

研究报告

Research Report

基于重测序墨地龙冬瓜 InDel 标记的开发及纯度鉴定

王日勇 谢玲玲 周火强 吴艺飞 肖伟 张竹青 弭宝彬 *

湖南省农业科学院蔬菜研究所, 长沙, 410125

* 通信作者, mibaobin@hunaas.cn

摘要 为建立一个简捷、经济、准确可靠的杂交冬瓜种子纯度鉴定方法, 通过对墨地龙冬瓜父母本进行全基因组重测序, 开发差异显著的 InDel 标记; 以墨地龙杂交种及其父母本为供试 DNA, 利用开发的 InDel 分子标记对墨地龙冬瓜杂交种子进行纯度鉴定, 同时和田间鉴定结果进行对比。通过基因组重测序筛选出墨地龙冬瓜亲本差异 InDel 标记共 466 对, 选择其中差异较大的 26 条进行扩增, 发现均可扩增出条带, 其中 7 对引物可明显区别冬瓜样品纯度。InDel 分子标记鉴定的纯度与田间小区种植鉴定结果的吻合度达 99% 以上, 表明不同方法获得墨地龙纯度结果高度一致, 可采用本研究筛选的 InDel 分子标记作为墨地龙冬瓜杂交种纯度鉴定。

关键词 冬瓜; 种子纯度; InDel 标记

Development and Purity Identification of InDel Marker Based on re-Resequencing of "modilong" Wax Gourd

Wang Riyong Xie Lingling Zhou Huoqiang Wu Yifei Xiao Wei Zhang Zhuqing Mi Baobin *

Research institute of vegetables, Hunan academy of agricultural sciences, Changsha, 410125

* Corresponding author, mibaobin@hunaas.cn

DOI: 10.5376/mpb.cn.2020.18.0045

Abstract In order to establish a simple, economic, accurate and reliable method to identify the purity of wax gourd hybrid seeds, an InDel marker characterized by significant differences was developed via whole genome re-sequencing of parent plants of 'modilong' wax gourd; Then the developed InDel molecular marker was used to identify the purity of hybrid seeds of 'modilong' taking the DNA of its hybrid seeds and parent plants as test DNA, and the obtained results were compared with field identification results. A total of 466 pairs of InDel markers were screened by genome re-sequencing of parent plants of 'modilong', and 26 of which with distinct differences were selected to be amplified and both got the strip. Among them, 7 pairs of primers can clearly distinguish the purity of wax gourd samples. The purity of InDel molecular marker identification was more than 99 % consistent with the results of field plot planting identification, indicating that the purity results obtained by different methods were highly consistent. The InDel molecular marker screened in this study could be used as the purity identification of wax gourd hybrids.

Keywords Wax gourd; Seed purity; InDel molecular marker

冬瓜 (*Benincasa hispida* (Thunb.) Cogn.) 是葫芦科重要蔬菜作物, 其营养丰富, 兼具药用和保健功效, 是健康的高钾低钠食品 (Jiang et al., 2014)。冬瓜耐贮藏性好、货架期长、产量高, 已成为调节市场周

本文首次发表在《分子与植物育种》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

收稿日期: 2020 年 10 月 27 日; 接受日期: 2020 年 10 月 27 日; 发表日期: 2020 年 11 月 2 日

引用格式: 王日勇, 谢玲玲, 周火强, 吴艺飞, 肖伟, 张竹青, 弭宝彬, 2020, 环己酰亚胺处理对萱草花朵衰老性状的影响, 分子植物育种 (网络版), 18(45): 1-6 (doi: 10.5376/mpb.cn.2020.18.0045) (Wang R.Y., Xie L.L., Zhou H.Q., Wu Y.F., Xiao W., Zhang Z.Q., and Mi B.B., 2020, Development and purity identification of inDel marker based on re-sequencing of "modilong" wax gourd, *Fengzi Zhimu Yuzhong* (Molecular Plant Breeding (online)), 18(45): 1-6 (doi: 10.5376/mpb.cn.2020.18.0045))

