

研究报告

A Letter

适于高粱 DNA 指纹图谱库构建的核心 SSR 引物的确立

王晶^{1,2}, 张春宵², 王凤华³, 郝彩环³, 杨德光¹, 李晓辉²

1 东北农业大学农学院, 哈尔滨, 150030

2 吉林省农业科学院生物技术研究中心, 长春, 130033

3 吉林省农业科学院/农业部植物新品种测试公主岭分中心, 公主岭, 136100

✉ 通讯作者: yangguang918@yahoo.com.cn; lixiaohui2002lix@163.com; 作者

分子植物育种, 2012 年, 第 10 卷, 第 7 篇 doi: 10.5376/mpb.cn.2012.10.07

收稿日期: 2011 年 02 月 10 日

接受日期: 2012 年 02 月 27 日

发表日期: 2012 年 03 月 6 日

这是一篇采用 Creative Commons Attribution License 进行授权的开放取阅论文。只要对本原作有恰当的引用, 版权所有人允许并同意第三方无条件的使用与传播。

建议最佳引用格式:

引用格式(中文):

王晶等, 2012, 适于高粱 DNA 指纹图谱库构建的核心 SSR 引物的确立, 分子植物育种(online) Vol.10 No.7 pp.1049-1060 (doi: 10.5376/mpb.cn.2012.10.0007)

引用格式(英文):

Wang J., et al., 2012, Determining SSR core primers for establishing DNA fingerprinting profiles in Sorghum, Fenzi Zhiwu Yuzhong (online) (Molecular Plant Breeding) Vol.10 No.7 pp.1049-1060 (doi: 10.5376/mpb.cn.2012.10.0007)

摘要 本研究以 119 份高粱种质为试材, 对搜集并合成的 288 对高粱 SSR 引物经过初筛、复筛和终筛, 最终确立均匀分布于高粱 10 个连锁群上的, 扩增带型清晰、稳定且多态性水平高的 41 对引物作为构建高粱 DNA 指纹图谱数据库的核心引物。这批引物既适用于变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测, 又适用于高通量的 DNA 测序仪检测。共检测出的总等位变异数为 193, 每对引物检测出 2~9 个等位基因, 平均 4.7 个; 有效等位变异数在 1.1572~5.4690 之间, 平均 2.8146; Shannon-Weaver 指数在 0.262 0~1.881 3 之间, 平均 1.116 4; 基因流在 0.322 8~4.034 3 之间, 平均 1.034 4; Nei 期望杂合度在 0.135 8~0.817 2 之间, 平均 0.581 6; 多态性信息量在 0.135 9~0.817 1 之间, 平均 0.581 6。这批引物用于高粱 DNA 指纹图谱库构建是完全可行的。本研究结果对于在分子水平上开展高粱品种鉴定、品种审定和品种权保护具有重要意义。

关键词 高粱; SSR; 指纹图谱; 核心引物

Determining SSR Core Primers for Establishing DNA Fingerprinting Profiles in Sorghum

Wang Jing^{1,2}, Zhang Chunxiao², Wang Fenghua³, Hao Caihuan³, Yang Deguang¹, Li Xiaohui²

1 College of Agronomy, Northeast Agricultural University, Harbin, 150030

2 Center of Agri-Biotechnology, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun, 130033

3 Gongzhuling Station for Testing of New Varieties of Plant, MOA, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Gongzhuling, 136100

✉ Corresponding author, yangguang918@yahoo.com.cn; lixiaohui2002lix@163.com; Authors

Abstract In this research, we used 119 sorghum accessions as materials, and collected 288 SSR primers, and put them under preliminary screen, secondary screen, and final screen to obtain 41 core primers which are evenly distributed on 10 linkage groups to generate clear, stable, and polymorphic PCR bands. The 41 core primers were used to establish DNA fingerprinting profiles in Sorghum. These primers were suitable for both denaturing polyacrylamide gel electrophoresis and DNA sequencing analyzer. A total of 193 alleles (Na) were obtained with 2~9 alleles per primer (averaging 4.7). The effective alleles (Ne) ranged from 1.157 2 to 5.469 0 (averaging 2.814 6). The Shannon-Weaver index (I) ranged from 0.262 0 to 1.881 3 (averaging 1.116 4). The gene-flow (Ne) ranged from 0.322 8 to 4.034 3 (averaging 1.034 4). Nei Expected heterozygosity (He) ranged from 0.135 8 to 0.817 2 (averaging 0.581 6). The polymorphism information content (PIC) ranged from 0.135 9 to 0.817 1 (averaging 0.581 6). It was feasible to establish DNA fingerprinting in Sorghum for these primers. The results are important for variety identification, variety assessment and intellectual property rights protection.

Keywords Sorghum; Simple Sequence Repeats (SSR); Fingerprinting; Core primers

研究背景

高粱起源于非洲, 是世界上仅次于玉米、水稻、小麦和大麦的第五大粮食作物(段永红等, 2009)。高粱具有耐旱、耐涝、耐贫瘠、耐盐碱等多重抗性,

抗逆性强, 广泛分布于干旱、半干旱和低洼易涝地区, 具有粮饲、造酒、帚用、编织等多种用途。在我国, 高粱也是重要的旱粮作物, 对稳定粮食产量和保证粮食供应也曾起过不可低估的作用(邵艳军

和山仑, 2004)。

近年来, 在巨大经济利润的驱动下, 不法之徒偷窃高粱育种材料和非法扩繁高粱种子, 严重损害了育种家权益和农民利益。作为常异交作物, 高粱本身遗传基础复杂, 加之我国高粱品种遗传基础较为狭窄, 使得品种特异性的判定十分困难。

虽然形态特征描述仍然是高粱品种 DUS 测试的主要依据, 但在审理侵权纠纷案件时, 很难根据形态特征判定侵权行为。DNA 指纹图谱分析可以非常准确地认定被诉品种与被侵权品种的同源性, 从而更好地保护品种权人的合法利益。因此, 开展高粱 DNA 指纹图谱鉴定技术方法研究并形成鉴定技术标准, 构建高粱 DNA 指纹图谱数据库, 可以为开展我国高粱已知品种的 DNA 指纹图谱数据采集和品种权纠纷、司法维权提供技术支撑。

