

SSR 分子标记研究进展

罗兵^{1,2}, 孙海燕^{1,2}, 徐港明¹, 杨志刚^{1,2}, 沈宗根^{1,2}, 顾雯雯¹, 高阳¹, 郑佳亮¹

(1. 常熟理工学院生物与食品工程学院, 江苏常熟 215500; 2. 国家杂交水稻工程技术研究中心常熟分中心, 江苏常熟 215500)

摘要 SSR 标记广泛分布于基因组中, 呈孟德尔遗传, 多态性丰富, 信息量大, 已被作为一种理想的分子标记之一而广泛应用。文中重点介绍了 SSR 标记的开发和 SSR 技术试验体系的研究进展, 旨在为 SSR 分子标记的研究与应用提供参考信息。

关键词 SSR; 分子标记; 研究进展

中图分类号 S188 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2013)12-05210-03

Research Progress of SSR Molecular Marker

LUO Bing et al (College of Biology and Food Engineering, Changshu Institute of Technology, Changshu, Jiangsu 215500)

Abstract SSR molecular markers have been widely used in many genetic studies and become one of perfect molecular markers owing to their distribution throughout the genome, mendelian inheritance, high polymorphism and abundance information. The aim of this paper is to review the research developments of SSR molecular markers and its technology process and provide useful information in making appropriate choices among the large number of currently available options.

Key words SSR; Molecular marker; Research progress

在真核生物中, 结构基因仅占基因组的 10%~20%, 重复序列占有大部分。微卫星序列又称简单序列重复 (Simple Sequence Repeat, SSR), 是重复序列的主要组成成分之一。SSR 是一类由 1~6 个核苷酸为重复单位序列组成的串联重复序列。这些简单重复序列绝大部分随机、均匀、广泛地分布于真核生物的基因组上, 并且由于重复次数不同而造成简单序列长度多态性 (Simple Sequence Length polymorphism, SSLP)。不同物种的 SSR 序列在长度、组成、重复次数、突变率在染色体上的分布情况高度多态, 反映出高度的等位基因多样性^[1]。由此开发的 SSR 分子标记技术具有共显性、涵盖范围广、揭示多态性高等优点, 已在育种、指纹数据库的构建、品种鉴定及种子纯度等方面得到广泛应用^[2]。为使 SSR 分子标记的使用更方便、成本更低廉等, 人们对 SSR 分子标记的开发和实验操作体系进行一系列的改进, 甚至出现了一些新方法。笔者在文中就 SSR 分子标记的研究进展作一阐述, 以期对 SSR 分子标记的研究与应用提供参考。

1 原理

SSR 分子标记由 Moore 等于 1991 年创立^[3], 是目前应用最广泛的分子标记技术之一。简单重复序列 (SSR) 长度大多在 100~200 bp。尽管 SSR 重复单位的大小、序列和拷贝数呈多态性, 但其两端往往是相对保守和专一的, 因此可根据两端的序列设计 1 对特异引物, 通过 PCR 技术扩增出微卫星 DNA 序列, 再利用聚丙烯酰胺或琼脂糖凝胶电泳技术获得其长度多态性, 即 SSR 分子标记。

2 SSR 分子标记开发的研究进展

2.1 传统开发 SSR 标记方法

传统开发 SSR 标记的方法是通过构建基因组文库筛选 SSR 标记, 这也是最经典的方法, 在已获得的 SSR 分子标记中, 大部分是利用该方法开发

获得的。Kresovich 等^[4]通过构建油菜含 15 000 克隆的小片段基因组文库, 获得了油菜的 SSR 标记, 发现在油菜中重复单位 GA 的数量是 CA 和 GATA 的 4~5 倍。Szewc-McFadden 等^[5]利用简单重复序列筛选甘蓝型油菜基因组文库, 获得的 17 对 SSR 引物皆能在芸薹 (AA)、甘蓝 (CC) 及甘蓝型油菜 (AACC) 材料中扩增出产物, 其中 13 对 SSR 引物的扩增产物具有多态性。Uzunova 等^[6]在筛选白菜基因组文库时, 发现每 100 kb 就有 1 个 GA/TC 重复序列, 而 CA/TG 的丰度只是 GA/TC 的 1/4。Marion 等^[7]利用该技术从含有 A、B、D 3 个染色体组的六倍体小麦基因组中开发出 230 对 SSR 引物, 其中大多数引物对都是基因组特异的, 小麦主要有 AG-SSR、CA-SSR、TA-SSR、TC-SSR、GT-SSR。但 Ujino 等^[8]在研究东南亚热带雨林树种龙脑香科植物 *Shorea curtisii* 时, 利用构建与筛选小插入片段基因组文库法筛选 SSR 引物, 从 6 000 个克隆中仅获得 4 个阳性克隆, 最后只得到了 1 个 SSR 引物对。由此可见, 传统开发 SSR 标记方法费时费力, 获得 SSR 阳性克隆的几率很低, 成功获得引物的几率则更低。

