

研究报告

A Letter

SRAP 和 RGA 标记技术在甘薯的抗茎线虫病遗传多样性中的应用

黄文静[✉], 王钰[✉], 蒋琳[✉], 季必霞[✉], 陈达伟[✉]

安徽大学资源与环境工程学院, 安徽大学生命科学学院, 安徽省生态工程与生物技术重点实验室, 合肥, 230039

✉ 通讯作者: wangyu@ahu.edu.cn; ✉ 作者

分子植物育种, 2011年, 第9卷, 第46篇 doi: 10.5376/mpb.cn.2011.09.0046

收稿日期: 2010年12月22日

接受日期: 2011年04月07日

发表日期: 2011年04月15日

这是一篇采用 Creative Commons Attribution License 进行授权的开放获取论文。只要对本原作有恰当的引用, 版权所有人允许并同意第三方无条件的使用与传播。

引用格式:

黄文静等, 2011, SRAP 和 RGA 标记技术在甘薯的抗茎线虫病遗传多样性中的应用, 分子植物育种 Vol.9 No.46 (doi: 10.5376/mpb.cn.2011.09.0046)

摘要 为了评价甘薯种质的抗茎线虫病遗传多样性, 选用 SRAP 和 RGA 分子标记方法, SRAP 和 RGA 引物设计如下: 利用 Blast 软件, 对 Genebank 数据库中由王钰等克隆的 342 个甘薯 RGA(编号为 DQ903322-DQ903664)与抗线虫病基因 (*RGCI*、*RX*)进行比对, 筛选出与抗病基因同源性高于 50% 的 RGA 序列 11 个, 以高抗甘薯茎线虫病品种徐 78-1 和感茎线虫病品种徐薯 18 的基因组 DNA 为亲本, 基因组 DNA 采用改良的 CTAB 法提取得到, 然后将没有多态性的 RGA 结合 SRAP 组合成 SRAP-RGA 引物, 筛选出五对有多态性的 SRAP-RGA 引物。将 SRAP 和 RGA 技术结合起来研究 50 个甘薯品种的抗茎线虫病遗传多样性。结果显示, 5 对引物组合经过 PCR 扩增, 聚丙烯酰胺凝胶电泳检测共产生 57 条带, 平均每对引物组合产生 9~13 条带, 其中多态性条带 49 条, 占总条带数的 85.96%。其中多态率最高的引物对是 EM4-S2-A07-F, 为 100%。最低的引物对是 EM8-S1-F03-F, 为 63.6%。根据 SRAP-RGA 标记结果, 应用 UPGMA 法, 采用 NTSYS-pc 软件对 50 个甘薯种质进行聚类分析, 它们之间的相似系数范围在 0.2~0.8 之间。UPGMA 聚类分析显示, 在相似系数为 0.58 处 50 份甘薯品种被划分为 3 大类群。这说明 SRAP 和 RGA 标记技术可有效用于甘薯的抗病遗传多样性研究, 并为杂交亲本的选择提供理论依据。

关键词 甘薯; SRAP; RGA; 聚类分析; 遗传多样性

Analysis of Genetic Diversity of Sweetpotato Stem Nematode Disease Resistance by SRAP and RGA Markers

Huang Wenjing[✉], Wang Yu[✉], Jiang Lin[✉], Ji Bixia[✉], Chen Dawei[✉]

College of Resources and Environmental Engineering, College of Life Science Anhui University, Hefei, 230039, P.R. China

