

冬枣×宁梨巨枣的子代 SRAP 鉴定 及遗传多样性分析

张明慧^{1,2}, 宋玉霞^{1*}, 赵世华³, 丁 婕³, 张国庆³, 张 勤⁴, 刘廷俊³

(1 宁夏农业生物技术重点实验室, 银川 750002; 2 宁夏大学 生命科学学院, 银川 750021; 3 宁夏葡萄花卉产业发展局, 银川 750002; 4 银川市林技中心, 银川 750002)

摘 要:应用 SRAP 分子标记方法对冬枣×宁梨巨枣的子代进行了分子鉴定及遗传多样性分析。采用构建基因池的方法对 SRAP 分子标记引物进行筛选, 从 88 对引物中筛选出 15 对多态性好、主带清晰的引物, 并对子代进行了真实性鉴定及多态性分析。结果表明: (1) 15 对引物共产生 95 个多态性条带, 平均每对引物产生 6.3 个多态性条带, 显示了较高的多态性比率。 (2) 80 个子代中 44 个具有父本特征带, 鉴定为真杂种。子代遗传多样性及 UPGMA 聚类分析表明, 子代个体与亲本间的遗传相似系数在 0.55~0.98 之间, 个体差异明显。该研究结果为枣树杂交育种提供了重要的分子证据。

关键词: 枣; 杂交; SRAP 标记; 子代鉴定; 遗传多样性分析

中图分类号: Q789

文献标志码: A

Identification and Genetic Diversity Analysis of Hybridprogeny of *Ziziphus jujuba* Mill. cv. Dongzao and *Ziziphus jujuba* Mill. cv. Ninglijuzao by SRAP Molecular Markers

ZHANG Minghui^{1,2}, SONG Yuxia^{1*}, ZHAO Shihua³, DING Jie³,
ZHANG Guoqing³, ZHANG Qin⁴, LIU Tingjun³

(1 Ningxia Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Ningxia Agriculture Biological Technology of Key Laboratory Yinchuan 750002, China; 2 College of Life Science, Ningxia University, Yinchuan 750021, China; 3 Development of Flower Industry Bureau of Grape, Yinchuan 750002, China; 4 Forestry Technology Center of Yinchuan, Yinchuan 750002, China)

Abstract: The sequence-related amplified polymorphism (SRAP) were used to analyze 80 *Ziziphus jujuba* Mill. hybrid individuals and their parental lines for detecting true or false hybrids and their genetic variation. Fifteen pairs of primers that generated clear, reproducible and polymorphic bands were selected from 88 pairs of SRAP primers by constructing a gene pool. The results showed that: (1) There are 95 polymorphic bands produced by fifteen primer pairs and the average polymorphic bands was 6.3 per primer pair with a high rate of polymorphism. (2) 44 truehybrids were identified among 80 hybrids with paternal characteristics. Diversity and UPGMA cluster analysis showed significant genetic variation of hybrids. The genetic similarity coefficients between individual and parental are from 0.55 to 0.98. The results provided an important molecular data for crossbreeding in *Ziziphus jujuba* Mill. .

Key words: *Ziziphus jujuba* Mill. ; cross-breeding; SRAP markers; hybrids identification; genetic diversity

收稿日期: 2014-05-28; 修改稿收到日期: 2014-09-15

基金项目: 国家公益性行业专项资助项目 (201104106)

作者简介: 张明慧 (1989—), 女, 在读硕士研究生, 主要从事植物分子生物学研究。E-mail: zhang_mh89@163.com

* 通信作者: 宋玉霞, 硕士, 研究员, 硕士生导师, 主要从事植物生物技术育种研究。E-mail: Songyx666@163.com

枣(*Ziziphus jujuba* Mill.)为鼠李科(Rhamnaceae)枣属(*Ziziphus* Mill.)植物^[1],含有丰富的营养物质和多种微量元素,观赏和药用价值俱佳^[2]。枣树育种中迫切需要将不同品种的优良性状整合起来,培育综合性状优良的新品种^[3]。近年来,全国各个枣树研究单位相继展开枣树杂交育种相关工作。但枣树花小,人工去雄易伤害花器官,花量大而坐果率低,存在胚败育现象^[3],且人工去雄不彻底,易使杂交子代混有自交种,因此,对其杂交子代身份真实性进行准确鉴定相当必要。常规用于杂交子代身份真实性鉴定的方法有形态学和细胞学等方法。枣树生长周期长,利用常规的形态学及细胞学鉴定耗时低效,观测结果人为误差大,且形态特征容易受环境条件影响,难以真实、准确地反映其子代的遗传变异等问题都制约着枣树杂交育种的发展。

