

湖南主要南天竹种质资源遗传多样性的 ISSR 分析

唐 丽

(中南林业科技大学 资源与环境学院, 湖南 长沙 410004)

摘 要:南天竹是我国广泛分布的集观赏、生态、药用一体的常绿灌木。以湖南省 13 个不同地区的南天竹种群为试样,首次建立了优化的适用于南天竹种源遗传多样性研究的 ISSR-PCR 反应体系,并从 100 条随机引物中筛选出 10 条重复性好、条带特异、多态性明显的引物,平均每条引物可扩增出 4.8 条多态带,多态率为 85.7%,扩增片段长度范围为 300~1 600 bp。遗传距离和遗传一致度的分析结果表明,邵东县与宜章县种源之间的遗传距离最小,而张家界与衡山县种源之间的遗传距离最大。对南天竹 13 个种源的遗传距离分析、聚类分析和主坐标排序分析结果表明,邵东县、祁阳县、韶山市与宜章县的种源聚为一类,芦淞区与新化县的种源聚为一类,柏加镇、岳阳县与黄花镇的种源聚为一类,洪江县、桃江县、张家界与衡山县的种源同其它三类的亲源关系较远,且彼此单独为一类。

关键词:南天竹;ISSR;体系优化;遗传距离;种源鉴定

中图分类号:S 795(264) **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2009)01-0166-05

南天竹(*Nandina domestica*)属小檗科南天竹属植物,是一种具有观赏、生态、药用等多种价值的常绿灌木。南天竹原产我国和东亚,野生在温湿环境山谷或山坡的杂林和灌木林下,适合在温暖、半荫、湿润、肥沃、通风、排水良好的土壤等环境中生长。在我国,南天竹主要分布于江苏、浙江、安徽、江西、湖北、湖南、四川、陕西、河北等地,现各地庭园都有栽培^[1]。

南天竹枝干挺拔如竹,羽叶开展而秀美。南天竹的叶、根、茎、果含多种生物碱,其根、茎、叶、果实均可药用。根、茎、叶味苦、性寒,有祛风、清热、除湿、化痰、镇咳止咳等功能,主治感冒发热、肺热咳嗽、湿热黄疸等症;果实味酸甘、性平、有小毒,有敛肺止咳、清肝明目之功能,用于久咳、哮喘、百日咳、疟疾、下疳溃烂等症的治疗,还可外敷,治疗烫伤、烧伤等症。南天竹种子含油约为 12%,可以榨油。叶含鞣质,可以作为鞣料植物^[2]。光照对南天竹叶色形成有明显的作用,在强光下叶片呈红色,光照较弱时则为绿色,因而,南天竹叶色随四季由白转黄、青、红、紫色,在园林中具有极好的观赏效果^[3-4]。南天竹在绿化、保持水土、改良土壤以及人工繁殖栽培等方面已有较为广泛的研究与应用,特别是野生南天竹驯化栽培、优良品种的植物组织培养与快速繁殖、夏季扦插繁

殖育苗技术等方面取得了较好的研究进展^[5-8]。因而,南天竹已广泛应用于环境绿化、园林美化、空气净化、涵养水源、防风固沙、保持水土等,是我国南方生态环境恶劣的石灰岩地区的生态环境改善的主要灌木之一^[9-10]。

虽然在栽培、观赏、药用、形态、生理等方面对南天竹有了一定的研究,但是在分子生物学水平上,尤其关于它的遗传多样性及品种鉴定的研究在国内外仍是空白。目前国内外关于南天竹的种质资源评价与遗传多样性研究等报道极少,亟待开展相关研究,特别是分子标记应用研究。目前,ISSR(Inter-simple sequence repeat)分子标记技术在植物遗传作图、基因定位、种质资源与品种鉴定、遗传多样性分析等方面有着较多的应用,但国内外尚未有 ISSR 在南天竹上应用的报道。因此,该研究以多份南天竹种质资源为试材,建立并优化了南天竹 ISSR-PCR 反应体系,为在 DNA 水平上对南天竹种质资源进行分析和确定核心种质奠定了重要基础,为我国南天竹地方种源的保护和园林开发利用提供了科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

