

基于 InDel 标记的国内绿豆品种遗传多样性分析及指纹图谱构建

李群三^{1,2}, 陈景斌², 顾和平², 袁星星², 陈新², 崔瑾¹

(¹南京农业大学生命科学学院, 南京 210095; ²江苏省农业科学院经济作物研究所, 南京 210014)

摘要: 绿豆是一种抗逆性强、适应性广的作物。本研究选取 19 个多态性丰富、条带稳定的 InDel 标记用于 42 个绿豆参试品种的遗传多样性分析及指纹图谱构建。19 个 InDel 标记有效等位变异数介于 1.0998~1.9955 之间, 平均为 1.750; 期望杂合度变幅 0.0918~0.5049, 平均值是 0.421; Nei's 基因多样性指数变幅 0.0907~0.4989, 平均值为 0.416。多态性信息含量变幅 0.0866~0.3744, $0.25 < PIC < 0.50$ 为中度多态性位点, 本研究的 InDel 标记平均 PIC 为 0.325。利用 UPGMA 构建 42 份绿豆主栽品种的聚类树状图, 在遗传相似系数为 0.522 的阈值处可将 42 个绿豆品种(系)分为 2 大类群, 遗传分析说明绿豆主栽品种基本已脱离地域的影响。利用 19 个 InDel 标记电泳结果, 构建了 42 个绿豆主栽品种的 DNA 指纹图谱, 可以将上述绿豆品种准确区分。本研究中的 InDel 标记带型简单易读, 适宜绿豆 DNA 指纹图谱构建和绿豆品种真伪鉴定, 为绿豆名优品种保护、原产地溯源管理等提供科学依据。

关键词: 绿豆; InDel 标记; 指纹图谱; 遗传多样性分析

Genetic Diversity and Fingerprint Analysis of Mungbean Varieties from China Based on InDel Markers

LI Qun-san^{1,2}, CHEN Jing-bin², GU He-ping², YUAN Xing-xing², CHEN Xin², CUI Jin¹

(¹College of Life Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095;

²Institute of Industrial Crops, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014)

Abstract: Mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) represents strong abiotic stress tolerance and wide adaptability. The genetic diversity and fingerprint analysis of 42 mungbean varieties from China were conducted using 19 polymorphic InDel markers. The effective alleles of the InDel markers were between 1.0998–1.9955, with an average of 1.750. The expected heterozygosity (H_e) was between 0.0918–0.5049, with an average of 0.421. The variation of Nei's gene diversity index was between 0.0907–0.4989, with an average of 0.416. The value of the polymorphic information content (PIC) was between 0.0866–0.3744, with a mean of 0.325. By using UPGMA, 42 varieties were grouped into 2 classes when the genetic similarity coefficient is 0.522. Genetic analysis showed that the 42 mungbean have been separated from the effect of regional isolation. The DNA fingerprints of 42 mungbean varieties were generated by these polymorphic information and each variety could be accurately identified. Thus, taking advantage of user-friendly InDel markers, our results provided scientific basis for the fingerprint analysis that might be useful in clarification and protection of mungbean varieties.

Key words: mungbean; InDel marker; fingerprint; Identification of varieties

收稿日期: 2018-05-24 修回日期: 2018-06-05 网络出版日期: 2018-09-08

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20180906.1102.002.html>

第一作者研究方向为豆类栽培与遗传育种, E-mail: 2016816130@njau.edu.cn

通信作者: 崔瑾, 研究方向为设施栽培环境调控机理, E-mail: cuijin@njau.edu.cn

陈新, 研究方向为豆类作物遗传育种, E-mail: cx@jaas.ac.cn

基金项目: 国家自然科学基金(31501370); 国家食用豆产业技术体系(CARS-08-G15); 江苏特粮特经产业技术体系(SXGC[2017]260); 国家重点研发计划(2016YFE0203800)

Foundation project: National Natural Science Foundation of China (31501370), China Agriculture research System of Food Legume(CARS-08-G15), Jiangsu Modern Agriculture Technological System of Special Food and Industrial Crops(SXGC[2017]260), State Key Research and Development Plan (2016YFE0203800)

绿豆 (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) 属于豆科 (Leguminosae) 豇豆属 (*Vigna Savi*), 染色体组为 $2n=22$ ^[1]。绿豆是一种抗逆性强、适应性广的作物。由于其生长周期短, 播种时间弹性较大, 农业经济效益好, 深受农户的喜欢^[2]。绿豆含有丰富的蛋白质、维生素和多种矿物质, 是人们理想的医食同源营养保健食品^[3]。绿豆可以通过其根部共生的根瘤菌进行固氮作用, 从而有利于改善土壤的肥力和质地^[4]。作为主要的食用豆类之一, 绿豆在农业种植结构调整和优质、高效农业生产以及经济发展中具有重要作用^[5]。

