

模拟干旱胁迫下构树和桑树的生理特征比较

吴沿友^{1,2}, 梁 铮¹, 邢德科²

(1. 现代农业装备与技术省部共建教育部重点实验室/江苏省重点实验室, 江苏大学农业工程研究院, 江苏镇江 212013; 2. 中国科学院地球化学研究所 环境地球化学国家重点实验室, 贵阳 550002)

摘 要: 在不同浓度聚乙二醇(PEG 6000)的处理下,测定构树和桑树的碳酸酐酶活性、光响应曲线、二氧化碳响应曲线和叶绿素荧光等指标,比较它们的抗干旱能力。结果表明:(1)构树的碳酸酐酶活力变化不显著,而桑树的碳酸酐酶活力不同的 PEG 6000 浓度间差异较大。(2)构树的净光合速率受 PEG 6000 的影响较小,而桑树受到抑制较大。(3)构树的 PSⅡ原初光能转化效率(F_v/F_m)和 PSⅡ实际光合效率 $\Phi PSⅡ$ 受到 PEG 影响不显著,而桑树则明显受到 PEG 的抑制。构树的 PSⅡ原初光能转化效率(F_v/F_m)和 PSⅡ实际光合效率 $\Phi PSⅡ$ 要比桑树高,光化学淬灭系数(q_P)和电子传递速率(ETR)也明显高于桑树。稳定的碳酸酐酶、较强的光合能力是构树适应岩溶干旱环境的重要机制。

关键词: 构树; 桑树; 聚乙二醇; 碳酸酐酶; 叶绿素荧光; 喀斯特

中图分类号: Q945 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2011)01-0092-05

Comparison of the physiological characteristics of paper mulberry (*Broussonetia papyrifera*) and mulberry (*Morus alba*) under simulated drought stress

WU Yan-You^{1,2}, LIANG Zheng¹, Xing De-Ke²

(1. Key Laboratory of Modern Agricultural Equipment and Technology, Ministry of Education & Jiangsu Province, Institute of agricultural engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China; 2. State Key Laboratory of Environmental Geochemistry, Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550002, China)

Abstract: Under the treatment of different concentrations of polyethylene glycol(PEG 6000), the carbonic anhydrase activity, photosynthetic responses to light and CO_2 , and chlorophyll fluorescence characteristics in leaves of two woody plant species, paper mulberry(*Broussonetia papyrifera*) and mulberry(*Morus alba*), were determined. The drought resistance of the two species plants was compared. The results indicated that the activity of carbonic anhydrase in paper mulberry did not vary significantly. There are significant differences of the activity of carbonic anhydrase in mulberry among treatments with different concentration of PEG 6000. PEG 6000 had little influence on net photosynthetic rate of paper mulberry, but caused significant inhibition on mulberry. No significant variation of maximum quantum yield of photosystem II(F_v/F_m) and actual photosynthetic efficiency of PS II($\Phi PSⅡ$) of paper mulberry among the treatments of PEG was observed, but those of mulberry were significantly inhibited by PEG. F_v/F_m and $\Phi PSⅡ$ of paper mulberry was also higher than those of mulberry. The photochemical quenching coefficient(q_P) and electron transport rate(ETR) of paper mulberry was significantly higher than those of mulberry. The stable carbonic

收稿日期: 2010-05-24 修回日期: 2010-10-10

基金项目: 国家重点基础研究发展计划项目(2006CB403206); 中国科学院百人计划项目[Supported by State Key Basic Research and Development Plan of China(2006CB403206); 100 Talents Program of the Chinese Academy of Sciences]

作者简介: 吴沿友(1966-), 男, 安徽池州市人, 博士, 教授; 博士生导师, 喀斯特生态学专业, (E-mail)yanyouwu@ujs.edu.cn.

anhydrase and the strong photosynthetic capacity is an important mechanism for paper mulberry to adapt to karst-arid environment.

