

海南椰子栽培品种的 SSR 标记分析

柳晓磊¹, 汤 华¹, 李东栋^{2*}, 王 茜¹, 林艳青¹, 周 蓉¹

(¹ 海南大学农学院生物技术系, 海口 570228; ² 海南大学理工学院生物工程系, 海口 570228)

摘 要: 应用简单重复序列 (SSR) 标记方法, 对海南的 11 个椰子 (*Cocos nucifera* L.) 栽培品种进行了遗传多样性分析。选取 30 对引物用于 PCR 扩增, 有 23 对引物扩增出有效多态性片段 136 条, 平均多态性百分率为 95.77%, 每对引物扩增出的带数 2~12 条不等, 平均为 6.17 条, 每个 SSR 位点的多态信息量 (PIC) 在 0.173~0.896 之间, 平均为 0.561。11 份材料之间遗传相似系数变化范围 0.061~0.861, 说明海南椰子栽培品种之间存在丰富的遗传多样性。UPGMA 聚类分析结果表明, 11 个椰子栽培品种分为 4 个类群和两个亚群。SSR 标记反映出的品种间亲缘关系与形态学研究的分类结果并不完全吻合。

关键词: 椰子; SSR; 遗传多样性

中图分类号: S 667.4 文献标识码: A 文章编号: 0513-353X (2008) 08-1199-06

Genetic Diversity of Coconut Cultivars from Hainan Province Based on SSR Molecular Markers

LIU Xiao-lei¹, TANG Hua¹, LI Dong-dong^{2*}, WANG Qian¹, LIN Yan-qing¹, and ZHOU Rong¹

(¹ Department of Biotechnology, College of Agriculture, Hainan University, Haikou 570228, China; ² Department of Bioengineering, Hainan University, Haikou 570228, China)

Abstract: Genetic diversity and relationship among 11 coconut (*Cocos nucifera* L.) cultivars from Hainan Province were analyzed based on the data of SSR. Among 30 SSR primer pairs, 23 primer pairs amplified polymorphic fragments. A total of 136 polymorphic segments were produced, with the average polymorphic bands per SSR primer pair being 6.17 and ranging from 2 to 12. Polymorphic index content (PIC) values varied from 0.173 to 0.896 with an average of 0.561. The genetic similarity coefficients among 11 coconut cultivars ranged from 0.061 to 0.861. It indicated that there was sufficient genetic diversity among these coconut cultivars. Cluster analysis was made with unweighted pair group method for arithmetic averages (UPGMA) using genetic similarity coefficients. Eleven materials were clustered into 4 groups and 2 sub-groups. The dendrogram revealed that traditional morphological classification system could not completely reflect the genetic relationship among coconut cultivars native to Hainan.

Key words: coconut; *Cocos nucifera* L.; SSR; genetic diversity

椰子 (*Cocos nucifera* L.) 为棕榈科椰子属单子叶植物, 主要分布在赤道附近北纬 20° 到南纬 20°、海拔 1 000 m 以下的区域范围内。目前研究者主要通过椰子叶片特征、生长地域、果实大小和形状等将世界范围内的椰子品种分为高种和矮种两种主要类型 (Lebrun et al., 1998), 矮种椰子类型遗传性状相对较稳定, 而高种类型具有种群的多型性, 其不同品种主要来自异花授粉、品种之间的杂交、实生选种和自然演化。

我国海南地区种植椰子已有 2000 多年的栽培历史, 主要分布在文昌、琼海、万宁、陵水、三亚

收稿日期: 2008-04-24; 修回日期: 2008-07-03

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30560092); 海南省自然科学基金资助项目 (80406); 海南省教育厅高校科研资助项目 (Hjkj200510)

* 通讯作者 Author for correspondence (E-mail: liddym@hotmail.com)

