

# 麻竹种内杂交子代遗传变异的 ISSR 分析

杨秀艳<sup>1,2</sup>, 傅懋毅<sup>1\*</sup>, 姜磊<sup>3</sup>

(1. 中国林业科学研究院 亚热带林业研究所, 浙江 富阳 311400; 2 中国林业科学研究院 林业研究所, 北京 100091; 3. 廊坊市农林科学院, 河北 廊坊 065000)

**摘要:**采用 ISSR 标记技术对麻竹种内杂交子代的遗传变异开展研究。从 50 个引物中筛选出的 9 个重复性高、扩增效果好的引物, 对 22 个杂种家系的样本进行扩增。结果表明, 家系间的基因多样性 ( $H_e$ ) 和 Shannon 多样性指数分别是 0.365 5 和 0.544 2。22 个家系间遗传相似系数数值变化为 0.395 3 ~ 0.790 7, 平均为 0.613 0; 遗传距离变化为 0.234 8 ~ 0.928, 平均为 0.499 6, 杂种群体的遗传多样性明显高于以无性繁殖为主的天然或栽培群体。

**关键词:**麻竹; 杂交子代; 遗传多样性; ISSR

**中图分类号:** S795.502 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000 - 2286(2010)02 - 0318 - 06

## ISSR Analysis on Genetic Variation of Hybrid Descendants of *Dendrocalamus latiflorus*

YANG Xiu-yan<sup>1,2</sup>, FU Mao-yi<sup>1\*</sup>, JIANG Lei<sup>3</sup>

(1. Research Institute of Subtropical Forestry, CAF, Fuyang 311400, China; 2 Research Institute of Forestry, CAF, Beijing 100091, China; 3. Langfang Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Langfang 065000, China)

**Abstract:** The genetic variation of hybrid descendants of *Dendrocalamus latiflorus* was analyzed by using ISSR. 9 ISSR primers with high polymorphic and clear bands were utilized for testing the genetic variance of 22 hybrid families. The results demonstrated that Nei's gene diversity ( $H_e$ ) and Shannon's information index were 0.365 5 and 0.544 2 at the species level respectively. Genetic similarity coefficient ranged from 0.395 3 to 0.790 7 and genetic distance ranged from 0.234 8 to 0.928 in those family populations. The mean of genetic similarity coefficient and genetic distance were 0.613 0 and 0.499 6 respectively, which has proved that the hybrid population has a higher genetic diversity than natural or cultivated population by asexual propagation.

**Key words:** *Dendrocalamus latiflorus*; hybrid descendants; genetic diversity; ISSR

长期以来, 由于多数竹种为多年生一次性开花植物, 很少有通过杂交手段对竹子进行遗传改良的研究。部分丛生竹种具有零星开花, 但不会造成整片竹林全部死亡的特性, 这为开展竹子杂交提供了机会。麻竹 (*Dendrocalamus latiflorus*) 是我国南亚热带地区重要的大型丛生竹, 优良的笋材两用竹种, 属牡竹属 (*Dendrocalamus*), 麻竹亚属 (*Subgen. sinocalamus*)。长期的无性繁殖, 特别是在栽培中仅有少数优

收稿日期: 2010 - 01 - 08 修回日期: 2010 - 01 - 21

基金项目: 国际热带木材组织 (ITTO) 合作项目 [PD10/00 REV. 2(I,F)] 资助

作者简介: 杨秀艳 (1973 - ), 女, 博士, 主要从事林木遗传育种研究; \* 通讯作者: 傅懋毅, 博士生导师, 研究员, E-mail: fumy1@163.net

良无性系得到推广应用,使麻竹栽培群体的遗传基础日益狭窄,出现品质退化等问题,生产上急需开展对这一竹种的遗传改良。张光楚等<sup>[1-2]</sup>曾利用该竹种与撑篙竹 (*Bambusa pervariabilis*)、青皮竹 (*B. textilis*)、吊丝竹 (*D. minor*)、版纳甜龙竹 (*D. hamiltonii*)等竹种进行杂交,杂交种的表型特征和解剖学特性均产生了丰富的变异。邢新婷等<sup>[3-4]</sup>用野外零星开花麻竹,开展种内人工杂交获得了不同产地麻竹的种内杂交子代,并对子代苗的生长节律、出笋量、竹高和地径的变异进行了调查分析,发现家系间存在明显差异。以往这些竹子杂交后代的变异分析均从表型性状入手,但由于表型性状受到遗传和环境因素的共同影响,从而使对杂种遗传变异的检测受到一定的限制。

