

姜荷花杂交子代的 SSR 鉴定及遗传多样性分析

江素华¹, 吴雨欣¹, 罗锦榕¹, 叶悦娟¹, 林金水², 余惠文^{1*}, 陆銮眉^{1*}

1. 闽南师范大学生物科学与技术学院/闽台特色园林植物福建省高校重点实验室, 福建漳州 363000; 2. 漳州市金銮园艺有限公司, 福建漳州 363000

摘要: 姜荷花 (*Curcuma alismatifolia* Gagnep.) 为姜科姜黄属多年生球根草本花卉, 其花朵外形似郁金香, 享有“热带郁金香”之美誉, 是泰国引进的热带新兴花卉。目前姜荷花品种主要依赖进口, 国内缺乏自主知识产权新品种, 因此开展姜荷花育种工作, 培育姜荷花新品种, 对姜荷花产业发展、提高国内姜荷花产业竞争力十分重要。为选育具有自主知识产权的姜荷花新品种, 丰富姜荷花品种多样性, 本研究以姜荷花黄色梦幻品种为母本, 红衣少女、白银公主和荷兰红为父本进行杂交的 3 个不同杂交组合, 共 327 株杂交子代为研究对象, 基于 SSR 分子标记技术鉴定其真假杂种。分别筛选 5 对特异 SSR 引物鉴定 3 个杂交组合的杂种 F₁ 代的真实性, 并对亲本和杂交 F₁ 代群体的基因分离规律以及遗传多样性和遗传关系进行分析。结果表明: 筛选出的 SSR 标记对 4 个亲本材料的分辨率较高, 扩增多态性好, 可有效鉴定其杂交后代血缘的真实性; 327 份 F₁ 代个体中共鉴定出真杂种 295 份, 黄色梦幻×红衣少女、黄色梦幻×白银公主、黄色梦幻×荷兰红 3 个杂交组合的真杂种率分别为 91.8%、90.8%、93.4%。聚类结果分析显示, 杂交组合黄色梦幻×红衣少女 F₁ 代偏母本遗传, 杂交组合黄色梦幻×白银公主和黄色梦幻×荷兰红多数杂交 F₁ 代为偏父本遗传。因此, SSR 分子标记引物具有较高的多态性, 可直接用于姜荷花遗传多样性分析、杂种鉴定等相关研究, 本研究为姜荷花杂交育种、分子标记辅助育种以及姜荷花新品种选育提供参考依据, 为促进国内姜荷花产业的发展具有重要意义。

关键词: 姜荷花; SSR; 杂交 F₁ 代; 杂交鉴定; 遗传多样性

中图分类号: S682.29

文献标志码: A

Identification and Genetic Diversity Analysis of Hybrid Offsprings of *Curcuma alismatifolia* Revealed by SSR Markers

JIANG Suhua¹, WU Yuxin¹, LUO Jinrong¹, YE Yuejuan¹, LIN Jinshui², YU Huiwen^{1*}, LU Luanmei^{1*}

1. School of Biological Science and Biotechnology, Minnan Normal University / Fujian Provincial University Key Laboratory of Fujian-Taiwan Plants, Zhangzhou, Fujian 363000, China; 2. Zhangzhou Jinluan Horticulture Co., Ltd., Zhangzhou, Fujian 363000, China

Abstract: *Curcuma alismatifolia* is a perennial bulbous herb of the genus *Curcuma* in the Gingeraceae family. The inflorescence of *C. alismatifolia* resembles tulips and enjoys the reputation of “tropical tulips”. *C. alismatifolia* was introduced into China from Thailand and it is acclaimed by an ever-increasing number of consumers. The varieties of *C. alismatifolia* are relying on import in China today. The lack of new varieties with proprietary intellectual property rights limits the development of *C. alismatifolia* industry in China. Three different cross combinations of 327 hybrid offspring were constructed using the Siam TM Sitrone variety of *C. alismatifolia* as the female parent to breed new varieties of *C. alismatifolia* with independent intellectual property rights and increase the variety diversity. Eleven pairs of SSR primers were selected to analyze the hybrid F₁ generation of the three cross combinations and the parents, and five pairs of specific SSR primers were selected for each cross combination to identify the authenticity of the hybrid F₁ generation. The genetic segregation pattern and genetic diversity and genetic relationship of the parental and hybrid F₁ generation

收稿日期 2022-11-30; 修回日期 2022-12-30

基金项目 福建省林业科技项目 (No. 2022FKJ25); 福建省自然科学基金项目 (No. 2020J05168); 福建省区域发展项目 (No. 2020N3010)。

作者简介 江素华 (1997—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 姜荷花的分子育种。*通信作者 (Corresponding author): 余惠文 (YU Huiwen), E-mail: yhw1822@mnnu.edu.cn; 陆銮眉 (LU Luanmei), E-mail: llm1363@mnnu.edu.cn。

populations were also analyzed. The results showed that the eleven pairs of SSR markers had high resolution and good amplification polymorphism for the three parental materials, and each parent had its specific SSR markers, which could effectively identify the genetic authenticity of the hybrid offspring. True hybridization rates of 91.8%, 90.8% and 93.4% were identified in 327 F_1 individuals. The SSR molecular marker primers had high polymorphism and could be directly used for *C. alismatifolia* genetic diversity analysis, hybrid identification and other related studies, providing efficient and reliable SSR marker selection for future identification of hybrid progeny, while the identified true *C. alismatifolia* progeny population could provide germplasm for genetic studies of superior traits. The identification of authentic *C. alismatifolia* progeny could provide germplasm materials for genetic research on superior traits and provide scientific basis for the selection of new varieties.

