

中国南瓜海南农家品种间的遗传特异性 分析和 DNA 指纹图谱构建

云天海¹, 郑道君², 谢良商², 邓长智¹

(¹海南省农业科学院蔬菜研究所, 海口 571100; ²海南省农业科学院农作物遗传育种重点实验室, 海口 571100)

摘要:在收集中国南瓜海南农家品种的基础上,应用 ISSR 和 SRAP 标记技术对 28 份海南农家品种间的遗传特异性进行了分析,并构建指纹图谱,为中国南瓜海南农家品种鉴定、评价、保护和利用提供科学依据。结果表明,所供试的品种间存在显著的遗传特异性,具有特殊的遗传基础或背景,所筛选的 6 个 ISSR 引物和 11 对 SRAP 引物共产生了 10 个特异标记和 11 条唯一缺失带;应用 ISSR 引物组合 UBC807/UBC814/UBC844/UBC868 和 UBC808/UBC814/UBC844/UBC868,以及 SRAP 引物组合 Me1/Em2 + Me1/Em10 + Me2/Em3 和 Me1/Em1 + Me1/Em10 + Me8/Em3 分别绘制了 4 个 28 份中国南瓜海南农家品种的 DNA 指纹图谱,所构建的 DNA 指纹图谱直观、简单。ISSR 标记和 SRAP 标记技术可有效应用于中国南瓜海南农家品种 DNA 指纹图谱的构建和遗传特异性鉴定。

关键词:中国南瓜;海南农家品种;DNA 指纹图谱;遗传特异性;ISSR 标记;SRAP 标记

Analysis of Genetic Specificity and DNA Fingerprinting Establishment for the Hainan Island Landraces of *Cucurbita moschata*

YUN Tian-hai¹, ZHENG Dao-jun², XIE Liang-shang², DENG Chang-zhi¹

(¹Vegetable Research Institute, Hainan Academy of Agricultural Sciences, Haikou 571100; ²Key Laboratory of Crop Genetics and Breeding of Hainan Province, Hainan Academy of Agricultural Sciences, Haikou 571100)

Abstract:Based on the collection of Hainan island landraces of *Cucurbita moschata*, the present study was aimed to analyze their genetic specificity and establish DNA fingerprinting for 28 landraces by inter-simple sequence repeat (ISSR) and sequence-related amplified polymorphism (SRAP), which would provide applicable guidance for identification, evaluation, protection, and utilization of Hainan island landraces of *C. moschata*. The results showed that genetic specificity was significant among the 28 landraces with special genetic background, 10 specific markers and 11 unique-lack bands scored were produced by 6 ISSR primers and 11 SRAP primer pairs. And four DNA fingerprintings for the 28 landraces were developed by two ISSR primer combinations and two SRAP primer combinations, i. e. UBC807/UBC814/UBC844/UBC868, UBC808/UBC814/UBC844/UBC868, Me1/Em2 + Me1/Em10 + Me2/Em3, Me1/Em1 + Me1/Em10 + Me8/Em3, respectively. All the DNA fingerprintings developed were intuitionistic and simple. ISSR and SRAP molecular markers could be effectively used in the analysis of genetic specificity and DNA fingerprinting establishment for the landraces of *C. moschata*.

Key words: *Cucurbita moschata*; Hainan island landrace; DNA fingerprinting; genetic specificity; ISSR marker; SRAP marker

中国南瓜(*Cucurbita moschata*)为葫芦科南瓜属中 3 个主要栽培种之一,在我国分布广泛,是我国传

统的蔬菜之一。海南岛各地均有种植中国南瓜的悠久历史,有别于内地诸多省份的丰富的热带亚热带

收稿日期:2012-11-14 修回日期:2012-12-16 网络出版日期:2013-06-07

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20130607.1741.025.html>

基金项目:国家农业部现代农业(大宗蔬菜)产业技术体系建设专项(Nyeytx-35-syz34);海南省自然科学基金项目(309022)

第一作者研究方向为蔬菜种质资源和栽培学。E-mail: hnaas2009@163.com

通信作者:郑道君,研究方向为植物资源的保护与研究利用。E-mail: daojunzh@yahoo.com.cn

农业生态环境和栽培方式,孕育了特殊而丰富的农家品种资源。收集和科学准确地鉴定中国南瓜海南岛农家品种,分析种质资源材料的遗传特异性是一项重要的育种工作。但目前鲜见有关于某一地方农家品种的鉴定和评价,也尚未见有关对中国南瓜海南岛农家品种的研究报道。

