

野生大豆与栽培大豆杂交 F₁ 代 ISSR 多态性分析

熊振宇, 李海波, 余爽* (武汉轻工大学生物与制药工程学院, 湖北武汉 430000)

摘要 [目的]探究野生大豆与栽培大豆之间遗传多态性的差异, 以期为大豆杂交育种的亲本选配提供理论依据。[方法]用 20 对 ISSR 引物对野生大豆与栽培大豆及其 10 份杂种 F₁ 材料进行遗传多样性分析, 探讨野生大豆与栽培大豆之间的遗传关系。[结果]此次试验共扩增出 167 条带, 其中 121 条为多态性带, 多态率达 72.45%; 杂交 F₁ 代材料与其母本中黄 19 及父本 ZYD04350 间的平均遗传相似系数分别为 0.65 和 0.47。[结论]栽培大豆与野生大豆杂交 F₁ 代材料间存在着丰富的变异, 杂交 F₁ 代从母本获得的遗传物质多于父本。

关键词 野生大豆; 栽培大豆; ISSR; 多态性

中图分类号 S565.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2017)10-0137-03

ISSR Polymorphism Analysis of F₁ Hybrids of *Glycine soja* and *Glycine max*

XIONG Zhen-yu, LI Hai-bo, YU Shuang* (School of Biology and Pharmaceutical Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan, Hubei 430000)

Abstract [Objective] To study the difference of genetic polymorphism between *Glycine soja* and *Glycine max*, so as to provide theory evidence for *Glycine max* crossbreeding. [Method] Twenty primers were used for ISSR analysis on *Glycine soja*, *Glycine max* and 10 F₁ hybrids, to study the genetic relationship of *Glycine soja* and *Glycine max*. [Result] Total 167 bands were amplified in the PCR reactions. Among them 121 were polymorphic bands and the polymorphic rate was 72.45%. The average genetic coefficients between Zhonghuang 19 and F₁ progenies, ZYD04350 and F₁ progenies were 0.65 and 0.47, respectively. [Conclusion] There was abundant genetic variation among F₁ progenies derived from crossing between *Glycine soja* and *Glycine max*, genetic material of F₁ hybrids obtained from maternal was more than male parents.

Key words *Glycine soja*; *Glycine max*; ISSR; Polymorphism

大豆(*Glycine max*)作为重要的油料和粮食作物, 在世界范围内得到了广泛种植。随着栽培大豆品种推广年限的延长, 品种间的遗传基础日益狭窄, 变异幅度逐渐变小, 优异性状不断丢失^[1-2]。因此优良种质资源的挖掘创新显得十分重要。

野生大豆(*Glycine soja*)作为栽培大豆的祖先, 在长期的自然选择过程中, 形成了极其丰富的变异类型, 具有许多栽培大豆无法比拟的优势: ①野生大豆富含蛋白质, 是一种高蛋白植物。徐豹等^[3]、杨光宇等^[4]研究表明, 野生大豆的蛋白含量明显高于栽培大豆, 平均含量可达 45.4%, 最高达 55.4%。②野生大豆单株荚数较多, 种子繁殖系数较高。王克晶等^[5-6]研究发现栽培大豆中一般种质每株荚数都在 100 个以下, 而在野生大豆中一般每株荚数可达 400~500 个, 甚至上千个。③野生大豆具有抗逆性强、适应范围广的特点。目前, 相关学者已鉴定出抗旱、抗涝、抗盐碱等对逆境胁迫有较强抗性的野生大豆材料^[7-8]。同时对于野生大豆在抗灰斑病、蚜虫、大豆胞囊线虫病、花叶病毒等生物胁迫方面也有相关报道^[9-10]。野生大豆作为栽培大豆的近缘野生种, 两者之间不存在种间杂交障碍和遗传隔离, 故可以通过杂交技术将优良野生大豆资源引入到栽培大豆育种研究中, 这对大豆遗传基础的拓宽, 优良新品种的选育等起到极其重要的作用^[11-14]。