作物品种鉴定是农业生产环节必不可少的重要步骤, 是保证品种优良遗传性状能够充分发挥的关键举措。传统方法已无法满足鉴定需求^[6], DNA 指纹图谱技术具有丰富的多态性和显著的个体特异性, 能够在分子水平上识别品种间差异, 不易受外界环境影响, 可快速、准确地完成品种鉴定^[7]。DNA 指纹图谱可用于绿豆品种真伪鉴定, 为绿豆名优品种保护、原产地溯源管理等提供科学依据^[8]。近年

来, 测序技术及其应用成本越来越低, 为绿豆标记的开发提供了更多的帮助。Kang 等^[9]率先完成了关于绿豆基因组测序的工作, 为绿豆的 InDel 标记开发提供了数据参照和基础。

插入/缺失 (InDel, insertion/deletion) 标记是以 PCR 扩增技术为基础, 其本质上是属于碱基序列长度多态性标记^[10]。InDel 标记是共显性标记的一种, 其电泳的稳定性和多态性较好。InDel 标记的带型可以通过简单的大小分析, 来确定不同的基因型^[11]。大量研究表明, InDel 广泛分布于基因组中, InDel 标记在生物的基因定位、遗传多样性分析、品种纯度鉴定等方面也有广泛的应用^[12]。截至目前, 关于利用 InDel 标记构建绿豆 DNA 指纹图谱进行品种鉴定的研究鲜有报道。因此, 本试验通过对不同绿豆品种 DNA 的提取, 利用 Chen 等^[13]开发的绿豆 InDel 标记构建 42 份绿豆品种的指纹图谱, 对绿豆品种的鉴定。建立一种简单、高效而准确的绿豆品种真伪鉴定方法, 通过遗传多样性分析为我国绿豆品种保护、新品种选育及亲本选配提供帮助。

表 1 待测的绿豆品种及来源

Table 1 Information of mungbean varieties for test in this study

名称	来源	名称	来源	名称	来源	名称	来源
Name	Origin	Name	Origin	Name	Origin	Name	Origin
苏绿 1 号	江苏	吉绿 9 号	吉林	晋绿 9 号	山西	张绿 1 号	河北
苏绿 3 号	江苏	吉绿 12 号	吉林	冀绿 7 号	河北	皖科绿 2 号	安徽
苏抗 2 号	江苏	吉绿 13 号	吉林	冀绿 9 号	河北	中绿 12 号	北京
苏抗 3 号	江苏	科绿 1 号	内蒙古	冀绿 11 号	河北	中绿 14 号	北京
苏黑绿 1 号	江苏	桂绿 L-74 号	广西	冀绿 14 号	河北	中绿 15 号	北京
高邮小绿豆	江苏	中绿 1 号	北京	冀黑绿 12 号	河北	中绿 16 号	北京
辽绿 8 号	辽宁	中绿 3 号	北京	邓县绿豆 C2737	河南	中绿 17 号	北京
辽绿 9 号	辽宁	中绿 4 号	北京	大洋绿豆 C0385	山西	中绿 18 号	北京
吉绿 6 号	吉林	中绿 5 号	北京	宝绿 1 号	河北	中绿 19 号	北京
吉绿 7 号	吉林	中绿 6 号	北京	宝绿 2 号	河北		
吉绿 8 号	吉林	晋绿 8 号	山西	渝绿 2 号	重庆		

1 材料与方法

1.1 试验材料

绿豆材料包括我国 12 个地区的 42 份供试材料, 由江苏农业科学院经济作物科学研究所提供, 详见表 1。植物基因组 DNA 提取试剂盒 (DP350)、dNTPs、*Taq* 酶、 Mg^{2+} 、Buffer 等均购于北京天根生物技术有限公司。本试验经筛选得到的 19 个多态 InDel 标记的引物均由江苏省农业科学院经济作物科学研究所豆类研究室提供。将标记的 PCR 前、后引物与绿豆基因组序列 (http://plantgenomics.snu.ac.kr/mediawiki-1.21.3/index.php/Main_Page) 进行比对, 挑选出不大于 1 个扩增位点的标记进行

