

# 高丹草种质资源 SRAP 指纹图谱构建及遗传多样性分析

刘丹丹<sup>1</sup>, 逯晓萍<sup>1</sup>, 张瑞霞<sup>2</sup>, 温莹<sup>1</sup>, 薛春雷<sup>1</sup>, 杨凯<sup>1</sup>, 任锐<sup>1</sup>, 王亚男<sup>1</sup>, 韩平安<sup>1</sup>

(1. 内蒙古农业大学 农学院, 内蒙古 呼和浩特 010019; 2. 呼和浩特市种子管理站, 内蒙古 呼和浩特 010020)

**摘要:**利用 SRAP 分子标记技术构建了 22 份高丹草品种的指纹图谱。该指纹图谱可以准确区分供试的所有 22 个高丹草品种, 置信概率达到 99.9999%, 为高丹草品种划分提供了基础。利用筛选出的 19 个多态性较好的 SRAP 引物组合对 22 个高丹草品种进行遗传多样性分析鉴定, 共扩增出 450 个位点, 其中多态性位点 369 个; 平均每个引物组合产生 23.6 个位点和 19.4 个多态性位点, 平均多态性水平为 82.2%。通过采用 UPGMA 方法进行聚类分析, 遗传相似系数在 0.66~0.94 之间, 以遗传相似系数 0.674 为阈值, 可将供试材料分为 2 个类群。

**关键词:**高丹草; 指纹图谱; 遗传多样性; SRAP

中图分类号:S544 文献标识码:A 文章编号:1000-7091(2012)02-0072-05

## Fingerprint Construction and Genetic Diversity Analysis of Sorghum × Sudan Grass by SRAP Markers

LIU Dan-dan<sup>1</sup>, LU Xiao-ping<sup>1</sup>, ZHANG Rui-xia<sup>2</sup>, WEN Ying<sup>1</sup>, XUE Chun-lei<sup>1</sup>, YANG Kai<sup>1</sup>,  
REN Rui<sup>1</sup>, WANG Ya-nan<sup>1</sup>, HAN Ping-an<sup>1</sup>

(1. College of Agronomy, Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot 010019, China;

2. Seeds Administration of Huhhot, Huhhot 010020, China)

**Abstract:** The DNA fingerprint of 22 Sorghum Sudan grass varieties was established by using Sequence-Related Amplified Polymorphism markers (SRAP), with 99.9999% probability of confidence. Using 19 SRAP primer combinations which were selected with abundant polymorphic to analyze genetic diversity among 22 Sorghum Sudan grass. A total of 450 bands were scored by the primer, 373 out of them were polymorphic, with an average of 23.6 bands and 19.6 polymorphic bands for each primer combination. The percentage of polymorphic loci was 82.9%. According to the genetic similarity coefficient among different strains and Un-weighted Pair-Group Method Arithmetic Average (UPGMA), Genetic similarities among the 22 Sorghum Sudan grass varieties ranged from 0.43 to 0.93 with an average of 0.66. With the similarity coefficient criteria of 0.674 these 22 accessions were clustered into 2 major groups. The cluster analysis showed that cluster I could be classified into 3 sub-clusters. The results verified very high discrimination ability of SRAP markers, moreover, considering its simple, stable, codominant and well-proportioned distribution, conclusion could be made that SRAP might be a potentially useful marker technique and supplement for SSR in Sorghum Sudan grass hybrid identification. The fingerprinting pattern produced by this study could be applied for identification of the studied genotypes.