等地区, 种植面积约有 4.83 万 hm^2 , 占我国椰子种植面积的 99% (高和琼 等, 2007)。该地区的椰子栽培品种包括从国外引进的马来红矮、马来绿矮、马来黄矮、马哇、香水椰子和我国惟一鉴定品种文椰 78F1, 还有本地黄高、本地红高、本地绿高 3 个主要栽培类型, 但目前由于缺乏对海南本地高种椰子资源遗传多样性、遗传背景及其育种价值方面的研究结果, 影响了该地区椰子资源的收集评价和品种选育工作。

在以往对椰子种质资源的收集和评价中, 普遍使用了基于农学和形态学分类的考察标准 (易小平 等, 2004)。这些分类标准目前看来已经是一个极耗时、低效的评价方式, 只能提供简单的品种特征 (Daniel et al., 2005)。在众多的分子标记手段中, SSR (微卫星标记) 以其高稳定性、高多态性、共显性、标记带型简单以及覆盖整个基因组等特点被国际椰子种质资源网 (Coconut Genetic Resources Network, COGENT) 定为在椰子种群遗传多样性分析中首选的分子标记方法, 已被广泛应用于全球不同椰子分布区域 (包括东南亚、非洲和太平洋地区等) 之间种群遗传多样性分析和评价 (Teulat et al., 2000; Perera et al., 2000, 2003; Meerow et al., 2003)。本研究利用 SSR 分子标记对海南岛 11 个椰子栽培品种进行分析, 旨在了解海南岛椰子的遗传多样性分布规律, 为该地区椰子种质资源的保存和利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本试验中所用的海南省 11 个主要椰子栽培品种 (图 2) 的健康植株嫩叶, 分别采自中国热带农业科学院椰子研究所和兴隆植物园。其中 L1 ~ L9 为已鉴定单株, L10 和 L11 为不同产区种植园中随机选择的本地高种单株。

1.2 DNA 的提取

基因组 DNA 的提取采用改良 CTAB 法 (郑育声 等, 2007), 提取的 DNA 质量和浓度采用 0.8% 琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计测定。样品稀释到所需浓度 $40 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$, 置 -20°C 保存。

1.3 SSR 标记引物及 PCR 扩增

所用 SSR 引物是分别从 Teulat 等 (2000) 和 Meerow 等 (2003) 开发的椰子 SSR 系列引物中选出的被证明多态性好、分辨率高的引物, 由上海生工生物工程技术有限公司合成 (表 1)。PCR 扩增在 BIO-RAD MyCycler™ thermal cycler PCR 仪上进行, 反应体系及扩增程序按照柳晓磊等 (2007) 建立的椰子 SSR 反应体系进行。

表 1 SSR-PCR 引物及其序列
Table 1 SSR-PCR primers and sequence information

引物 Primer	重复序列 Repeat	序列 Sequence	片段大小/bp Size range	参考文献 Reference
CAC02	(CA) ₁₅ (AG) ₇	5'AGCTTTTTCATTGCTGGAAT3' 5'CCCCTCCAATACATTTTTC3'	225 ~ 240	Meerow et al., 2003
CAC03	(CA) ₁₂ (AG) ₁₄	5'GGCTCTCCAGCAGAGGCTTAC3' 5'GGGACACCAGAAAAAGCC3'	176 ~ 183	Meerow et al., 2003
CAC04	(CA) ₁₉ (AG) ₁₇	5'CCCCTATGCATCAAAACAAG3' 5'CTCAGTGTCGCTCTTTGTCC3'	185 ~ 207	Meerow et al., 2003
CAC06	(AG) ₁₄ (CA) ₉	5'TGTACATGTTTTTGTCCAA3' 5'CGATGTAGCTACCTTCCCC3'	146 ~ 164	Meerow et al., 2003
CAC08	(AG) ₁₀ (CA) ₉	5'ATCACCCCAATACAAGACA3' 5'AATTCTATGGTCCACCCACA3'	198 ~ 290	Meerow et al., 2003
CAC10	(AG) ₁₃ (CA) ₉	5'GATGGAAGGTGTAATGCTG3' 5'GGAACCTCTTTTGGGTCATT3'	156 ~ 163	Meerow et al., 2003