2.2 利用富集技术筛选 SSR 标记

为提高效率、降低开发成本, 提高获得 SSR 阳性克隆的几率, 人们开发了利用富集步骤筛选微卫星标记的方法——建立和筛选微卫星富集文库法。此方法主要是先利用 SSR 探针杂交技术对基因组 DNA 片段进行富集再建立基因组文库。李齐发等^[9]利用磁珠富集技术首次成功构建了牦牛基因组微卫星富集文库, 且测序发现阳性克隆率达 77%。Kandpal 等^[10]在利用磁珠富集技术从人类 B 淋巴细胞中筛选分离 SSR 序列时, 阳性克隆率达 90% 以上。王洪哲等^[11]在采用磁珠富集与放射性杂交相结合的方法开发黑斑狗鱼基因组微卫星时, 设计的 28 对 SSR 引物均可扩增出明显的目的条带。由此可见, 该方法能有效地提高筛选 SSR 效率, 缩短实验周期, 但该方法仍需构建和筛选基因组文库, 操作过程也较繁琐。

2.3 利用 PCR 技术开发 SSR 标记

Cifarellir 等^[12]利用 (Random Amplified polymorphic DNA, RAPD) 策略, 将 SSR

基金项目 苏州市科技计划项目 (SZS201102, SYN201110)。

作者简介 罗兵 (1975-), 男, 四川达州人, 副教授, 博士, 从事植物分子生物学研究, E-mail: lbsong-001@163.com。

收稿日期 2013-04-10

与随机扩增产物杂交,在向日葵、甜菜、橄榄等作物上分离出了 SSR 标记,但此方法获得阳性克隆率不高。为此, Lunt 等^[13]进一步在 RAPD 筛选 SSR 标记的基础上,提出了以 PCR 技术为基础的微卫星序列 PCR 分离技术(PCR-based isolation of microsatellites arrays, PIMA),该技术可从基因组中快速分离微卫星及其侧翼序列,实验操作简单、快捷。为增加获得 SSR 标记的几率, Fisher 等^[14]人提出了利用 5' 锚定 PCR 法开发 SSR 标记。其原理主要是利用 5' 含 2 个及以上 SSR 重复单位的锚定引物对基因组 DNA 进行扩增。李明芳等^[15]利用此方法在无核荔枝 A4 号试验材料中克隆了 100 个简单重复序列,阳性克隆的得率达 93%。Ai 等^[16]也以 5' 锚定 PCR 技术从甜樱桃中筛选出了 24 对具有多态性的 SSR 引物。

2.4 利用数据库信息开发 SSR 标记 除从基因组中开发 SSR 引物的策略外,还可利用公用数据库查询已公布的 SSR 标记信息;或进行引物设计,进而开发 SSR 引物。核酸序列数据库,如 GenBank、EMBL(Europe Molecular Biology Laboratory)及 DDBJ(DNA Data Bank of Japan)等中含有巨大的有价值资源,可通过计算机软件对 DNA 序列数据库进行搜索获得 SSR 信息。目前,大多数农作物,如水稻、油菜、小麦、大豆、大麦等基本上都可从专门的 DNA 数据库中查找 SSR 位点。从 EST 中发展 SSR 标记也是开发 SSR 标记信息的重要途径之一。随着公共核苷酸数据库中 EST 数据的飞速发展,从中开发 SSR 标记相对更容易。通过 EST 开发 SSR 标记目前已有报道^[1]。通过数据库查找、开发 SSR 标记的方法方便、快捷,但有研究表明通过 DNA 数据库获得的 SSR 多态性不及在通过筛选基因组文库获得 SSR 多态性好,从 EST 获得的 SSR 多态性为 54%,而通过基因组文库筛选获得的 SSR 多态性达 83.8%^[2]。利用拟南芥 DNA 信息在油菜中筛选到 68 个 SSR 标记,其中 8 个能有效地扩增出产物,3 个在 16 个欧洲油菜栽培种中表现出多态性^[2]。由此说明,利用近源物种的 DNA 信息开发 SSR 标记也是一种捷径。