**Key words:** Sorghum Sudan grass; Fingerprint; Gene diversity; SRAP

高丹草是高粱 [*Sorghum bicolor* (L. Moench)] 与苏丹草 [*Sorghum sudanense* (Piper Stapf)] 杂交产生的 F<sub>1</sub> 杂交种, 具有很强的杂种优势<sup>[1-3]</sup>, 既耐热, 又

耐寒, 而且抗旱性也强, 同时具有营养价值高、氢氰酸含量低、适口性好、消化率高等优良特性, 是一种综合农艺性状优良的一年生饲用牧草<sup>[4]</sup>。

收稿日期: 2011-12-11

基金项目: 国家自然科学基金 (31160302)

作者简介: 刘丹丹 (1986-), 女, 内蒙古通辽人, 在读硕士, 主要从事作物种质资源研究。

通讯作者: 逯晓萍 (1960-), 女, 内蒙古呼和浩特人, 教授, 博士, 博士生导师, 主要从事植物遗传育种及生物技术研究。

近年来,国内外在高丹草育种方面的研究很多。例如:加拿大育成了佳宝;日本育成了高产优质多抗的格林埃斯;国内育成了高丹草—天农青饲 1 号<sup>[5]</sup>、皖草 2 号<sup>[6]</sup>、皖草 3 号<sup>[7]</sup>、蒙农青饲 1 号、蒙农青饲 2 号和蒙农青饲 3 号<sup>[8]</sup>等,这些新品种在生产中发挥着重大作用。

作物种质材料的身份鉴定与遗传相关性的信息对育种亲本的选择、遗传多样性的维持及杂种优势群的划分等具有重要的意义<sup>[9-10]</sup>。目前,高丹草品种间的区分工作主要通过考察农艺及形态性状和 DNA 分子标记分析这 2 种方法来进行。然而,前者具有易受环境影响、耗时和主观性强的缺点,因而,考察结果与实际表现间往往存在比较大的差异。DNA 分子标记不受环境条件的影响,非常适合进行此类研究<sup>[11]</sup>。

SRAP(Sequence-related amplified polymorphism)是一种基于 PCR 技术的分子标记。最早由美国加州大学蔬菜系 Li 与 Quiros 博士于 2001 年在芸薹属植物上开发出来<sup>[12]</sup>。SRAP 标记的核心之一是针对基因外显子中 G、C 含量丰富,而启动子和内含子中 A、T 含量丰富的特点,设计独特的一对引物以便特异地扩增开放阅读框(ORFs)。在不同物种及个体中,因外显子、内含子、启动子与间隔区长度变化较大,因此,设计以上结构特征的引物对进行 PCR 扩增,使之产生丰富的多态性。SRAP 标记的另一核心就是采用复性变温法来进行扩增,即开始的 5 个循环中复性时采用 35℃ 的低温以确保引物与靶序列的配对,之后的 35 个循环中则将复性温度提高至 53℃,以确保指数式扩增<sup>[13]</sup>。

SRAP 标记技术具有稳定性高、简便快捷、多态性差异显著、重复性好、费用相对低廉、易于分离条带及测序等优点<sup>[14]</sup>,适合遗传图谱构建、基因定位、基因克隆等生物学研究。目前,其已在水稻、小麦、玉米、棉花、番茄、马铃薯、柑橘、大蒜、辣椒、黄瓜和拟南芥等植物研究中得到成功应用。截至目前,尚未看到有 SRAP 技术在高丹草研究工作中应用的相关报道。

本研究首次利用 SRAP 标记技术对 22 个高丹草种质材料进行鉴定和遗传相关性分析,旨在探讨 SRAP 技术用于高丹草品种鉴定的可行性,并筛选出优良引物组合,构建其指纹图谱,为高丹草种质材料的鉴定工作提供依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

本试验选用的高丹草种质材料为本研究室近年选育出的已通过认定和正在参试以及表现优良的组

合后代材料,共计 22 个。具体如表 1 所示。

表 1 品种名称及编号

Tab. 1 Name and code of varieties

编号 Code	品种 Varieties	编号 Code	品种 Varieties
1	11A × 黑壳苏丹草	12	2397A × GZ-92
2	11A × 白壳苏丹草	13	2397A × GZ-12
3	11A × GZ-92	14	13A × 21
4	11A × GZ-142	15	13A × GZ-126
5	11A × GZ-12	16	13A × GZ-49
6	11A × GZ-183	17	13A × GZ-12
7	11A × GZ-40	18	314A × GZ-186
8	2397A × 黑壳苏丹草	19	314A × 21
9	2397A × 白壳苏丹草	20	314A × GZ-126
10	2397A × 21	21	314A × GZ-92
11	2397A × GZ-126	22	314A × GZ-49

