中国油料作物学报

Chinese journal of oil crop sciences

花生矮化病毒病抗性 SSR 标记

肖 洋,晏立英,雷 永,黄家权,廖伯寿*

(农业部油料作物生物学与遗传育种重点开放实验室,中国农业科学院油料作物研究所,湖北 武汉,430062)

摘要:利用抗、感矮化病毒病的花生品种 ICGV86699 和远杂 9102 为亲本配制杂交组合,构建重组近交系群体 (RIL),采用 SSR 技术和 BSA 分析方法,结合 F_6 各个家系接种病毒后 ELISA 的鉴定结果,得到 1 个与花生矮化病毒病抗性连锁的分子标记 XY38。此标记与抗性基因间的遗传距离为 7.5 cM,具有作为抗性育种辅助选择技术的潜力。

关键词:花生;矮化病毒病;SSR;分子标记

中图分类号:S565.203;S435.652 文献标识码:A 文章编号:1007-9084(2011)06-0561-06

SSR markers on resistance to stunt virus in peanut (Arachis hypogaea L.)

XIAO Yang, YAN Li $-\,{\rm ying}\,,$ LEI Yong, HUANG Jia $-\,{\rm quan}\,,$ LIAO Bo $-\,{\rm shou}\,^*$

(Key Laboratory of Oil Crop Biology and Genetic Improvement of the Ministry

of Agriculture , Oil Crops Research Institute , CAAS , Wuhan 430062 , China)

Abstract: F₆ plants of a peanut RIL population derived from Yuanza 9102 (susceptible line) × ICGV86699 (resistant line) combination were used to identify DNA markers for resistance to peanut stunt virus (PSV) in peanut by SSR and BSA method. Based on ELISA results, an SSR marker XY38 linked to PSV resistance was identified with 7.5cM between marker and the resistance gene.

Key words: Peanut (Arachis hypogaea L.); Stunt virus; SSR; Molecular marker

花生矮化病毒病(peanut stunt virus, PSV)是一 种重要的植物病害,从20世纪70年代以来一直在 花生上流行和危害[1],严重制约着我国北方产区花 生生产的发展。PSV 在自然条件下可侵染花生、大 豆、菜豆、刺槐、烟草、豌豆及三叶草等豆科牧 草^[2~4]。花生植株早期感染 PSV 可减产 40% 以上, 而且荚果变小、畸形,严重影响花生的产量和品质。 花生矮化病毒能通过种子传播,在田间由蚜虫传播, 引起流行危害,化学和栽培防治措施都较为困 难[5]。因此培育和选用抗病花生品种是控制病毒 病发生和流行最为经济有效的措施。栽培花生中尚 未发现花生矮化病毒病的抗性资源[6],而野生花生 资源中存在高抗材料[7],通过远缘杂交可以将野生 花生的矮化病毒病抗性转移到栽培花生中。病毒病 抗性需要在温网室条件下进行人工辅助接种鉴定, 费工费力,而分子标记辅助育种为矮化病毒病抗性 转移提供了便捷的检测手段。

植物育种中分子标记辅助选择是通过分析与目标基因紧密连锁的分子标记来判断目标基因是否存在。早期学者通过 RFLP 和 RAFD 标记开展了花生目标基因的研究,但由于花生栽培种中缺乏多态性^[8,9],相关的研究少有进展。尽管利用 AFLP 等技术可在花生栽培种资源中检测出较丰富的多态性^[10~12],但技术难度较大。SSR 分子标记能在花生栽培种中检测出丰富的遗传多态性且操作简便^[13~15],因此这一类型标记在花生遗传变异检测、遗传图谱构建和分子标记辅助育种等方面具有广泛的应用前景。本研究利用已获得的抗矮化病毒病的种间杂种后代与感病品种杂交构建重组近交系群体(RIL)进行花生抗矮化病毒病分子标记研究,获得与 PSV 抗性相关的分子标记,为花生矮化病毒病抗性材料的选育提供便捷的手段。

收稿日期:2011-03-31

基金项目:国家自然科学基金(30871626);国家现代花生产业技术体系(CARS-19);公益性行业专项(200903004-40)