Keywords: *Curcuma alismatifolia*; SSR; hybrid F_1 progeny; hybrid identification; genetic diversity

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2024.05.007

姜荷花 (*Curcuma alismatifolia* Gagnep.) 为姜科姜黄属, 原产于泰国北部, 是一种多年生草本植物, 在中国南部有大量的引种栽培。姜荷花生长期喜欢温暖、潮湿、阳光充足的气候, 是优良的花卉植物, 可应用于切花、盆花、花坛和田田, 在园林应用方面具有非常明显的优势^[1-2]。

国内对姜荷花引种适应性、生长习性和栽培技术、苗木繁殖、组培、新品种选育、病虫害防治、种球贮藏技术和切花保存等方面进行了较为系统的研究^[3-6]。这些研究极大地促进了国内姜荷花市场的发展, 但在利用姜荷花资源进行育种方面的工作还很薄弱。杂交育种是园林观赏植物育种的常规方法, 利用杂交技术繁殖姜荷花后代, 利用分子标记技术鉴定真杂种, 分析分离种群遗传多样性, 将促进姜荷花新品种的选育。简单序列重复 (simple sequence repeat, SSR)^[7-8]具有多态性丰富、重复性高、共优势、结果可靠等优点。SSR 标记技术^[9]广泛应用于农作物和林业作物的种子纯度检测、杂交品种鉴定等育种研究中。杨荣志等^[10]、杨亚桐等^[11]、将 SSR 标记技术应用于玉米的遗传多样性研究; 董海燕等^[12]采用 ISSR (inter simple sequence repeat, ISSR) 分子标记技术对红花檵木 41 个品种进行了遗传多样性的分析。SSR 分子标记在姜科植物中也有相关的研究^[13-15]。周熠玮等^[15]以白姜花 × 金姜花杂交组合获得的 114 株杂交后代为材料, 观察花色性状, 同时利用集团分离分析法开发花色相关分子标记。而在姜荷花的研究中, YU 等^[16]首次报道了姜荷花的种群结构, 收集了 32 份姜荷花种质, 27 个 SSR 标记共检测到 139 个等位基因。并将这 32 份姜荷花种质分为 2 组, 2 个群体的遗传分化 (F_{st}) 为 0.127; 发育分析表明, 研究中的 2 个群体与花梗长度、花序长度和产量有关。上述研究为后续姜

荷花品种的遗传多样性研究奠定了良好的基础。

本研究利用 SSR 标记对前期构建的 3 个姜荷花品种的杂交 F_1 进行鉴定^[14], 分析分离居群的遗传多样性, 促进姜荷花杂交育种进程。为姜荷花后期群体的遗传多样性和群体结构研究提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

以姜荷花黄色梦幻 (Siam TM Sitrone) 为母本 (图 1A), 分别以红衣少女 (Siam TM Scarlet)、白银公主 (Siam@Silver) 和荷兰红 (Holland Red) (图 1B~图 1D) 为父本, 采集杂交子一代叶片, 装入自封袋中分别标记, 置于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下冷冻保存备用。采用 CTAB^[17]法分别提取亲本及子代的 DNA, 浓度稀释到 50~100 ng/ μL 。

1.2 方法

从先前研究中报道的 SSR 引物, 从前期多态性筛选获得的 SSR 标记分布中选择 11 个 SSR 标记引物^[18-20]。将 11 对 SSR 引物对亲本进行 PCR 扩增, PCR 产物进行变性处理后进行聚丙烯酰胺凝胶电泳, 再根据聚丙烯酰胺凝胶电泳检测结果, 筛选出最适用于鉴定该 3 个亲本组合的 F_1 代杂种的 SSR 引物 (表 1), 用于后续杂交子代的扩增与分析。PCR 反应体系为 (总体积 10 μL): 上下游引物 (10 $\mu\text{mol/L}$) 各 0.3 μL , DNA 模板 1 μL , ddH₂O 3.4 μL , 2×Es Taq Master Mix 5 μL 。PCR 反应程序为: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 56 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s; 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 45 s, 共 34 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 终延伸 5 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。用聚丙烯酰胺凝胶电泳分析 PCR 产物。