年均衡供应的主要蔬菜之一(Jiang et al., 2013)。中国的冬瓜种植面积居世界之首,年播种面积 32 万 hm² 以上。杂交冬瓜品种纯度是保证杂种优势得以发挥的基础,也是衡量杂交冬瓜种子质量的主要指标,由于在冬瓜杂交制种过程中,人工去雄不彻底或漏去雄,常会出现假杂交种,导致杂交品种优势下降,给生产造成巨大经济损失。因此,为了有效提高优良品种的生产质量,建立一套快速、准确的冬瓜杂种种子纯度鉴定方法是冬瓜生产经营过程中需要迫切解决的问题之一(刘政国等, 2019)。采用传统田间鉴定种子纯度方法,受各种因素影响,时效及准确性都有一定的局限性;采用分子标记则可便于标准化、规模化、快速鉴定商品种纯度。尤其是冬瓜基因组的公布(Xie et al., 2019),可为快速筛选分子标记提供可行性。冬瓜纯度鉴定目前报道的室内鉴定分子标记有 RAPD (卢文佳等, 2010)和 SSR (何晓明等, 2017; 陈庆明等, 2020)等。

近年来,随着基因组测序技术的快速发展,出现了包括 InDel 和 SNP 在内的第三代新型分子标记类型,其具有经济实用、特异性高、稳定性好等特点。InDel 在基因组中分布广泛、密度大、数目众多。就分布密度而言,InDel 仅次于 SNP,但远高于 SSR,而 SNP 受限于基因型分型技术,在小型和中型检测中需要特殊的设备,成本高且操作复杂,因此,InDel 标记的应用前景广阔(陆海燕等, 2019)。InDel 是指 2 个亲本之间因核苷酸的插入或缺失而存在的区别,可根据该差异用来进行区分两亲本(王钰等, 2019)。InDel 标记稳定性好、多态性高、带型简单,更易应用于动植物群体遗传分析、分子辅助育种等领域(吉康娜等, 2019;),目前已在玉米(姚宗泽等, 2020, 江苏农业科学, 48(1): 79-84.)、番茄(张景龙等, 2019)、大白菜(刘栓桃等, 2019) 等作物上农作物种子纯度检测,结果准确可靠。

1 结果与分析

1.1 重测序开发墨地龙冬瓜 InDel 标记及筛选验证

通过对墨地龙冬瓜的父母本进行全基因组重测序,经参考基因组对比后,利用 GATK 和 Primer 6.0 等软件开发 InDel 标记,共筛选到 466 对 InDel 标记,选择其中差异较大的 26 对进行引物合成扩增(表 1),发现均可以扩增出清晰条带,其中 chr640818838、chr412955559、chr1252341989、chr1223923504、chr71-7248263、chr413443261、chr245098788 等 7 对引物在父本(L2)、母本(D6)及 F1 各 12 株中可扩增出较为显

著差异的条带,可用来区分墨地龙冬瓜商品种纯度(表 2; 图 1)。

1.2 墨地龙冬瓜田间鉴定与室内鉴定纯度

供试所用墨地龙冬瓜种子来自湖南兴蔬种业有限公司制种基地,利用 chr640818838、chr1252341989 和 chr1223923504 等 7 对 InDel 标记引物对墨地龙冬瓜进行扩增,电泳图均表现出“双亲互补型”,且谱带清晰,可明显区别杂交种及非杂交种(图 2),其中引物 chr640818838 扩增的 DNA 模板纯度为 100%;引物 chr1252341989 存在 2 个非杂交种;引物 chr1223923504 存在 3 个非杂交种,其余引物扩增样品纯度为 100%。选取 7 份墨地龙冬瓜商品种,经筛选的 InDel 标记纯度鉴定结果与田间鉴定纯度有一定差异,但差异不明显。目前国标冬瓜生产大田用种现行标准纯度为 96%(赵胜男等, 1996, 中华人民共和国国家标准: 瓜类作物种子瓜类, GB16715-1996),室内鉴定结果均值与田间鉴定表明样品 1 纯度不达标,而样品 2~7 纯度符合国标,可应用于商品种推广种植。

2 讨论

目前冬瓜、节瓜杂种优势已被广泛地应用于生产,冬瓜的纯度的快速准确鉴定是确保种子质量的技术保证,也是品种纯度检测实现商业化的前提,可为企业销售种子争取时间,进而确保农户的利益(陈庆明等, 2020)。中国对于冬瓜商品种的杂交纯度

