

王宇晴,李乔乔,阚文亮,等. 利用 SSR 分子标记构建甜菜登记品种的分子身份证[J]. 江苏农业科学,2022,50(18):289-294.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2022.18.045

利用 SSR 分子标记构建甜菜登记品种的分子身份证

王宇晴¹, 李乔乔¹, 阚文亮², 邴植¹, 吴则东¹

(1. 黑龙江大学现代农业与生态环境学院/黑龙江省普通高校甜菜遗传育种重点实验室,黑龙江哈尔滨 150080;

2. 黑龙江省农垦总局九三农业科学研究所,黑龙江哈尔滨 150080)

摘要:通过构建 111 份甜菜登记品种的分子身份证,促进甜菜品种 DUS 测试标准体系的建立,实现甜菜品种的快速检索与比对,为甜菜品种指纹鉴定和溯源管理提供理论依据。利用 22 对简单重复序列(SSR)核心引物,基于最适的取样策略对来自国内外不同地区的 111 份甜菜登记品种进行遗传多样性分析以及分子身份证构建。结果显示,22 对引物共检测到 101 个等位基因,每对引物检测出 3~7 个等位基因,平均为 4.59 个;Shannon 多样性指数(I)为 0.60~1.73,平均为 0.95;Nei's 期望杂合度(H_e)为 0.41~0.79,平均为 0.56; PIC 值范围为 0.91~0.99,平均值为 0.96,22 对引物可用于区分甜菜品种。利用 UPGMA 聚类分析,22 对引物将 111 份材料划为 3 个类群($G_1 \sim G_3$),聚类结果大致与其地理来源一致;通过获得的等位基因计算遗传距离,111 份甜菜品种的遗传距离范围为 0.059~0.564,平均值为 0.325,甜菜品种间具有一定的遗传多样性。基于最少引物区分最多品种的原则,通过 UPGMA 聚类分析,仅用 6 个 SSR 引物组合可将全部材料区分。结果表明,基于 6 对 SSR 引物扩增的结果,通过数字与英文的形式,使用在线二维码软件构建的 111 份甜菜登记品种的分子身份证,丰富了甜菜品种指纹图谱的可视化形式,从而提高了品种鉴定的效率,保护育种者及消费者权益。

关键词:甜菜品种;SSR 标记;分子身份证;遗传多样性分析;指纹图谱

中图分类号:S566.302.4 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2022)18-0289-06

糖用甜菜(*Beta vulgaris* L.)为苋科甜菜属二年生草本植物^[1],广泛分布在欧洲及北美洲地区,是除了甘蔗以外的一种重要的生产蔗糖的经济作物。糖甜菜自 1906 年引入我国以来,地方种植史已达百

年有余^[2],尽管近年来由于农业政策的调整,甜菜种植面积有所缩减,但其作为我国的第二大糖料作物,基本每年占总产糖量的 13% 左右^[3]。糖料生产要求甜菜品种高糖丰产多样化,但随着国内自育品种的发展和国外品种的不断补充和引入,又由于缺乏市场监管以及规范的品种鉴定标准体系,劣质替优、品系混乱、同种异名、张冠李戴等现象层出不穷^[4],这给育种者以及农民带来极大的损害。然而来源于同个育种单位的甜菜品种可能使用相同或相似的优良品系作为父母本,导致品种间遗传差异缩小,遗传背景相似,传统的形态学法难以高效鉴

收稿日期:2022-04-05

基金项目:国家糖料现代农业产业技术体系建设专项(编号:CARS-170111)。

作者简介:王宇晴(1997—),女,福建永泰人,硕士研究生,主要从事甜菜遗传及分子育种研究。E-mail:kwyq0116@163.com。

通信作者:吴则东,博士,研究员,主要从事甜菜遗传及分子育种研究。E-mail:1997009@hlju.edu.cn。

[12]王大莉. 香菇栽培品种 SNP 指纹图谱库的构建[D]. 武汉:华中农业大学,2012:27-35.

[13]魏中艳,李慧慧,李骏,等. 应用 SNP 精准鉴定大豆种质及构建扫描身份证[J]. 作物学报,2018,44(3):315-323.

