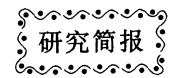


DOI: 10.3724/SP.J.1006.2009.01936



应用 SRAP 标记分析黑芝麻核心种质遗传多样性

车卓^{1,2} 张艳欣^{1,**} 孙建¹ 张秀荣^{1,*} 尚勋武² 王化俊²

¹ 中国农业科学院油料作物研究所, 湖北武汉 430062; ² 甘肃农业大学 / 甘肃省作物遗传改良与种质创新重点实验室, 甘肃兰州 730070

摘要: 利用 SRAP 分子标记技术对中国芝麻资源核心收集品中的黑芝麻种质进行遗传多样性分析。结果表明, 13 对引物组合对 100 份黑芝麻核心种质共扩增出稳定清晰的条带 182 条, 其中多态性条带 126 条, 占 69.2%, 每对引物组合的条带数和多态性条带数分别为 14.0 个和 9.7 个; 供试材料间成对遗传相似系数介于 0.469~0.986, 平均为 0.726, 通过 UPGMA 法, 在遗传相似系数为 0.68 处可将供试材料聚为 5 个类群, 表明黑芝麻核心种质具有较丰富的遗传多样性, 聚类结果与地理分布没有明显的关系; 遗传多样性指数是南方黑芝麻核心种质(0.3557) > 中部种质(0.3415) > 北方种质(0.2986)。本研究结果较全面反映了中国保存的黑芝麻种质资源遗传多样性特点, 为我国黑芝麻资源进一步考察收集和引进, 以及优异黑芝麻基因资源挖掘和育种利用提供了理论依据。

关键词: 黑芝麻; 核心种质; SRAP; 遗传多样性

Genetic Diversity Analysis of Black Sesame (*Sesamum indicum* DC) Core Collection of China Using SRAP Markers

CHE Zhuo^{1,2}, ZHANG Yan-Xin^{1,**}, SUN Jian¹, ZHANG Xiu-Rong^{1,*}, SHANG Xun-Wu², and WANG Hua-Jun²

¹ Oil Crops Research Institute of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430062, China; ² Gansu Agricultural University / Gansu Key Laboratory of Crop Genetic Improvement and Germplasm Enhancement, Lanzhou 730070, China

Abstract: China has a long history and rich germplasm resources for growing black sesame. Black sesame is well used because of its nutrition superior to black rice and black soybean. However, Research on black sesame is relatively less than that on other crops. In the paper, genetic diversity of black sesame core collection of China was analyzed using SRAP (sequence-related amplified polymorphism) markers. The results showed that 13 SRAP primer combinations were employed to evaluate the genetic diversity of 100 black sesame accessions, a total of 182 amplified fragments were detected and 126 of them were polymorphic, the polymorphism percentage was 69.2%, the number of amplified fragments and polymorphic fragments of each primer combination were 14.0 and 9.7, respectively. The 100 accessions were grouped into five clusters at genetic similarity of 0.68, indicating the genetic diversity of these accessions was abundant. As regards geographic regions, Shannon's information index of black sesame accessions in south China (0.3557) was the highest, the followings were that in central regions of China (0.3415) and north China (0.2986). The characteristics of genetic diversity of black sesame core collection of China were fully revealed in this study, which provided the theoretical foundations for further exploring, collecting and introducing black sesame germplasm as well as mining and utilizing excellent black sesame germplasm in the future.

Keywords: Black sesame; Core Collection; SRAP; Genetic diversity

黑芝麻在我国种植历史悠久, 资源丰富, 有很高的营养价值, 但对其种质资源研究目前仅见表型方面的少量报道^[3-4]。利用分子标记技术能对种质资源进行准确、科学的鉴定和评价, 可为资源保存和育种等工作提供可靠依据。

近年来, 基于基因组检测的 DNA 分子标记已应用于芝麻遗传变异的研究^[5-12]。Bhat 等^[5]用 RAPD 标记对 38 份种植于不同国家的芝麻材料进行分析, 表明供试材料间具有较高的遗传多样性; Kim 等^[6]利用 14 对 ISSR 引物分析了 75 份来自韩国和其他国家的芝麻资源的多样性;

