

· 资源与鉴定 ·

广金钱草化学诱变植株表型及 SRAP 遗传差异

唐晓敏, 程轩轩, 张春荣, 梅凌峰, 杨全*

(广东药科大学 中药学院, 国家中医药管理局岭南药材生产与开发重点实验室, 广州 510006)

[摘要] 目的:选育优良广金钱草品种(系)。方法:采用迭氮钠(NaN_3),甲基磺酸乙酯(EMS)和秋水仙素最佳剂量对广金钱草种子进行诱变处理,初步筛选出13株表型变异的广金钱草植株,对广金钱草变异植株及对照基因组DNA进行相关序列扩增多态性(SRAP)分析。结果:广金钱草在株高、地茎、分枝状况等方面发生大量变异;10对SRAP引物扩增出多态性条带3285个,平均每对引物扩增出328.5条带,多态性比例平均为96.45%,广金钱草化学诱变植株遗传相似系数范围0.326~0.476,遗传相似系数较低,表明经化学诱变剂处理后广金钱草在基因组水平上存在真实的遗传差异;相似性差异程度大小顺序为V-13 > V-7 > V-6 > V-11 > V-10 > V-12 > V-9 > V-8 > V-4 > V-5 > V-3 > V-2 > V-1,表明 NaN_3 在分子水平上对广金钱草的影响比EMS和秋水仙素小;化学诱变处理后广金钱草变异程度高于不同种源地的变异,进一步表明人工诱变育种可以缩短育种年限,提高突变率。结论:该研究揭示了广金钱草化学诱变株表型特异性和遗传多样性,筛选了一些特异资源,为高产优质广金钱草新品种(系)的选育提供重要的科学依据。

[关键词] 广金钱草; 化学诱变; 农艺性状; 相关序列扩增多态性分析

[中图分类号] R931.2; R282; R22; R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)04-0032-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2018040032

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20171125.1434.002.html>

[网络出版时间] 2017-11-25 14:34

Genetic Differences of Phenotype of Chemical Mutagen of *Desmodium styracifolium* and SRAP

TANG Xiao-min, CHENG Xuan-xuan, ZHANG Chun-rong, MEI Ling-feng, YANG Quan*
(College of Pharmacy, Key Laboratory for Production and Development of
Cantonese Medicinal Materials Under State Administration of Traditional Chinese Medicine,
Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To breed good varieties of *Desmodium styracifolium*. **Method:** Seeds of *D. styracifolium* were treated with chemical mutagens, including sodium azide (NaN_3), ethyl methyl sulfone (EMS) and colchicine. SRAP markers were used to conduct DNA molecular identification for the variants of *D. styracifolium* and the control plants. **Result:** There were a lot of macroscopic variations in plant height, basal diameter and branch numbers of *D. styracifolium*. A total of 3285 DNA bands were amplified from 10 pairs of primers, and the percentage of polymorphic bands was 96.45%. The genetic similarity coefficients of the variants ranged from 0.326 to 0.476, which were relatively low. This indicated true genetic differences between mutants and control materials of *D. styracifolium*. The degree of similarity differences from high to low was as follows: V-13 > V-7 > V-6 > V-11 > V-10 > V-12 > V-9 > V-8 > V-4 > V-5 > V-3 > V-2 > V-1. The molecular level effect of NaN_3 on

[收稿日期] 20170531(009)

[基金项目] 国家新兴产业重大工程包中药标准化项目(ZYY-2017-099)

[第一作者] 唐晓敏, 博士, 讲师, 从事中药材规范化生产研究, E-mail:txm1209@163.com

[通信作者] * 杨全, 博士, 教授, 从事道地药材道地性机制研究, E-mail:yangquan7208@vip.163.com

D. styracifolium was smaller than that of EMS and colchicine. After chemical mutagenesis, *D. styracifolium* showed a higher degree of morphological variation than varieties from other provenance. The results indicated that the artificially induced mutation breeding could shorten the breeding period and improve the mutation rate. **Conclusion:** The study clearly defines the phenotypic specificity and genetic diversity of *D. styracifolium* germplasms, and screened out some specific resources, in order to provide the important scientific basis for breeding high-yield and high-quality varieties of *D. styracifolium*.

