

网络出版时间:2020-01-20 13:39 DOI:10.13207/j.cnki.jnwfufu.2020.08.016
网络出版地址:http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1390.s.20200119.0923.012.html

28 份余甘子品种遗传多样性的 ISSR 分析及 指纹图谱构建

邵雪花,刘 牛,赖 多,肖维强,匡石滋

(广东省农业科学院 果树研究所/农业部南亚热带果树生物学与遗传资源利用重点实验室/
广东省热带亚热带果树研究重点实验室,广东 广州,510640)

【摘 要】 【目的】利用 ISSR 分子标记技术对 28 份余甘子种质资源进行遗传多样性分析,并构建其指纹图谱。【方法】从 96 条 ISSR 引物中筛选得到 9 条核心引物,用作广东省农业科学院收集的华南地区 28 份余甘子品种分子标记,利用 UPGMA 聚类分析余甘子种质资源遗传多样性,以核心引物 UBC809 和 UBC886 组合构建余甘子 DNA 指纹图谱。【结果】9 条 ISSR 核心引物对 28 份余甘子样品扩增共得到 686 条条带,其中多态性条带 667 条,多态率为 97.23%。通过聚类分析将 28 份余甘子样品聚为 4 类,其中大果油甘和甜油甘 5 号遗传分化较大,各单独聚为一类,珍珠油甘、甜油甘 2 号和甜油甘 4 号聚为一类,其余 23 个品种聚为一类。利用核心引物 UBC809 和 UBC886 组合,成功构建了余甘子 DNA 指纹图谱,供试 28 份余甘子品种(系)每个都有一套唯一的指纹图谱编码。【结论】成功构建了 28 份余甘子种质的指纹图谱,可用于余甘子种质资源的分类与鉴定,同时可用于余甘子杂交新品种选育。

【关键词】 ISSR 分子标记;余甘子;种质资源;遗传多样性;指纹图谱

【中图分类号】 S667.9

【文献标志码】 A

【文章编号】 1671-9387(2020)08-0129-08

Genetic diversity analysis and DNA fingerprint mapping of 28 varieties of *Phyllanthus emblica* L. based on ISSR molecular marker

SHAO Xuehua, LIU Niu, LAI Duo, XIAO Weiqiang, KUANG Shizi

(Institute of Fruit Tree Research, Guangdong Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of South Subtropical
Fruit Biology and Genetic Resource Utilization (MOA)/Guangdong Province Key Laboratory of Tropical and Subtropical
Fruit Tree Research, Guangzhou, Guangdong 510640, China)

Abstract: 【Objective】 The genetic diversity of 28 emblica (*Phyllanthus emblica* L.) germplasm resources in South China collected by Guangdong Academy of Agricultural Sciences was analyzed by ISSR molecular marker technique and fingerprints were constructed. 【Method】 Nine pairs of core primers were screened from 96 pairs of ISSR primers for molecular markers of emblica and the genetic diversity of emblica germplasm resources was analyzed by UPGMA clustering. The DNA fingerprints were constructed according to primers UBC809 and UBC886. 【Result】 Nine pairs of ISSR core primers amplified 28 samples of emblica with a total of 686 bands and 667 polymorphic bands with a polymorphic ratio of 97.23%. Through cluster analysis, 28 samples were clustered into 4 categories. Big fruit emblica and Sweet emblica No. 5 had large genetic differentiation and were clustered into separate group. Pearl emblica, Sweet emblica No. 2 and Sweet emblica No. 4 were grouped together, and the remaining 23 varieties were grouped together. Combi-

【收稿日期】 2019-08-15

【基金项目】 广东省农业厅乡村振兴战略专项“油甘果新品种引进培育示范及矮化栽培技术研究应用”

【作者简介】 邵雪花(1983—),女,宁夏石嘴山人,助理研究员,博士,主要从事余甘子栽培育种研究。

E-mail: sxh19831017@163.com

【通信作者】 匡石滋(1963—),男,江西九江人,教授,主要从事果树育种研究。E-mail: kuangshizi@126.com

ning the core primers of UBC809 and UBC886,the DNA fingerprints of emblica were successfully constructed. Each of the 28 varieties of emblica had one unique fingerprint coding.【Conclusion】 The fingerprints constructed in this study can be used to classify and identify the germplasm resources of emblica,and for the breeding of new varieties.

Key words: ISSR molecular maker; *Phyllanthus emblica* Linn; germplasm resource; genetic diversity; fingerprint

余甘子(*Phyllanthus emblica* Linn.),别名油甘子(广东)或橄榄子(四川),属于大戟科叶下珠属植物。余甘子是一种健康的药食同源植物,具有悠久的药用历史,其性凉,味甘、酸、涩,具有清热凉血、生津止咳的作用^[1]。将余甘果加工成余甘子汁饮用,具有调节血脂和减少组织脂质沉积、抗氧化等作用^[2-4]。余甘子广泛分布于我国广东、福建、四川、广西及云南等省区,种植历史悠久,种质资源丰富。由于不同地区余甘子品种不断相互引种、杂交,造成了各地区余甘子品种遗传背景复杂,经常有“同名不同种,同种不同名”的情况,而通过传统的生物学、形态学手段进行品种鉴定已不能满足现实需求。

