

基于 SRAP 标记的薏苡种质资源遗传多样性及 DNA 指纹图谱构建

夏法刚¹, 黄金星², 季彪俊¹, 詹福杨¹, 谢萍萍¹, 邓邦柱¹, 林宏¹, 郑金贵¹

(¹ 福建农林大学作物科学学院, 福州 350002; ² 浦城县农业科学研究所, 浦城 353400)

摘要: 利用 SRAP 分子标记对从各主要产地收集到的 90 份薏苡种质进行遗传多样性分析, 其中 68 份收集于福建省, 6 份来自中国台湾, 16 份来自浙江、辽宁、山东、河南、云南、江苏、湖南、广东、上海等省(市)。结果表明, 从 88 对 SRAP 引物组合中筛选出 26 对引物进行 SRAP 扩增, 共扩增出 185 条带, 其中具有多态性的有 157, 占总数的 84.86%, 表明 90 份薏苡种质表现出丰富的遗传多样性。基于 SRAP 标记利用系统聚类法将 90 份薏苡种质资源分为 4 大类, 与形态性状分类结果有一定的相似性; 利用 16 对 SRAP 引物构建了 73 份薏苡种质资源的 DNA 指纹图谱, 为薏苡遗传研究、品种选育与资源保护提供了依据。

关键词: 薏苡; 种质资源; SRAP 标记; DNA 指纹图谱

Genetic Diversity Analysis and DNA Fingerprint Construction of *Coix lacryma-jobi* Germplasm Resources by SRAP Marker

XIA Fa-gang¹, HUANG Jin-xing², JI Biao-jun¹, ZHAN Fu-yang¹, XIE Ping-ping¹,
DENG Bang-zhu¹, LIN Hong¹, ZHENG Jin-gui¹

(¹ College of Crop Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002;

² Agricultural Science Research Institute of Pucheng County, Pucheng 353400)

Abstract: Genetic diversity of 90 *Coix lacryma-jobi* L. germplasm resources collected from the main places of production were analyzed by Sequence-related amplified polymorphism (SRAP) marker, including 68 collected from Fujian, 6 from Taiwan, and another 16 from Zhejiang, Liaoning, Shandong, Henan, Yunnan, Jiangsu, Hunan, Guangdong, Shanghai etc. It showed that 26 pairs of primers were selected from 88 pairs of SRAP primers. 26 pairs of SRAP primers produced 185 amplified fragments, of which 157 were polymorphic, accounting for 84.67% of the total. It showed that there was distinct genetic diversity among 90 *Coix lacryma-jobi* L. germplasm resources. 90 *Coix lacryma-jobi* L. germplasm resources were classified into four categories basing on the UPGMA cluster analysis, which was similar to the result by morphological markers. A DNA fingerprint with 73 *Coix lacryma-jobi* L. was constructed by 16 pairs of SRAP primers which was significant for genetic research, variety breeding and resource protection of *Coix lacryma-jobi*.

Key words: *Coix lacryma-jobi* L.; germplasm resources; SRAP marker; DNA fingerprint

SRAP(sequence-related amplified polymorphism) 标记是基于 PCR 技术的分子标记, 主要针对基因外

显子和内含子的特点设计一对独特的引物对基因的 ORFs(open reading frames) 特定区域进行扩增, 其上

收稿日期: 2016-06-11 修回日期: 2016-08-17 网络出版日期: 2017-04-21

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20170421.0927.008.html>

基金项目: 青年骨干教师研修项目(201507870009); 福建省科技厅重点项目(2011N0004); 福建省教育厅项目(JA10111); 福建省自然科学基金指导性科技计划项目(2012D087)

第一作者研究方向为作物遗传育种研究。E-mail: sdxfm@163.com

通信作者: 郑金贵, 研究方向为农产品品质研究。E-mail: jinguizheng@126.com

游引物和下游引物分别对外显子区域和内含子区域进行特异扩增,由于不同物种或不同个体间这些区域各不相同,从而产生多态性^[1]。该标记具有高效、稳定、简便、多态性丰富、不受环境条件影响和便于克隆目标片段等优点^[2-3]。目前 SRAP 已广泛应用于水稻^[4]、玉米^[5]、木薯^[6]、小麦^[7]、青稞^[8]等粮食作物的遗传多样性分析中,但 SRAP 标记应用于薏苡种质资源研究相对较少。俞旭平等^[9]对薏苡 SRAP 反应体系进行单因素试验分析和优化,初步建立了适合薏苡的 SRAP 反应体系。王硕等^[10]参照上述反应体系并进行改良,筛选出 6 对引物对主要来自云南的 25 份薏苡种质资源进行遗传多样性分析,通过聚类可将 25 份薏苡居群分为 4 类。

