

111 份大薯种质资源遗传多样性 AFLP 分析

许云, 吴文婧, 谢俊, 黄东益

(海南大学农学院, 海口 570228)

摘要: 采用 AFLP 分子标记方法对收集于 6 省不同地区的 111 份大薯种质资源进行遗传多样性分析。筛选到的 8 个 AFLP 引物组合扩增到 1291 个位点, 其中 1286 个是多态性位点。利用多态性信息含量 (PIC)、标记指数 (MI) 和解析强度 (RP) 分析不同引物组合的标记效率, 获得引物的 PIC 平均值为 0.22, MI 平均值为 35.67, RP 平均值为 50.50, 表明引物扩增位点的高多态性和对大薯种质资源具有强辨别能力, 其中引物 E-AAC/CAG-M (PIC 0.24, MI 38.56, RP 56.35) 具有较高的标记效率。111 份大薯种质的遗传相似系数 (GS) 在 0.30~0.82 之间, 平均为 0.58, 表明大薯种质资源的遗传相似性较低。采用 UPGMA 对大薯种质进行聚类分析, 遗传相似系数在 0.54 时, 111 份材料被划分为 4 个类群和 3 个单独的分支, 不同地区来源的大薯材料在聚类图中没有明显界限。

关键词: 大薯; 遗传多样性; AFLP

Genetic Diversity of 111 *Dioscorea alata* Linn. Germplasms Using AFLP Markers

XU Yun, WU Wen-qiang, XIE Jun, HUANG Dong-yi

(College of Agronomy, Hainan University, Haikou 570228)

Abstract: Amplified fragment length polymorphisms (AFLP) analysis was employed to reveal the genetic diversity of *Dioscorea alata* Linn. 111 germplasms collected from six different provinces of China, were used with eight AFLP primer combinations that generated a total of 1291 fragments. A total of 1286 fragments showed polymorphism in the germplasm analyzed. A variety of marker attributes like polymorphism information content (PIC), marker index (MI), and resolving power (RP) values were calculated to assess the discriminatory power of eight primer combinations. The average values of PIC (0.22), MI (35.67), and RP (50.50) indicated great polymorphic and distinguishable ability of the eight AFLP primer combinations. The primer combination E-AAC/CAG-M was the most informative with PIC , MI , and RP being 0.24, 38.56, 56.35, respectively. A total of 1286 fragments presented polymorphism which could be summarized as great diversity among 111 *Dioscorea alata* Linn. germplasms with extremely lower similarity from 0.30 to 0.82, with average of 0.58. At the genetic similarity coefficient level of 0.54, the unweighted pair group method with arithmetic mean (UPGMA) phylogenetic analysis further classified those germplasms into four subgroups, and three germplasms (serial number 20, 42, and 47) were individually separated. The clustering results indicated no close relation to the geographic location of the germplasm.

Key words: *Dioscorea alata* Linn.; genetic diversity; AFLP

大薯 (*Dioscorea alata* Linn.) 又名参薯, 为薯蓣科薯蓣属藤本植物, 分布于世界热带、温带地区, 在我国海南、广西、广东、云南、湖北、湖南、江苏等 11 个省份 (自治区) 均有种植。大薯块茎富含碳水化

合物、VC、必需矿物质和薯蓣皂苷等物质, 具有增强免疫、滋养肝肾、补脾健胃、降血压等功效^[1-2]。此外, 大薯产量极高, 单株块茎产量最高可达 50 kg, 淀粉含量高达 28%^[3], 是一种潜在的能源植物。但由

收稿日期: 2013-05-01 修回日期: 2013-06-25 网络出版日期: 2014-01-24

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/10.13430/j.cnki.jpgr.2014.02.011.html>

基金项目: 海南省自然科学基金 (310024); 海南省教育厅 (Hjkj2010-06); 高等学校博士学科点专项科研基金 (20114601110001)

