

DOI: 10.16861/j.cnki.zggc.2025.0534

甜瓜叶片三种DNA提取方法对KASP标记检测体系适用性的研究

李武霖¹, 马佳鑫¹, 贺玉花¹, 唐伶俐^{1,2}, 徐永阳¹, 黄祥¹, 赵光伟^{1,2}

(1. 中国农业科学院郑州果树研究所 郑州 450009; 2. 中国农业科学院中原研究中心 河南新乡 453500)

摘要:为了探究适用于KASP标记检测体系的甜瓜叶片DNA提取方法,以甜瓜亲本B551、B22及其F₁代(B551×B22)为材料,采用碱裂解法、CTAB法和商业试剂盒法(磁珠法)提取甜瓜叶片DNA,分析三种DNA提取方法对KASP标记检测体系的影响。DNA质量检测结果表明,商业试剂盒法可以有效去除甜瓜叶片中的蛋白质、多酚、多糖等杂质,进而使KASP检测准确率达100%;CTAB法的检测准确率为97.2%;碱裂解法的检测准确率为69.4%。综上所述,商业试剂盒法(磁珠法)最适合高通量KASP检测,CTAB法可用于小规模检测,碱裂解法不适用于KASP标记检测体系的甜瓜叶片DNA提取。

关键词:甜瓜;KASP标记检测;DNA提取方法

中图分类号:S652

文献标志码:A

文章编号:1673-2871(2025)12-030-07

Comparative study on the applicability of three DNA extraction methods from melon leaves for KASP marker detection system

LI Wulin¹, MA Jiaxin¹, HE Yuhua¹, TANG Lingli¹, XU Yongyang¹, HUANG Xiang¹, ZHAO Guangwei^{1,2}

(1. Zhengzhou Fruit Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450009, Henan, China; 2. Zhongyuan Research Center, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Xinxiang 453500, Henan, China)

Abstract: To investigate DNA extraction methods from melon leaves suitable for Kompetitive Allele-Specific PCR (KASP) marker detection system, this study used melon parents B551, B22 and their F₁ hybrid (B551×B22) as materials. Three DNA extraction methods including alkaline lysis, CTAB and a commercial magnetic bead-based kit-were employed to extract DNA from melon leaves. The effects of these three DNA extraction methods on the KASP marker detection system were analyzed. DNA quality assessment results showed that the commercial kit method effectively removed impurities such as proteins, polyphenols, and polysaccharides from melon leaves, achieving a KASP detection accuracy of 100%. The CTAB method achieved a detection accuracy of 97.2%, while the alkaline lysis method achieved a detection of 69.4%. In conclusion, the commercial magnetic bead-based kit is the most suitable for high-throughput KASP detection, the CTAB method can be used for small-scale detection, and the alkaline lysis method is not suitable for DNA extraction from melon leaves in KASP marker detection systems.

Key words: *Cucumis melo*; KASP genotyping; DNA extraction method

甜瓜是葫芦科黄瓜属一年生草本植物,有着悠久的栽培历史,它在我国果蔬产业和消费市场中占有重要位置^[1-2]。通过遗传改良,可提高甜瓜产量,改善果实品质,发掘甜瓜遗传多样性等^[3]。当前甜瓜分子育种中广泛应用的是分子标记辅助选择^[4]。DNA提取作为分子标记辅助育种的基础性技术,在方法上经历了从“粗提”到“精确纯化”的发展阶段,

目前常用的方法有CTAB法、SDS法、碱裂解法和商业试剂盒法等^[5]。甜瓜叶片中的多糖、多酚、蛋白质和色素等次生代谢物会污染DNA,不同的DNA提取方法会影响DNA的纯度和浓度。这些因素会直接影响下游分子检测效果,进而对分子标记辅助育种的选择结果产生影响^[6]。因此,针对不同的分子标记试验选择合适的DNA提取方法,可以确保

收稿日期:2025-07-27;修回日期:2025-09-12

基金项目:河南省青年自然科学基金(252300423666);国家现代农业产业技术体系(CARS-25-2025-G6);中国农业科学院科技创新工程(CAAS-ASTIP-2025-ZFRI);河南省重大科技专项(221100110400);河南省科技攻关计划(252102110298)

