

用SSR标记检测杂交水稻三系亲本的遗传差异*

陈英^{1,2} 邱琳² 涂升斌^{1**} 栾丽¹ 王兴¹ 龙文波¹

(¹中国科学院成都生物研究所 成都 610041)

(²中国科学院研究生院 北京 100049)

摘要 随机选用分布于水稻 (*Oryza sativa* L.) 12条染色体上的110对引物, 共筛选出26对具有多态性的SSR引物, 对24份杂交水稻三系亲本材料进行遗传多样性和亲缘关系分析. 全部24份亲本中共检测出116对等位基因, 每个SSR引物可检测到的等位基因数目为2~7个不等, 平均每对引物可以检测到4.4个等位基因. 多态信息量 (PIC) 的变动范围为0.068 9~0.803 6, 平均PIC值为0.603 4; 期望杂合度 (H_e) 的变动范围为0.081 6~0.829 8, 平均值为0.616 9; 多样性指数 (I) 变幅为0.173 2~1.791 3, 平均为1.160 0. 对供试亲本材料根据遗传距离进行UPGMA聚类分析, 结果表明, SSR微卫星标记可以将24份亲本材料分为3个大群, 各组亲本间的遗传差异较大. 通过分子标记辅助育种, 可以有效地鉴定供试亲本材料之间的亲缘关系, 分析预测新种质材料的遗传差异, 可作为选育强优势组合杂交水稻的重要参考指标之一. 图2 表3 参24

关键词 SSR; 水稻亲本; 遗传多样性; 聚类分析

CLC S511.035.3

Genetic Variation of Three-line Parents of Indica Hybrid Rice Detected with SSR Markers*

CHEN Ying^{1,2}, QIU Lin², TU Shengbin^{1**}, LUAN Li¹, WANG Xing¹ & LONG Wenbo¹

(¹Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041, China)

(²Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract Totally, 24 three-line parents of indica hybrid rice (*Oryza sativa* L.) were used to analyze their genetic diversity and genetic relationship by using 26 polymorphous primer pairs selected from 110 SSR (Simple sequence repeats) which dispersed on 12 chromosomes in rice. Those primers detected 116 alleles from all the 24 parents. The alleles number might range from 2 to 7 with an average of 4.4. The PIC (Polymorphism index content) value of the polymorphic markers ranged from 0.068 9 to 0.803 6, with average of 0.603 4. The expected heterozygosity (H_e) ranged from 0.081 6 to 0.829 8 and the average was 0.616 9. However, Shannon's information index (I) ranged from 0.173 2 to 1.791 3 with average of 1.160 0. Furthermore, according to the results of cluster analysis by UPGMA method, the 24 parents materials were classified into three groups by microsatellite markers, and the parents among the groups showed relatively large genetic variation, which could be used to identify the relationship among the parents, and also to predict the heterosis of new materials by molecule markers assisted selection. The results provide a good reference to the choice of higher heterosis hybrid combinations in rice breeding. Fig 2, Tab 3, Ref 24

Keywords simple sequence repeats; parents of the indica hybrid rice; genetic diversity; cluster analysis

CLC S511.035.3

杂种优势利用是提高农作物产量的主要途径之一. 育种实践证明, 充分了解亲本材料的遗传背景, 合理选择杂交亲本配置强优势组合, 是有效利用杂种优势的关键. 近年来, 利用RAPD、RFLP等DNA分子标记技术对水稻、小麦、玉米亲本之间的遗传差异应用较多^[1-3]. 然而, RAPD为显性标记, 重复性、稳定性等问题仍需考证. RFLP在检测亲缘关系较近材料之间的多态性、对材料较少或仅需对少数位点快速检测时, 又有不足之处^[4]. SSR又称微卫星DNA标记 (Microsatellite), 是一种新的DNA标记技术, 具有多态性高、稳定性好、实验操作简单方便等特点, 已广泛应用于DNA指

纹图谱构建、遗传关系分析、品种鉴定、分子标记辅助育种等领域^[5-7]. SSR为共显性的遗传标记, 在水稻基因组中的多态性高, 因此广泛应用于水稻遗传多态性的研究. 李云海等利用微卫星标记分析检测了33份中国主要杂交水稻亲本材料的遗传差异, 筛选出5对引物能够有效区分水稻雄性不育系和恢复系, 同时对所有供试材料进行聚类分析, 确定杂交水稻之间的亲缘关系, 以评估其遗传多样性及利用现状^[5]. 段世华等用SSR技术对主要的恢复系遗传差异进行检测分析, 认为杂交稻恢复系遗传资源丰富, 遗传差异较小, 遗传背景单一^[8]. 王忠安、彭锁堂等对我国主要杂交组合及其亲本进行了SSR分析, 认为SSR标记可以有效鉴定亲本间亲缘关系, 检测种子纯度, 预测杂种优势等^[9-10]. SSR目前也逐渐应用于多倍体杂种优势的研究中. 栾丽、涂升斌等利用SSR分子标记对同源四倍体与二倍体水稻进行多态性分析, 初步揭示了同源四倍体水稻的基因组与二倍体水稻之间的遗传差

