

基于 SSR 分子标记构建 19 个杧果品种(系)的 DNA 指纹图谱

刘 荣¹, 张正学¹, 刘清国^{1*}, 党志国², 吴小波¹, 黄 海¹

1. 贵州省亚热带作物研究所, 贵州贵阳 550006; 2. 中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所, 海南海口 571101

摘 要: 杧果 (*Mangifera indica* Linn.) 是一种热带亚热带常绿乔木果树, 果实香甜、营养丰富、肉质细滑多汁, 富有“热带果王”之美誉。为了加速杧果品种(系)的分子鉴定, 本研究根据 19 份试验材料的表型特征, 选择其差异较大的 5 份杧果材料(红象牙杧、金煌杧、红杧 6 号、红玉杧、南迈迈 4 号杧)为模板, 进行 SSR 标记引物筛选, PAGE 电泳检测筛选得到多态性较好的引物; 将得到的引物再采用 HEX、FAM 两个荧光标记进行 5'端修饰, 再通过毛细管电泳技术检测, 其扩增片段大小通过数字和字母对每对引物的多态性位点进行编码, 构建杧果的 DNA 指纹图谱和 DNA 分子身份证。结果表明: 经 PCR 扩增以及 PAGE 电泳检测, 从已开发得到 115 对 SSR 标记引物中筛选得到 9 对稳定性较好、多态性好的引物, 引物名称分别为 M9、M15、M35、M40、M53、M59、M101、M102、M103。经毛细管电泳检测, 结合“数字+字母”处理获得 19 个杧果品种(系)的指纹图谱代码, 如金煌杧的指纹图谱代码为 9EE9F8933, 黔山杧 2 号的指纹图谱代码为 H6F7564IC, 黔山杧 4 号的指纹图谱代码为 3DGE47279。以 19 份材料的指纹图谱代码和基本信息为载体, 通过在线条形码生成程序、二维码生成程序生成其条形码 DNA 分子身份证、二维码 DNA 分子身份证。该研究结果为标准化构建杧果 DNA 分子身份证库奠定基础, 为杧果遗传育种、优异基因挖掘提供数据参考。

关键词: 杧果; SSR 标记; 毛细管电泳; DNA 指纹图谱; DNA 分子身份证

中图分类号: S667.7 文献标识码: A

Construction of DNA Fingerprint of 19 Mango Cultivars (lines) Based on SSR Molecular Markers

LIU Rong¹, ZHANG Zhengxue¹, LIU Qingguo^{1*}, DANG Zhiguo², WU Xiaobo¹, HUANG Hai¹

1. Guizhou Institute of Subtropical Crops, Guiyang, Guizhou 550006, China; 2. Tropical Crops Genetic Resources Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou, Hainan 571101, China

Abstract: *Mangifera indica* Linn. is a tropical and subtropical evergreen tree fruit, sweet fruit, rich nutrition, meat smooth and juicy, which is rich “tropical fruit king” reputation. In order to speed up the molecular identification of mango cultivars (lines), five mango cultivars (Red Ivory Mango, Jinhuang Mango, Red Mango No. 6, Red Jade Mango, Nan Doc Mai No. 4 Mango) with different phenotypic characteristics were selected from 19 test materials to screen SSR marker primers. The primers with better polymorphism were obtained by PAGE electrophoresis. Then, the primers were labeled with 5'-end modification with HEX and FAM fluorescent labels. The size of the amplified fragments were detected by capillary electrophoresis, and the polymorphic sites of each pair of primers were coded by numbers and letters. Finally, DNA fingerprint and DNA molecular ID card of mango were constructed by capillary electrophoresis. The results show that nine pairs of primers with good polymorphism were screened from the developed SSR primers from 115 pair primers through PCR amplification and PAGE electrophoresis. The primers were named M9, M15, M35, M40, M53, M59, M101, M102, and M103. After capillary electrophoresis detection and data analysis, bar code DNA molecular identification and quick response code DNA molecular identification of the mango cultivars (lines) were obtained combined with “number+letter” processing. For example, the fingerprint code of Jinhuang Mango is 9EE9F8933, the fin-

收稿日期 2022-08-01; 修回日期 2022-10-21

基金项目 贵州省科技支撑计划项目(黔科合支撑[2020]1Y014号); 财政部和农业农村部国家现代农业产业技术体系资助项目(No. CARS-31-24); 国家重点研发计划项目(No. 2022YFD1100304)。

作者简介 刘 荣(1986—), 女, 硕士, 副研究员, 研究方向: 杧果遗传育种与栽培技术。*通信作者(Corresponding author): 刘清国(LIU Qingguo), E-mail: lqgxylqxy@sina.com。

gerprint code of Qianshan Mango No. 2 is H6F7564IC, and the fingerprint code of Qianshan Mango No. 4 is 3DGE47279. Finally, with the fingerprint code and basic information of 19 materials as the carrier, barcode DNA molecular ID and two-dimensional code DNA molecular ID were generated by online barcode generation program and two-dimensional code generation program. This study laid a foundation for standardizing the construction of molecular identification database of DNA of mango, and could provide data reference for mango genetics and breeding and excellent gene excavating.