### 1.2 试验方法

1.2.1 DNA 的提取及检测 采用试剂盒法提取高丹草叶片的基因组 DNA,用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的完整性及浓度,将检测好的基因组 DNA 稀释到 50 ng/μL,保存于 -20℃ 冰箱备用。

1.2.2 SRAP 反应程序 SRAP-PCR 扩增反应采用 20 μL 体系:其中,包括 Mg<sup>2+</sup> 2.5 μL, dNTP 2.5 μL, 10 × Buffer 2.5 μL, Taq 酶 0.25 U,上下游引物各 0.25 mmol/L,高丹草基因组 DNA 2.0 μL,其余部分用 ddH<sub>2</sub>O 补齐。扩增程序为:94℃ 预变性 5 min; 94℃ 变性 1 min, 35℃ 退火 1 min, 72℃ 延伸 1.5 min, 5 个循环; 94℃ 变性 1 min, 53℃ 退火 1 min, 72℃ 延伸 1.5 min, 35 个循环; 72℃ 充分延伸 10 min; 4℃ 保存。

扩增产物用 6% 变性聚丙烯酰胺凝胶(PAGE)分离,电泳介质为 1 × TBE 缓冲液,加样量为 8.5 μL,在 70 W 功率下电泳 2 h。电泳后采用银染法进行染色,将所得胶板照相,并记录试验结果。

1.2.3 引物筛选 按照 Li<sup>[12]</sup>提出的原则所设计的引物由上海生工合成。本研究中所用的引物名称及其核苷酸序列如表 2 所示。经过对上下游引物的随机组合得到 110 对引物,选用 4 个有代表性的高丹草品种对 110 对 SRAP 引物组合进行多态性筛选<sup>[15]</sup>。经过对所有 110 对引物的筛选,最终筛选出多态性好的引物组合,然后对 22 个高丹草材料进行 PCR 扩增。

### 1.3 数据处理与分析

按照扩增条带的有、无分别记为 1、0,本试验只选用 100 ~ 2 000 bp 间易于识别的带进行记分。用统计软件 NTSYS-2.10 计算遗传相似系数,运用 UP-GAM(类平均法)进行聚类分析,生成聚类分析树状图,评价群体的遗传多样性。根据指纹图谱出现的

概率公式  $P = 1/2^n$  ( $2$  为等位基因的数目,  $n$  为多态性位点数,  $2^n$  则为检测  $n$  个位点涉及的所有可能的试验材料个数) 统计图谱的置信概率<sup>[16]</sup>。

表 2 SRAP 引物及其序列

Tab.2 SRAP primer and their sequences

名称 Name	正向引物 Forward primer( 5′ - 3′)	名称 Name	反向引物 Reverse primer( 5′ - 3′)
me1	TGAGTCCAAACCGGATA	em1	GACTGCGTACGAATTAAT
me2	TGAGTCCAAACCGGAGC	em2	GACTGCGTACGAATTTGC
me3	TGAGTCCAAACCGGAAT	em3	GACTGCGTACGAATTGAC
me4	TGAGTCCAAACCGGACC	em4	GACTGCGTACGAATTTGA
me5	TGAGTCCAAACCGGAAG	em5	GACTGCGTACGAATTAAC
me6	TGAGTCCAAACOGGTAA	em6	GACTGCGTACGAATTGCA
me7	TGAGTCCAAACCGGTCC	em7	GACTGCGTACGAATTCAA
me8	TGAGTCCAAACCGGTGC	em8	GACTGCGTACGAATTCTG
me9	TGAGTCCAAACCGGACA	em9	GACTGCGTACGAATTCGA
me10	TGAGTCCAAACCGGACG	em10	GACTGCGTACGAATTCAG
		em11	GACTGCGTACGAATTCCA