伴随着分子生物学的发展, 遗传多样性的检测已从传统的表型标记、同工酶标记发展到分子标记。AFLP、RFLP、RAPD 等分子标记技术都在检测植物遗传多样性研究中得

到应用, 但都存在一些缺点。AFLP 分子标记操作较为繁琐、耗时; RFLP 分子标记技术需用到同位素, 对人体伤害较大; RAPD 分子标记技术稳定性差。而 ISSR (Inter Simple Sequence Repeat, 简单序列重复区间) 分子标记技术是 Zietkiewicz 等^[15]发明的, 与其他分子标记相比, 具有适用范围广、成本低、操作简单、稳定性高和多态性丰富等特点。目前, ISSR 分子标记技术在油菜^[16]、水稻^[17]、茶树^[18]、小麦^[19]和百合^[20]等植物的遗传多样性分析、基因定位、种子纯度鉴定等研究中得到了广泛利用。利用 ISSR 分子标记技术探讨野生大豆与栽培大豆杂交 F₁ 代植株与其亲本间遗传多态性的差异, 以期为大豆杂交育种的亲本选配提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 植物材料。试验材料为中黄 19 (栽培大豆)、ZYD04350 (野生大豆) 及其 10 个杂交 F₁ 代植株, 材料名称见表 1。

表 1 试验材料

Table 1 The tested materials

材料编号 Materials No.	材料名称 Materials name	材料编号 Materials No.	材料名称 Materials name
P ₁	中黄 19(母本)	A ₅	F ₁ -5
P ₂	ZYD04350(父本)	A ₆	F ₁ -6
A ₁	F ₁ -1	A ₇	F ₁ -7
A ₂	F ₁ -2	A ₈	F ₁ -8
A ₃	F ₁ -3	A ₉	F ₁ -9
A ₄	F ₁ -4	A ₁₀	F ₁ -10

1.1.2 试剂及引物。2×PCR mix 购于大连宝生物, DNA 提取及琼脂糖检测所需的试剂耗材等均为国产分析纯试剂。ISSR 引物序列是由加拿大 British Columbia 大学公布的并由

作者简介 熊振宇(1993—), 男, 湖北麻城人, 本科生, 专业: 生物技术。
* 通讯作者, 实验员, 硕士, 从事细胞生物学研究。

收稿日期 2017-02-24

北京华大基因公司合成,20 对引物碱基序列见表 2。

表 2 ISSR 引物序列

Table 2 Primers sequence for ISSR

引物编号 Primers No.	碱基序列 5'—3' Sequence	引物编号 Primers No.	碱基序列 5'—3' Sequence
B ₁	-AGAGAGAGAGAGACT-	B ₁₁	-AGAGAGAGAGAGAGYC-
B ₂	-AGAGAGAGAGAGAGC-	B ₁₂	-AGAGAGAGAGAGAGYA-
B ₃	-AGAGAGAGAGAGAGG-	B ₁₃	-GTGTCTGTCTGTCTGTYC-
B ₄	-CTCTCTCTCTCTCTT-	B ₁₄	-GTGTCTGTCTGTCTGTYG-
B ₅	-CTCTCTCTCTCTCTA-	B ₁₅	-GTGTCTGTCTGTCTGTYA-
B ₆	-CTCTCTCTCTCTCTG-	B ₁₆	-BVBATATATATATATA-
B ₇	-TCTCTCTCTCTCTCA-	B ₁₇	-GATCAAGCTTNNNNNATGTGG-
B ₈	-TCTCTCTCTCTCTCC-	B ₁₈	-AGGTCGGCCCGCNNNNNATG-
B ₉	-TCTCTCTCTCTCTCG-	B ₁₉	-TGCATGCATGCATGCA-
B ₁₀	-AGAGAGAGAGAGAGYT-	B ₂₀	-GGATGGATGGATGGAT-

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取。选取盛花期大豆植株顶部幼嫩的叶片,液氮保存。总 DNA 的提取采用 CTAB 法^[21],并根据大豆自身特点加以改良。DNA 质量检测采用 1% 琼脂糖凝胶电泳。