1.3 数据处理

利用 MEGA 软件中的邻位连接法 (Neighbor-

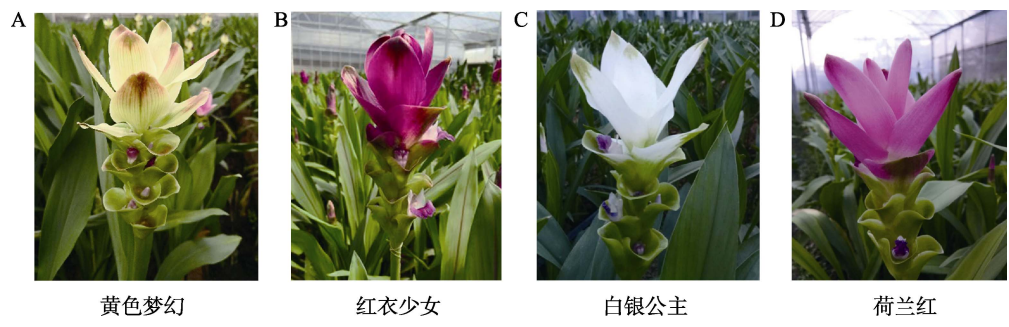


图 1 姜荷花品种
Fig. 1 Variety of *C. alismatifolia*

表 1 姜荷花 SSR 引物序列
Tab. 1 Sequence of SSR primers for of *C. alismatifolia*

引物名称 Primer name	正向引物 (5'-3') Forward primer (5'-3')	反向引物 (3'-5') Reverse primer (5'-3')
CuAl20	AAGACGTATGTCTCCGAGATGC	GTGAAACAGAGGAGAAGAACGAC
CuAl24	ACGTTCAAGATTCCGAGGATAC	GATAAATCAACCCAAATGGACAA
CuAl04	GAGAGATCAGTCATCCCTATTTCG	ACAACGTTATTATTGCCTGGAGA
c20126	ACTGATCGGGGAGGAGAAGAGA	CATGGATGTTGATTCCGTTTAC
c3424	CATGTGGTGAACGGTTCTTTTT	TACTAGTGCAACAACAACGGCA
c18940	AGAAGAAGAAGAAAGCTGCTCG	CCCTCTTTCTGTTCCTCCTCAT
c13778	GCACCTATTTATGAGCAATGTTGAC	TTACACTAAACAGAGTGCTAACAGC
c7848	GATCCAATTCTCTGTTCCTTC	CCTCCTCTTCTTCTTCTCCTCT
c9314	ACAGGCAGATCCAGTGTAGTAG	AGCGTATCTCATGCTTAGACAG
c20865	GAGGAAGAGGAATTGGTAGAGG	ATTTACTACCATGGATCATCCG
c2836	CTTCTCGACTCGACCTCTTTCC	CACAGAAACACCGATCAAAAAC

joining) 对 3 个种群的姜荷花杂交 F_1 代进行亲缘关系分析, 构建系统发育聚类树, 完成各数据处理及分析。

2 结果与分析

2.1 姜荷花杂交子代表型

以黄色梦幻为母本, 红衣少女、白银公主和荷兰红为父本授粉杂交获得 F_1 杂交子代。通过形态观察发现, F_1 杂交子代叶片表型差异较大, 如颜色、苞片、株高等均发生了较大的变异(图 2)。本研究所用的亲本表型性状苞片颜色不同, 同时, 这些杂交子代在表型上与亲本存在着较大的差异。因此, 形态学鉴定的方法只能观察到表观形态变化, 为了更深一步鉴定真杂种, 采用 SSR 分子标记进行遗传鉴定。

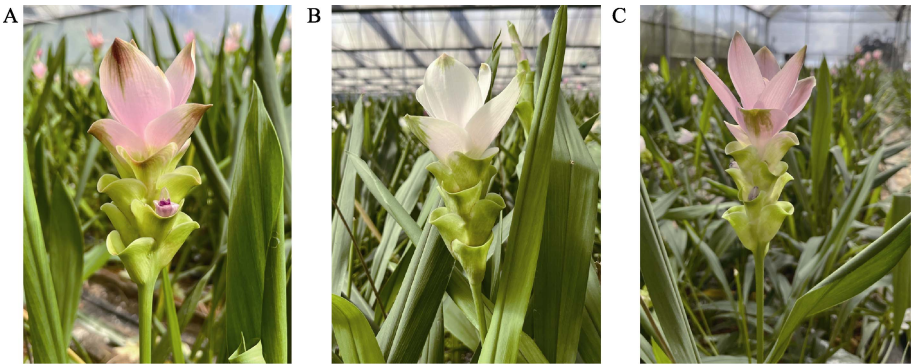
2.2 姜荷花 SSR 标记遗传分析

利用聚丙烯酰胺凝胶电泳技术, 将筛选到的引物对姜荷花杂交 F_1 代进行鉴定发现, 姜荷花杂交 F_1 子代的带型可分为双亲特征带兼具型、只具有父本特征条带型、只具有母本特征条带型以及

具有父母本都没有的新特征条带型 4 种。其中黄色梦幻×红衣少女的杂交组合共鉴定出 169 个真杂种, 2 个单株未出现父本特征条带。对 76 株姜荷花黄色梦幻×白银公主的杂交组合进行鉴定, 扩增图谱中鉴定出的 69 株苗都具有双亲互补的杂合位点且均出现了双亲都没有的新条带, 可鉴定为真杂交种, 真杂种鉴定率达到 90.8%。对 80 株黄色梦幻×荷兰红的杂交后代进行鉴定, 有 4 个样品出现双亲位点的缺失, 其余材料均出现了父本特异条带(表 2)。这些在姜荷花杂交组合间存在明显差异的 SSR 引物可以作为姜荷花杂交后代杂种鉴定时的参考引物, 有利于在姜荷花育种过程的早期选出杂种苗。

