

王艳平, 潘红, 吴燕, 等. 基于表型性状和 KASP 标记的玉米 DUS 测试品种的聚类分析[J]. 江苏农业学报, 2022, 38(5): 1171-1178.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2022.05.003

基于表型性状和 KASP 标记的玉米 DUS 测试品种的聚类分析

王艳平, 潘红, 吴燕, 王显生, 汪鸿星, 李华勇, 于堃, 沈奇
(江苏省农业科学院种质资源与生物技术研究所, 江苏 南京 210014)

摘要: 为探讨竞争性等位基因特异性 PCR (KASP) 标记在玉米 DUS (特异性、一致性和稳定性) 测试过程中近似品种筛选方面的应用, 采用表型和 KASP 标记对玉米测试品种进行聚类分析。表型的二阶聚类结果显示, 315 份玉米品种可划分为普通型、甜质型以及糯质型和甜糯混合型 3 类, “籽粒: 类型” 性状对聚类结果的影响最大; 系统聚类结果显示, 单交种和自交系间的分离比较明显, 普通型玉米与甜质型、糯质型、甜糯混合型玉米间的分离也较明显, 甜质型、糯质型、甜糯混合型玉米三者之间的分离不明显。KASP 标记聚类结果显示, 自交系与单交种交织在一起, 普通型玉米与甜质型、糯质型、甜糯混合型玉米间明显分离, 甜质型玉米与糯质型、甜糯混合型玉米间的分离也较明显, 糯质型玉米和甜糯混合型玉米相互交织。综上分析可知, 在繁殖类型上单交种和自交系表型聚类结果与 KASP 标记聚类结果不同, 而在籽粒类型上 2 种聚类结果基本吻合。

关键词: 表型; 竞争性等位基因特异性 PCR (KASP) 标记; 玉米 DUS (特异性、一致性和稳定性) 测试; 遗传多样性

中图分类号: S513.01 文献标识码: A 文章编号: 1000-4440(2022)05-1171-08

Cluster analysis of maize varieties in DUS test based on phenotypic characters and KASP markers

WANG Yan-ping, PAN Hong, WU Yan, WANG Xian-sheng, WANG Hong-xing, LI Hua-yong, YU Kun, SHEN Qi

(Institute of Germplasm Resources and Biotechnology, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

Abstract: To explore the application of kompetitive allele-specific PCR (KASP) markers in similar varieties selection in maize distinctness, uniformity and stability (DUS) test, based on the data of morphological characteristics and KASP markers, 315 varieties were studied, including two breeding types of inbred lines and hybrids and four grain types of normal, sweet, waxy, sweet-waxy. The results of two-step cluster analysis showed that the four grain types were divided into three groups of normal, sweet, waxy and sweet-waxy. The effect of the grain: type trait on clustering results was the greatest. Results of hierarchical clustering indicated that inbred lines and hybrids were clearly separated. The separation of normal type and sweet type, waxy type, sweet-waxy type was relatively obvious, while the separation among sweet type, waxy type, sweet-waxy type was not obvious. The clustering results based on KASP markers showed that inbred lines were distributed in hybrids. Normal type and sweet type, waxy type, sweet-waxy type were significantly separated, sweet type and waxy type, sweet-waxy type were also clearly separated, while waxy type and sweet-waxy type blended with each other. In conclusion,

the results of two clustering methods used in this study were different in the reproductive type, while the results were basically consistent in the grain type.

Key words: phenotype; kompetitive allele-specific PCR (KASP) markers; maize distinctness, uniformity and stability (DUS) test; genetic diversity

收稿日期: 2022-02-15

基金项目: 江苏省农业科技自主创新基金项目 [CX(20)3142]

作者简介: 王艳平 (1975-), 女, 河南驻马店人, 博士, 研究员, 主要从事植物品种 DUS 测试工作。(E-mail) 1226626413@qq.com

通讯作者: 沈奇, (E-mail) jaas2008@163.com

玉米是中国种植范围最广、用途最多、总产量最高的作物,玉米产业的发展在保障中国粮食安全和满足市场需要方面具有至关重要的作用^[1]。良种培育是保证玉米正常生产的关键,近年来国家对种业研发提供了大量政策支持,提高了企业研发的积极性。2014 年中国颁布了《国家级水稻玉米品种审定绿色通道试验指南》(简称《指南》)以简化审定程序,随后,中国审定的玉米品种数量迅猛增长。近 3 年来,中国每年审定的玉米品种有 2 000~3 000 份,每年申请品种保护的玉米品种有 2 000 多份^[2]。2016 年中国实施的新《种子法》中规定,获得品种保护和审定的玉米品种都要满足品种特异性(Distinctness)、一致性(Uniformity)和稳定性(Stability)(简称 DUS)测试的要求,目前中国每年都有大量玉米品种接受 DUS 测试。