✉ Corresponding author, wangyu@ahu.edu.cn; ✉ Authors

Abstract To evaluate the genetic diversity of stem nematode disease resistance of sweetpotato, SRAP and RGA markers are used, SRAP and RGA primers are designed as follows, RGA primer sequences were designed from the 342 sweetpotato RGAs (No.DQ903322-DQ903664) in Genebank database which were cloned by Wang Yu and Dr. He. We used the Blast software to compare with stem nematodes disease resistant gene (*RGCI*、*RX*) and 11 RGA primer sequences were selected whose homologue were more than 50% with the resistant genes. Then Xu18 which is sensitive to stem nematode disease and X781 which is highly resistance to the disease were used as parents. All genomic DNA are extracted according to the modified CTAB method. Then SRAP-RGA primer combinations were formed through RGA without polymorphism and SRAP primers which were designed according to Li and Quiros. Genetic diversity of stem nematode disease resistance of 50 sweetpotato cultivars were studied with 5 highly polymorphic and stable primer pairs selected by SRAP and RGA markers. The results show 57 bands were generated through 5 polymorphic primer combinations. Each primer combination generated 9~13 bands, and 49 polymorphic bands were detected by PCR amplification and polyacrylamide gel electrophoresis, accounting for 85.96% of the total bands detected. The highest polymorphic rate of EM4-S2-A07-F primer combination is 100%. The lowest rate of EM8-S1-F03-F primer is 63.6%. According to the result of SRAP-RGA markers, 50 sweetpotato cultivars were cluster analyzed by UPGMA and NTSYS-pc software. The similarity coefficient of the 50 cultivars was 0.2~0.8. These germplasms were divided into three groups based on the similarity level of 0.58. It appears that SRAP and RGA markers can be used for study of genetic diversity of sweetpotato stem nematode disease resistance. The results of this study may offer a better reference for the selection of hybridization parents.

Keywords Sweetpotato; SRAP; RGA; Cluster analysis; Genetic diversity

研究背景

甘薯 (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) 属于旋花科 (Convolvulaceae) 双子叶植物 (Austin, 1988), 广泛种植于世界上 100 多个国家。中国是世界上最大的甘薯生产国家, 每年种植面积和生产量分别占世界的 69.4% 和 84.6% (刘庆昌, 2004)。近年来甘薯病害频发, 其中以甘薯茎线虫病最为严重, 成为制约甘薯生产的瓶颈问题。抗病品种的选育和推广是控制该甘薯茎线虫病的主要手段。抗病育种主要有常规育种和分子育种。分子育种主要包括抗病基因(候选基因)克隆、分子标记筛选等。

目前, 应用于甘薯的以 PCR 为核心的分子标记技术主要包括 RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA)、AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) (Kriegner et al., 2003; 张大普等, 2004)、SSR (Simple Sequence Repeat)、SRAP (Sequence Related Amplified Polymorphism) (郝玉民等, 2007)、RGA (Resistance Gene analogue) (林巧玲, 2005) 等。由于 RAPD 技术重复性差、AFLP 技术复杂、成本昂贵等的缺点, 限制了其在甘薯育种上的广泛应用。

SRAP 即序列相关扩增多态性技术 (Sequence Related Amplified Polymorphism), 是由美国加州大学 Li 和 Quiros 博士 (Li and Quiros, 2001) 于 2001 年提出的一种新型的基于 PCR 的 DNA 分子标记系统。它利用一个 17 bp 的正向引物和 18bp 的反向引物对生物全基因组进行扩增, 通过分析不同材料的 SRAP 扩增图谱便可观察分析材料间的遗传差异。SRAP 以其高度多态性 (张四普等, 2008)、操作简便迅速、成本低、可靠性好、重复性高、易于测序等特点广泛应用于植物遗传多样性分析 (Ferriol et al., 2003)、遗传图谱构建 (Pan et al., 2010)、基因定位克隆、比较基因组学 (Li et al., 2003) 等方面。

RGA 即抗病基因同源序列 (Resistance Gene analogue), 是克隆植物抗病基因的一条新途径。其原理是根据已克隆植物抗病基因的保守结构域设计简并引物, 扩增获得 RGAs, 然后分析 RGAs 与抗病基因的关系, 确定候选抗病基因从而获得新的抗病基因 (徐兵强等, 2004)。自 1996 年 Kanazin 和 Yu 首次报道用抗病基因产物的保守序列为引物扩增 RGA 以来, RGA 不仅应用于克隆和定位 R 基因, 还用于分子标记辅助育种及种质资源多样性研究等 (肖天霞, 2006)。

目前, 郝玉民等 (郝玉民等, 2007) 已利用 SRAP 技术对 36 个甘薯品种进行了遗传多样性分析, 吴洁等 (吴洁等, 2007) 也利用 SRAP 标记技术分析了来自四川省的甘薯种质资源的亲缘关系, 但将 SRAP 和 RGA 技术结合起来研究甘薯的抗病遗传多样性却鲜有报道。本研究选用 SRAP 标记技术结合 RGA 技术对甘薯抗茎线虫病进行分子聚类, 为抗茎线虫病育种和优良种质资源的筛选提供一定的理论依据。

