

汪 昊,牛玉蓉,荣成博,等. 19 个香菇菌株基于 ISSR、SRAP 和 TRAP 分子标记的遗传多样性分析[J]. 江苏农业科学,2019,47(17):54–59. doi:10.15889/j.issn.1002–1302.2019.17.013

19 个香菇菌株基于 ISSR、SRAP 和 TRAP 分子标记的遗传多样性分析

汪 昊¹,牛玉蓉²,荣成博²,刘 宇²,王守现²,宋 爽²

(1. 鲁东大学农学院,山东烟台 264000; 2. 北京市农林科学院植物保护环境保护研究所/北京市食用菌工程技术研究中心,北京 100097)

摘要:利用简单重复序列间扩增(inter-simple sequence repeat,简称 ISSR)、相关序列扩增多态性(sequence-related amplified polymorphism,简称 SRAP)和目标区域扩增多态性(target region amplified polymorphism,简称 TRAP)分子标记对 19 个香菇栽培菌株进行遗传多样性分析。结果显示,共筛选出 34 对(条)多态性丰富的引物,获得 303 条数据条带,其中多态性条带 254 条,多态性比例为 83.83%,在遗传相似系数为 0.75 的水平上,将 19 个菌株分为 6 类。3 种标记的多态性比例排序如下:TRAP(91.14%)>ISSR(83.15%)>SRAP(80.00%)。由结果可知,综合不同分子标记进行香菇的遗传多样性分析,可更加准确地反映菌株间的亲缘关系。

关键词:香菇;遗传多样性;ISSR;SRAP;TRAP

中图分类号:S646.1⁺20.32 **文献标志码:**A **文章编号:**1002–1302(2019)17–0054–05

我国是世界上最早进行香菇人工栽培的国家,据今已有 800 多年的历史^[1]。此外,我国也是香菇最大的生产国、消费国和出口国^[2]。据中国食用菌协会统计,2016 年全国香菇总产量为 898 万 t,香菇已经是我国栽培量最大的食用菌品种。随着产业规模的快速发展,对香菇良种高效选育的要求越来越迫切,对种质资源的收集鉴定评价及进一步明确资源间的遗传关系,是新品种选育的重要前提。由于香菇表型较易受栽培基质、栽培模式、管理方法等因素影响,变异性较大,因此,从分子水平对香菇种质遗传多样性进行研究,可以更加高效准确地得出菌株间的亲缘关系。

分子标记技术自 20 世纪 80 年代发展以来,已被应用于多种作物的种质资源和育种研究中,特别是在构建分子遗传图谱、基因定位、分子辅助育种等方面取得了很大进展^[3]。本研究利用基于 PCR 的简单重复序列间扩增(inter-simple sequence repeat,简称 ISSR)、相关序列扩增多态性(sequence-related amplified polymorphism,简称 SRAP)和目标区域扩增多态性(target region amplified polymorphism,简称 TRAP)3 种分子标记,对我国规模栽培的香菇品种进行遗传多样性分析,以期快速准确并多角度地明确香菇栽培菌株的亲缘关系及演化规律,从而更好地保护和利用香菇种质资源。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

收稿日期:2018–06–15

基金项目:北京市农林科学院科技能力创新建设专项(编号:KJJCX20170703)。

作者简介:汪 昊(1996—),男,辽宁锦州人,研究方向为食用菌栽培技术。E-mail:1359691185@qq.com。

通信作者:宋 爽,硕士,助理研究员,主要从事食用菌栽培方面的研究工作。E-mail:songshuang1025@163.com。

本研究开展的时间为 2017 年 10 月至 2018 年 6 月,供试的 19 个香菇菌株均由北京市农林科学院植物保护环境保护研究所保藏并提供,各供试菌株的名称、编号及来源见表 1。

表 1 供试的 19 个香菇菌株

编号	菌株保藏号	菌株名称	来源
01	JZB2102001	L1363	辽宁丹东
02	JZB2102010	L135	福建三明
03	JZB2102014	庆科 20	浙江庆元
04	JZB2102017	L939	福建宁德
05	JZB2102027	Cr04	福建三明
06	JZB2102030	L808	浙江丽水
07	JZB2102039	L937	北京市
08	JZB2102049	申香 8 号	上海市
09	JZB2102050	申香 10 号	上海市
10	JZB2102051	武香 1 号	浙江武义
11	JZB2102061	L9608	河南西峡
12	JZB2102064	L931	江苏高邮
13	JZB2102065	高香一号	江苏高邮
14	JZB2102078	L18	福建三明
15	JZB2102079	L168	北京市
16	JZB2102080	上海农香菇 605	上海市
17	JZB2102081	上海农香菇 602	上海市
18	JZB2102129	香菇秋 1	河北承德
19	JZB2102169	香菇 0912	河北平泉

