

甜高粱重要种质材料的 SRAP 指纹分析

高建明, 罗 峰, 裴忠有, 陈秋玲, 魏进招, 李子芳, 桂 枝, 孙守钧

(天津农学院 农学系, 天津 300384)

摘要: 使用 27 个 SRAP 引物组合, 对 47 个重要的甜高粱种质材料进行了遗传相关性和遗传多样性的分析。结果产生了可以明确区分所有参试的甜高粱基因型的 SRAP 指纹图谱, 聚类分析将它们分为在糖产量性状及其他农艺、形态性状上具有明显差异的 3 类, 其中第 I 类为具有高 Brix 和高糖产量的基因型, 第 II 类中的大多数基因型则与此相反。所建立的 47 个甜高粱基因型的 SRAP 指纹图谱可用于这些基因型的鉴定, 同时, 所得到遗传相关性与遗传多样性信息为进一步的遗传研究和杂交亲本的选择提供了参考依据。

关键词: 甜高粱; 基因型; SRAP; 遗传相关; 遗传多样性

中图分类号: S514.024 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7091(2010)02-0093-06

SRAP Fingerprinting of 47 Elite Sweet Sorghum Germplasm

GAO Jian-ming, LUO Feng, PEI Zhong-you, CHEN Qiu-ling,

WEI Jin-zhao, LI Zi-fang, GU I Zhi, SUN Shou-jun

(Department of Agronomy, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384, China)

Abstract: This study used 27 SRAP primer pairs to analyze genetic relationships and genetic diversity among 47 elite sweet sorghum germplasm. The results showed that the studied genotypes could be definitively distinguished by the SRAP fingerprinting patterns generated from these primer pairs. Furthermore, cluster analysis based on SRAP data classified the studied genotypes into 3 major groups, and this result largely consistent with the phylogenetic relationships of the studied genotypes based on sugar yield traits and morphologic traits. In these 3 groups, all of genotypes belonged to group I had a high sugar yield and Brix while the reverse was true for most genotypes from group III. The fingerprinting patterns produced by this study could be applied for identification of the studied genotypes, and the resulted information on genetic relationships and genetic diversity among 47 elite sweet sorghum germplasm provided a good base for choosing cross parents in genetic researches and developing new varieties.

Key words: Sweet sorghum; Genotype; SRAP; Genetic relationships; Genetic diversity

甜高粱 [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] 为栽培高粱的一种, 其最大特点是茎秆含有大量的汁液和糖分。甜高粱属碳四植物, 是生物学产量最高的作物之一, 适应性广、抗旱、耐盐、耐瘠薄, 非常适合在水资源缺乏的干旱和半干旱地区种植。目前, 甜高粱被视为饲料作物而进行栽培, 但我国及欧盟、美国、巴西等世界许多国家又将甜高粱作为最有希望的再生能源作物而开展相关研究^[1,2]。

作物种质材料的身份鉴定与遗传相关性的信息对育种亲本的选择、遗传多样性的维持及划分杂种

优势群等方面具有重要的意义^[3,4]。目前, 这方面的研究主要通过考察农艺及形态性状或 DNA 分子标记分析这两种方法来进行。然而, 前者具有易受环境影响、耗时和主观性强的缺点, 因而考察结果与实际表现间往往存在比较大的差异。DNA 分子标记不受环境条件的影响, 非常适合进行此类研究。近年来, 多种 DNA 分子标记技术, 如 SSR、AFLP、RAPD 及 RFLP 已在高粱的鉴定与遗传相关性研究中得到应用^[4-11], 目前, 仅有少数使用分子标记技术进行甜高粱遗传相关性与遗传多样性的研

收稿日期: 2009-11-17

基金项目: 国家科技支撑计划项目 (2007BAD42B03)

