* 间隔序列和 *rpS16* 内含子序列的单倍型数量、单倍型多样性、群体突变率、平均每 Kb 核苷酸差异数、核苷酸多样性见表 4,结果表明青萍属的遗传多样性最丰富,其次为芜萍属,而多根紫萍属和少根紫萍属遗传多样性相对比较贫乏,可能因为青萍属中有 3 个不同的浮萍种,而多根紫萍属和少根紫萍属中都仅包含 1 个浮萍种。

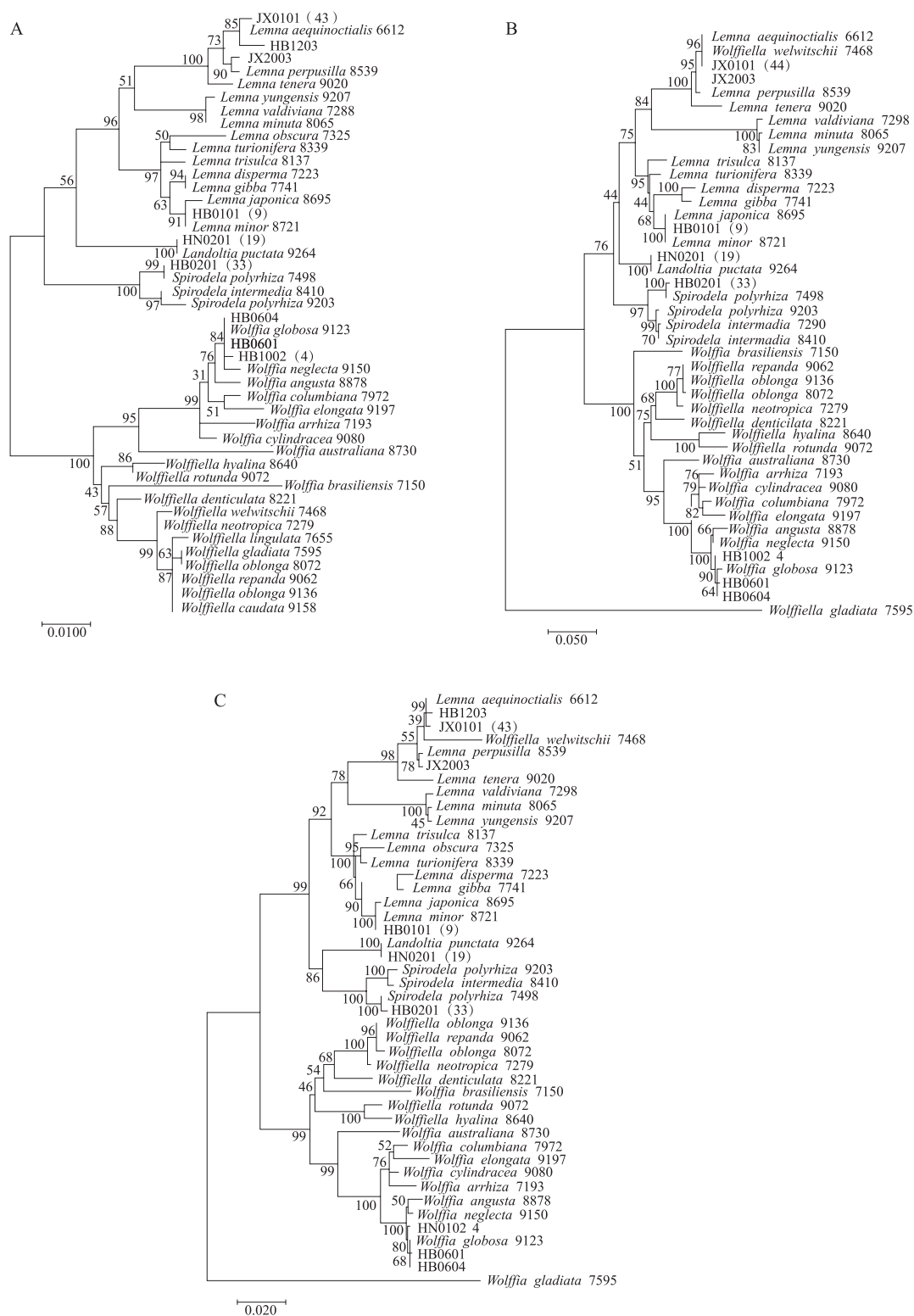
3 讨论

我国地幅辽阔,地区间气候条件存在差异,特别是南北地区,导致浮萍种类分布也存在区域差别,

南方地区浮萍种类一般比北方地区的多。如我国海南地区共发现浮萍 4 属 4 个种,分别为青萍属的细脉萍、紫萍属的多根紫萍、少根紫萍属的少根紫萍、芜萍属的球叶芜萍^[16-18]。福建地区的浮萍种质与海南地区基本相同^[19],在浙江、江苏等长江下游地区发现浮萍 4 属 5 个种,分别为紫萍属的多根紫萍,芜萍属的球叶芜萍,青萍属的品萍、细脉萍,少根紫萍属的少根紫萍^[20]。但我国的东北部吉林省内仅发现 2 属 4 个种,分别为紫萍属的多根紫萍,青萍属的稀脉浮萍、小青萍和品萍 (*Lemna turionifera* Landolt)^[5]。

