

盛秀丽, 周 茜, 马刘峰, 等. 新疆石榴表型性状分析及分子身份证构建[J]. 江苏农业学报, 2024, 40(6): 1098-1110.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2024.06.017

新疆石榴表型性状分析及分子身份证构建

盛秀丽, 周 茜, 马刘峰, 方志刚, 陈 芸

(喀什大学生命与地理科学学院/新疆帕米尔高原生物资源与生态重点实验室, 新疆 喀什 844000)

摘要: 为快速鉴别石榴种质资源, 解决石榴“同名异物”、“同物异名”现象, 促进新疆石榴产业的发展, 本研究在采集新疆石榴主产区 24 份种质的基础上, 分析新疆石榴种质叶片及果实表型性状的变异特征, 选择多态性较好的 18 条引物对石榴种质进行遗传多样性分析及亲缘关系鉴定, 并从中选出可将 24 份石榴种质鉴别出来的核心引物构建新疆石榴的分子身份证。结果表明: 新疆石榴的果实、叶片形状变异较大, 遗传多样性较为丰富, 但仅从表型性状很难将石榴种质进行精准鉴别。18 条引物共扩增出 240 条条带, 其中多态性条带 199 条, 占比为 82.92%。24 份种质的平均等位基因数为 1.812 5, 有效等位基因数为 1.287 0, Nei's 基因多样性指数为 0.177 0, Shannon's 多样性指数为 0.282 0; 和田地区石榴种质的 Nei's 基因多样性指数及 Shannon's 多样性指数高于喀什地区石榴种质。在遗传相似系数为 0.85 时, 24 份石榴种质被分为 6 大类群, 且石榴的分类结果与果实风味和地理位置的关联性不大。5 条核心引物 UBC73、UBC880、UBC810、UBC841、UBC35 可实现 24 份石榴种质的鉴别, 以其扩增的电泳图谱所构建的新疆石榴的分子身份证也互不相同, 表明 24 份种质不存在“同名异物”、“同物异名”现象。本研究结果为石榴种质鉴定提供了一种新方法。

关键词: 石榴; 遗传多样性; 表型性状; 分子身份证

中图分类号: S655.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2024)06-1098-13

Phenotypic traits analysis and establishment of molecular identity card of Xinjiang pomegranate

SHENG Xiuli, ZHOU Qian, MA Liufeng, FANG Zhigang, CHEN Yun

(The College of Life and Geographic Sciences, Kashi University/Key Laboratory of Biological Resources and Ecology of Pamirs Plateau in Xinjiang Uygur Autonomous Region, Kashi 844000, China)

Abstract: In order to quickly identify pomegranate germplasm resources, solve the phenomenon of homonyms and synonyms, and promote the development of pomegranate industry in Xinjiang, this study collected 24 germplasms from the main producing areas of pomegranate in Xinjiang, and analyzed the variation characteristics of phenotypic traits of leaves and fruits of pomegranate in Xinjiang. Eighteen primers with good polymorphism were selected to analyze the genetic diversity and genetic relationship of pomegranate germplasms, and the core primers that could identify 24 pomegranate germplasms were selected to construct the molecular identity card of pomegranate in Xinjiang. The results showed that the shape of fruits

and leaves of pomegranate in Xinjiang varied greatly, and the genetic diversity was rich, but it was difficult to accurately identify pomegranate germplasms by phenotypic traits. A total of 240 bands were amplified by 18 primers, of which 199 were polymorphic bands, accounting for 82.92%. The average number of alleles of 24 germplasms was 1.812 5, the effective number of alleles was 1.287 0,

收稿日期: 2023-04-10

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(2020D01A07); 新疆维吾尔自治区高校科研计划项目(XJEDU2019Y039)

作者简介: 盛秀丽(1994-), 女, 河南商丘人, 硕士研究生, 主要从事植物分子遗传学研究。(E-mail) shengxl09@163.com

通讯作者: 陈 芸, (E-mail) chenyun8111@126.com

Nei's gene diversity index was 0.177 0, and the Shannon's diversity index was 0.282 0. The Nei's gene diversity index and Shannon's diversity index of pomegranate germplasms in Hotan prefecture were higher than those in Kashi prefecture. When the genetic similarity coefficient was 0.85, 24 pomegranate germplasms were divided into six groups, and the classification results of pomegranate were not related to fruit flavor and geographical location. Five core primers (UBC73, UBC880, UBC810, UBC841 and UBC35) could be used to identify 24 pomegranate germplasms. The molecular identity cards of Xinjiang pomegranate constructed by the amplified electrophoresis patterns were also different, indicating that there was no phenomenon of homonyms and synonyms in 24 germplasms. The results of this study provide a new method for the identification of pomegranate germplasms.

Key words: *Punica granatum* L.; genetic diversity; phenotypic traits; molecular identity card

石榴(*Punica granatum* L.)是千屈菜科石榴属落叶灌木或乔木,果实风味独特、营养丰富^[1-3]。石榴果实既可鲜食,也可加工成果汁、果酒等产品,具有较高的经济价值。石榴在中国的栽培历史可追溯至两千年前的汉代,经过历史变迁,现已形成陕西、新疆、河南、安徽、云南、山东等六大石榴产区^[4]。新疆的石榴主要种植于喀什、和田等南部地区,已成为南疆重点发展的特色经济林果之一^[5]。新疆地区干燥少雨、日照充足,该地区生产的石榴果实个大、皮薄、汁多、糖分含量高,品质明显优于国内其他产区^[6],颇受市场消费者喜爱。随着新疆基建工作、快递及电商行业的发展,越来越多的新疆石榴走进全国市场,带动了新疆地区的经济发展。品种资源是石榴产业健康发展的基础,但长期以来,新疆果农大多根据石榴风味及产地对石榴进行命名,品种鱼目混杂,分类混乱。因此,种质资源的鉴定及分子身份证构建对于新疆地区石榴种质资源的保存、利用以及新品种的选育尤为重要。

分子标记技术可从 DNA 分子水平上反映出品种间遗传物质的差异,分析结果不受外界因素的影响,准确可靠。近年来,随着分子生物学的快速发展,现已发展出几十种分子标记技术,被广泛应用于植物遗传多样性分析、DNA 指纹图谱及分子身份证的构建^[7-9]。目前国内外利用分子标记技术对石榴的研究主要集中于遗传多样性分析及评价, Noormohammadi 等^[10]利用 RAPD、ISSR 和 SSR 3 种分子标记技术对伊朗 36 个石榴品种进行了遗传多样性分析, Narzary 等^[11]利用 ISSR 分子标记技术分析了印度 49 份石榴的遗传多样性及群体结构, Patil 等^[12]利用 SSR 分子标记对来自印度、伊朗、阿富汗等 14 个国家的不同石榴品种进行了遗传多样性分析。王庆军等^[13]利用 ISSR 分子标记对山东 24 个石榴品种进行遗传多样性及亲缘关系分析, 宁琳等^[14]利用

ISSR 分子标记分析了 36 份番石榴的亲缘关系, 赵丽华等^[15]利用 AFLP 分子标记对川滇石榴品种进行了遗传多样性及亲缘关系分析。虽有学者开始利用分子标记构建石榴分子身份证, 但仅涉及少数石榴品种^[16-17], 关于新疆地区石榴分子身份证的构建尚未见报道。

本研究以新疆南部地区收集到的 24 份石榴品种为材料, 在对不同品种叶片及果实表型性状统计分析的基础上, 进一步利用 ISSR 分子标记技术分析其遗传多样性并构建分子身份证, 旨在为石榴种质资源的鉴定提供依据, 促进新疆石榴产业的发展。

