

利用 ISSR 标记研究鹅观草属种质资源的遗传多样性

肖海峻^{1,2}, 徐柱², 李临航², 马玉宝², 曹授俊¹

(1. 北京农业职业学院, 北京 102442; 2. 中国农业科学院草原研究所, 内蒙古 呼和浩特 010010)

摘要: 为进一步了解鹅观草属种质资源的遗传背景和拓宽牧草育种的遗传基础, 科学指导鹅观草属种质资源的收集、评价和利用, 利用 ISSR(Inter simple sequence repeat marker) 标记对鹅观草属 20 个种, 6 个变种, 共 60 份材料进行了遗传多样性检测。结果发现, 被测材料间 ISSR 标记的多态性较高, 在 20 个引物中, 有 16 个引物可扩增出清晰且重复性好的 DNA 片段, 共产生 125 条 DNA 片段, 其中 104 条具有多态性, 多态性比率为 83.20%; 每个引物可扩增出 6~10 条 DNA 片段, 平均 7.81 条, 材料间遗传相似系数 GS 变幅为 0.188~0.879, 平均值为 0.375; 聚类分析表明, 在遗传相似系数为 0.441 的水平上, 60 份材料可以聚为 5 类, 属于同种、同组、同系的不同材料首先聚在一起, 然后再与其他种的材料聚在一起, 此外, 材料的聚类还表现出一定的地域性规律。

关键词: 鹅观草; ISSR 标记; 种质资源; 遗传多样性

中图分类号: S543.235.3 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2007)04-0146-05

Genetic Diversity of *Roegneria* Genera Studied by ISSR Markers

XIAO Hai-jun^{1,2}, XU Zhu², LI Lin-hang², MA Yu-bao², CAO Shou-jun¹

(1. Beijing Agriculture Vocational College, Beijing 102442, China;

2. The Grassland Institute, Chinese Academy of Agriculture Science, Huhhot 010010, China)

Abstract: In order to acquire more information about genetic backgrounds on *Roegneria* and broaden genetic bases for forage breeding, and give more exactly guide on *Roegneria* germplasm collection, evaluation and utilization, genetic diversity of 60 accessions of *Roegneria* genera representing 20 species and 6 subspecies was evaluated using inter-simple sequence repeat (ISSR) markers in this paper. Twenty ISSR primers were used for the PCR amplification of genomic DNA and 16 primers could produce clear and polymorphic bands. A total of 125 bands were amplified from 16 primers, of which 104 bands (83.20%) were polymorphic. 6 to 10 polymorphic bands could be amplified from each primer, with an average 7.81. The mean genetic similarity (GS) value based on ISSR markers among 60 accession of *Roegneria* genera was 0.375, ranging from 0.188 to 0.879. Cluster analysis showed all materials could be classified into 5 groups, the different accessions belongs to the same species could be clustered together at first, and then combined with other accessions, the accessions belongs to the same origin also could be classified into the same groups first. These results suggested that ISSR markers could be used as an effective molecular technique for forage germplasm diversity research and species identification.

Key words: *Roegneria*; ISSR marker; Germplasm resources; Genetic diversity

由于微卫星标记为共显性标记, 具有丰富的多态性, 且重复性好, 被认为是研究遗传关系的理想标记之一。ISSR 标记(Inter simple sequence repeat marker)的基本原理是利用一条包含简单重复序列并在 3' 或 5' 锚定的寡聚核苷酸引物, 对微卫星之间的 DNA 序列进行 PCR 扩增。与 RAPD 相比, ISSR 标记重复性好, 产生的多态性更丰富; 与 SSR 相比, ISSR

技术不需要预先知道基因组序列信息, 因此大大减少了多态性分析的预备工作; 与 AFLP 相比, ISSR 技术具有程序简单、快捷和成本较低的优点^[1, 2]。目前, ISSR 标记已广泛应用于玉米、油菜、小麦、水稻和大豆等许多作物的品种鉴定、系统分类、遗传多样性检测、基因定位和遗传图谱构建等研究中^[3-9]。但应用 ISSR 标记对鹅观草属植物进行遗传多样性

收稿日期: 2007-03-11

基金项目: 国家科技基础专项资金项目(2002DEA10006)

