

研究报告

A Letter

高粱 SSR 技术体系的优化及分子连锁图谱的构建

王海莲¹, 秦岭¹, 管延安^{1,2}, 张华文¹, 杨延兵¹, 王洪刚², 李斯深²

1. 山东省农业科学院作物研究所, 济南, 250100;

2. 山东农业大学农学院, 泰安, 271018

✉ 通讯作者: Yguan65@yahoo.com.cn; ✉ 作者

分子植物育种, 2011年, 第9卷, 第47篇 doi: 10.5376/mpb.cn.2011.09.0047

收稿日期: 2011年03月10日

接受日期: 2011年04月13日

发表日期: 2011年04月19日

这是一篇采用 Creative Commons Attribution License 进行授权的开放获取论文。只要对本原作有恰当的引用, 版权所有人允许并同意第三方无条件的使用与传播。

引用格式:

王海莲等, 2011, 高粱 SSR 技术体系的优化及分子连锁图谱的构建, 分子植物育种 Vol.9 No.47 (doi: 10.5376/mpb.cn.2011.09.0047)

摘要 分子遗传图谱是重要农艺性状定位及目的基因克隆的基础, 而快速高效的 SSR 分子标记技术是保证实验成功的前提。以普通高粱石红 137 和甜高粱 L-甜及其杂交衍生的 F₂ 群体为材料, 首先从 SSR 反应体系的大小, 聚丙烯酰胺凝胶的浓度以及银染染色的步骤进行了比较研究。结果显示, 采用 10 μL PCR 反应体系, 6% 的非变性聚丙烯酰胺凝胶进行电泳和快速银染法进行染色可以得到理想的目的条带。以上述优化的 SSR 技术体系为基础, 构建了一个包含 118 个 SSR 位点的遗传连锁图谱, 共 15 个连锁群, 覆盖高粱基因组的 1884.6 cM, 标记间平均距离为 15.97 cM。该 SSR 技术优化体系和分子连锁图谱将为高粱重要农艺性状的定位以及分子标记辅助选择奠定基础。

关键词 高粱; SSR 优化; 稳定性; 分子连锁图谱

Optimization of SSR Technology System and Construction of Molecular Genetic Map of Sorghum

Wang Hailian¹, Qin Ling¹, Guan Yanan^{1,2}, Zhang Huawen¹, Yang Yanbing¹, Wang Honggang², Li Sishen²

1. Crop Research Institute, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan, 250100, P.R. China

2. College of Agronomy, Shandong Agriculture University, Taian, 271018, P.R. China

✉ Corresponding author, Yguan65@yahoo.com.cn; ✉ Authors

Abstract Molecular genetic map is an essential prerequisite for studying QTL for molecular breeding and map-based gene cloning. Highly efficiency SSR technology could guarantee the successful experiment. With the 186 F₂ individuals derived from a cross of normal sorghum inbred line Shihong 137 and sweet sorghum inbred line L-tian, PCR reaction system size, polyacrylamide gel concentration and silver dyeing steps were investigated. Results showed that the combination of 10 μL PCR reaction system, 6% of the polyacrylamide gel electrophoresis and rapid silver dyeing steps could satisfy the requirement of experiment. Based on above optimized method, a linkage map for sorghum spanned a distance of 1884.6 cM with an average distance between markers of 15.97 cM was developed with 118 SSR markers. The SSR optimization system and molecular linkage map will lay the foundation for the mapping of genes controlling important agronomic traits and molecular marker assisted selection.

Keywords Sorghum; SSR; Optimization; Stability, Molecular genetic map

研究背景

甜高粱是普通高粱的一个变种, 为 C₄ 植物, 不仅光合效率高, 杂种优势强, 而且具有抗旱和抗离子毒害的双重抗性, 较其它作物更适应盐碱及干旱环境生长。因此既有“高能作物”, 又有“作物中的骆驼”的美誉。同时高粱具有较小的基因组, 已经完成全基因组测序 (Paterson et al., 2009)。鉴于上述种种优点, 高粱逐渐成为研究谷类作物基因组结构、

功能和进化的模型。

第一张高粱分子遗传连锁图谱由 Hulbert 等 (1990) 报道, 利用玉米 RFLP 探针构建了具有 8 个连锁群的图谱。随后, 一些研究者利用玉米和高粱 RFLP 探针, 构建了高粱连锁图谱 (Whitkus et al., 1992; Berhan et al., 1993; Pereira et al., 1994; Lin et al., 1995; Tuinstra et al., 1996; Dufour et al., 1997)。构建图谱所用的作图群体多数是 F₂ 群体, 少数是

