

梅遗传多样性的 SRAP 分析

张俊卫¹, 毛庆山², 包满珠^{1,*}

(¹华中农业大学园艺林学学院, 园艺植物生物学教育部重点实验室, 武汉 430070; ²中国梅花研究中心, 武汉 430074)

摘要: 为探明梅种质资源间的亲缘关系, 利用 SRAP 标记对梅 135 份样品进行了遗传多样性分析。17 个引物组合共扩增出 124 个位点, 其中多态性位点为 106 个, 多态位点比率 87.5%。每个引物组合扩增位点数在 4~12 个之间, 平均每个引物组合扩增位点数为 7.3; 通过 NTSYS 软件计算得到的样品间 SM 相似系数介于 0.556~0.958, 平均值为 0.733, 显示梅资源间存在一定的遗传差异; 根据 SRAP 扩增结果, 利用 UPGMA 法构建树状聚类图, 聚类分析将 135 份样品分为 7 组, 聚类分析结果与梅种的形态分类系统基本相符。

关键词: SRAP 标记; 梅花; 遗传多样性

中图分类号: S 685.17

文献标识码: A

文章编号: 0513-353X (2011) 01-0117-08

Analysis of Genetic Diversity Among Germplasm of *Prunus mume* Sieb. et Zucc. Using SRAP Markers

ZHANG Jun-wei¹, MAO Qing-shan², and BAO Man-zhu^{1,*}

(¹Key Laboratory of Horticultural Plant Biology, Ministry of Education, College of Horticulture and Forestry Sciences, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China; ²Mei Flower Research Center of China, Wuhan 430074, China)

Abstract: In order to evaluate the genetic relationship among germplasm of *Prunus mume* Sieb. et Zucc., sequence related amplified polymorphism (SRAP) marker was used to analyze genetic diversity of 135 samples of Mei. Seventeen primer pairs generated 124 bands, 106 bands (87.5%) of which were polymorphic ones. SRAP primer pairs amplified 4 to 12 bands with an average of 7.3 bands per primer pair. Revealed by NTSYS software, the SM coefficient of genetic similarity ranged from 0.556 to 0.958, with an average of 0.733, which indicated that genetic basis was relatively abundance among the 135 Mei resources. A dendrogram was constructed based on SRAP data using UPGMA cluster method. The 135 samples of Mei were classified into 7 major groups, which was basically corresponded with the genetic relationships based on morphological traits.

Key words: SRAP marker; *Prunus mume* Sieb. et Zucc.; genetic diversity

梅 (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.) 原产我国, 有着悠久的栽培历史和众多的园艺品种, 为了更好地进行品种分类和园林应用, 形成了以形态分类为基础的二元分类体系 (陈俊愉和陈瑞丹, 2009), 此后孢粉学 (康素红 等, 1997)、细胞学 (黄燕文 等, 1995)、同工酶 (张永春 等, 1999)、RAPD 分子标记 (刘青林和陈俊愉, 1999)、AFLP 分子标记 (明军 等, 2005; 吕英民 等, 2006) 和 SSR

收稿日期: 2010-07-26; 修回日期: 2010-12-20

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30872065)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: mzbao@mail.hzau.edu.cn)

分子标记 (Hayashi et al., 2008) 等技术相继在花品种遗传多样性评价中加以应用, 这些研究从不同侧面对梅种内的遗传变异进行了分析, 但在梅种群间的亲缘关系方面存在一定分歧。

Li 和 Quiros (2001) 根据基因组中基因外显子 GC 含量丰富, 而启动子和内含子 AT 含量丰富的特点, 提出了对 ORFs (open reading frames, 开放阅读框架) 进行扩增的 SRAP (Sequence Related Amplified Polymorphism, 相关序列扩增多态性) 标记。SRAP 标记利用一个 17 bp 的正向引物和一个 18 bp 的反向引物对基因组 DNA 进行扩增。目前已在西葫芦 *Cucurbita pepo* (Ferriol et al., 2003)、棉花 *Gossypium hirsutum* (林忠旭 等, 2004)、甘蓝型油菜 (文雁成 等, 2006) 和葱 (李慧芝 等, 2007) 等种内品种间使用, 广泛应用于遗传多样性分析、比较基因组学、图谱构建等方面的研究, 得到了较满意的结果。也有学者把此技术用于属内种间亲缘关系与分类分析 (Sun et al., 2006; 高丽霞 等, 2008)。目前还未见有关梅 SRAP 反应体系建立以及利用该技术在梅种质资源指纹图谱构建以及亲缘关系分析方面的研究报道。本研究中应用该标记对 135 份梅种质进行亲缘关系分析, 为进一步开展梅种质资源的遗传多样性分析和分子系统学等研究提供资料。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料于 2009 年 4 月中旬采自武汉磨山中国梅花研究中心的品种资源圃。梅花 135 个样品包括 132 个栽培品种、2 个野生梅变种和 1 个半野生梅驯化品种 (表 1)。采集供试材料的幼嫩叶片, 用冰盒保存带回实验室。

