

# 利用簡單重複序列標記建立臺灣毛豆品種的 鑑別技術<sup>1</sup>

王聖善、黃詩婷、蔣雅文、王裕權、張嘉滿、楊藹華<sup>2</sup>

## 摘 要

王聖善、黃詩婷、蔣雅文、王裕權、張嘉滿、楊藹華。2013。利用簡單重複序列標記建立臺灣毛豆品種的鑑別技術。臺南區農業改良場研究彙報 62：22-29。

毛豆為近年來臺灣重點出口作物之一，為有效鑑別臺灣地區毛豆品種與大豆品種並保護其品種權，本研究以 95 個簡單重複性序列標誌，針對 6 個參試品種進行初步篩選，經 PCR 反應與電泳分析結果顯示，17 組標誌於參試品種中具多型性。為了進一步建立精確之毛豆 DNA 指紋圖譜資訊，本研究將 17 組具多型性分子標誌進行引子螢光修飾，並針對 14 個毛豆品種、3 個黑豆品種、2 個綠肥大豆品種與 1 個黃豆品種進行連鎖聚合酶反應後，再以毛細管電泳進行片段長度分析，結果顯示，13 組分子標誌具高 PIC 值與低殘跡條帶等優良特性。在品種親源鑑定方面，除了日本毛豆品種 82 茶豆與毛豆臺南選 1 號的分子標誌多型性模式完全相同外，其餘品種均可被鑑別，其最少只需 GMES158、GMES6391、GMES6224 與 GMES4226 等四組標誌即可鑑別 19 個參試品種。由以上結果顯示，此系統能夠精準且有效率地鑑別臺灣毛豆品種並保護其品種權。

**關鍵字：**毛豆、品種鑑定、簡單重複性序列

**接受日期：**2013 年 9 月 25 日

## 前 言

毛豆為臺灣農產品出口大宗作物之一，主要以冷凍毛豆之形式外銷日本，以賺取大量外匯。依據農委會統計數據顯示，2012 年臺灣外銷毛豆年產值已達 7,159.2 萬美金，並有逐年增加之趨勢。2001 年起臺灣外銷毛豆遭逢強大鄰近國家之競爭，東南亞與中國大陸地區挾生產成本低廉之優勢，大舉入侵日本的毛豆市場。然而於 2006 年日本實施修正食品衛生法，採行較嚴苛之用藥殘留檢驗基準，使得臺灣毛豆再度獲得競爭優勢。此外，臺灣農業育種者為迎合消費市場多元化，陸續推出了毛豆高雄選 1 號、高雄 2 號至高雄 11 號、毛豆臺南選 1 號與臺南亞蔬 2 號等毛豆品種，大舉增加了臺灣毛豆外銷日本之競爭力。

---

1. 行政院農業委員會臺南區農業改良場研究報告第 412 號。

2. 臺南區農業改良場助理研究員、研究助理、研究助理、副研究員、助理研究員與研究員兼課長。

近年來農業智慧財產權觀念日趨普及，植物品種權保護意識漸漸受到重視，直至 2011 年止，臺灣已有超過 1,094 件品種權申請案件，就毛豆而言，目前已有毛豆高雄 6 號、高雄 7 號、高雄 8 號、臺南亞蔬 2 號、高雄 9 號、高雄 10 號與高雄 11 號等 7 個毛豆品種申請品種權保護，並有 4 個品種完成境外授權至日本種苗公司。因此，如何以科學與準確之方式進行毛豆品種鑑定以保護臺灣育種工作者應有權力乃是目前急待解決之問題。

臺灣已有多種作物完成分子標誌品種鑑定技術開發，但目前已開發完成之技術多以隨機擴增之 ISSR (Inter-Simple Sequence Repeat)、RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) 等檢測方式為主<sup>(1,3,4)</sup>，然而以此技術基礎所開發之品種鑑定模式易受到操作技術與環境所影響，穩定性與實驗可重複性容易遭受質疑。因此，本實驗以簡單重複性序列 (Simple Sequence Repeat) 作為品種鑑定之分子標誌，以增加實驗之準確性。簡單重複性序列為以 1 至 6 個鹼基對為單位所構成之重複性片段，普遍存在真核生物基因體中，由於具有數量龐大、高突變率 (品種間歧異度大) 與容易分析等優點，目前以普遍運用於各作物之品種鑑定技術上<sup>(5,6,7,9)</sup>。

