

姚宗泽,李 阳,郭宗娟,等. 杂交玉米品种家佳荣2号种子纯度的 InDel 分子标记鉴定[J]. 江苏农业科学,2020,48(1):79-84.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.01.014

杂交玉米品种家佳荣2号种子 纯度的 InDel 分子标记鉴定

姚宗泽¹, 李 阳², 郭宗娟¹, 张思亲¹, 胡 晓³, 赵自仙¹

(1. 云南农业大学农学与生物技术学院, 云南昆明 650201; 2. 杭州中软安人网络通信股份有限公司, 浙江杭州 310012;

3. 普洱市澜沧县东河乡农业服务中心, 云南普洱 665628)

摘要:为建立一个简捷、经济、准确可靠的室内杂交玉米种子纯度鉴定方法,以玉米杂交种家佳荣2号及其父母本、JR02 杂交组合为材料,用 InDel(插入-缺失)分子标记技术和田间小区种植鉴定2种方法对家佳荣2号杂交种子进行纯度鉴定。结果显示,InDel 分子标记鉴定的纯度为 95.6%,田间小区种植鉴定的纯度为 97.8%,InDel 的结果略低于田间小区种植鉴定的结果。18 对 InDel 引物中能有家佳荣2号双亲基因组稳定结合且具有多态性的引物共有 11 对,多态性检测率为 61%,其中有 1 对引物带型偏父本,其余 10 对 InDel 引物都能与家佳荣2号稳定结合,可用于鉴定家佳荣2号的种子纯度。在 10 对引物中随机选取 2 对引物,有 1 对引物能从家佳荣2号中区分出其相似品种 JR02。2 种方法鉴定结果高度一致,表明 InDel 分子标记可作为玉米杂交种室内纯度鉴定的方法。

关键词:纯度鉴定;InDel 分子标记;CTAB;家佳荣2号;杂交玉米

中图分类号:S513.037 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2020)01-0079-06

玉米作为世界三大粮食作物之一,集饲用、能源以及食用于一体。因此保障玉米生产稳定发展、促进玉米产量稳步提升,对我国的社会稳定和人民生活水平的维持在很大程度上都有着一定的促进作用。

种子纯度是衡量种子质量的重要指标^[1],种子纯度一直以来都是世界各国关注的主要问题,种子

纯度的鉴定在种子生产、销售以及大田种植过程中至关重要。种子纯度鉴定技术涉及的知识面较广、技术性强、新问题多。常用方法有种子形态鉴定、幼苗鉴定、物理鉴定、化学鉴定、田间小区种植鉴定等^[2]。自 1974 年 Grodzicker 等发明了限制性片段长度多态性(restriction fragment length polymorphism,简称 RFLP)技术^[3]以来,随着科学技术的不断进步,人们对分子标记的认识也在不断地深入,目前已有多种分子标记为人们所知,其中一部分已被运用于种子纯度鉴定中,如 RFLP 技术、随机扩增多态性 DNA(random amplified polymorphism DNA,简称 RAPD)标记、简单重复序列(simple sequence repeats,简称 SSR)标记、插入缺失标记(insertion-deletion,简称 InDel)、基于 SNP(单核苷酸多态性)的分子标记等^[4],传统的农作物纯

收稿日期:2018-11-11

基金项目:云南农业大学博士启动基金(编号:A2002276)。

作者简介:姚宗泽(1993—),男,云南大理人,硕士研究生,主要从事玉米种子质量分子鉴定技术体系研究,E-mail:1712726709@qq.com;共同第一作者:李 阳(1991—),男,河南信阳人,硕士,主要从事玉米种子质量分子鉴定技术体系研究,E-mail:669012226@qq.com。

通信作者:赵自仙,博士,副教授,主要从事玉米育种及种质创新研究。E-mail:zhaozix@126.com。

[9]刘 勇,孙中海,刘德春,等. 柚类种质资源 AFLP 与 SSR 遗传多样性分析[J]. 中国农业科学,2005,38(11):2308-2315.

