

## 研究报告

### Research Report

# 亲本未知的棉花 F<sub>1</sub> 杂种及其 F<sub>2</sub> 单株的 SSR 分子鉴定

付小琼<sup>✉</sup>, 叶武威<sup>✉</sup>

中国农业科学院棉花研究所, 棉花生物学国家重点实验室, 安阳, 455000

✉ 通讯作者: fuxq@cricaas.com.cn ✉ 作者

分子植物育种, 2012 年, 第 10 卷, 第 44 篇 doi: 10.5376/mpb.cn.2012.10.0044

收稿日期: 2012 年 05 月 26 日

接受日期: 2012 年 06 月 13 日

发表日期: 2012 年 09 月 27 日

本文首次发表在《分子植物育种》(2012 年第 10 卷第 5 期 600-606 页)上。现依据版权所有人授权的许可协议, 采用 Creative Commons Attribution License 协议对其进行授权, 再次发表与传播。只要对原作有恰当的引用, 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(中文):

付小琼等, 2012, 亲本未知的棉花 F<sub>1</sub> 杂种及其 F<sub>2</sub> 单株的 SSR 分子鉴定, 分子植物育种(online) Vol.10 No.44 pp.1323-1330 (doi: 10.5376/mpb.cn.2012.10.0044)

引用格式(英文):

Fu et al., 2012, Identification of F<sub>1</sub> Hybrid and F<sub>2</sub> Individual in Cotton with Unknown Parents, Fenzi Zhiwu Yuzhong (online) (Molecular Plant Breeding) Vol.10 No.44 pp. 1323-1330 (doi: 10.5376/mpb.cn.2012.10.0044)

**摘要** 在棉花品种区域试验中, 杂交种纯度的分子检测一直是比较困难的课题, 尤其是在亲本未知的情况下, 杂交种的纯度的分子检测研究尚未见报导。本研究利用 17 对 SSR 核心引物对参试品种邯 6402 的 F<sub>1</sub> 进行纯度检测, SSR 标记纯度达 100%, 17 对引物中有 12 对呈现共显性, 5 对引物为非共显性。同时, 构建了 F<sub>1</sub> 的 SSR 指纹图谱, 以此可以鉴定邯 6402 的真实性。继续用这些引物对 F<sub>2</sub> 的 44 株棉苗进行检测, F<sub>2</sub> 群体棉苗均有不同程度的分离, 绝大部分基因型为杂合体, 许多位点显示共显性, 且共显性位点互不相同, 在分子水平上验证了 F<sub>2</sub> 群体的杂合状态。应用这一套 SSR 核心引物, 能够在室内鉴定棉花杂交种的真实性和纯度, 还能够鉴别是 F<sub>1</sub> 杂交种还是 F<sub>2</sub> 分离群体, 比对杂交种的指纹图谱能检测出 F<sub>1</sub> 中掺杂成分。

**关键词** 棉花; SSR 核心引物; SSR 标记纯度; 指纹图谱; 分子鉴定

## Identification of F<sub>1</sub> Hybrid and F<sub>2</sub> Individual in Cotton with Unknown Parents

Fu Xiaojiong<sup>✉</sup>, Ye Wuwei<sup>✉</sup>

State Key Laboratory of Cotton Biology, Cotton Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Anyang, 455000

✉ Corresponding author, fuxq@cricaas.com.cn; ✉ Authors

**Abstract** Molecular identification for the hybrid purity is very crucial task in regional trial of cotton varieties, particularly it was not yet to be reported in the case of unknown parents for the hybrid purity by molecular detection. In this study, 17 pairs of SSR core primers were employed to identify the F<sub>1</sub> purity of Han6402, the purity based on SSR marker reached 100%. 12 of the 17 pair primers exhibited co-dominant banding pattern, while 5 of them were non-dominant banding pattern. Moreover, we built an F<sub>1</sub> SSR fingerprinting profile that can identify the authenticity of Han6402 in this research. By using these primers to detect 44 F<sub>2</sub> individual seedlings, the results exhibited the separation at different extent, in which the majority of genotypes were heterozygous with co-dominant in most of the loci that were different from each other. The results validated the F<sub>2</sub> population underlying the heterozygous status at the molecular level. We may have conclusion that the set of SSR core primers should apply to in-house identification for the authenticity and purity of cotton hybrids, which not only can be able to distinguish the F<sub>1</sub> hybrid or F<sub>2</sub> segregating individual, but also to detect volunteer seeds as fake F<sub>1</sub> hybrid seed in cotton hybrid industry based on the hybrid fingerprinting.

