

应用 ISSR 标记研究仲彬草属植物的遗传变异

张利¹, 周永红^{1*}, 丁春邦¹, 杨瑞武¹, 刘世贵²

(1. 四川农业大学 小麦研究所, 四川 都江堰 611830; 2. 四川大学 草原生防国家实验室, 四川 成都 610064)

摘要: 利用 ISSR 标记对仲彬草属 14 个种和 1 个变种共 32 份材料进行了研究。结果表明: 仲彬草属材料间 ISSR 标记多态性较高, 变异较大。12 个引物共扩增出 593 条带, 其中 535 条(90.2%)具有多态性, 每个引物可扩增出 11~80 条多态性带, 平均 44.6 条。ISSR 标记遗传相似系数在种间变化范围为 0.430~0.866, 平均值为 0.620。从聚类分析得知, ISSR 标记能将 32 份仲彬草属材料完全分开, 32 份材料聚为 4 类。同种不同居群的材料分别聚在一起, 亲缘关系较近, 同时, 在分子水平上种内不同居群间也存在分化; 种间存在明显的遗传差异; 形态相似、地理分布一致的物种倾向于聚类在一起, 有一定的亲缘关系。因此, ISSR 分子标记能有效地评价仲彬草属物种的亲缘关系。

关键词: 仲彬草属; ISSR 标记; 遗传变异; 亲缘关系

中图分类号: Q943 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2006)04-0375-06

Study on genetic variation of genus *Kengyilia* by ISSR markers

ZHANG Li¹, ZHOU Yong-hong^{1*}, DING Chun-bang¹,
YANG Rui-wu¹, LIU Shi-gui²

(1. *Triticeae* Research Institute, Sichuan Agricultural University, Dujiangyan 611830, China; 2. National Laboratory of Grassland Biological Control, Sichuan University, Chengdu 610064, China)

Abstract: The results of ISSR markers showed that higher genetic variation was present among the materials analyzed. A total of 593 bands were amplified from 12 primers, of which 535 bands(90.2%) were polymorphic. 11~80 polymorphic bands could be amplified from each primer, with an average of 44.6 bands. The average GS value of species was 0.620, ranging from 0.430 to 0.866. Cluster analysis showed that all materials could be distinguished by ISSR markers and classified into 4 groups. The different accessions in a species were clustered together respectively, and had genetic variation in molecular levels. Distinct genetic differences exist among the species; The species with similar morphological characters and the species from the same areas or neighboring geographical regions were clustered together, and had close relationships. It is a useful method for analysis of the genetic variation in *Kengyilia*.

Key words: *Kengyilia*; ISSR markers; genetic variation; relationship

仲彬草属(*Kengyilia* Yen et J. L. Yang)是颜济、杨俊良于 1990 年以戈壁仲彬草(*K. gobicola* Yen et J. L. Yang)为模式种建立的一个禾本科

(Poaceae)小麦族(Triticeae)多年生属(Yen 等, 1990)。该属全世界约 26 种 6 变种, 主要分布在中国, 有 23 种 6 变种, 哈萨克斯坦、吉尔吉斯斯坦、塔

收稿日期: 2004-11-18 修回日期: 2005-10-20

基金项目: 国家自然科学基金(30270099, 30470135); 四川省教育厅、科技厅重点项目[Supported by National Natural Science Foundation of China(30270099, 30470135); Education Department and Science and Technology Department of Sichuan Province]

作者简介: 张利(1969-), 女, 重庆合川人, 博士, 副教授, 研究方向: 现代遗传学及生物工程, (E-mail)lizhangbest@yahoo.com.cn.

* 联系作者(Author for correspondence)

吉克斯坦、阿富汗和伊朗也有少量分布。本属植物是草原、荒漠重要组成部分,具有抗病、抗旱、抗寒、耐碱等特性,是良好的牧草,也是麦类作物杂交育种和品种改良的重要种质资源。

