

24 份杜鹃属植物的 ISSR 分子鉴定

罗 清, 卢业飞, 於艳萍, 毛立彦, 严 霖, 池昭锦*

(广西壮族自治区亚热带作物研究所, 广西 南宁 530001)

摘 要:采用 ISSR 分子标记对 24 份杜鹃属植物进行亲缘关系分析, 7 个 ISSR 引物共扩增出 92 条谱带, 其中 89 条为多态性谱带, 多态性比率达 96.7%。利用 NTSYS-pc2.10e 软件计算 24 份杜鹃属植物间的遗传相似系数, 变化范围在 0.456 5~0.782 6 之间, 平均相似系数为 0.613 4。通过 UPGMA 聚类分析发现, 24 份杜鹃属植物被划分为 3 大类, 聚类结果与地理分布存在一定的相关性, 其中第 2 类与形态学分类基本吻合, 表明 24 份杜鹃属植物的 ISSR 扩增图谱差异较大, 易于区分, 可用于杜鹃属植物的鉴定。

关键词:ISSR; 杜鹃属; 亲缘关系; 鉴定

中图分类号:S722.33 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-7461(2016)03-0154-05

Identification of 24 *Rhododendron* Plants by ISSR Molecular Markers

LUO Qing, LU Ye-fei, YU Yan-ping, MAO Li-yan, YAN Lin, CHI Zhao-jin*

(Guangxi Subtropical Crops Research Institute, Nanning, Guangxi 530001, China)

Abstract: ISSR molecular marker was used to study the genetic relationships of 24 samples of *Rhododendron* plants, a total of 92 bands were amplified by 7 ISSR primers, 89 of which were polymorphic ones, accounting for 96.7% of the total. The genetic similarity coefficients varied from 0.456 5 to 0.782 6 with an average of 0.613 4, computed with software NTSYSpc2.10e. According to the UPGMA method, 24 *Rhododendron* samples could be divided into three groups, clustering result with geographical distribution had certain relevance, and the second group was in accordance with the basic morphological classification. The result confirmed that 24 *Rhododendron* plants were easily identified owing to distinct diverse ISSR polymorphic bands, so this may be used for the identification of the *Rhododendron* plants.

Key words: ISSR; *Rhododendron*; genetic relationship; identification

杜鹃花科(Ericaceae)杜鹃花亚科(Rhododendroideae)杜鹃属(*Rhododendron*)植物约有 960 种, 欧洲、亚洲及北美洲分布广泛, 我国主要分布在西南和华南地区, 约占世界种类的 3/5^[1]。杜鹃属植物花色多样、艳丽迷人、千姿百态, 具有非常高的观赏价值, 在我国已成为重要的园艺品种, 也是我国十大名花之一, 广泛应用于家庭盆栽和园林绿化。

ISSR(inter-simple sequence repeat)简单重复序列扩增, 具有多态性高、精确度高、检测方便、快速高效等优点^[2-5], 现已被广泛运用于亲缘关系分析、

物种进化和植物种质资源品种鉴别等研究^[6-9]。

杜鹃属植物被全世界各国爱好者所青睐, 目前为止通过原种及后代反复杂交已有近万个园艺品种, 20 世纪初我国分类学家开始进行杜鹃属植物研究, 由于种类繁多, 每个学者所青睐的分类系统不同, 导致许多同名异物、同物异名的现象时常出现, 单从形态学对其进行鉴定已很难区分, 随着分子生物学的飞速发展, 分子标记技术已广泛应用于杜鹃属植物的遗传多样性分析和亲缘关系^[10-13], 大部分学者只针对某个亚属或全部栽培种或全部原生种进

收稿日期: 2015-11-29 修回日期: 2016-01-17

基金项目: 广西壮族自治区直属公益性科研院所基本科研业务费专项(桂热研 201412)。

作者简介: 罗 清, 女, 硕士, 助理研究员, 研究方向: 植物种质资源收集、育种与栽培。E-mail: lqlq522@163.com

* 通信作者: 池昭锦, 男, 工程师, 研究方向: 热带作物栽培。E-mail: 973919489@qq.com

行研究,本研究利用 ISSR 分子标记技术对 12 份原生种和 12 份栽培种杜鹃属植物(包括 5 个亚属)进行鉴定,探讨其亲缘关系,以期对种类繁多的杜鹃属植物的鉴定提供更准确、更快捷的方法,为杜鹃属植物精确分类、杂交育种和基因工程等提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试材料

