

· 基础研究 ·

不同产地野生金荞麦 SSR 标记鉴定[△]赵莎¹, 郑司浩¹, 李进瞳², 刘美娟¹, 林晖才², 熊啟相², 曾燕¹, 王继永^{1*}

1. 中国中药有限公司, 北京 100195;

2. 国药种业有限公司, 北京 100035

[摘要] 目的: 开发简单重复序列 (simple sequence repeats, SSR) 标记用于鉴定不同产地野生金荞麦种质资源。方法: 基于金荞麦全基因组数据设计 SSR 标记引物, 对来自云南、贵州、四川的野生金荞麦样本进行遗传多样性分析及聚类分析。结果: 引物组合 JQM03、JQM04、JQM07、JQM19、JQM21 可以对产地为四川的野生金荞麦进行鉴定; 引物组合 JQM04、JQM07、JQM19、JQM21 可以对产地为贵州的野生金荞麦进行鉴定区分。结论: 开发的金荞麦 SSR 分子标记可成功鉴定四川、贵州产地的野生金荞麦种质资源。

[关键词] 金荞麦; 简单重复序列标记; 遗传多样性; 鉴定

[中图分类号] R284 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2021)12-2067-05

doi: 10.13313/j.issn.1673-4890.20210208001

Identification of SSR Markers for Wild *Fagopyrum dibotrys* from Different Producing AreasZHAO Sha¹, ZHENG Si-hao¹, LI Jin-tong², LIU Mei-juan¹, LIN Hui-cai², XIONG Qi-xiang²,
ZENG Yan¹, WANG Ji-yong^{1*}

1. China National Traditional Chinese Medicine Co., Ltd., Beijing 100195, China;

2. China Traditional Chinese Medicine Seed & Seedling Co., Ltd., Beijing 100035, China

[Abstract] **Objective:** To develop simple sequence repeats (SSR) markers for identifying the germplasm resources of wild *Fagopyrum dibotrys* (D. Don) Hara from different producing areas. **Methods:** SSR primers were designed based on genome data of wild *F. dibotrys*. Genetic diversity analysis and clustering analysis of samples from Yunnan, Guizhou, and Sichuan provinces were performed. **Results:** The primer combination of JQM03, JQM04, JQM07, JQM19, and JQM21 can distinguish wild *F. dibotrys* from Sichuan Province, and the combination of JQM04, JQM07, JQM19, and JQM21 can identify wild *F. dibotrys* from Guizhou Province. **Conclusion:** The SSR markers developed in this study can identify the germplasm resources of wild *F. dibotrys* from Sichuan and Guizhou provinces.

[Keywords] *Fagopyrum dibotrys* (D. Don) Hara; SSR marker; genetic diversity; identification

金荞麦为蓼科植物金荞麦 *Fagopyrum dibotrys* (D. Don) Hara 的干燥根茎, 最早记载于《本草拾遗》, 现收载于《中华人民共和国药典》2020年版一部, 具有清热解毒、排脓祛瘀之功效, 用于肺癰吐脓、肺热喘咳、乳蛾肿痛^[1]。金荞麦根茎中主要含有原矢车菊素、表儿茶素、没食子酸、槲皮素、木犀草素等化合物^[2]。现代药理研究表明, 金荞麦在抗菌消炎、抗氧化、调血脂、抗癌、抑制肿瘤细胞侵袭和转移及增强免疫力等方面具有明显的药理活性,

为金荞麦片、复方金荞麦颗粒、威麦宁胶囊等多种抗癌药和癌预防药物的主要原料, 也是急支糖浆的主要原料之一, 可显著改善呼吸道炎症^[3-5]。金荞麦分布于我国黄河以南的多个省区, 主要以云南、贵州、四川3省的野生资源最为集中, 但随着生态环境的恶化与过度采挖等因素, 野生金荞麦资源逐年减少, 因此被列为国家二级重点保护植物^[6]。不同产地金荞麦的总酚、鞣质、表儿茶素含量有区别, 质量差异较大, 进行金荞麦产地鉴别对于金荞麦种质