Key words: paper mulberry(*Broussonetia papyrifera*); mulberry(*Morus alba*); polyethylene glycol(PEG 6000); carbonic anhydrase; chlorophyll fluorescence; karst

岩溶干旱是喀斯特地区最大的环境逆境,抗干旱能力是喀斯特石漠化地区植被恢复先锋植物筛选首先需要考虑的问题。桑科(Moraceae)植物构树(*Broussonetia papyrifera*),是一种落叶乔木,具有适应喀斯特逆境的一些生理特征(Wu等,2009),是典型喀斯特石质山地耐旱耐瘠薄的先锋树种之一(喻理飞等,2003),现已广泛用作喀斯特高原地区的生态恢复的一个重要树种(魏媛等,2007)。同为桑科(Moraceae)落叶乔木的桑树(*Morus alba*),抗岩溶干旱能力差,喀斯特逆境下较难生存。因此,可以用构树为研究材料,桑树为对照来研究喀斯特适生植物的抗岩溶干旱能力。

碳酸酐酶(Carbonic anhydrase)是一种含锌金属酶,主要的生物学功能是催化二氧化碳的可逆水合反应: $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}_2\text{CO}_3 \rightleftharpoons \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$ 。它的功能多种多样,在生物的生长代谢过程中发挥着重要的作用,尤其在逆境下调节着水和二氧化碳的供给,可以通过碳酸酐酶的表现判断植物对喀斯特逆境的适应性(吴沿友等,2006)。

光合系统结构特别是光系统Ⅱ对逆境胁迫非常敏感。其中PSⅡ原初光能转化效率(F_v/F_m)是较常用的常数,用以说明光系统Ⅱ潜在的量子效率(冯建灿等,2002;杨晓青等,2004)。光化学淬灭则反映PSⅡ天线色素吸收的光能用于光化学电子传递的份额(张守仁,1999)。利用叶绿素荧光动力学方法可以快速、灵敏、无损伤探测逆境对植物光合作用的影响,叶绿素荧光能指示植物对不同环境胁迫的响应,反映植物对环境胁迫的忍受能力(Jiang等,2003;Mommer & Visser,2005;Panda等,2006)。

聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)是一种渗透剂,常用来模拟植物组织水分胁迫实验,起到类似自然干旱的作用,被广泛应用到植物的抗干旱研究(冯建灿等,2002;杨晓青等,2004)。本文利用添加不同浓度聚乙二醇(PEG 6000)的培养液培养构树和桑树,根据其碳酸酐酶活性、光响应曲线、二氧化碳响应曲线和叶绿素荧光特性的差异,比较构树和桑树对干旱的适应性,为构树的喀斯特适生性提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料培养与处理

选择植株大小差异不大、有3片真叶的构树和桑树幼苗作实验材料,于2009年11~12月在中国科学院地球化学研究所人工温室内进行实验。利用含浓度为0、5、10、20、40、60 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 六个水平的PEG 6000的霍格兰营养液培养构树、桑树。培养条件为:温度(25 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,湿度40%~50%,光照300 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,处理时间为45 d。处理结束后,选取健康的、第一展开叶于温室内测定植物的光响应曲线、二氧化碳响应曲线、叶绿素荧光参数以及碳酸酐酶活性。每个处理和测定重复3次。

1.2 测定方法

1.2.1 碳酸酐酶活性测定 取植物叶片0.3~1 g,放到预冷的研钵中,迅速加入液氮,再加入3 mL巴比妥缓冲液(10 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$,含巯基乙醇50 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$,pH8.3)进行研磨,取研磨液倒入5 mL离心管中,离心管置于冰浴中20 min后,在13 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 下离心5 min,取上清液,冷藏待测。碳酸酐酶活力的测定采用pH计法(Wilbur & Anderson, 1948)。保持反应系统在0~2 $^{\circ}\text{C}$,取待测上清液50~1 000 μL ,加入到含15 mL的巴比妥缓冲液(20 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$,pH8.30)的反应容器中,然后迅速加入10 mL预冷的(0~2 $^{\circ}\text{C}$)饱和 CO_2 的蒸馏水,用pH电极监测反应体系pH值变化,记下pH值下降一个单位(例如pH值从8.2~7.2)所需的时间,记为 t ,同时记录在酶失活条件下pH值下降一个单位所需的时间,记为 t_0 ,酶的活力用WA-unit表示。 $\text{WA} = t/t_0 - 1$ 。

1.2.2 叶绿素荧光、光响应曲线、二氧化碳响应曲线的测定 利用美国LI-COR公司生产的LI-6400R便携式光合系统分析仪在温室中对PEG 6000不同浓度营养液培养的构树和桑树进行叶绿素荧光、光响应曲线、二氧化碳响应曲线的测定。按照说明书测定PSⅡ实际光化学效率 $\Phi\text{PSⅡ}$ 、PSⅡ最大光能转化效率(F_v/F_m)、光化学淬灭系数(qP)和表观电

