

明清板栗古树遗传多样性的 SSR 分析

刘国彬¹, 曹 均^{1*}, 王金宝², 兰彦平¹

(1 北京市农林科学院林业果树研究所,北京 100093; 2 北京市怀柔板栗试验站,北京 102206)

关键词:板栗古树;荧光 SSR 标记;遗传多样性;种质鉴定

中图分类号:S794

文献标识码:A

Genetic Diversity Analysis of Ancient Chestnut Trees Based on Fluorescent SSR Markers

LIU Guo-bin¹, CAO Jun¹, WANG Jin-bao², LAN Yan-ping¹

(1. Institute of Forestry and Pomology, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences; Beijing 100093, China;

2. Beijing Huairou Chestnut Experiment Station, Beijing 102206, China)

Abstract: [**Objective**] The genetic variations of ancient chestnut trees in Ming and Qing dynasties were studied based on molecular markers. [**Methods**] 33 accessions were collected from Bohai town at Huairou district of Beijing, and the genetic diversity and polymorphism were detected by using 13 fluorescent polymorphic simple sequence repeats (SSRs). [**Results**] Thirteen SSR primers amplified 61 polymorphic alleles and 81 amplified bands in the 33 ancient chestnut trees, the number of alleles per locus ranged from 2 to 11 with an average of 4.7, and the amplified bands of 13 pairs of primers were 2 to 16 with an average of 6.2. The mean expected heterozygosity (H_E) and polymorphic information content (PIC) were 0.4528 and 0.4103, respectively. PRA 75, PRA 83, PRD 25, Cs-CAT7 and PRD 53 can distinguish all of the ancient chestnut trees. [**Conclusion**] The habitats of chestnut trees in Ming and Qing dynasties were identical, the gene flow and gene exchange existed in a small area, which may be closely related to the low genetic diversity level. The study provides references for genetic diversity protection and utilization of chestnut germplasm resource. And the amplified bands and peak figures of 33 chestnut trees could lay the foundation for germplasm identification of the chestnut trees in Ming and Qing dynasties.

Keywords: ancient chestnut trees; fluorescent SSR markers; genetic diversity; germplasm identification

板栗 (*Castanea mollissima* Blume) 属于壳斗科 (Fagaceae) 栗属 (*Castanea* Miller) 植物, 广泛分布于全国 23 个省(区、市)^[1], 年产量约 213.2 万吨, 是我国的传统木本粮食树种和优势经济林树种。北京是华北品种群的主要分布区, 板栗主要分布于怀柔、密云、昌平、延庆、房山等地, 其中怀柔地区板栗栽培历史非常悠久, 分布着丰富的古板栗资源, 据专家考

证, 怀柔区现有树龄 400 年以上明代栽种的板栗树 200 多株(其中树龄最长的约 800 年), 树龄 100 年以上清代栽种的板栗树 4 万株以上, 主要分布于长城以南的渤海镇和九渡河镇, 在板栗栽培史上具有重要地位。兰彦平等^[2]通过对怀柔九渡河地区古栗树资源的摸底调查, 发现该地区古栗树资源呈散生或群状分布, 进一步分析发现古栗树树高、胸径、产

收稿日期: 2015-12-04

基金项目: 中央财政林业科技推广示范资金项目(京园绿推[2014]05 号)。

作者简介: 刘国彬, 助理研究员, 硕士, 研究方向: 林木遗传育种; E-mail: liugh2014@126.com, Tel: 13811457834。

* 通讯作者: 曹 均, 推广研究员, 本科, 研究方向: 林木遗传育种; caochestnut@163.com。

量、冠幅等生长指标均存在较大变异。板栗古树作为板栗栽培历史与文化的象征,具有重要的生态价值、经济价值和社会价值,但是目前板栗古树资源的挖掘保护不够、缺乏科学化开发利用,资源保护亟待加强,因此开展板栗古树资源的遗传分析方法与遗传多样性水平研究,对板栗古树资源的科学保护和合理开发利用具有重要意义。

SSR 标记具有多态性丰富、稳定性好、共显性及操作简单等优点,在植物的遗传多样性研究^[3-5]、亲缘关系分析^[6]、品种鉴定^[7]、指纹图谱构建^[8]等方面得到了广泛应用。在栗属植物中,欧洲栗(*Castanea sativa* Mill.)和日本栗(*Castanea crenata* Sieb. & Zucc.)开发的 SSR 引物已经应用于遗传多样性研究^[9-13],这些引物在中国板栗、茅栗(*Castanea seguinii* Dode.)、锥栗(*Castanea henryi*(Skan) Rehd. & Wils.)上均得到了很好的扩增,说明这些引物在栗属植物种间具有较高的通用性^[14-16]。虽然栗属植物自然居群或种质资源遗传多样性的 SSR 分析较