随着分子生物学技术的快速发展,分子标记技术已广泛运用于物种遗传多样性分析^[5]、种质资源鉴定及 DNA 指纹图谱构建等不同领域^[6-7]。ISSR 是在微卫星基础上发展起来的一种分子标记技术,其结合了 RAPD 和 SSR 的优点,具有 DNA 模板量少、多态性丰富、稳定性高等特点^[8]。刘晓生等^[9]采用 ISSR 分子标记技术对广东潮汕地区余甘子品种的遗传多样性进行了分析,结果表明,17 份余甘子材料的遗传多样性水平较高。郭林榕等^[10]用 SRAP 分子标记技术分析了福建省农业科学院果树研究所资源圃中保存的 22 份余甘子种质材料的遗传多样性,发现余甘子基因型具有丰富的遗传多样性。李巧明等^[11]采用 ISSR 分子标记技术对分布于云南干热河谷地区的 4 个余甘子居群的遗传多样性

水平进行了检测,结果表明,余甘子居群的遗传多样性水平较高,而居群间的遗传分化较低。以上研究结果说明,分子标记技术可有效运用于余甘子种质资源多样性研究。

DNA 指纹图谱技术在品种鉴定中具有准确、快速和高效等优点,目前该技术已广泛应用于玉米^[12]、水稻^[13]、柑橘^[5]及棉花^[14]等作物的品种鉴定。目前对 DNA 指纹图谱构建方法的研究报道较多,主要可分为特征谱带法^[15]、单引物法^[16]、引物组合法^[17-18],按照编写方法又可以分为字母数字组合法^[19]、0,1 编码法^[20]、指纹图谱法^[21]和二维码法^[22]等。以上研究方法虽各有优势,但最终得到的指纹图谱编码相对复杂,往往需要多个引物组合才能鉴定所有品种,不利于指纹图谱库的建立。本研究利用 ISSR 分子标记技术,对广东省农业科学院果树研究所收集到的华南地区 28 份余甘子种质材料进行遗传多样性分析,初步明确了不同地区、品种余甘子之间的亲缘关系,并仅用 2 对引物构建了 28 份余甘子种质资源的 DNA 指纹图谱,以期为后续余甘子品种快速鉴定及新品种选育提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试 28 份余甘子样品来自广东省农业科学院果树研究所种质资源圃(表 1)。采摘新鲜植物叶片后,立刻置于液氮中速冻备用。

表 1 28 份余甘子种质资源信息

Table 1 Information of 28 *Phyllanthus emblica* L. germplasm samples

品种编号 Code	名称 Name	备注 Note	品种编号 Code	名称 Name	备注 Note
C1	大果油甘 Big fruit emblica	栽培品种 Cultivar	C15	珍珠油甘 Pearl emblica	栽培品种 Cultivar
C2	甜油甘 1 号 Sweet emblica No. 1	栽培品种 Cultivar	C16	大果甜油甘 1 号 Big fruit sweet emblica No. 1	栽培品种 Cultivar
C3	甜油甘 2 号 Sweet emblica No. 2	栽培品种 Cultivar	C17	大果甜油甘 2 号 Big fruit sweet emblica No. 2	栽培品种 Cultivar
C4	甜油甘 3 号 Sweet emblica No. 3	栽培品种 Cultivar	C18	大叶甜油甘 Big leaf sweet emblica	栽培品种 Cultivar
C5	甜油甘 4 号 Sweet emblica No. 4	栽培品种 Cultivar	C19	软枝青皮油甘 1 号 Green peel emblica No. 1	选育品种 Breeding variety
C6	甜油甘 5 号 Sweet emblica No. 5	栽培品种 Cultivar	C20	软枝青皮油甘 2 号 Green peel emblica No. 2	栽培品种 Cultivar

表 1(续) Continued table 1

品种编号 Code	名称 Name	备注 Note	品种编号 Code	名称 Name	备注 Note
C7	甜油甘 6 号 Sweet emblica No. 6	栽培品种 Cultivar	C21	软枝青皮油甘 3 号 Green peel emblica No. 3	栽培品种 Cultivar
C8	甜油甘 7 号 Sweet emblica No. 7	野生品种 Wild type	C22	软枝青皮油甘 4 号 Green peel emblica No. 4	栽培品种 Cultivar
C9	甜油甘 8 号 Sweet emblica No. 8	野生品种 Wild type	C23	白玉甜油甘 1 号 White jade sweet emblica No. 1	选育品种 Breeding variety
C10	甜油甘 9 号 Sweet emblica No. 9	野生品种 Wild type	C24	白玉甜油甘 2 号 White jade sweet emblica No. 2	选育品种 Breeding variety
C11	玻璃油甘 Glass emblica	栽培品种 Cultivar	C25	杏仁油甘 1 号 Almond emblica No. 1	栽培品种 Cultivar
C12	凤珠油甘 1 号 Fengzhu emblica No. 1	栽培品种 Cultivar	C26	杏仁油甘 2 号 Almond emblica No. 2	栽培品种 Cultivar
C13	凤珠油甘 2 号 Fengzhu emblica No. 2	栽培品种 Cultivar	C27	大玉甜油甘 1 号 Dayu sweet emblica No. 1	栽培品种 Cultivar
C14	凤珠油甘 3 号 Fengzhu emblica No. 3	栽培品种 Cultivar	C28	大玉甜油甘 2 号 Dayu sweet emblica No. 2	栽培品种 Cultivar