[**Key words**] *Desmodium styracifolium*; chemical mutation; gronomic character; SRAP

广金钱草为豆科山蚂蝗属植物,以干燥地上部分入药,具有利湿退黄、利尿通淋的功效^[1]。随着广金钱草的广泛应用,其年消耗量越来越大,野生资源不能满足人们医疗保健的需要和制药企业对中药材原料的需求。开展人工种植,是缓和供求矛盾行之有效的方法,而进行优良种质筛选是获得优质高产药材的有效途径。目前,国内主要开展了广金钱草资源调查^[2-3]、种子质量及萌发特性^[4-5]、施肥^[6]及繁殖生物学^[7]等方面的研究,尚未见品种选育方面的报道,进行良种选育,提高药材质量和产量是生产上又一亟待解决的问题。化学诱变育种广泛应用于药用植物品种选育研究,并显示出良好的发展前景。如用甲基磺酸乙酯(EMS)处理枸杞^[8]、薏苡^[9]、长春花^[10]等获得优良变异体,经叠氮化钠(NaN_3)处理薄荷^[11]、甜叶菊^[12]增加了出现新变异的概率,秋水仙素诱导丹参^[13]、黄花蒿^[14]、细毡毛忍冬^[15]植物发生高产的多倍体变异。因此,本实验以选育优良种质为目标,开展广金钱草 NaN_3 、EMS和秋水仙素化学诱变及遗传多样性研究,为广金钱草诱变育种研究及利用提供参考。

1 材料

广金钱草干燥成熟种子购自广西玉林药材市场,经广东药科大学杨全教授鉴定为豆科植物广金钱草 *Desmodium styracifolium* 的种子。Q5000型微量紫外-可见分光光度计(美国 Quawell 公司),ABI 377型测序仪(美国应用生物系统公司),PTC-200型聚合酶链式反应(PCR)仪(美国伯乐公司)。

NaN_3 (天津百世化工有限公司,批号 140415),EMS(阿拉丁,批号 140424),秋水仙素(上海蓝季科技发展有限公司,批号 140416),*Taq* 酶(鼎国,批号 51E001500),dNTP(鼎国);尿素,丙稀酰胺,甲叉双丙烯酰胺(美国 Sigma 公司)。

2 方法

2.1 化学诱变处理 选取饱满的种子(4份,每份 3.0 g)室温下自来水浸种 24 h,吸胀后取出,用滤纸拭干,备用。依据课题组前期筛选的 3 种化学诱变

剂最佳诱变剂量及浸种时间^[16]作如下处理:3份种子分别用 1.5% NaN_3 浸种 3 h,1.5% EMS 浸种 8 h,0.1% 秋水仙素浸种 16 h。

2.2 栽培与田间管理 试验于广东药科大学药用植物园实验基地(113°42' E,22°52' N,海拔 43.4 m)进行。2015年3月18日,将经过化学诱变的广金钱草种子撒播育苗,随机选取幼苗各处理组 100株及对照组 10株,2015年6月1日移栽至花盆,每盆 1株。进行常规管理。

2.3 表型性状观测方法 以广金钱草株高、地茎、分枝数、叶形、叶色、叶面积等农艺性状作为观察指标。用卷尺测量主茎顶端距离基部的长度为株高;游标卡尺测定距基部 1 cm 处主茎的直径。分枝数为地上部分一级分枝(主茎上长出的枝条)的总数量。

2.4 DNA 提取与检测 9月6日上午 8:00 采集广金钱草变异植株及对照的幼嫩叶片若干,将叶片放入冰盒中带回实验室,用蒸馏水冲洗干净,吸水纸吸干水分,以 10 倍量的变色硅胶快速干燥,备用。采用改良十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)法^[17]提取叶片基因组总 DNA,用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测样品,紫外-可见分光光度计检测 DNA 的纯度及浓度。