Keywords: mango; SSR markers; capillary electrophoresis; DNA fingerprint; DNA molecular identification

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2023.09.002

杧果 (*Mangifera indica* Linn.)，是一种热带亚热带常绿乔木果树，属漆树科 (Anacardiaceae) 杧果属 (*Mangifera*)^[1-2]。因其果实香甜、营养丰富、肉质细滑多汁，被称为“热带果王”，备受消费者青睐^[3]。杧果原产于印度，我国于 20 世纪初引进象牙杧杧果，已收集保存杧果种质资源 1000 余份，结合实生选种、杂交育种等育种方法创制了热农 1 号、红玉杧、桂热 82 号等优良品种^[4]。以杧果品种阿方索为试材，通过测序和组装得到了 393 Mb 的基因组图谱^[5]。目前，我国杧果主要种植在海南、广西、四川等热带亚热带地区，其种植面积达 343 400 hm²，产量达 331.2 万 t，居世界第二位^[6-7]。

目前，应用于杧果遗传育种的分子标记技术有 SSR^[8]、RAPD^[9]、AFLP^[10]等。SSR (simple sequence repeats, SSR) 标记是一种以特异引物 PCR 为基础的分子标记技术，具有数量丰富、多态性高；以孟德尔方式遗传，呈共显性；技术重复性好、易操作等特性^[11]。近年来，SSR 标记被广泛应用于植物遗传多样性分析和指纹图谱构建，在水稻^[12]、大豆^[13]以及黄瓜^[14]等作物上已有报道。孙浩男等^[15]利用 MISA 软件以金鸡菊为试材，检测得到 6546 个 SSR 位点；结合引物筛选成功开发出 22 对多态性较好的引物，扩增得到 166 个多态性条带。冯鹏龙等^[16]以辣椒为试材，筛选得到 6 对多态性较好的引物，共扩增到 36 个基因位点，多态性比例为 97%；并选用 pepperSSR01、pepperSSR04、pepperSSR06、pepperSSR08 构建了供试辣椒材料的指纹图谱。董聚苗等^[17]利用 28f4、CH04f10、GD142 共 3 对 SSR 引物构建了 74 个观赏海棠品种的指纹图谱。本研究采用 SSR 标记构建 19 份杧果品种 (系) 的 DNA 指纹图谱和 DNA 分子身份证，旨在为杧果遗传育种提供理论支撑。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 植物材料 供试材料于 2020 年 9 月在贵州省兴义市南盘江镇田房村收集。采集杧果秋稍上的幼嫩叶片，将叶片用吸水纸吸干后放入装有变性硅胶的采样袋中，写好标签后带回实验室备用。

1.1.2 试剂与仪器 Taq Plus DNA 聚合酶、10× PCR Buffer (含 Mg²⁺)、dNTPs (10 mmol/L)、50×TAE、琼脂糖 H 等均采购于生工生物工程 (上海) 股份有限公司，6×DNA Loading Dye、DNA Ladder Mix (100~3000 bp)、POP-7TM Polymer 和 HiDiForma-mide 采购于 ThermoFisher (Applied BiosystemsTM) 公司。

VeritiTM 96well 型 PCR 仪购自美国 ABI 公司；FR-980A 型凝胶成像仪购自上海复日科技有限公司；3730XL 型测序仪购自美国 ABI 公司；SMA4000 型 UV-Vis Spectrophotometer 购自 Merinton 公司；TD5A-WS 型台式高速离心机购自湖南湘仪实验仪器开发有限公司；F619703-05 型 BP 系列精密单道可调移液器购自加拿大 BBI 公司。

1.2 方法

1.2.1 基因组 DNA 提取 以杧果幼嫩叶片为原材料，采用 Ezup 柱式植物组织基因组 DNA 抽提试剂盒提取杧果基因组 DNA，具体操作步骤参照试剂盒说明书 (产品编号：B518261)。

1.2.2 SSR 分析 所用 SSR 标记引物序列来源于前人的研究开发^[18-20]，委托生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成。PCR 反应体系：10 μmol/L 正反向引物各 0.5 μL，5 μmol/L dNTPs 0.5 μL，10×Taq buffer (含 Mg²⁺) 2.5 μL，5 U/μL Taq DNA 聚合酶 0.2 μL，20~50 ng/μL 基因组 DNA 1 μL，ddH₂O 19.8 μL。PCR 反应程序：94 °C 预变性 5 min；94 °C 变性 30 s，60 °C 退火 30 s，72 °C 延伸 30 s，10 个循环；94 °C 变性 30 s，55 °C 退火 30 s，

72 °C 延伸 30 s, 30 个循环; 72 °C 修复延伸 10 min, 4 °C 保存。引物筛选时, PCR 产物通过 PAGE 检测; 毛细管电泳时, 将筛选得到的 SSR 引物进行 5' 修饰, 得到的 PCR 产物使用 3730XL 设备进行检测。

1.3 数据处理

采用 Genemapper 软件分析获得扩增片段大小。DNA 指纹图谱代码、DNA 分子身份证的构建参照郭艳春等^[21]和李志强等^[22]的方法, 即: 将每一对引物扩增得到的所有等位基因按照从小到大的顺序进行排列, 先用数字 1~9 依次排序, 超出 9 的部分用字母顺序排列, 构建形成 19 个杧果品种(系)的指纹图谱代码。每个品种的条形码 DNA 分子身份证和二维码 DNA 分子身份证分别在网址 <http://t-x-m.com/> 和 <http://t-x-m.com/QRCode/QRCodeGenerator.asp> 上完成。