第一作者研究方向为作物遗传育种。E-mail: xuyun2000513@126.com

通信作者: 黄东益, 研究方向为能源植物遗传育种。E-mail: hdongyi@126.com

于种植面积的不断缩减,使得大薯的品种不断减少,另外大薯的生物学特性如很少开花或根本不开花和无性繁殖等原因使其自然繁殖率降低和生存力减退,导致种群数量和种群品质难以恢复。扩增片段长度多态性(AFLP, amplified fragment length polymorphisms)是目前效率最高的一种分子标记,相对于其他分子标记,具有标记数量大、多态性程度高、所需 DNA 量小、稳定性和重复性高等优点,已应用于山药^[4-5]、山萆薢^[6]、阿比西尼亚薯蓣^[7]和盾叶薯蓣^[8]等薯蓣科植物的遗传分析研究。R. Malapa 等^[9]利用 AFLP 技术研究了大薯与黄独等 9 种食用薯蓣的遗传关系;D. Petro 等^[10]构建了 2 个大薯亲本 AFLPs 遗传连锁图谱并进行炭疽病抗性的 QTL

分析;C. N. Egesi 等^[11]对收集于中西非 5 个国家的 53 份大薯种质资源进行 AFLP 标记,3 个引物组合共扩增到 342 个位点,多态性位点占 53.4%。本研究应用 AFLP 分子标记对采自国内 6 个省份的 111 份大薯种质的遗传多样性进行分析,为我国大薯的育种和遗传改良提供理论指导,并为合理开发利用大薯种质资源提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料为海南、广东、广西、福建、云南和贵州 6 省(自治区)不同地区采集的 111 份大薯种质资源(表 1)。采摘嫩叶于 -70 ℃冰箱中保存备用。

表 1 111 份大薯种质资源的编号及采集地

Table 1 The numbers and collection sites of 111 *Dioscorea alata* Linn. germplasms

序号	原始编号	采集地	序号	原始编号	采集地	序号	原始编号	采集地
Serial number	Original number	Collection site	Serial number	Original number	Collection site	Serial number	Original number	Collection site
1	Da-1	福建安溪	38	Da-47	广西容县	75	Da-117	海南保亭
2	Da-2	福建安溪	39	Da-51	广西博白	76	Da-118	海南琼海
3	Da-5	福建龙岩	40	Da-54	广西平南	77	Da-119	海南琼海
4	Da-9	云南文山	41	Da-56	广西容县	78	Da-121	海南琼中
5	Da-14	云南腾冲	42	Da-76	广西南宁	79	Da-122	海南儋州
6	Da-62	云南畹町	43	Da-77	广西容县	80	Da-126	海南文昌
7	Da-63	云南大理	44	Da-78	广西容县	81	Da-128	海南万宁
8	Da-67	云南勐海	45	Da-81	广西南宁	82	Da-131	海南石碌
9	Da-68	云南版纳	46	Da-130	广西贺州	83	Da-134	海南临高
10	Da-70	云南瑞丽	47	Da-137	广西博白	84	Da-140	海南三亚
11	Da-73	云南腾冲	48	Da-138	广西合浦	85	Da-141	海南儋州
12	Da-74	云南版纳	49	Da-168	广西博白	86	Da-142	海南儋州
13	Da-80	云南大理	50	Da-170	广西南宁	87	Da-143	海南儋州
14	Da-82	云南腾冲	51	Da-97	贵州贵定	88	Da-144	海南儋州
15	Da-169	云南临沧	52	Da-98	贵州贵定	89	Da-145	海南定安
16	Da-7	广东湛江	53	Da-83	海南临高	90	Da-150	海南儋州
17	Da-16	广东罗定	54	Da-84	海南儋州	91	Da-151	海南乐东
18	Da-17	广东罗定	55	Da-86	海南海口	92	Da-152	海南保亭
19	Da-18	广东阳春	56	Da-87	海南琼中	93	Da-153	海南白沙
20	Da-19	广东阳春	57	Da-88	海南文昌	94	Da-154	海南五指山
21	Da-22	广东阳春	58	Da-89	海南文昌	95	Da-155	海南白沙
22	Da-24	广东肇庆	59	Da-90	海南临高	96	Da-156	海南屯昌
23	Da-25	广东揭阳	60	Da-93	海南保亭	97	Da-157	海南屯昌
24	Da-28	广东廉江	61	Da-94	海南儋州	98	Da-159	海南儋州
25	Da-171	广东茂名	62	Da-95	海南陵水	99	Da-160	海南儋州
26	Da-23	广西梧州	63	Da-99	海南文昌	100	Da-161	海南儋州
27	Da-29	广西贺州	64	Da-100	海南文昌	101	Da-164	海南儋州
28	Da-30	广西荔浦	65	Da-101	海南文昌	102	Da-166	海南儋州
29	Da-32	广西博白	66	Da-102	海南澄迈	103	Da-167	海南儋州
30	Da-34	广西合浦	67	Da-103	海南儋州	104	Da-173	海南儋州
31	Da-37	广西博白	68	Da-105	海南琼中	105	Da-174	海南儋州
32	Da-38	广西博白	69	Da-106	海南临高	106	Da-176	海南东方
33	Da-40	广西平南	70	Da-108	海南临高	107	Da-178	海南儋州
34	Da-42	广西南宁	71	Da-110	海南万宁	108	Da-179	海南儋州
35	Da-43	广西合浦	72	Da-112	海南儋州	109	Da-181	海南文昌
36	Da-44	广西博白	73	Da-114	海南儋州	110	Da-183	海南文昌
37	Da-46	广西合浦	74	Da-115	海南五指山	111	Da-184	海南文昌

