

# SRAP在葱栽培品种遗传多样性研究中的适用性分析

李慧芝, 尹燕萍\*, 张春庆, 张敏, 李建敏

(山东农业大学农学院, 作物生物学国家重点实验室, 山东泰安 271018)

**摘要:** 为评价 SRAP 技术对葱品种进行鉴定和遗传关系分析的适用性, 对 20 个葱栽培品种的表型特征进行了观察记载, 利用 256 个 SRAP 引物组合对其进行了遗传多样性研究。结果表明: (1) 256 个 SRAP 引物组合中有 161 个引物组合产生多态性条带, 占所用引物组合数的 62.9%。161 个引物组合共产生 336 条多态性条带, 不同引物组合产生的多态性条带数为 1~6 个, 平均 2.1 个。20 个葱栽培品种遗传相似系数变幅为 0.464~0.938, 平均 0.703。(2) 依据 SRAP 进行聚类分析的分类结果与依据表型特征分类的结果一致。上述结果说明 SRAP 标记可以在葱栽培品种的鉴定和遗传多样性研究中应用。

**关键词:** 葱; 栽培品种; SRAP; 遗传多样性; 适用性

**中图分类号:** S 633.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2007) 04-0929-06

## Evaluation of Application of SRAP on Analysis of Genetic Diversity in Cultivars of *Allium fistulosum* L.

LI Hui-zhi, YIN Yan-ping\*, ZHANG Chun-qing, ZHANG Min, and LI Jian-min

(Agronomy College, Shandong Agricultural University, State Key Laboratory of Crop Biology, Tai'an, Shandong 271018, China)

**Abstract:** In order to evaluate the application of SRAP in identification and genetic relationship analysis on cultivars of *Allium fistulosum* L., 20 cultivars were used in this experiment. We investigated the morphological characters and analyzed the genetic diversity of 20 cultivars with SRAP markers. 256 primer pairs were tested, 161 (62.9%) of which generated polymorphic bands. A total of 336 polymorphic bands were observed. The number of polymorphic bands detected by an individual primer pair ranged from one to six, with an average number of 2.1. Genetic similarity (GS) coefficients among 20 cultivars based on the SRAP data ranged from 0.464 to 0.938, with a mean GS coefficient of 0.703. A dendrogram was generated using cluster analysis, which revealed phylogenetic relationships among 20 cultivars. The result was in agreement with the common classification based on morphologic traits, which suggested that SRAP marker could be reliably used in cultivar identification and genetic diversity analysis of *A. fistulosum* L.

**Key words:** *Allium fistulosum* L.; Cultivar; SRAP; Genetic diversity; Application

目前国外用于葱属植物遗传多样性分析的 DNA 分子标记技术主要为 SSR (Fischer & Bachman, 2000) 和 AFLP (pek et al, 2005), 且多应用于洋葱、大蒜等, 对葱的研究少见报道。对葱属植物遗传多样性研究, 使用的分子标记技术仅为 RAPD 技术, 且多用在种或亚种间亲缘关系的探索上 (孟祥栋等, 1998; 盖树鹏等, 2001)。寻找在葱属植物品种间遗传多样性及亲缘关系分析中适用的有效分子标记技术, 是目前葱品种鉴定、遗传关系分析及种质资源评价工作中急需解决的问题。

SRAP (Sequence-Related Amplified Polymorphism) 标记 (Li & Quiros, 2001) 的原理是利用特定引物对 ORFs 区域 (Open Reading Frames) 进行扩增。上游引物长 17 bp, 5 端的前 10 bp 是填充序列, 紧接着是 CCGG 组成核心序列及 3 端 3 个选择碱基, 对外显子进行特异扩增, 下游引物长 18 bp,

收稿日期: 2007 - 02 - 28; 修回日期: 2007 - 04 - 25

\* 通讯作者 Author for correspondence (E-mail: ypyin@sdau.edu.cn)

