

SSR 标记在小麦遗传资源利用中的应用

郑威, 李先文^{1*}, 孙东发^{2*} (1. 湖北省农业科学院农业测试与科技信息中心, 湖北武汉 430064; 2. 信阳师范学院生命科学学院, 河南信阳 464000; 3. 华中农业大学植物科学技术学院, 湖北武汉 430070)

摘要 介绍了SSR标记技术的原理和特点, 概述了SSR标记在小麦遗传图谱和物理图谱的构建、核心种质的筛选、遗传多样性分析、分子标记辅助选择等方面的应用现状。

关键词 SSR标记; 小麦; 种质资源

中图分类号 S512.1 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)36-15791-03

Application of SSR Marker in the Genetic Resources Utilization of Wheat

ZHENG Wi et al (Agricultural Testing and Sci-tech Information Center, Hubei Academy of Agricultural Science, Wuhan, Hubei 430064)

Abstract The principle and characteristics of SSR marker technology were introduced. The application status of SSR marker in the construction of the genetic map and physical map, the selection of core germplasms, the analysis of genetic diversity, molecular marker-assisted selection in wheat and so on were summed up.

Key words SSR marker; Wheat; Germplasm resources

自1980年限制性片段长度多态性(RFLP)出现以来,随着生物技术的发展,分子标记已成为最重要的遗传标记。与形态标记和同工酶标记相比,分子标记具有极大的优越性,基于DNA分子水平上的多态性,其能直接反映DNA序列的差异;数量丰富,遍布整个基因组;遗传稳定,呈简单孟德尔遗传;表现为显性或共显性,便于利用;可在生物体不同时期不同组织不同发育阶段进行分析,不受环境影响。目前在小麦上应用的DNA分子标记主要有限制性片段长度多态性(RFLP)、随机扩增多态性DNA(RAPD)、扩增片段长度多态性(AFLP)、序列标签位点(STS)、简单重复序列(SSR)等。其中,SSR以其具有的一些特点和优点正越来越受到人们的重视。

1 SSR标记的原理及技术特点

重复序列(Repetitive Sequences)在真核生物和绝大部分原核生物中广泛存在,分为三大类:简单重复序列(Simple Sequence Repeats, SSR)或微卫星(Microsatellite),如(CAG)_n;

复杂重复序列(Complex Sequence Repeats, CSR),如转座元件(Transposable Elements, TE);数学上定义的重复序列(Mathematically Defined Repeats, MDR)。在生物学上研究的主要是前2种重复序列。SSR是指在生物基因组中存在一个或几个碱基可变次数的串联重复序列(Short Tandem Repeat, STR),不同的文献对重复次数及重复单元长度的定义不尽一致。如有人定义SSR为重复单元(Repeat Motif)为1~5个碱基,且单核苷酸重复不少于15个碱基,二核苷酸重复不少于14个碱基,三核苷酸重复不少于15个碱基,四核苷酸重复不少于16个碱基,五核苷酸重复不少于20个碱基。也有人将SSR定义为重复单元为1~6个碱基,即单核苷酸重复不少于12次,二核苷酸重复不少于6次,三核苷酸重复不少于4次,四核苷酸重复和五核苷酸重复不少于3次,六核苷酸重复不少于2次。对SSR的研究始于动物基因组,最早发现了由二核苷酸CA/GT重复多次的一段DNA序列,现已证实存在于真核生物和绝大部分原核生物中。SSR作为以PCR为基础的第2代分子标记具有以下主要特点:数量极为丰富,而且分布

于整个基因组;多态性高,等位位点多,因此信息含量极为丰富;以孟德尔方式呈共显性遗传;操作简单,可直接用PCR进行分析,而且对DNA的数量要求少且质量要求也不高。近年来,SSR作为分子标记所具有的优点使其在植物遗传育种研究中得到广泛应用。

