doi:10.3969/j.issn.1001-3776.2017.05.004

浙江省无花果种质资源亲缘关系的 SRAP 分析评价

刘亚群¹,王燕飞²,段柳会³,王丽玲¹,张飞英¹,韩素芳¹

(1. 浙江省林业科学研究院, 浙江 杭州 310023; 2. 龙泉市林场, 浙江 丽水 323700; 3. 开化县音坑乡林业站, 浙江 衢州 324309)

摘要:利用 SRAP 分子标记技术,结合物候期对从美国、英国、意大利、法国、中国等地收集的适合浙江省种植的 15 个无花果品种的亲缘关系进行分析。结果表明,不同品种物候期存在不同程度差异,萌动期均为 3 月中下旬;展叶期在 4 月中下旬;座果期基本为 5 月初;果实成熟期 6 月底、7 月中旬、7 月底,8 月中旬、9 月均有;筛选出 SRAP 引物 34 个,扩增出 204 条多态性条带,多态率为 62.25%,表明无花果种质资源的种内变异较为丰富;15 个品种间的遗传相似系数在 0.691 ~ 0.922,其中'波姬红'与'玛斯义陶芬','美丽亚'与'金傲芬'之间的遗传相似系数最大,为 0.922,亲缘关系最近;'红矮生'和'日本紫果'遗传相似系数最小,为 0.691。聚类分析表明在遗传距离为 0.735 处,不同品种分为两个大类群,其中'红矮生'单独聚为一类,其余品种聚为一类。物候期观察表明,同一生长环境下,物候期与品种亲缘关系相关。

关键词: 无花果; 种质资源; 亲缘关系; SRAP; 分子标记

中图分类号: S663.3 文献标识码: A 文章编号: 1001-3776(2016)05-0023-06

SRAP Analysis on Genetic Relationship of Germplasm Resources of *Ficus carica* in Zhejiang Province

LIU Ya-qun¹, WANG Yan-fei², DUAN Liu-hui³, WANG Li-ling¹, ZHANG Fei-ying¹, HAN Su-fang¹

- (1. Zhejiang Academy of Forestry, Hangzhou 310023, China; 2. Longquan Forest Farm of Zhejiang, Lishui 323700, China;
 - 3. Forestry Station of Yinkeng Town of Kaihua county, Quzhou, Zhejiang, 324309)

Abstract: Fifteen culitvars of *Ficus carica* from the United States, the United Kingdom, Italy, France and China were planted in Wuyi, Zhejiang province in 2015, leaves were collected in March 2016 for evaluation of genetic relationships among these cultivars by SRAP markers and observations on phenological periods. The results showed that there were differences in phenological period among 15 germplasm resources, with sprouting period from middle to late March, leaf expansion from middle to late April, fruit setting at early May, and fruit mature from late June to the early September. 34 SRAP primers were selected, 204 polymorphic bands were obtained by PCR with the polymorphic rate of 62.25%, indicating abundant intraspecific variation. The genetic similarity coefficient among 15 cultivars was 0.691-0.922, with the maximal coefficient of 0.922 of 'A132' and 'Masui Dauphine', and the minimal of 0.691 of 'Violette Solise' and 'Hongaisheng'. Cluster analysis showed that tested germplasm could be divided into two groups at genetic distance of 0.735. 'Hongaisheng' was clustered alone, the others were clustered into one group. Observation on phenological period of tested cultivars planted in the same location showed that their phenology had relation with their provenances..

