

文章编号:1000-8551(2012)01-0022-06

利用 SRAP 分子标记评价小麦三雌蕊近等基因系的遗传背景

杨在君^{1,2} 彭正松¹ 周永红² 彭丽娟¹ 魏淑红¹

(1. 西华师范大学西南野生动植物资源保护教育部重点实验室,四川 南充 637009;

2. 四川农业大学小麦研究所,四川 成都 611130)

摘要:普通小麦三雌蕊突变体(TP)具有明显的穗粒数优势,为评估该突变体在育种中的利用价值,进行了近等基因系培育。以三雌蕊突变体(TP)为供体,单雌蕊中国春、川麦28、绵阳29、内麦9号为轮回亲本,经7代回交和4代自交,初步培育出三雌蕊近等基因系CSTP、CM28TP、MY29TP和NM9TP。利用128对SRAP引物对培育的近等基因系及轮回亲本进行遗传分析,结果表明:(1)128对引物共扩增出978条谱带。其中有120对引物的扩增产物具有多态性,占所用引物的93.8%。这120对引物共扩增出638个差异谱带,占总谱带数的65.2%;(2)利用128对SRAP引物计算9个材料之间的遗传相似系数。其中中国春与CSTP的相似系数为0.9346,绵阳29与MY29TP的遗传相似系数为0.9070,川麦28与CM28TP的遗传相似系数为0.9397,内麦9号与NM9TP的遗传相似系数为0.8732;(3)通过聚类分析筛选出2对遗传相似性大于0.93的近等基因系,即CM28TP与川麦28、CSTP与中国春。

关键词:小麦;三雌蕊性状;近等基因系;SRAP

EVALUATION ON THE GENETIC BACKGROUND OF WHEAT NEAR ISOGENIC LINES FOR THREE PISTILS CHARACTER BY SRAP MARKERS

YANG Zai-jun^{1,2} PENG Zheng-song¹ ZHOU Yong-hong² PENG Li-juan¹ WEI Shu-hong¹

(1. Key Laboratory of Southwest China Wildlife Resource Conservation (Ministry of Education), China West

Normal University, Nanchong, Sichuan 637009; 2. Triticeae Research Institute, Sichuan

Agricultural University, Chengdu, Sichuan 611130)

Abstract: For common wheat line, three pistils (TP), is a valuable mutant trait for wheat breeding, because it could potentially increase the number of gains per spike. In this study, the material with 3 pistils was used as donor parent, and Chinese spring, Chuanmai 28, Mianyang 29 and Neimai 9 were used as recurrent male parents. After successive backcrossing for 7 generations and then self-crossing for 4 generations, 4 near isogenic lines (NILs), CSTP, CM28TP, MY29TP and NM9TP were bred. Genetic similarity and genetic distance of 4 near isogenic lines and their recurrent parents were compared and analyzed by SRAP marker. The results were summarized as follows: (1) All the 128 pairs of SRAP primers amplified 978 bands, 120 pairs (93.8%) of primers produced polymorphic bands and 638 bands (65.2%) were polymorphic; (2) The genetic similarity coefficient of CSTP, CM28TP, MY29TP and NM9TP with their recurrent parents were 0.9346, 0.9397, 0.9070 and 0.8732, respectively. (3) Cluster analysis revealed that CSTP and CM28TP had least difference with the recurrent parent, and was clustered into a small class with the similarity

收稿日期:2011-03-18 接受日期:2011-10-08

基金项目:国家自然科学基金项目(30871533)

