

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201702002

引文格式: 石鹏, 夏薇, 肖勇, 等. 油棕种壳厚度控制基因 *SHELL* 的 SNP 分子标记开发 [J]. 广西植物, 2018, 38(2):195-201  
SHI P, XIA W, XIAO Y, et al. SNP markers development of *SHELL* controlling shell thickness in oil palm (*Elaeis guineensis*) [J]. *Guihaia*, 2018, 38(2):195-201

## 油棕种壳厚度控制基因 *SHELL* 的 SNP 分子标记开发

石鹏<sup>1,2</sup>, 夏薇<sup>3</sup>, 肖勇<sup>1,2</sup>, 王永<sup>1,2</sup>, 曹红星<sup>1,2</sup>, 李东霞<sup>1,2</sup>, 雷新涛<sup>1,2\*</sup>

(1. 中国热带农业科学院 椰子研究所, 海南 文昌 571339; 2. 海南省热带油料作物生物学  
重点实验室, 海南 文昌 571339; 3. 海南大学, 海口 570228)

**摘要:** 油棕属棕榈科多年生木本油料作物, 果实含油量高达 50%, 且单位面积产油量高, 享有“世界油王”美誉。油棕果实由外果皮、中果皮、内果皮(种壳)、种子四个部分组成, 产油部分主要是中果皮和种子, 其中种壳厚度是影响果实含油量的重要因素。*SHELL* 基因控制种壳厚度, 是一类 MADS-box 同源基因, *SHELL* 基因在厚壳种和无壳种中的变异主要是第一个外显子上的两个 SNP 位点。该研究根据两个 SNP 位点进行特异标记开发, 根据已知的油棕 *SHELL* 基因的序列, 设计了 4 对 SNP 引物。4 对 SNP 引物以 2 个 SNP 位点设计, 每个 SNP 位点设计 2 对 SNP 标记, 并均在引物 3' 端第二位引入强错配碱基。以 2 份薄壳种油棕材料和 2 份厚壳种油棕材料 DNA 为模板, 扩增筛选油棕 *SHELL* 基因 SNP 引物。通过 PCR 扩增发现, 设计的 *SHELL* 基因特异 SNP 标记 EgSh(N)-f/EgSh(SNP)-2r 能够鉴别油棕厚壳种和薄壳种。再用 24 株油棕树进行特异性验证, 发现该标记能较准确地判断油棕的厚薄壳。该研究结果表明 SNP 标记 EgSh(N)-f/EgSh(SNP)-2r 可用于进行油棕种质资源早期分子鉴定, 为高产油棕品种选育提供了技术支撑。

**关键词:** 油棕, 种壳厚度, *SHELL* 基因, 错配碱基, SNP 标记

中图分类号: Q949.9, S59 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2018)02-0195-07

## SNP markers development of *SHELL* controlling shell thickness in oil palm (*Elaeis guineensis*)

SHI Peng<sup>1,2</sup>, XIA Wei<sup>3</sup>, XIAO Yong<sup>1,2</sup>, WANG Yong<sup>1,2</sup>,  
CAO Hongxing<sup>1,2</sup>, LI Dongxia<sup>1,2</sup>, LEI Xintao<sup>1,2\*</sup>

(1. Coconut Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Wenchang 571339, Hainan, China; 2. Hainan Key Biological Laboratory of Tropical Oil Crops, Wenchang 571339, Hainan, China; 3. Hainan University, Haikou 570228, China)

收稿日期: 2017-04-20

基金项目: 海南省自然科学基金(20163145); 中国热带农业科学院基本科研业务费专项资金(17CXTD-13); 海南省重点研发计划(ZDYF2016214); 国家农业部“948”项目(2016-X40) [Supported by Natural Science Foundation of Hainan Province (20163145); Central Public-Interest Scientific Institution Foundamental Research Fund for Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences (17CXTD-13); Key Research and Development Program of Hainan Province (ZDYF2016214); “948” Program from Ministry of Agriculture of China (2016-X40)].