仲彬草属为花序顶生、穗状,小穗单生于穗轴各节,颖无芒或具短芒,外稃背部通常密被长柔毛和糙毛。以小穗阔短,非蓖齿状排于穗轴,颖中肋隆起或稍具脊的特征与鹅观草属(*Roegneria*)和冰草属(*Agropyron*)有明显区别。与耿以礼(1959)建立的 *Roegneria* sect. *Paragropyron* 的主要形态特征相似。仲彬草属植物为六倍体($2n=6x=42$),具 St-YP 染色体组(Jensen, 1990; Zhang 等, 1998; 周永红, 1994; 张利等, 2003a)。其 StY 来源于 *Roegneria*, 而 P 来源于 *Agropyron*(Yang 等, 1992)。在分子标记研究方面, Zhou 等(2000)和张利等(2003b, c)对仲彬草属部分物种进行了 RAPD 和 RAMP 分析,结果表明仲彬草属物种间遗传差异明显,具有丰富的遗传多样性。在仲彬草属建立的十多年里,虽对仲彬草属物种进行了形态学、细胞学、DNA 分子水平等方面的研究。但涉及的物种少,众多物种的染色体组组成、物种间亲缘关系、物种界限如何还不清楚,存在一些物种分类处理的争议。

简单重复序列间标记(Inter simple sequence repeat ISSR)技术主要是以一条与微卫星序列互补的并在 3' 或 5' 端含有 2~4 个随机碱基的 DNA 序列为引物对基因组 DNA 进行 PCR 扩增的一种新型分子标记技术, Zietkiewicz 等(1994)认为 ISSR 技术为分类和系统发育研究提供了新型的指纹分析方法。目前利用 ISSR 标记对大麦和小麦进行了研究。Fernandez 等(2002)认为 ISSR 标记不仅是一种快速、可靠、信息量丰富的 DNA 指纹技术,而且是评价大麦系统亲缘关系和估测基因型非常可靠的方法。Kojima 等(1998)首次以 ISSR 与 RAPD 标记建立了包含 7 个小麦品种的遗传连锁图,其中有 9 个 ISSR 位点被定位在 5 条小麦染色体上。本试验采用 ISSR 标记对仲彬草属植物进行遗传变异分析,旨在探讨仲彬草属种间和种内的遗传关系,评价 ISSR 技术在仲彬草属系统分类的应用前景。

1 材料与方 法

1.1 供试材料

本实验所用的 32 份仲彬草属(*Kengyilia*)材料

代表了 14 个物种 1 个变种,其材料序号、物种名称、采集编号及来源列于表 1。所有材料由四川农业大学小麦研究所和美国国家植物种质资源库(American National Plant Germplasm System)提供。

1.2 试验方法

1.2.1 基因组总 DNA 的提取 每份材料取 6~10 株植物的幼嫩叶片约 3 g 用于 DNA 提取,总 DNA 的提取参照 Sharp 等(1988)的方法。

1.2.2 反应体系和扩增程序 选用 35 条 ISSR 引物用于本研究,所有引物均由上海生工生物工程公司合成。反应在 PTC-200 PCR 仪上进行,反应总体积 25 μ L,其中含 1 \times PCR buffer(10 mmol/L Tris-HCl pH8.3, 50 mmol/L KCl, 0.001% gelatin), 1.5 mmol/L MgCl₂, 200 μ mol/L dNTPs, 0.2 μ mol/L 引物, 20~50 ng 模板 DNA, 1U Taq DNA 聚合酶(上海 Promega 公司)。扩增前在 94 $^{\circ}$ C 预变性 2 min, 每循环 94 $^{\circ}$ C 变性 1 min, 52 $^{\circ}$ C 退火 1 min, 72 $^{\circ}$ C 延伸 2 min, 共 45 个循环。完成最后一个循环后,在 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。

1.2.3 扩增产物的检测(银染) 将 25 μ L 扩增产物于 95 $^{\circ}$ C 变性 5 min 后立即放入冰浴中,加入 5 μ L 上样缓冲液(98% 甲酰胺, 10 mmol/L EDTA pH8.0, 0.025% 溴酚兰, 0.025% 二甲苯青)待用。用 4% (W/V) 聚丙烯酰胺变性胶灌胶。在电压为 2 500 V, 电流为 80 mA, 功率 100 W, 预电泳 30 min 后加样 4~6 μ L, 电泳约 3 h 待溴酚蓝指示剂到聚丙烯酰胺胶底后, 停止电泳。取下胶, 将胶放在 2 L 10% 醋酸溶液中, 轻摇 30 min 至指示剂无色。然后用蒸馏水洗 3 次, 每次 5 min。又将胶转移到 2 L 染色液中(2 g AgNO₃ 溶于 2 L 蒸馏水中, 用前加入 3.2 mL 37% 的甲醛混匀), 避光染色 30 min, 其间轻轻摇动。将染色后的胶放在显影液里轻摇至 DNA 条带显出后放在 10% 醋酸溶液中定影 5 min。用水冲洗后凉干胶版, 照相。

