

老芒麦和垂穗披碱草 rDNA-ITS 序列分析

德 英^{1,2} 穆怀彬^{1,2} 王照兰^{1,2} 赵来喜^{1,2} 刘新亮^{1,3}

(¹中国农业科学院草原研究所 呼和浩特 010010; ²农业部草原资源与生态重点开放实验室 呼和浩特 010010;

³中国农业科学院研究生院 北京 100081)

摘要: 分析了老芒麦和垂穗披碱草 rDNA-ITS 序列, 为这两个种的鉴别提供分子指纹图谱, 为系统发育提供分子生物学依据。结果表明 22 份材料的 ITS、ITS1、5.8S、ITS2 序列长度均相同, 依次为 604bp、222bp、164bp、218bp, GC 含量依次为 62.25% ~ 63.08%, 62.16% ~ 63.06%, 59.76%, 64.22% ~ 65.60%。除 5.8S 外, 碱基位点都有不同程度的变化, 一些变异位点有明显的种性变异规律, 可作为老芒麦和垂穗披碱草种质 DNA 指纹特异鉴别位点。7 个 ITS 序列的同源性 98.7% ~ 99.8%, 遗传分歧 0.2 ~ 1.3, 具有保守性, 为非近期分化类群。系统发育分析表明不同来源地的同种材料, 差异主要表现在 DNA 变化快慢及碱基替换数, 但相同的种归为一类, 进一步反映了种内的遗传稳定性。

关键词: 老芒麦; 垂穗披碱草; ITS 序列; DNA 指纹鉴别; 系统发育

rDNA-ITS sequence in *Elymus sibiricus* and *E. nutans*

DE Ying^{1,2} MU Huai-bin^{1,2} WANG Zhao-lan^{1,2} ZHAO Lai-xi^{1,2} LIU Xin-liang^{1,3}

(¹ Grassland Research Institute of Chinese Academy of Agricultural Sciences Hohhot 010010; ² Key Laboratory of

Grassland Resources and Ecology Ministry of Agriculture Hohhot 010010; ³ Graduate School of

Chinese Academy of Agricultural Sciences Beijing 100081)

Abstract: Analysis of ITS sequences of *Elymus sibiricus* and *E. nutans* will provide useful information for germplasm DNA fingerprint identification and phylogeny. The results showed that the lengths of ITS, ITS1, 5.8S and ITS2 in 22 accessions tested were identical, which were 604bp, 222bp, 164bp, and 218bp, and GC contents were 62.25% - 63.08%, 62.16% - 63.06%, 59.76%, and 64.22% - 65.60%, respectively. Except for 5.8S, base sites varied to some extent. Some variable sites were species-specific, which can be used as DNA molecular markers of *E. sibiricus* and *E. nutans*. The identity of the seven ITS sequences ranged from 98.7% to 99.8%, and the divergence was 0.2-1.3. These sequences were conserved and not recent differentiated groups. Phylogenetic analysis indicated that the difference for various sources of the same species was the speed of DNA changes and the number of base substitution. However, the same species were classified in the same group, further reflecting the intraspecific genetic stability.

Key words: *Elymus sibiricus*; *E. nutans*; ITS sequence; DNA fingerprint identification; Phylogeny

披碱草属(*Elymus* L.) 是禾本科(Gramineae) 小麦族(Triticeae) 重要的多年生属, 该属是小麦族植物中遗传和物种多样性较为丰富的类群之一, 多数种质地柔软、叶量丰富、种子产量高, 粗蛋白含量较高, 是饲用价值很高的牧草。披碱草属植物适应性较广, 生态类型较多, 生态幅度较宽, 抗旱抗寒性强,

其基因组中含有普通小麦不具有的抗逆、抗病虫害基因, 可作为改良麦类作物的基因资源库^[1-3]。老芒麦(*E. sibiricus* L.) 和垂穗披碱草(*E. nutans* Griseb.) 是披碱草属中重要的两种多年生牧草, 具有披碱草属植物的优点, 但又各有优势^[4], 是我国常见的两种穗型下垂类披碱草属牧草, 在形态上较

收稿日期: 2011-07-26 修回日期: 2011-11-30

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金资助项目(2008-Z-4); “十二五”国家科技支撑课题(2011BAD17B01)