[14]樊晓静,于文涛,蔡春平,等. 利用 SNP 标记构建茶树品种资源分子身份证[J]. 中国农业科学,2021,54(8):1751-1772.

[15] Lin Y, Yu W T, Zhou L, et al. Genetic diversity of oolong tea (*Camellia sinensis*) germplasm based on the nanofluidic array of single-nucleotide polymorphism (SNP) markers [J]. Tree Genetics & Genomes, 2020, 16(1):1-14.

[16]陆徐忠,倪金龙,李莉,等. 利用 SSR 分子指纹和商品信息构

建水稻品种身份证[J]. 作物学报,2014,40(5):823-829.

[17]陈小红,林元香,王倩,等. 基于高基元 SSR 构建黍稷种质资源的分子身份证[J]. 作物学报,2022,48(4):908-919.

[18]张昆鹏. 利用 SNP 标记构建油菜品种指纹图谱及定位下卷叶性状基因的研究[D]. 南京:南京农业大学,2013:9-26.

[19] Jones E S, Sullivan H, Bhatramakki D, et al. A comparison of simple sequence repeat and single nucleotide polymorphism marker technologies for the genotypic analysis of maize (*Zea mays* L.) [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2007, 115(3):361-371.

[20]郭艳春,张力岚,陈思远,等. 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.

定。因此科学准确地区分和鉴定甜菜品种,这对提高育种效率、保护消费者和育种者权益具有重要的现实意义。

分子标记技术是实现植物遗传多样性分析和品种鉴定的另一种途径,2007 年简单重复序列(SSR)分子标记被国际植物新品种保护联盟(UPOV)确定为植物品种鉴定最有力的工具^[5]。SSR 标记能快速准确鉴定农作物品种的优越性,也使得其成为构建植物指纹图谱的首选^[6]。然而分子身份证是在 SSR 指纹图谱的基础上,遵循一定原则对指纹信息进行编码,得到由字母和数字构成的字符串,通过数字信息技术平台构建独特的二维码(或条形码)的身份标记^[7]。

近年来,黍稷^[8]、小麦^[9]、大豆^[10]、苹果^[11]、茶树^[12]等农作物都基于 SSR 技术构建了分子身份证,甜菜品种在遗传多样性及指纹图谱构建中也有相关研究报道,齐少玮等采用 ISSR 分子标记构建了 39 个甜菜品种的指纹图谱^[13];吴则东等使用 21 对 SSR 引物对 32 个甜菜品种进行指纹图谱及遗传多样性分析^[14];栗媛等使用 5 对 SSR 核心引物构建了 39 份甜菜品种的分子身份证^[15]。上述研究虽然表明 SSR 分子标记技术可有效用于甜菜品种指纹图谱构建及遗传多样性分析,也有试图探究甜菜品种分子身份证的技术分析,但目前国内并没有对现有国家登记的甜菜品种构建分子身份证的研究报道,也尚未制定甜菜品种鉴定的标准。本研究旨在对国内现有的 111 份甜菜登记品种,利用 SSR 标记作品种鉴定以及分子身份证,基于最少引物区分最多品种的原则,进行分子身份证的开发,为甜菜品种鉴定和种子市场的知识产权保护、品种鉴定技术奠定基础 and 提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

甜菜登记品种 111 份,其中来自国外的品种 97 份,来自石河子农业科学研究院、黑龙江大学等国内自育的地方品种 14 份,材料由全国农业技术推广服务中心提供(表 1)。

1.2 SSR 引物筛选

试验中用到的所有 SSR 引物均来源于黑龙江大学甜菜遗传育种重点实验室,并由生工生物工程(上海)股份有限公司合成,利用李乔乔等文献中所得的 27 对 SSR 引物序列信息^[16],进行合成用于试