2.5 PCR 扩增 选择正向、反向引物各 8 条,组成 64 对引物(由北京鼎国昌盛生物科技有限公司合成,批号 2015120853),具体序列见表 1。PCR 反应总体积为 25 μL ,其中模板 DNA 2 μL ,dNTPs 0.5 μL ,*Taq* 酶 0.5 μL ,10 × PCR buffer 2.5 μL ,正反向引物各 0.5 μL ,ddH₂O 18.5 μL ,PCR 扩增程序如下。扩增程序为:94 °C 预变性 5 min;94 °C 变性 1 min,35 °C 退火 1 min,72 °C 延伸 1 min,5 个循环;94 °C 变性 1 min,50 °C 退火 1 min,72 °C 延伸 1 min,35 个循环;循环结束后 72 °C 延伸 10 min,4 °C 保存,扩增反应在 PTC-200 型 PCR 仪上进行。

2.6 扩增产物检测及数据分析 由北京鼎国昌盛生物科技有限公司采用 ABI 377 测序仪在 4% 聚丙烯酰胺凝胶电泳检测和 DNA 条带扫描,制作电子化

表 1 SRAP 引物序列

Table 1 Sequence of SRAP primers

正向引物		反向引物	
编号	5'-3'	编号	5'-3'
Me1	TGAGTCCAAACCGGATA	Em1	GACTGCGTACGAATTAAT
Me2	TGAGTCCAAACCGGAGC	Em2	GACTGCGTACGAATTTGC
Me3	TGAGTCCAAACCGGAAT	Em3	GACTGCGTACGAATTGAC
Me4	TGAGTCCAAACCGGACC	Em4	GACTGCGTACGAATTTGA
Me5	TGAGTCCAAACCGGAAG	Em5	GACTGCGTACGAATTAAC
Me6	TGAGTCCAAACCGGTAA	Em6	GACTGCGTACGAATTGCA
Me7	TGAGTCCAAACCGGACA	Em7	GACTGCGTACGAATTCAA
Me8	TGAGTCCAAACCGGTGT	Em8	GACTGCGTACGAATTAGC

电泳图。

利用 ABI 377 型测序仪扫描样品胶图,通过 Binthere 软件提取样品的各片段大小,GENESCAN 3.1 软件分析扩增条带,每 2 个碱基读 1 次数,marker 片段范围为 70~500 bp,共读取 216 个数,按片段记录带的有无,有带记为“1”,无带记为“0”,利用 Excel 构建“0”和“1”原始矩阵。采用 NTSYSpc-2.11F 软件对进行数据分析。对原始矩阵用 SimQual 程序求 DICE 相似系数,并获得相似系数矩阵。用 SHAN 程序中的 UPGMA 进行聚类分析,并通过 Tree plot 模块生成聚类图。

3 结果与分析

3.1 不同化学诱变对广金钱草表型性状的影响

结果表明不同化学诱变剂处理后广金钱草植株叶形、叶色、叶面积并没有出现较大差异,故以差异较大的株高、地茎、分枝状况作为指标筛选突变植株。根据实验组及对照组(CK)生长状况,制定变异植株分级标准:株高 ≤ 60 cm 为矮化株,株高 ≥ 120 cm 为株高长植株;一级分枝数 ≥ 15 为分枝多植株;地茎 ≥ 10 mm 为地径粗植株。根据变异植株分级标准初步筛选出 13 株表型变异的广金钱草植株,见表 2。 NaN_3 处理组 V-1, V-4 株高 < 60 cm,分别是 38.0, 45.6 cm, V-4 一级分枝数达 22 个,故定义为分枝多、茎节短、矮化植株;V-3 地茎为 11.2 mm,定义为地径粗植株;V-5 一级分枝数最多,达到 25 个,株高较 V-4 长且未达到矮化标准,定义为分枝多植株;V-2 出现幼苗时分枝性状。EMS 处理组得到一株矮化株 V-6,株高为 59.7 cm; V-7 地茎为 11.78 mm,且幼苗期出现分枝,故定义为幼苗期分枝、地径粗植株;V-8 地茎为 11.02 mm,达到地径粗分级标准;V-9 长势较好,株高为 127.0 cm,地茎为 10.52 mm,定义为株高长、地径粗植株。秋水仙素

