

三叶青种质资源遗传多样性的 SRAP 分析

尹明华¹, 石光禹¹, 郝雪婷¹, 陈茂光¹, 廖玉¹, 万志庭¹, 蔡红², 陈荣华²

(¹ 上饶师范学院生命科学学院, 江西 上饶 334001; ² 上饶市红日农业开发有限公司, 江西 上饶 334700)

摘要:对我国三叶青种质资源 64 个样本的遗传多样性进行 SRAP 分析。结果表明,从 30 条引物中筛选出 10 条条带清晰、重复性好的引物对 64 份供试材料的基因组 DNA 进行扩增。扩增出了 57 个多态位点,多态百分数为 66.67%~100% (均值为 90.38%),每条引物扩增得到的多态位点为 4~10 (均值为 5.7);平均检测等位基因数(N_a)、平均有效等位基因数(N_e)、平均 Nei's 基因多样性指数(H)、平均 Shannon 多样性指数(I)分别为 1.9038、1.5150、0.3009 和 0.45259;遗传相似系数的变异范围为 0.4603~0.9206。通过 UPGMA 法聚类,在遗传相似性系数为 0.7256 处,64 份供试材料可分为 9 组;在江西三叶青种质中,既可与湖北、湖南、福建、广西等地三叶青种质聚为一类,也可与浙江三叶青种质聚为一类。此外,根据引物 EM3ME3、EM13ME13 和 EM14ME14 构建了 64 个基因型的指纹图谱。这些数据可为我国三叶青种质资源的评价、鉴定和新品种选育提供参考。

关键词:三叶青;种质资源;遗传多样性;SRAP 分析

Genetic Diversity Analysis of *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg Germplasm Accessions by SRAP Markers

YIN Ming-hua¹, SHI Guang-yu¹, YU Xue-ting¹, CHEN Mao-guang¹,

LIAO Yu¹, WAN Zhi-ting¹, CAI Hong², CHEN Rong-hua²

(¹ College of Life Sciences, Shangrao Normal University, Shangrao Jiangxi 334001;

² Shangrao red sun Agricultural Development Co., Ltd., Shangrao Jiangxi 334700)

Abstract: In this study, the genetic diversity of 64 Chinese *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg germplasm accessions was analyzed by SRAP markers. By screening for polymorphism, ten out of 30 primer combinations generated reproducible fragments and they were used for additional diversity analysis in 64 genotypes. Fifty-seven polymorphic loci were amplified, with a polymorphic percentage of 66.67%-100% (mean, 90.38%). Each primer combination could generate 4-10, with a mean of 5.7. The average alleles (N_a), the average effective allele number (N_e), the average Nei's gene diversity index (H) and the average Shannon diversity index (I) of 64 samples were 1.9038, 1.5150, 0.3009 and 0.45259, respectively. The genetic similarity coefficient ranged from 0.4603 to 0.9206. By UPGMA clustering, 64 samples were divided to 9 groups when the genetic similarity coefficient was 0.7256. Notably, several accessions collected from Jiangxi were clustered into group of accessions in Hubei, Hunan, Fujian and Guangxi, and several accessions could be clarified into group in Zhejiang. In addition, we constructed the fingerprints of 64 genotypes by using primers EM3ME3, EM13ME13 and EM14ME14. The dataset might provide reference in evaluation and identification of *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg germplasm resources, and also breeding for new varieties.

Key words: *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg; germplasm resources; genetic diversity; SRAP analysis

收稿日期: 2018-04-24 修回日期: 2018-06-04 网络出版日期: 2018-09-06

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20180905.1544.002.html>

基金项目: 国家自然科学基金项目(31360072, 31860084)

第一作者研究方向为植物种质资源研究。E-mail: yinminghua04@163.com

三叶青(*Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg), 学名三叶崖爬藤, 系葡萄科崖爬藤属多年生蔓生藤本植物, 属中国特有濒危珍稀药用植物, 全株可供药用^[1], 广泛分布于长江中下游及南方地区^[2], 具有清热解毒、祛风化痰、活血止痛的作用, 在临床上还具有抗炎、抗肿瘤等功效^[3]。按《保健食品检验与评价技术规范》(2003 版)“食品安全性毒理学评价试验”载:“三叶青无毒, 无致突变性”^[4]。目前对三叶青的研究主要集中于栽培生理^[5-6]、组培^[7]、药理^[8-9]和化学成分^[10-11]等方面, 特别在中医药方面应用较多。但关于三叶青种质资源遗传多样性分析鲜见报道。袁带秀等^[12-13]首次对湘南湘西 3 个不同产地的三叶青种质资源的亲缘关系进行了过氧化酶(POD)和酯酶同工酶检测, 结果显示它们是 3 个独立的物种; 朱波等^[14]利用 ISSR 分子标记技术对三叶青全国主分布区 24 份种质资源的遗传多样性进行了研究, 但样本数量和样本选取地偏少; Peng 等^[15]也对三叶青全国主分布区 27 份种质进行了遗传多样性的 ISSR 分析和 SRAP 分析, 同样取材较少, 群体内遗传相似性高于群体间, 且栽培群体间的遗传相似性远高于野生群体。为了进一步提高结果的准确性和可靠性, 应在大量收集三叶青种质资源的基础上继续深