2 结果与分析

2.1 DNA 检测结果

采用试剂盒法提取得到高丹草叶片的基因组 DNA, 经 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测后, DNA 电泳条带清晰, 亮度均一, 浓度适中, 符合后续试验对 DNA 纯度和质量的要求。

表 3 SRAP 引物扩增情况

Tab.3 PCR results amplified by  
SRAP primer combinations

序号 Code	引物组合 Primer combination	总条带数/条 Total band	多态性条 带数/条 Polymorphic band	多态性比例/% Ratio of polymorphic band
1	me3/em3	26	20	76.9
2	me3/em4	23	20	87.0
3	me4/em3	20	17	85.0
4	me4/em4	26	20	76.9
5	me4/em7	29	22	75.9
6	me5/em4	26	22	84.6
7	me5/em7	21	18	85.7
7	me6/em4	23	19	82.6
9	me6/em8	23	18	78.3
10	me8/em3	19	16	84.2
11	me8/em5	23	20	86.9
12	me8/em9	20	17	85.0
13	me8/em10	26	21	80.8
14	me9/em4	25	19	76.0
15	me9/em5	25	21	84.0
16	me9/em10	20	17	85.0
17	me9/em11	23	20	86.9
18	me10/em4	26	20	76.9
19	me10/em5	26	22	84.6
总计 Total		450	369	-
平均 Average		23.6	19.4	82.2
范围 Range		19 ~ 29	16 ~ 22	75.9 ~ 87.0

2.2 SRAP 引物检测结果

选用 4 个有代表性的高丹草品种对 110 对 SRAP 引物组合进行多态性筛选, 最终筛选出了 19 对多态性较好的引物组合。

2.3 SRAP 标记的多态性分析

本试验中, 利用 19 个 SRAP 引物组合对 22 个高丹草品种进行扩增, 扩增片段大小在 100 ~ 2 000 bp。在此区间范围内, 各引物组合均产生了清晰可辨的指纹图谱, 共扩增出 450 个位点, 其中多态性位点 369 个, 平均多态性水平为 82.2%。各个引物组合扩增出的位点 19 ~ 29 不等, 多态性位点 16 ~ 22 不等, 平均每个引物组合产生 23.6 个位点和 19.4 个多态性位点。多态性频率为 75.9% (me4/em7) ~ 87.0% (me3/em4), 具体扩增结果见表 3。

其中, 引物组合 me3/em4 检测的多态性水平最高(图 1), 该引物组合共扩增出 23 条清晰可见的谱带, 其中包括多态性谱带 20 条, 能有效地将 22 个高丹草品种区分开来。由此可以看出, SRAP 标记多态性差异显著, 具有较强的分辨能力, 适于遗传图谱

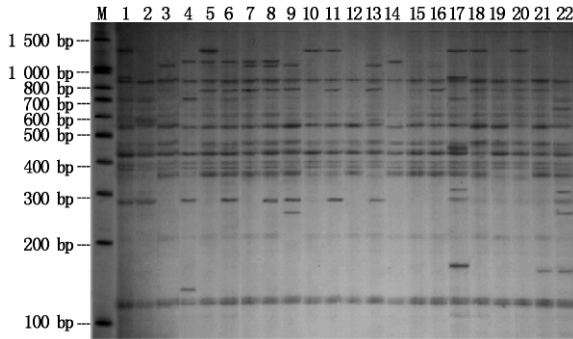


图 1 引物组合 me3/em4 扩增 22 个高丹草品种的结果

Fig.1 DNA fragments amplified by SRAP primer  
combination me3/em4 of 22 Sorghum × Sudan grass varieties