随着分子生物学的发展,大量分子标记技术应用于核果类经济植物的亲缘关系鉴定及遗传多样性分析等应用中。相关序列扩增多态性(sequence-related Amplified Polymorphism, SRAP)^[4],是 Li 等^[4]于 2001 年开发的一种基于 PCR 的新型分子标记技术。SRAP 技术具有简便稳定、产率高、便于克隆目标片段且较少的正、反向引物即可组成较多的引物组合等特点^[5],使其在多种植物分子生物学研究中得到广泛应用。在枣树植物的研究中,随机扩增多态性 DNA (random amplified polymorphic DNA, RAPD)^[6]、DNA 简单序列重复 (simple sequence repeats, SSR)^[7]、扩增片段长度多态性 (amplified fragment length polymorphism, AFLP)^[8]、SRAP^[9]、简单序列重复区间扩增 (inter-simple sequence repeat, ISSR)^[10-11]等标记在亲缘关系鉴定及

遗传多样性分析等应用中均有报道。快速鉴定出真杂种是枣树育种工作的一个重要环节,但在其杂交子代鉴定中仅有 SSR^[7]、AFLP^[8] 标记的报道,未见 SRAP 相关报道。

本研究在已有工作的基础上^[12],应用 SRAP 分子标记对 80 个冬枣 (*Ziziphus jujuba* Mill. cv. Dongzao, ♀) × 宁梨巨枣 (*Ziziphus jujuba* Mill. cv. Ninglijuzao, ♂) 子代实生苗进行分子鉴定及遗传多样性分析,并对子代群体的遗传关系进行聚类分析。研究结果将为后续杂交育种工作和分子标记辅助育种提供重要的分子数据。

1 材料和方法

1.1 材料

采摘冬枣、宁梨巨枣及子代的幼叶用于 DNA 提取,幼叶于 2012 年 6 月取自宁夏贺兰暖泉农场枣树杂交新品种培育(快繁)及配套栽培技术课题资源圃,共 82 份。植物基因组 DNA 提取试剂盒购自 TIANGEN 公司(TIANGEN, DP305)。SRAP 引物参考 Li 等^[4]文献,由上海捷瑞生物工程有限公司合成(引物序列见表 1)。PCR 扩增所用 Go Taq® Green Master Mix 购自 Promega 公司(Promega, M7122)。

1.2 方法

1.2.1 基因组 DNA 的提取和检测 使用植物基因组 DNA 提取试剂盒对幼叶材料基因组 DNA 进行提取,通过 1% 琼脂糖凝胶电泳检测基因组 DNA 的完整性和纯度,使用超微量分光光度计 (Thermo Scientific NanoDrop 2000) 检测样品 DNA 浓度,并将样品浓度统一稀释至 30 ng/μL,于 -20 °C 保存备用。

表 1 SRAP 引物序列
Table 1 Primer sequences used in SRAP analysis

正向引物 Forward primer		反向引物 Reverse primer	
名称 Name	序列 Sequence	名称 Name	序列 Sequence
Me1	5'-TGAGTCCAAACCGGATA-3'	Em1	5'-GACTGCGTACGAATTAAT-3'
Me2	5'-TGAGTCCAAACCGGAGC-3'	Em2	5'-GACTGCGTACGAATTTGC-3'
Me3	5'-TGAGTCCAAACCGGAAT-3'	Em3	5'-GACTGCGTACGAATTGAC-3'
Me4	5'-TGAGTCCAAACCGGACC-3'	Em4	5'-GACTGCGTACGAATTTGA-3'
Me5	5'-TGAGTCCAAACCGGAAG-3'	Em5	5'-GACTGCGTACGAATTAAC-3'
Me6	5'-TGAGTCCAAACCGGTAA-3'	Em6	5'-GACTGCGTACGAATTGCA-3'
Me7	5'-TGAGTCCAAACCGGTCC-3'	Em7	5'-GACTGCGTACGAATTCAA-3'
Me8	5'-TGAGTCCAAACCGGTGC-3'	Em8	5'-GACTGCGTACGAATTCTG-3'
		Em9	5'-GACTGCGTACGAATTCGA-3'
		Em10	5'-GACTGCGTACGAATTCAG-3'
		Em11	5'-GACTGCGTACGAATTCCA-3'