收稿日期: 2008-09-01 接受日期: 2008-12-05

*中国科学院对外合作重点项目 (No. GJHZ0955) 资助 Supported by the External Cooperation Program of the Chinese Academy of Science (No. GJHZ0955)

**通讯作者 Corresponding author (E-mail: tusb@cib.ac.cn)

异,并建立部分同源四倍体水稻指纹系统,为进一步了解四倍体水稻杂种优势分子机理提供了依据^[11-14]。目前,应用SSR分子标记技术对我国生产上大量使用的杂交水稻三系核心亲本DNA指纹系统性的研究及杂种优势利用研究也正在陆续开展。本研究利用SSR分子标记技术对我们培育出的部分新的杂交水稻三系亲本材料进行检测,分析新材料与其他生产上常用的籼稻亲本之间的遗传差异,区分不同材料的遗传背景,以期更好地利用分子标记辅助育种,提高选配强优势组合的预见性和育种效率。

1 材料与方法

1.1 供试材料

本实验共选用了24份水稻材料进行SSR多态性分析,其中包括中国科学院成都生物研究所培育的科1A、科7B等新材料,还包括我国大面积应用的部分二倍体杂交水稻亲本材料,其中不育系亲本材料7份、保持系亲本材料7份、恢复系10份(表1)。

表1 实验材料及其来源和特征

Table 1 Sources and characteristics of the materials used in this study

编号 No.	品种名称 Variety	来源 Source	特征 Characteristics	编号 No.	品种名称 Variety	来源 Source	特征 Characteristics
1	R1319	CIB	R	13	R1577	宜宾 Yibin	R
2	206A	CIB	S	14	中九A Zhongjiu A	杭州 Hangzhou	S
3	206B	CIB	M	15	绵5A Mian 5A	绵阳 Mianyang	S
4	科1A Ke 1A	CIB	S	16	D62B	SAUIR	M
5	R725	SAUIR	R	17	R1305	CIB	R
6	R1272	CIB	R	18	改良527 Improved 527	CIB	R
7	川香28A Chuanxiang 28A	成都 Chengdu	S	19	宜香B Yixiang B	宜宾 Yinbin	M
8	D62A	SAUIR	S	20	川香28B Chuanxiang28B	成都 Chengdu	M
9	宜1577(改) Yi 1577(Improved)	宜宾 Yibin	R	21	绵5B Mian 5B	绵阳 Mianyang	M
10	科5A Ke 5A	CIB	S	22	科7B Ke 7B	CIB	M
11	明恢63 Minghui 63	福建 Fujian	R	23	蜀恢527 Shuhui 527	SAUIR	R
12	R1585	CIB	R	24	科5B Ke 5B	CIB	M

CIB: 中国科学院成都生物研究所; SAUIR: 四川农业大学水稻研究所。M: 保持系; R: 恢复系; S: 不育系

CIB: Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences; SAUIR: Institute of Rice, Sichuan Agriculture University. M: Maintainer line; R: Restorer line; S: Sterile line

1.2 方法

1.2.1 DNA提取方法 选用水稻新鲜叶片,参照McCouch等的SDS法^[15]大量提取水稻基因组DNA:取水稻叶子各一片,放入研钵中加入液氮研磨并转入1.5 mL离心管中,加入预热的65 °C SDS提取缓冲液600 μL(100 mmol L⁻¹ Tris-HCl, pH 8.0; 50 mmol L⁻¹ EDTA, 500 mmol L⁻¹ NaCl, 1.25% SDS),混匀后65 °C水浴30 min,其间不时轻摇以免成团,加入200 μL 5 mol L⁻¹的KAC,混匀后冰浴20 min;加入400 μL 24:1的氯仿:异戊醇,混匀后10 000 r/min离心10 min,收集上清液,加入0.6~1倍体积事先-20 °C预冷的乙醇,缓慢旋转混匀后放入4 °C冰箱;10 000 r/min离心10 min,弃上清,用70%的乙醇轻洗2~3次,自然干燥30 min,加超纯水溶解保存备用。