研究所用的南天竹种群采自湖南省 13 个不同的地区,在长沙中南林业科技大学试验点集中试验栽培的种源(表 1)。选取有代表性的样株,单株采样,每株取叶片 4~5 枚,洗净后,存放至 -70℃超低温冰箱。ISSR 引物参照哥伦比亚大学(UBC)设计的 100 条随机引物序列,由上海英骏生物技术有限公司合成。

1.2 试验方法

作者简介:唐丽(1966-),女,湖南祁阳人,博士,副教授,现主要从事森林培育及观赏园艺的教学与科研工作。E-mail: lily0286rose@163.com。

基金项目:湖南省教育厅科研资助项目(05C328)。

收稿日期:2008-08-30

1.2.1 南天竹叶片总 DNA 的提取、纯化及测定 采用改良 CTAB 法提取南天竹叶片的基因组 DNA, 并对提取的基因组 DNA 进行适宜的纯化处理^[11-12]。取 2 μL DNA 样品于 1.0% 的琼脂糖凝胶中电泳检测。用核酸蛋白分析仪测定 DNA 样品的 OD₂₆₀ 和 OD₂₈₀ 的值, 并计算其纯度及浓度。

表 1 南天竹的 13 个种源		
编号	来源	备注
01	洪江县	怀化地区
02	柏加镇	浏阳地区
03	岳阳县	岳阳地区
04	黄花镇	长沙地区
05	邵东县	邵阳地区
06	桃江县	益阳地区
07	祁阳县	永州地区
08	韶山市	湘潭地区
09	张家界	湘西地区
10	衡山县	衡阳地区
11	芦淞区	株洲地区
12	宜章县	郴州地区
13	新化县	娄底地区

1.2.2 ISSR-PCR 反应体系的优化 在对南天竹的全部样品进行 ISSR 扩增前, 为了保证结果的可靠性、重复性, 首先要建立稳定的反应体系, 对其 PCR 扩增体系进行优化。为此, 就南天竹 ISSR-PCR 反应体系中的 DNA 模板浓度、Taq 酶用量、Mg²⁺ 浓度、dNTPs 浓度、引物浓度和退火温度等因素进行优化试验, 以建立重复性强、结果清晰而稳定的南天竹 ISSR-PCR 反应体系和循环条件。ISSR-PCR 产物于 1.5% 的琼脂糖凝胶电泳检测。

1.2.3 ISSR 的引物筛选 利用 ISSR 分子标记对南天竹种源进行遗传多样性分析, 首先要在 100 条引物中筛选出适合 ISSR-PCR 扩增、扩增条带清晰且多态性较好的引物, 然后再对不同的南天竹基因组 DNA 进行全面有效的扩增, 以保证试验结果的可靠、科学和高效。随机选取 4 个不同的样品, 采用优化的 ISSR-PCR 反应体系和适应的退火温度, 对全部 100 条 ISSR 随机引物进行筛选。

1.2.4 ISSR 的数据统计与分析 按照相同迁移位置上有扩增带记为“1”、无记为“0”的方法记录每个引物的电泳谱带, 且仅记录清晰、重复性好的扩增条带, 并将“0”、“1”数据输入 Excel 表格中用于下一步分析。应用软件 POPGENE 1.31 对所得数据进行多态性位点百分数、遗传一致度和遗传距离的分析^[13]。根据遗传一致度系数矩阵, 对南天竹 13 个种源群体进行 UPGMA 法聚类并形成树状图^[14]。应用软件 MVSP 32 对南天竹 13 个种源的多样性进行主坐标分析 (PCOA), 并建立了三维主坐标图。

