

核桃实生居群遗传多样性 ISSR 分析

李国田, 艾呈祥, 张力思, 魏海蓉, 刘庆忠

(山东省果树研究所/山东省果树生物技术育种重点实验室, 泰安 271000)

摘要:利用 ISSR 技术对新疆核桃元丰、云新核桃、泰山野核桃和陕西核桃 4 个核桃实生居群共 61 份种质进行了遗传多样性分析。结果表明:从 36 条 ISSR 引物中筛选 9 条引物,共检测出 101 个位点,多态性位点 89 个,占检测位点总数的 88.12%,有效等位基因数、Nei's 基因多样性指数和 Shannon 信息指数分别为 1.5207、0.3125 和 0.4759。UPGMA 聚类结果表明,61 份核桃种质聚为 5 组,元丰核桃居群和陕西核桃首先聚在一起,然后与云新核桃聚在一起,最后与泰山野核桃相聚,其中陕西核桃居群的遗传多样性最高,分为 2 组,其多态位点百分率、 H 值和 I 值分别为 66.29%、0.2111 和 0.3239。居群间遗传一致度在 0.6727 ~ 0.7970 之间,基因流为 0.4220,表明不同居群间基因交流程度很低,基因分化明显,在遗传组成上存在显著差异。

关键词:核桃; 实生居群; 遗传分析; ISSR

ISSR Analysis of Genetic Diversity among Seedling Walnut (Juglans spp.) Populations

LI Guo-tian, AI Cheng-xiang, ZHANG Li-si, WEI Hai-rong, LIU Qing-zhong

(Shandong Key Laboratory of Fruit Biotechnology Breeding / Shandong Institute of Pomology, Tai'an 271000)

Abstract: Inter Simple Sequence Repeat was employed to analyze the genetic diversity and genetic relationship of 61 germplasms from 4 seedling populations including Xinjiang walnuts 'Yuanfeng', Yunxin walnuts, Taishan wild walnuts and Shanxi walnuts. The results showed that 101 loci were detected by 9 ISSR primers screened out from 36 primers and 89 loci were polymorphic, accounting for 88.12%. Effective number of alleles (N_e), Nei's gene diversity (H) and Shannon's Information index (I) of 61 samples were 1.5207、0.3125 and 0.4759, respectively. UPGMA cluster analysis showed that 61 samples were clustered into five groups. 'Yuanfeng' population gathered with Shanxi walnuts population at first, then followed by Yunxin walnuts population and Taishan wild walnuts population. Among those 4 populations, Shanxi walnuts population has the highest genetic diversity and was divided into two groups. Its percentage of polymorphic loci (PPL), Nei's gene diversity (H) and Shannon's Information index (I) were 66.29%、0.2111 and 0.3239, respectively. Genetic identity of 4 populations was between 0.6727 ~ 0.7970 and estimate of gene flow (N_m) was 0.4220, suggesting that the 4 populations with different genetic background are significant difference in genetic composition and genetic differentiation among populations are evident.

Key words: Walnut; Seedling populations; Genetic diversity; ISSR

核桃属 (*Juglans* spp.) 植物世界上有 23 个种,其中我国有 13 个种^[1],是重要的坚果和木本油料树种,具有很高的经济价值。我国为核桃属植物起源中心之一,长期的实生繁殖和自然选择创造了丰富的遗传类型。分子标记技术已成为研究遗传进化的

主要手段,国内外已对核桃属植物的遗传关系、品种鉴别等方面进行了多方面的研究^[2-5], Bayazit 等^[6]利用 AFLP 方法对土耳其低需冷量核桃的多样性进行了分析,用于确定核桃在地中海地区分布的范围;国内利用 RAPD、SSR 等技术对核桃属不同种之间

收稿日期:2010-05-20 修回日期:2011-02-24

基金项目:农业部农作物种质资源保护与利用专项 (NB10-2130135-23); 山东省农业良种工程项目 (2008ZL010)