3 SSR 分子标记试验体系研究进展

3.1 基因组 DNA 提取研究进展 SSR 试验体系主要包括基因组 DNA 提取、PCR 扩增、凝胶电泳、凝胶染色及数据分析等步骤。目前,提取基因组 DNA 的方法主要是 SDS 法和 CTAB 法,这 2 种方法提取的基因组 DNA 质量好、纯度高,基本能满足分子生物学试验的要求。目前,为简化提取步骤、提高提取效率,人们对 DNA 提取方法进行了一系列的优化,但主要体现在 3 个方面:①优化提取试剂。袁云香等^[17]通过增加提取缓冲液中 β -巯基乙醇的用量,简化氯仿/异丙醇抽提液的步骤,改用 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预冷的异丙醇沉淀 DNA 等措施改进 CTAB 法提取基因组 DNA,改进后操作简单、方便、产量高、纯度好。而卢振宇等^[18]用不含 β -巯基乙醇的 CTAB 提取液提取 DNA,可大幅缩短 DNA 研磨时间,而且此法提取的 DNA 与不加 β -巯基乙醇的效果差异较小。近年来,采用 DNA 提取试剂盒提取 DNA 的方法也逐渐受到重视, DNA 提取试剂盒包括了提取植物 DNA 所需多种的试剂,能直接

用于提取高质量的 DNA,具有快速、准确、方便、无需酚/氯仿抽提、避免有机溶剂的污染等特点;②样品研磨机械化。手工研磨是研磨组织的传统方法,此方法劳动强度大,工作效率低,研磨时间长,甚至还有可能造成 DNA 的降解^[19]。而自动组织研磨仪等可克服以上不足。李葱葱等^[20]利用高通量组织研磨仪建立了用于玉米叶片基因组 DNA 的微量快速提取方法,可使每人每天提取 180~250 个 DNA 样品。穆春华等^[21]也利用组织研磨棒结合液氮研磨技术建立了玉米幼叶基因组 DNA 快速提取方法;③从特殊组织中提取 DNA。利用 DNA 分子标记鉴定杂交种子纯度和真伪时,通常是将种子发芽,等长到一定大小叶片后,再从叶片中提取 DNA,这个过程需要一定的时间。目前,从植物的种子中提取 DNA 已逐步应用到实际中。彭锁堂等^[22]对水稻单粒种子用 CTAB 法微量提取 DNA 获得了理想的扩增结果。李进波等^[23]从单粒种子中提取的 DNA 可用于鉴定两系杂交稻鄂粳杂 1 号种子的真伪。McDonald 等^[24]在玉米、棉花、大豆和小麦等干种子中也成功提取出基因组 DNA,利用 RAPD 技术皆能扩增出 DNA 片段。该方法从种子中直接提取 DNA,不受时间和空间的限制,大幅缩短了试验时间。

3.2 SSR 标记 PCR 扩增体系研究进展 PCR 扩增体系包括反应体系和反应条件。目前,对 PCR 扩增体系的优化主要集中在 2 个方面。詹庆才^[25]用微卫星标记鉴定杂交水稻种子纯度时改变 PCR 扩增程序,将变性和结合时间改为 15 s,延伸时间改为 30 s,扩增 35 个循环,缩短 PCR 反应时间,得到了理想的扩增结果。王邦太等^[26]通过对 PCR 扩增体系的优化,初步建立了以 5 μl 反应体系为基础的 PCR 检测方法,缩短了玉米重要性状的分子标记检测时间,大幅降低了试验成本。Chamberlain 等^[27]在 SSR 检测中首次引入了多重 PCR 技术。王风格等^[28]以不同引物组合进行多重 SSR 反应,反应条件与单一引物完全相同,大部分材料能获得正常扩增产物。在玉米 SSR 指纹库建立、杂交水稻种子纯度鉴定等方面也应用了多重 PCR 技术^[29]。武文艳等^[30]还深入研究了影响多重 PCR 扩增效果的各种因素,并在扩增反应体系和反应循环参数等方面进行了相应的优化。此外,快速反应 PCR 仪也可大幅缩短 PCR 反应时间。