2 结果与分析

2.1 南天竹叶片基因组 DNA 提取质量

试验对 13 个种源南天竹叶片进行了基因组 DNA 抽提, 纯化后用 TE 缓冲液定容至 100 μL , 并电泳检测 (图 1), 结果表明, 所获得的基因组 DNA 条带清晰, 无明显拖带, 说明改良 CTAB 法适合南天竹叶片基因组 DNA 的提取。用核酸蛋白分析仪检测基因组 DNA 浓度和纯度, 所提取的 13 个南天竹叶片 DNA 的浓度分别为 50~180 ng/ μL , 且纯度 R 值 (OD₂₆₀/OD₂₈₀) 在 1.7~1.8 之间, 表明纯度较高, 可满足后续 ISSR-PCR 试验的要求。为了配置一致的 PCR 反应体系, 将 13 个 DNA 样品的浓度相应地稀释至 30 ng/ μL 。

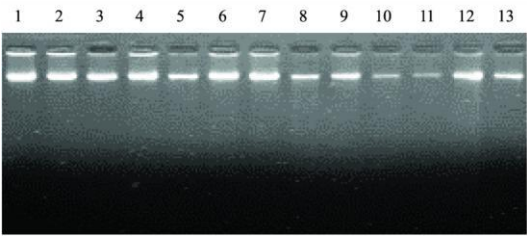


图 1 南天竹叶片基因组 DNA 电泳图
注: 1~13 泳道分别对应表 1 中的南天竹 13 个种源。

2.2 ISSR-PCR 反应体系的优化

分别对模板 DNA 浓度、Taq 酶用量、Mg²⁺ 浓度、dNTPs 浓度、引物浓度、退火温度等 ISSR-PCR 的反应体系进行了优化。模板 DNA 浓度分别设置了 10、20、30、40、50、60、70、80 ng/ μL 8 种不同的模板梯度; Taq 酶用量分别设置了 0.25、0.50、0.75、1.00、1.25 U 共 5 个酶含量梯度; Mg²⁺ 浓度分别设置了 2.0、2.5、3.0、3.5 mmol/L 共 4 个浓度梯度; dNTPs 浓度分别设置了 120、160、200、250 $\mu\text{mol/L}$ 共 4 个浓度梯度; 引物浓度分别设置了 0.1、0.2、0.4、0.5 $\mu\text{mol/L}$ 共 4 个浓度梯度; 退火温度分别设置了 50、52、53、54、56 $^{\circ}\text{C}$ 共 5 个退火温度梯度。优化后的 ISSR-PCR 反应体系为: DNA 模板 50 ng/ μL , Taq 酶 0.50 U, Mg²⁺ 2.5 mmol/L, dNTPs 200 $\mu\text{mol/L}$, 引物 0.4 $\mu\text{mol/L}$, 退火温度 54 $^{\circ}\text{C}$ 。在该反应体系下, 能扩增出较多清晰特异的 DNA 条带, 长度分布适中, 背景低 (图 2)。

优化后的反应体系和应用程序为: 20 μL PCR 体系中, 1 x Taq 酶配套缓冲液, 0.5 U Taq DNA 聚合酶, 0.4 $\mu\text{mol/L}$ 引物, 200 $\mu\text{mol/L}$ dNTPs, 2.5 mmol/L MgCl₂, 50 ng 模板 DNA。PCR 循环程序为: 预变性: 94 $^{\circ}\text{C}$ 5 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 54 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 2 min; 共 40 个循环后, 最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 7 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。另外, 使用该优化反应体系与循环条件筛选引物时, 可对退火温度进行适当微调。

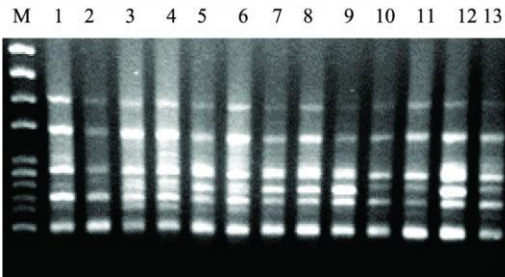


图2 优化体系下引物 851 对南天竹 DNA 样品的 ISSR-PCR 扩增结果

注:泳道 M 为 100 bp Plus DNA marker 泳道 1~13 分别对应表 1 中的南天竹 13 个种源。

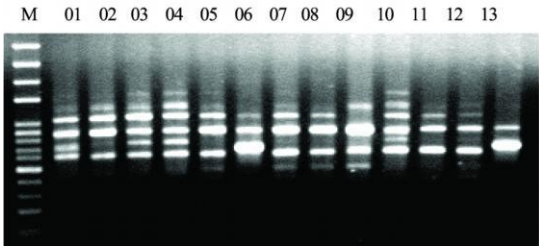


图3 引物 857 对南天竹 13 个样品的 ISSR-PCR 扩增电泳结果
注:泳道 M 为 100 bp Plus DNA marker 泳道 1~13 分别对应表 1 中的南天竹 13 个种源。