入其遗传多样性研究, 以保护我国特有的珍稀药用植物种质资源。相关序列扩增多态性(SRAP, sequence-related amplified polymorphism)是 Li 等^[16]开发的一种基于 PCR 新型分子标记, 具有操作简单、稳定性好且容易得到选择条带序列以及在基因中分布均匀等优点, 广泛应用于植物的遗传多样性研究、基因定位、遗传连锁图谱的构建、品种鉴定和分子标记辅助育种中^[17]。上饶市红日农业开发有限公司近年来从国内各地收集引种了 64 份三叶青种质资源。为加快对我国三叶青种质资源的开发和利用, 本研究拟以全国 64 个三叶青样品为研究对象, 利用 SRAP 标记进行遗传多样性和亲缘关系分析, 并在此基础上构建 DNA 指纹图谱, 旨在为三叶青的种质保存和品种选育提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

三叶青 64 个样本(表 1)取自于上饶市红日农业开发有限公司位于怀玉山的三叶青种质资源库和三叶青品种园。所有供试植株每个样本随机选取 3 株, 每株采集 2 片健康的幼叶, 置于 -80 °C 超低温冰箱中保存、备用。

表 1 三叶青 64 个样本信息

Table 1 Information on 64 samples of *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg

样本编号 Sample number	种源地 Collection site	海拔(m) Altitude	样本编号 Sample number	种源地 Collection site	海拔(m) Altitude
1	江西怀玉山太阳坑	315	20	贵州黄果树景区	518
2	湖北永州黄田铺	364	21	广西龙胜银水侗寨	970
3	重庆药用植物园	1048	22	广西崇仁明仁	784
4	湖南吉首德夯	318	23	广西龙胜花坪红毛冲	870
5	湖南张家界森林公园	1110	24	云南麻栗坡中寨村	1700
6	重庆潼南县上和镇	1128	25	广西桂林龙胜粗江	930
7	湖南怀化绥宁县党坪	612	26	云南文山县古木镇	1863
8	湖南沅陵清水坪	356	27	贵州湄潭茅坪	1060
9	重庆彭水	589	28	广东始兴都亨乡	319
10	重庆佛山山泉镇	1172	29	广东韶光仁化县	462
11	湖南凤凰南华植物园	658	30	台湾阿里山	1175
12	四川峨眉山清音阁	1426	31	海南尖峰岭森林公园	520
13	湖北星斗山	687	32	江西井冈山	672
14	浙江温州永嘉四海山	386	33	江西德兴暖水	328
15	湖南张家界金鞭溪	603	34	浙江景宁大漈	894
16	广西乐业龙角山	996	35	福建蒲城县筭杯岩	394
17	广西百色富宁	1586	36	浙江遂昌白马山	396
18	广西乐业龙角山	996	37	浙江淳安大市花石源	310
19	广西桂林植物研究所	370	38	浙江宁波天童寺南山	362

表 1(续)

样本编号 Sample number	种源地 Collection site	海拔(m) Altitude	样本编号 Sample number	种源地 Collection site	海拔(m) Altitude
39	江西弋阳三县岭	569	52	江西婺源段莘乡五龙山	518
40	江西怀玉山金刚峰	457	53	安徽黄山凤凰源景区	648
41	江西玉山横街清溪	465	54	江西贵溪樟坪畲族乡	756
42	安徽黄山玉屏景区	835	55	浙江舟山白泉镇	328
43	江西玉山必姆坳村	368	56	福建光泽	581
44	浙江宁波天童寺钟乐海	558	57	江西安远老鼠嘴	580
45	浙江丽水莲都东西岩	446	58	江西鹰潭龙虎山	386
46	浙江富阳新登外官	332	59	浙江开化洪源	481
47	福建武夷山天心永乐寺	563	60	江西南丰泰和镇果村	346
48	浙江台州三门县花桥	563	61	江西南昌梅岭梅谷	469
49	福建三明三元吉口	550	62	浙江金华武义柳城	324
50	宁波市天童寺小天童	467	63	江西宜黄徐坊镇邓家	565
51	江西丰城市玉华山	752	64	福建建阳华家山林场	725