1.2.2 ISSR-PCR 反应体系的建立。ISSR-PCR 反应体系为 2 × PCR mix 12.5 μL,ISSR 引物(10 ng/μL)2 μL,DNA 模板(10 ng/μL)2 μL,补水至 25 μL。反应程序为 94 °C 预变性 3 min;94 °C 变性 30 s,50~60 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 80 s,循环 30 次;72 °C 延伸 5 min,4 °C 保存。

1.2.3 琼脂糖凝胶电泳检测。利用 20 对多态性引物对试验材料进行筛选,扩增产物利用 2% 琼脂糖凝胶电泳检测,100 V 电压条件下电泳,直至标记染料完全跑出(约 1 h)。电泳结束后于凝胶成像系统内分析、拍照。

1.3 数据分析 将琼脂糖凝胶电泳图根据条带的有无转化为 0/1 数据(有条带的记 1,无条带的记 0),利用 NTSYSpc2 软件分析材料间的遗传相似系数和构建聚类树状图。

2 结果与分析

2.1 DNA 质量检测 CTAB 法提取植物材料叶片 DNA,1% 琼脂糖电泳检测结果如图 1 所示,所提 DNA 条带清晰,无杂质、无降解,质量较高,可以用于后续试验。

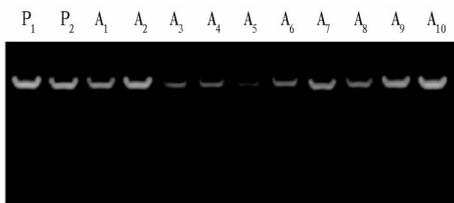


图 1 基因组 DNA 检测结果

Fig. 1 The detection result of genome DNA

2.2 ISSR-PCR 扩增 利用 20 对 ISSR 引物对野生大豆与栽培大豆及其 10 个杂交 F₁ 代进行扩增,各引物扩增的带数及多态性条带数目如表 3 所示。共得到 167 条带,其中引物 B₂ 扩增带数最多,为 15 条,引物 B₉ 和 B₁₅ 最少,为 5 条,平均每个引物扩增条带 8.15 条。其中多态性条带 121 条,多态率为 72.45%。图 2 是引物 B₂ 的 PCR 扩增产物电泳图。

表 3 20 条 ISSR 引物的扩增结果

Table 3 The PCR amplification results of 20 ISSR primers

引物编号 Primers No.	总条带 Total bands	多态性条带 Polymorphic bands	多态率 Polymorphic rate // %
B ₁	8	5	62.50
B ₂	15	9	60.00
B ₃	9	6	66.67
B ₄	13	10	76.92
B ₅	6	3	50.00
B ₆	8	8	100.00
B ₇	8	7	87.50
B ₈	7	5	71.43
B ₉	5	3	60.00
B ₁₀	10	7	70.00
B ₁₁	7	4	57.14
B ₁₂	9	6	66.67
B ₁₃	9	6	66.67
B ₁₄	11	8	72.73
B ₁₅	5	4	80.00
B ₁₆	7	5	71.43
B ₁₇	9	8	88.89
B ₁₈	8	8	100.00
B ₁₉	7	5	71.43
B ₂₀	6	4	66.67
总计 Total	167	121	72.45