1 结果与分析

1.1 SRAP-RGA 扩增产物的多态性分析

本实验选用筛选出的 5 对带型清晰、多态性较好的引物组合, 利用高感品种徐 18 和高抗品种徐 781 为亲本对照, 对 50 份供试甘薯材料进行扩增, 所扩增条带的大小一般在 250 bp~2 000 bp 之间, 每对引物组合产生 9~13 条谱带, 共产生谱带 57 条, 其中多态性条带为 49 条, 占总带数的 85.96% (表 1)。不同的引物对产生的多态率明显不同 (Kriegner et al., 2003)。最高是 EM4-S2-A07-F 引物对的多态率为 100%, 最低是 EM8-S1-F03-F 引物对的多态率为 63.6%。部分扩增结果如图 1 所示。

表 1 各引物对的总带数和多态性条带数

Table 1 The total and polymorphic fragments in all cultivars

引物组合 Primer combination	多态性条带数 No. of polymorphic bands	总条带数 No. of total bands	多态率 (%) Percentage of polymorphism (%)
EM3-S2-A05-F	10	12	83.3
EM4-S2-A07-F	9	9	100
EM3-S2-A08-F	12	13	92.3
EM8-S1-F03-F	7	11	63.6
EM3-S2-D12-F	11	12	91.7

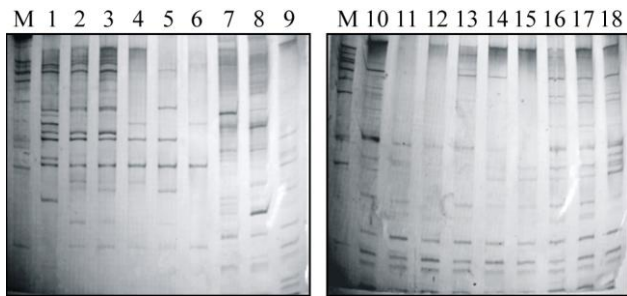


图1 部分 SRAP-RGA 扩增结果图谱

注: M: 2 000 bp marker; 1: 红冬; 2: 徐 55-1; 3: 44104; 4: 徐 22; 5: 徐 23; 6: 青农 2 号; 7: 宁紫 1 号; 8: 潮薯; 9: 渝紫 1 号; 10: 徐紫糯; 11: 水果甘薯; 12: 徐 55-2; 13: 台农 69; 14: 559; 15: 胜利百号; 16: 徐 55-1; 17: 44104; 18: 徐 55-2

Figure 1 The profile of SRAP-RGA amplification

Note: M: 2 000 bp marker; 1: Hongdong; 2: Xu55-1; 3: 44104; 4: Xu22; 5: Xu23; 6: Qingnong2; 7: Ningzi1; 8: Chaoshu; 9: Yuzi1; 10: Xuzinuo; 11: Shuiguoganshu; 12: Xu55-2; 13: Tainong69; 14: 559; 15: Shenglibaihao; 16: Xu55-1; 17: 4 04; 18: Xu55-2

1.2 聚类分析结果

根据SRAP-RGA标记对50个甘薯品种扩增结果进行数据统计, 应用UPGMA法对50个品种进行聚类分析, 结果见图2。

结果显示: 在相似系数为0.58时, 将50个品种划分为3大类群(图2)。第一类包括32个品种: 皖702、二黄、199029-1、559、南薯88、美 I、徐55-2、川山紫、广菜2号、青农2号等; 第二类包括12个品种: 美国红薯、44104、水果甘薯、潮薯、宁紫1号、徐紫13-4、徐23、济薯18、徐紫薯、徐18等; 第三类包括6个品种: 徐22、C-14、59、潮薯1号、福薯11号、徐78-1。

1.3 SRAP-RGA 扩增产物的抗茎线虫病遗传多样性分析

根据多态性条带统计结果, 采用NTSYS软件计算出甘薯种质间的相似系数, 结果表明, 50份材料间的相似系数范围较广, 在0.2~0.8之间。在所有材料中, 徐紫薯(48)和二黄(2)、199029-1(3)遗传相似性系数最小, 为0.2, 说明他们之间的遗传距离较远, 而鲁78066(12)和徐781(50)、徐55-2(7)和徐55-1(15)的相似性系数较大, 为0.8, 说明他们之间的遗传距离较近, 而且徐55-2(7)和徐55-1(15)均感甘薯茎线虫病(周忠等, 2005)。