国际植物新品种保护联盟(UPOV)已将 SSR 标记技术和单核苷酸多态性技术(SNP)推荐为适合构建指纹图谱数据库的两种技术, 认为 SSR 标记技术是目前最为成熟的技术。鉴于 SSR 标记具有数量丰富、多态性高、信息量大、共显性遗传、稳定性好、技术简便、数据易于交流等优点和国内外应用情况, 应建立基于 SSR 标记的作物品种基因型数据库。而如何从数目庞大的引物库中筛选出扩增条带清晰、重复性好且分辨能力强的核心引物是构建的关键。因而, 本研究以 119 份高粱种质为试材, 筛选确立适于高粱 DNA 指纹图谱库构建的核心 SSR 引物, 研究结果对于在分子水平上开展高粱品种鉴定、品种审定和品种权保护具有重要意义。

1 结果与分析

1.1 SSR 引物初筛结果

以表 2 中编号 1~8 的高粱种质为试材, 基于本实验室构建的适宜的 PCR 扩增体系及扩增程序, 对实验室搜集并合成的 288 对高粱 SSR 引物进行初筛(图 1), 筛选出能够有效扩增、带型清晰且多态性高的引物 138 对。

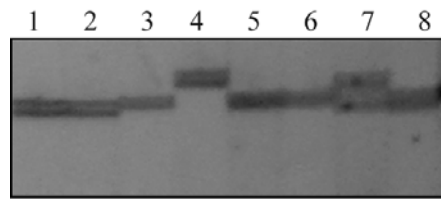


图 1 引物 xtxp123 初筛结果

注: 泳道编号与表 1 相同

Figure 1 The result of preliminary screening for primer xtxp123

Note: The code for lanes is the same as table 1

1.2 SSR 引物复筛结果

另以代表不同生态区、不同类型、不同遗传背景的 60 份高粱种质(表 2, 编号 9~68)为试材, 基于扩增质量好、多态性水平高、在染色体上分布均匀、扩增片段大小适中、易于进行多重 PCR 的原则, 从初筛确定的 138 对高粱 SSR 引物中复筛出 50 对引物(图 2), 确定适合于该引物的标准样品, 进行荧光基团修饰并用于最终筛选。

1.3 SSR 引物终筛结果

另从 51 份高粱种质(表 2, 编号 69~119)随机选取 10 份为试材, 在常规聚丙烯酰胺凝胶电泳上比较验证复筛确立的 50 对常规 SSR 引物与荧光修饰引物的扩增结果, 剔除 9 个存在问题的引物(未启动扩增、带型不一致等, 图 3), 最终选择常规引物与荧光修饰引物带型相一致且重复度好的 41 对 SSR 引物, 并作为构建高粱 DNA 指纹图谱数据库的核心引物。

结果表明, 41 对 SSR 引物在 119 个高粱材料间共检测出 193 个等位基因变异, 每对引物检测出 2~9 个等位基因, 平均 4.7 个。采用 Popgene 软件, 对 41 对引物的分辨能力进行综合评估(表 1; 图 4)。

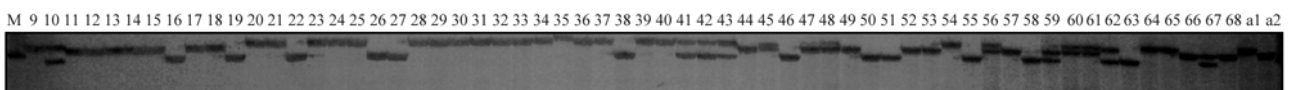


图 2 引物 xtxp424 复筛结果

注: M: 分子量标准 D2000; 9~68: 编号与表 1 相同; a1~a2: 等位基因 1~2

Figure 2: The result of second screening for primer xtxp424

Note: M: Molecular weight standard D2000; 9~68: The code for lanes is the same as table 1; a1~a2: Allele 1~allele 2

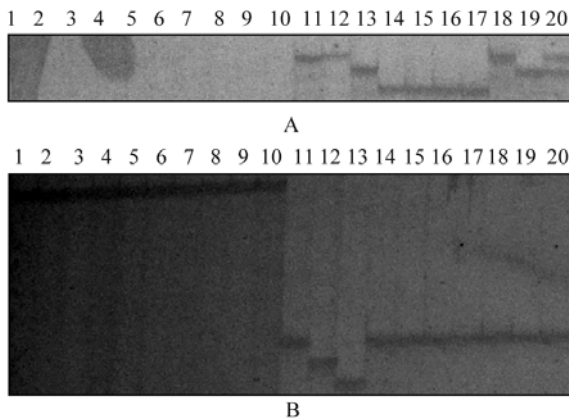


图3 荧光引物与常规引物的扩增产物
注: A: 引物 txp228 未启动扩增; B: 引物 cup63 扩增无多态性; 1~10; 11~20: 依次为荧光引物和常规引物扩增产物
Figure 3: The amplification fragments for fluorescent primer and conventional primer
Note: A: Amplification failure for primer txp228; B: No polymorphism for primer cup63; 1~10 and 11~20 are amplified fragments for fluorescent primer and conventional primer, respectively

2 讨论

核心引物的筛选确立是 SSR 标准实验体系的重要组成部分,也是 SSR 指纹鉴定商业化的关键环节,对于高粱 DNA 指纹库的构建具有重要意义。核心引物的确立,不但降低了合成引物的成本,而

且大大减轻了引物筛选的工作量,并使得不同研究者的指纹图谱可以相互比较和整合。赵久然等(2003)早已筛选确立适用于玉米自交系和杂交种指纹图谱绘制的 SSR 核心引物,并成功应用于玉米品种 DNA 指纹数据采集、品种产权纠、品种审定等方面。然而,在高粱 DNA 指纹库构建的核心 SSR 引物筛选方面的相关报道较少。

