

## 四个国家海岛棉品种资源的亲缘关系和遗传多态性研究

吴大鹏,房嫌嫌,马梦楠,陈进红,祝水金\*

(浙江大学农业与生物技术学院农学系,杭州 310029)

**摘要:**以海岛棉标准系 3-79 为对照,陆地棉标准系 TM-1 为参考对照,用 SSR 引物对来自前苏联、中国、美国和埃及等 4 个海岛棉主要生产国(地区)的 20 份海岛棉种质资源的基因组 DNA 进行 SSR 分析,研究不同海岛棉生产国的海岛棉品种资源的遗传亲缘关系和遗传多样性。108 对 SSR 引物共获得了 175 条多态性谱带,平均每个引物扩增出 1.62 条多态性谱带。供试海岛棉品种之间的遗传相似系数为 0.66~0.94,平均值为 0.81。根据 UPGMA 聚类分析,以遗传相似系数阈值为 0.77,可将 20 份栽培棉花种质材料分为 4 大类:第一类均为前苏联品种,第二类均为中国品种,第三类以美国品种为主,第四类以埃及品种为主。遗传多样性分析结果表明,前苏联海岛棉品种资源的遗传多样性最为丰富,而埃及的海岛棉品种资源遗传距离最狭窄,我国的海岛棉品种资源的遗传多样性居中。本研究表明,供试材料遗传背景与其产地背景有一定关联性,SSR 标记能较好地揭示供试棉花品种之间的遗传差异和亲缘关系。

**关键词:**海岛棉;种质资源;SSR;遗传多样性

中图分类号:S562.02

文献标识码:A

文章编号:1002-7807(2010)02-0104-06

## Genetic Relationship and Diversity of the Germplasms in *Gossypium barbadense* L. from Four Different Countries Using SSR Markers

WU Da-peng, FANG Xian-xian, MA Meng-nan, CHEN Jin-hong, ZHU Shui-jin\*

(Agronomy Department, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

**Abstract:** Genomic DNA of 20 germplasms of sea island cotton (*G. barbadense* L.) from four production countries (regions), namely former USSR, China, USA, and Egypt, were analyzed for their genetic relationship and genetic diversity, using the 3-78 (the standard line of *G. barbadense*) as check and TM-1 (the standard line of *G. hirsutum*) as reference check. The SSR molecular markers were employed and 108 pairs of polymorphic SSR primers were used in this experiment. Among the 108 pairs of polymorphic SSR primers, 175 polymorphic bands were produced, with averaging of 1.62 bands per primer. The genetic similarity coefficient among the tested germplasms was 0.66-0.94, with the average of 0.81. The UPGMA cluster analysis showed that four groups could be clearly clustered when genetic similarity coefficient was given as 0.77. The first group were those from former USSR, most germplasms in the second group came from USA, all of the germplasms in the third group came from China, and most in the last group were those from Egypt. The results showed that the genetic diversity of the sea-island cotton germplasms from USSR was extraordinary diversified among the four different countries, and that from Egypt was the least in genetic diversity. The sea-island cotton germplasms from China were placed in the middle, according to the results of genetic similarity coefficient in present experiment. Our results also showed that the genetic background of the sea-island cotton germplasms tested in this experiment was correlative with their producing regions, and the SSR marker could be used in revealing the genetic diversity and genetic relationship among the sea-island germplasms.

