

# 基于 SSR 标记的山东省小麦 DNA 指纹图谱的构建

李莉<sup>1,2</sup>, 王俊峰<sup>2</sup>, 颜廷进<sup>2</sup>, 李娜娜<sup>2</sup>, 丁汉凤<sup>2</sup>, 樊守金<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 山东师范大学, 济南 250014; <sup>2</sup> 山东省农作物种质资源中心/山东省作物遗传改良与生态生理重点实验室/  
农业部作物基因资源与种质创制山东科学观测实验站, 济南 250100)

**摘要:**以山东省 41 份小麦种质资源为材料, 使用 46 对引物, 通过 SSR 技术对其进行了 DNA 指纹数据库的构建。结果显示, 所采用的 46 对引物在本试验材料中共检测到 69 个等位基因, 有较好的多态性。利用 NTSYS 进行 UPGMA 聚类分析后, 发现这 41 种材料在遗传相似系数 0.68 为阈值处可以分为 3 个类群。试验证明该方法能够分辨各个种质间的亲缘关系, 能够较好满足小麦 DNA 指纹数据库的构建要求, 对山东省小麦遗传资源的收集、保存、分类、评价、核心种质的建立等研究工作提供理论依据。

**关键词:**小麦; SSR; DNA 指纹数据库

## Establishment of DNA Fingerprinting for Wheat in Shandong Province by SSR Markers

LI Li<sup>1,2</sup>, WANG Jun-feng<sup>2</sup>, YAN Ting-jin<sup>2</sup>, LI Na-na<sup>2</sup>, DING Han-feng<sup>2</sup>, FAN Shou-jin<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> Shandong Normal University, Jinan 250014; <sup>2</sup> Shandong Center of Crop Germplasm Resources, Shandong Provincial Key Laboratory of Crops Genetic Improvement, Ecology and Physiology/ Shandong Research Station of Crop Gene Resource/Germplasm Enhancement, Ministry of Agriculture, Jinan 250100)

**Abstract:** 41 unique wheat cultivars of Shandong province were collected to construct DNA fingerprint database by SSR technique. The results showed that 69 alleles were detected with considerable polymorphism by 46 pairs of primers employed in the experimental design. Through UPGMA cluster analysis using NTSYS, it was found that 41 kinds of materials could be divided into three groups with the threshold at genetic similarity of 0.68. This study indicated that SSR technique could effectively detect the genetic relationships among the various wheat cultivars, and it could meet the requirements for the construction of wheat DNA fingerprint database and provide theory basis for collecting, storing, classifying, evaluating, and establishment of the core germplasm of wheat cultivars genetic resources in Shandong province.

**Key words:** Wheat; SSR; DNA fingerprinting

小麦是世界上最重要的粮食作物之一, 世界上有超过 35% 的人口以小麦为主食<sup>[1]</sup>, 在各种谷物中, 小麦因为其经济以及营养方面的价值而备受关注。生产实践证明, 不断选育和推广优良品种, 是提高产量最经济有效的措施。因此, 小麦遗传多样性研究以及品质改良的重要性显得越发突出。遗传多样性的研究对生物多样性的保护和生物资源的可持续利用都

有重要意义, 因而受到国内外的广泛重视<sup>[2]</sup>。

SSR, 简单序列重复 (simple sequence repeat), 又称微卫星, 是一类由 1~5 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<sup>[3]</sup>。同一类的微卫星可分布于整个基因组的的不同位置上。每个座位上重复单位的数目及至重复单位的序列都有可能不完全相同, 因而造成了每个座位上的多态性。

收稿日期: 2012-05-25 修回日期: 2012-08-30 网络出版日期: 2013-02-04

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20130204.0953.002.html>

基金项目: 山东省农业良种工程 (2010LZ01-01); 农业部“948”项目 (2011-G1-08); 山东省科技发展计划 (2012G0021031)

