

玉米温-热种质杂交后代选系遗传结构的 SSR 标记分析

雷开荣¹, 吴红¹, 陈文俊², 林清¹, 陈旭¹, 蒋志诚²

(¹重庆市农业科学院生物技术研究中心, 重庆 400055; ²重庆市农业科学院玉米研究所, 重庆 400055)

摘要:利用 SSR 标记技术, 对温热种质 5003×A19 杂交 F₆、F₇ 后代性状基本稳定的 22 个选系遗传结构进行了初步研究。从 88 对 SSR 引物中, 筛选出 48 对表现多态性丰富、带型清晰明显且稳定的引物, 分析了 22 个选系的遗传多样性及遗传结构, 并对其应用前景进行了探讨。根据 SSR 标记结果, 用 UPGMA 法进行聚类分析表明, 双亲及其杂交后代全部选系与标准测验种 478、B73 属于同一个杂种优势群-PA 群, 玉米温热种质杂交后代选系虽然出现了丰富的遗传变异, 但在类群划分上仍然保持双亲的基本类群特征。从基于 SSR 分子标记的各选系遗传组成分析, 温带种质(5003)遗传背景明显高于热带种质(A19), 在各选系中温带种质 5003 遗传背景平均含量为 64.03%、A19 遗传背景平均含量为 30.03%、非双亲遗传背景平均含量为 5.94%; SSR 标记分析显示, 在温-热带种质杂交后代的多数选系中均出现新的等位基因, 且通过多代选择仍是有效的, 说明温热种质杂交群体有广泛的遗传变异基础, 是玉米种质扩增、改良的有效途径。

关键词:玉米; 遗传结构; SSR

中图分类号:S513 **文献标识码:**A

Analysis of Genetic Structure of Selected Lines from Temperate Zone×Tropical Zone Maize by SSR Marker

Lei Kairong¹, Wu Hong¹, Chen Wenjun², Lin Qing¹, Chen Xu¹, Jiang Zhicheng²

(¹Biotechnology Research Center, Chongqing Academy of Agricultural Sciences, Chongqing 400055;

²Maize Research Institute, Chongqing Academy of Agricultural Sciences, Chongqing 400055)

Abstract: Using SSR-PCR molecular technique, the genetic structure of 22 selected lines from F₆ and F₇ generations from 5003 × A19 were analyzed. In this study, 48 out of 88 pairs of SSR primers were selected, which gave stable and polymorphic amplification profiles in focus. The UPGMA analysis classified 22 selected lines and their parentes into the same cluster-PA, which included standard-testers 478 and B73. The average genetic background of 22 selected lines had 64.03% from temperate zone maize 5003, 30.03% from tropical zone maize A19, and 5.94% not from parentes. The result showed, some new alleles were tested in some lines. This is a availably approach of maize germplasm enhancement improvement.

Key words: maize, genetic structure, SSR

玉米热带种质包括中南美洲、非洲低纬度地区以及东南亚地区的玉米种质, 如 Antigua、celaya、Cateto、Haitian、Tuxpeno、Tuson 等都是优良的热带、亚热带玉米种质^[1]。与温带玉米种质比较, 热带玉米种质表现出

根系发达、茎秆强韧, 具有较强的病虫害抗性、抗倒性和耐旱性等优良特性。因此, 在温带玉米种质基础中融入热带种质成分, 导入有利基因, 是扩增温带玉米种质基础、改良其适应性和农艺性状的有效途径。但是, 由

基金项目:重庆市重大科技专项“水稻玉米良种创新”(CSTC-2007AB1045); 重庆市重点科技攻关项目“水稻玉米高温干旱抗/耐性评价与分子标记辅助育种研究”(CSTC-2008AB1080); “主要粮食作物新品种 DNA 指纹图谱建立与应用研究”(CSTC-2005AC1026)。

第一作者简介:雷开荣, 1965 年出生, 研究员, 主要从事作物遗传改良与生物技术研究工作。通信地址: 400055 重庆市巴南区走马梁 重庆市农科院生物技术研究中心。Tel: 023-62553181, E-mail: leikairong@126.com。