2 SSR标记在小麦遗传资源利用中的应用

2.1 构建小麦遗传连锁图谱 普通小麦的基因组大,具有异源多倍性,种内酶切位点片段长度多态性少,这使得利用RFLP等DNA分子标记构建普通小麦的基因组图谱显得相当艰难。1989年美、英、澳科学家联合倡导并制定了小麦族RFLP作图计划(International Triticaceae Mapping Initiative, ITM),给小麦的RFLP连锁图谱的构建带来了突破性进展,已有多张RFLP图谱问世,小麦的7个部分同源群染色体的全部RFLP图谱以及普通小麦完整的21条染色体的遗传图谱已经构建完成。普通小麦由AA、BB、DD 3组染色体组成,部分同源染色体及其多倍性给小麦的遗传研究带来了困难的同时也带来了机遇,人们可以利用已经确定的普通小麦二倍体亲缘种来构建普通小麦的高饱和基因组图谱,这一策略首先在普通小麦的D组和A组供体粗山羊草和一粒小麦中实施并取得了进展。粗山羊草与普通小麦的D组染色体的相似度和染色体间配对性最好,2个物种间的基因线性关系也最为保守。在已构建的粗山羊草遗传连锁图谱中,有330个标记被定位,平均每条染色体上约有47个标记。这些探针的序列和相对位置在粗山羊草与普通小麦的D组及A、B组之间都有很大的保守性。人们利用RFLP和AFLP分子标记构建了粗山羊草的具有546个位点的高密度遗传连锁图谱,其中有69个探针在基因组上有多拷贝,在粗山羊草的遗传图谱和普通小麦的物理图谱中,有123个标记是共显性的。

在野生一粒小麦(*T. bioeriticum*)、栽培一粒小麦(*T. monococcum*)和普通小麦的ISSR、RAPD和RFLP标记图谱中,分别有9个ISSR和RAPD标记可以定位在一粒小麦的RFLP标记图谱上。比较一粒小麦和普通六倍体小麦的遗传图谱、连锁图谱和染色体图谱,除4A染色体外,分子标记的顺序是一致的,野生一粒小麦的Ab和栽培一粒小麦的Am是保守的,4A染色体的重排对多倍体小麦是特异的;六倍体普通小麦和四

基金项目 国家自然科学基金项目(30630047)。

作者简介 郑威(1964-),男,湖北英山人,在读博士,副研究员,从事小麦遗传育种和推广工作。* 通讯作者。

收稿日期 2008-10-22

倍体硬粒小麦(AABB)在4A、5A和7B染色体上有染色体重排现象,在2B~6B染色体上发现易位现象,而在2BS染色体上未发现缺失。

由于六倍体普通小麦(AABBDD)品种间的遗传多样性或DNA分子标记的多态性较低,人们构建的小麦遗传图谱的作图群体大多来自小麦的种间和属间杂交后代。到2000年,从二倍体小麦(AA,DD)、四倍体小麦(AABB)再到六倍体小麦(AABBDD),小麦遗传连锁图谱在整个染色体组水平上已有8组。通过小麦族遗传图谱及远缘植物的比较基因组研究,人们发现基因序列的共线性还是相对保守的,一些明显的差异在染色体上的位点也基本确定。人们开始利用同一遗传群体的不同分子标记的连锁图谱,进行不同性状的QTL分析,研究比较分子标记和基因定位的异同和相邻关系,成功地构建和完善了小麦的分子遗传图谱。1995年Nelson等用W7984(粗山羊草/硬粒小麦)/Qpata85重组近交系群体,用RFLP标记构建了六倍体小麦遗传图谱,并被用于进行小麦抗性和农艺性状的QTL研究^[1]。Roder等利用同样的群体构建了相应的高密度SSR的遗传图谱^[2]。