目前,国内外有关中国南瓜种质资源鉴定、评价主要从形态和 DNA 分子水平 2 个方面进行研究,但研究水平和深度远低于其他主要蔬菜。至 1995 年,我国入库保存了 1064 份中国南瓜地方品种资源^[1],但鲜见有对这些资源进行深入的整理、鉴定和评价的研究报道。杜晓华等^[2]和李新峥等^[3]、褚盼盼等^[4]、周俊国等^[5-7]、X. H. Du 等^[8]对中国南瓜自交系、中国南瓜农家品种的农艺性状和经济性状进行了评价。蔡宝炎^[9]、褚盼盼等^[10]、M. Ferriol 等^[11]采用形态学标记和分子标记技术对中国南瓜品种进行了遗传多样性分析和评价。C. Gwanama 等^[12]则仅用 RAPD 标记技术对 31 份非洲南部本地的中国南瓜资源遗传多样性评价。以分子标记为基础的 DNA 指纹图谱可从分子水平上对品种进行快速、准确的鉴定,克服了传统形态标记鉴定周期长、易受客观环境和主观因素影响、可用标记少而鉴定能力有限的缺点,是科学、准确地鉴定种质资源的主要手段

表 1 28 份中国南瓜海南农家品种的编号、产地和果实形态

Table 1 Serial number, location, and fruit shape of 28 Hainan island landraces of *C. moschata*

编号	产地	果实形态	编号	产地	果实形态
No.	Location	Fruit shape	No.	Location	Fruit shape
海 1	海口市琼山龙桥	长弯筒形	海 18	白沙牙叉	长圆筒形
海 2	三亚荔枝沟	棒锤形	海 19	保亭保城	长弯筒形
海 3	海口市琼山龙桥	扁圆形	海 20	保亭保城	棒锤形
海 4	文昌冯坡	棒锤形	海 21	屯昌屯城	棒锤形
海 5	五指山南圣	球形或梨形	海 22	定安定城	扁圆形
海 6	定安黄竹	椭圆形	海 23	琼中上安乡	球形
海 7	昌江石碌	棒锤形	海 24	琼中上安乡	梨形
海 8	定安黄竹	球形	海 25	琼中上安乡	梨形
海 9	昌江石碌	棒锤形	海 26	琼中上安乡	梨形
海 10	定安黄竹	球形	海 27	琼中上安乡	长把梨形
海 11	万宁和乐	棒锤形	海 28	琼中上安乡	长筒
海 12	临高多文	长圆筒形	海 29	东方大田	扁圆形
海 13	儋州	长圆筒形	海 30	陵水陵城	长圆筒形
海 17	白沙牙叉	梨形	海 31	澄迈福山	棒锤形

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取 于苗期取上述供试材料的嫩叶各 1 g 用于总 DNA 提取。DNA 的提取按照梁远发等^[14]的方法进行。

1.2.2 PCR 扩增及产物检测 反应在 icycler™ Thermal Cycler 型 PCR 仪上进行。SRAP-PCR 反应条件和反应程序按照 M. Ferriol 等^[11]的方法进行,

之一。但是有关包括中国南瓜在内的南瓜属栽培种指纹图谱构建的研究,仅见刘泽发^[13]应用 SRAP 标记和 RSAP 标记构建了 4 个印度南瓜 (*C. maxima* L.) 品种的 DNA 指纹图谱的报道。

本研究拟利用 ISSR 和 SRAP 标记对 28 份中国南瓜海南农家品种资源间的遗传特异性进行分析鉴定,建立 DNA 指纹图谱,为中国南瓜海南农家品种遗传资源鉴定与评价、品种的保护和利用、分子辅助育种等提供科学依据或有益参考。本研究也是首次对中国南瓜品种进行 DNA 指纹图谱构建,其研究结果也将为更多中国南瓜品种的 DNA 指纹图谱构建提供借鉴。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为 2009—2010 年在海南省 16 个市(县)收集的 28 个中国南瓜农家品种(表 1),均保存在海南省农业科学院蔬菜研究所种质资源保存中心,并进行了连续 3 代的单株自交繁殖和形态学观察,其后代的生物学性状表现相对稳定。这些品种在海南省不同地区或生态环境下被当地农民长期自繁种植。为了便于管理和利用,本中心对收集到的 28 个品种统一编号入库,详见表 1。

引物为 G. Li 等^[15]发表的序列。ISSR-PCR 反应条件和反应程序按照 H. A. Heikal 等^[16]的方法进行,引物为加拿大哥伦比亚大学公布的 UBC 系列引物。引物均由上海英骏生物技术有限公司合成。

