

基于 SSR 标记的黔南茶树种质资源 DNA 指纹图谱构建

陈世军¹, 张明泽¹, 姚玉仙¹, 谢维斌²

(¹ 黔南民族师范学院生物科学与农学院, 都匀 558000; ² 贵州省都匀市林业局, 都匀 558000)

摘要:以黔南 60 个野生茶树种质资源为材料, 使用 15 对引物, 通过 SSR 技术进行了 DNA 指纹数据库的构建。结果显示, 所采用的 15 对引物共扩增出 147 个等位基因, 有较好的多态性。位点的期望杂合度和多态性信息含量的变化范围分别为 0.128~0.939 和 0.124~0.927, 平均值分别为 0.602 和 0.572。综合各项指标筛选出 6 对引物 QNSSR01、QNSSR02、QNSSR04、QNSSR06、QNSSR18、QNSSR23 上的 23 个等位基因用于黔南茶树种质资源 DNA 指纹图谱构建, 60 个茶树种质资源的 SSR 指纹图谱互不相同, 可以作为各材料特定的图谱。研究结果为黔南茶树种质资源保护和品种创新利用奠定了基础。

关键词: 黔南; 茶树资源; SSR; DNA 指纹图谱

Establishment of DNA Fingerprinting for Tea Germplasm from Qiannan Prefecture by SSR Markers

CHEN Shi-jun¹, ZHANG Ming-ze¹, YAO Yu-xian¹, XIE Wei-bin²

(¹ Qiannan Normal University for Nationalities, Duyun 558000; ² Duyun Forestry Bureau of Guizhou Province, Duyun 558000)

Abstract: Sixty tea germplasm from Qiannan prefecture were collected to construct DNA fingerprint database by SSR technique. The results showed that 147 alleles were detected with considerable polymorphism by 15 pairs of primers employed in the experimental design. The ranges of expected heterozygosities and polymorphism information content at 15 SSR loci of 60 cultivars were 0.128-0.939 and 0.124-0.927 respectively, with an average of 0.602 and 0.572 respectively. And a total of selected 23 alleles from 6 primers (QNSSR01, QNSSR02, QNSSR04, QNSSR06, QNSSR18, and QNSSR23) were used for the DNA fingerprint construction. Sixty tea accessions with different SSR fingerprints of each other can serve as the cultivars-specific patterns and as an important basis for cultivars identification.

Key words: Qiannan prefecture; tea germplasm; SSR; DNA fingerprinting

茶树 [*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze] 属于山茶科、山茶属、茶组植物。云南是茶树的原产地, 贵州是山茶属的分布核心区之一^[1]。黔南地处云贵高原东南部向广西丘陵过渡的斜坡地带, 属典型的亚热带温暖湿润季风气候, 具有高海拔、低纬度、寡日照、立体气候、肥沃土壤等环境条件, 适宜茶树生长, 茶树资源丰富。田永辉等^[2]指出黔南茶树有都匀毛尖种、贵定仰王种、三都高树茶、独山高树茶等 12 个地方群体种, 谢维斌等^[3]对黔南部分地区茶树资

源进行的调查表明黔南茶树种质资源品系众多。但这些已有的调查, 往往依靠易受环境条件和发育阶段影响的生物学特征和农艺性状等作为分类鉴定依据, 可靠性不强, 限制了当地茶树种质资源保护和品种创新利用。

DNA 分子标记是茶树资源遗传多样性及品种鉴定研究的有效手段。目前已有多种分子标记技术应用于茶树资源研究上。简单重复序列 (SSR, simple sequence repeat) 标记, 是由 M. Litt 等^[4]

收稿日期: 2016-02-16 修回日期: 2016-03-20 网络出版日期: 2016-12-14

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20161214.1444.034.html>

基金项目: 贵州省普通高等教育质量提升重点科研项目 (2011017); 黔南民族师范学院项目 (QNSY2010014)

第一作者主要从事植物生理生态和种质资源研究。E-mail: 280241879@qq.com

及 D. Tautz^[5] 创立,因其具有等位变异高、共显性遗传、稳定性好、操作简便快速等优点,成为目前植物分子指纹图谱研究中最受欢迎的遗传标记。近年来,利用 SSR 标记技术, T. Ujihara 等^[6] 对日本绿茶栽培品种、杨阳等^[7] 对湖南省主要茶树品种、章志芳等^[8] 对 14 个茶树新品种、刘本英等^[9] 对云南无性系茶树品种等构建了有效的 DNA 指纹图谱。本研究通过广泛收集黔南茶树资源,应用 SSR 标记技术,建立黔南茶树种质资源指纹图谱,以期为黔南茶树种质资源保护和品种创新利