长江中游地区属于亚热带季风气候,光热、水资源较丰富,冬季温度普遍在 0℃ 以上,夏季平均温度一般为 25℃ 左右,夏季气温符合浮萍生长的最适温度,因此存在较多的浮萍种类。本研究采集到的 112 份浮萍种质中共有 4 个属 6 个种,分别为青萍属的细脉萍、小青萍、稀脉浮萍,紫萍属的多根紫萍,少根紫萍属的少根紫萍,芜萍属的球叶芜萍。虽然长江中游地区与长江下游地区因气候特点相差不多,也属于同一水系,但此次在长江中游采集到的浮萍种类与已报道的长江下游的浮萍种类有显著差异,其中本次收集到的稀脉浮萍和小青萍在长江下游没有发现;而长江下游发现的品萍在本次收集的种质中没有。其原因可能有 2 个方面,一是两地的研究都存在采集范围不够的问题,二是采集季节。有些浮萍物种的分布具有季节性。另外,本次在长江中游发现的稀脉浮萍一般分布在我国东北地区,在南方地区鲜有,可能为北方的飞禽携带过去。通过文献[15-20]的比较发现我国无论是严寒地区还是气候温和地区均有多根紫萍和细脉萍,两者对气候的适应范围较为广泛,而少根紫萍和芜萍在我国东北地区并未发现,主要分布在淮河以南地区。

本研究将 112 份浮萍种质进行形态学分类,根据浮萍叶状体和根的形态进行观察,初步得出青萍属共 54 份种质,紫萍属共 34 份种质,少根紫萍属共 18 份种质,芜萍属 6 份种质。将浮萍种质的 *AtpF-AtpH* 间隔序列和 *rpS16* 内含子序列与已确定种属的浮萍种质资源库的序列进行比对分析并构建系统发育树,两个序列构建的系统发育树得到的各浮萍种属的分类结果相同,将两个序列拼接构建系统发育树,得到的结果与 *rpS16* 内含子序列构建的系统发育树一致。由于 *rpS16* 内含子序列碱基数多,两者拼接后 *rpS16* 序列占据主要的部分。



A: 根据 *AtpF-AtpH* 间隔序列构建; B: 根据 *rpS16* 内含子序列构建; C: 根据 *AtpF-AtpH* 间隔序列与 *rpS16* 内含子融合序列构建。
 括号内表示相同物种的种质总数

A: Based on *AtpF-AtpH* interval sequence, B: Based on *rpS16* intron sequence, C: Based on the fusion sequence of *AtpF-AtpH* spacer and *rpS16* intron. The total numbers of germplasm of same species were shown in parentheses

图3 我国长江中游地区 112 份浮萍种质的系统发育树

Fig.3 Phylogenetic trees of 112 duckweed germplasm collected from the middle reaches of Changjiang River

表 3 我国长江中游地区浮萍科遗传多样性分析
Table 3 Genetic diversity analysis of duckweed in the middle reaches of Changjiang river

项目 Type	<i>AtpF-AtpH</i>	<i>rpS16</i>
单倍型数量 (h) Number of Haplotypes	11.00000	18.00000
单倍型多样性 (Hd) Haplotype (gene) diversity	0.74800	0.89200
群体突变率 (θW) Theta (per site) from S	0.03013	0.03507
平均核苷酸差异数 (Kb) Average number of nucleotide differences	31.38600	61.26300
核苷酸多样性 (Pi) Nucleotide diversity	0.04713	0.06623

表 4 我国长江中游地区各浮萍属遗传多样性分析
Table 4 Genetic diversity of duckweed genera in the middle reaches of Changjiang River

项目 Type	青萍属 <i>Lemna</i>		多根紫萍属 <i>Spirodela</i>		少根紫萍属 <i>Landoltia</i>		芜萍属 <i>Wolffia</i>	
	<i>AtpF-AtpH</i>	<i>rpS16</i>	<i>AtpF-AtpH</i>	<i>rpS16</i>	<i>AtpF-AtpH</i>	<i>rpS16</i>	<i>AtpF-AtpH</i>	<i>rpS16</i>
单倍型数量 (h) Number of Haplotypes	5.00000	4.00000	1.00000	4.00000	2.00000	2.00000	2.00000	8.00000
单倍型多样性 (Hd) Haplotype (gene) diversity	0.35500	0.64700	0.00000	0.59200	0.10500	0.51400	0.53300	0.90900
群体突变率 (θW) Theta (per site) from S	0.01158	0.01690	0.00000	0.00820	0.00039	0.00068	0.00184	0.00383
平均核苷酸差异数 (Kb) Average number of nucleotide differences	9.09700	25.99300	0.00000	1.69100	0.10500	1.54100	1.60000	5.45500
核苷酸多样性 (Pi) Nucleotide diversity	0.01328	0.02680	0.00000	0.00166	0.00014	0.00146	0.00224	0.00522