1 材料与方法

1.1 试验材料采集与预处理

2022 年 10 月于石榴成熟期在新疆喀什、和田 24 个取样点采集不同石榴种质的果实和叶片, 品种编号及采集点详见表 1。每个取样点选取生长状况良好的同种质石榴树 5~10 棵, 在果树的东南西北 4 个方向随机摘取石榴果实 20 个、叶片 20 张。采集后的石榴果实及叶片置于车载冰箱(4℃)带回实验室。取 10 张叶片用蒸馏水清洗干净后, 再用吸水纸吸干叶片表面水分, 经液氮速冻后置于-80℃冰箱, 用于基因组提取。

1.2 试验方法

1.2.1 表型性状统计 除去观赏石榴(S22), 测量并记录 23 份栽培石榴种质的果实及叶片的表型指标。测定指标包括单果重、果实横径、果实纵径、萼筒横径、萼筒纵径、叶片长度、叶片宽度, 并计算果形指数、叶形指数及变异系数。用电子称(永康市华鹰仪器有限公司产品)称量石榴果实的单果重, 7 次重复; 用 MNT-300 游标卡尺(上海美耐特实业有限公司产品)测量石榴果实的横径、纵径及萼筒横径, 10 次重复; 用卷尺测量叶长、叶宽、萼筒纵径, 10 次

重复。果形指数为果实纵径与果实横径的比值,叶形指数为叶片长度与叶片宽度的比值,变异系数为标准差与平均值的比值。

表 1 石榴种质采集点

Table 1 Collection sites of pomegranate germplasms

编号	石榴种质类型	采集地点	编号	石榴种质类型	采集地点
S1	酸石榴	喀什地区疏附县阿瓦提乡	S13	甜石榴	和田地区皮山县藏桂乡
S2	酸石榴	喀什地区疏附县阿瓦提乡	S14	甜石榴	和田地区皮山县皮亚勒玛乡
S3	甜石榴	喀什地区疏附县阿瓦提乡	S15	酸石榴	和田地区皮山县皮亚勒玛乡
S4	突尼斯软籽石榴	喀什地区叶城县伯西热克乡	S16	甜石榴	和田地区策勒县策勒乡
S5	酸石榴	和田地区皮山县藏桂乡	S17	甜石榴	和田地区和田市
S6	洛克一号	喀什地区叶城县洛克乡	S18	酸石榴	喀什地区疏附县佰什克然木乡
S7	酸石榴	和田地区策勒县策勒乡	S19	甜石榴	和田地区皮山县藏桂乡
S8	甜石榴	喀什地区叶城县伯西热克乡	S20	酸石榴	喀什地区叶城县伯西热克乡
S9	酸石榴	和田地区皮山县藏桂乡	S21	甜石榴	和田地区皮山县藏桂乡
S10	甜石榴	喀什地区疏附县佰什克然木乡	S22	观赏石榴	喀什地区喀什市
S11	甜石榴	喀什地区莎车县	S23	酸石榴	喀什地区伽师县
S12	酸石榴	喀什地区疏附县佰什克然木乡	S24	甜石榴	喀什地区伽师县

1.2.2 石榴基因组 DNA 的提取 参考谭小艳等^[18]的改良 CTAB II 法提取石榴的基因组 DNA,1.5%琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的质量。

表 2 ISSR 引物序列信息

Table 2 The information of ISSR primers

引物名称	引物序列(5'→3')	引物名称	引物序列(5'→3')
IS15	GAGAGAGAGAGAGACG	UBC841	GAGAGAGAGAGAGAYC
IS11	AGCAGCAGCAGCAGCAGCG	UBC842	GAGAGAGAGAGAGAGAYG
HB14	CTCCTCCTCGC	UBC880	GGAGAGGAGAGGAGA
UBC811	GAGAGAGAGAGAGAGAC	UBC825	AGAGAGAGAGAGAGAGT
UBC808	AGAGAGAGAGAGAGAGC	UBC35	AGAGAGAGAGAGAGAGYC
UBC834	AGAGAGAGAGAGAGAGYT	UBC73	GACAGACAGACAGACA
ISSR16	CGTCACACACACACACAC	UBC26	ACACACACACACACACC
UBC810	GAGAGAGAGAGAGAGAT	UBC836	AGAGAGAGAGAGAGAGYA
UBC827	ACACACACACACACACG	UBC812	GAGAGAGAGAGAGAGAA

1.2.3 ISSR 引物序列信息 参照王庆军等^[19-20]、Narzary 等^[11]、赵丽华^[21]方法,本研究所用的引物如表 2 所示。引物由上海生物工程有限公司合成。

1.2.4 ISSR-PCR 扩增及退火温度的优化 由于退火温度对 PCR 扩增结果有较大影响,研究中针对不同的引物,利用 Eppendorf Mastercycler X50 梯度 PCR 仪(德国艾本德公司产品)对引物的适宜退火温度进行确定。在40~60 ℃温度内,先以 2 ℃为梯度进行预试验,然后根据 PCR 结果逐步缩小温度梯度,直至确定引物的适宜退火温度。PCR 反应体系:2×Es Tap Master Mix 12.5 μl,引物 1.5 μl,DNA

模板 0.75 μl,Mg²⁺ 2 μl,用双蒸水(ddH₂O)补足至 25 μl。PCR 扩增程序:94 ℃预变性 5.0 min;94 ℃变性 1.0 min,确定的较佳退火温度下退火 1.0 min,72 ℃延伸 1.5 min,35 个循环;最后 72 ℃延伸 10.0 min。

1.2.5 扩增图谱的生成 ISSR-PCR 扩增产物用 8%聚丙烯酰胺凝胶电泳,再经 0.1%的银离子染色,3%碳酸钠显影后,得到 24 份种质的扩增图谱,并用

相机拍照保存。

1.3 石榴种质鉴别引物筛选

将每条引物扩增出的电泳图谱进行人工读带,在相同的扩增位置,有清晰条带的记为“1”,无条带或模糊的记为“0”,每条引物扩增出的条带按从上到下的顺序依次读带,记录 18 条引物扩增产生的电泳条带,构建 2 进制矩阵。统计 24 份种质中所产生的条带数以及多态性条带,计算引物的多态性指数;根据引物的多态性指数筛选出可将所有种质鉴别出来的核心引物。

1.4 石榴种质遗传多样性分析及分子身份证构建

利用 Popgen32 软件^[22]进行新疆石榴种质遗传多样性分析;利用 Ntsys2.10 软件^[23]进行石榴种质遗传相似系数及聚类分析。分子身份证构建程序如下:首先将种质鉴别核心引物扩增的条带组合起来得到 2 进制的 DNA 指纹图谱,再将上述指纹图谱通过数学方式转换为 16 进制的身份证编码^[24],最后将指纹图谱、身份证编码及种质的基本信息输入二维码转换软件(<https://cli.im>)^[25]得到种质的二维码分子身份证。

1.5 数据处理与分析

利用 Excel 2019 进行石榴表型性状统计分析及电泳图谱二进制的记录,利用 SPSS 26.0 软件(美国 IBM 公司产品)进行种质间表型性状差异显著性分析,利用 Origin2021(美国 OriginLab 公司产品)进行绘图。