RIL群体, 标记数从21到276不等, 连锁群个数最少的5个, 最多的17个。自1997年以来, SSR标记以其数量丰富, 信息量高, 呈共显性, 重复性好, 易于操作, 结果可靠等优点而逐渐被应用于高粱分子标记连锁图谱的构建(Taramino et al., 1997; Kong et al., 2000; Bhatramakki et al., 2000; Menz et al., 2002; Wu et al., 2006; Ritter et al., 2008; Shiringan et al., 2010)。随着高粱(自交系BTx623)全基因组测序的完成(Paterson et al., 2009), 使人们不仅对高粱基因组有了全面的了解, 也为基因组SSR标记的开发和分子标记连锁图谱的构建奠定了基础。

在高粱分子连锁图谱的构建中需要对大量样品进行基因型分析。为了提高实验的效率, 需要摸索一种经济快速有效分析后代群体的SSR技术体系。前人对其它作物SSR反应体系的优化大多是从模板DNA的浓度, 引物浓度, dNTP浓度, MgCl₂浓度以及Taq酶的用量优化组合, 筛选出最佳的PCR反应体系。在确立了最佳的PCR反应体系后, 怎么在最短的时间内利用最经济的方法得到可靠的实验结果, 也是SSR聚丙烯酰胺凝胶中需要解决的问题。在高粱中, 也有对凝胶的浓度(李玥莹等, 2007)和银染方法(韩永亮等, 2006; 牛楠等, 2010)等进行的研究, 但是上述研究均是针对变性聚丙烯酰胺凝胶, 目前还未见对非变性聚丙烯酰胺凝胶进行的研究。

为此, 本实验从SSR反应体系的大小, 聚丙烯酰胺凝胶的浓度以及银染染色的步骤进行了研究, 旨在通过筛选整个SSR体系中各因素的最佳组合, 建立一套适合本实验室经济快速的高粱SSR技术体系, 并以此为基础构建粒用高粱和甜高粱杂交的F₂群体分子遗传图谱, 为能源甜高粱重要农艺性状的QTL定位和分子改良奠定一定的理论基础。

1 结果与分析

1.1 PCR体系大小对扩增结果的影响

根据Taq DNA聚合酶的使用说明, 对反应体系进行相应比例的缩小, 本实验采用了四种反应体系: 10 μL, 15 μL, 20 μL和25 μL, 所加各成分的量如表1所示。为了排除PCR仪对扩增结果的影响, 本实验对每种体系均随机选取了相同的12个样品, 在同一个PCR仪中利用引物Xcup26同时对四种反应体系的样品进行扩增。分别用6%, 8%和10%的凝胶进行电泳, 利用两种染色方法进行染色, 对4 μL扩增产物进行分析。由图1可以看出, 除了利用10%的凝胶和第2种染色方法条带浓度太大, 而不能区分目的条带外, 四种反应体系均能扩增出清晰的目的条带。15 μL体系扩增的目的条带浓度最大, 25 μL和20 μL体系扩增产物浓度差异不大, 10 μL体系扩增浓度较低, 但是扩增条带比较清晰, 完全满足实验要求。

表1 10 μL, 15 μL, 20 μL和25 μL PCR体系

Table 1 PCR reaction system of 10 μL, 15 μL, 20 μL and 25 μL

项目 Item	10 μL	15 μL	20 μL	25 μL
模板DNA 20 ng/μL (μL) Template DNA 20 ng/μL (μL)	1.00	1.50	2.00	2.50
正向引物 5 μmol/L (μL) Forward primer 5 μmol/L (μL)	0.40	0.60	0.80	1.00
反向引物5 μmol/L (μL) Reverse primer 5 μmol/L (μL)	0.40	0.60	0.80	1.00
10×Taq Buffer (μL)	1.00	1.50	2.00	2.50
dNTP Mixtre 2.5 mmol/L (μL)	0.80	1.20	1.60	2.00
Taq 2.5 U/μL (μL)	0.10	0.15	0.20	0.25
ddH ₂ O (μL)	6.30	9.45	12.60	15.75

