

SSR 分子标记鉴定玉米杂交种纯度的研究及应用综述

尹祥佳¹, 郝楠¹, 南铭², 李世风³, 李艳玫¹, 贾国军¹

(1. 兰州职业技术学院, 甘肃 兰州 730070; 2. 定西市农业科学研究院, 甘肃 定西 743000; 3. 甘肃省敦煌种业股份有限公司, 甘肃 酒泉 735000)

摘要: 从玉米基因组 DNA 提取、引物的筛选、PCR 反应体系优化、部分推广玉米品种纯度鉴定引物信息等方面综述了 SSR 分子标记在玉米杂交种纯度鉴定方面的研究及应用。

关键词: SSR; 玉米; 纯度鉴定; 研究及应用

中图分类号: S513 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1463(2018)11-0097-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1463.2018.11.027

Research and Application of SSR Molecular Markers to Identify Purity of Corn Hybrid

YIN Xiangjia¹, HAO Nan¹, NAN Ming², LI Shifeng³, LI Yanmei¹, JIA Guojun¹

(1. Lanzhou Vocational and Technical College, Lanzhou Gansu 730070, China; 2. Dingxi Academy of Agricultural Sciences, Dingxi Gansu 743000, China; 3. Gansu Dunhuang Seed Co., Ltd., Jiuquan Gansu 735000, China)

Abstract: In this paper, the research and application of SSR molecular markers in the purity identification of corn hybrids were reviewed from the aspects of genomic DNA extraction, primer screening, PCR reaction system optimization and primer information for purity identification of some corn cultivars.

Key words: SSR; Corn; Purity identification; Research and application

玉米是重要的粮食、饲料和工业原料作物,也是我国种植面积和产量最大的作物^[1-4]。据国家统计局 2017 年粮食产量公告^[5],在 2017 年国家继续采取调整农业种植结构,加快优化区域布局,特别是大幅度调减“镰刀弯”地区玉米播种面积的大背景下,全国粮食播种面积为 1.122 亿 hm²,谷物播种面积 0.929 亿 hm²,玉米播种面积为 0.355 亿 hm²,占谷物播种面积的 38.21%,占粮食播种面积的 31.64%。2017 年全国粮食总产量 6 179 亿 kg,玉米总产量 2159 亿 kg,占粮食总产量的 34.94%。作为我国第一大作物的玉米在保障国家粮食生产和安全中具有举足轻重的地位^[6]。2016 年新实施的《种子法》在原有国审和省(区)玉米品种审定制度的基础上增加了绿色通道、联合试验体以及引种备案制等,简化了玉米品种审定

程序,缩短了审定时间。玉米品种是决定玉米产量和品质的决定因素。根据农业部种子管理局中国种业大数据平台显示,截至 2017 年,我国已有审定玉米品种 8 972 个,其中中国审品种 588 个,主要集中在科研院所和种业公司^[7]。目前我国种子企业为 4 660 家,注册资本在 1 亿元以上的种业企业有 200 多家,前 50 强种子企业的销售额达到 219 亿元,集中度为 35.54%^[8],由此可见,玉米是我国种业市场份额占比较大的作物。

随着我国玉米种业市场化程度日益提高,纯度鉴定成为种子质量检测的核心指标。种子纯度是衡量种子质量的一项重要指标,对玉米产量及品质具有直接的影响。玉米种子纯度受制种基地隔离标准实施的差异性,制种过程中的去杂、去雄的及时性与彻底性,制种农户对技术规程的执

收稿日期: 2018-04-14; 修订日期: 2018-08-30

基金项目: 兰州市科技计划项目(2016-3-15); 兰州职业技术学院 2017 年院内科研项目(2017XY-25)。

作者简介: 尹祥佳(1984—),男,甘肃兰州人,农艺师,硕士,主要从事作物遗传育种教学和科研工作。联系电话: (0)18993381406。Email: yinxiangjia@lvu.edu.cn。

