

# 秦巴山区野板栗居群遗传多样性 AFLP 分析

艾呈祥<sup>1</sup>, 沈广宁<sup>1</sup>, 张 凯<sup>1</sup>, 田寿乐<sup>1</sup>, 许 林<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 山东果树研究所, 泰安 271000; <sup>2</sup> 山东英才学院农学院, 济南 250104)

**摘要:**利用荧光 AFLP 标记技术对来自秦巴山区的野板栗 10 个居群共 262 个单株进行遗传多样性研究。10 对 AFLP 引物共扩增出 1297 条谱带, 其中多态性位点数 1011 个, 多态位点百分率为 77.95%; Nei's 基因多样性指数为 0.1439~0.2046, 总体为 0.2518; Shannon 信息指数的变异范围为 0.1972~0.2895, 总体为 0.4089; 甘肃地区野板栗居群遗传多样性水平最高, 陕西宝鸡居群的遗传多样性水平最低。AMOVA 分析表明野板栗居群间的遗传变异占总变异的 17.51%, 居群内变异占 69.76%。UPGMA 聚类可将供试 10 个居群划分为 3 类, 聚类结果表现出明显的地域性。

**关键词:**板栗; 野生居群; 遗传多样性; AFLP

## Genetic Diversity on Wild Populations of Chestnut in Qinba Mountain Area of West China with AFLP Markers

AI Cheng-xiang, SHEN Guang-ning, TIAN Shou-le, XU Lin

(<sup>1</sup> Shandong Institute of Pomology, Taian 271000; <sup>2</sup> Department of Agronomy, ShandongYingcai College, Jinan 250104)

**Abstract:** Genetic diversity of 262 single individual plants representing 10 wild populations, which were derived from Qinba mountain area of West China, was assessed with Fluorescent AFLP Technique. A total 1297 fragments were generated from 10 pairs of selective AFLP primer combinations, 1011 of them were polymorphic. The level of polymorphism was 77.95%. Nei's gene diversity index ranged from 0.1439 to 0.2046 for different populations, with the total value of 0.2518. Shannon information index ranged from 0.1972 to 0.2895, with the total value of 0.4089. The chestnut populations from Gansu district had the highest genetic diversity, however, those from Baoji Shaanxi district were the lowest. The result of AMOVA analysis showed that the genetic variation within populations was 69.76% and the variation among populations was 17.51%. Ten populations were clustered into 3 groups by UPGMA dendrogram, which was significantly correlated with the geographic distribution of the materials.

**Key words:** Chestnut; Wild population; Genetic diversity; AFLP

栗属 (*Castanea* Mill.) 植物是原产我国的宝贵资源, 迄今在西北、西南及长江流域仍蕴藏有丰富的板栗 (*Castanea mollissima* Bl.) 野生资源, 即野板栗, 自然分布于秦岭、淮河以南地区, 野板栗具有和板栗相同的叶片、花器和果实结构特征, 但是在生物学特征上表现为比较矮生, 一年中有 2~3 次连续开花结果, 以及早稔性、坚果小 (1~2g) 等野生性状, 统称野板栗<sup>[1-2]</sup>。20 世纪 80 年代以来, 随着商业化栽培在野板栗分布区域的快速发展, 板栗的野生居群数

量逐年减少<sup>[3-4]</sup>。

秦巴山区野生板栗资源主要分布在陕西的宝鸡、略阳、勉县、汉中, 甘肃的天水、两当、成县、康县、徽县和四川的广元一带, 是我国栗属资源极为丰富的地区之一, 区内自然条件多样, 生物资源丰富, 是我国天然植物种质资源宝库, 在基因、物种和生态系统多样性上均是国家乃至全球战略意义上的关键地区。因此也成为野生板栗资源遭受破坏的重灾区, 对其加强保护使其能可持续利用迫在眉睫<sup>[5]</sup>。近

