DOI: 10.3724/SP.J.1006.2021.04022

黄麻应用核心种质的 DNA 分子身份证构建

郭艳春^{1,2,3} 张力岚^{1,2,3} 陈思远^{1,2,3} 祁建民^{1,2} 方平平^{1,2} 陶爱芬^{1,2}
张列梅^{1,*} 张立武^{1,2,3,*}

¹ 福建农林大学农学院作物遗传育种与综合利用教育部重点实验室 / 福建省作物设计育种重点实验室, 福建福州 350002; ² 福建农林大学农业农村部东南黄红麻实验观测站 / 福建省麻类种质资源共享平台 / 福建省南方经济作物遗传育种与多用途开发国际科技合作基地, 福建福州 350002; ³ 福建农林大学海峡联合研究院基因组与生物技术中心, 福建福州 350002

摘要: 构建并研究黄麻应用核心种质是促进黄麻遗传育种和挖掘优异基因的必要途径。在 300 份黄麻种质资源的农艺性状观察统计基础上, 构建了黄麻应用核心种质, 包含 61 份品种(系), 可划分为高产、优质、抗病等 16 种应用类型。为准确鉴定这 61 份应用核心种质, 以 46 对核心引物为基础, 筛选出 12 对荧光核心引物, 采用荧光标记毛细管电泳分析这 12 对引物的多态性, 共检测出 140 个多态性位点。将毛细管电泳得到的分子量数据以数字+英文字母方式编码, 选取了 12 对荧光核心引物的组合, 构建出该应用核心种质的字符串 DNA 分子身份证, 进而构建了相应的条形码和二维码 DNA 分子身份证, 可迅速被电子设备识别。这些结果可促进黄麻种质资源的高效利用及快速分子鉴定。
关键词: 黄麻; 应用核心种质; SSR; 荧光分子标记; DNA 分子身份证

Establishment of DNA molecular fingerprint of applied core germplasm in jute (*Corchorus* spp.)

GUO Yan-Chun^{1,2,3}, ZHANG Li-Lan^{1,2,3}, CHEN Si-Yuan^{1,2,3}, QI Jian-Min^{1,2}, FANG Ping-Ping^{1,2}, TAO Ai-Fen^{1,2}, ZHANG Lie-Mei^{1,*}, and ZHANG Li-Wu^{1,2,3,*}

¹ Key Laboratory of Ministry of Education for Genetics, Breeding and Multiple Utilization of Crops / Fujian Key Laboratory for Crop Breeding by Design, College of Agriculture, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, Fujian, China; ² Experiment Station of Ministry of Agriculture and Rural Affairs for Jute and Kenaf in Southeast China / Public Platform of Fujian for Germplasm Resources of Bast Fiber Crops, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, Fujian, China; ³ Center for Genomics and Biotechnology, Haixia Institute of Science and Technology, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, Fujian, China

Abstract: It is important to construct and study the applied core collection in order to promote jute genetic breeding and explore excellent genes. In this study, the applied core collection in jute, including 61 accessions divided into 16 application-oriented features, such as high yield, high quality, disease resistance and so on, was established based on the field performance from 300 jute germplasm. 12 fluorescent core primers were screened from 46 pairs of core primers. Fluorescence labeled capillary electrophoresis was used to analyze the polymorphism of these 12 pairs of primers, and a total of 140 polymorphism sites were detected. The precise DNA molecular ID cards were constructed by the combination of the 12 core primer pairs from the data coded in the form of numbers and English letters. Bar code and quick response code DNA molecular were established and can be quickly scanned and recognized by electric gadget. These results could be beneficial to increase the application efficiency and rapid molecular identification in jute germplasm resources.

Keywords: jute; applied core collection of germplasm; SSR; fluorescent molecular markers; DNA molecular identification

黄麻是一年生草本植物, 世界上最重要的韧皮 部纤维作物。黄麻属(*Corchorus*)有 100 多个种, 在生

本研究由国家自然科学基金项目(31771369)和国家现代农业产业技术体系建设专项(CARS-19-E06)资助。

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (31771369) and the China Agriculture Research System (CARS-19-E06).

* 通信作者(Corresponding authors): 张立武, E-mail: lwzhang@fafu.edu.cn, zhang_liwu@hotmail.com; 张列梅, E-mail: zhangliemei@126.com
第一作者联系方式: 郭艳春, E-mail: 565358452@qq.com

Received (收稿日期): 2020-02-03; Accepted (接受日期): 2020-04-15; Published online (网络出版日期): 2020-05-10.

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1809.S.20200511.1325.002.html>

产上有栽培价值的有圆果种黄麻(*C. capsularis* L.)和长果种黄麻(*C. olitorius* L.),两者皆为二倍体($2n = 14$)。其纤维具有产量高、纤维质地柔软的特点^[1]。我国是世界上最古老的黄麻原产地之一,种植黄麻已有近千年的历史,古时黄麻又称“绿麻”、“络麻”,早在北宋年间就已有黄麻形态特征的记载^[2]。农作物种质资源是人类社会可持续发展不可替代的财富,20世纪40—60年代,我国就开始了黄麻种质资源的考察与搜集,经过半个多世纪的艰苦努力,我国黄麻种质资源已建立起完整的研究体系^[3]。随着黄麻种质资源研究的深入,发掘一批具有应用价值的优异种质资源可为黄麻遗传育种和生产利用提供必要的种质基础。

核心种质(core germplasm)有利于提高种质资源的利用效率。不同研究者构建了多种作物的核心种质,如水稻^[4]、小麦^[5]、黄麻^[6]、芝麻^[7]等。随着核心种质的深入研究,针对优异的育种目标性状,以核心种质为基础,构建具有代表性的应用核心种质(applied core germplasm)^[8]在作物育种进程中具有重要意义。黄麻核心种质研究虽已有报道^[6],但黄麻应用核心种质的研究鲜有报道。

在众多的分子标记技术中,简单重复序列 SSR (simple sequence repeat)具有多态性高、数量丰富、重复性好等特点,是一种比较理想的遗传标记^[9-10]。张立武等^[11]在黄麻 EST 序列的基础上,开发了 66 对 SSR 引物;陶爱芬等^[12]利用黄麻转录组数据开发并验证了 29 对 SSR 引物,这些 SSR 为黄麻种质资源遗传多样性分析、分子标记辅助育种、遗传图谱构建和功能基因的挖掘等提供了有利工具。

为鉴别核心种质或应用核心种质之间的差异,越来越多的研究者利用分子标记来构建 DNA 指纹图谱。目前指纹图谱的构建方法有聚丙烯酰胺凝胶电泳法^[13]、荧光毛细管电泳法^[14]等。随着 SSR 荧光标记毛细管电泳技术 DNA 指纹图谱的快速发展,在指纹图谱的基础上,可将结果转化为字符串、条形码及二维码等,称为 DNA 分子身份证^[15-17]。它可以不受环境因素的影响,能精确、简洁地鉴定不同种质资源。目前,黄麻种质资源指纹图谱的分子身份证构建工作研究较少。