1.2 DNA 提取

分别称取新鲜余甘子叶片 50 mg,在液氮中反复研磨成细粉,采用 CATB 法提取基因组 DNA,并用超微量分光光度计测量 DNA 样品浓度及纯度。用 0.8%琼脂糖凝胶检测基因组 DNA 质量,合格 DNA 样品置于一20 ℃冰箱,备用。

1.3 ISSR 分析

用哥伦比亚大学(UBC)公布的 96 条 ISSR 引物对余甘子进行扩增,从中筛选出扩增条带清晰、多态性丰富的引物进行后续试验。PCR 反应体系为:DNA 模板 2 μL,引物 0.5 μL,dNTPs 0.5 μL,10×PCR buffer 2.5 μL,DNA *Taq* 酶 0.5 μL,ddH₂O 19 μL。PCR 扩增条件:95 ℃预变性 5 min;95 ℃ 30 s,55~50 ℃ 30 s,72 ℃ 2 min,45 个循环;72 ℃延伸 10 min,4 ℃保存。PCR 产物用 4%非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测。电泳完毕后用 ABI PRISM 377 sequencer 测序仪成像,观测并记录数据。

1.4 数据分析

根据测序仪导出的数据对电泳图谱同一位置上

ISSR 条带的有无进行统计,有条带的记为“1”,无条带的记为“0”,获得原始 0,1 数据矩阵。统计获得二元数据,根据二元数据计算多态率,采用 NT-SYSp2.1 统计分析软件对数据进行分析,计算品种间的相似系数,以非加权类平均法(UPGMA)进行遗传相似度聚类分析,绘制 28 份余甘子样品遗传关系聚类图。参考陈昌文等^[23]和班骞等^[24]的 DNA 指纹图谱构建方法并加以改进,构建余甘子的 DNA 指纹图谱及标准模式图。

2 结果与分析

2.1 ISSR 扩增多态性分析

从 96 条 ISSR 引物中筛选出 9 条扩增条带清晰、多态性丰富的引物,这 9 条引物分别为 UBC807、UBC809、UBC810、UBC811、UBC836、UBC840、UBC842、UBC886 和 UBC888。用筛选出的 9 条引物对 28 份余甘子样品进行扩增,结果见表 2。

表 2 ISSR 核心引物对余甘子种质的扩增结果

Table 2 Amplification of <i>Phyllanthus emblica</i> L. germplasm using ISSR core primers				
引物编号 Primer code	引物序列(5'→3') Primer sequence(5'→3')	扩增条带数 Total bands	多态性条带数 Polymorphic bands	多态率/% Polymorphic percentage
UBC807	AGAGAGAGAGAGAGAGT	78	76	97.44
UBC809	AGAGAGAGAGAGAGAGG	84	82	97.62
UBC810	GAGAGAGAGAGAGAGAT	114	114	100.0
UBC811	GAGAGAGAGAGAGAGAC	81	78	96.30
UBC836	AGAGAGAGAGAGAGAGYA	81	80	98.77
UBC840	GAGAGAGAGAGAGAGAYT	64	61	95.31
UBC842	GAGAGAGAGAGAGAGAYG	64	61	95.31
UBC886	VDVCTCTCTCTCTCTCT	65	61	93.85
UBC888	BDBCACACACACACA CA	55	54	98.18
总计 Total		686	667	97.23

由表 2 可知,9 条引物共扩增到 686 条条带,其中多态性条带 667 条,平均每条引物扩增得到多态

性条带 74.11 条,平均多态率为 97.23%(表 2)。引物 UBC810 扩增条带最多,为 114 条,全部为多态性

条带,多态率为 100%。扩增条带最少的引物是 UBC888,扩增条带 55 条,其中多态性条带 54 条,多态率为 98.18%。扩增结果说明,这 9 条引物扩增得到的条带信息量大、多态性丰富,可以用于后续遗传多样性分析及 DNA 指纹图谱构建。

2.2 聚类结果

28 份余甘子种质资源样品的遗传相似系数在 0.68~0.94,平均遗传相似系数 0.81,整体遗传差异不大,亲缘关系较近(图 1)。其中野生品种 C9(甜

油甘 8 号)和 C10(甜油甘 9 号)遗传距离最近(0.94),而 C1(大果油甘)和 C10(甜油甘 8 号)遗传距离最远(0.66),说明这两个品种遗传分化严重。在相似系数为 0.72 处可将所有供试余甘子品种聚类为 4 大类(图 1)。C1(大果油甘)单列为第 I 类;第Ⅲ类包含 3 个品种:C3(甜油甘 2 号),C5(甜油甘 4 号)和 C15(珍珠油甘);C6(甜油甘 5 号)单独列为第Ⅳ类;其余 23 个品种聚为第Ⅱ类。

