



基于 SSR 标记辣椒品种 DNA 指纹图谱的构建

冯鹏龙¹, 韩睿¹, 王亚艺¹, 邵登魁¹, 李全辉^{1,2}, 钟启文¹

(1. 青海大学 农林科学院/青海省蔬菜遗传与生理重点实验室, 西宁 810016;

2. 西北农林科技大学 园艺学院, 陕西杨凌 712100)

摘要 基于辣椒全基因组开发的 SSR 标记,对青海地区主栽的 26 份主栽辣椒品种进行遗传多样性分析并构建分子指纹图谱。结果从 117 对 SSR 标记中筛选出 6 对扩增稳定,多态性较好的引物,6 对标记共扩增到 36 个基因位点,多态性比例为 97%;26 份青海地区主栽辣椒品种之间遗传相似系数为 0.42~1.00,在 GS 0.5 处可将 26 份辣椒材料聚为 4 类。优选 pepperSSR01、pepperSSR04、pepperSSR06、pepperSSR08 这 4 对引物组合便可准确快速地区分供试辣椒材料。

关键词 辣椒;SSR 标记;遗传多样性;指纹图谱

中图分类号 S641.3

文献标志码 A

文章编号 1004-1389(2022)03-0320-08

辣椒(*Capsicum annuum* L.)是中国重要的蔬菜作物之一,也是青海省目前栽培面积最大的蔬菜作物,因其独特的风味和丰富的营养价值,受到广大消费者的青睐^[1-3]。近年来,随着辣椒育种技术进步和辣椒种植面积逐年扩大,生产中常用的辣椒品种也在快速增加,在辣椒种植过程中也经常出现同名异种、同种异名、种子质量参差不齐的现象。生产上因伪劣品种或品种不纯造成损失的现象屡见不鲜,严重侵害了消费者和种植户的权益。因此,品种识别、品种真实性和纯度鉴定,显得尤为重要和迫切。

传统的品种鉴定包括种子形态鉴定法、幼苗鉴定法、生理生化鉴定法等^[4],根据品种表型差异进行区分,而大多数形态性状易受环境影响,不同地点、年份也会表现出一定程度的差异,严重影响品种纯度鉴定的准确性及真实性^[5-6]。DNA 分子标记技术以其可靠性高、信息量大、检测迅速、操作方便等突出优点现已成为鉴定品种纯度、真实性强有力的工具。其中 SSR 分子标记技术因诸多优点,被广泛应用于品种纯度及真实性鉴定中^[7-9]。

在辣椒作物方面,王苑嫫等^[10]选用筛选的 12 对 SSR 引物,构建出 10 个甜椒自交系的指纹图

谱,其中 1 对引物能清晰地辨别供试的 4 组材料;王莉月等^[11]通过筛选出的 25 对扩增稳定、条带清晰、有多态性的引物,建立 3 个簇生朝天椒杂种一代和亲本的数字化指纹图谱;李丹丹^[12]利用随机扩增多态性 DNA 标记(RAPD)、相关序列扩增多态性(SRAP)等分子标记技术,构建 24 个辣椒品种的分子指纹图谱,可有效地鉴定辣椒杂交种‘苏紫 1 号’的遗传纯度。另外,多位研究者利用 SSR 标记引物来鉴定辣椒杂交种或地方品种的纯度^[13-16]。在其他作物方面,目前已在玉米^[17]、油菜^[7]、黄瓜^[18]、樱桃^[19]、棉花^[20-22]等植物中也广泛引用 SSR 标记技术构建了 DNA 指纹图谱,用于品种纯度及真实性鉴定。

本研究基于辣椒全基因组开发的 SSR 标记,构建青海地区主栽的 26 份辣椒品种的 DNA 指纹图谱,为辣椒育种材料的选择,辣椒品种保护,快速准确地鉴定辣椒品种纯度及真实性提供分子生物学支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

研究 26 份辣椒试验材料来源于青海省农林

收稿日期:2021-04-20 修回日期:2021-08-24

基金项目: 青海省农林科学院创新基金(2019-NKY-03);国家自然科学基金(31860556);青海省科技计划(2021-ZJ-763);青海省科技厅重点实验室项目(2020-ZJ-Y02)。

