

# 三十七个山东牡丹品种 DNA 指纹图谱构建与 EST-SSR 标记遗传多样性分析

杨志刚, 朱 栋, 罗 兵, 孙海燕

(常熟理工学院 生物工程系, 江苏 常熟 215500)

**摘 要:**以中国常熟尚湖牡丹园引栽的 37 个山东牡丹品种为试材,采用筛选出的 10 对多态性高、稳定性好且在染色体上分布均匀的 EST-SSR 标记引物,研究山东牡丹 37 个品种 DNA 指纹图谱和遗传多样性。结果表明:10 对 EST-SSR 标记引物在 37 份材料中共扩增出了共计 58 个多态性基因型,平均每对引物 5.8 个,变幅 2~13 种;10 对引物的多态性频率(FP)平均值为 0.60;筛选出的 4 对核心引物可以将 37 个牡丹品种完全区分,以遗传相似系数 0.69 为阈值可将供试 37 个试牡丹品种分成 5 类。EST-SSR 标记在供试牡丹品种间多态性差异较大,适合用于牡丹的 DNA 指纹图谱的构建。

**关键词:**EST-SSR;DNA 指纹图谱;遗传多样性;牡丹

**中图分类号:**S 685.11 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)07-0077-05

牡丹(*Paeonia suffruticosa* Andrews.)花大色艳,花香袭人,有“国色天香”之称,深受人们喜爱。前人关于 DNA 指纹技术在牡丹品种鉴别上的应用已做了很多研究。朱红霞<sup>[1]</sup>利用 AFLP 标记对牡丹品种的分类进行了初步的探索。Hosoki 等<sup>[2]</sup>利用 RAPD 标记技术对牡丹品种和野生牡丹品种的 DNA 序列进行了尝试性的分析。以微卫星序列为基础的 SSR 标记因其技术比较成熟,成为当前植物品种 DNA 指纹图谱数据库的首选标记<sup>[3]</sup>。李保印<sup>[4]</sup>利用 SSR 标记技术研究了中原牡丹品种初级核心种质和遗传多样性,并建立了核心种质。王森等<sup>[5]</sup>研究讨论了牡丹品种的 SSR-PCR 的反应条件。SSR 分子标记技术可以用来区分牡丹品种,这是一个不容争辩的事实<sup>[6]</sup>。近年来 EST (Expressed Sequence Tags)发展十分迅速,而 EST-SSR 与其它鉴别途径相比,是一种相对准确、简便、经济的途径<sup>[7]</sup>。Temnykh 等<sup>[8]</sup>的研究表明,牡丹 EST-SSR 位点绝大多数都具有多

态性潜能。张艳丽等<sup>[9]</sup>对 6 个滇牡丹不同花色类群 DNA 为模板对 EST-SSR 引物进行了筛选。山东菏泽牡丹现已成为全世界面积最大、品种最多的牡丹生产基地、培育基地、出口基地以及观赏基地<sup>[10]</sup>。而针对目前山东品系牡丹开展 DNA 指纹图谱构建及遗传多样性的研究尚鲜见报道。现采用 EST-SSR 标记构建中国常熟尚湖牡丹园 37 份山东品系牡丹品种的 DNA 指纹图谱并进行遗传多样性分析,以期对牡丹品种 DNA 指纹鉴定提供技术支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试品种为中国常熟尚湖牡丹园引栽的 37 份山东牡丹品种(表 1)。

### 1.2 试验方法

1.2.1 DNA 提取 按照 CTAB 法提取牡丹基因组 DNA:研钵中加入 100 mg 牡丹叶子样品和 700  $\mu$ L CTAB 提取液,充分研磨;转移混合液至 1.5 mL 离心管中,65℃水浴 30 min,每隔 5 min 振荡混匀;取出离心管,冷却到室温后 8 000 r/min 离心 2 min;取出离心管,上清液转移至 1.5 mL 离心管中,加入等体积氯仿混匀,振荡 10 min;12 000 r/min 常温离心 10 min;转移上清液至 1.5 mL 离心管中,加等体积异丙醇,混匀后静置 10 min,12 000 r/min 离心 10 min,弃上清液。70%~75%乙醇

