

SSR 标记技术在主要农作物新品种保护方面的应用

辛艳¹ 刘何¹ 黄全合²

(1.天津市种子管理站 天津 300061 ; 2.天津市农村工作委员会科教处 天津 300061)

摘要: SSR 标记在植物基因组研究中非常活跃, 具有数量丰富, 多态性高, 呈共显性遗传等特点。目前我国在水稻、玉米、小麦、棉花、大豆等主要农作物的 SSR 标记 DNA 指纹图谱的建立方面取得较大进展, 但 DNA 指纹图谱的构建及 SSR 标记技术的标准化需要进一步研究, 以便在新品种保护和品种纯度鉴定中得到广泛应用。

关键词: 主要农作物 新品种保护 指纹图谱 SSR 标记

Abstract: At present simple sequence repeats or SSR markers, whose features are abundant, highly polymorphic and co-dominant inheritance, has become one of the hot spots in plant genomic research. This method plays an important role in construction of plant DNA fingerprints of the main crop varieties which include rice, corn, wheat, cotton and soybean etc. But the current problems are that SSR marker technique has not reach standardization and then limited its application. We need further studying on the construction of plant DNA fingerprints and standard procedures of SSR marker technique in order to make this approach a wider application in plant variety protection and seed purity testing.

Key words: Main Crop; New variety protection; DNA fingerprints; SSR

DNA 分子标记检测技术已广泛应用于植物品种鉴定及纯度检测的研究。欧盟国家植物新品种知识产权保护组织自 1994 年成立以来就已利用该技术来决定是否批准新品种的申请和植物新品种保护 DUS (即特异性、一致性、稳定性) 测试。我国目前虽然在主要农作物品种的分子标记鉴定方面已经取得较大成就, 但真正应用到植物新品种保护方面还任重道远。

一、我国主要农作物新品种保护现状

1997 年我国颁布首部植物新品种保护法规—《中华人民共和国植物新品种保护条例》(以下简称《条例》), 标志着我国新品种保护进入了法律程序; 随后我国于 1999 年加入国际植物新品种保护联盟(UPOV)的《国际植物新品种保护公约》(1978 年文本), 成为 UPOV 第 39 个成员国; 2000 年通过《中华人民共和国种子法》, 标志着我国植物新品种保护工作的全面展开。

《条例》实施以来, 我国农业植物新品种保护工作成绩斐然。先后组建了植物新品种保护办公室、植物新品种复审委员会、植物新品种保护标准化委员会、植物新品种繁殖材料保藏中心、植物新品种测试中心和 14 个分中心; 组织研制了玉米、水稻等 80 余种植物新品种测试指南或标准, 基本形成了以《条例》为基础, 实施细则、侵权案件处理规定、审查指南等相互配套的规章制度体系。1999-2008 年我国先后发布了 6 批植物品种保护名录, 受保护

的植物属和种已达到 60 多个。截止到 2010 年 8 月 31 日,我国受理植物新品种权累计申请量和授权量分别达到 7, 246 和 3, 251 件, 申请品种权的植物种类主要是大田作物, 共申请 6, 225 件, 授权 3, 018 件, 占总申请数量的 86%, 其中水稻、玉米、小麦是申请数量较多的大田作物, 位于前 3 位, 说明这 3 种农作物的品种创新研究最为活跃, 同时品种权也能给育种人带来稳定的经济效益。这充分体现了我国农业以粮食作物为主, 植物育种和品种创新紧紧围绕粮食作物开展的特点。