用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料采集于黔南各地。在前期广泛调查的基础上,由课题组及当地茶产业管理部门工作人员,协同采集典型野生型茶树种质资源,一个群体选择芽叶较多的 1 株为样本,共采集 60 个群体,获得野生型茶树种质资源材料 60 个(表 1)。样本的采摘,取 1 芽 2 叶新梢,保存于 -80 °C 冰箱中备用。

表 1 供试材料编号及来源

Table 1 Code and origin of tea accessions used in this study

编号 Code	来源 Origin	编号 Code	来源 Origin	编号 Code	来源 Origin
Y1	都匀墨冲 Mochong, Duyun	Y21	都匀谷江 Gujiang, Duyun	W41	三都水乡 Shuixiang, Shadu
Y2	都匀江洲 Jiangzhou, Duyun	Y22	独山沟山 Goushan, Dushan	W42	瓮安珠藏 Zhuzang, Wengan
Y3	贵定云雾 Yunwu, GuiDing	Y23	贵定云雾 Yunwu, GuiDing	W43	平塘通州 Tongzhou, Pingtang
Y4	都匀墨冲 Mochong, Duyun	Y24	都匀谷江 Gujiang, Duyun	W44	平塘通州 Tongzhou, Pingtang
Y5	都匀黄河 HuangHe, Duyun	Y25	都匀摆忙 Baimang, Duyun	W45	独山影山 Yingshan, Dushan
Y6	都匀团山 Tuanshan, Duyun	Y26	都匀江洲 Jiangzhou, Duyun	W46	龙里麻芝 Mazhi, Longli
Y7	独山沟山 Goushan, Dushan	Y27	都匀江洲 Jiangzhou, Duyun	W47	平塘通州 Tongzhou, Pingtang
Y8	都匀奉和 Fenghe, Duyun	Y28	都匀墨冲 Mochong, Duyun	W48	龙里麻芝 Mazhi, Longli
Y9	都匀江洲 Jiangzhou, Duyun	Y29	都匀墨冲 Mochong, Duyun	W49	贵定云雾 Yunwu, GuiDing
Y10	都匀墨冲 Mochong, Duyun	Y30	贵定云雾 Yunwu, GuiDing	W50	贵定云雾 Yunwu, GuiDing
Y11	都匀江洲 Jiangzhou, Duyun	Y31	都匀江洲 Jiangzhou, Duyun	W51	平塘大塘 Datang, Pingtang
Y12	独山沟山 Goushan, Dushan	Y32	都匀谷江 Gujiang, Duyun	W52	福泉凤山 Fengshan, Fuquan
Y13	贵定云雾 Yunwu, GuiDing	W33	惠水宁旺 Ningwang, Huishui	W53	平塘通州 Tongzhou, Pingtang
Y14	都匀墨冲 Mochong, Duyun	W34	独山影山 Yingshan, Dushan	W54	贵定云雾 Yunwu, GuiDing
Y15	都匀墨冲 Mochong, Duyun	W35	三都水乡 Shuixiang, Shadu	W55	独山影山 Yingshan, Dushan
Y16	都匀摆忙 Baimang, Duyun	W36	惠水宁旺 Ningwang, Huishui	W56	独山影山 Yingshan, Dushan
Y17	都匀谷江 Gujiang, Duyun	W37	龙里麻芝 Mazhi, Longli	W57	平塘通州 Tongzhou, Pingtang
Y18	都匀墨冲 Mochong, Duyun	W38	罗甸纳降 Najiang, Luodian	W58	罗甸纳降 Najiang, Luodian
Y19	贵定云雾 Yunwu, GuiDing	W39	惠水宁旺 Ningwang, Huishui	W59	贵定云雾 Yunwu, GuiDing
Y20	都匀谷江 Gujiang, Duyun	W40	惠水宁旺 Ningwang, Huishui	W60	贵定云雾 Yunwu, GuiDing