**Keywords** Cotton; SSR core primer; SSR marker based purity; DNA fingerprinting; Molecular identification

### 研究背景

杂交棉比常规棉品种增产幅度大, 纤维品质较优, 抗逆性强, 特别是前期长势旺, 抗病能力较强, 因此杂交棉品种在棉花生产中得到迅速的推广利用, 深受棉农的认可。但是, 近几年来棉种市场上 F<sub>2</sub> 代冒充 F<sub>1</sub> 代杂种, 或者在 F<sub>1</sub> 代杂种中掺有大量亲本种子的事实不断出现, 使棉农蒙受损失。因

此, 如何鉴别棉种的真伪、品种纯度是一个亟待解决的问题(付小琼等, 2009)。

通常, 棉种的真实性和纯度鉴定是常规的田间 DUS 特异性(Distinctness)、一致性(Uniformity)和稳定性(Stability)测试检测, 这种方法周期长, 且易受环境条件的影响。20 世纪 90 年代, 随着分子生物学技术的快速发展, 利用分子标记使室内鉴定品种

的真实性和纯度成为可能。

SSR (Simple sequence repeat)分子标记具有重复性好, 操作简单, 呈共显性等优点, 而且数量丰富, 技术较为成熟, 已被广泛地应用于玉米、水稻等农作物的品种真实性和纯度鉴定上(王风格等, 2003; 李云海等, 1999)。运用 SSR 分子标记检测杂交种, 一般需要提供亲本, 在已知亲本的前提下筛选引物, 鉴定品种纯度和真实性是十分有效的。

然而, 在国家级、省级新品种区试中, 参试单位无须提供参试品种的亲本材料, 因此, 这就需要在无亲本的情况下做纯度检测。本课题在多年国家棉花区试参试品种的纯度检测工作中积累经验, 筛选出一批核心引物, 已应用于 700 多个棉花材料上, 取得了较好的效果。在杂交种的鉴别工作中, 在无亲本信息或亲本材料的情况下, SSR 引物扩增在供试材料中呈现共显性或非共显性, 非共显性表明该 SSR 座位在该材料的两亲本无差异。显然, 呈共显性的引物数量越多, 表明两亲本的 SSR 多样性丰富, 亲缘关系越远, 杂种的优势更好。

本研究通过对邯 6402 杂交种的 F<sub>1</sub> 单株、F<sub>2</sub> 群体(44 个单株)指纹图谱的构建, 比对单株间的图谱差异, 试图利用 SSR 核心引物构建品种的指纹图

谱, 鉴别常规棉品种和杂交棉品种, 区分 F<sub>1</sub> 代杂交种和 F<sub>2</sub> 代分离群体。

## 1 结果分析

### 1.1 邯 6402 F<sub>1</sub> 的纯度检测

应用 17 对 SSR 核心引物检测邯 6402 F<sub>1</sub> SSR 标记纯度, 纯度达 100%, 其中表 1 中前 12 对引物 F<sub>1</sub> 呈共显性, 后 5 对引物呈非共显性。图 1、图 2、图 3 和图 4 分别显示在引物 NAU2343、NAU1255、NAU1186 和 NAU1369 的扩增下, F<sub>1</sub> 24 株棉花 SSR 扩增谱带一致, 说明没有杂株, 表明 F<sub>1</sub> 在分子水平上纯度一致。其中 NAU2343、NAU1255、NAU1186 三对引物在 F<sub>1</sub> 中呈共显性, 而 NAU1369 在 F<sub>1</sub> 中扩增呈非共显性。

### 1.2 邯 6402 F<sub>1</sub> 的 SSR 指纹图谱的构建

在检测 SSR 标记纯度的同时, 完成了 F<sub>1</sub> 的 17 对 SSR 引物的指纹图谱, 把电泳带谱信息转化成相应的数字编码表示(表 1), 从而构成品种独一无二的身份标识, 能作为品种真实性鉴定的依据, 可以区别于其它品种。

