

## 利用 ISSR 和 SSR 标记分析芒荻类植物资源遗传多样性

李钰莹<sup>1</sup> 范希峰<sup>1\*</sup> 侯新村<sup>1</sup> 朱毅<sup>1</sup> 赵春桥<sup>1,2</sup> 武菊英<sup>1</sup>

(1. 北京市农林科学院 草业与环境研究发展中心/农业部都市农业(北方)重点实验室,北京 100097;  
2. 中国农业大学 农学与生物技术学院,北京 100193)

**摘要** 利用 ISSR 和荧光 SSR 技术对 22 种芒荻类植物的遗传多样性进行分析,筛选出具有多态性的 ISSR 和 SSR 引物各 12 对,其中 ISSR 引物共扩增出 216 个多态性位点,多态性比率为 96.86%,Nei's 指数为 0.3018,平均 Shannon 指数为 0.4628;SSR 引物共扩增出 111 个多态性位点,多态性比率为 67.68%,Nei's 指数为 0.1115,平均 Shannon 指数为 0.1933。UPGMA 聚类分析结果表明,22 份芒荻类植物资源中除五节芒外,相同地域内的芒、荻和南荻在遗传学上难以区分;芒荻类植物资源的遗传分化与其种源的地域分布有一定相关性。Mantel 检验显示,2 种分子标记在 22 份芒荻类植物资源间相关不显著( $r=0.374, P>0.05$ )。

**关键词** 芒属; 荻属; ISSR 标记; SSR 标记; 遗传多样性

中图分类号 Q 943

文章编号 1007-4333(2014)02-0021-07

文献标志码 A

## Genetic diversity of *Miscanthus* & *Triarrhena* based on ISSR and SSR analysis

LI Yu-ying<sup>1</sup>, FAN Xi-feng<sup>1\*</sup>, HOU Xin-cun<sup>1</sup>, ZHU Yi<sup>1</sup>, ZHAO Chun-qiao<sup>1,2</sup>, WU Ju-ying<sup>1</sup>

(1. Beijing Research and Development Center for Grass and Environment / Key Laboratory of Urban Agriculture (North) of Ministry of Agriculture, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100097, China;  
2. College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

**Abstract** The genetic differences among 22 germplasm resource were analyzed using fluorescent polymorphic simple sequence repeats (SSRs) and inter-simple sequence repeats (ISSRs) to identify their genetic diversity. Polymorphic ISSR and SSR primers were screened, each with 12 pairs. The results showed that 12 ISSR primer pairs produced 216 polymorphic bands (96.86%), Nei's gene heterozygosity was 0.3018, Shannon index was 0.4628; 12 SSR primer pairs produced 111 polymorphic loci (67.68%), Nei's gene heterozygosity was 0.1115, Shannon index was 0.1933. UPGMA cluster analysis indicated that 22 germplasm resource, in addition to *Miscanthus floridulus*, the *Miscanthus sinensis*, *Triarrhena sacchariflora* and *Triarrhena lutarioriparia* in the same geographic area can not be effectively identified in genetics; there were some correlations between *Miscanthus* & *Triarrhena* and geographic distribution. Mantel test revealed that the correlation of genetic similarity matrix between ISSRs and SSRs was not significant ( $r = 0.374, P > 0.05$ ) for 22 species.

**Key words** *Miscanthus*; *Triarrhena*; ISSR markers; SSR markers; genetic diversity

芒荻类植物属禾本科(Poaceae)黍亚科(Subfam. Panicoideae A. Br.)<sup>[1]</sup>,为多年生高大禾草,主要分布在东亚、东南亚和非洲部分地区。我国是芒荻类植物的主要分布中心,其中南荻、荻、芒和五节芒 4

个种的野生种质资源在我国分布非常广泛。近年来,生物质能源发展十分迅速,被公认为是最具前景的可再生能源,因而能源植物的开发利用成为研究热点。芒荻类植物因具有野生资源丰富、适应性强、

收稿日期: 2013-08-16

基金项目: 北京市农林科学院科技创新能力建设专项(KJ CX201201001); 北京市农林科学院青年科研基金(QNJJ201219)