1.2 基因组 DNA 的提取

采用改进的 CTAB 法提取 DNA^[10],用 0.8% 琼脂糖凝胶电泳检测提取质量和浓度。

1.3 引物筛选与合成

参照 S. S. Kaundun 等^[11]、金基强等^[12]、刘本英^[10]、姚明哲^[13] 的 SSR 引物序列,从中选择多态性较高的引物 40 条,以 Y1、Y7、Y14、W36、W54 基因组 DNA 作模板,进行多态性筛选,最终选择了 15 对

引物(表 2)。本试验所用 SSR 引物为荧光引物,由北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司合成。

1.4 PCR 扩增和产物检测

PCR 扩增反应在 GeneAmp PCR System 9600 (Perkin Elmer, USA) 上进行。25 μ L 反应体系为: 40 ng/ μ L 模板 DNA 2.0 μ L、上下游引物各 0.5 μ L、10 mmol/L dNTPs 0.5 μ L、10 \times PCR 反应缓冲液 2.5 μ L、2U Taq DNA 聚合酶 0.5 μ L、ddH₂O 18.5 μ L。

表 2 引物信息

Table 2 Information of SSR markers

引物 Primer	重复单元 Repeat motif	序列 Primer sequences(5'-3')		退火温度(℃) Annealing temperature
QNSSR01(SSR09)*	(TTTTTA) ₃	F:GTCAAGAAAGCTCAAGGC	R:AAGACCCATACAAAAGATACT	51
QNSSR02(SSR11,P01)	(TC) ₁₅	F:GGAGCATTGAAGCGAGAAAT	R:ACGCTTCGAGTACTCCCTGA	55
QNSSR04(SSR22)	(GGAAA) ₁₁	F:TAGCTCGCACACAACACCAC	R:TCCAACGCACACTCTCTGC	58
QNSSR05(SSR29)	(GTGGA) ₅	F:ATCCACCGTATGATGCTT	R:TGTCTTGTGACCAAATTGAC	51
QNSSR06(SSR36)	(CT) ₁₅	F:AAAGAGGAGAGGCGAGGACAG	R: TTCAGGATACGCTTGTATGCC	58
QNSSR07(SSR40)	(AAGAA) ₃	F:GCAGAAAACCCGTGCAAT	R:ATCACCACCCACCATAAC	51
QNSSR08(SSR42)	(CGCCA) ₃	F:TGCCACACCACGAATACGAC	R:GAAGATGGTTGCGAATGGCT	57
QNSSR09(SSR48)	(CA) ₁₂	F:GCATCATTCACCACTCACC	R:GTCATCAAACCACTGGCTCA	57
QNSSR11(SSR49)	(TG) ₁₃	F:CACATTGTGGCGTGTATTAATTT	R:ACATTGGCTATCTCTCATCATGG	56
QNSSR12(SSR55)	(GT) ₁₆	F:GAATCAGGACATTATAGGAATTA	R:GGCCGAATGTTGTCTTTTGT	53
QNSSR15(P03)	(ATG) ₁₀	F:GCGTCGTCCCTTCTTTCTAA	R:GGGCAGCCATAACCACTACT	57
QNSSR16(P06)	(TTC) ₁₀	F:CAGGGTTGCAAGAAGTACCG	R:ATCAACCGTATGGGCAAAAAG	55
QNSSR18(P14)	(AG) ₁₄	F:GGGAGAACCAACCCAGTCTAT	R:CCCAATCCGCTGTAGTAGGA	58
QNSSR21(SSR02)	(CTC) ₅	F:ATGAGAAGGAGGACGATG	R:CATTTATGGACCTGTTCC	51
QNSSR23(SSR22)	(TG) ₈ (AG) ₁₀	F:TGGATTCCACCCAGAGTCC	R:CCACCGACTCGATGACATAA	57

* 括号内编号为原文献引物编号,下同

* Code between parentheses is the primer code in original literature,the same as below

PCR 扩增程序为:94 ℃ 预变性 5 min;94 ℃ 变性 30 s, 51 ~ 60 ℃ 不等退火 30 s,72 ℃ 延伸 30 s,35 个循环;循环结束后在 72 ℃ 延伸 10 min,产物 4 ℃ 保存。扩增产物采用毛细管电泳检测:在 96 孔样板的每个孔中分别加 1 μL 纯化的 PCR 产物,8.5 μL 甲酰胺和 0.03 μL ROX500 分子量内标,离心,95 ℃ 变性 5 min,利用 DNA 测序仪 ABI3730(Applied Biosystems,Foster City,USA)进行自动荧光检测。

