



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104372096 A

(43) 申请公布日 2015. 02. 25

(21) 申请号 201410664152. 1

(22) 申请日 2014. 11. 20

(71) 申请人 福建农林大学

地址 350002 福建省福州市仓山区上下店路
15 号

(72) 发明人 张立武 祁建民 袁民航 蔡蓉蓉

(74) 专利代理机构 福州元创专利商标代理有限公司 35100

代理人 蔡学俊

(51) Int. Cl.

C12Q 1/68(2006. 01)

C12N 15/11(2006. 01)

权利要求书1页 说明书8页
序列表6页 附图1页

(54) 发明名称

一种黄麻微卫星 DNA 标记指纹图谱及其应用

(57) 摘要

本发明涉及一种黄麻种质资源的 DNA 指纹图谱及其应用。该指纹图谱是以 28 对 SSR 引物等位片段的组合为基础,以 58 个黄麻品种 / 系为供试材料,通过 DNA 的提取、PCR 扩增、PCR 产物的鉴定、数据分析,最终构建 DNA 指纹图谱。该指纹图谱可以区分开供试的黄麻品种 / 系,可用于黄麻品种 / 系的鉴定或纯度分析。本发明与传统的形态学和细胞学鉴定检测相比,具有检测时间短、准确性高、可重复性好的优点。

1. 一种获取黄麻微卫星 DNA 标记指纹图谱的专用引物,其特征在于:所述引物为 28 对 SSR 引物等位片段的组合,其中 17 对 SSR 引物序列如 SEQ ID NO. 1-34 所示。
2. 一种获取黄麻微卫星 DNA 标记指纹图谱的方法,其特征在于:提取黄麻基因组 DNA,对权利要求 1 所述的 28 对 SSR 引物进行扩增与筛选,电泳检测,测定条带片段大小及构建微卫星 DNA 标记指纹图谱。
3. 一种如权利要求 1 所述的专用引物获得到的黄麻微卫星 DNA 标记指纹图谱,在黄麻品种 / 系的鉴定或纯度分析上的应用。

一种黄麻微卫星 DNA 标记指纹图谱及其应用

技术领域

[0001] 本发明涉及一种分子标记技术,具体涉及一种黄麻微卫星 DNA 标记的指纹图谱及其应用于黄麻品种 / 系的鉴定或纯度分析。

背景技术

[0002] 黄麻 (*Corchorus*) 是世界上仅次于棉花的重要韧皮纤维作物,主要在印度、孟加拉和中国种植。生产上栽培的有长果种 (*Corchorus olitorius* L.) 和圆果种 (*Corchorus capsularis* L.), 染色体数均为 $2n=2X=14$ 。黄麻纤维细软、强力大、吸湿性好、散水快,可纺性好,用途十分广阔。

[0003] 优质黄麻品种在黄麻单产和质量中的贡献率举足轻重。我国黄麻育种家自 20 世纪 40 年代就开始黄麻的育种研究,先后推出了闽麻 369、粤圆 4 号、梅峰 4 号、闽麻 5 号、黄麻 179 等圆果种和巴长 4 号、宽叶长果等长果种品种。目前,“黄麻 179”和“宽叶长果”以其高产、优质、多抗等特征成为我国黄麻主产区品种审定的对照品种。

[0004] 1999 年我国签署了《国际植物新品种保护法》,这不仅要求我们尊重其它国家的品种知识产权,同时也要加强保护我们国家自己的品种知识产权,为了建立黄麻品种登记制度来真正保护我国的品种产权,必须首先建立成熟的品种鉴定技术,为新品种登记奠定基础。就国内而言,由于 20 世纪地域间引种利用,黄麻品种同种异名现象十分严重,地方品种遗传相似性高,传统的形态学和细胞学鉴定方法很难做到准确而真实的鉴定黄麻的品种差别,为此需要在分子水平上进行分析鉴定。