3.3 PCR 产物检测研究进展 对 PCR 产物检测的研究包括电泳体系和染色体系的优化。分子标记的检测主要利用聚丙烯酰胺凝胶电泳和琼脂糖电泳 2 种技术。琼脂糖凝胶电泳的有效分离范围是 0.2~20.0 kb,聚丙烯酰胺分离小片段 DNA(5~500 bp)效果最好,特别适合检测小片段扩增产物^[31]。李新海等^[32]的研究表明,聚丙烯酰胺凝胶电泳检测 SSR 位点多态性的效果明显高于琼脂糖凝胶。目前,聚丙烯酰胺凝胶电泳是 SSR 标记检测的最常用方法。人们对聚丙烯酰胺凝胶电泳进行了一系列的优化。张芳等^[33]认为 12% 聚丙烯酰胺凝胶电泳检测致病疫霉菌 SSR 标记的效果最好。张玉魁等^[34]在 8% 分离胶的基础上加上浓缩胶,可达到提高分辨率的作用。王伟等^[35]还对非变性和变性聚丙烯酰胺凝胶电泳效果进行研究,结果表明用 8% 非变性或 6% 变性聚丙

烯酰胺凝胶来检测玉米 SSR 标记较好。李立群等^[36]认为 2 次点样和单次点样的凝胶扩增条带均清晰可辨;分析相同数量的样品时,2 次点样法较单次点样法节约 41% 的试验时间,节约 50% 的试剂用量。

最初,PCR 产物的检测是利用同位素标记的脱氧核苷酸底物,利用放射自显影检测,但这种方法危险性较大^[37]。后来,Panaud 等^[38]在检测微卫星的多态性时引入了 PAGE/银染技术。Sanguinetti 等^[39]用氢氧化钠代替碳酸钠可获得清晰的条带。王凤阁等^[40]改进形成了两步快速银染法,将固定和染色两步合二为一,染色后不经洗脱而直接显影,可获得清晰的带型。现今,SSR 标记还可利用荧光引物进行扩增,这样不需要电泳检测,直接对产物扫描就可获得相关数据。何其芳等^[41]采用荧光 SSR 标记法对 50 个烟草种质材料进行分析,取得了很好的研究结果。雍洪军等^[42]利用荧光 SSR 技术对 90 份糯玉米地方品种和 6 个标准测验种自交系基因组分析时,发现 SSR 荧光标记可有效解决混合取样问题。

4 展望

SSR 分子标记为共显性标记,具有单基因座、等位基因变异多、多态性丰富、信息量大、操作简单、稳定性好、种族特异性强、进化所受选择压小等优点。目前,SSR 分子标记已成为重要的遗传标记之一,被广泛应用于植物指纹数据库构建、分子辅助育种、遗传多样性分析、基因定位以及品种纯度鉴定等方面^[2,43]。尽管如此,SSR 分子标记的各种试验方法还存在不足。随着分子生物学技术的不断发展,SSR 分子标记开发和技术体系也将不断地得到改进和完善,甚至提出新的方法,势必促进 SSR 分子标记在农业生产上进一步发展应用。

参考文献

[1] 敖日格乐,贾晓,葛台明. SSR 分子标记的开发策略概述[J]. 湖北民族学院学报:自然科学版,2009,27(4):462-467.

[2] 刘列到,林呐. 油菜简单重复序列 SSR (simple sequence repeat) 研究进展[J]. 生命科学,2004,16(3):173-176.

[3] MOORE S S, SARGEANT L L, KING T J, et al. The conservation of dinucleotide microsatellites among mammalian genomes allows the use of heterologous PCR primer pairs in closely related species[J]. Genomics, 1991, 10(3):654-660.