第一作者: 冯鹏龙,男,硕士研究生,研究方向为蔬菜遗传育种。E-mail:921165613@qq.com

通信作者: 钟启文,男,博士,副研究员,硕士生导师,研究方向为蔬菜遗传育种。E-mail:29089744@qq.com

李全辉,男,副研究员,研究方向为蔬菜遗传育种。E-mail:liquanhui_2008@163.com

科学院园艺研究所自育品种及部分市场上销售的商品辣椒品种(表 1)。

表 1 参试辣椒品种及来源

Table 1 Tested pepper varieties and sources							
品种编号 No.	品种名称 Cultivar	来源 Source	种质类型 Germplasm type	品种编号 No.	品种名称 Cultivar	来源 Source	种质类型 Germplasm type
1	天骄 2 号 Tianjiao-No. 2	甘肃 Gansu	育成品种 Bred variety	14	B14-01	青海 Qinghai	育成品种 Bred variety
2	天骄 3 号 Tianjiao-No. 3	甘肃 Gansu	育成品种 Bred variety	15	陇椒 10 号 Longjiao-No. 10	甘肃 Gansu	育成品种 Bred variety
3	天骄 5 号 Tianjiao-No. 5	甘肃 Gansu	育成品种 Bred variety	16	天陇 Tianlong	甘肃 Gansu	育成品种 Bred variety
4	天骄 8 号 Tianjiao-No. 8	甘肃 Gansu	育成品种 Bred variety	17	华美 105 Huamei-105	甘肃 Gansu	育成品种 Bred variety
5	天骄 10 号 Tianjiao-No. 10	甘肃 Gansu	育成品种 Bred variety	18	吉祥 101 Jixiang-101	甘肃 Gansu	育成品种 Bred variety
6	甘科 10 号 Ganke-No. 10	甘肃 Gansu	育成品种 Bred variety	19	乐都长辣椒 Ledu-Changlajiao	青海 Qinghai	地方品种 Local variety
7	甘科 11 号 Ganke-No. 11	甘肃 Gansu	育成品种 Bred variety	20	京旋 3 号 Jingxuan-No. 3	北京 Beijing	育成品种 Bred variety
8	航椒 5 号 Hangjiao-No. 5	甘肃 Gansu	育成品种 Bred variety	21	绿快 2 号 Lükuai-No. 2	甘肃 Gansu	育成品种 Bred variety
9	航椒 8 号 Hangjiao-No. 8	甘肃 Gansu	育成品种 Bred variety	22	19004	青海 Qinghai	育成品种 Bred variety
10	航椒 s605 Hangjiao-s605	甘肃 Gansu	育成品种 Bred variety	23	改良猪大肠 Gailiangzhudachang	甘肃 Gansu	育成品种 Bred variety
11	青椒 3 号 Qingjiao-No. 3	青海 Qinghai	育成品种 Bred variety	24	GK-2-1	甘肃 Gansu	育成品种 Bred variety
12	循化线辣椒 Xunhuaxianlajiao	青海 Qinghai	地方品种 Local variety	25	陇椒 2 号 Longjiao-No. 2	甘肃 Gansu	育成品种 Bred variety
13	青线椒 2 号 Qingxianjiao-No. 2	青海 Qinghai	育成品种 Bred variety	26	陇椒 3 号 Longjiao-No. 2	甘肃 Gansu	育成品种 Bred variety

1.2 试验设计

1.2.1 材料种植 试验材料于 2020 年 2 月 20 日育苗,4 月 20 日定植于青海省农科院园艺所 1 号试验基地温室内,定植株行距 40 cm×50 cm,每个小区 16 m²,每个品种 3 次重复,常规田间管理。

1.2.2 DNA 的提取 分别称取盛果期新鲜辣椒叶片 100 mg,在液氮中反复研磨成细粉,采用天根公司的植物基因组 DNA 提取试剂盒(DP305)提取,用超微量分光光度计测量样品浓度及纯度。用 10 g/L 琼脂糖凝胶检测基因组 DNA 质量,合

格 DNA 样品置于一 20 ℃ 冰箱,备用。

1.2.3 SSR-PCR 扩增 参试引物信息见表 2,PCR 反应体系为 20 μL,其中 PCRMasterMix 10 μL(天根),10 μmol/L 正、反向 SSR 引物各 1 μL,模板 DNA 2 μL,ddH₂O 6 μL;PCR 反应程序:94 ℃ 预变性 5 min;94 ℃ 变性 30 s,55 ℃ 退火 30 s,72 ℃ 延伸 1 min,35 个循环;72 ℃ 延伸 5 min。扩增产物在 60 g/L 聚丙烯酰胺凝胶上恒压电泳(120 V,90~120 min),GeneGreen 核酸染料染色 15 min,最后在 BIO-RAD 凝胶成像系统上拍照记录。

表 2 SSR 引物名称及序列

引物名称 Primer	上游引物(5'→3') Forward primer	下游引物(5'→3') Reverse primer
pepperSSR01	GCACCCTCCCAATACAAATC	GATCACGGAGAAAGCAAAGG
pepperSSR03	TACCTCCTCGCCAATCCTTCTG	TTGAAAGTTCTTTCCATGACAACC
pepperSSR04	AAACCTAGTGACTGGCGAGC	AACGTTTTGCATAACGGAGG
pepperSSR05	CGACTAAAACGCATCCCAGT	TGGTGATGATGTGGAGGATG
pepperSSR06	GTCGGCCGTCATTCACTATT	AGCTTGATGCACCTGGTCTT
pepperSSR08	AAATTGAAACGATTGGCAGG	GGTGGGAGGAGAATTTATGGA

