

# 野生扁蓿豆种质资源 AFLP 遗传多样性的分析

李鸿雁<sup>1</sup>, 李志勇<sup>1</sup>, 辛霞<sup>2</sup>, 卢新雄<sup>2</sup>, 黄帆<sup>1</sup>, 李俊<sup>1</sup>, 刘磊<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 中国农业科学院草原研究所/农业部沙尔沁牧草资源重点野外科学观测测试站, 呼和浩特 010010;

<sup>2</sup> 中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081)

**摘要:** 本研究采用 AFLP 标记对河北省、辽宁省、吉林省、山西省、内蒙古自治区和西藏自治区的 10 份野生扁蓿豆居群进行遗传多样性分析。从 64 对 AFLP 引物组合中, 筛选出 8 对扩增条带清晰、多态性高的引物组合, 8 对引物共扩增出 640 个条带, 其中多态性条带有 472 个, 多态性位点百分率为 73.8%; Nei's 基因多样性指数平均为 0.157, Shannon's 多态性信息指数平均为 0.099; 居群间遗传相似系数(GS)平均值为 0.827。聚类分析和主成分分析可将 10 个扁蓿豆居群聚为 3 大类, 结果与居群的地理分布大致相符, 呈一定的地域性分布规律。由此可见, AFLP 分子标记研究结果能较好地揭示扁蓿豆居群间的遗传多样性。对我国各地的野生扁蓿豆资源的广泛收集、评价和基因资源的保护有重要的意义。

**关键词:** 扁蓿豆; AFLP; 遗传多样性

## Genetic Diversity in *Medicago ruthenica* (L.) Trautv. Populations Using AFLP Marker

LI Hong-yan<sup>1</sup>, LI Zhi-yong<sup>1</sup>, XIN Xia<sup>2</sup>, LU Xin-xiong<sup>2</sup>, HUANG Fan<sup>1</sup>, LI Jun<sup>1</sup>, LIU Lei<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> Institute of Grassland Research, Chinese Academy of Agricultural Sciences/Sharaqin Key Wild Scientific Monitoring Station for Forage Resources of Ministry of Agriculture, Hohhot 010010;

<sup>2</sup> Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081)

**Abstract:** The genetic relationship of 10 *M. ruthenica* populations from Hebei, Liaoning, Jilin, Shanxi Provinces and Inner Mongolia and Tibet autonomous regions of China were analysis by AFLP marker. 8 primers with strong polymorphism and good repeatability were screened from 64 AFLP primers, generating a total of 640 bands of which 472 (73.8%) showed polymorphism. On average, the Nei's gene diversity, Shannon's information index and genetic similarity index (GS) were 0.157, 0.099 and 0.827, respectively. 10 *M. ruthenica* germplasms were divided into 3 groups with the higher correlation of geography resource by the cluster analysis and PC results. AFLP is the candidate molecular marker to reveal the genetic diversity of *M. ruthenica*. The results indicated that the wild population of *M. ruthenica* in China had a rich genetic diversity in AFLP genotype and thus it was of great importance to explore genetic evolution and gene resources and to preserve the local *M. ruthenica* populations in this area and expanded area.

**Key words:** *M. ruthenica*; AFLP; genetic diversity

扁蓿豆 (*Medicago ruthenica* (L.) Trautv.) 是异花授粉二倍体 ( $2n=2x=16$ ) 多年生豆科牧草, 广泛生长在蒙古、西伯利亚和中国北方的山坡和草地上<sup>[1-2]</sup>, 在

我国大多分布在甘肃省、青海省、新疆维吾尔自治区、内蒙古自治区、山西省、河北省、辽宁省、吉林省及黑龙江省等地。为苜蓿属中的一个野生种, 具有生态

收稿日期: 2015-01-25 修回日期: 2015-03-25 网络出版日期: 2015-12-09

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20151209.0921.036.html>

基金项目: 作物种质资源收集、编目、入库与安全保存 (2013BAD01B01); 农作物种质资源保护与利用项目 (2015NWB037)

