

应用 InDel 标记进行软枣猕猴桃杂交子代真实性鉴定

孙世航, 林苗苗, 齐秀娟, 孙雷明, 钟云鹏, 方金豹*

(中国农业科学院郑州果树研究所·中国农业科学院果树生长发育与品质控制重点开放实验室, 郑州 450009)

摘要:【目的】对杂交后代进行真实性鉴定是进行猕猴桃分子遗传学研究的前提。通过筛选 InDel 引物对软枣猕猴桃 2 个杂交后代群体进行 InDel 标记研究, 以鉴定杂种后代的真实性。【方法】采用高通量磁珠法提取软枣猕猴桃‘永丰 1 号’(♀)‘RB-3’(♀)‘11-17’(♂)‘魁绿雄’(♂)亲本基因组 DNA, 以及‘RB-3’×‘魁绿雄’子代 175 株和‘永丰 1 号’×‘11-17’子代 531 株的基因组 DNA; 根据重测序数据设计 InDel 引物, 采用聚丙烯酰胺凝胶电泳在 4 个亲本中进行多态性验证, 选择扩增带型清晰、稳定以及在父本中出现特异性条带的引物用于杂种子代鉴定, 根据所选引物中 InDel 片段长度选择琼脂糖凝胶电泳或聚丙烯酰胺凝胶电泳, 对‘RB-3’×‘魁绿雄’和‘永丰 1 号’×‘11-17’2 个杂交 F₁ 代群体进行真实性鉴定。【结果】在‘RB-3’×‘魁绿雄’的杂交组合中, 共筛选出 4 对引物, 作为杂种鉴定的标记, 鉴定杂交后代的真杂种比率为 92.00%。在‘永丰 1 号’×‘11-17’杂交组合中, 同样筛选到 4 对, 杂交后代的真杂种比率为 99.24%。【结论】InDel 标记可有效地对猕猴桃杂交后代进行真实性鉴定, 真杂种的鉴定为后续分子标记辅助育种、遗传图谱构建等奠定基础。

关键词: 软枣猕猴桃; 杂交; InDel; 分子标记

中图分类号: S663.4

文献标志码: A

文章编号: 1009-9980(2018)01-0032-06

Application of InDel markers on progeny identification in *Actinidia arguta*

SUN Shihang, LIN Miaomiao, QI Xiujuan, SUN Leiming, ZHONG Yunpeng, FANG Jinbao*

(Zhengzhou Fruit Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences·Key Laboratory for Fruit Tree Growth, Development and Quality Control, Zhengzhou 450009, Henan, China)

Abstract:【Objective】Identification of the hybrid progenies is a prerequisite for molecular genetic research in kiwifruit. Moreover, identification of the hybrid progenies is an important step in hybrid breeding, because there are mechanical mixing and biological mixing during the course of hybrid production, resulting in inaccuracy of male parent. InDel (Insertion/Deletion), as an important source of genetic marker, has been used in hybrid progeny identification. In this study, the authenticity of hybrid progenies of *Actinidia arguta* were identified by InDel molecular markers.【Methods】Four *Actinidia arguta* cultivars (‘Yongfeng No.1’ ‘RB-3’ ‘11-17’ and ‘Kuili male’) were used to construct two hybrid populations ‘RB-3’×‘Kuili male’ and ‘Yongfeng No.1’×‘11-17’. ‘Yongfeng No.1’ and ‘Kuili male’ are highly resistant to the cold, both were originated from northeast of China, while ‘RB-3’ and ‘11-17’ are poorly resistant to the cold, both came from central part of China. The crosses were conducted in the summer of 2015. Fresh leaves of the hybrid progenies and parents were collected and frozen in liquid nitrogen in August 2016. The DNA of four *A. arguta* cultivars (‘Yongfeng No.1’ ‘RB-3’ ‘11-17’ and ‘Kuili male’) and the progenies of ‘RB-3’×‘Kuili male’ (a total of 175 plants) and ‘Yongfeng No.1’×‘11-17’ (a total of 531 plants) were extracted using high throughput magnetic bead DNA extraction approach. Then, the In-