作者简介:肖 洋(1983-),女,硕士研究生,主要从事花生分子育种研究

^{*} 通讯作者:廖伯寿(1963 -),男,研究员,从事花生遗传育种和生物技术研究,E - mail: lboshou@ hotmail. com

1 材料与方法

1.1 材料

重组近交系群体(recombined inbreeding lines, RILs)构建的亲本:选用引自国际半干旱研究所(IC-RISAT)的ICGV86699为父本,河南省农业科学院培育的栽培花生品种远杂9102为母本。抗病亲本ICGV86699是ICRISAT通过系统选择方法从远缘杂交品系CS29中选育的抗PSV花生品种,CS29来源于美国北卡州通过复合杂交(Arachis batizocoi×Arachidis duranises)×NC-2的后代,含有花生区组两个二倍体野生种的亲缘,A. duranises对花生矮化病毒病表现免疫^[16]。感病亲本远杂9102是河南省农业科学院选育的早熟高油珍珠豆型花生品种,高感花生矮化病毒病。两亲本的种子均由中国农业科学院油料作物研究所花生种质资源课题组提供。

重组近交系群体的构建:以远杂 9102 为母本、ICGV86699 为父本配制杂交组合, F_2 按单株收获并于下季种植成 F_3 株行,在 F_3 株行中随机收取 1 株种植成 F_4 ,以此类推。 F_6 各家系按单株混合收获组成重组近交系群体(RIL)。

SSR 引物为国际半干旱研究所(ICRISAT)生物技术实验室、美国亚拉巴马州 Tuskegee 大学提供的SSR 序列(254 对),来自印度的引物命名为:数字 - 字母 - 数字,来自美国的引物命名为:PM - 数字,以及本课题开发的EST - SSR 引物(99 对)命名为 XY - 数字^[17],分别由上海生工公司和北京奥科公司合成。由于其他实验室的254 对SSR 引物尚未正式发表,应引物开发者要求本文未列出引物的详细序列。

1.2 方法

- 1.2.1 花生基因组 DNA 的提取方法与纯化 采用 CTAB 酚/氯仿法提取供试花生品种(或家系)的 基因组 DNA,紫外分光光度计测定浓度及纯度,1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 质量,最后统一调整 DNA 浓度至 50~100ng/μL。
- 1.2.2 花生矮化病毒病的抗性鉴定 采用汁液摩擦接种法 $^{[18]}$:将干燥保存的 PSV 带毒叶片接种 3~4 叶期的花生植株叶片。待植株症状出现后取新鲜的病毒叶片加入接种缓冲液 $[0.2 \text{mol/L PBS},每100 \text{mL} 含 61.0 \text{mL} 0.2 \text{mol/L Na}_2 \text{HPO}_4 、39.0 \text{mL} 0.2 \text{mol/L NaH}_2 \text{PO}_4 (pH7.0) 、0.05% β-巯基乙醇] 研$

磨,接种缓冲液与病毒叶片的比例为 10: 1。研磨后,在待接种植物叶片上喷洒金刚砂,用手指蘸取病毒汁液轻轻摩擦植物叶片上表面,接种后用清水冲洗接种叶片,5d 后重复接种一次。接种一周后,每周采集上部幼嫩叶片进行 ELISA 检测,统计 4 周的 ELISA 结果,抗感标准为: ELISA 值为阴性对照(抗病亲本 ICGV86699)1.5 倍以下为抗病,大于 1.5 倍为感病。

- 1.2.3 极端抗病材料与极端感病材料的选取 根据 RIL 群体对 PSV 的 ELISA 检测结果,从中选取 4 株极端抗病单株和 4 株极端感病单株。
- 1.2.4 SSR 分析及数据处理 SSR 反应体系及程序: PCR 反应体系包括 $1\mu L$ $10 \times buffer$, $0.1\mu L$ dNTP (25 mmol/L), $0.6 \mu L$ $MgCl_2$, SSR 正向和反向引物各 $0.5 \mu L$, $50 \sim 100 ng$ DNA 模板和 $0.1 \mu L$ Taq DNA 聚合酶,加超纯水补至 $10 \mu L$ 。反应程序为: 94 % 5 min, 3 cycles (94 % 30 s, 55 % 30 s, 72 % 1.5 min), <math>3 cycles (94 % 30 s, 53 % 30 s, 72 % 1.5 min), 3 0 cycles (94 % 30 s, 51 % 30 s, 72 % 1 min), <math>72 % 7 min, 4 % R 存 PCR产物利用 6% 非变性聚丙烯酰胺胶在 100% 恒功率下电泳 1.5 h。电泳完成后,以蒸馏水清洗,硝酸银染色 20 min,染色完成、蒸馏水漂洗 10 s 后,立即放入显影液中显影直到清楚条带出现,停止显影,凝胶结果扫描或照相供分析。