Key words: Ficus carica; germplasm resources; genetic relationship; SRAP; molecular marker

基金项目: 浙江省科研院所专项(2015F30002)

无花果 Ficus carica 为桑科 Moraceae 榕属 Ficus 植物,其隐花果味甜可食,富含活性多糖、黄酮等功能性 成分。早在《神农本草经》就记载其果实有健胃清肠、消食解毒功效,具有降血压、降血脂、抗氧化、增强免 疫力等多种功能,在临床上可用于治疗糖尿病、咽喉肿痛、肿瘤及免疫功能低下等疾病,堪称"圣果"[1-2]。无 花果对土壤要求不严,在砂土、微酸性及盐碱地均可种植,新疆、山东、江苏、浙江均有广泛栽培^[3]。中国无 花果品种有 1 000 多个, 但具有推广价值的不超过 100 个[4]。无花果可分为野生类型和栽培类型, 后者又根据结 实是否需授粉分为普通类型、斯密尔那类型、中间类型和原生类型,目前世界范围内栽培品种多为普通类型无 花果,不经授粉即可形成可食用的果实。根据果实成熟时期将无花果分为夏果专用种、秋果专用种、夏秋果兼 用种。根据无花果果皮和果肉颜色可分为绿色品种,如'青皮'、'绿抗 1 号';红色品种,如'波姬红'、 '日本紫果'、'玛斯义陶芬'等; 黄色品种, 如'丰产黄'、'布兰瑞克'、'金傲芬'等。但上述标准过 于简单,难以区分数以百计的品种资源[5]。2003 年国际植物遗传资源研究所和地中海高级农业国际研究中心共 同编辑《Descriptors for Fig(Ficus carica L.)》,对无花果表型性状有了更细致的描述,但由于描述的性状数 量不多,在应用上仍有一定的局限性[6]。浙江省金华、嘉兴、湖州等地都有规模种植,主栽品种有'玛斯义陶 芬'、'绿抗1号'等十几个品种。无花果多用扦插繁殖,2015年本研究组采用扦插方式建立了种质资源保存 圃,并对不同无花果品种大田扦插的生长特性进行了研究[7]。随着经济增长和人民生活水平的提高,无花果的 营养、药用和保健价值日益受到重视,社会需求越来越多,浙江省栽培面积也逐渐扩大。不同环境条件下的繁 殖栽培,也会造成种内变异的多样性^[8],因此建立在 DNA 水平之上的分子标记为无花果遗传图谱构建、基因定 位、亲缘关系分析、品种分类鉴定及种质资源保护等开辟了新途径。

相关序列扩增多态性(Sequence-related amplified polymorphism,SRAP)技术具有简便、稳定、中等产率、高共显性、便于克隆测序目标片段、在基因组中分布均匀等特点,已广泛应用于樱桃 Cerasus pseudocerasus,梅 Armeniaca mume,苹果 Malus pumila,柑橘 Citrusreticulata,阳芋 Solanum tuberosum,稻 Oryza sativa,芸苔 Brassica campestris,蒜 Allium sativum,莴苣 Lactuca sativa,旱芹 Apium gravelens,草棉 Gossypium herbaceum 等植物和稻瘟病(病原菌:Magnaporthe grisea)的遗传图谱构建比较基因组学、遗传多样性分析、基因定位、杂种优势预测等方面的研究^[9-14]。本文利用 SRAP 标记技术结合物候期对适合浙江省栽培的 15 份无花果种质资源材料进行了亲缘关系分析评价,以期为无花果种质资源的保存、保护及分子辅助选育提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 种质资源圃概况

无花果种质资源圃位于浙江省武义县桑和水果专业合作社, $119^{\circ}49'$ E, $28^{\circ}54'$ N,海拔 91 m,酸性红壤,中亚热带季风气候,年平均气温 16.9° C,年降水量 1445.7 mm,年日照时数 1963.7 h。该圃建于 2015 年,占地 0.13 hm²,15 个种质引自浙江嘉兴神农无花果果园,每份种质资源 25 株,为 1 年生裸根苗,平均高 55 cm,地 径 1 cm。按行株距 2.5 m×1.0 m 分行定植。种源原产地分别为美国、意大利、英国、西班牙、中国,详见表 1。

