

番茄雄性不育基因的 SRAP 分子标记定位

王柏柯^{1,2},李 宁²,唐亚萍²,王 强²,杨 涛²,杨生保^{1,2},帕提古丽²,余庆辉²,高 杰^{1*}

1. 新疆农业大学 林学与园艺学院, 新疆 乌鲁木齐 830052
2. 新疆农业科学院 园艺作物研究所, 新疆 乌鲁木齐 830091

摘要: 为了获得番茄雄性不育基因的分子标记,提高番茄雄性不育性状选择的准确性和科学性。本研究利用一个与苗期绿茎基因紧密连锁的花粉败育型材料为母本,以一个苗期紫茎可育系为父本,构建F₂分离群体。通过BSA法建立不育、可育DNA池,筛选多态性的SRAP分子标记。结果从544对SRAP引物组合中获得了4对呈多态性的引物组合,此4对引物组合在两DNA池间共有12个多态性位点标记。利用这些多态性的位点标记对60个F₂群体进行遗传鉴定及连锁分析;最终获得1张雄性不育基因的连锁遗传图,与不育基因连锁的特异位点标记共5个,分别是C10B9_1、C10B9_2、C10B9_4、C10B9_3和C10B8_2,其与不育基因的连锁距离分别为3.3 cM、3.3 cM、3.3 cM、3.3 cM和13.7 cM。同时,获得1张雄性不育等位基因的连锁遗传图,与不育等位基因连锁的位点标记共7个,分别是C10B8_4、C10B8_8、C10B8_9、C10B8_6、C10B8_7、C9E6_2和C9K6_2,其与不育等位基因的连锁距离分别为17.3 cM、1.7 cM、1.7 cM、0.0 cM、0.0 cM、13.7 cM和21.2 cM。

关键词: 番茄; 雄性不育; 分子标记; 连锁图谱

中图分类号: S641.2;Q7

文献标识码: A

文章编号: 1000-2324(2017)02-0240-06

Location of Male-sterile Gene in Tomato with SRAP Molecular Marker

WANG Bai-ke^{1,2}, LI Ning², TANG Ya-ping², WANG Qiang², YANG Tao²,
YANG Sheng-bao^{1,2}, Patiguli², YU Qing-hui², GAO Jie^{1*}

1. College of Forestry & Horticulture/Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China

2. Institute of Horticultural Crops/Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Urumqi 830091, China

Abstract: Getting the genetic molecular markers of male-sterile gene in tomato is to improve the accuracy and scientificity when selecting male-sterile trait. In this study, a pollen abortion tomato line which closely linked to a green stalk marker at seedling stage was used as female parent and a male-fertility tomato line whose stalk color is purple at seedling stage was used as male parent. Then the segregation population of F₂ was constructed using the above parents. The male-sterile and male-fertility DNA pools were set up by BSA. Then screening the polymorphic SRAP marker, 4 pairs of polymorphic primers were obtained from 544 pairs of SRAP primers. Based on the 4 pair primers, there were 12 polymorphic site markers were found between those two pools. Therefore these polymorphic site markers were used to make genetics test and linkage analysis on the population of 60 F₂ individuals. One linked map of the male-sterile gene was got and there were 5 site markers on the map linked to the male-sterile gene. They were C10B9_1, C10B9_2, C10B9_4, C10B9_3 and C10B8_2 and the distances between the gene of male-sterile were 3.3cM, 3.3cM, 3.3cM, 3.3cM and 13.7cM respectively. In the meantime, one linked map of the allele of male-sterile was obtained. There were 7 site markers on the map linked to the allele and those site markers were C10B8_4, C10B8_8, C10B8_9, C10B8_6, C10B8_7, C9E6_2 and C9K6_2, the distances between the gene of allele were 17.3cM, 1.7cM, 1.7cM, 0.0cM, 0.0cM, 13.7cM and 21.2cM respectively.