处理得到一株矮化株 V-10,株高为 47.2 cm; V-12 的株高达到 147.6 cm,为 CK 的 1.64 倍,定义为株高长植株;V-13 株高为 127.0 cm,地茎为 10.52 mm,一级分枝数为 12 个,定义为株高长、地径粗、分枝多植株,长势好;V-11 出现幼苗时分枝性状。

表 2 化学诱变剂对广金钱草农艺性状的影响

Table 2 Effects of chemical mutagen on agronomic characters of *Desmodium styracifolium*

分组	编号	株高 /cm	地径 /mm	一级分枝数/个	变异性状
CK	CK	97.6	7.96	7.8	正常株
NaN_3	V-1	38	8.02	4	矮化株
	V-2	114.5	9.92	12	幼苗时分枝
	V-3	104.3	11.2	12	地径粗
	V-4	45.6	9.4	22	分枝多、茎节短、矮化
	V-5	72.5	9.84	25	分枝多
EMS	V-6	59.7	7.92	9	矮化株
	V-7	90.2	11.78	8	幼苗时分枝、地径粗
	V-8	80.2	11.02	12	地径粗
	V-9	127	10.52	13	株高长、地径粗
秋水仙素	V-10	47.2	8.92	4	矮化株
	V-11	104.5	9.8	7	幼苗时分枝
	V-12	147.6	9.92	11	株高长
	V-13	127	13.14	14	株高长、地径粗、分枝多

3.2 DNA 浓度和纯度的检测

由图 1 可以看出,1% 琼脂糖凝胶电泳显示主带清晰而集中,表明广金钱草叶片总 DNA 质量较好,且无降解现象。紫外分光光度计检测的结果与琼脂糖凝胶电泳一致, A_{260}/A_{280} 比值均在 1.8~2.0,所提取的样品 DNA 纯度较高,无 RNA 和多糖等污染,符合 SRAP 分子标记技术实验的要求。

3.3 SRAP 分子标记分析

从 64 对引物中筛选出 10 对扩增条带清晰、稳定、多态性好的 SRAP 引物组合,对广金钱草化学诱变株进行 PCR 扩增,分析其多态性,引物组合 Me1-Em6 扩增图谱见图 2。

由图 2 可知,10 对引物均扩增出多态性条带,共扩增出 3 285 个 DNA 片段条带,各引物扩增的总条带数范围为 170~567 个。各引物组合扩增出的多态性比例很高,在 81.18%~100.00%,平均每对

M V-1 V-2 V-3 V-4 V-5 V-6 V-7 V-8 V-9 V-10 V-11 V-12 V-13

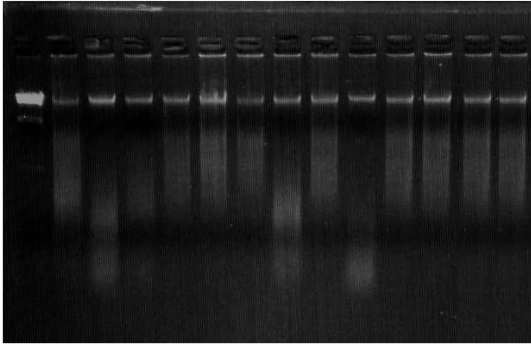
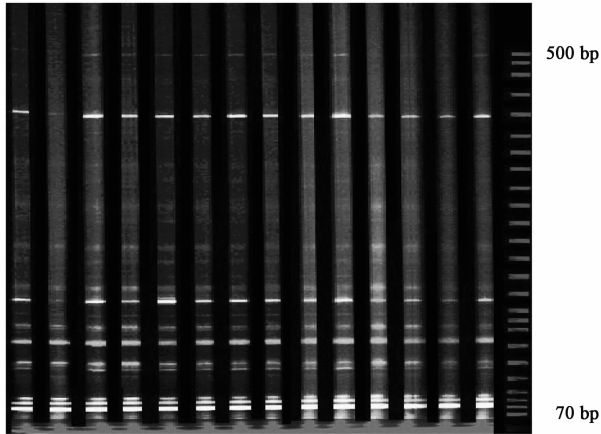