作者简介: 石鹏(1987-), 男, 湖南安乡人, 硕士, 助理研究员, 主要从事油棕遗传育种研究, (E-mail) ship@catas.cn.

\*通信作者: 雷新涛, 博士, 研究员, 主要从事热带油料作物遗传育种研究, (E-mail) xtlei@263.com.

**Abstract:** Oil palm (*Elaeis guineensis*) belongs to palmae perennial woody oil crop, known as “oil king of the world”, and its fruit oil content is up to 50%. Fruit of oil palm consists of exocarp, mesocarp, endocarp (shell) and seed, mesocarp and seed is the resource of oil, and shell thickness play an important role in fruit oil content. *SHELL* gene controls the shell thickness, which is a kind of MADS-box homologous gene. Moreover, variation of *SHELL* between dura and pisifera is mainly two SNP loci in the first exon. Specific markers were developed according to two SNP loci, in order to evaluate germplasm resources of oil palm early. Four SNP markers were designed according to *SHELL* gene sequence. Four pairs of SNP primers were designed with two SNP loci, which existed strong mismatch base in the second position from 3'-end respectively. Four pairs of SNP primers were amplified in two tenera palms and two dura palms to screen effective primers. PCR result showed that SNP marker EgSh(N)-f/EgSh(SNP)-2r was able to identify dura and tenera palms effectively. Verification experiment using 24 plants revealed that this marker could accurately determine the shell thickness of oil palm. In this study, results showed that SNP marker EgSh(N)-f/EgSh(SNP)-2r might be used for early molecular identification, which would provide technical support for high yield breeding of oil palm.

**Key words:** oil palm, shell thickness, *SHELL* gene, mismatch bases, SNP markers

油棕 (*Elaeis guineensis*) 是棕榈科油料作物, 其生产的棕榈油和棕榈仁油应用广泛 (Cornelius, 1977; 李瑞等, 2009)。近年来, 受益于全球食用油需求的迅猛增长和油棕种植面积的快速扩张, 棕榈油和棕榈仁油产量达到 4 500 万 t, 占世界食用植物油产量的 32% (Murphy, 2009)。在 2006 年, 就超越大豆, 成为全球最重要的油料作物。然而, 随着油棕种植面积的快速扩大, 造成热带雨林生物多样性降低等生态危机也越来越严重 (Wilcove & Koh, 2010; Foster et al, 2011; Koh & Wilcove, 2008; Koh et al, 2011)。在全球食用植物油需求继续增加, 油棕种植面积不能继续扩大的前提下, 提高油棕单位面积产油量是实现这些目标的唯一途径。油棕产油部分主要是果实, 所以果实的含油量是影响单位面积含油量的重要因素。

在非洲油棕进化和育种过程中一个关键的事件就是包裹种仁的厚壳消失。现在的非洲油棕有三种果实类型, 厚壳型 (*dura*), 无壳型 (*pisifera*) 和薄壳型 (*tenera*), 其中薄壳种是厚壳种和无壳种的杂交种 (Corley & Tinker, 2007)。薄壳种油棕产油量高于厚壳种, 是东南亚地区商业棕榈油生产的主要来源。Singh et al (2013a) 通过测序进行同源定位, 确定了控制油棕种壳厚度的基因是拟南芥中控制子房形成和种子发育的 MADS-box 基因 *STK* 的同源基因 *SHELL*。这个基因控制着油棕最重要的经济性状, 用其选育的薄壳种油棕也对全

球食用油生产, 生物能源和热带雨林保护产生有利影响。

油棕果实由四部分组成: 外果皮、中果皮、内果皮 (种壳) 和种仁。内果皮发育成熟后形成类似椰子壳的纤维环, 薄壳种油棕正是因为其种壳薄而获得更高的产油量。控制这种性状的 *SHELL* 基因是共显性单基因遗传。利用厚壳种与无壳种培育优良的薄壳杂交种显然是进行油棕常规育种的重要途径, 然而仅仅依靠人工去鉴别育种亲本的类型显得费时费力, 延长了育种周期, 而且还不准确 (Mathews et al, 2008)。因此利用分子标记辅助育种成为了培育高产薄壳油棕的新途径。

