

doi:10.11937/bfyy.20172966

# 利用荧光 SSR 标记 构建杏新品系的分子身份证

苑克俊, 牛庆霖, 葛福荣, 王江勇, 王培久

(山东省果树研究所, 山东 泰安 271000)

**摘要:**以 15 份杏种质(包括 4 个新品系)为试材,采用 6 个荧光 SSR 标记进行 PCR 试验,构建了 4 个杏新品系的分子身份证,以期利用分子鉴定技术对 4 个杏新品系进行品种权保护提供参考依据。结果表明:利用 6 个标记共检测到 47 个等位基因,57 个带型,平均每个标记获得 9.8 个带型;利用其中 5 个标记构建 10 位数的分子身份证,‘开园’‘春华’‘英华’和‘美华’4 个新品系的分子身份证分别是 2578231744、5878341744、277a231344 和 6768174612,既互不相同,也与其它种质的分子身份证不同。这些结果为 4 个杏新品系利用分子鉴定进行品种权保护提供了依据。

**关键词:**杏;种质;SSR 标记;荧光引物;分子身份证

**中图分类号:**S 662.203.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2018)04-0034-07

杏(*Prunus armeniaca* L.)在中国栽培历史悠久,种质资源丰富,品种众多。世界上杏共有 10 个种,中国就有 9 个种 13 个变种<sup>[1-2]</sup>,约 2 000 份资源<sup>[1]</sup>,仅山东省就有约 200 个品种<sup>[3]</sup>。近年来,随着种质交流的增多和新育成品种数量的增长,以及植物品种权保护的需要,准确地鉴别杏种质和品种日益重要。

目前种质和品种鉴定的方法主要是 SSR (simple sequence repeats) 标记分析技术。SSR 标记具有多态性丰富、共显性、分辨率高和易于检测等优点<sup>[4]</sup>,近年来已被广泛用于果树种质和品种的指纹图谱(分子身份证)构建。DANGL 等<sup>[5]</sup>采用 12 对 SSR 引物构建了 18 份加利福尼亚扁桃种质的指纹图谱,MORIYA 等<sup>[6]</sup>利用 15 对引

物构建了 95 份苹果种质的指纹图谱。在国内,艾呈祥等<sup>[7]</sup>建立了甜樱桃品种 SSR 指纹图谱数据库,陈昌文等<sup>[8]</sup>构建了中国桃主要品种资源及其野生近缘种的分子身份证,王立新等<sup>[9]</sup>构建了 40 个苹果主要栽培品种的指纹图谱,高源等<sup>[10-11]</sup>构建了 92 个梨品种的指纹图谱和 120 份苹果种质资源的分子身份证,杜晶晶等<sup>[12]</sup>构建了 80 份葡萄种质资源的分子身份证,张靖国等<sup>[13]</sup>构建了 20 个梨栽培品种的分子身份证。当然,也有采用其它标记技术构建果树品种指纹图谱(分子身份证)的。例如,李国田等<sup>[14]</sup>利用 ISSR 标记构建了 16 个核桃品种的分子身份证。

在构建这些指纹图谱(分子身份证)过程中,常用的试验技术是利用聚丙烯酰胺凝胶电泳检测扩增产物,该方法的缺点是检测效率低,不能获得目标 DNA 片段的准确大小,难以对不同批次鉴定数据有效整合<sup>[15]</sup>。与上述凝胶电泳检测法相比,荧光引物 SSR 标记毛细管电泳检测方法是基于 DNA 测序,可以准确检测目标 DNA 片段的大小,适用于对不同批次样品的检测分析<sup>[16]</sup>。目前,SSR 荧光标记毛细管电泳检测技术已成功应用

**第一作者简介:**苑克俊(1963-),男,博士,研究员,现主要从事杏树栽培育种及果树基因与分子标记等研究工作。  
E-mail:yuankj@vip.sina.com

**基金项目:**山东省农业良种工程资助项目(鲁科字[2014]96);泰安市科技发展计划资助项目(2015NS1067);山东省农业科学院农业科技创新工程资助项目。

**收稿日期:**2017-09-30

于无花果<sup>[17]</sup>、苹果<sup>[6,9]</sup>、枣<sup>[18]</sup>和梨<sup>[10]</sup>等研究中,但尚鲜见杏树种质和品种的分子身份证构建。