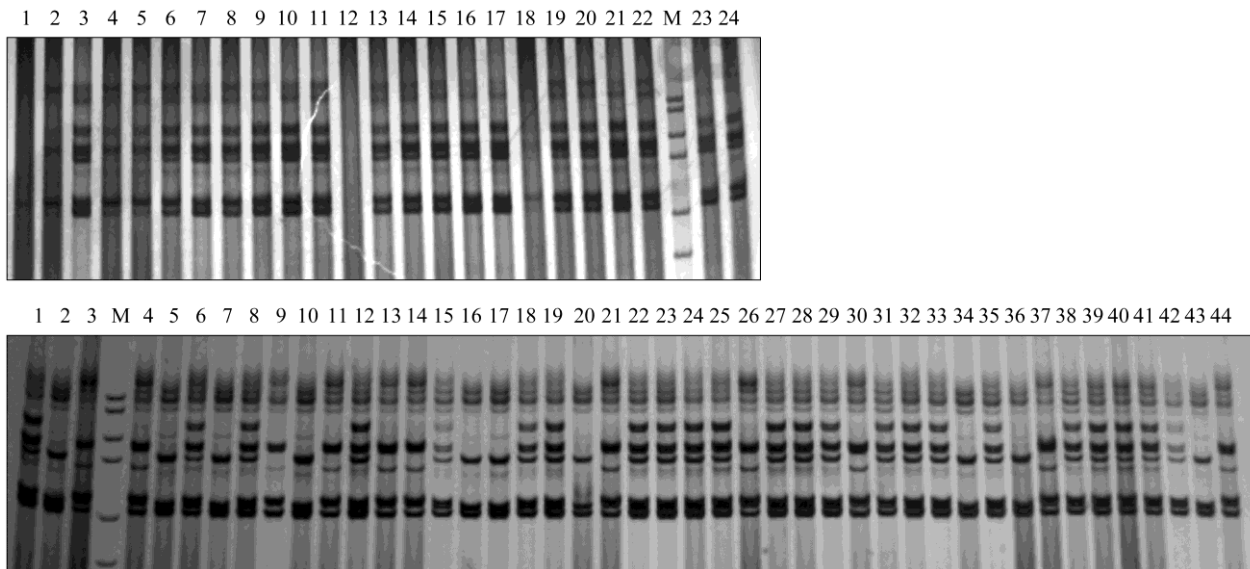


图 1 棉花杂种 F<sub>1</sub> 和 F<sub>2</sub> 分离株在引物 NAU2343 扩增下的 SSR 图谱

注: M: DNA marker; 上图 1~24 株为 F<sub>1</sub> 的谱带, 均为 III 型; 下图 1~44 株为 F<sub>2</sub> 的谱带, 分别为 I, II, III 型; 其中 I 型: 2, 5, 7, 10, 16, 17, 20, 34, 36, 43; II 型: 3, 4, 9, 11, 13, 14, 21, 26, 30, 37, 44; III 型: 1, 6, 8, 12, 15, 18, 19, 22, 23, 24, 25, 27, 28, 29, 31, 32, 33, 35, 38, 39, 40, 41, 42

Figure 1 Banding patterns of F<sub>1</sub> hybrids and F<sub>2</sub> segregants generated by the SSR primers of NAU2343

Note: M: DNA marker; Banding patterns of hybrid F<sub>1</sub> individuals 1~24 (above), assigned as type III; Banding Patterns of F<sub>2</sub> separating individuals 1~44 (below), assigned as type I, II and III; Type I: 2, 5, 7, 10, 16, 17, 20, 34, 36, 43; Type II: 3, 4, 9, 11, 13, 14, 21, 26, 30, 37, 44; Type III: 1, 6, 8, 12, 15, 18, 19, 22, 23, 24, 25, 27, 28, 29, 31, 32, 33, 35, 38, 39, 40, 41, 42