取 10 μL 扩增产物,用 1.4% 和 2.0% 琼脂糖凝胶电泳分别检测 ISSR-PCR 和 SRAP-PCR 的产物, GoodView 核酸染色,在 Gel Doc XR 型凝胶成像分析

系统下照相并记录。以 3 S 100 bp DNA ladder 作为对照分子量标准。

1.2.3 数据统计分析 采用人工读带的方法,根据 PCR 扩增产物的电泳结果,在凝胶的某个相同迁移率位置上有 DNA 条带的记为 1,无 DNA 条带的记为 0,获得每个引物的 Excel 0-1 矩阵。扩增片段大小参照 DNA ladder 估测,扩增片段编号由引物编号加片段大小组成。分别统计分析各品种的特异标记、唯一缺失带以及单一引物(或单对引物)的特征谱带。使用标记位点的 Jaccard 遗传相似系数和品种聚类区分率(RDCC, rate of distinguishing cultivars by cluster)鉴别引物^[17]。RDCC = $(N - N_i) / N$, N_i 为无法区分品种数, N 为品种总数。Jaccard 遗传相似系数通过 NTSYSpc 2.02 软件实现。筛选出最佳引物组合后,根据 0-1 矩阵在 Excel 中绘制胶板图的

标准化图以构建 DNA 指纹图谱。

2 结果与分析

2.1 引物筛选及扩增结果

在供试的品种中选取形态差异较大的材料,对 ISSR 引物、SRAP 引物组合进行有效性筛选。最终分别筛选出扩增条带清晰、重复性强的 6 个 ISSR 引物和 11 对 SRAP 引物。筛选出的引物应用于 28 份中国南瓜海南农家品种的遗传特异性分析和指纹图谱构建,其扩增结果见表 2。其中 6 个 ISSR 引物分别扩增出 5 ~ 20 个条带,扩增片段大小在 250 ~ 3000 bp 之间,多态性百分率在 37.5% ~ 100% 之间;11 对 SRAP 引物分别扩增出 5 ~ 16 个条带,扩增片段大小在 120 ~ 2500 bp 之间,多态性百分率在 36.7% ~ 100% 之间。

表 2 6 个 ISSR 引物和 11 对 SRAP 引物组合及其在 28 个中国南瓜海南农家品种中的扩增结果

Table 2 6 ISSR primers and 11 SRAP primer pairs selected and their results amplified in 28 Hainan island landraces of *C. moschata*

编号 No.	引物序列(5'-3')		扩增总条带 Total bands produced	多态性条带 Total polymorphic bands	多态性百分率(%) Polymorphic rate
	Primer sequence				
ISSR 引物					
UBC807	AGAGAGAGAGAGAGACT		12	8	66.7
UBC808	AGAGAGAGAGAGAGAGC		12	6	50.0
UBC814	CTCTCTCTCTCTCTCTA		8	3	37.5
UBC844	CTCTCTCTCTCTCTCTRC		6	5	83.3
UBC855	ACACACACACACACACYT		5	5	100.0
UBC868	GAAGAAGAAGAAGAAGAA		20	14	70.0
SRAP 引物组合					
	正向引物				
	反向引物				
Me1-Em1	TGAGTCCAAACCGGATA	GACTGCGTACGAATTAAT	5	4	80.0
Me1-Em2	TGAGTCCAAACCGGATA	GACTGCGTACGAATTTGC	14	8	57.2
Me1-Em4	TGAGTCCAAACCGGATA	GACTGCGTACGAATTTGA	13	9	69.0
Me1-Em8	TGAGTCCAAACCGGATA	GACTGCGTACGAATTAGC	5	5	100.0
Me1-Em10	TGAGTCCAAACCGGATA	GACTGCGTACGAATTTAG	13	11	84.6
Me2-Em2	TGAGTCCAAACCGGAGC	GACTGCGTACGAATTTGC	6	5	83.3
Me2-Em3	TGAGTCCAAACCGGAGC	GACTGCGTACGAATTGAC	16	6	37.5
Me2-Em10	TGAGTCCAAACCGGAGC	GACTGCGTACGAATTTAG	10	5	50.0
Me8-Em3	TGAGTCCAAACCGGTGT	GACTGCGTACGAATTGAC	13	11	84.6
Me8-Em5	TGAGTCCAAACCGGTGT	GACTGCGTACGAATTAAC	14	5	36.7
Me8-Em8	TGAGTCCAAACCGGTGT	GACTGCGTACGAATTAGC	13	10	76.9