**Key words:** sea-island cotton; germplasm resources; SSR; genetic diversity

收稿日期:2009-03-21 作者简介:吴大鹏(1986-),男,硕士研究生;\*通讯作者,shjzhu@zju.edu.cn

基金项目:国家 973 计划项目(2004CB117305)、国家公益性农业科研专项(3-19)和国家自然科学基金(30471108、30671325)

遗传多样性研究在作物遗传育种中具有重要的理论和实践价值。只有掌握品种资源的遗传变异信息,才能有针对性地选择杂交亲本,并在后代中获得更多的优良遗传变异,显著地提高育种效率。遗传多样性对杂种优势利用的亲本组配更为重要,选择遗传距离相对较远的亲本可以选配成有较大优势的杂交组合。海岛棉(*Gossypium barbadense* L.)因其优良的纤维品质(纤维长、强、细)在国际市场上占有一定的份额,故在中国、美国、埃及和前苏联(如乌兹别克斯坦)等植棉国仍有较大的种植面积。海岛棉遗传多样性研究对于海岛棉新品种选育以及海岛棉优质纤维性状和高抗黄萎病性的遗传转育等具有重要的意义。然而,有关海岛棉品种资源的遗传多样性研究的报道尚不多。

DNA 分子标记包括 RAPD、RFLP、AFLP 和 SSR 等在作物种质资源分类和进化研究中起了重要的作用。与其它遗传标记相比,SSR(simple sequence repeats)具有可直接检测 DNA 分子结构变异、反映研究材料本质差异、灵敏度高、稳定性好、操作简单等优点,在遗传多样性分析、种质鉴

定、DNA 指纹图谱构建、基因定位和分子标记育种等研究领域应用广泛<sup>[1]</sup>。另外,SSR 为共显性分子标记,具有多态性丰富和 PCR 结果重现性高的优点,被认为是研究群体遗传标记变异的最好标记之一。目前,已在小豆<sup>[2]</sup>、小麦<sup>[3]</sup>、甘蔗<sup>[4]</sup>、水稻<sup>[5]</sup>、大麦<sup>[6]</sup>、玉米<sup>[7]</sup>、大豆<sup>[8]</sup>等作物中广泛应用。本研究利用 SSR 分子标记技术对 20 个来源于不同产棉国的海岛棉品种资源进行遗传多样性研究,探讨不同地区选育的海岛棉种质资源之间的遗传差异,进一步明确 SSR 分子标记在棉花品种鉴别中的应用价值,旨在为海岛棉种质资源的评价与利用、海岛棉棉花新品种选育和品种产权保护提供参考。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

本实验选择新疆棉区栽培的 5 个海岛棉品种和 15 个引自美国、埃及和前苏联(乌兹别克斯坦等)的海岛棉品种作为供试材料,以海岛棉标准系 3-79 为对照,陆地棉标准系 TM-1 为参考对照材料,见表 1。各材料于 2008 年种于浙江大学实验农场。

表 1 供试海岛棉品种的名称和来源

Table 1 The materials of *G. barbadense* L. used in the experiment

编号	品种名称	来源	编号	品种名称	来源
1	苏联 9934	乌兹别克斯坦	12	比马 67	美国
2	苏联 78	乌兹别克斯坦	13	比马克 8-103	美国
3	苏联 K12	乌兹别克斯坦	14	比马 67	美国
4	悟 52	乌兹别克斯坦	15	比马 1	美国
5	5476H	乌兹别克斯坦	16	派字棉	美国
6	新海 11	中国新疆	17	米努非	埃及
7	新海 20	中国新疆	18	吉扎 45	埃及
8	新海 14	中国新疆	19	吉扎 88-1	埃及
9	新海 21	中国新疆	20	吉扎 75	埃及
10	新海 6	中国新疆	21	埃及棉 2-1	埃及
11	TM-1(参考 CK)	中国农科院棉花所	22	3-79(CK)	华中农业大学

### 1.2 试验方法

**1.2.1 基因组 DNA 的提取与纯化。**取各样本的幼嫩新鲜叶片,贮于-20℃冰箱备用。棉花基因组 DNA 的提取、分离和纯化参考 Paterson 等<sup>[9]</sup>的方法,并作适当修改。DNA 用 RNaseA 纯化(终浓度为 100 μg·mL<sup>-1</sup>,37℃温育 20 min),去除 RNA 后在 752 型紫外分光光度计上测浓度,以 TE 为空白对照,将模板 DNA 用 TE 稀释成所需浓度备用,并用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 质量。