收稿日期: 2017-04-28 接受日期: 2017-08-25

基金项目: 中国农业科学院科技创新工程专项(CAAS-ASTIP-2016-ZFRI); 中央级科研院所基本科研业务费专项(1610192017710); 河南省现代产业技术体系(S2014-11)

作者简介: 孙世航, 男, 在读硕士研究生, 研究方向为果树生理与栽培技术。Tel: 0371-55906990, E-mail: 18838294775@163.com

*通信作者 Author for correspondence. Tel: 0371-65330995, E-mail: fangjinbao@caas.cn

Del primers were designed according to the data of resequencing. Fifty different InDel loci were chosen randomly based on the resequencing for designing primers. Fifty pairs of primers were used to amplify bands among four parents. In order to identify the authenticity of progeny populations, the special InDel markers were chosen among four parents through polyacrylamide gel electrophoresis methods. Primer screening principle was that the polymorphism primers must have clear and stable bands which were specific in male parent. The authenticity of those two hybrid populations ('RB-3' × 'Kuiliū male' and 'Yongfeng No.1' × '11-17') were identified by agarose gel electrophoresis or polyacrylamide gel electrophoresis methods according to the InDel fragment length. Finally, we counted the number of hybrid progenies with the male specific band and calculated the rate of true hybrid progenies. 【Results】 For the 'RB-3' × 'Kuiliū male' hybrids, 4 pairs of primers were selected as marker of hybrid identification. At the first, primer 42 and primer 5 were used to identify all hybrid progenies, a total of 126 offsprings had the male specific band. Primer 52 was used to identify the rest 49 offsprings, a total of 26 offsprings had the male specific band. Then, primer 134 was used to identify the rest 23 offsprings. Among them, a total of 9 offsprings had the male specific band. Finally, a total of 14 offsprings did not have the male specific band, they were considered as false hybrid individuals. 4 pairs of primers in the hybrid combination were 53.14%, 46.94%, 53.06% and 39.13%, respectively. 175 hybrid individuals were identified in the experiment, and the number of true hybrid offsprings was 161. The results showed that the true hybrids rate was about 92%. For the 'Yongfeng No.1' × '11-17' hybrids, another 4 pairs of primers were selected as marker of hybrid identification. Firstly, primer 44 was used for identifying all hybrid progenies, a total of 439 offsprings had the specific bands, they were considered as true hybrid, and the true hybrid rate was 82.67%. Then primer 3 was used to identify the rest 92 offsprings. Among them 71 offsprings had the male parent specific bands, the true hybrid rate was 77.17%. Primer 100 was used to identify the rest 21 offsprings. Among them, 16 offspring had the male parent specific bands, the true hybrid rate was 76.19%. Finally, primer 55 was used to identify the rest 5 offsprings and 1 offsprings had the male specific band. 4 offsprings without the male specific bands were considered as false hybrids. 527 true hybrid offsprings were identified using 4 pairs of primers from the progenies of 'Yongfeng No.1' × '11-17'. The true hybrid rate was 99.24%. 【Conclusion】 The InDel markers developed by resequencing were highly effective for identifying hybrid offspring in kiwifruit. 3-5 InDel markers should be used for comprehensive analysis to ensure the authenticity of offspring in the identification process.

Key words: *Actinidia arguta*; Hybridization; InDel; Molecular marker

猕猴桃隶属猕猴桃科猕猴桃属 (*Actinidia* Lindl.), 有 54 个种, 21 个变种, 共约 75 个分类单位, 其中我国分布有 52 个种^[1-2]。生产中猕猴桃常常遭受低温天气的危害, 如冬季的低温冻害、春季的倒春寒等, 轻者造成减产, 重者导致当年绝收或死树毁园。猕猴桃主栽品种主要以中华猕猴桃 (*Actinidia chinensis* var. *chinensis*) 和美味猕猴桃 (*Actinidia chinensis* var. *deliciosa*) 为主, 这 2 种猕猴桃抗寒性较差。培育抗寒性猕猴桃品种, 对应对低温天气对猕猴桃栽培的影响具有重要意义^[3-4]。软枣猕猴桃在猕猴桃属中分布最为广泛。利用抗寒性不同的软枣