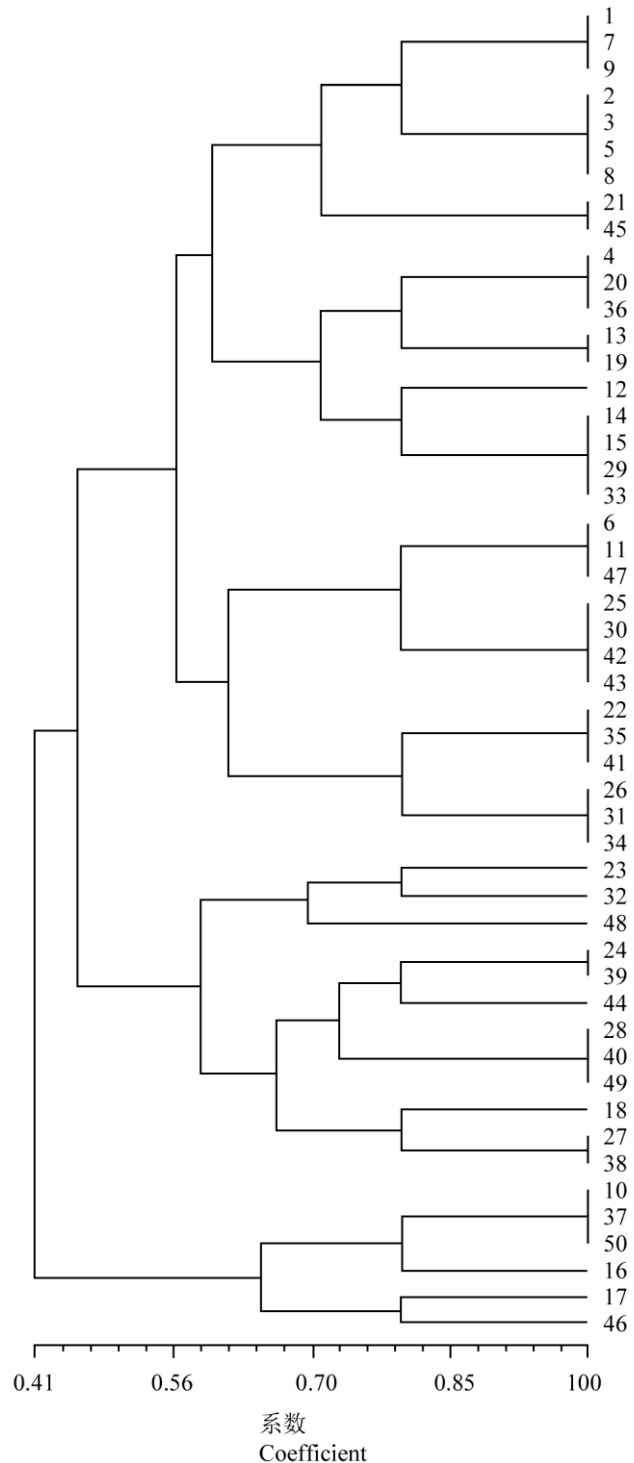


图2 SRAP-RGA技术扩增甘薯基因组的聚类分析图

Figure 2 The dendrogram of the sweetpotato based on SRAP and RGA marker analysis

2 讨论

2.1 甘薯种质资源间的抗茎线虫病遗传多样性

通过SRAP和RGA分子标记技术对甘薯的遗传多样性进行研究,结果显示5对引物扩增出57条多态性条带,多态性比率为85.76%,不同种质资源间的遗传相似性变异范围较大(0.2~0.8),这些结果从分子标记的角度进一步说明了我国甘薯主要亲本遗传多样性较丰富(李强等, 2008; 贺学勤等, 2005)。

2.2 SRAP和RGA分子标记技术可有效地应用于甘薯抗茎线虫病遗传多样性研究

目前, SRAP标记技术和RGA技术已广泛应用于多种植物的遗传多样性研究,如SRAP技术应用于荔枝、青蒿、郁金香等, RGA技术应用于水稻等的聚类分析。本研究将SRAP和RGA分子标记技术结合起来,选用与抗病基因同源性较高的RGAs和SRAP的引物组合,对50份甘薯的抗茎线虫病遗传多样性进行研究,5对引物扩增出57条清晰的用于多态性分析的谱带,其中多态性条带就有49条,多态性比率为85.76%。这说明SRAP和RGA标记在甘薯抗病遗传多样性研究中具有较高的应用价值。

