

网络出版时间:2018-06-15 16:08

DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2018.12.012

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20180615.1606.024.html>

基于 SSR 标记构建中国芍药品种资源分子身份证

万映伶¹, 张 嘉¹, 刘爱青², 张孔英³, 刘 燕¹

(1 北京林业大学 园林学院, 花卉种质创新与分子育种北京市重点实验室/国家花卉工程技术研究中心/城乡生态环境北京实验室, 北京 100083; 2 菏泽市曹州牡丹园管理处, 山东 菏泽 274000; 3 洛阳国际牡丹园, 河南 洛阳 471000)

[摘 要] **【目的】**利用 SSR 标记区分中国芍药品种, 为芍药资源的保护与合理利用奠定基础。**【方法】**对山东菏泽和河南洛阳 2 个主要芍药栽培地的品种进行调查, 明确中国芍药品种资源数量, 在此基础上, 提取各品种叶片 DNA, 利用 21 对 SSR 荧光引物进行 PCR 扩增, 用四重荧光毛细管电泳技术检测扩增片段长度。利用 Microsatellite 和 Toolkit GenALEx 6.41 软件, 分析数据中的等位基因数、多态性信息含量(PIC)和遗传多样性参数。采用数字与大小写字母结合的方法, 对不同长度的扩增片段进行赋值, 构建中国芍药品种分子身份证。**【结果】**山东菏泽和河南洛阳目前共有芍药品种 268 个, 用 21 对引物在这些品种中共扩增条带 613 条, 多态信息含量 0.508~0.846, 平均为 0.707; 有效等位基因数(N_e)为 4.324 ± 0.315 , 观测杂合度(H_o)为 0.593 ± 0.047 , 期望杂合度(H_e)为 0.741 ± 0.020 。采用 21 对 SSR 引物可将所有 268 个芍药品种区分开。**【结论】**采用 21 对引物通过 SSR 标记建立了山东菏泽和河南洛阳 268 个芍药品种的分子身份证, 有助于芍药品种鉴别、新品种培育及防止资源流失。

[关键词] 芍药; SSR 标记; 分子身份证

[中图分类号] S682.1⁺20.37

[文献标志码] A

[文章编号] 1671-9387(2018)12-0090-08

Molecular identification of herbaceous peony cultivars based on SSR markers

WAN Yingling¹, ZHANG Jia¹, LIU Aiqing², ZHANG Kongying³, LIU Yan¹

(1 Beijing Key Laboratory of Ornamental Plants Germplasm Innovation & Molecular Breeding/National Engineering Research Center for Floriculture/Beijing Laboratory of Urban and Rural Ecological Environment, College of Landscape Architecture, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China; 2 Management Office of Caozhou Peony Garden, Heze, Shandong 274000, China; 3 Luoyang International Peony Garden, Luoyang, Henan 471000, China)

Abstract: **【Objective】**This study used SSR markers to distinguish Chinese herbaceous peony cultivars to lay foundation for rational use and protection of the herbaceous peony resources. **【Method】**Herbaceous peony cultivars were investigated in Heze and Luoyang, two main herbaceous peony cultivated areas. Based on quadruple fluorescence capillary electrophoresis, 21 pairs of fluorescence primers were used to amplify all samples. Microsatellite and Toolkit GenALEx 6.41 were used to analyze allele number, polymorphism information content (PIC) and genetic diversity parameters. The molecular ID was then created with numbers, case letters and lowercase letters. **【Result】**A total of 268 varieties were analyzed in central China, the amount of amplified bands was 613 and the polymorphism information content was 0.508—0.846 with the average of 0.707. The N_e was 4.324 ± 0.315 , the H_o was 0.593 ± 0.047 and the H_e was 0.741 ± 0.020 . Those 21 pairs of primers can distinguish all the cultivars. **【Conclusion】**The specific molecular identity of Chinese peony cultivars was constructed based on 21 pairs of primers, which was of great significance for i-

[收稿日期] 2017-09-30

[基金项目] 北京市科委重大项目“四类中国传统名花良种繁育及花期调控技术研究”(D161100001916004)

[作者简介] 万映伶(1994—), 女, 四川成都人, 硕士, 主要从事园林植物资源与利用研究。E-mail: 18811581510@163.com

[通信作者] 刘 燕(1963—), 女, 湖南永州人, 教授, 博士, 博士生导师, 主要从事园林植物资源与利用研究。E-mail: chblyan@163.com

dentification of peony varieties, prevention of resource loss and cultivation of new varieties.

Key words: *Paeonia lactiflora*; SSR marker; molecular ID

芍药(*Paeonia lactiflora*)为芍药科芍药属多年生草本植物,是中国传统名花,近年来在国际切花市场上所占份额逐年递增。美国现有芍药品种(含伊藤杂种)已达上千个^[1],且数量还在不断增加。芍药在我国中原地区的主要栽培地为山东省菏泽市和河南省洛阳市^[2],虽然已有部分学者对两地的芍药品种资源进行过调查研究^[3-7],但年份较早,且不同学者记载的品种数量差异较大,因此尚不明确目前中国芍药品种资源的数量,这不利于我国芍药品种资源的开发利用。

进行品种鉴定的常用方法是利用形态特征进行鉴定,但这不仅需要鉴定者有丰富的品种识别经验,鉴定时间也仅局限在花期,而利用分子标记构建分子身份证区别品种,则不受这些因素限制。分子标记的类型有多种,目前研究者利用 SSR、RAPD、SRAP 等标记构建出了杂交水稻^[8]、桃^[9-10]、梨^[11]、南瓜^[12]和仁用杏^[13]等农作物,以及百合^[14]、欧美芍药^[15]、国兰^[16]和莲^[17]等观赏植物的分子身份证。其中 SSR 标记以其在真核生物基因组中分布广泛、呈共显性遗传、重复性好及实验成本相对低廉等特性,成为构建分子身份证的重要标记。但 SSR 序列两侧区域在种间的保守性较低,需进行标记开发。目前芍药属物种已有一定的 SSR 标记基础^[18-22],主要用于种质区分、杂种鉴定和遗传关系研究等方面。张建军等^[15]筛选出 10 对 SSR 引物,并构建了 61 个引进芍药品种的指纹图谱与指纹代码。刘建鑫等^[23]用 7 对 SSR 引物鉴定了以‘朱砂判’为母本,以 6 个芍药组品种和 4 个牡丹组品种为父本的杂交后代,确定了其中 4 种组合的后代为真杂种。Zhang 等^[24]利用 7 对 EST-SSR 引物,分析了 56 个牡丹种及品种的亲缘关系,结果与基于传统品种划分法的结论一致。Wu 等^[25]利用 30 对 EST-SSR 引物,探究了 56 个芍药属种质的遗传关系,聚类结果中,芍药组与牡丹组首先分离,40 个牡丹品种进一步聚为 4 个品种群,这与供试材料现实品种起源具有一致性。但有关中国芍药品种的分子身份证研究较少,仅张嘉等^[26]利用 4 对引物绘制了 66 个芍药品种的分子身份证。

