

doi:10.11937/bfyy.20165044

新疆野苹果 SSR-PCR 反应体系的优化

张云秀¹, 杨美玲², 于玮玮¹, 邹家辉¹, 龙 鸿¹, 阎国荣¹

(1. 天津农学院 园艺园林学院, 天津 300384; 2. 南开大学 生命科学学院, 天津 300071)

摘 要:以新疆野苹果叶片为试材, 采取改良 CTAB 法提取基因组, 参照基本 PCR 反应体系, 采用控制变量的方法, 研究了各成分不同的浓度梯度对新疆野苹果 SSR-PCR 扩增的影响, 为新疆野苹果的遗传育种奠定基础。结果表明: 新疆野苹果 SSR 扩增的最佳体系为 $10\times$ PCR buffer $2.5\ \mu\text{L}$, dNTP $0.2\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, $0.2\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 引物, $0.5\ \text{U}$ Taq DNA 聚合酶, $100\ \text{ng}$ DNA 模板。并用此优化体系对 154 份新疆野苹果进行了稳定性、普遍性验证, 扩增效果较好。

关键词:新疆野苹果; 基因组 DNA; SSR-PCR; 优化

中图分类号:S 661.103.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)15-0029-07

新疆野苹果 (*Malus sieversii* (Lebed.) Roem.) 属蔷薇科苹果属植物, 又称塞威氏苹果, 分布在中亚细亚以及中国新疆等地, 生长于海拔 1 250 m 的地区, 常生长在山坡和河谷地带。新疆野苹果可能是现代栽培苹果的祖先种^[1], 沿着天山山脉分布, 在新疆西部伊犁和塔城地区不同的生境下生存并繁衍, 具有很强的生态适应性^[2]。新疆野苹果是第三纪残遗植物, 并被列为国家濒危二级保护植物^[3]。

新疆野苹果是中国经济林资源中唯一天然的基因库, 也是世界野苹果基因库的重要组成部分, 对居群间及居群内的新疆野苹果遗传多样性进行分析, 可以为新疆野苹果的亲缘关系作进一步的研究。DNA 分子标记技术发展迅速, 并广泛运用

到了花卉、蔬菜以及果树等种质资源的研究上^[4-8]。目前, 使用较多的分子标记主要有 RAPD、AFLP、RFLP、SSR 和 ISSR 等。简单重复序列 (SSR) 也称微卫星 DNA, 它普遍存在于植物体基因组中, 是一类具有重复序列的核苷酸, 具有多态性丰富、检测简便、重复性高、共显性遗传等特点^[9-13]。目前, 该技术已广泛用于遗传多样性检测、遗传图谱构建、指纹图的绘制、品种鉴定以及分子标记辅助育种等研究中^[14-17]。从进化角度看, 物种间重复序列的差异是自然选择的结果, 因此鉴定 SSR 在基因组分析以及遗传多样性中有重要意义, 该试验对新疆野苹果 SSR-PCR 体系进行了优化, 以期新疆野苹果遗传连锁图谱构建及 QTL 定位奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试新疆野苹果叶片于 2015 年 5 月采自新疆伊犁地区的新源、那拉提、巩留、尼勒克县等地。选取树势健壮、生长良好的新梢幼嫩叶片, 擦拭叶面灰尘, 放于带有硅胶干燥剂的密封袋里, 做好标记带回实验室进行提取 DNA, 供试材料编号以及名称见表 1。

第一作者简介:张云秀(1991-), 女, 山东章丘人, 硕士研究生, 研究方向为新疆野苹果种质资源利用与保护。E-mail: 13116012750@163.com.

责任作者:阎国荣(1957-), 男, 甘肃敦煌人, 博士, 教授, 现主要从事果树种质资源与生理生态等研究工作。E-mail: yanguorong@eyou.com.