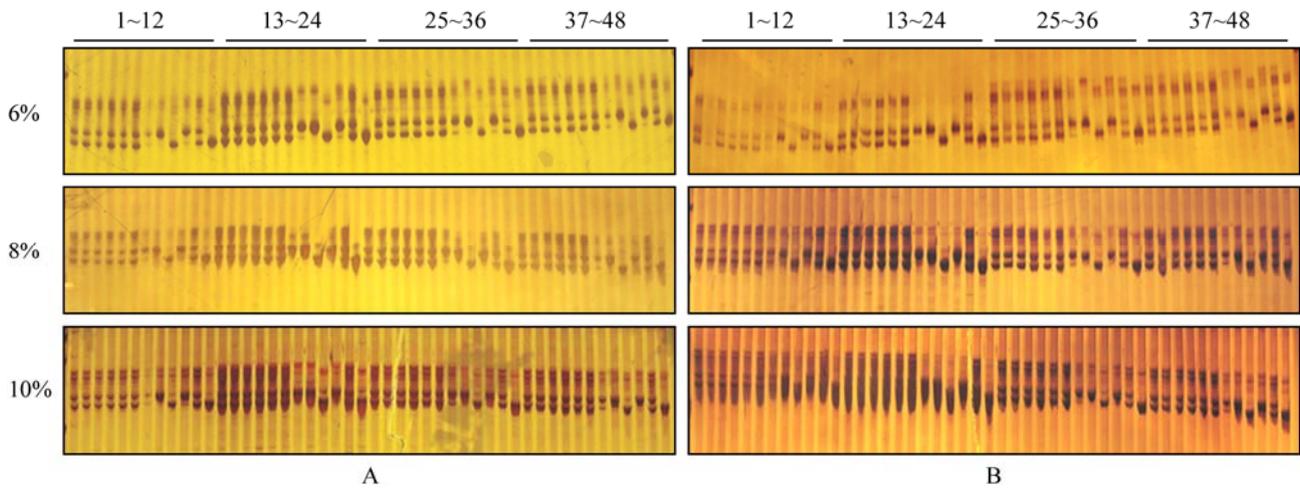


图 1 A: 方法 1; B: 方法 2; 利用两种染色方法在 6%, 8% 和 10% 的凝胶中不同 PCR 反应体系对高粱基因组 DNA 的扩增结果, 1~12, 13~24, 25~36, 37~48 分别是 10 μ L, 15 μ L, 20 μ L 和 25 μ L 反应体系
Figure 1 A: Method 1; B: Method 2; With two silver dyeing methods, amplification results of 10 μ L, 15 μ L, 20 μ L and 25 μ L PCR reaction system in 6%, 8% and 10% polyacrylamide gel electrophoresis

1.2 不同浓度的非变性聚丙烯酰胺凝胶对电泳结果的影响

本实验利用非变性聚丙烯酰胺凝胶对 PCR 产物进行检测, 如表 2 所示。设 3 个浓度梯度 10%, 8% 和 6%, 预先配制 40% 的 Acrid/Bis-Acrid 母液, 于 4 $^{\circ}$ C 冰箱保存。按表 2 的比例配制不同浓度的胶。电泳缓冲液为 0.5xTBE, 180V 恒压电泳。研究了三种浓度的胶对 Xcup26 扩增产物的分离效果。Xcup26 扩增片段大小约为 250 bp。由图 1 可以看出, 利用三种不同浓度的非变性聚丙烯酰胺凝胶对 4 种扩增体系的产物进行电泳, 采用两种染色方法, 除了第 2 种染色方法, 10% 的凝胶, 15 μ L 反应体系的组合染色所得的条带不清楚外, 其他浓度的胶均能得到清晰的目的条带。但是为了达到分离三种带型的目的, 10% 的凝胶需要电泳 3h, 8% 的凝胶需要电泳 2 h, 6% 的凝

胶电泳仅需要 1h。采用 6% 的凝胶电泳大大节约了分离条带的时间。

1.3 不同的银染方法对扩增结果的影响

采用常规的非变性聚丙烯酰胺凝胶染色方法和快速银染方法, 对不同浓度和不同反应体系的样品进行染色, 由图 1 可以看出, 用第一种染色方法, 对三种不同浓度的胶进行染色, 均能得到比较清晰的条带。而用第二种染色方法, 对 6% 和 8% 的胶染色, 均能得到比较清晰的条带; 对 10% 浓度的胶染色, 效果较差。综合比较方法 1 和方法 2 的染色结果, 方法 1 的染色结果均比较清晰; 方法 2 由于省略了硫代硫酸钠溶液去除背景这一步骤, 而使凝胶的背景加深。