随着农业知识产权保护的发展, 如何客观、公正、准确地授权也成为植物新品种保护中不可忽视的问题。根据《国际植物新品种保护公约》和《条例》的要求, 申请获得品种权的前提之一是必须经过 DUS 测试, 其中最重要的是特异性, 即申请品种必须明显不同于同一物种内所有已知品种。品种特异性测试目前主要采用形态学鉴定方法, 即在作物田间生长不同阶段, 通过对大量形态学性状进行调查统计, 鉴别或鉴定不同品种。其缺点在于: 首先, 鉴定周期长, 费用高, 一般需要 2 个生长季节; 其次, 形态学方法所调查的性状大多属数量性状, 由微效多基因控制, 容易受环境影响; 另外, 由于现代育种研究中的新品种多由数量有限的一些优良品种作亲本杂交育成, 新品种遗传基础狭窄, 品种之间的形态学差异越来越小, 造成可供品种鉴定利用的形态性状不足, 增加了品种鉴定的困难。DNA 指纹图谱是目前最先进的遗传标记系统, 它直接反映种子遗传物质在 DNA 分子水平上的差异, 具有高效准确、经济简便, 不受季节和环境影响的特点。推广应用该项技术可以有效地保护新品种的知识产权, 也可为种子开发部门节约种子纯度鉴定费用, 从而推动种子产业的健康发展。

二、SSR 分子标记技术的特点与优势

SSR 标记是近年来发展起来的一种 DNA 分子标记。在植物基因组研究中非常活跃, 具有数量丰富, 多态性高, 呈共显性遗传等特点, 被广泛应用于基因定位、种子进化及遗传多样性的研究。目前在种子新品种保护和品种纯度鉴定中也得到广泛应用。

(一)、SSR 标记的原理及特点

SSR (Simple Sequence Repeat, 简单重复序列) 又称微卫星 DNA, 是一类由几个 (多为 1~6 个) 核苷酸为单位串联重复而成的 DNA 序列, 长度一般在 100 个碱基以内。这些短的串联重复是在 DNA 复制过程中, 在 DNA 滑动、复制时, 滑动链与互补链碱基错配而产生的 1 个或几个重复单位的插入或缺失。每一次突变都会增加 1 个或几个重复单位, 从而导致新的等位基因出现。

SSR 是一种非常活跃的碱基序列, 均匀、随机、广泛分布于各类真核生物基因组的不同位置, 可以提供几乎整个基因组的遗传信息, 能参与遗传物质的结构改变, 基因调控及细胞分化等过程。SSR 基因序列中, 重复基因的重复次数不同, 重复的基因序列不同, 产生了简单序列长度多态性和随机扩增 SSR 多态性, 从而反映高度的等位基因多样性。由于 SSR 位点两侧的 DNA 序列较为保守, 根据保守序列设计特定的引物, 通过 PCR 扩增, 将其间的核心卫星 DNA 序列扩增出来, 结合聚丙烯酰胺凝胶电泳技术, 就可以对这些多态性进行比较分析。

（二）、SSR 标记技术的特点

SSR 标记技术具有以下特点：（1）SSR 标记重复性好，虽然开始筛选重复序列和引物设计过程较慢，但只要引物确知，使用极为简单，结果极为稳定；（2）SSR 标记多态性高，多数 SSR 序列无功能作用，增加或减少几个重复序列的频率高，因而在品种间具广泛位点变异，比 RFLP 及 RAPD 分子标记的多态性强；（3）SSR 位点两侧的序列具有高度的保守性，它使我们可以在一个物种的微卫星研究中利用另一物种的研究结果，从而更快更准确地找到该物种中更多的 SSR 位点；（4）SSR 标记共显性，由于 SSR 序列多态性的本质为重复单位数目的不同，也就导致重复片段的长度不同。显性纯合个体与隐性纯合个体之间的差异为扩增片段的长度的差异，因而可以区分开显性纯合个体与杂合个体；（5）SSR 标记呈孟德尔式遗传，对个体鉴定具有特殊意义；（6）SSR 标记技术分析简便，所需 DNA 样品量少，仅需微量组织，且质量要求不高，即便 DNA 降解，它也能进行有效地分析鉴定。

大量研究表明，SSR 技术既有 RFLP 技术的稳定性和共显性的优点，又比 RAPD 标记成本低而且技术简单，是目前较受欢迎的分子标记技术。对于品种鉴别来说，SSR 标记要比 RAPD 等分子标记优越得多，因为通过 SSR 位点产生的基因型是毫无疑问的，获得的资料可以在不同的实验室间获得重复并共享。通过 SSR 标记技术，可以把同一物种的各个品种间特异的多态性反映出来，形成能代表各个品种的“指纹图谱”。