单核苷酸多态性 (Single nucleotide polymorphisms, SNP) 是指在基因组水平上由单个核苷酸的变异所引起的 DNA 序列多态性。SNP 大多是双等位基因, 共显性遗传 (Krawczak, 1999; Xing et al, 2005)。目前它已经作为新一代分子标记, 在分子遗传学研究中发挥着重要作用 (Liu et al, 2012)。在植物分子生物学研究中, SNP 标记已经受到各国学者的高度重视, 目前在水稻、番茄、土豆、玉米、油菜和棉花等粮食和经济作物中开展了 SNP 研究 (杨广阔等, 2014; Hayashi et al, 2004; 姚祝平等, 2015; Sattarzadeh et al, 2006; 乐素菊等, 2012; 孙妍妍等, 2015; 匡猛等, 2016)。基于普通 PCR 技术的 SNP 标记开发具有低成本和便捷的优势, 利用 SNP 标记对油棕进行辅助育种培育薄壳

杂交种油棕开辟了一条新途径。本研究以 2 份薄壳种油棕和 2 份厚壳种油棕为实验材料,以 *SHELL* 基因为模板开发了 4 对 SNP 标记,为油棕种壳厚度基因 *SHELL* 的分子标记辅助育种奠定了良好的基础。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料

实验材料取自中国热带农业科学院椰子研究所椰子大观园,薄壳种油棕材料编号: B1、B2;厚壳种油棕材料编号: H4、H5。来自海口三江油棕基地的 24 株油棕单株为随机选取,编号为 1-24。

### 1.2 方法

1.2.1 油棕种壳类型鉴定 取油棕单株上所结成熟油棕果实,用园艺专用剪刀剪开果实,用游标卡尺测量种壳厚薄,小于 1 mm 并且大于 0 mm 的认定为薄壳种,大于 3 mm 认定为厚壳种。

1.2.2 DNA 的提取 取实验材料各单株油棕叶片 1~2 片,将其装入取样袋中,写明编号,用液氮速冻后备用。采用 CTAB 小样提取法(周丽霞等, 2013)对油棕材料进行 DNA 提取。用 1.2% 的琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 是否降解,用 Nano Drop 2000 测定 DNA 的浓度,其后将所有材料的 DNA 用灭菌 ddH<sub>2</sub>O 稀释到 50 ng · μL<sup>-1</sup> 备用。

1.2.3 引物设计 利用 Primer primer 5 和在线引物设计软件 Primer 3 (<http://bioinfo.ut.ee/primer3/>),以 *SHELL* 基因序列设计了 4 对 SNP 引物,本实验针对 86 bp 处的 T-C 转换和 93 bp 处的 A-T 颠换设计引物(表 1)。其中, EgSh(L)-f 和 EgSh(P)-f 为 T-C 转换处的正向引物; EgSh(K)-f 和 EgSh(N)-f 为 A-T 颠换处的正向引物, EgSh(SNP)-2r 为这 4 个引物的通用反向引物。

1.2.4 PCR 扩增和电泳检测 PCR 反应体系(20 μL): 5 μL 模板 DNA, 2 μL 10×Taq Buffer, 1.6 μL Mg<sup>2+</sup>, 0.4 μL dNTP, 0.3 μL Taq DNA 聚合酶, 8.7 μL ddH<sub>2</sub>O, 1 μL 正向引物, 1 μL 反向引物。PCR 程序: 95 °C 预变性 5 min; 95 °C 变性 30 s, 57 °C 退火 45 s, 72 °C 延伸 30 s, 35 个循环; 72 °C 延伸 7 min, 4 °C 保存。PCR 产物在 1.2% 琼脂糖凝胶上电

表 1 设计的 SNP 引物序列

Table 1 SNP primers designed by softwares

引物名称 Primer name	引物序列 Primer sequence	引物起始 位点 Primer site (bp)	目的片段 大小 Fragment size (bp)
EgSh(L)-f	5' AACGCCGAAATG-GACTGTT3'	67	351
EgSh(P)-f	5' AACGCCGAAATG-GACTGTC3'	67	351
EgSh(K)-f	5' CCGAAATGGACT-GCTGAAGAGA3'	71	347
EgSh(N)-f	5' CCGAAATGGACT-GCTGAAGAGT3'	71	347
EgSh(SNP)-2r	5' GGATCAGGGATA-AAAGGGAAGC3'	418	

