

• 药材与资源 •

12种翻白草种质资源遗传多样性的ISSR分析

罗玥洁¹, 伍贤进^{2*}, 彭 帅¹, 刘选明¹

(1. 湖南大学生命科学与技术研究院 生物能源与材料研究中心, 湖南 长沙 410082;

2. 怀化学院 生物工程系, 湖南 怀化 418008)

摘要:目的 进行翻白草*Potentilla discolor*种质资源的遗传多样性研究。方法 对12份翻白草种质进行ISSR分析。利用POPGENE 1.32软件分析遗传相似系数,UPGMA方法聚类,构建亲缘关系系统图。结果 12条引物共得到128条扩增条带,其中有101条呈现多态性,占78.91%。遗传相似系数变化范围0.179 2~0.632 5。聚类结果显示翻白草种质亲缘关系与地理分布有一定相关性,可以看出来源于同一地区的部分翻白草种质聚在一起,呈现出一定的地域性分布规律。结论 翻白草的遗传多样性水平较高,种质间的亲缘关系和地理位置有一定关系。

关键词:翻白草;ISSR;种质资源;遗传多样性

中图分类号:R282.2

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2008)05-0748-04

Genetic diversity of 12 species of germplasm resources for *Potentilla discolor* based on ISSR analysis

LUO Yue-ji¹, WU Xian-jin², PENG Shuai¹, LIU Xuan-ming¹

(1. Institute of Life Science and Biotechnology, Bioenergy and Biomaterial Research Center, Hunan University, Changsha 410082, China; 2. Department of Bioengineering, Huaihua College, Huaihua 418008, China)

Abstract: Objective To study the genetic diversity of germplasm resources for *Potentilla discolor*.

Methods Twelve species of germplasm resources for *P. discolor* were analyzed by ISSR molecular markers. To make up the systematic diagram of genetic relationship by POPGENE 1.32 software, cluster by UPGMA method, and establish the dendrogram. **Results** A total of 128 ISSR bands were scored for 12 primers, among which 101 were polymorphic bands. The average percentage of polymorphic bands was 78.91%. Genetic similarity coefficient was changed from 0.179 2 to 0.632 5. By cluster analysis, the geographical distribution is mutually related to the relationship of germplasm resources for *P. discolor* and it was also showed some of *P. discolor* from the same region were in the same group which presented the rule of geographical distribution in the tested materials. **Conclusion** The diversity level of the different germplasm resources for *P. discolor* higher and the relationship of *P. discolor* correlates with the geographical location in some way.

Key words: *Potentilla discolor* Bunge; ISSR; germplasm resources; genetic diversity

翻白草 *Potentilla discolor* Bunge 又名天青地白、白头翁、叶下白、鸡腿苗、结梨,为蔷薇科委陵菜属植物,生于山坡、路旁、草地,主产于河北、北京、安徽^[1]。翻白草具有止血、止痢、解毒的药用功效,是一种重要的药用植物。近年来对翻白草的研究多集中于其化学成分的分析和对Ⅱ型糖尿病、乳腺炎等疾病的治疗方面研究^[2],而在遗传多样性和亲缘关系

方面还没有深入的研究。

简单重复序列区间ISSR(inter simple sequence repeat)是由Zietkiewicz等^[3]1994年发展的一种基于微卫星系列的新的分子标记技术,具有简便、不需预先知道序列信息、重复性强等特点,广泛用于植物的分子标记和遗传育种。本实验采用该技术从DNA分子水平分析了不同产地翻白草的遗传多样性,为

收稿日期:2007-07-27

基金项目:国家科技基础条件平台建设项目;重要野生植物种质资源采集保存技术规范 and 标准研制及整合共享(2005DKA21006)

作者简介:罗玥洁(1983—),女,湖南株洲人,现读湖南大学生命科学与技术研究院生物化学与分子生物学方向硕士研究生,从事药用植物种质资源方面的研究。 Tel:13467674559 E-mail:bell0829@sohu.com

