

枣与酸枣的 SSR 遗传多样性研究

张鹏飞¹, 尉东峰², 刘亚令³, 宋美玲³, 张 茹³, 雍 鹏⁴

(1. 山西农业大学 园艺学院, 山西 太谷 030801; 2. 山西省阳高县林业局, 山西 阳高 038100;

3. 山西农业大学 生命科学学院, 山西 太谷 030801; 4. 山西省林业科学研究院, 山西 太原 030012)

摘要:为了探讨枣与酸枣资源的遗传多样性以及两者的亲缘关系,采用 7 对 SSR 引物,对 16 份枣品种(系)和 17 份酸枣的遗传多样性进行分析。结果表明:16 份枣样品共扩增出 56 个等位基因,有效等位基因数(N_e)为 3.798 ~ 10.000,平均为 6.953,Shannon's 信息指数(I)为 1.984,期望杂合度(H_e)为 0.837;17 份酸枣样品扩增后共检测出 73 个等位基因,等位基因的有效数目(N_e)为 3.273 ~ 11.840,平均为 7.398,Shannon's 信息指数(I)为 2.105,期望杂合度(H_e)为 0.843;枣和酸枣的遗传多样性都很丰富,酸枣的遗传多样性水平高于枣;GenAlEx 分析得出,枣和酸枣居群间遗传分化系数(F_{st})为 0.055,居群间基因流(N_m)平均值为 4.295,说明居群间基因交流比较频繁。NTSYSpc 聚类分析表明,SSR 分子标记可以将枣和酸枣划分为枣类、酸枣类和过渡类 3 个类群。

关键词:枣;酸枣;SSR;遗传多样性

中图分类号:S665.1 文献标识码:A 文章编号:1000-7091(2015)02-0150-06

doi:10.7668/hbxb.2015.02.027

Genetic Diversity of *Ziziphus jujuba* Mill. and *Z. jujuba* var. *spinosa* Based on SSR Markers

ZHANG Peng-fei¹, YU Dong-feng², LIU Ya-ling³, SONG Mei-ling³, ZHANG Ru³, YONG Peng⁴

(1. College of Horticulture, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China; 2. Forestry Bureau in Yanggao County, Yanggao 038100, China; 3. College of Life Science, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China; 4. Shanxi Academy of Forestry, Taiyuan 030012, China)

Abstract: To know the genetic diversity and the genetic relationship of *Ziziphus jujuba* Mill. and *Z. jujuba* var. *spinosa* germplasm resources, 7 pairs of SSR molecular markers were used to analyze the genetic diversity of 16 *Ziziphus jujuba* Mill. and 17 *Z. jujuba* var. *spinosa* in this experiment. The results showed that 56 alleles were amplified in 16 jujube samples, and number of effective alleles (N_e) ranged from 3.798 to 10.000 and averaged at 6.953, Shannon's information index (I) was 1.984, expected heterozygosity (H_e) was 0.837. Moreover, 73 alleles were amplified in 17 wild jujube samples, N_e ranged from 3.273 to 11.840 and averaged at 7.398, I was 2.105, H_e was 0.843. So, genetic diversity of both of jujube and wild jujube were rich, and the wild jujube level of genetic diversity was higher than that of jujube. And, the GenAlEx analysis showed that gene flow between populations exchanged frequently, and population genetic differentiation percentage (F_{st}) of jujube and wild jujube was 0.055, the average value of gene flow among populations (N_m) was 4.295. Furthermore, NTSYSpc cluster analysis showed that jujube and wild jujube could be divided into three groups of jujube, wild jujube and transition group using SSR molecular markers.