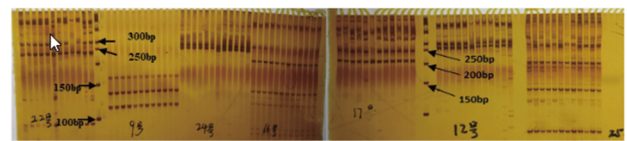


图 1 墨地龙冬瓜 7 个 InDel 标记 PCR 产物的电泳图谱

注: 其中 9 号引物对应 chr640818838; 12 号引物对应 chr412955559; 16 号引物对应 chr1252341989; 17 号引物对应 chr1223923504; 22 号引物对应 chr717248263; 24 号引物对应 chr413443261; 25 号引物对应 chr245098788, Marker 为聚合美的 MF228

Figure 1 Electrophoretic patterns of 7 InDel-labeled PCR products of 'Modilong'

Note: Primer 9 corresponds to chr640818838; Primer 12 corresponds to chr412955559; Primer 16 corresponds to chr1252341989; Primer 17 corresponds to chr1223923504; Primer 22 corresponds to chr717248263; 24 The primer corresponds to chr413443261; the primer No. 25 corresponds to chr245098788, and the Marker is MF228 of Polyme

表 1 基于全基因重测序开发的 26 对墨地龙冬瓜 InDel 标记

Table1 26 InDel markers of 'modilong' developed based on whole gene resequencing

基因号 Gene ID	正向引物 '(5'-3') Forward primer (5'-3')	反向引物(5'-3') Reverse primer (5'-3')	退火温度(°C) Annealing temperature (°C)	母本长度(bp) Length of the female parent (bp)	父本长度(bp) Length of the male parent (bp)
chr126151816	'GCCTCCTTCGTCTCTTCCC	'GCAGATTCTGGGACAAGG	59	273	276
chr163310183	'TGCCAAACCACTTGTAGCCA	'ACACGGATGGAATCGGGT	60	267	269
chr257526795	'GCATGCGCTGAAGCTAGG	'TTCGATGGACGCATGCGA	59	100	98
chr245098788	'GCGTCCGACATTGCTGC	'GGGAGCTAAGCGATGCGT	60	267	330
chr345311405	'GAATTCGCTGCGCCATC	'TCGGGATCACCAGTTTGTGT	60	277	269
chr41262028	'AGATCATGCGCTCCAACGA	'TTGAACAATCGGGGCCCC	59.5	270	272
chr412955559	'ACGAGGGGTGGATTCTTCA	'GCGTTCAGCTGGGTTTTCAC	59	272	303
chr413443261	'CCCATTCTCGTCTCTTCCCC	'TCTCCTGAATGCGGACGC	60	248	266
chr523661005	'TGGCTGTGAAAGGTGTGCA	'GGGAGTGTGGCCGATCAC	60	170	172
chr551026677	'ACCCGCCTTAGACAAAAGGT	'GCTTCGCGTTGTGGATGG	59.5	276	279
chr618300055	'CGATCGTACACCCGCACA	'GGTCTTCTCGGCGCACTA	59	91	95
chr640818838	'TTTTCACTTAGCCACCCCAA	'GGTCGGCAATCTAACGAGGA	59.5	114	135
chr611116630	'TCACAGCCAGCCTTGACC	'CCGAGGTGCAACACAGGG	59.5	215	212
Chr717248263	'AGCGATCAAGACAATCCTCGA	'CGTTCCTTTCGTTGCTCATGGA	59	243	297
chr742564327	'GCGCTAAATTTGCGGGCT	'GACCAGGTGGAGTGGCAC	59	207	209
chr817904254	'CAGGGACGACACCACCAC	'ATCGCACATTGTGCCCCA	60	276	279
chr855536135	'CCCCTGGGTACCTACATCC	'TGGTGAGTTTGTGCGGCTCA	59	243	245
chr934860344	'ACGTCAAATCGCGTGTGAG	'CCGCCCATGGACATCTC	59	245	256
chr992107509	'TCATATCGCGTCCAATCCAGT	'CCCCCTCAAGTTGGAGCA	58.5	248	250
chr1045610178	'ACTTTGTGGAAGCAGTCGC	'TGTGGGTGTCCAGCTCAC	59	259	262
chr1021383373	'TCGCTCCGCTTAGCCCTA	'GCTCCAACCTCCGTATCAAGGT	60	229	231
chr1152371587	'GGCCCTTCTTTTTGCGCC	'CAGTAGCCCAACACCGCA	60	274	119
chr1221699690	'CCAATGCCTCACCTCGG	'AGGGATGCGTTGGTGGTG	60	198	204
chr1223923504	'TGTTGTGCACGTGCTTGC	'CGAGTGGCGGCTGGATAG	60	214	261
chr1252341989	'GCACCGTGGGGCTGATAG	'AGTGGGCGTTAGTGATGGA	60	205	257
chr1252532776	'CACCCAAGCCTCCAGTGG	'CGGAGGTTTGGGTGGCTT	60	183	189