[0005] DNA 指纹图谱能够从 DNA 水平上鉴定出品种间的差异或遗传相似性。而微卫星(又称为简单重复序列,SSR)是由 1-6 个核苷酸组成的短序列串联重复多次而组成的一段 DNA。由于微卫星中重复单元的重复次数不同,因而扩增出的微卫星序列的长度呈现多态性。微卫星序列具有多态性较高,重复性和稳定性好等特点,是十分有效的分子标记,被广泛应用于品种鉴定、指纹图谱构建等领域。如用微卫星 DNA 标记进行猪品种分类的专利申请“适于猪品种分类的猪微卫星 DNA 标记”(公开号 CN1370834A)。

[0006] 为了有效保护我国黄麻的品种知识产权,有必要在我国开展黄麻开发微卫星标记开发,并应用于黄麻优良品种“分子身份证”构建的研究。

发明内容

[0007] 本发明的目的在于:提供一种黄麻微卫星 DNA 标记指纹图谱及其应用,该指纹图谱与常规形态学和细胞学检测相比,具有检测时间短,准确性高,重复性好的优点。

[0008] 本发明提供了一种获取黄麻微卫星 DNA 标记指纹图谱的专用引物,所述引物为 28 对 SSR 引物,其中,11 对 SSR 引物序列见申请专利“黄麻表达序列标签微卫星 DNA 标记”(专利号为 2014100882191),即编号为 CeSSR001、CeSSR008、CeSSR025、CeSSR030、CeSSR038、CeSSR045、CoSSR050、CoSSR052、CoSSR053、CoSSR054、CoSSR062 的 SSR 引物;17 对 SSR 引物序列如 SEQ ID NO. 1-34 所示。

[0009] 本发明提供了一种黄麻微卫星 DNA 标记指纹图谱, 选用如表 1 所示的来自不同地区的 58 个黄麻品种 / 系为供试材料, 其中圆果种黄麻 46 份, 长果种黄麻 12 份。

[0010] 表 1 供试黄麻种质资源的品种名称及来源

品种代号	品种名称	原产地	类型
001	日本 5 号	日本	栽培圆果种黄麻
002	日本 7 号	日本	栽培圆果种黄麻
003	闽黄 3 号	中国福建	栽培圆果种黄麻
004	闽黄 4 号	中国福建	栽培圆果种黄麻
005	粤圆 4 号	中国广东	栽培圆果种黄麻
006	闽 5 混选	中国福建	栽培圆果种黄麻
007	闽麻 369	中国福建	栽培圆果种黄麻
008	琼粤青	中国湖南	栽培圆果种黄麻
009	永安淡红皮	中国福建	栽培圆果种黄麻
010	混选 19	中国福建	栽培圆果种黄麻
011	JRC-212	印度	栽培圆果种黄麻
012	东莞青皮	中国广东	栽培圆果种黄麻
013	新选 1 号	中国福建	栽培圆果种黄麻
014	闽侯红皮	中国福建	栽培圆果种黄麻
015	南安嵩麻	中国福建	栽培圆果种黄麻
016	古农红皮	中国福建	栽培圆果种黄麻
017	仙游黄麻	中国福建	栽培圆果种黄麻

018	卢滨圆果	中国福建	栽培圆果种黄麻
019	巴圆 6 号	巴基斯坦	栽培圆果种黄麻
020	越南 54	越南	栽培圆果种黄麻
021	越南圆果	越南	栽培圆果种黄麻
022	日本大分青皮	日本	栽培圆果种黄麻
023	牛刷条	中国四川	栽培圆果种黄麻
024	海南琼山	中国海南	栽培圆果种黄麻
025	园子麻	中国四川	栽培圆果种黄麻
026	高雄青皮	中国台湾	栽培圆果种黄麻
027	新丰青皮	中国台湾	栽培圆果种黄麻
028	台中胭脂红	中国台湾	栽培圆果种黄麻
029	台湾青皮	中国台湾	栽培圆果种黄麻
030	台湾红皮	中国台湾	栽培圆果种黄麻
031	深红皮 2 号	中国台湾	栽培圆果种黄麻
032	淡红皮 2 号	中国福建	栽培圆果种黄麻
033	淡红皮 4 号	中国福建	栽培圆果种黄麻
034	淡红皮 10 号	中国福建	栽培圆果种黄麻
035	中赤种	中国台湾	栽培圆果种黄麻
036	紫皮麦新皮	中国福建	栽培圆果种黄麻
037	北巷黄麻	中国台湾	栽培圆果种黄麻
038	闽麻 5 号	中国福建	栽培圆果种黄麻
039	93 繁-8	中国福建	栽培圆果种黄麻
040	93 繁-20	中国福建	栽培圆果种黄麻
041	梅峰 4 号	中国福建	栽培圆果种黄麻
042	台湾绿果红	中国台湾	栽培圆果种黄麻
043	JRC/675	印度	栽培圆果种黄麻
044	黄麻 179	中国福建	栽培圆果种黄麻
045	紫金黄麻	中国广东	栽培圆果种黄麻
046	云野 I -1	中国云南	野生长果种黄麻
047	洋锯齿圆果	中国广西	栽培圆果种黄麻
048	807 元引马里	马里	野生长果种黄麻
049	宽叶长果	中国湖南	栽培长果种黄麻
050	马里野生	马里	野生长果种黄麻
051	巴长 4 号	巴基斯坦	栽培长果种黄麻
052	印度墨绿子	印度	栽培长果种黄麻
053	JRC/551	尼泊尔	栽培长果种黄麻

