

烟草种质资源遗传多样性的 IRAP 和 ISSR 标记比较分析

陶爱芬¹, 刘中华², 祁建民^{1*}, 周东新³, 王涛⁴, 陈顺辉⁵

(1. 作物遗传育种与综合利用教育部重点实验室, 福建农林大学, 福州 350002; 2. 福建省农业科学院作物研究所, 福州 350013;
3. 福建省龙岩烟草科学研究所, 福建龙岩 364000; 4. 福建顺昌烟草分公司, 福建顺昌 353000;
5. 福建省烟草科学研究所, 福州 350003)

摘要: 采用 IRAP 和 ISSR 两种分子标记方法, 对国内外 28 份烟草种质资源进行聚类分析, 并对两种方法的结果予以比较。结果如下: (1) 用 IRAP 方法对供试材料进行 PCR 扩增, 共得到 214 条条带, 其中 187 条具有多态性, 多态性比率达 87.4%。当 L_1 取值 0.495 时, 可将 28 份材料划分为 3 个类群; L_2 取值 0.34 时, 又可将第 3 类群划分为 3 个亚类群和 3 个单一品种组成的独立个类; (2) 用 ISSR 方法进行 PCR 扩增时, 共得到 334 条条带, 其中 250 条有多态性, 多态性比率为 75%。当 L_1 取值 0.41 时, 可将 28 份烟草种质划分为 2 个类群和 2 个独立个类 Coker176、BaSmaUovina, 第一类群 (I) 为来自美国的两个品种 RG11 和 K730, 其它 24 个品种为第二类群 (II); (3) IRAP 和 ISSR 两种方法的相关系数为 0.823 ($r_{0.01} = 0.478$), 说明这两种方法的结果高度相关, 均可用来进行烟草种质资源遗传多样性的分析。用 IRAP 方法得到的品种间遗传相异系数 (GD) 平均为 0.423, 高于 ISSR 方法, 而且条带更稳定、多态性比率更高, 更易揭示不同品种材料的遗传差异。

关键词: 烟草; 种质资源; IRAP; ISSR; 聚类分析; 比较

中图分类号: Q943.2; S572.03

文献标识码: A

文章编号: 1000-470X(2009)06-0589-06

Comparison and Analysis of IRAP and ISSR Molecular Methods Used for Assessment of Genetic Diversity in Tobacco

TAO Ai-Fen¹, LIU Zhong-Hua², QI Jian-Min^{1*}, ZHOU Dong-Xin³, WANG Tao⁴, CHEN Shun-Hui⁵

(1. Key Laboratory of Ministry of Education for Genetics, Breeding and Multiple Utilization of Crops, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; 2. Institute of Crop Sciences, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350013, China;
3. Tobacco Research Institute of Longyan, Longyan, Fujian 364000, China; 4. Shunchang Tobacco Branch Company, Shunchang, Fujian 353000, China; 5. Fujian Tobacco Company, Fuzhou 350003, China)

Abstract: The cluster analysis of 28 tobacco accessions was assessed using IRAP and ISSR molecular methods. The results based on these two methods were compared. The results were as follow: (1) 214 bands were produced by IRAP, of which 187 bands were polymorphic, and the percentage of polymorphic bands was 87.4%. The 28 accessions could be classified into three groups at the level of $L_1 = 0.495$. The third group could be classified into 3 subgroups and 3 unique types at $L_2 = 0.34$. (2) 334 bands were produced by ISSR, of which 250 bands were polymorphic, and the percentage of polymorphic bands was 75%. The 28 tobacco accessions could be classified into two groups and 2 unique types (Coker176, BaSmaUovina) at the level of $L_1 = 0.41$. The first group (I) included two accessions from America (RG11 and K730), and other 24 accessions were included in the second class (II). (3) The correlation coefficient between IRAP and ISSR analyses was 0.823 ($r_{0.01} = 0.478$), which indicated these two methods were both fit for the study of genetic diversity in tobacco. But IRAP technique had higher GD (genetic dissimilarity coefficient), better stability, and higher polymorphic than ISSR method. The genetic diversity and relationship of tobacco germplasm could be distinguished more easily by IRAP.