表 2 分子标记与田间鉴定墨地龙冬瓜杂交种纯度

Table2 Molecular Markers and Field Identification of Purity of 'Modilong' Hybrids

引物 Primer	样品 1 (%) Sample 1 (%)	样品 2 (%) Sample 2 (%)	样品 3 (%) Sample 3 (%)	样品 4 (%) Sample 4 (%)	样品 5 (%) Sample 5 (%)	样品 6 (%) Sample 6 (%)	样品 7 (%) Sample 7 (%)
chr640818838	92.10	97.70	98.76	98.70	100	96.40	100
chr412955559	93.6	96.5	98	98.3	100	96.0	100
chr1252341989	94	97	99	96	100	96.5	100
chr1223923504	93.0	98.7	98.2	99	100	96	100
chr717248263	92.10	97.70	98.76	98.70	100	96.40	100
chr413443261	92	96.9	98	98	100	95.8	100
chr245098788	92	97.3	97.6	98.7	100	97	100
田间鉴定法结果 Field identification results	93	97	98	98.5	100	96	100
吻合度 Coincidence degree	99.3	99.8	99.3	99.5	100	99.3	100

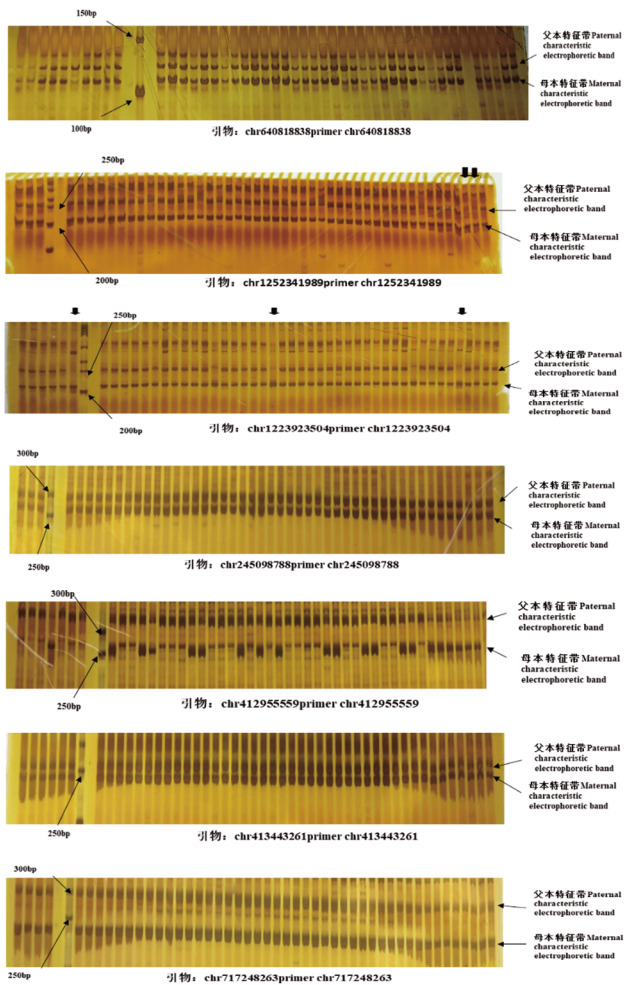


图2 利用各 InDel 标记进行墨地龙冬瓜杂交种纯度鉴定的电泳图谱

注: 黑实箭头标记泳道为非杂交种

Figure 2 The electrophoresis pattern of the purity identification of the hybrids of 'Modilong' using each InDel marker