2.3 姜荷花亲本和 F_1 子代聚类分析

为了进一步检验姜荷花 F_1 子代的群体结构以及亲缘关系, 利用 MEGA 软件中的邻位连接法(Neighbor-joining)对 3 个种群的姜荷花杂交 F_1 代进行亲缘关系分析, 构建系统发育聚类树(图 3)。黄色梦幻×红衣少女的 171 份子代分为 3 个类群, 类群 I 中的子代与母本聚集在一起, 共有 139



A：黄色梦幻×红衣少女杂交 F₁ 代；B：黄色梦幻×白银公主杂交 F₁ 代；C：黄色梦幻×白银公主杂交 F₁ 代。
A: Siam TM Sitrone × Siam TM Scarlet's F₁ generation; B: Siam TM Sitrone × Siam@Silver's F₁ generation;
C: Siam TM Sitrone × Holland Red's F₁ generation.

图 2 姜荷花 F₁ 代组合图

Fig. 2 Hybrid generation combination of *C. alismatifolia*.

表 2 姜荷花 SSR 引物杂交 F₁ 植株鉴定情况
Tab. 2 Identification of F₁ plants with *C. alismatifolia* SSR primers

杂交组合 Hybridized combination	引物 Primer	鉴定总株数 Total number identified	真杂种植株数 Number of true hybrid	真杂种鉴定率 True hybrid identification rate/%
黄色梦幻 × 红衣少女	CuAl20	171	44	25.7
	CuAl24	171	42	24.6
	c20126	171	157	91.8
	c3424	171	82	47.9
	c18940	171	131	76.6
黄色梦幻 × 白银公主	CuAl20	76	69	90.8
	CuAl24	76	35	46.1
	c13778	76	43	52.6
	c7848	76	30	39.5
	c9314	76	40	56.6
黄色梦幻 × 荷兰红	CuAl104	80	47	58.8
	CuAl20	80	69	86.3
	c20865	80	64	80.0
	c2836	80	66	82.5
	c9314	80	75	93.4

株样品，占比最多，为 80.34%。占比最大的类群 I 与母本关系较近，表现出了偏母本遗传；类群 II 共有包括父本红衣少女在内的 17 株样品，占比为 9.83%；而类群 III 共有 17 株，占比为 9.83%（图 3A）。黄色梦幻×白银公主的 76 份 F₁ 样本分为两大类，第 I 类群包括 48 株，其中父本白银公主在该类群，占 63.16%；第 II 类群 28 株，占 36.84%（图 3B）。黄色梦幻×荷兰红的 82 株材料可分为四大类：第 I 类含亲本黄色梦幻和荷兰红，有 39 株，占 48.75%；第 II 类有 21 株，占 26.25%；第 III 类有 12 株，占 15%；第 IV 类有 8 株，占 10%（图 3C）。总体而言，组合黄色梦幻×红衣少女杂交 F₁ 代偏母本遗传，杂交组合黄色梦幻×白银公