作者简介: 李莉, 硕士。研究方向: 植物资源与分类学。E-mail: li-yinhu-li@163.com

王俊峰为并列第一作者, 博士。研究方向: 种质资源, 植物抗逆。E-mail: mantid@163.com

通信作者: 丁汉凤, 博士, 研究员, 主要从事农业生物资源保护方面的研究。E-mail: dinghf2005@163.com

樊守金, 博士, 教授, 主要从事植物资源与分类学。E-mail: fansj@sdu.edu.cn

这种多态性的信息量是比较高的。由于每个微卫星 DNA 两端的序列多是相对保守的单拷贝序列,因而可根据其两端的序列设计 1 对特异的引物,通过扩增而产生多态性。

与 RFLP (restriction fragment length polymorphism) 和 RAPD (random amplified polymorphism DNA) 等不同的是,微卫星标记能够产生足够的等位基因多样性,用于亚种内或生态型内的品种鉴定<sup>[4]</sup>。朱作峰等<sup>[5]</sup>利用 48 个微卫星标记和 50 个 RFLP 探针对 6 个生态型的 57 份水稻材料进行了比较分析,认为无论是从单个位点的等位基因数和平均基因多样性或遗传距离看,SSR 的多态性都要高于 RFLP。段世华等<sup>[6]</sup>选用 25 个微卫星标记对我国杂交稻生产中应用广泛的 35 个恢复系进行了分析,表明微卫星标记尤其适用于杂交水稻及亲本的遗传关系分析及鉴定。李云海等<sup>[7]</sup>利用 20 个微卫星标记检测了我国 33 份主要杂交水稻的亲本材料,共检测出 102 个等位基因。

SSR 标记技术已被用于大麦、大豆、水稻、玉米、小麦<sup>[8]</sup>的遗传多样性研究。研究结果表明,SSR 位点的等位基因数目比其他任何标记所揭示的等位基因都多。

SSR 可以应用于小麦种质资源遗传图谱构建、品种指纹图谱绘制、品种纯度检测及目标性状分子标记筛选等领域。张学勇等<sup>[9]</sup>对收集的 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。M. M. Manifesto 等<sup>[10]</sup>对阿根廷的 105 份小麦品种用于不同染色体上的探针检测后发现亲缘关系越近的品种,指纹谱的相关系数越高。M. Prasad 等<sup>[11]</sup>用 12 个 SSR 引物区别 48 个小麦品种,高睦枪等<sup>[12]</sup>用 5 个 SSR 标记区分 48 个中国冬小麦新品种。崔国惠等<sup>[13]</sup>首次利用 SSR 标记对斯卑尔脱小麦的遗传差异进行研究,从研究结果得出,利用 SSR 标记可以将亲缘关系很近的品种鉴别出来。M. Prasad 等<sup>[14]</sup>对来自不同地区的 55 份小麦进行了 SSR 研究,在 21 个位点中检测出 155 个等位基因。用 12 个引物在 55 个品系中发现有 48 份小麦具有遗传多态性。结果表明,SSR 标记可用于估测遗传多态性及基因型的鉴定。

本研究采用 SSR 分子标记技术,对山东省的 41 份小麦种质资源的遗传多样性进行研究,构建山东省小麦 DNA 指纹图谱数据库,从不同层次和水平系统揭示其遗传信息,获得完整系统的遗传分类情况

及亲缘关系资料,从而为小麦分子标记辅助育种提供理论依据。通过对小麦遗传多样性的研究,能够为小麦遗传资源的收集、保存、分类、评价、核心种质的建立等研究工作提供理论依据,也能为小麦的亲本选配提供理论指导。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