泳,凝胶成像系统下检测拍照。

## 2 结果与分析

### 2.1 油棕种壳类型及 *SHELL* 基因变异

油棕种壳共有 3 种类型,厚壳、薄壳和无壳,本研究中利用收集到的厚壳种与薄壳种油棕种质资源来设计和鉴定引物。*SHELL* 基因已经测序(Singh et al, 2013a),分析表明在 *SHELL* 基因第一个外显子 86 bp 和 93 bp 处各有一个 SNP 位点。其中 86 bp 处为 C/T 碱基转换,93 bp 处为 A/T 碱基颠换(图 1)。

### 2.2 等位基因 PCR 引物设计与筛选

为了提高引物特异性,该实验中分别在 4 条正向引物 3' 端的第二个碱基位置引入强错配碱基,并检测它们的扩增情况。实验中以 B1、B2、H4 和 H5 为材料进行引物筛选,通过筛选来确定这 4 对引物是否为等位基因的特异引物。引物 EgSh(L)-f 和 EgSh(P)-f 为针对 86 bp 处 SNP 位点设计的正向引物, EgSh(L)-f 为与厚壳基因型相匹配的正向引物, EgSh(P)-f 为与薄壳基因型相匹配的正向引物,同时在 EgSh(L)-f 和 EgSh(P)-f 的 3' 端第二位均引入 C/T 碱基错配;引物 EgSh(K)-f 和 EgSh(N)-f 为针对 93 bp 处 SNP 位点设计的正向引物, EgSh(K)-f 为与厚壳基因型相匹配的正向引物,

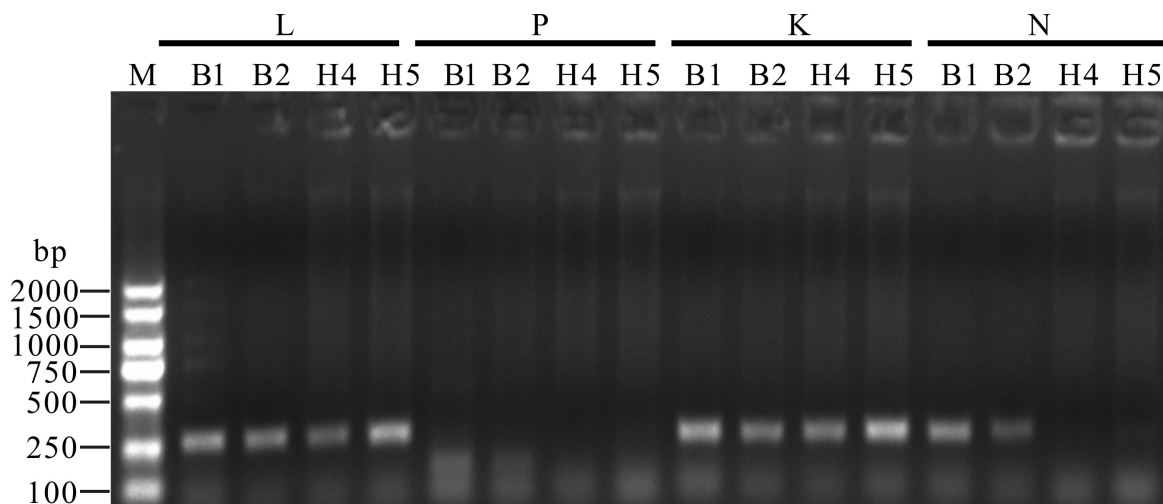
	70	80	90	100	110
厚壳种 Dura	GCCGAAATGGACTGCTGAAGAAAGCTTATGAGTTGTCTGTCCTTTGTGAT				
无壳种 Pisifera	GCCGAAATGGACTGCTGAAGAAATGCTTATGAGTTGTCTGTCCTTTGTGAT				
	GCCGAAATGGACTGCCGAAGAAAGCTTATGAGTTGTCTGTCCTTTGTGAT				
薄壳种 Tenera	GCCGAAATGGACTGCTGAAGAAWGCCTTATGAGTTGTCTGTCCTTTGTGAT				
	GCCGAAATGGACTGCYGAAGAAAGCTTATGAGTTGTCTGTCCTTTGTGAT				
	GCCGAAATGGACTGCYGAAGAAWGCCTTATGAGTTGTCTGTCCTTTGTGAT				