多,但迄今为止,利用 SSR 荧光标记技术对栗属植物进行遗传分析的研究较少,关于板栗古树资源遗传多样性研究未见报道。我们在怀柔区板栗古树资源调查的基础上,以怀柔区渤海镇明清栗园集中分布的 33 株板栗古树资源为材料,采用 SSR 荧光标记技术研究了板栗古树资源的遗传变异程度,试图揭示处于集中分布状态的板栗古树资源的遗传多样性水平,为未来板栗古树资源的遗传多样性保护和合理开发利用奠定科学基础。

1 材料与方法

1.1 分布区概括

样本采集区位于怀柔区渤海镇明清栗园,40°14'~41°04' N,116°17'~116°53' E,海拔 190 m。栗园内板栗古树为明代、清代栽植,其中有明代栽植的板栗树 25 株(株龄约 300~500 年以上),清代栽植的板栗树 8 株(株龄约 100~199 年),见表 1。

表 1 33 株板栗古树的基本信息

编号	地理位置		树龄/a	编号	地理位置		树龄/a
MQ-1	116°27'40.58" E	40°24'54.31" N	≥500	MQ-18	116°27'52.77" E	40°24'52.95" N	300~399
MQ-2	116°27'45.58" E	40°24'54.45" N	100~199	MQ-19	116°27'52.75" E	40°24'52.94" N	300~399
MQ-3	116°27'43.22" E	40°24'54.81" N	400~499	MQ-20	116°27'45.22" E	40°24'54.49" N	100~199
MQ-4	116°27'43.57" E	40°24'54.73" N	400~499	MQ-21	116°27'46.87" E	40°24'54.59" N	400~499
MQ-5	116°27'42.53" E	40°24'54.45" N	300~399	MQ-22	116°27'42.20" E	40°24'48.04" N	400~499
MQ-6	116°27'45.06" E	40°24'54.74" N	400~499	MQ-23	116°27'49.18" E	40°24'53.86" N	400~499
MQ-7	116°27'44.40" E	40°24'54.03" N	≥500	MQ-24	116°27'53.87" E	40°24'52.53" N	400~499
MQ-8	116°27'45.88" E	40°24'53.81" N	300~399	MQ-25	116°27'53.57" E	40°24'52.76" N	300~399
MQ-9	116°27'46.46" E	40°24'53.90" N	100~199	MQ-26	116°27'52.77" E	40°24'54.31" N	300~399
MQ-10	116°27'46.43" E	40°24'53.82" N	100~199	MQ-27	116°27'43.49" E	40°24'47.59" N	300~399
MQ-11	116°27'47.06" E	40°24'53.70" N	100~199	MQ-28	116°27'43.74" E	40°24'48.02" N	100~199
MQ-12	116°27'47.36" E	40°24'53.68" N	300~399	MQ-29	116°27'44.07" E	40°24'47.98" N	100~199
MQ-13	116°27'48.13" E	40°24'54.63" N	400~499	MQ-30	116°27'47.14" E	40°24'54.38" N	≥500
MQ-14	116°27'47.69" E	40°24'54.68" N	400~499	MQ-31	116°27'41.51" E	40°24'49.64" N	300~399
MQ-15	116°27'48.24" E	40°24'53.30" N	300~399	MQ-32	116°27'40.74" E	40°24'49.99" N	300~399
MQ-16	116°27'53.87" E	40°24'52.53" N	≥500	MQ-33	116°27'42.34" E	40°24'47.38" N	≥500
MQ-17	116°27'53.53" E	40°24'53.09" N	100~199	—	—	—	—

1.2 材料采集及 DNA 提取

供试板栗古树资源 33 株,均取自北京市怀柔区渤海镇明清栗园。采集的新鲜叶片采用硅胶干燥后运输到实验室保存用于提取 DNA。采用 CTAB 法提取基因组 DNA^[17],0.8% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 质量。

