

蔺草种质资源遗传多样性的 ISSR 分析

柴晓娟¹, 郭玮龙², 陈 慧¹, 王俊荣¹, 谢德志¹, 金水虎¹

(1. 浙江农林大学 林业与生物技术学院, 浙江 临安 311300; 2. 浙江省嵊州市农林局, 浙江 嵊州 312400)

摘要: 为研究蔺草 *Juncus effusus* 种质资源遗传多样性, 采用简单序列重复区间扩增多态性(inter-simple sequence repeats, ISSR)分子标记技术对来自不同区域的 36 份蔺草种质资源进行遗传多样性分析, 并探讨它们的亲缘关系。结果显示: 72 对 ISSR 引物中共筛选出 23 对引物能扩增出稳定清晰条带; 36 份蔺草种质的基因组 DNA 共扩增出 148 条带, 其中 130 条多态性条带, 多态性比率达 87.84%。应用 NTSYSpc 2.1 软件分析显示, 36 份蔺草种质材料间的遗传相似系数(genetic similarity, GS)为 0.405 6~0.944 1, 表明蔺草种质资源具有丰富的遗传多样性。非加权组平均法(unweighted pair group method using arithmetic averages, UPGMA)聚类显示, 在遗传相似系数 0.650 3 处可将 36 份蔺草种质划分为 5 大类群, 第 I 大类群可分为 3 个亚类, 大多数来自于相同或相近地理区域的材料聚于同一类或亚类, 野生种质与栽培种质有分别聚在一起的趋势。研究结果从分子水平揭示了蔺草种质资源的主要遗传多态性特点, 为今后蔺草育种及杂交亲本的选择提供理论依据。图 2 表 2 参 26

关键词: 植物学; 蔺草; 种质资源; ISSR 标记; 遗传多样性

中图分类号: S718.46 **文献标志码:** A **文章编号:** 2095-0756(2017)03-0552-07

Genetic diversity of *Juncus effusus* germplasm by ISSR markers

CHAI Xiaojuan¹, GUO Weilong², CHEN Hui¹, WANG Junrong¹, XIE Dezhi¹, JIN Shuihu¹

(1. School of Forestry and Biotechnology, Zhejiang A & F University, Lin'an 311300, Zhejiang, China; 2. Agriculture and Forestry Bureau of Shengzhou City, Shengzhou 312400, Zhejiang, China)

Abstract: To study the genetic diversity of *Juncus effusus* resources, the genetic diversity of 36 *J. effusus* germplasm resources from both home and abroad were analyzed by Inter Simple Sequence Repeats (ISSR) markers. Analysis included an Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean (UPGMA) cluster analysis. Results showed 23 primers with clear polymorphic bands selected from 72 primers. A total of 148 bands, of which 130 were polymorphic, were amplified from the 36 materials with the proportion of polymorphic loci being 87.84%. The genetic similarity coefficient for varieties was between 0.405 6 and 0.944 1, which showed rich genetic diversity. The UPGMA cluster analysis produced a genetic similarity coefficient of 0.650 3 for the boundaries with the 36 materials divided into five groups and the first group being divided into three subgroups. Results were connected to region and cultivar origin with materials from the same region mostly classified into the same group or subgroup. This research revealed the genetic diversity of *J. effusus* germplasm resources at the molecular level for the first time which could provide a theoretical basis for breeding. [Ch, 2 fig. 2 tab. 26 ref.]

Key words: botany; *Juncus effusus*; germplasm resources; ISSR markers; genetic diversity

蔺草 *Juncus effusus* 俗称席草, 属灯心草科 Juncaceae 多年生宿根草本, 是一种重要的经济作物^[1]。除

收稿日期: 2016-06-27; 修回日期: 2016-10-24

基金项目: 浙江省宁波市科技资助项目(2012C10039)

作者简介: 柴晓娟, 从事植物分类与资源利用研究。E-mail: 540672492@qq.com。通信作者: 金水虎, 教授, 从事植物资源等研究。E-mail: jsh501@163.com

了干旱和高海拔地区外，北美洲、欧洲及亚洲等亚热带地区均有分布，中国、日本、韩国及东南亚一些国家均有栽培。蔺草制品具有调节干湿的功能，夏季能保持适度的干燥，使人的皮肤触感异常舒适，因此，蔺草多用于编制榻榻米、草席、草帽、草垫等生活日用品。此外，蔺草还有一定的生态价值和药用价值^[2]。中国是世界上利用和栽培蔺草最早的国家之一，但近年来由于蔺草品种混杂非常严重，极大地影响和限制了蔺草的生产。目前，有关蔺草的研究主要集中在生物学特性、生理生化、繁殖栽培技术等方面^[3-6]，有关蔺草种质资源遗传多样性的研究还未见报道。本研究利用简单序列重复区间扩增多态性 (ISSR) 分子标记技术^[7-12]对 36 份蔺草种质进行遗传多样性分析，以揭示蔺草种质资源的主要遗传多态性特点，确定蔺草种质资源的亲缘关系，为蔺草新品种的选育和产业可持续发展奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