第一作者主要从事牧草种质资源保存、利用与创新。E-mail: hongyli1964@126.com

通信作者: 卢新雄, 主要从事农作物种质资源保存。E-mail: luxinxiong@caas.cn

适应性广、耐贫瘠、抗寒、抗旱和营养价值较高等特点,是适宜于干旱和半干旱地区种植的优异豆科牧草。在我国多年生栽培草种区划中,将扁蓿豆作为内蒙古高原苜蓿、沙打旺、老芒麦和蒙古岩黄芪栽培区的辅助草种。扁蓿豆具有极强的抗逆性,在我国东北、华北和西北等地区或我国的高寒、高海拔和干旱等地区都可以建立人工草地。扁蓿豆耐贫瘠,在植被较稀疏的风沙地段,于雨季来临时补播,可大幅度提高天然草地生产力,同时达到治理风沙和改善环境的目的<sup>[3]</sup>。

扩增片段长度多态性(AFLP, amplified fragment length polymorphism)是由 M. Zabeau 等<sup>[4]</sup>和 P. Vos 等<sup>[5]</sup>创建的一种新的 DNA 技术,具有 DNA 用量少、稳定性高、重复性好、均匀分布全基因组和多态性检测效率高等特点,是用于种间和种内水平遗传分化的较好工具<sup>[6]</sup>,因此,被广泛应用于作物种质资源的遗传多样性、遗传图谱、基因定位和指纹图谱等方面的研究<sup>[7-16]</sup>。

目前,国内外对扁蓿豆种质资源的遗传多样性已经开展了不少研究,在形态、细胞、种子贮藏蛋白、抗逆性和分子标记等方面均取得了一定的进展<sup>[17-29]</sup>。这些研究成果对促进扁蓿豆资源开发利用、制定科学的资源保护策略以及新品种的选育都具有重要的指导意义。本试验将继续在 AFLP 分子水平上对我国的野生扁蓿豆居群进行遗传多样性以及亲缘关系的研究,从而为我国扁蓿豆种质资源的有效保存和合理利用提供参考依据,也为今后进一步进行基因表达和基因挖掘等研究提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

扁蓿豆由中国农业科学院草原研究所国家牧草种质中期库课题组于 2008 年分别在河北省、西藏自治区、辽宁省、吉林省、山西省和内蒙古自治区不同地区采集获得(表 1),基本覆盖了扁蓿豆在国内的分布区域,本试验在国家种质多年生牧草圃和中国农业科学院作物科学研究所国家种质库进行。

### 1.2 DNA 提取

在国家种质多年生牧草圃的温室中进行育苗,每个居群分别取 25 个样品,单株采集新鲜叶片使用天根植物基因组 DNA 提取试剂盒提取 DNA,4℃ 下保存备用。紫外分光光度计检测 DNA 浓度和纯度,将浓度调整到 100 ng/μL,于 -20℃ 保存备用。

表 1 10 份野生扁蓿豆居群分布

Table 1 Locations of the 10 *M. ruthenica* populations

居群编号 Populations code	原产地(县,省) Origin( county, province)	海拔高度 (m) Altitude	经度 (E) Longitude	纬度(N) Latitude
M-1	河北省围场地区	1080	113°27'00"	36°05'00"
M-2	西藏扎达县	4000	79°25'00"	33°50'00"
M-3	辽宁省辽阳县	600	118°53'00"	38°43'00"
M-4	吉林省公主岭市	359	124°08'25"	43°14'40"
M-5	山西省平鲁县	1299	112°44'49"	38°44'15"
M-6	内蒙古呼和浩特市	1374	110°46'00"	40°51'00"
M-7	内蒙古乌兰察布市	1600	114°49'00"	43°28'00"
M-8	内蒙古锡林浩特市	1149	115°48'30"	43°55'55"
M-9	内蒙古乌兰浩特市	1041	119°57'14"	47°09'22"
M-10	内蒙古海拉尔市	703	118°59'52"	48°54'58"