子传递速率(ETR)等荧光参数,其中测定叶绿素荧光时先将叶片暗适应 20 min。在流速为 $500 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1}$,叶面温度为 25°C 下,二氧化碳浓度为 $400 \mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$,在 $0 \sim 1500 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 光照范围内设置 12 个光强梯度(0、50、80、120、150、200、250、300、400、800、1000、1500 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$),测量各处理叶片的净光合速率(Pn),获得光响应曲线。在流速为 $500 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1}$,叶面温度为 25°C 下,光强为 $300 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,在 $50 \sim 1500 \mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ 二氧化碳范围内,设置 13 个二氧化碳浓度梯度(50、80、100、150、200、300、300、400、600、800、1000、1200、1500 $\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$),测量各处理叶片的净光合速率(Pn),获得二氧化碳响应曲线。

1.3 数据处理

其中光响应曲线数据采用非直角双曲线模型来进行拟合(Wu 等,2007)。统计方法采用 SPSS 的非线性分析模块。其它数据用 Excel、Origin 75 等软件进行统计分析,并整理和作图。

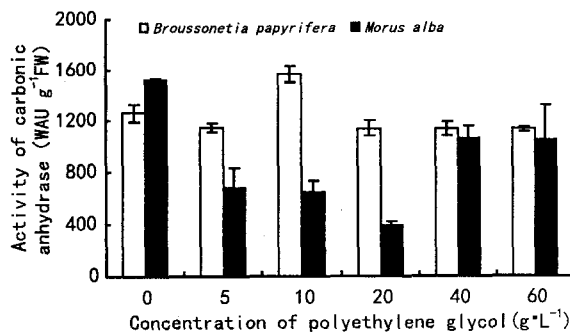


图 1 PEG 处理对两种植物碳酸酐酶活性的影响
Fig.1 Effect of polyethylene glycol treatments on activity of carbonic anhydrase in two plants

2 结果与分析

2.1 PEG 6000 处理下的植物叶片碳酸酐酶活性

从图 1 可以看出,构树的碳酸酐酶活力总体上大于桑树,随着 PEG 6000 造成的干旱胁迫程度的增大,构树的碳酸酐酶活力变化不显著,而桑树的碳酸酐酶活力,不同的 PEG 6000 浓度间差异较大,最大值是最小值的 4 倍。PEG 6000 浓度为 5、10、20 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时桑树的碳酸酐酶活力明显小于对照($0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)以及浓度为 40、60 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时的碳酸酐酶活力。结果说明构树的碳酸酐酶对 PEG 6000 造成的干旱

胁迫具有较强的耐性。

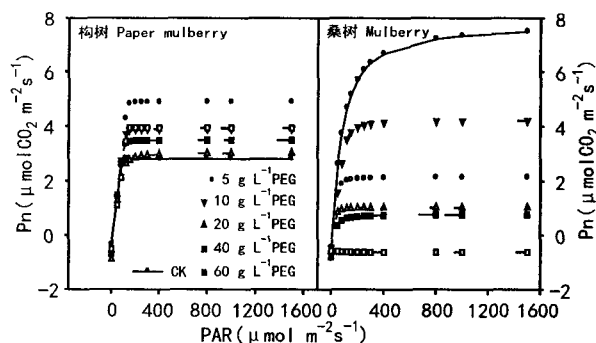


图 2 PEG 处理下两种植物对光强的响应
Fig.2 Response of two plant species to light under different treatment of polyethylene glycol

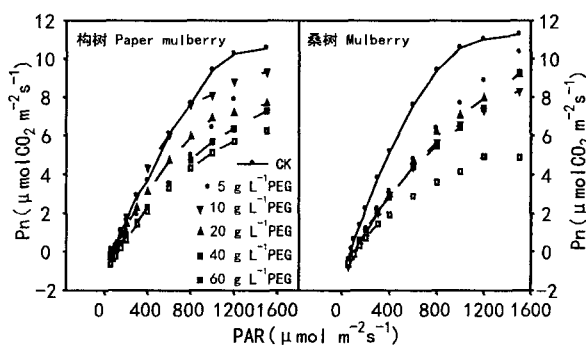


图 3 PEG 处理下两种植物对二氧化碳浓度的响应
Fig.3 Response of two plant species to CO_2 under different treatment of polyethylene glycol