三、SSR 标记技术在主要农作物新品种保护方面的应用现状

（一）、水稻指纹图谱的构建

Nandakumar N 等（2004）[1]采用 10 个 SSR 位点分析了 11 个水稻品种和它们的亲本，发现 9 个 SSR 位点在 11 个杂交种中具有多态性。构建的指纹图谱中，4 个 SSR 位点(RM206、RM216、RM258 和 RM263)能够区别所有杂交种，可以用来鉴定纯度和品种保护。李云海等（1999）[2]、詹庆才等（2002）[3]、彭锁堂等（2003）[4]均研究了利用 SSR 分子标记区分品种或区分杂交水稻组合及亲本。庄杰云等（2006）[5]经过较多的品种间 SSR 标记多态性的比较，在进一步检测了中国推广面积超 16.667 万 hm² 的 63 个主栽常规稻品种和杂交稻组合及亲本后，推荐了 24 个 SSR 标记(每条染色体 2 个)作为水稻主栽品种的鉴别标记，初步构筑了中国水稻主栽品种 SSR 标记数据库。AKagi[6]等利用高度多变的含(AT)_n 的 17 个 SSR 标记，成功地区分了 59 个亲缘关系极近粳稻品种；苏顺宗[7]等筛选出一批在常用水稻亲本上具有较高多态性 SSR 标记引物，并与田间纯度鉴定结果进行比较研究，结果表明利用 SSR 标记技术鉴定的平均纯度与田间鉴定结果无显著差异。2007 年全国农技中心颁布 GB/T20396-2006《三系杂交水稻及亲本真实性和品种纯度鉴定 DNA 分析方法》规定了用 SSR 标记 DNA 分析技术进行三系杂交水稻及其亲本真实性和品种纯度鉴定的方法；同期颁布的 NY/T 1433—2007《水稻品种鉴定 DNA 指纹方法》，规定了用于水稻品种鉴定的 SSR-DNA 指纹方法的行业标准。

（二）、小麦指纹图谱的构建

Plaschke 等[8]利用 23 个 SSR 标记可以将除一对姊妹系以外的 40 份小麦品种（主要为亲缘关系较近的欧洲小麦品种）区分开。Huang 等[9]利用 24 个 SSR 标记可以区分来自 68 个国家的 998 份六倍体小麦材料。高睦枪等[10]利用 53 对 SSR 标记对全国 1999-2000 年北方冬麦区及黄淮冬麦区观察谱中选出的 48 个新品种(系)进行了遗传差异研究,发现利用 5 个多态性高的 SSR 标记可以将 48 个小麦新品种(系)鉴定开。王立新[11] 等采用 15 个 SSR 标记和 20 个 AFLP-SCAR 标记,分析了来自我国不同麦区的 455 个小麦品种,证明用 2 种分子标记建立小麦 DNA 指纹可以更加全面地反应品种的遗传多样性,因而提出采用 SSR 标记与 AFLP-SCAR 标记的 DNA 指纹的技术路线构建小麦品种 DNA 指纹的方法模式。中国农科院品资所张学勇等[12]对本所收集的 4 万余份小麦品种,利用小麦谷蛋白指纹图谱和以 SSR 标记技术绘制的 DNA 指纹图谱构建了中国小麦核心种质库。目前,已发表的小麦 SSR 引物序列多达数百个,其中绝大多数已定位在小麦基因遗传图谱中。这为利用 SSR 标记技术进行小麦新品种保护测试奠定了基础。