表 1 供试材料相关信息

材料 编号	品种名称	材料 编号	品种 名称	材料 编号	品种名称
1	HI0936	38	KUHN1387	75	HI1059
2	VF3019	39	SV893	76	H809
3	SS1532	40	MK4162	77	KWS1176
4	BETA796	41	MK4085	78	KWS4502
5	BETA468	42	SV1588	79	KWS9147
6	BETA176	43	KUHN1260	80	KWS1197
7	KUHN8060	44	KUHN1357	81	MA097
8	KUHN1178	45	BTS2860	82	MA104
9	KUHN9046	46	NT39106	83	MA3005
10	SV1375	47	KUHN1280	84	MA3001
11	HX910	48	KWS3354	85	MA2070
12	H003	49	SV1752	86	BETA240
13	LS1210	50	KUHN1277	87	PJ1
14	LS1321	51	SX1517	88	爱丽斯
15	AK3018	52	KWS3410	89	KUHN8062
16	RIVAL	53	KUHN4092	90	LN90910
17	GGR1609	54	KWS7125	91	甘糖 7 号
18	Flores	55	KTA1118	92	CH0612
19	MK4062	56	KWS5599	93	KUHN814
20	H004	57	KWS6661	94	新甜 15 号
21	LS1216	58	HDTY02	95	新甜 14 号
22	SX181	59	航甜单 0919	96	Elma1214
23	KUHN1001	60	LS1805	97	KWS9442
24	MA10-6	61	LN1708	98	KWS0469
25	MA11-8	62	LN17101	99	XJT9911
26	LS1318	63	IM1162	100	XJT9909
27	LN80891	64	KUHN5012	101	XJT9908
28	SV1434	65	MK4044	102	BTS705
29	KWS1231	66	H71M15	103	KUHN1125
30	BTS2730	67	SR496	104	KWS3928
31	BTS5950	68	IM802	105	SV2085
32	BTS8840	69	SV1555	106	MK4187
33	KWS2314	70	SR-411	107	KWS3935
34	SV1366	71	SV1433	108	ZT6
35	SX1511	72	HI0479	109	LN90909
36	SX1512	73	HI0474	110	甜研 312
37	XJT9907	74	HI1003	111	甜研 208

验。从中筛选出 22 对分布在甜菜 9 条染色体上的 SSR 核心引物,采用 HAP 方式纯化。

1.3 DNA 的提取

于 2020 年 7 月在黑龙江省哈尔滨市呼兰区试验地(126°58'E,45°90'N)采集样品,每份甜菜品种根据最适取样策略各取 10 株,选取嫩叶部分,混合

取样,用记号笔编号,放入制冰盒内保存,带回实验室并放置在 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 超低温冰箱储藏。参试样本按照十六烷基三甲基溴化铵 (CATB) 法^[17]提取 DNA。用微量紫外可见分光光度计测定 DNA 的浓度和纯度,把 DNA 样本调整浓度为 $10\text{ ng}/\mu\text{L}$,置于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱备用,并将 DNA 母液置于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。

1.4 PCR 扩增与电泳检测

PCR 扩增体系为 $5\text{ }\mu\text{L}$,包括 $1\text{ }\mu\text{L}$ 模板 DNA、 $2.5\text{ }\mu\text{L}$ $2\times\text{MIX}$ ($2\times\text{Rapid Taq Master Mix}$)、 $0.4\text{ }\mu\text{L}$ 正反向引物 (10 pmol/L)、 $1.1\text{ }\mu\text{L}$ ddH_2O 。

PCR 程序视所用 SSR 引物退火温度采用 2 种程序:(1)一是固定退火温度 PCR 程序:反应程序为 $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min ; $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 变性 15 s , $58\text{ }^{\circ}\text{C}$ 或 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 退火 15 s , $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s , 循环 35 次 ; $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 终延伸 5 min 。(2) Touch down PCR 的程序:反应程序为 $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min ; $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 变性 15 s , $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ 退火 15 s , $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s , 以后 $65\sim 56\text{ }^{\circ}\text{C}$ 每降 $1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 循环 2 次 , 直到 $56\text{ }^{\circ}\text{C}$; $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 变性 15 s , $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ 退火 15 s , $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s , 循环 20 次 ; $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 终延伸 5 min ; $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。

PCR 扩增完成后,取 $1.5\text{ }\mu\text{L}$ 扩增产物,在 8% 非变性聚丙烯酰胺凝胶上采用恒电压 (180 V) 电泳 1.5 h ,最后根据 Stothard 等的比较结果^[18],使用能高效灵敏检测 DNA 且无毒的 G-Red 核酸染料对凝胶进行泡染。随后观察、照相、读带。