1.2 基因组 DNA 的提取

采用改良的 CTAB 法提取大薯叶片基因组 DNA^[12],并用 0.8% 的琼脂糖凝胶和紫外分光光度计检测 DNA 质量,稀释至 50 ng/μL,于 -20 ℃ 保存备用。

1.3 AFLP 分析

采用限制性酶切与连接反应一步完成技术,在含有 200 ng 基因组 DNA 的 20 μL 反应体系中,加入 *Eco*R I/*Mse*I (NEB 公司)各 10 U,*Eco*R I/*Mse*I 接头(北京鼎国)分别为 5 pmol 和 25 pmol,*T*₄连接酶(NEB 公司)5 U,37 ℃ 保温 5 h。

取 2 μL 的酶切连接产物,加入 1 U *Taq* 酶,dNTPs 5 mmol/L,10 mmol/L 引物(*Eco*R I/*Mse*I 接头的互补序列),配置成 25 μL 的 PCR 反应液。94 ℃ 预变性 2 min,94 ℃ 变性 30 s,56 ℃ 退火 30 s,72 ℃ 延伸 80 s,30 个循环,最后 72 ℃ 延伸 5 min,4 ℃ 保存。

取稀释 20 倍的预扩增产物 2 μL,加入 1U *Taq* 酶,dNTPs 5 mmol/L,*Eco*R I 引物和 *Mse*I 引物(北京鼎国)分别为 5 ng 和 30 ng,配置成 25 μL 的 PCR 反应液。94 ℃ 预变性 2 min,94 ℃ 变性 30 s,65 ℃ 退火 30 s,72 ℃ 延伸 80 s,以后每轮循环温度递减 0.7 ℃,扩增 12 个循环后 94 ℃ 变性 30 s,55 ℃ 退火 30 s,72 ℃ 延伸 80 s 扩增 23 个循环,4 ℃ 保存。PCR 扩增反应在美国 Perkin Elmer 公司 Gene Amp PCR System 9600 上进行。

采用 4% 的变性聚丙烯酰胺凝胶对扩增产物进行电泳 ABI PRISM 377 测序仪(ABI 公司)检测。

1.4 引物的筛选

64 个引物组合由北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司合成,取 4 份不同的大薯种质基因组 DNA 作为模板,筛选扩增条带较多、背景清晰、多态性和