研究。普通引物由南京擎科生物公司合成, 详见表 2。

1.2 绿豆基因组 DNA 提取

取种植 12 d 左右的绿豆新鲜嫩叶, 液氮环境中用组织粉碎仪打碎成粉状, 使用天根生物技术有限公司的植物 DNA 提取试剂盒按照说明书进行标准的试验步骤操作, 提取 42 份绿豆基因组 DNA。用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 提取质量, 并稀释成 50 ng/ μ L 于 4 °C 保存备用。

1.3 PCR 反应

20 μ L PCR 反应体系中包括: 0.15 μ mol/L 的引物、200 μ mol/L 的 dNTP、1 \times PCR 反应缓冲液、50~100 ng 的 DNA 模板、1U *Taq* 酶。产物扩增在热

表2 多态 InDel 标记信息

Table 2 Information of polymorphic InDel markers

标记名称 Name of markers	染色体 Chromosome	引物序列 F Primer forward	引物序列 R Primer reverse
VRID108	1	F: CCGTGGACGGTTGTCTTCTT	R: CACACCATTACATGCCAATCAG
VRID019	3	F: TACTGTCACACATCACCATCATC	R: CCTCGTTATCATCGCTTTTCTTCT
VRID023	3	F: TGGCGTCGTCTCTTTCACCTT	R: ATCTTTTGACCCTTTTGACCCTT
VRID101	3	F: AAGTTCGCTAGATACAGTGTACACA	R: CGTGCTAAGCCAAAGGAAG
VRID114	4	F: GAATTCGTTTCATCTCCTCACACA	R: CACTTGTCTTACCGTGGACTGC
VRID051	5	F: AATAACAAGTGCCTAACCCAGCAA	R: CATACCAGAAGAGGTGGACGAA
VRID057	5	F: AGAACGTGGGTAATATGTTGCAT	R: TTCGGACATTGCTTTGGTGA
VRID115	5	F: CCACCGTGCTTACAGGTTGA	R: GGAGTTGCATTGTTGCGTAGA
VRID118	6	F: CCTTCATCCCTTCTCAGTCA	R: GAGAGCTTCCACTTCTCATCGA
VRID121	6	F: GATGGCCAATCCATTAAGT	R: TTTCTACCCTTCCACCTTGT
VRID123	7	F: TTGGCAGCACCATTCT	R: CATATCTGGACCCGCATCTC
VRID125	7	F: GGGATTCTCTCCATTCTC	R: CTCACTGAACTCTCCTTCCACA
VRID128	7	F: TGCTCAGTCTTCTGCTGAGT	R: GTTGTGGTGAGAGACAGGCT
VRID069	8	F: GCTGCTGCTGATGATGCTGT	R: ATCCTCAATCCAAATCCACCT
VRID090	9	F: CCCACCAAGCTAGAATAGTCA	R: TCTTTCATCTTCTTCACTCTCC
VRID089	10	F: GAGATGCACAGGAGTGTGGA	R: CATCCACCATATGTAAAAGTCTGCT
VRID081	10	F: TGGTATGGAAATGAAAAGGCG	R: CCTCCTTCAAAACGCACTCT
VRID025	11	F: GCGTTTGGGTTTGCATCA	R: GGCACCTCCGTTGAAACTTGA
VRID093	N/A*	F: CGAAGGAAGTTACATGCGAATCT	R: GTCGTAATTGGCTTATGAAGGAAGA

*: N/A 表示该标记位于不能组装到染色体的 scaffold 上

*: N/A means that the marker was mapped on a scaffold which could not be assembled to chromosomes

循环仪中进行。所用的反应程序基本为: 94 °C 预变性 2 min, 循环(94 °C 15 s, 55 °C 30 s, 72 °C 30 s) 35 次, 最后 72 °C 延伸 2 min, 4 °C 保存。

1.4 聚丙烯酰胺凝胶电泳 (PACE)

向装有 8% 的聚丙烯酰胺溶液的三角瓶中加入 10% 过硫酸铵 (APS) 和四甲基乙二胺 (TEMED), 混匀。沿灌胶口将胶液轻轻缓慢的灌入玻璃板, 插入梳子等待胶液凝聚。向电泳槽中加入稀释的 1×TBE 电泳缓冲液并拔出梳子。在每个扩增产物中加入 1 μL Loading Buffer, 共点样 PCR 产物 3 μL, 以 Tans DNA Marker I (全式金, BM401-01) 为对照。电泳采用恒定功率, 10 W/胶板。电泳 50~70 min。具体的电泳情况, 依据扩增产物的分子量大小而定。电泳完毕后漂洗 2 次; 转移至 0.1% AgNO₃ 溶液中染色, 在摇床上轻摇 10 min; 然后将凝胶转移至蒸馏水中漂洗 2 次; 最后转入显色液 (6 g 氢氧化钠、0.076 g 四硼酸钠、1.6 mL 甲醛, 加水定容至 400 mL) 中显色, 依据 InDel 标记扩增产物在电泳上的相对位置, 不同带型编号, 记录电泳带型。