2.2 构建小麦物理图谱 利用分子遗传学方法包括构建大的基因组文库重叠群和大范围限制性酶切图谱,对基因组内小范围的精细结构标图是有效的,但不适合构建整个小麦基因组的物理图谱。因为在小麦基因组中,许多基因成簇存在于很小的一个区域,富含基因的区域被基因贫乏的重复序列所割裂。在小麦第6同源群染色体的CLM上,大部分标记分布在染色体的远端,有15个标记均匀分布在第6同源群染色体长臂11%的远侧区域,约40 Mb,2个标记之间的距离不足2.7 Mb,正好在脉冲电场电泳(PFGE)的大片段DNA(10 Mb)分离范围内。在小麦的基因组中,这样的基因密集成簇排列的染色体区域几乎相当于水稻或高粱基因组的大小。如果目的基因正好位于这样的基因簇中,就可以借助适用于小基因组作物的分子标记技术去克隆小麦基因组中部分区段。

由于重组率沿染色体全长的概率不是均衡的,不同区域bp/cM转换值变幅极大。小麦的细胞遗传阶梯图(CLM)能为正确估算基因富集区域每cM所对应的碱基对数提供参考。对目标基因周围区域的这种转换值的更为精确的估计,有利于基因的图位克隆。1991年Gil等提出,在进行小麦基因组标图时可将小麦的巨大基因组分成若干个独立的染色体区域,并将富含基因的染色体区域作为一个图标单位,分别建立分子标记(尤其是重要农艺性状)的遗传距离与物理距离之间的关系^[3]。选择一些“界标”标记各个缺失间隔区,用这些界标探针,可将任何一个已标记到遗传图谱上的基因标记到相应的染色体亚臂上。

2.3 构建小麦核心种质 20世纪80年代,Brown提出了核心种质的概念,即用一定的方法选择整个收集材料中的一部分,以最少的资源份数和最小遗传重复最大程度地代表整个遗传资源的多样性,实现对大量资源的有效管理、深入研究和有效利用^[4]。每份资源的分子信息数据(如SSR、AFLP)是建立核心种质最为可靠又最具潜力的数据,但面对数以万计的种质资源,目前还无法全面进行基因型分子鉴定和数据采集。因此,在对我国23 135份普通小麦种质资源(地方品种

11 694份和选育品种11 441份)生态分区的基础上,根据21个表型性状聚类,按平方根法选取代表性品种,并依据各区遗传多样性指数和遗传丰富度加以适当调整,其中在生产上或育种中起过重要作用的品种优先入选,最终构建了初选核心种质(候选核心种质5 029份)。近几年来,贾继增将植物基因组学的原理和方法应用于作物种质资源研究,提出了核心种质构建—重要新基因发掘—基因克隆的技术路线^[5]。该技术路线的基本思路是构建核心种质,对其进行深入的评价与研究,再应用基因组学的方法,从核心种质中发掘、鉴定出当前和未来作物育种上迫切需要的重要基因及标记,进而克隆新基因,并应用于育种实践。但检测多少个标记位点才能客观反映品种间的遗传关系,是研究遗传多样性和建立核心种质中的一个基础性关键问题,也是一个长期争论的问题。Zhang等和You等在收集大量SSR数据的基础上,对反映品种间遗传差异所需的最少SSR位点数进行了估算,提出扫描71~73个多样性较高的SSR位点就可以比较客观地反映品种间内在的遗传关系,并建立较为稳定的聚类图^[6-7],在此基础上,利用微卫星荧光标记技术,对初选核心种质进行78个位点扫描分析,构建了我国小麦的核心种质。