表 2 不同浓度的非变性聚丙烯酰胺凝胶的配制方法

Table 2 The preparation method of different concentrations of polyacrylamide gel

项目 Item	10%	8%	6%
40% Acrid/bis-Acrid (mL)	25	20	15
10xTBE (mL)	10	10	10
ddH ₂ O (mL)	65	70	75
TEMED (μ L)	100	100	100
10%AP (μ L)	1000	1000	1000

这种染色方法对6%和8%凝胶染色结果比较清晰, 而对于10%凝胶染色结果背景太重, 分不清目的条带。但是从染色时间上来说, 用第一种染色方法,

整个银染过程大约需要30 min, 而用第二种染色方法, 整个银染过程在10 min左右。

表3 两种银染方法

Table 3 Two silver dyeing methods

方法 1 Method 1	方法 2 Method 2
1.用含 10%乙醇、0.5%乙酸的固定液固定 2 次, 6 min/次 Place gels in fixing solution including 10% ethanol and 0.5% acetic acid, and shake gently for 6 min, twice	1.在含 10%乙醇、0.5%乙酸的 0.2%硝酸银中染色 5min Place gels in solution including 10% ethanol, 0.5% acetic acid and 0.2% silver nitrate, and shake gently for 5 min
2.0.2%AgNO ₃ 溶液渗透 10-12min Replace the solution with 0.2% silver nitrate aqueous solution, and shake gently for 10-12 min.	2.蒸馏水中漂洗 30s Rinse gels briefly with d H ₂ O for 30 s
3.dH ₂ O 清洗 2 次, 30s Rinse gels briefly with d H ₂ O for 30 s, twice	3.在含 0.5%甲醛的 3.0%氢氧化钠中显色 Apply developing solution, including 3.0% Sodium hydroxide, 0.5% formaldehyde, and shake gently
4.0.002%硫代硫酸钠溶液置大约 30s, 直到溶液变黄, 倒掉 Apply 0.002% sodium thiosulfate aqueous solution, and shake gently for 30 s. After the solution turned yellow, remove the solution	4.条带清晰后, 用蒸馏水冲洗数次, 终止显色反应 After the bands appear with desirable intensity, Wash gel in distilled water several times to stop the reaction
5.用含 NaOH 1.5%, 甲醛 0.4%的显色液显色 Apply developing solution, including 1.5% Sodium hydroxide, 0.4% formaldehyde, and shake gently	
6.条带清晰后,用蒸馏水冲洗数次, 终止显色反应 After the bands appear with desirable intensity, Wash gel in distilled water several times to stop the reaction	

1.4优化体系的稳定性检测

通过分析比较PCR反应体系, 聚丙烯酰胺凝胶浓度和银染方法对实验结果的影响, 10 μL PCR反应体系, 6%的非变性聚丙烯酰胺凝胶进行电泳和快速银染法的组合方式基本能满足实验要求。为了验证该组合的稳定性, 对扩增片段大小分别为150 bp (Xcup50)和200 bp (Xcup02)的两个引物在F₂群体的48个株系中的实验结果进行了分析。使用以上实验方法, 得到了较为清晰的条带(图2)。

1.5高粱分子连锁图谱的构建

使用上述优化的SSR技术体系, 对筛选出的141对多态性引物在F₂群体中的基因型进行鉴定。由于有13对引物的条带较多, 使用其他分析方法如改变

退火温度等后, 带型仍较难区分而被剔除。最终对128对引物在186个F₂单株中的基因型进行了鉴定。对128对多态性SSR引物进行卡平方测验, 结果表明: 卡平方值大于5.99的偏分离标记共30个, 偏分离标记的比例为23.4%, 其中有19个标记卡平方值大于9.21, 属严重偏分离标记。根据128对多态性



图2 Xcup50 和 Xcup02 在 F₂ 群体的 48 个株系中的稳定性检测
Figure 2 Stability testing of Xcup50 and Xcup02 in 48 lines of F₂ population

引物的扩增信息, 利用MAPMAKER/EXP 3.0软件进行连锁分析。首先对符合分离比例的98个标记进行分析, 构建基本的分子连锁图谱; 然后把偏分离的标记依次添加到图谱上, 根据偏分离的标记对整个连锁图谱的影响程度, 剔除掉了5个偏分离标记。最后, 图谱上共拟合118个位点, 覆盖高粱基因组的1884.6 cM, 标记间平均距离为15.97 cM, 共15个连锁群。根据已经发表的SSR标记在染色体上的位

