植物学通报 2005, **22** (1): 121~128
*Chinese Bulletin of Botany*

学 术 论 坛

# 中国玉米新品种标准DNA指纹库构建研究的几点思考①

[1,2]王凤格 [1]赵久然② [1]郭景伦 [3]孙世贤

[1](北京市农林科学院玉米研究中心 北京 100089) [2](中国农业大学农学与生物技术学院 北京 100094)
[3](全国农业技术推广服务中心 北京 100026)

**摘要** 概述了中国玉米新品种DNA指纹库构建研究中的五个主要问题，即选用哪些品种材料、选用什么标记方法、SSR标记存在哪些问题、选用哪些SSR引物及如何提高建库效率等，并提出了相应的解决方案，对其应用前景及主要应用领域进行了探讨。

**关键词** 玉米，DNA指纹库，SSR

# Review of Research into Establishing a DNA Fingerprinting Database of New Chinese Maize Cultivars

[1,2]WANG Feng-Ge [1]ZHAO Jiu-Ran② [1]GUO Jing-Lun [3]SUN Shi-Xian

[1](*Maize Research Center, Beijing Academy of Agricultural and Forestry Science*, Beijing 100089)
[2](*College of Agriculture and Biotechnology, China Agriculture University*, Beijing 100094)
[3](*The National Service Center of Agricultural Technique Population*, Beijing 100026)

**Abstract** We summarize five main problems in establishing a DNA fingerprinting database of new Chinese maize cultivars: choice of maize varieties, choice of molecular techniques, problems of simple sequence repeat (SSR) techniques, choice of SSR markers and efficiency in techniques. We present possible solutions and discuss the prospect and main applications for the database.

**Key words** Maize, DNA fingerprinting database, SSR

随着育种进程的加快，玉米品种急剧增加。目前全国玉米生产上种植的杂交种有数百个之多，每年参加各省市和国家区试的玉米新品种达数千个，新审定的品种数以百计。而育种者们为了在短时间内培育出高产稳产品种，往往集中利用少数骨干自交系，使品种的遗传基础趋于狭窄，从而加大了利用传统形态学区分不同玉米品种的难度。这一方面给种子管理部门、品种保护部门以及广大的种子生产者、经营者和种植者带来诸多不便，另一方面也给一些单位和个人以可乘之机，经常出现以甲品种充当乙品种、以未审定品种充当审定品种或以劣品种充当畅销优质品种的现象，还有随意更换杂交种亲本

①农业部及北京市重点项目(H030730010690)资助。
②通讯作者。Author for correspondence. E-mail: jiuran@263.net
收稿日期：2003-12-19 接受日期：2004-02-16 责任编辑：白羽红

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t23-237

改变品种特性以及窃取他人亲本或冒用杂交组合等现象被发现。而这些用常规的形态鉴别较难识破，在管理上造成较大漏洞。尽快构建我国玉米新品种标准DNA指纹库，对我国玉米种业市场的规范及玉米新品种权保护等具有重要意义。

本文将就在中国玉米新品种DNA指纹库构建的研究过程中的一些问题及体会作一简单总结。

## 1 玉米DNA指纹库构建中的问题及解决方法

玉米DNA指纹库的构建是一个复杂的系统工程，涉及多方面的问题。在构建之前和构建过程中，需要解决以下几个问题。

### 1.1 选用品种材料

一个好的玉米DNA指纹库应具备以下4个特性：(1)代表性，即代表了当前国内主要玉米品种资源；(2)完备性，即收集的玉米品种尽量齐全；(3)开放性，即随着每年玉米新品种的涌现，必须及时将新品种补充到库中；(4)实用性，即建立玉米DNA指纹库的主要目的是为了今后应用到检测实践中，因此应将选择的重点放在主推品种、新品种保护的品种、国家区试及审定品种上。

### 1.2 选用标记方法

目前国内外对玉米种质鉴定采用的遗传标记仍以形态标记为主，参考同工酶和种子贮藏蛋白标记。但形态标记的表现受环境影响较大, 鉴定工作量大, 周期长, 受季节限制。同工酶和种子贮藏蛋白标记多态性不够丰富，同工酶还存在组织和器官特异性，取材有严格的一致性要求，所以鉴定结果不够稳定。