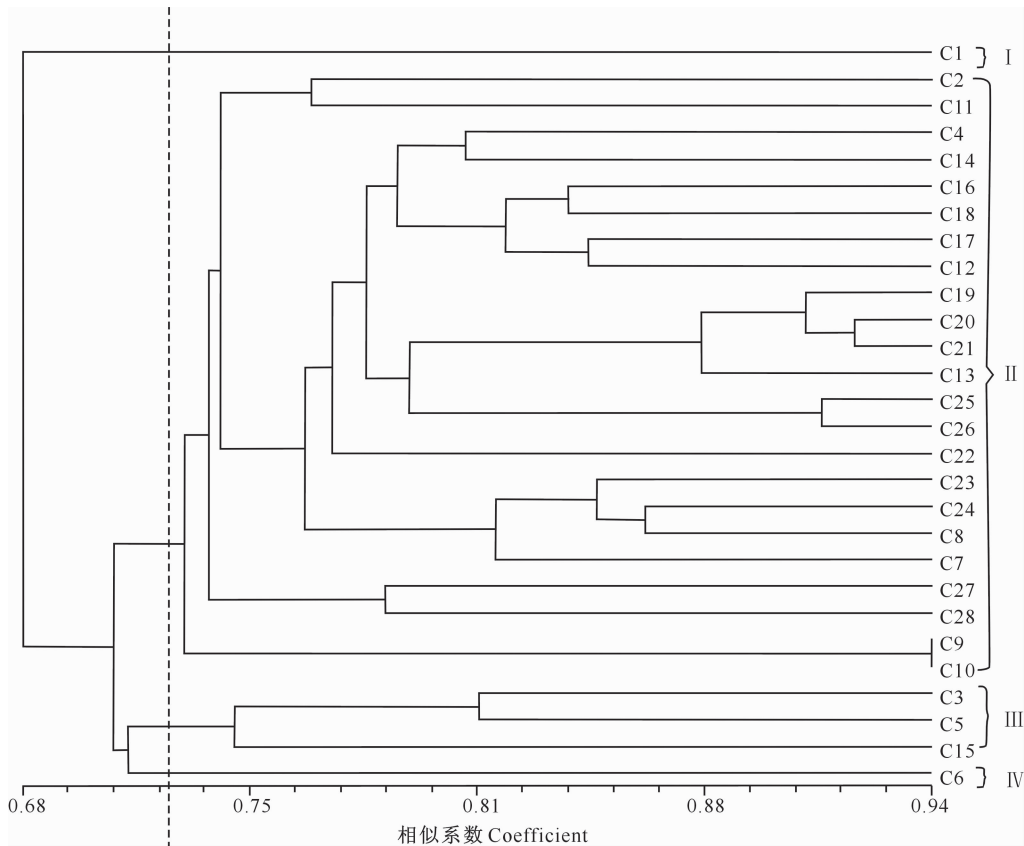


图 1 基于 ISSR 遗传距离的余甘子 UPGMA 聚类图

Fig. 1 UPGMA clustering analysis of *Phyllanthus emblica* L. based on ISSR genetic distance