作者简介:杨在君(1981-),男,四川仪陇人,博士,主要从事小麦遗传育种研究。E-mail: yangzaijun1@126.com

通讯作者:彭正松(1964-),男,四川安岳人,教授,主要从事小麦遗传育种研究。E-mail: pzs8833@163.com

周永红(1962-),男,四川达州人,教授,主要从事小麦遗传育种研究。E-mail: zhoyh@sicau.edu.cn

coefficient of 0.93

Key words: wheat; three pistils character; near isogenic lines; SRAP

近等基因系(near-isogenic line, NIL)是遗传背景相同或相近,而等位基因性质或剂量不同的一组品系^[1],它排除了遗传背景的干扰,使得有关基因的效应得以充分显露,是研究基因的多效性、精细定位和克隆的理想材料^[2,3]。在小麦中,通过杂交和后代回交已培育了许多目标性状的 NILs,并将其运用到相关领域的研究中^[4-8]。NILs 的培育与选择需要 7~8 代,周期长,而传统选择效率的评价指标是回交代数和外观形态,这种方法容易受发育时期和环境条件的影响,选择效率较低。从分子水平上跟踪和评价 NILs 的遗传背景,可靠性高,不受发育时期和环境条件的制约,因此,可以提高 NILs 的培育进程和选择效率。

目前,应用于 NILs 遗传背景检测的分子标记主要有 RFLP、RAPD、AFLP 和 SSR 等,它们各有优缺点^[9]。SRAP(sequence-related amplified polymorphism)标记是 Li 等^[10]开发的一种新的基于 PCR 的分子标记,该标记具备 RFLP、RAPD、SSR 和 AFLP 等分子标记的优点,并克服了它们的缺点,是一种经济、有效和可靠的分子标记技术。同时 SRAP 标记在设计引物时正反引物分别针对序列相对保守的外显子与变异较大的内含子、启动子与间隔序列,因此,多数 SRAP 标记在基因组中的分布是均匀的^[11]。

1 朵小花结 3 粒种子的突变体最初是由陈济世先生发现的,并将其命名为三粒小麦,其亲本不能确定^[12]。三粒小麦又被称为多子房,它具有穗粒数多,稃片开张,角度大等特点,在杂交小麦制种中是可以利用的优良性状。沈光华等^[13]研究表明,多子房性状分别受染色体 5DS 和 6BS 上的 2 个同效异位被动隐性基因控制。武军等^[14]研究发现,三粒小麦的多子房性状是在三粒小麦细胞质存在的前提下,由 1 对显性核基因控制。马守才等^[15]对不同来源的 3 个多子房材料进行研究发现我国的小麦多子房性状既有显性,也有隐性基因控制,位于 6B 染色体上。Peng 对三粒小麦进行了多年的改良,最后培育出三雌蕊突变品系(TP)。TP 是由一对显性核基因控制,与细胞质遗传无关^[16,17]。利用微卫星(SSR)分析已将控制三雌蕊性状的 *pis1* 基因定位于 2D 染色体的长臂上^[18]。因此,TP 不同于“三粒小麦”或“多子房”是一个新的材料。TP 具有 3 个正常的雄蕊和 3 个可育的雌蕊。由于 TP 品系中 1 朵小花能结 3 粒种子,能显著增加穗粒数,因而具有较高的育种学价值。为了研究三雌蕊性

状对一些农艺性状的影响和控制该性状的基因,本试验进行了三雌蕊性状近等基因系的选育,并利用 SRAP 分子标记对培育的近等基因系及其轮回亲本的遗传背景的一致性进行检测。旨在为精细定位和准确克隆控制三雌蕊性状的 *pis1* 基因提供基础,同时为进一步选育三雌蕊性状的理想 NILs 提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

小麦三雌蕊突变体(TP)由本实验室培育,单雌蕊品系中国春、川麦 28、绵阳 29 和内麦 9 号由四川省农业科学院作物研究所杨武云研究员提供。

1.2 方法

1.2.1 近等基因系的培育及农艺性状评价 以 TP 为母本,分别与中国春、川麦 28、绵阳 29 和内麦 9 号杂交,其杂种 F₁ 代再以中国春、川麦 28、绵阳 29 和内麦 9 号为轮回亲本连续回交 7 代,每代结合人工选择,选肉眼可识别的形态和长势等性状接近轮回亲本的个体进行下一次回交。回交完成后自交 4 代。最后获得 4 对小麦三雌蕊性状的近等基因系,分别为 CSTP, CM28TP, MY29TP, NM9TP。