Keywords: Tomato; male-sterile; molecular marker; linkage map

随着现代分子生物学技术在作物领域的广泛应用,番茄(*Solanum lycopersicum* L.)雄性不育研究也已从最初的形态学领域研究发展到了现在的分子生物学领域研究^[1,2]。截止目前,已利用各种类型的标记,将绝大部分的番茄雄性不育基因定位到了相应的染色体上^[3,4]。但生产中在进行核雄性不育系制种时,会发生育性的分离。及早地发现,或致死可育株,将是此类雄性不育系能否在生产上利用的关键因素。目前较为成功的方法是:利用基因工程技术,将番茄的核雄性不育基因与抗除草剂基因相连锁,在幼苗期可利用喷洒除草剂的方法除去可育株。另一种方法是在番茄幼苗期利用与

收稿日期: 2015-05-28

修回日期: 2015-06-08

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2012BAD02B04);新疆维吾尔自治区重大专项(201230116-3)

作者简介: 王柏柯(1981-),男,在读博士研究生,主要从事蔬菜遗传学研究. E-mail:wangbaike1981@sina.com

***通讯作者:** Author for correspondence. E-mail:ofc111@163.com

雄性不育基因连锁的标记性状, 区分不育株和可育株, 达到生产利用的目的^[5]。另外, 一般的不育系其商品性状较差, 在实际应用中需将雄性不育基因进行转育。但普通的转育方法转育周期很长, 要通过杂交、自交各重复多代才可能转育成一个优良的雄性不育系。本研究以一个带苗期标记性状的雄性不育系与一个普通的可育系杂交产生的 F₂ 代分离群体为试材, 通过集群分离法 (BSA) 选择雄性不育单株和雄性可育单株构建不育、可育 DNA 池, 筛选 SRAP 引物标记。再通过连锁作图, 将此雄性不育基因进行定位。利用这些筛选获得的分子标记进行辅助选育, 可省去转育过程中每代需自交鉴定其不育性的繁琐程序, 缩短转育周期, 提高转育效率。将传统的表型选择转化为基因型选择, 提高选择的准确性和科学性, 也进一步为克隆此雄性不育基因奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本试验的材料为番茄的一个核雄性不育型基因材料, 该雄性不育基因与一个苗期绿茎基因紧密连锁。这种早期的标记性状, 能够有效地帮助育种者鉴定不育株与可育株, 具有较高的利用价值, 试验以此材料为母本, 以一个苗期紫茎可育的加工型番茄自交系 QT-2 为父本。

1.2 群体构建

利用苗期紫茎可育的自交系 (父本) 与苗期绿茎的雄性不育系 (母本) 杂交产生 F₁ 代, F₁ 代自交产生 F₂ 分离群体, 分别随机选择 30 株绿茎不育株和 30 株紫茎可育株作为连锁作图群体。

1.3 不育和可育 DNA 池的构建及筛选

根据 Michelmortal^[6]介绍的集群分析分离 BSA (Bulk Segregate Analysis) 法, 从 F₂ 分离群体中选取 10 株绿茎不育单株, 等量混合其幼嫩叶片, 提取 DNA 建成不育基因池; 同样的方法选取 10 株紫茎可育单株, 构建可育基因池。

筛选在不育、可育两亲本间具有多态性的 SRAP 引物标记, 利用多态性的引物标记检测不育、可育两 DNA 池, 获得在两 DNA 池间具有多态性的引物标记。

1.4 DNA 提取

DNA 提取在参照前人提取方法^[7]的基础上作了一定的优化。

1.5 SRAP 分析

1.5.1 SRAP 标记引物序列的获得及合成 SRAP 标记的 PCR 引物采用 Li^[8,9]、雷剑^[10]、Budak^[11]、Lin^[12]、王刚^[13]、Riaz^[14]等已发表的引物, 引物序列的相关信息如表 1, 其合成由生工生物 (上海) 股份有限公司。