1.2 方法

按照张俊卫等 (2004) 的方法从新鲜的叶片中提取总 DNA。

SRAP-PCR 反应体系参照 Li 与 Quiros (2001), 每 20 μL 的 PCR 反应体系中, 含 $1 \times \text{buffer}$ 、dNTPs 200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、引物 0.25 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (高丽霞 等, 2008)、 MgCl_2 1.5 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、*Taq* 酶 1.0 U 和模板 DNA 50 ng, 每管加 20 μL 矿物油覆盖。基因扩增仪采用 Biometra 公司的 T-gradient PCR 仪。扩增程序是 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 4 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 58 $^{\circ}\text{C}$ 45 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 90 s, 1 个循环; 94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 57 $^{\circ}\text{C}$ 45 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 90 s, 1 个循环; 94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 56 $^{\circ}\text{C}$ 45 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 90 s, 1 个循环; 94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 55 $^{\circ}\text{C}$ 45 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 90 s, 1 个循环; 94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 54 $^{\circ}\text{C}$ 45 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 90 s, 1 个循环; 94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 53 $^{\circ}\text{C}$ 45 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 90 s, 37 个循环; 最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min。扩增结束后, 取 6 μL 的扩增产物, 在 2.5% 琼脂糖凝胶上电泳, 电泳缓冲液为 $1 \times \text{TAE}$ (0.04 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Tris, 0.02 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙酸, 1 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ EDTA, pH 8.0), 电压 4 $\text{V} \cdot \text{cm}^{-1}$ 电泳 2 h, 以 DL2 000 plus 作为分子量标记, EB 染色后在 Imagine S200 凝胶成像系统上观察并拍照记录。

1.3 数据处理与分析

对电泳图谱上清晰且可重复出现的条带记为“1”, 同一位置没有出现的带记为“0”, 从而生成由“1”和“0”组成的原始矩阵。用 NTSYS-pc 2.1e (numerical taxonomy and multivariate analysis system, NTSYS) (Rohlf, 2000) 软件进行 SM 相似系数计算和基于 UPGMA 算法的聚类分析, 用 Mxcomp 程序对协表征矩阵和相似矩阵之间的相似性进行 Mantel 检验, 并计算多态性信息含量 (PIC) = $1 - \sum P_i^2$ (P_i 是第 i 个等位基因在该位点出现的频率) (Anderson et al., 1993)。