1.5 数据分析

统计 SSR 扩增位点,对清晰的 DNA 条带进行统计,并转换成数字 0、1、9 格式,其中在同一迁移率位置上 1 表示有带型,9 表示缺失,0 表示没有带型,将数据集转换为数字矩阵,进行统计分析。PIC 值是指根据等位基因数量及其在群体中的分布频率

来检测多态性标记的值^[19],22 对引物的 PIC 值按公式 $PIC = 1 - \sum P_i^2$ 计算,式中: P_i 为某引物扩增的第 i 个等位基因出现的频率。使用 PopGene Version 1.32 软件计算等位基因数 N_a 、Shannon's 信息指数 I 以及 Nei 氏期望杂合度 H_e ,对甜菜登记品种进行遗传多样性分析;随后采用 MEGA 软件基于数字矩阵计算品种间的遗传距离并进行聚类分析,绘制 111 份甜菜品种亲缘关系聚类树状图。

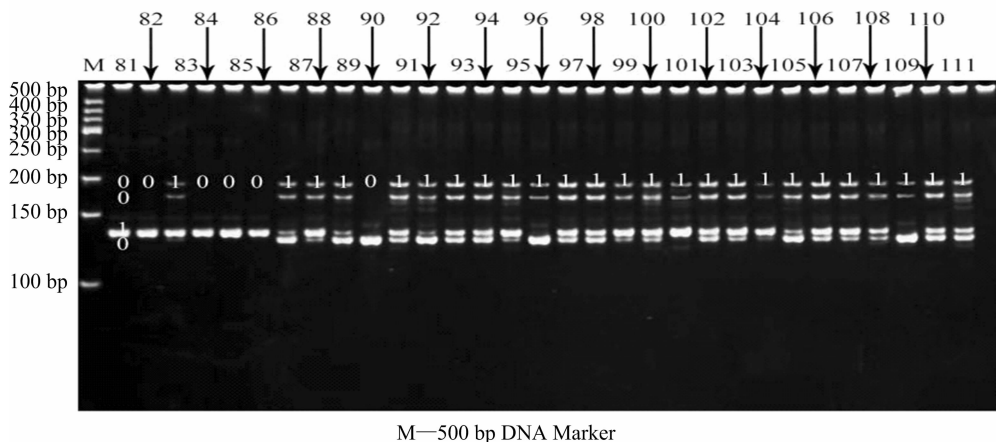
1.6 甜菜登记品种分子身份证的构建

甜菜品种 SSR 分子身份证是由字符串、二维码以及品种基本信息组合构成。字符串是以不同 SSR 引物扩增的条带按照 0、1、9 构成的数字集以及标注引物的大写英文字母 A~Z 构成的数字加字母组合而成;将字符串、品种基本信息 (包括品种名称、登记编号、育种者、来源) 导入二维码在线技术 (<https://cli.im/>) 转化成可扫描的二维码;二者即构成甜菜登记品种 DNA 分子身份证。

2 结果与分析

2.1 甜菜品种数字 DNA 指纹信息采集

对 SSR 引物扩增产物进行电泳检测可获得清晰的条带图。根据 22 对 SSR 核心引物对 111 份甜菜登记品种扩增出的等位基因进行记录,以此采集 111 份甜菜品种的数字 DNA 指纹信息,作为分子身份证字符串的依据。如图 1 所示,以引物 2170 的扩增产物为例,横向约在 Marker 200 bp 位置上,81~111 号甜菜品种扩增情况为 00100 01110 11111 11111 11111 11111 1;纵向约在 Marker 100~200 bp 的位置 81 号甜菜品种的扩增情况为 0100。