注：标注有厚壳种、无壳种和薄壳种的是三种类型油棕包含 *SHELL* 基因两个突变位点的 DNA 序列，其中数字表示碱基在序列中的位置。Y. C 或 T 碱基；W. A 或 T 碱基。

Note: DNA sequences including two SNP sites of *SHELL* are marked with dura, pisifera, and tenera, number represent base sites in gene sequence. Y. C or T base; W. A or T base.

图 1 油棕 *SHELL* 基因第一外显子 SNP 位点

Fig. 1 SNP site in the first exon of *SHELL*



注：M. 分子量标准；L. 标记 EgSh(L)-f/EgSh(SNP)-2r；P. 标记 EgSh(P)-f/EgSh(SNP)-2r；

K. 标记 EgSh(K)-f/EgSh(SNP)-2r；N. 标记 EgSh(N)-f/EgSh(SNP)-2r。

Note: M. DNA ladder; L. EgSh(L)-f/EgSh(SNP)-2r; P. EgSh(P)-f/EgSh(SNP)-2r;

K. EgSh(K)-f/EgSh(SNP)-2r; N. EgSh(N)-f/EgSh(SNP)-2r.

图 2 SNP 标记筛选结果

Fig. 2 Screening SNP markers by PCR

EgSh(N)-f 为与薄壳基因型相匹配的正向引物，同时在 EgSh(K)-f 和 EgSh(N)-f 的 3' 端第二位也均引入 A/G 强错配碱基。

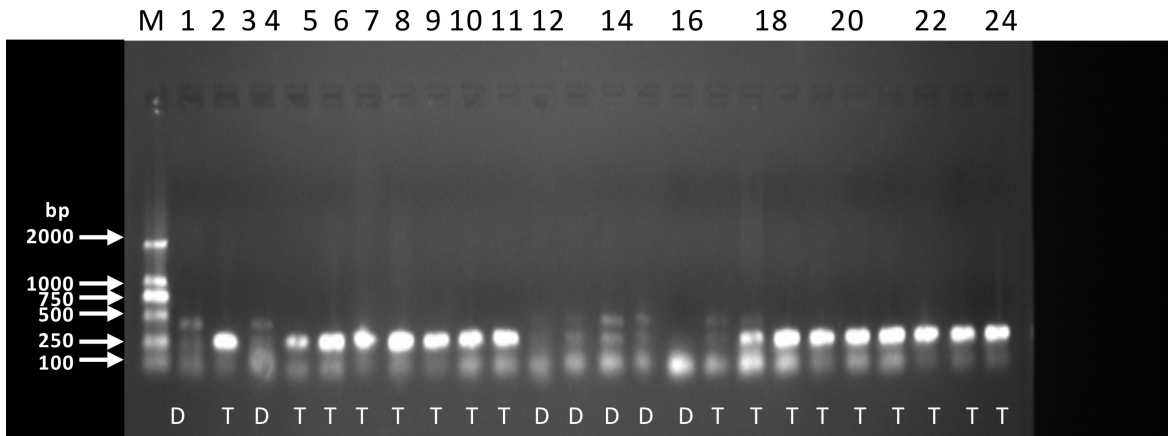
四对引物分别在两个薄壳种油棕 B1 和 B2，两个厚壳种油棕 H4 和 H5 中进行 PCR 扩增，在琼脂糖凝胶上进行电泳检测。结果显示，标记 EgSh(N)-f/EgSh(SNP)-2r 在薄壳种中条带亮，而在厚壳种中没有检测到 PCR 产物，说明该标记能够区

