

利用 SRAP 分子标记鉴定内蒙古栽培大豆与野生大豆杂交后代真实性

刘雪骄,王明玖,索荣臻

(内蒙古农业大学 草原与资源环境学院,内蒙古 呼和浩特 010018)

摘要:以通辽市科左后旗查金台牧场野生大豆和栽培品种大白眉种间杂交后代为材料,通过 SRAP 分子标记鉴定其真实性并构建杂交后代指纹图谱,首先从 234 对引物中筛选出 15 对扩增条带较多、信号强、背景清晰的引物组合,再利用 2 个亲本对引物进行筛选,筛选出 10 对能扩增出父本特异性条带的引物。对 50 个杂交后代进行真实性鉴定,鉴定结果为 50 个杂交后代中有 2 个后代未扩增出父本特征带,被鉴定为假杂种。用筛选出的 15 对引物组合对大豆各株系进行 PCR 扩增,共扩增出 347 个位点,其中有 265 个为多态性位点,多态性位点的百分率为 76. 37%。结果表明,SRAP 分子标记可以用于鉴定大豆杂交后代的真实性,所筛选出的 15 对引物组合可以有效地应用于杂交大豆种质资源的 SRAP 分析。

关键词:SRAP 标记;杂交大豆;引物筛选;杂种鉴定

中图分类号:S812. 8 **文献标识码:**A **DOI:**10. 11861/j. issn. 1000-9841. 2017. 02. 0193

The Authentic Evaluation on Hybrids of Wild Soybean and Cultivated Soybean Based on SRAP Marker in Inner Mongolia

LIU Xue-jiao, WANG Ming-jiu, SUO Rong-zhen

(College of Grassland, Resources and Environment, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China)

Abstract: In this study, the hybrids of wild soybean and cultivated soybean were analyzed by SRAP marker to select out the true hybrids and build fingerprint. 15 primer combinations of SRAP with characteristics of rich polymorphism, clear bands and good repeatability were selected from 234 primer combinations at first, then primers were selected to bands specific for the male parent but absent from the female, 10 primers were selected and applied to identify the hybrids. There were 48 progenies with those specific bands, which were therefore identified as true hybrids. The 15 primer combinations were used in the PCR amplification, 347 DNA bands were obtained, 265 of which bands were polymorphic, amounted to 76. 37% of the total amplified bands. The result showed that SRAP markers could be used as effective molecular markers for the authenticity identification of the progenies of soybean, the selected 15 primer combinations could be effectively applied to SRAP analysis of the germplasm resources of hybrids.

Keywords: SRAP marker; Hybrids; Primer screening; Hybrids identification

野生大豆(*Glycine soja*)是栽培大豆的近缘野生种,在中国分布广泛^[1-2]。野生大豆具有高蛋白、多分枝、多花荚,种子繁殖系数高、抗逆性强等优点,具有丰富的遗传多样性^[3]。但由于近年来野生大豆栖生地的过度开发破坏,野生大豆已成为渐危种,并被列为国家Ⅱ级重点保护野生植物^[4-5]。通过利用野生大豆与栽培大豆进行远缘杂交产生新种质,即可以把二者的优良性状结合起来,起到保护野生大豆的遗传多样性,充分发挥利用野生大豆的种质资源效益,以及改善国内大豆种植业萎缩的现状的作用^[6-9]。

本试验于 20 世纪 80 年代初,以内蒙古通辽市科尔沁左翼后旗查金台牧场草甸上原生的野生大豆为父本,以当地大豆栽培品种大白眉为母本开展人工杂交,后代性状强烈分离。采用系谱法分别种

植成株系,经过三十多年的不断种植选育,已获得表型性状不尽相同的后代株系材料 60 余个,目前大部分株系已趋于稳定,少数还处于分离中^[10]。后代株系的植株形态、种子形态等方面多介于两个亲本之间,而栽培性状和生产性状则多优于亲本性状^[11-12]。由于杂交距今年限过长,通过种间杂交获得杂种,应该对其进行亲缘关系的鉴定来确定杂交后代真实性。

对杂交后代真实性的鉴定有同工酶法^[13]、形态标记法、细胞学标记鉴定法^[14]、分子标记法等,其中以分子标记法的鉴定结果最为准确^[15]。本研究对野生大豆与栽培大豆的杂交后代进行真实性鉴定便是采用了分子标记的方法。鉴定杂种真实性常用的分子标记方法有 ISSR、SSR 和 SRAP^[13-17],其中 SRAP(基于序列扩增多态性)是一种新型的基于