本研究从不同来源的黄麻种质资源遴选出应用核心种质,并通过 SSR 荧光标记毛细管电泳技术构建黄麻应用核心种质的 DNA 分子身份证,以促进黄麻种质资源的高效利用及快速分子鉴定,并为黄麻优异基因的挖掘奠定良好基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

从 300 份黄麻种质资源^[18]中鉴定评价出 61 份品种(系),均由福建农林大学麻类作物遗传育种与综合利用实验室提供。

1.2 试验设计与应用核心种质的构建

依据《黄麻种质资源描述规范和数据标准》^[19],对种质资源的株高、茎粗、鲜皮厚、单株鲜皮重、出苗期、开花期、结果期、工艺成熟期、种子成熟期、生育日数、生育类型、叶形、果形、抗病性、耐旱性、耐盐性、抗倒伏性、种子发芽率进行鉴定评价,收获后测定纤维素含量、木质素含量、纤维强度、纤维支数等构建出具有优异性状的包含 61 份品种(系)的应用核心种质。

该应用核心种质分别于 2018 年 5 月 1 日和 2019 年 5 月 8 日在福建省三明市尤溪县福建农林大学洋中科教基地农场(东经 118°28'44", 北纬 26°17'22", 海拔 174 m),按 2 行区种植,行长 3.5 m,行株距 1.20 m × 0.10 m,采用单因素随机区组设计,边行种植 2 行保护行,田间管理同大田。

1.3 DNA 提取

采用改良的 CTAB 法提取黄麻基因组 DNA^[20]。用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 完整性,采用紫外分光核酸测定仪测定 DNA 质量和浓度,并将样品 DNA 稀释至 50 ng μL^{-1} , -20 °C 保存备用。

1.4 SSR 引物

46 对预选引物序列信息见附表 1,所用的 SSR 引物包括编号 CeID^[18]、CoSSR^[11]和 CoEMS^[20],由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。毛细管电泳荧光引物为单色荧光,上游 5'端加 FAM (blue)或 HEX (green)荧光基团标记,由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

参照徐益等^[6]PCR 体系、PCR 扩增的方法,用荧光毛细管电泳分离 PCR 扩增产物。荧光毛细管电泳采取一重单色毛细管电泳,仪器为 3730XL 测序分析仪。

1.5 荧光核心引物筛选及数据处理

从供试材料中随机选 12 份材料,通过 PAGE 银染法对备选的 46 对 SSR 核心引物进行初筛,每个引物进行 3 次重复,选取多态性高、重复性好的引物合成荧光引物。用 PIC_Calc 0.6 软件计算多态性信息量(PIC)。

1.6 DNA 分子身份证构建方法

采用 SSR 荧光标记毛细管电泳技术, 用获得的核心引物分析该应用核心种质, 用 3730XL 测序仪读取数据, 获得 SSR 扩增片段的精确分子量, 并进行数字+英文字母编码。将每对引物扩增所有样品的不同带型, 按分子量从大到小用数字 1~9 依次表示, 超出 9 的用英文字母 A~Z 依次表示, 构建字符串形式的 DNA 分子身份证。将对应字符串导入在线条码生成器(<http://barcode.cnaidc.com/html/BCGcode128b.php>), 生成可供扫描的条形码 DNA 分子身份证; 将应用核心种质的基本信息、形态特征特性、品质数据、DNA 分子身份证代码等文本信息输入在线二维码生成器(<https://cli.im/>), 生成可扫描的

二维码 DNA 分子身份证。

2 结果与分析

2.1 应用核心种质的构建

通过包含 61 份品种(系)的应用核心种质农艺性状精准鉴定, 筛选出纤维产量高(包括高秆、茎粗、鲜皮厚、单株鲜皮重)、纤维品质好(包括高纤维素含量、低木质素含量、高纤维强度、高纤维支数)、抗逆(包括抗炭疽病、抗盐、抗旱、高发芽率、抗种子老化)、生育期适宜、适宜机械化(抗倒伏)等应用核心种质, 加上 6 份骨干亲本, 按特性可分为 16 个应用型, 即 16 组(表 1)。剔除不同组内同一种质, 共 61 份品种(系)。

表 1 黄麻应用核心种质
Table 1 Applied core collection of jute

组	序号	产地或来源	种质名称	特性
Group	Number	Origin	Name	Characteristics
1	1	中国广东省广州市 Guangzhou, Guangdong, China	广东独尾麻 Guangdongduweima	高秆 Tall plant height
	2	中国福建省龙海市 Longhai, Fujian, China	古农红皮 Gunonghongpi	高秆 Tall plant height
	3	中国福建省福州市 Fuzhou, Fujian, China	梅峰 4 号 Meifeng 4	高秆 Tall plant height
	4	中国福建省福州市 Fuzhou, Fujian, China	福黄麻 2 号 Fuhuangma 2	高秆 Tall plant height
	5	中国福建省漳州市 Zhangzhou, Fujian, China	粤引长果 1 号 Yueyinchangguo 1	高秆 Tall plant height
	6	中国湖南省长沙市 Changsha, Hunan, China	中长黄 1 号 Zhongchanghuang 1	高秆 Tall plant height
	7	中国贵州省 Guizhou, China	甜麻 Tianma	高秆 Tall plant height
2	8	中国福建省三明市 Sanming, Fujian, China	闽麻 273 Minma 273	茎粗 Large stem diameter
	9	中国福建省 Fujian, China	闽麻 737 Minma 737	茎粗 Large stem diameter
	10	中国湖南省长沙市 Changsha, Hunan, China	中黄麻 1 号 Zhonghuangma 1	茎粗 Large stem diameter
	11	中国福建省福州市 Fuzhou, Fujian, China	福农 4 号 Funong 4	茎粗 Large stem diameter
	12	中国贵州省 Guizhou, China	甜麻 Tianma	茎粗 Large stem diameter
3	13	中国湖南省沅江市 Yuanjiang, Hunan, China	淡红皮 10 号 Danhongpi 10	鲜皮厚 Large fresh bark thickness
	14	中国福建省福州市 Fuzhou, Fujian, China	福黄麻 2 号 Fuhuangma 2	鲜皮厚 Large fresh bark thickness
	15	中国湖南省长沙市 Changsha, Hunan, China	中黄麻 1 号 Zhonghuangma 1	鲜皮厚 Large fresh bark thickness

(续表 1)