5端的前 11 bp 是一段填充序列,紧接着是 AATT 组成核心序列及 3 端 3 个选择碱基,对内含子区域、启动子区域进行特异扩增。因不同个体、物种的内含子、启动子及间隔区长度不同而产生多态性。目前该技术已被用于甜瓜 (Ferriol et al, 2003)、南瓜 (Ferriol et al, 2004) 与野牛草 (Budak et al, 2004) 等的遗传多样性研究,显示了良好的效果,在辣椒 (任羽等, 2004) 和棉花 (林忠旭等, 2004) 中也显示了良好的适用性。本研究将 SRAP 应用于葱属植物的遗传多样性研究中,以探讨该技术对葱品种进行鉴定和遗传关系分析的可行性。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

选用葱 (*Allium fistulosum* var *gigantum*) 的 8 个日本栽培品种 ‘田宝’、‘天光一本’、‘春味’、‘长崎一号’、‘夏黑二号’、‘元藏’、‘长宝’、‘日本铁杆大葱’; 9 个中国栽培品种 ‘掖幅一号’ (山东莱州)、‘铁杆大葱王’ (山东章丘)、‘日本巨葱 120’ (河北衡水)、‘宝塔大葱’ (河北定州)、‘章丘大葱’ (山东莒县)、‘五叶齐大葱’ (天津宝坻)、‘泰山巨葱’ (山东泰安)、‘鲁友长茎大葱’ (山东高密)、‘莱芜鸡腿葱’ (山东莱芜); 3 个分葱 (*A. fistulosum* var *caepitosum*) 品种 ‘金夏香葱’ (日本)、‘万能香葱’ (日本)、‘四季小葱’ (浙江杭州), 共 20 个。各品种均从产地收集。

2006 年 3 月 31 日在山东农业大学农作物标本园育苗, 每品种育苗面积  $1.5 \text{ m}^2$  ( $1.5 \text{ m} \times 1 \text{ m}$ ), 6 月 15 日移栽, 小区面积  $12 \text{ m}^2$  ( $6 \text{ m} \times 2 \text{ m}$ ), 行距 50 cm, 株距 10 cm, 每小区栽植 240 株。田间管理同大田栽培。10 月 10 日调查各品种叶色、叶肉厚度、叶鞘紧实程度和蜡粉有无等表型性状。12 月 1 日采收时每品种随机取样 10 株, 统计其分蘖数、株高、假茎长和假茎直径。

### 1.2 DNA 提取

每个品种取发芽期幼苗 2~3 g, 约 150 株, 液氮研磨成浆状, 迅速加入 65 预热提取液 (100 mmol/L Tris-HCl pH 8.0, 20 g/L CTAB, 1.4 mol/L NaCl, 20 mmol/L EDTA pH 8.0, 用前加 40 mmol/L -巯基乙醇), 65~70 浸提 30 min, 加入等体积氯仿-异戊醇 (24:1), 颠倒离心管 5~6 次, 5 500  $\times$ g 离心 20 min。取上清液, 再次加入氯仿-异戊醇, 5 500  $\times$ g 离心 20 min。取上清液, 加入 0.6 倍体积的异丙醇沉淀 30 min 左右, 将沉淀转移至另一离心管, 70% 乙醇冲洗 2~3 次, TE [10 mmol/L Tris-HCl (pH 8.0), 1 mmol/L EDTA (pH 8.0)] 溶解后, 保存于 -20 备用。