1.3 数据分析

将电泳图谱上同一位置清晰出现的条带记为 1, 没有条带记为 0, 由此生成 0、1 原始矩阵, 统计 SSR 标记 PCR 引物扩增出的总条带数和多态性条带数, 每个 SSR 位点的多态性信息量按多态信息量 ($PIC = 1 - \sum_{i=1}^k P_i^2 k - \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^k 2P_i^2 P_j^2$; 其中 k 为等位基因数组, P_i 和 P_j 分别为第 i 和第 j 个等位基因在群体中的频率) 公式计算, 用 SYSTAT 2.0 软件, 按类平均距离法, 以欧氏距离进行聚类分析。

1.4 指纹图谱和 QR 编码

指纹图谱构建根据 SSR 标记扩增的可重复性及读带的难易程度, 选择多态性好的引物, 以 1 和 0 分别条带有无, 9 表示无扩增, 构建不同辣椒品种的数字化指纹图谱, 指纹图谱 QR 编码应用 Excel 2019 的二维码编辑工具进行编码, 将参试品种信息生成指纹图谱 QR 编码。

2 结果与分析

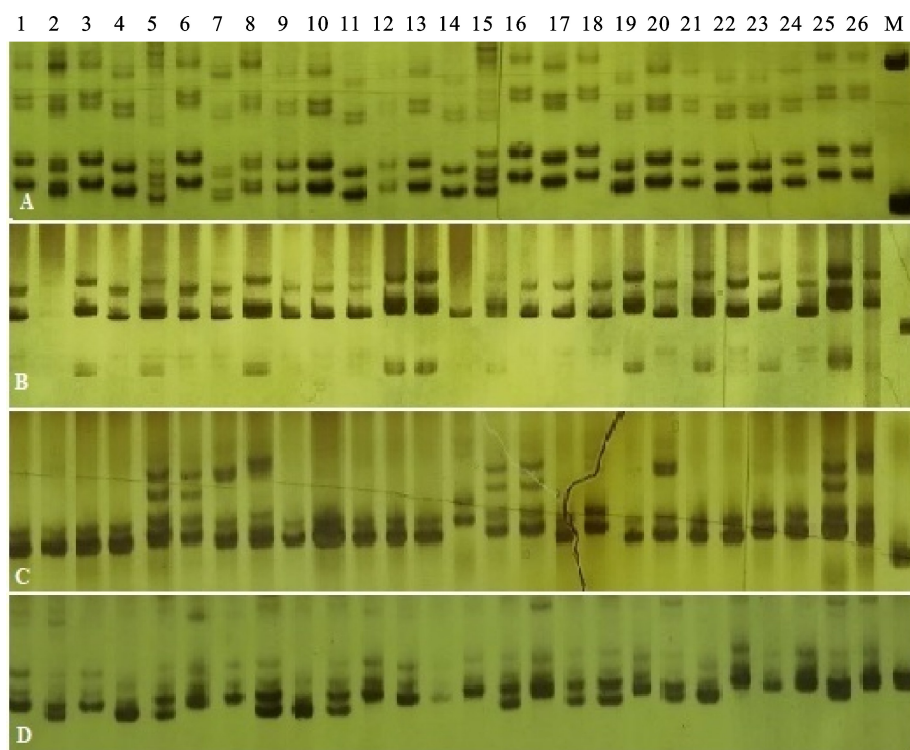
2.1 标记多态性分析

利用生物学性状差异较大、亲缘关系较远的

辣椒品种‘青椒 3 号’(甜椒)和‘循化线辣椒’(线椒), 对 120 对 SSR 引物进行筛选。结果有 6 对 SSR 引物扩增条带多态性好、稳定性高, 占总标记数的 10.27%(图 1, 表 3)。用筛选的引物对 26 份供试材料进行 PCR 扩增, 共检测到 36 个等位位点, 其中 35 个为多态性位点, 多态性比率达 97%, 并且扩增片段的长度多在 50~400 bp, 每对引物扩增出的等位位点数为 4~9 个, 平均每对引物扩增出的等位位点数为 6 个, 其中引物 pepperSSR08 多态性条带最多, 为 9 条, 引物 pepperSSR04、pepperSSR05 多态性条带较少, 为 4 条, 表明供试材料的 SSR 多态性丰富。