表 1 供试材料
Table 1 List of materials

品种群 Group	取样号 Accession	品种或变种 Cultivars or varieties	品种群 Group	取样号 Accession	品种或变种 Cultivars or varieties
单瓣品种群 Single Flowered	1	淡寒红 Dan Hanhong	宫粉品种群 Pink Double	69	矫枝 Jiaozhi
	2	六宝 Liubao		70	二红宫粉 Erhong Gongfen
	3	雪月花 Xueyuehua		71	磨山宫粉 Moshan Gongfen
	4	七星梅 Qixing Mei		72	徽州台粉 Huizhou Taifen
	5	寒红 Hanhong	绿萼品种群 Green Calyx	73	米单绿 Midanlü
	6	丽县梅 Lixian Mei		74	飞绿萼 Feilü'e
	7	六瓣 Liuban		75	二绿萼 Erlü'e
	8	粉瓣梅 Fenban Mei		76	单瓣绿萼 Danban Lü'e
	9	雪梅 Xuemei		77	小绿萼 Xiaolü'e
	10	江梅 Jiangmei		78	变绿萼 Bianlü'e
宫粉品种群 Pink Double	11	福寿梅 Fushoumei	玉蝶品种群 Albo-plena	79	金钱绿萼 Jinqian Lü'e
	12	丽江红梅 Lijiang Hongmei		80	台阁绿萼 Taige Lü'e
	13	银红台阁 Yinhong Taige		81	小玉蝶 Xiaoyudie
	14	洪岭二红 Hongling Erhong		82	紫蒂白照水 Zidibai Zhaoshui
	15	早粉台阁 Zaofen Taige	跳枝品种群 Versicolor	83	三轮玉蝶 Sanlun Yudie
	16	艳红照水 Yanhong Zhaoshui		84	紫蒂白 Zhidibai
	17	粉羽 Fenyu		85	徽州檀香 Huizhou Tanxiang
	18	菱红台阁 Linghong Taige		86	素白台阁 Subai Taige
	19	大晕照水 Dayun Zhaoshui		87	萼宿 Niaosu
	20	紫羽 Ziyu	黄香品种群 Flavescens	88	青枝玉蝶 Qingzhi Yudie
	21	雪海宫粉 Xuehai Gongfen		89	雨山玉蝶 Yushan Yudie
	22	江南台阁 Jiangnan Taige		90	米单跳枝 Midan Tiaozhi
	23	淡云 Danyun		91	复瓣跳枝 Fuban Tiaozhi
	24	玫粉台阁 Meifen Taige		92	复瓣跳枝实生苗 Fuban Tiaozhi
	25	算珠台阁 Suanzhu Taige	朱砂品种群 Cinnabar Purple	93	昆明小跳枝 Kunming Xiaotiaozhi
	26	小鸥宫粉 Xiaou Gongfen		94	晚跳枝 Wantiaozhi
	27	乙女 Yinü		95	单瓣跳枝 Danban Tiaozhi
	28	泉州宫粉 Quanzhou Gongfen		96	黄山黄香 Huangshan Huangxiang
	29	南京红 Nanjinghong	鹿儿岛红 Luerdao Hong	97	曹王黄香 Caowang Huangxiang
	30	绿枝宫粉 Lüzhi Gongfen		98	大轮绯梅 Dalun Feimei
	31	蔡山宫粉 Caishan Gongfen		99	锦光 Jingguang
	32	川西小粉 Chuanxi Xiaofen		100	长蕊朱砂 Changrui Zhusha
	33	小红 Xiaohong	垂枝品种群 Pendulous	101	单瓣朱砂 Danban Zhusha
	34	复瓣小宫粉 Fuban Xiao Gongfen		102	徽州骨红 Huizhou Guhong
	35	大羽 Dayu		103	舞朱砂 Wuzhusha
	36	桃红台阁 Taohong Taige		104	小骨里红 Xiao Gulihong
	37	大宫粉 Dagongfen	龙游品种群 Tortuosa	105	姬千鸟 Jiqianniao
	38	江砂宫粉 Jiangsha Gongfen		106	南京红须 Nanjing Hongxu
	39	粉皮宫粉 Fenpi Gongfen		107	红须朱砂 Hongxu Zhusha
	40	粉口 Fenkou		108	铁骨红 Tie Guhong
	41	晚碗宫粉 Wanwan Gongfen	美人品种群 Meiren	109	乌羽玉 Wuyuyu
	42	白阁宫粉 Baige Gongfen		110	桃红朱砂 Taohong Zhusha
	43	红粉台阁 Hongfen Taige		111	小红朱砂 Xiaohong Zhusha
	44	淡妆宫粉 Danzhuang Gongfen		112	白须朱砂 Baixu Zhusha
	45	老人美大红 Laorenmei Dahong	杏梅品种群 Apricot Mei	113	江南朱砂 Jiangnan Zhusha
	46	宫春 Gongchun		114	粉红朱砂 Fenhong Zhusha
	47	人面桃花 Renmian Taohua		115	多萼朱砂 Duoe Zhusha
	48	重瓣粉朱 Chongban Fenzhu		116	菲菲朱砂 Feifei Zhusha
	49	小宫粉 Xiaogongfen	龙游梅 Longyoumei	117	早种朱砂 Zaozhong Zhusha
	50	粉妆台阁 Fenzhuang Taige		118	单轮朱砂 Danlun Zhusha
	51	淡晕宫粉 Danyun Gongfen		119	残雪 Canxue
	52	扣瓣大红 Kouban Dahong		120	双碧垂枝 Shuangbi Chuizhi
	53	傅粉 Fufen		121	单碧垂枝 Danbi Chuizhi
	54	惊蛰梅 Jingzhemei	送春 Songchun	122	跳雪垂枝 Tiaoxue Chuizhi
	55	凝馨 Ningxin		123	单粉垂枝 Danfen Chuizhi
	56	粉霞 Fenxia		124	骨红垂枝 Guhong Chuizhi
	57	迎春 Yingchun		125	锦生垂枝 Jinsheng Chuizhi
	58	变瓣大红 Bianban Dahong	盐梅 Yanmei	126	粉皮垂枝 Fenpi Chuizhi
	59	江南 Jiangnan		127	龙游梅 Longyoumei
	60	重瓣粉红 Chongban Fenhong		128	美人梅 Meirenmei
	61	虎丘晚粉 Huqiu Wanfen	淡丰后 Danfenghou	129	淡丰后 Danfenghou
	62	淡粉 Danfen		130	丰后 Fenghou
	63	粉玉宫粉 Fenyu Gongfen		131	送春 Songchun
	64	粉红 Fenhong		132	炒豆梅 P. mume var. microcarpa
	65	飞燕宫粉 Feiyan Gongfen	曲梗梅 P. mume var. cernua	133	曲梗梅 P. mume var. cernua
	66	贵妃台阁 Guifei Taige		134	盐梅 Yanmei
	67	早凝馨 Zaoningxin			
	68	莲湖粉 Lianhufen			