2 结果与分析

2.1 19 个杧果品种(系)的基本特性

19 个杧果品种(系)主要从广西、海南引进以及贵州自育品系中获得, 其中 8 个品系处于中期试验阶段, 待鉴定; 11 个品种(系)是单胚, 8 个品种(系)是多胚; 其基本特性如表 1 所示。

2.2 引物筛选

根据所选材料的表型特征, 选择其差异较大的 5 份杧果材料(红象牙杧、金煌杧、红杧 6 号、红玉杧、南逗迈 4 号杧)为模板, 经 PCR 扩增以及 PAGE 电泳检测, 从 115 对引物中筛选得到稳定性较好、多态性较高的引物 9 对, 并采用 HEX、FAM 两个荧光标记对引物进行 5' 端修饰(毛细管电泳检测备用), 引物详细信息见表 2。

2.3 DNA 指纹图谱构建

对筛选得到的 9 对引物进行荧光标记后, 毛

表 1 不同杧果品种(系)的特性
Tab. 1 Characteristics of mango different cultivars (lines)

编号 No.	品种(系) Cultivar (line)	来源 Source	特性 Characteristics	备注 Remark
1	红象牙杧	广西大学选育	单胚, 丰产稳产, 易果裂。果实象牙形, 纤维少, 单果重约 500 g, 高感	
2	黔山杧 1 号	贵州农科院热作所自育品系	单胚	待鉴定
3	金煌杧	台湾自育品种	单胚, 单果重约 1000 g, 无纤维, 耐长途运输, 中感	
4	红杧 6 号	原产于美国	单胚, 不耐贮运, 对炭疽病敏感, 无纤维	
5	黔山杧 2 号	贵州农科院热作所自育品系	单胚	待鉴定
6	贵妃杧	台湾自育品种	单胚, 单果重约 400 g, 果面光洁、果粉多, 肉厚无纤维, 质地柔软、多汁、较甜, 不耐运输	
7	红玉杧	中国热科院品资所与贵州农科院热作所共同选育	多胚, 果实长椭圆形, 纤维少, 平均单果重 330 g, 味偏淡, 较抗杧果炭疽病和细菌性角斑病, 易感杧果白粉病和软鼻病	
8	澳杧	原产澳大利亚	多胚, 果实淡红色、苹果型、单果重约 600 g, 无纤维, 味较甜, 中抗	
9	鹰嘴杧	原产于印度	多胚, 果肉橙红色, 纤维极少或无, 果肉橙红色, 纤维极少或无, 中抗	
10	新世纪杧	台湾自育品种	单胚, 果实扁椭圆形, 单果重约 400 g, 果肉细嫩, 纤维少, 味甜	
11	东镇红杧	华南农业大学选育	多胚, 属美国红杧良种万利的实生变异种, 多汁无纤维, 早熟品种, 感病	
12	A8	中国热科院品资所选育	单胚	待鉴定
13	A45	中国热科院品资所选育	单胚	待鉴定
14	A37	中国热科院品资所选育	单胚	待鉴定
15	黔山杧 4 号	贵州农科院热作所选育	多胚	待鉴定
16	南逗迈 4 号杧	泰国品种	多胚, 中熟品种, 纤维少, 多汁, 平均单果重 382 g	
17	热农 1 号杧	中国热科院南亚所选育	单胚, 丰产稳产, 耐贮运。果实斜卵圆形, 单果重约 450 g, 肉质细腻, 味清甜, 高抗	
18	热品 2 号杧	中国热科院品资所选育	单胚	待鉴定
19	热品 6 号杧	中国热科院品资所选育	多胚	待鉴定

表 2 毛细管电泳检测所用的 SSR 分子标记引物序列
Tab. 2 SSR molecular marker primers used in experiment

引物名称 Primer name	正向引物 (5'-3') Forward primer (5'-3')	反向引物 (5'-3') Reverse primer (5'-3')	5'端修饰 5' end modified
M9	TTGCAACTGATAACAAATATAG	TTCACATGACAGATATACACTT	5' HEX
M15	AACTACTGTGGCTGACATAT	CTGATTAACATAATGACCATCT	5' 6-FAM
M35	TGATATTTTCAGGGCCCAAG	AAATGGCACAAGTGGGAAAG	5' 6-FAM
M40	GCTCAACGAACCCAAGTAT	TCCAGCATTCAATGAAGAAGTT	5' 6-FAM
M53	ATACCCGCAAGAGAGATATGC	CAAGACTTCAACTTGTGTGCAG	5' HEX
M59	ACTCAAATCAGCTTTAGGTC	AGCGTAAATAGAAGAGAGCAG	5' HEX
M101	TAACAGCTTTGCTTGCCCTCC	TCCGCCGATAAACATCAGAC	5' 6-FAM
M102	CCACGAATATCAACTGCTGCC	TCTGACACTGCTTCCACC	5' HEX
M103	AAACGAGGAAACAGAGCAC	CAAGTACCTGCTGCAACTAG	5' HEX

毛细管电泳检测 19 份杧果品种 (系), 构建其 DNA 指纹图谱。扩增片段大小通过数字和字母对每对引物的多态性位点进行编码, 如表 3 所示, 9 对引物扩增得到多态性条带数 158 条, 其中引物 M53 含有 19 个多态性位点, 从小到大依次是: 167.44/175.74(1)、167.44/188.75(2)、168.34/176.5