**1.2.2 SSR 引物合成。**SSR 引物序列来自 Cot-

tonDB 数据库 <http://algodon.tamu.edu/htdocs2cot-ton/cot2tondb.html>,由上海生物工程公司合成。

**1.2.3 SSR-PCR 扩增。**PCR 反应总体积为 10 μL。其中,模板 DNA 2 μL(10 ng·μL<sup>-1</sup>),Mg<sup>2+</sup>0.8 μL(25 mol·L<sup>-1</sup>),dNTPs 0.25 μL(10 mol·L<sup>-1</sup>),10×buffer 1 μL,引物 0.75 μL(20 ng·μL<sup>-1</sup>),Taq 酶 5 U·μL<sup>-1</sup>。使用美国 PE 公司生产的 Gene AmpR PCR System 9700 PCR 仪进行扩增。扩增条件:94℃预变性 5 min;94℃变性 30 s,50~63℃(根据引物而定)退火 30 s,72℃延伸 30 s,共 35 个循环,72℃延伸 5 min。

**1.2.4 电泳分析。**以 1×TBE 为下槽电极缓冲液、1/3×TBE 为上槽电极缓冲液,100 W 恒定功率预电泳 30 min 左右,至玻璃板温度达到 50℃。取上样缓冲液(98%甲酰胺,10 mmol·L<sup>-1</sup> EDTA,0.05% 溴酚蓝,0.05%二甲苯青)4 μL 加入 SSR 扩增产物中混合,94℃变性 5 min,迅速置于冰水混合物上冷却,防止复性。每样品各取 3.5 μL,上样于 6%的变性聚丙烯酰胺凝胶上,75W 恒功率电泳 50~60 min,直至二甲苯青指示剂距胶板底部 2/3 处结束电泳。用 pBR322 DNA Hae III(购自北京三博远志,标准分子量为 51~587 bp)为标记确定 DNA 片段在凝胶上的相对位置和大小。电泳结束后,将凝胶依次在 10%冰乙酸中浸泡 30 min,水洗 2 次(每次 5 min),0.1% AgNO<sub>3</sub>(加入 3 mL 37%甲醛)中浸泡 30 min,快速用水冲洗 1 次(5~8 s),然后在 3% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(2,000 L 去离子水中加入无水 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 40 g,37%甲醛 3 mL,4℃)中显影至带型清晰,立即用 10%冰乙酸终止显影。2 min 后将胶板取出,用自来水冲掉附着在胶板上的冰乙酸,晾干,照相,保存。

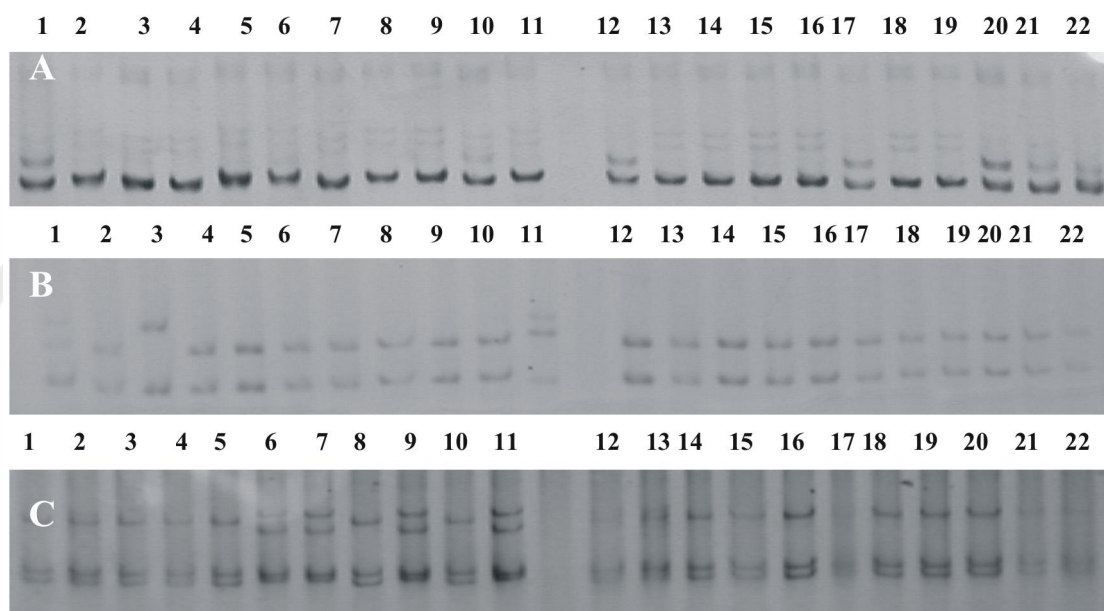
**1.2.5 数据分析。**将每条 SSR 引物扩增产物每一条带视为 1 个位点,统计位点总数和多态性位