收稿日期:2008-10-06, **修回日期:**2008-10-08。

于热带玉米种质具有较强的光敏性,引入温带地区种植,其生育期随着日照延长而相应延迟,且往往表现雌雄花期不协调和结实困难,难以直接利用。将热带玉米种质与温带玉米种质杂交,由于适应性的关系,在杂交后代中,外来种质的有利基因常被适应性较强的温带种质的主效基因掩盖,或者因连锁遗传,后代常常出现一些不良性状,难以选择,或因选择不慎,将有利基因丢失。

长期以来,中国玉米育种家一直非常重视将热带、亚热带玉米种质向温带种质导入、改良、创新的研究工作^[2-4]。吴景锋改良也门 Tihama 的白粒玉米综合种并筛选出也铁 19 和也铁 21 两个自交系^[5],河南省农业科学院利用 50%热带种质选育出自交系 BT1,沈阳市农业科学院将热带种质导入温带种质,选育出沈 118、沈 218 和沈 219 自交系,山西省农业科学院作物所通过热带种质导入温带种质选育出自交系太系 131 和太系 19/o₂^[6]。云南农科院^[7]用温带种质丹 340 与含热带血缘 tuxpeno 的 SSE232 杂交选育出高配合力选系“M 丹”。虽然许多热带和亚热带种质被成功导入温带种质并经过改良,但这些种质在生产中的作用仍然十分有限^[5]。

随着分子标记技术在玉米中的深入研究,SSR 标记分析在玉米自交系及群体的遗传多样性^[8-13]、类群划分^[14-18]、遗传结构分析^[19]等方面得到广泛应用,为玉米种质遗传改良及杂种优势利用提供了技术支撑。以前

的主要工作多集中在杂交导入、后代分离、选系配组等应用研究方面,对温热种质后代选系的遗传背景及结构变异研究极少。笔者以温带热带玉米种质杂交后代选系为材料,利用 SSR 分子标记技术对其遗传变异特征进行了初步研究,研究结果对热带种质的应用具有一定指导意义。

1 材料与方法

1.1 试验地点

研究田间试验(材料准备)于 2006—2007 年在重庆市农业科学院科技示范园进行,室内试验在重庆市农业科学院生物技术研究中心实验室进行。

1.2 试验材料

试验材料为热带玉米自交系 A19、温带玉米自交系 5003 及二者杂交并连续自交选择获得的农艺性状基本稳定的 F₆~F₇ 代选系 22 份、中国玉米杂种优势模式研究标准测验种 Mo17、B73、黄早四、掖 478^[15]。