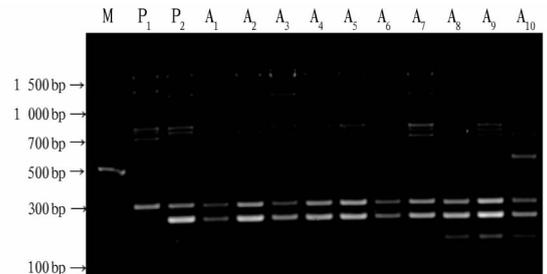


图 2 引物 B₂ 的 PCR 扩增产物电泳结果

Fig. 2 Electrophoretic results of PCR amplification product by B₂ ISSR primer

2.3 亲本及杂交 F₁ 代遗传相似系数分析 试验利用 20 对 ISSR 引物对 2 个亲本及其 10 个杂交 F₁ 进行多态性分析,将电泳结果转化为 0/1 数据,并利用 NTSYSpc2 软件进行遗传相似系数分析,其结果如表 4 所示。2 个亲本间的遗传相似系数最小为 0.35,子代材料 A₁ 与 A₉ 之间遗传相似系数最大为 0.87。10 个子代单株与母本的遗传相似系数在 0.55~0.71,平均遗传相似系数为 0.65。子代单株与父本间的遗传相似系数在 0.38~0.53,平均遗传相似系数为 0.47。

2.4 亲本及杂交 F₁ 代聚类分析 根据遗传相似系数矩阵进行 UPGMA 聚类分析,结果如图 3 所示。通过聚类图可知,群体被分为两大类,第 1 类为父本,第 2 类为母本及杂交 F₁ 代单株,其可分为母本 P₁ 和杂交 F₁ 代二大亚支,在杂交 F₁ 代亚支中,又分为 3 个分支,第 1 分支包括 A₁、A₉ 和 A₁₀,第 2 分支包括 A₂、A₈、A₃ 和 A₄,第 3 分支包括 A₅、A₆ 和 A₇。亲本 P₁ 与 P₂ 被分在两大类中,在聚类图中距离最远,说明双亲野

生大豆与栽培大豆存在着不同的遗传背景。母本与所有杂交 F_1 代被分在第二大类中,说明杂交 F_1 代与母本间的亲缘关系更近。从图 3 可以看出,母本 P_1 、父本 P_2 和所有杂交 F_1

代分别处于 3 个亚支中,暗示在亲缘关系上,杂交 F_1 代之间比其与双亲间更近。

表 4 各试验材料间的遗传相似系数

Table 4 The genetic coefficients between the tested materials

材料编号 Materials No.	P_1	P_2	A_1	A_2	A_3	A_4	A_5	A_6	A_7	A_8	A_9	A_{10}
P_1	1.00											
P_2	0.35	1.00										
A_1	0.62	0.47	1.00									
A_2	0.64	0.51	0.64	1.00								
A_3	0.61	0.44	0.71	0.74	1.00							
A_4	0.59	0.47	0.68	0.77	0.83	1.00						
A_5	0.67	0.53	0.67	0.68	0.79	0.69	1.00					
A_6	0.71	0.38	0.81	0.65	0.65	0.74	0.84	1.00				
A_7	0.60	0.49	0.73	0.71	0.62	0.70	0.76	0.71	1.00			
A_8	0.55	0.46	0.65	0.80	0.75	0.81	0.65	0.59	0.72	1.00		
A_9	0.57	0.52	0.87	0.75	0.71	0.80	0.58	0.84	0.66	0.78	1.00	
A_{10}	0.62	0.46	0.77	0.65	0.65	0.67	0.62	0.70	0.69	0.73	0.78	1.00

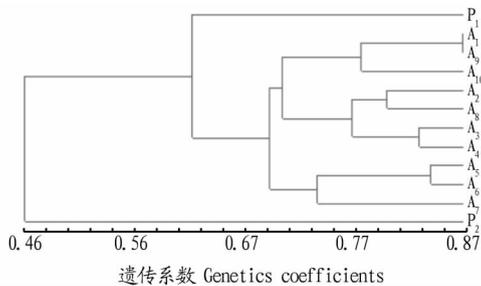


图 3 试验材料的 UPGMA 聚类图

Fig.3 The UPGMA analysis of the materials

3 结论与讨论

该研究利用 ISSR 分子标记分析野生大豆与栽培大豆及其 F_1 代的遗传多态性差异,结果表明 ISSR 分子标记具有较高的多态性。其扩增产物检测无须利用复杂繁琐的聚丙烯酰胺凝胶电泳,2% 琼脂糖电泳即可很好地分辨,操作简单,方便快捷。因此,ISSR 作为一种良好的分子标记技术,在分子标记辅助育种和遗传多样性检测等研究中有广阔的前景^[22]。