### 1.3 AFLP 分析体系

AFLP 反应程序是参照宿宇等<sup>[30]</sup>的方法略加改进。DNA 经 *Eco*RI 和 *Mse* I 酶切后,与 *Eco*RI 和 *Mse* I 特定接头连接,通过 *Eco*RI 和 *Mse* I 引物进行预扩增,预扩增反应液总体积为 20 μL,含酶切连接产物 2 μL,50 ng/μL *Eco*RI 引物 0.6 μL,50 ng/μL *Mse* I 引物 0.6 μL,2.5 mmol/L dNTP 1.6 μL,10 × PCR buffer 2 μL,2.5 U/μL Taq 酶 0.24 μL。其反应程序为 94℃ 预变性 2 min;94℃ 变性 30 s,56℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 1 min,循环 30 次;72℃ 延伸 5 min;4℃ 保存。完成后,用 ddH<sub>2</sub>O 稀释 20 倍,-20℃ 保存。

选择性扩增总体积为 10 μL,包括稀释过的预扩增产物 2 μL,50 ng/μL *Eco*RI 引物和 *Mse* I 引物各 0.5 μL,2.5 mmol/L dNTP 0.9 μL,10 × PCR buffer 1 μL,2.5 U/μL Taq 酶 0.2 μL。混匀后在上述 PCR 仪上进行扩增,程序为 94℃ 预变性 2 min;94℃ 变性 30 s,65℃ 退火 30 s(每个循环降低 0.7℃),72℃ 延伸 1 min,循环 12 次;再按照 94℃ 变性 30 s,56℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 1 min,循环 23 次;72℃ 5 min。PCR 产物采用 6% 的变性聚丙烯酰胺凝胶电泳,银染法检测。最终产物 -20℃ 保存备用。

### 1.4 数据统计和分析

只记录清晰的谱带,有带赋值为“1”,无带赋值为“0”,计算每对引物的多态性百分率及多态性信息指数(PIC)<sup>[31]</sup>。 $PIC = \sum (1 - p_i^2) / n$ ,其中, $p_i$ 为任一引物组合第  $i$  条多态性带在所有供试材料中出现的频率; $n$  为供试材料的总数。使用 POPgene

Version1.32<sup>[32]</sup> 对各个扁蓊豆居群进行遗传相似性分析和遗传多样性分析,遗传多样性参数包括:多态性位点百分比 (PPB)、遗传多样性指数 (Nei's)、Shannon 指数 (I) 等。采用 NTSYS 2.1 软件<sup>[33]</sup> 进行 UPGMA 聚类分析、PC 主成分分析和 Mantal 测验。使用 GenAlEx 6.5 软件进行 AMOVA 分子方差分析<sup>[34-35]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 AFLP 扩增产物的多态性分析

从 64 对引物组合中筛选出 8 对多态性较高的 AFLP 引物组合 (表 2),对 10 个扁蓊豆居群进行扩增。共统计到 640 个扩增条带,其中多态性条带为 472 条,平均每对引物的扩增条带为 80 条,扩增条带数目变化范围为 67~96 条,平均每对引物的多态性条带为 59 条,变化范围为 47~77 条,不同引物组合 PCR 扩增产物的多态性比率 (PPB) 变化范围为 66.2%~80.2%。引物组合 E-AAG/M-CTG 的多态性百分率最高,为 80.2%,引物组合 E-AAG/M-CTC 最低,为 66.2%,平均为 73.8%,不同引物的多样性信息指数 (PIC) 变化范围为 0.185~0.397,平均为 0.278。AFLP 引物扩增出的扁蓊豆 DNA 片段长度范围为 50~800 bp。表明供试扁蓊豆种质间的 AFLP 变异大,多态性高,存在丰富的遗传多样性。

表 2 8 对 AFLP 引物组合的扩增结果

Table 2 Amplification results of 8 AFLP primer combinations

引物组合 Primer combination	总条带 Total bands	多态性条带 No. of polymorphism bands	多态性 百分率 (%) Percentage of polymorphic bands	多态性 信息指数 PIC
E-AAC/M-CAC	67	52	77.6	0.343
E-AAG/M-CTC	71	47	66.2	0.185
E-ACA/M-CTC	92	69	75.0	0.329
E-ACT/M-CAC	68	51	75.0	0.397
E-AAC/M-CTC	86	65	75.6	0.258
E-AAG/M-CTG	96	77	80.2	0.218
E-ACT/M-CTA	81	55	67.9	0.273
E-ACT/M-CTC	79	56	70.9	0.268
平均 Mean	80	59	73.8	0.278
总计 Total	640	472		

