

# 基于 SSR 荧光标记的杧果种质资源遗传多样性分析及分子身份证构建

唐玉娟<sup>1,2</sup>, 罗世杏<sup>1,2</sup>, 黄国弟<sup>1,2\*</sup>, 宋恩亮<sup>1</sup>, 李日旺<sup>1,2</sup>, 赵英<sup>1,2</sup>, 张宇<sup>1,2</sup>, 莫永龙<sup>1,2</sup>, 唐莹莹<sup>1,2</sup>

1. 广西壮族自治区亚热带作物研究所, 广西南宁 530001; 2. 广西壮族自治区芒果产业绿色高效发展工程研究中心, 广西南宁 530001

**摘要:** 丰富的种质资源是杧果新品种选育和产业发展的基础。为保护和利用杧果种质资源, 本研究利用课题组前期开发的 TP-M13-SSR 标记对杧果种质资源保护广西创新基地圃内保存的 145 份杧果地方品种、育成品种及其近缘野生种进行遗传多样性分析和分子身份证构建。结果表明: 12 对引物的平均观测等位基因数为 3.2838、平均观察杂合度( $H_o$ )为 0.5858、平均期望杂合度( $H_e$ )为 0.6725、平均 Shannon 指数( $I$ )为 1.3383、平均 Nei 基因多样性指数( $N_d$ )为 0.6702、多态信息含量(PIC)分布范围在 0.5036~0.7827 之间, 平均值为 0.6396, 所有引物为高度多态性位点, 说明 TP-M13-SSR 荧光引物可以为杧果的遗传多样性分析提供研究数据; 145 份材料的遗传相似性系数变化范围为 0.5676~1.000, 平均为 0.7417, 其中爱文与印度杧 1 号遗传相似性系数为 1.000, 扁桃杧田阳 20-2 与大头香杧、扁桃杧田阳 20-2 与硕帅杧、金煌杧与桂热杧 10-1 的遗传相似性系数最小, 均为 0.5676; 在遗传相似性系数为 0.7060 时, 145 份种质分为 2 个类群, I 类群包括 108 份杧果和 20 份扁桃, 种质数量最多, 占总数的 88.9%, II 类群包括 17 份材料, 全部为扁桃。在遗传相似性系数为 0.7330 时, I 类群可进一步分为 5 个亚群, 其中 I-1 和 I-3 亚群种质数量最多, 占有所有杧果的 91.92%, UPGMA 聚类分析表明扁桃未严格按照种属关系聚在一起, 杧果的整体聚类结果与其地理来源基本一致; 对 145 份材料的扩增产物进行 SSR 荧光标记毛细管电泳检测获得指纹图谱, 采用数字和字母相结合的编码方式获得分子身份证, 通过分子身份证进行种质鉴定, 每一对引物可平均区分 12.4 份种质, 鉴定率明显高于前人研究, 表明 TP-M13-SSR 检测技术比目前广泛采用的变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测技术在杧果种质鉴定上更具优势。本研究结果为杧果及其近缘种种质资源的收集整理和新品种的选育提供科学依据。

**关键词:** 杧果; TP-M13-SSR; 遗传多样性; 分子身份证

中图分类号: S667.7 文献标识码: A

## Genetic Diversity Analysis and Molecular ID Construction of Mango Germplasm Based on SSR Fluorescence Markers

TANG Yujuan<sup>1,2</sup>, LUO Shixing<sup>1,2</sup>, HUANG Guodi<sup>1,2\*</sup>, SONG Enliang<sup>1</sup>, LI Riwan<sup>1,2</sup>, ZHAO Ying<sup>1,2</sup>, ZHANG Yu<sup>1,2</sup>, MO Yonglong<sup>1,2</sup>, TANG Yingying<sup>1,2</sup>

1. Guangxi Subtropical Crops Research Institute, Nanning, Guangxi 530001, China; 2. Guangxi Zhuang Autonomous Region Engineering Research Center of Green and Efficient Development for Mango Industry, Nanning, Guangxi 530001, China

**Abstract:** Abundant germplasm resources are the basis for mango variety breeding and industrial development. For better protection and utilization of mango germplasm resources, the TP-M13-SSR marker developed by our team previously were used to analyze the genetic diversity and construct molecular ID of 145 mango germplasms containing

收稿日期 2022-09-08; 修回日期 2022-10-24

基金项目 国家重点研发计划项目 (No. 2019YFD1001103); 广西农业科学院科技发展基金项目 (桂农科 2021JM126)。

作者简介 唐玉娟 (1987—), 女, 硕士, 助理研究员, 研究方向: 杧果遗传育种。\*通信作者 (Corresponding author): 黄国弟 (HUANG Guodi), E-mail: 1161737795@qq.com。

local cultivars, bred varieties and wild relative species, which stored in the nursery of Guangxi Innovation Base of mango germplasm resources conservation. The results showed that the average number of observed alleles for the 12 primer pairs was 3.2838, the average observed heterozygosity ( $H_o$ ) was 0.5858, the average expected heterozygosity ( $H_e$ ) was 0.6725, the average Shannon index ( $I$ ) was 1.3383, and the average Nei's gene diversity index ( $N_d$ ) was 0.6702. The polymorphism information content (PIC) of the 12 primer pairs ranged from 0.5036 to 0.7827, with an average value of 0.6396. All the primers were highly polymorphic sites. The result suggested that TP-M13-SSR primer could provide data support for genetic diversity analysis of mango. The genetic similarity coefficient of 145 materials varied from 0.5676 to 1.000, with an average of 0.7417. The genetic similarity coefficient between Irwin and Indian No. 1 was 1.000. The minimum genetic similarity coefficient was 0.5676, between *M. persiciformis* 20-2 and Dadouxiang mango, *M. persiciformis* 20-2 and Shuoshuai mango, Jinhuang mango and Guire 10-1 mango. All the 145 mango germplasms were divided into two groups when the genetic similarity coefficient was 0.7060. Group I contained 108 mango species and 20 *M. persiciformis* species, accounting for 88.90% of the total number of germplasms. Group II contained 17 specimens, all of which were *M. persiciformis* species. Group I could be further divided into five subgroups when the genetic similarity coefficient was 0.7330, among which subgroups I-1 and I-3 were the most abundant, accounting for 91.92% of all mango germplasms. The results of UPGMA clustering analysis showed that *M. persiciformis* were not clustered strictly according to the species relationship, and the overall clustering result of mango germplasms was basically consistent with its geographical origin. All the 145 materials were amplified by 12 pairs of SSR fluorescent primers to obtain the fingerprint map, and the molecular ID was obtained by the assignment of numbers and letters combination. Each pair of primers could distinguish 12.4 germplasms on average, and the identification rate was significantly higher than that of previous studies, indicating that TP-M13-SSR had more advantageous than denaturing polyacrylamide gel electrophoresis in mango germplasm identification. This study would provide scientific basis for the collection and utilization of germplasm resources and variety breeding of mango. It is also proposed for molecular identification of bred varieties, which is of great significance to the development of mango industry for providing methods for molecular identification and intellectual property of bred varieties.

**Keywords:** *Mangifera indica* L.; TP-M13-SSR; genetic diversity; molecular identity

**DOI:** 10.3969/j.issn.1000-2561.2023.11.018

我国是世界第二大杧果(*Mangifera indica* L.)生产国,近年来,我国杧果产业快速发展,截至2020年,全国杧果种植面积达32.3万 $\text{hm}^2$ ,产量约266万t,产值达205.2亿元(农业农村部农垦局2021年统计数据),杧果产业已成为我国热区主要农业支柱产业之一。丰富的种质资源是杧果新品种选育和产业发展的基础,据统计,目前我国保存有大约1000份杧果种质材料,保存量位居世界第二<sup>[1]</sup>。面对如此庞大的种质数量,如何有效进行鉴定区分及合理利用是目前亟待解决的问题。

形态学鉴定和分子标记鉴定是种质鉴定的常用方法。形态学鉴定由于易受环境影响,且需要鉴定者有一定的经验,在种质鉴定上存在难度。而分子标记具有多位点性、高变异性 and 稳定性等特点,被越来越广泛应用于种质鉴定。SSR(simple sequence repeats)标记具有操作简便、准确可靠,重复性好等优点,被国际植物新品种权保护联盟(UPOV)推选为DNA指纹图谱构建的首选标记之一<sup>[2]</sup>。目前,SSR标记在国内已应用于苹果<sup>[3]</sup>、