作者简介: 高建明 (1971-), 男, 甘肃白银人, 副研究员, 博士, 主要从事甜高粱与苜蓿的遗传育种研究。

通讯作者: 孙守钧 (1961-), 男, 山东文登人, 教授, 博士, 主要从事饲用作物遗传育种研究。

究^[12, 13]。

SRAP标记技术由 Li 和 Quiros^[14]发明,与 RAPD一样具有快速、简单的优点,但它的重复性更好,而且能优先扩增基因组中的基因区,已在植物连锁图谱构建、遗传多样性及相关性分析中得到了广泛的应用^[14-17]。截止目前,还没有看到 SRAP在高粱研究中应用的报道。本研究首次利用 SRAP技术,对 47个甜高粱种质材料进行鉴定和遗传相关性分析,为遗传分析和杂交育种中的亲本选择提供基础信息。

1 材料和方法

1.1 材料

本试验选用 47个国内外的重要甜高粱种质材

表 1 供试的 47个甜高粱种质材料及其糖产量相关性状

Tab 1 47 Sweet sorghum germplasm used in this study and their sugar yield traits

品种 Genotype	编号 Accession No	起源地 Place of origin/report	系谱与背景信息 Pedigree/ Background information	W /g	SW P/%	JP/%	B rix	SY/g	分子 分类
BJ-298		中国北京		843	64.0	60.0	15.5	50.2	1
罗马	GW003948	美国	Mer 45-45/MN1060	626	73.9	48.5	18.9	42.4	1
BJ-299		中国北京		510	75.8	59.6	17.4	40.1	1
BJ-320		中国北京		623	72.7	50.5	17.2	39.3	1
绿能 2号		中国北京	Cowley/BJ-78	700	66.7	52.2	16.0	39.0	1
考利	GW003068	美国德克萨斯	Mer 64-7/Mer 64-6	767	54.8	45.5	18.8	36.0	1
凯勒	GW003223	中国山西	Mer 50-1/Rio	750	63.6	43.2	17.1	35.2	1
绿能 3号		中国北京		480	75.0	46.8	18.0	30.3	1
Straightneck-3	GW004000	美国密西西比	Selected from SA 287 (MN 44)	667	50.0	50.5	17.5	29.5	1
M-81E	GW002399	美国密西西比	B rawley// B rawley /Rio	667	62.5	46.2	15.2	29.3	1
BJ-338		中国北京		587	58.0	48.7	16.9	28.0	1
原甜 1号		中国吉林		393	67.8	47.1	16.1	20.2	1
Mal giunba	GW003267	美国密西西比		580	37.4	48.2	17.2	18.0	2
B35	GW004073	印度		430	66.7	49.3	11.9	16.8	2
意大利	GW000011	澳大利亚		287	68.6	57.2	13.0	14.6	2
W-456		中国辽宁		650	53.9	44.9	18.2	28.6	3
BJ-285		中国北京		353	71.7	45.1	19.8	22.6	3
Rio	GW003945	美国密西西比	Rex (MN23)/MN1048 (PI152959)	537	60.9	48.6	13.9	22.1	3
81102		中国辽宁		490	63.9	55.7	11.1	19.4	3
雷伊	GW004069	美国密西西比	PI152728 (Mer 57-1)//B rawley /Rio	433	67.7	56.0	10.9	17.9	3
W-455		中国辽宁		267	77.5	52.3	14.6	15.8	3
W-461		中国辽宁		317	71.6	53.3	13.0	15.7	3
MN-3461	GW003615	美国密西西比	Selected from MN 856 (PI152728)	323	58.8	46.3	15.9	14.0	3
九粒梁		中国吉林		450	51.1	53.8	11.2	13.9	3
Sugar drip	GW001771	美国密西西比		273	58.5	49.8	16.2	12.9	3
原 341		中国吉林		253	61.8	48.2	16.0	12.1	3
8147		中国辽宁		317	47.4	57.8	13.4	11.6	3
WPW		中国天津		220	68.2	45.2	16.0	10.9	3
7050A		中国辽宁	421B × TAM428	403	36.4	49.5	15.0	10.9	3
IS-4555	GW000686	印度		233	64.3	39.4	16.7	9.9	3
HONEY-2	GW003167	美国密西西比		237	62.0	47.8	12.8	9.0	3
Early honey	GW003097	美国密西西比		247	59.5	47.1	12.2	8.4	3
81101		中国辽宁		310	41.9	47.0	12.5	7.6	3