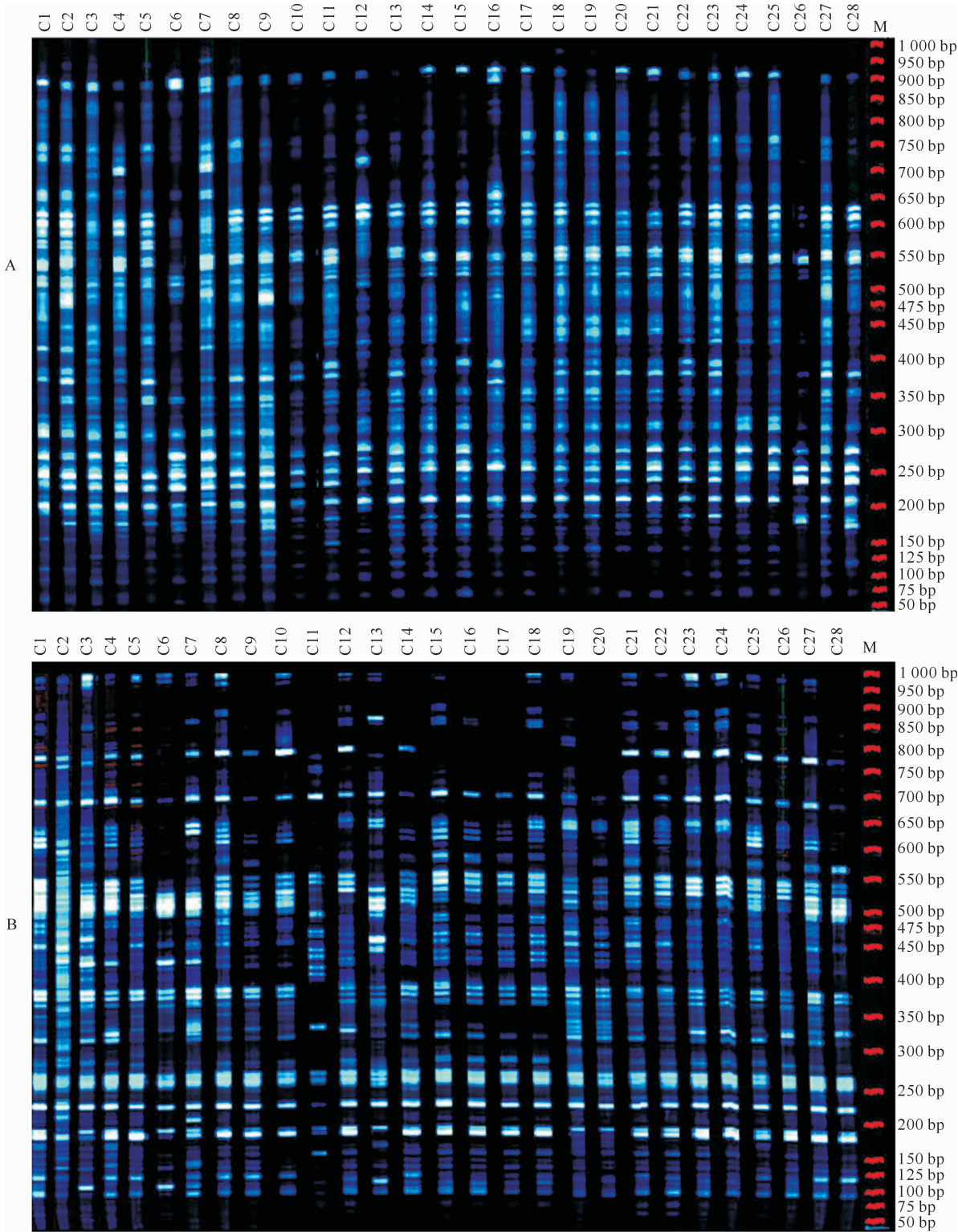
2.3 余甘子 DNA 指纹图谱构建

指纹图谱编写的核心原则是简洁、高效,尽量用最少数引物区分最多的作物品种。综合考虑,本研究从表 2 的 9 条 ISSR 核心引物中选择 2 条多态性高、条带清晰、重复性好的引物 UBC809 和 UBC886 用来编写余甘子 DNA 指纹图谱,这 2 条引物对 28 份余甘子种质的扩增结果如图 2 所示。参考班骞等^[24]对苦苣菜指纹图谱的编写方法,分别从 UBC809 和 UBC806 中选择 9 条条带清晰、易于分辨的多态性条带赋值,条带从小到大分别赋值 1~9(表 3)。被赋值的 18 条条带中有 4 条为品种特征条带,分别为 UBC809-111 bp、UBC809-255 bp、

UBC886-283 bp 和 UBC886-581 bp,利用这 4 个位点可以分别鉴定出 C7(甜油甘 6 号),C11(玻璃油甘)C12(凤珠油甘 1 号)和 C26(杏仁油甘 2 号)。

根据表 3 多态性条带的赋值标准对 28 份供试余甘子种质样品进行 DNA 指纹编码,结果见表 4。其中,C1(大果油甘)指纹编码为 268-1 468,表示该品种的 PCR 扩增产物在 UBC809 引物的 209,367,543 bp 和 UBC886 引物的 201,448,570,716 bp 处有条带。单独引物 UBC809 或 UBC886 不能一次鉴定出 28 种余甘子品种,但通过 2 条引物组合即可以简单、高效完成所有供试品种的鉴定。图 3 为 28 份余甘子种质资源指纹编码对应的标准指纹

图谱。从图 3 可以更加直观地看出 28 份余甘子品种的纹编码。
种的多态性扩增情况,每个品种都有一套唯一的指



A. 引物 UBC809 扩增条带图;B. 引物 UBC886 扩增条带图。M. Marker;C1~C28. 余甘子品种编号,同表 1。

A. Electrophoretogram of primer UBC809;B. Electrophoretogram of primer UBC886. M. Marker;
C1—C28. Emblica variety number, the same as Table 1.

图 2 ISSR 引物 UBC809 和 UBC886 对 28 份余甘子样品的扩增条带

Fig. 2 Amplification band diagram of ISSR primers UBC809 and UBC886 of 28 *Phyllanthus emblica* L. samples

表 3 ISSR 引物 UBC908 和 UBC886 扩增典型条带的赋值

Table 3 Values of typical bands amplified by ISSR primers UBC908 and UBC886

项目 Item	赋值 Assignment								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
UBC809 扩增条带/bp UBC809 amplification bands	111 *	209	255 *	277	313	367	415	543	912
UBC886 扩增条带/bp UBC886 amplification bands	201	283 *	327	448	518	570	581 *	716	752

注：* 表示品种特征条带。
Note: * variety-specific band.

表 4 28 份余甘子种质指纹图谱编码

Table 4 Fingerprint coding of 28 *Phyllanthus emblica* L. varieties

品种编号 Code	指纹图谱编码 Fingerprint	品种编号 Code	指纹图谱编码 Fingerprint	品种编号 Code	指纹图谱编码 Fingerprint
C1	268-1468	C11	389-34	C21	67-3
C2	8-56	C12	9-3 479	C22	489-39
C3	46-6	C13	267-134	C23	89-69
C4	8-135	C14	7-3 468	C24	2-168
C5	8-1	C15	58-348	C25	6-189
C6	469-45	C16	678-4	C26	14-8
C7	59-245	C17	7-4 689	C27	267-168
C8	79-68	C18	7-9	C28	248-1
C9	4 679-1	C19	7-49		
C10	29-6	C20	4-3 689		