梨<sup>[4]</sup>、桃<sup>[5]</sup>、荔枝<sup>[6]</sup>等多种果树遗传育种研究的各个领域,在杧果研究中也有相关报道,如黄丽芳等<sup>[7]</sup>用筛选出的多态性引物对杧果实生资源进行SSR-PCR扩增,最终将116份资源划分为4个群组;周立等<sup>[8]</sup>利用课题组开发的功能性SSR分子标记对种质圃内的杧果材料进行遗传多样性分析,将43个品种划分为3个组。

分子身份证(molecular ID)是在DNA指纹图谱的基础上提出的一种鉴定种质资源的方法,即将指纹图谱进行编码赋值,使每一份种质拥有一段特定的字符串,通过字符串对种质进行区分。国外OHTSUBO等<sup>[9]</sup>利用SSR分子标记的方法构建了水稻的分子身份证;PAN<sup>[10]</sup>利用21对SSR引物构建了1025份甘蔗种质资源的分子身份证数据库。国内祁伟<sup>[11]</sup>较早地应用ISSR和SRAP分子标记分别绘制了红麻与蓖麻DNA指纹图谱,并建立其分子身份证;在果树种质资源的分子身份证研究上,则是艾呈祥等<sup>[12]</sup>较早地利用10对SSR引物构建了38份甜樱桃种质的指纹图谱,将分子指纹赋值后建立品种的分子身份证,而后

在桃<sup>[13]</sup>、葡萄<sup>[14]</sup>和梨<sup>[15]</sup>等果树上也进行过此类研究。目前关于杧果分子身份证研究较少, 仅见王明等<sup>[16]</sup>和姚全胜等<sup>[17]</sup>利用 SSR 引物通过变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测方法构建数字化指纹图谱。

TP-M13-SSR 是近年发展起来的最新检测技术, 结合了 SSR 技术和荧光检测技术的特点, 具有高检测精度、高效率等优点, 比目前广泛采用的变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测技术准确性更高、重复性更好, 可以进行高通量 DNA 的指纹品种鉴定。目前, 基于 SSR 荧光标记的杧果种质遗传多样性分析和分子身份证构建研究国内外尚

未见报道。本研究通过对杧果种质资源保护广西创新基地圃内保存的 145 份杧果地方品种、育成品种及其近缘野生种扁桃进行遗传多样性分析, 构建个体独特的分子身份证, 以期实现杧果种质资源的快速、准确区分, 为杧果种质合理利用提供指导。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

145 份种质均取自国家杧果种质资源保护广西创新基地, 包括 99 份杧果, 36 份杧果近缘野生种扁桃 (表 1)。

表 1 145 份种质编号和名称  
Tab. 1 Codes and names of tested 145 germplasms

序号 No.	中文名 Chinese name	拉丁名 Latin name	产地 Origin	序号 No.	中文名 Chinese name	拉丁名 Latin name	产地 Origin
1	汤米·阿琼斯	<i>M. indica</i>	美国	36	三蜜杧	<i>M. indica</i>	中国云南
2	爱文	<i>M. indica</i>	美国	37	勐底红杧	<i>M. indica</i>	中国云南
3	圣心	<i>M. indica</i>	美国	39	安宁红杧	<i>M. indica</i>	中国四川
4	法斯西尔	<i>M. indica</i>	美国	40	菲杧	<i>M. indica</i>	中国云南
5	海顿	<i>M. indica</i>	美国	41	云南矮杧	<i>M. indica</i>	中国云南
7	布鲁斯	<i>M. indica</i>	美国	42	胭脂杧	<i>M. indica</i>	中国云南
8	红凯特	<i>M. indica</i>	美国	43	杨杧	<i>M. indica</i>	中国云南
11	杉林 1 号	<i>M. indica</i>	中国台湾	44	龙杧	<i>M. indica</i>	中国云南
12	台农 1 号	<i>M. indica</i>	中国台湾	45	硕帅杧	<i>M. indica</i>	中国云南
13	蜜桃杧	<i>M. indica</i>	中国台湾	46	红玉	<i>M. indica</i>	中国海南
14	台农 2 号	<i>M. indica</i>	中国台湾	47	兴热 1 号	<i>M. indica</i>	中国海南
15	台芽杧	<i>M. indica</i>	中国台湾	48	黄玉	<i>M. indica</i>	中国海南
16	金煌杧	<i>M. indica</i>	中国台湾	49	金龙杧	<i>M. indica</i>	中国四川
17	贵妃杧	<i>M. indica</i>	中国台湾	50	新红 2 号	<i>M. indica</i>	中国四川
18	凤凰杧	<i>M. indica</i>	中国台湾	51	乳杧	<i>M. indica</i>	中国四川
19	桂热杧 23 号	<i>M. indica</i>	中国广西	52	龙眼香杧	<i>M. indica</i>	中国四川
21	农院 8 号	<i>M. indica</i>	中国广西	54	古巴大娃	<i>M. indica</i>	古巴
22	象牙 22	<i>M. indica</i>	中国广西	55	太太杧	<i>M. indica</i>	古巴
23	桂热杧 120 号	<i>M. indica</i>	中国广西	56	印度杧 902 号	<i>M. indica</i>	印度
24	桂香杧	<i>M. indica</i>	中国广西	57	秋实 1 号	<i>M. indica</i>	印度
25	柳州吕宋	<i>M. indica</i>	中国广西	58	印度杧 906 号	<i>M. indica</i>	印度
26	桂热杧 16-1 号	<i>M. indica</i>	中国广西	59	椰香	<i>M. indica</i>	印度
27	良余 1 号	<i>M. indica</i>	中国广西	60	龙井大杧	<i>M. indica</i>	中国海南
28	桂热杧 07-1 号	<i>M. indica</i>	中国广西	61	南逗迈 4 号	<i>M. indica</i>	泰国
29	桂热 4 号	<i>M. indica</i>	中国广西	62	永乐 1 号	<i>M. indica</i>	中国广西
31	桂热杧 07-2 号	<i>M. indica</i>	中国广西	64	肯盛顿	<i>M. indica</i>	澳大利亚
32	桂热杧 82 号	<i>M. indica</i>	中国广西	65	spooner	<i>M. indica</i>	澳大利亚
33	红苹杧	<i>M. indica</i>	中国广西	68	海豹杧	<i>M. indica</i>	印度
35	虎豹牙	<i>M. indica</i>	中国云南	69	巴基斯坦 413	<i>M. indica</i>	巴基斯坦

续表 1 145 份种质编号和名称

Tab. 1 Codes and names of tested 145 germplasms (continued)