Williams<sup>[5]</sup>开创了利用人工合成的短核苷酸引物经 PCR 扩增进行基因组 DNA 多态性分析的方法,使人们可以从 DNA 分子水平检测植物遗传变异情况。ISSR (inter-simple sequence repeat)是由 Zeitzewicz<sup>[6]</sup>创建的一种简单重复区间扩增多态性分子标记,目前已被广泛用于植物遗传多样性分析<sup>[7]</sup>、品种鉴定<sup>[8]</sup>、遗传作图<sup>[9]</sup>等方面。本文利用 ISSR 分子标记对麻竹种内杂交后代的遗传变异进行检测,从 DNA 分子水平评估杂种后代群体的遗传多样性,期望为今后开展竹子杂交品种的分子检测和分子辅助育种提供理论基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

试验材料为 2001 年秋至 2002 年春通过人工控制授粉获得的麻竹种内杂交子代。遗传设计采用全双列杂交,但由于未得到种子或数量太少造成较多杂交组合缺失。杂交子代田间试验采用随机完全区组,4 次重复,2 株小区。参试材料的亲本及编号见表 1。2006 年 5 月,采集上述杂交子代 22 个家系完全展开的新鲜叶片,迅速置于装有硅胶的可封口塑料袋中,使叶片迅速干燥,然后将袋口密封带回实验室备用。

表 1 参试材料及其亲本情况

Tab 1 Hybrid families in current research and their parents

家系 Family	亲本 Parent		家系 Family	亲本 Parent	
	母本 Female parent	父本 Male parent		母本 Female parent	父本 Male parent
HM01	JD2 - 1	WC1	HM14	JD5 - 1	JD
HM03	JD4 - 2	HK1	HM17	HK1 - 1	JD2
HM04	JD4 - 1	HK1	HM18	HK1 - 4	JD3
HM05	JD5 - 1	HK2	HM19	HK1 - 2	JD7
HM06	JD5 - 1	HK3	HM21	TL1 - 2	JD3
HM07	JD6 - 1	YT	HM22	HK3 - 1	SB2
HM08	JD7 - 1	SB2	HM24	QK1 - 3	HK1
HM09	JD7 - 3	WC3	HM25	SB2 - 2	WC1
HM10	JD3 - 4	HK1	HM26	SB2 - 3	JD7
HM11	JD1 - 2	TL	HM27	WC3 - 2	JD2
HM13	JD6 - 2	HK2	HM29	JD3 - 1	*

\* 表示父本不详。JD—荆都,WC—五川,SB—三卞,HK—后坑,YT—雁塔,TL—天岑,QK—桥坑。

\* \* represent the father of the hybrid is unknown. JD, WC, SB, HK, YT, TL and QK are the first letters of Jingdu, Wuchuan, Sanbian, Houkeng, Yanta, Tianling and Qiaokeng, the names of five local spots

### 1.2 基因组 DNA 的提取

采用 CTAB 法<sup>[10]</sup>略加改动提取麻竹基因组 DNA。提取的 DNA 用日本岛津 UV - 2401 紫外分光光度计做纯度及浓度检测,  $OD_{260} / OD_{280}$  比值为 1.56 ~ 1.94,并用质量分数为 10 g/L 琼脂糖凝胶电泳进行检测其质量,确定可用于 ISSR - PCR 扩增。

### 1.3 ISSR 分析

首先用 1 个麻竹杂种家系 DNA 模板在 50 个 ISSR 引物中进行初筛,选出有扩增条带且清晰的引物,再用 4 个不同杂种家系 DNA 模板进行复筛,最终选出 9 个扩增条带清晰,重复性好的 ISSR 引物用于麻竹种内杂交子代遗传变异的检测分析。引物序列参照加拿大哥伦比亚大学 (UBC)提供的序列,由 Gen Script Corp. 合成 (表 1)。