1.2 方法

采用 CTAB 抽提法提取样品基因组 DNA。PCR 扩增体系(20 μ L)为:2 μ L DNA 模板,1 μ L primer, 10 μ L 蓝色 Mix,7 μ L 去离子水。PCR 扩增程序为:94 $^{\circ}$ C 预变性 3 min,然后进行 40 个循环:94 $^{\circ}$ C 变性 30 s,36 $^{\circ}$ C 复性 50 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 1.5 min;循环结束后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min,4 $^{\circ}$ C 保存。

用 30 对引物对随机选择的 4 个样品(样本 3、18、42、59)进行 PCR 引物筛选,引物信息见表 2,筛选出 10 对引物进行批量试验,批量试验用琼脂糖凝胶电泳检测。

表 2 SRAP 引物信息

Table 2 Information of SRAP primers used in this study

引物代码 Primer code	引物组合 Primer combination	引物代码 Primer code	引物组合 Primer combination
P1	EM1ME1	P16	EM1ME14
P2	EM2ME2	P17	EM1ME3
P3	EM3ME3	P18	EM16ME16
P4	EM4ME4	P19	EM5ME16
P5	EM5ME5	P20	EM17ME17
P6	EM6ME6	P21	EM7ME17
P7	EM7ME7	P22	EM18ME18
P8	EM8ME8	P23	EM18ME9
P9	EM9ME9	P24	EM18ME10
P10	EM10ME10	P25	EM19ME19
P11	EM11ME11	P26	EM11ME19
P12	EM12ME12	P27	EM11ME12
P13	EM13ME13	P28	EM14ME15
P14	EM14ME14	P29	EM14ME7
P15	EM15ME15	P30	EM8ME4

PCR 扩增产物的电泳位置在凝胶的某个相同迁移率位置上有 DNA 条带记为 1,无 DNA 条带记为 0。形成 SRAP 的表型数据矩阵利用 NTSYS 软件计算遗传相似系数(GS),并且按照遗传相似系数进行 UPGMA 聚类分析。用 POPGENE32 软件对供试材料的遗传多样性指数进行分析。

2 结果与分析

2.1 引物筛选

根据 30 对引物筛选结果(图 1)选出 10 对引物进行以下批量试验,筛选出的 10 对引物分别为:EM2ME2、EM3ME3、EM6ME6、EM7ME7、EM10ME10、EM12ME12、EM13ME13、EM14ME14、EM15ME15、EM17ME17。

2.2 SRAP 批量试验检测结果

10 对引物在 64 个三叶青种质中共扩增出了 57 个多态位点,多态百分数为 66.67%~100%,平均多态百分数为 90.38%(表 3)。部分引物(EM2ME2、EM3ME3)的 SRAP 扩增图谱见图 2。从单个引物扩增得到的多态位点来看,引物 EM3ME3 扩增得到的多态位点最多,为 10 个;引物 EM2ME2、EM6ME6 和 EM17ME17 扩增得到的多态位点最少,为 4 个,10 条引物扩增得到的多态位点平均为 5.7 个;利用 Popgene 1.32 软件对 64 个三叶青种质的遗传多样性进行分析(表 3),其平均检测等位基因数(N_a)为 1.9038,平均有效等位基因数(N_e)为 1.5150,平均 Nei's 基因多样性指数(H)为 0.3009,平均 Shannon 多样性指数(I)为 0.45259,表明三叶青 64 个品种资源基因组 DNA 的多态性较高,基因库较为丰富。