1.2.2 SSR分子标记分析 选用于水稻微卫星图谱中12条染色体臂上的110对引物,所有引物由四川农业大学水稻研究所提供。PCR扩增反应在Biometra UNO型热循环仪上进行。反应体系采用25 μL体系:2.0 μL模板DNA(25 pmol);0.3 μL Tap polymerase(1U);2.5 μL buffer;2.0 μL primer;14.2 μL ddH₂O。反应程序为:94 °C 预变性5 min,94 °C变性40 s,55

°C退火40 s,72 °C延伸40 s,35个循环后72 °C延伸4 min。扩增产物加适量上样缓冲液后点样,在体积分数为8%的聚丙烯酰胺凝胶(PAG)中以1×TBE缓冲液为介质,恒压250 V,电泳时间2 h。电泳结束后,采用快速银染法染色,所得凝胶用保鲜膜包裹后晾干,并数码拍照(KODAR)。

1.2.3 数据统计与分析 选用分布于水稻12条染色体上的110对SSR引物,从中筛选多态性好的引物进行统计分析。每一对SSR引物检测一个位点,每一条多态性带视为一个等位基因;将所观察到的每一条带视为一个性状,每个样品的电泳条带按有或无记录,电泳条带存在赋值为“1”,否则赋值为“0”,列出二元数据矩阵。每两份材料之间的遗传差异按Nei和Li的方法^[16]计算品种间的相似系数(G_s)或遗传距离(D): $G_s = 2Mxy/(Mx+My)$, $D = 1 - 2Mxy/(Mx+My)$,其中Mx和My分别为两材料的总DNA片段数,Mxy为两材料的公共片段数。根据所得的遗传距离,用UPGMA法(Unweighed pair-group method with arithmetic mean,算术平均非加权配组法)进行遗传相似性聚类,统计分析在NTSYS-ver.1.8构建并绘

制树状图。统计各个材料的扩增条带数,数据通过PopGen ver.1.31软件进行处理,计算各品种间的遗传多样性参数:

① 多样性指数(I):用来表示基因多样性水平;② 多态信息量(PIC):根据Smith等报道的方法^[17]计算PIC(Polymorphism index content)值, $PIC = 1 - \sum f_i^2$, f_i 表示第*i*个等位基因(Allele)的频率。PIC值反映了某一引物对品种的区分能力,PIC值不仅与等位基因的数目有关,而且与等位基因的频率有关;③ 总等位基因数(N_a);④ 有效等位基因数(N_e):纯合度的倒数,表明等位基因间的相互影响。等位基因在群体中分布越均匀,有效等位基因数越接近检测的等位基因绝对数;⑤ 观察的杂和度($Exp-H_{om}$)与期望的杂和度($Exp-H_e$),度量群体遗传变异。

2 结果与分析

2.1 SSR扩增结果及亲本材料间多态性分析

随机选用110对来源于不同染色体微卫星标记对供试材料进行扩增,其中具有多态性的引物26对(表2),占所用引物的23.63%。这些引物对所有供试材料的扩增产物重复性

好, 特异性高, 条带清晰且多态性丰富. 对这26对引物扩增结果进行统计, 在24份水稻亲本材料间共检测出116个等位基因, 每个SSR位点可检测到的等位基因数目为2~7个不等, 在试验中未出现零等位现象, 平均每对SSR引物检测到4.4个等位基因. PIC值的变动范围为0.068 9~0. 803 6, 平均PIC值为0.603 4 (表2). 另外, 引物RM517在材料宜香B中经两次重复实验均无扩增产物. 其中RM5、RM307等多对引物对供试材料区分效果较好, 电泳扩增结果见图1.

表3为供试材料在26个微卫星座位上的观察杂合度、期望杂合度、有效等位基因数、多样性指数. 在这26个SSR位点中, 等位基因的数量变化较大. 在所选的籼稻亲本材料中, 观察杂合度 (H_o) 变幅为0.170 2~0.918 4, 平均0.383 1; 期望杂合度 (H_e) 的变动范围为0.081 6~0.829 8, 平均杂合度为0.616 9; 多样性指数 (I) 变幅为0.173 2~0.914 8, 平均多样性指数为1.160 0; 有效等位基因数 (N_e) 的变动范围是1.086 8~5.333 0, 平均有效等位基因数为2.970 9, 反映了水稻品种丰富的遗传多样性, 并在一定程度表明扩增等位基因的多少与PIC值有

一定的相关性, 这与张金渝等的研究结论^[18]一致.