收稿日期:2016-12-14
基金项目:国家重点研究发展计划(2016YFC0500605)。
第一作者简介:刘雪骄(1990 -),女,博士,主要从事牧草种质资源研究工作。E-mail:liuxj_0216@163.com。
通讯作者:王明玖(1961 -),男,教授,博导。主要从事草地资源管理和草地生态学研究。E-mail:wangmj_0540@163.com。

PCR 的共显性标记系统。SRAP 标记方法已在水稻、小麦、马铃薯等粮食作物及斑茅、老芒麦等植物的研究中得到广泛的成功应用^[18-20],其操作方法简便、产量中等、但共显性和重复性均较高,条带易分离测序简便,在基因组中分布均匀,在基因定位、克隆、遗传图谱构建等生物学领域应用广泛^[21],但其较少应用在大豆的杂种鉴定中。本研究利用 SRAP 分子标记鉴定杂交大豆后代真实性并构建杂交后代指纹图谱,可为进一步开展杂交大豆育种工作奠定基础。

表 1 SRAP 引物序列
Table 1 SRAP primer sequences

上游引物 Upstream primer	碱基序列(5′-3′) Sequences(5′-3′)	下游引物 Downstream primer	碱基序列(3′-5′) Sequences(3′-5′)
me1	TGAGTCCAAACCGGATA	em1	GACTGCGTACGAATTAAT
me2	TGAGTCCAAACCGGAGC	em2	GACTGCGTACGAATTTGC
me3	TGAGTCCAAACCGGAAT	em3	GACTGCGTACGAATTGAC
me4	TGAGTCCAAACCGGACC	em4	GACTGCGTACGAATTTGA
me5	TGAGTCCAAACCGGAAG	em5	GACTGCGTACGAATTAAC
me6	TGAGTCCAAACCGGTAG	em6	GACTGCGTACGAATTGCA
me7	TGAGTCCAAACCGGTTG	em7	GACTGCGTACGAATTATG
me8	TGAGTCCAAACCGGTGT	em8	GACTGCGTACGAATTAGC
me9	TGAGTCCAAACCGGTCA	em9	GACTGCGTACGAATTACG
me10	TGAGTCCAAACCGGTAA	em10	GACTGCGTACGAATTTAG
me11	TGAGTCCAAACCGGTCC	em11	GACTGCGTACGAATTTCG
me12	TGAGTCCAAACCGGTGC	em12	GACTGCGTACGAATTGTC
me13	TTCAGGGTGCCGGATG	em13	GACTGCGTACGAATTGGT
		em14	GACTGCGTACGAATTACAG
		em15	GACTGCGTACGAATTCTG
		em16	GACTGCGTACGAATTCCG
		em17	GACTGCGTACGAATTCCA
		em18	AGCGCGTTGTCAATTGAC

1.2 试验方法

1.2.1 DNA 提取 将新鲜的大豆下胚轴在液氮中研磨成粉,利用植物 DNA 提取试剂盒提取 DNA,并采用浓度为 0.8% 的琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 质量,保存于 4℃ 冰箱中备用。

1.2.2 SRAP-PCR 反应体系 反应体系的总体积为 10 μL,PCR 扩增程序为:94℃ 预变性 5 min;前 5 组循环为 94℃ 变性 1 min,35℃ 退火 1 min,72℃ 延伸 1 min;后 35 组循环为 94℃ 变性 1 min,50℃ 退火 1 min,72℃ 延伸 1 min;最后 72℃ 延伸 7 min。反应结束后将反应产物于 6% 的非变性聚丙烯酰胺凝胶中电泳,并用银染试剂染色。

1.2.3 引物筛选 先随机选取 2 种大豆株系对 234 对引物组合进行初筛(图 2),在初筛的基础上

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试材料 栽培大豆与野生大豆 50 个杂交后代株系,父本野生大豆为通辽市科左后旗查金台牧场野生大豆,母本为栽培大豆品种大白眉。

1.1.2 引物 上游引物 13 个,下游引物 18 个共 234 组引物(表 1),由上海生工生物工程技术服务有限公司合成。

再选取 4 份表型性状差异较大的大豆株系对引物组合进行复筛,再用 2 个亲本对其进行筛选,筛选出能扩增出父本特异性条带的引物。直至从所有的引物组合中筛选出条带较多、信号强、背景清晰且能将父本扩增出母本所没有的特异性条带的多对引物组合,用于进一步分析研究。