[△] **[基金项目]** 财政部和农业农村部: 国家现代农业产业技术体系项目; 国家重点研发计划项目 (2017YFC1701400, 2017YFC1700700)

^{*} **[通信作者]** 王继永, 研究员, 研究方向: 中药资源学; Tel: (010) 89259576, E-mail: wangjiyong75@163.com

资源鉴定具有重要意义^[7-9]。

简单重复序列 (simple sequence repeats, SSR) 标记是近年来发展起来的建立在聚合酶链式反应 (PCR) 基础上的第二代分子标记技术, 具有共显性及含量丰富、多态性高、重复性好、操作简单等优点, 在作物遗传多样性、基因定位、分子辅助标记、遗传图谱构建、品种鉴定和纯度鉴定等方面都有很高的应用价值^[10-11]。詹海仙等^[12]通过 12 对引物对不同产地甘草进行区分, 可用于甘草种质资源的鉴定分析。目前, 利用 SSR 标记技术分析荞麦遗传多样性的研究多以甜荞、苦荞为研究对象^[13-14], 以金荞麦为研究对象的研究鲜有报道。本研究基于金荞麦全基因组设计 SSR 标记引物, 对来自云南、贵州、四川等地的野生金荞麦样本进行遗传多样性及聚类分析, 筛选用于鉴别不同产区野生金荞麦种质资源的引物组合, 以期为金荞麦种质资源保护、开发及分子标记辅助育种等提供参考。

1 材料

野生金荞麦样品共 35 批分别采自云南、贵州、四川地区, 采集根茎活体移栽至位于云南省昆明市的中国中药有限公司金荞麦野生种质资源圃, 并于 2020 年 6 月采集当年萌发的鲜叶, 硅胶干燥保存, 由国药种业有限公司李进瞳副主任药师鉴定为金荞麦 *Fagopyrum dibotrys* (D. Don) Hara。具体样品信息见表 1。

表 1 金荞麦样品信息

居群	样本量/批	采集地	编号
云南	14	云南省昆明市嵩明县白邑乡	YN1、YN2
		云南省昆明市寻甸县	YN3、YN4
		云南省曲靖市沾益县	YN5、YN6
		云南省曲靖市宣威市	YN7、YN8
		云南省迪庆州维西县	YN9、YN10
		云南省文山州砚山县	YN11、YN12
		云南省红河县	YN13、YN14
贵州	12	贵州省毕节市	GZ1、GZ2
		贵州省毕节市赫章县	GZ3、GZ4
		贵州省毕节市大方县	GZ5、GZ6
		贵州省毕节市织金县	GZ7、GZ8
		贵州省黔南州龙里县	GZ9、GZ10
		贵州省安顺市平坝县	GZ11、GZ12
四川	9	四川省阿坝藏族羌族自治州	SC1~SC3
		四川省凉山彝族自治州	SC4~SC6
		四川省宜宾市	SC7~SC9

T100 型 PCR 仪、GelDocXR+型凝胶成像仪 (美国 Bio-Rad 公司); DYY-6D 型电泳仪 (北京六一生物科技有限公司); 1-14 型离心机 (德国 Sartorius 公司); NanoDrop One 型超微量分光光度计 (美国 Thermo 公司)。

异丙醇 (批号: 20190605)、无水乙醇 (批号: 20190507) 均购自国药集团化学试剂有限公司; *Taq* DNA 聚合酶 (批号: W9205a)、 $10\times Taq$ Buffer (批号: U8402a) 均购自天根生化科技 (北京) 有限公司; 琼脂糖凝胶纯化回收试剂盒 (批号: DC011, 北京金百特生物技术有限公司)。