作者简介:李武霖,男,在读硕士研究生,研究方向为甜瓜遗传育种。E-mail:96413028@qq.com

通信作者:赵光伟,男,研究员,研究方向为甜瓜遗传育种。E-mail:zhaoguangwei@caas.cn

结果的准确性和可靠性,在一定程度上提高试验效率,加快遗传育种进程^[7]。

KASP分子标记技术是以单核苷酸多态性为基础的第三代分子标记技术,具备准确度高、检测速率快的特点,适用于自动化和高通量检测^[8]。目前,KASP分子标记技术已应用于作物抗病育种、种子纯度鉴定、农艺性状改良、作物基因定位等方面^[9-16]。KASP基因分型技术通过设计特异性引物和探针,利用荧光信号来识别不同等位基因,从而实现基因型的快速准确鉴定^[17]。虽然KASP基因分型技术相比其他依托二代测序技术的分子标记技术具有一定的优势,但其在引物设计和检测仪器上仍然具有一定的限制^[18],同时KASP分子标记技术对DNA质量的要求更加严格^[19],低浓度的DNA模板容易导致荧光信号微弱而不易被仪器检测到,从而产生空白信号值,而在大规模样本检测中,DNA浓度不均匀也会导致仪器对信号捕捉的误差从而无法得到正确的分型结果。目前,针对KASP技术的研究多集中于标记开发与应用^[20-22],而对支撑该技术的基础——DNA提取方法缺乏系统性的评估与比较。特别是对于富含多糖、多酚的甜瓜叶片,何种DNA提取方法能稳定、高效地产出适用于KASP检测体系的DNA模板尚不明确。

因此,笔者拟通过对比碱裂解法、CTAB法、商业试剂盒法(磁珠法)这三种不同方法提取的甜瓜叶片DNA质量,分析三种常用方法从甜瓜叶片中提取DNA的效果,重点评估其对KASP标记检测体系的适用性,旨在为建立高效、稳定的甜瓜KASP标记检测体系提供最优的DNA提取方案。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为长果形父本B551(野生型厚皮甜瓜)和圆果形母本B22(野生型厚皮甜瓜),以及F₁代(B551×B22)。用于KASP基因分型技术的分子标记为本课题组前期开发的KASP分子标记751,经验证在试验材料B551、B22和F₁代(B551×B22)中具有良好的多态性,可以用于KASP基因分型,KASP引物751(表1)由郑州普乐海科技有限公司合成。所有试验材料均由农业科学院郑州果树研究所甜瓜遗传育种课题组提供。

1.2 方法

1.2.1 DNA提取方法 2025年3—6月将试验的

表1 KASP引物序列

Table 1 KASP primer sequence

引物名称 Primer name	引物序列 Primer sequence
751-F1	gaaggtgaccaaggttcatgctGGAACGATCCTACAATTGCC
751-F2	gaaggtcgaggtaacggattGGAACGATCCTACAATTGCT
751-R	CTGATAAGTCATTGTAAACAGGTAGC

种子播种到育苗盘中,于中国农业科学院郑州果树研究所人工气候室培养7 d后,待幼苗2片子叶完全展开后取幼嫩叶片保存于-80 °C,用于提取DNA。每个提取方法设置12个生物学重复,每个样本重复检测3次。

(1)碱裂解法:参考孙利萍等^[23]的方法并优化,调整NaOH溶液浓度为0.25 mol·L⁻¹,研磨时间18 s。

取预冷的96孔PCR板置于-20 °C冰盒,各孔加入80 μL Tris-HCl缓冲液(0.05 mol·L⁻¹, pH 7.0)与EDTA(0.1 mol·L⁻¹)混合溶液。另取冰盒预冷的96孔板,每孔精确称取甜瓜嫩叶0.012 5 g,加入直径2.5 mm钢珠1颗。向含叶片样本的孔中加入100 μL 0.25 mol·L⁻¹ NaOH溶液,覆盖硅胶垫后固定于组织研磨器中。70 Hz频率研磨18 s获得匀浆,立即吸取8.0 μL匀浆液转移至含缓冲液的PCR板孔中,吹吸混匀。12 000 r·min⁻¹室温离心1 min,-20 °C保存备用。