### 1.3 SRAP-PCR 扩增

引物采用 Ferriol 等 (2003) 与 Budak 等 (2004) 发表的 16 个正向引物和 16 个反向引物 (表 1), 两两组合成 256 个引物组合。引物由上海生工合成。PCR 扩增总体积为 25  $\mu$ L, 包括 DNA 模板 60 ng, 引物 10  $\mu$ mol/L, 1  $\times$  Loading buffer, 2.0 mmol/L  $\text{MgCl}_2$ , 0.2 mmol/L dNTP, 0.75 U *Taq* 酶 (购于上海生工), 不足部分用  $\text{ddH}_2\text{O}$  补足。PCR 扩增在 PTC-100 扩增仪 (Bio-Rad 公司) 上进行, 扩增程序为 DNA 94 预变性 5 min; 94 变性 1 min, 35 退火 1 min, 72 复性 1 min, 5 个循环; 94 变性 1 min, 50 退火 1 min, 72 复性 1 min, 35 个循环; 72 延伸 10 min; 4 结束保存。

扩增产物采用 10% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳, 电泳缓冲液为 1  $\times$  TBE, 稳压 120 V, 溴酚蓝距凝胶 2~3 cm 处结束电泳。电泳后银染 (Brant et al, 1991): 蒸馏水冲洗胶板 1 次, 不超过 20 s; 将冲洗后的胶板放入染色液中轻轻晃动 6~7 min; 将染色液倒出后, 加入蒸馏水冲洗 20 s, 然后加入少量显色液冲洗 1 次, 15 s 后倒出; 倒入足量显色液摇动大约 5 min 后显影; 等带完全出现之后倒出显影液, 加入定影液, 轻摇 5 min, 用蒸馏水冲洗后照相或者保存。

### 1.4 数据分析方法

使用 NTSYS-PC2.10 软件, 非加权组平均法 (UPGMA) 聚类。相似系数  $S_{ij} = a / (a + b + c)$ ; 其中,  $a$  表示两份样品共有条带数,  $b$  表示  $i$  样品特有条带数,  $c$  表示  $j$  样品特有条带数。

表 1 SRAP引物序列  
Table 1 Sequences of SRAP primers

正向引物 Forward primers	正向引物序列 Forward primers sequences	反向引物 Reverse primers	反向引物序列 Reverse primers sequences
Me1	TGA GTC CAA ACC GGA TA	Em1	GAC TGC GTA CGA ATT AAT
Me2	TGA GTC CAA ACC GGA GC	Em2	GAC TGC GTA CGA ATT TGC
Me3	TGA GTC CAA ACC GGA AT	Em3	GAC TGC GTA CGA ATT GAC
Me4	TGA GTC CAA ACC GGA CC	Em4	GAC TGC GTA CGA ATT TGA
Me5	TGA GTC CAA ACC GGA AG	Em5	GAC TGC GTA CGA ATT AAC
Me6	TGA GTC CAA ACC GGA CA	Em6	GAC TGC GTA CGA ATT GCA
Me7	TGA GTC CAA ACC GGA CG	Em7	GAC TGC GTA CGA ATT CAA
Me8	TGA GTC CAA ACC GGA CT	Em8	GAC TGC GTA CGA ATT CAC
Me9	TGA GTC CAA ACC GGA GG	Em9	GAC TGC GTA CGA ATT CAG
Me10	TGA GTC CAA ACC GGA AA	Em10	GAC TGC GTA CGA ATT CAT
Me11	TGA GTC CAA ACC GGA AC	Em11	GAC TGC GTA CGA ATT CTA
Me12	TGA GTC CAA ACC GGA GA	Em12	GAC TGC GTA CGA ATT CTC
Me13	TGA GTC CAA ACC GGA AG	Em13	GAC TGC GTA CGA ATT CTG
ME6	TGA GTC CTT TCC GGT AA	Em14	GAC TGC GTA CGA ATT CTT
ME7	TGA GTC CTT TCC GGT CC	Em15	GAC TGC GTA CGA ATT GAT
ME8	TGA GTC CTT TCC GGT GC	Em16	GAC TGC GTA CGA ATT GTC