（三）、玉米指纹图谱的构建

吴渝生等[13]从 96 对 SSR 引物中筛选出 24 对多态性丰富的引物,建立了云南省大面积推广的 3 个玉米杂交种及其亲本的 DNA 指纹图谱。在此基础上结合统计学方法,将各杂交系的指纹图谱以“0”、“1”型数据描述,将指纹图谱数字化,使得指纹图谱分析简化明了。赵久然等[14]从 158 个 SSR 引物中筛选出 10 个核心引物,建立了 60 个玉米自交系的指纹图谱。由于核心引物的 PIC 值(多态信息含量)高,重复性好,所以核心引物的使用大大减少了引物合成及筛选的工作量,达到省时高效的要求。李晓辉[15]等仅用 2、3 个核心引物就区分了 13 个玉米杂交种。谭君等[16]利用 6 对核心引物区分 73 份供试玉米自交系,建立了西南地区常用玉米自交系的 DNA 指纹图谱。赵久然、王风格等[17]从 DNA 提取、PCR 扩增、电泳检测等环节对 SSR 标记技术进行了优化,最终建立了一套完善的适用于玉米品种鉴定的 SSR 标准体系。目前此项技术处于国际前沿水平,建立的玉米标准指纹库里已存有 3000 多个品种,包括目前生产上推广的品种约 300 个,国家和主要玉米省份区试和授予植物新品种权的玉米品种 1000 多个,主要玉米自交系和有代表性的开放授粉品种、稳定群体和农家种 1000 个,具有广泛的代表性。至今我国已经完成国内玉米品种的 DNA 指纹图谱构建,2007 年颁布的 NY/T 1432—2007《玉米品种鉴定 DNA 指纹方法》行业标准,成功应用于玉米新品种区试、审定和种子质量监控等方面;并对品种权保护和在品种权纠纷案件中的司法鉴定提供了技术支撑。

（四）、棉花品种指纹图谱的构建

棉花的性状大多属于数量性状,由多基因控制,易受环境影响。SSR 标记广泛存在于棉花基因组中,因此可以提供几乎整个基因组内的遗传信息,其共显性标记比显性标记能提供更多的信息,尤其适用于杂交种的纯度鉴定。SSR 标记的位点又具有复等位性,在种内的栽培品种间易获得多态性标记位点。武耀廷等[18]用 48 对 SSR 引物对 30 个棉花栽培品种和 4

个高优势杂交种的亲本进行了多态性筛选,结果表明,应用 4 个 SSR 标记就能区分湘杂 2 号、皖杂 40、中棉所 28、南抗 3 号的 F1 杂种和它们的亲本以及其它栽培品种;秦利等[19]从筛选出的 10 对多态性好的引物中随机挑选了 2 对,对当前新疆主栽品种进行了指纹图谱构建和杂交种纯度鉴定,可将 3 个杂交种与它们的亲本加以区分。刘勤红等[20]筛选了 217 对异源四倍体棉花的 SSR 引物,获得十几个在鲁棉研 15 号父母本之间具有稳定多态性的共显性标记位点,可有效地区分鲁棉研 15 号父母本和杂交 F1 的基因型,因而可进行杂交种纯度的鉴定。王俊芳等[21]从 78 对棉花 SSR 引物中确定了 33 对棉种鉴定用的备选核心引物,其构建的 21 个棉花品种的 DNA 指纹图谱,只需要 6 对核心引物就可以完全鉴别各个品种。该检测方法也可以用来鉴定棉花种子真实性和品种纯度。郭江勇等[22]用 SSR 技术建立了 18 个彩色棉品系的指纹图谱,并对其亲缘关系进行了探讨,对于纯度较高的棉花品种,采用 4-6 对 SSR 引物即可检测其纯合的程度;而对于纯度较低品种,也仅需 4-6 对 SSR 引物即可了解其混杂程度。目前,在棉花数据库上公开的棉花 SSR 引物已达 9000 多对,并且每隔一段时间就有新的引物增加,为该技术在棉花品种鉴定方面的应用打下了良好基础。

(五)、大豆品种指纹图谱的构建

根据色素、形态等指标来区分大豆品种已不能满足实际要求,因为很多育成的品种在农艺性状上差异甚微,传统的方法不能将其区分开。SSR 分子标记方法是进行品种鉴定的一种高效方法。据报道,用 SSR 标记来分辨 66 个优良美国大豆品种,只用 13 个位点就可以做到;用 8 个 SSR 位点对韩国 59 个大豆品种分析显示,93.2%的品种可以被区分开。中国农科院作物品种资源研究所根据我国大豆品种资源的基本信息和农艺性状数据,构建了 2000 余份的初选核心种质,在此基础上,用 SSR 分子标记进行了系统评价并建立起分子指纹图谱数据库。全国农技中心 2007 年出版的《大豆主要品种 DNA 指纹图谱》介绍了 GB/T 19553—2004《大豆种子品种鉴定实验方法简单重复序列间区法》以及 103 个主推大豆品种的 DNA 指纹图谱。

