林业科学研究 2006, 19(4): 477～483
Forest Research

文章编号: 1001-1498(2006)04-0477-07

欧洲黑杨育种基因资源 SSR多态性比较研究*

张香华, 苏晓华**, 黄秦军, 张冰玉

(中国林业科学研究院林业研究所,国家林业局林木培育重点实验室,北京 100091)

摘要:本研究利用 13对 SSR引物对 120份 (105份国外引进、15份我国新疆)欧洲黑杨基因资源进行了遗传多态性分析,共检测出 171个等位基因,每个多态性位点检测到 7～19个等位基因,平均为 13.2,多态信息指数为 0.396～0.909,平均为 0.808;遗传距离为 0～0.456 4。欧洲黑杨基因种源具有丰富的遗传多样性。通过 UPGMA等类分析,将 120份材料划分为 8类,地理分布较近的材料基本聚在一起,表明遗传距离与地理距离相关性强。

关键词:欧洲黑杨;基因资源; SSR;遗传多样性

中图分类号: S722.3 **文献标识码**: A

Comporison of Genetic Variations of Black Poplar(Populus nigra L.) Gene Resource by Microsatellite Markers

ZHANG Xiang-hua, SU Xiao-hua, HUANG Qin-jun, ZHANG Bing-yu

(Research Institute of Forestry, CAF, Key Laboratory of Tree Breeding and Cultivation, State Forestry Administration, Beijing 100091, China)

Abstract: The simple sequence repeat (SSR) or microsatellite marker is currently preferred in genetic analysis due to its highly desirable properties. 13 pairs of SSR primers were used to detect genetic diversity among 120 *Populus nigra* L. gene resource. A total of 171 allels were observed among the polymorphic loci, 7～19 SSR alleles were detected for each locus with an average of 13.2 alleles per locus. 13 pairs of SSR primers were polymorphic with the polymorphism information content (PIC) ranging from 0.396 to 0.909. The 120 clones were clustered based on the banding patterns generated by 13 polymorphic SSR loci. In general, this study indicates that SSRs are sufficiently abundant and polymorphic to be useful genetic markers in genetic diversity study of *Populus nigra* L. gene resources. This study provided theoretic basis for efficient utilization of these gene resources.

Key words: *Populus nigra*; gene resource; SSR; genetic diversity

研究林木基因资源遗传多样性是基因资源保存的前提,对培育林木新品种具有重要的指导意义。遗传多样性是伴随基因传递过程产生的同一物种个体间的变异,包括极其微小的、不易见到的变异[1]。一个种群遗传多样性越高、越丰富,适应环境的能力就越强,越容易扩展其分布范围和开拓新的环境。保护基因资源可以满足不同育种目标和未来的良种需要,包括应对特殊环境和病虫害都有赖于丰富的遗传多样性[2]。近年来,树木遗传多样性研究方面已越来越多的应用 DNA标记,限制性片断长度多态性 (RFLP)技术是最早应用的 DNA分子标记,现已衍生出多种形式的分子标记技术[3～8],如 RAPD、AFLP、SSR、SNP等分子标记。微卫星 (SSR)标记由

收稿日期: 2005-01-06 修回日期: 2006-01-10

*基金项目: 农业科技成果转化资金项目:"西丰杨系列无性系生产性试验"(05EFN216700382);"948"项目:"北方型美洲黑杨纸浆材基因资源及分子育种技术引进"(2005-4-51)

作者简介: 张香华 (1966—),女,高级实验师,主要研究方向:杨树分子生物技术

* 中国林科院林业所马常耕先生、卢孟柱研究员对该文提出宝贵意见,王敏杰博士在作图方面给予很大帮助,在此一并致谢!