Key words: Tobacco; Germplasm; IRAP; ISSR; Cluster analysis; Comparison

烟草 (*Nicotiana tabacum*) 为茄科 (Solanaceae) 烟草属 (*Nicotiana*) 一年生或多年生重要经济作物^[1]。

近年来, 运用分子标记方法探讨烟草种质资源遗传多样性的研究已取得较大进展, 采用的分子标记方

收稿日期: 2008-12-24, 修回日期: 2009-04-24。

基金项目: 国家烟草专卖局资助项目 (国烟科 [2005])。

作者简介: 陶爱芬 (1976 -), 女, 山东青岛人, 助研, 在职博士研究生, 主要从事烟草、麻类等作物遗传育种及分子生物学研究;

祁建民 (1948 -), 男, 教授, 博士生导师, 主要从事作物遗传育种与分子生物学研究。

* 通讯作者 (Author for correspondence. E-mail: Qijm863@163.com)。

法主要有 RAPD、ISSR、AFLP、SSR、SRAP 等^[2-13]。由 Kalendar 等开发的 IRAP (Inter-retrotransposon amplification polymorphism) 是基于反转录转座子的分子标记方法,可用于检测逆座子插入位点间的多态性^[14,15],在烟草上仅见肖炳光等的报道^[16]。ISSR (inter-simple sequence repeats) 技术是由 Zierkiewicz 等发展起来的,其原理是根据基因组内广泛存在的微卫星序列设计单一引物,对两侧具有反向排列 SSR 的一段 DNA 序列进行扩增^[17]。我们用 ISSR 和 IRAP 两种方法对烟草种质资源的遗传多样性进行研究,同时对两种方法的稳定性、多态性和聚类分析结果进行了比较,以进一步明确这两种方法在烟草种质资源遗传多样性分析上的可行性。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试材料为烟草属的 28 份烟草 (*Nicotiana tabacum*) 种质资源,其中白肋烟 1 份,香料烟 1 份,烤烟 26 份 (表 1)。

1.2 试验方法

1.2.1 烟草 DNA 的提取

供试烟草材料于苗期生长至 4 片叶时,各摘取 2 g 幼嫩叶片,以本研究室改进的 CTAB 法进行 DNA 的提取^[8],用 RNA/DNA Calculator 检测 DNA 的浓度和纯度,稀释后低温下保存备用。

1.2.2 PCR 扩增及引物筛选

ISSR 分子标记技术体系参考祁建民等报道的技术^[8,18],IRAP 技术体系参照肖炳光等报道的方法^[16]。用 BaSmaUovina、云烟 85 和白肋 21 作材料,通过 PCR 扩增和聚丙烯酰胺凝胶电泳检测,从 90 个 ISSR 引物和 10 个 IRAP 引物中筛选多态性理想的引物。实验所用的 Taq 酶、Ixbuffer、dNTP、ISSR 及 IRAP 引物等均购自上海生工生物工程技术服务有限公司。

1.2.3 数据处理与统计分析

在每个引物的相同迁移位点上,有条带的记为“1”,无条带的记为“0”,建立一个数据矩阵。应用 DPS 软件,根据 Nei-Li 的公式计算遗传距离,采用

表 1 供试材料的编码、品种名称、类型和来源
Table 1 The code, name, type and origins of the tobacco *Nicotiana tabacum* accessions