Note: The lanes marked with black arrows are non-hybrid

鉴定基本采用田间鉴定法, 即根据作物在形态学上的表现来判断种子是否为杂交, 存在检测周期长、费时费工、土地占用面积大, 加之可用于鉴定杂交种纯度的形态特征数量有限, 且多数形态特征还易受环境影响存在一定误判可能性。通过重测序技术寻找亲本之间的差异具有准确、快速等优势, 但重测序开发的标记在实际应用中并非 100% 存在差异, 可能是测序深度及数据过滤等存在两样品存在序列差异的假象(张志刚等, 2016), 在本研究中, 选择的 26 对引物存在较大差异, 但电泳时可明显区分的电泳对有 7 对, 当然也可以加长电泳时间或增加聚丙烯酰胺胶浓度增大差异进行纯度区别。

不同引物序列对墨地龙冬瓜纯度鉴定结果存在差异可能是由于田间取样与纯度取样不是同一批样

品, 存在取样误差等因素; 另室内鉴定存在 DNA 提取或 PCR 或电泳上样等差异, 导致部分电泳孔道电泳条带较浅, 不太容易判断杂交种及非杂交种, 因此相应的数据统计时去掉该通道, 造成不同 InDel 引物鉴定的纯度存在细微差异, 但不同引物间并无明显差异, 均可用于墨地龙冬瓜的纯度鉴定。本试验针对黑皮冬瓜品种墨地龙, 通过快速提取冬瓜种子 DNA, 筛选 7 对特异性引物结合田间表型进行品种纯度鉴定, 建立了较为准确有效的纯度鉴定体系, 纯度鉴定结果所需的时间由传统的 90 d 缩短至 5~6 d, 鉴定效率大大提高; 传统的田间鉴定方法每亩可鉴定 1 000 株, 每个样品 100 株, 成本价在 0.8 万元左右, 则平均每个的样品鉴定成本为 800 元, 而采用本发明申请方法则每个样品鉴定的成本控制在 150 元以内, 仅为传统方案的 20% 左右, 经济效益明显。

3 材料与方 法

3.1 冬瓜基因组重测序和 InDel 位点分析及引物设计

使用天根生化公司植物基因组 DNA 提取试剂盒(DP305)提取冬瓜基因组总 DNA, 基因组重测序由北京贝瑞和康科技股份有限公司完成。分别对父母本进行 10x 深度测序, 并对获得的原始数据质控合格后, 通过 BWA 软件对有效的测序数据比对冬瓜参考基因组 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/bioproject/?term=PRJNA430006>), 比对结果用 SAMTOOLS 删除重复。InDel 检测分析使用 GATK 软件, 根据 InDel 位点在参考基因组上的位置信息, 使用 SnpEff 软件进行注释, 筛选定位于冬瓜基因组上差异碱基数较大, 测序深度较深的位点序列利用 Primer 6.0 设计引物(吉康娜等, 2019)。

3.2 基因组 DNA 的提取

引物筛选所用父本(L2)、母本(D6)及 F1(墨地龙冬瓜)各 12 株的 DNA 采用改良的 CTAB 法提取(王钰等, 2019; 余巨全, 2020); 采用碱式法提取冬瓜种子 DNA: 冬瓜种子催芽后选取 0.5 cm 左右的根尖组织置于 96 孔 PCR 板中, 加入 0.1 mol/L 的 50 mL NaOH 溶液于沸水加热 5 min, 然后加入 150 mL 的 0.1 mol/L 的 Tirs-HCl 进行中和, 冷却后取 2 μ L 为模板进行 PCR 扩增, 提取的 DNA 可置于 -20 $^{\circ}$ C 保存。

3.3 PCR 扩增体系及程序

使用上述碱式法提取的 DNA 为模板, 以 InDel 分子标记引物进行 PCR 扩增, 得到 PCR 产物, PCR

扩增体系为 10 μ L, PCR 体系为 2 \times PCRmix 5 μ L, F 引物及 R 引物各 0.3 μ L, 模板 1.5 μ L, 补足 ddH₂O 至 10 μ L。PCR 扩增程序为 95 $^{\circ}$ C 5 min, 95 $^{\circ}$ C 30 s, 59 $^{\circ}$ C~60 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 45s, 循环 30~35 次, 72 $^{\circ}$ C 10 min, 16 $^{\circ}$ C 保存。