料(表 1),其中 Tx623A和 7050A为不育系,其他均为恢复系或自交系品种(以下均称为基因型)。1998年在天津市静海良种场种植,并测定了其中 45个基因型的单株主茎糖产量(SY)及其构成因素,具体包括单株主茎鲜质量(W)、茎秆质量占单株主茎鲜质量的百分比(SWP)、单株茎秆出汁率(JP)及单株主茎汁锤度(Brix)等 5个性状(表 1),每品种种 2行,行长 4 m,行距 0.5 m,株距 20 cm,于成熟期每基因型随机取 10株的主茎地上部分测定上述性状。具体步骤为:先称主茎鲜质量,去除叶片及叶鞘后称量茎秆质量,用广州产立式 SX-300榨汁机一次榨汁,量取汁液的重量,最后用 WYT-4型手持锤度计测定锤度。

续表：

品种 Genotype	编号 Accession No	起源地 Place of origin/report	系谱与背景信息 Pedigree/ Background information	W /g	SW P /%	JP /%	Brix	SY /g	分子 分类
Saccaline-5	GW 003968	美国密西西比		170	54. 9	57. 3	13. 6	7. 3	3
Straightneck-1	GW 003998	美国密西西比		283	55. 3	54. 3	8. 2	7. 0	3
Tx623A	GW 002662	美国德克萨斯	Tx3197B ×Zera-Zera	212	54. 3	42. 0	12. 8	6. 2	3
8143		中国辽宁		193	65. 5	46. 8	10. 5	6. 2	3
MN-4251	GW 003754	美国		257	42. 9	47. 3	10. 8	5. 6	3
8161		中国辽宁		177	58. 5	27. 7	12. 3	3. 5	3
TS-185		中国天津	Sudan grass type IS722 ×Roma	152	68. 4	30. 2	10. 0	3. 1	3
MN-3460	GW 003614	美国密西西比	Selected from MN 856 (PI 152728)	140	57. 1	51. 4	7. 1	2. 9	3
W-457		中国辽宁		290	35. 6	25. 5	10. 0	2. 6	3
8169		中国辽宁		133	55. 0	24. 6	12. 4	2. 2	3
TS-175		中国天津	Sudan grass type IS720 ×Kangya-140	150	46. 7	36. 7	6. 4	1. 6	3
W454		中国辽宁		113	67. 7	27. 5	7. 0	1. 5	3
8142		中国辽宁		-	-	-	-	-	3
兼 8-2		中国吉林		-	-	-	-	-	3

1.2 DNA提取与 SRAP分析

从每个甜高粱基因型中随机选取 20个植株的叶片,等量混合提取 DNA,提取方法参照 Doyle等^[18]的 CTAB法进行,但稍作修改。最后,以 DNA 标准为参照,在加有溴化已锭 (EB)的 0.8%琼脂糖凝胶进行电泳,对所提取的基因组 DNA 进行定量。SRAP-PCR 反应体系:反应体积为 20 μL,1 ng/μL基因组 DNA,0.25 μmol/L 正向引物与反向引物,0.04 U/μL Taq

DNA 聚合酶,0.2 mmol/L dNTPs,1.5 mmol/L MgCl₂。SRAP-PCR反应程序同 Li等^[14],PCR 产物用加有溴化已锭 (EB)的 2%琼脂糖凝胶电泳进行检测。试验中首先使用少数甜高粱材料对 100对 SRAP引物组合 (表 2)进行筛选和重复性检测,从中选择清晰、条带数目和多态性带数目多的 27个引物组合 (表 3),对所有甜高粱基因型进行分析。