第一作者: 李钰莹, 硕士, E-mail: liyuy\_ing@163.com

通讯作者: 范希峰, 副研究员, 博士, 主要从事能源栽培育种研究, E-mail: fanxifengcau@163.com

产量高、品质优、净能产出高等特点,被认为是重要的候选能源植物<sup>[2]</sup>。

目前,关于芒荻类植物的研究主要集中于生物质量<sup>[3]</sup>、品质<sup>[4]</sup>、生理特性<sup>[5]</sup>、生态效应<sup>[6]</sup>等方面,有关其遗传多样性的研究刚刚开始<sup>[7-9]</sup>。肖亮等用传统 SSR 技术对 46 份芒进行了遗传多样性分析,发现芒种质资源的遗传分化与种源地理有一定的相关性<sup>[7]</sup>;刁英等用 SRAP 和 ISSR 两种分子标记技术对 41 个来自于梁子岛上 4 个居群的五节芒进行了遗传多样性分析,发现五节芒的遗传多样性水平较高<sup>[10]</sup>;Zhou 等开发了适合芒属、荻属植物 SSR 引物<sup>[11]</sup>;以上研究的研究对象较单一,且

研究手段有限。因此,本研究利用 ISSR 标记和新型荧光 SSR 标记这 2 种分子标记方法对采自我国 7 省 22 份野生芒荻类植物资源进行遗传多样性分析,以期对芒荻类植物资源的鉴定、育种等提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

本试验根据芒荻类植物在中国的分布收集了 22 个地区的野生型芒荻类植物根茎,保种种植于北京市昌平区小汤山镇(N39°34',E116°28')试验基地。材料编号、品种名称和原产地信息见表 1。

表 1 供试材料

Table 1 Experimental materials

编号 Code	种名 Species	原产地 Origin	纬度 N	经度 E
A101	荻 <i>T. sacchariflorus</i>	北京昌平 Changping, Beijing	40°10'52"	116°26'56"
B005	五节芒 <i>M. floridulus</i>	江西井冈山 Jinggangshan, Jiangxi	26°34'55"	114°09'44"
B009	五节芒 <i>M. floridulus</i>	广东深圳 Shenzhen, Guangdong	22°35'53"	114°11'37"
B010	五节芒 <i>M. floridulus</i>	广东深圳 Shenzhen, Guangdong	22°35'53"	114°11'37"
B014	五节芒 <i>M. floridulus</i>	江西井冈山 Jinggangshan, Jiangxi	26°43'38"	114°17'54"
B015	五节芒 <i>M. floridulus</i>	江西井冈山 Jinggangshan, Jiangxi	26°35'00"	114°08'29"
B018	五节芒 <i>M. floridulus</i>	广东深圳 Shenzhen, Guangdong	20°35'24"	114°11'10"
B021	南荻 <i>T. lutarioriparia</i>	湖北武汉 Wuhan, Hubei	30°45'59"	114°12'44"
B022	南荻 <i>T. lutarioriparia</i>	湖北武汉 Wuhan, Hubei	30°45'59"	114°12'44"
B023	南荻 <i>T. lutarioriparia</i>	湖北武汉 Wuhan, Hubei	30°33'05"	114°03'58"
B025	南荻 <i>T. lutarioriparia</i>	湖北武汉 Wuhan, Hubei	30°33'05"	114°03'58"
B026	荻 <i>T. sacchariflorus</i>	湖北武汉 Wuhan, Hubei	30°33'05"	114°03'58"
B027	南荻 <i>T. lutarioriparia</i>	湖北武汉 Wuhan, Hubei	30°33'05"	114°03'58"
B028	南荻 <i>T. lutarioriparia</i>	湖北武汉 Wuhan, Hubei	30°45'60"	114°12'45"
B030	五节芒 <i>M. floridulus</i>	湖南长沙 Changsha, Hunan	28°06'07"	113°01'20"
B037	荻 <i>T. sacchariflorus</i>	北京门头沟 Mentougou, Beijing	39°58'02"	115°58'50"
B085	五节芒 <i>M. floridulus</i>	广东广州 Guangzhou, Guangdong	23°19'28"	113°17'48"
A141	荻 <i>T. sacchariflorus</i>	山东潍坊 Weifang, Shandong	36°54'15"	119°07'34"
A145	荻 <i>T. sacchariflorus</i>	山东德州 Dezhou, Shandong	37°29'28"	116°46'03"
B200	南荻 <i>T. lutarioriparia</i>	江苏苏州 Suzhou, Jiangsu	31°12'42"	120°24'50"
B201	芒 <i>M. sinensis</i>	江苏苏州 Suzhou, Jiangsu	31°12'42"	120°24'50"
B202	荻 <i>T. sacchariflorus</i>	江苏苏州 Suzhou, Jiangsu	31°12'42"	120°24'50"