1.3 试验方法

1.3.1 DNA 提取 在 6~8 叶期,按刘雪等方法^[20]混合取样,根据 K.Edwards 等^[21]方法,略作修改,提取玉米叶片基因组 DNA。

1.3.2 SSR 分子标记分析 SSR 引物序列摘自 Maize DB(2002),由上海生物工程公司合成。试验用 SSR 引物名称及序列信息见表 1。

表 1 SSR 引物信息

编号	名称	bin	重复序列	Forward/Reverse
1	phi 080	8.08	AGGAG	CACCCGATGCAACTTGCCTAGA/TCGTACGTCCACGACATCAC
2	phi 056	1.01	CCG	ACTTGCTTGCCTGCCGTAC/CGCACACCACTTCCCAGAA
3	phi 085	5.06	AACGC	AGCAGAA CGGCAAGGCTACT/TTTGGCACACCACGACGA
4	phi 053	3.05	ATAC	CTGCCCTCTCAGATTCAAGATTGAC/AACC CAACGTACTCCGGCAG
5	phi 065	9.03	CACTT	AGGGA CAAATA CGTGGAGACACAG/CGATCTGCACAAA GTGGAGTAGTC
6	phi 034	7.02	CCT	TAGCGACAGGATGGCCTCTCT/ GGGGAGCAGCC TTCGTTCT
7	phi 072	4.01	AAAC	ACCGTGCATGATTAATTTCTCCAGCCTT/GACAGCGCGAAA TGGATTGAACT
8	phi448880	9.06~9.07	AAG	CGATCCGGAGGAGTTCCTTA/CCATGAACATGCCAATGC
9	phi 116	7.06	ACTG/ACG	GCATACGGCCATG GATGGGA/TCCTGCGGGA CTCTG
10	umc 1061	10.06	(TCG)6	AGCAGGAGTACCCATGAAA GTCC/TATCACA GCACGAAGCGATAGATG
11	umc 1399	3.07	(CTAG)5	GCTCTATGTTA TTCTTCAATCGGCG/ GGTGCGTCCGCTACTCTGCTTA
12	umc1124	1.05	TCCC	GAAA GGAA TC TTT CAGC TCACACC/ ACCTGGCGAGCAGTAGCAGTAG
13	bnlg 162	8.05	AG	ACTAGCAGCAGTAAACCTAA TAAAGGGA/CAAGTAGCTAGCAGTCATTGCACTGT
14	bnlg125	2.02	AG	GGGACAAAAGAAAGCAGAG/GAAA TGGACAGACAGACAAAT
15	bnlg161	6	AG	GCTTTCTGCATACACACATTC/ATGGAGCATGAGCTTGCATATTT
16	bnlg107	6.01	AG	GC AACTAGAA GTAGATGGCTTGTATGG/CAACAAAGTGGCTAGGGTGAA
17	bnlg1112	1.01	AG(15)	GTGAGAA TCCTCAGC GGAG/CTGTGGCAGATGTGGTATGG
18	bnlg1614	1.02	AG(15)	CCAACCACCCAGAGGAGA/AGCGGGCGAGATCTTCAT
19	bnlg1203	1.03	AG(17)	GACCCGTCTCTCTGAGTGC/GTCTGTC TGACCCGTTT
20	bnlg2123	1.11	AG(31)	TGATGCAGACAAGTCC TTCG/ACAAATC TCACCTCTGCCT
21	bnlg1018	2.04	AG(16)	C GAGGTTAGCACC GACAAAT/CGAGTAAATGCTCTGTGCCA

(续表 1)

编号	名称	bin	重复序列	Forward/Reverse
22	bnlg1538	6.01	AG (17)	CAGCCGAGACGAAGCC/GTGGTGAACGAACGACAA
23	nc009	6.04	AG	CGAAAGTCGATCGAGAGACC/CCTC TC TTCAACCCTTCCTT
21	bnlg1792	7.02	AG (16)	CGGGAA TGAATAAGCCAAGA/GCGC TCCTTCACCTTCTTTA
25	umc1016	7.02	(CT)25	GTGATACCGGGTAATCTGGTGC/GATGATGGGTGATCATCGGTTT
26	bnlg1194	8.01	AG (33)	GCGTTA TTAAGCAAGCTGC/ACGTGAAGCAGAGGATCCAT
27	bnlg1863	8.03	AG (15)	GGCGTTCGTTTGCACCTAA T/CGACACAGTTGACATCAGGG
28	bnlg1031	8.06	AG (25)	AATCGGTGAGGCTTCACAC/ATGCTACCTACCAACATGC
29	phi 087	5.06	ACC	GAGAGGAGGTGTTGTTGACACAC/ACAA CCGGACAA GT CAGCAGATTG
30	phi 108411	9.05	AGCT	CGTCCCTTGGATTTGAC/CGTACGGGACCTGTCAACAA
31	phi 112	7.01	AG	TGCCTGCAGGTTCACATTGAGT/AGGAGTACGCTTGATGCTCTTC
32	phi o29	3.04	AG/AGCG	TTGTCTTCTTCTCCACAAGCAGCGAA/ATTTCCAGTTGC CACCGACGAAGAAGCTT
33	phi 014	8.05	GGC	AGATGACCAGGGCCGTC AACGAC/CCAGCTTACCAGCTTGCTCTTCGTTG
34	phi 090	2.08	ATATC	CTACCTATCCAAGCGATGGGA/CGTGCAATAATTTCCCGTGGGA
35	phi 057	7.01	GCC	CTCATCAGTGCCGTGTCAT/ CAGTGCAGAAACCCGTGTC
36	phi 448880	9.06~9.07	AAG	CGATCCGGAGGATTCCTTA/CCA TGAACATGCCAATGC
37	phi 213984	4.01	ACC	GTGACCTAACTTGGCAGACCC/CAAGAGGTACCTGCATGCG
38	phi 396160	5.02	AGGCG	GGAGCTCCTCAACCCTT/GCTC GAGGTCATGAGCA
39	phi 011	1.09	AGC	TGTGCTCGGTCAACATAC C/GCACACACACAGGACGACGT
40	umc 1026	2.04	(CT) 9	TCGTCGTCTCAATC ATACGTG/GCTACAGATACCATGGCGTTT
41	umc 1063	6.07	(CCAACA) 4	AGGCCACTGAGCAGGTGAAG/GT GATG GTAGAGGAGTCTTGGTG
42	umc 1269	1.01	(CCT) 4	TATATTAGAGGCACC TCCTCGT/AGCTGCTTCCAGCGACTTTGG
43	umc 1294	4.02	(GAG) 4	GCCGTCAACGGGCTTAACT/GCCTC CAGCTCTCTGCTCTTT
44	umc1528	3.07	(TGCG)6	AGTTCAACTGCTTAAGATCCGGTG/GTCTGTCGTGTGTGCCAGTG
45	umc1257	6.02~6.03	(CAC) 4	CAACGGAAGTGGCTGTAGAGT TTT/ACAGAGCATGTCAGTATTTCGAC
46	nc 004	4.03	AG	TGCGAAGAGCAGTAGCAA/ TGAGG TAGAAGACGCACG
47	umc1152	10.01	(ATAG)6	CCGAAGATAACCAACAATAA TAGTAGG/ACTGTACGCCTCCCTTCTC
48	nc133	2.05	GTGTC	AATCAAACACACACTTGGC/GCAA GGAAT AAGGTGACGA