(3)、168.4/184.64(4)、168.42/176.72(5)、168.58/176.81(6)、175.6/179.53(7)、175.63/179.6(8)、176.48/184.63(9)、176.58/182.55(A)、176.61(B)、176.64/182.62(C)、176.69/182.61(D)、176.69/188.69(E)、176.71/182.57(F)、176.79/182.72(G)、176.85/188.87(H)、177.5/179.55(I)、177.65/181.71(J)。

表 3 9 对引物毛细管电泳检测结果及多态性编码
Tab. 3 Testing results and code typing of 9 pairs SSR primers detected with capillary electrophoresis

引物名称 Primer name	5'端修饰 5' end modified	多态性位点数 Allels	多态性片段编码 Code of polymorphism fragments
M9	5' HEX	17	167.88(1), 167.88/175.89(2), 167.89(3), 167.89/177.84(4), 167.9(5), 167.9/173.92(6), 167.91(7), 167.92/175.9(8), 167.94(9), 173.84/183.81(A), 173.89(B), 175.78(C), 175.82/179.7(D), 175.86(E), 175.89(F), 175.9(G), 177.78(H)
M15	5' 6-FAM	15	206.32/214.38(1), 207.33/215.4(2), 207.33/217.51(3), 207.33/217.65(4), 207.36/215.42(5), 207.37(6), 207.37/215.42(7), 207.37/215.5(8), 207.37/217.63(9), 207.38/215.46(A), 207.38/215.48(B), 215.41(C), 215.46(D), 215.48/217.59(E), 217.58(F)
M35	5' 6-FAM	19	183.24/187.16(1), 183.26/189.16(2), 185.18/189.15(3), 185.21/189.2(4), 185.22(5), 185.23(6), 185.23/193.09(7), 185.26(8), 185.26/189.21(9), 185.27/194.99(A), 185.3/187.22(B), 187.12/189.21(C), 187.14(D), 187.14/193.03(E), 187.19/194.91(F), 189.13/193.06(G), 189.15(H), 189.17/193.09(I), 193.04(J)
M40	5' 6-FAM	17	223.46/241.77(1), 234.04/241.81(2), 234.08/249.62(3), 234.09/257.1(4), 234.1/235.82(5), 235.76(6), 235.78/245.83(7), 235.78/257.13(8), 235.85/245.78(9), 241.69/245.82(A), 241.69/257.15(B), 241.71(C), 241.72/257.15(D), 241.76/245.81(E), 241.86/257.1(F), 245.82/257.12(G), 245.86/257.13(H)
M53	5' HEX	19	167.44/175.74(1), 167.44/188.75(2), 168.34/176.5(3), 168.4/184.64(4), 168.42/176.72(5), 168.58/176.81(6), 175.6/179.53(7), 175.63/179.6(8), 176.48/184.63(9), 176.58/182.55(A), 176.61(B), 176.64/182.62(C), 176.69/182.61(D), 176.69/188.69(E), 176.71/182.57(F), 176.79/182.72(G), 176.85/188.87(H), 177.5/179.55(I), 177.65/181.71(J)
M59	5' HEX	17	193.55(1), 193.57(2), 193.64(3), 193.67/200.84(4), 193.68(5), 193.72(6), 193.72/200.92(7), 193.74(8), 193.74/209.49(9), 193.76/197.84(A), 193.76/200.92(B), 193.8(C), 193.85(D), 193.86/200.98(E), 193.91/209.73(F), 193.97(G), 200.92/209.64(H)
M101	5', 6-FAM	17	191.71/208.48(1), 197.71/201.93(2), 197.73/206.31(3), 201.93/208.53(4), 202.08/208.62(5), 202.09(6), 202.09/208.49(7), 202.1(8), 202.1/206.36(9), 202.11/208.52(A), 206.13(B), 206.18/208.52(C), 206.62(D), 208.46(E), 208.47(F), 208.59(G), 208.62(H)
M102	5' HEX	18	124.65/128.61(1), 124.69/126.71(2), 124.7/126.73(3), 124.74/128.94(4), 124.87/131.03(5), 124.91/128.55(6), 126.67/128.53(7), 126.7/128.56(8), 126.72(9), 126.72/128.82(A), 126.74(B), 126.75(C), 126.77(D), 126.77/128.58(E), 126.77/128.87(F), 126.8/128.94(G), 128.55/130.84(H), 128.81/130.78(I)
M103	5' HEX	19	89.49/98.52(1), 89.52(2), 89.53/95.49(3), 89.53/98.44(4), 89.53/98.52(5), 89.56/98.27(6), 89.57/98.5(7), 89.58/98.53(8), 95.35/98.42(9), 95.4/98.39(A), 95.42/119.11(B), 95.43/98.51(C), 95.5(D), 95.52/98.43(E), 96.67(F), 98.32(G), 98.42(H), 98.43(I), 98.46/104.56(J)

依据表 3 的多态性片段编码，按照引物 M9、M15、M35、M40、M53、M59、M101、M102、M103 顺序，通过每个品种对应的每个引物多态性位点进行组合统计，构建形成 19 份杧果品种（系）的指纹图谱代码（表 4）。如金煌杧，通过 9 个 SSR 位点毛细管电泳检测得到带型（图 1），

统计分析形成其指纹图谱代码为 9EE9F8933，对应表 3 表示第 1 个数字 9 表明杧果品种金煌杧对应引物 M9 的扩增片段在该引物多态性片段梯度中排第 9；第 2 个字母 E 表明杧果品种金煌杧对应引物 M15 的扩增片段在该引物多态性片段梯度中排第 14；第 3 个字母 E 表明杧果品种金煌杧