## 1.2 试验方法

### 1.2.1 叶片基因组 DNA 制备

每样品选取幼嫩叶片 1 g 左右,采用改良的 CTAB 法提取基因组 DNA<sup>[12]</sup>,紫外分光光度计检测纯度,核酸分析仪测定 DNA 浓度。稀释至 10 ng/ $\mu$ L,母液于一 20 °C 冰箱中备用。

### 1.2.2 ISSR 扩增及产物检测

引物从哥伦比亚大学 (University of British Columbia Biotechnology, UBC) 提供的和文献中检索的 ISSR 引物序列中筛选出 50 条进行多态性分析。PCR 在 Techne 公司 TC-PLUS 型 PCR 仪上进行,ISSR-PCR 反应体系为 20  $\mu$ L 体系中含有 *Taq* 酶 0.2 U、引物 20 ng、DNA 模板 0.2  $\mu$ L、2 $\times$ PCR Mix 10  $\mu$ L。PCR 扩增程序:94 °C 预变性 4 min,94 °C 变性 30 s,52 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 2 min,共 35 个循环,72 °C 后延伸 10 min,4 °C 保存。用含有 EB 的 1.5% 琼脂糖凝胶电泳分离,90 V 电泳 1 h 左右,用 Bio-Rad GelDoc XR 凝胶成像系统观察、拍照保存。ISSR 引物由北京三博远志生物技术有限责任公司合成,2 $\times$ PCR Mix 和 *Taq* 酶为宝生物工程(大连)有限公司产品。

### 1.2.3 SSR 扩增及产物检测

根据 Zhou 等<sup>[11-14]</sup>的报道,从中筛选出 30 对 SSR 引物,经 TP-M13 自动荧光检测进行多态性分析。在 TP-M13 自动荧光检测系统中,用 3 条引物进行 PCR 扩增,第 1 条引物是把初选的 30 对 SSR 引物的反向引物分别和 M13 的正向引物相连合成带有 M13 尾巴的引物(M13 forward primer + SSR reverse primer);第 2 条引物为正常的 SSR 正向引物(SSR forward primer);第 3 条引物为 5' 端带有 FAM 标记 M13 的正向引物(带 FAM 荧光标记的 M13 forward primer)。PCR 在 Techne 公司 TC-PLUS 型 PCR 仪上进行,SSR-PCR 反应体系为 20  $\mu$ L 体系中含有 *Taq* 酶 0.2 U、第 1 条引物 20 ng、第 2 条引物 20 ng、第 3 条引物 20 ng、DNA 模板 0.2  $\mu$ L、2 $\times$ PCR Mix 10  $\mu$ L。PCR 扩增程序:94 °C 预变性 4 min,94 °C 变性 30 s,最佳退火温度 35 s,72 °C 延伸 2 min,共 35 个循环,72 °C 后延伸 10 min,4 °C 保存。取 15  $\mu$ L 的上样缓冲液(体积比为 100 : 1 的甲酰胺和分子量内标-400 均匀混合物),加入上样板,再加入 1  $\mu$ L 用 ddH<sub>2</sub>O 稀释 10 倍后的 PCR 产物。使用 ABI 公司的 3730XL 测序仪

进行毛细管电泳。SSR 引物由北京三博远志生物技术有限责任公司合成,2 $\times$ PCR Mix 和 *Taq* 酶为宝生物工程(大连)有限公司产品。

### 1.3 数据处理

ISSR-PCR 琼脂糖电泳结果用 Quantity One 软件选取清晰可辨的扩增条带进行统计分析,对于同一引物的 PCR 扩增产物的电泳位置在凝胶的某个相同迁移率位置上有 DNA 条带记为 1,无 DNA 条带记为 0。SSR-PCR 毛细管电泳结果利用 Genemarker 中的 Fragment (Plant) 片段分析软件对测序仪得到的原始数据进行分析,将各泳道内分子质量内标的位置与各样品峰值的位置做比较分析,记录得到的片段大小。视一个引物为一个等位基因位点,将每个样品在各个等位基因位点的片段大小,即表现型按同一引物的 PCR 扩增产物表现型一致记为 1,不一致的记为 0。将形成的 0-1 数据用矩阵 NTSYSpc-2.10c 软件 DICE 计算遗传相似系数(GS),采用 UPGMA (Unweighted pair-group method with arithmetic mean) 法进行聚类分析,构建亲缘关系聚类树状图;采用 PopGene 32 软件计算 Nei's 指数、Shannon 信息指数、多态位点比率;采用 TFPGA 软件进行 Mantel-test<sup>[15]</sup> 相关性检测。