序号 No.	中文名 Chinese name	拉丁名 Latin name	产地 Origin	序号 No.	中文名 Chinese name	拉丁名 Latin name	产地 Origin
70	巴基斯坦 44	<i>M. indica</i>	巴基斯坦	127	云热 032	<i>M. indica</i>	中国云南
71	越南红杧	<i>M. indica</i>	越南	129	龙州泰国杧	<i>M. indica</i>	中国广西
73	奶油香杧	<i>M. indica</i>	越南	130	暹罗杧	<i>M. indica</i>	泰国
74	三色杧	<i>M. indica</i>	越南	131	四合象牙	<i>M. indica</i>	中国广西
75	沙华绿	<i>M. indica</i>	越南	133	越南西贡引	<i>M. indica</i>	越南
77	缅甸红杧	<i>M. indica</i>	缅甸	135	艾普杧	<i>M. indica</i>	越南
78	水英达	<i>M. indica</i>	缅甸	136	串杧	<i>M. indica</i>	中国广西
79	秋杧	<i>M. indica</i>	缅甸	137	大三年杧 1 号	<i>M. indica</i>	中国云南
81	瓦城红杧	<i>M. indica</i>	缅甸	139	田阳 20-2	<i>M. persiciformis</i>	中国广西
83	泰引 1 号	<i>M. indica</i>	泰国	141	大头香杧	<i>M. indica</i>	中国云南
84	农桑	<i>M. indica</i>	泰国	142	阳红 1 号	<i>M. indica</i>	中国云南
86	金水仙	<i>M. indica</i>	泰国	143	大青蜜杧	<i>M. indica</i>	中国云南
87	泰引 3 号	<i>M. indica</i>	泰国	145	白皮杧	<i>M. indica</i>	中国广西
90	中山路 19-1	<i>M. persiciformis</i>	中国广西	147	田阳 20-5	<i>M. persiciformis</i>	中国广西
91	百东大道 19-24	<i>M. persiciformis</i>	中国广西	148	马帅	<i>M. indica</i>	缅甸
92	百东 19-29	<i>M. persiciformis</i>	中国广西	149	百色 20-4	<i>M. persiciformis</i>	中国广西
96	澳洲象牙	<i>M. indica</i>	澳大利亚	150	田阳 20-4	<i>M. persiciformis</i>	中国广西
97	桂热杧 2 号	<i>M. indica</i>	中国广西	151	田东 20-2	<i>M. persiciformis</i>	中国广西
98	泰国 14 号	<i>M. indica</i>	泰国	152	百色 20-3	<i>M. persiciformis</i>	中国广西
100	四季蜜杧	<i>M. indica</i>	泰国	153	田东 20-1	<i>M. persiciformis</i>	中国广西
103	帕拉英达	<i>M. indica</i>	缅甸	154	田东 20-1	<i>M. persiciformis</i>	中国广西
104	桂热杧 10-1 号	<i>M. indica</i>	中国广西	155	中山二路	<i>M. persiciformis</i>	中国广西
105	印度杧 7 号	<i>M. indica</i>	印度	156	百东 19-17	<i>M. persiciformis</i>	中国广西
106	田林 20-1	<i>M. persiciformis</i>	中国广西	157	百东 19-24	<i>M. persiciformis</i>	中国广西
107	桂热杧 108 号	<i>M. indica</i>	中国广西	159	百东 19-22	<i>M. persiciformis</i>	中国广西
108	印度杧 1 号	<i>M. indica</i>	印度	161	中山路 19-2	<i>M. persiciformis</i>	中国广西
109	平孟冬杧	<i>M. persiciformis</i>	中国广西	162	百东 19-26	<i>M. persiciformis</i>	中国广西
110	望漠 20-1	<i>M. persiciformis</i>	中国广西	164	望漠 20-25	<i>M. persiciformis</i>	中国广西
111	桂热杧 290 号	<i>M. indica</i>	中国广西	165	恒宁 9-11	<i>M. persiciformis</i>	中国广西
112	阿某杧	<i>M. indica</i>	缅甸	166	恒宁 19-1	<i>M. persiciformis</i>	中国广西
113	秋实 2 号	<i>M. indica</i>	中国广西	167	铜鼓广场 19-2	<i>M. persiciformis</i>	中国广西
114	扁桃 3 号	<i>M. persiciformis</i>	中国云南	169	恒宁 19-2	<i>M. persiciformis</i>	中国广西
115	桂热杧 285 号	<i>M. indica</i>	中国广西	170	东坪 19-9	<i>M. persiciformis</i>	中国广西
116	桂热杧 08-10 号	<i>M. indica</i>	中国广西	172	百西 19-1	<i>M. persiciformis</i>	中国广西
117	马切苏	<i>M. indica</i>	缅甸	173	东坪 19-4	<i>M. persiciformis</i>	中国广西
118	红象牙	<i>M. indica</i>	中国广西	174	田阳产业园 19-2	<i>M. persiciformis</i>	中国广西
119	新德隆杧	<i>M. indica</i>	缅甸	175	田林 20-4	<i>M. persiciformis</i>	中国广西
120	小红象牙	<i>M. indica</i>	中国广西	176	铜鼓广场 19-1	<i>M. persiciformis</i>	中国广西
121	本地红花杧	<i>M. indica</i>	中国广西	178	凌云 20-4	<i>M. persiciformis</i>	中国广西
122	云南土杧	<i>M. indica</i>	中国云南	180	右江财政局 19-1	<i>M. persiciformis</i>	中国广西
123	桔椽杧	<i>M. indica</i>	中国四川	183	东坪 19-5	<i>M. persiciformis</i>	中国广西
124	云南小菲杧	<i>M. indica</i>	中国云南	184	东坪 19-3	<i>M. persiciformis</i>	中国广西
125	印度杧 5 号	<i>M. indica</i>	印度	186	百东大道 19-12	<i>M. persiciformis</i>	中国广西
126	印度杧 6 号	<i>M. indica</i>	印度				

## 1.2 方法

1.2.1 基因组 DNA 提取 于 2021 年 9 月采集健康芒果叶片、扁桃叶片, 参照王家保等<sup>[18]</sup>的方法提取 DNA 并进行检测。

1.2.2 引物合成 课题组前期通过简化基因组测序成功开发了芒果 SSR 标记(相关数据未发表), 从开发的引物中筛选出 12 对扩增条带清晰、重复性好、稳定性高的 SSR 引物。实验所用 SSR 引物合成与加 M13 接头的 TP-M13-SSR 引物、5' 端带有荧光标记的 M13 正向引物(5'-CACGACG-TTGTAACGAC-3')均由上海生工生物工程有限公司完成。

1.2.3 PCR 扩增 PCR 扩增体系及程序参考高原等<sup>[19]</sup>稍作修改。PCR 反应体系: 模板 DNA (20 ng/ $\mu$ L) 1  $\mu$ L, 带接头正向引物 (10  $\mu$ mol/L) 0.1  $\mu$ L, 带荧光基团的接头引物 (10  $\mu$ mol/L) 0.4  $\mu$ L, 反向引物 (10  $\mu$ mol/L) 0.4  $\mu$ L, 2  $\times$  Taq PCR Master Mix 5  $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O 3.1  $\mu$ L, 共 10  $\mu$ L。

PCR 反应程序: 95  $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 95  $^{\circ}$ C 变性 30 s, 62~52  $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72  $^{\circ}$ C 延伸 30 s, 10 个循环, 每个循环降 1  $^{\circ}$ C; 95  $^{\circ}$ C 变性 30 s, 52  $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72  $^{\circ}$ C 延伸 30 s, 25 个循环; 72  $^{\circ}$ C 延伸 20 min, 4  $^{\circ}$ C 保存待用。

PCR 扩增产物经过纯化后在美国 ABI3730 基因测序仪上进行荧光检测, 收集原始数据。

1.2.4 数据统计与分析 利用 Gene Mapper 软件 3.0 分析 ABI 3730 收集的数据, 利用 Pop Gen 32 和 Power Marker 3.25 软件计算遗传多样性指标和多态性信息含量, 利用 NTSYS 2.10 软件 UPGMA

方法进行聚类并构建聚类图。

1.2.5 分子身份证构建 将每对引物获得的等位基因数按从小到大顺序排列, 依次从阿拉伯数字 1 开始赋值, 超过 9 的从英文字母 A 开始赋值, 将每份种质在 12 个位点的等位基因按照赋值编码表赋值, 获得每份种质特有的字符串即分子身份证。

## 2 结果与分析

### 2.1 荧光引物扩增结果多态性分析

课题组前期通过简化基因组测序成功开发了芒果 SSR 标记, 从开发的引物中筛选出 12 对扩增条带清晰、重复性好、稳定性高的 SSR 荧光引物(表 2)。利用 12 对荧光引物对 145 份芒果种质进行扩增, 计算获得遗传多样性指标和多态性信息含量(表 3)。12 对引物的观测等位基因数在 3~11 之间, 其中引物 Mgi061 和 Mgi135 最多为 11, 平均等位基因数为 6.25; 有效等位基因数在 2.2263~5.2468 之间, 平均值为 3.2838; 观察杂合度 ( $H_o$ ) 为 0.4122~0.6959, 平均值为 0.5858; 期望杂合度 ( $H_e$ ) 介于 0.5527~0.8003 之间, 平均值为 0.6725; Shannon 指数 ( $I$ ) 介于 0.9815~1.9269 之间, 平均值为 1.3383; Nei 基因多样性指数 ( $N_d$ ) 介于 0.5740~0.8094 之间, 平均值为 0.6702。多态信息含量 (PIC) 分布范围在 0.5036~0.7827 之间, 平均值为 0.6396。上述结果表明, 本研究筛选的 12 对引物在 145 份种质中的多态性较高。图 1 展示了部分种质在荧光引物 Mgi061 中的毛细管电泳图。