**第一作者简介:**杨志刚(1977-),男,硕士,高级实验师,研究方向为植物功能基因研究与开发。E-mail:zhigangyang77@sina.cn.

**基金项目:**江苏农业科技支撑资助项目(BE2011445);苏州市科技计划资助项目(SZS201102,SYN201110,SNG201323);江苏省大学生实践创新训练计划资助项目(201310333032Y);苏州市吴江区科技计划资助项目(WN201311,WN201317);常熟市科技计划资助项目(CS201205)。

**收稿日期:**2014-11-10

漂洗沉淀 2 次,超净工作台上吹干;加 ddH<sub>2</sub>O 50  $\mu$ L,沉淀 DNA 溶解后冰箱保存备用。

表 1 37 种山东品系优质牡丹品种基本信息

Table 1 37 kinds of high-quality varieties of peony Shandong strains basics

编号 No.	品种 Cultivar	花色 Color	编号 No.	品种 Cultivar	花色 Color
1	“种生紫”	紫	20	“紫金荷”	紫
2	“紫重楼”	紫	21	“雪映桃红”	粉
3	“萍实艳”	银红	22	“百园红霞”	红
4	“乌龙捧盛”	紫	23	“乌金耀辉”	墨紫
5	“紫二乔”	紫红	24	“蓝绣球”	蓝
6	“宏图”	胭脂红	25	“黑花魁”	墨紫
7	“银红巧对”	银红	26	“冠世墨玉”	黑
8	“彩绘”	浅红	27	“曹州红”	红
9	“赛雪塔”	白	28	“迎日红”	火红
10	“五星红”	红	29	“卷叶红”	银红
11	“朱砂垒”	浅红	30	“鲁荷红”	浅红
12	“赵粉”	粉	31	“青龙卧墨池”	墨紫
13	“首案红”	紫红	32	“似品荷”	红
14	“种生红”	火红	33	“墨池争辉”	墨紫
15	“十八号”	银红	34	“太空牡丹”	紫红
16	“霓虹焕彩”	火红	35	“张家港”	紫
17	“绿幕隐玉”	绿	36	“蓝芙蓉”	蓝
18	“俊艳红”	浅红	37	“百年牡丹”	白
19	“大红剪绒”	红			

1.2.2 引物信息 以张艳丽等<sup>[9]</sup>对滇牡丹不同花色类群开发的 10 对 EST-SSR 引物为该研究的候选引物(表 2),

表 2 10 对 EST-SSR 引物信息

Table 2 Information of 10 EST-SSR markers

引物	重复单元	序列	退火温度 /°C	产物片段 /bp
P1	(CTC) <sub>4</sub>	F: TGGCGCTCCACACGGTATCTT	58.24	228
		R: ATCGTGTTCGGTTGCGCCGGT	59.08	
P2	(GCA) <sub>4</sub>	F: TCGATGCCCGCAGGGTTTCT	58.42	381
		R: ACAGGCTTGTTCGCGCCTTGT	58.01	
P3	(AAG) <sub>4</sub>	F: TCCCAAAAGAGGGCGGTGCT	58.25	306
		R: TCCCTCCGAAACGGCATGT	58.05	
P4	(TTAA) <sub>3</sub>	F: ATGGCGAGATTGCCCGTCT	58.20	228
		R: TGCAGTACCAACCATCCGTCA	58.10	
P5	(TCTGCG) <sub>3</sub>	F: CGTCATAGTAACGCCGCCGA	59.85	208
		R: TCACGTTGGATGTTCACTGCCCA	58.76	
P6	(AGA) <sub>5</sub>	F: CGGCGTGCTTTGAGACGTG	58.91	157
		R: TGCCTCGAAAACTCGCTTCTCC	59.48	
P7	(CATTT) <sub>3</sub>	F: AGCGTGAAGCAACAAGCCGTG	58.82	167
		R: ACTGCGTTTCAAGGCGAGGA	59.01	
P8	(ACTGA) <sub>3</sub>	F: AGCAGAGAAGGTAGGCGGCG	58.59	171
		R: AGCGCTGAAGGCCAGTCATGG	59.45	
P9	(CAC) <sub>4</sub>	F: GGGGACTCAAATCCTTGCGAAAAACCA	59.68	189
		R: AGGCCTAGTTTGGTCTGGGCG	58.83	
P10	(GGT) <sub>4</sub>	F: CAGCTGGCTTCCACGCAGT	59.63	177
		R: TAGCCATGCCGCTCCACCT	59.97	