2 结果与分析

2.1 SRAP 扩增产物的多态性分析

用 2 个样本对 170 个 SRAP 引物组合进行了筛选,共得到 17 个表现良好的 SRAP 引物组合(表 2)。17 个 SRAP 引物组合从 135 份梅种质基因组 DNA 中扩增出的结果表明,绝大多数 SRAP 引物组合在梅种质间表现了较高的多态性水平,不同引物组合 PIC 值在 0.2775 至 0.8279 之间,平均为 0.5120。PIC > 0.5 为高多态性信息引物(Botstein et al., 1980)。17 个 SRAP 引物组合从 135 份梅种质中共扩增出 124 条谱带,其中 106 条为多态性谱带,总的多态性比率为 87.5%,各引物多态性比率在 60.0%~100%,扩增谱带分子量在 150~2 000 bp 范围。me4-em3 组合能扩增出 12 条谱带,12 条均为多态性谱带,多态性带比率为 100%,而 me3-em16 和 me8-em2 引物组合仅扩增 5 条谱带,3 条为多态性谱带。多态性水平达到 100%的引物有 me3-em10、me4-em3、me6-em1、me7-em16 和 me9-em17 等 5 个引物组合。引物组合 me9-em2 对 135 份梅种质扩增结果见图 1。

表 2 不同 SRAP 引物组合在 135 份梅种质中扩增出的多态性
Table 2 Polymorphism in 135 samples of *Prunus mume* revealed by SRAP primer combinations

引物组合 Primer	总带数 Total bands	多态性带数 Polymorphic bands	多态性比率/% Polymorphic rate	多态性信 息含量 PIC	引物组合 Primer	总带数 Total bands	多态性带数 Polymorphic bands	多态性比率/% Polymorphic rate	多态性信 息含量 PIC
me1-em3	4	3	75.0	0.4170	me6-em1	7	7	100	0.5633
me1-em10	8	6	75.0	0.4979	me7-em16	6	6	100	0.4261
me2-em10	10	9	90.0	0.6809	me8-em2	5	3	60.0	0.4240
me3-em10	10	10	100	0.8279	me9-em2	9	6	66.7	0.2775
me3-em17	7	6	85.7	0.4818	me9-em17	7	7	100	0.7165
me3-em16	5	3	60.0	0.4062	me10-em1	6	5	83.3	0.5193
me4-em1	8	7	87.5	0.4799	me10-em9	7	5	71.4	0.6038
me4-em3	12	12	100	0.6337	总计 Total	124	106		
me4-em4	8	7	87.5	0.3612	平均 Average	7.3	6.2	87.5	0.5120
me5-em1	5	4	80.0	0.3869					