近年来发展较快的分子标记是以DNA分子多态性为基础的一种遗传标记，能稳定遗传，可反映生物的个体和群体特征。由于它直接反映DNA水平上的差异，具有高度的专一性和特异性，不同物种、同一物种不同品种所得DNA指纹各异，就像人类的指纹一样，成为当今最先进的指纹鉴定技术。一种理想的分子标记应具有以下特点：多态性高；重复性和稳定性好；带型清晰，容易统计；在染色体上均匀分布；中性；共显性；简单快速，易自动化；开发和使用成本低廉。DNA指纹技术的发展日新月异，除以Southern杂交为基础的RFLP外，近几年已发展出了多种以PCR为基础的新的DNA指纹技术，如RAPD、AFLP、SSR、SCAR和ISSR等及以单核苷酸多态性为基础的SNP技术。但是不同分子标记的应用价值不同(袁力行等，2000；Saliba-Colombani *et al.*, 2000)。RFLP技术多态性较低，遗传信息有限，需要的DNA模板量大，而且操作复杂。RAPD技术尽管具有简单易行、需DNA量少、自动化程度高和实验周期短的优点，但对反应条件较敏感，重复性差。AFLP具有多态性高和稳定性好的优点，但所需DNA模板量大，操作步骤复杂，同时它还是专利技术。

与其他标记相比，以微卫星序列为基础的SSR标记在DNA指纹库构建上显示了独特的优越性。SSR标记数量丰富，覆盖整个基因组，揭示的多态性高；具有复等位基因的特性，提供的信息量大；以孟德尔方式遗传，呈共显性；每个位点由设计的引物序列决定，便于不同实验室相互交流合作开发引物，获得的资料能够在不同的实验室重复并共享(李新海等，2000)。虽然SSR引物的开发费用相当高，但由于其巨大的应用潜力，在一些主要农作物中，SSR引物的开发正在进行中。目前在玉米上已公开的SSR引物序列已达1 800多对，并且每隔一段时间就有新的引物增加，为该技术在玉米DNA指纹图谱中的应用提供了良好的条件。

### 1.3 SSR技术体系的优化

现有的SSR标记技术仍存在操作繁琐、耗费时间及实验成本较高等问题，不能完全适

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t23-237

应实践中大规模检测的需要。因此有必要针对限制SSR标记技术商业化的因素进行技术体系的优化。从DNA提取、PCR扩增及电泳检测等环节对SSR技术进行了全面优化(王凤格等，2003a)，最终建立一套比较完善的适用于玉米品种鉴定的SSR标准体系。按以下介绍的步骤完成整个程序仅需4小时。

DNA提取采用的玉米单粒种子DNA快速提取法(郭景伦等，1997)并加以改进。一个熟练的实验员提取一份样品(100粒种子)只需1小时。

SSR扩增反应体系为：20 μL反应液中包括：10 mmol·L$^{-1}$ Tris-HCl，50 mmol·L$^{-1}$ KCl，0.001% Gelatin，2.5 mmol·L$^{-1}$ $MgCl_2$，0.16 mmol·L$^{-1}$ 4dNTP，0.25 μmol·L$^{-1}$ SSR引物，1单位Taq DNA聚合酶，2 μL DNA模板。反应程序为：94 ℃预变性5分钟，一个循环；94 ℃变性40秒，60 ℃退火35秒，72 ℃延伸45秒，共35个循环。整个PCR扩增时间由常规反应的4小时减少为2小时。

PCR产物变性后在4.5%测序胶上分离。预电泳85 W，20分钟；电泳80 W，40分钟。与琼脂糖电泳和非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳相比，测序胶电泳分辨率更高且更省时，并可重复点样2~3次，进一步降低了成本。