36 份蔺草种质来自美国和中国(浙江、西藏、四川)等不同地区，其中包括 22 份主要栽培资源和 14 份野生资源。2013 年收集后，栽培于浙江农林大学试验基地。材料来源及采集地见表 1。

1.2 试验方法

1.2.1 DNA 提取及定量 采用改良的十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)法，从新鲜的蔺草嫩茎中提取基因组 DNA。取新萌生的蔺草嫩茎约 0.5 g 在液氮冷冻下研磨成粉末，迅速转入 2.5 mL 离心管，加入 800.0 μL 预热的 2 \times CTAB 提取缓冲液[质量分数为 2% CTAB，三羟甲基氨基甲烷与盐酸缓冲液(Tris-HCl)100.0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ，乙二胺四乙酸二钠(EDTA- Na_2)25.0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ，氯化钠 1.5 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ，体积分数为 1% 巯基乙醇]，充分混匀后置于 65 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 45 min，隔 10 min 轻摇 1 次，使样品充分悬浮在提取缓冲液中；取出离心管，4 $^{\circ}\text{C}$ ，12 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ ，离心 10~15 min；取上清，加入等体积的 $V(\text{氯仿}):V(\text{异戊醇})=24:1$ 混合液，轻柔颠倒混匀，4 $^{\circ}\text{C}$ ，使乳化 10 min，取出离心管，4 $^{\circ}\text{C}$ ，12 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ ，离心 10~15 min；重复上一步；取上清，加入等体积-20 $^{\circ}\text{C}$ 预冷的异丙醇，轻轻颠倒混匀，置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 沉淀 30 min；4 $^{\circ}\text{C}$ ，6 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 8 min，弃上清，用体积分数为 70% 的乙醇洗涤沉淀 2~3 次，风干，加入 100.0 μL TE(10.0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris-HCl，1.0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDTA)溶解，加入 1.0 μL 10.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 RNA 降解酶(RnaseA)，4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。用质量分数为 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 质量，用蛋白核酸分析仪根据 $D(260)/D(280)$ 的比值判断其纯度。用无菌水稀释到均一质量浓度 50.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

表 1 材料来源及采集地

Table 1 Sources of experiment materials

编号	名称	采集地点	来源	编号	名称	采集地点	来源
1	YD-01	中国浙江宁波鄞州	云达蔺草制品厂	19	DY-01	中国浙江东阳南马	南之梦之娇竹制品厂
2	YD-02	中国浙江宁波鄞州	云达蔺草制品厂	20	DY-02	中国浙江东阳南马	南之梦之娇竹制品厂
3	YF-01	中国浙江宁波鄞州	友丰工艺编织厂	21	DY-03	中国浙江东阳南马	南之梦之娇竹制品厂
4	XY-02	中国浙江宁波鄞州	新艺蔺草制品公司	22	NH	中国浙江宁波宁海深甬	野生
5	XY-01	中国浙江宁波鄞州	新艺蔺草制品公司	23	LS	中国浙江丽水岭头	野生
6	XY-03	中国浙江宁波鄞州	新艺蔺草制品公司	24	XS	中国浙江象山石浦	野生
7	XY-04	中国浙江宁波鄞州	新艺蔺草制品公司	25	SZ	中国浙江嵊州金庭华堂	野生
8	XY-07	中国浙江宁波鄞州	新艺蔺草制品公司	26	WZ	中国浙江温州文成	野生
9	YZ-02	中国浙江宁波鄞州	新银蔺草制品公司	27	MG	美国	野生
10	YZ-01	中国浙江宁波鄞州	新银蔺草制品公司	28	LZ	中国西藏林芝	野生
11	HB-01	中国浙江宁波鄞州	华备编织品有限公司	29	SM-01	中国浙江台州三门海游	野生
12	HB-02	中国浙江宁波鄞州	华备编织品有限公司	30	SM-02	中国浙江台州三门悬渚	野生
13	XM-01	中国浙江宁波鄞州	兴明工艺编织品公司	31	ZJ	中国浙江诸暨枫桥	野生
14	HB-03	中国浙江宁波鄞州	华备编织品有限公司	32	HZ	中国浙江湖州	野生
15	HR-001	中国浙江宁波鄞州	华荣工艺编织品厂	33	DY-04	中国浙江东阳千祥	野生
16	HR-002	中国浙江宁波鄞州	华荣工艺编织品厂	34	JH	中国浙江金华武义	野生
17	BC	中国浙江宁波黄古林	新艺蔺草制品公司	35	LH	中国浙江台州临海邵家渡	野生
18	HGL	中国浙江宁波黄古林	新艺蔺草制品公司	36	SC	中国四川眉山	华升蔺业发展公司