## 2 结果与分析

### 2.1 20个葱栽培品种表型特征

表 2为各品种主要表型性状。在叶性状方面,来自于日本的 8个品种基本一致,叶色浓绿,叶肉厚,叶片直立、排列紧凑,不易折,叶鞘部紧实,蜡粉较多。来自于国内的 9个品种叶色鲜绿或暗绿,叶鞘部松散或较松散,蜡粉较少,在叶肉厚薄、叶片排列及易折性等性状上差异较大。其中,掖幅一号、铁杆大葱王、日本巨葱 120、章丘大葱与泰山巨葱叶肉薄或较薄,叶片排列稀疏或较稀疏,易折;宝塔大葱、莱芜鸡腿葱叶片排列较稀疏,但叶肉较厚,不易折,鳞茎膨大,明显粗于葱白;五

表 2 20个葱栽培品种表型特征  
Table 2 Morphological traits of 20 cultivars of *A. fistulosum* L.

编号 Code	品种 Cultivar	分蘖 Tiller	株高 Plant height (cm)	假茎 Pseudostem	
				长 Length (cm)	直径 Diameter (cm)
1	田宝 Tianbao	0	67.85 ±5.16 h	29.65 ±2.00 f	3.04 ±0.11 h
2	天光一本 Tianguang Yiben	0	71.67 ±5.77 g	27.05 ±1.52 gh	3.26 ±0.13 fgh
3	春味 Chunwei	0	69.88 ±2.00 gh	29.41 ±1.85 f	3.16 ±0.13 gh
4	长崎一号 Changqi 1	0	63.85 ±4.61 i	28.29 ±3.21 fg	3.18 ±0.24 gh
5	掖幅一号 Yefu 1	0	104.05 ±2.75 a	42.83 ±4.00 a	3.52 ±0.15 de
6	夏黑二号 Xiahei 2	0	68.80 ±1.14 gh	24.30 ±1.06 ij	3.47 ±0.06 def
7	元藏 Yuanzang	0	69.00 ±0.78 gh	23.35 ±0.91 j	2.73 ±0.07 j
8	长宝 Changbao	0	69.05 ±5.06 gh	29.85 ±2.01 f	3.10 ±0.20 h
9	金夏香葱 Jinxia Xiangcong	2.8	35.20 ±4.42 l	12.80 ±0.63 l	0.72 ±0.10 k
10	万能香葱 Wanneng Xiangcong	0	58.10 ±2.48 j	25.35 ±1.87 h	2.60 ±0.19 j
11	铁杆大葱王 Tiegan Dacong wang	0	85.50 ±4.38 e	38.55 ±2.40 c	4.06 ±0.46 c
12	四季小葱 Siji Xiacong	7.8	47.05 ±3.11 k	11.50 ±0.85 l	0.61 ±0.05 k
13	日本巨葱 120 Japan Jucong 120	0	97.50 ±5.29 bc	33.75 ±2.65 e	4.20 ±0.33 c
14	宝塔大葱 Baota Dacong	0	105.05 ±3.93 a	36.20 ±1.75 d	5.62 ±0.44 a
15	章丘大葱 Zhangqiu Dacong	0	95.75 ±4.95 c	40.10 ±2.34 bc	3.35 ±0.14 efg
16	日本铁杆大葱 Japan Tiegan Dacong	0	60.21 ±3.06 j	28.05 ±1.26 fg	3.19 ±0.14 gh
17	五叶齐大葱 Wuyeqi Dacong	0	89.80 ±4.80 d	41.30 ±3.07 ab	3.66 ±0.54 d
18	泰山巨葱 Taishan Jucong	0	89.35 ±3.29 d	40.22 ±1.24 bc	3.35 ±0.11 efg
19	莱芜鸡腿葱 Laiwu Jitui Cong	0	77.18 ±3.47 f	20.04 ±1.28 k	4.75 ±0.23 b
20	鲁友长茎大葱 Luyou Changjing Dacong	0	99.18 ±2.07 b	41.56 ±2.33 ab	3.56 ±0.16 de

注: 同列标有不同字母的平均值间差异达  $P = 0.05$  显著水平。

Note: Different letters within a column mean significantly different at  $P = 0.05$ .