编码 Code	品种名称 Variety name	类型 Type	来源 Origins	编码 Code	品种名称 Variety name	类型 Type	来源 Origins
1	红花大金元 Honghuadajinyuan	烤烟 FT	云南 Yunnan	15	G28	烤烟 FT	美国 America
2	云选 2 号 Yunxuan 2	烤烟 FT	福建 Fujian	16	岩烟 97 Yanyan 97	烤烟 FT	福建 Fujian
3	田心烟 Tianxinyan	烤烟 FT	福建 Fujian	17	K346	烤烟 FT	美国 America
4	731-1	烤烟 FT	福建 Fujian	18	云烟 85 Yunyan 85	烤烟 FT	云南 Yunnan
5	金烟 6 号 Jinyan 6	烤烟 FT	福建 Fujian	19	Nc89	烤烟 FT	美国 America
6	BaSmaUovina	香料烟 OT	土耳其 Turkey	20	云烟 317 Yunyan 317	烤烟 FT	云南 Yunnan
7	云烟 87 Yunyan 87	烤烟 FT	云南 Yunnan	21	Coker48	烤烟 FT	美国 America
8	白肋 21 Burley 21	白肋烟 BT	美国 America	22	南卡 58 Nanka 58	烤烟 FT	美国 America
9	K326	烤烟 FT	美国 America	23	P3	烤烟 FT	美国 America
10	Nc82	烤烟 FT	美国 America	24	RG17	烤烟 FT	美国 America
11	G80	烤烟 FT	美国 America	25	株 8 Zhu 8	烤烟 FT	云南 Yunnan
12	Coker176	烤烟 FT	美国 America	26	净叶黄 Jingyehuang	烤烟 FT	河南 Henan
13	RG11	烤烟 FT	美国 America	27	K730	烤烟 FT	美国 America
14	C2	烤烟 FT	美国 America	28	SC58	烤烟 FT	美国 America

注:“株 8”由云南省烟草科学研究所提供;“Coker48”、“南卡 58”、“P3”、“净叶黄”、“K730”、“SC58”由福建省三明市烟草科学研究所提供;其它品种由福建省龙岩市烟草科学研究所提供。

Notes: “Zhu 8” was supplied by Tobacco Research Institute of Yunnan Province; “Coker48”, “Nanka 58”, “P3”, “Jingyehuang”, “K730”, “SC58” were supplied by Tobacco Research Institute of Sanming, Fujian Province; Other accessions were supplied by Tobacco Research Institute of Longyan, Fujian province. FT: Fire-cured tobacco; OT: Oriental tobacco; BT: Burley tobacco.

UPGMA 方法构建树状聚类图。

2 结果与分析

2.1 引物筛选及条带多态性分析

本研究从 90 个 ISSR 引物中,筛选出 17 个带型稳定、清晰、多态性好的引物;从 10 个 IRAP 引物中筛选出 5 个多态性好的引物(表 2),分别对 28 份材料进行 PCR 扩增(部分引物扩增结果见图 1、图 2)。17 个 ISSR 引物共扩增出 334 条稳定条带,多态性条带为 250 条,平均每个引物产生 19.6 条带,其中 14.7 条为多态性条带,多态性比率为 75%。5 个 IRAP 引物共扩增出 214 条条带,其中 187 条具有多态性,平均每个引物产生 42.8 条带,多态性条带为 37.4 条,多态性比率达 87.4%。由此可见,IRAP 比 ISSR 能扩增出更多的条带且多态性比率也更高,是一种更适合于烟草多态性检测的分子标记方法。

2.2 分子标记聚类分析

2.2.1 基于 IRAP 数据的分析

28 份烟草种质间的 IRAP 标记遗传相异系数变幅在 0.187~0.717 之间,平均为 0.423。烟草不同栽培类型品种间存在较大的遗传差异。如 BaSmaUovina、Coker176、RG11、K730 和其他供试品种间的遗传相异系数较大,在 0.429 与 0.717 之间,说明这几个品种与其它供试品种的遗传差异较大,亲缘关系较远;而其它品种的相异系数在 0.187 与 0.439 之间,表现出较高的遗传相似性。在所有供试材料中,K730 与其他品种的遗传相异系数最高,遗传相异系数在 0.484~0.717 之间,说明此品种与其他供试材料间遗传差异最大,遗传相似性最低。

