

全缘冬青及其变型变种 亲缘关系 RAPD和 AFLP分析

章建红¹, 陈黎君², 张 斌³, 王正加^{4*}

(1 浙江省宁波市农业科学研究院 林业研究所, 浙江 宁波 315040; 2 浙江省三门县林业特产局, 浙江 三门 317111; 3 浙江省海盐县农业经济局 林特花卉站, 浙江 海盐 314300; 4 浙江农林大学, 浙江 临安 3113003)

摘要: 采用 RAPD和 AFLP技术对 8个全缘冬青及其变型变种基因组进行扩增, 以研究其物种间亲缘关系及遗传多样性。结果表明: 在 RAPD分析中, 20条引物共扩增出 187条多态性条带, 多态率为 60.75%。在 AFLP分析中, 10对选择性引物组合共扩增出 350条谱带, 其中 268条具有多态性, 占 76.57%。综合 RAPD和 AFLP技术的聚类结果, “小叶枸骨叶”全缘冬青和“小叶密节”全缘冬青亲缘关系较近, 全缘冬青和全缘冬青“卵叶密节”亲缘关系最近。这为冬青属植物的杂交育种与种质创新提供理论依据。

关键词: 全缘冬青; RAPD; AFLP; 亲缘关系

中图分类号: S718.46 文献标志码: A 文章编号: 1000-2286(2010)06-1184-07

AFLP and RAPD Analysis for Genetic Relationship of *Ilex integra* Thunb and Its Forma and Varieties

ZHANG Jian-hong¹, CHEN Li-jun², ZHANG Bin³, WANG Zheng-jia^{4*}

(1 Ningbo Agriculture Science Academy Ningbo 315040, China; 2 Sanmen Forestry Specialty Bureau of Zhejiang Sanmen 317111, China; 3 Forest Peculiar and Flower Station Bureau of Agricultural Economics of Haiyan, Haiyan 314300, China; 4 Zhejiang Agriculture and Forestry University, Lin'an 311300, China)

Abstract RAPD and AFLP techniques were used to amplify the genomic DNA of 8 *Ilex integra* Thunb species and its forma and varieties to study the genetic relationship and species genetic diversity. The results showed that 187 polymorphic bands with the polymorphism rate at 60.75% were obtained using 20 primers by RAPD analysis. Rich polymorphic bands were amplified both from 10 selective AFLP primer pairs in AFLP analysis and 350 bands were obtained of which 268 (76.57%) were polymorphic. Integrating the cluster results of RAPD and AFLP techniques, it was found that ‘Xiaoyegouguye’ *Ilex integra* and ‘xiaoyemijie’ *Ilex integra* had the nearest relationship. *Ilex integra* and ‘Luanyemijie’ *Ilex integra* had a near relationship. This results provide theoretical basis for cross breeding and germplasm enhancement of *Ilex* L. tree species.

Key words *Ilex integra*; RAPD; AFLP; genetic diversity

我国大陆海岸线长达 1.8 万 km, 北起辽宁鸭绿江口, 南至广西北仑河口。由于陆海交替、气候多变, 导致台风暴雨、风沙海雾等自然灾害频繁发生。沿海基干林带建设是保障沿海生态安全, 有效抵御

收稿日期: 2010-06-22 修回日期: 2010-09-14

基金项目: 浙江省科技厅重大项目 (2007C12023) 和宁波市农业与社会发展攻关项目 (2006C100003)

作者简介: 章建红 (1976-), 男, 主要从事林木种苗与园林植物研究, E-mail nbjianhong@163.com; * 通讯作者: 王正加, 副教授, E-mail wzhj21@163.com.

自然灾害的首要屏障。由于沿海自然环境恶劣, 给沿海防护林营造带来严重的困难, 优良乡土滨海造林树种的选育是沿海防护林体系建设工程的首要问题^[1]。全缘冬青 (*Ilex integra* Thunb.) 系冬青属常绿乔木, 成熟时红果绿叶交相辉映, 十分鲜艳悦目。主要分布于浙江省沿海的洞头、临海、象山、定海、普陀、岱山和福建沿海, 日本、朝鲜南部也有分布。为海岛特有树种, 被列入浙江省级珍稀濒危植物^[2]。由于抗性强、极耐干旱瘠薄和海风海浪侵袭, 可在多石砾的面海山坡困难地造林, 是浙江等沿海地区沿海防护林建设优良的乡土树种, 具有很高的开发价值。由于天然杂交、基因突变和多种繁殖方法并存等因素影响, 在栽培驯化的过程中, 全缘冬青产生了一定的变异, 为研究、开发、利用全缘冬青优良基因资源提供了丰富的原始材料。本研究利用 RAPD 和 AFLP 技术对全缘冬青以及种下的 7 个变型变种进行遗传多样性分析, 有助于揭示全缘冬青种下等级的系统分类与发育进化关系, 为今后全缘冬青的种质创新工作提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