猕猴桃品种进行杂交, 通过杂交分离群体筛选抗寒基因, 是猕猴桃抗寒分子选择育种的策略之一。

对杂种后代早期的鉴定筛选是杂交育种的一个重要环节, 由于在杂交过程中存在机械混杂、生物学混杂, 导致杂种后代往往来源于不同的父本, 影响了特定性状标记的准确开发^[5]。因此进行杂交子代真实性的鉴定非常重要。以前, 植物的杂种鉴定方法主要为形态学鉴定, 这种方法易受环境条件的影响, 多态性差且数目少^[6]。利用分子标记鉴定杂种后代取材用量少, 且不受环境的影响, 是目前杂种鉴定较为有效且应用广泛的方法。分子标记技术随着技术

的革新,从 RFLP、RAPD 等标记逐渐发展为 SNP、InDel 等标记。RFLP 标记不依赖于 PCR 技术,需要放射性同位素及核酸杂交技术检测,并且灵敏度不高;RAPD 技术稳定性差、重复性不好,且为显性标记,PCR 产物无法确切确定,因而无法区分杂合体; AFLP 标记要求的试验程序较严格和成本较高,且对 DNA 纯度和内切酶要求严格;ISSR 标记两侧引物具有物种特异性,具体试验中引物设计费时耗力;SSR 标记对 DNA 的质量要求严格,对高降解度的 DNA 扩增带分型有一定的难度,且对引物具有高度特异性,引物设计需要较高成本。SNP 标记虽然在基因组分布密度更高,但是其分型系统复杂,相对来说,InDel 标记仍属于长度多态性标记,分型技术简单。因此基于重测序技术的 InDel 标记在杂种鉴定中优势明显。

InDel 标记(insertion-deletion)是在全基因组重测序基础之上开发的,是等位基因位点上 DNA 插入或缺失一段短序列而产生的多态性变异。InDel 具有在基因组内分布广泛、密度高、遗传稳定、多态性较强、位点唯一、检测简便等优点^[7]。InDel 标记被用于杂种鉴定,张体付等^[8]根据玉米‘Mo17’重测序数据与‘B73’全基因序列比对,发掘到 4 000 多个 InDel 位点,随机筛选了 13 个共显性标记,在 6 个杂种亲本中表现出明显的长度多态性。王林友等^[9]用 InDel 标记鉴定杂交稻籼粳属性,从 34 对引物中筛选到 19 对 InDel 引物对 35 个株系进行鉴定,根据扩增条带的有无,可以判别籼粳杂种属性。朱东旭等^[10]用 InDel 标记筛选大白菜-结球甘蓝易位系,能够定位易位片段的物理位置,实现对易位片段的精确定位,并认为其筛选精确度明显高于 SSR 标记。薛银鸽等^[11]从 104 对 InDel 引物中筛选到 3 对引物,鉴定出大白菜杂交种‘豫新四号’2 批材料的纯度分别为 98% 和 100%。Lü 等^[12]用 InDel 引物在抗枯萎病洋白菜和枯萎病敏感型洋白菜双亲中筛选 InDel 引物,成功筛选到引物,并在 F₂ 代中判别其抗病属性。但是 InDel 标记在果树的杂交子代鉴定中还未见有报道。目前在猕猴桃中已经应用的主要有 SSR、RAPD、RFLP、AFLP 标记,王丹丹等^[5]用 53 对 EST-SSR 引物对 8 种软枣猕猴桃种质进行纯度鉴定,纯度都超过 80%。陈延惠等^[13]用 S21 引物作为鉴定‘小果甜’‘华光 2 号’‘海沃德’等品种的 RAPD 特征指纹图谱,且指纹图谱效果较好。Testolin 等^[14]用 80 条随机引物对中