PCR 反应在 PC9600 扩增仪上进行,PCR 反应体系总体积 20  $\mu$ L,包括:基因组 DNA 模板 20 ng 左右;1  $\times$ PCR buffer 2  $\mu$ L; 0.25 mmol dNTP,引物浓度为 0.2  $\mu$ mol, 1.5 mmol  $MgCl_2$ ; 1U Taq 聚合酶 [TaKaRa(大连)公司];用 ddH<sub>2</sub>O 补充至 20  $\mu$ L。ISSR-PCR 扩增反应条件为:94 预变性 5 min; 94 变性 45 s,退火 45 s(退火温度根据每个引物的  $T_m$  值而定),72 延伸 1 min,35 个循环;72 延伸 6 min;最后扩增产物在 4 保存。PCR 扩增产物用质量分数为 15 g/L 琼脂糖凝胶电泳分离后,经 0.5  $\mu$ g/mL 溴化乙锭 (ethidium bromide)染色,用上海复日 FR-200A 全自动紫外与可见分析装置拍照记录。扩增片断分子量大小用 DL 2 000 bp DNA Ladder(华美生物工程公司)估算。

### 1.4 数据分析

将 ISSR 扩增产物每个条带视为 1 个等位基因,清晰、重复性好、分辨率高的条带用于分析,按条带的有或无分别记为 1 或 0,即扩增阳性为 1,扩增阴性为 0,形成原始数据矩阵。利用系统分析软件 Popgene32 (Version 1.31)计算不同家系间的遗传相似系数、基因多样性 (Nei's gene diversity)<sup>[11]</sup>、Shannon's 信息指数、总体基因多样性 (Ht)等。并用 UPGMA 法进行聚类分析。

按 Nei 等<sup>[12]</sup>的方法计算样品间的遗传相似系数  $I = 2 \times m_{xy} / (m_x + m_y)$ ,其中,  $m_x, m_y$  为 2 个样品间各自的总扩增带数;  $m_{xy}$  为 2 个样品间共有的扩增带数。根据  $I$  求出样品间的遗传距离  $D, D = -\ln I$ 。

表 2 ISSR 引物、扩增条件及多态性

Tab 2 Primers, amplification conditions and polymorphism of ISSR markers

引物 Primer	序列 Sequence (5' - 3')	退火温度 / Annealing temperature	扩增谱带数 Number of amplified bands	多态谱带数 Number of polymorphic bands	多态性谱带百分比 /% Percent of polymorphic bands
U808	AGA GAG AGA GAG AGA GC	50	6	6	100
U812	GAG AGA GAG AGA GAG AA	48	4	4	100
U825	ACA CAC ACA CAC ACA CT	50	6	5	83.3
U827	ACA CAC ACA CAC ACA CG	50	6	5	83.3
U834	AGA GAG AGA GAG AGA GYT	48	6	5	83.3
U835	AGA GAG AGA GAG AGA GYC	50	6	4	66.7
U842	GAG AGA GAG AGA GAG AYG	52	7	6	85.7
U844	CTC TCT CTC TCT CTC TRC	50	3	3	100
U857	ACA CAC ACA CAC ACA CYG	48	8	6	75
平均 Mean			5.8	4.89	84.62