1.2.2 ISSR 引物的筛选 随机选取 2 份藨草种质的 DNA, 利用加拿大哥伦比亚大学公布的在禾本科 Gramineae 植物中常用的 ISSR 引物 (UBC801-UBC900)72 对 (引物由上海生工生物工程股份有限公司合成) 进行筛选, 筛选出 23 对扩增条带较稳定、清晰的引物(表 2), 用于全部藨草种质资源扩增。

1.2.3 简单序列重复-聚合酶链式反应(ISSR-PCR)体系的构建 根据小麦 *Triticum eastivum*^[7], 水稻 *Oryza sativa*^[13], 冰草属 *Agropyron*^[14], 早熟禾 *Poa*^[15] 和中型狼尾草 *Pennisetum longissimum var. intermedium*^[16] 等的方法设置 ISSR-PCR 反应体系和扩增程序。通过预试验, 建立藨草 ISSR 分析的优化反应体系及反应程序。反应体系总体积 20.0 μL , 包含 1.0 μL DNA 模板 (50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), 14.5 μL 双蒸水, 1.3 μL 镁离子 (25 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), 2.0 μL 缓冲液 (10 \times), 1.5 μL 脱氧核糖核苷三磷酸 (2.5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), 0.2 μL *Taq* 酶 (5 \times 16.67 nkat), 0.5 μL 引物 (10.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)。扩增程序为: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min, 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 1 min, 退火 45 s (根据引物的退火温度 T_m 所得), 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1.5 min, 共 35 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 再延伸 7 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。PCR 扩增产物用含 0.5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 溴化乙锭 (ethidium bromide, EB) 质量分数 2.0% 琼脂糖凝胶电泳分离, 1 \times 三羟甲基氨基甲烷-硼酸 (TBE) 缓冲液, 120 V 电压下电泳 40 min。以 100 bp DNA 梯度为标准分子量标记, 电泳结果在紫外凝胶成像系统进行拍照并分析。

1.2.4 数据统计及分析 根据在凝胶同一迁移位置上 DNA 条带有无进行统计, 有条带 (显性) 记为 “1”, 无条带 (隐性) 或模糊不清记为 “0”, 形成 0/1 矩阵。多态性比例 (%) = (总谱带数 - 共有带数) / 总谱带数 \times 100%。用 NTSYSpc 2.1 软件进行遗传相似系数计算, 利用非加权组平均法 (UPGMA) 构建聚类树状图。