表 2 SRAP引物的序列

Tab 2 Primer sequence used for SRAP analysis in this paper

引物 Primer	类型 Class	序列 (5'-3') Sequence (5'-3')	引物 Primer	类型 Class	序列 (5'-3') Sequence (5'-3')
M1	正向	TGA GTCCAAACCGGA TA	E1	反向	GACTGCGTACGAA TTAAT
M2	正向	TGA GTCCAAACCGGA GC	E2	反向	GACTGCGTACGAA TTTGC
M3	正向	TGA GTCCAAACCGGAAT	E3	反向	GACTGCGTACGAA TTGAC
M4	正向	TGA GTCCAAACCGGACC	E4	反向	GACTGCGTACGAA TTAAC
M5	正向	TGA GTCCAAACCGGAAG	E5	反向	GACTGCGTACGAA TTGCA
M6	正向	TGA GTCCAAACCGGACA	E6	反向	GACTGCGTACGAA TTCAA
M7	正向	TGA GTCCAAACCGGACG	E7	反向	GACTGCGTACGAA TTCAC
M8	正向	TGA GTCCAAACCGGACT	E8	反向	GACTGCGTACGAA TTCAT
M9	正向	TGA GTCCAAACCGGAGG	E9	反向	GACTGCGTACGAA TTCCTA
M10	正向	TGA GTCCAAACCGGAAA	E10	反向	GACTGCGTACGAA TTGTC

1.3 数据处理

SRAP带为显性标记,按照扩增条带的有、无和不确定分别记为 1,0,-1,本试验只选用 100~2 000 bp 间易于识别的带记分。随后,使用所得到的二值矩阵计算试验材料的距离矩阵,距离系数使用 1-Jaccord 距离系数: $D = (b + c) / (a + b + c)$,a 表示两基因型共有的条带;b 和 c 分别表示两基因型特有的条带。最后采用 UPGMA (The unweighted pair group method with arithmetic mean)法进行聚类分析。此外,使用下述公式计算每个引物组合的多态性信息含量 (Polymorphism information content, PIC)^[19]: $PIC = 1 - \sum P_i^2$,其中, P_i 表

示第 i 个条带 (或等位基因) 的频率。数据处理使用 SAS9.0 进行。

2 结果与分析

2.1 SRAP引物组合与指纹图谱

本试验中,27个 SRAP引物组合均产生了清晰可辨的指纹图谱 (表 3),这些指纹图谱可明确区分所有参试的甜高粱基因型。27个引物组合共产生了 198 条 DNA 条带,其中 90 条是多态性带,占 45.5%。每个引物组合平均产生 3.3 条多态性带,范围为 1~6 条;其中,M1E1、M3E3 (图 1)和 M10E1

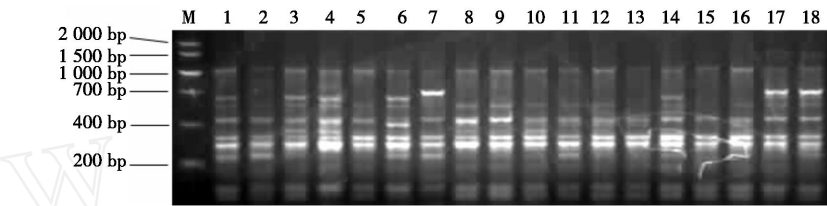
三个引物组合产生的多态性带最多,而 M1E4、M4E2 和 M10E8三个引物组合都只产生了 1条多态性带。此外,27个引物组合的平均 PC 值为 1.03,其中, M10E1具有最高的 PC 值,为 2.06,而 M1E4的 PC 值最小,为 0.12(表 3)。

表 3 SRAP引物组合及在供试甜高粱材料中的多态性信息

Tab 3 SRAP primer combinations selected for analysis in this paper and their polymorphism information among the studied sweet sorghum germplasm

