

黑龙江省和吉林省谷子品种遗传多样性分析

沈 琰¹, 王 颖^{1,2}, 张东杰^{1*}, 杨义杰¹, 赵雅楠¹, 张桂芳²

(1. 黑龙江八一农垦大学食品学院, 黑龙江 大庆 163319; 2. 国家杂粮工程技术研究中心, 黑龙江 大庆 163319)

摘要: [目的]探究黑龙江省、吉林省谷子种质资源的遗传基础和遗传多样性。[方法]利用黑、吉两省 20 个典型谷子品种及 5 对扩增良好且具有多态性的谷子 SSR 引物, 分析各引物等位基因数、位点杂合度、Shannon's 指数(I)、有效等位基因数(Ne)及两省谷子品种聚类分析结果。[结果]每对引物检测出的等位基因数为 4~6 个, 共得到 26 个等位基因, 平均 5.2 个; 各引物的多态信息含量(PIC)在 0.645~0.767 间变化, 其中引物 DG2831 最高, 引物 QG7172 最低。不同引物间位点杂合度、Shannon's 指数(I)、有效等位基因数(Ne)均存在差异, DG2831、JG13656 分别是黑、吉两省的位点杂合度及多态信息含量最高的引物。对 20 个谷子品种进行聚类分析, 在遗传相似系数在 0.64 处, 20 个谷子品种可聚为 3 大类。[结论]吉林省谷子品种基因多样性略比黑龙江省丰富; 部分同地区的谷子品种聚为一类, 说明不同地理来源的谷子资源, 一部分品种的亲缘关系可能与地理来源有关。

关键词: 谷子; SSR; 遗传多样性; 遗传相似系数; 聚类分析

中图分类号: S515

文献标识码: A

文章编号: 1003-8701(2016)03-

Analysis of Genetic Diversity of Foxtail Millet of Heilongjiang Province and Jilin Province

SHEN Yan¹, WANG Ying^{1,2}, ZHANG Dongjie^{1*}, YANG Yijie¹, ZHAO Yanan¹, ZHANG Guifang²

(1. College of Food Science, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319; 2. National Coarse Cereals Engineering Research Center, Daqing 163319, China)

Abstract: Objective of the study was to understand the genetic diversity of millet germplasm resources in Heilongjiang Province and Jilin Province. Alleles, loci heterozygosity, Shannon's index and effective number of genes (Ne) of 20 typical foxtail millets from Heilongjiang and Jilin provinces were analyzed by 5 pairs of SSR primers. Results showed that the number of alleles per primer was 4~6, 26 alleles were obtained, and the average was 5.2. The polymorphism information content (PIC) of each primer was ranging from 0.645 to 0.767, with the maximum primer EG75638 and the lowest primer QG7172. Loci heterozygosity, Shannon's index (I) and effective number of genes (Ne) were different in different primers. The highest loci heterozygosity and polymorphism information content of each province were derived from different primers, which were JG13656 and DG2831. Cluster analysis of 20 varieties of foxtail millet in the genetic similarity coefficient 0.64 showed these varieties could be grouped into 3 categories. The primer analysis of two provinces showed that the genetic diversity of Jilin Province was higher than that of Heilongjiang Province. Parts of varieties from same geographical got together, it means that genetic relationship was related to geographic origin.

Key words: Foxtail millet; SSR; Genetic diversity; Genetic similarity coefficient; Cluster analysis

谷子作为最早起源于我国的重要粮食作物之一^[1], 营养价值极高, 含有丰富的氨基酸、蛋白质、

维生素以及钙、铜、铁、锌、硒、碘、镁等微量元素, 营养保健作用也非常显著^[2]。谷子因其具有抗旱、耐瘠薄等其他作物不具备的特点, 在水资源严重短缺的地区, 谷子有着其他作物不可代替的意义和作用^[3]。简单重复序列 (Simple Sequence Repeats, SSR) 又称微卫星^[4], 具有广泛存在、分散度高、多态性良好、共显性遗传、信息含量丰富、易于检测和物种间转移性好等特点^[5-6]。相比较