1.5 数据处理

将带型数据存入 Excel, 采用 POPGENE 1.3.2^[14] 软件计算期望杂合度 (He, expected heterozygosity)、观察杂合度 (Ho, observed heterozygosity)、扩增位点

的多态性信息含量 (PIC, polymorphism information content), 有效等位基因数 (Ne, effective number of alleles per loci)。对扩增后的电泳条带进行统计分析, 对 42 个绿豆品系构建 0, 1 矩阵, 基于遗传相似度使用 UPGMA^[15] 软件进行聚类分析。依据 InDel 带型记录相对位置, 建立 DNA 分子指纹图谱。

2 结果与分析

2.1 42 份绿豆品种的 InDel 标记电泳结果

通过筛选得到 19 对多态性丰富、条带稳定单一的核心引物用于全部参试样品的遗传多样性分析及指纹图谱构建。19 个 InDel 标记绿豆品种多态性信息如表 3 所示: 19 对 InDel 引物有效等位基因数变幅介于 1.0998~1.9955 之间, 平均为 1.750; 期望杂合度 (He) 变幅介于 0.0918~0.5049 之间, 平均为 0.421; Nei's 基因多样性指数变幅介于 0.0907~0.4989 之间, 平均为 0.416; 多态性信息含量 PIC 值变幅介于 0.0866~0.3744 之间, 平均 PIC 含量为 0.325。0.25<PIC<0.50 为中度多态性位点, 本试验所采用的 InDel 标记平均 PIC 含量为 0.325, 说明筛选出的引物多态性较好, 鉴别能力较强, 可用于其他绿豆种质资源的鉴别及遗传多样性分析等研究。

表 3 基于 19 个 InDel 标记的绿豆品种多态性信息

Table 3 Genetic diversity of mungbean based on 19 InDel markers

InDel 标记	多态信息含量 <i>PIC</i>	Shannon 指数 <i>I</i>	有效等位基因数 <i>Ne</i>	Nei's 基因多样性指数 <i>Nei</i>	观测杂合度 <i>Ho</i>	期望杂合度 <i>He</i>
VRID108	0.3699	0.6829	1.9600	0.4898	0.5043	0.4957
VRID019	0.3457	0.6365	1.8000	0.4444	0.5502	0.4498
VRID023	0.3457	0.6365	1.8000	0.4444	0.5502	0.4498
VRID101	0.3658	0.6749	1.9300	0.4819	0.5123	0.4877
VRID114	0.2707	0.5037	1.4768	0.3228	0.6733	0.3267
VRID051	0.0866	0.1914	1.0998	0.0907	0.9082	0.0918
VRID057	0.2392	0.4506	1.3846	0.2778	0.7189	0.2811
VRID115	0.2970	0.5489	1.5694	0.3628	0.6328	0.3672
VRID118	0.3604	0.6645	1.8927	0.4717	0.5227	0.4773
VRID121	0.3699	0.6829	1.9600	0.4898	0.5043	0.4957
VRID123	0.3537	0.6518	1.8491	0.4592	0.5353	0.4647
VRID125	0.3699	0.6829	1.9600	0.4898	0.5043	0.4957
VRID128	0.3307	0.6088	1.7185	0.4181	0.5769	0.4231
VRID069	0.3249	0.5983	1.6897	0.4082	0.5869	0.4131
VRID090	0.3119	0.5750	1.6303	0.3866	0.6087	0.3913
VRID089	0.3744	0.6920	1.9955	0.4989	0.4951	0.5049
VRID081	0.3537	0.6518	1.8491	0.4592	0.5353	0.4647
VRID025	0.3411	0.6279	1.7738	0.4362	0.5585	0.4415
VRID093	0.3604	0.6645	1.8927	0.4717	0.5227	0.4773