本研究由国家科技基础条件平台项目(2005DKA21001-20), 国家科技支撑计划项目(2006BAD13B05-2), 农业部物种保护项目(NB08-2130135-34,35)资助。

* 通讯作者(Corresponding author): 张秀荣, E-mail: zhangxr@oilcrops.cn

第一作者联系方式: E-mail: chezhuo1110@163.com ** 共同第一作者

Received(收稿日期): 2009-01-14; Accepted(接受日期): 2009-04-23.

Laurentin 等^[8]利用 AFLP 分子标记分析了 32 份芝麻种质资源的遗传差异, 利用 8 对引物在 457 个位点扩增出条带, 93% 的具有多态性; 张秀荣等^[11]利用 RAPD 分子标记方法, 选取 14 个随机引物, 对我国 19 份芝麻种质资源进行了遗传多样性分析。Li 等^[13]于 2001 年开发出了一种新的基于 PCR 的 SRAP (sequence-related amplified polymorphism) 标记, 该标记具备 RFLP、RAPD、SSR 和 AFLP 等分子标记的优点, 已得到广泛应用。本研究旨在从 DNA 水平上揭示我国黑芝麻资源的遗传多样性特点, 为我国黑芝麻育种和种质资源的开发利用提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

中国芝麻核心收集品(共 453 份, 包含国内 422 份、国外 31 份)中的全部黑芝麻种质 100 份(国内 92 份, 国外 8 份), 种子来源于国家油料种质资源中期库(中国农业科学院油料作物研究所, 湖北武汉)^[14]。

1.2 DNA 提取与纯度检测

取幼嫩的黑芝麻叶片按照 Doyle^[15]的 CTAB 改良法提取黑芝麻基因组总 DNA, 用 RNaseA 消化除去 RNA, 0.6% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 完整性, 采用紫外分光核酸测定仪测定 DNA 质量和浓度, 并计算样品 DNA 浓度, 稀释至 20 ng μL^{-1} , -20°C 保存备用。

1.3 PCR 扩 增

根据 Li 等^[13]设计 SRAP 引物的原则, 设计正反向引物各 11 条(表 1), 由上海生工生物工程技术服务有限公司合成。本实验对芝麻 SRAP-PCR 反应体系进行了优化并确立了最优体系(15 μL): 10 mmol L^{-1} dNTPs 0.30 μL , 25 mmol L^{-1} Mg^{2+} 1.20 μL , 正反引物各 50 ng, DNA 模板 80 ng, 10 \times buffer 1.5 μL , 1 U *Taq* DNA 聚合酶(购自 MBI 生物工程公司)^[16]。参照 Li 等^[13] PCR 程序, 94 $^{\circ}\text{C}$ 3 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 35 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 72 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 共 5 个循环; 94 $^{\circ}\text{C}$ 1 min,

50 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 72 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 共 35 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。参照 Bassam 等^[17]的方法用 6% 的聚丙烯酰胺凝胶分离 PCR 扩增产物和银染显影, 电泳设备为北京六一的 DYY-12 型电泳仪和 DYCZ-20C 电泳槽, 电泳缓冲液为 0.5 \times TBE, 恒定功率为 80 W, 预电泳 30 min 左右, 至玻璃温度达到 50 $^{\circ}\text{C}$ 。取上样缓冲液(98% 去离子甲酰胺, 10 mmol L^{-1} EDTA, 0.05% 溴酚蓝, 0.05% 二甲苯青) 8 μL 加入 SRAP 扩增产物, 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 5 min, 迅速以冰水混合物冷却, 防止复性。每样品各取 3 μL , 上样于 6% 的聚丙烯酰胺凝胶上, 电泳至二甲苯青距离胶板底部 10 cm 为佳。