Key words: *Ziziphus jujuba* Mill.; *Z. jujuba* var. *spinosa*; SSR; Genetic relationship

枣(*Ziziphus jujuba* Mill.)和酸枣(*Z. jujuba* var. *spinosa*)同为鼠李科(Rhamnaceae)枣属(*Ziziphus*)植物^[1],其中,枣是我国重要且特有的经济林树种之一,在我国至少有 7 000 多年的栽培历史,目前枣的

收稿日期:2014-12-17

基金项目:山西省科技攻关项目(20110311012-1)

作者简介:张鹏飞(1979-),男,山西阳城人,讲师,硕士,主要从事果树生长与发育调控研究。

通讯作者:雍 鹏(1978-),男,山西交城人,工程师,硕士,主要从事枣树良种选育研究。

优良品种和类型有 800 多个^[2];酸枣则原产于我国,有 1 200 万年的历史,为栽培枣的原生种。枣和酸枣种质资源极为丰富,且形态、类型多样,分布广泛^[3]。枣与酸枣的遗传多样性,特别是亲缘关系研究由来已久^[4],随着分子生物学理论与技术的发展,利用现代分子标记技术 RAPD、AFLP 等对枣和酸枣遗传多样性及遗传结构进行研究^[5-10],为枣属植物和枣各品种的演化关系研究提供了大量的试验例证。微卫星 DNA 或简单重复序列(SSR)是一种共显性标记,可以区分物种的纯合体与杂合体,重复性好,遗传信息量丰富,广泛应用于群体遗传多样性分析、DNA 指纹图谱的建立、遗传图谱构建、种质鉴定和品种分类等领域^[11],被认为是目前遗传多样性分析或种质资源鉴定和评价最为有效的工具之一^[12]。马庆华等^[13]建立了枣选择性扩增微卫星技术体系,麻丽颖等^[14]构建了 36 份枣品种的 SSR 指

纹图谱,张春梅等^[3]用 SSR 标记研究了黄河沿岸酸枣的遗传多样性,殷晓等^[15]研究了陕北 54 个枣品种群遗传结构,这为利用 SSR 标记研究枣、酸枣的遗传多样性奠定了基础。根据微卫星标记在同科属之间的通用性,本研究选择了 7 对枣 SSR 引物,同时对山西枣的优良地方品种、优系和野生酸枣进行遗传多样性分析,以探讨不同物种和品种之间的遗传多样性,为枣及酸枣的优异种质资源的利用和新品种选育提供理论基础。

1 材料和方法

1.1 供试材料

供试材料枣 16 份、酸枣 17 份详细情况如表 1 所示。于 2013 年 6-8 月采样,同一品种混合采样,共采集 3~10 株,将嫩叶或幼嫩茎尖用硅胶干燥处理保存,以备提取 DNA 用于试验。

表 1 枣及酸枣供试材料

Tab.1 List of materials used in the study

枣编号 Jujube No.	品种/优系 Varieties	来源地 Origins	酸枣编号 Wild Jujube No.	来源地 Origins
DH1	壶瓶枣	太谷县沙子地村	SP2	平顺县南沟村
DH3	壶瓶枣	太谷县小白乡	SJ4	稷山县桐下村
DHD1	杜优 1	清徐县杜村	SY2	阳曲县侯村
DHD2	杜优 2	清徐县杜村	SJ2	吉县西岭村
DB	板枣	稷山县桐下村	SY	永和县白家山村
DB1	板枣	稷山县桐下村	SY77	阳高县张庄村
DBP5	平优 5	稷山县稷峰镇	SY5	榆次县北山村
DBJ1	加庄 1	稷山县桐上村	SH1	怀仁县窑子头村
DBL5	平陇 5	稷山县平陇村	SST	石楼县前山村
DS2	帅枣	石楼县小蒜镇	SS	石楼县张家塔村
DS3	帅枣	石楼县小蒜镇	SP	偏关县沙沟村
DM	木枣	石楼县郝家山	SD2	定襄县蒋村
Dmi1	-	太谷县白燕村	SYQ5	阳曲县岔上村
Dmi2	-	太谷县白燕村	SY1	阳城县温沟村
Dho2	-	太谷县白燕村	ST5	太谷县沙子地村
DW1	-	太谷县白燕村	SG2	高平市南坡村
			SC	沧州

注:Dmi1、Dmi2、Dho2、DW1. 太谷县白燕村的古枣树;- . 品种不明。
Note:Dmi1、Dmi2、Dho2、DW1. Ancient jujube in Baiyan village;- . Unknown.