** 通讯作者: Suxh@caf.ac.cn

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

于其具有较高多态性,目前在遗传多样性研究中得到广泛应用。微卫星(SSR)[9]是指 1～6个核苷酸为基序(多数为 2～4个),按串联形式重复而形成的 DNA序列,一般称之为简单重复序列。微卫星 DNA的生物学功能尚不清楚,它主要集中在非编码区,可能对基因起调节作用,或许是基因重组的热点。作为遗传标记微卫星有如下优点:(1)微卫星标记数量多且在基因组中均匀分布;(2)微卫星标记揭示的多态性水平高,具有染色体组特异性,适宜于遗传多样性分析;(3)微卫星标记检测易操作、重复性好、省时、适合自动化分析。鉴于 SSR分子标记比其它分子标记具有更多的优越性,在遗传多样性研究中已得到广泛应用,在小麦(*Triticum sestivum* Linn.)[10]、玉米(*Zea mays* Linn.)[11]、大豆(*Glycine max* Merr.)[12]等许多作物上应用 SSR标记进行遗传多样性的研究。Powell等[13]用叶绿体微卫星(cpSSR)对欧洲白皮松(*Pinus leucodermis* Ant.)7个群体的分析表明群体内多态性的变化大,群体的亚分化明显。在林木上,国内利用 SSR进行遗传多样性研究的报道还较少。

欧洲黑杨(*Populus nigra* Linn.)属于杨属黑杨派(*Aigeiros* Section)树种。黑杨派具有早期速生、材质好等特点,约 10年左右就可以给工业用材提供大径材,这是其它杨树难以比拟的。在杨树育种中,要想提高育种选择效率,加速育种进程,获得丰富的遗传变异类型杨树新品种,就须选择遗传差异大的亲本材料,这又依赖于大量的基因资源。因此作者收集了欧洲 15个国家和我国新疆的欧洲黑杨,建立了欧洲黑杨资源基因库。本研究利用 SSR标记对来自 16个国家的 120份欧洲黑杨遗传材料进行了多态性比较分析,以揭示其遗传多样性水平,并为其鉴定提供依据。了解该基因库中材料多态性及无性系间的遗传距离,为评价其代表性,服务于良种选育提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 材料

中国林科院林业所 2000年从欧洲 15个国家引进及国内收集欧洲黑杨基因资源,并在陕西、内蒙古、黑龙江、大连、北京 5个不同生态区建立了欧洲黑杨基因库。本研究所用实验材料是从北京基因库中选取的 120份欧洲黑杨(表 1)。

1.2 DNA提取

从欧洲黑杨植株上采集新鲜叶片约 0.2 g,研磨粉碎,用 CTAB法提取其总 DNA,参照 Doyle等[14]方法。

1.3 SSR扩增及扩增产物的检测

实验共选用 13对 SSR引物,其中 9对是从欧洲黑杨[15]中开发的引物,PCR反应条件略有改变。另外从适用于其它杨树的 100对 SSR引物中筛选出 4对多态性较高的引物(表 2)。

PCR反应体积为 25 μL。反应体系为:0.15 mmol Mg^{2+}, 0.2 mmol dNTP, 50 ng基因组 DNA, 0.2 μmol Primer, 1U Taq DNA聚合酶(赛百盛公司)。在 PE—9600型 PCR仪上进行 PCR扩增,扩增条件为:94 ℃预变性 5 min;再 94 ℃变性 45 s、55～61 ℃复性 45 s(表 2)、72 ℃延伸 1 min,共 35个循环;然后 72 ℃充分延伸 10 min。将 PCR反应产物在 6%变性聚丙烯酰胺凝胶电泳上进行分离,凝胶测序仪为 BIO-RAD(Sequi-Gen GC 38 cm ×50 cm),硝酸银染色并照相。

1.4 数据分析

每个样品电泳后的 SSR位点用 1和 0赋值等位基因的有无,按 Nei等[16]的方法计算样品间相似系数(GS_{ij})和遗传距离(GD_{ij})。

$GS_{ij} = 2N_{ij}/(N_i + N_j)$, $GD_{ij} = 1 - S_{ij}$,其中 N_i为 i样品出现的谱带数,N_j为 j样品出现的谱带数,N_{ij}为 i样品和 j样品共有的谱带数。应用非加权平均数法(UPGMA)进行聚类分析,通过 NTSYS程序运算。

根据 Smith[17]等的方法计算标记位点的多态信息量 *PIC*(polymorphism index content)值,公式:

$$PIC = 1 - \sum^{n} f_i^2$$

f_i表示第 i个等位基因的频率。*PIC*值反映某一群体中遗传多样性丰富程度,*PIC*值与等位基因的数目有关,并与等位基因的频率有关。若某一位点上某一等位基因频率很高,它反应的多态性较各个等位基因频率相等时的差。