## 2 结果与分析

### 2.1 引物筛选

根据前人的文献,选 50 条 ISSR 和 30 对 SSR 引物对 22 种芒荻类植物 PCR 扩增,进行引物筛选。ISSR 引物中,12 条可扩增出清晰、重复性好且具有多态性的条带;SSR 引物中,12 对可产生清晰的扩增产物且具有多态性。ISSR 和 SSR 引物序列见表 2。

### 2.2 遗传多样性分析

12 个 ISSR 引物可扩增出清晰、重复性好的条带,且具有较高的多态性,12 对 SSR 引物可做扩增出理想的谱带,对 22 种芒荻类植物进行 PCR 扩增。

22 份芒荻类植物的 ISSR 扩增结果见图 1 和表 3,ISSR 扩增出的条带共有 223 个,条带的分子质量范围为 200~1 800 bp,其中多态性条带 216 个,多态性比率平均为 96.86%,不同引物扩增出的条带数为 11~23,平均多态位点 18 个,22 份芒荻类植物的相似系数变化范围为 0.352 2~0.786 1。多态性比率变幅为 88.24%~100.00% 之间,ISSR 引物对芒荻类植物的遗传多样性有较高的识别度。

表2 ISSR和SSR引物序列

Table 2 Primer sequences of ISSR and SSR

ISSR 引物 ISSR Primer	引物序列(5'-3') Sequence	退火温度/℃ $T_m$	SSR 引物 SSR Primer	引物序列(5'-3') Sequence	退火温度/℃ $T_m$
p1	(AG)8C	53	HAU-003	F:GAAGTGGGGAACATGGTTAATGTC R:TCACGGTTCAGACAGATACAGCTC	60
p4	(AC)8T	52	HAU-020	F:GTGAGGTGAAAATGAAGCTGGAAC R:ACCATACCTCTCTGAACATGAGCC	60
p5	(AC)8G	52	HAU-072	F:ATCCTCTCATCAGGTCCACCG R:CATATACAGTCTCTTCTGGCTGCTCA	60
p6	(AC)8C	52	HAU-258	F:TGAAGCAAGTCACTGGTAAGAGCA R:TGACACACCCATACTTCCAACAAG	59
p16	(AC)8TG	52	HAU-372	F:GTAGAGATCGATTTCGCTAACCTGC R:AGTTGTTCCGTTCCGTCCTTATC	60
p20	(GGAGA)3	53	MSSR4	F:TTCTGTGAGATTCTGGTATGCC R:CAACTTGCTTGGGACTGA	58
p24	(GT)8YG	53	MSSR11	F:TTGAAGAGGGTAGCGGTTG R:TAGTTAGGGCTGTTTGA	58
p25	(CA)8T	52	MSSR14	F:ACTAAAGGCGAAAGCTAGGAGG R:CAGATGCTGGCTGTTGGTGATGT	57
p28	(CA)8G	53	MSSR18	F:TTTTCTGCCCACTACTGCTA R:TGTGATCTTCTATGCTTCCA	60
p35	(CA)8RG	53	MSSR21	F:TATGGGTGAATGTTGGTTT R:GCCCCGTTTGTGCGAGTGC	59
p43	(AC)8CG	53	MSSR42	F:TGCCACGCCTTCTTCACCTATC R:GCATCCAGCCATCCACCCTC	56
p50	(GA)8C	52	MSSR70	F:GCACGCATGAGCCAAACTG R:TCGGTCGGTGCTTGTCTCG	56

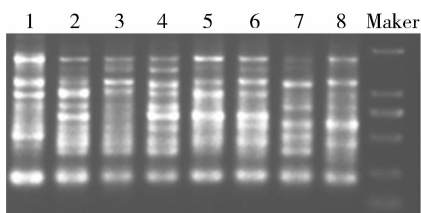


图1 引物 p1 对 8 份材料 DNA 的 ISSR 扩增图

Fig. 1 ISSR-PCR amplification electrophoresis of 8 DNA sample by primer p1

22 份芒萁类植物的 SSR 扩增结果见图 2 和表 3, SSR 扩增出的条带共有 164 个, 条带分子质量范围为 110~420 bp, 其中多态性条带 111 个, 多态性比率平均为 67.68%, 不同引物扩增出的条