续表 1

引物 Primer	重复序列 Repeat	序列 Sequence	片段大小/bp Size range	参考文献 Reference
CAC11	(CA) _n (TA) _n	5'GATCTTCGGCGTTCCTCA3' 5'TCTCCTCAACAATCTGAAGC3'	144 ~ 147	Meerow et al., 2003
CAC13	(CA) ₉ (TA) ₅ A (TA) ₄ (CA) ₆	5'GGGTTTTTTAGATCTTCGGC3' 5'CTCAACAATCTGAAGCATCG3'	151 ~ 153	Meerow et al., 2003
CAC20	(CA) ₁₉	5'CTCATGAACCAACGTTATA3' 5'CATCATATACATACATGCAACA3'	124 ~ 133	Meerow et al., 2003
CAC21	(CA) ₁₁	5'AATTGCTGTGACACGTAGCC3' 5'GCATAACTCTTTCATAAGGGA3'	149 ~ 151	Meerow et al., 2003
CAC23	(CA) ₈	5'TGAAAACAAAAGATAGATGTCAG3' 5'GAAGATGCTTTGATATGGAAC3'	170 ~ 179	Meerow et al., 2003
CAC39	(CA) ₁₅	5'AATTGAGATAAGCAGATCAGT3' 5'GTGGCTCTTTATTGAGAAGG3'	142 ~ 166	Meerow et al., 2003
CAC52	(CA) ₁₉	5'TTATTTTCTCCACTTCTGTGG3' 5'ATATTACCCATGCACAGTACG3'	142 ~ 160	Meerow et al., 2003
CAC56	(CA) ₁₄	5'ATTCTTTTGGCTTAAAACATG3' 5'TGATTTTACAGTTACAAGTTGG3'	138 ~ 162	Meerow et al., 2003
CAC65	(CA) ₁₅	5'GAAAAGGATGTAATAAGCTGG3' 5'TTTGTCCCAAAATATAGGTAG3'	150 ~ 173	Meerow et al., 2003
CAC68	(CA) ₁₃	5'AATTATTTTCTTGTACATGCATC3' 5'AACAGCCTCTAGCAATTCATAG3'	130 ~ 146	Meerow et al., 2003
CAC71	(CA) ₁₇	5'ATAGCTCAAGTTGTGTCTAGG3' 5'ATATTGTCATGATTGAGCCTC3'	172 ~ 283	Meerow et al., 2003
CAC72	(CA) ₁₈	5'TCACATTATCAAATAAGTCTCACA3' 5'GCTCTCTTCTCATGCACA3'	124 ~ 132	Meerow et al., 2003
CAC84	(CA) ₁₃	5'TTGGTTTTTGTATGGAACCTC3' 5'AAATGCTAACATCTCAACAGC3'	150 ~ 163	Teulat et al., 2000
CN11A10	(CT) ₃₀	5'GTGGAGATTTAATTTTCTTG3' 5'CCCAATAATATTTTATAACAG3'	81 ~ 119	Teulat et al., 2000
CN11E10	(GT) ₂₂ (GA) ₁₄	5'AGAGAGAGTAAATGGGTAAGT3' 5'CCCTTTCATTTTTCCTTATTC3'	99 ~ 151	Teulat et al., 2000
CN11E6	(CT) ₂₁	5'TACTTAGGCAACGTTCCATT3' 5'TAACCAGAAAGCAAAAAGATT3'	85 ~ 128	Teulat et al., 2000
CN1C6	(CT) ₁ TT (GT) ₅	5'AGTATCTGAGTAGGATTATGG3' 5'TTCTTTGGACCTTATCTCT3'	175 ~ 184	Teulat et al., 2000
CN1G4	(CT) ₁₅	5'GTGCTCTATACTCATCATCA3' 5'GATGCGTATGAGATGTGAGAG3'	112 ~ 132	Teulat et al., 2000
CN1H2	(GA) ₁₈	5'TTGATAGGAGAGCTTCATAAC3' 5'ATCTTCTTTAATGCTCGGAGT3'	230 ~ 321	Teulat et al., 2000
CN2A4	(CT) ₁₅ TT (CT) ₃	5'CAGGATGGTTCAAGCCCTTAA3' 5'GCTGCAAGAGGAGAGATTGA3'	87 ~ 111	Teulat et al., 2000
CN2A5	(CT) ₁₂ TT (CT) ₃	5'AAGGTGAAATCTATGAACACA3' 5'GGCAGTAACACATTACACATG3'	88 ~ 121	Teulat et al., 2000
CNZ01	(CT) ₁₅ (CA) ₉	5'ATGATGATCTCTGTTAGGCT3' 5'AAATGAGGCTTTGGAAGGATT3'	109 ~ 131	Teulat et al., 2000
CNZ02	(GA) ₁₅	5'CTCTTCCCATCATATACCAGC3' 5'ACTGGGGGATCTTATCTCTG3'	143 ~ 161	Teulat et al., 2000
CNZ03	(GA) ₇	5'CATCTTTCATCATTTAGCTCT3' 5'AAACAAAAGCAAGGAGAAGT3'	91 ~ 97	Teulat et al., 2000