采用改进的快速银染法染色：10%冰醋酸固定3分钟；双蒸水快速漂洗1次，不超过10秒；0.2% $AgNO_3$溶液染色5分钟；显影液(3%NaOH，0.5%甲醛)显影；10%冰醋酸定影。由常规银染法的1.5小时减少为约20分钟。

### 1.4 选用哪些SSR引物

目前在Maize Database上已公布了1 800多个玉米SSR引物对，但这些引物在构建玉米自交系和杂交种指纹图谱中的利用价值不同。只有那些多态性高、带型清晰稳定且重复性好的引物才最适于玉米DNA指纹库构建。因此确定一套适用于玉米指纹库构建的核心引物，将对SSR标记技术在玉米种质鉴定上的普及起到极大的推动作用。

所谓核心引物，是指多态性、稳定性和重复性等综合特性好并可作为初步研究优先选用的一套引物。核心引物的确定是SSR标准实验体系的重要组成部分，也是SSR指纹鉴定商业化的关键环节，它不仅大大减少了合成引物的成本，也大大减少了筛选引物的繁重工作，并使得不同研究者的指纹图谱可以相互比较和整合。

在初期研究中，将多态性高低作为核心引物选择的最重要指标，并结合考虑扩增带型统计的难易及引物的重复性高低，初步确定了10个SSR引物对作为玉米DNA指纹库构建的一套核心引物(赵久然等，2003)。经过进一步大量的研究及实践，发现随着大量DNA指纹数据的产生，扩增带型统计的难易成为不同电泳板之间数据准确整合的最大限制因素。因此对核心引物选择的原则作了调整，提出扩增带型统计难易作为核心引物选择的最重要指标，要求核心引物的不同扩增带大小差异比较明显，扩增带数目在4~8之间，并结合考虑引物多态性和重复性高低(王凤格等，2003b)。根据这一原则，对已确定的核心引物加以调整。在该原则指导下，随着试验的进一步深入，可能会有更好的引物不断补充到核心引物中，某些引物也会从核心引物中去掉。因此，核心引物的确立又是一个不断调整及不断优化的过程。

为验证核心引物在指纹库构建上的有效性，还提出了计算引物理论上可区分最大自交系和单交种数目的公式。公式的推导过程是先从分子遗传学的理论可知，对于SSR引物，其基因座位上的等位基因通常表现为共显性。因此，对一个玉米自交系来说，一个引物对一般仅扩增出1个特征带(由于存在剩余变异，某些自交系中扩增出2个特征带，但概率很低)。由于目前玉米杂交种绝大多数是单交种，对一个玉米单交种来说，一个引物对一般仅扩增出1或2个特征带。如果某个引

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t23-237

物对的等位基因数是n，则该引物理论上最多可区分的自交系数为 N = n，单交种数为 $N=C_n^1+C_n^2$，出现相同指纹图谱的概率 P=1/N。

上述公式成立的理论假设是同一引物的不同扩增带型的基因频率相同，即同一引物的不同等位基因是等概率出现的。然而，大量的实践表明，同一引物的不同扩增带型的基因频率往往相差较大，以引物nc004为例，该引物等位基因数为5，5条扩增带在60个自交系中的分布为3、2、1、50及4，分布极不均匀。因此, 原来的完全根据等位基因数计算引物理论上可区分的最大自交系和杂交种数目的公式存在一定误差，只能用于初步估计。为保证估计值更接近实际，需要知道引物不同扩增带型的基因频率值。由于样品大小和是否具有代表性影响基因频率值估计的准确性，因此只有在建立了代表国内主要玉米种质的大型DNA指纹库的前提下，才能得到引物不同扩增带型比较准确的基因频率值，才可以对引物理论上可区分的最大自交系和杂交种数目进行比较精确的计算。