2004 年, 在浙江舟山通过选择育种途径从 50 余万株全缘冬青实生播种苗中选出以下一些变异材料: “卵叶密节”、“楮叶”、“枸骨叶”、“厚叶”、“桂叶”、“小叶枸骨叶”、“小叶密节”。收集变异材料, 在宁波市农业科学研究院高新农业技术实验园区建立了育种资源圃, 以枸骨、全缘冬青为砧木, 经多代嫁接无性繁殖后, 其株系间未出现分化, 各材料生物学特征比较见表 1。2009 年采集全缘冬青以及 7 个全缘冬青变型变种的嫩叶, 带回实验室后置于 -70 °C 低温保存备用用于 RAPD 和 AFLP 分析。RAPD 和 AFLP 所用试剂及 Marker (100 bp Plus DNA Ladder) 均购于上海生物工程技术有限公司或者由其合成。

表 1 全缘冬青及其变异类型的形态特征对比

Tab 1 Compare of morphological characteristics between *Ilex integra* and variations

编号 No.	材料名称 Material	叶形 Leaf shape	叶先端 Leaf apex	叶缘 Leaf margin	叶片大小 / cm Leaf size	叶脉 Vein	其它特征 Other feature
1	全缘冬青 <i>Ilex integra</i> Thunb.	椭圆形至卵圆形	短尾尖	全缘	长 3~5 宽 2~3	具明显边脉	
2	“卵叶密节”全缘冬青 <i>Ilex integra</i> 'Luanyemijie'	近卵圆形	急尖	全缘或偶见疏生钝锯齿	长 3~5 宽 2~3		节间紧密, 节间距 3~7 mm
3	“楮叶”全缘冬青 <i>Ilex integra</i> 'Chuye'	矩圆形, 基部楔形	有 3 枚钝刺齿	具 3~5 对钝刺齿, 边缘平展	长 4~8, 宽 2~4	下凹明显	树干直立形明显, 枝条粗壮
4	“枸骨叶”全缘冬青 <i>Ilex integra</i> 'Gouguye'	矩圆形	3 枚大刺齿	有 3~4 对硬针刺齿, 边缘皱褶	长 5~6, 宽 2~4		叶正面深绿色, 背面淡绿色
5	“厚叶”全缘冬青 <i>Ilex integra</i> 'Houye'	椭圆形至近卵形	钝尖, 具短刺	具短刺齿 4~6 对	长 3~5 宽 2~3		叶片肥厚, 正面墨绿色, 背面深绿色
6	“桂叶”全缘冬青 <i>Ilex integra</i> 'Guiye'	长矩圆形, 基部楔形	具 3 枚短刺齿	全缘或疏生短刺齿	长 5~8 宽 1.5~2.5	边脉明显	
7	“小叶枸骨叶”全缘冬青 <i>Ilex integra</i> 'Xiaoyegouguoye'	矩圆形, 基部楔形	有 3 枚大刺齿	具 1~3 对大刺齿, 边缘皱褶	长 2~4 宽 1~2		
8	“小叶密节”全缘冬青 <i>Ilex integra</i> 'Xiaoyemijie'	卵圆形	急尖	全缘或疏生短刺齿	长 2~4 宽 1~2	下凹明显	小枝节间紧密, 节间距 4~8 mm, 叶呈龟背状反卷