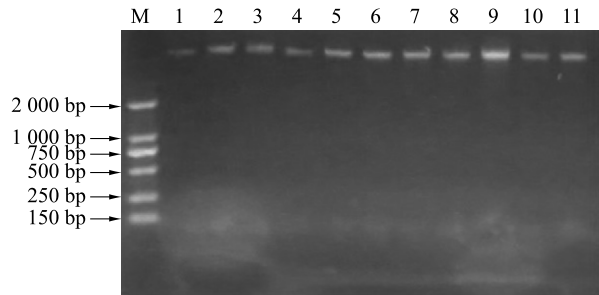
2 结果与分析

2.1 基因组 DNA 检测

石榴基因组 DNA 电泳图如图 1 所示。从图中可以看出,DNA 条带清晰明亮,无拖尾及杂带,说明本研究提取的 DNA 较为完整,无蛋白质、RNA 及杂质污染,DNA 质量满足后续试验要求。

2.2 ISSR-PCR 退火温度的优化

不同退火温度下,UBC841 引物对 S6 种质基因组 DNA 扩增条带的变化特征如图 2 所示。从图中可以看出,随着退火温度的增加,扩增的条带数目越来越多,当退火温度增加至 50.2 °C 时,扩增条带数最多且条带清晰明亮。此后,随着退火温度的进一步增加,扩增条带亮度呈减弱趋势,条带变得模糊。因此,引物 UBC841 的适宜退火温度为 50.2 °C。18 条引物的适宜退火温度如表 3 所示。

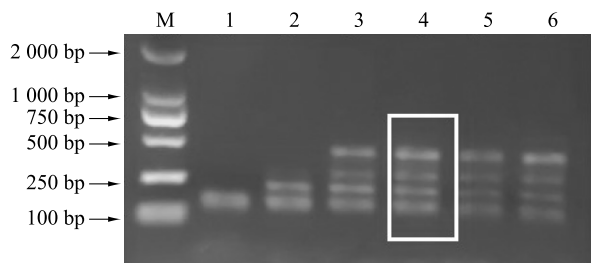


M:DL2000 DNA marker;1,2 为 S5 种质的 DNA 模板,3,4 为 S4 种质的 DNA 模板,5,6 为 S3 种质的 DNA 模板,7,8 为 S2 种质的 DNA 模板,9,10 为 S1 种质的 DNA 模板,11 为 S17 种质的 DNA 模板。

图 1 部分石榴基因组 DNA 电泳图

Fig.1 Electrophoretogram of partial pomegranate genomic DNA

适宜的退火温度下,UBC842、UBC35、UBC880 引物对 S7、S13、S17 石榴种质基因组 DNA 扩增效果如图 3 所示。从图中可以看出,3 个种质的 DNA 扩增条件清晰明亮,说明本研究确定的适宜退火温度是合理的。



M:DL2000 DNA marker;1~6 的退火温度依次为 46.8 °C、47.9 °C、49.1 °C、50.2 °C、54.4 °C、52.2 °C。

图 2 不同退火温度下,引物 UBC841 对 S6 石榴种质 DNA 扩增结果

Fig.2 DNA amplification results of S6 pomegranate germplasm by primer UBC841 at different annealing temperatures

2.3 新疆石榴表型性状分析

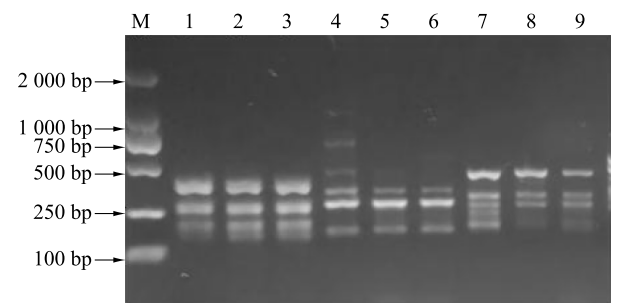
新疆 23 份栽培石榴种质果实及叶片的表型性状如表 4 所示。从表中可以看出,新疆 23 个栽培石榴果实及叶片性状均出现不同程度的变异,变异系数为 4.60%~30.94%,平均为 15.59%,说明新疆石榴种质的遗传多样性较为丰富。变异系数从大到小依次为单果重、萼筒横径、萼筒纵径、叶片长、叶片宽、叶形指数、果实纵径、果实横径、果形指数。单果重最大值为 768.02 g,最小值为 123.00 g,极差达

645.02 g,差异较大。果形指数最大值为 1.05,最小值为 0.63,极差为 0.42,整体较为稳定。相对来说,果实性状的变异系数(横径和纵径)低于叶片性状(长度、宽度)和萼筒性状(横径和纵径)。

表 3 18 条引物的适宜退火温度

Table 3 Suitable annealing temperatures of 18 primers

引物名称	适宜退火温度 (℃)	引物名称	适宜退火温度 (℃)
IS15	46.8	UBC841	50.2
IS11	56.3	UBC842	49.4
HB14	48.1	UBC880	55.0
UBC811	55.3	UBC825	51.5
UBC808	54.5	UBC35	53.2
UBC834	49.6	UBC73	47.8
ISSR16	50.4	UBC26	47.8
UBC810	52.5	UBC836	49.6
UBC827	54.5	UBC812	51.5



M;DL2000 DNA marker;1~3 的引物为 UBC842,退火温度为 49.4℃;4~6 的引物为 UBC35,退火温度为 53.2℃;7~9 的引物为 UBC880,退火温度为 55.0℃。1、4、7 为 S7 种质的 DNA 模板,2、5、8 为 S13 种质的 DNA 模板,3、6、9 为 S17 种质的 DNA 模板。

图 3 适宜的退火温度下 UBC842、UBC35、UBC880 引物对 S7、S13、S17 石榴种质基因组 DNA 扩增结果

Fig.3 Amplification results of the genomic DNA of S7, S13 and S17 by UBC842, UBC35 and UBC880 primers under the suitable annealing temperatures

表 4 供试新疆石榴表型性状变异

Table 4 Phenotypic trait variation of Xinjiang pomegranate used in this study

表型性状	最大值	最小值	平均值	极差	标准差	表型性状	变异系数(%)
单果重(g)	768.02	123.00	321.64	645.02	99.53	单果重	30.94
果实横径(cm)	11.54	5.68	8.27	5.86	0.71	果实横径	8.59
果实纵径(cm)	11.09	4.26	7.22	6.83	0.76	果实纵径	10.53
果形指数	1.05	0.63	0.87	0.42	0.04	果形指数	4.60
萼筒横径(cm)	2.93	0.94	1.77	1.99	0.34	萼筒横径	19.21
萼筒纵径(cm)	3.60	1.03	2.37	2.57	0.43	萼筒纵径	18.14
叶片长度(cm)	10.60	3.50	6.10	7.10	1.10	叶片长度	18.03
叶片宽度(cm)	5.20	1.20	2.11	4.00	0.32	叶片宽度	15.17
叶形指数	5.17	1.33	2.91	3.83	0.44	叶形指数	15.12

2.4 新疆石榴的表型性状分析

新疆栽培石榴种质的表型性状特征如表 5 所示。从表中可以看出,S8 种质的单果重最大,平均为 569.06 g,显著高于其他种质,S13 种质的单果重最小,平均值为 178.80 g,种质间的差异较大。S12 种质的果实横径均值为 10.53 cm,显著高于其他种质;S18 种质的果实横径最小(7.06 cm),与 S4、S8、S11、S13、S16 等种质的差异不显著,显著低于其他种质。S12 种质的果实纵径亦显著高于其他种质;S18 种质的果实纵径最小,与 S11、S13、S16、S17、S24 等种质无显著差异,显著低于其他种质。同样,S12