2.2 PEG 6000 处理下植物对光强和二氧化碳的响应曲线

图 2 和图 3 分别是两种植物在不同浓度 PEG 6000 处理下对光强和二氧化碳浓度的响应曲线。通过对两种植物的光响应曲线的观察可以看出,构树的净光合速率受 PEG 6000 的影响较小,最大净光合速率甚至大于对照,而桑树的净光合速率受 PEG 6000 的影响较大,最大净光合速率都明显小于对照,PEG 6000 浓度为 20、40 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,净光合速率为负值。对两种植物的二氧化碳响应曲线的观察可看出,整体上构树的净光合速率受 PEG 6000 的影响较小,而桑树的净光合速率受 PEG 6000 的影响较大,尤其是在 $150 \sim 800 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 的二氧化碳浓度下,各处理的净光合速率都明显小于对照。以上结果表明,构树的光合作用受 PEG 6000 胁迫的影响明显小于桑树。

表 1 PEG 处理对两种植物 Fv/Fm、ΦPS II、qP 和 ETR 的影响 (平均值±标准误)

Table 1 Effect of polyethylene glycol on Fv/Fm, ΦPSII, qP and ETR of two plant species (Mean±SE)

	Treatment of PEG (g/L)	构树 <i>Broussonetia papyrifera</i>	桑树 <i>Morus alba</i>
Fv/Fm	0	0.79±0.004 a	0.79±0.006 a
	5	0.79±0.011 a	0.78±0.018 a
	10	0.80±0.008 a	0.73±0.013 b
	20	0.79±0.005 a	0.77±0.019 a
	40	0.79±0.012 a	0.66±0.031 c
	60	0.80±0.005 a	0.75±0.029 a
ΦPS II	0	0.48±0.027 a	0.42±0.073 a
	5	0.46±0.041 a	0.41±0.029 a
	10	0.49±0.099 a	0.29±0.051 c
	20	0.46±0.086 a	0.40±0.042 a
	40	0.46±0.092 a	0.25±0.029 c
	60	0.45±0.012 a	0.36±0.039 b
qP	0	0.723±0.005 a	0.329±0.006 a
	5	0.714±0.001 a	0.183±0.001bc
	10	0.690±0.001 b	0.189±0.000 bc
	20	0.714±0.005 a	0.115±0.000 d
	40	0.740±0.001 a	0.228±0.002 b
	60	0.655±0.001 b	0.208±0.004 b
ETR	0	67.49±1.13 a	24.19±0.44 a
	5	53.77±0.75 c	15.83±0.87 b
	10	53.71±1.08 c	18.02±1.79 b
	20	69.19±0.93 a	17.57±0.01 b
	40	60.93±1.92 b	12.51±0.64 c
	60	48.54±0.33 c	13.24±1.91 c

注：同列数据后不同字母表示差异显著(P<0.05)

Note: Numbers followed by different letters within each column indicated significant difference at P<0.05.

2.3 PEG 处理对构树、桑树两种植物叶绿素荧光参数的影响

表 1 是 PEG 处理对两种植物 Fv/Fm 和 ΦPS II 的影响,构树的 Fv/Fm 各处理间没有显著差异,而桑树则在 PEG 6000 浓度为 10、40 g · L⁻¹时受到抑制。构树的 ΦPS II 各处理间没有显著差异,而桑树则在 PEG 6000 浓度为 10、40、60 g L⁻¹时受到抑制。表明桑树在 PEG 6000 浓度为 10、40 g · L⁻¹时叶片 PSII 反应中心受到较大的破坏。PEG 处理对两种植物光化学淬灭系数(qP)和表观电子传递速率(ETR)的影响(表 1)。从表 1 看出,构树的 ETR 和 qP 都明显高于桑树。构树的 qP 各处理差异不大,而它的 ETR 各处理有明显差异,说明构树的电子传递对 PEG 逆境有一定的反应。桑树的 qP 和 ETR 各处理都明显小于对照,PEG 6000 浓度 20 g L⁻¹时的 qP 仅为对照的 1/3,PEG 6000 浓度 40、60 g L⁻¹时的 ETR 仅为对照的 1/2,表明桑树的光化学淬