作者简介: 德英, 硕士, 助理研究员。研究方向: 牧草种质资源。E-mail: dy20060701@163.com

通讯作者: 赵来喜, 研究员。研究方向: 牧草种质资源。E-mail: zhaolaixi3630@sina.com

为相似,二者的生态幅都比较宽。在长期适应自然环境中,不同地区以及不同生境材料的遗传特征均会发生变异,尤其是表型性状最容易受环境的影响,从而使得在分类学上鉴定时存在一定的困难。按照传统的分类学方法,对老芒麦和垂穗披碱草的识别和鉴定是通过花序的形态、穗轴上小穗的着生数目、颖先端有无具芒以及所具芒的形态来进行的^[5],而在实际野外调查中,尤其在海拔地区以及某些特殊的小生境中,两个种在形态上的交叉现象比较严重,将他们准确分类往往较困难,因此存在着对老芒麦和垂穗披碱草错误鉴定的现象^[6]。

植物核糖体 DNA 中的内转录间隔区 (Internal Transcribed Spacer, ITS) 位于核糖体 18S、5.8S 和 26S 之间,转录间隔区的 DNA 片段被 5.8S 分割成 2 段,由于不加入成熟的核糖体,受到的选择压力较

小,序列进化较快,并且具有保守性,不仅适用于低分类群的系统发育分析,而且可以反映种与种内水平的变化,也被用于种内各居群内的差异性研究^[7-10]。本研究测定老芒麦和垂穗披碱草的 rDNA-ITS 序列,比较两种居群间和种间的 rDNA-ITS 区碱基序列特征的差异,为这两种的鉴别提供分子指纹图谱,同时系统发育分析提供分子生物学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为中国农业科学院草原研究所于 2006 年至 2008 年赴青海、内蒙古等地收集的 22 份野生材料,种名经有关专家依形态学进行了鉴定(表 1),包括 17 份老芒麦(*Elymus sibiricus* L.) 和 5 份垂穗披碱草(*E. nutans* Griseb.)。

表 1 供试材料名录

Table 1 Directory of *Elymus sibiricus* and *E. nutans* used in this study

种名 Species	编号 No.	染色体数目和倍性 No. and ploidy of chromosomes	采集地 Origin	生境 Habitat	海拔(m) Altitude
垂穗披碱草	ITS25	6n = 42	河北省承德市坝上	草甸	1492
垂穗披碱草	ITS26	6n = 42	内蒙古扎兰屯市	路边草丛	1085
垂穗披碱草	ITS27	6n = 42	内蒙古锡林郭勒盟白旗	草原	1208
垂穗披碱草	ITS28	6n = 42	青海省海西蒙古族藏族自治州 都兰县夏日哈镇	水沟边	3108
垂穗披碱草	ITS31	6n = 42	四川省甘孜州炉霍县	河边坡地	2990
老芒麦	ITS29	4n = 28	内蒙古呼和浩特市大青山小井沟	路边草丛	1727
老芒麦	ITS30	4n = 28	青海省柴达木盆地伊克高里工业区	荒漠	2962
老芒麦	ITS32	4n = 28	新疆伊犁市霍城县果子沟	路旁	1996
老芒麦	ITS23	4n = 28	河北省承德市坝上	草甸	1438
老芒麦	ITS33	4n = 28	青海海北藏族自治州海晏县金滩乡	田边	2918
老芒麦	ITS34	4n = 28	内蒙古锡林郭勒盟乌拉盖开发区	路边草丛	900
老芒麦	ITS35	4n = 28	北京市百望山	路边草丛	1117
老芒麦	ITS36	4n = 28	山西省朔州市右玉县	路边草丛	1379
老芒麦	ITS38	4n = 28	四川省甘孜州道孚县	草原	3500
老芒麦	ITS39	4n = 28	内蒙古呼和浩特市大青山小井沟	水沟旁	1504
老芒麦	ITS40	4n = 28	内蒙古呼和浩特市大青山小井沟	路边洼地	1727
老芒麦	ITS41	4n = 28	四川省甘孜州道孚县	草原	3500
老芒麦	ITS42	4n = 28	青海省海西蒙古族藏族自治州 都兰县夏日哈镇	路边芨芨草滩	3108
老芒麦	ITS43	4n = 28	青海省海南州共和县江西沟	草场	3243
老芒麦	ITS37	4n = 28	甘肃省甘南藏族自治州夏河县	农田	2770
老芒麦	ITS44	4n = 28	四川省甘孜州炉霍县	路边荒地	3060
老芒麦	ITS45	4n = 28	内蒙古乌兰查布市凉城县龙泉山庄	路边草丛	1523