点数,条带清晰可辨的记为 1,缺失的记为 0,不具多态性的条带不予统计。用 Jaccard 系数计算成对品种资源间遗传相似性, $J=N_{ij}/(N+N_{oo})$ ,其中  $N_{ij}$  为种质 i 和种质 j 共有的等位基因数, $N$  为所有供试种质等位基因数, $N_{oo}$  为种质和种质 j 均不具有的等位基因数  $n$ 。在遗传相似系数基础上,利用非加权平均 UPGMA(Unweight pair method using arithmetic averages)法对所有供试种质建立树状图。Jaccard 系数和 UPGMA 利用 NTSYS-PC (Ver 2.1)软件包完成。

## 2 结果与分析

### 2.1 海岛棉品种资源 SSR 标记的多态性

对 20 个供试海岛棉材料和 2 个对照进行了 SSR 引物的筛选,共筛选了 500 对 SSR 引物。其中 108 对引物能够扩增出多态性条带,占 21.6%,SSR 的多态性明显优于陆地棉(未发表资料)。108 对引物共扩增出 175 条具有多态性的清晰条带(图 1),条带的分子量范围在 50~250 bp 之间,不同引物扩增出的清晰多态性条带数在 1~4 条之间,平均每个引物扩增出 1.62 条多态性条带。



A:引物 NAU2815; B:引物 NAU2894; C:引物 NAU5162;泳道上的数据为表 1 中的品种编号。

图 1 部分 SSR 引物在海岛棉品种资源中的扩增效果

Fig.1 DNA fragments amplified by partly SSR primers in germplasm of *G.barabdense*

## 2.2 海岛棉品种资源的遗传相似性分析

用 175 个 SSR 分子标记对 20 个来自不同国家的海岛棉参试材料, 以及海岛棉标准系对照 3-79 和陆地棉标准系参考对照 TM-1 进行遗传相似性分析, 结果见表 2。

由表 2 可以看出, 不同产区的海岛棉品种资源与陆地棉标准系(TM-1)之间的遗传相似系数变异在 0.41~0.52 之间。其中, 新海 20 与 TM-1 间的遗传距离最近(0.52), 比马 67-2 最远(0.41)。不同产区的 20 个海岛棉样本与海岛棉标准系 3-79 之间的遗传相似系数变异在 0.69~0.88 之间。其中, 埃及棉与 3-79 间的遗传距离最近(0.885), 而苏联 9934 与 3-79 间的距离最远(0.697)。可见, 海岛棉种质资源与陆地棉标准系之间的遗传相似系数均低于与海岛棉标准系之间的遗传相似系数, 两者十分明显。不同产区的