E: *EcoR* I (5'-GACTGCGTACCAATTCA-3'), M: *Mse* I (5'-GAT-GAGTCCTGAGTAAC-3')

### 2.2 遗传多样性指数分析

从表 3 中可知,不同种群之间多态性百分率差异较大,在供试的 10 个居群中,多态性百分率最高的是内蒙古海拉尔市的 M-10,为 40.0%,最低的是内蒙古乌兰察布市的 M-7,为 27.3%,平均为 32.5%,说明内蒙古海拉尔市扁蓊豆遗传变异最丰富,其次为内蒙古锡林浩特市、吉林省公主岭市、内蒙古呼和浩特市、河北省围场地区等,扁蓊豆居群变异幅度较小。Nei's 基因多样性指数和 Shannon's 多态性信息指数是反映群体遗传多样性水平的重要指标<sup>[36-37]</sup>。就居群而言,Nei's 基因多样性指数为 0.106~0.210,平均为 0.157,其中内蒙古海拉尔市的 M-10 的遗传多样性指数最高,居群间变化最大,为 0.210,其次为内蒙古锡林浩特市 (0.187)、吉林省公主岭市 (0.178)、内蒙古乌兰浩特市 (0.162) 等,几个居群遗传多样性指数相差不大,河北省围场地区的 M-1 的遗传多样性指数最低,为 0.106。Shannon 多态性信息指数的变异范围为 0.090~0.159,平均为 0.099。不同地区不同居群的 Shannon 多态性信息指数的变化趋势与 Nei's 基因多样性指数基本一致。这两种指数均说明,来自不同地区的 10 个扁蓊豆居群间均存在一定程度的遗传分化,其中多样性指数最高的为内蒙古海拉尔市的 M-10,最低的为内蒙古乌兰察布市的 M-7。

表 3 10 个扁蓊豆居群的遗传多样性

Table 3 Genetic diversity of the 10 *M. ruthenica* populations

居群编号 Population code	Shannon's 多态性信息指数 Shannon's diversity index (I)	Nei's 基因多样 性指数 Nei's polymorphic index	多态性 百分率 (%) Percentage of polymorphic bands
M-1	0.117	0.106	31.8
M-2	0.099	0.148	30.9
M-3	0.094	0.145	27.8
M-4	0.125	0.178	37.1
M-5	0.097	0.143	30.3
M-6	0.105	0.158	32.4
M-7	0.090	0.135	27.3
M-8	0.143	0.187	37.7
M-9	0.109	0.162	29.5
M-10	0.159	0.210	40.0
平均 Mean	0.099	0.157	32.5

### 2.3 扁蓊豆野生居群的遗传结构

利用分子方差分析揭示的野生扁蓊豆居群的遗传组成见表 4。从表 4 可知,引起扁蓊豆遗传变异

的来源有地区间变异、居群间变异和居群内变异,分别占总变异的 2.0%、17.9% 和 80.1%,均达到了极显著水平,表明野生扁蓊豆种质资源遗传多样性以居群内的变异为主,即居群内分化程度较高,而居群间和地区间的遗传分化较小。

表 4 10 个扁蓊豆居群变异的分子方差分析  
Table 4 Analysis of molecular variance (AMOVA) for the 10 populations of *M. ruthenica* in China

变异来源 Source of variation	自由度 df	平方和 Sum of squares	变异组分 Variance components	变异百分率(%) Variance percentage	P
地区间 District	6	13.304	1.492	2.0	<0.001
居群间 Among populations	10	726.581	1.580	17.9	<0.001
居群内 Within populations	250	740.013	72.67	80.1	<0.001
总计 Total	250	1479.898			

表 5 10 个扁蓊豆居群间的 Nei (1978) 遗传距离和遗传相似系数

Table 5 Nei (1978) unbiased genetic distances and genetic identities among the 10 populations of *M. ruthenica*