基金项目:新疆维吾尔自治区财政林业科技专项资助项目(400474)。

收稿日期:2017-02-16

表 1

6 份新疆野苹果编号

Table 1

Sample number of six *M. sieversii*

样品编号 Sample number	采集地点 Collection site	海拔 Altitude/m	经纬度 Latitude and longitude
HR-4	尼勒克县麻扎乡	888.0	东经 82°32', 北纬 44°24'
NY-12	那拉提	1 458.0	东经 84°12', 北纬 43°30'
XY-8	新源平台	1 328.0	东经 83°26'18", 北纬 43°26'05"
XY-11	新源资源圃	1 145.0	东经 83°56'33", 北纬 43°40'04"
XY-12	新源平台	1 411.7	东经 84°0'53", 北纬 43°38'16"
GY-1	巩留县大漠沟	1 380.1	东经 83°18', 北纬 43°19'

主要仪器与试剂: DYY-8C 型电泳仪, Ep-endorf PCR 仪(德国); CTAB、1 mol · L⁻¹ Tris-HCl、5 mol · L⁻¹ NaCl、0.5 mol · L⁻¹ EDTA、5 mol · L⁻¹ KAc、氯仿、异戊醇、70%乙醇、无水乙醇、蒸馏水、液氮、loading buffer(天根生物试剂有限公司)、5 000 bp Marker。

1.2 试验方法

1.2.1 新疆野苹果基因组 DNA 的提取

从自封塑料袋中取出适量新疆野苹果叶片, 迅速在液氮中研磨成粉末, 采用改进的 CTAB 法^[18-19]提取 DNA: 1) 取植物叶片, 于液氮下研磨成细粉, 加 CTAB 裂解液 1.2 mL 于 65 °C 保温 30 min, 5 min 振荡一次。2) 保温完成后加入 5 mol · L⁻¹ NaCl, 混匀后于 12 000 r · min⁻¹ 离心 10 min。3) 取上清转入离心管中, 加入等体积的 Tris 饱和酚(pH 8.0)和氯仿/异戊醇(体积比 24 : 1), 摇匀后于 11 000 r · min⁻¹ 离心 10 min。4) 取上清加入 1 mg · mL⁻¹ RNaseA, 摇匀后于 37 °C 保温 30 min。5) 加入等体积的氯仿/异戊醇(24 : 1),

轻轻颠倒摇匀 100 次以上, 11 000 r · min⁻¹, 离心 10 min。6) 取上清, 加入 1/10 体积的 3 mol · L⁻¹ 乙酸钠(pH 5.2), 加入 2 倍体积的 -20 °C 预冷无水乙醇, 冰上静置 30 min 后, 于 8 000 r · min⁻¹ 离心 10 min, 弃上清, 加 70%乙醇洗涤沉淀 2 次, 稍离心, 用移液枪吸干液体, 晾干 1~2 min 后, 加入 ddH₂O 溶解。

1.2.2 DNA 的检测

用 1% 琼脂糖凝胶电泳和可见光分光光度计(ND-1000 Spectrophotometer)进行 DNA 质量检测, 稀释至所需浓度后, -20 °C 保存备用。

1.2.3 SSR 引物

从转录组测序所预测的引物中, 通过预试验筛选出了引物 SSR-31108 进行 SSR 优化, 并选出引物 SSR-41131 用于优化后体系扩增的稳定性验证。引物序列及退火温度如表 2 所示, 引物由北京奥科鼎盛生物公司合成, 每对引物合成 20D, -20 °C 冰箱保存备用。

表 2

引物序列及退火温度

Table 2

Primer sequences and annealing temperature

名称 Name	序列 Sequences(5'-3')	碱基数 Base number/bp	退火温度 Annealing temperature/°C
SSR-31108-F	ACAGAGCCTCGTCAACGACT	20	56
SSR-31108-R	GAAGGAGCTGTTTGCTTGG	20	56
SSR-41131-F	TAGCCTAGCTCGCAAAGAGC	20	56
SSR-41131-R	GAACAACAAATTTCCAAGGTACG	23	56

1.2.4 新疆野苹果 SSR 反应体系的优化

为得到清晰稳定的扩增产物以及准确地反应供试材料之间的遗传信息, 也为了方便后期谱带的统计准确, 试验中采取 XY-12 及 XY-8 2 种材料以及引物 SSR-31108, 参照基本反应体系^[20-23], 采用控制变量的方法, 即当对一种成分进行用量或浓度梯度试验时, 其它成分浓度不变, 比较不同