本研究采用优化的薏苡 SRAP-PCR 反应体系,从 88 对 SRAP 引物组合中筛选出合适的引物组合,利用系统聚类法分析了所收集到的中国薏苡 11 个主要分布区(福建、浙江、辽宁、山东、河南、云南、江苏、湖南、广东、中国台湾、上海)共 90 份种质资源,构建了基于 SRAP 标记的指纹图谱,为进一步开展薏苡种质资源的鉴定、遗传连锁图谱构建、相关基因定位和薏苡遗传育种工作奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以 2008-2010 年从各主要产地收集到的 90 份种质资源为试验材料,其中福建省内收集的种质资源 68 份、中国台湾 6 份和国内其他地区(浙江、辽宁、山东、河南、云南、江苏、湖南、广东、上海)16 份。2011-2012 年分别种植于福建福州,具体采集地点及代号见表 1。

1.2 试剂与仪器

CTAB、PVP-K30、EDTA、RNase、*Taq* DNA 聚合酶、dNTP、10 × PCR buffer、MgCl₂ 和标准分子量 (Marker) B030 均购自鼎国生物技术有限公司,溴酚蓝、氯化钠、β-巯基乙醇、无水乙醇、异戊醇等其他试剂均为国产分析纯。

PCR 仪为美国伯乐 (BIO-RAD) S1000 Thermal Cycler,电泳仪采用北京六一仪器厂生产的 DYY-5 型稳压稳流电泳仪,离心机为德国索福 Legend Micro17 微量台式离心机和德国艾本德 5415R 冷冻离心机,凝胶成像仪为美国伯乐 (BIO-RAD) GelDocEZ。

表 1 90 个薏苡种子收集地及代码

Table 1 Collection areas and code of the 90 Coix seeds

品种编号 Varieties No.	来源地 Origin	品种编号 Varieties No.	来源地 Origin
1	福建建宁	46	云南
2	福建清流	47	山东临沂
3	福建清流	48	河南
4	福建明溪	49	福建连城
5	福建永安	50	福建建瓯
6	福建清流	51	福建仙游
7	福建清流	52	辽宁
8	福建永安	53	福建德化
9	福建永安	54	山东沂水
10	福建尤溪	55	福建宁化
11	福建永泰	56	福建宁化
12	福建松溪	57	中国台湾
13	福建建宁	58	福建大田
14	福建武夷山	59	福建大田
15	福建闽清	60	福建厦门
16	福建浦城	61	福建德化
17	福建松溪	62	江苏
18	福建泰宁	63	福建泉州
19	福建建阳	64	福建安溪
20	福建建阳	65	福建浦城
21	福建松溪	66	福建武平
22	福建浦城	67	中国台湾
23	福建政和	68	福建厦门
24	福建浦城	69	福建龙岩
25	福建光泽	70	河南郑州
26	浙江龙泉	71	湖南昭阳
27	福建光泽	72	福建长汀
28	福建邵武	73	上海
29	福建光泽	74	江苏
30	福建上杭	75	福建福清
31	福建建宁	76	福建沙县
32	福建寿宁	77	福建仙游
33	福建寿宁	78	福建仙游
34	福建寿宁	79	广东
35	福建永安	80	山东临沂
36	福建永安	81	山东枣庄
37	福建福清	82	山东临沂
38	福建福清	83	浙江温州
39	福建永泰	84	福建永春
40	福建明溪	85	中国台湾
41	福建清流	86	中国台湾
42	福建清流	87	中国台湾
43	福建武夷山	88	中国台湾
44	福建武夷山	89	福建明溪
45	福建永定	90	福建闽侯