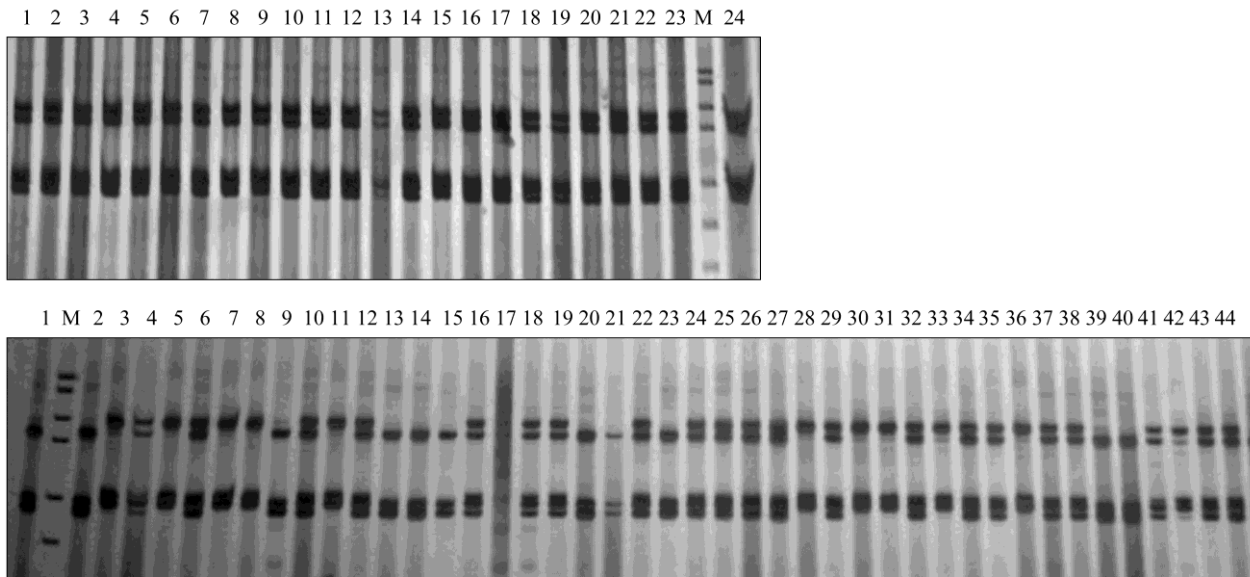


图2 棉花杂种 F<sub>1</sub> 和 F<sub>2</sub> 分离株在引物 NAU1255 扩增下的 SSR 图谱

注: M: DNA marker; 上图 1~24 株为 F<sub>1</sub> 的谱带, 均为 III 型; 下图 1~44 株为 F<sub>2</sub> 的谱带, 分别为 I, II, III 型; 其中 I 型: 1, 2, 9, 17, 20, 21, 23, 28, 39, 40; II 型: 3, 5, 7, 8, 11, 13, 14, 15, 30, 31, 33, 36, 42; III 型: 4, 6, 10, 12, 16, 18, 19, 22, 24, 25, 26, 27, 29, 32, 34, 35, 37, 38, 41, 43, 44

Figure 2 Banding patterns of F<sub>1</sub> hybrids and F<sub>2</sub> segregants generated by the SSR primers of NAU1255

Note: M: DNA marker; Banding patterns of hybrid F<sub>1</sub> individuals 1~24 (above), assigned as type III; Banding Patterns of F<sub>2</sub> separating individuals 1~44 (below), assigned as type I, II and III; Type I: 1, 29, 17, 20, 21, 23, 28, 39, 40; Type II: 3, 5, 7, 8, 11, 13, 14, 15, 30, 31, 33, 36, 42; Type III: 4, 6, 10, 12, 16, 18, 19, 22, 24, 25, 26, 27, 29, 32, 34, 35, 37, 38, 41, 43, 44

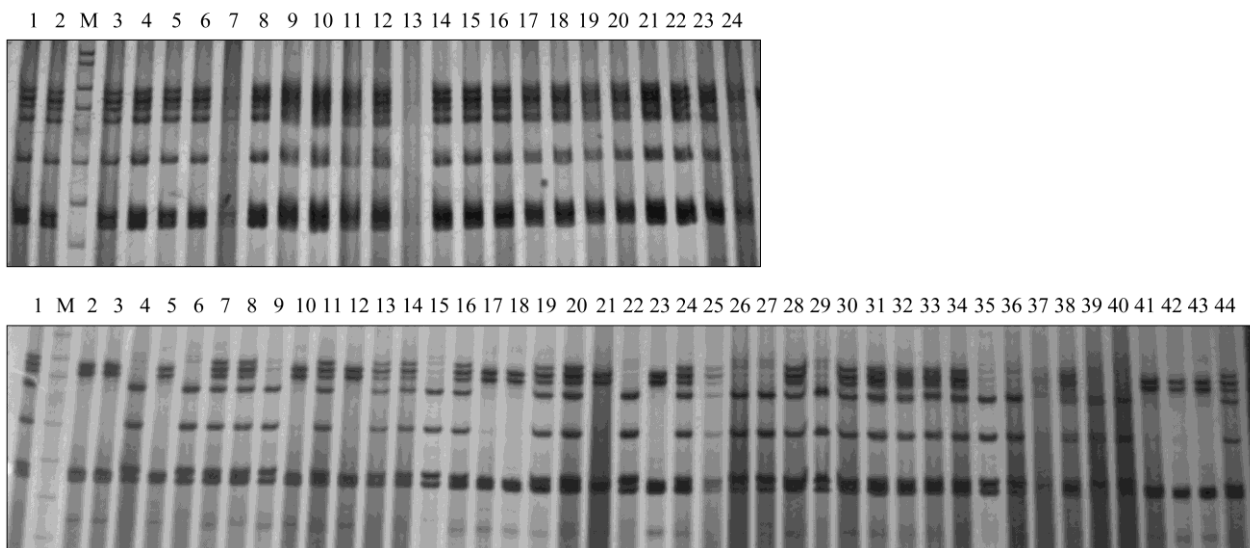


图3 棉花杂种 F<sub>1</sub> 和 F<sub>2</sub> 分离株在引物 NAU1186 扩增下的 SSR 图谱

注: M: DNA marker; 上图 1~24 株为 F<sub>1</sub> 的谱带, 均为 III 型; 下图 1~44 株为 F<sub>2</sub> 的谱带, 分别为 I, II, III 型; 其中 I 型: 4, 6, 9, 15, 22, 26, 27, 29, 35, 36, 39, 40; II 型: 2, 3, 5, 10, 12, 17, 18, 21, 23, 41, 44, 32; III 型: 1, 7, 8, 11, 13, 14, 16, 19, 20, 24, 25, 28, 30, 31, 32, 33, 34, 37, 38, 44

Figure 3 Banding patterns of F<sub>1</sub> hybrids and F<sub>2</sub> segregants generated by the SSR primers of NAU1186