1.2 基因组 DNA 提取

参照 Tai TH 和 Tanksey D D^[5] 以及顾红雅和瞿礼嘉等^[6] 的 CTAB 法提取基因组 DNA。

1.3 RAPD 扩增

从 400 条 10 个碱基的 RAPD 引物 (由上海生物工程技术有限公司合成) 进行初筛, 筛选出 20 个反应稳定、扩增性强和重复性好的引物 (表 3) 用于最后的 PCR 扩增。RAPD 扩增在 Perkin-Elmer 9600 (PE9600) 扩增仪上进行, 每 20 μ L 反应体系中含 Templater DNA 50 ng 引物 0.3 μ mol/L, *Taq* 0.067 U / μ L, dNTP 0.2 mmol/L, Mg^{2+} 2.5 mmol/L, 10 \times Buffer 2 μ L (所有试剂均购自上海生物工程公司)。扩增程序为: 94 °C 预变性 300 s 1 个循环; 94 °C 变性 30 s 38 °C 退火 30 s 72 °C 延伸 90 s 38 个循环; 72 °C

后延伸 420 s 4 °C 保温。扩增产物经质量分数为 1% 琼脂糖凝胶电泳检测, 于 VDS 成像系统 (Phan ar cia) 中观察照相。

1.4 AFLP 扩增

AFLP 实验流程主要参照 Vos 等^[7] 方法, 采用 *EcoRI* 和 *MseI* 双酶切 6 h 过夜连接, 预扩增引物对选用 E + A M + C, 开始选用 25 对 E M 组合进行扩增, 最后选用其中多态性好 10 对引物 (表 2) 用于所有样品的扩增。PCR 产物用 6% 的变性 PAGE 胶电泳检测, 电泳缓冲液为 1 × TBE。电泳结束后用硝酸银染色观察结果。银染方法参考刘建斌等^[8-10]。

表 2 不同扩增引物与接头的序列

Tab 2 Name and sequence of different amplification primers and adapters

引物名称 Primer name	碱基序列 Base sequence(5' - 3')	引物名称 Primer name	碱基序列 Base sequence(5' - 3')
E + A	GACTGCGTACCAATTCA	M + C	GATGAGTCCTGAGTAA C
<i>EcoRI</i> adapter1	CTCGTAGACTGCGTACC	<i>MseI</i> adapter1	GACGATGAGTCCTGAG
<i>EcoRI</i> adapter2	AATTGGTACGCAGTCTAC	<i>MseI</i> adapter2	TACTCAGGATCAT
E + AGT	GA CTG CGTACCAA TTCAA GT	M + AGC	GATGAGTCCTGAGTAA CAGC
E + CCA	GA CTG CGTACCAA TTCA CCA	M + AGG	GATGAGTCCTGAGTAA CAGG
E + CTC	GACTGCGTACCAATTCACTC	M + AAT	GATGAGTCCTGAGTAA CAAT
E + CTT	GACTGCGTACCAATTCACTT	M + AGA	GATGAGTCCTGAGTAA CAGA
E + AGG	GACTGCGTACCAATTCAAGG	M + ATT	GATGAGTCCTGAGTAA CATT
E + CAT	GACTGCGTACCAATTCACAT	M + ACA	GATGAGTCCTGAGTAA CACA
E + CCC	GACTGCGTACCAATTCACCC	M + AAA	GATGAGTCCTGAGTAA CAAA
E + AGA	GACTGCGTACCAATTCAAGA	M + AGA	GATGAGTCCTGAGTAA CAGA
E + CTA	GACTGCGTACCAATTCACTA	M + ACC	GATGAGTCCTGAGTAA CACC
E + CGC	GA CTG CGTACCAA TTCA CGC	M + AAG	GATGAGTCCTGAGTAA CAAG

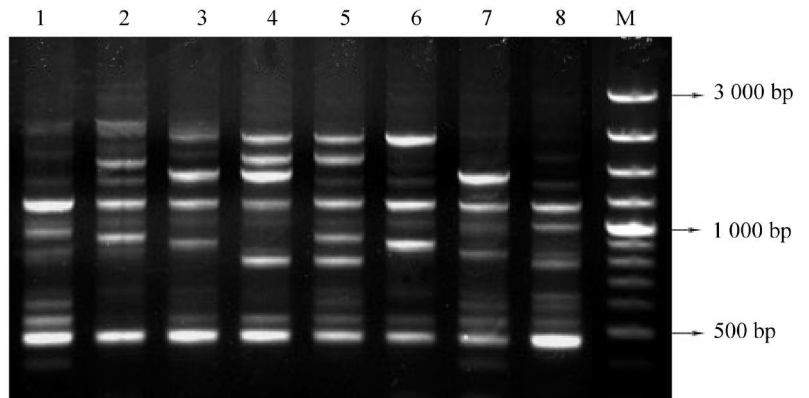
1.5 数据分析

只选清晰可辨的电泳条带, 以 1 和 0 分别记录条带的有无。数据用 NTSYS- PC V2. 10 E 软件计算出遗传相似性系数 (Genetic similarity, G s), 遗传距离 (genetic distance, GD) $GD = 1 - GS$ 。UPGMA 法进行聚类分析构建聚类图。