1.3 试验方法

1.3.1 引物

SRAP 正反向引物采用 G. Li 等^[1]、

G. J. Vandemark 等^[11]和 M. Ferriol 等^[12]发表的引物序列(表 2),SRAP 引物由上海生工合成。

表 2 薏苡遗传多样性研究的 SRAP 引物序列

Table 2 Primer sequence of SRAP used for coix genetic diversity analysis

正向引物 Forward primer	序列(5'-3') Sequence	反向引物 Reverse primer	序列(3'-5') Sequence
Me-1	TGAGTCCAAACCGGATA-	Em-1	GACTGCGTACGAATTAAT-
Me-2	TGAGTCCAAACCGGAGC-	Em-2	GACTGCGTACGAATTTGC-
Me-3	TGAGTCCAAACCGGAAT-	Em-3	GACTGCGTACGAATTGAC-
Me-4	TGAGTCCAAACCGGACC-	Em-4	TGAGTCCAAACCGGAGA-
Me-5	TGAGTCCAAACCGGAAG-	Em-5	GACTGCGTACGAATTAAC-
Me-6	TGAGTCCAAACCGGTAA-	Em-6	GACTGCGTACGAATTGCA-
Me-7	TGAGTCCAAACCGGTCC-	Em-7	GACTGCGTACGAATTCAA-
Me-8	TGAGTCCAAACCGGTGC-	Em-8	GACTGCGTACGAATTCTC-
		Em-9	GACTGCGTACGAATTCGA-
		Em-10	GACTGCGTACGAATTCAG-
		Em-11	GACTGCGTACGAATTCOA-

1.3.2 薏苡种质资源遗传多样性分析 采用改良 CTAB 法^[13]提取薏苡基因组 DNA。首先从 90 份薏苡种质资源中选出 4 份形态特征差别比较大的品种对 88 对引物进行筛选,从 88 对引物中筛选出 26 对多态性高,重复性好的引物用于 PCR 扩增。PCR 反应体系 20 μ L,PCR 扩增程序参考 G. Li 等^[1]和刘月光等^[14]的方法,首先 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min,94 $^{\circ}$ C 变性 1 min,35 $^{\circ}$ C 复性 1 min,72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min,5 个循环,94 $^{\circ}$ C 变性 1 min,50 $^{\circ}$ C 复性 1 min,72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min,35 个循环,最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min,4 $^{\circ}$ C 保存^[1]。PCR 产物用 7.5% 的聚丙烯酰胺凝胶进行电泳,银染法^[15]染色并拍照记录。

1.3.3 数据统计分析 对获得的薏苡叶片 DNA 的 SRAP-PCR 扩增条带进行统计,在相同迁移位置,当出现清晰可辨的电泳条带时标记为 1,模糊或不存在条带记为 0,从而把电泳图转化成 0、1 原始矩阵。运用 DPS7.05 软件对 90 个品种进行聚类分析;并

参照汪文武等^[16]的方法运用 DNA 指纹图谱分析软件读取 Excel 表格中的 1/0 序列数据,分别对 SRAP 引物组合的扩增结果进行运算,直到将大部分的材料分开为止,从而构建出 90 个薏苡种质资源的 DNA 指纹图谱。