作者简介:李国田,硕士,研究方向为果树种质资源与分子生物学。E-mail:ligt2008@yahoo.com.cn

通讯作者:刘庆忠,研究员,博士,主要从事果树种质资源与生物技术育种工作。E-mail:qzliu@sdip.cn

进行了亲缘关系分析^[7-9]和基因定位的研究^[10]。

ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) 技术具有操作简单、稳定性高、扩增产物特异性好等优点,已广泛应用于苹果^[11]、梨^[12]、柑橘^[13]、樱桃^[14]、板栗^[15]、刺槐^[16]、绿玉树^[17]、茶树^[18]等遗传多样性、种质鉴定以及指纹图谱的构建等方面, Potter 等利用 ISSR 方法对 48 个核桃品种资源的指纹图谱和遗传关系进行了研究,表明 ISSR 产生的指纹图谱可以很好的甄别不同的品种资源,虽然产生等位基因的多样性不如 SSR 法丰富多样,但其操作简单、花费少,能够比较快速检测不同居群间种质的遗传多样性。新疆作为我国核桃的主要发源地,途经陕西等地传播至全国,但是陕西核桃表型特征与新疆核桃有着明显差异,为研究其亲缘关系和居群内的遗传多样性,以云新核桃和泰山野核桃两个居群作为对照,由于实生居群在遗传变异和自然选择的双重作用下,富含更为多样性的遗传信息,因此以实生居群作为试验材料,利用 ISSR 法对新疆核桃元丰、陕西核桃、云新核桃和泰山野核桃等 4 个不同核桃实生居群进行遗传分析,分别在居群水平和种质之间进行多样性比较,为了解和掌握其遗传背景和亲缘关系提供技术支持,为我国核桃的种质进化、核心种质构建以及遗传育种提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

新疆核桃元丰、云新核桃、泰山野核桃和陕西核桃 4 个核桃居群的种子先后播种于国家果树种质泰安核桃圃。2008 年从 4 个核桃品种实生居群中随机选出当年萌发的幼嫩叶片作为提取基因组 DNA 的材料,放入带有标记的 1.5 ml 离心管中, -20℃ 冰箱中保存备用,共计 61 份种质。试验中使用的核桃材料样本数及原产地见表 1。

表 1 供试材料及原产地

Table 1 Materials and their origins

种质 Populations	种 Species	播种年份 Seeding year	样本数 No. of Samples	原产地 Origin
新疆核桃元丰	<i>J. regia</i> L.	2004	15	新疆阿克苏
泰山野核桃	<i>J. cathayensis</i> Dode.	2005	16	山东泰安
陕西核桃	<i>J. regia</i> L.	2005	15	陕西商洛
云新核桃	<i>J. regia</i> × <i>J. sigilla</i>	2006	15	云南昆明

1.2 核桃基因组 DNA 的提取纯化

采用改良的 CTAB 法^[19]对 61 份核桃当年生嫩叶基因组 DNA 进行提取和纯化。提取的基因组 DNA 在 260 nm 下进行纯度检测,用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测其质量。

1.3 ISSR 引物筛选及反应体系优化

ISSR 引物根据加拿大哥伦比亚大学公布的序列(UBC Primer Set *9),由北京赛百盛生物技术公司合成。扩增反应在德国 Eppendorf 公司 Master-Cycler ep 梯度 PCR 仪上进行。通过比较和优化,最终确定 25 μl 反应体系为 1 × PCR buffer, 0.2 mmol/L dNTPs, 2 mmol/L MgCl₂, 0.2 μmol/L 引物, 0.5 U Taq 酶, 50 ng DNA 模板。PCR 扩增反应条件为 94℃ 预变性 5 min, 然后 94℃ 变性 30 s, 48 ~ 52℃ 退火(不同引物温度不同)45 s, 72℃ 延伸 2 min, 45 个循环, 最后 72℃ 延伸 10 min。扩增产物在 1.5% 的琼脂糖凝胶电泳, 经 EB 染色后于凝胶成像分析仪上观察、记录 ISSR 扩增谱带, 并保存于计算机中。

1.4 数据的统计分析

ISSR 为显性标记, 同一引物扩增产物中电泳迁移率一致的条带被认为具有同源性, 属于同一位点的产物, 以 DNA Marker DL2000 作为相对分子量标准, 电泳图谱中的每一条带视为一个分子标记, 并代表一个引物结合位点^[20]。用筛选出的 9 条引物对 61 份种质进行扩增, 按凝胶同一位置上 DNA 条带的有无进行统计, 有带的记为 1, 无带的记为 0, 形成 ISSR 表型数据矩阵, 进行遗传分析。采用多样性分析 POPGENE32 软件对 ISSR 扩增结果进行遗传分析, 计算了多态性位点及其百分数(PPB)、有效等位基因数(*N_e*)、基因的多样性(*H_e*) 及 Shannon 信息指数(*I*)。