表 2 引物相关信息

Tab. 2 Characteristics of 12 polymorphic microsatellite makers

序号 No.	引物 Primer	正向引物 (5'-3') Forward primer sequence (5'-3')	反向引物 (3'-5') Reverse primer sequence (5'-3')	重复单元 Repeat motif
1	Mgi026	GGTAAGTAATGTGAAGGGGAGGG	ATTAGAGAAATGTCAATGACCAATTCA	(AT)4
2	Mgi037	CGTGAAAGCAAGAAGTTGTATCT	GAGGAAAGGAGAAGAAACCAATTAA	(AC)7
3	Mgi060	GTCCCCCTCACCCATAAAGC	TCTCCTCAATAATGCTGCCCA	(TCT)10
4	Mgi061	GCTTGGCTCGGTTTGAATCC	TGAACCTGCCCTTTAACCGT	(TA)11
5	Mgi070	GCCGAAATAGCAGAGTCAGA	AGCTGCAGGATTCTGACAAGA	(TTC)10
6	Mgi073	GGGGGCACTGCTTACTCAA	ACACGATAACAGATCAGGCGT	(AAG)6
7	Mgi081	CTGAGCCATAACCAGAGGC	CCCTAGGTGGTCACATGAGG	(CTT)7
8	Mgi084	CGTCCTTGCGTACTCGATCA	TTTGAAAACCACGCGCCAAT	(TCT)5
9	Mgi135	TCATGGGTCATTGGAGGAAAAGA	ACTGTCATTCATCGCATAACGT	(TA)8
10	Mgi145	GCACACACTTTCTGTTCTCCA	ACAATGGAAGTGCACCATGT	(AAT)7
11	Mgi154	GCGGAAAATAGTCTTTTGCCA	TGACTTTTTGTGCACGGATT	(ATT)9
12	Mgi187	CCGCCATGACCATGAAAACG	GCACTAATGTTCCCGCCAAC	(AAT)6

表 3 12 个 SSR 位点的等位基因数和多态性信息  
Tab. 3 Number of alleles and polymorphism of 12 SSR loci

引物 Primer	观测等位基因数 Observed number of alleles	有效等位基因数 Effective number of alleles	观测杂合度 Observation heterozygosity	期望杂合度 Expectations heterozygosity	Shannon 指数 Shannon information index	Nei 基因多样性 指数 Nei gene diversity	多态信息含量 PIC
Mgi026	5	2.8445	0.6824	0.6506	1.1713	0.6484	0.5783
Mgi037	7	2.4560	0.5782	0.5949	1.1828	0.5928	0.5350
Mgi060	4	3.0061	0.6959	0.6696	1.2031	0.6673	0.6044
Mgi061	11	5.2468	0.5385	0.8129	1.9269	0.8094	0.7827
Mgi070	6	4.4776	0.7800	0.7793	1.5961	0.7767	0.7368
Mgi073	6	3.0426	0.5067	0.6736	1.3660	0.6713	0.6320
Mgi081	3	2.5521	0.5235	0.6102	1.0162	0.6082	0.5391
Mgi084	4	2.2263	0.4933	0.5527	1.0182	0.5508	0.5036
Mgi135	11	3.6364	0.4122	0.7275	1.6192	0.7250	0.6792
Mgi145	5	2.6361	0.5772	0.6227	1.1888	0.6206	0.6681
Mgi154	9	4.9342	0.6316	0.8003	1.7889	0.7973	0.7630
Mgi187	4	2.3473	0.6096	0.5760	0.9815	0.5740	0.6524
平均	6.25	3.2838	0.5858	0.6725	1.3383	0.6702	0.6396

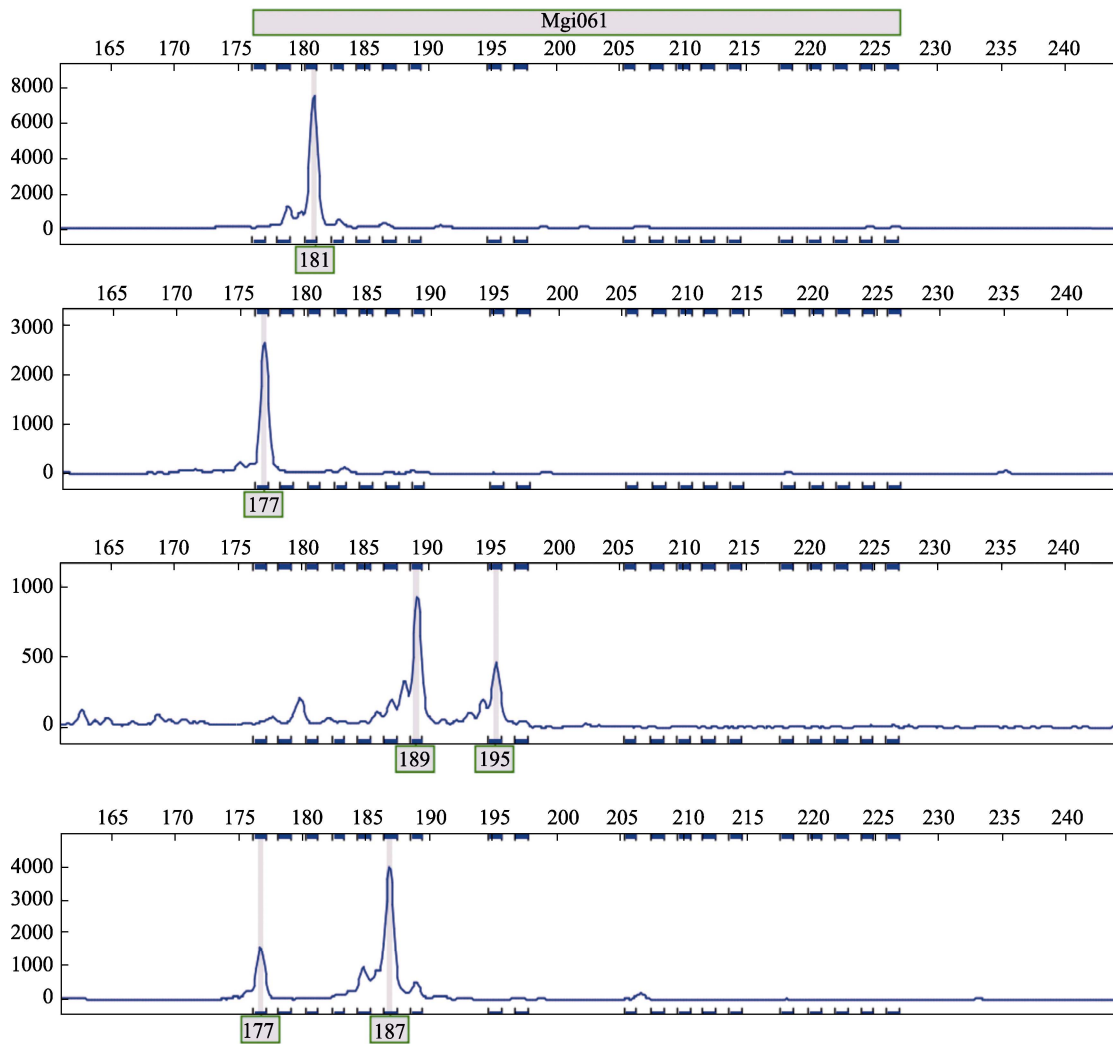


图 1 部分种质在引物 Mgi061 中的扩增图

Fig. 1 Amplification maps of some germplasms in primer Mgi061

## 2.2 杧果种质亲缘关系分析

基于 SSR 荧光标记扩增结果,用 NTSYS 2.10 软件构建遗传聚类图(图 2)。在遗传相似性系数为 0.7060 时,供试 145 份材料分为 2 个类群, I 类群包含 109 108 份杧果和 20 份扁桃,种质数量最多,占总数的 88.90%; II 类群包括 17 份材料,全部为扁桃。