Taq DNA 聚合酶、d'NTP 等生化试剂购自北京鼎国生物技术有限公司;常规试剂均为分析纯。

PCR 反应体系为:反应总体积 20 μ l,包括 10 \times Buffer(含 20 mmol/L Mg^{2+})2 μ l、d'NTP(25 mM) 0.2 μ l、引物(20 μ M) 0.26 μ l、Taq DNA 聚合酶(2U/ μ l) 0.5 μ l、DNA 模板 5.0 μ l、ddH₂O 12.04 μ l。

热反应扩增程序为:94 $^{\circ}$ C 变性 2 min,60 $^{\circ}$ C 退火 30 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 50 s,1 个循环;94 $^{\circ}$ C 变性 50 s,60 $^{\circ}$ C 退火 30 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 50 s,35 个循环;再 72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min。PCR 在 Bio-Meitra96 扩增仪上进行。

1.3.3 扩增产物的统计分析 DNA 扩增产物在 3%琼脂糖凝胶中进行电泳检测,EB 染色后的电泳凝胶在 Furi2000 成像分析系统上进行图像记录并分析,对 SSR 扩增片段大小进行标记,在相同迁移率位置上有带记为 1,无带记为 0,缺失数据记为 9;建立以 1-0 为基础的图谱数据库。采用 NTSYSpc2.01a 软件计算遗传距离,并根据 UPGMA 法(Unweight Pair Group

Method Using Arithmetic Averages)对各选系进行聚类分析。遗传背景纯合率 = 双亲及新带纯合位点数 \div 检测位点总数 $\times 100\%$;根据 Nei 的公式计算遗传相似系数(GS_{ij})和遗传距离(GD_{ij}), $GS_{ij} = 2N_{ij} / (N_i + N_j)$, $GD_{ij} = 1 - GS_{ij}$, N_{ij} 为选系 i, j 共有条带数, N_i, N_j 分别是材料 i 和材料 j 的总条带数。

2 结果与分析

2.1 温热种质杂交后代选系的遗传多样性分析

利用分布于玉米 10 个染色体组的 48 对 SSR 引物对 DNA 样本进行扩增分析,共计检测出 127 个等位基因位点,每对引物检测出 2~5 个等位基因(图 2、图 3),平均 2.65 个。利用 48 对引物检测出的 127 个 SSR 多态性标记计算各选系、亲本及标准测验种之间的遗传距离,用 UPGMA 法进行聚类分析,在遗传距离约 0.55 处可以将所有材料划分为 2 个群:第 I 群只有标准测验种黄早四和 Mo17,其余材料为第 II 群;在第 II 群即 PA 群^[15]中,根据遗传距离在 0.35 处,可以将其划