1.4 数据统计与分析

统计清晰的 SRAP 扩增条带, 以相同迁移位置上有带记 1, 无带记 0, 缺失记-, 建立数据库。用 NTSYS-pc2.10 分析软件进行数据分析, 利用 SimQual 程序求 Nei-Li 相似性系数矩阵, 用 SAHN 程序中的 UPGMA 方法进行聚类分析并生成聚类图; 利用 POPGENE1.32 软件计算群体的 Shannon 遗传多样性指数。

2 结果与分析

2.1 SRAP 多态性分析

利用表 1 所列的正反引物各 11 条, 随机组合 50 对 SRAP 引物对 6 个随机挑选的黑芝麻材料的 DNA 进行扩增, 其中有效扩增引物 29 对。选其中扩增条带易于识别、带型清晰, 且都具有多态性的 13 对引物对供试材料进行分析。结果表明, 13 对引物共扩增出 182 条带, 平均每对引物 14.0 条, 其中多态性带共 126 条, 平均每对引物 9.7 条。各引物产生的多态性带比例为 40.0%~90.0%, 平均 69.2%(表 2)。图 1 为引物组合 Me09/Em06 的扩增结果的截图。

2.2 遗传多样性分析

利用所得到 182 个 SRAP 标记对 100 份供试材料之间的遗传相似系数(GS)进行分析, 结果表明, 黑芝麻核心

表 1 SRAP 分析所用的引物及其序列
Table 1 SRAP primers sequences

正向引物 Forward primer (5'-3')		反向引物 Reverse primer (5'-3')	
引物编号 Primer code	引物序列 Primer sequence	引物编号 Primer code	引物序列 Primer sequence
Me01	TGAGTCAAACCGGATA	Em01	GACTGCGTACGAATTAAT
Me02	TGAGTCAAACCGGAGC	Em02	GACTGCGTACGAATTTGC
Me03	TGAGTCAAACCGGAAT	Em03	GACTGCGTACGAATTGAC
Me04	TGAGTCAAACCGGACC	Em04	GACTGCGTACGAATTTGA
Me05	TGAGTCAAACCGGAAG	Em05	GACTGCGTACGAATTAAC
Me06	TGAGTCAAACCGGTAA	Em06	GACTGCGTACGAATTGCA
Me07	TGAGTCAAACCGGTCC	Em07	GACTGCGTACGAATTCAA
Me08	TGAGTCAAACCGGTGC	Em08	GACTGCGTACGAATTCTG
Me09	TGAGTCAAACCGGACG	Em09	GACTGCGTACGAATTCGA
Me10	TGAGTCAAACCGGACT	Em10	GACTGCGTACGAATTCAG
Me11	TGAGTCAAACCGGAGG	Em11	GACTGCGTACGAATTCCA

表 2 SRAP 引物组合及扩增结果

引物组合 Primer combination	总位点数 Total locus	多态性位点数 Polymorphic locus	多态性比率 Percentage of poly- morphic locus (%)
Me01/Em01	10	9	90.0
Me01/Em02	11	9	81.8
Me02/Em02	11	6	54.6
Me02/Em03	8	6	75.0
Me03/Em02	14	11	78.6
Me06/Em05	10	4	40.0
Me07/Em06	26	12	46.2
Me08/Em04	14	10	71.4
Me08/Em05	23	17	73.9
Me09/Em04	11	6	54.6
Me09/Em06	14	10	71.4
Me09/Em08	16	14	87.5
Me10/Em10	14	12	85.7
总计 Total	182	126	-
平均 Average	14.0	9.7	69.2

种质间的成对遗传相似系数范围为 0.469~0.986, 平均为 0.726, 表明黑芝麻核心种质具有较丰富的遗传多样性。遗传差异最小的是来自湖北的炭芝麻和浙江的黑芝麻(GS 为 0.986), 来自安徽的大演黑和广西的新和黑芝麻遗传差异最大(GS 为 0.4688), 亲缘关系最远。