华猕猴桃、狗枣猕猴桃和美味猕猴桃进行了检测,筛选出了品种特异性标记。

笔者基于软枣猕猴桃重测序数据筛选具有多态性的 InDel 分子标记,在‘RB-3’×‘魁绿雄’、‘永丰 1 号’×‘11-17’2 个杂交后代中进行子代真实性鉴定,将 InDel 标记应用于猕猴桃杂交后代的真伪鉴定,筛选出真子代,为今后的分子辅助育种以及遗传图谱的构建提供基础。

1 材料和方法

1.1 材料

材料包括 4 个软枣猕猴桃品种及 2 个杂交组合 F₁ 代群体:‘永丰 1 号’‘RB-3’‘11-17’‘魁绿雄’、‘RB-3’(♀)×‘魁绿雄’(♂)、‘永丰 1 号’(♀)×‘11-17’(♂),其中‘永丰 1 号’和‘魁绿雄’来源于我国东北地区,具有很强的抗寒性,‘RB-3’和‘11-17’来源于淮河流域,抗寒性较差。用‘RB-3’(♀)×‘魁绿雄’(♂)杂交共获得后代 175 株,‘永丰 1 号’(♀)×‘11-17’(♂)获得杂交后代 531 株,于 2016 年 8 月取各子代及亲本幼嫩叶片液氮速冻,保存于 -80 °C 备用。

1.2 方法

1.2.1 基因组 DNA 的提取与检测 亲本及杂交子代叶片 DNA 提取按照磁珠法植物基因组 DNA 提取试剂盒(洛阳惠尔纳米科技有限公司)相关步骤操作。提取获得的 DNA 使用 Bio-Photometer plus 核酸定量检测仪(Eppendorf 公司)检测其纯度和浓度,并用 1%(ω)的琼脂糖凝胶电泳检测质量。

1.2.2 引物设计及 PCR 扩增 根据 4 个亲本重测序数据中 InDel 位点信息,选取 50 个 InDel 位点设计引物,引物由上海生工生物工程有限公司合成。PCR 扩增采用 10 μL 反应体系,包括基因组 DNA 0.5 μL、PCR mix 5 μL、上下游引物各 0.5 μL、H₂O 3.5 μL。PCR 反应程序为 95 °C 预变性 5 min;94 °C 变性 30 s;58 °C 退火 30 s;72 °C 延伸 1 min;共进行 33 个循环;最后于 72 °C 延伸 10 min。亲本多态性筛选采用 8%(ω)聚丙烯酰胺凝胶电泳检测,子代真实性筛选采用 1%(ω)琼脂糖凝胶电泳检测。

1.2.3 亲本 InDel 多态性筛选 在亲本中进行多态性验证,选择扩增带型清晰、稳定、主带明显以及在父本中出现特异性条带的引物作为杂种鉴定的引物。

1.2.4 杂交子代真实性鉴定 利用以上筛选到的具有父本特异性条带的引物,以清晰稳定的父本特异性条带为判断依据,对各杂交后代进行真伪性鉴定。依据父本特异性条带对试验结果进行统计。

2 结果与分析

利用设计的InDel标记在‘永丰1号’‘RB-3’‘11-17’‘魁绿雄’这4个杂交亲本中进行多态性筛选,发现4个亲本间扩增出条带清晰、特异性强的标记共有8个,可用于其杂交后代的鉴定。这8个InDel标记分别分布在猕猴桃6条染色体上,其中3号、44号、55号、100号InDel标记在‘永丰1号’(♀)×‘11-17’(♂)杂交组合中扩增出特异性条带;42号、52号、134号、5号InDel标记在‘RB-3’(♀)×‘魁绿雄’(♂)杂交组合中扩增出特异性条带。8个共显性InDel标记的引物序列见表1。