2.2 杂交水稻三系亲本材料遗传差异及聚类分析

本实验根据26个具有多态性的SSR引物在24个杂交亲本水稻扩增的SSR多态性位点, 利用POPGENE软件计算出不同个体之间的扩增片段遗传距离 (D), 采用标准遗传距离进行分析. 结果表明, 各亲本之间的遗传距离在0.115 4~0.884 6之间, 川香28A与R1319之间遗传距离最小为0.115 4, R725与R1272之间的遗传距离最大为0.884 6, 24个亲本之间的平均遗传距离为0.696 9.

根据26对SSR引物所检测出的116个等位基因, 对24份供试三系亲本材料进行聚类分析, 取阈值0.68可以将所有材料分为三大类 (图2). 第一类: 共有10份材料, 包括6个不育系、3个保持系、1个恢复系, 此类群以0.76的相似系数为标准, 又可以分为三小类: I类: F206A与F206B两者遗传距离较小聚为一小类, 具有相似的遗传背景, 亲缘关系最近, 田间生长表现基本一致; II类: 科1A、川香28A、川香28B三个材料聚在一类, 它们都具有相似的亲本血缘; III类: D62A、D62B、

表2 SSR标记的基序、染色体位置、等位基因数目、PIC值和IR36中的碱基数目
Table 2 Motif, chromosome, number of alleles, PIC value and size (bp) in IR36 for SSR markers

编号 No.	位点 Locus	SSR基序 SSR motif	染色体位置 Chromosome	等位基因数目 No. of alleles	多态信息量 PIC value	IR36碱基数目 Size in IR36 (bp)
1	RM293	(gt) ₂₀	3	6	0.7743	207
2	RM164	(gt) ₁₆ tt(gt) ₄	5	7	0.8125	246
3	RM5	(ga) ₁₄	1	5	0.6944	113
4	RM439	(aat) ₁₃	6	5	0.5938	269
5	RM31	(ga) ₁₅	5	6	0.6944	140
6	RM482	(at) ₉	2	6	0.7396	188
7	RM161	(ag) ₂₀	5	5	0.7326	187
8	RM339	(ctt) ₆ cct(cct) ₅	8	5	0.6597	148
9	RM104	(ga) ₉	1	3	0.6111	222
10	RM60	(aatt) ₅ aattct(aatt)	3	6	0.8021	165
11	RM175	(ccg) ₈	3	2	0.4132	95
12	RM48	(ga) ₁₇	2	2	0.1528	204
13	RM282	(ga) ₁₅	3	5	0.7604	136
14	RM307	(at) ₁₄ (gt) ₂₁	4	6	0.7257	174
15	RM402	(ata) ₁₇	6	4	0.6319	133
16	RM105	(cct) ₆	9	2	0.0799	134
17	RM344	(ttc) _{2,5} (ctt) ₃ (ctt) ₄	8	3	0.5312	163
18	RM415	(at) ₂₁	12	5	0.7812	227
19	RM412	(ga) ₂₂	6	4	0.4167	198
20	RM102	(ggc) ₇ (cg) ₆	12	5	0.6667	311
21	RM201	(ct) ₁₇	9	5	0.5972	158
22	RM164	(gt) ₁₆ tt(gt) ₁₄	5	5	0.6424	246
23	RM126	(ga) ₇	8	3	0.5694	171
24	RM213	(ct) ₁₇	2	4	0.6319	139
25	RM157	(ct) ₁₁ (tc) ₁₀	3	3	0.4062	137
26	RM517	(ct) ₁₅	3	4	0.5833	266

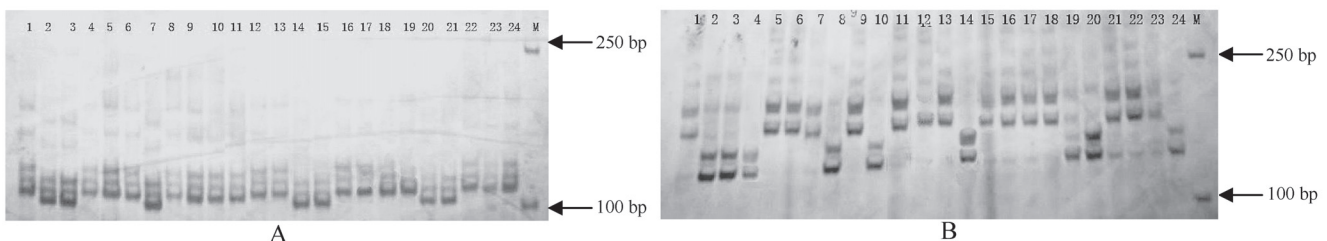


图1 引物RM5 (A) 和RM307 (B) 的扩增结果 (顺序依次为1~24号材料)