采用非加权平均法(UPGMA)进行聚类分析, 构建亲缘关系树状图(图 2), 在遗传相似系数 0.68 处可将所有供试材料划分为 5 个类群。类群 I, 包括 72 份来源不同的材料, 平均 GS 为 0.820, 表明该组黑芝麻核心种质具有较高的遗传相似性, 亲缘关系较近; 类群 II, 共有 6 份材料, 分别是中国福建芝麻 13 (聚类图中编号, 下同)、湖北黑芝麻 37、山东新编五号 59 和四川黑芝麻 79, 以及中国浙江

的四棱芝麻 89 和多枝黑芝麻 92, 平均 GS 为 0.736; 类群 III, 有 9 份材料, 分别是中国河北黑芝麻 32、海南黑芝麻 29、湖北黑芝麻 40、云南包萁种 81、中国台湾芝麻 84、阿联“24-1”94、日本 TKV-306(20)96、韩国 662(30)97 及刚果野芝麻 100, 平均 GS 为 0.767; 类群 IV, 包括 11 份材料, 来自中国安徽的大演黑 6 和双桥芝麻 11、中国江西的芝麻 48 和海会黑芝麻 49、中国上海的华漕黑芝麻 72 和青春黑芝麻 73、中国四川的芝麻 75 和黑芝麻 80、中国广西的芝麻 13、中国陕西的黑芝麻 68 及浙江的密蒴芝麻 86, 平均 GS 为 0.734; 类群 V, 2 份材料, 来自中国广东的乌芝麻 15 和四川的黑芝麻 77, GS 为 0.825。除了来自生态区 VI 和生态区 V 的种质分别在类群 I 和类群 IV 中有少量成簇分布现象外, 其他不同来源种质在聚类图上均相互交错分布。

2.3 不同区域黑芝麻核心种质遗传多样性比较

参考中国农业科学院油料作物研究所主编的《中国芝麻品种志》^[18]和《中国芝麻品种资源目录》^[19]对我国芝麻各生态区的划分, 将国内 92 份黑芝麻核心种质分为 3 个组, 即东北、华北、西北一年一熟春播区种质为第 1 组(北方种质); 黄淮、江汉及长江中下游一年两熟夏播区种质为第 2 组(中部种质); 华中南、华南及西南一年两熟或三熟春、夏、秋播区种质为第 3 组(南方种质)。从表 3 看出, 南方种质的多态性条带比率最高, 为 60.1%, 其次是中部种质的 58.2%和北方种质的 45.6%, 国外种质多态性条带比率较低, 为 31.9%; 平均 GS 为南方种质(0.7188) < 中部种质(0.7289) < 国外种质(0.7546) < 北方种质(0.7755); 遗传多样性指数南方种质(0.3557) > 中部种质(0.3415) > 北方种质(0.2986) > 国外种质(0.2422)。以上结果表明, 我国华中南部、华南及西南地区的黑芝麻种质遗传变异较高, 遗传多样性较丰富; 国外黑芝麻核心种质平均 GS 较高, 多态性条带比率及遗传多样性指数均较低, 原因可能是供试材料较少(仅 8 份)。

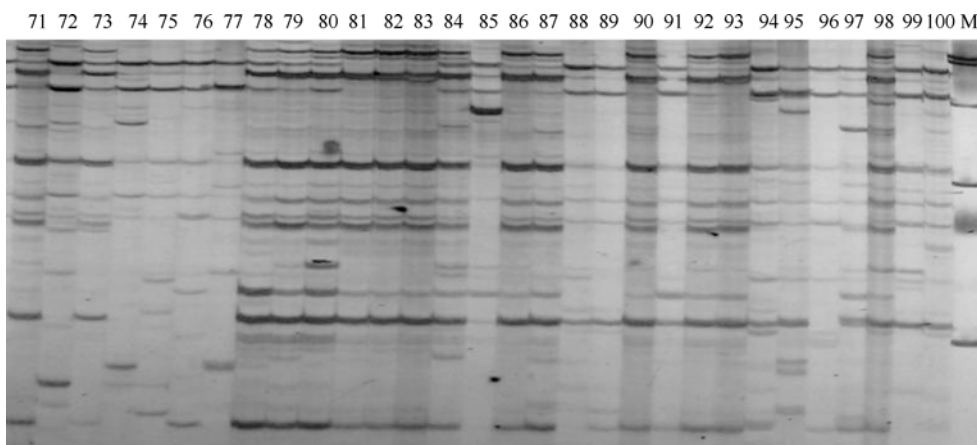


图 1 引物组合 Me09/Em06 的扩增结果
Fig. 1 SRAP fingerprint of black sesame accessions from primer combination Me09/Em06
编号同表 1。The code is same as Table 1.