1.2 基因组 DNA 提取及质量检测

于 2010 年 8 月 5 日温室育苗,10 月 13 日采其幼苗。使用 Universal Genomic DNA Extraction Kit Ver. 3.0(Code No. DV811A) 从 22 份牧草幼苗样品中提取基因组 DNA,取 1 μ l 进行 1% 琼脂糖凝胶电泳检测。

1.3 rDNA-ITS 扩增及检测

使用特异引物进行高保真 PCR 扩增。序列为:

ITS5: 5'-TCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTG-3'

ITS4: 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'^[11], 由中国大连 TaKaRa 公司合成。

PCR 扩增条件及扩增程序参见文献 [12]。PCR 扩增使用 TaKaRa LA Taq[®](Code No. DRR002A) 扩增。

1.4 PCR 产物纯化回收

取 PCR 产物 5 μ l 进行琼脂糖凝胶电泳检测并拍照。使用 TaKaRa Agarose Gel DNA Purification Kit Ver. 2.0(Code No. DV805) 切胶回收上述 PCR 产物,按照编号依次命名为 ITS25-1 PCR、ITS25-2 PCR... ITS26-1 PCR...。

1.5 克隆及测序

使用 TaKaRa DNA Ligation Kit (Code No. D6020A) 中的 Solution I,将 ITS25-1 PCR、ITS25-2 PCR..., ITS26-1 PCR...分别与 pMD19-T Vector(Code No. D102A) 连接后,热转化至 *E. coli* 感受态细胞 JM109 (Code No. D9052) 中,涂布平板,37℃ 过夜培养。挑选阳性菌落植菌,每份材料提取 3~5 个阳性克隆质粒用于 DNA 测序分析。使用引物 M13-47 对质粒 ITS25-1、ITS25-2..., ITS26-1...测序,序列测定由中国大连 TaKaRa 公司完成。

1.6 序列分析

将获得的 ITS 序列用 Clustal X 软件进行对位排列后,用 BioEdit 进行手工校正,确认 ITS 序列的可靠性。根据 GenBank 已登录的 ITS 序列对测定的 ITS 序列边界进行划分^[13]。BioEdit 分析 ITS 序列的碱基频率、转换和颠换比,ITS 序列内部的变异由 MEGA4.1 计算。

2 结果与分析

2.1 ITS 序列长度、GC 含量及变异

BioEdit 软件分析 22 份材料 DNA 组成成分(表 2)。结果表明,这两种牧草各材料的 ITS 序列全长均为 604bp,GC 含量变化范围为 62.25%~63.08%;ITS1 序列长均为 222bp,GC 含量变化范围为 62.16%~63.06%;5.8S 序列长为均 164bp,GC

含量均为 59.76%;ITS2 序列长均为 218bp,GC 含量变化范围 64.22%~65.60%。

GC 含量发生变异,预示碱基位点发生了某种程度的变化。Mega 4.1 分析结果表明(表 3),比对序列共 604 个位点,其中包含 593 个不变位点、11 个变异位点,包括 7 个变异信息位点;ITS1 有 222 个位点,包含 217 个保守位点,5 个变异位点,包括 3 个变异信息位点;ITS2 有 218 个位点,包含 212 个保守位点,6 个变异位点,包括 4 个变异信息位点;5.8S 有 164 个位点,全部为保守位点,无变异位点,表明这两种牧草核糖体基因的高度保守性。