2.3 ISSR-PCR 的扩增结果

利用已经优化的南天竹 ISSR-PCR 反应体系,对 100 条合成的 ISSR 随机引物进行扩增筛选。结果表明,共有 10 条引物的扩增条带清晰特异、长度适中、背景低、反应稳定,适合作为南天竹 ISSR 的多态性引物(图 3)。

10 条引物扩增出 56 条清晰可重复的条带,其中 48 条是多态条带(表 2)。每个引物可扩增的多态条带数目不等,数目在 3~7 条,平均为 4.8 条。总多态带百分率为 85.7%,其中引物 818、834、845、855、857、881 扩增的多态带百分率为 100%。扩增片段长度范围为 300~1 600 bp,完全符合 ISSR 分子标记对扩增 DNA 条带的要求^[15]。

2.4 南天竹的遗传距离和遗传一致度分析

遗传距离(genetic distance)和遗传一致度(genetic identity)是用来衡量 2 个种源之间的遗传分化程度的重要指标。采用 Nei 法计算遗传距离和遗传一致度,并通过 POPGENE 1.31 分析软件对南天竹的 13 个种源间进行分析(表 3)。从表中看出,13 个种源间的遗传一致度的变化范围在 0.5179~0.9286 之间,遗传距离的变化范围在 0.0741~0.6581 之间。03 和 04 遗传一致度最高, $I=0.9286$;遗传距离最小($D=0.0741$);09 和 10 的遗传距离最大为 0.6581,相应的最低遗传一致度为 0.5179(表 3)。

表 2 用于南天竹 ISSR 扩增的引物及获得的条带数

引物编号	序列	退火温度 / °C	总条带数	多态带数	多态带百分率/%
818	(CA) ₈ G	54	3	3	100
834	(AG) ₈ YT	54	3	3	100
835	(AG) ₈ YC	54	5	3	60
845	(CT) ₈ RG	54	7	7	100
846	(CA) ₈ RT	54	6	4	66.7
851	GA(GT) ₂ AGAT(GT) ₃ YG	54	6	4	66.7
853	(TC) ₈ RT	54	6	4	66.7
855	(AC) ₈ YT	54	7	7	100
857	(AC) ₈ YG	54	6	6	100
881	(GGT) ₃ G	56	7	7	100

表 3 南天竹种源间的遗传一致度(对角线上方)和遗传距离(对角线下方)

编号	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13
01		0.6964	0.6429	0.6786	0.6607	0.6786	0.6786	0.6071	0.5536	0.6429	0.6429	0.6250	0.5714
02	0.3618		0.7679	0.7679	0.7143	0.6964	0.6964	0.6250	0.6429	0.7321	0.6964	0.6786	0.6250
03	0.4418	0.2642		0.9286	0.7679	0.7500	0.6786	0.6786	0.6250	0.7500	0.8214	0.7321	0.7143
04	0.3878	0.2642	0.0741		0.7679	0.7500	0.6429	0.7143	0.6607	0.7500	0.7857	0.7321	0.7143
05	0.4144	0.3365	0.2642	0.2642		0.7321	0.8393	0.8750	0.6786	0.6250	0.7321	0.8929	0.7679
06	0.3878	0.3618	0.2877	0.2877	0.3118		0.6071	0.6429	0.5893	0.6429	0.7500	0.6964	0.7500
07	0.3878	0.3618	0.3878	0.4418	0.1752	0.4990		0.8214	0.7321	0.6429	0.6786	0.8036	0.6429
08	0.4990	0.4700	0.3878	0.3365	0.1335	0.4418	0.1967		0.7321	0.5357	0.6786	0.8393	0.6786
09	0.5914	0.4418	0.4700	0.4144	0.3878	0.5288	0.3118	0.3118		0.5179	0.5536	0.7143	0.5536
10	0.4418	0.3118	0.2877	0.2877	0.4700	0.4418	0.4418	0.6242	0.6581		0.6786	0.5536	0.6071
11	0.4418	0.3618	0.1967	0.2412	0.3118	0.2877	0.3878	0.3878	0.5914	0.3878		0.7679	0.8214
12	0.4700	0.3878	0.3118	0.3118	0.1133	0.3618	0.2187	0.1752	0.3365	0.5914	0.2642		0.7679
13	0.5596	0.4700	0.3365	0.3365	0.2642	0.2877	0.4418	0.3878	0.5914	0.4990	0.1967	0.2642	