在小麦的灌浆中期分别考察小麦三雌蕊近等基因系及其轮回亲本中间行的中间 10 株植株的株高、茎粗、穗长、小穗数、旗叶长、旗叶宽等 6 个农艺性状,用 t 测验法判断三雌蕊近等基因系与其轮回亲本之间是否存在显著差异。

1.2.2 DNA 提取及 PCR 扩增 小麦 DNA 的提取采用 CTAB 法^[19]。引物采用 Li 等^[10]发表的引物及在此基础上通过改变引物 3'端 3 个选择性碱基随机组合,共组成 128 对引物,由生工生物工程(上海)有限公司合成(表 1)。PCR 反应体系参照邵清松等的方法^[20],即:PCR 反应总体积为 20 μ l, DNA (20ng/ μ l) 2 μ l, 10 \times PCR Buffer 2 μ l, dNTP (10mmol/L) 0.7 μ l, 引物 (50ng/ μ l) 各 0.8 μ l, TaKaRa Taq (5U/ μ l) 0.3 μ l, 蒸馏水补足体积。PCR 反应于 BIO-RAD MyCler 扩增仪上进行。热循环程序为:94 $^{\circ}$ C 5min; 94 $^{\circ}$ C 1min, 35 $^{\circ}$ C 1min, 72 $^{\circ}$ C 1min, 共 5 个循环; 94 $^{\circ}$ C 1min, 50 $^{\circ}$ C 1min, 72 $^{\circ}$ C 1min, 共 35 个循环; 72 $^{\circ}$ C 继续延伸 10min, 4 $^{\circ}$ C 保存。

1.2.3 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测 扩增产物采

用变性聚丙烯酰胺凝胶电泳(8%,7mol/L 尿素)分离,固定、银染、显影和定影等步骤参照陆光远等^[21]的方法。

表1 试验所用正反向引物

Table 1 Sequences of forward and reverse primers used in this study

正向引物 sequence of forward primer	反向引物 sequence of reverse primer
me1: 5'TGAGTCCAAACCGGATA 3'	em1: 5'GACTGCGTACGAATTAAT 3'
me2: 5'TGAGTCCAAACCGGAGC 3'	em2: 5'GACTGCGTACGAATTGTC 3'
me3: 5'TGAGTCCAAACCGGAAT 3'	em3: 5'GACTGCGTACGAATTGAC 3'
me4: 5'TGAGTCCAAACCGGACC 3'	em4: 5'GACTGCGTACGAATTGTA 3'
me5: 5'TGAGTCCAAACCGGAAG 3'	em5: 5'GACTGCGTACGAATTAAC 3'
me6: 5'TGAGTCCAAACCGGTAA 3'	em6: 5'GACTGCGTACGAATTGCA 3'
me7: 5'TGAGTCCAAACCGGTCC 3'	em7: 5'GACTGCGTACGAATTCAA 3'
me8: 5'TGAGTCCAAACCGGTGC 3'	em8: 5'GACTGCGTACGAATTCTG 3'
	em9: 5'GACTGCGTACGAATTCCA 3'
	em10: 5'GACTGCGTACGAATTTCAG 3'
	em11: 5'GACTGCGTACGAATTCCA 3'
	em12: 5'GACTGCGTACGAATTATT 3'
	em13: 5'GACTGCGTACGAATTACG 3'
	em14: 5'GACTGCGTACGAATTATG 3'
	em15: 5'GACTGCGTACGAATTCCG 3'
	em16: 5'GACTGCGTACGAATTGAT 3'

1.2.4 SRAP 带型统计分析 SRAP 扩增带型以 0 和 1 统计,在相同迁移率位置上,有带记为 1,无带记为 0,用公式 $GS = 2N_{ij} / (N_i + N_j)$ 计算遗传相似系数,其中 N_{ij} 为材料 i 和 j 共有的扩增片段数目, N_i 为材料 i 中出现的扩增片段数目, N_j 为材料 j 中出现的扩增片段数目。根据 GS 值按不加权重对群算术平均法(UPGMA)进行遗传相似性聚类,利用 NTSYSPC2.10e 遗传分析软件进行数据处理。