2 结果与分析

2.1 SSR标记的多态性

从筛选出的 13对 SSR引物中,共检测到 171个等位基因,每个 SSR位点检测到 7～19个等位基因,平均为 13.2个,其中检测等位基因最多的引物 WPMS08检出 19个,最少的引物是 PMGC93、PMGC108,也检测出 7个等位基因,多态信息量 *PIC*值从 0.396到 0.909,平均为 0.808(表 3,图 1)。从以上结果可看出:所收集引进的欧洲黑杨基因资源中具有较高的遗传多态性。

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 1　欧洲黑杨基因资源地理分布

序号	编号	国家	纬度 N(°′)	经度 E(°′)	序号	编号	国家	纬度 N(°′)	经度 E(°′)
1	87	土耳其	38 02	36 30	61	44	意大利	45 24	11 53
2	88	土耳其	38 02	38 15	62	33	意大利	45 45	11 25
3	89	土耳其	37 40	38 42	63	34	意大利	45 40	08 09
4	92	土耳其	37 05	37 22	64	114	德国	52 30	13 20
5	86	土耳其	37 44	37 35	65	126	德国	52 30	13 20
6	91	土耳其	37 05	37 22	66	117	德国	52 30	13 20
7	93	土耳其	37 37	36 51	67	127	德国	52 30	13 20
8	95	土耳其	37 05	37 22	68	149	荷兰	52 20	04 45
9	90	土耳其	37 02	37 30	69	111	匈牙利	47 30	19 00
10	94	土耳其	36 58	37 28	70	113	匈牙利	47 30	19 00
11	43	意大利	45 14	11 39	71	110	匈牙利	47 30	19 00
12	63	俄罗斯	52 00	38 00	72	145	荷兰	52 20	04 45
13	64	俄罗斯	52 00	38 00	73	150	荷兰	52 20	04 45
14	65	俄罗斯	52 00	38 00	74	162	荷兰	52 20	04 45
15	39	意大利	45 33	10 13	75	164	荷兰	52 20	04 45
16	40	意大利	45 43	10 13	76	169	荷兰	52 20	04 45
17	3	保加利亚	42 45	23 20	77	147	荷兰	52 20	04 45
18	2	比利时	50 40	04 20	78	123	德国	52 30	13 20
19	6	英国	51 30	00 00	79	124	德国	52 30	13 20
20	25	德国	52 30	13 20	80	122	德国	52 30	13 20
21	119	德国	52 30	13 20	81	115	德国	52 30	13 20
22	120	德国	46 11	13 20	82	146	荷兰	52 20	04 45
23	29	意大利	41 45	12 46	83	166	荷兰	52 20	04 45
24	10	意大利	50 00	12 30	84	167	荷兰	52 20	04 45
25	18	捷克	50 00	14 30	85	168	荷兰	52 20	04 45
26	19	捷克	55 00	14 30	86	102	匈牙利	47 30	19 00
27	28	俄罗斯	52 30	39 50	87	104	匈牙利	47 30	19 00
28	116	德国	52 30	13 20	88	98	匈牙利	47 30	19 00
29	128	德国	52 30	13 20	89	100	匈牙利	47 30	19 00
30	148	荷兰	52 20	04 45	90	103	匈牙利	47 30	19 00
31	13	斯洛伐克	49 00	20 00	91	180	比利时	50 40	04 20
32	20	罗马尼亚	44 30	26 10	92	181	比利时	50 40	04 20
33	4	德国	52 30	13 20	93	186	比利时	50 40	04 20
34	14	斯洛伐克	49 00	20 00	94	190	比利时	50 40	04 20
35	31	意大利	45 47	09 49	95	185	比利时	50 40	04 20
36	15	南斯拉夫	40 00	20 30	96	96	匈牙利	47 30	19 00
37	30	意大利	46 10	12 14	97	E1	新疆额河	48 00	87 48
38	8	克罗地亚	45 45	16 00	98	E5	新疆额河	48 00	87 48
39	11	荷兰	52 20	04 45	99	E3	新疆额河	48 00	87 48
40	7	克罗地亚	45 45	16 00	100	W8	新疆乌河	47 00	88 00
41	1	比利时	50 40	04 20	101	W9	新疆乌河	47 00	88 00
42	37	意大利	44 41	10 06	102	W5	新疆乌河	47 00	88 00
43	16	南斯拉夫	40 00	20 30	103	W6	新疆乌河	47 00	88 00
44	26	德国	52 30	13 20	104	W7	新疆乌河	47 00	88 00
45	23	德国	52 30	13 20	105	W2	新疆乌河	47 00	88 00
46	12	荷兰	52 20	04 45	106	W1	新疆乌河	47 00	88 00
47	24	德国	52 30	13 20	107	E2	新疆额河	48 00	87 48
48	22	西班牙	40 30	03 40	108	E4	新疆额河	48 00	87 48
49	9	匈牙利	47 30	19 00	109	W3	新疆乌河	47 00	88 00
50	187	比利时	50 40	04 20	110	W10	新疆乌河	47 00	88 00
51	5	德国	52 30	13 20	111	W4	新疆乌河	47 00	88 00
52	17	捷克	50 00	14 30	112	79	俄罗斯	55 00	85 00
53	21	西班牙	40 30	03 40	113	184	比利时	50 40	04 20
54	125	德国	52 30	13 20	114	188	比利时	50 40	04 20
55	32	意大利	45 45	11 52	115	189	比利时	50 40	04 20
56	78	俄国	55 00	85 00	116	182	比利时	50 40	04 20
57	38	意大利	41 45	13 16	117	183	比利时	50 40	04 20
58	36	意大利	44 46	08 21	118	41	意大利	41 45	12 30
59	35	意大利	45 33	11 09	119	27	德国	52 30	13 20
60	42	意大利	45 05	11 36	120	85	俄罗斯	55 00	85 00