1.3 SSR 荧光标记技术

本研究选用了 13 对多态性较高的 SSR 引物,包

括来自欧洲栗的 4 对引物:CsCAT7、CsCAT14、CsCAT15、CsCAT41^[10]和来自日本栗的 9 对引物:PRD25、PRD26、PRD34、PRD42、PRD52、PRD53、PRD67、PRA75、PRA83^[13]。PCR 扩增反应体系为 25 μL,含模板 DNA 2 μL、正向引物 0.5 μL、反向引物 0.5 μL、dNTPs 0.5 μL、10 × PCR buffer 2.5 μL、Taq 酶 0.5 μL、ddH₂O 18.5 μL。

反应程序:95℃ 预变性 5 min,95℃ 变性 30 s,T_m

(引物各异)复性 30 s, 72℃ 延伸 30 s, 35 个循环, 72℃ 延伸 10 min, 4℃ 保存。

1.4 遗传数据分析

采用美国 ABI3730X Genetic Analyzer 对扩增片段进行毛细管电泳检测。待电泳结束后,对样品的原始数据用 GeneMapper 4.0 软件进行分析,获得不同样品扩增片段的长度。利用软件 PopGen 32 分析数据获得各位点检测到的等位基因数、等位基因频率、期望杂合度(H_E)、扩增带型、样品在不同 SSR 位点多态性信息含量(PIC)。

2 结果与分析

2.1 SSR 标记的多态性

筛选的 13 对 SSR 荧光引物,经过优化后,退火温度及扩增结果见表 2。13 对 SSR 引物对 33 株板栗古树资源进行扩增,共检测到 61 个等位基因,不同引物获得的等位基因数差异较大,每对引物检测到的等位基因变异范围为 2 个(位点 PRD34 和 CsCAT41)~11 个(位点 PRA73),每对引物平均 4.7 个。13 对引物共检测到多态性片段 81 个,每对引物检测到的片段数为 2~16 个,每对引物平均 6.2 个,其中 PRA75 位点的等位基因最多,有 11 个,其次为 CsCAT7,有 8 个;PRD34 和 CsCAT41 两个位点的等位基因最少,均为 2 个。

表 2 13 对 SSR 荧光引物对 33 株板栗古树资源扩增结果

引物名称	重复基序	退火温度/℃	等位基因数	扩增带型	扩增片段大小/bp	期望杂合度 H_E	多态性信息含量 PIC
PRA75	TG	52	11	16	166~189	0.835 8	0.800 9
PRA83	CT	52	5	7	96~244	0.501 5	0.461 3
PRD25	GT	52	5	7	152~168	0.624 5	0.541 2
PRD26	CA	52	5	5	96~124	0.259 9	0.247 5
PRD34	GT	52	2	2	96~98	0.222 2	0.194 8
PRD42	GA	50	3	3	110~140	0.062 0	0.060 1
PRD52	AG	52	6	10	116~158	0.745 0	0.688 7
PRD53	ATTG	52	3	4	96~144	0.547 6	0.446 5
PRD67	AG	50	3	4	216~264	0.229 7	0.213 3
CsCAT7	TG	52	8	11	154~230	0.804 1	0.764 6
CsCAT14	CA	52	3	4	148~162	0.606 6	0.513 5
CsCAT15	TC	52	5	5	145~164	0.179 1	0.172 3
CsCAT41	AG	52	2	3	184~198	0.267 9	0.228 9
总数			61	81			
平均			4.7	6.2		0.452 8	0.410 3

板栗古树群体的期望杂合度平均值为 0.452 8 (0.062 0~0.835 8),多态性信息指数(PIC)平均为 0.410 3(0.060 1~0.800 9),多态性信息指数与引

物的等位基因数量间存在一定规律性。图 1 反映 PIC 指数变化与等位基因变异丰富程度密切相关,随着等位基因数的增加 PIC 值也在升高,引物 PRA75 获得 11 个等位基因,16 个多态性片段,其 PIC 值最高(0.800 9);但二者并非呈线性关系,如引物 PRD42 的多态性信息指数最低,仅 0.060 1,而其等位基因数并非最少(表 2)。13 个位点扩增的片段长度大约在 96~264 bp 之间,其中引物 PRD67 扩增片段大小范围最大,为 216~264 bp,引物 PRD34 扩增片段大小范围最小,为 96~98 bp。