置, 将各个连锁群锁定在相应的染色体上(图3)。标记数最多的染色体为第1染色体, 包含22个标记, 标记数最少的染色体为第6和7染色体, 均只有4个。偏分离位点比较集中, 主要分布在第2染色体, 20个标记中, 有10个偏分离标记。其次是第8染色体体有4个。第1和第4染色体各3个, 第10染色体2个, 第3, 5, 9染色体各1个。

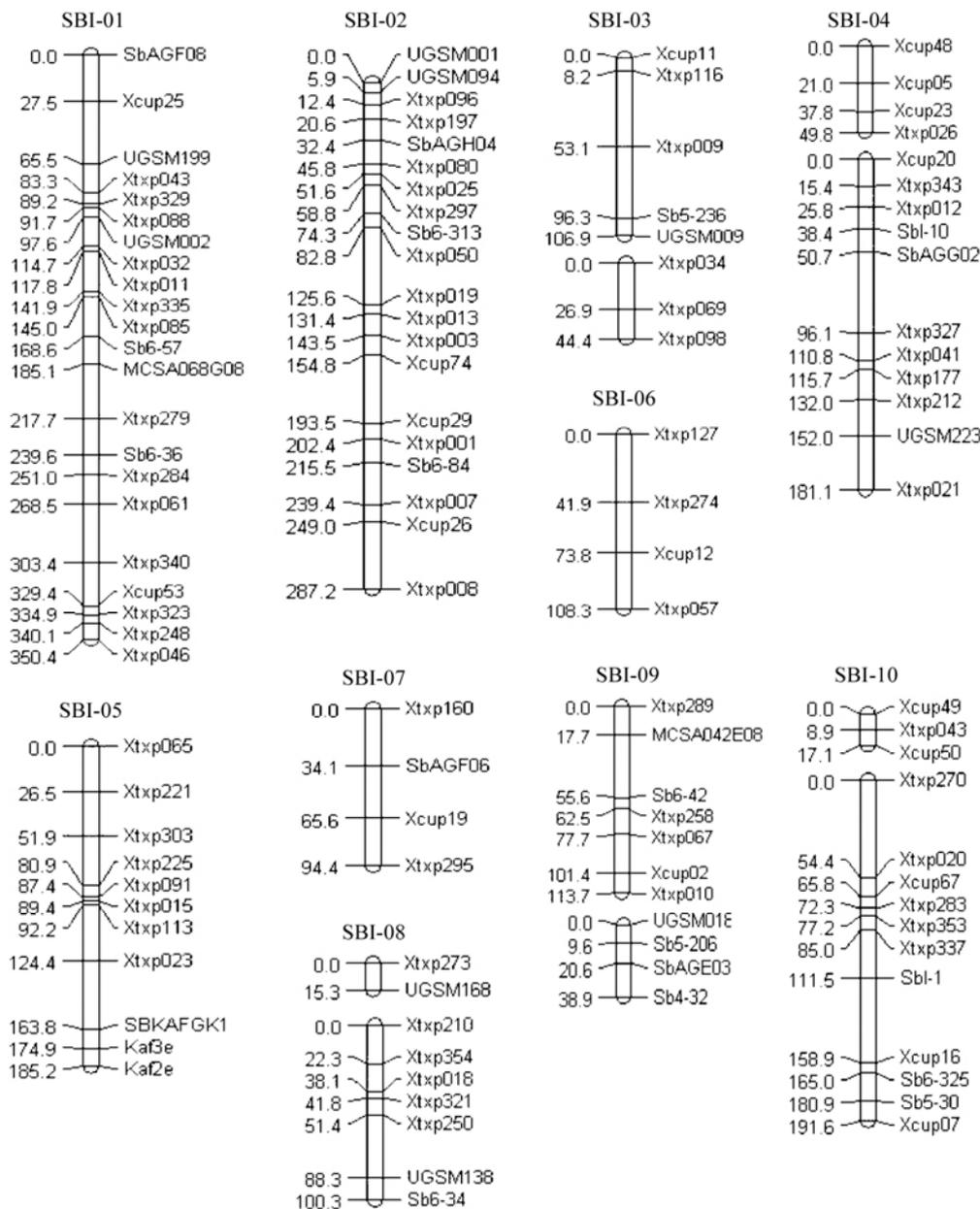


图3 利用石红 137 和 L-甜杂交衍生的 F₂ 群体构建的分子连锁图谱

Figure 3 Molecular genetic map of F₂ population derived from Shihong137 x L-tian

2 讨论

随着我国能源形势的日趋严峻, 甜高粱作为一种能源作物受到越来越多的关注; 同时由于高粱具有较小的基因组和已经完成的全基因组测序, 对其分子遗传学和分子生物学方面的研究也越来越多。在高粱分子连锁图谱构建, 品种间多态性鉴定以及基因定位中, 一般需要对几百对甚至几千对SSR引物进行鉴定, 这不仅需要大量的资金, 而且还需要大量的时间。因此, 在最短的时间内用最经济的方法达到满意的实验结果, 是提高实验效率的关键。SSR技术由一系列的步骤组成, 包括PCR体系的配制; PCR扩增; 凝胶的配制, 电泳, 染色等, 其中任何一个步骤的失败都将导致最终实验结果的失败, 而提高每一个步骤的实验效率都将提高整个实验的效率。本实验从PCR体系的大小, 非变性聚丙烯酰胺凝胶的浓度和染色方法进行了研究。实验结果表明对于多态性好的引物, 采用10 μL PCR反应体系, 6%的非变性聚丙烯酰胺凝胶进行电泳, 采用快速银染法进行染色可以得到理想的目的条带。

在一般的SSR实验中, PCR体系一般采用20 μL 或更大的反应体系。从本实验的研究结果看, 10 μL PCR反应体系已经基本满足实验的要求。相对与一般的15 μL , 20 μL 或更大的反应体系, 既节约了三分之一以上的实验成本, 又满足了实验要求。在实际操作过程中, 由于不同的引物片段大小不同, 扩增效率不同, 适当的调整点样量, 可满足实验的需求。分离分子的大小取决于丙烯酰胺的浓度。使用低浓度凝胶分离较大的分子, 高浓度的凝胶分离较小的分子。SSR扩增产物一般在100 bp~400 bp之间, 使用6%的非变性聚丙烯酰胺凝胶, 不仅节约时间和药品, 而且完全可以将SSR扩增产物分离开来。在电泳时本实验采用了常规的非变性聚丙烯酰胺凝胶染色方法和快速银染方法。快速银染方法将常规的染色方法中的固定和渗透两个步骤合为一个步骤, 省略了硫代硫酸钠洗胶步骤, 节省了大约一半的时间, 仍得到了较为满意的实验效果。当然, 上述快速高效的SSR技术只是针对筛选好的多态性引物。对于扩增片段过大或过小, 或者特异性不高的引物, 还需要摸索最佳的实验条件, 以达到预期的实验目的。