M—500 bp DNA Marker
图1 引物 2170 对 81~111 号不同 DNA 样本的扩增带型

2.2 遗传多样性分析

通过利用 22 对 SSR 引物分别对 111 份甜菜登记品种的混样 DNA 进行甜菜品种间遗传多样性分析。从扩增出的等位基因数目上(表 2)看,22 对 SSR 引物在 111 份甜菜品种 DNA 样本中共检测到 101 个等位基因,每对引物检测出 3~7 个等位基因,平均为 4.59 个;其中引物 2305 以及 1965 检测出的等位基因数最多,为 7 个,引物 L16、L64、BVV21、L59 以及 W15 最少,为 3 个。多态性百分率在 66.67%~100.00% 之间,引物 7236、2170、BQ588629、L37、L64、L70、TC55、W21、LNX47 及 W31 的多态百分比最高,为 100.00%,最低的是 L16、BVV21、L59 及 W15,为 66.67%。22 对引物的 Shannon's 信息指数在 0.60~1.73 之间,平均值为 0.95;Nei's 期望杂合度在 0.41~0.79 之间,平均值为 0.56;PIC 值介于 0.91~0.99,平均值为 0.96,参考 Botstein 的研究结果^[20],可知 22 对引物 PIC 值均大于 0.5,为多态性丰富的 SSR 引物。综上指标表明 22 对 SSR 引物可区分 111 份甜菜登记品种以此构建甜菜品种的分子身份证,且甜菜品种间具有一定的遗传变异。

2.3 遗传距离及聚类分析

利用 22 对分布在甜菜 9 条染色体上的 SSR 引物,对 111 份来自不同国家地区的甜菜登记品种的 DNA 混合样本进行扩增。通过扩增结果获得的等位基因利用 MEGA 7.0 计算遗传距离,111 份甜菜品种的遗传距离范围为 0.059~0.564,平均值为 0.325。其中来自荷兰安地国际有限公司的甜菜品种 SV1366 与同属于麦瑞博西索科有限公司的 MA097、MA104、MA3005、MA3001 以及 MA2070 的遗传距离为 0.505~0.564,极差最大;而品种 MA3001 和 MA2070 遗传距离最近,源于同个公司,经查证使用同一父本 P2-35。

由图 2 可知,在遗传距离为 0.16 时,可将 111 份甜菜品种分为三大类群,类群 G1 有 32 份品种,类群 G2 有 22 份品种,类群 G3 有 57 份品种。类群 G1 在遗传距离为 0.14 时可分为 2 个亚群 G1-1 和 G2-2。G1-1 在遗传距离为 0.11 时划分为次亚群 G1-1-1 和 G1-1-2。亚群 G1-1 共有 17 份品种,其中 95 号品种新甜 14 号和 100 号品种 XJT9909 遗传距离最近;在亚群 G1-2 中 84 号品种 MA3001 和 85 号品种 MA2070 遗传距离最近。类群 G2 在遗传距离为 0.14 时分为亚群 G2-1 和 G2-2

表 2 22 对 SSR 引物在 111 份甜菜登记品种中多态性扩增结果

引物名称	多态性百分率(%)	等位基因数(个)	Shannon's 信息指数	Nei's 期望杂合度	PIC 值
2305	85.72	7	1.73	0.79	0.98
7236	100.00	4	1.24	0.68	0.96
4118	80.00	5	0.97	0.59	0.99
1965	85.72	7	1.60	0.77	0.99
2170	100.00	4	0.69	0.50	0.98
BQ588629	100.00	5	0.95	0.59	0.97
L37	100.00	4	0.91	0.57	0.97
L7	80.00	5	1.01	0.60	0.98
L16	66.67	3	0.90	0.55	0.91
L35	75.00	4	0.67	0.48	0.98
L48	75.00	4	0.60	0.41	0.97
L57	80.00	5	1.01	0.60	0.98
L64	100.00	3	0.68	0.48	0.94
L70	100.00	6	0.97	0.57	0.99
TC55	100.00	6	0.69	0.50	0.98
W21	100.00	4	1.06	0.56	0.91
TC122	83.34	6	1.43	0.72	0.97
BVV21	66.67	3	0.69	0.49	0.96
L59	66.67	3	0.61	0.42	0.94
W15	66.67	3	0.65	0.45	0.93
LNX47	100.00	5	0.88	0.56	0.97
W31	100.00	5	0.85	0.52	0.97
平均		4.59	0.95	0.56	0.96