表 1 SRAP 引物序列信息
Table 1 The information of SRAP primers

正向引物 Forward primer	序列 (5'-3') Sequence (5'-3')	反向引物 Reverse primer	序列 (5'-3') Sequence (5'-3')
Me1F	TGAGTCCAAACCGGATA	Em1R	GACTGCGTACGAATTAAT
Me2F	TGAGTCCAAACCGGAGC	Em2R	GACTGCGTACGAATTTGC
Me3F	TGAGTCCAAACCGGAAT	Em3R	GACTGCGTACGAATTGAC
Me4F	TGAGTCCAAACCGGACC	Em5R	GACTGCGTACGAATTAAC
Me6F	TGAGTCCAAACCGGTAA	Em8R	GACTGCGTACGAATTCTG
Me7F	TGAGTCCAAACCGGTCC	Em10R	GACTGCGTACGAATTTCAG
Me8F	TGAGTCCAAACCGGAAC	Em11R	GACTGCGTACGAATTCCA
BMe6F	TGAGTCCAAACCGGACA	Em14R	GACTGCGTACGAATTACG
BMe8F	TGAGTCCAAACCGGACT	K2R	GACTGCGTACCAATTTCGAG
BMe9F	TGAGTCCAAACCGGAGG	K4R	GACTGCGTACCAATTTCGCC
BMe10F	TGAGTCCAAACCGGAAA	K5R	GACTGCGTACCAATTCTCA
BMe11F	TGAGTCCAAACCGGAAC	K6R	GACTGCGTACCAATTCTCC
BMe13F	TGAGTCCAAACCGGAAG	CoEm7R	GACTGCGTACGAATTATG
Cume9F	TGAGTCCAAACCGGTAG	CoEm8R	GACTGCGTACGAATTAGC

正向引物 Forward primer	序列 (5'-3') Sequence (5'-3')	反向引物 Reverse primer	序列 (5'-3') Sequence (5'-3')
Cume10F	TGAGTCCAAACCGGCAT	CoEm9R	GACTGCGTACGAATTACG
Cume11F	TGAGTCCAAACCGGTCT	CoEm10R	GACTGCGTACGAATTTAG
		CoEm11R	GACTGCGTACGAATTTTCG
		CoEm13R	GACTGCGTACGAATTGGT
		CoEm16R	GACTGCGTACGAATTCGG
		CoEm18R	GACTGCGTACGAATTCCT
		OD3R	CCAAAACCTAAAACCAGGA
		SA4R	CCAAAACCTAAAACCAGGT
		BEm7R	GACTGCGTACGAATTCAA
		Em4R	GACTGCGTACGAATTTGA
		Em6R	GACTGCGTACGAATTGCA
		Em7R	GACTGCGTACGAATTCAA
		Em9R	GACTGCGTACGAATTCGA
		BEm8R	GACTGCGTACGAATTCAC
		BEm9R	GACTGCGTACGAATTCAG
		BEm10R	GACTGCGTACGAATTCAT
		BEm11R	GACTGCGTACGAATTCTA
		BEm12R	GACTGCGTACGAATTCTC
		BEm12R	GACTGCGTACGAATTCTC
		BEm13R	GACTGCGTACGAATTCTG

1.5.2 反应体系的优化 本试验的反应体系经简易优化赵娟^[15]等人的反应体系而得(见表 2)。5 U/ μ L Taq 聚合酶(含 10 \times Buffer)、10 mmol/L dNTP、DNA Marker I 均购自生工生物(上海)股份有限公司。

表 2 番茄 SRAP 扩增反应体系

Table 2 The reaction system of amplification in SRAP of tomato

试剂 Reagent	用量 Dosage
20 ng/ μ L DNA	2.0 μ L
10 \times Buffer (含 Mg ²⁺)	1.0 μ L
dNTPs (2.5 mM each)	0.8 μ L
10 pM Forward primer	0.5 μ L
10 pM Reverse primer	0.5 μ L
5 U/ μ L Taq polymerase	0.2 μ L
ddH ₂ O	5.0 μ L

PCR 扩增程序如下:

- ① 94 $^{\circ}$ C 3 min
- ② 94 $^{\circ}$ C 30 s
35 $^{\circ}$ C 30 s
72 $^{\circ}$ C 1 min 30 s
循环 4 次
- ③ 94 $^{\circ}$ C 30 s
50 $^{\circ}$ C 30 s
72 $^{\circ}$ C 1 min 30 s
循环 34 次
- ④ 72 $^{\circ}$ C 10 min
- ⑤ 4 $^{\circ}$ C ∞