通过SRAP和RGA技术对甘薯品种进行聚类分析(图2),结果显示在遗传系数0.58处50份甘薯种质资源被划分为三大类。徐18(49)感茎线虫病,徐78-1(50)高抗茎线虫病,和它们的遗传相似系数越高,与它们的遗传距离就越远。如品种徐55-2(7)和徐55-1(15)他们来自于共同的父母本(“苏薯6号”×“萨摩光”),两者均不抗茎线虫病(xushu18.net),聚在第一大类中,且遗传相似系数(GS)为0.8;育种

材料美国红薯(18)和川山紫(25)均为国外引进种,它们虽然没有聚在一起,但它们的遗传距离表现为非常接近。品种济薯18(40)、宁紫1号(28)和徐紫薯(48)均为高产紫肉品种,且都中抗茎线虫病,聚在第二大类中。品种鲁78066(12)和徐781(50)都高抗甘薯茎线虫病,虽然没有聚在一起,但相似系数很高,达到了0.8。与前人的研究结果一致(周忠等, 2005; 马代夫等, 1997)。从聚类的结果来看,美国红薯(18)和川山紫(25)等国外引进品种与我国的一些甘薯品种具有较近的亲缘关系。表明国内甘薯育种已经引进了来自国外甘薯品种资源。

本研究采用分子标记技术来研究甘薯品种的遗传多样性,揭示了50个甘薯品种之间的亲缘关系,为甘薯育种者选择杂交亲本提供理论依据。因此,在今后的甘薯育种中,考虑到亲本综合性状优良的前提下,参考聚类分析的结果,将亲缘关系较远的亲本材料杂交组合,可望获得性状优良的杂交后代。

3 材料与方 法

3.1 植物材料

以安徽大学植物组培实验室保存的徐薯18、徐78-1等50个甘薯品种为实验材料(表2),用于基因组DNA的提取。

3.2 甘薯基因组DNA的提取

基因组DNA均采用改良的CTAB法从新鲜的幼嫩叶片中提取得到(李强等, 2007)

表2 供试甘薯材料

Table 2 The list of the trial materials

编号 No.	名称 Cultivar or species	来源 Origin	编号 No.	名称 Cultivar or species	来源 Origin
1	皖702 Wan 702	中国 China	26	44057	中国 China
2	二黄 Erhuang	中国 China	27	潮薯 Chaoshu	中国 China
3	199029-1	中国 China	28	宁紫1号 Ningzi No.1	中国 China
4	559	中国 China	29	台农69 Tainong 69	中国 China
5	南薯88 Nanshu 88	中国 China	30	秦紫1号 Qinzi No.1	中国 China
6	美 I Mei I	中国 China	31	豫薯12 Yushu 12	中国 China

续表2

Continuing table 2

编号 No.	名称 Cultivar or species	来源 Origin	编号 No.	名称 Cultivar or species	来源 Origin
7	徐55-2 Xu 55-2	中国 China	32	徐22-5 Xu 22-5	中国 China
8	2004-14	中国 China	33	姑娘薯 Guniangshu	中国 China
9	胜利百号 Shenglibaihao	中国 China	34	烟紫665 Yanzi 665	中国 China
10	徐22 Xu 22	中国 China	35	广菜2号 Guangcai No.2	中国 China
11	2004-28	中国 China	36	青农2号 Qingnong No.2	中国 China
12	鲁78066 Lu 78066	中国 China	37	潮薯1号 Chaoshu No.1	中国 China
13	浙6025 Zhe 6025	中国 China	38	徐紫13-4 Xuzi 13-4	中国 China
14	C-26	中国 China	39	徐23 Xu 23	中国 China
15	徐55-1 Xu 55-1	中国 China	40	济薯18 Jishu 18	中国 China
16	C-14	中国 China	41	杭州土种 Hangzhoutuzhong	中国 China
17	59	中国 China	42	渝紫1号 Yuzi No.1	中国 China
18	美国红薯 Meiguohongshu	美国 China	43	红冬 Hongdong	中国 China
19	安芋1-1 Anyu 1-1	中国 China	44	金山1225 Jinshan 1225	中国 China
20	浙78 Zhe 78	中国 China	45	徐紫糯 Xuzinuo	中国 China
21	利丰3号 Lifeng No.3	中国 China	46	福薯11号 Fushu No.11	中国 China
22	C-30	中国 China	47	遗字138 Yizi No.138	中国 China
23	44104	中国 China	48	徐紫薯 Xuzishu	中国 China
24	水果甘薯 Shuiguoganshu	中国 China	49	徐薯18 Xushu No.18	中国 China
25	川山紫 Chuanshanzi	中国 China	50	徐78-1 Xu 78-1	中国 China