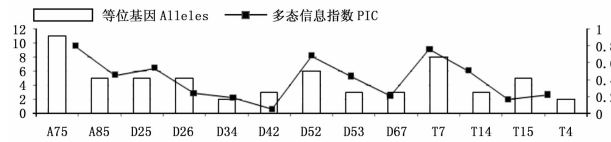


图 1 13 对引物的等位基因与 PIC 变化规律

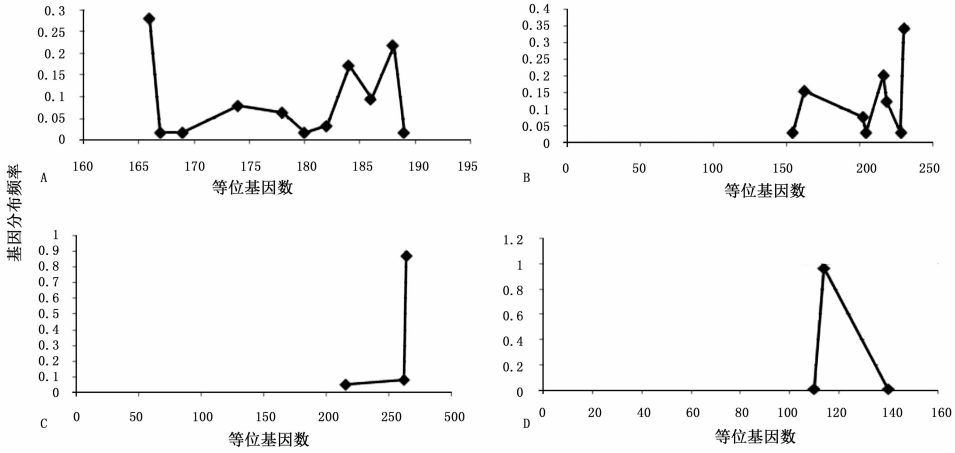
不同 SSR 引物检测到的等位基因在 33 株板栗古树中的基因频率分布存在较大差异。对 PRA73 (等位基因数 = 11, $PIC = 0.800 9$)、CsCAT 7 (等位基因 = 8, $PIC = 0.764 6$) 和 PRD67 (等位基因 = 3, $PIC = 0.213 3$)、PRD42 (等位基因 = 3, $PIC = 0.060 1$) 4 个位点的所有等位基因在所有材料中的分布频率进行统计分析(图 2),从图 2-A、图 2-B 可以看到位点 PRA73 和 CsCAT 7 的等位基因在供试材料中有多个频率较高的等位基因,但分布相对均匀;而位点 PRD67 和 PRD42 的等位基因中,分布频率分别高达 78% 和 97% (图 2-C、图 2-D),可知该位点下的 3 个等位基因在供试材料中的分布不均匀。

2.2 板栗古树资源的遗传多样性

13 对 SSR 引物扩增获得的预期杂合度 H_E 和 PIC 有很大差异(表 2),变化范围分别为 0.062 0~0.835 8 和 0.060 1~0.800 9,其中 PIC 值在 0.6 以上的引物位点有 3 个,分别是 PRA75、PRD52 和 CsCAT7。不同 SSR 引物扩增效率有所不同,13 对引物中位点 PRA75 检测到的基因多样性和多态性信息含量最高($H_E = 0.835 8$, $PIC = 0.800 9$),PRD42,最低($H_E = 0.062 0$, $PIC = 0.060 1$)。在整体水平上,33 株板栗古树的遗传多样性较低($H_E = 0.452 8$, $PIC = 0.410 3$)。

2.3 SSR 标记对供试材料的鉴别能力

不同引物检测到的多态性片段不同,同一材料不同引物或同一引物不同材料,获得的多态性片段大小也不尽相同,鉴别能力也存在差异(表 2、表 3、图 3)。如材料 MQ-1 在 SSR 位点 A75 的扩增片段



A:引物 PRA75 检测到的等位基因及其频率;B:引物 CsCAT7 检测到的等位基因及其频率;
C:引物 PRD67 检测到的等位基因及其频率; D:引物 PRD42 检测到的等位基因及其频率

图2 不同引物检测到的等位基因及其在供试材料中的分布频率

大小为 174 bp 和 188 bp,而在 SSR 位点 A83 的扩增片段大小为 242 bp;同样,SSR 位点 A75 对材料 MQ-1 和 MQ-2 的扩增片段也不相同,分别为 174 bp 和 188 bp、184 bp(表 4)。研究同时表明,引物获得的等位基因越多,其多态性越丰富,基因多样性水平越高,鉴别能力也越强。引物 PRA75 获得的等位基因数最多(11 个),检测到的多态性片段也最多(16 个),鉴别能力较高,能够将 33 株板栗古树中划分为 16 组,并能鉴别其中 10 份资源,鉴别效率为 30.3%;引物 PRD34 获得的等位基因数最少(2 个),检测到的多态性片段仅 2 个,仅能将全部材料区分为 2 组,无法将某一单株区分,鉴别能力较低。