2 结果与分析

2.1 ISSR 引物的筛选

根据加拿大哥伦比亚大学公布的 ISSR 序列合成了 36 条 ISSR 引物进行了 PCR 扩增筛选, 其中有 23 条引物对于多数核桃样本可以扩增出多态性位点。经过多次重复和比较, 最终从中复选出带型清晰、稳定性较好、特异性强、具多态性的 9 条引物。用它们对样品进行 ISSR 扩增反应, 记录结果(表 2)。

表2 筛选出的9条ISSR引物

Table 2 9 ISSR primers selected from UBC Primer

引物编号 Primer code	引物序列 Sequence(5'-3')	最佳退火温度(℃) Annealing temperature	检测出位点数 No. of loci	多态性位点数 No. of polymorphic loci	多态性位点百分率(%) Percentage of polymorphous loci
UBC 828	(TG) ₈ A	50	10	10	100.00
UBC 836	(AG) ₈ YA	52	11	9	81.82
UBC 840	(GA) ₈ YT	51	12	11	91.67
UBC 841	(GA) ₈ YC	52	11	9	81.82
UBC 843	(CT) ₈ RA	52	13	12	92.31
UBC 844	(CT) ₈ RC	52	6	6	100.00
UBC 853	(TC) ₈ RT	50	9	8	88.89
UBC 864	(AT) ₈ G	52	13	10	76.92
UBC 873	(GACA) ₄	48	16	14	87.50

R = (A, G); Y = (C, T)

2.2 ISSR 标记及多态性

利用筛选出来的9条ISSR引物对4个核桃实生居群的61份种质进行了扩增检测,共检测到101个位点,平均11.22个,其中多态位点89个,占检测

位点总数的88.12%,平均9.6个,每条引物扩增条带分子量大小在200~22kb之间(图1)。试验结果表明,61份核桃种质具有极高的多态性,多态性比率高达88.12%。

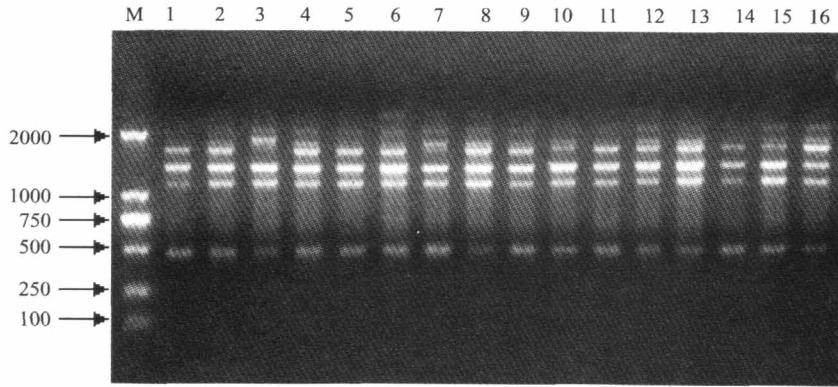


图1 引物853对16份泰山野核桃居群PCR产物的电泳图谱

Fig. 1 Amplification profiles of 16 Taishan wild walnut germplasms using primer 853

2.3 不同种质间遗传多样性及聚类分析

利用Popgene1.32软件分析了4个不同居群的61份核桃属种质的遗传多样性,有效等位基因数(N_e)为1.5207,Nei's基因多样性指数(H)为0.3123,Shannon信息指数(I)为0.4759,共检测到101个位点,其中多态性位点为89个,种质水平上的多态位点百分率为88.12%。总遗传多样性指数(H_t)为0.3118,种质内基因多样性为(H_s)0.1427,基因流(N_m)为0.4220,种质间遗传分化系数 G_{st} 为0.5423,种质间遗传变异为54.23%,种质内遗传变异为45.77%。

应用NTSYS2.1软件对61份核桃属种质的ISSR数据进行聚类分析,结果如图2所示。在遗传相似系数约0.718的位置,可将所有种质分为5组。首先聚为I组的是15份元丰核桃实生后代;

其次13份陕西核桃种质聚成II组,S64和S85为陕西核桃实生种质,最先与陕西核桃实生居群分开,单独聚为III组,表明陕西核桃种质内部分化比较明显,遗传变异程度较高;15份云新核桃种质聚成IV组,其中Y7和Y10遗传距离最近,表明其遗传背景相似,可以视为同一种质对待;最后16份泰山野核桃聚成V组。结果表明,这61份核桃种质之间遗传多样性丰富,不同种质之间遗传信息差异甚大。