该研究中,杂交 F_1 代及双亲在遗传相似系数上有较大差异。亲本野生大豆与栽培大豆间遗传相似系数为 0.35,为所有试验材料中最小,说明野生大豆与栽培大豆间存在着遗传多样性的差异。另外,各子代材料与父本及母本的平均遗传相似系数分别为 0.47 和 0.65,低于父母本之间遗传相似系数,暗示着子代材料已融合双亲遗传物质。

通过双亲及杂交 F_1 代的遗传相似系数及聚类分析图可以发现,杂交 F_1 代存在不均等的获得双亲遗传物质的现象,这种不均等性表现为杂交 F_1 代能更多地得到母本的遗传物质。一个可能的原因是杂交 F_1 代获得母本的细胞质遗传物质——线粒体及叶绿体基因。但在刘梦培等^[23]的研究中,利用 ISSR 分子标记分析 3 个杂交组合及其子代的遗传变异中仅有 1 个组合出现这种现象,说明此种现象不只是由细胞

质遗传造成的,还可能存在其他原因。同时在生产上将优良种质作为母本配制杂交组合,子代有更大几率获得更多母本的优良性状,对杂交育种中的亲本选配工作具有积极的作用。

参考文献

- [1] 袁翠平,沈波,董英山. 中国大豆抗(耐)胞囊线虫病品种及其系谱分析[J]. 大豆科学,2009,28(6):1049-1053.
- [2] CONCIBIDO V C, DIERS B W, ARELLI P R. A decade of QTL mapping for cyst nematode resistance in soybean[J]. Crop science,2004,44(4):1121-1131.
- [3] 徐豹,邹淑华,庄炳昌,等. 野生大豆(*G. soja*)种子贮藏蛋白组份 11S/7S 的研究[J]. 作物学报,1990,16(3):235-241.
- [4] 杨光宇. 东北地区野生、半野生大豆在大豆育种中利用研究进展[J]. 大豆科学,1997,5(3):259-263.
- [5] 王克晶,李福山. 我国野生大豆(*G. soja*)种质资源及其种质创新利用[J]. 中国农业科技导报,2000,2(6):69-72.
- [6] 王克晶,李向华. 国家基因库野生大豆(*Glycine soja*)资源最近十年考察与研究[J]. 植物遗传资源学报,2012,13(4):507-514.
- [7] 朱倩,刘学义,谢飒英. 野生大豆抗旱多态性研究[J]. 安徽农业科学,2015,43(32):25-28.
- [8] 肖鑫辉,李向华,刘洋,等. 野生大豆(*Glycine soja*)耐高盐碱土壤种质的鉴定与评价[J]. 植物遗传资源学报,2009,10(3):392-398.
- [9] 杨振宇,本多健一郎,王曙明,等. 中国东北抗蚜野生大豆重复鉴定的研究[J]. 吉林农业科学,2004,29(5):3-6.
- [10] 马晓萍,杨光宇,杨振宇,等. 野生大豆在大豆育种中的应用[J]. 作物研究,2009,23(2):11-12.
- [11] YUAN C P, ZHOU G A, LI Y H, et al. Cloning and sequence diversity analysis of *GmHs1*^{pro-1} in Chinese domesticated and wild soybeans[J]. Molecular breeding,2008,22(4):593-602.
- [12] DIERS B W, ARELLI P R, CARLSON S R, et al. Registration of LDX01-1-65 soybean germplasm with soybean cyst nematode resistance derived from *Glycine soja*[J]. Crop science,2005,45(4):1671-1672.
- [13] HYTEN D L, SONG Q J, ZHU Y L, et al. Impacts of genetic bottlenecks on soybean genome diversity[J]. Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America,2006,103(45):16666-16671.
- [14] KURODA Y, TOMOOKA N, KAGA A, et al. Genetic diversity of wild soybean (*Glycine soja* Sieb. et Zucc.) and Japanese cultivated soybeans [*G. max*(L.) Merr.] based on microsatellite (SSR) analysis and the selection of a core collection[J]. Genetic resources and crop evolution,2009,56(8):1045-1055.