本研究在明确中国中原地区观赏芍药品种资源数量的基础上,利用 21 对 SSR 引物,构建了 268 个中国芍药品种的分子身份证,以期为保护与开发芍

药品种资源、防止资源流失提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

试验于 2014—2017 年在北京林业大学国家花卉工程技术研究中心实验室进行。材料于每年 4—5 月花期在山东省菏泽市曹州牡丹园、菏泽市百花园、菏泽市傲阳牡丹种植专业合作社、菏泽市牡丹区马岭岗镇吴桥村与河南省洛阳市国际牡丹园分别收集,共计 268 个品种,其中含 12 个国际牡丹园未定名品种。每个品种随机选取 3 株,取上部幼嫩单叶,液氮处理后于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱储存。

1.2 DNA 提取及 PCR 扩增体系

叶片基因组 DNA 提取采用试剂盒法(天根,DP320)。用紫外分光光度计检测所提取 DNA 的纯度和浓度,将合格样品稀释至 $30\text{ ng}/\mu\text{L}$,并于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存备用。采用课题组前期筛选的 21 对 SSR 荧光引物进行 PCR 反应^[25]。反应总体系 $10\text{ }\mu\text{L}$: $5\text{ }\mu\text{L}$ $2\times\text{ Taq MasterMix}$, $0.5\text{ }\mu\text{L}$ Forward Primer, $0.5\text{ }\mu\text{L}$ Reverse Primer, $1\text{ }\mu\text{L}$ Template DNA, $3\text{ }\mu\text{L}$ ddH₂O。PCR 反应在 ABI VERITY 梯度 PCR 仪上进行。扩增程序为: $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 5 min ; $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ 30 s ,退火 30 s , $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 30 s ,35 个循环; $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸 7 min ; $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。将扩增产物送至北京睿博兴科生物技术有限公司进行毛细管电泳检测。

1.3 数据统计分析

利用 GeneMarker V2.2.0 (35 Days Val) 软件对原始数据进行分析,得到不同样品扩增片段长度。用 Microsatellite Toolkit 分析等位基因数及多态性信息含量(polymorphism information content, PIC)。利用 GenALEx 6.41 分析平均等位基因数(N_a)、有效等位基因数(N_e)、观测杂合度(H_o)和期望杂合度(H_e)等遗传多样性参数。

$$\text{PIC}=1-\sum_{j=1}^i P_{ij}^2$$

式中: P_{ij}^2 表示位点 i 的第 j 个等位变异出现的频率,反映每个 SSR 位点的多态性水平。

分子身份证的编制方法为:每个品种的身份证均为 21 位,按 PIC 值从高至低依次组合。每位数字均按扩增片段从小到大的顺序,依次按数字 1—9 和大写英文字母 A—Z 的顺序编码,若扩增片段的类

型超过 35 种,则继续用小写英文字母 a—z 编码。

2 结果与分析

2.1 引物多态性分析

用 21 对引物 在 268 个芍药品种中共扩增出 613 条条带,多态位点率为 100%;各引物的 PIC 值为 0.508~0.846;各引物条带数为 9~52,平均每对

引物能扩增出 21.14 条,片段长度为 91~419 bp。用 21 对引物共检测到 242 个等位位点,平均每对引物 12 个。21 对引物在 268 个品种组成的群体中的遗传多样性见表 1。有效等位基因数(N_e)为 4.324 ± 0.315 ,观测杂合度(H_o)为 0.593 ± 0.047 ,期望杂合度(H_e)为 0.741 ± 0.020 。图 1 为引物 C9 在 4 个芍药品种中的扩增位点峰图。

表 1 基于 21 对引物的 268 个芍药品种的遗传多样性

Table 1 Genetic diversity of 268 herbaceous cultivars based on 21 pairs of primers						
序号 No.	引物 Primer	N_a	N_e	H_o	H_e	PIC
1	P153	19	7.090	0.854	0.859	0.846
2	K73	20	6.605	0.489	0.849	0.832
3	P209	15	6.111	0.731	0.836	0.823
4	J38	14	5.734	0.586	0.826	0.804
5	C26	14	5.544	0.602	0.820	0.798
6	C27	13	5.327	0.336	0.812	0.797
7	J16	21	5.435	0.400	0.816	0.793
8	C10	9	5.229	0.731	0.809	0.780
9	J30	14	4.842	0.707	0.793	0.768
10	C15	8	4.178	0.857	0.761	0.731
11	P180	12	3.968	0.667	0.748	0.727
12	K39	9	3.882	0.724	0.742	0.702
13	J12	9	3.806	0.386	0.737	0.701
14	K21	8	3.738	0.623	0.732	0.698
15	P20	7	3.397	0.783	0.706	0.674
16	J36	8	2.968	0.209	0.663	0.635
17	C9	9	3.053	0.553	0.672	0.634
18	J28	7	2.504	0.985	0.601	0.549
19	C19	7	2.448	0.111	0.592	0.527
20	J29	8	2.548	0.523	0.608	0.517
21	K116	8	2.407	0.607	0.585	0.508
均值 Mean		11.381	4.324	0.593	0.741	0.707
标准误 SE		0.975	0.315	0.047	0.020	0.024