叶齐和鲁友长茎大葱叶肉厚或较厚，叶片排列较紧凑，不易折。3个分葱品种的鳞茎不膨大，但略粗于葱白。其中，金夏香葱和万能香葱叶色浓绿，叶肉厚，不易折，但金夏香葱叶鞘部松散，蜡粉较少，而万能香葱叶鞘部较松散，蜡粉多；四季小葱植株丛生，叶色淡绿，叶片筒状细小，叶肉薄、极易折，叶鞘部松散，无蜡粉，叶性状与国内大葱品种基本一致。在株高、假茎长和直径方面，日本大葱低于中国大葱品种。金夏香葱和四季小葱的株高、假茎长显著低于大葱品种，万能香葱的株高、假茎长和直径与部分日本大葱品种无显著差异。在分蘖方面，大葱品种均无分蘖；分葱品种中，金夏香葱和四季小葱有分蘖，万能香葱无分蘖。

## 2.2 SRAP多态性分析

对 20 个葱栽培品种的 SRAP 多态性分析结果 (表 3) 表明，在 256 个引物组合中，有 161 个引物组合产生多态性条带，占 62.9%。161 个引物组合共产生 336 条多态性条带，每个引物组合的多态性条带数范围在 1~6 条之间，平均每个引物组合产生 2.1 个多态性条带。

表 3 不同引物组合扩增的多态性条带数

Table 3 The numbers of polymorphic bands generated by 256 primer pairs

名称 Name	Em1	Em2	Em3	Em4	Em5	Em6	Em7	Em8	Em9	Em10	Em11	Em12	Em13	Em14	Em15	Em16	合计 Sum.
Me1	2	2	3	3	0	1	1	3	2	4	3	3	0	0	0	0	27
Me2	4	6	3	0	3	3	2	3	5	3	1	6	1	0	1	2	43
Me3	3	0	2	1	1	3	2	2	1	0	0	0	0	2	0	1	18
Me4	4	2	1	2	0	0	5	1	0	0	0	0	0	0	0	1	16
Me5	2	1	1	0	0	1	4	1	3	1	1	2	2	0	3	1	23
Me6	3	0	2	0	2	0	2	0	0	0	0	0	2	2	2	0	15
Me7	0	1	0	1	3	0	2	0	1	1	4	1	1	3	1	2	21
Me8	2	6	0	1	1	1	0	1	1	0	1	1	2	4	1	3	25
Me9	3	2	1	4	1	3	2	2	0	1	1	2	0	0	2	0	24
Me10	0	1	0	1	0	0	0	2	0	3	2	0	1	0	3	0	13
Me11	4	1	0	1	2	3	0	1	0	2	0	1	2	1	2	1	21
Me12	4	0	0	0	2	2	2	2	6	0	0	0	0	3	0	1	22
Me13	0	1	0	1	0	1	3	1	1	5	0	0	0	0	1	0	14
ME6	2	0	0	0	0	0	3	0	1	1	0	0	4	0	4	1	16
ME7	2	1	4	1	0	0	3	2	1	0	0	1	0	2	2	0	19
ME8	1	4	1	1	4	0	2	1	0	2	0	0	2	1	0	0	19
合计 Sum.	36	28	18	17	19	18	33	22	22	23	13	17	17	18	22	13	336

图 1 结果为 Me5-Em2、Me8-Em14、ME8-Em1 的扩增图谱。由图 1 可以看出，这 3 对引物组合分别产生了 1、4、1 条多态性条带，不同引物组合在品种间多态性上存在差异。