分为4组, A组为标准测验种 B73、B组为 6168, 7169 和 7170 三个选系、C组为标准测验种掖 478、D组为亲本及其余 19 个选系(图 1)。遗传多样性研究表明,

玉米温热种质杂交后代选系虽然出现了丰富的遗传变异, 且这些变异是可以选择及稳定遗传的, 但在类群划分上仍然保持双亲的基本类群特征。

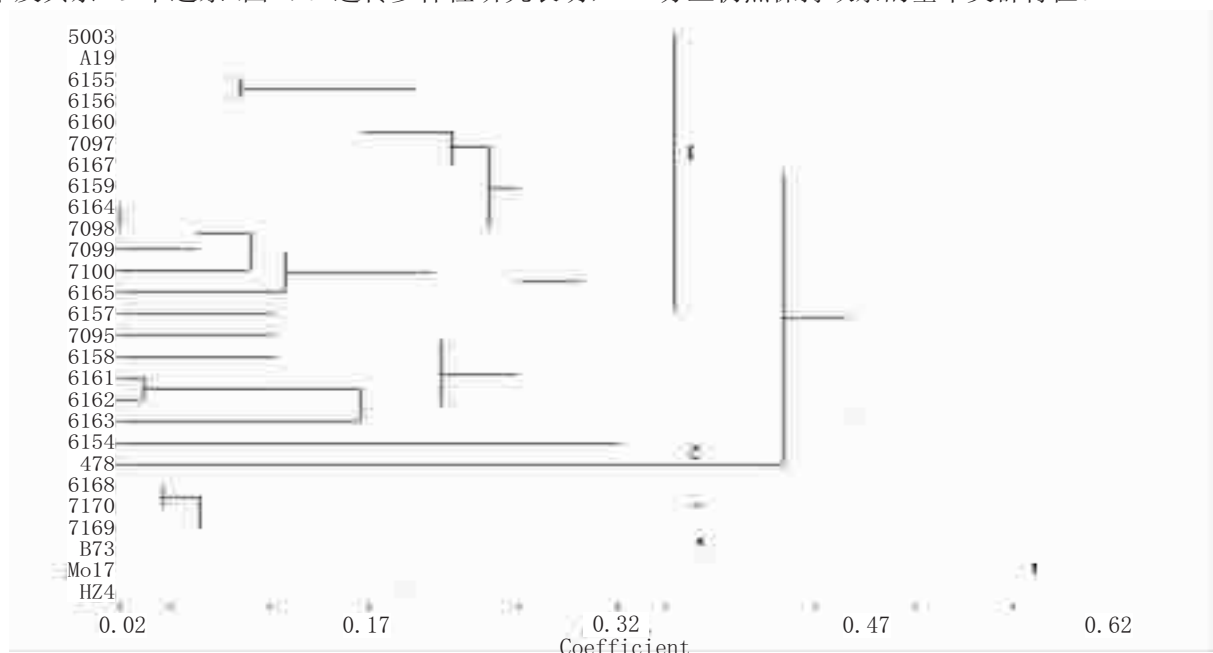


图 1 温热种质杂交选系的 SSR 标记聚类结果

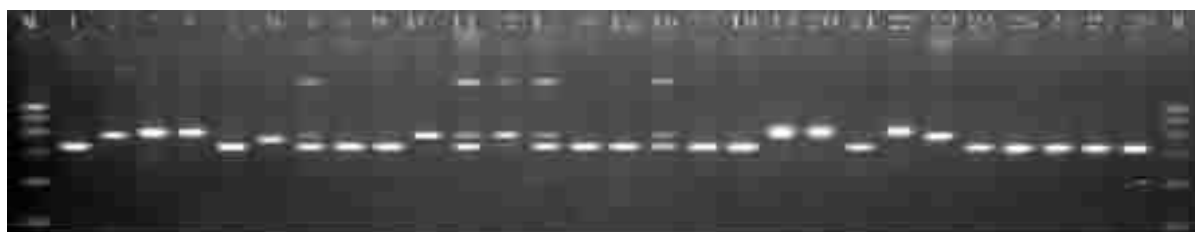


图 2 用 SSR 引物 bnlgl25 扩增各选系的 DNA 电泳结果

M: 分子量标准;泳道 1: 母本 5003;泳道 2: 父本 A19;泳道 3~6: 分别为标准测验种 Mo17、B73、黄早四、掖 478;泳道 7~28: 分别为温热种质后代选系。