054	JRC/564	尼泊尔	栽培长果种黄麻
055	SM/034	肯尼亚	栽培长果种黄麻
056	巴麻 72-1	巴基斯坦	栽培长果种黄麻
057	莆田青皮	中国福建	栽培长果种黄麻
058	台南农场	中国台湾	栽培长果种黄麻

根据上述 58 个品种所建立的指纹图谱用数字表示为 DNA fingerprint No. 1-58 所示 (表 2)。其中,“1”代表图谱中某个位置上有扩增条带存在,而“0”代表图谱中某个位置上没有扩增条带存在。

[0011] 表 2 利用 28 对 SSR 引物构建 58 份黄麻的指纹信息

品种名称	指纹代号	指纹信息
日本 5 号	DNA fingerprint No. 1	000000001011100000000111111110100000000000001101010100110000
日本 7 号	DNA fingerprint No. 2	00001000001110100000011111111101000000000000001101011100110010
闽黄 3 号	DNA fingerprint No. 3	00011001101110010000001110111000100000000000001101010000110000
闽黄 4 号	DNA fingerprint No. 4	0001100010001101000000111111001101000000000000001101011100110000
粤图 4 号	DNA fingerprint No. 5	000100011000110100000011111111101000000000000000001001100110010
闽 5 混选	DNA fingerprint No. 6	000100001001110000000011111110000000000000000000011001100110010
闽麻 369	DNA fingerprint No. 7	011100011011010100001011111010000000000000000000000100000110000
琼粤青	DNA fingerprint No. 8	00000001001101000000000011111100000000000000000001101001100110010
永安溪红皮	DNA fingerprint No. 9	00000000000000000000101111111100000000000000000001001101100110000
混选 19	DNA fingerprint No. 10	00010001101101010000001111111110000000000000000001001011100010010
JRC-212	DNA fingerprint No. 11	0001001010010101000000000111111010000000000000000000000000001010
东莞青皮	DNA fingerprint No. 12	10010010101101010000101111111110100000000000000000000000000011010
新选 1 号	DNA fingerprint No. 13	000110000000000000000000011011000010000000000000000010010000000000
闽侯红皮	DNA fingerprint No. 14	00010000000000000000000011101000000000000000000000011000000110000
南安混麻	DNA fingerprint No. 15	0001000000000000000000001111111110000000000000000001111011100111010
古衣红皮	DNA fingerprint No. 16	0001000000000000000000001110100001000000001000000001000000101000
仙游黄麻	DNA fingerprint No. 17	000100011011110010000000000111101000000000000000001111011100111010
卢溪圆果	DNA fingerprint No. 18	000100011111110100000000011111101000100000100000111011000111010