*通讯作者 伍贤进 E-mail:hhuxianjin@163.com 刘选明 E-mail:sw_xml@hnu.cn

翻白草种质鉴定、合理利用和保护翻白草种质资源提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 植物材料:供试材料9份取自于湖南省,1份取自北京中国科学院植物研究所,2份取自湖北大悟县。材料均经过湖南师范大学生命科学院刘克明教授鉴定。每个产地均随机选取5株以上的成熟植株,在植株上选取幼嫩叶片带回实验室,−80℃超低温冰箱中保存备用。室内实验在湖南大学生命科学与技术研究院植物分子生物学实验室进行。各材料基本情况见表1。

表1 翻白草种质资源来源

Table 1 Germplasm resources of *P. discolor*

序号	来源	生境
1	湖南省新宁县回龙镇	山坡,野生
2	湖南省株洲攸县岭北坪村	山坡,野生
3	湖南省株洲攸县平阳庙	山坡,野生
4	湖北省大悟县白云镇	山坡,野生
5	湖南省衡阳衡山	山坡,野生
6	湖南省株洲攸县高枳乡高枳村	路边,野生
7	湖南省怀化溆浦竹竿山	山坡,野生
8	湖北省大悟县城关镇	路边,野生
9	湖南省怀化通道江口乡	路边,野生
10	湖南省怀化溆浦凉潭	山坡,野生
11	湖南省怀化溆浦杉木湾	路边,野生
12	北京中科院植物研究所	植物园,人工移植

1.1.2 主要试剂:MBI *Taq* 酶购于晶美生物有限公司;DNA Marker 购于北京天为时代科技有限公司;其他生化试剂为国产分析纯。

1.1.3 仪器设备:PCR 仪为德国 Biometra 公司生产的 T-GRADIENT,离心机为德国 Eppendorf 公司产品,纯水器为美国 Millipore 公司产品,紫外可见分光光度计为上海光谱仪器有限公司 765P 紫外可见分光光度计,水浴锅、电泳槽等为国产仪器。

1.1.4 PCR 引物:所用引物参照加拿大哥伦比亚大学 UBC 公司 2006 年公布的 ISSR 引物序列,由上海博亚生物技术有限公司合成。

1.2 方法

1.2.1 DNA 的提取和浓度的测定:采用改进的 CTAB 法,取嫩叶约 2 g 在液氮冷冻下研磨成粉末,转入 10 mL 离心管中,加入 3 mL 预热至 95℃ 的 2×CTAB 提取缓冲液(100 mmol/L Tris-HCl pH 8.0、20 mmol/L EDTA、1.4 mol/L NaCl、2%CTAB、2%PVP、0.2%β-巯基乙醇),500 μL PB 溶液(10%CTAB、10%PVP、4%NaCl),0.02 g VE,混匀后 65℃水浴 1.5 h,间断颠倒离心管若干次,取出离心

管冷却至室温。加入 500 μL PB 溶液,等体积氯仿-异戊醇(24:1),混匀,后置于摇床上来回震荡 1 h。取出离心管后 6 000 r/min 离心 30 min。取上清,加入 1 mL PB 溶液,等体积氯仿-异戊醇(24:1),混匀后 6 000 r/min 离心 10 min。取上清,加入 −20℃预冷的等体积异丙醇,轻柔混匀后静置 30 min,出现絮状沉淀。用玻璃钩钩出絮状沉淀,转移至一干净 1.5 mL 离心管中,加入 70%乙醇洗涤 2~3 次,倒去乙醇,让 DNA 自然晾干,加入 500 μL TE 缓冲液(10 mmol/L Tris-HCl pH8.0、1 mmol/L EDTA)溶解 DNA,加入 RNaseA 1 μL,于 37℃恒温水浴 1 h。加入 1/10 体积的 3 mol/L NaAc,并加入 2 倍体积的无水乙醇,小心混匀后,置 −20℃冰箱中 60 min,DNA 再次呈絮状沉淀析出,用玻璃钩钩出后,置 1.5 mL 离心管中。70%乙醇洗涤 2~3 次,倒去乙醇,自然晾干,加入 100~200 μL TE 缓冲液(10 mmol/L Tris-HCl pH8.0、1 mmol/L EDTA),4℃保存。