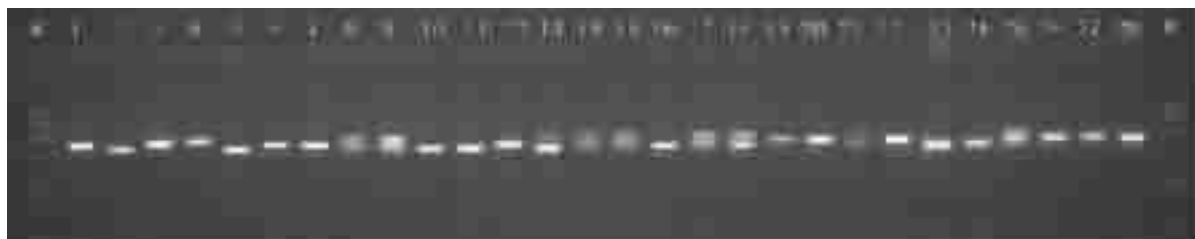


图 3 用 SSR 引物 umc1269 扩增各选系的 DNA 电泳结果

M: 分子量标准;泳道 1: 母本 5003;泳道 2: 父本 A19;泳道 3~6: 分别为标准测验种 Mo17、B73、黄早四、掖 478;泳道 7~28: 分别为温热种质后代选系。

2.2 杂交后代各选系的遗传背景分析

利用 48 对 SSR 标记对 22 个选系遗传背景研究发现, (1)14 个 F₆ 代选系遗传背景纯合率为 77.09%~95.83%, 有 1 个选系超过 95%, 平均为 84.08%; 8 个 F₇ 代选系遗传背景纯合率为 87.5%~100%, 有 6 个选系超过 95%, 其中有 2 个达到 100%, 平均达到 95.31%。说明在温热种质杂交后代群体中经过 7 代自交选育可以基本实现多数位点纯合(表 2); (2)从基于 SSR 分子标记的各选系遗传组成分析, 温带种质(5003)遗传背景明显高于热带种质(A19), 在各选系

中温带种质 5003 背景含量为 48.96%~72.92%(平均为 64.03)、热带种质 A19 背景含量为 22.56%~39.58%(平均为 30.03), 非双亲背景含量为 0~21.88%(平均为 5.94%)(表 3); (3)另外, SSR 标记分析表明, 在温热带种质杂交后代中出现较多新的等位基因(图 2), 且通过多代选择仍是有效的, 有 10 个选系至少含有 1 个新的纯合等位基因, 而 6165、6168 和 7169 选系出现了超过 15% 的新等位基因且大部分已经纯合(表 3), 说明温热种质杂交群体有广泛的遗传变异基础, 是玉米种质扩增、改良的有效途径。