2 结果与分析

2.1 全缘冬青及其变型变种的 RAPD 多态性分析

20 对引物共检测扩增出了 187 条 DNA 条带, 条带位点范围在 400~ 3 000 bp 表 3 列出了 20 个引物扩增的谱带数、多态带。其中扩增带数最多的引物是 S48 共 12 条; 最少的是 8 条; 平均每个引物扩增 9.35 条带, 其中多态性条带为 5.65 条, 多态性比例为 60.75%。图 1 为引物 S173 扩增的结果。



1- 8 实验样品材料编号名称见表 1。

1- 8 Experimental sample numbers that are the same as in table 1

图 1 引物 S₁₇₃ 扩增产生的 RAPD 谱带

Fig 1 Maps of RAPD products from S₁₇₃ primers

表 3 20 种不同 RAPD 引物扩增结果

Tab 3 Amplification results of 20 RAPD primers

引物 Primers	碱基序列 (5' - 3') Base sequence(5' - 3')	总扩增条带数 Total amplified bands	多态性条带数 Polymorphic bands	多态率 % Percentage of polymorphism
S48	GTGTGCCCCA	12	8	66.7
S68	TGGACCGGTG	11	6	54.5
S79	GTTGCCAGCC	10	6	60.0
S82	GGA CTGAGG	8	6	75.0
S84	AGCGTGTCTG	8	5	62.5
S96	AGCGTCTCC	9	6	66.7
S105	AGTCGTCCCC	11	5	45.5
S112	ACGCGCATGT	10	5	50.0
S115	AATGGCCGAC	8	4	50.0
S153	CCCGATTCCG	9	6	66.7
S173	CTGGGGCTGA	9	7	77.8
S187	TCCGATGCTG	10	5	50.0
S234	AGATCCCCGC	9	6	66.7
S336	TCCCCATCAC	8	5	62.5
S337	CCTTCCCAC T	10	6	60.0
S345	CTCCATGGGG	9	5	55.6
S354	CACCCGGATG	9	6	66.7
S366	CACTTTCCC	8	5	62.5
S369	CCCTACCGAC	9	5	55.6
S375	CTCCTGCCAA	10	6	60.0
合计 Total		187	113	
平均 Mean		9.35	5.65	60.75

2.2 全缘冬青及其变型变种的 RAPD 聚类分析

统计软件分析 RAPD 扩增结果, 得到 8 种全缘冬青植物间遗传距离矩阵 (表 4), 亲缘关系聚类图 (图 2)。结果显示: 8 种全缘冬青植物间, 遗传距离最小为 0.124 5 存在于“小叶枸骨叶”全缘冬青与“小叶密节”全缘冬青之间, 表明二者亲缘关系最近; 遗传距离最大为 0.260 4 存在于全缘冬青和“小叶密节”全缘冬青之间, 表明两者亲缘关系最远。总体来看, 全缘冬青及其变型变种间的遗传距离都比较近。



图 2 根据 RAPD 相似系数构建的全缘冬青及其变种变型的树形图

Fig 2 Dendrogram of 8 species of *Ilex listed* in table 1 based on similarity coefficient