DUS 测试是品种权授权、品种审定和品种登记的基本技术依据,其中特异性测试在真实性评价、假冒侵权品种技术鉴定中尤为重要。特异性是指一个植物品种有一个以上性状明显区别于已知品种。近似品种是指在所有已知品种中,相关特征或者特性与待测品种最为相似、在 DUS 测试中用于田间比对的品种。由此可见,筛选近似品种是 DUS 测试的重要环节,对特异性的判定起着决定性作用。当前,特异性测试主要是根据植物测试指南中表型性状的描述,在已知品种库中筛选与申请品种表型近似的品种并进行田间种植比较。这种根据表型性状筛选近似品种的测试方法在 DUS 测试实践中存在一些缺陷:一是耗时长,必须对申请品种进行一年的种植试验,获得表型性状数据后才能与数据库中的所有品种进行比对;二是现有的植物新品种保护数据库包括全国各生态区的测试数据,直接用不同生态区的表型性状数据进行比对时存在环境误差。

分子数据因具有标记位点多、检测快速准确、不受环境因素影响等优点,在筛选近似品种方面能够高效鉴定大量的品种。国际植物新品种保护联盟(UPOV)技术委员会于 1992 年成立了生物化学和分子技术工作组(BMT),专门研究 DNA 分子标记在 DUS 测试中的应用。目前,研究者主要运用简单重复序列(SSR)分子标记辅助 DUS 测试。UPOV 认为,SSR 标记是可以用于构建 DNA 指纹数据库的一种理想的分子标记,并为其应用制定了相应的技术文件指导^[3]。Hong 等^[4]用表达序列标签-SSR(EST-SSR)标记构建了莴苣 DNA 指纹数据库,并将

其用于莴苣品种的近似品种筛选和特异性判定。中国在 2013 年发布了玉米等 10 多种作物的 SSR 标记法品种鉴定技术规程。农业农村部植物新品种测试(济南)分中心采用发布的技术规程构建了小麦、大白菜已知品种的 DNA 指纹数据库,并用 DNA 指纹数据库筛选了小麦 DUS 测试品种的近似品种^[5]。

目前使用的品种鉴定技术规程——SSR 分子标记法,标记数目有限、信息量较少,且不能满足大量样本高通量检测的需求。近年来,由于芯片技术具有标记数量多、自动化程度高等优点,利用其研发的单核苷酸多态性(SNP)检测技术得到快速发展和应用^[6-7]。法国专家 Delètre^[8]在 2020 年的 UPOV 生物化学和分子技术工作组第 19 次会议上讲述了一种用 SNP 分子标记检测冬油菜 DUS 的策略,美国的 Achard 等^[9]已将 SNP 技术运用到大豆品种保护的 DUS 测试中。

SNP 检测技术中的竞争性等位基因特异性 PCR(Kompetitive allele-specific PCR, KASP)标记检测法具有稳定性高、准确性高、成本低的特点,可用于各种目的、各种物种的基因分型,在需要少量到中等数量标记的检测中可显示成本效益和可扩展的灵活性^[10],目前已被广泛应用到大麦^[11]、小麦^[12]、水稻^[13]、玉米^[14-16]等作物品种的检测中。陆海燕等^[14]基于 205 份玉米自交系重测序数据,过滤出 1 660 336 个 SNP 位点,并根据这些位点开发、挑选出 202 个能有效鉴定玉米品种特异性和真实性的 KASP 标记。江苏省于 2020 年发布了利用 KASP 标记检测的地方标准《玉米品种及纯度鉴定技术规程 SNP 标记法》(DB32/T 3860-2020)^[17],该标准推荐了优先使用的 40 个 KASP 标记。本研究利用表型性状和上述标准中可用于品种鉴定的 40 个 KASP 分子标记,分别对 315 份玉米的 DUS 测试品种进行聚类,分析玉米 DUS 测试品种群体的遗传多样性,初步探讨 KASP 标记在玉米 DUS 测试中应用的潜力,以期对玉米 DUS 测试中近似品种的筛选提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

315 份玉米 DUS 测试品种(表 1),来源于农业农村部植物新品种测试(南京)分中心,繁殖类型包含 223 份单交种、92 份自交系,品种类型包含 163 份普通型、63 份甜质型、55 份糯质型和 34 份甜糯混合型。供试玉米材料来源广泛,大部分品种来源于