处理对扩增结果的影响。各因素均分别设置 5 个浓度梯度, 如表 3 所示, 3 次重复。SSR 反应扩增产物采用琼脂糖凝胶电泳进行检测。PCR 反应扩增程序为: 94 °C 预变性 4 min; 95 °C 变性 40 s, 56 °C 退火 40 s, 72 °C 延伸 1 min, 35 个循环; 最后 72 °C 延伸 10 min, 4 °C 保存。不同的引物的退火温度不同, 此处 2 对引物的退火温度均为 56 °C。

表 3 各因素浓度梯度

Table 3 Concentration gradient of the various factors

因素 Factor	用量 Dosage				
模板 DNA/ng	50	100	150	200	250
dNTPs/(mmol · L ⁻¹)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
引物/(mmol · L ⁻¹)	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6
Taq DNA 聚合酶/U	0.25	0.50	0.75	1.00	1.25

1.2.5 验证试验

为了验证优化后 PCR 体系的适用性以及稳定性,选取优化前与优化后体系进行 PCR 对比试验。分别选 5 种新疆野苹果材料(XY-11,XY-12,GY-1,NY-12,HR-4)以及引物 SSR-31108 进行 PCR。并且采取优化后 SSR 反应体系以及引物 SSR-41131 对新疆野苹果 154 份材料进行扩增效果检测。

2 结果与分析

2.1 新疆野苹果基因组 DNA 的提取及检测

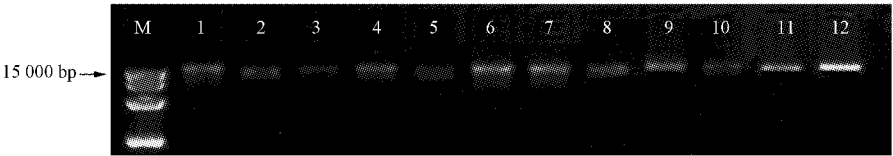
DNA 作为 SSR-PCR 的扩增模板,其质量的高低会直接影响到 SSR-PCR 扩增的效果。由图 1 可

知,DNA 条带清晰,经可见光分光光度计检测,其 OD₂₆₀/OD₂₈₀ 比值均大于 1.8,表明所提取的 DNA 质量较好,可作为 PCR 反应的模板。

2.2 新疆野苹果 SSR 反应优化体系的构建

2.2.1 模板 DNA 浓度对 PCR 扩增的影响

模板 DNA 含量是限制扩增结果的一个重要因素,因此选择合适的模板 DNA 浓度则是试验成功与否的关键。不同试验材料、不同试验方法所提取的 DNA 质量差异较大。模板浓度过低会导致 PCR 产物量偏少,浓度过高则会导致非特异性扩增产物增加,条带模糊甚至不能扩增出产物^[24-27]。由图 2 可知,2 种材料的 DNA 在 50~250 ng 均能扩增出条带,随着 DNA 量的增加,条带亮度变化不大,且在 150 ng 处出现了非特异条带,XY-11 比较明显;而材料 XY-8 在 100 ng 处条带比较清晰,随着 DNA 浓度的升高,出现了引物二聚体。故该试验选择 100 ng DNA 含量作为扩增体系的最适模板量。

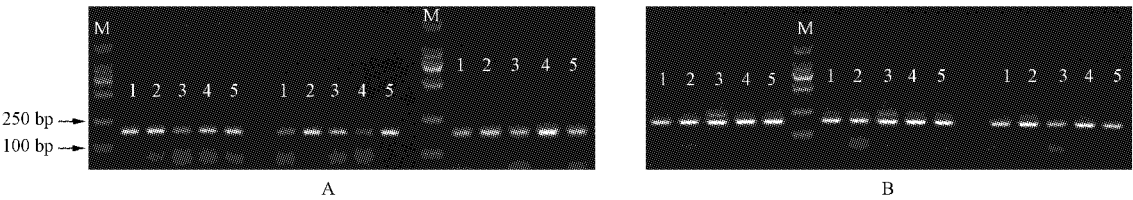


注:M, DL 15 000;1~12. 不同新疆野苹果株系。

Note:M, DL 15 000;1-12. *M. sieversii* strains.

图 1 新疆野苹果叶片 DNA 电泳检测结果

Fig. 1 Electrophoresis results of DNA in *M. sieversii*



注:M, DL 2 000;A, XY-8;B, XY-11;下同。1~5. 模板 DNA 浓度分别为 50、100、150、200、250 ng。

Note:M, DL 2 000;A, XY-8,B, XY-11;the same below. 1-5. DNA concentrations are 50 ng,100 ng,150 ng,200 ng,250 ng,respectively.