根据各引物预测的片段大小对 PCR 扩增结果进行统计,抗病品种 ICGV86699 与感病品种远杂9102 为对照,与抗病材料相同记为"1",与感病材料相同的则记为"0",建立各个 SSR 引物在所分析的RIL 群体中扩增片段的分布表(0~1表),存入 Microsoft Access 数据库中。

2 结果与分析

2.1 花生亲本及 RIL 群体对矮化病毒病抗性鉴定

亲本 ICGV86699 和远杂 9102 人工接种 PSV 后表现不同,抗病材料 ICGV86699 叶片无症状,感病材料远杂 9102 叶片上出现典型的 PSV 褪绿花叶。对该组合 RIL 群体的 94 个家系接种后根据症状结合每周对叶片进行 ELISA 检测,发现群体中40 个家系与 ICGV86699 的 ELISA 数值相同,为抗病材料,有 54 个家系与远杂 9102 的 ELISA 数值相近,为感病材料(表 1)。

表 1 接种条件下 RIL 群体的 ELISA 检测结果
Table 1 ELISA result in RIL population after artificial inoculation

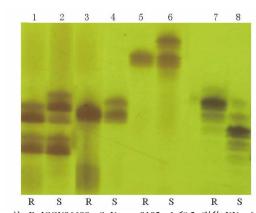
材料编号	平均值	抗、感性	材料编号	平均值	抗、感性	材料编号	平均值	抗、感性
Entry	(OD_{405}) Average		Entry	(OD_{405}) Average	Reaction to PSV	Entry	$(\mathrm{OD}_{405}) \mathrm{Average}$	Reaction to PSV
1	2.283	S	52	1.812	R	98	2.054	S
2	1.987	S	53	2.081	S	99	1.713	R
3	1.655	R	54	2.772	S	100	1.897	S
9	0.894	R	55	1.978	S	101	2.255	S
11	2.306	S	56	2.405	S	102	2.257	S
12	0.761	R	57	2.405	S	103	2.159	S
13	1.775	R	58	2.220	S	104	2.044	S
14	1.919	S	59	3.942	S	105	1.762	R
17	1.578	R	61	4.907	S	106	1.352	R
24	1.519	R	65	2.446	S	107	1.972	S
26	2.381	S	66	2.036	S	108	1.227	R
27	0.953	R	67	1.996	S	109	1.940	S
29	2.544	S	68	2.851	S	110	1.378	R
30	1.865	R	69	3.132	S	111	1.290	R
31	2.230	S	70	1.952	S	113	2.337	S
32	1.591	R	71	2.478	S	115	2.894	S
33	2.650	S	72	3.214	S	116	0.958	R
34	3.795	S	73	1.934	S	117	2.426	S
35	1.819	R	74	1.928	S	119	2.601	S
36	2.284	S	76	2.216	S	120	1.982	S
38	1.258	R	77	3.764	S	121	1.693	R
39	2.362	S	78	2.693	S	122	2.538	S
40	1.803	R	80	1.061	R	124	1.509	R
41	1.496	R	82	1.660	R	125	0.378	R
42	2.894	S	87	1.581	R	126	2.896	S
43	1.719	R	88	1.908	S	128	1.221	R
44	2.131	S	89	1.158	R	129	0.890	R
45	2.724	S	90	1.862	R	130	1.110	R
46	1.489	R	91	2.036	S	132	2.132	S
47	1.726	R	93	1.580	R	133	2.897	S
50	1.498	R	95	1.534	R	ICGV86699	1.26	
51	1.110	R	96	2.115	S	远杂 9102 Yuanza9102	2.24	

注:阳性对照:远杂 9102;ICGV86699:阴性对照;当 OD_{405} 大于或等于 1.5 倍阴性对照值时,表明是感病(S),小于 1.5 倍阴性对照值则为抗病(R)

Note:R:Resistant to PSV; S:susceptible to PSV; Yuanza9102: Positive control (S); ICGV86699: Negative control (R); The material was classified as R when OD_{405} value was less than 1.5 folds of negative control, otherwise, it was classified as S