2 方法

2.1 基因组 DNA 提取

利用十六烷基三甲基溴化铵法 (mCTAB) 提取金荞麦样本叶片的总 DNA: 取野生金荞麦样本叶片约 100 mg, 浸入液氮冷冻研磨至细小粉末; 加入 buffer A [$0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 三 (羟甲基) 氨基甲烷盐酸盐 (Tris-HCl), pH 8.0; $5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 乙二胺四乙酸 (EDTA); $0.25\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 氯化钠 (NaCl); 1% 聚乙烯吡咯烷酮 40 (PVP-40)] 1.5 mL, 反复颠倒离心混匀, 冰浴 10 min, $10\ 000\times g$ 离心 10 min, 弃上清液; 在沉淀中加入 buffer A 1.5 mL, 反复颠倒离心混匀, 冰浴 10 min, $10\ 000\times g$ 离心 10 min, 弃上清液。在沉淀中加入预热的 2% CTAB ($0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris-HCl, pH 8.0; $1.4\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl; $25\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDTA; 2% CTAB; $0.2\%\beta$ -巯基乙醇; 1% PVP-40) 溶液 800 μL , 将沉淀均质悬浮于溶液后置于 $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴锅中保存 1.5~2.0 h, 期间颠倒均质溶液 3~5 次。将混合液放至室温, $10\ 000\times g$ 离心 5 min, 取上清液, 加入等体积 CI 溶液 (三氯甲烷-异戊醇 24:1), 在颠倒摇床上混合 10 min, $10\ 000\times g$ 离心 5 min, 取上清液, 加入等体积 CI 溶液, 在颠倒摇床上混合 10 min。混合液 $10\ 000\times g$ 离心 5 min, 取上清液至 1.5 mL 离心管中, 加入 0.6 倍体积冷的异丙醇, 颠倒混合后置于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存 1 h 以上, $10\ 000\times g$ 离心 2 min, 弃上清液, 得到凝固体。将离心管倒置于干燥纸上尽量控干液滴, 加入 RNase 溶液 ($100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 100 μL , $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存 0.5 h, 依次加入双蒸水 (ddH_2O) 150 μL , $5\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl 50 μL 和无水乙醇 700 μL , 充分混合后 $10\ 000\times g$ 离心 2 min, 弃上清液, 将离心管倒置于干燥纸上尽量控干液滴,

加入70%乙醇600 μL , 混合后10 000 $\times g$ 离心2 min, 弃上清液。再次加入70%乙醇600 μL , 混合后10 000 $\times g$ 离心2 min, 弃上清液, 干燥除去乙醇, 加TE缓冲液100 μL 溶解, 得到DNA溶解液。

将金荞麦叶片的总DNA进行纯化, 用琼脂糖凝胶纯化回收试剂盒进行操作, 得到纯化的DNA溶解液, 应用NanoDrop One型超微量分光光度计检测DNA浓度, 稀释至50 $\text{ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$, 待后续PCR扩增使用。

2.2 SSR引物设计

从本课题组破译的金荞麦全基因组高通量数据中筛选出6935对SSR引物。在SSR核心区侧翼序列中(150 bp范围), 使用primer 3进行primer引物设计, 引物最佳长度为24 bp; 引物最小长度为20 bp; 引物最大长度为28 bp; 最佳退火温度为63 $^{\circ}\text{C}$; 最低退火温度为60 $^{\circ}\text{C}$; 最高退火温度为65 $^{\circ}\text{C}$; 1对引物退火温度的最大差值为1 $^{\circ}\text{C}$ 。其他参数采用primer 3的默认参数。将引物BLAST比对回基因组上, 将成对引物在基因组上可以扩增得到的序列长度进行比较, 与含有目标SSR的产物长度差在2 kb以上, 保留该对引物, 与含SSR产物长度差在2 kb以下则滤掉该引物, 最终即可得到SSR候选引物。筛选出来的SSR候选引物中, 选择重复单元(碱基序列)碱基数2~5 bp、重复单元(碱基序列)重复5~10次的引物进行预试验。所选择的引物长度为20~25 bp, 理论退火温度在55 $^{\circ}\text{C}$ 左右, PCR产物长度为150~350 bp。