詹秋文等(2008)以 42 份高粱和苏丹草为试材,从 95 对 SSR 引物中最终筛选出 3 对 SSR 核心引物,构建 42 份高粱和苏丹草的 SSR 数字指纹。王黎明等(2011)以国内外 142 份甜高粱种质资源为试材,从 103 对 SSR 引物中筛选出 41 对多态性引物,并最终确定 11 对引物用于构建 142 份品种资源的分子身份证。然而,詹秋文等(2008)研究中的材料和引物数量均较少,而王黎明等(2011)主要针对国内外甜高粱种质。本研究所选用的 119 份高粱种质包含地方品种、常规种(含有国外种质、保持系和恢复系)和杂交种等在内的全部品种类型;所选用的引物涵盖目前国内外最新研究中所开发和使用的核心引物;引物筛选标准较为严格,包括在染色体上分布均匀,扩增带型清晰、稳定且多态性水平高;既适合利用普通 DNA 片段检测技术平台(如变性聚丙烯酰胺凝胶结合银染技术),又适合高通量 DNA 片段检测技术平台(如 DNA 测序仪)检测;此外,还兼顾扩增片段大小适中、易于进行多重 PCR 等原则。

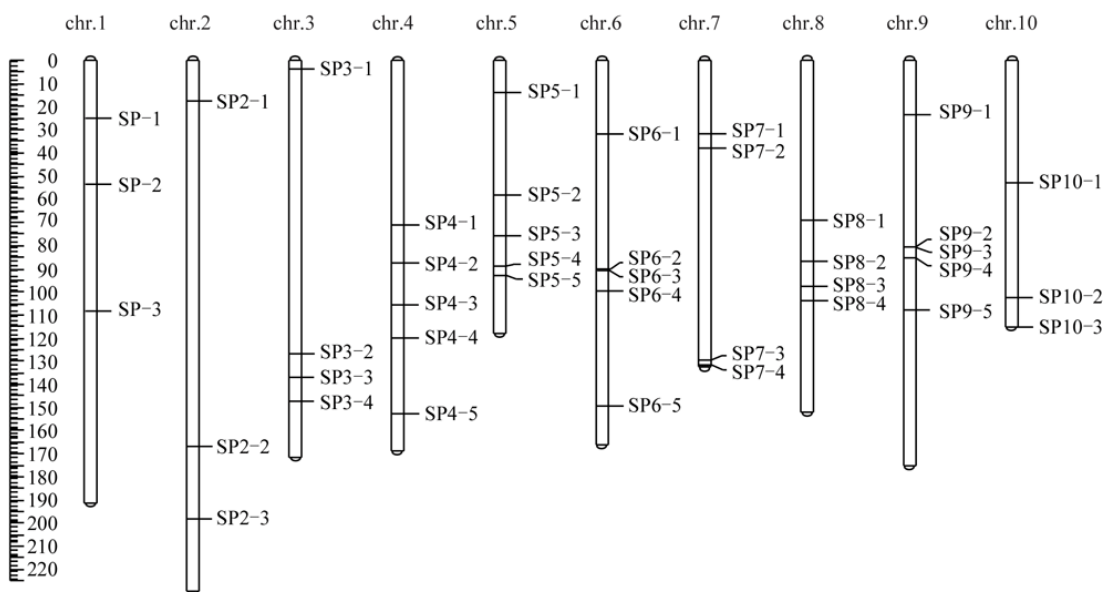


图 4 41 对引物在高粱染色体上的分布图
Figure 4 The distribution of 41 primers among 10 chromosomes of sorghum

表 1 41 对核心引物清单

Table 1 The list of 41 core primers

序号 No.	总等位变异数 Na	有效等位变异数 Ne	Shannon-Weaver 指数 I	基因流 Nm	Nei 期望杂合度 Nei He	多态性信息量 PIC
SP1-1	3	2.487 7	0.992 1	0.931 0	0.598 0	0.598 0
SP1-2	3	2.983 5	1.095 8	0.322 8	0.664 8	0.664 9
SP1-3	4	2.449 6	1.020 0	0.664 8	0.591 8	0.591 8
SP2-1	3	1.427 6	0.556 3	1.253 4	0.299 5	0.299 5
SP2-2	2	1.986 0	0.689 6	1.790 8	0.496 5	0.496 5
SP2-3	2	1.876 6	0.659 9	0.459 5	0.467 1	0.467 1
SP3-1	7	3.330 7	1.476 5	0.889 9	0.699 8	0.699 7
SP3-2	7	5.360 5	1.772 2	1.224 7	0.813 5	0.813 5
SP3-3	4	1.589 2	0.641 8	1.170 0	0.370 7	0.370 7
SP3-4	4	2.956 1	1.121 3	1.026 9	0.661 7	0.661 7
SP4-1	8	2.773 1	1.409 4	0.827 6	0.639 4	0.639 4
SP4-2	4	2.416 3	1.015 0	0.466 6	0.586 2	0.586 2
SP4-3	5	3.385 8	1.322 6	1.035 5	0.704 6	0.704 6
SP4-4	3	2.779 1	1.059 4	0.440 0	0.640 2	0.640 2
SP4-5	5	1.950 1	1.007 6	1.172 8	0.487 2	0.487 2
SP5-1	5	1.783 8	0.922 4	0.883 7	0.439 4	0.439 4
SP5-2	4	3.316 5	1.264 3	1.068 4	0.698 5	0.698 5
SP5-3	7	5.419 2	1.786 4	1.582 2	0.815 5	0.815 5
SP5-4	5	1.896 5	0.939 7	0.750 5	0.472 7	0.472 7
SP5-5	4	2.048 6	0.976 0	0.613 3	0.511 9	0.511 8
SP6-1	4	3.497 4	1.318 6	0.515 8	0.714 1	0.714 0
SP6-2	5	2.308 6	1.021 5	0.910 7	0.566 8	0.566 8
SP6-3	6	5.469 0	1.738 7	1.435 0	0.817 2	0.817 1
SP6-4	5	1.771 6	0.813 0	0.787 6	0.435 5	0.435 6
SP6-5	4	3.120 8	1.242 7	0.486 4	0.679 6	0.679 6
SP7-1	5	3.267 0	1.335 0	4.034 3	0.693 9	0.693 9
SP7-2	5	4.084 4	1.489 5	1.265 4	0.755 2	0.755 2
SP7-3	4	1.225 0	0.411 1	0.580 7	0.183 7	0.183 6
SP7-4	4	1.359 6	0.571 4	0.983 0	0.264 5	0.264 6
SP8-1	5	2.799 2	1.234 2	0.370 6	0.642 8	0.642 8
SP8-2	4	2.305 9	0.999 8	0.883 2	0.566 3	0.566 4
SP8-3	2	1.512 4	0.521 9	3.479 5	0.338 8	0.338 8
SP8-4	9	5.430 0	1.881 3	0.901 4	0.815 8	0.815 9
SP9-1	6	3.003 7	1.240 1	1.537 3	0.667 1	0.667 1
SP9-2	3	2.476 5	0.992 0	0.520 6	0.596 2	0.596 2
SP9-3	7	1.882 1	1.078 8	0.374 2	0.468 7	0.468 7
SP9-4	7	4.283 2	1.692 5	2.427 2	0.766 5	0.766 5
SP9-5	6	3.642 7	1.515 6	0.562 4	0.725 5	0.725 5
SP10-1	6	4.112 1	1.560 0	0.535 3	0.756 8	0.756 8
SP10-2	2	1.157 2	0.262 0	0.438 6	0.135 8	0.135 9
SP10-3	5	2.473 3	1.125 8	0.808 2	0.595 7	0.595 6