## 2 结果与分析

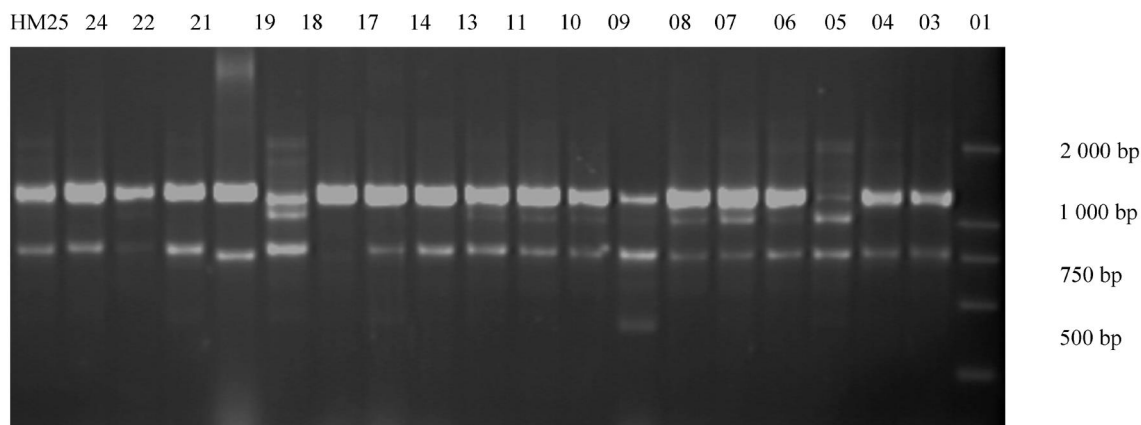
### 2.1 ISSR 多态性

在麻竹种内 22 个家系样本中,9 个 ISSR 引物共扩增出 52 条清晰、重复性好的谱带,分子量为 500 ~ 2 000 bp。其中有 44 条为多态,8 条为各家系所共有。不同引物扩增条带数 3 ~ 8 条不等,平均每个引物扩增出 5.8 条谱带,多态谱带比率 (PPB)为 84.62%,平均每个 ISSR 引物可获得 4.89 条多态谱带。

由所选出的 9 个引物扩增结果来看,含 (AC)<sub>n</sub>、(AG)<sub>n</sub>、(GA)<sub>n</sub> 核苷酸重复序列的引物扩增重复性好,多态性高,适于竹子遗传多样性分析,这与在小麦<sup>[8]</sup>、水稻<sup>[13]</sup>等植物的研究结果相似。

### 2.2 麻竹种内杂交子代遗传多样性

遗传多样度和香农 (Shannon)信息指数是衡量生物遗传多样性的两个重要指标。基于 ISSR 引物所



HM01 ~ 25代表部分麻竹种内杂交家系, M为 Marker(DL 2 000)  
Lane represent part of hybrid families, M is a DNA marker (DL 2 000)

图 1 引物 U844对部分杂交家系的扩增电泳图谱

Fig 1 Electrophoretic pattern amplified using primer U844 for part of hybrid families

揭示的多态性,计算得到麻竹种内杂交子代群体的遗传多样性情况,杂交子代家系间的平均基因多样性 (He)和 Shannon多样性指数分别是 0.365 5和 0.544 2,表明杂交子代群体的遗传多样性较高,存在丰富的遗传变异,这与从表型性状层次的分析是一致的<sup>[4]</sup>。

表 3 22个麻竹种内杂交家系的遗传多样性评估

Tab 3 Genetic diversities estimates for 22 hybrid families of *D. latiflorus*

指标 Index	有效等位基因数 ( $N_e$ ) Effective number of alleles	期望杂合度 Nei's gene diversity	Shannon表型指数 ( $I$ ) Shannon's information index	总体基因多样性 ( $H_t$ ) Total gene diversity
平均值 Mean	1.627 5	0.365 5	0.544 2	0.357 1
标准差 St Dev	0.285 2	0.118 8	0.138 2	0.015 7

### 2.3 基于 ISSR 标记的遗传相似性分析与聚类分析

根据 ISSR 引物扩增出的条带,按 Nei的公式,计算出 22个麻竹家系间的遗传相似系数和遗传距离(表 3)。供试材料间的遗传相似系数变化为 0.395 3 ~ 0.790 7,平均为 0.613 0;家系间的遗传距离变化为 0.234 8 ~ 0.928,平均为 0.499 6。其中 HM09 和 HM22 两个家系的遗传相似度最高(0.790 7),亲缘关系最近;HM10 和 HM21 的遗传相似度最小(0.395 3),亲缘关系最远。

邢新婷<sup>[14]</sup>曾对采自不同产地 11 个群体的麻竹进行 RAPD 分析,结果群体间的平均遗传距离为 0.223 3,最大为 0.439 4,明显低于本试验中杂交子代家系间的遗传距离。虽然有研究认为 ISSR 能检测到比 RAPD 更多的遗传变异,但一般相差不大。利