1.5.3 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测 利用 8%非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测 SRAP 扩增产物,缓冲液为 0.5 倍的 TBE,点样量约 6 μ L。恒定电压下电泳约 2 h。

1.5.4 标记数据记录及图谱构建 根据电泳结果的各种谱带,统计各种类型的标记:与母本相同的纯合带型记为 a,与父本相同的纯合带型记为 b,杂合带型记为 h,缺失数据或模糊难以辨认的带型记为 u。首先利用两 DNA 池筛选多态性引物标记;再利用多态性引物标记检测 F₂ 群体,最终的遗传鉴定结果将用于连锁图谱的构建。

1.6 数据统计分析

连锁遗传图借助于 Joinmap4.0 软件运算生成。

2 结果与分析

2.1 番茄基因组 DNA 提取

在 CTAB 原有配方的基础上,提取时添加了 1.0%的 β -巯基乙醇,防治一些酚类化合物的氧化,保证所获得的 DNA 质量。通过 1.0%的琼脂糖凝胶电泳检测所提取 DNA 的浓度及纯度。结果发现所提取的 DNA 浓度较好,无蛋白质、RNA 等的污染,其浓度和纯度都可满足本试验中对 DNA 质量的要求。图 1 为部分分离群体单株基因组 DNA 的检测结果。

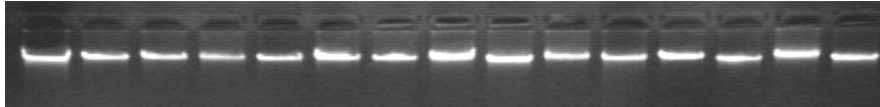
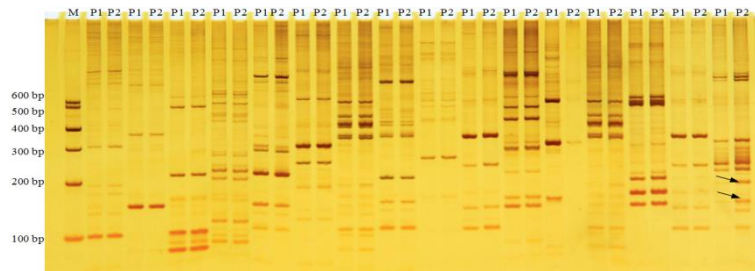


图 1 番茄基因组 DNA 的琼脂糖凝胶电泳检测
Fig.1 The result of tomato DNA by agarose gel electrophoresis

2.2 SRAP 标记的筛选

本研究通过将 SRAP 前引物与后引物随机组合,共合成了 544 对引物组合。通过筛选发现:在 544 对引物组合中,有 498 对引物均可在两 DNA 池间扩增出清晰的产物条带;但只有 4 对引物组合在两 DNA 池间表现出了差异性分布的多态性条带,多态性引物的比例为 0.7%。此 4 对多态性的 SRAP 引物组合在两 DNA 池间共检测到了 31 个位点标记,其中有 12 个位点标记在两 DNA 池间有多态性,其多态性位点比率为 38.7%。图 2 为部分 SRAP 引物组合在两 DNA 池间的扫描筛选情况。



注: P1:不育池 Pool of sterility, P2: 可育池 Pool of fertility
图 2 16 对 SRAP 引物组合在两 DNA 池间的扫描筛选结果
Fig.2 The result of screening by 16 pairs SRAP primers in two DNA pools

2.3 F₂ 群体遗传分析

利用以上获得的 4 对 SRAP 引物组合分别扫描检测 60 个 F₂ 分离单株。结果表明:4 对 SRAP 引物标记的多态性位点在各供试单株间存在明显的连锁分离,且多态性及清晰程度均较好。通过统计分析发现 12 个多态性位点在不育单株群和可育单株群之间存在极显著的连锁关系,证明这些多态性位点可以用作连锁作图。图 3 是利用 SRAP 标记的引物组合 C9E6 (前引物 Cume9F 和后引物 Em6R 的组合)对部分单株的遗传鉴定结果。