	M-1	M-2	M-3	M-4	M-5	M-6	M-7	M-8	M-9	M-10
M-1		0.806	0.777	0.783	0.816	0.817	0.767	0.834	0.777	0.842
M-2	0.216		0.845	0.821	0.859	0.867	0.844	0.839	0.825	0.846
M-3	0.252	0.169		0.778	0.864	0.837	0.825	0.898	0.870	0.817
M-4	0.245	0.197	0.251		0.810	0.820	0.785	0.793	0.806	0.807
M-5	0.203	0.152	0.147	0.210		0.858	0.820	0.842	0.888	0.845
M-6	0.203	0.143	0.178	0.198	0.153		0.837	0.841	0.813	0.837
M-7	0.265	0.170	0.192	0.242	0.198	0.178		0.831	0.811	0.840
M-8	0.181	0.176	0.108	0.233	0.172	0.173	0.186		0.850	0.817
M-9	0.253	0.193	0.139	0.216	0.119	0.208	0.209	0.162		0.814
M-10	0.172	0.167	0.202	0.215	0.168	0.179	0.174	0.202	0.206	

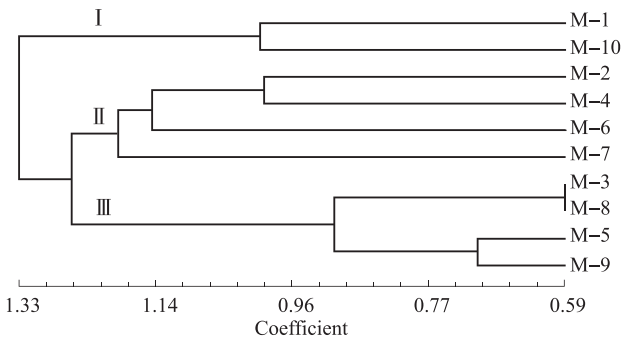


图 1 基于 Nei (1978) 遗传距离的 10 个扁蓊豆居群的聚类结果  
Fig. 1 Dendrogram showing the clustering of the 10 populations of *M. ruthenica* based on the genetic distance of Nei (1978)

2.4 聚类 and 主成分分析

用 AFLP 技术分析 10 份野生扁蓊豆居群间遗传相似系数 (GS) 范围为 0.767 ~ 0.898, 平均为 0.827。由相似系数矩阵可以看出, 在供试的 10 份野生扁蓊豆居群中, 来自内蒙古乌兰察布市的 M-7 和来自内蒙古海拉尔市的 M-1 之间的遗传相似系数最小, 为 0.767, 其遗传距离最大, 为 0.265; 而来自辽宁省辽阳县的 M-3 和内蒙古锡林浩特市的 M-8 之间的遗传相似系数最大, 为 0.898, 其遗传距离也最小, 为 0.108。由遗传相似系数分析可知, 供试材料之间差异明显, 具有较为丰富的遗传多样性。

根据相似系数可以把 10 个供试的野生扁蓊豆居群聚为 3 类 (图 1): 第 I 类包括 2 个居群, 分别为来自河北省围场地区的 M-1 和内蒙古海拉尔市的 M-10; 第 II 类包括 4 个居群, 分别来自于西藏扎达县的 M-2、吉林省公主岭市的 M-4、内蒙古呼和浩特市 M-6 和内蒙古乌兰察布市的 M-7; 第 III 类也包括 4 个居群, 分别是来自于辽宁省辽阳县的 M-3、山

西省平鲁县的 M-5、内蒙古锡林浩特市的 M-8 和内蒙古乌兰浩特市的 M-9。从聚类结果可以看出, 相同或相似地理来源和气候类型的材料基本能聚在一起, 说明遗传多样性与地理来源等自然环境状况有一定的关系。基于对 10 个扁蓊豆 AFLP 标记原始矩阵进行主成分分析 (图 2), 各材料的位置分布可以更直观地反映其种源间的遗传变异及亲缘关系, 位置相靠近者表示关系密切, 远离者表示关系疏远。3 个主成分显示的遗传变异分别为 32.07%、22.06% 和 17.11%, 将位置靠近的扁蓊豆居群归为一类, 可将供试材料大致分成 3 类, 与聚类结果基本一致。主成分分析结果更加直观地表明了不同扁蓊