2.2 品种间的遗传特异性分析

2.2.1 特异标记 6 个 ISSR 引物共产生 3 个特异标记,其中引物 UBC808 在海 18 和海 31 分别产生特异标记 UBC808-1000 和 UBC808-250,引物 UBC868 在海 20 产生特异标记 UBC868-2500。3 对 SRAP 引物组合在 4 个品种上共产生 7 个特异标记,其中 Me8/Em3 组合分别在海 18、海 29 和海 30 获得特异标记 Me8/Em3-1000、Me8/Em3-350 和 Me8/Em3-650;Me8/Em5 组合在海 30 上产生特异标记

Me8/Em5-1800 和 Me8/Em5-2500,在海 18 上获得特异标记 Me8/Em5-980;Me8/Em8 在海 21 上产生特异标记 Me8/Em8-2000(表 3)。

除了上述特异标记外,还有不少引物在不同品种间产生唯一缺失带,即某一谱带仅在某一品种上缺失,这种谱带类似于特异标记,仅用一条唯一缺失带便可鉴别某一特定品种。3 个 ISSR 引物在海 1、海 8 和海 18 上各产生 1 条唯一缺失带,分别为 UBC868-1100、UBC855-1000 和 UBC844-1500。有 6

对 SRAP 引物组合产生唯一缺失带,其中海 8 的唯一缺失带最多,有 3 条,分别为 Me1/Em1-1000、Me1/Em4-850、Me1/Em8-1200。条带 Me1/Em4-

400、Me1/Em4-1100、Me1/Em10-2100、Me2/Em2-2000 和 Me2/Em3-1300 分别在海 1、海 23、海 24、海 29 和海 30 上唯一缺失。

表 3 ISSR 和 SRAP 引物扩增产生的特异标记、唯一缺失带和特征谱带

Table 3 The specific marker, unique-lack band and typical bandmap amplified by ISSR and SRAP primers

编号 No.	特异标记 Specific markers		唯一缺失带 Unique-lack bands		用于指纹图谱 分析的条带数 The band number used for developing DNA fingerprinting	特征谱带 Typical bandmaps	
	带型 Band type	相应品种 Landrace	带型 Band type	相应品种 Landrace		数量 Numbers	鉴别品种 Identified landrace
ISSR 引物							
UBC807					2		
UBC808	UBC808-1000	海 18			4	2	海 18、海 31
	UBC808-250	海 31					
UBC814					3	1	海 11
UBC844			UBC844-1500	海 18	6	5	海 8、海 18、海 20、 海 27、海 28
UBC855			UBC855-1000	海 8	5	5	海 2、海 6、海 8、 海 9、海 30
UBC868	UBC868-2500	海 20	UBC868-1100	海 1	5	1	海 20
SRAP 引物组合							
Me1-Em1			Me1/Em1-1000	海 8	5	4	海 8、海 23、 海 27、海 30
Me1-Em2					5	7	海 8、海 17、海 18、 海 19、海 20、 海 27、海 31
Me1-Em4			Me1/Em4-850	海 8			
			Me1/Em4-400	海 1			
			Me1/Em4-1100	海 23			
Me1-Em8			Me1/Em8-1200	海 8	4	2	海 8、海 30
Me1-Em10			Me1/Em10-2100	海 24	9	15	海 2、海 3、海 5、海 6、 海 11、海 12、海 13、 海 21、海 23、海 24、 海 25、海 27、海 26、 海 30、海 31
Me2-Em2			Me2/Em2-2000	海 29	3	3	海 8、海 19、海 29
Me2-Em3			Me2/Em3-1300	海 30	3	1	海 30
Me2-Em10					2	1	海 30
Me8-Em3	Me8/Em3-1000	海 18			6	4	海 18、海 20、 海 29、海 30
	Me8/Em3-650	海 30					
	Me8/Em3-350	海 29					
Me8-Em5	Me8/Em5-2500	海 30					
	Me8/Em5-1800	海 30					
	Me8/Em5-980	海 18					
Me8-Em8	Me8/Em8-2000	海 21			3	4	海 6、海 18、 海 23、海 31

2.2.2 单一引物的特征谱带 为了保证指纹图谱的可重复性和简单易于辨析,本研究对所获得的扩增产物进行了筛选,去除低重复性弱带和难于统计的扩增条带,其结果见表 3。从 6 条 ISSR 引物和 11 对 SRAP 引物组合的扩增带条中分别筛选出 25 个