组	序号	产地或来源	种质名称	特性
Group	Number	Origin	Name	Characteristics
3	16	巴基斯坦 Pakistan	巴长 4 号 Bachang 4	鲜皮厚 Large fresh bark thickness
4	17	中国四川省罗江县 Luojiang, Sichuan, China	圆子麻 Yuanzima	单株鲜皮重 Large fresh bark weight per plant
	18	中国福建省福州市 Fuzhou, Fujian, China	福黄麻 2 号 Fuhuangma 2	单株鲜皮重 Large fresh bark weight per plant
	19	中国湖南省长沙市 Changsha, Hunan, China	中黄麻 1 号 Zhonghuangma 1	单株鲜皮重 Large fresh bark weight per plant
	20	马里 Mali	807 元引马里 807 yuanyinmali	单株鲜皮重 Large fresh bark weight per plant
5	21	中国广东省广州市 Guangzhou, Guangdong, China	广东独尾麻 Guangdongduweima	高纤维素 High cellulose
	22	中国湖南省长沙市 Changsha, Hunan, China	D-154	高纤维素 High cellulose
	23	中国台湾省 Taiwan, China	新隆黄麻 Xinlonghuangma	高纤维素 High cellulose
	24	中国福建省漳州市 Zhangzhou, Fujian, China	粤引长果 1 号 Yueyinchangguo 1	高纤维素 High cellulose
	25	中国福建省福州市 Fuzhou, Fujian, China	福农 1 号 Funong 1	高纤维素 High cellulose
	26	中国福建省福州市 Fuzhou, Fujian, China	福农 4 号 Funong 4	高纤维素 High cellulose
6	27	中国广东省广州市 Guangzhou, Guangdong, China	广东独尾麻 Guangdongduweima	低木质素 Low lignin
	28	中国湖南省长沙市 Changsha, Hunan, China	D-154	低木质素 Low lignin
	29	中国台湾省 Taiwan, China	新隆黄麻 Xinlonghuangma	低木质素 Low lignin
	30	中国福建省漳州市 Zhangzhou, Fujian, China	粤引长果 1 号 Yueyinchangguo 1	低木质素 Low lignin
	31	中国福建省福州市 Fuzhou, Fujian, China	福农 1 号 Funong 1	低木质素 Low lignin
	32	中国福建省福州市 Fuzhou, Fujian, China	福农 4 号 Funong 4	低木质素 Low lignin
7	33	中国福建省龙海市 Longhai, Fujian, China	古农红皮 Gunonghongpi	高纤维强力 High fiber strength
	34	中国福建省 Fujian, China	闽麻 737 Minma 737	高纤维强力 High fiber strength
	35	中国福建省漳州市 Zhangzhou, Fujian, China	闽麻 429 Minma 429	高纤维强力 High fiber strength
	36	中国湖南省沅江市 Yuanjiang, Hunan, China	宽叶长果 Kuanyechangguo	高纤维强力 High fiber strength
	37	印度 India	翠绿 Cuilyu	高纤维强力 High fiber strength
8	38	中国台湾省 Taiwan, China	早生赤 Zaoshengchi	高纤维支数 High fiber fineness
	39	中国湖南省沅江市 Yuanjiang, Hunan, China	琼粤青 Qiongyueqing	高纤维支数 High fiber fineness

(续表 1)

组	序号	产地或来源	种质名称	特性
Group	Number	Origin	Name	Characteristics
8	40	中国台湾省 Taiwan, China	台湾 8 号 Taiwan 8	高纤维支数 High fiber fineness
	41	中国台湾省 Taiwan, China	台湾 9 号 Taiwan 9	高纤维支数 High fiber fineness
	42	巴基斯坦 Pakistan	巴麻 72-1 Bama 72-1	高纤维支数 High fiber fineness
	43	肯尼亚 Kenya	SM/034	高纤维支数 High fiber fineness
	44	巴基斯坦 Pakistan	巴长 4 号 Bachang 4	高纤维支数 High fiber fineness
	45	中国湖南省长沙市 Changsha, Hunan, China	中黄麻 1 号 Zhonghuangma 1	抗病 Disease-resistant
9	46	中国台湾省 Taiwan, China	55 台露 55 Tailu	抗病 Disease-resistant
	47	中国广西壮族自治区 Guangxi, China	爱店野生种 Aidianyeshengzhong	抗病 Disease-resistant
	48	巴基斯坦 Pakistan	巴麻 72-1 Bama 72-1	抗病 Disease-resistant
	49	中国湖南省沅江市 Yuanjiang, Hunan, China	广巴矮 Guangba'ai	抗病 Disease-resistant
	50	肯尼亚 Kenya	SM/034	抗病 Disease-resistant
	51	中国广东省紫金县 Zijin, Guangdong, China	紫金黄麻 Zijinhuangma	抗盐 Salt resistance
10	52	中国福建省福州市 Fuzhou, Fujian, China	三元吉口 Sanyuanjikou	抗盐 Salt resistance
	53	中国福建省南靖县 Nanjing, Fujian, China	南靖青皮 Nanjingqingpi	抗盐 Salt resistance
	54	中国湖南省长沙市 Changsha, Hunan, China	摩维 1 号 Weimo 1	抗盐 Salt resistance
	55	中国福建省福州市 Fuzhou, Fujian, China	福农 5 号 Funong 5	抗盐 Salt resistance
	56	中国贵州省 Guizhou, China	甜麻 Tianma	抗盐 Salt resistance
	57	中国台湾省 Taiwan, China	台湾 8 号 Taiwan 8	抗旱 Drought resistance
11	58	中国台湾省 Taiwan, China	55 台露 55 Tailu	抗旱 Drought resistance
	59	缅甸 Burma	缅甸圆果 Miandianyuanguo	抗旱 Drought resistance
	60	中国湖南省沅江市 Yuanjiang, Hunan, China	宽叶长果 Kuanyechangguo	抗旱 Drought resistance
	61	中国福建省福州市 Fuzhou, Fujian, China	福农 3 号 Funong 3	抗旱 Drought resistance
	62	中国贵州省 Guizhou, China	甜麻 Tianma	抗旱 Drought resistance
	63	中国福建省南安市 Nan'an, Fujian, China	红铁骨 Hongtiegu	抗倒伏 Lodging resistance
12				

(续表 1)

