

许园园, 刘 哲, 娄丽娜, 等. 基于 MCID 法的萝卜品种快速鉴定[J]. 江苏农业学报, 2016, 32(6): 1384-1389.
doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2016.06.029

基于 MCID 法的萝卜品种快速鉴定

许园园, 刘 哲, 娄丽娜, 苏小俊

(江苏省农业科学院蔬菜研究所, 江苏省高效园艺作物遗传改良重点实验室, 江苏 南京 210014)

摘要: 应用基于 DNA 分子标记的人工绘制植物品种树形鉴别图法(Manual cultivar identification diagram, MCID)对来源于中国各地的 20 个萝卜品种进行了鉴定。结果表明,通过设计筛选出的 4 个 RAPD 随机引物和 4 次 PCR 扩增、统计凝胶电泳谱带,并人工绘制品种树形鉴别图,即可将 20 个萝卜品种在分子水平上进行快速区分。

关键词: 萝卜; RAPD; 人工绘制植物品种鉴别图法(MCID); 品种鉴定

中图分类号: S631.102.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2016)06-1384-06

Rapid identification of radish varieties based on MCID method

XU Yuan-yuan, LIU Zhe, LOU Li-na, SU Xiao-jun

(Institute of Vegetable Crops, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Jiangsu Key Laboratory for Horticultural Crop Genetic Improvement, Nanjing 210014, China)

Abstract: A method for variety identification using a manual cultivar identification diagram (MCID) based on DNA molecular markers was applied to the identification of 20 radish varieties around China. The result showed that the 20 radish varieties were rapidly and easily distinguished at the molecular level through four rounds of PCR amplification using four random amplified polymorphic DNA (RAPD) primers, analysis of the bands of gel electrophoresis and development of the tree-based identification charts.

Key words: radish; RAPD; manual cultivar identification diagram (MCID); variety identification

萝卜(*Raphanus sativus* L.)又名莱菔、芦菔,是起源于中国的一种世界性蔬菜作物,为十字花科萝卜属一、二年生草本植物,染色体 $2n=2x=18$,基因组大小约为 526 Mbp。萝卜在中国栽培历史悠久,品种资源极其丰富,其栽培面积在所有蔬菜作物中

位居前列,是出口创汇的主要蔬菜品种,在蔬菜生产与供应中占有重要地位。萝卜不仅营养价值与药用价值较高,还具有很好的食疗保健作用^[1]。近年来国内外研究发现,萝卜具抗癌防癌、防病毒、杀菌等功效^[2]。目前在日本、美国、荷兰等地都有大面积栽培,深受人们喜爱。

近些年来,随着中国萝卜产量迅速提高及栽培面积的大幅度扩展,越来越多的优良品种应用于萝卜生产中^[3-5]。但是由于萝卜变异丰富,品种繁多,在长期引种和栽培过程中,造成大量同物异名和同名异物现象,增加了萝卜品种鉴定的难度。因此,建立萝卜品种快速可靠的鉴定技术体系对于萝卜遗传资源的研究保护、苗期鉴定、品种区分乃至萝卜产业的持续发展等具有重要意义。由于萝卜育种中使用

收稿日期:2016-03-28

基金项目:“十二五”农村领域国家科技计划课题(2012BAD02B01);
江苏省科技支撑项目(BE2013429);2015 年度江苏省第四
期“333 工程”培养资金资助项目(BRA2015445)

作者简介:许园园(1985-),女,山东潍坊人,博士,副研究员,
主要从事蔬菜作物遗传育种研究。(Tel)
15951956519; (E-mail) xuyuan850903@hotmail.
com

通讯作者:苏小俊, (Tel) 15365172328; (E-mail) xiaojunsu@yahoo.
com

的亲本越来越集中在少数优良品种或品系上,使得所选育的新品种在植物学性状上难以区分,传统单一的形态学品种鉴定方法已无法满足有效鉴别或区分当今日益增多的相似性高、亲缘关系较近的萝卜品种的要求。因此,如何有效地鉴别萝卜品种,已成为一个亟待解决的重要问题。

