

# 青藏高原老芒麦和垂穗披碱草 SSR 分子标记鉴别

雷云霆<sup>1,2</sup>, 窦全文<sup>1</sup>

(1. 中国科学院西北高原生物研究所, 青海 西宁 810001; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100049)

**摘要:**垂穗披碱草(*Elymus nutans*)和老芒麦(*E. sibiricus*)是青藏高原高寒区广泛种植的优质牧草草种, 由于生态适应性变异, 在对一些野生种质资源鉴定中, 二者常易混淆。为了区别鉴定垂穗披碱草和老芒麦, 本研究结合细胞学鉴定, 利用不同来源的老芒麦和垂穗披碱草种质材料, 对源于普通小麦(*Triticum aestivum*)的 42 对 SSR 引物进行筛选。结果表明, 筛选出的小麦 EST-SSR 引物 Xcwem38c 在垂穗披碱草中的多态性标记可以有效区分垂穗披碱草和老芒麦。

**关键词:**垂穗披碱草; 老芒麦; SSR 分子标记

中图分类号: S543+.901; Q943.2 文献标识码: A

文章编号: 1001-0629(2012)06-0937-06

老芒麦(*Elymus sibiricus*)和垂穗披碱草(*E. nutans*)是禾本科小麦族披碱草属多年生疏丛草本植物, 是青藏高原高寒区具有广泛分布的野生资源。老芒麦和垂穗披碱草对该地区极端寒冷干旱的生态环境具有良好的适应性和广泛的生态可塑性<sup>[1-2]</sup>, 且高产优质, 故已经成为该地区栽培利用的最为广泛的当家牧草草种<sup>[3-4]</sup>。目前生产中, 主要栽培利用的老芒麦和垂穗披碱草品种都是在搜集当地野生种质资源的基础上, 通过筛选、鉴定、选育而来的应用面积较广的品种有同德老芒麦、青牧 1 号、川草 1 号等<sup>[5-7]</sup>。青藏高原分布的老芒麦和垂穗披碱草野生种质资源, 是对这两个草种进行进一步遗传改良的重要物质基础, 该地区生长的这两个物种野生种质资源的采集、鉴定对于高寒牧草育种具有重要意义。

老芒麦和垂穗披碱草皆为花序下垂类披碱草属物种, 在经典的分类学上, 通过一些形态学特征可将这两个物种进行很好地区分。但是, 在实际野外种质资源采集中, 由于形态学特征受到生长环境的影响, 对二者进行准确地区分比较困难。卢红双等<sup>[8]</sup>对于来源于不同地区的 49 份穗型下垂类披碱草进行形态学鉴定和聚类分析研究后认为, 老芒麦和垂穗披碱草在长期适应进化过程中, 两个种不同的生态型在形态性状上具有较多的性状交叉, 使得分类

学的鉴定很困难。在对从美国国家植物种质资源库(NPGS)引进的 10 多份垂穗披碱草种质利用细胞学进行鉴定时, 发现其中有部分种质实际上是老芒麦。由此可见, 在野外种质资源搜集中, 将老芒麦和垂穗披碱草混淆是一个比较常见的问题。

在细胞学水平上, 老芒麦是异源四倍体物种, 染色体数为 28, 染色体组组成为 StStHH<sup>[9]</sup>; 垂穗披碱草为异源六倍体物种, 染色体数为 42, 染色体组组成为 StStHHYY<sup>[10]</sup>, 其中 St 组来自拟鹅冠草属(*Pseudoroegneria*)<sup>[11]</sup>, H 组来自大麦属(*Hordeum*)<sup>[12]</sup>, Y 组的来源尚不清楚<sup>[13]</sup>。显然, 通过细胞学观察, 可以将这两个物种很清楚地区分开来。但实际工作中, 染色体的准确鉴定一般需要具有一定细胞学研究经验的研究者, 而且操作过程相对费时、费力。DNA 分子标记具有多态性高, 无组织、器官及发育时期的特异性, 不受环境条件的影响等优点, 分子标记技术已经应用于植物遗传育种的各个领域, 尤其是基于 PCR 反应的分子标记技术, 由于操作简便、快速, 现已成为众多实验室的常规技术手段。在众多分子标记类型中, SSR(Simple Sequence Repeat)分子标记具有共显性、重复性好、稳定性高等优点, 尤其受到遗传育种工作者的青睐。