海岛棉品种资源中, 前苏联品种资源之间的遗传相似系数为 0.74~0.85, 平均 0.802; 中国新疆品种资源之间的遗传相似系数为 0.74~0.87, 平均 0.806; 美国品种资源之间的遗传相似系数为 0.73~0.94, 平均 0.805; 埃及品种资源之间的遗传相似系数为 0.74~0.87, 平均 0.826。可以看出, 在供试材料中, 前苏联海岛棉品种资源的遗传多样性最好, 埃及海岛棉品种资源的遗传多样性最低, 而中国与美国的海岛棉品种资源的遗传多样性介于二者之间。在供试的海岛棉品种资源中, 来源于前苏联(主要是乌兹别克斯坦)的苏联 K12 与来源于埃及的吉扎 45 之间的遗传亲缘关系最远, 其遗传相似系数仅为 0.662, 而来源于美国的比马 67-2 和比马 1 之间的遗传亲缘关系最近, 其遗传相似系数高达 0.94。

表 2 不同产区的海岛棉品种资源的遗传相似系数

Table 2 Genetic similarity coefficients among the germplasms of *G.barbadense* from different countries

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	
1	1																						
2	0.817	1																					
3	0.749	0.817	1																				
4	0.754	0.811	0.834	1																			
5	0.794	0.84	0.749	0.857	1																		
6	0.749	0.76	0.726	0.8	0.84	1																	
7	0.749	0.771	0.714	0.766	0.806	0.874	1																
8	0.766	0.8	0.777	0.771	0.777	0.777	0.846	1															
9	0.737	0.794	0.771	0.72	0.76	0.806	0.806	0.811	1														
10	0.794	0.749	0.76	0.777	0.76	0.749	0.771	0.846	0.783	1													
11	0.474	0.474	0.497	0.491	0.486	0.497	0.52	0.491	0.474	0.497	1												
12	0.806	0.749	0.703	0.789	0.806	0.76	0.771	0.731	0.691	0.783	0.463	1											
13	0.703	0.737	0.76	0.8	0.794	0.771	0.726	0.709	0.737	0.703	0.44	0.851	1										
14	0.737	0.771	0.771	0.777	0.771	0.703	0.68	0.743	0.726	0.76	0.406	0.771	0.829	1									
15	0.737	0.806	0.771	0.811	0.794	0.737	0.703	0.754	0.737	0.749	0.429	0.76	0.817	0.943	1								
16	0.726	0.749	0.726	0.846	0.84	0.783	0.714	0.731	0.68	0.726	0.486	0.783	0.783	0.737	0.794	1							
17	0.743	0.811	0.743	0.84	0.834	0.823	0.789	0.76	0.731	0.731	0.526	0.789	0.8	0.709	0.754	0.834	1						
18	0.697	0.743	0.663	0.726	0.754	0.731	0.789	0.817	0.766	0.754	0.457	0.731	0.697	0.674	0.697	0.72	0.806	1					
19	0.726	0.771	0.691	0.731	0.771	0.806	0.817	0.777	0.783	0.737	0.497	0.737	0.737	0.737	0.737	0.714	0.811	0.834	1				
20	0.737	0.76	0.68	0.686	0.737	0.737	0.794	0.823	0.783	0.783	0.451	0.737	0.691	0.771	0.749	0.703	0.743	0.834	0.874	1			
21	0.72	0.777	0.686	0.737	0.789	0.731	0.777	0.794	0.789	0.789	0.434	0.766	0.743	0.743	0.743	0.731	0.806	0.851	0.834	0.869	1		
22	0.697	0.754	0.709	0.749	0.754	0.72	0.743	0.783	0.777	0.754	0.411	0.731	0.754	0.743	0.754	0.743	0.783	0.76	0.789	0.823	0.886	1	

## 2.3 不同国家海岛棉品种资源 SSR 分子标记聚类分析

根据 175 个 SSR 分子标记数据, 采用 Jaccard's 相似系数 UPGMA 法进行聚类, 建立了来源于 4 个国家的 20 个参试海岛棉品种资源以及海岛棉对照 3-79 和陆地棉参考对照(TM-1)的分子亲缘关系聚类树状图(图 2)。