表 2 温热玉米种质杂交后代选系 SSR 标记带型结构特征

选系	各选系扩增带型表型							遗传背景纯合率/%
	A ⁽¹⁾	B	C	AB	AC	BC	ABC	
6154	29 ⁽²⁾	14		1	3	1		43
	60.42	29.17	0	2.08	6.25	2.08	0	89.59
6155	24	16	1	5	1	1	0	41
	50.0	33.33	2.08	10.42	2.08	2.08		85.41
6156	25	15	1	3	1	2	1	41
	52.08	31.25	2.08	6.25	2.08	4.17	2.08	85.41
6157	25	13		6	1	3		38
	52.08	27.08	0	12.5	2.08	6.25	0	79.17
6158	26	12	0	5	2	3	0	38
	54.17	25.0		10.42	4.17	6.25		79.17
6159	30	8	0	4	4	1	1	38
	62.5	16.67		8.33	8.33	2.08	2.08	79.17
6160	29	9	0	5	2	3		38
	60.42	18.75		10.42	4.17	6.25	0	79.17
6161	27	11	0	4	3	3	0	38
	56.25	22.92		8.33	6.25	6.25		79.17
6162	26	11	0	5	2	4		37
	54.17	22.92		10.42	4.17	8.33	0	77.09
6163	30	12	1	4	1			43
	62.5	25.0	2.08	8.33	2.08	0	0	89.58
6164	34	12	0	1	1	0	0	46
	70.83	25.0		2.08	2.08			95.83
6165	32	10	1	2	1	2	0	43
	66.67	20.83	2.08	4.17	2.08	4.17		89.58
6167	29	14		2	2	1		43
	60.42	29.17	0	4.17	4.17	2.08	0	89.58
6168	24	10	7	2	1	4	0	41
	50.0	20.83	14.58	4.17	2.08	8.33		85.41
7169	24	12	7	1	2	2	0	43
	50.0	25.0	14.58	2.08	4.17	4.17		89.58
7170	22	12	8	1	2	3	0	42
	45.83	25.0	16.67	2.08	4.17	6.25		87.5
7095	29	17	0	1	1	0	0	46
	60.42	35.42		2.08	2.08			95.83
7097	34	13	1	0	0	0	0	48
	70.83	27.08	2.08					100
7098	35	11	0	1	1	0	0	46
	72.92	22.92		2.08	2.08			95.83
7099	35	13	0	0	0	0	0	48
	72.92	27.08						100
7100	34	11	2	1	0	0	0	47
	70.83	22.92	4.17	2.08				97.82
7101	29	15	2	2	0	0	0	46
	60.42	31.25	4.17	4.17				95.83

注:(1)“A”表示与母本 5003 带型相同,“B”表示与父本 A19 带型相同,“AB”表示父母本杂合带型,“C”为新带型,“AC”表示母本带与新带杂合型,“BC”表示父本带与新带杂合型,“ABC”表示父本、母本与新带杂合型;(2)表中数据:上为标记个数,下为所占比率(%)。

表3 基于48个SSR标记的温热种质杂交后代部分选系的遗传组成

选系	遗传背景/%			选系	遗传背景/%		
	5003	A19	非双亲		5003	A19	非双亲
6154	64.58	31.25	4.17	6165	69.79	25.0	5.21
6155	56.25	39.58	4.17	6167	64.58	34.38	1.04
6156	56.94	37.15	5.91	6168	53.13	27.08	19.79
6157	59.38	36.46	4.17	7169	53.13	28.13	18.75
6158	61.46	33.33	5.21	7170	48.96	29.17	21.88
6159	71.52	22.56	5.91	7095	62.5	36.46	1.04
6160	67.71	27.08	5.21	7097	70.83	27.08	2.08
6161	63.55	30.21	6.25	7098	75.0	23.96	1.04
6162	61.46	32.29	6.25	7099	72.92	27.08	0
6163	67.71	29.17	3.13	7100	71.88	23.96	4.17
6164	72.92	26.04	1.04	7101	62.5	33.33	4.17

3 讨论

3.1 关于温热种质融合亲本选配问题

李明顺等^[9]研究认为,在种质导入研究中既要考虑所需性状,还要考虑种质间杂种优势模式。合成种质时,要选择同一杂种优势群或相近杂种优势亚群的材料进行重组,选育出的自交系才不会出现优势群的混乱。本研究选用的热带自交系 A19 与温带种质 5003 间的遗传差异虽然较大,但 SSR 分子标记分析表明,二者与标准测验种掖 478 为同一杂种优势群 -PA 群^[15]。利用 SSR 标记技术进行的遗传多样性分析表明,5003×A19 杂交后代各选系遗传基础变异大,且在性状改良方面取得明显突破,但是,所有选系的杂种优势群并没有变化,仍与标准测验种掖 478 及双亲一起同属 PA 群,这些温热融合种质为玉米自交系选育及杂种优势利用奠定了材料基础。

3.2 关于温热种质融合后代遗传变异问题

在温热种质 5003×A19 杂交后代的个别选系中出现了较高频率的新位点,这是否是由于遗传差异较大的两个亲本杂交因遗传交换、重组而产生了 DNA 变异,还有待深入研究。对于部分选系遗传背景偏向温带种质 5003 的原因,笔者认为:一是这些选系主要是按照温带地区育种目标进行选择,有环境胁迫及人工选择压力的原因;二是在玉米杂交后代群体中存在的 SSR 标记偏分离现象^[22],而偏分离标记又以偏向温带种质 5003 居多。