作者简介: 肖海峻(1966-), 女, 内蒙古武川人, 副教授, 博士, 主要从事牧草种质资源研究。

研究还未见报道。

鹅观草属(*Roegneria* C. Koch) 是中国小麦族种质资源的一个重要植物类群, 主要分布在西北、西南和华北地区, 青藏高原的东北部是鹅观草属类群分布最为集中的地区^[10~12]。该属植物多为草原和草甸的组成成分, 饲用价值很高, 是优良的牧草, 其间蕴藏着丰富的抗病、抗寒、耐旱、耐碱及长穗、多粒等基因^[13,14], 是麦类作物及牧草品种改良的重要基因资源。中国的科学工作者很重视对小麦族种质资源的异地保护, 然而在小麦族遗传资源的收集和评价中存在两个不容忽视的问题^[15], 一是在进行种质资源收集时, 由于不同植物种或种群的数量、成熟性以及生境的局限性, 不能完全根据种质资源遗传多样性的原理去取样, 因此, 收集的种子材料不能代表该物种的所有生态类型和遗传变异类型, 另一个是对已经入基因库保存的小麦族种质资源的评价和鉴定多沿用以前的形态或生化标记, 对性状表现及控制性状的基因尚未深入研究。目前, 对鹅观草属植物遗传多样性的研究多集中在形态学^[16,17]、细胞学^[18]和同工酶^[19,20] 方面, 在 DNA 水平上多采用 RAPD 标记^[21], 本研究利用 ISSR 标记对鹅观草属植物进行遗传多样性检测, 为进一步拓宽牧草育种的遗传基础以及更好的指导种质资源的收集、评价、利用提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 材料

本研究中鹅观草属采用狭义的概念, 选择鹅观草属植物分布较为集中的 10 个省区 60 份材料(表 1), 其中包括 20 个种, 6 个变种, 试验材料由中国农业科学院草原研究所提供(表 1)。

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取 每份材料取 10~15 个植株上的新鲜叶片, 在液氮冷冻下研磨成粉末状, 然后随机取 1~2 g, 置于 50 mL 离心管中, 加入 15 mL 65℃预热的 2×CTAB 提取缓冲液(100 mmol/L Tris-HCL, pH 8.0; 10 mmol/L EDTA; 2% β-巯基乙醇 V/V), 65℃水浴保温 1~2 h, 其间轻轻倒转数次, 取出离心管冷至室温。加入等体积氯仿/异戊醇(24/1, V/V), 混匀。冰浴 30 min 后, 3 500 r/min 离心 15 min。取上清液加入等体积的异丙醇沉淀 DNA, 70% 乙醇冲洗 2~3 次, 95% 乙醇清洗 1 次, 空气中干燥后用 TE(Tris-EDTA) 溶解后, 4℃冰箱中保存备用。