重复性较好的引物,用于 111 份大薯种质基因组 DNA 扩增分析。

1.5 统计分析

统计电泳图谱中的清晰、稳定且长度在 70 ~ 500 bp 范围内的 DNA 扩增位点,有记为 1,无记为 0。形成 0/1 矩阵图输入计算机。采用多态性信息含量(*PIC*, polymorphism information content)、标记指数(*MI*, marker index)和解析强度(*RP*, resolving power)比较不同引物组合的标记效率。 $PIC_i = 2 f_i (1 - f_i)$,其中 f_i 为多态性频率; $MI = PIC \times EMR$,其中 *EMR* 为多态性位点的数量^[13]; $RP = \sum I_b$,其中位点信息 $I_b = 1 - (2 \times |0.5 - p|)$,*p* 指某一多态性位点在供试基因型间出现的频率^[14]。

利用 NTSYS-pc 2.1 软件计算分析不同种质间的遗传相似性系数,采用算数平均数的非加权成组配对法(UPGMA 法)聚类分析不同种质间的遗传关系。

2 结果与分析

2.1 大薯材料的 AFLP 扩增结果

利用筛选出的 8 个引物组合(表 2)对 111 份种质进行扩增,共扩增出 1291 个位点,其中多态性位点 1286 个,占总位点数的 99.61%。不同引物组合扩增的位点总数范围在 145 ~ 175 个之间,平均为 161 个,其中扩增位点数最多的是 E-ACC/CAG-M 引物组合,最少的是 E-AAC/CAT-M 引物组合(表 3)。扩增出的 DNA 位点的大小在 70 ~ 500 bp 之间。结果表明 AFLP 标记能够揭示大薯较高的多态性,并有效地分析材料间的遗传关系。部分电泳图谱见图 1。

表 2 AFLP 中所用接头和引物的序列

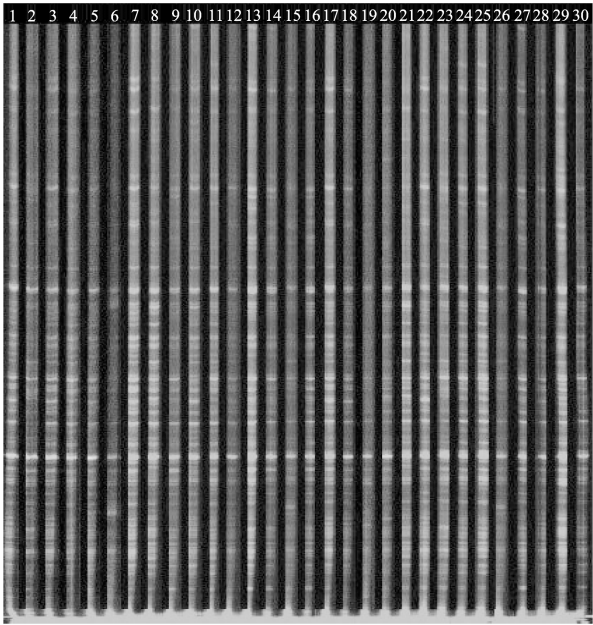
Table 2 Sequences of oligonucleotide adapters and primer combinations used in AFLP

引物组合和接头 Primer combinations and adapters	序列 Sequence	引物组合和接头 Primer combinations and adapters	序列 Sequence
<i>Eco</i> RI adapter	5' > CTC GTA GAC TGC GTA CC <3'	E-AAC/CAT-M	E-5'- GAC TGC GTA CCA ATT CAC C M-5'-GAT GAG TCC TGA GTA ACA A
<i>Mse</i> I adapter	5' > AAT TGG TAC GCA GTC TAC <3'	E-AAC/CTA-M	E-5'- GAC TGC GTA CCA ATT CAC C M-5'-GAT GAG TCC TGA GTA ACA G
	5' > GAC GAT GAG TCC TGA G <3'	E-ACA/CAA-M	E-5'- GAC TGC GTA CCA ATT CAC G M-5'-GAT GAG TCC TGA GTA ACA A
	5' > TAC TCA GGA CTC AT <3'	E-ACC/CAA-M	E-5'- GAC TGC GTA CCA ATT CAA C M-5'-GAT GAG TCC TGA GTA ACT A
Preamplification <i>Eco</i> RI primer	5' > GAC TGC GTA CCA ATT CA <3'	E-ACC/CAG-M	E-5'- GAC TGC GTA CCA ATT CAC A M-5''-GAT GAG TCC TGA GTA ACA A
Preamplification <i>Mse</i> I primer	5' > GAT GAG TCC TGA GTA AC <3'	E-ACG/ CAA-M	E-5'- GAC TGC GTA CCA ATT CAC C M-5'-GAT GAG TCC TGA GTA ACA A
E-AAC/CAA-M	E-5'- GAC TGC GTA CCA ATT CAA C		
	M-5''-GAT GAG TCC TGA GTA ACT A		
E-AAC/CAG-M	E-5'- GAC TGC GTA CCA ATT CAC A		
	M-5'-GAT GAG TCC TGA GTA ACA A		