[4] KRESEVICH S, SZEWC-MCFADDEN A K, BLIEK S M. Abundance and characterization of simple-sequence repeats (SSRs) isolated from size-fractionated genomic library of *Brassica napus* L. (rapeseed)[J]. Theoretical and Applied Genetics, 1995, 91:206-211.

[5] SZEWC-MCFADDEN A K, KRESEVICH S, BLIEK S M, et al. Identification of polymorphic, conserved simple sequence repeats (SSRs) in cultivated *Brassica* species[J]. Theoretical and Applied Genetics, 1996, 93:534-538.

[6] UZUNOVA M I, ECKE W. Abundance, polymorphism and genetic mapping of microsatellites in oilseed rape (*Brassica napus* L.)[J]. Plant Breeding, 1999, 118(4):323-326.

[7] RÖDER M S, KORZUN V, WENDEHAKE K, et al. A microsatellite map of wheat[J]. Genes, 1998, 149:2007-2023.

[8] UJINO T, KAWAHARA T, TSUMURA Y, et al. Development and polymorphism of simple sequence repeat DNA markers for *Shorea curtisii* and other dipterocarpaceae species[J]. Heredity, 1998, 81:422-428.

[9] 李齐发,赵兴波,罗晓林,等. 牦牛基因组微卫星富集文库的构建与分析[J]. 遗传学报,2004,31(5):489-494.

[10] KANDPAL R P, KANDPAL G, WEISSMAN S M. Construction of libraries enriched for sequence repeats and jumping clones, and hybridization se-

lection for region-specific markers [J]. Proc Natl Acad Sci, 1994, 91:88-92.

[11] 王洪哲,殷倩茜,冯志纲,等. 黑斑狗鱼部分基因组文库构建和微卫星位点的筛选[J]. 动物学研究,2008,29(3):245-252.

[12] CIFARELLI R A, GALLITELLI M, CELLINI F. Random amplified hybridization microsatellites (RAHM): isolation of a new class of microsatellite-containing DNA clones [J]. Nucleic Acids Research, 1995, 23:3802-3803.

[13] LUNT D H, HUTCHINSON W F, CARVALHO G R. An efficient method for PCR based identification of microsatellite arrays (PIMA) [J]. Molecular Ecology, 1999, 8:893-894.

[14] FISHER P J, GARDNER R C, RICHARDSON T E. Single locus microsatellites isolated using 5' anchored PCR [J]. Nucleic Acids Research, 1996, 24(21):4369-4371.

[15] 李明芳,郑学勤. 荔枝 SSR 标记的研究[J]. 遗传,2004,26(6):911-916.

[16] AI C X, YU X M, ZHANG L S, et al. Development of SSR markers in sweet cherry using selectively amplified microsatellite [J]. Acta Horticulturae Sinica, 2007, 34(2):311-316.

[17] 袁云香,王志平. 猕猴桃基因组 DNA 提取方法的研究进展[J]. 北方园艺,2011(8):195-197.

[18] 卢振宇,李明顺,谢传晓,等. 玉米叶片 DNA 快速提取方法改进研究[J]. 玉米科学,2008,16(2):50-53,55.

[19] 王芳,王汉宇,张金文,等. 玉米基因组 DNA 的快速高效提取(简报)[J]. 草业科学,2006,23(12):65-67.

[20] 李葱葱,刘娜,李飞武,等. 一种快速提取玉米基因组 DNA 的方法[J]. 玉米科学,2011,19(1):52-55.

[21] 穆春华,张发军,李文才,等. 玉米叶片基因组快速提取方法研究[J]. 玉米科学,2010,18(3):170-172.

[22] 彭锁堂,颜启传,王学德,等. 水稻单粒种子 DNA 提取及 RAPD 程序优化研究[J]. 上海交通大学学报,2002,20(1):34-37.

[23] 李进波,周元飞,万丙良,等. 利用 SSR 标记鉴别两系杂交稻粳杂 1 号的真伪[J]. 湖北农业科学,2003(1):23-25.

[24] MCDONALD M B, ELLIOT L J, SWEENEY P M. DNA extraction from dry seeds for RAPD analyses in varietal identification studies[J]. Seed Science and Technology, 1994, 22(1):171-176.

[25] 詹庆才. 利用微卫星 DNA 标记进行杂交水稻种子纯度鉴定的研究[J]. 杂交水稻,2002,17(5):46-50.