2.3 PCR扩增及电泳检测

用筛选出的引物对金荞麦DNA进行PCR反应。反应体系为20 μL : 10 $\times$ Taq Buffer 2 μL , 2 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 脱氧核糖核苷三磷酸(dNTPs) 2 μL , 5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 引物对各1 μL , 1.0 U Taq DNA聚合酶0.2 μL , 50 $\text{ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ DNA模板2 μL , 加灭菌双蒸水至20 μL 。设置未加模板DNA的PCR反应为阴性对照。反应程序: 94 $^{\circ}\text{C}$, 4 min; 94 $^{\circ}\text{C}$, 30 s; 退火30 s (JQM03、JQM04退火温度为56 $^{\circ}\text{C}$, JQM07、JQM21退火温度为58 $^{\circ}\text{C}$, JQM19退火温度为54 $^{\circ}\text{C}$); 72 $^{\circ}\text{C}$, 1 min, 32个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$, 10 min。PCR扩增产物用1%的琼脂糖凝胶电泳检测, 观察是否有条带、片段大小是否合适, 以确认实验是否成功。将检验成功的PCR扩增产物送生工生物工程(上海)股份有限公司进行毛细管电泳检测分型, 得到PCR扩增产物的分型结果。

2.4 数据分析

将PCR扩增产物的分型结果用GeneMarker 4.0进行峰图判读, 以“0, 1”二元方式来记录等位基因片段大小, 即某一等位基因存在时记为1, 某一等位基因不存在时记为0, 缺失数据记为-9, 从而得到等位基因矩阵, 并通过GenALEx计算金荞麦在每个产地、个体间的遗传多样性数据。基于GenALEx计算所得的个体遗传距离矩阵, 通过MEGA进行UPGMA聚类分析, 构建聚类树。

3 结果与分析

3.1 引物筛选

利用不同产地的金荞麦样本对设计的SSR引物开展预试验, 从扩增成功率及多态性(毛细管荧光电泳方式)2个维度进行引物的筛选, 最终选定5对多态性好、扩增成功率高的SSR分子标记引物, 引物信息见表2。JQM03、JQM04、JQM07、JQM19、JQM21这5对引物对四川产地的金荞麦扩增成功率高, JQM04、JQM07、JQM19、JQM21这4对引物对贵州产地的金荞麦扩增成功率高。

表2 金荞麦产地鉴别SSR引物筛选

编号	引物序列(5'→3')	重复单元
JQM03	正向: GTCCGAACGATTACGGCTCTTAC	(AAT) ₈
	反向: GCACAACAAAAGAGGTTGTTCTTGA	
JQM04	正向: GTGCTAAGGTGGTGGAGGATTG	(AAT) ₈
	反向: TGACCCAATAAGTCTGAACCTGAA	
JQM07	正向: CGATCGACGTTGAACCTTCACT	(TTC) ₈
	反向: TTGGGGTGTTACAAGACCGACTTA	
JQM19	正向: ATCGAACCGAACGTAAACCAA	(AAT) ₈
	反向: GAGTTCTGTGTTAGTTGCCAAAAA	
JQM21	正向: CGATCGACGTTGAACCTTCACT	(TTC) ₈
	反向: TTGGGGTGTTACAAGACCGACTTA	

3.2 不同产区金荞麦遗传多样性分析

3.2.1 四川地区金荞麦遗传多样性分析 基于金荞麦SSR引物组合JQM03、JQM04、JQM07、JQM19、JQM21得到各居群的遗传多样性参数见表3, 结果显示, 3个居群观测等位基因数(N_o)为2.400~8.200, 有效等位基因数(N_e)为2.236~5.727, Shannon's指数(I)为0.739~1.768, 其中四川居群的等位基因均值最低, 相应的 I 也较低。云南居群、贵州居群的观测杂合度(H_o) $\approx$ 期望杂合度(H_e), 表明该居群比较符