2.4 不同居群遗传多样性及遗传距离

按照不同居群划分,4个核桃种实生居群的多态性位点数(NPL)、多态性位点百分率(PPL)、有效等位基因数(N_e)、Shannon信息指数(I)和遗传多样性(H)见表3。其中陕西核桃实生居群的 PPL (66.29%)、 H 值(0.2111)、 N_e 值(1.3640)以及 I 值

(0.3239) 均多于云新核桃、泰山野核桃和新疆核桃元丰实生居群,而元丰核桃居群的 PPL (25.84%)、 H 值(0.0927)、 N_e 值(1.1619)以及 I 值(0.1379)最

小,说明陕西核桃实生居群的遗传多样性最丰富,其次是泰山野核桃居群和云新核桃居群,最后为元丰核桃实生居群。

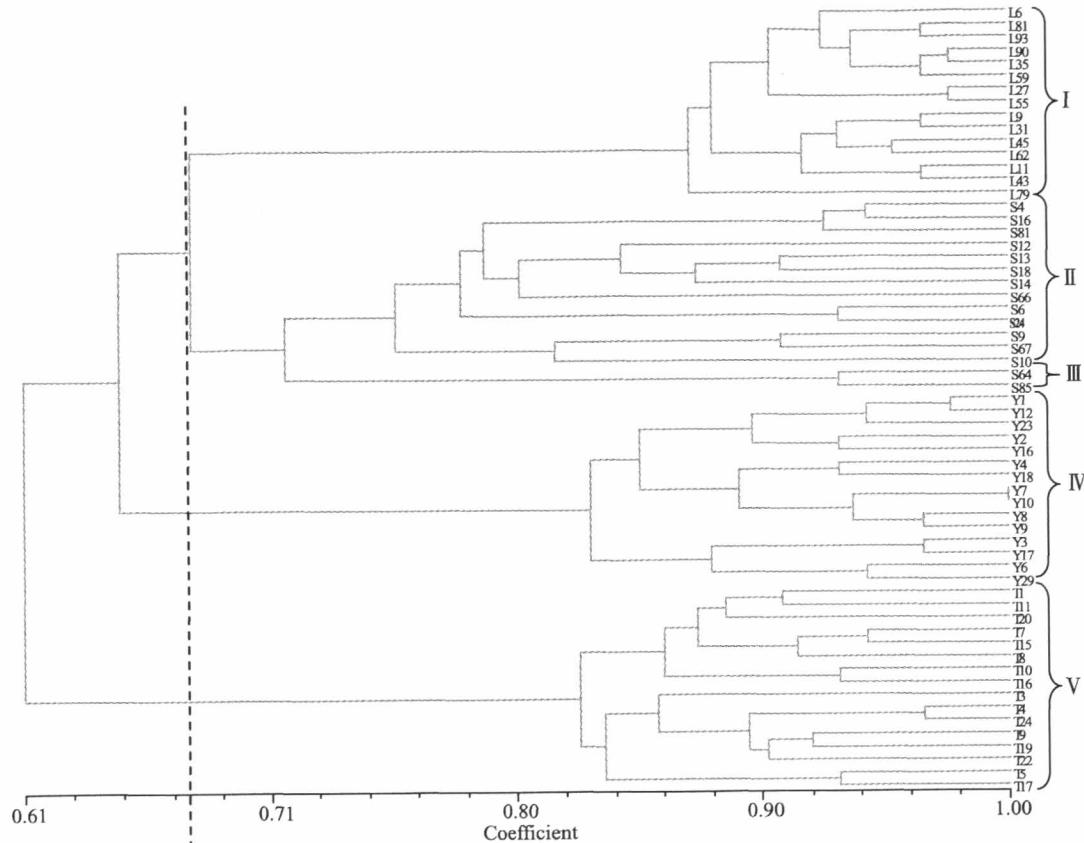


图 2 61 份核桃属种质聚类分析图

Fig. 2 Cluster dendrogram of 61 walnuts germplasms

I : 新疆核桃元丰居群; II、III : 陕西核桃居群; IV : 云新核桃居群; V : 泰山野核桃居群

I : Xinjiang walnuts Yuanfeng, II、III : Shaanxi walnuts, IV : Yunxin walnuts, V : Taishan wild walnuts