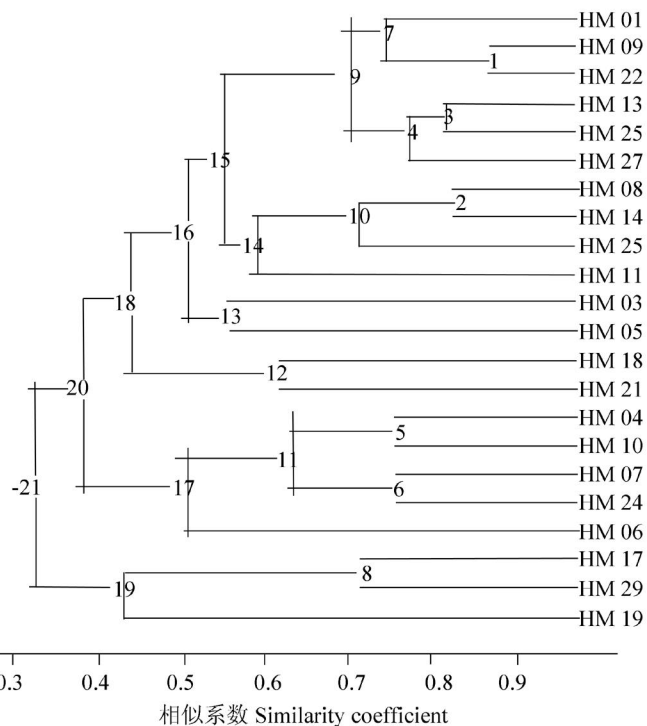


图 2 基于 ISSR 标记的 22 个麻竹种内杂种家系 UPGMA 聚类图

Fig 2 Dendrogram obtained by UPGMA for 22 hybrid families of *D. latiflorus* based on ISSR markers

用两种标记检测中国疣粒野生稻 (*Oryza granulata*)<sup>[15]</sup>、黄麻属 (*Corchorus*)植物<sup>[16]</sup>和果蔗<sup>[17]</sup>的遗传多样性,所得结果的相关性达到极显著水平(相关系数在 0.90 以上)。因此本文的结果充分说明在麻竹种内杂交子代中存在的较高遗传变异,是有性交配的结果,通过杂交可以使亲本间进行有效的基因交流,拓宽遗传基础,丰富种内的基因资源。

根据家系间的遗传相似系数按 UPGMA 法进行聚类分析(图 2)。从聚类图可以看出,利用 ISSR 分子标记可将所有家系分为 3 个大的类群。第 I 类包括 HM17、HM19、HM29,它们均以 HK 产地为母本;第 II 类包括 HM04、HM06、HM07、HM10、HM24,它们均以 HK 产地为父本;第 III 类所包含的亲本组合比较复杂,包括 HM01、HM03、HM05、HM08、HM09、HM11、HM13、HM14、HM18、HM21、HM22、HM25、HM26、HM27 等 14 个家系。

表 4 基于 ISSR 标记的 22 个麻竹种内杂交家系的遗传相似系数(对角线上)和遗传距离(对角线下)

Tab 4 Genetic similarity coefficient (above diagonal) and genetic distance (below diagonal) among 22 hybrid families of *D. latiflorus* based on ISSR marker