组	序号	产地或来源	种质名称	特性
Group	Number	Origin	Name	Characteristics
13	64	中国福建省福州市 Fuzhou, Fujian, China	福农 4 号 Funong 4	生育期适宜 Suitable growth period
	65	中国海南省 Hainan, China	海南黄麻 Hainanhuangma	生育期适宜 Suitable growth period
	66	中国广东省广州市 Guangzhou, Guangdong, China	广东独尾麻 Guangdongduweima	生育期适宜 Suitable growth period
	67	中国广东省广州市 Guangzhou, Guangdong, China	粤圆 5 号 Yueyuan 5	生育期适宜 Suitable growth period
	68	中国湖南省沅江市 Yuanjiang, Hunan, China	琼粤青 Qiongyueqing	生育期适宜 Suitable growth period
	69	中国湖南省长沙市 Changsha, Hunan, China	湘黄麻 3 号 Xianghuangma 3	生育期适宜 Suitable growth period
14	70	中国福建省福州市 Fuzhou, Fujian, China	闽革 9 号 Minge 9	高发芽率 High germination rate
	71	中国福建省浦城县 Pucheng, Fujian, China	浦城黄麻 Puchenghuangma	高发芽率 High germination rate
	72	越南 Vietnam	越南圆果 Yuenanyuanguo	高发芽率 High germination rate
	73	中国广东省广州市 Guangzhou, Guangdong, China	粤引 1 号 Yueyin 1	高发芽率 High germination rate
	74	中国台湾省 Taiwan, China	台湾 8 号 Taiwan 8	高发芽率 High germination rate
	75	中国河南省 Henan, China	河南野生圆果 Henanyeshengyuanguo	高发芽率 High germination rate
	76	马里 Mali	807 元引马里 807 yuanyinmali	高发芽率 High germination rate
	77	中国贵州省 Guizhou, China	甜麻 Tianma	高发芽率 High germination rate
15	78	中国福建省福州市 Fuzhou, Fujian, China	福农 3 号 Funong 3	高发芽率 High germination rate
	79	中国广东省广州市 Guangzhou, Guangdong, China	粤圆 2 号 Yueyuan 2	抗种子老化 Seed aging resistance
	80	中国福建省邵武市 Shaowu, Fujian, China	邵武黄麻 Shaowuhuangma	抗种子老化 Seed aging resistance
	81	中国福建省闽侯县 Minhou, Fujian, China	闽侯白皮 Minhoubaipi	抗种子老化 Seed aging resistance
	82	日本 Japan	日本长分青皮 Ribenchangfenqingpi	抗种子老化 Seed aging resistance
	83	中国海南省海口市琼山区 Qiongsan District, Haikou, Hainan, China	海南琼山圆果 Hainanqiongsanyuanguo	抗种子老化 Seed aging resistance
	84	中国广东省 Guangdong, China	紫苏麻 Zisuma	抗种子老化 Seed aging resistance
	85	中国福建省南安市 Nanan, Fujian, China	南安蒿麻 Nananhaoma	抗种子老化 Seed aging resistance
	86	中国广西壮族自治区梧州市 Wuzhou, Guangxi, China	梧州绿 Wuzhoulyu	抗种子老化 Seed aging resistance
	87	巴基斯坦 Pakistan	巴麻 72-2 Bama72-2	抗种子老化 Seed aging resistance

(续表 1)

组	序号	产地或来源	种质名称	特性
Group	Number	Origin	Name	Characteristics
15	88	中国 China	长果红茎 Changuohongjing	抗种子老化 Seed aging resistance
16	89	印度 India	D154	骨干亲本 Elite parent
	90	中国福建省福州市 Fuzhou, Fujian, China	卢滨圆果 Lubinyuanguo	骨干亲本 Elite parent
	91	中国广东省广州市 Guangzhou, Guangdong, China	粤圆 1 号 Yueyuan 1	骨干亲本 Elite parent
	92	印度 India	JRC-212	骨干亲本 Elite parent
	93	孟加拉国 Bangladesh	选 46 Xuan 46	骨干亲本 Elite parent
	94	中国湖南省沅江市 Yuanjiang, Hunan, China	广丰长果 Guangfengchangguo	骨干亲本 Elite parent

2.2 应用核心种质 SSR 核心引物的确定

从该应用核心种质的 61 份品种(系)中随机挑选 12 份作为模板, 采用 9%非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测 PCR 扩增产物。针对备选的 46 对 SSR 核心引物进行初筛, 得到 12 对多态性高且条带清晰的引物, 如表 2 所示。利用 SSR 荧光标记毛细管电泳技术及这 12 对核心引物扩增 61 份应用核心种质。共检测到 140 个多态性位点, 等位位点多态性信息含量(PIC)变幅为 0.8223~0.9499。

2.3 应用核心种质 DNA 分子身份证编码及构建

12 对核心引物对该应用核心种质进行 SSR 荧光标记毛细管电泳, 3730XL 测序仪读取分子量数据。图 1 为引物 CcID071(FAM)荧光毛细管电泳检测到的 19 种特征带型, 对应的片段大小分别为 104/113、108/129、112/128、113、113/117、113/125、113/126、113/128、113/129、114、114/126、114/129、116/125、117、119/126、122、125、126、129 bp。图 2 为引物 CcSSR024(HEX)荧光毛细管电泳检测到的 4 种特征带型, 对应的片段大小分别为 196、197、199、200 bp。表 3 为各核心引物 5'端标记的荧光基团、扩增得到的多态性条带总数、多态性片段大小及编码汇总。

利用毛细管电泳多态性片段及编码信息构建 DNA 分子身份证。对毛细管电泳结果按表 3 进行数字+英文字母编码, 将 CcID071、CoSSR083、CoSSR146、CoSSR179、CoSSR049、CcSSR001、CoSSR119、CoSSR133、CoSSR136、CcSSR024、CcSSR015、CoEMS333 这 12 对引物的排列组合用

于 DNA 分子身份证的构建。按上述顺序将该 12 对引物对应的编码组合, 构成应用核心种质 DNA 分子身份证, 即字符串 DNA 分子身份证。如巴长 4 号(种质编号: 16)的 DNA 分子身份证编码为 I2457612J227, 对照表 3, 第 1 个字母 I 表示引物 CcID071 在种质 16 中的扩增片段, 在其多态性片段梯度中排第 18 位, 第 2 个数字 2 表示引物 CoSSR083 在种质 16 中扩增的片段, 在其多态性片段梯度中排第 2 位, 其余代码依次类推。将 DNA 分子身份证编码导入在线条码生成器, 生成条形码 DNA 分子身份证。将应用核心种质的主要描述符和 DNA 分子身份证编码导入二维码生成软件, 生成二维码 DNA 分子身份证。基于字符串、条形码、二维码 3 种形式, 成功构建出 61 份应用核心种质的 DNA 分子身份证, 图 3 为构建的应用核心种质条形码 DNA 分子身份证和二维码 DNA 分子身份证示例。

3 讨论

3.1 黄麻应用核心种质的利用价值

黄麻是我国重要的纤维作物, 构建应用核心种质是促进优异基因的深入发掘和提高育种利用效率的有效途径。本研究构建了包括 16 种优异应用型在内的黄麻应用核心种质, 可以精准地为黄麻多元化及专用化育种提供研究材料。例如, 高产、高发芽率、高纤维素含量、低木质素含量、高纤维强度、高纤维支数应用核心种质可用于黄麻的品种改良, 抗倒伏应用核心种质将为选育理想株型及适宜机械化的黄麻品种提供关键亲本, 抗炭疽病、抗盐、抗

表 2 12 对 SSR 核心引物信息及多态性特征值
Table 2 Information of 12 core pairs of SSR primes and their characteristic values of polymorphism