DNA 分子标记直接建立在分子水平上,不受外界环境、作物发育阶段、取样部位等因素影响,检出的多态性位点是无限的,鉴定结果具有高度的可靠性和重复性,鉴别力强。分子标记不仅广泛应用于作物遗传育种中,同时也应用于品种鉴定研究中^[6-8]。在众多分子标记技术中,随机扩增多态性 DNA (Random amplified polymorphic DNA, RAPD) 基于 PCR 技术,是应用较早的分子标记技术之一,它以分析程序简便快捷,周期性短,所需费用低,已被普遍应用于指纹图谱构建、基因快速定位、遗传多样性分析和品种分类等研究^[9-14]。

现有的用于蔬菜作物品种区分与种质鉴定研究的 RAPD 技术,多采用计算机软件绘制数字化指纹图谱并用统计学软件进行聚类分析,但是聚类分析结果不能直观显示区分品种的引物,也不能显示鉴别过程,而且工作量大,缺乏实用性^[15]。人工绘制品种树形鉴别图法很好地解决了这一问题。本研究通过优化的 RAPD 技术体系,利用筛选出的 4 条具备稳定性和多态性的 RAPD 引物,对 20 个萝卜品种进行 PCR 扩增,以期将 20 个萝卜品种在分子水平上进行快速准确的区分。

1 材料与方法

1.1 供试材料

待萝卜长至两叶一心时采集叶片样品,样品采集于江苏省农业科学院蔬菜研究所六合试验基地,样品采集后液氮速冻,放置于-80℃超低温冰箱保存。萝卜品种编号和品种名称见表 1。RAPD 随机引物由深圳华大基因公司合成。

1.2 试验方法

1.2.1 DNA 提取 萝卜幼嫩叶片约 0.2 g,液氮中磨碎后,加入 500 μl CTAB 裂解液[2% CTAB、2 mol/L NaCl、20 mmol/L EDTA、100 mmol/L Tris-HCl (pH 8.0)、0.2% β-巯基乙醇],转入 1.5 ml 离心管中,65℃水浴 0.5~1.0 h 后取出冷却;加入等体积氯仿:异戊醇(24:1)混合液后轻轻摇晃,12 000

r/min 离心 8~10 min,上清液用氯仿:异戊醇(24:1)抽提 1~2 次,加入预冷异丙醇,4℃冰箱中静置 3 h 以上,收集絮状 DNA,用 70% 乙醇洗涤,干燥后溶于 TE 缓冲液中保存备用。采用核酸蛋白测定仪(Eppendorf 公司产品)测定 DNA 浓度,1.2% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 质量。

表 1 试验中使用的萝卜品种
Table 1 Radish cultivars used in this research

编号	品种名称	编号	品种名称
1	满身红	11	扬州圆白
2	霸王青	12	青皮甜帅
3	短叶十三	13	七叶圆红
4	秋田扬花	14	浙大长
5	秋田大红袍	15	翘头青
6	秋田满堂红	16	南韩大根
7	穿心红	17	韩玉春
8	绵阳红	18	西南红帅
9	银魅	19	中秋红
10	丰秋青王	20	白玉春

1.2.2 引物筛选和梯度 PCR 扩增 为保证 RAPD 结果的重复性和稳定性,先针对现有的萝卜品种基因组设计 52 个随机引物,从中选取多态性好、扩增性强、稳定性高的 11 个碱基的 RAPD 随机引物,之后通过连续 2 次梯度 PCR 选择谱带清晰、PCR 产物重复性好的 PCR 温度作为退火温度。梯度 PCR 反应体系(20 μl)含 50 ng 基因组 DNA、2.00 mmol/L MgCl₂、0.15 mmol/L dNTPs、0.44 μmol/L 引物、0.75 U *Taq* DNA 聚合酶。反应程序:94℃预变性 2 min;94℃变性 30 s,退火 45 s,72℃延伸 90 s,42 个循环,72℃延伸 10 min,4℃保存。引物及退火温度见表 2。扩增产物采用 1.2% 琼脂糖凝胶分离,紫外灯下观察拍照。