合客观状态；四川居群 $H_o > H_e$ ，表明该居群可能存在一定的杂种选择现象或者远交现象。

表3 基于引物组合JQM03、JQM04、JQM07、JQM19、JQM21的不同产地野生金荞麦遗传多样性分析

居群	N_a	N_e	I	H_o	H_e	F
云南	8.200	5.727	1.768	0.700	0.780	0.102
贵州	6.400	3.187	1.432	0.667	0.681	0.010
四川	2.400	2.236	0.739	0.625	0.453	-0.355

注：固定指数(F)= $1 - (H_o/H_e)$ ， F 取值为 $[-1, 1]$ ，越接近0表示群体越接近随机杂交，越接近1表示近交越严重或杂合缺失未检测到，越接近-1表示存在杂种选择或者远交频繁。

3.2.2 贵州地区金荞麦遗传多样性分析 基于金荞麦 SSR 引物组合 JQM04、JQM07、JQM19、JQM21 得到各居群的遗传多样性参数见表4，结果显示，3个居群 N_a 为4.750~6.750， N_e 为2.650~3.590， I 为1.189~1.499，其中贵州居群的等位基因均值最低，相应的 I 也较低。云南、四川居群 $H_o < H_e$ ，表明该居群可能存在一定的近交现象或者有杂合缺失未检测到的情况；贵州居群 $H_o > H_e$ ，表明该居群可能存在一定的杂种选择现象或者远交现象。

表4 基于引物组合JQM04、JQM07、JQM19、JQM21的不同产地野生金荞麦遗传多样性分析

居群	N_a	N_e	I	H_o	H_e	F
云南	6.750	3.590	1.499	0.604	0.707	0.155
贵州	4.750	2.650	1.189	0.700	0.601	-0.166
四川	5.750	3.124	1.332	0.500	0.633	0.269

3.3 聚类结果分析

3.3.1 四川地区金荞麦鉴定 基于金荞麦 SSR 引物组合 JQM03、JQM04、JQM07、JQM19、JQM21，通过 GenAEx 计算各居群间遗传相似性系数（表5）。由表5可知，3个居群间平均遗传相似性系数为0.472，其中云南居群与贵州居群的遗传相似性系数最大为0.769，说明云南、贵州居群的种群关系近，四川与云南、贵州居群的遗传相似性系数分别为0.333、0.313，说明四川与云南、贵州居群种群关系相对更远。基于 GenAEx 计算所得的遗传多样性数据，通过 MEGA 进行 UPGMA 聚类分析，构建聚类树（图1）可知，只有四川居群的聚为较纯的一支，其他分支都有不同程度的混杂情况，同时也说明基于金荞麦 SSR 引物组合 JQM03、JQM04、JQM07、JQM19、JQM21 可以较好地对产地为四川产地的金荞麦进行区分鉴定。