收稿日期: 2010-07-26 修回日期: 2010-10-09

基金项目: 山东省农业良种工程 (2010Lz010); 国家科技支撑计划 (2008BAD92B03)

作者简介: 艾呈祥, 助理研究员, 主要从事果树种质资源及分子标记育种的研究。E-mail: chengxiang\_1975@163.com

通讯作者: 刘庆忠, 研究员, 主要从事果树种质资源及生物技术研究。E-mail: qzliu@sdip.cn

年来,人们逐渐认识到保护属植物的重要性,并开展了初步的保护生物学研究,但大多数是在缺乏基本的生物学研究尤其是保护遗传学研究的情况下进行,很难制定科学合理的保护和抢救措施<sup>[6-8]</sup>。

目前,国内外对板栗种质资源遗传多样性的研究取得了一定进展,分别利用 RAPD<sup>[9-11]</sup>、ISSR<sup>[8,12]</sup>、SSR<sup>[4,13-18]</sup>和 AFLP<sup>[19-20]</sup>等分子标记技术对板栗栽培品种间的遗传背景和遗传基础进行了多样性分析,对板栗资源的开发利用、制定科学的资源保护策略以及新品种选育具有重要的指导意义。然而,目前对野生板栗分布范围和遗传多样性等方面的了解仍然十分模糊。利用分子标记技术研究秦巴山区板栗,尤其是野生板栗遗传变异的研究鲜见报道。本试验利用 AFLP 标记技术对秦巴山区野生板栗居群进行多态性标记分析,用以揭示野生板栗的遗传基础,为野板栗种质资源的科学保护和可持续利用,以及板栗的杂交育种提供一定的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

材料采集于野生板栗资源主要分布区秦巴山区,包括陕西的宝鸡、略阳、勉县、汉中,甘肃的天水、两当、成县、康县、徽县和四川的广元,共计 10 个居群,262 个单株(表 1)。调查过程中,对于个体数大于 25 株的居群按照均匀分布、随机取样的原则进行采样,而对于个体数少于 25 株的居群进行全部个体采样<sup>[8]</sup>。所有样品在国家果树种质泰安板栗圃进行迁地保存。

表 1 供试居群的编号、来源及样本量

Table 1 Sample size, origin and population No. of experiment materials

居群编号 Populations No.	来源 Origin	样本量 Sample size
1	陕西宝鸡	25
2	陕西略阳	29
3	陕西勉县	24
4	陕西汉中	23
5	甘肃天水	27
6	甘肃两当	35
7	甘肃成县	21
8	甘肃康县	26
9	甘肃徽县	33
10	四川广元	19

### 1.2 方法

1.2.1 DNA 提取 采用改良的 CTAB 法<sup>[21]</sup>提取板栗叶片的基因组 DNA。

1.2.2 酶切与连接 AFLP 分析所用试剂盒从大连宝生物技术公司购买,按照说明进行操作。各样品基因组 DNA 的酶切和接头的连接在同一反应中进行。在 60 $\mu$ l 反应体系中含有 DNA 模板(100ng/ $\mu$ l)4 $\mu$ l, *Mse* I 和 *Pst* I 接头 1 $\mu$ l, *Mse* I (4U/ $\mu$ l) 和 *Pst* I (4U/ $\mu$ l) 2 $\mu$ l, 10 $\times$  PCR Buffer 6 $\mu$ l, 10mmol/L ATP 1.2 $\mu$ l, *T<sub>4</sub>* Ligase(1U/ $\mu$ l)1 $\mu$ l, 超纯水 5 $\mu$ l。将上述混合液均匀离心数秒,37 $^{\circ}$ C 保温 3~5h,4 $^{\circ}$ C 过夜。