行程度等综合因素的共同影响^[9]。甘肃省已形成以河西走廊为主、以沿黄灌区和陇南为补充的全国规模最大、最具有竞争力的玉米制种基地, 杂交玉米制种产量占到全国玉米制种量的 60% 以上^[10]。因此, 如何快速、有效地鉴别双亲、混杂品种和真实杂交种成为品种纯度鉴定的关键^[11]。分子标记是以 DNA 多态性为基础的一类遗传标记, 较形态标记和生化标记具有遗传稳定好、多态性高、标记遍布整个基因组、无组织特异性而且不受外界自然环境影响等优点, 在玉米基因精细定位、遗传多样性分析、划分杂种优势类群、分子标记辅助育种、指纹图谱构建、玉米种子纯度鉴定等方面都有研究和应用^[12]。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 (RAPD)、扩增片段长度多态性 (AFLP)、单核苷酸多态性 (SNP)、以及基于特定引物 PCR 的简单序列重复 (SSR)、序列特异扩增区域 (SCAR)、相关序列扩增多态性 (SRAP)、靶位区域扩增多态性 (TRAP) 等方法^[13-14]。

随着 SSR 分子标记技术的深入研究和发 展, 其在玉米育种及品种纯度鉴定方面发挥着重要的作用。SSR 分子标记一般由 1~6 个核苷酸为重复单位组成的长达几十个核苷酸的串联重复序列, 具有遗传多态性高、操作相对简单、重复性好、成本较低等优点, 在玉米品种纯度鉴定方面有着广泛的应用^[15]。农业部公布的玉米品种鉴定行业标准《玉米品种鉴定技术规程 SSR 标记法》(NY/T1432—2014) 使 SSR 标记技术对玉米品种纯度鉴定的方法更加完善和准确^[16-17]。我们从玉米基因组 DNA 提取、引物的筛选、PCR 反应体系优化、部分推广玉米品种纯度鉴定引物信息等方面综述了 SSR 分子标记在玉米杂交种纯度鉴定方面的研究及应用。

1 DNA 提取方法

DNA 提取是 SSR 分子标记最基本的步骤, 提取 DNA 的质量要满足 PCR 扩增反应要求, DNA 的提取方法主要有 SDS 法、CTAB 法、碱裂解法和磁珠法。

1.1 SDS 法

SDS (十二烷基硫酸钠) 是一种已知的能使蛋白质变性的去污剂, 在核酸抽提中可破坏细胞壁及裂解核酸, 在较高温度下破坏蛋白质与 DNA 的结

合, 使 DNA 释放出来。SDS 法提取 DNA 选用的玉米材料有单粒干种子胚、叶片。高文伟等^[18]用 SDS 法优化建立了玉米单粒种子胚和叶片 DNA 快速提取方法。李葱葱等^[19]用 SDS 法借助高通量组织研磨仪建立了用于玉米叶片基因组 DNA 的微量快速提取方法, 用高通量组织研磨仪快速研磨液氮处理过的叶片, 实现了高通量提取基因组 DNA 的目的, 提高了 DNA 提取的效率。

1.2 CTAB 法

CTAB (十六烷基三甲基溴化铵) 是一种阳离子去污剂, 具有从低离子强度溶液中沉淀核酸与酸性多聚糖的特性。在高离子强度的溶液中, CTAB 提取液与蛋白质和多聚糖形成复合物, 除去蛋白质、多糖、酚类等杂质后加入冰乙醇沉淀即可使 DNA 分离出来。CTAB 法选用的提取玉米材料有干种子、单粒干种子胚、发芽的种子幼苗、叶片。董永军等^[20]采用改良 CTAB 法, 直接用全自动样品快速研磨仪研磨玉米干种子来提取 DNA。李艺等^[21]将干种子水浴后取出胚研磨后加入 CTAB 提取液提取 DNA。李汝玉等^[22]用改良的 CTAB 提取法分别从粉碎的干种子和发芽 4 d 的种子幼苗中提取 DNA。戴军等^[23]研究了两步 CTAB 法提取玉米基因组 DNA 作为 PCR 反应模版。王芳等^[24-25]采用改良的 CTAB 法, 以发芽的种子幼苗为材料提取玉米基因组 DNA。由此可见, CTAB 法是目前提取玉米基因组 DNA 比较常用和成熟的方法, 再借助高通量组织研磨仪可以实现高通量的 DNA 提取, 为玉米分子检测提供了有效的基础。

1.3 碱裂解法

碱裂解法主要用于单粒种子胚和幼芽的 DNA 提取, 具有提取速度快, 高通量的优点^[26]。郭景伦等^[27-28]分别从干种子的胚和玉米幼芽中用碱裂解法提取 DNA, 直接用沸水加热后加入 TE 缓冲液用于 PCR 扩增。吴向远等^[29]采用碱裂解法从玉米单子粒胚中快速提取了基因组 DNA。闫米格等^[30]将干种子胚放入 96 孔深孔板中, 用 0.1 M NaOH 来提取 DNA。但碱裂解法在试验过程中存在重复性和与引物的匹配性不高的情况, 在引物筛选和建立 PCR 反应体系方面还存在一定的局限性, 影响一些玉米品种纯度鉴定结果。