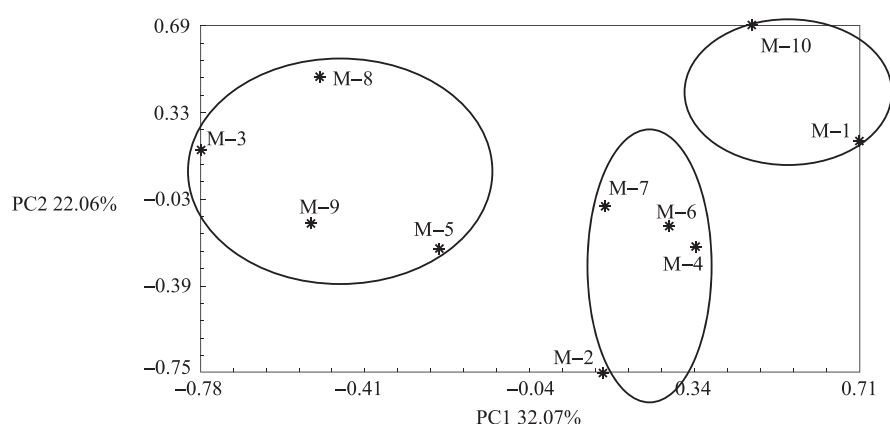


图2 10个扁蓊豆居群的主成分分析

Fig.2 PC analysis of the 10 populations of *M. ruthenica*

豆居群之间的亲缘关系。

通过 Mantal 测验,结果表明 10 个扁蓊豆居群的遗传距离矩阵和相应的地理距离之间存在极显著正相关,相关系数  $r = -0.898$ ,  $P < 0.01$ ,  $t = -6.223$ ,表明 AFLP 标记能够较准确地反映亲缘相近材料的遗传变异。

### 3 讨论

#### 3.1 AFLP 标记对扁蓊豆遗传多样性研究的有效性

分子标记的应用性评价是开展遗传多样性分析的基础工作之一<sup>[38]</sup>。由于所用标记技术和材料的不同,得出的结论不尽一致。本试验中,利用 AFLP 标记技术分析了供试的 10 个野生扁蓊豆居群的遗传多样性。经 PCR 条件优化后电泳的条带稳定,不随环境条件发生变化,试验结果稳定可靠。8 对引物在 10 个扁蓊豆基因组 DNA 中共检测出 640 条扩增带,其中多态性条带比例为 73.8%,此试验结果低于李鸿雁等<sup>[26]</sup>选取 14 份二倍体的黄花型扁蓊豆、细叶扁蓊豆和扁蓊豆运用 SSR 和 ISSR 标记获得的结果(多态性分别为 80.09%,87.08%)。与已发表的豆科植物如小花棘豆<sup>[39]</sup>、中间锦鸡儿<sup>[40]</sup>、昆仑锦鸡儿<sup>[41]</sup>的研究结果相一致,符合 J. L. Hamrick 等<sup>[42]</sup>提出的多年生异花授粉植物应该具有较高水平遗传多样性的统计分析。也说明了 AFLP 技术可以有效的检测扁蓊豆种质资源的遗传变异。

扁蓊豆 AFLP 多态性条带比率、Nei'基因多样性指数、Shannon 多态性信息指数和分子方差分析均表明,扁蓊豆具有一定的遗传变异水平,遗传变异主要存在于居群内(占 80.1%),而地区间变异、居群间的变异所占比重相对较小,表明扁蓊豆同一居群

内由于长期的自然选择压力的影响,逐渐发生突变并累积在居群内,造成了个体间的差异,这在一定程度上和前人研究<sup>[43]</sup>相吻合。

#### 3.2 聚类分析、主成分分析在扁蓊豆遗传多样性研究中的优势

本试验通过对 AFLP 标记所得的数据开展聚类分析和主成分分析,充分显示出了供试的野生扁蓊豆居群之间的遗传分化状况,将供试的扁蓊豆居群划分为不同的类群,在反映供试材料遗传分化的同时也显现出其聚类 and 主成分呈明显的地域性分布规律。试验证明,使用聚类 and 主成分分析能更充分地揭示材料间的亲缘关系,更有利于发现新的遗传变异,有助于遗传多样性的进一步研究。本试验将 10 个扁蓊豆居群分为了 3 大类,每一类中除个别居群外均来自于同一个地区,呈一定的地域相关性,可以看出,相似生态环境或相同地理来源的材料能聚在一起。