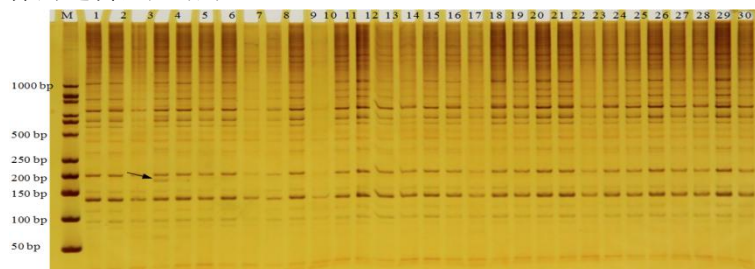


图 3 引物组合 C9E6 在部分分离单株中的多态性
Fig.3 The polymorphism of some separation individuals by C9E6 primer

2.4 分子遗传连锁图构建

通过 JoinMap4.0 软件,利用 12 个多态性位点标记对 60 个分离单株的遗传鉴定结果进行连锁作

图。取 LOD 值为 3.0, 分别得到 1 张不育基因的连锁图 (图 4a) 和 1 张不育基因等位基因的连锁图 (图 4b)。如图 4 显示: 与雄性不育基因连锁的位点标记有 5 个, 分别是 C10B9_1、C10B9_2、C10B9_4、C10B9_3 和 C10B8_2, 其与不育基因 *ms* 的连锁距离分别为 3.3 cM、3.3 cM、3.3 cM、3.3 cM 和 13.7 cM。有 7 个位点标记与不育基因的等位基因相连锁, 分别是 C10B8_4、C10B8_8、C10B8_9、C10B8_6、C10B8_7、C9E6_2 和 C9K6_2, 与不育等位基因 *Fer* 的连锁距离分别为 17.3 cM、1.7 cM、1.7 cM、0.0 cM、0.0 cM、13.7 cM 和 21.2 cM。

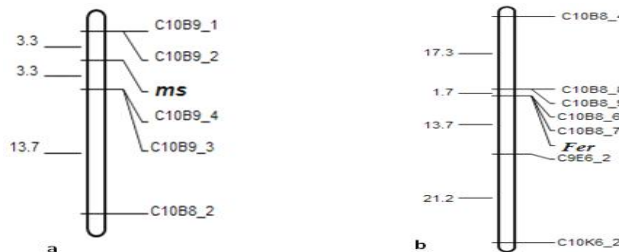


图 4 基因与分子标记的连锁图谱
Fig.4 The linkage map of gene and molecular marker

3 讨论

本研究所选择的不育母本是由栽培种突变而来的, 所以其遗传背景与栽培种父本基本相同。这导致在试验过程中进行分子标记筛选时其多态性效率非常低, 比如 544 对 SRAP 标记中, 在两 DNA 池间表现为多态性的只有 4 对, 其比率只有 0.7%。这与王柏柯^[16]、王胜阳^[17]等关于番茄遗传多样性的研究结果一致。但其优点在于: 由于不育母本与可育父本均为栽培种, 其十分相似的遗传背景, 对研究单位点的功能基因非常有效, 可高效地避免假阳性位点。通过这种方法筛选出的多态性位点标记, 一般均可用于位点基因的连锁作图, 且其遗传距离也比较理想, 如 4 对 SRAP 标记的多态性位点在各供试单株间存在明显的连锁分离, 在可育群体与不育群体间, 具有明显的连锁遗传特性。另外, 从形态学角度分析, 此类番茄雄性不育性状与苗期绿茎性状紧密连锁, 这也有利于此类雄性不育基因在制种生产中的应用^[18]。