灭能力和电子传递能力均受到 PEG 的很大影响。

3 讨论

水分干旱逆境条件下,植物叶片的碳酸酐酶升高能够弥补 H₂O 和 CO₂ 的供给不足(Wu 等,2005, 2006)。构树具有较高的碳酸酐酶活力且对 PEG 引起的干旱逆境具有很大的耐性,因此,可以推断构树比桑树更耐干旱逆境。

Fv/Fm 和 ΦPS II 分别代表 PS II 原初光能转化效率和 PS II 实际光合效率(胡学华等,2007)。Fv/Fm 是 PS II 最大光化学量子产量,反映 PS II 反应中心内光能转换效率或称最大 PS II 的光能转换效率,其变化代表 PS II 光化学效率的变化,也可以作为光合作用受抑制程度的重要指标之一(Roháček 和 Barták,1999)。光化学淬灭(qP)反映 PS II 原初电子受体 QA 的还原状态,它由 QA 重新氧化形成(Krause 等,1988)。光化学淬灭系数 qP 愈大,QA 重新氧化形成 QA 的量愈大,即 PS II 的电子传递活性愈高(王可玢等,1997)。

聚乙二醇对构树的光合作用的影响明显地小于对桑树的光合作用的影响。这不仅体现在净光合速率上,而且还体现在 PS II 原初光能转化效率、实际光合效率以及电子传递能力上。构树对 PEG 引起的干旱逆境的适应性是这几个方面的综合反映。一方面,在 PEG 逆境下构树仍具有较高的碳酸酐酶活力,高碳酸酐酶活力能在叶片受到干旱时,补充水和二氧化碳,提高光合速率(Wu 等,2009);另一方面,PEG 逆境下对构树光合作用的抑制明显小于桑树,这使构树比桑树在 PEG 逆境下光合速率下降幅度要小;此外,构树的光能转化效率受 PEG 的影响较小,且具有较高的电子传递能力,这使构树在 PEG 逆境下能保持旺盛的光合能力。

构树因其具有稳定的碳酸酐酶活力、较高的光能转化效率、电子传递速率以及净光合速率来对抗岩溶干旱逆境;说明构树更能适应喀斯特干旱环境。

参考文献:

Dai GX(戴高兴),Peng KQ(彭克勤),Deng GF(邓国富), et al. 2007. Effects of drought stress simulated by polyethylene glycol on growth and some physiological characteristics of root in low potassium tolerated rice seedlings(聚乙二醇模拟干旱对耐低钾水稻幼苗的根系生长及某些生理特性的影响)[J]. *Plant Physiol Commun* (植物生理学通讯)[J]. 43(5):865—868