本研究以簡單重複性序列作為品種鑑定之分子標誌，針對臺灣所育成之毛豆品種與部分大豆品種進行分析並建立其 DNA 指紋圖譜，作為往後臺灣毛豆品種鑑定與保護之用途。

## 材料方法

### 一、參試毛豆品種

本研究使用 20 個由農委會臺南區農業改良場與高雄區農業改良場所提供之大豆品種，包含 10 個臺灣毛豆品種 (毛豆高雄 1-2 號、毛豆高雄 5-10 號、毛豆臺南選 1 號與臺南亞蔬 2 號)、4 個黑豆品種 (臺南 3 號、臺南 5 號、臺南 8 號與臺南 9 號)、3 個日本毛豆品種 (香姬、黑五葉與 82 茶豆)，1 個臺灣大豆品種 (大豆臺南選 1 號) 與 2 個綠肥大豆品種 (臺南 4 號與臺南 7 號)，其中高雄 6-9 號已於 2009 年期間成功境外授權於日本雪印種苗公司。

### 二、材料取樣與 DNA 萃取

參試品種於 2011 年 2 月間種植，每品種取 10 粒種子進行種植，於發芽兩週後分別摘取 5 株生長勢一致之個體嫩葉各一片，等比例混合後以 CTAB 方法抽取大豆葉片 DNA，並以分光光度計定量，稀釋每管濃度至 20 ng/μL。

### 三、SSR 分子標誌

本研究所用之 SSR 分子標誌選至於前人已發表之大豆 SSR 分子標誌 (Hisano *et al.*, 2007)，主要以篩選多型性資訊含量值 (polymorphism information contents, PIC) 較高之 95 組 SSR 分子標誌進行多型性分析。

### 四、分子標誌分析

本實驗以連鎖聚合反應進行多型性分析，為配合雷射激發螢光訊息的偵測，特別訂製帶有 FAM (carboxyfluorescein)、JOE (4,5-dichloro-dimethoxy-fluorescein)、TAMRA (Carboxytetramethylrhodamine) 或 HEX (Hexachloro-fluorescein) 螢光標記的 Forward 引子 (Genomics, Taiwan) 進行 PCR 反應。每反應總體積為 25 μL，其中包含 2.5 μL 10X PCR buffer (100 mM Tris-HCl, pH8.3, 500 mM KCl, 1 mg/mL gelatin 與 15 mM

MgCl<sub>2</sub>)、0.5 μL 10mM dNTPs、1 μL 10 μM 引子各一條、1U Taq DNA 聚合酶 (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)。PCR 反應採用熱循環反應器 (Biometra-Tprofessional Thermal cycler™)，先以 94℃ 反應 3 分鐘，接著以 94℃ 1 分鐘；55℃ 30 秒；72℃ 20 秒，循環 35 次，最後再以 72℃ 20 分鐘結束反應。PCR 產物委託廠商基龍米克斯生物科技有限公司以毛細管電泳 (ABI-3730) 進行分析，分析後的資訊再以 GeneMapper 4.0 軟體加以判讀。

## 五、DNA 定序分析

每基因座獨立重複 3 次進行連鎖聚合反應，將各基因座所獲得之 3 管 PCR 產物等比例混合後，產物委託廠商基龍米克斯生物科技有限公司進行 DNA 序列分析。

## 六、統計方法

分子標誌在品種間的多型性程度依據 Ishii 與 McCouch (2000) 對自交作物使用之 PIC 公式計算， $PIC_i = 1 - \sum_{j=1}^n P_{ij}^2$ ，其中  $P_{ij}$  是指第  $i$  個基因座的第  $j$  個對偶基因所佔的機率值。品種間遺傳距離，定義為不同基因座之數目於全部基因座數目中之比例做計算。主成分分析 (Principal Coordination Analysis) 是以 NTSYS 1.0 進行計算分析。

# 結 果

## 一、多型性 SSR 分子標誌篩選

爲了初步篩選具多型性之毛豆分子標誌，本實驗以 6 個毛豆品種 (高雄 5 號、高雄 6 號、高雄 7 號、高雄 8 號、高雄 9 號與高雄 10 號) 作爲篩選品種，針對 95 組由前人文獻<sup>(8)</sup>所設計之 SSR 分子標誌進行連鎖聚合反應擴增後再以瓊脂膠體進行分析。實驗結果顯示，十七組 SSR 分子標誌於以上 6 個毛豆品種間具有多型性，其分子標誌相關資訊詳如表一。爲進一步分析分子標誌之穩定性，十七組具多型性 SSR 分子標誌分別以四組螢光 (FAM, HEX, JOE 與 TAMRA) 進行引子修飾，並針對 10 個臺灣毛豆品種、4 個黑豆品種、3 個日本毛豆品種、2 個綠肥大豆品種與 1 個黃豆品種進行連鎖聚合反應擴增，經毛細管電泳分析結果顯示其中 13 組分子標誌具有低殘跡條帶 (stutter band) 之優良特性，其毛細管電泳分析結果顯示於表 2。