本研究所用材料由山东省农科院作物所提供,为山东省种植面积较广的 41 份小麦品种,品种名称、试验编号和系谱信息详见表 1,材料均来源于山东省农科院种质资源中心。

表 1 小麦品种名称、编号及系谱信息

Table 1 List of cultivars name, code, and pedigree informations

编号 code	品种名称 variety name	系谱 pedigree
1	济麦 20 号	鲁麦 14/884187
2	济麦 22 号	935024/935106
3	烟农 19 号	烟 1933/陕 82 - 29
4	烟农 24 号	陕 229/安麦 1 号
5	烟农 5158	烟航选 2 号/烟农 15 号/空间诱变处理
6	烟农 2415	烟 849/鲁麦 21 号
7	临麦 4 号	鲁麦 23 号/临 9015
8	洲元 9369	PH82 - 2 - 2/866 - 34
9	良星 99	济 91102/鲁麦 14//PH85 - 16
10	良星 66	济 91102/济 935031
11	泰农 18	莱州 137/烟 369 - 7
12	泰山 23 号	烟 881414/876161
13	山农 15 号	济南 17 号/济核 916
14	汶农 14 号	84139//9215/876161
15	鲁麦 21 号	鲁麦 13/豫麦 2 号
16	鲁麦 23 号	鲁麦 8 号/大粒矮
17	潍麦 8 号	88 - 3149/Aus621108
18	邯 6172	4032/中引 1 号
19	济宁 16 号	烟 1934/824046
20	皖麦 52 号	郑州 8329/皖麦 19
21	济南 2 号	碧蚂 4 号/早洋麦
22	济南 4 号	碧蚂 4 号/早洋麦
23	济南 8 号	碧蚂 4 号/苏联早熟 1 号
24	济南 9 号	(蚰子麦/美麦 10 号)辛石 3 号/早洋麦
25	济南 13	欧柔白//辉县红/阿勃
26	济南 16	大谷核不育小麦/辐 63//775 - 1
27	济南 17	临汾 5064/鲁麦 13
28	山农辐 63	Γ 射线 3 万 R 照射(蚰包/欧柔)F <sub>4</sub> 干种子
29	鲁麦 1 号	矮丰 3 号/孟县 201/牛朱特
30	鲁麦 14	74(11)混 1 - 1 - 3/F <sub>4</sub> 530
31	鲁麦 15	(Tal 扬麦 1 号 BI/757318)FL//104 - 14
32	泰山 1 号	(碧蚂 4 号/苏联早熟 1 号)54405/欧柔
33	泰山 4 号	辉县红/阿勃

表 1(续)

编号 code	品种名称 variety name	系谱 pedigree
34	碧玛 1 号	蚂蚱麦/碧玉麦
35	碧玛 4 号	蚂蚱麦/碧玉麦
36	蚰子麦	地方品种
37	良星 619	济 991102/济 935031
38	济麦 19	鲁麦 13/临汾 5064
39	济麦 21	865186/川农大 84 - 1109//冀 84 - 5418
40	郑麦 98	济宁 13/942
41	青麦 6 号	莱州 137/978009

## 1.2 小麦的萌发

将小麦种子置于铺放 4 层滤纸的培养皿中,加入适量蒸馏水润湿后,置于 4 °C 春化 2 d,然后放置于 20 °C 的人工控温室中培养 7 d。

## 1.3 DNA 的提取

取出于 20 °C 培养 7 d 后的小麦幼苗,放入研钵中并加入液氮,研成粉末后,通过 CTAB 法提取其 DNA<sup>[15]</sup>。加入 RNaseA(北京天根),去除样品中的 RNA。加入酚氯仿,去除变性样品中剩余的蛋白,并通过冷冻的异丙醇沉淀 DNA。

## 1.4 PCR

在 10 μL 的 *Taq* Plus PCR MasterMix(北京天根)体系中加入 0.1 μg DNA 和 1 μL 引物<sup>[16]</sup>,表 2 中给出了不同的引物进行不同 PCR 的程序。

表 2 PCR 反应程序

Table 2 PCR temperature profiles

程序名称 Program name	PCR 程序 Applied PCR program
标准 SSR Standard PCR procedure(SSR)	94 °C for 2 min;94 °C for 1 min,X °C for 2 min ( X ranges between 50 ~ 62 °C ), 72 °C for 2 min,30 cycles;72 °C for 5 min
快速 PCR Quick PCR procedure (Q)	94 °C for 2 min;94 °C for 30 s,X °C for 1 min ( X ranges between 50 ~ 62 °C ),72 °C for 1 min,30 cycles;72 °C for 5 min
三步 PCR Three steps PCR procedure(3ST)	94 °C for 2 min;94 °C for 30 s,X °C for 1 min ( X ranges between 50 ~ 62 °C ),72 °C for 1 min 25 s,40 cycles;72 °C for 30 min
梯度 PCR Touchdown PCR procedure(TD)	94 °C for 2 min;94 °C for 1 min,Y °C for 1 min ( decreasing 1 °C per cycle ),( Y = 69 °C ,TD 62 或 67 °C ,TD 60 ),72 °C for 1 min,7 cycles;94 °C for 1 min,Z °C for 1 min(Z = 62 °C ,TD 62 或 60 °C ,TD 60 ), 72 °C for 1 min,35 cycles;72 °C for 5 min

## 1.5 SSR 电泳

电泳采用 6% 的变性聚丙烯酰胺凝胶电泳,设备为 BIO-RAD 的核酸序列分析电泳 Sequi-Gen GT。每个泳道上样 2 μL,上下槽缓冲液均为 1 × TBE (Tris 硼酸),恒定功率 65 W,电泳 100 min。电泳结束后,凝胶用蒸馏水稍冲洗,按照以下程序进行银染<sup>[17]</sup>:银染液(0.2% 硝酸银,1% 冰醋酸,10% 无水乙醇)震荡染色 15 min;蒸馏水洗 5 s;显影液(3% 无水氢氧化钠,0.5% 甲醛)显影约 1 min;蒸馏水洗 2 min,室温干燥,观察,拍照。