表 3 8 个不同引物组合的 AFLP 扩增参数

Table 3 Marker attributes for 8 AFLP primer combinations used

引物组合 Primer combinations	扩增位点数 No. of fragments generated	特异性条带数 No. of monomorphic fragments	多态性扩 增位点数 No. of polymorphic fragments	多态性位点 百分比 Percent polymorphism	多态性信息 含量 Polymorphism information content	有效多元比率 Effective multiplex ratio	标记指数 Marker index	解析强度 Resolving power
E-AAC/CAA-M	166	1	165	99.40	0.20	165	33.71	46.31
E-AAC/CAG-M	162	0	162	100.00	0.24	162	38.56	56.35
E-AAC/CAT-M	145	0	145	100.00	0.22	145	31.48	45.19
E-AAC/CTA-M	158	1	157	99.37	0.24	157	38.12	55.71
E-ACA/CAA-M	163	3	160	98.16	0.23	160	36.75	52.29
E-ACC/CAA-M	152	0	152	100.00	0.23	152	34.23	47.78
E-ACC/CAG-M	175	0	175	100.00	0.20	175	35.53	51.05
E-ACG/ AA-M	170	0	170	100.00	0.21	170	36.50	50.11
合计 Total	1291	5	1286	99.61	1.77	1286	284.88	404.00
最小值 Min.	145	0	145	98.16	0.20	145	31.48	45.19
最大值 Max.	175	3	175	100.00	0.24	175	38.56	56.32
平均 Average	161.38	0.63	160.75	99.61	0.22	160.75	35.61	50.50



1~30 为样品序号，同表 1 1-30 refers to the serial number listed in Table 1

图 1 引物组合 E-ACC/CAG-M 对部分大薯材料扩增的 AFLP 图谱

Fig. 1 AFLP profile amplified by primer combination E-ACC/CAG-M on part of *Dioscorea alata* Linn. germplasms

2.2 不同引物组合的标记效率

扩增出的 1286 条多态性位点的 *PIC* 值位于 0 ~ 0.5 之间,位点多分布在 *PIC* < 0.05、0.45 ~ 0.5、0.05 ~ 0.1 的级数中(图 2),其中引物 E-AAC/CTA-M 和引物 E-AAC/CAG-M 的平均 *PIC* 最高为 0.24,引物 E-AAC/CAA-M 和 E-ACC/CAG-M 的 *PIC* 最低为 0.20,8 个引物组合的 *PIC* 平均值为 0.22,表明 8 个引物组合在 AFLP 标记大薯种质中具有高度多态

性,适于大薯种质资源遗传关系的分析。

扩增出的 1286 条多态性位点的 *RP* 与 *MI* 值呈正相关($r^2 = 0.99, P < 0.05$)。不同组合引物的 *MI* 值在 31.48 ~ 38.56 之间,平均 35.67,表明引物具有较高的标记效率。不同引物组合的 *RP* 值在 45.19 ~ 56.35 范围内,平均 50.50,说明引物对不同材料的辨别能力较强。其中引物 E-AAC/CAG-M 的 *MI* 和 *RP* 最高,为 38.56 和 56.35,具有较高的标记效率。