参考文献

[1] 刘纪麟主编,玉米育种学,第二版,北京:中国农业出版社,2001.8:141-165.
 [2] 陈彦惠,王利明,戴景瑞.热带、亚热带自交系与中国温带玉米种质杂交种的研究.中国农业大学学报,2005,5(1):1-8.
 [3] 闰淑琴,苏俊,李春霞,等.导入热带、亚热带玉米种质选育自交系及其杂交种的研究.杂粮作物,2006,26(6):379-383.
 [4] 李哲,石清琢,王延波,等.以热带种质改良我国地方玉米遗传类群抗病性效果研究.杂粮作物,2003,23(4):193-194.
 [5] 李明顺,张世煌,彭泽斌,等.玉米半外来种质的构建与利用.中国农

业科学,2000,33(增刊):15-19.
 [6] 李新海,李明顺,袁力行,等.热带、亚热带玉米种质的研究与利用.中国农业科学 2000,33(增刊)20-26.
 [7] 杨克昌,高祥阔,赵自仙.玉米热导系“M 丹”选系的选育与应用.西南农业学报,2000,13(2):32-38.
 [8] 袁力行,傅骏骅,WarburtonM,等.利用 RFLP、SSR、AFLP 和 RAPD 标记分析玉米自交系遗传多样性的比较研究.遗传学报,2000,27(8):725-733
 [9] 袁力行,张世煌,傅骏骅,等.玉米遗传多样性与杂种优势群研究.中国农业科学,2000.33(增刊)9-14.
 [10] 王铁固,库丽霞,陈彦惠,等.利用 SSR 分析玉米群体的遗传变异.华北农学报,2005,20(5):13-16.
 [11] H. Lu,R. Bernardo.Molecular marker diversity among current and historical maize inbreds. Theor Appl Genet,(2001)103:613-617.
 [12] H. Enoki ,H. Sato, K. Koinuma.SSR analysis of genetic diversity among maize inbred lines adapted to cold regions of Japan.Theor Appl Genet (2002) 104:1270-1277.
 [13] V Le Clerc,F Bazante,C Baril,et al.Assessing temporal changes in genetic diversity of maize varieties using microsatellite markers.Theor Appl Genet,(2005)110:294-302.
 [14] 潘兴明,谭静,张世煌,等.利用 SSR 标记对 29 个热带和温带玉米自交系进行杂种优势群的划分.作物学报,2003,29(6):835-840.
 [15] 李新海,袁力行,李晓辉,等.利用 SSR 标记划分 70 份我国玉米自交系的杂种优势群.中国农业科学,2003,36(6):622-627.
 [16] 陈彦惠,王利明,戴景瑞.中国温带玉米种质与热带、亚热带种质杂优组合模式研究.作物学报,2000,26(5):557-564.
 [17] A. Menkir, A. Melake-Berhan, C. The I. Ingelbrecht, et al. Grouping of tropical mid-altitude maize inbred lines on the basis of yield data and molecular markers. Theor Appl Genet,(2004)108:1582-1590.
 [18] J. C. Reif,A. E. Melchinger,X. C. Xia, et al. Use of SSRs for establishing heterotic groups in subtropical maize. Theor Appl Genet, (2003)107:947-957.
 [19] Chuanxiao Xie, Marilyn Warburton, Mingshun Li, et al.An analysis of population structure and linkage disequilibrium using multilocus data in 187 maize inbred lines.Mol Breeding,2008,21:407-418.
 [20] 刘雪,李明顺,李新海,等.利用 SSR 标记分析玉米群体遗传变异的取样方法.作物学报,2005,31(7):858-863.
 [21] K Edwards, C Johnstone and C Thompson. A Simple and rapid method for the preparation of plant genomic DNA for PCR analysis. Nucleic Acids Research,1991,19(6):1349.
 [22] 严建兵,汤华,黄益勤,等.玉米 F2 群体分子标记偏分离的遗传分析.遗传学报,2003,30(10):913-918.