引物名称 Primer name	上游引物序列 Forward primer (5'-3')	上游引物退火温度 Forward annealing temperature (°C)	下游引物序列 Reverse primer (5'-3')	下游引物退火温度 Reverse annealing temperature (°C)	产物长度 Product size (bp)	SSR 重复单元 SSR repeat types	PAGE 多态性位点 Observed number of alleles (na)	多态性信息含量 Polymorphism information content (PIC)
CeID071	CTCTCAACCCAAAGCA AAAG	55.20	CTGAAATGAAAAAAGCA ACA	51.60	102-129	G/GACAAAGCT	19	0.9496
CoSSR083	TGCAGGGCTGTTGTGG CTGC	60.46	TGGTGGTGGTGGGTTGA AATGTCC	59.28	205-360	(GA)6	17	0.9442
CoSSR146	CCACCAAGCAAGGTGA ATGCC	58.58	ACACTCTAGATACCTTG ATGGGGCTC	57.23	201-217	(TTC)7.7	7	0.8694
CoSSR179	GGGAGAGAGAGAGAG AGAGAGAGAGAG	57.41	ACAACACGTACCCACCC TTACGC	59.15	235-290	(AG)30	16	0.9415
CoSSR049	GGCACGAGGGAACATC AACCA	57.04	AAAGGAGCCGCCATAGA TCTCCA	57.36	194-203	(TCTTT)3	7	0.8760
CeSSR001	TGAAAAGGAGCCGCCAT AGATCTCC	58.10	GGATCTTTTCGAGCTCTGG AGTCTGC	58.95	242-249	(AAAAG)3.4	8	0.8888
CoSSR119	ACCAAATCGGAAGCAT CAAAACAAACAG	57.26	TCTTGACAAACACTGTGCC TCTGCAT	58.11	470-497	(GA)13	15	0.9369
CoSSR133	GCCATTGCCTTCCCCCTC CTCC	59.16	TGGATCCAAATCGTAGC ATTCCCCCT	57.80	101-222	(CAA)32.3	9	0.9008
CoSSR136	GGCGGGACAATGGCA GGAT	60.11	ACGCACGGCCTGTAAGA GCG	59.77	262-434	(CAA)15.3	19	0.9499
CeSSR024	GGGGATTACCGATGCC GCGA	59.00	CACCACCCACCACCAGCA CAA	59.76	197-200	(GTG)5.3	4	0.8223
CeSSR015	GCTTTGTGATTTGTTCA AAGGTGGCT	57.30	AGGCATTAGGCCTTGTA GAGAAACCA	57.78	193-203	(TTCT)3.3	5	0.8288
CoEMS333	TGCCCGGGCTTCATCT AGACC	65.70	GGGAACGCCCTACGCTC CCT	66.20	231-345	(GT)13	14	0.9339

图 1 CcID071 毛细管电泳荧光检测的特征带型

Fig. 1 Characteristic band features of the primer of CcID071 detected by capillary electrophoresis

图 2 CcSSR024 毛细管电泳荧光检测的特征带型

Fig. 2 Characteristic band features of the primer CcSSR024 detected by capillary electrophoresis

表 3 12 对核心引物毛细管电泳结果及带型编码

Table 3 Amplification results and code typing of 12 pairs of core primers detected with capillary electrophoresis

引物名称 Primer	荧光基团 Fluorescent group	毛细管电泳多态性位点 Observed number of alleles (na)	毛细管电泳多态性片段及编码 Code of capillary electrophoresis polymorphism fragments (bp)
CcID071	FAM (blue)	19	104/113 (1), 108/129 (2), 112/128 (3), 113 (4), 113/117 (5), 113/125 (6), 113/126 (7), 113/128 (8), 113/129 (9), 114 (A), 114/126 (B), 114/129 (C), 116/125 (D), 117 (E), 119/126(F), 122 (G), 125 (H), 126 (I), 129 (J)
CoSSR083	FAM (blue)	17	204 (1), 205 (2), 205/228 (3), 205/230 (4), 205/233 (5), 205/234 (6), 206/229 (7), 206/231 (8), 206/233 (9), 206/235 (A), 206/236 (B), 207/231 (C), 207/234 (D), 207/236 (E), 219/360 (F), 234/309(G), 359(H)
CoSSR146	FAM (blue)	7	199/216 (1), 200 (2), 201 (3), 210 (4), 217 (5), 218 (6), 219 (7)
CoSSR179	FAM (blue)	16	234 (1), 234/236 (2), 234/238 (3), 234/242 (4), 235/237 (5), 235/239 (6), 236 (7), 238/240 (8), 246/253 (9), 250/286 (A), 253 (B), 253/286 (C), 253/287 (D), 253/288 (E), 286/289 (F), 287/290 (G)
CoSSR049	FAM (blue)	7	193 (1), 194 (2), 195 (3), 196 (4), 197 (5), 202 (6), 203 (7)
CcSSR001	FAM (blue)	8	240 (1), 241 (2), 242 (3), 243 (4), 248 (5), 249 (6), 252 (7), 255 (8)
CoSSR119	HEX (green)	15	470 (1), 470/477 (2), 470/494 (3), 471 (4), 474/495(5), 477 (6), 489 (7), 490 (8), 491 (9), 492 (A), 493 (B), 494 (C), 495 (D), 496 (E), 497 (F)
CoSSR133	HEX (green)	9	202/219 (1), 218 (2), 218/222 (3), 218/223 (4), 219 (5), 219/222 (6), 222 (7), 222/238 (8), 223 (9)
CoSSR136	HEX (green)	19	262 (1), 291/323 (2), 292/323 (3), 295 (4), 295/407 (5), 317/322 (6), 317/323 (7), 323 (8), 323/402 (9), 323/407 (A), 355 (B), 357 (C), 398 (D), 398/407 (E), 399/432 (F), 402/407 (G), 403/407 (H), 422/425 (I), 422/434 (J)
CcSSR024	HEX (green)	4	196 (1), 197 (2), 199 (3), 200 (4)
CcSSR015	HEX (green)	5	193 (1), 194 (2), 195 (3), 203 (4), 204 (5)
CoEMS333	HEX (green)	14	231/311 (1), 231/326 (2), 234/345 (3), 237/326 (4), 310/326 (5), 311/326 (6), 319 (7), 319/326 (8), 319/344 (9), 326 (A), 326/344 (B), 327/345 (C), 344 (D), 345 (E)

早应用核心种质在多抗黄麻品种的选育方面具有重要利用价值。同时，这批应用核心种质的构建也将为黄麻高产、纤维优质、抗逆等优异基因的发掘及功能标记开发等基础研究提供核心材料，如卢瑞克等^[21]在研究盐胁迫下的生理响应时需选择强耐盐材料和盐敏感型材料，徐益等^[22]在鉴定与萌发速率相关

图 3 应用核心种质条形码 DNA 分子身份证和二维码 DNA 分子身份证示例

Fig. 3 Bar code and quick response (QR) code of the applied core collection germplasm

A: 粤圆 5 号条形码 DNA 分子身份证; B: 巴长 4 号条形码 DNA 分子身份证; C: 粤圆 5 号二维码 DNA 分子身份证; D: 巴长 4 号二维码 DNA 分子身份证。

A: bar code DNA molecular identification of Yueyuan 5; B: bar code DNA molecular identification of Bachang 4; C: quick response (QR) code DNA molecular identification of Yueyuan 5; D: quick response (QR) code DNA molecular identification of Bachang 4.