1.2.3 预扩增反应 用预扩增引物组合进行预扩增。反应体系为 25 $\mu$ l。含酶切-连接产物 4 $\mu$ l, *Mse* I 和 *Pst* I 预扩增引物 1 $\mu$ l, dNTPs(1.25mmol/L) 4 $\mu$ l, 10 $\times$  PCR Buffer 3.25 $\mu$ l, *Taq* DNA 聚合酶(5U/ $\mu$ l)0.2 $\mu$ l, 超纯水 11.55 $\mu$ l。预扩增反应程序为:94 $^{\circ}$ C 变性 30s, 55 $^{\circ}$ C 复性 1min, 72 $^{\circ}$ C 延伸 1min, 循环 19 次。预扩增产物稀释 10 倍, -20 $^{\circ}$ C 保存备用。

1.2.4 选择性扩增反应 用荧光标记的经过筛选的 49 对引物(表 2)进行正式选择性扩增。其中 *Pst* I 引物的 5'端用荧光染料进行标记。反应体系为 20 $\mu$ l。含预扩增产物稀释后的 DNA 样品 5 $\mu$ l, 10 $\times$  PCR Buffer 2 $\mu$ l, dNTPs(1.25mmol/L)3.9 $\mu$ l, *Mse* I 引物(25 $\mu$ g/ml)1 $\mu$ l, *Pst* I 引物(25 $\mu$ g/ml)0.5 $\mu$ l,

表 2 AFLP 分析的接头与引物对

Table 2 Adaptors and primer pairs used for AFLP analysis

引物 Primer	序列 Sequence
接头引物 Adaptors	<i>Pst</i> I 5'-CTCGTAGACTGCCTACATGCA-3' 3'-CATCTGACGGATGT-5' <i>Mse</i> I 5'-GACGATGAGTCTCTGAG-3' 3'-TACTCAGGACTCAT-5'
预扩增引物 pre-PCR amplifications	P0 5'-GACTGCGTACATGCAAG-3' M0 5'-GATGAGTCTCTGAGTAA-3' P1 5'-GACTGCGTACATGCAAGAA-3'
选择性扩增引物 selective amplification	P2 5'-GACTGCGTACATGCAAG-3' P3 5'-GACTGCGTACATGCAAG-3' P4 5'-GACTGCGTACATGCAAG-3' P5 5'-GACTGCGTACATGCAAG-3' P6 5'-GACTGCGTACATGCAAG-3' P7 5'-GACTGCGTACATGCAAG-3' M1 5'-GATGAGTCTCTGAGTAA-3' M2 5'-GATGAGTCTCTGAGTAA-3' M3 5'-GATGAGTCTCTGAGTAA-3' M4 5'-GATGAGTCTCTGAGTAA-3' M5 5'-GATGAGTCTCTGAGTAA-3' M6 5'-GATGAGTCTCTGAGTAA-3' M7 5'-GATGAGTCTCTGAGTAA-3'

选择性扩增引物为 P1~7 和 M1~7 两两组合共 49 对

Primers for the selective amplification were P1-7  $\times$  M1-7, the total was 49 primer pairs

*Taq* DNA 聚合酶(5U/ $\mu$ l)0.1 $\mu$ l, 超纯水 13.3 $\mu$ l。选择性扩增 PCR 程序为:94 $^{\circ}$ C 1min, 65 $^{\circ}$ C (以后每轮循环温度递减 0.7 $^{\circ}$ C) 30s, 72 $^{\circ}$ C 60s, 扩增 12 轮; 然后 94 $^{\circ}$ C 30s, 55 $^{\circ}$ C 30s, 72 $^{\circ}$ C 60s, 再进行 23 个循环。

**1.2.5 扩增产物变性和荧光检测** 96 孔板中, 分别加入 1 $\mu$ l FAM、2 $\mu$ l NED、3 $\mu$ l HEX 和 22 $\mu$ l 超纯水, 5000r/min 离心 1min。于 PCR 仪上 95 $^{\circ}$ C 变性 5min, 立即置于冰上。在 ABI3700 DNA 分析仪上完成自动荧光检测。