本研究首先利用细胞学技术对老芒麦和垂穗披

\* 收稿日期: 2011-09-18 接受日期: 2011-12-02

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2009BAC61B03-6); 青海省重点科技攻关项目(2008-N-161)

作者简介: 雷云霆(1985-), 男, 四川阆中人, 在读硕士生, 研究方向为植物遗传育种。E-mail: leiyingting@163.com

通信作者: 窦全文 E-mail: douqw@nwipb.cas.cn

碱草种质进行鉴定,然后利用普通小麦(*Triticum aestivum*)中开发出的 SSR 分子标记对老芒麦和垂穗披碱草进行多态性筛选,并对筛选出的多态性标记进行广泛性验证,在此基础上,筛选出能够鉴别老芒麦和垂穗披碱草种质的 SSR 分子标记。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 研究材料由两部分组成,一部分材料由美国国家植物种质库(NPGS)引进(表 1),这部分材料被原始搜集者鉴定为垂穗披碱草,因此均被当作垂穗披碱草种质引进;另一部分材料在青海当地搜集(表 2),其中多叶老芒麦(Qingmu No. 1)和同德老芒麦(Tongde)是高寒牧区广泛种植的品种,其他为野外采集材料,这些材料种名鉴定由中国科学院西北高原生物研究所专门从事小麦族分类学研究的专家完成。青海当地材料和野外采集材料均为种子成熟期采集的种子,干燥环境保存备用。

## 1.2 方法

**1.2.1 细胞学鉴定** 经过低温破除休眠处理的披碱草种子在室温下发芽,剪取 1~2 cm 胚根,冰水预处理 24 h,卡诺液室温固定 2 h 以上,切取根尖分生区用 45%醋酸压片。制片首先在 Leica 显微系统相差装置下进行观察,选取中期分裂相良好的制片在 -80 °C 冰箱冰冻处理 1 h 后揭片,然后利用 DAPI 进行套染,利用 Leica 显微系统荧光装置进行观察和照相。

表 1 引进的垂穗披碱草材料

Table 1 *Elymus nutans* introduced from NPGS in the study

序号 No.	保存号 Conserved code	采集地 Origins
1	PI 499450	内蒙 Inner Mongolia
2	PI 499451	甘肃 Gansu
3	PI 499611	甘肃 Gansu
4	PI 504459	内蒙 Inner Mongolia
5	PI 531643	四川 Sichuan
6	PI 531644	甘肃 Gansu
7	PI 531645	青海 Qinghai
8	PI 547394	内蒙 Inner Mongolia
9	PI 619516	四川 Sichuan
10	PI 619575	新疆 Xinjiang
11	PI 619590	西藏 Tibet
12	PI 628675	新疆 Xinjiang
13	PI 628698	甘肃 Gansu
14	PI 655186	甘肃 Gansu

表 2 在青海地区搜集的披碱草属野生材料和品种

Table 2 Wild *Elymus* species collected in Qinghai

序号 No.	保存号 Conserved code	物种 Species	采集地 Origins
15	Tongde	老芒麦 <i>Elymus sibiricus</i>	同德 Tongde
16	Qingmu No. 1	老芒麦 <i>Elymus sibiricus</i>	同德 Tongde
17	E1	垂穗披碱草 <i>Elymus nutans</i>	果洛 Guoluo
18	E2	垂穗披碱草 <i>Elymus nutans</i>	西宁 Xining
19	E3	垂穗披碱草 <i>Elymus nutans</i>	西宁 Xining
20	E4	垂穗披碱草 <i>Elymus nutans</i>	西宁 Xining
21	E5	老芒麦 <i>Elymus sibiricus</i>	西宁 Xining
22	E6	老芒麦 <i>Elymus sibiricus</i>	西宁 Xining
23	E7	老芒麦 <i>Elymus sibiricus</i>	西宁 Xining