2.5 南天竹 13 个种源的遗传相似性分析

利用 NTSYS-pc 软件对 Nei 的遗传距离使用 UPG-MA 聚类分析,获得南天竹的 13 个种源的分子遗传聚类图(图 4)。该聚类图分析结果表明,13 个南天竹种源中

的 01 号南天竹样品单独为一类;02、03、04、10 之间的亲缘关系较近,聚为一类;06、11、13 之间的亲缘关系比较近,聚为一类;另外,亲缘关系较近的 05、07、08、12、09 聚为一类。

2.6 南天竹的 13 个种源的遗传分化的主坐标排序分析

应用软件 MVSP 32 对南天竹的 13 个种源的多样性进行分析(表 4), 建立了三维主坐标图(图 5)。其中, 13 个种源的相对三维主坐标排序列于表 5。因此, 图 5 中的位置关系能够反映出它们在遗传上的相似性, 在排

表 4

南天竹 13 个种源的三维主坐标排序

种源 排序 坐标轴	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13
Axis 1	0.527	0.466	0.864	0.820	-0.765	0.633	-1.124	-1.204	-1.600	1.994	0.375	-1.003	0.062
Axis 2	0.121	0.749	0.314	0.581	0.012	-0.577	0.496	0.042	1.721	1.282	-1.612	-0.422	-1.965
Axis 3	2.549	-0.20	-0.93	-0.69	0.664	0.984	0.775	0.490	-1.56	0.085	-1.10	0.030	-0.510

3 结论与讨论

改良 CTAB 法适于提取高质量的南天竹叶片基因组 DNA。通过对 ISSR-PCR 反应体系中的一些重要参数进行了摸索和优化试验, 建立了稳定的、适用于南天竹种源遗传多样性和遗传分化研究的 ISSR-PCR 反应体系。采用优化的 ISSR-PCR 反应体系, 从 100 条随机引物中筛选出 10 条重复性好、条带特异、多态性明显的引物。该 10 条引物扩增出 56 条清晰可重复的条带, 其中 48 条是多态带, 平均每条引物为 4.8 条多态带, 总多态带百分率为 85.7%, 扩增片段长度范围为 300 ~1 600 bp。

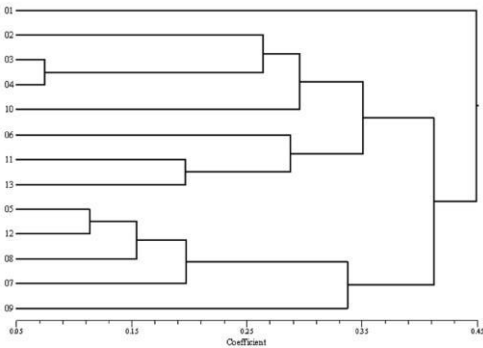


图 4 南天竹 13 个种源的遗传距离 UPGMA 树状图

Nei 遗传距离和遗传一致度的结果表明: 05(邵东县)和 12(宜章县)之间的遗传距离最小, 相应的遗传一致度最大; 而 09(张家界)与 10(衡山县)之间的遗传距离最大, 相应的遗传一致度最小。这表明邵东县和宜章县两个种源的生长环境相类似, 而张家界和衡山县间的差异可能较大。通过 NTSYS-pc 软件和 MVSP 32 软件对南天竹的 13 个种源的 Nei 的遗传距离分析发现, 05(邵东县)、07(祁阳县)、08(韶山市)、12 在遗传上较相似, 聚为一类; 11(芦淞区)与 13(新化县)很相似, 聚为一类; 02(柏加镇)、03(岳阳县)、04(黄花镇)的相似性较近, 可以聚为一类; 01(洪江县)、06(桃江县)、09(张家界)、10(衡山县)则同其它三类的相似性较远, 且彼此单独为一类。