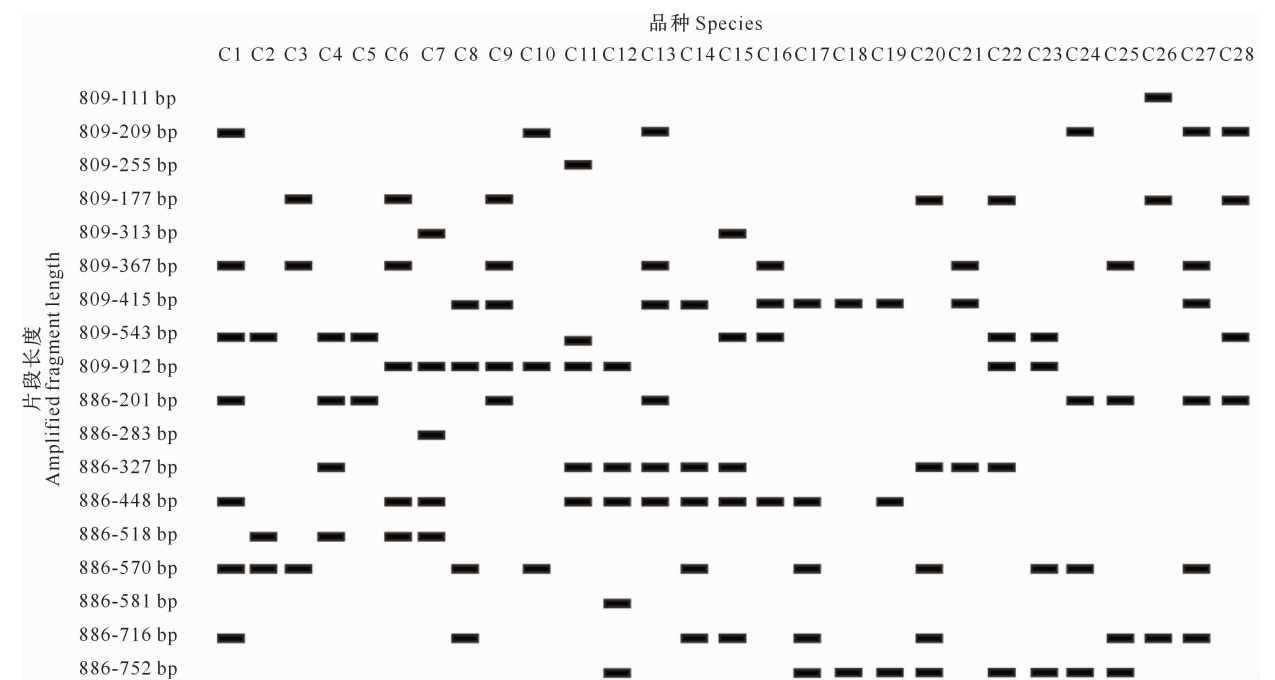


图 3 28 份余甘子种质资源指纹图谱

Fig. 3 Fingerprints of 28 *Phyllanthus emblica* L. germplasm samples

3 讨 论

ISSR 分子标记技术具有引物通用性强、利用率高、操作简便和重复性强等优点,在动植物的遗传多样性分析、辅助育种、基因连锁图谱及 DNA 指纹图

谱绘制等方面已得到广泛的应用。本研究从 96 条 ISSR 引物中成功筛选出 9 条核心引物用于 28 份余甘子种质遗传多样性分析和指纹图谱构建,9 条核心引物共扩增到条带 686 条,其中多态性条带 667 条,平均每条引物扩增到多态性条带 77.11 条,较刘

晓生等^[9]报道的信息量提高了 1 个数量级。庞大的多态性信息为后续种质资源遗传多样性分析和指纹图谱构建奠定了良好的基础。

28 份余甘子种质样品按遗传距离远近可聚为 4 类:栽培品种大果油甘和甜油甘 5 号各单独聚为一类,表明这两个品种与其他供试品种亲缘关系较远,遗传分化严重。第Ⅱ类品种最多,共 23 个品种,其中包含甜油甘、玻璃油甘、凤珠油甘、大果甜油甘、大叶甜油甘、软枝青皮油甘、白玉甜油甘、杏仁油甘和大玉甜油甘 9 种不同类型;第Ⅲ类包含 3 个品种,分别为甜油甘 2 号、甜油甘 4 号和珍珠油甘。从以上聚类结果可以看出,供试的 28 份余甘子品种中,部分品种虽然存在形态学差异,如野生品种甜油甘 8 号和选育品种白玉油甘 2 号,但从遗传角度分析,差异并不显著,而所有品种中,遗传差异最大的为大果油甘。余甘子在我国分布广泛,种植历史悠久,并且部分品种多年受到人为驯化,这是造成余甘子种间性状变异丰富的原因,但这种变异可能在遗传水平并不显著。刘晓生等^[9]研究发现潮汕地区 17 份余甘子品种亲缘关系与农艺性状没有必然的联系,郭林榕等^[10]利用 SRAP 分子标记技术对福建地区 22 份余甘子种质资源遗传多样性分析也得出相似的结论,以上研究结果与本研究结果一致。但从整体上看,28 份余甘子种质资源样品遗传相似系数在 0.68~0.94,平均遗传相似系数为 0.81,表明从广东省各县市收集的余甘子品种遗传多样性丰富,种质资源遗传基础广,为以后余甘子分子育种工作提供了良好条件。