图 1 广金钱草基因组 DNA 琼脂糖凝胶电泳
Fig. 1 Genomic DNA agarose gel electrophoresis of *Desmodium styracifolium*

CK V-1 V-2 V-3 V-4 V-5 V-6 V-7 V-8 V-9 V-10 V-11 V-12 V-13 M



CK: 对照组; V-1 ~ V-13, 供试品; M: marker
图 2 引物组合 Me1-Em6 扩增图谱
Fig. 2 SRAP analysis with Me1-Em6 as primers

引物扩增出 328.5 个条带, 多态性比例平均为 96.45%。不同引物组合扩增的总条带数和多态性存在一定的差异, 其中 Me5-Em2 组合扩增条带数最多, 达到 567 个, 其多态性比例为 100.00%。10 对引物整体上表现出较高的多态性比例, 表明广金钱草化学诱变植株分子水平的差异较为显著。见表 3。

3.4 遗传相似性和聚类分析 遗传相似性系数大小代表植物细胞遗传物质基础的相似程度, 相似性越大说明广金钱草植株间越接近, 反之则差异越大。与 CK 相比较, 广金钱草化学诱变植株遗传相似系数在 0.326 ~ 0.476, 遗传相似系数较低, 表明经化学诱变剂处理后广金钱草在基因组水平上发生了真实的变异, 变异程度最大的为 V-13 (株高长、地径粗、分枝多), 遗传相似系数仅为 0.326。变异植株组间比较可知, 遗传相似系数在 0.263 ~ 0.532, 其中 V-7 (幼苗时分枝、地径粗) 和 V-13 间差异最大, 进一步表明 V-13 发生的变异程度最大。

表 3 不同引物组合的扩增片段多态性分析

Table 3 Polymorphic analysis of amplified fragments with different primer combinations

引物组合	总条带数/个	扩增条带数/个	多态性比例/%
Me1-Em1	244	244	100.00
Me1-Em2	267	251	94.01
Me1-Em4	215	215	100.00
Me1-Em6	170	138	81.18
Me1-Em7	366	366	100.00
Me3-Em4	201	201	100.00
Me5-Em2	567	567	100.00
Me6-Em6	450	434	96.44
Me7-Em8	359	359	100.00
Me8-Em7	446	414	92.83

将 10 对引物组合扩增出的 3 285 个条带作为原始矩阵, 用 UPGMA 法进行聚类分析, 得出广金钱草化学诱变植株及 CK 的聚类分析树状图。树状图中将样品聚为一类的依据主要是样品间的相似系数。由图 3 可以看出, 广金钱草化学诱变植株及 CK 的相似系数在 0.35 ~ 0.53, V-13 相似系数最小, 单独聚为一类。除了 V-1 与 CK 较为相似外, 其他植株都与 CK 有一定程度的差异, 并不聚为一类, 其相似性差异程度大小顺序 V-13 > V-7 > V-6 > V-11 > V-10 > V-12 > V-9 > V-8 > V-4 > V-5 > V-3 > V-2 > V-1。试验还发现, NaN_3 处理的广金钱草植株较 EMS 和秋水仙素相似性更接近于 CK, 表明 NaN_3 在分子水平上对广金钱草的影响比 EMS 和秋水仙素小。

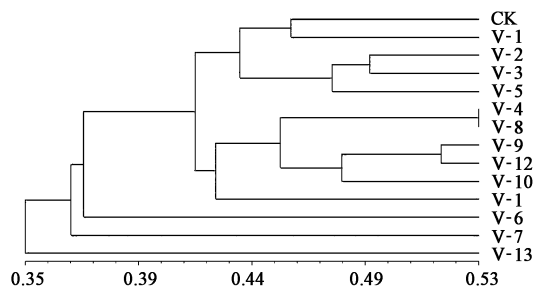


图 3 广金钱草化学诱变植株的聚类树状关系
Fig. 3 Cluster analysis dendrogram of chemical mutagenic *Desmodium styracifolium*

4 结论与讨论

4.1 不同化学诱变广金钱草表型变异 化学诱变能诱发植物产生突变体, 创造新的变异, 是理化诱变的主要方式。目前用的比较多的化学诱变剂主要有 EMS, DES, NaN_3 , 秋水仙素等。研究表明, EMS 处理薏苡种子能引起根尖细胞染色体畸变, 对出苗率、苗