分子生物学鉴定结果与形态鉴定结果存在一些差异,比如 HB1803 初步形态鉴定为青萍属,但分子鉴定为少根紫萍,可能是由于浮萍在不同的自然环境下生长其形态会发生变化,使得形态学鉴定出现一些误差,因此鉴定结果应以分子生物学鉴定结果为准。

通过各地区浮萍科植物遗传多样性的对比可以发现长江中游地区浮萍遗传多样性比较丰富,可能因为长江中游地区气候、光照、湿度等自然条件适合浮萍种质的生长,为浮萍种质的遗传多样性创造了条件。其中 *rpS16* 序列的多样性高于 *AtpF-AtpH* 序列。浮萍的种类不同,生长地区不同,生物学特性也有所不同。近年来,由于原油和天然气的储量有限以及使用化石燃料对环境造成的影响,全世界对可再生能源生产的兴趣日益浓厚。浮萍的淀粉含量与其生长条件和种质有关,部分种质的浮萍可以获得与玉米相当的淀粉含量,因此许多研究人员利用浮萍来生产燃料乙醇。同时部分浮萍种质的蛋白含量高、氨基酸组成平衡,可以作为动物饲料的优质原料^[21-24]。本研究对我国长江中游浮萍进行遗传多样性研究,丰富了我国浮萍种质资源,为今后对该地区浮萍种质的应用提供了参考依据。

参考文献

[1] 万合锋,武玉祥,秦华军,龙云川,刘勇,袁果. 浮萍科植物

水环境修复及其资源化利用综述. 江苏农业科学, 2018, 46 (2): 6-10
Wan H F, Wu Y X, Qin H J, Long Y C, Liu Y, Yuan G. A review on the water environment restoration and resource utilization of duckweed plants. Jiangsu Agricultural Sciences, 2018, 46 (2): 6-10
[2] Appenroth K J, Borisjuk N, Lam E. Telling duckweed apart: genotyping technologies for the Lemnaceae. Chinese Journal of Applied & Environmental Biology, 2013, 19 (1): 1-10
[3] 黄猛,许亚良, Khaeso K, 孙雪飘, 张家明. 水杨酸诱导膨胀浮萍 (*Lemna gibba* SH0204) 开花. 植物生理学报, 2015, 51 (4): 559-565
Huang M, Xu Y L, Khaeso K, Sun X P, Zhang J M. Flower-induction of *Lemna gibba* SH0204 by salicylic acid. Plant Physiology Journal, 2015, 51 (4): 559-565
[4] 于昌江,朱明,马玉彬,于丽,周功克. 新型能源植物浮萍的研究进展. 生命科学, 2014, 26 (5): 458-464
Yu C J, Zhu M, Ma Y B, Yu L, Zhou G K. Advances in research on duckweeds a new energy plant. Chinese Bulletin of Life Sciences, 2014, 26 (5): 458-464
[5] 张震宇,韩冰莹,孙雪飘,付莉莉,叶松建,张家明. 典型温带季风地区浮萍科植物遗传多样性. 分子植物育种, 2018, 16 (2): 656-666
Zhang Z Y, Han B Y, Sun X P, Fu L L, Ye S J, Zhang J M. Genetic diversity of Lemnaceae plants in typical temperate monsoon regions. Molecular Plant Breeding, 2018, 16 (2): 656-666
[6] 李长根,韩庆保,姜兆全,钱杨. 浮萍水体生态修复及资源化开发利用. 生物学通报, 2018, 53 (3): 10-11
Li C G, Han Q B, Jiang Z Q, Qian Y. Ecological restoration and resource exploitation of duckweed water body. Biology Bulletin, 2018, 53 (3): 10-11