长江中下游地区的江苏、浙江、上海、安徽等地,少数品种来源于湖北、河北、河南、山东、天津、北京、四川、福建、江西、广东等地。

表 1 供试玉米品种

Table 1 Maize varieties used in this study

品种类型	单交种数量 (份)	自交系数数量 (份)	合计数量 (份)
普通型	86	77	163
甜质型	58	5	63
糯质型	45	10	55
甜糯混合型	34	0	34
合计	223	92	315

1.2 表型数据的采集及聚类分析

试验材料于 2020、2021 年春种植于江苏省农业科学院溧水植物科学基地。按照《植物品种特异性、一致性和稳定性测试指南 玉米》(GB/T 19557.24-2018)^[18]规定的测试方法对测试指南中列出的 43 个基本性状进行观测和记录,目测性状用代码记录,测量性状用测量值记录。使用 SPSS 26 软件,采用对数似然值距离测量以及施瓦茨贝叶斯准则(BIC)进行二阶聚类,用欧氏距离构建系统聚类图。

1.3 KASP 标记的基因分型及聚类

在玉米的 3~4 叶期,每个品种剪取 5 株幼苗的叶片,参照《玉米品种及纯度鉴定技术规程 SNP 标记法》(DB 32/T 3860-2020)^[17]中列出的 40 个 KASP 标记,按照本标准规定的方法提取样品 DNA 并进行 PCR 扩增。引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成,委托南京集思慧远生物科技有限公司进行基因分型。使用 TASSEL 5 软件,通过 Neighbor-Joining 方法构建进化树,用 FigTree 软件处理聚类图。

2 结果与分析

2.1 玉米表型性状的聚类分析

由表 2 可以看出,将基于 43 个玉米表型性状的数据进行二阶聚类,315 份玉米品种被聚为 3 类,第 1 类有 162 份品种,除 1 份为糯质型外,其他全部为普通型;第 2 类有 92 份品种,除 2 份为甜质型,2 份为普通型外,其他全部为糯质型或甜糯混合型;第 3 类有 61 份品种,全部为甜质型。

对 43 个玉米表型性状的重要性进行预测,由图 1 可以看出,“籽粒:类型”、“(仅适用于单色玉米)

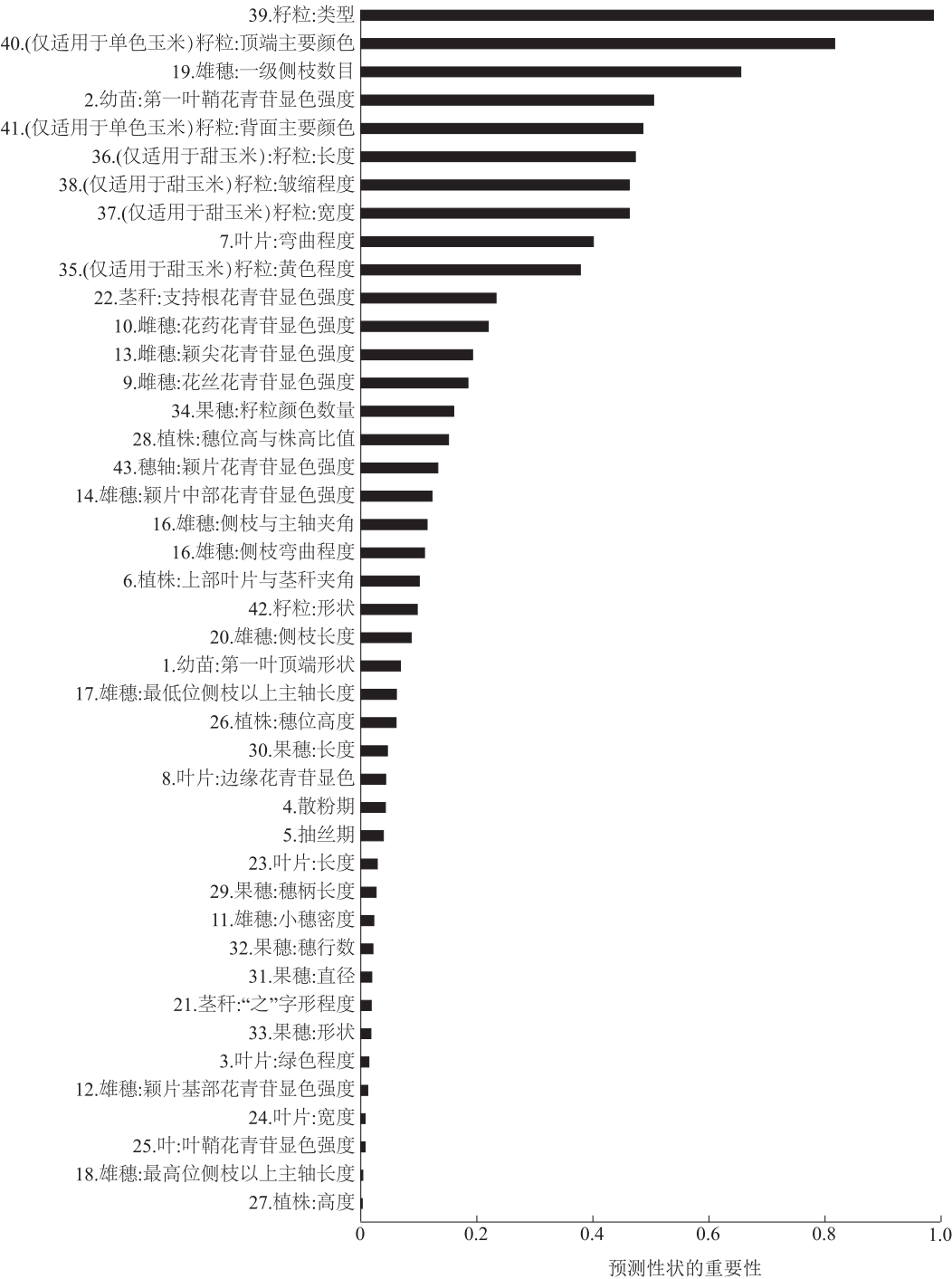
籽粒:顶端主要颜色”、“雄穗:一级侧枝数目”和“幼苗:第一叶鞘花青苷显色强度”这 4 个性状的重要性在 0.5 以上,对聚类的贡献排名位于前 4 名。