收稿日期: 2016-03-02

基金项目: “十二五”农村领域国家科技计划项目(2012BAD34B02); 黑龙江省应用技术与开发重大项目(GA14B104)

作者简介: 沈 琰(1990-), 女, 在读硕士, 研究方向: 农产品加工与贮藏工程及食品质量安全。

通讯作者: 张东杰, 男, 博士, 教授, E-mail: 615173134@qq.com

RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA, 随机扩增多态性) 标记的稳定性差和 AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism, 扩增片段长度多态性) 技术的繁杂^[7-8], SSR 标记则更适合用于品种的实际检测, 因此也被国际植物新品种保护联盟 (UPOV) 列为 DNA 指纹建库方法之一^[9]。已在植物遗传研究和育种中广泛应用, 如系谱分析、群体遗传学、遗传图谱构建等方面^[10-14]。

黑龙江省和吉林省作为谷子的重要产地, 品种繁多且品质优良, 但对其遗传多样性评价和利用相对薄弱。因此, 加强谷子资源研究将大力促进优质谷子品种的选育和利用。为进一步掌握

黑、吉两省谷子品种资源的遗传基础和遗传多样性状况, 本试验对黑、吉两省 20 个谷子典型品种进行遗传多样性分析。以期为谷子资源的保护, 重要或稀有基因资源的挖掘及东北地区谷子原产地保护及溯源提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

谷子典型样品由国家种质资源库 (<http://www.cgris.net>) 提供, 其中黑龙江和吉林各 10 份, 品种名称及来源地见表 1。

表 1 谷子品种的编号及名称

编号	库号	名称	省份	编号	库号	名称	省份
DH01	Z1103194	红粘谷	黑龙江	DJ01	Z1115561	龙爪	吉林
DH02	Z1106302	刀把齐	黑龙江	DJ02	Z1105112	小白谷	吉林
DH03	Z1106303	勾根红	黑龙江	DJ03	Z1115925	钱串	吉林
DH04	Z1103203	钱串子	黑龙江	DJ04	Z1115564	刀把齐	吉林
DH05	Z1103218	黄粘谷	黑龙江	DJ05	Z1115566	大粒黄	吉林
DH06	Z1103231	红谷子	黑龙江	DJ06	Z1105175	白沙谷	吉林
DH07	Z1106322	黄谷	黑龙江	DJ07	Z1105176	气死风	吉林
DH08	Z1101897	鸭子嘴	黑龙江	DJ08	Z1105178	老来变	吉林
DH09	Z1102106	大粒黄	黑龙江	DJ09	Z1105179	小金苗	吉林
DH10	Z1102111	红苗谷	黑龙江	DJ10	Z1105180	大斗黄	吉林

SSR 引物序列主要来自 NCBI 数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), 根据相应文献^[2], 选取 140 对具有多态性潜力的谷子 SSR 引物。经初筛、复筛后选择其中多态性丰富、重现性好、条带清晰、信号强的 5 对引物作为谷子 SSR 品种鉴别核心引物。引物由上海 Sangon 公司合成, 见表 2。PCR 反应中的 dNTP, Taq 酶等试剂均购自 Thermo Fisher Scientific 科技公司。

表 2 选用 5 对 SSR 引物信息

实验编号	NCBI ID	T _m (°C)	序列(5'→3')
DG2831	16597439	50	F:CCAAAACAACACGCACAATC R:ATCGCCCCTACTATCCCCTA
EG7563	16602696	50	F:ATGAGGGTCCGGCTTTATTT R:ATGCATCCACCACCACAATA
HG13568	16593795	50	F:GGTGGAGCTTCTGTAGCTGG R:CCCCACAATCACAAGAACT
JG13656	16593893	50	F:TCCAAGTAAATGCATGATCG R:CCTTCAATTCCTGCCTAAA
QG7172	16602262	50	F:AGAATTGAATCCCCGTCTCC R:TAGGTCCAAGGTCCTGGTTC