1.2.2 SRAP 扩增 SRAP 扩增反应体系 25 μL , 包括模板 DNA 3 μL , Go Taq[®] Green Master Mix 12.5 μL , 0.5 $\mu\text{mol/L}$ 正反向引物各 1 μL , ddH₂O 7.5 μL 。

SRAP 反应体系采用复性变温法^[13], 反应程序为 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 45 s, 33 $^{\circ}\text{C}$ 退火 45 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 80 s, 5 个循环; 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 45 s, 54 $^{\circ}\text{C}$ 退火 45 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 45 s, 35 个循环; 循环结束后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。PCR 扩增在 BIO-RAD T100 扩增仪上进行。扩增结束后, 产物经 QIAxcel Advanced 毛细管电泳系统检测。

1.2.3 SRAP 引物的筛选 以 8 条正向引物与 11 条反向引物组成的 88 对 SRAP 引物组合进行引物初筛。随机选取 10 个子代样本 DNA 各 10 μL 混合, 构建基因池, 利用混合 DNA 与父母本 DNA 进行 PCR 扩增。从 88 对 SRAP 引物中筛选条带清晰、多态性丰富和稳定性好的引物组合, 每对引物重复 3 次; 在此基础上, 筛选出主带清晰、重复性好的引物对杂交子代身份的真实性进行分子鉴定。

1.2.4 子代真实性鉴定 用筛选出的多态性高、且具有父本特征条带的引物组合对供检的 80 个子代进行杂交子代身份真实性鉴定。参照相关文献^[14-18]的判定标准, 子代 PCR 产物中具有父本特征带的即为真杂种, 不具有父本特征带的不能确定其为假杂种或自交种, 需进一步分析。

1.2.5 子代 SRAP 多态性分析 将 SRAP 扩增产物的每条带视为一个统计位点, 按条带有或无分别赋值, 有带记为“1”, 无带记为“0”, 统计总条带数、多态性条带数。利用 NTSYS2pc (Version 2.1) 软件处理分析 SRAP 数据, 采用 UPGMA 聚类分析并计算样本之间的遗传相似系数, 并据此构建聚类树。

2 结果与分析

2.1 SRAP 引物筛选结果

通过构建基因池的方法, 本研究从 88 对引物中筛选出 15 对(表 2)扩增条带清晰、多态性条带丰富且稳定的检测引物(图 1), 用于对 80 个子代进行鉴定。15 对引物共产生 95 个多态性条带(表 2), 平均每对引物产生 6.3 个多态性条带, 多态性比例为 55.56%, 扩增的 DNA 片段大约集中在 50~1 500 bp, 显示了较高的多态性比率。

2.2 子代真实性鉴定分析

根据亲本及子代电泳谱带特征, 将子代分为如下 2 类^[14-15, 17]: (1) 子代具有父本特征带的为真杂

种。(2) 子代不具有父本特征带, 不能确定其为自交种还是杂交种, 需进一步分析。

利用筛选出的 15 对具父本特征带的引物对 80 个杂交子代进行鉴定。统计电泳结果发现, 5 号引物检测出 24 个具有父本特征带的子代(图 2, A); 6 号引物鉴定出 22 个真杂种(图 2, B); 36 号引物鉴定出 35 个真杂种。综合统计所有能扩增出父本特征带的子代, 结果表明: 80 个子代中有 44 个子代被初步判定为真杂种。子代基本表现为 3 种扩增带型: 母本型 (21.25%)、综合型 (55%) 和其它型 (23.75%)。

2.3 子代 SRAP 多态性分析

聚类分析显示(图 3), 大部分材料之间的遗传相似系数在 0.55~0.98 之间。在遗传相似系数为 0.594 水平上可以将所有材料分为两大类; 在遗传相似系数为 0.616 时, 82 份材料可分为 5 大类, 其中第 I 类、第 III 与第 V 类各自只包含 1 个品种, 分别是: 父本宁梨巨枣、456 与 561; 第 II 类品种最多, 包含 58 个材料, 其中包括母本冬枣与其他 57 个子代; 第 IV 类包括 21 个子代。此外, 不同类间的子代具有较高的遗传多样性; 单独分为一类的材料与其他的材料具有较大差异, 而在同一类间的材料遗传距离较近。杂交子代中部分材料变异丰富, 枣实生后代可能表现出较大的个体差异, 为品种选育提供了更多参考。