构建等生物学研究。

2.4 SRAP 指纹图谱的构建

在具有多态性的 19 个引物组合中,选取了带型清晰稳定、多态性水平最高且重复性最好的引物组合 me3/em4(图 1) 构建了 22 个高丹草的指纹图谱。将该引物所扩增出条带的有、无分别用 1 0 表示,从而将以上片段数字化(表 4) 构成对应身份证号码。

表 4 22 个高丹草品种的 DNA 数字指纹图谱(me3/em4)

Tab.4 DNA fingerprint binary codes of the 22 Sorghum × Sudan grass varieties (me3/em4)

编号 Code	名称 Name	号码 DNA fingerprint codes
1	11A × 黑壳苏丹草	10011011011011001000010
2	11A × 白壳苏丹草	00001011111011001000010
3	11A × GZ-92	00101001011010100010010
4	11A × GZ-42	01001010010010001010111
5	11A × GZ-442	11001100011011100010011
6	11A × GZ-483	01001110011011101010011
7	11A × GZ-40	01101110011010100010010
8	2397A × 黑壳苏丹草	01101100011011101010010
9	2397A × 白壳苏丹草	00101100011011001100010
10	2397A × 21	10001000010011100010010
11	2397A × GZ-426	10001100010011001010010
12	2397A × GZ-92	00001000010011100010010
13	2397A × GZ-42	00101100011011001010010
14	13A × 21	01001000011010100010010
15	13A × GZ-426	00001000011011100010010
16	13A × GZ-49	00001100011011100010010
17	13A × GZ-42	10011010011111111011011
18	314A × GZ-486	10001100011011100010011
19	314A × 21	00011010010110000100100
20	314A × GZ-426	10001101011011000010010
21	314A × GZ-92	00001101011011100011010
22	314A × GZ-49	00001010011011111101011

根据数理统计理论,每个样本指纹图谱出现的概率  $P = 1/2^n$ ,  $n$  为 SRAP 标记引物扩增位点的数目。本试验中引物 me3/em4 共扩增出 23 条带,则出现相同指纹图谱的概率  $P = 1/2^{23}$ ,即在  $2^{23} = 2097152$  份高丹草品种中才有可能出现 2 个品种的指纹图谱完全相同,置信概率达到 99.9999%,该指纹图谱可以检测其中任意一个品种。因此,SRAP 标记技术具有稳定性高、重复性好、分辨率高、多态性差异显著等优点。

2.5 SRAP 标记的品种间聚类分析

用 NTSYS 软件系统,对 22 个高丹草品种全部多态性位点进行聚类分析,遗传相似系数范围在 0.66 ~ 0.94 之间,按 UPGMA 法进行聚类分析,获得了聚类图(图 2),图 2 中所示的具体材料名称及遗传相似系数范围见表 5。

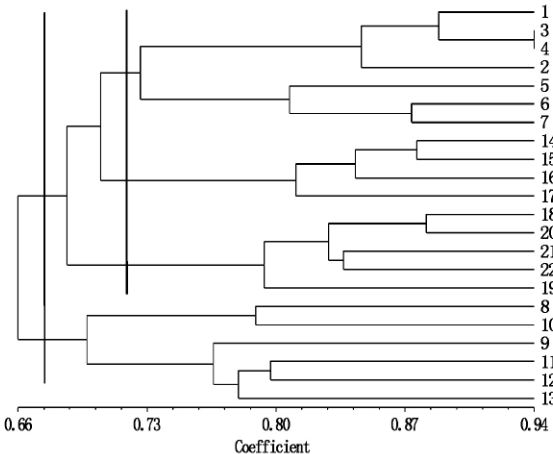


图 2 22 个高丹草品种的 SRAP 分析聚类图  
Fig. 2 Dendrogram of 22 Sorghum × Sudan grass varieties based on SRAP markers