1.2.2 ISSR-PCR 反应体系:在 T-GRADIENT 型 PCR 仪上扩增,反应体系为 25 μL,包括优化后的 ddH₂O 14.5 μL,10×PCR 缓冲液 2.5 μL,dNTPs 2.5 μL(2 mmol/L),Mg²⁺ 2.5 μL(25 mmol/L),引物 1 μL(10 mmol/L),DNA 模板 1 μL(50 ng/μL),*Taq* DNA 聚合酶 1 U(0.4 U/μL),所有操作均在冰上进行。94℃预变性 5 min,94℃变性 30 s,51℃退火 45 s,72℃延伸 1.5 min,共循环 35 次,然后 72℃后延伸 10 min,4℃保温。

1.2.3 扩增产物的检测:将 PCR 产物在含有溴化乙锭(EtBr)染料染色的 1.5%琼脂糖凝胶中电泳,电泳结束后在凝胶成像系统中照相保存。

1.3 数据分析:同一引物,同一位点,根据扩增产物的有(1)无(0)得到二元资料,形成 0、1 矩阵。用 POPGENE1.32 软件进行分析,计算 Nei's 遗传距离^[4],使用 MEGA3.1 软件根据遗传距离通过 UPMGA 法进行聚类分析,构建聚类图。

2 结果与分析

2.1 DNA 提取与优化:本实验提取的 DNA 呈乳白的絮状和无色的沉淀,经紫外可见分光光度计测定,DNA 在 260 和 280 nm 的吸光度比值(A_{260}/A_{280})为 1.76~1.85。经电泳检测显示,所提取的 DNA 中蛋白质、多糖和酚类等物质基本去除,纯度较高,符合 ISSR-PCR 的要求(图1)。

2.2 引物筛选:从 50 条加拿大哥伦比亚大学(UBC)提供的 ISSR 引物序列中筛选出 12 条扩增条带较多、信号强、背景清晰的引物用于 ISSR 分析。变

性温度根据引物的 T_m 值变化1~3 ℃。具体引物、序列及退火温度见表 2。

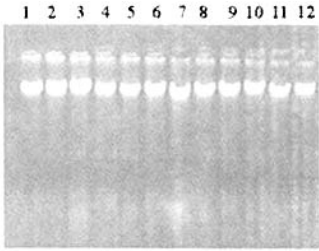
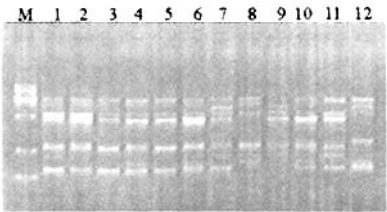


图 1 12 种不同地区翻白草样品所提取的 DNA
Fig. 1 Patterns of DNA extracted from *P. discolor* in 12 different habitats

表 2 用于 ISSR 分析的 12 条引物及其扩增产物
Table 2 Sequences of 12 primers used in ISSR analysis and their amplification products

引物名	序列	退火温度/℃	总带数	多态性带数
UBC807	(AG) ₈ T	55	10	9
UBC808	(AG) ₈ C	56	14	11
UBC811	(GA) ₈ C	56	10	7
UBC816	(CA) ₈ T	55	9	6
UBC817	(CA) ₈ A	55	10	8
UBC818	(CA) ₈ G	56	13	10
UBC821	(GT) ₈ T	55	8	8
UBC822	(TC) ₈ A	55	10	8
UBC823	(TC) ₈ C	56	9	7
UBC825	(AC) ₈ T	55	10	10
UBC834	(AG) ₈ GYT	56	12	10
UBC835	(AG) ₈ GYC	58	13	10