表 2 315 份玉米品种基于表型性状数据的二阶聚类分布

Table 2 Two-step cluster distribution of 315 maize varieties based on phenotypic traits

聚类类 群编号	玉米品种类型与数量	玉米品种 总数(份)	占比 (%)
1	普通型(161 份),糯质型(1 份)	162	51.4
2	糯质型(54 份),甜糯混合型(34 份),普通型(2 份),甜质型(2 份)	92	29.2
3	甜质型(61 份)	61	19.4

对 315 份玉米品种的表型性状观测数据进行系统聚类,并将聚类结果整理成表 3、图 2。以欧氏距离 25.0 为标准,可将 315 份玉米材料划分为 A、B 两大类群。A 类群包含 273 份玉米品种(包括 58 份自交系和 215 个单交种),单交种除 6 份玉米品种聚于 B 群外,全部聚于 A 类群。B 类群包含 42 份玉米品种,其中 36 份玉米品种是自交系,占全部自交系数量的 39.1%。以欧氏距离 12.5 为标准,可将 A 类群划分为 A1、A2 和 A3 等 3 个亚群,其中 A1 亚群包含 154 份玉米品种,其中 17 份为自交系(占全部自交系数量的 18.5%),137 份为单交种(占全部单交种数量的 61.4%);A2 亚群包含 115 份玉米品种,其中 74 份为单交种,41 份为自交系;A3 亚群包含 4 份玉米品种,全部是单交种。以欧氏距离 10.0 为标准,可将 A2 亚群再划分为 A2-1、A2-2 这 2 个亚群,其中 A2-1 亚群包含 76 份玉米品种,其中 70 份为单交种(占全部单交种数量的 31.4%),6 份为自交系;A2-2 亚群包含 39 份玉米品种,其中 35 份为自交系(占全部自交系数量的 38.0%),4 份为单交种。从品种类型来看,B 类群包含 29 份普通型、7 份甜质型、5 份糯质型和 1 份甜糯混合型。A1 亚群包含 82 份普通型、36 份甜质型、18 份糯质型和 18 份甜糯混合型;A2 亚群包含 58 份普通型、21 份甜质型、19 份糯质型和 17 份甜糯混合型;A3 亚群包含 4 份玉米品种,全部是普通型。A2-1 亚群包含 19 份普通型、19 份甜质型、21 份糯质型和 17 份甜糯混合型;A2-2 亚群全部是普通型。上述系统聚类结果显示,单交种和自交系在表型上的分离相对比较明显,普通型与甜质型、糯质型、甜糯混合型在表型上的分离较明显,而甜质型、糯质型、甜糯混合型三者之间的分离不明显。



编号 1~43 采用的是测试指南《植物品种特异性、一致性和稳定性测试指南 玉米》(GB/T 19557.24-2018)中规定的性状序号。

图 1 43 个表型性状对聚类的重要性
Fig.1 Importance of the 43 phenotypic traits to clustering

2.2 KASP 标记聚类分析

采用覆盖玉米 10 条染色体的 40 个 KASP 标记对 315 份玉米品种进行基因分型,每条染色体设 4 对多态性引物。这 40 个 KASP 标记位点在 315 份玉米品种群