2.2 亲本间差异 SSR 引物筛选

本实验共用 353 对 SSR 引物对 ICGV86699 和远杂 9102 两亲本基因组 DNA 进行预扩增来筛选多态性引物。结果表明,在 353 对 SSR 引物中有 56 对引物在亲本材料扩增出有差异的条带,多态性引物占15.8%(其中部分引物对抗感亲本扩增差异条带见图1),平均每条多态性引物产生 1~3条差异条带,56 对多态性引物中共检测到差异条带 89 个,大部分引物出现 1~2条差异带,少数引物产生 3条差异带,极少数引物产生 3条差异带,极少数引物产生 3条点,数引物产生 3条点,数引物产生 3条点,数引物产生 3条点,数引物产生 3条点,数引物产生 3条点,数引物产生 3条点,数引物产生 3条以上的差异带。其中本课题组开发的 EST - SSR 的 99 对引物中,有 12 对引物扩增出多态性条带,多态性引物占 12.1%。



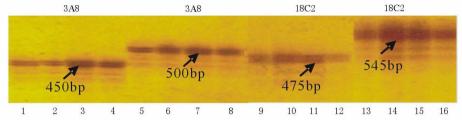
注:R:ICGV86699; S:Yuanza9102; 1 和2:引物 XY -6; 3 和4:引物 XY38; 5 和6:引物 XY8; 7 和8:引物 3A8
Note:R:ICGV86699; S:Yuanza9102; 1 and 2: primer XY -6; 3 and 4:primer XY38; 5 and 6:primer XY8; 7 and 8:primer 3A8
图 1 部分 SSR 引物在两亲本品种中多态性扩增片段

Fig. 1 Polymorphism of some SSR primers between two parents

2.3 极端抗病和极端感病材料间差异 SSR 引物筛选

利用亲本间有差异的 56 对引物分别对 4 株极端抗病和 4 株极端感病材料的 DNA 进行进一步的

PCR 扩增,结果显示,在抗病和感病样本池之间表现差异的引物有 12 对,其中 SSR 引物 3A8 和 18C2 扩增产物电泳的扫描图片见图 2。



注: $1\sim4$ 和 $9\sim12$ 为 F_6 抗病植株; $5\sim8$ 和 $13\sim16$ 为感病植株;3A8 和 18C2 为两个 SSR 引物 Note:1,2,3,4 and 9,10,11,12 were F_6 resistant plants; 5,6,7,8 and 13,14,15,16 were F_6 susceptible plants; 3A8 and 18C2 were two SSR primers

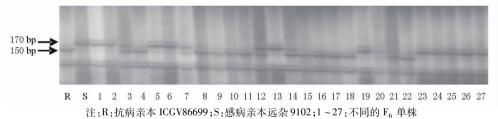
图 2 筛选显示抗病和感病植株间有差异的 SSR 引物 Fig. 2 SSR screening of primer 3A8 and 18C2 showed difference between resistant and susceptible plants

2.4 与 PSV 抗性相关的 SSR 分子标记的获得

利用显示有差异的 12 对引物对 RIL 群体(94个家系) DNA 进行 PCR 扩增。12 对引物在群体抗、感家系中都扩增到差异的条带(表 2)。在这 12 对 SSR 引物中, EST - SSR 引物 XY - 38 在 48 个家系 扩增出分子量为 150bp 左右的条带, 46 个家系中扩增出 170bp 的条带(图 3 显示部分结果)。利用 ELISA 检测得到的 40 个抗病家系中 38 个家系扩增出 150bp 的条带, 2 个家系未扩增出特异条带; 54 个

感病家系中,49 个得到 170bp 的条带,5 个未扩增到特异条带(表2)。XY - 38 PCR 扩增条带差异结果与 ELISA 检测的抗、感结果相符,这对引物的扩增产物能明显区分抗、感 PSV 的家系,表明其扩增产物可能与花生矮化病毒病抗性相关。

根据 XY - 38 对 94 个家系扩增结果,结合 ELISA 检测得到的抗感家系结果,经过两点测验,标记 XY38 与花生矮化病毒病抗性的交换值为7.4%,换算成遗传距离为7.5cM(表3)。



Note:R:resistant parent ICGV86699;S:susceptible parent Yuanza9102;1 ~27:different F_6 lines

图 3 引物 XY38 在部分 RIL 群体家系中扩增情况

Fig. 3 DNA fingerprinting of partial RIL populations of cultivars detected by SSR primer XY38

表 2 12 对引物在 RIL 群体家系中的扩增情况 Table 2 DNA fingerprinting of RIL lines detected by 12 SSR primers