1.2 培养基

用于香菇菌丝培养的综合马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)培养基配方(1 L):去皮马铃薯 200 g 熬汁,葡萄糖 20 g,琼脂 20 g,KH₂PO₄ 3 g,MgSO₄ 1.5 g,蛋白胨 5 g,维生素 B₁ 10 mg,加蒸馏水定容至 1 000 mL,121 ℃灭菌 20 min。

1.3 引物与试剂

试验所用引物均由生工生物工程(上海)股份有限公司合成;DNA marker、Taq PCR Mix,购自宝生物工程(大连)有限

公司;基因组 DNA 提取试剂盒,购自德国 QIAGEN 公司。

1.4 香菇基因组的提取

用打孔器将活化的香菇各菌株定量接种在 PDA 培养基平皿中,于 25 ℃ 恒温培养箱中培养 10 d 左右。分别刮取 100 mg 菌丝,用试剂盒提取香菇各菌株的基因组 DNA,用紫外-可见分光光度计检测各 DNA 在 260、280 nm 下的吸光度,并将 19 种 DNA 的浓度调为一致。

1.5 PCR 反应体系和条件

25 μL 的 ISSR-PCR 反应体系:12.5 μL 2 × Taq PCR Mix、1 μL ISSR 引物(0.4 μmol/L)、1 μL DNA(30 ng)、10.5 μL 灭菌双蒸水。反应条件:95 ℃ 5 min;95 ℃ 30 s、48 ℃ 30 s、72 ℃ 1 min,35 个循环;72 ℃ 10 min,4 ℃ 保存。相关引物序列设计参考文献[7],详见表 2。

25 μL 的 SRAP-PCR 反应体系:12.5 μL 2 × Taq PCR Mix、1 μL SRAP 上游引物(0.4 μmol/L)、1 μL SRAP 下游引物(0.4 μmol/L)、1 μL DNA(30 ng)、9.5 μL 灭菌双蒸水。反应条件:95 ℃ 5 min;95 ℃ 30 s、48 ℃ 30 s、72 ℃ 1 min,35 个循环;72 ℃ 10 min,4 ℃ 保存。相关引物序列设计参考文献[7],详见表 2。

25 μL 的 TRAP-PCR 反应体系:12.5 μL 2 × Taq PCR Mix、1 μL TRAP 上游引物(0.4 μmol/L)、1 μL TRAP 下游引物(0.4 μmol/L)、1 μL DNA(30 ng)、9.5 μL 灭菌双蒸水。反应条件:95 ℃ 5 min;95 ℃ 30 s、35 ℃ 30 s、72 ℃ 1 min,10 个循环;95 ℃ 30 s、45 ℃ 30 s、72 ℃ 1 min,30 个循环;72 ℃ 10 min,4 ℃ 保存。相关引物序列为笔者自己设计,详见表 3。

表 2 ISSR、SRAP 的引物序列

ISSR		SRAP			
引物名称	引物序列(5'→3')	引物名称	引物序列(5'→3')	引物名称	引物序列(5'→3')
ISSR1	CTCCTCCTCCTCSC	Me1	TGAGTCCAAACCGGATA	Em3	GACTGCGTACGAATTGAC
ISSR2	BDBACAACAACAACAACA	Me2	TGAGTCCAAACCGGAGC	Em4	GACTGCGTACGAATTTGA
ISSR4	CACCACCACCACSC	Me3	TGAGTCCAAACCGGAAT	Em6	GACTGCGTACGAATTGCA
ISSR5	VDHTCGTCGTCGTCGTCG	Me4	TGAGTCCAAACCGGACC	Em7	GACTGCGTACGAATTATG
ISSR6	DHBCGACGACGACGACGA	Me5	TGAGTCCAAACCGGAAG	Em10	GACTGCGTACGAATTTAG
ISSR11	CATACATACATACATAC	Me6	TGAGTCCAAACCGGTAG	Em12	GACTGCGTACGAATTGTC
ISSR12	AGAGAGAGAGAGAGAGT	Me7	TGAGTCCAAACCGGTTG	Em15	GACTGCGTACGAATTCTG
ISSR13	GAGAGAGAGAGAGAGAC	Me9	TGAGTCCAAACCGGTCA	Em16	GACTGCGTACGAATTCGG
ISSR15	CACACACACACACAG			Em17	GACTGCGTACGAATTCCA