在遗传相似性系数为 0.7330 时, I 类群分为 5 个亚群, I-1 亚群为 5 个亚群中种质数量最多的一个,包含 13 份扁桃和 51 份杧果,杧果有来自美国的汤米阿琼斯、爱文、圣心、法斯希尔、海顿、红凯特,缅甸的水英达、阿某杧、新德隆、帕拉英达、马帅,印度的 903、1 号、秋实 1 号,中国广西桂热系列和龙州泰国杧、农院 8 号、良余 1 号、白皮杧、小红象牙、象牙 22 号、象牙、桂青杧、秋实 2 号,中国云南的云热 302、阳红 1 号、勐底红杧、胭脂杧、云南矮杧、红苹、三蜜杧、杨杧,越南的奶油香杧实生、三色杧、越南西贡引,中国台湾的台农 1 号、杉林 1 号,古巴的大娃杧,中国四川的安宁红杧,泰国的暹罗杧,海南的兴热 1 号。I-2 亚群较少只有 4 份材料,即中国广西的桂热杧 120 号,中国四川的新红 2 号,古巴的太太杧,缅甸的马切苏; I-3 亚群包括 40 份材料,其中扁桃 6 份,其余 34 份杧果分别是中国台湾蜜桃杧、台农 2 号、台牙杧、金煌杧、贵妃杧、凤凰杧,泰国的泰引 1 号、3 号、泰国 14 号、南逗迈 4 号、四季蜜杧、农桑,印度 5 号、6 号、906 号,中国广西的串杧、桂热杧 08-10、四合象牙、本地红花杧、永乐 1 号,中国云南的虎豹牙、龙杧、菲杧、大青蜜杧、土杧,越南沙华绿、艾普、红杧,澳大利亚青杧,中国海南红玉,印尼海豹,巴基斯坦 413,中国四川的桔椽杧。I-4 亚群包括 10 份材料,来自中国四川的金龙、龙眼香杧、乳杧,中国云南的大头香杧、三年杧 1 号、硕帅杧,中国广西的柳州吕宋、桂热 4 号,缅甸的秋杧,印度的椰香; I-5 亚群包括 10 份种质,扁桃 1 份,美国布鲁斯,印度杧 7 号、澳大利亚肯盛顿、spooer,巴基斯坦 44,泰国金水仙,中国云南小菲杧,中国海南黄玉,中国广西桂热杧 07-2。

遗传相似性系数是反映种质亲缘关系远近的重要指标。本研究计算得到各种质间遗传相似性系数变化范围为 0.5676~1.000,平均为 0.7417。其中爱文与印度杧 1 号遗传相似性系数为 1.000,

说明在 145 份材料中爱文和印度杧 1 号之间亲缘关系最近,遗传差异很小;扁桃田阳 20-2 与大头香杧和硕帅杧、金煌杧与桂热杧 10-1 的遗传相似性系数最小,都为 0.5676,说明在 145 份材料中扁桃田阳 20-2 与大头香杧和硕帅杧、金煌杧与桂热杧 10-1 之间亲缘关系最远,遗传差异相对较大。

## 2.3 杧果种质分子身份证构建

将每对引物获得的等位基因数按从小到大顺序排列,依次从阿拉伯数字 1 开始赋值,超过 9 的从英文字母 A 开始赋值,未获得等位基因位点的标记为 0,将每份种质在 12 个位点获得的等位基因按照赋值编码表(表 4)赋值,获得每份种质特有的字符串即分子身份证。例如荧光引物 Mgi154 在供试材料中共获得 8 个等位基因片段,其中最片段为 212 bp 标记为 1,最大片段 274 bp 标记为 8,即可得到每份材料在引物 Mgi154 的字符串。以供试材料台农 1 号为例,在 12 个位点获得的等位基因为别 119、124、158/167、177、113/131、216/219、152/155、216/222、293、233/239、253/274、296,其对应赋值为 44、22、34、11、15、34、23、13、11、24、28、11,即台农 1 号的分子身份证为 442234111534231311242811,各供试材料的分子身份证见表 5。12 对荧光引物可区分 145 份供试材料,鉴定率达到 100%。

## 3 讨论

TP-M13-SSR 技术是近年发展起来的最新检测技术,它结合了 SSR 技术和荧光检测技术的特点,解决了传统的聚丙烯酰胺凝胶电泳技术检测精度和效率低的问题。该技术已成功运用于苹果<sup>[20]</sup>、梨<sup>[21]</sup>等果树的亲缘关系及种质鉴定领域,目前尚未见此技术应用于杧果研究。本研究利用 12 对 TP-M13-SSR 荧光引物对 145 份杧果种质及其近缘野生种进行扩增,引物多态性分析结果显示 12 对引物 PIC 分布范围在 0.5036~0.7827 之间。PIC 是衡量基因变异程度高低的多态信息含量指标,当 PIC>0.5 时,该引物为高度多态基因座<sup>[22]</sup>。本研究选取的 12 对荧光引物 PIC 值均高于 0.5,所有引物为高度多态性位点,12 对引物 PIC 平均值为 0.6396,此结果高于王明等<sup>[16]</sup>(0.49)和 NAZISH 等<sup>[23]</sup>(0.398)的研究结果,低于周立等<sup>[8]</sup>(0.661)和 DILLON 等<sup>[24]</sup>(0.720)的研究结果,说明 TP-M13-SSR 荧光引物可以为杧果的亲缘关系分析及种质鉴定提供研究数据。

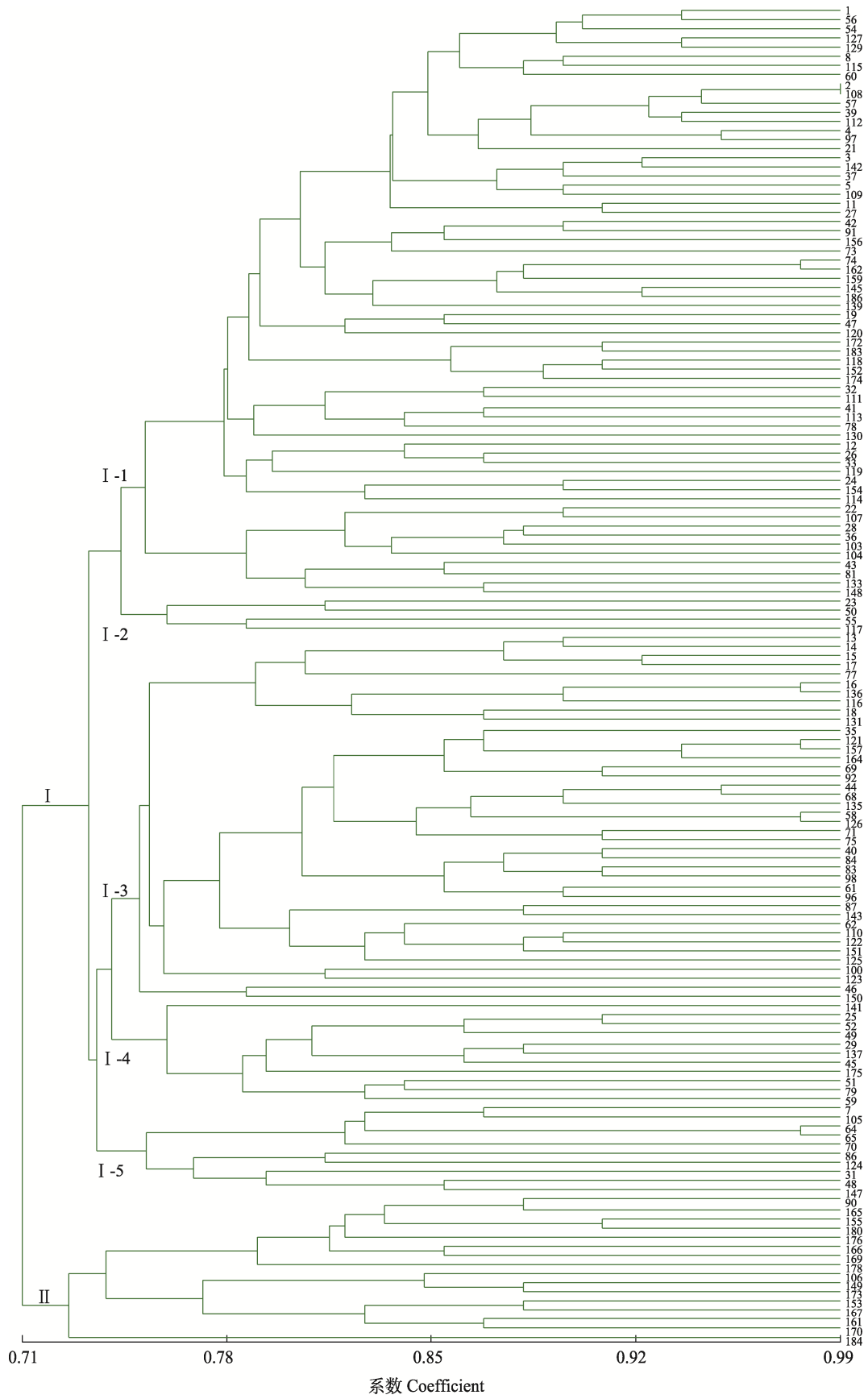


图 2 145 份种质遗传聚类图  
Fig. 2 Dendrogram of 145 germplasms

表 4 等位基因赋值标准  
Tab. 4 Alleles encoded standard

引物 Primer	编码 Code										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	A	B
Mgi026	111	115	117	119	121						
Mgi037	122	124	126	142	146	148	156				
Mgi060	152	155	158	167							
Mgi061	177	181	183	187	189	195	197	210	212	224	226
Mgi070	113	116	125	128	131	140					
Mgi073	205	213	216	219	223	228					
Mgi081	149	152	155								
Mgi084	216	219	222	225							
Mgi135	293	395	297	299	301	314	316	328	330	336	338
Mgi145	227	233	236	239	242						
Mgi154	212	253	256	259	265	268	271	274			
Mgi187	296	299	302	305							