1.2.3 RAPD-PCR 扩增与检测 RAPD-PCR 反应体系(20 μl)含 50 ng 基因组 DNA、2.00 mmol/L MgCl₂、0.15 mmol/L dNTPs、0.44 μmol/L 引物、0.75 U *Taq* DNA 聚合酶。RAPD-PCR 扩增程序:94℃预变性 2 min;94℃变性 30 s,退火 45 s,72℃延伸 90 s,42 个循环,72℃延伸 10 min,4℃保存。引物及退火温度见表 2。扩增产物加入 4 μl 6×上样缓冲液(含 0.25% 溴酚蓝、30% 蔗糖),采用琼脂糖凝胶(含有 1.2% 溴化乙锭)电泳,电泳缓冲液 1×TAE(1 L

中含有 0.242 g Tris、0.057 ml 冰醋酸、0.200 ml 0.25 mol/L EDTA, pH 8.0)。在 120 V 恒压下进行电泳 0.5 ~ 0.8 h, 紫外投射仪观察拍照。

表 2 RAPD 引物及退火温度

Table 2 RAPD primers and their annealing temperature

引物	核苷酸序列(5'→3')	退火温度(℃)
RP13	TATGTCTACTC	43.5
RP102	CTAGGATTATT	42.3
RP55	TATTATTGGCT	39.4
RP271	ACGGTGCGGCG	41.6

1.2.4 品种树形鉴别图的人工绘制 采用 PCR 扩增产物清晰的引物对 20 个萝卜品种进行鉴定。首先统计每一引物 PCR 扩增的 20 个萝卜品种 DNA 指纹图谱中在相同分子量片段处的多态性, 凡是该处有扩增谱带的品种归类为一组, 无谱带的归类为另一组。继续采用更多的引物逐步进行鉴别, 直到

所有待鉴别的品种被单独分开为止。最后, 根据鉴别结果人工绘制树形鉴别图, 将每一步用到的引物及多态性谱带大小标注到树形鉴别图的相应位置。人工绘制的树形鉴别图是基于 PCR 扩增后的谱带形态统计出的结果, 它以引物作为节点, 节点后是该引物对不同品种的区分结果, 包括区分出的类别或者直接区分出来的品种。在节点后的分支还标记了不同结果相互区分的依据, 即谱带之间的区别, 能更方便地进行品种鉴定、统计工作。

2 结果

2.1 提取的萝卜叶片 DNA 质量

20 个品种萝卜叶片 DNA 采用改良的 CTAB 法提取, 用 1.2% 琼脂糖凝胶电泳检测, 萝卜基因组 DNA 条带十分清晰, 没有杂带, 且无蛋白质等杂质污染, 符合后续试验要求(图 1)。

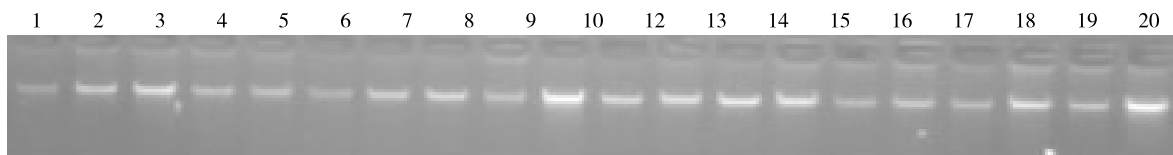


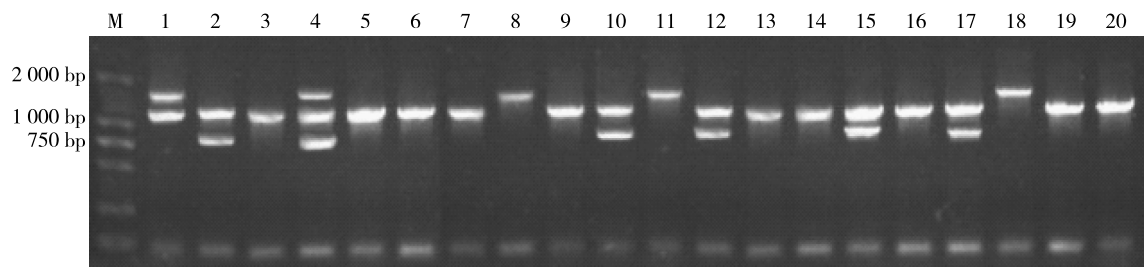
图 1 20 个萝卜品种的 DNA 电泳检测图

Fig. 1 DNA electrophoresis patterns of 20 radish varieties

2.2 萝卜品种鉴定 RAPD 优化体系的建立

为了提高 RAPD 体系的稳定性和重复性, 更加适合萝卜品种鉴定, 本研究进一步优化了 RAPD 体系, 设计利用长度为 11 个碱基的 RAPD 随机引物, 并严格筛选适合各个引物的退火温度, 确保扩增得