2 结果与分析

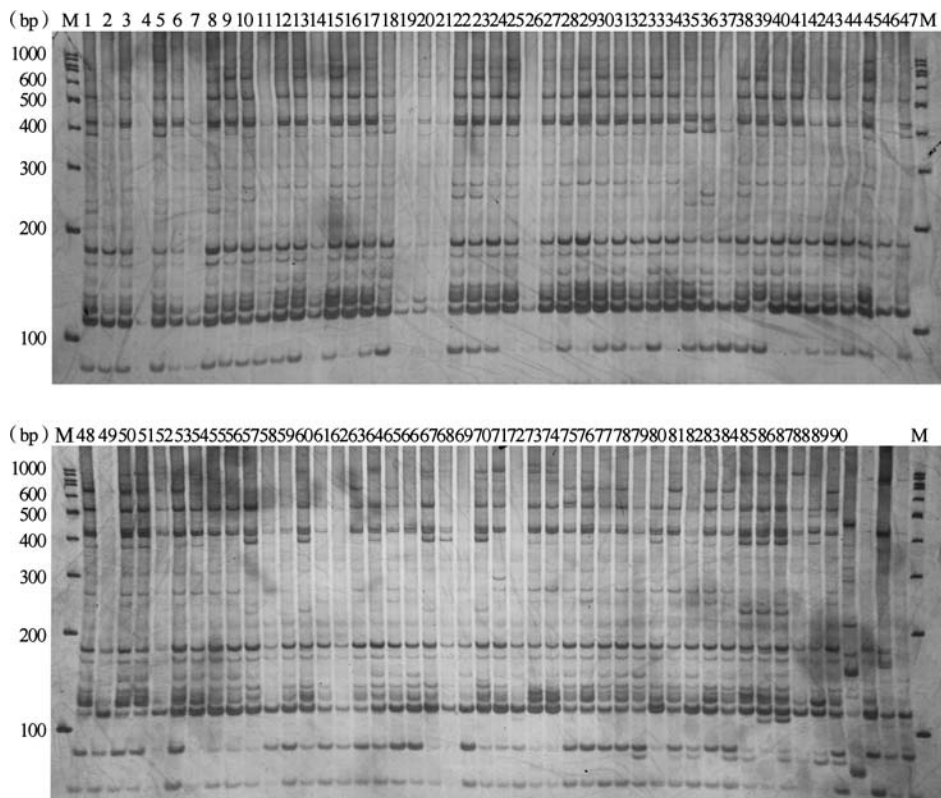
2.1 薏苡种质资源的 SRAP 扩增结果

通过对 88 对 SRAP 引物组合的初步筛选,获得 26 对能产生清晰可辨别扩增条带的引物组合。26 对引物组合对 90 份薏苡种质进行扩增,共扩增出 185 条带,其中具有多态性的有 157 条,占总数的 84.86%,表明 90 份薏苡种质表现出丰富的遗传多样性(表 3)。每对引物组合平均扩增出 7.28 条带,多态性条带 6.04 条,其中 Me2-Em10 扩增的条带最多,达到 12 条(表 3、图 1),Me2-Em1 扩增出 11 条排在第 2 位(表 3)。

表 3 26 对引物组合的 SRAP 扩增结果及多态性信息

Table 3 Amplification results and polymorphism information of 26 SRAP primers

引物名称 Primer name	扩增带数 No. of amplification bands	多态性带数 No. of polymorphic bands	多态率(%) Polymorphic percentage	引物名称 Primer name	扩增带数 No. of amplification bands	多态性带数 No. of polymorphic bands	多态率(%) Polymorphic percentage
Me1-Em1	6	5	83.33	Me5-Em3	8	7	87.50
Me1-Em2	9	5	55.56	Me5-Em5	6	5	83.33
Me1-Em5	8	8	100.00	Me5-Em6	9	8	88.89
Me1-Em7	8	8	100.00	Me5-Em8	8	8	100.00
Me1-Em11	5	4	80.00	Me5-Em10	5	3	60.00
Me2-Em1	11	11	100.00	Me6-Em2	3	3	100.00
Me2-Em6	9	7	77.78	Me6-Em3	8	7	87.50
Me2-Em10	12	10	83.33	Me6-Em6	8	6	75.00
Me3-Em3	6	6	100.00	Me7-Em5	9	7	77.78
Me3-Em8	5	4	80.00	Me7-Em6	8	7	87.50
Me3-Em11	4	3	75.00	Me8-Em8	6	4	66.67
Me4-Em2	5	5	100.00	Me8-Em11	6	5	83.33
Me4-Em6	6	5	83.33	总数 Total	185	157	84.67
Me4-Em9	7	6	85.71				



1~90: 薏苡种质资源代号; M: DL1000 DNA marker

1-90: The code of Coix germplasm resources, M: DL1000 DNA marker

图 1 引物组合 Me2-Em10 的扩增效果图

Fig. 1 Amplified results of primer Me2-Em10

2.2 薏苡种质资源聚类分析

将获得的薏苡种质资源的 SRAP 标记转化成 0、1 原始矩阵,并通过 DPS 中的 0,1 数据系统聚类,选择 Rogers and Tanimoto 距离,离差平方和法进行聚类,以最长的遗传距离的一半作为分类标准,分类结果见图 2。从图中可以看出,此方法将 90 份薏苡种质资源分为 4 大类,其中编号 1、3、4、5、6、7、8、9、13、18、35、36、44、59、66、89 共 16 份薏苡种质资源属于第 I 类群,通过对这类种质的生物学性状调查发现,其总苞硬,种皮颜色较深,表面平滑,颖果褐色为主,果皮较厚,分蘖强,株高、结果位高,结实率低,子粒重量大。