Fig. 1 Products of RM5 (A) and RM307 (B) (Lanes 1~24 indicate the 24 rice varieties in Table 1 with the same order)

表3 SSR引物在三系籼稻亲本中的遗传多样性参数
Table 3 Parameters of genetic diversity in the three-line parents of indica rice by SSR primers

编号 No.	引物 Primer	总等位基因 N_a	有效等位基因数 N_e	多样性指数 I	观察的杂和度 $Exp-H_{om}$	期望的杂和度 $Exp-H_e$	多态信息量 PIC
1	RM293	6	4.4308	1.6108	0.2092	0.7908	0.7743
2	RM164	7	5.3333	1.7913	0.1702	0.8298	0.8125
3	RM5	5	3.2727	1.3507	0.2908	0.7092	0.6944
4	RM439	4	2.4615	1.1082	0.3936	0.6064	0.5938
5	RM31	6	3.2727	1.4659	0.2908	0.7092	0.6944
6	RM482	6	3.84	1.5119	0.2447	0.7553	0.7396
7	RM161	5	3.7403	1.4234	0.2518	0.7482	0.7326
8	RM339	4	2.9388	1.1762	0.3262	0.6738	0.6597
9	RM104	3	2.5714	1.0114	0.3759	0.6241	0.6111
10	RM60	6	5.0526	1.6863	0.1809	0.8191	0.8021
11	RM175	2	1.7041	0.6036	0.578	0.422	0.4132
12	RM48	2	1.1803	0.2868	0.844	0.156	0.1528
13	RM282	5	4.1739	1.4836	0.2234	0.7766	0.7604
14	RM307	6	3.6456	1.4819	0.2589	0.7411	0.7257
15	RM402	4	2.717	1.1177	0.3546	0.6454	0.6319
16	RM105	2	1.0868	0.1732	0.9184	0.0816	0.0799
17	RM344	3	2.1333	0.8293	0.4574	0.5426	0.5312
18	RM415	5	4.5714	1.5631	0.2021	0.7979	0.7812
19	RM412	4	1.7143	0.837	0.5745	0.4255	0.4167
20	RM102	5	3	1.3144	0.3191	0.6809	0.6667
21	RM201	5	2.4828	1.166	0.3901	0.6099	0.5972
22	RM164	5	2.7961	1.2801	0.344	0.656	0.6424
23	RM126	3	2.3226	0.9596	0.4184	0.5816	0.5694
24	RM213	4	2.717	1.1177	0.3546	0.6454	0.6319
25	RM157	3	1.6842	0.7356	0.5851	0.4149	0.4062
26	RM517	4	2.4	1.0751	0.4043	0.5957	0.5833
	Mean	4.3846	2.9709	1.16	0.3831	0.6169	0.604

I : 多样性指数; N_a : 总等位基因; N_e : 有效等位基因数; $Exp-H_{om}$: 观察的杂和度; $Exp-H_e$: 期望的杂和度

I : Shannon's information index; N_a : Observed number of alleles; N_e : Effective number of alleles; $Exp-H_{om}$: Expected homozygosity; $Exp-H_e$: Expected heterozygosity

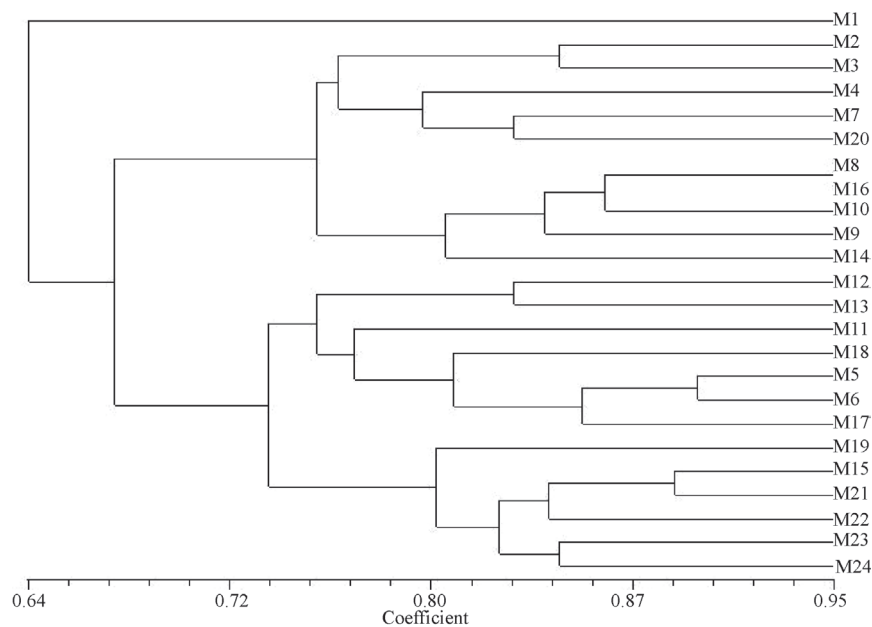


图2 24份籼稻亲本相似性系数图(材料编号与表1相同)