到的 DNA 谱带指纹图谱清晰且多态性高。为提高品种鉴定结果的准确性与可靠性, 本研究通过连续 2 次梯度 PCR 选择谱带清晰、多态性高、PCR 产物重复性好的引物。图 2 为引物 RP13 扩增结果, 谱带清晰, 大小分布在 500 bp 至 2 000 bp 之间。



1 ~ 20: 萝卜品种编号, 见表 1。

图 2 引物 RP13 扩增 20 个萝卜品种的电泳检测图

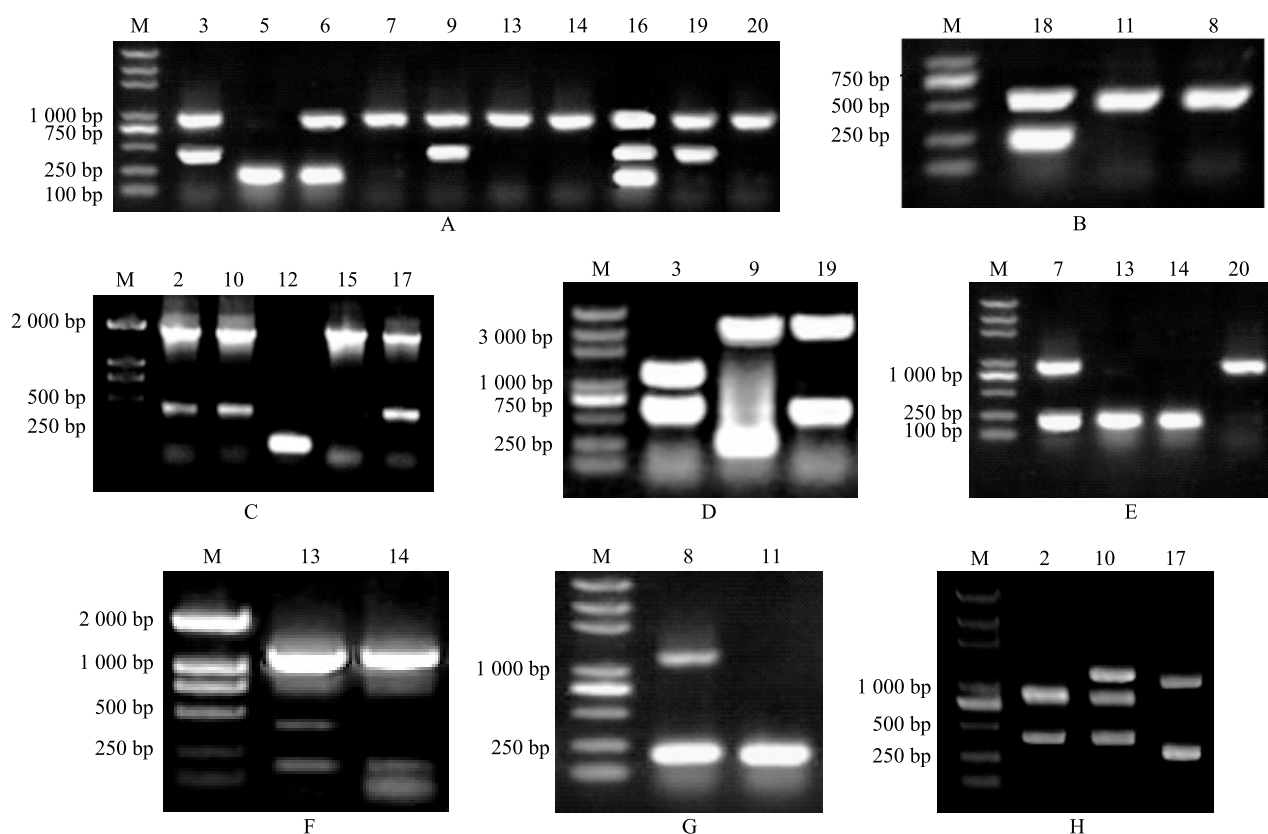
Fig. 2 The banding patterns of 20 radish cultivars amplified by primer RP13