1.2 DNA 提取与检测

选取适量(约 0.2 g)枣或酸枣干燥幼叶,采用改良 CTAB 法^[16]提取基因组总 DNA,然后用 0.8% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 质量,并在凝胶成像系统下观察,同时用紫外分光核酸测定仪(Eppendorf biophotometer)检测 DNA 浓度,并稀释至 50 ng/μL 备用。

1.3 SSR 引物

按照麻丽颖等^[14]报道的微卫星位点,经过预试验筛选,选取其中多态性较好的 7 对 SSR 引物(由

上海生工生物工程技术有限公司合成)用于枣及酸枣样本的 PCR 扩增。7 对 SSR 引物的序列及其退火温度如表 2 所示。

1.4 PCR 扩增及产物检测

扩增反应总体积为 10 μL,其中包括 0.2 mmol/L dNTP,0.2 μmol/L 引物,1.0 U *Taq* DNA 聚合酶,1 × Buffer,50 ng 的模板 DNA。通过预备试验,确定 PCR 扩增反应程序为:95 ℃ 预变性 5 min,然后每个循环 94 ℃ 50 s,每对引物的特定退火温度下 50 s,

72 ℃ 40 s,共循环 35 次,最终在 72 ℃ 延伸 8 min,反应结束控制在 4 ℃。扩增反应在基因扩增仪主机 PCR 仪(DTC-200 型)上进行。扩增产物用 6% 变性

聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,功率恒定为 55 W,电泳时间约为 1 h。采用银染法进行显色反应,凝胶在室温下自然干燥、统计、照相。

表 2 引物序列及退火温度

Tab.2 Sequences and annealing temperature of the primers

序号 No.	位点 Locus	重复基序 Repeat motifs	引物序列(5' - 3') Primer sequence	退火温度/℃ Annealing temperature
1	BFU0277	(GA) ₁₁	GCCTACCTGTGGAAGCTCAA AGTGTGACCTGGCAAGAAGA	58
2	BFU0083	(CT) ₁₃	TTTTCACCTCCCTCCA CCTCATAACTGCGACGGCTT	55
3	BFU0574	(CA) ₇	GAAGGTTGAAGATGCTCTCTCT CCTGACATCCATTTGAAGGAA	57
4	BFU1205	(CA) ₈	TGTTGCTGTTCAATTCCAG CTTATGGCTTTTTCATTTTGTGA	54
5	BFU0528	(TC) ₈	TTTGTGAGGTATAATGGCTTTCA GCCTCTGTTGAAGCAAGGAA	56
6	BFU1383	(ATTA) ₃	TGTTGCTGTTCAATTCCAG CTTATGGCTTTTTCATTTTGTGA	54
7	BFU0308	(TC) ₁₁	TTTCCACCCCAAAATACCTT AGACGCTGGATGAGGTAGAT	53

1.5 数据统计分析

读带时参照标准 DNA Marker 判读每个位点的等位基因片段大小。采用 GenALEx 6^[17] 分别计算以下参数:每个位点平均等位基因数 N_a ,每个位点有效等位基因数 N_e ,期望杂合度 H_e 和观察杂合度 H_o 以及 F-统计量中的 F_{it} 、 F_{is} 、 F_{st} ,其中, F_{it} 指计算出的基因型的实际频率与理论期望频率在所有群体中的偏离程度, F_{is} 指基因型的实际频率与理论期望频率在亚群体(居群间或物种间)中的偏离程度, F_{st} 表示亚群体之间的遗传分化程度。根据公式 $N_m = 0.25 \times (1 - F_{st}) / F_{st}$ 计算反应基因流强度(N_m)^[18]。遗传聚类(Genetic clustering)是反映居群间相似性的一种有效方法,首先计算居群间的遗传距离(D)(其值可以从 0 至无限大),然后利用 Excel 2003 和 NTSYSpc 2.0 软件进行 UPGMA 聚类分析^[19]。