1.5 数据处理与分析

电泳结束后,利用 GeneMapper v 4.0 软件收集数据,进行扩增条带分子量确定。参照夏寒冰等^[14]的方法按共显性标记进行数据统计,即将不同分子量 DNA 条带视为一个等位基因,出现该等位基因时赋值 1,不存在时赋值 0,建立原始数据矩阵。基因型数、等位基因数、杂合度观测值(*Obs. H*, observed heterozygosities)、杂合度期望值(*Exp. H*, expected heterozygosities)、Shannon 信息多样性指数(*I*, Shannon's information index)估计值用 PopGene32 软件分析。多态性信息含量(*PIC*, polymorphism information content)用 Powermarker 3.25 软件分析。

2 结果与分析

2.1 SSR 分子标记多态性分析

利用筛选出的 15 对 SSR 荧光引物对 60 个野

生茶树种质资源材料进行扩增,扩增结果见表 3。从表中可以看出,多态性引物比例为 100%,共得到等位基因 147 个,平均每对引物扩增 9.8 个,其中 QNSSR02、QNSSR04、QNSSR06、QNSSR09、QNSSR12、QNSSR15、QNSSR18、QNSSR23 扩增出的等位基因大于等于 10 个。15 对引物产生 280 个基因型,平均每个引物扩增出 18.67 个基因型。*PIC* 变化范围较大,最小值为 0.124,最大值为 0.927,平均 0.572;*Exp. H* 变幅为 0.128 ~ 0.939,平均 0.602;Shannon 信息指数 *I* 变幅为 0.310 ~ 2.862,平均 1.464。这些结果表明,黔南野生茶树种质资源具有较高的遗传多样性,供试 SSR 引物能够较好地用于黔南茶树种质资源遗传研究和指纹图谱构建。

2.2 DNA 指纹图谱构建

指纹图谱的构建一般以较少数量的引物组合和较高效的鉴定方法为准。综合考虑引物扩增的等位基因数、*Exp. H*、*PIC* 以及等位基因分子量大小差异等因素,从 15 对引物中选择 QNSSR01、QNSSR02、QNSSR04、QNSSR06、QNSSR18、QNSSR23 引物扩增出的区分能力较高的部分等位基因(23 个)来进行黔南茶树种质资源 DNA 指纹数据库编码和构建 DNA 指纹图谱。选择的引物及扩增等位基因见表 4。

表 3 SSR 引物扩增结果及多态性信息

Table 3 Results and the polymorphism information of SSR primers

引物 Primer	基因型数 Number of genotypes	等位基因数 Number of alleles	杂合度观测值 <i>Obs. H</i>	杂合度期望值 <i>Exp. H</i>	多态性信息 含量 <i>PIC</i>	Shannon 指数 <i>I</i>	产物大小 (bp) Product size
QNSSR01	4	4	0.567	0.427	0.358	0.717	137 ~ 157
QNSSR02	29	16	0.433	0.899	0.881	2.426	165 ~ 199
QNSSR04	33	14	0.817	0.889	0.871	2.334	170 ~ 204
QNSSR05	7	5	0.083	0.245	0.235	0.559	264 ~ 276
QNSSR06	45	23	0.667	0.939	0.927	2.862	85 ~ 136
QNSSR07	6	5	0.150	0.217	0.209	0.505	123 ~ 175
QNSSR08	4	4	0.133	0.128	0.124	0.310	115 ~ 135
QNSSR09	21	13	0.450	0.764	0.735	1.870	146 ~ 184
QNSSR11	2	2	0.000	0.477	0.361	0.666	285 ~ 287
QNSSR12	13	10	0.333	0.394	0.380	0.972	171 ~ 237
QNSSR15	24	10	0.717	0.828	0.798	1.915	139 ~ 177
QNSSR16	16	9	0.750	0.763	0.719	1.592	108 ~ 158
QNSSR18	33	12	0.833	0.885	0.866	2.256	133 ~ 159
QNSSR21	3	2	0.267	0.280	0.239	0.451	122 ~ 124
QNSSR23	40	18	0.850	0.900	0.884	2.532	130 ~ 174
平均 Mean	18.67	9.8	0.47	0.602	0.572	1.464	
合计 Total	280	147					