1.2.4 杂交后代真实性鉴定 利用筛选出的引物对 50 个杂交后代株系进行鉴定,首先利用 2 对引物对所有株系进行鉴定,筛选出其中具有父本特异性条带的株系,标记为真杂种;然后再用另 2 对引物对其余的株系进行鉴定,并记录其中具有父本特异带株系为真杂种,其它不具有父本特异带株系仍需其余引物进行继续鉴定;继续利用其余 2 对引物对其余杂交后代进行鉴定,具有父本特征带被鉴定为真

杂种;为了提高鉴定的准确性,本研究再次对未鉴定出的株系用其余引物扩增,如果其余后代均未能扩增出父本的特征带,则确定为假杂种。

1.3 数据分析

统计电泳图谱中的清晰且可重复的电泳条带,在同一迁移位点上有条带的赋值为 1,无带的记录为 0,记录每对引物扩增的条带,使用 POPGEN VERSION 1.32 软件对各材料进行分析,计算多态性条带及多态性条带百分率。

2 结果与分析

2.1 材料基因组 DNA 检测

用 0.8% 琼脂糖凝胶电泳对 2 份亲本及 50 份

杂交后代共 52 份材料的 DNA 浓度和质量进行检测,结果表明,所提取的基因组 DNA 带型完整、清晰且无拖尾弥散现象,符合 SRAP-PCR 分析的要求(图 1)。

2.2 引物筛选

本研究通过对 234 对引物的初筛(图 2)和复筛(图 3),获得了 15 对扩增效果好、条带多、信号强、背景清晰的引物组合。继续利用 15 对引物组合对 2 个亲本进行 SRAP-PCR 扩增,结果表明,共有 10 对引物组合父本能扩增出母本没有的特异性条带,且扩增条带较清晰、带型较丰富,利用其对杂交后代各株系进行鉴定:扩增出具有父本特异性条带的株系便是真杂种,否则为假杂种。

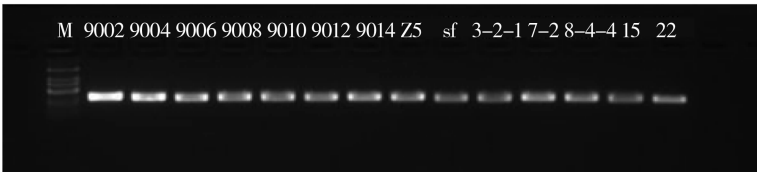
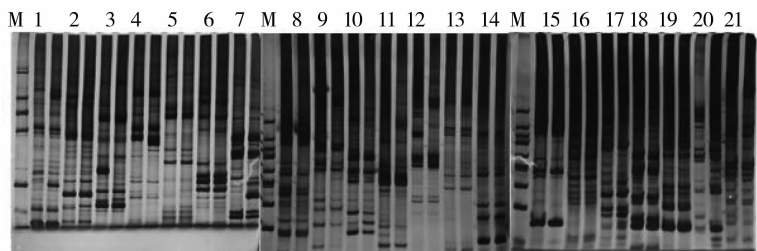
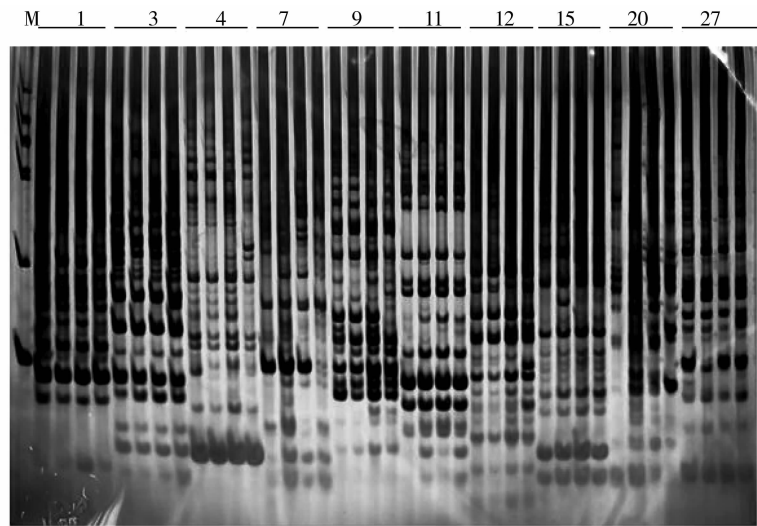


图 1 部分株系基因组 DNA 琼脂糖凝胶电泳检测
Fig. 1 Agarose gel electrophoresis detection of genomic DNA of part strains



M:Marker;1~21:引物序号。
M:Marker;1-21:Primer code.