由图 2 可以看出, 在相似系数为 0.47 处, 21

个海岛棉被聚为一类, 陆地棉标准系 TM-1 被聚为另一类。很显然, 海岛棉和陆地棉的种间遗传亲缘关系远于海岛棉品种间。在相似系数为 0.74 处, 前苏联海岛棉品种资源和美国品种被聚为一类, 中国新疆品种和埃及品种被聚为另一类。说明前苏联和美国海岛棉品种有一定的遗传亲缘关系, 而中国新疆的海岛棉品种可能含有埃及海岛棉的遗传成份。在相似系数为 0.75 处, 3 个前

苏联品种(苏联 9934、苏联 78 和苏联 K12)被聚为一类,2 个苏联品种(悟 52 和 5476H)、1 个埃及品种(米努非)和 5 个美国品种聚为一类,中国新疆品种与埃及的 4 个品种被聚为一类。在相似

系数为 0.77 处,5 个中国新疆品种被聚为完整的一类,而 4 个埃及品种和海岛棉对照 3-79 聚为另一类。亲缘关系最近的美国品种比马 67-2 与比马 1 在遗传相似系数 0.94 处被准确地聚为一类。

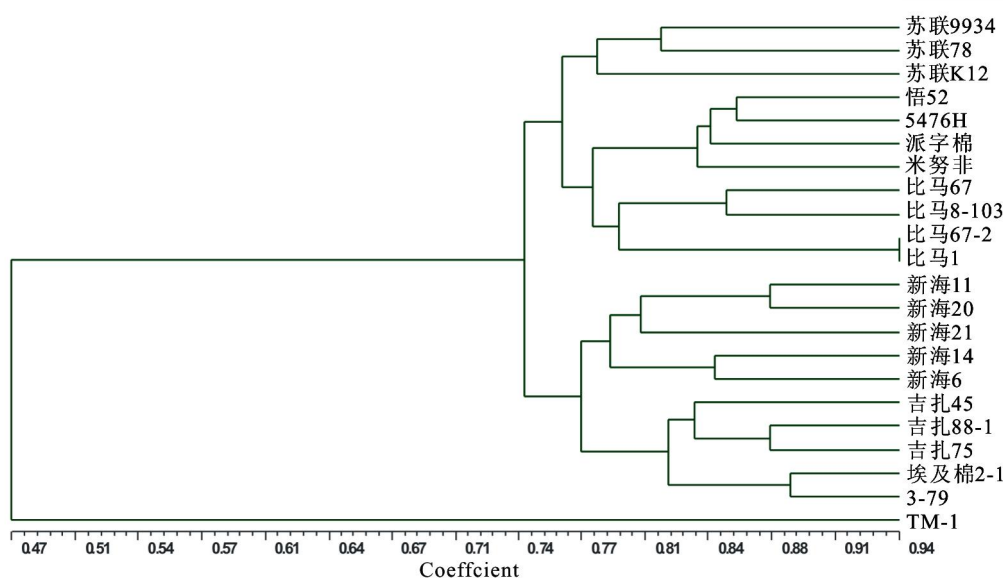


图 2 不同国家海岛棉品种资源的 SSR 分子标记聚类结果

Fig.2 The dendrogram of the germplasm from different countries in *G.barabadense* based on SSR molecular markers

### 3 讨论

由于交通的日益发达,种质的流动性加剧,使种质资源的家系研究变得更加复杂。相同的种质在不同生态区域的表现型往往有所差别,使用传统分析方法研究分析种质资源难免会产生误差或错误。应用分子标记对棉花育种材料的遗传多样性进行研究和评估,可准确地为育种提供广泛遗传变异的种质资源信息,为棉花育种和生产提供有效的服务和技术手段<sup>[10]</sup>。