### 1.5 提高建库的效率——探索多重PCR反应及开发DNA指纹检测试剂盒

多重PCR是指在同一反应体系中同时进行多个位点的特异性扩增的一类特殊PCR反应类型，具有快速高效和成本低廉等优点，适应高通量DNA指纹分析的需要。引物的选择与分组原则一般要求每种引物在选定的退火温度作单一PCR时能得到有效扩增；同一组合的引物扩增片段大小的范围不能重叠; 尽量避免同一组合的引物序列形成引物寡聚体及引起竞争性扩增(Henegariu *et al.*,1997)。自Chambercian等(1988)首次提出这一概念以来，该方法已成功地应用到DNA检测的各个领域，如缺失、突变、多态性分析和RT-PCR分析等。目前，四色荧光技术与多重PCR技术相结合，可以在一个反应中同时扩增多达12~15对不同引物。由PE和Promega等公司开发的STR复合扩增试剂盒，已被应用于人类DNA指纹库构建及亲子鉴定和个体识别的研究中。毛细管电泳技术与多重PCR技术相结合，使基因分型效率提高一倍，使结果更精确可靠(庄启南等，2002)。然而，目前多重PCR技术主要在动物(尤其是人类)上得到了深入的研究和广泛的应用，而在包括玉米在内的植物上研究较少。因此，借鉴动物及人类上的研究成果，并结合玉米核心SSR引物的确定，迅速开发适用于玉米的一套完善的多重PCR程序及相关试剂盒产品，将为进行大规模和高通量的玉米DNA指纹库构建创造有利条件。笔者已针对多重PCR的优化程序比较繁琐且不同的研究获得的优化程序不具有通用性的现状，以21对玉米SSR引物组成不同的引物组合进行了多重PCR反应的研究(王凤格等，2003c)。研究表明，应用与单一PCR完全相同的反应条件，大部分能够获得正常扩增的多重PCR组合，并在此基础上提出了简化的多重PCR优化程序。

## 2 玉米DNA指纹库的应用前景及主要应用领域

玉米新品种DNA指纹库的建立将成为一个平台，为玉米多个领域提供丰富的有价值的信息。首先通过对玉米品种DNA指纹多态性的分析，可以对国内玉米品种资源的遗传多样性作出总体评价。其次，通过将待检品种与DNA指纹库的品种指纹进行对比，获得品种纯度和真伪信息，避免了以前针对一个或少数几个品种进行大量引物筛选的工作。还可应用于国家区试玉米品种的质量监控，国家区试品种是未来国家推广品种的主要来源，保证了这些品种的质量就等于从源头上解决了玉米品种的质量问题。此外，在玉米新品种保护工作中，可以代替形态鉴定进行品种特异性、一致性和稳定性测试(即DUS测试)，从而大大缩短DUS测试的时间。最后，

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t23-237

该技术还可应用于玉米品种侵权案的司法鉴定，为有效地维护玉米育种者的品种权益提供强有力的工具。下面着重对其在纯度及真伪检测、国家区试品种质量监控及新品种 DUS 测试中的应用进行详细地探讨与分析。

### 2.1 纯度及真伪检测

在玉米杂交种生产与销售过程中，建立以质量检测为中心的良种繁育与种子管理体系，对稳定和推广优良品种起着重要作用。在国际标准及国家标准中，均采用种子纯度、净度、发芽率和水分 4 个质量特性来衡量种子质量并以此定级。在这4项指标中，尤以品种纯度为最重要。我国目前玉米种子纯度鉴定仍以形态鉴定、幼苗鉴定和田间小区种植鉴定为主，辅以同工酶和蛋白质电泳技术。然而，玉米品种数量越来越多，种质基础却越来越狭窄，原有的检测方法已不能满足实际需要，实践中迫切需要开发新的检测技术。DNA 指纹技术因其分辨率高、重复性好和简单快速等优点适应了这一需求。在 DNA 指纹技术基本成熟的基础上，今后这方面的工作应集中在以下两个方面：(1) 建立 DNA 指纹检测的国家标准，将成果迅速转化为应用技术; (2)建立主要品种的纯度检测标准 DNA指纹图谱。笔者自1997年就开始将DNA指纹技术应用于玉米纯度及真伪检测的研究。在“九五”国家攻关和北京市重点项目“分子标记在玉米育种、种质鉴定中的应用研究”中，从 500 多个 RAPD 引物中，确定了 30 多个主栽玉米杂交种的特征引物，用于品种纯度鉴定，攻克了上述品种室内鉴定的难关(赵久然等，1999；郭景伦等，2000)。其核心部分“应用DNA指纹图谱技术鉴定玉米种子纯度及真伪”被北京市政府列为重点推广项目，先后为本单位及 40 多家种子公司分析样品4 000批次，产生了显著经济效益和社会效益。目前在研究的北京市科技新星项目“应用分子标记技术进行玉米亲子鉴定研究”，将 SSR 技术应用到玉米亲子鉴定及真伪鉴定中。此外，还开始了玉米纯度及真伪 DNA 指纹鉴定试剂盒的开发，并已申报 3 项相关专利。