Fig. 2 Dendrogram of similarity among the 24 parents of indica rice (The numbers of materials are the same as those in Table 1)

科5A、中九A、宜1577四个材料为一小类,其中D62A、D62B两者没有被分开,说明其在多态性位点上没有差异,系谱来源接近,这与田间实践D62A、D62B农艺性状一致,与其核基因组一致的结论相吻合。第二类:按照遗传相似系数0.768的标

准,又可以分为2个亚组。1亚组包括R1585、R1577、明恢63、改良527、R725、R1272、R1305,均为恢复系材料。其中R1272是由R725改良而来。2亚组包括宜香B、绵5A、绵5B、科7B、科5B、蜀恢527。由遗传距离得知,宜香5B与科7B两个保持系材

料相距0.49, 小于平均遗传距离, 符合实际育种田间表现型无明显差异表现. 第三类, R1319, 该恢复系材料单独聚类且与其它材料间遗传距离较远, 说明与别的恢复系有较大的遗传差异. 以上聚类结果与亲本材料的亲缘关系基本一致, 说明了SSR标记用来分析水稻品种资源遗传基础的可靠性.

3 讨论

优质丰富的水稻种质资源是水稻育种的基础, 而掌握亲本材料的遗传多样性程度和亲缘关系的远近是育种的关键. 目前, SSR是一种应用非常广泛的评估检测水稻种质遗传多样性和遗传差异的技术. 本实验也在一定程度上说明了SSR分子标记具有多态性高的特点. 实验中利用110对引物筛选出具有多态性的SSR引物26对, 扩增出116个等位基因, 平均每对4.4个等位基因, 平均多态信息量(PIC)为0.603 4, Shannon多样性指数为1.160 0, 反映了水稻地方品种丰富的遗传多样性. 在本试验中, 尽管很多材料的遗传背景相似, 甚至有部分材料是同一骨干亲本转育而来, 但是SSR标记仍可以检测到较高水平的多态性, 其多态性结果和现有报道的实验结果一致^[19].

遗传差异是产生杂种优势的基础. SSR分子标记技术可有效检测供试材料的亲缘关系和遗传差异. 虽然目前对杂种优势和遗传距离仍有争议^[4, 20-21], 但Xiao、Zhang等认为在一定范围内杂种优势的大小取决于双亲的遗传差异和性状互补, 差异越大, 优势越明显^[22-23]. 籼粳杂交比粳粳杂交更易获得杂种优势. 随着遗传距离的增大, 获得较强杂种优势组合的几率也越高. 在本试验中, 根据聚类分析树状图, 可以将所有24份水稻亲本材料聚为三大类, 遗传距离相对较远的亲本组合可以获得更高的优势. 但是亚组间品系的差异与组间的差异相比显著性降低. 在24个不同的籼稻品系中, 206A和206B, D62A和D62B, 川香28A和川香28B, 绵5A和绵5B紧密地聚在一起, 即遗传距离最小, 这也说明它们之间的遗传差异很小. 保持系与不育系之间, 经SSR引物筛选, 没有发现具有差异的等位基因, 可能的主要原因是在长期的繁殖培育过程中, 不育系与相应的保持系连续回交被核置换的结果. 通过分析恢复系与不育系间的遗传距离, 利用遗传距离远的材料间配制组合可以产生较强的杂种优势.

目前, 利用遗传距离与双亲间的差异进行品种组合也取得较大的进展. 例如2002年通过全国农作物品种审定委员会审定现大面积推广的D优527双亲是由分布于不同亚群的蜀恢527与D62A不育系测交组合, 比相应的同一个类群的不育系与明恢63测交F1结实率高, 表现更强的杂种优势. 绵5A/R725、绵5A/R1577、宜香A/R1577等组合, 遗传距离相对较远, 与实际生产实践中选择群间或者亚群间的亲本更容易获得强优势组合的结论一致. 邱福林等对北方粳稻骨干亲本进行了遗传差异鉴定和糯性程度分析, 认为选择遗传差异较大的组间组合产生的杂种优势强于组内亲缘关系较近的组合^[24]. 在生产上常用的杂交水稻亲本常常被划分在不同的类群中. 这与我们田间实验结果相吻合. 通过配组对成都生物所选育的新的三系亲本材料进行组合, 发现科1A/R1585、科1A/R1305等的杂种优势较强, 现正在进行试验示范. 由此分析表明, 我们可以通过SSR分子标记技术选取具有较多多态

性的引物, 建立一套合适的水稻SSR指纹, 更有效地分析相应亲本材料间的亲缘关系. 亲本的遗传谱系及遗传差异可以作为选育强优势杂交水稻组合的重要参考指标之一, 从而进行有效预测和组配杂交强优势组合, 缩短育种时间.