巴图 6 号	DNA fingerprint No. 19	000100001111101000000000011111000000000000001011000000111011
越南 54	DNA fingerprint No. 20	10010000000010000000000111111100000000000000000000000001000000101011
越南四果	DNA fingerprint No. 21	00010001001111000000000000011000000000000000000000000001000000101011
日本大分青皮	DNA fingerprint No. 22	000100000100010000000001111011110000000000000000101101100111001
牛脚条	DNA fingerprint No. 23	00010000100110100000011111111010000000100100001011011000111011
海南琼山	DNA fingerprint No. 24	00011000100101000000000001111000000000010000000010000000101000
园子麻	DNA fingerprint No. 25	01110001111010100011001111000000100000100000000001000000111010
高雄青皮	DNA fingerprint No. 26	000100001000010000000000000110000100000000110000001111001100110000
新丰青皮	DNA fingerprint No. 27	00000000000010000110011111100001000000011000000111001100110010
台中胭脂红	DNA fingerprint No. 28	00010000001101000000011101000000100000110111000001101011100010000
台湾青皮	DNA fingerprint No. 29	00010000000010000000010100010000000000001100000111101110010000
台湾红皮	DNA fingerprint No. 30	00000000000010100000011111110000000000001000000111111100010000
深红皮 2 号	DNA fingerprint No. 31	00010000000010000000010101111100000000000000000011001100000000
淡红皮 2 号	DNA fingerprint No. 32	000100000000110001000000110111110000001100000000000000000000010
淡红皮 4 号	DNA fingerprint No. 33	00000000000011000100000111111110000000001100000000000000000101000
淡红皮 10 号	DNA fingerprint No. 34	00010001101001000100000111111011000010000001000000111000000101010
中赤种	DNA fingerprint No. 35	000100011000010001000011111111100000000011100001011011100101000
紫皮麦新皮	DNA fingerprint No. 36	00010001100101000100001111100000010000111011100000111101100110010
北巷黄麻	DNA fingerprint No. 37	0001000110000100010001010110101101000000001000001101011100000010
胭脂 5 号	DNA fingerprint No. 38	00010001100001000100011111111110100000001110000011101110000010
93 蟹 8	DNA fingerprint No. 39	000100011000010001001011111111101000000011100001101011100000010
93 蟹 20	DNA fingerprint No. 40	00010000011111110000011111100000000000000110000100001001100101000
梅峰 4 号	DNA fingerprint No. 41	0001000101101101010001111111111000000000111000001101011100110010
台湾绿果红	DNA fingerprint No. 42	000100011000010000000011110001100000000011000001111011100101000
JRC 675	DNA fingerprint No. 43	0001000010111100010001000001111100000001101100000100000000110010
黄麻 179	DNA fingerprint No. 44	00010000000110001000111110111110000000110111000000001101100110010
紫金黄麻	DNA fingerprint No. 45	0001010000000001100011000001111000000010111100000111100110000000
云野 I-1	DNA fingerprint No. 46	000000000000100000000111101111011010100010011000001100000000101
洋锯齿圆果	DNA fingerprint No. 47	0000000000001000000001111000001000001100111000000001001100000010
807 元引马堡	DNA fingerprint No. 48	00000000000000000000000111101111011010000110000010100100001011000
宽叶长果	DNA fingerprint No. 49	00010000000011000000000111101110010100000100100100001000001000100
马里野生	DNA fingerprint No. 50	00000000000111000000000001000000101000000000010000000000000000
巴长 4 号	DNA fingerprint No. 51	000100000001110000000001111110111011010000010010000001000010000101
印度墨绿子	DNA fingerprint No. 52	000100000111110000000000100101110110101001100100001101000001000101
JRC 551	DNA fingerprint No. 53	00010000011111000000000011100000110101001100100011111010001000100
JRC 564	DNA fingerprint No. 54	00010000011111000000000111111011101010001001001111010001000100
SM/034	DNA fingerprint No. 55	010100000110010000100001011000101011110000000100001111010001000000
巴麻 72-1	DNA fingerprint No. 56	00010000000010000000011110000100110101000100100100001000001000100
莆田青皮	DNA fingerprint No. 57	000100000000100000010000110111110110101000100100001101000001000100
台南农场	DNA fingerprint No. 58	00010000000010000000001101110111001010000000100000011001100110010

其中,无条带的记为“0”,有条带的记为“1”。

[0012] 28 对引物产生的 67 个 SSR 标记 :CcSSR001-260, CcSSR008-400, CcSSR008-350, CcSSR025-300, CcSSR030-200, CcSSR030-150, CcSSR038-600, CcSSR045-350, CcSSR045-300, CcSSR045-270, CcSSR045-230, CcSSR045-200, CcSSR045-190, CcSSR045-170, CcSSR045-140, CcSSR045-130, CoSSR050-400, CoSSR050-270, CoSSR052-6