2016 年 3 月,每个品种随机选取 5 株,每株采集植株顶端初展开的完全叶 $1 \sim 2$ 片,同一品种的嫩叶合并放入装有硅胶干燥剂的密封袋中,带回实验室备用。

1.3 试验方法

- 1.3.1 基因组 DNA 的提取 基因组提取采用新型快速植物基因组 DNA 提取试剂盒(离心柱型)(BioTeke,北京),DNA 提取后通过 1.5%琼脂糖凝胶电泳和 Nano Drop 2000C 微量核酸蛋白测定仪检测完整性、纯度及浓度。 D_{260} / D_{280} 在 $1.8 \sim 2.0$ 之间的 DNA 样品用于后续 PCR 扩增。
- 1.3.2 SRAP 引物筛选和 PCR 扩增 从 15 份样品中随机选择 5 份样品进行 SRAP 引物筛选,共获得 34 对扩增条 带稳定、清晰的多态性引物(见表 2)。利用这 34 条引物对 15 份无花果样品进行 SRAP-PCR 扩增。SRAP 扩增反应采用 20 μ L 体系: 10.0 μ L 2×Power Taq PCR MasterMix,模板 DNA 60 ng, SRAP 上游引物 1 μ L (10 μ mol·L⁻¹),

Table 1 Information of 15 cultivars of Ficus carica											
果皮色系	品种	原产地	果皮颜色	果肉颜色	果实形状						
黄色	'B1011'	美国加利福尼亚州	果皮金黄色	粉红色	倒卵圆						
	'金傲芬'('A212')	美国加利福尼亚州	金黄色	淡黄	卵圆						
	'美丽亚'('A134')	美国加利福尼亚州	黄褐色	红褐色	卵圆或倒圆锥						
	'ALMA'	美国德克萨斯州	黄色	浅红色或琥珀色	卵圆						
	'丰产黄'	意大利阿布鲁佐区	黄绿	浅草莓或琥珀色	卵圆						
	'布兰瑞克'	英国苏格兰区	黄褐色	红褐色	长卵形						
	'A1213'	美国加利福尼亚州	黄绿	桃红色	长卵形						
红色	'玛斯义陶芬'	美国加利福尼亚州	紫褐色	桃红色	倒圆锥						
	'日本紫果'	法国普罗旺斯省	深紫红色	鲜红色	扁圆卵						
	'波姬红'	美国德克萨斯州	条状紫红	浅红	长卵圆或长圆锥						
	'红矮生'	中国	紫红色	黄色	扁圆						
绿色	'青皮'	中国山东	黄绿色	淡紫色	扁圆或倒圆锥						
	'小青皮'	中国山东	黄绿色	淡紫色	倒圆锥						
	'绿抗 1 号'	中国江苏	浅绿色	紫红色	倒圆锥						
	'B110'	美国加利福尼亚州	黄绿、浅绿色	红色	长卵圆						

表 1 15 个无花果品种特征信息[3,15]

注: 红矮生, 原产地中国, 某地不详。

表 2	SRAP 引物
Table 2	SRAP primers

Tuble 2 Stell printers											
编号	引物名称	编号	引物名称	编号	引物名称	编号	引物名称				
1	ME1-EM8	10	ME2-EM3	19	ME4-EM2	28	ME6-EM12				
2	ME1-EM9	11	ME2-EM4	20	ME4-EM3	29	ME6-EM14				
3	ME1-EM10	12	ME2-EM5	21	ME4-EM4	30	ME7-EM2				
4	ME1-EM11	13	ME2-EM6	22	ME4-EM13	31	ME7-EM7				
5	ME1-EM12	14	ME2-EM7	23	ME4-EM14	32	ME7-EM14				
6	ME1-EM13	15	ME2-EM8	24	ME5-EM13	33	ME9-EM7				
7	ME1-EM14	16	ME2-EM12	25	ME5-EM14	34	ME9-EM9				
8	ME2-EM1	17	ME2-EM13	26	ME6-EM8						
9	ME2-EM2	18	ME2-EM14	27	ME6-EM10						