带数为 3~26, 平均多态位点 9.25 个, 22 份芒萁类植物的相似系数变化范围为 0.060 2~0.666 7。多态性比率变幅为 50%~100% 之间, 试验选用的 SSR 引物对芒萁类植物的遗传多样性有一定的识别度。

Shannon 指数和 Nei's 指数既可以反应条带的丰富度, 又可以反应均匀程度, 而丰富度与均匀度是衡量多样性的 2 个重要指标。Nei's 指数估算 12 个 ISSR 引物和 12 个 SSR 引物扩增所得位点的基因遗传多样性, 不同位点对遗传多样性的贡献不同, SSR 的 Nei's 指数为 0.111 5, 平均 Shannon 指数为 0.193 3; ISSR 的 Nei's 指数为 0.301 8, 平均 Shannon 指数为 0.462 8。

表 3 ISSR 和 SSR 标记的结果比较

Table 3 Comparison of usefulness between ISSR and SSR

项目 Item	ISSR	SSR
引物数 No. of primers	12	12
观测等位基因 Observed number of alleles	1,968 6	1,676 8
有效等位基因数 Effective number of alleles	1,492 4	1,158 8
Nei's 指数 Nei's index	0.301 8	0.111 5
Shannon 信息指数 Shannon index	0.462 8	0.193 3
总位点 No. of total bands or locies	223	164
多态位点 No. of polymorphic bands or locies	216	111
多态位点比率 Percentage of polymorphic bands	96.86	67.68

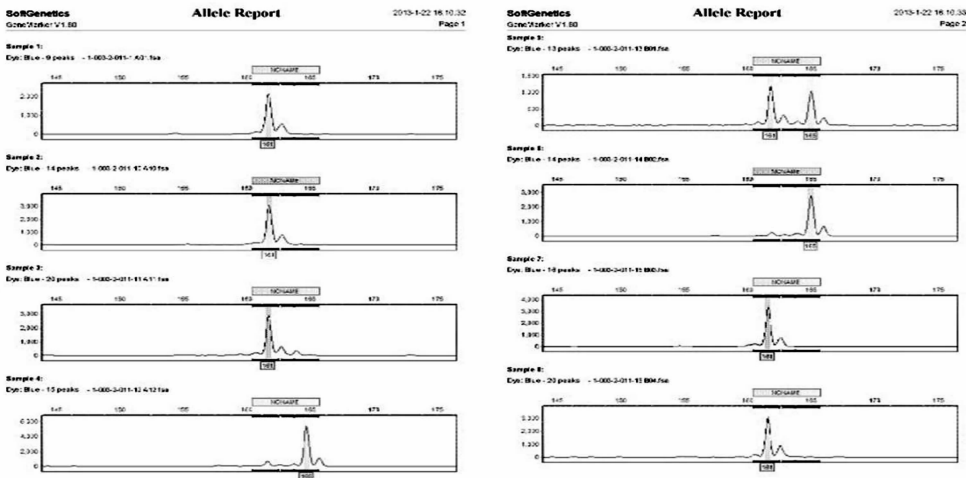


图 2 HAU-003 引物对 8 份材料 DNA 的 SSR 等位基因报告

Fig. 2 SSR-PCR allele report of 8 DNA sample by primer HAU-003

### 2.3 聚类分析

#### 2.3.1 ISSR 聚类分析

根据 Nei's 遗传距离对 22 种芒荻类植物进行聚类分析,据图 3 的 ISSR 标记聚类结果显示,当遗传距离为 0.74 时可以将 22 种芒荻类植物分成 3 大类:第 1 类 10 种,包括北京昌平和门头沟 2 种荻、湖北武汉的 6 种南荻、湖北武汉的荻和广东广州的五节芒;第 2 类 7 种,江西井冈山的 3 种五节芒、广东深圳的 3 种五节芒和湖南长沙的五节芒;第 3 类 5 种,山东潍坊荻、山东德州荻、江苏苏州南荻、江苏苏州荻和江苏苏州芒。其中 B005 和 B010 的遗传距离最近为 0.24,其相似性最高。

ISSR 分子标记的结果从遗传距离的角度将芒、荻、南荻和五节芒可分成 3 大类;同时根据纬度也将北京、山东、江苏、湖北、湖南、江西和广东 7 省的不同芒荻类植物分成 3 大类。