3.4 基因型统计

对扩增获得的目的产物, 采用 8% 非变性聚丙烯酰胺凝胶进行电泳分离, 经银染后(林增顺等, 2019)在胶片观察灯上观察读带, 将父母本与杂交种子的带型进行对比, 父本具有 1 条共显性特征带, 母本具有 1 条共显性, 同时具有父母双亲本的 2 条特征带的种子鉴定为真正的杂交种, 缺少其中的任意一个条带均视为假杂种。杂交种与总条带的比例即为种子杂交纯度。

3.5 田间形态学验证

在冬瓜雌花开放时, 根据幼瓜子房形态特征进行初步调查统计; 待雌花开放 20 d 后再次调查瓜长、横径及果形指数等特征确定墨地龙冬瓜的纯度。田间纯度=(供检株数 - 异形株)/供检株数 \times 100%。

作者贡献

肖伟、吴艺飞是本研究的实验设计和实验研究的执行人; 王日勇完成数据分析, 论文初稿的写作; 周火强、张竹青及谢玲玲参与实验设计, 试验结果分析; 弭宝彬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。全体作者都阅读并同意最终的文本。

致谢

本研究由本研究由湖南省重点研发计划(2018NK2024)、湖南省自然科学基金(2018JJ3301)、国家特色蔬菜产业体系种子种苗岗位(CARS-24-A-14)和大宗蔬菜产业体系长沙综合试验站(CARS-23-G-29)共同资助。

参考文献

Chen Q.M., Liu Z.G., Ling Z.Y., Wang C.L., Chen J.Y., and Ou Q.Q., 2020, SSR analysis of seed purity identification in wax gourd (*Benincasa hispida*), *Fenzi Zhiwu Yuzhong (Molecular Plant Breeding)*, 18(8): 2613-2618 (陈庆明, 刘政国, 凌志阳, 汪春玲, 陈婕英, 欧青青, 2020, 冬瓜杂种种子纯度鉴定的 SSR 分析, *分子植物育种*, 18(8): 2613-2618)

He X.M., Xie D.S., Jiang B., Ma J.L., Peng Q.W., Liu W.R., Luo S.B., Lin Y.E., Guo H.Q., Liu H.B., Sun B.J., Wang R., and Liang Z.J., 2016, SSR primer and identification method for purity identification of hybrid seeds of Tiezhu wax gourd, China Patent, 201611213297.5 (何晓明, 谢大森, 江彪, 马金露, 彭庆务, 刘文睿, 罗少波, 林毓娥, 郭汉权, 刘洪彪, 孙保娟, 王瑞, 梁肇均, 2017, 一种用于铁柱冬瓜杂交种子纯度鉴定的 SSR 引物及鉴定方法, 中国专利, 201611213297.5)

Ji K.N., Zhi J.J., Lin D.N., Yan S.S., Tian S.J., Cao B.H., and Qiu Z.K., 2019, Development and application of eggplant InDel Markers based on whole genome re-sequencing datasets, *Zhiwu Yichuan Ziyuan Xuebao (Journal of Plant Genetic Resources)*, 20(5): 1278-1288. (吉康娜, 鄧俊杰, 林丹妮, 颜爽爽, 田时炳, 曹必好, 邱正坤, 2019, 基于茄子基因组重测序的 InDel 标记开发及应用, *植物遗传资源学报*, 20(5): 1278-1288.)

Jiang B., Liu W., Peng Q., He X., and Xie D., 2014, Characterization and chromosomal organization of Ty1-copia retrotransposons in wax gourd, *Gene*, 551: 6-32.

Jiang B., Xie D., Liu W., Peng Q., and He X., 2013, De novo assembly and characterization of the transcriptome, and development of SSR markers in wax gourd (*Benincasa hispida*), *PLoS One*, 8: e71054.

Lin Z.S., Liu G.M., and Xu Q.G., 2019, Analysis of genetic diversity of new rice lines by SRAP markers, *Jiyinzuxue yu Yingyong Shengwuxue (Genomics and Applied Biology)*, 38(4): 1683-1688. (林增顺, 刘冠明, 徐庆国, 2019, 利用 SRAP 标记分水稻新品系遗传多样性, *基因组学与应用生物学*, 38(4): 1683-1688.)