1.2.4 数据统计与分析 将 ISSR 扩增产物每个条带视为一个位点, 按条带有或无分别赋值, 有带记为 1, 无带记为 0。按 Nei 等(1979)的方法计算材料间遗传相似系数(GS)。计算公式为: $GS = 2N_{ij} / (N_i + N_j)$, 其中 N_{ij} 为材料 i 和 j 共有的扩增片段数目, N_i 为材料 i 中出现的扩增片段数目, N_j 为材料 j 中出现的扩增片段数目。根据遗传距离(1-GS)按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 NTSYS-PC 软件系统下进行

表 1 供试材料
Table 1 The materials used in this study

物种名称 Species	缩写 Abbreviation	序号 No.	染色体数目 Chromosom No.	染色体组 Genome	保存号 Entry	来源 Geographic origin
<i>K. rigidula</i> (Keng)J. L. Yang, Yen & Baum	KRI	1	42	StYP	W622130	甘肃夏河
		2	42	StYP	Y2330	甘肃夏河
<i>K. stenachyra</i> (Keng)J. L. Yang, Yen & Baum	KST	3	42	—	W622138	甘肃夏河
		4	42	—	W622128	甘肃夏河
		5	42	—	Y2723	甘肃夏河
		6	42	—	Y2305	甘肃夏河
<i>K. hirsuta</i> (Keng)J. L. Yang, Yen & Baum	KHI	7	42	StYP	PI531618	甘肃兰州
		8	42	StYP	Y2860	青海祈连
		9	42	StYP	Y2364	甘肃夏河
		10	42	StYP	Y2368	甘肃夏河
		11	42	StYP	Y1235	西藏日喀则
		12	42	StYP	PI504457	青海青海湖
		13	42	StYP	Y2876	青海格尔木
<i>K. batalinii</i> (Krassn.)J. L. Yang, Yen & Baum	KBA	14	42	StYP	PI531562	Kyrgyzstan
		15	42	StYP	PI565002	Kazakhstan
		16	42	StYP	PI547361	Kyrgyzstan
		17	42	StYP	PI314623	Siberia
<i>K. tahelacana</i> J. L. Yang, Yen & Baum	KTA	18	42	—	Y0582	新疆温宿
		19	42	—	Y0599	新疆温宿
<i>K. melanthera</i> var. <i>tahopaica</i> (Keng)S. L. Chen	KMT	20	42	—	Y2885	青海兴海
<i>K. melanthera</i> (Keng)J. L. Yang, Yen & Baum	KME	21	42	StYP	PI504458	青海青海湖
		22	42	StYP	Y2891	青海玛多
		23	42	StYP	Y2708	四川红原
		24	42	StYP	Y2709a	四川红原
<i>K. laxiflora</i> (Keng)J. L. Yang, Yen & Baum	KLA	25	42	StYP	PI531631	四川石渠
<i>K. zhaosuensis</i> J. L. Yang, Yen & Baum	KZH	26	42	—	Y2633	新疆昭苏
<i>K. gobicola</i> Yen & J. L. Yang	KGO	27	42	StYP	Y9503	新疆塔什库尔干
<i>K. grandiglumis</i> (Keng)J. L. Yang, Yen & Baum	KGR	28	42	StYP	Y2857	青海海宴
<i>K. alatavica</i> (Drobow)J. L. Yang, Yen & Baum	KAL	29	42	StYP	Y9519	甘肃天祝
<i>K. thoroldiana</i> (Oliver)J. L. Yang, Yen & Baum	KTH	30	42	StYP	Y2878	青海格尔木
<i>K. mutica</i> (Keng)J. L. Yang, Yen & Baum	KMU	31	42	StYP	Y2873	青海格尔木
<i>K. kokonorica</i> (Keng)J. L. Yang, Yen & Baum	KKO	32	42	StYP	Y2880	青海共和

(Rohlf, 1993)。

2 结果与分析

2.1 ISSR 多态性分析

35 个引物用于 ISSR 分析,其引物序列参见 Fang 等(1997)和 Nagaoka 等(1997)的研究。随机选择 2 份材料对 35 个 ISSR 引物进行扩增筛选,其中 12 个 ISSR 引物(占 34%)能产生清晰的扩增产物(表 2),扩增结果如图 1。从表 2 看,在 32 份仲彬草材料中,12 个 ISSR 引物共产生 593 条扩增条带,不同引物的扩增条带变幅从 16~85 条不等,平均每个引物可扩增出 49.4 条带。在这 593 条扩增带中,能揭示材料间多态性的扩增带有 535 条,占