References

- Zhang PJ (张培江), Cai HW (才宏伟), Li HC (李焕朝), Yang LS (杨联松), Sun CQ (孙传清), Zhan XC (占新春), Bai YS (白一松), Hu XM (胡兴明), Xu CW (许传万). Genetic diversity detected with RFLP makers among rice cultivars (*Oryza sativa* L.) and its utilization. *J Anhui Agric Sci* (安徽农业科学), 2001, **29** (1): 6~11
- Wu W (吴卫), Zheng YL (郑有良), Wei YM (魏育明), Zhou YH (周永红), Liu DC (刘登才). Parental diversity of the crosses with strong heterosis in wheat based on RAPD markers. *J Sichuan Agric Univ* (四川农业大学学报), 1999, **17** (2): 123~128
- Munm RH, Hubert LJ, Dudley JW. A classification of 148 US maize inbreds: Validation of cluster analysis based on RFLPs. *Crop Sci*, 1999, **34**: 852~864
- Zhu ZF (朱作峰), Sun CQ (孙传清), Jiang TB (姜廷波), Fu Q (付强), Wang XK (王象坤). The comparison of genetic divergences and its relationships to heterosis revealed by SSR and RFLP markers in rice (*Oryza sativa* L.). *Acta Gen Sin* (遗传学报), 2001, **28** (8): 738~745
- Li YH (李云海), Xiao H (肖晗), Zhang CQ (张春庆), Hu GC (胡国成), Yu YH (于永红), Jia JZ (贾继增), Sun ZX (孙宗修). Genetic variation of main parents of hybrid rice in China was revealed with simple sequence repeat markers. *Acta Bot Sin* (植物学报), 1999, **41** (10): 1061~1066
- Fan YY (樊叶杨), Zhuang YJ (庄云杰), Wu JL (吴建利), Sun BL (孙宝龙), Zheng KL (郑康乐). SSCP-based identification of subspecies in rice (*Oryza sativa* L.). *Hereditas* (遗传), 2000, **22** (6): 392~394
- Chen X, Temnykh S, Xu Y, Cho YG, McCouch SR. Development of a microsatellite framework map providing genome-wide coverage in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor Appl Genet*, 1997, **5**: 553~567
- Duan SH (段世华), Mao JN (毛家宁), Zhu YG (朱英国). Genetic variation of main restorer lines of hybrid rice in China was revealed by microsatellite. *Acta Gen Sin* (遗传学报), 2002, **29** (3): 250~254
- Wang ZA (王忠安). Analysis on the polymorphism among the parents of two-line hybrid rice by microsatellite markers. *Hybrid Rice* (杂交水稻), 2004, **19** (2): 59~61
- Peng ST (彭锁堂), Zhuang YJ (庄云杰), Yan QC (颜启传), Zheng KL (郑康乐). SSR markers selection and purity detection of major hybrid rice combinations and their parents in China. *Chin J Rice Sci* (中国水稻科学), 2003, **17** (1): 1~5
- Luan L (栾丽), Kong FL (孔繁伦), He T (何涛), Liu G (刘刚), Tu SB (涂升斌). Genetic variation of tetraploid and diploid rice by microsatellite marks. *Chin J Appl Environ Biol* (应用与环境生物学报), 2004, **10** (5): 556~558
- Luan L (栾丽), Tu SB (涂升斌), Kong FL (孔繁伦), He T (何涛). Wx gene variation of tetraploid and diploid rice. *Chin J Appl Environ Biol* (应用与环境生物学报), 2005, **11** (4): 404~407
- Luan L, Wang X, Long WB, Liu YH, Tu SB, Zhao ZP, Kong FL, Yu MQ. Microsatellite analysis of genetic variation and population genetic