下游引物 1 μL(10μ mol·L⁻¹), ddH₂O 补足 20 μL。PCR 扩增反应在 TC-XP 型扩增仪(杭州博日)上进行。SRAP-PCR 扩增程序为 94℃预变性 4 min; 94℃变性 1 min, 35℃退火 30 s, 72℃延伸 1.5 min, 5 个循环,94℃变性 1 min, 50℃退火 30 s, 72℃延伸 1.5 min, 35 个循环,循环结束后 72℃延伸 7 min, 4℃保存。反应结束后,将 PCR 扩增产物用 1.5%琼脂糖凝胶电泳,检测 PCR 扩增片段的数量、片段分子量大小以及多态性。

1.3.3 数据处理与统计分析 PCR 扩增产物用琼脂糖凝胶电泳分析后,根据实验结果,分析记录同一水平位置重复出现的条带。在相同的迁移率上,有带用 1 表示,无带用 0 表示。采用 NTSYS-pc2.10e 软件进行遗传多样性分析,使用软件中的 SimQual 程序计算样品间的 DICE 遗传相似系数(GS, Genetic similarity)和遗传距离(GD, Genetic distance),用 SHAN 程序进行非加权成对算术平均法聚类分析 (UPGMA, Unweighted pair-group method with arithmetic means),通过 Tree plot 模块生成聚类图。

1.4 物候观测

2016 年 2 – 10 月,每个品种随机选取 5 株进行萌动期、展叶期、座果期及果实成熟期观测,每 3 d 记录 1 次,取平均值作为结果。

2 结果与分析

2.1 物候期观测分析

对无花果种质资源圃 15 个品种萌动期等物候期进行观测,结果见表 3。由表 3 可知,所有品种的萌动期均在 3 月中下旬。除'B1011','日本紫果','B110'及'青皮',其余都在 4 月中下旬进入展叶期。除'日

7	表 3	15 个无花果种质的物候期观测结界

T 11 0	DI 1 1 1 1		e 1.1	o E	
Table 3	Phelological	period of 1	5 cultivars	or Γ .	carica

- 10-10 to											
品种	萌动期	展叶期	座果期	果实成熟	品种	萌动期	展叶期	座果期	果实成熟		
'B1011'	3.14	4.01	5.01	7.15	'日本紫果'	3.30	4.10	6.30	9.10		
'金傲芬'	3.30	4.30	5.02	7.30	'波姬红'	3.20	4.20	5.01	7.30		
'美丽亚'	3.15	4.30	5.01	7.30	'红矮生'	3.30	4.20	5.20	7.30		
'ALMA'	3.20	4.10	5.01	7.30	'青皮'	3.15	4.10	5.01	7.30		
'丰产黄'	3.14	4.20	5.01	8.10	'小青皮'	3.20	4.15	5.01	7.30		
'A1213'	3.20	4.25	5.20	7.30	'绿抗 1 号'	3.25	4.20	5.01	7.15		
'布兰瑞克'	3.30	4.20	5.01	6.20	'B110'	3.14	4.01	5.01	7.15		
'玛斯义陶芬'	3.14	4.15	5.01	7.15							

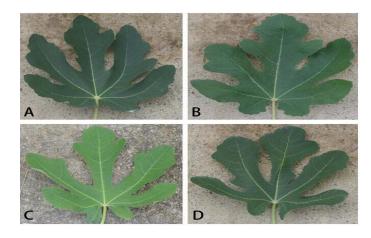
本紫果'在6月底, 'A1213', '红矮生'在5月下旬,其余座果期均为5月初。果实成熟期则差别较大, 分为6月底、7月中旬、7月底,8月中旬、9月初五类。从物候期上看,品种间存在不同程度的差异。其中'金