编号 57、60、67、68、70、85、86、87 共 8 份薏苡种质资源属于第 II 类群,主要以中国台湾品种占大多数,有 5 份,厦门种质 2 份,河南 1 份,这一类群的特征为:多数总苞较硬,子粒比较大,总苞颜色以灰色为主,部分有条纹,长宽比小,颖果为棕褐色为主;植株生长茂盛,分蘖能力强,株高适中,可再生,结果位适中,结实率较高,子粒重量较重。

第 III 类群包括 31 份薏苡种质。其中核心种质 29 份,占 93.5%,大部分为各地的农家栽培种,只有编号 58 和 64 除外,其生物学特征为总苞软,米黄或白色,光滑,颖果棕红色为主,株高适中,分蘖力较强,结果位适中,子粒重量一般。

第 IV 类群包括 35 份薏苡种质。这一类群中多数是地方农家种,少数是一些栽培过程中由于杂交而出现的黑色硬壳种或黑色软壳种质。其特征为总苞有白色和黑色两类,多数较软,黑色总苞用力也可压开,颖果褐色为主,分蘖力一般,株高适中,结果位低,结实率高,子粒重量一般。

2.3 薏苡种质资源 DNA 指纹图谱的构建

将 26 对 SRAP 引物扩增产物形成的 0、1 原始矩阵存储成 26 个单一引物 Excel 数据文件,利用 DNA 指纹数据分析软件一次性读取这些文件,通过软件计算每对引物可鉴别的薏苡种质的数量(表 4),初步构建薏苡种质资源的 DNA 指纹图谱模式图。

表 4 不同的 SRAP 引物可鉴别的薏苡种质资源数量

Table 4 Number of identifiable coix germplasm resources by each pair of SRAP primer

引物 Primer	区分种质数量 No. of distinguished germplasms	引物 Primer	区分种质数量 No. of distinguished germplasms	引物 Primer	区分种质数量 No. of distinguished germplasms
Me1-Em1	4	Me3-Em8	5	Me5-Em10	2
Me1-Em2	7	Me3-Em11	3	Me6-Em2	4
Me1-Em5	16	Me4-Em2	2	Me6-Em3	10
Me1-Em7	11	Me4-Em6	1	Me6-Em6	10
Me1-Em11	6	Me4-Em9	6	Me7-Em5	5
Me2-Em1	26	Me5-Em3	11	Me7-Em6	7
Me2-Em6	11	Me5-Em5	9	Me8-Em8	5
Me2-Em10	18	Me5-Em6	15	Me8-Em11	6
Me3-Em3	9	Me5-Em8	10		

从表 4 中可以看出每对引物能鉴别出的薏苡种质资源数量差别较大,鉴别的数量在 1~26 份之间。Me4-Em6 只能鉴别出 1 种薏苡种质资源,是 26 对引物中鉴别数量最少的;Me2-Em1 鉴别数量最多,达到 26 份。利用 Me2-Em1 扩增种质资源,可扩增出 11 条多态性条带,黑色代表该种质资源在该位置有扩增出条带,白色为在该位置没有扩增出条带(图 3)。

最后筛选出 Me1-Em5、Me1-Em7、Me2-Em1、Me2-Em6、Me2-Em10、Me3-Em3、Me3-Em8、Me3-Em11、Me4-Em9、Me5-Em3、Me5-Em6、Me5-Em8、Me6-Em2、Me6-Em3、Me7-Em5、Me8-Em8 共计 16 对引物,把 73 份薏苡种质资源区分开来,利用这 16 对引物初步构建了 73 份薏苡种质资源的 DNA 指纹图谱(图 4)。