表5 基于引物组合JQM03、JQM04、JQM07、JQM19、JQM21的各居群间遗传相似性系数

居群	云南	贵州	四川
云南	1.000		
贵州	0.769	1.000	
四川	0.333	0.313	1.000

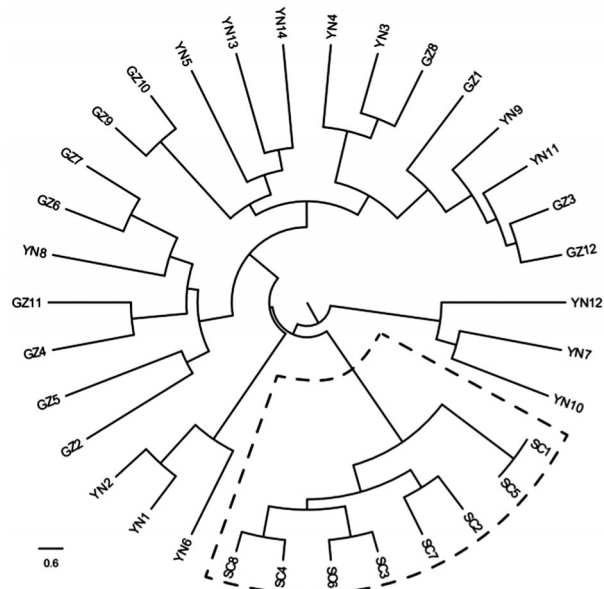


图1 基于引物组合JQM03、JQM04、JQM07、JQM19、JQM21的不同产地金荞麦样品的UPGMA聚类树

3.3.2 贵州地区金荞麦鉴定 基于金荞麦 SSR 引物组合 JQM04、JQM07、JQM19、JQM21，通过 GenAEx 计算各居群间遗传相似性系数（表6）。通过表6可知，居群间平均遗传相似系数为0.455，其中云南与贵州居群的遗传相似系数最大为0.644，说明云南、贵州居群的种群关系近；四川与云南、贵州居群的遗传相似系数分别为0.413、0.308，说明四川与云南、贵州两居群种群关系相对更远。基于 GenAEx 计算所得的遗传多样性数据，通过 MEGA 进行 UPGMA 聚类分析，构建聚类树（图2）可知，只有贵州居群的聚为较纯的一支，其他分支都有不同程度的混杂情况，同时也说明基于金荞麦 SSR 引物组合 JQM04、JQM07、JQM19、JQM21 可以较好地对产地为贵州产地的金荞麦进行区分鉴定。

4 讨论

我国西南地区是国际公认的荞麦起源中心，也是遗传多样性中心^[15]。张春平等^[16]采用随机扩增的多态性 DNA (RAPD) 技术对重庆市 7 个野生金荞

表6 基于引物组合JQM04、JQM07、JQM19、JQM21的不同居群间遗传相似性系数

居群	云南	贵州	四川
云南	1.000		
贵州	0.644	1.000	
四川	0.413	0.308	1.000

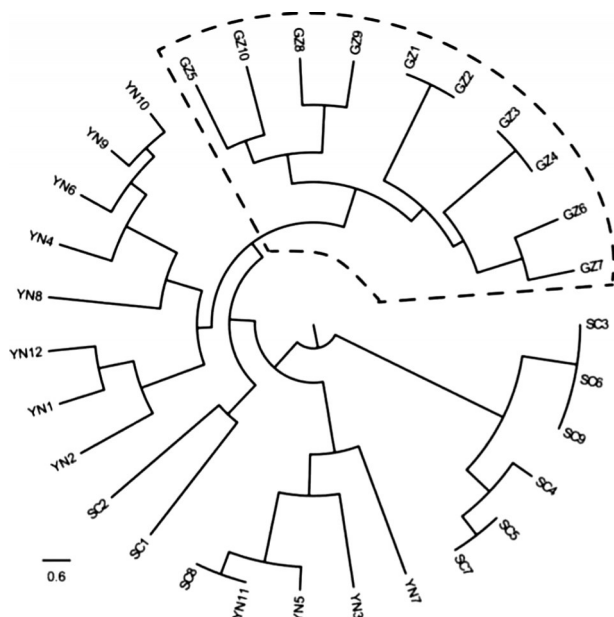


图2 基于引物组合JQM04、JQM07、JQM19、JQM21的不同产地金荞麦样品的UPGMA聚类树

麦居群的87个个体进行遗传多样性分析，得出金荞麦种内有丰富的遗传多样性，且与地理因素有显著相关性。邓蓉等^[17]应用简单序列重复间区（ISSR）标记方法，对贵州省内11个不同地域的金荞麦种质进行遗传多样性与亲缘关系分析，得出种质间遗传差异较小且相对稳定，为金荞麦品种ISSR指纹图谱建立、种质资源鉴定、基因定位等工作提供科学依据。程成等^[6]使用内转录间隔区（ITS）、*matK*分子标记手段，对收集的云南省内金荞麦进行遗传多样性和亲缘关系分析，结果表明海拔是影响其分类的主要因素。