图 2 SRAP 引物初筛
Fig. 2 SRAP primer first screening



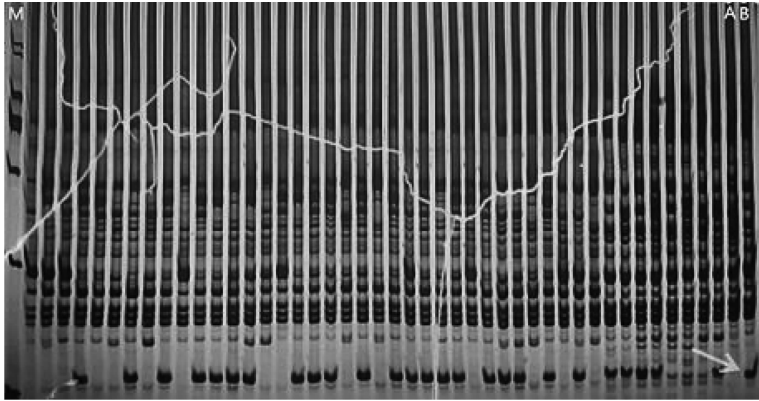
M:Marker;1,3,4,7,9,11,12,15,20,27:引物序号。
M:Marker; 1,3,4,7,9,11,12,15,20,27:Primer code.

图 3 SRAP 引物复筛
Fig. 3 SRAP primer second screening

2.3 杂交后代真实性

利用筛选出的 10 对引物对 50 个株系进行真实性鉴定,首先用 6 号和 44 号 2 对引物对所有株系进行鉴定(图 4),共有 33 个株系具有父本特异性条带,记录为真杂种,其余 17 个株系未扩增出父本特异性条带;继续用 7 号和 10 号 2 对引物对这 17 个株系进行鉴定,其中有 8 个株系具有父本特异性条

带,记录为真杂种;接着用 9 号和 24 号引物对其余 9 个株系继续鉴定,有 7 个具有父本特征带,为真杂种;为了提高鉴定的准确性,本研究再次对以上未鉴定出的 2 个株系用其余 4 对引物进行扩增,结果表明,这 2 个株系没能扩增出父本特征带,为假杂种(表 2)。



M: Marker; A: 母本; B: 父本; 箭头所示为父本特异性条带。
M: Marker; A: Female parent; B: Male parent. The arrows indicated male specific fragments.

图 4 SRAP 引物组合 44 号 (me3/em8) 扩增结果

Fig. 4 Amplification result of SRAP primer combination No. 44 (me3/em8)

表 2 50 个杂交后代 SRAP 鉴定结果

Table 2 Identification result of SRAP of 50 hybrids

引物组合 Primer combination	具有父本特征带株系 Strains with male specific fragments	不具有父本特征带株系 Strains without male specific fragments
6,44	SF,9010,9004,9008,9002,9014,3-2-2,9,7-2,8-1,2,8-4-1,12-1-4,3-2-1,7-1-1,17-3,18-2,27-2-1,16-1-1,16-3,16-1-2,17-1,29,12-2,12-1-1,12-1-2,8-4-3,PB,8-4-4,8-4-2,26,PZ,ZS	9006,0004,0005,S002,S001,8-1-2,8-3,C6,15,5,7-1-2,12-1-3,C8,10-1,29-1,29-2,27-2-2
7,10	S002,0004,0005,5,7-1-2,8-3,10-1,27-2-2	9006,8-1-2,C6,15,12-1-3,C8,29-1,29-2,S001
9,24	S001,8-1-2,C6,12-1-3,C8,29-1,29-2	15,9006
42,58,59,81		15,9006

经过初筛和复筛,筛选出 15 对扩增条带多、背景清晰、信号强的引物组合,对 48 个杂交后代株系(真杂种)进行 PCR 扩增,共扩增出 347 个位点(表 3),其中有 265 个为多态性位点,多态性位点的百分率为 76.37%,每条引物扩增条代数范围为 18 ~