SRAP 标记的原理是基于生物个体或物种间内含子、启动子和间隔区域的变异较大, 这些变异区域可与 SRAP 的正向引物相匹配, 通过 PCR 可扩增出基于这些变异区的多态性。此类标记中约 20% 为共显性, 重复性好, 且有些带型为某些特定作物所独有^[9,12], 前人已利用此标记做了大量的研究工作^[19-24]。本研究利用 SRAP 标记的 16 条前引物和 34 条后引物, 通过排列组合, 合成了 544 对引物组合; 结果显示可以扩增出清晰产物的 SRAP 引物组合为 498 对, 具有多态性的引物组合为 4 对, 多态性标记的比例为 0.7%。此结果充分证明了供试验的两亲本间遗传背景相似, 遗传范围狭窄。但基于 SRAP 标记具有丰富的 PCR 产物谱带的特征, 本研究最终获得的 4 对引物组合在两 DNA 池间产生了 12 个多态性位点标记, 其多态性位点比率为 38.7%。此结果证明在亲缘关系较近的个体或品种间 SRAP 标记更具有鉴别优势^[25], 这与赵娟^[15]、张凯^[26]等的研究结论一致。

遗传学理论表明, 每种生物的每对染色体上都存在着多个基因, 每对染色体上的全部基因就称为一个连锁群。研究表明, 一个生物连锁群的数目和染色体的对数是一致的, 如果某生物有 n 对染色体, 那么它就有 n 个连锁群, 如番茄共有 12 对染色体, 那么它就有 12 个连锁群。把一个连锁群上的各个基因按确定的顺序和相对距离表示出来, 所构成的图形即是染色体图 (Chromosome map), 又称为连锁图 (Linkage map) 或遗传图 (Genetic map)^[27]。本研究利用筛选所获得的 12 个多态性位点标记, 对 60 个 F_2 群体的遗传鉴定结果进行连锁作图。将不育基因与其中的 5 个多态性位点标记定位到了同一连锁群上 (图 4a), 5 个连锁标记分别是 C10B9_1、C10B9_2、C10B9_4、C10B9_3 和 C10B8_2, 其与不育基因 *ms* 的连锁距离分别为 3.3 cM、3.3 cM、3.3 cM、3.3 cM 和 13.7 cM。其中 C10B9_1、C10B9_2、C10B9_4 和 C10B9_3 这 4 个标记可用于不育基因的分子标记辅助育种, 而 C10B8_2 由于其连锁距离距不育基因较远, 在分子辅助育种中不宜作为选择标记。

4 结论

本研究通过大量的 SRAP 引物组合筛选,最终获得了多态性较好的 4 对引物组合,通过差异性位点分析,4 对多态性引物组合在两个 DNA 池间具有 12 个多态性位点标记。应用 JoinMap4.0 软件计算分析 12 个位点标记对 60 个分离单株的遗传鉴定结果,取 LOD 值为 3.0,得到 1 张雄性不育等位基因的连锁图;其中有 7 个位点标记与不育等位基因相连锁,分别是 C10B8_4、C10B8_8、C10B8_9、C10B8_6、C10B8_7、C9E6_2 和 C9K6_2,与不育等位基因的连锁距离分别为 17.3 cM、1.7 cM、1.7 cM、0.0 cM、0.0 cM、13.7 cM 和 21.2 cM。利用同样的方法,获得 1 张与不育基因连锁的连锁图;其中有 5 个位点标记与雄性不育基因相连锁,分别为 C10B9_1、C10B9_2、C10B9_4、C10B9_3 和 C10B8_2,其与不育基因的连锁距离分别为 3.3 cM、3.3 cM、3.3 cM、3.3 cM 和 13.7 cM。