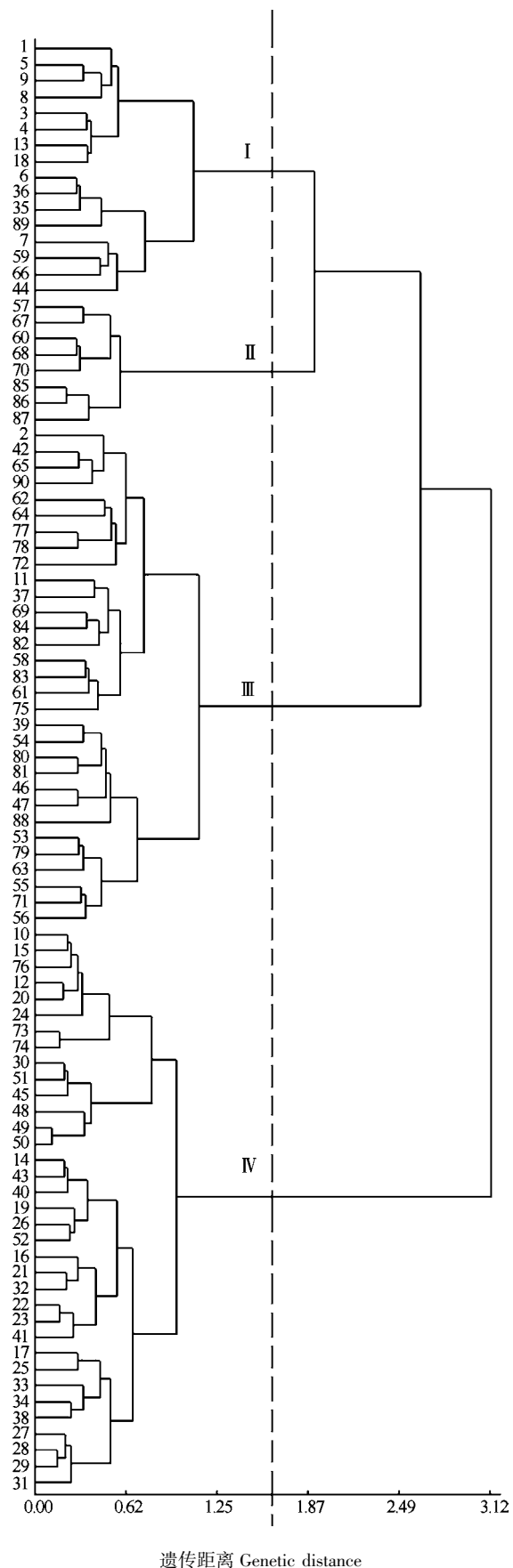
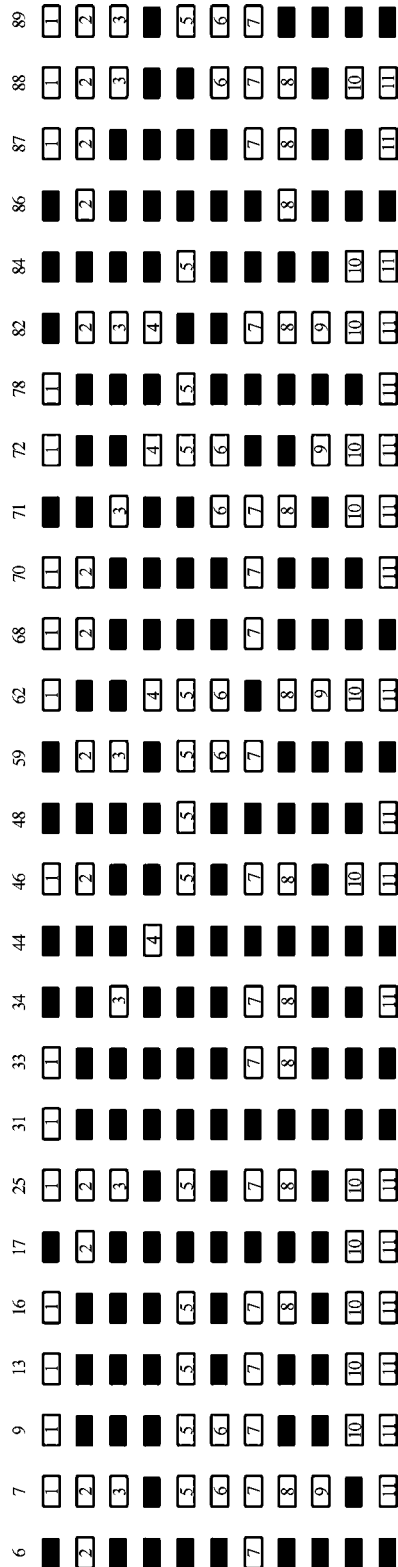