四、利用 SSR-DNA 指纹图谱数据库的信息在近似品种的选择及实质性派生品种的判定方面有优势

近似品种就是在所有已知品种中,相关性状或特性与申请品种最为相似品种。利用 SSR 标记的 DNA 指纹图谱数据库的信息,可以对已知品种和申请品种进行聚类分析,判断出品种间相对遗传距离的远近,从而为品种之间按照指定的标准进行分类和区分,对于近似品种的选择起到了很好的辅助选择作用。SSR-DNA 指纹图谱还可以避免由于近似品种选择的随意性而导致的 DUS 测试数据的偏差。

实质性派生品种(Essential Derived Variety, EDV)是 UPOV(1991 年文本)中提出的概念,指的是由原始品种通过选育、天然或诱导突变、体细胞克隆、基因导入、同亲本回交而获得的新品种。形态学上很难将实质性派生品种进行区分,但可以通过大量 SSR 分子标记的筛选和指纹图谱的比较,鉴别出实质性派生品种与原始品种两者之间的细微差别和相互

遗传关系。当然要求两者之间在进行鉴定时必须尽可能保证足够高的一致性和纯度，否则会
影响鉴定结论。利用不同分子标记之间的互补性来综合判定实质性派生品种可能更为有效。
在处理实质性派生品种问题的时候，品种内的遗传变异幅度和实质性派生品种间的遗传距离
差异判断非常关键。郭景伦[23]将玉米品种遗传差异小于 10% 作为判断是否是依赖性派生品
种的 DNA 指纹鉴定标准。

由于 UPOV (1991 年文本) 对于植物新品种的保护将更为严格，导致实质性派生品种
的品种权保护和争议将越来越多，因而 SSR-DNA 指纹图谱技术的应用前景也变得更为实际
和有效。ISF 工作组发现 SSR 标记的 DNA 检测技术在确立 EDV 方面的确有效。可以看出，
分子指纹图谱对于鉴别只有少数形态性状变异或品种间性状非常相似的作物品种是非常有
利的。

五、SSR 标记技术面临的主要问题

(一)、SSR 标记技术及 DNA 指纹数据库建设需要规范和标准化

在我国，基于 SSR 分子标记技术构建的指纹图谱和检测体系没有形成统一的标准，也
就难以确定不同品种的检测用核心引物以及能够用于区分品种特异性的引物等位梯度分子
量标准，无法将已授权品种的 DNA 指纹图谱库以用于特异性快速鉴定，因而在植物新品种
认定过程中的作用没有得到真正体现。相关检测中心和实验室独立制定的技术指标和操作流
程难以取得行业共识，故鉴定结果可信度也会受到质疑。要构建标准化的 DNA 指纹图谱数
据库，使所得到的试验结果具有稳定性、一致性和可重复性，首先要对 DNA 分析技术标准
化，使其能够适用于所有进行 DNA 检测的实验室。

(二)、SSR 标记技术及 DNA 指纹数据库在 DUS 测试判定中存在不足

滕海涛等[24]认为，为了确认 DNA 水平上的特异性，需要确立新品种和其他品种之
间的最少遗传距离的可接受域值。对于数量形态指标，如果满足 1% (LSD)，就可以确认特
异性。然而要确立 DNA 指纹之间的最少平均遗传距离，需要通过指定试验来确定分子水平
上的特异性标准。但在品种保护中如何利用 DNA 指纹判断特异性，如何确定特异性片段及
其需要的数量，特异性片段区分品种的能力有多大等问题，都是需要研究的。随着品种数
量的增加，数据库需要的标记数量也需相应动态扩充，现有的标记尚不能实现基因组序列的全
覆盖，而且对于可以预见的变异目前还没有一定的标准进行判定。因此我国当前新品种的特
异性鉴别，还是主要依靠田间植株形态检测。