**1.2.6 数据分析** 利用 GeneScan 3.1 软件将 10 个居群, 262 个样本 16 对荧光引物产生的电泳图转换为 0,1 矩阵。采用 Gene Pop32 软件对 AFLP 扩增结果进行遗传分析, 分别计算 Nei's 基因多样性指数、Shannon 信息指数、多态位点百分率 (PPB) 及 Nei's 遗传一致度 (*I*) 和遗传距离 (*D*)<sup>[22]</sup>; 根据相似系数, 以非加权类平均数 (UPGMA) 进行聚类分析。采用 Arlequin2.0 软件对居群间、地区间和居群内个体间的遗传变异进行分子变异分析<sup>[23]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同引物组合扩增产物的多态性

通过对 49 对 AFLP 引物的筛选, 经过多次重复和比较, 最终确定 10 对带型清晰、多态性丰富、稳定性好的引物作为检测野板栗居群遗传多样性的特异引物 (表 3)。其中引物组合 P2M5 扩增出的 DNA 多态性条带百分率最高, 为 91.09%, 引物组合 P7M2 扩增的 DNA 多态性条带百分率最低, 为 60.00%。

表 3 10 对引物组合的扩增结果

Table 3 The results applied with 10 primer pairs

引物组合 Primer pair	扩增谱条 带数 No. of bands	多态位点数 No. of polymorphic loci	多态位点 百分率 (%) Percentage of polymorphic bands
P1M3	127	96	75.59
P2M5	134	122	91.09
P2M7	119	83	69.74
P3M1	126	91	72.22
P4M4	141	107	75.88
P5M2	154	135	87.66
P5M6	128	106	82.81
P6M1	107	79	73.83
P7M2	125	75	60.00
P7M4	136	117	86.03
总数 Total	1297	1011	77.95

### 2.2 野板栗居群的遗传多样性

利用荧光 AFLP 技术对 10 个野生板栗居群 262 个个体的基因组 DNA 进行分析, 共扩增出清晰可重复的谱带 1297 条, 其中多态性谱带 1011 条, 多态位点百分率为 77.95%, 平均每对引物有 101.1 个等位变异 (表 3)。不同居群之间多态性位点百分率差异甚大, 甘肃地区多态位点百分率最高, 为 70.43%, 供试的 5 个居群中成县的最低, 为 38.63%, 徽县居群最高, 为 47.51%; 其次为陕西地区, 占 64.39%, 供试的 4 个居群中宝鸡的最低, 为 39.48%, 略阳居群最高, 为 46.88%; 四川广元地区多态性条带比率 (61.03%) 最低, 但其供试居群 (41.17) 略高于陕西宝鸡和甘肃成县居群。说明甘肃地区的居群遗传变异最丰富, 其次是陕西和四川居群变异幅度较小。

在居群水平上, Shannon 信息指数的变化趋势与 Nei's 基因多样性指数基本保持一致。Nei's 基因多样性指数分布范围为 0.1439 ~ 0.2046, 总体为 0.2518, 其中甘肃地区的野板栗遗传多样性最高, 居群间变化最大, 为 0.1577 ~ 0.2046, 其次为陕西地区, 来自略阳和勉县的居群遗传多样性指数高于宝鸡和汉中的居群遗传多样性指数。四川广元居群遗传多样性指数也较低; Shannon 信息指数的分布范围为 0.1972 ~ 0.2895, 总体为 0.4089 (表 4)。Nei's 基因多样性指数和 Shannon 信息指数进一步表明, 来自不同地区的 10 个野生板栗居群间均存在一定程度的遗传分化, 其中甘肃地区的徽县居群遗传多样性指数最高, Nei's 基因多样性指数为 0.2046, Shannon 信息指数为 0.2895。最低的为陕西宝鸡居群, Nei's 基因多样性指数为 0.1439, Shannon 信息指数为 0.1972。