表 3 TRAP 的引物序列

TRAP 引物名称	引物序列(5'→3')
Cel95563S	CAGCAAGCCGGAACAAGC
Lac4558S	GTGGAATTGTGAAATCCC
Lac4561A	AAGTTGGTCAGCAGAAAGAG
Lac4558A	AGCTAGTTGTGAAGGGGTC
Cel95564A	TAGAGGAGGGTTGGCCCTT
Lac4557S	GCCGAAGTCATCCGCGAT
Glu97446S	ATCTCTCCCGGTTTTCGG
Xyl31460A	CGGCGTCCAAGTAGTGTTAAG
Me2	TGAGTCCAAACCGGAGC
Em2	GACTGCGTACGAATTTGC

注:S=(G,C),B=(G,T,C),D=(G,A,T),V=(G,A,C),H=(A,T,C)。

1.6 数据统计与分析

将扩增产物进行 1.5% 琼脂糖凝胶电泳,用紫外成像系统观察并拍照。各泳道在同一位置上扩增出的强带或可分辨性好的弱带,视为扩增阳性,并赋值“1”,未扩增出条带,视为扩增阴性,赋值“0”。用 NTSYSpc 2.10 软件进行聚类分析,采用非加权组平均法(unweighted pair-group method with arithmetic means,简称 UPGMA)构建系统树。

2 结果与分析

2.1 供试香菇菌株的 ISSR 分析结果

随机选取 2 个香菇菌株的 DNA,用 18 条 ISSR 引物进行 PCR 扩增,从中筛选出 10 条扩增条带较多的引物(表 4)。以 19 个供试香菇菌株的基因组 DNA 为模板,依次用筛选得到

的 10 个 ISSR 引物进行 PCR 扩增,共扩增出 89 条 DNA 片段,其中多态性条带数为 74 条,多态性比例为 83.15%,扩增片段长度多为 200~5 000 bp(图 1 为以 ISSR4 为引物的扩增结果),其遗传多样性聚类分析结果见图 2。

表 4 供试香菇菌株的 ISSR 多态性分析结果

编号	引物名称	条带总数 (条)	多态性条带数量 (条)	多态性比例 (%)
1	ISSR1	11	7	63.64
2	ISSR2	8	6	75.00
3	ISSR4	15	14	93.33
4	ISSR5	12	10	83.33
5	ISSR6	11	8	72.73
6	ISSR11	3	2	66.67
7	ISSR12	12	12	100.00
8	ISSR13	5	5	100.00
9	ISSR15	4	3	75.00
10	ISSR16	8	7	87.50
	总计	89	74	83.15

2.2 供试香菇菌株的 SRAP 分析结果

随机选取 1 个香菇菌株的 DNA,用 SRAP 引物对(表 2 中 2 种 SRAP 引物的随机组合)进行 PCR 扩增,从中筛选出 15 对多样性较好、条带清晰的引物组合(表 5)。以 19 个供试香菇菌株的基因组 DNA 为模板,共扩增出 135 条 DNA 片段,其中多态性条带为 108 条,多态性比例为 80.00%,扩增片段长度在 200~5 000 bp 之间(图 3 为以 Me3/Em6 为引物对的扩增结果),其遗传多样性聚类分析结果见图 4。