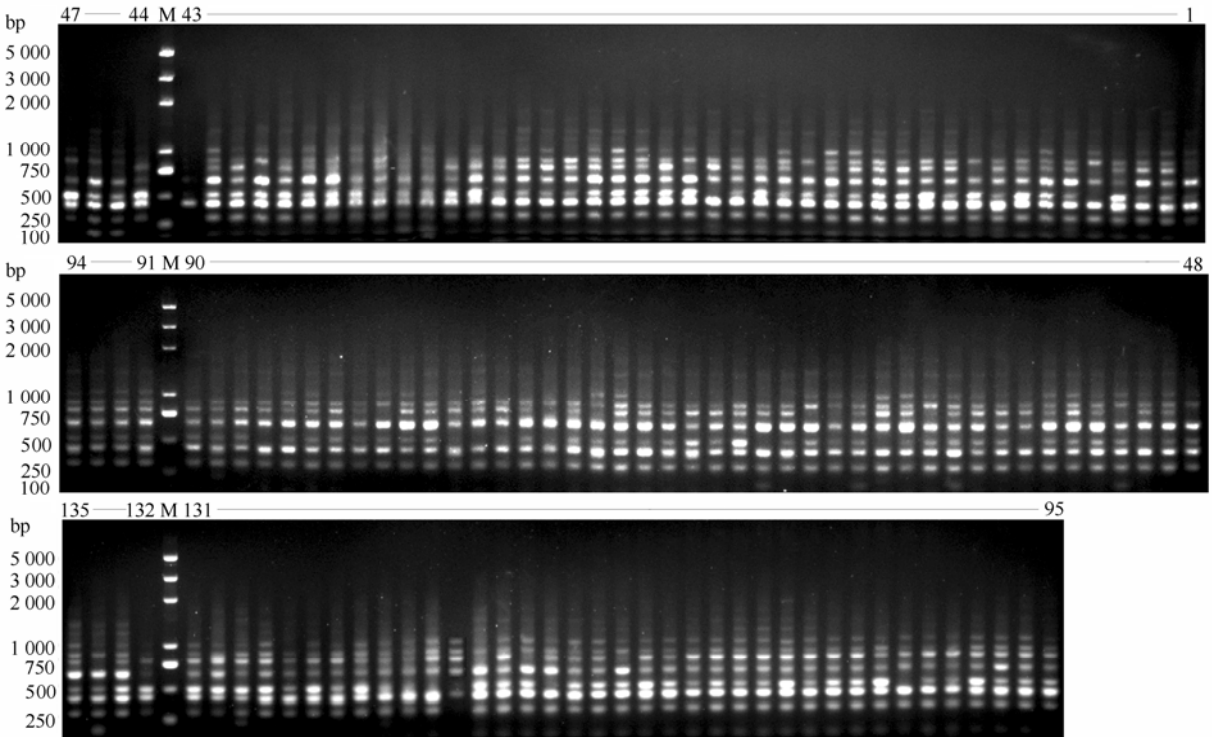


图 1 引物 me9-em2 扩增的梅种质 SRAP 产物图谱
Fig. 1 SRAP pattern amplified by primer combination of me9 and em2 from germplasm of *P. mume*

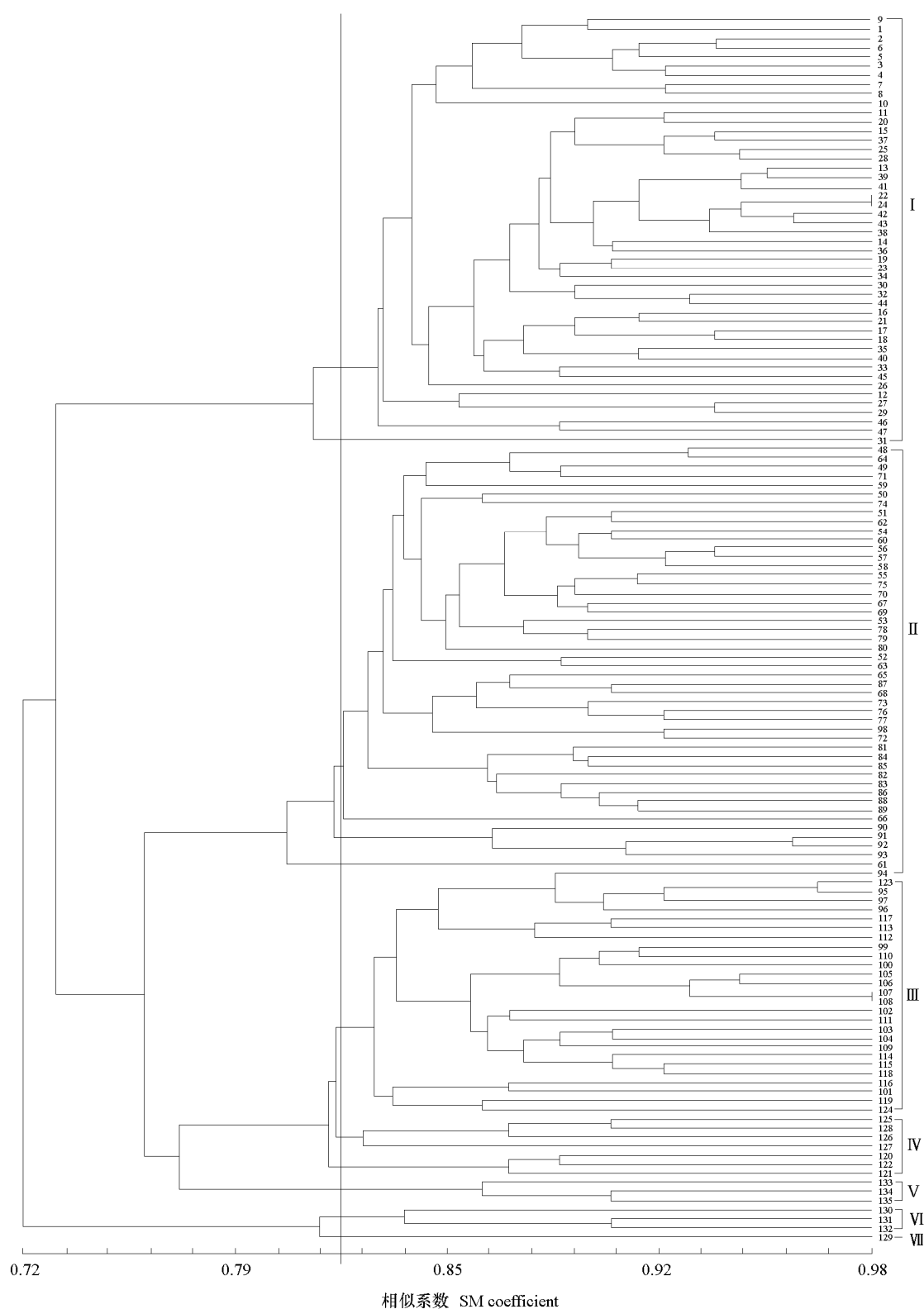


图 2 梅花135品种基于124条SRAP扩增谱带的UPGMA聚类图

图中数字代号为取样号，见表1。

Fig. 2 Dendrogram presenting the association among 135 cultivars of *P. mume* based on UPGMA cluster analysis of 124 SRAP amplification products