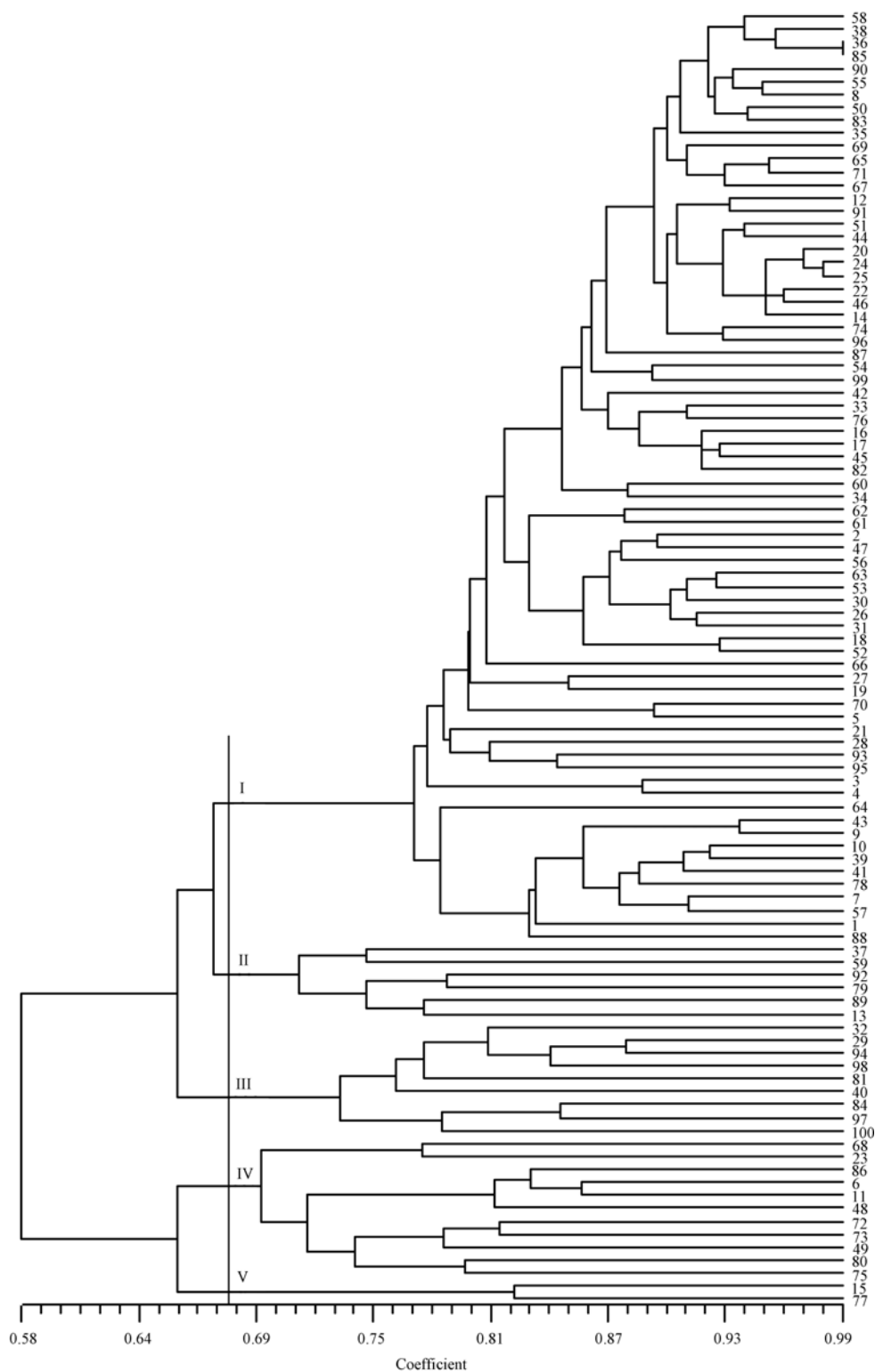


图 2 100 份黑芝麻材料的聚类图
Fig. 2 Dendrogram of 100 black sesame accessions

3 讨论

SRAP 标记是在总结已有的 DNA 分子标记的优缺点的基础上开发的一种新的基于 PCR 的 DNA 分子标记技

术。RFLP 标记要求高纯度和高浓度的 DNA 和使用放射性同位素, SSR 标记要花费大量人力物力进行引物开发, AFLP 需要预扩增和连接, 而 SRAP 标记扩增结果的多态性可与 AFLP 标记相媲美, 又易于操作, 经济有效。SRAP

表 3 不同地理区域材料遗传多样性比较
Table 3 Comparison of genetic diversity from different regions

种质 Germplasm	材料数 Accession number	多态性条带比率 Rate of polymorphic bands (%)	最小相似系数 Minimum genetic similarity	最大相似系数 Maximum genetic similarity	平均相似系数 Average genetic similarity	多样性指数 Shannon's information index
南方种质 South China	34	60.1	0.472	0.9802	0.7188	0.3557
中部种质 Central zone of China	43	58.2	0.4918	0.9519	0.7289	0.3415
北方种质 North China	15	45.6	0.6102	0.9505	0.7755	0.2986
国外种质 Oversea	8	31.9	0.6111	0.9038	0.7546	0.2422