[10]刘 通,邓崇岭,程玉芳,等. 利用 SSR 和 SRAP 技术分析广西柑橘种质遗传多样性[J]. 华中农业大学学报,2016,35(2):23-29.

[11]李 益,马先锋,唐 浩,等. 柑橘品种鉴定的 SSR 标记开发和指纹图谱库构建[J]. 中国农业科学,2018,51(15):2969-2979.

[12]曾 涛. 南丰蜜橘 SSR 指纹图谱构建及遗传多样性分析[D]. 南昌:江西农业大学,2012.

[13]曾召亮,万水林,闫承璞,等. 金沙柚及其近缘种质基于 SSR 分子标记的遗传多样性分析[J]. 中国南方果树,2017,46(3):1-4.

[14]李 益,马先锋,唐 浩,等. 柑橘品种鉴定的 SSR 标记开发和指纹图谱库构建[J]. 中国农业科学,2018,51(15):2969-2979.

度鉴定方法正在受到快速发展中的分子标记技术的挑战。本研究介绍了田间小区种植鉴定和 InDel 标记在品种纯度鉴定中的应用。田间小区种植鉴定是将种子样品按照要求种植到田间(大田或温室),根据幼苗和植株的形态鉴定纯度的方法^[5],它以某一品种典型性状表现最为明显的时期作为最佳判定时期,在这段时间内以该品种的形态特点和农艺性状作为判定种子真伪的标准。田间小区种植鉴定能够观测整个植株的生长发育过程,观测员可以随时观测小区内所有植株的生长情况,并将它们的农艺性状记录下来,鉴定结果比较准确、可靠,适用于对杂交种的判定,能成为种子贸易中仲裁鉴定和赔偿损失的依据,是目前植物品种真实性检验和纯度鉴定中比较有效的手段。但其缺点也比较明显,由于该方法主要根据品种的表型差异进行判定,对工作人员的专业技术要求高,在不同环境下种植以及反季种植会造成品种特征特性发生变化,受环境影响较大,且鉴定周期长、成本高、易受季节限制、用地多、工作量大,影响了种子质量检测、监督的速度和质量^[6]。InDel 是一种新型分子标记,它指的是 2 个亲本之间全基因组中所存在的差异,这种差异具体表现为一个亲本相较于另一个亲本而言,全基因组中因核苷酸的插入或缺失而存在一定的区别。在实际操作中,依据插入缺失位点两端的保守序列设计引物,通过 PCR 扩增、电泳等操作,可以对基因组间存在这种差异的样品进行区分。与以往的分子标记相比,在不同品种玉米基因组分型的应用中,InDel 标记有着更多的优势,Vroh 等研究发现,在玉米全基因组中平均每 309 bp 就会有 1 个 InDel 标记的存在,数量远多于植物基因组中的 SSR 标记^[7-8]。胡俏强等利用筛选出来的 5 对 InDel 引物成功完成了对 4 个糯玉米杂交种纯度的鉴定工作,且鉴定结果与田间小区种植鉴定结果呈极显著正相关,故 InDel 标记在作物品种纯度鉴定中具有一定的可靠性^[9]。张录霞等利用 2 对 InDel 标记也完成了对 2 个新疆主栽番茄杂交种纯度的快速鉴定工作^[10]。

本研究以优良杂交玉米品种家佳荣 2 号为供试材料,先后利用田间小区种植鉴定和 InDel 分子标记来完成对同一批家佳荣 2 号种子纯度的鉴定工作,构建家佳荣 2 号种子纯度鉴定技术体系,为规模化种子纯度鉴定奠定基础,有利于种子质量控制和该品种的大面积推广应用。