00, CoSSR053-200, CoSSR053-140, CoSSR054-900, CoSSR062-180, CoSSR122-500, CoSSR122-400, CoSSR122-190, CoSSR122-170, CoSSR122-150, CoSSR146-700, CoSSR146-600, CoSSR146-500, CoSSR146-300, CoSSR146-250, CoSSR146-200, CoSSR174-285, CoSSR174-195, CoSSR176-190, CoSSR179-250, CoSSR184-200, CoSSR192-560, CoSSR192-450, CoSSR192-380, CoSSR195-310, CoSSR196-650, CoSSR196-250, CoSSR227-230, CoSSR227-100, CoSSR228-400, CoSSR229-210, CoSSR232-230, CoSSR232-260, CoSSR305-800, CoSSR305-400, CoSSR305-195, CoSSR305-180, CoSSR305-120, CoSSR305-085, CoSSR362-500, CoSSR362-270, CoSSR362-160, CoSSR362-140, CoSSR434-410, CoSSR434-180, CoSSR434-170, CoSSR434-650, CoSSR452-300, CoSSR452-180.

为实现上述目的,本发明采用如下技术方案:

黄麻基因组 DNA 的提取, SSR 引物扩增与筛选, PCR 扩增产物的电泳检测, 条带分子量大小的测定及黄麻微卫星 DNA 标记指纹图谱的构建。

[0013] 具体步骤如下:

DNA 提取: 采用 CTAB 大量法提取黄麻基因组 DNA。

[0014] 扩增: PCR 所用到的引物如表 2 所示。其中, 11 对 SSR 引物见申请专利“黄麻表达序列标签微卫星 DNA 标记”(专利号为 2014100882191), 其对应的表达序列标签 SSR 标记 CeSSR001、CeSSR008、CeSSR025、CeSSR030、CeSSR038、CeSSR045、CoSSR050、CoSSR052、CoSSR053、CoSSR054、CoSSR062 也已在专利“黄麻表达序列标签微卫星 DNA 标记”(专利号为 2014100882191) 中公开; 编号为 CoSSR122、CoSSR146、CoSSR174、CoSSR176、CoSSR179、CoSSR184、CoSSR192、CoSSR195、CoSSR196、CoSSR227、CoSSR228、CoSSR229、CoSSR232、CoSSR305、CoSSR362、CoSSR434、CoSSR452 为新开发的基因组 SSR 标记, 其对应的 GenBank ID 为 354991044、354991073、354991107、354991109、354991112、354991118、354991126、354991130、354991131、354991170、354991171、354991172、354991176、407915159、407915428、407915872、407915955。

[0015] PCR 体系为 10ul 体系, 每管 PCR 管中含: 2.0ul 黄麻 DNA, 1.0ul 10×TaqBuffer, 0.8ul MgCl₂, 0.2ul dNTPs mixture, 0.2ul Taq 酶(2.5U), 0.5ul 引物(Forward+Reverse), 5.3ul ddH₂O, 加 10.0ul 石蜡覆盖, 离心混匀。

[0016] 将配制好的 PCR 管放入 PTC-1000 PCR 仪中进行反应。PCR 程序为: 94℃ 预变性 3min; 94℃ 变性 30s, 60℃ 退火 30s, 72℃ 延伸 45s, 10 个循环, 每个循环退火温度降低 0.5℃; 94℃ 变性 30s, 55℃ 退火 30s, 72℃ 延伸 45s, 35 个循环; 72℃ 延伸 10min; 4℃ 保存 30℃。PCR 扩增反应结束后, 每管加入 4ul 6×loading Buffer, 离心混匀。

[0017] PCR 扩增产物通过 9% 聚丙烯酰胺凝胶电泳, 每管取 7~8ul 扩增产物进行点样, 每板胶电压约为 200V, 电流为 100mA, 功率不超过 20W, 电泳时间根据具体情况而定, 一般为 1.5h~2h。而后进行银染、显影, 并做好标记。