表 5 145 份种质分子身份证  
Tab. 5 Molecular identity of 145 germplasms

序号 No.	种质名称 Germplasm name	分子身份证编码 Molecular ID	序号 No.	种质名称 Germplasm name	分子身份证编码 Molecular ID
1	汤米·阿琼斯	242434221522231144225522	36	三蜜杞	242414221433222314223323
2	爱文	442433005522221145242212	37	勐底红杞	242434221612232244245612
3	圣心	242434225512231133442612	39	安宁红杞	242233225522221444220012
4	法斯西尔	242434225522231245247722	40	菲杞	222324453422112311246622
5	海顿	442244335612331244242612	41	云南矮杞	222411001522222233452212
7	布鲁斯	242644231514332244242611	42	胭脂杞	222434BB5512221244222222
8	红凯特	242444225524331244225511	43	杨杞	222213AA4422233322253923
11	杉林 1 号	442634225524331133246612	44	龙杞	242324151333112211240022
12	台农 1 号	442234111534231311242811	45	硕帅杞	222314334422132311253823
13	蜜桃杞	243644563512131214240012	46	红玉	242423153555122414442612
14	台农 2 号	243634451512131211242612	47	兴热 1 号	442234451523221214222612
15	台芽杞	143634253512132214242312	48	黄玉	242400001413132314220000
16	金煌杞	123424563524122213242612	49	金龙杞	242244233522232444342222
17	贵妃杞	143634253524131214222612	50	新红 2 号	112234561312232314352212
18	凤凰杞	144624225524232234222212	51	乳杞	1222125645243322AA352223
19	桂热杞 23 号	244434453525221314222211	52	龙眼香杞	242214224524332200352222
21	农院 8 号	442413223522232455242722	54	古巴大娃	122234221524221134242522
22	象牙 22 号	122234561424122214223622	55	太太杞	241134991312231244347712
23	桂热杞 120 号	142213564522233444252712	56	印度杞 902 号	222433221522221244245522
24	桂香杞	44243400352222455440011	57	秋实 1 号	442433005522221444240000
25	柳州吕宋	442214223522332288252222	58	印度杞 906 号	242244001323132211252912
26	桂热杞 16-1 号	242424001544222216242612	59	椰香	1222138815241322AA222612
27	良余 1 号	142233225524221134246712	60	龙井大杞	242234221424221244445512
28	桂热杞 07-1 号	122213221133222344223312	61	南逗迈 4 号	222323563323112211246812
29	桂热 4 号	242212224522132211452323	62	永乐 1 号	242214564422222244223612
31	桂热杞 07-2 号	242444335612231144440000	64	肯盛顿	122214243614231244226711
32	桂热杞 82 号	142423001522123444442213	65	spooner	122214253614231244226711
33	红苹杞	442234001544221256452212	68	海豹杞	242324451333112211243622
35	虎豹牙	222444451323122414236712	69	巴基斯坦 413	122244451344232244226624

续表 5 145 份种质分子身份证  
Tab. 5 Molecular identity of 145 germplasms (continued)

序号 No.	种质名称 Germplasm name	分子身份证编码 Molecular ID	序号 No.	种质名称 Germplasm name	分子身份证编码 Molecular ID
70	巴基斯坦 44	222244251314112244552614	127	云热 032	222413221524232244242222
71	越南红杧	242334001413112245243622	129	龙州泰国杧	242213225522232244242522
73	奶油香杧实生	222434561111331144246712	130	暹罗杧	242413561522231255443723
74	三色杧	142434561544221245226712	131	四合象牙	14232400352222234240012
75	沙华绿	242334661333132245226622	133	越南西贡引	2422134A4544222315256623
77	缅甸红杧	142634153314332213226612	135	艾普杧	242344003423112215240022
78	水英达	2224132A1422222314453313	136	串杧	123424563524122213240012
79	秋杧	1222140034221322AA557712	137	大三年杧 1 号	242211003423332211253323
81	瓦城红杧	2222132A1422231344225922	139	田阳 20-2	444434565511221135242711
83	泰引 1 号	122224453323112311443812	141	大头香杧	242211881434132311353611
84	农桑	222324563422112311446814	142	阳红 1 号	242434225522231244445612
86	金水仙	442334BB4613132214442611	143	大青蜜杧	440044334424122311226611
87	泰引 3 号	240034353422122211446811	145	白皮杧	14444400152222255246611
90	中山路 19-1	252434471323122211127912	147	田阳 20-5	222414004611131214226722
91	百东大道 19-24	224434561512221234222612	148	马帅	2422134A452222324220012
92	百东 19-29	122244451334122214226912	149	百色 20-4	45121356242223229A147712
96	澳洲象牙	242323453423332211243612	150	田阳 20-4	442234451555122415247922
97	桂热杧 2 号	244434005522231445247722	151	田东 20-2	142244003445222214220012
98	泰国 14 号	222744453423112311340012	152	百色 20-3	22443322132222244246722
100	四季蜜杧	242314451122122215452623	153	田东 20-1	221214002425222277226723
103	帕拉英达	122413221423221344226623	154	田东 20-1	-12434003533122200000000
104	桂热杧 10-1 号	221233221412221324223723	155	中山二路 19-1	452434451223122311232813
105	印度杧 7 号	142214221334232244242611	156	百东 19-17	122434564555221244232712
106	田林 20-1	44121100352223229A127723	157	百东 19-24	242244451335122311232912
107	桂热杧 108 号	122434221422121214223522	159	百东 19-22	142434001322231255222612
108	印度杧 1 号	442433005522221445242212	161	中山路 19-2	441214771255122217120022
109	平孟冬杧	242444335612231144445622	162	百东 19-26	142434561544231255226712
110	望谟(土) 20-1	222244224445232211232312	164	望谟 20-25	242244451333122311226911
111	桂热杧 290 号	142213001522121244442222	165	恒宁 19-11	252434471233122211122823
112	阿某杧	442233003522221444222222	166	恒宁 19-1	441134452325122311222822
113	秋实 2 号	242413004522221314452212	167	铜鼓广场 19-2	251214772322232278227923
114	扁桃 3	342533003324222233224411	169	恒宁 19-2	451234472325122211238912
115	桂热杧 285 号	442434225524231244242211	170	东坪 19-9	251114471233222217222723
116	桂热杧 08-10 号	244424563544121214246612	172	百西 19-1	252433222522222247146823
117	马切苏	242633333514232314332722	173	东坪 19-4	4512117734222227A147712
118	红象牙	22243356152222244246622	174	田阳产业园 19-2	25141356352222247246722
119	新德隆杧	12223422552422236B456613	175	田林 20-4	122224254522332311232912
120	小红象牙	243434561512121314242522	176	铜鼓广场 19-1	454414772323122211228922
121	本地红花杧	242244451335122311230012	178	凌云 20-4	252434002355222317222713
122	云南土杧	222244004445222244236622	180	右江区财政局 19-1	454434001223122311222812
123	桔椽杧	241211451112222314232223	183	东坪 19-5	22143322252222247226822
124	云南小菲杧	242213BB16133322AA242513	184	东坪 19-3	151234563524222255126822
125	印度杧 5 号	142244223412122244222311	186	百东大道 19-12	142444005522221155246712
126	印度杧 6 号	242244001323132211250012			