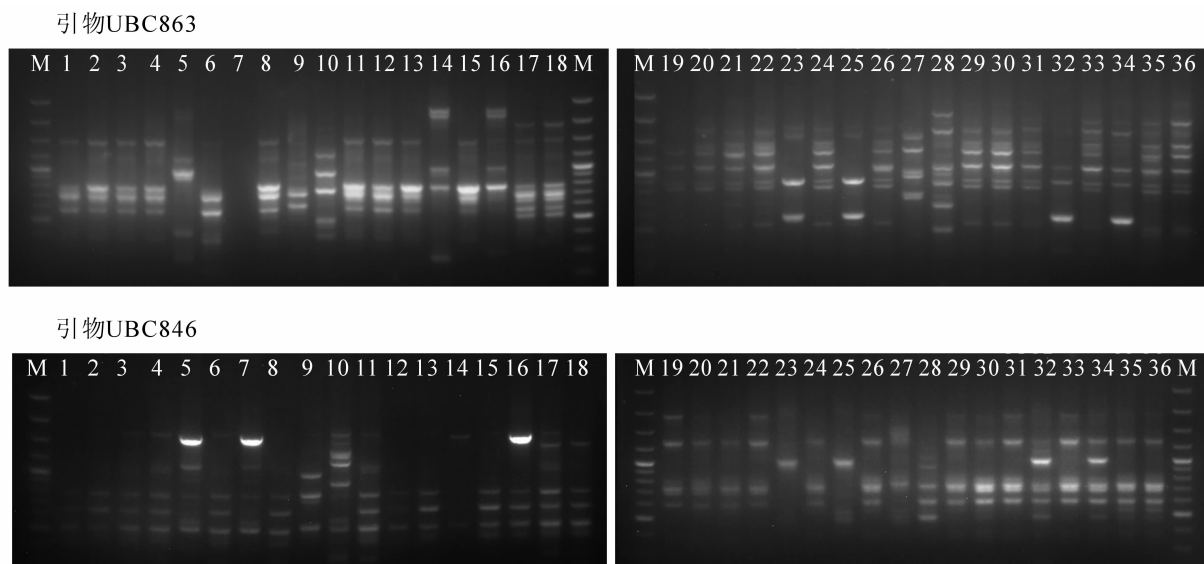
2 结果与分析

2.1 ISSR 扩增结果及多态性分析

利用筛选出的 23 对 ISSR 引物对供试材料进行 PCR 扩增, 共扩增出 148 条稳定清晰的 DNA 条带 (表 2), 每对引物扩增带数为 4~10 条, 平均每对引物扩增条带数为 6.43 条; 所有引物中, 引物 UBC815 和引物 UBC895 扩增带数最多, 均为 10 条, 引物 UBC859 和引物 UBC875 的引物扩增带数最少, 均为 4 条; 在所有供试材料中具有多态性的引物共 15 对, 扩增出多态性条带 130 条, 多态性条带比率为 87.84%, 平均每对引物扩增出多态性条带 5.65 条。

2.2 遗传相似性分析

36 份藨草种质间的遗传相似系数 (GS) 为 0.405 6~0.944 1 (图 2), 具有丰富的遗传多样性。其中, DY-02 和 DY-03 之间的遗传相似系数最大, 达 0.944 1, 表明其亲缘关系较近; 遗传相似系数最小的是



M. 100 bp DNA 梯度标记; 1~36. 36 份藨草种质资源, 顺序同表 1。

图 1 引物 UBC 863 和引物 UBC 846 的扩增图谱

Figure 1 ISSR amplification of *Juncus effusus* with primer UBC863 and UBC846

表 2 引物序列及其扩增产物的多态性

Table 2 Sequence and amplified loci polymorphism of 23 primers

引物名称	引物序列 (5'→3')	退火温度/℃	扩增条带数/条	多态性条带数/条	多态比百分率/%	引物名称	引物序列 (5'→3')	退火温度/℃	扩增条带数/条	多态性条带数/条	多态比百分率/%
UBC 811	(GA)8C	54.6	5	5	100.00	UBC 843	(AC)8TA	52.7	7	6	85.71
UBC 815	(CT)8G	54.6	10	8	80.00	UBC 846	(AC)8CC	57.3	6	6	100.00
UBC 817	(CA)8A	52.2	5	5	100.00	UBC 862	(AC)8CG	57.3	8	7	87.50
UBC 818	(CA)8G	54.6	6	5	83.33	UBC 863	(AC)8CT	55.0	8	8	100.00
UBC 825	(AC)8T	52.2	5	4	80.00	UBC 867	(AC)8GT	57.3	6	4	66.67
UBC 835	(AG)8YC	54.6	5	5	100.00	UBC 874	(TG)8CT	55.0	5	4	80.00
UBC 840	(GA)8YT	53.9	6	5	83.33	UBC 875	(TG)8GG	54.8	4	4	100.00
UBC 842	(GA)8YG	56.2	7	6	85.71	UBC 879	(AG)8GC	57.3	7	6	85.71
UBC 844	(CT)8RC	56.2	6	6	100.00	UBC 895	(ACTG)4	51.6	10	8	80.00
UBC 855	(AC)8YT	53.9	6	5	83.33	UBC 897	(ACTC)4	51.6	7	6	85.71
UBC 856	(AC)8YA	53.9	7	6	85.71	总数			148	130	87.84
UBC 859	(TG)8RC	56.2	4	4	100.00	平均			6.43	5.65	
UBC 830	(GAA)6	48.2	8	7	87.50						

说明：Y=(C, T); R=(A, G)。

YF-01 与 LZ 之间，为 0.405 6，表明其亲缘关系较远。36 份藜草种质材料中，大多数来自于相同或相近地理位置的材料间相似系数值较大，说明其亲缘关系较近。

2.3 UPGMA 聚类分析

为使供试藜草种质间的亲缘关系更加清晰明确，采用 UPGMA 法对得到的遗传相似系数进行聚类分析，结果如图 2 所示。在遗传相似系数为 0.650 3 处，将 36 份藜草种质资源分为 5 大类群：第 I 大类中有 29 份材料，又可分为 3 个亚类：第一亚类包括 YD-01, YD-02, XY-04, XY-07, YZ-01, HB-01, HB-02, HR-02, HB-03, HR-01, XM-01, LH, SC, XY-02, XY-01, XY-03, YZ-02；第二亚类包括 BC, ZJ, DY-04, HGL, SM-01, SM-02, DY-02, DY-03, NH, XS, WZ；第三亚类仅有 DY-01；第 II 大类包括 HZ, JH；第 III 大类仅有 YF-01；第 IV 大类包括 LS, SZ 和 MG；第 V 大类包括 LZ。从供试材料的地理来源来看，第一亚类中除 LH 和 SC 这 2 份种质外，其余 15 份均来自鄞州。第二亚类除 BC, HGL, DY-02 和 DY-03 外，其余 7 份均为野生藜草种质资源。第 II 大类为 2 份野生种质，第 IV 大类中 LS 和 SZ 等 2 个国内野生种质首先聚在一起，然后再与国外 MG 野生种质聚为一起。结果表明：材料地理来源对系统聚类结果影响较大，大部分来自于同一地区的材料聚为一类，少部分材料在聚类图中无一定规律；野生种质与栽培种质有分别聚在一起的趋势。