本研究构建的遗传图谱上共包含 118 个标记位

点, 其中包括高粱的 116 个高粱 SSR 标记和 2 个甘蔗的 SSR 标记, 覆盖高粱基因组的 1884.6 cM, 标记间平均距离为 15.97 cM, 共 15 个连锁群(图 3)。与 Wu 等(2006)研究结果相似, 该研究完全利用 SSR 标记, 构建的连锁图谱含有 16 个连锁群。该分子连锁图谱基本满足对高粱重要农艺性状进行 QTL 初步定位的需要。对于主效 QTL 的精细定位以及图位克隆, 还需要利用新的 SSR 标记, 进一步增加染色体上的标记密度, 构建完全饱和的分子连锁图谱, 以期能为能源甜高粱的分子遗传改良提供一定的理论指导。

3 材料与方法

3.1 试验材料

所用样品为普通高粱品种石红137和甜高粱品种L-甜, 以及杂交得的F₂群体。

3.2 试验方法

3.2.1 DNA的提取

高粱叶片总 DNA 提取参照 Dellaporta 等(1983)的方法, 稍做修改。提取的总 DNA 样品溶于 TE 缓冲液, 并用 MBA 2000 $\mu\text{V}/\text{VS}$ 光谱仪(Perkin Elmer 有限公司)进行浓度测定和品质检测。用双蒸水把 DNA 样品稀释成 20 ng/ μL 的工作液, 储存在 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中, 作为分析时的模板。

3.2.2 PCR反应

所用高粱引物由上海生工生物工程技术服务有限公司合成。PCR反应采用10 μL , 15 μL , 20 μL 和25 μL 4种反应体系。反应体系各样品依次加好后, 加1滴石蜡油, 防止蒸发。使用PTC-200热循环仪(MJ Research Inc.)进行扩增。按如下程序扩增: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性5 min后, 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性30s、55 $^{\circ}\text{C}$ 退火30s、72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸1 min循环扩增35次, 最后于72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸7 min。