表 5 聚类结果及遗传相似系数

Tab.5 Cluster results using UPGMA and GS between groups

种质类群 Group	材料名称 Name of varieties	遗传相似系数范围 Coefficient of GS
I	i. 11A × 黑壳苏丹草、11A × 白壳苏丹草、11A × GZ-92、11A × GZ-42、11A × GZ-442、11A × GZ-483、11A × GZ-40	0.69 ~ 0.94
	ii. 13A × 21、13A × GZ-426、13A × GZ-49、13A × GZ-42	0.79 ~ 0.88
	iii. 314A × GZ-486、314A × 21、314A × GZ-426、314A × GZ-92、314A × GZ-49	0.77 ~ 0.88
II	2397A × 黑壳苏丹草、2397A × 白壳苏丹草、2397A × 21、2397A × GZ-426、2397A × GZ-92、2397A × GZ-42	0.66 ~ 0.80

从聚类结果可以明显看出,以遗传相似系数 0.674 为阈值,可将群体中的高丹草品种分为 2 个种质群体。其中,群体 I 在阈值为 0.716 时又可以分为 3 个亚群,各亚群所包含材料分别为: i 以 11A 为母本的 7 个材料、ii 以 13A 为母本的 4 个材料、iii 以 314A 为母本的 5 个材料;群体 II 为以 2397A 为母本的 6 个材料。说明亚群 i、ii、iii 之间亲缘关系

比较近,亲本间遗传差异不够丰富。

3 讨论

理想的分子标记应具有多态性高;稳定性和重复性好;谱带清晰,统计容易;在染色体上分布均匀;中性;共显性;简单快速;开发和使用成本低廉等特点。SRAP 具备了上述作为理想标记方法的特

点<sup>[17]</sup>。首先,SRAP 分子标记操作简便,对 DNA 数量及质量要求不高;该分子标记上下游引物可自由组合,减少了引物合成费用,引物开发比较容易,不存在种属特异性;提高了利用率;另外,该分子标记正向引物设计的目的是为了特异结合开放阅读框(ORFs)中的转录序列外显子,提供的信息更接近于形态学性状的差异。因此,SRAP 与其他分子标记方法相比,更适用于高丹草指纹图谱的构建。

DNA 指纹图谱是建立在 DNA 分子标记技术基础上的,能够鉴别生物个体之间差异的 DNA 电泳图谱。这种电泳图谱具有高度的个体特异性和环境稳定性,多态性丰富,是鉴别品种、品系的有力工具,具有快速、准确等优点<sup>[18]</sup>。因此,可以将 SRAP 标记构建的数字指纹图谱和传统的高丹草品种鉴定的形态学方法有机地结合起来,建立真正的 DNA 指纹身份证,以补充和完善高丹草品种鉴定的标准。

由聚类分析树状图可以发现,供试的高丹草品种遗传基础比较狭窄,说明亲本间遗传差异不够丰富。因此,在杂交育种工作中要注重选择一些遗传差异较大的亲本进行杂交,以增加品种间的遗传差异及提高后代的优良基因聚合。

为保证构建的指纹图谱在品种鉴别时的稳定性,本研究对用于构建指纹图谱的核心引物进行了严格筛选,均经过了 3 次以上的重复试验,保证了构建的指纹图谱的准确性。高丹草数字指纹图谱的建立,将有利于鉴别高丹草品种的唯一性和特异性,进而有助于高丹草品种的保护和充分利用。这对高丹草群体遗传结构、生态与进化、品种分类等研究工作起到了重要的作用。