引物组合 Primer pair	NF	NPF	PFP/%	PC	引物组合 Primer pair	NF	NPF	PFP/%	PC
M1E1	8	6	75.0	1.78	M6E4	8	4	50.0	1.12
M1E2	6	2	33.3	0.73	M6E6	10	3	30.0	1.17
M1E4	8	1	12.5	0.12	M7E2	9	4	44.4	1.28
M1E8	8	3	37.5	1.13	M7E10	7	2	28.6	0.96
M2E3	8	3	37.5	1.12	M8E3	5	2	40.0	0.62
M2E9	8	5	62.5	1.13	M8E9	8	5	62.5	1.75
M2E10	7	4	57.1	0.74	M8E2	7	4	57.1	1.22
M3E2	7	3	42.9	0.58	M9E8	8	3	37.5	1.26
M3E3	10	6	60.0	1.74	M10E1	7	6	85.7	2.06
M3E4	9	5	55.6	1.44	M10E6	7	5	71.4	1.31
M3E6	5	2	40.0	0.60	M10E9	6	3	50.0	0.89
M4E2	7	1	14.3	0.36	M10E4	6	3	50.0	0.90
M5E3	7	2	28.6	0.59	M10E8	5	1	20.0	0.46
M5E8	7	2	28.6	0.85					

注: NF 带数目; NPF 多态性带数目; PFP 多态性带百分比; PC 多态性信息含量。
Note: NF Number of fragments; NPF Number of polymorphic fragments; PFP Polymorphic fragments percent; PC Polymorphism information content



M. DNA 分子量标准; 1~18 从小到大依次为基因型 Tx623A、7050A、M-81E、8142、8147、8161、8169、81101、81102、
绿能 2号、绿能 3号、九粒梁、WFW、原 341、兼 8-2、原甜 1号、TS-175 及 TS-185。
M. DNA molecular weight standard; 1~18 Corresponding to Tx623A, 7050A, M-81E, 8142, 8147, 8161, 8169, 81101, 81102,
Luneng-2, Luneng-2, Jiuliliang, WFW, Yuan-341, Jian-8-2, Yuantian-1, TS-175 and TS-185 respectively

图 1 M3E3引物组合对部分甜高粱基因型的扩增图谱

Fig 1 Fingerprint patterns generated using SRAP primer pair M3E3 from the genomic DNA of a part of the studied sweet sorghum genotypes

2.2 基因型间的遗传相关性

47个甜高粱基因型两两间的距离系数平均为 0.492,基因型 MAL-GUNRA 和 STRAIGHTNECK-3 间的距离系数值最大,为 0.700,而基因型 8142和 8143间的距离系数值最小,为 0.143。利用 SAS9.0 对 47个参试基因型进行了 UPCMA 聚类,结果见图 2。当由 3类聚为 2类时,SPRSQ 值(半部复相关系数平方, semi-partial R-squared)大幅上升,而 RSQ (复相关系数平方, R-squared)大幅下降,同时, PST2 值(假 t^2 值, pseudo t^2)在此处则出现了最低点,因此,47个甜高粱基因型分为 3类比较合适。从图 2 和表 1可看出,第 I类中的 12个基因型均具有较高的 SY 值(平均为 35.0 g,范围为 20.2~50.2 g)和 Brix 值(平均为 17.1,范围为 15.2~18.9),同时大部分基因型具有较高的 W 值(平均为 634 g,范围为 393~843 g)、SWP 值(平均为 65.4%,范围为