(2)CTAB法:参考宋国立等^[24]的CTAB法并进行了优化。

取甜瓜嫩叶0.26 g置2 mL离心管,加入直径2.5 mm钢珠3颗,液氮速冻后于组织研磨器50 Hz振荡40 s,获得研磨产物。

向研磨产物中加入500 μL 2% CTAB裂解液(含100 mmol·L⁻¹ Tris-HCl pH 8.0, 20 mmol·L⁻¹ EDTA, 1.4 mol·L⁻¹ NaCl, 2% β-巯基乙醇),盖紧盖子,上下颠倒3次后65 °C水浴裂解45 min,中间颠倒2次。裂解液冷却至室温后,在通风橱内加入等体积氯仿与异戊醇(24:1)混合液,盖紧盖子涡旋5 s后放入高速离心机12 000 r·min⁻¹室温离心10 min。吸取上清液到新的1.5 mL的离心管中。在上清液中加入等体积异丙醇,轻柔颠倒混匀,室温静置10 min诱导DNA絮凝。室温沉降后放入高速离心机进行离心,参数设置为12 000 r·min⁻¹,离心10 min后弃上清液。向沉淀中加入1 mL 70%的乙醇,静置10 min后12 000 r·min⁻¹离心10 min弃上清液,重复洗涤1次。移液枪吸除残留液体,室温通风或37 °C烘箱干燥5 min。向沉淀加入100 μL ddH₂O

溶解,待完全溶解后4℃保存备用。

(3)商业试剂盒法(磁珠法):磁珠法DNA提取参考颜学慧等^[25]在高粱中的应用方案,本试验使用的试剂盒为植物基因组DNA提取试剂盒(磁珠法),由洛阳仁初医疗科技有限公司提供,适用于ASCEND HERO 32全自动核酸提取仪和同类仪器,如NP 968、AU 001等型号。

称取0.11g甜瓜幼嫩叶片,经研钵初步研磨后,加入400μL裂解液AZ与10μL裂解液B继续研磨至匀浆。将匀浆液移入1.5mL EP管,使用漩涡振荡器(1200~1800r·min⁻¹)充分混匀,65℃水浴温育15~30 min。温育后在室温条件下12 000 r·min⁻¹离心10 min。去除试剂板密封膜,取200μL上清液加入试剂板第1/7列孔位。依次安装试剂板与搅拌套至核酸提取仪,选择“plant”程序启动自动化提取流程。程序终止后弃置搅拌套,从试剂板第6/12列孔位转移200μL洗脱液至新离心管。所得DNA溶液可立即用于下游试验,或-20℃保存备用。

1.2.2 DNA质量检测 (1)紫外分光光度法检测:采用NanoDrop 2000核酸蛋白分析仪进行紫外分光光度法测定。检测DNA样本在A₂₆₀/A₂₃₀及A₂₆₀/A₂₈₀波长处的吸收比值,用来评价DNA样本的纯度及质量浓度。DNA得率根据以下公式计算:

$$\text{DNA得率} / (\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}) = [\text{DNA质量浓度} (\text{ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}) \times \text{洗脱体积} (\mu\text{L})] / [\text{样品鲜质量} (\text{g}) \times 1000]$$

(2)琼脂糖凝胶电泳检测:三种方法提取的DNA样品中,每种方法随机抽取4个样品进行琼脂糖凝胶电泳检测,每个样品取5μL进行1%琼脂糖凝胶电泳,恒定电压条件下(5V·cm⁻¹)电泳15 min;电泳结束后,在凝胶成像系统下检测。

1.2.3 KASP标记检测 (1)KASP反应体系:在中国农业科学院郑州果树研究所公共实验室的通用仪器平台LightCycler 480 II上进行KASP基因分型。采用96孔板开展KASP标记检测,每板设置38个样品孔(包括12份B551 DNA样品、12份B22 DNA样品、12份F₁ DNA样品,以及一个空白对照和一个阴性对照),最终反应体系为10 μL。每个孔中的PCR混合物成分如下:5 μL FLU-ARNS 2X mix V4(for KASP)、0.1 μL引物751-F1、0.1 μL引物751-F2、0.3 μL引物751-R、3.5 μL ddH₂O及1 μL DNA模板。