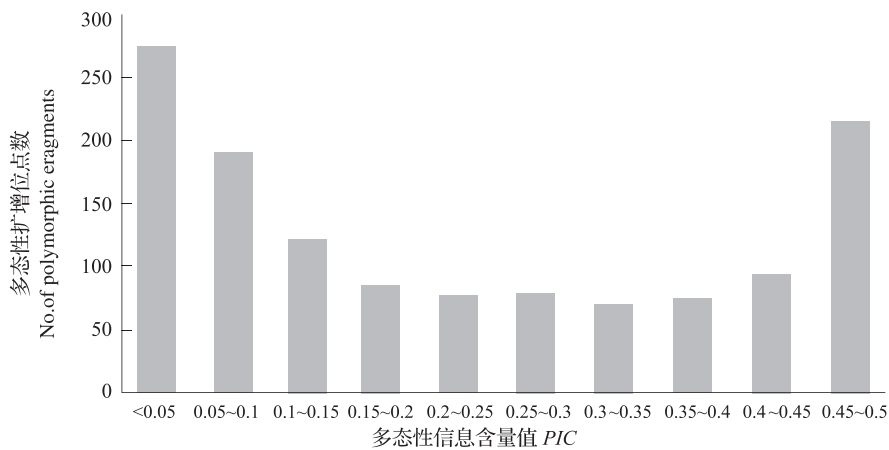


图 2 AFLP 扩增的多态性位点的 PIC 分布图

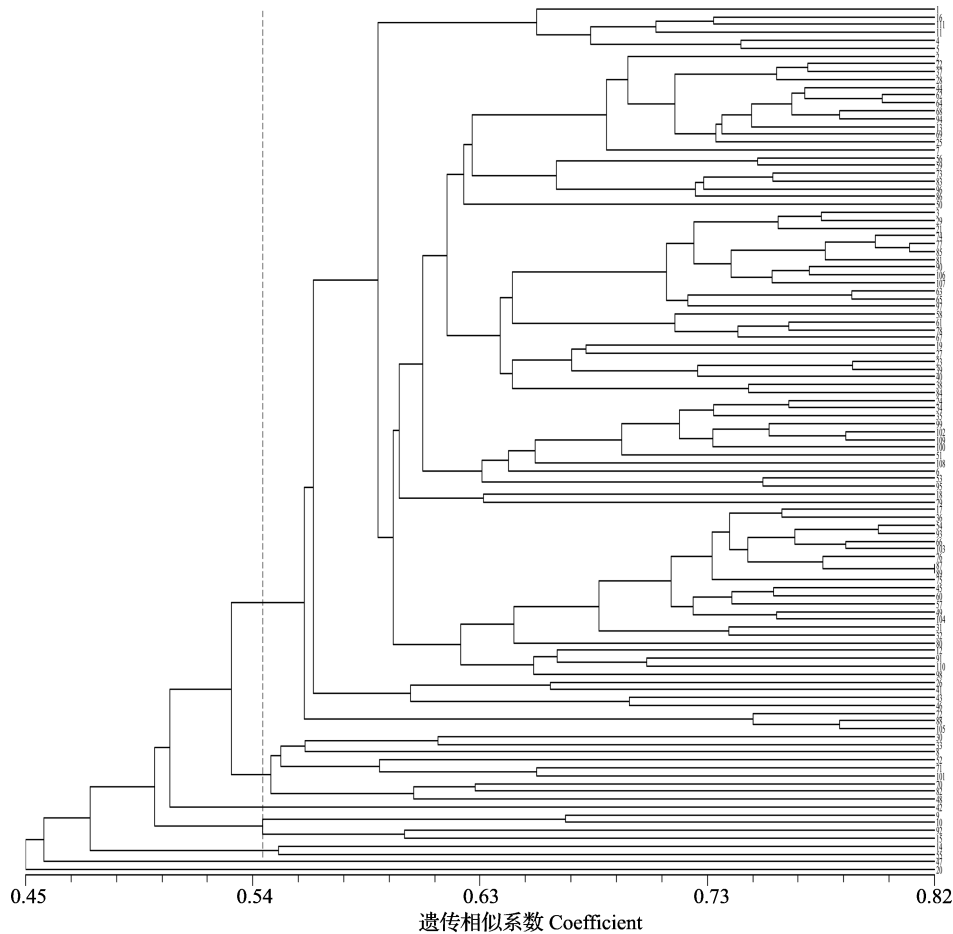
Fig. 2 PIC distribution for polymorphic fragments generated by AFLP primer combinations used