24 份杜鹃属植物(表 1)分别引自广西、云南、贵州以及浙江,种植于广西亚热带作物研究所试验基地。采集新鲜嫩叶置于冰盒带回实验室立刻提取。

表 1 供试杜鹃品种
Table 1 Names of *Rhododendron* varieties

序号	种、品种	拉丁学名	来源
1	锈叶杜鹃	<i>Rhododendron siderophyllum</i>	贵州黔西
2	问客杜鹃	<i>Rhododendron ambiguum</i>	贵州黔西
3	迷人杜鹃	<i>Rhododendron agastum</i>	贵州黔西
4	羊躑躅	<i>Rhododendron molle</i>	云南昆明
5	喜鹊登枝	<i>Rhododendron</i> ‘Xique Dengzhi’	浙江金华
6	富士	<i>Rhododendron</i> ‘Fushi’	浙江金华
7	若姪子	<i>Rhododendron</i> ‘Ruo Zhizi’	浙江金华
8	南希·玛丽	<i>Rhododendron</i> ‘Nanxi Mali’	浙江金华
9	凤冠	<i>Rhododendron</i> ‘Fengguan’	浙江金华
10	母亲节	<i>Rhododendron</i> ‘Mu Qinjie’	浙江金华
11	孩儿面	<i>Rhododendron</i> ‘Hai Ermian’	浙江金华
12	丹霞	<i>Rhododendron</i> ‘Danxiao’	浙江金华
13	春晓 6 号	<i>Rhododendron</i> ‘Chunxiao 6Hao’	浙江金华
14	如意	<i>Rhododendron</i> ‘Ruyi’	浙江金华
15	盛春 4 号	<i>Rhododendron</i> ‘Shengchun 4Hao’	浙江金华
16	常春 2 号	<i>Rhododendron</i> ‘Changchun 2Hao’	浙江金华
17	长蕊杜鹃	<i>Rhododendron stamineum</i>	桂林猫儿山
18	腺萼马银花	<i>Rhododendron bachii</i>	桂林猫儿山
19	广福杜鹃	<i>Rhododendron kwangfuense</i>	桂林花坪
20	毛棉杜鹃	<i>Rhododendron moulmainense</i>	桂林花坪
21	华丽杜鹃	<i>Rhododendron farrera</i>	桂林花坪
22	马银花	<i>Rhododendron ovatum</i>	桂林花坪
23	广西杜鹃	<i>Rhododendron kwangsiense</i>	桂林花坪
24	桂海杜鹃	<i>Rhododendron guihainianum</i>	金秀大瑶山

1.2 DNA 提取

采用 Solar Technologier Inc 公司生产的植物基因组 DNA 提取试剂盒抽提 24 份供试材料基因组 DNA,采用 1.0%琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测提取 DNA 的质量与浓度(图 1),并最终稀释成 20 ng · μL⁻¹ 的浓度,−20℃ 保存备用。

1.3 PCR 扩增

ISSR 引物序列参照加拿大哥伦比亚 UBC 公司公布的序列,上海生工生物工程技术服务公司合成。ISSR-PCR 优化体系为 20 μL 反应液,包括 1.0 μLDNA,1.0 μLprimer,10.5 μL2×Taq PCR Master Mix,7.5 μLddH₂O。其中,2×Taq PCR Master Mix 购自天根生化科技(北京)有限公司。ISSR-

PCR 扩增程序为 94℃ 预变性 4 min;94℃ 变性 40 s,52℃ 复性 40 s,72℃ 延伸 1 min,共 28 个循环;最后 72℃ 延伸 7 min,于 4℃ 保存。ISSR-PCR 扩增产物利用 1.5%的琼脂糖凝胶电泳进行检测,检测结果采用自动凝胶成像系统拍照保存。