的 SSR 标记时需选择高发芽率的材料, 陶爱芬等^[23]在筛选与黄麻炭疽病抗性相关的新分子标记研究中需要高抗炭疽病材料和高感炭疽病材料。

3.2 荧光核心引物的筛选

筛选一批多态性高、重复性好、具有代表性的标记在 DNA 分子身份证构建中至关重要。SSR 分子标记已成为一种最广泛应用的具有高稳定性的分子标记, 目前 SSR 扩增产物检测方法主要有聚丙烯酰胺凝胶银染法和荧光毛细管电泳法 2 种。郝晨阳等^[24]对 2 种方法比较分析认为, 荧光标记技术的检测效率显著高于银染法, 且 PAGE 法存在读带不准确、对人体有害等缺点, 而 SSR 荧光标记毛细管电泳法可以得到目标 DNA 片段的准确大小, 检测结果更为准确、高效。本研究确定的 12 对荧光核心引物多态性较高, 稳定性较好, 均匀分布于 7 条染色体上, 且能达到最少标记区分最多品种的目的。

3.3 DNA 分子身份证的优越性

DNA 分子身份证是证实和区分不同材料的有效证明, 具有唯一性、可鉴别性等特点。本研究构建的包含 61 份品种(系)的应用核心种质的字符串、条形码和二维码 DNA 分子身份证, 为每份品种(系)独有的分子身份证, 其号码是唯一的。基于字符串, 本研究构建了能够迅速被电子系设备识别的条形码 DNA 分子身份证, 但是其无法储存大量文字等有效信息。而如今二维码技术的运用有效地容纳了数字、文字、字母、图片等信息, 且能够迅速被电脑、手机等电子设备全方位识别, 大大增加了其使用范

围。这些技术的运用使我们构建的黄麻应用核心种质 DNA 分子身份证可以在种质鉴定和保护上发挥重要作用; 也可以用于黄麻种质资源库的完善与智能化管理, 为构建标准化的黄麻种质 DNA 分子身份证库奠定了重要的技术基础。目前, 陆徐忠等^[16]构建了水稻品种分子身份证, 高源等^[17]构建了苹果部分种质资源分子身份证, 杨文娟等^[7]构建了芝麻应用核心种质的 DNA 分子身份证, 他们都采用了条形码或二维码的方式, 来增加分子身份证的实用性。本研究对于黄麻应用种质的 DNA 分子身份证构建在国内外尚属首例, 这将在中国黄麻种质资源保存和利用研究中有广阔的应用前景。

4 结论

构建了黄麻应用核心种质, 并利用 12 对 SSR 荧光核心引物, 通过毛细管电泳技术结合数字化处理的方法, 构建了该应用核心种质中 61 份品种(系)的字符串、条形码、二维码 DNA 分子身份证, 为构建标准化的黄麻 DNA 分子身份证库奠定了基础。

References

- [1] Zhang L W, Ibrahim A K, Niyitanga S, Zhang L M, Qi J M. Jute (*Corchorus* spp.) breeding. In: Al-Khayri J, Jain S, Johnson D, eds. *Advances in Plant Breeding Strategies: Industrial and Food Crops*. Cham: Springer, 2019. pp 85–113.
- [2] 中国农业科学院麻类研究所. 中国红麻黄麻品种志. 北京: 农业出版社, 1985. pp 6–19.
Institute of Anesthetics, Chinese Academy of Agricultural Sciences. *Annals of Kenaf and Jute Varieties in China*. Beijing: Agriculture Press, 1985. pp 6–19 (in Chinese).
- [3] 戴志刚, 杨泽茂, 陈基权, 龚友才, 路颖, 谢冬微, 宋宪友, 粟建光. “十二五”国家麻类种质资源平台工作研究进展. 中国麻业科学, 2017, 39: 321–326.
Dai Z G, Yang Z M, Chen J Q, Gong Y C, Lu Y, Xie D W, Song X Y, Su J G. Research progress of national infrastructure for bast fiber crop germplasm resources during the 12th five-year plan. *Plant Fiber Sci China*, 2017, 39: 321–326 (in Chinese with English abstract).
- [4] 潘英华, 徐志健, 梁云涛. 广西普通野生稻群体结构解析与核心种质构建. 植物遗传资源学报, 2018, 19: 498–509.
Pan Y H, Xu Z J, Liang Y T. Genetic structure and core collection of common wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.) in Guangxi. *J Plant Genet Resour*, 2018, 19: 498–509 (in Chinese with English abstract).
- [5] Balfourier F, Roussel V, Strelchenko P P, Exbrayatvinson F, Spurdille P, Boutet G, Koenig J L, Ravel C, Mitrofanova O P, Beckert M, Charmet G. A worldwide bread wheat core collection arrayed in a 384-well plate. *Theor Appl Genet*, 2007, 114: 1265–1275.
- [6] 徐益, 张列梅, 郭艳春, 祁建民, 张力岚, 方平平, 张立武. 黄麻核心种质的遴选. 作物学报, 2019, 45: 1672–1681.
Xu Y, Zhang L M, Guo Y C, Qi J M, Zhang L L, Fang P P, Zhang