31,扩增出的 DNA 的分子带大小为 100 ~ 1 500 bp。同时,引物组合 me3/em8 的指纹图谱(图 4)表明,大豆杂交后代各株系间的 SRAP 存在着多态性,因此,利用 SRAP 分子标记技术可以从 DNA 水平上对大豆杂交后代各株系间进行多态性分析。

表 3 筛选出的 SRAP 引物组合及扩增结果

Table 3 The selected SRAP primer combinations and amplification result

编号 Code	引物组合 Primer combination	位点总数 (NI) Number of loci	多态性位点数 (Npl) Number of polymorphic loci	多态性位点比例 Percentage of polymorphic loci/%
6	me1/em6	21	19	90.47
7	me1/em7	19	11	57.90
9	me1/em9	20	16	80.00
10	me1/em10	25	19	76.00

续表 3

编号 Code	引物组合 Primer combination	位点总数(Nl) Number of loci	多态性位点数(Npl) Number of polymorphic loci	多态性位点比例 Percentage of polymorphic loci/%
24	me2/em6	18	12	66. 67
42	me3/em6	31	23	74. 19
44	me3/em8	28	20	71. 43
58	me4/em4	27	26	96. 30
59	me4/em5	29	17	58. 62
64	me4/em10	19	13	68. 42
80	me5/em8	23	19	82. 61
81	me5/em9	21	18	85. 71
166	me10/em4	22	17	77. 27
220	me13/em5	23	16	69. 57
222	me13/em7	21	19	90. 48
总数 Total		347	265	
平均 Mean		23. 13	17. 67	76. 37

3 讨 论

利用分子标记鉴定杂种真实性常见的方法有 SRAP、SSR 等,盖树鹏等^[22]在利用分子标记鉴定玉米品种时的结果表明,SRAP 引物扩增的平均等位变异数、PIC 值、分辨能力(D 值)均显著高于 SSR,因而利用 SRAP 标记鉴定杂种真实性的多态性信息量更丰富。SRAP 标记具有较高的重复性和共显性,且操作简便,符合作物品种鉴定标记的条件;而且,SRAP 标记的引物开发较 SSR 成本更低,合成 13 条 SRAP 上游引物和 18 条下游引物便可以组合出 234 对 SRAP 引物。可见,SRAP 标记在作物杂交后代真实性鉴定及指纹图谱构建中具有较大的应用价值与利用空间。

本试验首先对 13 条上游引物和 18 条下游引物组成的 234 对引物进行筛选,共筛选出 15 对扩增效果好的引物组合,其中 10 对组合父本能扩增出母本没有的特异性条带。李爱贤等^[19]构建马铃薯遗传图谱时,用双亲对 800 对 SRAP 引物组合进行筛选,得到 304 对多态性好的引物组合;樊洪泓等^[23]研究药用石斛时,从 88 个引物组合中筛选出 40 对多态性丰富的引物组合;李仁伟等^[24]在利用 SRAP 分子标记研究菊花品种的表型性状时,从 130 对引物组合中筛选出 19 对条带清晰稳定的引物组合,薛丹丹等^[17]在鉴定结缕草属植物杂交后代真实性时从 50 对 SRAP 引物组合中筛选出了 20 对多态性好的引物组合。而本试验仅从 234 对引物组合中筛选出 15 对,这与王芳等^[25]在研究大豆种质资源时仅从 288 对引物中筛选出 12 对的研究结果类似,推测这种低的引物筛选效果,与所选作物个体的 DNA 序列有关。

4 结 论

本试验从 234 对引物组合中筛选出 15 对 SRAP 引物组合。利用其中 10 对能扩增出父本特异性条带的引物对所选的 50 个株系进行真实性鉴定,鉴定结果为 48 个株系为真杂种,2 个株系为假杂种。用筛选出的 15 对引物组合对大豆各株系进行 SRAP-PCR 扩增,共扩增出 347 个位点,其中有 265 个为多态性位点,多态性位点的百分率为 76. 37%,说明杂交后代之间的性状分离比较强烈。筛选出的 15 对扩增效果较好的引物组合可以有效地应用于大豆种质资源的 SRAP 分析。

参考文献

[1] 姜国军,高利国,王玉芝. 野大豆引种栽培[J]. 中国林业, 2011(23):39. (Jiang G J, Gao L G, Wang Y Z. Wild soybean cultivation[J]. Chinese Forestry,2011(23):39.)