体中的多态信息含量(PIC)变化范围为0.430~0.500,平均值为 0.482,最小等位基因频率(MAF)变化范围为 0.313~0.498,平均值为 0.420,表明所采用的 40 个 KASP 标记具有较高的特异性和稳定性。

表 3 不同类型玉米品种在各类群中的分布

Table 3 Distribution of different types of maize varieties in the different groups

欧氏距离	类群	自交系				单交种					总计 (份)
		普通型 (份)	甜质型 (份)	糯质型 (份)	合计 (份)	普通型 (份)	甜质型 (份)	糯质型 (份)	甜糯混合型 (份)	合计 (份)	
25.0	A	51	3	4	58	93	54	33	35	215	273
	B	27	4	5	36	2	3	0	1	6	42
12.5	A1	12	1	4	17	70	35	14	18	137	154
	A2	39	2	0	41	19	19	19	17	74	115
	A3	0	0	0	0	4	0	0	0	4	4
10.0	A2-1	4	0	2	6	15	19	19	17	70	76
	A2-2	35	0	0	35	4	0	0	0	4	39

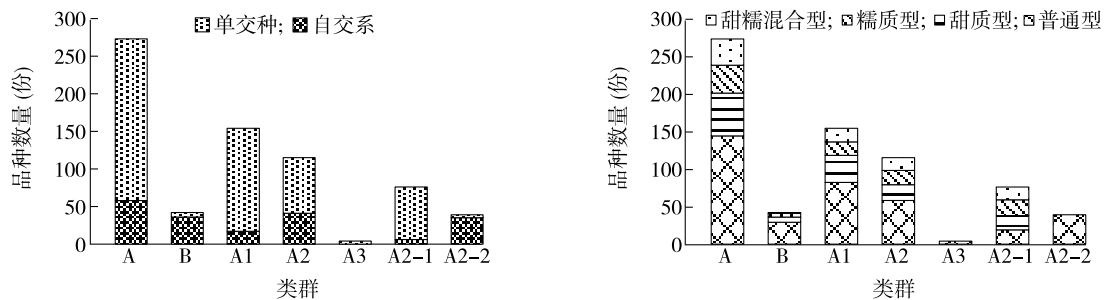


图 2 不同类型玉米品种在所划分类群中的分布

Fig.2 Distribution of different types of maize varieties in the groups

用 Neighbor-Joining 法对 315 份玉米品种进行聚类。由图 3 可以看出,315 份玉米品种分成 A、B 两大群,其中 A 群包含 154 份玉米品种,除 2 个甜质型、7 份糯质型外全为普通型;B 群包含 161 份玉米品种,其中除 17 份为普通型外,其他为甜质型、糯质型和甜糯混合型。B 群又可分成为 B1、B2、B3 和 B4 4 个亚群,其中 B1 亚群包含 64 份玉米品种,除 2 份为糯质型、2 份为甜糯混合型外,其他全部为甜质型。B2 亚群包含 79 份玉米品种,B3 亚群包含 7 份玉米品种,B2、B3 这 2 个亚群中除 9 份为普通型外,其他全部为糯质型、甜糯混合型。B4 亚群包含 11 份玉米品种,其中 2 份为糯质型,1 份为甜糯混合型,8 份为普通型。

上述聚类结果显示,在 DNA 水平上,普通型玉米与甜质型、糯质型和甜糯混合型玉米明显分离,甜质型玉米与糯质型、甜糯混合型玉米也明显分离,而糯质型和甜糯混合型玉米是相互交织,没有出现明显分离。在繁育类型上,单交种和自交系没有各自成群,自交系与单交种交织在一起。

3 讨论与结论

目前,植物品种的 DUS 测试仍然是以表型性状的观测数据为依据,但是分子标记尤其是 SNP 标记技术的应用越来越受到重视^[19-23],UPOV 已经将 SNP 标记作为农作物品种鉴定和指纹数据库构建的方法之一^[24]。

为了探讨 SNP 标记在玉米 DUS 测试中的应用,本研究采用具有高稳定性、高准确性、低成本等优点的 KASP 标记检测法和玉米 DUS 测试的表型观测法,对 315 份 DUS 测试玉米品种群体进行聚类分析比较。供试品种涵盖当前中国大部分地区育成的各类品种,繁育类型包括自交系和单交种,品种类型包括普通型、甜质型、糯质型和甜糯混合型。

表型性状的系统聚类结果显示,在繁殖类型上,单交种和自交系之间的分离比较明显;在品种类型上,普通型与甜质型、糯质型、甜糯混合型间的分离相对较明显,而甜质型、糯质型、甜糯混合型三者之间的分离不太明显。通过表型的二阶聚类,将品种