2 结果与分析

2.1 SSR 扩增多态性分析

利用 7 对 SSR 引物对枣和酸枣共 33 个样本进行 DNA 扩增,结果显示,全部样本中均扩增出清晰的谱带(110 ~ 292 bp),并且具有较好的重复性和多态性。7 对 SSR 引物共扩增出 94 个等位基因,每个位点的等位基因数为 6 ~ 19 个,平均等位基因数为 13.8 个。在 7 对 SSR 引物多态性表现中(表 3),BFU0528 引物多态性最好,多态率达 91.7%;BFU0308 多态性最低,为 37.5%,7 对引物的平均多

态位点百分率为 62.8%。

表 3 SSR 分子标记对 33 个样本的扩增结果

Tab.3 Amplification of SSR primers on 33 samples

引物 Primer	等位基 因数(N_a) Number of amplified alleles	多态位 点数(N_p) Number of polymorphic sites	多态位点 百分率(P)/% Percentage of polymorphic locus
BFU0277	19	12	63.2
BFU0083	6	3	50.0
BFU0574	14	8	57.1
BFU1205	12	8	66.7
BFU0528	12	11	91.7
BFU1383	15	11	73.3
BFU0308	16	6	37.5
总计 Total	94	59	-
平均 Mean	13.8	8.4	62.8

2.2 枣及酸枣的遗传多样性分析

2.2.1 枣品种间的遗传多样性分析 利用 7 对 SSR 引物对 16 份枣样本进行遗传多样性分析结果(表 4)显示,共检测到 56 个等位基因,等位基因数量(N_a)变化为 4 ~ 12 个,平均为 8 个,其中,位点 BFU0083 最少(有 4 个等位基因),BFU0277 最多(有 12 个等位基因);有效等位基因数(N_e)变化为 3.798~10.000,平均为 6.953,其中,位点 BFU0083 最少(3.798),BFU1383 最多(10.000);Shannon's 信息指数(I)平均值为 1.984;期望杂合度(H_e)平均值为 0.837,表明枣品种间遗传多样性较高。

表 4 枣品种间的遗传多样性
Tab. 4 The genetic diversity of *Z. jujuba*

引物 Locus	样本数 N	等位基因数 Na	有效等位基因数 Ne	Shannon's 指数 I	预期杂合度 He
BFU0277	16	12	9.800	2.366	0.898
BFU0083	16	4	3.798	1.358	0.736
BFU0574	16	9	6.897	2.356	0.855
BFU1205	16	6	5.333	1.733	0.813
BFU0528	16	5	4.500	1.561	0.778
BFU1383	16	10	10.000	2.303	0.900
BFU0308	16	10	8.345	2.209	0.880
平均 Mean	16	8	6.953	1.984	0.837

2.2.2 酸枣的遗传多样性分析 利用 7 对 SSR 引物对 17 份酸枣样本进行遗传多样性分析结果(表 5)表明,共检测到 73 个等位基因,等位基因数量(Na)变化为 5~16 个,平均为 10.4 个,其中,位点 BFU0083 最少(有 5 个等位基因),BFU0308 最多(有 16 个等位基因);有效等位基因数(Ne)变化为

3.273~11.840,平均为 7.398,其中,位点 BFU0083 最少(3.273),BFU1383 最多(11.840);Shannon's 信息指数(I)平均值为 2.105;期望杂合度(He)平均值为 0.843,表明不同产地间酸枣遗传多样性较高。