表 2 15 对 SRAP 引物的多态性

Table 2 Genetic diversity with 15 pairs of SRAP primers

引物 Primer	扩增总条带数 Total No. of bands	多态性条带数 No. of polymorphic bands	多态性比率 Percentage of polymorphic bands/%
Me3+Em1	11	6	54.55
Me5+Em1	12	9	75.00
Me6+Em1	18	7	38.89
Me5+Em3	12	6	50.00
Me6+Em3	10	7	70.00
Me7+Em3	11	7	63.64
Me8+Em3	11	6	54.55
Me7+Em4	18	7	38.89
Me4+Em5	11	9	81.82
Me3+Em6	9	5	55.56
Me5+Em7	8	4	50.00
Me8+Em8	10	6	60.00
Me2+Em9	9	6	66.67
Me7+Em10	10	5	50.00
Me2+Em11	11	5	45.45
总和 Total	171	95	
平均 Average	9	5	55.56

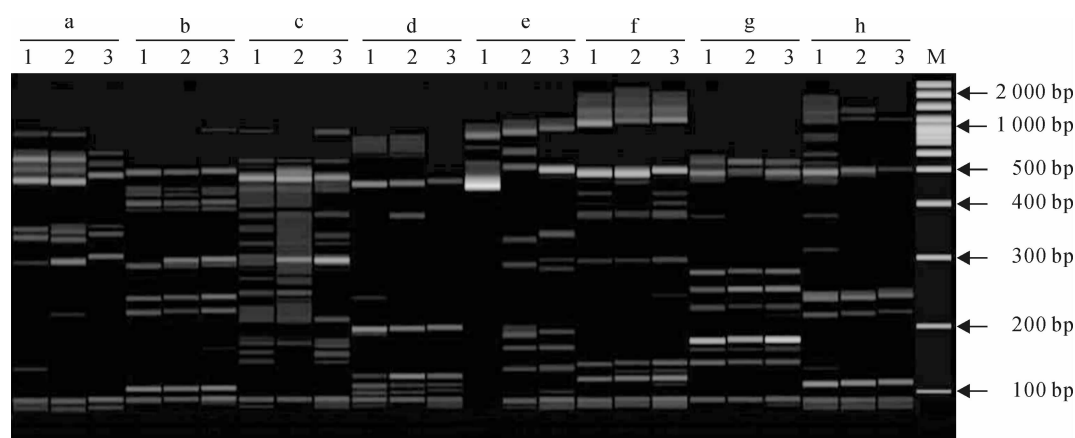


图 1 部分引物组合筛选的扩增结果
a,b,c,d,e,f,g,h 分别代表引物组合 Me3+Em1、Me5+Em1、Me6+Em1、Me4+Em5、Me7+Em3、Me7+Em4、Me2+Em11、Me5+Em3;每 3 列为一组,从左到右分别是父本、母本和混合样本。M. Marker

Fig. 1 Amplified results using some primer combinations
a,b,c,d,e,f,g,h represent the primer pair: Me3+Em1, Me5+Em1, Me6+Em1, Me4+Em5, Me7+Em3, Me7+Em4, Me2+Em11, Me5+Em3; Every 3 lines as a group, from left to right are male, female and mixed samples; M. Marker