2.4 进行遗传多样性分析 通过研究DNA的差异来分析群体的遗传结构及遗传多样性更为直接,对正确评价植物种质资源的遗传多样性、制订育种策略十分重要。在大豆、玉米、水稻、拟南芥、大麦、小麦等作物中,SSR的多态性显著高于RFLP,这在小麦中尤其明显。Stachel等用微卫星标记成功地分析了起源于3个生态农业区的60个小麦栽培品种的遗传多样性^[8]。Prasad等用微卫星标记分析了来自六大洲29个国家的55个小麦品种,发现仅用12对引物就可以区分这55个基因型^[9]。张志清等采用SSR标记对四川省近50年以来推广的40个主栽小麦品种的遗传多样性进行了分析,结果发现在小麦基因组的42条染色体臂上的46个SSR位点中有30个SSR位点(65.22%)具有多态性,共检测到110个等位变异,每个SSR位点能检测到1~8个,平均为2.4个,聚类分析表明SSR标记能将这40个品种相互区分^[10]。张爱民等利用108对SSR引物对36个优质小麦品种和来自不同生态区的12个普通品种进行了遗传差异分析和比较研究,36个优质小麦品种的聚类分析及根据和等部分同源群聚类的结果均相似,聚类结果和品种的系谱来源及地域相吻合^[11]。高睦枪等利用SSR标记对48个国内小麦品种进行了遗传差异分析,认为5个SSR标记即可将不同的品种进行分类^[12]。Hlaschke等用23个SSR标记对40份欧洲小麦品种进行检测,共发现142个多态性位点,平均每个SSR标记能检测到6.2个多态性位点^[13]。

2.5 分子标记辅助选择 随着分子标记技术的发展,作物的许多重要农艺性状的分子标记已经获得,为分子标记辅助选择(MAS)提供了技术上的支持。利用分子标记进行QTL定位,更深刻地剖析性状的遗传基础,可以进行分子标记辅助选择和QTL聚合。依照选择策略,MAS可以分为单标记共分离选择、相邻标记选择和全基因组选择。

2.5.1 质量性状的分子标记辅助选择。小麦质量性状的分子标记已日臻成熟。首先表现在对抗病性的研究上。近年

来,小麦抗白粉病基因定位研究获得较大进展。自从 Sears 在 1950 年利用中国春端体把抗白粉病基因 Pm1 定位在 7AL 上以来,至今已有 33 个位点共 51 个小麦抗白粉病基因定位在 3 个染色体组的部分同源群中。除已定名的 Pm 基因外,还报道了一些尚未明确的抗白粉病基因,来自粗山羊草的 PmY201 位于 5DL 染色体上;抗德国白粉菌 2 号小种的小麦品种 Abo. Aristide. Courtot 中含有 Mar 基因;在小麦品种 RF714 中含有一个新的隐性抗白粉病基因 Mre 等。此外, DNA 分子标记在小麦抗条锈病遗传研究中进行了应用,马渐新等用微卫星标记定位了一个未知的小麦抗条锈病基因^[14], Shi 等对小麦抗条锈病基因 Yr9 进行了标记^[15]。Helguera 等对小麦叶锈病的 Lr47 基因进行了 PCR 标记^[16], Seyfarth 等对小麦叶锈病的 Lr13 基因构建了分子图谱^[17]。Cadden 等对影响小麦株高的基因进行了标记^[18]。索广力等利用 RAPD BSA 技术筛选小麦耐盐突变位点^[19], Nemoto 等对盐反应敏感的基因进行了定位^[20]。