表 2 22 份种质资源 ITS 长度及 GC 含量变异

Table 2 Lengths of ITS sequences and its contents of GC in 22 populations

编号 No.	材料名称 Material name	ITS1 (bp) / GC (%)	5.8S (bp) / GC (%)	ITS2 (bp) / GC (%)	ITS (bp) / GC (%)
ITS25	垂穗披碱草	222/62.16	164/59.76	218/64.22	604/62.25
ITS26	垂穗披碱草	222/62.16	164/59.76	218/64.22	604/62.25
ITS27	垂穗披碱草	222/62.16	164/59.76	218/64.22	604/62.25
ITS28	垂穗披碱草	222/62.16	164/59.76	218/64.22	604/62.25
ITS31	垂穗披碱草	222/62.16	164/59.76	218/64.22	604/62.25
ITS29	老芒麦	222/63.06	164/59.76	218/65.14	604/62.91
ITS30	老芒麦	222/63.06	164/59.76	218/65.14	604/62.91
ITS32	老芒麦	222/63.06	164/59.76	218/65.14	604/62.91
ITS23	老芒麦	222/63.06	164/59.76	218/65.14	604/62.91
ITS33	老芒麦	222/63.06	164/59.76	218/65.14	604/62.91
ITS34	老芒麦	222/63.06	164/59.76	218/65.14	604/62.91
ITS35	老芒麦	222/63.06	164/59.76	218/65.14	604/62.91
ITS36	老芒麦	222/62.61	164/59.76	218/65.14	604/62.75
ITS38	老芒麦	222/63.06	164/59.76	218/65.14	604/62.91
ITS39	老芒麦	222/63.06	164/59.76	218/65.14	604/62.91
ITS40	老芒麦	222/63.06	164/59.76	218/65.14	604/62.91
ITS41	老芒麦	222/63.06	164/59.76	218/64.68	604/62.75
ITS42	老芒麦	222/63.06	164/59.76	218/65.14	604/62.91
ITS43	老芒麦	222/63.06	164/59.76	218/65.14	604/62.91
ITS37	老芒麦	222/63.06	164/59.76	218/65.60	604/63.08
ITS44	老芒麦	222/63.06	164/59.76	218/65.60	604/63.08
ITS45	老芒麦	222/63.06	164/59.76	218/65.60	604/63.08

进一步对 22 份材料的 ITS 序列进行多序列比对分析,结果表明,老芒麦有 5 个 ITS 序列变异类型,ITS36 有 1 种变异类型,用 sibiricus1 代表;ITS33、ITS39、ITS40 等 4 份材料的序列完全相同,用 sibiricus2 代表;ITS41 有 1 种变异类型,用 sibiricus3 代表;ITS29、ITS30、ITS32、ITS34、ITS35、ITS38、ITS42、ITS43 等 8 份材料的序列完全相同,用 sibiricus4 代表;ITS37、ITS44、ITS45 等 3 份材料的序列完全相同,用 sibiricus5 代表。垂穗披碱草有 2 个 ITS 序列变异类型,ITS25 有 1 种变异类型,用 nutans1 代表;

ITS26、ITS27、ITS28、ITS31 等 4 份材料序列完全相同,用 nutans2 代表。对这 7 个序列进行多序列比对,发现 4 个有明显种性变异的位点(图 1),分别是 100 位碱基垂穗披碱草为 T,老芒麦为 C; 195 位碱

基垂穗披碱草为 A,老芒麦为 C; 438 位碱基垂穗披碱草为 A,老芒麦为 C; 547 位碱基垂穗披碱草为 A,老芒麦为 C。

	100	190	200	440	550
nutans1	CTCCTTGGAGT	CTAGCCATCCCTC	GGTACCTCGTC	CGAAGCCGGCA	
nutans2					
sibiricus1	C.....	G.....	...C.....	..C.....	..C.....
sibiricus2	C.....	G.....	...C.....	..C.....	..C.....
sibiricus3	C.....	G.....	...C.....	..C.....	..C.....
sibiricus4	C.....	G.....	...C.....	..C.....	..C.....
sibiricus5	C.....	G.....	...C.....	..C.....	..C.....

图 1 部分 ITS 序列比对图

Fig. 1 Comparison of partial ITS sequences

2.2 ITS 序列遗传分歧及同源性分析

用 DNASTar 软件计算上面 7 类 ITS 序列的遗传分歧及同源性百分比差异。结果表明,这 7 个 ITS 序列的同源性(percent identity) 98.7% ~ 99.8%,遗传分歧(divergence) 0.2 ~ 1.3。同一种内,nutans1 和 nutans2(垂穗披碱草)以及 sibiricus3 和 sibiricus4

(老芒麦)的同源性最大为 99.8%,遗传分歧最小为 0.2%,sibiricus1 和 sibiricus3 的同源性最小为 99.0%,遗传分歧最大为 1.0;不同种间,nutans1(垂穗披碱草)与 sibiricus1(老芒麦)和 sibiricus3(老芒麦)的同源性最小均为 98.7%,遗传分歧最大均为 1.3。

表 2 7 个 ITS 序列遗传分歧(左下角)及同源性(右上角)