DNA 指纹图谱技术是基于分子标记技术发展起来的一种遗传标记方式,已广泛应用于种质资源鉴定、品种分类等不同领域^[25]。张安世等^[26]应用 ISSR 分子标记技术构建了 32 份猕猴桃 DNA 指纹图谱,但缺少指纹编码,实际应用不便。王世强等^[27]应用 SSR 分子标记技术构建了黄精品种指纹图谱,但指纹编码太过复杂。本研究参考班骞等^[24]指纹图谱构建方法并加以改进,仅用 2 条引物即可成功鉴定出所有供试余甘子品种,成功构建了 28 份余甘子种质资源的 DNA 指纹图谱,每个品种都仅有唯一的一套 DNA 指纹,使得后期品种鉴定更加高效、准确。

随着生物技术的快速发展,分子标记技术的成本日益下降,DNA 分子标记技术取代传统形态学鉴定作为品种区分的新方法成为可能。本研究利用 ISSR 分子标记技术构建的指纹图谱仅用 2 条引物

即可成功区分 28 份余甘子种质资源,但这仅限于广东省余甘子品种,随着余甘子产业的不断发展,后续会有更多余甘子新品种育成,这意味着余甘子指纹图谱数据库需要根据实际情况不断补充和更新。本研究结果为后续余甘子 DNA 指纹图谱数据库的建立奠定了基础。

[参考文献]

- [1] 潘慧清,朱平,魏学明,等.藏药余甘子研究概况[J].甘肃中医药大学学报,2019,36(2):84-88.
Pan H Q,Zhu P,Wei X M,et al. On Tibetan medicine Yuganzi (*Phyllanthi fructus*) [J]. Journal of Gansu University of Chinese Medicine,2019,36(2):84-88.
- [2] 杨顺楷,杨亚力,杨维力,等.余甘子资源植物的研究与开发进展[J].应用与环境生物学报,2008,14(6):846-854.
Yang S K,Yang Y L,Yang W L,et al. Progress in research and development of *Phyllanthus emblica* resources [J]. Journal of Applied and Environmental Biology,2008,14(6):846-854.
- [3] Variya B C,Bakrania A K,Patel S S. *Embllica officinalis* (Am-la): a review for its phytochemistry, ethnomedicinal uses and medicinal potentials with respect to molecular mechanisms [J]. Pharmacological Research,2016,111:180-200.
- [4] Chaphalkar R,Apte K G,Talekar Y. Antioxidants of *Phyllanthus emblica* L. bark extract provide hepatoprotection against ethanol-induced hepatic damage: a comparison with silymarin [J]. Oxidative Medicine and Cellular Longevity,2017,2017:1-10.
- [5] 李益,马先锋,唐浩.柑橘品种鉴定的 SSR 标记开发和指纹图谱库构建[J].中国农业科学,2018,51(15):149-159.
Li Y,Ma X F,Tang H. SSR marker development and fingerprint library construction for citrus variety identification [J]. Scientia Agricultura Sinica,2018,51(15):149-159.
- [6] 谢玥,夏惠,梁东.25 个猕猴桃材料遗传多样性分析及 DNA 指纹图谱的建立[J].分子植物育种,2018,16(15):5001-5007.
Xie Y,Xia H,Liang D. Genetic diversity analysis and DNA fingerprinting of 25 kiwifruit materials [J]. Molecular Plant Breeding,2018,16(15):5001-5007.
- [7] 宁琳,陈豪军,何江,等.利用 ISSR 标记分析 36 份番石榴种质资源的亲缘关系[J].福建农业学报,2017,32(2):138-143.
Ning L,Chen H J,He J,et al. Analysis of genetic relationship of 36 guava germplasm resources by ISSR markers [J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences,2017,32(2):138-143.
- [8] Sarwat M,Das S,Srivastava P S. Analysis of genetic diversity through AFLP,SAMPL,ISSR and RAPD markers in *Tribulus terrestris*, a medicinal herb [J]. Plant Cell Reports,2008,27:519-28.
- [9] 刘晓生,郑道序,周春娟,等.潮汕余甘子种质资源遗传多样性与亲缘关系的 ISSR 分析[J].中国南方果树,2014,43(1):18-22.