1 材料与方法

1.1 供试材料

本试验材料包括杂交种家佳荣 2 号及其父母本、JR02 杂交组合,共 4 份。JR02 是玉米新组合,其母本与家佳荣 2 号的母本互为姊妹系,可用于人为掺假鉴定,以验证筛选出引物的可靠性。本试验用的种子均由随机抽样所得。本试验中的 18 对 InDel 引物^[11](表 1)是由前人从玉米模式生物 B73 全基因组中筛选出来的多态性较高的引物。引物合成由上海捷瑞生物工程有限公司完成。

表 1 InDel 引物序列和编号

序号	引物名称	引物序列(5'→3')
P1	9F	ACCCATCCCACTTTCCACCTCCTCTCT
	9R	GCTTTCAGCGAATACTGAATAACGCGGA
P2	13F	TCATGGATCGATTGTGTGCTGAC
	13R	TCATTTCCTCAACTGACGCTACC
P3	14F	AACATGCACGCTACTTGTGC
	14R	TTGTACGCATCTGTTTGTGCT
P4	37F	TGCCGCACTACTATTCTGCT
	37R	CCAGGTCTTGTGGATGTGTG
P5	40F	GCTAACCGTATCACTCCCATTC
	40R	GGCCCGCTGTACTTCC
P6	43F	CCCATGTGATTGGTCCACTT
	43R	ATCCACAATCCCTGTGGAAA
P7	46F	AACGGCAAGTAAAAAGCTG
	46R	ATCGGGCTCTGCAGGTACTA
P8	62F	TGCCCTGCTGTCGAAGAACTTTC
	62R	GCGAATGGTGAAGTGCAGGTAG
P9	63F	TTGTGGTGGACACTGAAGAAAC
	63R	CCTGCCATACAGACGACGATC
P10	67F	CATTTGCGAGAGCTGAGGT
	67R	GGGATTGGCCACTGAAAATC
P11	81F	TGCCCAAAAAATGTTTCTCTGT
	81R	GTCAGTGTGCACCGCTTTC
P12	83F	TGTGTCCTCCTTTCCGCTTA
	83R	TCCATCTGTCCGACACAAAA
P13	87F	CCGCAACTTCGTTTTCAGTTT
	87R	AGAATTGGCAGCTACGATGG
P14	89F	TGACTTGGCGTTCAACAACCTTC
	89R	AATGGACGGTCTACAGATGCTC
P15	95F	TCCGCACCTTAGGAGCCTCT
	95R	TCTGAATTAACAGCAGAAGCTGG
P16	97F	CGTGTGCTGAGCTTGGAGGT
	97R	TCCAACGATCTTGTTCATGG
P17	110F	TGCCCTCAGTTCAGTGTGCTC
	110R	ATGTATGGGCTTTGTTTCG
P18	P5F	AGAATCAGCTCCCAAACCTGC
	P5R	GTTTGATGCACCTTCGACAGG

1.2 田间小区种植鉴定

田间小区种植试验在寻甸县大河桥云南农业

大学育种基地(地理位置 25°31'07"E,103°16'41"N,海拔 1 864 m)进行。2015 年 5 月 21 日,将家佳荣 2 号杂交种子播种到准备好的肥力一致的田块中,试验地块肥力中等,前作无玉米种植。小区行长 3 m,行距 0.75 m,穴播,穴距 0.42 m。根据种子检验技术规程和国家种子质量标准^[13],玉米大田用种的种子纯度要求达到 96.0% 以上,种植株数为 400/(100 - 96),即 100 株以上。试验播种方式为单粒点播,综合考虑试验要求及实际成本,共播 150 粒家佳荣 2 号杂交种子。30 d 后记录出苗株数,逐株编号挂牌并剪取叶片,单独保存,作为室内 DNA 提取材料。每穴的栽培和管理措施均一致,管理同一般大田生产,玉米生长前期不定苗、不间苗,但及时防虫防病。在田间于玉米开花期和成熟期及时调查玉米生育特性及各个单株的农艺性状。