2.2 聚类分析

运用 NTsys 2.10 分析软件对 42 个绿豆品系进行聚类分析(图 1),在遗传相似系数为 0.522 的阈值处可将参试品种分为 2 个类群。第 I 大类群包括苏绿 1 号等 27 个绿豆品种;第 II 大类群包括苏黑绿 1 号等 15 个品种。根据聚类图可知不同地区的主栽品种在各个亚群都有分布,基本无地域或者地理位置的分离,得益于近几年国家食用豆产业技术体系成立后绿豆在引种方面已经有了巨大的进展。同时,也说明绿豆种质资源存在一定程度的近交现象,个别品种在 DNA 水平上差异较小,亲缘关系较近如苏绿 1 号和苏抗 3 号等。原因可能是种质资源方面主栽优良品种由于长时间的人工驯化、地区间资源共享,导致遗传变异率降低,遗传基础狭窄,多样性水平降低。因此,在今后的育种工作中应加大引进国外的绿豆材料以拓宽种质资源的遗传背景。

2.3 InDel 指纹图谱

进行品种 DNA 指纹图谱分析,主要有 3 种方

法,即特征谱带法、引物组合法核心引物组合^[15-16]。本研究采用 19 个标记在 42 个主栽品种中按照引物组合法可鉴别相应的品种,在进行品种 DNA 指纹检测时,使用起来简单方便,引物组合法通过不同引物的有限组合,可以大大提高引物的鉴别能力。本研究以苏绿 1 号与 V1973A 的带型为参照标准,与苏绿 1 号相同的带型记为“1”,与 V1973A 相同的带型记为“2”,其他情况记为“3”。将每个品种的结果按 VRID108、VRID019、VRID023、VRID101、VRID114、VRID051、VRID057、VRID115、VRID118、VRID121、VRID123、VRID125、VRID128、VRID069、VRID090、VRID089、VRID081、VRID025 和 VRID093 的引物组合的顺序连成一串数字,则得到每个品种的一个独特的编码,即为每个品种的“指纹”(表 4)。本研究筛选获得的 19 对 InDel 核心引物可将 42 份主栽品种完全区分开,在分子水平为 DNA 指纹技术应用于绿豆品种鉴定提供更简单、便捷的记录方法。

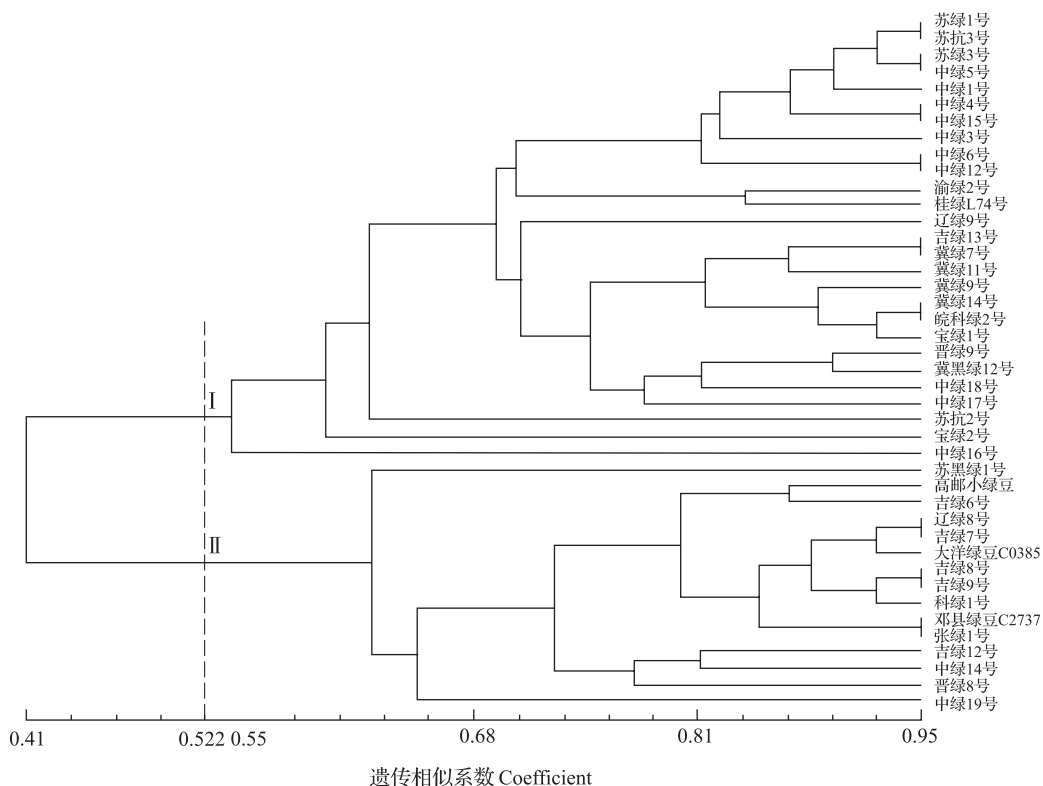


图 1 基于 Nei's 遗传距离的 42 个绿豆品种(系)的 UPGMA 聚类
 Fig.1 UPGMA dendrogram of 42 mungbean cultivars based on Nei's genetic distance