**1.2.2 引物筛选与 PCR 扩增** 从公布在国际小麦族协作网(www.wheat.pw.usda.gov/)的小麦基因组 SSR 和 EST-SSR 引物中挑选 42 对引物(引物由上海生工生物工程公司合成)。参考李景环等<sup>[14]</sup>的 CTAB 法提取所需披碱草属材料总 DNA。PCR 反应体系和程序参照 Röder 等<sup>[15]</sup>的方法,通过优化调整最终优化的 25  $\mu$ L PCR 扩增体系:模板 DNA 1.5  $\mu$ L (50 ng  $\cdot$   $\mu$ L<sup>-1</sup>), 10 $\times$  PCR Buffer 2.5  $\mu$ L (含 Mg<sup>2+</sup>), dNTP 2  $\mu$ L (2.5 mmol  $\cdot$   $\mu$ L<sup>-1</sup>), Taq DNA 聚合酶 0.2  $\mu$ L (5 U  $\cdot$   $\mu$ L<sup>-1</sup>), 上下游引物均为 1.0  $\mu$ L (10  $\mu$ mol  $\cdot$   $\mu$ L<sup>-1</sup>); ddH<sub>2</sub>O 补足体积。PCR 扩增条件:94 °C 预变性 5 min, 94 °C 变性 30 s, 55 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 30 s, 共 35 个循环;最后 72 °C 延伸 10 min, 4 °C 保存。所有反应在 Applied Biosystems PCR 仪上进行。

**1.2.3 SSR 引物 PCR 产物的检测** 扩增产物在 8% 聚丙烯酰胺凝胶上用 1 $\times$  TBE 缓冲液进行电泳分离,经溴化乙锭稀释液染色后,用 Vilber Leurmat 自动成像系统照相。

## 2 结果与分析

**2.1 细胞学鉴定** 观察根尖细胞有丝分裂中期分裂相,可以很清楚地将四倍体(图 1)和六倍体(图 2)区分开来。

对引进的所有垂穗披碱草种质进行细胞学鉴定结果表明,14 份材料中有 5 份材料染色体数为 28,与预期染色体数 42 不符(表 3)。因此,这 5 份材料,虽然当初被采集者据形态学鉴定为垂穗披碱草,

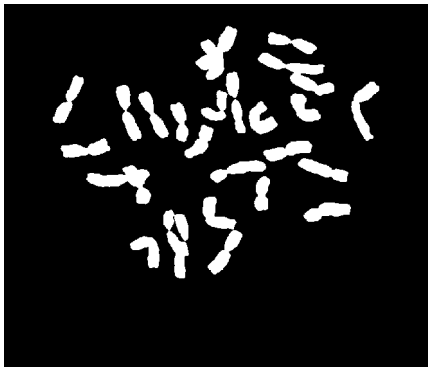


图1 6号材料(PI 531644)有丝分裂中期  
Fig. 1 Mitosis metaphase of  
PI 531644

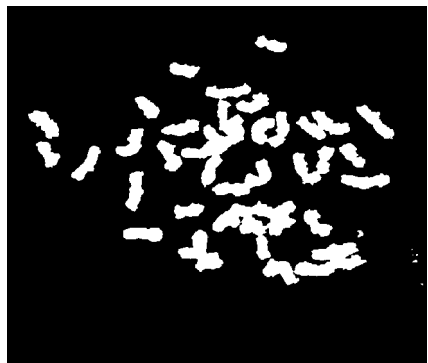


图2 1号材料(PI 499450)有丝分裂中期  
Fig. 2 Mitosis metaphase of  
PI 499450

表3 引进垂穗披碱草材料细胞学鉴定结果

Table 3 Cytological identification results of the  
introduced *Elymus nutans*

序号 No.	保存号 Conserved code	染色体数 Chromosome numbers
1	PI 499450	42
2	PI 499451	42
3	PI 499611	42
4	PI 504459	28
5	PI 531643	42
6	PI 531644	28
7	PI 531645	28
8	PI 547394	28
9	PI 619516	42
10	PI 619575	28
11	PI 619590	42
12	PI 628675	42
13	PI 628698	42
14	PI 655186	42

并被归类为垂穗披碱草种质,但实际上为老芒麦。这些材料的采集地分布在四川、内蒙、青海、甘肃、新疆等不同地点,并由不同采集者鉴定。由此可见,由于老芒麦和垂穗披碱草形态上的相似性及在不同生态环境下的变异性,其种质在形态鉴定上很容易混淆。

对在青海采集的披碱草材料进行细胞学鉴定结果表明,所有材料染色体数与预期相符,即同德老芒麦、多叶老芒麦及其他3种野生老芒麦材料的染色体数为28;而垂穗类披碱草材料的染色体数为42。