2.3 ISSR-PCR 扩增结果:用筛选出的 12 条引物对 12 份种质进行扩增,共扩增出 128 条 DNA 条带,其中多态性 DNA 条带 101 条,占总条带数的 78.91%,每个引物扩增出的 DNA 条带数为 7~11 条,平均为 9 条(表 2)。这些 DNA 片段大小主要集中在 300~1 500 bp(图 2)。以上数据表明翻白草种质



相对分子质量从下往上依次为 300、500、1 000、1 500、2 000、2 500 bp, 1~12 泳道分别为 12 个不同地区翻白草 DNA 扩增的 PCR 产物 M-Marker MD107
Molecular weight from down to up is 300, 500, 1 000, 1 500, 2 000, and 2 500 bp, 1—12 lanes—12 different samples'
ISSR-PCR products M-Marker MD107

图 2 UBC817 引物对翻白草基因组的 ISSR 扩增结果
Fig. 2 Amplification result of ISSR-PCR to sample genome DNA of *P. discolor* with primer UBC817

在分子水平上的多态性是丰富的,利用 ISSR 分子标记能够检测翻白草的种质资源亲缘关系。

2.4 聚类分析:12 份翻白草材料总 Nei's 基因多样性指数(H)为 0.293 8,Shannon 信息指数(I)为 0.436 2。12 份材料 Nei's 基因遗传距离在 0.179 2~0.632 5(表 3)。从图 3 中可以看出,在距离线约 0.2 处,可将供试的 12 份翻白草材料分成 3 个大类。第 1 大类包括 1、5 号共 2 份材料;第 2 大类包括 2~4 号、6~11 号共 9 份材料;12 号材料单独成一类。其中第 2 大类的 2、3、6 号聚成一亚类,7、11 号和 9、11 号聚成一亚类,4、8 号聚成一亚类。取自湖南省怀化溆浦竹彬山的 7 号材料与取自湖南省怀化溆浦杉木湾 11 号的遗传距离系数最近为 0.179 2,遗传距离系数最远的是取自湖南省衡阳衡山的 5 号材料与取自北京中科院植物研究所的 12 号材料,为 0.632 5。

表 3 12 份翻白草材料的遗传距离(对角线下)和遗传相似性(对角线上)
Table 3 Genetic distances (below diagonal) and genetic identities (above diagonal) in 12 species of *P. discolor* materials based on ISSR analysis

NO.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	***	0.695 3	0.679 7	0.632 8	0.734 4	0.648 4	0.609 4	0.656 2	0.656 2	0.601 6	0.648 4	0.609 4
2	0.363 4	***	0.812 5	0.640 6	0.679 7	0.781 2	0.742 2	0.679 7	0.679 7	0.656 2	0.703 1	0.585 9
3	0.386 1	0.207 6	***	0.656 2	0.679 7	0.703 1	0.695 3	0.679 7	0.679 7	0.691 9	0.671 9	0.601 6
4	0.457 6	0.445 3	0.421 2	***	0.632 8	0.671 9	0.679 7	0.804 7	0.648 4	0.640 6	0.718 8	0.648 4
5	0.308 7	0.386 1	0.386 1	0.457 6	***	0.695 3	0.640 6	0.703 1	0.718 8	0.664 1	0.648 4	0.532 1
6	0.433 2	0.246 9	0.352 2	0.397 7	0.363 4	***	0.726 6	0.664 1	0.710 9	0.703 1	0.750 0	0.585 9
7	0.495 3	0.298 2	0.363 4	0.386 1	0.445 3	0.319 4	***	0.671 9	0.781 2	0.710 9	0.835 9	0.687 5
8	0.421 2	0.386 1	0.386 1	0.217 3	0.352 2	0.409 4	0.397 7	***	0.703 1	0.648 4	0.695 3	0.5781
9	0.421 2	0.386 1	0.386 1	0.433 2	0.330 2	0.341 2	0.246 9	0.352 2	***	0.757 8	0.742 2	0.640 6
10	0.508 2	0.421 2	0.397 7	0.445 3	0.409 4	0.352 2	0.241 2	0.433 2	0.277 3	***	0.750 0	0.632 8
11	0.433 2	0.352 2	0.397 7	0.330 2	0.433 2	0.287 7	0.179 2	0.363 4	0.298 2	0.287 7	***	0.648 4
12	0.495 3	0.534 5	0.508 2	0.433 2	0.632 5	0.534 5	0.374 7	0.548 0	0.445 3	0.457 6	0.433 2	***