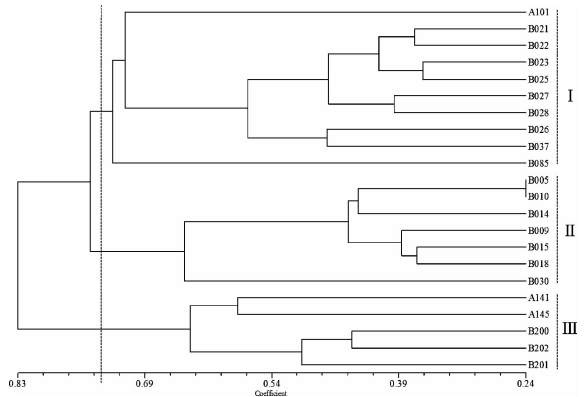


图 3 22 种芒荻类植物基于 ISSR 法的聚类图

Fig. 3 Clustering of 22 Miscanthus and Triarrhena materials based on ISSR

#### 2.3.2 SSR 聚类分析

根据 Nei's 遗传距离对 22 种芒荻类植物进行

聚类分析,据图4的SSR标记聚类结果显示,以遗传距离为1.00时,22种芒荻类植物可以分成2个大类:第1类14种,包括22种来自地理上相对偏北的北京、山东、江苏和湖北4个省(市)的荻、南荻和芒;第2类8种,包括22种材料中所有的五节芒,且这8种芒荻类植物来自地理位置相对偏南的江西、广东和湖南3个省。根据遗传距离0.61又可以将第2类里的8种五节芒分成2组,第1组4种,包括3种广东深圳的五节芒和江西井冈山的1种五节芒;第2组4种,包括2种江西井冈山的五节芒、湖南长沙的五节芒和广东广州的五节芒。其中B005和B010的遗传距离最近为0.12,其相似性最高。

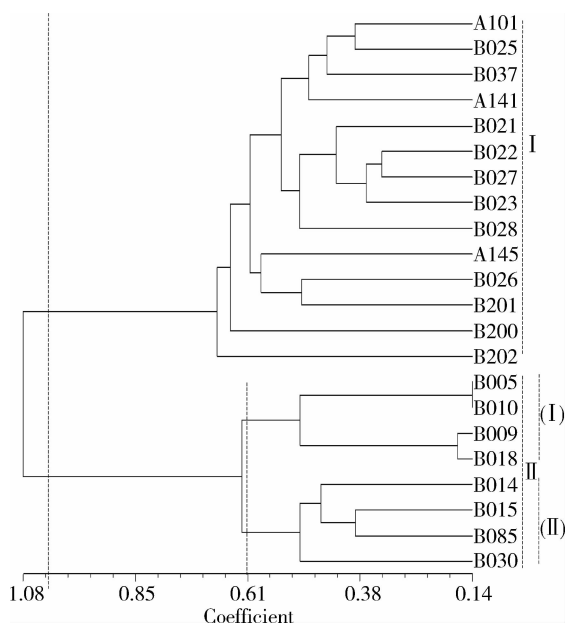


图4 22种芒荻类植物基于SSR标记的聚类图

Fig. 4 Clustering of 22 *Miscanthus* and *Triarrhena* materials based on SSR

SSR分子标记的结果从遗传距离的角度可将五节芒明确的区别于芒、荻、南荻;同时根据纬度也将北京、山东、江苏、湖北、湖南、江西和广东7省(市)的不同芒荻类植物分成了2大类。

#### 2.4 两种标记的 Mantel-test

利用TFPGA软件对基于ISSR和SSR标记的遗传距离矩阵进行Mantel-test相关性检测。结果表明,对于22个地区的芒荻类植物,ISSR和SSR标记遗传距离的相关性不显著( $r=0.374, P>0.05$ )。