表 3 不同核桃居群遗传多样性分析

Table 3 Analyses of genetic diversity among 4 populations

居群 Population	样本数 No. of samples	H	N_e	I	NPL	PPL (%)
新疆核桃元丰	15	0.0927	1.1619	0.1379	23	25.84
泰山野核桃	16	0.1400	1.2424	0.2096	36	40.45
陕西核桃	15	0.2111	1.3460	0.3239	59	66.29
云新核桃	15	0.1270	1.2156	0.1896	31	34.83

4 个核桃实生居群的遗传一致度和遗传距离分别在 0.6727 ~ 0.7970 和 0.2269 ~ 0.3965 之间。表明居群间相似程度不高,遗传差异较大,亲缘关系较远(表 4)。

表 4 Nei's 遗传距离(下三角)和遗传一致度(上三角)

Table 4 Nei's original measures of genetic identity and genetic distance

居群 Population	新疆核桃 元丰	泰山 野核桃	陕西 核桃	云新 核桃
新疆核桃元丰	*****	0.6955	0.7970	0.7393
泰山野核桃	0.3631	*****	0.7618	0.6727
陕西核桃	0.2269	0.2720	*****	0.7639
云新核桃	0.3021	0.3965	0.2693	*****

UPGMA 聚类分析结果显示新疆核桃元丰实生居群和陕西核桃实生居群的亲缘关系要比其他的两个居群要近一些,两者的 Nei's 遗传距离为 0.2269,遗传一致度也最高,为 0.7970,这与 2 个群落表型特征相近和地缘关系较近相吻合。云新

核桃是普通核桃(*J. regia* L.)和铁核桃(*J. sigillata* Dode.)的杂交种,因此与新疆核桃元丰和陕西核桃2个实生居群遗传距离较远。泰山野核桃属于野核桃(*J. cathayensis* Dode.),与云新核桃居群遗传距离相距最远为0.3965,遗传一致度也最低为0.6727,表明该居群遗传组成上与其他3个

居群都相差甚远。4个核桃居群间的基因流(N_m)为0.4220,其中元丰核桃居群和陕西核桃居群之间的基因流最高为0.8741,表明不同居群间基因交流程度很低,居群间基因分化明显(图3)。

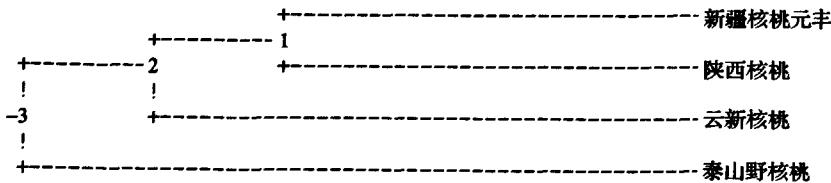


图3 4个核桃实生居群的聚类图

Fig. 3 Cluster dendrogram of 4 walnuts populations

3 讨论

3.1 不同核桃居群的遗传分析

本研究利用ISSR标记技术从居群水平分析了我国4个不同核桃实生居群的遗传多样性以及居群内不同种质间的遗传变异情况,虽然Potter等^[4]认为ISSR法在对栽培品种遗传关系进行研究时,产生等位基因的多样性和真实性不如SSR法,但是通过增加ISSR引物的数量,可以弥补这方面的缺陷,因此,本试验从36条引物中筛选出了9条多样性较高的引物分别对每份种质进行了分析比较。结果显示,不同居群和不同种质间均存在一定的遗传变异,居群间的遗传差异以及遗传距离与核桃居群的表型特征的遗传多样性和相似性互为印证。

在这4个核桃实生居群中,元丰核桃是新疆核桃优选而来,具有新疆核桃的遗传信息,通过聚类分析发现与陕西核桃遗传距离最近(0.2269),遗传一致度最高(0.7970),在这4个居群中亲缘关系最近,这与陕西核桃与新疆核桃地缘关系比较近相吻合。但就表型特征而言,新疆核桃元丰属于普通核桃(*J. regia* L.),小叶通常5~11枚,雌花单生或双生,柱头浅绿色,坚果表面较光滑,而陕西核桃小叶通常9~13,坚果表面较粗糙,个头较小,与新疆核桃表型特征差异明显,在遗传相似系数为0.718的位置分支并独立聚在一起,表明陕西核桃在分子水平上差异显著,在核桃遗传进化的过程中应该有其特殊地位,因此将陕西核桃居群作为一个不同的地理生态型还是新种还有待进一步研究。