2.2 聚类分析

利用 SYSTAT 软件, 根据 6 个标记扩增的条带数据计算各品种间相似性系数, 并按 UPGMA 法进行聚类(图 2)。结果显示, 26 份辣椒材料之间遗传相似系数在 0.42~1.00。在 GS 0.5 处, 共聚为四类, 第一类包括‘天骄 2 号’‘天骄 3 号’‘天骄 5 号’‘乐都长辣椒’‘循化线辣椒’‘青线椒 2 号’‘陇椒 3 号’; 第二类包括‘天骄 8 号’‘航椒 8 号’‘绿快 2 号’‘GK-2-1’; 第三类包括‘B14-01’



A. pepperSSR01; B. pepperSSR04; C. pepperSSR06; D. pepperSSR08; M. Marker; 1~26 辣椒品种编号同表 1

1—26 represent the pepper cultivars numbered 1—26 in table 1

图 1 部分标记在 26 份材料中的扩增

Fig. 1 Amplification of four pairs of markers in 26 pepper cultivars

表 3 6 对 SSR 引物在 26 份辣椒品种中的多态性

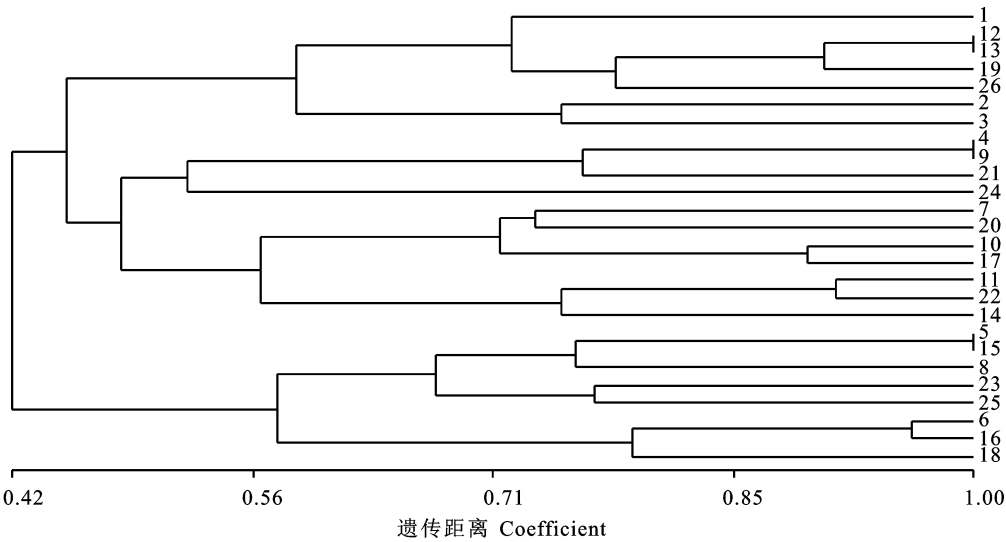
Table 3 Polymorphism of 6 pairs of SSR primers in 26 pepper cultivars

引物名称 Primer	扩增总条带数 No. of amplified bands	多态性带数 No. of polymorphic bands	多态性百分比/% Percentage of polymorphic bands	PIC 值 Polymorphism information content
PepperSSR01	7	7	100	0.770 3
PepperqSSR03	5	4	80	0.364 8
PepperSSR04	4	4	100	0.590 9
PepperSSR05	4	4	100	0.665 9
PepperSSR06	7	7	100	0.774 3
PepperSSR08	9	9	100	0.732 2
合计 Total	36	35		
平均 Average	6	5.8	97	0.649 7

‘华美 105’‘甘科 10 号’‘甘科 11 号’‘京旋 3 号’‘19004’‘青椒 3 号’;第四类包括‘陇椒 10 号’‘天陇’‘天骄 10 号’‘吉祥 101’‘甘科 10 号’‘航椒 5 号’‘改良猪大肠’‘陇椒 2 号’。从中可以看出,大部分亲缘关系较近的品种被聚到一类,比如第一类,天骄系列辣椒品种,果实长羊角形,绿色,果面有褶皱,果长 30~45 cm,粗 3~3.5 cm;第三类品种包括甜椒以及甘科系列,表型都为大叶类型辣椒品种,株型较为接近;第四类都为螺丝椒品种,株型及果型较为适中,在生产上种植面积也比较大。其余聚到一类的品种在田间也具有一定的相似性,亲缘关系较为接近。

另外,根据聚类结果可以看出,‘循化线辣椒’

和‘青线椒 2 号’、‘陇椒 10 号’和‘天骄 10 号’、‘天骄 8 号’和‘航椒 8’这几个品种之间的遗传相似系数为 1,说明这几个品种具有很高的相似度,其中‘青线椒 2 号’为‘循化线辣椒’的果色突变体,除果色不一样外,其余植物学性状基本一致,这也在一定程度上反映了聚类结果的可靠性;‘陇椒 10 号’和‘天骄 10 号’以及‘天骄 8 号’和‘航椒 8 号’之间,田间种植的相似度也很高,推测这几个品种之间可能存在同种异名的现象。‘航椒 5 号’‘甘科 10 号’‘陇椒 2 号’与‘循化线辣椒’的遗传相似系数最小,为 0.42,说明这几个品种之间的相似性最小。