类型分为普通型、甜质型、糯质型+甜糯混合型 3 类,甜质型与糯质型和甜糯混合型玉米分成不同的类群,这是因为表型性状数据中包含类别变量和连续变量。二阶聚类分析结果显示,类别变量、连续变量具有快速、智能、准确的优点,适用于大样本及多

变量的研究^[25],并可预测每个变量的重要性。在本研究中,“籽粒:类型”性状对聚类结果的影响最大,因此可以根据籽粒类型将供试玉米品种分成普通型、甜质型、糯质型+甜糯混合型 3 种类型。

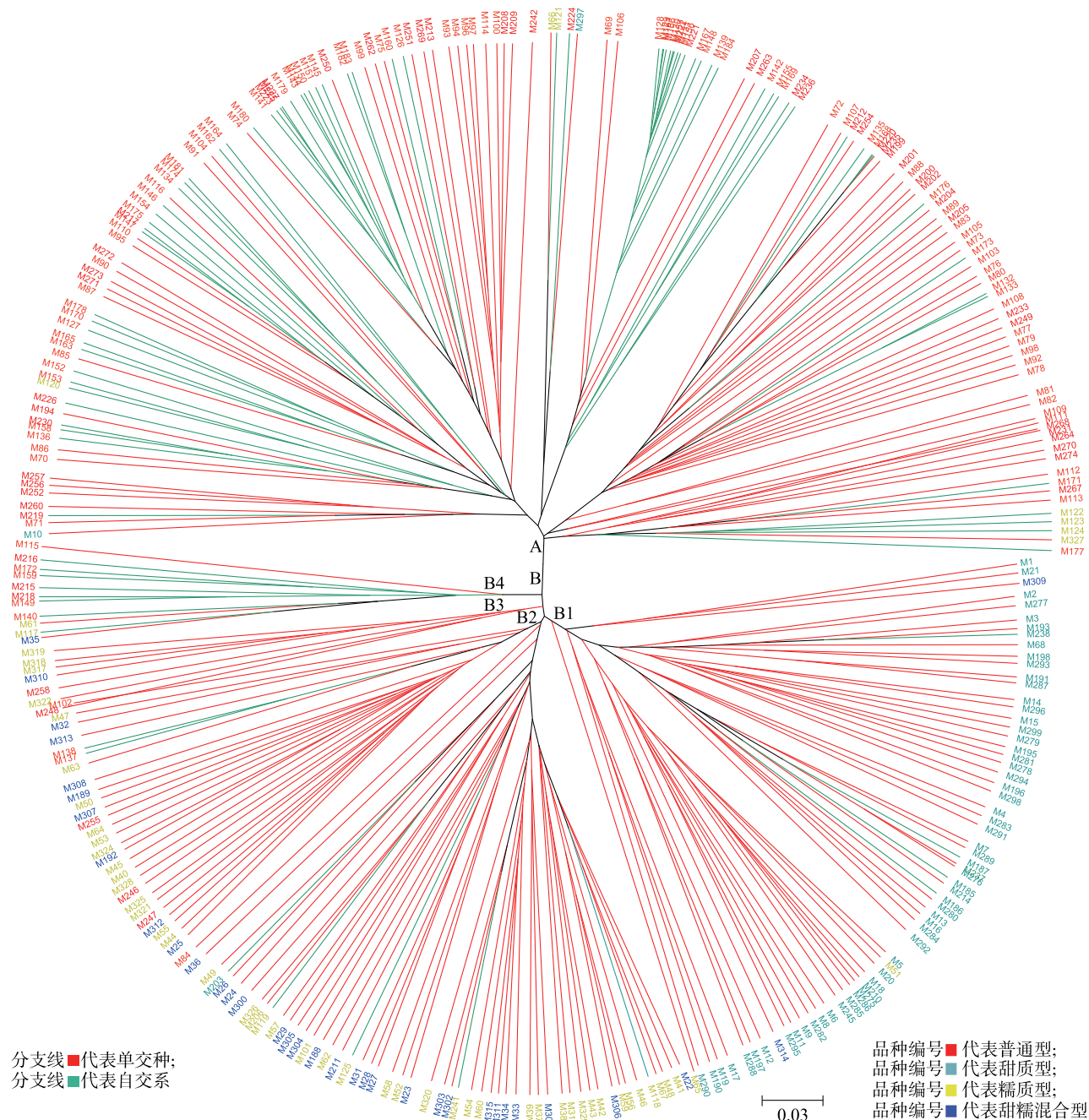


图 3 315 份玉米品种的 KASP 标记基因分型聚类结果

Fig.3 Phylogenetic tree of 315 maize varieties using KASP data

在 DNA 水平上,针对不同繁殖类型,王风格等^[26]利用 40 对 SSR 标记分析了中国 559 个代表性

玉米品种资源的遗传多样性,发现在自交系和杂交种之间存在较小的遗传多样性差异。本研究的 KASP 标记聚类结果也显示,单交种和自交系没有各自成群,而是自交系与单交种交织在一起,表明单交种可能是由其中的自交系杂交而来,在亲缘关系上与其父母本自交系间存在更为亲近的关系。针对不同的籽粒类型,雷开荣等^[27]利用 SSR-PCR 分子标记技术研究了不同种群玉米种质的遗传多样性,发现甜质型、糯质型玉米种质间的遗传距离变异幅度总体上小于它们与普通玉米间的遗传距离变异幅度。本研究中的 KASP 标记聚类结果也显示,普通型玉米与甜质型、糯质型、甜糯混合型玉米明显分开,同时甜质型玉米与糯质型、甜糯混合型玉米明显分开,而糯质型玉米和甜糯混合型玉米是相互交织,表明在分子水平上普通型玉米与甜质型、糯质型、甜糯混合型玉米之间具有明显的遗传差异,甜质型玉米与糯质型、甜糯混合型玉米之间也具有明显的遗传差异,而糯质型玉米和甜糯混合型玉米之间的差异较小。这是因为甜糯混合型玉米通常是以糯玉米自交系为母本、甜糯双隐性玉米自交系为父本杂交选育而来的^[28-29],仅糯质型玉米中引入了甜质基因。本研究结果表明,KASP 标记能够应用在玉米品种遗传多样性分析和 DUS 测试的近似品种筛选方面,可以实现快速、高效、大量样本的高通量检测。

综合分析表型与 KASP 标记 2 种聚类结果发现,在繁殖类型上,单交种与自交系的表型聚类结果与分子标记聚类结果明显不同,在籽粒类型上,4 种玉米品种类型之间在表型、分子水平上的差异基本吻合,表明不同类型的玉米品种在表型上的差异与 DNA 水平上的差异是不完全一致的。这个结果与韩瑞玺等^[30]根据 SSR 标记在小麦上的研究结果所得出的 DNA 分子水平上的遗传相似性大小与表型距离无严格线性关系的结论相一致。玉米单交种的株高、果穗大小基本优于自交系,普通型、甜质型、糯质型、甜糯混合型玉米品种的籽粒外观差异也明显,表型聚类只能反映品种间表型上的相似程度,不能准确反映品种间 DNA 水平上的亲缘关系,而分子标记聚类是根据 DNA 序列上基因型的差异,能较准确地从遗传水平上反映各品种间的亲缘关系。Achard 等^[9]用 SNP、形态学、生理学和系谱信息对 322 份已知大豆品种进行研究,对 SNP 数据和系谱亲缘数据的遗传距离进行多变量分析,发现品种间的关联非

常相似,但是这种遗传水平上的亲缘关系不能全面反映品种间的表型差异。因此,在当前以表型为主的 DUS 测试中,为提高近似品种筛选的效率、减少误差,建议设立基于 SNP 标记的已知品种分子数据库,同时利用表型和分子数据库综合筛选近似品种。

参考文献:

- [1] 陈 贞,王逸茹,王晓丽,等. 玉米可溶性无机焦磷酸酶家族基因的克隆和表达分析[J]. 植物遗传资源学报,2021,22(2): 455-465.
- [2] 品种审定查询、品种保护查询[EB/OL]. [2022-01-01]. <http://202.127.42.145>.