1.4 数据处理

采用人工读数,有带记“1”,无带记“0”,建立 24 份杜鹃属植物的 ISSR 识别卡(表 2)。利用软件 NTSYS-pc2.10e 对原始数据进行分析,计算供试材料间的遗传相似系数,并进行 UPGMA 聚类分析,构建 24 份杜鹃属植物的树状聚类图。

2 结果与分析

2.1 引物筛选和多态性分析

从 100 条 ISSR 引物中筛选出 7 条谱带清晰、多态性好的引物对 24 份供试材料进行 PCR 扩增(图 2)。7 条引物共扩增出 92 条谱带,其中多态性谱带 89 条,多态性比率达到 96.7%,每条引物扩增的多态性谱带在 9~15 条之间,平均为 12.7 条,扩增产物长度范围在 200~2 000 bp 之间。7 条引物中 4 条引物扩增的多态性比率为 100%,其余 3 条引物扩增的多态性比率均在 90%以上(表 3),筛选出的 7 条引物符合分子标记对扩增带的要求,ISSR 标记检测杜鹃属植物间亲缘关系在分子水平上的多态性是比较丰富的。

2.2 聚类分析

24 份杜鹃属植物材料的遗传相似系数在 0.456 5~0.782 6 之间,平均相似性系数 0.613 4。在杜鹃栽培种中,亲缘关系最近的是富士和若姪子,遗传相似系数为 0.782 6;遗传距离最大的是喜鹊登枝与常春 2 号,遗传相似系数仅为 0.521 7。杜鹃野生种中,长蕊杜鹃与毛棉杜鹃遗传相似系数最大,为 0.771 7;广福杜鹃与马银花杜鹃遗传距离最大,遗传相似系数为 0.554 3。而栽培品种常春 2 号与野生种广福杜鹃亲缘关系最远,遗传相似系数也最小,仅为 0.456 5。为确定 24 份杜鹃属植物之间的亲缘关系,利用 UPGMA 法进行聚类分析,按照遗传相似系数构建亲缘关系树状图(图 3)可知,在遗传相似性系数为 0.58 水平处羊躑躅和常春 2 号与其他品种分开单独聚为 1 类,可能原因为供试品种中只有羊躑躅的花为金黄色,在我国羊躑躅亚属有且只有 1 个种,而常春 2 号较其他栽培品种不同为多季花。其余 22 个品种在遗传相似性系数为 0.61 水平处继续被划分为 2 个类群:第 1 类群中,锈叶杜鹃、问客杜鹃、迷人杜鹃及几个栽培品种聚为 1 类,说明该 11 个栽培品种的亲本与杜鹃亚属的亲缘关系较

近,可能为杜鹃亚属植物的杂交种;而常绿杜鹃亚属、马银花亚属及映山红亚属则聚为第 2 类群。第 2 类群中,所有杜鹃的叶都是革质,在遗传相似系数为 0.63 时分 2 类,花色为淡紫色的马银花与广西杜鹃被分为 1 类,其余淡粉色至白色的分为 1 类,聚类结果与形态学分类基本相吻合。

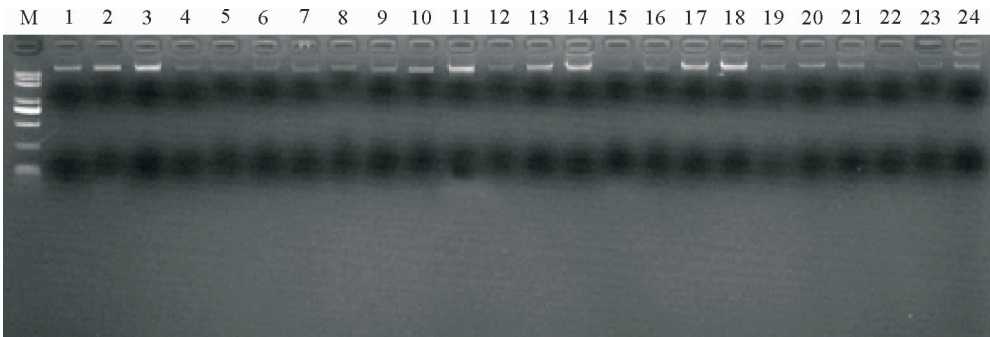


图 1 杜鹃基因组 DNA 琼脂糖凝胶电泳结果

Fig. 1 Result of agarose gel electrophoresis of genomic DNA from of *Rhododendron* plants