傲芬'和'美丽亚'除萌动期相差 15 d, 其余均比较接近;'波姬红'及'玛斯义陶芬'的座果期一致, 其余差别都在 15 d 以内。从形态上看,'波姬红'和'玛斯义陶芬'果实颜色相近,叶片裂度也相似,'金傲芬'和'美丽亚'果实颜色(图 1)及叶片特征也均十分相似,需通过基因组学来判别。

2.2 扩增产物的多态性分析

利用筛选出的 34 个 SRAP 引物对无花果基因组 DNA 进行 PCR 扩增,琼脂糖凝胶电泳结果显

示均能扩增出清晰稳定、重复性和多态性较高的条带。图 2 是引物 ME1~EM8 对 15 个无花果品种的扩增图谱。34 条引物扩增共获得 204条条带,条带介于 100~2 000 bp,其中多态性条带 127 条,多态率 62.25%,表明无花果种质间的基因差异明显。



A- '玛斯义陶芬'; B- '波姬红'; C- '金傲芬'; D- '美丽亚'。 图 1 '玛斯义陶芬'、'波姬红'、'金傲芬'、'美丽亚' 叶片图

Figure 1 Leaf of 'Masui Dauphine', 'A132', 'A212' and 'A134'

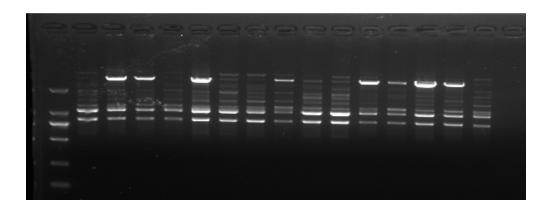


图 2 引物 ME1~EM8 扩增图谱

Figure 2 Amplification profile of primer ME1-EM8

2.3 遗传相似性分析

将 34 条引物扩增出的条带作为原始矩阵, 利用 NTSYS-pc 软件计算 15 个品种间的 Dice 遗传相似系数, 得

到遗传相似系数在 0.691~0.922, 平均为 0.409, 说明各个无花果品种间亲缘关系都比较近。其中'波姬红'与'玛斯义陶芬'、'美丽亚'与'金傲芬'之间的遗传相似系数最大为 0.922, 表明两者间的亲缘关系最近,与观测到的品种形态特征结果一致; 其次为'青皮'与'绿抗 1 号', 其遗传相似系数为 0.902。亲缘关系最远的为'红矮生'和'日本紫果', 其遗传相似系数最小为 0.691; 其次为'日本紫果'与'B110', 其遗传相似系数为 0.701。15 个无花果品种间的遗传相似系数详见表 4。

衣 4 15 11元化未品种间返传相似系数															
Table 4 Genetic similarity coefficient among 15 F. carica cultivars															
品种 名称	'B110'	'ALMA'	'B1011'	'A1213'	'绿抗 1号'	'布兰 瑞克'	'红矮 生'	'小青 皮'	'波姬 红'	'玛斯义 陶芬'	'青皮'	'日本 紫果'	'金傲 芬'	'美丽 亚'	'非产 黄'
'B110'	1.000														
'ALMA'	0.794	1.000													
'B1011'	0.789	0.863	1.000												
'A1213'	0.760	0.833	0.858	1.000											
'绿炕 1号'	0.775	0.828	0.853	0.814	1.000										
'布兰 瑞克'	0.730	0.853	0.819	0.868	0.843	1.000									
'红矮生'	0.721	0.745	0.711	0.721	0.735	0.730	1.000								
'小青皮'	0.755	0.770	0.784	0.804	0.789	0.775	0.745	1.000							
'波姬工'	0.858	0.804	0.799	0.750	0.804	0.770	0.760	0.784	1.000						
'玛斯义 陶芬'	0.873	0.799	0.814	0.765	0.858	0.794	0.755	0.809	0.922	1.000					
'青皮'	0.789	0.833	0.828	0.828	0.902	0.838	0.730	0.814	0.809	0.843	1.000				
'日本 紫果'	0.701	0.745	0.740	0.779	0.765	0.819	0.691	0.804	0.721	0.745	0.828	1.000			
'金傲芬'	0.784	0.828	0.882	0.804	0.848	0.824	0.745	0.819	0.814	0.838	0.843	0.775	1.000		
'美丽亚'	0.740	0.784	0.848	0.779	0.794	0.779	0.740	0.804	0.779	0.804	0.819	0.760	0.922	1.000	
'丰产黄'	0.755	0.789	0.784	0.755	0.789	0.784	0.755	0.819	0.775	0.799	0.814	0.775	0.848	0.833	1.000