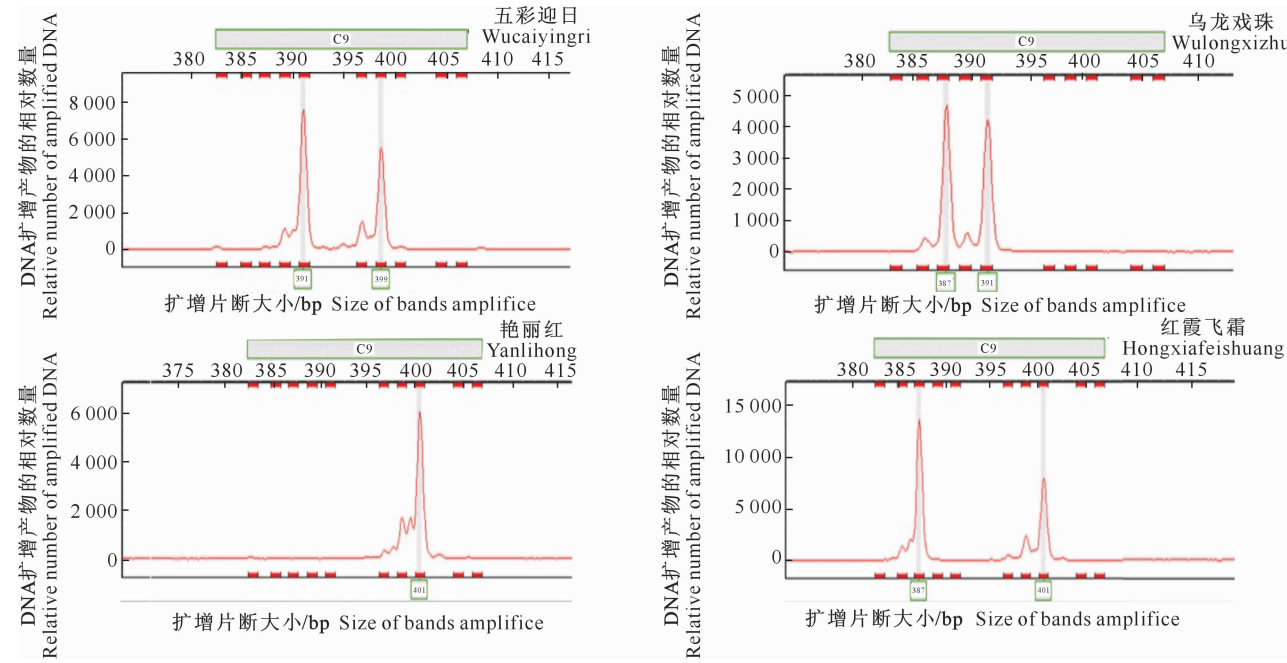


图 1 引物 C9 在 4 个芍药品种上的扩增带型

Fig. 1 Amplification genotypes of primer C9 in four cultivars

2.2 268 个芍药品种分子身份证的构建

每对引物在芍药样品中扩增出的片段长度构成每一位身份证编码数字的信息。本研究中 21 对引物的排列顺序为:P153、K73、P209、J38、J16、C26、C27、C10、J30、C15、P180、K21、J12、K39、P20、C9、J36、J29、J28、C19、K116。以引物 C26 为例说明编码方式,带型编码见表 2。268 个芍药品种的身份证见表 3。

表 2 引物 C26 所有带型对应的编码

Table 2 Codes of all amplified bands in primer C26					
编码 Code	带型 Patterns	编码 Code	带型 Patterns	编码 Code	带型 Patterns
0	—	E	382/382	S	392/398
1	372/378	F	382/388	T	392/400
2	374/388	G	382/396	U	396/396
3	378/378	H	384/384	V	396/398
4	378/382	I	388/388	W	396/400
5	378/388	J	388/390	X	396/404
6	378/390	K	388/396	Y	398/400
7	378/392	L	388/400	Z	400/400
8	378/400	M	388/402	a	400/402
9	378/402	N	388/404	b	400/404
A	378/412	O	390/390	c	400/412
B	380/380	P	390/400	d	402/404
C	380/400	Q	390/402		
D	380/402	R	392/392		

注:—指未获得扩增带型。
Note:—means non-amplified SSR pattern.

表 3 268 个芍药品种的身份证代码

Table 3 Molecular ID of 268 herbaceous peony cultivars					
编号 No.	品种名 Cultivar	身份证 Molecular ID	编号 No.	品种名 Cultivar	身份证 Molecular ID
1	雪山红星 Xueshanhongxing	12fH3YcHVCQ5DL53D2E58	135	朱砂判 Zhushapan	eEI7Y3ZE3D7ACFEHF2858
2	藏金阁 Cangjinge	0072YXjE9K7B2DEHK20G5	136	盘托绒花 Pantuoronghua	EIG8Y3UEAQEACDEHH2B58
3	种生红 Zhongshenghong	2ED7Z RTPVJBB CD5HF2858	137	粉塔 Fenta	eR47YU3JED525BHHD2858
4	99-10	38ORKFDNFDC1A5HI33857	138	柳叶红 Liuyehong	fEL5Y3YN2DAG5EEBF2818
5	芙蓉金花 Furongjinhua	67kXZUVJ8CR25FIH03E58	139	遍地红 Biandihong	fEL7Y3YN4DA85E8HD2857
6	白玉盘 Baiyupan	6823PWTF3O23GBBBG2E18	140	丹凤 Danfeng	g2Z5OCKOVJL52KE4F2818
7	生丝绫 Shengsiling	6883P8VOEO24GBB302AB8	141	狮头紫 Shitouzi	gED2YPMF9KBA4C5IF2817
8	霞光 Xiaguang	6aA8Y3TP9I3126IB02A18	142	东海向阳 Donghaixiangyang	h2d7TP4JFC SB7L5HF2857
9	银边红阁 Yinbianhongge	6b8ELU3NVEE4D6EK03EF7	143	天山红星 Tianshanhongxing	h2fH3YYHVCB5GL5372E55
10	西施兰 Xishilan	6c833WTP8O2AGBBH06EA8	144	枣红 Zaohong	h2M4T73FFKB5GKHLJ3467
11	旭日照红岩 Xurizhaohongyan	6E8W3UVF8N74GBB3028B8	145	黑绣球 Heixiuqiu	h2M6TPTF9KB52D5BJ2057
12	娃娃面 Wawamian	6YOD3W3JED21IF1703E58	146	墨紫绫 Moziling	h4D2RPFUKO5GLHHJ2E17
13	雨花石 Yuhuashi	704aYbjKAD580DAHO28G9	147	长茎红 Changjinghong	h8EHP33AADCAGLAHJ2857
14	海云紫 Haiyunzi	70E0Y0lD8D025PIHG2FG7	148	湖光山色 Huguangshanse	h8iXPUVJ8CR25FIHF2E58
15	红袍藏金 Hongpaocangjin	712KOZ0EVK75LHHL820G0	149	玫瑰紫 Meiguizi	hAOWO03C8DC2CFHHJ2757
16	百园紫 Baiyuanzi	71d0OaeKVC740KEHG28G7	150	赤龙献彩 Chilongxiancai	hAOWO33C8DC1GFH3J2E57
17	曲叶红 Quyehong	758Ia83FVO72JMH038A7	151	红羽球 Hongyuyuqiu	haOX80S4DIC2FBAHJ3A57
18	湖水荡霞 Hushuidangxia	75N4R7YHV K9BALAH02844	152	火炬 Huoju	haOXY0XCADC4GBHLJ2E57
19	99-1	7828IIDPPO26A15I638D8	153	蓝田碧玉 Lantianbiyu	hc4X8U3JED59GFAHF2858
20	枣园红 Zaoyuanhong	7883PWTF3O23GBBE02E48	154	红花露霜 Honghualushuang	hcOX833CEDC2IFAHF2857
21	银龙探海 Yinlongtanhai	78F808TJ8D535BAK02EB8	155	雏鹅展翅 Chuezhanchi	hE58YV3N9S64CFEBF2D56
22	99-8	7G6QUNJ1FN2NAA5M035D8	156	红盘金球 Hongpanjinqiu	hE7KP46DG6744DIHF2858
23	99-6	988NFFBANP8785HL22A28	157	蝶恋花 Dielianhua	hEH8YV3OFS64CFEB02E57
24	99-3	9E9R3WR6OD9CJ6I3C25D8	158	红凤换羽 Hongfenghuanyu	hEIVYY3DFK7GCF9KA2B55
25	玉翠荷花 Yucuihehua	A0120bkQ30122K5hP70G9	159	苍龙 Canglong	hEKXY3VA3H92GBHHJ2857
26	雅红 Yahong	A810ObjP0I33265IJ28G9	160	庆云红 Qingyunhong	hEOXY33C3DC4AFALJ2E57
27	五花龙玉 Wuhualongyu	AcIV833DFK71JCEM03B14	161	红玫瑰 Hongmeigui	hERGY33EFOE8AMHHH2A17