目前,杏树上利用 SSR 标记的研究主要是遗传多样性分析。何天明等<sup>[19]</sup>利用 SSR 标记进行了新疆栽培杏的群体遗传结构分析;张淑青等<sup>[20]</sup>利用 SSR 标记对 69 个普通杏品种进行了遗传多样性分析,王玉安等<sup>[21]</sup>利用 SSR 标记对甘肃地方杏品种资源进行了遗传多样性分析。另外,DIRLEWANGER 等<sup>[22]</sup>在桃和樱桃中开发出一批稳定性好的 SSR 标记,DONDINI 等<sup>[23]</sup>通过试验将其中一些 SSR 标记定位到杏的各个连锁群中,表明这些 SSR 标记可用于分析杏。这些工作为选择利用 SSR 引物构建杏种质的分子身份证奠定了良好基础。

通过杏的杂交育种工作<sup>[24-25]</sup>,课题组培育出‘开园’‘春华’‘英华’和‘美华’4 个杂交后代新品系,已申请植物新品种权。该研究选取分布在不同连锁群中的 6 个 SSR 标记引物<sup>[22]</sup>,以 15 份杏种质(包括 4 个新品系)为试材,采用 SSR 荧光标记 PCR 扩增产物毛细管电泳检测技术和新的图谱带型双代码编码方式构建 4 个新品系等种质的分子身份证,以期利用分子鉴定技术对 4 个杏新品系进行品种权保护提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

取 15 份杏树种质(包括 4 个杂交后代新品

系)的新鲜幼叶为试材,取自山东省果树研究所万吉山试验基地杏园。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 DNA 提取及 PCR 扩增

用 CTAB 法提取各样品材料的总 DNA。具体方法:取 50 mg 材料,液氮研磨,将粉末装到 2 mL 离心管中。加入 800  $\mu$ L 2 $\times$ CTAB 提取缓冲液,加入 60  $\mu$ L 巯基乙醇,混匀,60  $^{\circ}$ C 水浴 30 min,其间混匀 2~3 次。待样品冷却到室温,加入 800  $\mu$ L 氯仿:异戊醇(24:1),振荡混匀,12 000  $r \cdot \min^{-1}$  离心 15 min。取上清到一个新 2 mL 离心管,加入等体积的氯仿:异戊醇(24:1),振荡混匀,12 000  $r \cdot \min^{-1}$  离心 15 min。取上清到一个新 2 mL 离心管,加入 1.5 倍体积 1 $\times$ CTAB 沉淀液,放置 20~30 min,12 000  $r \cdot \min^{-1}$  离心 15 min。将沉淀晾干,加 200  $\mu$ L TE-buffer 溶解。加入 400  $\mu$ L 95% 乙醇,20  $\mu$ L 3 mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> NaAC, -20  $^{\circ}$ C 沉淀 1 h。4  $^{\circ}$ C, 12 000  $r \cdot \min^{-1}$  离心 15 min。500  $\mu$ L 75%乙醇洗涤,12 000  $r \cdot \min^{-1}$  离心 10 min。加入 30~50  $\mu$ L TE-buffer,0.8% 琼脂糖凝胶电泳检测。

PCR 扩增引物是从 DIRLEWANGER 等<sup>[22]</sup>报道的 SSR 标记引物中选出的 6 对引物,分布在 6 个连锁群上(表 1)<sup>[23]</sup>。每个标记引物的正向引物上分别加注荧光染料 6-FAM 荧光基团,棕色 1.5 mL EP 管避光保存。

表 1 6 个 SSR 标记的引物  
Table 1 Primers of six SSR markers

标记名称 Marker	正向引物序列 Forward primer(5'-3')	反向引物序列 Reverse primer(5'-3')	连锁群 Linkage group
BPPCT 011	TCTGAGGGCTAGAGTGGGC	TGTTTCAGGAGTCGAACAGC	1
BPPCT 002	TCGACAGCTTGATCTTGACC	CAATGCCTACGGAGATAAAAGAC	2
BPPCT 039	ATTACGTACCCTAAAGCTTCTGC	GATGTCATGAAGATTGGAGAGG	3
BPPCT 040	ATGAGGACGTGTCTGAATGG	AGCCAAACCCCTCTTATACG	4
BPPCT 038	TATATTGTTGGCTTCTTGCATG	TGAAAGTGAAACAATGGAAGC	5
BPPCT 025	TCCTGCGTAGAAGAAGGTAGC	CGACATAAAGTCCAAATGGC	6