90.2%,每个引物可扩增出 11~80 条多态性带,平均每个 ISSR 标记能产生 44.6 条多态性带。说明 ISSR 标记能够揭示仲彬草属物种间较高的多态性。

2.2 遗传相似系数

仲彬草属 14 个物种 1 个变种间的遗传相似系数(GS 值)(表 3)。结果表明,仲彬草属 14 个物种 1 个变种间 GS 值变异范围为 0.430~0.866,平均值为 0.620。其中,*K. thoroldiana* 和 *K. mutica* 的 GS 值最大(0.866),遗传距离(GD=1-GS)最近,遗传相似程度最高;*K. laxiflora* 和 *K. rigidula* 之间的 GS 值最小(0.430),遗传相似性最低,亲缘关系最远。6 个仲彬草属物种内,即 *K. rigidula*、*K. stenachyra*、*K. hirsuta*、*K. batalinii*、*K. tahelacana* 和 *K. melanthera*,平均 GS 为 0.849,以 *K. rigidula*

表 2 12 个 ISSR 标记引物序列、来源及扩增结果

Table 2 ISSR primer sequences, its sources and the results of amplification

引物 Primer	序列 Sequence	扩增 DNA 条带 DNA bands amplified	
		总数 Total	多态带 Polymorphic bands
1	5'-HVH(TG)7T-3'	66	58
2	5'-VHVG(TG)7-3'	54	49
3	5'-HVH(TCC)5-3'	60	55
4	5'-(AG)8YC-3'	33	29
5	5'-(AC)8YG-3'	43	38
6	5'-(GA)8C-3'	43	40
7	5'-(CT)8G-3'	33	28
8	5'-(CA)8G-3'	52	48
9	5'-(AC)8C-3'	16	11
10	5'-(AG)8YT-3'	85	80
11	5'-(GA)8YC-3'	85	79
12	5'-(AC)8YT-3'	23	20
合计 Total		593	535

注: Y=G/C, H=A/T/C, V=A/G/C; 第 1~5 条、6~12 条 ISSR 引物序列分别参见文献 Fang 等(1997)和 Nagaoka 等(1997)。

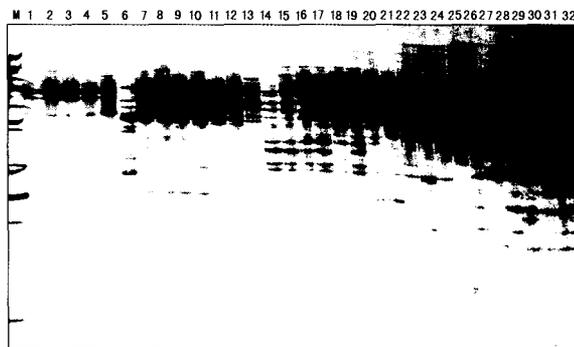


图 1 8 号引物的 ISSR 扩增产物 PAGE 电泳银染图谱
Fig. 1 The amplification results of primer 8 based on ISSR

(材料编号同表 1, M 代表 GeneRuler™ 50 bp DNA Ladder Plus marker)

Lanes 1 to 32 correspond to the materials numbers in Table 1, M stands for GeneRuler™ 50 bp DNA Ladder Plus(MBI)

的种内平均 GS 值(0.965)为最大,其次是 *K. batali-*

表 3 遗传相似系数

Table 3 Genetic similarity (GS) values

	KRI	KST	KHI	KBA	KTA	KMT	KME	KLA	KZH	KGO	KGR	KAL	KTH	KMU
KRI	0.965													
KST	0.810	0.838												
KHI	0.645	0.664	0.813											
KBA	0.558	0.580	0.581	0.883										
KTA	0.509	0.561	0.566	0.645	0.775									
KMT	0.566	0.599	0.686	0.586	0.598	—								
KME	0.586	0.615	0.689	0.571	0.571	0.807	0.817							
KLA	0.430	0.473	0.508	0.512	0.518	0.503	0.519	—						
KZH	0.588	0.625	0.648	0.581	0.572	0.681	0.726	0.512	—					
KGO	0.543	0.582	0.567	0.614	0.550	0.590	0.613	0.502	0.769	—				
KGR	0.610	0.644	0.664	0.586	0.565	0.699	0.727	0.496	0.736	0.630	—			
KAL	0.578	0.637	0.599	0.617	0.586	0.632	0.652	0.501	0.734	0.749	0.690	—		
KTH	0.596	0.611	0.625	0.590	0.553	0.695	0.746	0.503	0.722	0.627	0.749	0.670	—	
KMU	0.580	0.608	0.623	0.574	0.558	0.680	0.732	0.498	0.710	0.622	0.729	0.646	0.866	—
KKO	0.591	0.618	0.631	0.563	0.589	0.719	0.685	0.533	0.659	0.591	0.662	0.642	0.741	0.757