## 1.6 数据记录与分析

利用 AlphaView 1.2.0.1 软件(Alpha,美国)进行 SSR 位点检测与分子量计算,所采用的分子量 Marker 为 D2000(北京天根)。根据李根英等<sup>[17]</sup>文献中的 46 对 SSR 引物扩增所得的等位基因分子量及多态性等信息,对比本试验所检测到的位点多态性,将符合条件的条带视为 1 个等位基因并进行记录。根据相同迁移位置上(即分子量相同的 DNA 片段)条带分布情况对数据进行记录,有带时赋值为 1,无带时赋值为 0 的标准,全部转化为 1/0 格式。数据采用 NTSYS 2.10e 软件中 similarity 程序计算相似系数,以 clustering 程序中 SHAN 进行 UP-GMA (unweighted pair-group method with arithmetic means)聚类分析<sup>[18]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 SSR 标记多态性分析

46 对 SSR 引物分布于小麦基因组的 7 条染色体上,从中筛选出 20 对扩增带型清晰、稳定的核心引物,详见表 3。由这 20 对核心引物共检测出 69 个等位基因变异,每对引物检测出 1 ~ 8 个等位基因,平均为 3.45 个。在 20 对引物中以 dp190 等位基因数最多(8 个),引物 cw302、cw163 最少(1 个)。

### 2.2 41 种小麦种质资源的 DNA 指纹数据库的初步构建

根据带型清晰、可重复的原则,由 20 对核心引物中认定了 69 个等位基因,并依据 AlphaView 软件中条带与 Marker 的相对电泳位移计算出相应的分子量,将等位基因按分子量从大到小按引物名称加序号(1,2,3,4,5…)的方式进行编号。得到了 41 种小麦材料的 DNA 指纹数据库。每种材料的指纹信息分别包含 20 对 SSR 标记所检测到的不同等位基因的所处染色体位置等基本信息(表 3)。

表3 20对SSR核心引物在41个小麦品种中检测到的等位基因

Table 3 Alleles detected by 20 SSR core primer pairs in 41 wheat cultivars

引物名称 Primer pairs	染色体位置 Chromosomal location	等位基因(个) Alleles
dp038	1A	3
dp190	4A	8
dp205	5B	4
dp221	3D	2
dp297	2A	2
dp333	1D	3
xg044	7D	6
xg190	5D	3
xg194	4D	3
xg261	2D	4
xg415	5A	2
xg513	4B	4
xg570	6A	3
xg768	6B	3
xg247	3B	3
xg285	3B	5
xg469	6D	3
xg645	3D	6
cw302	4D	1
cw163	6D	1

## 2.3 核心引物对山东省小麦品种的遗传多样性分析

利用筛选出的20对核心引物对山东省41个小麦品种的遗传多样性进行了检测。根据20对引物的读带记录,利用NTSYS软件对41个品种进行聚类分析,获得了由20对核心引物对41个品种的聚类图(图1)。

在遗传相似系数0.68为阈值处,可以将41份材料分为3个类群,第I类群包含济麦20号、济麦22号、烟农19号、烟农24号、烟农5158、烟农2415、临麦4号、洲元9369、良星99、良星66、泰农18、泰山23号、山农15号、汶农14号、鲁麦21号、鲁麦23号、潍麦8号、邯6172、济宁16号、皖麦52号;第II类群包含济南2号、济南4号、济南8号、济南9号、济南13、济南17、山农辐63、鲁麦1号、鲁麦14、鲁麦15、泰山1号、泰山4号、碧玛1号、碧玛4号、蚰子麦、良星619、济麦19、济麦21、郑麦98、青麦6号;第III类群包含济南16。试验结果分析表明,SSR的聚类结果能较好地反映出材料之间的亲缘关系,材料的系谱信息见表1。如济南2号和济南4号来自于相同的亲本,而SSR的聚类结果表明,两者的亲缘关系最近,在相似系数为0.85的水平上被聚成一类。