SSR-PCR 反应体系包括 2 $\times$  Taq PCR mix 12.5  $\mu$ L, 10  $\mu$ mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> 正向和反向引物各 0.5  $\mu$ L, DNA 模版 1  $\mu$ L, 水 16  $\mu$ L。PCR 循环条件是:94  $^{\circ}$ C 预变性 5 min;94  $^{\circ}$ C 变性 30 s,55  $^{\circ}$ C 退

火 30 s,72  $^{\circ}$ C 延伸 30 s,35 个循环;72  $^{\circ}$ C 延伸 5 min;4  $^{\circ}$ C 保存。PCR 反应在 Gene Amp PCR System 9600 (Perkin Elmer, USA) 上进行。

### 1.2.2 毛细管电泳检测

SSR 荧光标记 PCR 扩增产物利用 ABI 公司的 3730 XL 测序仪进行检测,获得供试种质的电泳图谱和等位基因数据。

### 1.2.3 杏树 SSR 分子身份证构建

将等位基因数据按照由小到大的顺序排序,然后用数字 1,2,3,……,9 作为不同等位基因的代码,等位基因数大于 9 时,分别用小写字母 a, b, c 代表第 10, 11, 12 个等位基因,依次类推,但为避免与数字混淆,排除用字母 o 和 l 表示等位基因,位点无扩增产物时用数字 0 表示。然后,以 2 位代码对某个标记的图谱带型进行编码,杂合带型以 2 位不同代码编码,纯合带型以 2 位相同代码编码。根据各个标记带型数的多少,确定用于构建分子身份证的标记;再按照带型数由大到小的顺序,将某一供试种质各标记的编码串联,得到每个样品的分子身份证。

### 1.3 数据分析

利用 Excel 2003 软件处理及分析试验数据。

## 2 结果与分析

### 2.1 毛细管电泳试验结果

从表 2、3 可知,共检测到 47 个等位基因,每个 SSR 标记检测到等位基因数 3~13 个,平均 7.8 个,位点杂合度 0.333 0~0.933 3;扩增片段长度 125~216 bp;共检测到 57 个扩增产物带型,每个标记检测到带型数 4~13 个,平均 9.5 个。

从表 2 还可以看出,一个样品有 2 个等位基因时,如果仅利用其中碱基数较少的一个编码,则 BPPCT 011、BPPCT 002、BPPCT 039、BPPCT 040、BPPCT 038 和 BPPCT 025 的可利用等位基因数依次为 3、5、8、4、7 和 2,可利用等位基因总数仅 29 个。从表 2、3 可知,6 个标记均存在杂合型位点,其中 4 个标记的位点杂合度较高,这可能是造成仅利用一个等位基因编码时可利用等位基因数较少的主要原因。

表 2 利用 6 个 SSR 荧光标记引物获得的 15 份杏树种质等位基因数据和扩增产物带型

Table 2 Allele data and amplification product patterns of 15 apricot germplasms with primers of six fluorescent-labelled SSR markers

种质 Germplasm	引物 Primer					
	BPPCT 011	BPPCT 002	BPPCT 039	BPPCT 040	BPPCT 038	BPPCT 025
‘珍珠油杏’ ‘Zhenzhu youxing’	162/178	192/212	157/159	141/145	147	154/160
‘凯特’ ‘Kaite’	162/168	188	143/169	135/145	143/147	150
‘金太阳’ ‘Jintaiyang’	172	190/194	157/165	125/143	141/147	150/160
‘红丰’ ‘Hongfeng’	162	194/210	141/167	135/147	157/159	150
‘红金臻’ ‘Hongjinzhen’	162/170	194/210	141/159	135	125/157	150
‘济丽红’ ‘Jilihong’	162/184	192/200	167	135/141	139	150
‘红玉杏’ ‘Hongyuxing’	184	194	133/167	135	127/157	150
‘二花槽’ ‘Erhuacao’	162	194/210	141/167	135/147	157/159	150
‘巴旦杏’ ‘Badanxing’	162	200/210	131/167	135	127/131	150
‘无名杏 1 号’ ‘Wumingxing No. 1’	162	188/216	127/135	127/135	127	150
‘长清荷包’ ‘Changqinghebao’	184	194/200	133/167	135/141	139/157	150
‘开园’ ‘Kaiyuan’	172	190/192	155/157	125/147	127/141	154/160
‘春华’ ‘Chunhua’	172	192/194	155/157	125/147	141/155	154/160
‘英华’ ‘Yinghua’	172	190/192	155/163	125/135	127/147	150
‘美华’ ‘Meihua’	162/168	188/212	143/157	141/145	143/147	150/154