[26] 王邦太,申灿庭,张建尊,等. 玉米微量 PCR 反应体系研究[J]. 玉米科学,2009,17(4):29-31.

[27] CHAMBERLAIN J S, GIBBS R A, RANIER J E, et al. Deletion screening of the duchenne muscular dystrophy locus via multiplex DNA amplification[J]. Nucleic Acids Research, 1988, 16(23):11141-11156.

[28] 王凤格,赵久然,余花妮. 中国玉米新品种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[J]. 玉米科学,2003,11(4):3-6.

[29] 汪爱顺,李进波,刘汉珍. DNA 指纹用于杂交水稻种子纯度和真伪鉴定的研究进展[J]. 分子植物育种,2005,3(3):393-400.

[30] 武文艳,易红梅,王凤格,等. 玉米 SSR 分子标记的荧光多重 PCR 体系的构建及优化[J]. 作物杂志,2012(5):59-62.

[31] 曹士亮,曹靖生,王成波,等. 玉米 SSR 分子标记技术操作流程研究进展[J]. 中国农学通报,2012,28(15):1-4.

[32] 李新海,焦少杰,傅骏骅,等. 两种凝胶电泳系统对 SSR 标记多态性的影响[J]. 华北农学报,2001,16(2):43-48.

[33] ZHANG F, QUAN J J, SHAN W X. Improvement of polyacrylamide gel electrophoresis in phytophthora infestans SSR marker [J]. Plant Diseases and Pests, 2011, 2(4):3-5.

[34] 张玉魁,潘忠诚. 一种快速 DNA 聚丙烯酰胺凝胶电泳与银染干胶技术[J]. 中国医科大学学报,2003,2(4):308-309.

[35] 王伟,杨文鹏,关琦,等. 玉米 SSR 分子标记技术操作规程的优化[J]. 安徽农业科学,2008,36(11):4459-4464,4493.

[36] 李立群,王培,王小利,等,马长珍. SSR 标记变性聚丙烯酰胺凝胶电泳方法改进[J]. 安徽农业科学,2012,40(34):16541-16544.

[37] WU K S, TANKSLEY S D. Abundance, polymorphism and genetic mapping of microsatellite in rice [J]. Molecular and General Genetics, 1993, 241:225-235.

[38] PANAUD O, CHEN X, JACK P I. Frequency of microsatellite sequences in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1995, 87:782-788.

2.4 不同目数防虫网相对湿度日变化 从图3可以看出,晴天与阴雨天都呈现“U”型走势。晴天,从00:00~06:00,40目和50目相对湿度逐渐加大,并在06:00达到最高值,比对照提前1h,30目和对照相同,最高值大小依次为95.4%(30目) > 94.3%(20目) > 93.6%(50目) > 92.9%(40目);之后在14:00各目数下达到相对湿度最低值,大小依次为30目 = 50目(60.3%) > 40目(59.6%) > 20目(57.4%)。期间(06:00,07:00~14:00),20目变化幅度最大,其次为30、40、50目。从各个时间段看,30目相对湿度较大,20与50目则交替变化,40目最小。

阴雨天,从00:00~03:00,除40目在04:00外,各目数下

都达到100%的相对湿度,并持续到09:00,而40目则持续到08:00,相比其他目数,40目持续时间较短。之后呈下降趋势,50目呈现不规则变化,并在16:00达到最低相对湿度,其他目数则在14:00达到最低相对湿度,20目变化幅度最大,其次为40、30、50目。从各个时间段看,50目相对湿度较大,20、30目交替变化,40目最小。

3 小结与讨论

该研究结果表明,除了在3月中旬20目下最高温度略高于30、50目外,其他时期各目数下在平均温度、最高温度和最低温度上差异不大。晴天和阴雨天,各目数下温度比20目低0.2~0.6℃,网间高温与低温的增幅不明显。