表 4 基于 19 个 InDel 标记的 42 份绿豆指纹图谱

Table 4 Fingerprint data of 42 mungbean varieties based on 19 InDel markers

绿豆品种 Mungbean varieties	分子编码 Molecular ID	绿豆品种 Mungbean varieties	分子编码 Molecular ID
苏绿 1 号	111111111111111111	邓县绿豆 C2737	2212211122122223222
苏绿 3 号	1111111211111111211	大洋绿豆 C0385	2222211122222212221
苏抗 2 号	1212312221111112211	宝绿 1 号	2111211121111211212
苏抗 3 号	1111111111111111211	宝绿 2 号	2113221121113211132
苏黑绿 1 号	2122212122222111211	渝绿 2 号	2111311222112111211
高邮小绿豆	2222211122221221221	张绿 1 号	2212211122222222222
辽绿 8 号	2222211122222222222	皖科绿 2 号	2111211121111212212
辽绿 9 号	1121211221121211212	科绿 1 号	2222211122222222121
吉绿 6 号	2222211121221223222	桂绿 L74 号	2111111212111113211
吉绿 7 号	2222211122222222221	中绿 1 号	111111111111211211
吉绿 8 号	2222221122222222122	中绿 3 号	1111121111111211111
吉绿 9 号	2222211122222222122	中绿 4 号	1111211111111111211
吉绿 12 号	2122211122222212121	中绿 5 号	1111112111111111111
吉绿 13 号	1111211211111212212	中绿 6 号	1111211111111112111
晋绿 8 号	1222211122121212111	中绿 12 号	1111212111111112111
晋绿 9 号	2111211112111221211	中绿 14 号	1222211122221211121
冀绿 7 号	1111211221111212212	中绿 15 号	1111211111211111211
冀绿 9 号	2111212121111213112	中绿 16 号	2111312221221212122
冀绿 11 号	2111211221111212211	中绿 17 号	1111211112121212211
冀绿 14 号	2111211121111212112	中绿 18 号	21112121222111213211
冀黑绿 12 号	2111211111112112111	中绿 19 号	1222211111223221212

3 讨论

InDel 标记为共显性标记, 具有较好的稳定性和较为丰富的多态性。在整个基因组中, 其多态性频率次于 SNP 标记^[17], 相对于 SNP 标记, InDel 标记在引物设计、多态性检测等方面更为简易, 应用也更为方便。InDel 标记因其具有在基因组内分布广、密度高、变异稳定、多态性强、检测容易等优点, 目前已在水稻^[18]和黄瓜^[17]等农作物遗传多样性分析及指纹图谱构建中有着广泛应用。

有效等位数、观测杂合度、期望杂合度和多态信息含量可以综合的反映各个资源群体的遗传多样性的高低, 本研究的 19 对引物分析 42 份绿豆种质的遗传多样性, 得到的平均 Nei's 基因多样性指数 0.416 和平均多态信息含量 0.325, 说明选取的引物多态性较丰富, 在绿豆种质研究中表现出较大潜力。赵雅楠等^[19]筛选了 14 对 SSR 标记用于黑龙江地区绿豆遗传多样性分析, SSR 标记的多态信息含量平均值为 0.398; Chen 等^[20]利用 35 对 SSR 引物在 352 份国外绿豆和 27 份国内绿豆微核心种进行遗传多样性分析, 其 SSR 标记 PIC 值平均为 0.359, 多态信息含量高于本研究的 InDel 标记。但是 InDel 标记的数量非常庞大, 带型简单, 分布较均匀, 用于遗传分析或基因诊断的重现性、准确性和分辨率大大提高。InDel 标记作为一种新型的分子标记, 与 SSR 标记相比, 在种质遗传多样分析、指纹图谱构建方面又有其天然的优越性, InDel 标记作为一种单位点分子标记, 可以克服利用多位点标记进行遗传分析和辅助选择育种中出现的各种问题, InDel 标记的扩增效果明显好于 SSR 标记^[18]。遗传分析说明主栽绿豆种质资源基本已脱离地域的影响。原因可能是主栽优良品种由于长时间的人工驯化、地区间资源共享, 导致遗传变异率降低, 遗传基础狭窄, 多样性水平降低^[21]。因此, 在今后的育种工作中应加大引进省外或国外的绿豆材料以拓宽遗传背景。