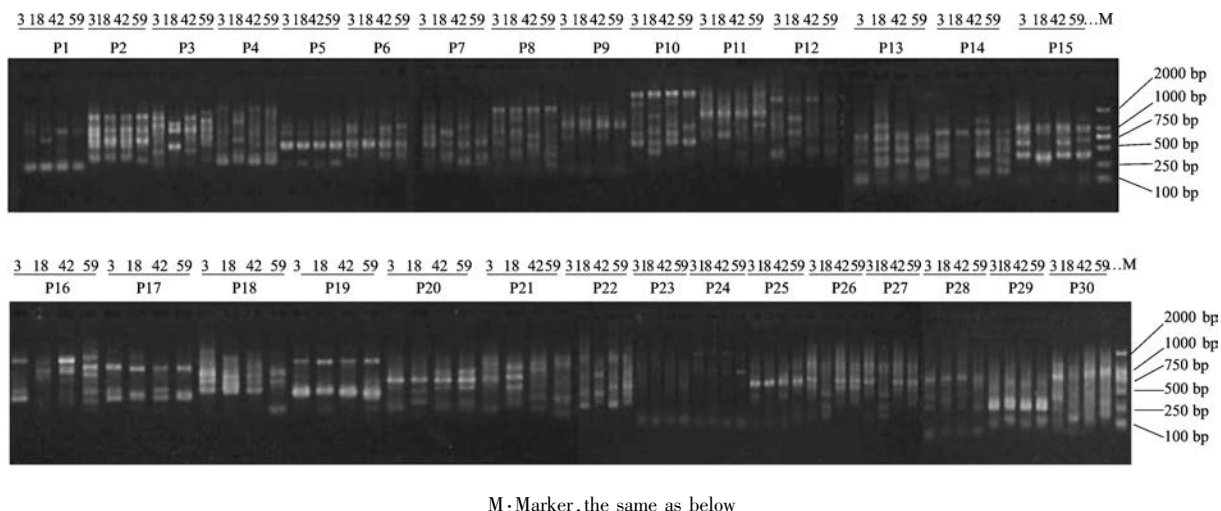


图 1 引物 P1 ~ P30 的 SRAP-PCR 扩增

Fig. 1 PCR amplification of SRAP primer combinations P1-P30

表 3 10 对引物 SRAP-PCR 扩增的多态性

Table 3 Polymorphism information of 10 primer combinations

引物名称 Name of primer	样本数量 Sample size	检测等位 基因数 N_a	有效等位基因数 N_e	Nei's 基因 多样性指数 H	Shannon 多样性指数 I	多态位点 Polymorphic loci	多态百分数(%) Polymorphic percentage
EM2ME2	64	1.6667 ± 0.5164	1.2983 ± 0.2886	0.1979 ± 0.1742	0.3118 ± 0.2613	4	66.67
EM3ME3	64	2 ± 0	1.5830 ± 0.3372	0.3405 ± 0.1463	0.5124 ± 0.1730	10	100.00
EM6ME6	64	1.8000 ± 0.4472	1.4292 ± 0.3951	0.2530 ± 0.2159	0.3794 ± 0.3022	4	80.00
EM7ME7	64	2 ± 0	1.5748 ± 0.4111	0.3258 ± 0.1815	0.4894 ± 0.2193	6	100.00
EM10ME10	64	1.7143 ± 0.488	1.4299 ± 0.4168	0.2472 ± 0.2159	0.3691 ± 0.3000	5	71.43
EM12ME12	64	1.8571 ± 0.378	1.4742 ± 0.3148	0.2920 ± 0.1649	0.4440 ± 0.2300	6	85.71
EM13ME13	64	2 ± 0	1.6297 ± 0.3916	0.3483 ± 0.1866	0.5109 ± 0.2385	7	100.00
EM14ME14	64	2 ± 0	1.7765 ± 0.3134	0.4193 ± 0.1216	0.6042 ± 0.1368	6	100.00
EM15ME15	64	2 ± 0	1.4039 ± 0.3748	0.2505 ± 0.1779	0.3951 ± 0.2304	5	100.00
EM17ME17	64	2 ± 0	1.5506 ± 0.3164	0.3345 ± 0.1345	0.5096 ± 0.1542	4	100.00

N_a : Observed number of alleles, N_e : Effective number of alleles, H : Nei's gene diversity, I : Shannon's Information index

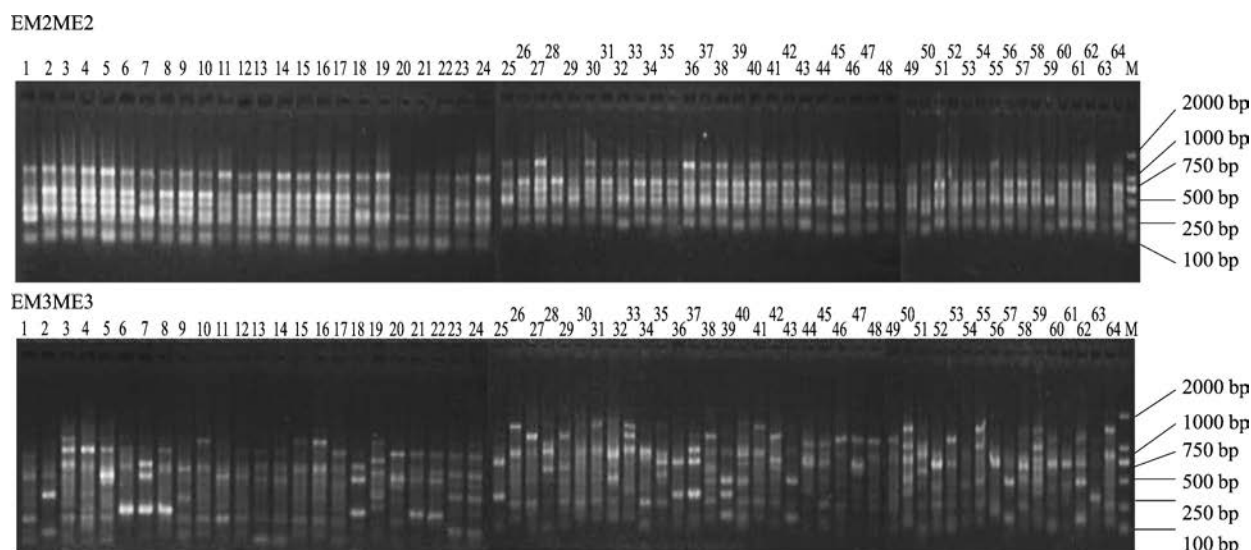


图 2 引物(EM2ME2、EM3ME3)的 SRAP 扩增图谱

Fig. 2 PCR amplicons using primer combinations(EM2ME2、EM3ME3)