表 4 等位基因选择及赋值标准

Table 4 Alleles selection and encoded standard

引物 Primer	编码 (bp) Code					
	0	1	2	3	4	5
QNSSR01	—	145	157			
QNSSR02	—	165	181	189	193	197
QNSSR04	—	172	186	194	204	
QNSSR06	—	95	111	121	129	136
QNSSR18	—	133	141	151		
QNSSR23	—	134	146	154	174	

DNA 指纹数据库编码参照蒋林峰等^[15]的方法。将选择的 6 对引物扩增的等位基因按分子量大小排序,依次赋值为有序整数(表 4),其中,未扩增出所选择的等位基因,则编码为 0。假定每对引物扩增出 2 个等位基因,依据等位基因赋值标准,对黔南野生茶树种质资源 DNA 等位基因进行编码,串联各编码即形成该材料的 DNA 指纹数据库编码,最终得到黔南野生茶树种质资源 DNA 指纹数据库

(表 5)。如种质资源 Y14,引物 QNSSR01 只扩增出分子量为 157 的等位基因,该引物扩增的等位基因编码即为 02;引物 QNSSR02 扩增出分子量为 193、197 两个等位基因,即编码为 45;引物 QNSSR04 只扩增出分子量为 172 的等位基因,编码为 01;引物 QNSSR06 没有扩增出选择的等位基因,编码为 00;引物 QNSSR18 只扩增出分子量为 133 的等位基因,编码为 01;引物 QNSSR23 只扩增出分子量为 146 的等位基因,编码为 02;将这些编码组合起来,即为 Y14 的指纹数据库编码 024501000102。结果显示,构建的黔南茶树种质资源 DNA 指纹数据库中,每个材料均具特异的分子指纹数据库编码,可作为鉴别该材料的特殊标记而与其他材料相区别。

根据 6 对引物对黔南茶树 DNA 扩增得到的等位基因情况,构建黔南茶树 DNA 指纹图谱(图 1)。图 1 中黑色条带处表示扩增出等位基因,每个材料的指纹图谱均与表 5 中的指纹编码相对应。由图 1 可知,每个材料均具有不同的扩增图谱,可与其他材料区分。

表5 黔南茶树种质资源指纹数据库编码

Table 5 Fingerprint database code of tea germplasm from Qiannan prefecture

编号 Code	指纹编码 Fingerprint code	编号 Code	指纹编码 Fingerprint code	编号 Code	指纹编码 Fingerprint code
Y1	020300010100	Y21	000300040000	W41	023500010100
Y2	020501000300	Y22	020300030102	W42	000101000002
Y3	000400000202	Y23	020301000202	W43	020000010002
Y4	000003030200	Y24	020001030003	W44	020000000002
Y5	000301000002	Y25	020501010000	W45	020001010000
Y6	020301000002	Y26	000102050200	W46	000400000002
Y7	020202000001	Y27	020000000000	W47	001300000202
Y8	020301000312	Y28	020401000012	W48	000401000202
Y9	000400040000	Y29	000012000300	W49	004500010002
Y10	013401000000	Y30	000102000200	W50	020003000002
Y11	004501000000	Y31	010002000200	W51	000300000002
Y12	020200000000	Y32	000400020000	W52	003500000001
Y13	020500000323	W33	000501010000	W53	020500000000
Y14	024501000102	W34	020202000301	W54	020100000200
Y15	000502000003	W35	020001000014	W55	003401010023
Y16	020400000000	W36	000004010000	W56	020302000302
Y17	000401000000	W37	020501140002	W57	020312000002
Y18	020001000100	W38	000300040000	W58	000134000000
Y19	020100010002	W39	020300030102	W59	000000030202
Y20	000204002300	W40	020301000202	W60	000000000202