### 2.3 野板栗居群的遗传结构

AMOVA 分析结果表明野板栗居群间存在一定程度的遗传分化, 在总的遗传变异中, 引起野板栗种质资源遗传变异以居群内部个体间变异为主, 占 69.76%, 居群间和地区间遗传分化程度较低, 分别为 12.73% 和 17.51% (表 5)。

### 2.4 聚类分析

利用 AFLP1297 条谱带建立遗传相似矩阵, 按照 UPGMA 方法进行聚类分析, 构建 10 个野板栗居群亲缘关系图 (图 1)。以相似系数 0.6375 为标准, 可以将 10 个居群分为 3 组。从图中可以看出略阳居群和勉县居群的遗传距离最近, 首先聚在一起, 再和汉中居群聚为一组; 宝鸡、两当、徽县和天水 4 个居群在与其他居群相聚之前优先聚在一起, 再与成

县和康县 2 个居群组成另一组;而四川广元居群与其他各居群的遗传距离均较大,单独成一组。另外陕西

宝鸡与甘肃两当的两个居群优先聚在一起,说明了这两个地区的野板栗种质间具有较近的亲缘关系。

表 4 野板栗居群的遗传多样性

Table 4 Genetic diversity of wild populations of chestnut

居群编号 Population No.	多态位点数 No. of polymorphic loci		多态位点百分率(%) Percentage of polymorphic loci		Nei 基因多样性 Nei's genetic diversity		Shannon 信息指数 Shannon's index of diversity	
	居群 Population	地区 District	居群 Population	地区 District	居群 Population	地区 District	居群 Population	地区 District
	1	537	651	41.40	64.39	0.1439	0.2066	0.1972
2	608		46.88		0.1974		0.2799	
3	576		44.41		0.1611		0.2351	
4	512		39.48		0.1811		0.2640	
5	543	712	41.87	70.43	0.1577	0.2191	0.2176	0.3271
6	535		41.25		0.1745		0.2408	
7	617		47.51		0.1744		0.2366	
8	501		38.63		0.1782		0.2560	
9	580		44.72		0.2046		0.2895	
10	534	617	41.17	61.03	0.1610	0.1917	0.2333	0.2870
总计 Total	1011		77.95		0.2518		0.4089	

表 5 10 个野板栗居群的 AMOVA 分析

Table 5 Analysis of molecular variance(AMOVA) on 262 individuals from 10 wild populations of chestnut

变异来源 Source of variance	自由度 df	平方和 SS	变异组分 Variance component	百分率(%) Percentage	概率 P*
地区间 District	2	2752.421	6.993	12.73	<0.001
地区内居群间 Intra population	7	2194.778	9.872	17.51	<0.001
居群内个体间 Inter population	252	10986.649	35.556	69.76	<0.001
总计 Total	261	15933.848	56.421		

\* 把居群中的样本经过 1000 次随机排列而得

\* Probabilities were calculated by 1000 random permutations of individuals across populations

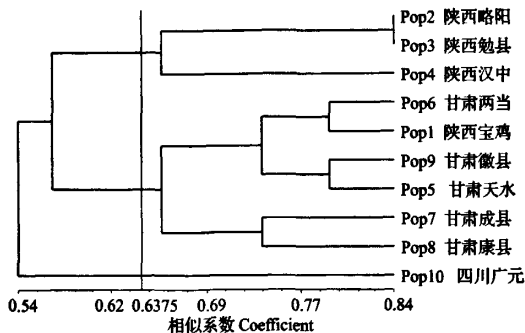


图 1 居群间 Nei's 遗传距离的 UPGMA 聚类图

Fig.1 UPGMA dendrogram for 10 wild chestnut populations based on Nei's genetic identities