Liu S.T., Zhao Z.Z., Zhang Z.G., Wang R.H., Wang L.H., and Li Q.Y., 2019, Core primers for purity identification of four types of Chinese cabbage hybrids and InDel molecular labeling identification kits for purity of hybrids, China Patent, 201811637313.2 (刘栓桃, 赵智中, 张志刚, 王荣花, 王立华, 李巧云, 2019, 四种类型大白菜杂交种纯度鉴定核心引物及杂交种纯度 InDel 分子标记鉴定试剂盒, 中国专利, 201811637313.2)

Liu Z.G., Ling Z.Y., Chen Q.M., Chen Y., Ou W.H., and Chen J.Y., 2019, SSR molecular marker primer for identifying purity of wax gourd hybrid seeds and its application, China Patent, 201910161972.1 (刘政国, 凌志阳, 陈庆明, 陈勇, 欧伟红, 陈婕英, 2019, 鉴定冬瓜杂种种子纯度的 SSR 分子标记引物及其应用, 中国专利, 201910161972.1)

Lu H.Y., Chen L., Wang X.S., Zhao H., and Shen Q., 2019, Development and application of cotton InDel markers based on high throughput sequencing, *Mianhua Xueao (Cotton Science)*, 31(4): 297-306. (陆海燕, 陈璐, 王显生, 赵涵, 沈奇, 2019, 基于高通量测序的棉花 indel 标记开发及其应用, *棉花学报*, 31(4): 297-306.)

- Lu W.J., Li Z.J., Li C.Y., and Zhang Y.R., 2010, RAPD identification of black rind wax gourd' Heilaocu' F1 seed purity, *Zhongguo Shucai (China Vegetables)*, (12): 46-49. (卢文佳, 李智军, 李春艳, 张衍荣, 2010, 黑皮冬瓜黑老粗 F_1 种子纯度的 RAPD 鉴定, *中国蔬菜*, (12): 46-49.)
- Wang Y., Ma H., Xu X., Qin R.Y., Yang J.B., and Wang X.F., 2019, Screening and application of functional insertion-deletion markers (InDel) in rice, *Zuowu Zazhi (Crops)*, (4): 84-93. (王钰, 马卉, 许学, 秦瑞英, 杨剑波, 汪秀峰, 2019, 水稻功能性插入缺失标记(InDel)的筛选与应用, *作物杂志*, (4): 84-93.)
- Xie D., Xu Y.C., Wang J.P., Liu W.R., Zhou Q., Luo S.B., Huang W., He X.M., Li Q., Peng Q.W., Yang X.Y., Yuan J.Q., Yu J.G., Wang X.Y., Lucas W.J., Huang S.W., Jiang B., and Zhang Z.H., 2019, The wax gourd genomes offer insights into the genetic diversity and ancestral cucurbit karyotype, *Nat. Commun.*, 10: 1-12.
- Yu J.Q., Gong J.H., and Ke Z.W., 2020, Study on six methods of extracting DNA from hair follicle of *Bos taurina*, *Jiyinzhexue yu Yingyong Shengwuxue (Genomics and Applied Biology)*, 39(4): 1540-1548. (余巨全, 巩建华, 柯尊伟, 2020, 对中国黄牛毛囊 DNA 六种提取方法的研究, *基因组学与应用生物学*, 39(4): 1540-1548.)
- Zhang J.L., Ma J.Q., and Yin Y.L., 2019, InDel labeling and identification method for purity of tomato hybrids, China Patent, 201811285955.0 (张景龙, 马军强, 殷月林, 2019, 一种番茄杂交种纯度的 InDel 标记及鉴定方法, 中国专利, 201811285955.0)
- Zhang Z.G., Zhao Z.Z., Li Q.Y., Wang X., Liu S.T., Wang S.F., Xu W.L., Liu X.X., and Liu C., 2016, Development of InDels markers and their usage in detection of residual heterozygous lines in Chinese cabbage (*Brassica rapa ssp. pekinensis*), *Nongye Shengwu Jishu Xuebao (Journal of Agricultural Biotechnology)*, 24(4): 510-518. (张志刚, 赵智中, 李巧云, 王晓, 刘栓桃, 王淑芬, 徐文玲, 刘贤娴, 刘辰, 2016, 大白菜 indels 标记开发及其在剩余杂合体鉴定中的应用, *农业生物技术学报*, 24(4): 510-518.)