## 二、多型性 SSR 分子標誌特性分析與指紋圖譜建立

依據文獻資料顯示<sup>(8)</sup>，具低殘跡條帶之 13 組分子標誌中，有 6 組分子標誌爲兩核苷酸簡單重複序列 (Di-nucleotide simple sequence repeat)，7 組分子標誌爲三核苷酸簡單重複序列 (Tri-nucleotide simple sequence repeat)，其均勻的座落於 11 條染色體當中。各標誌之基因座數目介於 2-7 之間，PIC 值則介於 0.3084 (GMES0011) 至 0.7482 (GMES158) (表 3)。

爲了解各基因座之核苷酸長度差異與微衛星體片段重複數目之相關性，由各標誌於品種間所獲得之 40 個基因座分別進行核酸定序分析。實驗結果顯示，分子標誌 GMES3985 爲一段 11 bp InDel (GGATCATGTTT) 所導致標誌之多型性；分子標誌 GMES6391、GMES158、GMES6224 與 GMES1173 於 20 個品種間之多型性由 InDel 片段差異與微衛星體片段重複次數所共同導致；其餘分子標誌多型性則皆由微衛星體片段重複次數不同所導致 (表 4)。

## 三、參試品種之親緣分析

20 個參試品種中，除了日本 82 茶豆與毛豆臺南選 1 號完全沒有差異外，其餘皆有一個分子標誌以上之差異，而以高雄七號與臺南七號之間的 11 個差異最大。經分析顯示，最少只需四組分子標誌（GMES158、GMES6391、GMES6224 與 GMES4226）即可分辨出參試之 19 個品種。將品種間分子標誌差異之基因座轉換為遺傳距離進行主成分分析，品種間以前 3 個主成分分析之分佈如圖 1。分析顯示，日本毛豆品種香姬、黑五葉與 82 茶豆／毛豆臺南選 1 號親源相近，兩兩間所差異均少於 4 個分子標誌；高雄 1 號與高雄 8 號只有 2 個之分子標誌之差異；高雄 2 號與高雄 5 號有 3 個之分子標誌之差異，其餘品種於此分析中則無明顯相關性存在。

表 1. 具有多型性的 17 個 SSR 分子標誌與其詳細資訊

Table 1. The detailed information of 17 polymorphic markers

ID	Chr.	SSR	Tm	Forward Primer	Reverse Primer
GMES271	D1b	(AT)	55	GAACAATTGAGGTCGACGGT	GCAACACACATGCATTCTCC
GMES3952	C2	(GT)	55	AAACGGAGAGCACTGAGGAA	TTTTCTTCTCGCTGCGAAT
GMES254	B1	(AG)	55	GCACACAGACAGAGGCAGTG	GAGTGGAAAAGTGGGGTTTCA
GMES158	F	(TA)	55	CATGCACCTTGATGTATGTATCA	CAGAAGACAGATCAAGTTGAAG
GMES4754	E	(CT)	55	ATCACCACCATCCCGAAATA	GCATGGCATACTGGGGTTAC
GMES3937	F	(AAG)	55	AGGTACTGGACACTCGGTGG	GGAGAAGGCCTCATCAACAG
GMES6391	G	(AG)	55	CGACATCTCGAAAATCCTC	AAGAGGGAAAGATGGTGGCT
GMES3985	B2	(TCT)	55	AAGCTTCTTACCCATGTCCG	TGCTCGCTTCTTTTCCAAC
GMES4226	M	(GAA)	55	AAGTTAGGGTTTCTTGTGATTGA	GTCGGAGGAAATGAGGATCA
GMES6224	J	(TAG)	55	CCTAGCAGAGCTGTCCATCC	TGCTAGCTTTTTCTTCCCA
GMES0011	O	(CAA)	55	GCACAAAGCATCCTTCAACA	CACCCTGCAGCTTTTAGACC
GMES1173	N	(AAC)	55	TATGGGACATCAAAGCCACA	CGCACTGCCATATGAAGAGA
GMES2487	O	(TGA)	55	TATCCTGGGTTGTAGGGTGG	TCCATTGCTAGGTATCGGC
GMES4016	C2	(AT)	55	GTGTACCAACTAGCATTGT	GTGAATAATGCAGATGATGG
GMES6195	B1	(AT)	55	GGATTTGAAGACAAAATGAATCG	CCCATATACAAGTCTACCTAAC
GMES4156	G	(AT)	55	CGGTAAGCGACAAGTAGTGAGA	AGCTGATGGGTTAATGCCAG
GMES4789	C2	(AT)	55	GTGAAGACAGGTTTGTGCGA	GGAGGAAATTATGGGGTTGA