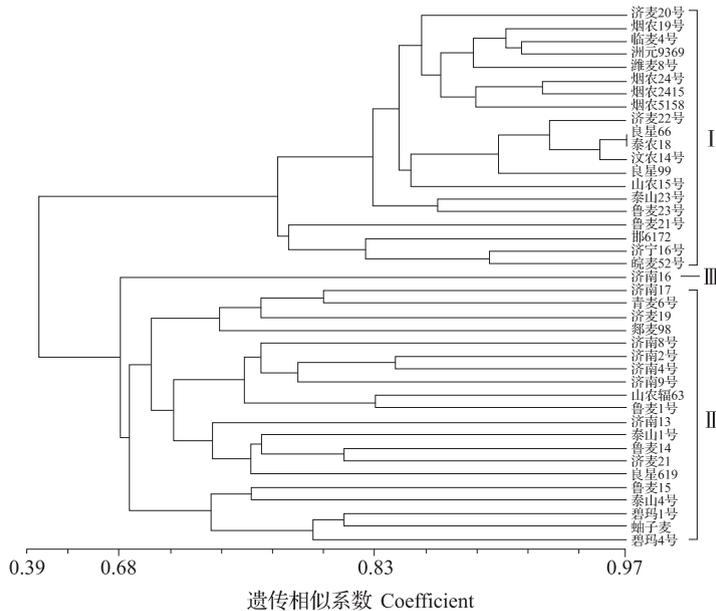


图1 41份材料的SSR聚类分析

Fig. 1 Cluster dendrogram of 41 cultivars based on SSR makers

## 3 讨论

### 3.1 SSR指纹图谱用于品种鉴定和纯度检测的优越性

随着同一作物品种的不断增多以及亲本的遗传基础日渐狭窄,种子形态特征方面可供鉴别的性状

有限,利用传统的形态学性状鉴定方法区分新品种日益困难;而采用田间调查品种性状的方法,时间长,费用高。和其他分析方法相比,利用SSR可检测出更多的等位基因差异<sup>[19]</sup>,甚至能够区分基因型极相近的不同品种。J. R. Russell等<sup>[20]</sup>发现利用15个多态性SSR可以区分59个遗传基础极其狭窄的

日本粳稻育成品种,而利用其中 5 个,即可区分 53 个品种。J. R. Russell 等<sup>[21]</sup>在大麦的研究中发现,由 4 个 SSR 组成的 3 个不同组合均可以区分 24 个大麦品种,错误概率仅为千分之一。利用杂交种双亲在一些 SSR 位点上的差异,可以将杂交种与其双亲甚至一些异源花粉造成的杂交种区分开。

在以前的研究中,多选用几十个分子标记构建某地小麦指纹库或者核心种质库,但试验方法和数据分析方式多有不同。比如李根英等<sup>[17]</sup>进行了分子标记试剂盒的研发,造价较高,技术平台要求也较高,不能在大多数的实验室中进行操作,不适宜推广。本实验室经过改进,使用普通 SSR 的方法得到了山东省小麦 DNA 指纹图谱数据库,降低了试验成本,便于技术指标的统一及标准化,更有利于构建小麦 DNA 指纹数据库工作的迅速开展,为山东省小麦遗传资源的收集、保存、分类、评价、核心种质的建立等研究工作提供理论依据。

### 3.2 品种的亲缘关系和分类研究

指纹图谱技术可以对植物基因型作出明确的鉴定,特别是对那些没有系谱记载的育种材料进行遗传分类,判断亲缘关系的远近,并估算这些材料之间的遗传距离,进行系谱分析,对指导科学配制杂交组合等方面具有重要作用。目前,蛋白质指纹图谱在国际国内已有一定的应用,DNA 指纹图谱的研究与利用的报道较少。因此,迅速开展我国主要作物品种指纹图谱的研究工作,建立我国主要作物品种指纹图谱数据库,是十分必要和切实可行的。

近年来,尽管小麦分子遗传图谱的构建取得了迅猛的发展,但仍存在以下缺点,需要不断改进:首先,在亲本选择上,多数是亚种间杂种,缺乏品种间杂交组合。这虽然对构建图谱本身来说可以提供丰富的差异,但对于真正应用于育种实践来说,选用品种间杂交组合不但必要,而且更贴近育种目标。特别是某些重要的经济性状或农艺性状,在亚种间或变种间的杂交后代中,不表现或表现不充分,难以获得完整的遗传信息。第二,绝大多数遗传图谱利用 RFLP 构建,其次是利用 RAPD;但由于 RFLP 标记检测程序复杂,成本较高,在标记辅助选择中不易应用。所以应进一步开发比较适用的 RAPD 及 AFLP 标记图谱或新型的分子标记例如 SSR、SNP 和 EST 等,使其为育种实践服务<sup>[22]</sup>。随着遗传图谱上 SSR 及其他标记饱和度的提高,将促使对小麦遗传基础的更深入了解,促进目标基因在品种间的转移,使得小麦种质资源的管理、利用和新品种的选育变得更加有效,极大地推动小麦的育种进程。