1.4 凝胶电泳及数据分析

PCR 扩增产物经 6% 聚丙烯酰胺凝胶电泳 (Sambrook et al., 1998), GoldViewTM 核酸染料 (EB 替代物) 染色, 照相。将重复性好且清晰的条带进行记录, 在相同位置有带记为 1, 无带记为 0, 构建所有引物扩增结果数据库 (0, 1 矩阵)。每一个 SSR 位点的多态性信息量 (PIC) 按公式 $PIC = 1 - \sum P_i^2$ 计算, 其中 P_i 表示 i 位点的基因频率。然后根据 Nei 和 Li 的方法 (1979) 计算 Dice 相似系数, 建立相似系数矩阵, 采用 NTSYS-pc 2.1 程序, 以非加权数据分析法 (UPGMA) 生成系统树。

2 结果与分析

2.1 引物筛选及多态性分析

利用选用的 30 对 SSR 引物对 11 个椰子品种进行 PCR 扩增, 有 23 对引物扩增出清晰稳定的条带 (图 1), 其余 7 对引物在某些供试材料中不能有效启动基因组 DNA 或扩增质量差, 无法进行统计分析。23 对引物对 11 份材料共扩增出 142 条带, 其中 136 条具有多态性, 平均多态性百分率为 95.77%。不同引物扩增的带数差异较大, 从 2 条到 12 条不等, 平均为 6.17 条。每个 SSR 位点的多态信息量 (PIC) 在 0.173~0.896 之间, 平均为 0.561 (表 2)。说明所用微卫星标记在椰子遗传资源中具有较高的多态性, 适合对其遗传多样性结构和水平进行检测。

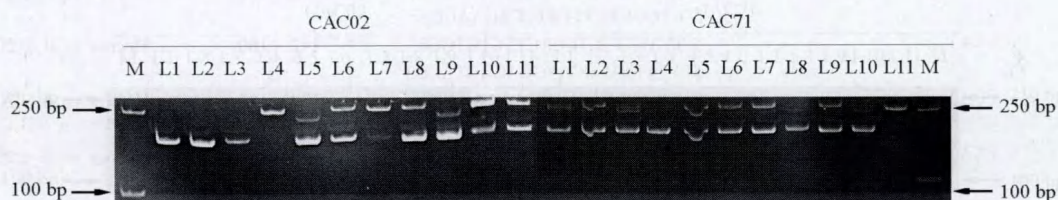


图 1 引物 CAC02 和 CAC71 分别对 11 个椰子品种扩增电泳图

L1~L11: 不同椰子材料; M: DNA marker。

Fig. 1 Amplification of primer CAC02 and CAC71 in 11 coconut cultivars

L1~L11: Different kinds of coconut (*Cocos nucifera* L.) varieties; M: DNA marker.