3 讨论与结论

3.1 ISSR 标记在藜草种质中的鉴别能力

ISSR 标记技术具有多态性丰富、稳定性强、成本低廉及操作简单等优点，广泛应用于植物群体遗传多样性分析和种质资源鉴定等研究^[17]。李君礼等^[18]利用简单序列重复(SSR)引物对 4 个藜草代表性品种进行 PCR 扩增，结果表明：67 对 SSR 引物在 4 个品种中均有扩增条带，但与水稻相比，具有差异的 SSR 标记却很少，原因可能与藜草特有的基因组有关。ISSR 标记在种内不同种质资源或不同品种间具有较好的鉴别能力^[17]。本研究利用 ISSR 引物对藜草不同种质资源进行遗传多样性分析，从 72 对 ISSR 引物中筛选出 23 对有效引物(占 31.94%)对 36 份藜草种质 DNA 进行 PCR 扩增，共扩增出 148 条带，其中具有多态性的引物 15 对，共扩增出多态性条带 130 条，多态性条带比率为 87.84%，不同引物间扩增出 4~8 条多态性条带，不同种质资源间的相似系数变化范围为 0.405 6~0.944 1，说明藜草种质资源具有丰富的遗传多样性，同时也证明 ISSR 引物可在同一种群内不同种质资源间进行鉴别。曾亮等^[14]对冰草属植物研究发现，11 条有效引物(占 11.80%)共检测到 84 个扩增位点，多态性位点比率为 70.2%，品种间遗传相似系数为 0.083 0~0.706 0，表现出较高的遗传多态性。刘欢等^[19]研究发现，8 个 ISSR 有效引物(占 16.67%)共扩增出多态性带 144 条，86.10% 扩增片段能够揭示材料间的遗传差异，48 个燕麦 *Avena*