- Feng JC(冯建灿), Hu XL(胡秀丽), Mao XJ(毛训甲). 2002. Application of chlorophyll fluorescence dynamics to plant physiology in adverse circumstance(叶绿素荧光动力学在研究植物逆境生理中的应用)[J]. *Econom Fore Res*(经济林研究), **20**(4):14-18
- Hu XH(胡学华), Pu GL(蒲光兰), Xiao QW(肖千文), et al. 2007. Effects of water stress on chlorophyll fluorescence in leaves of plum(*Prunus salicina* Lindl.) (水分胁迫下李树叶叶绿素荧光动力学特性研究)[J]. *Chine J Eco-Agri*(中国生态农业学报), **15**(1):75-77
- Jiang CD, Gao HY, Zou Q. 2003. Changes of donor and acceptor side in photosystem 2 complex induced by iron deficiency in attached soybean and maize leaves[J]. *Photosynthetica*, **41**:267-271
- Krause GH, Weis E. 1988. Applications of chlorophyll fluorescence in photosynthesis research[J]. *Physiol Plant*, **74**:566-577
- Mommer L, Visser EJW. 2005. Underwater photosynthesis in flooded terrestrial plants; a matter of leaf plasticity[J]. *Ann Bot*, **96**:581-589
- Panda D, Rao DN, Sharma SG, et al. 2006. Submergence effect on rice genotypes during seedling stage; probing of submergence driven changes of photosystem II by chlorophyll a fluorescence induction O-J-I-P transients[J]. *Photosynthetica*, **44**:69-75
- Roháček K, Barták M. 1999. Technique of the modulated chlorophyll fluorescence; Basic concepts, useful parameters, and some applications[J]. *Photosynthetica*, **37**:339-363
- Vyal YA, Dyukova GR, Leonova NA, et al. 2007. Adaptation of the photosynthetic apparatus of the immature broadleaf trees to the floodplain conditions[J]. *Russ J Plant Physiol*, **54**:58-62
- Wang KF(王可芬), Xu CH(许春辉), Zhao FH(赵福洪), et al. 1997. The effects of water stress on some *in vivo* chlorophyll a fluorescence parameters of wheat flag leaves(水分胁迫对小麦旗叶某些体内叶绿素 a 荧光参数的影响)[J]. *Acta Biophysica Sin*(生物物理学报), **13**(2):273-278
- Wilbur KM, Anderson NG. 1948. Electrometric and colorimetric determination of carbonic anhydrase[J]. *J Biol Chem*, **176**:147-154
- Wei Y(魏媛), Yu LF(喻理飞), Zhang JC(张金池). 2007. Study on biomass construction of *Broussonetia papyrifera* sprouting population with different disturbed conditions in karst region(喀斯特地区不同干扰条件下构树萌株种群生物量构成)[J]. *J Nanjing Fore Univ, Nat Sci Edi*(南京林业大学学报·自然科学版), **31**:58-66
- Wu YY(吴沿友), Li XT(李西腾), Hao JC(郝建朝), et al. 2006. Study on the difference of the activities of carbonic anhydrase in different plants(不同植物的碳酸酐酶活力差异研究)[J]. *Guihaia*(广西植物), **26**(4):366-369
- Wu YY, Li PP, Zhao YG, et al. 2007. Study on photosynthetic characteristics of *Orychophragmus violaceus* related to shade-tolerance[J]. *Sci Horti*, **113**:173-176
- Wu YY, Liu CQ, Li PP, et al. 2009. Photosynthetic characteristics involved in adaptability to karst soil and alien invasion of paper mulberry(*Broussonetia papyrifera*) in comparison with mulberry(*Morus alba*)[J]. *Photosynthetica*, **47**(1):155-160
- Wu YY, Wu XM, Li PP, et al. 2005. Comparison of photosynthetic activity of *Orychophragmus violaceus* and oil-seed rape[J]. *Photosynthetica*, **43**(2):299-302
- Wu YY, Zhao XZ, Li PP, et al. 2006. A study on the activities of carbonic anhydrase of two species of bryophytes, *Tortula sinensis* and *Barbula convoluta*, *Cryptogamie Bryologie*, **27**(3):349-355
- Yang XQ(杨晓青), Zhang SQ(张岁岐), Liang ZS(梁宗锁), et al. 2004. Effects of water stress on chlorophyll fluorescence parameters of different drought resistance winter wheat cultivars seedlings(水分胁迫对不同抗旱类型冬小麦幼苗叶绿素荧光参数的影响)[J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*(西北植物学报), **24**(5):812-816
- Yu LF(喻理飞), Zhu SQ(朱守谦), Ye JZ(叶镜中), et al. 2003. A study on evaluation of natural restoration for degraded karst forest(退化喀斯特森林自然恢复评价研究)[J]. *Sci Silv Sin*(林业科学), **36**(6):12-19
- Zhang SR(张守仁). 1999. A discussion on chlorophyll fluorescence kinetics parameters and their significance(叶绿素荧光动力学参数的意义及讨论)[J]. *Chin Bull Bot*(植物学通报), **16**(4):444-448

(上接第 46 页 Continue from page 46)

- enrichment procedure to develop multiple repeat classes of cotton microsatellite markers[J]. *Plant Mol Biol*, **22**:85a-85i
- Kumpatla SP, Mukhopadhyay S. 2005. Mining and survey of simple sequence repeats in expressed sequence tags of dicotyledonous [J]. *Genome*, **48**:985-998
- Li YQ(李永强), Li HW(李宏伟), Gao LF(高立峰), et al. 2004. Progress of simple sequence repeats derived from expressed sequence tags(基于表达序列标签的微卫星标记(EST-SSRs)研究进展)[J]. *J Plant Genet Res*(植物遗传资源学报), **5**(1):91-95
- Powell W, Machray GC, Provan J. 1996. Polymorphism revealed by simple sequence repeats [J]. *Trends Plant Sci*, **1**:215-222
- Toth G, Gaspari Z, Jurka J. 2000. Microsatellites in different eukaryotic genomes: survey and analysis [J]. *Genome Res*, **10**:967-981
- Varshney RK, Graner A, Sorrells ME. 2005. Genic microsatellite markers in plants: features and applications[J]. *Trends Biotechnol*, **23**:48-55