序图上种源的位置越近, 则它们的遗传组成越相似。图 5 的分析结果表明, 13 个种源存在一定的遗传分化, 其中 05、07、08、12 在遗传上较相似, 11、13 很相似, 02、03、04 的相似性较近, 01、06、09、10 则同其它种源相似性较远, 这同 UPGMA 构建的树状图得到的结果相符合。

在我国, 南天竹已形成了多种不同的地方种源和种类。由于其重要的经济价值和观赏价值, 目前广泛栽培。ISSR 研究表明, 在种源水平上, 南天竹多态带百分率为 85.7%, 不同种源间遗传相似性系数 0.5536 ~ 0.9286。根据 Hmarick 利用等位酶研究对植物遗传变异的结果^[6], 多年生木本植物的多态性比率为 64.7%。可见在种源水平上, 南天竹体现了非常丰富的遗传多样性。不同地区间种源交换少, 外源基因交流的机会也少, 变异程度自然不大, 其繁殖方式也限制了遗传变异的发生。

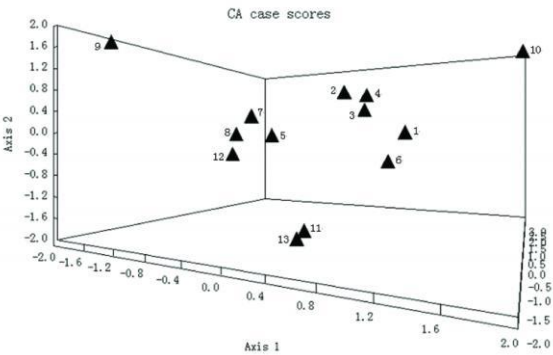


图 5 南天竹 13 个种源的三维主坐标分析

ISSR 分子标记技术已广泛应用于植物种质资源遗传多样性研究及分类、指纹图谱绘制和品种鉴定, 遗传图谱的构建及目标基因定位等方面^[7]。在种源及品种鉴定方面, 以往主要采用比较植株的形态, 并结合细胞学、分子生物学和生理生化特征的方法。这些方法对于差异不明显的个体, 传统的形态特征很难识别, 具有较大的局限性, 难以对种源及品种进行准确的鉴定与分类。而利用分子标记鉴别就比较简单、准确。它所揭示的多态性是其它标记所不能比拟的, 并可以作为新品种登记注册和产权保护的重要依据, 观赏植物新老品种数量繁多, 且不同地域特征、气候条件的影响, 极易造成同名异物或异名同物, 形成不同观赏效果。对供试材料的

DNA 指纹图谱进行比较分析, 筛选出特异带, 以此可作为鉴定该种质材料的客观依据, 因此, ISSR 分子标记技术已成为鉴别种质的有力工具。

与 RFLP、RAPD、STS、SSR 等分子标记相比, ISSR 具有重复性高、多态性位点丰富等优点, 与 AFLP 等分子标记相比, ISSR 具有技术难度降低、可操作性强、使用经费减少等优势, 因而是一种已完全成熟、可广泛推广的分子标记技术。特别是近年来在植物分子分类研究中, 得到了广泛的应用, 已成为植物遗传多样性的分子研究中的首选分子标记技术。因此, 该研究中采用 ISSR 分子标记技术对湖南省的 13 个南天竹种群进行分子水平上的遗传多样性分析, 这是国内外首次对南天竹进行遗传多样性的分子遗传学研究, 具有较为重要的理论价值和科学意义, 将对南天竹的分子遗传学研究乃至分子生物学研究起着积极的推动作用。