表 2 SSR 扩增结果统计
Table 2 The statistic of SSR amplification result

引物 Primer	扩增条带数 Number of amplified bands	多态性带数 Number of polymorphic bands	多态位点百分率/% Rate of polymorphic loci	多态信息含量 (PIC) Polymorphic information content
CAC02	3	3	100.00	0.445
CAC03	11	10	90.91	0.791
CAC04	4	3	75.00	0.423
CAC06	12	12	100.00	0.896
CAC08	3	3	100.00	0.448
CAC10	11	11	100.00	0.809
CAC11	8	8	100.00	0.683
CAC13	8	8	100.00	0.677
CAC20	2	1	50.00	0.173
CAC21	10	10	100.00	0.689
CAC23	2	2	100.00	0.299
CAC39	12	12	100.00	0.892
CAC56	4	4	100.00	0.401
CAC71	3	3	100.00	0.497
CAC84	2	2	100.00	0.342
CN11A10	3	3	100.00	0.301
CN11E6	10	10	100.00	0.701
CN1G4	6	6	100.00	0.632
CN1H2	4	4	100.00	0.501
CN2A4	9	8	88.89	0.633
CNZ01	5	3	60.00	0.413
CNZ02	5	5	100.00	0.576
CNZ03	5	5	100.00	0.682
总计 Total	142	136		12.904
平均 Average	6.17	5.91	95.77	0.561

2.2 聚类分析

根据 23 对引物扩增数据,以 Dice 相似系数采用 UPGMA 法进行聚类得到不同椰子品种之间的系统进化关系树(图 2)。在所有的供试材料中相似系数最大的是文椰 78F1 (L5) 和吗哇 (L6),为 0.861;相似系数最小的是源于文昌地区的本地红高 (L8) 和兴隆地区的本地红高 (L11),为 0.061,二者虽名称相同但进化关系较远。同时,以 0.400 为阈值可将这 11 份供试材料分为 4 大类群,第 1 类群为马来红矮 (L1),第 2 类群包括马来黄矮 (L2)、本地绿高 (L3)、马来绿矮 (L4)、文椰 78F1 (L5)、吗哇 (L6)、本地黄高 (L7)、香水椰子 (L9) 和本地绿高 (L10),第 3 类群为源于文昌地区的本地红高 (L8),第 4 类群为源于兴隆地区的本地红高 (L11)。

在第 2 类群中,以 0.500 水平值又可以分为两个亚群,第 1 亚群包括马来黄矮 (L2)、本地绿高 (L3)、马来绿矮 (L4)、文椰 78F1 (L5)、吗哇 (L6) 和香水椰子 (L9),其中文椰 78F1 (L5) 与吗哇 (L6) 的材料来源最相似,相似系数最大;第 2 亚群包括本地黄高 (L7) 和本地绿高 (L10)。从结果来看,红色类型椰子与其它颜色类型椰子之间的进化关系较远,很难与其他椰子品种(类型)聚为一类。

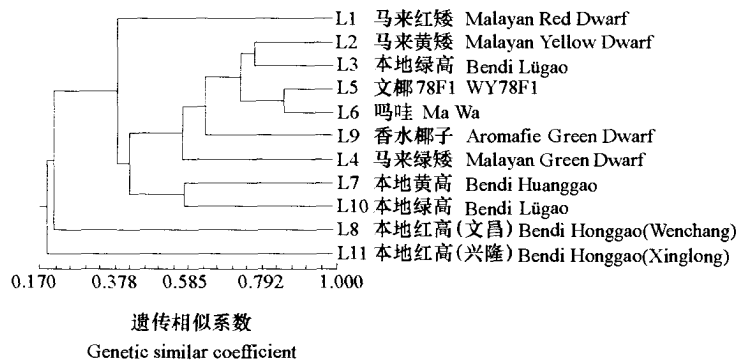


图 2 采用 UPGMA 方法生成的 11 个椰子品种的系统关系树

Fig. 2 The phylogenetic tree of 11 coconut cultivars based on UPGMA cluster analysis