- [7] 张植元, 范泽, 魏东, 乔秀, 白东清, 张彦俊, 张滕闲. 饲料浮萍水平对大正三色锦鲤抗氧化能力、免疫力及消化酶活性的影响. 中国饲料, 2017, (2): 40-44
Zhang Z Y, Fan Z, Wei D, Qiao X, Bai D Q, Zhang Y J, Zhang T X. Effect of feed duckweed level on antioxidant capacity, immunity and digestive enzyme activity of Dazheng Tricolor Koi. China Feed, 2017 (2): 40-44
- [8] Kabir A, Hossain M, Rahman M. Use of duckweed as feed for fishes in polyculture. Agriculture & Rural Development, 2009, 7 (7): 157-160
- [9] 王清春, 刘玉升. 浮萍生物质资源利用研究进展. 山东农业科学, 2016, 48 (6): 152-155
Wang Q C, Liu Y S. Research progress on the utilization of duckweed biomass resources. Shandong Agricultural Sciences, 2016, 48 (6): 152-155
- [10] Cheng J J, Stomp A M. Growing duckweed to recover nutrients from wastewaters and for production of fuel ethanol and animal feed. Clean Soil Air Water, 2009, 37 (1): 17-26
- [11] 姜楠, 任洪艳, 阮文权, 廖家林. 浮萍与剩余污泥厌氧消化产沼气实验. 环境工程学报, 2017, 11 (8): 4757-4765
Jiang N, Ren H Y, Ruan W Q, Liao J L. Anaerobic digestion of biogas from duckweed and excess sludge. Journal of Environmental Engineering, 2017, 11 (8): 4757-4765
- [12] 王敏雅, 陆菲, 毛杉杉, 李岚, 张琼, 刘莉, 采克俊, 曹访. 利用分子遗传标记分析浙江地区浮萍多样性. 安徽农业科学, 2012, 40 (31): 15127-15128, 15218
Wang M Y, Lu F, Mao S S, Li L, Zhang Q, Liu L, Cai K J, Cao F. Study on diversity of duckweeds in Zhejiang province using molecular genetics markers. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2012, 40 (31): 15127-15128, 15218
- [13] Martyrosian E V, Ryzhova N N, Kochieva E Z, Skryabin K G. Analysis of chloroplast *rps16* intron sequences in Lemnaceae. Molecular Biology, 2009, 43 (1): 32-38
- [14] Wang W, Wu Y, Yan Y, Ermakova M, Kerstetter R, Messing J. DNA barcoding of the Lemnaceae, a family of aquatic monocots. BMC Plant Biology, 2010, 10: 1-11
- [15] Landolt E. Biosystematic investigations in the family of duckweeds (Lemnaceae) Vol. 2: The family of Lemnaceae: a monographic study. — Morphology, karyology, ecology, geographic distribution, nomenclature, descriptions. Zürich: Eidgenössische Technische Hochschule Zürich, 1986: 13-127
- [16] 薛慧玲, 张云峰, 陈祈磊, 赵海, 李红梅. 浮萍形态分类鉴定与染色体观察. 北方园艺, 2014 (16): 88-92
Xue H L, Zhang Y F, Chen Q L, Zhao H, Li H M. Morphological identification and chromosome observation of duckweed. Northern Horticulture, 2014 (16): 88-92
- [17] 许亚良. 海南岛浮萍种质资源收集、遗传多样性及应用前景分析. 武汉: 华中农业大学, 2014
Xu Y L. Collection, genetic diversity and application prospects of duckweed germplasm resources in Hainan island. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2014
- [18] Xu Y L, Ma S, Huang M. Species distribution, genetic diversity and barcoding in the duckweed family (Lemnaceae). Hydrobiologia, 2015, 743: 75-87
- [19] 许亚良, 张家明. 海南岛浮萍群落的分别及影响群落结果的因素. 热带生物学报, 2015, 6 (3): 80-85
Xu Y L, Zhang J M. Differences of duckweed community in Hainan island and factors affecting community outcome. Journal of Tropical Biology, 2015, 6 (3): 80-85
- [20] 吴雪飞, 刘璐嘉, 马晗, 刘杨, 周明耀, 钱晓晴. 江苏省夏季浮萍种类及其生长水环境调查. 生态与农村环境学报, 2012, 28 (5): 554-558
Wu X F, Liu L J, Ma H, Liu Y, Zhou M Y, Qian X Q. Investigation of duckweed species and water environment in Jiangsu in summer. Journal of Ecology and Rural Environment, 2012, 28 (5): 554-558
- [21] Collins K A, Lawrence T J, Stander E K. Opportunities and challenges for managing nitrogen in urban stormwater: a review and synthesis. Ecological Engineering, 2010, 36 (11): 1507-1519
- [22] Cheng J, Bergmann B A, Classen J J, Stomp A M, Howard J W. Nutrient recovery from swine lagoon water by *Spirodela punctata*. Bioresource Technology, 2002, 81 (1): 81-85
- [23] Landesman L, Chang J, Yamamoto Y, Goodwin J. Nutritional value of wastewater-grown duckweed for fish and shrimp feed. Bioresource Technology, 2002, 33 (4): 39-40
- [24] Huque K S, Chowdhury S A, Kibria S S. Study on the potentiality of duckweeds as a feed for cattle. Asian Australasian Journal of Animal Sciences, 1996, 9 (2): 133-137