2.3 大薯遗传多样性分析

采用 NTSYS-pc 2.1 软件计算分析大薯种质的遗传相似系数(GS),结果表明,相似系数介于0.30 ~ 0.82 之间,平均 0.58,其中采自海南儋州的 87 号和海南定安的 89 号 2 份种质的相似系数最大,说明其

遗传差异最小;广东阳春的 20 号和广西博白的 47 号 2 份种质的相似系数最小,说明其遗传差异最大。

采用 UPGMA 对大薯种质的遗传相似系数进行聚类分析,得到聚类树状图(图 3)。在遗传相似系数为 0.54 时,可将 111 份大薯种质分为 4 个类群和



1~111 为样品序号, 同表 1 1~111 refers to the serial number listed in Table 1

图 3 111 份大薯材料的 UPGMA 聚类分析图

Fig. 3 The UPGMA phenogram of 111 *Dioscorea alata* Linn. germplasms

3 个单独的分支(序号分别为 20,42 和 47),结果表明不同地区来源的大薯种质在聚类图中没有明显界限。20 号大薯种质在聚类树状图的根基处,说明与其他大薯种质资源具有共同的遗传基因,但遗传相似系数最小,平均为 0.44,表明该大薯种质与其他大薯种质间存在较少的基因交流。

3 讨论

目前,国内外采用不同的分子标记方法分析薯蓣植物遗传多样性的研究^[5,15-20]主要集中在山药,而利用 AFLP 标记系统地分析大薯遗传多样性的报道不多。本研究采用 AFLP 技术在我国 111 份大薯种质中检测出大量的多态性位点,同时每对引物组合在不同的材料间也检测出共同的位点,表明大薯种质遗传背景的复杂性,及大薯种质的遗传共性。参试种质遗传相似系数在 0.30~0.82 之间,平均为 0.58,说明所收集的大薯材料个体存在较大的遗传差异,大薯种质遗传资源比较丰富。AFLP 标记 8 个引物组合都可以将 111 份材料完全区分开,不同大薯种质没有完全相同的指纹,表明 AFLP 技术可有效地构建大薯指纹图谱。

AFLP 聚类结果分析未能将相同地区来源的大薯种质聚类成可明显区分的类群,与程文杰^[18]报道的 RAPD 和 ISSR 标记结果一致。这可能是大薯种质的起源和亲缘关系较为复杂所致;也可能是由于大薯主要靠无性繁殖,随着信息和交通日趋发达,不同地区之间的大薯种质交流频繁,导致聚类结果显示的地域性差异较小;此外也可能是不同地区采集的大薯种质数量不同、还有些省份没有采集到大薯种质参与分析、参试大薯种质资源不全的原因。

采用 AFLP 聚类分类结果与 RAPD 和 ISSR 标记^[18]分类结果不同,这可能是不同分子标记技术、不同引物检测基因组 DNA 位点不同所致。但由于 AFLP 技术能获得更多的多态性位点,结果更为可靠。另外将大薯 AFLP 聚类结果与农艺性状和营养成分的聚类结果^[21]进行比较,发现农艺性状和营养成分所分类群与 AFLP 聚类所分类群存在很大差异。这可能是由于农艺性状和营养成分受种质基因和环境互作的影响较大,而 AFLP 技术显示的是遗传 DNA 分子水平上的差异,所揭示的种质资源遗传多样性的角度不同。

总之,利用 AFLP 分子标记技术检测出的大薯种质遗传多样性,能够为我国大薯种质资源提供了可靠和高质量的指纹图谱,成为鉴定大薯种质资源遗传性的有效工具。并对大薯种质的分类、鉴定、利用以及