- [3] 王红娟,林 清,蒋晓英,等. 植物新品种 DUS 测试中近似品种的筛选方法[J]. 热带农业科学, 2018,38(10):36-41.
- [4] HONG J H, KWON Y S, MISHRA R K, et al. Construction of EST-SSR databases for effective cultivar identification and their applicability to complement for lettuce (*Lactuca sativa* L.) distinctness test[J]. American Journal of Plant Sciences, 2015, 6(1): 113-125.
- [5] 郑永胜,张 晗,王雪梅,等. 小麦 DUS 测试已知品种 DNA 指纹数据库构建及其应用[J]. 植物遗传资源学报,2019,20(4): 845-853.
- [6] 吴金凤,宋 伟,王 蕊,等. 利用 SNP 标记对 51 份玉米自交系进行类群划分[J]. 玉米科学,2014,22(5):29-34.
- [7] 赵久然,李春辉,宋 伟,等. 基于 SNP 芯片揭示中国玉米育种种质的遗传多样性与群体遗传结构[J]. 中国农业科学,2018, 51(4):626-644.
- [8] DELÈTRE. Developing a strategy to apply SNP molecular markers in the framework of winter oil seed rape DUS testing[C]//UPOV. International Union for the Protection of New Varieties of Plants. Alexandria, 2020.
- [9] ACHARD F, BUTRUILLE M, MADJARAC S, et al. Single nucleotide polymorphisms facilitate distinctness-uniformity-stability testing of soybean cultivars for plant variety protection[J]. Crop Science, 2020, 60(5): 2280-2303.
- [10] SEMAGN K, BABU R, HEARNE S, et al. Single nucleotide polymorphism genotyping using Kompetitive Allele Specific PCR (KASP): overview of the technology and its application in crop improvement[J]. Molecular Breeding, 2014, 33: 1-14.
- [11] 蒋培基,王德良,徐东东,等. 基于竞争性位点基因特异性 PCR 技术的麦芽品种纯度定性和定量检测[J]. 食品科学,2018,39(24):322-326.
- [12] RASHEED A, WEN W E, GAO F M, et al. Development and validation of KASP assays for genes underpinning key economic traits in bread wheat[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2016, 129: 1843-1860.
- [13] 余四斌,袁志阳,孙文强,等. 基于 KASP 技术用于水稻产量基因分型的引物组合及其应用: CN106939349B[P]. 2019-07-19.