由表 3 可知,等位基因数由多到少的标记依次是 BPPCT 039、BPPCT 038、BPPCT 002、BPPCT 040、BPPCT 011 和 BPPCT 025,等位基因数依次为 13、10、8、7、6 和 3;扩增产物带型数

由多到少的标记依次是 BPPCT 038、BPPCT 039、BPPCT 002、BPPCT 040、BPPCT 011 和 BPPCT 025,带型数依次为 13、12、12、9、7 和 4。

表 3 6 个 SSR 标记引物对 15 份杏树种质扩增产物的分析

Table 3 Analysis of amplified results of 15 apricot germplasms with primers of six fluorescent-labelled SSR markers

标记名称 Marker	等位基因数 Allele No.	带型数 Pattern No.	位点杂合度 Heterozygosity	扩增片段大小 Fragment size/bp
BPPCT 011	6	7	0.466 7	162~184
BPPCT 002	8	12	0.866 7	188~216
BPPCT 039	13	12	0.933 3	127~167
BPPCT 040	7	9	0.800 0	125~147
BPPCT 038	10	13	0.800 0	125~159
BPPCT 025	3	4	0.333 0	150~160

2.2 种质分子身份证构建

去除扩增产物带型数少的 BPPCT 025 标记,采用其它 5 个标记构建种质的分子身份证。事实上,利用 BPPCT 038 这一个标记就可以从 15 份种质中鉴定出 13 个带型和有关种质,利用 BPPCT 038 和 BPPCT 039 标记就可以从 15 份种质中鉴定出 14 个带型和有关种质(表 3)。

采用 5 个标记构建种质的分子身份证,是考虑到未来扩充鉴定更多种质的需要。按照扩增产物带型数由多到少的顺序,将每份种质用 BPPCT 038、BPPCT 039、BPPCT 002、BPPCT 040 和 BPPCT 01 这 5 个标记得到的带型编码串联,得到各种质的 10 位编码分子身份证(表 4)。可以

看出,得到的 15 份种质分子身份证中,14 份种质能够区分开,只有‘红丰’和‘二花槽’未能区分开。‘开园’‘春华’‘英华’和‘美华’这 4 个新品系的分子身份证分别是 2578231744、5878341744、277a231344 和 6768174612,既互不相同,也与其它种质的分子身份证不同。

如果仅是从 15 份种质中区分 4 个新品系,则这 4 个新品系用 2 个标记的 4 位代码可区别,采用 BPPCT 038 和 BPPCT 039 标记,其区别代码分别是 2578、5878、277a 和 6768;采用 BPPCT 002 和 BPPCT 040 标记,其区别代码分别是 2317、3417、2313 和 1746(表 4)。

表 4 15 份杏种质的分子身份证

Table 4 Molecular identities of 15 apricot germplasms

种质 Germplasm	引物 Primer				
	BPPCT 038	BPPCT 039	BPPCT 002	BPPCT 040	BPPCT 011
‘珍珠油杏’‘Zhenzhu youxing’	77	89	37	46	15
‘凯特’‘Kaite’	67	6d	11	36	12
‘金太阳’‘Jintaiyang’	57	8b	24	15	44
‘红丰’‘Hongfeng’	9a	5c	46	37	11
‘红金臻’‘Hongjinzhen’	19	59	46	33	13
‘济丽红’‘Jilihong’	44	cc	35	34	16
‘红玉杏’‘Hongyuxing’	29	3c	44	33	66
‘二花槽’‘Erhuacao’	9a	5c	46	37	11
‘巴旦杏’‘Badanxing’	23	2c	56	33	11
‘无名杏 1 号’‘Wumingxing No. 1’	22	14	18	23	11
‘长清荷包’‘Changqinghebao’	49	3c	45	34	66
‘开园’‘Kaiyuan’	25	78	23	17	44
‘春华’‘Chunhua’	58	78	34	17	4 4
‘英华’‘Yinghua’	27	7a	23	13	44
‘美华’‘Meihua’	67	68	17	46	12