图2 薏苡种质资源的聚类图

Fig.2 The clustering graph of coix germplasm resources



图中第一排数字表示供试薏苡种质资源代号,图中黑色长方形表示该材料在这个位置有扩增条带,下同

The first-row numbers mean the code of tested coix germplasm resources, the black rectangles in the figure indicate that there are amplified bands of the coix germplasm resources on the site, the same as below

图3 引物 Me2-Em1 扩增谱带模式图

Fig.3 Amplified band pattern of primer Me2-Em1

3 讨论

3.1 薏苡种质资源的分类

分子标记技术已广泛应用于植物的种质资源研究。薏苡种质资源研究中, X. H. Li 等^[17] 2001 年利用 RAPD 标记将 21 份薏苡种质分成 2 类; 黄倩等^[18] 利用 34 个多态性丰富的 RAPD 分子标记, 分析了 23 份不同地理来源的薏苡种质的遗传多样性, 结果获得 405 个多态性片段, 通过 UPGMA 聚类分析法将 23 份供试薏苡资源分为 5 种类型, 分类结果与地理来源和种质系谱一致。郭银萍等^[19] 利用 SSR 标记对 22 份贵州薏苡种质的遗传多样性进行研究, 用 11 对 SSR 引物检测出 105 个等位基因变异, 并利用 UPGMA 聚类分析法将 22 份贵州薏苡种质划分为 4 类, 证明 SSR 标记是鉴定薏苡种质资源亲缘关系的一条有效途径。K. H. Ma 等^[20] 利用 17 个 SSR 标记对收集于中国和韩国的 79 份种质资源进行聚类, 把 79 份种质分成 2 大类, 大多中国收集的薏苡种质资源聚在第 I 类, 韩国的种质聚在一起, 另加 2 份中国的薏苡种质资源组成第 II 类。本研究在优化 SRAP-PCR 的基础上, 将 90 份薏苡种质资源(福建省 68 份, 中国台湾 6 份和国内其他地区(浙江、辽宁、山东、河南、云南、江苏、湖南、广东、上海等)的 16 份)分为 4 大类, 与利用农艺性状和种子性状聚类分析结果相似, 可见分子标记分类与形态性状分类具有一定的相似性, 可以作为薏苡资源分类的依据。

近年来由于气候、环境和人为因素等导致薏苡原生地遭到严重破坏, 野生薏苡资源大幅度减少, 与 20 世纪 80 年代相比, 70% 左右的野生薏苡原生地遭到毁灭破坏, 加强对薏苡种质资源的保护、鉴定和利用的需求极为迫切^[21-22]。如何筛选、鉴定优异薏苡种质资源, 合理选择优势互补、亲缘关系较远的父母本是当前薏苡种质利用中的重要问题。SRAP 分子标记从分子水平上揭示品种的特征特性及亲缘关系, 不受生长发育时期、部位和环境等因素的限制, 可以快速、高效、灵敏地鉴定品种间的亲缘关系, 结合生物学特征特性进行杂交, 可获得遗传基础广泛、变异丰富的后代, 从而为薏苡新品种选育、品种鉴定和种质保存奠定基础。

3.2 薏苡 DNA 指纹图谱的初步构建

江忠东等^[23] 以 42 份薏苡属植物为材料, 从落粒性基因相关的 36 对 STS 引物中筛选出 5 对多态性和稳定性良好的引物, 对薏苡属植物 DNA 多样性进行分析, 并构建了 42 份薏苡属植物的 STS 指纹图

谱和系统进化树。但未见 SRAP 构建薏苡 DNA 指纹图谱的相关报道。本研究从具有多态性的 26 对 SRAP 引物中筛选出 16 对多态性高、特异性和稳定性相对比较好的引物, 初步构建了 73 份薏苡种质资源的 DNA 指纹图谱, 但还有 17 份资源未能区分, 需要再筛选增加多态性更好的标记进行研究, 同时还须结合其他工作研究这些种质无法区分的原因。