### 参考文献

- [1] 王凤涛,蔺瑞明,欧阳宏雨,等. 利用 SRAP 标记分析河南小麦栽培品种的遗传多样性[J]. 植物遗传资源学报,2010,11(10):517-521
- [2] 冯夏莲,何承忠,张志毅,等. 植物遗传多样性研究方法概述[J]. 西南林学院学报,2006(1):51-59
- [3] Romero C, Pedryc A, Munoz V. Genetic diversity of diferent apricot geographical groups determined by SSR markers [J]. Genome,2003,46(2):244-252
- [4] Yang G P, Saghai-MarooF M A, Xu C G. Comparative analysis of microsatellite DNA polymorphism in landraces and cultivars of rice[J]. Mol Gen Genet,1994,245:187-194
- [5] 朱作峰,孙传清,王象坤,等. 水稻品种 SSR 与 RFLP 及其与杂种优势的关系比较研究[J]. 遗传学报,2001,28(8):738-745
- [6] 段世华,毛加宁,朱英国. 用微卫星 DNA 标记对我国杂交水稻主要恢复系遗传差异的检测分析[J]. 遗传学报,2002,29(3):250-254
- [7] 李云海,肖晗,张春庆,等. 用微卫星 DNA 标记检测中国主要杂交水稻亲本的遗传差异[J]. 植物学报,1999,41(10):1061-1066
- [8] 王江春. 建国以来山东省小麦品种的遗传多样性分析[D]. 泰安:山东农业大学,2006
- [9] 张学勇,董玉琛,游光侠,等. 中国小麦大面积推广品种及骨干亲本的高分子量谷蛋白亚基组成分析[J]. 中国农业科学,2001,34(4):355-363
- [10] Manifesto M M, Schlatter A R, Hopp H E, et al. Quantitative evaluation of genetic diversity in wheat germplasm using molecular markers[J]. Crop Sci,2001,41:682-690
- [11] Prasad M, Varshney R K, Roy J K, et al. The use of microsatellites for detecting DNA polymorphism, genotype identification and genetic diversity in wheat [J]. Theor Appl Genet,2000,100:584-592
- [12] 高睦枪,刘冬成,郭小丽,等. 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
- [13] 崔国惠,倪中福,刘志勇,等. 小麦杂种优势群研究 III 普通小麦和斯卑尔脱小麦微卫星 7 分子标记遗传变异的研究[J]. 农业生物技术学报,1999,7(4):333-338
- [14] Prasad M, Varshney R K, Kumat A, et al. A microsatellite marker associated with a QTL for grain protein content on chromosome arm 2DL of breadwheat [J]. Theor Appl Genet,1999,99:341-345
- [15] Doyle J J, Doyle J I. Isolation of plant DNA from fresh tissue[J]. Focus,1990,12:13-15
- [16] 梁宏伟,王长忠,李忠,等. 聚丙烯酰胺凝胶快速、高效印染方法的建立[J]. 技术与方法,2008,30(10):1379-1382
- [17] 李根英, Susanne D, Marilyn L W, 等. 小麦指纹图谱数据库的建立及 SSR 分子标记试剂盒的研发[J]. 作物学报,2006,36(12):1771-1778
- [18] 马红勃,许旭明,韦新宇,等. 基于 SSR 标记的福建省若干水稻品种 DNA 指纹图谱构建及遗传多样性分析[J]. 福建农业学报,2010,25(1):33-38
- [19] Panoad O, Chen X, McCouth S R. Frequency of microsatellite sequences in rice (*Oryza sativa*) [J]. Genome, 1995, 38:1170-1176
- [20] Russell J R, Fuller J D, Macaulay M, et al. Direct comparison of levels of genetic variati on among barley accessions detected by RFLPs, AFLPs, SSRs and RAPDs [J]. Theor Appl Genet,1997,95:714-722
- [21] Russell J R, Fuller J, Young G, et al. Discrimination between barley genotypes using microsatellite markers [J]. Genome,1997,40:442-450
- [22] 张坤普. 小麦分子遗传图谱的构建及数量性状基因定位[D]. 泰安:山东农业大学,2008