2.3 电泳图谱的数字化

荧光 SSR 标记 PCR 扩增产物经毛细管电泳检测后获得杏种质样品的电泳图谱和等位基因数

据。有些种质的电泳图谱,比较容易进行数字化处理,如图 1 所示,数字化后显然只有 154、160 bp 这 2 个等位基因。另外一些种质的电泳图谱,谱

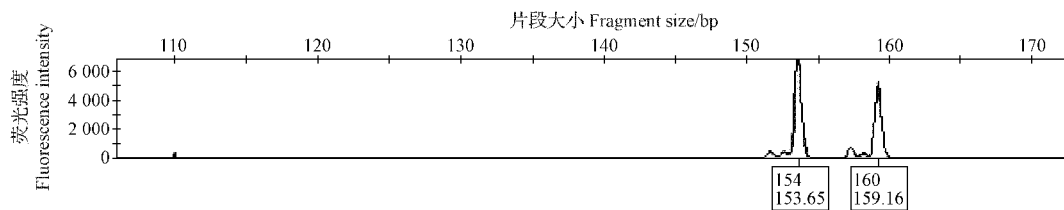


图1 BPPCT 025 标记引物在一个杏品种上的扩增产物带型

Fig. 1 Amplification product pattern of one apricot cultivar using primers of BPPCT 025 marker

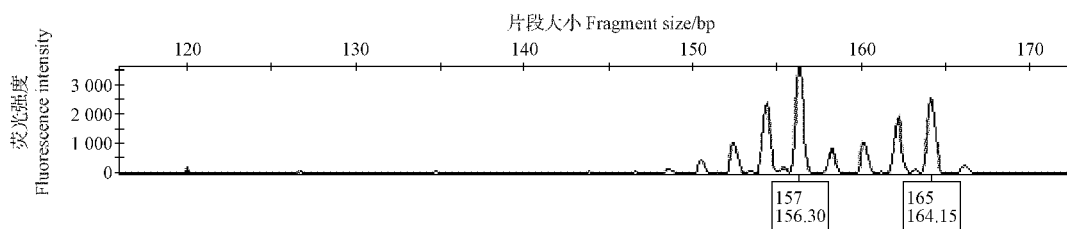


图2 BPPCT 039 标记引物在一个杏品种上的扩增产物带型

Fig. 2 Amplification product pattern of one apricot cultivar using primers of BPPCT 039 marker

带复杂,如图2所示,一个杏品种的电泳图谱数字化后有157、165 bp 2个等位基因,电泳图谱上则显示还有151、153、155 bp和159、161、163 bp这6个基因片段。

### 3 讨论与结论

#### 3.1 分子身份证的构建方法

分子身份证是指纹图谱数字化后,将指纹数据按照一定规则转换为数字编码得到的字符串。目前,构建分子身份证的编码方法主要有:

1) 单个等位基因编码方法,将每对引物扩增的等位基因条带从小到大排列,依次用单个数字编码;有2个等位基因时仅取其中碱基数较少的一个<sup>[8]</sup>。这种方法的优点是一对引物在分子身份证上对应一位数,书写简洁;缺点是单个标记的信息没有充分利用,需要用更多的标记来构建分子身份证,试验成本较高。

2) 图谱带型单个代码法,将获得的一系列带型用单个数字或字母代码进行编码,按照固定引物顺序,串联各带型编码,形成一组数据,构成该品种的分子身份证<sup>[16]</sup>。这种方法的优点是一对引物在分子身份证上对应一位数或一个字母,不仅书写简洁,而且编码空间更大,对杂合带型也进行了编码,可充分利用每一个位点的带型数据。这样相同数量的标记可区分更多的品种,构建分

子身份证需要的标记较少,试验成本较低。缺点是单个标记最多只能编码33种带型,编码空间仍然较小。

鉴于该研究SSR引物加注荧光染料6-FAM荧光基团,试验价格较高,故选择采用图谱带型编码方法,以便充分利用试验获得的每一个位点数据,减少构建分子身份证所需要的标记数量,降低试验费用。该研究采用的是课题组新提出的图谱带型双代码编码方法,具体就是将各个等位基因按照由小到大的顺序,用个位阿拉伯数字或小写字母作代码,然后以2位代码对某个标记的图谱带型进行编码,杂合带型以2位不同代码编码,纯合带型以2位相同代码编码。这种双代码编码方法的优点是单个标记的编码空间更大,既可以充分利用标记区分更多的品种,在分子身份证上还可看出种质的基因型是杂合型还是纯合型,缺点是一个标记在分子身份证上对应2位代码。考虑到这种编码方法构建分子身份证需要的标记较少,实际构建的分子身份证位数并不一定长。