**2.2 EST-SSR 多态性初步筛选** 考虑到六倍体垂穗披碱草(染色体组为StHY)比四倍体老芒麦(染色体组为StH)多一组染色体Y,因此对老芒麦和垂穗披碱草多态性引物筛选中,能稳定地在垂穗披碱草材料中扩增出可能来自Y染色体组的额外遗传位点的产物,以区别于老芒麦,有可能作为区别老芒麦和垂穗披碱草较理想的分子标记。以经过细胞学鉴定的15号材料同德老芒麦和16号材料多叶老芒麦为老芒麦代表,11号和12号材料为垂穗披碱草代表,利用已经过前期研究在披碱草中具有扩增产物的42对小麦的SSR引物对这两类材料进行多态性筛选,结果表明,42对SSR引物中,Xcwm38c可能稳定、重复地将这两类材料区分开,Xcwm38c在垂穗披碱草材料中扩增出的在130~180 bp的多态性条带在老芒麦材料中缺乏(图3),说明其能够较好地地区分老芒麦和垂穗披碱草。

**2.3 EST-SSR 多态性标记的进一步验证** 在对多态性标记初步筛选中仅用了两对老芒麦和垂穗披碱草材料。对引进的垂穗披碱草种质的细胞学鉴定结果表明,这些材料中既有垂穗披碱草又有老芒麦,由于这些材料来自于四川、内蒙、新疆、西藏、青海、甘肃等地,在生态环境分布上跨距较大。为了进一步验证筛选出的标记的有效性,利用Xcwm38c对这些材料进行了扩增,结果表明,在15号同德老芒麦和16号多叶老芒麦以及4、6、7、8和10号材料中没有多态性条带的扩增产物出现,其余材料中(除12号外)均在150 bp左右有两条多态性条带,而12号材料在约110和160 bp有多态性条带,以区别于老芒麦(图4)。

对1~14号材料的细胞学鉴定表明,4、6、7、8和10号材料为四倍体28条染色体,在本研究中这5个材料中都没有多态性扩增产物,利用Xcwm38c

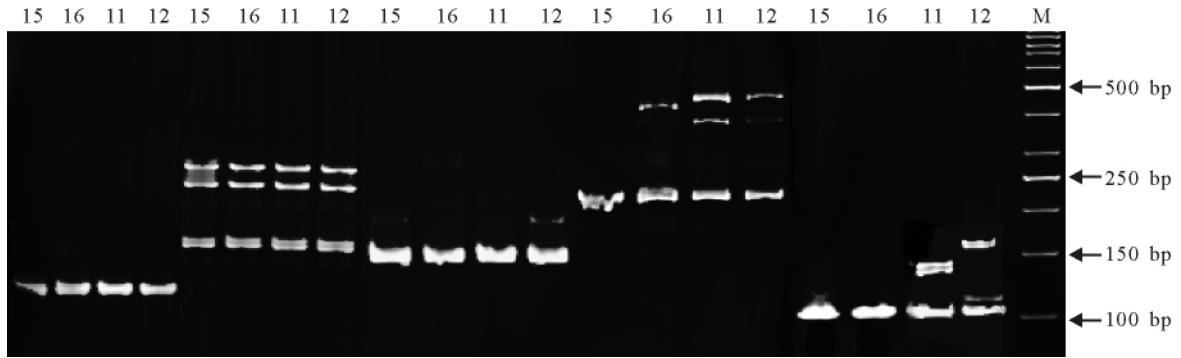


图3 部分 SSR 引物扩增结果

Fig. 3 The partial PCR amplification results of SSR primers

注:15 为同德老芒麦;16 为多叶老芒麦;11 为 PI 619590;12 为 PI 628675;M 为 Maker。

Note:15, *E. sibiricus* ‘Tongde’;16, *E. sibiricus* ‘Qingmu No. 1’;11, PI 619590;12, PI 628675;M, Maker.