Note: M: DNA marker; Banding patterns of hybrid F<sub>1</sub> individuals 1~24 (above), assigned as type III; Banding Patterns of F<sub>2</sub> separating individuals 1~44 (below), assigned as type I, II and III; Type I: 4, 6, 9, 15, 22, 26, 27, 29, 35, 36, 39, 40; Type II: 2, 3, 5, 10, 12, 17, 18, 21, 23, 41, 44, 32; Type III: 1, 7, 8, 11, 13, 14, 16, 19, 20, 24, 25, 28, 30, 31, 32, 33, 34, 37, 38, 44

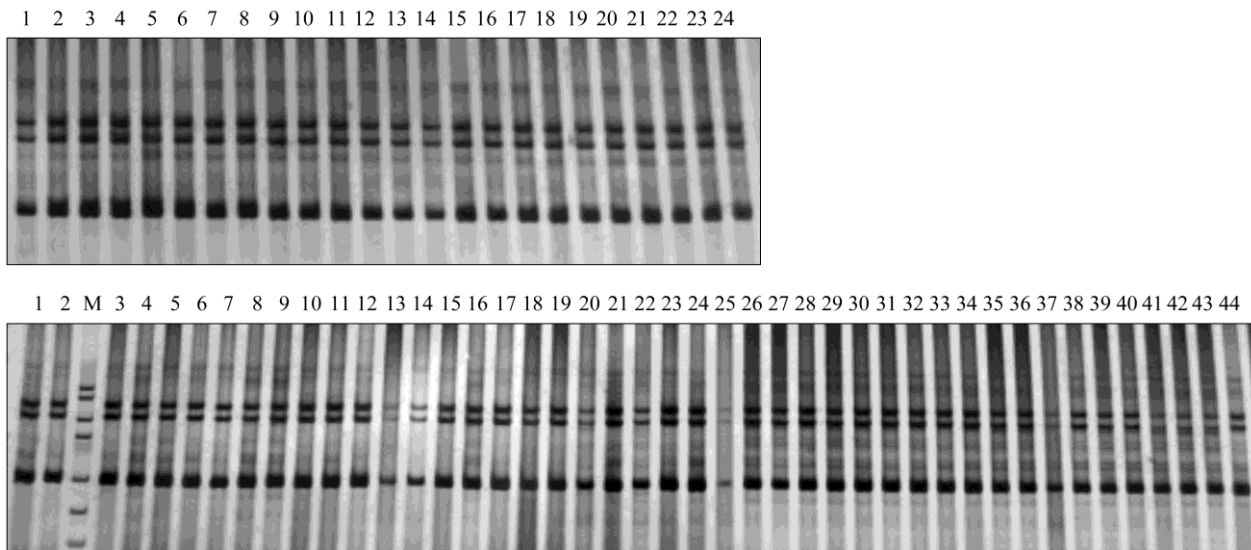


图 4 棉花杂种 F<sub>1</sub> 和 F<sub>2</sub> 分离株在引物 NAU1369 扩增下的 SSR 图谱

注: M: DNA marker; 上图 1~24 株为 F<sub>1</sub> 的谱带, 均为 III 型; 下图 1~44 株为 F<sub>2</sub> 的谱带, 均为 II 型

Figure 4 Banding Patterns of F<sub>1</sub> hybrids and F<sub>2</sub> segregants generated by the SSR primers of NAU1369

Note: M: DNA marker; Banding patterns of hybrid F<sub>1</sub> individuals 1~24 (above), assigned as type III; Banding Patterns of F<sub>2</sub> separating individuals 1~44 (below), assigned as type II

表 1 邯 6402 F<sub>1</sub> 和 F<sub>2</sub> 植株的图谱数字编码

Table 1 Digital coding transformed from the banding patterns of F<sub>1</sub> hybrids and F<sub>2</sub> separating individuals of Han6402

棉株编号 No.of individual	代数 Generation	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	共显引物数 Number of codomi nance markers
	F <sub>1</sub>	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2	2	2	2	12
1	F <sub>2</sub>	1	3	1	3	3	2	3	1	2	3	3	3	2	2	2	2	2	7
2		1	2	3	3	1	2	3	1	2	1	2	2	2	2	2	2	2	3
3		3	2	3	3	3	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	6
4		3	1	1	3	3	3	3	3	1	2	1	3	2	2	2	2	2	7
5		2	2	2	3	2	1	2	2	3	1	3	2	2	2	2	2	2	4
6		2	1	3	1	2	1	3	3	2	3	1	1	2	2	2	2	2	4
7		1	3	3	3	1	2	3	2	3	1	2	1	2	2	2	2	2	5
8		1	3	3	3	2	1	1	2	3	3	2	1	2	2	2	2	2	5
9		2	1	1	2	2	1	3	1	3	2	1	3	2	2	2	2	2	3
10		2	2	1	1	1	2	3	3	1	1	3	3	2	2	2	2	2	4
11		3	3	3	3	1	2	2	2	3	2	1	3	2	2	2	2	2	7
12		3	2	1	2	3	3	1	3	3	3	3	1	2	2	2	2	2	7
13		3	3	1	2	1	2	2	1	3	2	3	3	2	2	2	2	2	5
14		2	3	2	2	5	2	3	1	3	2	3	2	2	2	3	2	3	8
15		3	1	3	2	3	3	2	1	2	3	1	3	2	2	2	2	2	6
16		1	3	2	3	3	3	2	3	2	1	2	2	2	2	2	2	2	5
17		1	2	2	1	2	1	2	1	2	1	2	2	2	2	2	2	2	0
18		2	2	3	1	2	1	2	3	3	3	3	2	2	2	2	2	2	5