表 4 15 个无花果品种间遗传相似系数

2.4 聚类分析

利用 UPGMA 法对 15 个无花果品种进行聚类分析,建立聚类分支树状图(图 3)。从图 3 可知,在遗传相

似系数为 0.735 处可将 15 个无花果品种分为 2 大类。其中'红矮生'单独聚为一类,其 余品种聚为一类。表明'红矮生'与其他品 种之间的遗传差异较大,即亲缘关系较远。第 I 大类可分为 3 个小类。第一小类包含'B110'、'波姬红'及'玛斯义陶芬',且'波姬红'及'玛斯义陶芬'在最开始即相聚,表明两者之间亲缘关系较近。此外,'小青皮'与'日本紫果'虽然聚为一类,但是相聚时遗传相似系数为 0.8 左右,表示 两者之间还是存在一定的遗传差异。其余品种聚为第三类。总体而言,15 个品种间的遗传差异性不大。

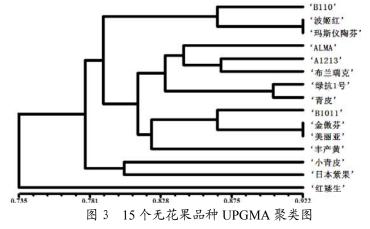


Figure 3 UPGMA dendrogram of 15 cultivars of F. carica

3 结论与讨论

物种的遗传多样性是其长期进化的结果,也是其生存、适应和发展的前提,遗传多样性在物种形态、分子水平上均有所表现,丰富的遗传多样性是宝贵的基因资源。本研究利用 SRAP 分子标记技术,对采自浙江武义

的 15 个无花果品种进行聚类分析,结合物候及果实性状比较不同无花果品种之间的遗传差异性。结果表明,利用筛选出的 34 条 SRAP 引物对所有样品进行 PCR 扩增,共获得 204 条条带,其中多态性条带 127 条,多态率为 62.25%,且扩增条带清晰,样品多态性较高。

遗传相似性系数是用来比较群体或个体间相似程度的度量参数,平均相似系数越高,说明样品之间的差异性越小,即亲缘关系越近。本实验结果表明,15个样品之间的遗传相似系数变化范围在 0.691 ~ 0.922。相似系数最高的是'金傲芬'和'美丽亚'、'波姬红'和'玛斯义陶芬',为 0.922;最低的是'红矮生'与'日本紫果',为 0.691。'红矮生'为盆栽无花果专用品种,小灌木,树冠矮小,枝条节间短,分枝多,叶中大,掌状五裂;果紫红色,从形态上与其他无花果品种有显著差别,与遗传相似系数最低符合,总体而言 15 个样品间的遗传差异性不大。