表 3 EST-SSR 引物扩增的信息

Table 3 Basic results of SSR markers detection

标记引物	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10
FP 值	0.70	0.50	0.66	0.41	0.54	0.68	0.55	0.69	0.70	0.55
基因型数	3	3	2	9	6	6	6	5	5	13

引物均由生工生物(上海)股份有限公司合成, PAGE 纯化。

1.2.3 SSR-PCR 扩增 20  $\mu$ L 反应液包括 10  $\times$  PCR buffer、0.1 mmol/L dNTP、1 U *Taq* DNA 聚合酶、1.5 mmol/L Mg<sup>2+</sup>、50 ng DNA 模板和 0.3  $\mu$ mol/L EST-SSR 引物。反应程序为 94℃ 预变性 4 min; 94℃ 变性 1 min, 55℃ 退火 60 s, 72℃ 延伸 1 min, 共 35 个循环; 72℃ 延伸 10 min。PCR 扩增产物选用 60 g/L 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳分离, 36 W 电泳 3 h。参考王风格等<sup>[11]</sup>快速银染法, 稍加修改如下: 50% 无水乙醇、2.5% 冰醋酸组成的固定液固定 5 min; 双蒸水快速漂洗 1 次; 0.2% AgNO<sub>3</sub> 溶液染色 5 min; 1.5% NaOH、0.4% 甲醛组成的显影液显影; 固定液定影。

### 1.3 数据分析

根据 EST-SSR 扩增产物在电泳凝胶上的相对位置, 观察稳定且易于辨别的差异性条带, 选出具有多态性的引物, 记录并进行统计分析, 建立其 DNA 指纹图谱。统计每对引物扩增的条带数, 计算多态性频率(frequency of polymorphism, FP)。用 Excel 的方法计算物种间相似系数(GS)和遗传距离指数(D), 根据所得遗传系数矩阵用 NTSYS2.1 软件进行统计分析并聚类分析图。

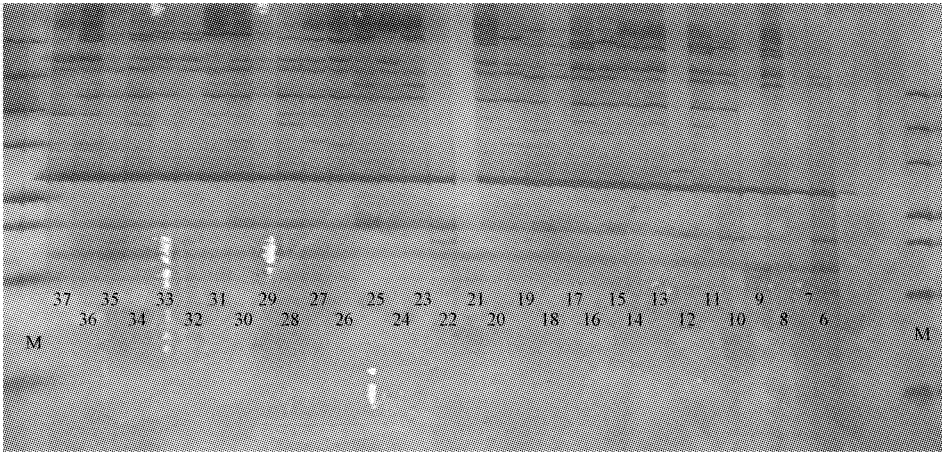
## 2 结果与分析

### 2.1 EST-SSR 标记多态性分析

由表 3 可知, 用 10 对 EST-SSR 标记引物在 37 份供试牡丹中共检测到 58 个多态性基因型, 每对引物的基因型数不等, 变幅为 2~13 个, 平均 5.8 个, 这些引物对所有供试材料的扩增结果重复性好, 特异性高, 条带清晰且多态性丰富(图 1)。其中引物 P10 扩增的基因型最多, 为 13 个; P3 基因型最少, 为 2 个, 多态性最差。10 对 SSR 引物平均的 FP 值为 0.60, 其中 FP 值最大为 P1 和 P9 的 0.70, 其次是 P8 的 0.69, 最小为 P4 的 0.41。

### 2.2 DNA 指纹图谱分析

采用上述 10 对 EST-SSR 引物对 37 个品种进行指纹分析, 挑选出多态性相对丰富的引物进行组合鉴别, 选择 P4、P6、P7、P10 共 4 对核心引物进行组合, 即可将 37 份供试牡丹品种完全区分开(图 2)。其中引物 P4 在供试的 37 个牡丹品种中扩增的多态性基因型数达 9 个, 可以区分 30 个品种; 引物 P6 可以区分 13 个品种; 引物 P7 可以区分 18 个品种; 引物 P10 可以区分 27 个品种。



注:M为 DNA Marker 从上至下分子量分别为 500、400、300、200、150、100、50 bp,序号与牡丹名称对照参见表 1。

Note:M is DNA Markers,from top to bottom,molecular weight is 500,400,300,200,150,100,50 bp,serial numbers and the names of peony reference table 1.