3 讨论

从本试验的 SSR 扩增结果来看,11 份供试材料表现出丰富的多态性,部分供试材料间存在着较大的遗传差异,这与 Meerow 等 (2003) 采用 SSR 标记研究佛罗里达州椰子的结果相类似。

一些研究表明,应用分子系统学研究植物分类与应用形态学进行分类的结果并不完全吻合(盛红梅等, 2005; 何桥等, 2006; 何天明等, 2006), 在本研究中也得到了进一步的证实。第 1 亚群中包括了两种椰子栽培类型(高种和矮种), 马来黄矮 (L2)、本地绿高 (L3) 和马来绿矮 (L4) 在形态上差异较大, 却分别聚在了一起, 可能是它们本身在遗传上存在某种程度的联系, 但长期的自然和人为选择使其在形态特征和生态类型方面产生了变异, 从而根据这些形态特征被划分到不同的类群中; 源于文昌的已鉴定单株本地红高 (L8) 和兴隆地区种植园中随机选择的单株本地红高 (L11) 虽然在形态学分类上相同, 但两者相似系数极小, 亲缘关系甚远; 另外马来红矮 (L1)、马来黄矮 (L2)、马来绿矮 (L4) 聚在两个类群之中, 这可能是与不同的分类水平有关。大量的比较研究表明, 形态进化和分子进化是各自独立的, 遵循不同的进化规律, 因此以形态特征为依据的分类系统与以 DNA 水平为依据的分类结果就不完全吻合(周永红等, 1999)。

另外, 产于法国的马哇 (L6) 与中国的文椰 78F1 (L5) 相似系数最大, 聚为一类群, 这可能是因为两者的母本同为马来矮种, 马哇为西非高种与马来矮种的杂交后代, 文椰 78F1 为海南高种与马来矮种的杂交后代(高和琼等, 2007)。目前对海南椰子遗传多样性和亲缘关系的研究才刚刚开始,