Table 2 Divergence and percent identity of 7 ITS sequences

(%)

	noutans 1	noutans 2	sibiricus 1	sibiricus 2	sibiricus 3	sibiricus 4	sibiricus 5
noutans 1		99.8	98.7	99.2	98.7	98.8	99.0
noutans 2	0.2		98.8	99.3	98.8	99.0	99.2
sibiricus 1	1.3	1.2		99.5	99.0	99.2	99.7
sibiricus 2	0.8	0.7	0.5		99.5	99.7	99.8
sibiricus 3	1.3	1.2	1.0	0.5		99.8	99.3
sibiricus 4	1.2	1.0	0.8	0.3	0.2		99.5
sibiricus 5	1.0	0.8	0.3	0.2	0.7	0.5	

2.3 老芒麦和垂穗披碱草系统发育分析

将两种披碱草属牧草试验材料通过预分析,删除同种内 ITS 无变异材料,以旱雀麦(*Bromus tectorum* L., L36485)作外类群进行计算并比较,比对序列共 605 个位点,其中包含 540 个不变位点、64 个变异位点、57 个变异非信息位点、7 个变异信息位点,转换颠换比 2.55。Bootstrap Reps = 1000,MP (Maximum Parsimony,最大简约法)分析结果显示,分支图树长(tree length)为 65,一致性指数(consistency index, CI)为 1.00,保持性指数(retention index, RI)为 1.00,可分为 2 个类群(图 2)。类群 I:老芒麦类群,其支持率(bootstrap)为 71%,本类群可以分为 3 个小类;类群 II:垂穗披碱草类群,其支持率(bootstrap)为 94%;树枝长短代表其 DNA 变化快慢。

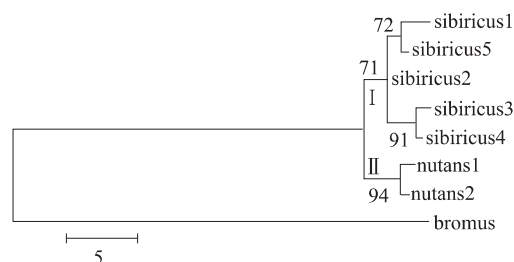


图 2 基于 rDNA-ITS 序列的 MP 系统发育树

Fig. 2 MP phylogenetic tree based on rDNA ITS region sequences

比例尺显示水平线的长度,代表碱基替换数;分支上的数字代表简约法的自展支持率大于 50%

Scale shows the length of the horizontal on behalf of the number of base substitution; Number above the branches indicate bootstrap values greater than 50% by MP analysis

3 讨论

关于老芒麦和垂穗披碱草遗传多样性研究较多,已有多种分子标记可用来检测遗传多样性^[14-16],刘全兰^[12]、王晓丽等^[17]基于 ITS 序列对广义披碱草属植物的分子系统发育与进化进行了研究,张利等^[18]基于 ITS 序列分析仲彬草属植物的亲缘关系,付敏^[19]对小麦族含 StH 基因组物种的 ITS 序列进行了分析,但是关于这两种牧草分子水平上鉴别的研究报道较少。本试验所得结果与形态学资料相吻合,进一步证明 ITS 是鉴别近缘种的理想分子指标。本研究报道了材料间的变异位点,总共有 11 个变异位点,其中 7 个变异信息位点序列比对显示,老芒麦有 5 个 ITS 序列变异类型,垂穗披碱草有 2 个 ITS 序列变异类型,充分说明了 ITS 序列具有种内多态性。ITS 区序列在种内的差异很小($\leq 1\%$),反映了种内的遗传稳定性,其微小的差异可能是由于测序反应中碱基的错配或种内遗传的多态性,如老芒麦 sibiricus1,即 17 份老芒麦中只有 1 份材料的 ITS 与多数老芒麦有差异,最大差异为 1%,垂穗披碱草 TS25 和 ITS26 虽然 ITS1 的 GC 含量相同,但 A 与 T 碱基位置却不同,老芒麦 sibiricus5 代表的 3 份材料的 ITS2 有变异位点,但 ITS1 还是遵从多数老芒麦 ITS1 的序列。垂穗披碱草和老芒麦的 ITS 呈现一致性的变化趋势,5 份供试垂穗披碱草中 4 份的 ITS 序列完全相同,17 份供试老芒麦中 8 份的 ITS 序列完全相同,而其他老芒麦序列与其差异最大的为 sibiricus1,即遗传分歧为 1%。变异位点有明显的种性变异规律,如 195 位碱基老芒麦是 G,垂穗披碱草是 A;547 位碱基老芒麦是 C,垂穗披碱草是 A 等。这些变异位点,都是通过重复测序,重现性好,可作为老芒麦和垂穗披碱草种质 DNA 指纹特征鉴别位点。