1~26 辣椒品种编号同表 1
1—26 pepper cultivars No. were same as in table 1

图 2 26 份辣椒品种的 SSR 聚类图
Fig.2 SSR cluster map of 26 pepper cultivars

2.3 指纹图谱的构建

根据 6 对引物扩增条带的统计分析,综合考虑条带读取难易程度、重复性高低、多态性信息含量等,筛选出 pepperSSR01、pepperSSR04、pep-

perSSR06 和 pepperSSR08 4 对引物用于构建 26 份辣椒品种的分子标记指纹图谱(表 4)。采用引物组合法用以上 4 对引物便可准确地鉴定其中 23 份辣椒品种,其中,‘天骄 8 号’和‘航椒 8 号’、

表 4 26 份辣椒品种的 SSR 指纹图谱指纹图谱
Table 4 SSR fingerprint fingerprints of 26 pepper cultivars

编号	品种名称	指纹图谱	二维码	编号	品种名称	指纹图谱	二维码
Code	Cultivar name	Fingerprint	QR code	Code	Cultivar name	Fingerprint	QR code
1	天骄2号 Tianjiao-No.2	10000000101010110000000101		14	B14-01	00001000001101010000011100	
2	天骄3号 Tianjiao-No.3	0010000999010011000000101		15	陇椒 10 号 Longjiao-No.10	00000101011100010010101010	
3	天骄5号 Tianjiao-No.5	10000001010010110000000101		16	天陇 Tianlong	10000000101101010010100010	
4	天骄8号 Tianjiao-No.8	0001000010100000000000101		17	华美 105 Huamei-105	01000000101100010000000101	
5	天骄 10 号 Tianjiao-No.10	00000101011100010010101010		18	吉祥 101 Jixiang-101	10000000101100010000001010	
6	甘科 10 号 Ganke-No.10	10000000101101010010101010		19	乐都长辣椒 Ledu-Changlajiao	00001001010010110000000101	
7	甘科 11 号 Ganke-No.11	00000010111101010011000101		20	京旋3号 Jingxuan-No.3	01000000101010011011000101	
8	航椒5号 Hangjiao-No.5	00100001011100010100000011		21	绿快2号 Lǜkuai-No.2	00010001011000000000000101	
9	航椒8号 Hangjiao-No.8	00010000101000000000000101		22	19004	00001000101101010000000101	
10	航椒 s605 Hangjiao-s605	00010000101100010000000101		23	改良猪大肠 Gailiangzhudachang	00001001010010110000001010	
11	青椒3号 Qingjiao-No.3	00001000101101010000000101		24	GK-2-1	00010000101010110000001010	
12	循化线辣椒 Xunhuaxianlajiao	00010001010010110000000101		25	陇椒2号 Longjiao-No.2	10000001010010011010101010	
13	青线椒2号 Qingxianjiao-No.2	00010001010010110000000101		26	陇椒3号 Longjiao-No.2	10000001010010110100000001	

‘循化线辣椒’和‘青线椒 2 号’、‘陇椒 10 号’和‘天骄 10 号’由于品种相似度太高而只能鉴定其中一个。同时,为方便查询 26 份辣椒品种的指纹信息,用 Excel 2019 软件对每个辣椒品种的指纹图谱进行 QR 编码,其中包括品种名称、来源、指纹图谱代码等相关信息。

3 讨论与结论

基于分子标记绘制农作物品种的指纹图谱,能快速、准确地鉴定品种或品系,为作物育种和种子管理提供极大的便利^[6]。传统的评价基因多样性和品种鉴定都是基于形态学描述,经常受限于环境影响,很少能在同一时期仅靠某一性状同时区分上百份材料^[8-9]。因此,发展一种可靠的方法来解决品种鉴定问题是十分必要的。