表 3 SSR 引物对的鉴别效率

SSR 引物	鉴别组数	鉴别资源数	鉴别效率/%
PRA75	16	10	30.3
PRA83	7	2	6.1
PRD25	7	2	6.1
PRD26	5	3	9.1
PRD34	2	0	0
PRD42	3	2	6.1
PRD52	10	3	9.1
PRD53	4	0	0
PRD67	4	0	0
CsCAT7	11	5	15.2
CsCAT14	4	0	0
CsCAT15	5	4	12.1
CsCAT41	3	0	0
平均	6.2	2.4	7.2

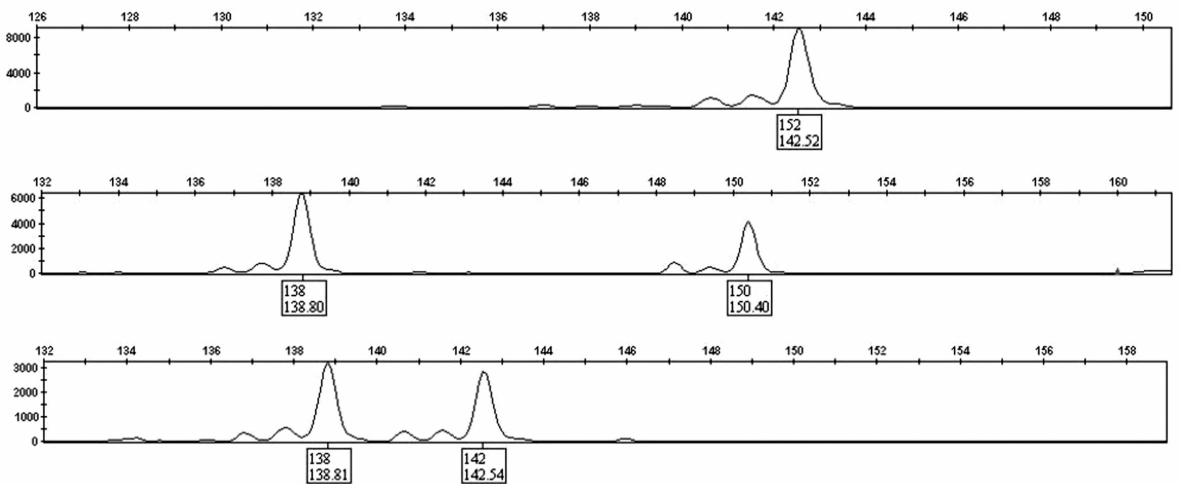


图3 荧光引物 PRD52 在 MQ-3、MQ-5、MQ-6 号(从上至下)古栗树上的毛细管电泳峰型

利用一对引物无法鉴别所有供试材料,但通过不同引物组合就可将所有材料进行区分。本研究中,引物对 PRA75、PRA83、PRD25、CsCAT7 和 PRD53 的组合可将 33 株板栗古树完全区分(表 4)。

表 4 5 对引物对 33 株栗树的扩增带型

样本	SSR 位点扩增带型				
	PRA75	PRA83	PRD25	PRD53	CsCAT7
MQ-1	174/188	242	156/158	144	216/230
MQ-2	184	242	156/158	144	230
MQ-3	184/188	242	156/158	144	230
MQ-4	166	216/242	152	96	162/216
MQ-5	188	242	156	144	216/230
MQ-6	184/188	242	158/166	96/144	230
MQ-7	166	162/216	158	96	162/216
MQ-8	184	242	158	144	216/230
MQ-9	184/188	242	156/158	96/144	202
MQ-10	166	216/242	156	96/142	162/216
MQ-11	184/186	96/162	158/162	96	218
MQ-12	166	216/242	156/158	96/142	162/216
MQ-13	166	242	156/158	96/144	154/216
MQ-14	166	216/242	152	96/142	162/216
MQ-15	166	216/242	152	96/142	162
MQ-16	180/188	242	156/158	144	230
MQ-17	174/188	242	156/168	144	202/230
MQ-18	184/188	242	156/158	96	230
MQ-19	166	216/242	156/158	96/144	162/216
MQ-20	174/186	242/244	158	96/144	230
MQ-21	174/186	242/244	156	96/144	162/216
MQ-22	186	242	156/158	96/144	204
MQ-23	166	216/242	156/158	96/144	154/216
MQ-24	169/178	242	158	144	202/230
MQ-25	188	96/216	158	96/144	218
MQ-26	174/186	242	156	144	230
MQ-27	167/189	162	158	96/144	218
MQ-28	178	242	156/158	144	230
MQ-29	182/188	242/244	156/158	144	216/230
MQ-30	184	242	158/166	144	162/202
MQ-31	186/188	162	156/158	96	218
MQ-32	182/184	242	156/158	144	228
MQ-33	178/188	96/216	158	96	218