表 2 24 个杜鹃品种的 ISSR 识别卡(UBC826)

Table 2 Recognition cards based on ISSR marker amplified from 24 varieties of *Rhododendron*(UBC826)

序号	品种	识别卡号	序号	品种	识别卡号
1	锈叶杜鹃	0000111011	13	春晓 6 号	0110101000
2	问客杜鹃	0001010110	14	如意	0100101000
3	迷人杜鹃	0011001011	15	盛春 4 号	0001101111
4	羊蹄躅	1111101000	16	常春 2 号	0011001011
5	喜鹊登枝	0110110011	17	长蕊杜鹃	1010011110
6	富士	0010110000	18	腺萼马银花	1010011111
7	若姪子	0010110011	19	广福杜鹃	1000111111
8	南希·玛丽	0010110011	20	毛棉杜鹃	1110011111
9	凤冠	0010010111	21	华丽杜鹃	0010110100
10	母亲节	0000010111	22	马银花	0111010111
11	孩儿面	0110110011	23	广西杜鹃	0111010111
12	丹霞	0000001111	24	桂海杜鹃	1101110111

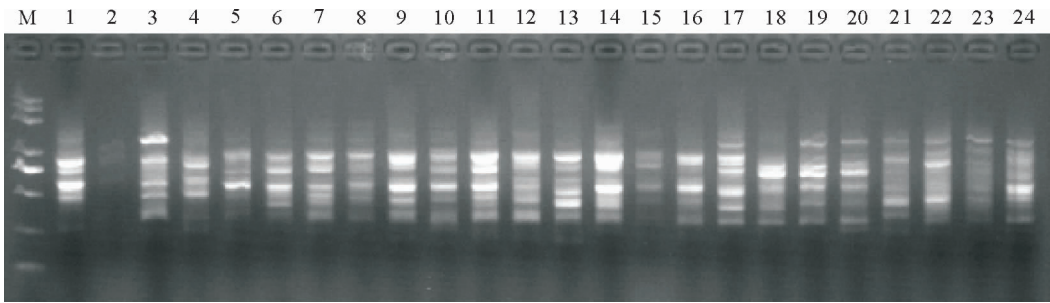


图 2 引物 UBC848 对 24 个品种的扩增结果

Fig. 2 ISSR patterns of 24 varieties amplified by primer UBC848

表 3 筛选的引物序列及多态性比较

Table 3 Sequences of primers and comparisons of polymorphism

引物代码	引物序列	多态性条带数	总条带数	多态百分比/%
UBC826	ACA CAC ACA CAC ACA CC	9	10	90.0
UBC827	ACA CAC ACA CAC ACA CG	12	13	92.3
UBC835	AGA GAG AGA GAG AGA GYC	15	15	100.0
UBC836	AGA GAG AGA GAG AGA GYA	14	15	93.3
UBC840	GAG AGA GAG AGA GAG AYT	13	13	100.0
UBC847	CAC ACA CAC ACA CAC ARC	13	13	100.0
UBC848	CAC ACA CAC ACA CAC ARG	13	13	100.0
总数		89	92	—
平均		12.7	13.1	96.7