- [14] 陆海燕,周玲,林峰,等. 基于高通量测序开发玉米高效 KASP 分子标记[J]. 作物学报,2019,45(6):872-878.
- [15] 尹祥佳,李晶,王雅琳,等. 基于 SNP 分子标记的玉米杂交种基因型分析与纯度鉴定[J]. 现代农业研究,2021,27(6):102-104,132.
- [16] 王蕊,施龙建,田红丽,等. 玉米杂交种纯度鉴定 SNP 核心引物的确定及高通量检测方案的建立[J]. 作物学报,2021,47(4):770-779.
- [17] 赵涵,张体付,吕远大,等. 玉米品种及纯度鉴定技术规程 SNP 标记法:DB32/T 3860-2020[S].2020-11-13.
- [18] 徐岩,王风华,张世煌,等. 植物品种特异性、一致性和稳定性测试指南 玉米:GB/T 19557.24-2018[S].2018-12-01.
- [19] 杨俊芳,曹越,王宙,等. 蓖麻高密度遗传图谱构建亲本 SNP 多态性分析[J]. 江苏农业科学,2021,49(9):53-57.
- [20] 朱显亮,周长品,贾翠蓉,等. 尾细桉生长和木材密度关联 SNP 挖掘与候选基因定位[J]. 南京林业大学学报(自然科学版),2021,45(4):143-150.
- [21] 郭灿,皮发娟,吴昌敏,等. 基于 GBS 测序的全基因组 SNP 揭示贵州地方茶组植物资源的亲缘关系[J]. 南方农业学报,2021,52(3):660-670.
- [22] 乔东亚,王鹏,王淑安,等. 基于 SNP 标记的紫薇遗传多样性分析[J]. 南京林业大学学报(自然科学版),2020,44(4):21-28.
- [23] 薛晓杰,杜晓云,盖艺,等. 基于 GBS 测序开发 SNP 在植物上的应用进展[J]. 江苏农业科学,2020,48(13):62-68.
- [24] UPOV. Advances in the construction and application of DNA fingerprint database in maize[C]//UPOV. International Union for the Protection of New Varieties of Plants.Moscow:UPOV,2016.
- [25] 张文彤,董伟. SPSS 统计分析高级教程[M]. 北京:高等教育出版社,2013:287-307.
- [26] 王风格,田红丽,赵久然,等. 基于 SSR 标记进行我国 559 个代表性玉米品种资源的遗传多样性分析[C]//中国作物学会. 全国玉米遗传育种学术研讨会暨新品种展示观摩会论文及摘要集. 郑州:中国作物学会. 2012: 64.
- [27] 雷开荣,吴红,林清,等. 基于 SSR-PCR 标记的不同种群玉米种质遗传多样性研究[J]. 中国农学通报,2009,25(10):22-28.
- [28] 张沛敏,邵林生,闫建宾,等. 黑甜糯玉米新品种黑甜糯 631 的选育[J]. 中国蔬菜,2018(5):74-76.
- [29] 宫捷,孙磊磊,张丽萍,等. 甜糯双隐性基因型玉米种质的创制与评价[J]. 华南农业大学学报,2019,40(2):6-13.
- [30] 韩瑞玺,张晗,赵艳杰,等. DNA 分子标记技术在 DUS 测试中的应用探讨[J]. 中国种业,2019(2):43-45.

(责任编辑:徐艳)