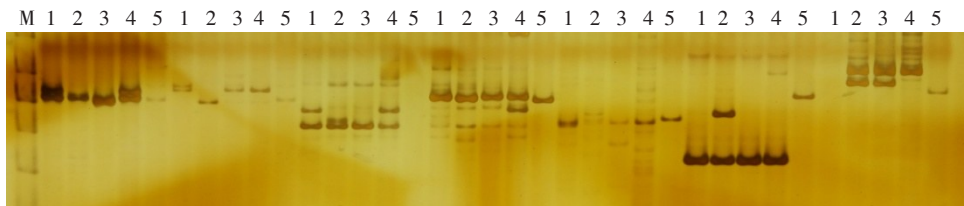
2.1 亲本InDel标记筛选

以‘RB-3’‘魁绿雄’‘永丰1号’‘11-17’‘红阳’为模板,筛选有特异性条带的InDel标记,当‘魁绿雄’中出现而在‘RB-3’中没有出现的条带时,表明这对引物具有特异性,能够用于‘RB-3’×‘魁绿雄’

表1 InDel标记引物序列
Table 1 The primer sequences of InDel

引物名称 Primer name	引物序列 Primer sequence
3	ACACTAGTTGCTCTTTGCATCTGTT CGAAATTCCCTTTCCAACACTACTGTGT
5	CTCCAACGATGTAATTGTGTTATCC TATCAGTGTATCTACGACCGACCTT
42	ACCTTGAAACAGTTTCGACATCTCT CATGCCATTAGGATAGTCTCCAATTT
44	TGGAGCTAAGCTATCCACTGTATTC CATTGGTGAATTAGTTATGGGACAC
52	ATAGTGGAGGTAATGCTGAAACCTT GGTTGTATGCCTCCATTATATATGTC
55	GAGTTATTGCTGGAGAGTGAATTTG CTCTTCCTCTCTACTTTTCGTGAGTG
100	AGAAGGGTCAGGTTTCATATTAGTCC AGAGTGAGCTGCAGTCAAGGTT
134	CATCTACCGAGCAATTTTCGATATAC CTCTTATTTCTCGTCTACTTCTCT

杂交后代的筛选;当‘11-17’中出现而‘永丰1号’中没有条带时,表明这对引物就可以用于‘永丰1号’×‘11-17’杂交后代的筛选。以‘红阳’的扩增条带为参照条带,可以初步验证扩增的特异条带是否为插入缺失片段,这样就避免了误认为杂带为特异性条带,增加引物筛选的正确率(图1)。



1-5 泳道模板为‘RB-3’‘魁绿雄’‘永丰1号’‘11-17’‘红阳’。共7组引物,第1组和第6组为3号和42号。

1-5 lane template respectively were ‘RB-3’ ‘Kuilü male’ ‘Yongfeng No.1’ ‘11-17’ and ‘Hongyang’. A total of 7 groups of primers, the first group and the sixth group were No. 3 and No. 42 respectively.

图1 InDel引物在4个亲本中的筛选

Fig. 1 Screening of some InDel primers in four parents

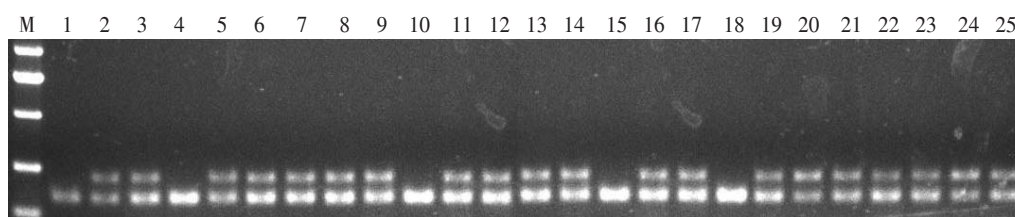
2.2 杂交子代的共显性InDel标记的筛选

依据以上引物筛选结果,以清晰的父本特异性条带为判断标准,分别应用具有父本特异性条带的引物对杂交后代进行InDel标记鉴定。当杂交后代中出现父本特异性条带即可判断为真子代,根据孟德尔遗传定律,每对引物理论上可以检测出至少一半的真子代。