pop	HM01	HM03	HM04	HM05	HM06	HM07	HM08	HM09	HM10	HM11	HM13	HM14	HM17	HM18	HM19	HM21	HM22	HM24	HM25	HM26	HM27	HM29
HM01		0.627 9	0.581 4	0.534 9	0.441 9	0.558 1	0.744 2	0.697 7	0.581 4	0.581 4	0.767 4	0.651 2	0.534 9	0.558 1	0.465 1	0.534 9	0.674 4	0.558 1	0.627 9	0.627 9	0.720 9	0.511 6
HM03	0.465 4		0.581 4	0.674 4	0.581 4	0.604 7	0.697 7	0.511 6	0.674 4	0.674 4	0.674 4	0.604 7	0.627 9	0.604 7	0.651 2	0.627 9	0.674 4	0.651 2	0.674 4	0.674 4	0.720 9	0.651 2
HM04	0.542 3	0.542 3		0.534 9	0.627 9	0.651 2	0.511 6	0.511 6	0.767 4	0.534 9	0.534 9	0.558 1	0.674 4	0.558 1	0.558 1	0.441 9	0.534 9	0.604 7	0.534 9	0.488 4	0.674 4	0.697 7
HM05	0.625 7	0.393 9	0.625 7		0.674 4	0.651 2	0.697 7	0.697 7	0.581 4	0.581 4	0.581 4	0.511 6	0.395 3	0.604 7	0.604 7	0.627 9	0.674 4	0.697 7	0.674 4	0.627 9	0.627 9	0.465 1
HM06	0.816 8	0.542 3	0.465 4	0.393 9		0.744 2	0.604 7	0.558 1	0.581 4	0.581 4	0.581 4	0.651 2	0.488 4	0.651 2	0.558 1	0.534 9	0.581 4	0.604 7	0.627 9	0.488 4	0.581 4	0.558 1
HM07	0.583 1	0.503 1	0.429 0	0.429 0	0.295 5		0.581 4	0.534 9	0.744 2	0.604 7	0.744 2	0.534 9	0.465 1	0.674 4	0.534 9	0.465 1	0.651 2	0.767 4	0.697 7	0.418 6	0.651 2	0.534 9
HM08	0.295 5	0.360 0	0.670 2	0.360 0	0.503 1	0.542 3		0.767 4	0.558 1	0.651 2	0.744 2	0.767 4	0.604 7	0.581 4	0.534 9	0.604 7	0.744 2	0.581 4	0.651 2	0.744 2	0.790 7	0.534 9
HM09	0.360 0	0.670 2	0.670 2	0.360 0	0.583 1	0.625 7	0.264 7		0.511 6	0.604 7	0.651 2	0.674 4	0.511 6	0.627 9	0.627 9	0.697 7	0.790 7	0.627 9	0.697 7	0.651 2	0.744 2	0.534 9
HM10	0.542 3	0.393 9	0.264 7	0.542 3	0.542 3	0.295 5	0.583 1	0.670 2		0.581 4	0.674 4	0.651 2	0.581 4	0.511 6	0.604 7	0.395 3	0.581 4	0.744 2	0.627 9	0.441 9	0.720 9	0.697 7
HM11	0.542 3	0.393 9	0.625 7	0.542 3	0.542 3	0.503 1	0.429 0	0.503 1	0.542 3		0.720 9	0.651 2	0.581 4	0.604 7	0.651 2	0.581 4	0.627 9	0.697 7	0.627 9	0.674 4	0.674 4	0.651 2
HM13	0.264 7	0.393 9	0.625 7	0.542 3	0.542 3	0.295 5	0.295 5	0.429 0	0.393 9	0.327 2		0.651 2	0.534 9	0.744 2	0.558 1	0.534 9	0.720 9	0.744 2	0.767 4	0.627 9	0.767 4	0.558 1
HM14	0.429 0	0.503 1	0.583 1	0.670 2	0.429 0	0.625 7	0.264 7	0.393 9	0.429 0	0.429 0	0.429 0		0.604 7	0.488 4	0.581 4	0.511 6	0.651 2	0.534 9	0.511 6	0.651 2	0.651 2	0.581 4
HM17	0.625 7	0.465 4	0.393 9	0.928 0	0.716 7	0.765 5	0.503 1	0.670 2	0.542 3	0.542 3	0.625 7	0.503 1		0.418 6	0.604 7	0.441 9	0.581 4	0.558 1	0.534 9	0.581 4	0.720 9	0.744 2
HM18	0.583 1	0.503 1	0.583 1	0.503 1	0.429 0	0.393 9	0.542 3	0.465 4	0.670 2	0.503 1	0.295 5	0.716 7	0.870 8		0.441 9	0.697 7	0.697 7	0.581 4	0.744 2	0.465 1	0.651 2	0.534 9
HM19	0.765 5	0.429 0	0.583 1	0.503 1	0.583 1	0.625 7	0.625 7	0.465 4	0.503 1	0.429 0	0.583 1	0.542 3	0.503 1	0.816 8		0.604 7	0.511 6	0.674 4	0.604 7	0.604 7	0.604 7	0.627 9
HM21	0.625 7	0.465 4	0.816 8	0.465 4	0.625 7	0.765 5	0.503 1	0.360 0	0.928 0	0.542 3	0.625 7	0.670 2	0.816 8	0.360 0	0.503 1		0.674 4	0.511 6	0.674 4	0.581 4	0.581 4	0.418 6
HM22	0.393 9	0.393 9	0.625 7	0.393 9	0.542 3	0.429 0	0.295 5	0.234 8	0.542 3	0.465 4	0.327 2	0.429 0	0.542 3	0.360 0	0.670 2	0.393 9		0.651 2	0.767 4	0.627 9	0.767 4	0.558 1
HM24	0.583 1	0.429 0	0.503 1	0.360 0	0.503 1	0.264 7	0.542 3	0.465 4	0.295 5	0.360 0	0.295 5	0.625 7	0.583 1	0.542 3	0.393 9	0.670 2	0.429 0		0.697 7	0.604 7	0.651 2	0.581 4
HM25	0.465 4	0.393 9	0.625 7	0.393 9	0.465 4	0.360 0	0.429 0	0.360 0	0.465 4	0.465 4	0.264 7	0.670 2	0.625 7	0.295 5	0.503 1	0.393 9	0.264 7	0.360 0		0.488 4	0.767 4	0.604 7
HM26	0.465 4	0.393 9	0.716 7	0.465 4	0.716 7	0.870 8	0.295 5	0.429 0	0.816 8	0.393 9	0.465 4	0.429 0	0.542 3	0.765 5	0.503 1	0.542 3	0.465 4	0.503 1	0.716 7		0.581 4	0.511 6
HM27	0.327 2	0.327 2	0.393 9	0.465 4	0.542 3	0.429 0	0.234 8	0.295 5	0.327 2	0.393 9	0.264 7	0.429 0	0.327 2	0.429 0	0.503 1	0.542 3	0.264 7	0.429 0	0.264 7	0.542 3		0.744 2
HM29	0.670 2	0.429 0	0.360 0	0.765 5	0.583 1	0.625 7	0.625 7	0.625 7	0.360 0	0.429 0	0.583 1	0.542 3	0.295 5	0.625 7	0.465 4	0.870 8	0.583 1	0.542 3	0.503 1	0.670 2	0.295 5	