图 2 不同模板 DNA 浓度对 SSR 反应的影响

Fig. 2 Influence of different concentrations of template DNA on SSR reaction

2.2.2 dNTP 浓度对 PCR 扩增的影响

dNTP 是 PCR 扩增产物的原料,因此在 PCR 中选择合适 dNTP 浓度是扩增结果的关键。若浓度过低,影响合成效率;然而如果浓度过高,则

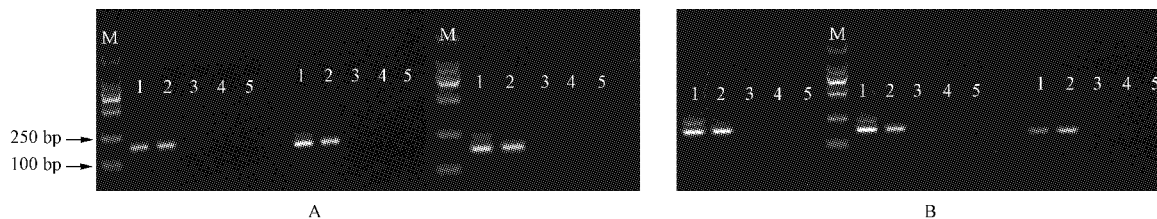
又会与 Taq DNA 聚合酶竞争结合 Mg²⁺,从而导致酶的活性降低,使得扩增出的条带拖尾,谱带不易辨认^[24-27]。由图 3 可知,随着 dNTP 浓度增加,条带消失,且 dNTP 浓度为 0.1 mmol · L⁻¹

时,出现了模糊的特异条带,dNTP浓度为 $0.2\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,条带清晰。因此该试验确定最佳dNTP浓度为 $0.2\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.2.3 引物浓度对PCR扩增的影响

引物浓度对扩增的结果有着重要影响。若引物浓度过高,则导致引物二聚体增多,从而使其不能与模板DNA有效结合,扩增的产物反而会减少;但若浓度

过低,则会使得与模板结合位点减少,从而引起谱带的缺失^[24-27]。由图4可知,在 $0.2\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,扩增谱带清晰稳定,当引物浓度大于 $0.2\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,随着引物浓度的增加,扩增产物消失,对于材料XY-11,在 $0.2 \sim 0.3\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时出现条带,随着浓度增大,条带消失,故该试验选择合适的引物浓度为 $0.2\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

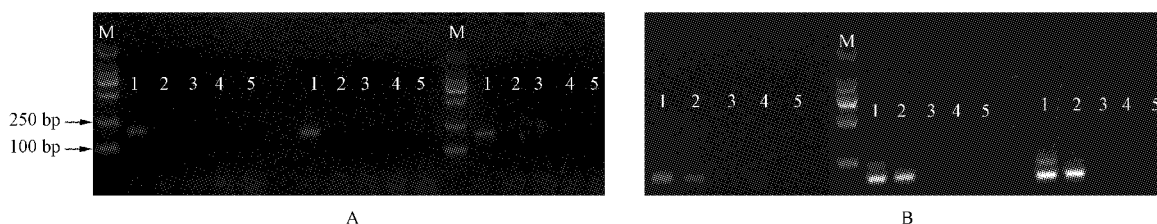


注:1~5,dNTPs浓度依次为 $0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

Note:1-5,dNTPs concentrations are $0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively.

图3 不同dNTPs浓度对SSR反应的影响

Fig.3 Influence of different concentrations of dNTPs on SSR reaction



注:1~5,引物浓度依次为 $0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

Note:1-5;Primer concentrations are $0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively.