图 1 引物 P10 对 6~37 号牡丹品种扩增结果  
Fig. 1 Primer P10 for 6 to 37 varieties of peony amplification results

	品种编号																																					
引物条带	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	
P4-610	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	0	
P4-590	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	0	1	1	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	1	1	0	1	0	
P7-507	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
P6-485	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
P10-470	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0
P6-455	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	1	1	
P4-440	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	1	0	
P4-410	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	
P7-405	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
P7-390	0	0	0	1	1	1	0	1	0	1	1	0	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	
P10-383	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	
P4-365	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	
P6-275	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	1	1	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	
P10-260	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1	0	0	
P10-248	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0	
P7-208	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	1	
P10-191	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	
P7-164	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	
P10-99	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	
P7-74	1	0	1	1	0	1	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
P7-42	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	0	1	0	

注:1表示有电泳条带;0表示无电泳条带;品种编号参照表 1。  
Note:1,Bands;0,No bands,serial numbers reference table 1.

图 2 37 个牡丹品种 DNA 指纹图谱  
Fig. 2 DNA fingerprints of 37 tested materials

2.3 遗传多样性分析

通过计算遗传系数矩阵,利用 NTsys 软件绘制聚类分析图,图 3 表明,37 个牡丹品种相似系数的变化范围为 0.56~0.96,这表明供试品种遗传差异比较大,遗传基础丰富。在相似系数 0.69 处供试品种可分为 5 个主

要类群,从左至右分别为类群 1、类群 2、类群 3、类群 4、类群 5。类群 1 包括 4 个品种,即“种生紫”、“紫重楼”、“雪映桃红”、“百园红霞”;类群 2 包括 3 个品种,即“萍实艳”、“乌龙捧盛”、“紫二乔”;类群 3 包括 15 个品种,其系谱关系较为复杂;类群 4 包括 10 个品种,其中“首案红”



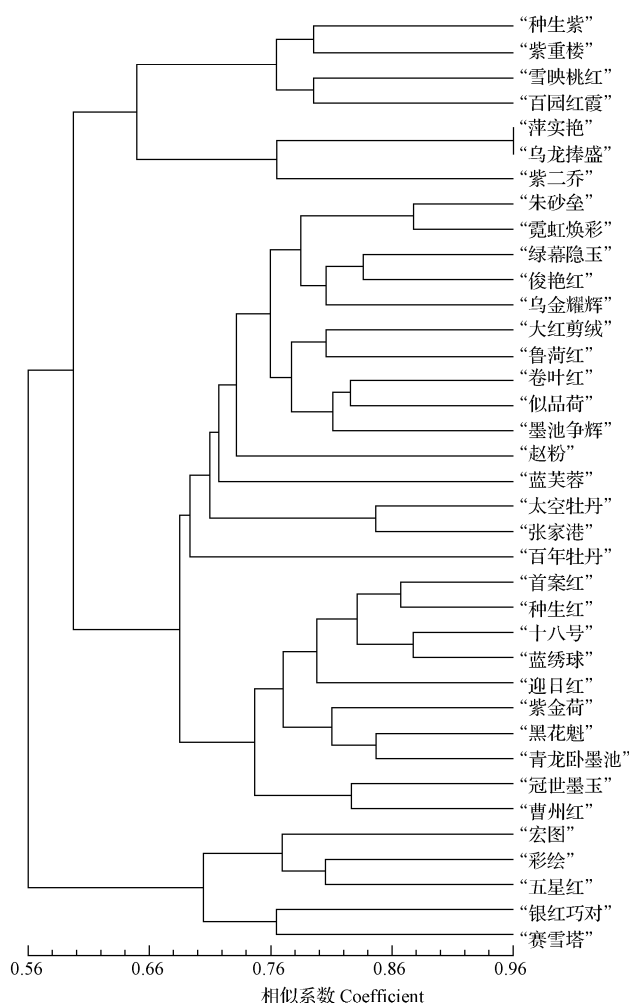


图3 37个牡丹品种的遗传多样性聚类分析图

Fig. 3 Dendrogram of 37 tested materials varieties based on genetic similarity

和“种生红”、“十八号”和“蓝绣球”、“黑花魁”和“青龙卧墨池”、“冠世墨玉”和“曹州红”亲缘关系较近;类群5包括“宏图”、“彩绘”、“五星红”、“银红巧对”、“赛雪塔”5个品种。