SSR 分子标记已经是一种很成熟的分子标记,已在棉花的遗传多样性研究中应用。孙君灵等<sup>[11]</sup>利用 39 个多态性 SSR 标记分析了 3 个棉花品种辐射诱变后代 M5 材料(共 74 份)的遗传多样性,表明辐射可创造丰富的遗传变异,拓宽原品种的遗传基础。辐射对不同棉花品种的诱变效果存在差异。朱龙付等<sup>[12]</sup>利用 18 对 SSR 引物分别对 31 份国外引进的陆地棉材料的相似系数与中国的 17 份材料的相似系数进行了比较分析。结果表明,中国材料相对于新引进的国外材料的

遗传多样性水平稍高,与国外材料之间的遗传差异较大。说明扩大不同地区间种质资源的交流和引进可以丰富本地材料的遗传多样性。陈光等<sup>[13]</sup>利用 398 对 SSR 引物对不同亲本来源、不同选育时期、不同种植生态区的 43 份陆地棉基础种质进行了遗传多样性的 SSR 分子标记分析。结果表明,我国棉花现代基础种质比早期基础种质的遗传多样性呈下降的趋势。黄河流域和长江流域主产棉区的基础种质的遗传多样性还没有超过国外基础种质,品种间的遗传背景较为狭窄。然而,有关海岛棉遗传多态性的研究较少。陈光<sup>[14]</sup>用 24 对具有多态性的 SSR 引物对 53 个海岛棉种质资源进行遗传多样性的检测分析,53 个品种被分为两大类,与系谱来源一致。本研究利用 108 对多态性的 SSR 标记分析了 20 个来源于不同国家的海岛棉品种资源的遗传多样性,并根据遗传相似系数和品种间的遗传距离将被测品种恰当地分为 4 个类群,所分类群和品种来源基本一致,说明供试材料的遗传背景与其产地背景有一定关联性。