PCR反应程序设定为:94℃预变性15 min;接着在94℃下变性20 s,61~55℃退火延伸60 s,每个循环中退火温度降低0.6℃,共10个循环;随后

在94℃下变性20 s,55℃退火延伸60 s,共30个循环。PCR程序完成后,使用LightCycler 480 Software扫描微孔板,对PCR产物进行荧光检测并存储原始数据。最后,通过Excel 2024将原始数据生成散点图,以展示各基因型的等位基因辨别情况。

(2)KASP标记检测:取1 μL DNA样品进行KASP标记检测,通过分析KASP标记检测结果图中不同基因型的聚集程度和相对位置,以及检测结果的准确性,来判断三种DNA提取方法是否适用于KASP标记检测体系。

1.3 数据分析

采用Microsoft Excel 2024进行数据处理和坐标图绘制,采用IBM SPSS Statistics 26软件进行单因素方差分析(ANOVA)分析并用Dunnett's T3进行事后检验。

2 结果与分析

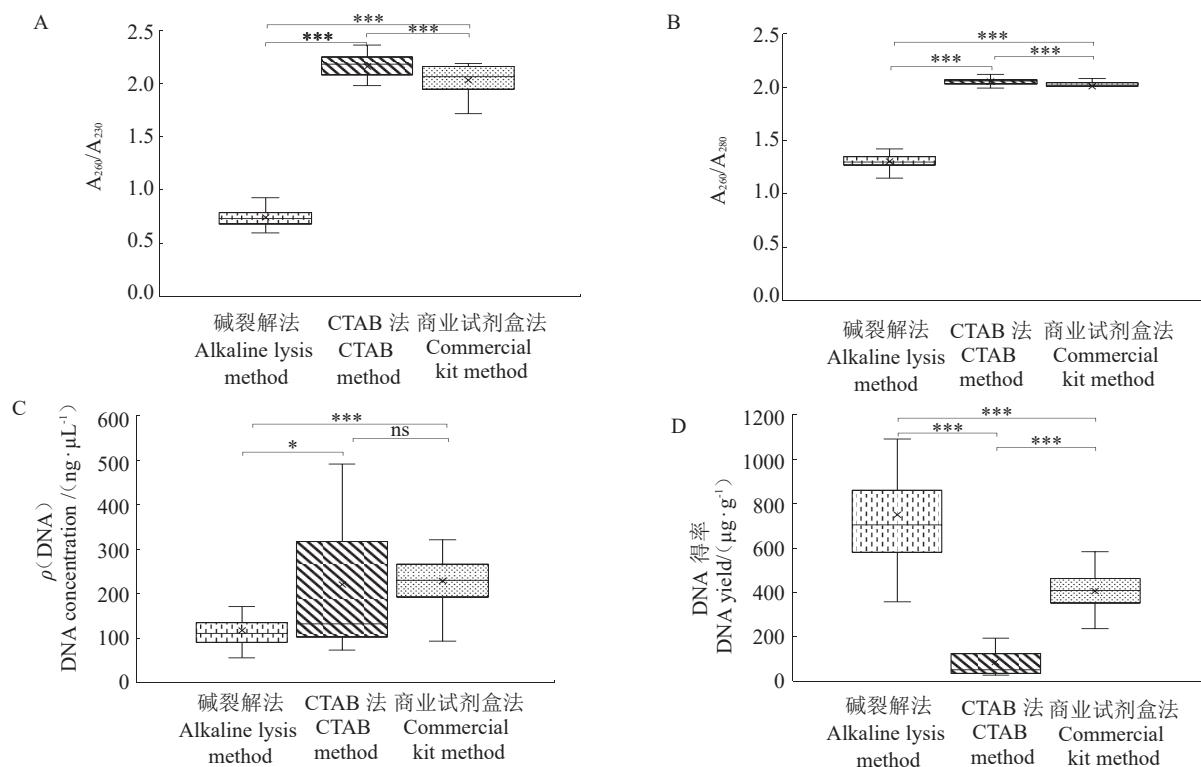
2.1 紫外分光光度法检测

图1通过箱体图展示了三种DNA提取方法在DNA纯度、浓度及得率上的数据分布特征。箱体上下沿分别代表第一、第三四分位数(Q1、Q3),内部横线表示中位数,须部延伸至非异常值范围,箱体高度(四分位距,IQR)直接反映数据的离散程度。