### 2.2 国家区试品种质量监控

DNA 指纹技术在国家区试中主要应用于以下 3 个方面。

**2.2.1 供试组合的一致性检测** 如果供试组合本身不具有一致性，就失去作为一个品种的最基本条件，不能称为一个品种，当然也就没有进行区试的必要。实践中，某些育种者为了尽快推出品种，可能用未完全纯合的早代系组配组合，这样的组合在若干性状上尚未稳定，不宜在生产中推广。如果能在区试之前或早期就将这类组合剔除，将减少许多不必要的工作，使有限的资源集中到有希望的组合上。利用形态性状检测因周期长(至少一个生长季)无法起到预控的作用，而只有 DNA 指纹技术才可能做到这一点。

**2.2.2 监控组合在不同区试年份是否发生更换** 实践中，某些育种者对通过第一年区试但表现不是十分突出的组合，在第二年区试时用另一个组合代替。在很多情况下，两个组合具有一个共同亲本或亲缘关系较近，因此形态性状上差别不太明显，不易区别。如何防止这种情况发生，保证区试的公正性和严肃性，是区试工作中面临的重要问题之一。DNA 指纹技术的高鉴别能力适应了这一需要。

**2.2.3 在区试的同时进行品种权测试** 品种区域试验和品种权测试具有密切的联系，二者是相辅相成的。但目前国内现状是品种权测试与区域试验各自进行，互无关系，造成人力和物力的巨大浪费。一些专家提出应将二者有机结合，同时进行，使一套试验满足两个目标的要求(孙世贤等，2003)。但在具体工作中如何操作，仍是一个值得深入探讨的问题。利用 DNA 指纹技术进行区试品种的品

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t23-237

种权测试提供了一个可行的实施方式。2002年初步构建了54份京津唐和黄淮海区试品种的DNA指纹图谱；2003年对进入第二年区试的11份，京津唐和黄淮海区试品种进行了一致性检测，并对同一份品种两年区试的DNA指纹进行了比较(赵久然等，2003)。