2 结果与分析

2.1 近等基因系的培育及农艺性状评价

小麦三雌蕊近等基因系及其供体亲本、轮回亲本的穗部特征如图 1 所示。

近等基因系及其轮回亲本的农艺性状平均值及 t 测验结果见表 2,从表 2 可以看出,近等基因系的 6 个农艺性状,即株高、茎粗、穗长、小穗数、旗叶长、旗叶宽与其轮回亲本均差异不显著,这表明 CSTP、CM28TP、MY29TP、NM9TP 4 个近等基因系的构建基本成功。

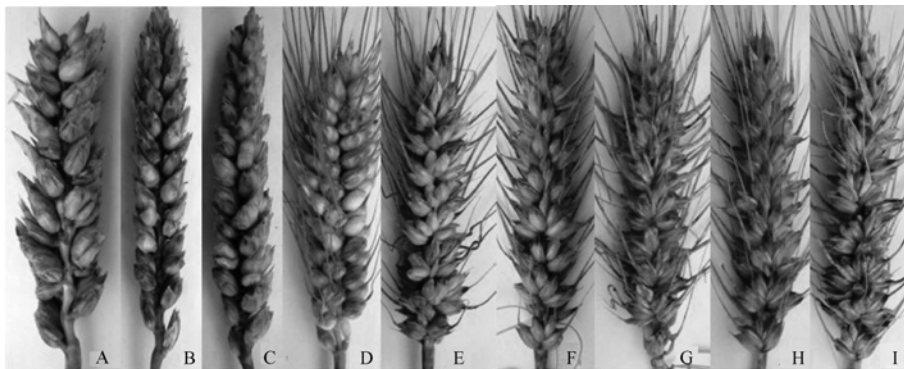


图1 小麦三雌蕊近等基因系、供体亲本及其轮回亲本的穗部特征

Fig. 1 Ear feature of near-isogenic lines for three pistils, donor parent and their recurrent parents

A: TP; B: 中国春; C: CSTP; D: 绵阳 29; E: MY29TP; F: 川麦 28; G: CM28TP; H: 内麦 9 号; I: NM9TP

A: TP; B: Chinese spring; C: CSTP; D: Mianyang 29; E: MY29TP; F: Chuanmai 28; G: CM28TP; H: Neimai 9; I: NM9TP

2.2 SRAP 引物筛选与分子标记的扩增结果

利用 128 对 SRAP 引物对 9 个材料进行 SRAP 分析,结果发现 128 对引物均有扩增产物,每对引物扩增出的谱带数目不等。扩增最少的引物(如 me5em9)仅出现 4 条谱带,扩增最多的引物(如 me1em11)扩增出 19 个谱带,其中大部分能扩出 6~10 条谱带,如图 2 所示,表明这些引物可用于近等基因系的检测。128

对引物共扩增出 978 条谱带,大部分谱带大小在 100~500bp 之间。其中有 120 对引物的扩增产物具有多态性,占所用引物的 93.8%。这 120 对引物共扩增出 638 个差异谱带,占总谱带数的 65.2%。这表明 SRAP 标记在小麦基因组中存在较高的多态性,适合进行遗传背景分析。在所选用的 128 对引物中,未发现与三雌蕊性状连锁的分子标记。

表 2 小麦三雌蕊近等基因系及轮回亲本的农艺性状考察

Table 2 Agronomic characters of near-isogenic lines for three pistils and their recurrent parents