标记的这些优点已经在油菜、野牛草、西葫芦、甜菜和棉花的遗传多样性研究中得到证实^[20-24]。王华忠等^[23]对甜菜单胚雄性不育系及保持系等 49 份材料进行遗传多样性分析, 11 对 SRAP 引物组合共产生 199 条扩增带, 其中有 86 条多态性带, 多态性带的比率平均为 43.7%, 李武等^[24]利用 132 对 SRAP 引物, 对我国海岛棉 36 个国内品种及 20 个国外品种进行遗传多样性分析, 共检测到 419 个多态性位点。本研究利用 SRAP 标记技术对 100 份黑芝麻核心种质资源进行遗传多样性分析, 13 对引物共扩增出 182 条带, 其中多态性带 126 条, 多态性带比例为 69.2%, 说明它是一种可靠有效的标记。

本研究表明黑芝麻核心种质具有较丰富的遗传多样性, 与前人对芝麻种质资源 DNA 遗传多样性研究相比较, 分析的材料数较多, 但同属于一个栽培种, 来源相对较集中(92%来源于国内), 种质间遗传相似系数为 0.469~0.986, 遗传跨度较小, 其遗传多样性低于前人的研究结果。Bhat 等^[5]利用 RAPD 标记分析了来自 21 个国家(22 份)和印度 18 个省(36 份)芝麻种质资源, 供试材料间遗传相似系数为 0.19~0.89; Laurentin 等^[8]应用 AFLP 分子标记分析了 32 份来自印度、非洲、东亚(中、日、韩)、中亚及西亚芝麻种质的遗传多样性, 其多态性条带比率为 93%, 材料间遗传相似系数为 0.38~0.85, 平均 0.65; Laurentin 等^[9]利用 8 对 AFLP 引物对来自委内瑞拉、中国、墨西哥等国家的芝麻品种进行了分析, 其多态性条带比率为 91%, 品种间遗传相似系数为 0.31~0.78, 平均为 0.52。因此, 在黑芝麻种质资源和育种工作中, 应加强对国外种质的引进, 进一步丰富我国黑芝麻遗传类型。