1.4 磁珠法

磁珠法是利用超顺磁微球颗粒表面修饰一些

活性官能团,使其与核酸分子结合,在磁场作用下,可以将带有 DNA 分子的磁珠与溶液分离,之后通过漂洗过程除去杂质,再用 TE 缓冲液或者双蒸水洗脱吸附在磁珠颗粒表面的 DNA。磁珠法提取玉米基因组 DNA 时需要注意要提前 30 min 将试剂盒中保存于 2~8 ℃ 的磁珠和洗涤液平衡至室温,将裂解液置于 50 ℃ 水浴中溶解并摇匀。徐潮^[31]研究建立了磁珠法快速提取玉米基因组 DNA 的方法,用 3 种便携式提取装置替代了传统的实验室仪器。陈丽丽等^[32]的研究结果表明,磁珠法提取玉米基因组 DNA 的得率最高,时间最短。此外,磁珠法提取 DNA 的量多,操作简便,整个提取过程可以在 96 孔深孔板中进行,常选用志昂生物科技有限公司普通植物 DNA 磁珠法提取试剂盒,借助自动提取仪器,编辑程序,实现自动化提取,但磁珠法存在 DNA 提取成本较高的问题。

综上所述,在玉米基因组 DNA 提取过程中以上 4 种常用方法都在使用,但是为了满足高通量的鉴定要求,大部分实验室使用高通量的组织研磨仪来代替手工研磨,以降低工作量,提高效率。采用改良的 SDS 法和 CTAB 法,选用干种子或者干种子的胚,减少提取试剂的使用量和提取步骤,也取得了良好的效果。采用碱裂解法提取玉米干种子胚 DNA,既节省了发芽时间和繁琐的 DNA 提取时间,具有简单、快速、易操作等优点,提取的 DNA 质量可以满足 PCR 扩增的需要。但是为了试验的准确性和重复性,同时考虑试验成本的因素,建议选用 CTAB 法来提取玉米基因组 DNA。

2 引物的筛选

近些年玉米基因组学和生物信息学的研究与发展,为玉米 SSR 标记技术的广泛应用提供了一定的理论基础。Maize GDB (<https://www.maizegdb.org>) 中含有大量的 SSR 标记引物信息数据,可以直接查询数据库或者参考相关研究文献,将现有的 SSR 标记引物用于玉米品种纯度鉴定试验。品种纯度鉴定之前要根据具体的试验玉米品种对引物进行筛选来确定最优的 SSR 标记鉴定引物。王陆军等^[33]根据前期研究的成果确定了 10 对核心引物,并用核心引物对 18 份山西省主推玉米杂交种及其自交系进行了引物筛选,得出了多态性综合表现最好的 umc1590 和 umc1196 等 2 对引物,可用于鉴定大部分品种的纯度。王风格等^[34]用 10 对

SSR 引物将 420 份已知玉米杂交种进行 DNA 指纹分析,确定了 bnlg161 和 bnlg1450 等 2 对作为玉米杂交种纯度鉴定的首选核心引物, bnlg439、 bnlg125、 umc2105、 umc1705 和 bnlg1792 等 5 对引物作为备选核心引物,可以鉴定出 412 个玉米品种的纯度。由此可见,引物的筛选对检测的结果有着决定性的影响,1 对引物可以检测多个品种,有时候也需要 2 对以上的引物来鉴定 1 个品种的纯度,因此,建立玉米品种的引物信息共享数据库具有重要意义。

3 PCR 反应优化

在 SSR 分子标记鉴定玉米杂交种纯度的试验中,做好 PCR 反应的优化对检测结果起着重要的作用。PCR 反应优化有 PCR 反应体系和 PCR 仪反应条件的优化两个方面。PCR 反应体系针对玉米基因组 DNA、引物、DNA 聚合酶、dNTP 等反应物质混合体积的组合。目前所需要的反应试剂都可以向专门的生物技术公司购买直接使用,有些公司还提供 DNA 聚合酶、dNTP 和 buffer 的混合 PCR 反应试剂,使用的时候直接加入引物和双蒸水,可以有效缩短样品纯度检测时间。除此之外还要考虑在保证检测结果质量的基础上适当的减少反应体系的总体积,这样可以在一定程度上节约试验成本。王士磊等^[35]对玉米 SSR-PCR 体系从模板 DNA、dNTP、引物、DNA 聚合酶浓度 4 种因素 4 个水平进行优化分析,并对退火温度进行梯度试验,建立了 10 μL 的高效、实用、稳定的反应体系。PCR 反应优化要建立在高度的可重性的基础上,减少检测试验的成本,以最少的体系量和最佳的 PCR 反应程序来得出准确的结果。