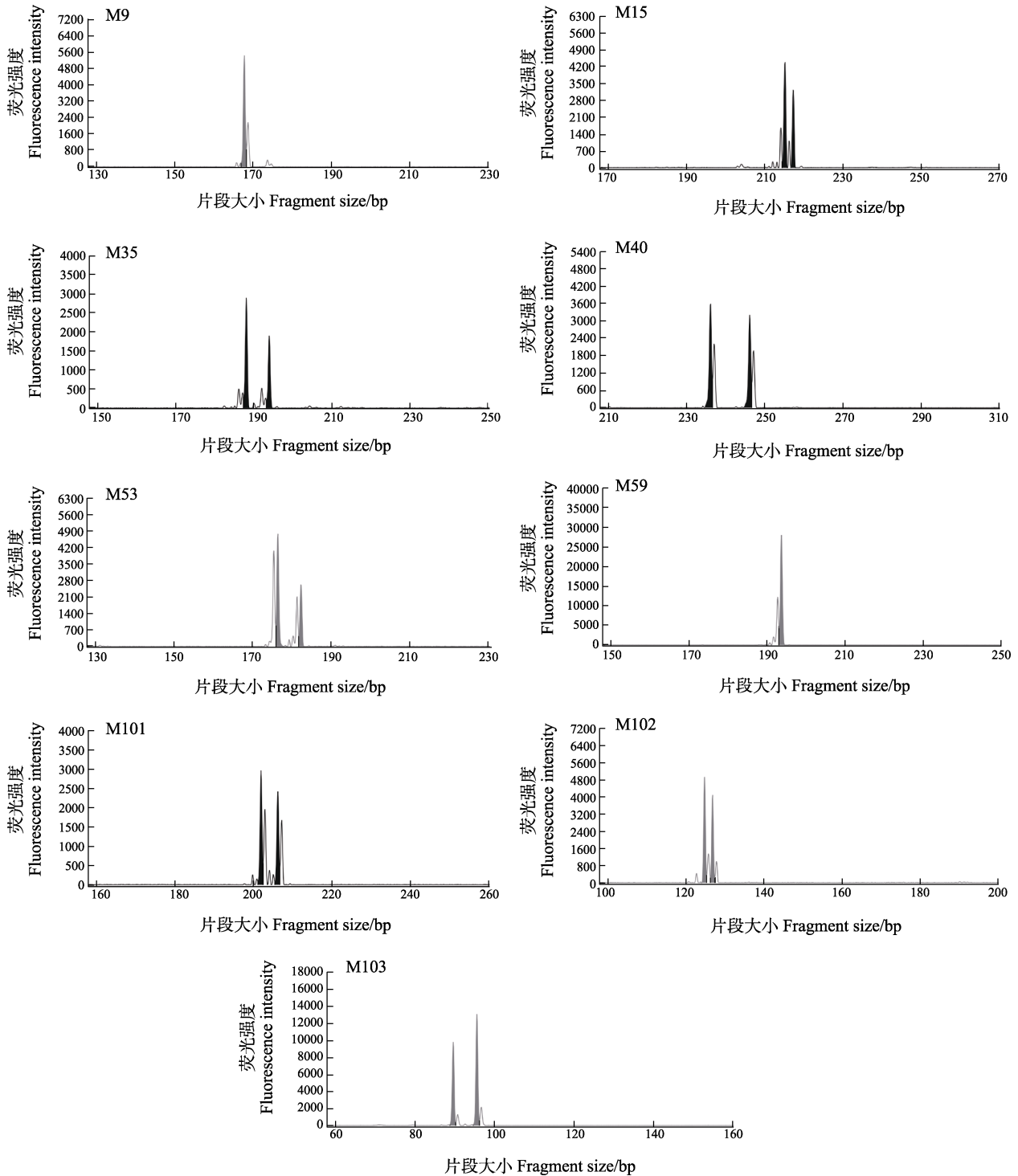




























图 1 金煌杧在 9 个 SSR 位点的毛细管电泳检测带型

Fig. 1 Band features of Jinhuang mango detected by capillary electrophoresis at 9 SSR loci













对应引物 M35 的扩增片段在该引物多态性片段梯度中排第 14; 后续代码以此类推。将 19 个品种(系)的指纹图谱代码和基本信息导入在线条形

码生成程序、二维码生成程序, 得到各品种的条形码 DNA 分子身份证和二维码 DNA 分子身份证(表 4)。

表 4 19 个杧果品种(系)的指纹图谱代码
Tab. 4 Fingerprint code of 19 mango species (lines)

编号 No.	品种(系) Cultivar (line)	指纹图谱代码 Fingerprinting	条形码 DNA 分子身份证 Bar code DNA molecular identification	二维码 DNA 分子身份证 Quick respons code DNA molecular identification
1	红象牙杧	BABG2C5GA	 BABG2C5GA	
2	黔山杧 1 号	65DH16648	 65DH16648	
3	金煌杧	9EE9F8933	 9EE9F8933	
4	红杧 6 号	4BA883AHI	 4BA883AHI	
5	黔山杧 2 号	H6F75641C	 H6F75641C	
6	贵妃杧	H327C2BI5	 H327C2BI5	
7	红玉杧	FAJE913A7	 FAJE913A7	
8	澳杧	5DI5JB72D	 5DI5JB72D	
9	鹰嘴杧	C942HEH6B	 EC3C6FGD1	
10	新世纪杧	1416GGD5F	 1416GGD5F	
11	东镇红杧	228BDDGBG	 228BDDGBG	
12	A8	787F7A81J	 787F7A81J	
13	A45	GB51E8EEE	 GB51E8EEE	