3.2.3 PCR产物的检测

采用10%, 8%和6%三种浓度的非变性聚丙烯酰胺凝胶对扩增产物进行分离; 采用两种染色方法, 一种是常规的非变性聚丙烯酰胺凝胶染色方法(Sanguinetti et al., 1994), 另一种是快速银染方法(Carlos et al., 1994)。本实验对两种方法略作了改动, 均省略了用终止液终止反应, 显影后直接用蒸

馏水冲洗数遍, 用保鲜膜包好即可分析各基因型。

3.2.4 分子标记连锁图谱的构建

在双亲间具有明显多态性的标记用于检测石红137/L-甜F₂群体各单株的基因型。将与L-甜相同的带型赋值为“A”, 与石红137相同的带型赋值为“B”, 与F₁杂种相同的带型赋值为“H”, 带型不清楚或缺失的赋值为“-”。利用MAPMAKER3.0 软件对所有的标记进行连锁分析(Lander et al., 1987)。利用卡平方测验对标记分离比率进行检测。在0.05显著水平, 当 χ^2 大于5.99, 认为在该标记位点存在一个偏分离。利用MapChart2.2 (Voorrips et al., 2002)软件进行连锁图的构建。

作者贡献

王海莲是本研究的实验设计和实验研究的执行人; 王海莲和秦岭完成数据分析, 论文初稿的写作; 张华文和杨延兵参与实验设计, 试验结果分析; 管延安是项目的构思者及负责人, 指导实验设计, 数据分析, 论文写作与修改。王洪刚和李斯深指导论文写作与修改。全体作者都阅读并同意最终的文本。

致谢

本研究得到公益性行业(农业)科研专项“能源甜高粱产量与含糖量协同提高关键技术研究”(nyhyzx07-011-04)和“十一五”国家科技支撑项目“耐盐碱能源甜高粱种质创新和新品种培育”(2009BADA7B01) 和国家现代高粱产业技术体系(nycytx-12-04-08)资助。

参考文献

Berhan A.M., Hulbert S.H., Butler L.G., and Bennetzen J.L., 1993, Structure and evolution of the genomes of *Sorghum bicolor* and *Zea mays*, *Theor. Appl. Genet.*, 86: 598-604

Bhatramakki D., Dong J., Chhabra A. K., and Hart.G., 2000, An integrated SSR and RFLP linkage map of *Sorghum bicolor* (L.) Moench, *Genome*, 43: 988-1002

Carlos J.S., Emmanuel D.N., and Andrew F.G., 1994, Rapid silver staining and recovery of PCR products separated on polyacrylamide gels, *Biotechniques*, 17: 907-914

Dellaporta S.L., Wood J., and Hicks J.B., 1983, A plant DNA miniprep: Version II, *Plant Mol. Biol. Rep.*, 1:19-21

Dufour P., Deu M., Grivet L., D'Hont A., Paulet F., Bouet A., Lanaud C., Glaszmarm J.C., and Hamon P., 1997, Construction of a composite sorghum genome map and comparison with sugarcane, a related complex polyploidy, *Theor. Appl. Genet.*, 94: 409- 418

Han Y.L., and Chang J.H., 2006, Comparative analysis of two kinds of Methods to Detect SSRs on Polyacrylamide Gels Electrophoresis Systems, *Zaliang Zuowu (Rain Fed Crops)*, 26(3): 176-177 (韩永亮, 常金华, 2006, 聚丙烯酰胺凝胶电泳的两种染色方法对SSR标记的影响, *杂粮作物*, 26(3): 176-177)

Hulbert S.H., Richter T.E., Axtell J.D., and Bennetzen J.L., 1990, Genetic mapping and characterization of sorghum and related crops by means of maize DNA probes, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 87: 4251-4255

Kong L., Dong J., and Hart G.E., 2000, Characteristics, linkage map positions, and allelic differentiation of *Sorghum bicolor* Moench DNA simple sequence repeats (SSRs), *Theor. Appl. Genet.*, 101: 438-448

Lander E.S., Green P., and Abrahamson J., 1987, MAPMAKER: an interactive computer package for constructing primary genetic linkage map of experimental and natural populations, *Genomics*, 1: 174-181

Li Y.Y., Zou J.Q., and Xu X.M., 2007, Optimization polyacrylamide gel electrophoresis condition of sorghum SSR molecular marker, *Zaliang Zuowu (Rain Fed Crops)*, 27(5): 331-335 (李玥莹, 邹剑秋, 徐秀明, 2007, 高粱 SSR分子标记反应体系的建立和优化, *杂粮作物*, 27(5): 331-335)