2.3 萝卜品种的树形鉴别图法(MCID 法)鉴定

为将 20 个萝卜品种逐一单独区分鉴别出来,首先根据引物 RP13 扩增的 20 个萝卜 DNA 指纹图谱(图 2)上 1 800 bp、1 200 bp、750 bp 3 条特征谱带的有无将 20 个品种分为 5 组,有特征性谱带的用(+)表示,无特征性谱带的用(-)表示。第 1 组满身红在 1 800 bp、1 200 bp 处都出现特征性谱带,而在 750 bp 处无特征性谱带,因而被单独鉴定出来;第 2 组秋田扬花在 1 800 bp、1 200 bp、750 bp 处都出现特征性谱带而被单独鉴定出来;第 3 组带型为 1 800 bp(-)、1 200 bp(+)、750 bp(-),共包括 10 个萝卜品种;第 4 组带型为 1 800 bp(+)、1 200 bp(-)、750 bp(-),包括 3 个萝卜品种;第 5 组带型为 1 800 bp(-)、1 200 bp(+)、750 bp(+),包括 5 个品种。

再进一步利用更多的引物鉴定上述第 3~5 组的品种。其中第 3 组的 10 个品种利用引物 RP102 扩增的 1 000 bp、400 bp 和 150 bp 3 条多态性谱带进行鉴定区分,在 1 000 bp 处未出现特征谱带的为秋田大红袍,在 1 000 bp、150 bp 处都出现特征谱带、而在 400

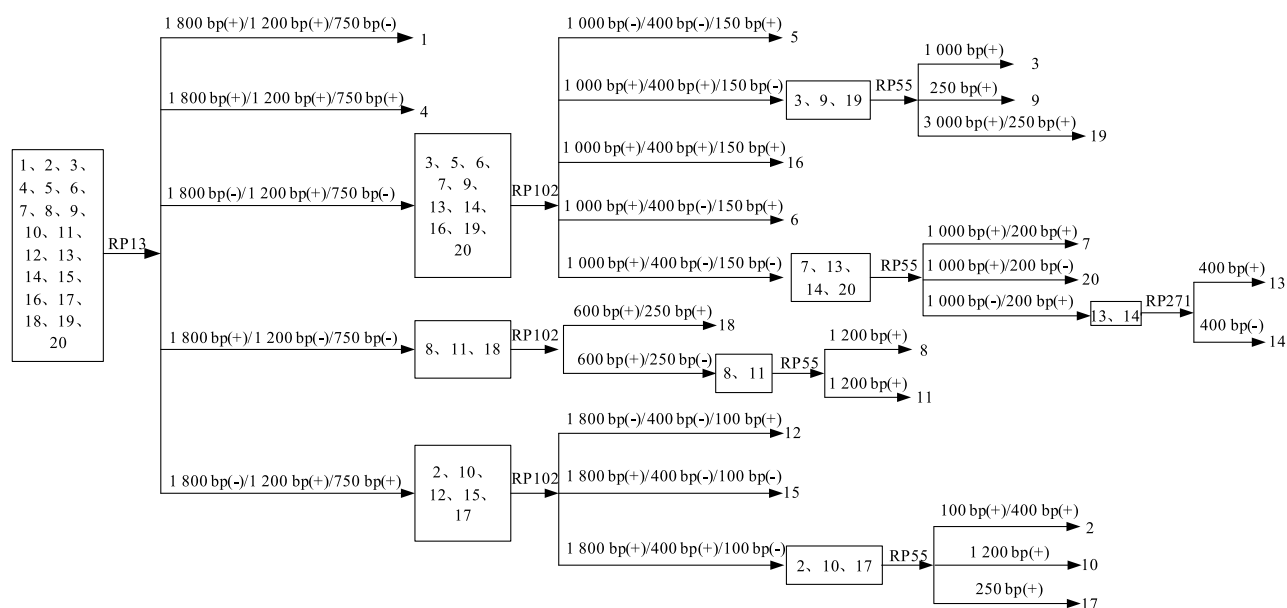
bp 处未出现特征谱带的为秋田满堂红,在 1 000 bp、400 bp、150 bp 处都出现特征谱带的是南韩大根(图 3-A)。上述 10 个品种中未鉴定出的品种则被分为 2 个亚组:编号为 3、9、19 的品种被分为第 1 亚组,编号为 7、13、14、20 的品种为第 2 亚组。再用引物 RP55 对这 2 个亚组品种进行区分。第 1 亚组中,在 1 000 bp 处出现特征谱带的为短叶十三,在 250 bp 处出现特征谱带的为银魅,在 3 000 bp、500 bp 处均出现特征谱带的为中秋红(图 3-D);第 2 亚组中,在 1 000 bp 与 200 bp 处均出现特征性谱带的是穿心红,在 200 bp 处未出现特征性谱带的是白玉春,在 1 000 bp 处未出现特征谱带,而在 200 bp 处出现特征谱带为编号为 13、14 的品种(图 3-E)。再进一步用引物 RP271 区分 13 和 14 号品种,在 400 bp 处出现特征谱带为七叶圆红,在 400 bp 处未出现特征谱带则是浙大长(图 3-F)。另外 2 组按照此方法依次鉴定,直到将所有品种区分开来(图 3-B、C、G、H)。最后,根据所有引物及相应谱带信息人工绘制供试 20 个萝卜品种的鉴定图,即萝卜树形鉴别图(图 4)。