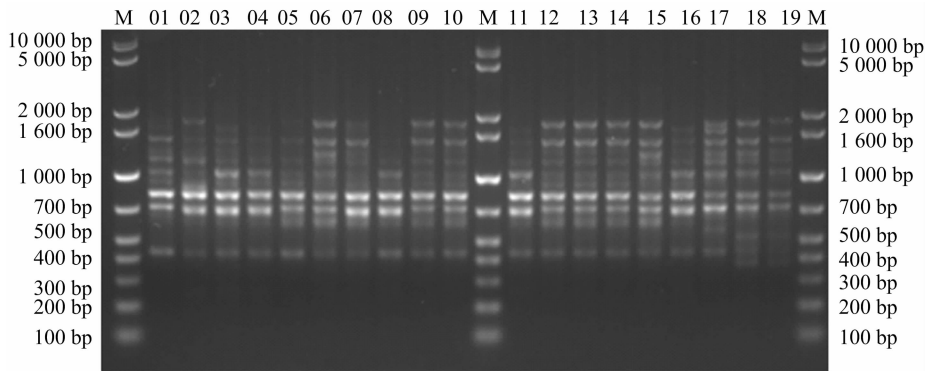


图1 引物 ISSR4 对 19 个香菇菌株的扩增结果

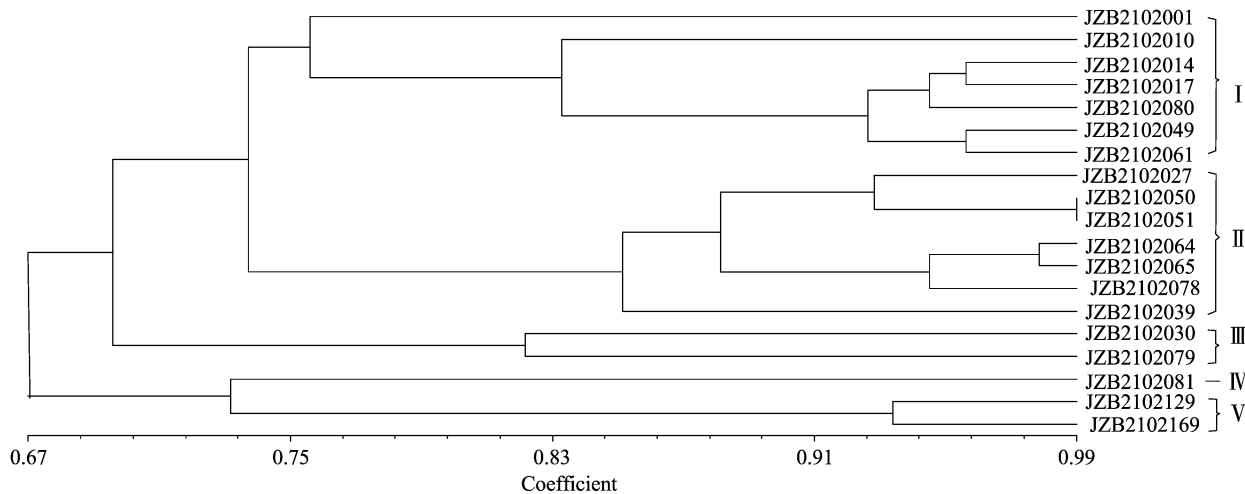


图2 19 个香菇菌株的 ISSR 遗传多样性聚类分析结果

表 5 供试香菇菌株的 SRAP 多态性分析结果

编号	引物名称	条带总数 (条)	多态性条带数量 (条)	多态性比例 (%)
1	Me1/Em15	7	6	85.71
2	Me2/Em4	5	3	60.00
3	Me2/Em6	8	7	87.50
4	Me2/Em10	7	7	100.00
5	Me2/Em12	12	10	83.33
6	Me3/Em3	12	11	91.67
7	Me3/Em6	10	6	60.00
8	Me4/Em6	11	9	81.82
9	Me4/Em16	9	7	77.78
10	Me4/Em17	12	9	75.00
11	Me5/Em7	7	5	71.43
12	Me5/Em16	9	8	88.89
13	Me6/Em16	7	5	71.43
14	Me7/Em4	7	5	71.43
15	Me9/Em6	12	10	83.33
总计		135	108	80.00

2.3 供试香菇菌株的 TRAP 分析结果

TRAP 扩增引物包括锚定引物和随机引物,随机选取 1 个香菇菌株的 DNA,使用 TRAP 引物对(8 个锚定引物,2 个随机引物)进行 PCR 扩增,从中筛选出 9 对多样性较好、条带清晰的引物组合(表 6),以 19 个供试香菇菌株的基因组 DNA 为模板,共扩增出 79 条 DNA 片段,其中多态性条带为 72 条,

多态性比例为 91.14%(表 6、图 5 为以 Em2/Xyl31460A 为引物对的扩增结果),其遗传多样性聚类分析结果见图 6。

2.4 19 个香菇菌株的聚类分析结果

由 3 种分子标记聚类分析结果可知,供试的 19 个香菇菌株相似性在 0.59~0.99 之间,菌株间具有一定的遗传差异。在遗传相似系数为 0.75 的水平上,ISSR 将 19 个香菇菌株分为 5 大类,SRAP 将 19 个香菇菌株分为 4 大类,TRAP 将 19 个香菇菌株分为 9 大类。在所有供试菌株中,JZB2102014 和 JZB2102081 的遗传相似系数为 0.575,亲缘关系最远;JZB2102050 和 JZB2102051 的遗传相似系数为 0.97,亲缘关系最近。

3 讨论

由于历史上的引种利用等问题,我国香菇栽培菌株同种异名、同名异种的现象较为严重^[4],研究者们曾经利用多种标记探究了香菇野生种质和栽培种质的遗传多样性^[5-8]。由于采用单一标记往往较难获得理想的结果,本研究采用 3 种标记逐一筛选并综合分析构建了香菇的遗传聚类树(图 7)。用 10 条 ISSR 引物、15 对 SRAP 引物和 9 对 TRAP 引物扩增结果进行多态性分析,共得到 303 个标记数据,其中多态性条带 254 条,多态性比例为 83.83%。在遗传相似系数为 0.75 的水平上,将 19 个菌株分为 6 类。3 种标记的单独聚类分析结果与综合聚类结果略有差异,但总体趋势相同,某些菌株只能由 1 种分子标记区分,有的可由 2 种或者 3 种标记方法同