3 讨论

3.1 板栗古树资源的遗传多样性

中国栗属植物自然居群与栽培品种具有丰富的遗传多样性^[14,17-21]。田华等^[16]曾利用 8 对 SSR 标记分析中国板栗 28 个自然居群(849 个个体)的遗传多样性,扩增得到等位基因 128 个,每位点平均等位基因数 16 个,平均期望杂合度(H_E)为 0.678,各居群的平均 H_E 值变化范围为 0.640(西南居群)~

0.705(华中居群),各取样点的平均 H_E 值变化范围为 0.600(贵州紫云与遵义)~0.759(江苏宜兴)。本研究中利用 13 对 SSR 标记在揭示的板栗古树居群的平均期望杂合度(H_E)为 0.452 8, PIC 值为 0.410 3,其遗传多样性水平较田华等^[16]的研究结果偏低,可能是由于田华等^[16]是从全国范围的大环境内取样,跨度从 23.178° N 到 35.147° N,从 103.258° E 到 119.693° E,各居群在经过长期的自然选择,可能对异质的生长环境和气候条件产生了局部适应性,从而形成了不同的表型和基因型,提高了中国板栗的遗传多样性水平;而本研究 33 株板栗古树资源均取自同一地点(40°24' N,116°27' E),经过长期的自然选择和对相同气候条件的适应性,可能形成了近似的遗传结构,同时群体内各个体间通过花粉传播产生基因流动和交换,可能进一步导致遗传多样性处于较低水平。

3.2 SSR 荧光技术在板栗树身份鉴定中的应用

板栗树资源在长期的自然选择与人工选择过程中积累了丰富的遗传变异,遗传组成较为复杂,形成了与原生地环境相适应的形态变异,表现出多态的表型性状和优良的生产性能,是板栗育种的重要遗传材料。RAPD、AFLP、SSR 等技术都可用来对植物遗传变异进行分析,并可以进行品种鉴定,但 RAPD 技术由于重复性与稳定性较差,影响其鉴定品种的可靠性,AFLP 与 SSR 技术一般采用常规聚丙烯酰胺凝胶电泳检测方法,在遗传连锁图谱绘制、遗传多样性分析、品种鉴定方面精确度高,应用广泛;SSR 荧光标记技术毛细管电泳检测方法能够得到定量的 DNA 片段分析数据,与 RAPD、AFLP、普通 SSR 等常规聚丙烯酰胺凝胶电泳比较,检测结果具有更为高效、精确、灵敏^[22-24],更适合板栗古树资源的遗传多样性分析与身份鉴定。本研究所选 13 对 SSR 引物的多态性丰富,各引物对鉴定能力不同,但不同引物对间的相互组合可以将 33 株板栗古树资源完全区分开;同时基于 SSR 荧光标记技术毛细管电泳检测方法获得的峰图,更有助于建立供试材料的指纹图谱或唯一身份信息。此外,根据各引物的鉴别能力强弱,可将 33 株板栗古树区分为 2~16 组不等,间接反映了明清板栗古树间亲缘关系的远近。

4 结论

本研究中发现供试材料群体遗传多样性水平偏低,更需要采取额外的补救措施,如通过引种、无性

繁殖措施进行扩繁与异地保存,以保护仅有的珍稀资源;另外,也需要进一步构建古栗树资源的分子指纹图谱,确认单株古栗树的分子身份信息,进而建立板栗古树资源的分子信息库。

参考文献:

- [1] 曹均. 全国板栗产业调查报告[M]. 北京:中国林业出版社, 2014, 1-10.
- [2] 兰彦平,刘建玲,刘金海,等. 北京市怀柔区九渡河镇古板栗资源调查[J]. 经济林研究, 2013, 31(3): 161-164.
- [3] 陈巍,王力荣,朱更瑞,等. 基于 SSR 标记和生物学性状进行桃遗传多样性的比较分析[J]. 植物遗传资源学报, 2009, 10(1): 86-90
- [4] 曾淇,李明芳,郑学勤. 基于 SSR 标记的荔枝种质遗传多样性分析[J]. 植物遗传资源学报, 2010, 11(3): 298-304
- [5] 薛杨,宋健坤,李鼎立,等. 梨砧木种质资源的 SSR 遗传多样性分析[J]. 植物遗传资源学报, 2013, 14(6): 1190-1195
- [6] 韩柏明,赵密珍. 基于 SSR 标记的草莓品种亲缘关系分析[J]. 植物遗传资源学报, 2013, 14(3): 428-433
- [7] 张成才,刘园,姜燕华,等. SSR 标记鉴定浙江省主要无性系茶树品种的研究[J]. 植物遗传资源学报, 2014, 15(5): 926-931
- [8] 范建光,张海英,宫国义,等. 西瓜 DUS 测试标准品种 SSR 指纹图谱构建及应用[J]. 植物遗传资源学报, 2013, 14(5): 892-899
- [9] Buck EJ, Hadonou M, James CJ, et al. Isolation and characterization of polymorphic microsatellites in European chestnut (*Castanea sativa* Mill.) [J]. *Molecular Ecology*, 2003, 3, 239-241.
- [10] Marinoni D, Akkai A, Bounous G, et al. Development and characterization of microsatellite markers in *Castanea sativa* (Mill) [J]. *Molecular Breeding*, 2003, 11: 127-136.
- [11] Yamamoto T, Tahaka T, Kotobuki K, et al. Characterization of simple sequence repeats in Japanese chestnut[J]. *Journal Horticultural Science and Biotechnology*, 2003, 78, 197-203.
- [12] Tanaka T, Yamamoto T, Suzuki M. Genetic diversity of *Castanea crenata* in northern Japan assessed by SSR markers[J]. *Breeding Science*, 2005, 55, 271-277.
- [13] Nishio S, Yamamoto T, Terakami S, et al. Genetic diversity of Japanese chestnut cultivars assessed by SSR markers[J]. *Breeding Science*, 2011, 61:109-120.
- [14] 王英,康明,黄宏文. 用分子标记揭示植物随机大居群中亚居群的遗传结构—茅栗自然居群空间遗传结构的 SSR 分析[J]. 植物生态学报, 2006, 30(1): 147-156
- [15] Wang Y, Kang M, Huang H W. Microsatellite loci transferability in chestnut[J]. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 2008, 133, 692-700.
- [16] 田华,康明,李丽,等. 中国板栗自然居群微卫星(SSR)遗传多样性[J]. 生物多样性, 2009, 17(3): 296-302.
- [17] 龚榜初,刘国彬. 锥栗自然居群遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 植物遗传资源学报, 2013, 14(4): 581-587.
- [18] 郎萍,黄宏文. 栗属中国特有居群的遗传多样性及地域差异[J]. 植物学报, 1999, 41(6): 651-657.
- [19] 艾呈祥,余贤美,张力思,等. 山东板栗遗传多样性分析[J]. 果树学报, 2006, 23: 681-684.
- [20] 兰彦平,周连第,姚研武,等. 中国板栗种质资源的 AFLP 分析[J]. 园艺学报, 2010, 37(9): 1499-1506.
- [21] 刘国彬,龚榜初,赖俊声,等. 锥栗农家品种的遗传多样性及亲缘关系分析[J]. 林业科学研究, 2011, 24(6): 707-7012.
- [22] 郝晨阳,王兰芬,贾继增,等. SSR 荧光标记和银染技术的比较分析[J]. 作物学报, 2005, 31(2): 144-149.
- [23] 程本义,夏俊辉,龚俊义,等. SSR 荧光标记毛细管电泳检测法在水稻 DNA 指纹鉴定中的应用[J]. 中国水稻科学, 2011, 25(6): 672-676.
- [24] 王风格,田红丽,赵久然,等. 中国 328 个玉米品种(组合)SSR 标记遗传多样性分析[J]. 中国农业科学, 2014, 47(5): 856-864.

(责任编辑:张研)