种质的萼筒横径均值最大,达 2.61 cm,与 S1、S17 种质的差异不显著,显著高于其他种质;S14 种质的萼筒横径均值最小,仅 1.37 cm,显著低于 S1、S2、S3、S5、S6、S9、S10、S12、S15、S17、S20、S24 等种质。S8 种质的萼筒纵径均值最大,为 2.96 cm,与 S1、S2、S5、S6、S14、S18、S19、S23 等种质无显著性差异,而显著大于其他种质;S11 种质的萼筒纵径均值最小,为 1.57cm,与 S17 种质无显著性差异,显著低于其他种质。S5 种质的叶片长度均值较大,为 8.99 cm,与 S21 种质无显著差异,显著大于其他种质;S18 种质的叶片长度均值最小,为 4.40 cm,与 S10

种质无显著差异,显著低于其他种质。S5 种质的叶片宽度均值最大,为 2.85 cm,与 S21 种质无显著性差异,大于其他种质;S11 种质的叶片宽度均值最小,为 1.50 cm,与 S3、S7、S16、S17 等种质无显著性差异,低于其他种质。

表 5 不同石榴种质表型性状的差异显著性分析
Table 5 Difference significance analysis of phenotypic traits of different pomegranate germplasms

品种	表型性状								
	单果重 (g)	果实横径 (cm)	果实纵径 (cm)	果形指数	萼筒横径 (cm)	萼筒纵径 (cm)	叶片长度 (cm)	叶片宽度 (cm)	叶形指数
S1	468.98bc	9.74b	8.42b	0.86cdefg	2.43a	2.95a	6.64bc	2.22bcdef	3.05bcde
S2	373.64de	8.81c	8.24bc	0.94ab	1.93bcd	2.68abc	5.55efgh	1.93fghi	2.89cdef
S3	354.93defg	8.69c	7.71bcd	0.89abcdef	1.96bcd	2.12de	5.86defg	1.71hij	3.48ab
S4	304.48efghi	7.51def	7.10defg	0.95a	1.57fgh	1.91ef	5.49ghi	2.36bcd	2.36gh
S5	277.88ghij	8.65c	7.45cde	0.87bcdefg	1.79cdef	2.62abc	8.99a	2.85a	3.39ab
S6	489.01b	8.25cde	7.42de	0.90abcde	1.84bcde	2.68abc	6.27bcde	2.29bcde	2.76defg
S7	231.53ijk	8.08cde	7.18defg	0.89abcdef	1.57fgh	2.22de	5.75defg	1.59ij	3.62a
S8	569.06a	7.92cdef	7.00defgh	0.88abcdef	1.61efgh	2.96a	6.62bc	2.35bcd	2.82cdef
S9	325.49defgh	8.19cde	7.34def	0.90abcde	1.76def	2.60bc	6.92b	2.30bcde	3.01bcde
S10	254.50hijk	8.08cde	6.87defgh	0.85defg	1.86bcde	1.93ef	4.69ij	2.08cdefg	2.25gh
S11	272.42ghij	7.87cdef	6.44ghi	0.82fgh	1.48gh	1.57g	4.85ghi	1.50j	3.23abc
S12	469.66bc	10.53a	9.29a	0.89abcdef	2.61a	1.88ef	5.15ghi	2.39bc	2.15h
S13	178.80k	7.61def	6.54fghi	0.86cdefg	1.42h	2.01e	6.94b	2.10cdefg	3.30abc
S14	345.44defg	8.22cde	7.64bcde	0.93abc	1.37h	2.81ab	5.73defg	2.09cdefg	2.74defg
S15	247.94hijk	8.02cde	7.39de	0.92abc	1.72defg	2.38cd	6.66bc	1.97efgh	3.38ab
S16	199.27jk	7.36ef	6.24hi	0.85defg	1.46gh	2.12de	5.91cdefg	1.81ghij	3.27abc
S17	365.61def	8.34cd	6.39ghi	0.78h	2.36a	1.66fg	5.37ghi	1.72hij	3.12abcd
S18	286.53fghi	7.06f	5.86i	0.83efgh	1.40h	2.83ab	4.40j	2.18cdef	2.02h
S19	230.64ijk	8.36cd	7.57cde	0.91abcd	1.43h	2.85ab	6.26bcdef	2.01defgh	3.11abcde
S20	398.83cd	8.42cd	7.69bcd	0.91abcd	2.06b	2.60bc	6.42bcd	2.42bc	2.65efg
S21	241.33hijk	8.14cde	6.83efgh	0.84defg	1.42h	2.21de	8.61a	2.55ab	3.38ab
S23	257.74hijk	8.35cd	6.93defgh	0.83efgh	1.63efgh	2.88ab	5.57efgh	1.90fghi	2.93bcde
S24	282.22fghij	8.00cde	6.38ghi	0.80gh	2.04bc	1.92ef	5.54efgh	2.21bcdef	2.51fg

同列后的不同小写字母表示种质间性状存在显著差异 ($P<0.05$)。S1~S24 见表 1。

2.5 ISSR-PCR 扩增多态性分析

利用 18 条引物对 24 份石榴种质进行扩增,代表图谱如图 4 所示。18 条引物共扩增出 240 条条带,其中多态性条带 199 条,平均每条引物扩增出 13.33 条条带,多态性条带 11.06 条,多态性比率为 82.92%。