[0018] 表 3 黄麻新开发的 17 对 SSR 引物的编号及序列

引物编号 Primer No.		左引物 Left Primer(5'-3')	右引物 Right Primer(3'-5')
CoSSR122	354991044	SEQ ID NO.1: ACAGCCATTACCACCACCAACA	SEQ ID NO.2: GGTGGTGGGACACCTGGTGG
CoSSR146	354991073	SEQ ID NO.3: CCACCAAGCAAGGTGAATGCC	SEQ ID NO.4: ACACCTAGATACCTTGATGGGGCTC
CoSSR174	354991107	SEQ ID NO.5: AGCCCAACATGCCCAACCA	SEQ ID NO.6: TGTGCCCACACAAAACGACTTGC
CoSSR176	354991109	SEQ ID NO.7: GCCCTCTCCCAATAATCAATGCCACC	SEQ ID NO.8: AATGTCAAAGAAGCACCTGCCCCA
CoSSR179	354991112	SEQ ID NO.9: GGGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAG	SEQ ID NO.10: ACAACACGATCCCACTTACGC
CoSSR184	354991118	SEQ ID NO.11: GGAGTGTGGTTAGACCAAGGAGT	SEQ ID NO.12: TC GATTGCTAACAACCAAGTTGCT
CoSSR192	354991128	SEQ ID NO.13: TC GGCGCTGC AACACTCTCA	SEQ ID NO.14: TGTGGGGTTTAAACCGGGTGG
CoSSR195	354991130	SEQ ID NO.15: TCGTCAATGTGGACAAACATCTCCA	SEQ ID NO.16: TGGTCAAGAGATGAATGTGCATAGGCT
CoSSR196	354991131	SEQ ID NO.17: TGGAGCAACACCCAAATCTTGTGAA	SEQ ID NO.18: ACCTCAGGAAGCCCTGACCAAA
CoSSR227	354991170	SEQ ID NO.19: TGTGTTGTGTTGTGTTGGGACCAC	SEQ ID NO.20: GCTACTCTGCTGCACGGCC
CoSSR228	354991171	SEQ ID NO.21: CAACAACAGCAACCGCCGCC	SEQ ID NO.22: GGGGACGACCTGTGCCCAAA
CoSSR229	354991172	SEQ ID NO.23: CCAAGCACTCCCATGCCACG	SEQ ID NO.24: TTTGCTGCTGCTGCTGCTGA
CoSSR232	354991176	SEQ ID NO.25: TCAAACTTGGGTTTGGGGA	SEQ ID NO.26: TGCCGATCGAACGAGCTTCTGG
CoSSR305	407915159	SEQ ID NO.27: ACTTAGCCCTTTGAGGATGTTCCCC	SEQ ID NO.28: CCGCGGAGCGAAAATAGATTACCC
CoSSR362	407915428	SEQ ID NO.29: CAGACTGCCCGCCCTTTCGG	SEQ ID NO.30: CCGGTATGGAGGCGCCACG
CoSSR434	407915872	SEQ ID NO.31: GGAAGTGGTGGTGGAGCGGC	SEQ ID NO.32: CCTCACCTACCGCCACGGA
CoSSR452	407915955	SEQ ID NO.33: TACCGTCCCACTTCCCGTT	SEQ ID NO.34: CGCAAAAGGTGAACACGCCA

数据统计与分析:根据扩增产物的聚丙烯凝胶电泳结果,采用 0、1 读带,无条带的记为“0”,有条带的记为“1”。每个引物扩增的结果根据片段大小形成不同的等位片段组合,得到 0、1 数据。SSR 引物等位片段组合的 0、1 数字串作为每一个品种的数字指纹。

[0019] 本发明的积极效果如下:

(1) 在前期专利申请基础上(专利号为 201410088219),分离并鉴定了 17 个适于黄麻品种/系的指纹图谱构建的微卫星 DNA 标记,标记的编号为 CoSSR122、CoSSR146、CoSSR174、CoSSR176、CoSSR179、CoSSR184、CoSSR192、CoSSR195、CoSSR196、CoSSR227、CoSSR228、CoSSR229、CoSSR232、CoSSR305、CoSSR362、CoSSR434、CoSSR452。