综上所述, 传统的 SSR 标记技术效率较低, 带型复杂, 检测结果重复性差, 因此降低检测的精确性。本研究中的 InDel 标记带型易读简单, 适宜用于 DNA 指纹图谱。指纹图谱进行品种真伪鉴定, 为品种保护、原产地溯源管理等提供科学依据^[22]。按照引物组合法可鉴别相应的品种, 在进行品种 DNA 指纹检测时, 使用起来简单方便, 引物组合法通过不同引物的有限组合, 可以大大提高引物的鉴别能力。本研究结果对今后绿豆种质资源的评价、

鉴定和利用以及遗传育种方面提供一定的指导, 同时对今后绿豆品种溯源研究、优良种质资源保护等具有一定的借鉴作用。

参考文献

- [1] 郑卓杰. 中国食用豆类学. 北京: 中国农业出版社, 1997, 141-163
Zheng Z J. Chinese food legumes. Beijing: China Agriculture Press, 1997, 141-163
- [2] 陈新, 袁星星, 陈华涛, 顾和平, 张红梅, 崔晓艳, 陈玉. 绿豆研究最新进展及未来发展方向. 金陵科技学院学报, 2010, 26(2): 59-68
Chen X, Yuan X X, Chen H T, Gu H P, Zhang H M, Cui X Y, Chen Y. Recent research and future development of mungbean. Journal of Jinling Institute of Technology, 2010, 26(2): 59-68
- [3] Keatinge J D H, Yang R Y, Chadha M L, Shanmugasundaram S. Overcoming chronic malnutrition in a future warming world: the key importance of mungbean and vegetable soybean. Euphytica, 2011, 180(1): 129-141
- [4] Graham P H, Vance C P. Legumes: importance and constraints to greater use. Plant Physiology, 2003, 131: 872-877
- [5] 程须珍. 绿豆生产技术. 北京: 中国农业出版社, 2016: 11-15
Cheng X Z. Mungbean production technology. Beijing: China Agriculture Press, 2016: 11-15
- [6] Roy S, Ray B P, Sarker A, Das S C. DNA fingerprinting and genetic diversity in Lentil Germplasm using SSR markers. Asian Journal of Conservation Biology, 2015, 124(2): 109-115
- [7] Salimizand H, Menbari S, Ramazanzadeh R, Khonsha M, Saleh Vahedi M. DNA fingerprinting and antimicrobial susceptibility pattern of clinical and environmental *Acinetobacter baumannii* isolates: a multicentre study. Journal of Chemotherapy, 2016, 28(4): 277-283
- [8] 吴鑫. 柑桔 DNA 指纹图谱库的构建与分析. 重庆: 西南大学, 2008
Wu X. Construction and analysis of DNA fingerprint database for citrus cultivars. Chongqing: Southwest University, 2008
- [9] Kang Y J, Kim S K, Kim M Y, Lestari P, Kim K H, Ha B K, Jun T H, Hwang W J, Lee T, Lee J, Shim S, Yoon M Y, Jang Y E, Han K S, Taerayoon P, Yoon N, Somta P, Tanya P, Kim K S, Gwag J G, Moon J K, Lee Y H, Park B S, Bombarely A, Doyle J J, Jackson S A, Schafleitner R, Srinives P, Varshney R K, Lee S H. Genome sequence of mungbean and insights into evolution within *Vigna* species. Nature Communications, 2014, 5(5543): 5443
- [10] Georg Jander, Susan R Norris, Steven D Rounsley, David F Bush, Irena M Levin, Robert L. Arabidopsis map-based cloning in the post-genome era. Plant Physiology, 2002, 129(2): 440-450
- [11] 仪泽会, 卢有飞, 郭晓芹, 惠麦侠, 张鲁刚, 张明科. 大白菜简单序列重复 (SSR) 和插入 / 缺失 (InDel) 标记的开发及通用性分析. 农业生物技术学报, 2012, 20(12): 1398-1406
Yi Z H, Lu Y F, Guo X Q, Hui M X, Zhang L G, Zhang M K. Development of simple sequence repeat (SSR) and insertion/deletion (InDel) markers in Chinese cabbage (*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*) and analysis of their transferability. Journal of Agricultural Biotechnology, 2012, 20(12): 1398-1406