高、过氧化物酶活性等都有不同程度的损伤效应^[9]。利用 NaN_3 对黑麦草种子进行诱变处理,发现植株矮小和茎秆增粗的变异类型^[18]。陈泽雄等^[15]使用秋水仙素对细毡毛忍冬叶片进行处理,诱导出生长缓慢,植株节间短,茎干粗壮,绿原酸含量高的四倍体。本研究使用的 3 种化学诱变剂处理广金钱草初步筛选到 9 种性状类型 13 株广金钱草变异株(图 1,表 2),其中 3 种诱变剂均出现植株矮化、分枝多、地径粗变异类型,EMS,秋水仙素处理出现株高长变异类型,只有 NaN_3 处理出现茎节短变异类型。

4.2 化学诱变广金钱草 DNA 分子变异 分子标记已广泛应用于马铃薯^[19]、玉米^[20]等植物诱变的分子检测研究,可通过遗传相似系数反应出诱变提的遗传差异。如辐射诱变马铃薯突变体、空间诱变小麦突变体 SRAP 分析结果表明突变体与亲本遗传相似系数较高,在 DNA 水平存在较小的分子差异^[19,21]。柱花草辐射诱变材料的 SRAP 分析证实材料遗传相似系数变化幅度较大,材料间存在较大的分子差异^[22]。利用 SRAP 分子标记技术对 8 份桑树二倍体品种和经秋水仙碱化学诱变得到的同源四倍体进行 DNA 遗传差异分析表明,桑树材料经秋水仙素诱变后产生较大遗传差异^[23]。玉米诱变系 SSR 分析结果表明,无论是 EMS 诱变系,还是辐射诱变系,在 DNA 水平与基础材料间以及诱变系间均存在广泛的遗传差异,而且认为这些遗传变异与农艺性状和品质性状相关^[20,24]。航天诱变茄子后代材料的 SSR 标记遗传多样性分析同样证实航天诱变可以使茄子发生变异^[25]。伽马射线诱导小桐子突变体 RAPD 检测也发现突变体在 DNA 水平发生不同程度变异^[26]。本实验结果发现,广金钱草化学诱变植株 SRAP 分子标记分析多态性比例很高,平均为 96.45%,表明 3 种化学诱变处理后广金钱草分子水平的差异较为显著,化学诱变剂对广金钱草影响较大。广金钱草化学诱变植株及对照的相似系数在 0.35~0.53,低于不同种源地材料的遗传相似系数(0.69~0.81)^[27],表明化学诱变处理后广金钱草变异程度高于不同种源地的变异,进一步表明人工诱变育种可以缩短育种年限,提高突变率。本实验中,聚类分析树状图结果表明,广金钱草化学诱变植株相似性差异程度大小顺序为 V-13 > V-7 > V-6 > V-11 > V-10 > V-12 > V-9 > V-8 > V-4 > V-5 > V-3 > V-2 > V-1,这也反映了其分子水分上的变异程度, NaN_3 处理获得的广金钱草变异植株遗传相似性