近年来,随着测序技术的进步,开发了大量的 SNP 标记,但其高额投入和相对复杂的操作过程,使其在品种纯度鉴定等生产过程中未能得到广泛应用^[5],SSR 标记多态性丰富,操作简单,被认为是品种鉴定较为理想的标记之一,目前,在各种作物上,都已经成功应用 SSR 标记开展了指纹图谱的构建。本试验从 117 对 SSR 引物中筛选出 6 对多态性较好的引物用于构建辣椒指纹图谱,6 对多态性 SSR 引物在 26 份辣椒品种扩增获得 36 个位点,平均每个引物扩增出的等位位点数为 6 个,使用其中 4 对 SSR 引物组合便可鉴定其中 23 份辣椒品种。在辣椒作物中,王苑蜚等^[10]利用 SSR 分子标记构建甜椒自交系的指纹图谱,用 1 对引物就能辨别的供试材料有 4 组,2 对引物组合能辨别的有 2 组,需 3 对引物组合才能有效区分的为余下的 4 组。何建文等^[23]构建了贵州 12 个辣椒杂交种 SSR 标记指纹图谱,15 个多态性较好的标记中,约 30% 的三标记组合能鉴别参试杂交种。王莉月等^[11]构建了簇生椒杂交种及亲本的指纹图谱,25 对突变引物共扩增出 123 个位点,多态性的位点 51 个,多态性比率为 41.5%。可以看出,在构建为数不多的辣椒品种的遗传指纹图谱中,大多都采用不同的引物组合用于分辨不同的辣椒品种,这和本研究的结果基本一致。管俊娇等^[24]研究发现采用差异位点数判断品种特异性更适合目前辣椒品种现状,而 SSR 标记直接用于辣椒 DUS(植物新品种测试)判定还需进一步研究,但是可用于近似品种筛选。本研究选用的试材,大部分为从甘肃引进的商品

种,在西北地区广泛种植,遗传背景相对比较狭窄,亲缘关系也比较近,选用 4 对引物构建的指纹图谱将其中 23 份辣椒品种准确区分,在一定程度上也说明本研究选用的基于全基因组开发的 SSR 标记具有较好的多态性,适合用于辣椒品种指纹图谱的构建和品种纯度的鉴定。

近年来,随着辣椒产业的发展,青海地区引进和种植的辣椒品种越来越多,为充分保障种植农户权益,对引进辣椒品种的纯度和真实性的鉴定提出了更高的要求,本研究通过聚类分析发现 26 份辣椒材料中,‘循化线辣椒’和‘青线椒 2 号’、‘陇椒 10 号’和‘天骄 10 号’以及‘天骄 8 号’和‘航椒 8 号’这几个品种之间的遗传相似系数为 1,也具有相同的分子指纹图谱,说明这几个品种之间的相似度极高;其中‘青椒 2 号’为‘循化线辣椒’的果色突变体经多代选育而成的黄色线辣椒品种,除果色性状有区别外,其他遗传背景基本一致,因此聚类分析时将它们聚为一类,构建指纹图谱时也未找到适合的标记将其区分,这也在一定程度上说明本研究聚类分析结果较为可靠;另外,‘陇椒 10 号’和‘天骄 10 号’以及‘天骄 8 号’和‘航椒 8 号’这 4 个品种在田间种植时,两两之间的植物学形状相似性也很高,加入更多的标记做基因分型时也未能将这 4 个品种完全区分,说明这 4 个品种两两之间可能存在同种异名的现象,有待结合田间试验和在分子水平上进行更深入的分析。

辣椒指纹图谱库的建立和完善,可进行辣椒种质资源遗传多样性分析^[6],为辣椒育种工作提供便利,另一方面可逐步开展品种即 DUS 测试工作,大大缩短鉴定时间,同时,也可作为辣椒品种的司法鉴定提供借鉴,保障育种工作者的合法权益。本研究构建的辣椒品种的分子指纹图谱是对现有指纹图谱的补充和完善,下一步可对更多不同遗传背景辣椒品种指纹图谱的进行分析,同时结合田间植物学性状数据,建立更为完善的辣椒品种植物图谱信息,为辣椒育种和品种鉴定工作提供理论依据。

参考文献 Reference:

- [1] 张发梅. 青海地区辣椒日光温室高产栽培技术[J]. 现代农业, 2017(3):12-13.
ZHANG F M. High yield cultivation techniques of pepper in solar greenhouse in Qinghai area [J]. *Modern Agriculture*, 2017(3):12-13.
- [2] 谢小丽. 试论辣椒种植技术与发展现状[J]. 农民致富之友,