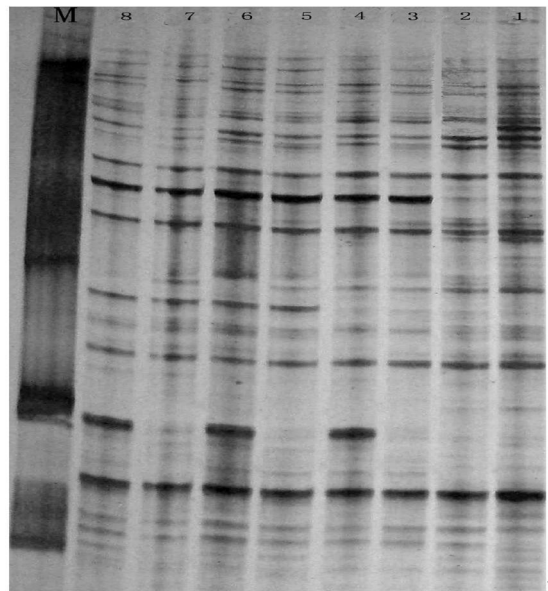
表 4 遗传距离
Tab 4 Nei's genetic distance

	1	2	3	4	5	6	7	8
1	1.000							
2	0.1668	1.000						
3	0.2231	0.1784	1.000					
4	0.2080	0.2110	0.1273	1.000				
5	0.2447	0.2050	0.1961	0.1525	1.000			
6	0.2262	0.2171	0.1961	0.1582	0.1469	1.000		
7	0.2541	0.2140	0.2416	0.1843	0.1902	0.2020	1.000	
8	0.2604	0.2510	0.2478	0.2323	0.1902	0.2020	0.1245	1.000

1-8 实验样品材料编号名称见表 1 1-8 Experimental sample numbers that are the same as in table 1.

2.3 全缘冬青及其变型变种的 AFLP 多态性及其聚类分析

利用 AFLP 分子标记技术用 10 对引物对全缘冬青及其 7 个变型、变种进行扩增, 共获得 350 条谱带, 其中 268 条具有多态性, 占 76.57%。其中图 3 表示引物对组合 E + CTT/M + AGA 扩增的谱带情况。平均每对引物扩增出谱带 35 条, 平均 26.8 条具有多态性(表 5)。各变型变种间特征条带明显, 表明其进化起源的特应关系。聚类分析结果显示(图 4), 全缘冬青及其变型、变种间相似系数均在 0.631~0.829(表 6), 同为全缘冬青的变型变种, “卵叶密节”全缘冬青与全缘冬青亲缘关系较近, “小叶枸骨叶”全缘冬青与“小叶密节”全缘冬青亲缘关系较近, “枸骨叶”全缘冬青与“厚叶”全缘冬青先聚在一起, 再依次与“桂叶”全缘冬青和“糙叶”全缘冬青聚类。全缘冬青及其变型、变种间相似系数普遍不高, 这可能一定程度上反应了其变种、变型的进化程度。



M: 分子量标准, 1-8 实验样品材料编号名称见表 1. M: 100 bp DNA marker 1-8 Experimental sample numbers that are the same as in table 1.

图 3 E + CTT/M + AGA 引物组合扩增结果
Fig 3 Amplification results of E + CTT/M + AGA primers