注: 序号为实验室引物编号

Note: The number is the code of laboratory primers

总之, 本研究提出了适于高粱 DNA 指纹图谱库构建的一套核心引物, 这批引物用于高粱 DNA 指纹图谱库构建是完全可行的, 既为中国高粱品种标准 DNA 指纹库构建奠定了基础, 又为开展我国高粱已知品种的 DNA 指纹图谱数据采集、品种权纠纷和司法维权提供技术支撑。

3 材料与方法

3.1 供试材料

本实验收集由吉林省农业科学院作物育种研究所、农业部植物新品种测试(公主岭)分中心等单位提供的高粱材料共计 119 份(表 2)。品种类型包括地方品种、常规种(含有国外种质, 下简称 F; 包括保持系和恢复系, 下分别简称 B 和 R)和杂交种。

本实验搜集并选取分布在高粱 10 条染色体上的 SSR 引物共计 288 对(表 3), 其主要来源于法国农业发展国际合作研究中心(CIRAD)、国际热带半干旱地区作物研究所(ICRISAT)、中国农业科学院(CAAS)共同开发的 48 个 SSR 引物试剂盒, Mace 等(2009)的高密度一致性连锁图谱以及 Mace 等(2008)等文献中所使用的。引物由北京三博远志公司合成。

3.2 DNA 提取

本实验采用 CTAB 法(余传涨等, 2010)并进行了适当的优化: (1)称适量样品, 液氮下迅速磨成粉末; (2)将粉末转入 2.0 mL Eppendorf 管中, 加入 65 °C 预热的 CTAB 缓冲液 700 μ L, 并使其混匀; (3)65 °C 水浴加热 45 min, 不断地轻轻倒转摇动。水浴后, 取出离心管, 冷却至室温; (4)通风橱下加入 700 μ L 的氯仿:异戊醇(24:1), 轻轻倒转摇动 5~10 min; (5)室温下 12 000 r/min 离心 10 min, 用去头枪尖将上清转至一新 2.0 mL Eppendorf 管中; (6)加入 10 μ L RNA 酶溶液(10 mg/mL), 37 °C 下温浴 30 min; (7)重复 4~5 步骤; (8)加入 -20 °C 预冷的异丙醇或无水乙醇于 2.0 mL Eppendorf 管中, 轻轻混匀。-20 °C 冰箱静置一段时间后, 至 DNA 凝集, 室温下钩出 DNA; (9)76 %乙醇洗涤两次, 洗涤完毕后, 将 DNA 晾干; (10)加入适量的 1 \times TE (PH 8.0)溶解于试管中, 4 °C 下保存备用。取 2 μ L DNA 溶液, 用 0.8%的琼脂糖凝胶电泳检测。

3.3 PCR 扩增

扩增体系: 采用 10 μ L 反应体系, 其中含 1 \times PCR Buffer²⁺ (含 2 mmol/L Mg²⁺), 100 μ mol/L dNTP, 0.24 μ mol/L SSR 引物, 0.4U *Taq* DNA 聚合酶, 20 ng DNA 模板, 其余用双蒸水补足。

扩增程序为 94 °C 预变性 10 min, 1 个循环; 94 °C 变性 1 min, 55 °C 退火 1 min, 72 °C 延伸 1 min, 共 36 个循环(根据引物特点可作适当调整); 最后 72 °C 延伸 10 min, 4 °C 保存。扩增反应在 Bio-Rad 公司 MyCycler™ PCR 仪上进行。

3.4 电泳检测

SSR 扩增产物在 6%变性聚丙烯酰胺凝胶电泳上分离。70 W 预电泳 45 min, 70 W 电泳 45 min。银染: 将凝胶板置于 10%醋酸溶液固定 20 min; 双蒸水漂洗 3 min; 在 2 L 新配的染色液(3 g AgNO₃)中染色 20~30 min; 双蒸水快速漂洗 1 次, 时间不超过 10 s; 2 L 显影液(25 g NaOH+7 mL 甲醛溶液)显影; 10%醋酸溶液中定影 5 min; 双蒸水漂洗 5 min 后置于室温下自然晾干。