续表 5

Continuing table 5

棉株编号 No.of individual	代数 Generation	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	共显引物数 Number of codomi nance markers
19		1	3	2	1	2	1	1	3	3	3	2	3	2	2	2	2	2	5
20		1	3	1	1	3	3	3	1	1	1	3	2	2	2	2	2	2	5
21		3	2	2	3	1	2	3	1	3	2	3	3	2	2	2	2	2	6
22		3	1	3	3	1	2	3	3	2	3	3	3	2	2	2	2	2	8
23		3	2	2	3	1	1	3	1	3	3	3	1	2	2	2	2	2	6
24		1	3	3	1	1	1	3	3	3	3	3	3	2	2	2	2	2	9
25		1	3	2	2	3	3	2	3	3	3	3	2	2	2	2	2	2	8
26		3	1	3	1	2	1	2	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2	4
27		3	1	2	2	3	3	2	3	2	3	2	3	2	2	2	2	2	6
28		3	3	2	3	3	3	3	2	3	3	2	3	2	2	2	2	2	10
29		3	1	1	3	1	2	2	3	3	3	3	3	2	2	2	2	2	8
30		2	3	3	1	2	1	3	2	1	2	3	2	2	2	2	2	2	5
31		2	3	3	3	1	2	2	2	3	3	2	3	2	2	2	2	2	6
32		2	3	2	2	3	3	3	3	2	3	2	3	2	2	2	2	2	8
33		2	3	1	3	3	3	2	2	3	3	3	3	2	2	2	2	2	8
34		3	3	2	3	3	3	2	3	3	1	2	3	2	2	2	2	2	8
35		3	1	2	2	2	2	3	3	3	3	1	2	2	2	2	2	2	6
36		3	1	1	2	3	3	3	2	1	1	1	3	2	2	2	2	2	6
37		3	3	3	3	2	2	3	3	3	2	3	3	2	2	2	2	2	9
38		1	3	1	1	2	2	3	3	3	3	1	3	2	2	2	2	2	6
39		3	1	3	3	1	2	3	1	1	3	1	1	2	2	2	2	2	5
40		1	1	3	3	1	2	3	1	1	3	1	2	2	2	2	2	2	5
41		2	2	3	1	3	2	3	3	2	3	3	3	2	2	2	2	2	7
42		3	2	3	2	3	3	3	2	1	3	1	2	2	2	2	2	2	7
43		1	2	1	3	3	3	2	3	3	1	1	2	2	2	2	2	2	6
44		1	3	1	2	3	3	2	3	3	2	3	3	2	2	2	2	2	8

### 1.3 邯 6402 F<sub>2</sub> 分离株的分子鉴定及图谱编码的确定

在 12 对共显性引物的扩增下, 44 株 F<sub>2</sub> 棉苗中均呈现分离带谱。图 1、图 2 和图 3 中三对共显性引物在 F<sub>2</sub> 棉苗中分离严重。而 5 对在 F<sub>1</sub> 棉株中呈非共显性的引物, 在 43 株棉苗中扩增其图谱一致, 其中第 14 号棉株在引物 NAU1103 和 NAU2277 扩增下呈共显性, 这可能是与其它品种天然授粉所致, 或混入杂株。图 4 显示在引物 NAU1369 扩增下 44 株 F<sub>2</sub> 棉苗不分离, 这与在 F<sub>1</sub> 中呈现非共显性一致。第 17 号棉苗在 17 对引物中没有出现共显性带引物, 显然, 该株棉花可能是一个纯合株系, 或

者是外来的纯合品种, 或者是因为供试 SSR 引物不足而漏检。其它 42 株棉苗在不同的引物扩增下均有共显性谱带, 均为基因杂合株, 有共显性谱带的引物数在 3~10 之间, 每株棉苗均与 F<sub>1</sub> 不同, 42 株棉苗之间相互比对也无相同。将 F<sub>2</sub> 单株棉苗的扩增图谱转换为数字编码 1、2 和 3 (表 1), 构建 F<sub>2</sub> 分离株的指纹图谱。