1.2.2 ISSR 扩增 利用 2 份来自内蒙古和新疆的材料进行预备试验, 从 20 个 ISSR 引物(上海生物工

表 1 供试材料的名称、产地及生境

Tab. 1 Varietis, origins and enviorments of *Roegneria* materials in this study

编号 No.	种名 Name	产地 Producing area	生境 Habit
1	肃草	内蒙古兴安盟	山脚
2	大肃草	内蒙古呼盟	农田
3	大芒鹅观草	内蒙古兴安盟阿尔山	山上
4	长颖鹅观草	内蒙古阿盟贺兰山南寺	山坡
5	狭叶鹅观草	内蒙古阿盟贺兰山南寺	山上
6	狭叶鹅观草	内蒙古阿盟贺兰山南寺	山上
7	粗糙鹅观草	内蒙古阿盟贺兰山北寺	山顶
8	中华鹅观草	内蒙古阿盟贺兰山北寺	山坡
9	毛叶毛盘草	内蒙古卓资山	山坡
10	缘毛鹅观草	内蒙古阿盟贺兰山北寺	山坡
11	毛节缘毛草	内蒙古阿盟贺兰山北寺	山坡
12	多秆鹅观草	内蒙古清水河县	公路边
13	五龙山鹅观草	内蒙古通辽科左后旗	山坡
14	细穗鹅观草	山西省偏关	公路边
15	细穗鹅观草	山西省偏关	公路边
16	直穗鹅观草	山西省吉县	农田
17	大芒鹅观草	山西省五台山佛母洞	山上
18	百花山鹅观草	山西省五台山	山上
19	直穗鹅观草	陕西省延安地区南尼湾	农田
20	纤毛鹅观草	甘肃省西峰	树林
21	百花山鹅观草	甘肃省西峰	树林
22	垂穗鹅观草	甘肃省碌曲县	树林
23	缘毛鹅观草	甘肃省碌曲县	树林
24	大芒鹅观草	新疆伊犁州特克斯县	山地草甸草原
25	偏穗鹅观草	新疆伊犁州特克斯县	草原
26	扭轴鹅观草	新疆伊犁州果子沟	沟谷
27	低株鹅观草	新疆尼勒克县乔尔玛	沟谷
28	大芒鹅观草	新疆伊犁州昭苏县	沟谷
29	偏穗鹅观草	新疆尼勒克县	河边
30	短柄鹅观草	新疆博力赛里木湖	山地草原
31	大芒鹅观草	新疆昭苏县	农田
32	毛节缘毛草	四川潘松县	高山疏林
33	中华鹅观草	四川潘松县	高山密林
34	鹅观草	四川炉霍县	高山密林
35	鹅观草	四川茂县	高山疏林
36	普兰鹅观草	四川马尔康县	山坡
37	普兰鹅观草	四川红原县	高山草场
38	垂穗鹅观草	云南维西县	高山稀疏林
39	垂穗鹅观草	四川红原县	高山稀疏林
40	小颖鹅观草	四川松潘县	河边湿地
41	垂穗鹅观草	西藏江达县	高山山坡
42	垂穗鹅观草	西藏江达县	高山、疏林
43	垂穗鹅观草	西藏丁青	高山草甸
44	垂穗鹅观草	西藏拉萨市曼竹工卡县	高山草甸
45	小颖鹅观草	云南丽江	河边
46	垂穗鹅观草	西藏巴青县	高山草地
47	短柄鹅观草	四川马尔康县	高山草地
48	短柄鹅观草	青海湟源县	农田旁
49	低株鹅观草	西藏曲松县	山间
50	低株鹅观草	西藏曲松县	河谷
51	短柄鹅观草	西藏曲松县	路边
52	短柄鹅观草	四川甘孜州色达县	高山峡谷
53	短柄鹅观草	四川甘孜州色达县	路边
54	扭轴鹅观草	西藏江达县	高山混交林
55	扭轴鹅观草	西藏江达县	高山草甸
56	短颖鹅观草	西藏丁青县	高山峡谷
57	短颖鹅观草	四川松潘县	高山峡谷
58	短颖鹅观草	云南中甸	沟谷
59	毛叶鹅观草	西藏米林县	灌丛、路边
60	纤毛鹅观草	北京百望山	山坡

程公司合成) 中选取 16 个能获得清晰条带, 反应稳定的引物(表 2) 进行下一步分析。PCR 扩增参照 Nagaoka 等^[21] 的方法。反应总体积 25 μL, 其中包含 1 U Taq DNA 聚合酶(上海 Promega), 1× Buffer(10 mmol/L Tris-HCl, pH 8.3; 50 mmol/L KCl; 0.001% gelatin), 1.5 mmol/L MgCl₂, dNTPs 各 0.2 mmol/L, 引物 0.2 μmol/L。上覆 25 μL 液体石蜡油后, 按下列程序进行扩增反应: 94℃预变性 2 min, 每循环 94℃变性 1 min, 50℃退火 1 min, 72℃延伸 2 min, 共 45 个循环, 完成最后 1 个循环后, 在 72℃延伸 10 min。在 MJPTC-200PCR 仪中进行扩增反应, 以 1×TAE 为缓冲液, 将扩增产物在含有 0.5 个/L 溴化乙锭的 2.0% 琼脂糖凝胶电泳中以 5 V/cm 的电压电泳进行分离, 在凝胶成像仪上观察记录。

表 2 用于鹅观草属种质资源 ISSR 标记的引物序列及扩增结果

Tab. 2 Sequence and amplification results of ISSR			
引物 Primer	序列 Sequence	总谱带条数 Number of amplification	多态性条带数 Number of polymorphic bands
ISSR-1	5'-(GACA) ₄ -3'	7	6
ISSR-3	5'-(CA) ₈ TA-3'	6	4
ISSR-4	5'-(CA) ₈ TC-3'	7	7
ISSR-6	5'-(AC) ₈ GA-3'	9	5
ISSR-7	5'-(AC) ₈ G-3'	8	7
ISSR-8	5'-(AC) ₈ T-3'	7	5
ISSR-9	5'(TG) ₈ TC-3'	8	8
ISSR-10	5'-(GGAGA) ₃ -3'	9	7
ISSR-11	5'-(ATGATG) ₃ -3'	6	5
ISSR-12	5'-(TCC) ₅ TG-3'	8	6
ISSR-13	5'-(AG) ₈ GG-3'	7	6
ISSR-14	5'-(AG) ₈ T-3'	8	7
ISSR-15	5'-(CT) ₈ G-3'	10	9
ISSR-16	5'-(TC) ₈ G-3'	8	7
ISSR-19	5'-(AC) ₈ GT-3'	9	8
ISSR-20	5'-(TC) ₈ G-3'	8	7
总数 Total		125	104
平均 Average		7.81	6.50