萝卜品种编号见表 1。A、B、C 为引物 RP102 的扩增指纹图谱;D、E、G、H 为引物 RP55 的扩增指纹图谱;F 为引物 RP271 的扩增指纹图谱。

图 3 引物 RP102、RP55、RP271 对萝卜品种的鉴定

Fig.3 Identification of radish cultivars with primer RP102, RP55 and RP271



有特异性谱带的用(+)表示,无特异性谱带的用(-)表示。

图4 4个随机引物鉴别区分20个萝卜品种的图谱关系示意图

Fig. 4 Relationship of schematic map for identifying 20 radish varieties by using four random primers

利用人工绘制的萝卜品种树形鉴别图法不仅可完成对未知品种的鉴定,还可查询出鉴定不同品种所需要的引物和鉴别依据。当需要查询任意萝卜品种的鉴别方法和所需引物时,只需要在树型鉴别图分支末端找到对应品种编号,向前回溯即可。例如,需要查询区分品种青皮甜帅与七叶圆红时,根据绘制的人工树形鉴别图,通过引物 RP102 即可将在 100 bp 处有特征谱带的青皮甜帅区分出来,而利用引物 RP271 进行扩增,在 400 bp 处出现特征谱带的为品种七叶圆红。

3 讨论

当前,利用种子或种苗进行早期品种鉴定是避免农民蒙受经济损失,促进生产发展的有效措施。因此,寻找一种兼具准确性和实用性的植物品种鉴定方法成为农业生产中亟待解决的重要问题^[16-18]。传统的品种鉴定方法在鉴定品种真实性和遗传纯度时存在各种缺陷,而 DNA 分子标记技术不但可以克服传统鉴定技术中的许多缺陷和难题,而且更加准确、可靠和快捷^[19]。

目前,已经有多种 DNA 标记技术例如 RAPD、SSR、ISSR、SRAP 等被应用于作物品种鉴定中,这些分子标记各有优势^[20-22]。王瑞等^[23]利用 SSR 荧光标记构建了 20 个高粱品种的指纹图谱,准确获得了不同材料在不同位点的等位基因片段,利用 2 对引物区分了所有供试品种。宋海斌等^[24]利用筛选到的 18 对 SSR