### 3 结论与讨论

植物通过有性交配使双亲的基因发生重组是群体产生遗传变异的重要来源,竹类植物的有性繁殖也是增加变异,丰富基因资源的重要方式。竹类植物以无性繁殖为主,如果一个生产群体只由一个或几个无性系发展而来,势必造成群体遗传基础狭窄,遗传多样性单一。本文利用 9 个 ISSR 引物对麻竹种内杂交后代群体的 22 个家系进行遗传多样性分析,结果发现 22 个家系间存在丰富的遗传变异,遗传多样性高于不发生或发生少量杂交的天然群体和生产群体。这充分表明,竹类植物通过杂交可产生丰富的变异。这一结果与 Ramanayake 等<sup>[18]</sup>的研究结果近似。Ramanayake 对 *Dendroncalamus giganteus* 和 *Ochlandra stridula* 两个群体遗传多样性的研究发现,很少开花的 *Dendroncalamus giganteus* 自 1856 年引入斯里兰卡后主要靠无性繁殖扩展其群体,这些无性繁殖而来的群体内的遗传多样性较低,但偶尔得到的以种子实生起源的部分小群体成为该竹种群体中遗传多样性最高的群体。*Ochlandra stridula* 具有每年开花结实的特性,该竹种群体中的遗传多样性明显高于前者,有效的基因交流是创造变异的主要途径。本研究表明,通过杂交建立的遗传变异丰富的麻竹杂种子代群体为进一步优良基因型选择和杂种优势利用奠定了物质基础。由此可见,在竹子这种一次性开花植物中开展杂交育种是可行的,特别是对经常出现零星开花的丛生竹的遗传改良具有重要意义。ISSR 标记可以用于竹类植物遗传变异的分析。

ISSR 在对遗传多样性进行分析时具有多态性高、试验稳定性好、引物设计简单等优点,Jonsson<sup>[19]</sup>等认为 ISSR 标记可作为研究无性繁殖植物遗传多样性的首选。本文首次将该分子标记在竹类植物上应用,对麻竹种内杂交子代的遗传变异情况进行分析,揭示该杂种群体具有较高的遗传多样性。在本研究中还发现,ISSR 标记可用于麻竹杂种家系的识别。例如 U844 号引物的扩增结果显示, HM19 和 HM04 与