引物 Primer	抗病家系的个数 Resistant lines amount	扩增片段大小 PCR product/bp	感病家系的个数 Susceptible lines amount	扩增片段大小 PCR product/bp
XY38	38	150	49	170
XY8	36	140	45	150
3 A8	37	500	40	470
PM471	39	690	30	710
7H9	30	370	46	400
17F6	26	360	54	390
PM375	42	250	23	300
PM482	42	240	42	200
12E3	26	700	44	680
9E8	26	1000	52	900
18C2	25	210	42	170
18A8	21	450	54	390

SSR 引物 SSR primer		XY38	
RIL 株系 RIL lines	R(150bp)	S(170bp)	交换型 Exchange type
抗病 Resistant lines(R)	38	2	2
感病 Susceptible lines(S)	5	49	5
合计 Total	9	14	7
交换值 Exchange value /%		7.4	
遗传距离 Genetic distance /cM		7.5	

表 3 RIL 群体对 PSV 抗性与分子标记间的对应关系
Table 3 Relationship between molecular markers and reaction to PSV in RIL lines

注:在无交叉干扰的情况下,交换值与遗传距离的换算公式为: $X=1/4 \ln[\ (1+2r)/(1-2r)\]$,其中 X 表示遗传距离(cM); r 表示交换值 Note:Genetic distance calculation formula was $X=1/4 \ln(\ (1+2r)/(1-2r)\)$; X:genetic distance (cM); r:exchange value

3 讨论

分子标记辅助选择已广泛应用于作物育种中并取得良好成效。在栽培种花生上,已经建立了抗线虫、抗黄曲霉侵染^[19]、抗青枯病^[20]、抗叶部病害^[21,22]的分子标记,并应用于育种材料的抗性选择,取得了一定的进展。迄今,国内外未见有关花生矮化病毒病抗性分子标记研究的报道。这可能由于花生矮化病毒病抗性分子标记研究的报道。这可能由于花生矮化病毒病抗性种质的缺乏和抗性鉴定的难度,限制了该病毒抗性分子标记及抗性育种的开展。

植物病毒病抗性的评价往往根据是否出现症状或是否引起经济损失来进行的。花生矮化病毒病的抗性评价尚未有统一的标准,尤其是从经济损失的角度评价抗性存在较多的影响因素和较大的难度,因此植株症状表现成为抗性衡量的重要依据。通过人工摩擦接种花生矮化病毒后,适宜的温度条件下,感病的植株很快表现系统花叶症状,而抗病植株则不表现症状,不过也有一些感病植株因为外界因素的干扰,表现为隐症。为了避免外界因素的干扰,本研究在人工接种矮化病毒后,每周进行 ELISA 检测。植株的抗感表现依据症状表现和 ELISA 结果相结合来判定,保证了抗性鉴定的可靠性。

远缘杂种材料 ICGV86699 具有两个二倍体野生种的血缘,来自对锈病、叶斑病、病毒病等^[7,21,22] 具有抗性的 A. duranensis 和 A. batizocoi。侯慧敏等^[21]、夏友霖等^[22]分别以 ICGV86699 为抗性父本和感病母本构建的重组近交系为材料,建立了锈病抗性和叶斑病抗性的 AFLP 标记,并发现来自野生种的叶部病害(锈病、叶斑病)抗性在遗传特性上与栽培种花生明显不同。栽培花生的锈病抗性为隐性基因控制,而 ICGV86699 的锈病抗性为显性基因控制;栽培花生中的黑斑病抗性受多基因控制,而 ICGV86699 的抗性则受单基因控制。因此,ICGV86699 作为目前发现的抗矮化病毒病四倍体种质,无论在栽培花生品种的 PSV 抗性上,还是在培育多抗花生新品种方面,都具有重要的育种利用价值。

本研究应用 SSR 标记技术结合抗性鉴定结果, 获得了与花生矮化病毒病抗性连锁的 1 个 SSR 标记 XY38,该标记与抗性基因的遗传距离为 7.5cM。由于花生矮化病毒在栽培花生无抗病材料,而同样的 SSR 引物在野生花生与栽培花生得到不同的条带,无法通过抗性的野生花生来进一步验证。 XY38这一标记的建立,可作为花生矮化病毒抗性育种辅助选择的一种快捷手段。关于标记与目标性状的连锁程度,应以小于 5cM 为最佳距离,而本试验得到的这个 SSR 标记与花生矮化病毒抗性基因连锁的距离为 7.5cM,距离较远的原因或与引物数量太少有关。因此还需加大引物密度,进一步筛选引物,寻找与目标性状紧密连锁的标记。