核心引物构建的指纹图谱库可以有效地将 105 份不同甜瓜材料进行区分,并且为每份材料建立了独特的指纹图谱。刘娟等^[25]利用 NTSYS 软件,并根据 UPGMA 法构建聚类树状图,最终利用 4 个 ISSR 特征引物谱带相互组合与 Gel2.0 指纹图谱自动识别方法相结合的鉴定方法准确鉴别了 48 个新疆杏品种,并构建了品种指纹图谱数据库。这些利用 PCR 扩增获得的 DNA 指纹图谱进行品种鉴定的方法或只适用于少数品种的区分鉴定,或无法将聚类树状图转化为品种或植物材料的实用图,缺乏高效性与直观性^[26]。本研究利用 MCID 法^[27-28]可以将 DNA 标记信息转化为鉴定大量品种资源的有效信息,且比指纹图谱更具实用性和直观性,这为品种鉴定提供了全新快速的方法。

萝卜品种鉴定经历了形态学、细胞学、生物化学和分子标记鉴定的发展过程,DNA 分子标记以其快速、高效、准确的特点,逐步取代了其他鉴定方法,MCID 法的利用更是 DNA 分子标记技术优势的进一步体现^[29,21]。本研究未采用常用的 0~1 矩阵法构建指纹图谱并进行聚类分析,而是首次通过优化 RAPD 技术体系,利用 MCID 法在分子水平上高效、直观地鉴别萝卜品种。本研究方法能够提高引物的利用效率,仅仅利用几个引物就能将大量萝卜品种成功鉴定区分,且构建的 MCID 图谱关系一目了然,当需要查询任意萝卜品种的鉴别方法和所需引物时,只需要在 MCID 鉴别图分支末端找

到对应品种编号,向前回溯即可^[30]。MCID 图中的品种范围可以随着需要鉴别的新品种数量的增加而扩大,最终完全可以使萝卜 MCID 图包含所有搜集到的品种资源。当有新的萝卜品种需要添加到之前构建的 MCID 图谱上时,可利用研究中所筛选到的 4 个引物对需要添加的品种进行单独的 PCR 扩增,根据特征性谱带的有无很容易将其加入到已有的 MCID 图中。当然,如果本研究筛选的引物无法区分全部新增的品种时,则需要引入新的引物进行区分。MCID 图不仅能为植物品种或材料鉴定提供重要的信息资料,且该方法的应用可以使 DNA 分子标记真正服务于种子、种苗企业、种质资源管理等生产实践中,实用性强。

参考文献:

- [1] 冉茂林,刘独臣,叶仁礼,等. 加工萝卜品种筛选与加工特性研究[J]. 江西农业学报,2013,25(3):42-45.
- [2] FRERIGMANN H, BOTTCHE C, BAATOUT D, et al. Glucosinolates are produced in trichomes of *Arabidopsis thaliana* [J]. Front Plant Sci, 2012, 3: 242.
- [3] 张秉奎,赵利民. 耐抽薹萝卜新品种‘凌翠’[J]. 园艺学报, 2012, 39(2): 399-400.
- [4] 娄丽娜,苏小俊,王辉,等. 苏秀 1 号叶用萝卜[J]. 长江蔬菜, 2014(1): 17.
- [5] 陶婧,袁艺,龙荣华,等. 加工型白萝卜新品种云萝卜 1 号的选育[J]. 中国蔬菜, 2013(18): 99-101.
- [6] 吴昊,陈涛,姚妹,等. 分子标记辅助选择技术及其在水稻定向改良上的应用研究进展[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(2): 22-27.
- [7] 刘驰,马增凤,秦钢,等. 利用分子标记辅助选择培育水稻广亲和保持系[J]. 南方农业学报, 2015, 46(3): 365-369.
- [8] 刘燕清,强新涛,赵春芳,等. 水稻淀粉合成相关基因分子标记的筛选与利用[J]. 江苏农业学报, 2015, 31(3): 471-476.
- [9] FANG J G, TWITO T, ZHANG Z, et al. Genetic relationship among fruiting-Mei (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.) accessions revealed by AFLP and SNP markers[J]. Genome, 2006, 49: 1256-1264.
- [10] LI X Y, SHANGGUAN L F, SONG C N, et al. Analysis of expressed sequence tags from mei (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.) flowers and fruits and development of simple sequence repeat markers[J]. BMC Genetics, 2010, 11: 66.
- [11] LI X Y, WANG Y J, WANG B, et al. Genetic relationships between fruiting and flowering mei (*Prunus mume*) cultivars using SNP markers[J]. The Journal of Horticultural Sciences & Biotechnology, 2010, 85: 329-334.
- [12] 李晓颖,宋长年,张彦平,等. 果梅 RAPD 标记不同电泳指纹比较及扩增产物序列分析[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2010, 34(5): 29-33.
- [13] 郑艳冰,丛永柱,吴琼,等. 10 种金发藓科植物 RAPD 分子系统学研究[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(11): 58-60.
- [14] 郭磊,上官凌飞,房经贵,等. 葡萄 EST-SSR 标记的开发及其应用[J]. 南京农业大学学报, 2010, 34(5): 29-33.
- [15] 冷翔鹏,刘崇怀,房经贵,等. 巨峰葡萄系谱的 SSR 与 RAPD 分析[J]. 西北植物学报, 2011, 31(8): 1560-1566.
- [16] 匡猛,杨伟华,许红霞,等. 分子标记技术在棉花品种鉴定上的研究进展[J]. 棉花学报, 2009, 21(4): 330-334.
- [17] 李志勇,谢华峰,张力,等. DNA 分子标记技术在农作物品种鉴定上的应用[J]. 种子科技, 2010(10): 19-21.
- [18] 吕瑞玲,吴小凤,刘敏超. 分子标记技术及在水稻遗传研究中的应用[J]. 中国农学通报, 2009, 25(4): 65-73.
- [19] 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(S1): 46-49.
- [20] 李严,张春庆. 新型分子标记-SRAP 技术体系优化及应用前景分析[J]. 中国农学通报, 2005, 21(5): 108-112.
- [21] WANG Y J, LI X Y, HAN J, et al. Analysis of genetic relationships and identification of flowering-mei cultivars using EST-SSR markers developed from apricot and fruiting-mei[J]. Scientia Horticulturae, 2011, 132: 12-17.
- [22] 缪恒彬,陈发棣,赵宏波,等. 应用 ISSR 对 25 个小菊品种进行遗传多样性分析及指纹图谱构建[J]. 中国农业科学, 2008, 41(11): 3735-3740.
- [23] 王瑞,张福耀,程庆军,等. 利用 SSR 荧光标记构建 20 个高粱品种指纹图谱[J]. 作物学报, 2015, 41(4): 658-665.
- [24] 宋海斌,崔喜波,马鸿艳,等. 基于 SSR 标记的甜瓜品种(系) DNA 指纹图谱库的构建[J]. 中国农业科学, 2012, 45(13): 2676-2689.
- [25] 刘娟,廖康,曼苏尔·那斯尔,等. 新疆杏品种(系)遗传多样性分析及 DNA 指纹图谱库构建[J]. 中国农业科学, 2015, 48(4): 748-758.
- [26] 王玉娟,张彦,房经贵,等. 利用基于 RAPD 标记的 MCID 法快速鉴定 72 个葡萄品种[J]. 中国农业科学, 2012, 45(14): 2913-2922.
- [27] LIN J, WANG X C, CHANG Y H, et al. Development of a novel and efficient strategy for practical identification of *Pyrus* spp (Rosaceae) cultivars using RAPD fingerprints[J]. Genet Mol Res, 2011, 10: 932-942.
- [28] ZHAO M Z, ZHANG Y P, WU W M, et al. A new strategy for complete identification of 69 grapevine cultivars using random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers[J]. African J Plant Sci, 2011, 5: 273-280.
- [29] 朱旭东,上官凌飞,孙欣,等. DNA 标记在植物品种鉴定上的应用现状[J]. 中国农学通报, 2014, 30(30): 234-240.
- [30] 张晓莹,张彦,宋长年,等. 利用基于 DNA 标记的人工绘制植物品种鉴别图(MCID)法快速鉴定欧亚葡萄品种[J]. 农业生物技术学报, 2012, 20(6): 703-714.

(责任编辑:张震林)