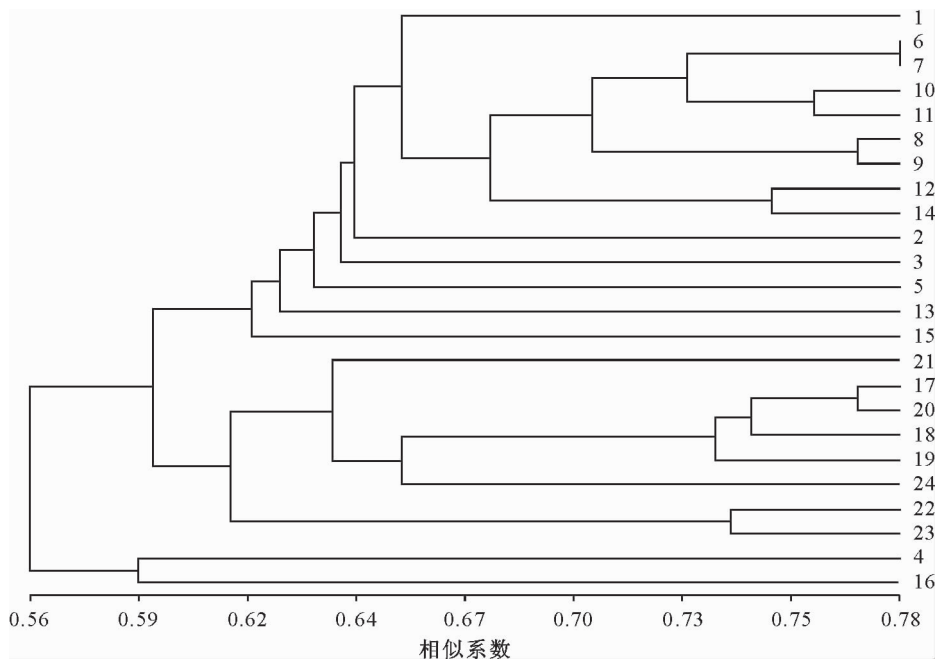


图 3 基于 ISSR 的杜鹃品种 UPGMA 聚类图

Fig. 3 UPGMA cluster diagram of 24 *Rhododendron* varieties based on ISSR

3 结论与讨论

分子标记技术可以快速准确的对植物材料进行鉴别,夏蜡梅、牡丹、蝴蝶兰、万寿菊属、鸢尾属及石斛属等花卉都已经成功的运用分子标记进行品种鉴定^[14-18]。在杜鹃种质资源上,赵喜华^[19]、M. J. Iqbal^[20]及 N. Kobayashi^[21]等成功运用 RAPD 标记在分子水平上鉴定出品种,用 AFLP 标记^[22]、用 SSR 标记都分别对杜鹃的遗传关系进行分析^[23]。赵凯^[24]、彭婵^[25]和陈春福^[26]等对杜鹃属不同品种采用 ISSR 分子标记技术,对供试材料进行了分子鉴别。本研究中,24 份杜鹃属植物的 ISSR 扩增可以得到清晰的谱带,多态性比率达到 97.8%,7 条引物能够较好地将供试材料区分开,表现出很高的鉴定效率。

用 AFLP 分子标记对杜鹃品种进行研究,聚类结果把栽培种与中国野生种明显分开^[22],本研究聚类结果与汪琼^[22]研究结果相似。供试材料的亲缘关系与引种的地理位置有关,不同地方引种的植物大致被聚为 1 类,聚类结果可能与所处的环境及经纬度相关,说明种源地对亲缘关系的远近有一定的影响,这与张肖娟^[27]的研究结果一致。

24 份供试材料聚类分为 3 大类,11 个栽培种与杜鹃亚属品种划分为第 1 类,常绿杜鹃亚属、马银花亚属及映山红亚属的几个品种划分为第 2 类,1 个栽培种与羊躑躅亚属品种划分为 1 类,其中第 2 类与传统形态学分类基本一致。从引种地分析,聚类结果与地理分布存在一定的相关性。基因型到表型

的实现过程受到环境因素和遗传因素的双重影响^[28],杜鹃属植物在长期进化过程中基因交流频繁,且属异花授粉植物,只靠形态学手段很难区分现有品种,利用 ISSR 标记构建杜鹃属植物的 DNA 指纹图谱,将可以作为品种鉴定的有效手段,当然,分子标记方法的评价结果容易受到样本大小与代表性、不同引物与引物数量的影响,完全取代形态学方法是不科学的。因此,综合分子标记技术与形态学进行分析,可以合理、快速、精确地对杜鹃属植物进行鉴定和分类。

参考文献:

[1] 李光照. 中国广西杜鹃花[M]. 上海:上海科学技术出版社, 2008:1-6.

[2] 陈少瑜,张雨,陈霞,等. 27 份核桃种质资源亲缘关系的 ISSR 分析[J]. 西北林学院学报, 2012, 27(4): 108-112.