### 3 讨论

该试验以中国常熟尚湖牡丹园引栽的山东牡丹品种为研究对象,拟构建尚湖牡丹园山东牡丹品种的DNA指纹数据库,在分子水平上给每个引栽品种一个能准确表明其身份的指纹信息,实现DNA指纹技术应用于牡丹品种鉴定、引种。EST-SSR位点多态性可以作为衡量群体内遗传变异的标准,多态性的高低反映了植物群体内个体的均匀度,如果该值很高,表现出较大的遗传变异,相反则遗传变异很小<sup>[12]</sup>。基于所分析的37个牡丹品种,10对EST-SSR标记的多态性频率介于0.41~0.70之间,平均的FP值为0.60,表明所选EST-SSR标记的多态性存在较大的差异。引物组合法通过不同的

有限组合,可以大大提高引物的鉴别能力<sup>[13]</sup>,该研究采用4对引物进行组合鉴别可将37份山东牡丹品种完全区分开,随着品种数量的进一步增加,这4个引物组合的鉴别能力可能会逐渐减低,可根据实际情况适当增加引物组合的数量。10对核心引物组合构建的指纹图谱相比4个引物组合所代表的DNA水平上的信息量更丰富、更全面、更准确,具有更强的品种鉴别能力,适用于更大牡丹品种DNA指纹数据库的构建需要。

供试牡丹聚类分析结果表明,37种牡丹品种的亲缘关系比较复杂,类群5和其它4个类群亲缘性差距较大,“百年牡丹”与其它牡丹的亲缘关系就较远,其中“萍实艳”和“乌龙捧盛”可能由于检测位点太少未能明显区分。该研究在用EST-SSR标记对37个牡丹品种聚类时发现部分遗传相似系数较大的品种系谱相近或相同,相似系数聚类的范围较小,这表明该品种的种质基础相对较窄。因此,当牡丹杂交育种时,应该加强特定类型品种的利用和培养不同来源的基因,来挖掘牡丹的优良基因,扩大牡丹现有育种遗传基础,为进一步培育牡丹新品种提供机会。

### 参考文献

- [1] 朱红霞. 牡丹芍药品种DNA指纹图谱绘制的初步研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2004.
- [2] Hosoki T, Kimura D, Hasegawa R. Comparative study of tree peony (*Paeonia suffruticosa* Andr.) cultivars and hybrids by random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis[J]. Engei Gakkai Zasshi, 1997, 66(2): 393-400.
- [3] UPOV (Union for the Protection of New Varieties of Plant). Guidelines for DNA-profiling; Molecular marker selection and database construction, BMT Gridelines(proj. 9) [M]. Geneva: UPOV, 2007: 3-4.
- [4] 李保印. 中原牡丹品种遗传多样性与核心种质构建研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2007.
- [5] 王森, 于恒秀, 龚志云, 等. 芍药栽培品种ISSR反应体系的优化和应用[J]. 扬州大学学报(农业与生命科学版), 2007, 28(2): 78-82.
- [6] 林玲, 汤浩茹, 刘燕, 等. 观赏桃ISSR-PCR反应体系的优化[J]. 生物技术通报, 2009(12): 72-75.
- [7] 郭大龙. 牡丹种质资源遗传多样性研究进展[J]. 北方园艺, 2007(9): 61-65.
- [8] Temnykh S, De Clerck G, Lukashova A, et al. Computational and experimental analysis of microsatellites in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Genome Research, 2001(8): 456-466.
- [9] 张艳丽, 王雁, 李正红, 等. 基于牡丹EST信息的滇牡丹SSR标记开发[J]. 林业科学研究, 2011, 24(2): 171-175.
- [10] Doyle J J, Doyle J L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue [J]. Phytochemical Bulletin, 1987, 19(1): 11-15.
- [11] 王风格, 赵久然, 郭景伦, 等. 一种改进的玉米SSR标记的PAGE快速银染检测新方法[J]. 农业生物技术学报, 2004, 12(5): 606-607.
- [12] Hearne C M, Gho S H S, Todd J A. Microsatellites for linkage analysis of genetic traits[J]. Trends in Genetic, 1992, 8: 288-294.
- [13] 匡猛, 杨伟华, 许红霞, 等. 中国棉花主栽品种DNA指纹图谱构建及SSR标记遗传多样性分析[J]. 中国农业科学, 2011, 44(1): 20-27.