参考文献

- [1] 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[J]. *Theor Appl Genet*, 2001, 103:455-461
- [2] Budak H, Shearman R C, Parmaksiz I, et al. Molecular characterization of Buffalograss germplasm using sequence-related amplified polymorphism markers [J]. *Theor Appl Genet*, 2004, 108: 328-334
- [3] 王从彦, 李晓慧, 胡小丽, 等. SRAP 技术在西瓜种子纯度鉴定中的应用[J]. *河南农业大学学报*, 2008, 42(5):491-495
- [4] 张安世, 徐九文, 辛长永, 等. 河南省水稻中晚粳新品系遗传多样性的 SRAP 分析[J]. *中国农学通报*, 2010, 26(2):50, 54
- [5] 黄进勇, 盖树鹏, 张恩盈, 等. SRAP 构建玉米杂交种指纹图谱的研究[J]. *中国农学通报*, 2009, 25(18):47-51
- [6] 齐兰, 王文泉, 张振文, 等. 利用 SRAP 标记构建 18 个木薯品种的 DNA 指纹图谱[J]. *作物学报*, 2010, 36(10):1642-1648
- [7] 王凤涛, 蔺瑞明, 欧阳宏雨, 等. 利用 SRAP 标记分析河南小麦栽培品种的遗传多样性[J]. *植物遗传资源学报*, 2009, 10(4):517-521
- [8] 杨平, 刘仙俊, 刘新春, 等. 利用 SRAP 标记研究四川高原青稞育成品种的遗传多样性[J]. *遗传*, 2008, 30(1):115, 122
- [9] 俞旭平, 李钧敏, 金则新. 薏苡 SRAP 反应体系的优化[J]. *中草药*, 2009(S1):243-245
- [10] 王硕, 何金宝, 农民英, 等. 薏苡种质资源的 SRAP 分子标记研究[J]. *中草药*, 2015(1):112-117
- [11] Vandemark G J, Ariss J J, Bauchan G A, et al. Estimating genetic relationships among historical sources of alfalfa germplasm and selected cultivars with sequence related amplified polymorphisms [J]. *Euphytica*, 2006, 152:9-16
- [12] Ferriol M, Picó B, Nuez F. Genetic diversity of a germplasm collection of *Cucurbita pepo* using SRAP and AFLP markers [J]. *Theor Appl Genet*, 2003, 107:271-282
- [13] Clark M S, 顾红雅, 瞿礼嘉, 等译. *植物分子生物学-实验手册* [M]. 北京: 高等教育出版社, 1998
- [14] 刘月光, 滕永勇, 潘辰, 等. 应用 SRAP 标记对莲藕资源的聚类分析[J]. *氨基酸和生物资源*, 2006, 28(1):29-32
- [15] 袁菊红, 权俊萍, 胡绵好, 等. 石蒜 SRAP-PCR 扩增体系的建立与优化[J]. *植物资源与环境学报*, 2007, 16(4):1-6
- [16] 汪文武, 祁伟, 兰涛, 等. 应用 ISSR 分子标记绘制红麻种质资源 DNA 指纹图谱[J]. *作物学报*, 2011, 37(6):1116-1123
- [17] Li X H, Huang Y Q, Li J S, et al. Characterization of genetic variation and relationships among Coix germplasm accessions using RAPD markers [J]. *Genet Resour Crop Evol*, 2001, 48:189-194
- [18] 黄倩, 叶聪莹, 刘小川. 薏苡胚油脂分子标记鉴定及遗传多样性分析[J]. *浙江理工大学学报: 自然科学版*, 2016(3):458-462
- [19] 郭银萍, 彭忠华, 赵致, 等. 基于 SSR 标记的贵州薏苡种质资源遗传多样性分析[J]. *植物遗传资源学报*, 2012, 13(2):317-320
- [20] Ma K H, Kim K H, Dixit A, et al. Newly developed polymorphic microsatellite markers in Job's tears (*Coix lacryma-jobi* L.) [J]. *Mol Ecol*, 2006, 15:689-691
- [21] 陈成斌. 广西薏苡资源的保护、收集、整理与利用[J]. *广西农业科学*, 2003(3):10-13
- [22] 杨丽娟, 张继武, 梁晓艳, 等. 中国薏苡种质资源研究进展[J]. *黑龙江八一农垦大学学报*, 2015(5):66-68
- [23] 江忠东, 郭菊卉, 陈庆富. 薏苡属植物 DNA 多样性分析[J]. *广东农业科学*, 2013(2):124-127, 142