CHEN S Y, ZHANG Y, CHEN X, *et al.* Genetic relationship of 27 walnut germplasm resources based on ISSR markers[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2012, 27(4): 108-112. (in Chinese)

[3] 李薇,王永进,樊军锋,等. 美洲黑杨新无性系的 ISSR 鉴别及 SCAR 标记转化[J]. 西北林学院学报, 2014, 29(4): 98-102.

LI W, WANG Y J, FAN J F, *et al.* ISSR identification and transformation of SCAR marker of three new clones of *Populus deltoids* [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2014, 29(4): 98-102. (in Chinese)

[4] 代惠萍,赵桦,吴三桥,等. 秦巴山区油茶品种遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 西北林学院学报, 2014, 29(2): 107-111.

DAI H P, ZHAO H, WU S Q, *et al.* ISSR analysis of genetic diversity of *Camellia oleifera* in Qinba Mountains[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2014, 29(2): 107-111. (in Chinese)

- [5] 谈探,金则新,李钧敏,等. 濒危植物夏蜡梅遗传分化研究[J]. 西北林学院学报,2008,23(2):77-82.
TAN T, JIN Z X, LI J M, *et al.* Genetic differentiation of *Calycanthus chinensis* an endangered plant[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2008, 23(2): 77-82. (in Chinese)
- [6] 金则新,李钧敏. 濒危植物长叶榧 ISSR-PCR 反应体系的建立[J]. 西北林学院学报,2006,21(5):94-97.
JIN Z X, LI J M. Establishment of ISSR-PCR reaction system of endangered plant *Torreya jackii* [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2006, 21(5): 94-97. (in Chinese)
- [7] 刘丽丽,金则新,李建辉,等. 东南石栎 ISSR-PCR 反应体系的优化[J]. 西北林学院学报,2008,23(5):65-69.
LIU L L, JIN Z X, LI J H, *et al.* Optimization of ISSR-PCR reaction system of *Lithocarpus harlandii* [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2008, 23(5): 65-69. (in Chinese)
- [8] 刘兴菊,汤新彩,梁海永,等. 枣树 ISSR 反应体系的建立及优化[J]. 西北林学院学报,2007,22(5):62-65.
LIU X J, TANG X C, LIANG H Y, *et al.* Establishment and optimization of an ISSR reaction system for Chinese date(*Ziziphus jujuba*) cultivars[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2007, 22(5): 62-65. (in Chinese)
- [9] 顾婧婧,金则新,李钧敏,等. 乌药 ISSR 扩增条件的优化[J]. 西北林学院学报,2008,23(6):94-97.
GU J J, JIN Z X, LI J M, *et al.* Optimization of the ISSR conditions in *Lindera aggregata* [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2008, 23(6): 94-97. (in Chinese)
- [10] 刘旭颖,沈向群,张艳红,等. 9 种耐寒杜鹃花亲缘关系 ISSR 分析[J]. 西北农业学报,2010,19(7):89-92.
LIU X U, SHEN X Q, ZHANG Y H, *et al.* Genetic relationship of nine hardy rhododendrons by ISSR marker[J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2010, 19(7): 89-92. (in Chinese)
- [11] 郑宇,何天友,陈凌艳,等. 比利时杜鹃栽培品种(系)的 ISSR 分析[J]. 福建农林大学学报:自然科学版,2011,40(3):271-275.
ZHENG Y, HE T Y, CHEN L Y, *et al.* ISSR analysis on the cultivars of *Rhododendron hybridum* [J]. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University: Natural Science Edition, 2011, 40(3): 271-275. (in Chinese)
- [12] 周兰英. 杜鹃属植物亲缘关系及遗传多样性研究[D]. 成都:四川农业大学,2008.
- [13] 刘雁飞. 长白山牛皮杜鹃的遗传多样性与分子亲缘地理学研究[D]. 长春:吉林大学,2013.
- [14] 曾丽,赵梁军,孙佳,等. 万寿菊属品种资源遗传关系的 ISSR 分析[J]. 中国农业科学,2010,43(1):215-222.