在‘RB-3’和‘魁绿雄’的杂交组合中,共筛选出4对引物,首先利用42号和5号引物对所有杂交子代进行鉴定,共有126株子代具有父本特异性条带,

初步确认为真杂种;然后用52号引物对剩余的49株子代再次鉴定,有26株具有父本特异性条带,用134号引物对其余的23株子代进行鉴定,有9株具有父本特异性条带。最后共有14株子代在上述4对引物中均未扩增出父本特异性条带,确认为假杂种。综合鉴定结果,175个单株中161株为双亲的真杂种(图2)。

在‘永丰1号’和‘11-17’的杂交组合中,共筛选出4对引物,首先利用44号引物对所有杂交子代进行鉴定,共有439株后代具有父本特异性条带,初步



第 1~2 泳道为亲本, 3~25 泳道为其杂交后代。

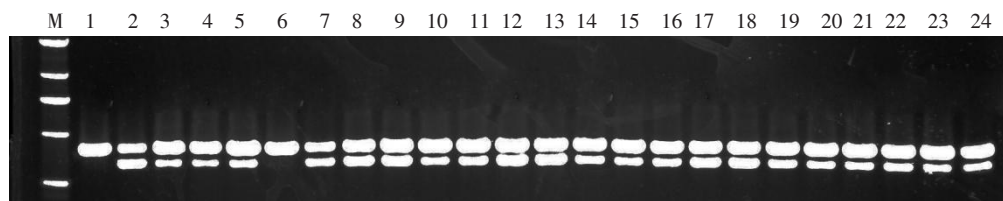
Lane 1-2 were parents, lanes 3-25 for its hybrids.

图 2 InDel 标记引物 42 在‘RB-3’和‘魁绿雄’的 23 个杂交种样本中的琼脂糖凝胶检测

Fig. 2 Agarose gel detection of InDel primer 42 in 23 samples of ‘RB-3’ and ‘Kuili male’

确认为真杂种;然后用 3 号引物对剩余的 92 株子代再次鉴定,有 71 株具有父本特异性条带,用 100 号引物对其余的 21 株子代进行鉴定,有 16 株具有父本特异性条带,最后用 55 号引物对剩余的 5 株子代进行

鉴定,有 1 株具有父本特异性条带。最后共有 4 株子代在上述 4 对引物中均未扩增出父本特异性条带,确认为假杂种。综合鉴定结果,531 个单株中 527 株为双亲的真杂种(图 3)。



第 1~2 泳道为亲本, 3~24 泳道为其杂交后代。

Lanes 1-2 were parents, lanes 3-24 for its hybrids.

图 3 InDel 标记引物 44 在‘永丰 1 号’和‘11-17’的 22 个杂种样本中的琼脂糖凝胶检测

Fig. 3 Agarose gel detection of InDel primer 44 in 22 samples of ‘Yongfeng No.1’ and ‘11-17’

3 讨 论

除了采用 InDel 分子标记进行杂交子代纯度鉴定之外,杂交子代纯度鉴定多利用 SSR、SRAP、ISSR 等分子标记。张琳^[5]用 5 对 SSR 引物对 2 个砀溪蜜柚杂交 F₁ 代进行鉴定,杂交后代真杂种比率分别为 100% 和 71.23%;薛丹丹等^[6]用 9 对 SRAP 引物鉴定出 37 株结缕草属植物杂交后代中真杂种为 32 株;胡凤荣等^[7]利用 3 对 ISSR 引物对风信子 3 个杂交组合杂种后代进行鉴定,后代真杂种比率分别为 92%、41%、100%。虽然 SSR 和 InDel 分子标记都是利用检测父本遗传信息遗传给后代的方法,但是 InDel 标记相对于 SSR 标记,具有在基因组分布密度大的特点,并且随着猕猴桃基因组序列测序以及重测序的完成,InDel 标记的开发越来越容易;在开发 InDel 标记时,可以开发较长的 InDel,这样在利用 InDel 标记进行杂种鉴定时只需要琼脂糖凝胶电泳就可以将不同长度的 PCR 产物分开,所以 InDel 的验证方法更加简便。本试验在子代鉴定过程中,鉴定为真杂种