进一步的研究结论则需要对来源更广泛的材料进行系统分析后得出。

References

- Daniel Z V, Miguel F B, Nelson T H, Patricia C G. 2005. Morphological variation of fruit in Mexican populations of *Cocos nucifera* L. (Arecaceae) under in situ and ex situ conditions. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 52 (4): 421–434.
- Gao He-qiong, Zhuang Nan-sheng, Wang Ying. 2007. Research advances on coconut. *China Tropical Agriculture*, (1): 24–25. (in Chinese)
- 高和琼, 庄南生, 王 英. 2007. 椰子及其育种研究概况. *中国热带农业*, (1): 24–25.
- He Qiao, Liang Guo-lu, Xie Jiang-hui, Li Wei-cai. 2006. Genetic diversity analysis of wax apple germplasm by ISSR markers. *Acta Horticulturae Sinica*, 33 (2): 392–394. (in Chinese)
- 何 桥, 梁国鲁, 谢江辉, 李伟才. 2006. 莲雾种质资源遗传多样性的 ISSR 分析. *园艺学报*, 33 (2): 392–394.
- He Tian-ming, Chen Xue-sen, Gao Jiang-sheng, Zhang Da-hai, Xu Lin, Wu Yan. 2006. Using SSR markers to study population genetic structure of cultivated apricots native to Xinjiang. *Acta Horticulturae Sinica*, 33 (4): 809–812. (in Chinese)
- 何天明, 陈学森, 高疆生, 张大海, 徐 麟, 吴 燕. 2006. 新疆栽培杏群体遗传结构的 SSR 分析. *园艺学报*, 33 (4): 809–812.
- Lebrun P, N'cho Y P, Seguin M, Grivet L, Baudouin L. 1998. Genetic diversity in coconut (*Cocos nucifera* L.) revealed by restriction fragment length polymorphism (RFLP) markers. *Euphytica*, 101: 103–108.
- Liu Xiao-lei, Tang Hua, Li Dong-dong, Wang Qian, Zhou Rong, Lin Yan-qing. 2007. Optimization and establishment of SSR analysis method in coconut (*Cocos nucifera* L.). *Journal of Huazhong Agricultural University*, 26 (5): 676–679. (in Chinese)
- 柳晓磊, 汤 华, 李东栋, 王 茜, 周 蓉, 林艳青. 2007. 椰子 SSR 反应体系的建立和优化. *华中农业大学学报*, 26 (5): 676–679.
- Meerow A W, Wisser R J, Brown J S, Kuhn D N, Schnell R J, Broschat T K. 2003. Analysis of genetic diversity and population structure within Florida coconut (*Cocos nucifera* L.) germplasm using microsatellite DNA, with special emphasis on the Fiji dwarf cultivar. *Theoretical and Applied Genetics*, 106 (4): 715–726.
- Nei M, Li W H. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of National Academy of Sciences of United States of America*, 76: 5269–5273.
- Perera L, Russell J R, Provan J, Powell W. 2000. Use of microsatellite DNA markers to investigate the level of genetic diversity and population genetic structure of coconut (*Cocos nucifera* + L.). *Genome*, 43: 15–21.
- Perera L, Russell J R, Provan J, Powell W. 2003. Studying genetic relationships among coconut varieties/populations using microsatellite markers. *Euphytica*, 132: 121–128.
- Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T. 1998. *Molecular cloning: A laboratory manual*. 2nd ed. New York: Scientific Press: 325–331.
- Sheng Hong-mei, An Li-zhe, Chen Tuo, Xu Shi-jian, Zheng Xiao-ling, Liu Ya-jie, Pu Ling-ling, Sun Xue-gang. 2005. Genetic diversity and relationships among species of *Lonicera* in Gansu Province. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 25 (7): 1405–1409. (in Chinese)
- 盛红梅, 安黎哲, 陈 拓, 徐世健, 郑晓玲, 刘亚洁, 蒲玲玲, 孙学刚. 2005. 忍冬属植物的遗传多样性及其种间关系研究. *西北植物学报*, 25 (7): 1405–1409.
- Teulat B, Aldam C, Trehin R, Lebrun P, Barker J H A, Arnold G M, Karp A, Baudouin L, Rognon F. 2000. An analysis of genetic diversity in coconut (*Cocos nucifera* L.) populations from across the geographic range using sequence-tagged microsatellites (SSRs) and AFLPs. *Theoretical and Applied Genetics*, 100 (5): 764–711.
- Yi Xiao-ping, Wang Jia-bao, Yi Yun-zhi. 2004. Two new types of coconut (*Cocos nucifera* L.) in Hainan island. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 25 (4): 18–24. (in Chinese)
- 易小平, 王家保, 易智智. 2004. 海南椰子 2 种新类型. *热带作物学报*, 25 (4): 18–24.
- Zheng Yu-sheng, Li Dong-dong, Wang Zhe-kui. 2007. Extraction and quality analysis of genomic DNA from different kinds of tissues of coconut. *Journal of Hainan University: Natural Science Edition*, 25 (1): 51–54. (in Chinese)
- 郑育声, 李东栋, 王哲魁. 2007. 椰子不同组织基因组的提取及质量分析. *海南大学学报: 自然科学版*, 25 (1): 51–54.
- Zhou Yong-hong, Zheng You-liang, Yang Jun-liang, Yan Ji, Jia Ji-zeng. 1999. Phylogenetic relationships among ten *Elymus* species based on random amplified polymorphic DNA. *Acta Phytotaxonomica Sinica*, 37 (5): 425–432. (in Chinese)
- 周永红, 郑有良, 杨俊良, 颜 济, 贾继增. 1999. 利用 RAPD 分子标记评价仲彬草属的种间关系. *植物分类学报*, 37 (5): 425–432.