近等基因系及轮回亲本 NILs and recurrent parents	株高 plant height (cm)	茎粗 stem diameter (cm)	穗长 spike length (cm)	小穗数 spikelet number	旗叶长 flag leaf length (cm)	旗叶宽 flag leaf width (cm)
CSTP	134.41 ± 4.29	0.45 ± 0.02	9.36 ± 0.34	25.67 ± 0.41	25.09 ± 1.58	1.88 ± 0.11
中国春 Chinese spring	134.59 ± 2.09	0.44 ± 0.02	9.43 ± 0.26	25.44 ± 0.41	25.31 ± 3.13	1.80 ± 0.08
<i>t</i> 值	0.11	0.38	0.53	0.38	0.19	1.67
MY29TP	100.92 ± 4.63	0.65 ± 0.08	9.19 ± 0.87	22.44 ± 1.42	24.54 ± 2.14	2.61 ± 0.26
绵阳 29 Mianyang 29	98.58 ± 0.87	0.61 ± 0.09	9.33 ± 1.05	23.00 ± 1.41	24.67 ± 1.17	2.46 ± 0.21
<i>t</i> 值	1.49	0.83	0.32	0.83	0.15	1.38
CM28TP	96.05 ± 4.79	0.60 ± 0.05	10.41 ± 0.71	23.67 ± 0.71	24.07 ± 1.86	2.42 ± 0.19
川麦 28 Chuanmai 28	95.50 ± 3.73	0.61 ± 0.05	10.73 ± 1.21	23.44 ± 0.88	23.94 ± 1.71	2.49 ± 0.25
<i>t</i> 值	0.27	0.48	0.69	0.59	0.15	0.65
NM9TP	104.03 ± 2.83	0.57 ± 0.04	11.20 ± 0.98	22.11 ± 1.54	24.68 ± 3.65	2.49 ± 0.26
内麦 9 号 Neimai 9	105.19 ± 3.17	0.57 ± 0.04	11.27 ± 0.97	22.56 ± 2.13	24.48 ± 2.24	2.42 ± 0.28
<i>t</i> 值	0.82	0.29	0.14	0.51	0.14	0.53
TP	100.47 ± 2.15	0.70 ± 0.03	9.97 ± 0.86	25.3 ± 1.79	34.70 ± 2.34	2.72 ± 0.18

注: $n = 9, t_{0.05} = 2.26$ 。

Notes: $n = 9, t_{0.05} = 2.26$ 。

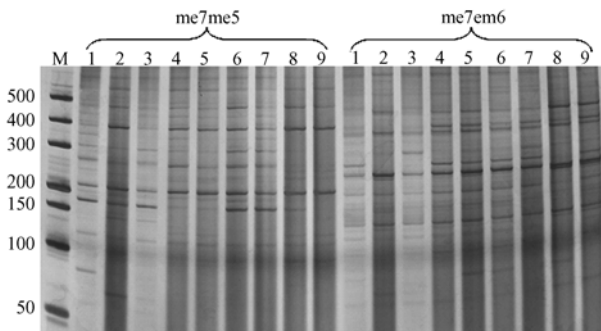


图 2 9 个材料用引物 me7em5 和 me7em6 的 SRAP 扩增图谱

Fig. 2 Amplification patterns of 9 accessions of wheat by primers me7em5 and me7em6

1: TP; 2: CSTP; 3: 中国春; 4: CM28TP;
5: 川麦 28; 6: MY29TP; 7: 绵阳 29; 8: NM9TP;
9: 内麦 9; M: Marker
1: TP; 2: CSTP; 3: Chinese spring; 4: CM28TP;
5: Chuanmai 28; 6: MY29TP; 7: Mianyang 29;
8: NM9TP; 9: Neimai 9; M: Marker

2.3 遗传相似性

利用 128 对 SRAP 引物计算 9 个材料之间的遗传相似系数(表 3)。其中中国春与 CSTP 的相似系数为 0.9346, 绵阳 29 与 MY29TP 的遗传相似系数为 0.9070, 川麦 28 与 CM28TP 的遗传相似系数为 0.9397, 内麦 9 号与 NM9TP 的遗传相似系数为 0.8732。经过 5 代回交后, 近等基因系与轮回亲本的遗传相似系数理论上应达到 98.44% 以上, 但经 SRAP 分子标记检测, 所有近等基因系均未达到这一水平, 说明近等基因系群体与轮回亲本在分子水平上存在一定差异。