表 3(续) Continued Table 3

编号 No.	品种名 Cultivar	身份证 Molecular ID	编号 No.	品种名 Cultivar	身份证 Molecular ID
28	雪原红花 Xueyuanhonghua	aE193VTMTL15ID6372818	162	万寿红 Wanshouhong	hERWY37NFFEGGM9LH2B57
29	乌龙戏珠 Wulongxizhu	B1TK0ZgB03V15EEHG20G8	163	大红赤金 Dahongchijin	hROXY3ZCADC2CBEHJ2857
30	艳丽红 Yanlihong	C0AOYZIFFNA4LD50K28G7	164	赵园红 Zhaoyuanhong	HWKHY03AEN9A5MEHF3858
31	紫袍金带 Zipaojindai	C8I600ZE2D74CFI302857	165	珠光 Zhuguang	ibAXL3YEFDA2GD8HJ2858
32	紫红魁 Zihongkui	CAO7J33A3DCAAFAH02857	166	迷你 Mini	iEI0UJJKJ471G75G92E15
33	东方红 Dongfanghong	CE18Z8VM2LCAGFIH72E16	167	紫凤朝阳 Zifengchaoyang	ifWKL43NH671GL4GJ2858
34	莲台子 Liantaizi	CE26Z83MFL1ACMFH02E46	168	红霞飞霜 Hongxiafeishuang	j0Z5OQh0VJNHAH50B28G5
35	紫艳风波 Ziyanfengbo	E1D707hGF0BB005HK2007	169	紫雁飞霜 Ziyanfeshuang	j4c4RSKMVJNHAH5003815
36	墨池存金 Mochicunjin	E2N7TAYFFK2HG85K03E57	170	雪山金辉 Xueshanjinhui	K848O8TPSD535BA6G2E18
37	红玛瑙 Hongmanao	e826OUUO2O21CBBBD2E58	171	艳紫向阳 Yanzixiangyang	Kb98L3YAFH94G6HKK2EG8
38	粉银针 Fenyinzhen	E8I3Q3UD2K7GADEKA2955	172	大富贵 Dafugui	KD1X3UTNAI197DIHI28C8
39	玫瑰红 Meiguihong	ea75Y4YAB6745D5HF2858	173	粉球 Fenqiu	LAO969VP8DC25DAHG2858
40	海棠红 Haitanghong	ea86YUUO2E284FBHF2858	174	少女妆 Shaonüzhuang	LAO9OWVJ2DC25B13G3E58
41	平顶紫 Pingdingzi	eAE4O3TISDC2CFHHD2E17	175	瓷白 Ciba	LcOA8WVJEDC2GBAHG2858
42	日照山河 Rizhaoshanhe	eAO7O03I8DC1CFI3D2858	176	玫瑰飘香 Meiguipiaoxiang	LU9HdB308K321CEHG28D7
43	妒花魁 Duhuakui	EEH8ZV30FS14CFEB03E56	177	贵妃插翠 Guifeichacui	LUOD3W3JUDC9HBIHD3818
44	桃花焕彩 Taohuahuancai	EER8a3YE2Q2GADEK02857	178	鹤落粉池 Heluofenchi	NCm1C0NHAMBD2BGHD2854
45	银红皱 Yinhongzhou	EJI8Z33D2K714DIB02B55	179	纱巾贯顶 Shajingguanding	P8886UTP8N236BB6D2ED8
46	红毛菊 Hongmaoju	EW0XZWcIEOC8CFAH03857	180	晨曦 Chenxi	Qc838UTFEO22GBBHK2E18
47	平顶红 Pingdinghong	fJnXYW28A8S2FHHHE2858	181	艳阳天 Yanyangtian	QcI78WUO3D725B8HD2858
48	乌蓬烟波 Wupengyanbo	h27ETAUDVK2A6LHHA2855	182	双红楼 Shuanghonglou	QEbIHW9I2DMG2BA0D36A8
49	黄金轮 Huangjinlun	h2I73GTFFO7JG38HJ2ED5	183	花红重楼 Huahongchonglou	QEbLHWA12DMG2BA2038D1
50	桃花娇艳 Taohuajiaoyan	h57HRA3DVKCAGGHH2BD5	184	银龙含珠 Yinlonghanzhu	QTO6323JUDC1GFI9G3358
51	老来红 Laolaihong	hAEWO3YC8DB1AFH3J2E57	185	昆山霞光 Kunsanxiaguang	S9E9OW3J8DC22FAHK2818
52	长寿红 Changshouhong	haEX80Z1DDJ2FBAHJ3E57	186	雪山紫玉 Xueshanziyu	SC0D8WVJEDC21BEHG3E58
53	粉芙蓉 Fenfurong	hc2W8WVF8O582BB3F2E58	187	晴雪 Qingwen	SDfX303GSD795DCHD2E88
54	满江红 Manjianghong	hc2X8U3FEO23GFII3E58	188	粉面桃花 Fenmiantaohua	STOD3W3PEDC11FI3K3658
55	红绣球 Hongxiuqiu	hEEWY03C3DC1GFI3J2858	189	蓝菊 Lanju	T2e4TPOJFCOAGGHHF2818