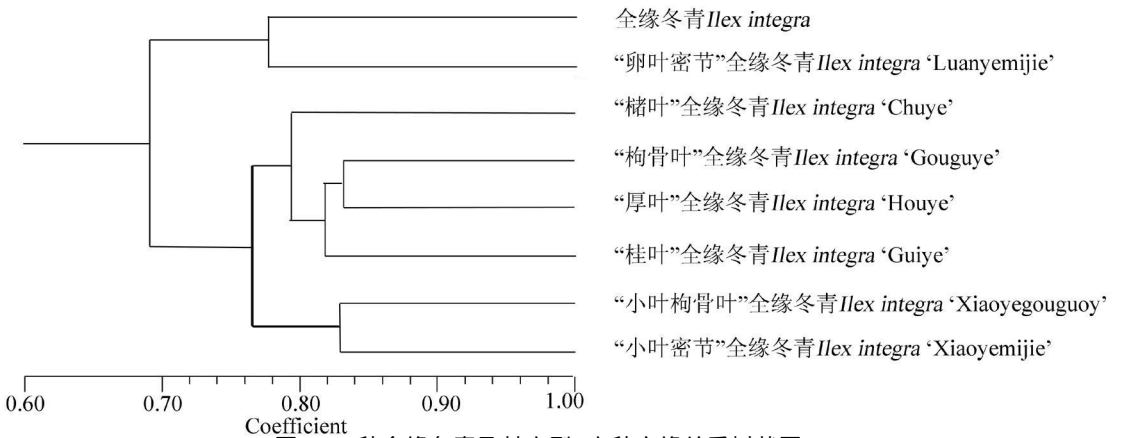


图 4 8 种全缘冬青及其变型、变种亲缘关系树状图
Fig 4 UPGMA dendrograms generated from AFLP markers

表 5 AFLP 选择性扩增引物产生的条带多态性
Tab 5 Amplification results of AFLP primers

引物组合 Primer combination	总带数 Total amplified bands	多态性带数 Polymorphic bands	多态性位点百分率 / % Percentage of polymorphic loci
E+ AGT / M + AGC	28	22	78.57
E+ CCA / M + AGG	33	29	87.88
E+ CTC / M + AAT	21	19	90.48
E+ CTT / M + AGA	31	24	77.42
E+ AGG / M + ATT	26	16	61.54
E+ CAT / M + ACA	57	45	78.95
E+ CCC / M + AAA	26	20	76.92
E+ AGA / M + AGA	64	49	76.56
E+ CTA / M + ACC	39	24	61.54
E+ CGC / M + AAG	25	20	80.00
合计 Total	350	268	
平均 Mean	35	26.8	76.57

表 6 根据 AFLP 标记计算的相似系数

Tab 6 Genetic similarity between species on the basis of AFLP markers

	1	2	3	4	5	6	7	8
1	1.000							
2	0.777	1.000						
3	0.666	0.786	1.000					
4	0.631	0.734	0.806	1.000				
5	0.657	0.714	0.780	0.831	1.000			
6	0.654	0.729	0.794	0.811	0.826	1.000		
7	0.646	0.709	0.751	0.751	0.789	0.797	1.000	
8	0.657	0.703	0.740	0.723	0.794	0.780	0.829	1.000

1-8 实验样品材料编号名称见表 1, 1-8 Experimental sample numbers that are the same as in table 1.

3 讨 论

冬青属是冬青科植物中最为重要的属, 存在着大量的天然变型、变种、杂交种, 许多变种、变型还是园林彩叶绿化植物的资源, 研究其物种间亲缘进化关系具有重要意义。全缘冬青为典型的岛屿特有植物, 具有抗风、耐海雾、耐干旱瘠薄等特性, 适合于岩质海岸粗骨土地带的植被恢复, 岛屿生境的特异性及其与周围岛屿和陆地基因流的阻隔等会导致全缘冬青众多变型、变种的形成^[12]。传统的冬青属植物的分类主要是以形态学特征为依据, 分类研究过程中不同的学者有不同的看法, 较为普遍采用的是 1949—1950 年胡秀英^[12]发表的中国冬青属 (The Genus *Ilex* in China) 专论和 1983 年中国科学院植物研究所出版的《中国高等植物图鉴补编》第二册。

本研究采用 RAPD 和 AFLP 对全缘冬青及其变型变种的亲缘关系和遗传多样性进行分析, 两种标记聚类结果基本一致, 8 个样品分成 3 类: I 类包括全缘冬青和“卵叶密节”全缘冬青, 这两种类型形态特征非常相似, 只是在节间长短上具有明显区别, 形态上为全缘中叶型的; II 类包括“小叶枸骨叶”全缘冬青和“小叶密节”全缘冬青, 形态上为小叶型的; III 类包括“楮叶”全缘冬青、“枸骨叶”全缘冬青、“厚叶”全缘冬青和“桂叶”全缘冬青, 形态上为大叶刺叶型的。分子标记的 3 个类组与表 1 中的形态特征按叶型大小和是否全缘来进行分类的结果相一致。但两种标记的聚类结果也存在着差异, RAPD 聚类结果显示“楮叶”全缘冬青与“枸骨叶”全缘冬青亲缘关系较近两者首先聚类, “厚叶”全缘冬青与“桂