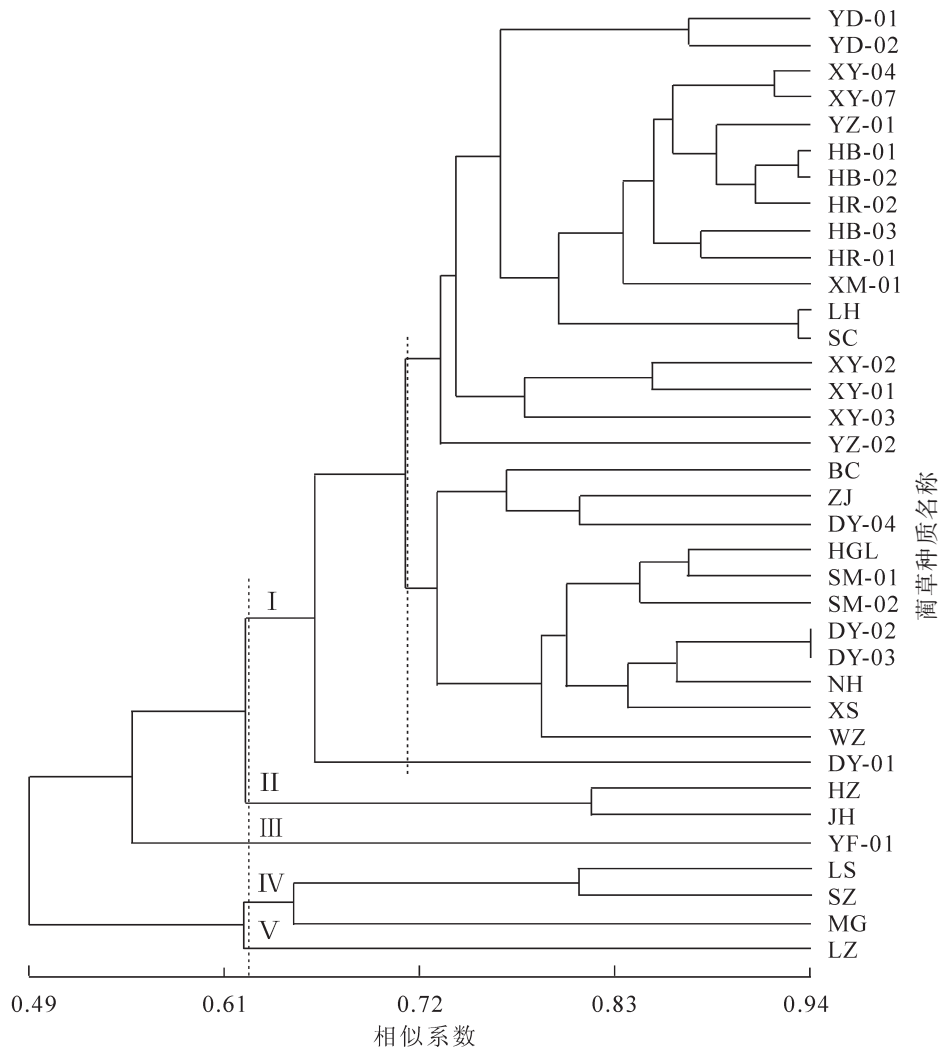


图2 36份藨草种质基于ISSR的遗传相似性UPGMA聚类图

Figure 2 UPGMA cluster analysis based on ISSR genetic identities among 36 accessions

品种间相似系数为0.583 3~0.941 7, 具有丰富的遗传基础。此外, 在中型狼尾草种质^[16]、黑麦属 *Secale* 植物^[20]、芒荻类 *Miscanthus & Triarrhena* 植物^[21]和芦苇 *Phragmites australis*^[22]研究中均发现ISSR引物具有较高的鉴别能力。AL-TURKI等^[13]对水稻研究发现, 11条ISSR引物平均多态性比例超过75%。JOSHI等也发现30个ISSR引物中有60%的引物能产生清晰扩增产物。在小麦中, NAGAOKA等发现100条引物中33条能产生清晰的扩增产物。以上研究材料均属于单子叶植物, 将试验结果与本研究结果相比较, 藨草ISSR引物的有效数目低于水稻和小麦, 但高于冰草属、燕麦品种、中型狼尾草和黑麦属植物。从多态性条带比率来看, 藨草的多态性条带比率明显高于冰草、黑麦属植物和水稻, 与燕麦和中型狼尾草相差不大, 低于芒荻类植物和芦苇。从遗传相似系数来看, 藨草的遗传相似系数与燕麦和黑麦属植物大致相同, 略低于中型狼尾草, 说明藨草种质具有广泛的遗传基础, 遗传多样性丰富。这为了解藨草的遗传背景、种质资源的开发利用、新品种培育和生产提供了理论依据。

3.2 遗传多样性分析

遗传多样性是生物多样性的基本组成部分, 一般是指种内不同种群间或是一个种群内的不同个体的遗传变异总和^[23]。一个物种遗传多样性越高, 适应能力越强, 越有利于扩展新环境和扩大分布范围^[24]。遗传距离是物种居群间遗传相似性的反映, 用来揭示群体的遗传结构。李军等^[25]研究认为: 遗传距离与空间距离之间并无明显的内在关系, 自然选择、基因突变及基因流是导致遗传变异的主要因素。另一些研究认为, 植物群体间的地理隔离与遗传关系存在着正相关性, 即地理距离越大, 则遗传距离越大^[26]。李绍臣等^[23]对黄槿 *Phellodendron amurense* 种群研究发现, 地理种群近的能很好的聚在一起。本研究结果表明: 藨草种质资源间具有相对较宽的遗传基础, 存在较大的遗传变异性, 其原因可能是在遗传进化和

育种过程中其基因组 DNA 发生丰富的变异，从而构成丰富的蔺草资源基因库。从聚类的结果来看，大多数来自于相同或相近地理区域的材料可以聚于同一类或亚类，材料间呈现出一定的地域性分布规律，这与冰草属^[14]和燕麦种质^[20]研究聚类结果一致，其原因可能是长期自然选择使群体基因型趋于相似的结果；野生种质与栽培种质有分别聚在一起的趋势；聚类中来自鄞州栽培种质 YF-01 单独聚为一大类，可能是由于在长期的进化过程中有个别基因发生了突变；此外，少部分材料在聚类图中不遵循一定的规律，其原因可能是不同地区之间的相互引种导致种质的聚类结果与种质地理来源没有直接联系。