利用分子标记技术检测作物 DNA 遗传多样性差异来推断其传播趋势已在小豆^[25]、甘蔗^[26]及大豆^[27]等作物遗传演化研究中应用。作物一般有自生物多样性丰富区向次丰富区传播的趋势, 本研究发现, 我国南部地区的黑芝麻核心种质资源平均遗传相似系数最低, 多态性条带比率、遗传多样性指数均最高, 是我国黑芝麻类型最丰富的区域, 可能与这些地区地形复杂、气候差异较大有关, 中部地区遗传多样性中等, 而北部地区黑芝麻种质遗传多样性较贫乏。这可能为研究黑芝麻在中国的演变和传播历史提供一定的参考。

由供试材料的聚类结果看, 来自不同生态区和省份及国外的黑芝麻核心种质相互交错聚在一起, 表明黑芝

麻种质的遗传关系相似程度与地理分布远近之间没有明显的关系, 与国内外已报道的芝麻相关研究结果相一致^[7-9,12]。

References

- [1] Shen M(沈梅). Measurements oil trace elements of black sesame and white sesame. *Chin J Health Lab Tech* (中国卫生检验杂志), 2007, 17(2): 2309-2310 (in Chinese with English abstract)
- [2] Chen H-X(陈和兴), Liu F-L(刘凤兰), Zhao Y-Z(赵应忠). Breeding for Zhongzhi 9, a black seed coat sesame cultivar with high quality. *Oil Crop Chin* (中国油料), 1994, 16(4): 53-58 (in Chinese with English abstract)
- [3] Xiao T-X(肖唐华), Feng X-Y(冯祥运), Zhang X-R(张秀荣). Analysis of the distribution and main characteristics of black seed coat sesame germplasm in china. *Oil Crop Chin* (中国油料), 1992, 14(2): 31-34 (in Chinese with English abstract)
- [4] Le M-W(乐美旺), Zhang D-X(张冬仙), Xiong Y-P(熊永鹏), Zhou H-Y(周红英). Principal component analysis on quantitative characters and its application in black sesame. *Oil Crop Chin* (中国油料), 1995, 17(3): 72-76 (in Chinese with English abstract)
- [5] Bhat K V, Babrekar P P, Lakhanpaul S. Study of genetic diversity in Indian and exotic sesame (*Sesamum indicum* L.) germplasm using random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. *Euphytica*, 1999, 110: 21-33
- [6] Kim D H, Zur G, Danin P Y, Lee S W, Shim K B, Kang C W, Kashi Y. Genetic relationships of sesame germplasm collection as revealed by inter-simple sequence repeats. *Plant Breed*, 2002, 121: 259-262
- [7] Ercan A G, Taskin M, Turgut K. Analysis of genetic diversity in Turkish sesame (*Sesamum indicum* L.) populations using RAPD markers. *Genet Resour Crop Evol*, 2004, 51: 599-607
- [8] Laurentin H E, Karlovsky P. Genetic relationship and diversity in a sesame (*Sesamum indicum* L.) germplasm collection using amplified fragment length polymorphism (AFLP). *BMC Genetics*, 2006, 7: 10
- [9] Laurentin H E, Karlovsky P. AFLP fingerprinting of sesame (*Sesamum indicum* L.) cultivars: Identification, genetic relationship and comparison of AFLP informativeness parameters. *Genet Resour Crop Evol*, 2007, 54: 1437-1446
- [10] Laurentin H E, Karlovsky P. Relationship between metabolic and genomic diversity in sesame (*Sesamum indicum* L.). *BMC Genomics*, 2008, 9: 250
- [11] Zhang X-R(张秀荣), Chen K-R(陈坤荣), Peng J(彭俊), Xu