### 3 讨论

根据《中国植物志》对收集到的芒荻类植物进行

鉴别定名,即芒荻类植物分属于禾本科(Poaceae)黍亚科(Subfam. Panicoideae A. Br.)的芒属(*Miscanthus Anderss*)和荻属(*Triarrhena Nakai*),其中主要的形态区别是小穗是否具芒。通过两种DNA分子标记的聚类结果分析,两种分子标记都能将五节芒从芒、荻和南荻中区分出来,其原因可能是芒、荻和南荻这3种植物从进化的角度上来自同一祖先<sup>[16-17]</sup>。而且芒、荻和南荻在野生状态下,既可进行种子繁殖又可进行营养繁殖,外加采集样本的发源地较近,这些都可能增大芒、荻和南荻之间的基因交流,从而难以从聚类结果上将其有效地区分出来,这也与杨璐、钟智林等的研究一致。即以形态学上主观的对芒荻类植物进行分类并不完全合理,芒、荻和南荻应同属于芒属(*Miscanthus* spp.)。

虽然不能有效的区分出22种芒荻类植物的种类,但是,两种分子标记的聚类结果都能比较有效地区分出供试材料的来源,ISSR标记的UPGMA聚类结果中来自湖南的五节芒就明显地游离在其他7种来自广东和江西的五节芒之外;来源地理位置较近的山东和江苏的芒荻类植物聚在一处。这也与前人的试验结果一致,即种质资源遗传变异与地理生态环境之间呈现一定的地域分布关系<sup>[18-20]</sup>。

两种分子标记的Mantel检验结果表明,本研究中ISSR和SSR标记的相关性不高,这与前人的很多研究有异。如Paris等<sup>[21]</sup>在对南瓜的研究上表明ISSR和SSR引物相关性较高;Budak等<sup>[22]</sup>在对野牛草的研究表明SSR和ISSR标记有较高的一致性。然而造成本研究中两种分子标记结果相关性不高的主要原因可能在于引物的选择。ISSR标记的对象是微卫星间区,而这部分基因组序列在大多数植物上相似性较高,引物的稳定性较高;SSR标记的对象是微卫星,在不同植物种微卫星的序列差异较大,因此SSR引物需要根据不同植物进行研发。本研究中ISSR引物主要采用哥伦比亚大学提供ISSR引物,分析ISSR标记结果,ISSR标记能够有效地发掘出芒荻类植物的遗传多样性信息。本研究中SSR引物主要采用Zhou等人研发的SSR引物和杨璐等人根据玉米SSR引物在芒荻类植物上研究得到的SSR引物,分析SSR标记结果发现,SSR标记也能有效发掘出芒荻类植物的遗传多样性信息,但是不同SSR引物获得的多态性位点数(PPL)却是有较大差异的,其中玉米SSR引物较根据芒荻类植物基因研发出来的SSR引物PPL更低。

正是由于 ISSR 和 SSR 标记的差别,在本研究中 SSR 标记的结果较 ISSR 标记有更高的鉴别力,这与前人的研究结果一致。如 Posselt 等<sup>[23]</sup>在黑麦草的研究中发现 SSR 标记有更好的准确性;Chatti 等<sup>[24]</sup>在无花果的研究中也发现 SSR 能区分遗传相似性较高的植物。其根本原因是,这两种分子标记从各自的角度对供试材料的不同基因组片段进行了扩增<sup>[25]</sup>。

## 4 结 论

通过对 22 份芒荻类植物资源的遗传多样性研究,建立了适用于芒荻类植物的 ISSR 标记和荧光 SSR 标记方法。22 份芒荻类植物的 ISSR 和 SSR 标记遗传多样性的分析表明,两种分子标记方法皆可用于芒荻类植物的遗传多样性分析。ISSR 标记在 22 份芒荻类植物上有较 SSR 更多的多态位点,根据试验结果追溯到两种分子标记引物设计原理,SSR 法较 ISSR 法更准确,其结果也更能反映实际情况。聚类分析结果表明:南北方的芒荻类植物在遗传进化上有较明显的差异;五节芒明显的区别于芒荻类植物中其他植物;相似地域内的芒、荻和南荻难以区分,其原因可能是芒荻类植物之间生殖隔离发生较晚,或芒荻类植物在野外条件大量杂交以便适应环境所致。

## 参 考 文 献

[1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志第十卷(第二分册)[M]. 北京:北京科学出版社,1997

[2] 徐蕾,要文倩,纪红兵,等. 海南省非粮生物柴油能源植物的调查、化学组分的测定及筛选研究 [J]. 植物科学学报,2011,29(01):99-108

[3] 范希峰,侯新村,左海涛,等. 三种草本能源植物在北京地区的产量和品质特性[J]. 中国农业科学,2010,43(16):3316-3322

[4] 侯新村,范希峰,武菊英,等. 挖沙废弃地草本能源植物生物物质品质对氮肥的响应[J]. 中国草地学报,2011,33(1):11-17

[5] 陈敏,侯新村,范希峰,等. 细叶芒苗期耐旱性分析[J]. 草业学报,2013,22(03):184-189

[6] 侯新村,范希峰,武菊英,等. 纤维素类能源草在京郊地区的经济效益与生态价值评价[J]. 草业学报,2011,20(6):12-17.