提取的DNA经琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测, 电泳条带清楚且所提取的基因组 OD_{260}/OD_{280} 在1.8~2.0之间的DNA, 置-20℃冰箱保存并用于PCR分析。

3.3引物设计

利用Blast软件, 对Genebank数据库中由王钰等克隆的342个甘薯RGA (编号为DQ903322-DQ90-3664)(王钰等, 2008)与抗线虫病基因(*RGCI*、*RX*)进行比对, 筛选出与抗病基因同源性高于50%的

RGA序列, 以高抗甘薯茎线虫病品种徐78-1和感茎线虫病品种徐薯18的基因组DNA为模板进行PCR扩增, 进行第一轮筛选。没有多态性的RGA与SRAP组合成SRAP-RGA引物。再以抗茎线虫病品种为模板进行第二轮筛选。从40对SRAP-RGA引物组合中筛选出五对有多态性的引物(表3)为抗茎线虫病聚类引物。SRAP引物序列参考Li and Quiros(2001)(Li and Quiros, 2001)。

表3 扩增甘薯基因组的引物对

Table 3 Lists of primer pairs used to amplify genomic DNA of sweet potato

上游引物 Forward primers		下游引物 Reverse primers	
名称	序列(5'-3')	名称	序列(5'-3')
Name	Sequence(5'-3')	Name	Sequence(5'-3')
EM3	GACTGCGTACGAATTGAC	S2-A05-F	CCTTTCCGCAATCCAATG
EM4	GACTGCGTACGAATTTGA	S2-A07-F	TCGGCCACATGTTTTAGG
EM3	GACTGCGTACGAATTGAC	S2-A08-F	GATTACCACCTGAACCAGCA
EM8	GACTGCGTACGAATTAGC	S1-F03-F	GGAGGCCGTTACATTTCTCA
EM3	GACTGCGTACGAATTGAC	S2-D12-F	CGCTGCAACCAAGAACAA

3.4 PCR扩增和检测

根据优化实验的结果, PCR反应体系为20 μL, 包括: 模板DNA 100 ng, 2.5×PCR Buffer 2 μL, 0.5 mmol/L dNTPs, 0.375 μmol/L引物, *Taq* DNA聚合酶1 U (上海生工生物), 用ddH₂O调整体系, 使反应终体积为20 μL。PCR反应程序如下: 94℃预变性5 min; 反应前5个循环为94℃变性45s, 45℃复性45s, 72℃延伸1 min; 随后的35个循环退火温度提高到50℃, 72℃延伸7 min (Wang et al., 2009)。

PCR扩增产物94℃变性3 min后, 6%变性聚丙烯酰胺凝胶电泳, 95V电泳1.5 h, 银染检测。

3.5数据分析

对不同引物在各甘薯材料中的SRAP-RGA扩增情况做记录, 统计清晰的条带, 有带的记为1, 无带的记为0, 得到二元数据资料, 形成0, 1矩阵。50个品种间的遗传相似性根据Nei和Li描述的方法(Nei and Li, 1979)由Dice相似性系数计算获得。遗传距离由公式 $GD=1-GS$ 计算得到。根据

NTSYS-Pcversion2.1软件应用UPGMA(Xiao et al., 2008)法进行聚类分析, 并采用软件处理, 建立聚类图。

作者贡献

黄文静、陈达伟、季必霞是本研究的实验设计和实验研究的执行人; 黄文静完成数据分析, 论文初稿的写作; 蒋琳参与实验设计, 试验结果分析; 王钰是本项目的构思者及负责人, 指导实验设计, 数据分析, 论文写作与修改。全体作者都阅读并同意最终的文本。