50.0%~75.8%) 和 JP 值(平均为 49.9%,范围为 43.2%~60.0%);第 III类则包括 30个基因型,其中大部分基因型具有较低的 SY 值(平均为 10.48 g,范围为 1.6~28.6 g)、Brix 值(平均为 12.7,范围为 6.4~19.8)、W 值(平均为 287 g,范围为 133~650 g)和 SWP 值(平均为 57.6%,范围为 35.6%~77.5%),平均 JP 值虽与第 I类接近(46.1%),但变化范围较大(24.6%~57.8%);第 II类则仅包括 3个基因型,其 SY 值(平均为 16.5 g,范围为 14.6~18.0 g)明显低于第 I类、而略高于第 III类, Brix 值(平均为 14.0,范围为 13.0~17.2)和 W 值(平均为 432 g,范围为 287~580 g)则居于中间,而 SWP 值(平均为 57.6%,范围为 37.4%~68.6%)和 JP 值(平均为 51.6%,范围为 48.2%~57.2%)则与其他两类接近。此外,第 III类中 W-456、BJ-285和 Rio 3 个基因型具有较高的 SY 值。

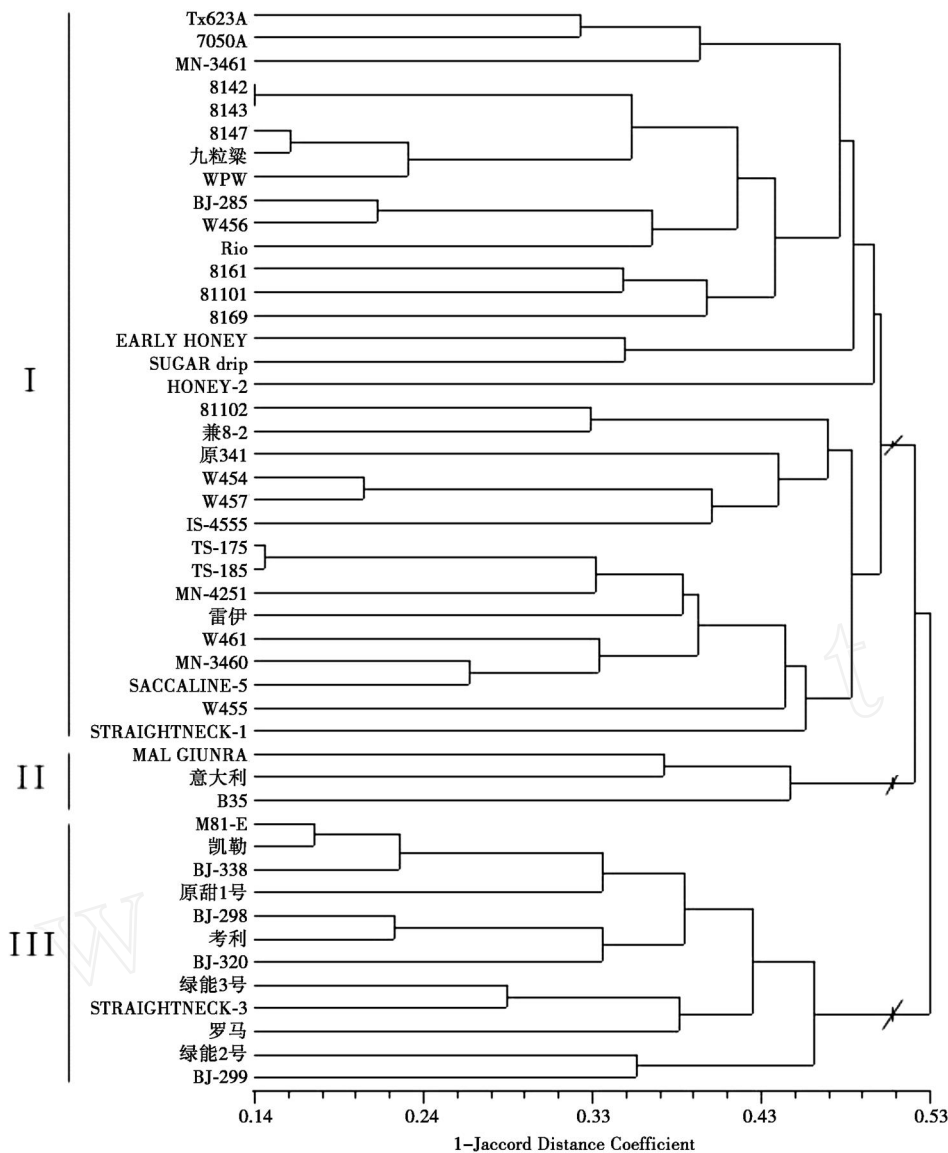


图 2 47个甜高粱基因型的 SRAP聚类图

Fig 2 Dendrogram of 47 sweet sorghum genotypes based on SRAP data

3 讨论

AHLP为近年来在高粱遗传多样性和遗传相关性分析中应用最多的显性分子标记, Geleat等^[6]、Uptmoor等^[8]、Wu等^[9]及 Ritter等^[12]分别使用这项技术对不同的甜高粱样本进行了分析,获得的多态性带比率分别为 46.3%, 85%, 61.8%, 49.3%。本试验对 47个甜高粱基因型进行遗传相关性分析多态性带比率只有 45.5%。