3.5 数据统计分析

SSR 扩增产物以 0、1、9 统计建立数据库。在相同迁移率位置上, 有带记为 1, 无带记为 0, 缺失数据记为 9。采用 Popgene1.32 软件(Yeh et al., 1999)分别计算: (1)总等位变异数(number of alleles, na); (2)有效等位变异数(effective number of alleles, ne); (3)Shannon-Weaver 指数(Shannon's information index, I); (4)基因流(gene flow, Nm); (5)Nei 期望杂合度(expected heterozygosity, He); (6)多态性信息量(polymorphism information content, PIC)。

作者贡献

李晓辉和杨德光负责实验设计和论文修改; 王凤华参与实验设计和数据分析; 郝彩环整理和收集实验材料; 王晶和张春宵是本研究的具体执行人, 共同开展试验、数据分析和论文写作。全体作者都阅读并同意最终的文本。

致谢

本研究由农业部“DUS 测试品种、信息 DNA 测试技术研究”项目(200903008), “DNA 指纹图谱鉴定技术方法研究和数据采集”课题(200903008-07), “高粱 DNA 指纹图谱鉴定技术标准研制及数据库构建”子课题(200903008-07-08)资助。感谢吉林省农业科学院作物育种研究所、农业部植物新品种测试(公主岭)分中心等单位为本研究提供实验材料。感谢匿名的同行评审人的评审建议和修改建议。

参考文献

- Duan Y.H., Sun Y., Yi Z.B., and Qian J., 2009, Construction of a simple sequence repeats linkage map of *Sorghum bicolor* (L) moenc, Shanxi Nongye Daxue Xuebao (Journal of Shanxi Agricultural University (Natural Science Edition)), 29(4): 315-319 (段永红, 孙毅, 仪治本, 钱锦, 2009, 高粱 SSR 分子连锁图谱的构建, 山西农业大学学报 (自然科学版), 29(4): 315-319)
- Emma S.M., Jean-Francois R., Sophie B., Patricia E.K., Robert R.K., Andrzej K., Peter W., Ling X., Kirsten H. and David R.J., 2009, A consensus genetic map of sorghum that integrates multiple component maps and high-throughput Diversity Array Technology (DArT) markers, BMC Plant Biology, 9: 1-14
- Mace E.S., Xia L., Jordan D.R., Halloran K., Parh D.K., Huttner E., Wenzl P., and Kilian A., 2008, DArT markers: diversity analyses and mapping in sorghum bicolor, BMC Genomics, 9: 1-11
- Shao Y.J., and Shan L., 2004, Advances in the research of drought resistance in sorghum, Zhongguo Nongxue Tongbao (Chinese Agricultural Science Bulletin), 20(3): 120-123 (邵艳军, 山仑, 2004, 高粱抗旱机理研究进展, 中国农学通报, 20(3): 120-123)
- Wang L.M., Jiao Sh.J., Jiang Y.X., Yan H.D., Su D.F., and Sun G.Q., 2011, Establishment of molecular identity in 142 sweet sorghum varieties, Zuowu Xuebao (Acta Agronomica Sinica), 37(11): 1975-1983 (王黎明, 焦少杰, 姜艳喜, 严洪冬, 苏德峰, 孙广全, 2011, 142 份甜高粱品种的分子身份证构建, 作物学报, 37(11): 1975-1983)
- Yeh F.C., and Yang R.C., 1999, POPGENE Version 1.31, <http://www.ualberta.ca/fyeh/popgene>
- Yu C.Z., Zhai G.W., Zou G.H., Tao Y.Z., and Wang H., 2010, Assessment of genetic diversity among 41 sorghum varieties using SSR marker, Jiangsu Nongye Xuebao (Jiangsu Journal of Agricultural Sciences), 26(2): 248-253 (余传涨, 翟国伟, 邹桂花, 陶跃之, 王华, 2010, 41 个高粱品种遗传多样性的 SSR 标记检测, 江苏农业学报, 26(2): 248-253)
- Zhan Q.W., Li J.Q., Wang B.H., and Li Y.F., 2008, Establishment of DNA fingerprinting for 42 sorghum and sudangrass accessions and 2 sorghum-sudangrass hybrids, Caoye Xuebao (Prataculturae Sinica), 17(6): 85-92 (詹秋文, 李杰勤, 汪保华, 李云飞, 2008, 42 份高粱与苏丹草及其 2 个杂交种 DNA 指纹图谱的构建, 草业学报, 17(6): 85-92)
- Zhao J.R., Wang F.G., Guo J.L., Chen G., Liao Q., Sun S.X., Chen R.M., and Liu L.Zh., 2003, Series of Research on Establishing DNA Fingerprinting Pool of Chinese New Maize Cultivars II. Confirmation of a Set of SSR Core Primers Pairs, Yumi Kexue (Journal of Maize Sciences), 11(2): 3-5, 8 (赵久然, 王风格, 郭景伦, 陈刚, 廖琴, 孙世贤, 陈如明, 刘龙洲, 2003, 中国玉米新品种 DNA 指纹库建立系列研究 II. 适于玉米自交系和杂交种指纹图谱绘制的 SSR 核心引物的确定, 玉米科学, 11(2): 3-5, 8)