The numbers in the figure are accessions numbers as seen in the Table 1.

2.2 基于 SRAP 标记的聚类分析

以124个SRAP标记为基础利用NTSYS-pc2.10e计算135份梅种质之间的SM相似系数,其变化范围在0.556 ~ 0.958之间,平均值为0.733。将聚类结果转换为协表征矩阵 (Cophenetic matrix),对协表征矩阵和相似系数矩阵之间的相关性进行Mantel检验,结果表明这2个矩阵极显著相关,相关系数为 $r = 0.8745$,表明聚类结果很好地体现了梅种质之间的遗传关系。

利用UPGMA法对135份梅种质进行系统聚类(图2),在相似系数 $SM = 0.82$ 处,135份种质可被分为7组。

第I组包括47个品种,其中单瓣品种群品种10个,宫粉品种群品种37个,在这37个宫粉品种群中,8个由中国梅花研究中心实生选种的品种‘洪岭二红’(14)、“早粉台阁”(15)、“艳红照水”(16)、“粉羽”(17)、“菱红台阁”(18)、“大晕照水”(19)、“紫羽”(20)和“雪海宫粉”(21)聚在了一起。

第II组包括47个品种,此聚类群包含5个品种群的品种,分别是宫粉品种群25个品种,绿萼品种群8个品种,玉蝶品种群9个品种(单独聚为一个亚类),朱砂品种群品种1个,跳枝品种群品种4个(单独聚为一个亚类)。

第III组包括27个品种,其中朱砂品种群品种21个,黄香品种群2个,跳枝品种群品种2个,垂枝品种群品种2个。

第IV组包括7个垂枝品种群品种。

第V组包括3个样品,其中2个为野生梅变种,1个为半野生梅驯化品种。

第VI组包括3个杏梅品种群品种。

第VII组包括1个美人品种群品种。

此聚类结果与陈俊愉和陈瑞丹(2009)建立的形态分类体系基本吻合,支持种系作为梅种分类的一级标准,枝姿为第二级分类标准。

3 讨论

3.1 SRAP 标记用于系统学研究的可靠性

SRAP扩增的片段位于ORFs区域,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; 左丹丹 等, 2009)。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标记评价梅种质资源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,亦可用于梅的品种鉴定。

3.2 SRAP 标记聚类结果与梅种质其它分子系统学研究比较

在相似系数 $SM = 0.726$ 处135份梅种质能明显分成2个聚类群,一个聚类群由不含外源基因渗入的真梅类品种和2个野生梅变种、1个半野生梅驯化品种组成,另一个聚类群由含外源基因的美人品种群、杏梅品种群品种组成,此结果与吕英民等(2006)、Yang 等(2008)利用AFLP对梅品种资源分析的结果完全一致,即支持种系作为梅花品种分类的一级标准。但在真梅类品种群之间的亲缘关系方面,尤其是宫粉品种群与玉蝶、绿萼品种群,以及朱砂品种群与跳枝品种群之间的关系,

本试验聚类分析的结果与吕英民等(2006)、Yang 等(2008)的结果存在较大差异。在 Yang 等(2008)、吕英民等(2006)对梅品种遗传多样性分析的结果中, 尽管各品种群品种之间存在一定的混杂聚类, 但除黄香型品种群外, 各品种群之间都能相对独立地聚为一类, 而在本试验中单瓣品种群与部分宫粉品种群品种聚成一类(I 组), 另一部分宫粉品种群品种与绿萼品种群、玉蝶品种群品种聚为一类(II 组), 即宫粉品种群被划分为两个不同的聚类群。从梅花的栽培历史看, 最早栽培的是以药用和食用为目的的果梅, 汉代出现了单瓣品种群和宫粉品种群品种(陈俊愉, 1962), 宫粉品种群品种几乎有与单瓣品种群品种等同的栽培历史, 也有一些宫粉品种群品种是近代才选育出来的。因而, 将宫粉品种群分为相对进化和相对原始的两个类群, 具有一定的合理性。但在与单瓣品种群品种聚为一类的宫粉品种群品种中, 包括 9 个具有“台阁”特性的品种以及中国梅花研究中心实生选种获得的 8 个品种, 而在传统的形态分类中认为台阁梅属于比较进化的类群, 其中的原因还需采用其它的分子标记或研究手段加以分析。此外, 本试验结果中 7 个垂枝品种群聚成一类, 因而, 支持将枝姿作为梅品种分类的二级标准。