# 山杏花粉离体培养条件及花粉管生长动态研究

李 民, 刘 明 国, 吴 月 亮, 董 胜 君

(沈阳农业大学 林学院, 辽宁 沈阳 110866)

**摘 要:**以山杏优良无性系为试材,采用花粉离体培养的方法,研究了山杏花粉离体培养条件对花粉萌发率的影响、不同采样方式对花粉萌发率的影响和花粉管的发育过程,旨在为了解和控制山杏授粉受精过程提供参考依据。结果表明:当蔗糖、琼脂浓度为 10.0% 和 0.5% 时,0.010% 的硼酸浓度最适合山杏花粉离体培养。室内水培花枝取样的花粉活力显著低于野外自然开花取样的花粉活力,在相关科研和生产实践中,应尽量缩短室内水培时间或从野外自然开花中获得花粉。不同山杏无性系的花粉活力差异明显。山杏花粉管在培养基中生长可以划分为 4 个时期:花粉萌发期(0.3~0.6 h),快速生长期(0.6~2.0 h),生长速度缓慢期(2.0~4.0 h)和生长停滞期(4.0 h 以后)。

**关键词:**硼酸浓度;取样方式;花粉萌发率;花粉管生长;山杏

**中图分类号:**S 662.203.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)07-0081-04

山杏(*Prunus sibirica*)属蔷薇科李属植物,又名西伯利亚杏,为我国“三北”地区重要的生态经济型树种,喜光、耐旱、耐寒、耐瘠薄,适应性强,分布范围广。山杏具

有很高的经济价值,苦杏仁广泛应用于食品、医药及工业领域。产量低而不稳的问题为山杏产业发展的瓶颈。

许多研究认为,花粉萌发及花粉管生长需要一定条件。果树从授粉到完成受精所需要的时间首先取决于果树的种类、品种,也受树体的营养状况以及环境因素的影响<sup>[1]</sup>。适宜的硼酸可以促进花粉萌发、花粉管生长及子房发育<sup>[2-3]</sup>。三十烷醇、吡啶乙酸、2,4-D 对花粉萌发和花粉管生长也有促进作用<sup>[4-5]</sup>。此外,取样方式以及不同品种对花粉萌发会产生显著性影响<sup>[6]</sup>。目前有

**第一作者简介:**李民(1989-),女,新疆奎屯人,硕士研究生,研究方向为森林培育。E-mail:lm1449853120@163.com.

**责任作者:**刘明国(1964-),男,辽宁朝阳人,博士,教授,现主要从事森林培育和经济林等研究工作。E-mail:liumingguo916@163.com.

**基金项目:**国家林业公益性行业科研专项资助项目(201004034)。

**收稿日期:**2014-11-10

## Construction of Fingerprint and Analysis of Genetic Diversity with EST-SSR Markers for Thirty-seven Peony Cultivars in Shandong

YANG Zhi-gang, ZHU Dong, LUO Bing, SUN Hai-yan

(Department of Bioengineering, Changshu Institute of Technology, Changshu, Jiangsu 215500)

**Abstract:** Taking thirty-seven peony cultivars from Shandong as experimental materials, the DNA fingerprinting database was successfully constructed, and the genetic diversity was analyzed based on ten evenly distributed EST-SSR primer pairs with high polymorphisms and good repeatability. The results showed that, among the 37 varieties, 10 primer pairs had 58 polymorphic loci, and 5.8 polymorphic loci were detected by each EST-SSR primer pair on an average with the range from 2 to 13. EST-SSR markers were suitable for using in construction of peony DNA fingerprint with polymorphism differences between the selected varieties. Thirty-seven cultivars could be identified by 4 primer combinations at least. The genetic diversity analyzed indicated that, 37 peony varieties could be divided into five types based on the genetic similarity coefficient of 0.69 threshold.

**Keywords:** EST-SSR; DNA fingerprint; genetic diversity; peony