本研究利用 12 对 SSR 荧光引物对 145 份材料进行扩增, 计算得到各种质间遗传相似性系数变化范围为 0.5676~1.000, 平均为 0.7417, 可见种质间的遗传差异较大, 亲缘关系较远。扁桃是我国特有的杧果近缘野生种, 其表型性状与杧果不同。在遗传相似性系数为 0.7060 时, 17 份扁桃独聚为 II 类, 其余 19 份未按照种属关系聚在一起, 而是与来自中国广西和云南的杧果交叉相聚于 I 类群, 这与谢江辉等<sup>[25]</sup>和罗海燕等<sup>[26]</sup>的研究结果相似, 究其原因可能是杧果存在适应性进化, 其与不同种源的扁桃基因相互渗透, 引起种源基因的异质性。在遗传相似性系数为 0.7330 时, 可进一步将 I 类群分为 5 个亚群, 其中 I-1 (包含 51 份杧果种质) 和 I-3 (包含 40 份杧果种质) 2 个亚群种质数量最多, 占有所有杧果种质(共计 99 份)的 91.92%。I-1 亚群中杧果种质主要来自美国、印度、缅甸、中国广西和云南(共计 42 份, 占 82.35%), I-3 亚群主要来自中国台湾、泰国、越南、印度、中国广西和云南(共计 29 个, 占 80.56%), 可见供试种质的整体聚类结果与其地理来源基本一致。聚类结果也同时反映了杧果品种(系)的选育历史, 爱文来自美国佛罗里达州, 其亲本未知, 本研究中爱文和印度杧 1 号之间的相似性系数为 1.000, 说明二者之间的遗传差异很小, 美国佛罗里达州杧果品种多是从印度品种后代选育而来, 推测爱文可能是印度杧 1 号的后代; 台农 1 号是美国海顿和爱文的杂交后代, 三者亲缘关系很近, 相似性系数分别为 0.7838、0.8243、0.8514, 一起聚在 I-1 亚群; 乳杧是龙眼香杧的实生后代, 二者相似性系数为 0.8373, 共同聚在 I-4 亚群, 这一结果与罗世杏等<sup>[27]</sup>的研究结果相同; 台湾蜜桃杧是爱文的杂交后代, 本研究中二者聚在不同亚群, 蜜桃杧与其他来自中国台湾的品种如台农 2 号、台牙杧、金煌杧、贵妃杧等聚在 I-3 亚群, 爱文与其来源相同的美国品种圣心、红凯特等聚在 I-1 亚群, 出现这一结果的原因可能是杧果在长期开放授粉和自然选择的条件下, 培育的新品种在很好适应各个育种地自然条件的同时, 也拥有了相似的遗传基础, 因而形成了因地而异的品种群<sup>[28]</sup>。

分子身份证是在 DNA 指纹图谱的基础上提出的一个概念, 即将指纹图谱进行编码赋值, 可以更加简单明了地识别和检索种质资源, 是鉴定种质资源的一种方法。目前, 果树种质资源的分

子身份证研究较少<sup>[29-31]</sup>, 关于杧果分子身份证研究仅见 2 项, 即王明等<sup>[16]</sup>利用 7 对 SSR 引物产生的指纹图谱信息区分 30 个杧果品种, 每一对引物可平均区分 4.28 个品种; 姚全胜等<sup>[17]</sup>以 4 对核心 SSR 引物指纹图谱鉴别 11 个杧果品种, 每一对引物可平均区分 2.75 个品种。TP-M13-SSR 是近年发展起来的最新检测技术, 结合了 SSR 技术和荧光检测技术的特点, 具有高检测精度、高效率等优点, 前人研究表明该技术比目前广泛采用的变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测技术准确性更高、重复性更好、效率更高<sup>[32-34]</sup>。本研究利用 12 对 SSR 荧光引物对 145 份材料进行扩增获得指纹图谱, 采用数字和字母相结合的编码方式获得分子身份证, 通过分子身份证进行种质鉴定, 每一对引物可平均区分 12.4 份种质, 鉴定率明显高于王明和姚全胜, 由此可见荧光 SSR 引物在杧果种质鉴定上更具优势。

## 参考文献

- [1] 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. 中国杧果科学研究 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)
- [2] UPOV. Guidelines for DNA-profiling: molecular markers selection and database construction[S]. Geneva: Office of the Union, 2010, 1-13.
- [3] 尹宝颖, 张媛, 孙福来. 苹果 F<sub>1</sub> 群体的 SSR 鉴定与遗传多样性分析[J]. 河北农业大学学报, 2019, 42(5): 46-51.  
YIN B Y, ZHANG Y, SUN F L. Identification and genetic diversity of apple F<sub>1</sub> hybrids based on SSR markers[J]. Journal of Hebei Agricultural University, 2019, 42(5): 46-51. (in Chinese)
- [4] 王斐, 张艳杰, 欧春青, 李佳纯, 杨冠宇, 马力, 姜淑苓. 梨品种 SSR 分子鉴定体系的建立及应用[J]. 分子植物育种, 2021, 19(22): 7499-7509.  
WANG F, ZHANG Y J, OU C Q, LI J C, YANG G Y, MA L, JIANG S L. SSR identification system of pear varieties and its application[J]. Molecular Plant Breeding, 2021, 19(22): 7499-7509. (in Chinese)
- [5] 王璐伟, 沈志军, 李贺欢, 潘磊, 牛良, 崔国朝, 曾文芳, 王志强, 鲁振华. 基于 SSR 荧光标记的 79 份桃种质遗传多样性分析[J]. 中国农业科学, 2022, 55(15): 3002-3017.

- WANG L W, SHEN Z J, LI H H, PAN L, NIU L, CUI G C, ZENG W F, WANG Z Q, LU Z H. Analysis of genetic diversity of 79 cultivars based on SSR fluorescence markers for peach[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2022, 55(15): 3002-3017. (in Chinese)
- [6] 李焕苓, 田婉莹, 孙进华, 张新春, 张蕾, 王果, 王树军, 王家保. 基于 SSR 和 InDel 标记的海南荔枝种质资源遗传多样性分析[J]. *分子植物育种*, 2018, 16(4): 1343-1356.
- LI H L, TIAN W Y, SUN J H, ZHANG X C, ZHANG L, WANG G, WANG S J, WANG J B. Analysis of genetic diversity on litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) germplasm resources from Hainan by SSR and InDel markers[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2018, 16(4): 1343-1356. (in Chinese)
- [7] 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 seedling resources of mango (*Mangifera indica* L.) by SSR markers[J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2011, 32(10): 1828-1832. (in Chinese)
- [8] 周立, 罗聪, 何堂熹, 余海霞, 何新华. 基于 EST-SSR 标记的芒果品种遗传多样性与亲缘关系分析[J]. *分子植物育种*, 2020, 18(11): 3797-3806.
- ZHOU L, LUO C, HE T X, YU H X, HE X H. Analysis of genetic diversity and relationship of mango varieties based on EST-SSR markers[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2020, 18(11): 3797-3806. (in Chinese)
- [9] OHTSUBO K, NAKAMURA S. Cultivar identification of rice (*Oryza sativa* L.) by polymerase chain reaction method and its application to processed rice products[J]. *Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55(4): 1501-1509.
- [10] PAN Y B. Databasing molecular identities of sugarcane (*Saccharum* spp.) clones constructed with microsatellite (SSR) DNA markers[J]. *American Journal of Plant Sciences*, 2010, 1(2): 87-94.
- [11] 祁伟. 应用 ISSR 和 SRAP 分子标记绘制红麻与蓖麻 DNA 指纹图谱[D]. 福州: 福建农林大学, 2008.
- QI W. Peptide the fingerprint bands of kenaf *Hibiscus cannabinus* L. and castor *Ricinus communis* L. with ISSR and SRAP molecular marker[D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2008. (in Chinese)
- [12] 艾呈祥, 张力思, 魏海蓉, 苑克俊, 金松南, 刘庆忠. 甜樱桃品种 SSR 指纹图谱数据库的建立[J]. *中国农学通报*, 2007(5): 55-58.
- AI C X, ZHANG L S, WEI H R, YUAN K J, JIN S N, LIU Q Z. Construction of molecular fingerprinting database for sweet cherry using SSR markers[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2007(5): 55-58. (in Chinese)
- [13] 陈昌文, 曹珂, 王力荣, 朱更瑞, 方伟超. 中国桃主要品种资源及其野生近缘种的分子身份证构建[J]. *中国农业科学*, 2011, 44(10): 2081-2093.
- CHEN C W, CAO K, WANG L R, ZHU G R, FANG W C. Molecular ID establishment of main China peach varieties and peach related species[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2011, 44(10): 2081-2093. (in Chinese)
- [14] 王慧玲, 闫爱玲, 孙磊, 张国军, 王晓玥, 徐海英. 13 个中国葡萄优新品种的分子身份证构建[J]. *生物技术通报*, 2016, 32(4): 137-142.
- WANG H L, YAN A L, SUN L, ZHANG G J, WANG X Y, XU H Y. Molecular ID establishment of 13 Chinese newly-developed grape cultivars[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2016, 32(4): 137-142. (in Chinese)
- [15] 冉昆, 隋静, 王宏伟, 魏树伟, 张勇, 董冉, 董肖昌, 王少敏. 利用 SSR 荧光标记构建山东地方梨种质资源分子身份证[J]. *果树学报*, 2018, 35(Suppl. 1): 71-78.
- RAN K, SUI J, WANG H W, WEI S W, ZHANG Y, DONG R, DONG X C, WANG S M. Using the fluorescent labeled SSR markers to establish the molecular ID of pear germplasm resources in Shandong[J]. *Journal of Fruit Science*, 2018, 35(Suppl. 1): 71-78. (in Chinese)
- [16] 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 and fingerprint construction for mango cultivars in China[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2015, 46(7): 1154-1159. (in Chinese)
- [17] 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 SSR fingerprint and variety identification of 11 mango varieties[J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2009, 30(11): 1572-1576. (in Chinese)
- [18] 王家保, 王令霞, 刘志媛, 杜中军, 易小平, 徐碧玉. 芒果 DNA 提取方法比较及 ISSR 反应体系的优化[J]. *生物技术*, 2005(5): 37-41.
- WANG J B, WANG L X, LIU Z Y, DU Z J, YI X P, XU B Y. Comparison of genomic DNA extraction methods and optimization of ISSR-PCR reaction systems for mango (*Mangifera indica* L.)[J]. *Biotechnology*, 2005(5): 37-41. (in Chinese)
- [19] 高源, 王昆, 田路明, 曹玉芬, 刘凤之. 应用 TP-M13-SSR 技术鉴定苹果品种[J]. *果树学报*, 2010, 27(5): 833-837.
- GAO Y, WANG K, TIAN L M, CAO Y F, LIU F Z. Identification of apple cultivars by TP-M13-SSR technique[J]. *Journal of Fruit Science*, 2010, 27(5): 833-837. (in Chinese)