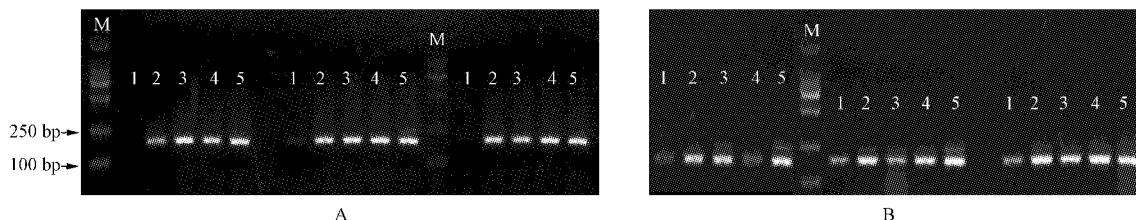
图4 不同引物浓度对SSR反应的影响

Fig.4 Influence of different concentrations of primers on SSR reaction

2.2.4 *Taq* DNA聚合酶浓度对PCR影响

Taq DNA聚合酶也是PCR扩增中重要影响因素之一。如果聚合酶浓度过高,会使产物谱带弥散;过低又不利于扩增,会降低产物产量。由图5可知,在*Taq* DNA聚合酶用量为 $0.50 \sim 1.25\text{ U}$

时,条带均比较清晰稳定。在材料XY-8中,*Taq* DNA浓度为 0.25 U 时,无条带;而在XY-11中,条带模糊。因此以节省药品为原则,选择 0.50 U 作为SSR反应的*Taq* DNA用量。



注:1~5,*Taq* DNA聚合酶浓度依次为 $0.25, 0.50, 0.75, 1.00, 1.25\text{ U}$ 。

Note:1-5.*Taq* DNA concentrations are $0.25, 0.50, 0.75, 1.00, 1.25\text{ U}$, respectively.

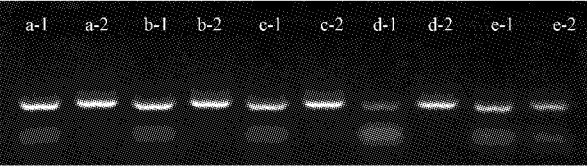
图5 不同*Taq* DNA聚合酶浓度对SSR反应的影响

Fig.5 Influence of different concentrations of *Taq* DNA on SSR reaction

2.2.5 新疆野苹果 SSR-PCR 体系适用性、稳定性验证

选 5 种新疆野苹果材料(XY-11,XY-12,GY-

1,NY-12,HR-4),通过优化前与优化后体系进行 PCR 对比试验。由图 6 可知,采用优化体系在 5 份新疆野苹果材料上均能有效扩增出稳定清晰的



注:a~e 分别代表材料 XY-11,XY-12,GY-1,NY-12,HR-4;数字 1、2 分别代表优化前与优化后体系。

Note:a~e are on the behalf of XY-11,XY-12,GY-1,NY-12,respectively;1 and 2 mean before and after PCR system optimization, respectively.