- [12] Choi I Y, Hyten D L, Matukumalli L K, Song Q, Chaky J M, Quigley C V, Chase K, Lark K G, Reiter R S, Yoon M S, Hwang E Y, Yi S I, Young N D, Shoemaker R C, van Tassell C P, Specht J E, Cregan P B. A soybean transcript map: gene distribution, haplotype and single-nucleotide polymorphism analysis. *Genetics*, 2007, 176 (1): 685–696
- [13] Chen J, Somta P, Chen X, Cui X, Yuan X, Srinives P. Gene mapping of a mutant mungbean (*Vigna radiata* L.) using new molecular markers suggests a gene encoding a YUC4-like protein regulates the chasmogamous flower trait. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7 (8): 830
- [14] Fonteles T V, Costa M G M, Jesus A L T D, Fernandes F A N, Rodrigues S. Power ultrasound processing of cantaloupe melon juice: effects on quality parameters. *Food Research International*, 2012, 48 (1): 41–48
- [15] Sun M. Genetic diversity in three colonizing orchids with contrasting mating systems. *American Journal of Botany*, 1997, 84 (2): 224–232
- [16] 张圣平, 苗晗, 程周超, 张忠华, 武剑, 孙日飞, 顾兴芳. 黄瓜果实苦味 (*Bt*) 基因的插入缺失 (Indel) 标记. *农业生物技术学报*, 2011, 19 (4): 649–653
Zhang S P, Miao H, Cheng Z C, Zhang Z H, Wu J, Sun R F, Gu X F. The Insertion-deletion (Indel) marker linked to the fruit bitterness gene (*Bt*) in Cucumber. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2011, 19 (4): 649–653
- [17] 李斯更, 沈镡, 刘博, 邱杨, 张晓辉, 张忠华, 王海平, 李锡香. 基于黄瓜基因组重测序的 InDel 标记开发及其应用. *植物遗传资源学报*, 2013, 14 (2): 278–283
Li S G, Shen D, Liu B, Qiu Y, Zhang X H, Zhang Z H, Wang H P, Li X X. Development and application of cucumber InDel markers based on genome resequencing. *Journal of Plant Genetic resources*, 2013, 14 (2): 278–283
- [18] 冯芳君, 罗利军, 李荧, 周立国, 徐小艳, 吴金红, 陈宏伟, 陈亮, 梅捍卫. 水稻 InDel 和 SSR 标记多态性的比较分析. *分子植物育种*, 2005, 3 (5): 725–730
Feng F J, Luo L J, Li Y, Zhou L G, Xu X Y, Wu J H, Chen H W, Chen L, Mei H W. Comparative analysis of polymorphism of InDel and SSR markers in rice. *Molecular Plant Breeding*, 2005, 3 (5): 725–730
- [19] 赵雅楠, 王颖, 张东杰. 基于 SSR 标记的黑龙江省绿豆品种遗传多样性分析及指纹图谱构建. *食品工业科技*, 2017, 38 (19): 148–153
Zhao Y N, Wang Y, Zhang D J. Genetic diversity analysis and DNA fingerprints construction based on fluorescent labeled SSR Markers for mungbean varieties (*Vigna radiata* L.) from Heilongjiang province. *Science and Technology of Food Industry*, 2017, 38 (19): 148–153
- [20] Chen H, Qiao L, Wang L, Wang S, Blair M W, Cheng X. Assessment of genetic diversity and population structure of mungbean (*Vigna radiata*) germplasm using EST-based and genomic SSR markers. *Gene*, 2015, 566: 175–183
- [21] 刘岩, 程须珍, 王丽侠, 王素华, 白鹏, 吴传书. 基于 SSR 标记的中国绿豆种质资源遗传多样性研究. *中国农业科学*, 2013, 46 (20): 4197–4209
Liu Y, Cheng X Z, Wang L X, Wang S H, Bai P, Wu C S. Genetic diversity research of mungbean germplasm resources by SSR markers in China. *Scientia Agricultura Sinica*, 2013, 46 (20): 4197–4209
- [22] 梁明山, 刘煜, 侯留记, 李霞. 蛋白质电泳指纹图谱对烟草品种鉴定的研究. *西南农业学报*, 2000, 13 (2): 83–88
Liang M S, Liu Y, Hou L J, Li X. Studies on protein fingerprints for identification of nicotiana varieties. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2000, 13 (2): 83–88