表 2. 十三組低殘跡條帶分子標誌於 20 個參試品中之對偶基因型（KS：毛豆高雄；TNS：毛豆臺南選；TAS：毛豆臺南亞蔬選；TN：毛豆臺南）

Table 2. The different allelic type of 20 soybean cultivars analyzed using 13 polymorphic markers (KS: Kaohsiung; TNS:Tainan Selected; TAS:Tainan ASVEG; TN:Tainan)

	KS1	KS2	KS5	KS6	KS7	KS8	KS9	KS10	TNS1	TAS2	香姬	黑五葉	TN1	TN7	82 茶豆	TN3	TN4	TN5	TN8	TN9
GMES271	A	B	B	B	A	A	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	A	A	A
GMES3952	C	C	C	C	A	C	C	A	C	A	C	C	C	B	C	C	C	A	A	A
GMES254	B	B	B	B	A	B	B	B	A	B	A	B	B	B	A	B	B	A	A	A
GMES158	A	B	B	A	A	B	A	B	B	G	B	B	D	A	B	D	C	C	E	F
GMES4754	D	B	B	E	E	D	B	B	B	D	B	B	A	C	B	B	C	C	E	C
GMES3937	A	A	A	B	B	A	B	B	A	B	A	A	A	B	A	A/B	A/B	A	A/B	A/B
GMES6391	B	B	A	D	D	A	A	D	D	E	D	D	E	C	D	E	E	E	E	D
GMES3985	B	B	A	B	B	B	B	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	B	B
GMES4226	A	A	B	A	B	A	A	A	B	A	B	A	B	B	A	B	B	B	B	B
GMES6224	C	C	C	A	C	C	A	C	B	C	A	C	A	B	B	C	C	B	B	C
GMES0011	B	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	B	A	A	A
GMES1173	A	A	A	A	C	A	A	A	C	B	C	C	C	C	C	C	A	A	A	C
GMES2487	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	B	B	B	B	B

表 3. 十三組具低殘跡條帶分子標誌於 20 個參試品中之 PIC 值、對偶基因片段長度與對偶基因數

Table 3. The number of alleles, allele size and PIC values of the screened 13 SSR markers between 20 soybean cultivars

ID	PIC value	Allele Size (bp)	Allele No.
GMES271	0.5184	143/149	2
GMES3952	0.5456	138/146/148	3
GMES254	0.5184	122/130	2
GMES158	0.7482	182/190/192/194/196/198//254	7
GMES4754	0.7165	187/198/206/208/210	5
GMES3937	0.4899	161/164	2
GMES6391	0.7029	112/154/156/160/163	5
GMES3985	0.4082	187/198	2
GMES4226	0.4991	241/259	2
GMES6224	0.6077	170/173/176	3
GMES0011	0.3084	121/136	2
GMES1173	0.5443	209/212/222	3
GMES2487	0.4717	207/216	2

表 4. 十三組分子標誌於 20 個參試品中所獲得之對偶基因片段與其相對應之簡單重複性片段重複次數

Table 4. The comparison between different allelic type and actual SSR motif repeat number of 20 soybean cultivars analyzed using 13 polymorphic markers