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

表 2 SSR引物序列及退火温度

引物	重复序列	序 列	产物长度 /bp	退火温度 /℃
PMGC93	CTT	5′ATCATGCGTTCGGCTACAGC-3′ 5′CTCAAACTCCAACTGTTATAAC-3′	350	60
PMGC108	CTT	5′TGCAGGTGATGTCATCACCG-3′ 5′AACCGAATCCATGCGTCACC	330	61
PMGC649	GA	5′CATCCATGATATCAAACCAAATTAG 5′TGTAATCCAAACATAAAATCCCAAG	115	60
PMGC2501	GA	5′CACAGGACGTTTTGGAGCAG 5′AATTCGGACAGTCAGTCACC	283	60
WPMS01	$(GA)_{20}$	5′AACCACTATGCCACCTTCTT-3′ 5′AACTAACTCCATTCATTGCTAAA-3′	141	50
WPMS03	$(GT)_{26}$	5′TTTACATAGCATTTAGCCTTTAGA-3′ 5′TTATGATTTGGGGGTGTTATGGTA-3′	297	60
WPMS04	$(GT)_{25}$	5′TACACGGGTCTTTTATTCTCT-3′ 5′TGCCGACATCCTGCGTTCC-3′	213	50
WPMS05	$(GT)_{27}$	5′TTCTTTTTCAACTGCCTAACTT-3′ 5′TGATCCAATAACAGACAGAACA-3′	300	60
WPMS07	$(GT)_{24}$	5′ACTAAGGAGAATTGTTTGACTAC-3′ 5′TATCTGGTTTCCTCTTATGTG-3′	258	60
WPMS08	$(GT)_{25}$	5′TAACATGTCCCAGCGTATTG-3′ 5′TTTTTAGAGTGTGCATTTAGGAA-3′	244	55
WPMS09	$(GT)_{21}(GA)_{24}$	5′CTGCTTGCTACCGTGGAACA-3′ 5′AAGCAATTTGGGTCTGAGTATCTG-3′	295	55
WPMS010	$(GT)_{23}$	5′GATGAGAAACAGTGAATAGTAAGA-3′ 5′GATTCCCAACAAGCCAAGATAAAA-3′	258	55
WPMS011	$(GT)_{26}$	5′TAAAGATGATGGACTGAAAAGGTA-3′ 5′TAAAGGAGAATATAAGTGACAGTT-3′	217	55