1.3 InDel 分子标记鉴定

1.3.1 材料 DNA 的提取 将 4 份材料在室内进行沙培,到 3~5 叶期,剪取叶片,采用 Saghai - Maroof 等于 1984 年提出的 CTAB(十六烷基三甲基溴化铵)法^[12]提取 DNA,单独提取田间采集的家佳荣 2 号样品总 DNA,用于室内杂交种子纯度鉴定,并用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测所提取的 DNA。

1.3.2 InDel 的 PCR 扩增 PCR 反应体系见表 2,反应程序设置见表 3。InDel 分子标记的 PCR 反应体系配置的整个操作过程均在冰上完成,体系配好后,加入 25 μ L 矿物油,以防止 PCR 扩增过程中反应液受热蒸发。

表 2 PCR 反应体系

成分	体积 (μ L)
1 \times PCR Master Mix	15.0
Primer(F 与 R 各 0.01 mmol/L)	2.0
DNA	1.0
ddH ₂ O	7.0

表 3 PCR 扩增程序

步骤	温度 ($^{\circ}$ C)	时间	循环数(个)
预变性	94	4 min	1
变性	94	45 s	32
退火	50~65	30 s	32
延伸	72	45 s	32
终延伸	72	7 min	1
贮存	4	长期	1

1.3.3 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳 制胶程序如

下:先清洗玻璃板并组装电泳槽,凝胶的配制按表 4 的配方进行,然后用灌胶瓶将胶注入 2 片玻璃板之间,再把梳子缓慢插入。

表 4 8% 非变性聚丙烯酰胺胶配方

成分	终浓度	用量
ddH ₂ O	—	35 mL
40% 母液	8%	10 mL
10 \times TBE	1 \times TBE	5 mL
10% APS(过硫酸铵)	10 μ L/mL	450 μ L
TEMED	0.5 μ L/mL	22 μ L

电泳:待凝胶完全凝固后,将 1 \times TBE 倒入胶槽中,中间倒入量需淹没短玻璃板,两边倒入量为槽高度的 1/3 即可,缓慢平稳地拔出梳子。将电泳槽接上电源,电压设为 220 V,电流为 180 mA,功率为 50 W,进行预电泳 10 min。预电泳结束后,将仪器暂停。点样量按 2 μ L marker、4 μ L 样品进行设置。点样完成后启动仪器,继续电泳 1.0~1.5 h。

银染:电泳完成后,先将胶在银染液中染色 10 min,再移至显影液中显影,待完全显影,用去离子水对胶进行数次清洗,再将胶放于光照仪上进行拍照记录。

1.4 指纹图谱的构建及数字化处理

从胶图中挑选出双亲间具有多态性的引物进行指纹图谱的构建,然后根据同一引物与母本、父本、杂交种结合扩增所得 DNA 片段在胶图中同一位置的表型来进行记录。对于同一迁移位置,若有条带则记为 1,无条带则记为 0,按照此规则来对所得指纹图谱进行数字化处理。然后按照公式 $P = 1/2^n$ (n 为用于构建指纹图谱的引物共检测出等位基因的数目)来计算所构建的指纹图谱无法区分家佳荣 2 号与其他品种的概率^[13]。

1.5 种子纯度鉴定

根据双亲条带互补且均不同于杂交种的规则,从构建的指纹图谱中筛出合适的引物来对供试样品进行纯度鉴定。然后依据 InDel 分子标记的聚丙烯酰胺凝胶电泳结果,按照样品电泳条带是否与双亲的电泳条带互补来判定该样品的类型。当样品电泳条带与某一亲本的电泳条带位置一致时,判定该样品为此亲本的自交系;当样品的电泳条带位置既不同于某一亲本的位置,又不同于双亲互补的位置时,判定该样品为异品种;当双亲条带所处位置均有样品条带与之对应时,则判定该样品为双亲的杂交种。