该试验结果证实了图谱带型编码方法优于单个等位基因编码方法。采用单个等位基因编码方法,6个标记仅有29个等位基因可用于构建分子身份证;采用图谱带型编码方法,有57种带型可用于构建分子身份证,信息量明显高于单个等位基因编码方法。

除了考虑上述因素外,构建分子身份证时还应考虑将标记分布在各条染色体上,使各个标记不受连锁遗传影响。该研究6个标记分布在6个连锁群上,因而具有很好的代表性,所建立的分子身份证能够区分4个新品系。

需要注意的是,构建分子身份证时最好按照带型数由大到小的顺序将各个标记的编码串联。这样后续试验中在相应的连锁群上发现更好的标记时,可替换分子身份证中靠后的标记代码,不断优化分子身份证的标记构成。

### 3.2 种质分子身份证的应用和完善

该研究构建的4个杏新品系分子身份证既互不相同,也与其它种质的分子身份证不同,可为4个杏新品系利用分子鉴定进行品种权保护提供依据。这表明在新品系阶段就着手构建分子身份证是必要的,分子身份证的应用有助于未来新品种的品种权保护。另外,生产上常常存在杏的同名异物和同物异名现象,分子身份证的应用有助于厘清杏名称的混乱。

近年来,不断有新品种育成并推向市场。随着新品种的不断增多,可能产生该研究中不包含的新带型,此时可以按照该研究提出的双代码编码方法对新的带型进行编码。由于采用9个个位数和24个小写字母作为等位基因代码,并且每个标记用2位代码编码,理论上每个标记最多可以编码1089种带型( $33 \times 33$ ),选用5个标记可编码带型的空间巨大,可以满足现在及将来对品种鉴定的要求。

目前存在的一个主要问题是很难区分亲缘关系非常近的种质<sup>[16]</sup>。例如,该研究中‘红丰’和‘二花槽’就未能区分开。这种情况的出现说明今后需要进一步的试验发现更好的标记,不断优化和完善种质分子身份证的标记构成。

### 3.3 电泳图谱的数字化

对比分析电泳图谱中的差异可区分品种。但由于电泳图谱存在谱带较多、人工比对判读费时费力和分析较繁琐等问题,其在大规模品种鉴定中的使用受到一定限制<sup>[16]</sup>。为此,人们对电泳图谱进行数字化处理,再运用一定的编码方式构建字符串形式的分子身份证。将图谱转化为数字化的分子身份证后,种质的比对鉴定可以通过计算

机自动进行,具有高效、方便、准确和简单明了的特点<sup>[16]</sup>,故该研究选择建立4个优系等杏种质的分子身份证。

需要注意的是,一些种质的图谱复杂,进行数字化处理后可能存在部分信息丢失问题。如图2所示,一个杏品种的图谱数字化后有157、165 bp 2个等位基因,图谱上则显示还有151、153、155 bp和159、161、163 bp这6个基因片段。这些基因片段是上述157、165 bp 2个等位基因的扩增产物不稳定造成,还是存在多个等位基因,值得进一步研究。

### 3.4 结论

获得15份杏种质的指纹图谱和等位基因数据,确定出6个SSR标记各自在15份杏种质上的指纹带型数,筛选出用于构建杏种质分子身份证的5个SSR标记,提出图谱带型双代码编码方法,建立15份杏种质的分子身份证,成功区分4个杏新品系,可为4个杏新品系利用分子鉴定进行品种权保护提供依据。

### 参考文献

- [1] 张加延. 中国李杏资源及开发利用研究[M]. 北京:中国林业出版社,1999:19-23.
- [2] 苑克俊,牛庆霖. 杏及其加工制品的质量安全与产业发展[J]. 食品科学技术学报,2015,33(4):6-10,15.
- [3] 山东省果树研究所. 山东果树志[M]. 济南:山东科学技术出版社,1999:247-276.
- [4] MORGANTE M, OLIVIERI A. PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics[J]. The Plant Journal, 1993, 3(1):175-182.
- [5] DANGL G S, YANG J, GOLINO D A, et al. A practical method for almond cultivar identification and parental analysis using simple sequence repeat markers[J]. Euphytica, 2009, 168:41-48.
- [6] MORIYA S, IWANAMI H, OKADA K, et al. A practical method for apple cultivar identification and parent-offspring analysis using simple sequence repeat markers[J]. Euphytica, 2011, 177(1):135-150.
- [7] 艾呈祥,张力思,魏海蓉,等. 甜樱桃品种SSR指纹图谱数据库的建立[J]. 中国农学通报,2007,23(5):55-58.
- [8] 陈昌文,曹珂,王力荣,等. 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.
- [9] 王立新,张小军,史星云,等. 苹果栽培品种SSR指纹图谱的构建[J]. 果树学报,2012,29(6):971-977.