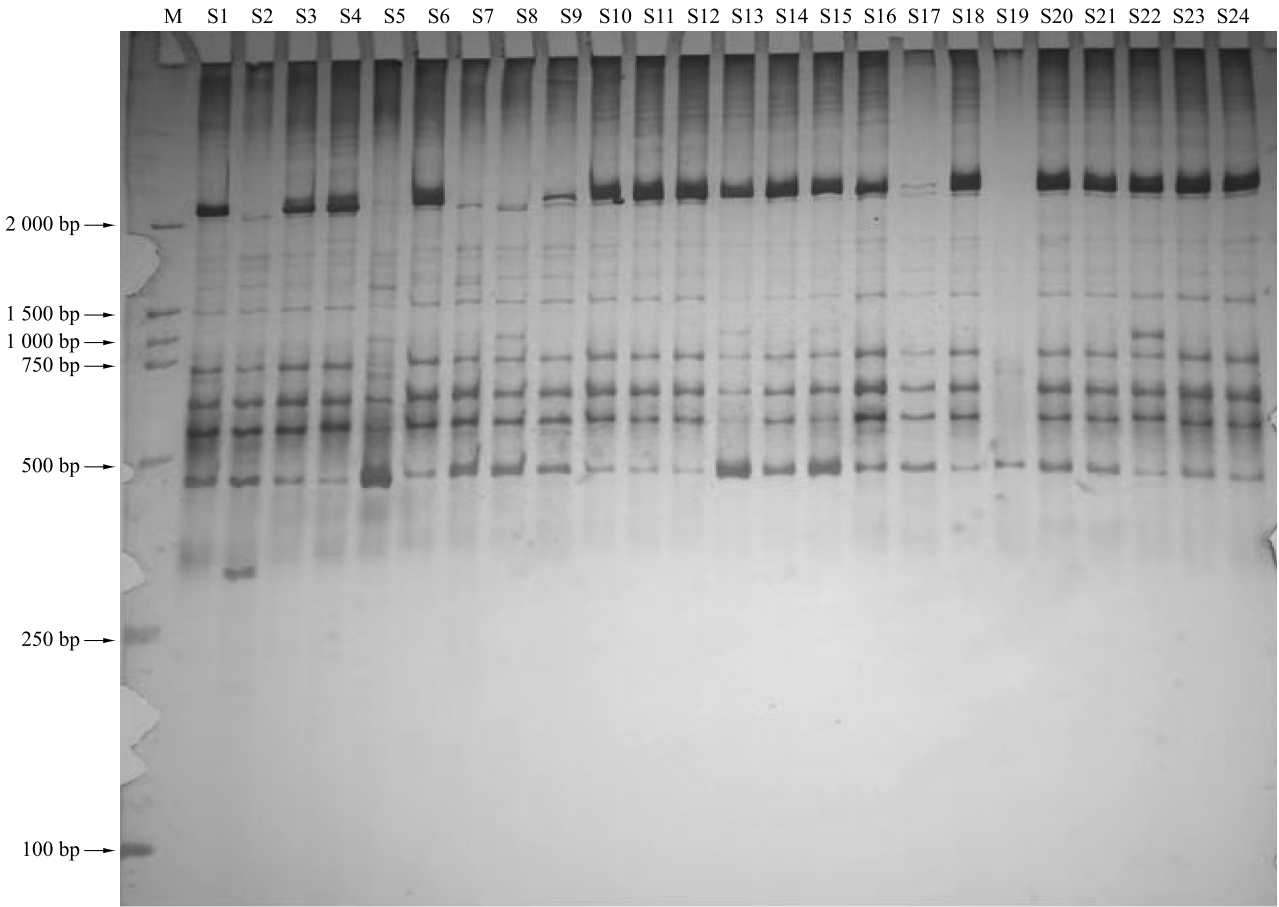
2.6 遗传多样性分析

新疆石榴种质遗传多样性如表 6 所示,从表中可以看出,24 份种质的平均等位基因数 (N_a) 为 1.812 5,有效等位基因数 (N_e) 为 1.287 0, N_e 's 遗传多样性指数 (H) 为 0.177 0, Shannon's 遗传多样性指数 (I) 为 0.282 0。和田地区石榴种质资源的 N_e 's 遗传多样性指数 (H) 及 Shannon's 遗传多样

性指数高于喀什地区,表明来自和田地区的石榴种质资源的遗传多样性更丰富。

2.7 遗传相似性及聚类分析

24 份石榴种质的遗传相似矩阵如表 7 所示,从表中可以看出:种质间的遗传相似系数为 0.563 9~0.980 7,变化幅度为 0.416 8,平均遗传相似系数为 0.867 8,表明种质间较为相似,可能具有相似的遗传背景。其中 N5 种质和 N20 种质之间的遗传相似系数最小,为 0.563 9,表明两者之间的相似性较低,亲缘关系较远。S23 种质和 S24 种质之间的遗传相似系数最大,为 0.980 7,表明两者之间的遗传物质相似,亲缘关系较近。



M:DL2000 DNA marker;S1~S24 为新疆石榴种质,见表 1。

图 4 引物 UBC841 的扩增图谱

Fig.4 Amplification map of primer UBC841

表 6 新疆石榴种质的遗传多样性分析

Table 6 Genetic diversity analysis of pomegranate in Xinjiang

种质	平均等位 基因数	有效等位 基因数	Nei's 遗传 多样性指数	Shannon's 遗传 多样性指数
喀什地区 种质	1.595 8	1.268 7	0.162 5	0.251 8
和田地区 种质	1.583 3	1.299 3	0.176 3	0.268 7
总体	1.812 5	1.287 0	0.177 0	0.282 0

24 份石榴种质的遗传关系聚类图如图 5 所示。从图中可以看出,在遗传相似系数为 0.85 时,供试种质可分为 6 大类群,其中 S4(突尼斯软籽石榴)、S22(观赏石榴)、S5(来自和田市皮山县藏桂乡的酸石榴)、S19(来自和田地区皮山县藏桂乡的甜石榴)、S20(来自喀什市叶城县的酸石榴)各自单独聚为一类,除此之外的其他石榴种质被聚为一类。

2.8 DNA 指纹图谱及分子身份证构建

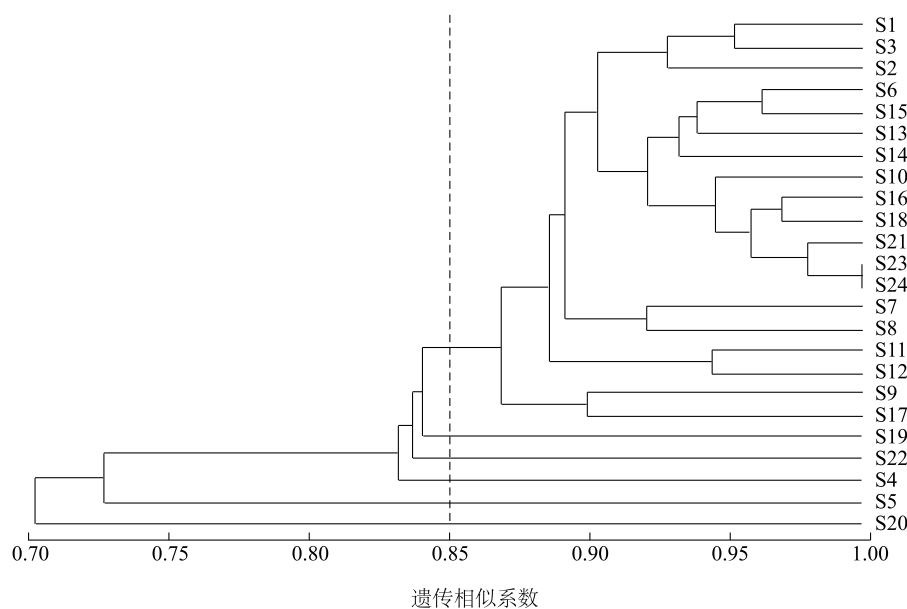
根据引物多态性分析结果,从 18 条引物中筛选出

可将所有种质鉴别出来的 5 条引物为 UBC73、UBC880、UBC810、UBC841、UBC35。将 5 条核心引物按 UBC73、UBC880、UBC810、UBC841、UBC35 顺序排列,所扩增的条带组合起来便得到 2 进制的 DNA 指纹图谱(图 6),可直观地看出不同种质扩增条带的差异。以种质 S1 为例,根据电泳图谱转换后的 DNA 指纹图谱为:10001101000011101110000001111011011001110101001001001010101001001010111000100101,共 82 位,将 DNA 指纹图谱通过数学方式转换为十六进制后^[24]得到的身份证编码为:2343b81ed9d492aa4ae25,共 21 位。对比转换前后,身份证编码与 DNA 指纹图谱所表达的信息未改变,但号码位数减少了 61 位,因此,用十六进制的编码构建分子身份证更简短。将指纹图谱、身份证编码及种质的基本信息输入在线二维码转换器得到种质的二维码分子身份证(图 7),可供电子设备快速扫描。种质 S1 的二维码分子身份证扫码后可看到种质的一些基本信息(图 8)。