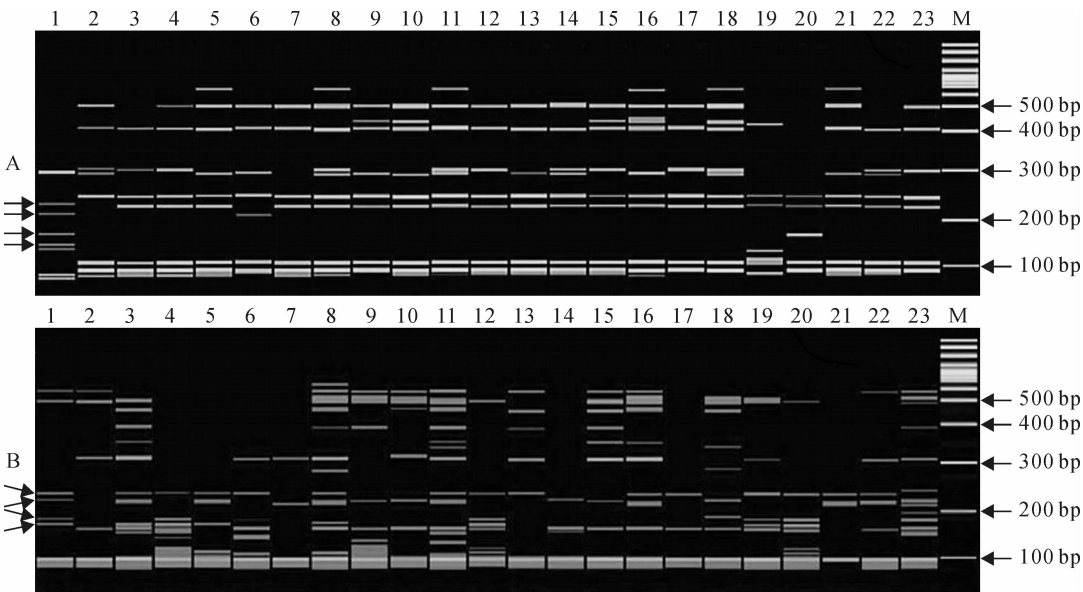


图 2 引物组合 Me5+Em1(A)和 Me6+Em1(B)鉴定部分真杂种的电泳结果
箭头所指为父本的特征带;1. 父本;2. 母本;3~23. 鉴定的真杂种。A 泳道 3~23 分别为 033、040、061、064、080、093、114、189、238、257、282、302、365、382、444、456、469、525、556、580、597;图 B 中泳道 3~23 分别为 017、029、031、033、040、049、061、064、115、117、164、170、238、257、260、270、276、277、353、382、483。M. Marker

Fig. 2 SRAP amplifiable specific bands of true hybrids by combination Me5+Em1(A) and Me6+Em1(B)
Arrows indicate the male parent specific bands that the female parents haven't; 1. Male; 2. Female; 3-23 are true hybrid. Lanes from 3 to 23 in figure A are 033, 040, 061, 064, 080, 093, 114, 189, 238, 257, 282, 302, 365, 382, 444, 456, 469, 525, 556, 580, 597; Lanes from 3 to 23 in figure B are: 017, 029, 031, 033, 040, 049, 061, 064, 115, 117, 164, 170, 238, 257, 260, 270, 276, 277, 353, 382, 483. M. Marker

3 讨 论

3.1 分子标记技术对植物杂种鉴定具有非常重要的作用

目前,用于植物杂交子代鉴定的方法主要有形

态学、细胞学、同工酶及分子标记等^[14]。传统的枣树杂交种鉴定多采用枝干性状、叶片性状、果实横纵径及鲜重、针刺性状等形态标记,具有父本性状的植株可作为杂交成功的依据^[19]。但形态特征容易受环境条件的影响,不能真实、准确地反映其子代的遗