56	凤巢雏羽 Fengchaochuyu	hJGVZV3E2QCAGMIHH2B57	190	蓝海碧波 Lanhaibibo	T2f9T0KH9CQHBL5MD2B15
57	紫莲望月 Zilianwangyue	i2D2TYOFFK7HAL5HJ2857	191	粉珠盘 Fenzhupan	T4Z4RPKKTJN8JH6HD2814
58	风华正茂 Fenghuazhengmao	ibAXL3YEFDA2GD8HJ2857	192	胭脂点玉 Yanzhidianyu	T579TKNK9G2AFGFHD2858
59	红龙闹海 Honglongnaohai	iEVX383G8B112BH3F2E57	193	红珠映玉 Hongzhuyingyu	T5fERYcHVVCC4AJHLD2816
60	晚红 Wanhong	iXYDN6FN8HKG7H51A28D8	194	粉盘藏珠 Fenpancangzhu	T5fERYTHVCQB6G5HD2815
61	红冠芳 Hongguanfang	J823P8VOEO24GBB3G2EB8	195	晴空万里 Qingkongwanli	T5N4R7cHVKBBGLEH72865
62	99-7	J8O85Ob7AD2MK5HM03ED7	196	粉池滴翠 Fenchidicui	T94938VJUD596FAHD2E18
63	高杆红 Gaoganhong	K27H3XTMVJ75ICA3B2E16	197	蝶落粉池 Dieluofenchi	TAE4P3MI8D7A2FIHD2868
64	粉翠球 Fencuiqiu	KAE86W3JEDC16B13G2E58	198	黄玉簪 Huangyuzan	TaEF83M46DC2GBAHF2A18
65	99-2	KE7RGFQOCL7495I322ED8	199	美菊 Meiju	TE79IAZDVK7ACKHHD2915
66	99-9	KEIB3FCGDD77E52H534D7	200	大地皆春 Dadijiechun	TEE4Y13I2DC2GFIHD2818
67	99-4	KN78EKEIPD77JCHI62898	201	冰青 Bingqing	TEf9DYcHICQADKFH72B15
68	朱砂点玉 Zhushadianyu	LA49OWVJ3D532BAID2818	202	凤羽落金池 Fengyuluojinchi	TEi9ZY3HFCQAAJIH03914
69	西施粉 Xishifen	LA49OWYJ3DB3GBAID2E18	203	锦山红 Jinshanhong	TEMEYYcDAKBBAK5H72815
70	白玉楼 Baiyulou	LcE98W3JDE22BAHG28B8	204	美人面 Meirenmian	TEoEZW29L8SGAGFK03B12
71	大粉楼 Dafenlou	LcOH8W3JEDC3HFAIG2818	205	东方少女 Dongfangshaonü	TMQS2F0FI9EE29HHF2B58
72	粉妆园 Fenzhuangyuan	LT79383FUN72GFAHD2AB8	206	春晓 Chunxiao	TUfAdK3G8DC8GJEH72818
73	99-11	MIIB3Md7QN7L255H431D8	207	粉荷 Fenhe	UE73P33O3O14GFEBD2916
74	黄金桂 Huangjingui	P8P8PV3M3JD4CF572818	208	迟粉 Chifen	UE8H83cMUK24CDA5D3818
75	菱花晨浴 Linghuachenyu	Qc728UTP2R185F0HG2E18	209	丹心向阳 Danxinxiangyang	UHOX83cI3DC4GBAHD2858
76	99-12	RFIB4Gd3QO7636HH232D8	210	粉魁 Fenkui	UTFH3UVJTD2C1BEAD2818
77	晨光 Chenguang	SE98O3YA2H9GC6A2J2857	211	巧云 Qiaoyun	VeI4Y33EAD72GBI5D2868
78	大叶粉 Dayefen	T1jERYcHVCQ5GK5L73E15	212	紫绫 Ziling	VH74Y33C8N7AGBIHD2818
79	英模红 Yingmohong	T2d7TPcJFCO5GKHHHD2817	213	桃花系金 Taohuaxijin	VRF4Y0VJ8D522BH9D2818
80	百花紫 Baihuazi	T5e4RY3JVC0BGJ5HF2818	214	奇花露霜 Qihualushuang	VW74bLZD2HQAAGCIHD2EA5
81	紫檀生烟 Zitanshengyan	TEMEaP3FVKBBAJHHJ2818	215	紫光霞配 Ziguangxiapei	WAOGO03C8DC1CF53F3857
82	赵彩霞 Zhaoaixia	WR4GY03JED525MH3D3A58	216	雪映朝霞 Xueyingzhaoxia	WAOGO03C8DC1CFI3F3858
83	99-5	Xa7R8GWFA67CA75GD2818	217	金带围 Jindaiwei	WkJjHMYKHJCP8GMIHD2855
84	金心烂漫 Jinxinlanman	3aIeC5Z2UO78GLHHD2E18	218	紫绒系金 Zirongxijin	WREGY0ZCADC8GMIHD2857
85	玉芙蓉 Yufurong	3bFEPUVGAD52IF2H03E47	219	粉楼系金 Fenlouxijin	WREGY0ZCADC8GMIHD3857