- L W. Core collection screening of a germplasm population in jute (*Corchorus* spp.). *Acta Agron Sin*, 2019, 45: 1672–1681 (in Chinese with English abstract).
- [7] 杨文娟, 张艳欣, 王林海, 魏鑫, 黎冬华, 高媛, 刘盼, 张秀荣. 一个芝麻应用核心种质的 DNA 分子身份证构建. *作物学报*, 2018, 44: 1010–1020.
- Yang W J, Zhang Y X, Wang L H, Wei X, Li D H, Gao Y, Liu P, Zhang X R. Establishment of DNA molecular identification for asessame (*Sesamum indicum* L.) applied core collection. *Acta Agron Sin*, 2018, 44: 1010–1020 (in Chinese with English abstract).
- [8] 王丽侠, 程须珍, 王素华, 罗高玲, 刘振兴, 蔡庆生. 我国小豆应用核心种质的生态适应性及评价利用. *植物遗传资源学报*, 2013, 14: 794–799.
- Wang L X, Cheng X Z, Wang S H, Luo G L, Liu Z X, Cai Q S. Adaptability and variation of an applied core collection of adzuki bean (*Vigna angularis*) in China. *J Plant Genet Resour*, 2013, 14: 794–799 (in Chinese with English abstract).
- [9] Zhang L W, Cai R R, Yuan M H, Tao A F, Xu J T, Lin L H, Fang P P, Qi J M. Genetic diversity and DNA fingerprinting in jute (*Corchorus* spp.) based on SSR markers. *Acta Agron Sin*, 2015, 3: 416–422.
- [10] Zhang L W, Li Y R, Tao A F, Fang P P, Qi J M. Development and characterization of 1,906 EST-SSR markers from unigenes in jute (*Corchorus* spp.). *PLoS One*, 2015, 10: e0140861.
- [11] 张立武, 袁民航, 何雄威, 刘星, 方平平, 林荔辉, 陶爱芬, 徐建堂, 祁建民. GenBank 数据库中黄麻 EST-SSR 标记的开发及其通用性评价. *作物学报*, 2014, 40: 1213–1219.
- Zhang L W, Yuan M H, He X W, Liu X, Fang P P, Lin L H, Tao A F, Xu J T, Qi J M. Development and universality evaluation of EST-SSR markers from GenBank in Jute. *Acta Agron Sin*, 2014, 40: 1213–1219 (in Chinese with English abstract).
- [12] 陶爱芬, 陈婉婷, 祁建民, 徐建堂, 林荔辉, 林培清, 张立武, 方平平. 基于转录组测序的黄麻 SSR 分子标记开发与初步验证. *中国农业大学学报*, 2018, 23(6): 24–32.
- Tao A F, Chen W T, Qi J M, Xu J T, Lin L H, Lin P Q, Zhang L W, Fang P P. Development and identification of SSR molecular makers based on transcripyome sequences of jute (*Corchorus capsularis* L.). *J China Agric For Univ*, 2018, 23(6): 24–32 (in Chinese with English abstract).
- [13] 王黎明, 焦少杰, 姜艳喜, 严洪冬, 苏德峰, 孙广全. 142 份甜高粱品种的分子身份证构建. *作物学报*, 2011, 37: 1975–1983.
- Wang L M, Jiao S J, Jiang Y X, Yan H D, Su D F, Sun G Q. Establishment of molecular identity in 142 sweet sorghum varieties. *Acta Agron Sin*, 2011, 37: 1975–1983 (in Chinese with English abstract).
- [14] 秦瑞英, 许学, 张立平, 李莉, 方钰, 汪秀峰, 倪金龙, 陆徐忠, 杨剑波. 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. *中国农学通报*, 2017, 33(34): 46–55.
- Qin R Y, Xu X, Zhang L P, Li L, Fang Y, Wang X F, Ni J L, Lu X Z, Yang J B. Construction of wheat variety SSR fingerprint and ID: based on capillary electrophoresis. *Chin Agric Sci Bull*, 2017, 33(34): 46–55 (in Chinese with English abstract).
- [15] Tian H L, Wang F G, Zhao J R, Yi H M, Wang R, Yang Y, Song W. Development of maizeSNP3072, a high-throughput compatible SNP array, for DNA fingerprinting identification of Chinese maize varieties. *Mol Breed*, 2015, 35: 136.
- [16] 陆徐忠, 倪金龙, 李莉, 汪秀峰, 马卉, 张小娟, 杨剑波. 利用 SSR 分子指纹和商品信息构建水稻品种身份证. *作物学报*, 2014, 40: 823–829.
- Lu X Z, Ni J L, Li L, Wang X F, Ma H, Zhang X J, Yang J B. Construction of rice variety in dentity using SSR fingerprint and commodity information. *Acta Agron Sin*, 2014, 40: 823–829 (in Chinese with English abstract).
- [17] 高源, 刘凤之, 王昆, 王大江, 龚欣, 刘立军. 苹果部分种质资源分子身份证的构建. *中国农业科学*, 2015, 48: 3887–3898.
- Gao Y, Liu F Z, Wang K, Wang D J, Gong X, Liu L J. Establishment of molecular ID for some apple germplasm resources. *Sci Agric Sin*, 2015, 48: 3887–3898 (in Chinese with English abstract).
- [18] 张力岚. 黄麻 InDel 标记开发与纤维品质相关性状的关联分析. 福建农林大学硕士学位论文, 福建福州, 2018.
- Zhang L L. Development of InDel Markers and Association Analysis of Fiber Quality Related Traits in Jute (*Corchorus* spp.). MS Thesis of Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian, China, 2018 (in Chinese with English abstract).
- [19] 粟建光, 龚有才. 黄麻种质资源描述和数据标准. 北京: 中国农业出版社, 2015. pp 7–27.
- Su J G, Gong Y C. Descriptors and Data Standard for Jute (*Corchorus olitorius* L. & *C. capsularis* L.). Beijing: China Agriculture Press, 2005. pp 7–27 (in Chinese).
- [20] Niyitanga S, Xu Y, Ibrahim A K, Zhang L L, Fang S S, Qi J M, Zhang L W. Evaluation of newly developed SSR markers and identification of quantitative trait loci for bast fibre cellulose in white jute (*Corchorus capsularis*). *Plant Breed*, 2019, 138: 897–906.
- [21] 卢瑞克, 杨泽茂, 戴志刚, 唐靖, 谢冬微, 许英, 程超华, 粟建光. 黄麻耐盐性评价及盐胁迫下的生理响应. *中国麻业科学*, 2017, 39(4): 195–203.
- Lu R K, Yang Z M, Dai Z G, Tang Q, Xie D W, Xu Y, Cheng C H, Su J G. Evaluation of salt tolerance and the physiological response of jute at seedling growth stages. *Plant Fiber Sci China*, 2017, 39(4): 195–203 (in Chinese with English abstract).
- [22] 徐益. 黄麻核心种质的遴选及其萌发期耐盐抗旱性评价. 福建农林大学硕士学位论文, 福建福州, 2018.
- Xu Y. Core Collection Screening of a Germplasm Population and Evaluation of Salt and Drought Tolerance at the Germination Stage in Jute (*Corchorus* spp.). MS Thesis of Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian, China, 2018 (in Chinese with English abstract).
- [23] 陶爱芬, 谢丽丽, 祁建民, 方平平, 林荔辉, 徐建堂, 张立武, 林培清. 与黄麻炭疽病抗性相关的 SSR 分子标记筛选及新型 SNP 标记开发. *福建农林大学学报(自然科学版)*, 2017, 46(1): 27–33.
- Tao A F, Xie L L, Qi J M, Fang P P, Lin L H, Xu J T, Zhang L W, Lin P Q. Screening of SSR markers and developing of newly SNP markers associated with anthracnose resistance in *Corchorus capsularis*. *J Fujian Agric For Univ* (Nat Sci Edn), 2017, 46(1): 27–33 (in Chinese with English abstract).
- [24] 郝晨阳, 王兰芬, 贾继增, 董玉琛, 张学勇. SSR 荧光标记和银染技术的比较分析. *作物学报*, 2005, 31: 144–149.
- Hao C Y, Wang L F, Jia J Z, Dong Y C, Zhang X Y. Comparison of fluorescence and silver-staining detection systems of microsatellite markers. *Acta Agron Sin*, 2005, 31: 144–149 (in Chinese with English abstract).