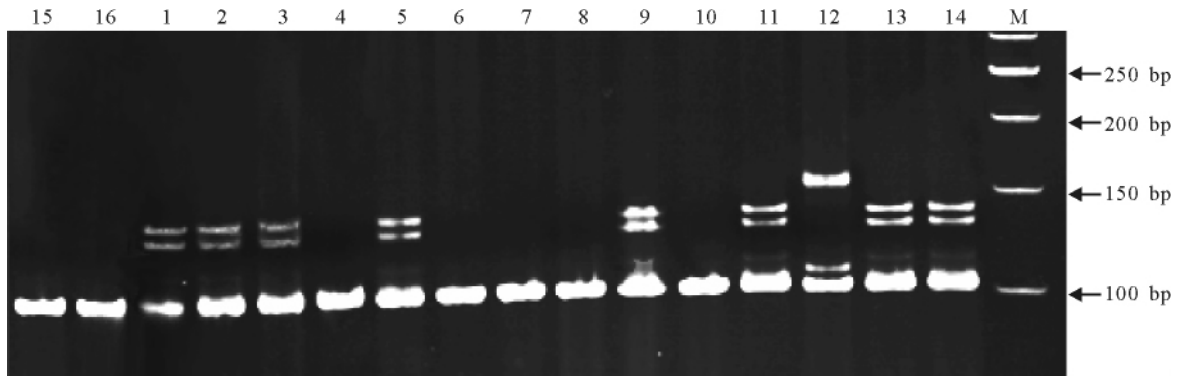


图4 引物 Xcwem38c 在 14 份引进材料上的扩增结果

Fig. 4 The amplification results of primer Xcwem38c in 14 introduced material

注:15 为同德老芒麦;16 为多叶老芒麦;1~14 同表 1;M 为 Marker。

Note:15, *E. sibiricus* ‘Tongde’;16, *E. sibiricus* ‘Qingmu No. 1’;1~14, same as Table1;M, marker.

引物对这些材料的鉴定结果与细胞学鉴定的结果非常一致。12 号材料多态性条带分子量大小有别于其他六倍体垂穗披碱草材料,表明这个材料可能与其他种质具有较大的遗传分化。由于这些材料生境分布上距离比较远,而利用 Xcwem38c 扩增出的多态性分子标记能稳定地将这些材料辨别,表明筛选到的 SSR 引物 Xcwem38c 能够准确地在分子水平上将老芒麦和垂穗披碱草区分开来。

**2.4 EST-SSR 多态性标记在青藏高原野生材料中的广泛性验证** 利用 Xcwem38c 对不同来源的老芒麦和垂穗披碱草材料进行扩增时,无论是老芒麦还是垂穗披碱草中都会在 100 bp 左右有一条带在两个物种中稳定扩增出现,而在其他试验材料中 150 bp 左右大多有两条多态性条带。为了进一步验证 SSR 引物 Xcwem38c 的稳定性、可靠性和广泛性,选取具有代表性的青藏高原野生老芒麦和

垂穗披碱草材料,进行 PCR 扩增反应(图 5)。17~20 号和 21~23 号材料都是经过形态学和细胞学鉴定的野生垂穗披碱草和老芒麦材料, Xcwem38c 在这些野生材料中的 PCR 扩增结果和细胞学鉴定结果相吻合。结果表明,SSR 引物 Xcwem38c 可以在这些材料中进行稳定性扩增,进一步验证筛选到的 EST-SSR 引物 Xcwem38c 能够准确可靠地在分子水平上将老芒麦和垂穗披碱草区分开来。

**3 讨论与结论**

垂穗披碱草和老芒麦都是披碱草属的常见种,分类学家常常根据外部形态学性状进行区分,垂穗披碱草形态学性状主要表现为,穗状花序紧密、小穗排列多偏向于穗轴一侧等特征,而老芒麦则表现为穗状花序疏松、小穗排列不偏于穗轴一侧的特征<sup>[16-17]</sup>。对从美国引进的垂穗披碱草种质的鉴定以及有关研究<sup>[4]</sup>的结果来看,在不同生态环境中老芒