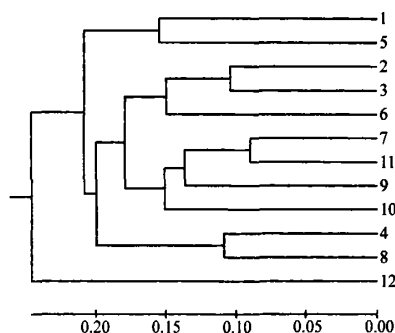


图3 12份翻白草材料基于ISSR遗传距离系数的聚类图

Fig. 3 UPGMA Dendrogram of 12 species of *P. discolor* materials from ISSR genetic distances

3 讨论

ISSR分析具有技术操作简单、成本低、条件稳定、快速、灵敏、检测多态能力强、所需DNA模板量少等优点^[5],目前已广泛应用于药用植物的育种、资源评定、多样性保护、亲缘关系鉴定、品种鉴定等方面,对于药用植物的利用、开发及保护起到了重要的作用^[6]。

从ISSR-PCR扩增和聚类分析的结果来看,来自不同产地的12份翻白草种质的遗传多样性为78.91%,各种质间遗传相似系数均在60%~80%,表明供试材料之间的亲缘关系较远。许多遗传表明,遗传多样性的高低与温度、干扰、生境复杂程度等因素相关,翻白草没有大量人工栽培,多数为野生,各地之间很少存在引种的现象,生境由于地理位置的不同而有所不同,所以聚类分析结果存在一定的地理界限。

Hamrick和Godt^[7]通过统计学验证表明,在物种水平上影响遗传变异的因素依次为:分类地位、分布范围、生活史、繁育系统和种子散播机制;而在居群水平上,影响因素依次为:繁育系统、分布范围、生

活史、分类地位和种子散播机制。翻白草主要进行的是有性繁殖,其花具有引诱昆虫传粉的特征,而且居群规模大,密度高,风媒传粉效率高,因此相同地区的翻白草居群间的差异不大,其差异来自翻白草不同的分布范围。遗传关系最近的为湖南省怀化溆浦7、11号材料,其次湖北省大悟县白云镇的4号和湖北省大悟县城关镇的8号也聚成一小类,最后湖南省株洲攸县岭北坪村的2号材料、湖南省株洲攸县平阳庙的3号和湖南省株洲攸县高枧乡高枧村的6号材料聚成一类,因此聚类结果有了明显的地域差异。湖南邵阳的1号材料和湖南衡阳衡山的5号材料聚成一类,推测与两地都属于湘南地区有关。北京中科院的12号材料单独聚成一大类,有明显的地理界限。各个不同地区的翻白草在植株形态上几乎无差别,遗传距离系数与聚类分析表明,ISSR分子标记技术可将翻白草供试的全部材料区分开来,同时也进一步阐明了翻白草种质资源在分子水平上确实存在遗传差异,为翻白草种质资源的保护提供遗传基础。需要指出的是,本研究材料的采集不够广泛,大部分采自湖南地区,要探明翻白草的遗传关系和地理位置及生境的规律还需进一步的研究。

参考文献:

- [1] 宋立人,洪恂,丁绪亮,等.现代中药学大辞典[M].北京:人民卫生出版社,2001.
- [2] 邹俊利.翻白草的研究进展[J].黑龙江医药科学,2006,29(4):104-105.
- [3] Zietkiewicz E, Rafalski A, Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR) anchored polymerase chain reaction amplification[J]. *Genomics*, 1994, 20: 176-183.
- [4] 张俭,伍贤进,谭运兰,等.翻白草营养成分及部分药用成分的测定与分析[J].食品科技,2006,9:237-239.
- [5] 张青林,罗正荣. ISSR及其在果树上的应用[J].果树学报,2004,21(1):54-58.
- [6] 温海霞,蔡家利,邹姝姝. DNA分子标记在药用植物中的应用[J].细胞生物学杂志,2005,27:153-156.
- [7] Hamrick J L, Godt M J W, Sherman-Broyles S L. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species[J]. *New Forest*, 1992, 6: 95-124.