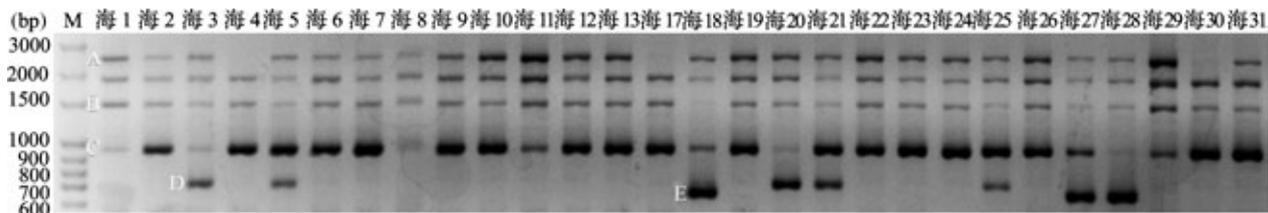
和 40 个条带用于指纹图谱分析,其中 22 个品种具有特征谱带,仅用 1 个特征引物即可与其他品种区分开。由表 3 可知,引物 UBC 807 没有产生特征谱带,而 Me1/Em10 引物组合获得的特征谱带最多,能区分 15 个品种,品种聚类区分率(RDCC)达到

53.6%,表明该引物不仅多态性丰富,且特征谱带也多,在进行品种指纹鉴定时可优先采用。所选引物或引物组合对所有供试的品种进行扩增,其中海3、海5、海9、海12、海13、海17、海21、海24、海25、海26、海28具有1个特征引物,海2、海11、海19、海23、海29具有2个特征引物,海6、海27、海31具有3个特征引物,海20和海18分别具有4个和5个特征引物,海8和海30具有的特征引物最多,均为6个,而海1、海4、海7、海10、海14和海22没有特征引物。

2.3 指纹图谱构建

从以上分析可见,无论是特异标记或唯一缺失带,还是所筛选的任意单一(对)引物,均无法

完全区分所有供试的品种,构建28个品种指纹图谱必须由不同引物组合完成,部分扩增结果见图1、图2。根据最小差异原则,基于ISSR标记,选用UBC807/UBC814/UBC844/UBC868和UBC808/UBC814/UBC844/UBC8682组均是由4个引物组成的引物组合,可将供试的28个品种全部区分开来,构建了2张ISSR标记指纹图谱,这2张ISSR标记指纹图谱的谱带数均为17个;选用Me1/Em2+Me1/Em10+Me2/Em3和Me1/Em1+Me1/Em10+Me8/Em32组均可将供试的28个品种全部区分开来,构建了2张SRAP标记指纹图谱,它们的谱带数分别为16个和20个(图3)。

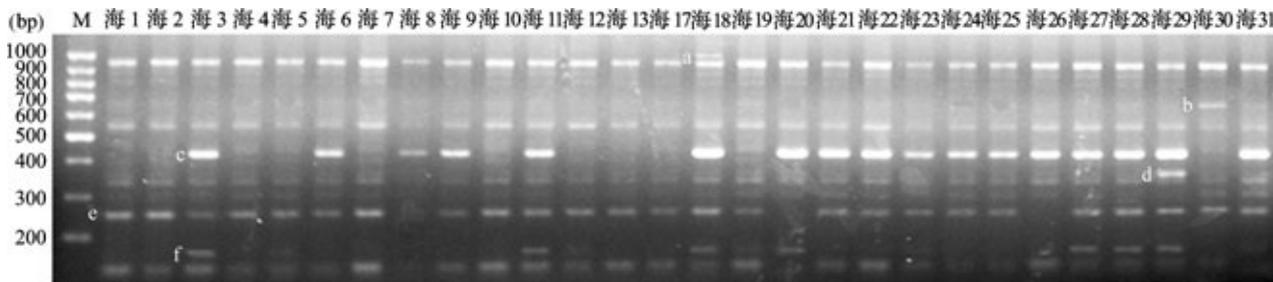


A、B、C、D 和 E 为 UBC844 引物用于指纹图谱分析的条带,分别代表 UBC844-2800、UBC844-1500、UBC844-950、UBC844-750 和 UBC844-700

A, B, C, D, and E were selected for analysis of DNA fingerprinting represented the bands of UBC844-2800, UBC844-1500, UBC844-950, UBC844-750, and UBC844-700, respectively