出现这种结果的原因,一方面是由于供试基因型均为甜高粱,虽然来自不同国家,但与普通高粱相比,仍然具有较低的遗传多样性;另一方面, Li 和 Quirós^[14]的研究显示,在由 SRAP引物扩增产生的 DNA 片段中, 45%的条带与已知基因有很高的相似性,因而本研究所得到的绝大部分 SRAP片段也可能来自高粱基因组中的基因

区,而基因区与非基因区相比,无论是自然选择还是人工选择,都受到较高的选择压,因而具有较低的遗传多样性。这表明,本研究的遗传多样性及相关性信息与农艺和形态性状变异可能更为接近,与 Ferrion等^[20]的观点一致。

本研究的聚类结果则证实了上述结论,大部分具有高 SY值和高 Brix值的甜高粱基因型都分在了第 I类,而这些基因型大都具有植株高大、茎秆粗、生育期长等特点。在第 II类中,大部分基因型具有低的 SY值和 Brix值,同时它们一般还具有植株较小、茎秆细、生育期短等特点,而且在这一类中, 3个具有较高 SY值和高 Brix值的基因型(“BJ-285”、“W456”和“Rio”)也显示出了较高的遗传相关性,在较低的距离系数上被聚在一起。

本研究的结果也显示,“8142/8143”、“8147/九

粒梁”、“TS-175/TS-185”及“M-81E/凯勒”共4对其因型具有较低的遗传距离,这与它们之间在农艺、形态性状上的相似性或起源是符合的。例如,“TS-175”和“TS-185”均为天津农学院选育的苏丹草类型的自交系,在农艺和形态性状上十分相似,而“M-81E”和“凯勒”的农艺及形态性状相似,且“Rio”为它们共同的亲本之一。

4 结论

本研究从100个SRAP引物组合中筛选出27个较好的引物组合,建立了47个甜高粱基因型的SRAP指纹图谱,这些指纹图谱可明确区分所有参试的甜高粱基因型。遗传相关性的分析将它们分为3类,这3类在糖产量性状及其他农艺和形态性状上具有明显的差异,表明本研究提供的遗传相关性信息与农艺和形态性状相关性具有较高的一致性,这为遗传研究和育种中杂交亲本的选择提供了很好的参考依据。

参考文献:

- [1] 贾虎森,许亦农. 生物柴油利用概率及其在中国的发展思路[J]. 植物生态学报, 2006, 30(2): 221 - 230.
- [2] 李军,吴平治,李美茹,等. 能源植物的研究进展及其发展趋势[J]. 自然杂志, 2007, 19(1): 21 - 25.
- [3] Becalere G V, Edward L L, Paterson A H, et al DNA marker-based genetic similarity estimates in cotton[J]. Crop Sci, 2005, 45: 2281 - 2287.
- [4] Menz M A, Klein R R, Unruh N C, et al Genetic diversity of public inbreds of sorghum determined by mapped AFLP and SSR markers[J]. Crop Sci, 2004, 44: 1236 - 1244.
- [5] Kamala V, Brame P J, Sivaramakrishnan S, et al Genetic and phenotypic diversity in downy mildew-resistant sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) germplasm[J]. Genet Resour Crop Evol, 2006, 53: 1243 - 1253.
- [6] Namera G, Maryke T, Abuschagne L, et al Genetic diversity analysis in sorghum germplasm as estimated by AFLP, SSR and morpho-agronomical markers[J]. Biodiversity and Conservation, 2006, 15: 3251 - 3265.
- [7] Folkertsma R, Frederick H, Rattunde W, et al The pattern of genetic diversity of Guinea-race *Sorghum bicolor* (L.) Moench landraces as revealed with SSR markers[J]. Theor Appl Genet, 2005, 111: 399 - 409.
- [8] Upmooor R, Wenzel W, Friedt W, et al Comparative analysis on the genetic relatedness of *Sorghum bicolor* accessions from Southern Africa by RAPDs, AFLPs and SSRs[J]. Theor Appl Genet, 2003, 106: 1316 - 1325.
- [9] Wu Y Q, Huang Yinghua, Tauer C G, et al Genetic diversity of sorghum accessions resistant to greenbugs as assessed with AFLP markers[J]. Genome, 2006, 49: 143 - 149.
- [10] Nkongolo K K, Nsapato L. Genetic diversity in *Sorghum bicolor* (L.) Moench accessions from different ecogeographical regions in Malawi assessed with RAPDs[J]. Genetic Resources and Crop Evolution, 2003, 50: 149 - 156.
- [11] Deu M, Rattunde F, Chantreau J. A global view of genetic diversity in cultivated sorghums using a core collection[J]. Genome, 2005, 49: 168 - 180.
- [12] Ritter K B, Lynne M C, Godwin I D, et al An assessment of the genetic relationship between sweet and grain sorghums, within *Sorghum bicolor* ssp. *bicolor* (L.) Moench, using AFLP markers[J]. Euphytica, 2007, 157: 161 - 176.
- [13] Ali M L, Rajewski J F, Baenziger P S, et al Assessment of genetic diversity and relationship among a collection of US sweet sorghum germplasm by SSR markers[J]. Mol Breeding, 2008, 21: 497 - 509.
- [14] 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]. Theor Appl Genet, 2001, 103: 455 - 461.
- [15] Budak H R C, Sheaman I, Pamaksiz R E, et al Molecular characterization of Buffalo grass germplasm using sequence-related amplified polymorphism markers[J]. Theor Appl Genet, 2004, 108: 328 - 334.
- [16] Vandemark G J, Ariss J J G A, Bauchan R C, et al Estimating genetic relationships among historical sources of alfalfa germplasm and selected cultivars with sequence related amplified polymorphisms[J]. Euphytica, 2006, 152: 9 - 16.
- [17] Sun Z D, Wang Z N, Tu J X, et al An ultradense genetic recombination map for *Brassica napus*, consisting of 13551 SRAP markers[J]. Theor Appl Genet, 2007, 114: 1305 - 1317.
- [18] Doyle J F, Doyle J L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue[J]. Focus, 1990, 12: 13 - 15.
- [19] Smith J S C, Chin E C L, Shu H, et al An evaluation of the utility of SSR loci as molecular markers in maize (*Zea mays* L.): comparisons with data from RFLPs and pedigree[J]. Theor Appl Genet, 1997, 95: 163 - 173.
- [20] Ferriol M, Pic B, Nuez F. Genetic diversity of a germplasm collection of *Cucurbita pepo* using SRAP and AFLP marker[J]. Theor Appl Genet, 2003, 107: 271 - 282.