分开厚壳种和薄壳种(图 2)。而其它三对标记均不能区分薄壳种和厚壳种，所以只有标记 EgSh(N)-f/EgSh(SNP)-2r 可以用于进一步验证。

### 2.3 SNP 标记验证

取海口三江油棕基地 24 株油棕单株的叶片，同时对这些单株上的成熟果实进行种壳厚度测量并记录。之后提取叶片 DNA，用特异引物 EgSh(N)-f 和 EgSh(SNP)-2r 做 PCR 扩增。在琼脂糖





注: M. 分子量标准; 数字表示单株代号; D. 厚壳种; T. 薄壳种。

Note: M. DNA ladder; Number represent individuals code; D. Dura; T. Tenera.

图 3 SNP 标记 EgSh(N)-f/EgSh(SNP)-2r 在油棕中验证结果

Fig. 3 Amplification result of EgSh(N)-f/EgSh(SNP)-2r in oil palm individuals

凝胶上电泳,结果显示所有已知为薄壳种油棕的单株,能够扩增出亮或较亮的目标条带,而未知为厚壳种油棕的单株则无亮条带或较弱(图3)。结果表明,EgSh(N)-f和EgSh(SNP)-2r标记基本可以用于油棕种壳类型前期分子鉴定。

### 3 讨论与结论

根据公布的 *SHELL* 基因序列和 SNP 变异位点,增加引物 3' 端第二位错配碱基,设计了 4 对 SNP 标记。在已知种壳厚薄的 4 份油棕叶片 DNA 中进行筛选,初步发现标记 EgSh(N)-f/EgSh(SNP)-2r 可以区分厚壳种和薄壳种。随后用该标记在 24 份油棕种质资源中扩增,发现该标记鉴定结果与实际种壳厚薄情况基本一致,标记 EgSh(N)-f/EgSh(SNP)-2r 可以用于油棕种壳厚薄早期分子鉴定。

油棕种壳厚度与果实含油量关系密切,受母本基因型控制。在油棕杂交育种过程中,如果能对杂交后代进行早期鉴定,将会极大减少优良子代筛选的工作量和时间。早期有人寻找与油棕种壳厚度连锁的 SSR 等分子标记,但是准确度有限。随着油棕基因组测序完成,控制种壳厚度的 *SHELL* 基因序列被公布,使得开发更精确的 SNP

标记成为可能。本研究结合前人研究成果,在引物 3' 端引入强错配碱基的方法,获得较好的特异性扩增结果。理论上,引物 3' 末端碱基与模板互补才会在适合的条件下发生延伸,但是在实际 PCR 扩增过程中,3' 末端单个碱基的错配不能阻止扩增延伸,因此在特异引物 3' 端第二位引入错配碱基就可以提高引物的特异性(Ye et al, 2001; 张育壺等, 2012; 黄代新等, 2005)。强碱基错配类型为 C/T 和 G/A; 中等碱基错配类型为 A/A、C/C、G/G、T/T; 弱碱基错配类型为 C/A 和 G/T。因此,该实验中为了获得较好的特异扩增效果,在引物 3' 端第二位上引入了 C/T 和 A/G 强错配碱基。

验证实验结果也显示,该标记能够初步用于油棕厚壳种和薄壳种的分子鉴定。目前,分子标记辅助选择已经在包括橡胶和木薯等热带作物得到应用,相比之下,油棕分子标记辅助选择技术的应用还比较滞后(郑燕梅等, 2013; 周龙华和蒋立希, 2016)。多态性丰富,遗传稳定性高的 SNP 标记作为第三代分子标记,便于应用普通 PCR 技术进行检测,在油棕等木本作物中应用前景广阔。国外很早就有油棕种壳厚度控制基因 *SHELL* 的相关研究报道,但直到 2013 年,随着油棕全基因组序列测序完成, *SHELL* 基因的全部序列才得以公布,为本研究中 SNP 标记开发奠定了基础(Singh

et al, 2013b)。本研究利用最新公布的 *SHELL* 基因序列设计分子标记,所开发的 SNP 标记具有一定的稳定性和可靠性,这将为油棕种壳厚度控制基因 *SHELL* 的分子标记辅助育种提供有效的工具。下一步将收集无壳种油棕资源,设计能同时鉴定无壳种、厚壳种和薄壳种油棕的 SNP 分子标记。

## 参考文献:

CORLEY RHV, TINKER PB, 2007. The oil palm [M]. Hoboken: Blackwell Science Ltd, 4: 27-30.