利用 DNA 指纹图谱中的特征引物扩增片段鉴定其品种一致性标准可能较 DUS 测试的
田间表观形态观测的一致性要低。DUS 测试的一致性由于不同的人员、不同的地点和年份，
进行审定或审查的不稳定性会造成一定程度的差异。而 DNA 检测技术的灵敏性较高，可
以检测出品种内细微的差别，所以利用 DNA 指纹图谱，可能将在品种审定或品种保护中是
一个品种的，鉴定为不同品种，即出现 DNA 指纹图谱鉴定与品种审定和品种保护都不一致
的现象。但合适的标准和接受概率如何确定，对于杂交种来说目前还是一个难题，对于无性繁

殖或者纯自花授粉作物来说则相对容易一些。此外,对于一致性的确定应该选用多少个体进行检测,是否和 DUS 测试需要的田间检测样本相同,如何判别差异个体的容许误差等,都是需要研究的,其中可能包含了 SSR 标记的 DNA 指纹的标记误差和品种内的变异。另外,需要建立申请品种或者已知品种的纯度以及纯合度方面的分子标准,并将这些标准要登记到 DNA 指纹数据库当中。此外,将授权品种登记到指纹数据库时,必须对原始材料认真核对,尽量选用育种者提供的原始品种。

(三)、SSR 标记检测与品种选育、品种试验和 DUS 测试对象的不对应性,决定了不能单一应用 SSR 标记的 DNA 指纹图谱检测结果判定品种侵权

SSR 标记主要扩增的是非编码序列,与形态标记之间还不具备足够的相关性。形态标记表现为多种形式,如质量性状、假质量性状、数量性状和复合性状的组合等;可能是多种基因共同作用的结果;还可能是特定的环境条件下的基因的表达。如果被检品种经过 DNA 指纹图谱检测与数据库中授权品种的 DNA 指纹图谱达到高度相似或者没有差异,且品种审定和品种保护的田间试验和 DUS 测试的测试结果也表现一致,才可判定为同一品种。仅以被检品种 DNA 指纹与数据库中授权品种 DNA 指纹图谱达到高度相似或相同就判定两者为同一品种是危险的。因为不仅目前指纹数据库不具有足够的代表性和全面的品种信息,而且品种具有什么样的基因型也不一定就有什么样的表现型。只有品种选育、品种审定和品种保护都采用统一的 DNA 指纹图谱检测方法决定取舍时,采用 DNA 指纹图谱检测方法鉴定才能成为最可靠的方法。

六、今后工作的展望

我国新品种 DUS 测试目前仍旧依靠田间形态测试作为主要测试手段,而国际上利用 SSR 标记进行品种鉴定和品种产权保护的工作已经进入实用阶段。UPOV 在 BMT 测试指南草案中已将构建 DNA 指纹数据库的标记方法确定为 SSR 和 SNP(单核苷酸多态性),其中 SSR 标记因其技术比较成熟,成为当前各个作物建库的首选标记。

为了使 SSR 标记的 DNA 指纹图谱能够广泛应用于新品种保护的实践,要综合各种学科的相关最新研究进展,通过综合评估,建立分子水平的认证实验室及有效策略和方法,建立统一的标准化的检测及判别方法,从而便于数据的处理、交流和应用;还要根据某种作物在不同生态区的品种多样性确定核心品种群体,且逐步增加已知品种的数量。对核心品种群体进行分子标记分析,构建起我国主要农作物品种的标准 DNA 指纹数据库,再利用数据库的强大功能,进行数据的保存、处理和应用,并逐渐将授权新品种的 DNA 指纹图谱不断补充进去。今后还应加速新型 DNA 指纹技术的开发和对经典 DNA 指纹技术的改进,实现 DNA 指纹鉴定的简单化、自动化和商业化,以更好地保护品种的知识产权和育种者的权益。

参考文献:

[1] Nandakumar N.Singh A K.Sharma R K, Molecular fingerprinting of hybrids and assessment

of genetic purity of hybrid seeds in rice using microsatellite markers 2004

- [2] 李云海,肖 晗,张春庆,等.用微卫星 DNA 标记技术检测中国主要杂交水稻亲本的遗传差异[J].植物学报,1999,41 (1):1061-1066.
- [3] 詹庆才.利用微卫星 DNA 标记进行杂交水稻种子纯度鉴定的研究[J].杂交水稻,2002,17(5):46-50.
- [4] 彭锁堂,庄杰云,颜启传,等.我国主要杂交水稻组合及其亲本 SSR 标记和纯度鉴定[J].中国水稻科,2003,17(1):1-5
- [5] 庄杰云,施勇峰,应杰政,等.中国水稻主栽品种微卫星标记数据库的初步构建[J].中国水稻科,2006,20(5):460-468
- [6] Akagi H. Highly polymorphic microsatellite of consist of AT repeat sanda classification of closely related cultivar swith the semicrosatellite-loci[J].Theor Appl Genet,1997,94:61-67
- [7] 苏顺宗,黄玉碧,杨俊品,等.利用 SSR 鉴定水稻杂交种子纯度的研究[J].种子,2003,(1):23-35.
- [8] Plaschke J, Ganal M W, Röder M S, et al. Detection of genetic diversity in closely related bread wheat using Micro-satellite markers [J] Theor Appl Genet , 1995, 91:1001-1007
- [9] Huang X Q, Borner A, R oder M S, et al. Assessing genetic diversity of wheat (TriticumaestivumL) germplasmusing microsatellite markers[J]Theor Appl Genet,2002,105:699-707
- [10] 高睦枪,郭小丽, 我国部分冬小麦新品种(系)SSR 标记遗传差异的研究[J]农业生物技术学报,2001,9(1):49-54
- [11] 王立新等,建立小麦品种 DNA 指纹的方法研究,《作物学报》2007, 33(10)1738-1740:
- [12]张学勇等小麦及其近亲基因组中的DNA重复序列研究进展,中国农业科学,2000,33(5) 1-7
- [13]吴渝生等,基于 SSR 标记的云南糯玉米、爆裂玉米地方种质遗传多样性研究,《作物学报》2004 年第 30 卷第 1 期, 36-42
- [14]赵久然, 王风格等. 中国玉米新品种 DNA 指纹库建立系列研究 III.多重 PCR 技术在玉米 SSR 引物扩增中的应用, 玉米科学, 2003, 11 (2): 3-6
- [15]李晓辉等,分子标记及其在玉米研究中的应用,安徽农业科学,2008 ,36(19) :8044 -8046
- [16]谭君, 丁仲芳, 孙仕显,等. 西南常用玉米自交系 SSR 指纹图谱构建[J]. 西南农业学报, 2003, 16(2): 1-6
- [17]赵久然, 王风格等, 中国玉米新品种 DNA 指纹库建立系列研究 III.多重 PCR 技术在玉米 SSR 引物扩增中的应用, 玉米科学, 2003, 11 (2): 3-6
- [18]武耀廷,张天真,郭旺珍,等.陆地棉品种 SSR 标记的多态性及用于杂交种纯度检测的研究 [J].棉花学报,2001,13(3):131-133

- [19] 秦利,李冰,范玲,等.新疆陆地棉 SSR 标记指纹图谱构建和杂种纯度鉴定研究杂种纯度鉴定研究[J].新疆农业科学,2005,42(6):399-401
- [20] 刘勤红,王芙蓉,张军,等.利用 SSR 标记鉴定鲁棉研 15 号杂交种纯度的研究[J].山东农业科学,2003(2):7-16
- [21] 王俊芳等, 棉花品种指纹图谱构建及棉种鉴定技术研究, 中国棉花, 2009, 36(3): 6-9
- [22] 郭江勇,王义琴,孙勇如,等.利用 RAPD 标记对彩色棉遗传多样性的分析[J]棉花学报,2003,15(6):269-273
- [23] 郭景伦, 依赖性派生玉米品种 DNA 指纹鉴定标准研究, 华北农学报, 2006, 21 (1): 46-49
- [24] 滕海涛等, 利用 DNA 指纹图谱辅助植物新品种保护的可能性, 生物技术通报, 2009 (1) 1-6