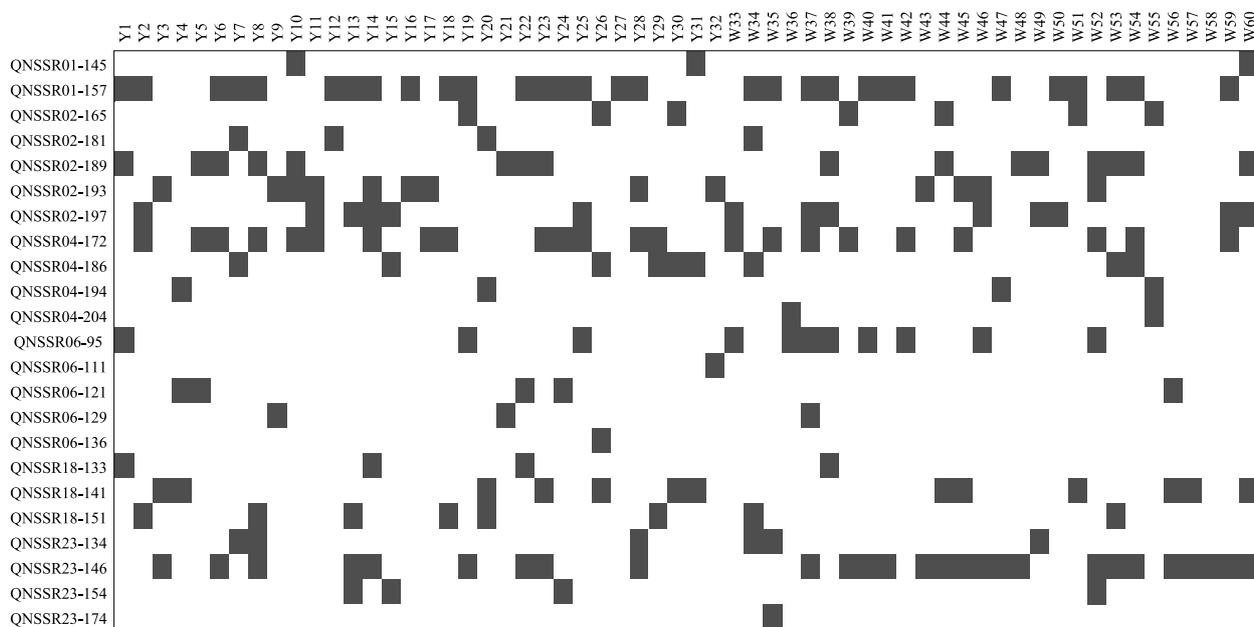


图1 黔南茶树种质资源指纹图谱

Fig. 1 Fingerprinting of tea germplasm from Qiannan prefecture

3 讨论

本研究采用毛细管电泳和基于 DNA 测序仪的扩增产物自动荧光检测的方法,相比传统银染法聚丙烯酰胺凝胶电泳检测,检测结果更为精确、数据更为可靠^[16-17],扩增出来的等位基因相差 1~2 个碱基也能很好地检测出来。在 DNA 指纹图谱的构建中,这种 SSR 荧光标记毛细管电泳法已得到广泛运用^[18-19]。

本研究最终筛选的引物来源于刘本英^[10]、金基强等^[12]、姚明哲^[13]的研究成果,但相同的引物扩增出的等位基因数及多态性信息在各个研究中有差异。例如引物 QNSSR02 (Gene Bank 数据库登录号 CV067063,刘本英^[10]编号为 SSR11,金基强等^[12]编号为 P01)在本研究中扩增出等位基因 16 条,片段大小在 165~199 bp 之间,而刘本英^[10]的研究为 5 条、大小在 178~197 bp 之间,金基强等^[12]的研究为 7 条、大小在 174~220 bp 之间。这可能与采用的产物检测方法不同有关,后两者的研究采用的是银染法聚丙烯酰胺凝胶电泳检测,当然与研究对象茶树资源不同也有很大关系。

目前构建植物品种 DNA 指纹图谱的方法主要有特征谱带法、单引物法和引物组合法等。利用分子标记构建 DNA 指纹图谱,一般原则是用尽量少的标记分开尽量多的品种,这就要求所用的标记多态性要好,多态性越高越经济。在本研究中,多态性引物比例为 100%,PIC 大于 0.7 的引物就达 8 对,其中 QNSSR06 扩增得到等位基因 23 条,基因型数 45 个,多态性信息量 0.927。理论上,用 2~3 对引物即可区分采集的 60 个材料,但是由于本研究采用荧光标记毛细管电泳法,一些等位基因仅相差 1~2 个碱基,为了研究结果在今后更好地得到运用,减少由于采用不同检测方法带来的等位基因判读误差,本研究采用引物组合法,选择 QNSSR01、QNSSR02、QNSSR04、QNSSR06、QNSSR18、QNSSR23 等 6 对引物扩增出的部分稳定性较好的等位基因来进行指纹图谱构建,其中,同一引物选择的等位基因,相互间最小相差 8 个碱基。陈亮等^[20]、杨阳等^[7]、刘本英等^[21]研究表明,引物组合法通过不同引物的有限组合,可以大大提高引物的鉴别能力。本研究采用的 6 对引物的 23 个等位基因能将 60 个材料完全区分开。