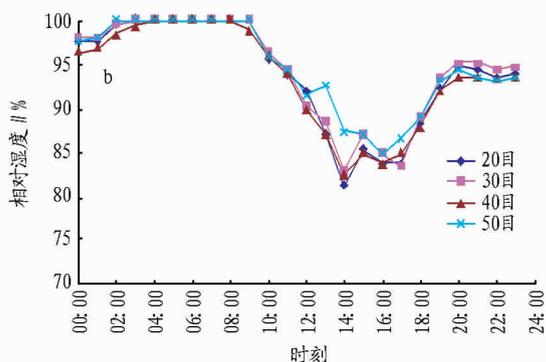
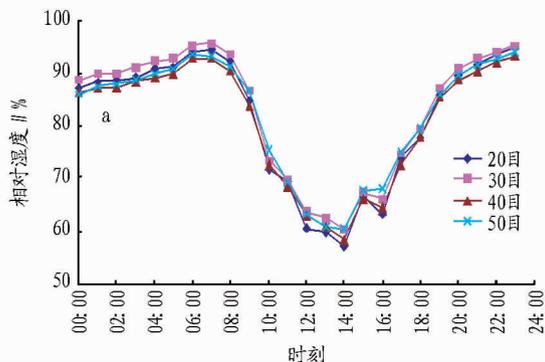


图3 晴天(a)和阴雨(b)天空气湿度日变化

晴天和阴雨天,在同一时段40目防虫网内的光照变化幅度最大,30目最小。豇豆属于C3类作物,光饱和点为3万~8万lx,高于光饱和点的光照不能被利用,不利于光合作用。晴天光照最高值大小依次为59.8klx(40目) > 38.1klx(20目) > 31.9klx(50目) > 6.4klx(30目);阴雨天光照最高值大小依次为26.2klx(40目) > 16.1klx(20目) > 12.9klx(50目) > 2.9klx(30目),显然30目是不利于豇豆生长的防虫网。

多数蔬菜作物光合作用的适宜空气相对湿度为60%~85%,当空气湿度低于40%或高于90%时,光合作用会受到阻碍^[7]。从不适宜作物生长湿度比较来看,晴天在湿度处于90%以上的目数网,30目持续时间较长,其次是50目,然后是20目,最后是40目;阴雨天各目数下湿度都有超过临界点,但40目整体湿度小于其他目数网,且湿度饱和点持续时

间长于其他目数。

参考文献

- [1] 林瑞坤,杨开甲,陈葆涵,等. 防虫网的小气候效应及其对上海青生产的影响[J]. 福建农业科技,2010(4):40-42.
- [2] 潘复生,顾耀忠. 不同防虫网覆盖对网室小气候及青菜生产的影响[J]. 长江蔬菜,2011(24):30-32.
- [3] 沈善铜,张鹏. 大棚防虫网覆盖小气候效应研究初报[J]. 上海蔬菜,2000(1):34-35.
- [4] 张红梅,金海军,丁小涛,等. 高温季节不同防虫网覆盖方式下的设施环境温湿度变化规律[J]. 上海交通大学学报:农业科学版,2009(5):454-458,474.
- [5] 陈家金,吴振海,卓先盼. 蔬菜防虫网覆盖栽培的小气候效应分析[J]. 福建农业科技,2000(1):12-13.
- [6] 许如意,李劲松,曹兵,等. 三亚春季豇豆防虫网覆盖栽培小气候研究初报[J]. 热带农业科学,2010(10):23-26.
- [7] 梁称福,陈正法,李文祥,等. 西贺州地区温室内空气湿度时空变化研究[J]. 中国农业气象,2003,24(4):51-54.
- [41] 何其芳,李荣华,郭培国,等. 利用SSR荧光标记技术分析烟草种质的遗传多样性[J]. 中国农学通报,2012,28(10):95-102.
- [42] 雍洪军,张世煌,张德贵,等. 利用SSR荧光标记分析90个糯玉米地方品种的遗传多样性[J]. 玉米科学,2009,17(1):6-12.
- [43] YUE J,ZHU Z C. Optimization of SSR reaction system for identifying the authenticity of maize hybrids[J]. Agricultural Science & Technology, 2011,12(1):85-87.

(上接第5212页)

- [39] SANGUINETTI C J,NETO E D,SIMPSON A J G. Rapid silver staining and recovery of PCR products separated on polyacrylamide gels[J]. Biotechniques,1994,17(5):914-921.
- [40] 王凤格,赵久然,郭景伦,等. 一种改进的玉米SSR标记的PAGE/快速银染检测新方法本研[J]. 农业生物技术学报,2004,12(5):606-607.