参考文献:

- [1] 许泽永,张宗义,陈坤荣,等. 花生病毒病发生规律和 防治研究[J]. 湖北植保,2004(5):37-39.
- [2] Milbrath G M , Tolin S A. Identification, host range and serology of *Peanut stunt virus* isolated form soybean [J]. Plant Disease Reporter, 1977, 61:637-640.
- [3] Diaz Ruiz J R, Kaper J M. Nucleotide sequence relationships among thirty peanut stunt virus isolates determined by competition hybridization Archives [J]. Virology, 1983, 75:277 281.
- [4] Xu Z Y, Barnett O W, Gibson P B. Characterization of peanut stunt virus strains by host reactions, serology, and RNA patterns [J]. Phytopahtology, 1986, 76:390 – 395.
- [5] 许泽永,陈坤荣,陈国达,等. 刺槐 花生矮化病毒的 初侵染源[J]. 植物病理学报,1994,24(4);305 309.
- [6] 张宗义,许泽永,陈坤荣,等. 花生品种(系)对花生矮 化病毒抗性鉴定[J],中国油料,1994,16(2):49-51.
- [7] 陈坤荣,张宗义,许泽永,等. 野生花生对花生矮化病 毒抗性鉴定[J]. 中国油料,1992,2:69-70.
- [8] Kochert G, Halward T, Branch W, et al. RFLP variability in peanut (Arachis hypogaea L.) cultivas and wild species [J], Theor Appl Genet, 1991, 81(5):565-570.
- [9] Hilu K W, Stalker H T. Genetic relationships between peanut and wild species of *Arachis* sect. *Arachis* (*Fabace*-

- *ae*) : evidence from RAPDs[J]. Plant Systematics and E-volution, 1995, 198:167 178.
- [10] 陈 强,张小平,李登煜,等. 我国主要花生品种的 AFLP 分析[J]. 应用与环境生物学报,2003,9(2): 117-121.
- [11] 翁跃进, Santosh G, Nigam S N. 花生 AFLP 指纹图谱 [J]. 中国油料作物学报,1999,21(1):10 12.
- [12] He G H, Prakash C. Evaluation of genetic relationships among botanical varieties of cultivated peanut (*Arachis hypogaea* L.) using AFLP markers [J]. Genetic Resources and Crop Evolution, 2001, 48:347 – 352.
- [13] 姜慧芳,廖伯寿,任小平,等. 抗青枯病花生种质的遗传多样性[J]. 作物学报,2006,32(8):1 156-1 165.
- [14] 唐荣华,庄伟建,高国庆,等. 珍珠豆型花生的简单序 列重复(SSR)多态性[J]. 中国油料作物学报,2004, 26(2):20-26.
- [15] Ferguson M E, Bramel P J, Chandra S. Gene diversity among botanical varieties in peanut (*Arachis hypogaea* L.) [J]. Crop Science, 2004, 44(5); 1 847 1 855.

- [16] 陈坤荣,张宗义,许泽永,等. 野生花生对花生矮化病毒抗性鉴定[J]. 中国油料,1992,4,69-70.
- [17] 肖 洋,廖伯寿,晏立英,等. 栽培种花生 EST SSR 引物的开发与应用[J]. 湖北农业科学,2010,49 (11);2 625 2 628.
- [18] 晏立英,蔡 丽,许泽永,等. 油菜花叶病毒 Wh 株系的鉴定[J]. 植物保护学报,2005,32(4):367-372.
- [19] 雷 永,廖伯寿,王圣玉,等. 花生黄曲霉侵染抗性的 AFLP 标记[J]. 作物学报,2005,31(10):1 349 1 353.
- [20] 姜慧芳,任小平,雷 永,等. 花生青枯病抗性分子标记的初步研究[J]. 花生学报,2003,32(BI1):319-323.
- [21] 侯慧敏,廖伯寿,雷 永,等. 花生锈病抗性的 AFLP 标记[J]. 中国油料作物学报,2007,29(2):195-198.
- [22] 夏友霖,廖伯寿,李加纳,等. 花生晚斑病抗性 AFLP 标记[J]. 中国油料作物学报,2007,29(3):318-321.