扁蓊豆为苜蓿属中的一个野生种,是改良和育成新品种的巨大基因库,利用分子标记开展多基因聚合育种是未来育种的前途所在。我国蕴藏着十分丰富的野生扁蓊豆种质资源,其生态环境多样化,资源类型非常丰富。深入开展扁蓊豆种质资源鉴定、评价和创新利用的研究,对挖掘扁蓊豆种质基因和遗传基础具有十分重要的意义。本研究方法也可作为今后扁蓊豆种质资源的创新利用和遗传多样性研究提供更为合理准确的参考。

#### 参考文献

- [1] Small E. Alfalfa and Relatives: Evolution and classification of *Medicago* [M]. Ottawa: NRC Research Press, 2011: 567-570
- [2] Small E, Jomphe M. A synopsis of the genus *Medicago* (Leguminosae) [J]. Can J Bot, 1989, 67: 3260-3294

- [3] 石凤翎,王明玖,王建光. 豆科牧草栽培[M]. 北京:中国林业出版社,2003:89
- [4] Zabeau M, Vos P. Selective restriction fragment amplification; A general method for DNA finger printing[P]. European Patent Application,1993:92402629
- [5] Vos P, Hogers V P, Bleeker R, et al. AFLP: A new technique for DNA finger printing [J]. Nucleic Acids Res, 1995, 21: 4407-4414
- [6] 牟少华,彭镇华,郅光发,等. 部分鸢尾属植物的 AFLP 标记[J]. 东北林业大学学报,2011,39(1):124-126
- [7] 胡尊红,郭鸿彦,胡学礼,等. 大麻品种遗传多样性的 AFLP 分析[J]. 植物遗传资源学报,2012,13(4):555-561
- [8] 田松杰,石云素,宋燕春,等. 利用 AFLP 技术研究玉米及其野生近缘种的遗传关系[J]. 作物学报,2004,30(4):354-359
- [9] 许云,吴文婧,谢俊,等. 111 份大薯种质资源遗传多样性 AFLP 分析[J]. 植物遗传资源学报,2014,15(2):299-304
- [10] 刘欢,慕平,赵桂琴. 基于 AFLP 的燕麦遗传多样性研究[J]. 草业学报,2008,17(6):121-127
- [11] 邓科君,张勇,鄯丹,等. 鼠尾草属部分物种 AFLP 指纹图谱构建及遗传多样性分析[J]. 植物遗传资源学报,2010,11(4):483-486,490
- [12] 关萍,石建明,陈放. 不同分布区天麻的 AFLP 分析[J]. 植物遗传资源学报,2013,14(1):70-77
- [13] 林鸿,刘三峡,陶秋莲,等. 3 种鸢尾属植物种质资源的 AFLP 分析[J]. 武汉大学学报:理学版,2012,58(4):332-336
- [14] 李凤鸣,张华新,杨秀艳. 省沽油群体遗传多样性的 AFLP 分析[J]. 植物遗传资源学报,2012,13(1):130-133
- [15] 徐微,张宗文,吴斌,等. 裸燕麦种质资源 AFLP 标记遗传多样性分析[J]. 作物学报,2009,35(12):2205-2212
- [16] 相怀军,张宗文,吴斌. 利用 AFLP 标记分析皮燕麦种质资源遗传多样性[J]. 植物遗传资源学报,2010,11(3):271-277
- [17] 师文贵,李志勇,李鸿雁,等. 扁蓿豆不同分布区野生居群形态多样性研究[J]. 西北植物学报,2009,29(5):867-873
- [18] 韩海波,师文贵,王晓娜,等. 内蒙古扁蓿豆野生资源形态特征研究[J]. 植物遗传资源学报,2011,12(5):721-726
- [19] 宁红梅,米福贵,李鸿雁,等. 野生黄花型扁蓿豆染色体核型分析[J]. 草地学报,2008,15(3):316-318
- [20] 额尔敦嘎日迪,中田晃. 内蒙古中东部野生扁蓿豆形态特征多变量分析[J]. 中国草地学报,2006,28(4):87-91
- [21] Campbell T A. Molecular analysis of genetic variation among alfalfa (*Medicago sativa* L.) and *Medicago ruthenica* clones[J]. Can J Plant Sci, 2000, 80: 773-779
- [22] Campbell T A, Bao G P, Xia Z L, et al. Completion of the agronomic evaluations of *Medicago ruthenica* [(L.) Ledebour] germplasm collected in Inner Mongolia[J]. Genet Resour Crop Evol, 1999, 46: 477-484