表 5 不同产地间酸枣遗传多样性

Tab. 5 The genetic diversity of different habitats of *Z. jujuba* var. *spinosa*

引物 Locus	样本数 N	等位基因数 Na	有效等位基因数 Ne	Shannon's 指数 I	预期杂合度 He
BFU0277	17	14	9.000	2.421	0.889
BFU0083	17	5	3.273	1.352	0.694
BFU0574	17	11	5.000	2.025	0.800
BFU1205	17	10	7.529	2.155	0.867
BFU0528	17	8	7.143	2.025	0.860
BFU1383	17	9	8.000	2.138	0.875
BFU0308	17	16	11.840	2.616	0.916
平均 Mean	17	10.4	7.398	2.105	0.843

2.2.3 枣和酸枣种间遗传分化分析 运用 GenA-IEx 软件对枣和酸枣种间遗传分化进行分析结果(表 6)表明,枣和酸枣种间基因多样性(F_{it})为 0.129,种内基因多样性(F_{is})为 0.197;种间遗传分化系数(F_{st})为 0.055,表明 5.5% 的遗传分化系数

存在于枣和酸枣种间。枣和酸枣基因流(Nm)平均值为 4.295,说明 2 个物种种间基因交流较高。

2.3 聚类分析

2.3.1 枣品种间聚类分析 利用软件 NTSYSpc 构建不同枣品种亲缘关系的树状图如图 1 所示。由图 1 可知,16 份枣品种在遗传相似系数 0.79 处聚在一起;在相似系数 0.846 处可将 16 份枣品种(系)分为 5 类,第 1 类包括 DH1、DHD2、DH3、DHD1;第 2 类包括 DB、DB1;第 3 类包括 DBL5、DS2,第 4 类包括 DBP5、DBJ1;第 5 类包括 DS3、DM、Dmi1、Dmi2、Dho2、DW1。其中,第 1 类中的杜优 1(DHD1)、杜优 2(DHD2)是从清徐县杜村壶瓶枣园中选出的优系,与壶瓶枣(DH1、DH3)的亲缘关系最近,4 份材料在相似系数 0.866 处聚在一起。第 5 类中的帅枣(DS3)是从木枣(DM)中选育出的优良品种;第 5 类中的二者在相似系数 0.916 处聚在一起。Dmi1、Dmi2、DW、Dho2 是 4 株古枣树,它们优先聚在一起,表明其遗传距离较近。

表 6 枣和酸枣种间的遗传分化
Tab. 6 The genetic differentiation among
Z. jujuba and *Z. jujuba* var. *spinosa*

引物 Primer	种内基因 多样性 F_{is}	种间基因 多样性 F_{it}	种间遗传 分化系数 F_{st}	基因流 Nm
BFU0277	0.119	0.096	0.021	11.655
BFU0083	0.389	0.263	0.096	2.354
BFU0574	0.208	0.128	0.066	3.538
BFU1205	0.191	0.115	0.063	3.718
BFU0528	0.221	0.120	0.083	2.762
BFU1383	0.127	0.088	0.034	7.103
BFU0308	0.114	0.093	0.019	12.908
平均 Mean	0.197	0.129	0.055	4.295

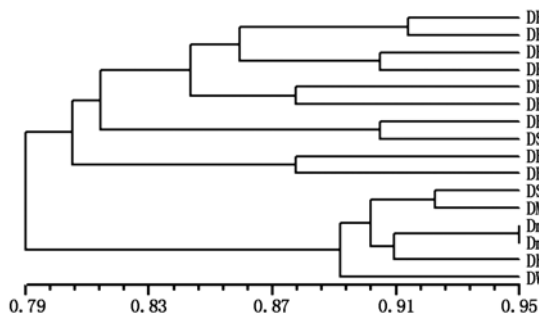


图1 不同枣品种的 UPGAM 聚类图

Fig.1 UPGAM dendrogram of the different *Z. jujuba* cultivars

2.3.2 酸枣个体聚类分析 利用软件 NTSYSpC 构建酸枣亲缘关系聚类树状图如图2所示。在相似系数0.82处可将17份酸枣分为3个类群,第1类群为SG2;第2类群为SP2、SJ4、SH1、SY2、SJ2、SY5、SST、SS、SY、SY77;第3类群为SP、SD2、SYQ5、SY1、ST5、SC。第1类群为高平市南坡村酸枣(SG2),其植株树形高大,生长旺盛,接近于枣;第2类群为植株类型较小的各个酸枣;第3类群的酸枣株形类型介于二者之间。