- Liu X S, Zheng D X, Zhou C J, et al. Analysis of genetic diversity and genetic relationship of *Phyllanthus emblica* L. germplasm in Chaoshan area with ISSR [J]. South China Fruit Tree, 2014, 43(1): 18-22.
- [10] 郭林榕, 周平, 陈志峰. 22 份余甘子核心种质资源遗传多样性的 SRAP 分析 [J]. 热带作物学报, 2014, 35(7): 1382-1387. Guo L R, Zhou P, Chen Z F. Analysis of genetic diversity of 22 *Phyllanthus emblica* germplasms with SRAP markers [J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2014, 35(7): 1382-1387.
- [11] 李巧明, 赵建立. 云南干热河谷地区余甘子居群的遗传多样性研究 [J]. 生物多样性, 2007, 15(1): 84-91. Li Q M, Zhao J L. Genetic diversity of *Phyllanthus emblica* populations in dry-hot valleys in Yunnan [J]. Biodiversity Science, 2007, 15(1): 84-91.
- [12] Tian H L, Wang F G, Zhao J R, et al. Development of maize SNP3072, a high-throughput compatible SNP array, for DNA fingerprinting identification of Chinese maize varieties [J]. Molecular Breeding, 2015, 35: 136-141.
- [13] Kretschmar T, Mbanjo E, Gaby N, et al. DNA fingerprinting at farm level maps rice biodiversity across bangladesh and reveals regional varietal preferences [J]. Scientist Report, 2018, 8: 14920.
- [14] Zhang Y C, Kuang M, Yang W H. Construction of a primary DNA fingerprint database for cotton cultivars [J]. Genetics and Molecular Research, 2013, 12: 1897-1906.
- [15] 高源, 刘凤之, 王昆, 等. 基于 TP-M13-SSR 指纹图谱的中国原产苹果属植物分子身份证的建立 [J]. 植物遗传资源学报, 2015, 16(6): 1290-1297. Gao Y, Liu F Z, Wang K, et al. Establishment of molecular identity card for *Malus* Mill. originated from China based on the fingerprints of TP-M13-SSR [J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2015, 16(6): 1290-1297.
- [16] 唐浩, 余汉勇, 张新明. 水稻新品种测试的标准品种 DNA 指纹图谱多样性分析 [J]. 植物遗传资源学报, 2015, 16(1): 100-106. Tang H, Yu H Y, Zhang X M. Analysis on the diversity of DNA fingerprinting of example varieties used for the test of rice new varieties [J]. Journal of Plant Genetic Resource, 2015, 16(1): 100-106.
- [17] 缪恒彬, 陈发棣, 赵宏波. 应用 ISSR 对 25 个小菊品种进行遗传多样性分析及指纹图谱构建 [J]. 中国农业科学, 2008, 41(11): 3735-3740. Miao H B, Chen F D, Zhao H B. Genetic diversity and construction of fingerprinting of chrysanthemum cultivars by ISSR markers [J]. Scientia Agriculture Sinica, 2008, 41(11): 3735-3740.
- [18] 齐兰, 王文泉, 张振文, 等. 利用 SRAP 标记构建 18 个木薯品种的 DNA 指纹图谱 [J]. 作物学报, 2010, 36(10): 1642-1648. Qi L, Wang W Q, Zhang Z W, et al. DNA fingerprinting analysis of 18 Cassava varieties using sequence-related amplified polymorphism marker [J]. Acta Agronomica Sinica, 2010, 36(10): 1642-1648.
- [19] 王静毅, 陈业渊, 黄秉智, 等. 部分香蕉品种 SSR 指纹图谱的构建 [J]. 果树学报, 2009, 26(5): 733-738. Wang J Y, Chen Y Y, Huang B Z, et al. Establishment of fingerprinting for bananas by SSR marker [J]. Journal of Fruit Science, 2009, 26(5): 733-738.
- [20] 陈其福, 李艳美, 李佳荫, 等. 基于 SSR 标记的食茱萸豆指纹图谱构建 [J]. 北方园艺, 2019(9): 1-7. Chen Q F, Li Y M, Li J Y, et al. Fingerprinting of food pods based on SSR markers [J]. Northern Horticulture, 2019(9): 1-7.
- [21] Kumar N, Shikha D, Kumari S. SSR-based DNA fingerprinting and diversity assessment among indian germplasm of euryale ferox, aquatic underutilized and neglected food crop [J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2018, 185: 34-41.
- [22] Gao P, Ma H Y, Luan F S. DNA fingerprinting of Chinese melon provides evidentiary support of seed quality appraisal [J]. PLoS ONE, 2012, 7: e52431.
- [23] 陈昌文, 曹珂, 王力荣, 等. 中国桃主要品种资源及其野生近缘种的分子身份证构建 [J]. 中国农业科学, 2011, 44(10): 2081-2093. Chen C W, Cao K, Wang L R, et al. Molecular ID card construction of main peach varieties and their wild relatives in China [J]. Scientia Agriculture Sinica, 2011, 44(10): 2081-2093.
- [24] 班骞, 谢彩云, 范国华, 等. 基于 EST-SSR 及 SRAP 标记构建苦茱萸品种(系)DNA 指纹图谱 [J]. 草业学报, 2018, 27(4): 111-122. Ban Q, Xie C Y, Fan G H, et al. Construction of DNA fingerprinting of bitter cultivar based on EST-SSR and SRAP markers [J]. Acta Prataculturae Sinica, 2018, 27(4): 111-122.
- [25] Nybom H, Weising K, Björn R. DNA fingerprinting in botany: past, present, future [J]. Investigative Genetics, 2014, 5(1): 1.
- [26] 张安世, 韩臣鹏, 齐秀娟, 等. 基于 ISSR 标记的猕猴桃品种遗传多样性分析及指纹图谱构建 [J]. 植物资源与环境学报, 2017, 26(3): 19-26. Zhang A S, Han C P, Qi X J, et al. Genetic diversity analysis and fingerprint mapping of kiwifruit varieties based on ISSR markers [J]. Journal of Plant Resources and Environment, 2017, 26(3): 19-26.
- [27] 王世强, 王立儒, 刘帅, 等. 基于 SSR 标记的黄精品种(系)DNA 指纹图谱库构建 [J]. 分子植物育种, 2018, 16(6): 1878-1887. Wang S Q, Wang L R, Liu S, et al. Construction of DNA fingerprinting library of yellow fine species based on SSR markers [J]. Molecular Plant Breeding, 2018, 16(6): 1878-1887.