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取

所有材料均在温室种植。取发芽后 12 d 左右的谷子嫩叶, 在液氮中研磨成粉末。按植物基因组 DNA 提取试剂盒 (目录号: DP320-03, TIANGEN, 北京) 的操作手册提取与纯化谷子基因组 DNA。用 BioPhotometer plus 检测 DNA 浓度和相对纯度, 用 0.8% 的琼脂糖电泳检测 DNA 质量。在 -20°C 下保存备用。

1.2.2 PCR 扩增

PCR 反应总体积为 25 μL, 包括 10×PCR buffer 2.5 μL, MgCl₂ (25 mmol/L) 3 μL, dNTP (10 mmol/L) 1.25 μL, 正向引物 (10 mmol/L) 1 μL, 反向引物 (10 mmol/L) 1 μL, Taq 酶 (5 U/μL) 0.2 μL, 模板 DNA (50 ng/μL) 1 μL, ddH₂O 16.5 μL。

反应程序为: 94°C 预变性 3 min; 94°C 变性 45 s, 50°C 退火 30 s, 72°C 延伸 30 s, 共 30 个循环; 72°C 延伸 10 min, 4°C 保存。

用 8% 非变性聚丙烯酰胺凝胶进行电泳, 在 130V 电压下电泳 40 min。电泳结束后, 用 1% 的 AgNO₃ 染色 7 min, 再显色液 (1.5% NaOH, 0.4% 甲

醛)显色,直至条带清晰为止,照相并记录。

1.2.3 数据分析

观察 PCR 产物电泳结果, Gel-Pro analyzer 软件统计稳定且易于分辨的差异性条带,谱带按 0/1 系统记录,有此带时赋值为“1”,无此带时赋值为“0”。记录结果利用 POPGENE 32 计算位点杂合度、多态信息含量(PIC)、Shannon's 指数(I)、有效等位基因数(N_e)等遗传多样性数据,采用 NT-SYS 2.10e 软件进行聚类分析。

2 结果与分析

2.1 SSR 多态性

利用 5 对 SSR 引物对 20 个黑龙江、吉林省谷

子典型品种进行扩增,共得到 26 个等位基因(见表 3)。不同引物扩增的等位基因数略有不同,为 4~6 个,平均每对引物 5.2 个等位基因(图 1)。位点杂合度在 0.700~0.798 之间。材料群体在各多态位点的扩增带型为 4~10 个,共 39 个,平均值为 7.8,其中 DG2831 的扩增带型最多。DG2831 的扩增片段大小范围最大,为 214~370 bp, QG7172 扩增片段大小范围最小,为 228~288 bp。各多态位点的多态信息指数为 0.645~0.767,平均值为 0.718,其中 DG2831 的多态信息指数最高。综上所述,所选用的 5 对引物均为高度多态性信息引物,能较好地反映出 20 个谷子品种的基因型多样性,可用于谷子品种种质分析。

表 3 5 对 SSR 引物在 20 个典型谷子品种扩增结果

引物名称	等位基因	扩增带型	位点杂合度	扩增片段大小	多态信息含量
DG2831	6	10	0.798	214~370	0.767
EG7563	6	8	0.776	198~290	0.742
HG13568	5	8	0.748	156~235	0.708
JG13656	5	9	0.766	98~248	0.728
QG7172	4	4	0.700	228~288	0.645
平均值	5.2	7.8	0.758		0.718