2.4 聚类分析

利用 NTSYSPC2.10e 遗传分析软件对供试的 9 份材料进行聚类分析, 生成聚类图(图 3)。结果表明, 9 份材料在 0.8 处可分为 3 类: 第 1 类包括 TP、CSTP 和中国春; 第 2 类包括 MY29TP、绵阳 29、CM28TP 和川麦 28; 第 3 类包括 NM9TP 和内麦 9 号。由第 1 类可以看出 TP 与 CSTP 和中国春的遗传距离较小, 分别为 0.8006 和 0.8211, 而与其他 6 个材料的遗传距离均小于 0.77。第 2 类在 0.86 处又可分为 2 个亚类, 第 1 亚类为近等基因系 MY29TP 与其轮回亲本绵阳 29, 第 2 亚类为近等基因系 CM28TP 与其轮回亲本川麦 28。由图 3 可得出, 在所培育的 4 对近等基因系中 CM28TP 与川麦 28 的遗传距离最小, 为 0.9397; 其次为 CSTP 与中国春, 遗传距离为 0.9346; NM9TP 和内麦 9 号的遗传距离最大, 为 0.8732。

3 讨论

近等基因系的培育是一项长期而精细的工作。对近等基因系进行选择评价的常规指标是回交代数和农艺性状。双亲的遗传差异和基因的连锁决定了回交代数的多少; 农艺性状同时受基因和环境的控制, 农艺性状的观察在很大程度上取决于育种家的主观经验, 可靠性较低。分子标记的出现为人们在 DNA 水平上跟踪和评价近等基因系的遗传背景提供了有利手段^[22]。在众多分子标记中, SRAP 标记由于稳定性好、品种间多态性丰富、共显性及操作简便等特点, 已成为一种检测 NILs 的理想分子标记。

表 3 9 个材料基于 SRAP 标记的遗传相似系数

Table 3 Genetic similarity based on SRAP polymorphism among 9 accessions of wheat

	TP	CSTP	中国春 Chinese spring	MY29TP	绵阳 29 Mianyang 29	CM28TP	川麦 28 Chuanmai 28	NM9TP	内麦 9 号 Neimai 9
TP	1.0000								
CSTP	0.8006	1.0000							
中国春 Chinese spring	0.8211	0.9346	1.0000						
MY29TP	0.7638	0.7669	0.7853	1.0000					
绵阳 29 Mianyang 29	0.7321	0.7618	0.7556	0.9070	1.0000				
CM28TP	0.7679	0.7832	0.7832	0.8609	0.8558	1.0000			
川麦 28 Chuanmai 28	0.7546	0.7658	0.7740	0.8456	0.8507	0.9397	1.0000		
NM9TP	0.5552	0.5828	0.5542	0.6074	0.6493	0.6319	0.6534	1.0000	
内麦 9 号 Neimai 9	0.5573	0.5808	0.5521	0.6176	0.6513	0.6319	0.6493	0.8732	1.0000

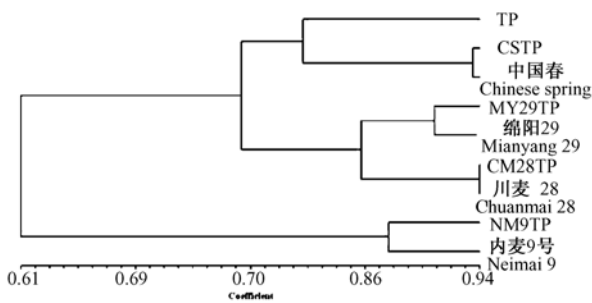


图 3 小麦三雌蕊性状近等基因系的 SRAP 聚类分析图

Fig. 3 Cluster analysis of NIL of TP trait based on genetic distance from SRAP data