小麦恢复基因基本上为质量性状,也有数量性状的特点,其分子标记研究已取得了一定进展。关荣霞等对小麦 T 型细胞质雄性不育恢复基因 Rf6 进行了 ISSR 标记分析,发现 UBC 808、UBC 848 在 2 个亲本间以及可育池和不育池间都能产生一致、稳定的多态性^[21]。用这 2 个引物在 F₂ 群体中进行扩增,经连锁分析,证明这 2 个标记与小麦 T 型细胞质雄性不育恢复基因 Rf6 连锁,遗传距离分别为 7.9、4.9 cM。刘保申等分析表明 RAPD 引物 OPK18 和 ISSR 引物 UBC 845,在保持池和恢复池两池间扩增出稳定的多态性差异,在分离群体上的验证结果表明, LK783 的育性恢复基因与 2 个引物的扩增位点有连锁关系,在染色体上位于 2 个引物的扩增位点之间,与 OPK18450 的遗传距离为 (15.07 ± 6.28) cM,与 UBC 845800 的遗传距离为 (8.20 ± 4.85) cM^[22]。这 2 个引物可应用于对育性恢复基因的标记辅助选择。最后,利用中国春缺体、四体和双端体进一步将 UBC 845800 定位于 1BS,表明 LK783 的育性恢复基因也位于 1BS。LK783 的育性恢复基因还与 4 个 SSR 引物的扩增位点 Xgwm11、Xgwm18、Xgwm264 a 和 Xgwm273 有连锁关系,该育性恢复基因与 Xgwm11、Xgwm18 和 Xgwm273 的遗传距离为 (6.54 ± 4.37) cM,与 Xgwm264 a 的遗传距离为 (5.71 ± 4.10) cM,这 4 个引物可应用于 K 型小麦细胞质雄性不育系育性恢复基因的标记辅助选择。利用中国春缺体、四体和双端体进一步将 Xgwm11、Xgwm18、Xgwm264 和 Xgwm273 定位于 1BS,说明 LK783 的育性恢复基因位于 1BS,但其在 1BS 上的相对位置与 Rfu1 有所不同。石运庆等对 K 型小麦细胞质雄性不育系育性恢复基因的 SSR 分子标记进行分析^[23],刘立科等对小麦 D2 型细胞质雄性不育恢复基因近等基因系进行了筛选和遗传背景分子检测^[24]。利用小麦恢复基因分子标记进行辅助选育工作虽然正在进行,但是尚未见成功的报道。

2.5.2 数量性状的分子标记辅助选择。与质量性状不同,数量性状受多基因控制,遗传基础复杂,易受环境影响,表现为连续变异,且表现型与基因型之间没有明确的对应关系,因此,对数量性状的遗传研究十分困难。随着分子标记种类的增加和研究的深入,发现在小麦等多种植物中 SSR 的多态

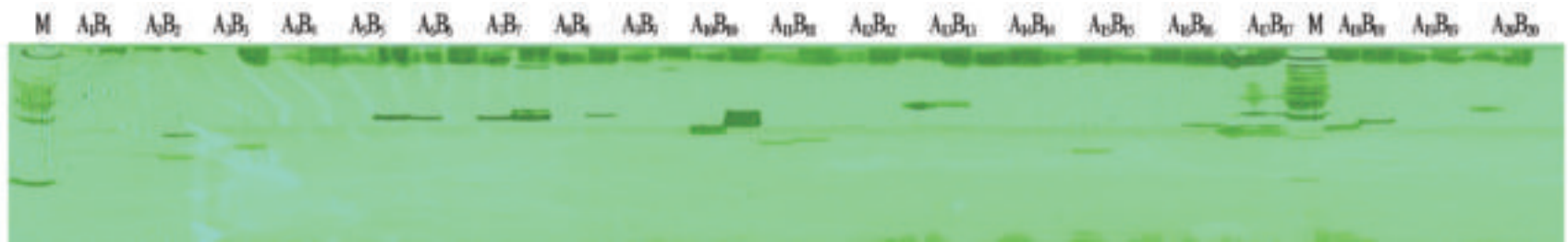
性比 RFLP 高。Fahima 等用 23 个 SSR 标记共检测出 230 个等位基因,平均每个能检测到 10 个等位基因^[25]; Haschke 等用 23 个 SSR 标记对 40 份欧洲小麦品种进行检测,共发现 142 个多态性位点,平均每个 SSR 标记能检测到 6.2 个多态性位点^[13]; Bryan 等报道 John Innes Centre 研究组对 200 余个 SSR 克隆进行测序,并对其中 153 个 SSR 设计了引物,选用 49 个引物对 10 个小麦品种进行 PCR 扩增,平均每个位点能检测到 3.5 个等位变异^[26]。所以,SSR 在小麦中确实是一种非常有效的分子标记,而且一些 SSR 位点已经被标记在原有的 RFLP 分子连锁图上,这将更有利于发挥其在小麦遗传研究中的应用潜力。数量性状的分子标记由于涉及多个基因座位,基因效应比较复杂,特别是小麦染色体组巨大, QTL 研究应用难度非常大,所以有关小麦 QTL 分子标记在育种中的应用还刚刚起步。但目前在水稻和玉米上已经有了一些令人鼓舞的相关报道。如我国科学家以含有 Xa21 的水稻品种 IRBB21 为供体亲本,通过回交育种途径,并应用分子标记辅助选择技术,成功地将 Xa21 转入到大面积推广应用的优良杂交稻恢复系明恢 63 和密阳 46 中^[27]。美国科学家用玉米自交系组合 CO158/Tx303 的 F₂ 大群体(约 1 900 株),研究了产量等数量性状的标记辅助定向选择的效率,结果研究的 3 个性状标记值选择的遗传进度基本上与表型值选择相当,而且标记值选择中,只是在已标记的染色体区域具有强烈的选择响应,而不是如表型值选择是分布于整个基因组的,所以标记值选择在标记区其选择响应是高于表型值选择的。另外,美国科学家还对分子标记在玉米杂种优势遗传改良上的应用进行了研究,结果表明,利用分子标记辅助选择十分有效。这些研究结果为小麦数量性状的分子标记的应用提供了很好的经验。