图 6 PCR 体系优化前与优化后对比

Fig. 6 Comparison of the before and after PCR system optimization

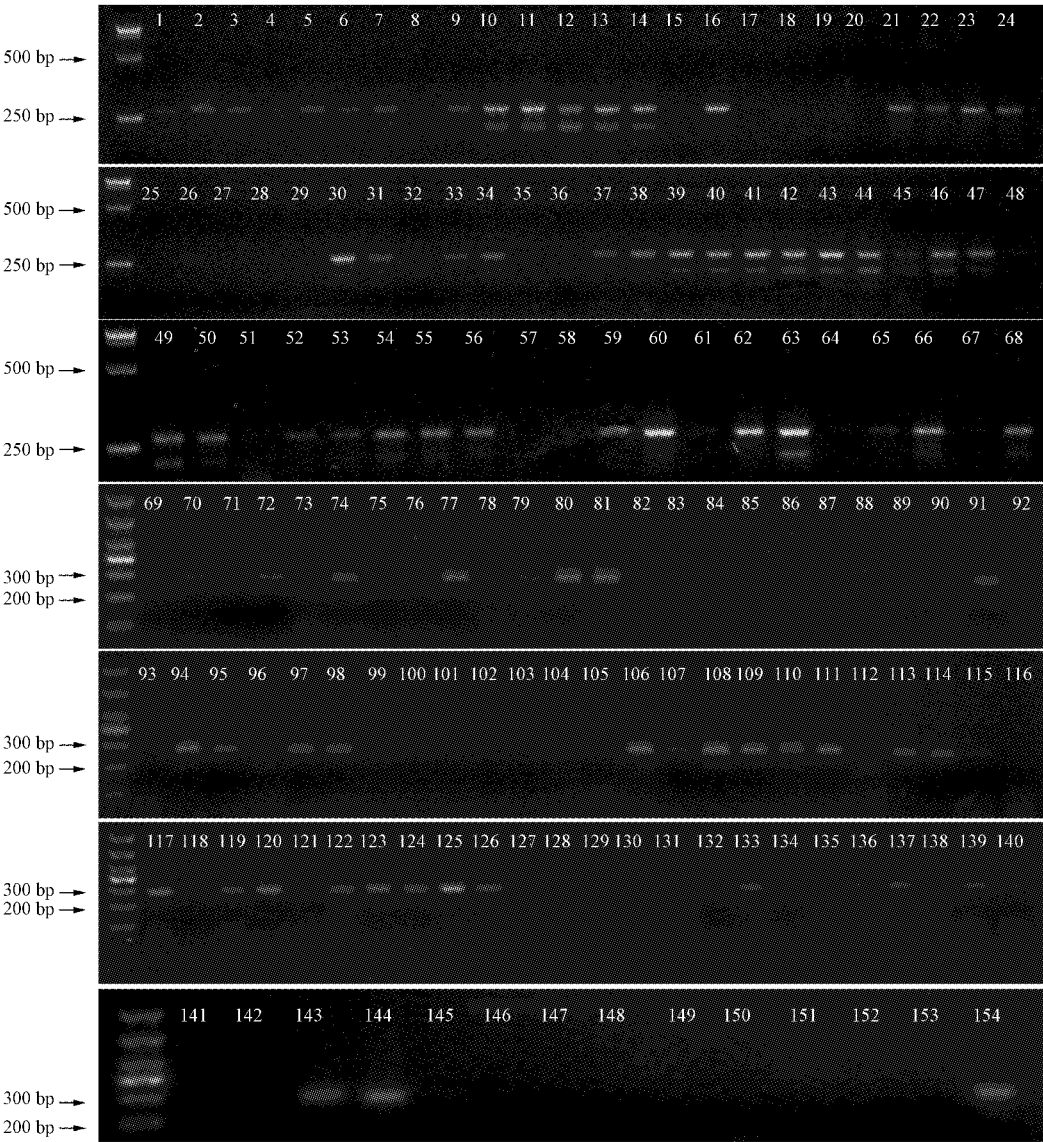


图 7 引物 SSR-41131 对 154 份新疆野苹果的 PCR 扩增

Fig. 7 PCR amplification for 154 kinds of *Malus sieversii* by using primers SSR-41131

SSR 谱带,而未优化的 SSR 体系扩增大部分有引物二聚体出现。并且对优化后的 SSR 反应体系利用引物 SSR-41131 在 154 份新疆野苹果材料上进行了稳定性验证,扩增的效果较好,谱带清晰且稳定(图 7)。

3 结论与讨论

DNA 分子标记在果树育种研究中起着很大的作用,目前使用较多的分子标记有 RAPD、AFLP、RFLP、SSR 和 ISSR 等。简单重复序列(SSR)由于具有多态性丰富、检测简便、重复性高、共显性遗传等特点,被广泛应用于遗传多样性检测以及图谱构建等研究中^[9-13]。但由于 SSR-PCR 反应涉及许多的因素,且每一种因素对扩增结果都有较大的影响。因此,对 SSR 反应体系进行优化至关重要,不但可以节省材料与试剂,还可以得到清晰稳定的条带,通过后期准确谱带的统计工作,从而准确反应供试材料间的遗传信息。