续表 4 19 个杧果品种 (系) 的指纹图谱代码
Tab. 4 Fingerprint code of 19 mango species (lines) (continued)

编号 No.	品种(系) Cultivar (line)	指纹图谱代码 Fingerprinting	条形码 DNA 分子身份证 Bar code DNA molecular identification	二维码 DNA 分子身份证 Quick respons code DNA molecular identification
14	A37	876DA5F9H	 876DA5F9H	
15	黔山杧 4 号	3DGE47279	 3DGE47279	
16	南逗逗 4 号杧	AFCAB9CC2	 AFCAB9CC2	
17	热农 1 号杧	919414G84	 919414G84	
18	热品 2 号杧	DDH33H1F6	 DDH33H1F6	
19	热品 6 号杧	EC3C6FGD1	 EC3C6FGD1	

3 讨论

由于 SSR 标记具有共显性、等位变异多、重复性好等优势,已被广泛应用于果树 DNA 指纹图谱构建。本研究从 115 对引物中初步筛选得到多态性较好的引物 9 对,毛细管电泳检测 19 份杧果品种(系),依据扩增片段大小对每对引物的多态性位点进行编码,9 对引物扩增得到多态性条带数 158 条,其中引物 M53 含有 19 个多态性位点,这与黄丽芳等^[23]、王明等^[19]的研究结果相似。

DNA 分子身份证由于可以直观便捷呈现品种信息,在品种识别、鉴定等方面得以广泛应用。武志江等^[24]采用 20 对 SSR 标记引物,结合数字和小写字母对 145 份火龙果不同带型进行编码,成功构建了火龙果种质资源的 DNA 分子身份证,实现不同种质资源的有效区分。侯丽媛等^[25]选取 7 对荧光 SSR 引物,并运用条形码技术生成了‘赤霞’的分子身份证。白晓倩等^[26]利用 6 对 SSR 引物构建了 55 份板栗品种的 DNA 分子身份证,这对板栗品种的认识和鉴定提供了参考价值。相对这些果树来说,SSR 分子标记在杧果 DNA 分子身份证构建方面的应用相对较少。本研究通过 PCR 扩增得到多态性片段编码,按照引物 M9、

M15、M35、M40、M53、M59、M101、M102、M103 顺序对 19 份杧果品种(系)的指纹图谱代码进行编辑,构建了 19 份杧果品种(系)的 DNA 分子身份证,为标准化构建杧果 DNA 分子身份证库奠定基础。

4 结论

本研究以 19 个杧果品种(系)为试材,利用荧光标记的 9 对引物,通过毛细管电泳检测后,结合“数字+字母”处理获得 19 个杧果品种(系)的指纹图谱代码、条形码 DNA 分子身份证和二维码 DNA 分子身份证,为标准化构建杧果 DNA 分子身份证库奠定基础。

参考文献

- [1] 刘荣, 龚德勇, 刘清国, 黄海, 范建新. 基于 SRAP 分子标记的 13 份贵州杧果种质资源遗传多样性分析[J]. 热带作物学报, 2019, 40(1): 87-91.
LIU R, GONG D Y, LIU Q G, HUANG H, FAN J X. Genetic diversity analysis of 13 mango germplasm resources based on SRAP molecular markers[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2019, 40(1): 87-91. (in Chinese)
- [2] 杨玉皎, 郭淑萍, 杨顺林, 张永辉, 刘海刚, 孟富宣, 段元杰, 杨子祥, 杨晓琼, 袁建民, 岳学文, 方海东. 增强