主和黄色梦幻×荷兰红多数杂交 F₁ 代为偏父本遗传。组合黄色梦幻×荷兰红中第 IV 类与亲本的遗传关系较远，可能是发生了较大的重组变异，有利于下一步的育种工作。

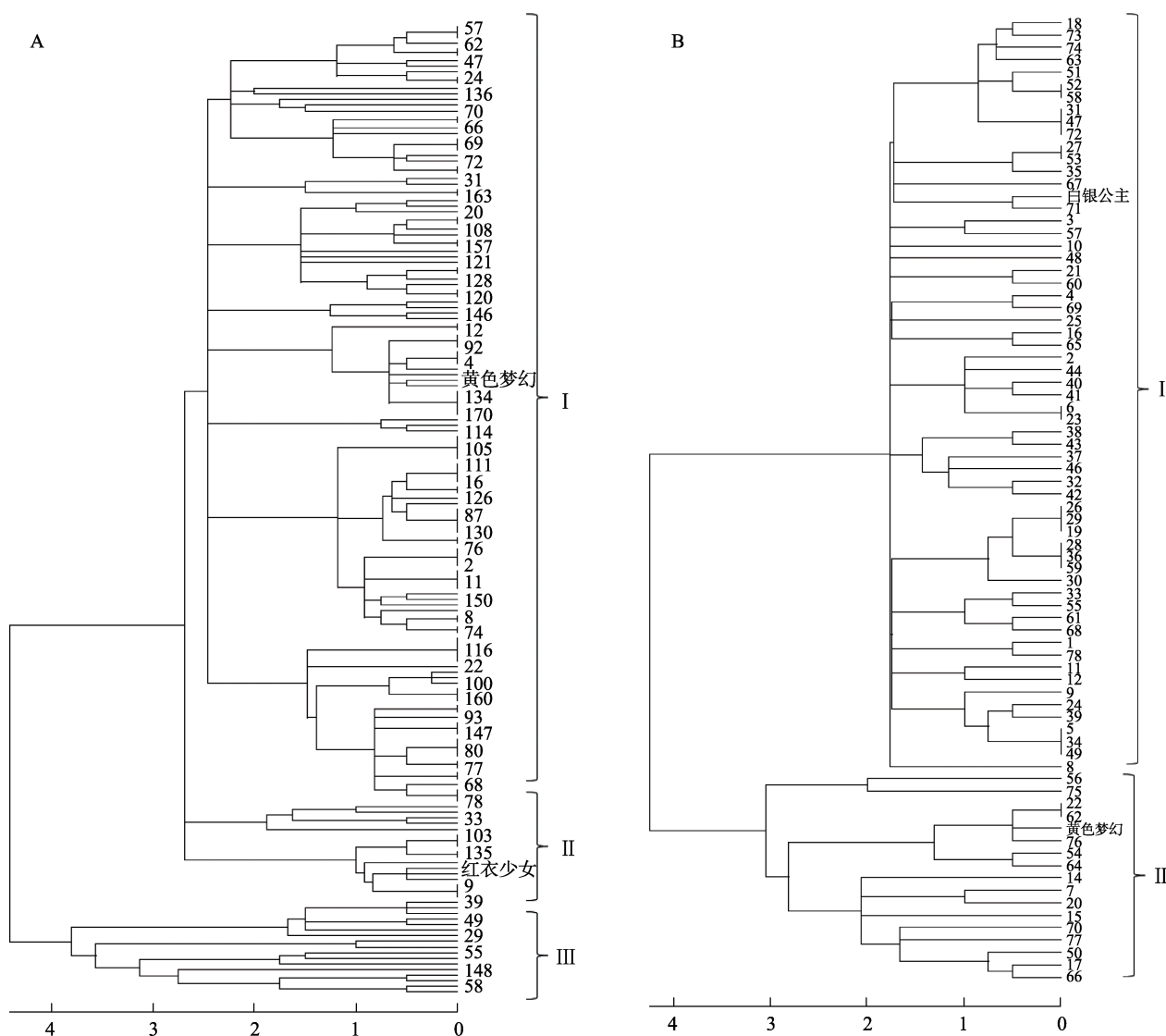
3 讨论

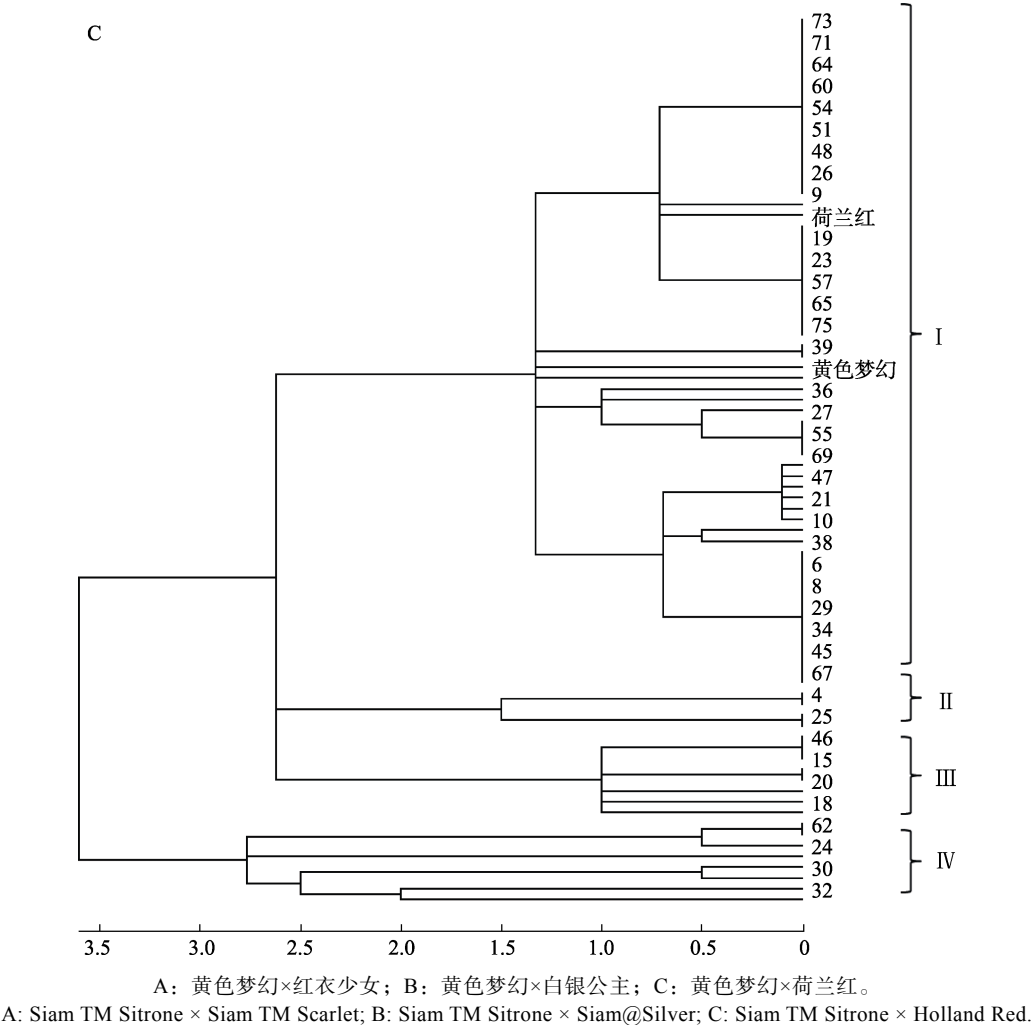
杂交育种是培育姜荷花优良品系的一个常规方法，是培育姜荷花新品种的重要途径。柯玲俊等^[14]研究发现，以黄色梦幻作为母本更容易获得杂交种子，因此设计黄色梦幻×红衣少女、黄色梦幻×白银公主以及黄色梦幻×荷兰红杂交组合，能提高姜荷花的授粉成功率，获得一定数量的杂交种子，有利于姜荷花新品种的培育。SSR 标记