本研究 22 份材料发现,同一个体有多个克隆的序列是相同的,对此情况,在分析中只保留一条。本研究中共有 7 个不同的 ITS 序列,其同源性 98.7%~99.8%,遗传分歧(divergence) 0.2%~1.3%,说明老芒麦和垂穗披碱草的 ITS 序列具有保守性,为非近期分化类群;以旱雀麦为外类群进行系统发育分析发现,不同来源地的

同种材料,差异主要表现在系统发育中 DNA 变化快慢及碱基替换数,但相同的种归为一类,进一步反映了种内的遗传稳定性。

参考文献

- [1] 严学兵. 披碱草属遗传多样性研究[D]. 北京: 中国农业大学 2005
- [2] Lanwren T. Inheritance of a dwarf character in Russian wild rye grass, *Elymus junceus* [J]. Can J Genet Cytol, 1967, 9: 126-128
- [3] Crane C F, Carman J G. Mechanisms of apomixes in *Elymus rectisetus* from East Australia and New Zealand [J]. Am J Bot, 1987, 74: 456-477
- [4] 刘新亮. 两种披碱草属牧草种质资源遗传多样性研究[D]. 北京: 中国农业科学院 2011
- [5] 郭本兆. 中国植物志, 第九卷, 第三分册[M]. 北京: 科学出版社, 1987: 52-61
- [6] Bowden W M. Cytotaxonomy of the species and interspecific hybrid of the genus *Elymus* in Canada and neighboring areas [J]. Can J Bot, 1964, 42: 547-601
- [7] Zao Z L, Zhou K Y, Dong H et al. Characters of rDNA ITS region sequences of fruits of *Alpinia galangal* and their adulterants [J]. Planta Med, 2001, 67(4): 381-383
- [8] Ding X Y, Wang Z T, Xu H et al. Database establishment of the whole rDNA ITS region of dendrobium species of "fengdou" and authentication by analysis of their sequences [J]. Acta Pharm Sin, 2002, 37(7): 567-573
- [9] 应成琦, 张婷, 李信书, 等. 我国近海浒苔漂浮种类 ITS 与 18S rDNA 序列相似性分析 [J]. 水产学报, 2009, 33(2): 215
- [10] 张武, 韩艳丽, 朱建华. 中药乌头及其近缘种的 rDNA - ITS 序列分析 [J]. 生物学杂志, 2010, 27(1): 50
- [11] Hsiao C, Chatterton N J, Asay K H et al. Phylogenetic relationships of 10 grass species: an assessment of phylogenetic utility of the internal transcribed spacer region in nuclear ribosomal DNA in monocots [J]. Genome, 1994, 37(1): 112-120
- [12] 刘全兰. 小麦族披碱草属(*Elymus* L.) 的分子系统发育与进化研究[D]. 上海: 复旦大学 2005
- [13] Liu Q, Ge S, Tang H et al. Phylogenetic relationships in *Elymus* (Poaceae: Triticeae) based on the nuclear ribosomal internal transcribed spacer and chloroplast trnL-F sequences [J]. New Phytol, 2006, 170(2): 411-420
- [14] 鄢家俊, 白史旦, 张新全, 等. 青藏高原老芒麦种质基于 SRAP 标记的遗传多样性研究 [J]. 草业学报, 2010, 19(1): 173-183
- [15] 鄢家俊, 白史旦, 常丹, 等. 青藏高原老芒麦种质遗传多样性的 SSR 分析 [J]. 中国农学通报, 2010, 26(9): 26-33
- [16] 苗佳敏, 张新全, 陈智华, 等. 青藏高原和新疆地区垂穗披碱草种质的 SRAP 及 RAPD 分析 [J]. 草地学报, 2011, 19(3): 306-316
- [17] 王晓丽, 凡星, 张春, 等. 用 rDNA ITS 序列探讨小麦族含 StH 基因组物种的系统发育 [J]. 草业学报, 2009, 18(6): 82-90
- [18] 张利, 周永红, 丁春邦, 等. 基于 ITS 序列分析仲彬草属植物的亲缘关系 [J]. 西北植物学报, 2007, 27(3): 490-496
- [19] 付敏. 小麦族含 StH 基因组物种的生化标记和 ITS 序列分析 [D]. 雅安: 四川农业大学 2010