CORNELIUS JA, 1977. Palm oil and palm kernel oil [J]. Progr Chem Fats Other Lipids, 15(1): 5-27.

FOSTER WA, SNADDON JL, TURNER EC, et al, 2011. Establishing the evidence base for maintaining biodiversity and ecosystem function in the oil palm landscapes of South East Asia [J]. Philosoph Trans Royal Soc B Biol Sci, 366 (1582): 3277-91.

HAYASHI K, HASHIMOTO N, DAIGEN M, et al, 2004. Development of PCR-based SNP markers for rice blast resistance genes at the Piz locus [J]. Theoret Appl Gene, 108(7): 1212-1220.

HUANG DX, YANG QE, ZHAO GS, 2005. A simple and rapid modified—new method for SNP typing by fragment length discrepant allele specific PCR [J]. J Forens Med, 21(1): 11-14. [黄代新, 杨庆恩, 赵贵森, 2005. 片段长度差异等位基因特异性 PCR——一种改良的 SNP 分型新方法 [J]. 法医学杂志, 21(1): 11-14.]

KOH LP, MIETTINEN J, LIEW SC, et al, 2011. Remotely sensed evidence of tropical peatland conversion to oil palm [J]. Proc Nat Acad Sci USA, 108(12): 5127-5132.

KOH LP, WILCOVE DS, 2008. Is oil palm agriculture really destroying tropical biodiversity? [J]. Conserv Lett, 1(2): 60-64.

KRAWCZAK M, 1999. Informativity assessment for biallelic single nucleotide polymorphisms [J]. Electrophoresis, 20 (8): 1676-1681.

KUANG M, WANG YQ, ZHOU DY, et al, 2016. High-throughput genotyping assay technology for cotton hybrid purity based on single-copy SNP markers [J]. Cott Sci, 28 (3): 227-233. [匡猛, 王延琴, 周大云, 等, 2016. 基于单拷贝 SNP 标记的棉花杂交种纯度高通量检测技术 [J]. 棉花学报, 28(3): 227-233.]

LI R, XIA QY, ZHAO SL, et al, 2009. Functional properties and application of palm oil [J]. Chin Trop Agric, (2): 31-34. [李瑞, 夏秋瑜, 赵松林, 等, 2009. 棕榈油的功能性

质及应用 [J]. 中国热带农业, (2): 31-34.]

LIU J, HUANG S, SUN M, et al, 2012. An improved allele-specific PCR primer design method for SNP marker analysis and its application [J]. Plant Meth, 8(1): 34.

MURPHY DJ, 2009. Oil palm: future prospects for yield and quality improvements [J]. Lipid Technol, 21 (11-12): 257-260.

MATHEWS J, TEO KW, IP WM, 2008. Breeding for high oil yielding tenera palms [J]. Planter: 87-112.

SATTARZADEH A, ACHENBACH U, LÜBECK J, et al, 2006. Single nucleotide polymorphism (SNP) genotyping as basis for developing a PCR-based marker highly diagnostic for potato varieties with high resistance to *Globodera pallida* pathotype Pa2/3 [J]. Molec Breed, 18(4): 301-312.

SINGH R, LOW ET, OOI LC, et al, 2013a. The oil palm *SHELL* gene controls oil yield and encodes a homologue of SEEDSTICK. [J]. Nature, 500(7462): 340-344.

SINGH R, ONG-ABDULLAH M, LOW ET, et al, 2013b. Oil palm genome sequence reveals divergence of interfertile species in old and new worlds [J]. Nature, 500 (7462): 335-339.