4 部分推广玉米品种纯度鉴定引物信息

现将文献报道和在 MaizeGDB 中补充查询到的部分推广玉米品种的纯度鉴定所需要 SSR 标记引物信息进行了汇总(表1)^[36-51],供相关领域的研究人员提供参考。

5 结束语

SSR 分子标记应用于鉴定玉米品种纯度,大大缩短了种子纯度的检测时间,及时确定不同玉米品种种子质量,防止不合格种子播种,对保护农户种植利益、玉米生产安全,促进农业发展和农村社会稳定起到了积极的促进作用。主要表现

表 1 部分推广玉米品种纯度鉴定 SSR 引物信息

编号	品种	引物名称	染色体位置	引物序列	文献
1	沃玉 964	umc2105	3.00	ACATACATAGGCTCCCTTTTTCCG TCCCGTGACACTCTCTTTCTCTCT	[36]
2	莱农 14	umc1153	5.09	CAGCATCTATAGCTTGTGTCATT TGGGTTTTGTTGTTTGTGTTGTTG	[37]
3	莱农 15	phi072	4.00-4.01	ACCGTGCATGATTAATTTCTCCAGCCTT GACAGCGCGCAAATGGATTGAACT	[37]
4	金研 919	umc1266	3.06	CACAGGTA AAAAGTAAAACGCACACG CTCGTCATTTTCAACGTCCTCTTT	[38]
5	俊达 001	umc1266	3.06	CACAGGTA AAAAGTAAAACGCACACG CTCGTCATTTTCAACGTCCTCTTT	[38]
6	伟科 702	phi078	6.05	CAGCACCAGACTACATGACGTGTAA GGGCCGCGAGTGATGTGAGT	[38]
7	先玉 335	umc1176	10.07	GAGTTTGTTCGTTTGTGTGTGGAG ATGAGTTCATGACAGAGCGCTACC	[38]
8	安单 3 号	phi065	9.03	AGGGACAAATACGTGGAGACACAG CGATCTGCACAAAGTGGAGTAGTC	[39]
9	农大 108	umc1002	6.00	AGCTAGCTATACACCGCCAGG TCAGTTTGGAACAGGAAAAGTA	[40]
10	浚单 20	bnlg1112	1.01	GTGAGAATCCTTCAGCGGAG CTGTGGCAGATGTGCTATGG	[40]
11	郑单 958	bnlg238	5.06	CTTATTGCTTTCCGTCATACACACATTCAT GAGCATGAGCTTGCATATTTCTTGTGG	[40]
12	鲁玉 16	bnlg240	8.05	AAGAACAGAAGGCATTGATACATAA TGCAGGTGTATGGCAGCTA	[40]
13	垦玉 6	phi029	3.04	TTGTCTTTCTTCCCTCCACAAGCAGCGAA ATTTCCAGTTGCCACCGACGAAGAAGT	[41]
14	龙单 13	bnlg1045	2.07	TCCCCGATAGCATATCGATC GTGACTTTGGGGAGTTTGGGA	[41]
15	掖单 13 号	bnlg162	8.05	ACTAGCAGCAGTAAAACCTAATAAAGGGA CAAGTAGCTAGCAGTCATTTGCAGTGT	[42]
		bnlg278	5.05	CATGCATCAACGTAACCTCCCT CATGTCACGCGTTCCACTTG	
16	吉祥 1 号	bnlg2291k4	4.06	GCACACCCGTTAGTAGCTGACTTG CATAACCTTGCCCTCCCAAACCC	[43]
17	苏玉 30	bnlg2305k4	5.07	CCCCTCTTCCCTCAGCACCTTG CGTCTTGTCTCCGTCCGTGTG	[44]
18	金玉 818	umc1429y7	5.03	CTTCTCCTCGGCATCATCCAAAC GGTGGCCCTGTTAATCCTCATCTG	[45]
19	宁单 11	bnlg1792	7.02	CGGGAATGAATAAGCCAAGA GCGCTCCTTCACCTTCTTTA	[46]
20	强盛 1 号	bnlg116	3.06	AATACTGGACCACCAGGCAC CGTGGGTCACCAGGAGTC	[47]
21	金单 999	bnlg1496	3.09	CTGGGCAGACAGCAACAGTA AGCCAAAGACATGATGGTCC	[48]
		umc1222	1.01	CGTCTTCCGTGAGAGACATCCTGT CTCAGAACAGAAGCCATCAAAGC	
22	强盛 16 号	bnlg2331	1.11	TCTGATATCATAAAGGAGGACCG GGAGCTTGGCTTTTTAACA	[49]
		phi112	7.01	TGCCCTGCAGTTACATTFGAGT AGGAGTACGCTTGGATGCTCTTC	
23	黔单 16 号	bnlg1450	10.07	ACAGCTCTTCTTGGCATCGT GACTTTGCTGGTCAGCTGGT	[50]
		phi420701	8.00	GATGTTTTCAAACCCACCCAGA ATGGCACGAATAGCAACAGG	
24	登海 11 号	phi053	9.03	AGGGACAAATACGTGGAGACACAG CGATCTGCACAAAGTGGACTAGTC	[51]