- [20] 侯丽媛, 董艳辉, 聂园军, 邓舒, 肖蓉, 张春芬, 李亚莉, 赵菁, 王育川, 曹秋芬. 苹果属种质 TP-M13-SSR 亲缘关系及遗传多样性分析[J]. 山西农业科学, 2020, 48(9): 1371-1378, 1522.  
HOU L Y, DONG Y H, NIE Y J, DENG S, XIAO R, ZHANG C F, LI Y L, ZHAO J, WANG Y C, CAO Q F. Analysis of phylogenetic relationship and genetic diversity of TP-M13-SSR technique for some malus germplasm[J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2020, 48(9): 1371-1378, 1522. (in Chinese)
- [21] 高源, 田路明, 刘凤之, 曹玉芬. TP-M13-SSR 技术在梨遗传多样性研究中的应用[J]. 果树学报, 2011, 28(3): 394-399.  
GAO Y, TIAN L M, LIU F Z, CAO Y F. TP-M13-SSR technique and its applications in the analysis of genetic diversity for pear germplasm resources[J]. Journal of Fruit Science, 2011, 28(3): 394-399. (in Chinese)
- [22] BOTSTEIN D, WHITE R L, SKOLNICK M, DAVIS R W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms[J]. American Journal of Human Genetics, 1980, 32(3): 314-331.
- [23] NAZISH T, SHABBIR G, ALI A, ALLAH S S, NAEEM M, JAVED M, BATOOL S, ARSHAD H, HUSSAIN S B, ASLAM K, SEHER R, TAHIR M, BABER M. Molecular diversity of Pakistani mango (*Mangifera indica* L.) varieties based on microsatellite markers[J]. Genetics and Molecular Research, 2017, 16(2): 1-9.
- [24] DILLON N L, BALLY I S E, WRIGHT C L, HUCKS L, INNES D J, DIETZGEN R G. Genetic diversity of the Australian National Mango Genebank[J]. Scientia Horticulturae, 2013, 150: 213-226.
- [25] 谢江辉, 刘成明, 马蔚红, 雷新涛. 杧果种质遗传多样性的 RAPD 分析[J]. 果树学报, 2005, 22(6): 649-653.  
XIE J H, LIU C M, MA W H, LEI X T. Analysis of genetic relationships among mango germplasm by RAPD markers[J]. Journal of Fruit Science. 2005, 22(6): 649-653. (in Chinese)
- [26] 罗海燕, 应东山, 黄建峰, 彭素娜, 洪继旺, 王明, 陈业渊. 78 份杧果种质资源 AFLP 分析[J]. 热带作物学报, 2015, 36(12): 2130-2137.  
LUO H Y, YING D S, HUANG J F, PENG S N, HONG J W, WANG M, CHEN Y Y. AFLP analysis of the genetic diversity of 78 mango germplasm resources[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2015, 36(12): 2130-2137. (in Chinese)
- [27] 罗世杏, 唐玉娟, 黄国弟, 宋恩亮, 何江, 宁琳, 赵英. 利用 SRAP 分子标记分析杧果种质遗传多样性[J]. 热带作物学报, 2018, 39(12): 2369-2376.  
LUO S X, TANG Y J, HUANG G D, SONG E L, HE J, NING L, ZHAO Y. Genetic diversity analysis of mango germplasm using SRAP markers[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2018, 39(12): 2369-2376. (in Chinese)
- [28] MALO S E. Mango and avocado cultivars present status and future developments[J]. Proceedings of Florida State Horticultural Society, 1970, 14: 74-85.
- [29] 刘伟, 李森, 李桂祥, 董晓民, 高晓兰, 张安宁. 应用 SSR 荧光标记法构建山东地方桃种质资源分子身份证[J]. 山东农业科学, 2022, 54(2): 6-13.  
LIU W, LI M, LI G X, DONG X M, GAO X L, ZHANG A N. Using fluorescent labeled SSR markers to establish molecular ID of peach germplasm resources from Shandong province[J]. Shandong Agricultural Sciences, 2022, 54(2): 6-13. (in Chinese)
- [30] 杜晶晶, 刘国银, 魏军亚, 刘德兵, 杨小振. 基于 SSR 标记构建葡萄种质资源分子身份证[J]. 植物研究, 2013, 33(2): 232-237.  
DU J J, LIU G Y, WEI J Y, LIU D B, YANG X Z. Establishment of molecular ID for grape germplasm based on SSR markers[J]. Bulletin of Botanical Research, 2013, 33(2): 232-237. (in Chinese)
- [31] 张靖国, 田瑞, 陈启亮, 杨晓平, 胡红菊. 基于 SSR 标记的梨栽培品种分子身份证的构建[J]. 华中农业大学学报, 2014, 33(1): 12-17.  
ZHANG J G, TIAN R, CHEN Q L, YANG X P, HU H J. Establishment of molecular ID for pear cultivars based on SSR markers[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2014, 33(1): 12-17. (in Chinese)
- [32] 易红梅. 基于毛细管电泳荧光标记的玉米品种 SSR 高通量检测体系的建立研究[D]. 北京: 首都师范大学, 2006.  
YI H M. Establishment a high throughput detection system of SSR markers fitting for maize variety based on capillary electrophoresis with fluorescence[D]. Beijing: Capital Normal University, 2006. (in Chinese)
- [33] 陈雅琼, 李凤霞, 李锡坤, 徐军, 张磊, 王绍美, 孙玉合. 烟草 SSR 荧光标记与毛细管电泳检测技术研究[J]. 中国烟草科学, 2011, 32(2): 66-70, 80.  
CHEN Y Q, LI F X, LI X K, XU J, ZHANG L, WANG S M, SUN Y H. Fluorescent detection and capillary electrophoresis in tobacco SSR[J]. Chinese Tobacco Science, 2011, 32(2): 66-70, 80. (in Chinese)
- [34] 程本义, 夏俊辉, 龚俊义, 杨仕华. SSR 荧光标记毛细管电泳检测法在水稻 DNA 指纹鉴定中的应用[J]. 中国水稻科学, 2011, 25(6): 672-676.  
CHEN B Y, XIA J H, GONG J Y, YANG S H. Application of capillary electrophoresis detection with fluorescent SSR markers in rice DNA finger print identification[J]. Chinese Journal of Rice Science, 2011, 25(6): 672-676. (in Chinese)