从 IRAP 分子标记聚类图(图 3)可以看出, L_1 取值水平 $D=0.495$ 时可将 28 份材料划分为 3 个类

群:第一类群(Ⅰ)为 BaSmaUovina 和 K730;第二类群(Ⅱ)有 3 个品种,其中有来自美国的 Coker176、RG11 和来自云南的品种云烟 85(云烟 2 号×K326);第三类群(Ⅲ)包含 23 个品种,这些品种由于遗传相似性较高、亲缘关系较近而聚在一起。当 L_2 取值水平 $D=0.34$ 时,又可将第三类群划分为 3 个

表 2 IRAP 与 ISSR 引物序列及其
扩增条带数、多态性条带数及比率
Table 2 IRAP and ISSR primers along with their sequences,
total number of bands amplified and the number of
polymorphic bands among tobacco accessions

引物编号 Code of primer	引物序列 Primer's sequence	多态性 条带数 The num- ber of polymor- phic bands	扩增 带数 Total number of amp- lified bands	多态性 比率(%) The percen- tage of polymorphic bands
UBC811	(GA) ₈ C	46	48	95.83
UBC814	(CT) ₈ A	9	9	100
UBC815	(CT) ₈ G	32	32	100
UBC823	(TC) ₈ C	9	9	100
UBC825	(AC) ₈ T	48	50	96
UBC835	(AG) ₈ YT	7	10	70
UBC836	(AG) ₈ YA	12	26	46.15
UBC842	(GA) ₈ YG	4	12	33.33
UBC844	(CT) ₈ RC	6	7	85.71
UBC845	(CT) ₈ RG	11	13	84.62
UBC853	(TC) ₈ RT	27	27	100
UBC855	(AC) ₈ YT	3	5	60
UBC856	(AC) ₈ YA	16	37	43.24
UBC873	(GACA) ₄	6	29	20.69
UBC879	(CTTCA) ₃	4	7	57.14
UBC887	DVD(TC) ₇	4	6	66.67
UBC890	VHV(GT) ₇	6	7	85.71
平均 Mean		14.7	19.6	75
RTR-1	TATGCTGACCAAGGTGGTAC	25	31	80.65
RTR-2	AAGTGTCTGAGGCTTATGTGACIT	44	31	93.62
RTR-7	TCCGCTGTGCAGTAGTGTTTAGTG	49	50	98
RTR-8	CTTACCTCTCCCATACATCACCA	27	37	72.97
RTR-10	AACGTGTTAATGTCGCTTTGTC	42	49	85.71
平均 Mean		37.4	42.8	87.4

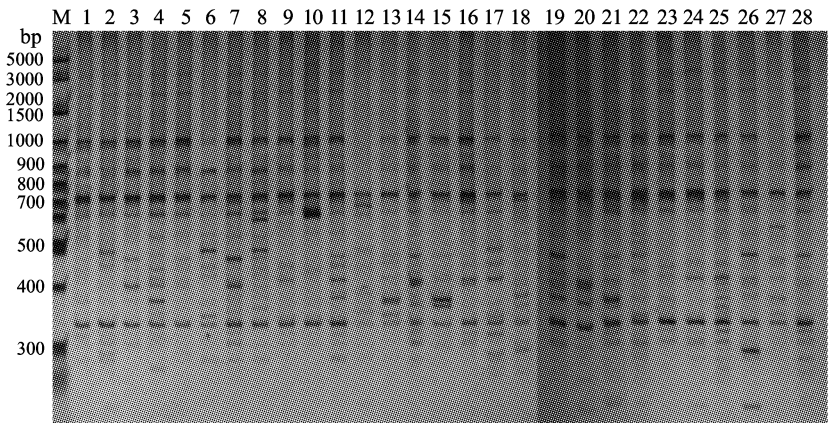


图 1 引物 UBC825 的扩增结果(其中 M 为 DNA marker)
Fig.1 Polyacrylamide gelelectrophoresis result of ISSR amplified with the primer UBC825
(“M” shows DNA ladder marker)