参考文献

[1] 郭学望, 包满珠. 园林树木栽培养护学[M]. 北京: 中国林业出版社, 2002: 246-248.
[2] 陈翼胜. 中国有毒植物[M]. 北京: 科学技术出版社, 1987.
[3] 高延厅. 新优园林绿化树种[J]. 2002(1): 29.
[4] 李保印, 周秀梅, 林紫玉, 等. 红色叶树种资源及其在园林中的应用[J]. 河北林果研究, 2003, 18(2): 191-194.
[5] 朱志祥, 蒋伟, 刘燕, 等. 野生南天竹的驯化栽培技术[J]. 江苏林业科

技, 2006, 33(3): 31-33.
[6] 张长发, 胡一民. 南天竹播种育苗新法[J]. 绿化与生活, 2002(5): 33.
[7] 杜永芹, 倪林娟, 王玉勤. 耐寒彩叶树种火焰南天竹的快繁技术研究[J]. 上海农业学报, 2004, 20(4): 1-4.
[8] 周南鑑, 黄一青, 王青华, 等. 火焰南天竹的组织培养[J]. 农业科技通讯, 2002(11): 17.
[9] 陈自新. 城市园林植物生态学研究动向及发展趋势[J]. 北京园林, 1995(2): 1-6.
[10] 蒋齐, 梅曙光. 宁夏黄土地区主要灌木树种抗旱机制的初步研究[J]. 宁夏农林科技, 1992(5): 25-27.
[11] 谭晓风, 桂君. 山茶植物叶片 DNA 提取[J]. 中南林学院学报, 1999, 19(4): 14-17.
[12] 李继东, 桑玉强, 李淑玲, 等. RAPD 技术及其在林木遗传研究中的应用[J]. 河南农业大学学报, 2002, 36(1): 63-66.
[13] 吴松权, 管清杰, 全雪丽, 等. 松茸 SCAR 标记的建立[J]. 林业科学, 2007, 43(10): 150-153.
[14] 王秋玉, 张金然, 杨传平. 白桦种群间木材纤维形状的表型变异与分子标记的遗传多态性[J]. 林业科学, 2007, 43(11): 37-42.
[15] 孔令让. 粗山羊草随机扩增多态性 DNA 研究[J]. 植物学报, 1998, 40(3): 223-227.
[16] Harmnick J L, Godt W j W. Allozyme diversity in plant species[M]. Plant population genetics Breeding and Genetic Resources. Sunderland: Sinauer, 1990: 43-46.
[17] Nybom H. Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants[J]. Molecular Ecology, 2004, 13: 1143-1155.

ISSR Analysis of Genetic Diversity of Main Germplasm Resources of *Nandina domestica* in Hunan Province

TANG Li

(School of Resources and Environments, Central South University of Forestry and Technology, Changsha Hunan 410004 China)

Abstract: *Nandina domestica* is the noble ever-green shrub tree distributed widely in China, and characterized by the integration of afforesting, beautifying and perfuming. The improved ISSR-PCR reaction system was established for the genetic diversity analysis of 13 populations of *Nandina domestica* in Hunan Province, and 10 primers with the good repetition, special bands and distinct polymorphism were selected from 100 random ISSR primers. Each selected primer averagely yielded 4.8 polymorphic bands (85.7 polymorphism) varying from 300 bp to 1 600 bp in length. The analytical result of genetic distance and genetic identity showed that the genetic distance between Shaodong and Yizhang was the least, and that between Zhangjiajie and Hengshan was the maximal. The analytical result of genetic distance, clustering and PCOA on 13 populations of *Nandina domestica* showed that populations of Shaodong, Qiyang, Shaoshan and Yizhang were clustered into a class, Rushong and Xinhua as a class, Baijia, Yueyang and Huanghua as a class, however, the other four populations including Hongjiang, Taojiang, Zhangjiajie and Hengshan were divided into four independent classes for the far homology with each other.

Key words: *Nandina domestica*; ISSR; Improvement of PCR system; Genetic distance; Population identification