结合表2的平均值数据,在DNA纯度方面,碱裂解法对应的A₂₆₀/A₂₃₀与A₂₆₀/A₂₈₀箱体均处于最低位置,其平均值(分别为0.75和1.30)显著偏低,且箱体分布集中、未见异常值,表明该方法提取的DNA纯度低且受污染程度一致,与电泳检测无条带的结果相符。CTAB法对应的A₂₆₀/A₂₃₀平均值(2.16)虽接近理想范围,但其箱体高度明显较大且存在异常值,说明该方法的提取效果波动性较强;其A₂₆₀/A₂₈₀指标也存在类似离散趋势。商业试剂盒法在2项纯度指标上表现最优,其平均值(分别为2.03与2.00)最接近理想状态,且对应箱体最为紧凑、无异常值,表明其对杂质的去除效果稳定且高效。

在浓度与得率方面,CTAB法提取的DNA质量浓度箱体高度最大并含有高值异常,表明其稳定性不足;商业试剂盒法则箱体紧凑、离散度低,体现出更好的稳定性。得率指标上,碱裂解法箱体跨度大、平均值最高,结合其很低的纯度,说明高得率主要源于杂质共提;商业试剂盒法得率分布均匀,在得率与纯度间取得了较好平衡。

综上,商业试剂盒法提取的DNA在各项指标



注:ns 表示无显著差异;*表示差异显著($P<0.05$);**表示差异极显著($P<0.01$);***表明差异极显著($P<0.001$)。

Note: ns indicates no significant difference; * indicates a significant difference ($P<0.05$); ** indicates a highly significant difference ($P<0.01$); *** indicates a highly significant difference ($P<0.001$).

图1 三种DNA提取方法所得的DNA纯度、DNA质量浓度和DNA得率比较

Fig. 1 Comparison of DNA purity, DNA concentration, and DNA yield among three DNA extraction methods

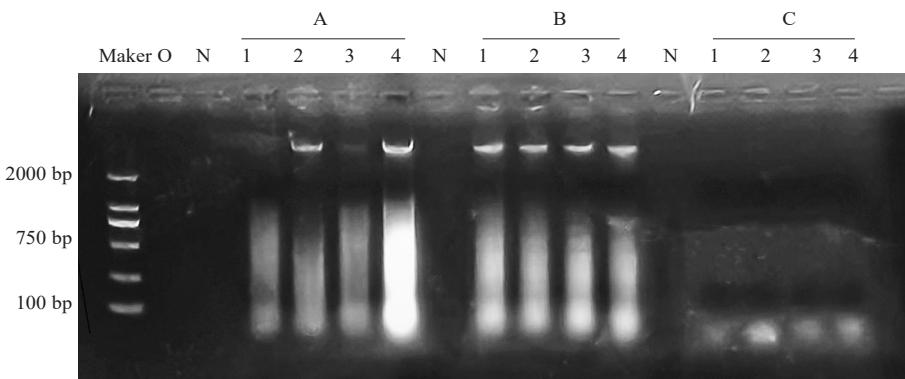
表2 碱裂解法、CTAB法和商业试剂盒法提取的DNA纯度、DNA质量浓度及DNA平均得率统计

Table 2 Comparison of DNA purity, concentration, and yield among the three extraction methods

方法 Method	A_{260}/A_{280}	A_{260}/A_{280}	$\rho(\text{DNA})/\text{ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$	DNA得率 $\text{DNA yield}/(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$
碱裂解法 Alkaline lysis method	0.75 ± 0.09 c	1.30 ± 0.06 c	116.96 ± 41.20 b	748.57 ± 263.68 a
CTAB法 CTAB method	2.16 ± 0.10 a	2.05 ± 0.20 a	220.51 ± 190.63 a	86.20 ± 77.69 c
商业试剂盒法 Commercial kit method	2.03 ± 0.14 b	2.00 ± 0.07 b	229.11 ± 57.15 a	405.31 ± 82.03 b

注:同列不同小写字母表示在0.05水平差异显著。

Note: Different small letters in the same column indicate significant differences at 0.05 level.