在以下三个层面。第一个层面是玉米种业企业可以利用 SSR 分子标记技术准确快速检测玉米种子的纯度, 保证种子的真实性, 这样可以建立起玉米种业企业的制种质量监控体系, 有效促进玉米田间制种技术规程的使用效果, 严格做好去杂和去雄的工作。SSR 标记可以非常有效地将品种亲本自交系进行区别, 为了提高检测结果的准确性, 还可以通过多对标记引物逐一对同一样品进行鉴定, 或者利用多重 PCR 将多对引物混合起来进行纯度鉴定。第二个层面主要是国家农业农村部植物新品种保护办公室在受理玉米新品种保护时, 利用 SSR 分子标记技术做好 DUS 测试的部分内容, 给申请品种一个身份权利保护标识, 防止该玉米品种被其他品种冒充, 对玉米新品种加强保护的效力。第三个层面是每年各级种子管理部门的春季种子市场执法检查, 其中主要是对品种的真实性和种子纯度进行检查和检测, 以此来保护农户的合法权益, 维护玉米生产安全。

随着 SSR 分子标记技术与信息技术的结合, 如何有效建立快速鉴定农作物品种纯度和真实性的方法, 使得玉米品种纯度的鉴定可以在植株任何生长阶段都能快速进行成为了新的研究课题。同时还要利用互联网技术, 在国家主管部门的指导下, 实现试验数据在不同实验室和不同企事业单位之间的共享, 有效的打击玉米假冒伪劣品种, 提高玉米种子的供应质量, 促进我国农作物品种产业健康稳定的发展。随着分子生物学的不断发展, 今后将涌现许多更有效的新型分子标记, 还要将 SSR 分子标记技术进一步改良与完善, 开发新型 SSR-PCR 结果读取仪器, 做到智能化和高通量, 提高玉米种子纯度的检测质量和效率。只有这样, SSR 分子标记技术才能为玉米种子纯度的高效检测和建立玉米种业产业的信息化质量监控体系提供技术支撑。

参考文献:

- [1] 周庆玲. 7 个玉米早熟新品种在安定区旱作区的引种初报[J]. 甘肃农业科技, 2018(2): 55-58.
- [2] 杨春旺. 庄浪县川旱区耐密型玉米新品种引种初报[J]. 甘肃农业科技, 2017(6): 53-55.
- [3] 高艳红. 11 个玉米新品种在民勤县引种初报[J]. 甘肃农业科技, 2016(10): 6-9.
- [4] 周玉乾, 寇思荣, 何海军, 等. 甘肃省玉米产业发展现状及对策[J]. 甘肃农业科技, 2017(9): 72-75.
- [5] 中华人民共和国国家统计局. 国家统计局关于 2017 年粮食产量的公告[R/OL]. (2017-12-08)[2018-03-20]. http://www.stats.gov.cn/tjsj/zxfb/201712/t20171208_1561546.html.
- [6] 石德扬, 李艳红, 夏德军, 等. 种植密度对夏玉米根系特性及氮肥吸收的影响[J]. 中国农业科学, 2017, 50(11): 2006-2017.
- [7] 杨扬, 王凤格, 赵久然, 等. 中国玉米品种审定现状分析[J]. 中国农业科学, 2014, 47(22): 4360-4370.
- [8] 李继军. 中国玉米种业的现状与未来发展预测[J]. 种业导刊, 2017(1): 5-10.
- [9] 付滨, 窦学诚. 基于 AHP-模糊综合评价法的玉米品种安全评价及阻碍因素诊断—以河西制种基地为例[J]. 浙江农业学报, 2017, 29(10): 1611-1619.
- [10] 玉米制种, 敢问路在何方—兼议河西地区建成国家级玉米制种基地[J]. 中国种业, 2014(11): 10-13.
- [11] 林莉, 梁庆平, 李体琛. SSR 标记在玉米杂交种子纯度鉴定中的应用[J]. 农业科技通讯, 2017(3): 18-21.
- [12] 关淑艳, 董昭旭, 李晖, 等. 生物技术在玉米育种中的应用[J]. 吉林农业大学学报, 2016, 38(2): 127-137.
- [13] 黄龙花, 吴清平, 杨小兵, 等. 基于特定引物 PCR 的 DNA 分子标记技术研究进展[J]. 生物技术通报, 2011(2): 61-65.
- [14] 罗黎明, 刘丽, 于丽娟, 等. DNA 分子标记技术在玉米种子纯度鉴定中的应用[J]. 生物技术进展, 2011, 1(1): 7-13.
- [15] 蒋晓英, 杨春文, 林清, 等. SSR 标记技术在杂交水稻和杂交玉米种子质量鉴定中的应用研究[J]. 中国农学通报, 2013, 29(21): 41-46.
- [16] 张振良, 郝德荣, 陈国清, 等. SSR 标记在糯玉米品种鉴定上的应用[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(6): 104-106.
- [17] 王凤格, 杨扬, 易红梅, 等. 中国玉米审定品种标准 SSR 指纹库的构建[J]. 中国农业科学, 2017, 50(1): 1-14.
- [18] 高文伟, 李晓辉, 李新海. 玉米单粒和单叶片 DNA 快速提取及 SSR 标记分析[J]. 玉米科学, 2004, 12(2): 111-113.
- [19] 李葱葱, 刘娜, 李飞武, 等. 一种快速提取玉米基因组 DNA 的方法[J]. 玉米科学, 2011, 19(1): 52-55.
- [20] 董永军, 王陆军, 郝建平, 等. 玉米干种子基因组