4 参考文献

- [1] 俞舜民. 席草的形态特征和生物学特性的研究[J]. 浙江农业大学学报, 1982, **8**(2): 131 – 142.
YU Shunmin. Investigation on the morphological and biological characteristics of rushes [J]. *Acta Agric Univ Zhejiang*, 1982, **8**(2): 131 – 142.
- [2] 许玲. 蔺草再生与转化体系的建立及其离体诱变种质的创新[D]. 杭州: 浙江大学, 2009.
XU Ling. *Establishment of Regeneration and Transformation System and Germplasm Innovation of Mat Rush (Juncus effuses L.) Through in vitro Mutagenesis* [J]. Hangzhou: Zhejiang University, 2009.
- [3] 沈伟其, 张国平, 桂文光. 光照对蔺草生长和草茎开花率的影响[J]. 应用生态学报, 2002, **13**(5): 577 – 580.
SHEN Weiqi, ZHANG Guoping, GUI Wenguang. Effect of light on the growth and stem flowering rate of mat rush [J]. *Chin J Appl Ecol*, 2002, **13**(5): 577 – 580.
- [4] 王忠华, 戴艺辉, 吕洪, 等. 辐照处理对蔺草苗期生理生化特性的影响[J]. 核农学报, 2009, **23**(2): 270 – 273.
WANG Zhonghua, DAI Yihui, LÜ Hong, *et al.* Effect of irradiation on physiological and biochemical property of mat rush seedlings [J]. *J Uncl Agric Sci*, 2009, **23**(2): 270 – 273.
- [5] 郑克武, 朱志凌, 柳建国. 割梢对蔺草产量、品质的影响[J]. 江苏农业学报, 2009, **25**(2): 265 – 269.
ZHENG Kewu, ZHU Zhiling, LIU Jianguo. Effects of shearing top on yield and quality of mat rush (*Juncus effuses* L.) [J]. *Jiangsu J Agric Sci*, 2009, **25**(2): 265 – 269.
- [6] 柴晓娟, 苏燕, 陈慧, 等. 蔺草底部茎秆解剖构造与力学性能[J]. 浙江农林大学学报, 2016, **33**(6): 1058 – 1066.
CHAI Xiaojuan, SU Yan, CHEN Hui, *et al.* Anatomical structure and mechanical properties form stem bottoms of *Juncus effusus* [J]. *J Zhejiang A & F Univ*, 2016, **33**(6): 1058 – 1066.
- [7] SHARMA D, SETH P, SAHARAN V, *et al.* ISSR-based molecular characterization of *Triticum aestivum* L. cultivars [J]. *J Cell Tissue Res*, 2014, **14**(3): 4539 – 4545.
- [8] JIAN Shuguang, SHI Suhua, ZHONG Yang, *et al.* Genetic diversity among South China *Heritiera littoralis* detected by inter-simple sequence repeats (ISSR) analysis [J]. *J Genet Mol Biol*, 2002, **13**(4): 272 – 276.
- [9] PANDOTRA P, GUPTA A P, KHAN S, *et al.* A comparative assessment of ISSR, RAPD, IRAP, & REMAP molecular markers in *Zingiber officinale* germplasm characterization [J]. *Sci Hortic*, 2015, **194**: 201 – 207.
- [10] SUTKOWSKA A, PASIERBIŃSKI A, WARZECHA T, *et al.* Multiple cryptic refugia of forest grass *Bromus benekenii* in Europe as revealed by ISSR fingerprinting and species distribution modeling [J]. *Plant Syst Evol*, 2014, **300**(6): 1437 – 1452.
- [11] MAO Lihui, FANG Yanming. ISSR primer screening and preliminary evaluation of genetic diversity in *Haplocladium microphyllum* [J]. *Biocheml Syst Ecol*, 2014, **55**: 107 – 111.
- [12] DESAI P, GAJERA B, MANKAD M, *et al.* Comparative assessment of genetic diversity among Indian bamboo genotypes using RAPD and ISSR markers [J]. *Mol Biol Rep*, 2015, **42**(8): 1265 – 1273.
- [13] AL-TURKI T A, BASAHI M A. Assessment of ISSR based molecular genetic diversity of Hassawi rice in Saudi arabia [J]. *Saudi J Biologic Sci*, 2015, **22**(5): 591 – 599.
- [14] 曾亮, 袁庆华, 王方, 等. 冰草属植物种质资源遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 草业学报, 2013, **22**(1): 260 – 267.
ZENG Liang, YUAN Qinghua, WANG Fang, *et al.* Genetic diversity analysis of *Agropyron* germplasm resources by ISSR [J]. *Acta Pratac Sin*, 2013, **22**(1): 260 – 267.