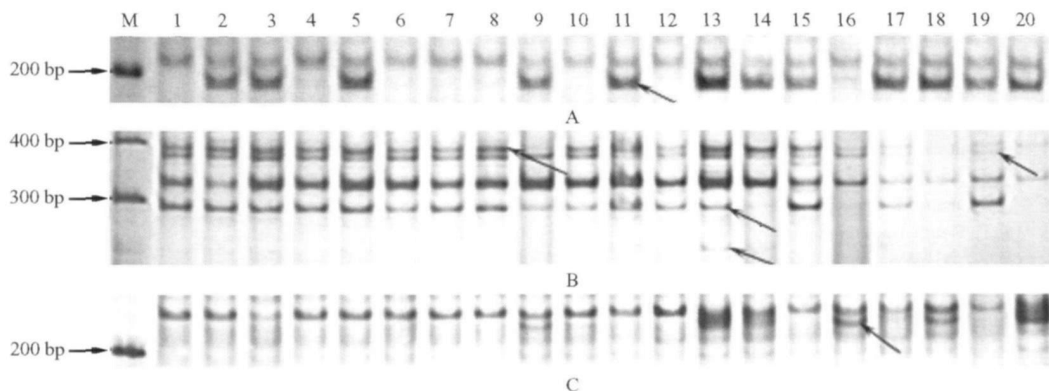


图 1 部分引物的扩增结果

A 为 Me5-Em2; B 为 Me8-Em14; C 为 ME8-Em1; 箭头示多态性条带; M 为分子量标记; 品种代码详见表 2。

Fig. 1 The amplification results of some primer combination in 20 cultivars of *Allium fistulosum* L.

A. Me5-Em2; B. Me8-Em14; C. ME8-Em1; Arrows show polymorphic bands; M. Marker; Material codes were shown in Table 2.

进一步分析 SRAP不同引物组合的多态性 (表 3) 可以看出, 每个正向引物与 16个不同的反向引物组合扩增的多态性条带为 13~43条, 每个反向引物与 16个不同的正向引物组合扩增的多态性条带为 13~36条。单个正向引物与不同反向引物组合产生多态性条带的引物组合数为 7~14个, 单个反向引物与不同正向引物组合产生多态性条带的引物组合数为 7~13个, 不同正、反向引物间产生多态性条带的引物组合数基本一致, 说明 SRAP引物间产生多态性的组合数较为稳定。

### 2.3 20个葱栽培品种的聚类分析

根据 SRAP引物扩增的 336条多态性条带, 对 20个葱栽培品种进行遗传多样性分析。结果表明, 20个葱栽培品种的相似系数变幅在 0.464 (元藏与宝塔大葱)~0.938 (长宝与长崎一号) 之间, 平均遗传相似系数为 0.703, 遗传相似性为 61%。在相似系数为 0.65时, 可将 20个葱栽培品种分为 4个类群 (图 2)。第 1类群为来自日本的 8个大葱栽培品种, 其中日本铁杆大葱与其它 7个日本品种亲缘关系较远, 长宝与长崎一号之间亲缘关系最近, 但使用引物组合 Me2-Em1可将其区分开。第 2类群包括 3个分葱品种, 其中金夏香葱和万能香葱的亲缘关系较近, 与四季小葱亲缘关系较远, 万能香葱虽在表型特征方面与部分日本大葱品种相似, 但仍与金夏香葱、四季小葱聚为一类。第 3类群包括中国 8个栽培品种, 其中日本巨葱 120与宝塔大葱聚为一亚类, 其余品种聚为另一亚类。第 4类群为莱芜鸡腿葱。莱芜鸡腿葱单独聚类, 与中国大葱品种亲缘关系较远。上述结果表明, 根据 SRAP多态性的聚类分析结果与基于表型特征的分类结果基本吻合。