品种纯度的百分率按下面公式进行计算:

$$\text{品种纯度} = \frac{\text{供检种子数} - \text{异品种种子数}}{\text{供检种子数}} \times 100\%。$$

将计算所得结果与农作物种子质量标准中的玉米指标进行比对,本试验所用材料为玉米单交种家佳荣 2 号。容许差距按以下公式进行计算:

$$T(\text{容许差距}) = 1.65 \sqrt{p \cdot q / N}。$$

式中: p 表示标准规定纯度,%; q 表示理论计算的最大允许的杂株数, $q = 100\% - p$,%; N 表示种植株数或样品数量。

所以应将计算所得品种纯度的数值与“96% - $T = 93.3\%$ ”进行对比。

1.6 掺杂验证 InDel 方法的可靠性

提取杂交种 JR02 的 DNA,然后随机选用 2 对筛选出的适用于家佳荣 2 号纯度鉴定的 InDel 引物对其进行扩增,再进行非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳,与杂交种家佳荣 2 号及其亲本产物进行对比。

2 结果与分析

2.1 田间小区种植鉴定结果

玉米家佳荣 2 号于 2015 年 7 月 23 日抽雄,7 月 25 日抽丝,第 1 次鉴定时间为 7 月 26 日,共鉴定了 137 株,异形株数为 0。第 2 次于 2015 年 10 月 3 日鉴定,根据穗形、籽粒颜色、粒刺的有无、长短、粒型并结合果穗大小等农艺性状进行鉴定,共鉴定 137 株,异形株有 3 株,纯度为 $(137 - 3) / 137 \times 100\% = 97.8\%$,鉴定结果以成熟期鉴定结果即第 2 次鉴定结果为准。

2.2 玉米杂交种家佳荣 2 号及其亲本的 DNA 提取检测结果

琼脂糖电泳检测,结果表明,采用 Saghai - Maroof 等于 1984 年提出的 CTAB 法^[12]所提取的 DNA 都完整,可继续使用。

2.3 InDel 引物分析

本试验利用 18 对 InDel 引物对杂交玉米品种家佳荣 2 号及其亲本 DNA 进行 PCR 扩增和电泳检测,18 对引物全部扩增出了清晰、稳定的条带。在这 18 对 InDel 引物中,有 11 对引物检测结果显示亲本之间有着较好的多态性,其余 7 对引物(P1、P6、P8、P10、P11、P12、P18)检测的位点不存在多态性,多态性检测率为 61%。再将杂交种家佳荣 2 号的电泳图谱与双亲进行对比,得到偏父本型引物 1 对(P3),没有偏母本型引物(图 1)。

2.4 InDel 引物指纹图谱的构建及数字化处理

选取双亲间具有多态性的 11 对 InDel 引物构建家佳荣 2 号的指纹图谱,11 对引物共检测出了 40 个等位基因,然后将 11 对 InDel 引物的扩增片段进行数字化处理,如表 5 所示,40 个数字组成了家佳荣 2 号的指纹图谱,即在理论上,若想培育出另一个玉米新品种,其在这 40 个等位基因的数字序号与家佳荣 2 号一致的概率为 9.09×10^{-13} 。