## 4 结论

本研究利用 SRAP 分子标记技术构建了 22 份高丹草品种的指纹图谱,并对其进行了遗传多样性分析鉴定。由引物组合 me3/em4 得到的高丹草数字指纹图谱可以准确区分供试材料中的任意一个品种,置信概率达到 99.9999%,为高丹草的品种鉴定开辟了新的技术途径。利用 19 个多态性较好的 SRAP 引物组合共扩增出 450 个位点,其中多态性位点 369 个,平均多态性水平为 82.2%。对全部多态性位点进行聚类分析,遗传相似系数在 0.66 ~ 0.94 之间,平均值为 0.78,以遗传相似系数 0.674 为阈值,可将供试材料按照亲缘关系的远近清晰的分为 2 个类群;其中群体 I 在阈值为 0.716 时又可以分为 3 个亚群。SRAP 分子标记技术对研究高丹草群体遗传结构、生态与进化、品种分类等具有重要的作用,同时为高丹草品种鉴定、遗传改良和分子标

记辅助育种奠定了分子生物学基础。

## 参考文献:

- [1] 逯晓萍,云锦凤,张雅慧,等.高丹草重组自交系群体的遗传变异与高产种质的创新[J].华北农学报,2009,24(5):90-95.
- [2] 逯晓萍,云锦凤,米福贵,等.基于性状和分子标记的高丹草近等基因系的分离研究[J].中国农业科学,2010,43(3):468-473.
- [3] Lu Xiao-ping, Yun Jin-feng, Gao Cui-ping. QTL Analysis of Economically Important Traits in *Sorghum bicolor* × *S. sudanense* hybrid [J]. Canadian Journal of Plant Science 2011, 91: 81-90.
- [4] 钱章强.利用高粱雄性不育系选育饲单新品种[J].中国草地,1990(6):61.
- [5] 孙守钧.天农青饲 1 号饲用高粱[J].中国农业科技,2002(7):21.
- [6] 詹秋文,钱章强.高粱与苏丹草杂种优势利用的研究[J].作物学报,2004,30(1):73-77.
- [7] 詹秋文,林平,钱章强.皖草 3 号的选育及其特征特性[J].作物杂志,2006(4):35-36.
- [8] 赵娜.蒙农青饲 1、2、3 号与佳宝高丹草杂交后代主要性状研究[D].呼和浩特:内蒙古农业大学,2007.
- [9] Becelaere G V, Edward L L, Paterson A H, et al. DNA marker-based genetic similarity estimates in cotton [J]. Crop Sci 2005, 45: 2281-2287.
- [10] Menz M A, Klein R R, Unruh N C, et al. Genetic diversity of public inbred sorghum determined by mapped AFLP and SSR markers [J]. Crop Sci 2004, 44: 1236-1244.
- [11] 高建明.甜高粱重要种质材料的 SRAP 指纹分析[J].华北农学报,2010,25(2):93-98.
- [12] Li G, Quiros C F. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP): A new marker system based on a simple PCR reaction its application to mapping and gene tagging in *Brassica* [J]. Theor Appl Genet 2001, 103: 455-461.
- [13] Li G, Gao M, Yang B C, et al. Gene for gene alignment between the Brassica and Arabidopsis genomes by direct transcriptome mapping [J]. Theor Appl Genet, 2003, 107: 168-180.
- [14] 任羽,王得元,张银东,等.序列相关扩增多态性(SRAP)——一种新的分子标记技术[J].中国农学通报,2004(6):11-13.
- [15] 文雁成,王汉中. SRAP 和 SSR 标记构建的甘蓝型油菜品种指纹图谱比较[J].中国油料作物学报,2006,28(3):233-239.
- [16] 齐兰,王文泉.利用 SRAP 标记构建 18 个木薯品种的 DNA 指纹图谱[J].作物学报,2010,36(10):1642-1648.
- [17] Smith J S C, Smith O S, Bowen S L, et al. The description and assessment of distances between lines of Maize. III. A revised scheme for the testing of distinctness between inbred lines utilizing DNA RFLP [J]. Maydica, 1991, 36: 213-226.
- [18] 李长有. DNA 指纹技术的研究进展及应用[J].吉林师范大学学报:自然科学版,2004,25(2):56-58.