马守才等^[23]和朱东旭等^[22]分别利用醇溶蛋白 APAGE 和 SSR 对小麦多子房性状近等基因系的遗传背景进行了检测。多子房性状是由显性或隐性基因控制,位于 6B 染色体上^[15]。因此,本研究所用 TP 品系与多子房品系的遗传背景具有本质上的区别。同时醇溶蛋白 APAGE 技术分析近等基因系的遗传相似性时所检测的位点定位于小麦第 1 和 6 同源群染色体的短臂上,在小麦巨大的基因组中只占很小的比例,不能完全反映其遗传背景^[22],而 SSR 标记的分辨率不及 SRAP 标记高^[24]。因此,本研究采用 SRAP 标记对三雌蕊近等基因系进行遗传背景分析,结果发现近等基因系各材料与轮回亲本的遗传相似系数在 0.8732 ~ 0.9397 之间,均低于理论值 98.44%。这说明虽然近等基因系经过 7 代回交,农艺性状上已经与轮回亲本一致,但在分子水平上,由于供体亲本基因的连锁累赘,二者还存在较大差异。同时田清震等^[2]研究表明,回交代数多,近等基因系与轮回亲本的相似性不一定高,如果每个回交世代都结合使用生化或分子标记进行选择,将会提高选择效率,进而得到高质量的近等基因系、尤其是含供体基因的近等基因系。

本研究选用了 128 对 SRAP 引物,能够较为全面

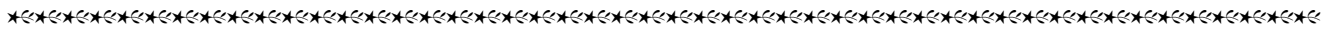
的覆盖小麦全基因组,所得结果可靠。同时本研究筛选出两对遗传相似性大于 0.93 的近等基因系,即 CM28TP 与川麦 28、CSTP 与中国春。这 2 对近等基因系可用于对控制三雌蕊性状的 *pis1* 基因的精细定位、准确克隆和功能分析。

参考文献:

- [1] Young N D, Zamir D G, Ganai M W, et al. Use of isogenic lines and simultaneous probing to identify DNA markers tightly linked to the *Tm-2a* gene in tomato[J]. *Genetics*, 1988, 120: 579-585
- [2] 田清震,周荣华,贾继增. 小麦抗白粉病近等基因系遗传背景分子标记检测[J]. *作物学报*, 2004, 30(3): 205-209
- [3] 张毅,李云峰,谢戎,杨正林,钟秉强,沈福成,谭自俊,何光华. 水稻小穗簇生性近等基因系的构建及其近等性评价[J]. *作物学报*, 2006, 32(3): 397-401
- [4] Harrach B D, Fodor J, Pogány M, et al. Antioxidant, ethylene and membrane leakage responses to powdery mildew infection of near-isogenic barley lines with various types of resistance[J]. *Eur J Plant Pathol*, 2008, 121: 21-33
- [5] Mumtaz S, Khan I A, Ali S, et al. Development of RAPD based markers for wheat rust resistance gene cluster (*Lr37-Sr38-Yr17*) derived from *Triticum ventricosum* L. [J]. *Afr J Biotechnol*, 2009, 8(7): 1188-1192
- [6] Zhu S, Walker D R, Boerma H R, et al. Effects of defoliating insect resistance QTLs and a *cry1Ac* transgene in soybean near-isogenic lines[J]. *Theo Appl Genet*, 2008, 116: 455-463
- [7] Brevis J C, Chicaiza O, Khan I A, et al. Agronomic and quality evaluation of common wheat near-isogenic lines carrying the leaf rust resistance gene *Lr47*[J]. *Crop Sci*, 2008, 48: 1441-1451
- [8] Zhou R H, Zhu Z D, Kong X Y, et al. Development of wheat near-isogenic lines for powdery mildew resistance [J]. *Theo Appl Genet*, 2005, 110: 640-648
- [9] 方宣钧,吴为人,唐纪良. 作物 DNA 标记辅助育种[M]. 北京: 科学出版社, 2002: 1-9
- [10] 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]. *Theo Appl*