本试验中所使用的梅花宫粉品种群品种中, 有 39 个品种与张俊卫等(2004)RAPD 分析所用的材料相同, 但本试验基于 SRAP 的聚类结果与张俊卫等(2004)基于 RAPD 标记的聚类结果有较大的差异, 可能与两种分子标记所揭示的基因组片段的变异方式不同有关。

在本试验中来自日本的梅花品种分散聚在中国梅花品种中, 此结果与 Hayashi 等(2008)SSR 分析的结果相似, 即支持日本梅花引自中国的论断, 但不支持 Hayashi 等(2008)认为果梅从花梅中选育出的观点。因为在本试验聚类分析结果中, 与果梅品种亲缘关系较近的单瓣品种群品种均聚在聚类群 I, 没有与其他品种群的品种存在混杂现象。

References

- Anderson J A, Churchill G A, Autrique J E, Tanksley S D, Sorrells M E. 1993. Optimizing parental selection for genetic linkage maps. *Genome*, 36: 181 - 186.
- Botstein D, White R L, Skolnick M, Davis R W. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Genetics*, 32: 314 - 331.
- Budak H, Shearman R C, Parmaksiz I. 2004. Molecular characterization of Buffalograss germplasm using sequence-related amplified polymorphism markers. *Theor Appl Genet*, 108: 328 - 334.
- Chen Jun-yu. 1962. Studies on Chinese Mei I. Origin and cultivation history of Mei. *Acta Horticulturae Sinica*, 1 (1): 69 - 78. (in Chinese)
- 陈俊愉. 1962. 中国梅花的研究 I. 梅之原产地与梅花栽培历史. *园艺学报*, 1 (1): 69 - 78.
- Chen Jun-yu, Chen Rui-dan. 2009. A new system for classifying China Mei cultivar groups, with special reference to developing superiorities of interspecific hybrid originated Groups. *Acta Horticulturae Sinica*, 36 (5): 693 - 700. (in Chinese)
- 陈俊愉, 陈瑞丹. 2009. 中国梅花品种群分类新方案并论种间杂交起源品种群之发展优势. *园艺学报*, 36 (5): 693 - 700.
- Ferriol M, Pico B, Nuea F. 2003. Genetic diversity of a germplasm collection of *Cucubita pepo* using SRAP and AFLP markers. *Theor Appl Genet*, 107: 271 - 282.
- 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.
- Gao Li-xia, Hu Xiu, Liu Nian, Huang Bang-hai, Li Zheng-jun, Li Yan. 2008. Cluster analysis of Chinese *Hedychium* based on SRAP markers. *Journal of Systematics and Evolution*, 46 (6): 899 - 905. (in Chinese)
- 高丽霞, 胡秀, 刘念, 黄邦海, 李正军, 李严. 2008. 中国姜花属基于 SRAP 分子标记的聚类分析. *植物分类学报*, 46 (6): 899 - 905.
- Hayashi K, Shimazu K, Yaegaki H, Yamaguchi M, Iketani H, Yamamoto T. 2008. Genetic diversity in fruiting and flowering- ornamental Japanese apricot (*Prunus mume*) germplasms assessed by SSR markers. *Breeding Science*, 58: 401 - 410.