### 3 讨论

#### 3.1 野板栗居群的遗传多样性

秦巴山区野板栗居群间的生境差异较大,海拔

高度为 1500 ~ 3200m,随着海拔的升高,气候、植被、土壤等也呈现明显的垂直变化,因而造成 10 个居群间的遗传多样性水平也存在较大差异。板栗 AFLP 多态性条带比率、Nei's 基因多样性指数、Shannon 多态性信息指数、聚类分析和分子方差分析均表明,板栗具有一定的遗传变异水平,遗传变异主要存在于居群内部个体之间(占 69.76%),而地区间变异、居群间的变异所占比重相对较小,表明板栗同一居群内由于长期的自然选择压力的影响,逐渐发生突变并累计在居群内,造成了个体间的差异,这在一定程度上和前人的研究相吻合<sup>[10,24-25]</sup>。试验还表明聚类结果与材料的地理来源具有高度的一致性。如暴朝霞等<sup>[5]</sup>采用 9 个酶系统的 15 个同工酶位点,对 89 个地方板栗品种进行了遗传多样性分析,体现了在遗传构成上同地域的板栗品种具有遗传关系相近的特点。田华等<sup>[18]</sup>采用 8 对微卫星分子标记对中国

板栗的28个自然居群进行了遗传多样性与遗传结构分析,群体间遗传分化系数为0.016~0.278, Mantel 检测结果表明,中国板栗居群的遗传距离与地理距离之间无显著相关性。

分子标记检测到的板栗居群遗传多样性水平与居群的大小相关,较大的居群趋向于具有更高的遗传多样性水平<sup>[8]</sup>。本试验选择了10个野生板栗群体,每个群体的采样数在19~35株之间,按照均匀分布、随机取样的原则进行采样,跨越了多个气候带和土壤带,利用 AFLP 标记技术稳定性和可靠性高,结果更加准确。

### 3.2 野板栗资源的保护与利用

随着商业化栽培在野板栗分布区域的快速发展和无计划的毁灭性砍伐,使得居群数量迅速减少,板栗资源遭到严重破坏。现存野板栗资源多呈零星分布,大面积分布已不多见,居群数量明显减少,有的地方甚至濒临枯竭,资源多样性严重减少。野板栗资源保护迫在眉睫。

物种的遗传多样性水平在一定程度上体现着这个物种适应环境的能力,制约着物种适应性进化水平,同时物种的遗传多样性水平可以为其现状和保护价值的评估提供非常重要的信息<sup>[26]</sup>。虽然野板栗没有被国家列为重点保护植物,但它不仅是世界上食用栗品种改良的重要遗传资源,而且在板栗起源与进化研究中发挥了重要作用,对于世界板栗资源保护和利用具有重要意义,是抗病、抗虫育种的重要种质资源。从本研究结果来看,甘肃徽县和陕西略阳居群遗传多样性最高,是保护和利用的重点;同时,野板栗居群间产生了较大的遗传变异,遗传变异的分布有一定的地域性,因此也要注意其他地区野板栗的保护和利用。保护和挽救宝贵的栗属野生资源,停止以损失野生资源为代价的板栗栽培品种高接野板栗的野生栗改造法,充分挖掘当地资源优势,开展多种选育方法的品种改良,成为栗属植物资源保护、发展和可持续利用的当务之急。

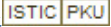
致谢:本研究得到了澳大利亚南澳洲发展研究所基因研究中心 Klaus Oldach 博士的大力帮助和指导,在此表示衷心感谢!

### 参考文献

- [1] 柳望,蔡剑华,张宇和. 板栗[M]. 北京:科学出版社,1998:4-10
- [2] 王凤才,李国田,刘庆忠. 板栗野生近缘种——野板栗及其命名建议[J]. 落叶果树,2009,41(6):13-15