2.4 供试材料的亲缘关系分析

利用 0、1 数据,通过 NTSYS 软件计算样品间的遗传相似系数(GS 值),得到供试材料遗传相似矩阵。遗传相似系数越大,表明亲缘关系越近;遗传相似系数越小,表明亲缘关系越远。根据遗传相似系数矩阵,利用 UPGMA 法对 64 份供试材料的 SRAP 数据的结果进行聚类分析(图 3)。结果显示,供试材料的遗传相似系数的变异范围为 0.4603 ~ 0.9206。在遗传相似性系数 0.7256 处,64 份供试材料可分为 9 组,第 I 组包括编号 63(江西宜黄徐坊镇邓家),第 II 组包括编号 50(宁波市天童寺小天童),第 III 组包括编号 19(广西桂林植物研究所)、

55(浙江舟山白泉镇)、59(浙江开化洪源),第 IV 组包括编号 7(湖南怀化绥宁县党坪)、18(广西乐业龙角山)、25(广西桂林龙胜粗江)、36(浙江遂昌白马山)、37(浙江淳安大市花石源),第 V 组为 23(广西龙胜花坪红毛冲)、24(云南麻栗坡中寨村)、44(浙江宁波天童寺钟乐海)、45(浙江丽水莲都东西岩),第 VI 组包括编号 39(江西弋阳三县岭),第 VII 组为 34(浙江景宁大漈),第 IX 组包括编号 1(江西怀玉山太阳坑)、2(湖北永州黄田铺)、5(湖南张家界森林公园)、47(福建武夷山天心永乐寺)、61(江西南昌梅岭梅谷),其余 43 份供试材料归为第 VIII 组。可见,供试的 64 份三叶青种质遗传多样性十分丰富。