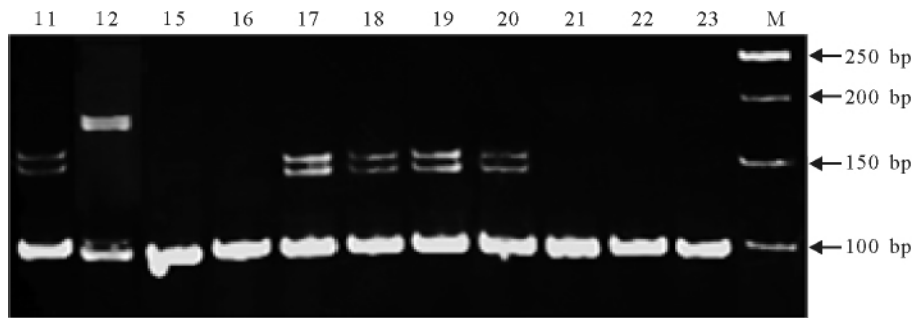


图5 引物 Xcwem38c 在野生材料上的扩增结果

Fig. 5 The amplification results of primer Xcwem38c in 12 wild material

注:11 为 PI 619590;12 为 PI 628675;15 为同德老芒麦;16 为多叶老芒麦;17~23 同表 2;M 为 Marker。

Note:11, PI 619590;12, PI 628675;15, *E. sibiricus* 'Tongde';16, *E. sibiricus* 'Qingmu No. 1';17~23, same as Table 2; M, marker.

麦和垂穗披碱草种质,由于对环境的适应性,形态学上的某些变异常会对这两种草种的鉴定造成干扰。DNA 分子标记是一类不依赖于形态学的遗传标记,由于分子标记鉴定是对生物体遗传物质的直接鉴定,相对于形态学标记鉴定,分子标记鉴定更为直接、客观、准确。垂穗披碱草和老芒麦在细胞学上倍性不同,在本研究中,通过细胞学鉴定以及在广泛筛选出的小麦 EST-SSR 引物 Xcwem38c 扩增出的多态性标记可以对垂穗披碱草和老芒麦进行有效辨别。

本研究利用在小麦中开发出的 SSR 标记,进行了可区分老芒麦和垂穗披碱草的多态性标记筛选。结果表明,一些 SSR 标记尤其是 EST-SSR 标记在不同物种之间具有良好的通用性。对披碱草属 SSR 标记研究较早的 Sun 等<sup>[18]</sup>,曾经成功地利用小麦 SSR 引物对披碱草属物种进行了种群遗传多样性分析;MacRitchie 和 Sun<sup>[19]</sup>也曾经利用来自小麦和大麦(*Hordeum vulgare*)的 SSR 引物对细茎披碱草(*E. trachycaulus*)的遗传多样性分析,并指出,麦类 SSR 引物在小麦族近缘物种中具有一定的通用性;严学兵等<sup>[20]</sup>通过对不同来源 SSR 标记在中国披碱草属植物的通用性和效率评价指出,亲缘关系较近的小麦以及披碱草属 SSR 引物遗传分析的效率更高,即亲缘关系越近 SSR 引物通用性越好。由于目前直接从老芒麦和垂穗披碱草中开发出来可供利用的 SSR 标记缺乏,因此利用亲缘关系较近物种中已经开发出来的 SSR 引物也不失为一条较好的捷径。

老芒麦和垂穗披碱草是青藏高原高寒区重要的

禾本科类牧草,DNA 分子标记的应用,将有效促进这两类牧草种质资源的搜集、鉴定以及育种引用。随着 SSR 分子标记开发技术的改进<sup>[21]</sup>,开发老芒麦和垂穗披碱草自身的 SSR 引物显得更为经济、简便、可行。本研究从 42 对小麦的 SSR 引物中筛选到了一对可以区分老芒麦和垂穗披碱草的引物,在今后的研究中,在开发大量老芒麦和垂穗披碱草自身的 SSR 引物的基础上,可筛选出更多重复、稳定地进行物种区分的分子标记,并有望能在分子水平上对老芒麦和垂穗披碱草种质的不同生态型进行准确区别和鉴定。

#### 参考文献

- [1] 德英,赵来喜,穆怀彬. 30 份老芒麦种质材料抗寒性研究[J]. 草业科学,2011,28(1):90-93.
- [2] 陈功,贺兰芳. 高寒地区两种老芒麦生态适应性和生产性能评价[J]. 草业科学,2004,21(9):39-41.
- [3] 鄢家俊,白史且,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.
- [4] 陈智华,苗佳敏,钟金城,等. 野生垂穗披碱草种质遗传多样性的 SRAP 研究[J]. 草业学报,2009,18(5):192-200.
- [5] 鄢家俊,白史且,马啸,等. 老芒麦遗传多样性及育种研究进展[J]. 植物学通报,2007,24(2):226-231.
- [6] 鄢家俊,白史且,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.
- [7] 鄢家俊,白史且,张新全,等. 青藏高原东南缘老芒麦自然居群遗传多样性的 SRAP 和 SSR 分析[J]. 草业学报,2010,19(4):122-134.
- [8] 卢红双,徐柱,马玉宝,等. 披碱草属垂穗型下垂类种质的形态学鉴定及其聚类分析[J]. 云南农业大学学报,