(上接第747页)

参考文献:

- [1] 吕丽红,赵余庆. 苦瓜的降血糖作用及活性成分的研究[J]. 中药材,2002,25(6):449-451.
- [2] 潘辉,赵余庆. 苦瓜化学成分研究进展[J]. 中药研究与信息,2005,7(7):24-26.
- [3] 潘辉,赵余庆. 苦瓜中皂(甾)苷类化学成分的研究[J]. 亚太传统医药,2006,(1):65-72.
- [4] 王先远,金宏,许志勤. 苦瓜总皂苷降血糖作用及其机制

初探[J]. 氨基酸和生物资源,2001,23(3):42-45.

- [5] 王梅芳,竺叶青. 中药及其复方制剂治疗Ⅱ型糖尿病的研究概况[J]. 中成药,2001,23(4):281-285.
- [6] 柴瑞华,肖春莹,赵余庆. 苦瓜总皂苷降血糖作用的研究[J]. 中草药,2007,38(2):248-250.
- [7] 徐叔云,卞如廉,陈修. 药理实验方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,1994.
- [8] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,1993.

12种翻白草种质资源遗传多样性的ISSR分析

作者：[罗玥洁](#), [伍贤进](#), [彭帅](#), [刘选明](#), [LUO Yue-ji](#), [WU Xian-jin](#), [PENG Shuai](#), [LIU Xuan-ming](#)

作者单位：[罗玥洁, 彭帅, 刘选明, LUO Yue-ji, PENG Shuai, LIU Xuan-ming\(湖南大学生命科学与技术研究院生物能源与材料研究中心, 湖南, 长沙410082\)](#), [伍贤进, WU Xian-jin\(怀化学院生物工程系, 湖南, 怀化418008\)](#)

刊名：[中草药](#) **ISTIC** **PKU**

英文刊名：[CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)

年, 卷(期): 2008, 39 (5)

被引用次数: 10次

参考文献(7条)

1. 宋立人;洪恂;丁绪亮 [现代中药学大辞典](#) 2001
2. 邹俊利 [翻白草的研究进展](#)[期刊论文]-[黑龙江医药科学](#) 2006 (04)
3. Zietkiewicz E;RMalski A;Labuda D [Genome fingerprinting by simple sequence repeat \(SSR\) anchored polymerase chain reaction amplification](#)[外文期刊] 1994
4. 张俭;伍贤进;谭运兰 [翻白草营养成分及部分药用成分的测定与分析](#)[期刊论文]-[食品科技](#) 2006 (09)
5. 张青林;罗正荣 [ISSR及其在果树上的应用](#)[期刊论文]-[果树学报](#) 2004 (01)
6. 温海霞;蔡家利;邹姝姝 [DNA分子标记在药用植物中的应用](#)[期刊论文]-[细胞生物学杂志](#) 2005 (2)
7. Hamriek J L;Godt M J W;Sherman-Broyles S L [Factors influencing levels of genetic diveristy in woody plant species](#)[外文期刊] 1992

本文读者也读过(10条)