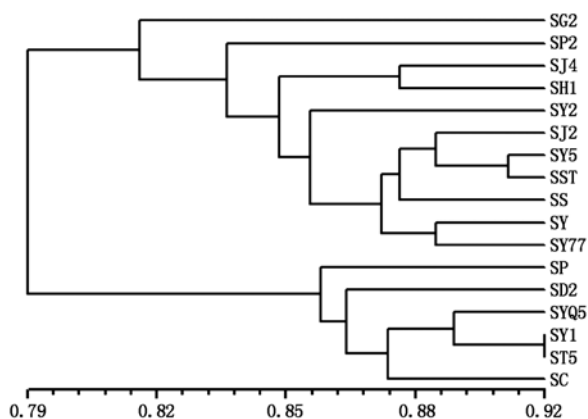


图2 不同酸枣类型的 UPGAM 聚类图

Fig.2 UPGAM dendrogram of the different *Z. jujuba* var. *spinosa* forms

2.3.3 枣属33个样本聚类分析 利用软件 NTSYSpC 构建枣属33个样本的亲缘关系树状图如图3所示。由图3可知,各样品间遗传相似系数为0.79~0.95,平均相似系数为0.87。在相似系数0.814处可将枣、酸枣划分为4个类群,第1类群以枣为主,包括DH1、DHD2、DH3、DHD1、DB、DB1、SG2;第2类群以酸枣为主,包括DBL5、DS2、SST、SY5、SJ2、SS、SY、SY77、SY2、SJ4、SH1、SP2;第3类群为枣,包括DBP5、DBJ1;第4类群为枣和酸枣的混合群体,包括SP、DS3、DM、SY1、ST5、Dmi1、Dmi2、Dho2、SYQ5、DW1、SC、SD2。

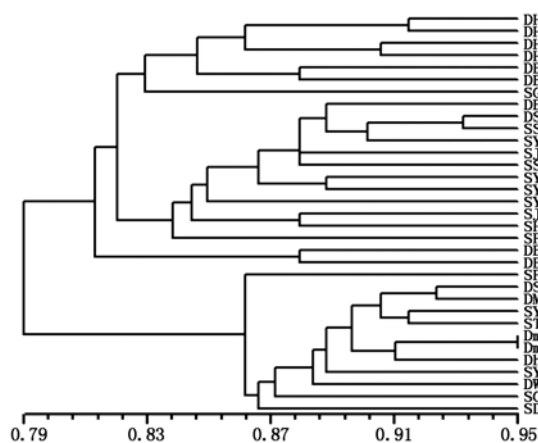


图3 33份枣属样本的 UPGAM 聚类图

Fig.3 UPGAM dendrogram of 33 individuals of *Z. jujuba* cultivars and *Z. jujuba* var. *spinosa*

3 讨论

3.1 枣及酸枣的遗传多样性及分化

本研究利用SSR分子标记,对枣和酸枣样品进行遗传多样性分析,结果表明,枣和酸枣的遗传多样性都较丰富,酸枣的Shannon's信息指数(2.105)高于枣的Shannon's信息指数(1.984),说明酸枣比枣具有较高遗传多样性和高变异性。酸枣的期望杂合度(H_e :0.843)高于枣的期望杂合度(H_e :0.837),可能是由于枣品种在大量的人工驯化中以及长期的演化过程中减少了品种间的遗传多样性^[20-21]。二者杂合度相差较少,可能是由于采样过程中所选取的样本量较少,且样本年龄差异太大也会造成计算上的误差。酸枣具有较高的遗传多样性及杂合度,推测其原因可能是由于野生生长条件,酸枣主要是分布在我国北方温带地区,四季分明,在没有人为干预的条件下,会因为气候的极端变化,在长期的进化过程中产生大量的突变,增加了酸枣的遗传多样性;繁殖系统,在自然条件下酸枣的随机交配及远缘杂交的特性也是造成其遗传多样性较高的主要因素。