2 个类群。亚群 G2-1 中有品种 20 份,其中 5 号品种 BETA468 和 29 号品种 KWS1231 遗传距离最近;亚群 G2-2 中仅有 4 号品种 BETA796 和 56 号品种 KWS5599 2 份材料。而类群 G3 在遗传距离 0.14 时分为亚群 G3-1 和 G3-2 2 个类群。亚群 G3-1 中共有品种 17 份,其中 13 号品种 LS1210 和 14 号品种 LS1321 遗传距离最近;亚群 G3-2 中有 40 份品种,品种间遗传距离最近的是 41 号品种 MK4085 和 42 号品种 SV1588。

就类群 G1 而言,由黑龙江大学、新疆农业科学院经济作物研究所等地培育的国内品种 58 号、91 号、94 号、95 号、99~101 号以及 110 号和 111 号与来自荷兰安地国际有限公司的 64 号、71 号、89 号以及 106 号共同聚在亚类 G1-1;而品种 1 号、18 号、24 号、25 号、72 号、74 号、75 号以及 81~85 号皆来源于麦瑞博西索科有限公司都聚在 G1-2。源于美国 BETASEED 公司的 4 号、5 号、30~32 号、45 号、86 号、102 号与来自 KWS SAAT SE 的 29 号、33 号、48 号、52 号、54 号、56 号、57 号、78~80 号、97 号、

98 号以及 107 号聚在类群 G2。聚在类群 G3 的大部分甜菜品种皆来自荷兰安地国际有限公司以及英国莱恩种业。综上所述,聚类结果大致与甜菜品种的地理来源一致,属于同一育种单位的甜菜品种,在聚类图上显示为一类,可能是因为制种公司

在育种时在性状或父母本的选择上有相同或相似之处,聚类结果符合遗传规律。此外,约 50% 的甜菜品种聚为 G3 类,这可能是由于这部分试验材料绝大部分是来源国外申请品种,亲缘关系较近,遗传基础狭窄,遗传背景相似。