- [3] 余凌帆,罗成荣,龚固堂,等. 四川秦巴山区野生板栗的改造[J]. 经济林研究,2004,22(2):81-83
- [4] 黄武刚,程丽莉,周志军,等. 板栗野生居群与栽培品种间叶绿体微卫星遗传差异初探[J]. 林业科学,2009,45(10):62-68
- [5] 暴朝霞,黄宏文. 板栗主栽品种的遗传多样性及其亲缘关系分析[J]. 园艺学报,2002,29(1):13-19
- [6] 黄宏文. 从世界栗属植物研究的现状看中国栗属资源保护的重要性[J]. 武汉植物学研究,1998,16(2):171-176
- [7] 李昂,葛颂. 植物保护遗传学研究进展[J]. 生物多样性,2002,10(1):61-71
- [8] 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
- [9] Wang X Q, Zou Y P, Zhang D M. Genetic diversity analysis by RAPD in *Cathaya argyrophylla* Chun et Kuang[J]. Sci in China: Series C, 1997, 40(2):1945-1951
- [10] Huang H W, Dane F, Kubisiak T L, et al. Allozyme and RAPD analysis of genetic diversity and geographic variation in wild populations of the American chestnut (*Fagaceae*) [J]. Am J Bot, 1998, 85(7):1013-1021
- [11] Fornari B, Turchini D, Villani F. Genetic structure and diversity of two Turkish *Castanea sativa* Mill. population investigated with isozyme and RAPD polymorphisms[J]. J Gene Breed, 1999, 53(2):315-325
- [12] Casasoli M, Mattioni C, Cherubini M, et al. A genetic linkage map of European chestnut (*Castanea sativa* Mill.) based on RAPD, ISSR and isozyme markers[J]. Theor Appl Genet, 2001, 102(8):1190-1199
- [13] Buck E J, Hadonou M, James C J, et al. Isolation and characterization of polymorphic microsatellites in European chestnut (*Castanea sativa* Mill.) [J]. Mol Ecol, 2003, 3(2):239-241
- [14] Marinoni D, Akkac A, Bounous G, et al. Development and characterization of microsatellite markers in *Castanea sativa* (Mill.) [J]. Mol Breed, 2003, 11(2):127-136
- [15] Tanaka T, Yamamoto T, Suzuki M. Genetic diversity of *Castanea crenata* in northern Japan assessed by SSR markers [J]. Breed Sci, 2005, 55(3):271-277
- [16] 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:茅栗自然居群间遗传结构的 SSR 分析[J]. 植物生态学报, 2006, 30(1):147-156
- [17] 艾呈祥,余赞美,张力思,等. 中国部分板栗品种的 SSR 标记[J]. 农业生物技术学报, 2007, 15(2):283-289
- [18] 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
- [19] 王同坤,柏素花,董超华,等. 燕山板栗种质资源 AFLP 遗传多样性分析[J]. 分子植物育种, 2007, 5(1):121-127
- [20] 艾呈祥,张力思,魏海蓉,等. 部分板栗品种遗传多样性的 AFLP 分析[J]. 园艺学报, 2008, 35(5):747-752
- [21] Doyle J J, Doyle J H. Isolation of plant DNA from fresh tissue [J]. Focus, 1990, 12(1):13-15
- [22] Nei M. Analysis of gene diversity in subdivided populations[J]. Proc Nat Acad Sci USA, 1973, 70:3321-3323
- [23] Weir B S, Cockerham C C. Estimating F-statistics for the analysis of population structure [J]. Evolution, 1984, 38:1358-1370
- [24] Hamrick J L. Isozyme and analysis of genetic structure in plant population [M] // Solits D E, Solits P S. Isozymes in plants biology, Portland: Dioscorides Press, 1989, 87-105
- [25] 刘国华,方精云. 我国栗属物种 (*Castanea millissima*) 地理分布及其空间特征[J]. 生态学报, 2001, 21(1):164-170
- [26] Hogbin P M, Perkall R. Evaluation of the contribution of genetic research to the management of the endangered plant *Zieria prostrata* [J]. Conserv Biol, 1999, 13:514-522

# 秦巴山区野板栗居群遗传多样性AFLP分析

作者: [艾呈祥](#), [沈广宁](#), [张凯](#), [田寿乐](#), [许林](#)  
作者单位: [山东果树研究所, 泰安, 271000](#)  
刊名: [植物遗传资源学报](#)   
英文刊名: [JOURNAL OF PLANT GENETIC RESOURCES](#)  
年, 卷(期): 2011, 12(3)