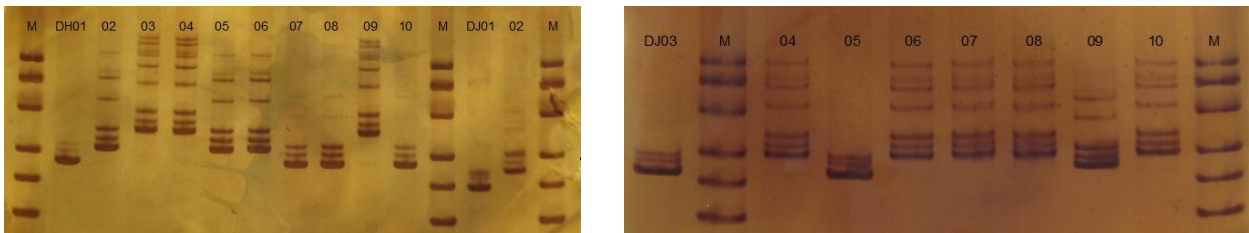


图 1 QG7172 扩增差异条带图谱

2.2 黑和吉两省部分 SSR 遗传差异比较

不同省份间遗传信息存在差异见表 4。黑龙江省材料中得到等位基因 24 个,平均每对引物 4.8 个;扩增带型共 32 个,平均值为 6.4;位点杂合度平均值为 0.709,其中 DG2831 的最大;多态信息含量为 0.581~0.723,平均值为 0.665,同样也是 DG2831 的最大;Shannon's 指数为 1.168~1.583,平均值为 1.383。吉林省材料中等位基因总数为 25 个,平均每对引物 5 个;30 个扩增带型,平均值为 6;位点杂合度平均值为 0.724,其中 JG13656 的最大;多态信息含量为 0.581~0.739,平均值 0.680,最大值来自 JG13656;Shannon's 指数为 1.168~1.545,平均值为 1.420。

黑龙江省和吉林省研究材料中,SSR 多态性略有差异。不同省份的多态性信息含量最高的位点各不相同,如 DG2831 对黑龙江省材料表现出良

好多态性,而对吉林省材料则表现一般。另外,综合两省间的参数可见吉林省谷子品种基因多样性与黑龙江省相比较丰富。

2.3 遗传相似系数分析

20 份谷子种质之间的遗传相似系数范围为 0.423~0.923(见表 5),平均值为 0.636。DH04 和 DH07 之间的遗传相似系数最大,说明这两个种质之间亲缘关系最近, DH05 和 DJ02、DH06 和 DH07 之间遗传相似系数最小,说明两者的亲缘关系最远。黑龙江省内的遗传相似系数变幅为 0.423~0.923,平均值为 0.639;吉林省内的遗传相似系数的变幅为 0.462~0.885,平均值为 0.646;黑、吉两省的平均相似系数均较大,说明黑、吉两省各自群体内的亲缘关系较近。

黑、吉两省之间的遗传相似系数的变幅为 0.423~0.885,平均值为 0.631;黑龙江省和吉林省

的 100 个遗传相似系数中,有 36 个小于 0.6,占 36%。吉林省谷子品种与黑龙江谷子品种之间,遗传相似系数较大,亲缘关系较近,遗传多样性

偏低。但两省间的遗传相似系数均小于两省内的遗传相似系数,说明各省的遗传多样性源于各省内,两省间交流不够充分。

表 4 5 对 SSR 引物在黑、吉两省谷子品种扩增结果

引物 名称	等位基因数			扩增带型			位点杂合度		
	全部	黑	吉	全部	黑	吉	全部	黑	吉
DG2831	6	6	6	10	8	7	0.772	0.755	0.750
EG7563	6	4	5	8	6	6	0.781	0.655	0.715
HG13568	5	5	5	8	7	6	0.765	0.745	0.740
JG13656	5	5	5	9	7	7	0.768	0.750	0.775
QG7172	4	4	4	4	4	4	0.695	0.640	0.640
平均值	5.2	4.8	5	7.8	6.4	6	0.756	0.709	0.724

引物 名称	多态信息含量(PIC)			Shannon's 指数			有效等位基因数		
	全部	黑	吉	全部	黑	吉	全部	黑	吉
DG2831	0.736	0.723	0.708	1.584	1.583	1.518	4.390	4.082	4.000
EG7563	0.752	0.603	0.677	1.645	1.208	1.426	4.580	2.899	3.509
HG13568	0.726	0.708	0.695	1.518	1.488	1.441	4.255	3.922	3.846
JG13656	0.730	0.709	0.739	1.526	1.470	1.545	4.317	4.000	4.444
QG7172	0.636	0.581	0.581	1.254	1.168	1.168	3.285	2.778	2.778
平均值	0.716	0.665	0.680	1.505	1.383	1.420	4.165	3.536	3.715