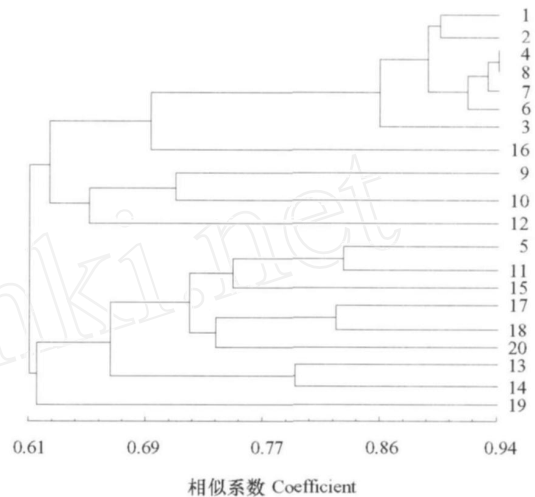


图 2 20个葱栽培品种的聚类分析图  
品种编号见表 2。

Fig. 2 The dendrogram of phylogenetic relationship of 20 cultivars of *Allium fistulosum* L. Material codes were shown in Table 2.

## 3 讨论

### 3.1 关于 SRAP的扩增效果

试验结果显示, SRAP稳定性和重复性好, 条带清晰, 扩增效果良好, 产率中等, 可以在葱类中产生多态性。但与前人研究结果相比, 试验中使用的 256对 SRAP引物组合仅产生了 336条多态性条带, 且单引物组合最多可产生 6个多态性条带, 葱栽培品种的 SRAP多态性 (平均 2.1个) 和多态性频率远低于前人对甜瓜 (Ferriol et al, 2003)、南瓜 (Ferriol et al, 2004)、棉花 (林忠旭等, 2004) 的研究结果。其原因可能在于本试验研究的为品种间遗传多样性, 而前人所探讨的是种间或亚种间遗传多样性, 而后者之间的差异远大于种内品种间的差异。

钱文成等 (2006) 研究发现, SRAP不同引物组合在检测黄瓜亲本间多态性上存在很大的差异, 并提出当试验需要增加新的 SRAP引物时, 合成正向引物以获取较稳定的扩增结果。本试验结果表明, 不同引物组合在 20个葱栽培品种之间扩增的多态性分布较为均匀, 这说明 SRAP在不同物种间显现的具体特征是不一样的。据此认为, 在葱属植物的研究中如果需要增加新的 SRAP标记, 可通过随机改变 3碱基的组成和排列方式获取新的引物, 而不需强调选择哪种引物类型。

### 3.2 SRAP的适用性分析

SRAP扩增的为 ORFs区域, 而 ORFs区域是基因序列的重要组成部分, ORF的识别决定或基本

决定了基因对应的蛋白序列, 是证明一个 DNA 序列为特定的蛋白质编码基因的部分或全部的先决条件, 亦是在不同品种之间呈现差别的重要因素 (司源等, 2005)。前人研究认为, SRAP 技术在生态型变异性和生态型进化史上比 AFLP 更具有有一致性 (Ferriol et al, 2003), 在对育种目标性状的评价方面明显优于 RAPD 标记 (Ferriol et al, 2004), 有较高的多态性标记比率 (林忠旭等, 2004), 是一个评价遗传多样性、品种鉴定和系统发生的有效工具 (Budak et al, 2004)。本研究表明, 根据 SRAP 多态性的聚类分析结果与基于表型特征的分类结果基本吻合, 说明利用 SRAP 标记评价葱品种的遗传多样性是可行的。SRAP 多态性条带清晰分明, 品种之间可以使用不同引物组合加以区分, 因此, 亦可用于葱属植物的品种鉴定。

综上所述, SRAP 标记能够在 DNA 水平上进行葱不同品种间遗传关系的分析鉴定, 通过利用更多引物对大量葱样品的试验研究, 可在分子水平上为葱品种的指纹图谱构建, 葱种质资源的鉴定、筛选和利用提供理论依据。