传变异;细胞学观测结果人为误差较大;而同工酶的试验结果会随植物不同发育时期、器官及环境而变

化^[14]。枣树杂交育种周期较长,要想快速、高效地对其杂交子代身份真实性进行鉴定,还必须从分子

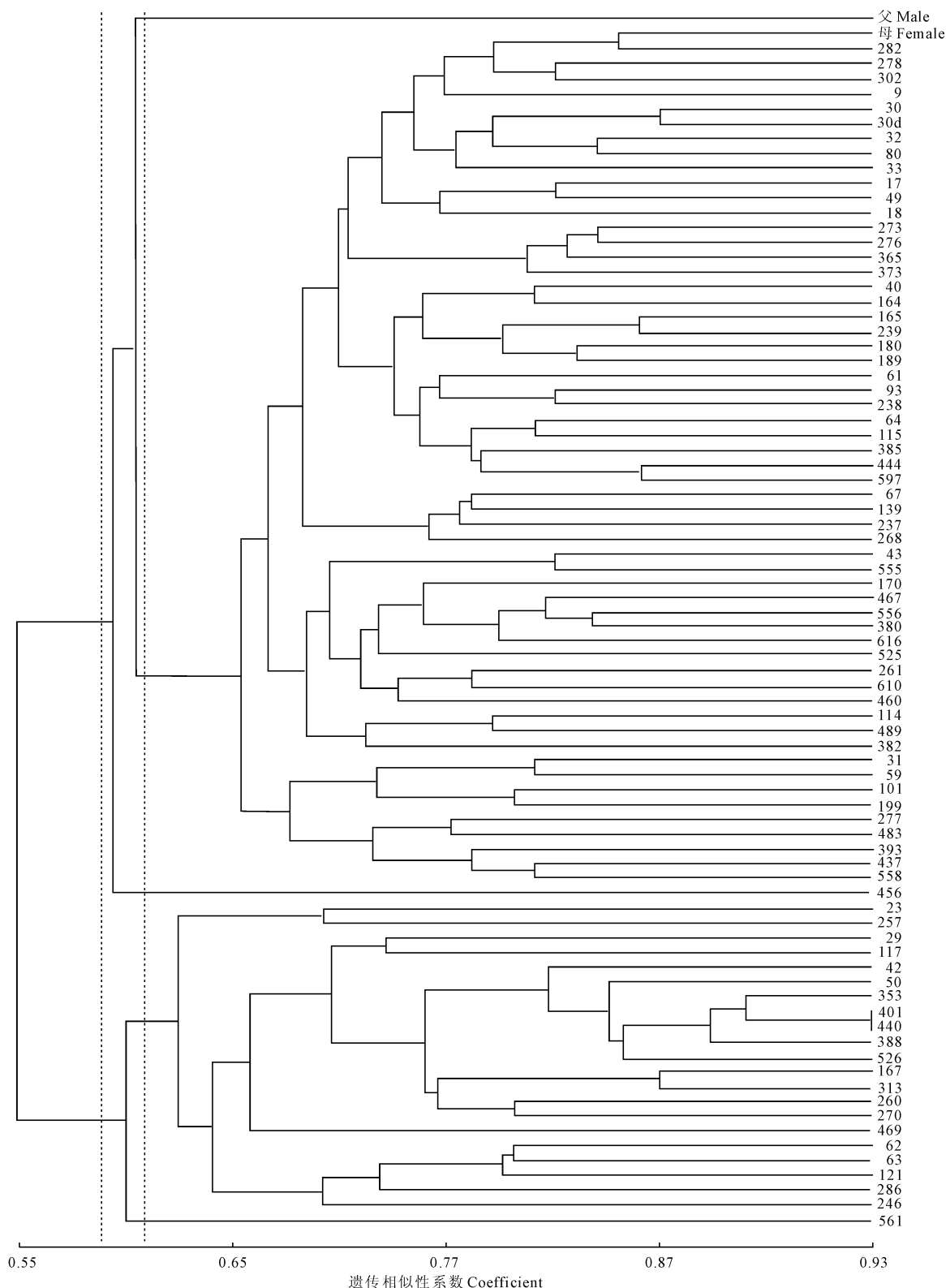


图3 杂交子代个体的 SRAP 聚类分析

右侧编号为杂交子代材料代码

Fig. 3 UPGMA dendrogram of 80 F_1 variation individuals and parents based on SRAP assay

Sample names are shown on the right side

角度研究。

分子标记直接从 DNA 分子水平上进行品种鉴定和分类,准确度高、效率高且信息量大^[10]。应用分子标记技术进行间接选择,将大大缩短枣树育种年限。SRAP 分子标记技术具有简便、成本低、稳定、共显性等优点,已应用到多种植物^[14-18,20-23]的杂种鉴定研究。在杂种的鉴定过程中发现,有的子代在 1 对引物扩增结果中不具有父本特征带,而在另 1 对引物中却具有父本特征带。用多对引物组合进行杂种鉴定可以有效弥补单一引物鉴定结果不准确的误差。季杨等^[17]用 10 对 SRAP 引物组合对 62 份多花黑麦草子代进行了杂种真实性鉴定;薛丹丹等^[14]通过 9 对 SRAP 引物对 37 个结缕草属杂交子代进行鉴定。且子代不具有父本特征带的,无论其电泳条带与母本有无差异,都不能确定其为自交种还是杂交种,需进一步分析。因为不能排除经过杂交后父系标记位点发生沉默的可能性。苏亚蕊等^[24]为检测小麦 1BL/1RS 易位系 1RS 位点的稳定性,利用 1RS 上 11 个标记位点的 PCR 特异引物对 21 个小麦 1BL/1RS 易位系进行了分子检测。结果表明,21 个 1BL/1RS 易位系中,66.7%的品种 1RS 的 11 个标记位点较为稳定,扩增出标记位点特异性带,但有 33.3%的品种部分标记位点出现特异性带的丢失或添加,具有不同程度的位点变异,位点变异率最高达 45.5%。本实验子代产生许多新变异类型,可以看出可能存在这种假设。本实验采用 15 对引物组合对 80 个冬枣×宁梨巨枣的杂交子代进行鉴定,多对引物结果相互补充,检出率高,结果更可靠,表明 SRAP 技术可用于枣树的杂交子代鉴定。