叶”全缘冬青再聚类;而 AFLP 的聚类结果显示“枸骨叶”全缘冬青与“厚叶”全缘冬青亲缘关系最近首先聚类,再依次分别与“桂叶”全缘冬青,“楸叶”全缘冬青聚类。综上所述, RAPD 和 AFLP 两种分子标记以及传统形态学分类所得数据虽然有所差别,但大类划分完全吻合,只是小类亲缘关系的聚类分析结果有些差异。不同分子标记手段的出入也属正常现象, RAPD 标记是随机引物扩增来检测基因组 DNA 的序列信息,而 AFLP 是对限制性片段的选择性扩增来检测基因组 DNA 的序列信息, AFLP 标记能提供丰富的 DNA 指纹,产生丰富的条带数,是获得多态性效率较高的分子标记,说明在检测遗传信息的多样性上, AFLP 标记较优,故 AFLP 标记在月季 (*Rose chinensis*)^[13]、百合 (*Lilium ditichum*)^[14]、杜鹃 (*Rhododendron insigne*)^[15]、玉兰亚属^[16]等的研究中得到应用,较适合于冬青属特别是种下等级的亲缘关系的鉴定,而 RAPD 较差^[17]。两者在检测多态性的灵敏度上存在差异,加上本身材料均为种内变型变种,亲缘关系较近本身差异并非很大,再者人为读取差异条带等因素都会导致不同分子标记结果的出入。但总体而言“小叶枸骨叶”全缘冬青和“小叶密节”全缘冬青亲缘关系较近,全缘冬青和“卵叶密节”全缘冬青亲缘关系最近,为全缘冬青的推广应用与种质创新提供科学依据。

参考文献:

- [1] 成向荣, 虞木奎, 张建锋, 等. 沿海防护林工程营建技术研究综述 [J]. 世界林业研究, 2009, 22(1): 63-67.
- [2] 王国明, 徐斌芬, 王美琴, 等. 全缘冬青容器育苗技术 [J]. 林业实用技术, 2008(9): 26-27.
- [3] 徐斌芬, 王国明, 王美琴, 等. 全缘冬青和钝齿冬青的分布与繁殖技术 [J]. 中国野生植物资源, 2007, 26(4): 63-65.
- [4] 冷欣, 王中生, 安树青, 等. 岛屿特有种全缘冬青遗传多样性的 ISSR 分析 [J]. 生物多样性, 2005, 13(6): 546-554.
- [5] Tai T H, Tanksey D D. Rapid isolation of total DNA from dehydrated plant tissue [J]. Plant Mol Biol Rep 1990 8(4): 229-303
- [6] 顾红雅, 瞿礼嘉. 植物分子生物学实验手册 [M]. 北京: 高等教育出版社, 1998: 61.
- [7] Vos P, Hogers R, Bleeker M, et al. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting [J]. Nucleic Acids Research, 1995, 23(21): 4407-4414.
- [8] 刘建斌, 陈新露, 方海, 等. 用银染方法分析 RAPD 产物 [J]. 北京农学院学报, 1996 11(2): 42-44.
- [9] 石锐, 郭长虹. 聚丙烯酰胺凝胶中 DNA 的银染方法 [J]. 生物技术, 1998 8(5): 46-48.
- [10] 乐晓萍, 杜鹃, 张钦宪, 等. 聚丙烯酰胺银染技术改良 [J]. 河南医科大学学报, 2001, 36(4): 395-396.
- [11] Cherry J L, Adler F R, Johnson K P. Islands, equilibria and speciation [J]. Science 2000 296: 975.
- [12] Shi Y H. The Genus *Ilex* in China [J]. Journal of the Arnold Arboretum, 1949, 30: 233-344.
- [13] Zhang D, Germán E, Reynders A, Bisi S, et al. Development of amplified fragment length polymorphism markers for variety identification in rose [C]. ISHS Acta Horticulturae 508: XIX International Symposium on Improvement of Ornamental Plants Angers 2000.
- [14] 张克中, 贾月慧, 张启翔, 等. 部分中国野生百合亲缘关系的 AFLP 技术分析 [J]. 东北林业大学学报, 2008 36(2): 19-22.
- [15] Riek J, Mertens M, Dendauw J, et al. Azalea (*Rhododendron* spp. hybrids) germ plasm from China assessed by means of fluorescent AFLP [C]. ISHS Acta Horticulturae 521: XXV International Horticultural Congress, Part 11: Application of Biotechnology and Molecular Biology and Breeding - Gene Expression and Molecular Breeding Genome Analysis Bussek 2000.
- [16] 贺随超, 马履一. 红花玉兰与玉兰亚属几个种亲缘关系的 AFLP 分析 [J]. 植物研究, 2008, 28(3): 288-293.
- [17] 陈红. 木瓜属种质资源的 RAPD、AFLP 亲缘关系鉴定及遗传多样性分析 [D]. 泰安: 山东农业大学, 2008.