建立质量评价标准提供分子水平的依据和技术支持。

参考文献

- [1] Wanasundera J P, Ravindran G. Nutritional assessment of yam (*Dioscorea alata*) tubers[J]. Plant Foods Hum Nutr, 1994, 46(1): 33-39
- [2] Lee S C, Tsai C C, Chen J C, et al. Effects of "Chinese yam" on hepato-nephrotoxicity of acetaminophen in rats[J]. Acta Pharmacol Sin, 2002, 23(6): 503-506
- [3] Onyeka T J, Pétro D, Ano G, et al. Resistance in water yam (*Dioscorea alata*) cultivars in the French West Indies to anthracnose disease based on tissue culture-derived whole-plant assay[J]. Plant Pathol, 2006, 55(5): 671-678
- [4] Mignouna H D, Abang M M, Fagbemi S A. A comparative assessment of molecular marker assays (AFLP, RAPD and SSR) for white yam (*Dioscorea rotundata*) germplasm characterization[J]. Ann Appl Biol, 2003, 142: 269-276
- [5] 徐鑫. 山药种质资源遗传多样性的 RAPD 和 AFLP 分析[D]. 新乡: 河南师范大学, 2006
- [6] Terauchi R, Kahl G. Mapping of the *Dioscorea tokoro* genome: AFLP markers linked to sex[J]. Genome, 1999, 42(4): 752-762
- [7] Sonibare M A, Asiedu R, Albach D C. Genetic diversity of *Dioscorea dumetorum* (Kunth) Pax using Amplified Fragment Length Polymorphisms (AFLP) and cpDNA[J]. Biochem Syst Ecol, 2010, 38: 320-328
- [8] 李勇慧, 李向民. 用扩增片段的长度多态性分子标记探讨盾叶薯蓣的遗传多样性[J]. 植物生理与分子生物学学报, 2007, 33(4): 341-348
- [9] Malapa R, Arnau G, Noyer J L, et al. Genetic diversity of the greater yam (*Dioscorea alata* L.) and relatedness to *D. nummularia* Lam. and *D. transversa* Br. as revealed with AFLP markers[J]. Genet Resour Crop Ev, 2005, 52(7): 919-929
- [10] Petro D, Onyeka T J, Etienne S, et al. An intraspecific genetic map of water yam (*Dioscorea alata* L.) based on AFLP markers and QTL analysis for anthracnose resistance[J]. Euphytica, 2011, 179: 405-416
- [11] Egesi C N, Asiedu R, Ude G, et al. AFLP marker diversity in water yam (*Dioscorea alata* L.) [J]. Plant Genet Res, 2006, 4(3): 181-187
- [12] Tatikonda L, Wani S P, Kannan S, et al. AFLP-based molecular characterization of an elite germplasm collection of *Jatropha curcas* L., a biofuel plant[J]. Plant Sci, 2009, 176(4): 505-513
- [13] Archak S, Gaikwad A B, Gautam D, et al. Comparative assessment of DNA fingerprinting techniques (RAPD, ISSR and AFLP) for genetic analysis of cashew (*Anacardium occidentale* L.) germplasm of India[J]. Genome, 2003, 46(3): 362-369
- [14] 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(1): 107-112
- [15] Asemota H N, Ramser J, López-Peralta C, et al. Genetic variation and cultivar identification of Jamaican yam germplasm by random amplified polymorphic DNA analysis[J]. Euphytica, 1996, 92(3): 341-351
- [16] Ramser J, López-Peralta C, Wetzel R, et al. Genomic variation and relationships in aerial yam (*Dioscorea bulbifera* L.) detected by random amplified polymorphic DNA[J]. Genome, 1996, 39(1): 17-25
- [17] Terauchi R, Chikaleke V A, Thottappilly G, et al. Origin and phylogeny of Guinea yam as revealed by RFLP analysis of chloroplast DNA and nuclear ribosomal DNA[J]. Theor Appl Genet, 1992, 83: 743-751
- [18] 程文杰. 大薯种质资源遗传多样性分析[D]. 海口: 海南大学, 2010
- [19] 吴志刚, 冷春鸿, 陶正明, 等. 参薯种质遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(23): 3017-3020
- [20] 华树妹, 涂前程, 雷伏贵. 福建山药种质资源遗传多样性的 RAPD 分析[J]. 植物遗传资源学报, 2009, 10(2): 195-200
- [21] 李俏. 薯蓣植物种质资源初步评价[D]. 海口: 海南大学, 2011