模板 DNA 浓度、dNTPs 浓度以及引物浓度对 PCR 反应体系都有关键作用。如果模板浓度、dNTPs 浓度、引物浓度过低都会导致 PCR 产物量偏少;而模板浓度、引物浓度过高则会导致非特异性扩增产物量增加,引物浓度过高还会增加引物二聚体的形成,dNTPs 浓度过高会与 *Taq* DNA 聚合酶竞争结合 Mg^{2+} ,影响游离态的 Mg^{2+} 浓度,从而导致酶的活性降低,抑制了 PCR 反应。PCR 反应中最为重要的影响因素是 *Taq* DNA 聚合酶的浓度,浓度过低会导致产物的合成量偏少,但如果浓度过高将会产生比较高的错配率^[24-27]。综上所述,若模板 DNA、dNTPs、引物以及 *Taq* DNA 聚合酶这 4 个因素的浓度选择不当,都会对试验结果的准确性产生影响。该研究对影响新疆野苹果 SSR-PCR 反应体系的 4 个因素,即模板 DNA、dNTPs、引物以及 *Taq* DNA 聚合酶各自的浓度用量进行了优化试验,最终确定了 SSR 反应的最佳体系为在 25 μ L 体系中加 10 \times PCR buffer 2.5 μ L, dNTP 0.2 mmol \cdot L⁻¹, 0.2 mmol \cdot L⁻¹ 引物,0.5 U *Taq* DNA 聚合酶,100 ng DNA 模板。

参考文献

[1] 李育农. 苹果属植物种质资源研究[M]. 北京:中国农业出

版社,2001:20-134.

[2] 阎国荣,许正. 中国新疆野生果树研究[M]. 北京:中国林业出版社,2010:62-114.

[3] 林培钧,崔乃然. 天山野果林资源伊犁野果林综合研究[M]. 北京:中国林业出版社,2000:6-140.

[4] SOUSA A G R, SOUZA M M, MELO C A F, et al. ISSR markers in wild species of *Passiflora* L. (Passifloraceae) as a tool for taxon selection in ornamental breeding[J]. Genetics and Molecular Research, 2015, 14 (4):18534-18545.

[5] YU H P, CHENG F Y, ZHONG Y, et al. Development of simple sequence repeat (SSR) markers from *Paeonia ostii* to study the genetic relationships among tree peonies (Paeoniaceae) [J]. Scientia Horticulturae, 2013, 164:58-64.

[6] 温景辉. 基于 SSR 分子标记的山葡萄种质遗传多样性研究与核心种质构建[D]. 长春:吉林农业大学,2011.

[7] 巴巧瑞,赵政阳,高华,等. 基于 SSR 和 SRAP 标记的苹果品种亲缘关系分析[J]. 西北农林科技大学学报, 2011, 39(9): 124-128.

[8] 左力辉,张文林,邱彤,等. 新疆野苹果叶形性状变异及其与 SSR 标记关联分析[J]. 园艺学报, 2015, 42(4):759-768.

[9] BUDAK H, SHEARMAN R C, PARMAKSIZ I, et al. Comparative analysis of seeded and vegetative biotype buffalo grasses based on phylogenetic relationship using ISSRs, SSRs, RAPDs, and SRAPs[J]. Theor Appl Genet, 2004, 109(1):280-288.

[10] LITT M, LUTY J A. A hypervariable microsatellite revealed by *in vitro* amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene[J]. Am J Hum Genet, 1989, 44:397-401.

[11] TAUTZ D. Hyper variability of simple sequence as a general source for polymorphic DNA marker[J]. Nucleic Acids Search, 1989, 17(16):6463-6471.

[12] SMEETS A J M, BRUNNER H G, ROPERS H H, et al. Use of variable simple sequence motifs as genetic markers: Application to study of myotonic dystrophy[J]. Human Genetics, 1989, 83:245-251.

[13] WEBER J L, MAY P E. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction[J]. American Journal of Human Genetics, 1989, 44:388-396.

[14] 高源,田路明,刘凤之. 利用 SSR 荧光标记构建 92 个梨品种指纹图谱[J]. 园艺学报, 2012(8):1437-1446.

[15] 张萌. 基于 SSR 分子标记的葡萄种质资源的遗传多样性分析及品种鉴定[D]. 南京:南京农业大学,2012.

[16] 岳娜. 枇杷(*Eriobotrya* Lindl)种质资源 SSR 标记指纹图谱构建与遗传连锁分析[D]. 苏州:苏州大学,2012.

[17] 王爱德,李天忠,许雪峰,等. 苹果品种的 SSR 分析[J]. 园艺学报, 2005, 32(5):721-726.

[18] COTA-SANCHEZ J H, REMARCHUK K, UBAYASENA K. Ready-to-use DNA extracted with a CTAB method adapted for herbarium specimens and mucilaginous plant tissue[R]. Canada:

International Society for Plant Molecular Biology, 2006.