- 2019(14):13.
- XIE X L. Discussion on pepper planting technology and development status [J]. *Friends of Farmers Getting Rich*, 2019(14):13.
- [3] 王永平,张绍刚,张婧,等.我国辣椒产业发展现状及趋势[J].河北农业科学,2009,13(6):135-138.
- WANG Y P,ZHANG SH G,ZHANG J,*et al.* Development situation and trend of pepper industry in China [J]. *Journal of Hebei Agricultural Sciences*, 2009,13(6):135-138.
- [4] 陈星,高子厚. DNA 分子标记技术的研究与应用[J].分子植物育种,2019,17(6):1970-1977.
- CHEN X,GAO Z H. The study and application of DNA molecular marker technique [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2019,17(6):1970-1977.
- [5] 王玲玲,陈东亮,黄丛林,等. SSR 分子标记技术在植物研究中的应用[J].安徽农业科学,2017,45(36):123-126.
- WANG L L,CHEN D L,HUANG C L,*et al.* Application of SSR molecular markers in plant research [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2017,45(36):123-126.
- [6] 朱岩芳.作物品种分子标记鉴定及指纹图谱构建研究[D].杭州:浙江大学,2013.
- ZHU Y F. Research on cultivar identification and DNA fingerprinting of crops based on molecular markers [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2013.
- [7] 文雁成,王汉中,沈金雄,等. SRAP 和 SSR 标记构建的甘蓝型油菜品种指纹图谱比较[J].中国油料作物学报,2006,28(3):233-239.
- WEN Y CH,WANG H ZH,SHEN J X,*et al.* Comparison of cultivar fingerprints of constructed with SRAP and SSR markers in *Brassica napus* L. [J]. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 2006,28(3):233-239.
- [8] 牛姣姣.分子标记技术及其在大麦遗传育种中的应用[J].山西农经,2020(19):86-87.
- NIU J J. Molecular marker technology and its application in barley genetics and breeding [J]. *Shanxi Agricultural Economics*, 2020(19):86-87.
- [9] 乔军,王利英,石瑶.利用 SSR 进行品种纯度鉴定的研究进展[J].天津农业科学,2011,17(4):45-51.
- QIAO J,WANG L Y,SHI Y. Research progress of identification of varieties purity by SSR [J]. *Tianjin Agricultural Science*, 2011,17(4):45-51.
- [10] 王苑嫫,王秀英,薛永,等.利用 SSR 分子标记构建甜椒自交系的指纹图谱[J].生物学杂志,2015,32(5):96-98.
- WANG Y X,WANG X Y,XUE Y,*et al.* Fingerprinting of sweet pepper inbred lines using SSR markers [J]. *Journal of Bbiology*, 2015,32(5):96-98.
- [11] 王莉月,王辉,刘艳芝,等.簇生椒杂交种及亲本的指纹图谱构建和亲缘关系分析[J].青岛农业大学学报(自然科学版),2018,35(3):213-219.
- WANG L Y,WANG H,LIU Y ZH,*et al.* Fingerprint construction and genetic relationship analysis of clustered pepper hybrids and their parents [J]. *Journal of Qingdao Agricultural University (Natural Science)*, 2018,35(3):213-219.
- [12] 李丹丹.辣椒种子遗传纯度与指纹图谱分子标记分析[D].南京:南京农业大学,2013.
- LI D D. Analysis of genetic purity and fingerprint molecular marker of *Capsicum* seeds [D]. Nanjing Nanjing Agricultural University, 2013.
- [13] 白占兵,李雪峰,戴雄泽.利用 SSR 分子标记建立辣椒纯度鉴定体系[J].辣椒杂志,2010,8(1):32-34.
- BAI ZH B,LI X F,DAI X Z. Establishment of purity identification system of *Capsicum* by SSR molecular markers [J]. *Journal of China Capsicum*, 2010,8(1):32-34.
- [14] 卢霞,邓志军,刘梦华,等.辣椒基因组 SSR 引物的开发及品种纯度分子鉴定[J].江苏农业科学,2020,48(7):65-68.
- LU X,DENG ZH J,LIU M H,*et al.* Development of SSR primers for *Capsicum* genome and identification of purity molecular of varieties [J]. *Jiangsu Agricultural Science*, 2020,48(7):65-68.
- [15] 陈琛,罗俊杰,陈卫国.利用 SSR 技术快速鉴定 2 个辣椒杂交品种纯度[J].甘肃农业科技,2020(4):53-58.
- CHEN CH,LUO J J,CHEN W G. Identification of purity of two hybrid pepper varieties by SSR technology [J]. *Gansu Agricultural Science and Technology*, 2020(4):53-58.
- [16] 李淑红,赖黎丽,李淑琴,等.利用 SSR 标记鉴定 3 个辣椒杂交品种的纯度[J].辣椒杂志,2018,16(1):17-21.
- LI SH H,LAI L L,LI SH Q,*et al.* Purity identification of three pepper hybrids by SSR markers [J]. *Journal of China Capsicum*, 2018,16(1):17-21.
- [17] 任敬雯. SSR 标记及其在玉米中的应用[J].安徽农学通报,2011,17(11):55-58.
- REN J W. SSR markers and their application in maize [J]. *Anhui Agricultural Science Bulletin*, 2011,17(11):55-58.
- [18] 王蕾,王福全,尹惠萍,等.基于 SSR 标记的黄瓜栽培品种遗传多样性分析及指纹图谱构建[J].分子植物育种,2021,19(8):2668-2677.
- WANG L,WANG F Q,YIN H P,*et al.* Genetic diversity analysis and fingerprint construction of cucumber cultivars based on SSR markers [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2021,19(8):2668-2677.
- [19] 王丹丹,付化瑞,张彦文.甜樱桃栽培种指纹图谱构建及遗传多样性分析[J].西北农业学报,2017,26(12):1813-1820.
- WANG D D,FU H R,ZHANG Y W. Establishment of DNA fingerprinting and analysis of diversity among *Prunus avium* cultivars [J]. *Acta Agriculturae Boreali-orientalis Sinica*, 2017,26(12):1813-1820.
- [20] 李婧慧,李淑琴,朱波,等.新疆彩色棉品种指纹图谱构建与遗传多样性分析[J].中国棉花,2020,47(3):6-16.
- LI J H,LI SH Q,ZHU B,*et al.* Construction of fingerprint and genetic diversity analysis of colored cotton varieties in Xinjiang [J]. *China Cotton*, 2020,47(3):6-16.
- [21] 秦利,李冰,范玲,等.新疆陆地棉 SSR 标记指纹图