表 2 119 份高粱材料清单

Table 2 The list of 119 sorghum accessions

序号 No.	材料 Material	类型 Type	序号 No.	材料 Material	类型 Type	序号 No.	材料 Material	类型 Type
1	三尺三(R) Sanchisan(R)	地方品种 Landrace	16	乌鲁木齐高粱 Wulumuqi sorghum	地方品种 Landrace	31	黑壳白粘高粱 Heikebainian sorghum	地方品种 Landrace
2	晋梁 5 号(R) Jiliang5hao(R)	常规种 Inbred line	17	乌恰白高粱 Wuqiabai sorghum	地方品种 Landrace	32	大青料高粱 Daqingliao sorghum	地方品种 Landrace
3	7501B(B)	常规种 Inbred line	18	吐鲁番密穗高粱 Tulufanmisui sorghum	地方品种 Landrace	33	绿苗 Lvniao	地方品种 Landrace
4	TX622B(B)	常规种 Inbred line	19	大黄壳 Dahuangke	地方品种 Landrace	34	黑黄棒子 Heihuangbangzi	地方品种 Landrace
5	吉 4190A Ji4190A	常规种 Inbred line	20	小白高粱 Xiaobai sorghum	地方品种 Landrace	35	散穗红壳 Sansuihongke	地方品种 Landrace
6	吉 352A Ji352A	常规种 Inbred line	21	小粘棒 Xiaonianbang	地方品种 Landrace	36	合恢 8 号(R) Hehui8hao(R)	常规种 Inbred line
7	吉杂 124 Jiza124	杂交种 Hybrid	22	平顶香 Pingdingxiang	地方品种 Landrace	37	克恢 22 号(R) Kehui22hao(R)	常规种 Inbred line
8	吉杂 210 Jiza210	杂交种 Hybrid	23	洋大粒 Yangdali	地方品种 Landrace	38	v4B(B)	常规种 Inbred line
9	阿克苏扫帚高粱 Akesusaozhou sorghum	地方品种 Landrace	24	二老鹅座 Erlaoguzuo	地方品种 Landrace	39	小散码 Xiaosanma	地方品种 Landrace
10	库尔勒高秆 大高粱 Kuerlegaoganda sorghum	地方品种 Landrace	25	传种高粱 Chuanzhong sorghum	地方品种 Landrace	40	笱帚高粱 Tiaozhou sorghum	地方品种 Landrace
11	沙湾白高粱 Shawanbai sorghum	地方品种 Landrace	26	红圪 Hongge	地方品种 Landrace	41	多头高粱 Duotou sorghum	地方品种 Landrace
12	沙湾扫把 绸子高粱 Shawansaobachou zigaoliang	地方品种 Landrace	27	北京二号 Beijingerhao	地方品种 Landrace	42	饭高粱 Fan sorghum	地方品种 Landrace
13	吐鲁番大白高粱 Tulufandabai sorghum	地方品种 Landrace	28	小金棒锤 Xiaojinbangchui	地方品种 Landrace	43	绿高粱 Lv sorghum	地方品种 Landrace
14	吐鲁番甜高粱 Tulufantian sorghum		29	大中粘高粱 Dazhongnian sorghum	地方品种 Landrace	44	低晋 5 Dijin5	常规种 Inbred line
15	吐鲁番小高粱 Tulufanxiao sorghum		30	长毛红高粱 Changmaohong sorghum	地方品种 Landrace	45	TX430(R)	常规种 Inbred line

续表2

Continuing table 2

序号 No.	材料 Material	类型 Type	序号 No.	材料 Material	类型 Type	序号 No.	材料 Material	类型 Type
46	黄壳黄米高粱 Huangkehuangmi sorghum	地方品种 Landrace	63	铁恢 208(R) Tiehui208(R)	杂交种 Hybrid	80	辽杂 15 Liaoza15	杂交种 Hybrid
47	甜选 44 Tianxuan44	常规种 Inbred line	64	5-27 (R) 5-27(R)	杂交种 Hybrid	81	通杂 108 Tongza108	杂交种 Hybrid
48	Hybrid Sorghum S32(F)	杂交种 Hybrid	65	白平(R) Baiping(R)	常规种 Inbred line	82	吉 L116R JiL116R	常规种 Inbred line
49	晋福 1 号(R) Jinful1hao (R)	常规种 Inbred line	66	QL33B(B) QL33B(B)	常规种 Inbred line	83	黑 11B Hei11B	常规种 Inbred line
50	英国高粱(F) England sorghum(F)	常规种 Inbred line	67	辽杂 19 Liaoza19	地方品种 Landrace	84	314B	常规种 Inbred line
51	S.bicolor Holcus(F)	常规种 Inbred line	68	314A 341A	常规种 Inbred line	85	黑 30B Hei30B	常规种 Inbred line
52	埃塞 45(F) Aisai45 (F)	常规种 Inbred line	69	吉杂 83 号 Jiza83hao	杂交种 Hybrid	86	7413-24(R)	常规种 Inbred line
53	Sg 1681(F)	常规种 Inbred line	70	吉杂 90 号 Jiza90hao	常规种 Inbred line	87	7788(R)	常规种 Inbred line
54	榆皮黄 Yupihuang	地方品种 Landrace	71	吉杂 97 号 Jiza97hao	杂交种 Hybrid	88	吉 R13 JiR13	常规种 Inbred line
55	吉杂 101 号 Jiza101hao	杂交种 Hybrid	72	吉梁 3 Jiliang3	杂交种 Hybrid	89	龙 683 Long683	杂交种 Hybrid
56	吉杂 118 号 Jiza118hao	杂交种 Hybrid	73	吉梁 6 Jiliang6	杂交种 Hybrid	90	吉杂 80 号 Jiza80hao	杂交种 Hybrid
57	敖杂 1 Aoza1	杂交种 Hybrid	74	长梁 4 Changliang4	杂交种 Hybrid	91	辽恢 115(R) Liaohui115(R)	常规种 Inbred line
58	哲杂 27 Zheza27	杂交种 Hybrid	75	吉梁 1 Jiliang1	杂交种 Hybrid	92	232EB(B)	常规种 Inbred line
59	泸糯 8 号 Lunuo8hao	杂交种 Hybrid	76	凤杂 4 号 Fengza4hao	杂交种 Hybrid	93	铁恢 157(R) Tiehui157(R)	常规种 Inbred line
60	沈杂 9 号 Shenza9hao	杂交种 Hybrid	77	龙杂 5 Longza5	杂交种 Hybrid	94	F4B(B)	常规种 Inbred line
61	凤杂 8 Fengza8	杂交种 Hybrid	78	龙杂 9 Longza9	杂交种 Hybrid	95	铁恢 6 号(R) Tiehui6hao(R)	常规种 Inbred line
62	龙杂 6 Longza6	杂交种 Hybrid	79	龙杂 10 Longza10	杂交种 Hybrid	96	0-30(R)	常规种 Inbred line