注: A. CTAB法;B. 商业试剂盒法;C. 碱裂解法 Maker. DNA Marker AL2000; O. 空白对照; N. 阴性对照; 1~4. DNA样品。

Note: A. CTAB method; B. Commercial kit method; C. Alkaline lysis method; Marker. DNA Marker AL2000; O. Blank control; N. Negative control; 1~4. DNA samples.

图2 三种DNA提取方法的凝胶电泳检测结果

Fig. 2 Gel electrophoresis results of DNA extracted by three DNA extraction methods

上均表现集中且可靠,CTAB法提取的DNA存在杂质残留与浓度波动问题,碱裂解法提取的DNA虽然平均得率最高但DNA质量最差。

2.2 电泳检测

从每种DNA提取方法中分别随机选取4个DNA样本进行琼脂糖凝胶电泳检测,结果如图2所示。结果表明,CTAB法提取的DNA的电泳条带亮度不均匀,A4条带明亮且集中,说明该样品的DNA完整性较好,A1、A2、A3的条带亮度不均匀,表明CTAB法提取的DNA整体一致性较差,容易受到试剂配比、操作误差等的影响。商业试剂盒法提取的DNA整体的条带亮度均匀,背景干净无拖带,说明商业试剂盒法提取的DNA稳定性较好。而碱裂解法提取的DNA未观察到电泳条带。