参考文献

- [1] NELSON A D, RECO T, SCHULTZ NP, et al. Molecular mapping of wheat, Major genes and rearrangements in homoeologous 4, 5 and 7 [J]. *Genetics*, 1995, 141: 721 - 731.
- [2] RÖDER MS, KORZUN V, GILL BS, et al. The physical mapping of microsatellite markers in wheat [J]. *Genome*, 1998, 41: 278 - 283.
- [3] GILL BS, FRIEBE B, ENDO T R. Standard karyotype and nomenclature system for description of chromosome band and structural aberrations in wheat (*Triticum aestivum*) [J]. *Genome*, 1991, 34: 830 - 839.
- [4] BROWN A H D. Core collections: A practical approach to genetic resources management [J]. *Genome*, 1989, 31: 818 - 824.
- [5] 贾继增. 应用植物基因组学的理论与方法开发我国丰富的作物种质资源 [J]. *中国农业科技导报*, 1999(2): 41 - 45.
- [6] ZHANG X Y, LI C W, WANG L F, et al. An estimation of the minimum number of SSR alleles needed to reveal genetic relationships in wheat varieties I. Information from large scale planted varieties and corestore breeding parents in Chinese wheat improvement and production [J]. *Theor Appl Genet*, 2002, 106: 112 - 117.
- [7] YOU G X, ZHANG X Y, WANG L F. An estimation of the minimum number of SSR loci needed to reveal genetic relationships in wheat varieties: Information from 96 random samples with maximized genetic diversity [J]. *Mol Breed*, 2004, 14: 397 - 406.
- [8] STACHEL M, GRASGRUBE R H. Application of microsatellites in wheat (*Triticum aestivum* L.) for studying genetic differentiation caused by selection for adaptation and use [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2000, 100: 242 - 248.
- [9] PRASAD M, ROY J K, ROY J K. The use of microsatellites for detecting DNA polymorphism genotype identification and genetic diversity in wheat [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2000, 100: 584 - 592.
- [10] 张志清, 郑有良, 魏育明, 等. 四川主栽小麦品种遗传多样性的 SSR 标记研究 [J]. *麦类作物学报*, 2002, 22(2): 5 - 9.

1.0 μ 的 Taq 酶用量中,0.5 μ 最为合适。

3.2 SSR 电泳的检测条件优化 在 SSR 电泳检测的方法中,最常见的是琼脂糖凝胶电泳和聚丙烯酰胺凝胶电泳。聚丙烯酰胺凝胶电泳检测出的图像更为清晰,检测出的谱带更



注: Xxp317(A₁B₁), Xxp262(A₂B₂), Xxp43(A₃B₃), Xxp141(A₄B₄), Xxp45(A₅B₅), Xxp47(A₆B₆), Xxp279(A₇B₇), Xxp250(A₈B₈), Xxp40(A₉B₉), Xxp284(A₁₀B₁₀), Xxp36(A₁₁B₁₁), Xxp31(A₁₂B₁₂), Xxp56(A₁₃B₁₃), Xxp312(A₁₄B₁₄), Xxp96(A₁₅B₁₅), Xxp230(A₁₆B₁₆), Xxp145(A₁₇B₁₇), Xxp228(A₁₈B₁₈), Xxp1(A₁₉B₁₉), Xxp284(A₂₀B₂₀)。