表 7 新疆石榴种质遗传相似矩阵
Table 7 Genetic similarity matrix of pomegranate in Xinjiang

种质 编号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	S18	S19	S20	S21	S22	S23	S24
S1	1.000 0																							
S2	0.924 4	1.000 0																						
S3	0.940 2	0.914 3	1.000 0																					
S4	0.858 2	0.847 1	0.917 9	1.000 0																				
S5	0.735 6	0.745 1	0.761 2	0.690 6	1.000 0																			
S6	0.928 0	0.885 2	0.933 9	0.861 4	0.749 1	1.000 0																		
S7	0.881 6	0.887 0	0.896 8	0.824 4	0.778 6	0.916 3	1.000 0																	
S8	0.868 5	0.873 5	0.876 0	0.806 0	0.761 2	0.902 7	0.912 7	1.000 0																
S9	0.859 6	0.873 4	0.859 5	0.777 8	0.761 9	0.879 7	0.898 3	0.867 8	1.000 0															
S10	0.888 9	0.861 8	0.903 5	0.840 1	0.750 9	0.922 5	0.885 4	0.880 3	0.880 7	1.000 0														
S11	0.872 0	0.852 5	0.894 9	0.839 0	0.749 1	0.906 3	0.892 4	0.879 4	0.888 0	0.922 5	1.000 0													
S12	0.837 6	0.815 8	0.863 1	0.804 8	0.733 1	0.875 0	0.868 1	0.846 5	0.871 1	0.892 6	0.933 3	1.000 0												
S13	0.877 5	0.842 1	0.892 3	0.822 2	0.770 4	0.911 2	0.8661	0.846 2	0.868 9	0.888 9	0.895 8	0.856 0	1.000 0											
S14	0.881 0	0.853 7	0.888 0	0.825 3	0.758 4	0.914 7	0.885 4	0.857 1	0.880 7	0.900 0	0.907 0	0.867 8	0.919 5	1.000 0										
S15	0.908 4	0.873 5	0.914 7	0.835 8	0.776 1	0.949 4	0.904 8	0.891 5	0.884 3	0.911 2	0.902 7	0.871 4	0.946 2	0.934 4	1.000 0									
S16	0.918 7	0.883 3	0.924 9	0.844 1	0.752 9	0.952 4	0.923 1	0.893 3	0.903 0	0.937 0	0.912 7	0.881 4	0.909 8	0.921 3	0.948 6	1.000 0								
S17	0.840 7	0.854 5	0.849 8	0.781 9	0.732 5	0.853 4	0.889 9	0.849 8	0.894 0	0.846 2	0.853 4	0.870 4	0.817 0	0.829 1	0.849 8	0.868 4	1.000 0							
S18	0.922 4	0.903 8	0.936 5	0.862 6	0.732 8	0.932 3	0.918 7	0.896 8	0.898 3	0.940 7	0.924 3	0.893 6	0.905 5	0.917 0	0.936 5	0.955 5	0.881 1	1.000 0						
S19	0.833 3	0.803 4	0.858 3	0.793 8	0.723 7	0.878 0	0.821 6	0.842 1	0.813 9	0.846 8	0.853 7	0.834 8	0.859 4	0.846 8	0.866 4	0.867 8	0.783 8	0.854 8	1.000 0					
S20	0.733 3	0.754 9	0.728 1	0.660 8	0.563 9	0.722 2	0.729 9	0.700 5	0.756 2	0.752 3	0.750 0	0.720 0	0.694 1	0.724 8	0.728 1	0.754 7	0.697 9	0.777 3	0.650 5	1.000 0				
S21	0.908 4	0.881 6	0.922 5	0.843 3	0.731 3	0.926 1	0.904 8	0.883 7	0.892 6	0.934 4	0.910 5	0.879 7	0.900 0	0.911 2	0.930 2	0.948 6	0.858 4	0.960 3	0.858 3	0.774 2	1.000 0			
S22	0.829 5	0.817 5	0.852 8	0.814 5	0.676 4	0.840 9	0.826 3	0.815 1	0.803 2	0.864 7	0.833 3	0.798 4	0.824 0	0.827 1	0.837 7	0.884 6	0.775 0	0.880 3	0.787 4	0.696 4	0.883 0	1.000 0		
S23	0.900 4	0.873 5	0.922 5	0.858 2	0.731 3	0.918 3	0.896 8	0.868 2	0.892 6	0.934 4	0.910 5	0.879 7	0.892 3	0.895 8	0.914 7	0.940 7	0.849 8	0.952 4	0.842 1	0.755 8	0.969 0	0.905 7	1.000 0	
S24	0.896 8	0.869 9	0.926 6	0.869 9	0.721 2	0.922 5	0.893 3	0.864 9	0.872 4	0.923 1	0.891 5	0.859 5	0.873 6	0.884 6	0.903 5	0.929 1	0.846 2	0.940 7	0.838 7	0.743 1	0.957 5	0.894 7	0.980 7	1.000 0

S1~S24见表1。



S1~S24 见表 1。

图 5 石榴种质的聚类分析图

Fig.5 Cluster analysis diagram of pomegranate germplasms

3 讨论

3.1 表型性状分析

植物的表型性状变异是其为适应环境变化而长期进化的结果,由遗传物质和外部因素共同作用。不同性状的稳定性及变异程度可用变异系数来体现,变异系数越大,表明其变异程度越高,对环境的适应能力越强^[26]。果实性状和叶片性状的变异在遗传变异中尤为重要^[27]。本研究对新疆石榴的果实及叶片特征分析发现:不同表型性状的变异系数处于4.60%至30.94%之间,其中单果重的变异系数较大(30.94%),与 Farsi 等^[28]得到的伊朗石榴平均单果重变异系数(32%)接近;新疆石榴最大单果重量达 768.02 g,远高于山东石榴^[29](397.00 g)、西班牙石榴^[30](414.00 g)、土耳其石榴^[31](540.00 g),这说明新疆地区的石榴果实个头较大,这可能与新疆地区光照时间长、昼夜温差大等气候特征有关。一般认为,变异系数大于 10%时,则表明样本间差异较大^[32]。本研究中,除果形指数和果实横径外,其余 7 个性状的变异系数均大于 10%,表明新疆石榴存在丰富的遗传变异,其中叶长和叶宽的变异系数分别为 18.03%和 15.17%,与唐海霞等^[33]研究结果相近。表型性状具有环境可塑性^[31],本研究中

单果重的可塑性较大,果型指数可塑性较小,与变异系数结果相符。本研究发现仅根据表型指标难以区分新疆的石榴种质,且植物的表型性状很容易受外界因素的干扰而改变^[34]。因此,将表型性状和遗传因子结合起来进行新疆石榴种质的区分和鉴别是必要的。

3.2 遗传多样性分析

遗传多样性是生物多样性的组成成分,一个物种的遗传多样性水平越高,表明其对环境变化的适应能力就越强。ISSR 标记技术可从分子水平揭示物种内的遗传多样性及亲缘关系,并已在茶树^[35]、大樱桃^[36]、洋紫荆^[37]等植物上得到应用。本研究利用 18 条引物对新疆 24 份石榴种质进行 ISSR 分子标记,得到的多态性条带占比为 82.92%,高于 Durgac 等^[38]、Sarkhosh 等^[39]研究结果,但低于 Patil 等^[40]的研究结果,这说明本研究所用的引物对新疆石榴的扩增效果较为理想,适用于新疆石榴的遗传多样性分析。24 份新疆石榴种质的平均等位基因数(N_a)为 1.812 5,有效等位基因数(N_e)为 1.287 0,Nei's 遗传多样性指数(H)为 0.177 0,Shannon's 遗传多样性指数(I)为 0.282 0。新疆石榴的平均遗传相似系数为 0.867 8,与帕利达·阿不力孜等^[41]、陈芸等^[42]的研究结果相近,表明新疆石