表 3(续) Continued Table 3

编号 No.	品种名 Cultivar	身份证 Molecular ID	编号 No.	品种名 Cultivar	身份证 Molecular ID
86	红云迎日 Hongyunyingri	3XYDN31N8HKG7D5HA28D5	220	红绛赤金 Honglingchijin	WREHY3HCEDK42FAMD2E57
87	玲珑玉 Linglongyu	6a7MYFL1F2762AAH22958	221	永生红 Yongshenghong	WREHY3ZCADCACBAHF2858
88	雪峰 Xuefeng	6c7O8WM7E6716FA3D2858	222	红菊 Hongju	WREXY3ZCEDCAGBAHD2ED8
89	山河红 Shanhehong	6EK2Y3YN9B94A6HK02E17	223	桃花飞雪 Taohuafeixue	WRmHY03GE9SAILEBD2B58
90	竹叶红 Zhuyehong	6EK2Z3YN9B94A6HK02E17	224	红艳飞霜 Hongyanfeishuang	WWOHY33CEDC2GMHHF3858
91	高杆紫 Gaoganzi	75g4RYKJVCOBGJ5H03817	225	莲台 Liantai	YZ8PAFN1PN8AFFAHF2A17
92	粉绣球 Fenxiuqiu	75iERYOHVC04CJHM03814	226	紫凤羽 Zifengyu	Z3N2OPNO9CB42CI3F2818
93	富贵红 Fuguihong	7E8EBQYPVLLFAK5J03817	227	白玉冰 Baiyubing	3Ei83YMHFCQA7FFH03814
94	粉玉奴 Fenyunu	7Em8a33LVMSGALEH82B15	228	多花玫瑰 Duohuameigui	5bL2PUTE2NA26B6J02847
95	种生粉 Zhongshengfen	7TFH38VJUD59IFAHO3EA8	229	玉花石 Yuhuashi	62IH7XTMVJ75ICA303A56
96	赵园粉 Zhao yuanfen	7TFH3UVJUD52BIH05848	230	霜凌红 Shuanglinghong	6aA8Z3TP9I3126IB02E48
97	杭芍 Hangshao	88KAIUR1KN98AK7H03ED8	231	粉莲 Fenlian	6c688WTFEN726BBH04EB8
98	冰山 Bingshan	a27H3VMMVL14IDA372A18	232	小天鹅 Xiaotiane	6c8C8WTFEN79HBIH02EB8
99	俏袭人 Qiaoxiren	Ab72PUUPAR186B5H02EA8	233	玫红争润 Meihongzhengrun	6cID88VFEN721FIH028B8
100	粉池金鱼 Fenchijinyu	aE7HYXOMTJQ4CL2H72816	234	紫红阁 Zihongge	6EK8I8cN9O94GAAK02E47
101	粉绛红花 Fenlinghonghua	aEIH3YcMUJ74DJHKD3856	235	黄鹤羽 Huangheyu	6LI8993MUJ711DI304E56
102	银线绣红袍 Yinxianxiuhongpao	ASC0OUTNUO411B2M048A7	236	壮士 Zhuangshi	75MKR73DVKB5AK5H02855
103	雪盖黄沙 Xuegaihuangsha	ab2I4TYUK3K796B6H72815	237	桃花雪 Taohuaxue	7QF5ZU3JED51GBIB03E48
104	山海红 Shanhaihong	bbL5P3YNFDA2GD9HD2818	238	菊峰 Jufeng	7VOF3F54UDC8GMHH03807
105	蓝田飘香 Lantianpiaoxiang	BcFX8U3JED59GFAH03858	239	袭人 Xiren	Ab72PUUPAR186B5H05EA8
106	巧玲 Qiaoling	bE16YV3M8L18GFEHD2E16	240	大红袍 Dahongpao	AgTXA5U0AHG2GBHH02EB7
107	金簪刺玉 Jinzanciyou	bEH3Y33OAS64GFEB72B16	241	透云蓝 Touyunlan	AR82ZUUAA8O216B6F05C48
108	粉绛红珠 Fenlinghongzhu	BEIH3YcMVJ74DJH303816	242	群蝶飞舞 Qundiefeiwu	BCI7P3UF3O725BBH02E48
109	多叶紫 Duoyezi	bEL5Y3YN4DAAGDFHD2868	243	绘翠 Huicui	BLRW993OVQE4DF9303B48
110	紫檀镶玉 Zitanxiangyu	C8KVP3YN9B94A66H02857	244	红凤 Hongfeng	Ca82Z8ZFAO2ACFBH02EA8
111	红盘撒金 Hongpansajin	CB76YY3L2C7AGDHH2845	245	红梅 Hongmei	EE8VY33D9K7A4MAH02B57
112	红峰 Hongfeng	Cb7JIDYPF712GE5H02E58	246	红霞藏金 Hongxiacangjin	EH8D0P5DVK7BAJAH03E57
113	红茶花 Hongchahua	ccFX3U3JED5AIMAHF2A58	247	百花魁 Baihuakui	FEIHYEKKH5454HEK03855
114	垂头红 Chuitouhong	cE8X38VF8O2FDFBIF2ED8	248	玉花龙 Yuhualong	K6793XTMVL15DD6303E56
115	红艳争光 Hongyanzhengguang	CEK2O3YN2B94CBBK02817	249	富丽 Fuli	3EjW333MVCP8GFHH72B15
116	火炼赤金 Huolianchijin	CER8YYZNFF2GCF9K02817	250	铁杆紫 Tieganzi	6fX8L30NVH1I655KK2ED8
117	月照山河 Yuezhaoshanhe	ChEWY0eJ3DCALNIH028GA	251	丽红 Lihong	6NJ883Y1QH92F23HG2E17
118	五彩迎日 Wucaiyingri	ChG2aZIFXOEAADEHF29G7	252	擎天红 Qingtianhong	BEhKIDYN9D1IGE5302E58
119	圆叶锦球 Yuanyejinqiu	cTIX39VFUN72GFAHF28D8	253	红金刚 Hongjingang	CbL5I3YNFDA4GE8H05E57
120	红富士 Hongfushi	DbavLOIMCJN1GH5K03815	254	绚丽多彩 Xuanliduocai	CE73YV3D2L1A4FFG72E18
121	杨妃出浴 Yangfeichuyu	dd7Y8YKMAGKI71A172B14	255	金星闪烁 Jinxingshanshuo	CIU8353NQQH8AL9H72E17
122	烈火金刚 Liehuojingang	E2D7TA3FFKQHG85KJ2E58	256	红魁 Hongkui	EELWZ3IN4DA15D6302857
123	东海朝阳 Donghaichaoyang	E2e7SWcPFOOBGL5H05853	257	佛光烛影 Foguangzhuying	hIIV3YU5QJ72GB5DA2E55
124	黑海波涛 Heihaibotao	E2M4T73FFK254KAM02E37	258	紫金球 Zijinjiu	Ta8Ec5cZHT78GMHHD2E18
125	墨紫含金 Mozihanjin	E4ZUT7YOVKLKA14K03A57	259	凤凰涅槃 Fenghuangniepan	7fOEV5c2UNTC1GAHGD2815
126	翠云红 Cuiyunhong	ea47YU3JAD525FIDF3E58	260	笑靥 Xiaoye	Bb82WHIB5723GCHB02617
127	红艳争辉 Hongyanzhenghui	ea75Y4cEB674CDAHF2858	261	紫芙蓉 Zifurong	c8PXP8UF3KD25BBHF28D8
128	鲁红 Luhong	eaF7YU3JAD525FIDF3E58	262	富士 Fushi	dEj5IF5JHBPG2JBHD3818
129	鱼鳞红 Yulinhong	eaO7Y33I3DC8ABEHF2858	263	蝶舞 Diewu	E8I7O2ME3D725CI503857
130	英雄花 Yingxionghua	ebAXL3YAFNAGAE5IF18E8	264	红色女神 Red charm	FfoVI0aNASS8G4EH02858
131	艳丽 Yanli	ebLKL3YEFNAGGDHKJ28D7	265	清婴 Qingying	FOSRXVGLMLF1C5IC03E15
132	胜桃花 Shengtaohua	ebLXL3YAFNAGAEH0F28D8	266	向天歌 Xiangtiange	K8I3PWUO3D725BBHG2858
133	蝴蝶系金花 Hudixijinhua	EE78ZY3M9L1ACFIH02B56	267	蟹爪 Xiezhuo	O8LAV7PN7KAD057H038D7
134	向阳奇花 Xiangyangqihua	EE83Y33EAO2AGFEHE2B18	268	黄金带 Huangjindai	P8k8QV3M2JR4CFF372E16

注:序号 1~83 样品采自河南洛阳国际牡丹园,序号 84~226 样品采自山东菏泽曹州牡丹园,序号 227~248 样品采自山东菏泽百花园,序号 249~258 样品采自山东菏泽微阳牡丹种植专业合作社,序号 259~268 样品采自山东菏泽市牡丹区马岭岗镇吴桥村。

Note:No. 1—83 cultivars were from Luoyang International Peony Garden, Henan. No. 84—226 were from Caozhou Peony Garden, Shandong. No. 227—248 were from Heze Baihua Garden, Shandong. No. 249—258 were from Heze Aoyang Peony Cultivated Professional Cooperatives, Shandong. No. 259—268 were from Wujiao village, Malinggang town, Peony district, Heze, Shandong.