表 5 20 份谷子典型品种间的遗传相似系数

DH01	DH02	DH03	DH04	DH05	DH06	DH07	DH08	DH09	DH10	DJ01	DJ02	DJ03	DJ04	DJ05	DJ06	DJ07	DJ08	DJ09	DJ10
DH01																			
DH02	0.615																		
DH03	0.654	0.808																	
DH04	0.654	0.654	0.615																
DH05	0.539	0.615	0.654	0.808															
DH06	0.692	0.846	0.654	0.500	0.462														
DH07	0.577	0.577	0.615	0.923	0.808	0.423													
DH08	0.500	0.654	0.692	0.539	0.577	0.654	0.615												
DH09	0.692	0.692	0.731	0.731	0.615	0.615	0.731	0.654											
DH10	0.615	0.615	0.731	0.500	0.462	0.692	0.500	0.731	0.539										
DJ01	0.577	0.654	0.615	0.615	0.654	0.577	0.615	0.615	0.731	0.500									
DJ02	0.577	0.654	0.692	0.462	0.423	0.654	0.462	0.692	0.500	0.885	0.462								
DJ03	0.769	0.692	0.731	0.885	0.692	0.539	0.808	0.500	0.769	0.539	0.577	0.500							
DJ04	0.539	0.539	0.731	0.577	0.462	0.539	0.577	0.731	0.692	0.692	0.577	0.577	0.615						
DJ05	0.539	0.692	0.731	0.500	0.615	0.615	0.577	0.731	0.692	0.692	0.808	0.654	0.539	0.615					
DJ06	0.615	0.692	0.731	0.731	0.615	0.539	0.654	0.500	0.515	0.615	0.577	0.654	0.769	0.692	0.615				
DJ07	0.615	0.769	0.808	0.654	0.615	0.615	0.654	0.654	0.692	0.615	0.731	0.577	0.692	0.692	0.769	0.692			
DJ08	0.577	0.577	0.615	0.615	0.577	0.577	0.539	0.539	0.731	0.577	0.692	0.539	0.577	0.654	0.654	0.731	0.577		
DJ09	0.500	0.731	0.692	0.539	0.500	0.731	0.462	0.692	0.654	0.731	0.615	0.692	0.500	0.654	0.654	0.654	0.654	0.692	
DJ10	0.615	0.692	0.577	0.731	0.692	0.615	0.654	0.577	0.692	0.539	0.885	0.500	0.692	0.539	0.769	0.692	0.692	0.731	0.654

2.4 聚类分析

利用 SSR 标记遗传相似系数矩阵,按 UPGMA 方法对 20 份谷子种质资源进行聚类分析(见图 2),在遗传相似系数为 0.6 处将供试材料明显地

划分为 2 大类。DH01 等 11 个谷子品种为第 I 类群,遗传相似系数幅度为 0.539 ~ 0.923,类群内所有品种间的遗传相似系数均大于 0.5,表明第 I 类群的遗传多样性较小。DH02 等 9 个谷子品种为

第Ⅱ类群,类群内遗传相似系数为0.539~0.885,其中遗传相似系数均大于0.5,说明第Ⅱ类群的遗传多样性也相对较小。

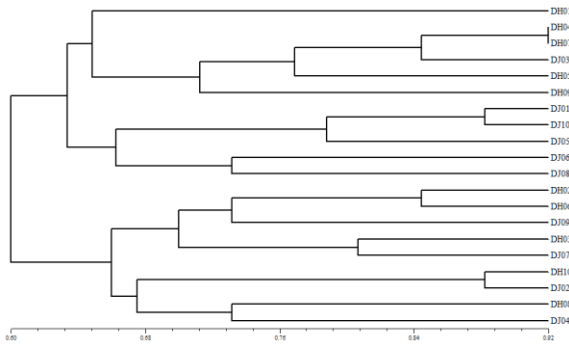


图2 20份谷子典型品种聚类图

在遗传相似系数0.64处,又可将第Ⅰ类群分为2个亚群,第1亚类包括DH01、DH04、DH07、DJ03、DH05、DH09。第2亚类包括DJ01、DJ10、DJ05、DJ06、DJ08。第1亚类除了DJ03,主要以黑龙江品种为主;第2亚类全部为吉林品种。对于不同地理来源的谷子品种,一部分品种的亲缘关系可能与地理来源有关。本研究根据SSR标记得出的遗传相似系数较大,但仍能将本试验中的材料进行聚类,且能将亲缘关系较近的材料区别开来,说明SSR标记能有效地应用于谷子种质资源的亲缘关系鉴定和遗传多样性分析中。