nii, 种内平均 GS 值为 0.883, 而 *K. tahelacana* 的种内平均 GS 值(0.775)最小。

2.3 聚类分析

根据遗传相似系数矩阵, 采用 UPGMA 法构建了 32 份仲彬草属物种间的遗传关系聚类图(图 2)。从图 2 可以看出, 32 份材料聚为 4 类。 *K. laxiflora* 一个种, 1 份材料单独聚为一类(第 I 类); *K. batalinii* 和 *K. tahelacana* 两个种, 6 份材料聚为第

II 类; 在第 III 类中 19 份材料很明显地聚为 2 个亚类, 其中 III a 亚类包括 *K. zhaosuensis*, *K. gobicola* 和 *K. alata* 三个种, 3 份材料。 III b 亚类包括 16 份材料, 分属于 6 个种和 1 个变种, 它们是 *K. hirsuta*, *K. melanthera*, *K. melanthera* var. *tahopatica*, *K. grandiglumis*, *K. thordiana*, *K. mutica* 和 *K. kokonorica*; *K. rigidula* 和 *K. stenachyra* 两个种共 6 份材料聚为第 IV 类。

3 讨论

本研究中,由于 ISSR 标记是据基因组中广泛存在的微卫星序列设计通用引物对基因组 DNA 进行 PCR 扩增,从而检测基因组中微卫星序列变异。由于微卫星序列不具有结构基因的功能,而且重复单元的重复次数的改变对整个生物体而言是微小变异,所以在生物长期进化过程中积累了丰富的微卫星变异,这就决定 ISSR 标记具有较高的多态性水平(景润春等,2000),并且在亲缘关系极近的品种间也能找到差异条带而进行区分(李进波等,2002)。钱韦等(2000)在应用 ISSR 标记对中国疣粒野生稻的遗传多样性研究中,获得了 72.95% 的多态性;杜金昆等(2002)在小麦的遗传差异研究中获得了 87.4% 的多态性,平均每个 ISSR 引物能产生 18.8 条多态性带。本试验利用 12 个引物在 32 份仲彬草属材料中共扩增出 593 条带,其中 535 条具有多态性,占总数的 90.2%,每个引物可扩增出 11~80 条多态性带,平均为 44.6 条。因此,ISSR 标记能揭示仲彬草属物种间较高的多态性,同时,ISSR 标记获得单位引物多态位点比率的能力明显高于 RAPD (Zhou 等,2000;张利等,2003b)和 RAMP(张利等,2003c)标记,这与 Gilbert 等(1999)、Yang 等(1996)和 Jonsson 等(1996)的研究结果一致。

ISSR 分析结果表明,种内不同居群的材料分别聚在一起,它们之间亲缘关系最近。在 6 个仲彬草属物种内,*K. rigidula* 的种内平均 GS 值最大,为 0.965,说明 *K. rigidula* 种内的遗传变异最小,它们都来源于青海夏河;而 *K. tahelacana* 的种内平均 GS 值最小,为 0.775,其种内的遗传分化最大,它们都分布在新疆温宿。这说明仲彬草属在分子水平上种内不同居群间存在分化,且在不同的分布区域其种内的分化速度是有差异的。同时,种内的平均 GS 值(0.849)大于种间的平均 GS 值(0.620)。

本试验利用 ISSR 标记的聚类分析结果表明,14 个种 1 个变种共 32 份仲彬草属材料聚为 4 类。其中,*K. laxiflora* 单独聚为一类,与其它材料间遗传距离最大。*K. laxiflora* 主要分布在四川,小穗排列稀疏,曾被郭本兆(1987)在中国植物志第 9 卷第 3 分册中,放在 *Roegneria* sect. *Clinelymus*,而不是 *Roegneria* sect. *Paragropyron* (耿以礼等,1963)。细胞学研究表明具 StYP 染色体组,RAPD