遗传分化系数(F_{st})是反映居群间或种间遗传分化的重要指标。枣和酸枣种间遗传分化(F_{st})为0.055,种间基因流(N_m)为4.295,表明了二者间具有较为广泛的基因交流。在种子植物中,基因流分为现代基因流和历史基因流,主要载体为花粉和种子。植物居群的基因流大部分以花粉扩散为主导,酸枣与枣都是蜜腺发达的多花植物,花粉流可造成种间较高的基因流。种子流对于长距离有效基因流动态或历史基因流的建立和稳定起重要作用,关于酸枣与枣的分类地位,一些研究者认为酸枣为枣的原始种,枣为酸枣的栽培种,二者的亲缘关系非常接近^[22],那么二者种间具有较高的基因流应该是合理的。

3.2 枣及酸枣的聚类分析

不同的 SSR 位点包含的特异片段有所不同,通过筛选合适的 SSR 引物,结合生物学特性的分析,可对枣品种分类群中的同物异名、同名异物现象进行分类鉴定^[23],也可以用于枣品种间的亲缘关系和遗传多样性研究以及指纹图谱绘制等^[24]。在本试验中,SSR 标记较好地将近瓶枣、板枣与其他品种区别开来。但 SSR 位点的差异不一定能显示基因表达造成的性状差异,实际上也要依赖一定的引物种类、数量以及在基因组中的分布^[25],所以,这些因素也影响到本试验中个别枣品种的交叉,如木枣。本试验将酸枣分成了 3 个类群,酸枣为野生种,在长期的历史繁衍过程中,不断被砍伐和更替,其中可能会造成年龄与外貌特征的不符、小树与老树的混杂及远缘杂交,导致酸枣的变异类型较多、遗传多样性丰富,这与张春梅等^[3]的研究结果较为一致。

通过本试验研究导致进一步明确了枣和酸枣的划分及其种质资源的特征。李莉等^[26]用 SRAP 标记对枣属的 14 个种进行了聚类分析,结果认为,枣和酸枣应作为同一个种,二者的遗传相似系数为 0.86。本试验中枣与酸枣在聚类中并没有严格的聚在一起,第 1 类群中有 6 份枣和 1 份酸枣,第 2 类群中有 10 份酸枣和 2 份枣,第 3 类群有 2 份枣,第 4 类群有 6 份枣和 6 份酸枣,这与李瑞环^[22]的结果一致。冯宝春等^[27]研究也认为,蒙山脆枣可能是酸枣和枣的中间类型,本试验中聚在第 4 类群的枣和酸枣,可能就属于过渡类型,也同样说明酸枣和枣的亲缘关系较近。基于本试验的研究结果,认为枣和酸枣的亲缘关系非常近,二者的遗传相似系数为 0.79,利用 SSR 分子标记可将枣和酸枣群体划分为枣类、酸枣类和过渡类等 3 个群体。为了进一步深入评价众多枣与酸枣的种质资源,仅利用传统的以形态指标划分品种的方法现已不能达到资源的充分开发与利用,因此在研究过程中需要进一步扩大枣与酸枣样本的数量与采集范围,同时用多种标记方法相互印证,与传统的形态特征鉴定相结合,才能得到枣属植物清晰的演化路线图,加快优良种质资源的挖掘与开发利用。

参考文献:

- [1] 曲泽洲,王永惠. 中国果树志—枣卷[M]. 北京:中国林业出版社,1993.
- [2] 刘孟军,汪民. 中国枣种质资源[M]. 北京:中国林业出版社,2009.
- [3] 张春梅,殷晓,李新岗,等. 黄河沿岸酸枣遗传多样性研究[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2013,41(12):107–112,119.
- [4] 刘孟军. 枣属植物分类学研究进展[J]. 园艺学报,1999,26(5):302–308.
- [5] 彭建营,束怀瑞,孙仲序,等. 中国枣种质资源的 RAPD 分析[J]. 园艺学报,2000,27(3):171–176.
- [6] 赵锦,刘孟军. 枣树品种、品系及其近缘种的 RAPD 分析[J]. 中国农业科学,2003,36(5):590–594.
- [7] 贺润平,渠云芳,雷海英. 枣树不同品种遗传多样性的 RAPD 分析[J]. 中国农学通报,2010,26(22):50–53.
- [8] 刘平,彭建营,彭士琪,等. 应用 RAPD 标记技术探讨枣与酸枣的分类学关系[J]. 林业科学,2005,41(2):182–185.
- [9] 王永康,田建保,王永勤,等. 枣树品种品系的 AFLP 分析[J]. 果树学报,2007,24(2):146–150.
- [10] 谢永波,冯殿齐,赵进红,等. 基于 AFLP 技术的枣树主栽品种亲缘关系的研究[J]. 中国农学通报,2014,30(13):137–141.
- [11] 陈浩东,肖才升,李庠,等. 基于 SSR 标记的短季棉品种 DNA 指纹图谱构建及遗传多样性分析[J]. 华北农学报,2014,29(4):98–104.
- [12] 许兰杰,侯起岭,侯春雨,等. 不同抗蚜性小麦品种(系)的遗传多样性 SSR 标记分析[J]. 华北农学报,2014,29(5):119–124.
- [13] 马庆华,王贵禧,梁丽松. 枣选择性扩增微卫星体系的建立及优化[J]. 中国农业科学,2010,43(2):371–379.
- [14] 麻丽颖,孔德仓,刘华波,等. 36 份枣品种 SSR 指纹图谱的构建[J]. 园艺学报,2012,39(4):647–654.
- [15] 殷晓,张春梅,李新岗,等. 陕北枣品种群遗传结构的 SSR 分析[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2014,42(6):152–160,167.
- [16] Rogers S O, Bendich A J. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues[J]. Plant Molecular Biology, 1985, 5(2):69–76.
- [17] Peakall R, Smouse P E. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research[J]. Molecular Ecology Notes, 2006, 6(1):288–295.
- [18] Slatkin M, Barton N H. A comparison of three indirect methods for estimating average levels of gene flow[J]. Evolution, 1989, 43:1349–1368.
- [19] Rohlf F J. NTSYS-PC: Numerical taxonomy and multivariate analysis system version 1.80[M]. Setauket, New York: Distribution by Exeter Software, 1994.
- [20] Doebley J F, Gaut B S, Smith B D. The molecular genetics of crop domestication[J]. Cell, 2006, 127(7):1309–1321.
- [21] Wang H, Nussbaum-Wagler T, Li B L, et al. The origin of the naked grains of maize[J]. Nature, 2005, 436(751):714–719.
- [22] 李瑞环,李新岗,黄建,等. 枣和酸枣亲缘关系的 RAPD 分析[J]. 果树学报,2012,29(3):366–373.
- [23] 殷晓. 基于 SSR 标记的中国枣遗传多样性研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2013.
- [24] 柴美清,原佳敏. SSR 分子标记在玉米种质研究中的应用[J]. 山西农业科学,2011,39(9):1017–1019.
- [25] 李俊芳,孙世贤,王守才. 国家玉米主产区预试品种的 SSR 分析 II. 预试品种的遗传多样性[J]. 玉米科学,2007,15(1):16–20.
- [26] 李莉,彭建营,白瑞霞. 中国枣属植物亲缘关系的 SRAP 分析[J]. 中国农业科学,2009,42(5):1713–1719.
- [27] 冯宝春,陈学森,杨红花,等. 蒙山脆枣与枣及酸枣亲缘关系的研究[J]. 石河子大学学报:自然科学版,2004,22(4):311–315.