[2] 燕雪飞. 中国野大豆遗传多样性及其分化研究[D]. 沈阳:沈阳农业大学,2014. (Yan X F. Genetic diversity and differentiation of the wild soybean (*Glycine soja* Sieb. et Zucc.) in China [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University,2014.)

[3] 范虎,赵团结,丁艳来,等. 中国野生大豆群体特征和地理分化的遗传分析[J]. 中国农业科学,2012,45(3):414-425. (Fan H, Zhao T J, Ding Y L, et al. Genetic analysis of the characteristics and geographic differentiation of chinese wild soybean population[J]. Scientia Agricultura Sinica,2012,45(3):414-425.)

[4] 黄仁术. 野大豆的资源价值及其栽培技术[J]. 资源开发与市场,2008,24(9):771-814. (Hang R S. Resources value and cultivation techniques of *Glycine soja*[J]. Resource Development &Market, 2008,24(9):771-814.)

[5] 刘传才,耿世刚,魏国印,等. 秦皇岛市野大豆保护措施研究[J]. 中国环境管理干部学院学报,2014,24(2):27-29. (Liu C

- C, Geng S G, Wei G Y, et al. A study on protection measures of wild soybean (*Glycine soja*) in Qinghuangdao City[J]. Journal of EMCC, 2014, 24(2): 27-29.)
- [6] 冯光海. 野大豆在黄河三角洲的现状 & 保护措施[J]. 中国林业, 2007(3B): 39. (Feng G H. Present situation and protection of wild soybean in the Yellow River delta[J]. Chinese Forestry, 2007(3B): 39.)
- [7] 王丹阳, 吴铭. 对黑龙江省野大豆保护与利用的研究[J]. 林业勘查设计, 2011(1): 85-86. (Wang D Y, Wu Y. Study on protection and utilization of wild soybean in Heilongjiang Province [J]. Forest Investigation Design, 2011(1): 85-86.)
- [8] 姜海英, 崔明元, 周柏明, 等. 浅谈北方春播大豆杂交育种[J]. 内蒙古农业科技, 2011(5): 124-125. (Jiang H Y, Cui M Y, Zhou B M, et al. Introduction to the north spring sowing soybean cross breeding[J]. Inner Mongolia Agricultural Science And Technology, 2011(5): 124-125.)
- [9] 高淑芹, 赵婧, 蔡蕾, 等. 野生大豆种质资源及其创新利用[J]. 农业与技术, 2010, 30(4): 27-28. (Gao S Q, Zhao J, Cai L, et al. Wild soybean germplasm innovation and utilization of resources[J]. Agriculture & Technology, 2010, 30(4): 27-28.)
- [10] 陈丽丽, 王明玖, 何丽君, 等. 内蒙古野生大豆与栽培大豆杂交后代农艺性状比较及聚类分析[J]. 中国油料作物学报, 2013, 35(2): 142-147. (Chen L L, Wang M J, He L J, et al. Agronomic characteristics and cluster analysis of hybrids of *Glycine soja* Sieb. et Zucc. and *Glycine. max* (L.) Merr. in Inner Mongolia[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2013, 35(2): 142-147.)
- [11] 陈丽丽. 野大豆与栽培大豆杂交后代的鉴定评价研究[D]. 赤峰: 内蒙古农业大学, 2013. (Chen L L. Study on identification and evaluation of the lines from the cross of *Glycine soja* and *Glycine max* [D]. Chifeng: Inner Mongolia Agricultural University, 2013.)
- [12] 马晓萍, 杨光宇, 杨振宇, 等. 野生大豆在大豆育种中的应用[J]. 作物研究, 2009, 23(1): 11-12. (Ma X P, Yang G Y, Yang Z Y, et al. The application of wild soybean in soybean breeding [J]. Crop Research, 2009, 23(1): 11-12.)
- [13] 刘承源, 王辉, 邱文昌, 等. 基于过氧化物同工酶分析月季种质资源的亲缘关系及杂种真实性[J]. 广西植物, 2016, 36(1): 114-120. (Liu C Y, Wang H, Qiu W C, et al. Genetic relationships and hybrids reality in rose germplasm based on POD isozyme[J]. Guihaia, 2016, 36(1): 114-120.)
- [14] 钟淮钦, 李富生, 杨清辉. 甘蔗杂种真实性鉴定研究综述[J]. 热带农业科学, 2005, 121(6): 390-394. (Zhong H Q, Li F S, Yang Q H. A summary on sugarcane hybrid reliability identification [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2005, 121(6): 390-394.)