- Huang Yan-wen, Bao Man-zhu, Shen Qing-yu, Zhong Lin-ai, Zuo Wei-dong, Wang Fang. 1995. Studies on the number and morphology of chromosomes of wild Mei and cultivated Mei. *Journal of Beijing Forestry University*, 17 (Supp 1): 37 - 41. (in Chinese)
- 黄燕文, 包满珠, 沈清宇, 钟林爱, 左卫东, 王 芳. 1995. 野梅和栽培梅染色体数目及形态的研究. *北京林业大学学报*, 17 (增刊 1): 37 - 41.
- Kang Su-hong, Bao Man-zhu, Chen Long-qing, Huang Yan-wen, Liu Xiao-xiang. 1997. Classification of *Prunus mume* cultivars by pollen morphology. *Acta Horticulturae Sinica*, 24 (2): 170 - 174. (in Chinese)
- 康素红, 包满珠, 陈龙清, 黄燕文, 刘小祥. 1997. 梅花品种分类的花粉形态学研究. *园艺学报*, 24 (2): 170 - 174.
- Li Hui-zhi, Yin Yan-ping, Zhang Chun-qing, Zhang Min, Li Jian-min. 2007. Evaluation of application of SRAP on analysis of genetic diversity in cultivars of *Allium fistulosum* L. *Acta Horticulturae Sinica*, 34 (4): 929 - 934. (in Chinese)
- 李慧芝, 尹燕坪, 张春庆, 张 敏, 李建敏. 2007. SRAP 在葱栽培品种遗传多样性研究中的适用性分析. *园艺学报*, 34 (4): 929 - 934.
- Li G, Quiros C R. 2001. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP) a neap marker system based on a simple PCR reaction: Its application to mapping and gene tagging in Brassica. *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 F₂ 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 F₂ 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.
- Liu Qing-lin, Chen Jun-yu. 1999. A preliminary research on the relationship of *Prunus mume* cultivars and its close relatives by using RAPD assay. *Journal of Beijing Forestry University*, 21 (2): 81 - 85. (in Chinese)
- 刘青林, 陈俊愉. 1999. 梅花亲缘关系 RAPD 研究初报. *北京林业大学学报*, 21 (2): 81 - 85.
- Lü Ying-min, Yin Jing, Yang Guo, Zhang Qi-xiang. 2006. AFLP analysis of *Prunus mume* cultivars. *Molecular Plant Breeding*, 4 (6): 12 - 22. (in Chinese)
- 吕英民, 殷 婧, 杨 果, 张启翔. 2006. 梅花品种 AFLP 分析鉴定研究. *分子植物育种*, 4 (6): 12 - 22.
- Ming Jun, Zhang Qi-xiang, Lan Yan-ping. 2005. Core collection of *Prunus mume* Sieb. et Zucc. *Journal of Beijing Forestry University*, 27 (2): 65 - 69. (in Chinese)
- 明 军, 张启翔, 兰彦平. 2005. 梅花品种资源核心种质构建. *北京林业大学学报*, 27 (2): 65 - 69.
- Rohlf F J. 2000. NTSYS-pc: Numerical taxonomy and multivariate analysis system, Version 2.10. Exeter Software, New York.
- Sun S J, Gao W, Lin S Q, Zhu J, Xie B G, Lin Z B. 2006. Analysis of genetic diversity in *Ganoderma* population with a novel molecular marker SRAP. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 72: 537 - 543.
- Wen Yan-cheng, Wang Han-zhong, Shen Jin-xiong, Liu Gui-hua, Zhang Shu-fen. 2006. Analysis of genetic diversity and genetic basis of Chinese rapeseed cultivars (*Brassica napus* L.) by sequence-related amplified polymorphism markers. *Scientia Agricultura Sinica*, 39 (2): 246 - 256. (in Chinese)
- 文雁成, 王汉中, 沈金雄, 刘贵华, 张书芬. 2006. 用 SRAP 标记分析中国甘蓝型油菜品种的遗传多样性和遗传基础. *中国农业科学*, 39 (2): 246 - 256.
- Yang Chao-dong, Zhang Jun-wei, Yan Xiao-lan, Bao Man-zhu. 2008. Genetic relatedness and genetic diversity of ornamental mei (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.) as analysed by AFLP markers. *Tree Genetics and Genomes*, 4: 255 - 262.
- Zhang Jun-wei, Chai Yu-rong, Bao Man-zhu. 2004. RAPD identification and discrimination of 42 ornamental pink double form cultivars of *Prunus mume* Sieb. et Zucc. *Acta Horticulturae Sinica*, 31 (4): 487 - 490. (in Chinese)
- 张俊卫, 柴玉荣, 包满珠. 2004. 利用 RAPD 标记鉴定和区分梅花 42 个宫粉型品种. *园艺学报*, 31 (4): 487 - 490.
- Zhang Yong-chun, Bao Man-zhu, Chen Long-qing, Huang Yan-wen, Liu Xiao-xiang. 1999. Analysis of isozyme diversities in the cultivar resources of Mei flower (*Prunus mume*). *Journal of Beijing Forestry University*, 21 (2): 94 - 99. (in Chinese)
- 张永春, 包满珠, 陈龙清, 黄燕文, 刘小祥. 1999. 梅花品种资源同工酶多态性分析. *北京林业大学学报*, 21 (2): 94 - 99.
- Zuo Dan-dan, Zhao Hai-tao, Liu Chun, Mu Ding, Wang Xiao-wu, Ming Jun. 2009. Genetic diversity in natural populations of *Chimonanthus praecox* (L.) revealed by SRAP Markers. *Acta Horticulturae Sinica*, 36 (8): 1197 - 1202. (in Chinese)
- 左丹丹, 赵海涛, 刘 春, 穆 鼎, 王晓武, 明 军. 2009. 蜡梅天然群体遗传多样性的 SRAP 标记分析. *园艺学报*, 36 (8): 1197 - 1202.