### 1.4 从分子水平验证 F<sub>2</sub> 性状比例

5 对呈非共显性的引物在 F<sub>2</sub> 群体中扩增, 带谱基本稳定, 但也有个别单株出现变异。12 对呈共显

表 2 17 对 SSR 核心引物在 F<sub>2</sub> 单株中谱带分离比例表

Table 2 Separate ratio of SSR markers of the 17 pairs of core primers

图谱带型 Types of the banding pattern	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
I	14	12	13	11	13	11	3	12	8	10	12	6	0	0	0	0	0
II	11	12	13	12	12	17	16	11	11	11	13	15	44	44	43	44	43
III	19	20	18	21	18	16	25	21	25	23	19	23	0	0	1	0	1
其他 Other					1												
合计 Total	44	44	44	44	44	44	44	44	44	44	44	44	44	44	44	44	44

性的引物在 F<sub>2</sub> 群体中扩增,“亲本 1:亲本 2:杂交型”分离比例如表 2。由于个体数目偏少,尽管不能严格按 1:1:2 的比例,但有接近这个比例的趋势。对一个 SSR 位点的分离为 3 种类型的基因型,但对于多个位点而言,分离后植株间杂合程度非常高。

### 1.5 F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub> 和常规棉的区别

F<sub>1</sub> 杂交种在共显性引物的扩增下,每个植株均表现为共显性,谱带类型为 3 型,整齐一致;在非共显性引物下,均为一致的简单带型。F<sub>2</sub> 群体在不同的引物扩增下基本上每一个植株的谱带都不一致,而且绝大多数为杂合体。常规棉在不同的引物扩增下,每个植株均表现为简单带型 1 或 2,不会出现共显带 3。根据不同植株谱带的结构可以判别 F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub> 和常规棉。通过单株图谱的比对,也能初步分析出棉种的掺杂的成分。

## 2 讨论

以 F<sub>1</sub> 纯度好为前提,研究分子水平下 F<sub>2</sub> 的杂合状况,在多个引物的扩增下,F<sub>2</sub> 分离株在基因水平上是非常杂合的。基因多位点的差异会导致表型性状的不一致,田间纯度差,经济性状分离,造成产量、品质不一致。生产上 F<sub>2</sub> 的大量使用,使杂交棉发挥不了应有的优势,导致杂交棉在推广中受到负面的影响。

棉种的真实性室内快速鉴定,以及 SSR 标记纯度的检测,有利于种子公司的质量控制,也有利于种子监管部门的有效管理。棉花品种指纹图谱的构建,有利于育种家对棉种产权的保护。

在各级棉花区域试验过程中,有少数育种家急于求成用低世代材料参试,这样的品种一旦获得新品种认定,如果推广应用,很容易退化,给棉农带

来损失。因此,经过 SSR 纯度检测,对纯度过低的品种实行淘汰制,是十分必要的。特别是有的育种家用 F<sub>1</sub> 替代常规棉参试,造成不公平竞争,或使用重复品种参试,这种情况只有对参试材料进行指纹图谱的比对,才能得到有效的控制。我们期望建立一套 SSR 核心引物鉴别参试的每一个材料建设一个公平竞争的品种参试平台。

## 3 材料与方法

### 3.1 棉花材料

供试材料是国家棉花区试提供的参试品种邯 6402 F<sub>1</sub>, 2011 年 4 月 27 日种植于中国农科院棉花研究所东场试验地,在成株期田间取样 24 株;2011 年收获邯 6402 F<sub>2</sub> 种子,2012 年 3 月种于生长箱内,取幼苗 44 株。

### 3.2 DNA 提取的方法

参考 Paterson 等的方法(Paterson et al., 1993),结合本实验室改进后的 CTAB 法(付小琼等, 2011),2011 年用真叶提取 DNA,2012 年用幼苗的子叶提取 DNA。应用 17 对 SSR 核心引物(表 3)检测 F<sub>1</sub> 的纯度并构建指纹图谱(中国农科院棉花研究所, 2011),构建 F<sub>2</sub> 44 个分离株的指纹图谱。

### 3.3 基因杂合和纯合的判别方法

呈共显性引物的谱带为三种带型,定义三种带型为 1、2 和 3,其中 1 和 2 为简单带型,为亲本类型,3 为共显带型,凡是在不同引物上有 3 的棉株,表明在这些位点是杂合的,可以判断这株棉花为基因杂合株,在所有引物的扩增谱带上均没有 3,表明这株棉花的基因是相对纯合的。