续表2

Continuing table 2

序号 No.	材料 Material	类型 Type	序号 No.	材料 Material	类型 Type	序号 No.	材料 Material	类型 Type
97	135B(B)	常规种 Inbred line	105	3148A	常规种 Inbred line	113	四杂 4 Siza4	杂交种 Hybrid
98	4003(R)	常规种 Inbred line	106	吉杂 96 号 Jiza96hao	杂交种 Hybrid	114	沈杂 10 号 Shenza10hao	杂交种 Hybrid
99	吉恢 7384(R) Jihui7384(R)	常规种 Inbred line	107	龙杂 11 Longza11	杂交种 Hybrid	115	吉杂 99 号 Jiza99hao	杂交种 Hybrid
100	四杂 25 号 Siza25hao	杂交种 Hybrid	108	龙 685 Long685	杂交种 Hybrid	116	黑 11A Hei11A	常规种 Inbred line
101	四杂 29 号 Siza29hao	杂交种 Hybrid	109	龙 686 Long686	杂交种 Hybrid	117	黑 30A Hei30A	常规种 Inbred line
102	四杂 40 号 Siza40hao	杂交种 Hybrid	110	吉杂 121 Jiza121	杂交种 Hybrid	118	R5933(R)	常规种 Inbred line
103	南 133R(R) Nan133R(R)	常规种 Inbred line	111	吉杂 123 Jiza123	杂交种 Hybrid	119	辽杂 12 Liaoza12	杂交种 Hybrid
104	TAM428A	常规种 Inbred line	112	吉杂 127 Jiza127	杂交种 Hybrid			

表 3 288 对 SSR 引物清单

Table 3 The list of 288 SSR primers

序号 No.	引物 Primer	cM 距离 cM distance	序号 No.	引物 Primer	cM 距离 cM distance	序号 No.	引物 Primer	cM 距离 cM distance
1	gpsb067	66.8	16	mSbCIR283	57.5	31	Xcup63	39.7
2	gpsb069	-	17	mSbCIR286	-	32	Xtxp010	108.4
3	gpsb089	53.8	18	mSbCIR300	101.8	33	Xtxp012	73.8
4	gpsb123	97.7	19	mSbCIR306	176.1	34	Xtxp015	63.5
5	gpsb148	13.4	20	mSbCIR329	3	35	Xtxp021	153
6	gpsb151	62.1	21	Xgap72	-	36	Xtxp040	-
7	Xisep0107	75.6	22	Xgap206	-	37	Xtxp057	-
8	Xisep0310	-	23	Xgap84	140.7	38	Xtxp114	-
9	mSbCIR223	19.7	24	SbAGB02	-	39	Xtxp136	-
10	mSbCIR238	-	25	Xcup02	99.9	40	Xtxp141	-
11	mSbCIR240	51.9	26	Xcup11	70.6	41	Xtxp145	51.9
12	mSbCIR246	-	27	Xcup14	-	42	Xtxp265	155
13	mSbCIR248	25	28	Xcup53	40.5	43	Xtxp273	-
14	mSbCIR262	88.8	29	Xcup61	80.5	44	Xtxp278	74.1
15	mSbCIR276	76.3	30	Xcup62	18.4	45	Xtxp295	123.5

续表3

Continuing table 3

序号 No.	引物 Primer	cM 距离 cM distance	序号 No.	引物 Primer	cM 距离 cM distance	序号 No.	引物 Primer	cM 距离 cM distance
46	Xtxp320	-	84	Xtxp197	0.0	121	Xtxp296	168.2
47	Xtxp321	104.2	85	Xtxp96	0.0	122	Xcup40	190.0
48	Xtxp339	-	86	Xtxp63	4.3	123	Xtxp8	193.8
49	Xtxp78	9.6	87	Xtxp25	15.0	124	Xcup69	198.5
50	gap256	13.8	88	Xtxp297	18.0	125	Xtxp456	0.0
51	gap42	13.8	89	Xtxp80	18.0	126	Xtxp496	0.0
52	Xtxp208	13.8	90	Xtxp211	20.5	127	Xtxp494	4.2
53	Xtxp325	17.4	91	Xtxp50	20.5	128	Xtxp457	4.4
54	Xtxp350	17.4	92	Xtxp84	20.5	129	Xtxp228	6.1
55	Xtxp302	23.6	93	Xtxp304	36.8	130	Xtxp266	6.1
56	Xtxp482	25.2	94	Xtxp4	64.8	131	Xtxp518	6.5
57	sbAGF08	29.3	95	Xcup74	73.9	132	Xtxp454	9.3
58	Xtxp357	46.3	96	Xtxp201	73.9	133	Xtxp492	11.1
59	Xtxp43	65.8	97	Xtxp3	73.9	134	Xtxp491	17.3
60	Xtxp88	65.8	98	Xtxp55	73.9	135	Xtxp451	28.9
61	Xtxp149	67.8	99	Xtxp72	73.9	136	Xtxp489	28.9
62	Xtxp32	76.4	100	Xtxp19	80.0	137	Xtxp215	30.2
63	Xtxp37	92.4	101	Xtxp283	80.0	138	Xtxp452	30.2
64	Xtxp335	97.9	102	Xtxp13	82.0	139	Xtxp488	31.2
65	gap57	108.9	103	Xtxp298	92.9	140	Xtxp423	32.1
67	Xtxp75	115.1	104	SbAGAB03	97.7	141	Xtxp485	36.5
68	Xtxp229	116.0	105	Xcup29	121.7	142	Xtxp500	45.4
69	Xtxp279	125.7	106	Xtxp445	121.7	143	Sb5-236	55.9
70	gap36	127.7	107	Xtxp430	123.7	144	Xtxp461	55.9
71	Xcup60	129.5	108	Xtxp56	123.7	145	Xtxp33	59.8
72	Xtxp522	137.3	109	Xtxp1	126.0	146	gap236	62.8
73	Xtxp284	137.7	110	Sb6-84	133.0	147	Xtxp205	65.1
74	Xtxp433	137.7	111	Xtxp286	137.4	148	Xtxp31	71.1
75	Xtxp432	138.5	112	Xtxp179	142.2	149	Xtxp336	71.1
76	Xtxp61	138.5	113	Xtxp428	153.2	150	Xtxp183	75.2
77	Xtxp319	158.0	114	Xtxp315	155.1	151	Xtxp444	80.2
78	Xtxp515	158.8	115	Xtxp431	156.6	152	Xtxp120	87.5
79	Xtxp519	158.8	116	Xtxp429	158.7	153	Xtxp503	87.5
80	Xtxp340	159.6	117	Xtxp100	165.3	154	Xtxp435	89.2
81	Xtxp248	179.6	118	Xcup26	166.8	155	Xtxp2	91.7
82	Xtxp316	181.7	119	Xtxp207	166.8	156	Xtxp231	98.9
83	Xtxp46	183.2	120	Xtxp7	166.8	157	Xtxp436	98.9