参考文献

- [1] 陈世儒.蔬菜育种学[M].北京:中国农业出版社,2001
- [2] Rick CM. Genetics and development of nine male-sterile tomato mutants[J]. Hilgardia, 1948,18(17):599-633
- [3] Rastogi R, Sawhney VK. Polyamines and flower development in the male sterile stamenless-2 mutant of tomato II, Efficient of polyamines and their biosynthetic inhibitors on the development of normal and mutant floral buds cultured in vitro[J]. Plant Physiol,1990,93(2):446-452
- [4] Susan WG, Barrasiak D, Fairley C. A 610 kb yac clone harbors 7cM of tomato (*lycopersicon esculentum*) DNA that includes the male sterile 14 gene and a hotspot for recombination[J]. Mol Gen Genet,1996,251(1):52-59
- [5] 王柏柯,杨涛,杨生保,等.苗期有绿茎标记性状番茄雄性不育系的初步研究[J].西北农业学报,2012,21(4):99-100
- [6] Michelmore RW, Paranand I, Kessali RV. Identification of markers linked to disease resistance gene by bulked segregant analysis:a rapid method to detect markers in specific genomic regions using segregating populations[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1991,88(21):9828-9832
- [7] 顾红雅,瞿礼嘉,明小天.植物基因与分子操作[M].北京:北京大学出版社,1995:19
- [8] Li G, Gao M, Yang B, et al. Gene for gene alignment between the Brassica and Arabidopsis genomes by direct transcriptome mapping[J]. Theor and Appl Genet, 2003,107(1):168-180
- [9] Li G, Quiros CF. 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]. Theor Appl Genet, 2001,103(2):455-461
- [10] 雷剑,柳俊.一个与马铃薯青枯病抗性连锁的 SRAP 标记筛选[J].中国马铃薯,2006,20(3):150-153
- [11] Budak H, Shearman RC, Parmaksia I, et al. Molecular characterization of Buffalogross germplasm using Sequence-Related Amplified Polymorphism Markers[J]. Theor Appl Genet, 2004,108(2):328-334
- [12] Lin Z, Zhang X, Nie Y. Construction of a genetic linkage map for cotton based on SRAP[J]. Chinese Science Bulletin, 2003,48(19):2063-2067
- [13] 王刚,潘俊松,李效尊,等.黄瓜 SRAP 遗传连锁图谱的构建及侧枝基因定位[J].中国科学 C 辑:生命科学,2004,34(6):510-516
- [14] Riaz A, Li G, Quresh Z, et al. Genetic diversity of oilseed Brassica napus inbred lines based on sequence-related amplified polymorphism and its relation to hybrid performance[J]. Plant Breeding, 2001,120(5):411-415
- [15] 赵娟.辣椒分子连锁图谱的构建及抗黄瓜花叶病毒 QTL 定位[D].呼和浩特:内蒙古农业大学,2009
- [16] 王柏柯,杨生保,余庆辉,等.加工番茄种质资源的 SSR 分析[J].植物遗传资源学报,2014,15(1):196-200
- [17] 王胜阳.番茄遗传多样性和亲缘关系的 AFLP 分析[D].乌鲁木齐:新疆农业大学,2008
- [18] 李会远,王洪安,杨哲.番茄带标志性状核质型雄性不育系的研究和利用[J].吉林蔬菜,2005(6):36-36
- [19] 凌磊,李廷春,李正鹏,等.利用 SRAP 标记分析彩色棉与白色棉的遗传差异[J].中国农学通报,2009,25(16):32-38
- [20] 黄进勇,盖树鹏,张恩盈,等.SRAP 构建玉米杂交种指纹图谱的研究[J].中国农学通报,2009,25(18):47-51
- [21] 张驰,关媛,何欢乐,等.利用 SRAP 分子标记对黄瓜 *G1* 基因的初步定位分析[J].上海交通大学学报:农业科学版,2009,27(4):380-383
- [22] 左丹丹,赵海涛,刘春,等.蜡梅天然群体遗传多样性的 SRAP 标记分析[J].园艺学报,2009,36(8):1197-1202
- [23] Budak H, Shearman RC, Parmaksiz L, et al. Comparative analysis of seeded and vegetative biotype buffalograsses based on phylogenetic relationship using ISSRs, SSRs, RAPDs and SRAPs[J]. Theor Appl Genet, 2004,109(2):280-288
- [24] Ferriol M, Picó B, De Córdova PF et al. Molecular diversity of a germplasm collection of squash (*Cucurbita moschata*), determined by SRAP and AFLP marker[J]. Crop Science, 2004,44(2):653-664
- [25] 杨凯敏,李贵全,郭数进,等.大豆自然群体 SSR 标记遗传多样性及其与农艺性状的关联分析[J].核农学报,2014,28(9):1576-1584
- [26] 张凯,罗小敏,蒋玉春,等.甘薯种质资源的 SRAP 鉴定及遗传多样性分析[J].核农学报,2013,27(5):0568-0575
- [27] 李惟基.遗传学[M].北京:中国农业大学出版社,2007:94-100