图1 ISSR 引物 UBC844 的扩增结果

Fig. 1 The amplification result of UBC844



a、b、c、d、e 和 f 为 Me8/Em3 用于指纹图谱分析的条带,分别代表 Me8/Em3-1000、Me8/Em3-650、Me8/Em3-450、Me8/Em3-350、Me8/Em3-250 和 Me8/Em3-180

a, b, c, d, e, and f were selected for analysis of DNA fingerprinting represented the bands of Me8/Em3-1000, Me8/Em3-650, Me8/Em3-450, Me8/Em3-350, Me8/Em3-250, and Me8/Em3-180, respectively

图2 SRAP 引物组合 Me8/Em3 的扩增结果

Fig. 2 The amplification result of Me8/Em3

3 讨论

中国南瓜适应性强,在我国具有悠久的栽培历史,在多种栽培形式和多样的农业生态条件下,经长期自然选择及人工选择,不同地区的种质间差异明显,形成了大量的农家品种,具有丰富的品种资源,这为种质创新和新品种选育提供了良好的遗传基础。另一方面,在培育新品种时,由于少

数骨干亲本的集中使用,使得育成品种间的遗传差异越来越小。充分利用丰富的农家品种资源为中国南瓜品种改良、新品种选育提供遗传资源显得极为迫切和重要。在收集农家品种资源的基础上,分析品种间的遗传特异性,建立 DNA 指纹图谱以科学、快速地鉴定农家品种,对中国南瓜农家品种的遗传资源评价和利用具有重要意义,同时也有利于品种的保护。