SUN YY, QU GP, HUANG QX, et al, 2015. SNP markers for acetolactate synthase genes from tribenuron-methyl resistant mutants in *Brassica napus* L. [J]. Chin J Oil Crop Sci, 37 (5): 589-595. [孙妍妍, 曲高平, 黄谦心, 等, 2015. 甘蓝型油菜抗苯磺隆突变体 ALS 基因分析与 SNP 标记 [J]. 中国油料作物学报, 37(5): 589-595.]

WILCOVE DS, KOH LP, 2010. Addressing the threats to biodiversity from oil-palm agriculture [J]. Biodivers Conserv, 19 (4): 999-1007.

XING C, SCHUMACHER FR, XING G, et al, 2005. Comparison of microsatellites, single-nucleotide polymorphisms (SNPs) and composite markers derived from SNPs in linkage analysis [J]. BMC Gene, 6(S1): S29.

YANG GK, CHEN ZQ, CHEN ZJ, et al, 2014. Developing rice SNP-dCAPS markers based on next generation resequencing data of 93-11 as parental line, a case study [J]. Mol Plant Breed, 12(6): 1288-1295. [杨广阔, 陈子强, 陈在杰, 等, 2014. 基于二代测序数据开发以 93-11 为亲本的水稻 SNP-dCAPS 标记的研究实例 [J]. 分子植物育种, 12 (6): 1288-1295.]

YAO ZP, YE QJ, WANG RQ, et al, 2015. SNP marker development of tomato yellow leaf crulvirus resistance gene *Ty-5* CAPS in tomato [J]. Acta Agric Zhejiang, 27(5): 787-791. [姚祝平, 叶青静, 王荣青, 等, 2015. 基于番茄抗黄化曲叶病毒病基因 *Ty-5* CAPS 的 SNP 标记开发 [J]. 浙江农业学报, 27(5): 787-791.]

YE S, DHILLON S, KE X, et al, 2001. An efficient procedure for genotyping single nucleotide polymorphisms. [J]. Nucleic

- Acids Res, 29(17):88-88.
- YUE SJ, LIU PF, ZENG MH, et al, 2012. Protomer region of super sweet corn *bt2* gene and development of molecular marker-assisted selection [J]. J NW A & F Univ (Nat Sci Ed), 40(11): 73-78. [乐素菊, 刘鹏飞, 曾慕衡, 等, 2012. 超甜玉米 *bt2* 基因 SNP 位点的分析及分子标记辅助筛选 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 40(11):73-78.]
- ZHANG YY, LI JF, XIE LB, et al, 2012. Development of SNPs for leaf mould resistance gene *Cf-5* in tomato [J]. J NE Agric Univ, 43(4): 93-97. [张育垚, 李景富, 谢立波, 等, 2012. 番茄 *Cf-5* 基因的 SNP 分子标记开发 [J]. 东北农业大学学报, 43(4):93-98.]
- ZHENG YM, WU CZ, LIU YQ, et al, 2013. Improvement of bacterial blight resistance of II-32 B by molecular marker-assisted selection [J]. Chin J Trop Crops, 34(12): 2458-2462. [郑燕梅, 吴春珠, 刘玉芹, 等, 2013. 分子标记辅助选择改良 II-32B 白叶枯病抗性 [J]. 热带作物学报, 34(12):2458-2462.]
- ZHOU LX, XIAO Y, YANG YD, et al, 2013. Comparison of three extract methods for genomic DNA of *Elaeis guineensis* [J]. Acta Agric Jiangxi, 25(8): 9-11. [周丽霞, 肖勇, 杨耀东, 等, 2013. 油棕基因组 DNA 3 种提取方法的比较研究 [J]. 江西农业学报, 25(8): 9-11.]
- ZHOU LH, JIANG LX, 2016. SNP molecular marker and research progress of its application in *Brassica napus* [J]. J Agric Biotechnol, 24(10): 1608-1616. [周龙华, 蒋立希, 2016. SNP 分子标记及其在甘蓝型油菜中应用的研究进展 [J]. 农业生物技术学报, 24(10):1608-1616.]