其他家系的带型明显不同,特别是 HM19 家系扩增出 1 条约 740 bp 的特异性条带,这可以将它与其他家系准确区分开来。但作为一种显性标记,ISSR 也有一些难以克服的不足,如它不能鉴别显性杂合与显性纯合。因此,在条件允许的情况下,应积极开发共显性的 SSR 标记,同时结合多态性高的 ISSR 标记,两种标记联合使用,将在植物遗传多样性分析上发挥更大的作用<sup>[20]</sup>。

#### 参考文献:

- [1] 张光楚,陈富枢. 竹类杂交育种的研究 [J]. 广东林业科技, 1986, 2(3): 1 - 5.
- [2] 张光楚,王裕霞. 竹子育种工作现状及前景 [J]. 竹子研究汇刊, 1998, 17(1): 5 - 9.
- [3] 邢新婷,傅懋毅,肖贤坦,等. 麻竹控制授粉种子播种品质及苗期生长观察 [J]. 北京林业大学学报, 2004, 26(1): 10 - 13.
- [4] 杨秀艳. 粉单竹遗传多样性和麻竹种内杂交子代遗传变异研究 [D]. 北京:中国林业科学研究院, 2007.
- [5] Williams J G K, Kubelik A R. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are as genetic markers [J]. Nucleic Acids Research, 1990, 18(22): 6531.
- [6] Zeitkiewicz E, Rafalske A, Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR) - anchored polymerase chain reaction amplification [J]. Genomica, 1994, 20: 178 - 183.
- [7] 马艳明,李斯深,范玉顶,等. 黄淮麦区小麦品种(系)的 ISSR 位点遗传多样性分析 [J]. 植物遗传资源学报, 2006, 7(1): 13 - 17.
- [8] Ammiraju J S S, Dholakia B B, Santra D K, et al. Identification of inter simple sequence repeat (ISSR) markers associated with seed size in wheat [J]. Theor Appl Genet, 2001, 102: 726 - 732.
- [9] Nagaoka T, Noda K, Ogihara Y. Genetic linkage map of ISSR and RAPD markers in Einkorn wheat in relation to that of RFLP markers [J]. Theor Appl Genet, 1998, 96: 37 - 45.
- [10] Doyle J J, Doyle J L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue [J]. Phytoch Bull, 1987, 19: 11 - 15.
- [11] Nei M. Analysis of gene diversity in subdivided populations [J]. Proc Natl Acad Sci, USA, 1973, 70: 3321 - 3323.
- [12] Nei M, Li W H. Mathematical model for studying genetic variation in term of restriction endonuclease [J]. Proc Natl Acad Sci, USA, 1979, 76: 5269 - 5273.
- [13] Blair M W, Panaud O, McMouch S R. Inter - simple sequence repeat (ISSR) amplification for analysis of microsatellite motif frequency and fingerprinting in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Theor Appl Genet, 1999, 98: 780 - 792.
- [14] 邢新婷. 麻竹不同地理群体遗传变异分析及良种选育研究 [D]. 北京:中国林业科学院, 2003.
- [15] 钱韦,葛颂,洪德元. 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.
- [16] 祁建民,周东新,吴为人,等. RAPD 和 ISSR 检测黄麻属遗传多样性的比较研究 [J]. 中国农业科学, 2004, 37(12): 2006 - 2011.
- [17] 潘大仁,曾惠阳,陈观水,等. RAPD 和 ISSR 分子标记对果蔗种质资源的遗传多样性研究 [J]. 热带亚热带植物学报, 2007, 15(3): 183 - 190.
- [18] Ramanayake S M S D, Eemaduma V N M, Weerawardene T E. Genetic diversity and relationships within populations of *Dendrocalamus giganteus* Wall ex and *Ochlandra stridula* Moon ex Thwaites in Sri Lanka using RAPD [J]. J Bamboo and Rattan, 2006, 5(3/4): 141 - 149.
- [19] Jonsson B O, Jonsdottir I S, Cronberg N. Clonal diversity and albayme variation in population of the arctic *Carex bigelowii* (Cyperaceae) [J]. J Ecol, 1996, 84: 449 - 459.
- [20] 程春明,石去素,宋燕春,等. ISSR 分子标记技术在分析玉米自交系遗传关系研究中的适用性 [J]. 植物遗传资源学报, 2005, 6(2): 172 - 177.