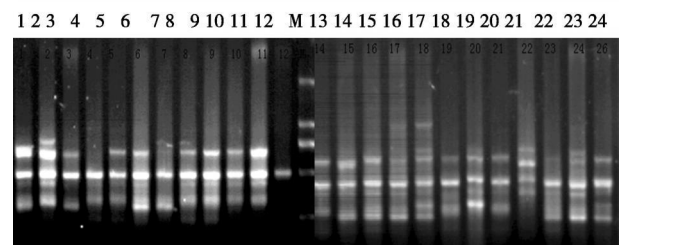
1.2.3 数据处理 每个样品电泳条带按有无记录, 电泳条带存在时赋值为 1, 否则赋值为 0。按 Nei 和 Li 的方法计算材料间遗传相似系数(GS), 计算公式为: $GS = \frac{2N_{ij}}{N_i + N_j}$, 其中 N_{ij} 为材料 i 和材料 j 共有的扩增片断数目。根据 GS 值按照不加权成对群算术平均法(UPGMA) 进行遗传相似性聚类, 统计分析在 NTSYSpc(2.10) 软件系统下进行。

2 结果与分析

2.1 扩增产物的多态性

60 份鹅观草属种质资源的 ISSR-PCR 部分引物的扩增结果见图 1。在所研究的 20 个 ISSR 引物中,

有 16 个引物能产生清晰的谱带, 从 ISSR 扩增谱带统计结果(表 2) 来看, 每个引物可扩增出 6~10 条 DNA 片段, 平均 7.81 条, 16 个引物共产生 125 条谱带, 其中 104 条具有多态性, 多态性比率为 83.20%, 这些结果说明, ISSR 标记能够揭示材料间的多态性。



材料编号同表 1, M 代表 GeneRuler™ 2 000 bp DNA Ladder Plus marker
Notes of 1-23 same as Tab. 1, M Stands for GeneRuler™ 2 000 bp DNA Ladder Plus marker

图 1 ISSR-7 扩增产物电泳图谱
Fig. 1 Amplification results of ISSR-7

2.2 遗传相似系数

利用 16 个 ISSR 引物产生的 125 条 DNA 片段计算供试材料间的遗传相似系数(GS), 结果表明, 60 份鹅观草属间的遗传相似系数 GS 值变化范围为 0.188~0.879, 平均值为 0.375, 表明鹅观草属间遗传变异很丰富。其中, 来源于山西偏关的 2 份细穗鹅观草的遗传相似系数(0.879) 最大, 说明亲缘关系最近, 来源于新疆的扭轴鹅观草和来源于内蒙古的长颖鹅观草之间的遗传相似系数(0.188) 最小, 表明亲缘关系最远, 遗传差异最大。

2.3 聚类分析

统计结果显示, 60 份供试材料间遗传相似系数为 0.188~0.879, 表明所选材料间具有丰富的遗传多样性, 利用 16 个 ISSR 引物能将这些材料完全分开。根据材料间的遗传相似系数对 60 份材料进行聚类(图 2), 从聚类图可以看出, 在遗传相似系数为 0.441 的水平上可分为 5 类, 第 I 类包括 21 份材料, 可以分为 2 个亚类, 其中第 1 亚类的 12 份材料全部来源于内蒙古, 材料 13 与其他材料之间亲缘关系较远, 第 2 亚类中的 9 份材料来源于山西、陕西和甘肃, 地理位置较近, 其中材料 14 和 15 来源于山西偏关县, 合并成为 1 份材料; 在第 II 类群中, 共包括 7 份材料, 除材料 38 外, 其余均来源于四川省; 第 III 类材料的产地为四川、西藏和云南, 包括 22 份材料, 在聚类时出现交叉, 可分为 3 个亚组, 虽然产地不同, 但这些材料都属于矮草系植物, 包括普兰鹅观草、垂穗鹅观草、低株鹅观草、短颖鹅观草和短柄鹅观草; 第 IV 类群由 9 份来自新疆的材料组成; 第 V 类由材料 4 单独组成。因此, 从聚类图可以得出两点, 一个