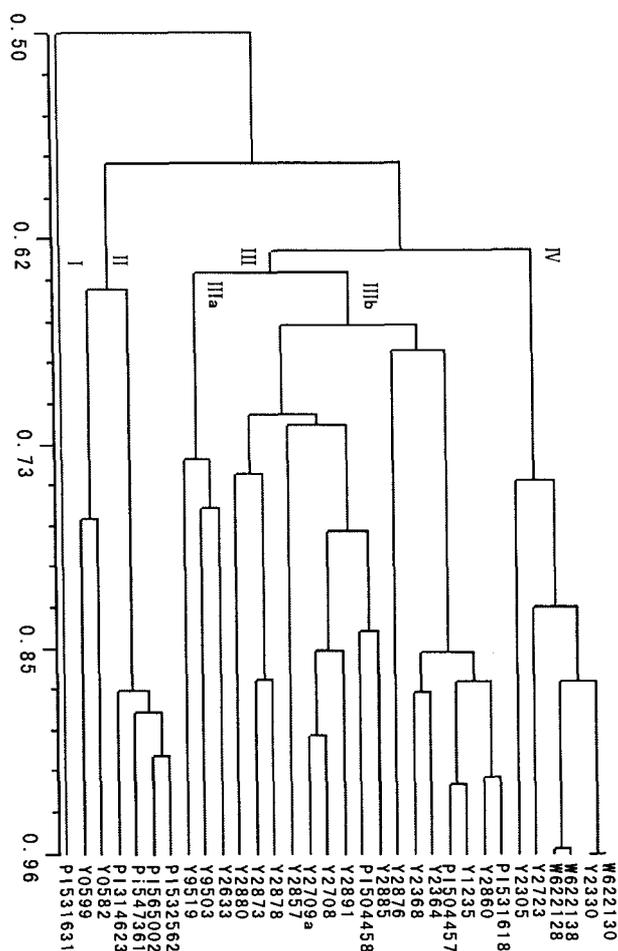


图 2 32 份仲彬草属材料基于 ISSR 遗传关系的聚类图
Fig. 2 Dendrograms of 32 *Kengyilia* accessions constructed from a matrix of similarity based on ISSR data

标记表明把 *K. laxiflora* 归于仲彬草属是正确的(Zhang 等 1998; Zhou 等, 2000)。本研究中 *K. laxiflora* 单独聚为一类,与其它仲彬草属物种有较大的 ISSR 变异,表明 *K. laxiflora* 应该归属仲彬草属,但与其它仲彬草属物种有较远的亲缘关系。*K. batalinii* 和 *K. tahelacana* 两个物种聚为 II 类,据蔡联炳等(1999)的形态分类,它们分属于短穗组和阔穗组,形态上 *K. batalinii* 为密穗,而 *K. tahelacana* 为疏穗。形态和分子标记存在差异的原因可能是在仲彬草属的分组上存在人为因素,分组用的形态特征差异可能与不同的营养条件、气候等生态因素有关。因此,是否适合分组、分组的界限是否合理等尚有待于进一步研究。在 III b 亚类中,*K. thoroldiana* 和 *K. mutica* 聚在一起,它们形态相似,

分布区也较一致,亲缘关系较近;*K. melanthera* 和它的变种 *K. melanthera* var. *tahopaica* 聚类更紧密,亲缘关系也较近。对于 *K. melanthera*,蔡联炳等(1999)将其处理为 *K. thoroldiana* var. *melanthera*,将 *K. melanthera* var. *tahopaica* 处理为 *K. hirsuta* var. *tahopaica*。从本研究看,将 *K. melanthera* 作为独立一物种处理,*K. melanthera* var. *tahopaica* 仍作为 *K. melanthera* 的变种处理是较合理的,这与 RAPD(Zhou 等,2000;张利等,2003b)和 RAMP(张利等,2003c)研究结果一致。我们还将进一步通过种间杂交进行染色体组分析。*K. rigidula* 和 *K. stenachyra* 聚为 IV 类,有较近的亲缘关系,它们形态极其相似,只有颖的大小和外稃的长短不同,且分布在甘肃夏河、甘肃一带。因此,ISSR 标记可作为评价仲彬草属系统亲缘关系研究的可靠而有效的补充方法。

参考文献:

- 耿以礼. 1959. 中国主要植物图说——禾本科[M]. 北京:科学出版社,342—409.
- 郭本兆. 1987. 中国植物志第 9 卷第 3 分册. 北京:科学出版社,9(3):51—104.
- Cai LB(蔡联炳),Zhi L(智力). 1999. A taxonomical study on the genus *Kengyilia* Yen et J. L. Yang(以礼草属的分类研究)[J]. *Acta Phytotax Sin*(植物分类学报),37(5):451—467.
- Du JK(杜金昆),Yao YY(姚颖垠),Ni ZF(倪中福),et al. 2002. Genetic diversity revealed by ISSR molecular marker in common wheat, spelt, compactum and progeny of recurrent selection(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]. *Acta Genet Sin*(遗传学报),29(5):445—452.
- Fang D Q, Roose M L. 1997. Identification of closely related citrus cultivars with inter-simple sequence repeat markers [J]. *Theor Appl Genet*, 95:408—417.
- Fernandez M E, Figueiras A M, Benito C. 2002. The use of ISSR and RAPD markers for detecting DNA polymorphism, genotype identification and genetic diversity among barley cultivars with known origin[J]. *Theor Apple Genet*, 104: 845—851.
- Gilbert J E, Lewis R V, Wilkinson M J, et al. 1999. Developing an appropriate strategy to assess genetic variability in plant germplasm collections[J]. *Theor Apple Genet*, 98: 1 125—1 131.
- Jensen K B. 1990. Cytology and taxonomy of *Elymus kengii*, *E. grandiglumis*, *E. alatavicus*, and *E. batalini* (Poaceae; Triticeae)[J]. *Genome*, 33:668—673.
- Jing RC(景润春), He YQ(何予卿), Huang QY(黄青阳), et al. 2000. Analysis of the fertility restorer gene in the wild-abortive(WA) type cytoplasmic male sterility (CMS) system with the ISSR and SSLP markers(水稻野败型细胞质雄性不育恢复基因的 ISSR 和 SSLP 标记分析)[J]. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 33(2):1—9.
- Jonsson B O, Jonsdottir I S, Cronberg N. 1996. Clonal diversity and allozyme variation in population of the arctic *Carex bigelowii* (Cyperaceae)[J]. *J Ecol*, 84:449—459.
- Keng YL(耿以礼), Chen SL(陈守良). 1963. A revision of the genus *Roegneria* C. Koch of China(国产鹅观草属 *Roegneria* C. Koch 之订正)[J]. *J Nanjing Univ*(南京大学学报), 3(1):1—92.
- Kojima T, Nagaoka T, Noda K, et al. 1998. Genetic linkage map of ISSR and RAPD markers in Eikorn wheat in relation to that of RFLP markers[J]. *Theor Appl Genet*, 96:37—45.
- Li JB(李进波), Mou TM(牟同敏), Fang XJ(方宣钧). 2002. Identification and genetic analysis for 12 elite PGMS and TGMS rices based on ISSR markers(12 个水稻光温敏核不育系的 ISSR 标记鉴定及遗传分析)[J]. *Chin Agric Sci Bull*(中国农学通报), 18(1):6—9.
- Nagaoka T, Ogihara Y. 1997. Applicability of inter-simple sequence repeat polymorphisms in wheat for use DNA as markers in comparison to RFLP and RAPD markers [J]. *Theor Appl Genet*, 94:597—602.
- Nei M, Li W H. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases[J]. *Proc Nat Acad Sci USA*, 76:5 269—5 273.
- Qian W(钱 韦), Ge S(葛 颂), Hong DY(洪德元). 2000. Assessment of genetic variation of *Oryza granulata* detected by RAPDs and ISSRs(采用 RAPD 和 ISSR 标记探讨中国疣粒野生稻的遗传多样性)[J]. *Acta Bot Sin*(植物学报), 42(7):741—750.
- Rohlf F J. 1993. NTSYS-pc Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Version 1. 80 [M/CD]. New York:Exeter Software, Setauket.
- Sharp P J, Kresis M, Shewry P R, et al. 1988. Location of β -amylase sequences in wheat and its relatives[J]. *Theor Appl Genet*, 75:286—290.
- Yang J L, Yen C, Baum B R. 1992. *Kengyilia*: synopsis and key to species[J]. *Hereditas*, 116:25—28.
- Yang W P, Oliveira A C, Godwin I, et al. 1996. Comparison of DNA marker technologies in characterizing plant genome diversity; variability in Chinese sorghums[J]. *Crop Sci*, 36:1 669—1 676.
- Yen C, Yang J L. 1990. *Kengyilia gobicola*, a new taxon from west China[J]. *Can J Bot*, 68:1 894—1 897.
- Zhang L(张 利), Zhou YH(周永红), Zheng YL(郑有良), et al. 2003a. Study on karyotypes and evolution of 6 species in *Kengyilia*(仲彬草属 6 个物种的核型与进化研究)[J]. *J Sichuan Univ(Nat Sci Edi)*(四川大学学报(自然科学版)), 40(2):361—366.
- Zhang L(张 利), Zheng YL(郑有良), Wei YM(魏育明), et al. 2003b. Genetic variation in *Kengyilia* populations based on Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) analysis (仲彬草属物种的 RAPD 遗传变异分析)[J]. *J Beijing Fore Univ*(北京林业大学学报), 25(3):11—16.