技术可区分纯合和杂合,且具有重复性好、易操作,可靠性高和多等位基因检测等优点,已被广泛应用于杂种的真实性鉴定。位明明等^[21]以 37 个橡胶树栽培品种为材料,利用 SSR 荧光标记技术进行 DNA 指纹图谱的构建和遗传关系分析,构建我国橡胶树栽培品种的 SSR 指纹图谱;SSR 标记可用于甘蔗野生种割手密杂交 F_1 代的鉴定和遗传分析^[22],以及能用于鉴定石斛属植物^[23]和兰科植物品种^[24]遗传多样性分析。而且从种质资源的角度看,应用分子标记技术对杂交种进行早期的鉴定,有利于保证材料的质量和种质资源的充分利用。

在真杂种的鉴定中,SSR 引物影响鉴定效率,不同的引物鉴定效率不同,本研究应用 11 对 SSR 引物对幼苗期姜荷花杂交子代群体鉴定伪杂,每个组合筛选出 5 个引物对姜荷花杂交后代进行扩

增,电泳图谱中的条带清晰且丰富。在杂交后代的扩增图谱中表现出了新条带,吴学尉等^[25]推测新条带的出现可能是因为配子形成中出现了染色体的不等价交换而产生的新片段。AYLIFFE 等^[26]曾通过实验证明了这些新条带产生的原因是不同长度的等位核苷酸序列之间形成了异源双链体。因此,扩增的条带有一些亲本条带的缺失,有的是双亲特异条带缺失,而有的是双亲共有条带缺失。本研究利用 SSR 分子标记技术对姜荷花杂交组合的 327 株子代进行真假鉴定,本研究 3 个杂交组合的遗传相似系数均大于 0.5,说明 3 个杂交后代群体均具有较丰富的遗传变异,特别是杂交组合黄色梦幻×荷兰红中有小分子子代,既没有父本的特异性条带,也没有母本的特异性条带,且在聚类分析中独自聚为一类。因此,这些种苗可能发生了巨大的遗传变异,其中亲本的条





带出现缺失有很大概率是由于配子形成过程中染色体的交换及 DNA 分子碱基修饰引起的突变等原因所造成的位点丢失^[27]。SSR 聚类分析揭示了杂交子代的遗传多样性,进而解释了杂种子代表型上丰富的变异。因此,姜荷花杂交育种获得的子代分离变异丰富,可进一步用于新品种培育。综上所述,利用 SSR 分子标记对姜荷花的杂交子代进行鉴定具有较高的可行性,同时也为姜荷花的育种、选种工作提供基础和依据。

参考文献

[1] 杜启兰. 姜荷花规模化栽培及开发前景[J]. 林业实用技术, 2005(2): 39.
DU Q L. Large-scale cultivation and development prospect of *Curcuma alismatifolia*[J]. Practical Forestry Technology, 2005(2): 39. (in Chinese)
[2] 朱毅. 姜荷花的生长习性与规模化栽培技术[J]. 农业科技

通讯, 2005(11): 53-54.
ZHU Y. Growth habits and large-scale cultivation techniques of *Curcuma alismatifolia*[J]. Bulletin of Agricultural Science and Technology, 2005(11): 53-54. (in Chinese)
[3] 丁华侨, 刘建新, 王伟勇, 邹清成. 不同植物生长延缓剂对姜荷花的矮化效果[J]. 浙江农业科学, 2013(5): 559-562.
DING H Q, LIU J X, WANG W Y, ZOU Q C. Dwarfing effects of different plant growth retardants on *Curcuma alismatifolia*[J]. Zhejiang Agricultural Sciences, 2013(5): 559-562. (in Chinese)
[4] 李晓亮, 杨世先, 董春富, 张建康, 王文智, 杨光焰, 钱遵姚, 董广, 张军云. 姜荷花组培快繁一次性成苗技术的试验研究[J]. 农业科技通讯, 2021(1): 91-92.
LI X L, YANG S X, DONG C F, ZHANG J K, WANG W Z, YANG G Z, QIAN Z Y, DONG G, ZHANG J Y. Experimental study on tissue culture and rapid propagation of *Curcuma alismatifolia*[J]. Agricultural Science and Technology Newsletter, 2021(1): 91-92. (in Chinese)
[5] 刘建新, 徐笑寒, 丁华侨. 姜荷花‘玉如意’种球的抗寒性