3.2 分子标记技术是枣树杂交种群遗传多样性分析的重要手段

本研究通过对 88 对 SRAP 引物的筛选,最终

得到了 15 对条带清晰、多态性丰富、稳定性好的引物组合,可用于枣树杂交种分子鉴定和后续分子标记辅助育种。多态性条带数目和条带多态性比例与鸭茅(*Dactylis glomerata* L.) 47.24%^[15]、多花黑麦草(*Lolium multiflorum*) 77.09%^[17]和新疆野苹果(*Malus sieversii*) 98.56%^[23]有一定差异,这可能与材料本身的遗传多样性不高有关。此外,与其它实验采用电泳琼脂糖或聚丙烯酰胺凝胶检测相比,本实验采用毛细管电泳系统对扩增产物进行更为精确的判别分析,扩增产物检测方法的差异也可能是导致数据统计准确度的重要原因。

李继东等^[11]利用 ISSR 分子标记,对河南主栽的 9 个枣品种进行了遗传关系分析。利用 UPGMA 法构建了 9 个品种的聚类树状图,在相似系数取 0.630 时,9 个枣品种聚为 2 类。本实验在遗传相似性系数 0.594 水平上可以将所有材料分为两大类,说明检测材料间具有一定的遗传距离。系统进化树结果显示,超过半数的杂交子代与父本的遗传相似性系数大于 0.770。遗传相似性系数越大,表明其与父本的亲缘关系越近,其获得父本优良性状的可能性越大。此外,杂交子代中部分材料表现出较大的利用潜力,可进行有目的选育利用。且杂交子代间遗传相似系数变幅相对较大,说明杂交子代分化较大,在后期品种选育中可能具有更多的表现型,为选育优良品种提供了更多参考。

本研究利用 SRAP 分子标记技术对 80 份枣树杂交子代进行鉴定,获得 47 份真杂种,检出率较高。遗传多样性研究表明,本次杂交获得真杂种与父本的亲缘关系很近,且子代变异丰富,表现出较大的利用潜力。研究结果为枣树杂交育种提供了重要的分子数据。

参考文献:

- [1] 陈贻金,何样生,陈漠林. 中国枣树学概论[M]. 北京:中国科学技术出版社,1991:8—14.
- [2] LI X G(李新岗),HUANG J(黄建),GAO W H(高文海),et al. Fresh edible *Ziziphus jujuba* development and prospect[J]. *Nonwood Forest Research* (经济林研究),2002,20(4):75—76(in Chinese).
- [3] MA Q H(马庆华),XU J R(续九如),WANG G X(王贵禧),et al. Progress on hybridization breeding of Chinese Jujube(*Ziziphus jujuba* Mill.)[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin* (中国农学通报),2008,24(11):174—178(in Chinese).
- [4] LI G,QUIROS C F. Sequence-related amplified polymorphism(SRAP),a new marker system based on a simple PCR reaction:its application to mapping and gene tagging in *Brassica*[J]. *Theoretical and Applied Genetics*,2001,103(2—3):455—461.
- [5] BUDAK H,SHEARMAN R C,PARMAKSIZ I,et al. Molecular characterization of Buffalograss germplasm using sequence-related amplified polymorphism markers[J]. *Theoretical and Applied Genetics*,2004,108(2):328—334.