黔南茶树资源丰富,本研究开展之前还未见系统地鉴定黔南茶树种质资源的报道。本研究的样

本来源主要依靠当地茶产业相关部门和行业人士提供的线索进行采集,有可能一些有价值的茶树种质资源被遗漏。在今后,随着一些新的种质资源被发现,这 6 个引物组合的鉴别能力可能会逐渐减低,需要进一步适当增加引物组合的数量,完善黔南茶树种质资源 DNA 指纹图谱。

参考文献

- [1] 田永辉,梁远发,鄢东海,等. 贵州野生茶树资源的地理分布与生态型[J]. 贵州茶叶,2008,133(1):10-12
- [2] 田永辉,梁远发,龙明树,等. 贵州茶树遗传资源的多样性和创新利用[J]. 贵州茶叶,2007,130(2):11-14
- [3] 谢维斌,张国洲,宋丽莎. 都匀毛尖本地品种茶树选育[J]. 安徽农业科学,2010,38(3):1229-1234
- [4] Litt M, Luty J A. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene[J]. Am J Hum Genet,1989,44(3):397-401
- [5] Tautz D. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers[J]. Nucleic Acids Res,1989,17(16):6463-6471
- [6] Ujihara T, Ohta R, Hayashi N, et al. Identification of Japanese and Chinese green tea cultivars by using simple sequence repeat markers to encourage proper labeling[J]. Biosci Biotech Bioch, 2009,73(1):15-20
- [7] 杨阳,刘振,赵洋,等. 湖南省主要茶树品种分子指纹图谱的构建[J]. 茶叶科学,2010,30(5):367-373
- [8] 章志芳,马建强. 基于 SSR 标记的茶树新品种遗传多样性分析及指纹图谱构建[J]. 湖南农业科学,2012(19):1-4
- [9] 刘本英,孙雪梅,李友勇,等. 基于 EST-SSR 标记的云南无性系茶树良种遗传多样性分析及指纹图谱构建[J]. 茶叶科学,2012,32(3):261-268
- [10] 刘本英. EST-SSR 和 ISSR 分子标记在云南茶树资源中的应用研究[D]. 北京:中国农业科学院茶叶研究所,2009
- [11] Kaundun S S, Matsumoto S. Heterologous nuclear and chloroplast microsatellite amplification and variation in tea, *Camellia sinensis* [J]. Genome,2002,45(11):1041-1048
- [12] 金基强,崔海瑞,龚晓春,等. 用 EST-SSR 标记对茶树种质资源的研究[J]. 遗传,2007,29(1):103-108
- [13] 姚明哲. 利用 ISSR 和 EST-SSR 标记研究中国茶树资源的遗传多样性和遗传结构[D]. 杭州:浙江大学,2009
- [14] 夏寒冰,卢宝荣. 共显性分子标记基因型数据转换为二元型数据的处理软件及其在研究种质资源遗传多样性中的意义[J]. 植物遗传资源学报,2009,10(1):97-102
- [15] 蒋林峰,张新全,黄琳凯,等. 中国鸭茅主栽品种 DNA 指纹图谱构建[J]. 植物遗传资源学报,2014,15(3):604-614
- [16] 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
- [17] 郝晨阳,王兰芬,贾继增,等. SSR 荧光标记和银染技术的比较分析[J]. 作物学报,2005,31(2):144-149
- [18] 高源,田路明,刘凤之,等. 利用 SSR 荧光标记构建 92 个梨品种指纹图谱[J]. 园艺学报,2012,39(8):1437-1446
- [19] 程本义,夏俊辉,龚俊义,等. SSR 荧光标记毛细管电泳检测法在水稻 DNA 指纹鉴定中的应用[J]. 中国水稻科学,2011,25(6):672-676
- [20] 陈亮,王平盛,山口聪. 应用 RAPD 分子标记鉴定野生茶树种质资源研究[J]. 中国农业科学,2002,35(10):1186-1191
- [21] 刘本英,孙雪梅,李友勇,等. 20 个云南无性系茶树良种的 DNA 指纹图谱构建[J]. 热带作物学报,2011,32(4):720-727