- 2008(2):150-161.
- [9] Dewey D R. The genomic system of classification as a guide to intergeneric hybridization with the perennial Triticeae[A]. In: Gustafson P J. Gene Manipulation in Plant Improvement [M]. New York: Plenum Press, 1984:209-279.
- [10] Lu B R. Meiotic studies of *Elymus nutans* and *E. jacquemontii* (Poaceae, Triticeae) and their hybrids with *Pseudoroegneria spicata* and seventeen *Elymus species* [J]. Plant Systematics and Evolution, 1993, 186:193-212.
- [11] Dewey D R. Cytogenetics of *Agropyron ugamicum* and six of its interspecific hybrids [J]. Botanical Gazette, 1980, 141:469-478.
- [12] Love A. Conspectus of the Triticeae[J]. Feddes Report, 1984, 95:425-521.
- [13] Wang RR-C, von Bothmer R, Dvorak J, et al. Genome symbols in the Triticeae[A]. Proceedings of the 2nd international Triticeae Symposium, Logan, Utah[C]. Logan: University Publication Design and Production, 1994:29-34.
- [14] 李景环, 云锦凤, 邵丽华, 等. 老芒麦总 DNA 提取方法探讨[J]. 内蒙古师范大学学报(自然科学汉文版), 2008, 37(4):543-545.
- [15] Röder M S, Plaschke J, König S U, et al. Abundance, variability and chromosomal location of microsatellites in wheat[J]. Molecular and General Genetics, 1995, 246:327-333.
- [16] 郭本兆. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1987:6-10.
- [17] 刘尚武. 青海植物志[M]. 西宁: 青海人民出版社, 1999:97-99.
- [18] Sun G L, Salomon B, Bothmer R. Analysis of tetraploid *Elymus species* using wheat microsatellite markers and RAPD markers[J]. Genome, 1997, 40:806-814.
- [19] MacRitchie D, Sun G. Evaluating the potential of barley and wheat microsatellite markers or genetic analysis of *Elymus trachycaulus* complex species [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2004, 108:720-724.
- [20] 严学兵, 王堃, 周禾, 等. 不同来源 SSR 标记在我国披碱草属植物的通用性和效率评价[J]. 草业学报, 2008, 17(6):112-120.
- [21] Zang L, Bargelloni L, Patarnello T. Strategies for microsatellite isolation: a review[J]. Molecular Ecology, 2002, 11:1-16.

### Distinguishing *Elymus nutans* from *Elymus sibiricus* in Qinghai-Tibet Plateau using a SSR marker

LEI Yun-ting<sup>1,2</sup>, DOU Quan-wen<sup>1</sup>

(1. Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China;

2. Graduate university of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

**Abstract:** *Elymus nutans* and *E. sibiricus*, which belong to *Elymus* genus of the Triticeae, are perennial herbaceous plants. These two species are high-quality forage grasses which widely planted in China, especially in alpine zone of Qinghai-Tibet Plateau. Due to eco-adaptive variation, it was often confusing while identifying some wild germplasms between them. In order to distinguish *E. nutans* from *E. sibiricus*, materials collected from Sichuan, Gansu and Tibet and somewhere else were screened using 42 SSR primers, including 21 genomic SSR and 21 EST-SSR, which located on the 21 chromosomes of wheat. The results showed that a EST-SSR primer Xcwem38c could produce 3 bands in *E. nutans* and 1 band in *E. sibiricus* in PCR system. It indicated that the band with 100 bp presented in both *E. nutans* and *E. sibiricus*, while two contiguous bands with 150 bp were only existed in *E. nutans*. Thus, the two bands could be used to distinguish *E. nutans* from *E. sibiricus*. At the same time, the results obtained from further cytological identification study were consistent with the molecule marker, which supported the conclusion that the EST-SSR primer Xcwem38c could be used to distinguish *E. nutans* from *E. sibiricus* effectively.

**Key words:** *Elymus nutans*; *Elymus sibiricus*; SSR marker

Corresponding author: DOU Quan-wen E-mail: douqw@nwipb.cas.cn