ID	Repeat No.
GMES271	A = (AT) <sub>6</sub> ; B = (AT) <sub>9</sub>
GMES3952	A = (GT) <sub>6</sub> ; B = (GT) <sub>11</sub> ; C = (GT) <sub>12</sub>
GMES254	A = (AG) <sub>8</sub> ; B = (AG) <sub>12</sub>
GMES158	A = (TA) <sub>9</sub> ; B = (TA) <sub>13</sub> ; C = (TA) <sub>14</sub> ; D = (TA) <sub>15</sub> ; E = (TA) <sub>15</sub> + 2 bp Insertion ; F = (TA) <sub>17</sub> ; G = (TA) <sub>45</sub>
GMES4754	A = (CT) <sub>8</sub> ; B = (CT) <sub>12</sub> ; C = (CT) <sub>16</sub> ; D = (CT) <sub>17</sub> ; E = (CT) <sub>18</sub>
GMES3937	A = (AAG) <sub>8</sub> ; B = (AAG) <sub>9</sub>
GMES6391	A = (CT) <sub>18</sub> - 42 bp Deletion ; B = (CT) <sub>18</sub> ; C = (CT) <sub>19</sub> ; D = (CT) <sub>21</sub> ; E = (CT) <sub>18</sub> + 9 bp Insertion
GMES3985	A = (TCT) <sub>6</sub> - 11 bp Deletion ; B = (TCT) <sub>6</sub>
GMES4226	A = (GAA) <sub>0</sub> ; B = (GAA) <sub>6</sub>
GMES6224	A = (TAG) <sub>10</sub> ; B = (TAG) <sub>12</sub> - 3 bp Deletion ; C = (TAG) <sub>12</sub>
GMES0011	A = (CAA) <sub>6</sub> ; B = (CAA) <sub>11</sub>
GMES1173	A = (CAA) <sub>4</sub> ; B = (CAA) <sub>5</sub> ; C = (CAA) <sub>5</sub> + 10 bp Insertion
GMES2487	A = (TGA) <sub>3</sub> ; B = (TGA) <sub>6</sub>

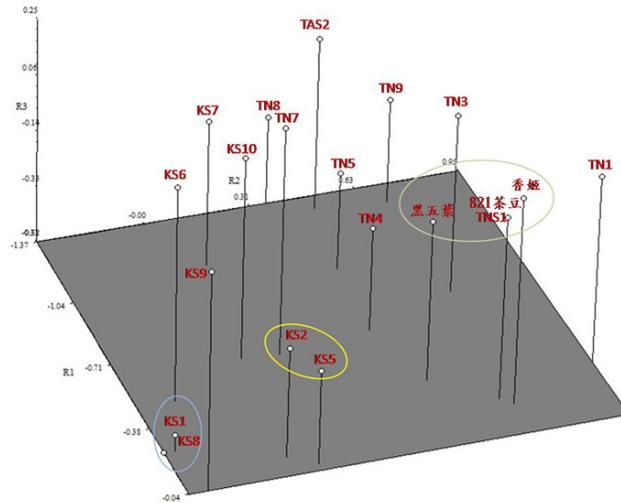


圖 1. 參試 20 個品種遺傳距離以前 3 個主成分分析結果，其中香姬、黑五葉與 82 茶豆／毛豆臺南選 1 號品種間親源相近；高雄選 1 號與高雄 8 號親源相近；高雄 2 號與高雄 5 號親源相近。圖中品種毛豆臺南選 1 號與 82 茶豆位置重疊

Fig. 1. Principle coordinate analysis result of 20 soybean cultivars. TNS1 and 82 soybean were overlapped

## 討 論

### 一、多型性 SSR 分子標記篩選

實驗中所採用之 13 組多型性分子標記中，經定序分析結果顯示，有 6 組分子標記為兩核苷酸簡單重複序列 (Dinucleotide simple sequence repeat)；6 組分子標記為三核苷酸簡單重複序列 (Trinucleotide simple sequence repeat)；1 組分子標記為 11 bp 之 InDel 所導致。由實驗結果分析，兩核苷酸簡單重複序列之分子標記於基因座平均個數 (4.0) 與 PIC 平均值 (0.625) 均大於三核苷酸簡單重複序列之分子標記 (基因座平均個數為 2.5；PIC 平均值為 0.487)，其結果顯示，兩核苷酸簡單重複序列之分子標記在品種間具高多型性之特性，然而依據前人研究顯示，兩核苷酸簡單重複序列之分子標記容易發生殘跡條帶 (stutter band) 之現象，進而影響資料判讀之準確性<sup>(6)</sup>。本實驗初步所篩選到之分子標記 GMES4016、GMES6195、GMES4156 與 GMES4789 於部分重複序列數較大之基因座中發現具有明顯殘跡條帶的情況發生，因此於各作物品種鑑定所使用之分子標記中應減少或避免使用兩核苷酸簡單重複序列之分子標記。