2.5 家佳荣 2 号纯度鉴定引物筛选

参照图 1,按照能够清晰稳定区分家佳荣 2 号及其父母本的原则,从 18 对 InDel 引物中筛选出适用于家佳荣 2 号纯度鉴定的引物(表 6)。

2.6 InDel 分子标记鉴定结果

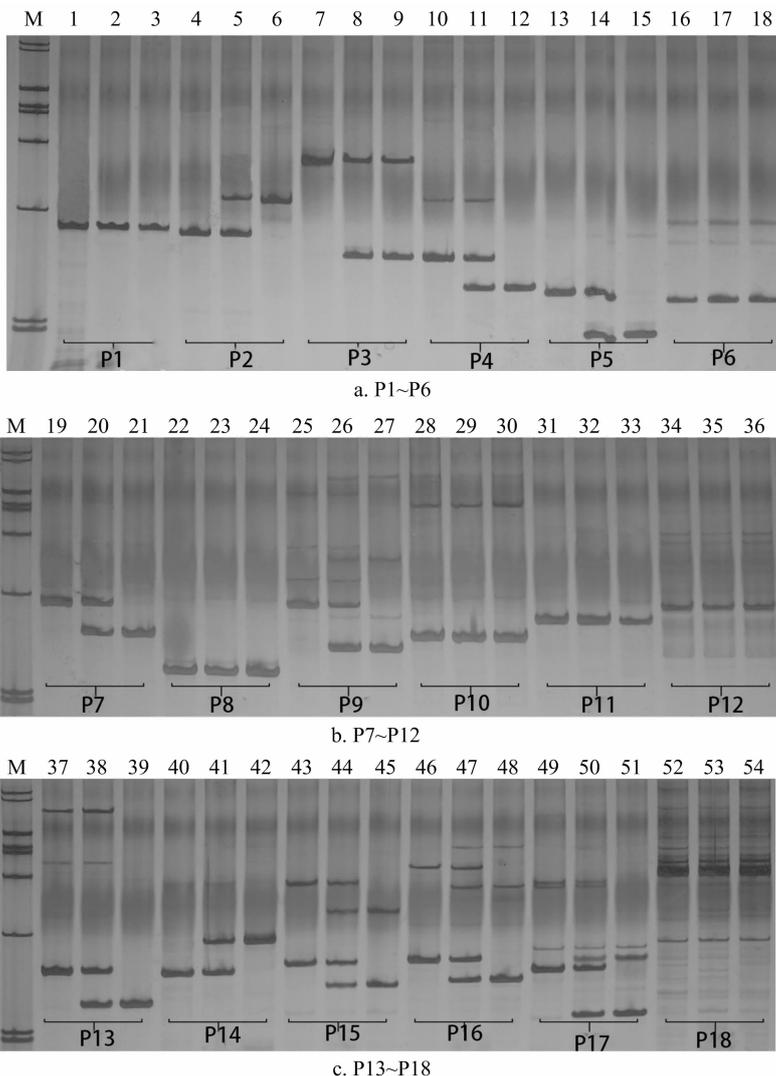
从 10 对 InDel 引物中随机选取 2 对引物对同一批样品的 137 个供试样品进行纯度鉴定。如表 7 所示,引物 P9 检测出了 4 株杂株,杂株样品编号分别为 64、85、131、138,检测纯度为 97.1%;引物 P13 检测出了 6 株杂株,杂株样品编号分别为 64、67、85、131、136、138,检测纯度为 95.6%。综合 2 对引物的检测结果,137 个供试样品中不是家佳荣 2 号的共有 6 个,供试样品纯度为 95.6%。2 对 InDel 引物均成功把杂株鉴定出来,说明 InDel 分子标记的鉴定结果可靠。

2.7 掺杂验证

由图 2 可得,选用的 2 对 InDel 引物中,P9 清晰稳定地区分出了掺杂品种与家佳荣 2 号及其亲本,而 P13 则并未能鉴定出 JR02。

3 讨论与结论

品种纯度作为种子重要的质量指标,检测方法有很多种。其中田间小区种植鉴定法一直是检测品种是否保持特有农艺性状或符合种子指令标准要求的重要手段之一^[14],但田间小区种植鉴定对人力物力需求较多,周期较长,对自然环境以及检验员均有着较高要求^[15]。室内分子标记技术因具备操作简便、周期短、环境因素要求低、可重复性好等优点而深受国内外学者的重视^[16]。近 10 年以来,随着人们对分子标记技术的认知以及运用不断深入,国家也颁布了一些根据不同类型分子标记的原理而进行品种鉴定的行业标准^[17],本研究在前人研究的基础上,对同一批供试样品的鉴定结果进行反复验证。本试验先通过田间小区种植鉴定对供试材料进行品种纯度的鉴定,然后在室内进行 DNA 提