- differentiation in autotetraploid and diploid rice. *Biochem Genet*, 2008, **46**: 248~266
- 14 Tu SB (涂升斌), Kong FL (孔繁伦), Xu QF (徐琼芳), He T (何涛). Breakthrough in hybrid rice breeding with autotertraploid. *CAS Bull* (中国科学院院刊), 2003, **6**: 426~428
- 15 McCouch S R. Molecular mapping of rice chromosome. *Theor Apple Genet*, 1988, **76**: 815~829
- 16 Nei M. *Molecular Evolution Genetic*. New York: Columbia University Press, 1987. 190~191
- 17 Smith JSC, Chin ECL, Shu H, Smith OS, Wall SJ, Senior ML, Mitchell SE, Kresovich S, Ziegler J. An evolution of the utility of SSR loci as molecular markers in maize (*Zea mays* L.): Comparisons with data from RFLP and pedigree. *Theor Appl Genet*, 1997, **95**: 163~173
- 18 Zhang JY (张金渝), Zhang JH (张建华), Yang XH (杨晓洪), Jin H (金航), Wang B (王波), Xiao ZW (肖植文), Kong LM (孔令明), Mi YH (米艳华), Hua QJ (华秋瑾). A study on genetic group classification of *Waxy* corn landraces in Yunnan by SSR marker. *J Maize Sci* (玉米科学), 2007, **15** (1): 53~58
- 19 Song ZP, Xu X, Wang B, Chen JK, Lu BR. Genetic diversity in the northernmost *Oryza rufipogon* populations estimated by SSR markers. *Theor Appl Genet*, 2003, **107**: 1492~1499
- 20 He HH (贺浩华), Luo XJ (罗小金), Zhu CL (朱昌兰), He XP (贺晓鹏), Fu JR (傅军如), Sun JL (孙俊立), Zhong HL (张洪亮), Li ZC (李自超). Classification for some sterile lines and their restorers of hybrid rice with SSR markers. *Acta Agro Sin* (作物学报), 2006, **32** (12): 169~175
- 21 Liao FM (廖伏明), Zhou KL (周坤炉), Yang HH (杨和华), Xu QS (徐秋生). Genetic difference of parents and its relation to heterosis in hybrid rice. *Chin J Rice Sci* (中国水稻科学), 1998, **12** (4): 193~199
- 22 Zhang QF, Gao YL, Maroof MAS, Yang SH, Li JX. Molecular divergence and hybrid performance in rice. *Mol Breeding*, 1995, **1**: 133~142
- 23 Xiao J, Li J, Yuan L. Genetic diversity and its relationship to hybrid performance and heterosis in rice as revealed by PCR-based markers. *Theor Appl Genet*, 1996, **92**: 637~643
- 24 Qiu FL (邱福林), Zhuang YJ (庄杰云), Hua ZT (华泽田), Wang YR (王彦荣), Cheng SH (程式华). Inspect of genetic differentiation of main parents of japonica hybrid rice in the northern China by simple sequence repeat (SSR). *Chin J rice Sci* (中国水稻科学), 2005, **19** (2): 101~104

欢迎订阅2010年《分子植物育种》

《分子植物育种》是一份为转基因育种、分子标记辅助育种及常规育种服务的科学杂志，也是中国唯一的一份以育种为名的科学杂志。于2003年创刊，创刊伊始即被美国化学文摘(CA)，中国科学引文数据库、中国科技期刊全文数据库、中国引文数据库，中国科技期刊数据库、中文科技期刊数据库，中国核心期刊(遴选)数据库，中国生物学文摘和中国生物学数据库等多家中外文献数据库收录。2008年中国CNKI影响因子达到1.23的新高度，中国自然科学核心期刊影响因子达到1.229的新起点。同时，《分子植物育种》已建立了全英文的期刊网站，定期发布学术动态、出版信息及期刊近期目录等，实现作者编者读者同步分享。

《分子植物育种》包括专题评述、研究论文、研究报告、专题介绍、学位论文简报、新基因新种质新品种、新思路新技术新方法和信息索引等栏目。主要围绕水稻、小麦、玉米、油菜、大豆、棉麻、薯类、果树、蔬菜、花卉、茶叶、林草等方面。《分子植物育种》已经成为植物育种及相关研究领域研究成果发表和交流的最重要学术平台，代表了目前中国分子植物育种的现实情况，是了解中国分子植物育种的一个重要窗口。

欢迎订阅《分子植物育种》，本刊单月28日出版，国内定价：¥40.00/期，¥240.00/年；国际定价：\$20.00/期，\$120.00/年。国内统一刊号：CN46-1068/S，国际标准刊号：ISSN1672-416X，邮发代号：84-23。订户可到当地邮局订，或直接汇款至编辑部，免收邮费。

地址：海南省海口市海秀大道128号双岛公寓13B室 邮编：570206

联系电话：0898-68966415 传真：0898-68958180

E-mail: mpb@hibio.org, mpb@molplantbreed.org 网址：www.molplantbreed.org