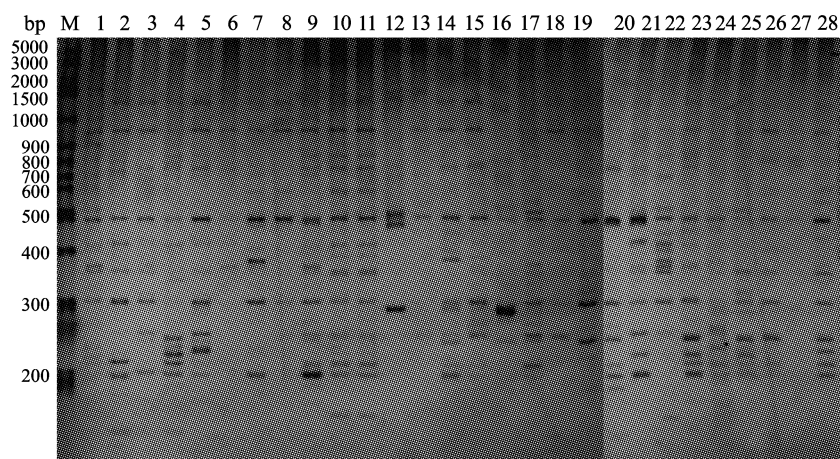


图 2 引物 RTR-7 的扩增结果(其中 M 为 DNA marker)

Fig. 2 Polyacrylamide gelelectrophoresis result of IRAP amplified with the primer RTR-7
(“M” shows DNA ladder marker)

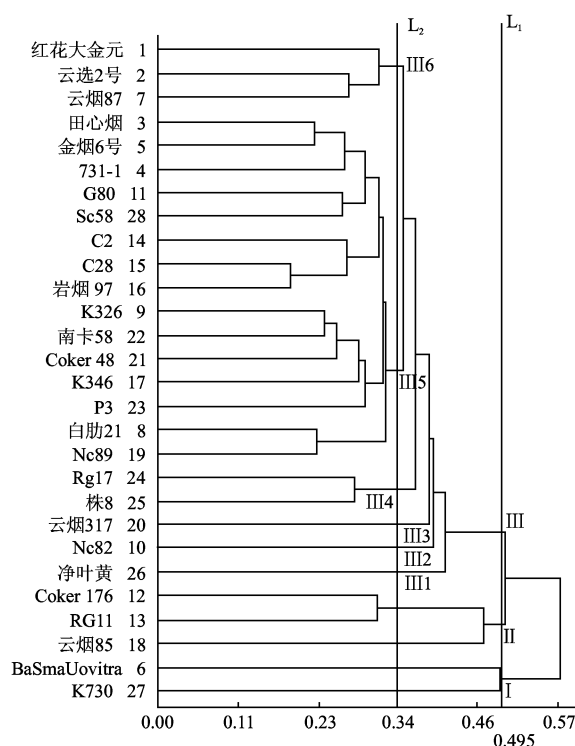


图 3 基于 IRAP 数据的 28 份供试材料间的聚类图

Fig. 3 Dendrogram of cluster of 28 tobacco accessions based on IRAP markers

亚类群和 3 个单一品种组成的独立个类。3 个独立个类(Ⅲ₁ ~ Ⅲ₃)分别是净叶黄(河南)、Nc82(美国)、云烟 317(云南)。第一亚类(Ⅲ₄)包含 2 个品种:株 8 和 RG17;第二亚类(Ⅲ₅)包含 16 个烟草品种。第三亚类(Ⅲ₆)包括红花大金元、云选 2 号和云烟 87,这 3 个品种均为国内的烤烟品种。其中第二个亚类又可分为 4 个小亚类:① Nc89(美国)和白肋 21(美国);② P3(美国)、K346(美国)、Coker48(美