[0020] (2) 本发明提供的指纹图谱在所收集的国内外 58 个黄麻品种(系)中具有特异性,具有良好的应用前景。与常规形态学检测相比,具有检测时间短,准确性高,重复性好的优点。指纹图谱分析结果如表 2 所示。

附图说明

[0021] 图 1: 黄麻品种卢滨圆果的特征引物 CoSSR184 电泳扩增图。其中, M 为 100 bp marker。

具体实施方式

[0022] 下面通过实施例对本发明作进一步的说明,其目的仅在于更好理解本发明的内容而非限制本发明的保护范围。

[0023] 实施例 1 黄麻微卫星 DNA 标记指纹图谱的构建:按照上述表 2 中各材料各引物(28 对 SSR 引物)扩增情况,绘制 58 个黄麻品种(系)的 DNA 指纹图谱。在该 DNA 指纹图谱中,每个黄麻品种(系)均有其特异的 DNA 指纹,可以把这 58 个品种(系)彼此区分开(见图 1 与表 2)。58 个品种(系)的名称、来源等见表 1。

[0024] 实施例 2 将本发明的黄麻 DNA 指纹图谱用于某个黄麻种质资源的真实性检测:如供试材料中的黄麻 179 品种是圆果种黄麻品种审定的对照品种,如果对照品种出现问题,将导致整个区域试验失败。现有一批种子不能确定是否是真正的黄麻 179 种子,因此,按照

本发明的方法建立这批种子的 DNA 指纹图谱,然后对照标准图谱进行对比鉴定。利用“黄麻 179”的特征引物 CoSSR305 与 CoSSR192 对这批待测黄麻品种进行真实性检测。共检测 192 个样品,其中检测出具有“黄麻 179”指纹(CoSSR305-120 与 CoSSR192-380)的样品 189 个,占检测样品总数的 98.4%。鉴定结果为这批种子就是真实的“黄麻 179”。

SEQUENCE LISTING

<110>	福建农林大学	
<120>	一种黄麻微卫星 DNA 标记指纹图谱及其应用	
<130>	34	
<160>	34	
<170>	PatentIn version 3.3	
<210>	1	
<211>	24	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	1	
	acagccatta ccaccacacc aaca	24
<210>	2	
<211>	21	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	2	
	ggtggtggga cacctggtgg a	21
<210>	3	
<211>	22	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	3	
	ccaccaagca aggtgaatgc cc	22
<210>	4	
<211>	26	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	4	
	acactctaga taccttgatg gggctc	26
<210>	5	
<211>	22	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	5	
	agcccaacat gcccatcaac ca	22
<210>	6	

<211> 25	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 6	
tggtccccac acaaaactga cttgc	25
<210> 7	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 7	
gccctctccc ataaatctaa tgccacc	27
<210> 8	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 8	
aatgtcaaag aagcactctg ccca	24
<210> 9	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 9	
gggagagaga gagagagaga gagagag	27
<210> 10	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 10	
acaacacgta ccccacetta cgc	23
<210> 11	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 11	
ggagtgtggt tagaccatga ggagt	25
<210> 12	
<211> 26	
<212> DNA	
<213> 人工序列	

<400> 12	
tcgattgcta acaacccaaa gttgct	26
<210> 13	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 13	
tcggcgctgc aacactctca	20
<210> 14	
<211> 22	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 14	
tgtgggggtt ttaaccgggt gg	22
<210> 15	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 15	
tgctgcaatg tggacaaaca tactcca	27
<210> 16	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 16	
tggtcaagag atgaatgtgc ataggct	27
<210> 17	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 17	
tggagcaaca cccaaatctt gtgaa	25
<210> 18	
<211> 22	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 18	
acgtcacgaa gccttgacca aa	22
<210> 19	

<211>	24	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	19	
tgtgtttgtgt	tgtgttggga	ccac
		24
<210>	20	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	20	
gctactctgc	tgcacggccc	
		20
<210>	21	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	21	
caacaacagc	aaccgccgcc	
		20
<210>	22	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	22	
ggggacgacc	tgtgccccaa	
		20
<210>	23	
<211>	21	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	23	
ccagcatctc	ccatgcccac	g
		21
<210>	24	
<211>	21	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	24	
tgttgctgct	gctgctgctg	a
		21
<210>	25	
<211>	21	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	