- [15] 郭郁频, 任永霞, 张颖超, 等. 早熟禾种质资源 ISSR 遗传多样性分析[J]. 中国草地学报, 2014, **36**(3): 28 - 34.
GUO Yupin, REN Yongxia, ZHANG Yingchao, *et al.* Genetic diversity analysis of bluegrass germplasm resources by ISSR markers [J]. *Chin J Grassland*, 2014, **36**(3): 28 - 34.
- [16] 张怀山, 夏曾润, 栗孟飞, 等. 中型狼尾草种质资源遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 西北植物学报, 2014, **34**(2): 256 - 264.
ZHANG Huaishan, XIA Zengrun, LI Mengfei, *et al.* Genetic diversity of *Pennisetum longissimum* var. *intermedium* germplasm resources using ISSR markers [J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 2014, **34**(2): 256 - 264.
- [17] 赵雪英, 王宏民, 李赫, 等. 绿豆种质资源的 ISSR 遗传多样性分析[J]. 植物遗传资源学报, 2015, **16**(6): 1277 - 1282.
ZHAO Xueying, WANG Hongmin, LI He, *et al.* Genetic diversity of *Vigna radiate* germplasm resources by ISSR [J]. *J Plant Gen Resour*, 2015, **16**(6): 1277 - 1282.
- [18] 李礼君, 舒小丽, 王忠华, 等. 蔺草品种间 DNA 指纹鉴定技术研究初报[J]. 浙江农业科学, 2007(3): 309 - 310.
LI Lijun, SHU Xiaoli, WANG Zhonghua, *et al.* Brief report on DNA fingerprinting technique of *Juncus effusus* L. [J]. *J Zhejiang Agric Sci*, 2007(3): 309 - 310.
- [19] 刘欢, 慕平, 赵桂琴. 燕麦种质资源遗传多样性 ISSR 研究[J]. 草业学报, 2012, **21**(4): 116 - 124.
LIU Huan, MU Ping, ZHAO Guiqin. A study on genetic diversity of *Avena* germplasm resources detected by ISSR [J]. *Acta Pratac Sin*, 2012, **21**(4): 116 - 124.
- [20] 尚海英, 郑有良, 魏育明, 等. 应用 ISSR 标记研究黑麦属植物遗传多样性[J]. 西南农业学报, 2004, **17**(3): 273 - 277.
SHANG Haiying, ZHENG Youliang, WEI Yuming, *et al.* Genetic diversity of *Secale* L. based on ISSR markers [J]. *Southwest China J Agric Sci*, 2004, **17**(3): 273 - 277.
- [21] 李钰莹, 范希峰, 侯新村, 等. 利用 ISSR 和 SSR 标记分析芒萁类植物资源遗传多样性[J]. 中国农业大学学报, 2014, **19**(2): 21 - 27.
LI Yuying, FAN Xifeng, HOU Xincun, *et al.* Genetic diversity of *Miscanthus* & *Triarrhena* based on ISSR and SSR analysis [J]. *J China Agric Univ*, 2014, **19**(2): 21 - 27.
- [22] 杨晓杰, 佟守正, 程加春, 等. 扎龙芦苇遗传多样性 ISSR 分析[J]. 广西植物, 2011, **31**(6): 725 - 729.
YANG Xiaojie, TONG Shouzheng, CHENG Jiachun, *et al.* Genetic diversity of *Phragmites australis* populations from Zhalong based on ISSR analysis [J]. *Guihaia*, 2011, **31**(6): 725 - 729.
- [23] 李绍臣, 李凤明, 张立民, 等. 吉林省天然黄檗种群遗传多样性 ISSR 分析[J]. 生态学报, 2016, **36**(13): 1 - 7.
LI Shaochen, LI Fengming, ZHANG Limin, *et al.* Analysis of genetic diversity in wild population of *Phellodendron amurense* Rupr. in Jilin Province using inter-simple sequence repeat [J]. *Acta Ecol Sin*, 2016, **36**(13): 1 - 7.
- [24] 孙晋科. 扁桃种质资源 RAPD 和 ISSR 分析[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2008.
SUN Jinke. *Identification of Genetic Relationship of Almond by RAPD and ISSR* [D]. Urumqi: Xinjiang Agricultural University. 2008.
- [25] 李军, 陶芸, 郑师章, 等. 同工酶水平上野生大豆种群内分化的研究[J]. 植物学报, 1995, **37**(9): 669 - 676.
LI Jun, TAO Yun, ZHENG Shizhang, *et al.* Isozymatic differentiation in local population of *Glycine soja* Sieb. & Zucc. [J]. *Acta Bot Sin*, 1995, **37**(9): 669 - 676.
- [26] 张玉梅, 徐刚标, 申响保, 等. 珙桐天然种群遗传多样性的 ISSR 标记分析[J]. 林业科学, 2012, **48**(8): 62 - 67.
ZHANG Yumei, XU Gangbiao, SHEN Xiangbao, *et al.* Genetic diversity of *Davidia involucreata* populations detected by using ISSR markers [J]. *Sci Silv Sin*, 2012, **48**(8): 62 - 67.