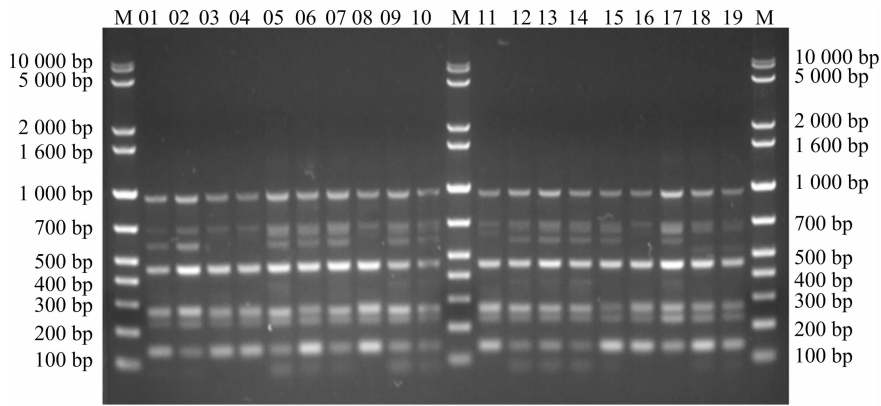


图3 引物 Me3/Em6 对 19 个香菇菌株的扩增结果

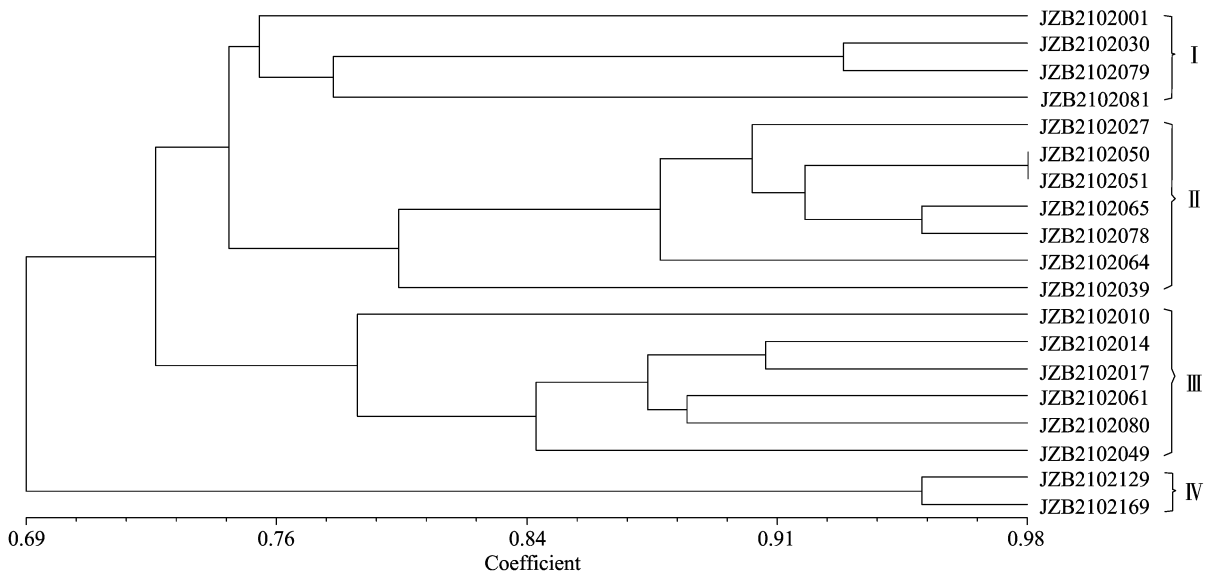


图4 19 个香菇菌株的 SRAP 遗传多样性聚类分析结果

表 6 供试香菇菌株的 TRAP 多态性分析结果

编号	引物名称	条带总数 (条)	多态性条带数量 (条)	多态性比例 (%)	靶标基因编码蛋白名称
1	Me2/Cel95563S	10	8	80.00	纤维素酶
2	Em2/Lac4558S	14	12	85.71	漆酶
3	Me2/Lac4561A	5	5	100.00	漆酶
4	Me2/Lac4558A	12	12	100.00	漆酶
5	Me2/Cel95564A	8	8	100.00	纤维素酶
6	Em2/Lac4557S	7	6	85.71	漆酶
7	Em2/Cel95563S	8	7	87.50	纤维素酶
8	Em2/Glu97446S	4	3	75.00	β -葡萄糖酶
9	Em2/Xyl31460A	11	11	100.00	β -D-木糖苷酶
总计		79	72	91.14	