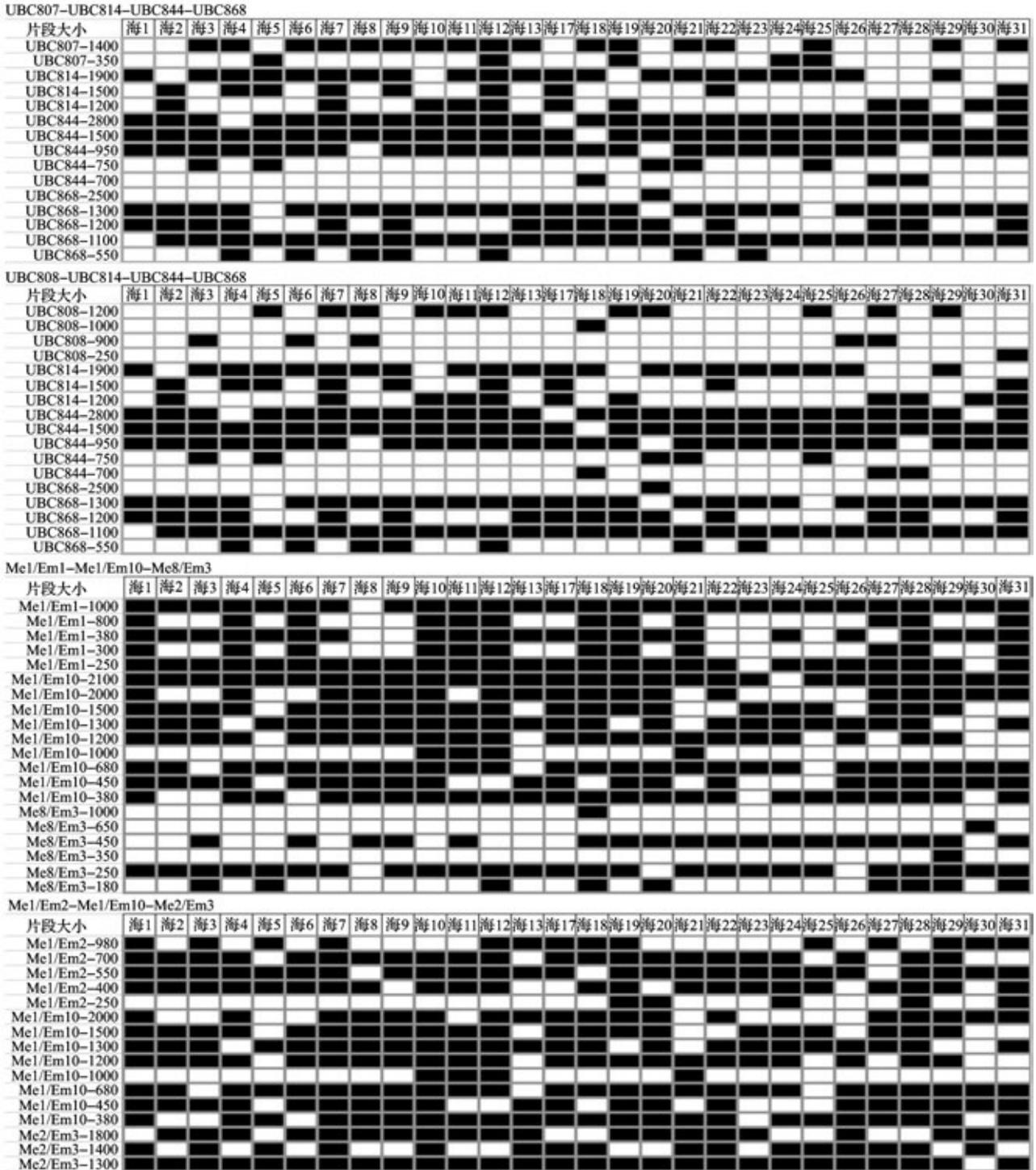


图3 基于 ISSR 和 SRAP 标记构建的 4 个 28 份中国南瓜海南农家品种的 DNA 指纹图谱

Fig. 3 Four DNA fingerprintings for 28 Hainan Island landraces of *C. moschata* developed by ISSR and SRAP markers

ISSR 标记和 SRAP 标记技术由于其引物的通用性、操作简单、扩增谱带多态性丰富且易于辨别统计、重复性好、费用相对低廉等优点,已被广泛应用于不同作物的 DNA 指纹图谱研究,并证明其在 DNA 指纹图谱构建中的可行性^[18-24]。本研究分别仅用 4 个 ISSR 引物组合和 3 个 SRAP 引物组合,每组引物组合 16 ~ 20 个标记便能把所有供试品种区

分,所构建指纹图谱直观、清晰、简单。可见,ISSR 标记和 SRAP 标记技术可有效应用于中国南瓜品种 DNA 指纹图谱的构建。

利用分子标记构建 DNA 指纹图谱,遵循的原则之一是可重复和简单,以降低成本和提高检测效率。因此所选谱带必须具有高度重复性、简单易于辨析且具有多态性和特异性,对于重复性差的弱带和难

于统计扩增带应去除。在本研究中,为了保证所构建的指纹图谱的重复性和易于辨析,对所获得的多态性条带进行了严格的筛选,仅选用其中的小部分用于指纹图谱的构建。唯一性是 DNA 指纹图谱的终极目标。由此产生了构建 DNA 指纹图谱理想的特异标记法和单个(对)引物的特征谱带法。但是由于研究对象的遗传背景、供试材料份数及其所选引物的多态性和特异性等因素的影响与限制,在构建 DNA 指纹图谱过程中,往往用 1 个或 1 对引物达不到唯一性这个要求。本研究所获得的 6 个 ISSR 引物和 11 对 SRAP 引物分别共产生的 3 个和 7 个特异标记,以及唯一缺失带 3 条和 8 条,这些标记和条带仅分布于供试 28 个品种中的 10 个品种;而产生特征谱带最多的引物为 Me1-Em10,可区分 15 个品种。因此构建供试品种的指纹图谱必须选用不同引物间的相互组合法。最终本着最小差异原则,本研究选出了最佳引物组合构建了 4 个中国南瓜海南农家品种的 DNA 指纹图谱,这为海南农家品种鉴定和资源的保护与利用打下良好的基础。但是, DNA 指纹图谱的唯一性是暂时的。有限的引物只能适用于一定数量的样本群体,随着待鉴定品种的不断增多,本研究中筛选的引物组合可能无法鉴别,此时应采用更多的多态性引物组合或筛选新的分子标记将其区分开,以补充和扩展本研究建立的 DNA 指纹图谱。

此外,本研究所选的引物在 10 个品种中产生了特异标记和唯一缺失带,如海 8 和海 18 的标记最多,均为 4 个。获得特异标记说明品种的遗传特异性显著,具有特殊遗传基础或背景,可能具有较好的利用价值。这些标记可能与品种间的形态特征、品质或抗病性等相关,尤其是对于 SRAP 标记而言。SRAP 标记正向引物设计的目的是为了特异结合开放阅读框(ORFs)区域的外显子,外显子是转录序列,它提供的信息比其他标记更接近于形态学性状的差异^[24-26]。有关中国南瓜海南农家品种评价方面的研究,本课题组已从营养品质、表型多样性和 DNA 水平的遗传多样性等方面进行了系统的研究,其结果将另文发表。