- [6] PENG J Y(彭建营), SHU H R(束怀瑞), PENG SH Q(彭士琪), *et al.* Identification of RAPD markers linked to the seed character of Chinese Juiube[J]. *Journal of Fruit Science*(果树学报), 2001, **18**(5): 288—290(in Chinese).
- [7] 殷 晓. 基于 SSR 标记的中国枣遗传多样性研究[D]. 陕西杨陵: 西北农林科技大学, 2013.
- [8] WANG Y K(王永康), TIAN J B(田建保), WANG Y Q(王永勤), *et al.* AFLP analysis of jujube cultivars and strains[J]. *Journal of Fruit Science*(果树学报), 2007, **24**(2): 146—150(in Chinese).
- [9] LI L(李 莉), PENG J Y(彭建营), BAI R X(白瑞霞), *et al.* Analysis on the genetic relationships of Chinese *Ziziphus* with SRAP markers[J]. *Scientia Agricultura Sinica*(中国农业科学), 2009, **42**(5): 1 713—1 719(in Chinese).
- [10] ZHUO SH B(卓书斌), HUANG X F(黄小凤), WANG ZH F(王峥峰), *et al.* ISSR molecular marker identify analysis report of *Zizyphus mauritiana* Lam. Yueyindacuimi[J]. *Guangdong Agricultural Sciences*(广东农业科学), 2008, (10): 9—10(in Chinese).
- [11] LI J D(李继东), LI H T(李海涛), FENG J C(冯建灿), *et al.* Analysis on the genetic relationship of major jujube cultivars in Henan by ISSR markers[J]. *Journal of Henan Agricultural University*(河南农业大学学报), 2012, **46**(1): 36—39(in Chinese).
- [12] YANG L L(杨丽丽), WU M ZH(吴明朝), GONG L(巩 楠), *et al.* Optimization of SRAP-PCR reaction system in *Ziziphus jujube* cv. Dongzao[J]. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*(西北农业学报), 2013, **22**(004): 109—113(in Chinese).
- [13] OLAF W, PEDRO S G, JUAN G, *et al.* Identification of *Pistaciatacia* × *Saportae* Burnat(Anacardiaceae) by RAPD analysis and morphological characters[J]. *Scientia Horticulturae*, 2001, 91: 179—186.
- [14] XUE D D(薛丹丹), GUO H L(郭海林), ZHENG Y Q(郑铁琦), *et al.* Hybrid identification of progenies of *Zoysia* crosses by SRAP marker[J]. *Acta Prataculturae Sinica*(草业学报), 2009, **18**(1): 72—79(in Chinese).
- [15] XIE W G(谢文刚), ZHANG B Y(张宝艺), ZHANG X Q(张新全), *et al.* Identification and genetic analysis of Orchardgrass(*Dactylis glomerata* L.) hybrids by SRAP molecular markers[J]. *Scientia Agricultura Sinica*(中国农业科学), 2010, **43**(16): 3 288—3 295(in Chinese).
- [16] ZHENG Y Q(郑铁琦), ZONG J Q(宗俊勤), XUE D D(薛丹丹), *et al.* Application of SRAP markers to the identification of *Eremochloa ophiuroides*(Munro) Hack hybrids[J]. *Acta Agrestia Sinica*(草地学报), 2009, **17**(2): 135—140(in Chinese).
- [17] JI Y(季 杨), ZHANG X Q(张新全), MA X(马 啸), *et al.* Genetic analysis of *Lolium multiflorum* hybrids and their progenies detected using SRAP markers[J]. *Acta Prataculturae Sinica*(草业学报), 2009, **18**(4): 260—265(in Chinese).
- [18] CHEN X J(陈学军), FANG R(方 荣), ZHOU K H(周坤华), *et al.* Phenotypic identification and SRAP analysis of interspecific hybrids between *Capsicum annuum* and wild *C. frutescens*[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin*(西北植物学报), 2011, **31**(2): 286—290(in Chinese).
- [19] 郭敬丽. 枣树杂交后代的获得及杂种分子鉴定[D]. 河北保定: 河北农业大学, 2009.
- [20] XIAO L(肖 黎), MA T Y(马太洋), LI X L(李晓玲), *et al.* Analyses of the genetic relationships among 22 species of *Manglietia* plant by SRAP markers[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin*(西北植物学报), 2011, **31**(11): 2 178—2 184.
- [21] LIU L W(柳李旺), GONG Y Q(龚义勤), *et al.* Novel molecular marker systems—SRAP and TRAP and their application[J]. *Hereditas*(遗传), 2004, **26**(5): 777—781(in Chinese).
- [22] HAO QING, LIU ZHENGAN, SHU QINGYAN, *et al.* Studies on *Paeonia* cultivars and hybrids identification based on SRAP analysis[J]. *Hereditas*, 2008, **145**(1): 38—47.
- [23] ZHANG CH Y(张春雨), CHEN X S(陈学森), LIN Q(林 群), *et al.* SRAP markers for population genetic structure and genetic diversity in *Malus sieversii* from Xinjiang, China[J]. *Acta Horticulturae Sinica*(园艺学报), 2009, **36**(1): 7—14(in Chinese).
- [24] SU Y R(苏亚蕊), ZHANG D L(张大乐), GAO A L(高安礼), *et al.* Analysis on stability of 1RS in the wheat-rye 1BL/1RS translocation lines[J]. *Journal of Triticeae Crops*(麦类作物学报), 2006, **26**(6): 6—10(in Chinese).