附表 1 本研究使用 46 对引物序列信息

Table S1 Information of 46 pairs of primer used in this study

SSR 引物 SSR primer	对应染色体 Corresponding chromosome	SSR 重复基元 SSR repeat type	上游引物序列 Forward primer (5'–3')	下游引物序列 Reverse primer (5'–3')
CcSSR008	1	(CAT)6	CCACACCCATGAGCAACTCCCC	CCCACACAATATTTTACCAGGGGGCA
CcSSR031	1	(CAT)6	GCCACACCCATGAGCAACTCCC	CCAGGGGGCATGCAAATTTTCAATCA
CcSSR039	1	(TCT)9	TGCTAAGCCTCTCTTCTGTCTGTCT	ACAAAGCAGCAAGCTGGGCACT
CcSSR045	1	(TGC)4.3	AGCTCGCATACCCGACCCGT	GCATCGGTTTGGGGCGGACA
CoSSR049	1	(TCTTT)3	GGCAGGAGGGAACATCAACCA	AAAGGAGCCGCCATAGATCTCCA
CoSSR121	1	(ACA)9.3	TGACAATGATTACGCCAAGCTTCTGA	AGGTTCAGTTGTGGTTGGTGTGGT
CoSSR122	1	(AGA)9.3	ACAGCCATTACCACCACCAACA	GGTGGTGGGACACCTGGTGGA
CoSSR133	1	(CAA)32.3	GCCATTGCCTTCCCCTCCTCC	TGGATCCAAATCGTAGCATTCCCCT
CcSSR011	2	(TCA)7.3	CCGCCGTTTCTTACCATCCTCC	TCCCGGCGGAGGAAACCTGA
CcSSR015	2	(TTCT)3.3	GCTTTGTGATTGTTTCAAAGGTGGCT	AGGCATTAGGCCTGTAGAGAAACCA
CcSSR029	2	(GAA)4.3	CCAGAGCAACTGCTTCTGAAAGCG	CCGATTGTATAAAGTGCAAGGCCGA
CcSSR038	2	(CCT)4.3	GGCCCACTGATTCTCCCGACG	TGCTGATTTCGCCAGGGTCG
CoEMS217	2	(GGA)4	TTCGCCTCCACCCCTAACCT	TGCTGCTGCAACCGTGGCTT
CoEMS250	2	(ATT)6.3	CCCCCAAAGTTGGCCATCCCA	GGAACCAAAGGGAAAAGCCAAAGCA
CoSSR136	2	(CAA)15.3	GGCGCGACAATGGCAGGAT	ACGCACGGCCTGTAAAGAGCG
CoSSR244	2	(TTC)12	GCGCCGTCGATCTCTCTGGC	AAGGATTGGCCCCACCCCCA
CoSSR254	2	(AAG)6.7	CTGCCAGCTCCCCACAAGCC	TGCCTCATAGGAGCCAATGGGAAGT
CcSSR007	3	(ATG)9	TCCGCAGCAACCCACCAAC	ACACAAGGGAGCAAGAGCTAACAACA
CcSSR014	3	(TA)7.5	TGGCACCGGTGATCTCTTTGGA	CCCCTGGGGATCTCTTCTCTCTTCC
CcSSR036	3	(GAT)5.7	CCGCCCCGGGCAGGTACTACT	TCCTCCTCTCCTTCTCTCCCCTT
CoSSR087	3	(CTT)5.3	ACGACGCCATTTTGACCCAAGC	TGGGATCATCGAAGGGTGAAGCGT
CoSSR146	3	(TTC)7.7	CCACCAAGCAAGGTGAATGCC	ACACTCTAGATACCTTGATGGGGCTC
CcID167	4	A/AAAG	AGAACTCGTCGGATTTATC	ACTCTTTGTCTCCCACACTG
CcSSR019	4	(CCG)4.7	CCACCACCACCACCACCAGC	GGCCTGCTTCTGAGCCCTGC
CcSSR020	4	(CTT)5.7	GGGTTCAGTCCGTCTTGACTCTT	CGTCGGAATGGTTTTTGATTGACGG
CcSSR024	4	(GTG)5.3	GGGGATTACCGATGCCGCGA	CACCACCACCACCGCACAA
CoEMS474	4	(ACA)5.3	TGGTGGTGGTGGTGGAGGGT	AGCTTGCATTGTGTTCAAACGGCG
CoSSR068	4	(TG)21	AGGTTTATCGGTTTCTGCAGGGGT	TGCGGTGGGATTGGGGTGCC
CoSSR119	4	(GA)13	ACCAAATCGGAAGCATCAAACAAACAG	TCTTGACAACACTGGTCTCTGCAT
CcSSR027	5	(CT)8	ACAGCCGTGCATGGCGAAGT	TGAGGCTTGCAAACAGGAGGGT
CoEMS333	5	(GT)13	TGCCGCGGCTTCATCTAGACC	GGGAACGCCTTACGCTCCCT
CoEMS523	5	(TTG)6.3	AGTGGCGGCAGAGGCACAAG	CAGCAGCGGCTCTCCATGA
CoSSR083	5	(GA)6	TGCAGGGCTGTTGTGGCTGC	TGGTGGTGGTGGGTGAAATGTCC
CoSSR094	5	(GAA)5	ACGCCTCCTAAGAGGGATGCCA	TGTGGCCTTTTGAAGAGGTGC
CcSSR001	6	(AAAAG)3.4	TGAAAGGAGCCGCCATAGATCTCC	GGATCTTTCGAGCTCTGGAGTCTGC
CoSSR072	6	(CAA)7	TGCCGCACCAAACAATGAGCA	TCCGCAGGTGTCTTCTCCCA
CoSSR086	6	(ACC)7.3	ACCATGATGCAAAGAATGGATGCCT	TGTCTCCAGCCTCTTGTTCCT
CoSSR100	6	(TTTA)7.5	AAGCAACCAATATAGTCGCACTTGTC	TGAAATGGGGCCCAAGCCCAAG
CcID066	7	C/CCCTGA	AAGTCTTGCTATTAATGCCC	TTCAACAGTATGGTGCTCAA
CcID071	7	G/GACAAAGCT	CTCTCAACCCAAAGCAAAAG	CTGAAATGAAAAAAGCAACA
CcID109	7	A/ACTGC	TGAGTGTATAGAGGCGCAGC	CATTTTCATCATCAAAGGCAT

(续附表 1)

SSR 引物 SSR primer	对应染色体 Corresponding chromosome	SSR 重复基元 SSR repeat type	上游引物序列 Forward primer (5'-3')	下游引物序列 Reverse primer (5'-3')
CoSSR090	7	(CT)12	TCGCGGAAACCACCTGCACA	AGCCCAATTCTTGATGGAAGGGA
CoSSR092	7	(CT)7.5	GGCGAGGGGAGATGAATGGGGA	TGCCGAGTGTGTGTATGTGGGGA
CoSSR099	7	(AAG)4.7	GCAGCCTGCGGTCGACTCTG	CTTGCGCGTTGGGCCATGCT
CoSSR164	7	(TG)14	CCCCATATCTCCCATTGTACCTGC	AGGGTCGGCCAAACCCACCA
CoSSR179	7	(AG)30	GGGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAG	ACAACACGTACCCACCTTACGC