进一步的聚类分析结果表明, '金傲芬'与'美丽亚'、'青皮'和'绿抗 1 号'、'波姬红'及'玛斯义陶芬'三类品种亲缘关系较近。其中'金傲芬'与'美丽亚'原产地均为美国加利福利亚州,都为黄色系品种;而'青皮'和'绿抗 1 号'产自中国的山东和江苏,此聚类结果将两者聚在一起,与样品的原产地的地理位置接近相符合。一般而言,在同一地区采集的样品遗传相似度较高^[8]。'青皮'和'绿抗 1 号'是极易混淆的品种,SRAP分子标记技术发现二者遗传相似系数接近,为下一步品种鉴别奠定基础。'波姬红'及'玛斯义陶芬'最初就聚集在一起,'波姬红'原产地为美国德克萨斯州,而'玛斯义陶芬'原产地为美国加利福尼亚州,地理位置接近;根据形态学观察,'波姬红'果形为长卵形,果肉为浅红,果皮为紫红;'玛斯义陶芬'果形为倒圆锥形,果肉为桃红色,成熟时果皮为紫褐色;从形态学和地理分布而言,两个无花果品种遗传差异性非常接近,遗传相似系数达到 0.922。

物候期观察结果表明,同一生长条件下亲缘关系最近的'金傲芬'与'美丽亚'除萌动期相差 15 d,展叶期、座果期及果实成熟期表现一致;而'波姬红'及'玛斯义陶芬'的座果期一致,其余差别亦在 15 d 以内。亲缘关系最远的'红矮生'与'日本紫果'除萌动期一致,展叶期呈现 10 d 的差别,座果期及果实成熟期相差 40 d,差别较大。亲缘关系较远的'日本紫果'和'B110'萌动期等物候也表现出不同程度的差别,差别最大的为相差 60 d 座果期。同一生长环境下,物候期与品种类别呈现相关性,因此可考虑结合遗传多样性及更详尽的物候分析,判断品种亲缘关系远近,为无花果优良种源选育和推广应用提供一定理论基础。

参考文献:

- [1] 浙江植物志编辑委员会. 浙江植物志(第二卷)[M]. 杭州: 浙江科学技术出版社, 1992.
- [2] 马会勤. 从无花果产业看中国特色农业发展之路[J]. 中国农村科技, 2015(2): 32-33.
- [3] 曹尚银. 无花果无公害高效栽培[M]. 北京: 金盾出版社, 2003.
- [4] 姜卫兵. 无花果主要品种介绍[J]. 山西果树, 1990, (4): 27-32.
- [5] 吴子江,马翠兰,郭阳彬,等. 无花果生产与研究进展[J]. 亚热带农业研究, 2013, 9(3): 151-157.
- [6] CABRITA L F, AKSOY U, HEPAKSOY S, *et al.* Suitability o fisozyme, RAPD and AFLP markersto assess genetic differences and relatedness among fig (Ficus carica L.) clones[J]. Sci Hor, 2001 (87): 261 273.
- [7] 刘亚群,韩素芳,张飞英,等. 不同无花果品种大田扦插的生长特性研究[J]. 浙江林业科技, 2016, 36(6): 8-13.
- [8] 王亮,王彩虹,田义轲,等. 山东省无花果种质资源多样性的 RAPD 分析[J]. 植物遗传资源学报,2007, 8(3): 303 307.
- [9] 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 Gen, 2001 (103): 455 461.
- [10] 林忠旭, 张献龙, 聂以春, 等. 棉花 SRAP 遗传连锁图构建[J]. 科学通报, 2003, 48 (15): 1676, 1679.
- [11] LI G, GAO M, YANG B, *et al.* Gene for gene alignment between the Brassica and Arabidopsis genomes by direct transcriptome mapping[J]. Theor Appl Gen, 2003, 107 (1): 168 180.
- [12] FERRIOL M, PICO B, NUEZ F. Genetic diversity of a germplasm collection of Cucurbitapepo using SRAP and AFLP markers [J]. Theor Appl Gen, 2003, 107 (2): 271 282.
- [13] 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 Breed, 2001, 120 (5): 411 415.
- [14] 吴伟怀,王玲,程贯忠,等. 稻瘟病菌群体的分子遗传学研究—广东省与云南省稻瘟病菌群体遗传及致病型结构的时空变化分析[J]. 中国农业科学,2004,37(10):1468-1473.