是属于同种、同系、同组的不同材料首先聚在一起,然后再与其他系、组的材料聚在一起,如上文所述的第Ⅱ类材料中的第 3 亚类,材料 47 和 48 均为短柄鹅观草,它们首先聚为一类,然后再与材料 46(垂穗鹅观草)聚在一起,短柄鹅观草和垂穗鹅观草均属于

矮草系再聚在一起;另外一点表现为明显的地域规律,即地理来源相同的材料首先聚在一起,如上文提到的第Ⅰ类和第Ⅲ类材料,第Ⅰ类中的第 1 亚类,材料全部来源于内蒙古,第Ⅱ类材料来源于新疆。

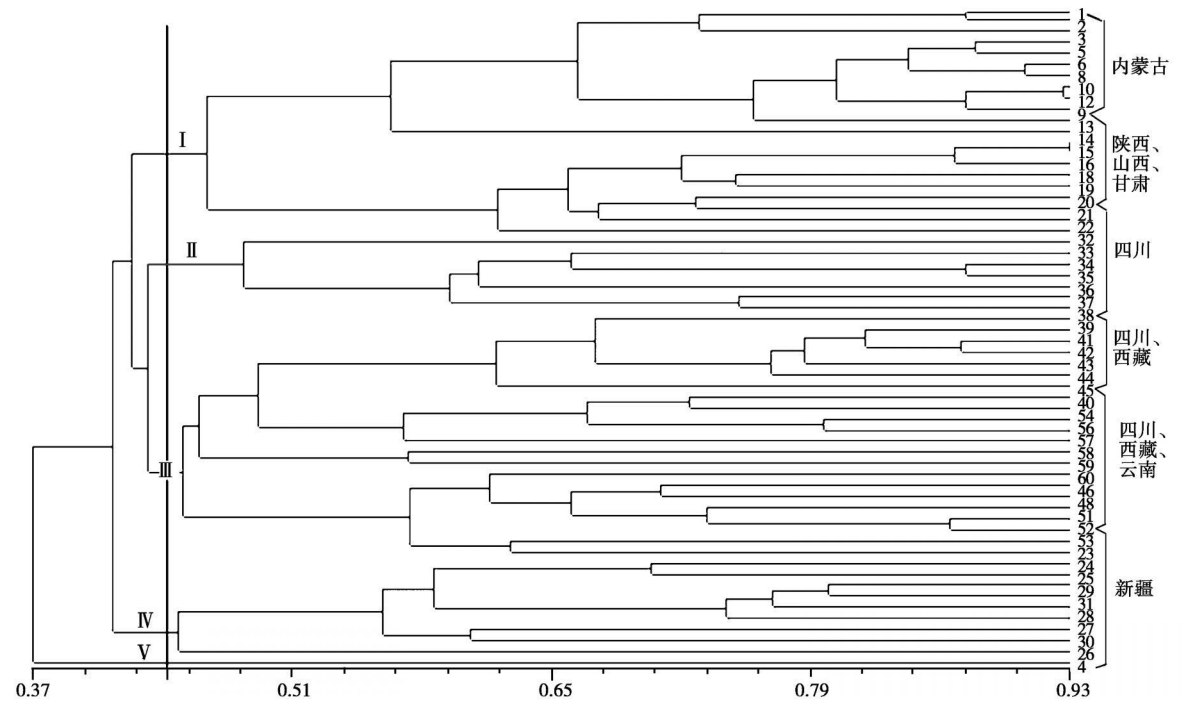


图2 ISSR 标记聚类图

Fig. 2 Dendrogram of the genera *Roegneria* based on ISSR markers

3 讨论与结论

3.1 鹅观草属不同材料间存在着丰富的多态性

对所收集材料中可能存在的遗传多样性进行评估是有效地利用和保护种质资源的关键环节,分子标记技术的发展将会对种质资源的评价起到极大的推动作用。ISSR 标记具有程序简单、操作快速、成本低等优点,因而已被广泛的应用于植物遗传多样性研究中。侯永翠等^[22]利用 RAMP 和 ISSR 标记分别对 60 份大麦种质资源的遗传多样性进行了检测,结果发现这两种标记都能揭示材料间较高的遗传多样性,而且 ISSR 标记的多态性又高于 RAMP 标记。张木清等^[23]选用 24 个 ISSR 引物分析我国 8 省区的 30 多个斑茅种质资源,发现我国斑茅具有丰富的遗传多样性,同一地区的斑茅基本聚在一起,呈现出一定的地域分布规律。钱韦等^[4]利用 ISSR 标记技术探讨了我国野生稻的遗传背景,12 个引物扩增出 122 条 DNA 片段,多态条带比率为 72.95%。尚海英等^[24]利用 ISSR 技术分析黑麦属 4 个种 8 个亚种共 16 份材料的遗传多样性,7 个引物扩增出 269 条谱带,其中 229 条(占 85.1%)具有多态性。本项研

究利用 16 个 ISSR 引物扩增出 125 条谱带,每个引物可扩增出 6~10 条 DNA 片段,平均 7.81 条,其中 104 条具有多态性,多态性比率为 83.20%,60 份材料相似系数为 0.188~0.879,平均为 0.375,这表明在鹅观草属不同材料间存在着丰富的多态性。这种多态性将为牧草种质资源异地保存、鉴定、适应性评价以及生态型研究奠定可靠、稳定的基因基础。