- DNA 提取方法的改进[J]. 山西农业科学, 2017, 45(12): 1903-1906.
- [21] 李 艺, 铁双贵, 朱卫红, 等. 快速 CTAB 法提取玉米种子胚基因组 DNA[J]. 河南农业科学, 2008(2): 17-20.
- [22] 李汝玉, 李 群, 谭振馨, 等. 利用 SSR 标记技术检测玉米杂交种纯度[J]. 玉米科学, 2005, 13(1): 15-18.
- [23] 戴 军, 汪 海, 朱 莉, 等. 1 种适用于转基因玉米 PCR 检测的 DNA 快速提取方法[J]. 安徽农业科学, 2014, 42(12): 3494-3496.
- [24] 王 芳, 王汉宁, 张金文, 等. 玉米基因组 DNA 的快速高效提取(简报)[J]. 草业科学, 2006, 23(12): 65-67.
- [25] 王 芳, 王化俊, 王汉宁. 玉米基因组 DNA 的提取及 SSR 分析[J]. 玉米科学, 2006, 14(2): 30-32.
- [26] 高玉峰, 张 攀, 郝晓敏, 等. 一种快速提取玉米大群体基因组 DNA 的方法[J]. 中国农业大学学报, 2011, 16(6): 32-36.
- [27] 郭景伦, 赵久然, 王风格. 适用于 SSR 分子标记的玉米单粒种子 DNA 快速提取新方法[J]. 玉米科学, 2005, 13(2): 16-17.
- [28] 郭景伦, 赵久然, 辛景树, 等. 玉米单株幼芽 DNA 快速提取新方法[J]. 华北农学报, 2005, 20(1): 38-40.
- [29] 吴向远, 丁 冬, 宋桂良, 等. 玉米基因组 DNA 快速提取方法[J]. 河南农业大学学报, 2012, 46(1): 7-10.
- [30] 闫米格, 许 晶, 骈跃斌, 等. 玉米种子纯度鉴定中 DNA 提取方法的比较研究[J]. 山东农业科学, 2011(9): 7-8; 14.
- [31] 徐 潮. 重组酶介导的等温扩增技术在转基因检测中的应用[D]. 北京: 中国农业科学院, 2014.
- [32] 陈丽丽, 张 鹏, 黄 新, 等. 玉米基因组 DNA 提取及浓度测定方法评价[J]. 生物技术通报, 2011(12): 70-74.
- [33] 王陆军, 白建荣, 王艳梅, 等. 山西省主推玉米杂交种纯度鉴定 SSR 核心引物的筛选[J]. 山西农业科学, 2010, 38(1): 19-22.
- [34] 王风格, 赵久然, 王 璐, 等. 适于玉米杂交种纯度鉴定的 SSR 核心引物的确定[J]. 农业生物技术学报, 2007, 15(6): 964-969.
- [35] 王士磊, 李玉鹏, 高树仁. 正交设计优化玉米 SSR-PCR 反应体系的研究[J]. 基因组学与应用生物学, 2009, 28(1): 119-122.
- [36] 周联东, 柳继凤, 孙 佩, 等. 沃玉 964 玉米品种 SSR 指纹图谱的构建[J]. 现代农业科技, 2017(15): 1-3.
- [37] 盖树鹏. 玉米品种纯度 SSR 鉴定与田间鉴定的相关性[J]. 华北农学报, 2010, 25(增刊): 28-31.
- [38] 朱盛安, 李 璐, 孔祥云, 等. SSR 标记检验玉米杂交种子纯度核心引物的构建[J]. 种业导刊, 2017(11): 20-24.
- [39] 蔡甫格, 陈红艳, 张秀伟, 等. 安单 3 号玉米杂交种纯度 SSR 检测与田间鉴定的比较[J]. 贵州农业科学, 2013, 41(10): 35-37.
- [40] 盖树鹏, 盖伟玲, 王日新. 6 个玉米杂交种种子纯度的 SSR 鉴定[J]. 种子, 2010, 29(7): 44-47.
- [41] 张玉胡, 陈 双, 高树仁, 等. 利用 SSR 标记检测杂交玉米种子纯度的研究[J]. 种子, 2010, 29(12): 55-57.
- [42] 姚凤霞, 李汝玉, 张 晗, 等. 利用 SSR 标记鉴定掖单 13 号种子纯度[J]. 种子科技, 2007(4): 37-38.
- [43] 车 卓, 常 宏, 张 伟. 利用 SSR 分子标记鉴定玉米杂交种‘吉祥1号’纯度[J]. 中国农学通报, 2016, 32(18): 28-32.
- [44] 张振良, 郝德荣, 陈国清, 等. 利用 SSR 标记鉴定‘苏玉30’杂交种遗传纯度研究[J]. 中国农学通报, 2016, 32(3): 86-90.
- [45] 兰琴英, 陈泽辉, 祝云芳, 等. 优良玉米杂交种金玉 818 指纹图谱构建及其纯度鉴定[J]. 贵州农业科学, 2015, 43(6): 1-6.
- [46] 李 苗, 李 新, 甘晓燕, 等. SSR 标记对宁单 11 种子纯度的鉴定[J]. 种子, 2010, 29(9): 38-43.
- [47] 李素玲, 柴美清, 张君捷, 等. SSR 标记技术在玉米品种纯度鉴定上的利用研究[J]. 山西农业大学学报(自然科学版), 2007, 27(2): 133-135.
- [48] 王安贵, 陈泽辉, 祝云芳, 等. 基于 SSR 标记的杂交玉米金单 999 种子的纯度检验[J]. 贵州农业科学, 2011, 39(5): 12-14.
- [49] 武岩军, 许 晶, 车星星. 应用 SSR 标记技术鉴定强盛 16 号玉米单交种纯度[J]. 山西农业科学, 2012, 40(6): 599-602.
- [50] 郭向阳, 陈泽辉, 祝云芳, 等. 利用 SSR 标记鉴定玉米杂交种黔单 16 号纯度的研究[J]. 种子, 2011, 30(4): 42-44.
- [51] 李 群, 李汝玉, 颜廷进, 等. 应用 SSR 标记技术鉴定登海 11 号玉米杂交种纯度的研究[J]. 种子, 2004, 23(10): 21-23.

(本文责编: 郑立龙)