图5 SSR 扩增结果

Fig.5 The results of SSR amplification

3.3 甜高粱丝黑穗病 SSR 扩增的结果 该试验甜高粱丝黑穗病基因的分析中选用了 20 个随机引物,在琼脂糖凝胶电泳检测下,以甜高粱丝黑穗病父本的 DNA 为模板,有 13 个引物扩增出了谱带。以甜高粱丝黑穗病母本的 DNA 为模板,有 18 个引物扩增出了谱带。在聚丙烯酰胺凝胶电泳检测下,以甜高粱丝黑穗病亲本的 DNA 为模板,有 16 个扩增出谱带,其中有 4 个引物扩增出了差异性谱带,分别为 Xxp279、Xxp284、Xxp36、Xxp228。根据差异谱带的不同,可以分析出其碱基序列的不同,从而筛选出抗性个体的遗传学特征,对其进行农业生产培育出优良的甜高粱品种,提高甜高粱品种对丝黑穗病的抗性。

参考文献

- [1] 王建伟. 甜高粱的综合开发和利用[J]. 农村科技,2007(7):86.
- [2] 刘明慧,王钊,王西红. 甜高粱的综合利用与开发[J]. 山西农业,2007(2):51.
- [3] 黎大爵,朱翠云,宋仁本,等. 甜高粱及其利用[M]. 北京:科学出版社,1992:20-22.
- [4] 董良利,赵威军. 高粱丝黑穗病研究综述[J]. 山西农业科学,2006,34(2):82-85.

(上接第15793页)

- [11] 张爱民,罗铮,刘冬成,等. 我国部分优质小麦品种遗传差异的SSR标记分析[J]. 麦类作物学报,2004,24(1):1-5.
- [12] 高睦枪,刘冬成,郭小丽. 我国冬小麦新品种(系)SSR遗传差异研究[J]. 农业生物技术学报,2001,9(1):49-54.
- [13] PLASCHKE J, GANAL M W, RÖDER M S. Detection of genetic diversity in closely related bread wheat using microsatellite markers[J]. Theor Appl Genet, 1995,91:1001-1007.
- [14] 马渐新,董玉琛. 用微卫星标记定位一个未知的小麦抗条锈病基因[J]. 科学通报,1999,44(14):1513-1517.
- [15] SHI Z X, IINE R F. Development of resistance gene analog polymorphism markers for the Yr9 gene resistance to wheat stripe rust[J]. Genome, 2001,44:509-516.
- [16] HELGUERA M, DUBCOVSKY J. Development of PCR markers for the wheat leaf rust resistance gene Lr47[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2000,100:1137-1143.
- [17] SEYFARTH R, SCHACHERMAYR G. Molecular mapping of the adult-plant leaf rust resistance gene Lr13 in wheat (*Triticum aestivum*L.) [J]. Journal of Genetics and Breeding, 2000,54:193-198.
- [18] CADALENT, CHARMET G. Molecular markers linked to genes affecting plant height in wheat using a doubled-haploid population[J]. Theoretical and Applied Genetics, 1998,96:933-940.
- [19] 索广力,何聪芬. 利用RAPD—BSA技术筛选小麦耐盐突变位点的分子标记[J]. 植物学报,2001,43:599-602.
- [20] NEMOTO Y, SASAKUMA T. Isolation of novel early salt-responsive genes from wheat (*Triticum aestivum*L.) by differential display[J]. Theoretical and