3 讨 论

本研究在对中国芍药品种资源进行调查的基础上,利用 21 对 SSR 标记,采用数字和大小写英文字母结合的方法,成功构建了 268 个芍药品种的分子身份证,平均每对引物等位基因位点 12 个,是区分中国芍药品种的有效方法。

植物品种资源开发利用工作的基础是明确品种特点、类型与数量。本研究基本确定了目前中原地区的中国芍药品种资源数量。山东菏泽作为国内芍药的主要栽培地之一,历史上品种数量曾达 418 种,但据本课题组近 3 年的调研统计,菏泽目前仅有芍药品种 141 个,品种流失率达 66.3%。提示应将中国现有芍药品种登记在册,联合各单位每年进行品种增减的统计工作,方有利于品种保存、交流与新品种培育。从构建出的身份证来看,部分品种信息极为相似,21 位编码中仅有 1 或 2 位不一致。如‘山河红’和‘竹叶红’仅身份证第 5 位不一致,‘袭人’和‘俏袭人’仅第 18 位不一致。对于这些品种,建议进一步确认其各自形态特征和物候记录,以确定是否可以合并为一个品种。通过构建分子身份证还发现,由于地方口音和品种俗名接近,造成部分品种同音异字或同种异名现象,如‘俏袭人’有时被称为‘玉翠荷花’,但身份证信息显示‘俏袭人’与‘玉翠荷花’并非同一品种。

遗传多样性高低是决定引物区分样品数量能力的关键。高源等^[27]利用 16 对 SSR 引物在 314 份苹果栽培品种中进行扩增,平均每对引物有等位基因 22.3 个,仅用 6 对核心引物就构建出了 314 份苹果资源的 TP-M13-SSR 指纹图谱。本研究平均每对引物等位基因位点仅有 12 个,这是由于苹果已进行全基因组测序,标记选择更为容易,而目前对芍药的 SSR 标记开发有限。张嘉等^[26]利用 4 对 SSR 引物区分了 66 个中国芍药品种,但 4 对引物的区分能力有限,无法进一步鉴别更多的中国芍药品种。张建军等^[15]利用 10 对 SSR 引物区分了 61 个引进观赏芍药品种,平均每对引物等位基因位点为 10.9 个,与本研究接近。因此未来需进一步开发芍药 SSR 分子标记。SSR 标记可分为基因组 SSR 和 EST-SSR,相比之下,基因组 SSR 的开发费时费力、价格昂贵^[28],而 EST-SSR 则被发现可能与控制某些重要农艺性状的功能基因紧密连锁^[29]。目前 EST-SSR 已在与芍药同属的牡丹中得到应用。Wu 等^[25]通过对牡丹转录组 Unigenes 序列的分析,鉴定出

4 373 个 EST-SSRs,并在此基础上成功发掘出 149 对具有多态性的引物,其中有 5 个标记与株高、顶小叶长和柱头颜色等 6 个性状显著关联^[30]。因此今后对芍药进行研究时,可在转录组测序基础上,力争多开发 EST-SSR 标记,以寻找与观赏性状直接相关的标记,利用一个或多个标记体现该品种花型、花色等特性,从而使芍药品种的分子身份证不仅可用来鉴定品种,还能用来快速鉴别不同品种的观赏特性提供一定的参考。

[参考文献]

- [1] Jakubowski R D, Hollingsworth J, Nordick H, et al. Peonies 1997—2007 [M]. Gladston: American Peony Society, 2007.
- [2] 秦魁杰. 芍药 [M]. 北京: 中国林业出版社, 2004: 16-18.
Qin K J. Herbaceous peony [M]. Beijing: China Forestry Publishing House, 2004: 16-18.
- [3] 王高潮, 陈煜超. 中国芍药品种鉴赏与培育 [M]. 北京: 中国林业出版社, 2004: 2-205.
Wang G C, Chen Y C. Appreciation and cultivation of Chinese peony varieties [M]. Beijing: China Forestry Publishing House, 2004: 2-205.
- [4] 解孝满. 菏泽芍药品种资源调查及盆栽促成栽培技术的研究 [D]. 南京: 南京林业大学, 2005.
Xie X M. Research on the resources and pot-facilitating cultivation of *Paeonia lactiflora* in Heze [D]. Nanjing: Nanjing Forestry University, 2005.
- [5] 郭正祥. 中国观赏芍药品种的资源调查与促成栽培评价 [D]. 北京: 北京林业大学, 2006.
Wu Z X. Studies on resource exploration and appraisable application of forcing cultuer for Chines cultivar group of *Paeonia lactiflora* [D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2006.
- [6] 郭先锋, 刘爱青, 黄雪, 等. 山东地区托桂型芍药品种的调查与分类 [J]. 中国农学通报, 2010, 26(11): 317-323.
Guo X F, Liu A Q, Huang X, et al. Investigation and classification of anemone-form herbaceous peony cultivars from Shandong province [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2010, 26(11): 317-323.
- [7] 王建国, 张佐双. 中国芍药 [M]. 北京: 中国林业出版社, 2004: 25-225.
Wang J G, Zhang Z S. Herbaceous peonies of China [M]. Beijing: China Forestry Publishing House, 2004: 25-225.
- [8] 陆徐忠, 从夕汉, 刘海珍, 等. 杂交水稻亲本分子身份证及 SSR 指纹数据库的建立 [J]. 核农学报, 2012, 26(6): 853-861.
Lu X Z, Cong X H, Liu H Z, et al. Establishment of DNA dingerpringting database for parental lines of hybrid rice [J]. Journal of Nuclear Agricultural Science, 2012, 26(6): 853-861.
- [9] 王清明, 叶宇芸, 马建伟, 等. 成都平原桃主栽品种 EST-SSR 指纹图谱构建 [J]. 分子植物育种, 2016, 14(3): 638-646.
Wang Q M, Ye Y Y, Ma J W, et al. Establishment of EST-SSR fingerprint for the major cultivars of peach in Chengdu