2.6 主要发表期刊分析 由图 2 可知,萝卜研究的科技期刊共有 263 种,从发表文章数目分析,期刊可分为 5 个梯队,第 1 梯队包括 3 种期刊,发表萝卜文章均超过 30 篇,总发文占比为 13.55%,其中《北方园艺》发表文章 44 篇,《中国蔬菜》发表文章 38 篇,《长蔬蔬菜》发表文章 37 篇;第 2 梯队包括 7 种期刊,发表萝卜研究文章均超过 20 篇,总发文占比为 18.91%,其中《园艺学报》《南京农业大学学报》发表文章均为 25 篇,《江苏农业科学》发表文献 24 篇,《现代农业科技》发表文献 23 篇,《山东农业科学》《中国农学通报》发表文献均为 22 篇;第 3 梯队包括 9 种期刊,发表文献 10 篇以上,总发文占比为 12.41%;第 4 梯队包括 17 种期刊,发表文献 5 篇以上,总发文占比为 12.53%;第 5 梯队包括 141 种期刊,发表文献 5 篇以下,总发文占比为 42.60%。我国萝卜文献期刊很多,但质量提升速度还未赶上数量的增长速度,具有较高影响因子的期刊数量较少,低影响因子的期刊较多。相对于数量,今后更应关注发文期刊的质量。



图 2 萝卜期刊分布

Fig. 2 Journal distribution of *Raphanus sativus*

3 结论与讨论

该研究结果表明,萝卜研究的主体是大学及科研院所的研究人员,尤以江苏、山东、北京为多,这 3 个地区有明显的区位优势,江苏省以南京农业大学为代表,人力资源丰富;山东省不仅具有人力资源优势,而且有名优地方品种“潍县青”;北京与山东相似,有丰富的人力资源和萝卜品种“心里美”,这为萝卜研究提供智力支持和资源保障。通过对我国萝卜研究文献计量分析可知,我国萝卜研究取得了巨大进步,尤其“十一五”“十二五”期间,萝卜研究文献显著增多。生物技术是现代科学研究的重要方法,也是萝卜研究的发展方向之一,在生物技术方面仍有待加强。萝卜中文文献量虽然较多,但多数作者仅发表 1 篇文章,论文的集中度不足,说明相当部分研究者的研究工作不够深入,不成体系。

目前,我国萝卜研究进入了快速发展期,在我国建设创

新型国家的大环境下,国家对科学研究的投入越来越多,科研工作者也开展了卓有成效的工作。国内萝卜研究在方向的选择、研究的深度以及组建研究团队开展联合攻关方面,相较黄瓜、番茄、油菜、白菜等研究成熟的蔬菜作物均较弱。黄瓜、番茄、甘蓝、白菜等研究范围广、深度大,理论与实践联系紧密,能针对理论问题和生产问题进行全方位研究,如已将分子技术成功应用于育种和产业实践,开发了标记辅助育种(MAB)^[11-14],将转基因技术应用于实验室研究^[15-17]。但萝卜的相关研究不多,能进行实际应用的更少。国内萝卜研究缺乏持续性和创新性,许多科研工作者不能坚持自己的研究方向,尚未形成体系和特色。近年来,园艺类的高水平研究论文多侧重于测序领域。但国内有关萝卜基因测序的文献很少。当前科研经费相对充足的科研工作者应全方位思考萝卜产业的问题,更加科学、合理地分布研究力量,充分利用资源优势,将萝卜研究做出特色和深度。