[7] 肖亮,薛德,蒋建雄,等. 中国芒(*Miscanthus sinensis*)种质资源 SSR 标记遗传多样性分析 [J]. 植物遗传资源学报,2013,14(01):36-41

[8] Jiang J X, Wang Z H, Tang B R, et al. Development of novel chloroplast microsatellite markers for *Miscanthus* species (Poaceae)[J]. Am J Bot, 2012, 99(6): 230-233

[9] Ho C W, Wu T H, Hsu T W, et al. Development of 12 genic microsatellite loci for a biofuel grass, *Miscanthus sinensis* (Poaceae)[J]. Am J Bot, 2011, 98(8): 201-203

[10] 刁英,胡小虎,郑兴飞,等. 利用 SRAP 和 ISSR 标记分析五节芒(*Miscanthus floridulus*)的遗传多样性[J]. 武汉大学学报:理学版,2010,56(05):578-583

[11] Zhou H F, Li S S, Ge S. Development of microsatellite makers for *Miscanthus sinensis* (Poaceae) and cross-amplification in other related species[J]. Am J Bot, 2011, 98(7): 195-197

[12] 周延清,杨清香,张改娜. 生物遗传标记与应用[M]. 北京:化学工业出版社,2008:3-12

[13] 钟智林. 中国华南地区芒属植物遗传多样性的 SSR 分析[D]. 长沙:湖南农业大学,2009

[14] 杨璐. 中国西南地区芒属植物遗传多样性的 SSR 分析[D]. 长沙:湖南农业大学,2009

[15] Hu J H, Pan L, Liu H G, et al. Comparative analysis of genetic diversity in sacred lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) using AFLP and SSR markers [J]. Mol Biol Rep, 2012, 39(4): 3637-3647

[16] 卢玉飞. 中国芒属植物系统学研究[D]. 长沙:湖南农业大学,2012

[17] Sun Q A, Lin Q, Yi Z L, et al. A taxonomic revision of *Miscanthus* s. l. (Poaceae) from China [J]. Bot J Linn Soc, 2010, 164(2): 178-220

[18] Albrecht E, Zhang D P, Mays A D, et al. Genetic diversity in *Capsicum baccatum* is significantly influenced by its ecogeographical distribution [J]. Bmc Genet, 2012, 13: 68

[19] Agrama H A, Mclung A M, Yan W G. Using minimum DNA marker loci for accurate population classification in rice(*Oryza sativa* L.)[J]. Mol Breeding, 2012, 29(2): 413-425

[20] Wheeler D C, Waller L A. Spatial analysis linking landscape features and genetic population structure in cougars (*Puma concolor*) in the northern Rocky Mountains [J]. Stat Interface, 2012, 5(2): 183-193

[21] Paris H S, Yonash N, Portnoy V, et al. Assessment of genetic relationships in Cucurbitapepo (Cucurbitaceae) using DNA markers [J]. Theor Appl Genet, 2003, 106(6): 971-978

[22] Budak H, Shearman R C, Parmaksiz I, et al. Comparative analysis of seeded and vegetative biotype buffalograsses based on phylogenetic relationship using ISSRs, SSRs, RAPDs and SRAPs [J]. Theor Appl Genet, 2004, 109(2): 280-288

[23] Posselt U K, Barre P, Brazauskas G, et al. Comparative analysis of genetic similarity between perennial ryegrass genotypes investigated with AFLPs, ISSRs, RAPDs and SSRs [J]. Czech J Genet Plant, 2006, 42(3): 87-94

[24] Chatti K, Baraket G, BenAbdelkrim A, et al. Development of molecular tools for characterization and genetic diversity analysis in Tunisian fig (*Ficus carica*) cultivars [J]. Biochem Genet, 2010, 48(9/10): 789-806

[25] Noormohannadi Z, Hasheminejad-Ahangarani Farahani Y, Sheidai M, et al. Genetic diversity analysis in Opal cotton hybrids based on SSR, ISSR, and RAPD markers [J]. Genet Mol Res, 2013, 12(1): 256-269