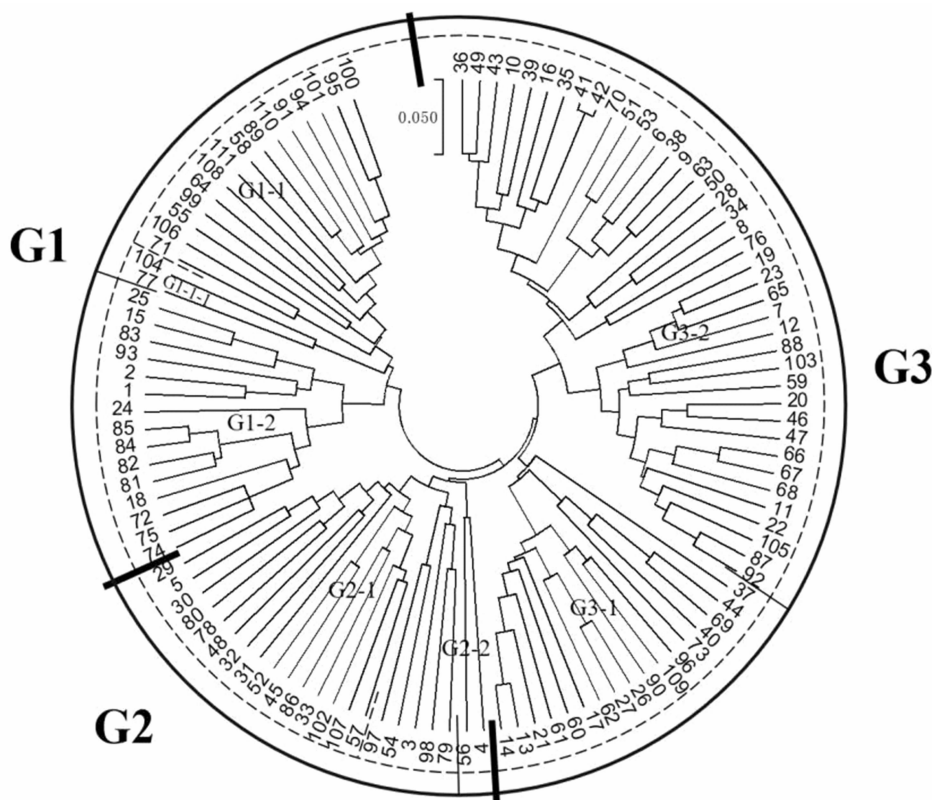


图2 基于 22 对 SSR 引物 111 份甜菜登记品种的聚类分析

2.4 甜菜登记品种分子身份证的构建

通过 UPGMA 聚类分析法,基于最少引物区分最多品种的原则,剔除条带不清晰的引物,筛选出了 6 对(引物 2305、TC122、4118、L7、L37、L59)能够完全区分 111 份甜菜登记品种的优质引物。用上述 6 对标记构建甜菜登记品种的字符串数字 DNA 分子身份证,字符串由代表引物字母标注和引物扩增出的 0、1 数据集组成。A~F 字母标注是按照引物多态性比由高到低排序为 L37、2305、TC122、4118、L7 及 L59。以品种 1 号 HI093 为例,其字符串数字 DNA 分子身份证为 A1110B0000001C010010D11111E11011F111。将上述字符串 DNA 分子身份证以及对应的品种信息导入二维码在线技术(<https://cli.im/>)转化成可扫描的二维码,基于二者便成功构建出 111 份甜菜登记品种的 DNA 分子身份证。图 3 是甜菜品种 HI0936 的二维码 DNA 分子身份证。



图3 甜菜品种 HI0936 的二维码 DNA 分子身份证

3 讨论与结论

随着数字时代的发展,数字信息技术也渗透到农业领域上与生物技术碰撞,引领智慧农业数字化,及时更新和构建登记品种分子身份证,可为甜菜品种选育提供可靠的数据参考以及为育种者、消费者提供有力保障。本研究基于 SSR 分子标记技术,采用 22 对 SSR 引物对 111 份甜菜登记品种进行遗传多样性分析并更新构建甜菜分子身份证信息,

111 份甜菜品种平均遗传距离为 0.325,遗传距离范围在 0.059~0.564 之间;22 对引物 Shannon's 信息指数在 0.60~1.73 之间,平均值为 0.95;Nei's 期望杂合度在 0.41~0.79 之间,平均值为 0.56;*PIC* 值介于 0.91~0.99,平均值为 0.96;基于遗传距离根据 UPGMA 法分为三大类群,试验材料的聚类结果符合遗传规律,与地理来源一致。分析参数结果与丁刘慧子等对 107 份相同品种的结果^[21]相似,不但补充了后期登记的品种信息,而且在聚类结果显示上更为清晰明朗。表明选用的 22 对 SSR 引物有效地构建了甜菜登记品种的分子身份证信息以及满足该目标群体的遗传多样性研究。

构建品种分子身份证通常是基于指纹图谱信息,根据用最少的引物区分最多品种的原则,筛选出一定数目优质的引物进行编写,本研究参考肖文芳等的研究方法^[22],从 1 对引物逐步增加引物数量,通过 UPGMA 法筛选出可将 111 份甜菜品种全部区分的引物组合,最终确定组合为引物 2305、TC122、4118、L7、L37 以及 L59。分子身份证编码形式通常有多种,有应用基因型编码方法采用个位数字和小写英文字母对不同带型进行编码构建种质资源的分子身份证^[23];也有根据获得的带型按照固定引物顺序,用数字编码,串联各带型编码,形成数据代码获得分子身份证。本研究依据筛选出的引物组合指纹信息,为每一份登记品种进行分子身份证编码,6 对引物多态性比最大的是 2305,最小的是 L59,由高到低用英文 A~F 依次编码,串联构成了甜菜登记品种的分子身份证。

本研究构建的甜菜登记品种分子身份证,从 22 对优质引物中筛选出的 6 对多态性高的引物可作为甜菜品种鉴定引物。基于 6 对 SSR 引物的指纹信息构建了 111 份甜菜登记品种的 DNA 分子身份证,进一步丰富该品种的可视化信息内容,为甜菜品种的推广以及品种选育提供科学依据,也为育种者和消费者提供了有力的保障。

参考文献:

- [1] Clouse J W, Adhikary D, Page J T, et al. The amaranth genome; genome, transcriptome, and physical map assembly [J]. The Plant Genome, 2016, 9(1): 1-14.
- [2] 郭金山, 叶秀娟. 中国甜菜种业回顾与可持续发展展望 [J]. 种子世界, 2015(11): 5-7.
- [3] 孙海艳, 史梦雅, 李荣德, 等. 我国甜菜种业发展现状分析及对策建议 [J]. 中国种业, 2021(3): 1-4.
- [4] 马亚怀, 邱 军, 陈连江, 等. 我国甜菜品种引进工作的现状与分析 [J]. 中国糖料, 2013, 35(1): 72-75.
- [5] 张 泉, 杜 潇, 孙馨宇, 等. 利用 SSR 标记构建部分山楂资源的基因身份证 [J]. 沈阳农业大学学报, 2021, 52(2): 153-159.
- [6] 滕海涛, 吕 波, 赵久然, 等. 利用 DNA 指纹图谱辅助植物新品种保护的可能性 [J]. 生物技术通报, 2009(1): 1-6.
- [7] Li L, Xu X L, Wu P, et al. Establishment of molecular identity cards for *Cucumis melo* cultivars using SSR markers [J]. HortScience, 2018, 53(2): 138-143.
- [8] 陈小红, 林元香, 王 倩, 等. 基于高基元 SSR 构建黍稷种质资源的分子身份证 [J]. 作物学报, 2022, 48(4): 908-919.
- [9] 秦瑞英, 许 学, 张立平, 等. 小麦 SSR 指纹图谱及品种身份证的构建——基于毛细管电泳分析 [J]. 中国农学通报, 2017, 33(34): 46-55.
- [10] 李 清, 罗永坚, 吴柔贤, 等. 广东省大豆种质资源遗传多样性分析及 DNA 分子身份证构建 [J]. 广东农业科学, 2020, 47(12): 221-228.
- [11] 侯丽媛, 董艳辉, 邓 舒, 等. 部分苹果属种质遗传多样性分析及分子身份证构建 [J]. 山西农业科学, 2020, 48(8): 1171-1179.
- [12] 刘冠群, 吴祠平, 谭礼强, 等. 利用 SSR 分子标记构建名山茶树基因身份证 [J]. 四川农业大学学报, 2019, 37(4): 469-474, 503.
- [13] 齐少玮, 闫彩燕, 郭 佳, 等. 利用 ISSR 构建甜菜品种指纹图谱 [J]. 中国糖料, 2019, 41(4): 18-23.
- [14] 吴则东, 王茂芊, 吴玉梅, 等. 32 个甜菜品种指纹图谱构建与遗传多样性分析 [J]. 中国农学通报, 2015, 31(12): 169-174.
- [15] 栗 媛, 王茂芊, 邳 植, 等. 利用 SSR 构建甜菜品种的分子身份证 [J]. 中国糖料, 2019, 41(4): 46-49.
- [16] 李乔乔, 王宇晴, 刘 蕊, 等. 甜菜全基因组 SSR 引物的筛选与评价 [J]. 中国农学通报, 2022, 38(12): 95-99.
- [17] Chen S J, Wang Q, Han J R, et al. Comparison of DNA extraction methods for the PCR - single - strand - conformation polymorphism analysis of kefir [J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2011, 27(1): 193-196.
- [18] Stothard J R, Frame I A, Miles M A. An evaluation of four staining methods for the detection of DNA in nondenaturing polyacrylamide gels [J]. Analytical Biochemistry, 1997, 253(2): 262-264.
- [19] Park Y H, Alabady M S, Ulloa M, et al. Genetic mapping of new cotton fiber loci using EST - derived microsatellites in an interspecific recombinant inbred line cotton population [J]. Molecular Genetics and Genomics, 2005, 274(4): 428-441.
- [20] Botstein D. A theory of modular evolution for bacteriophages [J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 1980, 354: 484-490.
- [21] 丁刘慧子, 邳 植, 吴则东. 甜菜品种 SSR 指纹图谱的构建及遗传多样性分析 [J]. 作物杂志, 2021(5): 72-78.
- [22] 肖文芳, 李 佐, 陈和明, 等. 基于 TP - M13 - SSR 标记的石斛兰种质分子身份证构建 [J]. 热带作物学报, 2021, 42(10): 2751-2757.
- [23] 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.