- 研究[J]. 分子植物育种, 2017, 15(7): 2796-2803.
- LIU J X, XU X H, DING H Q. Study on cold resistance of *Curcuma* hybrid 'Laddawan' bulbs[J]. Molecular Plant Breeding, 2017, 15(7): 2796-2803. (in Chinese)
- [6] 张天翔, 谢南松, 何雪娇, 史国强, 林金水. 姜荷花盆栽基质筛选初步研究[J]. 福建热作科技, 2021, 46(3): 5-6.
- ZHANG T X, XIE N S, HE X J, SHI G Q, LIN J S. Preliminary study on screening of potted substrate in *Curcuma alismatifolia*[J]. Fujian Science & Technology of Tropical Crops, 2021, 46(3): 5-6. (in Chinese)
- [7] 方治伟, 李论. SSR 分型技术研究进展[J]. 生物化工, 2018, 4(1): 118-121.
- FANG Z W, LI L. Research progress of SSR typing technology[J]. Biological Chemical Engineering, 2018, 4(1): 118-121. (in Chinese)
- [8] 杨梦婷, 黄洲, 干建平, 徐君驰, 庞基良. SSR 分子标记的研究进展[J]. 杭州师范大学学报(自然科学版), 2019, 18(4): 429-436.
- YANG M T, HUANG Z, GAN J P, XU J C, PANG J L. Research progress of SSR molecular markers[J]. Journal of Hangzhou Normal University (Natural Science Edition), 2019, 18(4): 429-436. (in Chinese)
- [9] ZALAPA J E, CUEVAS H, ZHU H, STEFFAN S, SENALIK D, ZELDIN E, MCCOWN B, HARBUT R, SIMON P. Using next-generation sequencing approaches to isolate simple sequence repeat (SSR) loci in the plant sciences[J]. American Journal of Botany, 2012, 99(2): 193-208.
- [10] 杨荣志, 谭君, 杨华勇, 吴钢, 余康进, 杨俊品. 川西高原早熟玉米种质资源的 SSR 遗传多样性分析[J]. 中国种业, 2020(3): 47-50.
- YANG R Z, TAN J, YANG H Y, WU G, YU K J, YANG J P. SSR genetic diversity analysis of early maturing maize germplasm resources in the western Sichuan plateau[J]. China Seed Industry, 2020(3): 47-50. (in Chinese)
- [11] 杨亚桐, 董安忆, 刘松涛, ZENDA T, 段会军. 基于 SSR 分子标记的糯玉米遗传多样性研究[J]. 江苏农业科学, 2020, 48(2): 83-86.
- YANG Y T, DONG A Y, LIU S T, ZENDA T, DUAN H J. Study on genetic diversity of glutinous maize based on SSR molecular markers[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2020, 48(2): 83-86. (in Chinese)
- [12] 董海燕, 季孔庶, 侯伯鑫, 赵宏波. 基于 ISSR 标记的红花檵木品种亲缘关系分析[J]. 园艺学报, 2014, 41(2): 365-374.
- DONG H Y, JI K S, HOU B X, ZHAO H B. Phylogenetic analysis of *Loropetalum chinense* var. *rubrum* cultivars based on ISSR markers[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2014, 41(2): 365-374. (in Chinese)
- [13] LI Y, CHEN X, YU H, TIAN Q, LU L. Identification and characterization of CONSTANS-like genes from *Curcuma alismatifolia*[J]. Horticulture, Environment, and Biotechnology, 2021, 62(2): 279-286.
- [14] 柯玲俊, 余惠文, 彭方婷, 林金水, 陆鑫眉. 姜荷花杂交育种研究初报[J]. 闽南师范大学学报(自然科学版), 2020, 33(4): 62-66.
- KE L J, YU H W, PENG F T, LIN J S, LU L M. Preliminary report on hybrid breeding of *Curcuma alismatifolia*[J]. Journal of Minnan Normal University (Natural Science Edition), 2020, 33(4): 62-66. (in Chinese)
- [15] 周熠玮, 许国宇, 王琴, 严福龙, 玉云祯, 余让才, 范燕萍. '白姜花'×'金姜花'杂交 F₁ 代花色遗传分析及其相关 SSR 分子标记开发[J]. 园艺学报, 2021, 48(10): 1921-1933.
- ZHOU Y W, XU G Y, WANG Q, YAN F L, YU Y Y, YU R C, FAN Y P. Genetic analysis and development of associated SSR markers of the flower color in F₁ population of *Hedychium coronarium* 'COR01'×*H.* 'Jin'[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2021, 48(10): 1921-1933. (in Chinese)
- [16] YU H W, KE L J, XIAO Y L, CHEN S J, LI Y Y, TIAN Q L, LI Y H, LIN J S, LU L M. Genetic diversity and population structure of *Curcuma alismatifolia* Gagnep. accessions revealed by SSR markers[J]. Genetic Resources and Crop Evolution, 2022, 69: 1921-1933.
- [17] CHENG Y, GUO W, YI H, PANG X, DENG X. An efficient protocol for genomic DNA extraction from citrus species[J]. Plant Molecular Biology Reporter, 2003(21): 177-178.
- [18] SIJU S, DHANYA K, SYAMKUMAR S, SASIKUMAR B, SHEEJA T E, BHAT A I, PARTHASARATHY V A. Development, characterization and cross species amplification of polymorphic microsatellite markers from expressed sequence tags of Turmeric (*Curcuma longa* L.)[J]. Molecular Biotechnology, 2010, 44(2): 140-147.
- [19] TAHERI S, ABDULLAH T L, RAFII M Y, HARIKRISHNA J A, WERBROUCK S P O, TEO C H, SAHEBI M, AZIZI P. *De novo* assembly of transcriptomes, mining, and development of novel EST-SSR markers in *Curcuma alismatifolia* (Zingiberaceae family) through Illumina sequencing[J]. Scientific Reports, 2019, 9(1): 3047.
- [20] 毛俐慧, 刘建新, 丁华侨, 徐笑寒, 田丹青. 姜荷花全长转录组微卫星特征分析和引物设计[J]. 分子植物育种, 2018, 16(22): 7407-7414.
- MAO L H, LIU J X, DING H Q, XU X H, TIAN D Q. Microsatellite characterization analysis and primers design of the whole transcriptome of *Curcuma alismatifolia*[J]. Molecular Plant Breeding, 2018, 16(22): 7407-7414. (in Chinese)
- [21] 位明明, 黄肖, 李维国, 黄华孙. 利用 SSR 荧光标记构建 37 个中国橡胶树栽培品种指纹图谱[J]. 热带作物学报,