## 参考文献(26条)

1. [Hosbin P M;Perkall R](#) [Evaluation of the eontribution of genetic research to the management of the endangered plant Zieria prostrate](#) 1999
2. [刘国华;方精云](#) [我国栗属物种\(Castanea millissima\)地理分布及其空间特征](#) 2001(01)
3. [Hamrick J L](#) [Isozyme and analysis of genetic structure in plantpopulation](#) 1989
4. [Weir B S;Cockerham C C](#) [Estimating F-statistics for the analysis of population structure](#)[外文期刊] 1984
5. [Nei M](#) [Analysis of gene diversity in subdivided populations](#)[外文期刊] 1973
6. [Doyle J J;Doyle J H](#) [Isolation of plant DNA from fresh tissue](#) 1990(01)
7. [艾呈祥;张力思;魏海蓉](#) [部分板栗品种遗传多样性的AFLP分析](#) 2008(05)
8. [王同坤;柏素花;董超华](#) [燕山板栗种质资源AFLP遗传多样性分析](#) 2007(01)
9. [田华;康明;李丽](#) [中国板栗自然居群微卫星\(SSR\)遗传多样性](#) 2009(03)
10. [艾呈祥;余贤美;张力思](#) [中国部分板栗品种的SSR标记](#) 2007(02)
11. [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](#) 2006(01)
12. [Tanaka T;Yamamoto T;Suzuki M](#) [Genetic diversity of Castanea crenata in northern Japan assessed by SSR marker8](#) 2005(03)
13. [Marinoni D;Akkak A;Bounous G](#) [Development and characterization of microsatellite markers in Castanea sativa\(Mill\)](#) [外文期刊] 2003(02)
14. [Buck E J;Haddon M;James C J](#) [Isolation and characterization of polymorphie microsatellites in European chestnut\(Castanea sativa Mill.\)](#) 2003(02)
15. [Casasoli M;Mattioni C;Cherubini M](#) [A genetic linkage map of European chestnut\(Castanea sativa Mill.\)based on RAPD. IS-SR and isozyme markers](#)[外文期刊] 2001(08)
16. [Fomafi B;Taurehini D;Villani F](#) [Genetic structure and diversity of two Turkish Castanea sativa Mill.population investigated with isozyme and RAPD polymorphisms](#) 1999(02)
17. [Huang H W;Dane F;Kubisiak T L](#) [Allozyme and RAPD analysis of genetic diversity and geographic variation in wild populations of the American chestnut\(Fagaceae\)](#)[外文期刊] 1998(07)
18. [Wang X Q;Zou Y P;Zhang D M](#) [Genetic diversity analysis by RAPD in Cathaya argyrophylla Chun et Kuang](#) 1997(02)
19. [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)
20. [李昂;葛颂](#) [植物保护遗传学研究进展](#) 2002(01)
21. [黄宏文](#) [从世界栗属植物研究的现状看中国栗属资源保护的重要性](#) 1998(02)
22. [暴朝霞;黄宏文](#) [板栗主栽品种的遗传多样性及其亲缘关系分析](#) 2002(01)

23. [黄武刚;程丽莉;周志军](#) [板栗野生居群与栽培品种间叶绿体微卫星遗传差异初探](#) 2009(10)
24. [余凌帆;罗成荣;龚固堂](#) [四川秦巴山区野生板栗的改造](#) 2004(02)
25. [王凤才;李国田;刘庆忠](#) [板栗野生近缘种--野板栗及其命名建议](#) 2009(06)
26. [柳鏊;蔡剑华;张宇和](#) [板栗](#) 1998

本文链接: [http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical\\_zwyczyxb201103012.aspx](http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zwyczyxb201103012.aspx)