- [15] 刘昔辉, 方锋学, 高铁静, 等. 斑茅割手密杂种后代真实性鉴定及遗传分析[J]. 作物学报, 2012, 38(5): 914-920. (Liu X H, Fang F X, Gao Y J, et al. Identification and genetic analysis of hybrid from cross between *Erianthus arundinacius* (Retz.) Jesws. and *Saccharum spontaneum* L[J]. Journal of Crops, 2012, 38(5): 914-920.)
- [16] 文浩, 艾辛, 蒋建雄, 等. 采用 SSR 分子标记鉴定获 & 南获 F₁ 杂交种的真实性[J]. 草原与草坪, 2013, 33(4): 7-11. (Wen H, Ai X, Jiang J Q, et al. The species distribution of scarab beetle of Gansu province[J]. Grassland and Turf, 2013, 33(4): 7-11.)
- [17] 薛丹丹, 郭海林, 郑轶琦, 等. 结缕草属植物杂交后代杂种真实性鉴定—SRAP 分子标记[J]. 作物学报, 2009, 18(2): 72-79. (Xue D D, Guo H L, Zheng Y Q, et al. Hybrid identification of progenies of *Zoysia* crosses by SRAP marker[J]. Acta Agonomica Sinica, 2009, 18(2): 72-79.)
- [18] 陈健文, A J Phillip, 劳方业, 等. 应用 ISSR 标记鉴定斑茅 BC2 杂种真实性[J]. 中国糖料, 2008(1): 1-3. (Chen J W, A J Phillip, Lao F Y, et al. Identification of BC2 progeny from *Saccharum officinarum* × *Erianthus arundinaceus* by ISSR markers [J]. Sugar Crops of China, 2008(1): 1-3.)
- [19] 李爱贤, 刘庆昌, 王庆美, 等. 利用 SRAP 标记构建甘薯分子连锁图谱[J]. 作物学报, 2010, 36(8): 1286-1295. (Li A X, Liu Q C, Wang Q M, et al. Establishment of molecular linkage maps using SRAP markers in sweet potato[J]. Acta Agronomica Sinica, 2010, 36(8): 1286-1295.)
- [20] 胡凤荣, 何国仁, 王斐, 等. 利用 ISSR 分子标记方法鉴定风信子杂种后代[J]. 分子植物育种, 2015, 13(6): 1336-1342. (Hu F R, He G R, Wang F, et al. The identification of the hyacinth hybrid progeny by the method of ISSR molecular marker[J]. Molecular Plant Breeding, 2015, 13(6): 1336-1342.)
- [21] 李巧燕, 林瑞庆, 朱兴全. SRAP 分子标记及其应用概述[J]. 热带医学杂志, 2006, 6(4): 467-469. (Li Q Y, Lin R Q, Zhu X Q. Summary of SRAP molecular markers and its application[J]. Journal of Tropical Medicine, 2006, 6(4): 467-469.)
- [22] 盖树鹏, 盖伟玲, 黄进勇. SSR 与 SRAP 标记在玉米品种鉴定中的比较研究[J]. 植物遗传资源学报, 2011, 12(3): 468-472. (Gai S B, Gai W L, Huang J Y. Comparison of SSR and SRAP marker for varieties identification in maize (*Zea mays* L.) [J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2011, 12(3): 468-472.)
- [23] 樊洪泓, 李廷春, 邱婧, 等. 药用石斛遗传多样性的 SRAP 标记研究[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(1): 6-10. (Fan H H, Li T C, Qiu J, et al. Studies on genetic diversity of medicinal *Dendrobium* by SRAP[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2008, 33(1): 6-10.)
- [24] 李仁伟, 王晨, 戴思兰, 等. 菊花品种表型性状与 SRAP 分子标记的关联分析[J]. 中国农业科学, 2012, 45(7): 1355-1364. (Li R W, Wang C, Dai S L, et al. The association analysis of phenotypic traits with SRAP markers in chrysanthemum [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2012, 45(7): 1355-1364.)
- [25] 王芳, 徐翔, 李领川, 等. 大豆种质资源 SRAP 分子标记中的引物筛选[J]. 生物技术通报, 2012(7): 84-87. (Wang F, Xu X, Li L C, et al. Primer screening on germplasm resources of *Glycine max* (L.) Merr. with SRAP molecular marker[J]. Biotechnology Bulletin, 2012(7): 84-87.)