photoperiods and rainfall when grown in the field. Otherwise, Hussey *et al.* (1991) also found that the frequency of apomixis was not affected by the photoperiods in *Pennisetum ciliare*.

The frequency of apomixis had been not easy to predict, since the photoperiod, temperature, and rainfall seem no relationship with the apomixis respectively in Guangzhou. Due to the highly irregular frequency of apomixis that are occasionally observed in field-growing *A. mutica*, it appears that environmental factors other than temperature, photoperiods and precipitation or some of them together influence the facultative apomixes in *A. mutica*. The frequency of apomixis is like the yield of crop, many environmental cues affected the yield of crop together, not only one of the environmental cues can de-

termine the frequency of apomixis in *A. mutica*.

References:

- Hussey MA, Bashaw EC, Hignight K W, *et al.* 1991. Influence of photoperiod on the frequency of sexual embryo sacs in facultative apomictic buffelgrass[J]. *Euphytica*, **54**:141-145.
- Knox RB. 1967. Apomixis: seasonal and population differences in a grass[J]. *Science*, **157**:325-326.
- Ma SM(马三梅), Wang YF(王永飞), Ye XL(叶秀麟), *et al.* 2003. Influence of photoperiod on facultative apomixis in *Apluda mutica* (光照时间对水蔗草兼性无融合生殖的影响)[J]. *J Trop Subtrop Bot* (热带亚热带植物学报), **11**(1):64-66.
- Ma SM(马三梅), Ye XL(叶秀麟), Zhao NX(赵南先), *et al.* 2002. Embryological studies on facultative apomixis in *Apluda mutica* (水蔗草兼性无融合生殖的胚胎学研究)[J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), **44**(3):259-263.
- Murty UR. 1973. Polyploidy and apomixis in *Apluda mutica* L. var. *aristata* (L.) Pilger[J]. *Cytologia*, **38**:347-356.

水蔗草兼性无融合生殖的季节变化

马三梅¹, 王永飞¹, 叶秀麟²

(1. 暨南大学 生物工程学系, 广东 广州 510632; 2. 中国科学院 华南植物园, 广东 广州 510650)

摘要: 对广州地区水蔗草在不同季节的无融合生殖胚囊和有性生殖胚囊频率进行了研究。结果表明: 无融合生殖胚囊和有性生殖胚囊的频率在不同季节差异十分显著。两年中, 无融合生殖胚囊出现的频率分别在冬季和夏季最高。

关键词: 水蔗草; 兼性无融合生殖; 季节变化

(上接第 380 页 Continue from page 380)

- Zhang L(张利), Zhou YH(周永红), Wei YM(魏育明), *et al.* 2003c. Relationships among *Kengyilia* species based on Random Amplified Microsatellite Polymorphism (RAMP) (应用 RAMP 分子标记探讨仲彬草属的种间关系)[J]. *High Technology Letters* (高技术通讯), **13**(4):28-33.
- Zhang X Q, Yen C, Yang J L. 1998. Cytogenetic analyses of *Kengyilia laxiflora*[J]. *Plant Syst Evol*, **212**:79-86.
- Zhou YH(周永红). 1994. Study on karyotypes of 5 species of *Kengyilia* (仲彬草属 5 种植物的核型研究)[J]. *Guihaia* (广西植物), **14**(2):163-169.

- Zhou YH(周永红), Zheng YL(郑有良), Yang JL(杨俊良), *et al.* 2000. Relationship among *Kengyilia* species assessed by RAPD marker (利用 RAPD 分子标记评价仲彬草属的种间关系)[J]. *Acta Phytotax Sin* (植物分类学报), **38**(6):515-521.
- Zietkiewicz E, Rafalski A, Labuda D. 1994. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification[J]. *Genomics*, **20**:176-183.