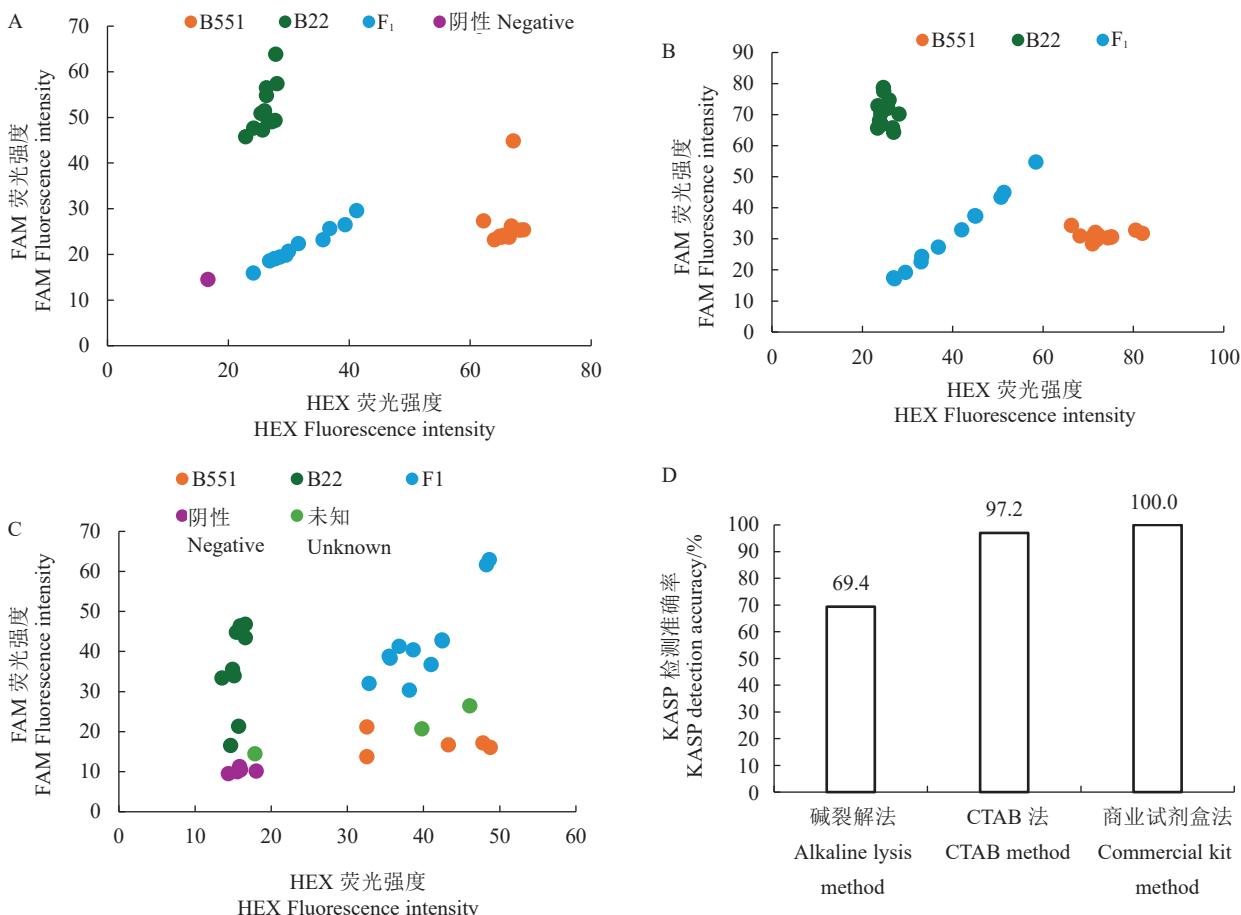
2.3 KASP标记检测结果

采用三种方式提取不同群体DNA样本(B551、B22、F₁)进行KASP标记检测的结果如图3

所示。结果显示,使用商业试剂盒法提取的DNA进行KASP基因分型的准确率达100%,且3个群体(B551、B22、F₁)的散点高度聚集、界限分明,具备优异的稳定性和准确性。CTAB法提取的DNA分型准确率为97.2%,但其散点图存在一个因信号值过低被判定为无效的样本(图3-A),且群体内散点分布较商业试剂盒法离散程度更高,在机器判别中易发生信号误判。碱裂解法提取的DNA分型表现最差,有11个样本未产生有效荧光信号,准确率仅为69.4%,大量样本因未能产生有效荧光信号被判定为未知基因型或无效样本(图3-C),说明碱裂解法提取的DNA质量无法满足KASP检测的基本需求。

3 讨论与结论

作为分子遗传学研究的基础性操作,提取高质量的DNA是确保下游试验数据可靠的关键前提。



注:A. CTAB法;B. 商业试剂盒法;C. 碱裂解法;D. KASP检测准确率。
Note: A. CTAB method; B. Commercial kit method; C. Alkaline lysis method; D. KASP detection accuracy.

图3 三种DNA提取方法的KASP检测结果及KASP检测准确率

Fig. 3 KASP detection results and accuracy of DNA extracted by three DNA extraction methods

商业试剂盒法(磁珠法)的稳定性与周悦等^[26]的研究结果一致,能够高效、稳定地获取高质量的DNA,满足高通量检测的需求。同时该方法通过磁珠特异性吸附DNA,可避免传统方法中人为操作误差和有机试剂残留的干扰,印证了商业试剂盒法(磁珠法)在富含多糖作物(如甜瓜、高粱)中的普适性优势。此外,其自动化和标准化流程可以和下游标记检测体系进行更好地衔接,保证获得准确的KASP分型结果,适用于高通量基因分型平台。

虽然CTAB法获得的DNA也可以用于KASP标记检测,但其A₂₆₀/A₂₃₀比值显著高于商业试剂盒法,暗示了其可能存在盐离子或多糖残留等问题;同时在本研究中测得的DNA质量数据具有较大的波动性,与李岩等^[27]对CTAB法提取DNA的评价相同,表明CTAB法容易受到人工操作和试剂的干扰。碱裂解法虽然快速简便,但获得的DNA纯度较差,质量较差的DNA模板会干扰KASP检测,导致分型失败率高达30.6%,说明碱裂解法不适用于甜瓜叶片DNA的提取。碱裂解法可以通过改良提取液的浓度和操作来提高DNA的质量,李柯等^[28]通过不同浓度的提取液和操作的优化,确立了一种具有较高稳定性的花生DNA提取方法,但其提取原理上的特点限制其只适用于对DNA质量要求低的分子试验。