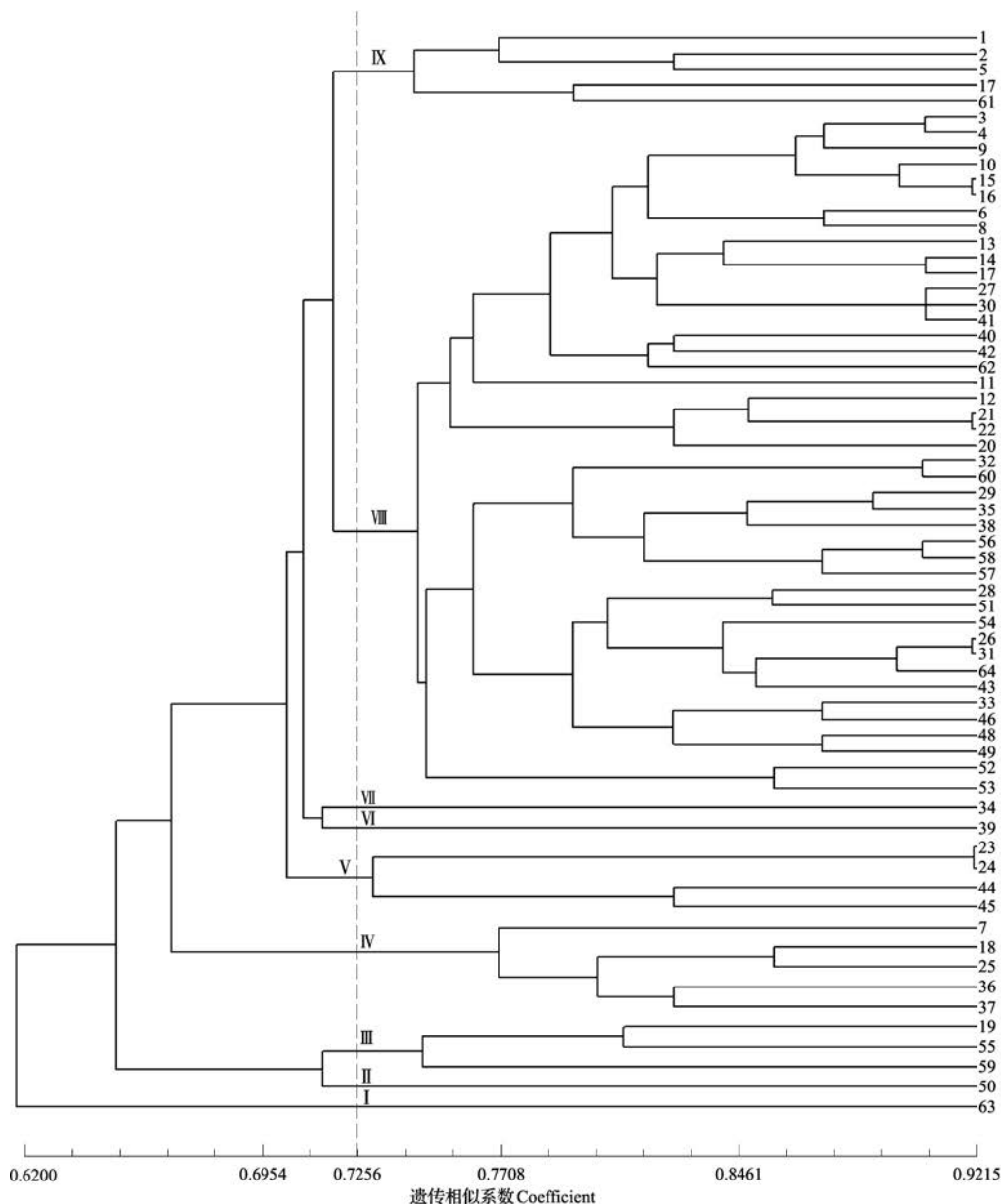


图 3 64 个三叶青种质基于遗传相似系数的聚类分析

Fig. 3 Cluster analysis of 64 *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg accessions based on genetic similarity coefficient

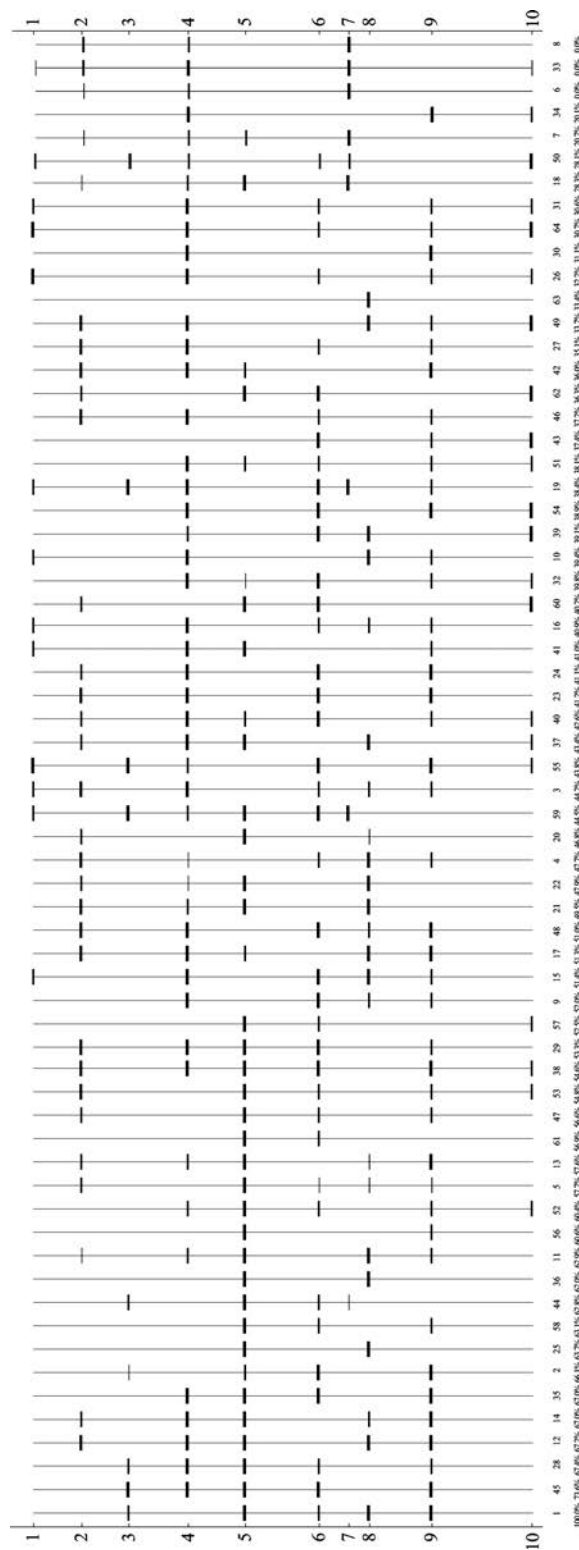
2.5 64 个三叶青种质资源的 DNA 指纹图谱

根据 PCR 扩增结果,以 10 对引物 (EM2ME2、EM3ME3、EM6ME6、EM7ME7、EM10ME10、EM12ME12、EM13ME13、EM14ME14、EM15ME15、EM17ME17) 的扩增电泳图为基础,用 Quantityone 软件绘制 64 份三叶青种质资源的 DNA 指纹图谱 (图 4)。根据 10 个 SRAP 引物的扩增结果,筛选出引物 EM3ME3、EM13ME13 和 EM14ME14 扩增的 DNA 指纹图谱可用于供试 64 份三叶青种质的鉴定。