更接近对照,表明 NaN_3 在分子水平上对广金钱草的影响比 EMS 和秋水仙素小。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:44-45.
- [2] 杨全,李书渊,程轩轩,等. 广金钱草资源调查与药材质量评价[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,26(3):147-151.
- [3] 杨全,卢挺,桑雪雨,等. 不同种源地广金钱草药材质量变异与遗传多样性分析[J]. 中国中药杂志,2013,38(9):1344-1348.
- [4] 杨全,唐晓敏,潘海运,等. 贮藏时间对广金钱草种子质量的影响[J]. 中国中药杂志,2015,40(20):3953-3957.
- [5] 唐晓敏,程轩轩,杨全,等. 广金钱草种子萌发特性及种子硬实研究[J]. 种子,2014,33(3):78-81.
- [6] 卢挺,杨全,唐晓敏,等. 氮磷钾配比施肥对广金钱草产量及质量的影响[J]. 广西植物,2014(3):426-430.
- [7] 潘海运,唐晓敏,杨全,等. 广金钱草生殖生物学的初步探索[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(10):33-37.
- [8] 王仑山,陆卫,孙彤,等. 枸杞耐盐变异体的筛选及植株再生[J]. 遗传,1995,17(6):7-11.
- [9] 原亚萍,朴铁夫,李国全,等. EMS 对薏苡损伤效应的研究[J]. 吉林农业大学学报,1996,18(1):21-23.
- [10] 张秀省,张荣涛,曹岚,等. EMS 诱变的长春花细胞系突变研究[J]. 中草药,2004,25(11):1293-1296.
- [11] 周玉丽,方林森,胡能兵,等. 薄荷不定芽诱导及 NaN_3 诱变研究[J]. 中药材,2016,39(1):1-5.
- [12] 何克勤,胡能兵,崔广荣,等. 甜叶菊茎段腋芽诱导培养基和 NaN_3 诱变条件筛选及诱变试管苗 POD 同工酶分析[J]. 植物资源与环境学报,2012,21(3):74-79.
- [13] 高山林,朱丹妮. 丹参多倍体性状和药材质量的关系[J]. 植物资源与环境,1996,5(2):1-4.
- [14] Eelco W T, Pras N, Quax W J. Seasonal variations of Artemisinin and its biosynthetic precursors in tetraploid *Artemisia annua* plants compared with the diploid wild-type[J]. Planta Med,2000,65(8):723-728.
- [15] 陈泽雄,吴林,刘奕清. 秋水仙素诱导细毡毛忍冬同源四倍体[J]. 植物生理学报,2013,49(4):385-391.
- [16] 梅凌峰,唐艳梅,唐晓敏,等. 3 种化学诱变剂对广金钱草种子萌发的影响[J]. 广东药学院学报,2015,31(3):310-315.
- [17] Kim C S, Lee C H, Shin J S, et al. A simple and rapid method for isolation of high quality genomic DNA from fruit trees and conifers using PVP[J]. Nucleic Acids

- Res, 1997, 25 (5):1085-1086.
- [18] 李杰勤,王丽华,詹秋文,等. 蓝天堂黑麦草的 NaN_3 诱变及其 RAPD 分析[J]. 草业学报, 2013, 22(1): 276-281.
- [19] 黄团,邓宽平,雷尊国,等. 马铃薯 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 辐射诱变突变体的分子鉴定[J]. 贵州农业科学, 2010, 38(8): 8-10.
- [20] 覃鸿妮,蔡一林,杨春蓉,等. 玉米诱变系的 SSR 遗传变异分析[J]. 核农学报, 2008, 22(6): 750-755.
- [21] 李鹏,孙明柱,张风云,等. 小麦空间诱变抗寒性突变体的初步研究[J]. 中国农学通报, 2011, 27(27): 70-74.
- [22] 张伟丽,刘凤民. $^{60}\text{Co}\gamma$ 辐照柱花草 M_1 代表型及分子水平诱变效果分析[J]. 草地学报, 2012, 20(3): 505-511.
- [23] 林强,祁广军,赵卫国,等. 桑树二倍体及人工诱导的同源四倍体遗传差异的 SRAP 分析[J]. 西南农业学报, 2011, 24(3): 1104-1109.
- [24] 秦家友,石海春,柯永培,等. 玉米辐射诱变系表型及 SSR 遗传差异研究[J]. 玉米科学, 2012, 20(2): 41-47.
- [25] 何娟娟,刘富中,陈钰辉,等. 茄子航天诱变后代变异及其 SSR 标记多态性研究[J]. 核农学报, 2010, 24(3): 460-465.
- [26] Dhakshanamoorthy D, Selvaraj R, Chidambaram A L A. Induced mutagenesis in *Jatropha curcas* L. using gamma rays and detection of DNA polymorphism through RAPD marker[J]. CR Biol, 2011, 334(1): 24-30.
- [27] 杨全,卢挺,桑雪雨,等. 不同种源地广金钱草药材质量变异与遗传多样性分析[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(9): 1344-1348.

[责任编辑 顾雪竹]