从成本角度来看,商业试剂盒法相比于CTAB法和碱裂解法的成本较高。因此,对于小规模样本检测或经费有限的实验室,CTAB法仍然是一个可行的替代方案。本研究的局限性在于仅使用了一个KASP标记和一套试验材料进行评估,未来可扩大KASP标记数量及甜瓜种质类型,验证本结论的普适性。此外,探索将CTAB法与新型纯化技术相结合的低成本、高效率改良方案,也是一个值得关注的方向;闫玖英等^[29]针对苹果果实多糖、多酚含量高的特点对CTAB法进行了改良验证,确定了一种适用于苹果果实基因组DNA的提取方法。未来随着DNA提取技术的发展,使用商业试剂盒提取DNA的成本有望降低,有助于更好地搭建高通量的KASP标记检测体系平台。

本研究使用碱裂解法、CTAB法及商业试剂盒法提取甜瓜叶片DNA,重点评估三种DNA提取方法对KASP标记检测体系的适用性。研究结果表明,商业试剂盒法(磁珠法)提取的DNA纯度最高、稳定性最好,KASP分型准确率为100%,是建立高通量甜瓜KASP标记检测体系的最优选择。CTAB

法可提取出相对高质量的DNA,但波动性较大,能满足小规模KASP检测的需求,KASP分型准确率为97.2%。碱裂解法提取的DNA质量较差,无法得到准确的检测结果,因此不适用于KASP标记检测体系。综上所述,商业试剂盒法(磁珠法)是甜瓜KASP标记检测体系中最优的DNA提取方法。

参考文献

- [1] 迟翔丹,赵艳菲,王薇,等.甜瓜种质资源遗传多样性分析与评价[J].中国瓜菜,2024,37(12):19-28.
- [2] 王娟娟,李莉,尚怀国.我国西瓜甜瓜产业现状与对策建议[J].中国瓜菜,2020,33(5):69-73.
- [3] XU L L, HE Y H, TANG L L, et al. Genetics genomics and breeding in melon[J]. Agronomy, 2022, 12(11):2891.
- [4] 张爽爽,王利波,陈莹,等.分子标记辅助选择在甜瓜抗病育种研究中的应用[J].吉林蔬菜,2018(10):38-40.
- [5] 张紫量,李旭鹏,申君毅,等.植物DNA提取方法的研究进展[J].农业与技术,2024,44(14):166-170.
- [6] 袁友志,施二荣,纪艺雪,等.辣椒DNA快速提取方法优化[J].安徽科技学院学报,2024,38(5):21-25.
- [7] ABDEL-LATIF A, OSMAN G. Comparison of three genomic DNA extraction methods to obtain high DNA quality from maize[J]. Plant Methods, 2017, 13(1):1-9.
- [8] 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, 2013, 33(1):1-14.
- [9] 沈悦,凌悦铭,段晓宇,等.甜瓜抗霜霉病KASP分子标记的开发与验证[J].新疆农业科学,2024,61(11):2626-2634.
- [10] 陈静,饶刚顺,刘婉卿,等.稻瘟病抗性基因Pi2、Pita的特异KASP标记开发与应用[J].广东农业科学,2024,51(5):93-101.
- [11] 张爱民,阳文龙,李欣,等.小麦抗赤霉病研究现状与展望[J].遗传,2018,40(10):858-873.
- [12] 刘广,刘金秋,羊杏平,等.西瓜专用瓠瓜砧木苏砧1号种子纯度的KASP鉴定[J].中国瓜菜,2025,38(1):39-43.
- [13] 唐昊,杨双娟,张晓伟,等.利用KASP标记鉴定“吉美8号”大白菜种子纯度[J].分子植物育种,2024,22(14):4583-4589.
- [14] 李珍珠,彭清祥,邱先进,等.水稻分蘖角度基因TIGI功能性分子标记的开发和应用[J].植物遗传资源学报,2023,24(3):808-816.
- [15] 王梦可,赵德辉,曾占奎,等.小麦穗长性状基因的发掘与标记开发[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2023,51(2):11-21.
- [16] 赵越,孙宇峰,徐磊,等.KASP标记技术在作物基因定位中的应用进展[J].北方园艺,2023(19):122-127.
- [17] CHA J K, PARK H, KWON Y, et al. Genotyping the high protein content gene NAM-B1 in wheat (*Triticum aestivum* L.) and the development of a kasp marker to identify a functional haplotype[J]. Agronomy, 2023, 13(8):1977.
- [18] ROSAS J E, BONNECARRÈRE V, PÉREZ DE VIDA F.

(下接第44页)