国)、南卡 58(美国)和 K326(美国);③ 岩烟 97(福建,401-2 × G80)、G28(美国)、C2(福建);④ SC58(美国)、G80(美国)、731-1(福建)、金烟 6 号(福建)和田心烟(福建)。由上可见,各个亚类群基本上按照地域性原则聚在一起,少数亚类群出现地域交叉现象。

2.2.2 基于 ISSR 数据的分析

基于 ISSR 的 28 份供试材料的遗传相异系数在 0.133 ~ 0.551 之间,整体上低于基于 IRAP 的数据。K730、RG11、Coker176、BaSmaUovina 等品种与其它品种的遗传相异系数在 0.351 ~ 0.551 之间,说明这几个品种与其它品种的遗传差异较大,亲缘关系较远。其中 RG11 与所有供试材料的遗传相异系数最高,GD 在 0.40 ~ 0.551 之间,平均为 0.482,说明 RG11 与其它品种遗传差异最大,亲缘关系最远。此外,其它品种的遗传相异系数在 0.133 ~ 0.444 之间,其 GD 分布的域宽较窄,表现出较高的遗传相似性和较近的亲缘关系。

基于 ISSR 数据的聚类图见图 4,当 L₁ 取值为 0.41 时,可将 28 份烟草种质划分为两个类群和两个独立个类 Coker176、BaSmaUovina,第一类群(Ⅰ)为来自美国的两个品种 RG11 和 K730,其它 24 个品种为第二类群(Ⅱ)。第二类群(Ⅱ)在 L₃ 取值为 0.22 时,又可细分为 5 个亚类群(Ⅱ₅、Ⅱ₈ ~ Ⅱ₁₁)和 6 个独立个类(Ⅱ₁ ~ Ⅱ₄、Ⅱ₆、Ⅱ₇),且这些品种有按地域性聚类的趋势,其中来自美国的品种基本聚在一起,这与其长期的基因交流导致遗传基础相似性较高有关。但 SC58 与中国品种聚在一起,而国内品种岩烟 97 和云烟 317 与美国品种聚在一起,这可