参考文献

- [1] 汪隆植,何启伟. 中国萝卜[M]. 北京:科学技术文献出版社,2005.
- [2] 胡向东,李娜,何忠伟. 中国萝卜产业发展现状与前景分析[J]. 农业展望,2012(10):35-37,40.
- [3] 石林豫,薛惠民,胡美华,等. 浙江省萝卜产业现状及发展对策[J]. 中国蔬菜,2013(1):5-8.
- [4] 高懋芳,邱建军,刘三超,等. 基于文献计量的农业面源污染研究发展态势分析[J]. 中国农业科学,2014,47(6):1140-1150.
- [5] 黄宝晟. 文献计量法在基础研究评价中的问题分析[J]. 研究与发展管理,2008,20(6):108-111.
- [6] 陈静,张保卫,马克平,等. 中国保护生物学研究现状的文献计量学分析[J]. 生物多样性,2009,17(4):423-429.
- [7] 郑怀国,赵静娟,谭翠萍. 基于文献计量的白菜育种研究领域全景分析[J]. 安徽农业科学,2010,38(35):20441-20442,20445.
- [8] 闫险峰,孙利芳. 我国马铃薯核心期刊研究文献的计量分析[J]. 内蒙古科技与经济,2015(12):128-129.
- [9] 邱德勃,HERBERD D J. 萝卜和甘蓝属间杂交胚和胚乳发育过程的亚显微结构观察[J]. 植物学报,1986,28(5):483-491.
- [10] 徐婷. 我国仫族(1980—2007年)文献研究的计量分析[J]. 图书馆,2009(3):64-67.
- [11] 胡丽芳,刘世强. 黄瓜重要性状相关分子标记研究进展[J]. 中国农学通报,2014,30(1):289-297.
- [12] 高蓝,李浩明. DNA 分子标记在番茄遗传育种研究中的应用[J]. 遗传,2003,25(3):361-366.
- [13] 刘东明,杨丽梅,方智远,等. 甘蓝类蔬菜作物分子育种研究进展[J]. 中国农业科技导报,2015,17(1):15-22.
- [14] 杨林栋. 分子标记技术及其在大白菜遗传育种中的应用[J]. 安徽农业科学,2015,43(4):30-33.
- [15] 刘水,林毓娥,李玲,等. 黄瓜转基因育种技术研究进展[J]. 广东农业科学,2011(15):116-119.
- [16] 王蕾,宿烽. 番茄基因工程的研究进展[J]. 安徽农业科学,2013,41(7):2870-2871,2880.
- [17] 王丽,仪霞霞,杨丽梅,等. 转 Bt 基因早熟春甘蓝抗虫材料的获得[J]. 中国蔬菜,2014(10):12-17.

(上接第 139 页)

- [15] ZIETKIEWICZ E, RATALSKI A, LABUDA D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat(SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification[J]. Genomics,1994,20(2):176-183.
- [16] 沈金雄,傅廷栋,杨光圣. 甘蓝型油菜 SSR、ISSR 标记的遗传多样性及其与杂种表现的关系[J]. 中国农业科学,2004,37(4):477-483.
- [17] 胡汉桥,邢姗姗,郭建夫,等. 利用 RAPD 和 ISSR 引物对三系杂交水稻及其父母本的鉴定[J]. 广东海洋大学学报,2006,26(3):86-90.
- [18] 侯渝嘉,何桥,梁国鲁,等. 茶树杂交后代的 ISSR 分析[J]. 西南农业大学学报(自然科学版),2006,28(2):267-270.

- [19] 詹克慧,孙洪,高翔,等. 小麦亲本间分子遗传距离与 F₁ 杂种优势的相关性分析[J]. 麦类作物学报,2006,26(2):27-31.
- [20] 管洁,焦雪辉,吴锦娣,等. 用 ISSR 分子标记鉴定亚洲百合杂种 F₁ 代[J]. 分子植物育种,2013,11(3):415-420.
- [21] DOYLE J J. Isolation of plant DNA from fresh tissue[J]. Focus,1990,12:13-15.
- [22] 王建波. ISSR 分子标记及其在植物遗传学研究中的应用[J]. 遗传,2002,24(5):613-616.
- [23] 刘梦培,傅大立,田敏,等. 华仁杏 3 个杂交组合 F₁ 子代遗传变异的 ISSR 分析[J]. 中南林业科技大学学报,2011,31(10):100-104.