3 讨论

目前对三叶青种质的分类鉴定主要集中在基于农艺性状分类^[5],后有学者从同工酶^[12-13]等生理生化的角度寻求新的分类方法,但生理生化的方法易受环境和试验条件影响,结果存在一定的局限性。近年来,随着分子生物学的不断发展,从 DNA 水平上对植物遗传多样性进行快速、准确、不受环境影响的鉴定成为可能^[18]。三叶青遗传多样性 DNA 分子标记的研究近几年得到了关注。朱波等^[14]和 Peng 等^[15]利用 ISSR 和 SRAP 分子标记技术分别对三叶青全国主分布区 24 份种质资源和 27 种质资源的遗传多样性进行了研究,但样本数量和样本选取地偏少,导致群体内遗传相似性高于群体间,且栽培群体间的遗传相似性远高于野生群体。SRAP 是由美国科学家 Li 等^[16]首先应用于芸薹属植物,原理是由于不同物种、不同基因型的内含子、启动子与间隔长度不等而产生多态性,简单独特的引物设计使 SRAP 简单、高效、共显性、重复性高、易测序等优点,且可同时扩增多个等位位点,一个标记所获得的遗传信息更多,是一个分析植物遗传多样性的有效工具^[19],在植物遗传多样性分析上,SRAP 比 AFLP、SSR、ISSR 和 RAPD 标记更有效^[20-21]。

Hamrick 等^[22]认为,寿命长、地理分布广的物种大多有较高的遗传多样性。Nybom^[23]也认为,多年生、广布种在植物种群水平 H 和 I 的平均值分别为 0.25 和 0.22,若为双子叶植物,其居群水平的 H 的平均值为 0.19^[24]。在本研究中,64 个三叶青种质平均 Nei's 基因多样性指数 (H) 为 0.3009,平均 Shannon 多样性指数 (I) 为 0.45259,表明三叶青 64 个品种资源基因组 DNA 的多态性较高,基因库较为丰富,同时也表明三叶青 SRAP 分子标记可以较好地反映三叶青 64 个样本不同种源多样性,可用于不同种源三叶青的分类和鉴定。庞广昌等^[25]认为,物种居群间的遗传多样性水平越高,表明该物种适应



横坐标:泳道;纵坐标:片段大小和相似百分比(%)
Abscissa: Electrophoretic channel, Ordinate: Fragment size and similar percentage (%)

图 4 基于引物 EM3ME3 的 64 份三叶青种质资源的 DNA 指纹图谱

Fig. 4 DNA fingerprints of 64 *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg accessions resources using the amplicons of primer combinations EM3ME3

的环境就越广。在本研究中,三叶青 64 个样本资源遗传多样性水平较高,表明三叶青适应高山环境的能力较强。

朱波等^[14]对三叶青遗传多样性的 ISSR 分析结果表明,24 份样品被分为 4 大类,浙江种质全部聚在第 I 类,第 II 类以江西、广西、湖北、湖南等种质为主,湖南怀化与广西钟山为第 III 类,贵州种质单独聚为第 IV 类。而在本研究中,在遗传相似性系数为 0.7256 处,64 份供试材料可分为 9 组,其中,江西、湖北、湖南、福建的三叶青种质归为第 VIII 组,这与朱波等^[7]的研究结果相一致,从侧面证明了聚类结果随地理变化具有一定可靠性。但江西宜黄徐坊镇邓家三叶青种质和江西弋阳三县岭三叶青种质均单独成一组,而江西井冈山、江西德兴暖水、江西怀玉山金刚峰、江西玉山横街清溪、江西玉山必姆坳村、江西丰城市玉华山、江西婺源段莘乡五龙山、江西贵溪樟坪畲族乡、江西安远老鼠嘴、江西鹰潭龙虎山、江西南丰泰和镇果村等地的三叶青种质则与浙江部分种质归为第 VIII 组。这表明,聚类结果与地理变化具有一定偏差性。在江西三叶青种质中,既可与湖北、湖南、福建、广西等地三叶青种质聚为一类,也可与浙江三叶青种质聚为一类。这种现象说明,江西有可能是三叶青遗传多样性起源中心或是三叶青各类种源的过渡区。对三叶青的过度开发和人为破坏,将降低三叶青遗传多样性。因此,应建立三叶青种质基因库或种质圃,加强对三叶青种质资源的保护。