3 讨论

与其他遗传标记技术相比,SSR分子标记技术能够直接检测到DNA分子结构上的变异^[15],从本质上直观、鲜明、准确地反映出研究材料的差异,具有灵敏度高、稳定性好、共显性、操作简单等优点^[16]。因此,它在生物起源、进化和遗传变异性研究中倍受青睐^[17]。

多态性信息含量(PIC)是衡量基因变异程度的多态信息含量指标,当 $PIC < 0.25$ 时,该位点为低度多态性位点;当 $0.25 < PIC < 0.5$ 时,该位点为中度多态性位点;当 $PIC > 0.5$ 时,该位点为高度多态性位点^[18]。而本研究中的5对SSR引物在20份谷子材料中均表现出多态性,各引物扩增的等位基因数为4~6个,共26个等位基因,平均每个位点5.2个;多态信息含量为0.645~0.767,均值为0.718。由此可见,本试验选用的引物均为高度多态性信息引物,能较好地反映黑、吉两省20份谷子品种的基因型多样性水平。

平行研究两省20份谷子材料的遗传多样性

不难发现,吉林省谷子品种基因多样性略比黑龙江省丰富,但吉林省内谷子品种遗传相似系数较大,亲缘关系较黑龙江省更近,遗传多样性不高且多源于本省内,两省间交流较少。因此,加强两省种质资源的交流和配合使用,有助于提升各地区谷子遗传多样性及新品种的育成。此外,由表4可以看出,黑、吉两省的位点杂合度及多态信息含量最高值均来自不同引物,分别是DG2831和JG13656,说明各省份谷子品种可能具有各自的特征片段,这为种质资源交流及新品种培育提供了更大的可能性,为原产地保护及溯源提供了有利依据。另外,可优先考虑这2个位点用于谷子品种鉴别及鉴定,对于不同省份种质选取相应的优势引物,更具针对性。

聚类分析是研究“物以类聚”的一种科学有效的方法,由实验测试得到的数据是原始数据,原始数据是没有进行分类的、无规律的、错综复杂的变量,要使得这些数据能够反映出一定的规律性或特殊的分类性,需要对数据或变量进行聚类分析,以使数据或变量呈现一定的分门别类的特征^[19]。对品种间遗传相似系数进行聚类分析,能够比较有效地揭示品种间的血缘关系,了解品种的遗传多样性^[20]。可为遗传研究或育种亲本选择时提供参考,育种亲本选择遗传相似度越低材料,得到的后代材料遗传多样性越丰富。本试验中,部分黑龙江品种及部分吉林品种聚类在一起,可以看出不同地理来源的谷子品种,一部分品种的亲缘关系可能与地理来源有关。

可见,SSR技术可用于谷子的品种鉴别与鉴定,对原产地保护及产品溯源提供了重要依据。本研究中只选取了黑、吉两省各10个典型谷子品种和5对SSR引物进行分析,因此所选用的引物及其多态性位点并不能完全表达黑龙江省及吉林省谷子品种的全部基因组差异,近一步的研究还有待开展。

参考文献:

- [1] 孙加梅,王雪梅,王东健,等.谷子种质资源遗传多样性研究[J].山东农业科学,2013,45(3):33-37.
- [2] Garima Pandey,Gopal Misra,Kajal Kumari. Genome-wide development and use of microsatellite marker for large-scale genotyping applications in foxtail millet [*setaria italica*(L.)][J].DNA Research, 2013(20): 197-207.
- [3] 王军,谢皓,郭二虎,等.DNA分子标记及其在谷子遗传育种中的应用[J].北京农学院学报,2005,20(1):76-80.
- [4] Heng-Sheng L, Chih-Yun C, Song-Bin C, et al. Development