S1~S24 见表 1。

图 6 石榴种质的 DNA 指纹图谱

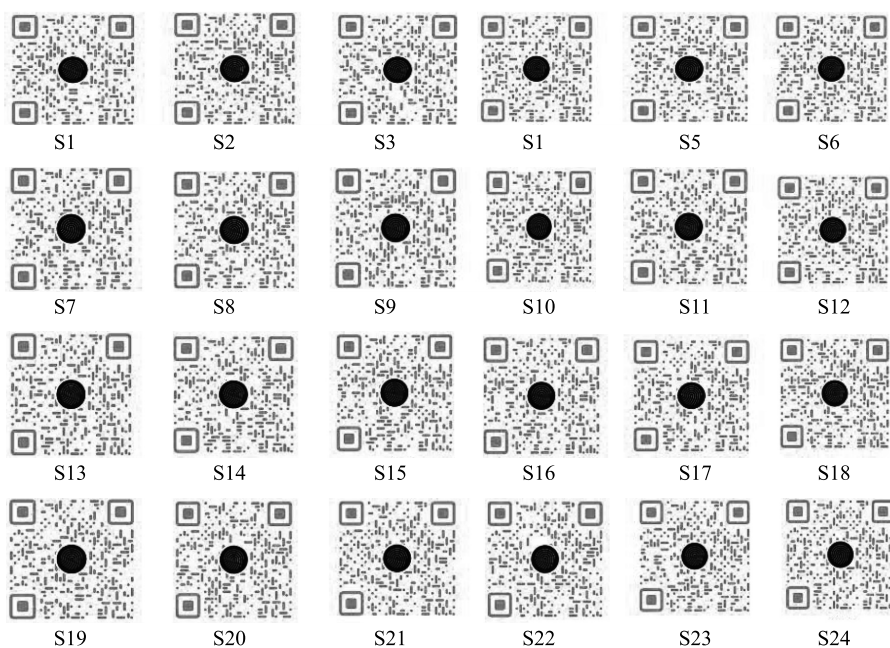
Fig.6 DNA fingerprint of pomegranate germplasms

榴遗传背景狭隘,亲缘关系较近,这可能是新疆石榴种植区域局限于和田和喀什地区,气候环境接近。研究中还发现和田地区石榴种质的遗传多样性比喀什地区更丰富,因此可在和田地区开展石榴新品种的选育工作。

3.3 聚类分析

新疆 24 份石榴种质的聚类分析发现,种质 S4、

S5、S19、S20、S22 都单独聚为一类,其中 S4 突尼斯软籽石榴是从国外引进的,籽粒较软;S22 为观赏石榴。其他不同风味的石榴种质归为一类。石榴的分类与地理位置有一定的关联性,但仅靠地理位置对石榴进行分类的结果并不可靠。综合来看,仅根据地理位置、果实风味、籽粒软硬度等特点来对石榴进行分类,虽有一定的参考价值,但结果并不可靠,这



S1~S24 见表 1。

图 7 新疆石榴种质二维码分子身份证

Fig.7 QR molecular identity cards of Xinjiang pomegranate germplasms

种质编码: S1

种质类型: 酸石榴

采集地点: 喀什地区喀什市阿瓦提乡

特征: 果实较大, 籽粒深红色, 果皮红色果实较大

核心引物: UBC73、UBC880、UBC810、UBC841、UBC35

DNA指纹编码: 100011010000111011100000011110110110011

1010100100100101010101001001010111000100101

身份证编码: 2343b81ed9d492aa4ae25

图 8 石榴种质 S1 的扫码信息

Fig.8 Scan code information of pomegranate germplasm S1

与葛大朋等^[43]、赵丽华等^[44]、卢龙斗等^[45]、Hasnaoui 等^[46]的研究结果一致。目前,国内外还尚未有统一的分类标准,分子标记可从基因层面揭示不同种质之间的关系,使得分类结果更加准确可靠,已成为石榴分类的重要技术手段之一。

3.4 分子身份证构建

DNA 分子身份证是基于 DNA 指纹图谱,将电泳图的图片信息编码为数字信息^[47-48],并以二维码、条形码等形式来呈现^[49-51]。分子身份证可供电子设备快速扫描,可实现个体的便捷、高效识别。其唯一性可有效解决品种间的“同名异物”和“同物异名”现象,有利于品种的保护与利用。在供试种质中,S23 种质和 S24 种质在聚类图中遗传相似系数

为 0.980 7,表明两者之间的遗传物质十分相似,但其分子身份证号码并不相同,说明两者在分子层面上并非同一种质。本研究所构建的 24 份石榴种质的分子身份证互不相同,表明 24 份石榴种质都是独一无二的。本研究利用 5 条核心引物构建了新疆石榴种质的分子身份证,并将相关信息以二维码的形式呈现,可实现品种的快速溯源,提高种质资源的鉴别效率,为新疆地区石榴种质资源的收集、保存、利用及产业发展提供参考。

4 结论

本研究对新疆南部喀什及和田地区收集到的 24 份石榴种质进行表型形状分析和分子身份证的构建,表型性状中以单果重的变异较大,果形指数变异最小。利用 ISSR 分子标记构建了新疆石榴种质的分子身份证,24 份石榴种质的分子身份证互不相同,具有唯一性和可辨性,说明本研究收集的 24 份石榴种质不存在同名异物、同物异名现象,其中和田地区的石榴种质的遗传多样性更为丰富,适宜在该地区开展新品种的选育工作。

参考文献:

- [1] ASERI G K, JAIN N, PANWAR J, et al. Biofertilizers improve

- plant growth, fruit yield, nutrition, metabolism and rhizosphere enzyme activities of pomegranate (*Punica granatum* L.) in Indian Thar desert[J]. *Scientia Horticulturae*, 2008, 117(2):130-135.
- [2] MIRDEHGHAS H, RAHEMI M. Seasonal changes of mineral nutrients and phenolics in pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit[J]. *Scientia Horticulturae*, 2007, 111(2):120-127.
- [3] 王萍, 梁娇, 李述刚. 不同产地石榴营养成分差异研究[J]. *食品工业*, 2017, 38(4):297-301.
- [4] YUAN Z H, YIN Y L, QU J L, et al. Population genetic diversity in Chinese pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars revealed by fluorescent-AFLP markers[J]. *Journal of Genetics and Genomics*, 2007, 34(12):1061-1071.
- [5] 孙长平. 新疆特色林果产业发展研究[D]. 乌鲁木齐:新疆农业大学, 2010.
- [6] 刘文江. 新疆石榴(*Punica* L.)资源及其开发利用[J]. *干旱区研究*, 2007(2):219-222.
- [7] SINGH K H, SINGH L, PARMAR N, et al. Molecular characterization and genetic diversity analysis in Indian mustard (*Brassica juncea* L. Czern & Coss.) varieties using SSR markers[J]. *PLoS One*, 2022, 17(8):e0272914.
- [8] ZHAO M Z, WANG Y, DONG Q, et al. Efficient identification of 46 important strawberry cultivars using RAPD markers with a manual cultivar identification diagram strategy[J/OL]. *Acta Horticulturae*, 2014(1049):371-376. DOI: 10.17660/ActaHortic.2014.1049.51
- [9] 魏秀清, 李亮, 熊亚庆, 等. 基于 SSR 分子标记的福建百香果品种(系)鉴定及指纹图谱构建[J]. *福建农业学报*, 2022, 37(10):1288-1297.
- [10] NOORMOHAMMAD I Z, FASIHEE A, HOMAEE-RASHIDPOOR S, et al. Genetic variation among Iranian pomegranates (*Punica granatum* L.) using RAPD, ISSR and SSR markers[J]. *Australian Journal of Crop Science*, 2012, 6(2):268-275.
- [11] NARZARY D, RNAN T S, RANADE S A. Genetic diversity in inter-simple sequence repeat profiles across natural populations of Indian pomegranate (*Punica granatum* L.) [J]. *Plant Biology*, 2010, 12(5):806-813.
- [12] PATIL P G, JAMMA S M, SINGH N V, et al. Assessment of genetic diversity and population structure in pomegranate (*Punica granatum* L.) using hypervariable SSR markers[J]. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 2020, 26(6):1249-1261.
- [13] 王庆军, 罗华, 赵丽娜, 等. 24 个山东石榴品种遗传多样性的 ISSR 分析[J]. *中国果树*, 2018(2):18-22.
- [14] 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.
- [15] 赵丽华, 李名扬, 王先磊. 川滇石榴品种遗传多样性及亲缘关系的 AFLP 分析[J]. *林业科学*, 2010, 46(11):168-173.
- [16] 薛华柏, 郭俊英, 司鹏, 等. 4 个石榴基因型的 SRAP 鉴定[J]. *果树学报*, 2010, 27(4):631-635.
- [17] 洪文娟. 石榴种质资源 SSR 分子标记遗传多样性分析及指纹图谱构建[D]. 北京:北京林业大学, 2020.
- [18] 谭小艳, 马耀华, 郝兆祥. 4 种改良 CTAB 法提取石榴成熟叶片 DNA 的比较研究[J]. *中国南方果树*, 2021, 50(3):122-125.
- [19] 王庆军, 罗华, 毕润霞, 等. 3 个石榴良种的 ISSR 分子鉴别[J]. *贵州农业科学*, 2019, 47(1):94-100.
- [20] 王庆军, 马丽, 郝兆祥, 等. 观赏石榴种质资源遗传多样性的 ISSR 分析[J]. *浙江农业学报*, 2018, 30(2):236-241.
- [21] 赵丽华. 石榴(*Punica granatum* L.)种质资源遗传多样性及亲缘关系研究[D]. 重庆:西南大学, 2010.
- [22] 李乔乔, 王宇晴, 邓植, 等. 基于 SSR 分子标记的甜菜种质资源遗传多样性分析[J]. *中国糖料*, 2023, 45(1):1-7.
- [23] 王子康, 苏江硕, 张雪峰, 等. 32 个百合品种遗传多样性分析和 DNA 指纹图谱构建[J]. *植物资源与环境学报*, 2022, 31(5):58-65.
- [24] 郝冬梅, 邱财生, 于文静, 等. 亚麻 RAPD 标记分子身份证体系的构建与遗传多样性分析[J]. *中国农学通报*, 2011, 27(5):168-174.
- [25] 郭艳春, 张力岚, 陈思远, 等. 黄麻应用核心种质的 DNA 分子身份证构建[J]. *作物学报*, 2021, 47(1):80-93.
- [26] 董胜君, 王若溪, 张皓凯, 等. 不同种源东北杏果实表型性状多样性分析[J]. *植物资源与环境学报*, 2020, 29(6):42-50.
- [27] 江锡兵, 龚榜初, 刘庆忠, 等. 中国板栗地方品种重要农艺性状的表型多样性[J]. *园艺学报*, 2014, 41(4):641-652.
- [28] FARSI M, KALANTAR M, ZEINALABEDINI M, et al. First assessment of Iranian pomegranate germplasm using targeted metabolites and morphological traits to develop the core collection and modeling of the current and future spatial distribution under climate change conditions[J]. *PLoS One*, 2023, 18(2):e0265977.
- [29] 王庆军. 35 份石榴种质的表型及 ISSR 遗传多样性分析[D]. 泰安:山东农业大学, 2017.
- [30] MARTINEZ-NICOLAS J J, MELGAREJO P, LEGUA P, et al. Genetic diversity of pomegranate germplasm collection from Spain determined by fruit, seed, leaf and flower characteristics [J]. *PeerJ*, 2016, 4:e2214.
- [31] ORHAN E, ERCISLI S, ESITKEN A, et al. Molecular and morphological characterization of pomegranate (*Punica granatum* L.) genotypes sampled from Coruh Valley in Turkey[J]. *Genetics and Molecular Research*, 2014, 13(3):6375-6382.
- [32] 苏上, 李振坚, 倪建伟, 等. 山桐子果穗和果实性状多样性分析[J]. *植物资源与环境学报*, 2021, 30(2):35-44.
- [33] 唐海霞, 冯立娟, 王中堂, 等. 石榴品种叶片形态特征比较[J]. *山东农业科学*, 2019, 51(3):40-44, 48.
- [34] 周连第, 兰彦平, 韩振海. 板栗品种资源分子水平遗传多样性研究[J]. *华北农学报*, 2006, 21(3):81-85.
- [35] 张丽丽. 基于 ISSR 分子标记的茶树种质资源的遗传多样性及亲缘关系分析[J]. *现代园艺*, 2021, 44(20):6-7.
- [36] 彭磊, 包九零, 乔光, 等. 贵州大樱桃种质资源亲缘关系 ISSR 分析[J]. *种子*, 2020, 39(4):1-4, 11.
- [37] 陈勇, 唐昌亮, 李浩, 等. 基于 ISSR 标记的洋紫荆种质资源亲缘关系分析[J]. *西南农业学报*, 2020, 33(1):26-31.

- [38] DURGAC C, ÖZGEN M, SIMSEK O, et al. Molecular and pomological diversity among pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars in eastern Mediterranean region of Turkey[J]. African Journal of Biotechnology, 2008, 7(9):1294-1301.
- [39] SARKHOSH A, ZAMANI Z, FATAHI R, et al. Genetic diversity of Iranian soft-seed pomegranate genotypes as revealed by fluorescent-AFLP markers [J]. Physiology and Molecular Biology of Plants, 2011, 17(3):305-311.
- [40] PATIL P G, SINGH N V, BOHRA A, et al. Comprehensive characterization and validation of chromosome-specific highly polymorphic SSR markers from Pomegranate (*Punica granatum* L.) cv. Tunisia Genome[J]. Frontiers in Plant Science, 2021, 12:337.
- [41] 帕丽达·阿不力孜. 新疆石榴皮植物雌激素物质基础及石榴品种 RAPD 分析研究[D]. 乌鲁木齐:新疆医科大学, 2008.
- [42] 陈芸, 王继莲, 丁晓丽, 等. 新疆石榴种质资源遗传多样性的 SRAP 分析[J]. 西北植物学报, 2016, 36(5):916-922.
- [43] 葛大朋, 任媛, 赵俊, 等. 西藏石榴野生群体的 SSR 遗传多样性分析[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2022, 46(3):127-133.
- [44] 赵丽华, 李名扬, 王先磊. 川滇石榴品种遗传多样性及亲缘关系的 AFLP 分析[J]. 林业科学, 2010, 46(11):168-173.
- [45] 卢龙斗, 刘素霞, 邓传良, 等. RAPD 技术在石榴品种分类上的应用[J]. 果树学报, 2007, 24(5):634-639.
- [46] HASNAOUI N, BUONAMICI A, SEBASTIANI F, et al. Molecular genetic diversity of *Punica granatum* L. (pomegranate) as revealed by microsatellite DNA markers (SSR) [J]. Gene, 2012, 493(1):105-112.
- [47] 任重, 白倩, 苏淑钗. 基于 SSR 分子标记的中国黄连木遗传多样性分析[J]. 西北植物学报, 2022, 42(9):1530-1539.
- [48] 武志江, 邓海燕, 梁桂东, 等. 利用荧光标记 SSR 构建火龙果种质资源分子身份证[J]. 中国南方果树, 2020, 49(4):20-28.
- [49] 樊晓静, 于文涛, 蔡春平, 等. 利用 SNP 标记构建茶树品种资源分子身份证[J]. 中国农业科学, 2021, 54(8):1751-1772.
- [50] 刘国彬, 姚砚武, 曹均. 利用荧光 SSR 标记构建欧李种质分子身份证[J]. 东北林业大学学报, 2022, 50(10):10-17.
- [51] 李小梅, 赵洪彬, 张景涛. 芫荽种质资源分子身份证构建[J]. 中国农学通报, 2019, 35(31):33-38.

(责任编辑:石春林)