- 谱构建和杂种纯度鉴定研究[J]. 新疆农业科学, 2005, 42(6):399-401.
- QIN L, LI B, FAN L, *et al.* Analysis on establishment of finger printing of SSR mark for upland cotton and purity of hybrid seed in Xinjiang [J]. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 2005, 42(6):399-401.
- [22] 叶春秀, 李全胜, 李有忠, 等. 新疆早熟陆地棉 SSR 标记遗传多样性分析及指纹图谱构建[J]. 西北农业学报, 2015, 24(2):73-78.
- YE CH X, LI Q SH, LI Y ZH, *et al.* Analysis of genetic diversity and construction of fingerprint of early maturing upland cotton in northern Xinjiang by SSR [J]. *Acta Agricolurae Boreali-occidentalis Sinica*, 2015, 24(2):73-78.
- [23] 何建文, 杨文鹏, 姜 虹, 等. 贵州 12 个辣椒杂交种 SSR 标记指纹图谱的构建与分析[J]. 云南农业大学学报(自然科学版), 2010, 25(6):769-774.
- HE J W, YANG W P, JIANG H, *et al.* Establishment and analysis of SSR marker fingerprints on 12 Capsicum hybrid in Guizhou province[J]. *Journal of Yunnan Agricultural University(Natural Science)*, 2010, 25(6):769-774.
- [24] 管俊娇, 余志慧, 杨晓洪, 等. SSR 标记在辣椒 DUS 测试中的应用研究[J]. 植物遗传资源学报, 2019, 20(2):396-405.
- GUAN J J, YU ZH H, YANG X H, *et al.* Application of SSR markers in pepper DUS test [J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2019, 20(2):396-405.

Construction of DNA Fingerprints of Pepper(*Capsicum annuum* L.) Varieties Based on SSR Markers

FENG Penglong¹, HAN Rui¹, WANG Yayi¹, SHAO Dengkui¹,
LI Quanhui^{1,2} and ZHONG Qiwen¹

(1. Academy of Agriculture and Forestry, Qinghai University/Qinghai Key Laboratory of Vegetable Genetics and Physiology, Xining 810016, China; 2. College of Horticulture, Northwest A&F University, Yangling Shaanxi 712100, China)

Abstract Based on SSR markers developed for the whole pepper genome, the genetic diversity of 26 major pepper cultivars grown in Qinghai were analyzed in current study, and their molecular fingerprints were constructed. The results showed that 6 pairs of primers with stable amplification and good polymorphism were selected from 117 pairs of SSR markers, and a total of 36 gene loci were amplified from 6 pairs of markers, with a polymorphism ratio of 97%. The genetic similarity coefficient among 26 pepper varieties was 0.37—1.00, and the 26 pepper materials could be grouped into 4 types at GS 0.5. Preferably, the four pairs of primers (pepperSSR01, pepperSSR04, pepperSSR06 and pepperSSR08) could distinguish the tested pepper materials accurately and quickly.

Key words Pepper; SSR marker; Genetic diversity; Fingerprint

Received 2021-04-20

Returned 2021-08-24

Foundation item Innovation Fund of Qinghai Academy of Agriculture and Forestry Sciences(No. 2019-NKY-03); National Natural Science Foundation of China(No. 31860556); Science and Technology Plan of Qinghai Province(No. 2021-ZJ-763); Key Laboratory Project of Qinghai Science & Technology Department(No. 2020-ZJ-Y02).

First author FENG Penglong, male, master student. Research area: vegetable genetics and breeding. E-mail: 921165613@qq.com

Corresponding author ZHONG Qiwen, male, Ph. D, associate research fellow, master supervisor. Research area: vegetable genetics and breeding. E-mail: 29089744@qq.com

LI Quanhui, male, associate research fellow. Research area: vegetable genetics and breeding. E-mail: liquanhui_2008@163.com

(责任编辑: 史亚歌 Responsible editor: SHI Yage)