- UV-B 辐射对芒果叶片光合生理和超显微结构的影响[J]. 果树学报, 2021, 38(9): 1524-1539.
- YANG Y J, GUO S P, YANG S L, ZHANG Y H, LIU H G, MENG F X, DUAN Y J, YANG Z X, YANG X Q, YUAN J M, YUE X W, FANG H D. Effects of enhanced UV-B radiation on physiology and ultrastructure of leaves in mango (*Mangifera indica* L.)[J]. Journal of Fruit Science, 2021, 38(9): 1524-1539. (in Chinese)
- [3] AMADO L R, SILVAK S, MAURO M A. Drying of mangoes (*Mangifera indica* L. cv. Palmer) at changeable temperature conditions-effects on energy consumption and quality of the dehydrated fruit[J]. Journal of Food Process Engineering, 2020, 44(2): 534-542.
- [4] 陈业渊, 党志国, 林电, 胡美姣, 黄建峰, 朱敏, 张贺, 韩冬银, 高爱平, 高兆银, 黄媛媛. 中国芒果科学研究 70 年[J]. 热带作物学报, 2020, 41(10): 2034-2044.
- CHEN Y Y, DANG Z G, LIN D, HU M J, HUANG J F, ZHU M, ZHANG H, HAN D Y, GAO A P, GAO Z Y, HUANG Y Y. Mango scientific research in china in the past 70 years[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2020, 41(10): 2034-2044. (in Chinese)
- [5] WANG P, LUO Y F, HUANG J F, GAO S H, ZHU G P, DANG Z G, GAI J T, YANG M, ZHU M, ZHANG H K, YE X X, GAO A P, TAN X Y, WANG S, WU S Y, CAHOON EDGAR B, BAI B B, ZHAO Z C, LI Q, WEI J Y, CHEN H R, LUO R X, GONG D Y, TANG K X, ZHANG B, NI Z G, HUANG G D, HU S N, CHEN Y Y. The genome evolution and domestication of tropical fruit mango[J]. Genome Biology, 2020, 21(1): 60.
- [6] 李日旺, 黄国弟, 苏美花, 周俊岸, 陈永森. 我国芒果产业现状与发展策略[J]. 南方农业学报, 2013, 44(5): 875-878.
- LI R W, HUANG G D, SU M H, ZHOU J A, CHEN Y S. Status and developmental strategies of mango industry in China[J]. Journal of Southern Agriculture, 2013, 44(5): 875-878. (in Chinese)
- [7] 丁莉, 张益. 我国芒果发展现状分析及发展对策研究[J]. 云南农业大学学报(社会科学版), 2021, 15(5): 65-69.
- DING L, ZHANG Y. Chinese mango industry development situation and countermeasures[J]. Journal of Yunnan Agricultural University (Social Science Edition), 2021, 15(5): 65-69. (in Chinese)
- [8] HIRANO R, HTUN O T, WATANABE K N. Myanmar mango landraces reveal genetic uniqueness over common cultivars from Florida, India, and Southeast Asia[J]. Genome, 2010, 53(4): 321-330.
- [9] RAJWANA I A, TABBASAM N, MALIK A U, MALIK S A, RAHMAN M U, ZAFAR Y. Assessment of genetic diversity among mango (*Mangifera indica* L.) genotypes using RAPD markers[J]. Scientia Horticulturae, 2008, 117: 297-301.
- [10] 石胜友, 武红霞, 王松标, 刘丽琴, 王一承, 马蔚红. 杧果种质遗传多样性的表型分析和 AFLP 分析[J]. 园艺学报, 2011, 38(3): 449-456.
- SHI S Y, WU H X, WANG S B, LIU L Q, WANG Y C, MA W H. Genetic diversity of mango germplasm based on morphological characters and AFLP markers[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2011, 38(3): 449-456. (in Chinese)
- [11] 梁燕, 韩传明, 周继磊, 孙超, 王翠香, 李春明, 王静, 闵旭峰, 公庆党, 孟晓焯, 杨绪强. 山东核桃良种 SSR 指纹图谱及分子身份证的构建-基于毛细管电泳分析[J]. 中国农学通报, 2022, 38(15): 113-121.
- LIANG Y, HAN C M, ZHOU J L, SUN C, WANG C X, LI C M, WANG J, MIN X F, GONG Q D, MENG X Y, YANG X Q. Construction of SSR fingerprint and molecular identity card of Shandong elite *Julans regia* cultivars-based on capillary electrophoresis analysis[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2022, 38(15): 113-121. (in Chinese)
- [12] SANKET R, SAMEER U, SINGH P K, SINGH R K, PALLAVI, PRASHANT B, BAPSILA L, SANCHIKA S. Study of parental polymorphism and allelic variation for grain quality and yield traits in rice (*Oryza sativa* L.) using SSR markers[J]. International Journal of Plant & Soil Science, 2021, 33(24): 136-149.
- [13] KUMAR S P, SUSMITA C, SRIPATHY K V, AGARWAL D K, PAL G, SINGH A N, KUMAR S, RAI A K, SIMALGANDARA J. Molecular characterization and genetic diversity studies of Indian soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) cultivars using SSR markers[J]. Molecular Biology Reports, 2022, 49(3): 2129-2140.
- [14] 王蕾, 王福全, 尹惠萍, 赵国珍, 刘芳君, 王娟. 基于 SSR 标记的黄瓜栽培品种遗传多样性分析及指纹图谱构建[J]. 分子植物育种, 2021, 19(8): 2668-2677.
- WANG L, WANG F Q, YIN H P, ZHAO G Z, LIU F J, WANG J. Genetic diversity analysis and construction of DNA fingerprint with SSR markers for cucumber cultivars[J]. Molecular Plant Breeding, 2021, 19(8): 2668-2677. (in Chinese)
- [15] 孙浩男, 李蓉, 李明阳, 郑妍, 刘志杰, 张存石, 刘冬云, 李鹤. 栽培金鸡菊 EST-SSR 分子标记开发与亲缘关系分析[J]. 草地学报, 2022, 30(6): 1430-1440.
- SUN H N, LI R, LI M Y, ZHENG Y, LIU Z J, ZHANG C S, LIU D Y, LI H. Development of EST-SSR markers based on transcriptome and analysis of genetic relationship of cultivated *Coreopsis*[J]. Acta Agrestia Sinica, 2022, 30(6): 1430-1440. (in Chinese)