- Z-Y(许泽永). The RAPD analysis and genetic diversity of selected sesame germplasms. *Chin J Oil Crop Sci* (中国油料作物学报), 2004, 26(4): 34–37 (in Chinese with English abstract)
- [12] Zhang P(张鹏), Zhang H-Y(张海洋), Guo W-Z(郭旺珍), Zheng Y-Z(郑永战), Wei L-B(魏利斌), Zhang T-Z(张天真). Genetic diversity analysis of *Sesamum indicum* L. germplasms using SRAP and EST-SSR markers. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2007, 33(10): 1696–1702 (in Chinese with English abstract)
- [13] 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. *Theor Appl Genet*, 2001, 103: 455–461
- [14] Zhang X R, Zhao Y Z, Cheng Y, Feng X Y, Guo Q Y, Zhou M D, Hodgkin T. Establishment of sesame germplasm core collection in China. *Genet Resour Crop Evol*, 2000, 47: 273–279
- [15] Doyle J J, Doyle J L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem Bull*, 1987, 19: 11–15
- [16] Che Z(车卓), Zhang Y-X(张艳欣), Sun J(孙建), Huang B(黄波), Zhang X-R(张秀荣). Establishment and optimization of SRAP reaction system in sesame. *Chin Agric Sci Bull* (中国农学通报), 2008, 24(10): 74–77 (in Chinese with English abstract)
- [17] Bassam B, Caetano-Anolles G, Gresshoff P M. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. *Anal Biochem*, 1991, 196: 80–83
- [18] Chen C-Y(陈翠云). Sesame Cultivars Resources in China (中国芝麻品种志). Beijing: Agriculture Press, 1990. pp 5–33 (in Chinese)
- [19] Oil Crop Research Institute of CAAS (中国农业科学院油料作物研究所). The Catalogue of Varietal Germplasm Resources of sesame in China (中国芝麻品种资源目录), Vol. 3. Beijing: China Agricultural Sciencetech Press, 1997 (in Chinese)
- [20] Wen Y-C(文雁成), Wang H-Z(王汉中), Shen J-X(沈金雄), Liu G-H(刘贵华), Zhang X-F(张书芬). Analysis of genetic diversity and genetic basis of Chinese rapeseed cultivars (*Brassica napus* L.) by sequence-related amplified polymorphism markers. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 2006, 39(2): 246–256 (in Chinese with English abstract)
- [21] Budak H, Shearman R C, Parmaksiz I, Gaussoin R E, Riordan T P, Dweikat I. Molecular characterization of buffalo grass germplasm using sequence-related amplified polymorphism markers. *Theor Appl Genet*, 2004, 108: 328–334
- [22] Ferriol M, Pioó B, Nuez E. Genetic diversity of a germplasm collection of *Cucurbita pepo* using SRAP and AFLP markers. *Theor Appl Genet*, 2003, 107: 271–282
- [23] Wang H-Z(王华忠), Wu Z-D(吴则东), Wang X-W(王晓武), Fang Z-Y(方智远). Analysis of the genetic diversity in different types of sugar beets by SRAP and SSR markers. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2008, 34(1): 37–46 (in Chinese with English abstract)
- [24] Li W(李武), Ni W(倪薇), Lin Z-X(林志旭), Zhang X-L(张献龙). Genetic diversity analysis of sea-island cotton cultivars using SRAP markers. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2008, 34(5): 893–898 (in Chinese with English abstract)
- [25] Jin W-L(金文林), Wen Z-X(文自翔), Pu S-J(濮绍京), Zhao B(赵波). Genetic diversity and evolution of adzuki bean (*Vigna angularis*) germplasm resources based on RAPD markers. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 2005, 38(2): 241–249 (in Chinese with English abstract)
- [26] Chen H(陈辉), Fan Y-H(范源洪), Shi X-W(史宪伟), Cai Q(蔡青), Zhang M(张明), Zhang Y-P(张亚平). Research on genetic diversity and systemic evolution in *Saccharum spontaneum* L. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2001, 27(5): 645–652 (in Chinese with English abstract)
- [27] Gai J-Y(盖钧镒), Xu D-H(许东河), Gao Z(高忠), Yoshiya S(岛本义也), Jun A(阿部纯), Hirofumi F(福士泰史), Shunji K(北岛俊二). Studies on the evolutionary relationship among eco-types of *G. max* and *G. soja* in China. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2000, 26(5): 513–520 (in Chinese with English abstract)