本研究首次基于金荞麦全基因组数据设计SSR标记引物，对来自云南、贵州、四川3个不同产地金荞麦样本进行遗传多样性及聚类分析，发现不同产地的金荞麦具有丰富的遗传多样性，云南、贵州居群的种群关系近，四川与云南、贵州两居群种群关系相对更远。引物组合JQM03、JQM04、JQM07、JQM19、JQM21可以对产地为四川的金荞麦进行鉴定区分；引物组合JQM04、JQM07、

JQM19、JQM21可以对产地为贵州的金荞麦进行鉴定区分；引物组合JQM03、JQM04、JQM07、JQM19、JQM21可成功对云南产地金荞麦进行扩增，但由于云南产地的金荞麦混杂较为严重，目前无法从产地将其区分开。后续研究将继续加大样本量，验证并筛选更多、更稳定的SSR标记引物，为金荞麦种质资源鉴定、保护，遗传多样性分析和金荞麦新品种选育提供更多的参考依据。

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,2020:228.
- [2] 杨玺文,张燕,李隆云. 药用植物金荞麦研究进展[J]. 中国现代中药,2019,21(6):837-846.
- [3] 盛华刚,朱立俏,林桂涛. 金荞麦的化学成分与药理作用研究进展[J]. 西北药学杂志,2011,26(2):156-158.
- [4] PUI-KWONG C. 金荞麦体外抑制肿瘤细胞生长的研究[J]. 中西医结合学报,2003,1(2):128-131.
- [5] 罗庆林,周美亮,陈松树,等. 金荞麦的活性成分和药用价值研究进展[J]. 山地农业生物学报,2020,39(2):1-13.
- [6] 程成,张凯旋,唐宇,等. 云南金荞麦野生资源考察及遗传多样性分析[J]. 植物遗传资源学报,2019,20(6):1438-1446.
- [7] 王航,王洪鸽,卢亚艺,等. HPLC法测定不同产地金荞麦超微粉(-)-表儿茶素含量[J]. 动物医学进展,2013,34(5):64-66.
- [8] 张余,吴兴慧,黄凯丰. 不同产地金荞麦的产量与品质分析[J]. 中国果菜,2019,39(12):52-55.
- [9] 汤琼. 金荞麦的生药学研究[D]. 武汉:华中科技大学,2016.
- [10] 白玉. DNA分子标记技术及其应用[J]. 安徽农业科学,2007,35(24):7422-7424.
- [11] 罗冉,吴委林,张旻,等. SSR分子标记在作物遗传育种中的应用[J]. 基因组学与应用生物学,2010,29(1):137-143.
- [12] 詹海仙,王颖莉,杜晨晖,等. 基于甘草全基因组序列的SSR分子标记开发[J]. 分子植物育种,2020,18(18):6093-6100.
- [13] 马名川,刘龙龙,刘璋,等. 苦荞全基因组SSR位点特征分析与分子标记开发[J]. 作物杂志,2021(1):38-46.
- [14] 李月. 普通荞麦种质资源农艺性状评价和SSR遗传多样性研究[D]. 贵阳:贵州师范大学,2014.
- [15] 范昱,丁梦琦,张凯旋,等. 荞麦种质资源概况[J]. 植物遗传资源学报,2019,20(4):813-828.
- [16] 张春平,何平,胡世俊,等. 药用金荞麦遗传多样性的RAPD分析[J]. 中国中药杂志,2009,34(6):660-663.
- [17] 邓蓉,王安娜,张定红,等. 贵州金荞麦种质资源遗传多样性ISSR研究[J]. 种子,2018,37(1):4-7.

(收稿日期:2021-02-08 编辑:田苗)