<400> 25	
tgcaagcttg ggtttggggg a	21
<210> 26	
<211> 22	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 26	
tggcgatcga acgagcttct gg	22
<210> 27	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 27	
acttagcctt tgaggatggt tcccc	25
<210> 28	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 28	
gcggcgagcg aaaatagatt agcc	24
<210> 29	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 29	
cagactgccc gccctttcgg	20
<210> 30	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 30	
cgggtatgga ggcgccaacg	20
<210> 31	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 31	
ggaagtgggtg gtggagcggc	20
<210> 32	

<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人共序列	
<400>	32	
ccctcaccta	ccgccacgga	20
<210>	33	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	33	
taccgttgcc	acttgccggtt	20
<210>	34	
<211>	21	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	34	
cgcaaaaggt	gaacacgcgc a	21

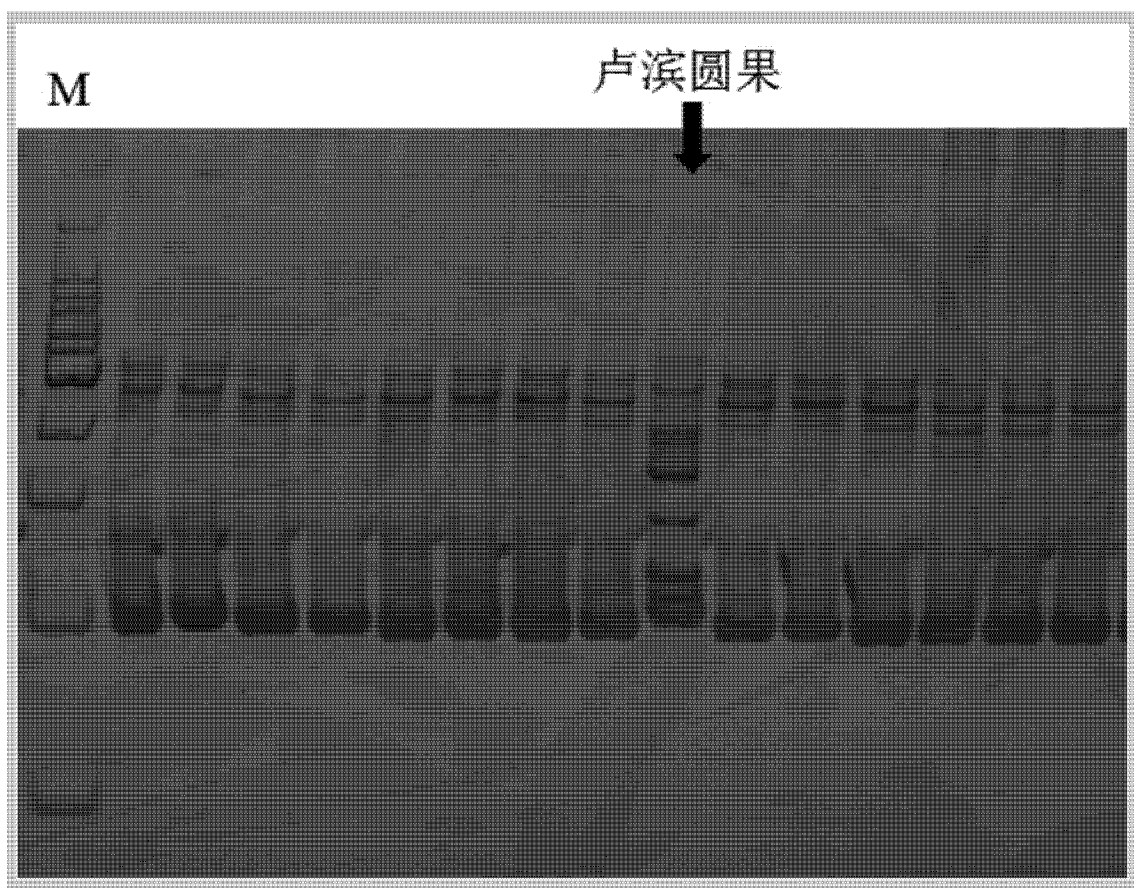


图 1