的杂交后代的扩增条带理论上应该是同时具有双亲的扩增条带,而在试验中发现,同一个子代在某一个引物中未表现出父本的特异性条带,但在另一个引物中却表现出父本特异性条带的现象,产生这种现象的原因有可能是 InDel 标记为共显性标记,因为亲本在遗传上高度杂合,基于孟德尔的基因自由分离定律,在 F₁ 代 InDel 标记就发生了分离。鉴于以上现象,在子代的鉴定过程中,一定要结合 3~5 个 InDel 标记进行综合分析,这样才能确保子代的真实性。

目前猕猴桃中‘红阳’的基因组序列已经公布,虽然‘红阳’为二倍体,但是以‘红阳’基因组为参考,对其他倍性的猕猴桃进行全基因组重测序变得可行且容易,通过序列比对,可以找到大量的单核苷酸多态性位点(SNP),插入缺失位点(insertion/deletion, InDel)、结构变异位点(structure variation, SV)和拷贝数变异位点(copy number variation, CNV),并且随着二代测序技术的发展,基于高通量测序技术的重测序成本变得越来越低,依托杂交亲本的重测序数据设计 InDel 标记,只需要获得待测亲本的 DNA 样

品就能鉴定其真伪,这种方法经济实惠,可推广到其他猕猴桃杂交后代的鉴定中。

4 结 论

利用拥有父本特征带的 InDel 引物进行子代真实性的鉴定,结果表明, InDel 标记在 2 个软枣猕猴桃杂交组合中均能够以较高的效率鉴定子代的真实性。并且 InDel 引物以它分布广泛、验证简便的优势,提高了杂交子代真伪鉴定的效率。

参考文献 References:

- [1] 黄宏文. 猕猴桃驯化改良百年启示及天然居群遗传渐渗的基因发掘[J]. 植物学报, 2009, 44(2): 127-142.
HUANG Hongwen. History of 100 years of domestication and improvement of kiwifruit and gene discovery from genetic introgressed populations in the wild[J]. Chinese Bulletin of Botany, 2009, 44(2): 127-142.
- [2] LI J. Actinidiaceae/Flora of China[M]. Beijing: Science Press, 2007.
- [3] 屈振江, 柏秦凤, 梁轶, 张勇, 王景红, 刘璐. 气候变化对陕西猕猴桃主要气象灾害风险的影响预估[J]. 果树学报, 2014, 31(5): 873-878.
QU Zhenjiang, BAI Qinfeng, LIANG Yi, ZHANG Yong, WANG Jinghong, LIU Lu. Potential impacts of climate change on the main meteorological disaster risk of kiwifruit in Shaanxi province [J]. Journal of Fruit Science, 2014, 31(5): 873-878.
- [4] 齐秀娟, 方金豹, 赵长竹. 2009 年郑州地区猕猴桃冻害调查与原因分析[J]. 果树学报, 2011, 28(1): 55-60.
QI Xiujuan, FANG Jinbao, ZHAO Changzhu. Freeze injury investigation of kiwifruit in Zhengzhou area in 2009[J]. Journal of Fruit Science, 2011, 28(1): 55-60.
- [5] 王丹丹, 杨东霞. 8 种软枣猕猴桃种质纯度鉴定[J]. 西北农业学报, 2016, 25(11): 1656-1662.
WANG Dandan, YANG Dongxia. Purity research and analysis of eight Actinidia arguta cultivars[J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2016, 25(11): 1656-1662.
- [6] 樊秀彩, 张颖, 姜建福. SSR 分子标记鉴定山葡萄和河岸葡萄种间杂种[J]. 西北植物学报, 2012, 32(11): 2195-2200.
FAN Xiucui, ZHANG Ying, JIANG Jianfu. Identification of interspecific hybrids derived from *Vitis riparia* × *Vitis amurensis* by SSR marker[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2012, 32(11): 2195-2200.
- [7] 杨洁, 赫佳, 王丹碧. InDel 标记的研究和应用进展[J]. 生物多样性, 2016, 24(2): 237-243.
YANG Jie, HE Jia, WANG Danbi. Progress in research and application of InDel markers[J]. Biodiversity Science, 2016, 24(2): 237-243.
- [8] 张体付, 葛敏, 赵涵. 功能性 Insertion/Deletion (InDel) 分子标记的挖掘及其在杂交种纯度鉴定中的应用[J]. 玉米科学, 2012, 20(12): 64-68.
ZHANG Tifu, GE Min, ZHAO Han. Discovery for maize function Insertion/Deletion (InDel) polymorphic marker and its implication in purity identification of maize hybrid seeds[J]. Journal of Maize Sciences, 2012, 20(12): 64-68.
- [9] 王林友, 张礼霞, 勾晓霞. 利用 InDel 标记鉴定浙优系列杂交稻籼粳属性和预测杂种优势[J]. 中国农业科学, 2014, 47(7): 1243-1255.
WANG Linyou, ZHANG Lixia, GOU Xiaoxia. Identification of Indica-Japonica attribute and prediction of heterosis of Zheyou hybrids rice using InDel molecular markers[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2014, 47(7): 1243-1255.
- [10] 朱东旭, 王彦华, 赵建军. 结球甘蓝相对与大白菜连锁群特异 InDel 标记建立及应用[J]. 园艺学报, 2014, 41(8): 1699-1706.
ZHU Dongxu, WANG Yanhua, ZHAO Jianjun. Establishment and application of specific InDel markers on different linkage groups of cabbage compared with Chinese cabbage[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2014, 41(8): 1699-1706.
- [11] 薛银鸽, 原玉香, 张晓伟. 利用 InDel 标记鉴定大白菜杂交种豫新四号种子纯度[J]. 农业生物技术学报, 2014, 22(4): 449-456.
XUE Yinge, YUAN Yuxiang, ZHANG Xiaowei. Purity identification of Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*) hybrid Yuxin NO.4 by InDel markers[J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2014, 22(4): 449-456.
- [12] LÜ H, YANG L, KANG J, WANG Q, WANG X, FANG Z, LIU Y, ZHUANG M, ZHANG Y, LIN Y. Development of InDel markers linked to Fusarium wilt resistance in cabbage[J]. Molecular Breeding, 2013, 32(4): 961-967.
- [13] 陈延惠, 李洪涛, 朱道圩. RAPD 分子标记在猕猴桃种质资源鉴定上的应用[J]. 河南农业大学学报, 2003, 37(4): 360-364.
CHEN Yanhui, LI Hongtao, ZHU Daoxu. Application of RAPD molecular marker on identification of germplasm resources in Actinidia[J]. Journal of Henan Agricultural University, 2003, 37(4): 360-364.
- [14] TESTOLIN R, HUANG W G, LAIN O, VECCHIONE A. A kiwifruit (*Actinidia* spp.) linkage map based on microsatellites and integrated with AFLP markers[J]. Theoretical & Applied Genetics, 2001, 103(1): 30-36.
- [15] 张琳. 不同琯溪蜜柚的品质分析及克里曼丁橘有性杂交后代杂种鉴定[D]. 湖北: 华中农业大学, 2015.
ZHANG Lin. The quality analysis of Guanxi pummelo from different production regions and the identification of hybrid from clementina's sexual hybridization[D]. Hubei: Huazhong Agricultural University, 2015.
- [16] 薛丹丹, 郭海林, 刘建秀. 结缕草植物杂交后代杂种真实性鉴定-SRAP 分子标记[J]. 草业学报, 2009, 18(11): 72-79.
XUE Dandan, GUO Hailin, LIU Jianxiu. Hybrid identification of progenies of zoysia crosses by SRAP marker[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2009, 18(11): 72-79.
- [17] 胡凤荣, 胡国仁, 王斐. 利用 ISSR 分子标记方法鉴定风信子杂种后代[J]. 分子植物育种, 2015, 13(6): 1336-1342.
HU Fengrong, HU Guoren, WANG Fei. The identification of the hyacinth hybrid progeny by the method of ISSR molecular marker [J]. Molecular Plant Breeding, 2015, 13(6): 1336-1342.