多. 在该试验中,对凝胶电泳进行了时间的优化,30 min 为琼脂糖凝胶电泳的最佳时间,90 min 为聚丙烯酰胺凝胶电泳的最佳时间。

- [5] 管敏强,陈锡文,赵惠玲. 分子标记技术及其应用[J]. 实验动物科学与管理,2005,22(1):48-50.
- [6] 陆德如,陈永青. 现代生物技术丛书——基因工程[M]. 北京:化学工业出版社,2003:27-30.
- [7] J·M·沃克,R·拉普勒. 分子生物学与生物技术[M]. 谭天伟,黄留玉,苏国富,等. 译. 北京:化学工业出版社,2003:29-31.
- [8] 邹喻苹. RAPD分子标记简介[J]. 生物多样性,1995,3(2):104-108.
- [9] 李癯莹. DNA体外扩增技术——聚合酶链式反应(PCR)[J]. PCR技术原理,2000,18(4):40-41.
- [10] 赵亚力,马学斌,韩为东. 分子生物学基本试验技术[M]. 北京:清华大学出版社,2006:91-92.
- [11] GONG L, SIFT G, KOFLER R, et al. SSR markers for the genus *Cucurbita* [J]. Proceedings of the 2nd International Conference on Plant Molecular Breeding, 2007,55:23-27.
- [12] 郑景生,陈良兵,符文英,等. 野生稻不同基因组的SSR多样性分析[J]. 分子植物育种,2004,2(1):25-33.
- [13] 马骥超,常滔,姜俊龙,等. SSR标记在小麦抗病QIL及抗病基因定位中的应用[J]. 中国植保导刊,2007,27(6):11-15.
- [14] YUJ F, BAO F, HAN X L, et al. Establishment and optimization of ISSR-PCR system in *Tacli derms fasciatus heckel* [J]. Agricultural Science & Technology, 2008,9(5):37-39,95.
- [15] 张海泉. 粗山羊草Y189抗小麦白粉病基因SSR标记[J]. 河南大学学报:自然科学版,2007,37(2):177-180.
- [16] Applied Genetics, 1999,98:673-678.
- [21] 关荣霞,郭小丽,刘冬成,等. 小麦T型细胞质雄性不育恢复基因R6的ISSR标记分析[J]. 中国农业科学,2002(11):1297-1301.
- [22] 刘保申,孙其信,高庆荣,等. K型小麦细胞质雄性不育系育性恢复基因的SSR分子标记分析[J]. 中国农业科学,2002(4):354-358.
- [23] 石运庆,牟秋焕,李鹏,等. V型小麦细胞质雄性不育系育性恢复基因的SSR分子标记分析[J]. 山东农业科学,2005(3):3-5.
- [24] 刘立科,侯宁,刘建成,等. 小麦D2型细胞质雄性不育恢复基因近等基因系筛选和遗传背景分子检测[J]. 麦类作物学报,2006(5):1-4,15.
- [25] FAHMA T, RÖDER M S, GRAMA A, et al. Microsatellite DNA polymorphism divergence in *Triticum dicoccoides* accessions highly resistant to yellow rust [J]. Theor Appl Genet, 1998,96:187-195.
- [26] BRYAN G J, STEPHENSON P, STEPHENSON P. Isolation and characterization of microsatellites from hexaploid bread wheat [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1997,94:557-563.
- [27] 薛庆中,张能义,熊兆飞,等. 应用分子标记辅助选择培育抗白叶枯病水稻恢复系[J]. 浙江农业大学学报,1998,24(6):631-638.
- [28] 王小国,李英枫,梁红艳,等. SSR分子标记技术在小麦遗传多样性研究中的应用[J]. 江西农业学报,2007,19(7):15-17.
- [29] YUJ F, BAO F, HAN X L, et al. Establishment and optimization of ISSR-PCR system in *Tacli derms fasciatus heckel* [J]. Agricultural Science & Technology, 2008,9(5):37-39,95.
- [30] 王长有,吉万全,王秋英,等. SSR标记在小麦遗传育种中的应用研究进展[J]. 麦类作物学报,2004,24(1):70-74.