3.2 ISSR 标记对于鉴定鹅观草属植物的科学价值

ISSR 技术比 RFLP、SSR、RAPD 等技术更多地揭示基因组中的多态性,是一种很好的 DNA 指纹标记,因此,该技术在种质资源鉴定方面显示出比其他方法更高的优越性,目前已广泛的应用在种质资源的鉴定中。杜金昆等^[25]利用 11 个 ISSR 引物就将所有供试的 47 份小麦品种明显区分开来,并准确地确定各个基因型之间的遗传差异和亲缘关系。Prevost 等^[26]利用 4 个 ISSR 引物即可对 34 个马铃薯品种进行鉴别,其中有 2 个引物单独使用即可区分出所有品种,4 个引物中任何 2 个引物组合,扩增结果也呈现出品种特异性,并且全部检测工作可以在 9 h 内完成。本研究利用 16 个引物可以将 60 份材料完全区分开,表明 ISSR 标记是一种快速、有效、可以提供

有关基因组丰富信息的 DNA 指纹技术。在遗传相似系数为 0.441 的水平上, 可对 60 份材料进行不同组、系、种的划分, 这与形态学研究的结果一致, 即在 DNA 水平上, 利用 ISSR 标记技术对鹅观草属不同物种进行聚类分析, 对各物种划分的结果基本与依据《中国植物志》检索表按形态学性状进行物种组、系、种划分的结果相吻合, 其次, 聚类图还可揭示出材料间的地理关系, 来源于同一地区的材料其遗传差异较小, 亲缘关系较近, 如在本研究中出现来源于同一地区的不同种聚在一起的现象, 这是由于鹅观草属植物分布范围广, 生境条件复杂, 物种在长期适应环境的过程中会出现某些性状趋同的现象, 造成不同物种性状间的交叉, 因而对鹅观草属种及种下等级的划分, 要综合考虑形态学、细胞学和分子生物学等方面的资料, 才能更加有效地解释它们的真实的系统关系, 这一结论与侯永翠等^[22]在研究大麦种质资源遗传多样性时得出的结论相同。这一研究结果对种质资源的收集、评价和保存具有重要的指导意义。此外, 在本试验中发现, 来源于山西省偏关县的 2 份细穗鹅观草遗传图谱完全相同, 并且聚为一类, 再次证明 ISSR 标记在种质鉴定中的有效性。

参考文献:

- [1] McGregor C E, Lambert C A, Greyling M M, *et al.*, A comparative assessment of DNA fingerprinting techniques(RAPD, ISSR, AFLP and SSR) in tetraploid potato(*Solanum tuberosum* L.) germplasm [J]. Euphytica, 2000, 113: 135– 144.
- [2] 高凤云, 张 辉, 斯钦正特尔. 亚麻分子标记技术研究进展[J]. 内蒙古农业科技, 2006(2): 30– 31.
- [3] 肖海峻, 孟利前, 李玉冰. ISSR 分子标记及其在植物遗传育种中的应用[J]. 内蒙古农业科技, 2006(4): 31– 33.
- [4] 钱 韦, 葛 颂, 洪德元, 等. 采用 RAPD 和 ISSR 标记探讨中国疣粒野生稻的遗传多样性[J]. 植物学报, 2000, 42(7): 741– 750.
- [5] Wolhf K, Zietkie Wicz E, Hofstra H, *et al.* Identification of chrysanthemum cultivars and stability of fingerprint patterns [J]. Theor Appl Genet, 1995, 91: 439– 447.
- [6] Joshi S P, Gupta V S, Aggarwal R K, *et al.* Genetic diversity and phylogenetic relationship as revealed by inter simple sequence repeat polymorphism in the genus Oryza [J]. Theor Appl Genet, 2000, 100: 1311– 1320.
- [7] Kojima T, Nagaoka T, Noda K, *et al.* Genetic linkage map of ISSR and RAPD markers in eikom wheat in relation to that of RFLP markers[J]. Theor Appl Genet, 1998, 96: 37– 45.
- [8] 周福平, 孙黛珍, 王曙光, 等. 六倍体小黑麦种质资源遗

- 传多样性分析[J]. 华北农学报, 2006, 21(6): 33– 36
- [9] 郭光艳, 李瑞芬, 张敬原, 等. 利用 SSR 鉴定普通小麦– 多枝赖草二体异附加系 Line24 中外源染色体同源群的归属[J]. 华北农学报, 2004, 19(4): 14– 17.
- [10] 耿以礼, 陈守良. 国产鹅观草属之订正[J]. 南京大学学报, 1963, 3: 1– 92
- [11] 郭本兆. 中国植物志[M]. 第 9 卷, 第 3 分册. 北京: 科学出版社, 1987, 9(3): 7– 104.
- [12] 蔡联炳. 中国鹅观草属的分类研究[J]. 植物分类学报, 1997, 35(2): 148– 177.
- [13] 顾佳清. 小麦赤霉病抗性遗传的研究[J]. 中国农业科学, 1983, 20(6): 61– 64.
- [14] 翁益群, 刘大钧. 鹅观草与普通小麦属间杂种 F₁ 的形态、赤霉病抗性和细胞遗传学研究[J]. 中国农业科学, 1989, 22(5): 1– 7.
- [15] 卢宝荣. 小麦族遗传资源的多样性及其保护[J]. 生物多样性, 1995, 3(2): 63– 68.
- [16] 蔡联炳. 根据外部形态特征讨论鹅观草属的亲缘演化关系[J]. 西北植物学报, 1988, 18(4): 606– 612.
- [17] 杨瑞武, 周永红, 郑有良. 披碱草属, 鹅观草属何谓草属模式种的形态学变异和酯酶同工酶分析[J]. 四川农业大学学报, 2000, 18(4): 291– 295.
- [18] 卢宝荣, 颜 济, 杨俊良. 鹅观草属三个种的染色体分析与同工酶分析[J]. 云南植物研究, 1988, 10(3): 261– 270.
- [19] 卢宝荣, 颜 济, 杨俊良. 分布于日本和中国的鹅观草及其杂种的形态学和细胞学研究[J]. 云南植物研究, 1990, 12(3): 237– 246.
- [20] 周永红, 郑有良. 小麦特异种质资源研究[M]. 成都: 四川科学技术出版社, 1999: 111– 135.
- [21] 周永红, 杨俊良, 郑有良, 等. 用 RAPD 分子标记探讨鹅观草属的种间关系[J]. 植物学报, 1999, 41(10): 1076– 1081.
- [22] 侯永翠, 颜泽洪, 兰秀锦, 等. 利用 RAMP 和 ISSR 标记分析大麦种质资源的遗传多样性[J]. 中国农业科学, 2005, 38(12): 2555– 2565.
- [23] 张木清, 洪 艺, 李奇伟, 等. 中国斑茅种质资源分子多态性分析[J]. 植物资源与环境学报, 2004, 13(1): 1– 6.
- [24] 尚海英, 郑有良, 魏育明, 等. 应用 ISSR 标记研究黑麦草属植物遗传多样性[J]. 西南农业学报, 2004, 17(3): 273– 277.
- [25] 杜金昆, 姚颖垠, 倪中福, 等. 普通小麦、斯卑尔脱小麦、密穗小麦和轮回选择后代材料 ISSR 分子标记遗传差异研究[J]. 遗传学报, 2002, 29(5): 445– 452.
- [26] Prevost A, Wilkinson J. A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars [J]. Theor Appl Genet, 1998, 98: 107.