参考文献

- [1] 吉庆勇,彭昕,华金渭,程科军,朱波,方洁,徐金标,程文亮. 不同根域容积对三叶青生长发育的影响. 天津农业科学, 2018,24(1):7-10
- [2] 吴志庄,高贵宾,欧建德,潘雁红,温星,周妍. 生物炭肥对毛竹林下三叶青叶绿素含量、光合与荧光特性的影响. 西北林学院学报,2017,32(5):59-63
- [3] 黄巧文,刘洪旭,邓思珊. 三叶青转录组 SSR 信息分析. 临床合理用药,2017,10(12):1-2
- [4] 江月仙,郭伟娣. 三叶青的毒理学研究. 中华医学研究杂志, 2005,5(8):774-776
- [5] 朱波,华金渭,程文亮,吉庆勇,吴剑锋,齐川. 不同种源三叶青农艺性状比较. 浙江农业学报,2015,27(10):1752-1756
- [6] 刘崑艳,周以飞,李清,罗灵杰,潘大仁. 三叶青的蒸腾作用与气孔结构研究. 中草药,2015,46(17):2610-2617
- [7] 王静,郭万里,孔亚泽,薛亦豆,许鑫瀚,梁宗锁. 珍稀药用植物三叶青的高效微繁体系研究. 浙江理工大学学报:自然科学版,2016,35(4):636-642
- [8] 钟良瑞,林霜,魏克民. 三叶青黄酮抗肺癌作用研究. 中国药理学通报,2016,32(4):480-483
- [9] 汪正飞,杨祝仁,张轶雯,李清林,赵岩峰. 三叶青总黄酮对人肝癌 HepG-2 细胞及裸鼠异种移植瘤的药效作用研究. 中华中医药学刊,2017,35(10):2615-2620
- [10] 许文,傅志勤,林婧,黄学城,于虹敏,黄泽豪,范世明. UPLC-MS/MS 法同时测定三叶青中 10 种黄酮类成分. 药学报, 2014,49(12):1711-1717
- [11] 许文,傅志勤,林婧,黄学城,陈丹,于虹敏,黄泽豪,范世明. HPLC-Q-TOF-MS 和 UPLC-QqQ-MS 的三叶青主要成分定性定量研究. 中国中药杂志,2014,39(22):4365-4372
- [12] 袁带秀,吕江明. 不同种源地三叶青的 POD 同工酶比较. 贵州农业科学,2010,38(7):50-51
- [13] 袁带秀,侯娟. 3 个不同种源地三叶青酯酶同工酶比较研究. 湖南农业科学,2010(21):34-36
- [14] 朱波,华金渭,刘昆,吉庆勇,吴剑锋,齐川. 珍稀药材三叶青种质资源遗传多样性的 ISSR 分析. 江西农业大学学报, 2015,37(5):914-919
- [15] Peng X, Ji Q Y, Fan S W, Zhang Y J, Zhang J J. Genetic diversity in populations of the endangered medicinal plant *Tetragymma hemsleyanum* revealed by ISSR and SRAP markers; implications for conservation. Genetic Resources & Crop Evolution, 2015, 62(7):1069-1078
- [16] 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. Theoretical & Applied Genetics, 2001,103(2-3):455-461
- [17] 刘燕,汪毅,马晶晶,史经昂,王志勇,刘建秀,郭海林. 海雀稗 SRAP-PCR 分子标记体系优化及引物筛选. 草地学报,2016, 24(5):1080-1086
- [18] 唐源江,曹雯静,吴坤林. 基于 SRAP 标记的国兰种质资源遗传多样性分析及分子身份证构建. 中国农业科学,2015, 48(9):1795-1806
- [19] 华树妹,贺佩珍,陈芝华,雷伏贵,曹奕鸯,黄玉仙,黄姗. 应用 SRAP 标记构建山药种质资源 DNA 指纹图谱. 植物遗传资源学报,2014,15(3):597-603
- [20] Budak H, Shearman R C, Parmaksiz I, Dweikat I. Comparative analysis of seeded and vegetative biotype buffalograsses based on phylogenetic relationship using ISSRs, SSRs, RAPDs, and SRAPs. Theoretical & Applied Genetics, 2004,109(2):280-288
- [21] 刘中华,林志坚,李华伟,许泳清,李国良,邱永祥,邱思鑫,汤浩. 基于 SRAP 标记的甘薯遗传多样性与起源演化分析. 植物遗传资源学报,2018,19(3):468-477
- [22] Hamrick J L, Godt M J W. Plant Population Genetics, Breeding and Genetic Resources. Sunderland: Sinauer, 1990
- [23] Nybom H. Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants. Molecular Ecology, 2004,13(5):1143-1155
- [24] Nybom H, Bartish I V. Effects of life history traits and sampling strategies on genetic diversity estimates obtained with RAPD markers in plants. Perspectives in Plant Ecology Evolution & Systematics, 2000,3(2):93-114
- [25] 庞广昌,姜冬梅. 群体遗传多样性和数据分析. 林业科学, 1995,31(11):543-549