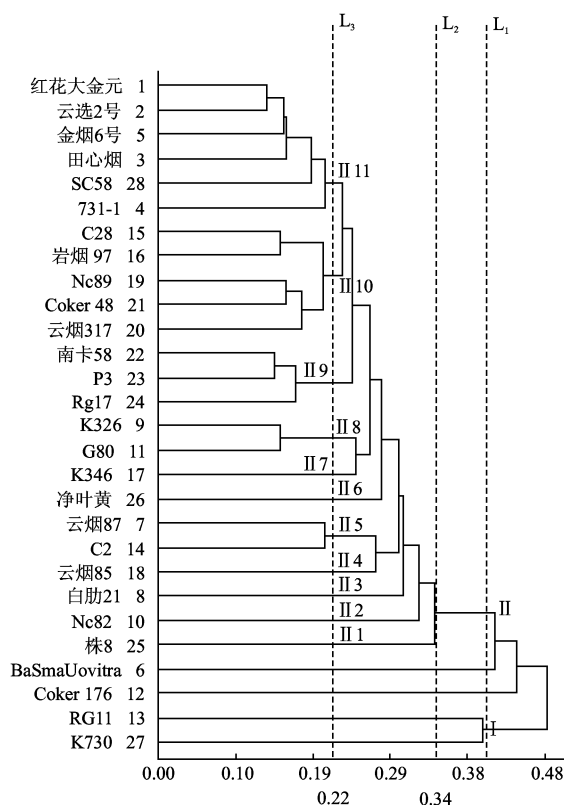


图4 基于 ISSR 数据的 28 份供试材料间的聚类图

Fig. 4 Dendrogram of cluster of 28 tobacco accessions based on IRAP makers

能与其所用的杂交亲本血缘相似性较高有关。

3 讨论

3.1 关于部分烟草种质遗传多样性与亲缘关系

基于 IRAP 和 ISSR 的聚类分析均表明:(1)来自美国的品种 K730、RG11、Coker176 及香料烟 BaSmaUovina 处于分子聚类的基础地位,与其它品种亲缘关系较远,遗传差异较大。(2)来自福建的岩烟 97 与来自美国的 G28 遗传差异很小,亲缘关系很近,两者之间遗传基础较相似。(3)来自不同国家的个别品种,因遗传基础比较相似而被聚在同一类中,如来自美国的品种 SC58 与中国品种聚在一起;而国内品种岩烟 97 和云烟 317 与美国品种聚在一起,这与其由国内品种与美国优良品种杂交育成有关。岩烟 97 是以 401 作母本、G80 作父本杂交选育而成的烤烟品种,G80 为来自美国的品种;云烟 317 是以云烟 4 号作母本、K326 为父本杂交选育而成的,而 K326 是来源于美国的品种。这一结果与王志德^[6]、祁建民^[8]、何川生^[19]等的研究结果相一致。

3.2 IRAP 和 ISSR 两种分子标记方法的比较

3.2.1 IRAP 和 ISSR 两种分子标记方法的一致性

ISSR 标记是建立在 PCR 反应基础上的遗传标

记,其特点是多态性相对较高、技术简便、共显性,现已在作物的遗传作图、遗传多样性等研究方面得到了广泛应用。反转座子广泛散布于生物基因组中,具有丰富的多态性。基于反转座子而发展起来的 IRAP 技术可广泛用于系统进化及生物多样性的分析等方面的研究。对此两种方法的遗传相异系数进行相关性分析,其相关系数为 0.823 ($r_{0.01} = 0.478$),说明这两种方法在分析烟草种质资源遗传多样性上具有高度相关性。同时,这两种方法在 28 份烟草种质资源的聚类结果上有较好的一致性,如都能将来自美国的品种 K730、RG11、Coker176 及香料烟 BaSmaUovina 与其它品种区别开来,都表明岩烟 97 与 G28 的遗传差异很小,亲缘关系很近。本研究结果表明,IRAP 与 ISSR 两种方法均适用于烟草种质资源遗传多样性的研究。

3.2.2 IRAP 和 ISSR 两种分子标记方法的差别

为便于比较,在基于 ISSR 和 IRAP 两种方法的聚类图上均在相异系数为 0.34 处划切割线,IRAP 分子标记方法可将全部供试材料分为 4 个不同的小类群及 6 个独立各类,而 ISSR 分子标记方法仅可将供试材料分为 1 个包括 24 个品种的大类群及 4 个独立各类。由此可见,在同样的相异系数条件下,IRAP 方法可将供试材料划分为更细更具体的类群,从而更容易区分不同种质资源的遗传多样性。而且 IRAP 方法平均每个引物可产生多态性条带 37.4 条,多态性比率达 87.4%,而 ISSR 方法平均每个引物产生 14.7 条多态性条带,多态性比率仅为 75%,IRAP 方法每个引物产生的多态性条带及多态性比率明显高于 ISSR 方法。因此从整体来看,用 IRAP 方法得到的多态性条带数目更多、更稳定,多态性比率也更高。而且 IRAP 标记更易揭示不同品种的遗传差异,可将烟草种质资源更科学、更系统地分类,这在烟草种质资源遗传多样性研究上有重要的应用价值。

致谢:本实验所用的烟草种质资源由福建省龙岩烟草科学研究所、福建省三明烟草科学研究所及云南省烟草科学研究所提供,在此表示衷心的感谢。

参考文献:

- [1] 刘中华,祁建民,陶爱芬,方平平,周东新,王涛.烟草种质资源分子标记与配合力遗传效应研究进展[J].中国烟草学报,2007,13(5):65-70.
- [2] 肖炳光.利用 RAPD 和 ISSR 标记分析烤烟品种间遗传关系[J].武汉植物学研究,2006,24(5):392-396.
- [3] Cossirat J C. Genetic diversity and varietal identification in the