- [10] 高源,田路明,刘凤之,等. 利用 SSR 荧光标记构建 92 个梨品种指纹图谱[J]. 园艺学报,2012,39(8):1437-1446.
- [11] 高源,刘凤之,王昆,等. 苹果部分种质资源分子身份证的构建[J]. 中国农业科学,2015,48(19):3887-3898.
- [12] 杜晶晶,刘国银,魏军亚,等. 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.
- [13] 张靖国,田瑞,陈启亮,等. 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.
- [14] 李国田,张美勇,相昆,等. 基于 ISSR 标记的 16 个核桃品种遗传多样性分析及分子身份证构建[J]. 核农学报,2015,29(10):1884-1892.
- [15] 程本义,夏俊辉,龚俊义,等. 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.
- [16] 徐雷锋,葛亮,袁素霞,等. 利用荧光标记 SSR 构建百合种质资源分子身份证[J]. 园艺学报,2014,41(10):2055-2064.
- [17] ACHTAK H,OUKABLI A,ATER M,et al. Microsatellite markers as reliable tools for fig cultivar identification[J]. Journal of the American Society for Horticultural Science,2009,134(6):624-631.
- [18] 麻丽颖,孔德仓,刘华波,等. 36 份枣品种 SSR 指纹图谱的构建[J]. 园艺学报,2012,39(4):647-654.
- [19] 何天明,陈学森,高疆生,等. 新疆栽培杏群体遗传结构的 SSR 分析[J]. 园艺学报,2006,33(4):809-812.
- [20] 张淑青,刘冬成,刘威生,等. 普通杏品种 SSR 遗传多样性分析[J]. 园艺学报,2010,37(1):23-30.
- [21] 王玉兰,欧巧明,陈建军,等. 甘肃地方杏品种资源的 SSR 遗传多样性分析[J]. 西北农业学报,2013,22(3):98-100.
- [22] DIRLEWANGER E,COSSON P,TAVAUD M,et al. Development of microsatellite markers in peach [(*Prunus persica* L.) Batsch] and their use in genetic diversity analysis in peach and sweet cherry (*Prunus avium* L.) [J]. Theoretical and Applied Genetics,2002,105:127-138.
- [23] DONDINI L,LAIN O,GEUNA F,et al. Development of a new SSR-based linkage map in apricot and analysis of synteny with existing *Prunus* maps[J]. Tree Genetics & Genomes,2007(3):239-249.
- [24] 苑克俊,王长君,王培久,等. 赤霉素处理日光温室杏种子对加速育苗进程的效果研究[J]. 山东农业科学,2013,45(10):76-78.
- [25] 苑克俊,王长君,王培久,等. 杏采后当年播种培育种植株技术研究[J]. 天津农业科学,2014,20(11):88-92.

## Molecular Identity Establishment of Several Apricot Strains Based on Fluorescent Labeled SSR Markers

YUAN Kejun, NIU Qinglin, GE Furong, WANG Jiangyong, WANG Peijiu  
(Shandong Institute of Pomology, Tai'an, Shandong 271000)

**Abstract:** The 15 germplasms (including 4 new strains) and 6 SSR markers with fluorescent labeled primers were used to perform PCR experiment, the molecular identities of 4 strains selected from hybrid apricot plants were established. The purpose of this study was to provide experiment basis for cultivar right protection of 4 apricot strains using molecular identification. The results showed that a total of 47 polymorphic alleles and 57 electrophoresis patterns were revealed by the 6 markers, with an average of 7.8 alleles and 9.8 patterns for each marker; and the molecular identities of 4 strains were different from each other and other 11 germplasms. These results provided experiment basis for cultivar right protection of 4 apricot strains using molecular identification.

**Keywords:** apricot; germplasm; SSR marker; fluorescent labeled primer; molecular identity