- of Simple Sequence Repeats (SSR) Markers in *Setaria italica* (Poaceae) and Cross-Amplification in Related Species[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2011, 12(11): 7835-7845.
- [5] Dutta S, Kumawat G, Singh B P, et al. Development of genic-SSR markers by deep transcriptome sequencing in pigeonpea [*Cajanus cajan* (L.) Millspaugh][J]. Bmc Plant Biology, 2011, 11(1): 1-13.
- [6] Gengyun Z, Xin L, Zhiwu Q, et al. Genome sequence of foxtail millet (*Setaria italica*) provides insights into grass evolution and biofuel potential[J]. Nature Biotechnology, 2012, 30(6):549-554.
- [7] 王印肖, 徐秀琴, 韩宏伟. 分子标记在品种鉴定中的应用及前景[J]. 河北林业科技, 2006, 9(S1): 46-49.
- [8] 赵久然, 王凤格, 易红梅, 等. 我国玉米品种标准 DNA 指纹库构建研究及应用进展[J]. 作物杂志, 2015(2): 1-6.
- [9] 赵海艳, 吴明生, 宋 歌, 等. 番茄品种 SSR 标记鉴定技术研究[J]. 中国蔬菜, 2015(8): 22-27.
- [10] Zhao W, Lee G A, Kwon S W, et al. Development and use of novel SSR markers for molecular genetic diversity in Italian millet (*Setaria italica* L.)[J]. Genes & Genomics, 2012, 34(1):51-57.
- [11] D' Ennequin M L T, Panaud O, Toupan B, et al. Assessment of genetic relationships between *Setaria italica* and its wild relative *S. viridis* using AFLP markers[J]. Theoretical & Applied Genetics, 2000, 100(7): 1061-1066.
- [12] Doust A N, Kellogg E A, Devos K M, et al. Foxtail millet: A sequence-driven grass model system[J]. Plant Physiology, 2009, 149(1): 137-141.
- [13] Kajal Kumari, Mehanathan Muthamilarasan, Gopal Misra. Development of eSSR-markers in *Setaria italica* and their applicability in studying genetic diversity, cross-transferability and comparative mapping in millet and non-millet Species[J]. PLOS ONE, 2013, 8(6): 65-79.
- [14] Bi Y H, Wu Y Y, Zhou Z G. Genetic diversity of wild population of *Pyropia haitanensis* based on SSR analysis[J]. Biochemical Systematics & Ecology, 2014, 54(2): 307-312.
- [15] Soto-Cerda B J, Saavedra H U, Navarro C N, et al. Characterization of novel genic SSR markers in *Linum usitatissimum* (L.) and their transferability across eleven *Linum* species[J]. Electronic Journal of Biotechnology, 2011, 14(2): 1-11.
- [16] Li X L, Li S C, Chu H J, et al. Genetic diversity and population structure of the endangered alpine quillwort *Isoetes hypsophila* (Isoetaceae) revealed by SSR analysis[J]. Biochemical Systematics & Ecology, 2014, 47(4): 11-20.
- [17] Pakull B, Groppe K, Mecucci F, et al. Genetic mapping of linkage group XIX and identification of sex-linked SSR markers in a *Populus tremula* × *Populus tremuloides* cross[J]. Canadian Journal of Forest Research, 2011, 41(2): 245-253.
- [18] 齐琳洁, 龙 平, 蒋 超, 等. 黄芩基因组 SSR 分子标记的开发及遗传多样性分析[J]. 药学报, 2015(4): 500-505.
- [19] Chen H, Ling Q, Wang L, et al. Assessment of genetic diversity and population structure of mung bean (*Vigna radiata*) germplasm using EST-based and genomic SSR markers[J]. Gene, 2015, 566(2): 175-183.
- [20] 刘云婷, 张秋兰, 王 倩, 等. 河北省玉米种子质量评价及遗传多样性分析[J]. 河北农业大学学报, 2015, 38(4): 8-12.

(责任编辑:王 昱)