时区分。例如在 0.99 的水平上,ISSR、SRAP 无法将 JZB2102050、JZB2102051 这 2 个菌株区分,而利用 TRAP 标记得到 2 个菌株的遗传相似系数为 0.906。由 3 种标记对多态性的贡献率可见,TRAP(91.14%)>ISSR(83.15%)>SRAP(80.00%),可能由于 3 种分子标记所检测的位点不同,所以单个标记对菌株分类是有局限性的,须充分利用不同分子标记的优点来进行综合分析。

TRAP 是 2003 年由 Hu 等提出的一种新型分子标记^[9],

可利用已知 cDNA 序列或表达序列标签(EST)序列为固定引物,配合随机引进行遗传图谱构建、重要性状标记和遗传多样性分析等^[3]。本研究以美国国立生物技术信息中心(NCBI)数据库中的香菇纤维素降解酶系、半纤维素降解酶系和木质素降解酶系的相关基因为靶标基因序列,利用 TRAP 标记分析,对 19 个香菇栽培菌株进行了遗传变异研究。结果表明,香菇各菌株之间显示了较高的纤维素、半纤维素和木质素降解酶基因的遗传多态性,为从特定基因水平上研究香菇遗传

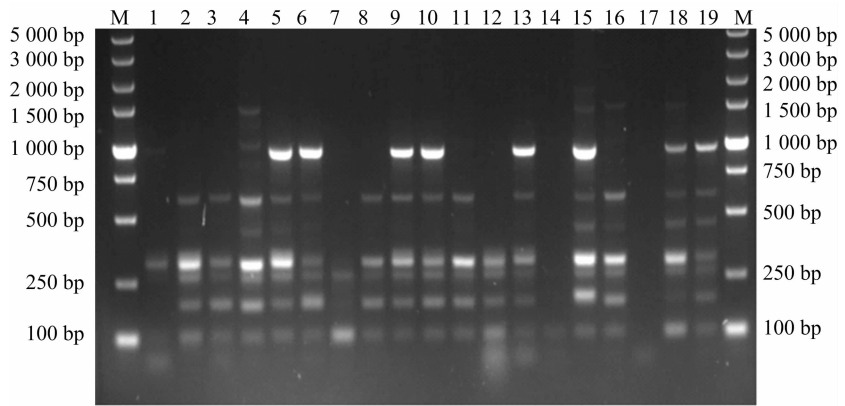


图5 引物 Em2/Xyl131460A 对 19 个香菇菌株的扩增结果

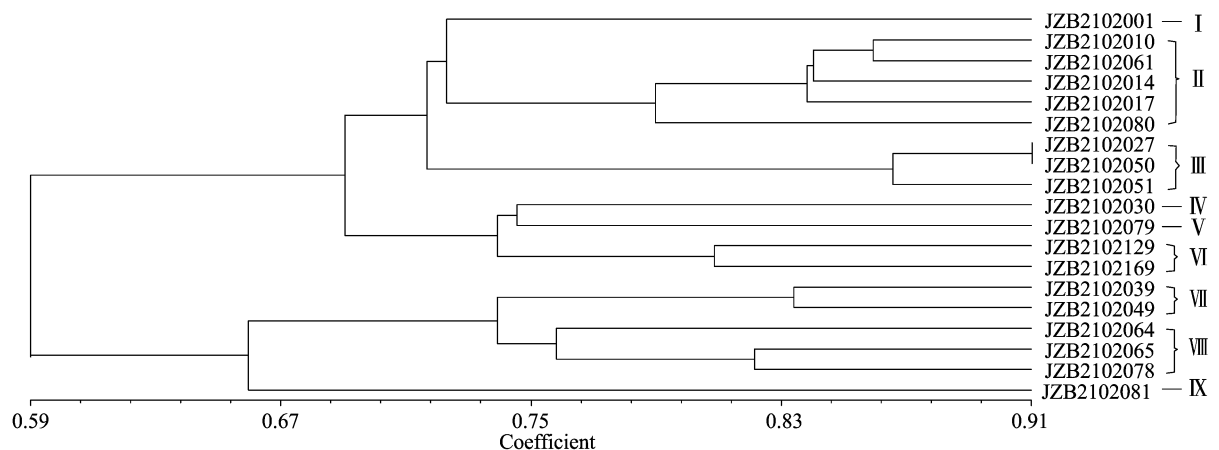


图6 19 个香菇菌株的 TRAP 遗传多样性聚类分析结果

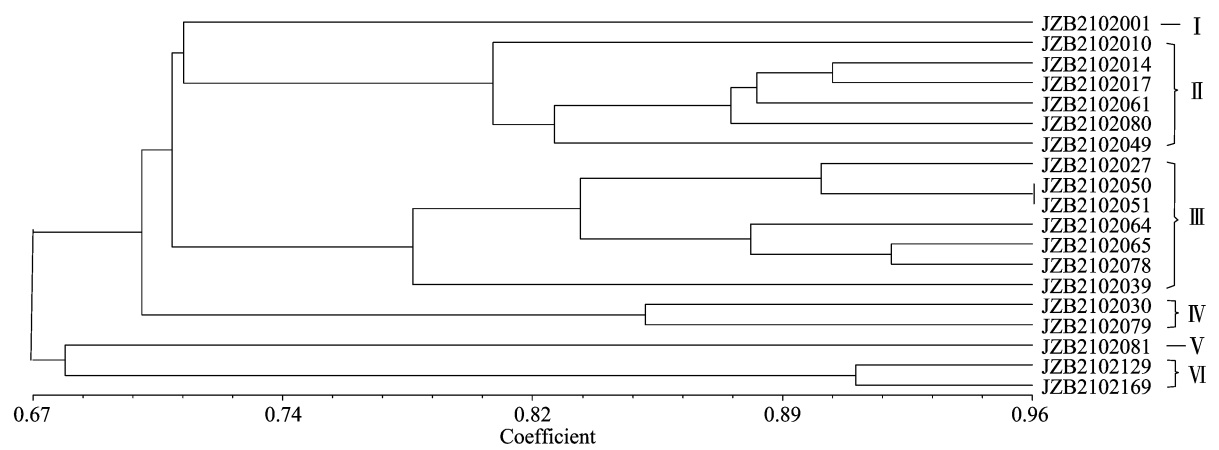


图7 19 个香菇菌株的 ISSR、SRAP 和 TRAP 综合遗传多样性聚类分析结果

亲缘关系提供了有用的信息。郭春芳等研究发现,TRAP 标记比 ISSR 标记更适合茶树特异种质资源和重要农艺性状的筛选^[10]。Miklas 等研究发现,TRAP 具有标记植物抗性基因的潜力^[11],而此方面的研究在食用菌重要农艺性状基因标记方面还没有相关报道。今后,随着大规模测序工作的进展,TRAP 标记技术将在食用菌品种改良中获得更多应用。

参考文献:

[1] Chang S T, Miles P G. Historical record of the early cultivation of *Lentinus* in China[J]. *Mushroom J Tropics*,1987,7:31-37.