参考文献

- [1] 戚春章,胡是麟,漆小泉. 中国蔬菜种质资源的种类及分布[J]. 作物品种资源,1997(1):1-5
- [2] 杜晓华,李新峥,冯应亮. 中国南瓜主要农艺性状的相关及灰色关联分析[J]. 江苏农业学报,2009,25(4):851-855
- [3] 李新峥,杜晓华,孙涌栋,等. 中国南瓜主要经济性状的灰色关联分析[J]. 东北农业大学学报,2009,40(11):38-42
- [4] 褚盼盼,向长萍,邓正猛. 中国南瓜主要产量相关性状的灰色系统分析[J]. 中国蔬菜,2009(22):70-73
- [5] 周俊国,赵师成,李新峥,等. 中国南瓜地方品种资源主要经济性状的评价[J]. 北方园艺,2010(10):1-4
- [6] 周俊国,扈惠灵,李新峥,等. 对 24 份中国南瓜农家品种资源种子和幼苗性状的评价[J]. 种子,2010,29(5):59-62
- [7] 周俊国,李新峥,朱月林,等. 蔓生型南瓜资源部分植物学数量性状的评价探讨[J]. 植物遗传资源学报,2007,8(1):30-34
- [8] Du X H, Sun Y D, Li X Z, et al. Genetic divergence among inbred lines in *Cucurbita moschata* from China[J]. Sci Hortic, 2011, 127(3):207-213
- [9] 蔡宝炎. 32 份中国南瓜种质资源的遗传多样性研究[D]. 武汉:华中农业大学,2006
- [10] 褚盼盼,向长萍,张称心,等. 中国南瓜种质资源农艺性状与 RAPD 标记分析[J]. 核农学报,2007,21(5):441-446
- [11] Ferriol M, Picó B, Fernández de Córdova P, et al. Molecular diversity of a germplasm collection of Squash (*Cucurbita moschata*) determined by SRAP and AFLP Markers[J]. Crop Sci, 2004, 44: 653-664
- [12] Gwanama C, Labuschagne M T, Botha A M. Analysis of genetic variation in *Cucurbita moschata* by random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers[J]. Euphytica, 2000, 113(1):19-24
- [13] 刘泽发. 印度南瓜(*C. maxima* L.) 品种指纹图谱构建及其在种子纯度检测中的应用[D]. 长沙:湖南农业大学,2009
- [14] 梁远发,郑道君,刘国民,等. 一种适用于木犀科苦丁茶的高效 DNA 提取法[J]. 中国农学通报,2008,24(3):44-47
- [15] 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
- [16] Heikal H A, Abdel-Razzak H S, Hafez E E, et al. Assessment of genetic relationships among and within *Cucurbita* species using RAPD and ISSR markers[J]. J Appl Sci Res, 2008, 4(5):515-525
- [17] 刘新龙,马丽,陈学宽,等. 云南甘蔗自育品种 DNA 指纹身份证构建[J]. 作物学报,2010,36(2):202-210
- [18] 王晓飞,陈建华,梁明宝,等. 苕麻种质资源分子身份证构建的初步研究[J]. 植物遗传资源学报,2010,11(6):802-805
- [19] Prevost A, Wilkinson M J. A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars[J]. Theor Appl Genet, 1999, 98:107-112
- [20] 徐宗大,赵兰勇,张玲,等. 玫瑰 SRAP 遗传多样性分析与品种指纹图谱构建[J]. 中国农业科学,2011,44(8):1662-1669
- [21] 葛亚英,张飞,沈晓岚,等. 丽穗凤梨 ISSR 遗传多样性分析与指纹图谱构建[J]. 中国农业科学,2012,45(4):726-733
- [22] Liu L W, Zhao L P, Gong Y Q, et al. DNA fingerprinting and genetic diversity analysis of late-bolting radish cultivars with RAPD, ISSR and SRAP markers[J]. Sci Hortic, 2008, 116(3):240-247
- [23] 刘本英,王丽鹭,周健,等. 云南大叶种茶树种质资源 ISSR 指纹图谱构建及遗传多样性分析[J]. 植物遗传资源学报, 2008, 9(4):458-464
- [24] 齐兰,王文泉,张振文,等. 利用 SRAP 标记构建 18 个木薯品种的 DNA 指纹图谱[J]. 作物学报,2010,36(10):1642-1648
- [25] Fu X P, Ning G G, Gao L P, et al. Genetic diversity of *Dianthus* accessions as assessed using two molecular marker systems (SRAPs and ISSRs) and morphological traits[J]. Sci Hortic, 2008, 117:263-270
- [26] Espósito M A, Martin E A, Cravero V P, et al. Characterization of pea accessions by SRAP's markers[J]. Sci Hortic, 2007, 113:329-335