M 为 marker(DL2000)，泳道1~54 每3个为1组，每组从左往右依次为母本、家佳荣2号、父本
图1 18对InDel引物扩增家佳荣2号及其亲本的电泳图谱

表5 基于InDel分子标记的家佳荣2号及其亲本数字化指纹图谱

名称	带型	概率
LK-4(♀)	10-10-011-01-01-00110110-0111-10-0101-01010-010111	9.09×10^{-13}
家佳荣2号(F ₁)	11-11-111-11-11-11111111-1111-11-1111-11111-111111	9.09×10^{-13}
LK-1(♂)	01-11-100-10-10-11001001-1000-01-1010-10101-101100	9.09×10^{-13}

表6 适用于家佳荣2号纯度鉴定的引物

分子标记	适用于家佳荣2号纯度鉴定的引物	合计引物数(个)
InDel	P2、P4、P5、P7、P9、P13、P14、P15、P16、P17	10

表7 InDel分子标记鉴定家佳荣2号品种纯度结果

引物序号	杂株样品编号	纯度(%)
P9	64、85、131、138	97.1
P13	64、67、85、131、136、138	95.6
合计	64、67、85、131、136、138	95.6

取,再用InDel分子标记技术对供试样品的纯度进行反复的验证。其检测结果与田间小区种植鉴定的检测结果有一定的差异,田间小区种植鉴定的检测结果高于InDel分子标记技术的检测结果。有可能是由于个别杂株在形态特征和生育特性上的差异在田间不易被辨别,被错误地判定为真实品种所

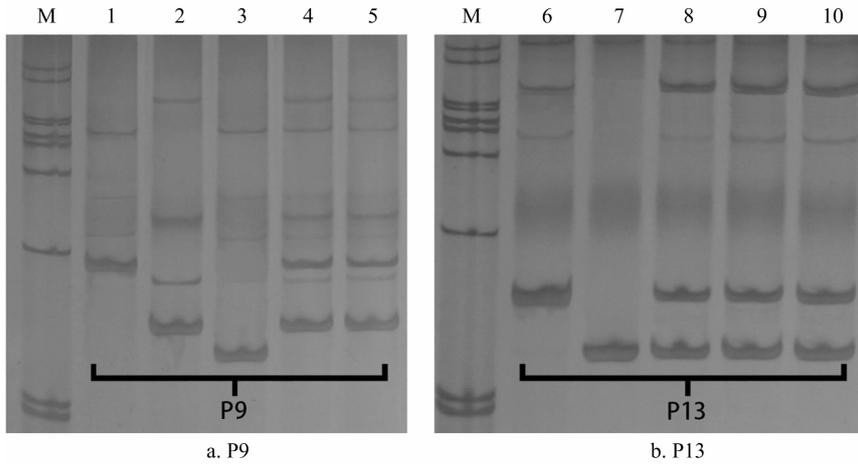


图2 引物 P9 和 P13 对家佳荣 2 号及其亲本和 JR02 PCR 产物电泳结果
M—marker(DL2000); 1、6—母本; 2、7—父本; 4、5、9、10—家佳荣 2 号; 3、8—JR02

所造成的。

本试验采用田间小区种植鉴定和 InDel 分子标记技术对玉米杂交种家佳荣 2 号的同一批供试样品种子纯度进行反复检验和验证,同时构建了家佳荣 2 号的指纹图谱,并从中筛选出适合家佳荣 2 号纯度鉴定的引物。主要研究结果:(1)利用田间小区种植鉴定法,家佳荣 2 号的种子纯度为 97.8%; InDel 分子标记技术方法鉴定结果为 95.6%, InDel 的结果略低于田间小区种植鉴定结果。(2)18 对 InDel 引物中能与家佳荣 2 号双亲基因组稳定结合且具有多态性的引物共有 11 对,多态性检测率为 61%。通过检测,其中 10 对 InDel 引物都能与家佳荣 2 号稳定结合,可用于鉴定家佳荣 2 号的种子纯度。(3)在 10 对引物中随机选取 2 对引物(P9、P13),以 JR02 为掺杂品种,有 1 对引物(P9)能从家佳荣 2 号中区分出 JR02,但 P13 无法区分家佳荣 2 号和 JR02。(4)18 对 InDel 引物从前人以玉米模式生物 B73 全基因组序列信息为背景开发出来的引物中筛选而来,表明利用 B73 全基因组序列信息进行玉米分子标记探索具有较高的可信度。