[2] Chang S T. Past and present trends in the production of *Lentinla edodes* in Asia [J]. *Mushroom Biology and Mushroom Products*, 2002,4:1-8.

[3] 郭长奎,于 静,罗淑萍. 新型分子标记 TRAP 应用研究进展 [J]. *生命科学研究*,2009,13(4):366-369,376.

[4] 边银丙. 我国香菇栽培种质资源与种质资源信息库建设[J]. *浙江食用菌*,2008,16(1):12-15.

[5] 郭金英,宋彦龙,李 超,等. 四十个野生香菇菌株遗传多样性分析[J]. *北方园艺*,2018(10):157-160.

[6] 孙 勇,林芳灿. 中国香菇自然种质遗传多样性的 RAPD 分析 [J]. *菌物系统*,2003,22(2):387-393.

董波,李静楠,曹雪珍,等. 闽西地区猪流行性腹泻病毒 *N* 基因分子进化及序列分析[J]. 江苏农业科学,2019,47(17):59-62.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.17.014

闽西地区猪流行性腹泻病毒 *N* 基因分子进化及序列分析

董波^{1,2}, 李静楠¹, 曹雪珍³, 安永帅¹, 戴爱玲^{1,2}, 李晓华^{1,2}, 杨小燕^{1,2}

(1. 龙岩学院生命科学学院, 福建龙岩 364012; 2. 福建省生猪疫病防控工程技术研究中心, 福建龙岩 364012;

3. 华南农业大学兽医学院, 广东广州 510642)

摘要:分析闽西地区猪流行性腹泻病毒(PEDV)*N* 基因的遗传进化特征,收集闽西地区猪流行性腹泻病例组织样品 8 份,用逆转录 PCR(RT-PCR)扩增 *N* 基因,连接至 pMD-18T 载体进行测序,并与国内外已知参考毒株序列进行比对及遗传进化分析。结果显示,8 株闽西流行毒株之间 *N* 基因核苷酸的同源性为 9.8%~100.0%,推导的氨基酸序列的同源性为 99.5%~100.0%,而闽西毒株与早期疫苗毒株 CV777 和 SM98 的同源性较远。氨基酸序列分析表明,闽西毒株氨基酸序列存在 15 处突变,与 2010 年后中国流行毒株变异位点相同。提示闽西地区毒株为目前国内流行毒株,与疫苗毒株亲缘关系较远,可能导致机体针对疫苗毒株产生的抗体不能够有效抵抗变异毒株,不能给猪群提供很好的免疫保护,因此需要基于变异毒株研究出有针对性的疫苗来预防 PEDV。