续表3

Continuing table 3

序号	引物	cM 距离	序号	引物	cM 距离	序号	引物	cM 距离
No.	Primer	cM distance	No.	Primer	cM distance	No.	Primer	cM distance
158	Xtxp59	103.2	196	Xtxp27	151.1	234	Xtxp168	131.5
159	Xtxp218	110.2	197	Xtxp265	155.0	235	Xtxp47	32.1
160	Xtxp437	115.8	198	Xtxp65	14.4	236	Xtxp520	46.2
161	sbAGE01	120.3	199	Xtxp94	22.6	237	Xcup47	53.4
162	Xtxp438	126.9	200	Xtxp115	26.9	238	Xtxp210	66.6
163	Xtxp440	126.9	201	Xtxp30	28.9	239	Xtxp292	67.6
164	Xtxp439	127.3	202	Xtxp303	35.3	240	Xtxp294	69.3
165	Xtxp441	127.3	203	Xtxp225	59.4	241	Xtxp354	73.4
166	Xtxp446	131.5	204	Xtxp14	64.1	242	Xtxp18	86.8
167	Xtxp442	131.9	205	Xtxp299	64.1	243	Xtxp516	86.8
168	Xtxp447	134.5	206	Xtxp23	75.9	244	Xtxp250	88.5
169	Xtxp285	136.6	207	SBKAFGK1	89.3	245	Xtxp105	97.7
170	Xtxp38	137.4	208	Xtxp123	93.1	246	Xtxp289	23.5
171	Xtxp421	137.4	209	Xtxp262	94.1	247	Xtxp358	46.7
172	Xtxp448	138.7	210	Xtxp521	0.0	248	Xtxp410	55.2
173	Xtxp422	140.1	211	Xtxp6	31.6	249	Xtxp459	55.2
174	Xtxp449	140.1	212	Xcup36	70.2	250	Xtxp412	70.1
175	Xtxp420	141.4	213	Xtxp317	90.5	251	Xtxp258	80.5
176	Xtxp34	147.8	214	Xtxp104	90.9	252	Xtxp287	80.5
177	Xtxp424	147.8	215	Xtxp219	90.9	253	Xtxp411	80.5
178	Xtxp427	158.2	216	Xtxp274	90.9	254	sb4-32	84.2
179	Xtxp69	158.2	217	Xtxp97	92.9	255	Xtxp230	85.5
180	Xtxp425	162.1	218	Xtxp484	115.4	256	Xtxp67	87.7
181	Xtxp426	164.2	219	Xtxp95	125.7	257	sbAGE03	150.8
182	Xtxp506	0.0	220	Xtxp176	134.1	258	Xtxp20	53.2
183	Xtxp504	6.1	221	Xtxp17	149.3	259	Xtxp270	55.5
184	Xcup05	21.3	222	Xcup37	165.0	260	Xtxp309	55.5
185	Xtxp343	71.4	223	Xtxp418	0.0	261	Xtxp331	56.0
186	sb1-10	87.6	224	Xtxp36	3.7	262	SvPEPCAA	57.4
187	sbAGG02	93.8	225	Xtxp417	17.7	263	Xtxp130	57.4
188	Sb5-214	97.1	226	Xtxp413	18.5	264	Xtxp217	57.4
189	Xtxp177	106.2	227	Xtxp481	31.8	265	Sb6-325	102.6
190	Xtxp24	106.2	228	Xtxp159	38.3	266	Xcup43	102.6
191	Xtxp41	106.2	229	Xtxp312	56.5	267	Xcup07	115.2
192	Xtxp327	108.0	230	Xtxp227	65.7	268	Sb4-121	-
193	Xtxp60	120.7	231	Xtxp92	87.8	269	Sb4-15	-
194	Xtxp212	128.5	232	Xcup52	126.2	270	SB4-72	-
195	Xtxp51	128.5	233	Xtxp99	130.0	271	Sb5-206	-

续表3

Continuing table 3

序号	引物	cM 距离	序号	引物	cM 距离	序号	引物	cM 距离
No.	Primer	cM distance	No.	Primer	cM distance	No.	Primer	cM distance
272	Sb6-34	-	278	Sb4-22	-	284	Xcup32	-
273	Sb6-342	-	279	Sb5-85	-	285	Sb5-256	-
274	Sb6-57	-	280	Sb6-36	-	286	Sb6-42	-
275	SbAGF06	-	281	SbAGA01	-	287	Xtxp26	-
276	SbAGH04	-	282	SbAGB03	-	288	Xcup57	-
277	Sb1-1	-	283	SbAGD02	-			

注: -: 未知

Note: -: Unknown