- [16] 冯鹏龙, 韩睿, 王亚艺, 邵登魁, 李全辉, 钟启文. 基于 SSR 标记辣椒品种 DNA 指纹图谱的构建[J]. 西北农业学报, 2022, 31(3): 320-327.
FENG P L, HAN R, WANG Y Y, SHAO D K, LI Q H, ZHONG Q W. Construction of DNA fingerprints of pepper (*Capsicum annuum* L.) varieties based on SSR markers[J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2022, 31(3): 320-327. (in Chinese)
- [17] 董聚苗, 刘月, 李扬森, 冯树香, 程蓓蓓, 刘振林, 张国君. 74 个观赏海棠品种的遗传多样性及指纹图谱构建[J]. 种子, 2022, 41(5): 30-35, 50.
DONG J M, LIU Y, LI Y S, FENG S X, CHENG B B, LIU Z L, ZHANG G J. Fingerprint establishment and genetic diversity of 74 ornamental crabapple varieties[J]. Seed, 2022, 41(5): 30-35, 50. (in Chinese)
- [18] 姚全胜, 詹儒林, 黄丽芳, 王松标, 武红霞, 马小卫, 邢珊珊, 雷新涛. 11 个芒果品种 SSR 指纹图谱的构建与品种鉴别[J]. 热带作物学报, 2009, 30(11): 1572-1576.
YAO Q S, ZHAN R L, HUANG L F, WANG S B, WU H X, MA X W, XING S S, LEI X T. Construction of fingerprinting map and identification of cultivars for 11 mango cultivars by SSR markers[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2009, 30(11): 1572-1576. (in Chinese)
- [19] 王明, 应东山, 王琴飞, 李莉萍, 张如莲. 我国芒果主栽品种遗传多样性分析及指纹图谱构建[J]. 南方农业学报, 2015, 46(7): 1154-1159.
WANG M, YING D S, WANG Q F, LI L P, ZHANG R L. Genetic diversity analysis fingerprint construction for mango cultivars in China[J]. Journal of Southern Agriculture, 2015, 46(7): 1154-1159. (in Chinese)
- [20] 闫慧清, 刘泽标, 吉海旺, 张永梅, 孙贵连, 周琴, 罗庆华. 芒果 EST-SSR 位点分析及引物开发[J]. 分子植物育种, 2020, 18(18): 6077-6084.
YAN H Q, LIU Z B, JI H W, ZHANG Y M, SUN G L, ZHOU Q, LUO Q H. Analysis of EST-SSR loci and primers development in mango (*Mangifera indica*)[J]. Molecular Plant Breeding, 2020, 18(18): 6077-6084. (in Chinese)
- [21] 郭艳春, 张力岚, 陈思远, 祁建民, 方平平, 陶爱芬, 张列梅, 张立武. 黄麻应用核心种质的 DNA 分子身份证构建[J]. 作物学报, 2021, 47(1): 80-93.
GUO Y C, ZHANG L L, CHEN S Y, QI J M, FANG P P, TAO A F, ZHANG L M, ZHANG L W. Establishment of DNA molecular fingerprint of applied core germplasm in jute (*Corchorus spp.*)[J]. Acta Agronomica Sinica, 2021, 47(1): 80-93. (in Chinese)
- [22] 李志强, 吴超, 贺熙勇, 陶亮, 耿建建, 马静, 宫丽丹. 基于 SSR 标记的澳洲坚果种质资源 DNA 指纹图谱的构建[J]. 果树学报, 2022, 39(11): 2028-2035.
LI Z Q, WU C, HE X Y, TAO L, GENG J J, MA J, GONG L D. Construction of DNA fingerprint of macadamia germplasm based on SSR markers[J]. Journal of Fruit Science, 2022, 39(11): 2028-2035. (in Chinese)
- [23] 黄丽芳, 闫林, 范睿, 姚全胜, 刘洋, 雷新涛. 芒果实生资源遗传多样性的 SSR 分析[J]. 热带作物学报, 2011, 32(10): 1828-1832.
HUANG L F, YAN L, FAN R, YAO Q S, LIU Y, LEI X T. Genetic diversity analysis of seeding resources of mango (*Mangifera indica* L.) by SSR markers[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2011, 32(10): 1828-1832. (in Chinese)
- [24] 武志江, 邓海燕, 梁桂东, 陆贵锋, 黄凤珠, 刘朝安, 李祯英, 黄黎芳. 利用荧光标记 SSR 构建火龙果种质资源分子身份证[J]. 中国南方果树, 2020, 49(4): 20-28.
WU Z J, DENG H Y, LIANG G D, LU G F, HUANG F Z, LIU C A, LI Z Y, HUANG L F. DNA molecular identification construction of pitaya germplasm based on SSR markers[J]. South China Fruit, 2020, 49(4): 20-28. (in Chinese)
- [25] 侯丽媛, 张春芬, 邓舒, 肖蓉, 赵菁, 孟玉平, 曹秋芬. 苹果新品种‘赤霞’和栽培品种遗传多样性分析和分子身份证构建[J]. 分子植物育种, 2020, 18(22): 7588-7599.
HOU L Y, ZHANG C F, DENG S, XIAO R, ZHAO J, MENG Y H, CAO Q F. Analysis of genetic diversity and establishment of molecular identity card of a new apple cultivar ‘Chixia’ and cultivars[J]. Molecular Plant Breeding, 2020, 18(22): 7588-7599. (in Chinese)
- [26] 白晓倩, 陈于, 张仕杰, 赵玉强, 王武, 朱灿灿. 基于表型性状和 SSR 标记的板栗品种遗传多样性分析及分子身份证构建[J]. 植物遗传资源学报, 2022, 23(4): 972-984.
BAI X Q, CHEN Y, ZHANG S J, ZHAO Y Q, WANG W, ZHU C C. Genetic diversity analysis and fingerprinting of chestnut varieties based on phenotypic traits and SSR markers[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2022, 23(4): 972-984. (in Chinese)