致谢

本研究由安徽省自然科学基金(11040606M84)资助。作者感谢安徽大学提供了优越的实验条件以及仪器设备。本文中提到了我们实验中涉及的有关试剂供应商, 这并非我们为这些试剂供应商的产品和服务提供推荐。

参考文献

- Austin D.F., 1988, The taxonomy, evolution and genetic diversity of sweetpotato and related wild species exploration, maintenance and utilization of sweet potato genetic resources, International Potato Center, Lima, Peru., 27-61

- Ferriol M., Pico B., and Nuez F., 2003, Genetic diversity of a germplasm collection of cucurbita pepo using SRAP and AFLP markers, *Theor. Appl. Genet.*, 107(2): 271-282
- Hao Y.M., Guo L., Han Y.C., Diao Y., Yang X.S., and Hu Z.L., 2007, Genetic diversity analysis of sweet potato based on SRAP markers, *Wuhan Zhiwuxue Yanjiu (Journal of Wuhan Botanical Research)*, 25(4): 406-409 (郝玉民, 郭兰, 韩延闯, 刁英, 杨新笋, 胡中立, 2007, 甘薯品种的 SRAP 遗传多样性分析, *武汉植物学研究*, 25(4): 406-409)
- He X.Q., Liu Q.C., Wang Y.P., and Zhai H., 2005, Analysis of genetic diversity of sweetpotato landraces in China, *Zhongguo Nongye Kexue (Scientia Agricultura Sinica)*, 38(2): 250-257 (贺学勤, 刘庆昌, 王玉萍, 翟红, 2005, 中国甘薯地方品种的遗传多样性分析, *中国农业科学*, 38(2): 250-257)
- Kriegner A., Cervantes J.C., Burg K., Mwanga R.O.M., and Zhang D.P., 2003, A genetic linkage map of sweetpotato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] based on AFLP markers, *Mol. Breed.*, 11: 169-185
- Li G., Gao M., Yang B., and Quiros C.F., 2003, Gene for gene alignment between the brassica and a robidopsis genomes by direct transcriptome mapping, *Theor. Appl. Genet.*, 107: 168-180
- Li G., and Quiros C.F., 2001, Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in Brassica, *Theor. Appl. Genet.*, 103: 455-461
- Li Q., Jie Q., Liu Q.C., Wan X., Ma D.F., Zhai H., and Wang Y.P., 2007, An efficient and rapid method for sweetpotato genomic DNA extraction, *Fenzi Zhiwu Yuzhong (Molecular Plant Breeding)*, 5(5): 743-746 (李强, 揭琴, 刘庆昌, 王欣, 马代夫, 翟红, 王玉萍, 2007, 甘薯基因组 DNA 高效快速提取方法, *分子植物育种*, 5(5): 743-746)
- Li Q., Liu Q.C., Zhai H., Ma D.F., Wang X., Li X.Q., and Wang Y.P., 2008, Genetic diversity in main parents of sweetpotato in China as revealed by ISSR marker, *Zuowu Xuebao (Acta Agronomica Sinica)*, 34(6): 972-979 (李强, 刘庆昌, 翟红, 马代夫, 王欣, 李雪琴, 王玉萍, 2008, 中国甘薯主要亲本遗传多样性的 ISSR 分析, *作物学报*, 34(6): 972-979)
- Lin Q.L., 2005, Cloning and analysis of NBS-LRR type resistance gene analogs in sweetpotato (*Ipomoea batatas*), Thesis for M.S., South China University of Tropical Agriculture, Supervisor: Zeng H.C., pp.8-11 (林巧玲, 2005, 甘薯 NBS-LRR 类抗病基因同源序列的克隆与分析, 硕士学位论文, 华南热带农业大学, 导师: 曾会才, pp.8-11)
- Liu Q.C., 2004, Importance of sweetpotato in the security of food and energy in China, *Keji Daobao (Sci. Tech. Rev.)*, 9: 21-22 (刘庆昌, 2004, 甘薯在我国粮食和能源安全中的重要作用, *科技导报*, 9: 21-22)
- Nei M., and Li W., 1979, Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases, *Proceeding of the National Academy of Sciences of the USA*, 76: 5256-5273
- Pan D., Yu M.W., Guo Y.C., Wei L., Ji R.W., Eviatar N., and You L.Z., 2010, Sequence-related amplified polymorphism (SRAP) of wild emmer wheat (*Triticum dicoccoides*) in Israel and its ecological association, *Biochemical Systematics and Ecology*, 38(1): 1-11
- Wang Y., Rosen B., Scofield J., Egnin M., Steiner S., Cook D.R., and He G.H., 2009, Isolation and analysis of resistance gene homologues in sweetpotato, *Plant Breeding*, 129(5): 519-525
- Wang Y., Wang R.F., and He G.H., 2008, Cloning of resistance gene analog (RGA) from sweetpotato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam), *Nanjing Nongye Daxue Xuebao (Journal of Nanjing Agricultural University)*, 31(3): 81-86 (王钰, 王荣富, 何国浩, 2008, 甘薯抗病基因同源序列的克隆与分析, *南京农业大学学报*, 31(3): 81-86)
- Wu J., Tan W.F., Yan W.Z., Zhong C.S., and Wang D.Y., 2007, Genetic relationship of sweetpotato cultivars analysed by sequence-related amplified polymorphism, *Journal of Sichuan University (Natural Science Edition)*, 44(2): 878-882 (吴洁, 谭文芳, 阎文昭, 钟昌松, 王大一, 2007, 甘薯种质资源亲缘关系 SRAP 标记分析, *四川大学学报*, 44(2): 878-882)
- Xiao P.F., Guo G.N., Li P.G., Man Z.B., 2008, Genetic diversity of dianthus accessions as assessed using two molecular marker systems (SRAPs and ISSRs) and