- species *Nicotiana tabacum* by RAPD markers [J]. *Annaesdill Tabac*; Section 2, 1994, 26: 1 – 7.
- [4] 许明辉, 郑民慧, 刘彦中. 烟草品种 RAPD 分子标记多态性与品种鉴定[J]. 种子, 1998, 98(5): 23 – 25.
- [5] 肖炳光, 卢江平, 卢秀萍. 烤烟品种的 RAPD 分析[J]. 中国烟草学报, 2000, 6(2): 10 – 15.
- [6] 王志德, 牟建民, 戴培刚, 王伟峰, 蒋予恩. 部分烟草核心种质 RAPD 分析[J]. 中国烟草学报, 2003, 9(4): 20 – 25.
- [7] 杨本超, 肖炳光, 陈学军, 石春海. 基于 ISSR 标记的烤烟种质遗传多样性研究[J]. 遗传, 2005, 27(5): 753 – 758.
- [8] 祁建民, 王涛, 陈顺辉, 周东新, 方平平, 陶爱芬, 梁景霞, 吴为人. 部分烟草种质遗传多样性与亲缘关系的 ISSR 标记分析[J]. 作物学报, 2006, 32(3): 373 – 378.
- [9] 梁景霞, 祁建民, 方平平, 王涛, 陈顺辉, 周东新, 陶爱芬, 梁康迺, 吴为人. 烟草种质资源遗传多样性与亲缘关系的 ISSR 聚类分析[J]. 中国农业科学, 2008, 41(1): 286 – 294.
- [10] Ren N, Timko M P. AFLP analysis of genetic polymorphism and evolutionary relationships among cultivated and wild *Nicotiana* species[J]. *Genome*, 2001, 44: 559 – 571.
- [11] Nishi T, Tima T, Noguchi S, Ajisaka H, Negishi H. Identification of DNA markers of tobacco linked to bacterial wilt resistance[J]. *Theor Appl Genet*, 2003, 106: 765 – 770.
- [12] Bindler G, Hoeven R, Gunduz I, Plieske J, Ganai M, Rossi L, Gadan F, Donini P. A microsatellite marker based linkage map of tobacco[J]. *Theor Appl Genet*, 2007, 114: 341 – 349.
- [13] 马红勃, 祁建民, 李延坤, 梁景霞, 王涛, 兰涛, 陈顺辉, 陶爱芬, 林荔辉, 吴建梅. 烟草 SRAP 和 ISSR 分子遗传连锁图谱构建[J]. 作物学报, 2008, 34(11): 1958 – 1963.
- [14] Kumar A, Hirochika H. Applications of retrotransposons as genetic tools in plant biology[J]. *Trends in Plant Science*, 2001, 6(3): 127 – 134.
- [15] Kalendar R, Grob T, Suoniemi A, Schulman A. IRAP and REMAP: two new retrotransposon-based DNA fingerprinting techniques[J]. *Theor Appl Genet*, 1999, 98: 704 – 711.
- [16] 肖炳光, 杨本超. 利用 IRAP 标记分析烤烟品种间遗传差异[J]. 西北植物学报, 2006, 26(6): 1119 – 1124.
- [17] Zietkiewicz E, Rafalski A, Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification[J]. *Genomics*, 1994, 20: 176 – 183.
- [18] 祁建民, 周东新, 吴为人, 林荔辉, 吴建梅, 方平平. 用 ISSR 标记检测黄麻野生种与栽培种遗传多样性[J]. 应用生态学报, 2003, 14(9): 1473 – 1477.
- [19] 何川生, 何兴金, 葛颂, 李天飞, 许凌云, 许美玲, 许介眉. 烤烟品种资源的 RAPD 分析[J]. 植物学报, 2001, 43(6): 610 – 614.