- plain [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2016, 14(3): 638-646.
- [10] 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.
- Chen C W, Cao K, Wang L R, et al. Molecular ID establishment of main China peach varieties and peach related species [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2011, 44(10): 2081-2093.
- [11] 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.
- Zhang J G, Tian R, Chen Q L, et al. Establishment of molecular ID for pear cultivars based on SSR markers [J]. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2014, 33(1): 12-17.
- [12] 陶爱芬,魏嘉俊,刘星,等. 应用 SRAP 标记绘制 88 份南瓜属种质资源 DNA 指纹图谱 [J]. *植物遗传资源学报*, 2017, 18(2): 225-232.
- Tao A F, Wei J J, Liu X, et al. Construction of molecular fingerprinting map for 88 accessions of *Cucurbita* by SRAP markers [J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2017, 18(2): 225-232.
- [13] 包文泉,乌云塔娜,赵罕,等. 基于 SSR 标记的仁用杏主栽品种鉴别和指纹图谱构建 [J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2017, 45(6): 163-169.
- Bao W Q, Wuyun T N, Zhao H, et al. Identification and fingerprinting construction of accessions of kernel-suing apricot by SSR markers [J]. *Journal of Northwest A&F University (Nat Sci Ed)*, 2017, 45(6): 163-169.
- [14] 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.
- Xu L F, Ge L, Yuan S X, et al. Using the fluorescent labeled SSR markers to establish molecular identity of lily germplasms [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2014, 41(10): 2055-2064.
- [15] 张建军,季丽静,刘仲赫,等. 引进观赏芍药新种质的 SSR 指纹图谱构建 [J]. *东北林业大学学报*, 2015, 43(3): 70-74.
- Zhang J J, Ji L J, Liu Z H, et al. Constructing SSR fingerprinting for introduced new germplasm of *Paeonia* L [J]. *Journal of Northeast Forestry University*, 2015, 43(3): 70-74.
- [16] 唐源江,曹雯静,吴坤林. 基于 SRAP 标记的国兰种质资源遗传多样性分析及分子身份证构建 [J]. *中国农业科学*, 2015, 48(9): 1795-1806.
- Tang Y J, Cao W J, Wu K L. Genetic diversity analysis and molecular identification card construction of Chinese *Cymbidium* germplasms based on SRAP markers [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2015, 48(9): 1795-1806.
- [17] 薛建华,姜莉,马晓林,等. 莲品种 DNA 指纹图谱的构建 [J]. *生物多样性*, 2016, 24(1): 3-11.
- Xue J H, Jiang L, Ma X L, et al. Identification of lotus cultivars using DNA fingerprinting [J]. *Biodiversity Science*, 2016, 24(1): 3-11.
- [18] Sun J, Yuan J, Wang B, et al. Development and characterization of 10 microsatellite loci in *Paeonia lactiflora* (Paeoniaceae) [J]. *American Journal of Botany*, 2011, 98(9): 242-243.
- [19] Cheng Y, Kim C H, Shin D I, et al. Development of simple sequence repeat (SSR) markers to study diversity in the herbaceous peony (*Paeonia lactiflora*) [J]. *Journal of Medicinal Plant Research*, 2011, 5(31): 6744-6751.
- [20] Li L, Cheng F Y, Zhang Q X. Microsatellite markers for the Chinese herbaceous peony *Paeonia lactiflora* (Paeoniaceae) [J]. *American Journal of Botany*, 2011, 98(2): e16-e18.
- [21] Gilmore B, Bassil N, Nyberg A, et al. Microsatellite marker development in peony using next generation sequencing [J]. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 2013, 138(1): 64-74.
- [22] Gao Z M, Jiu Z A, Wang L S, et al. Rapid microsatellite development for tree peony and its implications [J]. *BMC Genomics*, 2013, 14: 886.
- [23] 刘建鑫,杨柳慧,魏冬霞,等. 芍药属组内组间杂交及部分后代核型分析与 SSR 鉴定 [J]. *北京林业大学学报*, 2017, 39(4): 72-78.
- Liu J X, Yang L H, Wei D X, et al. Intrasectional and intersectional cross breeding of *Paeonia* and karyotype analysis and SSR identification of some hybrids [J]. *Journal of Beijing Forestry University*, 2017, 39(4): 72-78.
- [24] Zhang J J, Shu Q Y, Liu Z A, et al. Two EST-derived marker systems for cultivar identification in tree peony [J]. *Plant Cell Reports*, 2012, 31(2): 299-310.
- [25] Wu J, Cai C F, Cheng F Y, et al. Characterization and development of EST-SSR markers in tree peony using transcriptome sequences [J]. *Molecular Breeding*, 2014, 34(4): 1853-1866.
- [26] 张嘉,刘爱青,张淑玲,等. 利用荧光标记 SSR 绘制中国芍药品种分子身份证 [J]. *北京林业大学学报*, 2016, 38(6): 101-109.
- Zhang J, Liu A Q, Zhang S L, et al. Using the SSR with fluorescent labeling to establish SSR molecular ID code for cultivars of the Chinese herbaceous peony [J]. *Journal of Beijing Forestry University*, 2016, 38(6): 101-109.
- [27] 高源,王昆,王大江,等. 利用 TP-M13-SSR 标记构建苹果栽培品种的分子身份证 [J]. *园艺学报*, 2016, 43(1): 25-37.
- Gao Y, Wang K, Wang D J, et al. Molecular ID establishment of apple cultivars by TP-M13-SSR [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2016, 43(1): 25-37.
- [28] Zeng S H, Xiao G, Guo J, et al. Development of a EST dataset and characterization of EST-SSRs in a traditional Chinese medicinal plant, *Epimedium sagittatum* (Sieb. Et Zucc.) Maxim [J]. *BMC Genomics*, 2010, 11: 94.
- [29] Bozhko M, Riegel R, Schubert R, et al. A cyclophilin gene marker confirming geographical differentiation of Norway spruce populations and indicating viability response on excess soil-born salinity [J]. *Molecular Ecology*, 2003, 12(11): 3147-3155.
- [30] 吴静,成仿云,庞利铮,等. 紫斑牡丹表型性状与 SSR 分子标记的关联分析 [J]. *北京林业大学学报*, 2016, 38(8): 80-87.
- Wu J, Cheng F Y, Pang L Z, et al. Association analysis of phenotypic traits with SSR markers in *Paeonia rockii* [J]. *Journal of Beijing Forestry University*, 2016, 38(8): 80-87.