关键词:猪流行性腹泻病毒;*N* 基因;遗传分析

中图分类号: S852.65⁺1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)17-0059-04

猪流行性腹泻(porcine epidemic diarrhea,简称 PED)是由猪流行性腹泻病毒引起的一种高度接触性传染病,以腹泻、呕吐为主要临床特征,冬、春季多发^[1]。该病在世界大多数国家均有报道,尤其对韩国、中国、日本、菲律宾、泰国等亚洲国家造成了严重经济损失,引起养猪业的广泛关注^[2]。2010 年末,我国暴发的 PED 影响了河北、安徽、广西、广东、浙江、江西、四川、湖南、福建等省份的养猪业^[3]。此次疫情造成的损失惨重,甚至之前接种过猪流行性腹泻病毒(PEDV)疫苗的猪群也同样发病,究其原因,可能是由于流行毒株变异或者毒力增强,使现有疫苗难以提供免疫保护^[4]。

猪流行性腹泻病毒为冠状病毒科冠状病毒属成员,为单股正链 RNA 病毒,编码 2 个复制酶多聚蛋白 ppla 和 pplab,1 个非结构蛋白 ORF3 和 4 个结构蛋白纤突蛋白(spike,简称 S)、膜蛋白(membrane,简称 M)、核衣壳蛋白(nucleocapsid,简

称 N)和小膜蛋白(small membrane,简称 E)^[5]。其中,*N* 蛋白由 1 326 个核苷酸组成,编码 442 个氨基酸。*N* 蛋白是一种多功能磷酸化蛋白质,能够与细胞膜和磷脂结合,改变宿主细胞的转录,促使 RNA 复制体的形成和病毒组装^[6]。*N* 基因在诱导免疫和病毒感染的致病机制中起重要作用,*N* 蛋白的表达可抑制细胞 RNA 和蛋白质 G2/M 期的合成从而促进病毒的繁殖^[7]。在早期感染 PEDV 时,宿主体内就能产生抗 *N* 蛋白高水平的抗体,因此 *N* 蛋白可作为早期检测发病猪是否感染 PEDV 的免疫靶细胞^[8]。

近年来,PEDV 的流行趋势不断增长,给养猪业造成严重的影响。因此,对 PEDV 的遗传变异情况进行监测是防控的重要环节。本研究收集闽西地区 PEDV 流行毒株,利用逆转录 PCR(RT-PCR)扩增 *N* 基因,将 PEDV *N* 基因序列进行同源性比较,绘制系统发育进化树,理清闽西地区 PEDV 与国内外流行毒株以及疫苗毒株之间的遗传进化关系,为做好 PEDV 的防控提供资料参考。

1 材料与方法

1.1 样品

样品选取 2013 年 1 月至 2016 年 12 月闽西地区规模化养猪场的 PEDV 阳性样品 8 份。

收稿日期:2018-06-12

基金项目:福建省高校自然科学基金青年重点项目(编号:JZ160481);福建省教育厅中青年科技项目(编号:JAT160483)。

作者简介:董波(1983—),男,天津人,博士,讲师,主要从事动物病毒学研究。E-mail:1906834157@qq.com。

通信作者:杨小燕,教授,研究方向为预防兽医学。Tel:(0597)2797255。

[7]刘靖宇,宋秀高,叶夏,等.香菇菌株遗传多样性 ISSR、RAPD 和 SRAP 综合分析[J].食用菌学报,2011,18(3):1-8.

[8]卓英,谭琦,陈明杰,等.香菇主要栽培菌株遗传多样性的 AFLP 分析[J].菌物学报,2006,25(2):203-210.

[9]Hu J G, Vick B A. Target region amplification polymorphism: a novel marker technique for plant genotyping[J]. Plant Molecular Biology Reporter, 2003, 21(3): 289-294.

[10]郭春芳,唐玉海,孙云,等.11 个茶树品种遗传多样性的 ISSR 和 TRAP 比较分析[J].中国农学通报,2008,24(1):340-346.

[11]Miklas P N, Hu J G, Grunwald N J, et al. Potential application of TRAP (targeted region amplified polymorphism) markers for mapping and tagging disease resistance traits in common bean[J]. Crop Science, 2006, 46(2): 910-916.