[19] LISTON A, RIESEBERG L H, ADAMAR P, et al. A method for collecting dried plant specimens for DNA and isozyme analyses, and the results of a field test in Xinjiang, China[J]. Annals of Missouri Botanic Garden, 1990, 77(4): 859-863.

[20] 张春雨, 陈学森, 何天明, 等. 中国新疆野苹果(*Malus sieversii* (Lebed.) Roem.) 群体遗传结构的 SSR 分析[J]. 遗传学报, 2007, 34(10): 947-955.

[21] 高源, 刘凤之, 曹玉芬, 等. 苹果属种质资源亲缘关系的 SSR 分析[J]. 果树学报, 2007, 23(2): 129-134.

[22] 徐兴兴, 梁海永, 甄志先, 等. 苹果 SSR 反应体系的建立[J]. 果树学报, 2006, 23(2): 161-164.

[23] 王云, 秦伟, 王永丰. 新疆野苹果 S 基因特异性 PCR 体系优化[J]. 新疆农业科学, 2013, 50(11): 2023-2030.

[24] 俞明亮, 马瑞娟, 沈志军, 等. 应用 SSR 标记进行部分黄肉桃种质鉴定和亲缘关系分析[J]. 园艺学报, 2010, 37(12): 1909-1918.

[25] 张文娜, 王忆, 孔瑾, 等. 甜樱桃品种 SSR-PCR 反应体系的优化[J]. 生物技术通报, 2009(11): 103-107.

[26] 张靖国. 湖北海棠遗传多样性的 SSR 分析[D]. 武汉: 华中农业大学, 2007: 33-44.

[27] 张淑静. 葡萄 SSR 反应体系的建立及遗传多样性分析[D]. 保定: 河北农业大学, 2008: 48-50.

Optimization of SSR-PCR Reaction System for *Malus sieversii* (Lebed.) Roem.

ZHANG Yunxiu¹, YANG Meiling², YU Weiwei¹, ZOU Jiahui¹, LONG Hong¹, YAN Guorong¹

(1. Garden and Horticulture Institute, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384; 2. College of Life Sciences, Nankai University, Tianjin 300071)

Abstract: CTAB method was adopted to extract genomic DNA from the dried leaves of *Malus sieversii* (Lebed.) Roem. The effect of different concentrations of components on SSR-PCR was studied by using control variate method referring to basic PCR system in order to lay the foundation of genetic breeding for *Malus sieversii* (Lebed.) Roem. The results showed that the optimal SSR-PCR system was 10 × PCR buffer 2.5 μL, dNTP 0.2 mmol · L⁻¹, 0.2 mmol · L⁻¹ primers, 0.5 U *Taq* DNA polymerase, 100 ng DNA template; 154 kinds of *Malus sieversii* germplasm were used to test the stability and universality of system, amplification effect was good.

Keywords: *Malus sieversii*; extract genomic DNA; SSR-PCR; optimization

2018 年《现代园艺》征订、征稿启事

中国核心期刊数据库 中文科技期刊数据库 中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊
中国期刊网 江西省优秀期刊 龙源期刊网收录期刊

《现代园艺》聚集当代果树林木、瓜果蔬菜、药材菌菇、花卉园林、景观设计等先进科技信息, 预测市场发展动态, 生产与营销并重, 突出新产品、新技术、新成果、新情况、新观点、新经验, 交流致富信息, 传播成功范例, 信息量大, 针对性强, 引导广大农民发家致富。国内外公开发行, 是目前最具影响力的综合性园艺科技期刊之一。

热忱欢迎广大园艺园林生产企业、科研院所、大中专院校、农技推广等工作、管理员、专业户及爱好者赐稿、订阅。

全国各地邮局均可订阅, 邮发代号: 44-114, 全年 12 期, 每期定价 8 元(全年 96 元)

国内统一刊号: CN 36-1287/S, 国际标准刊号: ISSN 1006-4958。

汇款地址: 江西省樟树市双金《现代园艺》杂志社

邮编: 331213

杂志社电话: 0795-7831008(编辑部)、7831108(发行部)

投稿邮箱: xddy008@126.com

广告邮箱: xddy008@163.com 现代园艺 QQ 群: 132644508 206684182

杂志官网: www.xdyyzs.com