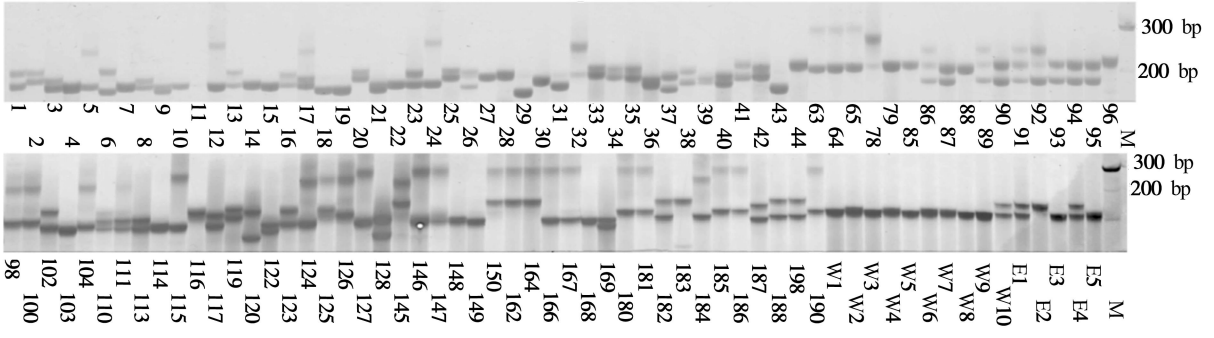

图 1 120份欧洲黑杨 PCR扩增产物凝胶电泳图 (引物 WPMS09)

2.2 SSR标记揭示的资源间遗传距离

根据 SSR标记计算样品间的遗传距离为 0～0.456 4(图 2)。来自俄罗斯的 63、64、65号遗传距离最小,来自德国、意大利、俄罗斯的 27、41、85号与其它材料的遗传距离最远。利用 13对引物基本能将 120份欧洲黑杨绝大部分的基因资源分开,且差异性很大,表明收集的欧洲黑杨基因资源多态性很高,说明收集引进的这批欧洲黑杨基因资源有很高的保存价值,对今后的杨树育种亲本的选择具有很高的参考价值。