**2.3 新品种DUS测试**

目前的《植物新品种特异性、一致性和稳定性测试指南(玉米)》仍以形态性状测试为主，但利用形态性状测试存在以下几个问题。(1)选用的形态性状中，多数为多基因控制的数量性状，受环境等因素影响较大。不同年度、不同播期、不同地点甚至同一品种内部都可能发生变异。如苞叶覆盖程度、穗柄长度及茎支持根花青甙显色等受栽培条件影响较大，即使同一地块同一品种的不同单株表现可能不一致，某些品种同一果穗的籽粒颜色也不同，如‘鲁玉16’和‘鲁原单14’等果穗为黄白籽粒夹杂，这为性状分级造成了困难。(2)某些对照品种选择不合适或者不够标准，不能代表相应的性状级别；或者不是生产中常用自交系或杂交种，一般单位很难搜集到，如‘太16-3’、‘本7884-7’和‘C8605-2’等。(3)即使选用的标准品种是准确的，所有形态性状共使用标准品种58种，在田间种植排布上比较麻烦，能否进一步减少标准品种数量，使较少的标准品种即可代表所有形态性状级别，节省人力物力资源，是今后应考虑的问题。(4)测试的性状较多，测试周期长，工作量大，且受季节限制，不能随时测试。(5)适应高产育种的需要，育种者会对某些形态性状有一定的选择倾向，如株形趋向于紧凑或半紧凑，籽粒颜色趋向于黄色(白色和其他颜色较少)，茎“之”字型程度趋向于弱，籽粒排列形式趋向于直等，从而使某些形态性状在全部收集的品种中分布很不均匀或趋向于较少变化，造成这些性状的实际区分能力降低。(6)在测试的形态性状中，有些性状之间是相关的，从而使性状的实际区分能力进一步降低。如散粉期和抽丝期相关性很高，一般散粉期早的抽丝期也早，从而使这两个性状实际上几乎等同于一个性状。类似的性状还有雄穗最低位侧枝以上主轴长度与雄穗最高位侧枝以上主轴长度等。(7)由于自交系与杂交种在形态性状上的显著不同，许多测试性状必须针对自交系和杂交种选用不同的标准，这进一步增加了测试的复杂程度。(8)理论上，申请品种只有与当前已知的所有品种比较，都存在差异，才能证明该申请品种的特异性，然而利用田间形态性状测试的局限性使其无法做到这一点。使用对照品种部分弥补这一缺陷，然而对照品种尽管与申请品种亲缘关系较近(一般具有一个共同亲本)，但申请品种与对照品种有差异并不能必然推导出申请品种与所有已知品种均有差异。此外，随着品种保护意识的增强，自交系的保护将越来越多，许多杂交种的父母本自交系均为申请单位自育的新自交系，很难找到合适的亲缘关系近的已知品种作对照。(9)对任何一个育种者，育成一个新品种(杂交种)后，并不希望公布该品种的系谱，也不希望将其亲本自交系散布。而目前为了测试的需要，申请保护的程序中要求提供品种的详细系谱，这并不利于有效地保护育种者的权益。(10)随着申请品种数目的增多，目前已有的测试的形态性状可能不能满足特异性测试的需要。如果增加测试性状，一方面可选择的形态性状有限，而抗性及品质等性状测试成本高，另一方面增加了测试的工作量。因此目前的以形态性状测试为主体的模式将面临无法适应品种数量增加后鉴别特异性的要求。

以上这些问题是利用形态性状测试本身不能解决的，只能引入新的测试方法。而分子标记技术的特点使其成为最可能解决以上问题的技术，如不受环境的影响。多态性高，较少的标记就可满足特异性鉴定的需要。属中

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t23-237

性变异，不受育种者选择倾向的影响；可选择的标记数量多，完全可以适应品种数量不断增多的要求；测试周期短，不受季节的限制，任何时间都可进行测试，可大大缩短品种权从申请到授权的时间间隔；不必使用标准品种和对照品种；不必提供选育系谱；不必针对自交系和杂交种制定不同的标准等。

在新版玉米测试指南中对利用分子标记测试已有所提及，但并无明确的可操作性强的标准，使得分子标记测试在实际测试中应用还不可能。具体原因如下：分子标记测试和形态性状测试属于不同的测试系统，应具有独立的不同于形态性状测试的一套系统的完整的测试体系。形态性状测试的标准尽管可以参考，但不能简单的直接照搬。制定一套分子标记测试标准需解决以下几个问题: (1)确定一套DNA指纹检测标准实验体系; (2)确定一套相对固定的测试用核心引物(相当于形态性状测试中的形态性状); (3)确定每个引物的等位梯度分子量标准(相当于形态性状测试的标准品种); (4)确定利用分子标记测试特异性时，至少需检测多少个个体，判定具有特异性至少需几个差异带型; (5)确定利用分子标记测试一致性和稳定性时，至少需检测多少个单株及一致性和稳定性的评估标准; (6)构建已授权品种的 DNA 指纹库。

## 参 考 文 献


郭景伦, 赵久然, 尉德铭, 郭强, 王斌, 张超良, 金德敏, 李荣旗, 张开春 (1999) 玉米单粒种子 DNA 提取新方法. 北京农业科学, **15(2):** 1-2