云新核桃是普通核桃(*J. regia* L.)和铁核桃(*J. sigillata* Dode.)杂交而来,表型特征兼具核桃和铁核桃的部分特征,在遗传相似系数约0.642的位

置与新疆核桃元丰实生居群和陕西核桃居群分开。而泰山野核桃属于野核桃(*J. cathayensis* Dode.),表型特征与前三者差异明显,亲缘关系也最远,这表明ISSR方法可以分析不同种质的遗传关系。

3.2 遗传结构和基因流

居群遗传分化水平的高低与遗传漂变、选择和基因流等因素密切相关。随机性的遗传漂变和选择的作用是群体产生遗传分化的重要因素。Wright^[21]认为,如果 N_m 值大于1时,说明群体之间没有明显的遗传分化或遗传分化程度很低,当 N_m 值小于1时,表明由于遗传漂变或选择的作用而产生了分化。本研究中4个不同核桃实生居群ISSR位点的平均基因流值 N_m 为0.4220,元丰核桃居群和陕西核桃居群之间的基因流最高为0.8741,表明不同居群之间遗传分化程度很高,基因交流水平很低,遗传漂变和自然选择成为遗传分化的主要因素,这与4个核桃居群的地缘距离和种间差异是相对应的。

3.3 种质鉴定与核心种质的构建

我国是核桃的起源中心,核桃种质资源丰富,品种多样,种质鉴定和核心种质的构建是核桃遗传育种工作的基础^[22],DNA分子标记对品种的鉴定实质上是对基因型的鉴定。Foroni等^[23]对意大利索伦托地区和卡赛塔地区的核桃种质关系进行了鉴定分析,解决了同名异物以及同物异名现象带来的品种混乱,为意大利著名‘Sorrento’核桃的商业开发提供了鉴定手段。本研究利用ISSR分子标记技术,获得了61份核桃资源的指纹图谱,能够直接从DNA分子水平上对种质进行甄别和鉴定,这与Potter等^[4]认为ISSR法可以很好甄别不同种质的说法一致,ISSR可以成为核桃种质鉴定以及核心种质的构

建提供一个最便捷、最有效的方法。结果表明云新核桃中的 Y7 和 Y10 具有相同的指纹印记,遗传相似度最高,通过田间初步评价,这 2 份材料从表型和生物学特性基本一致,因此推断这 2 个样本可能种质相同,可以视为同一份种质材料。

此外,在这 61 份核桃资源中,陕西核桃居群遗传多样性程度最高,其多态位点百分率、基因多样性指数和 Shannon 信息指数分别为 66.29%、0.2111 和 0.3239,通过聚类分为Ⅱ和Ⅲ 2 个组,S64 和 S85 单独聚为一组,表明其遗传信息与其他陕西核桃存在着差异,具有独特的基因资源,而元丰核桃居群遗传分化程度最低,其多态位点百分率和基因多样性指数分别为 25.84% 和 0.0927。因此在进行核心种质构建的过程中,应充分考虑到不同居群的遗传多样性和遗传分化程度,以最少的材料保存最大的遗传资源,以避免重复、减少缺失。