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

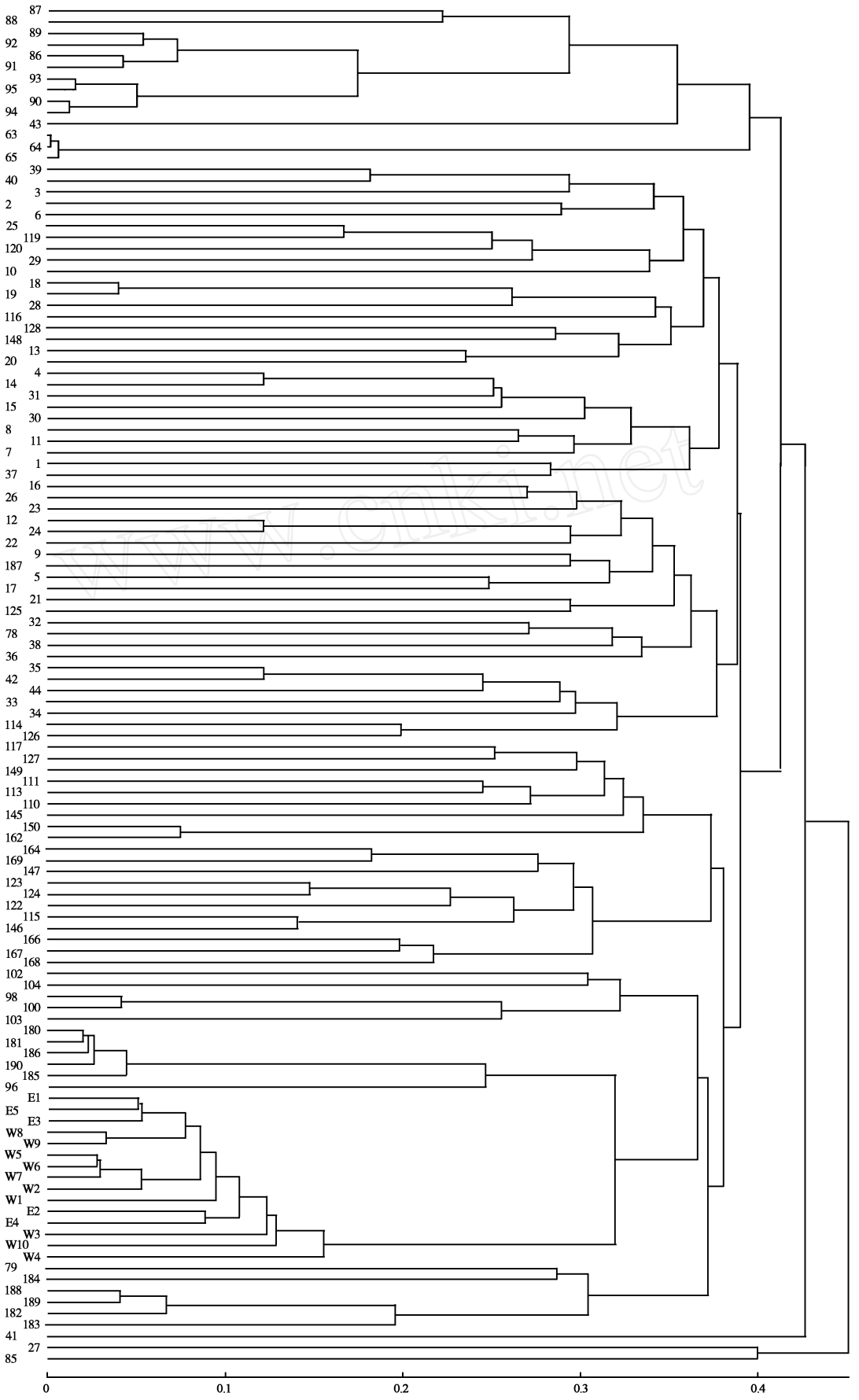

图 2　欧洲黑杨 UPGMA聚类图

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

表 3 SSR引物、等位基因数和多态信息量

SSR引物编号	等位基因	多态信息量
PMGC93	7	0.758
PMGC108	7	0.678
PMGC649	8	0.396
PMGC2501	8	0.655
WPMS01	15	0.908
WPMS03	16	0.893
WPMS04	15	0.908
WPMS05	15	0.903
WPMS07	10	0.805
WPMS08	19	0.902
WPMS09	16	0.909
WPMS10	15	0.893
WPMS11	17	0.893
平均值	13.2	0.808

2.3 欧洲黑杨资源间的遗传关系

在图 2中,可从距离 0.38处将 120个样品划分为 8类:第 1类包括来自土耳其的 10份材料和意大利的 1份材料;第 2类包括俄罗斯 3份材料;第 3类包括意大利 7份、保加利亚 1份、比利时 2份、英国 1份、德国 6份、捷克 2份、俄罗斯 1份、荷兰 2份、斯洛伐克 2份、罗马尼亚 1份、南斯拉夫 1份、克罗地亚 2份;第 4类包括南斯拉夫 1份、德国 7份、荷兰 1份、西班牙 2份、匈牙利 1份、比利时 1份、捷克 1份、俄罗斯 1份、意大利 8份;第 5类 52份材料,分为 3个亚类:第 1亚类包括来自德国 6份、荷兰 11份、匈牙利 3份,第 2亚类有匈牙利 6份、比利时 5份、中国新疆乌河 10份、额河 5份,第 3亚类包括俄罗斯 1份、比利时 5份,第 6、7、8类分别只有意大利、德国、俄罗斯的 1个样品。

第 3、4类较杂,聚类结果在一定程度上与材料的地理分布相一致,地理分布越近的材料,基本可聚在一起。

利用 13对 SSR引物检测出 171个等位基因变异,能将收集的绝大部分欧洲黑杨区分开 (表 1),如土耳其、德国、荷兰等;还有一些资源没有完全区分开,表明它们遗传距离很小,有较强的亲缘关系。来自我国新疆的 2个群体单独聚在一起,多态性相对较差,遗传变异较低。表明我国的欧洲黑杨有单独的地理起源,与欧洲的欧洲黑杨分属不同的地理生态型。本研究中可看出同一地区资源间多态性相对较低,不同地区的资源间的遗传分化大,多态性较高。

3 讨论与结论

SSR标记在基因组中的多态性很高,克服了 RFLP、RAPD等标记的不足,越来越被广泛应用[18]。不同的 SSR引物多态信息量有一定差异,一般来说 SSR引物在属内是保守的,因此在遗传多样性检测中最好选择多态信息量高,且具有物种自身特异性的 SSR核心引物。来自于同一种源的无性系之间的遗传差异较低,而来自不同种源间的无性系的遗传差异较大。从聚类结果来看,来自更小范围的同一区域内的资源更容易被聚为一类,如来自土耳其、我国新疆的材料被单独聚在一起,说明地理分布越近的品种,基本聚在一起,但也有交叉现象,推断其原因可能由于所用的引物数量少或它们的亲缘关系较近造成的。本研究分析供试欧洲黑杨的平均遗传多态性指数为 0.808,表明收集的欧洲黑杨所建立的基因库遗传差异较大,具有丰富的遗传多样性,为合理地利用欧洲黑杨基因资源提供了重要参考。在选择杂交亲本时,可根据聚类结果避免遗传距离过近的品种间的杂交。