## References

- Brant J B, Gustavo C A, Peter M G. 1991. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. *Anal Biochem.*, 196: 80 - 83.
- Budak H, Sheaman R C, Pamaksiz I. 2004. Molecular characterization of Buffalo grass germplasm using sequence-related amplified polymorphism markers. *Theor Appl Genet*, 108: 328 - 334.
- Ferriol M, Pico B, Cordava P F. 2004. Molecular diversity of a germplasm collection of squash (*Cucurbita moschata*) determined by SRAP and AFLP markers. *Crop Science*, 44: 653 - 664.
- Ferriol M, Pico B, Nuez F. 2003. Genetic diversity of a germplasm collection of *Cucurbita pepo* using SRAP and AFLP markers. *Theor Appl Genet*, 107: 271 - 282.
- Fischer D, Bachman K. 2000. Onion microsatellites for germplasm analysis and their use in assessing intra- and interspecific relatedness within the subgenus *Rhizirideum*. *Theor Appl Genet*, 101: 153 - 164.
- Gai Shu-peng, Xie Zhen, Wang Mei, Meng Xiang-dong. 2001. Phylogenetic relationships among cultivated *Allium* species from RAPD analysis of the chloroplast genome. *Acta Horticulturae Sinica*, 28 (6): 560 - 561. (in Chinese)
- 盖树鹏, 谢震, 王美, 孟祥栋. 2001. 部分栽培葱属植物叶绿体基因组的 RAPD 分析. *园艺学报*, 28 (6): 560 - 561.
- İpek M, İpek A, Ahnquist S G, Simon P W. 2005. Demonstration of linkage and development of the first low-density genetic map of garlic based on AFLP markers. *Theor Appl Genet*, 110: 228 - 236.
- Li G, Quiros C F. 2001. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in *B. rassica*. *Theor Appl Genet*, 103: 455 - 461.
- Lin Zhong-xu, Zhang Xian-long, Nie Yi-chun. 2004. Evaluation of application of a new molecular marker SRAP on analysis of F<sub>2</sub> segregation population and genetic diversity in cotton. *Acta Genetica Sinica*, 31 (6): 622 - 626. (in Chinese)
- 林忠旭, 张献龙, 聂以春. 2004. 新型标记 SRAP 在棉花 F<sub>2</sub> 分离群体及遗传多样性评价中的适用性分析. *遗传学报*, 31 (6): 622 - 626.
- Meng Xiang-dong, Ma Hong, Zhang Wei-hua. 1998. The analysis of genetic relationship among some *Allium* cultivars determined by RAPD markers. *Chinese Biodiversity*, 6 (1): 37 - 41. (in Chinese)
- 孟祥栋, 马红, 张卫华. 1998. 利用 RAPD 技术对葱属品种遗传关系的分析. *生物多样性*, 6 (1): 37 - 41.
- Qian Wen-cheng, Zhang Gui-hua, Chen Fei-xue, Han Yi-ke, Chen De-fu, Du Sheng-li, Chen Xi-wen. 2006. Characteristics of SRAP markers in detecting polymorphism of cucumber genome. *Hereditas*, 28 (11): 1435 - 1439. (in Chinese)
- 钱文成, 张桂华, 陈飞雪, 韩毅科, 陈德富, 杜胜利, 陈喜文. 2006. SRAP 在检测黄瓜基因组多态性中的特征. *遗传*, 28 (11): 1435 - 1439.
- Ren Yu, Wang De-yuan, Zhang Yin-dong, Li Ying, Wang Heng-ming. 2004. Optimization of SRAP-PCR in hot pepper (*Capsicum annuum* L.). *Molecular Plant Breeding*, 2 (5): 689 - 693. (in Chinese)
- 任羽, 王得元, 张银东, 李颖, 王恒明. 2004. 辣椒反应体系的建立与优化. *分子植物育种*, 2 (5): 689 - 693.
- Si Yuan, Guo Yi-qi, Kong Hang-hui. 2005. Analysis of structure of ITS sequence on monocots with reticulate vein bases. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 20 (5): 54 - 56. (in Chinese)
- 司源, 郭亦琦, 孔航辉. 2005. 基于 ORF Finder 方法的植物 ITS 片段结构特点分析. *华北农学报*, 20 (5): 54 - 56.