- Genet, 2001, 103: 455-461
- [11] 李巧燕,林瑞庆,朱兴金. SRAP 分子标记及其应用概述[J]. 热带医学杂志, 2006, 6(4): 467-469
- [12] 陈济世,张岭华,吴秉礼. “三粒小麦”的发现及选育初报[J]. 作物学报, 1983, 9(1): 69-72
- [13] 沈光华,童一中,沈革志. 普通小麦多子房基因单体分析的染色体定位及双端体分析的染色体壁定位[J]. 遗传学报, 1992, 19(6): 513-516
- [14] 武军,李邦琴,赵继新. 三粒小麦多子房性状的遗传分析[J]. 西北农业大学学报, 2000, 28(6): 58-60
- [15] 马守才,张改生,李红茹,赵常胜. 小麦品系多 II 多子房性状的遗传分析[J]. 麦类作物学报, 2006, 26(1): 35-37
- [16] Peng Z S. A new mutation in wheat producing three pistils in a floret [J]. J Agron Crop Sci, 2003, 189: 270-272
- [17] Peng Z S, Yang J, Wei S H, et al. Characterization of common wheat (*Triticum aestivum* L.) mutation line producing three pistils in a floret[J]. Hereditas, 2004, 141: 15-18
- [18] Peng Z S, Martinek P, Kosuge K, et al. Genetic mapping of a mutant gene producing three pistils per floret in common wheat[J]. J Appl Genet, 2008, 49: 135-139
- [19] 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
- [20] 邵清松,郭巧生,房海灵. 药用菊花 SRAP-PCR 反应体系的优化[J]. 核农学报, 2009, 23(5): 820-824
- [21] 陆光远,杨光圣,傅延栋. 应用于油菜研究的简便银染 AFLP 标记技术的构建[J]. 华中农业大学学报, 2001, 20: 413-415
- [22] 朱东旭,马守才,张改生,牛娜. 小麦多子房性状近等基因系遗传背景分子标记检测[J]. 麦类作物学报, 2010, 30(3): 406-410
- [23] 马守才,张改生,牛娜. 小麦多子房性状近等基因系的选育及遗传背景的检测[J]. 核农学报, 2007, 21(6): 585-588
- [24] Ruiz J J, Garcia-Martinez S, Pico B, et al. Genetic variability and relationship of closely related Spanish traditional cultivars of tomato as detected by SRAP and SSR markers[J]. J Am Soc Hort Sci, 2005, 130(1): 88-94

(责任编辑 王媛媛)



(上接第 134 页)

- [10] 鲍士旦. 土壤农化分析(第 3 版)[M]. 中国农业出版社, 2001
- [11] 孙瑞莲,赵秉强,朱鲁生,徐晶,张夫道. 长期定位施肥田土壤酶活性的动态变化特征[J]. 生态环境, 2008, 17(5): 2059-2063
- [12] Ajwa H A, Dell C J, Rice C W. Changes in enzyme activities and microbial biomass of tallgrass prairie soil as related to burning and nitrogen fertilization[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1999, 31: 769-777
- [13] 赵兰坡,姜言. 土壤磷酸酶活性测定方法的探讨[J]. 土壤通报, 1986, 17(3): 138-141
- [14] Dodor D E, Tabatabal M A. Effect of cropping system on phosphates in soils[J]. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 2003, 166(1): 7-13
- [15] 任祖淦,陈玉水,唐福钦,王东海,张逸清. 有机无机肥料配施对土壤微生物和酶活性的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 1996, 2(3): 279-283
- [16] 杨招弟,蔡立群,张仁陟,李爱宗. 不同耕作方式对旱地土壤酶活性的影响[J]. 土壤通报, 2008, 39(3): 514-517
- [17] Jiao Xiao-guang, Gao Chong-sheng, Lu Guo-hong, Sui Yu-yu. Effect of long-term fertilization on soil enzyme activities under different hydrothermal conditions in Northeast China[J]. Agricultural Sciences in China, 2011, 10(3): 412-422
- [18] 万忠梅,宋长春. 土壤酶活性对生态环境的响应研究进展[J]. 土壤通报, 2009, 40(4): 951-956
- [19] 樊军,郝明德. 黄土高原旱地轮作与施肥长期定位试验研究 II. 土壤酶活性与土壤肥力[J]. 植物营养与肥料学报, 2003, 9(2): 146-150
- [20] 姜小凤,王淑英,丁宁平,樊廷录,张平良,郭建国,李倩,苏敏. 施肥方式对旱地土壤酶活性和养分含量的影响[J]. 核农学报, 2010, 24(1): 136-141

(责任编辑 邱爱枝)