由聚类结果可以看出,来自意大利、德国种源的无性系出现了分离,分别聚到不同类群,可能有如下三个方面的原因:(1)引种时虽然来自这些国家,但某些无性系可能来自其它国家,作为欧洲黑杨基因库保存;(2)由于自然、人为等因素造成的基因流动,使种源内的无性系出现了变异;(3)由于 SSR标记依赖自身的重组,种源内无性系或种源间无性系之间发生相同的突变可能性很大,都会导致一些无性系聚类的变化。

采用分子标记分析育种材料的遗传多样性,可以明确亲本之间的可能亲缘关系,并与收集的欧洲黑杨育种基因资源在不同区域建立基因库的表型特征相结合,对于杂交育种的亲本选择将有一定的指导意义。当然,不同目的良种选育需要考虑不同的目标性状,在充分考虑目标性状的同时,要尽量避免选择遗传距离近的亲本材料,才有可能取得更大杂种优势,使选育的杂交品种更有潜力。

参考文献:

[1] 朱大保. 生物多样性与林木育种 [J]. 生物多样性, 1994, 2(3): 157～161

[2] 魏润鹏. 如何管理林木长期育种项目中的遗传多样性 [J]. 世界林业研究, 1995, 8(3): 13～20

[3] Botstein D, White R L, Skolnick M M, *et al* Construction of ge-

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

netic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms[J]. American Journal of Human Genetics, 1980, 32: 314～331

[4] Myers R M, Lumelsky N, Lerman L S, *et al* Detection of single base substitution in total genomic DNA [J]. Nature, 1985, 313: 495～498

[5] TAutz D. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers[J]. Nuci Acids Res, 1989, 17: 6463～6471

[6] Williams J G K, Kubelik A R, Livak K J. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers [J]. Nuci Acids Res, 1990, 18: 6231～6235

[7] Zabeau M, Vos P. Selective restriction fragment amplification: a general method for DNA fingerprints [J]. Molecular Ecology, 1993, 10 (10): 2389～2398

[8] Vos P, Hongers R, Bleeker M, *et al* AFLP: A new technique for DNA fingerprinting[J]. Nucieic Acids Research, 1995, 23 (21): 4407～4414

[9] Litt M, Luty J. A hypervariable microsatellite revealed by in vittro amplification of a dinucleotide repeat with in the cardiac muscle act in gene[J]. Am J Hum Genet, 1989, 44: 397～40

[10] 陈新民,何中虎,史建荣,等. 利用 SSR标记进行优质冬小麦品种 (系)的遗传多样性研究 [J]. 作物学报, 2003, 29(1): 13～19

[11] 刘世建, 荣廷昭, 杨俊品,等. 四川地方玉米种质的 SSR聚类分析 [J]. 作物学报, 2004, 30(3): 221～226

[12] 崔艳华, 秋丽娟, 常汝镇,等. 黄淮夏大豆遗传多样性分析 [J]. 中国农业科学, 2004, 37(1): 15～22

[13] Powell W, Morgante M, Mcdevitt R, *et al* Polymorphic simple sequence repeat regions in chloroplast genomes: application to the population genetics of pines[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA, 1995, 92: 7759～7763

[14] Doyle J J, Doyle J L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue[J]. Phytochem Bull, 1987, 19: 11～15

[15] van der Schoot J, Pospiskova M, Vosman B. Development and characterization of microsatellite markers in black poplar (*Populus nigra* L.) [J]. Theor Appl Genet 2002, 101: 317～322

[16] Nei M, Li W H. Genetic distance between populations [J]. American Naturalist, 1972, 106: 283～292

[17] Smith J S C, Chin E C L, Shu H, *et al* An evaluation of the utility of SSR loci as molecular markers in maize: Comparison with data from RFLPs and pedigree[J]. Theoretical Applied genetics, 1997 (95): 163～173

[18] 张志清,正友良,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

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net