### 二、參試品種之親緣分析

參試 20 個品種中，僅日本 82 茶豆與毛豆臺南選 1 號無法以本實驗所用之 13 組分子標記區分，依據毛豆臺南選 1 號育種方法發現，毛豆臺南選 1 號乃是由茶豆類毛豆製作田中採純系育種方法選育而成<sup>(2)</sup>。依前人研究所示，以 ISSR 分子標記分析毛豆臺南選 1 號與日本毛豆與茶豆品種發現，毛豆臺南選 1 號與毛豆品種 82 茶豆仍具有明顯差異存在，故推測毛豆臺南選 1 號可能由日本毛豆品種 82 茶豆之田間自然雜交品系選育而成，所以於本系統當中並無法有效區分兩品種間之差異。

## 引用文獻

1. 王昭月、張有明、沈百奎、王毓華、劉邦基。2005。利用 RAPD 與 ISSR 分子標誌鑑定西瓜品種。臺灣農業研究 54 期：257-269。
2. 吳昭慧、連大進、王仕賢（2003）芋香毛豆新品種—「臺南選 1 號—金芋」。臺南區農業專訊。46：5-8。
3. 張勝忠、蔡奇助。1997。RAPD 分子標誌在落花生品種鑑別之應用。臺灣省臺中區農業改良場研究彙報。57：11-22。
4. 張雅勛、江淑雯、丁文彥、盧柏松。2011。臺東地區水稻及番荔枝主要栽培品種之分子鑑定及遺傳歧異度分析。臺東區農業改良場研究彙報。21：1-16。
5. 張瑞炘。2012。SSR 分子標誌用於豌豆品種分子鑑定之研究。臺中區農業改良場研究彙報。115：63-74。
6. Chen P.H., Y.B. Pan, R.K. Chen, L.P. Xu, Y.Q. Chen. 2009. SSR marker-based analysis of genetic relatedness among sugarcane cultivars (*Saccharum* spp. hybrids) from breeding programs in China and other countries. *Sugar Tech.* 11: 347-354.
7. Chuang H.Y., H.S. Lur, K.K. Hwu, M.C.Chang. 2011. Authentication of domestic Taiwan rice varieties based on fingerprinting analysis of microsatellite DNA markers. *Botanical Studies.* 52: 19-31.
8. Hisano H., S. Sato, S. Isobe, S. Sasamoto, T. Wada, A. Matsuno, T. Fujishiro, Yamada M, Nakayama S, Nakamura Y, Watanabe S, Harada K and Tabatai S. 2007. Characterization of the soybean genome using EST-derived Microsatellite markers. *DNA RESEARCH.* 14: 271-281.
9. Hvarleva T.Z., A. Bakalova, I. Chepinski, M. Hristova-Cherbadji, M. Hristov, A. Atanasov. 2007. Characterization of Bulgarian sunflower cultivars and inbred lines with microsatellite markers. *BIOTECHNOL. & BIOTECHNOL EQ.* 21: 1310-2818.

# Variety Identification among Major Vegetable Soybean Cultivars of Taiwan Based on Simple Sequence Repeat Markers<sup>1</sup>

Wang S. S., S. T. Huang, Y. W. Jiang, Y. C. Wang, C. M. Chang and A. H. Yang<sup>2</sup>

## Abstract

Vegetable soybean is one of the most important crops for export in Taiwan. In order to establish a varietal verification system of vegetable soybean, 95 soybean SSR markers were designated and analyzed by using 6 cultivars. The result indicated that 17 SSR markers presented polymorphism among cultivars. To get an accurate fingerprinting databases, 20 soybean cultivars, including 14 vegetable soybeans, 3 black soybeans, 2 green-manure soybeans and one soybean cultivars were amplified with 17 polymorphic markers and assayed by using ABI-3730 capillary sequencing analysis. Eventually, 13 markers with low stutter band and high PIC value were acquired. According to the result of genetic distance analysis, only cultivar Tainan selected No.1 showed the same pattern with the Japanese cultivar 82 soybean. Moreover, only 4 markers, GMES158, GMES6391, GMES6224 and GMES4226 could identify 19 tested cultivars. All the result above suggested that this system could accurately verify most vegetable soybean cultivars in Taiwan.

**Key words:** Vegetable Soybean, Variety Identification, Simple Sequence Repeat

Accepted for publication: September 25, 2013

- 
1. Contribution No.412 from Tainan District Agricultural Research and Extension Station.
  2. Assistant Agronomist, Research Assistant, Research Assistant, Associate Agronomist, Assistant Agronomist, Researcher & head of crop improvement division, Tainan District Agricultural Research and Extension Station.