参考文献:

- [1] 孙志玲. 提高杂交玉米种子纯度的技术措施[J]. 种子科技, 2011, 29(11): 35-36.
- [2] 朱迎春. 玉米种子纯度检测最有效的几种方法[J]. 杂粮作物, 2003, 23(2): 77.
- [3] Sambrook J, Williams J, Sharp P A, et al. Physical mapping of temperature-sensitive mutations of adenoviruses[J]. Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology, 1975, 97(3): 369-374.
- [4] 罗黎明, 刘丽, 于丽娟, 等. DNA 分子标记技术在玉米种子纯度鉴定中的应用[J]. 生物技术进展, 2011, 1(1): 7-13.
- [5] 吴春西, 宋小霞, 张勇跃, 等. 田间小区种植鉴定农作物种子纯度的方法[J]. 现代农业科技, 2006(4): 50-56.
- [6] 张雪原, 赵攀峰, 王风格, 等. 玉米品种 SSR 分子标记与田间小区种植一致性鉴定结果的比较[J]. 玉米科学, 2009, 17(1): 40-45, 50.
- [7] Vroh I, McMullen M D, Sanchez-Villeda H, et al. Single nucleotide polymorphisms and insertion-deletions for genetic markers and anchoring the maize fingerprint contig physical map[J]. Crop Science, 2006, 46(1): 12-21.
- [8] Kantety R V, La Rota M, Matthews D E, et al. Data mining for simple sequence repeats in expressed sequence tags from barley, maize, rice, sorghum and wheat[J]. Plant Molecular Biology, 2002, 48(5/6): 501-510.
- [9] 胡俏强, 陆海燕, 李炯, 等. 糯玉米杂交种纯度 InDel 分子标记鉴定与田间鉴定的相关性分析[J]. 江苏农业学报, 2016, 32(5): 999-1004.
- [10] 张录霞, 甘中祥, 李倍金, 等. 利用 InDel 标记鉴定加工番茄杂交种纯度[J]. 分子植物育种, 2016, 14(6): 1533-1537.
- [11] 葛敏, 蒋璐, 张晓林, 等. 利用 Insertion/Deletion (InDel) 分子标记检测玉米杂交种混杂的原理及应用[J]. 分子植物育种, 2013, 11(1): 37-47.
- [12] Saghai-Marouf M A, Soliman K M, Jorgensen R A, et al. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1984, 81(24): 8014-8018.
- [13] 兰琴英, 陈泽辉, 祝云芳, 等. 优良玉米杂交种金玉 818 指纹图谱构建及其纯度鉴定[J]. 贵州农业科学, 2015, 43(6): 1-6.
- [14] 薛昌贵. 如何做好农作物种子田间小区种植鉴定工作[J]. 甘肃农业, 2004(8): 39.
- [15] 赵伟莹, 李心, 邹双利. 浅析品种真实性及纯度小区种植鉴定[J]. 种子世界, 2007(2): 39.
- [16] 方宣钧, 刘思衡, 江树业. 品种纯度和真伪的 DNA 分子标记鉴定及其应用[J]. 农业生物技术学报, 2000, 8(2): 106-110.
- [17] 中华人民共和国农业部. 植物品种鉴定 DNA 分子标记法总则: NY/T 2594—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.