ZENG L, ZHAO L J, SUN J, *et al.* Analysis of genetic relatedness of genetic resources of tagetes as revealed by ISSR[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2010, 43(1): 215-222. (in Chinese)
- [15] 张敏,黄苏珍. 鳶尾属种质资源的 ISSR 分析[J]. 南京农业大学学报,2008,31(4):43-48.
ZHANG M, HUANG S Z. Analysis of *Iris* L. germplasm based on ISSR markers[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2008, 31(4): 43-48. (in Chinese)
- [16] 石颜通,周波,张秀新,等. 牡丹 89 个不同种源品种遗传多样性和亲缘关系分析[J]. 园艺学报,2012,39(12):2499-2506.
SHI Y T, ZHOU B, ZHANG X X, *et al.* Assessment of genetic diversity and relationship of 89 tree peony cultivars from different provenances[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2012, 39(12): 2499-2506. (in Chinese)
- [17] 李敏,王尧峰,明风. 用 ISSR 分子标记技术分析 16 个蝴蝶兰品种的亲缘关系研究[J]. 中国农业科技导报,2010,12(1):60-65.
LI M, WANG Y F, MING F. Studies on genetic relationship analysis of 16 *Phalaenopsis* hybrid cultivars by ISSR molecular marker technology[J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2010, 12(1): 60-65. (in Chinese)
- [18] 孔琼,袁盛勇,薛春丽,等. 云南野生石斛 ISSR-PCR 分析[J]. 西南农业学报,2015,28(3):1242-1245.
KONG Q, YUAN S Y, XUE C L, *et al.* ISSR-PCR analysis of wild species of *Dendrobium* in Yunnan[J]. Southwest China Journal of Agricultural Science, 2015, 28(3): 1242-1245. (in Chinese)
- [19] 赵喜华. 杜鹃属植物 RAPD 分类研究及 nrDNA ITS 区序列分析研究[D]. 南昌:江西师范大学,2005.
- [20] IQBAL M J, PADEN D W, RAYBURN A L, *et al.* Assessment of genetic relationships among *Rhododendron* species, varieties and hybrids by RAPD analysis[J]. Scientia Horticulturae, 1995, 63(3/4): 215-223.
- [21] KOBAYASHI N, TAKEUCHI R, HANDA T, *et al.* Cultivar identification of evergreen azalea with RAPD Method[J]. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 1995, 64(3): 611-616.
- [22] 汪琼,姚青菊,徐增莱,等. 基于 ISSR 和 RAPD 标记的 4 个夏蜡梅种群的遗传多样性研究[J]. 广西植物,2013,33(1):30-34.
WANG Q, YAO Q J, XU Z L, *et al.* Genetic diversity of four populations of *Calycanthus chinensis* based on ISSR and RAPD makers[J]. Guihaia, 2013, 33(1): 30-34. (in Chinese)
- [23] 周泓. 杜鹃花品种资源多样性研究及品种分类体系构建[D]. 杭州:浙江大学,2012.
- [24] 赵凯,王德元,张文娟,等. 都支杜鹃遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 植物分类与资源学报,2013,35(5):578-584.
ZHAO K, WANG D Y, ZHANG W J, *et al.* Genetic diversity of *Rhododendron shanii* based on ISSR analysis[J]. Plant Diversity and Resources, 2013, 35(5): 578-584. (in Chinese)
- [25] 彭婵,张新叶,杨彦伶,等. 湖北麻城杜鹃古群落遗传多样性研究[J]. 湖北林业科技,2010(4):26-30.
PENG C, ZHANG X Y, YANG Y L, *et al.* Study on the genetic diversity of ancient community of *Rhododendron simsii* Planch. from Macheng of Hubei[J]. Hubei Forestry Science and Technology, 2010(4): 26-30. (in Chinese)
- [26] 陈春福. 福建杜鹃花属若干种类的离体繁殖与保存及其 ISSR 分析[D]. 福州:福建农林大学,2012.
- [27] 张肖娟,孙振元. 地锦属野生种及栽培品种的 ISSR 分析鉴定[J]. 北京林业大学学报,2011,33(6):177-180.
ZHANG X J, SUN Z Y. ISSR analysis of *Parthenocissus* spp. and cultivars [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2011, 33(6): 177-180. (in Chinese)
- [28] 刘祖洞,乔守怡,吴燕华,等. 遗传学[M]. 北京:高等教育出版社,2013:53-57.