- 2022, 43(8): 1565-1576.
- WEI M M, HUANG X, LI W G, HUANG H S. Using the SSR fluorescent labeling to establish SSR fingerprints for 37 cultivars in rubber tree (*Hevea brasiliensis*)[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2022, 43(8): 1565-1576. (in Chinese)
- [22] 田春艳, 边芯, 董立华, 吴才文, 郎荣斌, 俞华先, 张钰, 桃联安, 经艳芬. 甘蔗野生种割手密杂交 F₁ 代 SSR 鉴定和遗传分析[J]. 热带作物学报, 2022, 43(10): 2021-2029.
- TIAN C Y, BIAN X, DONG L H, WU C W, LANG R B, YU H X, ZHANG Y, TAO L A, JING Y F. Identification and genetic analysis of F₁ hybrids from wild *Saccharum spontaneum* L. of sugarcane using SSR markers[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2022, 43(10): 2021-2029. (in Chinese)
- [23] 张迎辉, 凡莉莉, 杜溶屹, 谢德金, 杨旺利, 陈礼光, 郑郁善. 31 种石斛属植物及金石斛遗传多样性 SRAP 分析及 DNA 指纹图谱研究[J]. 热带作物学报, 2022, 43(10): 2030-2036.
- ZHANG Y H, FAN L L, DU R Q, XIE D J, YANG W L, CHEN L G, ZHENG Y S. SRAP analysis and DNA fingerprinting of genetic diversity of 31 species of *Dendrobium* and *Flickingeria comata*[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2022, 43(10): 2030-2036. (in Chinese)
- [24] 赵佳敏, 李孟凯, 庞深深, 郑维列, 邢震, 周鹏, 王伟. 西藏兰科植物 5 个新记录种[J]. 热带作物学报, 2022, 43(4): 710-713.
- ZHAO J M, LI M K, PANG S S, ZHENG W L, XING Z, ZHOU P, WANG W. Five newly recorded species of Orchidaceae in Tibet[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2022, 43(4): 710-713. (in Chinese)
- [25] 吴学尉, 崔光芬, 吴丽芳, 张艺萍, 明军, 王杰, 王继华. 百合杂交后代 ISSR 鉴定[J]. 园艺学报, 2009, 36(5): 749-754.
- WU X W, CUI G F, WU L F, ZHANG Y P, MING J, WANG J, WANG J H. Identification of ISSR in *Lily* hybrids[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2009, 36(5): 749-754. (in Chinese)
- [26] AYLIFFE M A, LAWRENCE G J, ELLIS J G, PRYOR A J. Heteroduplex molecules formed between allelic sequences cause nonparental RAPD bands[J]. Nucleic Acids Research, 1994, 22(9): 1632-1636.
- [27] 高丽霞, 刘念, 黄邦海, 张伟. 姜花属 SRAP-PCR 体系的优化与建立[J]. 广西植物, 2008, 28(5): 604-607.
- GAO L X, LIU N, HUANG B H, ZHANG W. Optimization and formation SRAP system in *Hedychium*[J]. Guihaia, 2008, 28(5): 604-607. (in Chinese)