参考文献

- [1] 鄒荣庭,张毅萍.中国果树志核桃卷 [M].北京:中国林业出版社,1996:47-53.
- [2] Fjellstrom R G, Parfitt D E. RFLP inheritance and linkage in walnut [J]. Theor Appl Genet, 1994, 89:665-670.
- [3] Nicese F P, Hormaza J I, McGranahan G H. Molecular characterization and genetic relatedness among walnut (*Juglans regia* L.) genotypes based on RAPD markers [J]. Euphytica, 1998, 101 (2):199-206.
- [4] Potter D, Gao F Y, Aiello G, et al. Intersimple sequence repeat markers for fingerprinting and determining genetic relationships of Walnut (*Juglans regia*) cultivars [J]. J Am Soc. Hort. Sci, 2002, 127(1):75-81.
- [5] Gerald S, Dang L, Keith W, et al. Characterization of 14 microsatellite markers for genetic analysis and cultivar identification of Walnut [J]. J Am Soc Hort Sci, 2005, 130(3):348-354.
- [6] Bayazit S, Kazan K, Gulbitti S, et al. AFLP analysis of genetic diversity in low chill requiring walnut (*Juglans regia* L.) genotypes from Hatay, Turkey [J]. Scientia Horticulturae, 2007, 111: 394-398.
- [7] 吴燕民,刘英,董凤祥,等.应用 RAPD 对我国栽培核桃不同地理生态型的研究 [J].北京林业大学学报,2000,22(5):23-27.
- [8] 王滑,郝俊民,王宝庆,等.中国核桃 8 个天然居群遗传多样性分析 [J].林业科学,2007,43(7):120-124.
- [9] 陈良华,胡庭兴,张帆,等.用 AFLP 技术分析四川核桃资源的遗传多样性 [J].植物生态学报,2008,32(6):1362-1372.
- [10] 杨克强,马明,孙彩玲,等.核桃早实基因的 RAPD 标记及其序列分析研究 [J].中国农业科学,2007,40(9):2021-2027.
- [11] 朱元娣,李光晨,李春雨,等.苹果柱型基因的 ISSR 分子标记研究 [J].园艺学报,2003,30(5):505-510.
- [12] 易琼,殷海滨,龚丽琼,等.8 个云南主要栽培梨品种亲缘关系的 ISSR 分析 [J].安徽农业科学,2009,37(2):506-509.
- [13] Fang D Q, Roose M L. Identification of closely related citrus cultivars with inter-simple sequence repeat markers [J]. Theor Appl Genet, 1997, 95(3):408-417.
- [14] 艾呈祥,张力思,李国田,等.ISSR 标记对 34 份樱桃种质资源的遗传分析 [J].中国农学通报,2008,24(4):47-51.
- [15] 艾呈祥,张力思,魏海蓉,等.山东实生板栗居群遗传多样性 ISSR 分析 [J].生物工程学报,2007,23(4):628-633.
- [16] 孙芳,杨敏生,张军,等.刺槐不同居群遗传多样性的 ISSR 分析 [J].植物资源遗传学报,2009,10(1):91-96.
- [17] 黄文霞,何仪,何觉民,等.高效能源植物绿玉树种质资源遗传多样性的 ISSR 分析 [J].植物遗传资源学报,2010,11(4):487-490.
- [18] 刘本英,王丽鸳,周健,等.云南大叶种茶树种质资源 ISSR 指纹图谱构建及遗传多样性分析 [J].植物遗传资源学报,2008,9(4):458-464.
- [19] Doyle J J, Doyle J H. Isolation of plant DNA from fresh tissue [J]. Focus, 1990, 12:13-15.
- [20] Ai C X, Li G T, Zhang L S, et al. Study on the Genetic Diversity of Natural Chestnut Populations in Shandong China by SSR Markers [J]. Acta Hort, 2009, 844:257-266.
- [21] Wright S. Evolution in mendelian population [J]. Genetics, 1931, 16:97-159.
- [22] 徐崇志,廖胜刚.分子标记技术在果树种质资源及遗传育种研究中的应用 [J].塔里木大学学报,2006,18(3):39-44.
- [23] Foroni I, Woeste K, Monti L M, et al. Identification of 'Sorrento' walnut using simple sequence repeats (SSRs) [J]. Genet Resour Crop Evol, 2007, 54:1081-1094.

(上接第 639 页)

- [14] Marwede V, Gul M K, Becker H C, et al. Mapping of QTL controlling tocopherol content in winter rapeseed [J]. Plant breeding, 2005, 124:20-26.
- [15] Raclaru M, Gruber J, Kumar R, et al. Increase of the tocopherol content in transgenic *Brassica napus* seeds by overexpression of key enzymes involved in prenylquinone biosynthesis [J]. Mol Breeding, 2006, 18:93-107.
- [16] Sattler S E, Cheng Z, DellaPenna D. From *Arabidopsis* to agriculture: Engineering improved vitamin E content in soybean [J]. Trends Plant Sci, 2004, 9:365-367.
- [17] 李桂华,代红丽,傅黎敏.高压液相色谱测定我国大豆种子中维生素 E 含量 [J].中国粮油学报,2006,21(3):292-295.
- [18] 高桂珍,伍晓明,陆光远,等.油菜种子类胡萝卜素总量测定方法的研究 [J].植物遗传资源学报,2005,6(4):414-417.
- [19] 王丽,宋志峰,纪锋,等.高效液相色谱法测定大豆中的维生素 E 含量及其与粗脂肪含量的线性回归分析 [J].大豆科学, 2006,25(2):113-117.