- [23] 李鸿雁,米福贵,宁红梅,等. 扁蓿豆遗传多样性的 SSR 分析[J]. 中国草地学报,2008,30(2):34-38
- [24] 李鸿雁,李志勇,米福贵,等. 中国扁蓿豆遗传多样性的表现和 SSR 标记分析[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版, 2012, 39: 65-72, 80
- [25] 李志勇,李鸿雁,石凤翎,等. 中国扁蓿豆遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 植物遗传资源学报,2012,13(1):48-51,56
- [26] 李鸿雁,李志勇,师文贵,等. 3 种生态型野生扁蓿豆种质资源 SSR 与 ISSR 遗传多样性分析[J]. 草业学报,2012,21(5):107-113
- [27] 李志勇,师文贵,李鸿雁,等. 内蒙古 3 种生态型扁蓿豆遗传多样性与亲缘关系的分析[J]. 西北植物学报,2009,29(12):2421-2428
- [28] 李鸿雁,李志勇,师文贵,等. 内蒙古扁蓿豆叶片解剖性状与抗旱性的研究[J]. 草业学报,2012,21(3):138-146
- [29] 李志勇,师文贵,于林清,等. 不同生态区扁蓿豆野生居群种子产量性状遗传多样性分析[J]. 华北农学报,2010,25(1):99-103
- [30] 宿宇,王建光,卢新雄. AFLP 分析人工老化对扁蓿豆遗传完整性的影响[J]. 草地学报,2012,20(1):125-129
- [31] Weir B S. Genetic data analysis: methods for discrete population genetic data[M]. Sunderland: Sinauer Associates, 1990
- [32] Yeh F C, Yang R C, Boyle T. POPGENE version 1.32: Microsoft Windows-based freeware for population genetic analysis, quick user guide[M]. Canada: University of Alberta, 1999
- [33] Rohlf F J. NTSYS pc: Numerical Taxonomy System, ver. 2. 20 [M]. Setauket: Exeter Publishing Ltd., 2008
- [34] Peakall R, Smouse P E. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research [J]. Mol Ecol Notes, 2006, 6: 288-295
- [35] Peakall R, Smouse P E. GenAEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update [J]. Bioinformatics, 2012, 28: 2537-2539
- [36] Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals [J]. Genetics, 1978, 89: 583-590
- [37] Nei M. Analysis of gene diversity in subdivided populations [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1973, 70(12): 3321-3323
- [38] 王普昶,赵丽丽,易津,等. 内蒙古野生华北驼绒藜种群遗传多样性和遗传分化研究[J]. 草业学报,2011,20(4):287-292
- [39] 卢萍,赵萌莉,韩国栋,等. 内蒙古小花棘豆遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 西北植物学报,2007,27(6):1102-1107
- [40] 杨明博,杨劫,杨九艳,等. 鄂尔多斯高原不同降雨量地区中间锦鸡儿 (*Caragana davazamcii* Sanchez) 种群的 ISSR 遗传分析[J]. 植物生理学通讯,2006,42(3):411-416
- [41] 刘美华,李忠超,陈海山,等. 昆仑锦鸡儿 (豆科) 的遗传多样性研究[J]. 广西植物,2005,25(1):53-57
- [42] Hamrick J L, Godt M J W, Sherman-Broyles S L. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species [J]. New Forest, 1992, 6: 95-124
- [43] Wang, Z, Gao H W, Wu Y Q, et al. Genetic diversity and population structure of *Caragana korshinskii* revealed by AFLP [J]. Crop Sci, 2007, 47: 1737-1743