郭景伦, 赵久然, 孔艳芳, 尉德铭, 卢柏山, 王元东 (2000) 引物组合法在利用 DNA 指纹鉴定玉米自交系真伪中的应用研究.华北农学报, **15(2):** 27-31

李新海, 傅骏骅, 张世煌, 袁力行, 李明顺 (2000) 利用 SSR 标记研究玉米自交系的遗传变异.中国农业科学, **33(2):** 1-9

孙世贤 (2003) 中国农作物品种管理与推广. 中国农业科学技术出版社, 北京, 92-93

王凤格, 赵久然, 郭景伦, 刘龙洲 (2003a) 中国玉米新品种 DNA 指纹库建立系列研究Ⅰ. 玉米品种纯度及真伪鉴定中 SSR 技术标准实验体系的建立. 玉米科学,**11(1):** 3-6

王凤格, 赵久然, 郭景伦, 佘花娣, 陈刚 (2003b) 比较三种 DNA 指纹分析方法在玉米品种纯度及真伪鉴定中的应用.分子植物育种,**1(5/6):** 655-661

王凤格, 赵久然, 郭景伦, 陈刚, 廖琴, 孙世贤, 陈如明 (2003c) 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, **11(4):** 3-6

赵久然, 郭景伦, 孔艳芳, 池书敏, 尉德铭, 滕海涛 (1999) 利用 DNA 指纹鉴别玉米杂交种纯度及其真伪技术的研究.玉米科学,**7(1):** 9-13

赵久然, 王凤格, 郭景伦, 陈刚, 廖琴, 孙世贤, 陈如明, 刘龙洲 (2003) 中国玉米新品种 DNA 指纹库建立系列研究Ⅱ.适于玉米自交系和杂交种指纹图谱绘制的SSR核心引物的确定. 玉米科学,**11(2):** 3-5,8

赵久然 (2003) 国家玉米新品种标准 DNA 指纹库建立及国家玉米区试品种一致性和真实性检测研究. 见: 廖琴, 孙世贤主编. 中国玉米新品种动态. 中国农业科学技术出版社, 北京, 796-816

庄启南, 张静, 熊晓燕, 赵彦, 徐世杰, 黄薇 (2002) 应用毛细管电泳技术进行高效、准确的微卫星位点自动基因组扫描. 中华医学遗传学杂志, **19:** 253-256

袁力行, 傅骏骅, Warburton M, 李新海, 张世煌, Khairallah M, 刘新芝, 彭泽斌, 李连城 (2000) 利用 RFLP、SSR、AFLP 和 RAPD 标记分析玉米自交系遗传多样性的比较研究. 遗传学报, **27:** 725-733

Chamberlain JS, Gibbs RA, Ranier Jenguyen PN (1988) Deletion screening of the Duchenne muscular dystro-


https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t23-237

phy locus via multiplex DNA amplification. *Nucleic Acids Research*, **16:** 11141-11156

Henegariu O, Heerema NA, Dlouhy SR, Vance GH, Vogt PH (1997) Multiplex PCR: critical parameters and step-by-step protocol. *Biotechmiques*, **23:** 504-511

Saliba-Colombani V, Causse M, Gervais L, Philouze J (2000) Efficiency of RFLP, RAPD and AFLP markers for the construction of an intraspecific map of tomoto genome. *Genome*, **43:** 29-40