1. [罗玥洁](#). [伍贤进](#). [彭帅](#). [刘选明](#) [翻白草总DNA的提取与ISSR-PCR体系的建立与优化](#)[期刊论文]-[安徽农业科学](#) 2008, 36 (3)
2. [罗群](#). [马丹炜](#). [王跃华](#). [LUO Qun](#). [MA Dan-wei](#). [WANG Yue-hua](#) [川乌遗传多样性的ISSR鉴定](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2006, 37 (10)
3. [郭新民](#). [于松涛](#). [GUO Xin-min](#). [Yu Song-tao](#) [翻白草合剂对2型糖尿病大鼠海马神经生长因子及神经纤维蛋白含量的影响](#)[期刊论文]-[中国临床康复](#) 2005, 9 (11)
4. [王少琴](#) [白头翁及其习用品的鉴别](#)[期刊论文]-[时珍国医国药](#) 2001, 12 (5)
5. [伍贤进](#). [毛倩](#). [刘胜贵](#). [李胜华](#). [牛友芽](#). [张俭](#). [XU Xian-jin](#). [MAO Qian](#). [HU Sheng-gui](#). [LI Sheng-hua](#). [NIU You-ya](#). [ZHANG Jian](#) [翻白草提取物的抑菌作用研究](#)[期刊论文]-[辽宁中医杂志](#) 2007, 34 (9)
6. [张俭](#). [李胜华](#). [胡浩](#). [刘立中](#). [唐优良](#). [伍贤进](#). [ZITANG Jian](#). [LI Sheng-hua](#). [HU Hao](#). [LIU Li-zhong](#). [TANG You-liang](#) . [WU Xian-jin](#) [翻白草活性成分的萃取](#)[期刊论文]-[食品工业科技](#) 2008, 29 (3)
7. [毕博](#). [牛春林](#). [包京姗](#). [徐大卫](#). [杨世海](#). [BI Bo](#). [NIU Chun-lin](#). [BAO Jing-shan](#). [XU Da-wei](#). [YANG Shi-hai](#) [翻白草化学成分研究](#)[期刊论文]-[吉林农业大学学报](#) 2010, 32 (4)
8. [刘金环](#). [阮维国](#) [翻白草水煎剂中微量元素研究](#)[期刊论文]-[河北大学学报\(自然科学版\)](#) 2003, 23 (3)
9. [卢国志](#). [刘选明](#) [墨兰无土栽培](#)[期刊论文]-[中国花卉园艺](#) 2011 (2)
10. [赵藏朵](#). [王秀霞](#). [冯赞红](#) [翻白草引起过敏反应2例](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2002, 33 (3)

引证文献(10条)

1. [思彬彬](#). [王镇](#) [ISSR-PCR分子标记法鉴别宁杞1号与雄性不育枸杞](#)[期刊论文]-[安徽农业科学](#) 2011 (14)
2. [思彬彬](#). [石巧层](#) [藤三七ISSR-PCR反应体系的建立与优化](#)[期刊论文]-[安徽农业科学](#) 2012 (2)

3. 思彬彬, 赵海燕, 刘海涛 [白花与紫花丁香ISSR-PCR鉴别研究](#) [期刊论文] - [安徽农业科学](#) 2012 (32)
4. 思彬彬, 张靠稳, 刘国迪 [采用ISSR-PCR分子标记法鉴别黑果枸杞与雄性不育枸杞](#) [期刊论文] - [安徽农业科学](#) 2012 (33)
5. 思彬彬, 刘明丽 [桑叶ISSR-PCR反应体系的建立与优化](#) [期刊论文] - [安徽农业科学](#) 2012 (3)
6. 思彬彬, 赵海燕, 热汗始·阿布都 [宁夏枸杞ISSR-PCR反应体系的建立与优化](#) [期刊论文] - [江苏农业科学](#) 2011 (5)
7. 廖丽, 郭巧生 [夏枯草ISSR分子标记技术的建立与体系优化](#) [期刊论文] - [中草药](#) 2009 (7)
8. 张红瑞, 马彦秋, 高致明, 王文全 [黄芩种质资源的ISSR分析](#) [期刊论文] - [河南农业大学学报](#) 2012 (4)
9. 张春平, 何平, 何俊星, 类淑桐, 胡世俊 [ISSR分子标记对金荞麦8个野生居群的遗传多样性分析](#) [期刊论文] - [中草药](#) 2010 (9)
10. 杨生超, 文国松, 刘雪玲, 杨永建, 李元, 孟珍贵, 杨建文 [灯盏花种质资源遗传关系的ISSR分析](#) [期刊论文] - [中草药](#) 2010 (9)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200805037.aspx