Lin Y.R., Schertz K.F., and Paterson A.H., 1995, Comparative analysis of QTLs affecting plant height and maturity across the poaceae, in reference to an interspecific sorghum population, *Genetics*, 141: 391-411

Menz M.A., Klein R.R., Mullet J.E., Obert J.A., Unruh N.C., and Klein P.E., 2002, A high-density genetic map of *Sorghum bicolor* (L.) moench based on 2926 AFLP, RFLP and SSR markers, *Plant Molecular Biology*, 48 (5-6): 483-499

Niu N., Lu D., and Li Y.Y., 2010, Comparison of two silver staining methods for polyacrylamide gels electrophoresis using ssr markers on sorghum, *Shenyang Shifan Daxue Xuebao (Journal of Shenyang Normal University (Natural Science))*, 28(2): 259-261 (牛楠, 陆丹, 李玥莹, 2010, 高粱微卫星两种PAGE银染方法的比较, *沈阳师范大学学报(自然科学版)*, 28(2): 259-261)

Paterson A.H., Bowers J.E., Bruggmann. R., Dubchak I., Grimwood J., Gundlach H., Haberer G., Hellsten U., Mitros T., Poliakov A., Schmutz J., Spannagl M., Tang H., Wang X., Wicker T., Bharti A.K., Chapman J., Feltus F.A., Gowik U., Grigoriev I.V., Lyons E., Maher C.A., Martis. M., Narechania A., Otiillar R.P., Penning B.W., Salamov

- A.A., Wang Y., Zhang L.F., Carpita N.C., Freeling M., Gingle A.R., Hash C.T., Keller B., Klein P., Kresovich S., McCann M.C., Ming R., Peterson D.G., Rahman M., Ware D., Westhoff P., Mayer K.F.X., Messing J., and Rokhsar D.S., 2009, The *Sorghum bicolor* genome and the diversification of grasses, *Nature*, 457: 551-556
- Pereira M.G., Lee M., Bramel-Cox P., Woodman W., Doebley J., and Whitkus R., 1994, Construction of an RFLP map in sorghum and comparative mapping in maize, *Genome*, 37: 236-243
- Ritter K.B., Jordan D.R., Chapman S.C., Godwin I.D., Mace E.S., and McIntyre C.L., 2008, Identification of QTL for sugar-related traits in a sweet×grain sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) recombinant inbred population, *Mol. Breeding*, 22: 367-384
- Sanguinetti C.J., Dias N.E., and Simpson A.J.G., 1994, Rapid silver staining and recover of PCR products separated on polyacrylamide gels, *Biotechniques*, 17: 915-919
- Shiringani A.L., Frisch M., and Friedt W., 2010, Genetic mapping of QTLs for sugar-related traits in a RIL population of *Sorghum bicolor* L. Moench, *Theor. Appl. Genet.*, 121: 323-336
- Taramino G., Tarchini R., Ferrario S., Lee M., and Pe M.E., 1997, Characterization and mapping of simple sequence repeats (SSRs) in *Sorghum bicolor*, *Theor. Appl. Genet.*, 95: 66-72
- Tuinstra M.R., Grote E.M., Goldsbrough P.B., and Eieta G., 1996, Identification of quantitative trait loci associated with pre-flowering drought tolerance in sorghum, *Crop Sci.*, 36: 1337-1344
- Voorrips R., 2002, MapChart: software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs, *J. Hered.*, 93: 77-78
- Whitkus R., Doebley J., and Lee M., 1992, Comparative genome mapping of sorghum and maize, *Genetics*, 132: 1119-1130
- Wu Y.Q., and Huang Y.H., 2006, An SSR genetic map of *Sorghum bicolor* (L.) moench and its comparison to a published genetic map, *Genome*, 50(1): 84-89

 **5thPublisher**是一个致力于科学与文化传播的中文出版平台

在5thPublisher上发表论文, 任何人都可以免费在线取阅您的论文

- ※同行评审, 论文接受严格的高质量的评审
- ※在线发表, 论文一经接受, 即刻在线发表
- ※开放取阅, 任何人都可免费取阅无限使用
- ※快捷搜索, 涵盖谷歌学术搜索与知名数据库
- ※论文版权, 作者拥有版权读者自动授权使用

在线投稿: <http://5th.sophiapublisher.com>