表3 SSR核心引物序列表

Table 3 List of the SSR core primers

序号 Coding No	引物名称 Primer name	正向引物序列 Forward sequence of primers	反向引物序列 Reverse sequence of primers
1	NAU1269	TACCTGAAACCCAAAATGGT	ACGCTGTTATAGGGCTCATC
2	NAU1186	AATGGTCCTGCTCCAGATT	AATCGTCGTCGTCGAATTAT
3	NAU1187	AACAAGAGCCAAGGTTTCATC	GGATGCTGTATAGGGCTCAT
4	NAU 2026	GAATCTCGAAAACCCCATCT	ATTTGGAAGCGAAGTACCAG
5	NAU 1233	TTCGGGAAAGTTAGAGGAGA	TCCTCAGAGCTCGGAATAGT
6	DPL0431	CTATCACCCCTTCTCTAGTTGCGTT	ATCGGGCTCACAAACATCA
7	NAU1102	ATCTCTCTGTCTCCCCCTTC	GCATATCTGGCGGGTATAAT
8	NAU1255	CATGCAAATCCATGCTAGAG	GGTTTCTTTGGTGGTGA AAC
9	NAU868	GGCAAACCATAAGGGTAAC	TAGCGTGAGATTGTGGCTTA
10	NAU2343	GCTTTGCTTTGGAATGAGAT	TACTGCAACCCCTCACACT
11	NAU1085	AwGTCGCCCTTCTCTAATTT	TGTAAACCGAACTCGTTGTG
12	NAU2274	TCCTCGGATTATCAAACCT	TGAAGAGGACATTGATGACG
13	CS62	GATGGCTACCTCCCTTTGTA	CGTAAGGAAGCCTAGCAAAA
14	NAU1071	ACCAACAATGGTGACCTCTT	CCCTCCATAACCAAAAGTTG
15	NAU1103	GGAGCCAGAAGTTGAGAAAA	TTCGGCTTCTGCTTTTACTT
16	NAU1369	TGGCAGAGATGAATGTAAGC	GGTAACGGATGGAAAATCAC
17	NAU2277	GAACTAGCCACATGATGCAC	TTGTTGAGGCATTAGTTTGC

### 作者贡献

付小琼是本研究的实验设计和实验研究的执行人, 完成数据分析, 论文初稿的写作; 叶武威完成本论文的英文写作与全文修改工作。全体作者都阅读并同意最终的文本。

### 致谢

本研究获得中国农业科学院棉花研究所杜雄明博士和棉花生物学国家重点实验室马丽华老师的持术支持, 在此表示感谢。

### 参考文献

Cotton Research Institute of Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2011, A novel kit to distinguish the cotton normal and hybrid varieties, China Patent, CN200910235514.4 (中国农科院棉花研究所, 2011, 辅助鉴别常规棉和杂交棉的方法及其专用试剂盒, 中国专利, CN200910235514.4)

Fu X.Q., Yang F.X., Liu F.J., and Wang X.L., 2011, A rapid extraction technology of cotton DNA and its application on regional cotton varieties tests, In: China Cotton Association, The 2011 annual meeting of China cotton association, Anyang, China, pp.124-127 (付小琼, 杨付新, 刘逢举, 王秀玲, 2011, 棉花总DNA快速提取技术及其在国家棉花区试中的应用, 中国棉花学会, 2011年年会

论文汇编, 安阳, 中国, pp.124-127)

Fu X.Q., Yang F.X., Wang X.L., Tang L.P., and Guo F.G., 2009, A distinguishing method of normal and hybrid cotton varieties based on SSR markers, In: China Cotton Association, The 2009 annual meeting of China cotton association, Anyang, China, pp.125-126 (付小琼, 杨付新, 王秀玲, 汤磊鹏, 郭峰光, 2009, 利用SSR分子标记技术鉴别常规棉与杂交棉品种, 中国棉花学会, 2009年年会论文汇编, 安阳, 中国, pp.125-126)

Li Y.H., Xiao H., Zhang C.Q., Hu G.C., Yu Y.H., Jia J.Z., and Sun Z.X., 1999, Genetic variation of main parents of hybrid rice in China was revealed with simple sequence repeat markers, Zhiwu Xuebao (Chinese Bulletin of Botany), 41(10): 1061- 1066 (李云海, 肖晗, 张春庆, 胡国成, 于永红, 贾继增, 孙宗修, 1999, 用微卫星DNA标记检测中国主要杂交水稻亲本的遗传差异, 植物学报, 41(10): 1061-1066)

Paterson A.H., Brubaker C.L., and Wendel J.F., 1993, Rapid method for extraction of cotton (*Gossypium* spp.) genomic DNA suitable for RFLP or PCR analysis, Plant Mol. Biol. Rep., 11(2): 122-127  
<http://dx.doi.org/10.1007/BF02670470>

Wang F.G., Zhao J.R., Guo J.L., and Liu L.Z., 2003, Series of research on establishing DNA fingerprinting pool of Chinese new maize cultivars I. The establishment of a

standard SSR system fitting for maize cultivars' identification, Yumi Kexue (Journal of Maize Sciences), 11(1): 3-6 (王风格, 赵久然, 郭景伦, 刘龙洲, 2003, 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