本研究还表明,除个别品种外,相同产区的海岛棉品种均能聚成一类,但前苏联的海岛棉品种与美国品种之间有一定的交叉,说明美国与前苏联之间存在着较频繁的海岛棉品种资源的交流,而中国和埃及在海岛棉新品种选育中则各以本国资源为主。米努非为埃及南部一个耐热的海岛棉品种,它与其它埃及品种的系谱存在较大的差异。本研究应用 SSR 分子标记将其归于美国和前苏联品种类,说明其遗传亲缘关系的特殊性。此外,由于埃及海岛棉在其系统发育过程中的特殊的地理条件,故与其它海岛棉品种在形态特征、生理特点及纤维品质等方面具有一定的独特性。而本试验中将海岛棉标准系 3-79 与 4 个埃及海岛棉聚成一类,其遗传亲缘关系与埃及棉 2-1 很相近,说明 3-79 可能是由埃及海岛棉血统经连续自交而成。它是否能作为其它海岛棉品种的标准系还有待进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] 陈光,杜雄明,卢东柏,等.利用 SSR 分子标记进行海岛棉遗传多样性研究[J].植物遗传资源学报,2005,6(2):135-139.  
CHEN Guang, Du Xiong-ming, Lu Dong-bai, et al. Genetic diversity of sea island cotton using SSR markers[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2005, 6(2):135-139.
- [2] 叶剑,赵波,佟星,等.栽培小豆种质资源遗传多样性 SSR 标记分析[J].北京农学院报,2008,23(1):8-13.  
YE Jian, Zhao Bo, Tong Xing, et al. Genetic diversity of cultivated Adzuki Bean (*Vigna angularis*) germplasm resources based on SSR markers[J]. Journal of Beijing Agricultural College, 2008, 23(1):8-13.
- [3] 苏志芳,包阿东,马庆. SSR 标记技术及其在小麦遗传多样性研究中的应用[J].内蒙古农业科技,2008,(2):22-24.  
SU Zhi-fang, Bao A-dong, Ma Qing. SSR marker and its application in wheat genetic diversity[J]. Inner Mongolia Agricultural Science and Technology, 2008, (2):22-24.
- [4] 游建华,吴凯朝,梁俊,等.利用 SSR 标记评价甘蔗品种遗传多样性[J].安徽农业科学,2008,36(10):3990-3992.  
YOU Jian-hua, Wu Kai-chao, Liang Jun, et al. Assessment of the genetic diversity among sugarcane cultivars by Using SSR marker[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2008, 36(10):3990-3992.
- [5] 张晓丽,郭辉,王海岗,等.中国普通野生稻与栽培稻种 SSR 多样性的比较分析[J].作物学报,2008,34(4):591-597.  
ZHANG Xiao-li, Guo Hui, Wang Hai-gang, et al. Imparative assessment of SSR allelic diversity in wild and cultivated rice in China[J]. Acta Agronomica Sinica, 2008, 34(4):591-597.
- [6] 张赤红,张京,赵会英,等.应用 SSR 标记对 61 个国家大麦遗传多样性的研究[J].植物遗传资源学报,2008,9(1):15-19.  
ZHANG Chi-hong, Zhang Jing, Zhao Hui-ying, et al. Study on genetic diversity of barely from 61 countries using SSR markers [J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2008, 9(1):15-19.
- [7] 吴永升,李明顺,李新海,等.广西地方玉米种质和加拿大群体的遗传多样性分析[J].中国农业科学,2008,41(3):890-900.  
WU Yong-sheng, Li Ming-shun, Li Xin-hai, et al. Genetic diversity among Guangxi local maize varieties and Canadian maize populations[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2008, 41(3):890-900.
- [8] 张小明,刘丽君,唐晓飞,等.中俄大豆种质遗传多样性分析[J].大豆科学,2008,27(1):15-20.  
ZHANG Xiao-ming, Liu Li-jun, Tang Xiao-fei, et al. Genetic diversity of soybean germplasm in Russia and China[J]. Soybean Science, 2008, 27(1):15-20.
- [9] PATERSON A H, Brubaker C L, Wendel J F. A rapid method for extraction of cotton (*Gossypium spp*) genomic DNA suitable for RFLP or PCR analysis[J]. Plant Molecular Biology Report, 1993, 11(2):122-127.
- [10] 姜伟,朱宏波,何觉民.不同来源棉花种质资源遗传多样性的 ISSR 分析[J].棉花学报,2008,20(5):348-353.  
JIANG Wei, Zhu Hong-bo, He Jue-min. Genetic diversity in germplasm resources of cotton from different area based on ISSR markers[J]. Cotton Science, 2008, 20(5):348-353.
- [11] 孙君灵,杜雄明,孙其信,等.棉花  $\gamma$  射线诱变后代的 SSR 标记遗传多样性[J].中国农业科学,2006,39(10):1967-1976.  
SUN Jun-ling, Du Xiong-ming, Sun Qi-xin, et al. Genetic diversity of the progeny of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) irradiated by  $\gamma$  ray with SSR markers[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2006, 39(10):1967-1976.
- [12] 朱龙付,张献龙,聂以春,等.利用 RAPD 和 SSR 标记分析陆地棉种质资源的遗传多样性[J].农业生物技术学报,2003,11(5):450-455.  
ZHU Long-fu, Zhang Xian-long, Nie Yi-chun, et al. Analysis of genetic diversity in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) cultivars from China and foreign countries by RAPDs and SSRs[J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2003, 11(5):450-455.
- [13] 陈光,杜雄明.我国陆地棉基础种质遗传多样性的 SSR 分子标记分析[J].遗传学报,2006,33(8):733-745.  
CHEN Guang, Du Xiong-ming. Genetic diversity of source germplasm of upland cotton in China as determined by SSR marker analysis[J]. Acta Genetica Sinica, 2006, 33(8):733-745.