# 致 谢 审 者

**本刊编委会和编辑部对在2004年为本刊来稿进行审阅付出辛勤劳动的各位专家表示衷心的感谢！**

**《植物学通报》编委会**

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 丁兆军 | 丁明懋 | 于福同 | 于嘉林 | 于德泉 | 马庆虎 | 马克平 | 孔昭宸 | 王 台 |
| 王 忠 | 王小菁 | 王中仁 | 王仁忠 | 王幼群 | 王伟铭 | 王兴智 | 王国英 | 王国强 |
| 王孟本 | 王宗阳 | 王宝山 | 王英典 | 王道文 | 王锦秀 | 代力民 | 冯 固 | 包文美 |
| 叶创兴 | 叶和春 | 左建儒 | 母锡金 | 田世平 | 田庚元 | 田颖川 | 申建波 | 白书农 |
| 白克智 | 石 雷 | 任东涛 | 任海云 | 刘 宁 | 刘 金 | 刘公社 | 刘友良 | 刘文哲 |
| 刘本叶 | 刘庆昌 | 刘克德 | 刘来福 | 刘进元 | 刘国琴 | 刘根齐 | 向其柏 | 吕应堂 |
| 吕洪飞 | 孙 越 | 孙 颖 | 孙大业 | 孙宗修 | 孙勇如 | 孙振元 | 孙敬三 | 孙蒙祥 |
| 安利佳 | 朱 祯 | 朱玉贤 | 朱生伟 | 朱至清 | 朱英国 | 朱祝军 | 朱朝东 | 毕晓白 |
| 汤章城 | 许大全 | 许亦农 | 许智宏 | 严小龙 | 何玉科 | 何光存 | 何祖华 | 何鉴星 |
| 吴 琼 | 吴乃虎 | 吴鹏程 | 宋立荣 | 宋运淳 | 宋艳茹 | 张 泉 | 张大明 | 张大鹏 |
| 张丕方 | 张玉龙 | 张伟成 | 张冰玉 | 张丽萍 | 张志耘 | 张其德 | 张宪春 | 张相岐 |
| 张凌云 | 张爱民 | 张献龙 | 张福锁 | 李 玲 | 李传友 | 李承森 | 李绍华 | 李家洋 |
| 李振宇 | 李振国 | 李银心 | 李锡文 | 李韶山 | 李德全 | 李懋学 | 李霞冰 | 杨希才 |
| 杨怀义 | 杨亲二 | 杨顺楷 | 杨峻山 | 杨维才 | 沈文飚 | 沈世华 | 邱明华 | 邹 琦 |
| 邹喻苹 | 陈 珈 | 陈之端 | 陈伟烈 | 陈季楚 | 陈昆松 | 陈昌笃 | 陈明生 | 陈家宽 |
| 陈家瑞 | 陈晓亚 | 陈根云 | 陈维伦 | 陈善春 | 周海梦 | 孟 征 | 孟庆伟 | 孟金陵 |
| 林世青 | 林光辉 | 林忠平 | 林植芳 | 欧阳舒 | 武维华 | 罗云波 | 罗毅波 | 郑小波 |
| 郑光植 | 姚敦义 | 施和平 | 施定基 | 段昌群 | 种 康 | 胡正海 | 胡玉熹 | 胡志昂 |
| 胡宜适 | 胡宝忠 | 胡赞民 | 荆玉祥 | 贺新强 | 赵可夫 | 赵桂兰 | 赵毓桔 | 赵德修 |
| 钟泽璞 | 钟章成 | 饶广远 | 骆世明 | 凌宏清 | 夏桂先 | 席以珍 | 徐云远 | 柴团耀 |
| 桑卫国 | 袁 明 | 贾士荣 | 贾虎森 | 郭三堆 | 郭仲琛 | 郭振飞 | 钱 前 | 崔克明 |
| 崔洪志 | 崔海亭 | 崔素娟 | 常 杰 | 庾石山 | 曹鸣庆 | 曹显祖 | 梁 峥 | 梁海曼 |
| 麻 密 | 黄卫东 | 黄大年 | 黄学林 | 傅立国 | 储成才 | 彭少麟 | 彭新湘 | 温远影 |
| 程祝宽 | 童 哲 | 董 鸣 | 蒋明义 | 蒋高明 | 谢友菊 | 谢宗强 | 韩天富 | 韩学海 |
| 路安民 | 靳晓白 | 廖 红 | 翟文学 | 臧润国 | 裴盛基 | 谭克辉 | 潘开玉 | 薛红卫 |
| 薛勇彪 | 戴均贵 | 戴思兰 | 魏家绵 | 瞿礼嘉 | | | | |

**以上按姓氏笔画顺序排列（如有遗漏或错误请与我们编辑部联系）。**

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t23-237