morphological traits, *Scientia Horticulturae*, 117: 263-270

Xiao T.X., 2006, Development and application of PCR-based RGA markers in rice, Thesis for M.S., Agricultural and biotechnology institute, Zhejiang University, Supervisor: Zhu J., Wu W.R., pp.15-22 (肖天霞, 2006, 基于PCR的水稻RGA标记开发和利用, 硕士学位论文, 浙江大学农业与生物技术学院, 导师: 朱军, 吴为人, pp.15-22)

Xu B.Q., Du Z.J., and Huang J.S., 2004, Advances in cloning candidate disease resistant genes with the RGA cloning method, *Fenzi Zhiwu Yuzhong (Molecular Plant Breeding)*, 2(3): 421-428 (徐兵强, 杜中军, 黄俊生, 2004, RGA法克隆候选抗病基因的研究进展, 分子植物育种, 2(3): 421-428)

Zhang D.P., Genoveva R., Albert K., and Robert H., 2004, AFLP assessment of diversity in sweetpotato from Latin America and the Pacific region: Its implications on the dispersal of the crop, *Genetic Resources and Crop Evolution*, 51: 115-120

Zhang S.P., Wang L.J., Cao S.Y., and Liu T., 2008, Analysis of genetic diversity of 23 pomegranate genotypes by SRAP, *Guoshu Xuebao (Journal of Fruit Science)*, 25(2): 655-660 (张四普, 汪良驹, 曹尚银, 刘涛, 2008, 23个石榴基因型遗传多样性的SRAP分析, 果树学报, 25(2): 655-660)

Zhou Z., Wang X., Ma D.F., Li H.M., Xie Y.P., and Li X.Y., 2005, Genetic diversity analysis based on RAPD for resistance and susceptibility of sweetpotato varieties to stem-nematode, *Jiangsu Nongye Xuebao (Jiangsu J. of Agr. Sci.)*, 21(1): 35-39 (周忠, 王欣, 马代夫, 李洪民, 谢逸萍, 李秀英, 2005, 甘薯抗、感茎线虫病品种遗传多样性的RAPD分析, 江苏农业学报, 21(1): 35-39)



5thPublisher是一个致力于科学与文化传播的中文出版平台

在5thPublisher上发表论文, 任何人都可以免费在线取阅您的论文

- ※同行评审, 论文接受严格的高质量的评审
- ※在线发表, 论文一经接受, 即刻在线发表
- ※开放取阅, 任何人都可免费取阅无限使用
- ※快捷搜索, 涵盖谷歌学术搜索与知名数据库
- ※论文版权, 作者拥有版权读者自动授权使用

在线投稿: <http://5th.sophiapublisher.com>