- [20] 董贵俊,刘公社,潘卫东.向日葵种质资源维生素 E 含量及相关变量的初步评价 [J].植物遗传资源学报,2005,6(2):178-181.
- [21] 王丽,宋志峰,金卫东,等.栽培大豆与野生大豆维生素 E 含量的比较分析 [J].作物杂志,2005(5):23-24.
- [22] Gilliland L U, Magallanes Lundback M, Hemming C, et al. Genetic basis for natural variation in seed vitamin E levels in *Arabidopsis thaliana* [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103: 18834-18841.
- [23] Sattler S E, Gilliland L U, Magallanes Lundback M, et al. Vitamin E is essential for seed longevity and for preventing lipid peroxidation during germination [J]. Plant Cell, 2004, 16, 1419-1432.
- [24] Shintani D, DellaPenna D. Elevating the vitamin E content of plants through metabolic engineering [J]. Science, 1998, 282: 2098-2100.
- [25] 李国营,范志影,刘方,等.高效液相色谱法测定谷子种质资源中维生素 E 的研究 [J].中国农业科技导报,2009,11(1):129-133.

核桃实生居群遗传多样性ISSR分析

作者: 李国田, 艾呈祥, 张力思, 魏海蓉, 刘庆忠, LI Guo-tian, AI Cheng-xiang, ZHANG Li-si, WEI Hai-rong, LIU Qing-zhong
作者单位: 山东省果树研究所/山东省果树生物技术育种重点实验室, 泰安, 271000
刊名: 植物遗传资源学报 [ISTIC PKU]
英文刊名: Journal of Plant Genetic Resources
年, 卷(期): 2011, 12(4)

参考文献(23条)

1. 易琼;殷海滨;龚丽琼 8个云南主要栽培梨品种亲缘关系的ISSR分析 2009(02)
2. 朱元娣;李光晨;李春雨 苹果柱型基因的ISSR分子标记研究 2003(05)
3. 杨克强;马明;孙彩玲 核桃早实基因的RAPD标记及其序列分析研究 2007(09)
4. 陈良华;胡庭兴;张帆 用AFLP技术分析四川核桃资源的遗传多样性 2008(06)
5. 王滑;郝俊民;王宝庆 中国核桃8个天然居群遗传多样性分析 2007(07)
6. 吴燕民;刘英;董凤祥 应用RAPD对我国栽培核桃不同地理生态型的研究 2000(05)
7. Bayazit S;Kazan K;Gulbitti S AFLP analysis of genetic diversity in low chill requiring walnut (*Juglans regia* L.) genotypes from Hatay, Turkey 2007
8. Gerald S;Dang L;Keith W Characterization of 14 microsatellite markers for genetic analysis and cultivar identification of Walnut 2005(03)
9. 孙芳;杨敏生;张军 刺槐不同居群遗传多样性的ISSR分析 2009(01)
10. 艾呈祥;张力思;魏海蓉 山东实生板栗居群遗传多样性ISSR分析 2007(04)
11. 艾呈祥;张力思;李国田 ISSR标记对34份樱桃种质资源的遗传分析 2008(04)
12. Fang D Q;Roose M L Identification of closely related citrus cultivars with inter-simple sequence repeat markers 1997(03)
13. Potter D;Gao F Y;Aiello G Intersimple sequence repeat markers for fingerprinting and determining genetic relationships of Walnut (*Juglans regia*) cultivars 2002(01)
14. Nicese F P;Hormaza J I;Mcgranahan G H Molecular characterization and genetic relatedness among walnut (*Juglans regia* L.) genotypes based on RAPD markers 1998(02)
15. Fjellstrom R G;Parfitt D E RFLP inheritance and linkage in wal nut 1994
16. 郁荣庭;张毅萍 中国果树志核桃卷 1996
17. Foroni I;Woeste K;Monti L M Identification of 'Sorrento' walnut using simple sequence repeats (SSRs) 2007
18. 徐崇志;廖胜刚 分子标记技术在果树种质资源及遗传育种研究中的应用 2006(03)
19. Wright S Evolution in mendelian population 1931
20. Ai C X;Li G T;Zhang L S Study on the Genetic Diversity of Natural Chestnut Populations in Shandong China by SSR Markers 2009
21. Doyle J J;Doyle J H Isolation of plant DNA from fresh tissue 1990
22. 刘本英;王丽鸳;周健 云南大叶种茶树种质资源ISSR指纹图谱构建及遗传多样性分析 2008(04)
23. 黄文霞;何仪;何觉民 高效能源植物绿玉树种质资源遗传多样性的ISSR分析 2010(04)